

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07267

研究課題名(和文)イオン輸送性ロドプシンの反応状態の構造解析

研究課題名(英文)Structural analyses of reaction states of ion-pumping rhodopsins

研究代表者

神山 勉 (Kouyama, Tsutomu)

名古屋大学・理学研究科・名誉教授

研究者番号：30170210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ハロロドプシンの陰イオン輸送サイクルは、タンパク質中のレチナール色素が all-trans/15-anti から 13-cis/15-anti に光異性化することで開始される。先行研究から、13-cis/15-syn 異性体(N')が塩素イオン放出過程に出現することが示唆されていた。本研究では、ハライドイオンの濃度が高い時には、吸収スペクトルがトランス異性体に比べて8nm短波長にシフトした13-cis/15-syn異性体が光照射下で蓄積することを見出し、トランス異性体から13-シス異性体への分岐反応が13-cis/15-synレチナールを有する0'中間体の減衰過程で起こることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ハロロドプシンの陰イオン輸送サイクル中に3段階のレチナール異性化反応(13-trans/15-anti → 13-cis/15-anti → 13-cis/15-syn → 13-trans/15-anti)が起こることを明らかにした。タンパク質部分も反応サイクルの間に3種類の構造変化を起こすことが示されており、これらの結果を基に、レチナールの異性化、タンパク質の構造変化、イオン移動、レチナールの異性化、... という具合に反応が進行することで、イオンの一方向の輸送が保証される、という作業仮説を提唱した。これは、ロドプシン群タンパク質の光反応機構に関する従来の基本的な考えを大きく変えることになる。

研究成果の概要(英文)：The anion pumping cycle of halorhodopsin is initiated when the all-trans/15-anti isomer of retinal is photo-isomerized into the 13-cis/15-anti configuration. A previous study suggested that a reaction state with 13-cis/15-syn retinal occurred during the anion release process, i.e., after the N state with the 13-cis/15-anti retinal and before the O state with all-trans/15-anti retinal. In this study, we found that the 13-cis isomer (HR'), in which the absorption spectrum was blue-shifted by 8 nm as compared with that of the trans isomer (HR), accumulated significantly when pHR-rich claret membranes in 4 M NaBr was illuminated with continuous light. It was suggested that the branching of the trans photocycle into the 13-cis isomer (HR') occurs during the decay of an O-like state (O') with 13-cis/15-syn retinal. At a high bromide ion concentration, the anion pumping cycle is described by the scheme: HR -(h) -> K -> L1 -> N -> N' -> O' -> HR' -> HR.

研究分野：生物物理

キーワード：イオン能動輸送 光駆動塩素イオンポンプ 光駆動プロトンポンプ レチナールタンパク質 レチナール異性体 X線結晶構造解析 ハロロドプシン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、ロドプシン群タンパク質の静的な構造を求めるとともに、光照射により惹起されるタンパク質の構造変化について調べてきた。バクテリオロドプシン (BR) など光駆動プロトンポンプについての一連の研究成果を基に、プロトン輸送は水分子輸送とカップルして起こる、とする「プロトン/水分子・対輸送体説」を提唱し、また、タンパク質内の空隙の形態変化に着目することも重要であるとの認識に至った。これらの構造解析から導き出された概念(空隙の形態変化→水分子の移動→機能発現)の普遍性を調べるため、光駆動イオンポンプおよび光情報レセプターとして働くロドプシン群タンパク質の構造解析に取り組んだ。具体的には、光駆動塩素イオンポンプ・ハロロドプシン (pHR) を大量発現する好アルカリ性好塩菌の変異体を見出し、膜融合法により pHR の結晶 (空間群 C2) を作製し、陰イオン (Cl⁻, Br⁻, NO₃⁻, N₃⁻) 結合状態および非結合状態の構造を 1.7-2.0 Å の分解能で求めてきた。また、臭素イオン存在下で形成される主要な光反応中間体 (L1, L2, N, N' および O 中間体) の構造データを収集し、光照射後の臭素イオンの動きについての情報を得るとともに、ヘリックス F の細胞質側半分およびヘリックス C の細胞外側半分がイオン輸送に不可欠とされる二つの独立した弁として働いていることを示した(図1)。さらに、pHR-アザイド複合体のプロトン輸送サイクルにおける反応状態の構造も高分解能で求め、アザイドイオン添加で生じる塩素イオン輸送からプロトン輸送への切り替えに関する構造情報を得た。これらの一連の研究で最も予想外だった観測結果は、塩素イオン輸送サイクルにおいてレチナール・シッフ塩基結合のまわりで異性化が起こる という事象である。この観測結果を説明するため、ハロロドプシンの陰イオン輸送サイクルの反応スキームの修正を行った(図1)。

