

世界初「光で駆動する巨大イオンチャネルタンパク質」を藻類から発見

物性研究所・機能物性研究グループ 井上 圭一、永田 崇、今野 雅恵

研究の背景

動物の視覚や植物の光合成など、生物はさまざまな方法でその生存に光のエネルギーを用いていることが古くから知られています。これらを可能としているのが、それぞれの生物種が持つ、光を吸収し、そのエネルギーを生理機能の駆動力として変換する役割を持つ光受容タンパク質と呼ばれる特殊なタンパク質のグループです。動物の視覚の場合はロドプシンと呼ばれるタンパク質が、植物の光合成の場合は光化学系と呼ばれるタンパク質が中心的な役割を果たすことが知られています。

一方で、個々の生物には数千～数万種類のタンパク質が存在すると考えられており、いまだその多くの役割は明らかとされていないことから、その中に既知のものとは異なる光受容タンパク質が存在し、生命がこれまで知られていなかった光の利用形態を持つのかどうかは不明でした。

研究の内容と成果

今回、本研究グループは近年解読された海洋などに棲む藻類のゲノム中の遺伝子配列に注目し、その中から動物から微生物までの幅広い生物が持ち、光を感知する機能を持つ「ロドプシン」(注 1)と、細胞の中でイオンを輸送する役割を持つ「ベストロフィン」(注 2)の二つのタンパク質が融合した、全く新しいタンパク質が広汎な種類の藻類に存在することを見出しました。このタンパク質は新たに「ベストロドプシン」と名付けられました。

まず、本タンパク質を高純度で精製し、その構造を最新の構造解析手法であるクライオ電子顕微鏡(注 3)を用いて調べました。その結果、ベストロドプシンは、1~2 個のロドプシン部分にベストロフィン部分が連なった構造を持ち、さらにベストロフィン部分同士が5つ集まることで、細胞を構成する脂質二重膜内で巨大複合体を形成するタンパク質であることが分かりました(図 1)。この複合体の中央には脂質二重膜を貫通するチャネルと呼ばれる穴が空いており、このチャネルを通してイオンが輸送されると考えられました。

次に、研究グループは実際にベストロドプシンがイオンを輸送するのか、人工的に培養したホ乳類の細胞へ、遺伝

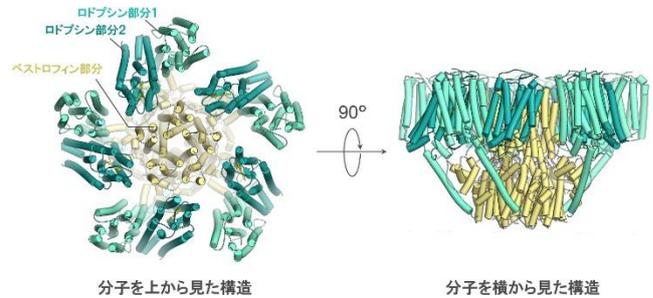


図 1: クライオ電子顕微鏡によって明らかにされたベストロドプシンの構造。二つのロドプシン部分を薄い緑色と濃い緑色で、ベストロフィン部分を黄色で示す。同一のロドプシン分子が 5 個星形に配置することで、中央部にマイナスの電荷を持つイオンが透過する巨大なチャネルが形成されている。

子操作によってベストロドプシンの遺伝子を導入し、そのはたらきを調べました。その結果、ベストロドプシンに光を当てると、ロドプシン部分が光のエネルギーを吸収し、それに伴ってベストロフィン部分中央のチャネルが広がり、塩素イオンなど陰イオンの流入が起こることが示されました。これにより、ベストロドプシンは太陽光を用いて巨大なチャネルの開閉を制御することで、藻類の細胞内のイオンの分布を変える、全く新しいタイプの分子であることが明らかとされました。

これまで光エネルギーを使うことで、チャネルを通してイオンを輸送する微生物のロドプシンは数多く知られており、チャネルロドプシンと呼ばれています。しかし、チャネルロドプシンは単一のロドプシン分子からなり、その中のチャネルの径はそれほど大きなものではありませんでした。今回発見されたベストロドプシンの持つチャネルの径は、チャネルロドプシンのものよりも遙かに大きく、より大量のイオン輸送が可能であると考えられています。

また近年、チャネルロドプシンを動物の脳などの神経細胞に発現させ、光で神経の活動を制御する光遺伝学(オプトジェネティクス)(注 4)と呼ばれる技術が、神経科学分野や、神経疾患治療の分野などで大きな注目を集めています。しかし、生体組織は多くのチャネルロドプシンが利用する波長の短い可視光を強く散乱してしまうことから、生体深部へその様な光を届けることが難しく、光遺伝学による疾患治療などの実用化に向け大きな障害となっていまし

見付かる可能性が期待されます。特に藻類は棲息する環境によって、異なった色の光が太陽から届くことから、今回のものとは異なった色の光ではたらくベストロドプシンを持つことで、生息場所や藻類の種類ごとに多様な光を利用できる様になると考えられ、今後はそれを明らかにする研究が行われる予定です。また陰イオン以外の輸送が可能なベストロドプシンが見付かる可能性もあります。そして、ベストロドプシンによる光依存的なイオン調節が、藻類の生存にどの様に役立つのか、その生理学的な役割を明らかにするための研究も今後行われると期待されます。

一方で、ベストロドプシンは従来のチャンネルロドプシンにはない大口径のチャンネルと、脳などの生体組織によって散乱されることなく、体の奥深くまで届けることができる長波長の光を利用できる性質を持つことから、光で鬱病やてんかんなど脳神経が関わる疾患の発生原因の研究やそれらの治療法の開発が期待されている光遺伝学分野への応用、視覚再生医療や光による心疾患治療のための新たな分子ツールとしての利用が期待されます。

