

氏 名	中 村 整 なか むら ただし
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 631 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 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	早期受容器電位の測定によるカエルの杆体と錐体の視物質に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 吉 澤 透 教 授 柳 田 充 弘 教 授 岡 田 節 人

論 文 内 容 の 要 旨

網膜に閃光をあてたとき、視細胞から2種類の電位が記録される。その1つは視細胞の形質膜のイオン透過性の変化に由来する電位変化(晩期受容器電位と呼ばれている)であり、他はそれより先に発生する早期受容器電位(ERP)である。ERPは網膜中の視物質の光退色に伴う分子構造の変化による電荷の偏位により発生する電位変化といわれている。本論文では、カエル網膜からERPを記録し、その振幅の大きさを目安にして、カエルの網膜中でのロドプシンや錐体視物質の動的挙動を研究している。研究は装置の自作から始まっている。自作の装置を用いて作用スペクトルを測定し、カエル網膜から誘導されるERPは、ほとんど錐体視物質由来であることを確かめた。カエル網膜中の錐体視物質の濃度は1%程度で、吸収スペクトルの測定は困難であるが、錐体由来のERPの測定は容易であり、しかもERPの振幅は視物質の濃度に比例するので、ERPを測定して錐体視物質の再生過程を調べることができる。その結果、再生過程は一次反応式に従うことが見い出され、見かけの一次速度定数が求められた。しかし、再生は蛋白質部分オプシンと発色団、11シスレチナール、との結合という二分子反応であり、見かけの速度定数は二次速度定数と11シスレチナール濃度との積であり、生理的機構により11シスレチナールの濃度が一定に保たれることにより一次反応式に従うと推察された。剝離網膜と生体で再生速度を比べると、生体の場合が数倍速い。恐らく再生の場における11シスレチナールの濃度が高いと考えられた。その温度係数“ Q_{10} ”は剝離網膜で2.0、生体で3.7であった。これらの値は、11シスレチナール濃度と二次速度定数の積の関数であるから、二次速度定数だけの温度係数は2.0より大きいことはなく、また錐体視物質の再生に関する活性化エネルギーも12kcal/molより小さいと計算された。また生体における大きな Q_{10} の値は11シスレチナールが網膜に供給される過程に温度依存性の高い過程のあることを示すと説明された。

一方、赤色定常光によって網膜を明順応させ、錐体視物質を除去する方法でロドプシンに由来するERPだけを単離することに成功した。次に、カエル網膜中のロドプシンは高濃度であるから、ロドプシンやその中間体の吸収スペクトルを測定することができるので、ERPの波形とロドプシン退色中間体との関連

が検討された。ERP は R_1 及び R_2 と呼ばれる 2 つの波形からなり、 R_2 はメタ II 中間体の生成に伴って発生すると言われている。申請者はグリセロール溶液に剝離網膜を浸した場合、 R_2 波形とメタ II 生成の速度は共に遅れること、またグリセロールによるおくれは、ヒドロキシルアミンの添加によって速められることを各濃度のグリセロールについて観測した。それらの速度を示す指標として、メタ II 生成の半値時間と R_2 のピーク時間を両対数グラフ上に目盛ると勾配 0.5 の直線が得られた。この傾きは、メタ II 生成が直接 R_2 の発生を意味するのではないことを示している。すなわち、吸収変化はレチナール発色団周辺の高次構造変化を反映し、ERP の発生は発色団の構造変化によって誘発されるオプシン構造の変化に由来し、両者の構造変化は異なる速度を持つことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

主論文は、内容的には二つの部分から構成されている。第一部では、カエルの網膜中に存在する錐体視物質の再生を速度論的に研究している。網膜の中にある錐体視物質の濃度は、ロドプシンに比べて非常に低いので、通常用いられている吸光度を測定する方法では、網膜中の錐体視物質を研究することは困難である。申請者は ERP を測定するというユニークな方法により、錐体視物質の濃度を測定した。すなわち、ERP の振幅が網膜中の視物質の濃度に比例することを利用して、その振幅の大きさを目安にして作用スペクトルを測定した。この結果、カエル網膜から誘発される ERP はほとんど錐体視物質に由来することを確かめた。次に、剝離網膜と生きているカエルを用いて、錐体視物質の再生の温度感受性を調べた。視物質の再生は、11シスレチナールとオプシンとの結合反応であるから、二分子反応に従うことが期待されるが、得られた結果はいずれの場合も一次反応式に適合した。このことから錐体オプシンに供給される 11シスレチナールの量は常に少量ながら一定になると考えられ、このような供給系が視細胞のみならず、色素上皮や血液などを含めた系に存在することが示唆された。また、生体に存在する 11シスレチナール供給系の温度感受性は、視細胞のものより高いことが示唆された。

第二部では ERP の発生とロドプシンの中間体との関連が研究されている。まず、カエル網膜から錐体視物質を完全に除き、ロドプシン由来の ERP だけを記録することに成功した。一般に ERP の R_2 相はメタロドプシン II の生成に伴って発生すると言われているが、その関係は必ずしも明確ではない。従って、 R_2 の測定とメタ II 生成に伴う網膜の吸光度変化が測定され、両者の関係が比較された。その際、網膜を浸す液にグリセロールを添加すると、 R_2 及びメタ II 生成がともに遅くなり、さらにヒドロキシルアミンを添加すると逆に速くなることが見いだされた。メタ II 生成の半値時間を同一の溶液条件における R_2 のピーク時間に対して両対数グラフに目盛ると傾きが 0.5 の直線が得られた。従って、メタ II 生成は R_2 の発生と完全に一致するものではない。 R_2 はロドプシン分子の表面の電荷の動きによって発生し、一方メタ II 生成に相当する吸収の変化は発色団の周辺部分の動きを反映するということができる。

以上述べてきた申請者の研究は、電気生理学的手法と高速の吸光度変化の測定という 2 つの異なった学問分野で発達した測定技術を用いて行なわれた研究で、しかも組織中の生体高分子の挙動を研究したという点で独創性が高く、この分野の研究の進展に寄与することが少なくない。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。