

カイコガの性フェロモン生合成活性化神経ペプチド受容体のリガンド認識機構解明のための X 線結晶構造解析

Crystal structure analysis of the silkworm pheromone biosynthesis-activating neuropeptide receptor complexed with its peptide ligand

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

蛾の性フェロモン生合成は、pheromone biosynthesis-activating neuropeptide (PBAN) と呼ばれるペプチドホルモンにより活性化される。雌の蛾が羽化した後、PBAN が頭部の食道下神経節から分泌され、尾部のフェロモン腺細胞の細胞膜上の受容体 (PBAN receptor または PBANR と呼ばれる GPCR の一種) に結合し、性フェロモン生合成酵素が活性化され、揮発性脂質である性フェロモンが合成・分泌され、気化した性フェロモンを雄が感知することで、近くに同種の異性がいることを認識する。したがって、雌のフェロモン腺細胞における性フェロモン生合成を阻害できれば、その雌は雄を引き寄せることができず、最大の農業害虫である蛾の個体数を減らすことが可能になる。本研究の目的は、カイコガ (蛾のモデル生物) の PBAN と PBANR の相互作用の構造的基盤を X 線結晶構造解析により解明し、PBAN と PBANR との相互作用を阻害する化合物の設計に役立つ情報を得ることである。我々はこれまでに lipidic sponge phase 法で取得した PBANR-PBAN(C10)複合体結晶に関して、最高分解能 約 12 Å の X 線回折像を取得している。ここで PBAN(C10)とはペプチドホルモン PBAN 33 残基のうち、活性発現に必須な C 末端 5 残基と末端アミド基とを含む C 末端 10 残基のペプチドアミドを示す。

ペプチドをリガンドとする GPCR の結晶構造は既にいくつか報告があるが、いずれも低分子有機化合物のアゴニストやアンタゴニストが結合した複合体構造であり、本来のリガンドであるペプチドと結合した立体構造は neurotensin (NTS)-neurotensin receptor (NTSR) 1 個のみである。本研究における PBANR-PBAN(C10)複合体の結晶構造解析により、GPCR によるペプチドホルモンの認識機構の新たな一例が明らかになる。

2 実験

PBANR-PBAN(C10)複合体の lipidic cubic phase 法または lipidic sponge phase 法結晶化実験により得ら

れた微結晶をマウント用ループですくって、液体窒素中で凍結保管し、Photon Factory BL-1A 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。1 回のビームタイムあたり、約 30-50 個の凍結結晶試料に対して、2D grid scans を行い、PBANR-PBAN(C10)複合体の結晶を探し、分解能を評価した。

3 結果および考察

上記 2D grid scans では、脂質 monoolein に由来する散乱パターンが多くの場合に見られ、タンパク質結晶に特徴的な回折パターンを観測した回数は少なかった。これは、結晶化実験後に結晶をループで回収する際に、脂質メソフェーズの相転移が起きたことを示している。この相転移を防ぐために、温度と湿度の管理をより厳密に行える環境を整えている。さらに、タンパク質結晶に特徴的な回折パターンも最高分解能 20-15 Å 止まりだったため、PBANR-PBAN(C10)複合体結晶の X 線回折能を向上すべく PBANR コンストラクトの見直しを進めている。結晶の取扱いと品質向上の指針が得られた点で、今回配分されたビームタイムはたいへん有益であった。

4 まとめ

Photon Factory BL-1A での 2D grid scans により、PBANR-PBAN(C10)複合体の lipidic cubic phase 法または lipidic sponge phase 法結晶化実験で得られた微結晶の取扱い方や結晶化用 PBANR コンストラクトの問題点について知ることができ、その解決に向けて、有益な情報が得られた。

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