

# 27W-am02S

## 恒常活性がみられる GPCR の発現解析

○柴田 剛明<sup>1</sup>, 井上 飛鳥<sup>1,2,3</sup>, 川上 耕季<sup>1</sup>, 青木 淳賢<sup>1,4</sup> (<sup>1</sup>東北大院薬・分子細胞生化学, <sup>2</sup>さきがけ・JST, <sup>3</sup>AMED PRIME, <sup>4</sup>AMED CREST)

[背景・目的] 一般に、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) はリガンド非依存的に活性化して、恒常的にシグナルを流すことが知られている。最近、バイオインフォマティクス的手法から、システニルロイコトリエン 2 受容体の点変異が、この GPCR を恒常活性化させ、がんの原因となっていることが明らかとなった。そこで我々は、この点変異の入る場所のアミノ酸が、他の GPCR でも広く保存されていることから、様々な GPCR についてこの点変異を導入した。すると、全ての点変異型 GPCR において、野生型よりも強い恒常活性シグナルが捉えられることがわかった。そこで、この強い恒常活性シグナルがリガンド刺激によるシグナルと同質なのかどうかを、 $\beta$  アレスチン依存的な内在化の観点から調べることにした。

[方法] GPCR の N 末端に FLAG-エピトープタグのついたコンストラクトを作製した。HEK293A 細胞と当研究室で樹立された  $\beta$  アレスチン欠損細胞に一過的に発現させ、蛍光標識した抗体を用いてフローサイトメトリーで膜発現量を評価した。

[結果・考察] 点変異体の膜発現量は野生型以下であった。このことから、恒常活性の増強は変異導入による発現の増加によるものではなく、受容体そのものの活性化によるものであると示唆された。また、リガンド刺激時に  $\beta$  アレスチン依存的に内在化すると報告されている GPCR について、 $\beta$  アレスチン欠損細胞においては、点変異体で膜発現が野生型と同程度になることがわかった。これにより、点変異による恒常活性化が、リガンド刺激による活性化と同質であることが示唆された。