

ロドプシンの機能発現における分子ダイナミクス

七田芳則

京都大学大学院理学研究科生物科学専攻生物物理学教室

shichida@vision-kyoto-u.jp

我々の眼の中には機能の異なる数種類の神経細胞があり、外界からの光の情報を脳へ送るのに働いている。これらの細胞のうち、最初に光を受ける細胞は視細胞と呼ばれ、光を受容（吸収）するために特別なタンパク質を含んでいる。このタンパク質が本講演の主題であるロドプシンである。ロドプシンは分子量が約 4 万で 7 回膜貫通 α -ヘリックス構造を持つ膜タンパク質である。また、タンパク質内に発色団としてビタミン A のシス型アルデヒド誘導体である 11-cis-レチナールを含んでいる。光を吸収すると発色団のシス-トランス異性化反応を起こし、その後のタンパク質部分の段階的な構造変化を通じて、G タンパク質と結合してそれを活性化する状態になる（図 1）。ロドプシンの構造やアミノ酸配列モチーフは、神経伝達物質受容体やホルモン受容体など、三量体 G タンパク質を介するシグナル伝達系の受容体と共通であり、ロドプシンを含めたこれらの受容体は G タンパク質共役型受容体（G protein-coupled receptor, GPCR）と呼ばれている。

