

細胞の動的・高次構造体  
2020 年度採択研究代表者

2022 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

## 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。細胞外から入力を受けた GPCR は G タンパク質とアレ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、副作用を抑制する観点から、化合物のシグナル伝達経路選択性(シグナルバイアス)の評価が重要な課題となっている。既に、様々な GPCR で経路選択性の高いバイアスリガンドが同定されているが、リガンドに応じて GPCR がシグナルバイアスを変えるメカニズムは明らかでない。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。

2022 年度は、1 分子計測の多色化に必要な特異的蛍光標識法を検討した。その結果、タグを融合した膜受容体を新規蛍光標識ペプチドで標識して 1 分子計測することに成功した。本手法と既存の蛍光標識法を組み合わせ、バソプレシン受容体とアレチン、クラスリン分子の 3 色同時 1 分子計測を実施した。受容体とアレチンの相互作用部位にいくつかの摂動を加えた条件下で、受容体とアレチン・クラスリンの分子間相互作用を 1 分子レベルで比較し、細胞応答との連関を解析した。その結果、GPCR とアレチンには少なくとも異なる 3 種の結合様式があり、アレチンの下流で生じるエンドサイトーシス・ERK 応答間のシグナルバイアスを決定する要因となっていることが示唆された。現在、これらの結果を 2021 年度に報告したアレチン・Raf の 1 分子計測と併せて論文投稿準備中である。また、本さがけ研究で開発した顕微鏡システムを用いて共同研究を複数実施し、多様な膜受容体の研究を展開してきた。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) “Threonine phosphorylation regulates the molecular assembly and signaling of EGFR in cooperation with membrane lipids”, *Journal of Cell Science*, vol.135, No. 15, jcs260355., 2022