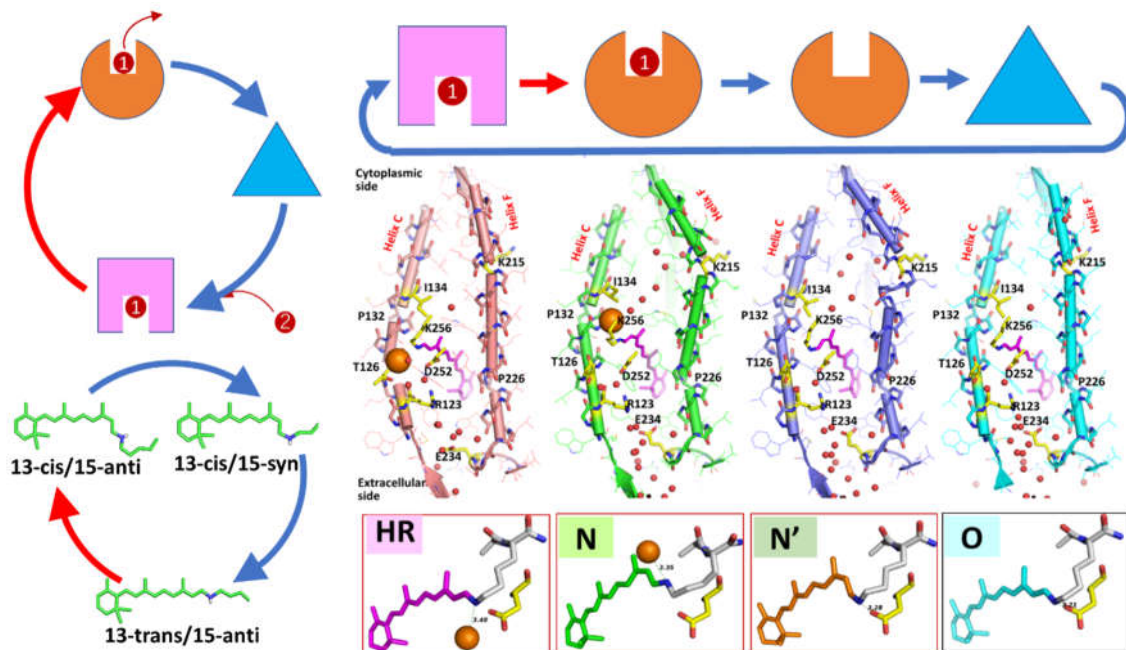


図1. HRの光誘起構造変化

この新しいスキームによれば、N 中間体ではレチナールは 13-cis/15-anti 構造をとり、細胞質側方向に向けたシッフ塩基は輸送途上の陰イオンと静電相互作用するのに対して、陰イオンが細胞質側に放出された直後の反応状態 (N' 中間体) ではレチナールが 13-cis/15-syn 構造をとり、シッフ塩基は細胞外側に向き、近傍のアスパラギン酸残基と静電相互作用する。その後に出現する O 中間体ではレチナールが 13-trans/15-anti 構造をとり、その後、細胞外側から塩素イオンを取り込み、初期状態へと戻る。つまり、塩素イオン輸送サイクルにおいて、レチナールの異性化反応が 3 度起こることを意味しており、ロドプシン群タンパク質の光反応機構に関

する従来の基本的な考えを大きく変えることになる。ここで注意しなければならないのは、図 1 に示した反応スキームは未完成であるということである。実際のところ、0' の存在はまだ実証できていないし、その構造も未決定であった。このような状況にあって、3 段階のレチナール異性化反応を支持する実験データをより多く収集し、タンパク質内のストレス解放とイオン移動との相関を明確にすることが求められていた。

2. 研究の目的

光駆動塩素イオンポンプの構造・機能解析： 多様な溶媒条件下でハロロドプシン *pHR* の光反応を解析し、構造未決定の反応状態 (0' など) が結晶中で蓄積する条件を探り出し、それらの反応状態の構造を高分解能で決定する。

