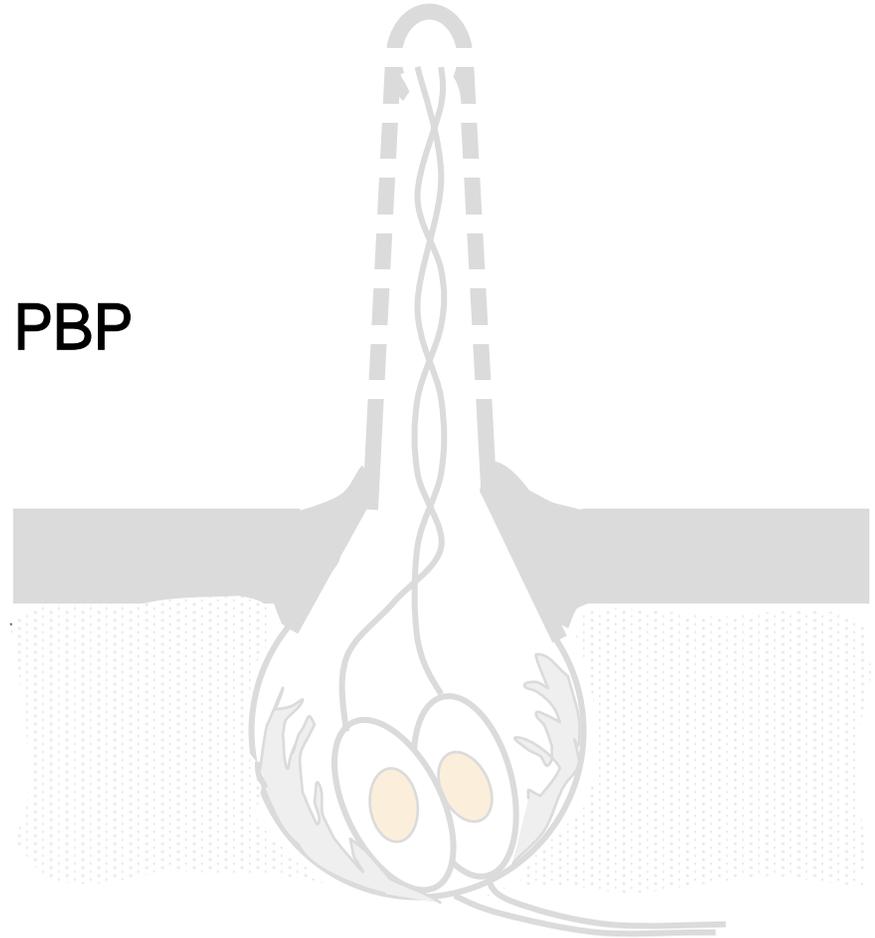


# 性フェロモン受容機構

- a) 触覚の感覚細胞と結合タンパク質の発見
- b) PBPの機能
- c) PBP & GOBP
- d) Chemosensory protein (CPS)
- e) Multi alignment of lepidopteran PBP
- f) PBPの構造
- g) PBPの構造と機能
- h) Binding affinity and specificity
- i) レセプタータンパク質

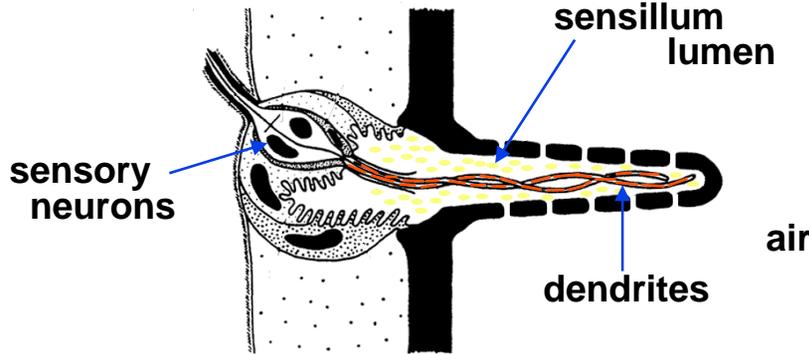


# a) 触覚の感覚細胞と結合タンパク質の発見

*Antheraea polyphemus*, wild silkmoth

アンテナ上には約 55,000 sensory hairs (= 感覚子、sensilla) がある

受容細胞とその樹状突起 (レセプターが存在) は、感覚子液 (sensillum lymph) に被われている



Vogt et al. (1989) *J. Neurosci.*, 9: 3332-3346

Vogt & Riddiford (1981) *Nature*, 293: 161-163.

