



Title	Analysis of medaka proteins participating in the recovery phase of visual photoexcitation
Author(s)	本川, 華代
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43574
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	本 川 華 代
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 5 9 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 12 月 27 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 medaka proteins participating in the recovery phase of visual photoexcitation (メダカ視細胞の視興奮からの回復過程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) 教 授 河 村 悟 教 授 倉 光 成 紀 助 教 授 久 富 修

論 文 内 容 の 要 旨

我々の視覚は網膜の視細胞が光をとらえることから始まる。これまでの研究により、視細胞が光を受容し、電気的な光応答を生じるまでの光情報伝達系のメカニズムが明らかになってきた。しかし、このように視細胞の活性化機構の解析が進んでいるのに対し、視細胞の不活性化機構の解析は進んでいない。そこで、私は、視細胞を興奮状態から速やかに元の状態に戻す機構の一つであるグアニル酸シクラーゼ (GC) とその活性化タンパク質 (GCAP) に着目した。これまでに調べられている GC と GCAP はほ乳類のもののみで、その他の脊椎動物のものは殆ど調べられていない。また、ほ乳類網膜からみついている 2 種類の GCAP と GC の違いについてもよくわかっていない。そのことから哺乳類と系統的にも遠く、視細胞の形態に関してよく知られているメダカの GC と GCAP を調べることで、カルシウムフィードバックの分子機構とその進化を明らかにできるのではないかと考えた。

CHAPTER1 ではメダカの網膜に発現している 3 種類の GC に関して解析を行った。メダカ網膜 cDNA ライブラリーより、光情報伝達系で機能していると思われる 3 種類の GC (01GC-R1、01GC-R2、01GC-C) の cDNA を得ることができた。つぎに、in situ hybridization によりそれらの局在を調べ、01GC-R1 と 01GC-R2 が桿体に発現しており、01GC-C が錐体に発現していることを明らかにした。また、01GC-R1 は松果体にも、発現していることが示唆された。

CHAPTER2 では、GC と相互作用する GCAP に関しても同様の解析を行い、メダカ網膜より哺乳類の GCAP1 と GCAP2 に高い相同性を示す 2 種類のメダカ GCAP (01GCAP1、01GCAP2) の cDNA を単離した。また、in situ hybridization および免疫組織化学より 01GCAP1 と 01GCAP2 はいずれも桿体視細胞に発現していることを明らかにした。

CHAPTER3 では、GCAP のカルシウム濃度依存的な構造変化について調べた。その結果、01GCAP1 と 01GCAP2 は、視細胞の生理的条件下のカルシウム濃度範囲でカルシウム結合による構造変化を起こすこと、また、01GCAP2 の C 末端部分がカルシウム結合に伴い、大きく構造変化を起こすことが示唆された。さらに、01GCAP2 の EF3 と EF4 はカルシウム結合に伴う構造変化に対し、協同的に働くことが示唆された。

本研究から、ヒトとメダカが複数の GC や GCAP のアイソザイムを持っており、それらは互によく似ていることがわかった。そのことは、ヒトと硬骨魚類が類似したカルシウムフィードバックのメカニズムをもっていること、また、それはヒトと硬骨魚類が分岐する以前に形成されたことを示唆する。しかし、そのアイソザイムの分布は異

なっていることから、脊椎動物の光情報伝達系は、よく似た分子を用いながらも、その発現の量や分布を調節することによって、それぞれが生息する光環境にうまく適応するように、動的に進化してきたことが考えられる。

論文審査の結果の要旨

本川華代君提出の論文は、魚類メダカについて視細胞における光受容後の回復過程に働く蛋白質、グアニル酸シクラーゼ (GC) とその活性化蛋白質 (GCAP) に関する研究である。先ずメダカ網膜より GC の 3 種類の cDNA を単離した。2 種類が桿体で、他は錐体で発現していることを in situ hybridization で明らかにした。また、GCAP についても 2 種類の cDNA を単離した。それらは 2 種類とも桿体で発現していることを in situ hybridization や抗体染色法で明らかにした。さらに GCAP には 3 カ所のカルシウム結合サイトがあり、結合したときに構造変化を起こすことを明らかにした。この研究は視覚研究のみならず生体情報処理の研究に大きく寄与するものである。よって博士 (理学) の学位論文として認める。