Gαタンパク質スイッチ制御の新たな仕組み

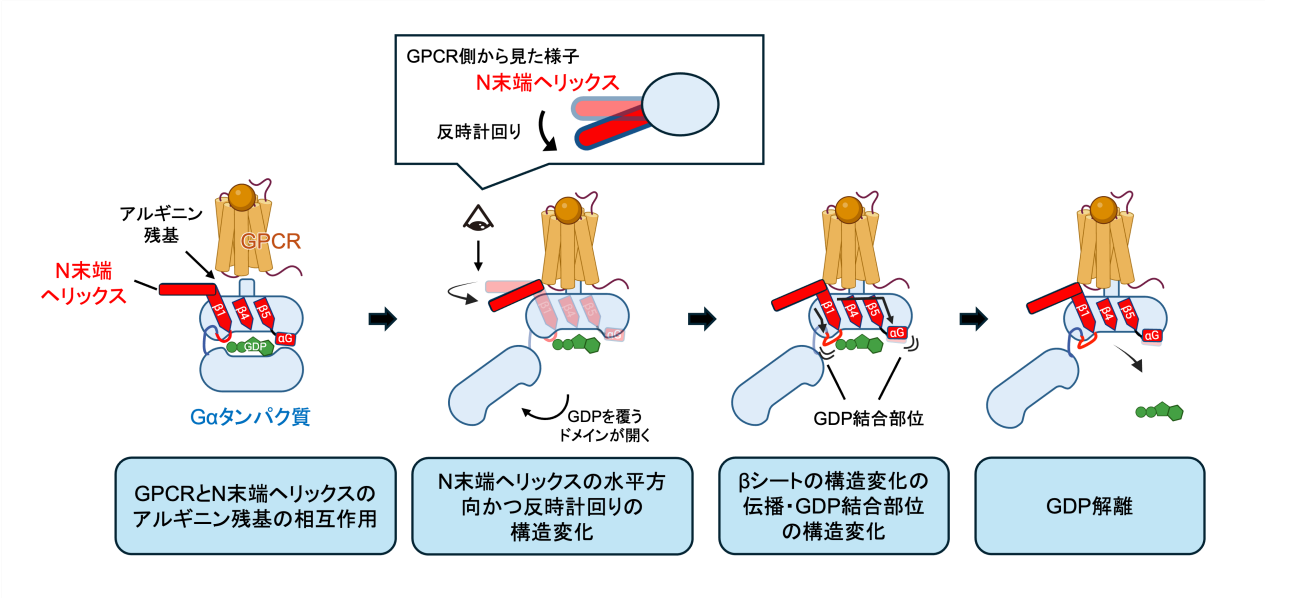
―N 末端ヘリックスの回転が GDP 解離を促す―

概要

私たちの体を構成する細胞は、細胞外からさまざまな情報を受け取り、細胞内に情報を伝達しています。この情報伝達で重要な役割を担うタンパク質の１つが、細胞表面に存在するＧタンパク質共役型受容体(GPCR)(注 1)と、その情報を細胞内へ伝える三量体Ｇタンパク質(注 2)です。三量体Ｇタンパク質のサブユニットの１つであるＧαタンパク質(注 3)は、細胞外分子と結合した GPCR と相互作用すると、GDP（グアノシン二リン酸）(注 4)を放出して GTP（グアノシン三リン酸）を取り込むことで、スイッチがオンとなりますが、その詳しい仕組みには未解明な点が残されていました。

京都大学大学院薬学研究科の新井大輝博士課程学生と井上飛鳥教授（兼: 東北大学大学院薬学研究科教授）と東京大学大学院理学系研究科の濡木理教授、東京大学大学院新領域創成科学研究科の佐々木裕次教授らの研究グループは、Gα タンパク質の N 末端ヘリックス(注 5)が、特定方向に回転することで Gα タンパク質の GDP 結合部位へ構造変化が伝わり、GDP の放出の引き金となることを明らかにしました。本成果は、三量体Ｇタンパク質のスイッチが制御される仕組みの理解を深め、GPCR を標的とする医薬品の作用をより詳しく理解するための基盤になることが期待されます。

本研究成果は、2026 年 10 月 30 日午前 10 時（英国時間）に、*Nature Chemical Biology* に掲載されました。



概略図：N 末端ヘリックスが駆動する Gα タンパク質からの GDP 解離機構

GPCR と相互作用すると、GPCR 側から見て反時計回りに N 末端ヘリックスは回転する。この構造変化が Gα タンパク質全体に伝播していき、最終的に GDP 結合部位の構造変化を誘導し、GDP の放出を促進することが明らかになった。