3. 研究の方法

ハロロドプシンの陰イオン輸送サイクルにおける主要な反応中間体の構造情報を求めてきたが、これらの反応中間体の分光特性に関しては未解明の部分が残されていた。その遠因は、ハロロドプシンの光誘起吸収変化の解析においてレチナール色素の異性化状態に関する特殊な思い込みが持ちこめられてきたことにある。具体的には、レチナール色素の異性化反応 1 種類 (13-trans/15-anti から 13-cis/15-anti への光異性化とその逆方向の熱的異性化) しか起こらないという仮定のもとに陰イオン輸送サイクルの解析が行われてきたのである。しかしながら、X 線結晶構造解析によりその存在が初めて明らかにされた N' 中間体ではレチナール色素が 13-cis/15-syn の異性化構造をとることが示された。つまり、ハライドイオン輸送サイクル中に 3 段階のレチナール異性化反応 (13-trans/15-anti → 13-cis/15-anti → 13-cis/15-syn → 13-trans/15-anti) が起こることが示されたのである。したがって、陰イオン輸送の全貌を明らかにするには、ハロロドプシンの光誘起吸収変化およびレチナールの異性化状態の変化を様々な条件下で調べる必要がある。

4. 研究成果

1) ハロロドプシンの光反応サイクルの解析：

ハロロドプシンの光誘起吸収変化およびレチナールの異性化状態の変化を様々な条件下で調べ、得られた実験データを詳細に解析した。その結果、陰イオン輸送サイクルの後半部分がハライドイオン濃度に強く依存して変化することがわかった。ハライドイオンの濃度が低い時には、トランス異性体 (HR) の反応サイクルは次のようにあらわされる： $HR \xrightarrow{\text{光}} K \rightarrow L1 \rightarrow N \rightarrow N' \rightarrow 0' \rightarrow 0 \rightarrow HR$ 。ここで、0' は、N' と同様に 13-cis/15-syn レチナールを含むが、タンパク質分の構造は 13-trans/15-anti レチナールを含む 0 中間体と似ている、とする反応中間体である。つまり、細胞外側からのハライドイオンの取り込み速度に比べて、13-cis/15-syn から trans/15-anti への熱的異性化の速度が相対的に高くなり、この異性化反応は $0' \rightarrow 0$ で起こる。一方、高濃度のハライドイオン存在下では、0' から 13-シス異性体状態 (HR') への分岐反応が顕著になり、反応サイクルは次のように記述される： $HR \xrightarrow{\text{光}} K \rightarrow L1 \rightarrow N \rightarrow N' \rightarrow 0' \rightarrow HR' \rightarrow HR$ 。ここで、HR' は、13-cis/15-syn レチナールを含み、タンパク質部分の構造が HR と似ている、とする反応中間体であり、その吸収ピークは HR のものより若干 (8nm) 低波長側にくる。HR' → HR の変換は室温で約 40ms の時定数で起こ

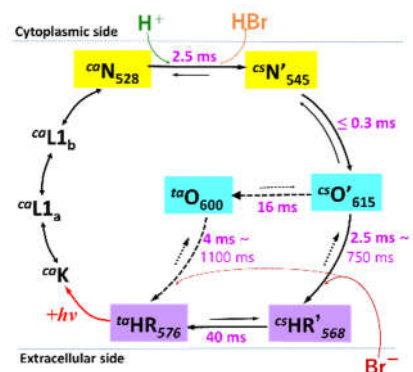


図 2. HR の光反応サイクル

るため、定常光の照射下での HR' の蓄積は顕著でない。しかし、低温 (0°C) では定常光照射下での HR' の蓄積が顕著となり、その蓄積率は 50%以上となりうる。以上の結果は、ハロゲン輸送サイクル中の 3 段階のレチナル異性化反応を強く示唆するものである。

2) ハロドプシンの 13シス型異性体 (HR') の構造解析:

HR' を高効率で捕捉するには、結晶ソーキング液中のハロゲンイオン (臭素イオン) を高濃度にする必要がある。ただ、ハロゲンイオンの濃度を 1 M 以上に高めると結晶のモザシティが増大する。試行錯誤の末、1 M の NaBr を含むソーキング液に結晶を浸したのち、-10°C で光照射し、液体プロパン (87 K) で急速凍結することで 2.3 Å 分解能の回折データを収集することができた。光非照射の結晶からの回折データと比較したところ、有意な構造上の差異は認められなかった。電子密度の差マップからは、HR 三量体全体での小さい変形 (結晶格子定数の差異に由来) は認められたものの、レチナル色素ならびにその近傍での構造変化を信頼できるレベルでは検知できなかった。この結果から、13シス型異性体 (HR') と全トランス型 (HR) との構造上の差異が非常に小さいことが示唆された。

