

論文内容の要旨

博士論文題目 Voltage-Dependent Ion Channels Formed by Oligopeptides Consisting of Alternating D- and L-Amino Acids with Charged Terminal Groups
(末端に電荷を持つ交互 D, L-アミノ酸からなるオリゴペプチドイオンチャネル)

氏 名 満永 雅一

(論文内容の要旨)

イオンチャネルは神経の情報伝達を担う巨大膜蛋白質である。これまで、電気生理学的手法を用いて天然のイオンチャネルの機能と構造の相関を明らかにする研究が行われてきた。さらに近年、X線結晶解析により、チャネル蛋白質の三次元構造が得られてきている。天然のイオンチャネルは神経伝達において非常に優れた機能を有しており、簡単な有機化合物で人工的に模倣することにより、イオンチャネルの機能と構造の相関を明らかにし、さらに人工イオンデバイスの構築が期待される。特に、電位依存性イオンチャネルは、神経伝達において主要な役割を果たしており、電位依存性機能を人工構築する原理を見出し、それによる構造と機能の相関の解明は重要な意義を有している。

本研究では、両末端に電荷を持つ疎水性交互 D, L-アミノ酸から成る膜貫通オリゴペプチドを用いて、電位依存性人工イオンチャネルを構築することに成功した。以下に各章の要旨を示す。

第1章では、天然のイオンチャネルの機能と構造について概観し、さらに、人工イオンチャネルについて紹介し、従来の報告例を基に本研究の背景を述べた。第2章では、両末端に電荷を持つ疎水性交互 D, L-アミノ酸から成る膜貫通オリゴペプチドを用いた、電位依存性人工イオンチャネルの構築について記述した。N末端に+1, C末端に-1の対称な異電荷を持つ交互 D, L-N末端 Val12 残基及びN末端 Val15 残基ペプチドを用いて、平面脂質二分子膜を用いたシングルイオンチャネル電流測定において、開確率の電位依存性を示す安定なチャネル電流挙動を得た。ペプチド鎖長の短い 10 残基ではチャネル電流が観測されなかったことから、12, 15 残基ペプチドは膜貫通型構造であると推定した。また、これらのペプチドは整流性を示さなかった。N末端に+2, C末端に-1の非対称な異電荷を持つ交互 D, L-N末端 Arg15 残基ペプチドのシングルチャネル電流測定では、開確率の電位依存性、整流性を共に示さず、安定な開状態を持続する結果を得た。これは N末端 Arg15 残基ペプチドで形成されたイオンチャネルは膜の両側で対称な電荷を有し、安定なポアを持つことを示唆している。N末端 Val15 残基及びN末端 Arg15 残基ペプチドはリポソーム膜中における円偏光二色性測定において、膜中でヘリックスダイマー構造を示すグラミシジンとは異なる、ダブルヘリックス構造を示唆するスペクトルを得た。開閉機構を推定するために必要な閉状態時の構造を示唆する重要な結果である。

以上の結果とこれまで報告されている人工イオンチャネルとの比較により、交互 D, L-N末端 Val12 残基及び Val15 残基ペプチドで形成されたイオンチャネルの構造は、ある限られた会合数の膜貫通型ペプチドがイオン対を形成し、また電荷が非対称になるポアであると推定した。

(論文審査結果の要旨)

イオンチャネルは神経の情報伝達を担う巨大膜蛋白質である。これを簡単な有機化合物で人工的に模倣することにより、イオンチャネルの機能と構造の相関を明らかにし、さらに人工イオンデバイスの構築を目指して、近年、精力的に研究が行われている。特に、電位依存性イオンチャネルは、神経伝達において主要な役割を果たしており、電位依存性機能を人工構築する原理を見出し、それによる構造と機能の相関の解明は重要な意義を有している。

本論文では、両末端に電荷を持つ疎水性交互 D, L-アミノ酸から成る膜貫通オリゴペプチドを用いて、電位依存性人工イオンチャネルの構築に成功し、以下の重要な成果を得ている。

1. N 末端に+1, C 末端に-1 の対称な異電荷を持つ交互 D, L-N 末端 Val12 残基及び交互 D, L-N 末端 Val15 残基ペプチドを用いて、平面脂質二分子膜を用いたシングルイオンチャネル電流測定において、開確率の電位依存性を示す安定なチャネル電流挙動を得た。ペプチド鎖長の短い 10 残基ではチャネル電流が観測されなかったことから、12, 15 残基ペプチドは膜貫通型構造を推定した。整流性は示さず、開確率の電位依存性を示す結果は、天然のイオンチャネルとの類似性から興味深い。従来のペプチド系チャネルモデルでは報告されておらず、新しい機能を実現している。
2. N 末端に+2, C 末端に-1 の非対称な異電荷を持つ交互 D, L-N 末端 Arg15 残基ペプチドのシングルチャネル電流測定では、開確率の電位依存性、整流性を共に示さず、安定な開状態を持続する結果を得た。これは交互 D, L-N 末端 Arg15 残基ペプチドで形成されたイオンチャネルは膜の両側で対称な電荷を有し、安定なポアを持つことを示唆している。
3. 交互 D, L-N 末端 Val15 残基ペプチド及び交互 D, L-N 末端 Arg15 残基ペプチドはリポソーム膜中における円偏光二色性測定において、リポソーム膜中でヘリックスダイマー構造を示すグラミシジンとは異なる、ダブルヘリックス構造を示唆するスペクトルを得た。開閉機構を推定するために必要な閉状態時の構造を示唆する重要な結果である。
4. 以上の結果とこれまで報告されている人工イオンチャネルとの比較により、交互 D, L-N 末端 Val12 残基及び Val15 残基ペプチドで形成されたイオンチャネルの構造は、ある限られた会合数の膜貫通型ペプチドがイオン対を形成し、また電荷が非対称になるポアであると推定した。電位をかけた状態における 1 分子の構造を見る手段は未だ開発されておらず、シングルイオンチャネル電流測定の詳細な研究から得られた知見に基づく考察は 1 分子のチャネルの構造を推定する唯一の方法であり、今後のイオンチャネル研究の展開に貢献すると考えられる。

以上のように本論文は電位依存性イオンチャネル構築の原理を示しており、学術的な価値のみならず、有用な人工イオンデバイスへの展開にも寄与するものであると考えられる。よって審査委員一同は、本論文が博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認めた。