©京都大学・薬学研究科・シグナル薬理学分野

１．背景

私たちの体の中の細胞は、細胞外のホルモンや神経伝達物質などのさまざまな刺激を受け取り、その情報を細胞内へ伝えることで刺激に基づいた反応が起こります。細胞表面において刺激分子のセンサーとして働くタンパク質の一群に、G タンパク質共役型受容体（GPCR）があります。GPCR は視覚や嗅覚、心拍、血圧、神経活動など、私たちの体のさまざまな働きに関わっており、多くの医薬品の標的にもなっています。

GPCR が細胞外から刺激分子を受けると、細胞内の三量体 G タンパク質と相互作用します。この相互作用により三量体 G タンパク質のスイッチがオン状態に変わることで、細胞内へ情報が伝達されていきます。三量体 G タンパク質を構成するサブユニットのうち、Gα タンパク質はオフ状態において GDP を結合しており、GPCR と結合して GDP が外れることが、三量体 G タンパク質のオンオフ切り替えの重要なステップです（図 1）。この過程をタンパク質の構造変化の観点から見ると、Gα タンパク質は GPCR と相互作用することで GDP 結合部位に構造変化が生じ、GDP との結合が減弱して GDP の解離が誘導されます。

2011 年に GPCR と三量体 G タンパク質の複合体構造が初めて解かれ、以降 GPCR との結合に伴う Gα タンパク質の構造変化について研究が加速しました（参考文献 1）。現在までの研究の知見では、Gα タンパク質の C 末端ヘリックス (注 6) が GPCR のヘリックスの束の中央に入り込むことで、C 末端ヘリックスが Gα タンパク質から引き離され、この構造変化が GDP の放出に重要であることが示されてきました（図 2）。

一方、Gα タンパク質には C 末端ヘリックス以外の GPCR との相互作用部位もあり、その 1 つが Gα タンパク質の N 末端ヘリックスです（図 2）。N 末端ヘリックスはもともと脂質修飾され、形質膜 (注 7) への局在を助ける役割が知られている部位です。さらに、Gβγ サブユニットと結合して G タンパク質の三量体形成を助ける役割も知られていました。その一方で、Gα タンパク質からの GDP 解離に対してはどのような役割を果たすのかは、ほとんど分かっていませんでした。

そこで本研究では、「C 末端ヘリックスと同様に、GPCR との相互作用に伴う N 末端ヘリックスの構造変化が、Gα タンパク質からの GDP 解離を制御しているのではないか」と仮説を立て、Gα タンパク質の N 末端ヘリックスと GDP の放出との関係を詳しく調べました。

２．研究手法・成果

まず研究グループは、GPCR と相互作用する際に、N 末端ヘリックスが実際にどのように動くのかを調べました。金ナノ結晶を N 末端ヘリックスに結合させ、X 線 1 分子追跡法（Diffracted X-ray Tracking: DXT）(注 8) を用いて、金ナノ結晶の微細な動き、すなわち N 末端ヘリックスの構造変化を評価しました（図 3a, b）。その結果、アゴニスト (注 9) と GPCR を両方添加する条件では、タンパク質を固定した基板に対し、水平方向に N 末端ヘリックスの回転が大きくなることが分かりました（図 3c）。この結果から、GPCR との相互作用に伴って、N 末端ヘリックスが水平方向に回転する構造変化が生じることが示されました。

次に、N 末端ヘリックスと GPCR の相互作用が、Gα タンパク質のスイッチの切り替えに重要かどうかを調べました。GPCR との相互作用を変化させるために、GPCR と近接している N 末端ヘリックスの根元のアミノ酸残基（図 4a）を置換した Gα タンパク質を培養細胞に発現させ、Gα タンパク質のスイッチの入りやすさを NanoBiT アッセイ (注 10) により評価しました（図 4b）。多数の GPCR–三量体 G タンパク質複合体において相互作用が見られる、正電荷を有するアルギニン残基を電荷を持たないアラニン残基に置換すると、スイッチが入りにくくなりました（図 4c）。反対に隣接するアラニン残基をアルギニン残基に置き換えると、スイッチが入りやすくなることを明らかにしました（図 4c）。このことから、N 末端ヘリックスにおけるアルギ

ニン残基と GPCR の相互作用が、Gα タンパク質のスイッチの切り替えを制御していることが明らかとなりました。

続いて、GPCR と相互作用する際に引き起こされる N 末端ヘリックスの動きが、Gα タンパク質のスイッチの切り替えに伴う GDP 解離にどのようにつながるのかを、コンピューターを用いた分子動力学シミュレーション(注 11)で調べました。GPCR–三量体 G タンパク質複合体について分子動力学シミュレーションを行ったところ（図 5a）、N 末端ヘリックスは水平方向かつ、GPCR 側から見た際に反時計回りに動くことが観察されました（図 5b）。研究グループはこの方向性が重要なのではないかと考え、コンピューター上で N 末端ヘリックスを水平方向に強制的に時計回り、または反時計回りに動かし、GDP 解離に対する影響をシミュレーションしました（図 6a）。その結果、反時計回りに動かした場合には、GDP と Gα タンパク質との結合が弱まる一方、時計回りではほとんど影響を与えないことが分かりました（図 6b）。この現象を実験的に確かめるため、架橋剤を結合させることで N 末端ヘリックスを特定の向きに固定できる Gα タンパク質をデザインし、精製しました（図 7a）。このタンパク質を用いて、蛍光標識された GDP によって GDP 解離を評価したところ、シミュレーション結果と一致して、N 末端ヘリックスを反時計回りに動かした条件でのみ GDP の解離が大きく促進されました（図 7b）。この結果は、GPCR との相互作用によって N 末端ヘリックスに水平方向かつ反時計回りの回転が生じ、その変化が GDP 解離を誘導するというモデルを裏付けるものです。

さらに分子動力学シミュレーションの結果を詳しく解析し、N 末端ヘリックスの特定方向の構造変化が、どのような構造変化を誘導して GDP 解離を引き起こしているのかを調べました。N 末端ヘリックスと GDP 結合部位の間にはβシート(注 12)が並んでいます。研究グループは、N 末端ヘリックスが反時計回りに動くことでこれらのβシートに特徴的な構造変化を誘導すると仮説を立て、β シートを構成するアミノ酸残基間の距離などの解析を行いました。その結果、N 末端ヘリックスが反時計回りに動く際にのみ、βシートのねじれや、β シート間の距離が離れる変化が生じていることが分かりました（図 8）。

以上の結果を統合することで、研究グループは次のようなメカニズムを提唱しました（概略図）。GPCR とGαタンパク質が結合する際に、N 末端ヘリックスはアルギニン残基を介して GPCR と相互作用し、水平方向かつ反時計回りに回転します。この変化が、Gαタンパク質のβシートの再編成を引き起こし、GDP 結合部位に伝達されます。その結果、GDP との相互作用が弱まり、最終的に GDP 解離を引き起こすと考えられます。このように、本研究では、N 末端ヘリックスを介した、新たな Gα タンパク質のスイッチ制御機構を見いだしました。

３．波及効果、今後の予定

本研究では、物理化学的手法、培養細胞実験、計算科学的手法、生化学実験など、複数の手法を研究に取り入れることで、タンパク質の構造変化から機能発揮までの、Gαタンパク質のスイッチ制御機構の一連の関連性を明らかにしました。また、この解析は Gαタンパク質のみならず、他の GPCR 関連分子においても同様の方法で、特定の領域に架橋や拘束をかけることでその領域の構造変化の役割を調べることができ、GPCR シグナル伝達機構の理解をさらに深めることに役立つと考えています。

GPCR は多くの医薬品の標的となっており、その刺激が細胞内へどのように伝わるのかを理解することは、薬の作用を考えるうえで重要です。本研究は GPCR を標的とした薬が細胞内の情報伝達をどのように制御するのかを、より詳しく理解するための基盤になると期待されます。また、GPCR と N 末端ヘリックスの結合を制御する薬剤や、GPCR に依存せず N 末端ヘリックスの構造変化を誘導する薬剤を開発することで、新たな方法で三量体 G タンパク質シグナルを制御する創薬につながる可能性があります。

４．研究プロジェクトについて

本研究は、「科学技術振興機構（JST） 創発的研究支援事業（課題番号：JPMJFR215T）」、「JST ムーンショット型研究開発事業（課題番号：JPMJMS2023）」、「日本学術振興会（JSPS） 科学研究費助成事業（課題番号：JP24K21281、JP25H01016）」、「日本医療研究開発機構（AMED）（課題番号：JP22zf0127007）」を始めとする種々な研究費支援を受けて実施されました。本論文は『東北大学 2026 年度オープンアクセス推進のための APC 支援事業』の支援を受け、Open Access となっています。

＜用語解説＞

注1. G タンパク質共役型受容体（GPCR）

細胞膜表面に存在する受容体であり、ヒトでは約 800 種存在する。GPCR は、特定のホルモンや代謝物などと結合することでスイッチがオンとなるように構造変化し、主に三量体 G タンパク質と結合することで、さまざまな細胞応答を引き起こす。また、薬の主要な作用標的（承認薬の約 3 分の 1）であり、創薬研究において重要な分子である。

