

目 次

第 29 号 2016 年 12 月

研究ノート

青色光センサータンパク質フォトリポソームの光制御機構	中曽根祐介, 寺嶋正秀... 3
-------------------------------------	------------------

運営状況

寒剤供給状況 吉田キャンパス・宇治キャンパス・桂キャンパス	12
寒剤供給関係業務担当者, ヘリウムガス回収中継所責任者	14
環境安全保健機構併任教員	15
環境安全保健機構低温物質専門委員会委員	16

投稿案内.....	17
-----------	----

編集後記.....	18
-----------	----

Table of Contents

Research Reports

Photoreaction of blue light sensor protein phototropin
..... Yusuke Nakasone, Masahide Terazima ... 3

From Organizing Committee

Amounts of Cryogen Consumptions : Yoshida Campus, Uji Campus and Katsura Campus 12
Staffs Contributing to Cryogen Supply and Responsible Persons for He Gas Recovery Stations .. 14
Concurrent Staffs of the LTM Center 15
Member of the Organizing Committee 16

Call for Manuscript 17

Editor's Note 18

青色光センサータンパク質フォトトロピンの光制御機構

Photoreaction of blue light sensor protein phototropin

中曽根祐介, 寺嶋正秀

京都大学大学院理学研究科

Yusuke Nakasone and Masahide Terazima

¹Graduate School of Science, Kyoto University

Abstract: Phototropin (phot) is a blue light dependent kinase involved in the light responses. The phot contains two LOV domains (LOV1 and LOV2) as light sensing modules and a kinase domain. In this article, we review their photoreactions studied by the transient grating (TG) method, which has been developed in our group. We have clarified the reaction dynamics including conformational change in protein part as well as intermolecular interaction change from the view point of diffusion coefficient change. Despite similarities in their structures and photochemistries of the chromophore, LOV1 and LOV2 showed distinctly different reactions in the protein moiety. The molecular mechanisms of their functioning and diversity of photoreactions are discussed.

はじめに

我々生命は絶えず変化する外界にさらされている。こうした環境の変化を感知し、対応することが生命活動の維持に必須である。そのために様々なセンサータンパク質を発達させてきたが、とりわけ光の検出は外界情報の認識において支配的な役割を果たしている。例えば、動物の目にはロドプシンと呼ばれる光センサータンパク質が存在し、特定の波長の光に反応することで、色の違いも含めて物を見ることができる。植物は動物の目に対応する感覚器官を持っていないが、発芽、生長、開花などさまざまな生理反応が光によってコントロールされる。またバクテリアにも光を感知する機構が備わっており、光に向かって進む、あるいは光から逃げる応答（正・負の走光性）などが制御される。こうした光応答機構はほぼ全ての生物に存在し、その分子機構の理解は、生命が機能する仕組みを明らかにするうえで非常に重要な課題である。

上記の中でも、光合成を行う植物にとって、光は特に重要な環境要因である。植物は移動して餌を食べる代わりに、光のエネルギーを使って栄養分を合成するため、光の有無は植物の生死を左右するためである。植物は、光合成の効率化を図るために、多様な仕組みを持っており、例えば光に向かって生長する光屈性 (phototropism) は、受光量を増大するための重要な応答である。この光屈性は 1880 年に、進化論で著名なチャールズ・ダーウィンにより報告されており、青色光が光屈性を引き起こすことも述べられている。この光屈性を担う青色光センサータンパク質が 1997 年に発見され、その後フォトトロピン (phototropin) と名付けられた[1].

1. フォトトロピンの機能と構造

現在では、フォトトロピンが光屈性の他に、葉緑体の定位運動や気孔の開閉を光制御することが明らかにされている (図 1) [2]. 葉緑体の定位運動とは、弱い光のもとでは葉緑体が細胞表面に集まり、

より多くの光を受光する一方、強い光のもとでは光によるダメージを避けるため細胞側面に逃げる現象である。気孔は葉の表皮に存在し、その開閉により光合成に必要な二酸化炭素の吸収や、光合成により産出される酸素の放出を調節する。これらは光や二酸化炭素を効率的に集める応答であり、つまり光合成の効率化をフォトトロピンが担っている。多くの

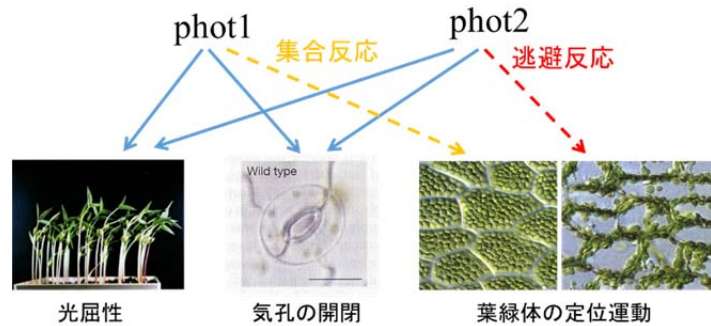


図1 フォトトロピンの機能 (phot1, phot2 の役割分担)

の高等植物は二種類のフォトトロピン (phot1, phot2) を持ち、phot1 が広い光強度範囲に対する応答を制御する一方、phot2 は強光に対する青色光センサーとして働くことが知られており、さらにいくつかの機能を分担して制御することが明らかになっている (図1) [3].

フォトトロピン (phot1, phot2 とも) は約 1000 個のアミノ酸からなるタンパク質で、N 末端側に二つの LOV ドメインを (LOV1, LOV2)、C 末端側に Ser/Thr kinase ドメインを持つ (図2 a) [4]. LOV ドメインは光受容を担うドメインであり、発色団としてフラビン分子 (Flavin mononucleotide = FMN) を持つ。光照射により LOV ドメインが kinase ドメインを活性化することで、シグナル伝達が達成されると考えられているが、実際には LOV2 ドメインが kinase ドメインの活性制御を主に担っている一方で、LOV1 ドメインは強い光環境下でフォトトロピンの光感度を低下させる働きがあることが知られている[5]. しかし LOV1 ドメインと LOV2 ドメインの構造は非常に相同性が高く (図2b, 2c) [6], こうした生理的役割の違いを生み出す分子機構についてはほとんどわかっていなかった。

