

(様式 1-1)

提出日：2024 年 5 月 9 日

2023 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：松木 陽

(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) 膜タンパク質は物質の輸送や信号の伝達に重要な役割を果たしている。このなかで発色団としてレチナールを有するレチナールタンパク質は光受容膜タンパク質であり、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。このレチナールの構造変化が、タンパク質に伝達され、その構造や運動性が変化する過程を経て、光受容体としてエネルギー変換、物質輸送、信号伝達の機能を発現する。このレチナールの光異性化に伴う構造変化は短時間で起こり、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によるレチナールの構造変化については光学測定により、その光吸収スペクトルの変化として観測されてきた。本研究では、負の光走性を司る信号を伝達するホボロドプシン(ppR)あるいはセンサリーロドプシン (SRII) およびトランスデューサータンパク質(pHtrII)との複合体を研究対象とし、光照射によって生じるレチナールの光活性中間体を定常捕捉し、レチナールの構造変化によって誘起されるタンパク質側の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研究を行う。

(方法と結果) 短寿命の膜タンパク質の光活性中間体の NMR 信号を観測するためには効率のよい光照射システムに加えて、不安定中間体の寿命を延ばすため、低温測定装置を NMR 分光器に組みこむことが必要である。これまでに光照射システムを大阪大学蛋白質研究所の共同利用固体 NMR 装置に実装し低温 in-situ 光照射固体 NMR システムの開発および性能の確認を行った。この結果、-120 °C の低温下で光照射が可能な低温 NMR 測定装置の開発を行った。このシステムを使用して膜タンパク質 SRII の NMR 測定を行うため、レチナールを <sup>13</sup>C 標識した SRII 試料の調製を行った。現在 <sup>13</sup>C 標識 SRII の試料調製ができており、次の段階として生体系に近い状態に保つため、脂質 2 分子膜に再構成した膜試料を調製して、低温 in-situ 光照射固体 NMR 測定を行う段階に入っている。