注2. 三量体 G タンパク質

GPCR と結合することでスイッチがオンになり、細胞内にシグナルを伝達するタンパク質。Gαタンパク質、Gβタンパク質、Gγタンパク質の 3 つのサブユニットから構成される。

注3. Gαタンパク質

三量体 G タンパク質を構成するサブユニットの 1 つであり、GPCR と直接結合する。通常、GDP が結合しており、構造変化に伴い GDP が解離し、スイッチがオンの状態に移行する。配列の相同性や機能の類似性から、G_s、G_i、G_q、G_{12} の 4 つに大別される。オン状態の Gα タンパク質は GPCR や Gβγ タンパク質から解離して単量体状態になり、下流のシグナル分子と結合できるようになる。

注4. GDP（グアノシン二リン酸）

ヌクレオチドの 1 種。オフ状態の Gαタンパク質と結合する。

注5. N 末端ヘリックス

Gαタンパク質の N 末端に位置するヘリックス構造。N 末端ヘリックスの N 末端側は脂質修飾が施され、形質膜にアンカーされる。さらに、N 末端ヘリックスの片側は膜と静電相互作用し、反対側は Gβγと相互作用して三量体形成を補助している。また、N 末端ヘリックスの C 末端側は GPCR に近接しており、多数の GPCR–三量体 G タンパク質複合体構造で相互作用が確認されている。

注6. C 末端ヘリックス

Gαタンパク質の C 末端に位置するヘリックス構造。GPCR との主要な相互作用部位であり、GPCR の細胞質側に結合することが知られている。

注7. 形質膜

細胞を構成する生体膜（リン脂質二重層が主成分）のうち、細胞表面に存在するもの。GPCR と三量体 G タンパク質は通常、形質膜に局在している。

注8. X 線 1 分子追跡法（Diffracted X-ray Tracking: DXT）

タンパク質の構造変化を評価する手法。金ナノ結晶をタンパク質の特定の領域に結合させ、そこへ X 線を照射し、得られた回折点の動きを追跡することで、金ナノ結晶が結合した部位の構造変化を捉えることができる。

注9. アゴニスト

受容体に結合し、受容体のシグナル伝達スイッチをオンにすることで、細胞内に情報を伝える物質。

注10. NanoBiT アッセイ

発光酵素ルシフェラーゼに由来する 2 つの分割断片を、それぞれ別のタンパク質に融合し、両者の近接に伴う発光の変化を測定する手法。本研究では、Gα タンパク質と Gβγ タンパク質の解離に伴う発光の低下を指標として、三量体 G タンパク質のスイッチのオンになりやすさを評価した。

注11. 分子動力学シミュレーション

コンピューターを用いて原子・分子の動きを時間的に予測する方法。分子の構造変化や、分子間の相互作用を解析するために用いられる。

注12. βシート

タンパク質の立体構造を形作る基本構造の 1 つ。アミノ酸残基の主鎖が伸びて並び、水素結合で隣の主鎖と結ばれた波状のシート構造を持つ。

＜研究者のコメント＞

「タンパク質の微細な構造変化とその機能を関連付けるために、本研究ではさまざまな実験・解析手法を取り入れました。異なる研究領域の手法を新たに習得し、それぞれの技術を高めていくことには苦労もありましたが、そのおかげもあり、一連のストーリーとして G タンパク質のスイッチ制御機構を明らかにすることができました。」（新井大輝）

「『Gα タンパク質の N 末端ヘリックスが、GDP の放出に関わるのではないか』。10 年ほど前に共著者の Roger Sunahara 教授がこの着想を提示して以来、彼と議論を重ねてきました。Sunahara 教授は、ノーベル賞受賞者 Alfred Gilman 博士の最後期の門下生で、G タンパク質の生化学・構造生物学における世界屈指の研究者です。この着想を自分たちの手で確かめたいという思いから、培養細胞の分子薬理学を得意とする私たちが共同研究者とともに構造研究に挑み、10 年来の問いに答えを示せたことを、Roger への深い感謝とともに嬉しく思います。」（井上飛鳥）

（参考文献）

1. Rasmussen *et al., Nature* (2011)
https://www.nature.com/articles/nature10361

＜論文タイトルと著者＞

タイトル：Rotation of the N-terminal helix triggers Gα activation

N 末端ヘリックスの回転が Gα タンパク質のスイッチをオンにする

著　　者：Hiroki Arai[1,2], Tatsuya Ikuta[2,3], Ryoji Kise[1,2,4], Manae Tatsumi[2], Yotaro Koizumi[1], Masataka Yanagawa[1,2], Daisuke Sasaki[5], Caesar Tawfeeq[6], Hidetaka S Oshima[7], Wing-In Yau[3], Wataru Shihoya[3,7,8], Adnan Sljoka[9,10], Keizaburo Taninaka[5], Osamu Nureki[7,11], Roger K Sunahara[6], Kazuhiro Mio[12], Yuji C Sasaki[5,12], Asuka Inoue[1,2,*]

