

総説：視細胞における情報伝達機構

大 黒 浩

札幌医科大学医学部眼科学講座 (主任 中川 喬 教授)

REVIEW: Signal transduction mechanism in photoreceptor cells

Hiroshi OHGURO

Department of Ophthalmology, Sapporo Medical University, School of Medicine
(Chief: Prof. T. NAKAGAWA)

ABSTRACT The molecular mechanism of the visual transduction pathway in vertebrate photoreceptor cells

Vertebrate photoreceptor cells, rods and cones, are specially designed and differentiated neuroal cells for detecting light signals. Both cells are composed of three compartments, the outer segment, inner segment and synapse. The outer segments contain all of the protein components for producing electrical signals in response to a capture of a photon. Rhodopsin, a photoreceptor protein in rods, absorbs light and undergoes a photobleaching intermediates activating GTP binding protein called transducin. Activated transducin in turn activates cGMP phosphodiesterase that hydrolyzes cytosolic cGMP. The closure of cGMP gated on the plasma membrane results in the generation of hyperpolarized membrane potential. This light-triggered cascade reaction is terminated and completely restored to the dark levels by another enzymatically controlled reaction. Photoactivated rhodopsin is phosphorylated by rhodopsin kinase. The regulatory protein called arrestin specifically binds and makes a stable complex with the phosphorylated photolyzed rhodopsin preventing transducin activation. Membrane associated all-trans retinol dehydrogenase metabolizes phosphorylated photolyzed rhodopsin to phosphorylated opsin after removal of arrestin from the complex. Phosphorylated opsin is dephosphorylated by proreinin proshpatase 2A and regenerates with 11-*cis*-retinal.

I have engaged in research exploring rhodopsin phosphorylation and posttranslational modifications of transducin γ subunit, and found some novel insights in this fields. In this article, I reviewed the latest information regarding the molecular basis of the visual transduction pathway in the photoreceptor cells. (Received September 6, 1995 and accepted October 13, 1995)

Key words: Phototransduction, Rhodopsin, Transducin, Phosphorylation
Visual adaptation, Review

1 緒 言

我々の持つ視覚により美しいものを見て感動したり、テレビや映画を見て興奮することができる。これは光信号が眼球後面の網膜視細胞で感知される結果発生した電気信号が、網膜内および脳内の神経細胞で順次情報処理および統合され視覚が成立するためである。この一連の視覚の情報処理機構は単に視覚生理のみなら

ず広く neuroscience を理解する際の基本となっている。なぜなら最近の生化学及び分子生物学の進歩により明らかになった視細胞での細胞内情報伝達の分子機構は、ホルモン及び神経全般の細胞内情報伝達と共通であるからである。ヒトの視細胞の働きは性質上次の3つに分類されて考えられる¹⁾。光刺激を敏感に感知し電気信号に変換する(視興奮)²⁾。目まぐるしく変化する外部の光情報に対応するために視興奮を直ちに停止し、次

の光刺激に備える(視興奮の停止)³⁾。外部の光環境に応じて視興奮の感度を調節する(順応)。これらの視細胞機能は視細胞外節中に存在する酵素反応カスケードにより制御されている。本総説では筆者が今までに行ってきた研究成果を中心に視細胞の細胞内情報伝達機構がどこまで明らかになり何が問題になっているのかについて解説する。

2 視細胞の構造

網膜最下層に存在する視細胞には、薄明りのもとで敏感に反応し明暗の識別に関与する桿体と、昼間の強い光のもとで作動し色覚に関与する錐体の2種類がある。錐体にはそれぞれ赤、緑および青のいずれかの光に対して感受性を持つ視細胞が存在する。解剖学的には、いずれの視細胞も縦なかに分化し、光信号の受容と伝達に必要な全ての蛋白質を含む外節、核やミトコンドリアなどを含む内節および信号を次の細胞に伝えるためのシナプス部分より構成される(Fig. 1)。桿体外節の内部には数百もの円板膜と呼ばれる小胞が層状に積み重なっている。この円板膜には色素蛋白質の光受容体ロドプシンが存在する。形態学的に円板膜は形質膜とは孤立して存在している(Fig. 1)ため、ロドプシンで受容された光信号が電気信号へと変換されるには、環状GMP(cGMP)を2次情報伝達物質とする処理機構(cGMPカスケード)が存在する¹⁻⁵⁾。一方、錐体外節には円板膜は存在しないかわりに形質膜がひだ状に内部にたたみこまれている。この形質膜中に含まれる各種色素蛋白質により光信号が受容されている。この信号は桿体のcGMPカスケードとほぼ同じ機構により電気信号に変換されることが示唆されている。