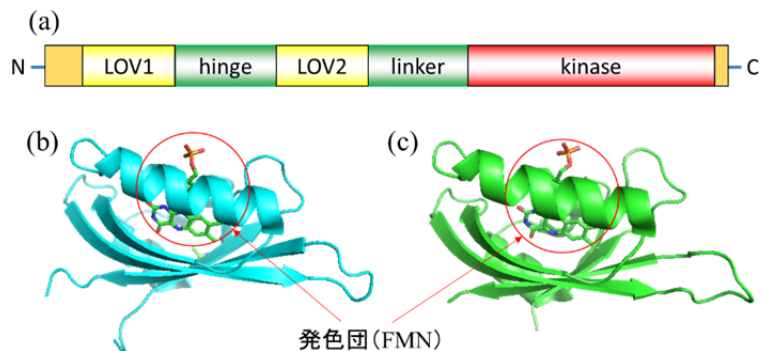


図2 (a)フォトトロピンの一次構造, (b)LOV1 ドメイン, (c)LOV2 ドメインの結晶構造

フォトトロピンに光を照射すると、①LOV ドメイン内部の発色団 FMN が光を吸収し、近傍のアミノ酸残基との相互作用が変化することで、タンパク質構造に局所的なひずみをもたらす。②このひずみがタンパク質内部を拡がり、タンパク質構造の変化を引き起こす。③この構造変化により kinase ドメインが活性化し、基質をリン酸化することでシグナルが下流へと伝達する。このように蛋白質の信号伝達は段階的に短時間で進行するため、その全貌解明には時間分解能に優れた観測手法が必要である。吸収や発光をベースにした測定は時間分解能に優れており、発色団のように光を吸収する分子近傍の変化を捉えることができる。実際にフォトトロピンの反応研究においても、その初期過程 (発色団 FMN の反応) については特に研究が進んでいる。

2. フォトトロピンの初期反応

図3に示すのは LOV2 ドメインの暗状態と明状態の結晶構造である[7]. 光照射により、発色団とそ

の近傍に位置するシステイン残基の間で共有結合が形成され、発色団がわずかにねじれた構造をとる。こうした発色団の構造変化はその電子状態を変えるため、吸収スペクトルの変化を引き起こす。そのキネティクスは過渡吸収測定を主とした様々な分光測定により明らかにされており[8], 発色団を光励起後、三重項状態への項間交差が起こったのち、システインとの共有結合形成反応が約 1 μ s の時定数で起こる。その後、秒～分オーダーの時間をかけて自発的に元の状態に戻る。この光反応サイクルは全ての LOV ドメインで保存されており、光応答に必須な反応であることが明らかにされているが、その後、どのように kinase ドメインが活性化されるかについては未だ不明な点が多い。図 3 の結晶構造を見ても発色団近傍にはわずかな動きが確認できるものの、ドメイン全体の構造には目立った変化はなく、kinase ドメインへの光情報伝達機構が予測できないためである。溶液中での NMR 測定により LOV2 ドメインの C 末端側に位置するヘリックス (α ヘリックス) が信号伝達に重要と報告されたが[9], 発色団から離れた場所での動きとなるため、吸収や蛍光測定ではその反応を検出できなかった。

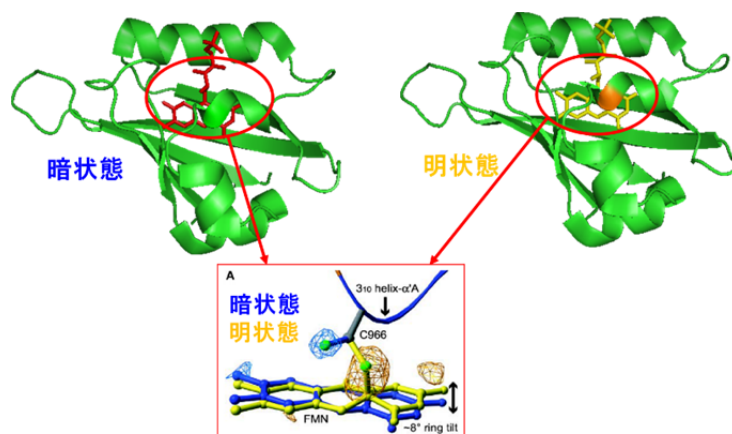


図 3 LOV2 ドメインの暗状態・明状態の結晶構造

3. 過渡回折格子法によるタンパク質反応検出

一般に用いられる吸収・蛍光測定では、発色団周りの変化を捉えるに留まり、蛋白質のような巨大分子の反応を明らかにすることは出来ない。そこで我々は過渡回折格子法 (Transient Grating (TG) 法) を蛋白質反応の検出に適用した[10]. この手法は吸収変化の他に、反応に伴う体積変化や拡散係数変化を高い時間分解能で検出可能であるため、高次構造変化や分子間の会合・解離過程を捉えることができる。

「TG 法とは」 図 4 に示すように試料内で 2 本の励起パルス光を交差させ、試料溶液内で光学的干渉縞を形成する。この干渉縞の光強度に比例して試料が励起され、励起分子からの熱放出や反応に伴う吸収変化・体積変化によって溶液の屈折率が変化する。この屈折率変調が過渡的な回折格子として働き、プローブ光 (CW レーザー) を Bragg 条件を満たす角度で入射すると回折現象が起こる。こうして得られた回折光の強度は屈折率変化の二乗に比例するため、その時間変化を TG 信号として検出することで、光励起後の吸収変化や体積変化を時間分解で捉えることができる。さらに回折格子は、分子や熱が溶液中を拡散することによって消滅するため、TG 信号の時間変化から分子や熱の拡散過程 (拡散係数) を短時間で評価できる。こうして検出された拡散係数を介して、蛋白質全体の構造変化や会合・解離反応を、溶液中という生理条件に近い環境下で時間分解測定できる。これは他の分光法では得難い情報であり、非常に独

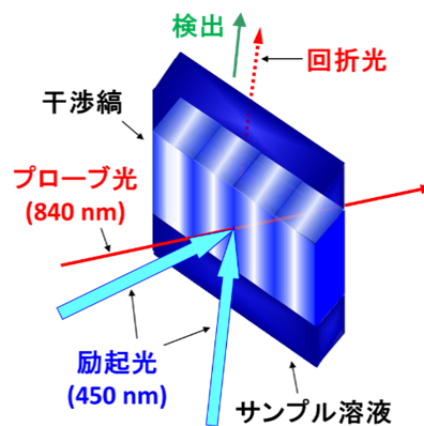


図 4 過渡回折格子 (TG) 法の原理図

創的である。

我々は高等植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 由来のフォトトロピン (phot1, phot2) を用いて、その光受容ドメイン周りの反応に注目した研究を行った[11]。具体的には図5に示すように phot1, phot2 の LOV1, LOV2 ドメインに加えて、LOV1 ドメインと LOV2 ドメインを結ぶ領域 (hinge ドメイン) や LOV2 ドメインと kinase ドメインを結ぶ領域 (linker ドメイン) を含んだ試料を精製し、その反応検出を TG 法を主に用いて行った (図2 参照)。hinge や linker 領域は暗状態でヘリックス構造を形成することがわかっており、その重要性が指摘されている部位である。これらの反応検出により光情報が伝達する分子機構の解明を目指すと同時に、LOV ドメインに共通する分子機構、あるいはその多様性について理解を深めることを目的とした。

