



理論と実験の協奏

東京大学 辻村真樹

筆者は東京大学石北研究室にて、レチナルシップ塩基を色素とする光受容タンパク質: ロドプシンの理論研究を行っています。

石北研究室に所属して最初に目指したのが、「アニオン透過型ロドプシン: *GtACR1* の長波長化変異体を創出する」ことでした。*GtACR1* は光遺伝学において、神経抑制型のツールとして利用されます。光遺伝学への応用においては、生体透過性の高い長波長光を吸収することが望ましいのです。

長波長化変異体を効率よく、かつ取りこぼしなく探索するために、以下の作戦を取りました。①考えられるあらゆる変異体をモデリングし、それぞれの構造の吸収波長を計算することで、長波長化変異体をスクリーニングする。②長波長化すると予測された変異体の吸収波長を実験により測る。

変異体の吸収波長の計算値は実験値とよく一致しました。さらに、長波長化すると予測された変異体を岡山大学医歯薬学総合研究科の須藤雄気先生、小島慧一先生に提案したところ、実験により長波長化することが示されました¹。理論と実験の協奏により、目標であった長波長化変異体の創出に成功した経験は、私にとってかけがえのないものになりました。

晴れて *GtACR1* の長波長化変異体の創出には成功しましたが、大きな疑問が一つ残っていました。

GtACR1 は色素の近くに Asp234 を持ちます(図 1a)。Asp234 は以下の実験結果から、プロトン化していると考えられていました: Asp234 が脱プロトン化していると仮定すると、それを中性のアミノ酸残基である Asn に変異させることで、色素の吸収波長は大きく変化すると考えられます。分光実験によると、D234N 変異体の吸収波長 (λ_{D234N}) は野生型 (λ_{WT}) と一致するのです。

ところが *GtACR1* の X 線結晶構造を用いて Asp234 の pK_a を計算したところ、 $pK_a = -$

5 になりました。理論計算は Asp234 が脱プロトン化していることを示しているのです。一見、理論計算の結果と実験結果が矛盾しているように思えます。

ここで、「本当に理論計算の結果と実験結果は矛盾しているのか」ということを疑いました。実験結果が示しているのは、Asp234 がプロトン化していることではありません。 $\lambda_{D234N} = \lambda_{WT}$ だけです。

そこで、分子動力学法による解析を行いました。すると D234N 変異体においては、脱プロトン化した近傍の Glu68 がコンフォメーションを大きく変えて、変異によって失われた Asp234 の負電荷を補うように色素の方を向いたのです(図 1)。そして驚くべきことに、D234N 変異体の吸収波長の計算値は、Asp234 が脱プロトン化していると仮定して計算した野生型の吸収波長と一致したのです²! Asp234 が脱プロトン化しているという計算結果と、「 $\lambda_{D234N} = \lambda_{WT}$ 」という実験結果は矛盾していなかったのです。

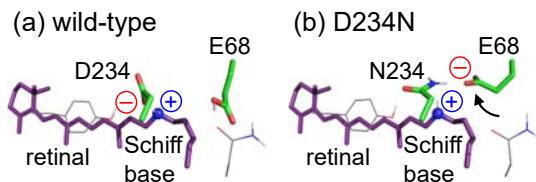


図 1. 分子動力学法により平衡化した *GtACR1* の (a) 野生型と (b) D234N 変異体の構造

「 $\lambda_{D234N} = \lambda_{WT}$ 」という実験結果は紛れもなく真実です。しかしこの結果から「Asp234 はプロトン化している」とするのではなく、人間の解釈に過ぎません。自然界を人間の視点から理解しようとする以上、最終的には人間の解釈が必要です。理論と実験が互いの得意分野でできる限りの研究結果を出し合い、それら全てに矛盾しない合理的で洗練された解釈を与えることもまた、両者の「協奏」であると学びました。

1. Tsujimura, M., et al. *Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)* 1862 (2), 148349 (2021).
2. Tsujimura, M., et al. *bioRxiv* (2021). doi: 10.1101/2021.07.22.453395