

Title	Molecular mechanism of the signal transduction including Gq-type GTP-binding protein in cephalopod photoreceptor cells.
Author(s)	成田, 欣弥
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39936">https://hdl.handle.net/11094/39936</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	なり た きん や 成 田 欣 弥
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 2 3 4 2 号
学位授与年月日	平成 8 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	Molecular mechanism of the signal transduction including Gq-type GTP-binding protein in cephalopod photoreceptor cells. (頭足類の光受容のGq型GTP結合蛋白質を介した情報伝達の細胞内分子機構)
論文審査委員	(主査) 教授 徳永 史生  (副査) 教授 河村 悟 助教授 鬼頭 勇次

#### 論 文 内 容 の 要 旨

GTP結合蛋白質(G蛋白)のいくつかのサブファミリーに特徴的なアミノ酸配列に対する抗体(コレラ毒素結合部位抗体, 百日咳毒素結合部位抗体, GqN末抗体, GqC末抗体)を作成し, 頭足類視細胞の光受容膜に存在するG蛋白を検索したところ, ホタルイカ(*Watasenia scintillans*)の視細胞光受容膜ではGq型G蛋白のみが検出され, 他のG蛋白は検出されなかった。Gqは光受容蛋白質ロドプシンのおよそ1/10存在し, イカ網膜より精製した視細胞光受容膜において, 最も多量に存在するロドプシンに次いで主要な成分であった。Gqはイカの光受容で主要な機能を担うと考えられる。2種のGq抗体, およびG蛋白 $\alpha$ サブユニットに保存されている相同部位に対する抗体により検出されたホタルイカ光受容膜のGq $\alpha$ サブユニットはSDS-PAGE上で42kDの分子量を示し, またG $\beta$ サブユニットに対する抗体により同じ光受容膜から35kDのG $\beta$ が検出された。

イカ光受容膜のGTPase活性を測定したところ, 光刺激により活性が上昇するGTPase活性がみられた。このことにより, 光を受容したロドプシンが光受容膜上のGqを活性化することが示唆された。このGTPase活性は光を受容したロドプシンの中間体の中でも, 安定で最終の中間体であるメタロドプシンにより活性化されることを示した。Gq型G蛋白はホスホリパーゼC(PLC)を活性化するサブファミリーとして知られているが, イカ光受容膜にも光とGTPに依存して活性が上昇するPLC活性がみられた。

これらの結果から, イカ視細胞の光受容膜上にロドプシン-Gq-PLCからなる情報伝達機構が存在し, 細胞外の光が細胞内のイノシトール三リン酸(IP<sub>3</sub>)の増加に変換されることが示された。

イカ網膜の水溶性分画からも, Gq抗体により42kDの蛋白質が検出された。水溶性Gq $\alpha$ はSDS-PAGE上で膜結合型Gq $\alpha$ と同じ分子量を示し, Gq $\alpha$ に対する抗体との反応性も膜結合型Gq $\alpha$ と等しい。通常3量体G蛋白質の $\alpha$ サブユニットは情報伝達経路の存在する膜に $\beta\gamma$ サブユニットとともに存在する。水溶性分画からはG $\beta$ はほとんど検出されず, 水溶性Gq $\alpha$ はゲルろ過において42kD付近に溶出することから, 水溶性Gq $\alpha$ は3量体構造をとっていないと考えられる。

水溶性Gq $\alpha$ の存在は光受容膜の光依存的なGTPase活性に影響を与えず, ロドプシンとの相互作用も見られなかった。AIF<sub>4</sub><sup>-</sup>により強制的に膜結合3量体Gqを活性化させても膜結合Gq $\alpha$ は水溶性にはならなかった。また水溶性Gqの結合するヌクレオチドを分析したところGDPのみが検出された。水溶性Gq $\alpha$ は光受容膜上のロドプシン, G $\beta\gamma$ サブユニットとの相互作用能力を失い, 不活性型で存在すると思われる。光受容に機能する膜結合型Gq $\alpha$ が

不活性な水溶性 Gq $\alpha$  に変わるならば負の感度調節が起こると考えられる。72時間完全暗条件下で飼育した暗順応時のイイダコ (*Octopus ocellatus*) 眼では水溶性 Gq $\alpha$  はほとんど検出されなかったが、明順応時では水溶性 Gq $\alpha$  の存在が観察された。

Gq 抗体に認識される膜結合型 Gq $\alpha$  と水溶性 Gq $\alpha$  は頭足類の他にエビ (*Trachypena curvirostris*) 視細胞の光受容膜でも検出された。節足動物は頭足類同様に感桿型光受容膜を持つ視細胞を持ち、光受容により細胞は脱分極の応答を示す。ロドプシン, Gq, PLC を介した情報伝達機構と水溶性 Gq $\alpha$  は感桿型視細胞を持つ無脊椎動物に広く存在していると考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

頭足類視細胞の光受容機構を解明するために、作成した抗体により G 蛋白を検索し、イカ視細胞光受容膜から Gq を見出し、ロドプシンによる GTPase 活性の上昇、そしてロドプシン, Gq による PLC の活性化を見出した。さらに水溶性の Gq を検出し、膜に結合した Gq とは性質の異なるものであることを明らかにし、順応による両者の量比の変化を見出した。

この研究は無脊椎動物の視覚研究に新しい側面を開くものであり、博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。