3 視興奮の分子機構

3.1 cGMPカスケード

桿体外節では、cGMPカスケード(Fig. 2)と呼ばれる処理機構により光信号を電気信号(受容器電位)へ変換している。この分子機構は、1) 光受容による視物質の褪色、2) トランスデューシンの活性化、3) cGMPホスホジエステラーゼ(PDE)の活性化によるcGMPの分解、4) cGMP依存性チャンネルの閉鎖の4段階の過程から成る¹⁻⁵⁾。

3.2 視物質(ロドプシン)の褪色

桿体外節に含まれる円板膜には、1枚当り $3-4 \times 10^6$ 分子もの視物質(ロドプシン)が存在する。ウシロドプシンは、分子量3万9千でアミノ酸348残基からなるオプシンと呼ばれる蛋白質に11-シスレチナル(ピ

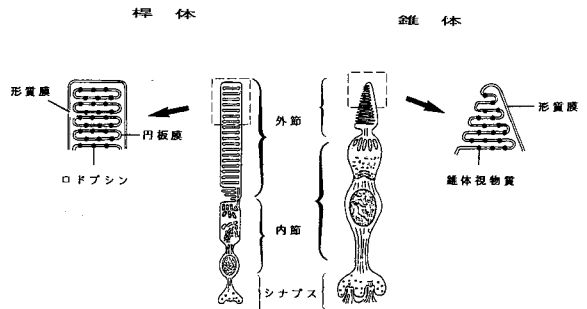


Fig. 1 脊椎動物視細胞の構造

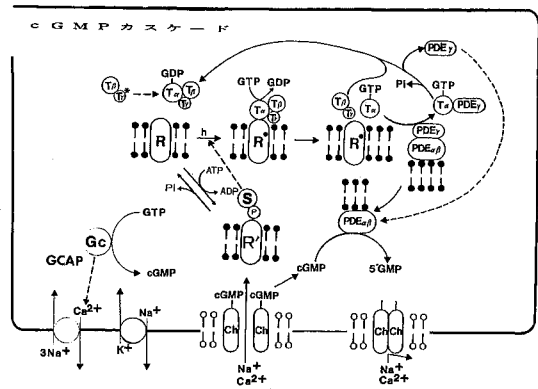


Fig. 2 cGMPカスケード

R: ロドプシン, R*: 光褪色ロドプシン, R': 燐酸化ロドプシン, T: トランスデューシン, PDE: ホスホジエステラーゼ, S: アレスチン, Gc: グアニル酸シクラーゼ, GCAP: グアニル酸シクラーゼ活性化蛋白質, Ch: cGMP依存性チャンネル, ♀♀: 円板膜, ♀♂: 形質膜

タミンAのアルデヒド体)が発色団として共有結合した色素蛋白質である⁶⁾。ロドプシンのペプチド鎖は円板膜の脂質2重層を7回貫通する構造を持ち(Fig. 3)、 β -アドレナリン受容体やムスカリン受容体などのG蛋白共役受容体と同じ範疇の受容体蛋白質と考えられる。オプシンの中に組み込まれたレチナルに光量子が吸収されると11-シス型からオールトランス型への異性化がおこる。この異性化がオプシンの局所構造を変化させ、さらにはロドプシン全体の構造変化をもたらす。この段階的なロドプシンの構造変化により、吸収特性の異なったバゾロドプシン、ルミロドプシン、メタロドプシンIなどの褪色中間体が次々生成されていく。その過程で比較的安定なメタロドプシンII中間体が生成されるとオプシンの細胞質中に突き出したペプチド鎖部

分の構造が激変し、GTP 結合蛋白質(トランスデューシン)を結合、これを活性化し、ロドプシンの構造変化による光受容情報をトランスデューシンへ伝達することになる。

3.3 トランスデューシンの活性化

トランスデューシンはそれぞれ分子量が3万9千の α サブユニット($T\alpha$)、3万6千の β サブユニット($T\beta$)、及び8千の γ サブユニット($T\gamma$)の3量体より構成されている(生理的条件下では、 $T\beta$ は $T\gamma$ と強い親和性を持ち $T\beta\gamma$ 複合体を形成している)⁴⁾。GTP及びGDPの結合部位は $T\alpha$ に存在し、この結合を $T\beta\gamma$ が制御している。暗中には、 $T\alpha$ はGDPを結合しているが、この $T\alpha$ -GDPは $T\beta\gamma$ と親和性があり、 $T\beta\gamma$ と3量体($T\alpha$ -GDP \cdot $T\beta\gamma$)複合体を形成している。光刺激によりメタロドプシンIIが生成され、3量体 $T\alpha$ -GDP \cdot $T\beta\gamma$ 複合体がメタロドプシンIIと会合すると、すみやかに $T\alpha$ に結合していたGDPは細胞質中のGTPに置換される⁷⁾。これがトランスデューシンの活性化機構である。GTPを結合した活性型 $T\alpha$ ($T\alpha$ -GTP)は、 $T\beta\gamma$ より遊離し、次にcGMPホスホジエステラーゼ(PDE)を活性化させるのである。

