

生体分子情報研究部門

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) 時間分解赤外分光法による古細菌型ロドプシンの光誘起構造変化の解明
- b) 急速溶液交換法による膜タンパク質の構造変化計測系の構築
- c) 体内時計の調節に関わる光受容タンパク質メラノプシンの機能発現機構の解析
- d) 哺乳動物カリウムチャンネルタンパク質の赤外分光解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 古細菌型ロドプシンは 7 回膜貫通型ヘリックスからなり，通常，*all-trans* 型レチナールを発色団として結合する。*trans-cis* 異性化によって引き起こされるタンパク質の構造変化によって，イオンポンプ，イオンチャンネル，光センサーと様々な機能を発現することが知られている。時間分解赤外分光法により機能発現に至る分子構造の変化を解析することで，タンパク質骨格や側鎖，さらには水分子の構造変化まで明らかにすることが可能である。本年度は，古細菌型ロドプシンでありながら，*11-cis* 型レチナールを結合することが可能な Middle rhodopsin (MR) の構造変化解析を行い，これまでに見られたことのない β シート構造の変化を観測することに成功した (Y. Furutani *et al.* *J. Phys. Chem. B*, 2013) *all-trans* レチナールが *13-cis* へと光異性化した後，細胞外側領域に存在すると推定される β シートにまで構造変化が伝播している可能性を示唆する結果である。
- b) 膜タンパク質は神経伝達物質，味物質，匂い分子，ATP，カルシウムイオンなど様々な分子やイオンを結合し，情報伝達やエネルギー変換などの機能を発現している。これらの機能発現機構を解明するためには，生体分子やイオンの結合・解離に伴う構造変化を時分割で解析する手法が必要である。ストップフローで用いる圧縮空気作動型ポンプにより，膜タンパク質試料の上部の緩衝液を急速に置換する手法を開発した。塩化物イオンや硝酸イオンを結合するハ口ロドプシンに対して，本手法を適用し，そのイオン結合に伴う赤外吸収スペクトル変化の時分割計測に成功した (Y. Furutani *et al.* *BIOPHYSICS*, 2013)。ステップスキャン法を用いることで，2.5 msec での時分割計測を行い，緩衝液交換が 25 msec 程度で終了していることを硝酸イオンの NO 伸縮振動より確認した。また，ハ口ロドプシンのイオン取込み反応をレチナールの C=C 伸縮振動により追跡した。本手法は，イオンチャンネル，トランスポーター，イオンポンプ，受容体等の様々な膜タンパク質に適用可能な手法である。
- c) 動物は外界の光情報を，視覚のみならず体内時計の調節などの「非視覚」の用途にも用いている。哺乳類では，メラノプシンという光受容タンパク質が「非視覚」の光受容に関わることがわかっている。前年度までに，ヒトとマウスのメラノプシンを，哺乳培養細胞を用いて大量調製することに成功していた。今年度は，それらのメラノプシンについて分光学的・生化学的な性質を解析した。その結果，動物種の異なるメラノプシンの間で熱安定性が異なることが，「非視覚」機能に重要であることを示唆する知見が得られた。
- d) イオンチャンネルは，細胞内外での物質のやりとりを担う膜タンパク質である。近年様々なイオンチャンネルの X 線結晶構造解析が進展しているが，個々のチャンネルの特徴がどのように生み出されているのかなど，不明な点が残っている。今年度は，哺乳動物が持つ各種カリウムイオンチャンネルのうち，two-pore 型と呼ばれるタイプのチャンネルについて，哺乳

培養細胞を用いて大量調製した試料に対して赤外分光解析を行い、そのイオンチャネルが持つ特徴的なイオン選択性を生み出すメカニズムの理解につながる結果を得た。

B-1) 学術論文

Y. FURUTANI, T. OKITSU, L. REISSIG, M. MIZUNO, M. HOMMA, A. WADA, Y. MIZUTANI and Y. SUDO, “Large Spectral Change Due to Amide Modes of a β -Sheet upon the Formation of an Early Photointermediate of Middle Rhodopsin,” *J. Phys. Chem. B* **117**, 3449–3458 (2013).

H. GUO, T. KIMURA and Y. FURUTANI, “Distortion of the Amide-I and -II Bands of an α -Helical Membrane Protein, *pharaonis* Halorhodopsin, Depends on Thickness of Gold Films Utilized for Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy,” *Chem. Phys.* **419**, 8–16 (2013).

Y. FURUTANI, T. KIMURA and K. OKAMOTO, “Development of a Rapid Buffer-Exchange System for Time-Resolved ATR-FTIR Spectroscopy with the Step-Scan Mode,” *BIOPHYSICS* **9**, 123–129 (2013).

M. KOYANAGI, E. TAKADA, T. NAGATA, H. TSUKAMOTO and A. TERAOKA, “Homologs of Vertebrate Opn3 Potentially Serve as a Light Sensor in Nonphotoreceptive Tissue,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110**, 4998–5003 (2013).

H. TSUKAMOTO and D. L. FARRENS, “A Constitutively Activating Mutation Alters the Dynamics and Energetics of a Key Conformational Change in a Ligand-Free G Protein-Coupled Receptor,” *J. Biol. Chem.* **288**, 28207–28216 (2013).

