

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) 表面増強赤外分光法によるクラウンエーテルのアルカリ金属イオン選択機構の研究
- b) 表面増強赤外分光法による GroEL タンパク質の二次構造への界面活性剤 SDS の影響に関する研究
- c) 急速溶液交換法による新規赤外分光計測系の構築
- d) 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
- e) 哺乳動物カリウムイオン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) 厚さ数ナノメートル程度の金薄膜を全反射赤外分光用のプリズム表面に作製することで，金薄膜に吸着した分子種の赤外吸収強度を増強することが可能である。本手法をカリウムイオンを選択的に吸着するクラウンエーテルに適用し，各種アルカリ金属イオンを含む緩衝液と含まない緩衝液との赤外吸収差スペクトルを計測した。その結果， K^+ ， Rb^+ ， Cs^+ では似たような差スペクトルが得られたが， Li^+ ， Na^+ では異なる形状の差スペクトルが得られ，イオン吸着に伴う構造変化に差異があることが示唆された。本研究は広島大学の井口佳哉准教授との共同研究として行われ，*Chem. Phys. Lett.* に発表された。
- b) GroEL はタンパク質のリフォールディングにはたらくシャペロニン的一种である。そのアピカルドメインと呼ばれる部位は α ヘリックスと β シート構造からなる。アピカルドメインに界面活性剤であるラウリル硫酸ナトリウム (SDS) を作用させると，タンパク質の構造が変化し，ファイバーが形成される。表面増強赤外分光計測を適用した結果，SDS を作用させると， β シート構造が減り， α ヘリックスやターン構造が増えることが分かった。本研究は，岡崎総合バイオサイエンスセンターの特任助教であった Jin Chen 博士との共同研究として行い，*Sci. Rep.* に発表された。
- c) 圧縮気体で動作するシリンジポンプによる急速溶液交換装置を，藤貴夫准教授のグループが開発したチャープパルス上方変換による全反射赤外分光装置と組み合わせて実験を行った。全反射プリズム上で，水とアセトンが置き換わる様子を 1 ミリ秒の時間分解能で計測することに成功した。その結果，溶液交換が約 10 ミリ秒で完結していることが分かった。本研究は，分子科学研究所の藤貴夫准教授との共同研究として行われ，*Opt. Express* に発表された。
- d) ヒトなどの哺乳類では，メラノプシンという光受容タンパク質が光情報を受け取ることで，概日時計や瞳孔径の調節が行われる。分子系統的には，メラノプシンは無脊椎動物の視覚を担う光受容タンパク質と近縁である。今年度は，これらの近縁であるが機能の異なる光受容タンパク質の機能特性を比較した結果，哺乳類のメラノプシンは自発的に発色団であるレチナールを放出して，光受容能を失いやすくなっていることを生化学的・分光学的・電気生理学的解析から明らかにした。また哺乳類の種ごとに，メラノプシン分子におけるレチナール分子の「放出しやすさ」が大きく異なることも見出した。
- e) ほぼすべての生物は，イオンチャンネルという膜タンパク質を用いて細胞内外で物質のやりとりを行っている。その中でカリウムを選択的に通すチャンネルはカリウムチャンネルと呼ばれるが，哺乳類が持つ TWIK-1 というカリウムチャンネルは，イオン選択性を生み出す領域のアミノ酸配列が他のカリウムチャンネルと異なり，また他のカリウムチャンネルが

通さないナトリウムイオンも通すことが知られている。今年度は、TWIK-1 が持つ特異的なアミノ酸配列がどのように、イオン選択性に寄与しているのかを、赤外分光法を用いて解析した。その結果、実際に TWIK-1 特異的なアミノ酸配列が、チャンネル - イオン間相互作用を大きく変化させていることを示す結果を得た。

B-1) 学術論文

Y. INOKUCHI, T. MIZUUCHI, T. EBATA, T. IKEDA, T. HAINO, T. KIMURA, H. GUO and Y. FURUTANI, “Formation of Host–Guest Complexes on Gold Surface Investigated by Surface-Enhanced IR Absorption Spectroscopy,” *Chem. Phys. Lett.* **592**, 90–95 (2014).

J. CHEN, H. YAGI, Y. FURUTANI, T. NAKAMURA, A. INAGUMA, H. GUO, Y. KONG and Y. GOTO, “Self-Assembly of the Chaperonin GroEL Nanocage Induced at Submicellar Detergent,” *Sci. Rep.* **4**, 5614 (2014).

