

氏 名	河 野 ゆたか
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2329 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	The properties of the Kir6.1-6.2 tandem channel co-expressed with SUR2A (SUR2A と共発現させた Kir6.1-6.2 タンデムチャネルの性質)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 間 昭 典 教 授 米 田 正 始 教 授 篠 山 重 威

論 文 内 容 の 要 旨

ATP 感受性カリウム (K_{ATP}) チャネルは, pore を形成する Kir6.x 蛋白 4 個とスルフォニルウレア受容体 (SUPSx) 4 個の 8 量体構造をとると考えられている。pore subunit としては心筋細胞では Kir6.1 と Kir6.2 の発現が確認されている。他の内向き整流性カリウムチャネルや電位依存性カリウムチャネルにおいて, 2 種類の subunit により heteromeric tetramer が形成され得ることが報告されており, 約 70% の相同性を持つ Kir6.1 と Kir6.2 も同様に heteromeric tetramer を形成し得ると考えられた。本研究では, pore 蛋白として Kir6.1 と Kir6.2 の 2 種両方を含む heteromeric K_{ATP} チャネルの性質を, 培養細胞 COS7 を使用した再構築系を用いパッチクランプ法により検討した。

Kir6.1, Kir6.2, SUR2A を同時に細胞表面に発現させると, Kir6.1/SUR2A (33.6 ± 4.2 pS) と Kir6.2/SUR2A (67.1 ± 1.6 pS) の間の様々なコンダクタンスを示すチャネル活動が見られた。しかし発現する多くのチャネルは Kir6.2 の性質を示し, そのためそれらの中間型チャネルの性質を調べることができなかった。

そこでサブユニットの構成比を規定するために, Kir6.1 と Kir6.2 蛋白をグルタミン残基 10 個により直列につないだタンデム蛋白をデザインし, 細胞表面に SUR2A と共発現させた。構成されたチャネルは Kir6.1 と Kir6.2 の中間のコンダクタンスを示した (58.9 ± 1.5 pS)。Kir6.2 と Kir6.2 をつないだタンデム蛋白は Kir6.2 と同等のコンダクタンスを示した (67.9 ± 4.8 pS)。これにより Kir6.1 と Kir6.2 は heteromeric チャネルを形成する能力を有するものと考えられた。

Kir6.1 チャネルは Kir6.2 チャネルよりも ATP 感受性が低いことが報告されているため, タンデムチャネルの ATP 感受性は両者の中間であることを予想したが, タンデムチャネルは Kir6.2 チャネルと同等の ATP^{4-} 感受性を示した (IC_{50} : $17.6 \pm 9.6 \mu M$ 及び $14.1 \pm 12.8 \mu M$)。タンデムチャネルには高い ATP 親和性を示す部位 (すなわち Kir6.2) と低い ATP 親和性を示す部位 (すなわち Kir6.1) が 2 つずつ存在するため, ATP 分子はそのいずれかに結合すればチャネルを閉じることができると考えられた。

それに対し, マグネシウム存在下ではタンデムチャネルは Kir6.2 チャネルより低い MgATP 感受性を示した (IC_{50} : $95.5 \pm 49.6 \mu M$ 及び $18.9 \pm 5.0 \mu M$)。SUR1 は MgATP 存在下で Kir6.2 を活性化する作用を持つが, SUR2A にはその作用がなく, そのため Kir6.2/SUR1 と Kir6.2/SUR2A の MgATP 感受性が異なるということが報告されている。今回 SUR2A は MgATP 存在下で Kir6.1 を活性化し, そのためタンデムチャネルの MgATP 感受性が低下した可能性が考えられた。

以上, Kir6.1 と Kir6.2 は heteromeric チャネルを形成する能力を有し, その MgATP 感受性は Kir6.2 チャネルよりも低いことが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では, pore 蛋白として Kir6.1 と Kir6.2 の 2 種両方を含む heteromeric K_{ATP} チャネルの性質を, 培養細胞

COS7 を使用した再構築系を用いパッチクランプ法により検討された。

Kir6.1, Kir6.2, SUR2A を同時に細胞表面に発現させた時のチャンネル活動と, Kir6.1 と Kir6.2 蛋白を直列につないだタンデム蛋白を SUR2A と共発現させた時のチャンネル活動との類似性が確認された。これにより Kir6.1 と Kir6.2 は heteromeric チャンネルを形成する能力を有することが証明された。

タンデムチャンネルは Kir6.2 チャンネルと同等の ATP^{4-} 感受性を示すことから, K_{ATP} チャンネルの ATP^{4-} 感受性は, もっとも高い ATP 親和性を示すサブユニットに依存するものと考察された。一方, マグネシウム存在下ではタンデムチャンネルは Kir6.2 チャンネルより低い MgATP 感受性を示したため, SUR2A は MgATP 存在下で Kir6.1 を活性化する可能性があるものと考察された。

以上の研究は内向き整流性カリウムチャンネルの機能・構造の解明に貢献し, イオンチャンネルの研究分野の発展に寄与するところが多い。

したがって, 本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。なお, 本学位授与申請者は, 平成13年 2 月 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け, 合格と認められたものである。