

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06963

研究課題名(和文) 光照射固体NMRによる細菌型センサリ-ロドプシンの光活性構造変化の解明

研究課題名(英文) Photo-activated structural changes of bacterial sensory rhodopsin as revealed by photo-irradiation solid-state NMR

研究代表者

内藤 晶 (NAITO, Akira)

横浜国立大学・大学院工学研究院・名誉教授

研究者番号：80172245

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：細菌型光受容膜タンパク質は物質輸送や信号伝達に重要な役割を果たしている。発色団レチナールが光サイクルを回る間に光受容体としての機能が発現する。本研究では光サイクル中に生成する光中間体を固体NMRによって観測するため、光照射固体NMR装置の開発を行った。この装置を用いて、プロトン輸送活性をもつバクテリオロドプシンの変異体Y185F-bRを用いて、光サイクル中に生成するO-中間体やCS*-中間体のNMR信号の観測に成功した。次に負の光走性を示すppR/pHtrII複合体について光照射を行った結果、M-中間体からO-中間体が生成し、N'-中間体がO-中間体から平衡反応で生成することが判明した。

研究成果の概要(英文)：It is essential to elucidate the photoreaction cycles to understand the function of photoreceptor membrane proteins. In this study, we have developed photo-irradiation solid-state NMR spectrometer to detect the photo-reaction pathways of photoreceptor membrane proteins.

The photoreaction pathways of Y185F-bR were examined using photo-irradiation solid-state NMR. Under irradiation with 520 nm light, the CS state changed to a CS*-intermediate and AT state transformed to an N-intermediate and transformed to an O-intermediate.

The photoreaction pathways of ppR/pHtrII complex were examined using photo-irradiation solid-state NMR. The M-, O- and N'-intermediates were observed by illuminating with green light. Under blue light irradiation, the M-intermediates transformed to the O-intermediate which is in equilibrium with the N'-intermediate.

研究分野：Biophysical chemistry

キーワード：光受容膜タンパク質 バクテリオロドプシン センサリ-ロドプシン レチナール発色団 光照射固体NMR

1. 研究開始当初の背景

膜タンパク質は細胞膜に埋め込まれた状態で、物質の輸送や信号の伝達に重要な役割を果たしている。この中でも、発色団としてレチナールをもっているレチナール膜タンパク質はレチナールの光異性化によって光活性中間体を生じて、最後にもとの状態に戻る光反応サイクルを形成している。この光反応サイクルを1回まわる間に、光受容膜タンパク質としての物質輸送や信号伝達の機能を発現する。この、レチナールの光励起構造変化は非常に短時間で起こり、光活性中間体の寿命も短いため、光活性中間体によって誘起されるタンパク質側の局所動的構造変化については活性に直接かかわる重要な過程であるにもかかわらず、明らかにされていない点が多い。

2. 研究の目的

本研究では負の光走性を示すセンサリーロドプシン I (SRI) センサリーロドプシン II (SRII) においては、信号伝達状態の M-中間体の寿命が長いことに注目し、光照射固体 NMR を用いて SRI の M-中間体を定期的に捕捉して、その NMR 信号を観測することを目的とした。一方、光駆動型プロトンポンプ活性をもつバクテリオロドプシン (bR) は中間体の寿命が非常に短いのが特徴である。このため、bR の変異体 Y185F ではプロトンの移動が制限されて中間体の寿命が長くなることに注目して、光照射固体 NMR を用いて、光中間体を定期的に捕捉して中間体の NMR 信号を観測することを目的とした。この研究により、光照射によって生じる光中間体の生成と、物質輸送や信号伝達に関わるタンパク質側の活性構造変化の分子機構の詳細を明らかにすることを最終目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(試料調製)

高度好塩好アルカリ細菌である *Natronomonas pharaonis* に存在する光受容膜タンパク質 ppR (SRII) はその固有の transducer タンパク質 (pHtrII) と 2:2 の複合体を形成している。レチナールの構造を解析するため、 $[20-^{13}C, 14-^{13}C]$ Ret を使用し、タンパク質の構造変化を解析する。そのため、 $[1-^{13}C]$ Tyr, $[3-^{13}C]$ Ala を含む $[20-^{13}C, 14-^{13}C]$ Ret, $[1-^{13}C]$ Tyr, $[3-^{13}C]$ Ala-ppR と標識のない pHtrII を大腸菌による大量発現により調製した。ppR と pHtrII を 1:1 の量論比で EggPC 膜に再構成することで、ppR/pHtrII 複合体の試料を調製した。

(光照射固体 NMR 装置の開発)

