

學位審查報告書

(ふりがな)	さかい かずみ
氏 名	酒井 佳寿美
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 号
学位授与の日付	平成 年 月 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 生物科学 専攻
(学位論文題目)	
トカゲ頭頂眼の光受容体パリエトプシンの光化学的な性質に関する研究	
論 文 調 査 委 員	(主査) 七田芳則 教授 土井知子 准教授 平野丈夫 教授

理 学 研 究 科

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	酒井佳寿美
論文題目	トカゲ頭頂眼の光受容体パリエトプシンの光化学的な性質に関する研究		
(論文内容の要旨)			
パリエトプシンは、トカゲの頭頂眼の光受容細胞で発見された緑色光感受性オプシンであり、光受容細胞の中ではピノプシンと共存している。この光受容細胞はこれらのオプシンに始まる光シグナル伝達系により、朝夕の区別、太陽コンパス、磁気受容などに関与することが示唆されている。ピノプシンの分子的性質はすでに報告されており、パリエトプシンの分子的性質を明らかにすることで、光受容細胞でのシグナル伝達メカニズムに迫ることができる。また、パリエトプシンはオプシンの分子系統樹上で脊椎動物視物質と同じグループに属するため、パリエトプシンと脊椎動物視物質との分子特性を比較解析することにより、脊椎動物視物質に至るオプシンの分子進化の道筋をより深く理解できる。そこで、本研究では、パリエトプシンの分子特性を分光学的手法と遺伝子操作を含めた分子生物学的手法を駆使して解析した。 オプシン類は発色団としてレチナールを持っており、レチナールはオプシン中のリジン残基とシッフ塩基結合を介して結合している。オプシンが可視光を受容して機能を発現するためにはシッフ塩基がプロトン化する必要がある、そのプロトンを安定化するために、近くに負電荷を持つアミノ酸残基の存在することが必要である。この残基をカウンターイオンとよび、無脊椎動物型のオプシンでは 181 番目のグルタミン酸残基がカウンターイオンとして働いている。一方、脊椎動物視物質では 113 番目のグルタミン酸残基がカウンターイオンとして働いている。パリエトプシンにおいてカウンターイオンがどの位置にあるかを変異体作製により解析したところ、181 番目にあることがわかった。つまり、パリエトプシンは脊椎動物視物質に近縁であるが、まだ、無脊椎動物型のカウンターイオンを持っていることがわかった。そこで、パリエトプシンの光感受性や分子吸光係数を測定したところ、脊椎動物視物質より低く、むしろ無脊椎動物型のオプシンと同程度であることが分かった。一方、パリエトプシンの光受容後の構造変化過程を調べたところ、バソ、ルミ中間体を経て後期中間体メタ I, II, III の生成が観察された。つまり、パリエトプシンの光反応過程は脊椎動物視物質と同様であった。しかし、パリエトプシンのメタ II 中間体とメタ I 中間体についてさらに解析を行ったところ、脊椎動物視物質で観測される pH 平衡プロファイルは観測されず、むしろ無脊椎動物型のオプシンと同様のプロファイルを示した。すなわちパリエトプシンは脊椎動物の視物質と同様の中間体生成機構を獲得しているものの、視物質タンパク質内に存在する高度な水素結合ネットワークはまだ獲得していないと考えられた。以上のように、パリエトプシンは無脊椎動物型のオプシンと脊椎動物視物質が持つ性質の中間的な性質を示し、ピノプシンとともに、脊椎動物視物質とは異なるシグナル伝達系を駆動する可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

トカゲの頭頂眼 (parietal eye) は松果体の派生器官であり、朝夕の区別、太陽コンパス、磁気受容などに関与することが示唆されている。また、頭頂眼に含まれる光受容細胞は、受容する光の波長によって異なる応答をすることから、そのシグナル伝達メカニズムが興味を持って研究されてきた。数年前に、この光受容細胞には 2 種類のオプシンが共存しており、一方は、すでに研究が進められていた青色感受性オプシン、ピノプシンであり、もう一方は新規に発見された緑色感受性オプシン、パリエトプシンであった。申請者は、新規に発見されたパリエトプシンの分子的性質を解析することにより、すでに性質が明らかなピノプシンとの共存により、光受容細胞の応答性を解析する糸口をつかむことを目的とした。また、ピノプシン、パリエトプシンはオプシンの分子系統樹の中では脊椎動物視物質 (視覚オプシン) への分子進化を考察する上で重要な位置にあることから、オプシンの分子的性質の進化・多様化についての知見を得ることも目的の一つとした。

申請者はパリエトプシンの分子的性質を解析するために、パリエトプシンを培養細胞系で発現させ、さらに遺伝子操作によりパリエトプシンの変異体を作製して検討した。まず、オプシンが可視光を受容して機能を発現するのに重要な対イオンの同定を試みた結果、パリエトプシンは脊椎動物の視覚オプシンと同じグループに属するにもかかわらず、無脊椎動物タイプのオプシンと同様に、N 末端から 181 番目の位置に対イオンを持つことを発見した。また、その結果として、パリエトプシンの光感受性は無脊椎動物タイプのオプシンと同様に低いことを見いだした。一方、光受容後の反応過程を検討した結果、脊椎動物の視覚オプシンと同様な反応過程を示し、無脊椎動物タイプのオプシンとは異なることを見いだした。しかし、脊椎動物の視覚オプシンが G タンパク質を高効率で活性化するメカニズムである、発色団から細胞質側に至る水素結合ネットワークをパリエトプシンは持たないことも明らかにした。以上のことから、申請者はパリエトプシンが特殊な分子的性質をもつことを示し、この性質が、ピノプシンとの共存により、頭頂眼の光受容細胞における新規の光受容メカニズムの基礎となることを示唆した。

以上の研究は、視物質の機能発現に関係する分子的性質の解析においても、また、脊椎動物の視覚オプシンの進化メカニズムを検討する上でも非常に重要な発見である。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 24 年 3 月 1 日に論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。