Photolabeling experiment → 15 KDa protein (10 mM)



↓  
Pheromone-Binding Protein (PBP)  
receptor → unknown

Klein et al. (1987) *Chem. Senses*, 12: 211

N-末のアミノ酸配列

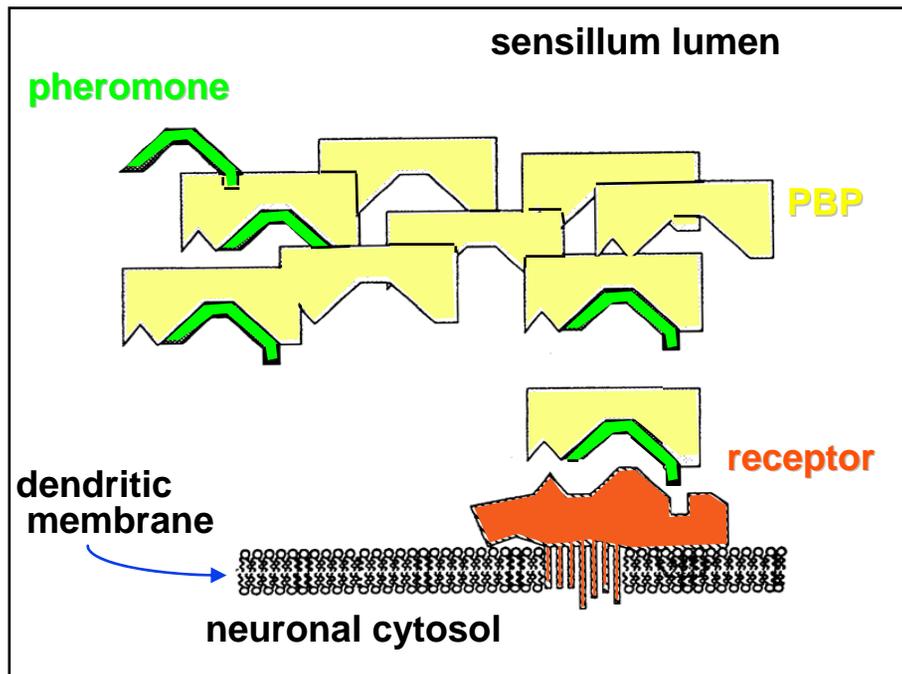
Raming et al. (1989) *FEBS Lett.*, 256: 215-218

cDNAのクローニング

Gyorgyi et al. (1988) *ProNAS USA*, 85: 9851-9855

*Manduca sexta* でのcDNAのクローニング

## b) PBPの機能



Prestwich (1996) *Bioorg. Med. Chem.*, 4: 505-513

### 役割

疎水性であるフェロモンの  
レセプターへの移送

シグナル伝達後のフェロモンの  
分解除去

Receptor : unknown

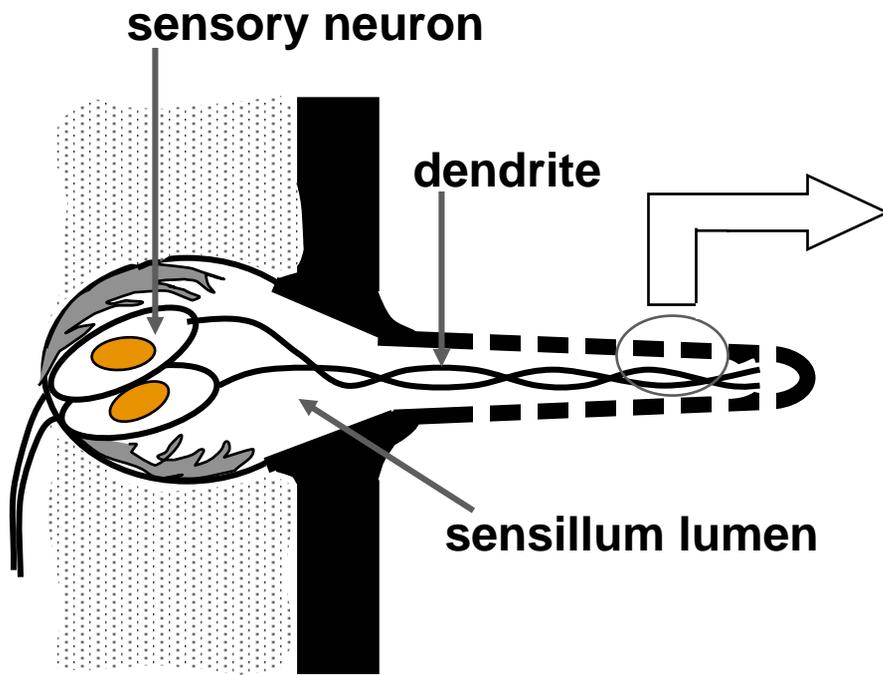
Binding experiment with  $^{18}\text{F}$  or  $^{11}\text{C}$  labeled pheromone