B-3) 総説，著書

古谷祐詞, 「微生物型ロドプシンの光誘起イオン輸送メカニズムの解明」『オプトジェネティクス——光工学と遺伝学による行動制御技術の最前線——』NTS, pp. 69–78 (2013).

B-4) 招待講演

Y. FURUTANI, “Water Molecules and Ions in Membrane Proteins Studied by FTIR Spectroscopy,” The 5th International Conference as the 2012 OCARINA Annual International Meeting, Osaka (Japan), March 2013.

Y. FURUTANI, “Stimulus-Induced Difference FTIR Spectroscopy Reveals Structural Dynamics of Membrane Proteins,” 15th Japan-Korea Symposium on Molecular Science Hierarchical Structure from Quantum to Functions of Biological Systems, Kobe (Japan), July 2013.

Y. FURUTANI, “Water Molecules and Ions in Membrane Proteins Studied by Stimulus-Induced Difference FTIR Spectroscopy,” Seventh International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy, Kobe (Japan), August 2013.

Y. FURUTANI, “Water Molecules and Ions in Membrane Proteins Studied by FTIR Spectroscopy,” Annual Meeting on Photochemistry 2013, Matsuyama (Japan), September 2013.

Y. FURUTANI, “Stimulus-Induced Difference FTIR Spectroscopy on Ion-Channel and Ion-Pump Proteins,” Sixth Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences: Experiments and Simulations, Okazaki (Japan), November 2013.

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).

古谷祐詞, 平成24年度分子科学研究奨励森野基金 (2012).

古谷祐詞, 第6回(2013年度)分子科学会奨励賞(2013).

塚本寿夫, 平成24年度日本生物物理学会中部支部講演会優秀発表者(2013).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本生物物理学会委員(2010–2011, 2012–2013).

日本生物物理学会分野別専門委員(2010, 2011, 2012).

日本物理学会領域12運営委員 生物物理(2011–2012).

日本化学会東海支部代議員(2011–2012).

日本分光学会中部支部幹事(2012).

学会の組織委員等

第15回レチナルタンパク質国際会議実行委員(2012–2013).

学会誌編集委員

日本生物物理学会生物物理中部地区編集委員(2007, 2010).

B-8) 大学での講義, 客員

総合研究大学院大学物理科学研究科, 「統合生命科学シリーズ」2012年7月8日.

総合研究大学院大学物理科学研究科, 「基礎生体分子科学」2012年11月12日.

総合研究大学院大学物理科学研究科, 「構造生体分子科学」2013年12月19, 24日.

B-9) 学位授与

郭 浩, 「Investigation of measurement conditions of surface-enhanced infrared absorption spectroscopy and its application to membrane proteins」2013年3月, 博士(理学)

藤原邦代, 「時間分解フーリエ変換赤外分光計測による光駆動型塩化物イオンポンプタンパク質ファラオニス・ハロロドプシンのイオン輸送機構に関する研究」2013年9月, 博士(理学)

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).

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).

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).

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).

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).

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).

科研費特定領域研究「高次系分子科学（公募研究）」「孤立ナノ空間を有する有機金属錯体での特異な光化学反応の分光解析」古谷祐詞（2010年–2011年）.

科研費若手研究(B)「赤外差スペクトル法によるイオン輸送蛋白質の分子機構解明」古谷祐詞（2010年–2011年）.

自然科学研究機構若手研究者による分野間連携研究プロジェクト「膜輸送蛋白質によるイオン選択・透過・輸送の分子科学」古谷祐詞（2010年）.

自然科学研究機構若手研究者による分野間連携研究プロジェクト「イオンチャンネル蛋白質のイオン認識および開閉制御の分子機構解明」古谷祐詞（2011年）.

科学技術振興機構さきがけ研究「様々な光エネルギー変換系における水分子の構造・機能相関解明」古谷祐詞（2011年–2014年）.

科研費挑戦的萌芽研究「哺乳動物イオンチャンネルの機能的発現と分子機構解明」古谷祐詞（2012年–2013年）.

自然科学研究機構若手研究者による分野間連携研究プロジェクト「イオンチャンネル蛋白質の物理・化学刺激によるゲート開閉の分子機構解明」古谷祐詞（2013年）.

科研費若手研究(B)「哺乳動物が環境光を感知するためのメラノプシンの分子特性の解明」塚本寿夫（2013年–2014年）.

C) 研究活動の課題と展望

研究室を主催してから開発に取り組んできた急速溶液交換時間分解赤外分光計測に関する最初の論文を発表することができた。木村哲就助教（現所属；理化学研究所城生体金属科学研究室）の手助けのもと、株式会社ユニソクと共同で開発したシステムである。現在、海外の共同研究者とトランスポーターの輸送機構に着目した研究へと発展させている。塚本寿夫特任助教が立ち上げた哺乳動物細胞による膜タンパク質の大量発現系が安定して稼働しており、チャンネルロドプシン、メラノプシン、哺乳動物カリウムイオンチャンネルなど様々な挑戦的な研究対象に取り組んでいる。来年度には、それぞれの実験データから機能発現機構に迫る興味深い結論が得られるものと期待している。