

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料 〔令和5(2023)年度 中間評価用〕

令和5年3月31日現在

研究期間：2021～2025
課題番号：21H04969
研究課題名：光遺伝学を支えるロドプシンの作動メカニズムの解明
研究代表者氏名（ローマ字）：神取 秀樹（KANDORI Hideki）
所属研究機関・部局・職：名古屋工業大学・工学（系）研究科（研究院）・教授
研究者番号：70202033

研究の概要：

光遺伝学を支えるロドプシンの作動メカニズムを、分光学的、生化学的、電気生理学的手法を駆使して解明し、古くから知られているロドプシンに新しい描像を確立する。具体的には、動物ロドプシン、タイプ1微生物ロドプシン、ヘリオロドプシンに対してそれぞれ挑戦的なテーマを設定し、それを実験的に明らかにすることで研究の目的を達成する。

研究分野：物理化学、生物物理学

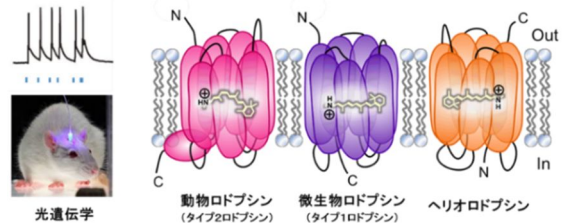
キーワード：動物ロドプシン、微生物ロドプシン、ヘリオロドプシン、構造機能相関、赤外分光

1. 研究開始当初の背景

チャンネルロドプシンをツールとして2005年に始まった光遺伝学は、脳だけでなく光による生命機能の幅広い操作を実現し、生命科学全般を革新する技術として大きな期待を集めている。ロドプシンは光遺伝学を支える標準ツールとして使われているが、私たちはこれまで、種々の新規微生物ロドプシンを発見・創成するとともに、動物ロドプシンである色覚視物質の赤外分光を用いた構造研究を世界に先駆けて行ってきた。また2018年には第三のロドプシンとも言うべきヘリオロドプシンの存在を明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、光遺伝学を支えるロドプシンの作動メカニズムを、分光学、構造生物学、生化学・分子生物学、電気生理学を用いて明らかにする。具体的に、動物ロドプシンの研究では、色覚視物質の立体構造決定を試みる。タイプ1ロドプシンの研究では、我々が次々に発見したロドプシンの新しい機能が生まれる要因を明らかにする。ヘリオロドプシンの研究では、その機能を解明するとともに、機能を生み出すメカニズムを明らかにする。以上のような3つの挑戦により、古くから知られているロドプシンに新しい描像を確立する。



3. 研究の方法

本研究で対象とする様々なロドプシンは、大腸菌、酵母菌、昆虫細胞、哺乳類細胞などを用いて発現・精製する一方、必要に応じて生細胞での研究も行う。我々の学術的独自性をもたらしたのが赤外分光である。色覚視物質の構造解析や微生物ロドプシンのメカニズム解析を実現した精巧な赤外分光計測は、本研究においても中心的な位置を占める。赤外分光などの分光解析に加えて、X線結晶構造解析・クライオ電顕などの構造解析、電気生理学によるイオン輸送解析などを様々なロドプシンに適用することで、作動メカニズムを解明する。3つの挑戦について、具体的な研究戦略を以下に示す。

(1) 動物ロドプシンの研究

立体構造が決定されている明暗視のロドプシンと比較して、色覚視物質の構造研究は我々の赤外分光解析しかない。そこで霊長類色覚視物質の立体構造決定を試み、分光学との組合せで色の情報が受容されるメカニズムを明らかにする。このため、熱安定性の高い試料の調製を実現する。

(2) タイプ1ロドプシンの研究

我々がオリジナリティを有する新しいロドプシン、具体的には光駆動ナトリウムポンプ、内向きプロトンポンプ、新規チャンネルロドプシン、酵素ロドプシンなどの構造機能相関を解析する。これらの作動メカニズムの理解を深める一方、新しい機能の探索も国内外の共同研究により行う。

(3) ヘリオロドプシンの研究

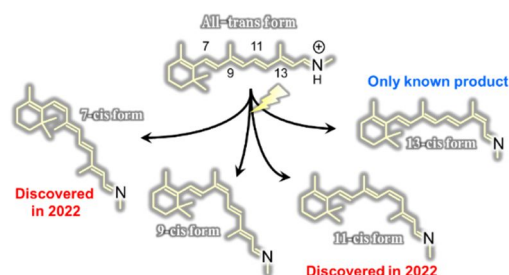
48C12 や TaHeR の解析からイオンを輸送しないと考えられているが、様々なヘリオロドプシンに対して網羅的な電気生理学実験を計画している。さらに、ヘリオロドプシン遺伝子を持った生細胞を対象として機能解析を行い、異種発現による分子特性の解析と合わせて、構造機能相関を明らかにする。