1. 京都大学 大学院薬学研究科
2. 東北大学 大学院薬学研究科
3. 慶應義塾大学 医学部
4. 筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIS）
5. 東京大学 大学院新領域創成科学研究科
6. Department of Pharmacology, University of California San Diego
7. 東京大学 大学院理学系研究科
8. 慶應義塾大学 ヒト生物学-微生物叢-量子計算研究センター（WPI-Bio2Q）
9. 理化学研究所 革新知能統合研究センター（AIP）
10. Department of Chemistry, York University, Toronto
11. 東京科学大学 総合研究院
12. 産総研・東大 先端オペランド計測技術オープンイノベーションラボラトリ（OPERANDO-OIL）
＊ 責任著者
掲 載 誌：*Nature Chemical Biology*　　DOI：10.1038/s41589-026-02359-y

＜参考図表＞

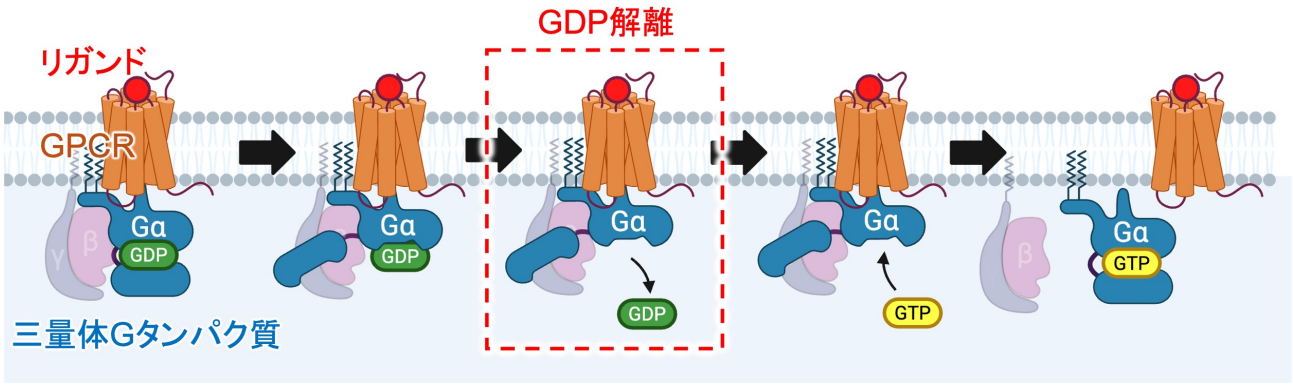


図 1. 三量体 G タンパク質のスイッチオンオフ制御機構の概略

GPCR との相互作用により、Gαタンパク質に結合している GDP が解離し、細胞内に豊富に存在する GTP が結合することで、スイッチオンの状態に移行する。

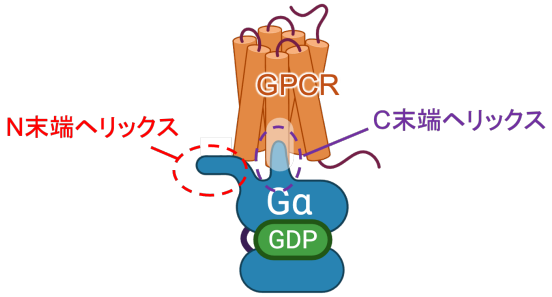


図 2. GPCR と Gαタンパク質の相互作用領域

Gαタンパク質は、N 末端ヘリックスと C 末端ヘリックスを介して GPCR と相互作用をする。

