

氏名	中 村 幹 彦
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博乙第 3214 号
学位授与の日付	平成 10 年 3 月 25 日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 4 条第 2 項該当)
学位論文題目	人工境界脂質含有リポソームを用いる味受容膜タンパク質の研究
論文審査委員	教授 河津 一儀 教授 中島 修平 教授 多田 幹郎 教授 泉本 勝利 教授 大森 晋爾

学位論文内容の要旨

味覚を本質的に理解するためには、舌上で行われる味覚の初期受容を解明することが不可欠である。しかし、舌上での初期受容はGタンパク質と連動した微量の受容膜タンパク質および多種のイオンチャンネルがその受容機構を担っているため、大変複雑で研究が難しい分野である。そのため、受容膜タンパク質の研究は、現在まで殆ど進捗が見られず、正確な知見が得られていないのが現状である。そこで本研究では、受容膜タンパク質研究のため従来独立的に進められてきた神経・電気生理学的アプローチと分子生物学的アプローチの両者を、近年膜タンパク質研究用に開発された人工境界脂質含有リポソームを用いることによって合体させ、新しい方法論を確立して、膜タンパク質の精製を試みた。

人工境界脂質含有リポソームによる味受容膜タンパク質の抽出条件を検討するため、リポソーム処理前後のカエル舌の神経応答を測定し比較した。リポソームで30分間処理することにより、L-アラニン、シュークロース、L-ロイシンおよびキニーネ塩酸塩に対する舌の神経応答の減少が観察されたので舌上の膜タンパク質がリポソーム膜に抽出されたと推定した。さらに、抽出された膜タンパク質中に味受容膜タンパク質が存在することを確認するため、味物質 (L-アラニン) で修飾した水晶振動子 (QCM) とタンパク質転移後のリポソーム (プロテオリポソーム) 間の親和性を測定したところ、プロテオリポソーム膜上にL-アラニンに親和性を示すタンパク質が存在することが明らかとなった。続いて、このプロテオリポソームを、L-アラニンアフィニティークロマトグラフィーに供したところ、108・57・36 kDのタンパク質が、L-アラニンによって特異的に溶出された。さらにSDS-PAGEによって、これらのタンパク質がカエルのL-アラニン受容膜タンパク質であることを確認できた。そこで、ラット・犬を用いて、この方法の高等動物への適用を検討した。その結果、カエルの場合と同様に、ラットや犬においてもL-アラニン受容膜タンパク質をリポソーム膜上に抽出することに成功し、本法の発展性および普遍性を証明した。

論文審査結果の要旨

現在まで十分な研究が行われていない味受容膜タンパク質に関する知見を得るため、人工境界脂質含有リポソームを用いてカエル舌の味受容膜タンパク質を抽出した。リポソーム処理後の味に対する神経応答の減少により、舌上の膜タンパク質がリポソーム膜に抽出されたと推定した。さらに、甘み物質の代表としてのL-アラニンで修飾した水晶振動子(QCM)とタンパク質抽出後のリポソーム(プロテオリポソーム)間の親和性を測定することによって、抽出された膜タンパク質中に味受容膜タンパク質が存在することを確認し、プロテオリポソーム膜上にL-アラニンに親和性を示すタンパク質が存在することを証明した。続いて、このプロテオリポソームを、L-アラニンアフィニティークロマトグラフィーに供したところ、108, 57, 36 kDaのタンパク質が、L-アラニンによって特異的に溶出されることを見出し、さらにSDS-PAGEによって、これらのタンパク質がカエルのL-アラニン受容膜タンパク質であることを確認した。そこで、ラットと犬を用いて、この方法の高等動物への適用を検討したところ、カエルの場合と同様に、ラットや犬においてもL-アラニン受容膜タンパク質をリポソーム膜上に抽出することに成功し、本法が味受容膜タンパク質研究に有効であることを明らかにした。本論文は、味受容膜タンパク質に関する研究に一つの新しい方法論を提供した点で、非常に価値が高いと判定する。本審査会は本論文が、博士(農学)学位を授与するに値する内容を十分に有しているものと判定した。