

論文審査の結果の要旨

氏名 鳥居 雅樹

脊椎動物の光受容システムにおいては、ロドプシンファミリーの蛋白質が光受容分子として重要な役割を果たす。視覚機能の光センサーとして働く視物質は、ロドプシンに代表されるように網膜における存在量が多く、生体試料からの調達が比較的容易であることから、これまでに分子機能の解明が進んでいる。一方、視物質とは発現場所や分子の相同性を異にする「非視覚性」のオプシン類がここ 15 年ほどで多数発見されているが、それらの生理的役割や分子機能は、ほとんどのオプシンで未解明である。非視覚性オプシンの多くは、視物質に比べて発現している細胞が少なく、発現レベルが低いため、生体試料からの調製は困難であると予測される。この問題を解決するため、論文提出者は、非視覚性オプシンの組換え蛋白質の強制発現系を構築し、2種類のオプシンの性状を明らかにした。

本論文の前半部分（第2章）において、論文提出者は非視覚性オプシンの一つであるメラノプシン（OPN4）の解析を行った。OPN4は、遺伝子改変マウスを用いた一連の解析から、哺乳類において概日時計の光リセットに寄与していることが示されている。非視覚性オプシンのうち生理機能が解明された数少ない例の一つとして、OPN4は当該分野において注目を集めているが、波長感受性やG蛋白質シグナリングといった生化学的性質の未解明であった。論文提出者は、概日光受容のシグナリングが単一細胞内で完結し、かつ関与するG蛋白質が同定されているニワトリの松果体にモデルとして研究を展開した。まず、松果体に発現するOPN4を探索した結果、2種類の遺伝子（OPN4-1とOPN4-2）に由来する4種類のスプライス・アイソフォームが同定された。この2種類の遺伝子は、脊椎動物の共通祖先における遺伝子重複に由来する。OPN4の4種類のアイソフォームの光感受性を検証するため、論文提出者は、OPN4を強制発現させたHEK293T細胞の培養液に発色団11シス型レチナールを添加することにより、細胞内において色素を再構成するという手法を開発し、この方法により調製した蛋白質を分光学的解析に供することにより、2種類のアイソフォームが青色感受性の色素を生成することを明らかにした。続いて、論文提出者は、組換えOPN4を用いたGTP γ S結合アッセイによりOPN4のG蛋白質特異性を明らかにした。すなわち、OPN4-1は、分子の相同性から予測される通りGqを

光活性化したのに対し、OPN4-2はGqを活性化せず、GtならびにGi/Goを光活性化することが明らかとされた。これらの解析から、OPN4-1とOPN4-2は、波長感受性が類似しているが、G蛋白質特異性が互いに異なると結論された。これらの成果は、従来の細胞レベルまたは個体レベルでの解析から予測された波長感受性を蛋白質レベルで直接示した点のみならず、G蛋白質特異性の相違をはじめて明らかにした点で意義深い。

本論文の後半部分（第3章）においては、ニューロプシン（OPN5）という別の非視覚性オプシンの光感受性が検証されている。OPN5は、哺乳類のゲノム配列から発見された非視覚性オプシンであるが、既知のオプシン類との相同性が低く、レチナールと結合して光感受性をもつのか否かといった基本的な点も含めて未知のオプシンであった。本論文の前半部分において確立した強制発現の技術を応用することにより、論文提出者は、OPN5が11シス型レチナールと結合して近紫外光に感受性を示す色素を生成すること、ならびに、生成した色素が双安定な光反応を示すことを明らかにしている。この結果は、哺乳類における近紫外光依存性の新しい光生理現象の発見につながると期待される知見であり、光生物学分野への貢献は大きいと評価できる。

なお、本論文は、和田昭盛氏、七田芳則氏、寺北明久氏、岡野俊行氏、小島大輔氏、仲村厚志氏、深田吉孝氏、との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究計画を考案し、分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分と判断する。

審査時点での本論文は、専門的な実験手法への説明や充分ではなかった。また、組換え蛋白質の調製法の開発が論文内容の柱の一つをなすにも拘らず、手法の確立に至るまでの記述や、調製した蛋白質の検証への言及が乏しかった。そのため、審査委員会では論文の改変を要求した。これを受け、論文提出者は該当する箇所に説明と記述を加え、さらに、図を追加して調製した蛋白質に対する検証が丁寧に行われていることを示した。また、本論文には初歩的な英語のミスが散見したが、改変後の論文では正確な英語により表現されていた。以上から、審査委員会は全員一致で合格と判断した。

したがって、審査委員会は論文提出者に博士（理学）の学位を授与できると認める。