

## 光で働くイオンチャネルの動作メカニズムの一端を解明

～細胞応答の光操作技術への貢献に期待～

### ポイント

- ・細胞膜を隔てたイオン輸送を担う *PsuACR1* という光受容体タンパク質の動作機構の一端を解明。
- ・輸送基質である  $\text{Cl}^-$  の濃度が高いほど *PsuACR1* のチャネル開口状態が長期化することを発見。
- ・高い  $\text{Cl}^-$  濃度でも効率的に働く光操作ツール（細胞機能を光で操作する方法）開発への活用期待。

### 概要

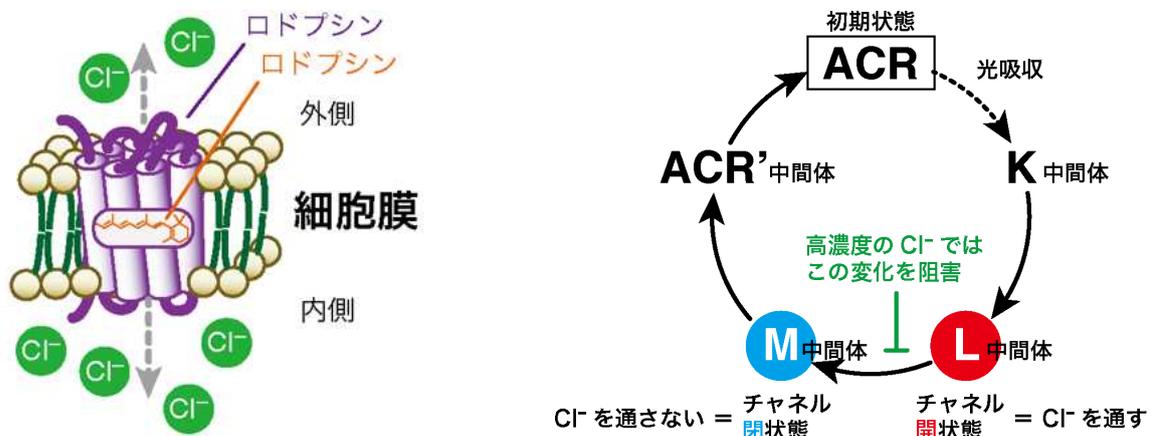
北海道大学大学院先端生命科学研究院・国際連携研究教育局の塚本 卓助教らの研究グループは、海洋藻類 *Proteomonas sulcata* 由来の光受容体タンパク質であるアニオンチャネルロドプシン\*<sup>1,2</sup> (*PsuACR1*) が、自らの輸送基質である塩化物イオン ( $\text{Cl}^-$ ) の濃度に応じて開口状態を変化させることを解明しました。

*PsuACR1* は、類縁の ACR と比較してチャネル閉口がすばやいことが特徴です。本研究では、*PsuACR1* の輸送基質である塩化物イオン ( $\text{Cl}^-$ ) に対する応答性に着目しました。その結果、 $\text{Cl}^-$  濃度が高いとき、*PsuACR1* のチャネル閉口過程が阻害され、チャネル開口状態が 10 倍長く続くことを見出しました。これは、 $\text{Cl}^-$  濃度が高いとき、*PsuACR1* のすばやいチャネル閉口過程が自らの輸送基質によって阻害され、反対に  $\text{Cl}^-$  を透過させるチャネル開口状態が長期化することを意味しています。

*PsuACR1* のチャネル閉口がすばやい性質は、神経細胞活動に直結する細胞膜内外の電位差の微調整に役立つため、細胞応答の光操作技術（オプトジェネティクス）\*<sup>3</sup> にとって極めて有用です。本研究で得られた知見が、幅広い  $\text{Cl}^-$  濃度で有効に働く光操作ツール分子\*<sup>4</sup> の開発に活用されることが期待されます。

本研究は、日本学術振興会・科学研究費補助金（若手研究；18K1465808）、ノーステック財団・ノースタレント補助金（No. T-6-2）の助成を得て行われました。

なお、本研究成果は、2018年9月7日（金）公開の Scientific Reports 誌に掲載されました。



(左)アニオンチャネルロドプシンの模式図。(右)本研究で解明した動作メカニズム。

## 【背景】

地球上のほぼすべての生物は、光を利用して生きています。これには光受容体とよばれるタンパク質が関わっており、その中でもレチナルという色素をもつ光受容体タンパク質のことをロドプシンとよびます。ロドプシンは、私たち人間を含む動物のほか微生物にも備わっており、生物種ごとに異なるロドプシンの役割の解明や、ロドプシンを介した光利用の生物学的意義が科学的に注目されています。

