

# 論文審査の結果の要旨

氏名 岡本 直樹

本論文は、ナトリウム利尿ペプチド受容体ファミリーのメンバーであるヒトのグアニル酸シクラーゼ B 受容体 (GC-B) の大量生産と生化学的解析に関して記述したものであり、5 章から構成される。

第 1 章は、序論であり、本研究に関連する最新の知見を含めた背景や研究意義について述べられている。

第 2 章は、本研究に用いた材料及び実験方法に関する記述である。

第 3 章は、本研究で得られた結果の記述であり、以下にその内容の要点を纏める。第 1 節では、GC-B の全長と細胞外ドメインの大量生産系の確立について述べられている。HEK293T 細胞を発現系として用い、目的蛋白質と共発現させた GFP の蛍光強度を指標にして、FACS を利用することによって高発現細胞株を選別している。第 2 節では、GC-B の細胞外ドメインの精製について述べられている。GC-B の特異的リガンドである C 型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) を改変したペプチドを利用したアフィニティークロマトグラフィーによって、高純度の精製蛋白質を得ることに成功している。第 3 節では、GC-B の生化学的解析について述べられている。GC-B 全長を含む膜画分と精製した細胞外ドメインを用いて、これまで発見されている 3 種のナトリウム利尿ペプチドに対する結合親和性とグアニル酸シクラーゼ活性の測定を行っている。また、GC-B の二量体インターフェイスに着目し、二量体化に関与すると考えられる Leu を Trp に置換した変異体では、CNP 結合活性が顕著に低下するという結果を得ている。GC-B は、同属の GC-A と同様に、二量体インターフェイス付近で Cl<sup>-</sup>結合部位を形成することによって、CNP 結合活性が Cl<sup>-</sup>濃度依存的に制御されることを示している。さらに、精製した細胞外ドメインを用いて酵素による脱糖鎖実験を行うことによって、GC-B の CNP 結合活性には、少なくとも 1 つの糖鎖修飾が必要であることを見出している。

第 4 章は、考察であり、以上の結果を踏まえた総括的な議論が行われ、今後の展望について述べられている。GC-B と GC-A は、リガンド間の構造や二量体インターフェイスの違いを利用するによって、異なるリガンド選択機構を持つことが論じられている。また、糖鎖が GC-B 二量体構造の安定化に寄与する可能性についても議論されている。これらの議論にあたっては、GC-A の結晶構造を鋳型にして構築された GC-B のホモロジーモデルが用いられている。

第 5 章は、結論であり、本研究で得られた新たな知見について纏められている。

以上のように、本論文において、論文提出者は GC-B の大量生産、特に細胞外ドメインの大量精製に成功することによって、GC-B の詳細な生化学的解析を行うことを可能

にし、GC-B は複数の点で GC-A とは異なる生化学的特徴を持つことを明らかにした。これらの研究成果は、GC-B の薬理的及び構造生物学的研究への発展に大きく貢献できると考えられ、ナトリウム利尿ペプチド受容体のリガンド選択機構やシグナル伝達機構の本質的な理解に進歩をもたらすものであると判断される。よって審査委員一同は、本研究を博士の学位論文として価値あるものと評価した。

なお、本論文は東京大学分子細胞生物学研究所の豊島近教授及び小川治夫准教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験の立案とその遂行、データの分析及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。

本審査委員会はまた論文提出者に対し、平成 23 年 1 月 18 日、本論文の内容及び関連事項に関する口頭試験を行った。その結果、論文提出者は博士（理学）の学位を受けるにふさわしい十分な学識を有するものと認め、審査委員全員により合格と判定した。

以上、論文審査と口頭試験の結果、学位申請者は博士（理学）の学位を授与できると認める。