3.4 $T\beta\gamma$ の分子種と翻訳後修飾

G蛋白質 $T\alpha$ は上記のように直接表舞台で活躍するのに対し、 $T\beta\gamma$ はそれ自体の生物活性を持たず $T\alpha$ の働きを支えるいわば影の立て役者である。そのため最初世界の研究者の注目の中心は $T\alpha$ に向けられていた。そこで筆者は、早くから $T\beta\gamma$ に着目して研究を開始したところ $T\beta\gamma$ には活性型および不活性型の2種類の分子種が存在することを発見し⁸⁻¹⁰⁾、これがトランスデューシンの生物活性を調節している可能性を示唆した。即ち、活性型 $T\beta\gamma$ はメタロドプシンII存在下における $T\alpha$ へのGTP結合を促進する活性は不活性型 $T\beta\gamma$ よりも約30倍高かった⁹⁾。さらに両 $T\beta\gamma$ 分子種を用いて百日咳毒素(IAP)存在下での $T\alpha$ のADPリボシル化反応(IAPは $T\alpha$ -GDP \cdot $T\beta\gamma$ の3量体のみを基質として $T\alpha$ にADPリボースを結合させる)を検討したところ、活性型 $T\beta\gamma$ のみ $T\alpha$ のADPリボシル化を促進させた¹¹⁾。これらの生物活性の違いをもたらす両分子種の構造上の違いを検討した結果、活性型 $T\beta\gamma$ の $T\gamma$ のC末端システイン残基は翻訳後修飾によるファルネシル化及びカルボキシルメチルエステル化を受けているのに対し、不活性型 $T\beta\gamma$ の $T\gamma$ のC末端にはそのようなシステイン残基がないことがわかった^{12,13)}(Fig. 4)。したがって、以上の結果から我々は、 $T\gamma$ のC末端ファルネシル化システインはトランスデューシンの生物活性発現に必須

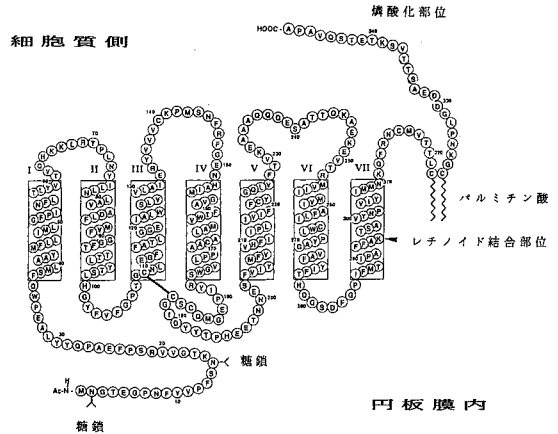


Fig. 3 牛ロドプシンの一次構造

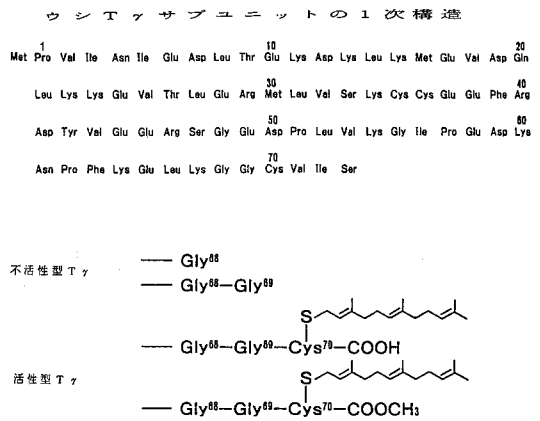


Fig. 4 活性型および不活性型牛 $T\gamma$ の一次構造

であると結論した。さらにそれぞれファルネシル化およびカルボキシルメチル化の有り無しでロドプシン退色中間体との結合性を検討したところ、両修飾とも膜との結合に重要であることもわかった¹⁴⁾。この発見とほぼ同時期に同様の翻訳後修飾が、他の3量体G蛋白質¹⁵⁾、ras蛋白¹⁶⁾など、多くの細胞情報伝達や成長制御に関する蛋白質において普遍的に認められることがわかった。興味深いことに $T\alpha$ やあとから述べるGCAPやrecoverinにも疎水性の翻訳後修飾(Nアシル化)が存在することがわかった¹⁷⁾。しかし、2種類の $T\beta\gamma$ 分子種がcGMPカスケードの中でどのような調節を行っているのかはまだ解明されておらず、今後の研究課題の一つである。