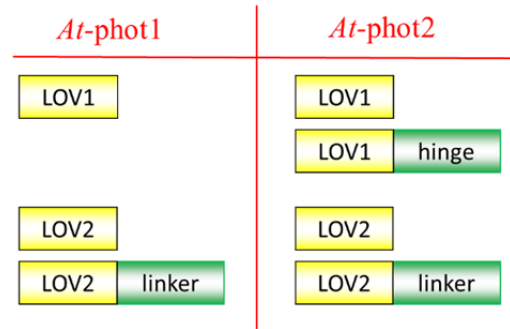


図5 本研究で用いた蛋白質試料

4. LOV2 ドメインの光反応

phot1LOV2 と phot1LOV2linker に関して青色パルス光で励起した後の回折光強度の時間変化 (TG 信号) を図6に示す。両方の試料で発色団近傍の構造変化に起因する吸収スペクトル変化による信号 ($\sim 2 \mu\text{s}$) と、励起分子から放出された熱の拡散信号が、比較的早い時間スケール ($\sim 100 \mu\text{s}$) で観測された。その後の信号は、蛋白質分子が溶液中を拡散する過程を反映した信号であると同定され、立ち上がり信号が反応物の拡散、減衰信号が生成物の拡散を表すことがわかった (光反応において拡散係数が減少する)。また格子波数を変えて同様の測定を行ったところ、興味深いことに拡散信号の形や強度が時間変化することが明らかになった (図7)。この分子拡散信号は光励起による生成物の拡散係数を情報として含んでおり、その形や強度が時間発展することは、観測している時間スケールにおいて拡散係数変化を伴う蛋白質全体の反応が起こっていることを意味している。

両方の試料でこの拡散係数変化が観測されたが、その特徴には違いが見られた。詳細な解析の結果、LOV2 試料ではダイマー・モノマー間の解離や会合反応が光誘起されることがわかった。また LOV2linker 試料では $300 \mu\text{s}$ で linker ドメインが LOV2 ドメインから解離する反応が起こり、さらに linker 部分のヘリックス崩壊という劇的な反応

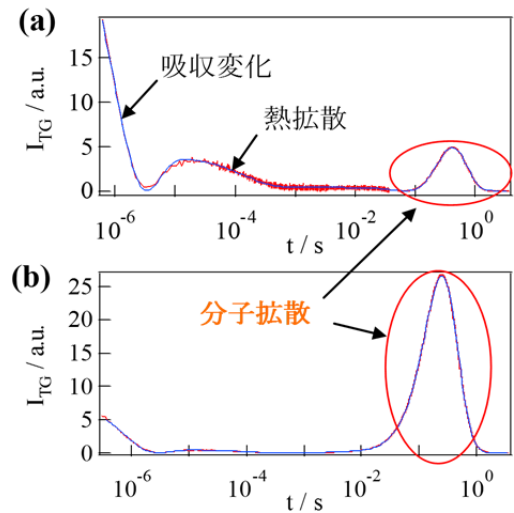


図6 (a) phot1LOV2, (b) phot1LOV2linker の TG 信号

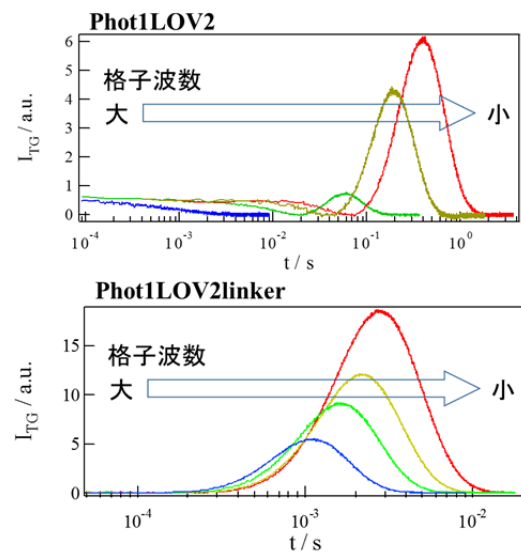


図7 分子拡散信号の時間発展 (格子波数依存性)

が 1 ms で誘起されることが明らかになった (図 8).

これらの蛋白質反応は過渡吸収測定では捉えられていないことから、吸収変化を伴わない“spectral silent”な反応である。特に phot1LOV2linker 試料で観測されたヘリックス崩壊反応は光情報伝達に重要な役割を担っていると考えられ、これら一連の反応検出はシグナル伝達過程を直接捉えていることに他ならない。つまり本研究結果から、

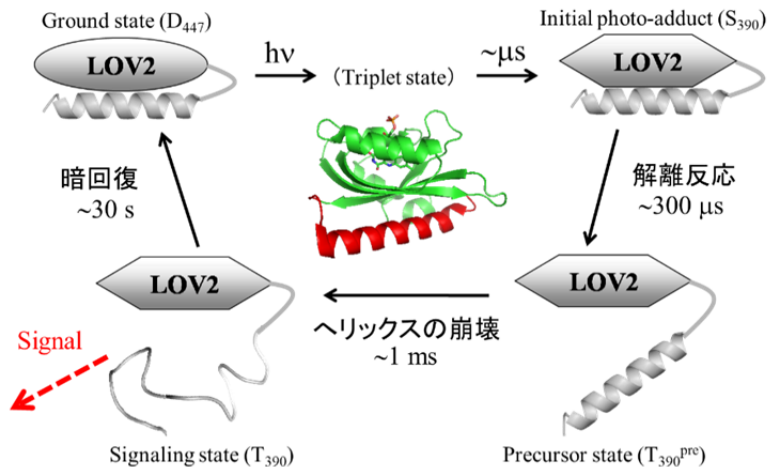


図 8 phot1LOV2linker の光反応スキーム

発色団近傍のわずかな構造変化が linker ドメインの解離を誘起し、linker 領域の構造を変えることで、その C 末端側にある kinase ドメインに信号が伝わるという分子機構が提唱された。こうして我々は拡散過程プローブにより過渡吸収法では検出不可能な蛋白質全体の構造変化やダイマー・モノマー間の解離・会合反応を世界で初めて時間分解検出し、phototropin のシグナル伝達にドメイン間相互作用の変化と linker の構造変化が重要であるという知見を得た。これは TG 法独自の成果である。

同様の測定を phot2LOV2, phot2LOV2linker で行ったところ、発色団周りの反応 (~4 μs) に加えて、拡散係数変化を伴う反応 (~2 ms) が phot2LOV2linker 試料でのみ観測された。これも linker 領域の構造変化に起因することが明らかとなり、phot2 も phot1 同様に LOV2 ドメインで受け取った光情報を linker 部位の構造変化を介して kinase ドメインに伝えることが示された。ただし、拡散係数変化の度合いは phot1 の方が大きく、これは phot1 の構造変化がより顕著であることを示している。phot1 は phot2 に比べて光に対する感度が高いが、同じ光励起でもより大きく構造変化することで kinase ドメインを効率的に活性化しているのかもしれない。

