

論文審査の結果の要旨

氏名 加藤 有介

本研究はタンパク質モジュールである WW ドメインの相互作用解析を行い構造面から考察したものである。WW ドメインは Pro を持つ配列に結合し、転写制御、細胞周期制御、ユビキチン化、スプライシング等に関与する。また、リドル症候群、筋ジストロフィーやアルツハイマー病等との関与も知られる。WW ドメインは多様なタンパク質中に存在する相互作用モジュールであり、おもに 4 種類のグループに分類されている。グループ I, II, III, IV の WW ドメインはそれぞれ、PPxY モチーフ、PPLP モチーフ、PPR モチーフ、pS/T-P モチーフに結合するとされている。また、PGR モチーフ、PGM モチーフといった別のリガンドモチーフも提唱されており、それぞれが独立したグループであるとする報告もある。これらのグループ分類に関してこれまで系統的に解析された例がほとんどないので、WW ドメインの相互作用を相対的に比較するために、表面プラズモン共鳴(SPR)を用いた相互作用解析と構造未知の WW ドメインのモデル構築を行った。

1) グループ II および III とされている WW ドメインについて

これまでグループ II または III と考えられている WW ドメインについて相互作用解析を行った。用いたサンプルは FBP11 の 1 番目の WW ドメイン (FBP11A)、Fe65L2 の WW ドメイン、FBP30 の 1 番目の WW ドメイン (FBP30A) である。Scatchard plot による解析の結果、これまでの報告とは異なりこれらすべての WW ドメインは PL motif, PolyPro, PPR motif のすべてに結合した。これらの相互作用の kon, koff の解析を行ったところ、これらの WW ドメインすべてに共通する特徴がみられた。kon 値については PolyPro との相互作用でもっとも高い値をしめし、koff 値については PPR motif との相互作用がもっとも小さかった。これらの WW ドメインで共通の結合機構があることが推定される。

ホモロジーモデリングによる構造解析の結果、これらの WW ドメインで共通して 25 番目の残基は Tyr または Trp という共通点が見られた。この 25 番目の残基は 2 番目の X-P 結合グループを形成して、リガンドの Pro 残基と相互作用することが推測される。これらのことからグループ II および III の WW ドメインには共通する相互作用機構があることが示唆された。

グループ II および III の WW ドメインが競合的に関わって、相互作用のネットワークを形成している可能性があると考えられる。

2) グループ IV と推測される WW ドメインなどについて

ヒト Pin1 とそのリガンドとの複合体の構造解析がなされて、pS/pT-P モチーフに対する Pin1 WW ドメインの相互作用では Arg14 と Arg17 が重要だと

述べられた。Arg14を含む WW ドメインはこれまで多く知られているのでそれらについて相互作用解析を行い、それらがグループ IV なのかどうか確かめる実験をした。酵母 Rsp5 の 2 番目の WW ドメイン(Rsp5.2)とマウス Nedd4 の 3 番目の WW ドメイン(mNedd4.3)に加え、ヒト Pin1、*C. elegans* Pin1 homologue (Y110)、*Aspergillus nidulans* PinA と *Neurospora crassa* Ssp1 について試した。

その結果 Rsp5.2 と mNedd4.3 はグループ I のリガンドである PPxY モチーフにのみ、それぞれ 11 μ M と 55 μ M の KD で結合した。そのほかの 4 種の WW ドメインはグループ IV のリガンドにのみ結合したが、その KD の範囲は 22 から 700 μ M であった。そのうち Ssp1 と PinA は Arg17 をもたない点が Pin1 や Y110 とは異なっている。

これらの WW ドメインのホモロジーモデルを構築したところ、Ssp1 や PinA では Pin1 と Loop I の構造や水素結合のネットワークが類似していた。グループ IV が pS/pT-P 配列と結合するための構造パッチとして p パッチを提唱する。

グループ IV の WW ドメインはすべてパルプリン型 PPIase の N 末端側に存在するものである。ヒト Pin1 は重要な細胞周期制御分子と考えられており、リン酸化された細胞周期調節因子と結合することがわかっている。したがって本研究で明らかにされたような WW ドメインとリン酸化配列との相互作用が、それぞれの細胞で細胞周期調節に関与する可能性を示すものである。

なお、本論文は伊藤 三恵、河合 勲二、永田 宏次、田之倉 優との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。