L.-F. SUN, E. KAWANO-YAMASHITA, T. NAGATA, H. TSUKAMOTO, Y. FURUTANI, M. KOYANAGI and A. TERAOKA, “Distribution of Mammalian-Like Melanopsin in Cyclostome Retinas Exhibiting a Different Extent of Visual Functions,” *PLoS One* **9**, e108209 (2014).

J. SASAKI, H. TAKAHASHI, Y. FURUTANI, O. SINESHCHEKOV, J. SPUDICH and H. KANDORI, “His166 is the Schiff Base Proton Acceptor in the Attractant Phototaxis Receptor Sensory Rhodopsin I,” *Biochemistry* **53**, 5923–5929 (2014).

H. SHIRAI, C. DUCHESNE, Y. FURUTANI and T. FUJI, “Attenuated Total Reflectance Spectroscopy with Chirped-Pulse Upconversion,” *Opt. Express* **22**, 29611–29616 (2014).

B-3) 総説, 著書

Y. FURUTANI and H. KANDORI, “Hydrogen-Bonding Changes of Internal Water Molecules upon the Actions of Microbial Rhodopsins Studied by FTIR Spectroscopy,” *Biochim. Biophys. Acta* **1837**, 598–605 (2014).

古谷祐詞 木村哲就 岡本基士, 「急速緩衝液交換法による時間分解全反射赤外分光法の開発」*生物物理* **54**, 272–275 (2014).

古谷祐詞, 「赤外分光法による膜タンパク質の分子機構研究」*Mol. Sci.* **8**, A0067 (2014).

塚本寿夫, 「G タンパク質共役受容体オプシンとその構成的活性化変異体の構造ダイナミクス」*生物物理* **54**, 111–112 (2014).

H. TSUKAMOTO, “Diversity and functional properties of bistable photopigments,” in *The evolution of visual and non-visual pigments*, M. Hankins, S. Collin, J. Marshall and D. Hunt, Eds., 219–239 (2014).

B-4) 招待講演

Y. FURUTANI, “Protein-Ion Interactions of Membrane Proteins Studied by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy,” 18th East Asian Workshop on Chemical Dynamics, Busan (Korea), May 2014.

古谷祐詞, 「赤外分光法による膜タンパク質の動作機構研究」大阪大学生命機能研究科FBS コロキウム, 吹田, 2014年6月.

古谷祐詞, 「赤外分光法による膜タンパク質の動作機構研究」第8回分子科学討論会奨励賞受賞講演, 東広島, 2014年9月.

Y. FURUTANI, “Structural Changes of Membrane Proteins Studied by Difference FTIR Spectroscopy; Microbial Rhodopsins and Potassium Ion Channels,” 16th International Conference on Retinal Proteins, Nagahama (Japan), October 2014.

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).
古谷祐詞, 木村哲就, 岡本基士, 第1回BIOPHYSICS Editor's Choice Award (2014).
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, 2013).
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, 2013–2014).
日本分光学会中部支部幹事 (2012–2014).

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 (2012–2014), 座長 (2014).

学会誌編集委員

日本生物物理学会中部地区編集委員 (2007, 2010).

B-8) 大学での講義, 客員

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科, 第3回生体物理化学セミナー「赤外分光法による膜タンパク質研究」2014年9月19日.
総合研究大学院大学物理科学研究科, 「メカノシステムパイオロジー」(受容体構造)2014年11月20日.

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ネルの機能的発現と分子機構解析」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).

科研費挑戦的萌芽研究,「膜電位存在下での膜タンパク質の赤外分光解析系の開発」古谷祐詞(2014年-2016年).

科研費若手研究(A),「膜タンパク質の分子機構解明に資する新規赤外分光計測法の開発」古谷祐詞(2014年-2017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).

ノバルティス科学振興財団研究奨励金,「部位特異的蛍光標識を用いたGタンパク質共役受容体の動的構造変化の解析」塚本寿夫(2012年).

C) 研究活動の課題と展望

2014年は様々な共同研究の成果を報告することができた。その一方でイオンチャネルやメラノプシンなどの独自テーマでの成果報告に時間が掛かっている。2015年は順次,これらについても成果をまとめて報告していきたいと考えている。さきがけ研究のテーマの一環として,時間分解FTIR用回転セルを用いた計測系の構築を装置開発室のメンバーと行っている。1つの試料だけでの計測に比べると,回転セル上の試料の数だけ計測時間を短縮することが可能になる。来年度は,より多数の試料を均一に塗布することを可能にする試料塗布装置を完成させ,1つの試料だけでは計測に非常に時間の掛かる光受容タンパク質などに適用していきたいと考えている。