

公益財団法人 立松財団 御中  
様式 2021A1,A2,B

2023年3月31日

所属:名古屋大学

氏名:永江 峰幸



## 2021年度助成 研究終了報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	圧力を利用してタンパク質中の水を観る
研究の結果	<p>タンパク質は水を巧みに利用して働いているため、水の構造解析はタンパク質の仕組みを研究する上で重要である。シアノバクテリアが持つ光センサータンパク質 RcaE は、光合成アンテナを調節する役割を果たしており、シアノバクテリアの環境応答に重要な役割を果たしている。RcaE は PAS・GAF・PAS・HisKinase から成るマルチドメインタンパク質で(図 1)、GAF ドメインに色素 PCB が結合しており、緑または赤色光を吸収すると色素 PCB が光異性化する。その構造変化が GAF・PAS を経て HisKinase へと伝わり、活性が制御され、最終的に光合成アンテナを構成する色素タンパク質の転写翻訳が調節される。申請者はこれまでに、RcaE の GAF ドメインの赤色光吸収型(Pr 型)の結晶構造解析に成功している。これに加えて、本研究助成の基で RcaE-GAF ドメインの結晶化条件のスクリーニングを行ない緑色光吸収型(Pg 型)の結晶を得た。この結晶を用いて名大ビームライン 2S1 にて回折実験を行ない、1.75 Å の高分解能の結晶構造解析に成功した。シアノバクテリアの光センサータンパク質は複数見つかり、その構造研究も精力的に研究が進められているが、短波長側と長波長側の両方の吸収型を高分解能で構造解析したのは本研究が初である。Pr 型と Pg 型構造の比較によって、Pr 型では色素の近傍に水分子のクラスターが局在し、外部の溶媒領域から色素にプロトンを供給する経路が明らかになった。一方で Pg 型では色素が結合ポケットの中を大きく移動し、水分子のクラスターは外部に締め出されていた。その結果、色素は極めて疎水的な環境に局在することが判明した(図 2, 論文投稿中)。Pr 型と Pg 型の大きな構造変化の過程に、どういった中間状態が存在するのか、近傍の水分子のクラスターの動きを中心に調べることが必要である。次に今回得られた結晶に外部摂動として圧力を加えた。その結果、結晶性が悪化してしまい構造解析可能な状態を維持出来なかった。全く同じタンパク質であっても異なる積み重なり方の晶系は複数存在し、各々圧力に対する挙動は異なる。例えばユビキチン結晶の場合、六方晶系の結晶は 800MPa まで回折能を有するが、立方晶系の結晶は 400MPa で回折能を失う。RcaE の光変換の中間状態を捉えるために、異なる晶系の結晶を作成する必要がある。今後、同じコンストラクトだが異なる晶系の結晶と、後続する PAS-HisKinase ドメインを含めた異なるコンストラクトでの結晶化を進める。</p> <div data-bbox="997 705 1420 873"> <p>色素 PCB 緑または赤色光</p> </div> <p>図 1. RcaE のドメイン構成</p> <div data-bbox="790 929 1428 1164"> </div> <p>図 2. RcaE-GAF ドメインの赤色光吸収 Pr 型(左)と緑色光吸収 Pg 型の構造(右)</p>