3・5 PDEの活性化によるcGMPの分解

PDE (cGMP ホスホジエステラーゼ)は、 $T\alpha$ -GTPにより活性化されcGMPを5'GMPに加水分解する酵素である。PDEは構造上、分子量が8万8千の α 、8万4千の β 及び1万3千の γ サブユニットが2つ結合した4量体構造を持つ。 α 及び β サブユニットがPDE活性を持ち、このPDE $\alpha\beta$ サブユニットによる酵素活性に対し γ サブユニットは抑制的に作用する。すなわち、PDE活性は、 γ サブユニットが α または β サブユニットに結合したり、離れたりする($T\alpha$ ・GTP依存的)ことにより制御されている。

3・6 cGMP依存性チャンネルの閉鎖

暗所では、細胞膜内外のイオン濃度が平衡状態にあるため-30--40 mVの静止電位を示している。光照射により活性化されたPDEが、細胞質中のcGMPを分解すると細胞質中のcGMP濃度が急減し、cGMP依存性チャンネルが閉鎖する。これにより内向きのカチオンの流れが停止すると細胞内外のイオン格差が拡大し、過分極性の電位が発生する。

以上述べた過程が、桿体視細胞における光情報伝達のcGMPカスケードである。このカスケード反応中で、1分子のロドプシンの褪色に伴い約500分子のトランスデューシンが活性化され、結果として 10^6 分子ものcGMPが分解され、イオンチャンネルが閉鎖されることから、視細胞はわずかに1個の光量子も逃さずに捕らえ、電気信号へ変換することができると考えられている。

4 視興奮の停止とロドプシンの再生の分子機構

我々の視覚は単に一瞬の場面を捉えるのみならず刻々と変化する映像を捉えることができる。これは視細胞が光信号を傍受した直後にその情報を消し去り次の光信号に備えるためである。そのためには光褪色されたロドプシンが不活化され再びロドプシン自身も光褪色前の状態に戻らなくてはならない。これが視興奮の停止とロドプシンの再生である。その分子機構として次に示すロドプシンの燐酸化から始まる酵素カスケードが考えられている。光褪色されたロドプシンはG蛋白質を活性化する一方ロドプシンキナーゼ(RK)¹⁸⁾またはプロテインキナーゼC(PKC)^{19,20)}により燐酸化される。燐酸化されたロドプシン褪色中間体はアレスチン(48K蛋白質、またはS抗原とも呼ばれ非常に抗原性が高い。多発性硬化症では神経障害の2次性反応として血清中にアレスチンの抗体ができる^{21,22)})と結合し複合体を形成する²³⁾と、ロドプシン褪色中間体とG蛋白質

との共役が断たれ信号が停止する(G蛋白質の増幅を停止させる²⁴⁾)。次に燐酸化ロドプシン褪色中間体/アレスチン複合体からレチノールデヒドロゲナーゼがオールトランスレチナルを引き抜くと同時にアレスチンを燐酸化オプシンから遊離させる。燐酸化オプシンはプロテインフォスファターゼ2Aにより脱燐酸化されたのち11-シスレチナルと結合しロドプシンに再生される²⁵⁾。これら一連の化学反応によりロドプシン褪色中間体が再びロドプシン(暗状態)に再生される。

4・1 ロドプシンの燐酸化及び脱燐酸化

視細胞桿体外節中には多くの蛋白質が光感受性に燐酸化または脱燐酸化されている²⁶⁾が、なかでも最も詳細に研究されているのがロドプシンの燐酸化である。1970年代前半3つの研究グループがほぼ同時に、視細胞桿体視物質ロドプシンが光感受性に燐酸化することを見いだした²⁷⁻²⁹⁾。Kuhnは³²Pでラベルされた燐酸を体内に投与したカエルを用いて*in vivo*で光依存的にロドプシンの燐酸化および脱燐酸化が起こっている³⁰⁾ことを証明した。その後の生化学的研究により光褪色したロドプシン1分子当り最高7-9分子もの燐酸基が導入されることが明らかにされた^{31,32)}。ロドプシン燐酸化の生理的意義として燐酸化ロドプシン褪色中間体に特異的にアレスチンが結合する²³⁾とG蛋白質の活性化を競合的に抑制する(アレスチン分子の多くの部位が燐酸化されたロドプシン褪色中間体の細胞質側に強固に結合する³³⁾)ことから、これが視細胞の視興奮の不活性化機構に関与しているものと考えられている。最近筆者らの研究グループは燐酸化されていないロドプシン褪色中間体に結合するアレスチンのsplice variant (p44)を発見し、ロドプシンの燐酸化を必要としない不活性化機構が存在することを明らかにした³⁴⁾。

4・2 ロドプシンキナーゼ(RK)とプロテインキナーゼC(PKC)

