

# 論文審査の結果の要旨

氏名 小田 和正

本論文は、第一章「General introduction」、第二章「Structural analysis of the red light-activated channelrhodopsin Chrimson」、第三章「Time-resolved serial femtosecond crystallography analysis of channelrhodopsin」、第四章「General discussion」の計四章から構成されている。

第一章は本論文の序章である。光は生物にとって重要な外部刺激であり、ロドプシンファミリーが光受容タンパク質の一種として機能していることを紹介している。ロドプシンファミリーは発色団であるレチナールを有し、微生物型ロドプシンと動物型ロドプシンに分類されている。本章では微生物型ロドプシンに焦点を当て、その一般的な機能や構造に関して記述している。また、本章の後半では本論文の研究対象である光駆動型カチオンチャンネルであるチャンネルロドプシン (ChR) に関するこれまでの先行研究の結果や知見などが詳細に記述されている。

第二章では本論文の研究内容の一つである、長波長光吸収型の ChR である Chrimson の構造解析および機能解析の研究結果に関して詳細に記述されている。論文提出者は、野生型から性状を改善させた Chrimson 改変体である C1Chrimson を使用し、発現、精製、結晶化の過程を経て C1Chrimson の高分解能構造を決定することに成功した。得られた C1Chrimson の構造を過去に報告されていた短波長光吸収型の ChR である C1C2 の構造と比較し、C1Chrimson ではレチナールの結合部位周辺が疎水的な環境になっていることを明らかにした。C1C2 ではこの部分が親水的な環境になっており、変異体解析の結果を踏まえ、この部分が実際に ChR の波長シフトに関与していると判断したことが記述されている。また、レチナールの先端の部分である  $\beta$  イオノン環周にも C1Chrimson と C1C2 で違いが確認され、この部分も変異体解析の結果から ChR の波長シフトに関与していると判断したことが記述されており、ChR の波長シフトは複合的な要因によって引き起こされていることが議論されている。

第三章では本論文の研究内容の一つである、ChR の構造変化に関する研究方法およびその結果に関して詳細に記述されている。論文提出者は励起光照射後の ChR の構造変化を捉えるため、X 線自由電子レーザーを用いた時分割結晶構造解析を行い、その構造変化を捉えることに成功した。得られた構造変化はレチナールのスライドの動きとそれに引き続いて膜貫通ヘリックス (TM) の 3 番目と 7 番目の動きであり、これは ChR の構造変化を始めて捉えたものである。論文提出者は得られた構造変化とこれまでに先行研究の結果から、観測された TM の動きがチャンネルの開閉にどのように関与しているのかを詳細に記述している。

第四章では研究成果全体の総括が述べられており、さらに今後の ChR に関する研究の展望について議論している。波長シフトの研究に関しては論文提出者の経験も踏まえ、機

械学習を用いた研究などの新たなアプローチをこれまでの研究結果と組み合わせることで、さらなる理解が進むのではないかという意見が述べられている。構造変化に関する研究に関しては現状の測定方法の限界に触れたうえで、電子顕微鏡を用いた構造解析に関する提案を行っている。

本論文では光駆動型カチオンチャネルである ChR に関する複数の研究が記載されており、これらの研究結果は ChR の分子基盤の解明を大きく前進させた。さらに、論文提出者はこれらの結果を踏まえ、新たな特徴を持った ChR の変異体開発を成功させており、この研究結果が今後の ChR の研究を大きく推進させるものとなることが推定される。なお、本論文第二章は、Johannes Vierock 博士、大石賢実修士、Silvia Rodriguez-Rozada 博士、谷口怜哉博士、山下恵太郎博士、J. Simon Wiegert 博士、西澤知宏博士、Peter Hegemann 博士、濡木理博士との共同研究であり、本論文第三章は、濡木理博士を研究代表者とする共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。