

「光といのち」を化学する 視覚、光駆動イオンポンプからDNA修復まで、タンパク質場は何をしているのか？

神取秀樹

名古屋工業大学大学院工学研究科

未来材料創成工学専攻 教授



私は高校の頃から暗記の多い化学が嫌いであり、大学に入っても化学の教育を受けたことはほとんどなかった。しかしながら、ロドプシンのメカニズムを物理の言葉で語りたいという私の夢を実現するための営みは、タンパク質場の複雑さを考えると結局は「化学（物理化学）」そのものであることに、あるとき気がついた。そのときから「化学者」としての私の歩みが始まったわけであるが、私は10年前に応用化学科の教員となり、今こうして、「化学と工業」の『私の自慢』を執筆している。これらの事実は、化学という学問がもつ懐の深さを表しているように思えてならない。

超高速分光による視物質ロドプシン研究

目の中に光が入ると何が起こるのだろうか？

京都大学理学部物理の卒業研究で固体のレーザー分光を行いながら、もう少し「柔らかい」対象を研究したいと思っていた私が巡り会ったのが「視覚の初期過程」研究であった。当時、京大で唯一、ピコ秒レーザーをもっている研究室は、物理でも化学でもなく生物学専攻の生物物理学教室というところにあることを知ったときから、私の「光といのち」研究が始まった。私は大学院の修士課程から吉澤透先生の研究室に進学し、25ピコ秒のパルスレーザーを用いた視覚の初期過程の研究を開始したのである。今から考えると25ピコ秒のレーザーで2桁以上速い異性化過程を捉えようとしていたわけで、無謀な試みであったと言えるかもしれない。幸いなことに私の場合、発色団11-*cis*型レチナールのシス型構造を五員環や七員環で固定したアナログを合成

して下さった有機化学の先生方のおかげで学位を取得することができた。シス-トランス異性化が真に初期反応であれば、環状アナログでは反応が進行しないはずであり、確かに伊藤允好先生（神戸薬大）の合成された五員環では中間体が生成しなかった。一方、中西香爾先生（コロンビア大）の合成された七員環や八員環では天然と同様の初期中間体が生成した。最初はマジックにでもかかったような印象をもったが、最終的には異性化座標に対する捻れの自由度で説明することで、「視覚の初期過程がレチナールの11-*cis*型からall-*trans*型への異性化反応である」ことを明らかにすることができた。

その後、私は分子研・理研と短いパルス幅のレーザー光を求めて移り、ロドプシンなど生体分子の初期過程を追い求めていった。実験においては、溶液中での発色団分子の測定を比較することにより、「タンパク質場は反応効率を最適化している」らしいことがわかってきた。

赤外分光によるバクテリオロドプシン研究

分子のポンプはなぜ濃度勾配に逆らってイオンを輸送できるのか？

タンパク質場の不思議さを直接料理したいと思っていた私にとって、出身研究室で助手になったとき、前田章夫先生が赤外分光装置を用いた測定系を立ち上げておられたのは実に運がよかったと思う。赤外分光は光反応に対するタンパク質場の応答を調べるのに相応しい手法だったからだ。私自身は、試料まで含めた測定系を最適化することによりほかではできない分光計測を実現することが得意であり、超高速分光の場合と同様、高精度の測定系を構築してロドプシンの光反応におけるレチナールやタンパク質側の構造変化を調べていった。特に、光誘起赤外スペクトル変化によるタンパク質に結合した水分子の水素結合構造解析は大きな財産となった。内部結合水を解析することがなぜ重要かというと、視物質ロドプシンと同様、レチナールを発色団とするバクテリオロドプシンは、光のエネルギー

ギーを利用してプロトンを濃度勾配に逆らって輸送できるからだ。このタンパク質分子は4~5ナノメートルの膜間を4箇所の結合基を経由する5回のプロトン移動によってポンプを起こすので、水分子の働きが重要であることが予想できた。X線結晶構造もなかった当時、私たちは変異体作製と低温赤外分光を組み合わせて水分子の位置を推定し、ポンプ機能における役割を議論していった。

京大での赤外分光解析は振動数が水素結合の弱い水の領域（高波数側）に限られていたが、機能に重要な水を議論するためには水の伸縮振動の全波数領域を観測することが必須と考え、ちょうど名工大で自分の研究室をもった頃にそれを実現することができた。低波数領域の水分子を捉えることは予想以上に意味があり、ロドプシンのプロトンポンプ活性と強い水素結合を形成した水分子との間の相関を見いだすことで、水の水素結合構造が光エネルギー貯蔵にかかわる事実を発見するに至った。

バクテリオロドプシンは飽和する塩濃度で成育できる特殊な細菌がもつタンパク質であり、このような微生物型ロドプシンはずっとマイナーな存在であった。事情が激変したのはイオン輸送性ロドプシンを「光操作」のツールとして利用する Optogenetics の登場である。GFP (Green Fluorescent Protein) が「光観察」のツールとして生物学に革命をもたらした2008年のノーベル化学賞が与えられたのは記憶に新しいところであるが、「光らせて見る」ことの次に「光で操作する」ことが生命科学、特に脳神経研究で大きな期待をもたれているのだ。私たちは世界で初めて輸送されるイオンを変えたり、輸送の向きを変えるタンパク質を作製しており、これらの道具が Optogenetics に使えるかどうかは興味深い。この新分野にノーベル賞が与えられるとしたら、化学賞ではなく医学・生理学賞であろうが、イオン輸送性ロドプシンについて世界で最もうまい5人の中の1人として、私は Optogenetics 分野の発展を見守りたいと考えている。

