

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 14 日

2020 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	蛋白質とリン酸基との間の水素結合の、スピン結合や残余双極子相互作用による効率的な観測	
研究代表者	氏名	三島 正規
	所属機関名・部局名	東京都立大学
	職名	准教授
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	宮ノ入 洋平 准教授	
<p>本研究では蛋白研の 500MHz クライオプローブ(BBFO)を活用することで、リン酸以外にも窒素に関する、水素結合を含む化学的環境の解析を行った。1D-¹⁵N では ¹H-¹⁵N HSQC では相関が与えられないような ¹H の交換が速いケースでも直接的に情報を得ることができる。シアノバクテリアのタンパク質 RcaE は発色団 PCB (phycocyanobilin) をもち、他の CBCR (シアノバクテリオクロム) や植物のフィトクロムとは異なり、PCB におけるプロトン化・脱プロトン化が光吸収メカニズム (赤色光吸収型と緑色光吸収型) に関与することが示唆されていた。PCB 選択的 ¹³C,¹⁵N 標識 RcaE (GAF ドメイン) を調製し、pH 7.5 の赤色光吸収型(Pr) (Fig.1A)と緑色光吸収型(Pg) (Fig.1B)の 1D-¹⁵N スペクトルを比較した結果、緑色光吸収型 (Fig.1B)にのみ、260 ppm 付近に PCB の B 環由来と考えられる脱プロトン化した状態 (N=C) の信号を取得することに成功した。次に、pH 10 の強制的に脱プロトン化した状態の赤色光吸収型のスペクトルを測定したところ、緑色光吸収型 (Fig.1B)と同様のスペクトルを観測することに成功した (Fig.1C)。これにより PCB のプロトン化・脱プロトン化が光変換によって制御される直接的な証拠の取得に成功した¹。</p> <p>1 “Structural basis of the protochromic green/red photocycle of the chromatic acclimation sensor RcaE” Nagae T, Unno M, Koizumi T, Miyanoiri Y, Fujisawa T, Masui K, Kamo T, Wada K, Eki, T, Ito, Y, Hirose Y, and Mishima M, <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> (2021) 118 (20) e2024583118</p> <p>Fig.1 1D-¹⁵N spectra of PCB selective ¹³C,¹⁵N labeled RcaE. (A)Pr state at pH7.5. (B)Pg state at pH7.5. (C)Pr state at pH10. (A)-(C)Asterisk shows overlapped peaks.</p>		