

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		小胞体カルシウムセンサーSTIM が誘導するカルシウム流入制御機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis of mechanism to regulate calcium influx induced by ER calcium sensor, STIM			
研究氏 代表 者	カタカナ CC	姓) ババ	名) ヨシヒロ	研究期間 B	2008 ~ 2009 年
	漢字 CB	馬場	義裕	報告年度 YR	2010 年
	ローマ字 CZ	BABA	YOSHIHIRO	研究機関名	大阪大学免疫学フロンティア研究センター
研究代表者 CD 所属機関・職名		馬場義裕 大阪大学免疫学フロンティア研究センター・特任准教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>カルシウムが様々な生理的現象において重要であることは周知の事実であるが、細胞内カルシウムの上昇は主に二つの経路から供給される。一つは細胞内カルシウムストアである小胞体からのカルシウム放出、もう一つは細胞膜上のチャンネルを介した細胞外からのカルシウム流入である。非興奮性細胞では、細胞外からのカルシウム流入は小胞体のカルシウム枯渇が引き金となって引き起こされるカルシウム流入、つまり、ストア作動性カルシウム (SOC) 流入が主要なソースとなり、長時間の持続的カルシウムシグナルを維持する上で重要である。小胞体カルシウムストアの枯渇を感知し、カルシウムチャンネルを開口させるのが STIM1 という分子である。STIM1 を中心とした SOC 活性化機構の知見は蓄積しつつあるが、依然、その詳細は不明な点が多い。</p> <p>そこで、まず、STIM1 がいかんにしてカルシウムチャンネルを活性化し、SOC 流入を制御しているのかという疑問にアプローチした。我々はカルシウムチャンネルである Orai1, Orai2 の欠損 DT40B 細胞を樹立し、SOC 流入の関与を検討した。Orai1 欠損 DT40 細胞および Orai2 欠損 DT40 細胞は野生型と同程度の SOC 流入を認めた。しかし、Orai1&Orai2 二重欠損 DT40 細胞では SOC 流入が著減していた。この Orai1&Orai2 二重欠損 DT40 細胞に Orai1 または Orai2 の cDNA をバクトランスフェクションすると、SOC 流入の回復が認められた。これは、Orai1, Orai2 が B 細胞において SOC カルシウムチャンネルであり、代替機能があることを示している。また、Orai1&Orai2 二重欠損 DT40 細胞に STIM1 の cDNA をバクトランスフェクションしても、SOC 流入が回復してこないことから Orai の活性は STIM1 に依存していることが判明した。さらに、共焦点顕微鏡を使った解析から、小胞体枯渇後の STIM1 と Orai の共局在、さらには STIM1-YFP と Orai1-CFP の FRET シグナルを検出し、両分子が刺激後に非常に近接したクラスターを形成することを見出した。</p>					
キーワード FA	STIM1	B 細胞	Orai	カルシウム流入	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

The cytoplasmic calcium level in cells is tightly regulated and, at resting state, the calcium is kept at very low-level. After stimulation, the cytoplasmic Ca^{2+} is enhanced at a thousand to ten thousand-fold increase and this calcium is known to be an important for downstream signaling event such as cell activation, differentiation, proliferation or effector function. Intracellular Ca^{2+} increase is mainly provided from two sources: One is transient Ca^{2+} release from endoplasmic reticulum (ER) and another is Ca^{2+} entry from outside space. In the case of immune cells, stimulation generates the second messenger inositol-1, 4, 5-trisphosphate, which binds to its receptor in the ER membrane, leading to the rapid and transient of Ca^{2+} release from ER stores. In turn, the decrease of ER luminal Ca^{2+} triggers the opening of Ca^{2+} channels in the plasma membrane, which can induce a sustained influx of extracellular Ca^{2+} . These processes are known as store-operated Ca^{2+} (SOC) influx, which is essential pathway for maintaining a sustained Ca^{2+} signaling.

Here we revealed the Orai1 and Orai2 was essential Ca^{2+} channel in DT40 B cells and its function is dependent on STIM1. Orai1- or Orai2-deficient DT40 B cells had normal SOC influx, whereas Orai1/Orai2-double deficient cells showed marked reduction of SOC influx. Back-transfection of Orai1 or Orai2 cDNA in Orai1/Orai2-double deficient cells fully restored the defect, but STIM1 introduction can not rescue it, indicating that Orai activity is dependent on STIM1. Furthermore, we detected co-localization and FRET increase of STIM1-YFP and Orai1-CFP under confocal microscopy after stimulation, indicating that store-depletion induced the cluster formation of STIM1 and Orai1 in close proximal region to plasma membrane.