

## 有機デバイス動作環境下における価電子状態の測定

(東大院総合文化<sup>1</sup>, 横国大理工<sup>2</sup>) ○水野皓司<sup>1</sup>, 山口哲広<sup>2</sup>, 青木優<sup>1</sup>, 首藤健一<sup>2</sup>, 増田茂<sup>1</sup>Electronic structure of pentacene thin film bridged  
by two Au electrodes under bias voltage(Univ. of Tokyo<sup>1</sup>, Yokohama National Univ.<sup>2</sup>) ○Koji Mizuno<sup>1</sup>, Tetsuhiro Yamaguchi<sup>2</sup>,  
Masaru Aoki<sup>1</sup>, Ken-ichi Shudo<sup>2</sup>, Shigeru Masuda<sup>1</sup>

[序]

有機-金属界面における電子準位接続は、電荷注入などのデバイス特性に重要な影響を与える。これまで平衡状態(電圧印加のない有機-金属界面)での電子状態解析は、理論・実験両サイドから盛んに行われてきたが、デバイスの動作環境下での解析はほとんどないのが現状である。本研究では、電圧印加した有機-金属界面の価電子状態を明らかにすることを目的として、有機電界効果トランジスタ(OFET)を模した系を作製し、紫外光電子分光(UPS)と準安定原子電子分光(MAES)による実験的研究を行った。試料には有機半導体の典型であるペンタセンを用いた。

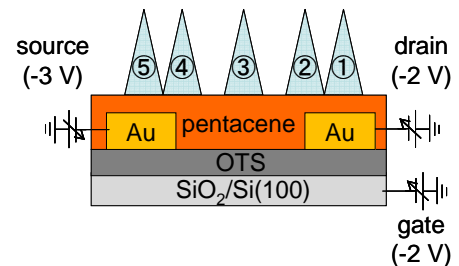


Fig. 1. 試料の模式図

[実験]

実験は超高真空光電子分光装置(base pressure :  $6.0 \times 10^{-11}$  Torr)を用いて行った[1]. UPS, MAESの励起源として He I 共鳴線( $h\nu=21.22$  eV), He\*( $2^3S$ , 19.82 eV)をそれぞれ用いた. Fig. 1 に試料の模式図を示す. 自然酸化した Si(100)基板をピラニア溶液で洗浄し, その上にオクタデシルトリクロロシラン(OTS)自己組織化単分子膜(SAM)を作製した. このような SAM の挿入により, ゲート電極との絶縁性や, ペンタセン膜の結晶性が大きく向上することが知られている[2]. 次に OTS 上に Au 電極(厚さ : 50 nm)を 3 mm 間隔で真空蒸着した. 最後にペンタセン(膜厚 : 60 nm)を真空蒸着した. Fig. 1 の①~⑤は測定領域を示しており, 有効検出領域は 1 mmφ である. 2つの Au 電極, 基板電極は独立に電圧印加できるようにした.

[結果と考察]

Fig. 2 に電圧印加したペンタセン薄膜の局所 UPS スペクトルを示す. スペクトル①~⑤は Fig. 1 の測定領域 ①~⑤に対応し, 印加電圧は Au 電極, Si 基板, Au 電極でそれぞれ -3, -2, -2 V である. 横

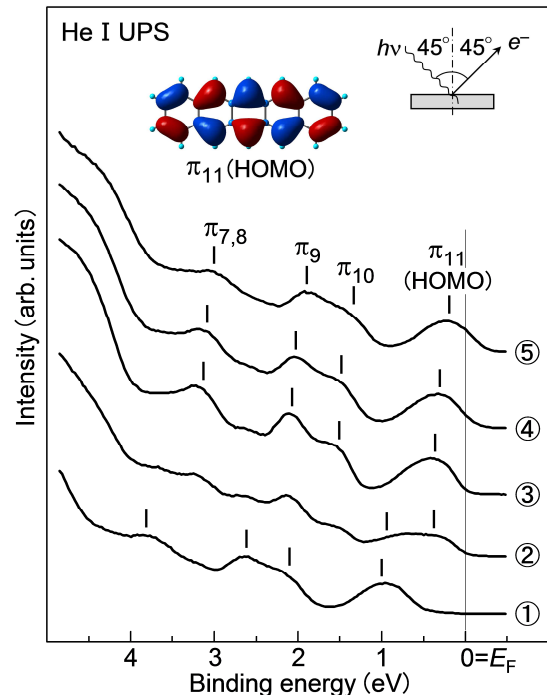


Fig. 2. 電圧印加したペンタセン薄膜の局所 UPS スペクトル

軸は右側の Au 電極のフェルミ準位( $E_F$ )を基準とした電子の結合エネルギー( $E_B$ ), 縦軸は放出電子強度を示す。ゼロバイアス(平衡状態)でのスペクトルは, 従来のスペクトルとよく一致する[3]。孤立分子の MO 計算から Fig. 1 のバンドは $\pi_{11}$ (HOMO),  $\pi_{10}$ ,  $\pi_9$ ,  $\pi_{7,8}$  状態に帰属される。ゼロバイアスにおいて測定された HOMO バンドの閾値は 0.7 eV であり, ホール注入障壁に対応する。ペンタセン薄膜の HOMO-LUMO ギャップは 2.2 eV であることから, 電子注入障壁は 1.5 eV と見積もられる。この結果はペンタセン-Au 系においてペンタセンが p 型半導体として振舞うことを示す。Fig. 2 のスペクトル①, ③

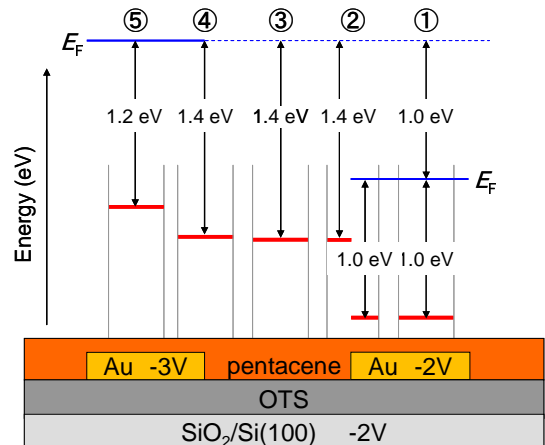


Fig. 3. ペンタセン HOMO バンドのエネルギーダイアグラム

～⑤の形状はゼロバイアスのスペクトルの形状とほぼ一致するが, 各バンドの結合エネルギーがシフトする。またスペクトル②はスペクトル①と③の重ね合わせで再現することができる。Fig. 3 に HOMO バンドエネルギーダイアグラムを示す。Au 電極間に電圧を印加すると, HOMO バンドの結合エネルギーは電極間で緩やかに変化するが, 高電位側の Au 電極と OTS 境界付近で大きくシフトすることがわかる。

Fig. 4 に金属-無機半導体(p 型)接合におけるエネルギーダイアグラムを示す。 $E_{vac}$ は真空準位,  $E_C$ は伝導帯ボトム,  $E_V$ は価電子帯トップ,  $E_F$ はフェルミ準位を表している。(a)は平衡状態における準位接続であり, 金属と半導体でフェルミ準位が揃うことから半導体の価電子帯, 伝導帯の曲がりが生じる。(b)は金属-半導体(p 型)-金属接合に電圧を印加した際のダイア

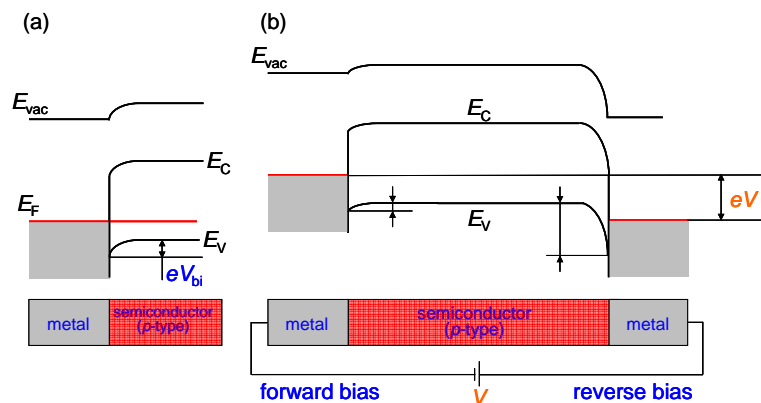


Fig. 4. 金属-無機半導体(p 型)-金属接合におけるエネルギーダイアグラム

グラムである。左側の金属-半導体接合では半導体側の電位が高い。このような順バイアスではショットキー障壁が低下し, バンドの曲がり小さくなる。一方, 右側の金属-半導体接合では金属側の電位が高く(逆バイアス), ショットキー障壁が増加し, 境界領域で大きなバンド曲がりが生じることになる。このような順バイアスと逆バイアスにおけるバンドの曲がりの違いが, 本研究の対象である金属-有機半導体(p 型)-金属接合の場合にも反映されていると解釈することができる。

#### [References]

- [1] M. Aoki, Y. Koide, S. Masuda, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* **156**, 383 (2007).
- [2] Y. M. Lee et al. *Current Applied Physics* **11**, 1168 (2005).
- [3] F. Amy, C. Chan, A. Kahn. *Organic Electronics* **6**, 85 (2005).

