

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35382">https://hdl.handle.net/11094/35382</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"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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)	金 政 利 幸
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	第 7 7 5 4 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  $18 \pm 1$  pS ( $0.1\text{MCl}^-$ ) 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  $17.5$  pS ( $0.1\text{MCl}^-$ ) 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ンネルタンパク質（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ン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，イオンチャンネルの一例として，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ンネルのイオン透過の性質を解析してこのチャン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，アニオンチャン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，このチャン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，単一チャンネルコンダクタンスが0.1MClで18pSであること，SCN<sup>-</sup>イオンはこのチャン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個のベクシルあたりチャンネルの個数は平均約50個であり，このチャン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。

次にこのチャン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，イオンチャン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ン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ン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。