

とは大きく異なるものである。また等温滴定型カロリメーター (ITC) を用いた実験より、GCSF 結合により受容体分子の表面積 5700-6000 Å² が覆われると計算された。この面積は先に X 線結晶構造解析された Ig ドメインを欠失した GCSF-CRH 複合体における接触面積よりも大きいものであった。すなわち Ig ドメインは GCSF の結合に深く関与すると考えられ、Ig ドメインを欠失した結晶構造は真の活性型 GCSF 複合体ではないとすることができる。

さらに Ig ドメインの重要性を証明すべく NMR による Ig ドメインにおける GCSF の結合部位の同定を試みた。結果、Ig ドメインは 7 つの β ストランド (A~G ストランド) からなる β スレフォイド構造を有し、GCSF 結合には F および G ストランドが大きく関与していることが明らかとなった。これは先に報告されているアラニンスキャニング変異体解析の結果を支持するものであった。以上の結果を総合的に考慮すると以下のような分子認識機構が推測される。

GCSF が存在しない状態では受容体は単量体構造をとっている。しかし GCSF と相互作用することにより 2:2 複合体を形成し、受容体分子を活性化するものと考えられる。この受容体の 2 量体化には Ig ドメインが重要な役割を果たしており、これまでに考えられていたサイトカイン認識機構とは異なる分子認識機構であることがうかがえる。さらに詳細な議論については GCSF と Ig-CRH との複合体の結晶構造解析が必須であるが、これは今後の課題である。

本研究結果を基にしたバイオインフォマティクス研究の推進により低分子リガンドの開発、タンパク質構造の特許化といった進展により、国のバイオテクノロジー戦略に貢献すること期待される。

5. 成果の対外的発表等

(1) 論文発表 (論文掲載済、または査読済を対象。コピーを添付。)

Mine, S., Koshiba, T., Honjo, E., Okamoto, T., Tamada, T., Maeda, Y., Matsukura, Y., Horie, A., Ishibashi, M., Sato, M., Azuma, M., Tokunaga, M., Katsutoshi Nitta, K., and Kuroki, R. (2004) Thermodynamic Analysis of the Activation Mechanism of GCSF-Receptor induced by Ligand binding, *Biochemistry* **43**, 2458-2464.

(2) 口頭発表 (発表済を対象。予稿集のコピーを添付。)
なし

(3) 特許等 (出願番号を記載)
なし