

学位審査報告書

[illegible]

理 学 研 究 科

(続紙 1)

京都大学	博士 (理 学)	氏名	木股直規
論文題目	ロドプシンによる G タンパク質活性化メカニズムの解析		
(論文内容の要旨)			
細胞内シグナル伝達機構の 1 つに、三量体 G タンパク質を介する機構がある。この機構では、細胞外からのシグナル分子が細胞膜に存在する G タンパク質共役型受容体 (GPCR) に結合してそれを活性化し、活性化された GPCR は次に細胞内に存在する G タンパク質と結合してそれを活性化する。活性化された G タンパク質はその G タンパク質に特異的な細胞内シグナル伝達系を駆動し、最終的に細胞応答を引き起こす。 これまでの研究から、GPCR は G タンパク質 α-サブユニット ($G\alpha$) の C 末端領域と結合して G タンパク質の構造を変え、G タンパク質を活性化することがわかっていた。本研究の研究対象であるロドプシンにおいても、ロドプシンは $G\alpha$ の C 末端部分と相互作用することがわかっていた。そこで本研究では、その活性化メカニズムの詳細を明らかにするため、C 末端部分を種々に変異させた G タンパク質変異体とロドプシンとの相互作用について実験した。その結果、C 末端 5 残基の配列によってロドプシンとの結合効率が変化することがわかり、ロドプシンとの結合能はこの領域で決定されていることが明らかになった。一方、さらに詳細な実験から、G タンパク質の C 末端部分の配列はロドプシンとの結合だけでなく、G タンパク質自身の GDP-GTP 交換反応の効率も変化させることが示唆された。 そこで、G タンパク質の活性化効率について、ヌクレオチド濃度依存性を調べた結果、C 末端部分のアミノ酸残基を置換することで、G タンパク質の GDP および GTP それぞれの結合効率が変化することがわかった。つまり、C 末端部分の配列が実際に GDP-GTP 交換反応に影響することが確認された。また、GDP-GTP 交換反応にもっとも寄与するアミノ酸残基を検討したところ、N 末端から 341 番目 (C 末端から 9 番目) のリジン残基 (K341) が重要であることがわかった。さらに、ロドプシンとの結合によらない G タンパク質自身の自家活性化効率 (intrinsic activity) を測定した結果、これも C 末端部分の配列に影響されることがわかった。 以上の結果から、G タンパク質 α-サブユニットの C 末端領域は、ロドプシンとの結合効率を制御しているだけでなく、自身の GDP-GTP 交換反応も制御していることがわかった。興味深いことに、天然の G タンパク質は変異体に比べて、ロドプシンとの結合効率は高いが GDP-GTP 交換反応の効率は低いことがわかった。この結果は、細胞内には高濃度の GDP および GTP が存在することと関係する。つまり、G タンパク質は GPCR との結合効率を高めることによりシグナル伝達効率を高めているが、細胞内に高濃度存在する GDP との結合によるシグナルの失活を避けるために GTP との結合能を犠牲にしていることがわかった。 以上の結果をもとに、G タンパク質の GPCR を介した活性化メカニズムの詳細を議論した。			

(論文審査の結果の要旨)

三量体G蛋白質介在性の細胞内情報伝達は、生体に広く存在する情報伝達モチーフの一つである。この伝達過程では、レセプター (Gタンパク質共役型受容体、GPCR) によって受容された外界からの一次情報がGタンパク質からエフェクタータンパク質へと伝達され、細胞内の二次情報に変換される。本研究はGPCRからGタンパク質へのシグナル伝達メカニズムについての生物物理学的解析である。

これまでの研究から、GPCRはGタンパク質 α -サブユニットのC末端領域と結合してGタンパク質中のGDP-GTP交換反応を誘起し、Gタンパク質を活性化すると考えられてきた。しかし、その相互作用メカニズムについては解析が始まったところであり、さらに、GPCRとC末端領域で結合したGタンパク質がどのようなメカニズムで活性状態になるのか (GDP-GTP交換反応を起こすのか) についてはまだまだ想像の域をでていない。

このような状況にあって、申請者は遺伝子操作によりC末端に種々の変異を持つGタンパク質を大腸菌中で発現させ、これらとロドプシンとの相互作用を生化学的・分光学的手法を用いて解析した。その結果、C末端5残基の配列によってロドプシンとの結合効率が変化することを見だし、ロドプシンとの結合能はこの領域で決定されていることを明らかにした。さらに、C末端のこの領域のアミノ酸配列が異なると、C末端から約30Å離れたヌクレオチド結合サイトの構造が変化し、GDP-GTP交換反応の効率が変化することを発見した。

Gタンパク質のX線回折により、C末端領域以外の領域の立体構造は解析されている。一方、C末端領域は可視化できず、非常にフレキシブルであると考えられてきた。そのため、Gタンパク質のC末端領域は活性化したGPCRと相互作用することによりある安定な構造をとり、その結果としてGPCRがGタンパク質の構造変化を誘起すると考えられてきた。しかし、本研究により、非常にフレキシブルと考えられてきたC末端にわずか1個のアミノ酸変異を加えるだけで、Gタンパク質のヌクレオチド親和性が変化することが示され、C末端領域はGPCRとの結合サイトのみならず、Gタンパク質全体の構造を制御している可能性が示唆された。この結果はこれまでに想像されていなかった結果であり、この分野へ強いインパクトを与えた。

以上の研究は、GPCRによるGタンパク質活性化機構に関して非常に重要な発見である。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成24年5月24日に論文内容とそれに関連した事項について諮問を行った結果、合格と認めた。