

【目的】 Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) は真核生物に幅広く発現しており、血圧の調節、味覚、嗅覚など様々な生体現象に関わるほか、細胞の増殖、遊走などにも必要とされている。GPCR は創薬の重要な標的分子であり、現在まで開発された医薬品の中で約 40%は GPCR に作用する薬剤である。また、幾つかの GPCR はがん細胞に過剰発現し、細胞の癌化にも関わっていることが報告されている。これらのことから、GPCR シグナルの活性制御機構を明らかにすることは、臨床応用の面からも重要な研究課題である。GPCR はリガンドの結合により活性化し、シグナルを伝えると、クラスリン小胞によりエンドサイトーシスされ、エンドソームを経て、リソソームで分解される。GPCR のエンドサイトーシスによる取り込みは、GPCR シグナルの不活性化のための主たる制御機構であるが、活性化した GPCR のクラスリン小胞への取り込み機構、およびエンドサイトーシス後の輸送および分解機構については不明な点が多い。本研究は GPCR のエンドサイトーシスによる分解の諸過程を制御する分子機構を解明することを目的とする。

【方法】 GPCR のエンドサイトーシスの初期過程ではたらく 4 種類のタンパク質を蛍光標識し、変異体におけるクラスリン小胞の動態を解析し、GPCR のエンドサイトーシスによる取り込みに必要な遺伝子を解析した。また、*Rab5*、*Rab7* 遺伝子欠損変異体について、蛍光顕微鏡および電子顕微鏡によりリソソームの形態および GPCR の輸送への影響について詳細に解析した。

【結果】 GPCR のエンドサイトーシスによる取り込み過程に関わる遺伝子を解析するため、初期過程ではたらく 4 種類のタンパク質を GFP で標識し、エンドサイトーシス変異体における動態を解析した。この結果、*clc1*、*end3*、*las17*、*sla2* 変異体の 4 つの変異体で顕著な異常が見られることを発見した。特に興味深いことに、*clc1* 変異体ではクラスリン小胞の形成が損なわれていると共に、アクチン骨格にも重篤な異常を示すが、GPCR のリクルート自体は起こっていることが分かった。また、エンドソーム-リソソーム間の輸送に関わる *Rab5*、*Rab7* について解析した。この結果、酵母 *Rab5* (*ScRab5*) および *Rab7* (*ScRab7*) 欠損変異体における GPCR の輸送への影響を調べたところ、*ScRab5* 欠損細胞では AP-3 経路依存的にリソソームで分解されるのに対して、*ScRab7* 欠損細胞では断片化したリソソームへの GPCR の輸送が見られた。興味深いことに、*ScRab5*、*ScRab7* の二重変異体ではリソソーム自体の形成が見られなくなり、GPCR の輸送も完全に抑制された。

酵母 *Rab5*、*Rab7* 二重変異体におけるリソソーム形成および GPCR 輸送に与える影響

