

429. 脂質平面膜法による合成イオンチャンネルの電気生理的特性

【キーワード】

イオンチャンネル・脂質平面膜法・
コンダクタンス
神戸大学医療技術短期大学部
講武芳英
名古屋大学医療技術短期大学部
河上敬介

<はじめに>

イオンチャンネルは神経や筋の細胞膜を貫通し、細胞内外のイオンを通過させ神経や筋の興奮等に関与する重要な機能を持った蛋白質である。近年、イオンチャンネルの電気生理学的研究は、平面膜法やパッチクランプ法などにより飛躍的な進歩を遂げ、主要なイオンチャンネルの一次構造と機能の関連性が明らかになってきている。さらに、このイオンチャンネルの異常と様々な疾患との関与が解明されつつある。しかし、複雑なチャンネル蛋白質の生体膜内構造を推定することは容易ではない。

そこで今回我々は、生体膜のイオンチャンネルの構造を参考にして合成された簡単なモデル分子を脂質平面膜に組み込み、その電気生理特性を調べたので報告する。

<実験材料と方法>

脂質平面膜法は、水中に人工的に平面状の脂質二分子膜を形成させ、測定対象のイオンチャンネルを埋め込んで単一チャンネルの挙動を調べる方法である。この方法はパッチクランプが適用不可能な微小細胞などのチャンネルの測定が可能であることや、生化学的に精製された膜蛋白質の性質をほかの分子の干渉なしに調べることができるという長所を持っている。なお、平面膜の形成には脂質 (asolectin) を有機溶媒 (n-decane) に溶かして用いた。

合成イオンチャンネルには、Na⁺チャンネルなどで示唆されているイオン透過部位 (ポア) の膜内構造 (両親媒性の α ヘリックス構造によるオリゴマーモデル) を参考にし (静岡大・工・小武家教授より供与) て合成された両親媒性の非ペプチド化合物を用いた。

実験機器にはイオンチャンネルを通る微小電流計測用のパッチクランプアンプ (CEZ-2300、日本光電製) を用い、その電流をオシロスコープ (COR-5521、菊水製) で観察し、データはA/Dコンバーター (VR-10B、インストルテック製) で変換してVHSビデオテープに記録後パソコンで解析処理した。

<結果>

脂質平面膜法による電位固定下で、単一チャンネル様の電流活動が再現性良く観察され、K⁺イオンやNa⁺イオンなどの陽イオンの通過が確認された。その電流活動はコンダクタンスを基準に分類すると次の3つのグループに分けられた。タイプIは700-1000 pS (ピコジーメンズ)、タイプIIは80-150pS、タイプIIIは10-20pSであった。これらのタイプの出現頻度はランダムであり、同一膜内に共存することもあった。またそれぞれ独特のゲーティング特性を示し、タイプIは70mV以上の膜電位で不活性化されるが、他のタイプは電位依存性を示さなかった。さらに、これらのコンダクタンスレベルは一度現れると長時間にわたって安定に持続し、電圧に対してほぼ一定で単一イオンチャンネル様に観察された。

<考察>

合成イオンチャンネルとして用いた化合物は生体のNa⁺チャンネルなどを参考にモデル化したもので、脂質分子のアルキル鎖に添ってポリエーテルを導入した構造であり、脂質二分子膜の半分だけ貫通しうるのである。従って、その分子構造から考えるとこの化合物は、脂質二分子膜中で親水ユニット (エーテル部) を内側にして複数の分子が会合し円筒状のハーフポアを形成した後、このハーフポアが膜の両側から会合したとき安定なチャンネル構造をとるものと考えられる。

今回の実験結果において、3タイプのコンダクタンスレベルが観察された理由は、チャンネルを構成する両親媒性化合物の分子の会合する数の違いが反映しているものと思われる。

このように生体の神経や筋細胞に存在するイオンチャンネルをもとに人工合成したイオンチャンネルの機能を明らかにすることができた。これにより生体の細胞膜内で複雑に関与しあっているイオンチャンネルの構造や機能を明らかにすることが可能になると考えられる。さらにイオンチャンネルの解明は、運動療法や物理療法などが生体に及ぼす効果を明らかにするための一助となるものと思われる。