

カイコガの脱皮・変態を制御する前胸腺刺激ホルモンの結晶構造解析 Crystal structure analysis of the silkworm prothoracicotropic hormone (PTTH), which controls the molting and metamorphosis of the moth

永田宏次*, 田之倉優

東京大学大学院農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Koji Nagata* and Masaru Tanokura

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi,
Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

昆虫や甲殻類の脱皮ホルモンはステロイドホルモン（エクジソン、ecdysone）により促進される。

鱗翅目昆虫では、さらに、脳の神経分泌細胞で合成されるペプチドホルモン（前胸腺刺激ホルモン、prothoracicotropic hormone = PTTH）が前胸腺に作用してエクジソンの合成・分泌を促進し、脱皮や変態を誘起することが明らかになっている（図1）。

カイコガ PTTH は、109 アミノ酸残基からなるポリペプチド鎖のホモダイマーであり、分子内に7対のジスルフィド結合を有する（図2）。また、アミノ酸配列相同性から TGF- β 様の立体構造をとることが示唆されている。しかし、PTTH の立体構造はまだ明らかになっていない。

本研究では、カイコガ PTTH の X 線結晶構造解析により、カイコガ PTTH の立体構造を明らかにし、変異体解析のデータと組み合わせて、その活性部位を分子構造上にマッピングすることを目的としている。PTTH の立体構造が決定されれば、立体構造情報に基づいて活性発現・調節の分子機構を解析し、鱗翅目昆虫（特に蛾）の人為的生育制御に資する基盤情報を得ることを期待している。

2 実験

PTTH 結晶は、東京大学大学院農学生命科学研究科において作製し、液体窒素中で凍結保管し、Photon Factory Advanced Ring NW12A にてカセットに凍結結晶を装填し、試料交換ロボットを利用して、低温窒素気流中で X 線回折実験を行った。

3 結果および考察

N 末端部と C 末端部の推定天然変性領域を欠失した PTTH の針状結晶（幅約 20 μ m）について Photon Factory Advanced Ring NW12A にて X 線回折実験を行ったが、分解能 4.5 \AA と期待したほど伸びなかった。空間群と格子定数は $P4$, $a = b = 108.5 \text{\AA}$, $c = 87.3 \text{\AA}$ と決定した。

その後、異なる精製ロットでの結晶化や結晶化条件の再検討を繰り返した（図1）が、分解能は改善

しなかった。分解能の改善を目的として、両末端の長さの再検討を進めている。

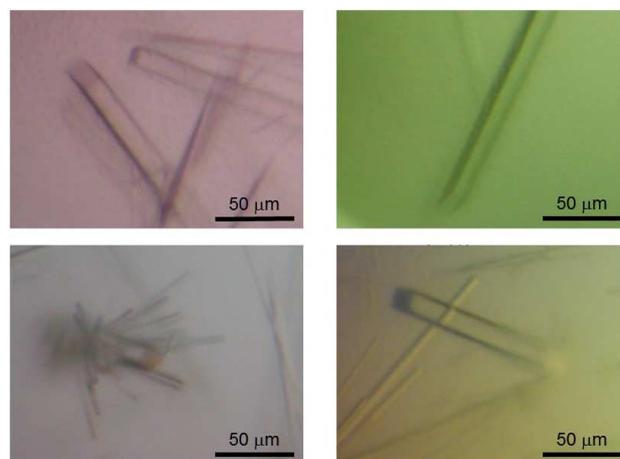


図1：添加剤探索にて得られた PTTH の針状結晶。4 種類の異なる添加剤条件下で得られた結晶の写真を示す。添加剤を検討しても、針状結晶の幅（太さ）や分解能は改善しなかったため、N 末端と C 末端の長さの再検討を進めている。

4 まとめ

PTTH 針状結晶の空間群と格子定数は決定できた。分解能改善のために、PTTH コンストラクトの両末端の長さの再検討を進めている。

謝辞

Photon Factory のビームラインスタッフの皆様へたいへんお世話になりました。心より感謝申し上げます。

* aknagata@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp