

細胞の動的・高次構造体
2020 年度採択研究者

2021 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 タンパク質とアレスチンを介し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。

2021 年度は、当初の研究計画をさらに発展させ、多色 1 分子計測・2 色発光計測を組み合わせたマルチモーダルなイメージングが可能な顕微鏡システムの開発を行った。本顕微鏡システムを用いて、アンジオテンシン受容体 AT1R をモデルとした細胞内 1 分子計測・発光計測を行い、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、Gq 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、アレスチンの下流で生じる ERK 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、アレスチンと Raf の 2 色同時 1 分子計測も実施し、ERK 活性の起点を担うアレスチン/Raf 複合体の細胞膜上での動態を解析した。また、本研究で開発した顕微鏡システム・細胞応答計測手法を用いて、さきがけ領域内外で複数の共同研究を実施し、5 件の原著論文を発表した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Heterotrimeric Gq proteins act as a switch for GRK5/6 selectivity underlying β -arrestin transducer bias”, Kouki Kawakami*, Masataka Yanagawa*, Suzune Hiratsuka, Misaki Yoshida, Yuki Ono, Michio Hiroshima, Masahiro Ueda, Junken Aoki, Yasushi Sako, Asuka Inoue, *Nature Communications* 13(1):487, 2022 (*共筆頭著者)
- 2) “Comparative Analysis of Single-Molecule Dynamics of TRPV1 and TRPV4 Channels in Living Cells”, Yutaro Kuwashima, Masataka Yanagawa#, Mitsuhiro Abe, Michio Hiroshima, Masahiro Ueda, Makoto Arita, Yasushi Sako#, *International Journal of Molecular Sciences* 22(16) 8473–8473, 2021 (#共責任著者)
- 3) “PMP2/FABP8 induces PI(4,5)P2-dependent transbilayer reorganization of sphingomyelin in the plasma membrane”, Mitsuhiro Abe, Asami Makino, Motohide Murate, Françoise Hullin-Matsuda, Masataka Yanagawa, Yasushi Sako, Toshihide Kobayashi, *Cell Reports* 37(6) 109935–109935, 2021
- 4) “DNA-Based Synthetic Growth Factor Surrogates with Fine-Tuned Agonism”, Momoko Akiyama, Ryosuke Ueki, Masataka Yanagawa, Mitsuhiro Abe, Michio Hiroshima, Yasushi Sako, Shinsuke Sando, *Angewandte Chemie International Edition* 60(42):22745–22752, 2021
- 5) “Evolutionary adaptation of visual pigments in geckos for their photic environment”, Keiichi Kojima, Yuki Matsutani, Masataka Yanagawa, Yasushi Imamoto, Yumiko Yamano, Akimori

Wada, Yoshinori Shichida, Takahiro Yamashita, *Science Advances* 7(40) eabj1316, 2021