
生体分子工学と低物理エネルギーロジスティクスの融合による
次世代非侵襲深部生体操作

領域番号：20B301

令和2年度～令和4年度
科学研究費助成事業（科学研究費補助金）
（学術変革領域研究(B)）
研究成果報告書

令和5年5月

領域代表者 井上 圭一

東京大学・物性研究所・准教授

はしがき

本研究領域では従来の電気刺激、投薬、可視光などを用いた手法に代わる、「光熱・超音波・磁気」による超深部ならびに超低侵襲性生体操作法の創出を目的とする。そのためにこれら三つの低物理エネルギーが感知可能なレシーバ分子を開発し、さらに生体内でこれらの分子ツールを操作するため、低物理エネルギーを生体深部へ届ける技術（低物理エネルギーロジスティクス）を A01～A03 班の連携によって開発する。そして両技術を融合することで外部からのエネルギー照射のみによる、生体内へ器具を組み込むことを必要としない、低侵襲かつ、深部組織を含めたあらゆる細胞種特異的な、高速・高精度の生体操作法の実現に挑む。

このうち A01 班で行うヘムタンパク質や蛍光タンパク質など、色素タンパク質を分子ヒーターとして利用した光熱変換操作については、水野（大阪大）が時間分解共鳴アンチストークスラマン分光法を用いて、タンパク質分子内熱伝導機構を明らかにするとともに、今村（京都大）が新規色素タンパク質をタンパク質ヒーターとして用いた光熱変換神経操作ツール開発を行う。超音波・磁場操作については A02 班において井上（東京大）が機械受容チャンネルとフェリチンの融合タンパク質などを新たに開発し、超音波および磁場による神経活動操作や筋組織分化促進を実現する。低物理エネルギーロジスティクス法については、A03 班で中川（東京大）と関野（東京大）が合理的な物理エネルギー制御により、生体深部の物理場制御を実現する。これらの研究において基礎的な分子開発は大腸菌や培養細胞を用いて行い、最終的に細胞や組織レベルでの低物理エネルギー操作の原理検証を目指す。

研究組織

計画研究

領域代表者 井上 圭一（東京大学・物性研究所・准教授）

（総括班）

研究代表者 井上 圭一（東京大学・物性研究所・准教授）

研究分担者 水野 操（大阪大学・大学院理学研究科・助教）

研究分担者 今村 博臣（京都大学・大学院生命科学研究科・准教授）

研究分担者 中川 圭一（東京大学・大学院工学研究科・講師）

（A01 班）

研究代表者 水野 操（大阪大学・大学院理学研究科・助教）

研究代表者 今村 博臣（京都大学・大学院生命科学研究科・准教授）

（A02 班）

研究代表者 井上 圭一（東京大学・物性研究所・准教授）

（A03 班）

研究代表者 中川 桂一（東京大学・大学院工学研究科・講師）

研究分担者 関野 正樹（東京大学・大学院工学研究科・教授）

交付決定額（配分額）

	合計	直接経費	間接経費
令和 2 年度	55,770,000 円	42,900,000 円	12,870,000 円
令和 3 年度	51,350,000 円	39,500,000 円	11,850,000 円
令和 4 年度	51,350,000 円	39,500,000 円	11,850,000 円
総計	158,470,000 円	121,900,000 円	36,570,000 円

研究発表

雑誌論文

A01 班・水野班

1. Taito Urui, Misao Mizuno, Akihiro Otomo, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, “Resonance Raman Determination of Chromophore Structures of Heliorhodopsin Photointermediates,” *The Journal of Physical Chemistry B* 査読有, 125, (2021) pp 7155-7162.
2. Tomomi Shionoya, Manish Singh, Misao Mizuno, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, “Strongly Hydrogen-Bonded Schiff Base and Adjoining Polyene Twisting in the Retinal Chromophore of Schizorhodopsins,” *Biochemistry* 査読有, 60, (2021) pp 3050-3057.

3. Satoshi Yamashita, Misao Mizuno, Yasuhisa Mizutani, “High suitability of tryptophan residues as a spectroscopic thermometer for local temperature in proteins under nonequilibrium conditions,” *The Journal of Chemical Physics* 査読有, 156, (2022) 75101.
4. Satoshi Yamashita, Misao Mizuno, Kazuhiro Takemura, Akio Kitao, Yasuhisa Mizutani, “Dependence of Vibrational Energy Transfer on Distance in a Four-Helix Bundle Protein: Equidistant Increments with the Periodicity of α Helices,” *The Journal of Physical Chemistry B* 査読有, 126, (2022) pp 3283-3290.
5. Kouhei Hayashi, Misao Mizuno, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, “*Cis-Trans* Reisomerization Precedes Reprotonation of the Retinal Chromophore in the Photocycle of Schizorhodopsin 4,” *Angewandte Chemie International Edition* 査読有, 61, (2022) e202203149.
6. Tomomi Shionoya, Misao Mizuno, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, “Contact-Mediated Retinal-Opsin Coupling Enables Proton Pumping in *Gloeobacter* Rhodopsin,” *The Journal of Physical Chemistry B* 査読有, 126, (2022) pp 7857-7869.
7. Taito Urui, Ishita Das, Misao Mizuno, Mordechai Sheves, Yasuhisa Mizutani, “Origin of a Double-Band Feature in the Ethylenic C=C Stretching Modes of the Retinal Chromophore in Heliorhodopsins,” *The Journal of Physical Chemistry B* 査読有, 126, (2022) pp 8680-8688.
8. Yasuhisa Mizutani, Misao Mizuno, “Time-resolved spectroscopic mapping of vibrational energy flow in proteins: Understanding thermal diffusion at the nanoscale,” *The Journal of Chemical Physics* 査読有, 157, (2022) 240901.

A01 班・今村班

9. Hiroimi Imamura, Shuichiro Sakamoto, Tomoki Yoshida, Yusuke Matsui, Silvia Penuela, Dale W Laird, Shin Mizukami, Kazuya Kikuchi, Akira Kakizuka, “Single-cell dynamics of pannexin-1-facilitated programmed ATP loss during apoptosis”, *eLife*, 査読有, 9, (2020) e61960.
10. Shinya Yamamoto, Masamichi Yamamoto, Jin Nakamura, Akiko Mii, Shigenori Yamamoto, Masahiro Takahashi, Keiichi Kaneko, Eiichiro Uchino, Yuki Sato, Shingo Fukuma, Hiroimi Imamura, Michiyuki Matsuda, Motoko Yanagita, “Spatiotemporal ATP Dynamics during AKI Predict Renal Prognosis”, *Journal of the American Society of Nephrology*, 査読有, 31, (2020) pp2855-2869.
11. Kimiko Yamamoto, Yoshitsugu Nogimori, Hiroimi Imamura, Joji Ando, “Shear stress activates mitochondrial oxidative phosphorylation by reducing plasma membrane cholesterol in vascular endothelial cells”, *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, 査読有, 117, (2020) pp33660-33667.
12. Anastassios Karagiannis, Thierry Gallopin, Alexandre Lacroix, Fabrice Plaisier, Juliette Piquet, H el ene Geoffroy, R egine Hepp, J er emie Naud e, Benjamin Le Gac, Richard Egger, Bertrand Lambolez, Dongdong Li, Jean Rossier, Jochen F Staiger, Hiroimi Imamura, Susumu Seino, Jochen Roeper, Bruno Cauli, “Lactate is an energy

