

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。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：内藤 晶

所属機関名・部局名・職名：横浜国立大学、大学院工学研究院、名誉教授、非常勤教員

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同じ課題名を記入して下さい。)

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

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：藤原敏道 (研究室名：機能構造計測学)

(5) 研究成果の概要 (公開)

(背景および目的) 細胞膜中に存在する膜タンパク質は物質の輸送や信号の伝達に重要な機能を有している。このなかで発色団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。このレチナールの光活性中間体の寿命が短いため、誘起される光活性中間体の構造変化およびタンパク質側の局所動的構造変化については不明な点が多い。本研究では、負の光走性の信号伝達活性を有するホボロドプシン(SRII)および光駆動プロトンポンプ機能を有するバクテリオロドプシン(BR)を研究対象とし、in situ 低温光照射固体 NMR 装置を開発し、短寿命の光活性中間体の定常捕捉を可能にして NMR 信号を観測し、信号伝達やプロトン輸送に関わるレチナールやタンパク質側における活性構造変化の分子機構を明らかにすることを目的としている。

(方法と結果) この in situ 低温光照射固体 NMR 装置を用いて、SRII 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で生成する光活性中間体の NMR 信号を観測する試みを行った。この結果、寿命の長い暗状態で存在する M, O, N' 中間体については、その NMR 信号の定常状態観測に成功した。BR については暗状態で AT 状態と CS 状態が存在し、CS 状態は光照射により、CS* 中間体を経て AT 状態に変換する過程を NMR 信号の変化として初めて観測することに成功した。SRII については、蛋白研で共同開発した in situ 低温光照射固体 NMR 装置を用いて SRII の初期中間体 K, および L 中間体の補足を試みた。光照射前後での信号変化が観測されたことから、初期中間体の生成は確認できた。しかし、信号強度が低かったため、K 中間体か L 中間体かを同定することはできなかった。今後は SRII 試料を再調製して、DNP を組み合わせて S/N 比の高い NMR 信号を観測する計画である。