

Role of Conserved Acidic Residue Asp21 in the Structure of Phosphatidylinositol 3-Kinase Src Homology 3 Domain : Circular Dichroism and Nuclear Magnetic Resonance Studies

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15666

学位授与番号	医博乙第1536号
学位授与年月日	平成13年6月6日
氏名	置 塩 信 行
学位論文題目	Role of the Conserved Acidic Residue Asp21 in the Structure of Phosphatidylinositol 3-Kinase Src Homology 3 Domain : Circular Dichroism and Nuclear Magnetic Resonance Studies
論文審査委員	主 査 教 授 山 本 博
	副 査 教 授 吉 本 谷 博
	教 授 東 田 陽 博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

Src ホモロジー 3 (SH3) ドメインは、約 60-80 アミノ酸残基からなり、細胞内情報伝達系タンパク質に広く存在する機能ドメインである。このドメインは、主に芳香族アミノ酸残基により構成されるリガンド認識部位を持ち、プロリン残基に富む配列を認識することにより、細胞内情報伝達を制御する。

本研究では、SH3 ドメイン間によく保存された酸性アミノ酸残基の役割を調べるために、フォスファチジルイノシトール 3-キナーゼの SH3 ドメインを用い、D21N (Asp21→Asn) 変異により誘導される構造変化を、紫外円二色性分光法および核磁気共鳴法を用いて検証した。

紫外円二色性分光法による Tyr→Phe 変異体、および Tyr→Phe と D21N の二重変異体の解析から、Tyr14 および Tyr73 残基が、D21N 変異の影響を受けることを明らかにした。さらに核磁気共鳴法を用いて、D21N 変異により、Trp55 および Tyr14 残基の側鎖芳香環の水素原子の化学シフトが大きく変化することを示した。さらに、これら側鎖のみならず、Lys15-Asp23、Gly54-Trp55、Asn57-Gly58、Gly67-Pro70 の主鎖構造が変化することを明らかにした。これらの結果から、リガンド認識部位を構成する残基の半数以上が、D21N 変異により影響を受けることが示された。特に、Glu17 および Arg18 の主鎖アミド水素に対する影響は顕著であり、D21N 変異により、化学シフトの著しい低下が観察され、これら 2 原子が関与する水素結合ネットワークが消失したことが示唆された。また、 $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$ 核オーバーハウザー効果値を測定したところ、D21N 変異により、Tyr14、Glu19、Glu20 の主鎖の運動性が減少することを示すデータが得られ、D21N 変異が、リガンド認識に重要と考えられている「構造の柔軟性」をも失わせることが明らかとなった。

以上、本研究は、SH3 ドメイン中で保存された酸性アミノ酸残基は、リガンド認識部位の形成とその構造維持に必須の役割を担っていることを明らかにしたものであり、構造生物学上価値ある研究と認められた。