

所属 (主指導教官)	生体高分子構造学講座 (箱嶋 敏雄)		
氏名	前崎 綾子	提出	平成 14年 1月 8日
題目	Structural basis of the Rho effector recognition (低分子量 G 蛋白質 Rho による標的蛋白質の認識機構の構造的基礎)		
<p>要旨</p> <p>The Rho family small GTP-binding proteins such as Cdc42, Rac, and Rho participate in regulation of actin cytoskeleton and cell adhesion through specific target proteins. Rho-binding domains of these effector proteins have been classified into at least two motifs, class 1 and 2. The class 1 motif is characterized as a polybasic region followed by a leucine-zipper-like motif. The other motif, class 2, has a putative coiled-coil motif. To understand the molecular mechanisms of the Rho effector recognition, I determined the crystal structure of RhoA bound to the N-terminal effector domain of human protein kinase N (PKN) which has a class 1 Rho-binding motif. In addition, to obtain insights into the class 2 of Rho-binding motifs, I also determined the crystal structure of the Rho-binding region from Rho-kinase.</p> <p>The crystal structure of the RhoA/PKN complex reveals that PKN has a novel effector domain for Rho, which is distinct from the other effector domains such as the CRIB domains for Cdc42 and Rac. The PKN effector domain binds to RhoA at switch I, β-sheet B2/B3, and the C-terminal α-helix A5. These binding regions are different from those for Cdc42 and Rac.</p>			

The interactions between switch I of RhoA and the effector domain of PKN shows how RhoA binds PKN in a GTP dependent manner. Thus, the present structure shows the various ways that the Rho family members interact with their effector proteins. Moreover, the present structure suggests that multiple effector domains may interact different molecular surfaces on the G protein.

The structure of the Rho-binding domain from Rho-kinase reveals parallel coiled-coil motif with long consecutive helices extending to about 97 Å. The presence of long coiled-coil motif suggests that Rho-kinase is present in an oligomerization form in solution.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 前崎 綾子

平成14年1月8日に提出された論文は、細胞骨格系を制御する低分子量G蛋白質 RhoA とその標的蛋白質であるセリン・スレオニン蛋白質キナーゼ N (PKN) の RhoA 結合ドメインとの複合体、ならびに、同じく RhoA の標的蛋白質であるセリン・スレオニン蛋白質キナーゼ Rho-キナーゼ (Rho-kinase) の RhoA 結合ドメインの X線結晶解析の方法を用いた三次元構造決定とその構造に基づいた分子機能のメカニズムの解明からなる。

三次元構造決定では、試料の十分な精製、良質な結晶の調製、高分解能の観測強度データの収集、分子置換法ならびにセレノメチオニン導入によるセレン原子を用いた多波長異常分散法ならびに分子置換法による位相決定、精度の高い三次元構造の精密化がなされており、技術的信頼性は高い。蛋白質の X線による原子レベルの三次元構造決定とは、蛋白質の発現や精製などの生化学実験から、X線強度データ収集などの物理実験、そして位相決定や構造解析における数値計算を含んでいるが、それらの全ての方法について十分な実力を有するものと判断した。

分子機能とそのメカニズムについては、その精度の高い三次元構造に基づいて詳細な構造学的な議論と、多くの関連した生化学的データを引用した機能についての慎重な考察の結果として結論されており、十分な妥当性が認められる。これらは、RhoA と PKN の RhoA 結合ドメインの分子間相互作用部位の同定、RhoA の標的蛋白質識別メカニズムの解明、PKN とは異なる RhoA 結合モチーフをもつ標的蛋白質である Rho-kinase の RhoA 結合ドメインの構造決定により RhoA 結合モチーフの共通性と多様性を三次元構造に基づいて検討したことである。

また、論文全般において、記述も水準に達していると判断された。

以上のように、本論文は細胞骨格・細胞接着を制御する極めて重要な低分子量G蛋白質である Rho の構造生物学に貴重な基礎データを提供するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。