

Title	Solution Structure of the Extracellular Domain of Type IA Receptor for BMP-2/4
Author(s)	八田, 知久
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40847
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	はっ た とも ひさ 八 田 知 久
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 3 6 5 1 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Solution Structure of the Extracellular Domain of Type IA Receptor for BMP-2/4 (骨形成因子Ⅰ型レセプター細胞外ドメインの溶液構造)
論文審査委員	(主査) 教授 京極 好正 (副査) 教授 福山 恵一 教授 谷澤 克行 教授 小林 祐次

論 文 内 容 の 要 旨

骨形成因子 (Bone Morphogenetic Protein: BMP) は形質転換成長因子 β (Transforming Growth Factor- β : TGF- β) スーパーファミリーに属する cytokine で、骨形成や初期発生において重要な役割を果たしていることが知られている。TGF- β スーパーファミリーに属する蛋白質は、細胞表面に存在するⅠ型 (Type-I) およびⅡ型 (Type-II) レセプターと複合体を形成することによってそれらのシグナルを細胞内に伝えており、これらのレセプターは細胞外にシステイン残基に富んだ100-150残基のリガンド結合ドメインと、細胞内にセリン/スレオニンキナーゼドメインを有している。そこで、シグナル伝達機構およびリガンド認識機構の解明を目的とし、BMP type-1 レセプターの isomer のひとつである BMP type-IA レセプターのリガンド結合ドメインである119残基の細胞外ドメイン (sBMP_{Pr1A}) の構造解析を行った。

まず、大腸菌を用いて大量発現を行い精製する系を確立した。sBMP_{Pr1A} は糖鎖結合部位を1箇所含んでおり、通常糖類が結合していると考えられるが大腸菌で発現させた蛋白質は糖類を持たないために、MC3T3-E1 細胞を用いた活性測定と Surface Plasmon Resonance 法を用いた BMP-4 に対する結合実験を行い活性を評価した。その結果、sBMP_{Pr1A} は十分な活性を有していたため糖類は BMP に対する結合において本質的には必要ないことがわかった。

次に S-S 結合様式を酵素消化および化学合成により決定した。S-S 結合様式は C28-C49、C30-C34、C43-C67、C77-C91 および C92-C97 であった。この結合様式は膜蛋白質の1種である CD59 や蛇毒などと同じであった。

NMR により立体構造を解析した結果、2本の β ストランドとヘリックスからなる層と、3本の β ストランドからなる層の、2層の構造をとっていた。 β 1 と β 2 をつなぐ部分と β 4 と β 5 をつなぐ部分に flexible な loop を持っており全体に flat な構造をとっていた。その立体構造をもとに loop 部分を変えた変異蛋白質を作成しリガンド結合部位を決定した。

以上、本研究では TGF- β スーパーファミリーのレセプターのなかで、はじめて立体構造を明らかとしリガンド結合部位を決定することができた。

論文審査の結果の要旨

八田知久君は骨形成因子の I 型レセプターの細胞外ドメインを大量発現し、その溶液中の立体構造を核磁気共鳴法で決めた。さらにその構造にもとづいてキメラ蛋白質を設計、合成し、結合活性の実験と対応させ、骨形成因子との結合部位を同定した。本研究はレセプターの受容部位の構造を明らかにした点で今後のリガンド：レセプター相互作用の様式を考察する上で重要な知見を与えるもので、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。