本研究では、2016年に発見された海洋藻類<sup>プロテオモナス スルカタ</sup>*Proteomonas sulcata*由来のアニオンチャンネルロドプシン (*PsuACR1*) に着目しました。*PsuACR1* は、光に応答して開閉するチャンネル機能をもっており、細胞膜内外の陰イオン濃度差にしたがって、陰イオンを受動輸送します。特に *PsuACR1* はすばやいチャンネル開閉を行うことから、神経細胞活動に直結する細胞膜内外の電位差の微調整に役立つため、細胞応答の光操作技術(オプトジェネティクス)の新しい有用なツール分子として注目されています。しかし、すばやいチャンネル開閉の詳しい動作メカニズムは未だに明らかではありません。

## 【研究手法】

塚本助教らの研究グループは、酵母を用いた遺伝子組換え技術によって *PsuACR1* を調製し、紫外可視吸収分光法や時間分解吸収分光法などの計測法を用いて、輸送基質である塩化物イオン ( $\text{Cl}^-$ ) が *PsuACR1* のチャンネル開閉過程に与える影響を詳しく調査しました。

## 【研究成果】

この結果、光を受容する前の初期状態において *PsuACR1* は分子の内部に  $\text{Cl}^-$  を結合することがわかりました。一方、光を受容したあとの状態では、 $\text{Cl}^-$  濃度に依存してチャンネルが閉じた状態の反応中間体の形成が阻害され、反対にチャンネルが開いた状態の反応中間体の寿命が 10 倍長くなることを見出しました (1p 目右図)。この結果は、*PsuACR1* の輸送基質である  $\text{Cl}^-$  が過剰なときには、*PsuACR1* の特徴であるすばやいチャンネル開閉機能が損なわれることを意味しています。研究グループは、*PsuACR1* のチャンネルが開いた状態の反応中間体が形成されるときに、過剰の  $\text{Cl}^-$  が *PsuACR1* の内部に流入し、捕捉されることにより、チャンネルが閉じた状態の反応中間体を形成できなくなることが、すばやいチャンネル開閉が損なわれた原因であると考察しています。

## 【今後への期待】

現在、*PsuACR1* を含む微生物由来のロドプシンは、細胞応答の光操作技術(オプトジェネティクス)のツール分子として利用されています。今回の研究によって、*PsuACR1* を用いる場合、高い  $\text{Cl}^-$  濃度下ではすばやい光操作ができないことが示唆されました。これは、*PsuACR1* の類縁の ACR タンパク質にも当てはまる性質である可能性があります。この知見を活用して、幅広い  $\text{Cl}^-$  濃度範囲ですばやいチャンネル開閉、すなわち、すばやい光操作を行えるように改良した ACR タンパク質を開発することが期待されます。

## 論文情報

論文名	Implications for the impairment of the rapid channel closing of <i>Proteomonas sulcata</i> anion channelrhodopsin 1 at high $\text{Cl}^-$ concentrations ( <i>Proteomonas sulcata</i> アニオンチャンネルロドプシンのすばやいチャンネル閉口は高塩濃度条件下において損なわれる)
著者名	塚本 卓 <sup>1,2,3</sup> , 菊地ちひろ <sup>3,4</sup> , 鈴木 拓 <sup>3</sup> , 相沢智康 <sup>1,2,3</sup> , 菊川峰志 <sup>1,2,3</sup> , 出村 誠 <sup>1,2,3</sup> (1北海道大学大学院先端生命科学研究院, 2北海道大学国際連携研究教育局, 3北海道大学理学部生物科学科(高分子機能学), 4北海道大学大学院生命科学院)

雑誌名 Scientific Reports (自然科学の総合誌)

DOI 10.1038/s41598-018-31742-6

公表日 英国時間 2018 年 9 月 7 日 (金) (オンライン公開)

## お問い合わせ先

北海道大学大学院先端生命科学研究院 助教 塚本 卓 (つかもとたかし)

T E L 011-706-4475 F A X 011-706-4475 メール t-tak@sci.hokudai.ac.jp

U R L <http://altair.sci.hokudai.ac.jp/infana/>

## 配信元

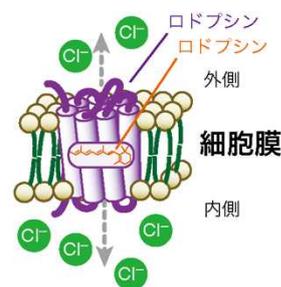
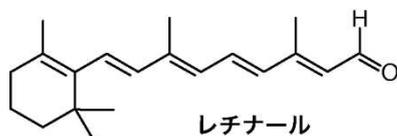
北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

