

# 新型の光応答性タンパク質であるヘリオロドプシンの構造を解明

機能物性研究グループ 井上 圭一

ロドプシン(注1)はヒトの目の中で視覚を担う膜タンパク質の1つで、光を認識し、視神経へ信号を伝えるための初期反応を担う。タンパク質内部に結合したビタミンAの誘導体色素であるレチナール(注2)が光によって異性化しタンパク質の構造を動かすことで、情報伝達分子である三量体Gタンパク質(注3)を活性化する。細菌などの微生物にもロドプシンは存在し、その多くは光によってイオンを細胞内外に輸送する。そうした微生物ロドプシンを動物の脳神経細胞に発現させ、神経興奮や抑制を光で制御することによって動物の行動を操作するオプトジェネティクス(光遺伝学、注4)技術が近年新たに開発され、ロドプシンファミリーは基礎・応用両面から注目されている。

2018年に、今までのロドプシンとはアミノ酸配列が大きく異なるヘリオロドプシンが発見された(図1)。ヘリオロドプシンは古細菌や真正細菌のほか、藻類などの真核生物や巨大ウイルスから500種類以上発見されており、第3のロドプシンというべき存在である。ヘリオロドプシンは代表的な微生物ロドプシンであるバクテリオロドプシン(注5)と同様にレチナール色素を持つが、微生物由来のロドプシンに特徴的なイオンを輸送する性質はない。さらに光反応サイクルが遅いことから、ヘリオロドプシンは未知の情報変換分子を介した光情報伝達に関わるものと推測されている。

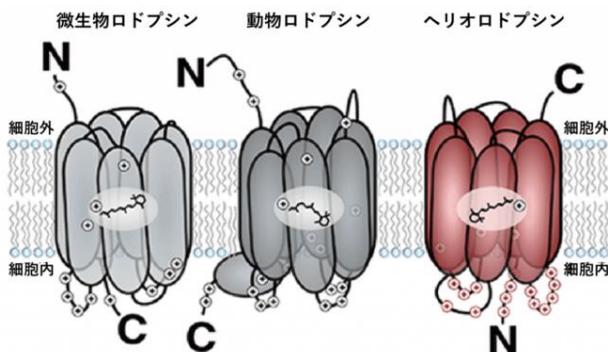


図1 微生物ロドプシン(左)、動物ロドプシン(中)とヘリオロドプシン(右)

ヘリオロドプシンは動物や微生物由来のロドプシンと同様に7回膜貫通構造を持つと考えられ、そして微生物ロド

プシン、動物ロドプシンがN末端側を細胞外側に向けているのに対して、ヘリオロドプシンはN末端側を細胞内に向けていると予測されている。しかし本当にそのような構造を持っているのか、明らかとはなっていなかった。さらにヘリオロドプシンを持つ生物種の多くはレチナール生合成系をもっておらず、環境中に存在するレチナールを取り込んで機能すると推測されていたが、その機構は不明であった。

そこで今回東京大学・濡木理教授、志甫谷渉日本学術振興会特別研究員および名古屋工業大学・神取秀樹教授らのグループと共にヘリオロドプシンの構造解析に取り組んだ結果、古細菌由来のヘリオロドプシンのX線結晶構造解析に成功した。さらに生物物理学的解析を専門とする分子科学研究所(現・名古屋工業大学)・古谷祐詞准教授や名古屋大学・内橋貴之教授、金沢大学・柴田幹大准教授と共同研究を行い、ヘリオロドプシンの構造と機能の相関について詳細に解明した。