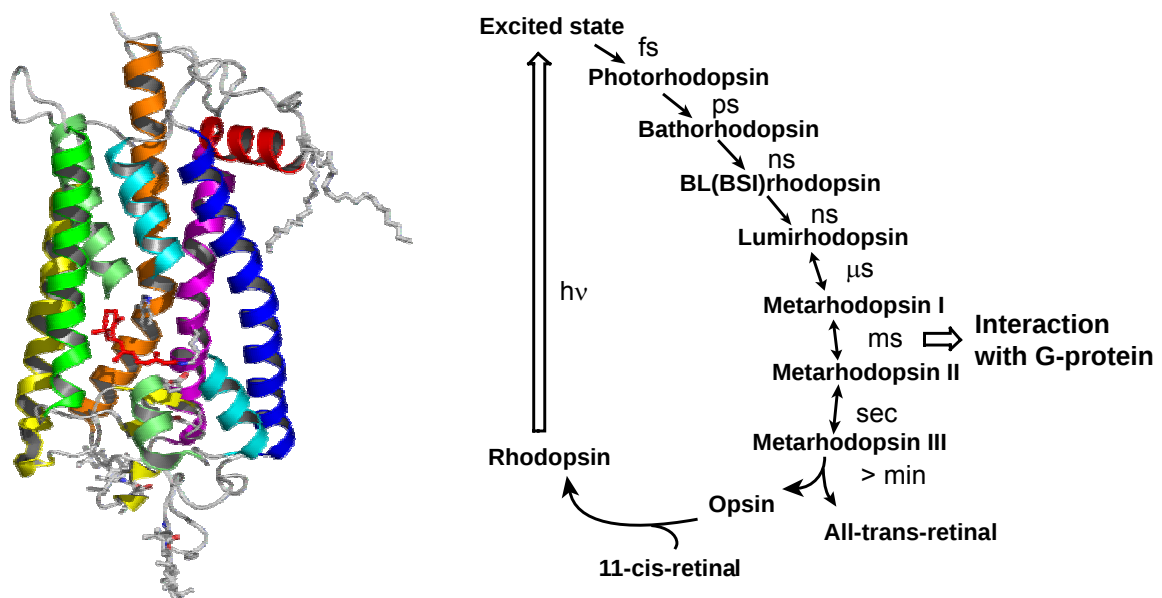


図 1：ロドプシンの立体構造と光反応過程

1．ロドプシンの高い量子収率

ロドプシンの機能は外界からの光（情報）を効率よく受容し、その情報を後続の G タンパク質に効率よく伝えることである。暗順応した桿体視細胞はわずか 1 個の光子が入射すると興奮することから、ロドプシンの量子収率が非常に高いことがわかる。実際、ロドプシンにおける発色団レチナールの異性化の量子収率は約 0.7 で、有機溶媒中に溶けたレチナールの量子収率よりも約 3 倍高い。つまり、ロドプシンのタンパク質中に取り込まれたレチナールはまわりのアミノ酸残基と相互作用することによりその量子収率が高くなっている。異性化の量子収率が高いのは、光を吸収したロドプシンの励起状態で発色団が非常に速く異性化するからである。ロドプシンに限らず光を吸収して励起状態に遷移した分子は、蛍光やリン光、あるいは熱を放出してもとの状態（基底状態）にもどる。そこで、ロドプシン中ではシス-トランス異性化反応が他の過程よりも速く起こるため、異性化の量子収率が高くなるのである。光を吸収しやすいロドプシンでは蛍光の自然寿命は約 5 ナノ秒である。また、熱を放出してもとの状態に戻る過程はピコ秒以下の時間で起こる。以上のことから、我々が 1 個の光量子で見たとを感じるには、発色団の異性化反応はロドプシンの励起状態においてフェムト秒で起こる必要がある。実際、ロドプシン中での発色団の異性化反応は光を吸収したあと 60 フェムト秒からはじまり、200 フェムト秒で完了する。この反応は現在知られている多くの化学反応の中でも非常に速い化学反応である(1,2)。

すでに述べたように、ロドプシン中での発色団の量子収率は有機溶媒中に溶かしたレチナールに比べて非常に高い。その原因は、タンパク質中ではレチナールが周りのアミノ酸残基と特別な相互作用をするからである。そこで我々は、立体構造の明らかになったウシロドプシンについて、発色団の近くに存在するアミノ酸残基を網羅的に置換し、どのアミノ酸残基がロドプシン中での高い量子収率の原因になっているかを検討した。約 20 個のアミノ酸残基を置換した結果、そのうちの数個が高い量子収率の原因になっていることが明らかになった。また、興味深いことに、ロドプシンの量子収率をさらに高くするアミノ酸残基の置換もあることがわかった。ロドプシンは数億年にわたる分子進化の過程で光を受容するように最適化されていると考えられるので、この結果はタンパク質の機能を考える上で非常に興味深い。

2．ロドプシン・Gt 相互作用

ロドプシンのもう一つの重要な機能は発色団の異性化反応としてトラップした光情報を効率よく G タンパク質に伝えることである。視細胞中に存在する G タンパク質をトランスデュシン（略して Gt）と呼ぶ。光を受容することにより発色団がトランス型に異性化したロドプシンは、その後数種類の間状態を経て、Gt と結合し

てそれを活性化する中間体へと変化する（図1）。従来、Gtを活性化するのはロドプシンのメタと呼ばれる中間体であると考えられてきた。これは以下の実験結果から推定されてきた。

ロドプシンを0 付近で光照射すると、メタ、メタと呼ばれる中間体の平衡状態が生成する（図2）。Gt（ α 、 β 、 γ サブユニットの複合体）存在下でロドプシンを光照射すると、この平衡がメタにシフトし、見かけ上多くのメタが生成する。多く生成したメタのことを extra-meta-II と呼ぶ。一方、試料中に GTP の難加水分解性アナログである $\text{GTP}\gamma\text{S}$ をさらに共存させると、メタへの平衡のシフトが解消される。これらの結果から、Gt はメタと結合し、GTP が存在すると活性化（GDP-GTP 交換反応）されてメタから遊離すると考えられてきた。

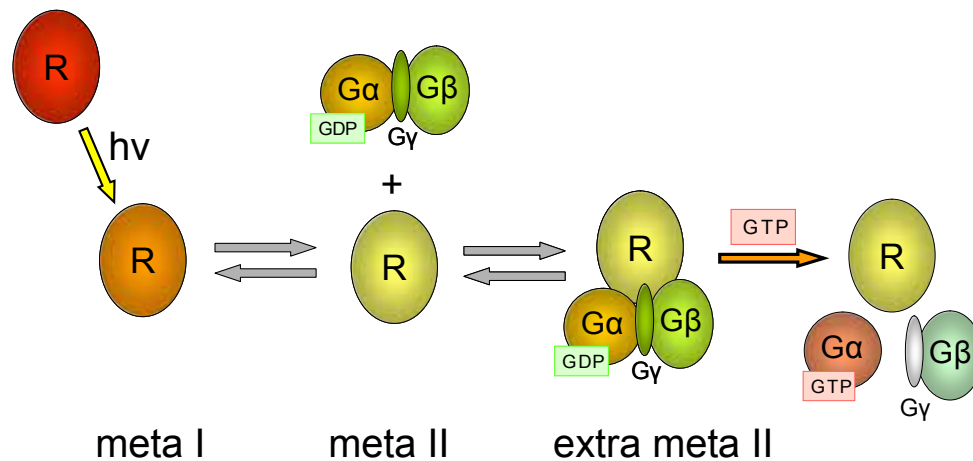


図2：メタ・メタの平衡とGt相互作用

ところが、その後の研究により、 $\text{GTP}\gamma\text{S}$ のかわりに GDP を加えた試料でもメタへの平衡のシフトが解消されることが発見された。つまり、上記のスキーム図のうち、メタと結合している Gt には GDP が結合していないことが推定された。