- substrate for rodent cortical neurons and enhances their firing activity”, *eLife*, 査読有, 10, (2021) e71424.
13. Masak Takaine, Hiromi Imamura, Satoshi Yoshida, “High and stable ATP levels prevent aberrant intracellular protein aggregation in yeast”, *eLife*, 査読有, 11, (2022) e67659.
 14. Jungmi Choi, Naoki Matoba, Daiki Setoyama, Daiki Watanabe, Yuichiro Ohnishi, Ryuto Yasui, Yuichirou Kitai, Aki Oomachi, Yutaro Kotobuki, Yoichi Nishiya, Michael Paul Pieper, Hiromi Imamura, Motoko Yanagita, Masamichi Yamamoto, “The SGLT2 inhibitor empagliflozin improves cardiac energy status via mitochondrial ATP production in diabetic mice”, *Communications Biology*, 査読有, 6, (2023) 278.

A02 班・井上班

15. Naoya Morimoto, Takashi Nagata, Keiichi Inoue, “Reversible Photoreaction of a Retinal Photoisomerase, Retinal G Protein-Coupled Receptor RGR”, *Biochemistry*, 査読有, 62, (2023) pp 1429-1432.
16. Keiichi Inoue, Satoshi P. Tsunoda, Manish Singh, Sahoko Tomida, Shoko Hososhima, Masae Konno, Ryoko Nakamura, Hiroki Watanabe, Paul-Adrian Bulzu, Horia L. Banciu, Adrian-Ştefan Andrei, Takayuki Uchihashi, Rohit Ghai, Oded Béjà, Hideki Kandori, “Schizorhodopsins: A Novel Family of Rhodopsins from Asgard archaea that Function as Light-Driven Inward H⁺ Pumps”, *Science Advances*, 査読有, 6, pp eaaz2441.
17. Yujiro Nagasaka, Shoko Hososhima, Naoko Kubo, Takashi Nagata, Hideki Kandori, Keiichi Inoue, Hiromu Yawo, “Gate-Keeper of Ion Transport—a Highly Conserved Helix-3 Tryptophan in a Channelrhodopsin Chimera, C1C2/ChRWR”, *Biophysics and Physicobiology*, 査読有, 17, (2020) pp 59-70.
18. Kazuhiro J. Fujimoto, Keiichi Inoue, “Excitonic Coupling Effect on the Circular Dichroism Spectrum of Sodium-Pumping Rhodopsin KR2”, *The Journal of Chemical Physics*, 査読有, 153, (2020) pp 45101.
19. Yu Inatsu, Masayuki Karasuyama, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Ichiro Takeuchi, “Active Learning of Bayesian Linear Models with High-Dimensional Binary Features by Parameter Confidence-Region Estimation”, *Neural Computation*, 査読有, 32, (2020) pp 1998-2031.
20. Yu Inatsu, Masayuki Karasuyama, Keiichi Inoue, Ichiro Takeuchi, “Active Learning for Level Set Estimation Under Input Uncertainty and Its Extensions”, *Neural Computation*, 査読有, 32, (2020) pp 2486-2531.
21. Keiichi Inoue, “Shining light on rhodopsin selectivity: How do proteins decide whether to transport H⁺ or Cl⁻?”, *The Journal of Biological Chemistry*, 査読有, 295, (2020) pp 14805-14806.

22. Masae Konno, Yumeka Yamauchi, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, “Expression Analysis of Microbial Rhodopsin-like Genes in *Guillardia theta*”, *PLOS ONE*, 査読有, 15, (2020) Article number: e0243387.
23. Chihiro Kataoka, Teppei Sugimoto, Shunta Shigemura, Kota Katayama, Satoshi P. Tsunoda, Keiichi Inoue, Oded Béjà, Hideki Kandori, “TAT Rhodopsin is a UV-Dependent Environmental pH Sensor”, *Biochemistry*, 査読有, 60, (2021) pp 899-907.
24. Keiichi Inoue, Masayuki Karasuyama, Ryoko Nakamura, Masae Konno, Daichi Yamada, Kentaro Mannen, Takashi Nagata, Yu Inatsu, Hiromu Yawo, Kei Yura, Oded Béjà, Hideki Kandori, Ichiro Takeuchi, “Exploration of Natural Red-shifted Rhodopsins Using a Machine Learning-based Bayesian Experimental Design”, *Communications Biology*, 査読有, 4, (2021) Article number: 362.
25. Kazumasa Oda, Takashi Nomura, Takanori Nakane, Keiichi Inoue, Shota Ito, Johannes Vierock, ... Ryuichiro Ishitani, Shigehiko Hayashi, Hideki Kandori, Peter Hegemann, So Iwata, Minoru Kubo, Tomohiro Nishizawa, Osamu Nureki, “Time-Resolved Serial Femtosecond Crystallography Reveals Early Structural Changes in Channelrhodopsin”, *eLife*, 査読有, 10, (2021) Article number: e62389.
26. Akimitsu Higuchi, Wataru Shihoya, Masae Konno, Tatsuya Ikuta, Hideki Kandori, Keiichi Inoue, Osamu Nureki, “Crystal Structure of Schizorhodopsin Reveals Mechanism of Inward Proton Pumping”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 査読有, 118, (2021) Article number: e2016328118.
27. Yuma Kawasaki, Masae Konno, Keiichi Inoue, “Thermostable Light-Driven Inward Proton Pump Rhodopsins”, *Chemical Physics Letters*, 査読有, 779, (2021) Article number: 138868.
28. Masae Konno, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, “Ion transport activity assay of microbial rhodopsin expressed in *Escherichia coli* cells”, *Bio-protocol*, 査読有, 11, (2021) Article number: e4115.
29. Andrey Rozenberg, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Oded Béjà, “Microbial Rhodopsins: The Last Two Decades”, *Annual Review of Microbiology*, 査読有, 75, (2021) pp 427-447.
30. Yuta Nakajima, Laura Pedraza-Gonzalez, Leonardo Barneschi, Keiichi Inoue, Massimo Olivucci, Hideki Kandori, “Pro219 is an Electrostatic Color Determinant in the Light-driven Sodium Pump KR2”, *Communications Biology*, 査読有, 4, (2021) Article number: 1185.
31. Paul-Adrian Bulzu, Vinicius Silva Kavagutti, Maria-Cecilia Chiriac, Charlotte D. Vavourakis, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Adrian-Stefan Andrei, Rohit Ghai, “Heliorhodopsin Evolution is Driven by Photosensory Promiscuity in Monoderms”, *mSphere*, 査読有, 6, (2021) Article number: e00661-21.

