

Title	兎骨格筋小胞体ベシクルにおける一価イオンの遠い膜透過の研究
Author(s)	布垣, 一幾
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35384
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)	ぬの 布	がき 垣	かず 一	き 幾
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	7759	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	兔骨格筋小胞体ベシクルにおける一価イオンの遠い膜透過の研究			
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	教授 中村 隆雄

論文内容の要旨

骨格筋小胞体の生理的機構、特に刺激に伴う速いカルシウムの放出機構を解明するためには、筋小胞体膜の各種一価イオンに対する透過性に関する知識が不可欠である。しかし、カルシウム放出の時間領域(数ミリ秒)での速いイオン透過はこれまでの方法では観測が困難であった。そこで申請者は、蛍光プローブを用いた新しい方法を用いて、一価イオンの速い透過を実時間で観測することを本研究の目的とした。

本研究で用いた方法は、ストップ・フロー装置による二液の急速混合を利用するもので、最短観測時間を約0.6ミリ秒にまで縮めることができた。

第4章では、蛍光色素ピレンテトラサルフォン酸の蛍光の TI^+ 又は I^- による消光を利用して、 TI^+ 、 I^- のベシクル内流入過程が測定された。解析の結果、最も速い過程まで時定数が求められた。その値は、脂質平面膜法で電氣的に測定されたカチオン及びアニオンチャンネルが、ベシクル当り一個から数個含まれているとして説明できた。また各チャンネルは全ベシクルの約半分に存在していることも分かった。

第5章では、pH勾配に従う H^+ および OH^- のチャンネル透過に関する基礎的な知見を得るために、緩衝剤存在下での H^+/OH^- の溶液内拡散の理論的検討を行なった。その結果、緩衝剤の空間的緩衝効果が明らかになり、直径0.1ミクロンのベシクルの場合、約10ミリモル以上の緩衝剤が存在すれば、ベシクルのサイズが有限であることは無視できることが分かった。それに基づいて、溶液pHジャンプ後のベシクル内pH変化速度から、任意のpHにおいて、 H^+ と OH^- の膜透過係数をそれぞれ求める方法を始めて示した。

第6章では、第5章の解析法に従って、筋小胞体ベシクル膜の H^+ と OH^- の透過係数を測定した。溶

液pHジャンプはストップ・フロー法によりベクシル内pHは蛍光色素ピラニンを用いて検出した。内側pH変化の時定数は緩衝剤濃度と共に増加したが、その直線が原点を通らないことから、ベクシル内側表面が高い緩衝能力を持つことが見出された。その直線の傾きと、正・負のpHジャンプに対する時定数の比の値とから、pH6.8及びpH7.5において、 H^+ および OH^- に対する筋小胞体膜の透過係数がそれぞれ求められた。それらは非常に高く、しかもそれぞれがpH依存性をもつことがわかった。これは、 H^+ / OH^- の透過が未知の特殊な機構によることを示唆している。

以上、本研究により、筋小胞体膜が一価イオンに対して高い透過性を持つことが、膜ベクシル系を用いた実時間測定から確かめられた。この機能は、ミリ秒領域でおこる生理的カルシウム放出に際し、有効に作用していると考えられた。また、pH緩衝剤の基本的特性と、それに基づく H^+ / OH^- の膜透過係数を求める解析法が示された。これは、他のベクシル系にも一般的に適用される。

論文の審査結果の要旨

本論文は膜小胞を通しての速いイオンの透過速度を蛍光消光法を利用して測定し、その方法の有効性を示したものである。骨格筋小胞体の生理的機構、特に刺激に伴う速いカルシウムの放出機構の解明には、筋小胞体膜の各種一価イオンに対する透過性に関する知識が不可欠である。しかし、カルシウム放出の時間領域（数ミリ秒）での速いイオン透過はこれまでの方法では観測が困難であった。

まず、本研究ではストップ・フロー装置を改良し、最短観測時間を約0.6ミリ秒にまで縮めたものを用いて、蛍光色素ピレンテトラスルホン酸をベクシル内にとり込ませ、 Tl^+ 又は I^- の流入による消光を利用して、 Tl^+ 、 I^- の透過速度を求めた。最も速い速度は脂質平面膜法で、電気的に観測されたカチオン及びアニオンチャネルを通るイオン流束に対応することを示した。

次いで、pH勾配に従う H^+ および OH^- のチャネル透過に関する基礎的な知見として緩衝剤存在下での H^+ / OH^- の溶液内拡散の理論的検討を行なった。その結果、直径0.1ミクロンのベクシルの場合、約10ミリモル以上の緩衝剤が存在すれば、ベクシルのサイズが有限であることは無視できることを示し、それに基づいて、溶液pHジャンプ後のベクシル内pH変化速度から、任意のpHにおいて、 H^+ と OH^- の膜透過係数をそれぞれ求める方法を示した。

更に上で得た解析法に従って、筋小胞体ベクシル内に蛍光色素ピラニンをとり込ませ、溶液のpHジャンプを行い、 H^+ と OH^- の透過係数を求めた。これらの値は非常に大きく、筋小胞体には H^+ / OH^- の透過が特別の機構によっていることが示唆された。

以上のように、本論文は筋小胞体の一価イオンに対する高い透過性を実時間で直接測ることに成功したものであり、生体膜のイオン透過機構の研究に新しい知見を与えた。よって本論文は学位論文として価値あるものと認める。