赤外分光によるフラビントタンパク質の研究

フラビンを発色団とする光受容タンパク質のメカニズムは？

レチナールに限らず、光異性化は生物の光センサーにおける初期反応であり、発色団の異性化によってタンパク質部分の構造変化が誘起され伝達タンパク質との分子認識が可能になる、という図式は共通であった。その点、異性化が不可能なフラビンを発色団とする光センサータンパク質が発見されたのは私にとって衝撃であり、名工大に移った年からフラビンを発色団とする植物の光屈性センサーの赤外分光解析を開始し、フラビンとシステインとの共有結合形成がもたらすタンパク質の構造変化を調べていった。

その後、レチナールの光異性化が共通した初発反応であるロドプシンと異なり、フラビントタンパク質には様々な反応がかかわっていることがわかってきた。中心となるのは光による酸化還元反応であり、その代表であるクリプトクロム・DNA 光回復酵素ファミリーは実に興味深い。このタンパク質群は、植物にあっては光センサーとして働く一方、ヒトでは生物時計の部品となり、渡り鳥にあっては磁気センサーとなる。さらに、紫外線で損傷されたDNAを光を使って修復することもできるのだ。生物がよく似た構造構築をもとに、活性部位のわずかな構造調節によって機能を制御していることは、私たちが微生物型ロドプシンから学んだことであるが、このような原理がフラビンを発色団とするタンパク質群に対してどこまで当てはまるか、赤外分光を機軸とした分光学的手法により明らかにしてゆきたいと考えている。

光に応答しないチャネルやレセプターの構造変化を捉える赤外分光

もっと一般のタンパク質は測れない？

私たちはレチナールやフラビンを結合したタンパク質に対して、内部に結合したわずか1個の水分子まで解析できることを明らかにし、機能との相関を研究してきた。赤外差スペクトル法は外部刺激による構造



かんどり・ひでし

1989年京都大学大学院理学研究科博士課程修了。分子科学研究所、理化学研究所での博士研究員、京都大学大学院理学研究科助手、講師を経て、2001年名古屋工業大学助教授、03年より教授。

変化を捉える手法であるので、論理的にはあらゆる生体分子に対して同様の計測が可能である。しかしながら現実的には、光という優れた外部刺激と同等の刺激は不可能というのが共通の認識であり、様々な研究会で「神取さんの手法は素晴らしいけど、光応答系でしかできないからね…」という発言を耳にした。

これに応える形で最近、取り組んでいるのが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である。神取研の初代助教であった古谷祐詞博士（現 分子研）が中心になって立ち上げてくれたこの測定系は予想以上にポテンシャルが高く、チャネル、ポンプやレセプターなど様々な膜タンパク質がイオンなどどのように相互作用するか、詳細な構造情報が蓄積しつつある。「光といのち」という点ではこれらのタンパク質群は光に応答しないわけだが、いのちを担う重要なタンパク質を赤外線を使って解き明かすという点で、「光といのち」にかかわると言うことができるだろう。

吉澤スクールのように 人材を輩出する研究室を目指して

以上、時系列に従って私の研究の歴史を簡単にご紹介した。これらの研究はほとんどすべてが国内外の研究者との共同研究であり、したがって私にとって自慢すべきこととは、素晴らしい共同研究相手に恵まれた、ということに尽きるかもしれない。科学研究費においても大峯 巖先生（凝縮系反応動力学）、桑島邦博先生（水と生体分子）、赤阪 健先生（高次 π 空間）が組織された領域のメンバーに入れていただき、研究を発展させることができた。境界領域にいるがゆえの分野の枠を超えた幅広い交流は私の自慢と言えるだろう。しかし、私の「ほんとの自慢」は研究室メンバー、特に神取研の学生さんたちである。

中西香爾先生は、私の出身研究室を評してよく「吉澤スクール」ということをおっしゃった。学生時代はその意味がわからなかったのであるが、吉澤研からよい人材が育っていることは光生物学の分野で国際的に定評があり、これはメンターとしての吉

澤先生の素晴らしさを示すものであろう。実際に、世界で初めて光駆動ポンプの機能転換を実現したのも、世界で初めて GPCR を結晶化したのも、私より 5 学年下の後輩である。

名工大でちょうど 10 年前に自分の研究室をもったとき、私は名工大のことを全く知らなかったが、実際に来てみると学生さんの質のよさに驚かされ、そこから現在に至る研究室の快進撃が始まった。現在、私の研究室に配属する 4～5 人の学部生は全員が大学院に進学し、その 1 割がドクターコースに進学する。理学部出身の私にとって、ドクターへの進学率の低さは当初、大きな不満であったが、ドクターの学生に冷たい日本の現状を考えると今はまあこんなもんかと思っている（一方で日本の将来を考えると憂うべきことかもしれないが…）。9 割の学生さんには 3 年間の研究を通して「物事を成し遂げるにはどうしたらよいか」をいつも考えてもらっており、このような姿勢や経験は企業で全く異なる仕事をしていても意味があると信じている。

ドクターに進学する 1 割の学生さんには、日本代表として世界と戦えるような科学技術のリーダーになってもらいたいと願っている。名工大に来るまでは、リーダーとなる人材は東大や京大から生まれるものと勝手に思っていたが、神取研の学生さんと接することで今はむしろ逆の考えに至った。すなわち日本の将来を危惧する声が巷にあふれる中、日本が拠って立つべき科学技術のリーダー育成はむしろより多様な大学の研究環境で試みられるべきであり、実際に私自身はノーベル賞を取るかもしれないタフな若手研究者を育てることを意識している。

今現在で「吉澤スクール」と比較するのは全くおこがましいことであるが、いつか「吉澤スクール」に比肩しうようなよい人材を輩出する研究室を、現助教である岩田達也博士や井上圭一博士とともに作りたい。「光といのち」の化学研究は、その可能性にあふれていると確信している。

© 2011 The Chemical Society of Japan