

氏 名	河 村 悟 かわむら さとる
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 518 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 月 23 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	ロドプシン光退色中間体の発色団の配向変化に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 吉澤 透 教授 寺本 英 教授 加藤 幹太

論 文 内 容 の 要 旨

ロドプシンは網膜の桿体外節に存在する感光性の膜蛋白質である。ロドプシンが光を吸収して光化学反応をおこすことにより、視覚の初発現象が開始される。従来ロドプシンの光化学反応の研究は抽出液を用いて行われてきた。その結果、光退色中間体として、バソロドプシン、ルミロドプシン、メタロドプシンなどが確認されている。一方、ロドプシンの発色団は、桿体外節中の円板膜面に平行に、しかもその膜上では無秩序に配列している。申請者は、網膜内の外節の秩序構造をうまく利用して、発色団の配向が退色過程で、どのように変化するかを研究した。実験材料として、カエル網膜、外節の浮遊液、その外節からジギトニンで抽出したロドプシン溶液等が用いられた。

申請者はまず、網膜内で生じる光退色中間体について、ジギトニン抽出液の結果と比較しながら低温スペクトル的に調べた。その結果、退色中間体の分子種としては、網膜中でもジギトニン抽出液と同一のものが生じることを確認した。しかし、各中間体の分光学的性質（吸収極大波長や半値巾）や、安定な温度領域には差が認められた。これらの違いは、分子をとりまく環境（ジギトニンミセルとホスホリピッドミセル）の違いに帰せられると考えている。

以上の結果をもとにして、円板膜面に垂直な平面内における各中間体の発色団の配向が調べられた。実験には、ロドプシンの発色団が規則的に配列している網膜試料と、無秩序に配列しているとみなされる桿体外節浮遊液とが用いられた。網膜試料を円板膜面に垂直な方向から吸光度を測定すると、その測定値には円板面に垂直な平面内での配向に関する情報が含まれている。つまり、円板面に対して発色団が θ° 傾いているとすると、網膜中での吸光度は $3/2ME\cos^2\theta$ となる（Mはモル濃度、Eはモル吸光係数）。一方、桿体外節浮遊液では ME となる。両試料中でロドプシンに対する比吸光度を、各中間体について求めると、桿体外節浮遊液を用いた実験より E_i/E_r (添字 i は中間体, r はロドプシンを表わす。) が、また、網膜試料から $E_i\cos^2\theta_i/E_r\cos^2\theta_r$ が求まり、両者から $\cos^2\theta_i/\cos^2\theta_r$ が求まる。 θ_r についての報告値を用いると、 θ_i が求まる。 $\theta_r=18^\circ$ とした時、バソ、ルミ、メタ I 中間体で、それぞれ

0°, 19°, 21°, またアイソロドプシンでは20°であることが示された。

次に、円板面内における配向変化が調べられた。円板面に垂直な方向から、液体窒素温度で、偏光を照射し、生成したバソロドプシンの、偏光方向に対する角度分布が測定された。実験結果は理論式と fitting させることによって解析されたが、パラメーターが多いので、パラメーターのあるものは近似式によってまず求められた。次で、全体について解析が行われた。その結果、円板面内でロドプシンからバソドロプシンが生成する時、約20°, バソドロプシンからアイソロドプシンが生成するときは約3° 発色団の配向が変化することが明らかにされた。以上の結果から、ロドプシンからバソロドプシンまたはアイソロドプシンが生成する時、発色団の配向が空間的に、それぞれ26°, 17° 変化することが示された。この結果から、バソドロプシンの段階で、すでに発色団の光異性化が起っていることが明らかにされた。

論文審査の結果の要旨

視覚興奮の初期過程を解明する上で、視物質の光退色過程の研究は極めて重要である。申請者の、「ロドプシンの退色過程における発色団の配向変化の研究」は、次の2点から非常にユニークな研究であるといえる。第1は、網膜そのものを用いて、低温吸収スペクトル的に研究が行われているという点である。これまで網膜を試料として低温スペクトル的に研究されたことは無い。従って、網膜中のロドプシンの退色過程が論議される時、その基礎となる実験データは、すべて、ジギトニンで抽出されたロドプシン溶液で得られたものであった。網膜中とジギトニン抽出液中とでは、中間体の諸性質が異なることが本研究によって明らかにされた。従って、本研究は網膜中での退色過程の研究に必要な基礎的知見を与えるものであるといえる。第2は、網膜にもともと備わっている秩序構造をうまく利用して、退色中間体の発色団の配向が調べられたという点である。ロドプシンの発色団は円板膜面に約18° 傾き、また面内ではランダムに存在していることが知られている。円板面に垂直な方向から測定した時の網膜中での中間体の吸収スペクトルと、桿体外節浮遊液中でのその中間体の吸収スペクトルを比較するという、原理的には簡単な方法により、まず、円板膜面に対し各中間体の発色団の傾きが測定された。通常、低温吸収スペクトル法によって求められた中間体の吸収スペクトルは、かなりの誤差を含んでいるが、申請者はこの点について特に注意深く実験を行った。その結果、バソ、ルミ、メタ I 中間体の発色団は、それぞれ 0°, 19°, 21°, アイソロドプシンで20°傾いていることを明らかにした。次に申請者は、円板面内での発色団の配向変化を以下に述べるような独創的な方法で調べた。すなわち、液体窒素温度で円板膜に垂直な方向から偏光を照射し、生成するバソロドプシンの、照射偏光に対する角度分布を測定した。ロドプシンからバソロドプシンが生成する時、円板面内で配向が α° 、また、バソロドプシンからアイソロドプシンが生成する時 γ° 変化するとして、実験に対応する理論式を導出した。実験データは理論式と対応させることにより、 α と γ を求めた。理論式には多くのパラメーターが含まれているので、ある種のパラメーターは、近似式を用いて決定するという方法をとっている。解析の結果、 $\alpha = 20^\circ$ 、 $\gamma = 3^\circ$ という値が得られた。この値と、先の円板面に対する配向の結果から、ロドプシンからバソロドプシン、さらにアイソロドプシンへと変化する時、発色団は空間的に26°、

さらに17°変化することを示した。この結果により、ロドプシンのバソロドプシンへの変化は、発色団11シス型のオールトランス型への光異性化反応であるという仮説が初めて実験的に裏づけられた。

以上申請者の研究は、その測定法のユニークさと結果の重要性を考慮する時、視覚の初期過程の研究に貢献する所が極めて大きいと考えられる。

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。