

要旨

本学位論文は 5 章から構成される。第 1 章では序論としてセンサリーロドプシンについてまとめる。第 2 章では *in-situ* 光照射固体 NMR 装置の開発と光照射固体 NMR 測定法について述べる。第 3 章では光照射固体 NMR を用いて明らかにしたセンサリーロドプシン I の光中間体の定常捕捉とレチナールの構造変化について述べる。第 4 章ではセンサリーロドプシン II の光反応過程における活性光中間体のレチナール構造に関して論じた。

レチナール(ビタミン A アルデヒド)を発色団として持ち、光を受容して機能する膜タンパク質を総じてロドプシン類(レチナールタンパク質)と呼ぶ。微生物型ロドプシン(Type I 型ロドプシン)の一つに分類されるセンサリーロドプシンは、レチナールを発色団として持つ 7 回膜貫通ヘリックス型の膜タンパク質である。このようなセンサリーロドプシンは、膜中で固有のトランスデューサータンパク質と複合体を形成して、光に対する走性である走光性を司る信号を伝達する機能をもつ。センサリーロドプシンにはその機能の観点から 2 種類に分類され、緑色光に対する誘引応答と近紫外光に対する忌避応答の 2 種類の信号を伝達する機能を併せ持つセンサリーロドプシン I(SRI)と近紫外光に対する忌避応答の信号を伝達する機能を担うセンサリーロドプシン II(SRII)が存在する。

例えば、高度好塩好アルカリ性細菌である *Natronomonas pharaonis* は有害な紫外領域の光から逃避するための忌避応答である負の走光性を示す。この機能は *Natronomonas pharaonis* の膜中に存在する SRII、あるいは *pharaonis* phoborhodopsin (*ppR*)とも呼ばれる光受容膜タンパク質が固有の transducer タンパク質である 2 本膜貫通型の *pHtrII* と生体膜中で 2:2 量比の複合体を形成する。この *ppR/pHtrII* 複合体により走光性を司る信号伝達機能が発現する。*ppR/pHtrII* 複合体は光照射によって、基底状態(G 状態)からエネルギーの高い K、L、M、O の中間体を経て G 状態に戻るフォトサイクルと呼ばれる一連の光異性化反応を起こす。この中で、*pHtrII* は *ppR* からの信号を受け取り下流域のリン酸化酵素系を調節し最終的に好塩菌の鞭毛の回転を制御することで負の光走性を示す。

また近年、大量発現が可能になった真正細菌 *Salinibacter raber* 由来の SRI である *SrSRI* は誘引・忌避応答である正および負の走光性を担う信号を伝達する機能を持つレチナールタンパク質である。ここでフォトサイクル中に生じる M 中間体は正の走光性を担う信号を伝達する。M 中間体から生じる P 中間体は負の走光性に対する信号を伝達する機能をもつ中間体である。このように、*SrSRI* は機能に対応する中間体を光の波長によって機能を切り替え、信号伝達をするユニークな膜タンパク質であるが、その光反応過程の詳細は解明されていない。

本研究ではこれらセンサリーロドプシンの光照射によって生成する光中間体におけるレチナールの構造を明らかにすることを目的として、光照射固体 NMR の開発を行った。*in situ* 光照射固体 NMR は 520 nm、595 nm、395 nm の LED 光源を使用することで、光照射下で中間体を定常捕捉して固体 NMR 信号の定常的な観測を可能にした。

光中間体のレチナール構造は各々のセンサリーロドプシンについて、レチナールの 20 位のメチル炭素の ^{13}C NMR 化学シフト値の変化からレチナールの 13-*cis/trans* を決定した。また、センサリーロドプシン II に関しては各光中間体におけるレチナールの 15-*syn/anti* 配座を決定するために 14- ^{13}C 標識レチナールを保持した試料を調製し、光反応過程での ^{13}C NMR 化学シフト値をモニタリングした。加えて、量子化学に基づいた化学シフト値計算を行い、詳細なレチナールの配座を決定した。

以上の結果をまとめると、*SrSRI* の波長依存的な光反応過程を明らかにすることに成功した。また、*ppR/pHtrII* 複合体は、フォトサイクル中で今までに観測されていなかった N' 中間体を捕捉することに成功し、M 中間体に対する紫外光 (365 nm) 照射では O 中間体に光異性化することが明らかになった。