



Title	バクテリオロドプシンの分子構造からみた麻酔の圧拮抗現象：麻酔作用機序に関する
Author(s)	内田, 一郎
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37113">https://hdl.handle.net/11094/37113</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 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)	うち 内	だ 田	いち 一	ろう 郎
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9113	号	
学位授与の日付	平成	2年3月24日		
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻			
	学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	バクテリオロドプシンの分子構造からみた麻醉の圧拮抗現象 - 麻醉作用機序に関して -			
論文審査委員	(主査) 教 授	吉矢 生人		
	(副査) 教 授	谷口 正之 教 授	田川 邦夫	

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

全身麻酔の圧拮現象は、Johnsonらがオタマジャクシについて報告して以来 *in vivo* では広く認められており、全身麻酔の作用機序を解明する上で説明しなければならない現象の一つである。

全身麻酔薬の作用部位である生体膜の構成成分である脂質に対する麻酔薬の作用と加圧の効果についての報告が多いが、膜タンパク質の分子構造についての報告はない。

本研究では、膜タンパク質のモデルとしてバクテリオロドプシン（以下、b R）を用い、分子構造変化を可視吸収スペクトル及び紫外・可視円偏光二色（CD）スペクトルによって測定し、揮発性麻酔薬による分子構造変化に対する圧力の拮抗作用を調べ、その熱力学的考察を行った。

#### 〔方法ならびに成績〕

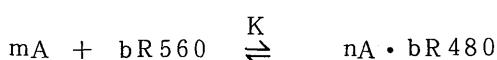
b Rを高度好塩菌 (*Halobacterium halobium*) の形質膜より紫膜として分離精製し、20mM トリス緩衝液 (pH7.0) に懸濁し測定試料とした。この試料をサファイヤ窓を有する高圧光学容器に入れ、20, 30, 40, 50, 60°Cの各温度にて、1から600atmまでの加圧条件下で可視吸収スペクトルを測定した。麻酔薬を加えないものをコントロールとした。

次に揮発性麻酔薬メトキシフルレンを2.4mM、ハロセンを6, 8, 16mM、エンフルレンを8.10mM、イソフルレンを6.8mMの濃度になるように試料に添加して、吸収スペクトルを測定して各々コントロールと比較した。また、25°Cにて紫外・可視CDスペクトル測定を行い、同様に各麻酔薬によるスペクトル変化をコントロールと比較し、溶融石英窓付高圧光学容器によって加圧（300atm, 40°C）のスペクトルに及ぼす影響を調べた。b Rは暗順応したものを用い、すべての操作を暗赤色光

下で行った。

b Rは分子内にレチナールを発色団として持ち、暗順応下で可視吸収スペクトルにて560 nmに吸収極大を持っている。その吸収極大の移動は、レチナールとオプシンの相互作用の変化、すなわちb Rの分子構造の変化を反映する。揮発性麻酔薬は濃度依存的にb Rの吸収極大を480 nmに移動させ、加圧によりそのスペクトル変化は拮抗された。またb RはCDスペクトルにおいてオプシンのヘリックス構造に由来する222 nmの負の極大、3次構造に由来する260 nmの正の極大、レチナールに由来する317 nmの負の極大と530 nmに正の及び605 nmに負の極大を示す。麻酔薬は530 nmの正の極大を480 nmに移動させ、317 nm及び605 nmの負の極大を消失させたが、222 nm及び260 nmの極大は変化させなかった。麻酔薬によるこのCDスペクトル変化は加圧により拮抗された。これらの結果は揮発性麻酔薬がb Rの3次構造以上の高次構造に変化を及ぼしたこと、そしてこの分子構造の変化は加圧により拮抗されたことを示している。

麻酔薬による可視吸収スペクトルの変化には等吸収点が存在し、可逆的であることよりこれを一つの反応として次式が成立するとする。



ここで、Aは麻酔薬の濃度、bR 560は麻酔薬と結合していないb Rの濃度、A・bR 480は麻酔薬と結合したb Rの濃度、Kはこの反応の平衡定数である。 $m \gg n$ の条件下で可視吸収スペクトルから得られる値より各圧力、各温度におけるKを近似的に算出し、次の2式によりこの反応に伴う系の体積変化： $\Delta V$ とエンタルピー変化： $\Delta H$ を求めた。

$$\begin{aligned} (\delta I n / K) / \delta P &= -\Delta V / RT \\ (\delta I n / K) / \delta T &= \Delta H / RT^2 \end{aligned}$$

ここでPは圧力(atm)、Tは絶体温度(°K)、Rはガス定数である。系の体積変化は麻酔薬の種類に関わらず、20, 30, 40, 50, 60 °Cで各々 $+16.1 \pm 2.3$ ,  $25.9 \pm 2.0$ ,  $35.5 \pm 4.9$ ,  $25.4 \pm 2.8$   $9.6 \pm 1.8 \text{ ml/mol}$ 、エンタルピー変化は1 atmにおいて $+5.53 \pm 0.55 \text{ Kcal/mol}$ であった。

#### 〔総括〕

揮発性麻酔薬によるb Rの分子構造の変化を可視吸収スペクトル及び紫外・可視CDスペクトルにて測定し、その圧拮抗現象を調べた。麻酔薬によるb Rの分子構造の変化は加圧により拮抗された。得られた $\Delta V$ と $\Delta H$ の正の値は麻酔薬によるb Rの分子構造変化が水素結合の解消に由来することを示唆する。

## 論文の審査結果の要旨

麻酔の圧拮抗現象は全身麻酔状態に付隨する特異な現象と考えられており、モデル実験を行う上で圧拮抗現象のあることが前提条件とされている。

本研究は、膜タンパク質のモデルとしてバクテリオロドプシンを使用し、揮発性麻酔薬による分子構造の変化とその圧拮抗の存在を確認し、その分子構造変化に伴う熱力学諸量を求めたものである。膜タンパク質においても麻酔薬による可逆的な構造変化と圧拮抗現象を初めて報告したもので、麻酔作用機序解明を進める上で、重要な知見であると考えられる。

以上の点で、学位授与に値する。