The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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、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)	谷藤　学（たにふじ　まなぶ）
学位の種類	工学博士
学位記番号	第　7909　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，その大きさを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，Ca^{2+}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ネルは，チャ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個のイオンチャ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，イオンチャネルはイオンを通すポアーと，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種類のイオンチャネルを人工膜に組み込み，単一チャネル電流を観測することによって，ゲートとポアー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，それに生体膜から単離したベシクル（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ネルの存在が確認された。このチャネルは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ネルについての解析である。このチャ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，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種類のイオンチャネルが存在することを示し，生体膜のイオンチャ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。