

論文内容の要旨

博士論文題目

X-ray structural studies of the radixin FERM domain: The interactions with adhesion molecules PSGL-1 and CD43. (Radixin FERM ドメインの X 線結晶構造学的研究：接着分子 PSGL-1/CD43 との相互作用)

氏 名 高井 友美子

(論文内容の要旨)

ERM (ezrin/radixin/moesin) タンパク質は細胞膜や細胞膜上の接着分子とアクチンフィラメントとをつなぐ架橋タンパク質であり、N 末端に約 300 残基からなる FERM ドメイン、C 末端にアクチン結合ドメイン、それをつなぐ中央の α ヘリカルドメインから構成される。FERM ドメインは細胞膜との相互作用に重要なドメインであり、多くの一回膜貫通型の接着分子と相互作用し、その結果、細胞接着・細胞骨格の制御などが行われる。これまでに FERM ドメインは接着分子 CD43、CD44、PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1)、ICAM-1, 2, 3 などの細胞質ドメインでの直接の相互作用が報告されている。本研究室において、ICAM-2 とラデキシンの FERM ドメインと複合体での構造解析がなされており、結合モチーフ、RxxTYxVxxA (モチーフ-1)、が提唱されている。しかし、接着分子 PSGL-1 や CD43 では、この結合モチーフの保存性は低く、認識機構の詳細は不明である。そこで本研究では接着分子 PSGL-1、CD43 とラデキシンの FERM ドメインの複合体の三次元構造を X 線結晶構造解析法により決定して、接着分子認識の詳細を明らかにすることにした。その結果、これらの接着分子は、 β - β 相互作用を介して、これまでに報告されている ICAM-2 の結合部位であるサブドメイン C の α ヘリックスと β シート間にある浅い疎水的な溝に沿って結合することが明らかとなった。この特徴は、配列が部分的に異なってもモチーフ-1 の結合様式と共通していた。しかし、ペプチドの C 末端側において、ICAM-2 や Talin の FERM ドメイン結合ペプチドに見られるような、 3_{10} ヘリックスや、 β ターンなどの構造がないなどの認識に違いが見られた。これらの複合体構造と、他の接着分子のアライメントから FERM ドメインのより一般的な結合モチーフ、 $(R/K)_{x(3-4)}(Y/L/I)_x(V/L)$ 、を導いた。また CD43 細胞質ドメインの溶液状態での形質についての分析を行った。円偏光 2 色性スペクトル (CD)、NMR、分析超遠心などの測定をおこなった結果、特定の構造を形成せず、単量体で、伸びきったペプチド状の tail として存在していることを明らかにした。

氏名	高井 友美子
----	--------

(論文審査結果の要旨)

本論文は、細胞膜や細胞膜上の接着分子とアクチンフィラメントをつなぐ架橋タンパク質である ERM (ezrin/radixin/moesin) タンパク質の N 末端にある約 300 残基の FERM ドメインと、接着分子との分子認識機構を原子レベルで解明したものである。本論文で明らかにした 2 つの接着分子複合体構造と、以前に報告されている複合体構造等との比較検討から、より一般的な接着分子の FERM ドメイン結合モチーフ、 $(R/K)_{x(3-4)}(Y/L/I)_x(V/L)$ 、を導いている。FERM ドメインは細胞膜との相互作用に重要なドメインであり、多くの一回膜貫通型の接着分子と相互作用して、細胞接着・細胞骨格を制御する。FERM ドメインは接着分子 CD43、CD44、PSGL-1(P-selectin glycoprotein ligand-1)、ICAM-1,2,3 などとの相互作用が報告されており、これまでに、接着分子 ICAM-2 とラデキシンの FERM ドメインと複合体での構造解析がなされていた。この複合体構造解析から、結合モチーフ、 $RxxTYxVxxA$ (モチーフ-1)、が提唱されているが、接着分子 PSGL-1 や CD43 では、この結合モチーフの保存性は低く、認識機構の詳細は不明であった。そこで本論文では接着分子 PSGL-1、CD43 とラデキシン FERM ドメインの複合体の三次元構造を X 線結晶構造解析法により決定した。それにより、これらの接着分子は、ICAM-2 結合部位に β - β 相互作用を介して結合しており、アミノ酸配列が部分的に異なってもモチーフ-1 の結合様式と基本的に共通していることを示した。一方で、ペプチドの C 末端側の構造が、ICAM-2 や Talin の FERM ドメイン結合ペプチドに見られるようなターン構造がないなど、ペプチド C 末端における認識の違いも明らかにした。また、CD43 細胞質ドメインの溶液状態での形質についての分析を行い、接着分子の細胞質領域はランダムコイルとして存在することを明らかにしている。これまでに FERM ドメインと相互作用する多くの接着分子が報告されていたが、配列の相同性の低さから共通の認識機構として議論することができなかった。しかし、本論文の研究から、より多くの接着分子と FERM ドメインとの相互作用がモチーフ 1 による認識機構で議論できることを示し、ERM の接着分子認識機構の構造的基礎を提示したといえる。

このように、本論文は、ERM-CD43 と ERM-PSGL-1 の 2 つ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 の多様な接着分子認識機構やこれらの接着分子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。