

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02387

研究課題名(和文)多核固体NMRによる光受容膜タンパク質のイオン結合・輸送機構の解明

研究課題名(英文)Structural analysis of ion-bound state and transport mechanism of microbial rhodopsin by multinuclear solid-state NMR of microbial rhodopsins

研究代表者

川村 出(Kawamura, Izuru)

横浜国立大学・大学院工学研究院・准教授

研究者番号：20452047

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：膜タンパク質は細胞の恒常性を維持する上で重要な役割を果たしている。そのうちの微生物型ロドプシンは発色団であるレチナールがプロトン化シッフ塩基結合を介して共有結合し、光吸収による異性化反応によってタンパク質が活性化する。固体核磁気共鳴(NMR)分光法を駆使して、微生物型ロドプシンにおいて、結合イオン種、水分子とのコンタクト、側鎖同士の相互作用などを含む重要な相互作用を巧妙に検出するために、 $^{13}\text{C}$ や $^{15}\text{N}$ だけでなく多核的な固体NMR観測を行い、特徴的な相互作用を明らかにした。さらに、In-situマイクロ波照射NMR法などの方法論を開発し、その有効性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膜タンパク質の反応中心における特定の水素結合や静電的な相互作用などは膜タンパク質の重要な相互作用として特徴付けられ、分子レベルでそれらの機能を理解するためのアプローチとなる。そのような相互作用に対して、構造生物化学の分野で頻りに利用される $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 核以外にも多核的な観測によって、さらに深くアプローチできることを示した。今後、微生物型ロドプシンをはじめとした多くの膜タンパク質の動的構造の解明に活用できるものと期待できる。

研究成果の概要(英文)：Membrane proteins play an important role in maintaining cell homeostasis. Among them, microbial rhodopsin is covalently bound to retinal chromophore via a protonated Schiff base, and the protein is activated by photo-isomerization. Solid-state NMR spectroscopy with multinuclear observations as well as  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  was applied to detect important interactions containing ion-bound states, contacts with water molecules, and aromatic stacking. It is found that monitoring of the alterations in NMR signals can find local structural change of microbial rhodopsin depending on pH, replacement of alkali metal ions, H/D exchange and point mutation. Furthermore, we developed a methodology such as In-situ microwave irradiation NMR method to investigate the non-thermal effects on polar group in a molecule.

研究分野：構造生物化学

キーワード：固体NMR レチナール 化学シフト イオン 多核NMR

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膜タンパク質は細胞の恒常性を維持するための生体分子であり、膜タンパク質の反応中心における特定の水素結合や静電的な相互作用などが重要な役割を担っている。そのうちのロドプシン類は光を利用して生理活性機能を発現している。微生物型ロドプシンは発色団であるレチナールがプロトン化シッフ塩基結合(protonated Schiff base; PSB)を介して共有結合し、光吸収による異性化反応によってタンパク質が活性化する。メタゲノム解析によって多くの種類のロドプシンが発見され、その機能は多様化している。光駆動型イオンポンプではナトリウムイオンポンプ型や硫酸イオン輸送型、第三のロドプシン群とされるヘリオロドプシンなどがある。その機能発現においてロドプシンの反応中心である PSB とその周辺構造やイオンの役割が注目されている。膜タンパク質の動的な構造変化や光中間体の検出において申請者はこれまで固体 NMR 分光法を駆使して取り組んできた。このような背景の元、外部変化によるタンパク質の変化を追跡するために固体 NMR 測定法の開発とロドプシンへの適用を行う必要があった。

### 2. 研究の目的

本研究では固体 NMR 分光法による細胞膜に埋め込まれた膜タンパク質ロドプシンの構造解析を従来主に使用されてきた  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  の観測核に加えて、観測核としてナトリウム  $^{23}\text{Na}$  などを組み合わせた新しい固体 NMR 法の開発と微生物型ロドプシンへの適用を行う。