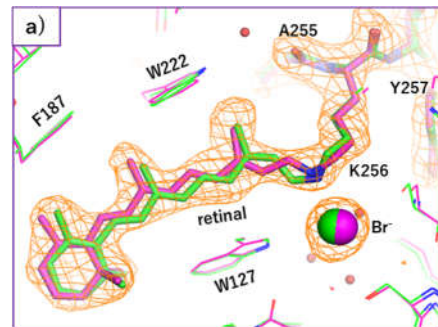


図 3. HR の 13-trans/15-anti 異性体と 13-cis・15-syn 異性体の構造

3) 陰イオン非結合状態のハロドプシンの光反応

塩素イオン非存在下でのハロドプシンは all-trans 型異性体と 13-cis 型異性体が 9:1 の割合で存在する。塩素イオン非存在下での光反応について調べた結果、赤色光照射下で 11-シス型異性体および 9-cis 異性体が形成されることが見出された。これらの異性体の形成過程を詳細に調べたところ、赤色光照射前に存在していた 13-cis 型異性体が 11-cis 型異性体に光変換され、さらに長時間光照射すると 11-cis 型異性体から 9-cis 型異性体への光変換が顕著になることが示された (図 4)。また 11-cis 型→13-cis 型異性体への変換速度

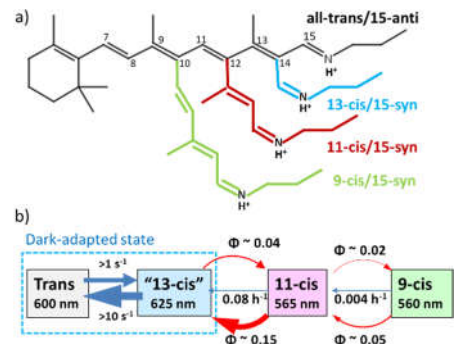


図 4. 陰イオン非結合状態の HR 中のレチナル色素の光異性化

の照射光の波長依存性を解析することで、13-cis 型異性体の分光特性 (吸収極大波長=620nm) を明らかにすることができた。この分光特性と似たものが塩素イオン存在下での光反応サイクルに現れる 0' 中間体でも認められることから、陰イオン非結合型 HR の 13-cis 型異性体と 0' とは構造類似性が高いと考えられる。

4) ハロドプシンの 11-cis 異性体の構造解析:

塩素イオン非存在下でハロドプシンの結晶に赤色光を照射し、これを急速凍結することで 11-cis 型異性体を高濃度で捕捉し、その構造を 1.7 Å 分解能で決定した。all-trans 型異性体の構造と比較すると、レチナル結合部位の構造に顕著な差異が認められるが、他のタンパク質部分の構造はほぼ同一であった (図 5)。この観測結果は、タンパク質の全体構造はかなり強い相互作用で維持されていることを示唆している。

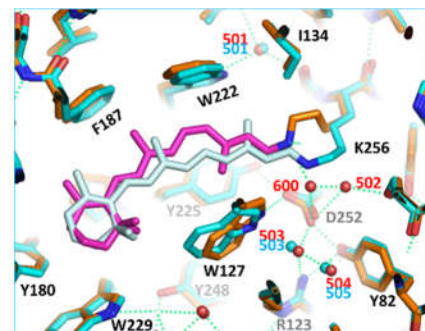


図 5. HR の 11-cis 型異性体の構造

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計29件（うち査読付論文 29件 / うち国際共著 7件 / うちオープンアクセス 18件）

