

別紙 1-1

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 陳 兆傑

論 文 題 目

Crystallographic Studies on Archaeal Light-driven Proton Pumps

(古細菌の光駆動プロトンポンプの結晶構造解析)

### 論文審査担当者

主査 名古屋大学大学院理学研究科 教授 理学博士 神山 勉

委員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 理学博士 野口 巧

委員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 理学博士 佐藤憲昭

委員 名古屋大学大学院理学研究科 准教授 博士(理学) 倭 剛久

委員 名古屋大学大学院理学研究科 准教授 博士(理学) 榎 亓介

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

生物は代謝に必要なエネルギーを得るため、幾つかのエネルギー変換システムを発達させてきた。古細菌などの生物種では、レチナル色素を含有する膜タンパク質（ロドプシン様タンパク質）が光駆動プロトンポンプとして働き、太陽光エネルギーを電気化学的エネルギー（細胞膜でのプロトン濃度勾配）に変換している。

光駆動プロトンポンプの代表例であるバクテリオロドプシンが 1970 年代に発見され、そのプロトン輸送機構を理解するための研究が行われてきた。近年、バクテリオロドプシンと類似のプロトン輸送性ロドプシンが多くの生物種から見いだされ、それらの構造・機能解析が進んでおり、また、医療分野への応用研究も盛んに行われている。

申請者は、古細菌由来のプロトン輸送性ロドプシンであるクラックスロドプシン-3 (cR3) を精製し、その光化学反応について調べるとともに、膜融合法による結晶化を行い、空間群 P321 に属する結晶を作製し、2.1 Å の分解能の X 線回折データを収集した。その構造解析から、cR3 がバクテリオロドプシンと同様に 7 本の膜貫通ヘリックスから構成されており、また、プロトン放出チャンネルに存在する 2 つのグルタミン酸残基のペア構造が低障壁水素結合により維持されていることを示した。このペア構造は、膜融合法で作製した他のプロトン輸送性ロドプシン（バクテリオロドプシン、アーキロドプシン-2）でも確認されたが、このペア構造は異なる結晶化法を用いて作製された結晶中では保存されていない。すなわち、タンパク質-脂質間相互作用を維持することのできる結晶化法（膜融合法）が膜タンパク質の天然状態の構造を決めるのに有効であることが示された。

申請者は、さらに詳細な構造比較を行い、cR3 はいくつかの興味深い特徴を有することを明らかにした。具体的には、レチナル結合ポケットがバクテリオロドプシンで観測されているものより硬くなっており、このことがプロトン輸送サイクルにおける初期の反応中間体の形成・減衰速度に影響を与えていることを示した。また、4 番目と 5 番目の膜貫通ヘリックスをつなぐループ領域が長くなっており、この部分が三量体構造内の隣のサブユニットと相互作用し、三量体構造の安定化に寄与していることが示された。この特徴と関連して、申請者は、cR3 を高密度で含む膜小胞に過剰量の界面活性剤を添加すると cR3 の三量体構造が単量体状態に解離し、これと同時に光照射下での cR3 の構造安定性が顕著に減少することを見出した。この観測結果から、cR3 の三量体構造の形成は、強い太陽光に晒されるという環境下でタンパク質の構造を安定に保つのに必要とされることが強く示唆された。

以上の成果は、プロトン輸送性ロドプシンの構造機能相関を明らかにしたものであり、高く評価できる。参考論文はアーキロドプシン-2 の X 線構造解析について報告したものであり、これも価値あるものである。以上の理由により、申請者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。