### 3. 研究の方法

(1) 大腸菌発現系を用い、リコンビナントな  $^{15}\text{N}$  均一標識タンパク質として発現させた。界面活性剤に可溶化させたタンパク質について His-tag を利用したバッチ法により精製を行い、POPG/POPC もしくは EggPC リン脂質による脂質二重膜に bio-beads を用いて再構成した。このようなサンプルについて、イオン種やその濃度、pH などを変化させ、固体 NMR 測定を実施した。固体 NMR 分光計は 600 MHz もしくは 700 MHz の Bruker 製を用い、4.0 mm や 3.2 mm の MAS プローブを用いて NMR スペクトルの解析を行った。低共鳴周波数用のプローブを用いた測定も実施した。さらに、水素-重水素交換実験の場合には、重水素バッファ中で白色光による光照射を実施し、HD 交換の促進の具合を NCA スペクトルで評価した。

(2) (1)と同様の手法で、14 位と 20 位に  $^{13}\text{C}$  標識されたレチナールを組み込んだ微生物型ロドプシンの固体 NMR 試料を準備し、*In-situ* 光照射固体 NMR による測定(CMX-400 infinity)を実施した。LED 光源を用いた光照射-NMR によって光中間体の定常観測を行った。

(3) (1)と(2)とは別に、膜タンパク質の構造解析への NMR 方法論の適用を目的とし、モデルペプチドやセルロースを利用して、 $^2\text{H}$  NMR 測定による芳香環スタッキングや  $^{15}\text{N}$ - $^{13}\text{C}$  相関測定と  $^{15}\text{N}$ - $^{13}\text{C}$  精密原子間距離測定を実施した。さらに、新規開発したマイクロ波 NMR を用いて、ヘキサノ-エタノール混合溶媒における非熱的效果を解明するために、測定を実施した。

### 4. 研究成果

(1)ナトリウムイオンポンプ型ロドプシンの NMR 信号のアルカリ金属イオン依存性:

タンパク質の細胞外側界面において  $\text{Na}^+$  を結合している光駆動型  $\text{Na}^+$  ポンプロドプシン KR2 とその変異体 H30A について、100 mM  $\text{Na}^+$  や他のイオン種条件での PSB  $^{15}\text{N}$  NMR 信号の変化はこれまでに明らかにしてきた(A. Shigeta et al. PCCP, 20, 8450-8455 (2018)). ここではさらに、Arg や N 端アミノ基の  $^{15}\text{N}$  NMR 信号を追跡し、レチナール近傍に存在する Arg109 の  $\text{N}\eta$  信号の分裂ピークがアルカリ金属イオン種( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ )依存的にシフト変化することを明らかにした。 $\text{Na}^+$  結合サイト近傍の H30A 変異体においては N 端の NMR 信号の消失を確認した。これらの NMR の結果は、 $\text{Na}^+$  結合サイトから反応中心であるレチナール近傍まで長距離的な相互作用によって影響されていることがわかった。また、 $^{23}\text{Na}$  NMR によりリポソーム内外の  $\text{Na}^+$  とは区別して、KR2 に結合したと考えられる  $\text{Na}^+$  の  $^{23}\text{Na}$  信号の観測に至った。 $^{33}\text{S}$  や  $^{39}\text{K}$  NMR の観測が期待できる低共鳴周波数用の MAS プローブの設定ではバルクのイオン種の観測ができたが、結合型のイオンの測定には現時点で至っていない。また、光照射 NMR による実験では光定常状態の測定で all-trans 型から 13-cis 型の変化を観測し、O 中間体の形成と現在のところは考えている。

(2)ヘリオロドプシンの光誘起 H/D 交換測定

ヘリオロドプシンは現時点で明確な機能は理解されていないが、レチナールの光異性化をきっかけとした光反応サイクルは他のロドプシンと比べても極めて遅いことがわかっている。脂質二重膜に再構成したヘリオロドプシン TaHeR の暗条件と明条件における重水素交換 NMR 実験を行い、膜界面付近の残基に関して有意な重水素交換が認められ、光照射によってタンパク質に何らかの構造変化が引き起こされていることを示唆するものである。帰属残基数を増やし、より詳細な変化を明らかにしている。