1. 著者名 Kouyama Tsutomu, Ihara Kunio, Maki Kosuke, Chan Siu Kit	4. 巻 57
2. 論文標題 Three-Step Isomerization of the Retinal Chromophore during the Anion Pumping Cycle of Halorhodopsin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 6013 ~ 6026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.8b00631	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chan Siu Kit, Kawaguchi Haruki, Kubo Hiroki, Murakami Midori, Ihara Kunio, Maki Kosuke, Kouyama Tsutomu	4. 巻 55
2. 論文標題 Crystal Structure of the 11-cis Isomer of Pharaonis Halorhodopsin: Structural Constraints on Interconversions among Different Isomeric States	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 4092 ~ 4104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.6b00277	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Murakami Midori, Kouyama Tsutomu	4. 巻 2016
2. 論文標題 Crystal Structures of Two Isozymes of Citrate Synthase from <i>Sulfolobus tokodaii</i> Strain 7	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochemistry Research International	6. 最初と最後の頁 1 ~ 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2016/7560919	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Geng Shengyong, Wang Yuzhu, Wang Liping, Kouyama Tsutomu, Gotoh Toshiaki, Wada Satoshi, Wang Jin-Ye	4. 巻 7
2. 論文標題 A Light-Responsive Self-Assembly Formed by a Cationic Azobenzene Derivative and SDS as a Drug Delivery System	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 39202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep39202	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Wang Liping, Gotoh Toshiaki, Wang Yuzhu, Kouyama Tsutomu, Wang Jin-Ye	4. 巻 121
2. 論文標題 Formation of a Mimetic Biomembrane from the Hydrophobic Protein Zein and Phospholipids: Structure and Application	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry C	6. 最初と最後の頁 19999 ~ 20006
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.7b04573	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Amemiya Shun, Toyoda Hayato, Kimura Mami, Saito Hiromi, Kobayashi Hiroshi, Ihara Kunio, Kamagata Kiyoto, Kawabata Ryuji, Kato Setsu, Nakashimada Yutaka, Furuta Tadaomi, Hamamoto Shin, Uozumi Nobuyuki	4. 巻 294
2. 論文標題 The mechanosensitive channel YbdG from Escherichia coli has a role in adaptation to osmotic up-shock	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 12281 ~ 12292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.007340	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Imai Yuki, Shimasaki Takafumi, Enokimura Chihiro, Ohtsuka Hokuto, Tsubouchi Satoshi, Ihara Kunio, Aiba Hirofumi	4. 巻 84
2. 論文標題 gas1 mutation extends chronological lifespan via Pmk1 and Sty1 MAPKs in Schizosaccharomyces pombe	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 330 ~ 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1676695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano Shunji, Ikeda Muneki, Tsukada Yuki, Fei Xianfeng, Suzuki Takamasa, Niino Yusuke, Ahluwalia Rhea, Sano Ayana, Kondo Rumi, Ihara Kunio, Miyawaki Atsushi, Hashimoto Koichi, Higashiyama Tetsuya, Mori Ikue	4. 巻 117
2. 論文標題 Presynaptic MAST kinase controls opposing postsynaptic responses to convey stimulus valence in Caenorhabditis elegans	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 1638 ~ 1647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1909240117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oka H, Kojima T, Ihara K, Kobayashi T, Nakano H.	4. 巻 20
2. 論文標題 Comprehensive investigation of the gene expression system regulated by an <i>Aspergillus oryzae</i> transcription factor XlnR using integrated mining of gSELEX-Seq and microarray data.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-018-5375-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimmura T, Tamura M, Ohashi S, Sasaki A, Yamanaka T, Nakao N, Ihara K, Okamura S, Yoshimura T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Cholecystokinin induces crowing in chickens	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 3978
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-40746-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uemura Mayu, Hayashi Fumikazu, Ishioka Ken, Ihara Kunio, Yasuda Kazushi, Okazaki Kanako, Omata Junichi, Suzutani Tatsuo, Hirakawa Yoshihisa, Chiang Chifa, Aoyama Atsuko, Ohira Tetsuya	4. 巻 2018
2. 論文標題 Obesity and mental health improvement following nutritional education focusing on gut microbiota composition in Japanese women: a randomised controlled trial	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00394-018-1873-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shinjo R, Uesaka K, Ihara K, Sakazaki S, Yano K, Kondo M, Tanaka A	4. 巻 7