3P083

## 電子吸引基を有するレドックス活性錯体配位子を活用した 電気化学的酸化反応

(北大院理<sup>1</sup>・中大理工<sup>2</sup>) ○脇坂 聖憲<sup>1,2</sup>, 小林 厚志<sup>1</sup>, 加藤 昌子<sup>1</sup>,  
松本 剛<sup>2</sup>, 張 浩徹<sup>2</sup>

### Electrochemical oxidation reaction utilizing redox active metalloligand with electron withdrawing groups

(Hokkaido Univ.<sup>1</sup>, Chuo Univ.<sup>2</sup>) ○Masanori Wakizaka<sup>1,2</sup>, Atsushi Kobayashi<sup>1</sup>,  
Masako Kato<sup>1</sup>, Takeshi Matsumoto<sup>2</sup>, Ho-Chol Chang<sup>2</sup>

[序] 水分解触媒などの金属錯体を用いた多電子移動触媒は貴金属中心のレドックス能を基に研究されてきた。一方近年レドックス活性配位子の電子移動に基づく触媒系が注目されている。<sup>1</sup>我々は非貴金属錯体による多電子移動触媒システムの構築を目指し、レドックス活性配位子を組み込んだ錯体配位子 (**ML**) の集積化を試みている。<sup>2</sup>この様な錯体配位子を基盤とした集積システムは、捕捉金属のレドックス (Case I)、錯体配位子の中心金属のレドックス (Case II)、または錯体配位子の配位子のレドックス (Case III) による多電子移動が期待される。本研究では **ML** を活用した多電子酸化触媒系を構築すべく、電子吸引性の高いパーフルオロ基置換されたレドックス活性配位子を有する Cr(III) 錯体  $[\text{Cr}^{\text{III}}(\text{F}_4\text{Cat})_3]^{3-}$  ( $\text{F}_4\text{Cat}$  = perfluorocatecholato, 図 1) に着目した。この錯体は配位子中心の電子移動に基づく多段階レドックス能を示すことが期待される。本発表ではこの錯体による金属捕捉能及びそのレドックス特性並びに基質の電気化学的酸化反応について検討した。

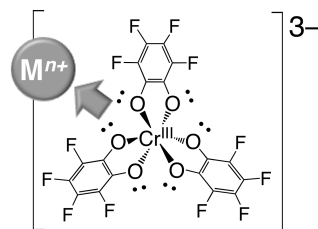


図 1.  $[\text{Cr}^{\text{III}}(\text{F}_4\text{Cat})_3]^{3-}$  の分子構造

[実験]  $\text{Cr}^{\text{III}}\text{Cl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  と三当量の  $\text{F}_4\text{CatH}_2$  を塩基存在下で作用させることにより  $(\text{Et}_3\text{NH})_3[\text{Cr}^{\text{III}}(\text{F}_4\text{Cat})_3]$  (錯体 **1**) を緑色粉末として得た。錯体 **1** 及び金属塩として  $\text{M}^{\text{II}}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{M} = \text{Mn}, \text{Fe}, \text{Co}$ ) を用いて溶液状態の UV-vis-NIR 及び CV 測定を行った。また錯体 **1** をドロップキャストした ITO 電極を作用極として用いて水中における固体状態の CV 測定を行った。

[結果と考察] 錯体 **1** と金属の相互作用を明らかにすべく、金属源として  $M^{II}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $M = \text{Mn}, \text{Fe}, \text{Co}$ ) を添加し吸収スペクトル測定を行った。吸光度の変化による Job's plot からいずれの金属においても 1:1 の相互作用を示すことから、錯体 **1** が錯体配位子として機能することが示唆された (図 2a)。またこのときの錯体配位子と各金属種の結合定数はそれぞれ 1.5, 2.3, 1.9 ( $\times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) であり比較的強い相互作用を示した。一方錯体 **1** は CV 測定により酸化側に三段階のレドックス波を示した (図 2b, 上)。電解 UV-vis-NIR 測定によりこれらの電子移動過程は置換基の異なる  $[\text{Cr}^{III}(\text{X}_4\text{semiquinonato})_3]$  ( $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$ ) と同様に全て配位子中心である Case III の電子移動であることが確認された。<sup>3</sup> また F 置換によりそれぞれの波に対応する酸化還元電位は Cl 置換体と比べ正側にシフトし ( $\Delta E_{1/2}(3-/2-) = 0.49$ ,  $\Delta E_{1/2}(2-/1-) = 0.41$ ,  $\Delta E_{1/2}(-/0) = 0.29 \text{ V}$ )、目的とした高い電子受容性を有していることが明らかとなった。更に錯体 **1** に金属を添加することにより特に第一酸化波が大きくポジティブシフトし ( $\Delta E^{pa} = 0.27, 0.30, 0.33 \text{ V}$ )、CV 測定からも錯体配位子と金属種との相互作用が示唆された (図 2b)。また ITO にドロップキャストした錯体 **1** を作用極として用いた固体 CV 測定により、 $\text{Fe}^{II}$  が共存することにより水中で触媒的な酸化電流を示した (図 2c)。当日は金属添加時の電子移動過程及び基質の電気化学的酸化機構について議論する。

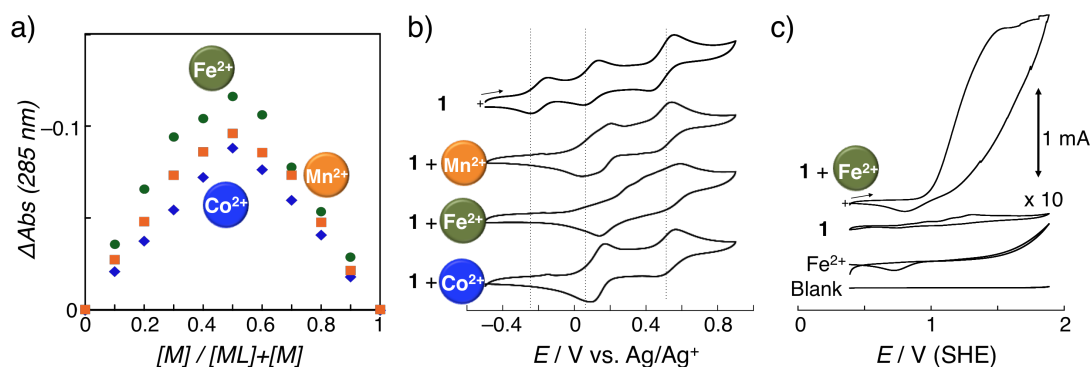


図 2. アセトニトリル中での錯体 **1** と  $M^{2+}$  ( $M = \text{Mn}, \text{Fe}, \text{Co}$ ) の (a) job's plot, (b) レドックス特性 (1 mM, 0.1 M  $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ , Ar, GC, Pt,  $\text{Ag}/\text{Ag}^+$ , 20 mV/s). (c) ITO にドロップキャストした錯体 **1** (固体) 及び  $\text{Fe}^{2+}$  (0.1 M 溶液), 錯体 **1**,  $\text{Fe}^{2+}$ , Blank の CV (0.5 M  $\text{NaClO}_4$  in  $\text{H}_2\text{O}$ , Ar, ITO, Pt,  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ , 2 mV/s)

[参考文献] 1. T. Matsumoto, H. -C. Chang, M. Wakizaka, S. Ueno, A. Kobayashi, A. Nakayama, T. Taketsugu, M. Kato, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 8646. 2. T. Matsumoto, M. Wakizaka, H. Yano, A. Kobayashi, H. -C. Chang, M. Kato, *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 8303. 3. (a) H. -C. Chang, T. Ishii, M. Kondo, S. Kitagawa, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1999**, 2467. (b) H. H. Downs, R. M. Buchanan, C. G. Pierpont, **1979**, 18, 1736.

