

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 構造基盤に立脚した色認識機構および色覚情報伝達機構の解明

2. 個人研究者名

片山 耕大 (名古屋工業大学 大学院工学研究科 助教)

3. 事後評価結果

色覚視物質の機能発現における光反応過程を理解するには、量子化学における発色団の励起状態のエネルギー準位を決定し、ニュートン力学で記述可能な動的構造変化を明らかにする必要がある。本研究では、X線結晶構造解析により色覚視物質の原子座標を決定し、発色団と蛋白質場との相互作用を原子レベルで観察し、赤外分光解析により反応中間体の構造変化を実時間で追跡することを目指した。

[どのような量子性をどのように扱ったのか]

- 3種類 (青・緑・赤) の色覚視物質が発色団分子 11 シスレチナールの励起状態のエネルギー準位を制御することで実現する波長制御機構について、色覚視物質を構造解析して原子レベルで明らかにする。
- 光吸収に伴う色覚視物質の構造変化と情報伝達の過程を実時間で捉える。

[達成状況とインパクト]

片山研究者は色覚視物質の X 線結晶構造解析に向けて、結晶成長を促進するための水溶性タンパク質 (BRIL) を融合させた有望な改変体を発見するとともに、緑視物質改変体と BRIL 認識抗体との複合体に対し、低温電子顕微鏡 (Cryo-EM) 単粒子解析で良好な単粒子画像の観察に成功した。本研究の過程においては、色覚視物質の熱安定性が不十分であったことや、結晶成長を促進するために挿入した BRIL の位置が最適でない課題に直面した。そのため片山研究者は、コンストラクト最適化のための AI システムを駆使した蛋白質構造予測ツールを活用しつつ、熱安定化のためのアミノ酸点変異導入や結晶成長を促進させるための BRIL の挿入など、数十種類に及ぶ変異体および BRIL 挿入型改変体の検討を丁寧に続けた。それらの結果、キラル結晶のみを精度よく検出できる第二次高調波発生 (SHG) 搭載の顕微鏡 (SONICC) を利用し、緑視物質改変体の微結晶を観察することに成功している。近い将来、X 線結晶構造解析への大きな進展につながることが期待できる。一方で、結晶を取得することなく構造決定に到達できる可能性についても検討を進め、当初計画にはなかった低温電子顕微鏡 CryoEM で単粒子解析を試みた。熱安定化変異の BRIL 挿入型緑視物質改変体に対し、暗赤色灯下にて低温電子顕微鏡 CryoEM による単粒子構造解析を進めるためのグリッドを検討の上、良好な 2 次元画像を得ることに成功した。2 次元画像内から 3 次元構造モデルを構築した結果、単粒子解析で 3.0~3.5 Å 程度の構造決定への道筋を示すことができたことは大きく評価できる。光反応過程で生成する全ての中間体のスペクトル測定にも取り組み、低温光誘起赤外分光測定により緑視物質の光反応初期中間体から活性中間体までの合計 4 種類の中間体のスペクトル、青視物質では 3 種類の中間体のスペクトル測定に成功した。今後、時間分解赤外分光に立脚した光情報伝達機構の理解が深まることが期待できる。

本研究からどのような生命現象の量子現象にアプローチできる手法もしくは理論につながるかの方向性について、片山研究者は、色覚視物質の波長制御および光情報伝達機構の解明、色覚視物質の光反応ダイナミクスを実時間で捉えることを挙げている。ヒト色覚視物質は試料調製が極めて困難であり、従来の研究ではその構造解析が皆無であった。この難題にチャレンジした姿勢は、さきがけ研究としてふさわしく、色覚視物質の構造解析の課題に大きく貢献していると言える。新しいオプトジェネティクスツールの開発も期待できる。今後も大きなテーマに挑み続けてほしい。