### (3) ミドルロドプシンの PSB の $^{15}\text{N}$ 化学シフトの評価

ミドルロドプシン MR は好塩菌由来で極大吸収波長が 480 nm 付近に存在するユニークなロドプシンである。PSB の NMR 信号はロドプシンの極大吸収波長と一定の相関がある。このタンパク質の PSB  $^{15}\text{N}$  NMR 信号は予想通り、低磁場側に共鳴し、特徴的な信号を観測することに成功した。これにはいくつかの要因が考えられるが、主に PSB の対イオンとなる二つの Asp との相互作用によるものと考えられる。一方で、同じ吸収波長で all-trans 型しか持たない SRII と比較すると、この PSB の化学シフトが暗状態で複数のレチナル異性体を有する理由を完全には説明できず、さらに他の残基の信号を調査する必要がある。

### (4) マイクロ波照射下でのエタノール-ヘキサン混合溶液のマイクロ波加熱プロセス

*In-situ* マイクロ波照射 NMR における溶液の温度は、 $^1\text{H}$  化学シフトの温度依存性から求めた化学シフト校正温度から推定し、エタノールの非極性プロトンの  $\text{CH}_2$  および  $\text{CH}_3$  の化学シフト校正温度は、マイクロ波の熱的効果によって溶液のバルク温度を反映しました。エタノールの極性水酸基のプロトンは低い化学シフト校正温度となり、マイクロ波の非熱的効果によるものと示唆された。マイクロ波照射下での MD シミュレーションによって、エタノール-ヘキサン混合溶液中では、非熱的マイクロ波効果により水素結合数が増加した。これによって、極性分子のコヒーレントに秩序化された低エントロピー状態は、非熱的マイクロ波効果によって誘導されると結論づけました。秩序状態は分子間相互作用を誘発する可能性がある。

### (5) セルロースナノファイバーの固体 NMR 構造解析・自己組織化ペプチドの芳香環スタッキングの構造解析

TEMPO 触媒酸化法を利用して食品・農業廃棄物(コーヒー粕や植物の蔓)由来のセルロースナノファイバーの分離過程を固体 NMR 分光法で追跡した。高分解能スペクトルを取得し、セルロースユニットの C4 の  $^{13}\text{C}$  NMR を利用した結晶化度の算出や C6 カルボキシル基の信号より TEMPO 触媒反応の進行を確認した。

自己組織化ペプチドの代表的なモデルシステムである Phe-Phe のジペプチドは強固な超分子構造を形成する。その安定性に寄与している Phe の芳香環同士の相互作用を  $^2\text{H}$  NMR による四極子相互作用パターンから解析し、幅広い温度で芳香環のフリッピング運動が抑制され、そのパターンが変化しないことを明らかにした。

