



Title	Structural and Functional Studies of Gap Junction Channels
Author(s)	中川, 宗
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59449
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 中 川 宗

博士の専攻分野の名称 博 士 (理学)

学 位 記 番 号 第 2 4 8 3 8 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 23 年 6 月 14 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

理学研究科高分子科学専攻

学 位 論 文 名 Structural and Functional Studies of Gap Junction Channels

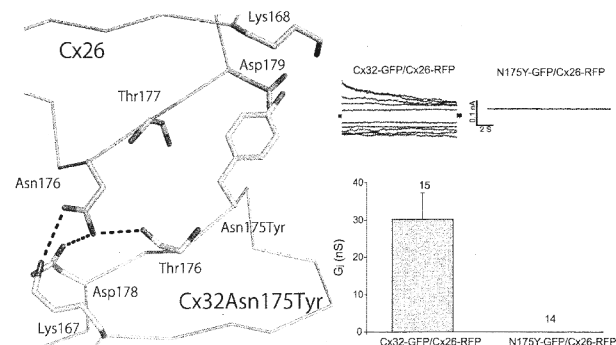
(ギャップジャンクションチャネルの構造・機能研究)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 中 川 敦 史(副査)
教 授 原 田 明 教 授 後 藤 祐 児 名誉教授 月 原 富 武

論 文 内 容 の 要 旨

細胞間の情報伝達是多細胞生物にとって最も基本的かつ必須の機能の1つである。ギャップジャンクション (GJ) チャネルはその一翼を担っており、隣接する細胞間を物質的に直接共役する唯一の非常に特殊な構造体であり且つその分布範囲の広さから普遍的なものであるとも言える。GJチャネルは現在ヒトで21種同定されており、それらは一次配列において α 、 β 、 γ と分類される。GJヘミチャネル間で構成コネクシンが異なるものをホモメリックヘテロティピックチャネル (ヘテロチャネル) と言うが、異種コネクシンから成るヘミチャネルがチャネル形成をするには、その組み合わせにおいて選択性を持っていることがわかっている。これは同種のコネクシンを発現できない異種細胞間での直接的シグナル伝達に役立っている。これまでの先行研究により、ヘテロチャネルの選択的チャネル形成において細胞外ループ2が重要なドメインであることが言われてきた。本研究では、構造生物学、細胞生物学、生理学的手法を用いてギャップジャンクションヘミチャネルの選択的チャネル形成について1アミノ酸レベルでの選択機構の解明を目指した。

本研究では、Cx26 GJチャネルの結晶構造を基によく研究されている10種のCxの構造予測ホモロジーモデリングを行い、それぞれの組み合わせについて検討した。構造予測から選択的なドッキングには、ヘミチャネルのそれぞれ1残基、168番目と176番 (Cx26でのアミノ酸番号) が重要であることを見出した。構造予測はそれらの残基による三次元的問題、または形成可能な相互作用数が原因となって選択性を持っていることを示唆した。このモデリング結果を基にして、次の仮説を立てた。ドッキング可能なCxペアの168もしくは176番目に立体的な障害を起こすような変異を入れると、ドッキング不可能になる。この仮説を検証するために、Cx26とCx32のペアを例にしてCx32N175Y変異体を作製した。変異体の細胞内局在を見ると、Cx32野生型と比較してやや細胞質に分布する割合が多くなっているものの細胞膜にも存在することが確認できた。続いて電気生理実験を行った。Cx26とのヘテロチャネル形成を電流の流れでみると、野生型と比較して明らかに低下し、まったく電流の流れを確認できなかった。よって予測通り変異によりチャネル形成能を無くすことに成功した。これらの結果から、アミノ酸の変異がもたらす立体的な障害効果によりチャネル形成が阻害されたと考えられる。ギャップジャンクションヘテロチャネル形成において、168と176番目のアミノ酸が最重要アミノ酸ということが示唆された。



論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞間の情報伝達是多細胞生物にとって最も基本的かつ必須の機能の1つであり、ギャップジャンクション (GJ) チャネルはその一翼を担っている。GJチャネルは隣接する細胞間を物質的に直接共役する構造体である。GJチャネルは現在ヒトで21種が同定されている。1つの細胞膜上にはコネクシン (Cx) 6量体がGJヘミチャネルを形成し、2つの細胞間をGJヘミチャネルが接合することによりGJチャネルを形成する。1種類のコネクシンからなるGJヘミチャネルが、別の種類のコネクシンからなるGJヘミチャネルと会合してできるGJはホモメリックヘテロティピックチャネル (ヘテロチャネル) と呼ばれるが、ヘテロチャネルの形成にはその組み合わせにおいて選択性を持っていることが知られている。

本研究では、構造生物学、細胞生物学、生理学的手法を用いてGJヘミチャネルの選択的チャネル形成についての選択機構の解明を行った。まず、コネクシン26 (Cx26) GJチャネルの結晶構造を基に、10種のCxについてホモロジーモデリングにより構造予測を行い、それぞれの組み合わせについて構造面から比較検討した。構造予測の結果から選択的なドッキングには、ヘミチャネルのそれぞれ1残基が重要であることを見出した。この結果を検証するためにCx32の1残基変異体を作製し、Cx26とのGJチャネル形成実験を行い、電気生理実験によりチャネル形成能が失われていることを確認した。これらの結果から、GJヘテロチャネル形成において重要な1アミノ酸を特定することができ、GJチャネル形成における特異的認識機構を明らかにした。この成果は、細胞間情報伝達を担うGJチャネルの分子認識機構に対して重要な知見である。

よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。