



海野 雅司 教授らがシアノバクテリアの光スイッチの「かたち」を解明 ～新たな光遺伝学ツールの開発や光合成機能の解明へ～

【概要】

佐賀大学理工学部化学部門 海野 雅司 教授、藤澤 知績 准教授、東京薬科大学・薬学部・分子生物物理学教室・三島 正規 教授、豊橋技術科学大学・大学院工学系研究科・広瀬 侑 助教、名古屋大学・シンクロトロン光研究センター・永江 峰幸 助教、大阪大学蛋白質研究所・宮ノ入 洋平 准教授、東京都立大学・大学院理学研究科・伊藤 隆 教授、宮崎大学・医学部・和田 啓 准教授らの研究グループは、シアノバクテリアの光スイッチタンパク質である RcaE の分子構造を、X 線結晶構造解析、分子動力学計算、および NMR によって解明し、米国科学アカデミー紀要 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) に発表しました。

【背景】

シアノバクテリアは光合成を行う原核生物であり、地球上の様々な環境に生息することが知られています。ある種のシアノバクテリアは、赤色光と緑色光のバランスを感知して効率よく光合成を行う「補色順化」と呼ばれる能力を持ちます。補色順化において、光色を感知するセンサーとして機能するのが光スイッチタンパク質 RcaE です。これまでの研究で、RcaE は発色団（活性中心）としてビリンとよばれる小さな有機化合物を結合して緑色光吸収型と赤色光吸収型の間を光変換することや、その光変換にはビリンの異性化という構造変化や水素イオン（プロトン）の脱着反応によって駆動されることが示唆されていました。またこれらの光スイッチは遺伝子発現を制御するための優れたツールとして光遺伝学においても利用されています。ところが、光反応を説明する分子構造は明らかにされていませんでした。

【成果】

あいちシンクロトロン光センターの名古屋大学ビームラインを用いて RcaE の赤色光吸収型の高分解能(1.63Å)の構造解析に成功しました。RcaE のビリン発色団の4つのピロール環（A-D 環）の構造は、D 環のみが外側を向いた構造（C15-E,syn 型）で、過去の光スイッチでは報告例のない構造でした（図1）。

用語解説

- ・ NMR（核磁気共鳴）：分子構造を原子レベルで解析するための方法の一つ。タンパク質の X 線結晶構造解析では観ることのできない水素原子に関する情報が得られる。
- ・ 分子動力学計算：計算機シミュレーションの一種で、分子の動きを予測することができる。
- ・ ビリン：窒素原子を含む五員環構造であるピロールが4つ繋がった分子。

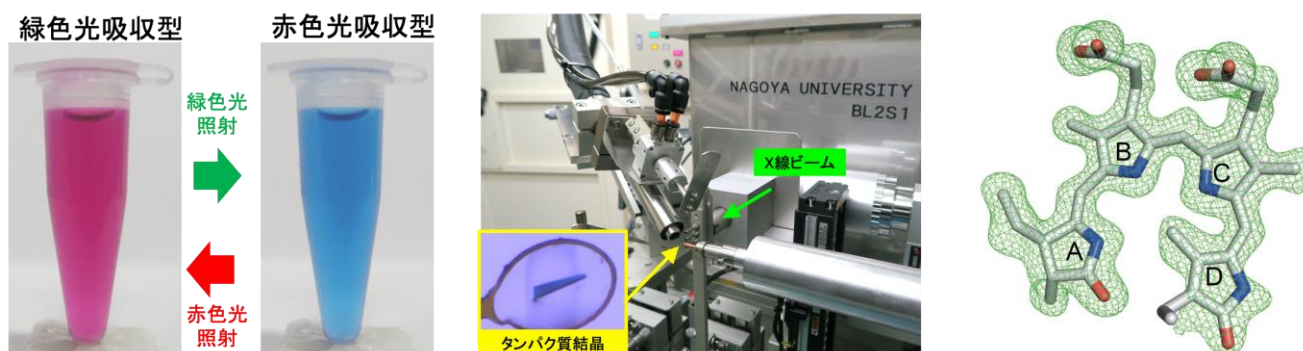


図 1. RcaE タンパク質の光変換（左）、X 線結晶構造解析に使用したあいちシンクロトロン光センターの名大ビームラインと、赤色光吸収型の結晶（中央）、解析によって明らかとなったビリン発色団の構造（右）

本研究で得られた構造情報と、過去のアミノ酸置換変異実験との比較から、ビリン発色団と相互作用するアミノ酸残基の役割を理解することができました。今回の構造において予想外だったのは、RcaE のビリン発色団を格納するタンパク質ポケットに大きな「空隙」が存在したことです。ビリン発色団は、酸性アミノ酸残基を介して、空隙内部のクラスター化した水和水と水素結合を形成していました（図 2）。分子動力学計算によって、それらの水和水が溶媒の水と素早く入れ替わることも示されました。このようなビリン発色団と溶媒水分子をつなぐ空隙は、これまでに発見された光スイッチタンパク質において見つかっていません。我々は、RcaE の持つこの特徴的な構造を「穴あきバケツ（Leaky bucket）」構造と名付けました（図 2）。この穴開きバケツ構造が RcaE の光変換反応におけるプロトンの通り道として機能しているのではないかと考えられました。