以上のような NMR 方法論が生体分子の構造解析に有用であることを示した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計34件（うち査読付論文 29件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kanai Noriko, Nishimura Kosuke, Umetani Seiryu, Saito Yosuke, Saito Haru, Oyama Toshiyuki, Kawamura Izuru	4. 巻 -
2. 論文標題 Upcycling of Waste Hop Stems into Cellulose Nanofibers: Isolation and Structural Characterization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Agricultural Science & Technology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsagscitech.1c00041	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 Naito Akira, Tasei Yugo, Mijiddorj Batsaikhan, Kawamura Izuru, Ueda Kazuyoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Microwave Heating of Liquid Crystals and Ethanol-Hexane Mixed Solution and Its Features (Review)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 IntechOpen	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5772/intechopen.97356	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 Sato Hisako, Shimizu Masaru, Watanabe Keisuke, Yoshida Jun, Kawamura Izuru, Koshoubu Jun	4. 巻 -
2. 論文標題 Vibrational Circular Dichroism System Equipped with Quantum Cascade Laser for Microscopic Scanning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.210258	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 Kashiwabara Daisuke, Kondo Keiko, Usami Ryoji, Kan Daisuke, Kawamura Izuru, Kawasaki Yuta, Sato Michio, Nittami Tadashi, Suzuki Ichiro, Katahira Masato, Takeda Minoru	4. 巻 183
2. 論文標題 Structural determination of the sheath-forming polysaccharide of Sphaerotilus montanus using thiopeptidoglycan lyase which recognizes the 1,4 linkage between -d-GalN and -d-GlcA	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Biological Macromolecules	6. 最初と最後の頁 992 ~ 1001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.001	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 Sato Hisako, Shimizu Masaru, Watanabe Keisuke, Yoshida Jun, Kawamura Izuru, Koshoubu Jun	4. 巻 93
2. 論文標題 Multidimensional Vibrational Circular Dichroism Apparatus Equipped with Quantum Cascade Laser and Its Use for Investigating Some Peptide Systems Containing d-Amino Acids	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 2742 ~ 2748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.0c02990	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 川村出	4. 巻 39
2. 論文標題 食品物理学Food Biophysicsのススメ	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 HASEGAWA LETTER 長谷川香料技術レポート	6. 最初と最後の頁 2-11
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 無
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 Keisuke Shimizu, Batsaikhan Mijiddorj, Shuhei Yoshida, Shiori Akayama, Yoshio Hamada, akifumi ohyama, Kenji Usui, Izuru Kawamura, Ryuji Kawano	4. 巻 -
2. 論文標題 De Novo Design of a Nanopore for DNA Detection Incorporating a -hairpin Peptide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ChemRxiv	6. 最初と最後の頁 -
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 無
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 Tasei Yugo, Mijiddorj Batsaikhan, Fujito Teruaki, Kawamura Izuru, Ueda Kazuyoshi, Naito Akira	4. 巻 124
2. 論文標題 Thermal and Nonthermal Microwave Effects of Ethanol and Hexane-Mixed Solution as Revealed by In Situ Microwave Irradiation Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Molecular Dynamics Simulation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 9615 ~ 9624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpccb.0c06383	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 SAKAI Takahiro, AKAGI Yumiko, SUZUKI Hisashi, IRIE Mitsuki, NAKAMURA Tetsuya, SATO Hisako, KAWAMURA Izuru	4. 巻 36
2. 論文標題 Structural Characterization of a Cyclodextrin/menthol Inclusion Complex in the Solid-state by Solid-state NMR and Vibrational Circular Dichroism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1337 ~ 1343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20P120	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 Mijiddorj Batsaikhan, Shirakata Hiroki, Nakagawa Tetsuya, Ueda Kazuyoshi, Yokoyama Yasushi, Kawamura Izuru	4. 巻 93
2. 論文標題 Stereochemical Effects on the Self-Assembly of Pyrenylalanine-Phenylalanine Dipeptide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 969 ~ 977
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20190376	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 Sato Hisako, Kawamura Izuru	4. 巻 1868
2. 論文標題 Solid-state vibrational circular dichroism studies on the conformation of an amino acid molecule in crystalline state	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics	6. 最初と最後の頁 140439 ~ 140439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbapap.2020.140439	査読の有無 無
