

講演題目・バクテリオフィトクロムDrBphP光受容ドメインの 光反応ダイナミクス

¹京都大院理

○立川景也¹, 武田公利¹, 中曾根祐介¹, 寺嶋正秀¹

Photoresponsive dynamics of the bacteriophytochrome DrBphP photoreception domain

○Keiya Tachikawa¹, Kimitoshi Takeda¹, Yusuke Nakasone¹, Masahide Terazima¹

¹Department of Chemistry, Kyoto University, Japan

【Abstract】 DrBphP is a bacterial red-light sensor protein from *Deinococcus radiodurans*. It consists of an N-terminus photosensory module (PSM) and a C-terminus kinase domain. Though an isomerization of its chromophore (biliverdin) and subsequent reactions have been studied by using the absorption spectral changes [1,2,3], the signal transduction mechanism has not been clarified yet due to a lack of time-resolved detection of structural changes of the protein part. Here, we investigate the photoreaction of PSM and its mutant (P465T) by using the transient grating (TG) methods. P465T lacks the reactivity of the hairpin structure which has been considered to be vital for the signal transduction. We detected four reaction phases as changes of absorption spectrum (time constants are 790 μ s, 2.4 ms, 33 ms, 5.4 s). Additionally, we found that the diffusion coefficient of PSM changed associated with the absorption changes. TG signal of the P465T mutant showed a different time profile, indicating that the hairpin region is involved in the signal transduction. Consequently, the D changes were attributed to the structural change of the hairpin region and subsequent change of the quaternary structure of the PSM dimer.

【序】 DrBphP は細菌 (*Deinococcus radiodurans*) 由来の赤色センサータンパク質であり、N 末端側に光受容領域 (photosensory module : PSM) を、C 末端側にキナーゼドメインを持つ。赤色光の照射により発色団である biliverdin の光異性化が起こり、基底状態 Pr から活性化状態である Pfr へと遷移する。PSM はダイマーとして存在し、ヘアピンと呼ばれる領域の二次構造変化やドメイン間の距離が広がる動きが構造解析により報告されている (Figure 1) [1]。また過渡吸収測定により発色団周りの反応が 3 段階 (時定数 : 55 μ s, 1 ms, 200 ms) で起こることや、X 線小角散乱測定により 4.3 ms の時定数で分子全体に渡って構造変化が起こることなどが報告されている[2,3]。しかし、発色団の反応とタンパク質の構造変化のつながりや、ヘアピンの構造変化と開閉運動の因果関係などは未だ解明されていない。そこで本研究では拡散係数変化という観点から分子全体の反応ダイナミクスを捉えることができる過渡回折格子 (TG) 法により PSM の構造変化を時間分解検出し、ヘアピンの構造変化を阻害するミュータント (P465T) との比較を行うことで[4]、シグナル伝達機構の詳細な理解を目指した。

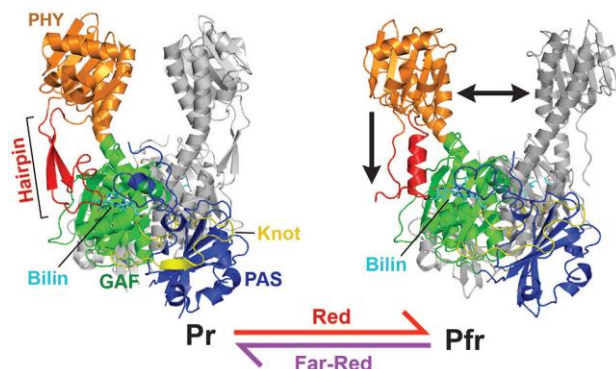


Figure 1. Structure of PSM of DrBphP

【方法】 TG 測定では、励起光に 615nm のパルスレーザー、プローブ光に 840nm の連続光レーザーを用いた。過渡吸収測定では、上記のパルス光を、プローブ光に 780nm の連続光を用いた。

【結果・考察】 PSM に対して過渡吸収測定を行った結果を Figure 2 に示す。この信号は 4 つの指数関数で再現でき、それぞれの時定数は 790 μ s, 2.4 ms, 33 ms, 5.4 s と求めた。速い 3 成分は先行研究の結果とよく対応している。

