

氏 名	やま した たか ひろ 山 下 高 廣
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2541 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	光受容体ロドプシンをモデルとした, 多様な受容体の G 蛋白質活性化 メカニズムの比較解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 七 田 芳 則	教 授 宮 田 隆	教 授 藤 吉 好 則
--------	----------------------	-----------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

光や匂い, ホルモンや神経伝達物質といった情報は, その多くが七回膜を貫通する構造を持つ G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) に受容され, 三量体 G 蛋白質, 効果器酵素へと至る情報伝達系を経て生理的応答に変換される。この一連の情報伝達の引き金となる GPCR はこれまでに多くの生物種で2000種類以上同定され, それらは一次構造からいくつかのグループに分類できる。動物の眼に存在する光受容体ロドプシンは, 多くの GPCR の中でも最初にアミノ酸配列が決定され, 現在のところ三次元構造解析がなされている唯一の受容体である。また, 光受容後の G 蛋白質活性化に至る構造変化過程に関する知見も豊富に存在している。つまり, GPCR の機能・構造解析研究のトップランナー的存在であると言える。

そこで本論文では, ロドプシンをモデル受容体として, 他の GPCR との間で G 蛋白質活性化に至る構造変化過程を比較し, ロドプシンで見いだされた活性化メカニズムにどこまで一般性があるかを明らかにすることを試みた。具体的には, ウシロドプシンにおいて G 蛋白質の結合・活性化に重要な細胞質ループ領域と他の GPCR の G 蛋白質相互作用部位とを置換したキメラ変異体を作製し, 選択的な G 蛋白質の活性化が起こるかを解析した。つまり, ロドプシンの膜貫通領域の構造変化を利用して, 異なるリガンドを結合する GPCR の G 蛋白質相互作用部位を活性化状態に誘起できるかを検討した。さらには, ロドプシンと他の受容体との比較を通して, ウシロドプシンの細胞質ループが G 蛋白質活性化において果たす役割を詳細に検討した。その結果, GPCR の中でロドプシンと一次構造の類似性のあるムスカリン性アセチルコリン受容体やアドレナリン受容体, プロスタグランジン受容体, エンドセリン受容体の細胞質第3ループをウシロドプシンの第3ループの位置に組み込むと, G 蛋白質を活性化できることを見いだした。さらに, ロドプシンと一次構造の類似性のない代謝型グルタミン酸受容体の場合では, 細胞質第3ループではなく第2ループをウシロドプシンの第3ループの位置に組み込むと G 蛋白質の活性化が認められた。これらは, 多様な GPCR の G 蛋白質相互作用部位には一見した類似性が認められないにも関わらず, ロドプシン分子中で機能できることを示している。また, ウシロドプシンの細胞質第3ループを置換すると活性化する G 蛋白質の種類に変換が見られたことから, この領域が G 蛋白質の認識に重要な役割を果たすと考えられた。一方, ウシロドプシンの第2ループは他の受容体のものと機能的に置換できないことがわかった。さらに第2ループの解析を行った結果, その N 末端領域にある G 蛋白質活性化に必須な2残基を同定した。この第2ループはロドプシンが活性化状態に構造変化する際に重要な働きをすることが考えられた。

以上の結果から, 多様な受容体において膜貫通領域の構造変化を利用して細胞質ループ中の相互作用部位を提示するという一連の活性化メカニズムに共通点があるが, 膜貫通領域を含む分子構築は多様化していることを見いだした。また, ウシロドプシンにおいては, 細胞質ループ領域が役割分担を行うことにより効率の良い G 蛋白質の活性化を実現していることが考えられた。

論文審査の結果の要旨

本論文は G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) の中で最も研究が進んでいるロドプシン (視覚の光受容体) をモデルとして、GPCR の G 蛋白質活性化メカニズムにどこまで一般性があるかを解析したものである。この目的のために、ロドプシンにおいて G 蛋白質の結合・活性化に重要な細胞質ループ領域と他の GPCR の G 蛋白質相互作用部位とを置換したキメラ変異体を作製し、選択的な G 蛋白質の活性化が起こるかどうかを解析した。

まず、申請者はロドプシンにおいて G 蛋白質サブタイプの選択性を決めている細胞質第 3 ループをロドプシンスーパーファミリーに属する GPCR (ムスカリン受容体, アドレナリン受容体, プロスタグランジン受容体, エンドセリン受容体) の第 3 ループに置換したロドプシン変異体を作製し、これらの変異体が G 蛋白質を活性化するかどうかを検討した。その結果、それぞれの GPCR の第 3 ループは選択性を保ったままロドプシンのヘリックスの動きを利用して働くことを見いだした。一方、第 2 ループについて同様な変異体を作製して検討したところ、すべての変異体が G 蛋白質を活性化しないことを発見した。以上のことから、ロドプシンの第 2, および第 3 ループはそれぞれ G 蛋白質を活性化するのに重要な働きをしているが、それらの役割は異なることを発見した。

申請者はさらに、ロドプシンとアミノ酸配列の相同性のない GPCR とロドプシンとの間で G 蛋白質活性化のメカニズムに共通性があるかどうかを検討した。そのため、代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) の細胞質ループ部分を組み込んだロドプシン変異体を作製した。実験の結果、mGluR の第 3 ループをロドプシンの第 3 ループに組み込んでも G 蛋白質を活性化することはできないが、mGluR の第 2 ループをロドプシンの第 3 ループの部分に組み込むと G 蛋白質を活性化できるようになることを発見した。以上のことから、ロドプシンと mGluR では分子設計が異なるが、ヘリックスの動きを利用して細胞質ループの構造を変化させて G 蛋白質を活性化するというメカニズムは同じであることを推定した。

以上のように、本研究は GPCR の G 蛋白質活性化メカニズムについて、ロドプシンをモデルとした詳細な研究を展開し、この分野の発展に大きく寄与する成果をあげることに成功した。よって、本論文は京都大学理学博士の論文として十分に価値があると認められる。なお、主論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。