解説

電気生理学から見えてくる微生物型ロドプシンの イオン輸送メカニズム

角田 聡 JSTさきがけ / 名古屋工業大学客員准教授

The microbial rhodopsins are a class of membrane proteins with seven transmembrane helices harboring an all-*trans* retinal retinal chromophore. The functions of microbial rhodopsins are diverse, including light-driven cation and anion pumps, light-gated cation and anion channels, positive and negative phototaxis sensors, photochromic sensors, and light-activated enzymes. Here I focus on the ion-transporting rhodopsins and explain the mechanism of the pumps and the channels revealed by the electrophysiological studies. Characteristics of light-gated cation channel (channelrhodopsins) and proton-pumping rhodopsins are discussed.

membrane protein / microbial rhodopsin / channelrhodopsin / ion-pumping rhodopsin / electrophysiology

1. はじめに一広がるイオン輸送型ロドプシンの仲間

生体膜は細胞や細胞小器官(オルガネラ)を囲む 膜構造であるが、単に外と内を隔てる静的な構造体 ではなく、イオンなどの低分子の出入りは常に制御 されている.その出入りを担うのが生体膜に存在す る様々な輸送体タンパク質であり、受容体による細 胞外シグナルの感受、ATP 合成酵素等よる生体エネ ルギー変換など細胞にとって重要な機能を担ってい る.また神経細胞においては、その膜電位差の変化 によって発生する活動電位が脳細胞の情報として神 経回路を伝播する.

数ある輸送体膜タンパク質の中でも膜内外のイオン 輸送を担うのがイオンポンプ,イオンチャネルと呼ば れる分子である.イオンポンプは化学エネルギー等を 消費して膜内外のイオン濃度勾配に逆らって一方向に イオンを能動輸送することで電気化学ポテンシャル差 を作り出す.一方イオンチャネルは膜間の電気化学ポ テンシャルに沿ってイオンを受動輸送する.つまりイ オン濃度の高いほうから低いほうへ,膜電位の高いほ うから低いほうへイオンを通す.光受容体である微生 物型ロドプシンは、7回膜貫通型の膜タンパク分子で 発色団として all-trans 型のレチナールを分子内に結合 している.この仲間には光エネルギーでイオンを輸送 するポンプ型分子や,光で開閉するイオンチャネル型 分子が存在する(図1)¹⁾.前者は古細菌 Halobacterium salinarium由来のプロトンポンプであるバクテリオロド プシン (bacteriorhodopsin, BR) やクロライドイオンポ ンプであるハロロドプシン(halorhodopsin, HR)等が よく知られており、1970年代から特に分光学や構造学 を中心に詳細な研究が行われてきた. さらに 2000 年 以降になると環境中の様々な微生物の網羅的な遺伝子 解析(メタゲノム解析)が活発になり、古細菌以外に も様々な生物が微生物型ロドプシン遺伝子を持つこと がわかってきた. その中でも特に海洋に生息する真正 細菌から、BRやHRと同様にプロトンポンプやクロ ライドポンプ機能を示す分子が多数見つかっている. さらに 2013 年には井上らによってナトリウムイオン とプロトンの両方をポンプする分子である NaR が発 見された²⁾. 続いて 2016 年, Parvularcula oceani という 海洋性細菌からプロトンを BR とは逆の細胞内へ向け て能動輸送するポンプが発見され PoXeR と名付けら れた3).

一方イオンチャネル型ロドプシンは,2002年と 2003年に Chlamydomonas reinhardtii 由来の光開閉型カ チオンチャネルであるチャネルロドプシン1(ChR1)⁴⁾ とチャネルロドプシン2(ChR2)⁵⁾が発見されたのを 皮切りに,近縁の生物から相同性の高い分子が次々に 見つかってきている⁶⁾.これらの光開閉型カチオン チャネルの神経細胞の光操作ツールとしての応用は, 光遺伝学という新たな分野を切り開いた^{7),8)}.さらに 2015年にはカチオンではなくアニオンチャネルであ

Ion Transport Mechanism of the Microbial Rhodopsins Revealed by Electrophysiological Studies Satoshi TSUNODA^{1,2}

¹PREST, Japan Science and Technology Agency (JST)

²Department of Life Science and Applied Chemistry, Nagoya Institute of Technology



図1

様々なイオン輸送性を示す微生物型ロドプシンの仲間.光開閉型イオンチャネル(ChR, ACR)と光駆動型イオンポンプ(BR, HR, NaR, PoXeR).それぞれの分子の機能と輸送するイオン種を示す.ChR, BR, HR, NaR は各分子の結晶構造を示す.ACR と PoXeR はモデル構造. PDB accession numbers; 3UG9, 2AT9, 1E12, 3X3B.

