



Title	脂質平面膜に組み込んだ筋小胞体及び酵母液胞膜のイオンチャンネルに関する研究
Author(s)	谷藤, 学
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35934
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

【5】

氏名・（本籍）	たに 谷	ふじ 藤	まなぶ 学
学位の種類	工	学	博 士
学位記番号	第	7 9 0 9	号
学位授与の日付	昭 和 62 年 11 月 30 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	脂質平面膜に組み込んだ筋小胞体及び酵母液胞膜のイオンチャネル に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教 授 葛西 道生		
	(副査) 教 授 鈴木 良次 教 授 有働 正夫		

論 文 内 容 の 要 旨

イオンチャネルは、生体膜を介する情報伝達を担う分子の1つであり、その実体を明らかにすることは興味深い。これまでパッチクランプ法等で、単一チャネルの挙動が観測されるようになって、イオンチャネルがイオンを通す通孔（pore）とその開閉を制御するゲート（gate）の2つの機能的な部位に分けて考えられることが明らかとなった。しかし、それぞれの実体を明らかにするには至っていない。他方、近年、チャネルあるいは、それに付随したレセプターの一次構造が明らかにされつつあるが、イオンチャネルの立体構造に関しては推測の域を出ない。いずれの場合においても通孔とゲート、それぞれの機能と、それらに関連した構造についての情報が不足しているように思われる。本研究では、人工膜にイオンチャネルを組み込むことにより、機能の側面から、ゲートと通孔の解析を試みた。この方法は、パッチクランプ法と単一チャネルの挙動を観測できる点では、同じであるが、チャネルを取りまく環境を任意にコントロールできる点ですぐれている。我々は材料としてウサギ骨格筋の筋小胞体膜と酵母の液胞膜を用いて、以下の結果を得た。

(1) 筋小胞体膜はアニオンに対して高い透過性を示すため、従来の分光学的方法では、その大きさははっきりと決定できなかったが、本研究では、アニオンチャネルを通る電流を観測でき、単一チャネルコンダクタンスの大きさは200pS (100mM Cl⁻) であることが明らかとなった。

(2) このアニオンチャネルはいくつかのサブステートを持ち、サブステートの占有確率に電位依存性があることが明らかとなった。

(3) 酵母液胞膜を人工膜に組み込むことにより、Ca²⁺濃度に依存したカチオンチャネルを見いだした。

(4) この Ca^{2+} 依存性カチオンチャンネルは、チャンネル開閉の電位依存性から2つの独立なゲート機構を持ち、その一方は、DIDS (4, 4-diisothiocyanostilbene-2, 2'-disulfonic acid) により、開状態にロックされることがわかった。

(5) これら二種類のチャンネルについて、それぞれアニオン間、カチオン間にイオン選択性はあまり見られなかった。

以上の結果は、チャンネルのゲート機構に関連する性質として、中間的なレベルであるサブステートが存在すること、独立な2つのゲートにより、1つのイオンチャンネルの開閉を制御している例のあることを示している。

論文の審査結果の要旨

神経をはじめとする生体膜の興奮現象は、分子レベルでは生体膜中に埋め込まれたイオンチャンネルの開閉によって、イオン電流が制御されることによって行われている。近年の測定技術の進歩によって、1つのイオンチャンネルを流れる電流が観測できるようになり、さまざまなイオンチャンネルが存在することが分かってきた。その結果、イオンチャンネルはイオンを通すポアと、イオンの通過を制御するゲートとの2つの機能的な部分に分けて考えられることが明らかになってきた。しかし、それぞれの実体は明らかになってはいない。本論文は制御方法の異なる2種類のイオンチャンネルを人工膜に組み込み、単一チャンネル電流を観測することによって、ゲートとポアの性質を解析したものである。

本論文は3章からなっている。第1章は実験方法の章で、脂質平面膜を形成し、それに生体膜から分離したベシクル（膜小胞）を融合させ生体膜中に存在するイオンチャンネルを人工膜に組み込む技術と、そこを流れる微小電流を観測する方法について述べている。

第2章は、筋小胞体のアニオンチャンネルについての解析結果を述べたものである。筋小胞体はアニオンに対して高い透過性を示すことが分光学的方法によって分かっていたが、それに対応したアニオンチャンネルの存在が確認された。このチャンネルは100mM Cl^- 中で200pSのコンダクタンスをもち、いくつかのサブステートが存在することを示した。このチャンネルの開閉は弱い膜電位依存性を示すが、それがこのサブステートの占有確率の膜電位依存性によって説明できることを示した。また、このサブステートはゲートの性質であることを示した。

第3章は、酵母液胞膜のカチオンチャンネルについての解析である。このチャンネルは応答速度が異なり、電位依存性が逆の2つの独立なゲートを持つことを示した。応答の速いゲートはDIDS (4, 4-diisothiocyanostilbene-2, 2'-disulfonic acid) によって開状態にロックされることが、遅いゲートの開閉にはmM程度のカルシウムイオンを必要とすることを示した。

以上の結果は全く異なるゲート機構をもつ2種類のイオンチャンネルが存在することを示し、生体膜のイオンチャンネルの制御機構の解明に新事実を加えたものであって、工学博士の学位論文として価値あるものと認める。