

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：12701
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2012～2014
 課題番号：24570127
 研究課題名(和文) 光照射固体NMRを駆使したレチナル異性化と光受容膜タンパク質の構造変化の解明

 研究課題名(英文) Conformational change of photoreceptor membrane protein using by in-situ photo-irradiated solid-state NMR

 研究代表者
 川村 出(Kawamura, Izuru)

 横浜国立大学・工学(系)研究科(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) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々がこれまでに開発したIn-situ光照射-固体NMRシステムを改良し、複数の波長の光を容易に切り替えることができる工夫を施した。これを用いて、レチナル光異性化反応を制御し、Salinibacter ruber由来のセンサーロドプシンIの正および負の走光性を司るM中間体とP中間体の観測に成功した。センサーロドプシンIに特有の光中間体であるP中間体は基底状態が光励起され、その光反応の途中に存在するM中間体が紫外光を吸収することによって、2光子反応的に生成すると考えられていたが、我々のNMRのデータから基底状態に青色光を当てるとP中間体が直接産生するユニークな結果が得られた。

研究成果の概要(英文)：In-situ photo-irradiated solid-state NMR system: An optical fiber is guided from the outside of the magnet and illumination the light to the top of the spinner. The light (365, 520 or 595 nm) is penetrated from the top part of the rotor into the sample tube without any contact, so that the rapid magic angle spinning was successfully established. Using this NMR apparatus, we could efficiently irradiate light to photoreceptor membrane protein samples. We firstly observed ^{13}C NMR signals of retinal in M (positive phototaxis) and P (negative phototaxis) photo-intermediates of SRI from Salinibacter ruber. Interestingly, we also record that ground-state directly transformed itself into P-intermediate when ground-state absorbed blue light without green light irradiation to accumulate M intermediate. Our NMR results provide insights into the color-discriminating retinal-configurations in SrSRI.

研究分野：構造生物化学

キーワード：固体NMR レチナル In-situ光照射 センサーロドプシンI 膜タンパク質 バクテリオロドプシン

1. 研究開始当初の背景

これまでに研究代表者が開発してきた In-situ 光照射-固体 NMR 法はマジック角回転の下で、試料に対して緑色光を励起することができるため、高分解能な光励起 NMR スペクトルを観測することができる。これを用いることで、レチナルの光異性化反応によって機能するロドプシタンパク質の活性構造を調べることができると考えた。

2. 研究の目的

これまでに光照射固体 NMR を用いてフォボロドプシンの光中間体を捕捉することに成功してきた。本研究では生成する光中間体をコントロールするために、光照射-固体 NMR にいくつかの波長の光を照射できるような装置改良を行う。このような In-situ 光照射-固体 NMR 法を駆使して、レチナルを発色団とする光受容膜タンパク質ロドプシンのレチナル光異性化をはじめとする光活性構造を明らかにすることが目的である。本研究では、特に、光駆動型プロトンポンプ機能をもつバクテリオロドプシン、正および負の走光性機能をもつセンサリーロドプシン I に適用した。

3. 研究の方法

(1) In-situ 光照射固体 NMR の改良: 波長 365 nm および 595 nm の LED 光源の導入

In-situ 光照射-固体 NMR システムは横浜国立大学に設置してある CMX-400 Infinity NMR 分光器を用いた。これまでは緑色光(520 nm)のみを用いることが可能であった。新たに 2 波長の光源を追加し、ケーブルの切り替えによって、容易に励起波長を変化させることができる改良を施した。これによって、微生物型のロドプシンで考えると、シッフ塩基が脱プロトン化した M 中間体の励起に青色光を使用することができる。595 nm の光は基底状態の励起に使用することができる(図 1)。