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 Noriko Kanai, Takumi Honda, Naoki Yoshihara, Toshiyuki Oyama, Akira Naito, Kazuyoshi Ueda, Izuru Kawamura*	4. 巻 27
2. 論文標題 Structural characterization of cellulose nanofibers isolated from spent coffee grounds and their composite films with poly(vinyl alcohol): a new non-wood source	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cellulose	6. 最初と最後の頁 5017-5028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10570-020-03113-w	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 Izuru Kawamura*, Batsaikhan Mijiddorj, Yohei Kayano, Yuta Matsuo, Yumi Ozawa, Kazuyoshi Ueda, Hisako Sato	4. 巻 1868
2. 論文標題 Separation of D-amino acid-containing peptide phenylseptin using 3,3'-phenyl-1,1'-binaphthyl-18-crown-6-ether columns	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics	6. 最初と最後の頁 140429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbapap.2020.140429	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 Kazumi Haya, Yoshiteru Makino, Akie Kikuchi-Kinoshita, Izuru Kawamura, Akira Naito*	4. 巻 1862
2. 論文標題 31P and 13C solid-state NMR analysis of morphological changes of phospholipid bilayers containing glucagon during fibril formation of glucagon under neutral condition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2020.183290	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 Mayeeshia Marium, Mahfuzul Hoque, Muhammed Shah Miran, Morgan L. Thomas, Izuru Kawamura, Kazuhide Ueno, Kaoru Dokko, Masayoshi Watanabe*	4. 巻 36
2. 論文標題 Rheological and Ionic Transport Properties of Nanocomposite Electrolytes Based on Protic Ionic Liquids and Silica Nanoparticles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 148-158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.9b02848	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 Avijit Ghosh, Manabu Yoshida, Koji Suemori, Hiroaki Isago, Nagao Kobayashi, Yasuhisa Mizutani, Yuki Kurashige, Izuru Kawamura, Masami Nirei, Osamu Yamamuro, Tomohisa Takaya, Koichi Iwata, Akinori Saeki, Kazuhiko Nagura, Shinsuke Ishihara, Takashi Nakanishi*	4. 巻 10
2. 論文標題 Soft-chromophore featured liquid porphyrins and their utilization toward liquid-electret applications	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-12249-8	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 Sakai Takahiro, Seki Hayato, Yoshida Shogo, Hori Hayato, Suzuki Hisashi, Nakamura Tetsuya, Kawamura Izuru	4. 巻 25
2. 論文標題 Interaction of Clear Flavor Emulsions Containing Lemon Essential Oils with Lipid Bilayers via a Quartz Crystal Microbalance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Food Science and Technology Research	6. 最初と最後の頁 879-884
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/fstr.25.879	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 Batsaikhan Mijiddorj, Yuta Matsuo, Hisako Sato, Kazuyoshi Ueda, Izuru Kawamura*	4. 巻 9
2. 論文標題 A comparative study of interactions of antimicrobial peptides L- and D-phenylseptin with 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Science	6. 最初と最後の頁 2601
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app9132601	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 Hisako Sato, Kazuyoshi Takimoto, Izuru Kawamura, Sumio Aisawa	4. 巻 92
2. 論文標題 Application of solid-state vibrational circular dichroism for intercalation compounds of layered double hydroxide and amino acids: conformation of an intercalated phenylalanine anion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bull. Chem. Soc. J.	6. 最初と最後の頁 1779-1782
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20190161	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 Izuru Kawamura, Hisako Sato	4. 巻 580
2. 論文標題 Solid-state vibrational circular dichroism studies of L- and D-serine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 14-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2019.05.016	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 川村 出、Mijiddorj Batsaikhan、大山 暁史、佐藤 久子	4. 巻 91
2. 論文標題 両生類由来抗菌ペプチドのD-アミノ酸の機能	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 316-321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910316	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 Yumi Ozawa, Hisako Sato, Yohei Kayano, Nana Yamaki, Yu-ichiro Izato, Atsumi Miyake, Akira Naito, Izuru Kawamura	4. 巻 -
