

氏名(本籍)	おに 鬼	まる 丸	ひろし 洋	(福岡県)
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	博	乙	第	505 号
学位授与年月日	平成元年 3 月 25 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
審査研究科	生物科学研究科			
学位論文題目	Electrophysiological study of activation and inactivation of Ca channels by ionic stimulation in <i>Paramecium</i> (ゾウリムシ Ca チャネルのイオン刺激による活性化と不活性化の電気生理学的研究)			
主査	筑波大学教授	理学博士	内 藤	豊
副査	筑波大学教授	理学博士	石 坂	昭 三
副査	筑波大学教授	理学博士	渋 谷	達 明
副査	筑波大学教授	理学博士	猪 川	好 倫

論 文 の 要 旨

生体膜の電位感受性イオンチャネルは、神経系における情報の伝達、筋細胞の収縮などの細胞運動の制御、生物発光の制御、腺細胞の分泌の制御など様々な生命現象に直接、間接関与している。単細胞動物においても電位感受性イオンチャネルは、繊毛・鞭毛の運動、原形質流動、触手運動、アメーバ運動など様々な運動性反応の制御に役立っている。繊毛虫類ゾウリムシでは、膜の脱分極により繊毛膜に局在する電位感受性 Ca チャネルが活性化されて開き、外液の Ca^{2+} イオンがその電気化学的勾配に従って繊毛内に流入し、これにより生じる繊毛内 Ca^{2+} イオン濃度の上昇が繊毛内の逆転機構を活性化して繊毛逆転が生じ、これによりゾウリムシは後退遊泳することになる。ゾウリムシでは又、外液の K^+ イオン濃度を上げると繊毛逆転反応が生じることが知られている。これは、 K^+ イオン濃度の上昇がゾウリムシ膜の脱分極を引き起こし、これにより、繊毛膜の電位感受性 Ca チャネルが活性化されるために生じると考えられてきた。所が、良く調べると、この K^+ イオンによる電位感受性 Ca チャネルの活性化は、膜の脱分極とは無関係に、外液の Ja 比 ($[\text{K}^+] / [\text{Ca}^{2+}]^{1/2}$) の上昇により生じるという矛盾に満ちた事実が明らかになってきた。そこで本研究では、ゾウリムシを材料とし、通常の電気生理学的手法を用い、外液の Ja 比を変えたときに生じる膜の受動的、能動的電気的性質の変化を精細に調べ Ja 比と Ca チャネルの活性化の関係を明らかにした。そして、ゾウリムシ膜を陽イオン交換膜と見なして Teorell (1935) と Meyer and Sievers (1936) の理論を

導入して、Ja 比と膜の拡散電位の関係を数式化することに成功し、上記の矛盾を解決した。

Part 1 には、外液の Ja 比を増大した時に生じる繊毛逆転反応の継続時間と、定常的膜電位や活動電位の変化との関係が調べられ、Ja 比増大による Ca チャネルの活性化は、イオン強度増大による膜の見かけ上の脱分極には依存しないこと、又 Ca チャネルの活性化に引き続いて不活性化が生じること等が示されている。Part 2 では、Ja 比の増加による Ca チャネルの活性化と、脱分極性電流による Ca チャネルの活性化の比較がなされ、又活性化・不活性化の詳細な時間経過、及び不活性化の Ca 依存性等が調べられている。Part 3 では、Ja 比増大により活性化された Ca チャネルの不活性化の性質が更に詳しく調べられている。Part 4 では、膜表面の糖蛋白質のシアル酸残基糖に特異的に結合するルテニウムレッドの、外向き電流パルスにより生じる活動電位と、Ja 比増大により生じる繊毛逆転反応の継続時間に対する抑制作用が調べられている。そして、これらの抑制に対する Ca イオンの拮抗作用の定量的解析から、ゾウリムシ膜のイオン交換膜としての性質は、膜の糖蛋白質の陰イオン基が深く関係していることを示している。Part 5 では、イオン交換膜に生じる電位の理論に基づいて、ゾウリムシ膜における電気発生の機構を解析している。

審 査 の 要 旨

本論文は次の諸点から高く評価される。

- (1) 細胞内外の見かけ上の電位差は、膜内外の真の膜電位差（拡散電位）と表面電位との和であり、電位感受性イオンチャネルが検知する膜内の電位勾配は、Ja 比の関数で、Ja 比の増大により膜は脱分極することを理論的に証明した。得られた理論式より計算された値は実測値と極めてよく一致し、電位感受性イオンチャネルの膜電位非依存性という永年の矛盾が解消された。
- (2) 外液の Ja 比増大に反応して示す Ca チャネル活性化の時間経過は、膜表面におけるイオン交換反応の時間経過と同じであることを見だし、膜内電位勾配の減少はイオン交換反応と並行して生じる事を証明した。
- (3) Ca チャネルの不活性化には、 Ca^{2+} の流入による細胞内 Ca^{2+} 濃度の増大により生じる時定数数十秒のものと、それより遥かに長い（数分）時定数で、膜の脱分極に依存するものの2つがあることを見いだした。この2つの不活性化過程は、淡水産単細胞動物の行動反応の制御に重要な意味を持つことが明らかとなった。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。