2. 論文標題 Draft Genome Sequence of <i>Burkholderia vietnamiensis</i> Strain RS1, a Nitrogen-Fixing Endophyte Isolated from Sweet Potato	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eCollection	6. 最初と最後の頁 e00820-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00820-18.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Aoki I, Tateyama M, Shimomura T, Ihara K, Kubo Y, Nakano S, Mori I.	4. 巻 1
2. 論文標題 SLO potassium channels antagonize premature decision making in <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-018-0124-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tomatsu C, Uesaka K, Yamakawa H, Tsuchiya T, Ihara K, Fujita Y.	4. 巻 592
2. 論文標題 In vivo transposon tagging in the nonheterocystous nitrogen-fixing cyanobacterium <i>Leptolyngbya boryana</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEBS Lett.	6. 最初と最後の頁 1634-1642
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13079	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Assadullah, Ieda N, Kawai N, Ishii H, Ihara K, Inoue N, Uenoyama Y, Tsukamura H	4. 巻 17
2. 論文標題 Co-expression of the calcitonin receptor gene in the hypothalamic kisspeptin neurons in female rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Reprod Med Biol.	6. 最初と最後の頁 164-172.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Minegishi H, Enomoto S, Echigo A, Shimane Y, Kondo Y, Inoma A, Kamekura M, Takai K, Itoh T, Ohkuma M, Ihara K, Takahashi-Ando N, Fukushima Y, Ishii S, Yoshida Y, Usami R	4. 巻 67
2. 論文標題 <i>Salinarchaeum chitinolyticum</i> sp. nov., a chitin-degrading haloarchaeon isolated from commercial salt	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Syst Evol Microbiol.	6. 最初と最後の頁 2274-2278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/ijsem.0.001941	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Furukawa R, Kunugi M, Ihara K, Takabayashi A, Tanaka A	4. 巻 5
2. 論文標題 Complete Chloroplast Genome Sequence of the Early Diverging Green Alga <i>Palmophyllum crassum</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Announc.	6. 最初と最後の頁 e01745-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.01745-16	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kurauchi T, Hashizume A, Imai Y, Hayashi K, Tsubouchi S, Ihara K, Ohtsuka H, Aiba H	4. 巻 364
2. 論文標題 Identification of a novel protein kinase that affects the chronological lifespan in fission yeast	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 FEMS Microbiol Lett.	6. 最初と最後の頁 fnw257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fnw257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Assadullah, Nahoko Ieda, Narumi Kawai, Hiroataka Ishii, Kunio Ihara, Naoko Inoue, Yoshihisa Uenoyam, Hiroko Tsukamura	4. 巻 17
2. 論文標題 Co expression of the calcitonin receptor gene in the hypothalamic kisspeptin neurons in female rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Reprod Med Biol.	6. 最初と最後の頁 164-172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1002/rmb2.12085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Furukawa R, Kunugi M, Ihara K, Takabayashi A, Tanaka A. .	4. 巻 5
2. 論文標題 Complete Chloroplast Genome Sequence of the Early Diverging Green Alga <i>Palmophyllum crassum</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Announc	6. 最初と最後の頁 e01745-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.01745-16	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurauchi T, Hashizume A, Imai Y, Hayashi K, Tsubouchi S, Ihara K, Ohtsuka H, Aiba H	4. 巻 ;364(2). pii:
2. 論文標題 Identification of a novel protein kinase that affects the chronological lifespan in fission yeast.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 FEMS Microbiol Lett.	6. 最初と最後の頁 fnw257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fnw257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirano Y, Ihara K, Masuda T, Yamamoto T, Iwata I, Takahashi A, Awata H, Nakamura N, Takakura M, Suzuki Y, Horiuchi J, Okuno H, Saitoe M.	4. 巻 7
2. 論文標題 Shifting transcriptional machinery is required for long-term memory maintenance and modification in Drosophila mushroom bodies.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Nat Commun	6. 最初と最後の頁 13471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms13471	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura S, Kikukawa T, Tamogami J, Kamiya M, Aizawa T, Hahn MW, Ihara K, Kamo N, Demura M	4. 巻 1857