タンパク質間の解離過程における  
自由エネルギー地形に関する理論的研究

(金沢大院・自然) ○松井貴寛, 川口一朋, 齋藤大明, 長尾秀実

Theoretical study on the free energy landscape  
in the dissociation process of proteins

(Nat.Sci. Kanazawa Univ.) ○ Takahiro Matsui, Kazutomo Kawaguchi,  
Hiroaki Saito, and Hidemi Nagao

**【序】** タンパク質間の解離自由エネルギーを調べることは、タンパク質複合体の構造、熱力学的特性、折りたたみ過程などを解明する上で重要である。これまでに、タンパク質とリガンドの解離自由エネルギーは分子動力学シミュレーションと熱力学的積分法により計算されており、自由エネルギー曲線では結合状態で1つの極小点が見られた[1]。溶媒中のタンパク質間の相互作用は、タンパク質分子間の相互作用だけでなく、溶媒和自由エネルギーも重要である。溶媒和自由エネルギーは溶媒露出面積(SASA)に大まかに比例することが経験的に示唆されている[2]。本研究では、タンパク質間の解離過程におけるシミュレーションを行い、解離過程の様子について調べた。SASAの異なるタンパク質において、分子動力学シミュレーションと熱力学的積分法により、解離自由エネルギーを計算し、SASAと解離自由エネルギーの相関を調べる。また、解離自由エネルギーと溶媒和自由エネルギーはどのような相関があるのかも調べる。

**【方法】** 理論的、実験的に広く研究されているタンパク質である、BPTI、Lysozyme、 $\alpha$ -Lactoglobulin A について、分子動力学シミュレーションを行った。それぞれタンパク質の重心間距離を拘束してシミュレーションを行った。温度  $T=300$  K、時間刻み  $dt=2.0$  fs、カットオフ距離は  $12\text{\AA}$ 、アンサンブルは NPT、圧力制御はアンダーセンの方法、温度制御は Nose-Hoover chain、クーロン力計算は PME 法で行った。力場は CHARMM27 を使い、水分子には TIP3P を用いた。BPTI を溶媒中に 2 個配置する場合は、セルサイズは  $80\text{\AA} \times 80\text{\AA} \times 80\text{\AA}$ 、水分子は 15166 個配置し、全原子数は 47294 個、カウンターイオンに  $\text{Cl}^-$  を 12 個付加した。Lysozyme を溶媒中に 2 個配置する場合は、セルサイズは  $85\text{\AA} \times 85\text{\AA} \times 85\text{\AA}$ 、水分子は 18665 個配置し、全原子数は 59931 個、カウンターイオンに  $\text{Cl}^-$  を 16 個付加した。 $\alpha$ -Lactoglobulin A を溶媒中に 2 個配置する場合は、セルサイズは  $105\text{\AA} \times 105\text{\AA} \times 105\text{\AA}$ 、水分子は 34632 個配置し、全原子数は 109104 個、カウンターイオンに  $\text{Na}^+$  を 18 個付加した。計算プログラムには MODYLAS[3]を用いた。

シミュレーションにより求める平均力を  $F$  とし、熱力学的積分法により自由エネルギー変化  $\Delta G$  を求める。重心間距離を  $r$  とし、系のポテンシャルが距離  $r$  に依存し  $V(r)$  と書けるとすると、2 個のタンパク質間の解離の自由エネルギー  $\Delta G(r)$  は以下の式により求められる。

$$\Delta G(r) = \int_{r_0}^r \left\langle \frac{\partial V(r')}{\partial r'} \right\rangle_{r'} dr' \quad (1)$$

$$= - \int_{r_0}^r \langle F(r') \rangle_{r'} dr' \quad (2)$$

ここで、 $r_0$  は自由エネルギーの基準点とする。

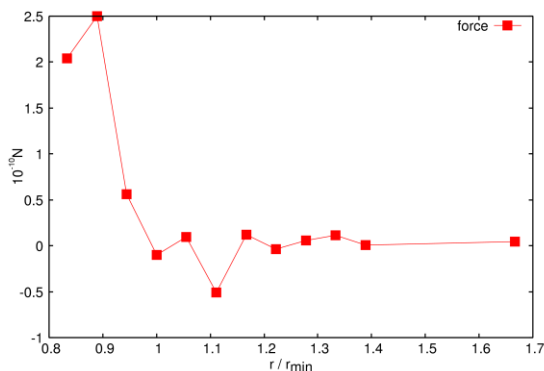


図 1. BPTI 間の平均力

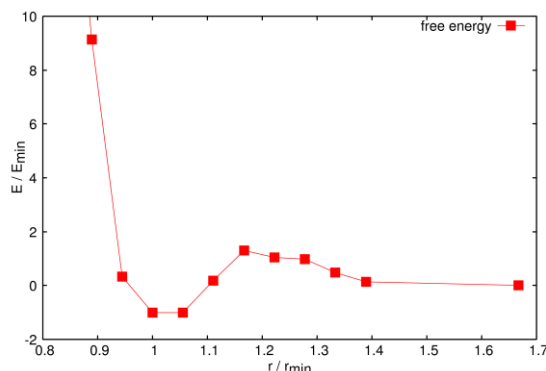


図 2. BPTI 間の自由エネルギー

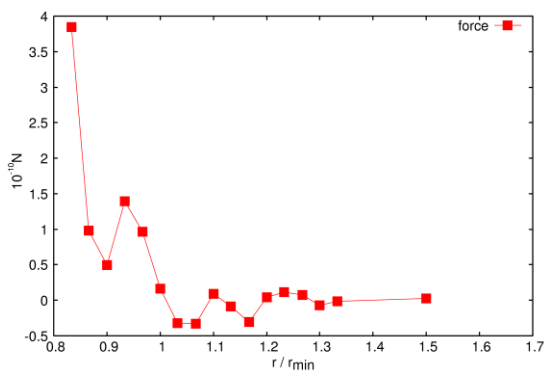


図 3. Lysozyme 間の平均力

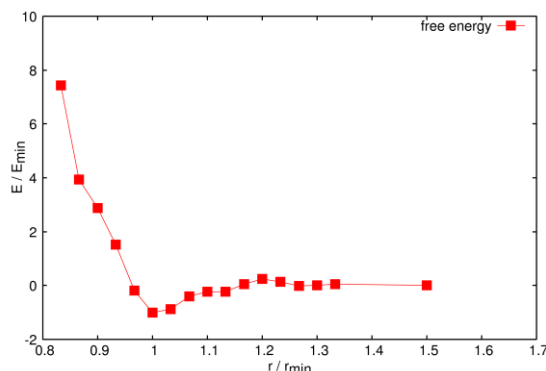


図 4. Lysozyme 間の自由エネルギー

**【結果と考察】** 図1~4にBPTIとLysozymeの重心間距離に対する平均力と自由エネルギー変化を示す。グラフの横軸は重心間距離  $r$  を自由エネルギー最小の時の重心間距離  $r_{min}$  で割って規格化した。BPTIでは  $r_{min} = 18\text{\AA}$ 、Lysozymeは  $r_{min} = 30\text{\AA}$ であった。図2,4の縦軸の値も、自由エネルギーの最小値  $E_{min}$  で割って規格化した。重心間距離が一番離れている点、BPTIでは  $30\text{\AA}$ 、Lysozymeでは  $45\text{\AA}$  のとき、平均力の値はそれぞれ、 $0.04 \times 10^{-10}\text{N}$ 、 $0.03 \times 10^{-10}\text{N}$ であり、ほぼ0であるから、この点を  $r_0$  とし、積分の基準とする。 $r_0$ でのエネルギーと  $E_{min}$ との差を解離自由エネルギーとする。

どちらのタンパク質も  $r_{min}$  よりも重心間距離が近づくほど平均力の値は大きくなっている。これは、タンパク質同士が接触する距離よりも近づいたため、分子同士で大きな斥力がはたらいたためと考えられる。解離エネルギーの値はどちらも正の値をとった。溶媒和自由エネルギーは負の値であり、SASAが大きくなると、溶媒和自由エネルギーは低くなる。Lysozymeの方が解離エネルギーは大きな値をとるので、SASAが大きい方が解離にエネルギーが必要であり、複合体が安定して存在すると考えられる。

他のタンパク質の計算結果は当日発表予定である。

表1. タンパク質の残基数、電荷、SASA、溶媒和自由エネルギー、解離エネルギー

タンパク質	残基数	電荷	SASA[ $\text{\AA}^2$ ]	溶媒和自由エネルギー [kcal/mol]	解離自由エネルギー [kcal/mol]
BPTI	58	+6	4037	-124	0.25
Lysozyme	129	+8	7098	-241	0.998
$\beta$ -Lactoglobulin A	162	-9	8256	-175	

#### References

- [1] K. Kawaguchi et al. CPL **588**, 226-230 (2013).
- [2] H.Saito et al. CPL **497**, 218-222 (2010).
- [3] Y. Andoh et al. JCTC **9**, 3201-3209 (2013).

