

27L-pm08

SDF-1 との二段階結合による CXCR4 のシグナル伝達機構の解明

○大西 健人¹, 幸福 裕¹, 塚本 宇信¹, 鈴木 志歩¹, 上田 卓見^{1,2}, 嶋田 一夫¹ (¹東大院薬,
²JST さきがけ)

【目的】ケモカインの一種である Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) は、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) である CXCR4 を介してシグナルを伝達する。SDF-1 と CXCR4 の相互作用に関して、SDF-1 の N 末端とコア領域が、CXCR4 のそれぞれ別の領域と相互作用する二段階モデルが提唱されている。一方、これらの相互作用が CXCR4 を介したシグナル伝達をどのように制御しているかは不明である。そこで、SDF-1 の結合に伴う CXCR4 の動的構造の変化を NMR 法にて解析することにより、SDF-1 と CXCR4 のシグナル伝達機構を解明することを目的とした。

【方法】CXCR4 は *expresSF*+昆虫細胞により発現させ、可溶化した後、アフィニティー精製により調製した。SPR 解析にて、調製した CXCR4 と SDF-1 の解離定数を算出した。メチオニンのメチル基を選択的に ¹H, ¹³C 標識した CXCR4 の ¹H-¹³C HMQC スペクトルを様々なシグナル伝達活性の異なるリガンドが結合した状態で取得した。

【結果と考察】1 L 培養あたり約 50 μg の CXCR4 を取得した。SPR 解析により算出した解離定数は先行報告と一致したことから、調製した CXCR4 は SDF-1 結合活性を保持していると結論した。¹H-¹³C HMQC スペクトルにて、膜貫通領域の 3 個のメチオニン残基のメチル基に由来する NMR シグナルを観測した。このうち細胞内領域の M72 由来のシグナルは、結合するリガンドのシグナル伝達活性が高い程、強度が小さいことがわかった。このことは、CXCR4 が細胞内領域の構造の異なる不活性型と活性型の平衡にあり、活性型の割合によってシグナル伝達活性が制御されていることを示している。現在、SDF-1 の N 末端またはコア領域のみが結合した CXCR4 の NMR 解析を進めている。