膜タンパク質試料はジルコニア試料管に詰め、ガラス棒で蓋をした。ガラス棒の先はすりガラス状にしてあり、ガラス棒を透過した光が散乱するように設計した。光源として LED (150 mW, 365 nm, 520 nm, 595 nm) を使用した。超電導磁石の外側から光ファイバーをプローブヘッドに導入して、ジルコニア試料管の上部のガラスの蓋の部分に垂直に照射した。このとき、光ファイバーは試料管に接触しないように注意した。この結果、MAS 回転下で光を試料管内部から照射できる照射効率の高い光照射システムを構築することができた。このシステムを用いて、in situ 光照射 NMR 信号を観測した。

4. 研究成果

マイクロ波照射 NMR による液晶のマイクロ波加熱現象の解明

マイクロ波加熱効果は有機化学反応や酵素反応の促進に広く用いられている。これらの効果はマイクロ波による溶媒の局所加熱効果によって生じていると考えられている。しかし、マイクロ波加

熱が有機反応促進に働く分子論的な理解はまだ十分とはいえない。本研究では液晶物質の MBBA を用いて、液晶相および等方相におけるマイクロ波加熱現象を、マイクロ波照射 NMR 分光器を新たに開発して、 1H NMR スペクトルから解析する試みを行った。この結果、液晶相にマイクロ波を照射した場合、液晶相の温度が相転移点より低い温度において、液晶相内にホットスポットができて等方相が生じた。このホットスポットは、非平衡局所加熱状態になっていることを示している。次に、等方相の状態になってから、さらに高出力のマイクロ波を照射した結果、分子内の極性基が他の部位より $100\text{ }^\circ\text{C}$ 以上高い温度になっている現象が観測された。ここで、分子温度は 1H 核の化学シフトの温度依存性から算出した。このように、マイクロ波加熱により、分子内で温度が異なるという新しい現象がこの実験で観測された。

光照射固体 NMR を用いた Y185F-bR 変異体の光反応過程に生成する中間体の解明

バクテリオロドプシンは光駆動型光ポンプ活性を有する膜タンパク質であり、高度好塩菌の紫膜中に多く存在する。暗状態ではレチナールの配座が違ふ AT と CS の 2 つの状態が存在し、図に示すように光のエネルギーを吸収して、レチナールが $AT \rightarrow (K) \rightarrow (L) \rightarrow (M) \rightarrow N \rightarrow O \rightarrow AT$ と変化する光反応過程と $CS \rightarrow CS^* \rightarrow AT$ と変化する光反応過程が存在する。この中で、 CS^* 、O-中間体はこれまで、NMR 信号を観測した報告例はない。本研究では in situ 光照射固体 NMR 装置の開発を行い、O-中間体の寿命が長いと報告されている Y185F-bR 変異体を用いて、光反応中間体の NMR 信号の観測を試みた。この結果、AT (all-trans), CS (13-cis, 15-syn) 状態、N-(13-cis, 15-anti), O-(all-trans), CS^* -(13-cis, 15-anti) 中間体の NMR 信号を観測することに成功し、それらの配座を決定した。さらに図 1 に示す光反応経路を明らかにすることができた。このように光照射固体 NMR は光受容膜タンパク質の光中間体と光反応過程を明らかにする重要な方法であることを示すことができた。

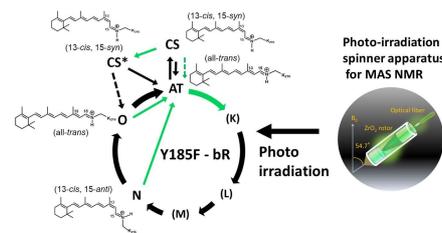


図 1. Y185-bR の光反応サイクル

固体 NMR と分子動力学計算による抗生物質アラメシチンのリン脂質二分子膜中での構造と配向の解明

アラメシチンは *Trichoderma viride* 由来の抗生物質であり、20 アミノ酸残基から形成されている。そのアミノ酸配列は Ac-Aib-Pro-Aib-Ala-Aib-Ala-Gln-Aib-Val-Aib-Gly-Leu-Aib-Pro-Val-Aib-Aib-Gln-Gln-Phol であり、8 つの Aib を含んでいるのが特徴である。アラメシチンは電位駆動型イオンチャネル活性を持っていることが知られており、アラメシチンの膜に対する配向や構造の精密解析はイオンチャネル活性を理解するのに重要である。

本研究では固体 NMR を用いて各アミノ酸残基のカルボニル炭素の ^{13}C NMR スペクトルの異方性を観測し、化学シフト振動パターンをプロットした。このとき、液晶状態の脂質二分子膜に結合したペプチドは脂質二分子膜法線の周りを回転して

いる運動状態であることを考慮した解析を行った。このプロットから、N-端は α -ヘリックスを形成しており、ヘリックス軸は膜法線から 17° 傾いており、C-端は 3_{10} -ヘリックスを形成して、そのヘリックス軸は膜法線から 32° 傾いた構造と配向を持つことが判明した。この情報と4点のC-N原子間の距離制約条件を用いて、アラメチチンの動的な膜結合NMR構造を決定した。この結果、折れ曲がり角が 165° であることも判明した。

リン脂質二分子膜中でのアラメチチンの構造を分子動力学計算によっても決定した。この結果、40 ns計算後のMD構造は固体NMR構造と非常によい一致が見られた。

固体NMRと分子動力学計算によるメリチンの酸性リン脂質二分子膜中での動的構造と配向の解明

メリチンはハチ毒の主成分であり、強い細胞膜分断能や電位駆動型イオンチャネル活性を示す。特に脂質の液晶ゲル相点移転以下の温度では強い膜分断能を示す。メリチンは動的秩序をもつ生体膜に結合することで動的活性構造を形成する観点から、酸性膜であるdimyristoylphosphatidylglycerol (DMPG)に結合したメリチンの膜結合構造を決定し、メリチンの膜分断機構について詳細な情報を得ることを研究の目的とした。

本研究では固体NMRの手法を用いて、メリチンの膜結合構造の決定を試みた。メリチンは膜に結合して、 α -helix構造をとって、膜法線の周りを回転する動的構造をとることを静止状態およびMAS状態のカルボニル炭素の ^{13}C -NMRスペクトルの解析から明らかにした。次に、 ^{13}C 標識した各アミノ酸残基の ^{13}C -NMR信号の化学シフト異方性を解析したところ、アミノ酸残基の位置に対して振動パターンを示すことを見出した。さらに、この振動パターンはヘリックス軸の膜法線からの傾き角に依存することを理論的に定式化した。この化学シフト振動パターンを解析した結果、メリチンのN末端ヘリックスは膜法線から 32° 傾き、C末端ヘリックスは 30° 傾いて折れ曲がった膜貫通構造をとることが明らかになった。

さらにメリチン-DMPGの系でMDシミュレーションを行った結果、メリチンとDMPGの相互作用について詳細な情報が得られた。メリチンC末端のK21, R22, K23, R24は膜界面の位置に留まっているため、メリチンのC末端が膜外に突き出ており、N末端は膜界面から膜中に浮上していることが判明した。したがって、メリチンは疑似膜貫通構造をとっていることが示され、これが膜分断活性の要因と考えられる。さらに、この構造では、正電荷をもつN末端のK7は負電荷をもつDMPG分子の頭部と強い静電相互作用を示すことが分かった。このため、DMPGは静電相互作用を形成しないDMPGなどの中性膜に比べて、膜分断能が比較的弱くなる機構も明らかになった。

ppR(SRII)/pHtrII 複合体の光反応サイクルに生成する光中間体の観測

高度好塩好アルキル細菌である *Natronomonas phraonis* に存在する光受容膜タンパク質 ppR(SRII) はその固有の transducer タンパク質 pHtrII と 2:2 の複合体を形成している、この ppR/pHtrII 複合体は光照射によって K. L. M. 0-中間体を経て元に戻る光反応サイクルをもつことが報告されている。この光反応サイクルの中で、M-中間体は負の光走性を示す信号を下流のリン酸化酵素に与え、その後、鞭毛モーターを回転して負の光走性を示す光信号伝達系をもつことが知られている。

本研究では特にレチナールの構造変化を調べるため、 $[20-^{13}\text{C}, 14-^{13}\text{C}]$ Ret-ppR/pHtrII 複合体における ^{13}C NMR 信号を観測した。まず、暗状態(D1)

で ^{13}C NMR 信号を観測し、次に 520 nmLED 光照射状態(L1)で ^{13}C NMR スペクトルを観測した。この L1 から D1 を差し引いた差スペクトルを取ることに より、負のピークは反応物を表し、正のピークは生成物を表し、反応しない信号成分は消去されることを確認した。この差スペクトルから G-状態が減り、M-中間体の信号が増加した。すなわち、M-中間体の信号が捕捉された。M-中間体が捕捉された状態で、365 nm(blue) LED に切り替えて光照射を行ったところ、M-中間体の一部が減少したが、一部は残留することが判明した。この残留成分は N-中間体であると考えられる。さらに G-状態の低磁場側に新たな信号が増えたことから、O-中間体の生成が示唆された。この結果は M-中間体が O-中間体に変化していることを示している。その結果、これまで、見つからなかった、M-中間体から O-中間体に変化する過程の存在が明らかになった。さらに、N-中間体、および O-中間体は平衡状態になっていることが示唆された。すなわち、SRII に紫外線照射した場合、M-中間体から直接 O-中間体を生成する波長依存的な光反応過程の存在が明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 20 件)

1. Yugo Tasei, Takuya Yamakami, Izuru Kawamura, Teruaki Fujito, Kiminori Ushida, Motoyuki Sato, Akira Naito, Mechanism for microwave irradiation NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson.*, 254, 27-34 (2015). (査読有)
2. Yugo Tasei, Fumikazu Tanigawa, Izuru Kawamura, Teruaki Fujito, Motoyuki Sato, Akira Naito, The microwave heating mechanism of N-(4-methoxybenzylidene)-4-butylaniline in liquid crystalline and isotropic phase as determined using insitu microwave irradiation NMR spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17, 9082-9089 (2015). (査読有)
3. Kyosuke Oshima, Aris Shigeta, Yoshiteru Makino, Izuru Kawamura, Takashi Okitsu, Akiyoshi Wada, Satoru Tuzi, Tetsuo Iwasa, Akira Naito, Characterization of photo-reaction pathway of a bacteriorhodopsin Y185FR mutant using in situ photo-irradiation solid-state NMR spectroscopy. *Photochem. Photobiol. Sci.* 14, 1694-1702 (2015). (査読有)
4. Akira Naito, Izuru Kawamura, Namsrai Javkhantugs, Recent solid-state NMR studies of membrane-bound peptides and proteins. *Annu. Rep. NMR Spectrosc.*, 86, 333-411 (2015). (査読有)
5. Takashi Nagao, Daisuke Mishima, Namsrai Javkhantugs, Jun Wang, Daisuke Ishioka, Kiyonobu Yokota, Kazushi Norisada, Izuru Kawamura, Kazuyoahi Ueda, Akira Naito, Structure and orientation of antibiotic alamethicin in phospholipid bilayers as revealed by chemical shift oscillation analysis of solid state nuclear magnetic resonance and molecular dynamics simulation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1848, 2789-2798 (2015). (査読有)
6. Hideaki Yoshitake, Taiyo Kodate, Teppei Takagi, Izuru Kawamura, Akira Naito, Polysilsequioxanes with mixed self-assembled organic tethers: Alkyl chains and alkanoate-aminopropyl pairs. *Reactive and Functional Polymer*, 99, 9-16 (2016). (査読有)
7. T. Asakura, K. Horiguchi, A. Aoki, Y. Tasei, A. Naito, Parallel β -sheet structure of alanine tetrapeptide in the solid state as studied by solid-state