## 3P086

### ノロウイルスキャプシドタンパク質とルイス抗原との糖鎖認識機構

産業技術総合研究所 ナノシステム研究部門 ○石田豊和 産業技術総合研究所 糖鎖創薬技術研究センター 久保田智巳 国立感染研究所 ウィルス第二部 白土東子

#### Computational Modeling of Carbohydrate Recognition in Norovirus Capsid Protein and Lewis Antigen

*Nanosystem Research Institute (NRI) National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST) ○Toyokazu Ishida*

*Glycomedicine Technology Research Center (GTRC) AIST Tomomi Kubota*

*Department of Virology II National Institute of Infectious Diseases (NIID) Haruko Shirato*

#### はじめに

生物機能の多様性において、細胞表面での糖鎖認識は非常に重要な役割を果たし、糖鎖がタンパク質や核酸に次ぐ第3の生命鎖であるとの認識も深まっている。糖鎖を特異的に認識して結合するタンパク質はレクチンと総称され、細胞表面の様々な糖鎖認識プロセスにおいては、多様性に富む糖鎖と種々のレクチン間の相互作用が多様性の起源であることが、近年の実験事実により明らかとなっている。現在知られるレクチンは、少なくとも40種類以上のフォールディングに分類されるが、糖鎖認識機構の詳細を見た時、各種レクチンの糖鎖特異性や結合力の差異等に関して、分子論的な起源は殆ど分かっていないのが現状である。弱い分子間力で会合体を形成する糖鎖-タンパク質複合体一般に関しては、会合対形成のドライビングフォースは明確ではなく、レクチンによる糖鎖認識を介した生体機能の発現メカニズムの解読は分子科学分野において今後いつそうの研究が期待される分野である。この状況を踏まえ我々は、糖鎖認識の一例としてセレクトインの糖鎖認識パターンを解析する為の段階的なモデリング手法を提案したが、先の研究に続き今回、ウィルス感染系の典型例としてノロウイルスキャプシドタンパク質と血液型抗原（糖鎖）との相互作用に注目し、感染初期のウィルスによる糖鎖認識の分子メカニズムの研究を開始した。

ノロウイルス (NoV) は冬季に流行する感染性胃腸炎の主要な原因ウイルスであり、一般には軽症で経過するが、しばし二次的な感染から大規模化して、社会的な関心を集める事は周知の事実である。ヒトから分離される NoV はヒトのみに感染性を有し、培養細胞や実験動物での感染実験や増殖系が成立しないことから、ウイルスの感染機構および複製機構などの基本的知見は明らかとなっていない。過去の研究により、遺伝子型 GI/1 に分類されるプロトタイプ NV/68 株に関しては、キャプシド P ドメインと A および H 抗原との複合体結晶構造が報告され、 $\alpha$ 1,2 Fuc の認識機構の詳細は明らかになっている。しかしながらルイス抗原を構成する  $\alpha$ 1,3/4 Fuc 認識機構については未だ明らかにされておらず、糖鎖認識機構の包括的な理解には至っていない。そこで今回、1.6 Å 分解能の結晶構造と QM/MM 計算を基礎とする複合モデリング技術をベースとして、複数の血液型抗原（血液型糖鎖）とノロウイルスキャプシドタンパク質との結合様式に関して一連の分



子シミュレーションおよび詳細な解析を実行して、弱い相互作用に起因する糖鎖認識機構の分子メカニズムを議論した。特に今回は、1アミノ酸レベルの相互作用エネルギー解析を通して、異なった糖鎖抗原に対する認識の分子論的な起源、および1アミノ酸変位が糖鎖結合に及ぼす相対的なエネルギー変化に注目した解析を行った。

### 研究目的と計算手法

糖鎖複合体の出発構造に関しては、久保田らによるノロウィルスキヤプシドタンパク質のX線結晶構造を用いて、これまで開発した独自のモデリング/計算手法を適用する事で、各種血液型抗原との構造モデルを作成した。レクチン-糖鎖複合体に代表される、弱い会合体を形成するタンパク質複合体をモデル化するには、初期構造として結晶構造を利用し単純な構造精密化を実行した場合に、生理条件下での会合状態が正しくモデル化でき、かつ意味ある計算結果が得られるかは、必ずしも明確ではない。そこで本研究では、以下の異なった2つのアプローチでモデリングを行う事で、得られる計算結果の比較検討を通し、原子レベルでの糖鎖認識機構を議論した：(1) 複合体結晶構造を初期情報として、QM/MMレベルで全系の構造精密化、モデル構造を構築する事で、結合サイト周辺の複合体構造解析、水素結合ネットワークの判定、および相互作用エネルギー成分の解析を行う。(2) 分子動力学計算とQM/MM計算を組み合わせ、糖鎖結合状態を定義する自由エネルギー面を評価して、安定領域の構造アンサンブルとして結合状態をモデル化する事で、最小自由エネルギー状態における糖鎖結合配座の同定と各種の構造パラメータを抽出する。

### 計算および解析結果

各種糖鎖抗原との認識パターンを網羅的に解析するため、分子モデリング構造の出発点としては天然型キャプシドタンパク質とルイスb糖鎖複合体の結合構造を基準にとり、これを基に系統的な分子モデリング、相互作用エネルギー成分解析、結合自由エネルギーの解析を段階を踏んで実施した。天然型タンパク質の糖鎖結合部位に1アミノ酸置換を導入した場合、ルイスb糖鎖との親和性が向上することが実験事実から知られているが、この分子論的起源は明確ではなく、高分解能の結晶構造解析からも明確な回答が得られていない。そこで先ず初めに、X線結晶データを直接用いて結合サイト近辺の構造パターンをQM/MM計算から詳細に解析したが、ルイスb糖鎖とウィルスキヤプシドとの相互作用に関しては、明確な構造論的差異を見つける事は困難であった。そこで次に、糖鎖結合を定義する自由エネルギー面をQM/MM計算より求める事で、自由エネルギー的に安定な糖鎖の集団構造を解析し、天然型および変位型での構造差を比較した。この場合でもタンパク質との相互作用に関しては有為な違いが認められず、むしろ1アミノ酸置換に誘発された局所的な構造変化、それに伴った水和構造の変化が大きく影響する事が徐々に明らかとなり、更に詳細な解析を継続している。

### References

1. Kubota, et al. *Journal of Virology* **2012**, 86, 11138-11150.
2. Ishida *J. Phys. Chem. B* **2010**, 114, 3950-3964 (Cover Art Article).



## 1 分子レベルでみた光合成反応中心タンパク質の分光特性

(東工大・理工<sup>1</sup>, 阪大・蛋白研<sup>2</sup>, 阪大・理<sup>3</sup>)○近藤 徹<sup>1</sup>, 武藤 梨沙<sup>2</sup>, 栗栖 源嗣<sup>2</sup>, 大岡 宏造<sup>3</sup>, 藤芳 暁<sup>1</sup>, 松下 道雄<sup>1</sup>

## Spectroscopic characteristics of photosynthetic reaction center at the single-molecule level

(1: Dept. Phys., Tokyo Tech., 2: IPR, Osaka Univ., 3: Dept. Biol. Sci., Osaka Univ.)

