

論文題目 NMR 解析に基づくマウス外分泌ペプチド ESP4 の立体構造と受容体認識に関する研究

審査内容

フェロモンは、同じ種の間で社会行動や生殖行動に影響を与える物質である。個体認識の仕組みを理解する上で、受容体がフェロモンをどのように認識するのか、そのメカニズムを理解することは重要であるが、現状の理解は十分でない。本研究は、NMR 法に基づく ESP4 の構造生物学的解析により、フェロモンの特異的認識機構を解明することを目的としている。

構造生物学的解析には、活性をもつ精製タンパク質が必要である。そこで、まず ESP4 の大腸菌大量発現系を構築し、精製方法を確立した。次にマウスの鋤鼻神経刺激活性実験を行った結果、ESP4 単量体が活性をもつことを明らかにし、自由行動下のマウスに対して活性をもつ ESP4 試料の調製に初めて成功した。また、免疫組織学的実験から ESP4 受容体が ESP1 受容体と異なることを強く示唆する結果を得た。同位体標識した ESP4 を調製し、各種 3 次元 NMR 測定を行い NMR 信号の帰属を完了した。化学シフト値に基づく二次構造解析および $\{^1\text{H}\}-^{15}\text{N}$ 異核 NOE 実験から、ESP4 がヘリックス構造をもち、また分子全体にわたって高い運動性を示すことを明らかにした。

次に、鋤鼻受容体が存在する膜環境に着目し実験を行った。生体膜環境を模する DPC 条件下における ESP4 の NMR 解析の結果、ESP4 は 4 本のヘリックスからなる立体構造をもつことを明らかにした。また、DPC による化学シフト変化の解析から、ヘリックス 3 本目上の疎水面や C 末端のランダムコイル領域で DPC と結合していることが示唆された。ESP4 の立体構造を ESP1 と比較したところ、C 末端におけるヘリックス構造、また ESP1 上の受容体結合面に対応する、ESP4 上の分子表面の電荷分布が、ESP1 と異なることがわかった。

本論文の内容は、今後のマウスのフェロモン受容における構造的基盤の確立につながると考えられる。また、マウスの個体数をフェロモンにより調整することが可能となれば、遺伝子改変マウスの生殖交配効率を上げるなど、生命科学の進展に貢献するものと思われる。

以上を総括し、本論文は博士の学位論文に値するものと判断する。

審査委員	構造機能物理化学	教授	寺沢 宏明
審査委員	薬学微生物学	教授	大槻 純男
審査委員	分子薬化学	教授	中島 誠

