

〈6〉ステロイド化合物に対する膜受容体の探索

武田 茂樹

群馬大学大学院工学研究科ナノ材料システム工学専攻バイオナノシステム科学研究室

ステロイドは一般的に核内受容体へ作用し、遺伝子発現を転写レベルで制御するが、それとは別に細胞に対して添加後数秒単位で細胞内Ca²⁺濃度変化を引き起こすということが知られていた。このことから、ステロイドに対して膜受容体が存在するという議論がある。近年ステロイドホルモンとしては初めてプロゲステチンに対する膜受容体が同定された。この受容体はGタンパク質共役受容体の可能性がある実験結果が示されたが、アミノ酸配列上これまでのGタンパク質共役受容体と全く相同性がない点が注目された。本研究ではプロゲステチン膜受容体とアミノ酸配列で相同性のあるタンパク質に注目し、新たなステロイド膜受容体を探索することを試みた。

プロゲステチン膜受容体のアミノ酸配列に相同性があり、Gタンパク質共役受容体の構造上の特徴である7回膜貫通構造を取ると考えられるタンパク質の遺伝子をヒトゲノムより検索、PCRで増幅し発現ベクターにクローニングした。これをCHO-k1細胞に導入し、既知生理活性ステロイド化合物を用いて細胞内Ca²⁺濃度変化を観測した。その中のあるステロイドについては一過性発現細胞を用いた場合には大きな細胞内Ca²⁺濃度上昇が観測された。しかし、クローン化された安定発現細胞を用いて活性測定を行った場合は有意な細胞内Ca²⁺濃度変化は見られなかった。安定発現細胞を免疫染色の結果、遺伝子導入を行っていない細胞と比べ抗体が結合している細胞が多くみられた。この事実から、今回クローニングしたタンパク質は既知のGタンパク質共役受容体と配列上の相同性を持たないが、やはりN端を細胞外にして膜上で発現していることがわかった。しかし、その発現量はかなり低いことも明らかとなった。現時点では安定発現細胞でステロイドに対する細胞内Ca²⁺濃度変化が観測できないのは、発現レベルが低いためではないかと考えている。今後発現レベルの高いクローン細胞を構築しリガンド特異性についてさらに解析を行う必要がある。

CHO-k1：ハムスター卵巣細胞