

提出日：平成 30 年 5 月 15 日

平成 29 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○)	<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 (機能構造計測学研究室)	
<p>細菌型光受容膜タンパク質は物質輸送や信号伝達に重要な役割を果たしている。レチナールを有する、レチナー結合膜タンパク質は光照射によりレチナールが励起されて光異性化を起こし、いくつかの中間体を経て元の基底状態に戻る光サイクルの間に光受容体としての機能が発現する。しかし、この時起こるタンパク質の構造変化と機能の相関については、不明な点が多い。本研究では光サイクル中に生成する光中間体を固体NMRによって観測し、レチナールとタンパク質の構造を検出するため、光照射固体 NMR 分光器の開発を行った。LED 光を光源として、MAS 試料管内部から、NMR 測定の間にも光照射が可能な、in situ 光照射固体 NMR 測定装置を開発した。この光照射固体NMRを用いて、プロトン輸送活性をもつバクテリオロドプシン(bR)の変異体(Y185F-bR)を用いて、光サイクル中に生成する O-中間体や CS*-中間体の NMR 信号を初めて観測することに成功した。次の研究対象として、負の光走性を示すホボロドプシン(ppR)について活性に重要な M-中間体の観測を試みた。この結果、緑色光照射により、2 種類の M-中間体(M1,M2)に加えて N'-中間体および O-中間体の NMR 信号を観測することができた。特に N'-中間体は吸収極大が ppR(G)と似ているため、観測が困難とされていたが、NMR 信号は N'-中間体、O-中間体、ppR を区別して観測された。M-中間体が定常捕捉された後、緑色光から紫外光に光源を切り替えて測定したところ、M-中間体から O-中間体への転移が観測された。その後、紫外光を切断したところ、O-中間体から N'-中間体への転移が観測された。これらの結果から、光反応サイクル中では、M-中間体から O-中間体に転移し、その後平衡反応で N'-中間体が生成されることが判明した。プロトン輸送機能をもつ bR の光サイクルでは M-中間体から N-中間体に転移して、その後 O-中間体へ転移することが知られている。一方、ppR では O-中間体から N'-中間体へ転移するため、N'-中間体は信号伝達機能に関わっていることを示唆する結果が得られた。</p>		

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 30 年 5 月 18 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp