

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06582

研究課題名(和文)イオン輸送性ロドプシンの反応中間体の構造解析

研究課題名(英文)Structural analyses of reaction states of ion-pumping rhodopsin

研究代表者

神山 勉 (Kouyama, Tsutomu)

名古屋大学・理学研究科・名誉教授

研究者番号：30170210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：イオン輸送性ロドプシンでは、光反応によって全トランス型のレチナル色素が13-cis型に変換され、反応サイクルの最終段階で全トランス型への異性化が熱的に起こる。本研究では、光反応サイクルの最終段階で生じる0中間体には異なる分光特性を持つ2つのサブ状態(01と02)が存在し、01→02転移でレチナルの異性化が起こることを示した。また、酸性pHでの青色の全トランス型異性体がプロトン輸送サイクル中の02中間体と類似の分光特性を持つことを観測し、01→02転移時にレチナル色素の周りの環境が酸性pHでのものと同様になり、C13=C15結合の周りの捩じれエネルギー障壁が下がるという可能性を論じた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バクテリオロドプシン(BR)の発見以来、たくさんの微生物型ロドプシンが古細菌、真正細菌、真核生物に見出されており、それらのいくつかはニューロン活動を光制御するのに利用されている。新しく発見された微生物ロドプシンの機能・構造が精力的に調べられているが、多くの場合、微生物ロドプシンの反応スキームはBRの従来の反応スキーム(=レチナル再異性化の記述が曖昧)を参考にして組み上げられている。本研究では0中間体には2種類のサブ状態(01と02)が存在し、01→02転移でレチナルの再異性化が起こることが示された。我々が提唱した反応スキームは、より強力な光遺伝学的ツールを設計するのに役立つであろう。

研究成果の概要(英文)：In bacteriorhodopsin (bR), the proton pumping cycle is initiated by the photo-isomerization of the retinal chromophore with the 13-trans configuration into the 13-cis configuration, and thermal re-isomerization into the initial trans configuration occurs in the final step of the reaction cycle. We have shown that the 0 intermediate formed during the photo cycle has two substates (01 and 02) with different spectral characteristics, and thermally activated isomerization of retinal into the all-trans configuration occurs at the 01→02 transition. We also observed that the blue all-trans isomer at acidic pH has similar spectroscopic properties to the 02 intermediate, and discussed the possibility that the mechanism of the retinal re-isomerization taking place in the late stage of the proton pumping cycle is analogous to that of thermal isomerization during dark adaptation in bR, which involves red shifted intermediates (isomers of blue membrane).

研究分野：生物物理学

キーワード：レチナル蛋白質 光駆動プロトンポンプ 光駆動塩素イオンポンプ

## 1. 研究開始当初の背景

高度好塩菌の細胞膜からは2種類のイオン輸送性ロドプシン(プロトンを能動輸送するバクテリオロドプシンと塩素イオンを能動輸送するハロロドプシン)が見いだされている。申請者の研究グループでは、5種類の光駆動プロトンポンプ(アーキロドプシン-2(aR2)、バクテリオロドプシン(BR)、など)と1種類の塩素イオンポンプ(好アルカリ細菌由来のハロロドプシン、pHR)のX線結晶構造解析を行ってきた。特にHRについては反応中間体の構造を詳しく調べ(図1)、イオン輸送機構の解明に努めてきた。現時点までにイオン輸送サイクルについて分かってきたことを要約すると次のようになる。

タンパク質部分では3種類の構造変化が起こる(図2)

発色団レチナールも3種類の異性化状態を経る(図3)

レチナールの異性化 タンパク質の構造変化 イオン移動

レチナールの異性化、...、という具合に反応が進行することで、イオンの一方の輸送が保証される。

上述のイオン輸送機構の新規性は、イオン輸送サイクルの間に3種類のレチナールの異性化状態が出現するという点にあり、我々のpHRの研究から明らかにされたものである。この反応機構は、BRの長い研究の歴史の中で多くの研究者が信じ切ってきた反応機構(レチナール異性化状態は2種類のみ出現する)とは根本的に異なる。pHRの塩素イオン輸送機構とBRのプロトン輸送機構を同列で論ずる根拠は今のところ十分ではない。しかし、従来説ではBRのプロトン能動輸送を完全には説明できないのも事実である。具体的には、N中間体(13-cis・15-anti型レチナール)はO中間体(13-trans・15-anti型レチナール)に直接的に遷移するというのが従来説であるが、この遷移を駆動する力は何なのかを問うと解答に窮するという弱点があった。この弱点は、N中間体とO中間体の間に13-cis・15-syn型レチナールを含有する中間体(N'およびO')が出現する、すなわち、レチナールのSchiff塩基結合部分で異性化が起こる、と想定することにより解消する。

この異性化の駆動力については、イオンあるいはプロトンの移動によりSchiff塩基の周りの電荷分布が変わり、プロトン化Schiff塩基と近傍のアスパラギン酸(BRではAsp212)との静電相互作用が顕著となる、とすれば説明できる。イオンの移動がレチナールの異性化を促し、これがタンパク質部分の構造変化、さらには次なるイオン移動を引き起こす、と考えることにより、イオン能動輸送の作動機構を合理的に理解できるようになる。

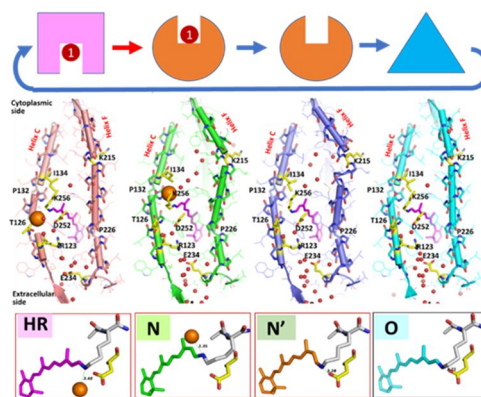


図1 . pHRの光誘起構造変化

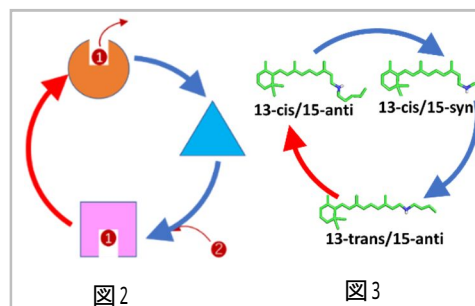


図2

図3

## 2. 研究目的

i) 光駆動プロトンポンプの反応状態の構造解析: プロトン輸送を担う微生物型ロドプシンの光反応においては、光反応によって全トランス型のレチナール色素が13-cis型に変換され、反応サイクルの最終段階で、再び全トランス型へと再生される異性化(熱的反応)がおこる。この再生機構を理解するため、本研究課題では、光駆動プロトンポンプの光反応サイクルの後半部分の事象を解明することを第一目標に掲げた。

ii) 陰イオン輸送性ロドプシンの反応状態の構造解析: 好アルカリ好塩菌の塩素イオン輸送タンパク質(ハロロド

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

プシン、pHR)は、ハライドイオン以外にも硝酸イオンを輸送することが報告されているものの、不思議なことに重炭酸イオンを輸送するという報告は今までなかった。本研究課題では、「pHRは重炭酸イオンを結合でき、さらに、重炭酸イオンを輸送できる」ことを実証することを企てる。

iii) 細菌型ロドプシンの高次構造の解析：古細菌型光駆動プロトンポンプ (bR や aR) は細胞膜中で 2 次元結晶を作るが、センサーロドプシン (sR2) の細胞膜中での集積状態は良く分かっていない。sR2 を高密度で含む細胞膜で形成されていると思われる集積構造を解析することを試みる。

3. 研究方法

i) 微生物型ロドプシン (BR および AR2) の光誘起吸収スペクトル変化の測定：Nd:YAG レーザー (QuanteI Ultra, 3 ns, 532 nm) を備えたコンピューター制御の実験装置を使用した。測定光として 150W の Xe ランプからの発光をモノクロメータを通過させ試料セルに導き、その透過光をノッチフィルタと第 2 モノクロメータを通過させたのち光電子増倍管で受光し、その出力信号をトランスインピーダンスアンプ (浜松ホトニクス、C13004-01) で増幅しデジタルオシロスコープ (LeCroy Wavesurfer 422) に記録・保存した。光誘起吸収変化は 10 nm の波長間隔で測定し、増幅信号は各波長当たり 300-2000 回の平均化を行った。ii) pHジャンプに伴う BR の吸収変化の測定：図 4 に示したような

ストッパ・フロー装置を製作した。測定光による明順応反応の影響を軽減するため、タングステンランプからの発光をピンホールを通し、回折格子で分光したのち、試料セルを透過させ、USA ビジョンカメラ (オムロン STC-MBA5MUSB3) で検出した。iii) 微生物型ロドプシン (pHR と sR2) の X 線結晶構造：X 線回折データは SPring8・BL38B にて収集した。

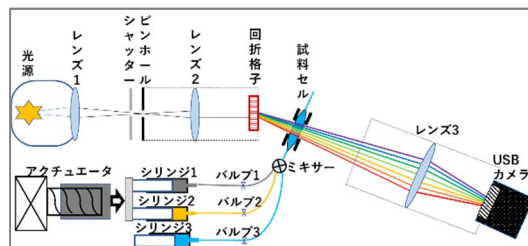


図 4. ストッパ・フロー装置 (自作) の概念図

4. 研究成果

1) 光駆動プロトンポンプの光反応サイクルの解析

i) バクテリオロドプシンのプロトン輸送サイクル：

バクテリオロドプシンのプロトン輸送サイクルは、通常、K、L、M、N、および O の 5 つの反応中間体で記述される。反応サイクルの前半部分で起こるタンパク質の構造変化については詳細な情報が蓄積されてきているが、反応サイクルの後半部分については構造情報が不足しており、N → O 転移で起こるとされている 13-cis、15-anti 型から 13-trans、15-anti 型へのレチナールの異性化の機構が未解明のままである。我々は O 中間体の構造情報を得ることを目指しており、それに先立ち、O 中間体の振舞いを正しく理解する作業に取り組んだ。具体的には、バクテリオロドプシンの光反応サイクルに及ぼす pH 及びイオン強度の影響を詳細に調べた。フラッシュ光誘起吸収スペクトルの時分割解析の結果、プロトン輸送サイクルの後半で生じる O 中間体には、分光学的および速度論的に区別できる 2 つのサブ・ステートが存在することを見出した。具体的には、1) 最初の O-中間体 (O1) の吸収スペクトルは後期の O-中間体 (O2) のものより 20 - 30nm 短波長側にシフトしており、2) O1 は N と動的平衡状態にあり、pH を上げると、O1 は N よりも安定性が低くなり、N と O1 の間の動的平衡にある O1 の量に比例して O2 の形成速度は低下し、3) 対照的に、O2 の崩壊速度は、低塩膜懸濁液の pH を 5.5 から 7.5 に上げると、

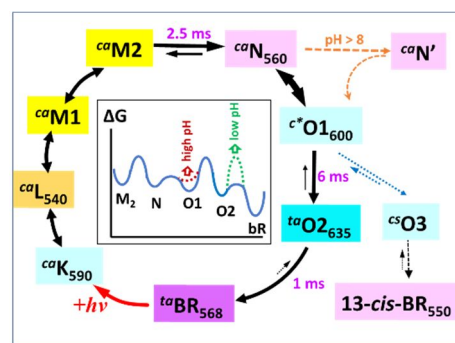


図 5. BR の光反応スキーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

あるいは塩濃度を 2MKCl に増加したとき。約 100 倍速くなる、ことが明らかになった。O 中間体に関する以前の研究結果と照らし合わせて、レチナール発色団のオール・トランス構造への熱的に活性化される変換は、O1 から O2 への遷移で起こる、つまり、O1 には歪んだ 13-cis 発色団が含まれていると推察された。

ii)アーキロドプシン-2のプロトン輸送サイクル:

アーキロドプシン-2 (aR2)は高度好塩菌 Halorubrum Aus-2 の細胞膜に見出された光駆動プロトンポンプである。aR2 の反応状態の X 線構造解析に先立ち、aR2 の光反応サイクルを詳しく調べた。その結果の要約を図 6 に示した。バクテリオロドプシンで観察されたように、光反応サイクルの後半に 2 種類の O 中間体 (O1, O2) が生じることが分かった。基本的な反応機構は同じであるが、aR2 と BR との間の構造上の差異を反映して個々の反応中間体の振る舞いに違いが認められた。例えば、1) aR2 の L 中間体は K 中間体に比べて短寿命で、観測できない。これはレチナール結合部位の硬さ (近傍のトリプトファンの動き易さ) に起因する。2) N と O1 が動的平衡状態になる点は同じであるが、その平衡の pH 依存性が大きく異なる。bR では N に比べて O1 が中性 pH 以上で相対的に不安定になるのに対して、aR2 では高い pH 領域でも O1 の相対的安定度は高く維持される。これは、プロトン取り込みチャネルの重要な残基 (aR2-Asp101、bR-Asp96) の pKa 値が、bR の O1 状態と比較して aR2 の O1 状態で高くなっていることに起因する。実際、bR の Asp96 の近傍には正電荷を帯びた残基 (Lys41) が存在するのに対して、aR2 の Asp101 の近傍には負電荷を帯びた残基 (Glu45) が存在する。

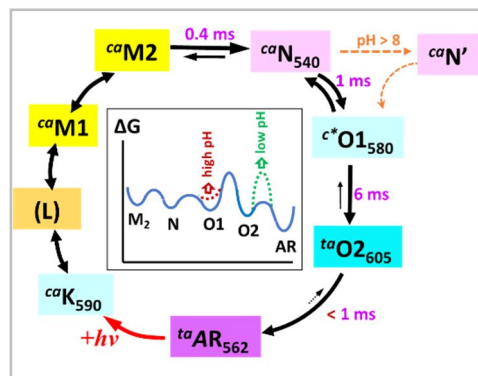


図 6 . aR2 の光反応サイクル

iii) バクテリオロドプシンの酸性転移の解析

これまでの分光学的研究から、複数のイオン輸送性ロドプシンにおいて、13 - シス構造に光変換されたレチナールが全トランス型の構造に再生される反応過程で現れる青色状態 (O 中間体) には二つのサブ状態 (O1、O2 と命名) が存在することが見出され、O1 O2 転移でレチナールの異性化が起こることが示唆された。光駆動プロトンポンプであるバクテリオロドプシン (BR) においては、レチナールの異性化を伴う暗順応が酸性 pH では非常に速くなることから、「中性 pH のプロトン輸送サイクルにおいても O 中間体の生成に伴いレチナール色素の周りの環境が酸性 pH のものと同様になり、C13=C15 結合の周りの擦れエネルギー障壁が下がる。」という可能性が考えられる。この可能性を検証するため、pH ジャンプに伴う BR の吸収変化を測定するためのストップド・フロー装置を製作し、酸性 pH 域での BR の状態変化を詳しく調べた。その結果、( i ) 酸性転移 (紫色状態から青色状態への転移) が 2 段階で起こること、( ii ) 速い転移の速度 (室温で ~ 50 ミリ秒) が pH に依存しないのに対して、遅い転移の速度 ( 1 ~ 1000 秒) が pH に強く依存すること、( iii ) 紫色状態から青色状態への完全な変換は特別な条件でのみ起こり、広い酸性 pH 領域で紫膜中の一部 (約 1/3) の BR は青色状態に変換されず紫色状態に留まること (負の協同現象) ( iv) 特殊な酸性 pH 域では 13 - シス型 BR に比べて全トランス型 BR がより安定となり、吸収極大波長が 625 nm まで赤方シフトすること (図 7) が観測

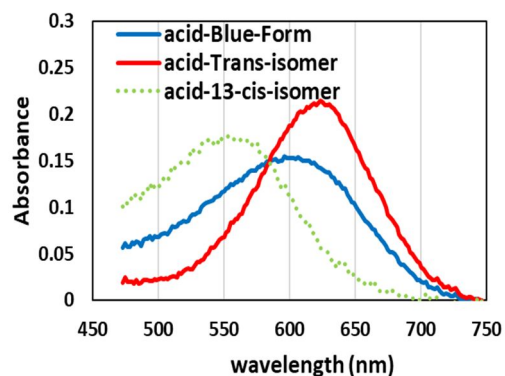


図 7 . BR の全トランス異性体の酸性 pH での吸収スペクトル(赤色)

