

## 海洋性細菌が持つ内向きプロトンポンプロドプシンの光反応の分子メカニズムを解明 ～高効率でプロトンを輸送するための光遺伝学ツール開発に期待～

### 【発表のポイント】

- 海洋性細菌から見つかった機能未知の微生物ロドプシン (\*1) を解析し、細胞内にプロトン (水素イオン) を取り込む「内向きプロトン輸送活性」を持つことを発見
- 今回発見した新規微生物ロドプシンは、高い輸送効率を維持したまま活性化できることを解明
- 細胞の活性を光により制御する光遺伝学 (オプトジェネティクス) (\*2) において、社会実装に向けた有用な分子設計のヒントとなる知見を提供

### 【概要】

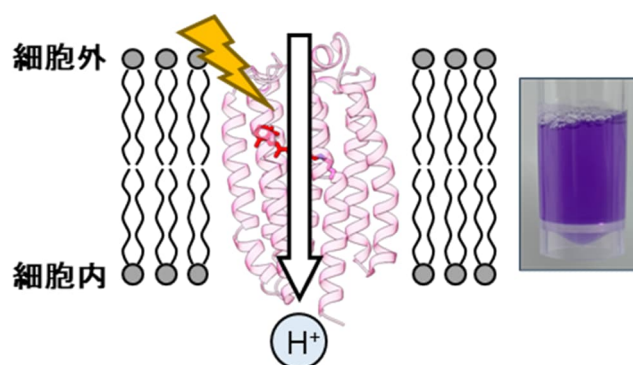
名古屋工業大学工学専攻の服部七奈子氏 (博士前期課程 2 年)、伊藤侑真氏 (博士後期課程 1 年)、生命・応用化学類の古谷祐詞准教授、錦野達郎助教、神取秀樹特別教授らは、海洋性細菌 *Guptibacillus hwajinpoensis* 由来の微生物ロドプシン「GhXeR」が光を利用して細胞内に水素イオンを取り込む分子機構を明らかにしました。

光を吸収して機能するタンパク質の一種である微生物ロドプシンは、イオン輸送、センサー、酵素など様々な機能を持つことが知られています。海洋性細菌 *Guptibacillus hwajinpoensis* から他の微生物ロドプシンとはアミノ酸配列が異なる特徴的な微生物ロドプシンと考えられる遺伝子が見つかっていました。この GhXeR は、内向きプロトン輸送活性を持つロドプシンのグループであるゼノロドプシン (XeR) に分類されますが、具体的な機能と光反応機構は明らかになっていませんでした。

本研究グループは、この微生物ロドプシンの試料調製法を確立し、発色団レチナールが結合することで光を吸収して機能することを示す紫色の試料を得ました。さらに、イオン輸送活性を解析した結果、細胞の pH が低い状態でも強い輸送活性を維持できるという他の XeR にはない独特の機能を持っていることを明らかにしました。また、プロトン輸送における GhXeR の光反応過程は他の XeR と類似していたものの、光を吸収する発色団周囲において、GhXeR 特有の構造変化が生じていることも突き止めました。

この成果は、光により細胞の活動を制御する光遺伝学研究において、ユニークな分子機構で効率よくイオンを輸送する分子の設計につながり、細胞活動をより厳密に制御できるツール開発への応用が期待されます。

本研究成果は、2026 年 5 月 19 日に米国化学会の国際誌 *The Journal of Physical Chemistry B* のオンライン速報版に掲載されました。



研究概要図

## 【研究の背景】

ロドプシンは、内部に発色団であるレチナールを結合した膜タンパク質です。光によりレチナールが異性化することで、タンパク質の構造変化が生じ様々な機能を発揮します。微生物が持つ代表的なロドプシンである「バクテリオロドプシン (BR)」は、光受容により細胞内から細胞外へプロトンを輸送する「外向きプロトンポンプロドプシン」として機能することが知られています。細胞外へ輸送されたプロトンは、生き物のエネルギー通貨であるアデノシン三リン酸 (ATP) の合成に使われると考えられています。一方で、細胞外から細胞内へプロトンを輸送する「内向きプロトンポンプロドプシン」は、ATP の合成のためのプロトン濃度勾配を打ち消す機能を持つことから、その生理的機能は十分に分かっていません。これらのプロトンを輸送する光受容タンパク質は、細胞内外のプロトンの濃度を光によって制御できるため、光により生命活動を操作する光遺伝学 (オプトジェネティクス) への応用が期待されています。