ヘリオロドプシンの膜貫通領域の構造はバクテリオロドプシンと類似し、低い配列相同性にも関わらず両者が共通した構造を持つことが明らかとなった(図2)。

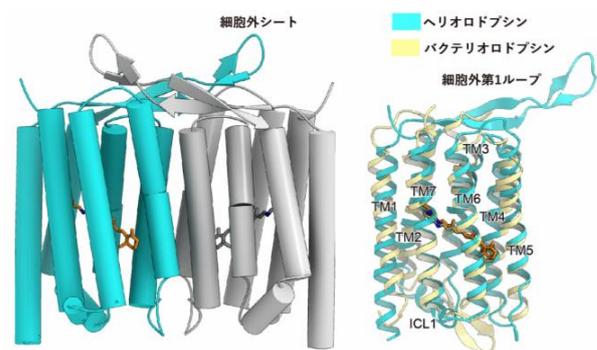


図2 ヘリオロドプシンの全体構造。左は結晶中での二量体構造。右図はバクテリオロドプシンの構造との重ね合わせ。

さらに、バクテリオロドプシンとよく似た形でレチナールがリジンに共有結合していたことが分かった。一方、細胞外ループは伸びたシート構造をとっており、結晶構造中では隣の分子の上を覆うことで密な二量体を結晶構造中で形成していた。高速原子間力顕微鏡(AFM)観察(注6)に



郎)研究課題「細胞内二次メッセンジャーの光操作開発と応用」(研究代表者:神取秀樹)の一環として行われた。

掲載論文:Shihoya, W., Inoue, K., Singh, M., Konno, M., Hososhima, S., Yamashita, K., Ikeda, K., Higuchi, A., Izume, T., Okazaki, S., Hashimoto, M., Mizutori, R., Tomida, S., Yamauchi, Y., Abe-Yoshizumi, R., Katayama, K., Tsunoda, S. P., Shibata, M., Furutani, Y., Pushkarev, A., Béjà, O., Uchihashi, T., Kandori, H., Nureki, O. "Crystal structure of heliorhodopsin." *Nature* (2019) **574**, 132-136.

(注1)ロドプシン:補因子としてレチナールを結合した7回膜貫通タンパク質。一次構造の違いにより微生物ロドプシン、動物ロドプシンに分類される。微生物ロドプシンは真核生物、真正細菌、古細菌より発見されており、光に応じてイオンを運ぶものやシグナルを細胞内に伝えるなど、さまざまな機能を持つロドプシンが存在する。

(注2)レチナール:光を吸収することで、物質に色を付けられる官能基のことを発色団と呼ぶ。ロドプシンでは、レチナールと呼ばれるビタミンAの誘導体が発色団として働いている。多くの場合、この発色団であるレチナールはロドプシンのリジン残基と結合して存在している。光を吸収すると構造を変化させることによって、視覚を始めさまざまな現象に関与する。

(注3)三量体Gタンパク質:細胞内情報伝達に関わるGTP結合タンパク質であり、ロドプシンのような7回膜貫通ヘリックス構造を持つ受容体タンパク質により活性化される。Gタンパク質共役型受容体(GPCR)として総称される受容体は視覚などの感覚だけでなく、神経伝達物質やホルモンなどの情報伝達に関わり、創薬の重要なターゲットとなっている。

(注4)オプトジェネティクス(光遺伝学):光学(optics)と遺伝学(genetics)を合わせた造語であり、創始者のDeisseroth博士により名付けられた。2005年に行われた最初の実験では、微生物由来のチャネルロドプシンを神経細胞に発現させ、光で神経を興奮させることにより神経の発火活動を制御に成功し、脳機能解明のための新手法として期待されている。オプトジェネティクスの語は現在では光で生物の活動を制御・操作する手法に対して広く使われる。

(注5)バクテリオロドプシン:代表的な微生物ロドプシン。高度好塩菌の細胞膜に存在する膜タンパク質で、発色

団レチナールをもつため紫色をしている。光駆動プロトンポンプとしてエネルギー変換機能を担う。初めて立体構造が解明された膜タンパク質の1つ。

(注6)高速原子間力顕微鏡(AFM):柔らかい板バネの先に付いた針の先端で試料に触れ、試料の表面形状を可視化する顕微鏡。針と試料の水平方向の相対位置を変えながら試料表面の高さを計測することにより、試料の表面形状を可視化する。試料の表面を高速(最速16フレーム/秒)にスキャンすることにより試料の動きを可視化することができる。

