

細胞の動的な高次構造体
2020年度採択研究者

2020年度 年次報告書

柳川 正隆

理化学研究所開拓研究本部／科学技術振興機構
研究員／さきがけ研究者

多色1分子計測によるGPCRシグナルソームの動態解明

§ 1. 研究成果の概要

G タンパク質共役型受容体(GPCR)は、7 回膜貫通領域を共通の構造モチーフとして持つ膜受容体タンパク質の総称である。細胞外からの入力を受けた GPCR は G タンパク質とアレチンを通じて複数の細胞内シグナル伝達経路を活性化する。近年の GPCR を標的とした創薬において化合物のシグナル伝達経路選択性(シグナルバイアス)の評価は重要な工程となっており、現在までに様々な GPCR で経路選択性の高いバイアスリガンドが開発されている。しかしながら、1 種類の GPCR が細胞内の複数のシグナル伝達経路を選択的に制御するメカニズムは明確でない。本研究では、「細胞膜においてどのような分子機構で GPCR はシグナルバイアスを制御しているのか」という問いに多色 1 分子イメージングを用いてアプローチする。

2020 年度は、研究計画に基づき、多色 1 分子計測が可能な顕微鏡システムの開発を行った。既存の電動倒立顕微鏡にレーザー・2 光路分岐光学系・高感度カメラを増設し、3 色同時計測が可能なシステムの構築を完了した。また、GPCR の細胞内 1 分子イメージング・解析に関する詳細なプロトコルを自作の解析プログラム smDynamicsAnalyzer と共に発表した。また、アンジオテンシン受容体 AT1R をモデルとして 2 色同時 1 分子計測を行い、リガンドのシグナルバイアスがどのような空間的制御で実現しているかを解析した。その結果、G タンパク質の活性化の有無で、GRK サブタイプ間の細胞膜ドメインへの分配が変化することが明らかになった。これにより、AT1R/GRK 複合体形成のサブタイプ選択性が生じ、アレチンの下流で生じる MAPK 経路へのバイアスが変化することが明らかになった。さらに、アレチンと Raf の 2 色同時 1 分子計測も実施し、MAPK 活性の輝点を担うアレチン/Raf 複合体の細胞膜上での動態を解析した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Yanagawa M., Sako Y. (2021) Workflows of the Single-Molecule Imaging Analysis in Living Cells: Tutorial Guidance to the Measurement of the Drug Effects on a GPCR. In: Kim SB. (eds) Live Cell Imaging. Methods in Molecular Biology, vol 2274, 391-441, 2021