The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Significance of the Extracellular Regions in the Rhodopsin of the Fly, Drosophila melanogaster
Author(s)	片野坂, 公明
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3143774
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名	片野坂　公　明（かたのさか　きみあき）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　13660　号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生理学専攻
学　位　論　文　名	Significance of the Extracellular Regions in the Rhodopsin of the Fly, *Drosophila melanogaster* （ショウジョウバエロドプシンにおける細胞外領域の重要性）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　徳永　史生 （副査） 教　授　河村　悟　　助教授　倉橋　隆

論　文　内　容　の　要　旨

本研究では、生体内での変異タンパク質の機能解析が可能なキイロショウジョウバエを用いて、まずロドプシンのN－結合型糖鎖の結合部位とその役割について検討した。その結果、糖鎖はAsn20のみに結合し、ロドプシン成熟過程に関与することを明らかにした。一方、Asn196の変異はAge-dependentかつlight-enhanced typeの網膜変性を引き起こすことを発見し、その変性過程について詳細な形態学的解析と生化学的解析を行った。

ショウジョウバエロドプシンの糖鎖付加部位を同定するために、まず、試験管内でオプシン（ロドプシンのタンパク質部分）の合成を行った。この系で、2つの糖鎖付加候補残基（Asn20とAsn196）の各々をなくした変異オプシン2種類（N20I、N196Ⅰ）を合成した結果、オプシンはおそらく糖鎖を1本結合しており、その結合部位はAsn20ではないかと予想された。これを生体で確認するため、2種類の形質転換体nina E^{N201}およびnina E^{N1961}（それぞれN201、N1961変異オプシンのみを発現する）を用いてオプシンの生体内での糖鎖付加位置がAsn20であることを明らかにした。オプシンの量はnina E^{N201}で大きく減少したことから、糖鎖はオプシンの成熟あるいは輸送の過程に関与していることが示された。

一方、Asn196は糖鎖付加に関与しないにもかかわらず、これを失ったnina E^{N1961}のロドプシンの量は野生型の約20%に減少した。これはAsn196が糖鎖付加とは異なる役割をもつことを示唆している。そこでこの部位の役割を理解するために、光条件を変えてロドプシン量と細胞形態の変化を継時的に観察した。生後間もないnina E^{N1961}の視細胞は、光受容部位が若干小さいもののほぼ正常な形態を示した。このハエを暗黒下で長期間飼育すると、緩やかにオプシンが減少するとともに、光受容部位の崩壊が起こり、網膜変性と呼ばれる症状を示すことが明らかとなった。さらに、このハエに光を照射すると網膜変性が著しく促進され、約24時間以内にほぼ完全にロドプシンが失われた。約1時間の白色光照射でも視細胞が変性し始め、次第に異常な膜構造が細胞内に多数現れた。48時間の光照射では光受容構造がほぼ消失すると共に、細胞体の胞状化が進行し、最終的には細胞の収縮や崩壊が観察された。また、変性中の細胞の核内の染色質構造の変化が示唆された。このハエの変異形質は野生型に対して劣性であり、網膜の電気生理学的光応答も正常であったことから、光情報伝達系の亢進異常が変性の原因ではないことが示唆された。この変異は網膜変性を引き起こす変異のなかでも劣性であるという点で珍しく、またロドプシンの合成量が比較的多く変性の進行が速いという点でも他の変異とは異なる特徴を示す。このことは他の優性の網膜変性とは異なる機構で網膜変性を引き起こす可能性を示唆している。N1961変異ロドプシンは恐らくその分子構造の異常から、光受容膜の形態維持

と視細胞の生存にとって悪影響を及ぼし、さらに光受容に伴う分子構造の変化によりその傾向が強められるのではないかと考えられる。

論文審査の結果の要旨

視覚は視細胞中の視物質の光受容によって生じる。視物質は小胞体でペプチドが合成され、糖鎖修飾を受け、ゴルジ体を経て、糖鎖が除去されて感桿膜に輸送される。ショウジョウバエの視物質ロドプシンには2カ所の糖鎖修飾可能アミノ酸配列がある。片野坂君提出の論文では遺伝子操作によりこの2カ所に変異を入れたショウジョウバエを作り、生体中では2カ所のうちN末端に近い1カ所だけが糖鎖修飾を受けることを明らかにした。また、他の箇所に変異の入ったハエは光依存的に網膜変性を起こすことを発見し、その変性過程を詳細に調べ明らかにした。

これらの知見は視覚の研究に新たな視点を与えるだけでなく、作成されたハエは現在難病に指定されている網膜変性症の治療法研究にとって重要な研究材料となる。よって片野坂君提出の論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。