



Title	Structural basis for recognition of peptide ligands by LR11 Vps10p domain
Author(s)	中田, 善三郎
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58590
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	中田善三郎
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 24344 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Structural basis for recognition of peptide ligands by LR11 Vps10p domain (LR11 Vps10pドメインによるペプチドリガンドの認識機構の構造的基盤)
論文審査委員	(主査) 教授 高木 淳一 (副査) 教授 中川 敦史 教授 栗栖 源嗣

論文内容の要旨

LR11/sorLA は LDL レセプターファミリーと Vps10p レセプターファミリーの両方に属する一回膜貫通型タンパク質で、細胞外領域に Vps10p ドメイン、LDLR class-A ドメインなどをもつ。同じ Vps10p レセプターファミリーに属する sortilin の Vps10p ドメインは種々のリガンドの細胞内輸送に関与していると考えられている。また、sortilin の Vps10p ドメインは神経ペプチドである neurotensin と結合し、それらの複合体の結晶構造も明らかにされている。一方 LR11 の Vps10p ドメインは、neurotensin や神経ペプチドである head activator、および自身の propeptide と結合することが報告されているが、これらの相互作用の生理的意義は明らかにされていない。

私は、まだ明らかにされていない LR11 Vps10p ドメインの立体構造を決定することで、LR11 Vps10p ドメインによるリガンド認識の仕組みの解明を試み、それによって LR11 Vps10p ドメインの生理的な役割の解明を目指した。

LR11 Vps10p ドメインと報告されている 3 種のリガンドとの結合を確認したところ、自身の propeptide との結合のみが確認できた。欠失変異体を用いた実験などから 53 残基の propeptide のうち GFLVVQ の 6 残基の部分が結合に重要であることが示唆された。蛍光偏光法を用いて上記配列を含む 15 残基の合成ペプチドとの結合の親和性を測定した結果、解離定数は約 500 nM であった。また、LR11 Vps10p ドメインと propeptide の結合は pH 5.2 以上では確認できたが、pH 5.0 以下では確認できなかった。

リガンド認識に関する知見を得るために、LR11 Vps10p ドメインについて pH 4.2 において単体で、さらに pH 6.0 においてペプチドリガンドとの複合体の状態で、それぞれ X 線結晶構造解析法によって立体構造を明らかにした。LR11 Vps10p ドメインは 10 枚のブレードからなる β -propeller ドメインと、ジスルフィド結合に富む 10CC ドメインから構成されていた。pH6.0 ではリガンドである propeptide は、上記の 6 残基の部分で β -propeller ドメインの第 1 ブレードの内側に extended β -sheet を形成して結合していた。これは、すでに構造が明らかにされている sortilin の Vps10p ドメインが第 6 ブレードの内側にリガンドである neurotensin を結合することと極めて対照的であった。また pH 4.2 と 6.0 の構造を比較した

ところ、pH 6.0 では 10CC ドメインと β -propeller ドメインの間の酸性残基間に静電反発が生じ、これにより β -propeller ドメインのトンネル内の 2 つのループのコンホメーションが変化して、リガンドペプチドと水素結合および疎水性相互作用をそれぞれ形成していた。このことから LR11 Vps10p ドメインは、酸性残基のプロトン化状態に依存した構造変化により、アロステリックにリガンド結合ポケットの状態を変化させていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

対象論文 (Structural basis for recognition of peptide ligands by LR11 Vps10p domain) は、LDL 受容体ファミリーと Vps10p 受容体ファミリーの両方に属する LR11 の、機能未知の Vps10p ドメインと呼ばれる領域に関する構造生物学的研究である。まず LR11 の Vps10p ドメインが、自身のプロペプチドに結合することを生化学的に証明し、その親和性や特異性、結合の pH 依存性を明らかにした。次にこれまで解明されていなかった LR11 の Vps10p ドメインの立体構造を、酸性条件下 (pH4.2) および中性条件下 (pH6.0) で X 線結晶構造解析により明らかにした。とくに、pH6.0 においてはペプチドリガンドとの複合体の形での構造解析に成功した。これにより、分子量 7 万の巨大な Vps10p ドメインが、中央部に空いた大きなトンネルの内側を利用してペプチドを結合することや、その結合が pH 依存的である理由などが構造的側面から明らかになった。以上により、アルツハイマー病などに対する関与も示唆されている LR11 のリガンド結合メカニズムに関し、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。