2. 論文標題 Self-assembly of tripeptides into gamma-turn nanostructures	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Phys. Chem. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9CP00233B	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 Yusuke Sekiya, Keisuke Shimizu, Yuki Kitahashi, Akifumi Oyama, Izuru Kawamura, Ryuji Kawano	4. 巻 2
2. 論文標題 Electrophysiological analysis of membrane disruption by Bombinin and its isomer using lipid bilayer system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 1542-1548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsbm.8b00835	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 Akira Naito, Yoshiteru Makino, Arisu Shigeta, Izuru Kawamura	4. 巻 11
2. 論文標題 Photoreaction pathways and photointermediates of retinal-binding photoreceptor proteins as revealed by in situ photoirradiation solid-state NMR spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 167-181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-019-00501-w	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 Kenta Ichihara, Izuru Kawamura, Kazuhisa Sakakibara, Yujirou Ikejiri, Shunichi Himori	4. 巻 -
2. 論文標題 Inhibitory regulation mechanism of naphthoquinone and its derivatives in radical polymerization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Organic Physical Chemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/poc.3941	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 川村出	4. 巻 3
2. 論文標題 口ドブシンの光中間体の構造を解明 -タンパク質のダイナミックな構造変化を捉える光照射-固体NMR技術	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 化学同人 月刊「化学」	6. 最初と最後の頁 38-41
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 無
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 Izumi Yamane, Ayano Momose, Hideki Fujita, Eri Yoshimoto, Akie Kikuchi-Kinoshita, Izuru Kawamura, Akira Naito	4. 巻 219
2. 論文標題 Fibrillation mechanism of glucagon in the presence of phospholipid bilayers as revealed by <sup>13</sup> C solid state NMR spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chem. Phys. Lipids	6. 最初と最後の頁 36-44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemphyslip.2019.01.008.	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 Noriko Kanai, Naoki Yoshihara, Izuru Kawamura	4. 巻 83
2. 論文標題 Solid-state NMR characterization of triacylglycerol and polysaccharides in coffee beans	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 803-809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1571899.	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 Suguru Ito, Genki Katada, Tomohiro Taguchi, Izuru Kawamura, Takashi Ubukata, Masatoshi Asami	4. 巻 21
2. 論文標題 Tricolor mechanochromic luminescence of an organic two-component dye: visualization of a crystalline state and two amorphous states	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 CrystEngComm	6. 最初と最後の頁 53-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8CE01698D	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 川村 出	4. 巻 11
2. 論文標題 動的核分極による超高感度固体NMRの現状	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ぶんせき (日本分析化学会)	6. 最初と最後の頁 497-498
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 Yoshiteru Makino, Izuru Kawamura, Takashi Okitsu, Akimori Wada, Naoki Kamo, Yuki Sudo, Kazuyoshi Ueda, Akira Naito	4. 巻 115
2. 論文標題 Retinal Configuration of p pR Intermediates Revealed by Photoirradiation Solid-State NMR and DFT	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 72-83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2018.05.030	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 Izuru Kawamura, Hiroki Shirakata, Yumi Ozawa, Batsaikhan Mijiddorj, Kazuyoshi Ueda	4. 巻 4
2. 論文標題 Solid-State NMR Characterization of the Structure of Self-Assembled Ile-Phe-OH	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Magnetochemistry	6. 最初と最後の頁 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/magnetochemistry4030030	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 Tomomi Shionoya, Misao Mizuno, Takashi Tsukamoto, Kento Ikeda, Hayato Seki, Keiichi Kojima, Mikio Shibata, Izuru Kawamura, Yuki Sudo, Yasuhisa Mizutani	4. 巻 122
2. 論文標題 High Thermal Stability of Oligomeric Assemblies of Thermophilic Rhodopsin in a Lipid Environment	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 6945-6953
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.8b04894	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 上田一義、内藤 晶、川村 出、Namsrai Javkhlantugs	4. 巻 79
2. 論文標題 生体膜内でのペプチドの挙動の分子動力学シミュレーション	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 酵素工学ニュース(酵素工学会)	6. 最初と最後の頁 27-30
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 無
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31件(うち招待講演 9件/うち国際学会 12件)

