



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Driving the Photochemical Reaction Cycle of Proteorhodopsin and Bacteriorhodopsin Analogues by Photoisomerization of Azo Chromophores [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	HAQUE, SHARIFUL
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第14297号
Issue Date	2020-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/80293
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SHARIFUL_HAQUE_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 Shariful Haque

審査担当者	主査	教 授	玉 置 信 之
	副査	教 授	出 村 誠
	副査	教 授	門 出 健 次
	副査	講 師	菊 川 峰 志

学 位 論 文 題 名

Driving the Photochemical Reaction Cycle of Proteorhodopsin and Bacteriorhodopsin Analogues by
Photoisomerization of Azo Chromophores
(アゾベンゼンクロモフォアによるプロテオロドプシンとバクテリオロドプシンアナログの
フォトサイクルの駆動)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

バクテリオロドプシンやプロテオロドプシンは典型的なプロトンポンプ特性を有する膜貫通型タンパク質である。リジン残基とイミン結合でつながったレチナールが光を受けて異性化反応を起こし、それに伴うタンパク質の構造変化によってプロトンを一方向に運び、膜の内側と外側の間にプロトン勾配を作る。すなわち、光エネルギーをプロトン勾配という一種の化学エネルギーに変換している。プロトンポンプにおけるレチナールの役割については2つが考えられる。一つは、分子構造がオールトランス構造から 13-シス構造に変化する（光異性化反応）ことで立体的な効果でタンパク質の高次構造を変化させることである。もう一つは、光異性化反応の際のリジン残基との間のシッフ塩基部の塩基性の変化に伴うプロトンの受け渡しである。近年、プロトンポンプ機能の機構解明に関しては大いなる進展があるものの、クロモフォアの役割に関して、何が必須で本質的な役割なのかは依然としてはっきりしていない。本論文は、プロトンポンプにおけるクロモフォアの役割の本質を理解し、その知見を利用した人工的なプロトンポンプの構築を達成するために、レチナールの代わりに人工的なクロモフォアとしてアゾベンゼンをバクテリオロドプシンやプロテオロドプシンに導入したときの、プロトンポンプ特性発現の可能性を調べた結果について書かれたものである。

ジメチルアミノ基を有する3種類のアゾベンゼンアルデヒドを合成し、バクテリオロドプシンまたはプロテオロドプシンとの複合体形成を試みた。いずれの複合体も可視域に特徴的な吸収を示し、レチナールと同様にアゾベンゼン誘導体がクロモフォアとしてタンパク質に結合していることがわかった。また、水溶液中でのレーザーフラッシュフォトリシス実験より、ロドプシンとアゾベンゼン誘導体の複合体は、アゾベンゼン誘導体単独に比べて非常に長寿命の中間体を経てもとの状態に戻ることがわかった。また、ITO 電極を用いた複合体膜の光誘起電位変化の実験より、光照射直後に膜と電極の間にプロトン移動を示唆するシグナルが観察された。一方で、複合体をベシクルまたは大腸菌の膜部分に埋め込んだ試料を使った膜の外側での pH 測定の結果、光照射によって pH 変化がないことがわかった。以上の結果より、プロテオロドプシンまたはバクテリオロドプシンとアゾベンゼン誘導体の複合体は、光照射によって3種の長寿命中間体を経てもとに戻るフォトサイクルを示し、かつその光反応に伴ってプロトンを移動するものの、膜の内側と外側の間で一方向に連続的にプロトンを移動するプロトンポンプ特性は示さないことを初めて明らかにした。プロトンポンプ機能にとって重要な役割を果たしているアミノ酸を置き換えた変異体を

使った実験より、本来初期状態でプロトンをシッフベースに供給しているアスパラギン酸が光照射後にプロトンを供給する役割を担っていることなどが判明した。これらの結果をもとに、アゾベンゼンクロモフォアが光照射後に細胞外側からプロトンを受けて、もとの方向（細胞外側）にそのままプロトンを戻す光反応のスキームを提案した。

これを要するに、著者は、半人工的プロトンポンプ合成についての新知見を得、課題を明確にしたものであり、プロトンポンプ機構解明と合成分子機械構築分野に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。