RKはセリン/スレオニンキナーゼで、分子量6万3千のポリペプチドである。構造上RKはロドプシンとの結合を制御するN末端ドメイン、触媒ドメイン、自己燐酸化部位およびファルネシル化Cys残基を含むC末端ドメインより成る^{35,36)}。我々のグループはRKの自己燐酸化部位のアミノ酸残基を置換したmutantを用い、この部位がロドプシンの燐酸化部位を変化させること³⁷⁾や、RKの自己燐酸化によりRKと膜との結合性が変化すること³⁸⁾からRKの自己燐酸化はRKの生物活性を制御しているものと推定した。一方PKCは分子量が約80Kで、細胞内にCaイオンが導入される事にもない細胞内で増加するジアシルグリセロール(DG)

により活性化され、光感受性にロドプシンを磷酸化すると推定されている^{19,20)}。しかし光受容後視細胞桿体外節中のCaイオンは低下することからPKCがロドプシンをどのように磷酸化し、光によりどのような制御を受けるのか曖昧であることから、PKCによるロドプシン磷酸化の存在に疑問視する意見も少なくない。

4・3 ロドプシンの磷酸化数と部位

ロドプシン1分子あたりの磷酸化数は、1-9個と報告により様々である。Findlayらは、ロドプシンの磷酸化部位を直接決定するために酵素消化とアミノ酸分析及びアミノ酸配列分析によりC末端近傍のセリン(334, 338, 343)及びスレオニン(335, 336)が磷酸化すると報告した³⁹⁾。筆者はロドプシンの磷酸化数および磷酸化部位と機能の関係を明らかにするために、磷酸化部位を精密に測定する方法を逆相HPLCカラムによるロドプシンC末端の精製とエレクトロスプレイマススペクトロメーター(ES/MS)による分析法を用いて確立した。その結果、ロドプシンは、時間経過と共に338 Ser, 343 Ser, 336 Thrの順に磷酸化されることがわかった⁴⁰⁾。次に筆者は、この方法を用いて視細胞桿体外節内でロドプシンの磷酸化数と部位を制御する機構の検討を行ったところ、1) アレスチンとの結合、2) レチノールデヒドロゲナーゼによるロドプシン褪色中間体の代謝の2つの反応段階で磷酸化が1分子当り最高3箇所までしか進まないことがわかった⁴¹⁾。従って以前1分子当り7-9箇所磷酸化されるという報告は生化学操作に伴うartefactによることが示唆された。さらにマウスを用いた*in vivo*でのロドプシンの磷酸化を検討したところ、ロドプシンの磷酸化が視興奮の停止のみならず順応にも関与するという驚くべき事実を発見した。

5 順応の分子機構

視覚のもう一つの特徴としてその感度が背景光の強弱によって変化すること(即ち順応)がある。視細胞レベルにおける順応の分子機構にはCaイオンとロドプシンの磷酸化が関与することが示唆されている。まず視細胞におけるCaイオンの役割として、細胞内のcGMP濃度の調節がある。即ち視細胞が光刺激に反応し一連の酵素反応が作動した結果、細胞質中のcGMPが減少することが直接細胞膜にあるイオンチャンネルを開閉することは既に説明したが、一度減少したcGMPは次の刺激に備えて元の濃度レベルに戻らなくてはならない。この過程にCaイオンが関与することがわかっていて、暗の中では細胞内Caイオン濃度は比較的高いが光感受性に閉鎖したカチオンチャンネルのために細胞

外からのCaイオンの流入が減少するために細胞内Ca濃度も減少する⁴²⁾。この細胞内Caイオン濃度の変化に呼応して少なくとも2つのCa結合蛋白質が作動すると考えられている。第一としてGCAP(Guanylate Cyclase Activating Protein)はCaイオン濃度依存的にグアニル酸シクラーゼ(GC: GTPからcGMPを合成を触媒する酵素)活性を制御する⁴³⁾。もう一つのp26(リカバリンまたはSモデュリンとも呼ばれる)は最初GCを制御する蛋白質と考えられたが、後になって間違いであることがわかった。その代わり最近これがロドプシンの磷酸化を制御し順応に関与することが示唆されている⁴⁴⁾。

