

論 文 内 容 要 旨

報 告 番 号	甲 創 第 49 号	氏 名	大園 瑞音
学位論文題目	ミトコンドリアカルシウムユニポーターのコイルドコイルドメインの構造機能解析		
<p>ミトコンドリアはエネルギー変換の場であるとともに、Ca^{2+}貯蔵庫としても機能し、細胞内 Ca ホメオスタシスの維持に寄与している。また、その機能の破綻は虚血再灌流障害をはじめとする種々の疾患を引き起こす。近年、ミトコンドリアへの Ca^{2+}の取込みは、ミトコンドリア内膜に存在するカルシウムユニポーターと呼ばれる新規のカルシウムイオンチャネルによって行われることが分かった。このイオンチャネルは複数のサブユニットから成る複合体であり、これまでの研究から mitochondrial calcium uniporter (MCU) と呼ばれる二回膜貫通型のタンパク質がオリゴマー化することでチャネル孔を形成することが明らかにされたが、その構造や機能については未だ不明な点が多い。本研究では、MCU が持つ種々のドメインに対する構造機能解析を行った。</p> <p>これまでに、Ca^{2+}取込能を持たない酵母のミトコンドリアに哺乳類のカルシウムユニポーターのサブユニットを発現させることで、Ca^{2+}取込機能を再構成することに成功している。本研究では、この酵母再構成系を利用して、様々な領域を欠損させた MCU 変異体の Ca^{2+}取込活性を調べた。その結果、MCU の 2 つのコイルドコイルドメイン (CC1 および CC2) をそれぞれ欠損させた場合に Ca^{2+}取込機能が消失することが分かった。そこで、これらの領域にコイルドコイル構造の形成を阻害する点変異を導入した 5 種類の変異体を構築したところ、全ての変異体で Ca^{2+}取込活性が低下した。次に、Ca^{2+}取込機能における MCU のコイルドコイル構造の重要性が MCUR1 や EMRE といった他の調節サブユニットと関係しているのかを調べるために、酵母の MCUR1 ホモログの欠損下、または EMRE 非存在下において、CC1 と CC2 の欠損の影響を解析したところ、同様に Ca^{2+}取込機能が消失した。このことから、CC1 と CC2 の機能的重要性に他の調節サブユニットは無関係であることが示された。以上の結果は、MCU の CC1 と CC2 は調節サブユニットとコイルドコイル構造を形成するのではなく、CC1 と CC2 がそれぞれコイルドコイル構造を形成し、その構造が MCU のチャネル孔形成に重要であることを示唆している。最近、種々の真菌 MCU の立体構造が解明された。<i>C. europaea</i> の MCU の立体構造を基に、マウス MCU の立体構造モデルを構築し、CC1 と CC2 の構造を解析した。その結果、CC1 と CC2 は MCU 分子内で相互作用してコイルドコイル構造を形成していることが確認され、このことは本研究で得た生化学的な知見とよく一致していた。また、その立体構造モデルから、CC1 と CC2 によるコイルドコイル構造はミトコンドリア外からチャネルに入った Ca^{2+}がチャネル内腔からミトコンドリア内に拡散する出口にあたる空洞を形成することが示唆された。</p> <p>本研究から、MCU の Ca^{2+}取込機能にはコイルドコイル構造の形成が必須であることを明らかにした。さらに、その構造機能解析を通して、Ca^{2+}がどのようにチャネル内を通過してミトコンドリア内に流入するのかについて新たなモデルを構築することができた。</p>			