

チュートリアル課題 つぶれているのは

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2009-10-16 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 東京女子医科大学 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10470/10864

平成17年度 ブロック 1-2期
課題 No.7

「つぶれているのは」



生化学教室、解剖・発生学教室
大久保研之、江崎太一

※無断で複写・複製・転載すると著作権侵害となることがありますのでご注意ください。

シート1

赤血球はちょっと変わった細胞です。中央がくぼんだ円盤状で、他の細胞にあるような構造が見あたりません（図1）。

この赤血球を低張液に入れると細胞膜が破裂（溶血）し、ヘモグロビンなどは外に漏れ出てしまいます。この溶血液を遠心して、その沈殿に対して同じ低張液で再浮遊・遠心を何度か繰り返すと、色の付いていない細胞膜を得る事ができます。これをゴースト ghost といい、調製の条件を変えると、破れた箇所が再び閉じた再封ゴーストや、内側の面が外側を向いた反転膜小胞とすることもできます。（図2）

【抽出を期待する事項】

- ・赤血球が変わっている点は？
 - かたち … 中央がくぼんだ円盤状（ほかの細胞は？）
 - 構造 … 他の細胞にある構造とは？
 - （機能 … 酸素を運ぶ）
- ・ゴースト？
 - 赤血球の細胞膜（赤血球膜）のことをそう呼ぶ
 - 細胞膜だけをとることができるらしい
 - 破れた細胞膜は再び閉じることもできる
 - 内側が外側に反転することもある
- ・赤血球膜の構造はどうなっているのだろう
 - リン脂質二重層と膜タンパク質
 - 膜骨格はゴーストの状態でもその構造を保っている

【抽出が予想されるその他の事項】

- ・遠心分離の原理
 - 遠心すると膜構造は沈殿する
 - （細胞小器官も遠心によって分離することができる）
- ・浸透圧によって破裂するのはどうして？
 - 溶質の濃度差が生み出すエネルギーのため水が移動する。
 - 水は細胞膜にある水チャネル（アクアポリン AQP）を通過する。
- ・細胞膜の構造は？
 - リン脂質二重層からなっている。
 - Singer & Nicolson の流動モザイクモデル
 - 外層と内層はおなじではない（生体膜の非対称性）。
- ・他の細胞ではこの方法で細胞膜をとることができないのか
 - 細胞小器官や細胞骨格のためにきれいな形で回収することはできない。
 - 細胞膜の研究は赤血球膜をモデルとして進んだ。
- ・ヘモグロビン
 - B1-I 期のテュートリアル課題で鎌状赤血球症を学習している
 - （「 $2 \times 2 = ?$ 」）。
- ・赤血球ができる過程
 - はじめは核や小器官があった。

シート2

SDS（ドデシル硫酸ナトリウム）は界面活性剤の一種で、細胞膜を溶解することができます。1971年、アメリカのFairbanksらはSDSを含んだポリアクリルアミドゲルを考案し、これを使った電気泳動（SDS-PAGE）によって膜タンパク質をうまく分離する事に初めて成功しました。彼が使ったサンプルはゴーストで、タンパク質染色をすると6本のバンドが観察されました（図3 各レーンはPl:血漿、H:溶血液の遠心上清、W:赤血球膜の洗浄上清、Gh:ゴースト）。この論文以降、電気泳動による赤血球膜タンパク質の解析においては、このFairbanksがつけた番号でバンドを呼ぶようになりました。

図 3

【抽出を期待する事項】

- ・ SDS (ドデシル硫酸ナトリウム)
どんな物質? どんな性質?
- ・ 界面活性剤とは? どんな種類がある?
- ・ ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE)
アクリルアミドはどのような物質か
電気泳動とはどういう方法? 何のためにするのだろうか?
- ・ 膜タンパク質
どんなもの? なぜこれまで分析できなかったの?
膜タンパク質は他のタンパク質とは異なる特別な性質がある→それは「疎水性」→疎水性が高い物質は水に溶けにくい→SDS はそれを解決してくれる (なぜなら界面活性剤だから) →どうしてSDS は疎水性分子を可溶化することができるのか
- ・ 6本のバンドはどんなタンパク質?
赤血球膜には6種類のタンパク質があるということだろうか?
(Fairbanks らは、太く見えるバンド=主要な膜タンパク質にのみ I ~ VI とナンバーをつけ、解析したが、何も印を付けられていないバンドが少なくともあと4本は見える →ガイドに解説)

【抽出が予想されるその他の事項】

- ・ 細胞膜を SDS で溶解したら、細胞膜の構成成分はどのようになっているのだろうか
リン脂質は SDS と混合ミセルを形成し、膜タンパク質はその疎水性領域に SDS のアルキル鎖が多数結合し、SDS の親水基のために可溶性となっている。
- ・ なぜゴーストがサンプルとして選ばれたのか
膜タンパク質のサンプルとして最も容易に得ることができる細胞膜
- ・ PI のレーンにみえているタンパク質のバンドは?
最も太い (多い) ものはアルブミン (分子量 69,000)
- ・ H や W のレーンにみえているタンパク質のバンドは?
ゲルの先端近くにヘモグロビン (分子量 16,500) の太いバンドだけが目立つ
- ・ 6本のバンド以外に見えるバンドは何だろうか?

シート3

赤血球について調べていたふたりが、変わった形の赤血球を見つけました
(図4 A.)。

X「遺伝性球状赤血球症だって。この赤血球を持つ人は貧血になるらしい
わよ」

Y「こっちのほうまん丸でちょっと小さくてずっとよく流れそうなのに
ね。それに比べて健康な人の赤血球はつぶれてて、むしろひっきり
やすい感じ」

さらにふたりはこの病気の赤血球膜 SDS-PAGE の図も見つけました (図4
B. レーン a は健康人、レーン b は遺伝性球状赤血球症の一例)。

Fairbanks から 30 年経ち、SDS-PAGE はさらに改良が加えられてバンドは
シャープです。

X & Y「あ、このバンドがなくなってる！」

図 4

【抽出を期待する事項】

- ・丸い方が一見良さそう。
 - 「つぶれている赤血球」は正常の形。
 - なぜ赤血球はその形をしているのか
(他の細胞ではなぜその形でないのか)。
 - その形が持つ特徴は何か。
 - その形にはなにか利点があるのか。
- ・電気泳動のバンドに違いがある。
 - 3番目のバンドが全く見られない。
 - 4.2や6のバンドも薄くしか見えない。
 - バンドとして見えなくなっている(欠損、異常)膜タンパク質と、形態異常の間に関係はあるのだろうか。もしそうだとしたら、それらのタンパク質が赤血球の形態維持に重要な役目を持っているのではないか。

【抽出が予想されるその他の事項】

- ・(遺伝性)球状赤血球症
- ・この球状赤血球をもっているとなぜ貧血になるのだろうか
 - 形が変わるだけではなく、壊れやすくなる
 - 球状は体積に対する表面積の割合が最も小さい。それは形を変える余裕がほとんどない事を意味する。赤血球は毛細血管の中を猛スピードですり抜けていく。その際にうまく変形できないものは圧力に耐えられず破壊される(溶血する)。
 - また、膜骨格の一部がないことから、膜の強度は低下している(浸透圧抵抗性などにより評価できる)。
- ・ほかに赤血球の形態異常を来す疾患はないか
- ・「つぶれているのは」正常/異常なのか
 - 長所/短所なのか
 - 赤血球だけか
 - 理由があるのか
 - 中味が外側に比べて(細胞質が細胞膜に比べて・容積が表面積に比べて)少ないから
 - 形を変えやすいから
 - 膜骨格が内側から支えているから