

光応答性タンパク質の赤外分光研究と機能開拓

Structure/Function Study of Photoreceptive Proteins by FTIR Spectroscopy



神取秀樹氏は、視物質や光駆動ポンプ、DNA光回復酵素など光応答性タンパク質における情報変換やエネルギー変換機構を解明するため、赤外差スペクトル分光法を用いた精密計測系を構築し、複雑な生体分子系におけるメカニズムを明らかにした。さらに、得られた結果を基に新しい機能を持ったタンパク質の発見や機能の創成を実現した。以下に同氏の主な業績を紹介する。

1. 生体分子を対象とした精密赤外分光測定系の構築

光応答性タンパク質の光反応中間体を低温で安定化し、光で誘起される構造変化を解明するための赤外差スペクトル測定系を構築した。特に、試料を含めた FTIR 測定系の最適化により水の大きな赤外吸収の問題を克服し、中赤外の全波数領域 (800~4000 cm⁻¹) で高精度の差スペクトルを測定することに成功した。水の吸収のため不可能とされた赤外分光測定を実現した結果、1個の水分子の水素結合変化が検出できるようになったのである。

神取氏はさらに時間分解赤外分光法を用いて生理的温度で水分子の信号を捉えた。また全反射赤外分光法を用いた溶液交換による差スペクトル測定系を構築し、光に反応しない膜タンパク質の構造ダイナミクスの解析を可能にした。これらの精密赤外分光測定系により、以下に示す生体分子のメカニズム解明が実現したのである。

2. 赤外分光法を用いた光応答性タンパク質のメカニズム解明

明暗を感じる視物質ロドプシンはウシやイカから大量の試料が調製できるためX線結晶構造が得られている一方、色覚視物質は試料調製が困難なため構造研究は皆無であった。神取氏は精密赤外分光解析を用いて、初めて霊長類色覚視物質の構造解析を実現し、我々が色を識別するメカニズムを分子レベルで明らかにすることに成功した。霊長類の赤、緑、青視物質は11シスレチナールという全く同じ分子の吸収をタンパク質が制御しているが、異なる波長の吸収を実現するタンパク質のはたらきが明らかになり、水分子がそれぞれ特徴的な役割を担っていることを見いだした。

ロドプシンは動物だけでなく微生物にも存在するが、微生物ロドプシンの機能は光センサーだけでなく、イオンポンプやイオンチャンネル、光活性化酵素など様々である。神取氏は、これらロドプシンの内部で起こる光異性化反応やプロトン移動反応を解析し、光がタンパク質の構造変化を誘起して特有の機能をもたらすメカニズムを明らかにした。特に、精密赤外分光測定系を用いて光駆動H⁺ポンプであるバクテリオロドプシンの内部に水素結合がきわめて強い水分子が存在することを見だし、変異体を用いた解析により活性中心に結合した水であることを明らかにした。さらに全波数領域での水分子の解析を様々なロドプシンに適用することで、H⁺ポンプ活性を持つロドプシ

ンには、必ず強い水素結合を形成した水分子を見いだした。内部結合水の水素結合強度とH⁺ポンプ活性との間の相関は、水分子を介した水素結合ネットワークが機能に直接、関わることを示している。

神取氏は精密赤外分光解析を、フラビンを発色団とする光応答性タンパク質にも適用した。異性化という共通の光化学反応から多彩な機能が発現するロドプシンと異なり、フラビタンパク質の光反応は、電子移動、システインとの共有結合形成、ケトエノール互変異性など多彩であり、神取氏は光誘起赤外分光法を用いてそのメカニズムを明らかにするとともに、DNA光回復酵素が基質を修復するメカニズムを明らかにした。

3. 光応答性タンパク質における新機能の発見と機能創成

神取氏は光応答性タンパク質のメカニズムを明らかにする過程で、新しい機能の発見やアミノ酸変異を用いた機能転換や機能の創成も実現した。新機能の発見としては、光駆動Na⁺ポンプ、内向きH⁺ポンプ、環状ヌクレオチドを分解する酵素ロドプシン、既知のロドプシンと配列相同性を持たないヘリオロドプシン等が挙げられる。神取氏はこれらの新規ロドプシンに対して赤外分光法などを駆使して、よく似た構造からなぜ異なる機能が発現するのか、そのメカニズムを明らかにした。これらのタンパク質分子は、動物の脳に発現させることで行動を光操作する光遺伝学 (optogenetics) のツールとしても注目されている。

一方、H⁺→Cl⁻ポンプ、Cl⁻→H⁺ポンプ、Na⁺→Cl⁻ポンプといった機能転換をわずかなアミノ酸変異により実現するとともに、DNA光回復酵素の基質を転換することにも成功した。これら機能転換の成功は進化を遡るものだけに限られており、進化によって新しい機能を獲得しても元の性質を失わない柔軟性を生体分子が内包している事実が示唆された。また、光駆動Na⁺ポンプに対する変異導入により、自然界に存在しないK⁺ポンプやCs⁺ポンプを創成した。

以上のように神取氏は、オリジナルな赤外分光解析を用いてタンパク質の構造機能相関を研究することで新たな知見を得てきた。特に一貫してロドプシンなど光応答性タンパク質の分光研究を行うことで、光がどのような反応によりタンパク質に取り込まれ、それがどのように機能へと繋がるのかというメカニズムを解明した。さらに得られた分光データを活用して、新しい機能の発見や機能転換、機能創成を実現してきた。これらの世界をリードする業績は、基礎研究分野だけでなく光遺伝学などの応用研究分野においても注目されている。よって、同氏の業績は日本化学会賞に値するものと認められた。