

溶液 NMR と蛍光分光法で評価したエクソソームの膜動態

○安田智一¹、渡辺宏史¹、村田道雄^{1,2}、花島慎弥¹

¹大阪大学大学院理学研究科化学専攻

²大阪大学大学院理学研究科 基礎理学プロジェクト研究センター
生体分子機能解析プロジェクト

エクソソームは脂質二重膜で構成され、スフィンゴミエリンやスフィンゴ糖脂質、コレステロールのような細胞膜上の機能性ドメインに豊富に存在する脂質分子に富むことが報告されている[1]。一般に、細胞膜を構成する脂質の組成や表裏層の分布の違いは、生体膜の物性を調節し、脂質ラフトのようなドメイン構造の形成を介してタンパク質など機能性分子の活性を制御している。しかしながら、エクソソームの機能と膜動態の関係はほとんど明らかにされていない。そこで、我々が得意とする NMR や蛍光分光法などを用いて、エクソソーム膜の構造やダイナミクスといった膜動態を解明することで、エクソソーム機能と膜脂質の関係を明らかにすることを目的とした。

蛍光プローブをエクソソームに導入し、蛍光スペクトルや蛍光異方性を測定することで、膜流動性を評価した。そして、多様な脂質組成・100 nm サイズで調製したリポソームでも同様の測定を行い、エクソソームの結果と比較することで、エクソソームの膜構造を推定した。また、これまでエクソソーム膜は、細胞膜と同様に、脂質組成が外葉と内葉で非対称性を示すといわれてきた。しかしながら、それらは脂質組成を用いた MD 計算や、結合タンパク質を修飾させる分析法などによって間接的または定性的に調べられたもので、定量的な脂質の分布情報は直接得られていない。そこで、溶液 NMR を用いて、脂質由来のシグナルを直接観測することで、コリンを持つリン脂質 (PC や SM など) の内外葉の分布を調べた。また、膜の外葉に存在する PE とのみ選択的に修飾する化合物とエクソソームを反応させる方法によって、PE の内外葉への分配比を見積もった。さらに、エクソソーム膜の脂質組成についても、NMR 等によって定性・定量的に分析したので合わせて報告する。

参考文献：

[1] Skotland, T.; Sandvig, K.; Llorente, A. *Prog. Lipid Res.* 2017, 66, 30-41.

研究業績リスト

I 査読論文

Amphotericin B-Ergosterol Complex Spans a Lipid Bilayer as a Single-Length Assembly.
Tomoya Yamamoto, Yuichi Umegawa, Hiroshi Tsuchikawa, Shinya Hanashima, Nobuaki
Matsumori, Kosuke Funahashi, Sangjae Seo, Wataru Shinoda, Michio Murata.

Biochemistry 58 (2019), 5188 – 5196.

DOI: 10.1021/acs.biochem.9b00835

II 国際会議等における発表

該当なし

III 国内会議等における発表

該当なし

IV 著書

該当なし

V 受賞と知的財産

該当なし

VI その他研究業績、発表文献

該当なし