## 【研究の内容・成果】

本研究では、海洋性細菌 *Gyptibacillus hwajinpoensis* から、既知の微生物ロドプシンとは機能にとって重要なアミノ酸配列が異なる遺伝子を発見しました。この遺伝子の系統解析を行ったところ、内向きプロトンポンプロドプシンの一種である「ゼノロドプシン (XeR)」と高い相同性を持つことが分かりました。さらに、このタンパク質を大腸菌に発現させて機能を解析した結果、光依存的な内向きプロトン輸送活性を示しました。そこで、新たな内向きプロトンポンプロドプシンとして「GhXeR」と名付けました。

プロトンの輸送活性を他の XeR と比較したところ、最も輸送活性が高いことが知られている NsXeR と同程度の輸送活性を示しました。興味深いことに、NsXeR は照射時間が長くなるとプロトン輸送により細胞内の pH が酸性化し、徐々に活性が弱くなります。一方、GhXeR は時間が経過しても輸送活性を維持することが明らかになりました。

レチナールの異性化に伴う光反応過程を解析できる過渡吸収測定では、GhXeR は NsXeR と類似した反応過程を示しました。さらに、微生物ロドプシンが光を吸収して最初に起こす、始状態から初期中間体 (K 中間体) への光反応変化を低温赤外分光法により解析し、GhXeR と NsXeR を比較したところ、GhXeR のレチナールの捩じれ状態を反映する HOOP バンド (\*3) の領域に大きな変化が見られた一方、ペプチド骨格には大きな変化は見られませんでした。この結果から、GhXeR はタンパク質の二次構造を変化させることなく、光エネルギーを発色団レチナールの歪みとして蓄える独自の光反応機構を持つことが明らかになりました。

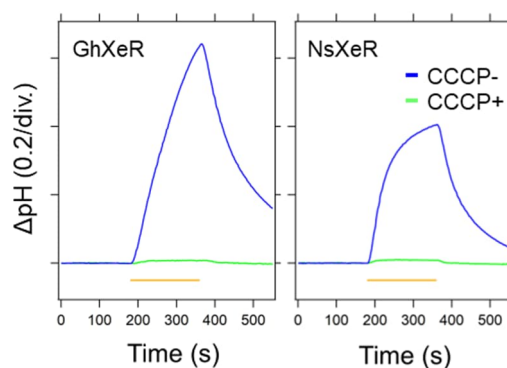


図 1 : 内向きプロトンポンプロドプシン GhXeR と NsXeR の輸送活性の比較

光依存的なロドプシンのプロトン輸送による pH 変化を計測しました。黄色線で示した時間に光を試料に照射すると、細胞の外から内へプロトンが輸送され、細胞懸濁液の pH が上昇します。CCCP はプロトンの濃度勾配を

キャンセルするイオノフォア試薬であり、添加するとプロトン輸送活性が無くなります。グラフ横軸に示した測定時間の 300 秒では、GhXeR は NsXeR と比較して、高い輸送活性を維持することが分かりました。

### 【社会的な意義】

光遺伝学のツールとして生命活動を精度良く、効率的に操作するためには、光で厳密にイオン輸送活性が制御でき、かつ高い輸送効率を示す分子の開発が望まれています。本研究で明らかとなった、細胞の pH 変化が生じても活性を維持するという GhXeR の特異な特性は、輸送効率が高いロドプシン分子の開発と利活用に貢献することが期待されます。

