

論文審査の結果の要旨

氏名 白木 知也

脊椎動物は視覚の光受容細胞として、性質の大きく異なる2種類の視細胞（桿体と錐体）をもつ。これらに加え、網膜の高次ニューロンや、松果体、脳深部および色素胞などの眼外組織にも光受容細胞を備えており、視覚以外の光感覚に利用している。論文提出者は、遺伝学的モデル生物であるゼブラフィッシュを用いて、これら多様な光受容の分子機構について解析を行った。

本論文の第二章において、論文提出者は非視覚性の光生理現象として体色変化に着目した解析を行った。下等脊椎動物は視細胞以外に発現するオプシン型の光受容分子を数多くもつが、これらの非視覚型オプシンの生理機能はほとんど分かっていない。近年の研究により光依存的な体色変化が視覚とは別の光受容経路を使う可能性が示唆され、非視覚型オプシンの生理機能の一つなのではないかと考えられた。そこで論文提出者は、ゼブラフィッシュ幼生を「生きたまま」かつ「動かない」ように固定する方法を開発し、光依存的な体色変化の測定を行った。その結果、体色変化のパターンが発生段階に応じて変化することを見出した。特に、発生初期の応答は眼球を必要とせず、非視覚型オプシンの関与が示唆された。

本論文の第三章においては、論文提出者は視覚を担う視細胞である桿体と錐体の比較研究を行った。脊椎動物の網膜には、薄明視を担う桿体と明所で機能する錐体という2種類の視細胞が存在する。その光応答特性はそれぞれが担う視覚とよく符合し、桿体は高感度であり、錐体は高い時間分解能をもつ。論文提出者は、この光応答特性の差異を生み出す分子として、光受容分子の不活性化を制御するキナーゼ GRK に着目して研究を進めた。先行研究において、錐体 GRK (GRK7-1) の活性が桿体 GRK (GRK1A) よりはるかに高いことが明らかとなった。このことから、論文提出者は GRK 活性が光応答特性に寄与すると考え、GRK7-1 を桿体に異所発現するトランスジェニック (GRK7-tg) 系統の光応答解析を行った。まず、吸引電極法を用いて桿体の単一細胞レベルにおける光応答を測定し、野生型と GRK7-tg の桿体の性質を解析した。その結果、GRK7-tg 桿体では、野生型の桿体に比べて光感度が約 1/8 に低下していること

が判明した。さらに、GRK7-tg の個体レベルの視覚を調べるため、視覚性眼球運動 (optokinetic response, OKR) を指標にした解析を行った。論文提出者は、錐体が機能しない突然変異 (*eclipse*) をバックグラウンドにもつ個体を用いることにより、桿体由来の OKR 成分を解析することに成功した。その結果、OKR における眼球追従速度の光強度依存性が、GRK7-tg 個体ではコントロール個体と比較して明るい方向へとシフトしていることを見出した。これらのことから、GRK 活性の違いが、桿体・錐体間の光感度を規定している可能性が示された。

本論文の第四章において論文提出者は、光受容細胞の差異を生み出す分子機構を理解すべく、光受容細胞間の遺伝子発現プロファイルと比較解析した。論文提出者はまず、トランスジェニック個体から EGFP ラベルされた桿体・錐体・松果体光受容細胞を蛍光セルソーターを用いて分取した。分取した細胞の遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイにより比較した結果、光受容細胞間で発現量の大きく異なる遺伝子を新たに多数同定することに成功した。この解析から、硬骨魚類特異的な遺伝子複製により生じた遺伝子対のうち4対が、それぞれ桿体あるいは錐体特異的に発現するように機能分化していることが判明した。

脊椎動物における光受容システムの包括的な理解には、マウスに代表される夜行性げっ歯類だけでなく、下等脊椎動物を用いた解析が不可欠である。ゼブラフィッシュにおける体色変化や視細胞機能の測定方法を確立した本論文の成果は、光生理現象の分子解析において重要な基盤となるものである。また、光受容細胞における遺伝子発現情報は、光受容細胞の共通性や相違の理解に向けて基礎となる成果であり、当該分野の研究を大きく発展させ得ると期待される。

なお、本論文の第二章は小島大輔氏、深田吉孝氏との、第三章は Fivos Vogalis 氏、Jaakko Jarvinen 氏、Trevor Lamb 氏、河村悟氏、西脇優子氏、政井一郎氏、川上浩一氏、杉山純一氏、和田恭高氏、小島大輔氏、深田吉孝氏との、第四章は小島大輔氏、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であると判断する。したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。