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

された。以上の観測結果から、1) 酸性転移で生じる全トランス型 BR は中性 pH 域で照射により生成される O2 中間体と分光学的に類似しており、レチナールおよびその結合部位の構造においても強い類似性があると推察された。また、13-cis 異性体の青色状態は不安定で、酸性転移が起こりにくいことも推察される。この現象は、図 5 に示した O1 から O3 への分岐反応が生理学的条件(紫膜中)では抑制されていることと密接に関係している可能性もあり、さらに詳しく調べる価値がある。

### 2) ハロロドプシン (pHR) に重炭酸イオンに結合した状態の構造解析:

pHR の結晶(空間群 C2)の結晶を重炭酸イオン ( $\text{HCO}_3^-$ ) を含む液に浸したのち急速凍結を行い、2.0 分解能の回折データを収集し、重炭酸イオンを結合した状態の構造解析を試みた。解析の結果、レチナール・シッフ塩基近傍の結合部位への重炭酸イオンの結合は弱く、今回用いた結晶凍結条件下では陰イオン非結合状態が共存(約 50%)していることが明らかになった。陰イオン非存在下で急速凍結した回折データと比較することで重炭酸イオンの結合様式を正確に求めることができ、先行研究で明らかにした硝酸イオンの結合様式と同じであることを確認した(図 8)。また、重炭酸イオンを含む液に浸した結晶にレーザー光(630nm)を照射した状態で結晶を急速凍結し、2.1 分解能の回折データを収集し、重炭酸イオンを結合した pHR の光反応状態の構造解析を試みた。解析の結果、今回の照射・凍結条件下では重炭酸イオンがタンパク質外に放出された後の反応状態(おそらく N' 中間体)が多く捕捉されるようであり、重炭酸イオンの輸送途上の状態(N 中間体)はほとんど捕捉できていない、ということが示された。pHR が重炭酸イオンを能動輸送することを実証するには N 中間体を高効率で低温トラップできる条件を探す必要があり、これは今後の研究課題として残った。

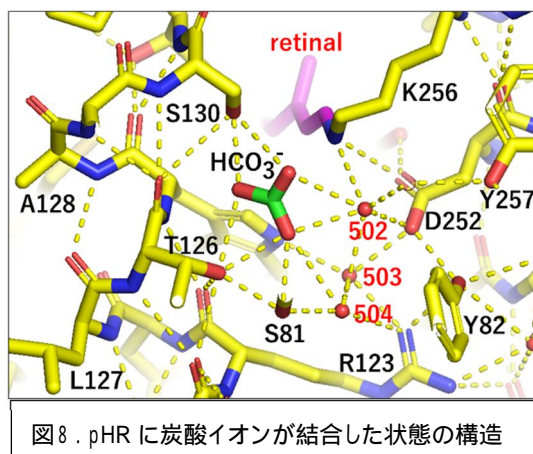


図 8 . pHR に炭酸イオンが結合した状態の構造

### 3) センサリーロドプシン 2 (sR2) の構造解析

sR2 は高度好塩菌の細胞膜に見出された光センサーで、光で活性化されると同じ膜に存在するトランスデュウシンに結合し光信号を伝達する。sR2 の結晶は Lipidic Cubic Phase (LPC) 法ですでに作製されており、その単量体の構造決定が他の研究グループにより行われている。本研究課題では、sR2 の高次構造(三量体構造)を解明すべく、sR2 の結晶を膜融合法により作製した。2.7 分解能の X 線回折データから、我々の作製した結晶は空間群 C222(1) (結晶格子定数は  $a=87.4$  ,  $b=127.0$  ,  $c=98.5$  ) に属することが示された。膜融合法を利用したにもかかわらず、得られた結晶構造(タンパク質の充填具合)は他の結晶化法(LCP 法)で作製された結晶中のものとほとんど同一であった。今のところ、三量体構造を保った状態の sR2 の結晶は作製できていない。我々が求めた結晶構造の興味深い点は、結晶化に用いた界面活性剤(オクチルチオグルコシド:OTG)が sR2 の細胞質側の凹んだ部分に入り込んで結合していることである。また、他グループが求めた sR2 の構造と比較すると、細胞外側からレチナール Schiff 塩基に至る領域の水素結合ネットワークに差異が認められ、結晶化法の違いを反映していると考えられる。