2. 論文標題 Photochemical characterization of actinorhodopsin and its functional existence in the natural host.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta	6. 最初と最後の頁 1900-1908.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbabbio.2016.09.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kojima K, Keta S, Uesaka K, Kato A, Takatani N, Ihara K, Omata T, Aichi M.	4. 巻 100
2. 論文標題 A simple method for isolation and construction of markerless cyanobacterial mutants defective in acyl-acyl carrier protein synthetase	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Appl Microbiol Biotechnol	6. 最初と最後の頁 10107-10113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Y, Minegishi H, Echigo A, Shimane Y, Kamekura M, Itoh T, Ohkuma M, Tanaka A, Takahashi-Ando N, Fukushima Y, Yoshida Y, Ihara K, Usami R	4. 巻 66
2. 論文標題 Haloparvum alkalitolerans sp. nov., alkali-tolerant haloarchaeon isolated from commercial salt.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Int J Syst Evol Microbiol	6. 最初と最後の頁 5314-5319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/ijsem.0.001513	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shinjo R, Uesaka K, Ihara K, Loshakova K, Mizuno Y, Yano K, Tanaka A.	4. 巻 4
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of Kosakonia sacchari Strain B0-1, an Endophytic Diazotroph Isolated from a Sweet Potato	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Genome Announc	6. 最初と最後の頁 e00868-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.00868-16	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kojima T, Kunitake E, Ihara K, Kobayashi T, Nakano H. A Robust	4. 巻 11
2. 論文標題 Analytical Pipeline for Genome-Wide Identification of the Genes Regulated by a Transcription Factor: Combinatorial Analysis Performed Using gSELEX-Seq and RNA-Seq.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0159011
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0159011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kunugi M, Satoh S, Ihara K, Shibata K, Yamagishi Y, Kogame K, Obokata J, Takabayashi A, Tanaka A.	4. 巻 57
2. 論文標題 Evolution of Green Plants Accompanied Changes in Light-Harvesting Systems.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 1231-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcw071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Minamino T, Kinoshita M, Inoue Y, Morimoto YV, Ihara K, Koya S, Hara N, Nishioka N, Kojima S, Homma M, Namba K	4. 巻 5
2. 論文標題 FliH and FliI ensure efficient energy coupling of flagellar type III protein export in Salmonella.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Microbiologyopen	6. 最初と最後の頁 424-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mbo3.340	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 神山勉
2. 発表標題 ハロロドプシンのイオン輸送におけるレチナール異性化反応
3. 学会等名 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 神山勉、井原邦夫
2. 発表標題 アーキロドプシン - 2 の光化学反応の pH 依存性
3. 学会等名 日本生物物理学会中部支部講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神山 勉, 鈴木 健太, 成瀬 圭汰, Chan Siu Kit
2. 発表標題 Can halorhodopsin pump hydroxyl ions ?
3. 学会等名 第55回生物物理学会年会、(9月20日、熊本大学) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井原邦夫、上坂一馬、谷村要、中邨真之、越後輝敦、峯岸宏明
2. 発表標題 ゲノムシーケンスにもとづく微生物分類手法；好塩性古細菌を例として
3. 学会等名 第30回 日本Archaea研究会 (2017年 9月1日、仙台)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井原邦夫、上坂一馬
2. 発表標題 ゲノム構造変化を感度良く検出する方法：SV-Quest
3. 学会等名 第12回 日本ゲノム微生物学会 (2018年 3月14日、京都)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Kouyama, S. K. Chan, M. Murakami:
2. 発表標題 Structural constraints on retinal isomerization in microbial and animal rhodopsins
3. 学会等名 26th IUPAC on Photochem, Osaka, April 5, 2016 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 T. Kouyama
2. 発表標題 Crystallographic studies on proton-pumping rhodopsin and anion-pumping rhodopsin
3. 学会等名 the IGER international Symposium on Physics of Life. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S. K. CHAN, H. KAWAGUCHI, H. KUBO, K. IHARA, K. MAKI, T. KOUYAMA
2. 発表標題 Crystal structure of the 11-cis isomer of Pharaonis Halorhodopsin at 1.7 Å resolution
3. 学会等名 日本結晶学会平成28年度年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 T. Kouyama, H. Kubo, S. K. Chan, K. Maki:
2. 発表標題 Isomerization of the retinal chromophore during the anion pumping cycle of halorhodopsin
3. 学会等名 日本生物物理学会第53回年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 S. K. CHAN ¹ , H. Kawaguchi, H. Kubo, K. Maki, K. Ihara and T. Kouyama
2. 発表標題 Crystal Structure of the 11-cis isomer of Pharaonis halorhodopsin
3. 学会等名 日本生物物理学会第53回年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 神山勉
2. 発表標題 光駆動塩素イオンポンプ・ハロロドプシンの作動機構
3. 学会等名 生体運動班会議
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	井原 邦夫 (Ihara Kunio) (90223297)	名古屋大学・遺伝子実験施設・准教授 (13901)	