5・1 ロドプシン磷酸化及び脱磷酸化による順応の制御機構

生化学を得意とする者にとって生体化学反応を直接観察することはほとんど現時点で不可能な問題である。実際の生体内でロドプシンは光刺激に応じてどの部位がまた1分子当りどの程度磷酸化されまたどのようにして脱磷酸化されるのだろうか。この究極の生体内における磷酸化および脱磷酸化反応を検討するために筆者らはマウスを用いて検討を行った⁴⁵⁾。異なった光環境下に順応させたマウスをけい椎脱臼により犠牲にした直後、眼球を摘出切開した後網膜をロドプシンキナーゼおよびフォスファターゼ阻害剤を含んだ溶液中で激しく攪拌した。次にスクロース勾配速心法により円板膜を分離し、酵素消化で得られたロドプシンC末端ペプチドをヘプタフルオロ酢酸存在下でHPLCカラムで精製することにより多磷酸化、単磷酸化及び非磷酸化ペプチドを完全に分離した⁴⁶⁾。暗順応させたマウスからは非磷酸化ロドプシンのみが検出された。フラッシュまたは蛍光灯(30分間)による光刺激を加えたものでは非磷酸化ペプチドに加え2種類の単磷酸化ペプチド(磷酸化部位は質量分析、トリプシンによる感受性及び合成ペプチドとの比較よりそれぞれ334 Serまたは338 Serであった)が検出された。両部位の磷酸化とも光強度に比例して磷酸化量が増加した。しかし驚いたことにフラッシュ刺激と蛍光灯(30分間)による光刺激では2種類の単磷酸化ペプチドの比率が異なっていた(フラッシュ刺激および蛍光灯ではそれぞれ338 Serおよび334 Serが優位であった)。次に脱磷酸化の時間経過の様子を検討した。フラッシュまたは蛍光灯(30分間)による光刺激後暗順応させた時338 Ser部位は20-30分以内で完全に脱磷酸化されたのに対し、334 Serの脱磷酸化は60分間暗順応させても完全ではなかった。特に334 Serの脱磷酸化の時間経過はロドプシン褪色中間体

からロドプシンへの再生のそれと一致した。従ってロドプシンの磷酸化は2つの異なった生理機能(338 Serの磷酸化:視興奮の停止, 334 Serの磷酸化:暗順応)を制御していることが示唆された。さらに磷酸化されたロドプシン褪色中間体を特異的に認識する抗体で脱磷酸化の様子を検討したところ視細胞桿体外節の基底部分が先端部より先に脱磷酸化されることも併せて明らかとなった。従って以上の研究結果から筆者はFig. 5に示す機構を考えている。暗の中ではロドプシンは磷酸化されていないので視細胞桿体外節全体が光刺激に対して感受性を持ち感度が最も高い。フラッシュ刺激により視細胞外節のほとんどが磷酸化されると、残った僅かな部位のみ光刺激に対して感受性を持つので感度が低い。次に再び暗中に移動し視細胞外節の基底部より脱磷酸化が進行すると光刺激に対して感受性を持つ部位もこれに従って増加するため感度がしだいに高くなる。この仮説は、我々が昼間映画館のような暗い所へ入ったとき、目が暗い所に慣れる様子(即ち暗順応)をうまく説明できる。またさらに視細胞レベルにおいて背景光と視感度の関係(明順応)についても同様に、背景光の強さに伴い視細胞外節の磷酸化された部位が変化することにより光感受性が制御されているものと考えられる。しかしロドプシンの2つの反応性が異なる磷酸化がどのような分子機構によりもたらされるかは今後の研究課題であり、現在検討中である。

6 ロドプシンの磷酸化と網膜色素変性症

網膜色素変性症は遺伝性進行性の変性疾患で、その病因は不明で根本的な治療法はない。最近の分子生物学的研究により病因の1部にロドプシンのmutationが発見(現在までにロドプシン分子中数十箇所以上)され注目されている⁴⁷⁾。しかし現在までに発見されたmutationから予測されるロドプシン機能異常と病因の関係が明らかになっているものはほんのわずかである。その例としてレチナールの結合部位である296 Lys残基がmutationを起こし(発現した患者は重症のRPを示す)レチナールと結合できなくなると常にトランスデュシンを活性化し続けるために視細胞が燃え尽きてしまうと考えられている。筆者らはこのtypeのmutantの磷酸化を検討したところ磷酸化が全く起これない⁴⁸⁾ことが判り、この事(視興奮が停止されない)が一層視細胞の活性化ひいては細胞死に拍車をかけるものと考えられた。現在他のmutationについても検討中である。

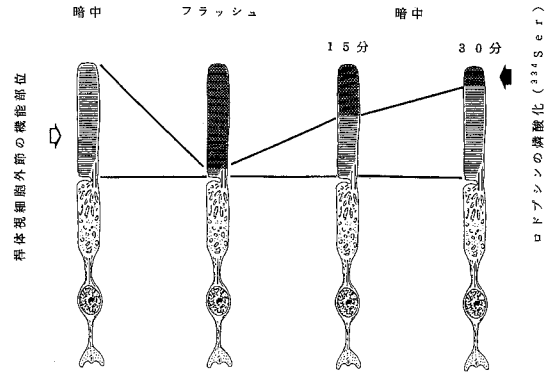


Fig. 5 ロドプシンの磷酸化による順応機構

謝辞

ここに示した私の研究に関し、御指導頂きました札幌医科大学眼科学講座中川喬教授、札幌医科大学第一生化学講座秋野豊明教授、ワシントン大学眼科学講座Palczewski 助教授並びに東大理学部深田吉孝教授に深く感謝致します。また終始有益な御助言を頂きました各講座の諸先生に感謝いたします。