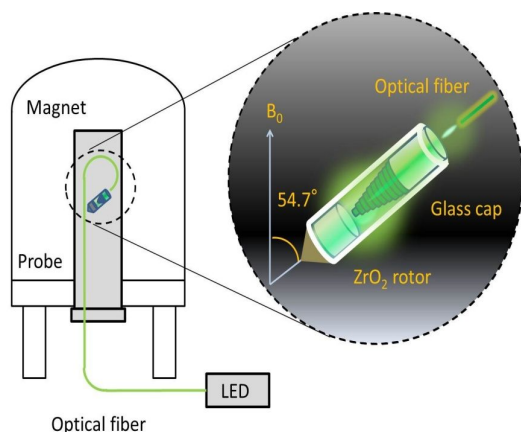


図 1. In-situ 光照射-固体 MAS NMR システムの概略図: LED は 365, 520, 595 nm の波長の切り替えは可能。

(2) ^{14}C , $^{20-^{13}\text{C}}$ および ^{15}C , $^{20-^{13}\text{C}}$ 安定同位体標識レチナルを導入したタンパク質の調製

Salinibacter ruber 由来のセンサリーロドプシン I (SrSRI) は大腸菌による発現過程で、 ^{15}C , $^{20-^{13}\text{C}}$ レチナルを加え、精製後、PG 膜に再構成し、NMR 測定試料とした。

バクテリオロドプシンはレチナル欠損株 E1001 を用いて、オプシン発現過程で ^{13}C レチナルを導入し、紫膜の状態での NMR 測定を行った。Y185F 変異体に関しては、タンパク質からフォトブリーチによって、レチナルオキシムとして取り除き、その後 ^{13}C 標識レチナルを導入した。

(3) 固体高磁場 NMR によるアナベナセンサリーロドプシン (ASR) の構造解析

申請者は留学先でアナベナセンサリーロドプシンの構造決定の研究に携わってきた。均一または疎らな ^{13}C , ^{15}N 標識 ASR を大腸菌によって大量発現させ、固体高磁場 NMR (800 MHz) による構造解析の実験を行った。

4. 研究成果

(1) センサリーロドプシン I の M および P 光中間体の捕捉

センサリーロドプシン I はフォトサイクル反応によって形成される M 中間体は細菌の誘因応答に関わり、P 中間体は忌避応答に関与する。これまでに P 中間体は M 中間体が紫外光を吸収することによって、生成されると考えられてきたが、*Salinibacter ruber* 由来のセンサリーロドプシン I の大量発現系が確立されて間もないことから、光反応の分子レベルでの詳細な情報はわかっていない。

3 波長の光を使用することができる In-situ 光照射-固体 NMR を用いて、M および P 中間体の捕捉とその時のレチナル配座について、レチナルの 20 番目のメチル炭素の NMR 信号をモニタリングして評価した。まず基底状態に緑色光を照射すると、M 中間体と考えられる信号が 19.8 ppm に現れた。これは我々が過去に行ったフォボロドプシンの M 中間体の蓄積による NMR スペクトルの変化と類似する。M 中間体が蓄積した状態で光源を 365 nm の青色光に切り替えた。そうしたところ、M 中間体の NMR 信号が消失し、P 中間体の信号が新たに 24.8 ppm に現れた。興味深いことに P 中間体は M 中間体と同様に 13-cis 型の配座を取っていることが示唆されたが、特に 5 ppm の差があるため、P 中間体のレチナルは大きくねじれていると考えている。加えて、基底状態に直接青色光を当てると M 中間体は現れず、P 中間体の信号が現れた。これは SrSRI の基底状態が青色光で励起されることを示しており、2 光子反応ではなく、青色光のみで忌避応答を示すことを明らかにした。また、P 中間体の信号は青色光では信号強度は変化しなかったため、レチナルのシッフ塩基はプロトン化していることがわかった(図 2) (H. Yomoda et al. (2014) *Angew. Chem. Int. Ed.* 53 6960.)。また、

