

G タンパク質共役型受容体のダイマー形成; 生理学的な発現条件の下での一分子追跡法による研究

笠井 倫志 / Kasai Rinshi

京都大学 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS)

近年、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) と呼ばれる受容体の一部がホモ・ヘテロ会合体を形成しているらしいことが様々なグループによって報告されている。しかし、これらの報告の多くは FRET・BRET などの定性的手法によったものであり、何分子からなる会合体かといった定量的な情報を得ることは、一般的に難しい。そこでまず、会合体形成に関わる物理化学的なパラメータを明らかにしたいと考えた。すなわち、会合体形成に関与する分子の割合、何分子からなる会合体か、会合体の寿命はどれだけであるか、というパラメータを、全反射蛍光顕微鏡を持って、会合体中の分子そのものを直接に可視化することで調べた。この GPCR 研究のモデルとして、走化性因子受容体の 1 つ、フォルミルペプチド受容体 (FPR) を用いた。受容体の個数を正確に数えるために、蛍光色素で正確に 1 : 1 ラベルした蛍光リガンドで受容体をラベルしたのちに、一分子観察を行い、輝点強度から会合体の大きさを見積もると、3 量体以上の会合体がないことが分かった。しかし、2 量体の割合については簡単に解決できない問題がある事が分かった。すなわち、光学分解能以下に近寄った 2 つの輝点を分離することが出来ないために、本物の 2 量体と見かけの 2 量体とを区別できないことである。そこで、このような見かけの二量体を補正する方法をまず確立した。この方法を用いると、発現量に応じて FPR の 2 量体の割合を評価し、受容体同士の二次元の解離定数を求めることができた。たとえば、生理的な FPR の発現量の時 (細胞あたり約 9000 個) に、約 2700 個の FPR が 2 量体を形成し、残りは単量体として存在する事が分かった。また、個々の 2 量体は約 100ms の寿命しかないが、生成消滅を繰り返していることも分かった。ここで開発した方法は、他の膜タンパク質や信号分子についても同様に用いることができるため、それらの研究分野においても大きな貢献をする事が期待できる。