32. Takashi Nagata, Keiichi Inoue, “Rhodopsins at a Glance”, *Journal of Cell Science*, 査読有, 134, (2021) Article number: jcs258989.
33. Ariel Chazan, Andrey Rozenberg, Kentaro Mannen, Takashi Nagata, Ran Tahan, Shir Yaish, Shirley Larom, Keiichi Inoue, Oded Béjà, Alina Pushkarev, “Diverse Heliorhodopsins Detected via Functional Metagenomics in Freshwater Actinobacteria, Chloroflexi and Archaea”, *Environmental Microbiology*, 査読有, 24, (2022) pp 110-121.
34. Koichiro E. Kishi†, Yoon Seok Kim†, Masahiro Fukuda, Tsukasa Kusakizako, Elina Thadhani, Eamon F.X. Byrne, Joseph M. Paggi, Charu Ramakrishnan, Toshiki E. Matsui, Keitaro Yamashita, Takashi Nagata, Masae Konno, Peter Y. Wang, Masatoshi Inoue, Tyler Benster, Tomoko Uemura, Kehong Liu, Mikihiro Shibata, Norimichi Nomura, So Iwata, Osamu Nureki, Ron O. Dror, Keiichi Inoue, Karl Deisseroth, Hideaki E. Kato, “Structural Basis for Channel Conduction in the Pump-like Channelrhodopsin ChRmine”, *Cell*, 査読有, 185, (2022) pp 672-689.e23.
35. Kano Suzuki, Maria del Carmen Marin, Masae Konno, Reza Bagherzadeh, Takeshi Murata, Keiichi Inoue, “Structural Characterization of Proton-pumping Rhodopsin Lacking a Cytoplasmic Proton Donor Residue by X-ray Crystallography”, *Journal of Biological Chemistry*, 査読有, 298, (2022) Article number: 101722.
36. Alexander L. Jaffe, Masae Konno, Yuma Kawasaki, Chihiro Kataoka, Oded Béjà, Hideki Kandori, Keiichi Inoue, Jillian F. Banfield, “Saccharibacteria Harness Light Energy Using Type-1 Rhodopsins That May Rely on Retinal Sourced from Microbial Hosts”, *The ISME Journal*, 査読有, 16, (2022) pp 2056-2059.
37. Andrey Rozenberg, Igor Kaczmarezyk, Donna Matzov, Johannes Vierock, Takashi Nagata, Masahiro Sugiura, Kota Katayama, Yuma Kawasaki, Masae Konno, Yujiro Nagasaka, Mako Aoyama, Ishita Das, Efrat Pahima, Jonathan Church, Suliman Adam, Veniamin A. Borin, Ariel Chazan, Sandra Augustin, Jonas Wietek, Julien Dine, Yoav Peleg, Akira Kawanabe, Yuichiro Fujiwara, Ofer Yizhar, Mordechai Sheves, Igor Schapiro, Yuji Furutani, Hideki Kandori, Keiichi Inoue, Peter Hegemann, Oded Béjà, Moran Shalev-Benami, “Rhodopsin-bestrophin Fusion Proteins from Unicellular Algae form Gigantic Pentameric Ion Channels”, *Nature Structural & Molecular Biology*, 査読有, 29, (2022) pp 592-603.
38. Yuma Kawasaki, Masae Konno, Keiichi Inoue, “Kinetic Study on The Molecular Mechanism of Light-driven Inward Proton Transport by Schizorhodopsins”, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 査読有, 1864, (2022) pp 184016.
39. Ariel Chazan, Ishita Das, Takayoshi Fujiwara, Shunya Murakoshi, Andrey Rozenberg, Ana Molina-Marquez, Fumiya K. Sano, Tatsuki Tanaka, Patricia Gomez-Villegas, Shirley Larom, Alina Pushkarev, Partha Malakar, Masumi Hasegawa, Yuya Tsukamoto, Tomohiro Ishizuka, Masae Konno, Takashi Nagata, Yosuke Mizuno, Kota Katayama, Rei Abe-Yoshizumi, Sanford Ruhman, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Rosa M. Leon, Wataru Shihoya, Susumu Yoshizawa, Mordechai Sheves, Osamu

- Nureki, Oded Béjà, “Phototrophy by Antenna-Containing Rhodopsin Pumps in Aquatic Environments”, *Nature*, 査読有, 615, (2023) pp 535-540.
40. Akihiro Otomo, Misao Mizuno, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, “Protein Dynamics of a Light-Driven Na⁺ Pump Rhodopsin Probed Using a Tryptophan Residue Near the Retinal Chromophore”, *Biophysics and Physicobiology*, 査読有, 20, (2023) pp e201016.
 41. Shibuki Suzuki, Sari Kumagai, Toshio Nagashima, Toshio Yamazaki, Takashi Okitsu, Akimori Wada, Akira Naito, Kota Katayama, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Izuru Kawamura, “Characterization of Retinal Chromophore and Protonated Schiff Base in Thermoplasmatales Archaeon Heliorhodopsin Using Solid-State NMR Spectroscopy”, *Biophysical Chemistry*, 査読有, 296, (2023) Article number: 106991.
 42. María del Carmen Marín, Alexander L. Jaffe, Patrick T. West, Masae Konno, Jillian F. Banfield, “Biophysical Characterization of Microbial Rhodopsins with DSE Motif”, *Biophysics and Physicobiology*, 査読有, 20, (2023) Article number: e201023.
 43. Shunpei Hanai, Takashi Nagata, Kota Katayama, Shino Inukai, Mitsumasa Koyanagi, Keiichi Inoue, Akihisa Terakita, Hideki Kandori, “Difference FTIR Spectroscopy of Jumping Spider Rhodopsin-1 at 77 K”, *Biochemistry*, 査読有, 62, (2023) pp 1347-1359.
 44. Naoya Morimoto, Takashi Nagata, Keiichi Inoue, “Reversible Photoreaction of a Retinal Photoisomerase, Retinal G Protein-Coupled Receptor RGR”, *Biochemistry*, 査読有, 62, (2023) pp 1429-1432.
 45. Yusuke Nakasone, Yuma Kawasaki, Masae Konno, Keiichi Inoue, Masahide Terazima, “Time-Resolved Detection of Light-induced Conformational Changes of Heliorhodopsin”, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 査読有, 25, (2023) pp 12833-12840.
 46. María del Carmen Marín, Masae Konno, Hiromu Yawo, Keiichi Inoue, “Converting a Natural Light-driven Outward Proton Pump Rhodopsin into an Artificial Inward Proton Pump”, *Journal of the American Chemical Society*, 査読有, (2023) published in the web, DOI: 10.1021/jacs.2c12602.
 47. Keisei Shibata, Kazumasa Oda, Tomohiro Nishizawa, Yuji Hazama, Ryohei Ono, Shunki Takaramoto, Reza Bagherzadeh, Hiromu Yawo, Osamu Nureki, Keiichi Inoue, Hidefumi Akiyama, “Twisting and Protonation of Retinal Chromophore Regulates Channel Gating of Channelrhodopsin C1C2”, *Journal of the American Chemical Society*, 査読有, (2023) published in the web, DOI: 10.1021/jacs.3c01879.
 48. Shoko Hososhima, Shinji Ueno, Satoshi Okado, Ken-ichi Inoue, Masae Konno, Yumeka Yamauchi, Keiichi Inoue, Hiroko Terasaki, Hideki Kandori, Satoshi P. Tsunoda, “A Light-Gated Cation Channel with High Reactivity to Weak Light”, *Scientific Reports*, 査読有, 13, (2023) Article number: 7675.

