

学位論文審査の結果の要旨

氏名	布施 利紀
審査委員	主査 尾添 嘉久 (印)
	副査 古田 賢次郎 (印)
	副査 中島 廣光 (印)
	副査 小林 淳 (印)
	副査 東 政明 (印)
題目	Ivermectin action on glutamate- and GABA-gated chloride channels (グルタミン酸およびGABA作動性クロロイオンチャンネルに対するイベルメクチンの作用)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>L-グルタミン酸は、無脊椎動物においては興奮性と抑制性の両方の神経伝達を担うシグナル分子である。抑制性神経伝達は、L-グルタミン酸が L-グルタミン酸作動性塩素イオンチャンネル (GluCl) に結合することによって行われる。このチャンネルは、線虫や昆虫などの無脊椎動物にのみ存在することから、アベルメクチン、イベルメクチン (IVM)、ミルベマイシンなどの大環状ラクトン殺虫剤、殺ダニ剤、殺線虫剤の重要なターゲットとなっている。</p> <p>本研究では、GluCl 内の IVM 相互作用部位を化学的に同定するために、光反応性アジド基を含む側鎖をラクトン環の 13 位に導入した 3 種類の IVM B_{1a} 類縁体を合成した。これら類縁体は、アフリカミドリザル腎臓由来 COS-1 細胞に発現させた捻転胃虫 (<i>Haemonchus contortus</i>) およびカイコ (<i>Bombyx mori</i>) の GluCl に作用して nM オーダーの高親和性を示した。またこれら類縁体は、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させた <i>H. contortus</i> GluCl に作用して電流を誘起した。最も高機能性を示した 1 類縁体に ¹²⁵I を導入し、<i>H. contortus</i> GluCl を発現する卵母細胞膜画分を使って GluCl の光親和性標識を試みた。その結果、GluCl の特異的標識を観察することはできなかったが、これは、この類縁体の結合時に光反応性基が GluCl のチャンネル外側に位置しているためではないかと推察された。このことから、GluCl の IVM 相互作用部位を同定するためには、13 位の側鎖ではなく、ラクトン環に近い位置に光反応性基を導入すべきであるという今後の研究のための展望が示された。</p> <p>IVM は、GluCl だけでなく他のイオンチャンネルに対してもアロステリックモジュレーターとして作用することが報告されている。そこで、イエバエ (<i>Musca domestica</i>) の GluCl および γ-アミノ酪酸 (GABA) 作動性塩素イオンチャンネル (GABACl) に対する IVM の作用を電気生理学的手法 (アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いた二電極膜電位固定法) で詳細に調べた。その結果、IVM は単独で両チャンネルを活性化して電流を誘起するだけでなく、低濃度アゴニストによる誘起電流の増強と高濃度アゴニストによる誘起電流の阻害を示した。IVM は両方のチャンネルに対し共通の作用を示したが、GluCl の方が GABACl よりも感受性が高いことから、GluCl が IVM の主要なターゲットであることが示された。つぎに、3 作用を引き起こす相互作用についての知見を得るために、第 3 膜貫通領域の 1 アミノ酸変異体 (GluCl の G312M、および GABACl の G333A と G333M) を用いて同様の試験を実施した。その結果、チャンネルに対する活性化作用、増強作用、および阻害作用のすべてが著しく減少または消失したことから、3 作用とも IVM と膜貫通領域のサブユニット間スペースのアミノ酸残基</p>	

との相互作用に起因することが推察された。

以上のように本論文は、GluCl と GABACl に対する IVM の作用に関する化学的および分子生物学的新規知見を含んでおり、両チャンネルを標的とする新規有害生物防除剤の開発に有益な情報を提供している。得られた研究結果は生物制御化学の発展に寄与する極めて重要な知見であり、本論文は博士（農学）の学位論文に値するものであると認められる。