The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	シビレエイの電気器官のアニオンチャネルの再構成とその性質の研究
Author(s)	金政, 利幸
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35382
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【48】

氏名・(本籍)	金(かね) 政(まさ) 利(とし) 幸(ゆき)
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	第 7754 号
学位授与の日付	昭和62年3月26日
学位授与の要件	基礎工学研究科物理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**シビレエイの電気器官のアニオンチャネルの再構成とその性質の研究**
論文審査委員	(主査) 教 授 葛西 道生 (副査) 教 授 三井 利夫　教 授 鈴木 良次

論文内容の要旨

生体膜の興奮は，分子レベルでは膜中に埋め込まれたイオンチャネルが刺激によって開閉し，イオン透過が制御されることである。イオンチャネルの分子レベルでの研究は，特にアニオンチャネルで遅れている。本研究では，シビレエイ（Narke japonica）の電気器官より調整したベクシル内のアニオンチャネルのイオン透過の性質，再構成について調べ，さらにそのアニオンチャネルを精製し部分構造を調べた。

主にイオン透過の性質はアニオンチャネルを多く含むベクシルを脂質平面膜に組み込み，そこを流れる電流を測定することによって調べた。その結果，次のようなことが分かった。このチャネルはアニオンを選択的に通し，電位依存的に開閉を行い，シングルチャネルコンダクタンスが18± 1 pS (0.1MCl^-) である。ＳＣＮイオンはこのチャネルを両側から電位依存的に可逆的に阻害する。4，4′－diisothiocyanostilbene－2，2′－disulfonic acid（ＤＩＤＳ）は，cis側（細胞外）から非可逆的に阻害する。1個のベクシルあたりアニオンチャネルの個数は平均約50個であり，このチャネルは平面膜に融合した瞬間には，全て開いている。また，光散乱法との比較によりこのアニオンチャネルがベクシルの主なアニオン透過経路であることが分かった。

次にこのアニオンチャネルや骨格筋の筋小胞体アニオンチャネルを含むベクシルをTriton X－100で可溶化し，Salting－out法によってチャネルを再構成した。脂質としてNative Lipidや20%Phosphatidylethanolamineを含むLipidを使用すればＤＩＤＳで阻害されるアニオンチャネルを再構成できた。特にシビレエイのアニオンチャネルの場合，再構成されたチャネルは脂質平面膜法によればシングルチャネルコンダクタンス17.5pS (0.1MCl^-) を示しランダムな方向に再構成されていることが分かった。

最後にシビレエイのアニオンチャネルタンパク質（分子量９万）を陰イオン変換，２種のゲル濾過クロマトグラフィーによって精製し，さらにこの精製タンパク質をLysil Endopeptidaseで消化した後，逆相クロマトグラフィーで分離したペプチドを気相シークエンサーで部分的に構造決定した。

論文の審査結果の要旨

生体膜の興奮は分子レベルでは，膜中に埋め込まれたイオンチャネルが刺激によって開閉し，イオン透過が制御されることとして理解される。本研究は，イオンチャネルの一例として，シビレエイ（Narke japonica）の電気器官より調整した膜小胞に含まれるアニオンチャネルのイオン透過の性質を解析してこのチャネル分子を精製単離し，膜小胞の再構成を行い，更にその部分構造を調べたものである。

まず，アニオンチャネルを多く含むベクシルを脂質平面膜に組み込み，そこを流れる電流を測定することによって，イオン透過の性質を調べた。その結果，このチャネルはアニオンを選択的に通し，電位依存的に開閉を行い，単一チャネルコンダクタンスが0.1MClで18pSであること，ＳＣＮイオンはこのチャネルを両側から電位依存的に可逆的に阻害するが，ＤＩＤＳは細胞外から非可逆的に阻害すること，１個のベシクルあたりチャネルの個数は平均約50個であり，このチャネルは平面膜に融合した瞬間には，全て開いていることを明らかにした。

次にこのチャネルを含むベクシルをTriton Ｘ－100で可溶化し，塩析法によって再構成した。脂質として天然リピドや20％ＰＥを含むリピドを使用すると良いことを示した。またこのベクシルを脂質平面膜に融合させて，イオンチャネルを観測することに成功したが，その配向はランダムであることを示した。

最後にシビレエイのアニオンチャネル分子を陰イオン交換，２種のゲル濾過クロマトグラフィーによって精製し，その部分的アミノ酸配列を決定した。

以上のように，本論文はアニオンチャネルの性質および構造の解析を行い生体膜興奮機構の研究に新しい知見を与えるものであり，学位論文として価値あるものと認める。