視細胞中の存在する Gt は GDP を結合した状態なので、上記の結果は、Gt と相互作用するロドプシンの中間体がメタのみではなく、GDP 結合型の Gt と結合する中間体が存在する可能性を示唆していた。この状態はメタの前駆体と考えられる。

そこで我々はメタの生成に至るスペクトル変化を-20 で詳細に測定し、特異値分解法とグローバルフィッティングの手法を用いて反応過程を解析した(3,4)。その結果、従来メタと呼ばれていた中間状態は2つの中間状態、メタ a とメタ b の混合物であり、そのうちのメタ b はメタと同様に Gt と相互作用することが明らかになった。さらに、新たに CCD カメラを検出器とする分光光度計を開発し、視細胞

の外節そのものを試料として 4 でスペクトル変化を観測した。その結果、メタ b はメタ a とは異なり、GDP 結合型の Gt と相互作用することを発見した(5)。

以上の結果から、光を吸収したロドプシンと Gt との相互作用は下記のように書くことができる。

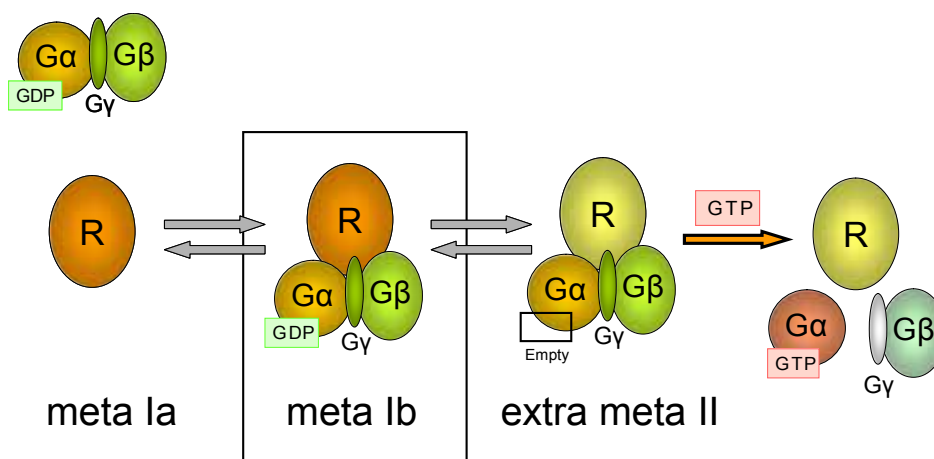


図 3：ロドプシン中間体による Gt の 2 段階活性化機構

すでに述べたように、ロドプシンは G タンパク質共役型受容体 (GPCR) の 1 つであり、G タンパク質を活性化する状態に至るタンパク質部分の構造変化過程の研究が最も進んでいる。また、原子レベルでの立体構造も GPCR として唯一決定されており、ロドプシンは GPCR 研究のモデルとして位置づけられている。今回の我々の発見も、ロドプシンの Gt 活性化メカニズムを原子レベルで明らかにするために重要な知見であり、さらに、GPCR 一般の G タンパク質活性化機構を考察する上でも重要な知見と考えている。

文献

- (1) Y. Shichida and H. Imai (1998) J. Cell, Mol. Life Sci. 54, 1299-1315.
- (2) 神取秀樹、七田芳則 (2000) ロドプシンの超高速ダイナミクス 季刊化学総説「超高速化学ダイナミクス」日本化学会編 学会出版センター
- (3) S. Tachibanaki, H. Imai, Y. Imamoto and Y. Shichida (1995) Biochemistry 34, 13170-13175.
- (4) S. Tachibanaki, H. Imai, T. Mizukami, T. Okada, Y. Imamoto, T. Matsuda, Y. Fukada, A. Terakita and Y. Shichida (1997) Biochemistry 36, 14173-14180.
- (5) T. Morizumi, H. Imai and Yoshinori Shichida (2005) Biochemistry 44(29), 9936-9943.