○Toru Kondo<sup>1</sup>, Risa Mutoh<sup>2</sup>, Genji Kurisu<sup>2</sup>, Hirozo Oh-oka<sup>3</sup>, Satoru Fujiyoshi<sup>1</sup>, Michio Matsushita<sup>1</sup>

【序】 太陽光の光エネルギーは光合成反応中心 (RC) タンパク質で電気化学エネルギーへと変換される。RC の反応効率は極めて高い。結合分子の相対配置や化学ポテンシャルが最適化されていることがわかっている。一方で、熱揺らぎや反応に伴う局所構造変化など動的因子の重要性も示唆されてきている。理論研究が進む中、実験的なアプローチは難航している。通常行われるモル数程度のタンパク質を対象にしたアンサンブル測定では、局所的な構造変化の情報など不均一幅に埋没してしまい解析できない。そこで RC の 1 分子スペクトル解析を行うことにした。

近年、1 分子スペクトル測定からタンパク質の色素結合サイトの構造や物性が解析されるようになってきた。しかし、ほぼ全てが光合成アンテナ複合体を対象にしたものであり、光エネルギー/電気化学エネルギー変換反応で中心的な役割を果たす RC 電子移動系が 1 分子レベルで解析された例はない。RC は複数の色素が結合する複雑な系であり、電子移動経路に結合する 1 分子だけを分光するのは難しい。そこで本研究では光合成細菌ヘリオバクテリアの RC (hRC) を解析に用いた (図 1)。hRC はバクテリアクロフィル *g* (Bchl *g*) が 30 分子程度結合する小さなアンテナ系しか持たない。電子移動担体  $A_0$  としてクロフィル *a* (Chl *a*) が 2 分子結合し、電子移動やエネルギー移動に関与する。ホモダイマー構造の hRC では 2 つの Chl *a*- $A_0$  が完全に等価な配置をとる。Chl *a*- $A_0$  は Bchl *g* と吸収ピーク波長が異なるため選択励起でき、励起エネルギーは高速で red-Bchl *g* に移動し蛍光放出されるため Chl *a*- $A_0$  1 分子の蛍光励起スペクトルが測定可能である。一方で、hRC の蛍光量子収率は極めて低く、極低温 (6 K) でも 2% 以下しかない (図 2)。微弱な蛍光をもとに可視光域の極低温蛍光励起スペクトルを測定する必要がある。そこで、我々のグループで独自開発した極低温用反射型対物レンズ (開口数 0.6) を共焦点顕微鏡に組み込み、新たに開発した波長可変光源と合わせて測定に用いた。RC 内電子移動系で機能する色素の 1 分子スペクトル解析に初めて成功した。

【実験】 hRC 標品は *Heliobacterium modesticaldum* から単離・精製した。F<sub>A</sub>/F<sub>B</sub> 結合タンパク質 (PshB) は除去されている。buffer (50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1% poly vinyl alcohol-EG40, 0.2 mM  $\beta$ -DDM, 10 mM ascorbate) で 10 pM 程度に希釈し、CaF<sub>2</sub> 基板にスピコートした後、クライオスタット (Optistat SXM, Oxford 社) にセットした。hRC は絶対嫌気性なので精製から測定まで全てを脱酸素条件下で行った。蛍光励起スペクトル測定では励起波長スキャンの速度を下げ (1.6 nm/s)、1 点 (0.5 nm 刻み) 当たりの積算時間を長く (0.3 s) した。

【結果と考察】 2D 蛍光イメージを観測して輝点位置を求め、そこで蛍光励起スペクトルを測定した。図 3 に強光励起した際の結果を示

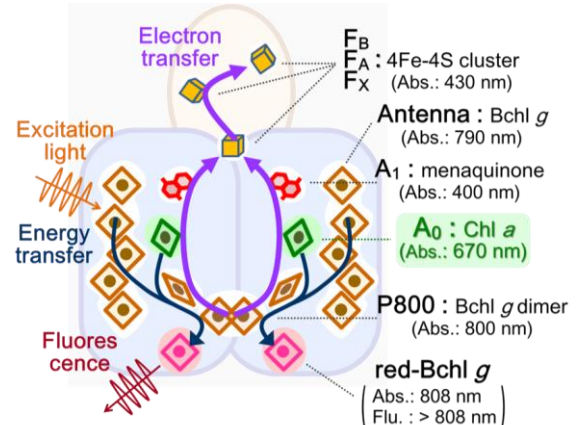


図 1 : 光合成細菌ヘリオバクテリア反応中心タンパク質 (hRC) の推定構造

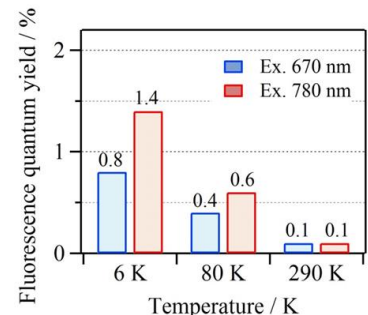


図 2 : hRC の蛍光量子収率。670 nm, 780 nm 励起はそれぞれ Chl *a*- $A_0$ 、Bchl *g* 励起に対応する

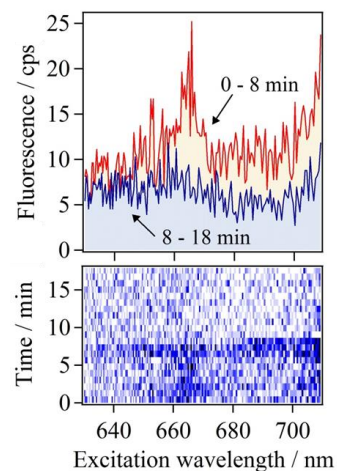


図 3 : hRC の蛍光励起スペクトル。強光 (ca. 400 W/cm<sup>2</sup>) で励起。赤と青のスペクトルはそれぞれ光退色前後を示す。測定温度は 6 K。

す。8 min を境にスペクトルが1ステップで消滅した。1ステップの光退色は単一 hRC が観測できていることを示す。退色後のスペクトル(青)が平らでないのは励起光強度に波長依存性があるためなので、以降のスペクトルは励起光強度で規格化し補正した。

図4は hRC の蛍光励起スペクトルを示す。(a)はアンサンブル hRC、(b-e)は単一 hRC から得た。(a)のピーク1と2はそれぞれ Chl *a*-A<sub>0</sub> と Bchl *g* に対応する。単一 hRC スペクトル(b)にも同様の位置にピーク3と4が観測された。これらのピークを同定するため飽和特性を調べた(図5)。ピーク1(Chl *a*-A<sub>0</sub>)とピーク2(Bchl *g*)は異なる特性を示した。同様に単一 hRC のピーク3と4も異なる特性を示し、ピーク3は Chl *a*-A<sub>0</sub> と似ていた。これより、670 nm 付近に観測されるピークは Chl *a*-A<sub>0</sub> 由来と結論した。

単一 hRC スペクトル(c)では 670 nm 付近に2つのピーク5と6が観測された。そこで励起偏光依存性を測定し比較した(図6)。ピーク5と6で異なる偏光依存性を示した。この結果から、670 nm 付近に観測される2つのピークは hRC に結合する2つの別々の Chl *a*-A<sub>0</sub> に由来すると結論した。1つの hRC 内で全く等価な配置をとる2つの Chl *a*-A<sub>0</sub> でも異なるピーク波長・線形を示し、局所構造が異なる。スペクトル(e)のように、Chl *a*-A<sub>0</sub> の遷移双極子の向きによっては2つのピークが観測されない場合もあった。また、スペクトル(e)のようにピークが2つ以上観測される場合もあり、ピークシフトが生じている可能性が考えられた。

図7は1個の単一 hRC で観測された Chl *a*-A<sub>0</sub> ピークの波長分布を示す。アンサンブルスペクトルの Chl *a*-A<sub>0</sub> ピークを再現するピーク波長分布が得られた。670 nm 付近に観測されたピークが Chl *a*-A<sub>0</sub> 由来であることを裏付ける結果である。

以上のように hRC 内電子移動系の1分子解析が可能となった。完全に対称的なホモダイマー構造の hRC も局所的には不均一であり、2つの Chl *a*-A<sub>0</sub> ピークを区別できる。それを利用し Chl *a*-A<sub>0</sub> 1分子の選択励起も可能である。図8は、Chl *a*-A<sub>0</sub> 1分子のピーク(図中矢印で示す。図4cのピーク5と同じもの。)を長時間励起して光退色させた際のスペクトル変化を示す。光照射から150 sで光退色した(挿入図)。光退色後は励起していた Chl *a*-A<sub>0</sub> のピークが消滅し、Bchl *g* ピークを含めた全体の強度が1/3に減少した。hRC に部分的な負荷が加わった結果である。このようにエネルギー移動経路を個別に解析することが可能である。また、Chl *a*-A<sub>0</sub> 1分子をプローブとして hRC 内の2つの電子移動経路を個別に解析することもできる。

常温ではサブナノ秒スケールで常に構造が揺らいでおり、太陽光条件下で生じる RC の光子吸収間隔よりもずっと短時間で構造は変化する。エネルギー移動や電子移動が毎回若干ずつ異なる構造で生じていることが予想される。これらの局所的な構造変化と機能の相関関係の解明に向けて今後大きく前進できる。