5. LOV1 ドメインの光反応

phot1LOV1 は暗状態でダイマーを安定に形成することがわかっている[12]。結晶構造解析により LOV1 ドメインのβ-sheet 間でジスルフィド結合の形成が確認されており、溶液中においても暗状態でダイマーとして存在することをサイズ排除クロマトグラフィーにより確認した。その光反応を TG 測定したところ、拡散係数の変化が観測され、その反応速度が濃度に対して線形に増加することを見いだした。これは拡散係数変化を伴う反応が二分子反応であることを示しており、拡散係数変化の度合いやサイズ排除クロマトグラフィーの結果を考慮して、phot1LOV1 は光励起によりダイマー同士が会合反応を起こし、過渡的にテトラマーを形成すると結論づけた (図 9)。もし全長フォトトロピンにおいてもこの反応が保存されていれば、より大きな会合体を形成することとなり、活性部位周辺は大変混み合った環境になる。現在我々は、この混み合い効果により LOV2 ドメインと kinase ドメインの解離反応が抑制されることで、光感度の低下がもたらされるという分子機構を提唱している。

一方、phot2LOV1 では暗状態でモノマー・ダイマー間の平衡にあり、モノマーを光励起するとダイマー化することがわかった。phot2LOV1 では phot1LOV1 で確認されたジスルフィド結合は存在せず、水素結合によりダイマー化することが結晶構造解析によりわかっている[12]。その結合力はジスル

イド結合に比べて弱いため、溶液中では一部がモノマーとして存在すると考えられる。光励起によるダイマー化反応は、上記と同様に混み合った環境を与え、光感度の調節に寄与していると予想される。また phot2LOV1 に hinge 領域を付加

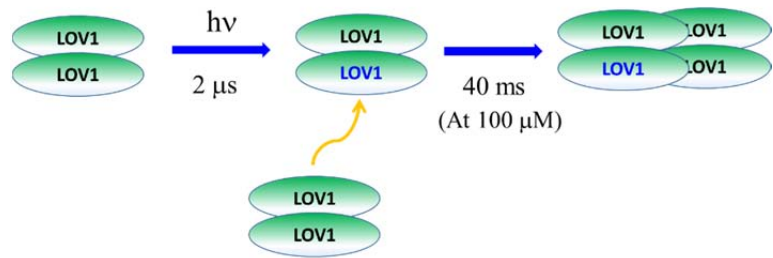


図9 phot1LOV1 の光反応スキーム

した試料 (phot2LOV1hinge) の光反応を測定したところ、暗状態においてモノマー・ダイマー間の平衡にあり、光励起によりモノマーがダイマー化する様子を捉えた。これは phot2LOV1 の反応が hinge 存在下でも良く保存されていることを示している。一方、hinge 領域が暗状態でヘリックス構造を形成することを確認したものの、その崩壊反応は光誘起されないことを明らかにした。これは LOV2 ドメインを励起した際に linker 領域が顕著な構造変化を示すことと対照的であり、LOV1 は会合状態の変化を支配的に制御するのみで、構造変化を介して信号伝達する可能性は低いことを明らかにした。

6. LOV ドメイン反応の多様性

以上のようにアミノ酸配列や結晶構造の相同性が高い LOV ドメインであっても、その光反応は高い多様性を持つことがわかった。図 10 にそれぞれの試料を光励起して得られる生成物の比較を示す。

LOV1 ドメインは会合体を形成しやすいことから、全長タンパク質においてもダイマー化やテトラマー化のサイトとして機能すると予想される。LOV2 ドメインも溶液中で一部ダイマーを形成することを確認しており、LOV ドメイン一般に分子間相互作用により会合体を形成しやすい性質があると考えられる。

しかし、その相互作用は多岐にわたり、phot1LOV1 ではジスルフィド結合により強固に結合する一方で、phot2LOV1 は水素結合により安定化される[12]。また、phot1LOV2、phot2LOV2 では疎水性相互作用による結合が予想されており、比較的弱い相互作用である。このように構造はよく似ているものの、相互作用面に位置するアミノ酸残基のわずかな違いにより分子間相互作用が影響を受け、生理的役割にも大きな違いをもたらすことがわかった。また光照射による LOV ドメインの構造変化はわずかであるが、その代わりにドメイン間の相互作用を変えることで機能を発揮することが示された。

hinge ドメインと linker ドメインの反応性の違いは何に由来するのだろうか。アミノ酸配列を二次構造予測プログラムで解析した結果、hinge 領域、linker 領域ともにヘリックス構造を形成しやすい配列を多く含んでいるが、linker 領域のみ両親媒性の性質を有していることがわかった。これはヘリックスを形成した際に、ヘリックスの片側に親水性、反対側に疎水性のアミノ酸残基が並ぶ性質であり、暗状態ではヘリックスの疎水性サイドが LOV2 ドメインの疎水性部位と相互作用する。この相互作用がヘリックスの安定化に大きく寄与することを踏まえると、光刺激により linker ドメインが LOV2 ド

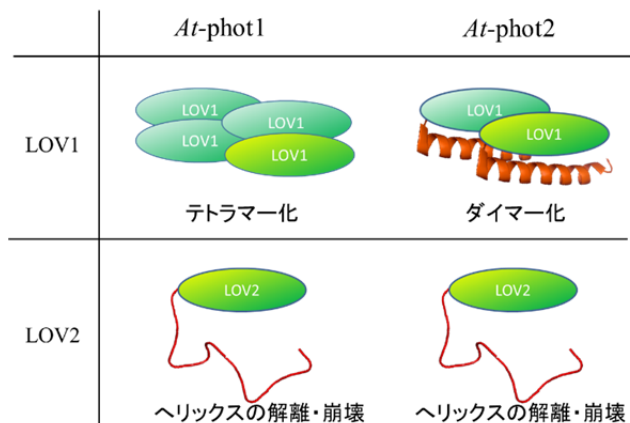


図10 各試料の光生成物の比較図

メインから解離することで、ヘリックスの安定性が減少し、崩壊に至ると考えられる。一方、hinge 領域は親水基、疎水基がランダムに配置しており、外的要因による安定化は少ないと考えられる。つまり LOV1 との相互作用が変化しても容易には壊れないと予想される。こうしたアミノ酸配列の違いが反応性に重要と考えられるため、たとえば hinge と linker を交換した変異体を作製し、光反応を測定することはその検証実験として興味深いだろう。

