

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) 哺乳動物カリウムイオンチャネルのイオン選択性制御メカニズムの解析
- b) 耐熱性ロドプシン TR が起こす光反応の分子機構, およびその特異性の解明
- c) ウシ由来オプシンへの匂い物質結合の赤外分光解析
- d) 高圧力下での時間分解赤外分光計測系の構築とバクテリオロドプシンへの適用
- e) 急速溶液交換法を用いたイオンチャネル, トランスポーターの分子機構解析
- f) 無脊椎動物の脳内光受容機能を担うタンパク質の解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 細胞が機能するためには, カリウムイオンを選択的に透過するイオンチャネル（カリウムチャネル）が重要である。TWIK-1 というカリウムチャネルは細胞の静止膜電位の調整にはたっているが, 細胞外環境に応じてナトリウムイオンの透過性が上昇するという特異な性質を有する。TWIK-1 タンパク質を精製し, 脂質小胞に再構成した試料に対して, 蛍光インジケータを用いてイオンの透過機能を解析し, このチャネルタンパク質単体がナトリウムイオンを透過する特性を持つことを確認した。さらに機能解析に用いたタンパク質と脂質の組み合わせで再構成試料を作製し, より生理的な状態でのイオン交換に伴う赤外吸収変化の解析に成功した。
- b) Thermophilic Rhodopsin (TR) は最近になって発見された初めての好熱菌由来のロドプシンでありその熱安定性の分子機構に興味を持たれている。昨年度は TR の野生型試料と変異体試料を用いて, 光反応の大枠とその温度依存性について明らかにした。今年度は TR の発色団近傍にあるアスパラギン酸残基 229 番を変異させた試料の測定も加え, 発色団からのプロトン移動にこの残基が不可欠であることを明らかにした。また, TR と分子系統的に近縁だが熱耐性を持たない *Gloeobacter Rhodopsin* (GR) と比較し, 両者の光反応過程における構造変化の違いを浮き彫りにした。本研究は岡山大学薬学部の須藤雄気教授, 塚本卓助教との共同研究として進めている。
- c) 視覚ロドプシンは G タンパク質共役受容体 (GPCR) と呼ばれる巨大な膜タンパク質ファミリーの 1 種であるため, 同じく GPCR に属する嗅覚を司る受容体と共通した分子機構が存在する。昨年度より, 発色団を排除したロドプシン（オプシン）への匂い物質の結合を全反射赤外分光法 (ATR) で調べている。昨年度の段階で匂い物質結合に伴うカルボン酸やタンパク質骨格由来の吸収変化の信号を得ることができていたが, SN 比の悪い結果に留まっていた。今年度はさらに実験回数を増やし SN 比を向上した。変異体を用いた計測から, 匂い物質とオプシンとの結合様式について推定した。本研究はカナダのトロント大学医学部の Oliver P. Ernst 教授, 森住威文研究員との共同研究として進めている。
- d) 時間分解フーリエ変換赤外分光 (TR-FTIR) 法はタンパク質反応の解析に有用な手法であるが, これが物理化学的に重要な圧力摂動の下で適用されたことはほとんどない。そこで, 光反応タンパク質の高圧下 TR-FTIR 測定が可能な系の構築を開始した。まず高圧セル（ダイヤモンドアンビルセル）を購入し, さらに赤外分光器内でのセル位置の精密な制御と温度管理が可能な高圧セルホルダーを分子研装置開発室の協力のもと製作した。この測定系を, バク

テリオロドプシンに適用し、高圧力下での時間分解赤外差スペクトルを得ることに成功した。

- e) これまでに全反射赤外計測用の結晶上に吸着させたイオンチャネルやトランスポーターなどの膜タンパク質が浸された緩衝液を急速に交換することで時間分解赤外分光計測を行う実験系を構築した。本手法をメリビオース輸送タンパク質に適用し、メリビオースやグルコースが含まれる緩衝液に急速交換することで、時間分解赤外スペクトルを得た。本研究は、スペインのバレンシア大学の Victor Lorenz-Fonfria 博士との共同研究として進めている。
- f) 多くの動物は、視覚以外にも概日時計の調節などの用途に光情報を用いている。最近の研究から、Opn3 という光受容タンパク質が無脊椎動物の脳内光受容に関わることが示されている。そこで、種々の無脊椎動物の Opn3 の吸収波長特性を調べた結果、紫外領域から緑色光領域まで、動物種によって大きく異なることを見出した。また、環形動物ゴカイの Opn3 については、紫外光受容をもたらしアミノ酸残基を特定し、細胞内に紫外光シグナルを伝達するメカニズムを明らかにした。

B-1) 学術論文

M. SRISA-ART and Y. FURUTANI, “Simple and Rapid Fabrication of PDMS Microfluidic Devices Compatible with FTIR Microspectroscopy,” *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **89**, 196–202 (2016).

