

ふりがな           かねこ としゆき  
氏名               金子 智之  
学位               博士（理学）  
学位記番号        新大院博（理）第273号  
学位授与の日付   平成19年3月22日  
学位授与の要件   学位規則第4条第1項該当  
博士論文名        Receptor Potential in Characeae: Involvement of Stretch-Activated Ca<sup>2+</sup> Channels.  
                      (車軸藻類における機械刺激感受性カルシウムチャンネルの挙動)

論文審査委員           主査 教授   菊山 宗弘  
                              副査 教授   和田 清俊  
                              副査 教授   小谷 昌司  
                              副査 助教授 岩崎 俊介

#### 博士論文の要旨

植物においても種々の機械的な刺激を受容し、これに応答する能力を持つ。本論文は、この機械刺激受容の初期過程、特に受容器電位の発生に至る過程を細胞レベルで解明しようとするものである。この目的のために、巨大な細胞を持つ車軸藻類を研究材料として採用した。

他の研究者により、機械刺激による受容器電位の発生は Cl<sup>-</sup> チャンネルの活性化によって起こるとの報告がなされている。第1章では、機械刺激に感受性の Ca<sup>2+</sup> チャンネルが受容器電位発生に関与することを示した。これにより、先行論文における Cl<sup>-</sup> チャンネルの活性化は、開口した Ca<sup>2+</sup> チャンネルを通して細胞内に流入した Ca<sup>2+</sup> によって引き起こされるものであるとした。

第2章と第3章では、細胞に機械刺激（圧迫力）を与えたことがどのようにして Ca<sup>2+</sup> チャンネルの活性化を引き起こすかの検討を行った。第2章では細胞を圧迫したときにみられる細胞変形量の大きさと受容器電位との間に強い正の相関があることを示し、これにより、Ca<sup>2+</sup> チャンネルを活性化させる要因は細胞の変形であると結論した。第3章ではこの結論をさらに詳細に検討した。同一細胞に対して同一の大きさの細胞変形を、異なった浸透圧を持つ溶液中で与えたところ、高い膨圧を持つ細胞のほうが低い膨圧の細胞よりも明らかに大きな受容器電位を発生するとの結果を得た。すなわち、Ca<sup>2+</sup> チャンネルを活性化させるものは、細胞を変形させたときに起こる膜の変形であるというよりは、その細胞変形の際に起こるはずの膜張力の変化であることを示した。

第4章では、第2・3章での結論に対するより直接的な証明を試みた。細胞に対して高張液処理や低張液処理を繰り返すことにより、細胞膜に対して直接引っ張りまたは圧縮の力をかける、という実験である。これにより、膜に引っ張りの張力が働いたときに Ca<sup>2+</sup> チャンネルが活性化されることを示した。

これらのことから、車軸藻類が機械刺激に対して受容器電位を発生する機構は、刺激によって細胞膜にかかる張力が変化し、そのことが Ca<sup>2+</sup> チャンネルの活性化を引き起こすと結論した。

#### 審査結果の要旨

論文の内容は「要旨」の通り、機械刺激に対する応答としての受容器電位発生過程をイオンチャンネルの活性化とその活性化がどのようにして起こるかということを検討したものである。チャンネル活性化の研究手段としては、パッチクランプ法というものが一般に用いられている。しかし植物では細胞の周囲に細胞壁が存在するため、この方法の適用は困難である。そこで、一般的な細胞生理学的手法によってこの問題の検討を行っている。

受容器電位発生にカルシウムチャンネル活性化の過程が存在することは、先行する他の研究者の報告では確認できていない。しかし金子君は、細胞質内カルシウムレベルが機械刺激強度依存的に上昇することを示すことによって、カルシウムチャンネルの関与を明瞭に示した。これは新しい知見である。第2章は機械刺激によって起こる細胞の変形が、カルシウムチャンネルの活性化を引き起こす要因であることを強く示唆した。これら1章、2章の成果はそれぞれ学術雑誌 *Plant & Cell Physiology* に掲載されている。

第3章と第4章は、第2章で明らかにした細胞の変形という要因の物理的な実態を明らかにしようという試みである。細胞に対する機械刺激によって起こる変形量を、圧縮力をかけた瞬間に起こる変形と、それに続いて起こる細胞からの水流出による変形とに分けて測定・検討すること、および一定の変形を与えるのではあるがそのときに膜にかかる張力を変えるという実験とから、膜に作用する張力レベルとその変化が、カルシウムチャンネルの活性化を引き起こすとした(3章)。さらに浸透圧処理によって膜に対して直接引っ張り・圧縮の力をかける実験をおこなったものが4章である。これらの実験はユニークなものであり、その結果も明確である。

これらのことから、本論文は博士論文に相応しいと判定した。