LOV2 ドメインは図 3 にも示した通り、暗状態・明状態でその構造がほとんど変化しない。それにも関わらず linker ドメインの解離が引き起こされるのは何故だろうか。先行研究によると LOV2 ドメインの β -sheet に位置するグルタミンが linker ドメインとの相互作用変化に必須であると指摘されているが[13]、光反応におけるこの部位の構造変化はわずかであるため、相互作用変化を支配的に制御しているかについては不明瞭である。近年、分子動力学シミュレーションにより LOV ドメイン内のループ構造の熱的揺らぎが明状態において増大すると報告された[14]。このループは linker ドメインと隣接する場所に位置するため、我々は揺らぎを利用して linker の解離を引き起こし、信号伝達を達成するという分子機構を提案している。この可能性を実証するため、現在我々は揺らぎの時間分解観測にも着手している。過渡回折格子法は反応に伴う体積変化量の定量測定を可能としており、その温度依存性や圧力依存性を解析することで、反応中間体の揺らぎを定量することができる。なぜなら分子体積の温度微分・圧力微分は、それぞれ熱膨張係数および圧縮率を与え、これらは構造揺らぎ（エントロピーの揺らぎや体積の揺らぎ）と直接結びつくパラメータとなるためである。実際、これまでに発色団とシステイン残基間の共有結合形成時に揺らぎが増大することを実験的に捉えており、揺らぎの増大が linker ドメインの解離反応の駆動力になることを支持する結果を得ている[15]。このようにフォトリポソムの反応研究を通じて、構造のわずかな変化によって揺らぎが増幅され、この揺らぎを利用して反応が促進されるという、揺らぎと反応の関係に関する重要な知見を得た。

7. 今後の展望

これまでは光受容ドメイン周りの反応検出に終始しており、kinase の活性化反応を直接捉えるまでには至っていない。これは kinase ドメインを含んだ試料は凝集しやすく精製が困難であるためであり、その研究が遅れているが、最近我々は緑藻由来の全長フォトリポソムの回収に成功した。したがって、現在は全長タンパク質の反応測定を行い、発色団による光受容から kinase の活性化に至るまでの一連の反応分子機構を明らかにすることを目指した研究を行っている。緑藻由来のフォトリポソムも二つの LOV ドメイン (LOV1, LOV2) と kinase ドメインから構成され、LOV ドメインの構造は高等植物由来の LOV ドメインと非常に似通っている。しかし、TG 法を用いて反応測定したところ、緑藻由来のフォトリポソムと高等植物由来のフォトリポソムで、同じ LOV ドメイン同士を比べても、その反応の様相が大きく異なることがわかってきた。したがって、これまで植物由来のフォトリポソムで蓄積した知見を基に緑藻由来の全長フォトリポソムの反応を議論することができないことになる。このように種の違いによって反応に多様性が見られる要因についても、今後明らかにする必要がある。

現在、光センサー蛋白質の研究は新たな局面を迎えている。光センサー蛋白質を人工的に細胞内に発現することで、様々な生理現象を光によってコントロールする光遺伝学という分野が誕生したためである。たとえば LOV ドメインをカルシウム結合蛋白質に結合させることで、カルシウムの結合・放出を細胞内の狙った位置・タイミングで、光によってコントロールできるようになった[16]。また LOV ドメインを細胞の移動に関わる Rac1 と呼ばれる蛋白質に結合することで、光で細胞を任意の方向に誘導する技術が生まれた[17]。この光遺伝学は、そのインパクトゆえ、応用開発研究が爆発的に

拵がっている。この技術は光センサータンパク質の反応機構に関する知見無くしては成り立たないため、フォトトロピンの反応研究はこうした分野の発展を支える基盤にもなるだろう。

最後に

我々は独自の分光法により蛋白質の反応研究を行い、その仕組みを物理化学の言葉で理解することを目指している。しかし、フォトトロピンを例に挙げても明らかのように、その反応機構は多様で、共通する分子機構の理解には多くの困難を伴う。発色団周りの局所的な反応については LOV ドメイン間で保存されているものの、機能に重要な蛋白質部分の構造変化は個性が強すぎるためである。アミノ酸配列という単純な情報が特定の立体構造を決定することは言うまでもないが、わずかな配列の違いで反応が大きく異なることから、化学反応に対してはより敏感に影響することがわかってきた。その統一的な理解のために、様々な LOV ドメイン反応の網羅的研究に加えて、重要部位へのポイントミューテーションや理論的アプローチを組み合わせることが必要となる。今後もタンパク質というナノマシンの動作原理を明らかにすべく、構造と機能をつなぐ化学反応の理解に貢献したい。

参考文献

- [1] J. M. Christie, M. Salomon, K. Nozue, M. Wada, W. R. Briggs, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **96**, 8779 (1999).
- [2] T. Kagawa, T. Sakai, N. Suetsugu, K. Oikawa, S. Ishiguro, T. Kato, S. Tabata, K. Okada, M. Wada, *Science* **291**, 2138 (2001). J. A. Jarillo, H. Gabrys, J. Capel, J. M. Alonso, J. R. Ecker, A. R. Cashmore, *Nature* **410**, 952 (2001). T. Kinoshita, M. Doi, N. Suetsugu, T. Kagawa, M. Wada, K. Shimazaki, *Nature* **414**, 656 (2001).
- [3] T. Sakai, T. Kagawa, M. Kasahara, T. E. Swartz, J. M. Christie, W. R. Briggs, M. Wada, K. Okada, *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 6969 (2001).
- [4] J. M. Christie, M. Salomon, K. Nozue, M. Wada, W. R. Briggs, *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 8779 (1999). P. Cheng, Q. He, Y. Yang, L. Wang, Y. Liu, *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 5938 (2003). L. Bogre, L. Okresz, R. Henriques, R. G. Anthony, *Trends Plant Sci* **8**, 424 (2003).
- [5] S. Tokutomi, D. Matsuoka, K. Zikihara, *Biochim Biophys Acta* **1784**, 133 (2008).
- [6] S. Crosson, K. Moffat, *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 2995 (2001). A. Möglich, R. A. Ayers, K. Moffat, *Structure* **17**, 1282 (2009).
- [7] S. Crosson, K. Moffat, *Plant Cell* **14**, 1067 (2002).
- [8] M. Salomon, J. M. Christie, E. Knieb, U. Lempert, W. R. Briggs, *Biochemistry* **39**, 9401 (2000). T. E. Swartz, S. B. Corchnoy, J. M. Christie, J. W. Lewis, I. Szundi, W. R. Briggs, R. A. Bogomolni, *J Biol Chem* **276**, 36493 (2001).
- [9] S. M. Harper, L. C. Neil, K. H. Gardner, *Science* **301**, 1541 (2003).
- [10] M. Terazima, *Biochim Biophys Acta* **1814**, 1093 (2011). M. Terazima, *Phys Chem Chem Phys* **13**, 16928 (2011).
- [11] T. Eitoku, Y. Nakasone, D. Matsuoka, S. Tokutomi, M. Terazima, *J Am Chem Soc* **127**, 13238 (2005). Y. Nakasone, T. Eitoku, D. Matsuoka, S. Tokutomi, M. Terazima, *Biophys J* **91**, 645 (2006). Y. Nakasone, T. Eitoku, D. Matsuoka, S. Tokutomi, M. Terazima, *J Mol Biol* **367**, 432 (2007). Y. Nakasone, K. Zikihara, S. Tokutomi, M. Terazima, *Photochem Photobiol Sci* **12**, 1171 (2013). Y. Nakasone, Y. Kawaguchi, S. G. Kong, M. Wada, M. Terazima, *J Phys Chem B* **118**, 14314 (2014).
- [12] M. Salomon, U. Lempert, W. Rüdiger, *FEBS Lett* **572**, 8 (2004). M. Nakasako, K. Zikihara, D. Matsuoka, H. Katsura, S. Tokutomi, *J Mol Biol* **381**, 718 (2008). H. Katsura, K. Zikihara, K. Okajima, S. Yoshihara, S. Tokutomi, *FEBS Lett* **583**, 526 (2009).
- [13] D. Nozaki, T. Iwata, T. Ishikawa, T. Todo, S. Tokutomi, H. Kandori, *Biochemistry* **43**, 8373 (2004). A. I. Nash, W. H. Ko, S. M. Harper, K. H. Gardner, *Biochemistry* **47**, 13842 (2008).

