

審査結果の要旨

氏名 寺沢 宏明

SH3ドメインによるリガンド認識機構の構造生物学的解明と題する本論文は、NMR法を用いて生体に最も普遍的に見られるドメインの一つであるSH3ドメインのプロリンリッチペプチド認識メカニズムを明らかにした研究成果を述べたものである。全体は序論と3章に分かれた本論から構成されている。本論第1章はGrb2 N末端側SH3-Sos由来プロリンリッチペプチド複合体の構造、第2章は、SH3によるプロリンリッチペプチドの双方向認識機構、第3章はSH3-プロリンリッチペプチドの結合特異性、と題されている。

第1章において、Grb2 N末端側SH3 (Grb2-N)およびSos由来プロリンリッチペプチド(1Sos)の試料調製、多核多次元NMRと連鎖帰属法によるほぼ全ての ^1H , ^{13}C , ^{15}N 核とNOEの帰属、主鎖のRMSDが $0.48\pm 0.04 \text{ \AA}$ の高分解能立体構造決定について述べている。

得られた複合体におけるSH3側の構造は、他のSH3単独の構造に比較して基質結合に伴う大きな構造変化はみられないこと、1SosはPro2'-Pro7'まで左巻きポリプロリンII型ヘリックス構造をとっていることを明らかにしている。さらに、Grb2-Nと1Sosの相互作用を3つに分類している。第一に、疎水相互作用について、1SosのPro2', Pro3'がGrb2-NのTyr7とTyr52の側鎖の間にパッキングしていること、またVal5', Pro6'がPhe9, Trp36, Pro49, Tyr52の側鎖によって形成される疎水性ポケットに収まること、さらに、Arg8'の側鎖がTrp36の側鎖に沿ってPhe47との間に位置していることを示している。ここに挙げられた芳香族残基は多くのSH3において保存されており、このような相互作用が普遍的であることを示唆している。第二に、静電相互作用が、Arg8'側鎖とループ部分に位置するAsp15, Glu16, Asp33のいずれか、もしくは複数との間に存在することを示している。第三に、水素結合について、Pro3'のカルボニル酸素原子とTyr52の水酸基酸素原子との距離は 2.8 \AA であり、またPro4'のカルボニル酸素原子とAsn51の側鎖窒素原子との距離は 3.4 \AA であることから、これらの間には水素結合が存在することを示している。

第2章においては、PI3KのSH3とRKLPPRPSKとの複合体(PI3K-RLP1)の立体構造や、AblのSH3とAPTMPPLPP(Abl-3BP1)、FynのSH3とPPAYPPPPVP(Fyn-3BP2)の複合体に対してGrb2-N-1Sosの比較を行い、Grb2-N-1Sosは、プロリンリッチペプチドの結合方向が逆であることを明らかにしている。左巻きポリプロリンII型ヘリックス構造の擬 C_2 対称性により、疎水相互作用が両方向で同じモードで存在すること、また、カルボニル酸素原子の位置も、方向によらずほぼ一定であることから、水素結合も双方向で可能であることを示している。静電相互作用はArg1'とArg8'で共通であることから、結合方向を決定するのはプロリンリッチペプチドにおけるアルギニンの位置であることを明らかにしている。

第3章においては、SH3-プロリンリッチペプチドの結合特異性が生じるメカニズムについて考察を行っている。アルギニンの相互作用部位に特異性が生じる要因が存在することをまず明らかにしている。さらに、結合方向によってコンセンサスのプロリンの相互作用部位が逆であることから、

この選択性の理由については、疎水性パッキングの有効性を示唆している。非プロリン残基が結合面において望ましい χ_1 角 ($\chi_1 = -60^\circ$ または 180°) を取った場合、側鎖は結合面に近接する場合と遠ざかる場合の2つがあり、プロリンが選択される位置が3残基毎に生ずることから、プロリンリッチペプチドに見られる規則性のうち、-PXXP-のモチーフが存在することと、コンセンサスとして疎水性分岐鎖アミノ酸が選択される傾向があることを説明している。ここで、プロリンリッチペプチドの非プロリン残基と SH3 の疎水性ポケットのパッキングが特異性に効いていることを示している。以上の考察から、双方向の結合が存在することによってはじめて SH3 上の全ての結合面が特異的認識に寄与し得ることを明らかにしている。

以上、本研究の成果は、構造生物学および SH3 を対象とする創薬に大きく貢献するものであり、これを行った学位申請者は博士(薬学)の学位を得るにふさわしいと判断した。