50 周年記念

特集 日本発の生物物理学

ロドプシン研究はどこへ行くのか？

—吉澤透先生に就いて—

須藤雄気

名古屋大学 / 科学技術振興機構PRESTO

特集「日本発の生物物理学」は、実に面白い企画であると思う。ともすると、われわれは、諸先生方が、研究の現場で活動されていたことを忘れがちである。特集には、発見に結びついた生の体験が凝縮されている。最近、生物物理学会においてすら、そこはかとなく感じる先生・学生間のつながりの希薄さに警鐘をならす、正にタイムリーな企画であると思う。

1. 吉澤透先生

私が、吉澤先生の文章¹⁾を受けて応答を書かせていただく身として適当である自信はないが、吉澤研、あるいは関連研究室関係者というわけではなく、外野から羨望の眼差しで見つめてきた身として、また、吉澤先生が開拓されてきた手法を正に使っている身として応答文を書かせていただく。

私が吉澤先生とはじめてお会いしたのは、2000年のフィンセンメダル（国際光生物学連合）の受賞祝賀会兼研究会であったと記憶している。私のデータを一部発表するというので、北海道大学・加茂直樹教授（現・松山大教授）に連れられ、右も左もわからぬまま、岡田哲二さん（現・学習院大教授）の発表（論文発表前のGPCRとしてはじめてとなるロドプシンの結晶構造）などを聞き、夜は東岡崎駅近くの川に面した料理屋の1階で懇親会が行われた。研究者を目指そうかどうか迷っていた自分にとって、この会で吉澤研関係者の方々とお話しでき、特に岡田さんに「微生物のロドプシンは面白いよね」といわれたことは、現在でも大きな励みになっている。吉澤先生には、このような出会いやきっかけを作っていただいたという面で大変感謝している。

2. 低温分光法

吉澤先生が開拓されてきたレチナールを発色団とするロドプシン分子の低温分光法は、現在、さまざまな光受容タンパク質、あるいは関連タンパク質に適用され、タンパク質の反応・構造変化の理解に大きく役立っている。私たち世代は、もはや当たり前の手法として、また、欠かすことのできない手法として使用し

ている。さらに、2000年から大きく進んでいるロドプシントランスポーターの結晶構造解析でも、液体窒素温度（77K）などの低温条件下で、光反応中間体をトラップする操作を行う。

フェムト秒レーザーが、レーザー研究者のみならず、一般の研究者でも広く利用され、室温での反応測定を容易に行うことができる現在においても、吉澤先生らが提唱された光反応サイクルは受け入れられている。つまり、光照射後フェムト秒での励起状態生成後、フォトロドプシンが生成し、パソロドプシンに変わる。ここでは発色団レチナールが、11-*cis*からall-*trans*へ異性化するものの、歪んだ構造をとる。さらにルミロドプシン、メタロドプシンを経由し、その間に情報伝達分子（Gタンパク質）へ情報を伝達する、という考え方である。情報量の限られていた時代であることを考えるとそれが卓見であったことがわかる。一方で、ロドプシン分子のもつ高い量子収率、発色団のもつ2成分の励起状態の緩和過程やきわめて低い熱雑音（いい換えると熱反応のポテンシャルバリアーが高い）については、理解が進んでいるとはいえない。今後実験・理論の両面で解析が進められていくと考えられ、これらの研究は、現在京都大学・七田芳則教授や、名古屋工業大学・神取秀樹教授などのもとで継続している。また、前田章夫先生（京都大学名誉教授）や神取教授らが、低温赤外分光法により、水分子や側鎖を含む詳細なタンパク質構造の変化を明らかにしている。日本発だけでなく、現在でも日本が世界の第一線でしのぎを削っている分野でもある。

3. 情報伝達機構

吉澤先生は、光反応サイクルの同定だけでなく、生物学者ということもあり、ロドプシンの情報伝達機構解析においても多くの業績を残されている。特に、反応中間体・メタロドプシンIIが、細胞内の酵素カスケードを駆動する生理活性型中間体であることを見いだされた²⁾。現在では一般的になっているGPCRを紹介した、生物の感覚応答機構（受容体→Gタンパク質

What Goal should Rhodopsin Research Achieve?