Half-life  $^{18}\text{F}$  = 110 min,  $^{11}\text{C}$  = 20 min

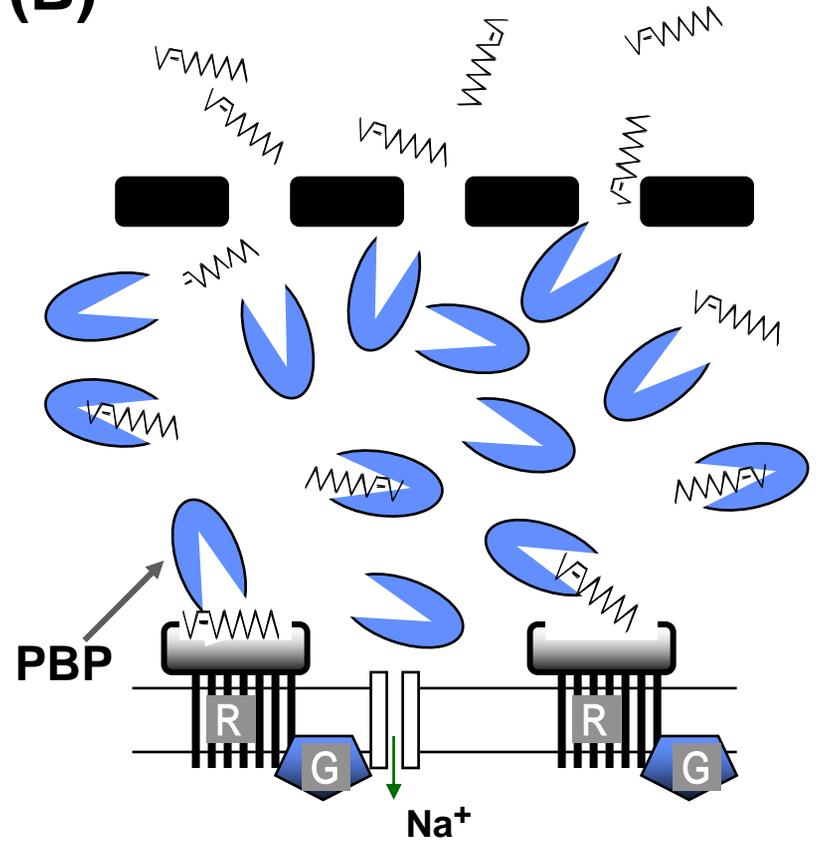
→ high specific activity

## b) PBPの機能

(A)



(B)



## c) PBP & GOBP

**フェロモン結合タンパク質: PBP (pheromone binding protein)**

15 KDa, 毛状感覚子、雄蛾での発現

カイコガ 142アミノ酸、3つのS-S結合(19-54, 50-108, 97-117)

PBP-bombykol複合体のX-線解析

Sandler *et al.* (2000) *Chem. Biol.*, 7: 143

11科約20種の昆虫において同定、相同性 50%以上

**役割** 疎水性であるフェロモンのレセプターへの移送

シグナル伝達後のフェロモンの分解除去

**GOBP (general odorant binding protein)**

17 KDa, 鐘状感覚子

カイコガ 165アミノ酸、6つのCys(37, 68, 72, 115, 126, 135)

