

# 論文審査の結果の要旨

氏名 井爪 珠希

本論文は4章からなる。第1章は、イントロダクションであり、Gタンパク質共役受容体 (GPCR) のうち最大のサブファミリーである class A GPCR の概論が記述されている。本論文では特に、ペプチドホルモンを内在性リガンドとするエンドセリン受容体およびリゾリン脂質受容体のうち、リゾホスファチジルセリン (LysoPS) を内在性リガンドとする GPR34 について論じている。

第2章では、ヒト由来のエンドセリン受容体 B 型および4種類のアゴニストとの複合体の精製、結晶化、X線結晶構造解析について詳細に記述されている。論文提出者は精製タンパクを脂質二重膜に再構成して結晶化する手法である Lipidic cubic phase (LCP) 法を用いて、うち3種類のアゴニスト複合体についてそれぞれ 2.0, 2.7, 2.8 Å で高分解能構造を決定した。各種アゴニストの受容体結合様式および構造情報に基づく変異体解析、分子動力学シミュレーションから、エンドセリン受容体のうち ETBR に選択的に結合するアゴニストの結合様式の知見を示した。また、人工ペプチドである IRL1620 は生体リガンドと比較して細胞外側の TM の傾きおよび class A GPCR 間で保存性が高い受容体コア部のアスパラギン酸の相互作用相手に違いがみられた。これに基づく ET-3、IRL-1620 の ETBR 活性化能評価から、ETBR の活性化機構および部分活性化機構の詳細を論じている。

第3章では、ヒト由来の LysoPS 受容体の一つである GPR34 および LysoPS アナログ、Gi タンパク質、単鎖抗体の複合体の精製、クライオ電子顕微鏡による撮影、単粒子解析について詳細に記述されている。論文提出者は GPR34 複合体のクライオ電顕マップを 3.6 Å で取得し、構造を決定した。GPR34 は細胞外側を覆うような蓋構造を取っている点で多くの脂質受容体と共通していたが、これまでに報告された脂質受容体とは異なり蓋を構成する細胞外ループが  $\alpha$  ヘリックスを形成していた。また、論文提出者は密度マップと受容体の立体構造の重ね合わせから、受容体由来ではない密度が蓋構造と TM の間にあることに着目した。周辺部位を他脂質受容体構造と比較することでこの部位が LysoPS のアナログリガンド結合部位である可能性が示唆されている。

第4章では、論文全体を通した総括と、これまでに報告された他の class A GPCR と ETBR の活性化機構および部分作動薬結合構造との比較、GPR34 と他のいくつかの脂質受容体にみられる特徴的な立体構造の比較を行い、class A GPCR のリガンド認識機構および活性化機構について考察が述べられている。

本論文では、ヒト由来エンドセリン受容体 B 型および3種類のアゴニストの複合体、およびヒト由来 GPR34 および LysoPS アナログ、Gi タンパク質、単鎖抗体の複合体の立体構造をそれぞれ X線結晶構造解析およびクライオ電顕による単粒子解析という異なる手法を用いて異なる活性化状態にある GPCR の立体構造を決定した。さらに、ET-3 および IRL1620 結合型 ETBR に関しては *in vivo*、S6b 結合型 ETBR に関しては *in silico*

の機能解析が行われており、ETBR のリガンド認識機構の分子基盤への理解を大きく進展させた。また、LysoPS 受容体の立体構造はこれまでに報告されていない。本論文で明らかになった GPR34 の構造情報は LysoPS 受容体の立体構造の知見をもたらすとともに、脂質受容体で十分に明らかになっていないリガンドのオルソステリック部位およびオルソステリック部位へのアクセス経路への理解を大きく押し進めるものである。

なお、本論文第 2 章は、濡木理教授、西澤知宏准教授、志甫谷渉助教、宮内弘剛博士、山下恵太郎博士、青木淳賢教授、井上飛鳥准教授、Francois Marie Ngako Kadji 博士、平田邦生博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究が遂行されており、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。