る ACR1 や ACR2 がクリプト藻の一種である *Guillardia theta* から発見されている⁹.

このようにイオン輸送性のロドプシンは多様な機能 を持つことが明らかになりつつある.本稿では、特に プロトンポンプ型ロドプシンとチャネルロドプシンを 中心に、イオン輸送を直接測る電気生理学研究から見 えてきたイオン輸送機構について紹介したい.

2. イオン輸送型ロドブシンの電気生理学測定のねらい

イオン輸送型ロドプシンは不思議な分子である.同 じ7回膜貫通タンパク質,かつアミノ酸配列もよく似 ているのにもかかわらず一方はポンプ,もう一方は チャネルとして機能する(図1,2).ロドプシン一分 子の内部をイオンが通るという点でも同じであり, KcsAカリウムチャネルのように4量体を形成してそ の中心にイオンの通り道を作るわけではない.一体ど こから機能の差が生じるのか?

また,ポンプ型ロドプシンがイオンを能動輸送する 時,乗り越えられるエネルギー障壁(電気化学ポテン シャル差)の大きさはどれくらいか?細胞膜電位や輸 送されるイオンの濃度勾配がイオン輸送機能にどのよ うな影響を及ぼすのか?チャネル型ロドプシンのイオ ン選択性は?チャネルゲートの開閉の速度は?このよ うな疑問に答えるためにパッチクランプ法などの電気 生理学測定は威力を発揮する.パッチクランプ法にお いては対象となるイオン輸送体を細胞膜に発現させ, イオン輸送を電流値として直接測定する¹⁰.大きな利



図 2

イオンチャネルとイオンポンプ. 膜電位とイオン輸送方向(イオ ン電流)の関係. BRのようなイオンポンプでは(太線), 膜電位 にかかわらず常に細胞の内側から外側に向かってプロトンの移動 (外向き電流)が観察される. 一方 ChR などのイオンチャネルで は膜電位によって電流の向きが変わる(細線). 正の膜電位(細胞 内が細胞外より電位が高い)時,外向きにカチオンが流れ電流値 が正となり,負の膜電位(細胞内が細胞外より電位が低い)時, 内向きにカチオンが輸送され負の電流値となる. イオンチャネル において電流値がゼロになる膜電位を反転電位(reversal potential: E_{rev})と呼ぶ(青の矢印).

点は膜内外イオン環境を独立に操作可能なうえ,電位 固定法を用いれば膜電位も厳密に設定可能である.また10マイクロ秒程度までの時間分解能を持ち,チャ ネル分子の開閉イベント等の分子機能を観察すること ができる.このような利点を生かして上記の謎に迫る のがねらいである.

3. イオンチャネル型ロドブシン

3.1 チャネルロドプシン (ChR)

2002年の ChR1 の発見以来, ChR のイオンチャネル 活性はパッチクランプ法等の電気生理学的手法を用い て調べられてきた^{4),5)}. HEK293 培養細胞やアフリカ ツメガエル卵母細胞等にChR遺伝子を発現させ、電位 固定法によりチャネル活性の電位依存性、イオン選択 性, チャネル活性化, 不活性化の速度, 照射光波長依 存性等様々な解析が行われている. 図 3A に各膜電位 に固定した際に得られたチャネル電流トレースを重ね 合わせた図を示す. ChR2 を発現した細胞に青色光を 照射するとプロトンとカチオンの透過によるチャネル 電流が発生する. 電流の向きは膜電位や溶液中のイオ ン組成によって決まる電気化学ポテンシャルに沿った 向きに流れる、つまり、細胞膜の内と外で、プロトン やカチオン濃度の高いほうから低いほうへ、膜電位の 高いほうから低いほうヘイオンが輸送される(図2. 3B). 図 3A の各トレースを見ると, 光照射直後に大 きな一過性のピーク電流が現れる (transient peak). そ れが数百ミリ秒後には減衰し定常電流となる(steady state). これは ChR の脱感作と呼ばれ、チャネル開状 態から遷移した閉状態の中間体の蓄積により見かけ上 の活性が下がることに起因する. 光照射を止めると