**役割** 寄主植物の匂いの感知

## d) Chemosensory protein (CPS)

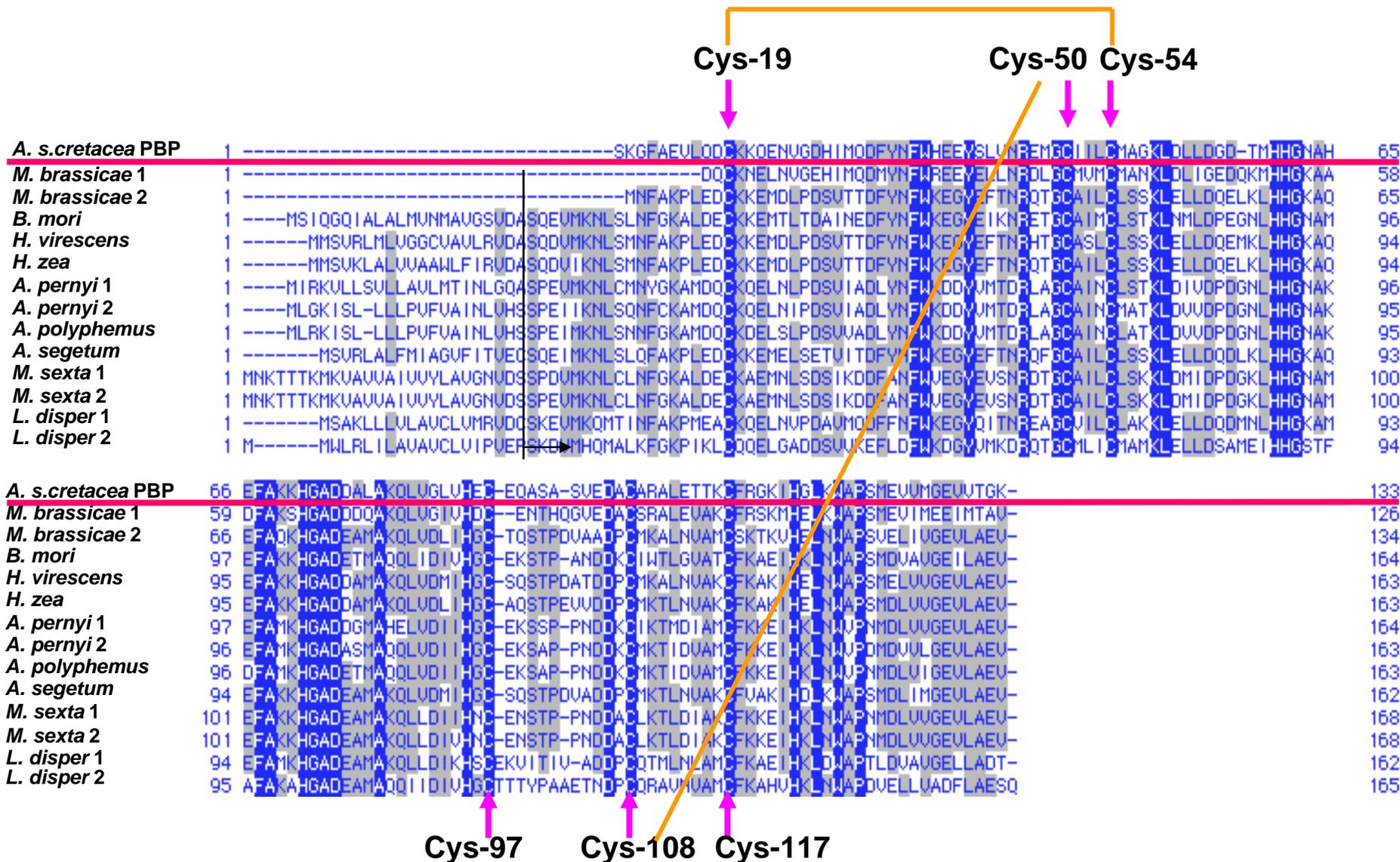
13 KDa 110 ~ 115 アミノ酸

ヨトウガ 112 アミノ酸、2つのS-S結合

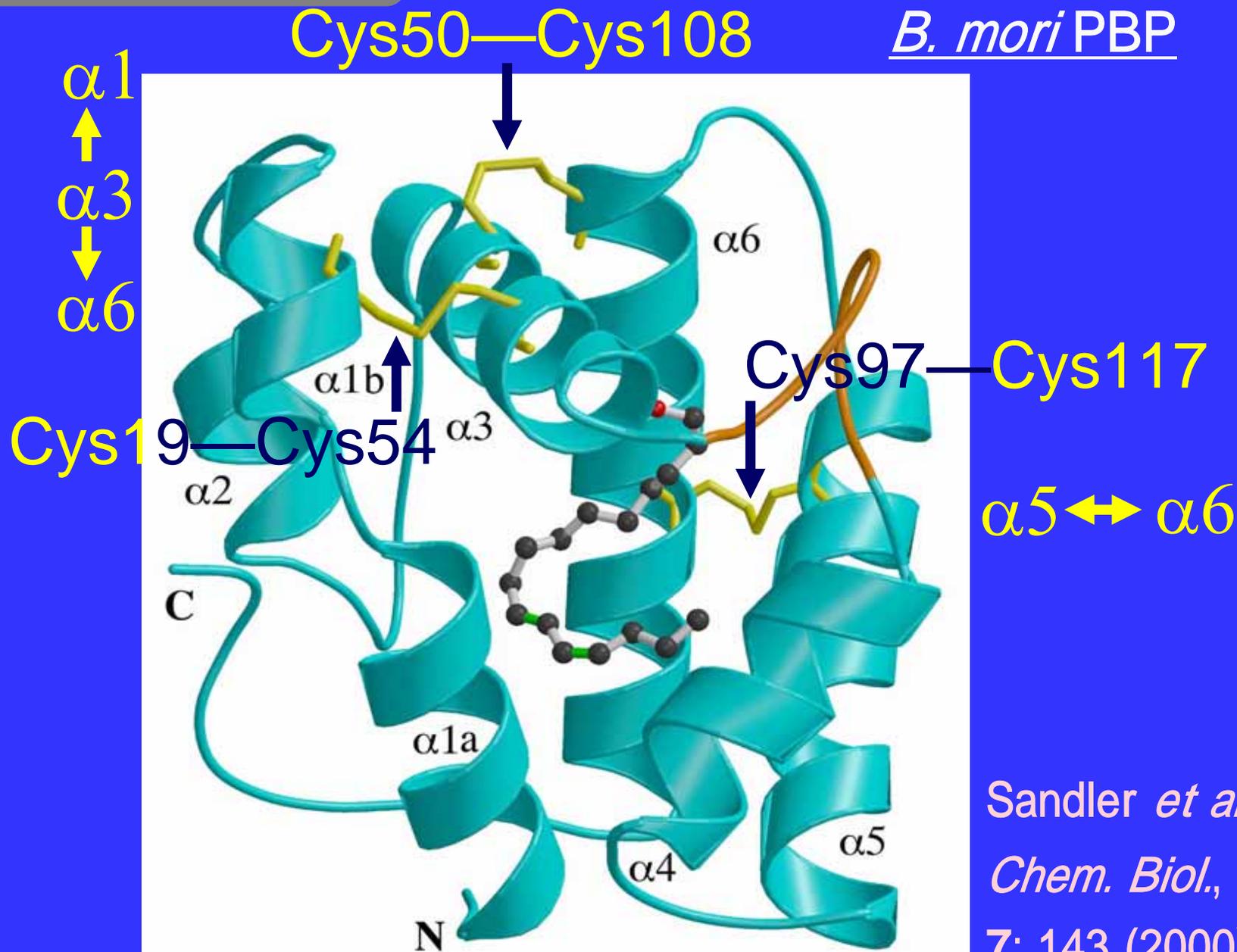
CPSのX-線解析

Lartigue *et al.* (2002) *J. Biol. Chem.*, 277: 32094

# e) Multi Alignment of Lepidopteran PBP



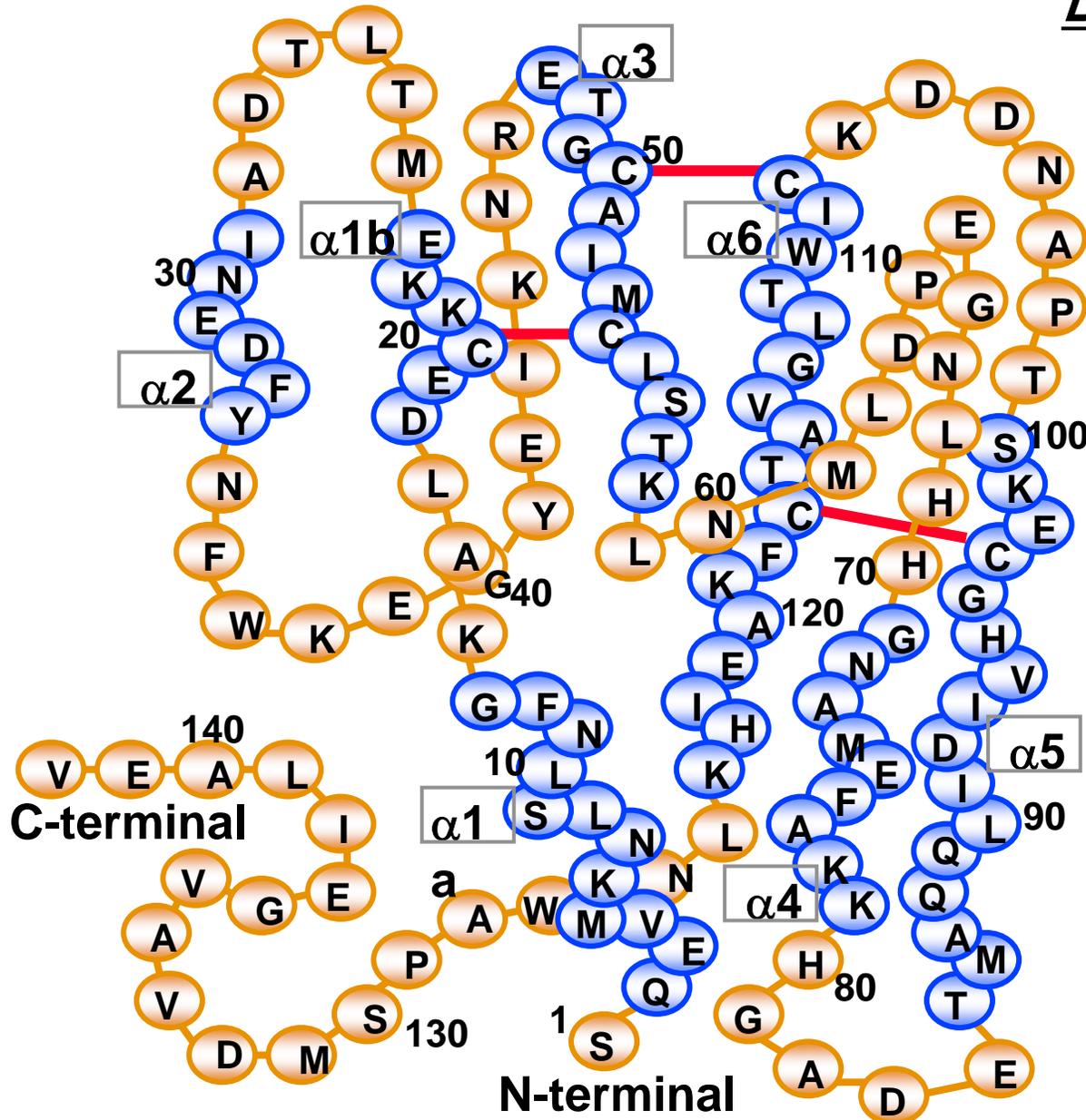
# f) PBPの構造



Sandler *et al.*,  
*Chem. Biol.*,  
7: 143 (2000)

# f) PBPの構造

## *B. mori* PBP



S-S 結合

19-59