この論文は世界の分光学情報を扱う spectroscopyNOW.com (Wiley 社) に Journal Highlight として紹介された。

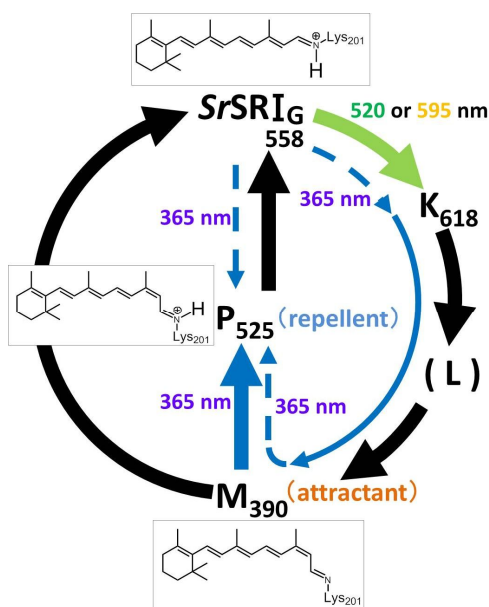


図2 *In-situ* 光照射固体 NMR によって明らかにした SrSRI の M 中間体と P 中間体のレチナル配座とフォトサイクル

(2) *In-situ* 光照射-固体 NMR によるバクテリオロドプシン Y185F 変異体の光中間体の観測

我々の研究室では、これまでに野生型の bR において暗順応状態で共存する all-trans 型と 13-cis, 15-syn 型のうち、13-cis, 15-syn 型に注目し、*In-situ* 光照射固体 NMR によって、13-cis, 15-syn 型由来の中間体の信号を検出しているが、all-trans 型から生成される N 中間体と類似の $^{20-13}\text{C}$ NMR 信号の化学シフト値を示すため、分離が困難であった。バクテリオロドプシンのレチナル近傍に存在する Tyr185 を Phe に置換した Y185F 変異体は、O 中間体の寿命が長い。また、暗順応状態で共存する all-trans 型と 13-cis, 15-syn 型レチナルの割合が 1:4 であり、wild-type と比べて 13-cis 型の割合が多いため、13-cis, 15-syn 型由来の光中間体の捕捉が可能であると考えた。そこで、十分に暗所においた Y185F に対して *In-situ* 光照射-固体 NMR の実験を行ったところ、O 中間体の他に N 中間体が存在したが、レチナルの 20 番目のメチル炭素、14 位と 15 位の炭素の信号変化と利用する光の波長を変化させることで、NMR 測定中に 13-cis, 15-syn 型由来の光中間体(CS*)を観測することに成功した(K. Oshima et al. (2015) submitted)。13-cis, 15-syn 型の光中間体を検出することは一般に難しいが、今回の結果からさらにタンパク質側の構造変化を調べることが期待できる。

(3) 固体高磁場 NMR を用いたアナペナセンサリーロドプシン(ASR)の三量体構造の決定

DMPC/DMPA 脂質二重膜に埋め込んだ ^{13}C , ^{15}N 標識 ASR について 800 MHz 固体分光器で構造解析を行った。2 次元および 3 次元 NMR によって分解能を高めて、アミノ酸配列情報に沿って、各アミノ酸残基の化学シフト値の帰属を済ませた。これによって、分子内と分子間の相関を区別することができ、さらに常磁性タグの実験によって多くの距離情報を獲得した。また、化学シフト値の情報は二面角情報を与えるため、TALOS+を用いて二面角情報についても獲得した。これらを構造制約条件として、ASR の細胞膜中での三量体構造を明らかにした(S. Wang et al. (2013) Nature Methods 10 1007.)。決定した構造は Protein Data Bank に PDB code: 2M3G として登録した。固体 NMR だけを用いて、ロドプシタンパク質の構造を決定した最初の例となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

Y. Tasei, F. Tanigawa, I. Kawamura, T. Fujito, M. Sato, A. Naito. "The microwave heating mechanism of N-(4-methoxybenzylidene)-4-butylaniline in liquid crystalline and isotropic phases as determined by in situ microwave irradiation NMR spectroscopy." *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 9082-9089, (2015).