PSM の TG 信号を Figure3(left)に示す。過渡吸収測定の結果を踏まえて各成分を同定した結果を図に示す。熱拡散信号の

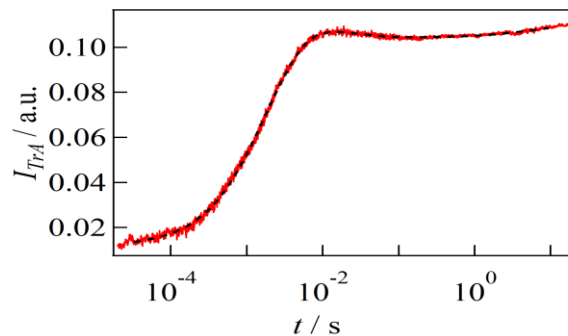


Figure 2. Transient absorption signal of PSM. The dot line is fitting curve.

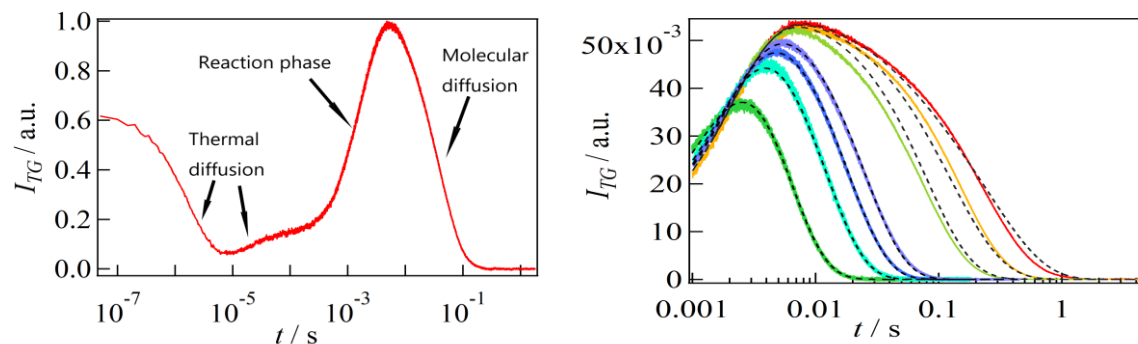


Figure 3. (left) Typical TG signal of PSM. (right) Time development of the TG signal of PSM. The dot lines are fitting curves.

後に吸収変化由来の信号が立ち上がり信号として観測され、その後の減衰信号は主に分子拡散由来であることがわかった。格子波数を変えることで TG 信号の時間発展を測定した結果を Figure3(right)に示す。拡散係数変化を除外し吸収変化のみを考慮した解析では信号を再現できなかったが、吸収変化と同期して拡散係数が増大するというモデルで解析したところ、図に示すように信号をよく再現した。拡散係数は 1ms より短い時間で減少した後、2.4 ms, 33 ms の時定数で増大することがわかった。

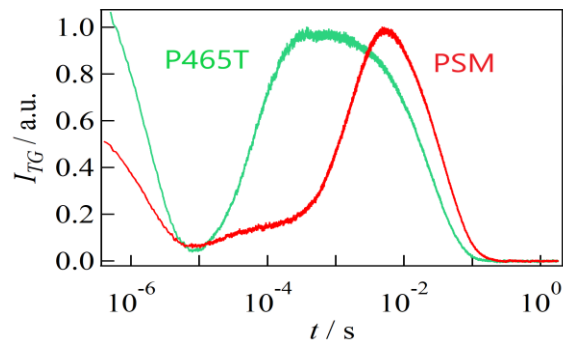


Figure 4. TG signal of P465T mutant.

P465T の TG 信号を Figure 4 に示す。PSM の信号に比べて立ち上がり速度が速くなるなど大きな変化が見られたことから、ヘアピン領域が光反応に関与することが示された。同様の結果が過渡吸収測定でも得られている。現在、P465T の TG 信号の解析を行っており、ヘアピン領域の構造変化と拡散係数変化の関係を調べている。本会では上記結果を基に、拡散係数変化の要因を特定し、信号伝達機構の詳細を議論する。

【参考文献】

- [1] Burgie E, et al. *Structure* 2016;24:448-457. [2] Takala H, et al. *Nature*. 2014;509:245-248.
 [3] Bjorling A, et al. *SCIENCE ADVANCES*. 2016;2:e1600920-e1600920.
 [4] Stojković EA, et al. *Journal of Physical Chemistry Letters*. 2014;5:2512-2515.