

Title	Molecular Basis of Ion Channel Inhibition by Scorpion and Spider Toxins
Author(s)	山路, 奈保子
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/48741">https://hdl.handle.net/11094/48741</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	やま し な ほ こ 山 路 奈 保 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 2 1 5 4 5 号
学位授与年月日	平成 19 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	Molecular Basis of Ion Channel Inhibition by Scorpion and Spider Toxins (サソリ、クモ毒によるイオンチャネル阻害に関する構造研究)
論文審査委員	(主査) 教授 村田 道雄  (副査) 教授 久保 孝史 教授 加藤 修雄 教授 相本 三郎

#### 論 文 内 容 の 要 旨

サソリ、クモは毒液を外敵からの防御や餌となる昆虫を麻痺させるために用いる。この作用は毒液中に含まれる神経毒ペプチドによるもので、イオンチャネルをターゲットとしている。しかし、イオンチャネルは巨大な膜タンパク質であり、機能解析が困難である。イオンチャネルに特異的に作用し、構造解析可能な毒ペプチドを研究することで、毒ペプチドのイオンチャネル特異的認識機構や阻害メカニズムの解明につながると期待される。本研究ではクモ、サソリ毒液より得られたペプチドの構造解析を行い、生理活性測定結果と合わせてターゲットとするイオンチャネル認識機構の解明を目指した。

35 残基のカルシウムチャネル阻害クモ毒ペプチド **agelenin** の構造を溶液 NMR により決定した。得られた構造は逆平行  $\beta$  シートがジスルフィド結合で保持された構造的特徴を有していた。カルシウムチャネル阻害であるクモ毒ペプチド  $\omega$ -Aga-IVA の疎水性 C 末端部位は哺乳類カルシウムチャネル阻害に必須であるという報告をもとに、**agelenin** の C 末端に  $\omega$ -Aga-IVA の疎水性 C 末端部位を連結させたキメラアナログを作製し、種特異性に関して検討した。コオロギを用いた麻痺活性試験より、キメラアナログは昆虫麻痺活性を有していた。しかし、哺乳類カルシウムチャネルには作用しなかった。疎水性 C 末端を付加したにもかかわらず、**agelenin** は昆虫に特異的に作用し、疎水性 C 末端以外のジスルフィドコア部分がターゲットを特異的に認識していることがわかった。昆虫特異的に作用するクモ毒ペプチド  $\omega$ -ACTX-Hv1a とジスルフィドコア部分の構造比較を行った。その結果、 $\omega$ -ACTX-Hv1a で活性に必須な残基が **agelenin** でも保存されており、**agelenin** においてもこれらの残基が活性に重要であることが示唆された。

41 残基のカリウムチャネル阻害サソリ毒ペプチド **IsTX** の立体構造を決定した。**IsTX** はカリウムチャネル阻害活性が弱い。強力な活性を有している **HsTX1** との構造比較より、活性の強弱の要因を検討した。**HsTX1** に比べて **IsTX** の分子表面には塩基性残基が少なく、**IsTX** は酸性残基が表面に多いカリウムチャネルと静電相互作用が弱いことと、**IsTX** の C 末端の嵩高い疎水性残基がチャネルとの結合に不利であることから、**IsTX** はカリウムチャネル阻害能が低いと考察される。

43 残基のナトリウムチャネル阻害クモ毒ペプチド **Magi4** の立体構造を決定した。**Magi4** は哺乳類、昆虫ナトリウムチャネルのサイト 3 に結合して、チャネルの不活性化機構を遅延させた。サイト 3 に作用する毒ペプチドとの構造

比較より、塩基性残基と芳香性残基が構造上保存されており、これらの残基がナトリウムチャンネルとの相互作用面を形成していると考察される。

イオンチャンネルに作用する3種類のペプチドの構造解析と活性測定により、各ターゲットイオンチャンネルとの相互作用に関して新知見を得ることができた。

### 論文審査の結果の要旨

サソリ、クモの毒は、外敵からの防御や摂餌の折に機能するペプチドを主体としており、種の進化とともに変化してきた大変興味深い化合物群である。山路氏は、特徴的な生物活性を有する3種類の毒ペプチドについて、NMRを用いた構造解析を行い、詳細な三次元構造を決定することに成功した。さらに、クモ毒 **agelenin** について、カルシウムチャンネルの阻害作用を電気生理実験によって詳細に検討し、さらに同様の実験をキメラペプチドについて実施した結果、昆虫のチャンネルに対する選択的な作用が **Inhibitory Cystine Knot** を有するコア構造によって発現していることを明らかにした。さらに、サソリ毒 **IsTX** およびクモ毒 **Magi4** についても、既知ペプチド毒との詳細な比較を行うことによって、構造と活性、さらにチャンネル構造との関連について貴重な知見を得ている。すなわち、**IsTX** については、カリウムチャンネルへの結合が両者の表面電荷間相互作用によって説明できること、また、**Magi4** については、塩基性残基と疎水性残基の配置によって強い活性が発現していることを明らかにした。

このように、山路氏は、膜タンパク質ゆえに構造研究が困難なイオンチャンネルについて、強固な構造を有する比較的分子量のペプチド毒を用いることによって構造生物学的アプローチが有効であることを示した。同時に、生物種特異的なチャンネルサブタイプのカテゴリや機能の比較などにペプチド毒が有用であることを改めて実証した点においても顕著な学術的意義を有する。以上のように、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。