

氏 名	いま い ひろ お 今 井 啓 雄
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 1732 号
学位授与の日付	平 成 8 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学位論文題目	錐体と桿体の光受容蛋白質の機能発現調節機構

論文調査委員 (主 査)  
 教 授 前 田 章 夫 教 授 竹 市 雅 俊 教 授 宮 田 隆

### 論 文 内 容 の 要 旨

多くの脊椎動物の網膜には、二種類の視細胞、桿体と錐体が存在する。桿体は薄明視を司り、錐体は昼間視と色覚を司る。電気生理学的研究により、両者の光応答の特徴は、桿体は応答は遅いが光感度は高く、一方、錐体は応答が速く、低い光感度を示すことが知られている。また、順応の速度は錐体のほうが速い。両者の細胞内情報伝達は、同じ機能を持つ蛋白質によって行われている。そのため、両視細胞の応答特性の違いは、情報伝達を担う蛋白質の性質が異なるためであると考えられる。

申請者は、光を受容して視細胞内の情報伝達系を活性化する光受容蛋白質に注目し、ニワトリの赤色および緑色感受性錐体光受容蛋白質を実験材料として、その性質について、桿体の光受容蛋白質であるロドプシンとの比較研究を進めてきた。その結果、順応の速度に関係する錐体光受容蛋白質の再生速度はロドプシンより大きいこと、また、トランスデュースンを活性化するメタⅡ中間体の生成、崩壊速度も、それぞれロドプシンよりも大きいことを見出した。

そこで、この違いを生み出す分子内の機構を検討するため、光受容蛋白質の溶液の pH を変化させてみた。その結果、溶液をアルカリ性になると、ロドプシンと緑色感受性錐体光受容蛋白質のメタⅡの崩壊速度が同程度になることを見いだした。この結果は、それぞれの蛋白質の機能発現が、両者で異なる解離性アミノ酸残基によって制御されていることを示唆している。そこで申請者は、この残基の候補として、ロドプシンの残基で、すべての錐体光受容蛋白質と電氣的性質が異なる3つのアミノ酸残基(Q64, E122, E150)を選んだ。そして、それぞれの残基を、錐体光受容蛋白質の対応する残基に置換した部位特異的変異ロドプシンを順次作成して、その性質を検討した。

これらのうち、E122の変異体のみが、再生の速度、メタⅡの崩壊速度とも大きくなり、錐体型の性質を示した。さらに驚くべきことに、この残基を緑色および赤色感受性錐体光受容蛋白質の対応する残基に置換した変異体(E122Q, E122I)は、これらの錐体光受容蛋白質間の微妙な性質の違いに対応する性質を示した。これらの結果は、122番目のアミノ酸残基が錐体と桿体の光受容蛋白質の性質を制御する残基

であることを示している。この結果は、122番目のアミノ酸残基の違いが、光受容蛋白質の光情報伝達の効率に関わる性質を変化させ、動物が応答の異なる二つの視覚系を区別している分子的な基礎となっていることを示唆している。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、錐体と桿体の光受容蛋白質について、固有の性質の違いと、その違いが発現する分子機構を検討し、両視細胞によって分担されている視覚の二元説の分子基礎について考察したものである。

多くの脊椎動物の網膜には二種類の視細胞、すなわち、薄明視を担う桿体と、昼間視と色覚を担う錐体が存在する。電気生理学的研究により、両者の光応答の特徴は、桿体は応答は遅いが光感度は高く、一方、錐体は応答が速く、低い光感度を示すことが知られている。また、順応の速度は錐体のほうが速い。これらの応答特性の異なる二つの視細胞が存在することが、脊椎動物の視覚系が幅広い光環境で働くことのできることの要因となっている。そのため、この応答特性の違いがどのような機構によって発現しているのかが、視覚研究の分野で課題となっていた。最近、生化学的、分子生物学的研究により、両者の細胞内情報伝達は、同じ機能を持つ蛋白質によって行われていることが示唆された。そのため、両視細胞の応答特性の違いは、情報伝達を担う蛋白質の性質が異なるためであるという説が有力になっていた。

申請者は、光を受容して視細胞内の情報伝達系を活性化する光受容蛋白質に注目し、ニワトリの赤色および緑色感受性錐体光受容蛋白質を実験材料として、その性質について、ロドプシンとの比較研究を行った。その結果、順応の速度に関係する錐体光受容蛋白質の再生速度はロドプシンより大きいこと、また、トランスデューシンを活性化するメタⅡ中間体の生成、崩壊速度も、それぞれロドプシンよりも大きいことを見出した。そこで申請者は次に、この違いを生み出す分子内の機構を検討するため、錐体光受容蛋白質に似せた部位特異的変異ロドプシンを数種類作成して、その性質を検討した。そのうち一つのアミノ酸残基を置換した変異ロドプシンは、再生の速度、メタⅡの崩壊速度とも速くなり、錐体型の性質を示した。この結果は、122番目のアミノ酸残基が錐体と桿体の光受容蛋白質の性質を制御する残基であることを示している。すなわち、当研究により、一つのアミノ酸残基の違いが光受容蛋白質の性質を制御し、二種の視覚系を区別する分子的な基礎となっている可能性が示された。

以上に述べたように、本論文ではまず、実際にニワトリの網膜から調製した光受容蛋白質の性質を比較検討して、錐体と桿体の光受容蛋白質の分子的性質の類似点、相違点を整理した。また、その結果に基づいて、遺伝子工学的手段を用いてロドプシン変異体を作成し、実際に両者の性質を制御しているアミノ酸残基を同定した。その結果示された、一つのアミノ酸残基の違いによって蛋白質の性質が制御されているという発見は、蛋白質化学的にも非常に興味深い現象である。したがって、これらの知見は、当該分野において高い学術的価値を持つと考えられる。

よって主論文および参考論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。