参考文献

1. 大黒 浩, 秋野豊明. 光情報の細胞内伝達機構の生化学. 細胞 1990, 22: 137-140
2. 大黒 浩, 秋野豊明. 光の受容と伝達. 遺伝 1991, 25: 19-24.
3. 大黒 浩. 視細胞における光情報変換及び制御機構. 神経眼科 1994, 11: 308-310.
4. 大黒 浩, 秋野豊明. 視細胞における情報. 若倉雅登(編). 眼科 New insight ①視覚情報処理. メヂカルビュー社, 東京, 1994, 10-20.
5. Lagnado L, Baylor D. Signal flow in visual transduction. Neuron 1992, 8: 995-1002.
6. Hargrave PA, McDowell JH. Rhodopsin and phototransduction. Int Rev Cytol 1992, 137B: 49-97.
7. Fung BK-K, Hurley JB, Stryer L. Flow of information in the light-triggered cyclic nucleotide cascade of vision. Proc Natl Acad Sci USA 1981, 78: 152-155.
8. 大黒 浩, 深田吉孝, 斉藤哲哉, 秋野豊明. 視細胞桿体外節 GTP 結合タンパク質 $\beta\gamma$ サブユニットの複数の分子種. あたらしい眼科 1987, 4: 877-880.
9. Fukada Y, Ohguro H, Saito T, Yoshizawa T, Akino T. $\beta\gamma$ -subunit of bovine transducin com-

- posed of two components with distinctive γ -subunits. *J Biol Chem* 1989, 264: 5937-5943.
10. Ohguro H, Fukada Y, Saito T, Akino T. Functional heterogeneity of $\beta\gamma$ -subunit of frog transducin. *Comp Biochem Physiol* 1990, 95B: 763-765.
 11. Ohguro H, Fukada Y, Saito T, Yoshizawa T, Akino T. A specific $\beta\gamma$ -subunit of bovine transducin stimulates ADP-ribosylation of α -subunit by pertussis toxin. *Biochem Biophys Res Commun* 1990, 167: 1235-1241.
 12. Fukada Y, Takao T, Ohguro H, Yoshizawa T, Akino T, Shimonishi Y. Farnesylated γ -subunit of photoreceptor G-protein is indispensable for GTP-binding. *Nature* 1990, 364: 658-660.
 13. Ohguro H, Fukada Y, Akino T. Structure and function of γ -subunit of photoreceptor G-protein (transducin). *Comp Biochem Physiol* 1991, 100B: 433-438.
 14. Ohguro H, Fukada Y, Takao T, Shimonishi Y, Yoshizawa T, Akino T. Carboxyl methylation and farnesylation of transducin γ -subunit synergistically enhance its coupling with metarhodopsin II. *EMBO J* 1991, 10: 3669-3674.
 15. Yamane HK, Farnsworth CC, Xie H, Fung BK-K, Clarke S, Gelb MH, Glomset JA. Brain G protein γ -subunits contain an all-transgeranylgeranyl-cysteine methyl ester at their carboxyl termini. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87: 5868-5872.
 16. Hancock JF, Magee AI, Childs JE, Marshall JF. All ras proteins are poly-isoprenylated but only some are palmitoylated. *Cell* 1988, 57: 167-177.
 17. Johnson RS, Ohguro H, Palczewski K, Hurley JB, Walsh KA, Neubert TA. Heterogenous N-acylation is a tissue- and species-specific posttranslational modification. *J Biol Chem* 1994, 269: 21067-21071.
 18. Palczewski K, Benovic JL. G-protein-coupled receptor kinases. *Trends Biol Sci* 1991, 16: 387-391.
 19. Kelleher DJ, Johnson GL. Phosphorylation of rhodopsin by protein kinase C in vitro. *J Biol Chem* 1986, 261: 4749-4757.
 20. Newton AC, Williams DS. Involvement of protein kinase C in the phosphorylation of rhodopsin. *J Biol Chem* 1991, 266: 17725-17728.
 21. Ohguro H, Chiba S, Igarashi Y, Matsumoto H, Akino T, Palczewski K. β -arrestin and arrestin are recognized by autoantibodies in sera from multiple sclerosis patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90: 3241-3245.
 22. 大黒 浩, 五十嵐保男. 血清アレステン抗体とMS関連疾患. *神経眼科* 1995, 12: 16-20.
 23. Kühn H, Hall DW, Wilden U. Light-induced binding of 48-kDa protein to photoreceptor membrane is highly enhanced by phosphorylation of rhodopsin. *FEBS Lett* 1984, 176: 473-478.
 24. Fukada Y, Yoshizawa T, Saito T, Ohguro H, Akino T. Binding of GTP to transducin is not inhibited by arrestin and phosphorylated rhodopsin. *FEBS Lett* 1990, 261: 419-422.
 25. Hofmann KP, Pulvermuller A, Buczylo J, Van Hooser JP, Palczewski K. The role of arrestin and retinoids in the regeneration pathway of rhodopsin. *J Biol Chem* 1992, 267: 15701-15706.
 26. 大黒 浩, 深田吉孝, 相馬 仁, 中川 喬, 秋野豊明. 光感受性に脱リン酸化される視細胞外節に存在するリン酸化蛋白質. *日本眼科学会雑誌*, 1993, 97: 11-16.
 27. Kuhn H, Dreyer WJ. Light dependent phosphorylation of rhodopsin by ATP. *FEBS Lett* 1972, 20: 1-6.
 28. Bownds MD, Dawes J, Miller J, Stahlman M. Phosphorylation of frog photoreceptor membrane induced by light. *Nat New Biol* 1972, 237: 125-127.
 29. Frank RN, Cavanagh HD, and Kenyon KR. Light stimulated phosphorylation of bovine visual pigments by adenosine triphosphate. *J Biol Chem* 1973, 248: 596-609.
 30. Kuhn H. Light-dependent phosphorylation of rhodopsin in living frogs. *Nature* 1974, 250: 588-590.
 31. Aton BR, Litman JJ, Jackson ML. Isolation and identification of the phosphorylated species of rhodopsin. *Biochemistry* 1984, 23: 1737-1741.
 32. Wilden U, Kuhn H. Light-dependent phosphorylation of rhodopsin: number of phosphorylation sites. *Biochemistry* 1982, 21: 3014-3022.
 33. Ohguro H, Palczewski K, Walsh KA, Johnson RS. Topographic study of arrestin using differential chemical modifications and hydrogen/deuterium exchange. *Prot Sci* 1994, 3: 2428-2434.
 34. Palczewski K, Buczylo J, Ohguro H, Annan RS, Carr SA, Crabb JW, Johnson RS, Walsh KA. Characterization of truncated form of arrestin isolated from bovine rod outer segments. *Prot Sci* 1994, 3: 314-324.
 35. Lorenz W, Inglese J, Palczewski K, Onorato JJ, Caron MG, Lefkowitz RJ. The receptor

