

TSUBAME 共同利用 令和7年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 GPCR とシグナル分子の結合における膜脂質の役割の解析
英文: Analysis of membrane lipid contributions to GPCR–signaling protein interactions

井上飛鳥
Auska Inoue

京都大学大学院薬学研究科
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University
<https://www.pharm.kyoto-u.ac.jp>

邦文抄録(300 字程度)

G タンパク質共役受容体(GPCR)シグナル伝達において、 β アレスチンはシグナル制御と受容体内在化を担う重要因子であり、その機能には膜脂質 PIP₂ との相互作用が関与する。本研究では、バソプレシン V2 受容体(V2R)- β アレスチン複合体をモデルとして分子動力学シミュレーションを行い、 β アレスチン上の新規 PIP₂ 結合部位を同定した。さらに、既知部位および新規部位への PIP₂ 結合状態に応じて、 β アレスチンの構造変化および活性化状態が異なることを見いだした。これらの結果は、複数の PIP₂ 結合部位が β アレスチンの活性化を異なる様式で制御する可能性を示唆する。

英文抄録(100 words 程度)

β -arrestin (β arr) is a key regulator of GPCR signaling and receptor internalization, and its function is influenced by interactions with the membrane lipid PIP₂. In this study, molecular dynamics simulations were performed using the vasopressin V2 receptor (V2R)- β arr complex as a model system. A novel PIP₂-binding site on β arr was identified in addition to the previously known site. Structural analyses further showed that distinct PIP₂-binding patterns were associated with different conformational states of β arr. These findings suggest that multiple PIP₂-binding sites differentially regulate β arr activation and provide new insight into the lipid-dependent control of GPCR signaling.

Keywords: β アレスチン、PIP₂、GPCR、MD シミュレーション

背景と目的

G タンパク質共役受容体(GPCR)は細胞膜上に発現する膜タンパク質であり、ヒトゲノム上に約 800 種類存在する最大のタンパク質ファミリーである。GPCR は細胞外からの刺激によって活性化され、細胞内へシグナルを伝達する。このシグナル伝達の主要な担い手として G タンパク質と β アレスチンが知られている。 β アレスチンはシグナル伝達を行うとともに GPCR を内在化させることで、GPCR のシグナル伝達を終結させる働きもある。そのため、近年の GPCR 創薬において β アレスチンは着目されている。

リガンドの結合によって活性化された GPCR は細胞質タンパク質である β アレスチンを形質膜にリクルートする。この β アレスチンが活性化構造に変化し、シグナル伝達および GPCR の内在化を誘導するためにはリン酸化された GPCR との結合が重要であることが報告されてきた。その一方で、近年の構造研究によって β ア

レスチンと膜脂質であるホスファチジルイノシトール 4,5 ビスリン酸(PIP₂)の相互作用も β アレスチンの活性化や形質膜にとどまることに重要であることが分かってきた。

PIP₂ と β アレスチンの結合には β アレスチンの表面に存在する 3 つの塩基性残基が重要であることが構造研究によって報告されている(図 1)。一方で、これらの結合部位を変異させた β アレスチンにおいても PIP₂ の結合能が残存しており、 β アレスチンには他の部位が PIP₂ と結合しうることが示唆されていた。

本研究課題では、 β アレスチンと PIP₂ の相互作用の詳細を解析することを目的として分子動力学シミュレーションを行い、新たな PIP₂ 結合部位の同定を行った。さらにこれらの結合部位が β アレスチンの活性化において異なる働きを担う可能性を示唆する結果を得た。

概要

本研究では β アレスチンと結合する GPCR としてバソ

プレシン V2 受容体 (V2R) をモデル受容体とした。脂質二重膜の内葉に PIP₂ を 10%mol 含有する 1-パルミトイル-2-オレイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (POPC) 二重膜を用意し、V2R-β アレスチン複合体を埋め込んだ (図 2)。β アレスチンが V2R と結合し、活性型構造を取る初期状態から分子動力学シミュレーションを開始し、その動態を観察した。その際、PIP₂ の初期配置が及ぼす影響を取り除くため、PIP₂ の初期配置をランダムにした脂質二重膜をそれぞれ作製し、計 3 回のシミュレーション結果を解析した。