Yuki SUDO

Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University / PRESTO, Japan Science and Technology Agency (JST)

→効果体)において、吉澤先生が行われた視興奮過程に関する業績は、その先鞭をつけたといえる。また、深田吉孝先生(現・東京大学教授)らと、三量体Gタンパク質の α および γ サブユニットがそれぞれ、ファルネシル化およびアシル化という脂質修飾を受けていることを明らかにし、これらが光情報伝達に必要不可欠であることを示した³⁾。

現在は、さまざまなロドプシン分子の原子レベルでのエネルギー変換・情報伝達機構について興味に移りつつあるが、項目2の低温分光法とも関係して、1つの大きな問題がある。すなわち、タンパク質骨格や側鎖の広域での構造変化を伴う後期中間体における低温結晶構造と、実際の生理機能を発揮する常温での構造および反応は同じであるか?というものである。2000年以降、さまざまなロドプシン分子の中間体構造が次々と明らかとなり、それまでの解析との相違点・矛盾点が明らかになってきたことによる。たとえば、私が解析を行っているセンサリーロドプシンII(SRII)において、われわれはレチナール異性化後のK中間体においてレチナールの14位のC-HとThr204残基との間の大きな立体障害を報告し⁴⁾、この変化が、伝達タンパク質(HtrII)への光情報伝達に必須であることも明らかにしている⁵⁾。しかし、SRII-HtrII単体および複合体のK中間体の結晶構造は、驚くほど類似しており、14位C-HとThr204との大きな立体障害も見られない⁶⁾。また、活性型M中間体の結晶構造も、基底状態のそれと類似しており⁷⁾、同一研究グループおよびわれわれの解析で明らかとなった光励起後のSRII-TM6ヘリックスの構造変化と、HtrII-TM2の回転も見られていない。プロトンポンプ・バクテリオロドプシン(BR)や、アニオンポンプ・ハロロドプシンにおいても、さまざまな問題が指摘されている。この問題は、現在でも解決されていない。

構造解析の有力な手法である電子線構造解析や固体NMR解析も高分解能構造を明らかにするためには、結晶化が必要であり、溶液NMR法は、分子量の問題やスペクトルの分離の悪さから、この問題にアプローチできるまでにはいたっていない。しかしながら、生物と物理の境界領域にある生物物理学は、新たな分野・手法を開拓する姿勢が重要であり、これらの問題を解決することが、私たち新しい世代の生物物理学研究者へ課せられた課題であると認識している。

4. ロドプシン研究の未来

ロドプシンタンパク質は、GPCR(微生物型ロドプシンを除く)、光受容タンパク質あるいは膜タンパク質の代表選手として、発見から現在まで、日本の生物物理学的研究をリードする成果を出し続けている。また、世界と同等かそれ以上の研究成果があげている分

野である。これらは、吉澤先生をはじめ、特集号の執筆者でもある津田基之先生(現・徳島文理大学薬学部教授)や諸先輩方の努力の結果である。その一方で、私は、ロドプシン研究の潮流が、2000年付近を境に、以下の3点から、大きく変わってきていると感じている。

- (1) X線結晶構造解析後のタンパク質解析:現在では、ロドプシンが唯一のGPCRの結晶構造ではなく、微生物型ロドプシンの構造も中間体も含めて続々と明らかになってきている。百聞は一見にしかずであり、美しいタンパク質構造により、そのタンパク質機能を理解した気になるが、実際には先ほどの問題や、色(吸収波長制御機構)の問題など、むしろ不明な点が続々と明らかになってきているのが現状である。
- (2) ゲノム科学進展による新たな分子の発見:2000年付近まで、ロドプシン類は、高等生物と好塩古細菌にのみ存在するローカルなものであると考えられてきた。しかしながら、現在では1000を超える新たな分子がさまざまな生物種から発見され、ロドプシンを介した光受容がさまざまな生物で重要であることがわかってきている。また、その機能はイオンチャネルや転写制御など多岐に渡る。これらの機能発現メカニズムは不明な点が多い。
- (3) 新たな分子による応用研究:新たに発見されたクラミドモナスのロドプシン(チャネルロドプシン)や、ハロロドプシンなどは、光により簡便かつ高精度で、イオン透過を制御可能なことから細胞の神経活動のon/offを制御でき、新たな光神経科学分野が開拓されている。「ロドプシンの利用」はますます広がっていくことであろう。

以上、吉澤先生がまいった種は、おそらく当初予想されなかったような広がりを見せ、特に、ご退官された2000年以降、新たな局面に入ってきたと感じている。これを気に、このような記事を書くこととなり、また、はじめて主催する研究会(2010年3月)に吉澤先生をおよびできたことには、不思議な感覚を覚える。最後に、ラボを構える諸先生方へお願いがある。ぜひ、研究や研究以外のことも含めた、ご自分の体験を研究室のメンバーに伝えてください。体験記は、小説を読むよりも面白いと思う人は、私だけではないと信じています。

文 献

- 1) 吉澤 透(2010)生物物理 **50**, 64-65.
- 2) 吉澤 透, 今元 泰(1992)実験医学 **10**, 204-211.
- 3) 深田吉孝, 松田孝彦(1995)蛋白質 核酸 酵素 **40**, 889-902.
- 4) Sudo, Y. *et al.* (2005) J. Am. Chem. Soc. **127**, 16036-16037.
- 5) Sudo, Y., Spudich, J. L. (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **103**, 16129-16134.
- 6) Edman, K. *et al.* (2002) Structure **10**, 473-482.
- 7) Moukhametzianov, R. *et al.* (2006) Nature **440**, 115-119.