解説記事

A01 班・水野班

1. 水野 操、「タンパク質分子内エネルギーフローの時間分解アンチストークスマッピング」、月刊「細胞」、査読なし、54、(2022)、778-781.

A02 班・井上班

2. 井上 圭一、「光駆動タンパク質ロドプシンの分子機能エンジニアリング」、*生物工学会誌「生物工学」*、査読有、98、(2020)、pp 664-668
3. 井上 圭一、「第3のロドプシン：ヘリオロドプシン」、*化学と工業*、査読有、74、(2021)、pp 307.
4. 井上 圭一、「特集によせて —Mehr Licht!—」、*生物工学会誌「生物工学」*、査読なし、100、(2022)、pp 354.
5. 井上 圭一、「ロドプシンを用いたオプトジェネティクスの最前線」、*生物工学会誌「生物工学」*、査読有、100、(2022)、pp 420-424
6. 井上 圭一、「アスガルドアーキアの持つ光受容膜タンパク質ロドプシン」、*極限環境生物学会誌*、査読有、21、(2022)、pp 13-23

学会発表

A01 班・水野班

1. Xiang Gao, Misao Mizuno, Haruto Ishikawa, Yasuhisa Mizutani, Ultrafast Dynamics in Dimeric Hemoglobin Probed by Time-Resolved Resonance Raman Spectroscopy, Asian Spectroscopy Conference 2020, 2020 年
2. 山下 聡、水野 操、水谷 泰久、 α ヘリックスの周期性を利用したタンパク質内エネルギー移動の距離依存性の解明、日本化学会第 101 春季年会、2021 年
3. Xiang Gao, Misao Mizuno, Haruto Ishikawa, Yasuhisa Mizutani, Vibrational Energy Relaxation of Heme in Dimeric Hemoglobin, 日本化学会第 101 春季年会、2021 年
4. Misao Mizuno, Naito Isimoto, Sam-Yong Park, Yasuhisa Mizutani, Characterization of the chromophore structure in the photocycle of a new type of chloride ion-pumping rhodopsin, 20th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy, 2021 年
5. Tomomi Shionoya, Misao Mizuno, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, Interaction

between retinal chromophore and opsin to enable proton transport in a light-driven proton pump GR, 20th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy, 2021 年

6. Taito Urui, Misao Mizuno, Akihiro Otomo, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, Resonance Raman Determination of Chromophore Structures of Heliorhodopsin Photointermediates, 20th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy, 2021 年
7. 水野 操、石本 直偉士、朴 三用、水谷 泰久、新規光駆動塩化物イオンポンプの光反応中間体の発色団構造解析、第 15 回分子科学討論会、2021 年
8. 潤井 泰斗、Ishita Das、Mordechai Sheves、水野 操、水谷 泰久、レチナールアナログ置換によるヘリオロドプシン発色団の構造特異性の解明、第 15 回分子科学討論会、2021 年
9. Misao Mizuno, Role of atomic contacts in vibrational energy transfer in proteins, Pacifichem2021, 2021 年 (招待)
10. Xiang Gao, Misao Mizuno, Haruto Ishikawa, Yasuhisa Mizutani, Time-resolved Resonance Raman Observation of Quaternary Structural Changes of Dimeric Hemoglobin, 日本化学会第 102 春季年会、2022 年
11. Zixuan Li, Misao Mizuno, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, Time-resolved resonance Raman observation of the chromophore structure in primary intermediates of microbial rhodopsins, 日本化学会第 102 春季年会、2022 年
12. 入谷 悠、石川 春人、水野 操、水谷 泰久、共鳴ラマン分光法による祖先型グロビンフォールドタンパク質のヘム-軸配位子構造の解明、日本化学会第 102 春季年会、2022 年
13. 林 航平、水野 操、神取 秀樹、水谷 泰久、内向きプロトンポンプシズロドプシンにみられる複数の M 中間体の発色団構造解析、日本化学会第 102 春季年会、2022 年
14. 潤井 泰斗、林 航平、水野 操、井上 圭一、神取 秀樹、水谷 泰久、シズロドプシンに共通する内向きプロトン輸送に重要な構造変化の同定、第 16 回分子科学討論会、2022 年
15. Zixuan Li, Misao Mizuno, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, Time-resolved resonance Raman observation of the photoexcited retinal chromophore in halorhodopsin, 第 16 回分子科学討論会、2022 年
16. 渡瀬 太郎、水野 操、石川 春人、水谷 泰久、ヘムタンパク質を用いた分子ヒーターの開発、第 16 回分子科学討論会、2022 年
17. 入谷 悠、石川 春人、水野 操、水谷 泰久、祖先型グロビンフォールドタンパク質の構造ダイナミクスの解明、第 16 回分子科学討論会、2022 年

18. 水野 操, Elucidation of intramolecular heat transfer mechanism for construction of highly effective photothermal protein heaters (高効率光熱変換タンパク質ヒーター創出に向けた分子内熱伝導機構の解明)、日本生物物理学会第 60 回年会・シンポジウム「生体分子工学と低エネルギーロジスティクスで切り拓く新たな生体操作学」、2022 年 (招待)
19. Misao Mizuno, Time-resolved anti-Stokes Raman Study on vibrational energy flow in proteins, Taiwan-Japan International Symposium on Raman Spectroscopy / Development of Advanced Raman Spectroscopy in Japan and Taiwan, 2022 年 (招待)
20. Tomomi Shionoya, Misao Mizuno, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, Contact-Mediated Retinal-Opsin Coupling Enables Proton Pumping in Gloeobacter Rhodopsin, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年
21. Taito Urui, Kouhei Hayashi, Misao Mizuno, Keiichi Inoue, Hideki Kandori, Yasuhisa Mizutani, Identification of Structural Changes Essential to Inward Proton Transport Common to Schizorhodopsins, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年
22. Kouhei Hayashi, Taito Urui, Misao Mizuno, Hideki Kandori, Yuki Sudo, Yasuhisa Mizutani, Structural analysis on the M intermediates of inward proton-pumping xenorhodopsins, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年
23. 水野 操, 時間分解共鳴ラマン分光法で観るタンパク質ダイナミクス、レーザー学会学術講演会第 43 回年次大会、2023 年 (招待)
24. 徳 さくらこ、水野 操、今村 博臣、村越 秀治、水谷 泰久、無蛍光性色素タンパク質による分子ヒーターの開発、日本化学会第 103 春季年会、2023 年
25. 中村 大輝、水野 操、大友 章裕、神取 秀樹、水谷 泰久、ナトリウムイオン輸送タンパク質の多量体形成に依存した分子内水素結合変化、日本化学会第 103 春季年会、2023 年

