

| | |
|--------------|---|
| Title | Studise on Relationship between Structure and Function of Prostaglandin D Synthase |
| Author(s) | 入倉, 大祐 |
| Citation | 大阪大学, 2007, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/48573 |
| 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 | いり くら だい すけ 入 倉 大 祐 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (工 学) |
| 学位記番号 | 第 2 1 4 4 8 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 2 項該当 |
| 学位論文名 | Studies on Relationship between Structure and Function of Prostaglandin D Synthase (プロスタグランジン D 合成酵素の構造と機能の相関に関する研究) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 甲斐 泰 (副査) 教授 平尾 俊一 教授 林 高史 教授 大島 巧 教授 桑畑 進 教授 今中 信人 教授 宇山 浩 教授 町田 憲一 教授 田川 精一 |

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、内因性睡眠物質であるプロスタグランジン (PG) D₂ の合成を司るリポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素 (L-PGDS) の酵素学的研究と構造化学の機能相関について述べており、緒言、本論 4 章、および総括から構成されている。

緒言では、本研究の目的と意義ならびにその背景について述べ、PG の命名法とアラキドン酸カスケードについても合わせて示した。第一章では、マウス由来 L-PGDS の結晶化について述べ、2 種類の沈殿剤を用いて世界で初めて成功したことと、それらの結晶学的パラメーターを示した。更に本酵素の構造決定に必要なセレノメチオニン置換 L-PGDS を得るための大腸菌の培養条件について示した。第二章では、マウス由来 L-PGDS の X 線結晶構造解析について述べ、マウス L-PGDS の全体構造が、8 本の β ストランドからなる 1 つのバレル構造と 3 つの α ヘリックスから構成されていることを明らかにした。更に基質結合モデルと本結晶構造を基にした部位特異的変異法による解析から、PGDS 活性に関与していると考えられる複数のアミノ酸残基を明らかにし、異性化反応機構を提案した。また 2 種の沈殿剤を用いた結晶の構造解析から、バレル上部にループの開閉構造の存在が見出された。このループ構造の変化は、閉じた構造において L-PGDS が異性化反応を行った後、開いた構造に変化して PGD₂ が放出される可能性について示した。第三章では、オオヒキガエルの脈絡叢に存在する L-PGDS ホモログについて、本ホモログが哺乳類 L-PGDS と比較して酵素反応の代謝回転数が低いものの、疎水性低分子結合能がほぼ同等であることから、L-PGDS として同定した。また部位特異的変異法による酵素機能解析から、PGDS 活性に関与するアミノ酸残基を同定し、マウス L-PGDS と同じ反応機構であることを示した。第四章では、ウシ精漿中に存在する受胎関連蛋白質 (SP26) について、全脳より精製した mRNA を鋳型として決定したウシ L-PGDS の遺伝子配列と、精製した SP26 の N 末端アミノ酸配列および PGDS 活性測定から、L-PGDS として同定した。更にウシ生殖器における免疫組織化学的手法により L-PGDS の局在を決定し、その結果から本酵素が精子の成熟に関わっている可能性について述べた。

論文審査の結果の要旨

本論文は、組換え型マウス由来リボカリン型プロスタグランジン D 合成酵素 (L-PGDS) の結晶化および構造決定とオオヒキガエルやウシに存在する L-PGDS ホモログについて生化学的研究を行うことで、L-PGDS 構造と機能との相関を明らかにするのが目的である。主な結果を要約すると次のとおりである。

- (1) マウス由来 L-PGDS の結晶化について述べ、世界で初めて成功したことを示し、結晶の空間群、結晶学的パラメーターおよびセレノメチオニン置換 L-PGDS を得るための大腸菌の培養条件を示している。
- (2) マウス由来 L-PGDS の構造決定について述べ、L-PGDS が開閉構造を持つことと、決定した構造を基にした部位特異的変異法による解析から、その異性化反応機構をアミノ酸残基レベルで明らかにしている。
- (3) オオヒキガエル L-PGDS ホモログの生化学的研究について述べ、L-PGDS としての同定と、マウス L-PGDS の構造を基にした部位特異的変異法による解析から、その異性化反応機構がマウス由来 L-PGDS と同じ異性化反応であることを示している。
- (4) ウシ精漿中に存在する受胎関連蛋白質 (SP26) の生化学的研究について述べ、遺伝子工学的、酵素学的手法により L-PGDS として同定と、ウシ生殖器における免疫組織化学的手法により L-PGDS の局在を決定し、その結果から本酵素が粒子の成熟に関わっている可能性について示している。

以上のように、哺乳類の L-PGDS の立体構造決定と両生類および哺乳類の L-PGDS の生化学的研究によって、機能との相関に関する知見が得られ、特に L-PGDS は内因性睡眠誘発物質である PGD₂ の産生を担っており眠り防止薬開発の主要なターゲットのひとつであり、極めて重要な成果である。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。