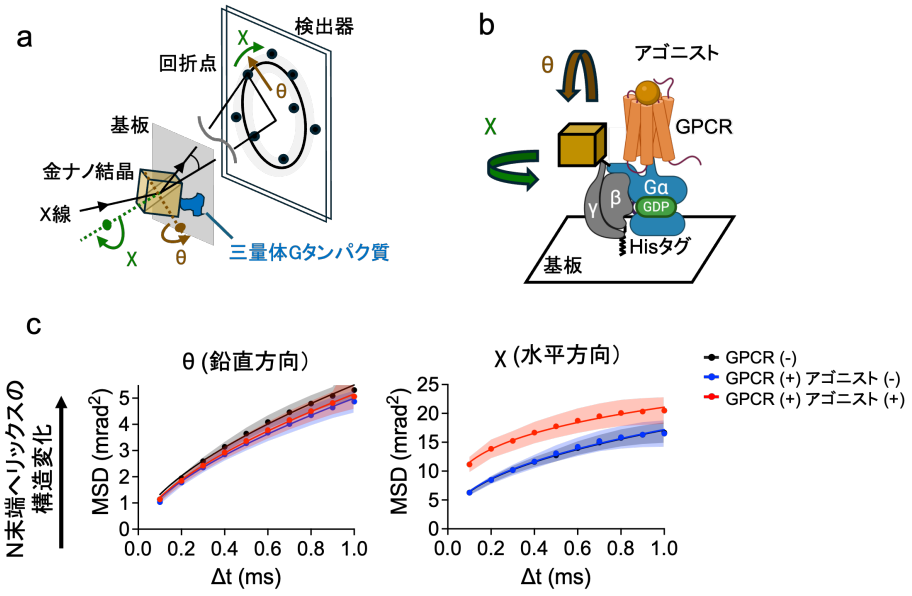


図 3. X 線 1 分子追跡法による N 末端ヘリックスの構造変化測定

a. X 線 1 分子追跡法の模式図。タンパク質に結合させた金ナノ結晶に X 線を照射することで X 線の回折現象が生じ、回折点を検出器で撮影する。この回折点の動きを追跡することで、金ナノ結晶を結合させたタンパク質の特定のドメインの構造変化を捉えることができる。

b. 金ナノ結晶を結合させた精製三量体 G タンパク質の模式図。本手法では、基板に対して鉛直・水平方向の運動に分けて観察することができる。

c. N 末端ヘリックスの構造変化の定量。アゴニストと GPCR を両方添加した条件下で、χ(水平方向)の運動が促進されていた。

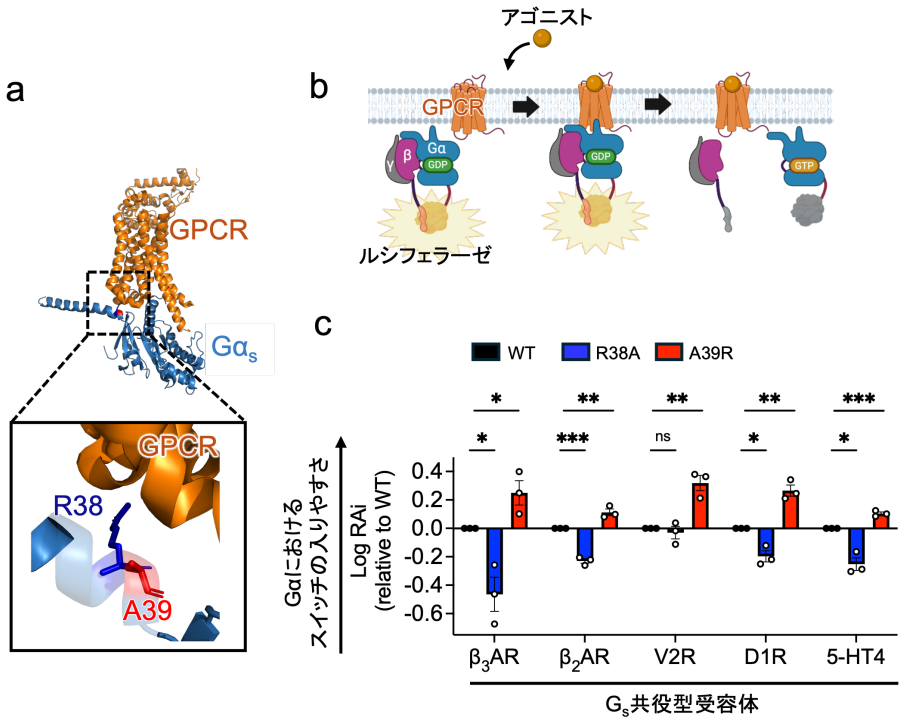


図 4. 培養細胞を用いた、N 末端ヘリックスの変異体の三量体 G タンパク質のスイッチの入りやすさ評価

a. GPCR と Gα タンパク質 N 末端ヘリックスの相互作用点。38 番目のアルギニン残基（R38）は GPCR と近接している。本実験では、相互作用を消失させるために R38 をアラニンに置換した（R38A）。さらに相互作用を増強させるために、隣接する 39 番目のアラニン（A39）をアルギニンに置換した。

b. NanoBiT アッセイの概略図。ルシフェラーゼ断片の片方を Gα タンパク質に、もう一方を Gβ サブユニットタンパク質に融合し、スイッチオンに伴う両者の解離を発光値の減少度合いで評価した。

c. N 末端ヘリックス変異体の三量体 G タンパク質のスイッチの入りやすさの変化。複数の GPCR で三量体 G タンパク質スイッチの入りやすさは、R38A で減弱し、A39R では増強された。