A01 班・今村班

26. 今村 博臣、アポトーシスにおいてパネキシン 1 によって駆動されるプログラムされた ATP 減少の単一細胞イメージング、光塾 2020、2020 年 (招待)
27. 今村 博臣、坂本 修一郎、垣塚 彰、単一細胞 ATP 濃度イメージングによって明らかにされたアポトーシス時の細胞内 ATP 減少におけるパネキシン 1 の役割、日本生体エネルギー研究会第 46 回討論会、2020 年
28. 今村 博臣、大坪 史歩、竹川 宜宏、今田 勝巳、緑色蛍光タンパク質由来赤色蛍光タンパク質の創出、第 21 回日本蛋白質科学会年会、2021 年
29. 大坪 史歩、今村 博臣、竹川 宜宏、今田 勝巳、緑色蛍光蛋白質 AzamiGreen 変

異体における赤色蛍光発生の構造基盤、第 21 回日本蛋白質科学会年会、2021 年

30. 今村 博臣、単一細胞 ATP 濃度イメージングによって明らかとなったアポトーシス細胞内 ATP 濃度のダイナミクスとその制御、第 94 回日本生化学会大会、2021 年（招待）
31. 大坪 史歩、今村 博臣、竹川 宜宏、今田 勝巳、緑色蛍光蛋白質 AzamiGreen 由来赤色蛍光蛋白質の結晶構造解析に基づく赤色蛍光団形成の構造基盤、第 59 回日本生物物理学会年会、2021 年
32. 今村 博臣、大坪 史歩、西田 水穂、竹川 宜宏、今田 勝巳、緑色蛍光蛋白質由来赤色蛍光蛋白質の開発、第 59 回日本生物物理学会年会、2021 年
33. 今村 博臣、Imaging of ATP dynamics inside living and dying cells、第 5 回日本循環器学会基礎研究フォーラム、2021 年（招待）
34. 今村 博臣、大坪 史歩、西田 水穂、竹川 宜宏、今田 勝巳、緑色蛍光タンパク質から赤色蛍光タンパク質を創り出す、日本生体エネルギー研究会第 47 回討論会、2021 年
35. 大坪 史歩、今村 博臣、竹川 宜宏、今田 勝巳、赤色蛍光タンパク質の単一復帰変異による赤色蛍光消失の構造基盤、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年
36. 今村 博臣、光熱変換を利用した細胞操作に向けた試み、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年

A02 班・井上班

37. Keiichi Inoue, Sir Martin Wood Prize Lecture: The emerging world of microbial rhodopsins in photobiology, MPI-FKF Seminar, 2020 年（招待）
38. Keiichi Inoue, Sir Martin Wood Prize Lecture: The emerging world of microbial rhodopsins in photobiology, MRC LMB Seminar, 2020 年（招待）
39. 井上 圭一、志甫谷 渉、今野 雅恵、樋口 晶光、但馬 聖也、古谷 祐詞、川崎 佑真、永田 崇、八尾 寛、川村 出、神取 秀樹、濡木 理、光駆動型内向きプロトンポンプ、シゾロドプシンのプロトン輸送メカニズム、第 43 回日本分子生物学会年会、2020 年
40. 井上 圭一、志甫谷 渉、今野 雅恵、樋口 晶光、但馬 聖也、古谷 祐詞、川崎 佑真、永田 崇、八尾 寛、川村 出、神取 秀樹、濡木 理、光駆動型内向き H⁺ポン

ブ型シゾロドプシンの H⁺輸送メカニズムの分光及び構造研究、日本生体エネルギー研究会第 46 回討論会、2020 年

41. 永田 崇、烏山 昌幸、中島 悠、吉澤 晋、竹内 一郎、井上 圭一、海洋性細菌の CF ポンプロドプシンにおける波長制御メカニズムの変異体解析、日本生体エネルギー研究会第 46 回討論会、2020 年
42. 萬年 健太郎、永田 崇、戸叶 貴也、内橋 貴之、Oded Béjà、井上 圭一、TAT ロドプシンの pKa と多量体形成の制御における保存されたグルタミン酸の役割、日本生体エネルギー研究会第 46 回討論会、2020 年
43. 井上 圭一、微生物ロドプシンの吸収波長の自在制御に向けた機械学習法の開発、日本バイオインダストリー協会・発酵と代謝研究会勉強会、2020 年（招待）
44. 井上 圭一、タンパク質のボトムアップ機能向上への機械学習法の応用、ISSP ワークショップ「物性科学におけるデータ科学の今と未来」、2021 年（招待）
45. Keiichi Inoue, Photobiology of new microbial rhodopsins, BPS - Biophysical Society 65th Annual Meeting, 2021 年（招待）
46. 井上 圭一、新奇な微生物型ロドプシンの光機能およびその光反応メカニズム、第 3 回晝間輝夫光科学賞・令和 2 年度研究助成金贈呈式、2021 年（招待）
47. 井上 圭一、志甫谷 渉、今野 雅恵、樋口 晶光、但馬 聖也、古谷 祐詞、川崎 佑真、永田 崇、八尾 寛、川村 出、神取 秀樹、濡木 理、アスガルド古細菌の持つ新奇光駆動型内向きプロトンポンプ、シゾロドプシンの輸送メカニズム、日本化学会 第 101 春季年会 (2021)、2020 年
48. 井上 圭一、光駆動タンパク質ロドプシンのもたらす生物と光の新たな関係、バイオインダストリー協会"・未来へのバイオ技術" 勉強会「光と音の遺伝子応答とオプトジェネティクス」、2021 年（招待）
49. 井上 圭一、志甫谷 渉、今野 雅恵、樋口 晶光、但馬 聖也、古谷 祐詞、川崎 佑真、永田 崇、八尾 寛、川村 出、神取 秀樹、濡木 理、アスガルドアーキア由来の新奇光駆動型内向きプロトンポンプ：シゾロドプシンの機能・分光・構造研究、第 47 回生体分子科学討論会、2021 年
50. 川崎 佑真、今野 雅恵、井上 圭一、*Methanoculleus* 属アーキア由来シゾロドプシンの熱安定性研究、第 47 回生体分子科学討論会、2021 年
51. 井上 圭一、ロドプシンの色を変える：構造・理論・機械学習的アプローチ、電気学会 光・量子デバイス研究会「革新的材料の創出とデバイス応用」、2021 年（招待）