Y. Tasei, T. Yamakami, I. Kawamura, T. Fujito, K. Ushida, M. Sato, A. Naito. "Mechanism for microwave heating of 1-(4'-cyanophenyl)-4-propylcyclohexanecharacterized by in situ microwave irradiation NMR spectroscopy." *J. Magn. Reson.* 254 27-34, (2015).

A. Kira, N. Javkhlantugs, T. Miyamori, Y. Sasaki, M. Eguchi, I. Kawamura, K. Ueda, A. Naito. "Interaction of extracellular loop II of kappa-opioid receptor (196-228) with opioid peptide dynorphin in membrane environments as revealed by solid state nuclear magnetic resonance, quartz crystal microbalance and molecular dynamics simulation." *J. Phys. Chem. B* 118 (32) 9604-9612, (2014).

H. Yomoda, Y. Makino, Y. Tomonaga, T. Hidaka, I. Kawamura*, T. Okitsu, A. Wada, Y. Sudo*, A. Naito.* "Color Discriminating Retinal Configurations of Sensory Rhodopsin I by Photo-Irradiation Solid State NMR Spectroscopy." *Angew. Chem. Int. Ed.* 53 (27) 6960-6964, (2014).

川村 出 "固体 NMR による膜タンパク質の構造と機能の解析について-最近の展開-" 酵素工学ニュース (酵素工学会)、71 号 pp.8-11, (2014).

S. Wang, R.A. Munro, L. Shi, I. Kawamura, T.

Okitsu, A. Wada, S.Y. Kim, K.H. Jung, L.S. Brown*, V. Ladizhansky*. "Solid-State NMR Structure of a Lipid-Embedded Heptahelical Membrane Protein Trimer." *Nature Methods* 10 (10) 1007-1012, (2013).

H. Itoh-Watanabe, M. Kamihira-Ishijima, **I. Kawamura**, M. Kondoh, M. Nakakoshi, M. Sato, A. Naito.* "Characterization of the spherical intermediates and fibril formation of hCT in HEPES solution using solid-state ¹³C NMR and transmission electron microscopy." *Phys. Chem. Chem. Phys.* 15 (39) 16956-16964, (2013).

S. Inagaki*, **I. Kawamura**, Y. Sasaki, K. Yoshida, Y. Kubota, A. Naito. "Drastic Signal Enhancement in ²⁹Si MAS NMR of Zeolites and Mesoporous Silica Materials by Paramagnetic Doping of Cu²⁺." *Phys. Chem. Chem. Phys.* 15 (32) 13523-13531, (2013).

M. Fukagawa, **I. Kawamura**, T. Ubukata, Y. Yokoyama*. "Enantioselective Photochromism of Diarylethenes in Human Serum Albumin." *Chem. Eur. J.* 19(29) 9434-9437, (2013). (Front Cover Article)

H. Yoshitake*, T. Koizumi, **I. Kawamura**, A. Naito. "Grafting of paired 3-aminopropyl-trialkoxysilanes onto mesoporous silica and adsorptions of isomers of benzenedialdehydes." *Phys. Chem. Chem. Phys.* 15 (11) 3946-3954, (2013).

川村出*、内藤 晶
"動的核分極 DNP による超高感度固体 NMR 法の生体分子への展開" 分光研究 61 (2) 46-47, (2012).

K. Sato, T. Wakihara*, S. Kohara, K. Ohara, J. Tatami, A. Endo, S. Inagaki, **I. Kawamura**, A. Naito, Y. Kubota. "Characterization of Amorphized Zeolite A by a Combination of High-Energy X-ray Diffraction Technique and High-Resolution Transmission Electron Microscopy." *J. Phys. Chem. C.* 116 (48) 25293-25299, (2012).

