

提出日：平成 29 年 5 月 18 日

平成 28 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	光照射固体 NMR による光受容膜タンパク質の光励起中間体生成機構の解明	
研究代表者	氏名	内藤 晶
	所属機関名・部局名	横浜国立大学・大学院工学研究院
	職名	名誉教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員
		超高磁場 NMR 共同利用研究課題
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
	○	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	藤原敏道 教授 (研究室名：機能構造計測学研究室)	
<p>古細菌 <i>Halobacterium salinarum</i> には 4 種類のレチナルタンパク質、すなわち、バクテリオロドプシン (bR)、ハロロドプシン (HR)、センサリーロドプシン I (SRI)、センサリーロドプシン II (SRII) が存在する。bR と HR は光のエネルギーを吸収して、それぞれプロトンおよび塩素イオンを輸送する光駆動イオンポンプ活性をもつ膜タンパク質である。一方、SRI および SRII はそれぞれ正および負の光走性を示すセンサーの活性をもっており、ともに信号伝達機能をもつ光受容膜タンパク質である。正の光走性はバクテリアが光に向かっていく性質を示し、負の光走性はバクテリアが光から逃げていく性質を示している。本研究では、最初に光照射を行いながら、光受容膜タンパク質の光励起構造変化を観測するため、in situ 光照射固体 NMR 装置の開発を行った。スピナーの蓋をガラスで置き換えることにより、磁石外部にある LED 光源から発生した光が無接触でガラスを透過して試料管内部から発光させることに成功し、光照射効率の高い光照射固体 NMR 装置が完成した。この、in situ 光照射固体 NMR を用いて、負の光走性を示すセンサリーロドプシン II について、光に応答して変化するレチナル光異性化の過程 (光反応サイクル) およびその変化が伝わったタンパク質側の構造変化を解析し、光信号伝達機構を分子レベルで解明する研究を行った。その結果、光照射条件では、N-, M-, O-中間体を補足して観測することができた。また、青色光照射により、M-中間体は O-中間体に変換する経路のあることが新たに判明した。N-中間体や O-中間体の NMR 信号は本研究で初めて観測された。光駆動型プロトンポンプ機能をもつバクテリオロドプシンの Y185F 変異体について光に応答するレチナルの光異性化によって生じる光励起中間体の観測を行った。Y185F では 185 番目のチロシンがフェニルアラニンに置き換わっているため、特に O-中間体の寿命が長くなることが知られていた。実際、光照射 NMR 測定により N-中間体に加えて、O-中間体を初めて補足して NMR スペクトルを観測することに成功した。さらに、活性状態ではないと考えられている、暗所での基底状態である CS-状態が CS*-中間体に変換されることを新たに発見した。この中間体は光照射下では CS-状態に、暗所では緩和によっては AT-状態に変換することが判明した。</p>		