

## 光誘起フォールディング反応および分子シャペロン SecB との相互作用ダイナミクス

(京大院理<sup>1</sup>・北大院総合化学<sup>2</sup>・徳大院医<sup>3</sup>) ○中曾根 祐介<sup>1</sup>・中岡 育也<sup>1</sup>・大田 帆香<sup>2</sup>・川越 聡一郎<sup>3</sup>・石森 浩一郎<sup>2</sup>・齋尾 智英<sup>3</sup>・寺嶋 正秀<sup>1</sup>

Kinetic analyses of photoinduced protein folding and interaction with molecular chaperone SecB (<sup>1</sup>Graduate School of Science, Kyoto University, <sup>2</sup>Graduate School of Chemical Science and Engineering, Kyoto University, <sup>3</sup>Faculty of Medicine, Tokushima University,) ○Yusuke Nakasone, Ikuya Nakaoka<sup>1</sup>, Honoka Ohta<sup>2</sup>, Soichiro Kawagoe<sup>3</sup>, Koichiro Ishimori<sup>2</sup>, Tomohide Saio<sup>3</sup>, Masahide Terazima<sup>1</sup>

To understand molecular mechanisms of protein folding, we have investigated the light-induced structural change of AzoGB1, a B1 domain of protein G containing an azobenzene molecule in its helical structure. Utilizing the photoisomerization of azobenzene, folding and unfolding of AzoGB1 can be triggered by light reversibly. In this study, we investigated the conformation changes of AzoGB1 and intermolecular interaction changes with a molecular chaperon SecB by the transient grating (TG) method. We detected the reversible photoreaction of AzoGB1 in the absence and presence of SecB as changes in the diffusion coefficient ( $D$ ) and determined the kinetic parameters of intra- and intermolecular reactions. For example, we found that  $D$  of AzoGB1 increased with a time constant of 1 ms upon photoexcitation by blue pulse, which is attributed to the folding reaction. In the presence of SecB,  $D$  changed in two phases (slight decrease (200  $\mu$ s) and significant increase (17 ms)). It has been suggested that SecB binds unfolded peptide to prevent the aggregation and the folding requires the dissociation from SecB. The slow component (17 ms) may be the dissociation process of SecB, which is a rate determining step of the folding.

**Keywords :** protein folding; chaperon; azobenzene; diffusion; transient grating;

Gタンパク質 B1 ドメインのヘリックス構造にアゾベンゼンを導入した人工タンパク質 AzoGB1 は、アゾベンゼンの光異性化反応を利用して、高次構造の形成・崩壊を光可逆的に制御できる。本研究では、フォールディング制御機構の速度論的理解に向けて、AzoGB1 の構造変化および分子シャペロン SecB との相互作用ダイナミクスを過渡回折格子法により時間分解検出した。励起光の波長を切り替えることで、構造形成・崩壊反応を個別に捉えることに成功し、AzoGB1 単体では、構造形成が 1 ms、崩壊が 400  $\mu$ s で起こることがわかった。続いて SecB 共存下での測定を行ったところ、顕著な拡散係数変化として分子間反応が観測され、シャペロン存在下でのフォールディング反応や、光でアンフォールドした状態に SecB が会合する過程を時間分解で明らかにした。SecB 共存下でのフォールディング速度は 17ms と見積もられ、AzoGB1 単体の場合に比べて顕著に遅くなることがわかった。SecB はほどけたペプチド鎖に結合して凝集を抑える働きがあるが、高次構造形成を促す際には解離する必要がある。17ms の時定数で拡散係数の顕著な増大が起こるため、このステップで解離反応が起こり、同時にフォールディングが完了することが示唆された。