九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Molecular analysis of ATP-sensitive K+ channel subunits expressed in mouse vas deferens myocytes

岩佐, 憲臣

https://hdl.handle.net/2324/1441342

出版情報：九州大学, 2013, 博士（医学）, 論文博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名：岩佐　憲臣

論文題名：
Molecular analysis of ATP-sensitive K^+ channel subunits expressed in mouse vas deferens myocytes
（マウス輸精管平滑筋細胞に発現している ATP 感受性 K^+チャネルサブユニットの分子生物学的解析）
区　　分：乙

論　文　内　容　の　要　旨

【背景と目的】
K_{IR}6.x およびスルホニルウレア受容体（SUR）で構成される ATP 感受性 K^+チャネル（K_{ATP}チャネル）はこれまで平滑筋細胞においてその存在は報告されてきたが、未だマウス輸精管平滑筋細胞においてどのようなサブユニットが発現しているのか、どのような分子構造の組み合わせになっているのか、現在のところ不明のままである。

【実験方法】
マウス輸精管平滑筋細胞における K_{ATP}電流の薬理学的および電気生理学的特性についてパッチクランプ法を用いて調べた。さらにこれら K_{ATP}チャネルの分子特性について分子生物学的手法を用いて解析した。

【重要結論】
ホールセル記録法下にてピナシジルを投与すると内向き電流が惹起し、この電流はスルホニルウレア剤であるグリベンクラマイドや選択的 K_{IR}6.1 遮断薬である U-37883A の追加投与にて完全に抑制された。また予めピペット内液へ 0.3 mM ATP を負荷しておくとピナシジル誘発性内向き電流の最大振幅値は ATP を負荷しない時に比べ、極めて小さかった。さらに 3 mM UDP、GDP、ADP をそれぞれピペット内液へ予め負荷し、ホールセル記録法状態が完成後、惹起される電流の最大振幅値の大きさは UDP＞GDP＞ADP の順序であった。またヌクレオチド-2-リン酸で誘発される内向き電流はグリベンクラマイドの追加投与にて完全に抑制された。SUR 調節薬である MCC-134 はグリベンクラマイド感受性 K_{ATP}電流を惹起し、この電流は 100 μM ピナシジル誘発性電流とその最大振幅値がほぼ同じであった。セルアタッチ法下にてピナシジルを投与すると K_{IR}6.1 チャネルとほぼ同じコンダクタンス（140mM K^+濃度の状況下で 37 pS）を有するチャネルを活性化した。RT-PCR 法解析にて K_{IR}6.1 および SUR2B の転写産物の発現を同定した。免疫組織化学染色法にて K_{IR}6.1 タンパク質および SUR2B タンパク質の平滑筋細胞での組織学的局在を同定した。以上の結果よりマウス輸精管平滑筋細胞における K_{ATP}チャネルは KIR6.1/SUR2B のヘテロ複合体である可能性が示唆された。