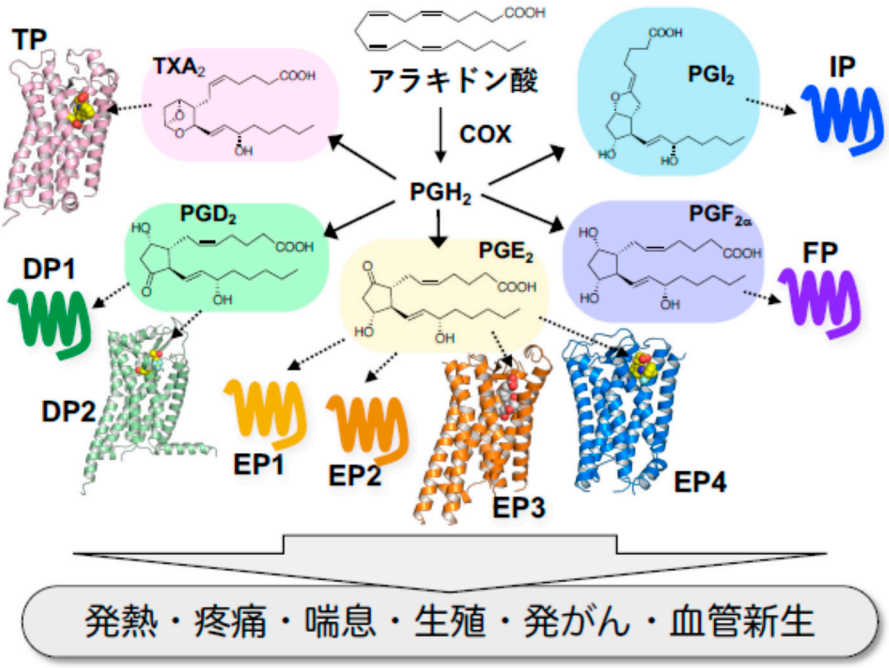
164　プロスタグランジン創薬に向けた受容体の立体構造解析	森本　和志

【目的】プロスタグランジン（PG）類は細胞膜リン脂質中のアラキドン酸から産生される脂質メディエーターであり、発熱や痛覚過敏などの炎症応答を初めとして、生殖・がん・骨形成・肥満・高血圧・ストレス応答など様々な生理・病態生理に関わる。PG 類には主なものとして PGD_2、PGE_2、$PGF_{2\alpha}$、PGI_2、トロンボキサン（TX）A_2の 5 種類が存在し、その受容体は DP1、DP2、EP1～4、FP、IP、TP の 9 種類の GPCR が存在する。これまで PG 受容体の立体構造解析は他の GPCR に比べ遅れていたが、最近になってアンタゴニスト結合型 DP2 の結晶構造がまず報告され、続いてアンタゴニスト結合型 TP の結晶構造が報告された。我々のグループでは EP 受容体の結晶構造解析に取り組み、アンタゴニストおよびシグナル抑制抗体を結合した不活性型 EP4 を分解能 3.2 Åで、内因性アゴニストである PGE_2が結合した活性型様 EP3 を分解能 2.9 Åでそれぞれ決定した。本研究では PG 受容体を対象とした創薬をより加速するため、立体構造未決定の PG 受容体の立体構造を決定することを目的とした。

【方法】FSEC-TS 法により可溶化した受容体の熱安定性を指標に受容体発現コンストラクトのスクリーニングを行った。決定したコンストラクトを昆虫細胞（Sf9）で発現し、精製・結晶化を行った。精製試料については SDS-PAGE、ゲルろ過クロマトグラフィー、CPM assay により評価した。また Sf9 で発現した EP4 受容体および G$\beta\gamma$、大腸菌で発現した安定化 Gs（miniGs）、Brevibacillus で発現したナノボディ（Nb）35 をそれぞれ精製し、PGE_2および apyrase 存在下で混合して複合体を調製、クライオ顕微鏡にて単粒子解析を行った。

【結果】本研究により PG 受容体 EP1 の精製方法が確立された。またこれまでに PG 受容体と G タンパク質の複合体構造の解析例はなかったが、miniGs や界面活性剤に GDN を用いることでクライオ電子顕微鏡による構造解析に成功した。本構造では PGE_2結合 EP3 と同様、膜貫通（TM）1 の細胞外側や TM6 の細胞内側の大きな変位が見られ、PG 受容体に共通の構造変位である可能性が示唆された。また Gs タンパクの C 末端の向きが既報のいずれの GPCR－G タンパク質複合体とも異なっており、新たな結合様式の可能性が示唆された。

プロスタグランジン（PG）の産生経路と受容体の結晶構造