

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39789">https://hdl.handle.net/11094/39789</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	ていけん 丁 建
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 2 5 5 3 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。Ca<sup>2+</sup>, 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メーションがあることが分かった。一つのコンフォメー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メー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關与する筋小胞体のカルシウム放出チャン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み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ンネルの開閉のみ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ン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ンネル分子が入ると、ゆっくり fluctuation する電流と速く fluctuation する電流が觀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、リアノジンの効果からカルシウム放出チャン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、カルシウムチャンネルには二つの大きく異なるコンフォメーションがあることを示した。一つのコンフォメー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。カルシウムチャンネルには様々なサブコンダクタンスレベルが觀測された。これらの電流の解析から、カルシウムチャンネルが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ンネルモデルを提出した。このモデルは電子顕微鏡觀察の結果と矛盾しないことを示した。

カルシウムチャンネルが平面膜に入った後に非常に大きい電流が觀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、カルシウムチャンネルの 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、リア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關与するカルシウムチャンネルの開閉のみカニズムを電気生理学的に行ったもので、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。