

Title	ムスカリン様アセチルコリン受容体とGTP結合蛋白質との相互作用について
Author(s)	松本, 一夫
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33976
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	まつ 松	もと 本	かず 一	お 夫
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6414	号	
学位授与の日付	昭和59年3月24日			
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ムスカリン様アセチルコリン受容体とGTP結合蛋白質との相互作用について			
論文審査委員	(主査) 教授	吉田	博	
	(副査) 教授	西村	健	教授 和田 博

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

ムスカリン様アセチルコリン受容体 (mAChR) において抑制性GTP結合蛋白質はアゴニストによるアデニレートシクラーゼ活性抑制に関すると共にmAChRへのアゴニストの親和性を調節していると考えられている。種々の神経伝達物質受容体と同様にムスカリン様アセチルコリン受容体においてもグアニンヌクレオチドがアゴニストのmAChRへの親和性を特異的に低下させることがすでに報告されているが、その作用機序について知見を得たので発表する。

(方 法)

結合反応は全量2.0 mlの等張トリス溶液 (100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 1 mM MgCl₂) 中で37°C, 60分間行ない、直ちにグラスフィルター (Whatman GF/F) 上に吸引濾過し、3 mlの等張トリス溶液で3回洗浄し、放射能を測定した。

(成 績)

①モルモット小腸膜分画において r 線照射量に対して³H-QNB結合量は指数関数的に減少し、標的論によりmAChRの分子量は約8万と推定された。一方、カルバコールのmAChRへの親和性を減少させるGpp(NH)pの効果に関与する分子量は約18万と推定された。また照射量の増大に伴って、³H-QNB結合のK_d (0.3 nM) には有意の変化がみられなかったが、カルバコールのQNB結合阻害曲線は右に移動し、1 μMまたは5 μMのカルバコール存在時の³H-QNB結合量はカルバコールおよびGpp(NH)pの存在時のQNB結合量に接近し、線量8.7 Mradにおいて殆んど一致した。②モルモット小腸膜分画においてトリプシン処理 (40 μg/mg 蛋白, 30°C, 20分間) はGpp(NH)pと同様にカル

バコールの QNB 結合阻害曲線を右に移動させ、このトリプシン処理と Gpp(NH)p の効果は類似しており、かつ non-additive であった。モルモット心臓膜分画において尿素処理 (4 M, 0 °C, 30 分間) とアルカリ処理 (pH 10.2, 37 °C, 15 分間) はカルバコールの QNB 結合阻害曲線を右に移動させ、Gpp(NH)p の効果を消失させた。なおこれらの処理は ³H-QNB 結合の K_d に対しても、またアトロピンの QNB 結合阻害曲線に対しても殆ど影響を及ぼさなかった。心臓膜分画の 1 % コール酸抽出液の添加によってアルカリ処理の膜分画では Gpp(NH)p の効果が回復したが、トリプシン処理および尿素処理の膜分画では Gpp(NH)p の効果は殆ど回復しなかった。

(総括)

① GTP 結合蛋白質 (G-protein) が mAChR と結合している時には mAChR はアゴニストに対して高親和性を示しており、一方 GTP が G-protein に結合すると G-protein から mAChR が解離して、mAChR がアゴニストに対して低親和性の状態をとるようになる。② mAChR と共役している G-protein は 1 % コール酸で可溶化される。③ アルカリ処理は G-protein を変性させ、またトリプシン処理及び尿素処理は mAChR の G-protein との結合部位をそれぞれ分解および変性させて、アゴニストに対する mAChR の低親和性の状態を生じる。

論文の審査結果の要旨

muscarinic agonist の muscarinic receptor への結合の親和性を低下させる GTP の効果には receptor subunit のみならず他の subunit すなわち GTP 結合蛋白質も関与していることが γ 線照射による失活実験によって示唆されている。また、アルカリ処理は GTP 結合蛋白質を変性させ、トリプシン処理および尿素処理は muscarinic receptor の GTP 結合蛋白質との結合部位をそれぞれ分解および変性させて、muscarinic agonist に対する muscarinic receptor の低親和性の状態を生じることが示唆されている。学位論文に値する内容である。