

氏名(本籍)	梶崎 郁 (広島県)
学位の種類	博士(情報科学)
学位記番号	情博第96号
学位授与年月日	平成10年9月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科, 専攻	東北大学大学院情報科学研究科(博士課程) システム情報科学専攻
学位論文題目	無脊椎動物における感覚情報受容分子
論文審査委員	(主査) 東北大学教授 塚原保夫 東北大学教授 三浦幸雄 東北大学教授 嶋田一郎 (理学研究科)

論文内容要旨

これまでに、7回膜貫通型受容体スーパーファミリーに属する化学受容タンパク質としてアセチルコリンレセプターやアドレナリンレセプターなど多くの受容体が見つかっている。嗅受容体も同じファミリーに属する受容体タンパク質がある。これらの化学受容タンパク質は、リガンドがリガンド結合部位に結合することにより情報として細胞内に取り込む。受容体のリガンド結合部位は厳密に結合するリガンドを選ぶ。

このように受容体分子機構には、7回膜貫通型タンパク質を用いて、原理的に似たような方式を用い、かつ多くの種類のタンパク質を用意し、受容体にリガンドが作用し化学現象から物理現象まで幅広く外界からの信号を情報として取り入れるという共通な仕組みがある。本研究はこのような観点から、7回膜貫通型受容体に関して、味覚受容分子と視覚受容分子について考察した。

生物は多様な情報の受容機構を持っている。それは大きくわけて内的な情報(たとえばホルモンや血糖など)を受容する器官と、外的環境から情報を受容する器官に分けられる。その外的環境からの情報の受容は一般的に“感覚”と呼ばれている。感覚は大きく味覚、嗅覚、視覚、聴覚、触覚に分類され、それぞれ特有の器官を生物は持っている。それぞれの器官で、化学物質や物理現象(エネルギー)が受容される。

生物は、生物をとりまく外界から様々な情報自分の中に取り入れ、処理・判断しそれに対して何らかの出力(行動)をする。味覚は、摂食すべき食物(一般においしい、あるいは甘い)や忌避すべき物質(一般的にまずい、あるいは苦い)を選択するための個体の維持に必須な感覚である。最近では、そのことは必ずしも合目的的ではないとわれているが、重要な感覚であることは間違いないだろう。本研究では特に、これまでに知られていない味覚受容タンパク質を分離し、その性質を調べた。

化学受容分子である味覚受容分子はこれまでにまだ1つも同定されていない。その絶対量が極端に少ないこともそれを困難にしている原因だが、分子生物学的手法を用いた研究でも、既知の受容タンパクとのホモロジーによる検索がなされているが未だ同定されていない。また、一般的に味物質と受容分子間の結合率は低い。このため、味物質をプローブとして用い味覚受容分子を分離する試みは失敗に終わっている。近年、ハエの味覚器から Ozaki らにより糖受容候補タンパク質が分離された。これまで新しいタンパク質の研究は分子生物学的な手法に偏っていたのだが、この手法は極少量のタンパク質を生化学的に分離するという画期的な手法である。タンパク質の分離は生化学的な手法では、その量と

精製の度合いにより限界があった。しかし、本研究で用いた特殊な電気泳動法（2次元親和電気泳動法）はその困難を克服する手法であり、今後この手法を用いて新しいタンパク質の発見に貢献するものと思われる。

これまでは味受容分子に関する知見は、電気生理学的研究あるいは行動学的研究から、味受容分子の性質を推定するにとどまっていた。本研究では、その基礎となる、ショウジョウバエからの糖受容候補タンパク質を、2次元親和電気泳動法を用いて分離し、今後の研究への応用の可能性について論じる。また、この手法は受容タンパク質と糖との親和性を利用してタンパク質を分解することがその原理であるが、その際タンパク質と糖とは熱力学的な結合・解離を繰り返す。従って、熱力学的な解離定数を計算する事ができる。この基本的な現象を温度依存性について検討し、2次元親和電気泳動法での基礎データとすると共に、糖と糖受容体の結合反応がどのような物理現象なのか検討した。

ハエは口吻、ふ節及び翅に味覚感覚毛を持つ。毛の内部には軸方向に2本の管がある。そのうちの1つが外部に開口している。味受容細胞は4つありそれぞれの樹状突起4本がその管を通して毛の基部から先端開口部に向かってのびている。この毛の穴から水溶液に溶解している刺激物と味受容細胞の樹状突起にある味受容器がふれることにより、味受容細胞に対する刺激となる。昆虫では味受容細胞は双極性神経細胞である。味刺激を受容すると細胞の膜電位が変化し、膜電位が閾値を越えるとインパルス発生部位からインパルスが発生し、脳や2次ニューロンに投射される。味細胞は一つの毛の基部に4種類ある。それぞれ、糖受容細胞、水受容細胞、潮受容細胞そして第2塩受容細胞と言われている細胞である。

