

Conductance Selectivity of Na⁺ Across the K⁺ Channel via Na⁺ Trapped in a Tortuous Trajectory

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2021-03-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 三田, 建一郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/00028722

学位論文の要旨

※ 整理番号		ふりがな 氏名	みた けんいちろう 三田 建一郎
学位論文題目	Conductance Selectivity of Na ⁺ Across the K ⁺ Channel via Na ⁺ Trapped in a Tortuous Trajectory (K ⁺ チャンネルのイオン選択性はNa ⁺ がチャンネル内の曲がりくねった経路で引っ掛かることによる)		
<p>【研究の目的】 Kチャンネルは、あらゆる細胞に普遍的に存在するイオンチャンネルである。静止膜電位の形成に関わり、細胞の電気的活動を制御するために欠かすことができない。イオンチャンネルにとって、さまざまなイオン種の中から特定のイオンだけを選択し透過させるイオン選択性は基本的な機能である。Kチャンネルの場合、K⁺よりも直径が小さいNa⁺を透過させるという特異な選択性があり、その詳細なメカニズムは数十年に渡って注目され研究されてきたにもかかわらず未だ明らかにされていない。 本研究の目的は2つある。 1. カリウムチャンネルをNa⁺はどの程度透過するのか、実験的に検証する。 2. 実験結果を基にして、計算機シミュレーションによって選択性の原子機構を解明する。 単一チャンネル電流記録という実験結果とMDシミュレーションという計算結果を総合して解析することにより、カリウムチャンネルのNa⁺選択性機構という普遍的課題に迫る。</p> <p>【方法】 電気生理学的手法を用いた単一チャンネル電流計測とMolecular Dynamicシミュレーションを使用し、それらの結果を総合して解析した。代表的KチャンネルであるKcsAチャンネルを使用した。実験では、他のイオンチャンネルの混入を排除するため、精製したKcsAチャンネルを人工的に作成した脂質二重膜に組み込んで電流計測を行う、脂質平面膜法およびContact Bubble Bilayer (CBB) 法を用いた。Kチャンネルを流れるNaはごくわずかであるので高濃度Na溶液中で、しかも大きな電圧を負荷して実験を行った。MDシミュレーションでも多数のNaが流れるように高Na濃度、高電位で行った。</p> <p>【結果】 細胞外液のNa⁺濃度を高くしても内向き電流は全く観察されなかった。一方、細胞内液のNa⁺濃度を高くすると（200 mM、細胞外側 K イオン濃度 200 mM）正電位を負荷しても Na 電流は計測できなかったが、膜電位を負電位に戻すと、ある時間を経てから内向きの K⁺電流が計測された。これは高電位を負荷したことによってNa⁺が選択性フィルタ内に入り込んだ（ブロック）ことを示す。次に、より大きな電位を負荷すると、ブロックしたNa⁺がフィルタを透過する現象が間接的に観測された。 Kチャンネルを透過するNa⁺電流を直接的に計測するために、さらに電気化学的駆動力を上げる（細胞内Na⁺濃度2000 mM、高電位負荷）と、KcsAチャンネルを通るNa⁺単一チャンネル電流が計測された。これは世界で初めての結果である。Na⁺電流はKイオン電流と比較して、約80分の1の大きさであった（コンダクタンス比）。 MDシミュレーションを用いて、フィルタ内でのK⁺とNa⁺の透過の違いについて解析した。Na⁺は選択性フィルタ内を従来予想していなかった経路を辿ることを発見した。Kはフィルタの中心軸を速やかに透過するのに対し、Na⁺は曲がりくねった経路をとり、しかもいたるところで引っ掛かることが透過速度を遅くしていることを明らかにした。</p> <p>【考察】 イオン選択性を考える時、従来の“透過比”という実体の乏しい概念を使うのではなく、より具体的に流れを直接表現する“コンダクタンス比”を適用したことで、イオン選択性の具体的描像がきわめて明快になった。さらに電気生理学の実験とMDシミュレーションからフィルタ入口とフィルタ内での過程がカリウムチャンネルの選択性に本質的な役割を果たすことを解明した。</p> <p>【結論】</p>			

K チャンネルの選択性は、従来、教科書に記述されている 1000 倍以上という定説を覆し、約 80 倍であるという実験結果を示すことに成功した。イオンはフィルタ内に入り込むと、 K^+ は直進し速く透過するが、 Na^+ は曲がりくねって進み、何度も引っ掛かってしまうことで遅い透過となる。チャンネルのイオン選択性がこのようなダイナミックな過程を通して起きているという新しい描像を提供することができた。

- 備考
- 1 ※印の欄は、記入しないこと。
 - 2 学位論文の要旨は、和文により研究の目的、方法、結果、考察、結論等の順に記載し、2,000 字程度にまとめタイプ等で印字すること。
 - 3 図表は、挿入しないこと。