謝辞

本研究は、名古屋工業大学・神取 秀樹教授、古谷 祐詞准教授、片山 耕大助教、香川大学・藤原 祐一郎教授、川鍋 陽講師、イスラエル工科大学・Oded Béjà 教授、ワイツマン研究所・Moran Shalev-Benami 博士、Igor Schapiro 博士、Mordechai Sheves 教授、Ofer Yizhar 教授、フンボルト大学・Peter Hegemann 教授らとの共同研究として行われました。文部科学省日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費助成事業 (学術変革領域研究 (B) 「低エネルギー操作」における「超音波・磁場感受性レーザー分子開発と筋組織形成促進技術への応用 (研究代表者：井上圭一、課題番号：JP20H05758)」、特別推進研究「光遺伝学を支えるロドプシンの作動メカニズムの解明 (研究代表者：神取 秀樹、課題番号：JP21H04969)」、新学術領域研究「高速分子動画」における「時間分解構造解析を補完する精密顕微分光計測 (研究代表者：久保 稔、研究分担者：古谷 祐詞、課題番号：JP19H05784)」、および科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (CREST 「光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用 (研究総括：影山 龍一郎)」における「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、課題番号：JPMJCR1753)」、CREST 「新たな光機能や光物性の発見・利活用を基軸とする次世代フォトニクス」の基盤技術 (研究総括：北山 研一)」における「超短赤外

パルス光源を用いた顕微イメージング装置の開発と生命科学への応用 (研究代表者：藤 貴夫、研究分担者：古谷 祐詞、課題番号：JPMJCR17N5)」、さきがけ「生命機能メカニズム解明のための光操作技術 (研究総括：七田 芳則)」における「光 OFF 型ロドプシンによる高感度かつ自然な視覚再生 (研究代表者：永田 崇、課題番号：JPMJPR1888)」、さきがけ「量子技術を適用した生命科学基盤の創出 (研究総括：瀬藤 光利)」における「構造基盤に立脚した色認識機構および色覚情報伝達機構の解明 (研究代表者：片山 耕大、課題番号：JPMJPR19G4)」による支援を受けて行われました。

掲載論文： A. Rozenberg[‡], I. Kaczmarczyk[‡], D. Matzov[‡], J. Vierock[‡], T. Nagata, M. Sugiura, K. Katayama, Y. Kawasaki, M. Konno, Y. Nagasaka, M. Aoyama, I. Das, E. Pahima, J. Church, S. Adam, V. A. Borin, A. Chazan, S. Augustin, J. Wietek, J. Dine, Y. Peleg, A. Kawanabe, Y. Fujiwara, O. Yizhar, M. Sheves, I. Schapiro, Y. Furutani, H. Kandori, K. Inoue, P. Hegemann, O. Béjà*, M. Shalev-Benami*. ([‡] : equally contributed)
“Rhodopsin–bestrophin fusion proteins from unicellular algae form gigantic pentameric ion channels” (2022) *Nature Structural & Molecular Biology*, **29**, issue 6, pp. 592–603

(注1) ロドプシン

動物から細菌などの微生物まで、幅広い生物種の細胞膜上に存在する太陽光を吸収してさまざまな生物学的機能を発現するタンパク質。動物の持つロドプシンは視覚など光に関わる細胞内信号伝達を行う役割を持つのに対し、微生物の持つロドプシンの多くは光のエネルギーを使ってイオンを輸送します。従ってその機能は互いに大きく異なり、進化的にも全く別系統です。しかしそれにも関わらず、これら2種類のロドプシンは、光を吸収するために共にビタミンAの誘導体であるレチナール色素をタンパク質内部に結合し、7本の膜を貫通するらせん(ヘリックス)からなるタンパク質構造を持つなど多くの共通点を有しています。

(注2) ベストロフィン

ロドプシンと同様に動物から微生物まで、幅広い生物種が持つ、イオンを輸送する機能を持つタンパク質。5つのベストロフィンが集まることで、その中央部にイオンを透過

するためのチャンネルが形成されます。ベストロフィンが輸送するイオンの種類は生物種ごとに異なるが、ヒトの持つベストロフィンは、塩素イオンなどの陰イオンを輸送し、さまざまな器官に存在しています。

(注3) クライオ電子顕微鏡

凍結させた生体試料を用いて、タンパク質や細胞小器官の構造を調べる電子顕微鏡技術。単粒子解析と呼ばれる技術により、複雑で巨大なタンパク質の三次元構造を原子レベルで明らかにすることが可能となり、2017年にこの技術に対してノーベル化学賞が授与されました。

(注4) 光遺伝学(オプトジェネティクス)

神経細胞など、生体組織中の細胞に光応答性タンパク質の遺伝子を導入し、神経活動などの細胞の生理活動を外部からの光照射によって制御する技術。光開閉式のイオンチャンネルであるチャンネルロドプシンが発見されたことにより、2005年頃から可能となったもので、将来的には視覚再生医療や、体内への機器の挿入を必要としない心疾患治療などへの応用が期待されています。

(注5) レチナール

通常アミノ酸は可視領域に吸収を持たないため、アミノ酸で構成されるタンパク質もそれ単体では可視光を利用することができません。それに対してロドプシンはタンパク質内部に、体内の酵素反応でビタミンAから生じるレチナールと呼ばれる色素を結合しています。ロドプシンのタンパク質内部にあるレチナールが可視光を吸収するとその折れ曲がり構造が変化し、それを通じてタンパク質部分にも変化が起こり、さまざまな生理機能を発現することが可能になります。