4. これまでの成果

研究は順調に進んでおり、当初、予見しなかった新たな展開も見出されている。

動物ロドプシンは活性化に際してレチナール発色団からプロトンが解離すると信じられていたが、我々の青視物質では Lumi 中間体でプロトンが解離することを明らかにした。さらに計算科学者との共同研究により初めて色覚視物質の構造モデルを発表することができた。

タイプ1ロドプシンにおいては、ロドプシンの常識を覆す光反応を見出した。すべてのロドプシンが 77 K で光反応するというのが分野で確立した常識であったが、2022 年、近赤外に吸収を持つベストロドプシンは 150 K 以下で、酵素ロドプシンに至っては水が凍る温度で異性化が起こらないことがわかった。特異な反応の理由は、通常の 13 シス型への異性化ではなく、それぞれ 11 シス型、7 シス型へ異性化が起こり、それが励起状態で高い反応障壁を持つためである。なぜこのような例外的な光反応が起こるのか、興味は尽きない。



ヘリオロドプシンについては、世界に先駆けて円石藻に感染するウイルスが持つヘリオロドプシンがプロトンチャネル機能を持つことを明らかにした。このウイルスはヘリオロドプシンと光を使って円石藻の崩壊を促進させている可能性がある。その後、ヘリオロドプシンと相互作用する酵素の存在も報告され、ヘリオロドプシンはタイプ1ロドプシンと同様、多様な機能を持つことがわかった。さらにイオン輸送性を持たないヘリオロドプシンに対する亜鉛結合部位を計算科学者との共同研究により明らかにした。

5. 今後の計画

当初の予定通り、今後も研究を進める。

動物ロドプシンでは、国内の共同研究により構造決定を目指すとともに、構造ダイナミクスを理解するため、幅広い時間領域の中間体に対する赤外分光を行う。特に青視物質で見出したプロトン移動のメカニズムは興味深く、より詳細に理解を深める。

タイプ1ロドプシンでは、我々がオリジナリティを有する新しいロドプシンの構造機能相関の解析を進めるとともに、本研究で新たに見出した特異な光異性化反応について理解を深めるための研究を推進する。近赤外吸収という低いエネルギーの光吸収が反応の特質とどう関わるのか、明らかにしたい。

ヘリオロドプシンでは円石藻に感染するウイルスのヘリオロドプシンが行うプロトンチャネルのメカニズムを明らかにするとともに、多様な機能をもたらすメカニズムも調べる。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

M. Hashimoto, K. Miyagawa, M. Singh, K. Katayama, M. Shoji*, Y. Furutani, Y. Shigeta and H. Kandori*: “Specific Zinc binding to heliorhodopsin”, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 25, 3535-3543 (2023). 査読有

Y. Mizuno, K. Katayama*, H. Imai and H. Kandori*: “Early proton transfer reaction in a primate blue-sensitive visual pigment”, *Biochemistry* 61, 2698-2708 (2022). 査読有

M. Sugiura, K. Ishikawa, K. Katayama, Y. Sumii, R. Abe-Yoshizumi, S. P. Tsunoda, Y. Furutani, N. Shibata, L. S. Brown and H. Kandori*: “Unusual photoisomerization pathway in a near-infrared light absorbing enzyme rhodopsin”, *J. Phys. Chem. Lett.* 13, 9539-9543 (2022). 査読有

S. Hososhima, R. Mizutori, R. Abe-Yoshizumi, A. Rozenberg, S. Shigemura, A. Pushkarev, M. Konno, K. Katayama, K. Inoue, S. P. Tsunoda, O. Beja and H. Kandori*: “Proton-transporting heliorhodopsins from marine giant viruses”, *eLife* 11, e78416 (2022). 査読有

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. Diné, Y. Peleg, A. Kawanabe, Y. Fujiwara, O. Yizhar, M. Sheves, I. Schapiro, Y. Furutani, H. Kandori, K. Inoue, P. Hegemann, O. Bèjà* and M. Shalev-Benami*: “Rhodopsin-bestropin fusion proteins from unicellular algae form gigantic pentameric ion channels”, *Nat. Struct. Mol. Biol.* 29, 592-603 (2022). 査読有

7. ホームページ等

<http://kandori.web.nitech.ac.jp/>