

学位授与番号 医博甲第914号  
学位授与年月日 平成元年6月30日  
氏名 山形 要人  
学位論文題目 光受容細胞に特異的な蛋白質 Visinin の cDNA クローニングとその解析

論文審査委員 主査 東田 陽博  
副査 根岸 晃六  
三木 直正

### 内容の要旨および審査の結果の要旨

visininは、ニワトリ網膜錐体細胞に特異的な分子量約24,000の蛋白質である。本研究では、visininの錐体細胞における機能を明らかにするために、そのcDNAのクローニングを行い、その諸性質を調べた。

ニワトリ網膜mRNAの $\lambda$ gt11ライブラリーを作成し、抗visinin血清を用いてスクリーニングを行った。一種類の陽性クローンが得られ、これを大腸菌に溶原化し、Westernブロッティングを行うと、 $\beta$ -ガラクトシダーゼとの融合蛋白質のみが反応した。また、エピトープ選択法で、visininに対する純粋な抗体を作成し、Westernブロッティングを行うと、網膜の24KDa蛋白質のみが反応した。また、この抗体を用いて、免疫組織化学を行ったところ、網膜の視細胞内節のみに染色が認められた。

Northernプロット解析を行ったところ、visinin mRNAは、網膜だけに発現しており、約12S (1,000ヌクレオチド)の長さであった。網膜切片のin situハイブリダイゼーションを行うと、visinin mRNAが視細胞内節〜外顆粒層にかけて認められた。また、Southernプロット解析より、visinin遺伝子が、ニワトリゲノム中に単一コピーとして含まれていることがわかった。

別のニワトリ網膜cDNAライブラリーより、ほぼ完全長のvisinin cDNAを得た。このcDNAの塩基配列より、visininが192個のアミノ酸からなり、3個のE-Fハンドを持つ、カルシウム結合蛋白質であると考えられた。その分子量は22,452、等電点は5.0で、二次元電気泳動より求められた分子量、等電点とはほぼ一致していた。visininは松果体にも発現しており、培養松果体に光を照射し続けると、暗所で培養した場合に比べて、明らかにvisinin陽性細胞が増加していた。また、同じような条件下のニワトリ松果体のvisinin量をドットプロットで調べると、約3倍増加していることがわかった。また、松果体に発現しているvisinin mRNAは、網膜とはほぼ同じ長さであった。

以上の結果より、visininは、網膜光受容細胞および松果体に存在するカルシウム結合蛋白質で、光により誘導されることから、錐体細胞では、カルシウムを介する光変換(明順応)に関与している可能性が示唆された。

本研究は、網膜錐体細胞に特異的なカルシウム結合蛋白質の構造及び機能を明かにした論文であり、錐体細胞の光変換機構の解明に寄与するところの大きい労作と認められた。