

Title	頭足類ロドプシンの研究 : 感桿膜におけるロドプシンの構造
Author(s)	菜嶋, 和子
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32176
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	菜 嶋 和 子
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 5 3 7 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 3 月 24 日
学位授与の要件	理学研究科 生理学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	頭足類ロドプシンの研究 ——感桿膜におけるロドプシンの構造——
論文審査委員	(主査) 教授 原 富之 教授 佐藤 了 教授 浜口 浩三 助教授 鬼頭 勇次

論 文 内 容 の 要 旨

視物質ロドプシンは発色団レチナールを持つ色素蛋白質である。頭足類のロドプシンは視細胞の細胞膜が変形した感桿分体に存在する。光を吸収するとレチナールは11-cis形からall-trans形へと異性化し、照射された部位の細胞膜のNa⁺透過性が増大する。この間の機序を解明するためにはロドプシンを感桿膜中の状態に保ちつつ精製できる界面活性剤の開発が必須と考え、ショ糖ラウリン酸エステル(L-1690)の有効性を見出した。また、感桿膜中のロドプシンの構造に関する知見を得た。(1)視細胞外節ホモジネートの40%ショ糖に浮遊する分画から4%NaClを含む溶液を用いて得た感桿膜標品は、蛋白成分のほとんどがロドプシンだった。感桿膜標品のL-1690抽出物からDEAE-CelluloseとConcanavalin A-Sepharoseクロマトグラフィーの後得たロドプシン標品はSDS電気泳動で単一のバンドとなり、ロドプシン当りのリン脂質含量は1.2P/Rhであった。BL-9ex抽出物から得た標品は0.2P/Rh、ジギトニン抽出物から得た標品は17P/Rhであった。L-1690溶液中のロドプシンと光産物メタロドプシンはジギトニン溶液中と同様安定であったが、BL-9ex溶液中では不安定であった。(2)ロドプシン中でレチナールは蛋白部分のε-アミノ基とシッフ塩基結合している。メタロドプシンは溶液のPHに応じて酸形・アルカリ形に相互変換し、シッフ塩基へのプロトンの脱着と解釈される。見かけのPK値は感桿膜けんだく液中で10.0、L-1690溶液中で9.6、17P/Rhのリン脂質を含むジギトニン溶液中で7.7、L-1690溶液中で精製しジギトニン溶液に移したもので6.9であった。界面活性剤の変化に伴うPKの変化は可逆的だった。ジギトニン溶液中でロドプシンはλ_{max}=380nmの正のCDをもつ物質に変換し、PHを下げると回復した。ロドプシンのシッフ塩基へのプロトンの脱着が推定された。ジギトニンが蛋白の構造を変えた結論した。シッフ塩基近傍の疎水的な環境と固定された負電荷の

存在が示唆された。(3)SDS電気泳動で求めたロドプシンの分子量は51000で、10℃で8日置いた眼球から得たそれは39000であった。アミノ酸組成から蛋白部分の分子量が各々46800、34900と計算された。アミノ糖含量は同じだった。N末部分は共にGly-X-Asp-だった。ロドプシンはC末の糖をもたない12000 daltonの部分を見失うと結論した。感桿膜をプロテアーゼ処理するとロドプシンは分光的性質を変えず分子量は51000から39000を経て25000と14000の部分に分割された。分子量39000、25000、14000のペプチドの混合物となったロドプシンのアミノ酸組成は39000のそれと一致した。ロドプシンの感桿膜外部分はC末の12000 daltonとペプチド鎖の途中の僅かの部分と結論した。210-250 nmのCDの測定値からロドプシンのヘリックス含量は52%で膜内の部分に集中していると推定した。

論文の審査結果の要旨

頭足類の視細胞の感桿膜には視物質ロドプシンが含まれており、その光吸収により、感桿膜の電解質の透過性が制御され、受容器電位が発生する。この色素蛋白質の分子量、感桿膜上における存在状態を明らかにすることは、視覚の初期過程の理解を深める上で大切なことである。菜嶋君は、まずこの視物質を安定に保ち、脂質などの他の膜成分を分離可能にする界面活性剤として有効な蔗糖脂肪酸エステルを開発した。これにより視物質の純化が一段と進み、分子量、分子吸光係数などの基礎的性質が決定された。ついで、脂質と蛋白質との相互作用が色素部分と蛋白質の結合に影響を与えることから、可視部吸収曲線の長波長移動に関与するシッフ塩基結合のプロトン化機構をより合理的に説明した。これはまた、視物質の研究に従来用いられてきた活性剤とは異なり、膜内の視物質の性格を研究するための有力な手段を見出したといえる。さらに蛋白分解酵素を膜内の視物質に作用させる方法により、視物質のC末端から12,000daltonのペプチドが容易に切断遊離されることがわかったが、このペプチドはGlu, Pro, Ala, Gly, Tyrを特に多く含み、 α -helix量の少ないもので、おそらく膜外に存在する親水性部分であると推定される。残りの37,000 daltonの部分は色素団レチナルを含み、蛋白分解酵素の作用を受け難く、僅か一個所しか切断されない。切断されても可視吸収特性や光化学反応に変化はなく、約60%の α -helix含量を示すこの部分がおそらく膜中に存在するものと推定される。以上のように、菜嶋君の研究は頭足類視物質の特性、とくに感桿膜上でのその存在状態の解明に踏みこんだもので、視物質の生理機能を考える上で多くの有用な知見を新しく提供している。従って提出論文は理学博士の学位論文として十分な価値があると認められる。