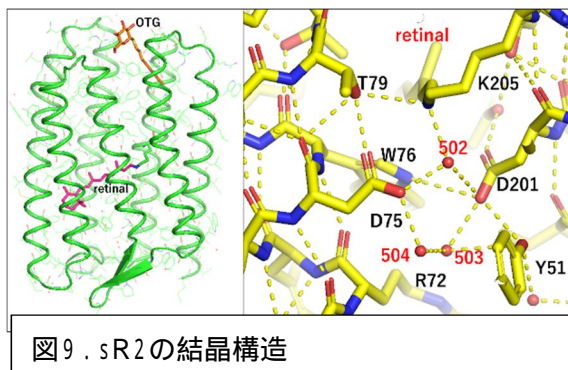


図 9 . sR2 の結晶構造

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kouyama T, Ihara K.	4. 巻 1864
2. 論文標題 Two substates in the O intermediate of the light-driven proton pump archaerhodopsin-2	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BBA - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2022.183919	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 Terashima H, Hori K, Ihara K, Homma M, Kojima S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Mutations in the stator protein PomA affect switching of rotational direction in bacterial flagellar motor.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 2979
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-06947-5	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 Matsui K, Okamoto K, Hasegawa T, Ohtsuka H, Shimasaki T, Ihara K, Goto Y, Aoki K, Aiba H.	4. 巻 26
2. 論文標題 Identification of ksg1 mutation showing long-lived phenotype in fission yeast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes Cells	6. 最初と最後の頁 967-978
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12897	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 Takekawa N, Nishikino T, Yamashita T, Hori K, Onoue Y, Ihara K, Kojima S, Homma M, Imada K. A slight bending of an $\alpha$ -helix in FliM creates a counterclockwise	4. 巻 170
2. 論文標題 A slight bending of an $\alpha$ -helix in FliM creates a counterclockwise-locked structure of the flagellar motor in Vibrio.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Biochem.	6. 最初と最後の頁 c 4;170(4):
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab074	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 Kurauchi T, Matsui K, Shimasaki T, Ohtsuka H, Tsubouchi S, Ihara K, Tani M, Aiba H.	4. 巻 368
2. 論文標題 Identification of sur2 mutation affecting the lifespan of fission yeast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEMS Microbiol Lett.	6. 最初と最後の頁 fnab070
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fnab070	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 Sugawara K, Toyoda H, Kimura M, Hayasaka S, Saito H, Kobayashi H, Ihara K, Ida T, Akaike T, Ando E, Hyodo M, Hayakawa Y, Hamamoto S, Uozumi N.	4. 巻 15
2. 論文標題 Loss of cell wall integrity genes cpxA and mrcB causes flocculation in Escherichia coli.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem J.	6. 最初と最後の頁 41-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20200723	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 Shunji Nakano, Muneki Ikeda, Yuki Tsukada, Xianfeng Fei, Takamasa Suzuki, Yusuke Niino, Rhea Ahluwalia, Ayana Sano, Rumi Kondo, Kunio Ihara, Atsushi Miyawaki, Koichi Hashimoto, Tetsuya Higashiyama, Ikue Mori	4. 巻 117
2. 論文標題 Presynaptic MAST kinase controls opposing postsynaptic responses to convey stimulus valence in Caenorhabditis elegans.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 1638-1647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1909240117	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 Mizukami T, Furuzawa S, Itoh SG, Segawa S, Ikura T, Ihara K, Okumura H, Roder H, Maki K	4. 巻 117
2. 論文標題 Energetics and kinetics of substrate analog-coupled staphylococcal nuclease folding revealed by a statistical mechanical approach.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 19953-19962
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1914349117	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 Matsuo Takuya, Iida Takahiro, Ohmura Ayumi, Gururaj Malavika, Kato Daisaku, Mutoh Risa, Ihara Kunio, Ishiura Masahiro	4. 巻 16
2. 論文標題 The role of ROC75 as a daytime component of the circadian oscillator in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS GENETICS	6. 最初と最後の頁 e1008814