図 3

チャネルロドプシン2 (ChR2) の電位固定法によるチャネル電流 測定. A, 膜電位-100 mV から+50 mV の各電位に固定し, 475 nm の青色光照射に応答するチャネル電流のトレース. 光照 射直後のピーク電流が steady state 電流に減衰する. 光を切ると 10 ミリ秒程度の時定数でチャネル電流は減衰. B, 膜電位と電流 値 (steady state)の関係 (I/V plot). 内向き整流型の電位依存性 を示す. C, パルス光を1秒間の暗状態の間隔で照射した際の チャネル電流. D, パルス光を1分間の暗状態の間隔で2 度照射 した際のチャネル電流.

チャネル電流は10ミリ秒程度の時定数で減衰しゼロ となる. 図 3B はA で得られた定常電流値と膜電位の 関係(I/Vプロット)である. この図から, ChRの電流 値の膜電位依存性は直線から外れ, 内向きにはイオン をよく通すが外向きには透過させにくい性質を持つ.

また断続的にパルス光を照射した場合,2回目の光 照射による初期ピーク電流は1回目のそれより低下す る(図3C,矢印).この初期ピーク電流が元の大きさ に回復するまでには1分から2分程度,暗状態を保つ 必要がある(図3D,矢印).これはChRの光順応 (light adaptation)と呼ばれる.以上のような脱感作や 光順応は,クラミドモナスの生体内での光応答反応に とって重要と考えられており,例えば強い光による急 激な膜の脱分極を防ぐために備わっている性質なのか もしれない¹⁶.

3.2 チャネルゲーティング,キネティクス

ChRのイオンの通り道とチャネルゲートは一体どこ にあるのか?加藤らによるチャネルの閉じた結晶構造 によれば,7本の膜貫通へリックスのうち,1,2,7 番目のヘリックスがキャビティーを形成しているため ここがイオン孔の一部であろう(図4A青)¹¹⁾.この キャビティーは all-trans型レチナール近傍で塞がって いる.このことはこのチャネルのゲートがこの近傍に



図 4

チャネル孔とチャネル電流キネティクス. A, チャネルロドプシンの結晶構造 (PDB accession number: 3UG9)¹¹⁾. この構造はチャネルが閉じた状態とされる. 7 回膜貫通へリックス中に, 細胞外側からタンパク質内部の all-*trans*型レチナール (ATR) 近傍までキャビティー(青色)が存在し, ここがイオン透過経路であると予想される. 赤点線は推定される細胞質側のチャネル孔. 2 番目膜貫通へリックスに存在する E90 や ATR とシッフ塩基結合を形成する K257 などがチャネルゲートを形成している. B, ChR2 のチャネル長寿命変異体. 変異導入により 10² ~ 10⁵ 倍も減衰の時定数が大きくなる. C, ChR2 のチャネル短寿命変異体. フラッシュ光(10 ナノ秒) 照射後のチャネル電流の減衰の時定数が変異体は野生型の 1/4 になる. B と C は時間スケールが 1000 倍異なることに注意.

存在することを示唆している. 光吸収によるレチナー ルの異性化に伴う構造変化がこの近傍で起こりチャネ ルが開くというシナリオが予想される. またレチナー ル近傍の特徴的なシステイン残基(ChR2の128番目 のシステイン残基(C128)に相当)とアスパラギン酸 残基(ChR2の156番目のアスパラギン酸残基(D56) に相当)の側鎖間の水素結合がChRの光サイクル反応 の速度を決めることがわかっている¹²⁾.この部位ヘア ミノ酸変異を導入すると、レチナールの異性化状態が 安定化されるためチャネル開寿命が長くなる(図4B). 前述した通り、ChR2の野生型では光遮断後のチャネ ル電流の減衰の時定数が10ミリ秒程度だが、変異導 入により 10² から 10⁵ 倍も大きくなる^{13), 14)}.従って光 を遮断後もチャネル電流が数秒から数分にわたり流れ 続ける (図 4B). これらの変異体は Step Function Opsin (SFO) と呼ばれ神経細胞の活性化のための光遺伝 学ツールとして広く利用されている¹⁵⁾.

