

2022 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一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、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。

(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ルを有するレチナルタンパク質は、光照射によってレチナルが光異性化を起こし、光活性中間体を生じる。このレチナルの光異性化は光受容膜タンパク質の機能発現に重要な役割を果たしている。しかしこのレチナ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)、新規に発見されたヘリオロドプシン (TaHeR) を研究対象とし、信号伝達やプロトン輸送に関わるレチナ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) 短寿命の光中間体を定常捕捉して、その NMR 信号観測を可能にするため、in situ 低温光照射固体 NMR 装置の開発を行った。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の NMR 信号を観測することに成功した。AT 状態については低温光照射で捕捉した M—中間体の NMR 信号を観測することに成功した。TaHeR については 14-C および 20-C-レチナルの ^{13}C NMR および RPSB の ^{15}N -NMR 信号を観測し、TaHeR のレチナルと RPSB の近傍ではユニークな電子環境を有することが明らかになった。