

The C-terminal region of BLT2 restricts its localization to the lateral membrane in a LIN7C-dependent manner

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2019-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 原, 琢弥 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002228

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2006 号

C-terminal region of BLT2 restricts its localization at the lateral membrane

(BLT2 の C 末端領域は BLT2 の細胞間接着部位への局在に重要である)

原 琢弥 (はら たくや)

博士 (医学)

論文内容の要旨

BLT (leukotriene B4 receptor) 2 は 12-HHT(ヒドロキシヘプタデカトリエン酸)を生体内リガントとする G タンパク質共役型 7 回膜貫通型受容体であり、主に上皮細胞に発現し、上皮バリア機能を亢進する作用が報告されている。BLT2 のユニークな特徴として細胞間接着部位に局在することが挙げられるが、BLT2 が細胞間接着部位に局在する分子機構や、その局在が生理機能に与える影響については不明であった。

BLT2 を細胞間接着部位に局在させるドメインを同定するため、BLT2 と相同性を持ち、かつ形質膜全体に発現する BLT1 とのキメラ受容体の発現ベクターを作製し、細胞内局在を調べた。BLT1 の N 末端領域と BLT2 の C 末端領域を持つキメラ受容体 (BLT(1-1-2), BLT(1-2-2)) は BLT2 と同様に細胞間接着部位に局在した。さらに BLT1 の 7 番目の膜貫通領域(TM7)以降の細胞質領域を BLT2 と組換えたキメラ受容体 (BLT(1-1-1-2)) も同様に細胞間接着部位に局在した。また、BLT2 の helix8 以降の欠失変異受容体 (BLT2 (310)) はゴルジ体への局在を示した。このことから BLT2 の TM7 以降の細胞質領域がゴルジ体からの輸送と細胞間接着部位への局在に重要であると考えられた。

一方で、野生型 BLT2 の安定過剰発現細胞では上皮バリア機能が亢進することが報告されているため、細胞間電気抵抗値(transsepithelial electric resistance, TER)を指標にバリア機能を評価した。野生型 BLT2 と同様、BLT(1-2-2)の発現細胞では TER の増加が観察されたが、BLT(1-2-1)や BLT(1-1-2)の発現細胞では TER の増加は認められなかった。このことから、TER の増加には BLT2 の TM3 から C 末端までの領域が重要であることが明らかとなった。

次に BLT2 が細胞間接着部位へ局在するのに関わるタンパク質を探索するため、BLT キメラ受容体と APEX (ascorbate peroxidase) 2 の融合タンパク質を発現させ、ビオチン化を指標に BLT2 と相互作用するタンパク質を解析した。細胞間接着部位に局在する BLT2-APEX2 および BLT(1-1-1-2)-APEX2 では、アクチン関連タンパク質、細胞接着関連タンパク質、細胞内輸送関連タンパク質が同定され、BLT2 の細胞間接着部位局在への関与が示唆された。