一方,レチナール近傍のグルタミン酸残基(ChR2の123番目のグルタミン残基(E123)に相当)への 変異導入はチャネル開状態を不安定化するため開寿命 が短くなる.図4Cに示すようにフラッシュ光照射後 のチャネルの減衰が野生型(10ミリ秒)のおよそ2.5 倍の4ミリ秒に加速する¹⁶.

3.3 ChR のイオン選択性

電位依存性カリウムチャネルやナトリウムチャネ ル、カルシウムチャネルといったイオン選択性の高い チャネル分子においては、そのチャネル孔内部に選択 フィルターと呼ばれる、特定のイオンだけを通すフィ ルター構造が存在する¹⁷⁾. ChR においては, その結晶 構造を見ても特定のイオンだけを選択する構造は見当 たらない (図 4A)¹¹⁾. 実際 ChR はプロトン, Li⁺, Na⁺, K^{*}, Rb⁺, Cs⁺, Ca²⁺, Mg²⁺を透過するが⁵⁾, プロトンの 透過性は Na⁺ それと比較して 10⁵~10⁶ 倍と極めて高 いためプロトンチャネルと言っても良い. 実際 ChR1 が発見された際はプロトンだけを通すと報告された4) (後に ChR2 と同様に他のイオンも通すことが確認さ れた¹⁸⁾). しかしながら生理的環境下においてプロト ン濃度は 0.1 µM 程度と非常に低く, また Na⁺ は 100 mM 程度と高いので見かけ上プロトンと Na⁺の透過量 は同程度になる. また Ca²⁺の透過性は Na⁺の 10% 程 度である. チャネル孔を形成するアミノ酸残基置換に よりイオン透過性は変化する¹⁹⁾. 例えば, ChR2の132 番目のロイシン(L)をシステイン(C) に置換した ChR2 L132C 変異体ではカルシウムイオン透過性が上 昇する²⁰⁾. また図 4A で示した 2 番目のヘリックス中 の 90 番目のグルタミン酸残基(E90) は特にイオン 透過性に重要な残基である.この負電荷を持つ残基を 正電荷を持つリジン(K)やアルギニン(R) に置換 するとカチオンではなくアニオンを透過するチャネル に機能転換できる(Chloride-conducting ChR,略して ChloC²¹⁾).またカチオンチャネルからアニオンチャネ ルへの転換は他の変異でも可能であるがそのためには チャネル孔付近の 9 か所の変異導入が必要である²²⁾.

3.4 単一チャネル透過性 single channel conductance

図 3A, B の光照射によるチャネル電流測定では細胞 膜上に発現している多くの ChR2 分子のチャネル活性 の総和を測定していた. ところでChRの一分子あたり のイオン透過性 (single channel conductance) はどれく らいだろうか?パッチクランプ法を用いてイオンチャ ネルー分子の活性計測が可能だが、ChR においては その透過性は非常に低いためシグナルの検出が非常に 困難である、その代りに多分子チャネル測定(通常の パッチクランプ測定)で得られたデータのノイズ解析 から単一チャネルイオン透過性が見積もられた²³⁾.そ れによればChR2においてはおよそ40 fSであった. 一 般的なナトリウムチャネルやカリウムチャネルはこの 値がおおよそ 10-50 pS であるから ChR のイオン透過 性は 250 分の1以下と非常に小さい. 一方 2015 年に 報告された光開閉型アニオンチャネルである ACR の 単一チャネル透過性はおよそ 600 fS と見積もられてお り ChR2 よりも 15 倍も高い透過性を示す⁹.

4.