52. 井上 圭一、光エネルギーを使って内向きにプロトンを輸送するロドプシンの構造とダイナミクス、第 21 回日本蛋白質科学会年会・ワークショップ「高速分子動画：タンパク質の構造機能相関研究の最先端」、2021 年（招待）
53. 川崎 佑真、今野 雅恵、井上 圭一、*Methanoculleus* 属古細菌由来新奇シゾロドプシンの熱安定性評価、第 21 回日本蛋白質科学会年会、2021 年
54. 井上 圭一、アスガルドアーキアは光をつかう？—ロドプシンを用いた光受容と新奇シゾロドプシンファミリー—、極限環境生物学会・第 22 回シンポジウム「微生物ダークマターへの挑戦」、2021 年（招待）
55. 井上 圭一、自然界の光分子ツールボックス—微生物ロドプシンの科学を理解する—、第 19 回“光”機到来！Qコロキウム、2021 年（招待）
56. 川崎 佑真、今野 雅恵、井上 圭一、高温環境由来新奇シゾロドプシンの熱安定性研究、第 15 回分子科学討論会、2021 年
57. 井上 圭一、真核生物の起源に関わる新奇光受容型膜タンパク質ロドプシンの機能メカニズム研究、山田科学振興財団・2021 年度研究交歓会、2021 年（招待）
58. 川崎 佑真、今野 雅恵、井上 圭一、高温環境から発見されたシゾロドプシンの熱安定性研究、第 11 回 CSJ 化学フェスタ 2021、2021 年
59. 井上 圭一、鈴木 花野、今野 雅恵、Reza Bagherzadeh、Andrey Rozenberg、María del Carmen Marín、Oded Béjà、村田武士、DTG ロドプシンの X 線結晶構造解析、第 59 回生物物理学会年会、2021 年
60. 永田 崇、視覚再生に向けた暗活性・光不活性化 GPCR 型光遺伝学ツールの開発、第 59 回生物物理学会年会、2021 年（招待）
61. 今野雅恵、Bu Xu、Apoorva Prabhu、Yang Liu、Meng Li、Oded Béjà、Chuanlun Zhang、Christian Rinke、Lu Fan、井上 圭一、シグナルペプチドを持つ Marine group II 古細菌由来 Clade-C ロドプシンの分子特性、第 59 回生物物理学会年会、2021 年
62. María del Carmen Marín、Konno Masae、Laura Pedraza-Gonzalez、Luca De Vico、Massimo Olivucci、Keiichi Inoue、Color Tuning of Microbial Rhodopsin Proteins: Combined Spectroscopic and QM/MM Modeling Studies、第 59 回生物物理学会年会、2021 年
63. 川崎 佑真、今野 雅恵、井上 圭一、高温環境由来のアーキアから発見されたシゾロドプシンの熱安定性研究、第 59 回生物物理学会年会、2021 年
64. 森本 直也、永田 崇、井上 圭一、レチナール光異性化酵素として働く動物ロド

- プシンの分光学的解析、第 59 回生物物理学会年会、2021 年
65. 井上 圭一、烏山 昌幸、神取 秀樹、竹内 一郎、機械学習による微生物ロドプシンの吸収波長予測、第 44 回日本分子生物学会年会、2021 年
 66. María del Carmen Marín、今野 雅恵、Laura Pedraza-Gonzalez、Luca De Vico、Massimo Olivucci、井上 圭一、Color Tuning of Microbial Rhodopsin Proteins: Combined Spectroscopic and QM/MM Modeling Studies、第 44 回日本分子生物学会年会、2021 年
 67. Keiichi Inoue、The diversity and the molecular mechanism of light-driven inward proton pump rhodopsins, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem) 2021, 2021 年 (招待)
 68. Keiichi Inoue、María del Carmen Marín、Sahoko Tomida、Ryoko Nakamura、Yuta Nakajima、Massimo Olivucci、Hideki Kandori、Red-shifting mutation of light-driven sodium-pump rhodopsin, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem) 2021, 2021 年
 69. Keiichi Inoue、Tamiko Kiyotani、Ichiro Tanaka、Detection of Functional Processes of Photoreceptive Proteins by Muon, ISIS Muon Illumination Workshop, 2021 年 (招待)
 70. 永田 崇、Molecular physiological study on rhodopsin-based visual and non-visual photoreceptions of a jumping spider、日本比較生理生化学会第 43 回札幌大会、2021 年 (招待)
 71. 森本 直也、永田 崇、井上 圭一、Spectral characterization of vertebrate opsins acting as a retinal photoisomerase、日本比較生理生化学会第 43 回札幌大会、2021 年
 72. 井上 圭一、光ではたらく膜タンパク質 —ロドプシンの多彩な機能と光遺伝学—、第 6 回 CURIE セミナー、2022 年 (招待)
 73. 石塚 智大、川崎 佑真、今野 雅恵、井上 圭一、細菌由来新奇 Cl⁻ポンプロドプシンの輸送メカニズム研究、第 11 回日本生物物理学会関東支部会、2022 年
 74. 森本 直也、永田 崇、井上 圭一、レチナル光異性化酵素ロドプシン RGR の光吸収・反応特性の解析、第 11 回日本生物物理学会関東支部会、2022 年
 75. Keiichi Inoue、Keisei Shibata、Kazumasa Oda、Tomohiro Nishizawa、Yuji Hazama、Ryohei Ono、Shunki Takaramoto、Reza Bagherzadeh、Hiromu Yawo、Osamu Nureki、Hidefumi Akiyama、Study on the dynamics of channel opening and closing of cation channelrhodopsin, C1C2、日本化学会 第 102 春季年会 (2022)、2022 年
 76. 井上 圭一、烏山 昌幸、神取 秀樹、竹内 一郎、機械学習を用いたロドプシンの吸収波長予測法とオプトジェネティクスツール開発への応用、ISSP ワーク

ショップ：開放系トポロジーと生体・量子・統計物理、2022年

77. 森本直也、永田崇、井上圭一、レチナル光異性化酵素として働くロドプシンの光吸収・反応特性の解析、ISSP ワークショップ：開放系トポロジーと生体・量子・統計物理、2022年
78. 井上圭一、柴田桂成、小田和正、西澤知宏、挾間優治、小野稜平、寶本俊輝、Reza Bagherzadeh、八尾寛、濡木理、秋山英文、カチオンチャンネルロドプシンC1C2のチャンネル開閉におけるレチナルの構造変化とプロトン移動の役割、第22回日本蛋白質科学会年会、2022年
79. 川崎佑真、今野雅恵、井上圭一、高熱安定性光駆動型内向きH⁺ポンプロドプシンの高温環境下での機能活性評価、第22回日本蛋白質科学会年会、2022年
80. 川崎佑真、今野雅恵、井上圭一、2種類の高熱安定性光駆動型内向きH⁺ポンプロドプシンの高温環境下での機能活性評価と比較、第48回生体分子科学討論会、2022年
81. 井上圭一、タンパク質内プロトン移動が微生物ロドプシンの光機能を生み出すしくみ、物性研短期研究会「理論タンパク質物性科学の最前線：理論と実験との密な協働」、2022年
82. 森本直也、永田崇、井上圭一、レチナル光異性化酵素として機能する動物ロドプシンの光吸収・反応特性の解析+ポンプロドプシンの高温環境下での機能活性評価と比較、物性研短期研究会「理論タンパク質物性科学の最前線：理論と実験との密な協働」、2022年
83. Keiichi Inoue、Natural Photoreceptive-Protein Toolbox of Microbial Rhodopsins、15th Pacific Rim Conference on Lasers and Electrooptics (CLEO)、2022年（招待）
84. 永田崇、川崎佑真、今野雅恵、長坂勇次郎、青山真子、片山耕大、Andrey Rozenberg, Igor Kaczmarczyk, Donna Matzov, Moran Shalev-Benami, Oded Béjà, 神取秀樹、井上圭一、新奇微生物ロドプシン・ベストロドプシンの発色団特性とその構成的理解、第22回日本光生物学協会年会、2022年
85. 石塚智大、鈴木花野、川崎佑真、今野雅恵、村田武士、井上圭一、土壌細菌由来新奇光駆動型Cl⁻ポンプロドプシンとそのイオン輸送機構、第22回日本光生物学協会年会、2022年
86. 井上圭一、藻類の光受容型巨大イオンチャンネル複合体—ベストロドプシン—、生理学研究所研究会「構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて」、2022年（招待）

