

Title	Structural dissection of the interaction between reelin and its neuronal receptor
Author(s)	安井, 典久
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47679">https://hdl.handle.net/11094/47679</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	やす い のり ひさ 安 井 典 久
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 20883 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学 位 論 文 名	Structural dissection of the interaction between reelin and its neuronal receptor (リーリン-受容体間相互作用の構造的基盤)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 高木 淳一  (副査) 教 授 関口 清俊 教 授 岡田 雅人

#### 論 文 内 容 の 要 旨

Reelin は分子量約 388 kDa の細胞外タンパク質で、脳の層構造の形成に必須である。Reelin を欠損した *reeler* 突然変異マウスは運動失調を示し、脳の層構造にニューロンの位置異常が認められる。Reelin 受容体として、apolipoprotein E receptor 2 (ApoER2) と very low-density lipoprotein receptor (VLDLR) とが同定されている。これらはリポタンパク質の細胞内への取り込みにおいて機能する LDL 受容体ファミリーの一員である。主に変異マウスを用いた解析からニューロンへの reelin シグナルは reelin が細胞膜上の受容体に結合し、それに伴い細胞内のアダプタータンパク質 (Dab1) がリン酸化されることで伝達されると考えられている。しかし、受容体による reelin 認識とそれに伴う情報伝達の機構についてはほとんどわかっていない。本研究では、reelin とその受容体 ApoER2 の相互作用をタンパク質の立体構造に立脚した方法で reelin の機能発現の化学的基盤を明らかにすること目的とした。

Reelin は 8 つの “reelin repeat” から構成される。様々な reelin の断片を調製し ApoER2 との相互作用を解析した結果、5 番目と 6 番目の reelin repeat からなる断片 (R5-6) が受容体に結合することがわかった。また R5-6 をニューロンの初代培養に投与し、Dab1 のリン酸化誘導活性を調べたところ、全長の reelin よりも活性は低いものの濃度依存的に Dab1 リン酸化を誘導した。R5-6 の活性が低い原因として、全長 reelin とは溶液中での会合状態が異なっていることが考えられた。実際に、全長 reelin を模倣して人工的に R5-6 断片を多量体化すると Dab1 リン酸化活性が増強した。

より詳細に reelin-受容体間相互作用を議論するために、R5-6 断片の立体構造を X 線結晶構造解析により決定した。各 reelin repeat の構造には、サブリピート同士が接触したコンパクトな馬蹄形である、各サブリピートに 1 個ずつ  $\text{Ca}^{2+}$  イオンが結合する、といった特徴がある。R5 と R6 は間に隙間無く、短いリンカーでほぼ平行に連結しタイトにパッキングしていた。このような reelin repeat 間のパッキングは、電子顕微鏡を用いて決定された 4 つの reelin repeat からなる断片に見られた rod 状の構造とよく一致した特徴である。

R5 と R6 の境界に位置する Lys 残基に変異を導入した一連の R5-6 変異体を作製し、受容体結合を解析した結果、Lys2360 と Lys2467 が受容体結合に重要であることがわかった。さらに全長 reelin の変異体を用いた解析から、Lys2467 は受容体結合と Dab1 リン酸化活性の両方に必須であることが明らかになった。

近年、LDL 受容体ファミリータンパク質は共通した機構でリガンド上の Lys 残基を認識していることが明らかになってきた。Reelin の受容体結合に Lys 残基が必須であることから、受容体の reelin 認識も同様の機構でなされていることが強く示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

対象論文は、ほ乳類の脳の発生に重要な役割を果たす細胞外巨大タンパク質 reelin について、そのニューロン上の受容体との結合様式とシグナル伝達メカニズムを明らかにすることを目的とした構造生物学的研究である。これまで全く未知であった reelin タンパク質の立体構造を X 線結晶解析と電子顕微鏡イメージングにより明らかにし、変異体を使った生化学的解析による受容体結合部位の同定や、多種類の生物物理学的手法、細胞生物学的手法による reelin タンパク質の機能解析を行った。これまでに構造化学的なメスが入っていなかった、ほ乳類の脳発生の重要な因子の作用メカニズムに関し、その理解に貢献する知見が得られた。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。