

(様式 1-1)

提出日：2023 年 4 月 25 日

2022 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

クライオ電子顕微鏡

(2) 研究代表者

氏名：浅田秀基

所属機関名・部局名・職名：京都大学大学院医学研究科・分子細胞情報学・特定准教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

スフィンゴシン-1-リン酸受容体 3 (S1PR3) の構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：加藤貴之 (研究室名：電子線構造生物学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。

G タンパク質共役受容体 (G protein-coupled receptor; GPCR) は、細胞外の情報を細胞内へ伝達することで恒常性維持などの重要な役割を担う 7 回膜貫通型受容体である。GPCR は疾患との関連から重要な創薬標的分子であり、多くの研究が行われている。S1PR3 (Sphingosine-1-Phosphate Receptor 3) は、脂質メディエーターである d18:1 S1P と結合することで細胞増殖、細胞分化、細胞死、炎症、血管新生、免疫応答など多くの生物学的プロセスに関与する GPCR である。この S1PR3 が持つ多様な生理機能は、異なる G α と共役することで発揮すると考えられている。我々の検討から、d18:1 S1P は Gq/11、Gi/o、G12/13 の 3 種類と共役するバランスドアゴニストであるが、脂肪酸炭素鎖が短い d16:1 S1P は Gi/o、G12/13 への共役を偏らせるバイアスドアゴニストであることが明らかとなった。この様な S1PR3 のシグナル制御機構を構造から明らかにする目的で、cryo-EM 単粒子解析法による Gi/Gq が共役したバランスドアゴニスト d18:1 S1P 結合 S1PR3 の構造、および Gq が共役したバイアスドアゴニスト d16:1 S1P 結合 S1PR3 の構造決定を目指した。各複合体サンプルは、S1PR3、3 量体 G タンパク質構成タンパク質である G α 、G β 、G γ 、そして G α の種類に応じて NB35、scFV16 をまとめて Sf9 昆虫細胞に感染させる共発現法により発現させた。本研究では、S1PR3 の C 末端には LgBiT を付加しており、G β には HiBiT を付加しているため、共発現時に S1PR3 と G β が複合体を形成する Tethering system を利用している。また、N 末端側にはアフィニティ精製の His タグが付加されており、精製はこのタグを用いたアフィニティ精製、およびゲル濾過法を用いた。これらのサンプルを cryo-EM で測定した結果、いくつかの組み合わせで構造を決定することができた。しかし、バイアスシグナル機構の解明に重要な複合体の構造が決定できないため、その詳細を構造から明にするに至っていない。今後は必要な構造決定を行うことでバイアスシグナル機構を明らかにしたい。