- NMR spectroscopy, *J. Phys. Chem. B.* 120, 8912-8941 (2016). (査読有)
DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b06292
8. K Kamgar-Parsi, J. Tolchard, B. Habenstein, A. Loquest, A. Naito, A. Ramamoorthy
Structural biology of calcitonin: from aqueous therapeutic properties to amyloid aggregation. *Isr. J. Chem.* (2016) 57, 634-650 (2017). (査読有), DOI: 10.1002/ijch.201600096.
 9. K. Norisada, N. Javkhlantugs, D. Mishima, I. Kawamura, H. Saito, K. Ueda, A. Naito
Dynamic structure and orientation of melittin bound to acidic lipid bilayers, as revealed by solid-state NMR and molecular dynamics simulation. *J. Phys. Chem. B.* 121, 1802-1811 (2017). (査読有)
DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b11207
 10. T. Asakura, K. Miyazawa, Y. Tasei, S. Kametani, Y. Nakazawa, A. Aiki, A. Naito
Packing arrangement of ¹³C selectively labeled sequence model peptides of samia cynthia ricini silk fibroin fibers studied by solid-state NMR. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 19, 13379-13386 (2017). (査読有)
DOI: 10.1039/c7cp01199g
 11. T. Asakura, A. Nishiura, S. Kametani, S. Kawanishi, A. Aoki, F. Suzuki, H. Kaji, A. Naito
Refined crystal structure of samia cythia ricini silk fibroin revealed by solid-state NMR investigations. *Biomacromolecules* 18, 1965-1974 (2017). (査読有)
DOI: 10.1021/acs.biomac.7b00441
 12. K. Kamgar-Parsi, L. Hong, A. Naito, C. L. Brooks III, A. Ramamoorthy
Growth-incompetent monomers of human calcitonin lead to a noncanonical direct relationship between peptide concentration and aggregation lag time. *J. Biol. Chem.* 292, 14963-14976 (2017). (査読有)
DOI: 10.1074/jbc.M117.791236
 13. A. Naito, Y. Tasei, A. Nishimura, T. Asakura
Packing arrangements and intersheet interaction of alanine oligopeptides as revealed by relaxation parameters obtained from high-resolution ¹³C solid-state NMR. *J. Phys. Chem. B.* 121, 8946-8955 (2017). (査読有)
DOI: 10.1021/acs.jpcc.7b07068
 14. A. Naito, N. Motsumori, A. Ramamoorthy
Dynamic membrane interaction of antibacterial and antifungal biomolecules, and amyloid peptides, revealed by solid-state NMR. *BBA-General Subject*, 1862, 307-323 (2018). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bbagen.2017.06.004
 15. A. Naito, K. Okushita, K. Nishimura, G. B. Boutis, A. Aoki, T. Asakura
Quantitative analysis of solid-state homonuclear correlation spectra of antiparallel β -sheet alanine tetramers. *J. Phys. Chem. B.* 122, 2715-2724 (2018). (査読有)
DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b11126
 16. B. Mijidodj, S. Kaneda, H. Sato, Y. Kitahashi, N. Javkhlantugs, A. Naito, K. Ueda, I. Kawamura
