

レチノクロムの吸収極大波長や光退色に及ぼす各種塩並びに pH の影響

尾崎浩一, 原富之(阪大・理・生物)

The effects of salts on the absorption spectrum and the light bleaching of retinochrome

KOICHI OZAKI, TOMIYUKI HARA

頭足類の視細胞の内節には多数のラメラ状構造体がみられる。我々はこの上にレチノクロムが存在すると考えて、その抽出法を改良した。外節を除去した網膜を細かく碎き、43%蔗糖溶液に懸濁して12,000 r.p.m で15分間遠心分離を行なう。その時の上清を軽い分画、沈澱を重い分画とし、それぞれを従来通りの方法で処理し、2%ジギトニンで抽出すると、軽い分画からは全抽出量の82%が得られる。この分画から得られたレチノクロム溶液は、よい光学純度を持つので、この方法はよいレチノクロムを容易に得る方法として推奨することができる。両分画のペレットを固定後エポンに包埋し、1mm程度の切片にして検鏡すると、軽い分画には薄いラメラが多数みられ、重い分画には多数の核の中に厚いラメラの散在が認められた。従ってレチノクロムは、内節ではラメラ構造と関連して存在している可能性が高い。

NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, あるいは KBr を加えたレチノクロム溶液を弱酸性に変化させ、または弱酸性の溶液に塩類を加えてゆくと、吸収曲線が短波長側に20nm程度移動する。この変化は可逆的で、477nm付近に等吸収点を持つことから、レチノクロム分子に状態間の移行が起きていることがわかる。更に低塩濃度、弱酸性の溶液を橙色光(>560nm)で照射すると、レチノクロムの退色過程は単一物質の一次反応となるが、塩濃度を上げるにつれて退色過程は変化する。またこの変化も可逆的であるから、上述の状態のレチノクロムは退色速度に差のあることがわかる。しかしこの差もみかけ上のもので、照射光の吸収量が状態間で異なることを補正すると、両者の熱反応速度には特に差のないことが結論された。

レチノクロム蛋白質に対するレチナールの結合性

原 黎子, 原 富之(阪大・理・生物)

The coupling of retinal to retinochrome-protein

REIKO HARA, TOMIYUKI HARA

レチノクロムの蛋白質部分には橙色光照射(>560nm)によって多量のオールトランス形レチナールを11シス形に変える触媒能がある。この光異性化反応は pH 3~10 で観察され、pH 6 付近で最高になる。この際、オールトランス形レチナールと少量のレチノクロムとの混合液の吸収極大は前者と同様390nm付近にあるが、アルカリ条件下では20nm程度短波長になることがある。これはアルカリ側ではかなり多量のレチナールが1分子のレチノクロムにとらえられ、約370nmに極大を示すシッフ塩基結合部を形成するからである。酸や中性ではこの結合部は解離し、レチナールを遊離する。例えば pH 10で、レチナールにレチノクロムを加えてゆくと吸収極大は390から370nmへ、逆にレチノクロムにレチナールを加えてゆくと吸収極大は370から390nmへと次第に移行する。このような滴定実験によってレチノクロムに結合するレチナールの最大量を決定した結果、レチノクロム分子は specific site 以外に約19個のレチナールを結合できることがわかった。ただ、このような結合状態のレチナールは中性にもどして遊離させない限り、可視光による11シス化反応の対象とはなりえない。したがって、アルカリ側では過剰に遊離したレチナールだけがレチノクロムによってわずかに11シス化されるにすぎない。

レチノクロムのアミノ酸組成をしらべると、発色団当たり約410個の残基がえられ、それらのうちレチナールの結合が予想される Lys 残基17個をはじめ塩基性残基は約40個である。ロドプシンと比較すると His, Leu が特に多く、Asp が特に少ない。また N-末端は Met で、それにつづく14個のアミノ酸がすでに決定されている。