- kinase family: primary structure of rhodopsin kinase reveals similarities to the β -adrenargic receptor kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, 88: 8715-8719.
36. Zhao X, Palczewski K, Ohguro H. Mechanism of rhodopsin phosphorylation. *Biophys Chem*. 1995, 56: 183-188.
37. Palczewski K, Ohguro H, Premont RT, Inglese J. Rhodopsin kinase autophosphorylation. Characterization of site-specific mutations. *J Biol Chem* 1995, 270: 15294-15298.
38. Pulvermuller A, Palczewski K, Hofmann KP. Interaction between photoactivated rhodopsin and its kinase: stability and kinetics of complex formation. *Biochemistry* 1993, 32: 10277-10282.
39. Findlay JBC, Bret M, Pappin DJC. Primary structure of C-terminal functional sites in ovine rhodopsin. *Nature* 1981, 293: 314-316.
40. Ohguro H, Palczewski K, Ericsson LH, Walsh KA, Johnson RS. Sequential phosphorylation of rhodopsin at multiple sites. *Biochemistry* 1993, 32: 5718-5724.
41. Ohguro H, Johnson RS, Ericsson LH, Walsh KA, Palczewski K. Control of rhodopsin multiple phosphorylation. *Biochemistry* 1994, 33: 1023-1028.
42. Koch K-W, Stryer L. Highly cooperative feed back control of retinal rod guanylate cyclase by calcium ions. *Nature* 1988, 334: 64-66.
43. Palczewski K, Subbaraya I, Gorczyca WA, Helekar BS, Ruiz CC, Ohguro H, Huang J, Zhao X, Crabb JW, Johnson RS, Walsh KA, Gray-keller MP, Detweiler PB, Baehr W. Molecular cloning and characterization of retinal photoreceptor guanylyl cyclase-activating protein. *Neuron* 1994, 13: 395-404.
44. Kawamura S. Rhodopsin phosphorylation as a mechanism of cyclic GMP phosphodiesterase by a protein from frog retinal rods. *Nature* 1993, 349: 420-423.
45. Ohguro H, Van Hooser JP, Milam AH, Palczewski K. Rhodopsin phosphorylation and dephosphorylation in vivo. *J Biol Chem* 1995, 270: 14259-14262.
46. Ohguro H, Palczewski K. Separation of non-phospho- and mono-phosphopeptides using reverse phase column chromatography. *FEBS Lett* 1995, 368: 452-454.
47. 梶原一人. 眼底疾患の分子遺伝学とDNA診断の最新情報. *あたらしい眼科* 1995, 12: 239-250.
48. Robinson PR, Buczylo J, Ohguro H, Palczewski K. Opsins with mutations at the sites of chromophore attachment constitutively active transducin but are not phosphorylated by rhodopsin kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, 91: 5411-5415.

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学医学部眼科学講座 大黒 浩