視覚は感覚の研究のなかでもっとも多く知見が存在する分野である。これまでに光受容分子は様々な生物において同定されている。光受容分子である視物質ロドプシンはアポタンパク質であるオプシンと、発色団（レチノイド）からなり、その基本的な光受容の原理は脊椎動物、無脊椎動物にかかわらずほぼ同じとよい。生物は、数種類の発色団とそれぞれの生物によって少しずつ違ったオプシンとの組み合わせにより、その生物の取り巻く環境に適した光受容システムを持つ。本論文では、ハエの視物質発色団である3-ヒドロキシレチナールの光学異性体に関する研究の報告をする。昆虫はレチナールと3-ヒドロキシレチナールの両方、または一方のみ発色団として用いる。3-ヒドロキシレチナールはレチナールのイオン環に水酸基が付加したものであるが、その水酸基の付加する方向により光学異性体が存在する。天然に存在する、イオン環に水酸基を持つレチノイド、カロチノイドはすべて光学異性体（3R）体であることがわかっている。しかし、3-ヒドロキシレチナールのみを発色団として用いている昆虫の中に、天然には存在しない（3S）体のみを発色団として持つものが見つかった。これらの昆虫は、わざわざ、（3R）体の3-ヒドロキシレチナールを（3S）体に変換して発色団として用いていると考えられるが、その理由はいまだわからない。しかし、発色団を光受容体におけるリガンドと考えると、視物質発色団として光学異性体のどちらでもよいわけではなく、ただ一種類のみ、厳密に決まっているという点が興味深い。一般に人工的に3-ヒドロキシレチナールを合成すると、ラセミ体、つまり2種類ある光学異性体が1:1の割合で生成される。光学異性体のうち一方しかないということは、光学異性化酵素が存在することを意味する。本研究では、以上述べてきた発色団の代謝のメカニズムに迫るために、まず、レチナールから、3-ヒドロキシレチナールへの水酸化酵素と光学異性体に関する報告をする。

ゲンジボタル (*Luciola cruciata*) とヘイケボタル (*Luciola lateralis*) を用いて、近紫外 (Ultraviolet) を受容するタンパク質とその局在に関する報告をする。ボタルはレチナールを発色団として持つ視物質と3-ヒドロキシレチナールを発色団として持つ視物質の2種類の視物質を持つ。その2種類の視物質に選択的光順応実験を行い、オプシンの違いにより応答波長特性の異なった視物質が存在することを示した。関ら (1993) によると、レチナールと3-ヒドロキシレチナールを同じオプシンを導入しても視物質の吸収波長特性はあまり変わらない。つまり、発色団ではなく、受容タンパク質であるオプシンの違いにより光の吸収波長特性が変化することが言える。さらに、本研究では発色団の量を指標に、視物質の量を検討した結果、これまで報告されている3種類の視細胞の大きさからそれぞれ別な細胞に別々の視物質が局在していることが示唆された。

主に実験に使った材料であるキイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) は今世紀初頭から、遺伝学の材料として多くの研究者に用いられ、これまでに多くの知見と突然変異体が得られている。本研究は、受容体タンパク質の性質に迫ることが目的の一つである。そのためにはショウジョウバエという材料は、その体の小ささからタンパク質を得ることは不利であるということが言えるが、それ以上に先に述べた利点が多いということから材料として用いることにした。

論文審査の結果の要旨

近年、分子生物学の驚異的な進歩に伴い、異なる器官や組織ばかりではなく種間にも、機能を担う分子やそれらの分子がおりなす分子システムに、多くの共通点があることが明らかにされつつある。本研究はまず、光受容分子の化学受容分子との共通点について論じ、光受容分子を、リガンドを取り込んだ化学受容分子であると定義し、この新たな視点に立ち化学受容分子一般を研究対象としている。研究が進んでいない点について実験を行ったものであり、従来の説を補強するとともに、新しい代謝路と新しい受容分子の発見のいとぐちをもたらした。

第1章は序論である。

第2章は背景である。化学受容分子研究についての最近の傾向と、本研究を進める上での基本的な態度について述べている。

第3章はこの論文でリガンドを受容分子内に取り込んだ化学受容分子として定義した光受容分子の発色団についての詳細な分析である。タンパク質に取り囲まれた色素部分の代謝について述べるとともにリガンドとしての厳密性を論じている。どの形の異性体がいかにして使われているかを明瞭に示したもので、化学受容分子受容の高い選択性を示したもので、世界で唯一の新しい成果である。

第4章は化学受容分子としてのオプシンの働きについてである。二種類のリガンドをもつ二種類のオプシンの、ホタル網膜内の分布について述べており、生態学的に興味ある問題を提起している。

第5章は新しい化学受容分子を見出すための新しい手法の解説と成果についてである。糖受容タンパク質の候補をこの手法により分離した。この未知のタンパク質の解離定数や解離反応時のエンタルピーを推定し、生体の糖に対する反応のそれらと比較し、糖受容タンパク質であることを結論した。これは糖尿病の分子治療の糸口になる可能性をも秘めており重要な発見である。

第6章は行動学的な研究で、幼虫と成虫が同一の糖受容分子の遺伝子を用いていることを明らかにしたものである。これは、幼虫の内部構造がほぼ完全に入れ替わって成虫になる完全変態のショウジョウバエを用いており、重要な新しい発見である。

第7章は結論である。

以上、要するに本論文は、多くの研究者が競合している分野で、新しい着眼点でいくつかの実験を行い、それぞれ重要な成果を得た。情報生物学およびシステム情報科学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士（情報科学）の学位論文として合格と認める。