## 【用語解説】

### \*1 ロドプシン

光を吸収することで機能を発揮する光受容体タンパク質のうち、レチナール (アルデヒド型ビタミン A, 下左図) を補因子としてもつものをロドプシンと呼ぶ。レチナールがあることにより、ロドプシンは多彩な可視吸収を示し、色づいて見える (下中図)。視覚などを担う動物型や、エネルギー産生、光に対する走性 (光に反応して移動すること)、転写調節、酵素反応などを担う微生物型が知られている。ロドプシンは、細胞膜の中に存在する膜タンパク質のひとつである (下右図)。



### \*2 アニオンチャンネルロドプシン

ロドプシンの中には、光に応答して陽イオン (カチオン) または陰イオン (アニオン) を、細胞膜内外でのこれらの濃度差を和らげる方向に輸送するものがある。これらはチャンネルロドプシンと呼ばれている。チャンネルロドプシンのうち、アニオンを輸送するものをアニオンチャンネルロドプシン (ACR と略) と呼ぶ (上右図)。

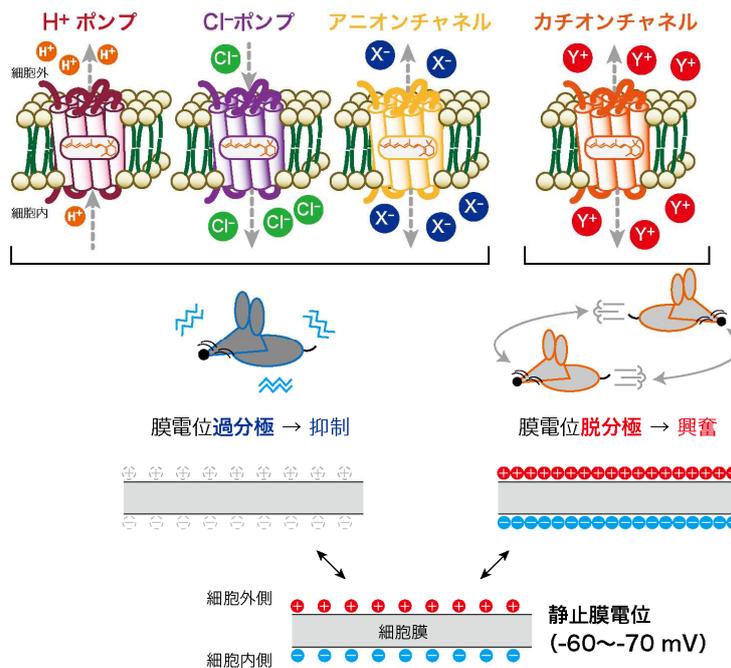
細胞膜内外の基質 (イオンなど) の濃度差にしたがって輸送する方式を受動輸送と呼ぶ。一方、基質の濃度差に依存せず、常にどちらか一方に輸送する方式を能動輸送と呼ぶ。受動輸送するものをチャンネルと呼び、能動輸送するものをポンプと呼ぶ。例えるなら、チャンネルはダム放水に、ポンプは井戸の汲み上げに対応する。

### \*3 光操作技術 (オプトジェネティクス)

例えば、神経細胞の興奮や抑制といった細胞機能を、光によって可逆的に制御する方法を光操作と呼ぶ。光操作には、イオン輸送機能をもつ微生物型ロドプシンが多用されている。ロドプシンを使って光操作ができるしくみは次のとおりである (下図)。

①動物個体の脳神経細胞にのみ，ロドプシンを発現させる。②光ファイバーを頭頂部から挿入するなどして，脳に可視光を照射する。③ロドプシンが可視光を吸収することで，プラスもしくはマイナス電荷をもつイオンを輸送する。④イオンが輸送されることで，細胞膜内外にかかっている電圧（細胞膜電位）が変化する。⑤細胞膜電位が大きくなることを過分極，小さくなることを脱分極と呼び，過分極すると神経細胞は抑制化し，脱分極すると興奮する。

このように，神経細胞の興奮や抑制は，細胞膜電位の変化によって引き起こされる。ロドプシンによって細胞膜電位を変化させることで，細胞レベルでの応答だけでなく，個体レベルの行動制御も可能である。オプトジェネティクスは，ノーベル賞の候補と評される技術である。



#### \* 4 光操作ツール分子

光操作に利用されているロドプシンなどの光応答性タンパク質や，その他の光応答性分子を総称して光操作ツール分子と呼ぶ。