

27L-pm07

δオピオイド受容体 (δOR) の活性制御機構の解明

○佐藤 元彦¹, 奥出 順也¹, 延山 尚幸¹, 上田 卓見^{1,2}, 幸福 裕¹, 倉永 健史¹, 井上 将行¹, 嶋田 一夫¹ (¹東大院薬, ²科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 さきがけ)

【目的】G タンパク質共役型受容体である δ オピオイド受容体 (δOR) は、中枢における痛覚の神経伝達を制御する。神経ペプチドが結合した δOR は細胞内の G タンパク質およびアレスチンを活性化する一方、合成リガンドである ARM390 が結合した δOR は G タンパク質を選択的に活性化する。しかし、活性化状態の δOR の構造情報が乏しいため、δOR が細胞内シグナルを選択的に誘起する機構は不明である。そこで本研究では、NMR を用いて各種リガンド結合状態の δOR の動的構造を比較し、δOR の活性制御機構を解明することを目的とした。

【方法】昆虫細胞を用いて、野生型 δOR または、アレスチンシグナルを選択的かつ恒常的に活性化する δOR/N131A 変異体を調製した。次に、精製した δOR に対し、inverse agonist または antagonist, full agonist, G-protein biased agonist を添加した上で、精製 G タンパク質と混合して GDP-GTP 交換反応の進行度を調べ、各条件での δOR の活性を評価した。さらに、重水素化と ¹³CH₃-メチオニン標識を施した δOR を調製し、各リガンドを添加して ¹H-¹³C HMQC スペクトルを取得した。

【結果と考察】リガンド結合活性を保持した δOR を培地 1L あたり 75 μg 得た。また、調製した δOR はリガンドの efficacy 依存的に G タンパク質の GDP-GTP 交換反応を促進する活性を有することが示された。δOR の NMR 解析の結果、full agonist 結合状態と比較して、G-protein biased agonist 結合状態の野生型 δOR または full agonist 結合状態の N131A 変異体において、膜貫通領域細胞内側のメチオニン残基メチル基に由来する NMR シグナルの化学シフトが異なった。このことから、活性化状態の δOR の細胞内領域は複数のコンフォメーションを取ることが示唆された。現在、各条件における δOR の構造の違いに関して詳細な解析を進めている。