

報告番号	※甲	第 3498 号
------	----	----------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 The primary structures of halobacterial rhodopsins and light-sensing transducer proteins: An implication to the evolution of bacterial rhodopsins
高度好塩性古細菌に存在する細菌ロドプシンと光感覚情報変換タンパクの一次構造: 細菌ロドプシンの進化についての一知見

氏 名 北島 智美

論 文 内 容 の 要 旨

古細菌は真正細菌、真核生物と並んで第三の生物界を形成している。これに属する高度好塩性古細菌は 4M NaCl 中のような非常に高い塩濃度でしか生きられない細菌であり、世界中の塩湖等に生息している。この細菌の細胞膜には細菌ロドプシンと呼ばれるレチナルタンパクが 4 種類存在することが知られている。バクテリオロドプシン (bR) は光駆動性のプロトンポンプであり、ハロロドプシン (hR) は光駆動性のアニオンポンプである。また、走光性に関与するセンサリーロドプシン (sR) とフォボロドプシン (pR) がある。sR はオレンジ光に対する誘引応答を引き起こすレセプターであり、pR は近紫外光に対する忌避応答を引き起こすレセプターである。

好塩性古細菌ハロバクテリア科は 6 つの属、*Halobacterium*、*Haloarcula*、*Haloferax*、*Halococcus*、*Natronobacterium*、*Natronococcus* に分けられていたが、最近新たに *Halorubrum* が加わっている。細菌ロドプシンは最初 *Halobacterium salinarium* で発見され、その後もこの株のプロトンポンプの研究が最も進んでいるが、近年他の種からもロドプシンが発見されている。aR-1、aR-2 はオーストラリアで採取された株である *Halorubrum* 属の aus-1 株、aus-2 株からそれぞれ発見された。cR-1、cR-2 はアルゼンチンで採取された *Haloarcula* 属の arg-1 株、arg-2 株から発見された。これらのプロトンポンプ(および帯同するロドプシン類)はアミノ酸配列の相同性から aR 族、bR 族、cR 族に分けられ、属との対応があることが示唆されてきた。

本研究ではこの仮説を確かめるために *Haloarcula* 属の type strain である *Haloarcula vallismortis* からロドプシンのクローニングを行った。その結果、*Haloarcula vallismortis* のプロトンポンプ、アニオンポンプ、センサリーロドプシンが cR 属に属していることを明らかにした。他方で *Halorubrum sodomense* のロ

ドプシンが aR 属に属していることも明らかになっている。これらの結果は先の仮説を強く支持するものである。また、プロトンポンプ、アニオンポンプ、センサーの配列が増えたことにより、これらのロドプシンのヘリックスごとのアミノ酸配列の比較解析をしたところ、ポンプではイオンの通り路と考えられるヘリックス C、G が重要でよく保存されていること、センサーではこのヘリックス C、G の他にヘリックス D、E、F もよく保存されていることを見出した。センサーは情報変換タンパク、Htr と細胞膜上で複合体を形成しているため、センサーのヘリックス DEF 側で Htr が保存している 2 本の膜貫通ヘリックスと強い相互作用をしている可能性が考えられる。

Htr には sR と相互作用する HtrI と pR と相互作用する HtrII の 2 種類がある。Htr の一次配列は *Halobacterium salinarium* の HtrI、*Haloarcula vallismortis* の HtrII、*Natronobacterium pharaonis* の HtrII でしか得られていない。そこでさらに *Haloarcula vallismortis* の HtrI と *Halorubrum sodomense* の HtrI のクローニングを行った。これらの Htr 配列の比較により、1) HtrI はすべて 2 本の膜貫通ヘリックスと細胞内ドメインから成っていること、2) HtrI の間では膜貫通ヘリックスの相同性が高く、この領域は sR のヘリックス DEF と結合するために良く保存されている可能性があること、3) 細胞内ドメインにある大腸菌化学感覚レセプターと相同性のある領域はすべての Htr で非常に良く保存されており、好塩性古細菌で真正細菌と類似した情報伝達系が予想されることを明らかにした。

4 種の細菌ロドプシンのアミノ酸配列は *Haloarcula vallismortis* ですべて出そろった。これらのロドプシンはほぼ同じ約 30% の相同性を持っているため、祖先が同じであると考えられる。Htr 遺伝子がそれぞれ対になる sR または pR の上流に位置していること、対になっているセンサー遺伝子と Htr 遺伝子がほぼ同じ変異を受けていることが明らかとなってきたので、ロドプシンの進化について「最初祖先ロドプシンが遺伝子重複によりポンプとセンサーにわかれ、それからポンプではそのまま遺伝子重複が再び起きてやがてプロトンポンプとアニオンポンプになった。一方、センサーは“情報変換タンパクの遺伝子と対になってから”2 度目の重複が起きて、現存する 2 種の光感覚系をつくりあげた。」という仮説が立てられた。