A. Tsutsumi, N. Javkhlantugs, A. Kira, M. Umeyama, **I. Kawamura**, K. Nishimura, K. Ueda, A. Naito*. "Structure and orientation of bovine lactoferrampin in the mimetic bacterial membrane as revealed by Solid-state NMR and molecular dynamics simulation." *Biophys. J.* 103 (8) 1735-1743, (2012).

I. Kawamura*, S. Yamaguchi, H. Nishikawa, K. Tajima, M. Horigome, S. Tuzi, H. Saito, A. Naito. "Change in Local Dynamics of Bacteriorhodopsin with Retinal Isomerization under Pressure as Studied by Fast Magic Angle Spinning NMR." *Polymer J.* 44 (8) 863-867, (2012).

[学会発表] (計 42 件)

1. **川村出** "In-situ 光照射-固体 NMR を駆使したレチナルの光異性化と光中間体の捕捉" (口頭発表) 新学術領域研究 柔らかな分子系 第 8 回ワークショップ 「やわらか光受

容分子の理解と利用に迫るブレインストーミング研究会」, 2015 年 1 月 24-25 日、岡山 いこいの村

2. **川村出** "固体 NMR による光受容膜タンパク質ロドプシンの構造研究の新展開" (口頭発表) 生命分子ダイナミクスの探求を目指す次世代 NMR 研究会, 2015 年 1 月 13 日、岡崎 統合バイオセンター

3. **川村出**, S. Wang, L. Shi, L.S. Brown, V. Ladizhansky "固体高分解能 NMR による細胞膜中での 7 回膜貫通型-光受容膜タンパク質 ASR の立体構造解析" (ポスター発表) 第 36 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2014 年 11 月 20-21 日、徳島大学蔵本キャンパス

4. **川村出**、中谷聡志、槇野義輝、加茂直樹、内藤晶 "固体 MAS NMR による細胞膜環境中での 7 本膜貫通型光受容膜タンパク質の構造解析" (口頭) 第 53 回 NMR 討論会, 2014 年 11 月 4-6 日、大阪大学コンベンションセンター

5. 槇野義輝、四方田洋紀、友永雄也、日高徹朗、**川村出**、沖津貴志、和田昭盛、須藤雄気、内藤晶 "In situ 光照射固体 NMR による光受容センサー膜タンパク質 sensory rhodopsinI の波長依存的な光反応過程の解析" 第 53 回 NMR 討論会, 2014 年 11 月 4-6 日、大阪大学コンベンションセンター (若手ポスター受賞)

6. **川村出**、西川亮汰、中谷聡志、沖津貴志、和田昭盛、須藤雄気、加茂直樹、内藤晶 "固体高分解能 NMR による光受容膜タンパク質フォロドプシンの信号伝達に重要な Tyr 残基の構造解析" (ポスター発表) 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15-18 日、国立京都国際会館

7. 槇野義輝、四方田洋紀、友永雄也、日高徹朗、**川村出**、沖津貴志、和田昭盛、内藤晶 "In situ 光照射固体 NMR による光センサータンパク質 SrSRI のレチナル光異性化とフォトサイクルの解明" (ポスター発表) 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15-18 日、国立京都国際会館

8. **I. Kawamura**, S. Nakatani, R. Nishikawa, N. Kamo, A. Naito. "Conformation and dynamics of pharaonis phoborhodopsin in the lipid environment as studied by solid state MAS NMR. (Poster) The 16th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2014), 2014 年 10 月 5-10 日, Nagahama, Shiga, Japan.

9. K. Oshima, A. Shigeta, Y. Makino, **I. Kawamura**, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, A. Naito. "Analysis of O-intermediate trapped in the photocycle of Y185F mutant in bacteriorhodopsin by in-situ photo irradiation solid-state NMR" (Poster) The 16th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2014), 2014 年 10 月 5-10 日, Nagahama, Shiga, Japan.

10. R. Nishikawa, **I. Kawamura**, T. Okitsu, A. Wada, Y. Sudo, N. Kamo, A. Naito "Functional conformation of Tyr residues in pharronis

phoborhodopsin as studied by solid-state ^{13}C NMR.(Poster)The 16th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2014), 2014年10月5-10日, Nagahama, Shiga, Japan.