1. 発表者名 Izuru Kawamura
2. 発表標題 Solid-state NMR of seven-transmembrane proteins
3. 学会等名 9th (biennial) Western Sydney University & Inaugural Asian Symposium on NMR, MRI & Diffusion symposium (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Izuru Kawamura & Hisako Sato
2. 発表標題 Solid-state vibrational circular dichroism of tripeptides
3. 学会等名 Molecular Chirality 2020 (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川村出
2. 発表標題 Interaction of amphibian-derived cationic antimicrobial peptides with model membrane
3. 学会等名 Annual Meeting of Biophysical Society in Japan (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Izuru Kawamura
2. 発表標題 Solid-state NMR studies of seven-transmembrane ion-pumping rhodopsin and self-assembled peptide
3. 学会等名 BCEIA2019 (Beijing, China) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川村 出
2. 発表標題 固体NMRを用いた膜タンパク質ロドプシンの細胞膜中における構造解析
3. 学会等名 ISSP WS レチナルタンパク質国際会議ワークショップ, 東京大学 物性研 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川村 出
2. 発表標題 固体NMRによる微生物型ロドプシンの立体構造解析
3. 学会等名 北海道大学 大学院生命科学研究院 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Izuru Kawamura
2. 発表標題 Solid-state NMR study of seven-transmembrane microbial rhodopsins
3. 学会等名 The 1st Asian-European International Exchange Symposium in Solid State NMR, RIKEN Yokohama (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水 啓佑, 坂下 峻吾, 浜田 芳男, 臼井 健二, Mijiddorj Batsaikhan, 川村 出, 川野 竜司
2. 発表標題 脂質膜中にナノポアを構築する シートペプチドのDe novo配列設計
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会, 宮崎
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大山 暁史, Batsaikhan Mijiddorj, 上田 一義, 内藤 晶, 川村 出
2. 発表標題 カチオン性抗菌ペプチドHymenochirin-1Paおよび変異体D9Kの細菌膜結合構造と膜選択性の解析
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会, 宮崎
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子 莉奈, 重田 安里寿, 長島 敏雄, 山崎 俊夫, 井上 圭一, 神取 秀樹, 川村 出
2. 発表標題 固体NMRによるKR2のレチナル結合ポケットとNa <sup>+</sup> 結合サイト間の水素結合ネットワークの構造解析
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会, 宮崎
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 しぶき, 長島 敏雄, 金子 莉奈, 沖津 貴志, 和田 昭盛, 小林 直宏, 山崎 俊夫, 吉住 玲, 井上 圭一, 神取 秀樹, 川村 出
2. 発表標題 多次元固体NMRによる細胞膜中のヘリオロドプシンの構造解析
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会, 宮崎
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Izuru Kawamura, Batsaikhan Mijiddorj, Hisako Sato, Yuta Matsuo, Akira Naito, Kazuyoshi Ueda
2. 発表標題 A comparative study of membrane-bound structure of antimicrobial peptides L- and D-phenylseptin
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会, 宮崎
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 しぶき, 長島 敏雄, 金子 莉奈, 沖津 貴志, 和田 昭盛, 小林 直宏, 山崎 俊夫, 吉住 玲, 井上 圭一, 神取 秀樹, 川村 出
2. 発表標題 多次元固体NMRによるヘリオロドプシンの構造解析
3. 学会等名 第58回NMR討論会, 川崎
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子 莉奈, 重田 安里寿, 長島 敏雄, 山崎 俊夫, 井上 圭一, 神取 秀樹, 川村 出
2. 発表標題 多次元固体MAS NMRによる光駆動型Na <sup>+</sup> ポンプロドプシンKR2の構造解析
3. 学会等名 第58回NMR討論会, 川崎
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川村出
2. 発表標題 固体NMRを用いた粉末試料の構造解析
3. 学会等名 日本セラミックス協会 第31回秋季シンポジウム 「先進セラミックス開発のための粉体プロセス最前線」, 名古屋工業大学 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川村出
2. 発表標題 両生類由来の抗菌ペプチドに含まれるDアミノ酸残基の役割の解明
3. 学会等名 第14回Dアミノ酸学会学術講演会, 富山大学 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rina Kaneko, Arisu Shigeta, Toshio Nagashima, Toshio Yamazaki, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Izuru Kawamura
2. 発表標題 Multi-dimensional solid-state NMR of KR2 structure
3. 学会等名 The 18th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2018), Toronto, Sep. 23-29, 2018 (Poster) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Izuru Kawamura, Arisu Shigeta, Shota Ito, Rina Kaneko, Sahoko Tomida, Keiichi Inoue, Hideki Kandori
2. 発表標題 Structural changes in retinal-binding site of sodium ion pumping rhodopsin KR2 induced by His30 and Na <sup>+</sup> binding site at the extracellular side
3. 学会等名 The 18th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2018), Toronto, Sep. 23-29, 2018 (Oral) (国際学会)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名	Yumi Ozawa, Hisako Sato, Nana Yamaki, Yuichiro Izaou, Atsumi Miyake, Akira Naito, Izuru Kawamura
2. 発表標題	Stereochemistry-dependent nanostructure of phenylalanine-based tripeptide self-assembly
