

29pmL-065

タイトジャンクション抑制因子 LNX1p80 による JAM4 とクローデインの分子認識機構

中倉 由香子¹, 秋吉 由佳里², 天野 剛志^{1,2}, 合田 名都子¹, 鈴木 守⁴,
濱田 大三^{2,3}, 古瀬 幹夫², ○廣明 秀一^{1,2} (1名大院創薬, 2神戸大院医, 3三重大生
物資源, 4阪大蛋白研)

【背景と目的】細胞接着装置タイトジャンクション(TJ)は上皮細胞の細胞間バリア機能や血液脳関門の機能を担っているタンパク質複合体であり、生体内において、形成と分解のバランスによって制御されている (TJ 動的平衡仮説)。演者らは、TJ 分解を促進する因子、LNX1 の PDZ2 ドメインが TJ 構成膜タンパク質であるクローデイン(CLD)を認識する責任ドメインであることを見出した。LNX1-PDZ2 を阻害する薬物を合理的に設計できれば、一過的にバリア機能を強化できる新しい薬剤を開発できると考えられる。一方、一部の TJ には CLDs よりも強く LNX1-PDZ2 に結合する JAM4 が局在しており、LNX1 を捕捉することで TJ の本体である CLD の分解を抑えるという可能性が示唆されている。そこで、JAM4 ペプチドと LNX1-PDZ2 複合体の構造決定と分子認識機構の解明を試みた。

【実験】LNX1 の PDZ2 ドメインについて、結晶構造解析を用いて単体ならびに JAM4 ペプチド複合体について、立体構造を決定した (PDB:3VGF, 3VQG)。また、LNX1-PDZ2 の NH の NMR シグナルを定法により帰属し、JAM4 および CLDs およびそれらの変異体ペプチドとの相互作用を NMR 滴定実験により観察した。更にペプチドにスピラベルを導入し、NMR における常磁性シフト実験より、結晶中では見えなかったインタフェースの観察を行った。

【結果・考察】複合体結晶中で LNX1-PDZ2 は JAM4 の C 末端 4 アミノ酸のみとコンタクトしていた。しかし NMR 実験の結果からは、PDZ の典型的なペプチド結合ポケットに加えて、ループ表面でリガンドの-6 位を認識している可能性が示された。CLD の C 末端-6 位は配列バリエーションに富み、CLD ファミリーの限られたメンバーだけが LNX1 により認識される可能性が示唆された。