

視物質と視細胞の機能多様化メカニズム Functional Diversity of Visual Pigments and Photoreceptor Cells.

七田 芳則 (SHICHIDA Yoshinori)
京都大学・大学院理学研究科・教授



研究の概要

多くの生物にとって、外界からの光シグナルは重要な情報源である。本研究では、視細胞・視物質を実験材料として、視物質の分子特性の違いをもたらす要因をアミノ酸残基のレベルで解析し、視細胞の機能変化を誘起する視物質の分子特性・アミノ酸残基を探索する。これにより、機能性タンパク質の機能変換と細胞・個体レベルの機能多様化との相関を検証する。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・動物生理・行動

キーワード：動物生理

1. 研究開始当初の背景

視物質は視細胞の光シグナル伝達系で最初に光を受容する機能性タンパク質であり、その分子特性の多様化は、視細胞機能の多様化の一つの要因となると考えられている。視物質の分子特性を *in vitro* で比較検討すると、それぞれが含まれる視細胞の生理的応答とは直接関係のない分子特性の違いも観測される。そこで、どのような分子特性の違いが実際の細胞機能の違いを生み出しているのかが重要な課題となっていた。また、視物質を含むオプシン類は分子進化の過程で多岐に多様化し、種々の機能を果たしていると考えられていたが、それらの分子メカニズムの解析が今後の問題として残されていた。

2. 研究の目的

本研究では、桿体視物質（ロドプシン）と錐体視物質について、視細胞応答に直接関わる分子特性を比較解析により決定する。また、種々のオプシン類の分子特性を解析し、生理機能との相関を検討する。これらを通じて、進化や多様性の原因となる機能性タンパク質の機能進化メカニズムを理解する。

3. 研究の方法

生体から分離・精製、あるいは培養細胞系で発現・精製した視物質・オプシン類の分子特性を分光学的・生化学的・分子生物学的手法を用いて解析する。また、遺伝子操作によるマウスモデルの作製を試み、行動学的な検討や、その視細胞の応答特性の測定を目指す。

4. これまでの成果

1) 錐体視物質を含む桿体視細胞の光感受性に関する分子レベルの研究

我々は桿体視物質（ロドプシン）と錐体視物質の性質の差が視細胞の特性にどのように反映するかを調べるため、錐体視物質を桿体視細胞にノックインしたマウスを作製した。そして、光感受性が1/3になることを見出した（図1）。そこで、この感受性の違いを明らかにするため、視物質の光反応やGタンパク質活性化過程を高速で測定できる装置を開発して検討した。その結果、野生型とノックインマウスの桿体視細胞の光感受性の違いは、含まれる視物質の反応速度の違いのみに由来することがわかった。ロドプシンは分子進化の過程で錐体視物質から分岐してきたが、この視細胞の光感受性の増大については分子の反応速度を変化させることで実現していることがわかった。

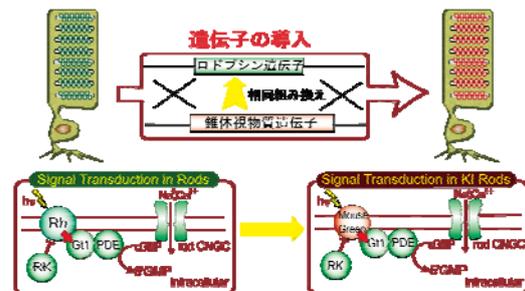


図1：錐体視物質を桿体を含むマウスモデルの作製

2) 脊椎動物における対イオンの獲得と紫外光受容体

多くのロドプシン類はN端から181番目にグルタミン酸を持ち、この残基が発色団のcounterionとして働き、可視光を受容するのに必須の役割を果たしている。一方、脊椎動物の視物質は113番目の位置にcounterionとなるグルタミン酸を新たに獲得し、高効率なGタンパク質活性化能を獲得した。そこで、進化の過程でどのようなメカニズムで新たな位置にcounterionを獲得したのかを検討した。その結果、counterionが必要のない紫外光受容体において、光感受性が増大するという選択によりこの位置にグルタミン酸が獲得され、その後、counterionとして働くようになったことが推察された(図2)。