- [14] P. L. Freddolino, M. Dittrich, K. Schulten, *Biophys J* **91**, 3630 (2006).
[15] K. Kuroi, F. Sato, Y. Nakasone, K. Zikihara, S. Tokutomi, M. Terazima, *Phys Chem Chem Phys* **18**, 6228 (2016).
[16] T. Nagai, K. Horikawa, K. Saito, T. Matsuda, *Front Mol Neurosci* **7**, 90 (2014).
[17] Y. I. Wu, D. Frey, O. I. Lungu, A. Jaehrig, I. Schlichting, B. Kuhlman, K. M. Hahn, *Nature* **461**, 104 (2009).

著者略歴



中曽根 祐介 (Yusuke Nakasone)

京都大学大学院理学研究科化学専攻 助教

〔経歴〕 2009 年京都大学大学院理学研究科化学専攻博士課程修了。アムステルダム大学博士研究員, 京都大学特定研究員を経て, 13 年より現職。

〔連絡先〕 606-8502 京都市左京区北白川追分町

E-mail : nakasone@kuchem.kyoto-u.ac.jp



寺嶋 正秀 (Masahide Terazima)

京都大学大学院理学研究科化学専攻 教授

〔経歴〕 1986 年京都大学大学院理学研究科化学専攻博士課程退学。東北大学理学部助手, 京都大学理学部講師, 助教授を経て, 2001 年より現職。

〔連絡先〕 606-8502 京都市左京区北白川追分町

E-mail : mterazima@kuchem.kyoto-u.ac.jp

運 営 状 況

寒剤供給状況

吉田キャンパス

液体ヘリウム供給量

平成28年度

単位：リットル

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	合 計
理学研究科・化学	1,096	554	1,247	1,314	1,019	914	6,144
理学研究科・物理学第一	6,482	7,546	7,544	7,759	6,835	5,039	41,205
理学研究科・その他	0	0	0	67	0	0	67
人間・環境学研究科	602	545	496	670	646	484	3,443
工学研究科	0	0	0	101	213	0	314
医学研究科	483	404	554	430	437	731	3,039
農学研究科	100	81	72	30	24	103	410
エネルギー科学研究科	0	0	0	0	0	265	265
物質－細胞統合システム拠点	107	0	112	75	20	0	314
環境安全保健機構	442	1,985	637	1,327	1,456	1,510	7,357
同・共同利用装置	754	745	738	601	1,220	545	4,603
合 計	10,066	11,860	11,400	12,374	11,870	9,591	67,161

液体窒素供給量

平成28年度

単位：リットル

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	合 計
理学研究科・化学(含窒素ガス利用分)	3,892	3,355	4,999	3,750	3,993	4,070	24,059
理学研究科・物理学第一	2,210	1,772	2,500	3,117	2,437	2,722	14,758
理学研究科・その他	576	681	921	740	743	629	4,290
人間・環境学研究科	379	525	611	676	675	840	3,706
工学研究科	1,026	1,373	991	1,095	1,200	1,117	6,802
医学研究科	1,097	1,262	1,395	1,326	1,605	854	7,539
農学研究科	2,017	2,069	2,627	2,479	2,417	2,129	13,738
エネルギー科学研究科	697	1,019	556	558	401	828	4,059
情報学研究科	0	10	0	0	0	0	10
生命科学研究科	873	1,025	1,034	930	1,006	904	5,772
地球環境学堂	11	10	8	20	17	0	66
再生医科学研究所	304	338	324	265	361	278	1,870
ウイルス研究所	1,609	1,216	1,132	1,398	1,115	1,168	7,638
国際高等研究院	37	185	57	33	0	111	423
放射性同位元素総合センター	290	276	344	254	269	288	1,721
物質－細胞統合システム拠点	1,244	846	1,312	770	1,161	707	6,040
環境安全保健機構	0	7	0	19	0	15	41
合 計	16,262	15,969	18,811	17,430	17,400	16,660	102,532

宇治キャンパス

液体ヘリウム供給量

平成28年度

単位：リットル

液体ヘリウム供給量	4月	5月	6月	7月	8月	9月	合計
化学研究所	1,662	1,758	1,173	1,547	1,609	1,528	9,277
エネルギー理工学研究所	76	457	160	301	452	199	1,645
生存圏研究所	0	0	53	331	0	54	438
農学研究科	0	0	0	0	0	0	0
理学研究科	0	0	0	0	0	0	0
工学研究科	0	0	0	0	0	0	0
エネルギー科学研究科	0	0	0	0	0	0	0
産官学連携本部	144	87	194	0	151	144	720
合計	1,882	2,302	1,580	2,179	2,212	1,925	12,080

液体窒素供給量

平成28年度

単位：リットル

液体窒素供給量	4月	5月	6月	7月	8月	9月	合計
化学研究所	2,868	3,114	2,994	3,071	2,805	2,672	17,524
エネルギー理工学研究所	1,437	1,184	1,384	1,289	1,255	1,436	7,985
生存圏研究所	260	684	539	418	332	470	2,703
農学研究科	296	375	414	360	540	510	2,495
防災研究所	0	0	0	0	0	0	0
理学研究科	0	0	0	0	0	0	0
工学研究科	164	260	263	189	248	276	1,400
エネルギー科学研究科	0	0	0	8	0	8	16
産官学連携センター	99	38	17	14	33	29	230
合計	5,124	5,655	5,611	5,349	5,213	5,401	32,353

