

26L-pm11

マウス由来ペプチド性フェロモン ESP1 の構造生物学的研究

○平金 真¹, 吉永 壮佐¹, 佐藤 徹², はが 紗智子², 嶋田 一夫³, 東原 和成², 寺沢 宏明¹(¹熊本大院薬, ²東大院新領域創成, ³東大院薬)

【目的】フェロモンは、同種他個体に特定の行動や生理的变化を促す物質である。多くの脊椎動物で、フェロモンは、鋤鼻器官により感知されることが知られている。近年、東原らは、雄マウスの涙より、新規のオス特異的ペプチド性フェロモン ESP1 (exocrine gland-secreted peptide 1) を同定し、さらに、ESP1 が固有の V2R (vomeronasal type 2 receptor) 型受容体で認識されることも明らかにした。

本研究は、ESP1 の立体構造と受容体認識機構を明らかにし、フェロモンが媒介する個体間コミュニケーションの構造学的基盤を確立することを目的とする。

【方法】NMR 測定に必要な安定同位体標識タンパク質を、大腸菌を用いて大量発現した。発現したタンパク質を、トロンピン処理によりヒスチジンタグを切断した後、陰イオン交換・ゲルろ過・逆相の各種クロマトグラフィーにより精製した。立体構造解析ならびに運動性解析のための各種多次元 NMR スペクトルを測定した。NMR スペクトルの解析には Olivia、立体構造計算には CYANA を用いた。

【結果・考察】全長 ESP1 は、発現・精製過程において、ジスルフィド結合に起因するオリゴマーを生じた。*in vivo* アッセイにより、鋤鼻神経系活性化能を解析した結果、単量体が活性を有することを明らかにした。NMR 解析により、単量体の N 末端に運動性の高い領域が存在し、C 末端側は立体構造を保持することがわかった。運動性の高い領域を削除した変異体を調製し、アッセイを行った結果、全長と同等の活性を有することを確認した。削除した領域は、金属結合能を有することから、その生理的意義を検討中である。立体構造解析の結果、構造を保持する領域は、 α ヘリックスから構成されていることがわかった。受容体認識機構について、構造情報と変異体解析の結果に基づいて議論する。