

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2008~2012

課題番号：20227002

研究課題名(和文) 視物質と視細胞の機能多様化メカニズム

研究課題名(英文) Functional Diversity of Visual Pigments and Photoreceptor cells

研究代表者

七田 芳則 (SHICHIDA YOSHINORI)

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：60127090

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：視覚、視物質、機能多様性、分子メカニズム、マウスモデル

1. 研究計画の概要

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反応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様々な多様化し、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。

そこで本研究では、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ことを目指し、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とを目的とした。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。

2. 研究の進捗状況

(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、光感度が1/3になることを見出した。そこで、この感度の違いの原因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、こと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。

(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。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** の培

養細胞系での発現に成功した。ニワトリの **Opn5** は紫外光感受性を示し、**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、網膜にある視細胞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。本研究により、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ことを世界で初めて示した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

当初計画した研究に関しては、多少のばらつきはあるが順調に進んでいる。また、オプシン類の多様化の分野で当初の予想を超える興味深い結果が得られ、さらにその研究の展開が見られ始めている。

4. 今後の研究の推進方策

当初予定した研究計画を着実に実行するとともに、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。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計20件)

- ① T. Yamashita, H. Ohuchi, S. Tomonari, K. Ikeda, K. Sakai and Y. Shichida (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 22084-9. 査読あり
- ② K. Tsutsui and Y. Shichida (2010) Biochemistry 49, 10089-97. 査読あり
- ③ H. Tsukamoto, A. Terakita and Y. Shichida (2010) J. Biol. Chem. 285, 7351-7. 査読あり
- ④ T. Matsuyama, T. Yamashita, H. Imai and Y. Shichida (2010) J. Biol. Chem.

285 8114-21. 査読あり

- ⑤ Y. Shichida and T. Matsuyama (2009) Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 364, 2881-95. 査読あり

[学会発表] (計76件)

- ① 矢野雅裕、今元泰、木股直規、山下高廣、七田芳則「生理的温度条件下における桿体、錐体視物質の光反応過程の比較解析」日本動物学会第81回大会 東京大学 (2010, 23rd, Sep.)
- ② Y. Imamoto, I. Seki, T. Yamashita, and Y. Shichida: "Low activation efficiency of transducin by cone visual pigment is attributed to the short lifetime of meta-II intermediate", 14th International Conference on Retinal Proteins, Santa Cruz (USA) (2010, 2nd, Aug)
- ③ Y. Shichida: "Functional Diversity of Vertebrate Rhodopsin", 15th International Congress on Photobiology, Dusseldorf (Germany) (2009, 20th, Jun)
- ④ Y. Shichida: "Functional diversity of visual pigments." 4th Asia Oceania Conference on Photobiology, Varanasi (India) (2008, 25th, Nov)
- ⑤ Y. Shichida: "Functional diversity of animal rhodopsins" 13th International Conference on Retinal Proteins Barcelona (Spain) (2008, 17th, June)

[図書] (計3件)

- ① 山下高廣、七田芳則 (2009) 脊椎動物の視細胞が光を受けるしくみ 見える光、見えない光 (日本比較生理生化学会編) 共立出版 pp. 37-56.
- ② 七田芳則 (2008) 「視覚の進化」ルネッサンス京都21 五感シリーズIV「眼がとらえた情報がこころに与える影響」大東肇・中井吉英 編 (オフィスエム)

[その他]

報道関連情報

2010年12月に米国科学アカデミー紀要に掲載された論文 (**Opn5 is a UV-sensitive bistable pigment that couples with Gi subtype of G protein**) が朝日新聞、京都新聞、毎日新聞、読売新聞に掲載され、共同通信社によって配信された。

ホームページ

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