

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成30年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分
平成30年3月20日現在

非視覚の光受容におけるオプシンの分子特性と機能の関係
Contribution of opsin properties to non-visual functions

課題番号：15H05777

寺北 明久 (TERAKITA AKIHISA)

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授



研究の概要

視覚（眼）で機能するオプシンとは異なる分子特性を持つ非視覚オプシンの性質が、非視覚の光受容にどのように寄与するのかを、ゼブラフィッシュ松果体を用いて解析した。その結果、オプシンが持つ光再生と呼ばれる性質が、波長検出の光応答を生み出すことを見出した。また、松果体に発現する Opn3 やペロプシンのホモログの吸収特性や新規分子特性を明らかにした。

研究分野：動物生理・行動

キーワード：動物生理化学、光生物学、光受容、オプシン

1. 研究開始当初の背景

動物は光受容タンパク質（オプシン）を用いて光を受容し、その光情報を視覚や生体リズムの光調節などの視覚以外（非視覚）の光受容に用いている。脊椎動物では、非視覚オプシンは視覚オプシンとは異なる性質を持つが、その性質が非視覚の光受容機能にどのように寄与しているのかについては明らかになっていない。

2. 研究の目的

下等脊椎動物では、脳に存在する松果体と呼ばれる器官は、光の有無だけでなく光の波長（UV光と可視光）を識別し、非視覚の光受容器官として機能している。この松果体において、既に同定しているUV感受性と可視光感受性の2種類のオプシンの分子特性が、光受容細胞の波長検出応答やその応答が関与する機能にどのように寄与しているのかを、モデル生物であるゼブラフィッシュを用いて解析した。これまでの研究期間においては、オプシンの分子特性と松果体光受容細胞の光応答との関係を明らかにすることを主な目的とした。また、副松果体にも松果体オプシンの1つ（UV光感受性）を発現する光受容細胞が存在しているので、その光応答の記録と松果体光受容細胞の応答との比較も試みた。

3. 研究の方法

松果体オプシンの分子特性が、光受容細胞の波長検出や機能にどのように寄与している

のかについて、松果体光受容細胞、光受容細胞から情報を受け取り脳に伝達する神経節細胞、脳領域について、多光子顕微鏡を用いたカルシウムイメージングにより解析した。また、副松果体のUVオプシン発現細胞のカルシウム変化についても同様にイメージング解析を行った。解析には、カルシウムインジケータタンパク質であるGCaMPを発現する遺伝子導入ゼブラフィッシュに加えて、松果体オプシン遺伝子を破壊した変異体や松果体オプシンを視覚オプシンに置換した変異体を作製し、用いた。また、上述の2種類以外の松果体オプシンの分子特性についても、分光学的、生化学的に解析した。

4. これまでの成果

(1) オプシンの分子特性と光受容細胞の光応答との関係

2種類のオプシンのそれぞれの遺伝子を破壊した個体の松果体応答を解析した結果、可視光感受性のオプシンは、松果体の波長識別応答には関与しないことが示唆された。そのため、以下の2つの可能性について解析した。

① 他の可視光感受性オプシンの関与：

ゼブラフィッシュ松果体に発現するオプシンの中で、性質が未解明であった Opn3 とペロプシンの2種類のオプシンを解析した。これらのオプシン遺伝子はヒトにも存在する。吸収スペクトルを推測する方法を確立し、解析した結果、Opn3は青色光感受性オプシンであることを初めて明らかにした。また、ペロプシンのホモログは、「暗中でON、光吸収で

OFF」となる全く新しい分子特性を持つことを発見した。これらの特徴や組織学的な解析結果から、Opn3 とペロプシンは波長識別には直接関わらないことが示唆されたが、これらオプシンの分子特性は非視覚の光受容を理解する上で重要であると考えられた。

②UV 感受性オプシンのみによる波長識別：松果体 UV オプシンは、視覚オプシンとは異なり、その光産物が光を吸収すると元の状態にもどる光再生能を持つ。松果体オプシン遺伝子を破壊した個体および松果体オプシンを視覚オプシンに置換した変異個体について、GCaMP を発現している松果体光受容細胞のカルシウムイメージングを行った。その結果、光産物が可視光受オプシンのようにはたらく、1 種類のオプシンを含む1つの細胞が波長検出の光応答を行っていることを見出した。光再生能は祖先型オプシンの分子特性と考えられており、1 種類のオプシンによる波長検出が色覚の起源であることが示唆された。

(2) 波長識別に関わる神経節細胞と脳領域の同定

神経細胞全般に GCaMP を発現するゼブラフィッシュを用いて、多光子顕微鏡を用いたカルシウムイメージングにより、波長識別に関与する神経節細胞を同定した。稚魚では、この神経節細胞数が少ないことも見出したので、神経節細胞を起点として、波長識別情報が伝達される脳領域を解明できることが示唆された。また、同じ系統のゼブラフィッシュを用いて、眼を摘出しのち、脳全体のカルシウムイメージングを行い、松果体の光応答由来であると考えられるカルシウム応答を脳内に検出することに成功した。

(3) 副松果体のオプシン発現細胞のカルシウムイメージング

上述の松果体 UV オプシンを発現する副松果体の光受容細胞について、UV 感受性オプシンを含む細胞に特異的に GCaMP を発現するゼブラフィッシュを用いて、イメージング解析を行った。その結果、松果体の場合とは全く異なるカルシウム変化を捉えることに成功した。松果体と副松果体の UV 感受性オプシンは、異なる機能に関与している可能性が示唆された。

5. 今後の計画

神経節細胞を起点とした解析もあわせて、カルシウムイメージングにより、松果体の波長識別情報が処理される脳の領域を同定し、その領域から波長識別に関わる機能を推測する。その推測された機能を行動学的解析等により検証する。それにより、オプシンの分子特性や分子特性が作り出す波長検出応答が、どのように非視覚機能に寄与するのかを明

らかにする。また、副松果体において同じオプシンを発現する細胞の機能や特性と比較することにより、なぜ非視覚の光受容には、視覚とは異なるオプシンが利用されているのかを議論する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- 1 T. Nagata, M. Koyanagi, R. Lucas and A. Terakita: An all-trans-retinal-binding opsin peropsin as a potential dark-active and light-inactivated G protein-coupled receptor. *Sci. Rep.* 8, 3535 (2018)
- 2 寺北明久 日本比較生理生化学会賞 受賞 (2017)
- 3 M. Koyanagi, E. Kawano-Yamashita S. Wada and A. Terakita: Vertebrate bistable pigment parapinopsin: Implications for emergence of visual signaling and neofunctionalization of non-visual pigment. *Front. Ecol. Evol.* 11, 23 (2017)
- 4 T. Sugihara, T. Nagata, B. Mason, M. Koyanagi and A. Terakita: Absorption characteristics of vertebrate non-visual opsin, Opn3. *PLOS ONE* 11, e0161215 (2016)
- 5 E. Kawano-Yamashita, M. Koyanagi, S. Wada, H. Tsukamoto, T. Nagata and A. Terakita: Activation of transducin by bistable pigment parapinopsin in the pineal organ of lower vertebrates. *PLoS One* 10, e0141280 (2015)
- 6 M. Koyanagi, S. Wada, E. Kawano-Yamashita, Y. Hara, S. Kuraku, S. Kosaka, K. Kawakami, S. Tamotsu, H. Tsukamoto, Y. Shichida and A. Terakita: Diversification of non-visual photopigment parapinopsin in spectral sensitivity for diverse pineal functions. *BMC Biol.* 13, 73 (2015)

ホームページ等

<http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/biol/mphys/to pics.htm>