

令和 5 年 5 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15728

研究課題名(和文)非古典的ロドプシンの構造機能解析

研究課題名(英文)Structural and functional analysis of non-canonical rhodopsins

研究代表者

志甫谷 渉 (Shihoya, Wataru)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・助教

研究者番号：30809421

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：光エネルギーを化学エネルギーに変換するタンパク質(キサントロドプシン、プロテオロドプシン)が、カロテノイド色素の一種であるキサントフィル(ゼアキササンチンやルテイン)を集光アンテナとして利用することを発見した。ゼアキササンチンとキサントロドプシンとの複合体の立体構造を世界で初めて決定しました。今回の成果から、集光アンテナを持つロドプシンが水圏微生物に広く分布し、ロドプシンによる光エネルギー受容量が従来の試算を大きく上回る可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これらの色素は受容した光エネルギーをレチナル色素に移動させる集光アンテナとして働くこと、集光アンテナを持つロドプシンが水圏微生物に幅広く分布することを明らかにした。今回の発見により、水圏生態系においてロドプシンは集光アンテナを駆使し、従来の試算を上回る量の光エネルギーを受容することが示唆された。生態系を理解する上で、光エネルギーを受け取る生物の光受容効率を把握し、生態系に流れ込む光エネルギー量を正確に算出することは避けては通れない課題である。本研究の成果は、全球レベルでの水圏生態系の理解の深化につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Energy transfer from light-harvesting ketocarotenoids to the light-driven proton pump xanthorhodopsins has been previously demonstrated in two unique cases: an extreme halophilic bacterium¹ and a terrestrial cyanobacterium. Attempts to find carotenoids that bind and transfer energy to abundant rhodopsin proton pumps from marine photoheterotrophs have thus far failed. Here we detected light energy transfer from the widespread hydroxylated carotenoids zeaxanthin and lutein to the retinal moiety of xanthorhodopsins and proteorhodopsins using functional metagenomics combined with chromophore extraction from the environment. The light-harvesting carotenoids transfer up to 42% of the harvested energy in the violet- or blue-light range to the green-light absorbing retinal chromophore. Our data suggest that these antennas may have a substantial effect on rhodopsin phototrophy in the world's lakes, seas and oceans. However, the functional implications of our findings are yet to be discovered.

研究分野：構造生物学

キーワード：ロドプシン クライオ電子顕微鏡法

1. 研究開始当初の背景

ほぼ全ての生態系は太陽の光エネルギーを基盤に成立しており、生態系は光エネルギーを化学エネルギーに変換する生物によって支えられています。特に海洋や河川、湖沼などの水圏生態系では、植物プランクトンやシアノバクテリアなどの微生物が光合成を行っており、これらの光合成生物のみが光エネルギーを変換できる、と長い間考えられていました。

ところが2000年、海洋細菌を対象としたメタゲノム解析から、光合成とは全く異なる、微生物型ロドプシンと呼ばれる光エネルギー受容機構の存在が報告されました。プロテオロドプシン(以降:PR)と名付けられたそのロドプシンは、結合したレチナール色素が光エネルギーを受容すると水素イオン(H⁺)を細胞の内側から外側へ輸送し、生物が利用可能な電気化学的ポテンシャルを形成します。その後の研究から、海洋表層に生息する細菌の過半数がPR遺伝子を保有し、特定の海域ではPRは光合成に匹敵するほどの光エネルギーを受容すると試算されています。また、微生物型ロドプシンは海洋だけでなく、河川や湖沼に生息する微生物からも次々と発見されており、生態系に流れ込む光エネルギー量を把握する上で、ロドプシンの光受容効率の理解は非常に重要だと考えられています。しかしながら、微生物型ロドプシンの光受容はレチナール色素のみが担うのか?それともレチナール色素にエネルギー伝達可能な集光アンテナを持つのか?などの、基本的な特徴すらよく分かっていませんでした。

微生物型ロドプシンは一般的に、レチナール色素のみが光エネルギーを受容しますが、キサントロドプシン(以降:XR)は、レチナール色素の他にサリニキササンチンというカロテノイド色素と結合し、レチナール色素が受容できない青〜緑色の光を利用することができます。このような光受容を補助する色素は集光アンテナと呼ばれ、XRは一般的なロドプシンより幅広い波長域の光を受容できることが知られています。しかし、集光アンテナを備えたロドプシンは僅か3種類しか知られておらず、陸域の特定の環境に生息する微生物が持つ例外的な光受容機構であると考えられていました。また、既知の集光アンテナとして機能するカロテノイド色素は、ロドプシタンパク質の立体構造上の制約から、全て4-ケト環構造という共通した構造を持ちます。