ポンプ型ロドプシン

4.1 フォトサイクルと電気生理学測定

BR などのプロトンポンプにおいては、その光サイ クル反応の詳細な解析によりプロトン輸送機構が調べ られてきた.それによると、光吸収によるレチナール の all-trans 型から 13-cis 型への異性化に伴い、プロト ンを結合したレチナールシッフ塩基が脱プロトン化さ れ、このプロトンがまず細胞外へ放出される.その後 細胞質側からロドプシン分子内にプロトンが取り込ま れレチナールシッフ塩基がプロトン化することで、正 味1プロトンが輸送される¹⁾.つまりポンプはフォト サイクルが1回転するごとにイオンを1つしか運ばな い.この点はフォトサイクルが1回転しただけで多く のイオンを透過するチャネルとは異なる.

前述したように BR や HR など古細菌由来のプロト ンポンプや塩化物イオンポンプをはじめとするポンプ 型ロドプシンの電気生理学測定は、人工平面膜を用い



図 5

プロトンポンプロドプシン分子内のプロトン透過過程.1から5 で示したステップでプロトンが輸送される.CsRにおけるプロト ン輸送に重要なアミノ酸を示す.カッコ内の数字はBRにおける アミノ酸.光吸収によりall-trans型レチナール(ATR)が異性化 することでプロトン化シッフ塩基からD86にプロトンが移動する と(1),Y57とR83の構造が細胞外側にフリップすることで E193から細胞外側にプロトンが放出される(2).その後D97か らのプロトンによりシッフ塩基がプロトン化される(3).細胞質 のプロトンよりD97がプロトン化され(4),最後はD86から E193にプロトンが移り(5)始状態に戻る(文献27より).

た実験が1990年代に行われており、その後アフリカ ツメガエル卵母細胞を用いた二電極電位固定法や HEK293 細胞等を用いたパッチクランプ測定が行われ てきた^{24), 25)}.図2で示したようにポンプ電流はチャ ネルとは異なり基本的に一方向の能動輸送なので膜電 位を変えても流れる電流の向きは不変である. 図 6A にクロレラ由来 (Coccomyxa subellipsoidea C-169) のプロ トンポンプロドプシン(CsR)の電位固定法を用いた 電流測定を示す. CsR は BR と 37% の相同性を示すプ ロトンポンプである. 550 nm の光照射に伴い細胞質 から細胞外へのプロトンの輸送に対応する上向きの電 流が得られる.測定膜電位の範囲(-120~+60 mV) において見かけの電流値は膜電位の上昇に伴い大きく なる (図 6B). 先に書いたがイオンポンプ型ロドプシ ンでは1反応サイクルで輸送されるイオンは1つと決 まっている¹⁾. つまりロドプシンの1光子の吸収とと もに輸送するのは1イオンのみである. 膜電位が上昇 することによる見かけの電流の増大は何を意味するの だろうか?これは膜電位の上昇とともにフォトサイク ルが加速するということである. つまりフォトサイク ル反応中に膜電位依存的なステップが含まれている. Geibel らは BR においてプロトンの取り込みステップ (図5の矢印3,4のステップ)が電位依存的である ことを確かめた²⁵⁾.

ところで、膜電位(E)と、膜内外のプロトン濃度



図 6

CsR のプロトンポンプ機能. CsR をアフリカツメガエル卵母細胞 に発現させその光電流を測定した. A, 各膜電位におけるポンプ 電流. B, 膜電位と電流値の関係 (I/V プロット). 細胞外溶液の pH をそれぞれ 5.0, 7.5, 10.0 にて測定.

差 (Δ pH) は熱力学的には等価であり以下のネルンス トの式から *E* と Δ pH には以下の関係が成立する.

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[H_{o}]}{[H_{i}]}$$

ここで, *R*は気体定数, *T*は絶対温度, *F*はファラ ディ定数. [H₄]と[H₆]は膜内外のプロトン濃度である. RT/F の項は 20°C においておよそ 58 なので膜内外の pH 差 (Δ pH) = 1.0 は膜電位 (*E*) の 58 mV に相当する. それでは, プロトンポンプロドプシン分子にとって Δ pH と *E* は見かけ上ポンプ活性に与える効果は同じ だろうか? 答えは No である. 必ずしもそれは等価で はないということが複数の電気生理学実験からわかっ ている²⁴⁾⁻²⁶. 図 6B の I/V プロットから電流値は *E* の 上昇に伴い大きくなることは先に述べた. しかし Δ pH を変化させても (例えば図 6B の pH 7.5 と pH 5.0 だ と Δ pH = 2.5 となる) ポンプ電流の大きさにほとんど 変化がない. つまりフォトサイクルの速さに変化がな いことを意味する. このようにポンプ型ロドプシンに とって *E* と Δ pH は反応速度に対しては等価ではない.