87. 川崎佑真、柴田 桂成、岸 孝一郎、寶本 俊輝、小野 稜平、福田 昌弘、八尾 寛、加藤英明、秋山 英文、井上 圭一、光開閉型陽イオンチャネルロドプシン ChRmine の発色団構造変化の解明、第 16 回分子科学討論会、2022 年
88. 井上 圭一、深部神経活動磁場操作に向けた新規分子ツール開発、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年
89. María del Carmen Marín、Masae Konno、Hiromu Yawo、Keiichi Inoue、Conversion of light-driven outward proton pump rhodopsin into inward proton pump、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年
90. 永田 崇、川崎 佑真、今野 雅恵、長坂 勇次郎、青山 真子、片山 耕大、Andrey Rozenberg, Igor Kaczmarczyk, Donna Matzov, Moran Shalev-Benami, Oded Béjà, 神取 秀樹、井上 圭一、新奇微生物ロドプシン・ベストロドプシンのユニークな発色団レチナール異性化特性、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年
91. 今野 雅恵、Alexander L. Jaffe、川崎 佑真、片岡 千尋、Oded Béjà、神取 秀樹、Jillian F. Banfield、井上 圭一、宿主由来のレチナールを利用する共生古細菌 Saccharibacteria 由来 Type-1 ロドプシンの分子特性、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年
92. 宝本 俊輝、八尾 寛、長坂 勇次郎、吉岡 輝、関野 正樹、井上 圭一、磁気刺激による細胞活動制御のための磁気レシーバー・磁気刺激システムの開発、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年
93. 川崎 佑真、今野 雅恵、井上 圭一、高熱安定性光駆動型内向き H⁺ポンプロドプシンにおける熱安定性要因の研究、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年
94. 石塚 智大、鈴木 花野、川崎 佑真、今野 雅恵、村田 武士、井上 圭一、新奇塩化物イオンポンプロドプシンの輸送メカニズム研究、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年
95. Keiichi Inoue、Discovery and functional analysis of novel retinal proteins, The Sir Martin Wood Prize Lecture - Stuttgart, 2022 年 (招待)
96. 石塚 智大、鈴木 花野、川崎 佑真、今野 雅恵、村田 武士、井上 圭一、新奇光駆動型イオンポンプによる塩化物イオン輸送機構、第 12 回 CSJ 化学フェスタ 2022、2022 年
97. Keiichi Inoue、Discovery and functional analysis of novel retinal proteins, The Sir Martin Wood Prize Lecture - Oxford, 2022 年 (招待)
98. Keiichi Inoue、Discovery and functional analysis of novel retinal proteins, The Sir Martin Wood Prize Lecture - Cambridge, 2022 年 (招待)
99. Keiichi Inoue、Discovery and functional analysis of novel retinal proteins, The Sir

Martin Wood Prize Lecture - Manchester, 2022 年 (招待)

100. Keiichi Inoue, What determines the rate of reaction process of ion-transporting rhodopsins?, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年 (招待)
101. Takashi Nagata, Development of a dark-active, light-inactivated optogenetic tool for controlling G protein signaling toward vision restoration, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年 (招待)
102. María del Carmen Marín, Masae Konno, Hiromu Yawo, Keiichi Inoue, Conversion of light-driven outward proton pump rhodopsin into inward proton pump, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年
103. Masae Konno, Alexander L. Jaffe, Yuma Kawasaki, Chihiro Kataoka, Oded Béjà, Hideki Kandori, Jillian F. Banfield, Keiichi Inoue, Molecular characterization of proton-pumping rhodopsin from Saccharibacteria that may use host-derived all-*trans* retinal, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年
104. Tomohiro Ishizuka, Kano Suzuki, Yuma Kawasaki, Masae Konno, Takeshi Murata, Keiichi Inoue, Unique ion transport mechanism by novel chloride pump rhodopsin from soil bacteria, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年
105. María del Carmen Marín, Masae Konno, Hiromu Yawo, Keiichi Inoue, Conversion of light-driven outward proton pump rhodopsin into inward proton pump, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年
106. Keisei Shibata, Yuma Kawasaki, Koichiro Kishi, Shunki Takaramoto, Ryohei Ono, Masahiro Fukuda, Hiromu Yawo, Hideaki Kato, Hidefumi Akiyama, Keiichi Inoue, The dynamics of two gates of pump-like channel rhodopsin, ChRmine, revealed by a combination of spectroscopic and electrophysiological studies, 19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2022), 2022 年
107. 今野 雅恵、微生物ロドプシンのメカニズム研究と植物オプトジェネティクスへの応用、ISSP Workshop 「物性女性若手研究交流会 2022」、2022 年 (招待)
108. María del Carmen Marín、Functional conversion of light-driven outward proton pump rhodopsin、ISSP Workshop 「物性女性若手研究交流会 2022」、2022 年 (招待)
109. 井上 圭一、ロドプシンが織り成す新時代の光生物学、The Sir Martin Wood Prize Lecture - Nagoya、2022 年 (招待)
110. 井上 圭一、多角的時間分解計測によるタンパク質の反応ダイナミクスの理解、令和 4 年度 「高速分子動画」 シンポジウム、2022 年 (招待)
111. Keiichi Inoue、Photochemistry of rhodopsins in the microorganism world、ICPAC KK 2022、2022 年 (招待)
112. 石塚 智大、鈴木 花野、川崎 佑真、今野 雅恵、村田 武士、井上 圭一、土壌細菌由来新奇 Cl⁻ポンプロドプシンによるイオン輸送機構の解明、日本生体エネ

ルギー研究会第 48 回討論会、2022 年

113. 井上 圭一、AI による高機能性タンパク質探索とデザイン、第 5 回 発動分子科学サロン「発動分子と AI」、2023 年（招待）
114. 川崎佑真、柴田 桂成、岸 孝一郎、寶本 俊輝、小野 稜平、福田 昌弘、八尾 寛、加藤英明、秋山 英文、井上 圭一、分光学的手法と電気生理学的手法を用いたポンプ様チャンネルロドプシン（ChRmine）のチャンネル開閉機構の解明、第 11 回日本生物物理学会関東支部会、2023 年
115. 井上 圭一、化学の視点で探る微生物ロドプシンの不思議と可能性、大阪公立大学・第 1 回学際化学若手育成シンポジウム、2023 年（招待）
116. 永田 崇、川崎 佑真、今野 雅恵、長坂 勇次郎、青山 真子、片山 耕大、Andrey Rozenberg, Igor Kaczmarczyk, Donna Matzov, Moran Shalev-Benami, Oded Béjà, 神取 秀樹、井上 圭一、新奇光受容タンパク質ベストロドプシンの特異な発色団光異性化反応、日本化学会第 103 春季年会、2023 年

