

Title	High cGMP Synthetic Activity in Carp Cones
Author(s)	竹本, 訓彦
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49331
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	竹本訓彦
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第23097号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	High cGMP Synthetic Activity in Carp Cones (コイ錐体視細胞における高いcGMP合成活性)
論文審査委員	(主査) 教授 河村 悟 (副査) 教授 近藤 寿人 教授 小倉 明彦 教授 岩井 一宏

論文内容の要旨

脊椎動物の網膜には桿体と錐体の二種類の視細胞がある。視細胞は外界からの光刺激によりを過極性の応答(光応答)を示す。この応答は、光によって細胞内cGMP濃度が低下し、細胞膜上にあるcGMP依存性陽イオンチャネルが閉じる事によって引き起こされる。この応答からの回復には光刺激により低下した細胞内cGMP濃度をもとの状態に戻し、チャネルを開いた状態に戻す必要がある。視細胞では、cGMP合成酵素(Guanylate Cyclase: GC)によるcGMP合成がこの応答の戻りを担っている。また、光刺激後は陽イオンチャネルが閉じ、Ca²⁺イオンの流入が減少するのに対し、細胞膜上の陽イオン交換器によるCa²⁺イオンの流出は、光条件に関係なく行われる。これによって、視細胞では光刺激後に細胞内Ca²⁺濃度が減少する。この光依存的なCa²⁺濃度の減少は、Ca²⁺イオン結合能を持つ水溶性蛋白質Guanylate Cyclase Activating Protein: GCAPによって検知され、GCAPはGCを活性化することが知られている。つまり、視細胞では光刺激にcGMP合成活性(GC活性)を上昇させ、応答からの戻りをより速くするようなフィードバック機構がある。

桿体と錐体の間では光応答の特性に大きな違いがある。桿体は光に対する感度が高いのに対し、錐体は感度が低い。このため桿体は暗所視を、錐体は明所視を担っている。また桿体と錐体はともに背景光存在下で明順応するが、明順応出来る光強度の幅は錐体で遥かに広い事が知られている。つまり、錐体は桿体と比べより幅広い強度の背景光のもとで光の強弱を検出できる。また、桿体と錐体では応答の時間経過にも違いがあり、錐体の応答は素早く終了する。視細胞でのcGMP合成は光により閉じるcGMP依存性チャネルを開くことに働く活性であるため、ここに示した桿体と錐体での光応答の特性から、錐体ではGC活性が高い事が予想される。しかし、これまで錐体のGC活性についての定量的な研究はなされていない。

今回の研究で私はコイの網膜から精製した桿体と錐体を用いて、GC活性を測定した。その結果、GCAPによる活性化を受けていないGC活性は錐体で桿体の36倍高い事がわかった。また、桿体と錐体ではそれぞれに特異的なGCが発現しており、その発現量が錐体で桿体の17倍であり、おそらくこの事により錐体での高いGC活性がもたらされる事がわかった。更に、桿体と錐体では異なるGCAPが発現しており、その発現量も錐体で桿体の10倍以上高かった。GCAPの影響を検討するため、大腸菌により発現させたGCAPを用いてGC活性に対するGCAPの効果のキネティックパラメータを決定した。桿体に存在するGCは調べた全ての種類のGCAPによって活性化されるのに対して、錐体のGCは桿体に存在するGCAPでは活性化されない事がわかった。得られた結果をもとに細胞内でのGC活性を見積もったところ、錐体での活性

は暗時（高Ca²⁺濃度）、強光下（低Ca²⁺濃度）のいずれにおいても桿体の10倍以上である事がわかった。これにより、錐体で応答の終了が速い原因の一つとして、錐体における高いGC活性があげられる事が示された。また、GCAPによるGC活性の調節の範囲は錐体で桿体の10倍程度広く、これが錐体で明順応の幅が広い一因である事が示唆された。

論文審査の結果の要旨

桿体と錐体は光刺激を受けると電氣的応答を発生する。応答からの戻りにはcGMPを合成する必要がある。cGMP合成酵素は光刺激後の低Ca²⁺濃度条件においてGCAP蛋白質により活性化される事が知られている。錐体での電氣的応答からの戻りは桿体よりも速く、また強い光刺激のもとでも応答は飽和しにくい。本研究ではこの要因が錐体でのcGMP合成活性が高いためである事、また、その高い活性はcGMP合成酵素の発現量が錐体の方で高いことに由来することを示す結果を得た。これにより、桿体と錐体での応答の特性の違いに、cGMP合成活性の違いが寄与している事が明らかになった。

以上の成果は視覚の生理・生化学的理解に多大の貢献を成すものと評価でき、理学博士の学位に値するものと認める。