2. 研究の目的

本研究では、環境中にユビキタスに存在する他のカロテノイドを利用できる、非古典的ロドプシンを探索し、構造と機能からそれを実証することを目指しました。

3. 研究の方法

本研究では、陸域の特殊な環境以外に生息する微生物も、集光アンテナを備えたロドプシンを持つのかを調べました。イスラエルの淡水湖であるガリラヤ湖に生息する微生物を対象にメタゲノム解析を行い、ロドプシン遺伝子を探索しました。この遺伝子を大腸菌に異種発現(注5)させた後、精製したロドプシタンパク質へ、湖水から抽出・濃縮した色素を添加しました。その結果、レチナール色素の他に、ゼアキササンチンやルテインと結合するXRを見出しました。さらに、ゼアキササンチンが結合したXRの構造をクライオ電子顕微鏡法によって2.3分解能で決定しました。

さらに、このXRが利用できる光の波長を調べた結果、結合したゼアキササンチンやルテインが集光アンテナとして働き、受容した光エネルギーの約40%をレチナール色素に移動させることが明らかになりました。

4. 研究成果

本研究で見出されたXRが利用できる光の波長を調べた結果、結合したゼアキササンチンやルテインが集光アンテナとして働き、受容した光エネルギーの約40%をレチナール色素に移動させることが明らかになりました。またこのXRが、なぜ4-ケト環構造を持たないゼアキササンチンを集光アンテナとして使うことができるのかを調べるため、構造を詳しく調べました。XRは5量体を形成しており、タンパク質の表面に大きな横穴が空いた単量体のそれぞれの外側に、ゼアキササンチンが結合していました。結合したゼアキササンチンの水酸基環は横穴にはまっており、レチナール色素と直接相互作用していました。また、ゼアキササンチンの水酸基は溶媒に露出しており、まわりの親水性アミノ酸であるセリンやチロシンと相互作用していました。一方、既知の4-ケト環構造を持つカロテノイドと結合するXRでは、これらの残基の極性は疎水性になっており、これらの横穴を構成するアミノ酸残基の性質や構造の違いが、XRの間で結合するカロテノイド色素の違いを決めていると考えられます。

一方、地球表面積の約7割を占める海洋では、海洋表層に生息する細菌の半数以上がPRを保有することが知られていますが、その立体構造の特徴から集光アンテナを持たないと考えられていました。そこで学術研究船「淡青丸」を用いた研究航海で、西部北太平洋から分離した海洋細菌(Tenacibaculum sp. SG-28)を対象とし、SG-28株の持つPRが集光アンテナを備えるかどうかを調べました。SG-28株の持つPR遺伝子を大腸菌に異種発現させてタンパク質を精製した後、SG-28株から抽出したカロテノイド色素を添加し、再度タンパク質精製を行いました。一連

の解析から、SG-28 株が持つ PR は、SG-28 株が産生するゼアキサンチンを集光アンテナとして用いることを示しました。

さらに、これまでに実施されたメタゲノムデータを利用し、各水圏環境から検出されたロドプシン全体に対し、集光アンテナを備える上で必要なアミノ酸を持つロドプシンの割合を調べました。その結果、集光アンテナを持つロドプシンは全世界の淡水域および、海域に広く分布することが明らかとなりました。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nagiri Chisae, Kobayashi Kazuhiro, Tomita Atsuhiro, Kato Masahiko, Kobayashi Kan, Yamashita Keitaro, Nishizawa Tomohiro, Inoue Asuka, Shihoya Wataru, Nureki Osamu	4. 巻 81
2. 論文標題 Cryo-EM structure of the β 3-adrenergic receptor reveals the molecular basis of subtype selectivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Cell	6. 最初と最後の頁 3205 ~ 3215.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2021.06.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Higuchi Akimitsu, Shihoya Wataru, Konno Masae, Ikuta Tatsuya, Kandori Hideki, Inoue Keiichi, Nureki Osamu	4. 巻 118
2. 論文標題 Crystal structure of schizorhodopsin reveals mechanism of inward proton pumping	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2016328118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ikuta Tatsuya, Shihoya Wataru, Sugiura Masahiro, Yoshida Kazuho, Watari Masahito, Tokano Takaya, Yamashita Keitaro, Katayama Kota, Tsunoda Satoshi P., Uchihashi Takayuki, Kandori Hideki, Nureki Osamu	4. 巻 11
2. 論文標題 Structural insights into the mechanism of rhodopsin phosphodiesterase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19376-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Chazan Ariel, Das Ishita, Fujiwara Takayoshi, Murakoshi Shunya, Rozenberg Andrey, Shihoya Wataru, Yoshizawa Susumu, Sheves Mordechai, Nureki Osamu, Beja Oded	4. 巻 615
2. 論文標題 Phototrophy by antenna-containing rhodopsin pumps in aquatic environments	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 535 ~ 540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-023-05774-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
イスラエル	Technion-Israel Institute of Technology			
スペイン	University of Huelva			