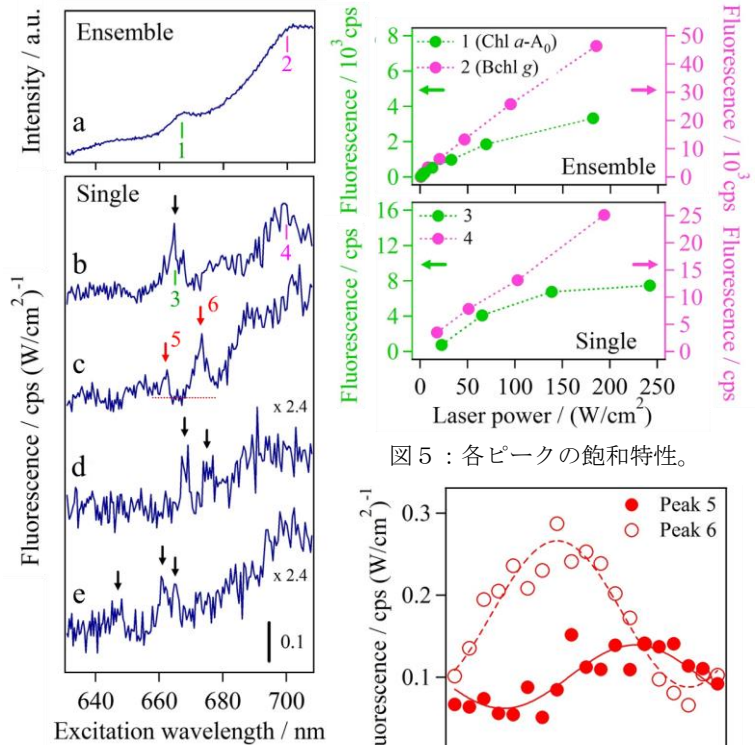


図4: hRC の蛍光励起スペクトル。(a) アンサンブル hRC、(b) 単一 hRC。測定温度は 6 K。励起光強度は ca. 50 W/cm<sup>2</sup>。

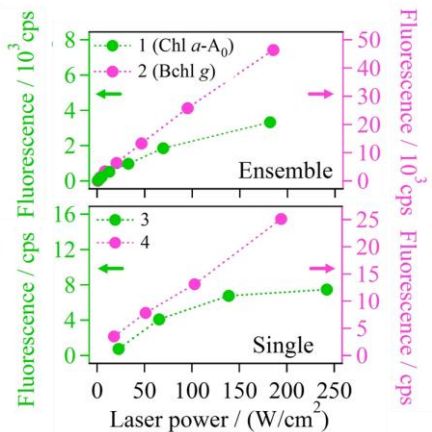


図5: 各ピークの飽和特性。

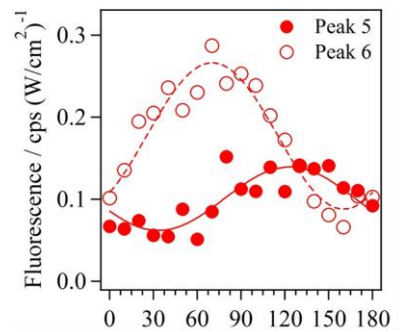


図6: 各ピークの励起偏光依存。ピーク強度は図4c中の赤点線をゼロ点として求めた。

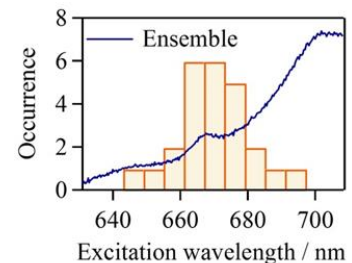


図7: 単一 Chl *a*-A<sub>0</sub> 分子のピーク波長分布

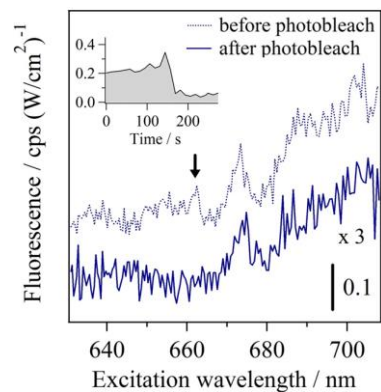


図8: 単一 hRC の部分的な光退色。挿入図は矢印位置で励起しながら測定した蛍光強度の時間変化。光退色後のスペクトル(実線)は強度を3倍にして表示した。

抗体のアミノ酸配列データベースの統計的解析  
 (広島市大院・情報) ○脇田 淳永, 藤原 久志, 石渡 孝  
 Statistical analysis of an antibody sequence database  
 (Hiroshima City Univ.) ○A.Wakita, H.Fujiwara, and T.Ishiwata

**【序】** 分子認識に関わるアミノ酸配列は特異性が高いため、従来の文字配列解析法（類似性検索に基づく）で取り扱うことが難しい。これに対し、美宅らは、アレルゲンのエピトープ（抗原決定基）の特徴抽出において、統計的解析が有用であることを示した<sup>1)</sup>。本研究では、こうした統計的解析を抗体分子に適用し、その分子認識部位のアミノ配列の特徴抽出を目指すこととした。

**【抗体のアミノ酸配列データの取得】** ヒト免疫グロブリン G (Immunoglobulin G, IgG) H鎖のアミノ酸配列情報ファイル human.ig.hc (Kabat データベース<sup>2)</sup>の一部) を、European Bioinformatics Institute の FTP サーバー<sup>3)</sup> から取得した。IgG H鎖のアミノ酸配列には、超可変領域とよばれる多様性の高い比較的短い配列が3か所存在する。超可変領域は抗原認識に関与すると考えられ、実際に、相補性決定領域 (CDR) 1、CDR2、CDR3ともよばれる<sup>4)</sup>。本研究では特に高い多様性を持つH鎖の CDR3 (CDRH3) を研究対象とした。

**【CDRH3 アミノ酸配列の抽出】** 取得した IgG H鎖の情報の一例を図1に示す。一つのデータの情報は”AA TABLE”から始まり、”//”で終わる。IgG H鎖のアミノ酸配列は、ファイル内の AA SEQUEN の欄に3文字表記で書かれている。ダウンロードしたファイルには、1173個のデータが含まれていた。

```

AA TABLE : HUMAN HEAVY CHAINS FAMILY I
NUC TABLE : CODONS OF HUMAN HEAVY CHAINS FAMILY I
          |
          |
KABAT NUM : 0|1|2|3|...|110|111|112|113
AA SEQUEN : ---|GLN|VAL|GLN|...|THR|VAL|SER|SER
          |
          |
//
AA TABLE : HUMAN HEAVY CHAINS FAMILY I
          |
          |

```

図1: IgG H鎖の情報の一例

これらのデータから、欠損のない完全な CDRH3 アミノ酸配列を抽出するために、次の三つの基準を設けた：①CDRH3 近傍の保存度の高いシステインとグリシン（それぞれ Kabat 番号 92 と 104）が存在すること；②これらのシステインからグリシンまでの配列（CDRH3 を含む）に空白がないこと；③TRM（偽遺伝子）がないこと。さらに、冗長性を取り除くために、複数の同一配列は一つの配列として取り扱い、複数の類似配列（同一長でアミノ酸の違いが三つまで）は、相違アミノ酸の重み付け処理を含めつつ、一つの配列としてまとめることとした。

以上の処理を行う Perl スクリプトを実装し、ActivePerl（バージョン 5.16.3.1603）を実行環境として、配列長 3~19 の CDRH3 アミノ酸配列 338 個を抽出した（図

2)。なお、抽出処理が複雑になることを避けるために、配列長 20 以上のデータ 59 個は取り扱わないこととした。図 2 では、配列長 10~14 にピークが見られる。この配列長分布は、先行研究<sup>5)</sup>と同様の傾向を示しており、抽出処理の妥当性を支持している。

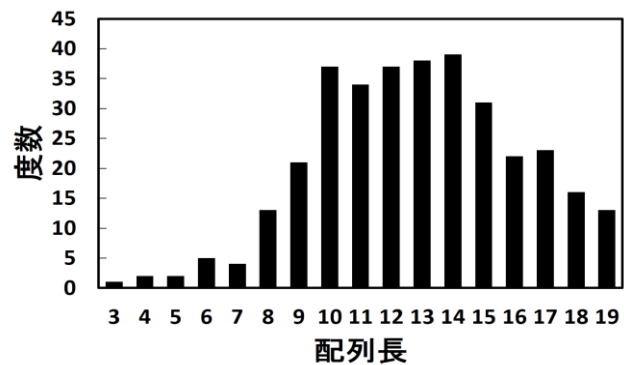


図 2 : ヒト CDRH3 の配列長の分布

**【CDRH3 アミノ酸配列の統計的解析】** CDRH3 はループを形成しており<sup>6)</sup>、その中央付近は分子認識に大きく関わりと考えられる。そこで、分子認識に関与するアミノ酸を見出すために、配列長 10~19 のヒト CDRH3 アミノ酸配列について、配列全体と中央（三残基）における各アミノ酸出現頻度を比較した（図 3）。なお、出現頻度の計算は、C 言語プログラムを実装・実行して行った。

