



Title	Studies on Calcium Release Channels from Sarcoplasmic Reticulum in Planar Bilayers
Author(s)	丁, 建
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39789
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

氏名	丁 建
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 12553 号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科物理系専攻
学位論文名	Studies on Calcium Release Channels from Sarcoplasmic Reticulum in Planar Bilayers (脂質平面膜による筋小胞体カルシウム放出チャネルの研究)
論文審査委員	(主査) 教授 葛西 道生
	(副査) 教授 柳田 敏雄 教授 村上富士夫

論文内容の要旨

骨格筋の興奮収縮連関に関して、T管膜から筋小胞体への信号伝達のメカニズムはまだ不明である。このメカニズムを解明するために、信号伝達において重要な役割を担っているカルシウム放出チャネル(RyR)を研究することが必要である。本研究では脂質平面膜法を用いてカルシウム放出チャネルの研究を行った。

ウサギ骨格筋のHSR(筋小胞体ベシクルの重い分画)また精製したRyRを脂質平面膜に入れると、ゆっくりfluctuationするカレントと速くfluctuationするカレントが観察された。Ca²⁺, ruthenium red, ryanodineの効果からこれらの二種類のカレントがカルシウム放出チャネルのカレントだということが確認された。conductance stateを解析することにより、RyRには二つの大きく異なるコンフォーメイションがあることが分かった。一つのコンフォーメイションのカレントは高い逆転電位(HRP)(-18mV)を持ち、もう一つのコンフォーメイションのカレントは低い逆転電位(LRP)(-11mV)を持っていた。HRPのカレントは速くfluctuationするが、LRPのカレントはゆっくりfluctuationした。これらのカレントを解析することにより、RyRが四つのポアを持つことが分かった。ゆっくりfluctuationするカレントのconductance stateの中で40P(four opened pores)のコンダクタンスは10P(one opened pore)のコンダクタンスの4倍より小さかった。この事実を説明するために、並列した四つの小さいポアに一つの大きなポアが直列につながったチャネルモデルを提出した。このモデルは電顕研究の結果も支持している。

RyRが平面膜に入った後に非常に大きいカレントが観測されることがある。これを説明するために、四つの小さいポアから一つの融合ポアが形成されるモデルを仮定した。この融合ポアの仮定を用いて、RyRのglucose透過性が説明できる。ryanodineによりsub-blockされたconductance stateを解析すると、RyRは四つのryanodine binding siteを持ち、その結合はnegative cooperation processであることを示唆する。

また、RyRには開口固定(open lock)という現象があり、これはDIDS結合タンパク質と関係あることが示唆されている。DIDSを加えると、RyRは開口固定され、そのカレントがryanodineによりsub-blockされることが分かった。

論文審査の結果の要旨

本論文は骨格筋の興奮収縮連関に関する筋小胞体のカルシウム放出チャネルの性質を主に脂質平面膜法で研究したものである。骨格筋の興奮収縮連関は、T管膜の興奮が筋小胞体へ伝えられ、そこからカルシウムイオンが遊離され、筋が収縮するのであるが、その間の信号伝達のメカニズムはまだ不明である。このメカニズムを解明するためには、信号伝達において重要な役割を担っているカルシウム放出チャネルの開閉のメカニズムを研究することが必要である。

著者は、ウサギ骨格筋の筋小胞体ベシクルの重い分画(HSR), または精製したカルシウムチャネル分子を脂質平面膜に入れ電気生理学的に解析した。先ず、脂質平面膜にカルシウムチャネル分子が入ると、ゆっくり fluctuation する電流と速く fluctuation する電流が観察されることを示した。この 2 種類の電流は共にカルシウムイオン、ルテニウムレッド、リノジンの効果からカルシウム放出チャネルの電流であることを確認した。これらのコンダクタンス状態を解析することにより、カルシウムチャネルには二つの大きく異なるコンフォーメイションがあることを示した。一つのコンフォーメイションの電流は速く fluctuation し、高い逆転電位を持っていた。また、もう一つのコンフォーメーションの電流はゆっくり fluctuation し、低い逆転電位を持っていた。カルシウムチャネルには様々なサブコンダクタンスレベルが観測された。これらの電流の解析から、カルシウムチャネルが 4 つのポアを持つとするとサブレベルが矛盾なく説明できることを示した。ゆっくり fluctuation する電流のコンダクタンス状態の中で最大コンダクタンスは小さいコンダクタンスの 4 倍より小さかった。この事実を説明するために、並列した 4 つの小さいポアに一つの大きなポアが直列につながったチャネルモデルを提出した。このモデルは電子顕微鏡観察の結果と矛盾しないことを示した。

カルシウムチャネルが平面膜に入った後に非常に大きい電流が観測されることがある。これを説明するために、4 つの小さいポアから一つの融合ポアが形成されるモデルを仮定した。この融合ポアの仮定を用いると、カルシウムチャネルの glucose のような大きな分子の透過性が説明できることを示した。また、リノジンによる低いコンダクタンス状態に開口固定される現象の説明もできることを示した。

以上のように、本論文は興奮収縮連関に関するカルシウムチャネルの開閉のメカニズムを電気生理学的に行つたもので、分子生理学の分野に重要な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。