4.2 ポンプの力,エネルギー障壁

イオンポンプは膜電位やイオン濃度勾配に逆らって でもイオンを輸送すると最初に書いたが,ポンプ型ロ ドプシンにおいては実際どれくらいのエネルギー障壁 (電気化学ポテンシャル差)に耐えて能動輸送が可能 なのだろうか?膜電位差(E)についていえば答えは 割と簡単で,図6Bに示したI/Vプロットを外挿して 電流値=0になる電位を求めればそれがそのポンプの 起電力ということになる.BRやCsRなどのプロトン ポンプではその値がおよそ-200~-250 mVであるこ とがわかっている²⁵⁾⁻²⁸⁾.

しかし前項で述べた通り, EとΔpHはプロトンポ



凶 7

プロトンポンプからプロトンチャネルへ機能改変. A, プロトン ポンプ(CsR)のプロトンゲート残基に変異導入(Y57Kまたは R83Q)するとプロトンチャネルとして機能する. B, CsRY57K変 異体の光照射による電流応答. 膜電位により電流の向きが変わる.

ンプロドプシンにおいては必ずしも等価に作用しな い. となると ΔpH に対してはどの程度の起電力を持 つのだろうか? ポンプ活性の ΔpH 依存性を測定して みると,その起電力は -350 mV 以上にもなることが わかっている^{25),26)}. これをプロトン濃度差に換算す ると, ΔpH = 6.0 に相当する. つまり百万倍(!)の 濃度差に逆らってでもプロトンを輸送できることを意 味する.

5. ポンプとチャネル,機能転換

チャネル分子内のイオン透過の仕組みを単純化して みるとチャネル孔に1か所ゲートを設けて、それを開 閉すれば電気化学ポテンシャルに応じてイオンが透過 しチャネルとして機能する.一方イオンポンプの場合 それほど単純ではない. イオンの通り道に最低2か所 のゲートを設けてそれを交互に開閉し、かつ適切なタ イミングでイオンを押し出す機構があれば一方向の輸 送が可能である.BRの結晶構造から2か所のゲート のうち1つは57番目のチロシン残基(Y57)と82番 目のアルギニン残基(R82)により形成されることが わかっている (図5). だとするとこのゲートを開け たままにすれば、ゲートは残り1つだけになり、ポン プがチャネルになってしまうのだろうか? 実際 CsR のこれらゲート残基(Y57 または R83)に変異を加え ると,1アミノ酸置換でプロトンポンプ(図6A)か らプロトンチャネルへと機能が変わることが示された (図7A, B)²⁷⁾. よってY57とR82により形成される ゲートは、プロトン輸送においてイオンの逆流を防ぐ 役割を担っているのだろう.

6.

おわりに

ChR やプロトンポンプロドプシンの機能は電気生

理学に加え,分光学的手法を用いた研究から光受容体 としての特性もよく調べられてきた.一方,ほとんど 触れなかったが,近年新たに発見されたアニオンチャ ネルロドプシン(ACR),ナトリウムポンプ(NaR)そ して内向きプロトンポンプ(PoXeR)等について電気 生理学測定によるイオン透過性の実験は始まったばか りである.今後の研究によりこれら分子の機能メカニ ズムとそれぞれの違いが明らかになると期待される.

謝 辞

イオン輸送型ロドプシンの電気生理学実験を遂行す るにあたり名古屋工業大学,神取秀樹教授およびドイ ツフンボルト大学 Peter Hegemann 教授には様々なご支 援ご協力をいただきました.この場を借りて感謝申し 上げます.

