

論文題目 ビオチン化イノシトールリン酸の合成と表面プラズモン共鳴法への応用  
 –PH domain および HIV-1 Gag とイノシトールリン脂質との結合解析–

審査内容

本研究は細胞内セカンドメッセンジャーとして機能するイノシトールリン酸に着目し、ビオチン–アビジン法への応用を目的としてビオチン化イノシトールリン酸を合成し、その機能解析を行ったものである。

*myo*-イノシトールを出発原料とし、6 つある水酸基の保護、脱保護により 1 位の水酸基のみが遊離のイノシトール誘導体を得、これにビオチンリンカー部位をカップリングさせてビオチン化イノシトールリン酸を合成した。これを樹脂やセンサーチップ上に固定化し、細胞内シグナル伝達蛋白質 Phospholipase C $\delta_1$  (PLC $\delta_1$ )、Grp1 の PH domain、及び HIV-1 構造蛋白質 Gag との結合を解析した。

合成したビオチン化 Ins(1,4,5)P $_3$  及びビオチン化 Ins(1,3,4,5)P $_4$  はそれぞれ PLC $\delta_1$ 、Grp1 の PH domain との相互作用において、生体内の Ins(1,4,5)P $_3$  及び Ins(1,3,4,5)P $_4$  と同等の親和性を示した。ビオチン化イノシトールリン酸を BIACORE のセンサーチップに固定化し PH domain 類との結合解析を行ったところ、ビオチン化 Ins(1,4,5)P $_3$  及びビオチン化 Ins(1,3,4,5)P $_4$  はそれぞれ PLC $\delta_1$  及び Grp1 の PH domain によって特異的に認識された。

HIV-1 粒子の複製にはウイルス蛋白質 Gag の前駆体 Pr55<sup>Gag</sup> の MA 領域がミリスチル化を受け、脂質二重膜の構成成分イノシトールリン脂質 PtdIns(4,5)P $_2$  に結合することが必要である。ビオチン化 Ins(1,3,4,5)P $_4$  を BIACORE センサーチップに固定し、Pr55<sup>Gag</sup> の MA domain と種々のイノシトールリン脂質との相互作用を解析したところ、イノシトールリン脂質のアシル部位の疎水性相互作用がイノシトールリン酸部位の荷電的相互作用よりも Pr55<sup>Gag</sup> との結合に大きく寄与していることが示された。

本研究は PH domain 類、HIV-1 Gag の生物学的機能解明のためのバイオリジカルツールを提供するだけでなく、これらの蛋白質の阻害剤の開発に結びつくものと考えられる。

本研究論文につき、生体機能分子合成学、分子薬化学、生命分析化学、薬学生化学の立場から審査を行った結果、論文提出者は博士（薬学）を授与するに相応しいと判定された。

審査委員 生体機能分子合成学分野 教授 大塚 雅巳



審査委員 分子薬化学分野 教授 中島 誠



審査委員 生命分析化学分野 教授 森岡 弘志



審査委員 薬学生化学分野 教授 杉本 幸彦

