



Title	コイ錐体視細胞で起こる新規の11-シスレチナール生成反応（AL-OL酸化還元共役反応）の解析
Author(s)	佐藤, 慎哉
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/34067
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (佐 藤 慎 哉)

論文題名

コイ錐体視細胞で起こる新規の11-シスレチナール生成反応 (AL-OL酸化還元共役反応) の解析

論文内容の要旨

脊椎動物の視細胞には、昼の視覚を司る錐体と、夜の視覚を司る桿体があり、どちらも光受容のためにアルデヒドの11-シスレチナールを消費する。特に錐体は、昼間の強い光の下で働く際に11-シスレチナールを大量に消費する。それを補うためか、錐体には11-シスレチナールを産生する仕組みとして、11-シスレチノール (11-シスレチナールのアルコール体) 酸化活性が特別に備わっていることが示唆されていた。これを裏付ける結果として、2008年にコイ錐体から新規の11-シスレチノール酸化活性が発見された。この酸化反応は補酵素の還元反応ではなく、オールトランスレチナールの還元反応と共役すると推測され、レチナール-レチノール酸化還元共役反応 (AL-OL反応) と名付けられた。本研究ではこの新規の反応の特性解析と、触媒酵素の同定を目的とした。

特性解析では、反応機構、基質特異性、細胞内局在について解析した。まず、反応機構解析によってAL-OL反応が酸化還元共役反応であることを明確に示した。基質特異性解析では、AL-OL反応はアルコール基質について9-シス/11-シスレチノール特異的に高い活性を示し、アルデヒド基質についてオールトランスレチナールを含む幅広い種類の疎水性アルデヒドに活性を示した。この結果から、反応の名称をより一般化してアルデヒド-アルコール酸化還元共役反応 (略称は同じAL-OL反応) に改めた。反応機構の反応速度論的な解析では、反応の進行中にアルコール基質、アルデヒド基質と触媒酵素から成る三者複合体が形成されると示唆された。以上の結果から、AL-OL反応触媒酵素は2種類の基質に対して別々に、基質特異性を反映する特徴的な構造の結合部位を持つと考えられる。細胞内局在解析では、AL-OL反応活性の錐体内節部分への局在を示した。以上の結果から、AL-OL反応は錐体内節で生じると考えられる中鎖アルデヒドを利用し、11-シスレチナールを産生する反応と考えられる。

触媒酵素の同定は、コイ錐体から部分精製した候補タンパク質を質量分析して行った。その結果、レチノール脱水素酵素13様タンパク質 (RDH13L) が同定されたので、その機能解析を行った。発現RDH13LはAL-OL反応活性を示した。しかし、RDH13Lの基質特異性はコイ錐体膜のものと完全には一致せず、発現RDH13Lの比活性と錐体のRDH13L発現量の値は、錐体を持つAL-OL反応活性を説明できるほど大きくなかった。これらの結果から、コイ錐体で起こるAL-OL反応は、RDH13Lを含む複数の酵素に触媒されることが示唆された。

本研究ではRDH13Lと似たアミノ酸配列のマウスRDH14がAL-OL反応活性を持つことも明らかにした。さらに、RDH14はAL-OL反応活性に加えて、NADP⁺依存的な11-シスレチノール酸化活性を、特に37 °Cで顕著に示した。この性質はRDH13Lとコイ錐体にも見られた。これらの結果から、コイとマウスの錐体は、置かれる環境に応じてAL-OL反応とNADP⁺依存的な反応をどちらか、あるいは両方利用し、効率的に11-シスレチナールを産生していると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (佐 藤 慎 哉)			
論文審査担当者	(職)		氏 名
	主 査	教 授	河 村 悟
	副 査	教 授	倉 光 成 紀
	副 査	准教授	久 富 修

論文審査の結果の要旨

申請者はコイ錐体における視物質の再生機構についての研究を進めた。脊椎動物の視細胞には、昼の視覚を司る錐体と、夜の視覚を司る桿体がある。錐体は昼間働くことから、単位時間あたり大量の視物質が消費され、それ故、視物質を再生するために大量の 11-シスレチナールを必要とする。そこで本論文では、2008 年にコイで発見された、錐体特異的で極めて効率的な 11-シスレチナール供給機構と考えられる AL-OL 反応の特性解析と、触媒酵素の同定を目的として研究が行われた。

反応の基質特異性、反応機構、細胞内局在について検討が行われた結果、反応中心の概略が明らかになり、また、活性が錐体の内節部分に局在することが明らかになった。さらに、触媒酵素として RDH13L が同定された。しかし、RDH13L の性質はコイ錐体の特性とは完全には一致しなかったことから、RDH13L は、錐体を持つ複数の AL-OL 反応触媒酵素のうちの一つであろうと推察している。一方、マウスでも AL-OL 反応活性を持つ酵素が存在することも明らかにし、AL-OL 反応が動物種を問わず普遍的に存在することを強く示唆した。

以上の研究は、我々の昼間視を支える分子機構の一つの詳細を明らかにしたと判断される。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として充分価値あるものと認める。