

氏名	岩佐達郎 いわたつお
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第 630 号
学位授与の日付	昭和 55 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研究科・専攻	理学研究科生物物理学専攻
学位論文題目	バクテリオロドプシンの光化学反応経路の解析

論文調査委員 (主査) 教授 吉澤 透 教授 柳田充弘 教授 大西俊一

論 文 内 容 の 要 旨

高度好塩菌 *Halobacterium halobium* の細胞膜には、紫膜や赤膜と名付けられている 2 種類の膜がある。紫膜はバクテリオロドプシン bR と呼ばれる 1 種類の蛋白質と脂質とから構成されている。紫膜中では bR は三量体を作っている。bR は動物の視物質と同様、レチナールを発色団とする色素蛋白質である。bR は光を吸収して光化学反応を起こすことにより、細胞内のプロトン細胞外に輸送し、結果として、プロトンの濃度勾配をつくり出す。菌はこの濃度勾配を利用して ATP を産出する。このように bR は、ミッチェルの化学浸透説のモデルとして非常に注目されている。

申請者の論文は、プロトン輸送に関与していると考えられる trans-bR が光を受けて、どのような光反応とそれに続く熱反応を行うかを低温スペクトル的方法を用いて調べたものである。

液体ヘリウム温度 (9K) と液体チッ素温度 (77K) で、種々の波長の光を用いて trans-bR を照射して調べた。その結果、9K の実験では、動物のロドプシンの第 1 光産物と考えられているヒプロ中間体は見い出されず、長波長側に吸収極大のあるバソ中間体が生成した。9K での生成量は 77K での生成量とほぼ等しかった。この結果から、バソ中間体が trans-bR の第一光産物であること、また、trans-bR とバソ中間体の光感受性の比が 9K と 77K とでほぼ等しいことが結論された。

次に、この 2 つの温度で trans-bR とバソ中間体との間の光反応過程を詳しく調べた。その結果、光反応速度には温度依存性のないことがわかった。照射光の強さは一定であり、また、モル吸光係数は 9K と 77K とでは、ほとんど差がないのでこの結果は trans-bR とバソ中間体の量子吸率が 9K と 77K とで等しいことを示している。また、これらの光反応過程の吸光度変化の片対数プロットが直線にならなかったことから、三量体中の bR 分子の間に相互作用のあることを推定している。その相互作用の 1 つとして、三量体中の trans-bR からバソ中間体へのエネルギートランスファーが考えられるが、これだけですべての実験結果を説明することはできない。従って、これ以外の相互作用が存在すると推定している。

次に、第 1 光産物であるバソ中間体を段階的に昇温させ、それを一定温度に冷却して吸収スペクトルを

測定するという方法で、バソ中間体の熱反応を調べた。バソ中間体は、 -120°C からルミ中間体に、ルミ中間体は、 -90°C から変化し始めた。この時、ルミ中間体の一部はメタ中間体に変化したが残りのルミ中間体は直接 trans-bR に変化した。このことは、メタ中間体が安定である条件 (1M, NaCl, 10mM ボレート緩衝液, PH10 にけん濁した紫膜) で行った実験から結論された。この時生成したメタ中間体は、 -50°C から trans-bR へと変化することも示された。以上の結果をまとめて、trans-bR の光反応サイクルが提出された。

また、この結果を用いて、 -190°C でのバソ中間体 (λ_{max} : 626 nm), -90°C でのルミ中間体 (λ_{max} : 543 nm) の吸収スペクトルが計算によって求められた。

論文審査の結果の要旨

バクテリオロドプシン (bR) が光を吸収することにより、菌体の内外にプロトンの濃度勾配が形成されるということが発見されて以来、多くの研究者が bR の光反応を研究してきた。しかしながら、いまだ、光反応経路について一致した見解は得られていない。申請者はこの問題に対して、低温スペクトルの手法を用いて、一連の詳細な研究を行い、新しい光反応経路を提出した。また、この反応経路に基づいて反応中間体の正確な吸収スペクトルを求めた。

まず申請者は、trans-bR を液体ヘリウム温度で光照射し、その第1光産物を同定することを試みた。その結果、動物のロドプシンの第1光産物であるヒプソ中間体は観測されず、バソ中間体のみが生成してくることがわかった。このことから、バソ中間体が trans-bR の第1光産物であると結論している。さらに、液体ヘリウム温度と液体窒素温度でのバソ中間体の生成量が等しいことを観測し、trans-bR とバソ中間体との間の反応量子収率が 9K と 77K とでは等しいという興味ある結果を得た。また、bR は膜中で三量体構造を作っているの、恐らく bR 分子間に何らかの相互作用があると想像されるが、申請者は 9K と 77K での光反応過程の解析からこのことを確かめている。

次にバソ中間体の熱反応を低温スペクトル的に調べた。バソ中間体は -120°C でルミ中間体に変化した。ルミ中間体の一部は -90°C 以上ではメタ中間体を経て trans-bR に変化した、一部のルミ中間体は直接 trans-bR にも変化した。申請者の見出したこのルミ中間体から trans-bR への反応経路の存在は、今まで誰も想像しなかったものであるだけに、この分野の他の研究者に与える影響はかなり大きい。申請者は、この反応経路を考慮に入れて各反応中間体の吸収スペクトルを求めることを試み、従来動物のロドプシンの低温スペクトルに用いられたのとは異なる方法を工夫した。その結果、正確な中間体の吸収スペクトルを求めた。従来、bR の光反応の研究は特定波長での吸光度変化を追跡するという方法がとられていたため、正確な反応経路と吸収スペクトルも求められていなかった。

尚、参考論文からは、申請者が bR の光反応について広範囲に、また詳細に研究を続けてきたこと、また新しい研究方向への関心等がうかがわれる。

以上のように申請者は、bR の光反応サイクルを詳細に研究し、新たな反応経路を見出し、中間体の吸収スペクトルを正確に求めた。この研究は、bR の今後の研究に貢献するところは極めて大きいと考えられる。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。