

生体分子情報研究部門

古 谷 祐 詞 (准教授) (2009年3月1日～2018年9月30日)*¹⁾

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透過性制御機構
- b) Gタンパク質共役受容体のリガンド結合に伴う構造変化の赤外分光解析
- c) 動物のオプシンが示す多様なシグナル伝達特性
- d) マグネシウムチャネルの Mg^{2+} イオン選択の分子機構

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 細胞内外には、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）のはたらきで電位差（静止膜電位）が生じている。TWIK-1というカリウムチャネルは、「適度」にナトリウムイオンも透過することで、静止膜電位を微調節している。これまでにTWIK-1のカリウム選択性が「緩い」原因を解明するために、生化学的にTWIK-1のイオン透過性を解析し、イオン交換に伴う赤外吸収スペクトルの変化から、カリウムチャネルのイオン選択性を生み出す領域でのカリウムイオンへの親和性が低くなっていることを見出していた。さらに得られた赤外分光データを、琉球大学の東雅大助教との共同研究による基準振動計算の結果と合わせて解釈することにより、TWIK-1の動的構造変化とイオン選択性が関連しているようすを明確に示した。これら得られた結果をまとめて、*J. Biol. Chem.* 誌に発表した。
- b) Gタンパク質共役受容体（GPCR）は、細胞外のシグナルを、三量体Gタンパク質を介して伝達するはたらきを持ち、感覚・神経伝達・ホルモン受容など重要な生命機能を担うとともに、主要な創薬ターゲットにもなっている。現在、X線結晶構造解析やクライオ電顕解析などにより、GPCRの静的構造は非常に数多く解明されているが、機能発現に伴うタンパク質ダイナミクスについての理解は乏しい。そこで、静的構造情報が最も豊富なGPCRの一つA2Aアデノシン受容体について、生理的リガンドであるアデノシンの結合に伴う赤外吸収スペクトルの変化を解析することに取り組んだ。その結果、アデノシン結合に伴うスペクトル変化を精度よく計測することに成功した。このスペクトル変化には受容体タンパク質の構造変化由来の成分だけでなく結合したリガンドに由来するものも含まれている。そこで、同位体標識したアデノシンが結合した際のスペクトル変化も計測して、結果を比較することで、両成分を分離することができた。
- c) ヒトを含めた動物は、外界の光情報を視覚や生体リズムの調節などに利用している。これらの光受容機能の多くにおいて、オプシンと呼ばれるGPCRが最初に光シグナルをキャッチする役割を担っている。これまでに、様々な動物の特に眼以外の組織ではたらくオプシン類の分光学的・生化学的・電気生理学的特性を解析してきた。その結果、オプシンの種類によっては、複数の種類のGタンパク質を活性化するものがあり、その相対的な活性が動物種ごとに大きく異なることや、Gタンパク質を介したシグナル伝達には α サブユニットと $\beta\gamma$ サブユニット由来の2つの経路があるが、 $\beta\gamma$ サブユニット経路を選択的に駆動するものがあることを見出した。
- d) マグネシウムイオンを選択的に透過するマグネシウムチャネルMgtEの全反射赤外分光と量子化学計算（琉球大学東雅大助教）を組み合わせることで、 Mg^{2+} と Ca^{2+} とのマグネシウム透過孔での水和状態の違いについて解析した。

その結果、 Mg^{2+} は水和された状態で安定に存在する一方、 Ca^{2+} は容易に水和構造が崩れ、イオン透過孔のイオン選択フィルターと考えられている Asp432 と結合することが明らかとなった。Asp432 を Glu に変異するだけで、水和された Mg^{2+} の結合が阻害されるなど、イオン透過孔が Mg^{2+} を選択する精妙な分子機構を明らかにした。これらの結果をまとめて、*J. Phys. Chem. B* 誌に発表した。

B-1) 学術論文

K. KATAYAMA, Y. FURUTANI, M. IWAKI, T. FUKUDA, H. IMAI and H. KANDORI, ““*In situ*” Observation of Role of Chloride Ion Binding to Monkey Green Sensitive Visual Pigment by ATR-FTIR Spectroscopy,” *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20**, 3381–3387 (2018).

