

## 自己評価報告書

平成23年 5月 9日現在

機関番号：13903

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20108014

研究課題名（和文） 分光学的手法による生体 $\pi$ 空間の制御機構解明と新機能の開拓研究課題名（英文） Bio- $\pi$ -space in photoreceptive proteins:  
Spectroscopic investigation and creation of new functions

## 研究代表者

神取 秀樹 (KANDORI HIDEKI)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：70202033

研究分野：工学

科研費の分科・細目：該当なし

キーワード： $\pi$ 空間、生体分子、発色団、赤外分光、アミノ酸変異

## 1. 研究計画の概要

生体分子は進化の中で最適化された $\pi$ 空間の制御系であり、蛋白質などのナノ反応場が精緻な制御を可能にしている。とりわけ光受容蛋白質は、レチナール、クロロフィル、フラビンといった分子の $\pi$ 電子系を制御することでユニークな色や反応、機能を産み出し、ボトムアップ型の高次 $\pi$ 空間を創製するにあたってのゴールともみなすことができる。

本研究では、蛋白質による特異な波長制御、反応制御、機能制御に着目し、赤外分光などの分光学的手法を用いてメカニズムを原子レベルで解明する。例えば、類似の構造をもちながら異なった機能を発現できる蛋白質場の不思議さを、アミノ酸の変異を利用して詳細に解析するとともに、蛋白質場を用いて新しい機能の開拓にも挑戦する。具体的な研究対象としては、研究代表者のグループが世界をリードすると評価されているロドプシンや光合成反応中心、フラビン蛋白質を考えている。

## 2. 研究の進捗状況

(1) 生体 $\pi$ 空間の波長制御

海洋性バクテリアに存在するプロトンポンプ・プロテオロドプシンにおいて、レチナールから遠隔部位のアミノ酸変異が色を変えるというこれまでの常識に完全に反した現象を発見した。その後の研究で、色変化をもたらすプロテオロドプシンのループ領域のアミノ酸変異を分光学的手法により解析した結果、変異がプロテオロドプシンに部位特異的であること、アミノ酸の体積が影響することを明らかにした。

一方、視物質ロドプシンについては、世界

初となる色覚視物質の構造解析を実現した。明暗視にはたらくロドプシン分子は、結晶構造も決定されており、詳細なメカニズムが議論されているが、一方、色を識別するためにはたらく視物質は試料調製が困難であるため、構造解析はこれまで皆無であった。我々はサルが赤と緑を識別する視物質を培養細胞で大量に培養し、低温赤外分光法を用いて世界で初めて色覚視物質の構造解析に成功したのである。

(2) 生体 $\pi$ 空間の反応制御

レチナールをクロモフォアとする種々のロドプシン類について、赤外分光法を用いて反応制御機構を詳細に検討した。具体的には、プロトンポンプであるバクテリオロドプシン、グロイオバクターロドプシン、クロライドポンプであるハロロドプシン、光センサーである新規センサーロドプシンI、センサーロドプシンII、アナバナセンサーロドプシンなどの異性化反応やプロトン移動反応に伴う構造変化を明らかにした。

光合成反応中心では、プロトンの取り込みを制御する蛋白質内部に結合した水分子の信号を帰属することに成功した。フラビン蛋白質では、フォトリロピンの光反応性を決定するフラビン近傍のアミノ酸の役割を明らかにした。

(3) 生体 $\pi$ 空間の機能制御

本研究では、アミノ酸置換により新しい機能をもった蛋白質を創製することも目指している。天然に存在するプロトンポンプはすべて外向きであり、内向きのプロトン輸送は天然にも人工的にも実現していなかったが、我々は2009年にバクテリアのセンサーロドプシンを利用して内向きのプロトン輸送を行う蛋白質の創製に成功した。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

領域全体として A<sup>+</sup> (研究領域の設定目的に照らして、期待以上の進展が認められる) という最高の評価を得ることができたが、我々のグループもそれなりに貢献できたと自己評価している。

第一の理由として、論文量が比較的少ない生物物理化学の分野において、これまで通り質量ともに豊富な原著論文を発表することができた(3年間で38報)ことが挙げられる。この中には *Nature Nanotech.* などインパクトの高い雑誌も含まれている。