The role of D-allo-isoleucine in the deposition of the anti-Leishmania peptide bombinin H4 as revealed by ³¹P solid-state NMR, VCD spectroscopy, and MD simulation. *BBA-Proteins and Proteomics*, 1866, 789-798 (2018). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bbapap.2018.01.005
 17. 上田一義, 内藤 晶, 川村 出
生体幕内でのペプチドの挙動の分子動力学シミュレーション. *酵素工学ニュース*, 79, 27-30

- (2018). (査読有)
18. 内藤 晶
“固体高分解能 NMR スペクトルに現れる異方性相互作用-Narrow is beautiful-,” *分光研究* 67, 13-15 (2018). (査読有)
 19. Y. Makino, I. Kawamura, T. Okitsu, A. Wada, N. Kamo, Y. Sudo, K. Ueda, A. Naito
Retinal configuration of ppR intermediates revealed by photo-irradiation solid-state NMR and DFT,” *Biophys. J.* in press (2018). (査読有)
DOI: 10.1016/j.bpj.2018.05.030
 20. Akira Naito, Yugo, Tasei, Akio Nishiura, Tetsuo Asakura
Unusual dynamics of alanine residues in polyalanine region with staggered packing structure of Samia cynthia ricini silk fiber in dry and hydrated states studied by ¹³C solid-state NMR and molecular dynamics simulation. *J. Phys. Chem. B.* in press (2018). (査読有)
DOI: 10.1021/acs.jpcc.8b03501

[学会発表](計 40 件)

1. 内藤 晶、(招待講演)
固体 NMR による抗菌ペプチドの生体膜結合構造と相互作用解析
第 15 回 日本蛋白質科学会年会 (、2015 年 6 月 24 日 ~ 2015 年 6 月 26 日、徳島市 あわぎんホール)
2. Akira Naito, Yoshiteru Makino, Hiroki Yomoda, Yuya Tomonaga, Tetsuro Hidaka, Izuru Kawamura, Yuki Sudo, (招待講演)(国際会議)
Determination of photo-intermediates and photo-reaction pathways of photoreceptor membrane proteins by in-situ photo-irradiation solid-state NMR.
The 6th Asia-Pacific NMR Symposium, 2015 年 8 月 13 日 ~ 8 月 15 日、Hong Kon, China.
3. Akira Naito, Yugo Tasei, Teruaki Fujito, Izuru Kawamura, (国際学会)
The microwave heating mechanism of MBBA as studied by microwave irradiation NMR spectroscopy.
The 19th International Society of Magnetic Resonance Conference, 2015 年 8 月 16 日 ~ 2015 年 8 月 21 日、Shanghai, China.
4. Izuru Kawamura, Ryota Nishikawa, Takashi Okitsu, Akimori Wada, Yuki Sudo, Naoki Kamo, Akira Naito, (国際学会)
¹³C solid-state NMR study of hydrogen-bonding alteration of Tyr174 and Tyr199 of phoborhodopsin in the lipid environments.
The 19th International Society of Magnetic Resonance Conference. 2015 年 8 月 16 日 ~ 2015 年 8 月 21 日、Shanghai, China.
5. Yoshiteru Makino, Hiroki Yomoda, Yuya Tomonaga, Tetsuro Hidaka, Izuru Kawamura, Takashi Okitsu, Akimori Wada, Yuki Sudo, Akira Naito, (国際学会)
Color-discriminating retinal configuration changes of sensory rhodopsin as revealed by in situ photo-irradiation solid-state NMR.
The 19th International Society of Magnetic Resonance Conference, 2015 年 8 月 16 日 ~ 2015 年 8 月 21 日、Shanghai, China.
6. Aris Shigeta, Kyosuke Oshima, Izuru Kawamura, Takashi Okitsu, Akimori Wada, Satoru Tuzi, Akira Naito, (国際学会)
Structure changes in the photo-excited

