

（様式 1-1）

提出日：2025 年 5 月 7 日

2024 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、ほかは削除してください。）

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ください。）

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 准教授（研究室名：機能構造計測学）

（５）研究成果の概要

*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記載。

（背景および目的） 古細菌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光受容膜タンパク質は、光照射によってレチナールが多段階の光中間体を經由する光サイクルを有している。このレチナールの光活性構造変化が、タンパク質に伝達され、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。このレチナールの多段階光活性異性化に伴う光サイクルは短時間で起こるため、各光活性中間体の分子構造変化の情報を含む NMR 信号観測は困難である。本研究では、負の光走性を司る信号を伝達する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、光サイクル中のレチナールの各光活性中間体を定常捕捉し、レチナールの活性構造変化によって誘起されるタンパク質側の光活性構造変化を NMR 信号測定によって明らかにし、信号伝達の分子機構を解明することを目的とする。

（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 システムの開発を行い、その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 測定装置の開発を達成した。このシステムを使用して、レチナールを ^{13}C 標識した SRII 試料の調製を行い、次に、脂質 2 分子膜に ^{13}C 標識 SRII を再構成した。この ^{13}C 標識 SRII 膜試料を用いて低温 in-situ 光照射固体 NMR 測定を行った結果、異常に線幅の広い NMR スペクトルが得られた。この原因は試料の劣化にあるとの結論が得られたため、新しく SRII の培養し、膜に再構成した ^{13}C 標識 SRII 膜試料を新規に再調整した。今後、この試料を用いて、低温 in-situ 光照射固体 NMR 測定を行う段階に到達している。