結果および考察

シミュレーション中、PIP₂ との結合部位として知られていた部位だけでなく、既知の部位よりも外側の塩基性残基とも相互作用していた (図 3)。この新規結合部位に PIP₂ が結合している状態と結合していない状態で構造変化がどのように異なるかを解析したところ、新規の PIP₂ 結合部位に結合している状態は 3 つの構造状態をとっていた一方で、新規結合部位と既知の結合部位の両方に PIP₂ が結合している状態では 2 つの構造状態をとることが分かった (図 4)。この結果から新規結合部位と既知の結合部位では β アレスチンの活性化に与える影響が異なることが示唆された。

まとめ、今後の課題

本研究課題では β アレスチンの新規 PIP₂ 結合部位を MD シミュレーションによって同定した。この新規結合部位は既知の結合部位とは異なる機能を持つことが示唆された。今後は MD シミュレーションによって示された 2 つの PIP₂ 結合部位の活性化への影響を培養細胞アッセイによって評価する計画であり、β アレスチンの GPCR シグナル制御における PIP₂ の重要性を実験的に実証することが望まれる。

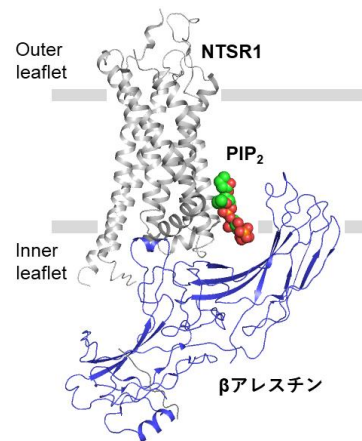


図 1 活性型 β アレスチンと PIP₂ の結合
ニューロテンシン受容体 1 (NTSR1)-β アレスチン 1 複合体のクライオ電子顕微鏡構造 (PDBID: 6UP7)。一分子の PIP₂ が β アレスチンと結合している。

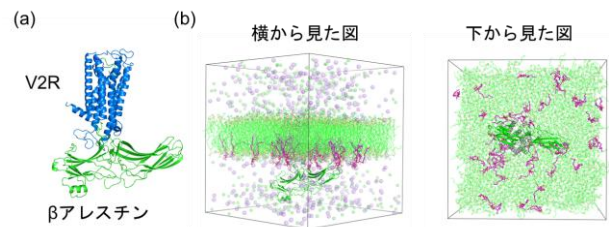


図 2 PIP₂ と β アレスチンのシミュレーション系
(a) MD シミュレーションに用いた V2R-β アレスチン複合体の構造
(b) MD シミュレーションにおける初期配置の一例。PIP₂ (マゼンタ) の初期配置はランダムに設定されている。

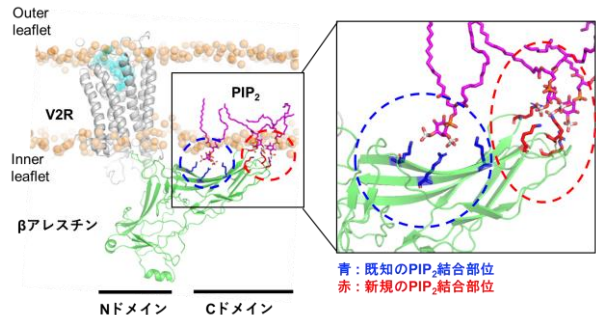


図 3 シミュレーション中で β アレスチンに結合した PIP₂
既知 PIP₂ 結合部位と比べて GPCR からより離れた位置で PIP₂ と結合している。

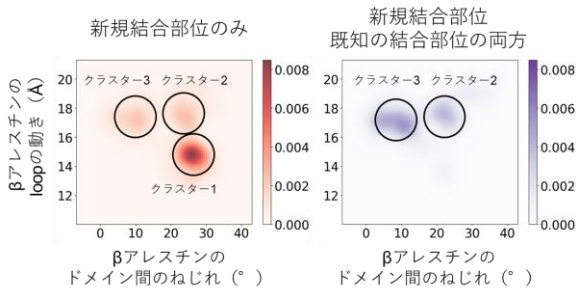


図 4 βアレスチンの PIP₂ 結合と構造変化

βアレスチンの活性化の指標であるドメイン間のねじれとloopの動きを示した2次元プロット。新規結合部位のみに PIP₂ が結合した状態では3つのクラスターが存在するが、既知の結合部位と新規結合部位の両方に PIP₂ が結合した状態では2つのクラスターのみが観察された。