

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	脊椎動物におけるホウ酸チャンネルの同定と輸送基質選択機構の解析
Title(English)	
著者(和文)	潮和敬
Author(English)	Kazutaka Ushio
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11713号, 授与年月日:2022年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:加藤 明,一瀬 宏,本郷 裕一,田中 幹子,中戸川 仁
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11713号, Conferred date:2022/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

論文の要約

生命理工学系 生命理工学コース 潮 和敬

本論文は「脊椎動物におけるホウ酸チャネルの同定と輸送基質選択機構の解析」と題し、以下の5章で構成されている。

第1章 序論：生命の構成には炭素、水素、酸素および窒素などの主要な元素から準主要元素、微量元素、それよりもさらに微量な超微量元素が関わっている。ホウ素は植物や動物の生存に不可欠な超微量元素のひとつである。植物にとってホウ素は細胞壁の成分等として特に重要で、ホウ酸輸送体として水チャンネルファミリーに属する NIP5;1 等が知られている。一方、哺乳動物におけるホウ素の分子機能の詳細は明らかになっておらず、ホウ酸の輸送機構も明らかでない。そこで本研ではヒトにおけるホウ酸の輸送機構を明らかにすることを旨とし、ヒトのホウ酸チャネルの同定とアクアポリンファミリーによる輸送基質選択機構の解析を行った。

第2章 ヒトにおけるホウ酸チャネルの同定：植物 NIP5;1 の哺乳動物ホモログであるアクアポリン (AQP) がホウ酸を輸送するかどうかを調べるため、ヒト AQP ファミリーをアフリカツメガエル卵母細胞に網羅的に発現させ、ホウ酸輸送活性を解析した。その結果、ヒト AQP3、7、8、9、10 発現卵母細胞をホウ酸含有培地に曝すことによる細胞体積の増加が swelling assay により認められ、また細胞内ホウ素量の増加が誘導結合プラズマ質量分析法により認められた。水素イオン選択性微小電極を用いた電気生理学的解析によりホウ酸の細胞内への流入を細胞内 pH の変化として解析したところ、ヒト AQP3、7、8、9、10 発現卵母細胞をホウ酸含有培地に曝すことにより、細胞内 pH の低下が観察された。この時、膜電位の変化は観察されなかった。これらのことから、ヒト AQP3、7、8、9 および 10 はホウ酸輸送活性を持つこと、またホウ酸を $B(OH)_3$ の状態で輸送することが初めて示された。

第3章 アクアポリン 10 の生物系統特異的な輸送基質選択性の発見：所属研究室においてトラフグ AQP10b は水、グリセロールを輸送するものの尿素やホウ酸を輸送しないことを確認していることから、生物種によって AQP10 の輸送選択性が異なることに着目し解析を行った。ヒト AQP10 とトラフグ AQP10b で認められた輸送基質選択性の違いが種特異的なものなのか系統特異的なものなのかを明らかにするため、アフリカツメガエル AQP10 遺伝子とゼブラフィッシュ AQP10b 遺伝子の分子系統解析を行い、それらがコードするタンパク質の輸送基質選択性を調べた。それらの結果、四肢動物の AQP10 と真骨魚類の AQP10b の輸送基質選択性は各系統間で異なる輸送基質特異性を有し、またそれは各系統内において保存されていることが示唆された。

第4章 アクアポリンの新たな輸送基質選択機構の解析：各系統によって異なる AQP10 の輸送基質選択性に着目し、点変異型ヒト AQP10 および点変異型トラフグ AQP10b 発現卵母細胞を用いて尿素とホウ酸の輸送選択性に影響を及ぼす一次構造の特定を試みた。それらの結果、ヒト AQP10 およびトラフグ AQP10b の特定のアミノ酸残基が尿素やホウ酸の輸送を制限する selective filter の構築に関与する可能性が示唆された。

第5章 総合討論：脊椎動物におけるホウ酸チャネルの同定と輸送基質選択機構の研究を通して、脊椎動物において AQP ファミリーがホウ酸輸送に関わること、およびアクアグリセロポリンが pore を様々な仕組みにより構造変化させることで尿素やホウ酸の selective filter の構築に関与する可能性を見出した。