また、2009年に *JACS* 誌へ発表した内向きプロトン輸送の論文は新聞3紙で紹介された。世界初の色覚視物質の構造解析(2010年、*Angew. Chem.* 誌)にはメディアの関心も高く、新聞35紙とNHKニュース(テレビ・ラジオ)で紹介された。

この2つの研究業績が中心となり、平成23年度には「視物質および古細菌型ロドプシンの構造と機能に関する研究」という業績名で文部科学大臣表彰(科学技術賞 研究部門)を受けた。表彰につながった内容は「 $\pi$ 空間」の研究成果そのものであり、私自身も表彰受賞というわかりやすい形で領域に貢献できたことを嬉しく思っている。

### 4. 今後の研究の推進方策

研究は順調に進んでおり、変更の必要性は全くない。フラビン蛋白質に関しても、これまでの LOV ドメインに加えて、DNA 修復酵素やクリプトクロムなどの PHR ファミリーの論文を2010年に、BLUF ドメインの論文を2011年に発表することができ、新たな研究展望が開かれつつある。

一方、我々にしかできない計測技術を領域の研究者に提供し、領域内での共同研究をより活性化させたいと考えている。

### 5. 代表的な研究成果

(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46件)

- ① V. A. Lorenz-Fonfria, Y. Furutani, T. Ota, K. Ido, H. Kandori, "Protein fluctuations as the possible origin of the thermal activation of rod photoreceptors in the dark", *J. Am. Chem. Soc.* 132, 5693-5703 (2010). 査読有
- ② M. Shibata, H. Yamashita, T. Uchihashi, H. Kandori, T. Ando, "High-speed atomic force microscopy shows dynamic molecular processes in photoactivated bacteriorhodopsin", *Nature Nanotech.* 5, 208-212 (2010). 査読有
- ③ K. Katayama, Y. Furutani, H. Imai, H. Kandori,

"An FTIR study of monkey green- and red-sensitive visual pigments", *Angew. Chem. Int. Ed.* 49, 891-894 (2010). 査読有

- ④ A. Kawanabe, Y. Furutani, K.-H. Jung, H. Kandori, "Engineering an inward proton transport from a bacterial sensor rhodopsin", *J. Am. Chem. Soc.* 131, 16439-16444 (2009). 査読有
- ⑤ M. Yoshitugu, M. Shibata, D. Ikeda, Y. Furutani, H. Kandori, "Color change of proteorhodopsin by a single amino acid replacement at a distant cytoplasmic loop", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47, 3923-3926 (2008). 査読有

[学会発表] (計125件)

- ① H. Kandori, "Active internal waters in visual and microbial rhodopsins", Keystone Symposia on 'Transmembrane Signaling by GPCRs and Channels', January 25, 2011, Taos, USA (Invited)
- ② H. Kandori, "Mechanism of light-driven ion pumps", PACIFICHEM 2010, December 20, 2010, Honolulu, USA (Invited).
- ③ H. Kandori, "FTIR study of rhodopsins", 14<sup>th</sup> International Conference on Retinal Proteins, August 5, 2010, Santa Cruz, USA (Invited).
- ④ H. Kandori, "Structural changes accompanying retinal photoisomerization in rhodopsins", XXIV International Conference on Photochemistry, July 21, 2009, Toledo, Spain (Invited).
- ⑤ H. Kandori, "FTIR study of rhodopsins in action", 15<sup>th</sup> International Congress on Photobiology, June 22, 2009, Dusseldorf, Germany (Invited).

[図書] (計1件)

- ① H. Kandori, "Hydrogen bonds of protein-bound water molecules in rhodopsins" in "Hydrogen bonding and transfer in the excited state", pp. 377-391, John Wiley & Sons Ltd, West Sussex (2010).

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他]

- 上述の内容も含め、3報の論文が新聞報道につながっている。
- 2011年に創刊50周年を迎えた米国化学会の *Biochemistry* 誌が選出した50 Most-Prolific Authorsに、日本人で唯一、選ばれた(26位)。
- 2009年10月8日号に"Spotlight on Nagoya"を掲載した *Nature* 誌に顔写真付きで研究が紹介された。

神取研究室HP

[http://www.ach.nitech.ac.jp/~physchem/kandori/index\\_j.html](http://www.ach.nitech.ac.jp/~physchem/kandori/index_j.html)