

Title	Analysis of teleost proteins participating in deactivation steps of photoactivated visual pigments
Author(s)	今西, 由和
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41900
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

[43]

氏 名 **今** 西 由 和

博士の専攻分野の名称 博士(理学)

学 位 記 番 号 第 15175 号

学位授与年月日 平成12年3月24日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

理学研究科生物科学専攻

学 位 論 文 名 Analysis of teleost proteins participating in deactivation steps of

photoactivated visual pigments

(魚類視細胞における視物質不活性化に関与する蛋白質の解析)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 徳永 史生

(副査)

助教授 久冨 修 教 授 倉光 成紀 教 授 河村 悟

論文内容の要旨

脊椎動物の視細胞においては、光を受け活性化された視物質が、その情報を GTP 結合タンパク質に伝えることにより、結果として視細胞が過分極する。活性化したロドプシンは、ロドプシンキナーゼによりリン酸化され、さらにアレスチンが結合することで不活性化すると考えられている。視細胞には大別して 2 種類存在する。つまり光感度の高い桿体視細胞と光に対して時間分解能が高く色覚を司る錐体視細胞である。視細胞の感度調節は、光受容タンパク質の不活性化機構と密接に関連している。そこで、錐体と桿体における視物質不活性化機構の差異を比較・検討するために、メダカ網膜 cDNA ライブラリーより、アレスチン及びロドプシンキナーゼ類似タンパク質(GRK)をコードする三種の遺伝子をそれぞれ単離した。

 $in\ situ\ n$ イブリダイゼーション法により網膜中の局在を調べたところ、アレスチンに関して桿体に二種(KfhArr-R1と KfhArr-R2)、錐体に一種(KfhArr-C)の遺伝子が発現していることが分かった。同様に GRK に関しても、二種(OlGRK-R1と OlGRK-R2)が桿体に、一種(OlGRK-C)が錐体に発現していることが分かった。

OIGRK-C に関してはこれまでに報告されていない GRK 7 サブファミリーに属する事が示唆されたが、その推定されるアミノ酸配列には脂質修飾の一種であるゲラニルゲラニル基の付加配列が存在していた。 OIGRK-C と脂質修飾部位が欠損した変異体 C560S を培養細胞中で発現させ、Western blot により網膜中の OIGRK-C との比較を行ったところ、OIGRK-C は網膜中で脂質修飾されていることが示唆された。

また、メダカアレスチンの細胞内局在を免疫組織化学的手法により比較したところ、明順応下の網膜で桿体型アレスチンの一種 KfhArr-R 2 は視細胞外節、もう一種 KfhArr-R 1 は細胞体及びシナプス末端に局在が認められた。この事から、これら二種の桿体型アレスチンの機能、及び局在化機構は基本的に異なることが示唆される。

また、キナーゼについても特異的な抗血清を得た。視細胞内外節と網膜のその他の領域を分離し、反応性を比較したところ、それぞれの画分で翻訳後修飾等の状態が異なる OIGRK-R1、OIGRK-R2 が局在している事が示唆された。OIGRK-R1 に関して解析を行ったところ、翻訳後修飾は ATP の効果等からリン酸化によるものであることが示唆される。また、翻訳後修飾の変化は光順応と関連することも示唆された。本研究により視細胞特異的なタンパク質の細胞内局在が厳密に制御されていることが分かった。

論文審査の結果の要旨

今西由和君提出の論文は、遺伝子クローニング、in situ ハイブリダイゼーション法、抗体作製、組織化学的方法などを用いて、脊椎動物の視細胞における光電変換機構において、光活性化された視物質を不活性化する過程で重要な働きをするアレスチン及び視物質キナーゼについてメダカより桿体に2種類、錐体に1種類存在することを明らかにした。そしてそれらの機能の相違について推定した。視物質キナーゼについては翻訳後修飾の変化が光順応と関連することも示唆した。

この研究は脊椎動物網膜における光電変換機構の研究のみならず、生体情報変換・伝達機構の研究に大きく貢献するものである。よって博士(理学)の学位論文として十分価値有るものと認める。

3