

(様式 1-1)

提出日：2023 年 5 月 12 日

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。)

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：慶應義塾大学・理工学部・准教授

(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)**

\*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。

生物は細胞内外の環境の変化を感知して、生体内の恒常性を維持するために様々な応答を示す。このような環境応答は複数の生体高分子から構成されるセンサーシステムによって支えられている。センサーシステムの作動機構の解明は生命の根幹を理解するための重要な課題であると位置付けられる。本研究では、光センサーシステム LitR に着目して、原子分解能を構造決定することで作動機構の解明を目指している。LitR は暗所では多量体を形成して DNA に結合しているが、特定の波長の光を感知すると解離して DNA 結合能を失う。我々は結晶構造解析を目指していたが、LitR は高濃度条件では沈殿しやすいことや長期保存によって光反応が進行するため、結晶化が困難だった。そこで、クライオ電子顕微鏡を用いた LitR の構造解析を進めている。

今年度は、LitR 全長-DNA 複合体、LitR 全長、LitR センサー領域の 3 つのサンプルについてクライオグリッドを作成し、Talos Arctica を用いてスクリーニングを行った。良質なグリッドを選別して Titan Krios において測定を行なった。画像解析の結果、LitR 全長と LitR センサー領域の測定画像から、いずれもリング状のマップを得ることができた。両者の電子顕微鏡マップは類似しており、LitR の DNA 結合ドメインが溶液中でフレキシブルであることが示唆された。LitR センサー領域については、モデル構築可能な分解能のマップが得られたので、現在、構造解析・精密化計算を進めている。