

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) **事業名** (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

クライオ電子顕微鏡

(2) **研究代表者**

氏名：村木 則文

所属機関名・部局名・職名：自然科学研究機構・生命創成探究センター・助教

(3) **研究課題名** (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

クライオ電子顕微鏡による新規光センサータンパク質の構造解析

(4) **蛋白質研究所受入担当教員**

教員名：栗栖 源嗣 (研究室名：蛋白質結晶学研究室)

(5) **研究成果の概要 (公開)**

植物などの光合成生物のみならず、多くの生物が光を感知している。青色光や紫外光は活性酸素種をもたらす要因となるため、非光合成細菌は光に応答して光障害を防ぐためのシステムを有している。光合成生物の光センサータンパク質については数多くの構造機能解析が報告されているが、非光合成細菌由来の光センサータンパク質には不明な点も多く残されている。本研究では、最近同定された新規な光センサー型転写因子 LitR について、その光応答に伴う機能発現機構を解明するために構造解析を進めている。2021 年度、クライオ電子顕微鏡構造解析に適した高純度の LitR 試料を得ることができたため、年度途中であるが課題申請を行い、採択いただいた。

最初に、LitR-DNA 複合体の負染色法による測定を行なったところ、大小さまざまな凝集物が見られた。そこで、試料濃度を下げたグリッドを複数作成してスクリーニングを行った。クライオ条件のスクリーニングも行い、最終的に 0.5mg/mL のタンパク質試料を用いることで明瞭な中空の単粒子を観察することができた。Talos Arctica を用いて画像収集して、3 回対称性をもつ構造モデルを得た。さらに、良質なグリッドを選別して Titan Krios において測定を行ない、分解能 4 Å の構造モデルを得た。現在、三量体構造モデルとして構造計算を進めている。