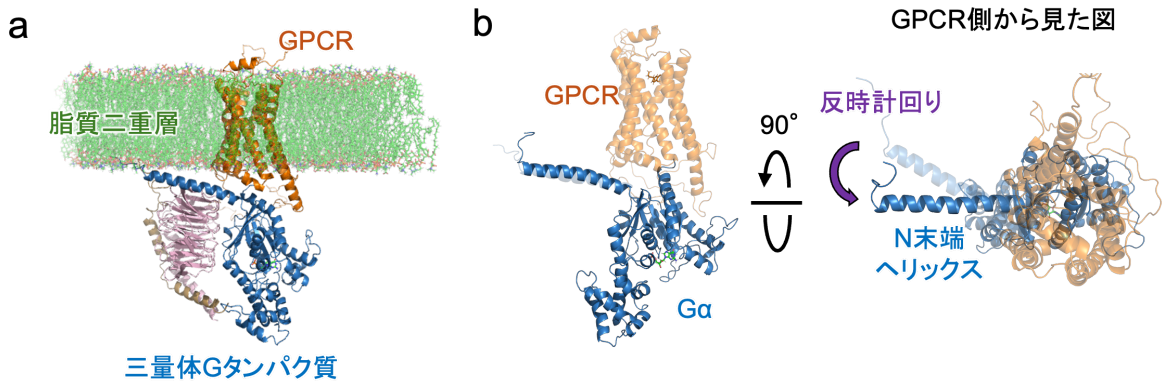


図 5. GPCR–三量体 G タンパク質複合体の分子動力学シミュレーション

a. シミュレーションのセットアップ。GPCR と三量体 G タンパク質の複合体を脂質二重層に埋め込み、シミュレーションを実施した。

b. シミュレーション中の N 末端ヘリックスの動き。GPCR 側から見て、反時計回りに動いている様子が観察された。

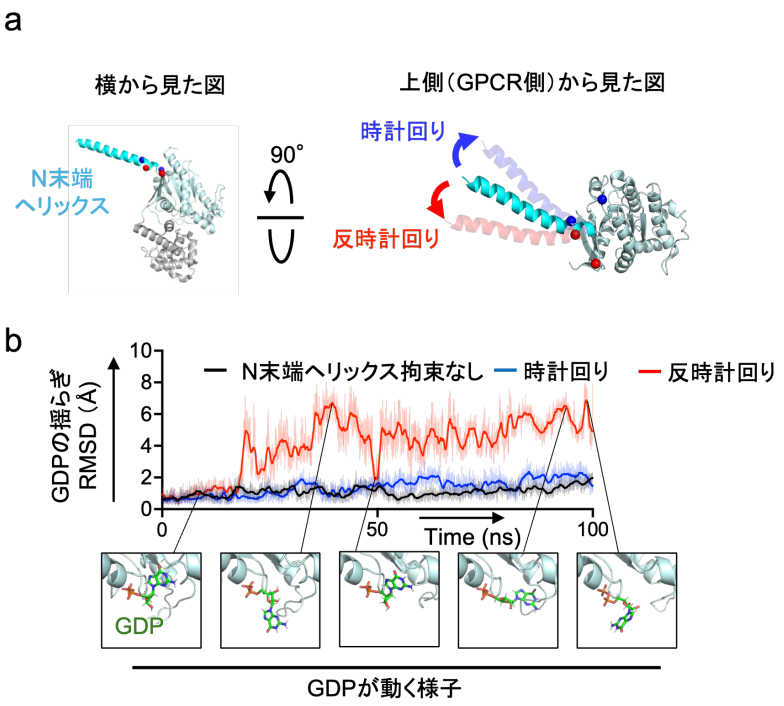


図 6. N 末端ヘリックス拘束条件下の分子動力学シミュレーション

a. 分子動力学シミュレーションの模式図。N 末端ヘリックスの拘束方向を示している。

b. シミュレーション中の GDP 分子の揺らぎ。反時計回りに拘束した条件で、GDP が元の結合部位から離れることが観察された。

