

青色光センサータンパク質 TePixD の青色光可逆的な分子集合反応

(京大院理¹) ○増田 悠祐¹・中曽根 祐介¹・床次 俊郎¹・寺嶋 正秀¹

| Light-dependent reversible molecular assembly reaction of a blue light sensor protein TePixD (¹*Graduate School of Science, Kyoto University*) ○Yusuke Masuda¹, Yusuke Nakasone¹, Shunrou Tokonami¹, Masahide Terazima¹

| TePixD is one of BLUF (blue light sensor using flavin) proteins and exists as a decamer in solution, and it dissociates into pentamers upon weak light illumination. In this study, we have newly found that TePixD associates to form a giant cluster under strong light condition and this cluster recovers to the original oligomeric state (decamer) under dark condition. To understand the molecular mechanisms of the assembly, we investigated this light dependent association reaction in detail using turbidity measurement, mutational analysis and time-resolved transient grating (TG) method. We found that the cluster is stabilized by electrostatic and cation- π interactions and light-induced nucleation process is detected by the TG method as a significant decrease of the diffusion coefficient.

Keywords : Molecular assembly; BLUF protein; TePixD; clusterization; light sensor

| TePixD は好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* から発見された BLUF タンパク質 の一種である。青色光センサーとして機能する BLUF ドメインを持ち、暗状態では 10 量体として存在する。我々のグループは、弱い青色光照射により TePixD の 10 量体を構成するユニットのうちの 1 つが励起され、5 量体に解離することを明らかにしてきた¹。

| 最近我々は、強光条件において TePixD が会合し、巨大な分子集合体 (クラスター) を可逆的に形成することを新たに発見した。本研究では、この分子メカニズムの詳細を明らかにすることを目的として、濁度測定・変異体解析・過渡回折格子 (TG) 測定を行った。バッファー条件を変えた濁度測定により、静電相互作用およびカチオン- π 相互作用が集合体の安定化に主に寄与することが分かった。さらに部位特異的変異体により相互作用に重要な残基 (Y18) を同定した。

TG 法は分子の拡散係数変化を介して、光誘起される構造変化や分子間反応を時間分解検出可能な手法である。励起光強度が弱い条件では 10 量体の解離反応が観測されるが、光強度を上げると新たな拡散成分が TG 信号に観測された。その拡散係数が 10 量体よりも小さいことから、クラスター化反応の初期過程における複合体 (核) の形成過程を捉えたものと同定した。これらの結果を基に、新規な光集合反応の分子機構を議論する。

| 1) K. Tanaka et al., *J.Mol. Biol.* **2009**, 386, 1290.