

古 谷 祐 詞 (准教授) (2009 年 3 月 1 日着任)

A-1) 専門領域：生物物理学，生体分子科学

A-2) 研究課題：

- a) 全反射赤外分光法による膜タンパク質とイオンとの相互作用の研究
- b) 時間分解赤外分光法によるバクテリオロドプシンのタンパク質内水素結合変化の実時間計測
- c) 急速溶液混合法と時間分解赤外分光法を組み合わせた膜タンパク質の構造変化解析法の開発

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 膜タンパク質は，細胞膜に存在し，細胞外と細胞内とを橋渡しする重要な役割を担っている。特にイオン輸送タンパク質は，電気信号の発生，電気化学ポテンシャルの形成など生体にとって非常に重要な役割を担っている。膜タンパク質分子とイオンとの相互作用を，タンパク質の分子振動変化として観測するのに，全反射 (ATR) 赤外分光法は有効である。9 回反射型 ATR 結晶に 5 μ L (タンパク質濃度は 1 mg/ml 程度) を滴下し，乾燥後に任意の緩衝液を流すことで，様々な膜タンパク質のイオン交換誘起赤外差スペクトルの計測を実現している。これまでに，塩化物イオン結合部位を持つファラオニスフォロドプシンの計測について *Biochemistry* 誌に発表し，光反応サイクル中におけるイオン脱着や，それに伴う Asp193 のプロトン化状態の変化を報告した。他のカリウムイオンチャネル KcsA や ATP 駆動型 Na⁺ 輸送タンパク質 (V-ATPase) についても論文準備中である。これらの研究は前任地の名古屋工業大学神取研究室でなされたが，分子科学研究所においても引き続き研究を進めている。
- b) ロドプシンは発色団レチナールを結合し，その光異性化反応によりタンパク質の構造を変化させ，光情報を伝達したり，プロトンやイオンを輸送したりする機能を持つ。これまでにバクテリオロドプシン内部に存在する水分子の O-H 伸縮振動を実時間で捉えることに成功しているが (V. A. Lorenz-Fonfria *et al.*, *Biochemistry* 47, 4071–81 (2008))，水の吸収のピークにあたる水素結合を形成している振動数領域でのデータは得られていない。分子科学研究所に赴任した際に，新規に Bruker 社製 VERTEX80 を導入し，試料室や試料ホルダーを改造することで，レーザー光誘起の時間分解赤外分光計測系を立ち上げた。さらに重水と重水素化グリセロールの混合液 (10% v/v) を利用することで，重水素に置換される親水的な領域 (O-D 伸縮振動領域) および疎水的な領域 (O-H 伸縮振動領域) の赤外吸収スペクトル変化を 12.5 μ s の時間分解能で計測することに成功した。最初のプロトン移動が起きる M 中間体だけでなく，これまで情報の乏しい最終中間体 O についても，水素結合変化の詳細な情報が，時間軸を含めて，得られるものと期待している。
- c) 助教の木村哲就氏が 2009 年 12 月に赴任し，a) の課題をさらに発展させるべく，急速溶液混合法 (ストップフロー法および連続混合法) と赤外分光法を組み合わせた新規計測法の開発を行っている。膜タンパク質のイオン結合に伴う構造変化を実時間で捉える挑戦的な試みである。現在，急速溶液混合法の組込方法について議論し，装置の設計に取りかかっている段階である。

B-1) 学術論文

Y. KITADE, Y. FURUTANI, N. KAMO and H. KANDORI, "Proton Release Group of *pharaonis* Phoborhodopsin Revealed by ATR-FTIR Spectroscopy," *Biochemistry* 48, 1596–1603 (2009).

Y. FURUTANI, H. KANDORI, M. KAWANO, K. NAKABAYASHI, M. YOSHIZAWA and M. FUJITA, “In Situ Spectroscopic, Electrochemical, and Theoretical Studies on the Photoinduced Host–Guest Electron Transfer that Precedes Unusual Host-Mediated Alkane Photooxidation,” *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 4764–4768 (2009).

T. MIZUNO, K. SUZUKI, T. IMAI, Y. KITADE, Y. FURUTANI, M. KUDOU, M. ODA, H. KANDORI, K. TSUMOTO and T. TANAKA, “Manipulation of the Protein-Complex Function by Using an Engineered Heterotrimeric Coiled-coil Switch,” *Org. Biomol. Chem.* **7**, 3102–3111 (2009).

D. SUZUKI, Y. FURUTANI, K. INOUE, T. KIKUKAWA, M. SAKAI, M. FUJII, H. KANDORI, M. HOMMA and Y. SUDO, “Effects of Chloride Ion Binding on the Photochemical Properties of *Salinibacter* Sensory Rhodopsin I,” *J. Mol. Biol.* **392**, 48–62 (2009).

A. KAWANABE, Y. FURUTANI, K. -H. JUNG and H. KANDORI, “Engineering an Inward Proton Transport from a Bacterial Sensor Rhodopsin,” *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 16439–16444 (2009).