50-108

97-117

α-helices

α1a: 2 ~ 13

α1b: 17 ~ 22

α2: 29 ~ 34

α3: 47 ~ 58

α4: 71 ~ 79

α5: 85 ~ 100

α6: 108 ~ 124

## f) PBPの構造

### $\alpha$ -helices

*B. mori* PBP

Sandler et al., 2000

Chem. Biol., 7: 143-151

$\alpha$ 1a: 2-13

$\alpha$ 1b: 17-22

$\alpha$ 2: 29-34

$\alpha$ 3: 47-58

$\alpha$ 4: 71-79

$\alpha$ 5: 85-100

$\alpha$ 6: 108-124

*A. porly.* PBP

Mohanty et al., 2004

J. Mol. Biol.. 337: 443-451

$\alpha$ 1a: 2-5

$\alpha$ 1b: 8-12

$\alpha$ 1c: 16-23

$\alpha$ 2: 27-34

$\alpha$ 3a: 46-52

$\alpha$ 3b: 54-59

$\alpha$ 4: 70-79

$\alpha$ 5: 84-100

$\alpha$ 6: 107-125

## g) PBPの構造と機能

### *B. mori* PBP (カイコ)

X-線構造解析 Sandler et al., 2000 *Chem. Biol.*, 7: 143-151

Lys38-Asp132の塩結合、Ser130-Lys6の水素結合で二量体化  
 $\alpha 1$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 、 $\alpha 6$ 、で結合部位cavityを形成  
ボンビコールの水酸基はSer56と水素結合  
ボンビコールの二重結合はPhe12とPhe118のベンゼン環に挟まれている

