

論文審査の結果の要旨

氏名 森田 純子

本論文は、「General Introduction」、第1章「X-ray crystallographic analysis of ENPP6, choline-metabolizing enzyme」、第2章「X-ray crystallographic analysis of the plant receptor-like kinase TDR in complex with the peptide hormone TDIF」、「General Discussion」から構成されている。

第1章は、脊椎動物に保存されたコリン特異的なホスホジエステラーゼの ENPP6 と反応産物のホスホコリンの複合体の X 線結晶構造解析について述べられている。マウス由来の ENPP6 とホスホコリンの複合体の結晶構造を 1.8 Å の分解能で決定し、ENPP6 がチロシン残基からなるコリン結合ポケット構造によって基質のコリンの部分を実験的に認識することを明らかにした。コリン結合ポケットの残基を変異させた変異体 ENPP6 を精製し、GPC(グリセロフォスファチジルコリン)加水分解活性を測定したところ、野生型の ENPP6 と比較し酵素活性が有意に低下した。さらにコリン結合ポケットの生理的な意義を検証するため、作成した変異体 ENPP6 を発現させた培養細胞へのコリンの取り込みの測定が共同研究者により行われた。その結果、コリン結合ポケットを変異させた ENPP6 を発現する培養細胞はコリン取り込み活性が低下することがわかった。

第2章では、植物の分化を制御するペプチドホルモン TDIF と、その受容体であるロイシンリッチリピート型受容体キナーゼである TDR の複合体の X 線結晶構造解析について述べられている。得られた結晶構造中で、12 のアミノ酸残基からなる TDIF のペプチドは中心の Gly6 と Hyp7 の残基で折れ曲がった構造をとり、TDR はその折れ曲がりを実験的に認識するためのポケット構造をとっていた。またペプチドの N 末端と C 末端は水素結合を通じて TDR によって認識されていた。これらの相互作用に関わっている TDR の残基を変異させた精製タンパク質とビオチン化 TDIF のペプチドを用いてプルダウンアッセイを行ったところ、変異体 TDR は TDIF ペプチドへの結合が低下していることが明らかになり、結晶構造にみられた TDR と TDIF の相互作用は水溶液中の精製タンパク質においても形成されることがわかった。また共同研究者により、ベンサミアナタバコの葉の組織に TDR-TDIF のシグナル経路を再構成した系を用いて、変異体 TDR の活性が評価された。すると結晶構造で TDIF を認識していた残基を変異させた TDR は、植物組織においても TDIF 応答性を失うことが確認され、結晶構造にみられた TDR-TDIF 間の相互作用が、植物体でも機能するものであると確かめられた。

第一章について、これまで ENPP6 がコリン含有ホスホジエステルを特異的に加水分解することは知られていたが、どのようにそのコリン嗜好性が生じるかはこれまで明らかになっていなかった。本研究では構造解析と変異体の生化学的・細胞生物学的な機能解析により、ENPP6 が GPC のコリン構造を実験的に認識し切断することでホスホコリンを産生し、コリンを代謝する分子基盤がはじめて明らかになった。そのため本研究は新規性があり意義があるものである。

第二章について、TDIF は CLE ペプチドと呼ばれるペプチドファミリーに属するが、これまで CLE ペプチドを実験的に認識するロイシンリッチリピート型受容体キナーゼの構造は明らかに

なっておらず、CLE ペプチドがどのように受容体によって認識されるかは不明だった。そのため今回の構造から CLE ペプチドが受容体によって認識されるメカニズムについての理解が前進したといえる。このことから本研究は新規性があり意義があると考えられる。

本論文の第 1 章は青木淳賢博士、可野邦行博士との共同研究、第 2 章は福田裕穂博士、近藤侑貴博士との共同研究であり、また第 1 章と第 2 章を通しては、加藤一希博士、西増弘志博士、中根崇智博士との共同研究である。しかし論文提出者が主体となって研究が遂行されており、その寄与は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。