Y. SUDO, A. OKADA, D. SUZUKI, K. INOUE, H. IRIEDA, M. SAKAI, M. FUJII, Y. FURUTANI, H. KANDORI and M. HOMMA, “Characterization of Signaling Complex Composed of Sensory Rhodopsin I and Its Cognate Transducer Protein from the Eubacterium *Salinibacter ruber*,” *Biochemistry* **48**, 10136–10145 (2009).

Y. SUDO, Y. KITADE, Y. FURUTANI, M. KOJIMA, S. KOJIMA, M. HOMMA and H. KANDORI, “Interaction between Na⁺ Ion and Carboxylates of the PomA–PomB Stator Unit Studied by ATR-FTIR Spectroscopy,” *Biochemistry* **48**, 11699–11705 (2009).

B-4) 招待講演

古谷祐詞, 「赤外分光法による膜タンパク質の機能発現機構の解析～セルセンサー, チャネル, トランスポーターへの適用～」
東工大・資源研セミナー, 東工大資源研, 長津田, 2009年1月.

Y. FURUTANI and H. KANDORI, “FTIR Studies on Molecular Mechanism of Light Reception and Signal Transduction in Sensory Rhodopsins,” India-Japan Workshop on Frontiers in Molecular Spectroscopy and Theory, Kolkata (India), March 2009.

Y. FURUTANI and H. KANDORI, “ATR-FTIR Spectroscopy for Investigating Interaction Changes upon Binding of Ions to Transmembrane Proteins,” First World Congress of International Academy of Nanomedicine (IANM), Sanya (China), June 2009.

古谷祐詞, 「赤外分光法による膜タンパク質の機能発現に伴う構造変化解析」第49回分子科学若手の会夏の学校, もみのき森林公園, 広島県廿日市市, 2009年8月.

古谷祐詞, 神取秀樹, 「KcsA チャネルに対する赤外分光の狙い「は達成されたのか?」特定領域研究「高次系分子科学」第7回ミニ公開シンポジウム, 越前(越前町生涯学習センター越前分館) 2009年8月–9月.

Y. FURUTANI, “Interaction between membrane protein and ions characterized by ATR-FTIR spectroscopy,” 47th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, ASTY Tokushima, Tokushima (Japan), October–November 2009.

Y. FURUTANI, “Stimulus-Induced Difference FTIR Spectroscopy for Archaeal-Type Rhodopsins,” 2nd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Symposion Hall, Nagoya University, Nagoya (Japan), December 2009.

B-6) 受賞，表彰

古谷祐詞, 平成19年度名古屋工業大学職員褒賞優秀賞 (2007).

B-7) 学会および社会的活動

学会誌編集委員

生物物理中部地区編集委員 (2007, 2010).

B-10) 競争的資金

科研費若手研究 (スタートアップ)「ATR-FTIR 分光法によるロドプシンのタンパク質間相互作用の解析」古谷祐詞 (2006年).

文部科学省科研費特定領域研究「革新的ナノバイオ」(公募研究)「光駆動プロトンポンプの動作機構の解明」古谷祐詞 (2007年–2008年).

文部科学省科研費特定領域研究「細胞感覚」(公募研究)「古細菌型ロドプシンの新奇情報伝達機構の解明」古谷祐詞 (2007年–2008年).

文部科学省科研費特定領域研究「高次系分子科学」(公募研究)「孤立ナノ空間に形成された水クラスターの水素結合ダイナミクス解析」古谷祐詞 (2008年–2009年).

文部科学省科研費特定領域研究「革新的ナノバイオ」(公募研究)「光駆動イオン輸送蛋白質の動作機構の解明」古谷祐詞 (2009年–2010年).

文部科学省科研費特定領域研究「細胞感覚」(公募研究)「古細菌型ロドプシンの新奇情報伝達機構の解明と光応答性カリウムチャネルの開発」古谷祐詞 (2009年–2010年).

C) 研究活動の課題と展望

タンパク質の機能発現に関係する構造変化を赤外分光法で捉える手法は、光を反応のトリガーとして使える光受容タンパク質において発展してきた。これまでロドプシンを中心として、光反応中間体を低温で安定化することで、精密な光誘起赤外差スペクトルを計測し、4000–1800 cm^{-1} の領域に現れる水素結合ドナー (N–H や O–H 基) の伸縮振動の情報から、様々な機能発現に重要な構造変化を見いだしてきた。今後、これらの手法を時間分解計測に発展させることで、低温で安定化できない過渡的な中間体の水素結合変化の情報を得ることを目指す。また、光に応答しないタンパク質についても、液中での計測が容易な全反射法 (ATR 法) を利用することで、イオンや化合物の結合による赤外スペクトル変化を計測し、様々な膜タンパク質における機能発現機構を明らかにすることを目指す。特に急速溶液混合法と赤外分光法を組み合わせた手法を発展させることで、微細な赤外吸収スペクトル変化 (0.001 程度以下の吸光度変化) を実時間で計測し、膜タンパク質が機能する過程でダイナミックに変化する姿を捉えたいと考えている。