11. Y. Makino, H. Yomoda, Y. Tomonaga, T. Hidaka, **I. Kawamura**, T. Okitsu, A. Wada, Y. Sudo, A. Naito. "Retinal configuration changes of sensory rhodopsin I as revealed by in situ photo-irradiation solid-state NMR" (Poster)The 16th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2014), 2014年10月5-10日, Nagahama, Shiga, Japan.

12. R. Nishikawa, **I. Kawamura**, T. Okitsu, A. Wada, Y. Sudo, N. Kamo, A. Naito. "Conformation of functionally important Tyr residues in pharaonis phoborhodopsin as studied by solid state ^{13}C NMR" (ポスター発表), 第52回日本生物物理学会年会, 2014年9月25-27日, 札幌コンベンションセンター

13. A. Shigeta, R. Miyasa, M. Horigome, **I. Kawamura**, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, A. Naito. "Structural changes in the photoexcited process in retinal of bacteriorhodopsin studied by in-situ photoirradiation solid-state NMR" (ポスター発表), 第52回日本生物物理学会年会, 2014年9月25-27日, 札幌コンベンションセンター

14. K. Oshima, A. Shigeta, Y. Makino, **I. Kawamura**, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, A. Naito. Characterization of O-like intermediate trapped in Y185F mutant in bacteriorhodopsin by in-situ photo-irradiation solid-state NMR. (ポスター発表), 第52回日本生物物理学会年会, 2014年9月25-27日, 札幌コンベンションセンター

15. **I. Kawamura**, S. Nakatani, Y. Makino, N. Kamo, A. Naito. Conformation and topology of pharaonis phoborhodopsin in the lipid environment as studied by solid state NMR (ポスター発表), 第52回日本生物物理学会年会, 2014年9月25-27日, 札幌コンベンションセンター

16. Y. Makino, H. Yomoda, Y. Tomonaga, T. Hidaka, **I. Kawamura**, T. Okitsu, A. Wada, Y. Sudo, A. Naito. "Photocycle of sensory rhodopsin I as revealed by in situ photo irradiation solid-state NMR" (ポスター発表), 第52回日本生物物理学会年会, 2014年9月25-27日, 札幌コンベンションセンター

17. Y. Kitahashi, **I. Kawamura**, A. Naito "Synergistic antimicrobial effects and membrane disturbance induced by bombinin H2 and H4 peptides from frog skin secretion" (Best Poster Award 受賞), The 2nd International Conference of D-Amino Acid Research (IDAR2014), 2014年9月2-5日, Tochigi Prefectural Culture Center, Utsunomiya, Japan.

18. **I. Kawamura**, N. Javkhlantugs, N. Altannavach, Y. Kitahashi, K. Ueda, A. Naito. "Membrane binding structure of antimicrobial

peptide bombinin H2 and H4 studied by solid-state NMR and MD simulations" The 2nd International Conference of D-Amino Acid Research (IDAR2014), 2014年9月2-5日, Tochigi Prefectural Culture Center, Utsunomiya, Japan.

19. 榎野義輝、友永雄也、柴藤祐介、日高徹郎、**川村 出**、沖津貴志、和田昭盛、須藤雄気、加茂直樹、内藤晶 "in situ 光照射固体 NMR による ppR/pHtrII 複合体の光反応中間体の定常状態観測" (ポスター発表), 第14回日本蛋白質科学会年会, 2014年6月25-27日, ワークピア横浜/産貿ホール マリネリア, 横浜

20. 北橋由貴、**川村 出**、内藤晶 "Bombina variegata 由来の抗菌ペプチド Bombinin H2 および H4 の脂質二重膜との相互作用の解析" (ポスター発表), 第14回日本蛋白質科学会年会, 2014年6月25-27日, ワークピア横浜/産貿ホール マリネリア, 横浜