A. SAKAMOTO, T. TSUKAMOTO, Y. FURUTANI, Y. SUDO, K. SHIMADA, A. TOMITA, H. KIYOI, T. KATO and T. FUNATSU, “Live-Cell Single-Molecule Imaging of the Cytokine Receptor MPL for Analysis of Dynamic Dimerization,” *J. Mol. Cell Biol.* **8**, 553–555 (2016).

K. KUROI, F. SATO, Y. NAKASONE, K. ZIKIHARA, S. TOKUTOMI and M. TERAZIMA, “Time-Resolved Fluctuation during the Photochemical Reaction of a Photoreceptor Protein: Phototropin1LOV2-Linker,” *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 6228–6238 (2016).

T. NAKAJIMA, K. KUROI, Y. NAKASONE, K. OKAJIMA, M. IKEUCHI, S. TOKUTOMI and M. TERAZIMA, “Anomalous Pressure Effects on the Photoreaction of a Light-Sensor Protein from *Synechocystis*, PixD (Slr1694), and the Compressibility Change of Its Intermediates,” *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 25915–25925 (2016).

B-3) 総説、著書

古谷祐詞, 「光誘起赤外差分分光法による微生物型ロドプシンのイオン輸送機構の研究」, *日本レーザー医学会誌* **36(4)**, 460–465 (2016).

古谷祐詞, 「菌類のロドプシン」, 「光と生命の事典」, 朝倉書店, 154–155 (2016).

塚本寿夫, 「無脊椎動物オプシン」, 「光と生命の事典」, 朝倉書店, 176–177 (2016).

B-4) 招待講演

Y. FURUTANI, “Molecular Mechanisms of Retinal Proteins with Involvement of Water Molecules Studied by Light-Induced Difference Infrared Spectroscopy,” 26th IUPAC International Symposium on Photochemistry, Osaka City Central Public Hall, Osaka (Japan), April 2016.

古谷祐詞, 「赤外分光計測によるカリウムチャネルのイオン選択機構の研究」, 第1回イオンチャネル研究会～チャネルどんたく～, 福岡大学病院, 福岡, 2016年7月.

古谷祐詞,「オプトジェネティクスで活躍する微生物型ロドプシンの分子機構研究」, 生化学若い研究者の会第56回生命科学夏の学校, 旅館かつら, 宮城県白石市, 2016年8月.

Y. FURUTANI and H. TSUKAMOTO, “Amide I vibrations could be fingerprints of ion–protein interactions of potassium ion channels with alkali metal cations,” The 9th Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences: Experiments and Simulations, Commodore Hotel, Gyeongju (Korea), November 2016.

塚本寿夫,「無脊椎動物における繊毛型オプシンの分子特性と非視覚の光受容」, 第19回日本光生物学協会年会, 東京大学, 東京, 2016年7月.

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).

古谷祐詞, 清水啓史, 浅井祐介, 老木成稔, 神取秀樹, 第3回Biophysics and Physicobiology Editor's Choice Award (2016).

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), 理事 (2015–2016).

日本生物物理学会分野別専門委員 (2010–2013, 2015–2016).

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).

分子科学会顕彰委員会委員 (2014–2016).

日本分光学会中部支部幹事 (2012–2016).

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

名古屋大学大学院理学研究科,「生体物理学特別講義2」, 2016年9月21, 23日.

大阪大学大学院工学研究科,「CSC 集中講義」, 2016年12月8日–9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).

総合研究大学院大学学融合推進センター公募型研究事業事業枠II「学融合共同研究」,「動物が「見えない光」を受容するメカニズム——化学と生理学を融合したアプローチ——」, 古谷祐詞 (2015年–2016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).

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).

上原記念生命科学財団研究奨励金,「メラノプシンを用いたカルシウムシグナリングの光制御」, 塚本寿夫 (2015年).

科研費研究活動スタート支援,「温度圧力条件下の赤外分光法による耐熱性ロドプシンの光反応機構の解明」, 黒井邦巧 (2015年–2016年).

C) 研究活動の課題と展望

これまで赤外分光法を基軸に様々な膜タンパク質の分子機構研究に取り組んできた。光受容タンパク質ロドプシンだけでなく、分子研着任後に開始したイオンチャネルやトランスポーターなど光が関与しない膜タンパク質についての研究が着実に進展している。ほ乳動物由来のカリウムチャネルは、生理研の久保教授との共同研究として、助教の塚本博士が中心になって進めている。チャネル活性が確認できる試料および実験条件を確立することに成功したので、来年度には成果として取りまとめることができるものと期待している。IMS フェローの黒井博士は、高温条件や高圧条件などでの時間分解赤外分光計測を行うなど、膜タンパク質としては極限条件下での計測に成功している。今後も赤外分光法を基軸とした研究を発展させたいが、新規計測系の構築や新たな膜タンパク質の計測などを試みることで、新たな研究の方向性を模索したい。