A. SUEA-NGAM, M. SRISA-ART and Y. FURUTANI, “PDMS-Based Microfluidic Device for Infrared-Transmission Spectro-Electrochemistry,” *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **91**, 728–734 (2018).

H. TSUKAMOTO, M. HIGASHI, H. MOTOKI, H. WATANABE, C. GANSER, K. NAKAJO, Y. KUBO, T. UCHIHASHI and Y. FURUTANI, “Structural Properties Determining Low K^+ Affinity of the Selectivity Filter in the TWIK1 K^+ Channel,” *J. Biol. Chem.* **293**, 6969–6984 (2018).

T. KIMURA, V. A. LORENZ-FONFRIA, S. DOUKI, H. MOTOKI, R. ISHITANI, O. NUREKI, M. HIGASHI and Y. FURUTANI, “Vibrational and Molecular Properties of Mg^{2+} Binding and Ion Selectivity in the Magnesium Channel MgtE,” *J. Phys. Chem. B* **122**, 9681–9696 (2018).

B-3) 総説, 著書

Y. FURUTANI, “Ion–protein Interactions of a Potassium Ion Channel Studied by Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy,” *Biophys. Rev.* **10**, 235–239 (2018).

B-4) 招待講演

Y. FURUTANI, “Interactions of potassium ion channels with alkali metal cations and their relevance to the K^+ selectivity studied by infrared spectroscopy,” Mini international workshop “Interhierarchical understanding of materials and life through molecular observation,” Institute for Molecular Science, Okazaki (Japan), March 2018.

古谷祐詞, 「赤外分光法によるイオン–タンパク質間相互作用の解析」, 大阪大学蛋白質研究所セミナー「構造情報に基づいた膜イオン輸送タンパク質の生理機能の解明に向けて」, 大阪大学蛋白質研究所, 吹田, 2018年9月.

Y. FURUTANI and H. TSUKAMOTO, “Light-induced difference infrared spectroscopy on the photochromic reaction of a ciliary opsin by irradiation of ultraviolet and visible light,” 18th International Conference on Retinal Proteins, Hockley Valley Resort, Ontario (Canada), September 2018.

Y. FURUTANI, “Infrared spectroscopy for analyzing ion–protein interactions of ion channels,” The 49th National Institute for Physiological Sciences (NIPS) international symposium “Ion channels: looking back, seeing ahead,” Okazaki Conference Center, Okazaki (Japan), December 2018.

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, 岡本基土, 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

日本生物物理学会理事 (2015–2016).

日本生物物理学会代議員 (2015–2016, 2017–2018), 委員 (2010–2011, 2012–2013).

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 1・2 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 (2012–2017).

日本生物物理学会分野別専門委員 (2012). (塚本寿夫)

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).

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).

日本生物物理学会「生物物理」誌編集委員 (2017–2019). (塚本寿夫)

B-10) 競争的資金

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かけ研究,「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).

科研費若手研究(B),「哺乳類カリウムチャネルの環境依存的イオン透過制御メカニズムの解明」,塚本寿夫(2017年-2018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「萌芽的共同研究」,「アゲハチョウの眼外紫外光受容タンパク質と生殖行動との連関」,塚本寿夫(2017年).

科学技術振興機構さきかけ研究,「内在受容体を利用した生命機能の新規光操作手法の開発」,塚本寿夫(2017年-2020年).

C) 研究活動の課題と展望

カリウムイオンチャネルTWIK1のイオン選択フィルターの分子振動解析を全反射赤外分光計測および量子化学計算(琉球大学 東雅大助教)により明らかにし, 1680 cm^{-1} にフィルターの“分子指紋”となる特徴的な分子振動を同定した。また, マグネシウムチャネルMgtEについても, 全反射赤外分光計測と量子化学計算との組み合わせにより, Mg^{2+} が水和された状態でイオン透過孔に存在することなどを明らかにした。名古屋工業大学に転出後はこれらの成果をもとに様々な膜タンパク質に赤外分光計測を適用することで, 膜タンパク質の多様な機能発現の分子機構を明らかにしていきたい。塚本寿夫助教も昨年度に採択されたさきかけ研究のテーマを着実に進めながら, さらなる飛躍を目指しているところである。

*) 2018年10月1日名古屋工業大学工学部准教授