### 【今後の展望】

本研究では、機能が分かっていなかった新規微生物ロドプシンについて、イオン輸送活性の測定と分光学的解析から、GhXeR が特徴的な内向きプロトン輸送活性機構を持つことが明らかになりました。今後、その詳細な光反応過程を解析することで、GhXeR が特徴的な内向きプロトン輸送活性をもつ分子機構の解明が期待されます。また、GhXeR をはじめとする内向きプロトンポンプロドプシンが生き物の中でどのように機能し、生理的な役割を担っているのかはいまだによく分かっていません。多くの微生物ロドプシン遺伝子をもつ生物の培養方法が確立されていない、あるいは特殊な環境で生育するため、実験室環境では培養が難しいのに対して、GhXeR 遺伝子を持つ *Guptibacillus hwajinpoensis* は実験室で培養可能な海洋性細菌です。この細菌を培養し、GhXeR の生理機能を解析することで、内向きプロトンポンプロドプシンの存在意義や、微生物ロドプシンの機能の多様性の理解につながることを期待されます。

### 【用語解説】

#### (\*1) ロドプシン

動物の目に存在し視覚を担う機能を持つ動物ロドプシンと、イオン輸送、センサー、酵素反応などの機能を持つ微生物ロドプシンの起原が異なる 2 種類のロドプシンが存在する。どちらも 7 回膜貫通膜タンパク質であり、7 番目の膜貫通領域のリジン残基に発色団レチナールが結合する共通点を持つ。微生物ロドプシンでは、光照射に伴って all-trans 型レチナールが 13-cis 型レチナールに異性化することが起点となり、機能を発揮する。本研究の低温赤外分光法では、all-trans 型レチナールが結合している始状態と、13-cis 型レチナールが結合している初期中間体 (K 中間体) の構造変化を解析している。

#### (\*2) 光遺伝学 (オプトジェネティクス)

光エネルギーを吸収することで機能を発揮するタンパク質を細胞に導入することで、光のオン・オフによりタンパク質の機能を制御し、細胞の活動を制御する技術。微生物ロドプシンは光吸収によって、イオンポンプ、イオンチャネル、酵素等様々な機能を持つものが発見されており、光遺伝学において必要不可欠な光受容タンパク質である。特に、光によってイオンを受動的に輸送するチャンネルロドプシンを用いて神経細胞の興奮や抑制を操作するための研究が精力的に進められている。また、動物ロドプシンと微生物ロドプシンを融合したキメラロドプシンは網膜色素変性症治療薬としての開発が期待されており、臨床研究が進んでいる。

#### (\*3) HOOP バンド

発色団レチナールの「=C-H 基」が平面から捻じれるときに生じる振動モード。通常、レチナール

(図 2)は平面構造を示すものの、ロドプシン中では結合ポケットの環境や光によるレチナール自身の異性化により図 2 の赤四角分の平面構造が崩れると HOOP バンドとして信号変化が生じる。

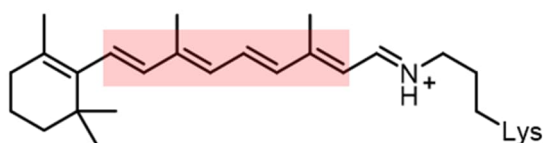


図 2 : ロドプシンと Schiff 塩基結合した all-trans 型レチナールの化学構造

#### 【論文情報】

論文名 : Molecular Properties of a Novel Inward Proton Pump Rhodopsin, GhXeR

著者名 : Nanako Hattori, Yuma Ito, Yuji Furutani, Tatsuro Nishikino, and Hideki Kandori\* (\*責任著者)

掲載雑誌名 : The Journal of Physical Chemistry B

公表日 : 2026 年 5 月 19 日

DOI : 10.1021/acs.jpcc.6c01199

URL : <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6c01199>

#### 【研究支援】

本研究は以下の助成により実施されました :

- 日本学術振興会 科学研究費補助金 (JP21H04969)
- 文部科学省「大学の研究力強化促進事業 (CURE)」(JPMXP1323015482)
- 科学技術振興機構 CREST「生命動態」領域 (JPMJCR1753)
- 科学技術振興機構 CREST「細胞操作」領域 (JPMJCR25B5)
- 公益財団法人豊秋奨学会
- 公益財団法人内藤科学技術振興財団
- 大幸財団
- 立松財団

本件への問い合わせ先

名古屋工業大学 生命・応用化学類

特別教授 神取秀樹

TEL: 052-735-5207

E-mail: kandori@ni tech. ac. jp

配信元

名古屋工業大学 企画広報課

TEL: 052-735-5647

E-mail: pr@adm. ni tech. ac. jp