まず初めに、ヒト CDRH3 では中央も含めて全体的にチロシンの出現頻度が高いことが分かる。これに関連して、セリンとトレオニンでは中央での出現頻度が高くなることが分かる。これらのことより、ヒト CDRH3 の分子認識ではヒドロキシ基が重要であると考えられる。

また中央も含めて全体的にグリシンの出現頻度が高いことは、CDRH3 ループに可塑性を与えて、エピトープとの適切な位置関係を探ることに役立っていると考えている。

さらに種々の統計的解析を行うことで、抗体の分子認識とアミノ酸物性との関係について調べる予定である。

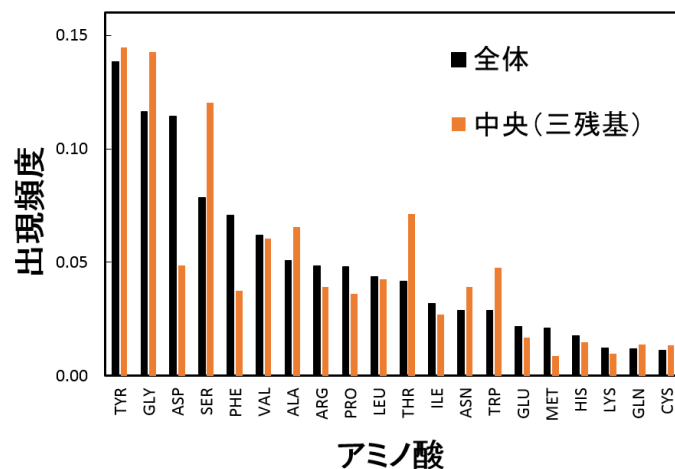


図 3 : ヒト CDRH3 における各アミノ酸の出現頻度

### 【参考文献ほか】

- 1) N. Asakawa, N. Sakiyama, R. Teshima, and S. Mitaku, *J. Biochem.*, **147**, 127 (2010).
- 2) G. Johnson and T. T. Wu, *Nucl. Acids Res.*, **28**, 214 (2000).
- 3) <http://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/kabat>
- 4) Peter Wood (訳: 山本一夫), 免疫学 (東京化学同人, 東京, 2010) .
- 5) T. T. Wu, G. Johnson, and E. A. Kabat, *Proteins*, **16**, 1 (1993).
- 6) A. Liljas et al. (訳: 田中勲, 三木邦夫), 構造生物学 (大洋社, 東京, 2012) .



りん光性イリジウム錯体を用いた細胞内酸素濃度計測：細胞内移行機構と局在の検討

(群馬大院・理工<sup>1</sup>, 群馬大院・工<sup>2</sup>) ○菊地 亮平<sup>1</sup>,  
増田 剛<sup>2</sup>,村山 沙織<sup>2</sup>,吉原 利忠<sup>1</sup>,飛田 成史<sup>1</sup>

Intracellular oxygen measurements by using phosphorescent iridium complexes:  
intracellular uptake mechanisms and localization of probes

(Graduate School of Science and Technology<sup>1</sup>,  
Graduate School of Engineering<sup>2</sup>, Gunma Univ.)

○Ryohei Kikuchi<sup>1</sup>, Tsuyoshi Masuda<sup>2</sup>, Saori Murayama<sup>2</sup>, Toshitada Yoshihara<sup>1</sup>, Seiji Tobita<sup>1</sup>

【序】酸素は細胞の活動に必要不可欠であり、細胞の低酸素化はがんをはじめ様々な疾患に関連する。このため、細胞や組織内の酸素濃度を定量する方法はこれらの疾患の医学的研究につながることを期待される。本研究室では、イリジウム錯体のりん光が酸素によって著しく消光されることを利用して、細胞・組織内の酸素濃度定量法の開発を行っている。イリジウム錯体は室温で高いりん光量子収率を示し、配位子を変えることでミトコンドリアや、リソソームなど細胞内オルガネラへの局在が変化する。イリジウム錯体は脂溶性が高いため各オルガネラの膜中に局在していると予想されるが、実験的確認は得られていない。また、これらのイリジウム錯体の細胞内への移行機構についてはまだ解明されていない。そこで本研究では、イリジウム錯体の細胞内局在と細胞内への取り込み機構の検討を行った。

細胞内には様々なオルガネラが存在し、これらはタンパク質、脂質など多種の成分で構成されている。細胞を構成する成分ごとに分画し、それぞれの成分の発光強度、寿命を測定することで、イリジウム錯体の細胞内局在を検討した。

また、細胞による物質の取り込み機構は、細胞内のエネルギー単位である ATP を必要としない受動輸送と ATP を必要とする能動輸送に大別される。これらは取り込みの特徴によってさらに細かく分類される。本研究では、我々の研究室で合成されたイリジウム錯体について、各取り込み機構に対する阻害剤または活性化剤を細胞に投与し、イリジウム錯体の細胞内への取り込み機構を検討した。

【実験】りん光顕微画像は倒立型リサーチ顕微鏡 IX71(OLYMPUS), Evolve 512(PHOTOMETRICS)で撮影した。細胞分画は EzSubcell Fraction, EzSubcell Extract (各 ATTO)を用いて行った。発光強度測定は、マイクロプレートリーダー Infinite 200 pro (TECAN)を用いて行った。各取り込み機構の阻害剤として sucrose, chlorpromazine, filipin, wortmannin, EIPA, monensin, chloroquine, 活性化剤として phorbol 12-myristate-13-acetate, 1,2-dipalmitoyl-rac-diacylglycerol を用いた。りん光プローブとして BTPDM1, BTQPhenDMA, BTQMito を用いた(Fig. 1)。

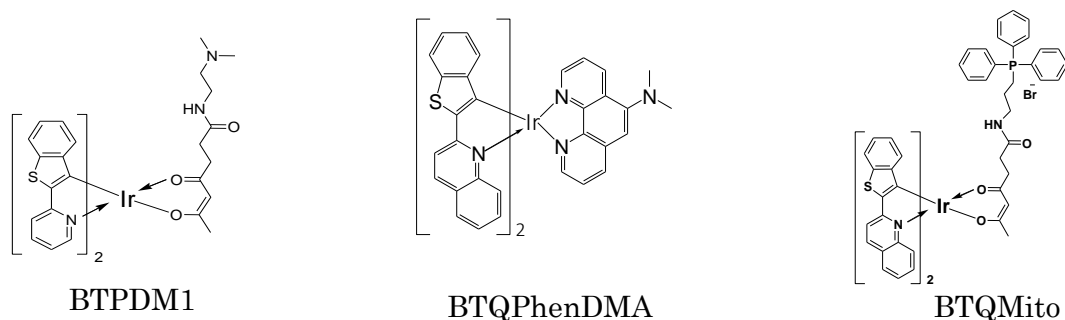


Fig. 1 実験に用いたイリジウム錯体の構造式

【結果・考察】 HeLa 細胞に Fig. 1 のイリジウム錯体を添加後 2 時間培養し, EzSubcell Fraction, EzSubcell Extract を用いて分画を行った. EzSubcell Fraction では分画成分として, ミトコンドリア分画, 核分画が得られた. 得られた分画を, 蛍光顕微鏡を用いて観察したところ, 各イリジウム錯体は, どちらの分画からも発光が確認されたが, 核分画においては核を覆う核膜から発光しているように観察された. また, 得られた各分画について, 時間相関単一光子計数法に基づく寿命計と蛍光顕微鏡を接続した細胞内りん光寿命測定装置を用

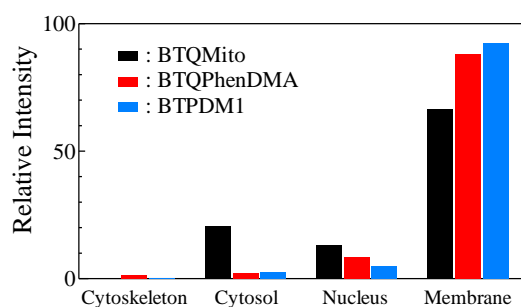


Fig. 2 各分画におけるイリジウム錯体の発光強度

いてオルガネラ中における各イリジウム錯体のりん光寿命を測定した. これらの減衰曲線から寿命は二成分であり, 酸素応答性が確認された. EzSubcell Extract を用いた分画では, 分画成分として細胞質成分, 細胞膜中成分, 核成分, 不溶性タンパク質(細胞骨格)が得られた. これらの分画を用いて発光強度の測定を行った. この結果を Fig. 2 に示す. 発光強度はどの錯体においても膜中成分分画が最も大きくなった. このことから, イリジウム錯体は細胞内オルガネラの膜中に局在していることが分かった. BTPDM1, BTQPhenDMA, BTQMito は各オルガネラ集積試薬との共染色実験により BTPDM1 はリソソーム, BTQPhenDMA, BTQMito はミトコンドリアに集積性を持つことが明らかになっている. したがって, BTPDM1 はリソソーム膜, BTQPhenDMA, BTQMito はミトコンドリア膜に主に局在していると考えられる.

