



Title	X-ray Structural Analysis of Nectin Involved in Adherens Junction
Author(s)	成田, 宏隆
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58601
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	成 田 宏 隆
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 3 5 3 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 理学研究科高分子科学専攻
学 位 論 文 名	X-ray Structural Analysis of Nectin Involved in Adherens Junction (細胞間接着装置アドヘレンスジャンクションの構成分子ネクチンのX線結晶構造解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 中 川 敦 史 (副査) 教 授 今 田 勝 巳 教 授 後 藤 祐 児 准教授 鈴 木 守

論 文 内 容 の 要 旨

多細胞生物では、細胞と細胞が接着して組織をつくり、そしてその組織が接着することにより器官がつくられる。この細胞間接着は多種の接着装置によって形成されている。密着結合 (Tight junction, TJ), 接着結合 (Adherens junction, AJ), デスモソーム, ギャップ結合である。特に AJ は, 上皮細胞でみられる対称性接着, シナプスでみられる非対称性接着, セルトリ細胞-精子細胞間の異種細胞間接着に関与する接着装置である。この AJ において, 一回膜貫通蛋白質であるカドヘリンとネクチンが主要な接着分子であり, ネクチンの細胞間トランス結合が起点となり裏打ちタンパク質であるアフアディンによって, カドヘリン-カテニン系が周辺にリクルートされて AJ が形成される。上皮細胞では, AJ の形成によってクローディン-ZO 蛋白質系がリクルートされ TJ が形成される。シナプスにおいては, ネクチン-1 が軸索にネクチン-3 が樹状突起に局在し, 軸索-樹状突起間接着を担っている。カドヘリンのないセルトリ細胞-精子細胞間の異種細胞間接着では, ネクチン-2 がセルトリ細胞にネクチン-3 は精子細胞に局在し, その細胞間接着を担っている。また, ネクチン分子は, 単純ヘルペスウィルスや仮性狂犬病ウィルスのリセプターとしての役割も果たし, その遺伝子疾患は, 口唇口蓋裂症, 外胚葉異形成症, 合指症に関わっている。本研究では, 細胞接着装置におけるネクチンの高次構造の解明を目指し, さらに接着装置形成機構や遺伝子疾患のより深い理解に役立たせることを目的として, ネクチン分子の構造解析・機能解析を行った。

大腸菌発現系では, ネクチン-1 の細胞外領域 (nectin-1-EC) は封入体として発現するため, 結晶化サンプルの調整は大希釈法による巻戻しにより行った。巻戻り効率のよい条件は, 種々のパラメーターを変えた少量の溶液 (1 ml) を調製し, ゲル濾過によって決定した。ポリエチレングリコールを沈殿剤として, 再現よく nectin-1-EC の結晶が得られ, 分解能 2.8 Å で nectin-1-EC の構造決定に成功した。Nectin-1-EC は免疫グロブリン様 (Ig-like) ドメインが3つつながった構造をしており, 1 番目の Ig-like ドメイン間の相互作用により V 字の形をした 2 量体を形成していた。これまで 1 番目の Ig-like

ドメインは細胞間のトランス結合に, さらに 2 番目の Ig-like ドメインは同一細胞膜上でのシスダイマー形成に必須であると考えられていた。しかし, 本研究で得られた構造情報をもと作製した変異体を L 細胞に安定発現させ, 化学架橋実験と細胞集合実験を行った結果, V 字の 2 量体は, 同一細胞膜上でのシスダイマーであることが明らかにした。さらに, トランス結合に重要な分子表面を同定することに成功し, 細胞接着装置におけるネクチンの高次構造形成モデルを提唱することができた。

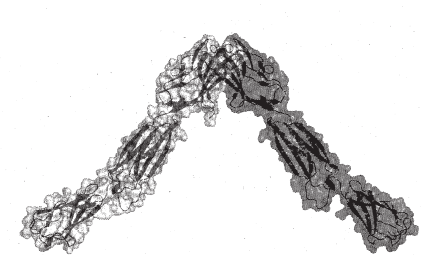


図 非対称単位中の nectin-1 EC の結晶構造

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

多細胞生物では、細胞と細胞が接着して組織をつくり、その組織が接着することで器官がつくられる。この細胞間接着は多種の接着装置によって形成されるが、このうちの接着結合 (Adherens Junction: AJ) は, 上皮細胞でみられる対称性接着、シナプスでみられる非対称性接着、セルトリ細胞-精子細胞間の異種細胞間接着でみられる接着装置である。この AJ において, 一回膜貫通蛋白質であるカドヘリンとネクチンが主要な接着分子として知られている。

本研究では、細胞接着装置におけるネクチン分子の高次構造の解明を目的として、ネクチン-1、ネクチン-2、ネクチン-3 の 3 種類のネクチン分子の X 線結晶構造解析を行い、それらの構造からネクチンの分子間相互作用を明らかにし、さらに機能解析と合わせて細胞間接着装置における高次構造形成機構のモデルを提唱した。

これらの成果は、多細胞生物に重要な細胞間接着機構を分子レベルで明らかにした重要な成果である。

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。