審査の結果の要旨

氏名　　林　健二

本研究ではストア作動性カルシウム流入に関与することが知られる STIM1 の細胞内動態のメカニズムを明らかにするため、GFP-STIM1 及びその変異体を発現させた DT40 トリ B リンパ球、或いは HeLa 細胞を用いて STIM1 の動態を観察し解析を行った。

１．　内因性 STIM1 遺伝子をノックアウトし、外因性の GFP-STIM1 を恒常的に発現させた DT40 細胞を全反射顕微鏡にて観察を行った。GFP-STIM1 は網目状の局在に加え、一部の領域に繊維状に集積し、およそ 0.1 μm s^{-1} の速度で一方向性に移動していることを確認し、STIM1 コメットと命名した。

２．　DT40 細胞においても STIM1 は小胞体内腔のカルシウムの枯渇により顆粒状に集積し、それに伴って STIM1 コメットの数が減少することが明らかとなった。

３．　SOC 流入によりカルシウムを枯渇させた小胞体にカルシウムを補充させると、顆粒状の集積は減少し、それに伴って STIM1 コメットが再び観察された。

４．　SOC 流入を示さない STIM1 の sterile α motif, coiled-coil domain, Ser/Thr-rich C-terminal domain の欠損変異体を観察したところ、局在や動態に対して異常が観察された。

５．　小胞体との同時イメージングにより、STIM1 の網目状の局在、STIM1 コメットのいずれもが小胞体に局在することが示唆された。

６．　ノコダゾールの投与により STIM1 コメットが破壊されることが示された。したがって STIM1 は微小管に構造的に連結していることが示唆された。

７．　HeLa 細胞における GFP-STIM1 と RFP-EB1 との同時イメージングにより、STIM1 コメットが EB1 と共局在することが示された。このことにより、STIM1 は+TIPs と相互作用していることが示唆された。

以上、本論文により、STIM1 コメットの動態とその動態のメカニズムが始めて明らかとなった。すなわち、小胞体内腔のカルシウム濃度を検出すると考えられる STIM1 の少なくとも一部は、微小管の先端に局在し、微小管の重合により、小胞体膜上における局在を変化させることが示された。本研究は、STIM1 の未知に等しかった定常状態時における動態とそのメカニズムを初めて明らかにしたことで、SOC 流入のメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。