

G タンパク質共役型受容体による arrestin 活性化制御機構の解明に向けて
○白石 勇太郎¹, 幸福 裕¹, 奥出 順也¹, 吉浦 知絵¹, 阿内 康平², 上田 卓見¹,
嶋田 一夫^{1,3} (¹東大院薬, ²東大薬, ³産総研・バイオメディシナル情報研究セ)

【序】G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は、リガンド結合により活性化すると、arrestin や G タンパク質等のエフェクター分子を活性化して、細胞内シグナル伝達を誘起する。しかし、GPCR と arrestin の相互作用を *in vitro* で解析するアッセイ系が確立していないため、複数のエフェクター分子が共存する条件において、GPCR がその活性をどのように制御しているかは不明である。そこで本研究では、代表的な GPCR であるアドレナリン β_2 受容体 (β_2 AR) による、 β -arrestin 1 (β Arr1) の活性制御機構を解明する事を目的として、両者の相互作用を表面プラズモン共鳴 (SPR) 法で検出する方法を確立した。

【方法】 β_2 AR を昆虫細胞で発現し、reconstituted high-density lipoprotein (rHDL) の脂質二重膜中に再構成した (β_2 AR-rHDL)。 [³H]dihydroalprenolol の結合量と、SDS-PAGE により決定した β_2 AR の総量の比較から、活性割合を見積もった。 β Arr1 を大腸菌で発現させ、精製した。次に、調製した β_2 AR-rHDL をセンサーチップ上に固定化した上で、アナライトとして β Arr1 を流す SPR 解析を行った。

【結果・考察】 β_2 AR-rHDL、 β Arr1 をそれぞれ 1 L 培養当たり 0.4 mg、2.0 mg の収量で得た。 β_2 AR-rHDL の活性割合は約 50% であった。SPR 解析を行った結果、リガンド非存在下でも、 β_2 AR-rHDL と β Arr1 の相互作用のレスポンスが観測され、平衡値解析から両者の解離定数が 3.6 μ M と算出された。このリガンド非存在時の β_2 AR と β Arr1 の間の弱い相互作用は、 β_2 AR と G タンパク質の結合を競合的に阻害することにより、リガンド非存在時の G タンパク質の活性を抑えていると考えた。さらに、活性化した β_2 AR が、 β Arr1 を活性化する機構を調べるために、現在 β_2 AR のリガンドを添加した条件での SPR 解析を進めている。