



Title	脂質平面膜を用いたポリホスホイノシチドおよび筋小胞体膜由来のカチオンチャネルに関する研究
Author(s)	曾我部, 正博
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34876">https://hdl.handle.net/11094/34876</a>
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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	曾 我 部 正 博
学 位 の 種 類	工 学 博 士
学 位 記 番 号	第 6 5 5 8 号
学位授与の日付	昭 和 59 年 6 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	脂質平面膜を用いたポリホスホイノシチドおよび筋小胞体膜由来のカチオンチャンネルに関する研究
論文審査委員	(主査)
	教 授 葛西 道生
	(副査)
	教 授 大沢 文夫 教 授 三井 利夫 教 授 塚原 仲晃 教 授 鈴木 良次

### 論 文 内 容 の 要 旨

種々の細胞に適当な刺激を与えると、膜電位の変化を伴う応答、すなわち興奮が生じる。興奮は、主として細胞膜中のイオンチャンネルの開閉率の変化に基くが、イオンチャンネルの分子の実体は未だ明らかではない。一方、ポリホスホイノシチド(PPI)は、生体膜に含まれる極微量の機能リン脂質で、そのユニークな物理化学的・生化学的性質故に、以前から膜イオン透過の制御に、重要な役割を果たすことが示唆されてきた。本研究では、人工膜(脂質平面膜)を用いた電気生理学的手法により、PPIと膜の一価カチオン透過性との関連を検討した。その結果、lyso PPIが膜中に $\text{Ca}^{++}$ 感受性の一価カチオンチャンネルをつくることが分かった。

本論文の前半では、このチャンネルのイオン選択性や電位依存性などの基本的性質を、マクロとマイクロ(単一チャンネル)の両面から調べ、チャンネルの特徴づけをした。また、 $\text{Ca}^{++}$ によるコンダクタンス抑制効果を分析し、1個の $\text{Ca}^{++}$ が2個の $\text{K}^{+}$ イオンと競合して、1個のlyso PPIチャンネルをブロックすることが分かった。さらに、膜コンダクタンスのlyso PPI濃度依存性をもとに、このチャンネルの構造や $\text{Ca}^{++}$ 抑制機構に関する分子モデルを提案した。

本論文の後半では、このチャンネルと生体膜カチオンチャンネルの類似性を、主としてアミノ配糖体(AG)との相互作用の分析を通して検討した。AGは、聴器有毛細胞の受容器電位を急性に抑制して、いわゆる聴毒性を発揮する。またAGはPPIと強い複合体を形成し、内耳のPPI代謝を特異的に阻害することが知られている。一方、lyso PPIチャンネルはAGでブロックされ、 $\text{Ca}^{++}$ 拮抗を始めとしたAGによる聴毒性の種々の側面を模倣できることが分かった。つまり、lyso PPIチャンネルは内耳有毛細胞膜のカチオンチャンネルと極めて類似した挙動をする。この結果をもとに、AG聴毒性の分子機構のモデルを提

案した。

しかし、AGの生体膜イオンチャネルに対する作用は不明な点が多い。そこで、単一チャネルの観測が比較的容易な筋小胞体膜(SR)を人工膜に融合させ、SR中の $K^+$ チャネルに対するAGの作用を詳細に分析した。SR- $K^+$ チャネルに対するAGの作用様式は、lyso PPIチャネルの場合と類似しており、1分子のAGは1個のチャネルを電位依存的にブロックし、種々のAGの作用の強さは聴毒性の強さと一致した。

以上の結果は、lyso PPIチャネルが、ある種の生体膜イオンチャネルのよいモデルとなるだけでなく、(lyso) PPIが実際に、有毛細胞やSR- $K^+$ チャネルの機能の一部を担うことを示唆している。

### 論文の審査結果の要旨

細胞膜の刺激に対する応答の中で、一番速く重要なものが電氣的応答である。電氣的応答は主として細胞膜中に存在するイオンチャネルの開閉によっているが、イオンチャネルの分子の実態は未だ明らかではない。本論文はイオンチャネルの分子の実態を明らかにする目的で、人工的な脂質平面膜を用いた電気生理学的手法を発展させ、ポリホスホイノシチド(PPI)のリゾ体が膜中にイオンチャネルを形成すること、更にその性質が生理学的なカチオンチャネルと類似していることを示し、カチオンチャネルに対するモデルを提出したものである。

本研究の前半では人工的な脂質平面膜を形成し、それを電気生理学的に測定する方法を発展させ、lyso PPIが $Ca^{2+}$ 濃度に依存するカチオンチャネルを形成することを明らかにした。その性質をマクロとミクロ(単一チャネル)の両面から調べ、チャネルの構造や $Ca^{2+}$ による抑制機構に関する分子モデルを提供した。後半ではこのチャネルと生体膜のカチオンチャネルの類似性を検討した。アミノ配糖体は聴覚器の有毛細胞のカチオンチャネルを抑制するが、lyso PPIのチャネルも同様に抑制された。このことからアミノ配糖体の聴毒性についてのモデルを提出した。更に単離筋小胞体を人工膜に融合させる方法を発展させ、このカチオンチャネルもアミノ配糖体によって抑制されることを示した。その結果 生体膜のカチオンチャネルにlyso PPIが関与している可能性を示唆した。

これらの研究は、細胞膜のイオンチャネルの分子の実態についてのモデルを提出し、更にlyso PPIが生体膜の $K^+$ チャネルの機能の一部を担うことを示唆したものであり、博士論文として価値あるものと認める。