



Title	The role of arrestin in carp rods and cones
Author(s)	富塚, 順子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52232
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、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

論文内容の要旨

〔 題 名 〕 **The role of arrestin in carp rods and cones**
(コイ視細胞におけるアレスチンのはたらき)

学位申請者 富塚 順子

脊椎動物の網膜には、桿体と錐体と呼ばれる、二種類の光受容細胞（視細胞）が存在する。これらの細胞は共に、受容した光刺激を電気応答に変換して二次ニューロンへと伝達する。視細胞の外節と呼ばれる部分には光受容蛋白質（視物質）が大量に存在し、視物質が光によって活性化すると、光情報伝達機構を経て、視細胞が電気応答を発生する。視細胞の応答が終息するためには、光によって活性化された視物質が不活性化される必要がある。桿体、錐体のいずれにおいても、活性型視物質は、視物質キナーゼによるリン酸化と、アレスチンの結合によって不活性化される。

桿体と錐体の光情報伝達機構は相同な蛋白質群で構成されているが、その相同な光情報伝達機構を経て生じた光応答の特性は、桿体と錐体とで大きく異なっている。桿体は光感度が高く、光応答は緩慢に終息するが、錐体は光感度が低く、その応答は速やかに終息する。光感度の違いから桿体は暗所で、錐体は明所ではたらく。光情報伝達機構を構成する蛋白質の多くには桿体型と錐体型が存在し、視物質キナーゼなど、そのうちのいくつかの蛋白質については、その性質や発現量の違いが桿体と錐体の光応答特性の違いに寄与することが、これまでに示唆されている。本研究では、光情報伝達機構を構成する蛋白質群のうち、アレスチンに着目した。視細胞におけるアレスチンのはたらきについては、錐体での生化学的な報告が少なく、桿体と錐体の光応答特性の違いにアレスチンが寄与するかどうか未だ明らかになっていない。そこで本研究では、桿体と錐体の分離・精製が可能なコイを実験動物として用いて、桿体と錐体の両視細胞におけるアレスチンのはたらきを生化学的に検討した。

まず、コイ網膜で発現するアレスチンを同定し、その局在と発現量を調べた。コイ網膜では、桿体に桿体型のアレスチンが二種類、錐体では、赤・緑錐体と青・UV錐体とで異なる種類の錐体型アレスチンが一種類ずつ発現していた。視物質あたりのアレスチンの発現量は、錐体では桿体と比べて約10倍多く、暗順応した視細胞外節でのアレスチン濃度も錐体の方が高かった。錐体では、アレスチンの発現量が視物質量の3倍程度であったことから、全ての視物質が活性化した場合でも、その全てに結合し得る充分量のアレスチンが存在していると言える。錐体のはたらく明所では多くの視物質が活性型となることから、錐体でのアレスチンの発現量の多さは、錐体の明所ではたらくを支える一因であると考えられる。次に、桿体と錐体における、アレスチンによる活性型視物質の不活性化反応を調べた。光によって活性化した視物質は、三量体G蛋白質であるトランスデュースインを活性化する。活性型視物質の活性が阻害されれば、活性化されるトランスデュースイン量は減少する。そこで、桿体と錐体の視細胞膜試料に、それぞれの細胞で発現しているアレスチンの大腸菌での発現蛋白質を添加してトランスデュースインの活性化量を測定し、アレスチンの添加によってトランスデュースインの活性化量が減少するかどうかを調べた。従来、アレスチンによる視物質活性の抑制は、活性型視物質がリン酸化された後にのみ起こると考えられていた。しかし今回、桿体と錐体のいずれにおいても、リン酸化される条件下のみならず、非リン酸化条件下でも、アレスチンの添加によってトランスデュースインの活性化量が減少することが分かった。そこで、光照射後の視物質へのアレスチンの結合を調べた。その結果、桿体、錐体ともに、視物質がリン酸化される条件下だけではなく、非リン酸化条件下でも、アレスチンの視物質への結合が見られた。非リン酸化条件下でのアレスチンの視物質への結合は、測定に用いた桿体型アレスチン2種類と赤・緑錐体に発現する錐体型アレスチンの3種類全てにおいて、一過的であり、光照射から時間が経つと、視物質へのアレスチンの結合量は減少した。この結果から、非リン酸化条件下でのアレスチンの添加によるトランスデュースイン活性化量の減少は、リン酸化されていない視物質へのアレスチンの一過的な結合によるものであると考えられる。今回得られた結果から、桿体においても錐体においても、アレスチンがリン酸化された活性型視物質だけではなくリン酸化されていない活性型視物質をも不活性化するという、視細胞におけるアレスチンのはたらきについての、従来とは異なるメカニズムが示された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (富 塚 順 子)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査 教 授	河村 悟
	副 査 教 授	倉光成紀
	副 査 教 授	小倉明彦
	副 査 准教授	吉野恵子

論文審査の結果の要旨

申請者は、アレスチンの新規の機能、およびその作用機構に関する新たな知見を得た。アレスチンは視細胞内に存在している。視細胞内では光検出蛋白質である視物質が光によって活性化され、それにより電気応答が発生する。活性化された視物質は光刺激終了後に不活性化される。アレスチンはこの活性化された視物質の不活性化を助ける働きを持つ。即ち、電気応答の終息に関わる分子である。従来の研究では、視物質は光受容後リン酸化されて不活性化されるが、その不活性化は不十分であり、そのため、アレスチンがリン酸化された視物質に結合し、視物質を完全に不活性化するとされていた。申請者は、アレスチンが従来の考え方と同様に、リン酸化された視物質に結合して活性化された視物質の不活性化を助けることを確認するとともに、リン酸化されていない視物質にも直接結合し、視物質を不活性化する事実を初めて明らかにした。このようなアレスチンの働きは、桿体視細胞と共に、錐体視細胞でも同様に観察された。また、アレスチンの発現量は桿体に比べて錐体の方が遙かに多いことも明らかにし、アレスチンの作用は錐体の方でより大きいことを示唆する結果も得た。

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と判断する。