

審査の結果の要旨

氏名 李彦君

本論文は「Structural analysis of the extracellular domain of PTP δ (PTP δ の細胞外ドメインの構造解析)」を題とし、6章から構成されている。

第1章では、序論として神経細胞のシナプス形成と細胞接着分子について述べられている。シナプスは神経細胞間での信号伝達に特化した細胞接着構造であり、特定の細胞接着分子群 (cell adhesion molecules; CAMs) がシナプス形成の標的となる神経細胞の認識やシナプス機能の維持に重要な役割を担っている。CAMs はシナプス形成の誘導や神経細胞の移動、シナプス可塑性、軸索ガイダンスといった過程に関与し、発生の進行に伴って、その役割を切り替えることもある。LAR、PTP σ 、PTP δ の3種類のメンバーで構成される IIa 型の受容体タンパク質チロシン脱リン酸化酵素 (receptor protein tyrosine phosphatases; RPTPs) ファミリーは、その機能が最もよく解析されている CAMs の一つであり、近年、シナプス形成を誘導する活性を有する分子(シナプスオーガナイザー)として注目されている。シナプス前終末に局在する IIa 型 RPTPs は、細胞外ドメインを介してシナプス後終末に局在する複数種類シナプスオーガナイザーと選択的に結合してシナプス形成を誘導する。この選択的な結合の詳細なメカニズムは、X線結晶構造解析によって明らかにされてきた。一方、細胞外での結合の情報が細胞内へと伝達されるメカニズムについては殆ど理解されていない。その理由の一つとして、IIa 型 RPTPs の細胞外の膜近傍領域 (extracellular juxtamembrane region; EJER) の立体構造が不明であることが挙げられている。

第2章では、マウス由来 PTP δ の3番目の Fibronectin type III ドメイン (FN3) から EJER までの領域 (FN3-EJER) の大量発現と精製について述べられている。大腸菌での大量発現系の構築、三段階の液体クロマトグラフィーによる精製、結晶構造解析のためのセレノメチオン標識体の調製の方法と結果が記されている。

第3章では、ゼブラフィッシュ由来 PTP δ FN3-EJER の大量発現と精製について述べられている。大腸菌での大量発現系の構築、三段階の液体クロマトグラフィーによる精製の方法と結果が記されている。

第4章では、マウス由来 PTP δ FN3-EJER とゼブラフィッシュ由来 PTP δ FN3-EJER の結晶化について述べられている。自動結晶化装置を用いたシッティングドロップ蒸気拡散法による結晶化

条件の初期スクリーニングおよび結晶化条件の最適化の方法と結果が記されている。

第5章では、マウス由来 PTP δ FN3-EJR とゼブラフィッシュ由来 PTP δ FN3-EJR の X線結晶構造解析について述べられている。まず、セレノメチオニン標識したマウス由来 PTP δ FN3-EJR の結晶を用いて回折データセットを収集し、セレン原子の異常分散を利用した単波長異常分散法により、2.84 Å 分解能でマウス由来 PTP δ FN3-EJR の結晶構造を決定した。次に、ゼブラフィッシュ由来 PTP δ FN3-EJR の結晶を用いて回折データセットを収集し、マウス由来 PTP δ FN3-EJR をサーチモデルとした分子置換法により、2.26 Å 分解能でゼブラフィッシュ由来 PTP δ FN3-EJR の結晶構造を決定した。マウス由来 PTP δ FN3-EJR はドメインスワッピングによって二量体化していた。そのために、ゼブラフィッシュ由来 PTP δ FN3-EJR の結晶構造と比較すると、構成する各ドメインの立体構造はほぼ同じであったのに対して、ドメインの相対的な配向や位置は大きく異なっていた。

第6章では、マウス由来 PTP δ FN3-EJR とゼブラフィッシュ由来 PTP δ FN3-EJR の結晶構造に基づいて機能に関する考察がなされている。まず、今回決定した PTP δ FN3-EJR の結晶構造と既に報告されている N 末端から FN3 までの結晶構造を FN3 を基準にして重ね合わせることで、PTP δ の細胞外領域全体の立体構造モデルを構築した。さらに、PTP δ の結合相手の一つである IL1RAPL1 (シナプス後終末のシナプスオーガナイザー) との複合体の立体構造モデルを構築して、シナプス間隙と跨いで相互作用する様式を推測した。ドメインスワッピングによる FN3-EJR の二量体化が起こった時の複合体の全体構造も推測し、さらに、その生理的な意義についても考察している。PTP δ EJR には、膜タンパク質のプロタンパク質領域を切断する酵素 Furin の認識配列が存在し、実際に *in vivo* でも Furin による切断が起こっているが、二つの切断断片は解離することなく全体構造は維持される。PTP δ EJR の結晶構造ではディスオーダーして電子密度は見えなかったが、Furin の認識部位はコンパクトに折畳まった領域からループアウトした位置にあり、その切断が EJR の全体構造に殆ど影響を与えないことも示唆された。

なお、本論文の第2章から第5章は、深井周也博士、山形敦史博士、佐藤裕介博士、尾勝圭博士、脇田舞子氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって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。

よって本論文は博士（科学）の学位請求論文として合格と認められる。