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1008814	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 Enomoto Shigeaki, Shimane Yasuhiro, Ihara Kunio, Kamekura Masahiro, Itoh Takashi, Ohkuma Moriya, Takahashi--Ando Naoko, Fukushima Yasumasa, Yoshida Yasuhiko, Usami Ron, Takai Ken, Minegishi Hiroaki	4. 巻 70
2. 論文標題 <i>Haloarcula mannaniilytica</i> sp. nov., a galactomannan-degrading haloarchaeon isolated from commercial salt	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY	6. 最初と最後の頁 6331-6337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/ijsem.0.004535	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 Sugawara Keita, Toyoda Hayato, Kimura Mami, Hayasaka Shunsuke, Saito Hiromi, Kobayashi Hiroshi, Ihara Kunio, Ida Tomoaki, Akaike Takaaki, Ando Eiji, Hyodo Mamoru, Hayakawa Yoshihiro, Hamamoto Shin, Uozumi Nobuyuki	4. 巻 478
2. 論文標題 Loss of cell wall integrity genes <i>cpxA</i> and <i>mrcB</i> causes flocculation in <i>Escherichia coli</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIOCHEMICAL JOURNAL	6. 最初と最後の頁 41-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20200723	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 Amemiya Shun, Toyoda Hayato, Kimura Mami, Saito Hiromi, Kobayashi Hiroshi, Ihara Kunio, Kamagata Kiyoto, Kawabata Ryuji, Kato Setsu, Nakashimada Yutaka, Furuta Tadaomi, Hamamoto Shin, Uozumi Nobuyuki	4. 巻 294
2. 論文標題 The mechanosensitive channel YbdG from <i>Escherichia coli</i> has a role in adaptation to osmotic up-shock	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 12281 ~ 12292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.007340	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 Imai Yuki, Shimasaki Takafumi, Enokimura Chihiro, Ohtsuka Hokuto, Tsubouchi Satoshi, Ihara Kunio, Aiba Hirofumi	4. 巻 84
2. 論文標題 gas1 mutation extends chronological lifespan via Pmk1 and Sty1 MAPKs in <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 330 ~ 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1676695	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 Nakano Shunji, Ikeda Muneki, Tsukada Yuki, Fei Xianfeng, Suzuki Takamasa, Niino Yusuke, Ahluwalia Rhea, Sano Ayana, Kondo Rumi, Ihara Kunio, Miyawaki Atsushi, Hashimoto Koichi, Higashiyama Tetsuya, Mori Ikue	4. 巻 117
2. 論文標題 Presynaptic MAST kinase controls opposing postsynaptic responses to convey stimulus valence in <i>Caenorhabditis elegans</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 1638 ~ 1647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1909240117	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 Kouyama Tsutomu, Dencher Norbert A.	4. 巻 20
2. 論文標題 Structural mechanism of microbial rhodopsins: Report for the session 4 at the 19th International Conference on Retinal Proteins	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	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) 10.2142/biophysico.bppb-v20.s014	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 Kouyama Tsutomu, Ihara Kunio	4. 巻 1864
2. 論文標題 Existence of two substates in the O intermediate of the bacteriorhodopsin photocycle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183998 ~ 183998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2022.183998	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kouyama T, Ihara K.
2. 発表標題 Existence of two substates in the 0 intermediate of the bacteriorhodopsin photocycle
3. 学会等名 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神山勉、井原邦夫
2. 発表標題 バクテリオロドプシンおよびアーキロドプシンのプロトン輸送サイクルにおける2種類の0中間体の出現
3. 学会等名 日本生物物理学会中部支部講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神山勉
2. 発表標題 筋収縮と能動輸送
3. 学会等名 日本物理学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	井原 邦夫  (Ihara Kunio)  (90223297)	名古屋大学・遺伝子実験施設・准教授    (13901)	

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
---------	---------