

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 13 日

2019 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	In-situ 光照射固体 NMR による光受容膜タンパク質の光反応過程に現れる光中間体の定常捕捉と構造解析	
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○)	<input type="radio"/>	共同研究員
	<input type="radio"/>	超高磁場 NMR 共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	藤原敏道 教授	
<p>光受容膜タンパク質は物質の輸送や信号の伝達に重要な役割を果たしている。このなかで発色団としてレチナールを有するレチナールタンパク質は、光照射によってレチナールが光異性化を起こし、光活性中間体を生じる。引き続き、タンパク質の構造や運動性が変化する過程を経て、光受容体として物質輸送や信号伝達の機能を発現する。このレチナールの構造変化は短時間で起こり、活性中間体の寿命が短いため、誘起される光活性中間体によるタンパク質側の局所動的構造変化については活性に関わる重要な過程であるにもかかわらず、明らかにされていない点が多い。本研究では、負の光走性の信号を伝達する活性を有するホボロドプシン(ppR あるいは SRID)とトランスデューサー(pHtrII)複合体を研究対象とし、光照射で生じる光活性中間体を定常捕捉し、信号伝達に関わるタンパク質側の活性構造変化を明らかにすることを目的として研究を遂行した。</p> <p>本研究では光受容膜タンパク質がレチナールの異性化に応答して変化する局所動的構造変化を明らかにするため、レチナールの光異性化を NMR 信号変化として観測する研究を行った。そのため、固体 NMR 装置に照射効率の高い <i>in-situ</i> 光照射システムを装着し、光照射固体 NMR 分光器の開発および改良を行った。光照射に関しては、光ファイバーを用いて NMR 測定プローブに直接光を照射する <i>in-situ</i> 光照射固体 NMR 測定システムの開発および改良を行った。</p> <p>この光照射固体 NMR 装置を用いて、光走性の信号伝達機能に関わる光受容膜タンパク質、ppR-pHtrII 複合体について光反応サイクル中に生成する光中間体の NMR 信号を定常的に観測することに成功した。その結果、ppR/pHtrII 複合体の光反サイクルは暗状態(G)からはじまり、$G \rightarrow K \rightarrow L \rightarrow M \rightarrow (O \leftrightarrow N') \rightarrow G$ なる光反応サイクルをとることが判明した。この中で、G-状態と M-, N', O-中間体については <i>in situ</i> 光照射固体 NMR を使用することにより、その NMR 信号を定常的に観測することに成功した。その結果、各中間体のレチナールの配座は M-中間体(13-cis, 15-anti), O-中間体(13-trans, 15-syn), N'-中間体(13-cis)であることを決定した。また、UV 光により M-中間体から O-中間体に直接励起する経路の存在が明らかになった。</p>		