

学 位 審 査 報 告 書

(ふ り が な) 氏 名	つつい けい 筒井 圭
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) 対イオンによるロドプシン類の光感受性制御機構	
論 文 調 査 委 員	(主査) 七田芳則 教授 藤吉好則 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	筒井 圭
論文題目	対イオンによるロドプシン類の光感受性制御機		
(論文内容の要旨) ロドプシン類は視覚をはじめとする多様な生理機能に関与する光受容タンパク質であり、分子内にビタミン A の誘導体であるレチナールを発色団として含んでいる。ロドプシン類はレチナール発色団によって光を吸収して G タンパク質を活性化する状態になるため、レチナール発色団の光反応性の高さがロドプシンの機能にとって重要である。そこで本研究では脊椎動物の視物質 (視覚に関与するロドプシン類) を実験材料として、ロドプシン類におけるレチナール発色団の光反応性の制御機構を解析することを目的とした。 まず、レチナール発色団がプロトン化している場合としていない場合で光感受性が異なるかどうかを検討した。そのため、人工的に発色団を脱プロトン化させたウシロドプシンの E113Q 変異体と、脱プロトン化した発色団をもつマウスの紫外光感受性視物質 (マウス UV) の量子収率 (光異性化の効率) を測定した。その結果、マウス UV の量子収率はウシロドプシン E113Q 変異体よりも有意に高く、マウス UV において脱プロトン化発色団の光異性化を促進する何らかのメカニズムの存在が示唆された。 脊椎動物の可視光感受性視物質はプロトン化した発色団を持ち、113 番目に存在するグルタミン酸残基 (E113) が負に荷電することでこの発色団を安定化している。つまり、E113 は対イオンとして機能している。一方、E113 は脱プロトン化した発色団をもつ紫外光感受性視物質においても保存されている。したがって、E113 は紫外光感受性視物質において発色団を安定化する機能以外の機能を持っている可能性が考えられた。そこで、光異性化効率を促進している可能性を検討するために、マウス UV の E113Q 変異体の量子収率を測定したところ、野生型と比較して有意に低い値を示した。以上のことから、紫外光感受性視物質において E113 が保存されているのは高い量子収率を実現するという重要な生理機能を担うためであることがわかった。 次に、高効率な光異性化のためにグルタミン酸が 113 番目にある必要があるのかを検証した。そのため、ウシロドプシンにおいてグルタミン酸の位置を変えた種々の変異体を作製して解析を行った。その結果、ほとんどの変異体において量子収率が大きくは変わらなかったことから、グルタミン酸の位置は光異性化効率に大きくは影響しないことが分かった。また、多くの変異体において分子吸光係数が低下したことから、分子吸光係数がグルタミン酸の位置によって精密に制御されていることが明らかとなった。さらに、ほとんどの変異体においてヒドロキシルアミン感受性が著しく上昇したことから、シッフ塩基結合の安定性を保つうえでグルタミン酸が 113 番目に位置することが重要であることが示唆された。以上の結果から、113 番目の位置が視細胞レベルで最も高い光感受性を与えるグルタミン酸の位置であると結論した。			

(論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨)

ロドプシン類は動物の光感覚に関与する光受容タンパク質であり、光を受容するために分子内にビタミン A の誘導体であるレチナールを発色団として持つ。レチナール発色団の化学的性質は周りのタンパク質部分（オプシン）により制御されており、例えば発色団の吸収極大波長はタンパク質部分の構造の違いによってさまざまに変化する。また、その制御に関与するアミノ酸残基についてはこれまでに詳細な解析がある。一方、同じくタンパク質部分によって制御されている発色団の光異性化効率に関しては、効率を制御するアミノ酸残基の同定は進んでおらず、また、そのメカニズムも明らかではない。そこで、本研究は異性化に関与するアミノ酸残基の同定を含めたメカニズムの解明を目的として始められた。

脊椎動物のロドプシン類の中には、発色団がプロトン化することにより可視部に吸収極大を示すもの（可視光感受性視物質）と、発色団が脱プロトン化しており紫外部に吸収極大を示すもの（紫外光感受性視物質）がある。また、可視光感受性視物質では N 末端から 113 番目に存在するグルタミン酸残基が負に荷電し対イオンとなってプロトン化した発色団を安定化している。一方、紫外光感受性視物質にもグルタミン酸は保存されているが、対イオンとしての機能は必要なく、なぜ保存されているかはよくわからなかった。本研究により、このグルタミン酸は、両者で量子収率を上げるのに必須であることが発見され、高度に保存されている生理的意義が明らかになった。

また、本研究ではグルタミン酸の位置をさまざまに変えた変異体を作製して光感受性を検討し、グルタミン酸の位置によって分子吸光係数、さらには発色団とタンパク質部分とのシッフ塩基結合の安定性が大きく変わることも明らかにした。つまり、ロドプシン類では光感受性およびタンパク質の安定化に関して、分子進化の過程で最適化が行われていることが示された。

以上のように、本研究においては、得られた結果から生物学的に意義のある考察をすることができる。一方、本研究は、視物質のタンパク質化学的な検討により、光異性化促進メカニズムの分子的な基礎を明らかにした初の研究と位置づけることができる。したがって、本研究は光感受性に関する今後の理論的な研究を促進し、さらなるメカニズムの解析に向けた研究へ発展すると期待される。

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 22 年 1 月 20 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。