NMR Horst et al., 2001 *PNAS*, 98: 14374-14379  
Lee et al., 2002 *FEBS Lett.*, 531: 314-318

PBPはpHでコンホメーションを変える。pH 7で結合したフェロモンを、  
レセプター表面 (pH 4) で放出

## g) PBPの構造と機能

### *A. portly.* PBP (ヤマユガ)

NMR

Mohanty et al., 2003

*J. Biomol. NMR*, 27: 393-394

Mohanty et al., 2004

*J. Mol. Biol.* 337: 443-451

pH 5 と pH 6 でコンホメーションが変化

フェロモンは $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3a$  の形成する穴から侵入

Trp37がフェロモンとの初期相互作用に重要

Asp53がアセテートの認識に関与し、Leu8とSer9が炭素鎖長を認識

Phe12、Phe36、Trp37、Phe79、Phe118が非特異的だが結合に関与

## h) Binding affinity and specificity

カイコ: bombykolには結合するがbombykalとは結合しないことを、ESI-MSでの確認。(文献1)

PBPはpHでコンホメーションを変える。pH 7で結合したフェロモンを、レセプター表面(pH 4)で放出。(文献2, 3)

ヤマユガ:  $^3\text{H}$ -標識化合物の結合実験で、PBP1はE6Z11-16:OAc、PBP2はE6Z11-16:Ald、PBP3はE4Z9-14:OAcと高い親和性を示した。ただし、pHによって結合能は変化しない。(文献4)

文献1 Oldham et al., 2000 Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 39: 4341

文献2 Wojtasek & Leal., 1999 J. Biol. Chem., 274: 30950

文献3 Horst et al., 2001 Proc. Natur. Acad. Sci. USA, 98: 14374

文献4 Maida et al., 2003 J. Comp. Physiol. B, 173: 565

## h) Binding affinity and specificity

マイマイガ

Honson et al., 2003 *Chem. Senses*, 28: 479-489

Structure-activity studies with pheromone-binding proteins of the gypsy moth, *Lymantria dispar*.

## i) レセプタータンパク質

受容器型 guanylyl cyclase ?

1) Tanoue et al., 2001. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **31**: 971

Identification of a receptor type guanylyl cyclase in the antennal lobe and antennal sensory neurons of the silkmoth, *Bombyx mori*.

2) Stengl et al., 2001. *Cell Tissue Res.*, **304**: 409

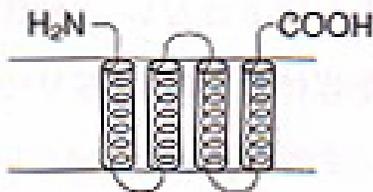
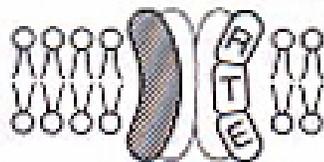
Localization of cGMP immunoreactivity and of soluble guanylyl cyclase in antennal sensilla of the hawkmoth *Manduca sexta*.

3) Krieger et al., 2004. *PNAS*, **101**: 11845

Gene encoding candidate pheromone receptors in a moth (*Heliothis virescens*).

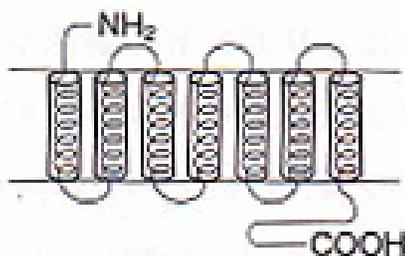
# i) レセプタータンパク質

## 受容体の種類



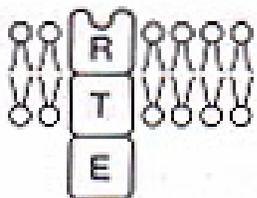
I: イオンチャンネル型  
(4回貫通型)

4番目は膜内で折れ曲がりC端が膜内に存在する場合もある



II: GTP結合タンパク質共役型  
(7回貫通型)

GTP結合タンパク質の活性化により情報伝達が開始



III: チロキナーゼ型

インスリン、サイトカイン、  
細胞接着分子などの受容体