21. 豊田修平、Ganchimeg Lkhamsuren, Javkhlantugs Namsrai, 渡邊ひかり、**川村出**、上田一義、内藤晶 "固体 NMR によるヒトカルシトニンのアミロイド線維立体構造解析" (ポスター受賞), 第14回日本蛋白質科学会年会, 2014年6月25-27日, ワークピア横浜/産貿ホール マリネリア, 横浜

22. 西川亮汰、**川村 出**、沖津貴志、和田昭盛、須藤雄気、加茂直樹、内藤晶 " ^{13}C スピン拡散 2D NMR 法によるフォボロドプシンのレチナル-タンパク質間相互作用の解析" (ポスター受賞), 第14回日本蛋白質科学会年会, 2014年6月25-27日, ワークピア横浜/産貿ホール マリネリア, 横浜

23. 重田安里寿、宮佐亮太、堀籠美也子、**川村 出**、沖津貴志、和田昭盛、辻暁、内藤晶 "光照射固体 NMR によるバクテリオロドプシンの光励起過程と極構造変化の解析" (ポスター発表), 第14回日本蛋白質科学会年会, 2014年6月25-27日, ワークピア横浜/産貿ホール マリネリア, 横浜

24. 大島恭介、重田安里寿、榎野義輝、**川村 出**、沖津貴志、和田昭盛、辻暁、内藤晶 "In-situ 光照射固体 NMR によるバクテリオロドプシン Y185F 変異体の光サイクルと O 様中間体の観測" (ポスター発表), 第14回日本蛋白質科学会年会, 2014年6月25-27日, ワークピア横浜/産貿ホール マリネリア, 横浜

25. **川村出**、古里龍太郎、沖津貴志、和田昭盛、加茂直樹、内藤晶 "光照射固体 NMR によるフォボロドプシンの C 末端領域の運動性変化の解析" (ポスター発表), 第14回日本蛋白質科学会年会, 2014年6月25-27日, ワークピア横浜/産貿ホール マリネリア, 横浜

26. **川村 出** "固体高分解能 NMR による細胞膜中での7本膜貫通型光受容膜タンパク質の構造決定 (口頭発表) 平成26年度日本生化学会関東支部例会, 2014年6月14日, 茨城大学理学部インタビュースタジオ

27. 北橋由貴、**川村出**、内藤晶 "Bombina Variegata 由来の抗菌ペプチド Bombinin H2 及

び H4 の相乗的な抗菌活性及び脂質二分子膜との相互作用の解析 (ポスター発表) H26 年度 日本生化学会関東支部例会、2014 年 6 月 14 日、茨城大学理学部インタビュースタジオ

28. **川村 出** “固体 NMR による細胞膜中で機能する膜タンパク質の構造解析” (招待講演) 第 55 回 固体 NMR 材料フォーラム、2014 年 5 月 15-16 日、防衛大学校、横須賀

29. **I. Kawamura** “Solid-state NMR study of retinal-protein interactions in photoreceptor membrane protein.” (招待講演) Analytix 2014、2014 年 4 月 25-28 日、Dalian, China.

30. **川村 出** ”難解な生体分子の構造決定に向けて -横浜国立大学のテニュアトラック精度での研究生活-” (口頭発表) 横浜国立大学テニュアトラックシンポジウム、2014 年 1 月 24 日、横浜国立大学中央図書館メディアホール、横浜

31. **川村 出** “固体 MAS NMR によるフォボロドプシンのレチナル-タンパク質間相互作用の解析” (依頼講演) 分子研研究会「ロドプシン研究の故きを温ねて新しきを知る」、2013 年 11 月 18-19 日、岡崎コンファレンスセンター

32. **川村出**、西川亮汰、沖津貴志、和田昭盛、須藤雄気、加茂直樹、内藤晶 “¹³C 固体 MAS NMR によるフォボロドプシンのレチナル-タンパク質間相互作用の解析” (ポスター発表) 第 52 回 NMR 討論会、2013 年 11 月 12-14 日、石川県立音楽堂、金沢

33. **I. Kawamura**, R. Nishikawa, Y. Makino, T. Okitsu, A. Wada, N. Kamo, A. Naito. “Retinal-protein interaction in *pharaonis* phoborhodopsin as studied by ¹³C solid-state MAS NMR” (Oral) The 5th Asia-Pacific NMR symposium, 2013 年 10 月 27-31 日、Brisbane, Australia.

