

論文審査の結果の要旨

氏名 清水 啓史

本論文はカリウムイオンチャネルのイオン選択機構の解明を目指したものである。カリウムイオンチャネルのイオン選択部位（イオン選択フィルター）には複数のイオン結合部位があり、イオンはその複数の結合部位を通過することによって選択される。従来のカリウムチャネルの研究では、各過程を分離して調べることができなかつたため、複数の過程を経るイオンの選択機構の詳細は明らかではなかつた。本論文で用いられた HERG カリウムチャネルはイオン選択フィルターが構造変化を起こすことに起因する不活性化状態をもつ。著者はこの点に着目し、HERG カリウムチャネルの不活性化機構を利用してイオン透過の部分的な過程をイオン透過過程全体と分離して調べることに成功した。

カリウムイオンチャネルのイオン選択フィルターは、原核・真核生物を問わず保存されており、本論文で用いられた HERG チャネルのイオン選択フィルターを調べることで、全てのカリウムチャネルのイオン選択機構の理解に基本的な枠組みを与えることができる。

不活性化とイオン選択フィルターとの相関に関する次の各点について得た結果を述べている。

1. 透過イオンと不活性化の競合
2. TEA、透過イオンの不活性化抑制部位における相互作用の発見
3. 不活性化抑制部位のイオン選択性

1 について：著者は透過イオンと不透過イオンによる不活性化抑制効果を、イオン種・濃度を変えて系統的に調べ、HERG チャネルの不活性化と透過イオンが競合することを示した。また細胞内外溶液中のイオンによる不活性化に対する影響の差を測定し、不活性化と競合する部位がイオン選択フィルターの細胞外に近い領域であることを示した。

2 について：TEA はカリウムイオンチャネルのイオン選択フィルターの細胞外開口部に結合して電流を抑制する一価カチオンである。HERG チャネルの研究において、TEA は不活性化抑制剤としても知られていた。著者はチャネルを透

過せず不活性化を抑制する TEA の性質に着目し、透過イオンによる不活性化抑制部位との位置関係を調べるプローブとして利用した。

TEA のチャンネルに対する親和性は、細胞外のカリウムイオン濃度を上げると低くなることが分かった。また、透過イオンと TEA のモル分率実験を行い、透過イオンと TEA は不活性化に関して異常モル分率的振る舞いをすることを示した。これらの結果は、透過イオンによる不活性化抑制部位と TEA の結合部位は異なるが、その間に相互作用があることを示している。またその相互作用は透過イオン種によって異なることを示した。

TEA をプローブとした以上の実験結果は、イオン選択フィルターの複数のイオン結合部位のうち、特定のイオン結合部位に結合したイオン種のイオン半径を TEA が外から観測することができることを明らかにしたものであり、今後のカリウムイオンチャンネルの研究に重要な意味を持つ発見である。

3 について：透過イオンの不活性化抑制部位への親和性を調べた。その結果不活性化抑制部位のイオン選択性がイオン透過のイオン選択性とは異なりかつ弱いことを明らかにした。この結果により著者は、HERG チャンネルの不活性化を利用することによって、イオン選択フィルターの一つのイオン結合部位の性質を全体の性質から分離できることを明らかにした。

最後に透過イオンの結合部位（不活性化抑制部位）のイオン選択フィルター中の位置について考察をしている。近年次々と報告されている、カリウムイオンチャンネルのイオン透過モデル、TEA とチャンネルの相互作用の分子動力学計算結果などを交え、TEA と透過イオンがどのようなメカニズムで相互作用しているかについて議論し、今後の研究に有意義な知見を紹介している。

以上、本論文において著者は複数のイオン結合部位をもつカリウムチャンネルのイオン選択フィルターから、ある 1 つのイオン結合部位の性質を抽出する方法を確立した。また、その部位のイオンのイオン半径をイオン選択フィルター外から TEA をプローブとして観測できることを明らかにした。この成果はカリウムイオンチャンネルのイオン選択機構解明に向けて、独創的でありかつ重要な一歩であると評価できる。その業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいと審査委員全員一致で判断した。

なお、本論文は豊島近氏、老木成稔氏との共同研究であるが、論文著者が主体的に研究を行ったものであり、論文著者の寄与が十分であると判断する。

よって博士（理学）の学位を授与できると認める。