文 献

- Ernst, O. P. et al. (2014) Chem. Rev. 114, 126-163. DOI: 10.1021/ cr4003769.
- Inoue, K. et al. (2013) Nat. Commun. 4, 1678. DOI: 10.1038/ ncomms2689.
- Inoue, K. et al. (2016) Nat. Commun. 7, 13451. DOI: 10.1038/ ncomms13415.
- <u>Nagel, G. et al.</u> (2002) Science **296**, 2395-2398. DOI: 10.1126/ science.1072068.
- Nagel, G. *et al.* (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **100**, 13940-13945. DOI: 10.1073/pnas.1936192100.
- <u>Ernst</u>, O. P. *et al.* (2008) J. Biol. Chem. 283, 1637-1643. DOI: 10.1074/jbc.M708039200.
- Boyden, E. S. et al. (2005) Nat. Neurosci. 8, 1263-1268. DOI: 10.1038/nn1525.
- Ishizuka, T. et al. (2006) Neurosci. Res. 54, 85-94. DOI: 10.1016/ j.neures.2005.10.009.
- <u>Govorunova, E. G. et al.</u> (2015) Science **349**, 647-650. DOI: 10.1126/science.aaa7484.
- 岡田泰伸(2001)新パッチクランプ実験技術穂,吉岡書店, 京都.
- 11) <u>Kato, H. E. et al. (2012) Nature **482**, 369-374. DOI: 10.1038/</u> nature10870.
- Nack, M. *et al.* (2010) Photochem. Photobiol. Sci. 9, 194-198.
 DOI: 10.1039/b9pp00157c.
- Bamann, C. *et al.* (2010) Biochemistry 49, 267-278. DOI: 10.1021/bi901634p.
- 14) <u>Hososhima, S. et al.</u> (2015) PLoS ONE 10, e0119558. DOI: 10.1371/journal.pone.0119558.
- 15) <u>Berndt</u>, A. *et al.* (2009) Nat. Neurosci. **12**, 229-234. DOI: 10.1038/ nn.2247.
- <u>Gunaydin, L. A. et al. (2010) Nat. Neurosci.</u> 13, 387-392. DOI: 10.1038/nn.2495.
- 17) Doyle, D. A. et al. (1998) Science 280, 69-77. DOI: 10.1126/ science.280.5360.69.
- <u>Tsunoda, S. P., Hegemann, P. (2009)</u> Photochem. Photobiol. 85, 564-569. DOI: 10.1111/j.1751-1097.2008.00519.x.

- Sugiyama, Y. et al. (2009) Photochem. Photobiol. Sci. 8, 328-336.
 DOI: 10.1039/b815762f.
- Kleinlogel, S. et al. (2011) Nat. Neurosci. 14, 513-518. DOI: 10.1038/nn.2776.
- 21) Wietek, J. *et al.* (2014) Science **344**, 409-412. DOI: 10.1126/ science.1249375.
- 22) Berndt, A. et al. (2014) Science **344**, 420-424. DOI: 10.1126/ science.1252367.
- 23) <u>Feldbauer, K. *et al.* (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **106**, 12317-12322. DOI: 10.1073/pnas.0905852106.</u>
- Muneyuki, E. *et al.* (1996) J. Phys. Chem. 100, 19687-19691.
 DOI: 10.1021/jp961514g.
- 25) <u>Geibel, S. et al.</u> (2001) Biophys. J. **81**, 2059-2068. DOI: 10.1016/ S0006-3495 (01) 75855-9.
- 26) <u>Tsunoda, S. P. et al. (2006)</u> Biophys. J. **91**, 1471-1479. DOI: 10.1529/biophysj.106.086421.
- 27) Vogt, A. et al. (2015) Sci. Rep. 5, 1-13. DOI: 10.1038/srep16450.
- 28) Vogt, A. et al. (2013) Biophys. J. 105, 2055-2063. DOI: 10.1016/ j.bpj.2013.08.031.



角田 聡(つのだ さとし) 科学技術振興機構さきがけ専任研究員,名古屋工

業大学客員准教授 2002年東京工業大学大学院総合理工学研究科修 了.ベルリンフンボルト大学博士研究員などを経 て現職.

研究内容:微生物型ロドプシンの機能解析と光遺 伝学への応用

連絡先:〒466-8555 愛知県名古屋市昭和区御器 所町

E-mail: tsunoda.satoshi@nitech.ac.jp

URL: http://www.jst.go.jp/kisoken/presto//project/ 1112076/16814641.html