A03 班・中川・関野班

117. 関野 正樹、吉岡 輝、中川 桂一、井上 圭一、生体内磁性粒子を操るための磁気力場の設計と最適化、第 60 回日本生物物理学会年会、2022 年（招待）
118. 関野 正樹、磁場によって脳深部を刺激できるか？、日本磁気科学会 2022 年有機・バイオ分科会 研究会、2022 年（招待）

図書

1. Keiichi Inoue、Springer Nature、Optogenetics、2021 年、663 ページ
2. 井上 圭一、シーエムシー出版、未培養微生物研究の最新動向、2022 年、265 ページ

研究成果

A01 班では水野らが「高効率光熱変換タンパク質ヒーター創出に向けた分子内熱伝導機構の解明」について研究を行った。入力した光エネルギーを高効率で熱シグナルに変換し、細胞加熱を行うためのタンパク質ヒーターとしてヘムタンパク質に着目した。タンパク質ヒーターにおける熱伝導機構を調べるために、ヘムの光励起により生じた余剰振動エネルギーの散逸過程を、タンパク質に含まれるトリプトファン残基の

アンチストークスラマン散乱を分光学的プローブとして、アミノ酸残基単位で時空間マップした。まず、微弱なアンチストークスラマン散乱光の高感度計測を行うため、安定な出力・幅広い波長選択性を有する光源を含む分光システムを構築した。これを用いて、タンパク質の特徴的な構造を利用して、ヘムからのエネルギーフローの距離依存性を観測し、タンパク質が密なパッキングにより高い熱伝導性を持つことを明らかにした。また、余剰エネルギーの時空間分布のプローブとして用いたトリプトファンアンチストークスラマン散乱強度が、非平衡状態のタンパク質内局所温度を決定する優れた分光学的温度計になることを実証した。さらに、ヘムタンパク質がタンパク質ヒーターとして熱シグナル制御による細胞操作に対して十分な加熱能を持つことを示した。これらの成果は、2022年にJ. Chem. Phys.誌に Perspective 記事として報告した(雑誌論文8)。タンパク質ヒーターによる細胞内熱シグナルの制御は、高い加熱効率かつ高い空間選択性という点で従来法に比べて優位性があり、オプトジェネティクスに比肩する革新的な細胞操作技術の創成に本研究成果は重要な知見を与えた。

さらに「光熱変換を利用した細胞操作技術の開発」について研究を行い、色素タンパク質へのレーザー照射によって発生する熱によって温度感受性チャネルの開口を誘導可能なことを示した。まず、色素タンパク質が実際にナノサイズの分子ヒーターとして利用可能かどうかを検証するため、色素タンパク質 ShadowR を温度に対して量子収率が大きく変化することが知られている青色蛍光タンパク質 Sirius と融合させた。ShadowR から発生した熱が Sirius に伝わると Sirius の蛍光強度が変化すると期待されたが、実際にこの融合タンパク質を発現する細胞にレーザーを照射したところ、温度上昇を示す Sirius 蛍光強度の減少が明瞭に観察された。次に、温度感受性チャネルである TRPV4 の C 末端にある天然変性領域に ShadowR を挿入した融合タンパク質を作製して培養哺乳類細胞に発現させ、ShadowR が吸収する波長のレーザーを照射したところ、TRPV4 チャネルの開口によると見られるカルシウムイオンの流入が観察された。また、細胞膜局在型の ShadowR と TRPV4 チャネルを共発現した場合においても、レーザー照射によるカルシウムイオンの流入が見られた。その一方で、レーザーの照射を停止させてもカルシウムイオンの流入が止まらないなど、光熱変換によるイオンの制御には課題が残された。

A02 班では井上らが「超音波・磁場感受性レシーバ分子開発と筋組織形成促進技術への応用」について研究を行い超音波や磁場に高感度で応答し、イオン輸送を行う新規レシーバ分子を開発し、さらにそれによってイオンチャネルを駆動することで、低物理エネルギーを生理機能に変換するシステムを構築することに取り組んだ。このうち磁場操作については、細胞内での MscL チャネル、TRPV4 チャネル、および PIEZO1 チャネルと Ferritin の融合を試みた。特に PIEZO1-NCOA4-GFP と mCherry-Ferritin を細胞内に共発現させたところ、形質膜上に高い共局在性を示した。また PIEZO1-NCOA4-

GFP 改変体においても、機械刺激応答性を保持していることがパッチクランプ計測によって確認された。これらのコンストラクトを発現させた細胞に対して 20 mT 以上の磁場を印加しながら、Fura2 色素を用いた Ca^{2+} イメージングを行ったところ、 Ca^{2+} の上昇を示すシグナルが得られた。さらに 500 kHz の高周波磁場を細胞に印加することで、より大きな Ca^{2+} シグナルの発生が観測された。しかし、チャンネルと mCherry-Ferritin 両方に対して良好な発現を示す細胞であるにも関わらず、磁場に対する応答を示さないものも多くあり、操作精度において解決すべき課題が残された。また mCherry-Ferritin の安定性を向上させるため、複数のコンストラクトの熱安定性を比較したところ、70 °C においても変性しないコンストラクトを得ることに成功した。また精製タンパク質試料に対して磁場を印加したところ、磁場応答性が観測され、当該コンストラクトの Ferritin 中に磁性を持つ酸化鉄ナノ粒子が含まれていることを確認した。

その他 A01 班-A02 班間共同研究として、光熱変換用タンパク質を発現させた細胞に対して電気生理学実験（パッチクランプ計測）を行い、光照射に伴うイオン輸送についても調べ、細胞温度の設定など実験条件に関する新たな知見を得た。また A01 班-A03 班間共同研究として、パルスレーザーを用いた細胞への超音波印加法と、顕微鏡内への磁場刺激装置の導入による磁場印加に伴う Ca^{2+} イメージング系について開発を行い、新たな設計指針を得た。

A03 班では中川らが「低物理エネルギーロジスティクス法の開発」について、A01 班が開発する光熱変換分子、A02 班が開発する超音波応答分子、磁場応答分子、それぞれのレーザー分子の機能を引き出すため、所望の物理エネルギー／物理場を届ける手法について検討を行った。音波刺激システムについては、光-音変換に基づく独自の音波生成法の開発および顕微鏡下における細胞応答の観察システムの研究開発を行った。開発したデバイスで発生した音波は瞬時周波数では 6 MHz ほどであり、レーザーのパルスエネルギーを調整することで、発生する音波の圧力も調整できることを確認した。また、音波による細胞のカルシウムイオン濃度の上昇が観察された。磁気刺激については、細胞刺激のために微小領域に磁場を発生させる磁気ピンセットを作成し、磁気ピンセットによりビーズの運動を制御できることを示した。また、磁場を脳の深部へ届けて神経を刺激する手法の確立を目指し、2つの周波数で変動磁場による周波数に対する神経の選択的膜興奮特性を使って深部刺激する可能性について理論と実験の両面で検討し、従来の経頭蓋磁気刺激に比べて深部を局所的に刺激できることが示された。また、球形で表現した脳モデルにおいて磁場分布が調和関数であることに着目することで、磁気刺激における深達度を最大化する方法論を示した。