3. 学会等名	Asian Pacific Prion Symposium 2018 (APPS2018), Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute, Japan, Oct. 4-5, 2018. (Poster) (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	Yumi Ozawa, Hisako Sato, Akira Naito, Izuru Kawamura
2. 発表標題	Controlling the self-assembly of tri-peptide with d-amino acid and probing the nano-structural difference
3. 学会等名	Applied Nanotechnology and Nanoscience International Conference (ANNIC 2018), Berlin, Oct. 22-24, 2018. (Oral) (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	Noriko Kanai, Naoki Yoshihara, Kazuyoshi Ueda, Izuru Kawamura
2. 発表標題	Structural characterization of Cellulose Nanofibers Prepared from Spent Coffee Grounds
3. 学会等名	Applied Nanotechnology and Nanoscience International Conference (ANNIC 2018), Berlin, Oct. 22-24, 2018. (Oral) (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	Yumi Ozawa, Hisako Sato, Nana Yamaki, Yuichiro Izaou, Atsumi Miyake, Akira Naito, Izuru Kawamura
2. 発表標題	Controlling the self-assembly of tri-peptide with d-amino acid and probing the nano-structural difference
3. 学会等名	ISEAN 2018, Australia, Oct. 29-Nov. 2, 2018. (Poster) (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名 Akifumi Oyama, Batsaikhan Mijiddorj, Kazuyoshi Ueda, Izuru Kawamura
2. 発表標題 Membrane-bound structure and membrane selectivity of cationic antimicrobial peptide Hymenochirin-1Pa as studied by circular dichroism, solid-state NMR and molecular dynamics simulation
3. 学会等名 The 10th International Peptide Symposium, ROHM theater, Kyoto, Dec. 3-7, 2018. (Poster) JPS Excellent Poster Presentation Award受賞 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Batsaikhan Mijiddorj, Shiho Kaneda, Hisako Sato, Yuta Matsuo, Namsrai Javkhlantugs, Akira Naito, Kazuyoshi Ueda Izuru Kawamura
2. 発表標題 Membrane interactions of a D-amino acid containing antimicrobial peptides as revealed by experimental and theoretical methods
3. 学会等名 The 10th International Peptide Symposium, ROHM theater, Kyoto, Dec. 3-7, 2018. (Poster) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金井典子, 吉原直希, 川村 出
2. 発表標題 多核固体NMRによるコーヒー豆細胞壁の構造解析
3. 学会等名 18-1 NMR研究会, 理化学研究所・横浜キャンパス 交流棟1F, 2018年5月9日 (Poster)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金井典子, 吉原直希, 上田一義, 川村 出
2. 発表標題 コーヒー豆由来セルロースの固体NMR構造解析
3. 学会等名 セルロース学会 第25回年次大会, 京都大学 宇治キャンパス, 2018年7月5-6日 (Poster) 優秀ポスター賞受賞
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 白方宏樹, 中川哲也, 横山 泰, 川村 出
2. 発表標題 ピレン側鎖を導入したジペプチドの自己組織化と蛍光特性
3. 学会等名 光化学討論会, 関西学院大学, 2018年9月5-7日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rina Kaneko, Arisu Shigeta, Toshio Nagashima, Toshio Yamazaki, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Izuru Kawamura
2. 発表標題 The effects of different alkali metal ions on KR2 structure revealed by multi-dimensional solid-state NMR
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会, 岡山大学, 2018年9月15-17日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Izuru Kawamura, Arisu Shigeta, Shota Ito, Rina Kaneko, Sahoko Tomida Keiichi Inoue, Hideki Kandori
2. 発表標題 Structural changes in retinal-binding site of the Krokobacter rhodopsin 2 mutant H30A
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会, 岡山大学, 2018年9月15-17日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金子莉奈, 重田安里寿, 長島敏雄, 山崎俊夫, 井上圭一, 神取秀樹, 川村出
2. 発表標題 固体MAS NMRによる光駆動型ナトリウムイオンポンプロドプシンKR2のアルカリ金属イオン依存的な構造変化の解析
3. 学会等名 第57回NMR討論会, 札幌コンベンションセンター, 2018年9月18-20日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川村 出, 白方宏樹, 尾澤夢実, 佐藤久子、Batsaikhan Mijiddorj, 上田一義, 内藤晶
2. 発表標題 固体NMRによる自己組織化ペプチドの構造解析
3. 学会等名 第57回NMR討論会, 札幌コンベンションセンター, 2018年9月18-20日
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 川村 出	4. 発行年 2020年
2. 出版社 NTS出版	5. 総ページ数 537
3. 書名 膜タンパク質工学ハンドブック 第1編第2章第10節を担当	

1. 著者名 Arisu Shigeta, Izuru Kawamura*	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Royal Society of Chemistry	5. 総ページ数 565
3. 書名 NMR Methods for Characterization of Synthetic and Natural Polymers / Chap. 19の執筆を担当	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>横浜国立大学 研究者総覧  <a href="https://er-web.ynu.ac.jp/html/KAWAMURA_Izuru/ja.html">https://er-web.ynu.ac.jp/html/KAWAMURA_Izuru/ja.html</a></p>
--

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
研究協力者	内藤 晶  (Naito Akira)		
研究協力者	神取 秀樹  (Kandori Hideki)		
研究協力者	井上 圭一  (Inoue Keiichi)		
研究協力者	須藤 雄気  (Sudo Yuki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関