桂キャンパス

液体ヘリウム供給量

平成28年度

単位：リットル

液体ヘリウム供給量	4月	5月	6月	7月	8月	9月	合計
工学研究科・電子工学	464	420	537	367	619	446	2,853
工学研究科・材料化学	83	59	35	50	90	75	392
工学研究科・物質エネルギー化学	433	409	313	366	422	648	2,591
工学研究科・分子工学	132	157	78	247	79	275	968
工学研究科・高分子化学	56	139	0	0	51	74	320
工学研究科・合成・生物化学	166	121	0	175	54	50	566
物質-細胞統合システム拠点	0	36	0	0	0	34	70
合計	1,334	1,341	963	1,205	1,315	1,602	7,760

液体窒素供給量

平成28年度

単位：リットル

液体窒素供給量	4月	5月	6月	7月	8月	9月	合計
工学研究科・都市環境工学	8	17	23	27	33	17	125
工学研究科・機械理工学専攻	69	69	26	59	67	51	341
工学研究科・マイクロエレクトロニクス専攻	61	46	34	71	76	108	396
工学研究科・原子核工学専攻	111	113	22	102	24	0	372
工学研究科・電気工学	0	0	1,887	816	631	608	3,942
工学研究科・電子工学	7,713	7,912	8,210	8,308	9,177	7,364	48,684
工学研究科・材料化学	1,820	1,918	2,633	2,328	2,041	1,998	12,738
工学研究科・物質エネルギー化学	1,089	1,019	968	1,094	902	908	5,980
工学研究科・分子工学	453	417	577	560	690	984	3,681
工学研究科・高分子化学	862	1,232	1,016	1,149	1,087	1,004	6,350
工学研究科・合成・生物化学	1,590	1,509	2,044	1,560	1,645	2,043	10,391
工学研究科・化学工学	93	123	249	196	116	228	1,005
学際融合教育研究推進センター・先端医工学研究ユニット	32	22	39	59	71	119	342
物質-細胞統合システム拠点	42	40	39	40	40	139	340
合計	13,943	14,437	17,767	16,369	16,600	15,571	94,687

寒剤供給関係業務 担当者

キャンパス	施設設置場所	担当者 (電話)
吉 田	北部構内・極低温寒剤供給施設	佐々木 豊(3755)、大塚 晃弘(4062, 4055) 五十嵐 聡(4055, 4058)、玉野 健一(4055, 4058) 横山 幸治(寒剤配送トラック 090-5128-6769)
	北部構内・理学部6号館LN ₂ CE	今村 隆一(3964, 3965)
宇 治	化学研究所・極低温物性化学実験室	楠田 敏之(宇治 4357)、市川 能也(宇治 4550) 寺嶋 孝仁(吉田 9521)
桂	Aクラスター・液体窒素 CE	西崎 修司(桂 7407, 桂 2136) 多田 康平(桂 2881, 桂 2136)、掛谷 一弘(桂 2265) 中村 武恒(桂 2221)、小林 洋治(桂 2509)
	Bクラスター・極低温施設	
	Cクラスター・液体窒素 CE	

吉田キャンパス ヘリウムガス回収中継所責任者 (2016年4月現在)

No.	部 局	中 継 所 名	設 置 場 所	責 任 者	所 属 電 話
1	大学院理学研究科	理 学 部 5 号 館	5号館地階 南西隅	北川 俊作	物理学・宇宙物理学 3752
2	放射性同位元素 総合センター	R I セ ン タ ー	R Iセンター 分館地階	稼働休止中	環境安全保健機構 低温物質管理部門 4055
3	大学院農学研究科	農 学 部	農学部総合館地階 S-014室	上高原 浩	森林科学 6257
4	大学院理学研究科	理 学 部 6 号 館	6号館南校舎 地階B08室	道岡 千城	化学 3991
5	大学院理学研究科	総合研究5号館	総合研究5号館 地下B04室	佐々木 豊	物理学・宇宙物理学 3755
6	大学院理学研究科	構 造 生 理 学	電気第一分館地階 A-002室	稼働休止中	環境安全保健機構 低温物質管理部門 4055
7	大学院工学研究科	材 料 工 学	工学部総合校舎地階 008号室	稼働休止中	環境安全保健機構 低温物質管理部門 4055
8	大学院工学研究科	物 理 工 学	物理系校舎 地階015室	和氣 剛	材料工学 5486
9	工 学 部	工 学 部 R I 研 究 実 験 棟	1階ヘリウム回収室	稼働休止中	環境安全保健機構 低温物質管理部門 4055
10	大学院人間・ 環境学研究科	吉 田 南 3 号 館	地階南端階段下	渡邊 雅之	大学院人間・環境学 6797
11	総合人間学部	総合人間学部棟	地階1B02室	稼働休止中	環境安全保健機構 低温物質管理部門 4055
12	大学院人間・ 環境学研究科	人間・環境学研究科棟	地階東端階段下	小山田 明	大学院人間・環境学 2943
13	大学院医学研究科	高次脳機能総合 研究センター	旧産科病棟 1階ガスバッグ室	松橋 眞生	脳機能総合研究 センター(病)4346
14	物質-細胞統合 システム拠点	iCeMS 研究棟 Complex2	iCeMS 研究棟 地階009号室	廣理 英基	iCeMS 9854

環境安全保健機構 低温物質管理部門/附属物性科学センター 併任教員名簿

平成28年4月1日

氏名	職	部屋番号	所属・連絡先
佐々木 豊	教授	総合研究5号館307	TEL3755 sasaki@scphys.kyoto-u.ac.jp
矢持 秀起	教授	総合研究5号館410	TEL 4069 yamochi@kuchem.kyoto-u.ac.jp
寺嶋 孝仁	教授	総合研究5号館407	TEL 9521 terashim@scl.kyoto-u.ac.jp
松原 明	准教授	ダークマター実験棟	TEL 3787 akira@scphys.kyoto-u.ac.jp
佐藤 智	准教授	総合研究5号館303	TEL 7755 sbsato@em.biophys.kyoto-u.ac.jp
大塚 晃弘	准教授	総合研究5号館403	TEL 4062 otsuka@kuchem.kyoto-u.ac.jp
中野 義明	助教	総合研究5号館310	TEL 4061 nakano@kuchem.kyoto-u.ac.jp
北川 俊作	助教	理学部5号館140	TEL 3752 kitagawa.shunsaku.8u@kyoto-u.ac.jp