- process of bacteriorhodopsin studied by photo-irradiation solid-state NMR.
The 19th International Society of Magnetic Resonance Conference, 2015年8月16日~2015年8月21日, Shanghai, China.
7. 大島恭介、重田安里寿、槇野義輝、川村 出、沖津貴志、和田昭盛、辻 暁、岩佐達郎、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 変異体の光反応経路の解明 . 第 53 回日本生物物理学会年会, 2015年9月13日~2015年9月15日, 金沢大学
 8. 大谷優人、重田安里寿、槇野義輝、宮佐亮太、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 D96N-bR 変異体の光反応サイクルにおける M-中間体の解析、第 54 回 NMR 討論会, 2015年11月6日~2015年11月8日, 千葉工業大学
 9. 重田安里寿、大島恭介、川村 出、沖津貴志、和田昭盛、辻 暁、内藤 晶、13-cis, 15-anti 型バクテリオロドプシンの光中間体の in-situ 光照射固体 NMR による検出、第 54 回 NMR 討論会, 2015年11月6日~2015年11月8日, 千葉工業大学
 10. 槇野義輝、友永雄也、日高哲郎、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 による光受容膜タンパク質 ppR/pHtrII 光活性中間体の解析、第 54 回 NMR 討論会, 2015年11月6日~2015年11月8日, 千葉工業大学
 11. Akira Naito, (招待講演)(国際会議) Photoreaction pathways of photoreceptor membrane proteins revealed by in-situ photo-irradiation solid-state NMR. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Society, 2015年12月15日~2015年12月21日, Honolulu, Hawaii.
 12. Izuru Kawamura, Ryota Nishikawa, Takashi Okitsu, Akimori Wada, Naoki Kamo, Akira Naito, (招待講演)(国際会議) Solid-state NMR studies for chromophore protein interaction changes in pharaonic phoborhodopsin. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Society, 2015年12月15日~2015年12月21日, Honolulu, Hawaii.
 13. 永尾隆、三島大輔、ジャブカラタグス ナムズライ、王 クン、石岡大輔、横田恭宣、則定和志、川村 出、上田一義、内藤 晶 固体 NMR と MD シミュレーションによるリン脂質二分子膜に結合した抗生物質ペプチドアラメチシンの構造と配向の解明 日本蛋白質科学会年会、福岡国際会議場、2016年6月7日 9日
 14. T. Nagao, D. Mishima, N. Javkhalantugs, J. Wang, D. Ishioka, K. Yokota, K. Norisada, I. Kawamura, K. Ueda, A. Naito, (国際会議) Structure and orientation of antibiotic peptide alamethicin in membrane environment as revealed by chemical shift oscillation analysis of solid state NMR and MD simulation. ICBRS2016 Kyoto August 21-26, 2016
 15. S. Kaneda, Y. Kitahashi, I. Kawamura, A. Naito (国際会議) Analysis of interaction of antimicrobial peptides bombinin H2 and H4 with the mimetic bacterial membrane by ³¹P solid-state NMR. ICMRBS2016 Kyoto August 21-26, 2016
 16. Y. Otani, A. Shigeta, Y. Kebukawa, K. Kobayashi, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, A. Naito, I. Kawamura (国際会議) Structural change of Tyr185 in the vicinity of the retinal chromophore in bacteriorhodopsin by ¹³C solid-state NMR、ICMRBS2016 Kyoto August 21-26, 2016
 17. Y. Makino, I. Kawamura, T. Okitsu, A. Wada, S. Sudo, N. Kamo, A. Naito, K. Ueda (国際会議) Structural changes of retinal in sensory rhodopsin II as revealed by in situ photoirradiation solid-state NMR ICMRBS2016 Kyoto, August 21-26, 2016
 18. A. Naito, Y. Makino, K. Oshima, Y. Otani, A. Shigeta, I. Kawamura, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, T. Iwasa, (国際会議) Photoreaction pathways of bacteriorhodopsin and its mutants as revealed by in-situ photo-irradiation solid-state NMR. ICRP2016, Potsdam, Germany Oct. 2-7, 2016
 19. A. Naito, High resolution solid-state NMR spectroscopy. Development and application to structural biochemistry. 第 55 回 NMR 討論会 広島 2016年11月16日 18日
 20. 羽矢和未、川村 出、内藤 晶、¹³C 固体 NMR を用いた DMPC 脂質二重膜存在下におけるペプチドホルモングルカゴンの線維構造の解析 第 55 回 NMR 討論会 広島 2016年11月16日 18日
 21. 槇野義輝、川村 出、沖津貴志、和田昭盛、須藤雄気、加茂直樹、内藤 晶、上田一義 光照射固体 NMR による センサーロドプシン II の光反応過程における光中間体構造の解明 第 55 回 NMR 討論会 広島 2016年11月16日 18日
 22. 大谷優人、重田 安里寿、槇野義輝、宮佐亮太、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 D96N 変異体の光反応過程でのレチナルおよびタンパク質構造変化の解析 . 第 55 回 NMR 討論会 広島 2016年11月16日 18日
 23. 金田志穂、北橋由紀、内藤 晶、川村 出 ³¹P 固体 NMR による抗菌ペプチドボンビニン H2 および H4 の細菌模倣膜に対する作用の解析 第 55 回 NMR 討論会 広島 2016年11月16日 18日
 24. K. Haya, I. Kawamura, A. Naito, Secondary structural change of glucagon during fibril formation process with DMPC lipid bilayers as revealed by ¹³C solid-state NMR. 第 54 回生物物理学会年会、つくば国際会議場 2016年11月25日 27日
 25. Y. Otani, A. Shigeta, Y. Kebukawa, K. Kobayashi, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, A. Naito, I. Kawamura Structure of Tyr185 in dark-adapted bacteriorhodopsin as studied by solid-state NMR. 第 54 回生物物理学会年会、つくば国際会議場 2016年11月25日 27日
 26. A. Naito (招待講演)(国際会議) Microwave irradiation solid-state NMR spectroscopy to reveal microwave heating and energyflow mechanism of liquid crystals. The 7th Asia Pacific NMR Symposium, Bangalore (India), Feb. 16-19 (2017)
 27. 内藤 晶 (招待講演) マイクロ波および光照射固体 NMR の開発と液晶および光受容膜タンパク質への応用 第 61 回 固体 NMR ・材料フォーラム、理化学研究所、横浜 2017年5月12日
 28. 内藤 晶、青木昭宏、宮澤健太、田制侑悟、朝倉哲郎 (口頭発表) ¹³C 固体 NMR (DARR) を用いた ¹³C 選択標識エリ蚕絹モデルペプチドのパッキング様式の解析 第 66 回高分子学会年次大会、幕張メッセ、2017