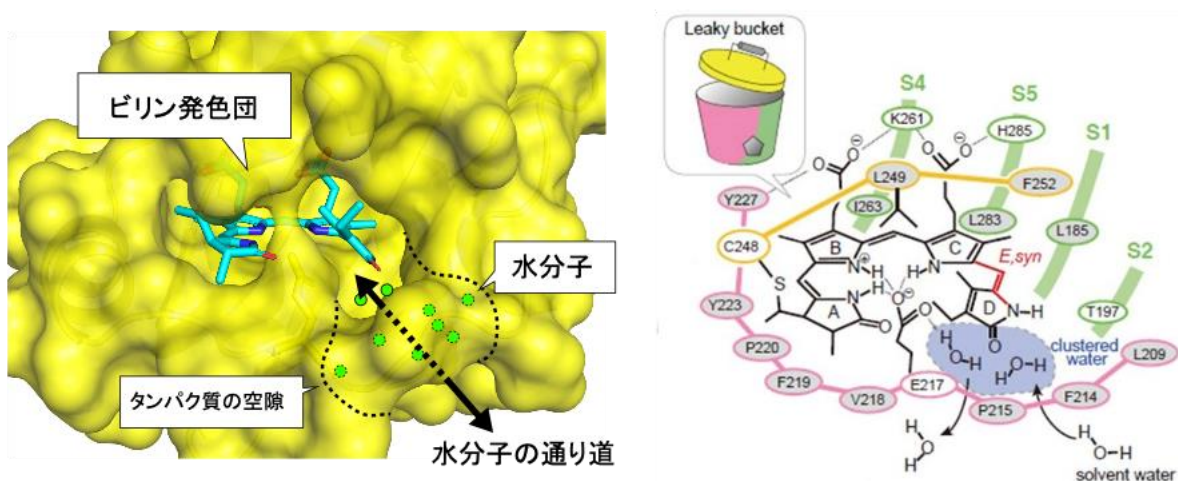


図 2. RcaE のビリン発色団の結合ポケットの構造（左）と、穴開きバケツ構造のモデル（右）

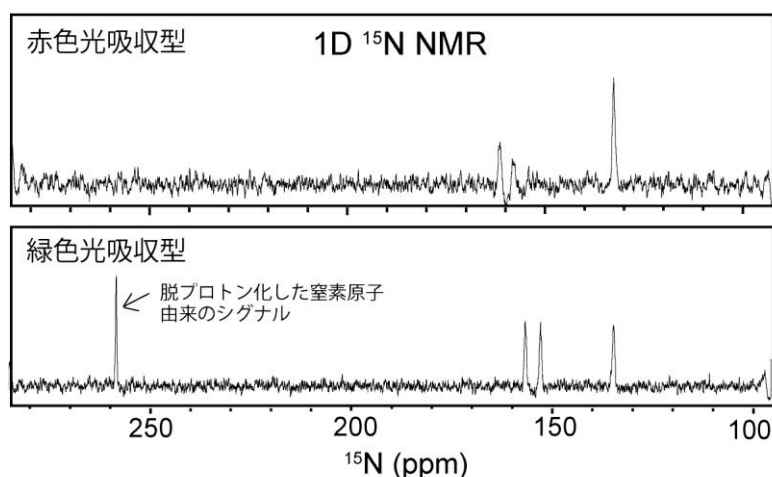


図3. RcaE の赤色光吸収型（上）および緑色光吸収型におけるビリン発色団の窒素原子の NMR スペクトル

RcaE の緑色光吸収型と赤色光吸収型の光変換では、ビリン発色団のプロトン化状態が変化することが、これまでの研究で示唆されていました。我々は、RcaE のビリン発色団のプロトン化状態を直接的に検出するため、NMR を利用しました。赤色光吸収型では4つのピロール環にプロトンが結合した窒素原子の信号が得られましたが、緑色光吸収型においては1つのプロトンが外れた窒素原子の信号が観測されました（図3）。量子化学計算から、この脱プロトン化はビリン発色団の B 環で起こることが示唆されました。これらの結果は、RcaE のプロトン脱着反応を介した吸収波長の制御機構の解明に大きく貢献します。

【展 望】

今回明らかにした RcaE の構造は、ビリン発色団の多様な吸収波長を生み出すメカニズムの物理化学的理解に大きく貢献できます。さらにこの知見は、細胞生物学や医薬品開発に役立つ光遺伝学ツールの開発に繋がることが期待されます。

【論文情報】

Nagae T., Unno M., Koizumi T., Miyanoiri Y., Fujisawa T., Masui K., Kamo T., Wada K., Eki T., Ito Y., Hirose Y., and Mishima M. Structural basis of the protochromic green/red photocycle of the chromatic acclimation sensor RcaE. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 118, e2024583118 (2021).

【お問い合わせ先】

佐賀大学 理工学部 化学部門 教授 海野 雅司

TEL : 0952-28-8678 e-mail : unno@cc.saga-u.ac.jp