次にイリジウム錯体 BTPDM1 の細胞内への取り込み機構の検討を行った. HeLa 細胞を様々な能動輸送の取り込み機構に対する阻害剤または活性化剤を添加した培地で培養した後, BTPDM1 を添加して追加培養し, 蛍光顕微鏡を用いて発光強度の変化を観察した. その結果, すべての阻害剤, 活性化剤において, Control と比較して殆ど変化が見られなかった. また, 4 °C における HeLa 細胞中のイリジウム錯体のりん光顕微鏡観察の結果において, 室温に比べて, 発光強度の低下が見られた. 細胞膜は 4 °C において, 流動性が低下するため受動輸送が制限される. 以上の結果から BTPDM1 は受動輸送(拡散)によって細胞に取り込まれていると考えられる.

### 3P090

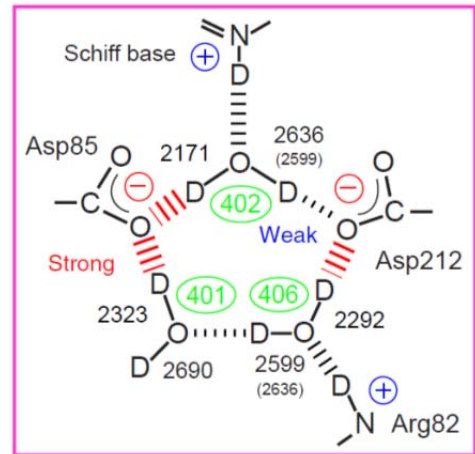
## 光駆動ナトリウムポンプロドプシンの低温赤外分光

(名古屋工業大学<sup>1</sup>, JST さきがけ<sup>2</sup>) 大野 光<sup>1</sup>, Faisal H. M. Koua<sup>1</sup>, 吉住 玲<sup>1</sup>, 井上圭一<sup>1,2</sup>,  
○神取秀樹<sup>1</sup>

## Low-temperature FTIR spectroscopy of a light-driven sodium ion pumping rhodopsin

(Nagoya Institute of Technogy<sup>1</sup>, JST PREST<sup>2</sup>) Hikaru Ono<sup>1</sup>, Faisal H. M. Koua<sup>1</sup>, Rei Abe-Yoshizumi<sup>1</sup>,  
Keiichi Inoue<sup>1,2</sup>, ○Hideki Kandori<sup>1</sup>

【序】光駆動イオンポンプとして機能する微生物型ロドプシンの内部には、正負 2 個の電荷からなる電気四重極が存在し、イオンのベクトル輸送に関わることが知られている [1, 2]。図にはプロトンポンプとして有名なバクテリオロドプシン (BR) の例を重水中での水素結合構造 [3] とともに示した (数字は水分子の伸縮振動)。光を吸収するレチナールは Schiff 塩基がプロトン化しているため正電荷を持っており、Arg82 と合わせた 2 個の正電荷が 2 個のカルボン酸 (Asp85, Asp212) の負電荷と 3 個の水分子によって安定化されている。レチナールが光を吸収し異性化反応を起こすと、マイクロ秒の時間領域で Asp85 へプロトンが移動し、外向き (図で下向き) のプロトンポンプが実現する。内向きクロライドポンプは Asp85 が中性化された部位にクロライドが結合して電気四重極を構成し、光異性化後に図で上向きにクロライドが移動する結果として実現する。このように正電荷をもったレチナール発色団との相互作用変化がプロトンやクロライドのポンプを担うため、発色団近傍に結合できないナトリウムのポンプは存在しない、というのが長い間の分野の常識であった。



ところが光駆動ナトリウムポンプは存在した。海洋性細菌 *Krokinobacter eikastus* に含まれる *Krokinobacter rhodopsin 2* (KR2) が外向きにナトリウムイオンを輸送することを我々は昨年 4 月に報告したのであるが、その存在に加えて 2 つの意外な事実が明らかになった [4]。

(1) ナトリウムイオンの結合部位は出口 (細胞外) 側表面にあるが、アミノ酸変異により結合できなくさせてもナトリウムイオンをポンプできる。

(2) ナトリウムイオン以外にリチウムイオンもポンプできるが、陽イオンがカリウム以上の大きさになるとプロトンポンプになる。

KR2 では BR の Asp85 が中性化されている (Asn112) 一方、レチナール近傍の Thr89 の位置に新たなアスパラギン酸が存在する (Asp116)。新たな配置をもった電気四重極がどのようなはたらきでレチナール近傍には結合しないナトリウムイオンをポンプできるのか、興味は尽きない。本研究では、低温赤外分光解析を KR2 に対して試みることで、新規ロドプシンとしてどのような構造の特徴を持つのか検討した。



【実験】KR2 試料は大量発現用に形質転換した大腸菌・C41(DE3)株を用いて発現した。また C 末端側に His タグを導入し  $\text{Co}^{2+}$ -NTA カラムで精製した。ナトリウムポンプとしてはたらく NaCl、プロトンポンプとしてはたらく KCl の存在下で水和フィルムを作製、レチナール近傍の構造変化が捉えられる 77 K で光誘起赤外差スペクトルを測定し、それぞれのイオンポンプとして機能する際の構造及び初期構造変化を比較した。

【結果と考察】実験の結果、全トランスから 13 シス型への異性化反応が観測され、長波長産物 (K 中間体) が生成した [5]。さらに異性化反応に伴うレチナール分子の捻れや水分子を含む水素結合構造の変化が観測され、KR2 も他の微生物型ロドプシンと同様の光誘起初期反応を示すことが明らかになった。K 中間体に観測されたレチナールの水素面外変角振動はそのほとんどが重水素効果を示したが、このことは H/D 置換するシッフ塩基近傍の振動であることを示している。これまでの研究により、異性化が起こるとポンプはシッフ塩基近傍に、センサーはより広がった部位に捻れが起こることがわかっているが [6]、ナトリウムポンプもポンプとしての性質を備えていることがわかった。

一方、驚いたことに、NaCl 中と KCl 中で全く同一のスペクトルが得られた [5]。室温での過渡吸収実験から、水和フィルムの光反応サイクルは NaCl 中と KCl 中で異なっていたので、初期反応における構造変化が同一であり、K 中間体の緩和以降に異なる構造変化が起こると解釈できる。ナトリウムの結合部位は出口側表面に存在するので妥当な結果に思えるかもしれないが、BR において 77 K でレチナールから 11 Å 以上離れた部位の構造変化が観測されており [7]、機能の異なる二状態が同一の初期反応を示すという事実は興味深い。このロドプシンは、光を吸収して異性化をした段階では自分がどのイオンをポンプするのかわからない、とすることができる。

今回のポスター発表では、変異タンパク質に対する新たな結果も示し、光駆動ナトリウムポンプの構造の特徴について議論したい。

【参考文献】 [1] 神取秀樹, *Mol. Sci.* **5**, A0043 (2011). [2] O. Ernst et al. *Chem. Rev.* **114**, 126 (2014). [3] M. Shibata, H. Kandori *Biochemistry* **44**, 7406 (2005). [4] K. Inoue et al. *Nature Commun.* **4**, 1678 (2013). [5] H. Ono et al. *J. Phys. Chem. B* **118**, 4784 (2014). [6] D. Suzuki et al. *Biochemistry* **47**, 12750 (2008). [7] H. Kandori et al. *PNAS* **97**, 4643 (2000).