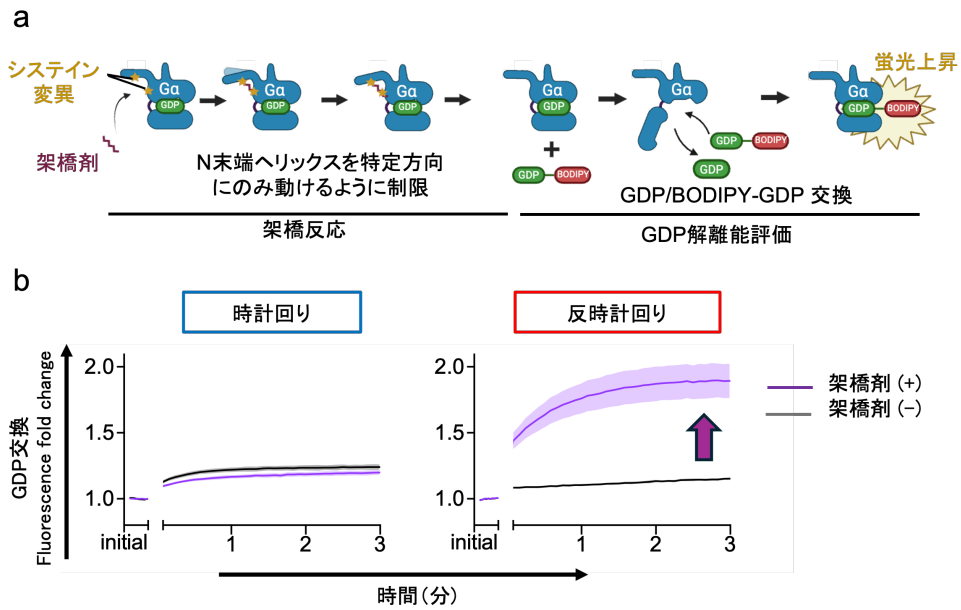


図 7. 架橋剤を用いた Gα タンパク質における GDP 解離能の評価

a. 架橋反応と GDP 解離能評価の実験手順。N 末端ヘリックスに架橋剤を結合させたのち、蛍光標識された GDP を添加した。元々Gα タンパク質に結合していた GDP が外れた後に、蛍光標識 GDP が結合することで生じる蛍光上昇を指標として、GDP 交換を評価した。

b. 蛍光強度の時系列変化。反時計回りに架橋する条件で、架橋剤添加により GDP 交換が促進した。

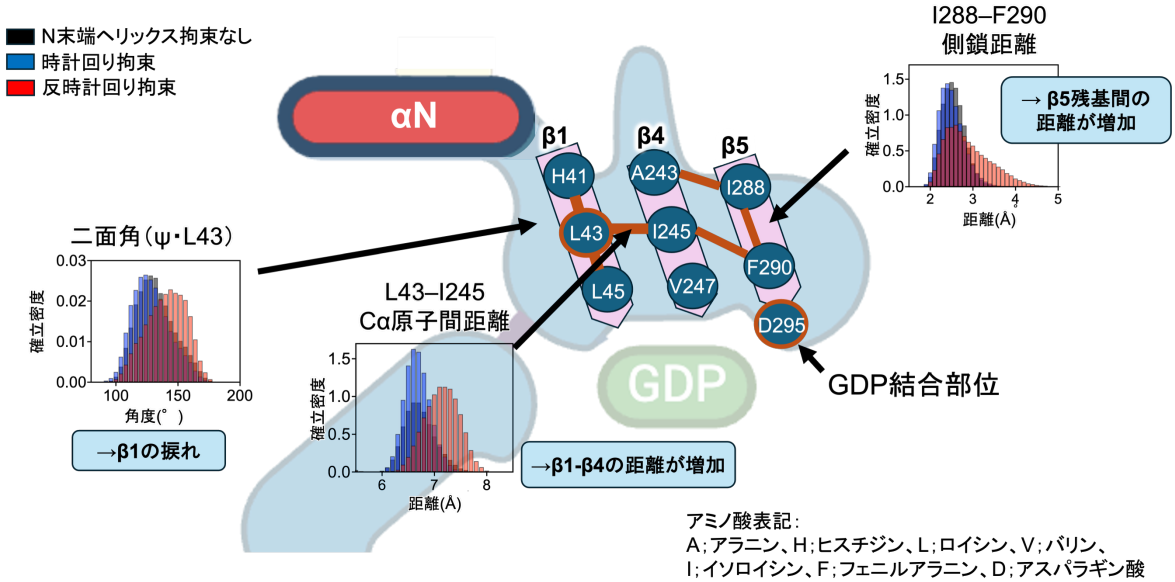


図 8. 分子動力学シミュレーションの詳細解析による構造変化

β シートの二面角や、β シートを構成する残基間の距離の分布が、他の条件と比較し、反時計回りの拘束条件で異なる傾向を示していることが明らかになった。