

Title	頭足類の視細胞におけるレチノクロムとロドプシンの関係 : ロドプシンの再構成について
Author(s)	関, 隆晴
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/32648">http://hdl.handle.net/11094/32648</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名・(本籍)	関	隆	晴
学位の種類	理	学	博士
学位記番号	第	4864	号
学位授与の日付	昭和55年3月25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	頭足類の視細胞におけるレチノクロムとロドプシンの関係 ——ロドプシンの再構成について——		
論文審査委員	(主査) 教授 原 富之	(副査) 教授 殿村 雄治	教授 佐藤 了 助教授 鬼頭 勇次

### 論文内容の要旨

頭足類の視細胞に存在するレチノクロムは、*all-trans* レチナールを発色団色素として持つ膜タンパク質である。これに光照射すると、発色団レチナールは11-*cis*形に異性化されるが、その生理的役割は未だ明らかになっていない。一方、視細胞外節の感桿膜に存在する視物質ロドプシンは、光照射されることにより、11-*cis*形発色団レチナールは*all-trans*形に異性化される。このように、ロドプシンとレチノクロムにおける発色団レチナールの光異性化反応は、全く逆の向きに進行するので、両色素間の密接な関係は容易に想像される。ところが、頭足類ロドプシンの光照射産物であるメタロドプシンは、室温で安定に存在するため、そのタンパク質部分(オプシン)を、活性な状態で得ることは不可能とされ、又、そのために両色素間の関係も、全く不明であった。

本研究においては、まず、膜に含まれた状態のロドプシンから、発色団レチナールを除去することを試みた。視細胞外節のホモジネートから、シヨ糖浮遊法により得られた感桿膜を、ヒドロキシルアミン(NH<sub>2</sub>OH)存在下、強い橙色光照射すると、ロドプシンは退色し、レチナールはオキシムとなって除かれた。退色した膜片から、遠心によって遊離のNH<sub>2</sub>OHを除去した後、11-*cis*又は9-*cis*レチナールを加え暗保すると、各々、ロドプシン( $\lambda_{\max}=480\text{nm}$ )、アイソロドプシン( $\lambda_{\max}=470\text{nm}$ )が生成した。これは、再生能を持つ活性なオプシンの得られたことを示す。高い再生率(70~80%)を示すオプシンを得るには、0.2Mより低濃度のNH<sub>2</sub>OH存在下、レチナールオキシムの吸収しない波長の光(>530nm)で照射することが必要であった。このようにして得られたオプシンの再生至適pHは、6~8の広い中性領域にあった。再生速度は温度に比例して速くなったが、34℃で30分放置すると、膜中のオプシンの一部は、再生能を失った。ジギトニンで可溶化したオプシンも再生能を持つが、こ

れは20℃でも容易に再生能を失った。これらの結果から、スルメイカのオプシンはウシのオプシンに比べ、著しく温度安定性の悪いことがわかった。これが、従来、頭足類のオプシンを得ることを困難にしていた原因の1つであろうと考えられる。

次に、レチノクロムを用いたロドプシンの再構成を試みた。まず、少量のレチノクロムを含む膜片のシヨ糖懸濁液に過剰の *all-trans* レチナールを加え、橙色光照射すると、大部分のレチナールは *11-cis* 形に異性化され膜中に蓄積した。この懸濁液にイカのオプシンを含む膜を加え、暗保したところ、ロドプシンが再構成され、レチノクロムの光異性化作用によってつくられた *11-cis* レチナールを用い、ロドプシン合成の可能なことが示された。そこで、次にレチノクロムの光照射産物（メタレチノクロム）を用い、ロドプシン合成を試みたが、これに先だち、メタレチノクロムの発色団レチナールの存在状態を調べた。膜中のメタレチノクロムの、低濃度  $\text{NH}_2\text{OH}$  による退色反応、アルカリ中での吸収変化を、レチノクロムの場合と比較すると、メタレチノクロムの発色団レチナールは、より溶媒の影響を受けやすい状態にあり、少なくとも一部は、本来の発色団部位からはずれていることが示された。このようなメタレチノクロムを含む膜片のシヨ糖懸濁液に、イカのオプシンを含む膜片を加えると、やはり、ロドプシンの合成されることが示された。この時、メタレチノクロムの発色団レチナールは、40%以下しか合成に用いられなかったが、これは膜の老化によるものと考えられた。実際、より新鮮な膜片に含まれたウシのオプシンを用いた場合、メタレチノクロムは、一部レチノクロムになっていることが示されたにもかかわらず、発色団レチナールの82%がロドプシン合成に利用された。このことから、メタレチノクロムの発色団レチナールは、高い効率でロドプシン再構成に利用されることが示された。

### 論文の審査結果の要旨

視物質はレチナールを発色団とする感光性色素蛋白質である。脊椎動物（ウシ）の視物質ロドプシンは網膜を暗所で処理し抽出すると得られるが、明所で同様の操作をすれば、無色の蛋白質部分オプシンが容易に得られる。このオプシンに *11-シス* 形レチナールを加えて暗中に保つとロドプシンが合成（暗再生）される。ところが、無脊椎動物のロドプシンは光照射されても、常温ではロドプシンと似た色調の安定な中間体メタロドプシンを生じて分解せず、より高温ではオプシンが変性するので、活性なオプシンを得てロドプシンを暗再生させることは20数年に亘って不可能視されてきた。

関君はこの難問を克服する糸口として、ロドプシンを含む感桿膜（イカ）をヒドロキシルアミン存在下で照射することによって、膜中に活性オプシンの作られることを見出した。このオプシン膜に *9-シス* 形または *11-シス* 形レチナールを加えると、膜中にそれぞれアイソロドプシンまたはロドプシンが生成される。すなわち、関君は今回初めて無脊椎動物の視物質合成に成功したわけで、無脊椎動物のロドプシン反応回路に大きい知見をつけ加えた。

頭足類（イカ）の視細胞には視物質ロドプシンのほかに、レチノクロムと呼ばれる感光性色素蛋白

質が含まれている。この色素の発色団レチナールはもともとオールトランス形で、色素を光照射すると発色団は11-シス形にかわり、メタレチノクロムを生じる。この光異性化反応の方向はロドプシンの場合とは丁度逆の関係にあるので、メタレチノクロムの発色団11-シス形レチナールは視物質の暗再生に用いられるのではないかと考えられてきた。関君はレチノクロムの座の一つと推定されてきた視細胞内節部にある膜片を分離し、これを照射してメタレチノクロムを含む膜片を作り、オプシンを含む感桿膜と混合することにより、感桿膜中に高い効率でロドプシンの生成されることを証明した。

なお、以上の一連の研究の過程で、膜内外における色素および中間体の安定度、視物質生成に関する諸条件など多くの新しい知見がもたらされ、ロドプシンとレチノクロム両系の関連の理解に大きい貢献があった。従って、3部からなる関君の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。