年 5 月 29 日 31 日

29. K. Oshima, Y. Otani, A. Shigeta, Y. Makino, I. Kawamura, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, T. Iwasa, A. Naito (口頭発表)(国際会議)
Photo-intermediates in the photo-reaction pathways of bacteriorhodopsin as revealed by in-situ photo-irradiation solid-state NMR.
ISMAR2017, Quebec, Canada, July, 23-25, 2017
30. A. Naito, T. Nagao, K. Norisada, N. Javkhantugs, D. Mishima, D. Ishioka, K. Yokota, J. Wong, I. Kawamura, H. Saito, K. Ueda (ポスター発表)(国際会議)
Dynamic structure and orientation of Melittin and alamethicin as revealed by solid-state NMR and MD simulation
ISMAR2017, Quebec, Canada, July, 23-25, 2017
31. A. Naito (招待講演)(国際会議)
Pressure and photo induced structural changes of photoreceptor proteins as revealed by solid-state NMR
IMBP2017, Kyoto (Japan), August 20-24 (2017)
32. M. Batsaikhan, S. Kaneda, N. Javkhalantugs, K. Ueda, H. Sato, A. Naito, I. Kawamura (ポスター発表) Membrane binding structure of Bombinin H2 and H4 peptides in leishmanial mimetic membrane as studied by solid-state NMR and MD simulation.
第 55 回生物物理学会年会、熊本、2017 年 9 月 19 日 21 日
33. 内藤 晶、大島恭介、大谷優人、重田安里寿、榎野義輝、川村 出、沖津貴志、和田昭盛、辻暁、岩佐達郎 (口頭発表)
In situ 光照射固体 NMR によるバクテリオロドプシンとその変異体に生成する光反応中間体の定常捕捉
第 55 回生物物理学会年会、熊本、2017 年 9 月 19 日 21 日
34. Y. Makino, I. Kawamura, T. Okitsu, A. Wada, Y. Sudo, N. Kamo, A. Naito, K. Ueda (ポスター発表)
¹³C NMR 化学シフト計算によるセンサリーロドプシンの光中間体におけるレチナル構造の解析
第 55 回生物物理学会年会、熊本、2017 年 9 月 19 日 21 日
35. A. Naito (招待講演)(国際会議)
Microwave heating mechanism of liquid crystals as revealed by microwave irradiation NMR
Magnetism and Magnetic Materials, London (UK), Oct. 09-10 (2017).
36. A. Naito (招待講演)(国際会議)
Photoirradiation and microwave irradiation NMR spectroscopy. Application to photoreceptor retinal proteins and liquid crystals.
Taiwan-Japan Biomedical Symposium on Magnetic Resonance, Tainan (Taiwan), Oct. 15-17 (2017).
37. 榎野義輝、川村 出、沖津貴志、和田昭盛、須藤雄気、加茂直樹、内藤 晶、上田一義 (ポスター発表) センサリーロドプシンのレチナル構造変化に対する ¹³C NMR 化学シフト値計算
第 5 6 回 NMR 討論会(2017)、首都大学東京、2017 年 11 月 14 日 16 日
38. 尾崎夢実、Batsaikhan, Mijiddori, 佐藤 久子、内藤 晶、川村 出 (ポスター発表)
固体 NMR による Phe-Phe モチーフをもつペプチドの自己組織化集合体の分子構造の解析
第 5 6 回 NMR 討論会(2017)、首都大学東京、2017 年 11 月 14 日 16 日
39. 内藤 晶、田制作悟、榎野義輝、藤戸輝明、川村 出 (ポスター発表)
マイクロ波照射 NMR 分光法による液晶分子

のマイクロ波加熱分子機構の解明

- 第 5 6 回 NMR 討論会(2017)、首都大学東京、2017 年 11 月 14 日 16 日
40. A. Naito, T. Nagao, K. Norisada, N. Javkhantugs, D. Mishima, I. Kawamura, K. Ueda (ポスター発表)(国際会議)
Dynamic membrane bound structure of melittin and alamethicin as revealed by solid-state NMR and MD simulation.
Biophysical Society 62nd Annual Meeting, San Francisco, USA, February 17-21, 2018

〔図書〕(計 6 件)

1. 内藤 晶 光と生命の事典 第 176 節「NMR 分光法」2015 年 4 ページ、朝倉書店
2. 内藤 晶
固体高分解能 NMR(Narrow is beautiful)の構造生命化学研究への展開 NMR (Bulletin of the nuclear magnetic society of japan) 日本核磁気共鳴学会 Vol. 7, pp 8-10, 2016 年 11 月
3. A. Naito, Y. Makino, I. Kawamura
In-situ photo irradiation solid-state NMR spectroscopy applied to retinal-binding membrane proteins. Modern Magnetic Resonance, Springer 1-22 (2017).
DOI:10.1007/978-3-319-28275-6_51-1
4. A. Naito, Y. Makino, Y. Tasei, I. Kawamura
Photoirradiation and microwave irradiation NMR. Experimental Approaches of NMR Spectroscopy. Methodology and Application to Life Science and Material Science, The Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan ed. Springer, pp 135- 170 (2018).
DOI:10.1007/978-981-10-5966-7_5
5. I. Kawamura, K. Norisada, A. Naito
Structure determination of membrane peptides and proteins by solid-state NMR. Experimental Approaches of NMR Spectroscopy. Methodology and Application to Life Science and Material Science, The Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan ed. Springer, pp 253- 296 (2018).
DOI:10.1007/978-981-10-5966-7_9
6. 功刀 滋、内藤 晶
生命科学のための物理化学 15 講. 講談社サイエンティフィック 編集 pp 1-244 (2018).
ISBN978-4-06-153898-6

6 . 研究組織

(1)研究代表者

内藤 晶 (NAITO, Akira)
横浜国立大学・大学院工学研究院・名誉教授
研究者番号：80172245

(3)連携研究者

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

須藤 雄気 (SUDO Yuki)

岡山大学 医歯薬学部・教授
研究者番号：10452202

(4) 研究協力者

加茂 直樹 (KAMO Naoki)
和田 昭盛 (Wada Akimori)