

ニューレキシン・ニューロリギン複合体の結晶構造に基づくシナプス形成機構の構造生物学的解析

田中 宏樹¹、○禾 晃和¹、高木 淳一¹

¹大阪大学 蛋白質研究所 プロテオミクス総合研究センター

ニューレキシン(Nrx)とニューロリギン(NL)は、ニューロンに発現するI型の膜蛋白質である。Nrxはプレシナプス側、NLはポストシナプス側に局在するとされ、化学シナプスの間隙において、これら二つの蛋白質が互いの細胞外領域を介してヘテロフィリックな接着を行うことによって、シナプスの非対称性が形成される。NLは、アセチルコリンエステラーゼと配列相同性のあるドメインを細胞外に1つのみ有することが知られている。一方、Nrxは単一の遺伝子から異なるプロモーターを用いて遺伝子産物が作られることで、 α と β という二つのアイソフォームが存在する。 β -Nrxは、細胞外にLaminin G(LG)ドメインを一つのみ有する分子量約46kDaの短いアイソフォームであり、 α -Nrxは、LGドメインを計6個有する分子量約168kDaの長いアイソフォームである。ドメイン構成の違いから、 α -Nrxと β -Nrxは、NLに対する結合性も異なり、それがシナプスの多様性の制御に働いているものと考えられる。複合体を形成したNrxとNLは、シナプス間隙においてクラスター化するとされ、そしてさらに、クラスター化したNrx:NL複合体を介して、シナプス特有の神経伝達に必要な蛋白質群が集積すると考えられている。

本研究では、NrxとNLがシナプス間隙において如何にして相互作用し、シナプスの形成を制御しているかを調べるため、NrxとNLの細胞外領域同士の複合体構造解析を行った。上述のようにNrxには2つのアイソフォームが存在するが、本研究では、これらのうち短いアイソフォームである β -Nrxの細胞外領域を用いて複合体解析を行った。それぞれ大腸菌と培養細胞を用いて発現させた β -NrxとNLの細胞外領域断片を混合し、結晶化条件の検索を行ったところ、混合溶液に2価イオンを添加するのみで結晶が得られるという興味深い現象が見られた。しかしながら、その特殊な結晶化条件のため結晶は非常に不安定であり、段階的に結晶化溶液をクライオプロテクタントに置換して行くことで、結晶の凍結が可能になった。X線回折実験はPhoton Factory BL-17Aにおいて行い、3.5Å分解能の回折データを収集することが出来た。位相決定は、 β -NrxとNLそれぞれの単体の結晶構造を用いて分子置換法によって行い、 β -NrxとNLが2:2の複合体を形成することが明らかになった。また、結晶内での複合体間の相互作用様式を調べたところ、 β -NrxとNLが二次元平面上で規則的なネットワーク構造を形成する可能性があることも明らかになった。これに加え、本研究では、Nrxの長いアイソフォームである α -Nrxに関してもその部分構造を決定しており、 α -Nrxと β -Nrxの二次元ネットワーク形成能の相違点についても議論する。