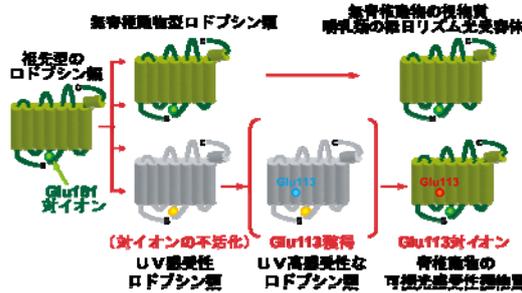


図2: Counterion 変位のモデル

また、なぜGタンパク質の活性化効率が増大したのかを検討した。その結果、両視物質に共通してヘリックスの動きを制御するアミノ酸残基があり、この残基と発色団との位置の違いによりヘリックスの動きが異なり、その結果として、Gタンパク質を活性化する構造が異なることが推定された。

3) 新規紫外光受容タンパク質の同定

オプシン類は7つのグループに分けられるが、その中で、Opn5のグループだけがタンパク質の性質が明らかでない唯一のものとして残っていた。我々はこれまでの経験に基づく試行錯誤を行い、ニワトリのOpn5の発現に成功した。ニワトリのOpn5は紫外光感受性を示し(図3)、GiタイプのGタンパク質を活性化することがわかった。また、視細胞

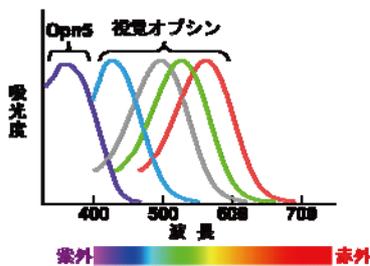


図3: Opn5の吸収スペクトル

以外のいくつかの神経細胞、さらには時刻や季節の認識に関わる脳内の松果体や視床下部室傍器官に発現していることがわかった。Opn5はニワトリで見いだされた最初の紫外光感受性タンパク質であり、ニワトリの光生理現象に紫外

光も重要な働きをすることがわかった。さらに我々はヒト、マウス、カエル、ゼブラフィッシュにも同様の遺伝子があり、培養細胞系での発現実験により、全てが紫外光感受性受容体であることを確認した。本研究は、ヒトもOpn5を用いて眼や脳内で紫外光を感受しているという世界で初めての結果である。

5. 今後の計画

当初予定していた研究計画は順調に進んでいる。今後は、当初の予定よりもさらに進んだ成果があがるよう努力する。視細胞の光感受性に関する研究では、測定精度をあげるためにナノディスクの利用を検討する。また、現在続けている行動実験が可能なマウスの作製に努力する。一方、オプシン類の多様化については、Opn5などの新規のオプシン類を含めたオプシン類の機能解析を進め、生物機能の多様性・進化の起因となる機能性タンパク質の機能変換の分子メカニズムの総合的理解をめざす。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

T. Yamashita, H. Ohuchi, S. Tomonari, K. Ikeda, K. Sakai and Y. Shichida (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 22084-9.
 K. Tsutsui and Y. Shichida (2010) *Biochemistry* 49, 10089-97.
 K. Sakai, Y. Imamoto, T. Yamashita and Y. Shichida (2010) *Photochem. Photobiol. Sci.* 9, 1490-7.
 H. Tsukamoto, A. Terakita and Y. Shichida (2010) *J. Biol. Chem.* 285, 7351-7.
 T. Matsuyama, T. Yamashita, H. Imai and Y. Shichida (2010) *J. Biol. Chem.* 285, 8114-21.
 M. Yanagawa, T. Yamashita and Y. Shichida (2009) *Mol. Pharmacol.* 76, 201-7.
 Y. Shichida and T. Matsuyama (2009) *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.* 364, 2881-95.
 K. Sato, T. Morizumi, T. Yamashita and Y. Shichida (2009) *Biochemistry* 49, 736-41.
 T. Morizumi, N. Kimata, A. Terakita, Y. Imamoto, T. Yamashita and Y. Shichida (2009) *Photochem. Photobiol.* 85, 57-62.
 K. Tsutsui, H. Imai and Y. Shichida (2008) *Biochemistry* 47, 10829-33.
 T. Yamashita, A. Terakita, T. Kai and Y. Shichida (2008) *J. Neurochem.* 106, 850-9.

ホームページ等

http://photo1.biophys.kyoto-u.ac.jp/shichida/home_jp.html