34. **川村 出**、西川亮汰、榎野義輝、沖津貴志、和田昭盛、加茂直樹、内藤晶 “¹³C 固体 NMR によるフォボロドプシンのレチナル-タンパク質間相互作用の解析” (ポスター発表) 第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11-13 日、パシフィコ横浜

35. **川村 出**、”光照射-固体 NMR を用いた高度好塩菌代謝成分の分析” (口頭発表) 平成 24 年度ソルトサイエンス助成研究発表会、2013 年 7 月 17 日、都市センターホテル

36. **川村出**、”固体 NMR による細胞膜中で機能する光受容膜タンパク質の構造解析”(招待講演) 生有研シンポジウム「生体膜における生命現象解明の新展開」、2013 年 7 月 17 日、サントリー研究センター、大阪

37. **川村出**、重田安里寿、堀籠美也子、沖津貴志、和田昭盛、辻暁、内藤晶 “固体 NMR を用いた温度および圧力に対するバクテリオロドプシンの構造変化の解析”(口頭発表) 日本化学会第 93 回春季大会、2013 年 3 月 22-25 日、立命館大学びわこ・くさつキャンパス

38. **川村 出**、西川大英、堀籠美也子、辻暁、内藤晶 “固体 NMR を用いた圧力によるレチ

ナル異性化とバクテリオロドプシンの構造および運動性変化の解析”(ポスター発表) 第 85 回日本生化学会大会、2012 年 12 月 14-16 日、福岡国際会議場、マリンメッセ福岡

39. **川村出**、堀籠美也子、西川大英、田島可奈、沖津貴志、和田昭盛、辻暁、岩佐達郎、内藤晶 “固体 NMR を用いた温度および圧力に対するバクテリオロドプシンの構造変化の解析”(ポスター発表) 第 51 回 NMR 討論会、2012 年 11 月 10-12 日、ウインク愛知

40. **I. Kawamura**, M. Horigome, H. Nishikawa, K. Tajima, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, T. Iwasa, A. Naito. “Thermal and pressure effects on the structure and dynamics of bacteriorhodopsin as studied by solid-state NMR.”(Poster) The 15th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2012), 2012 年 9 月 30 日-10 月 5 日、アスコナ、スイス

41. **I. Kawamura**, M. Horigome, H. Nishikawa, K. Tajima, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, T. Iwasa, A. Naito. “Thermal and pressure induced structural and dynamics changes of bacteriorhodopsin as studied by solid-state NMR.” (口頭) 第 50 回 日本生物物理学会年会、2012 年 9 月 22-24 日、名古屋大学東山キャンパス

42. **川村 出** “固体高分解能 NMR による 7 本膜貫通型光受容膜タンパク質の細胞膜中での構造解析”(ポスター発表) 平成 24 年度日本生化学会関東支部例会、2012 年 6 月 23 日、群馬大学 医学部

〔図書〕(計 1 件)

A. Naito & **I. Kawamura** “Photoactivated structural changes in photoreceptor membrane protein as revealed by in-situ photoirradiation solid-state NMR spectroscopy.” *Advances in Biological Solid State NMR*. (Edited by F. Separovic and A. Naito.) Royal Society of Chemistry. Chap. 20 pp. 387-404, (2014).

〔その他〕

ホームページ等

横浜国立大学 研究者総覧

<http://er-web.jmk.ynu.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

内藤 晶 (NAITO AKIRA)

横浜国立大学・大学院工学研究院・教授
研究者番号：80172245