



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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	金	政	利	幸
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ト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ト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。イオントチャネルの分子レベルでの研究は、特にアニオント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ト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ト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ト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 $18 \pm 1 \text{ pS}$ (0.1 MCl^-) 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ト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トチャネルがベクシルの主なアニオント透過経路であることが分かった。

次にこのアニオントチャネルや骨格筋の筋小胞体アニオント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トチャネルを再構成できた。特にシビレエイのアニオントチャネルの場合、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 17.5 pS (0.1 MCl^-) 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、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ケ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、单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。