

論文内容の要旨

博士論文題目 Class A G タンパク質共役型受容体がオリゴマー化する際の
インターフェイスを予測する手法の開発

氏 名 根本 航

(論文内容の要旨)

G タンパク質共役型受容体 (GPCRs) は、創薬における重要な標的の一つである。ペプチド、アミン、核酸など生理活性物質の結合が引き起こす GPCR 自身の立体構造変化が、細胞内に位置する 3 量体型 G タンパク質の GDP-GTP 交換反応と共役することで、細胞外からのシグナルが細胞内へ伝達される。GPCR は、ホモ、または、ヘテロのオリゴマーとしても機能し、その際のリガンドの選択性・親和性などがモノマーとは異なるものが多いことから、オリゴマー化メカニズムの解明が重要となってきた。また、相互作用のためのインターフェイスが予測されれば、オリゴマー化を制御する低分子設計の指針となる。これまでに GPCRs のインターフェイス予測に取り組んだ報告は存在するが、予測された領域と既存の実験データとが必ずしも一致していない。先行研究の最大の問題点は、立体構造のフォールドが同じタンパク質どうしは、同じ位置にインターフェイスを持つと仮定して予測を行なっていることにある。そこで我々は、この問題点を踏まえ、保存残基の分布を利用し分子表面のどこにインターフェイスが位置するかを予測する手法を開発した。

本手法では、まず、解析対象タンパク質と相同で、かつ、機能的に等価と考えられる配列群のマルチプルアラインメントを作成した。次に、全てのサイトについて保存度を算出した後、クラス A GPCRs の代表構造であるウシロドプシンの立体構造の対応するサイトに割り当てた。そして、立体構造上での保存サイトの集積が統計的に有意な領域を探索することにより予測を行なった。なお、保存領域の探索は、立体構造の情報を適当な平面上に射影することにより、平面上で行なった。この手法は、情報量が減少し短時間で探索を行なえるようになっただけでなく、3 次元においては複数箇所に分離して存在していたインターフェイスを一つに取りまとめることで、精度の向上にもつながっている。

オプシン、D2 ドーパミン受容体、 $\beta 2$ アドレナリン受容体など、インターフェイスが既知のクラス A GPCRs に適用したところ、予測された領域は実験で提案されている領域と一致した。このことから、我々が開発した手法はクラス A GPCRs がオリゴマー化する際のインターフェイスを検出する手法として有用であると考えられた。そこで、インターフェイスが未知のクラス A GPCRs へも本方法を適用しインターフェイス予測を行った。分子系統樹のクラスタリングに基づき、機能的に等価であると考えられるサブタイプごとに分け、サブタイプごとのインターフェイスを予測した。その結果、サブファミリー内であってもサブタイプごとにインターフェイスの位置が変化していた。さらに、遺伝性筋間代性痙攣のメカニズムに、D2 ドーパミン受容体がオリゴマー化する際のインターフェイス異常が関与することが示唆された。

(論文審査結果の要旨)

タンパク質間相互作用の情報学的な推定は、現在のバイオインフォマティクスの重要な課題の一つである。申請者は、創薬における重要な標的の一つである G タンパク質共役型受容体 (GPCRs) について、オリゴマー化のための相互作用インターフェイスの推定という研究課題を設定し、以下のような方法を開発した。

1. 機能部位予測を行なう場合、「同じファミリーであれば機能部位の位置も同じである」と仮定して解析することが多い。しかし、少なくとも GPCRs に関してはこの仮定は適切でないと考え、「同じファミリーであってもインターフェイスの位置が異なる可能性がある」と仮定して解析を行なった。
2. 先行研究では、インターフェイスが複数の場所に分離して存在する可能性を考慮していない。申請者は、鋳型として使用したロドプシンの立体構造の特徴・GPCRs のインターフェイスの分布の特徴（インターフェイスは膜平面に垂直な方向には分散し得るが、水平な方向には集積すると考えられる）を利用し、膜平面上にアミノ酸残基を射影して解析を行なう手法を開発した。この手法は、計算量が減少し、短時間で探索を行なえるようになっただけでなく、3 次元においては複数箇所に分離して存在していたインターフェイスを一つに取りまとめることで、精度の向上にもつながった。
3. 先行研究では、インターフェイスの保存度の平均値が高い領域をインターフェイスとみなし探索を行なっている。しかし、インターフェイスに位置するすべての残基がインターフェイス形成に重要なわけではなく、Hotspot と呼ばれる比較的少数の保存サイトの寄与率が高いため、「保存度の平均値の差」はインターフェイスとインターフェイス以外の分子表面とで差が有意でないとの報告があった。そのため、申請者は「保存サイトの個数の差」を指標にして予測を行なう方法を考案した。

この結果、申請者は、オプシン、D2 ドーパミン受容体、 $\beta 2$ アドレナリン受容体について、実験結果と一致する、予測結果を得ることができ、開発した手法の有効性が示された。この手法を、相互作用部位が未知の GPCR に適用することにより、予測されたインターフェイスの位置は、サブファミリー内であってもサブタイプごとに異なるという興味深い結果を得た。また、遺伝性筋間代性痙攣のメカニズムに、D2 ドーパミン受容体がオリゴマー化する際のインターフェイス異常が関与することが示唆された。

このように、本論文はタンパク質間相互作用の情報学的な推定法の開発において独創性が高いだけでなく、新薬開発のために、オリゴマー化を制御する低分子設計の指針となる情報を与えるという点で、実用面でも意義のあるものである。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。