環境安全保健機構 低温物質専門委員会委員名簿

平成28年4月1日

委員名	所 属	T E L	連 絡 先
佐々木 豊	理学/LTM 1号委員	3755	sasaki@scphys.kyoto-u.ac.jp
矢 持 秀 起	理学/LTM 2号委員	4069	yamochi@kuchem.kyoto-u.ac.jp
寺 嶋 孝 仁	理学/LTM 2号委員	9521	terashim@scl.kyoto-u.ac.jp
松 原 明	理学/LTM 2号委員	3787	akira@scphys.kyoto-u.ac.jp
佐 藤 智	理学/LTM 2号委員	7755	sbsato@ltm.kyoto-u.ac.jp
大 塚 晃 弘	理学/LTM 2号委員	4062	otsuka@kuchem.kyoto-u.ac.jp
吉 村 一 良	理学研究科国際/理学/LTM 3号委員	3989	kyhv@kuchem.kyoto-u.ac.jp
松 田 祐 司	理学 4号委員	3790	matsuda@scphys.kyoto-u.ac.jp
石 田 憲 二	理学 4号委員	3752	kishida@scphys.kyoto-u.ac.jp
竹 腰 清乃理	理学 4号委員	4015	takeyan@kuchem.kyoto-u.ac.jp
奥 山 弘	理学 4号委員	3977	hokuyama@kuchem.kyoto-u.ac.jp
植 田 浩 明	理学 4号委員	3991	weda@kuchem.kyoto-u.ac.jp
七 田 芳 則	理学 4号委員	4213	shichida@rh.biophys.kyoto-u.ac.jp
ALTMANN, Christian Friedrich	医学 4号委員	9295	christian.altmann.6z@kyoto-u.ac.jp
白 石 誠 司	工学 4号委員	15-2272	mshiraishi@kuee.kyoto-u.ac.jp
陰 山 洋	工学 4号委員	15-2506	kage@scl.kyoto-u.ac.jp
中 村 裕 之	工学 4号委員	5440	nakamura.hiroyuki.2w@kyoto-u.ac.jp
掛 谷 一 弘	工学 4号委員	15-2265	akeya@kuee.kyoto-u.ac.jp
山 田 雅 保	農学 4号委員	6059	masayasu@kais.kyoto-u.ac.jp
藤 原 直 樹	人環 4号委員	6786	naoki@fujiwara.h.kyoto-u.ac.jp
白 井 康 之	エネ研 4号委員	3328	shirai@pe.energy.kyoto-u.ac.jp
小 野 輝 男	化研 4号委員	17-3103	ono@scl.kyoto-u.ac.jp
山 下 隆 幸	施設部長 5号委員	2301	yamashita.takayuki.2e@kyoto-u.ac.jp

平成28年4月1日～平成29年3月31日

「京都大学物性科学センター誌（LTMセンター誌）」への投稿のお誘い
並びに原稿の作成要領
Call for Manuscripts for
"Low Temperature and Materials Sciences (Kyoto University)"

吉村一良^{1,2}, 編集委員会²

¹京都大学大学院理学研究科, ²京都大学物性科学センター

K. Yoshimura^{1,2} and Editorial Committee²

¹Graduate School of Science, Kyoto University,

²Research Center for Low Temperature and Materials Sciences, Kyoto University

所属の後にAbstractを数行、英文で書いてください。

1. はじめに

「京都大学物性科学センター誌（通称：LTMセンター誌，英文名：Low Temperature and Materials Sciences (Kyoto University)）では，環境安全保健機構が提供する寒剤・共通機器の利用者の皆様や関係者の皆様より「研究ノート」，「技術ノート」，「サロン」への投稿を歓迎いたします。投稿されました原稿は，編集委員会で審議のうえ掲載の可否を決定いたします。投稿にあたっては，電子ファイルを下記[†]宛にお送りください。また，併せて印刷原稿も[†]宛に郵送または持参いただきますようお願いいたします。初校刷りは電子ファイルより作成しますので，以下第2章を御参照のうえMS-Wordを用いて作成してください。InDesignまたはQuarkXPressのファイルでも結構です。また，pdfファイルも併せてお送りください。なお，編集委員会からの原稿依頼も行いますので，依頼させていただいた際にはよろしくお申し上げます。

2. 原稿の作成要領

A4用紙（レターサイズではありません）の上下左右に25 mm ずつマージンをとって，和文表題，英文表題，和文著者・所属，英文著者・所属，アブストラクト（英文），本文，参考文献，著者写真（35mm（幅）×40mm（高さ）），著者略歴の順に記述してください。1 ページ目は，必ず上から5 cm程度余白を空けて表題を書いてください。本文1行あたり全角45文字，1ページあたり40行を基準にしてください。漢字・かな・カナにはMS明朝，英字・数字には必ずTimes New Roman，本文中の見出しにはMSゴシック（またはこれらに準じる書体にしてください。ボールドは避けてください。）を使用してください。表題は14 point，著者・所属は12 point，本文は10.5 point，図・表のキャプションは10 pointの文字を用いてください。本文中，物理記号を表す記号は斜体（イタリック），単位記号は立体（ローマン）で表記し，物理量と単位の間や数字と記号の間にはスペースを1個入れてください。また，章の間にもスペースを1行設けてください。句読点は「.,」に統一してください。

図は高解像度のものを本文中に貼り付けてください。カラー印刷が可能ですので，できるだけカラーの図を使用してください。印刷原稿の右下に鉛筆でページ番号を振ってください。その他の細部については，本稿ならびに下記Ref. [1,2] のスタイルを参考にしてください。

参 考 文 献

[引用番号] 著者名，雑誌名，巻数，最初のページ番号，年の順でお願いします。
例)

[1] 寺嶋孝仁，京都大学物性科学センター誌 **30**, 26 (2016).

[2] K. Yoshimura, Low Temperature and Materials Sciences (Kyoto University) **1**, 13 (2003).

[†] 京都大学物性科学センター誌編集委員会，〒606-8501京都市左京区吉田本町，
TEL : 075-753-9521, FAX: 075-753-9521, E-mail: terashim@scl.kyoto-u.ac.jp (寺嶋孝仁) .

編集後記

例年よりひとときわ鮮やかだった紅葉も終焉を迎え、いよいよ今年も残りわずかとなってきました。今年には本学の寒剤供給や共同利用機器の管理・運用体制が大きく改変され、寒剤ならびに共同利用機器の利用者の皆様にもご心配をおかけいたしました。

今後、新体制のもと旧低温物質科学研究センターの教職員を中心として、寒剤供給をはじめ、低温・物質科学に関わる研究インフラ・環境の整備に引き続き努めさせていただきます。ますますのご支援をよろしくお願いいたします。

T. T.

京都大学 物性科学センター誌 (LTMセンター誌)

Low Temperature and Materials Sciences

(Kyoto University)

第29号 2016 年 12 月 Volume 29, December 2016

編集委員会：寺嶋 孝仁 (編集委員長)、吉村一良、
矢持 秀起、石田 憲二、中村 裕之、
笠原 裕一、藤原 直樹、前里 光彦

事務局：〒606-8501京都市左京区吉田本町
京都大学環境安全保健機構 物性科学センター
Tel:075-753-9521 Fax:075-753-9521

E-mail: terashim@scl.kyoto-u.ac.jp (寺嶋孝仁)

印刷：創文堂印刷株式会社