

## 論文内容の要旨

博士論文題目 Structural basis for NHERF recognition by ERM proteins

(ERM 蛋白質による  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換体制御因子認識の構造的基盤)

氏名 寺脇 慎一

(論文内容の要旨)

細胞膜とアクチンフィラメントを連結する ERM (Ezrin/Radixin/Moesin) 蛋白質は、N 末端の FERM (Four point one/ERM) ドメインで標的となる膜蛋白質を認識する。FERM ドメインの標的膜蛋白質は、細胞接着に関わる一回膜貫通型の接着分子と、G 蛋白質共役型受容体やイオンチャネルなどの複数回膜貫通型の受容体の 2 つのタイプがある。FERM ドメインは、接着分子とは直接結合するのに対し、複数回膜貫通型の受容体とは、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換体制御因子 ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger regulatory factor: NHERF) との相互作用を介する。先に、Radixin の FERM ドメインと接着分子 ICAM-2 (Intercellular adhesion molecule-2) との複合体結晶構造解析から、RxxTYxVxxA という認識モチーフ (モチーフ 1) が明らかにされているが、NHERF にはこのモチーフ 1 が無い。そこで、私は、X 線結晶構造解析による構造生物学的手法を用いて FERM ドメインによる NHERF 結合様式を解析した。

マウス由来の Radixin FERM ドメインを用いて、NHERF-1 および NHERF-2 の C 末端領域に相当する FERM ドメインと相互作用する 28 残基のペプチドとの複合体を結晶化して、X 線構造解析を行った。その結果、NHERF は両親媒性の分子表面をもった  $\alpha$ -ヘリックス構造を形成して、FERM ドメインの PTB(phosphotyrosine binding) 様のサブドメイン C の 2 つの  $\beta$  シートの間で形成される溝に、主に疎水的な相互作用を通して結合することを明らかにした。得られた構造に基づいて変異させたペプチドを用いた結合実験から、MDWxxxxx(I/L)Fxx(L/F) という結合モチーフを決定した (モチーフ 2)。次に、ICAM-2 結合型 (モチーフ 1) の FERM ドメインとの構造比較から、モチーフ 2 の FERM ドメインへの結合による誘導適合による構造変化は、モチーフ 1 の結合を阻害する可能性を見出した。実際に、NHERF が濃度依存的にモチーフ 1 を有する接着分子の細胞質テールと FERM ドメインの結合を阻害する効果を持つことを結合実験から実証した。これらの結果は、FERM ドメインが、二つのモチーフとの相互作用を通して、ERM 蛋白質の機能を変換する分子スイッチである可能性を示唆した。

(1, 200 字程度)

氏名	寺脇 慎一
----	-------

(論文審査結果の要旨)

本論文は、細胞膜とアクチンフィラメントを連結する ERM (Ezrin/Radixin/Moesin) 蛋白質の標的アダプター蛋白質の分子認識機構の原子レベルで解明するとともに、それに基づく新しい機能制御機構の提案している。この ERM 蛋白質は N 末端の FERM (Four point one/ERM) ドメインで標的となる膜蛋白質を認識するが、FERM ドメインの標的膜蛋白質は、細胞接着に関わる一回膜貫通型の接着分子と、G 蛋白質共役型受容体やイオンチャネルなどの複数回膜貫通型の受容体の 2 つのタイプがある。FERM ドメインは、接着分子とは直接結合するのに対し、後者では、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換体制御因子 ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger regulatory factor: NHERF) との相互作用を介する。しかし、接着分子認識の研究から提唱されている認識配列 RxxTYxVxxA (モチーフ 1) がない。本論文では、マウス由来の Radixin FERM ドメインを用いて、NHERF-1 および NHERF-2 の C 末端領域に相当する FERM ドメインと相互作用する 28 残基のペプチドとの複合体を結晶化して、X 線解析により結晶構造を決定している。その結果、NHERF は両親媒性の分子表面をもった  $\alpha$ -ヘリックス構造を形成して、FERM ドメインの PTB(phosphotyrosine binding) 様のサブドメイン C の 2 つの  $\beta$  シートの間で形成される溝に、主に疎水的な相互作用を通して結合することを明らかにした。得られた構造に基づいて変異させたペプチドを用いた結合実験から、新規の結合モチーフ MDWxxxxx(I/L)Fxx(L/F) (モチーフ 2) の決定に成功している。次に、モチーフ 1 (ICAM-2) に結合した FERM ドメインとの構造比較から、モチーフ 2 の FERM ドメインへの結合による誘導適合による構造変化は、モチーフ 1 の結合を阻害する可能性を見出し、NHERF が濃度依存的にモチーフ 1 を有する接着分子の細胞質テールと FERM ドメインの結合を阻害する効果をもつことを結合実験から実証している。これらの結果は、FERM ドメインが、二つのモチーフとの相互作用を通して、ERM 蛋白質の機能を変換する分子スイッチである可能性を世界で初めて示した。

このように、本論文は、ERM-NHERF のタンパク質複合体の三次元構造解析を成功させることによって、ERM の NHERF 特異的な認識機構や ERM の機能制御の構造的基礎を確立しており、理学、特に細胞接着・骨格制御の構造生物学の分野において学術上の寄与が十分である。よって、博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。