

論文内容の要旨

申請者氏名 Arry YANUAR

RGK (Rad-Gem-Kir)ファミリーに属する低分子量 G タンパク質である Rad (Ras associated with diabetes) は、II 型糖尿病のヒト骨格筋に過剰発現されている Ras として単離された。RGK ファミリーの G タンパク質には、糖尿病との関連以外にも、 β サブユニットへの直接結合による電圧依存性カルシウムチャネルの阻害、Rho キナーゼへの直接結合による細胞骨格の再構築の抑制、乳ガンの発ガンと成長への関与が報告されており、各分野から注目されている。奇妙なことに、Rad を含む RGK (Rad-Gem-Kir)ファミリーのメンバーは、G タンパク質に特徴的な配列モチーフ中の幾つもの保存配列を欠く。本論文は、ヒト Rad と Gem の組換えタンパク質の調製法を確立するとともに、RGK ファミリーの G タンパク質の世界初の三次元構造として、GDP 結合型のヒト Rad の分解能 1.8 Å の結晶構造を報告している。得られた三次元構造に基づいて、主として H-Ras と比較することにより、特異な配列に帰因する構造的特徴を明らかにしている。具体的には、スイッチ I と II の両方がとっていた予期せぬ乱れた構造は、保存配列である G2 と G3 モチーフに存在する非保存的置換や、スイッチ領域と相互作用している構造エレメント中の置換によって引き起こされていることを示す。これらの特徴や、グリシンに富む配列は、スイッチ I と II のコンホメーションの柔軟性を示唆している。スイッチ I は、H-Ras ではグアニン塩基と相互作用している保存されたフェニルアラニンを欠く。Rad では、その代わりに水分子を介した水素結合が観測された。一方、GDP 分子は H-Ras と同一の位置に在り、似たコンホメーションをとっている。この類似性は、塩基結合ループや H-Ras と同様に典型的な正八面体配座をもつマグネシウムイオンとの保存された水素結合相互作用によって賦与されている。これらの構造的特徴は、Rad の GTP 結合能が弱く、マグネシウムへの依存性が高いことや、GTPase 活性が低いことをよく説明している。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Arry YANUAR

Ras、Rho、Ran、Rab といった代表的なファミリー以外のファミリーやサブファミリーに属する低分子量 G タンパク質の構造研究は、それらの機能研究と相前後して、最近、端緒についたばかりである。本論文は、医学的な見地から最近注目を集めている RGK (Rad-Gem-Kir) ファミリーの低分子量 G タンパク質の世界初の構造生物学的研究成果を提出している。申請者は、ヒト Rad の生化学・タンパク質化学的な実験を開始して、その GTPase ドメインの調製と結晶化に成功した。この結晶を用いた X 線結晶構造解析により高分解能の構造を得て、RGK ファミリーの G タンパク質の三次元構造を世界に先駆けて報告した。得られた三次元構造をもとに、H-Ras や RalA との詳細な構造比較により、Rad や RGK ファミリーの G タンパク質に特徴的な構造的特性を明らかにすることに成功した。更に、これまでに報告されていた生化学的な実験データを説明することを試みている。審査委員会は、申請者が行った有用な実験、特に、Rad ならびに Gem の生化学的・タンパク質化学的な実験の詳細についても本論文に追加記載することとしたが、本論文の主な成果は以下のように要約される。

G タンパク質のスイッチ I の構造柔軟性は種々の実験から示唆されていたが、一般に、ヌクレオチド結合時にはそれぞれ決まった構造をとるとされてきた。しかし、ヒト Rad のスイッチ I は、GDP 結合型であるにも拘わらず、その電子密度は弱く、構造が乱れていることを明らかにした。その要因として、スイッチ I の構造を規定していると考えられるヘリックス A1 の疎水性残基が親水性残基に置換していることや、柔軟性を賦与すると考えられるグリシンがスイッチ I の根本等に存在することを示した。更に、配列の保存性の低いスイッチ II も乱れた構造をとっていることを明らかにした。安定な構造を形成したスイッチ I がスイッチ II の構造安定化の一つの要因なので、Rad のスイッチ II の構造の乱れはスイッチ I と整合性があることを論じた。また、スイッチ II の配列には特異な位置にトリプトファン等の疎水性残基があり、H-Ras 等とは異なったループ構造を構築する可能性があることを指摘した。一方、GDP 分子は H-Ras と同一の位置に在り、それと似たコンホメーションをとっているが、この類似性は、塩基結合ループや H-Ras と同様に典型的な正八面体配座をもつマグネシウムイオンとの保存された水素結合相互作用によって賦与されていることを示した。

以上のように、本論文は、ヒト Rad の GTPase ドメインの三次元構造特性を世界に先駆けて記述したもので、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。