

細胞内 1 分子イメージング法の自動化と細胞膜機能解析

安田智一・植浦大貴・梅川雄一・花島慎弥・村田道雄

スフィンゴ脂質の 1 種であるセラミド 1-リン酸 (C1P、図 1) は細胞質型ホスホリパーゼ A₂ (cPLA₂α) の C2 ドメインと特異的に結合することで、細胞膜上のリン脂質からアラキドン酸を切り出す活性を促進している。その活性は C1P の濃度やカルシウムイオン (Ca²⁺) 依存的に促進されることが知られている[1,2]。そのため、脂質膜において Ca²⁺が C1P の集合状態 (ドメイン) に及ぼす特異的な動態変化が、cPLA₂α を分子認識するのに重要な寄与をしていると考えた。本研究では、生体モデル膜における C1P の膜動態を精密に解析することで、cPLA₂α による C1P 認識機構を解明した。

蛍光プローブである *trans*-パリナリン酸 (tPA) を用いた蛍光寿命測定によって、Ca²⁺や pH、膜構成脂質によって膜環境を変化させた際に生じる C1P ドメインの膜動態の違いを詳細に評価した。その結果、C1P 濃度変化に対する tPA 平均蛍光寿命の増加量が膜構成脂質によって異なることが明らかとなった (図 2)。これは、DOPC 膜では、その不飽和アシル鎖によって C1P 分子間の相互作用が促進され、C1P ドメイン形成能が高くなったと推定される。一方、POPC/コレステロール (Cho) 膜では、小さな頭部基を持つ C1P と Cho の親和性が低く C1P 分子間の相互作用が妨害されるため、C1P ドメイン形成能が低くなったと推定される。

次に、表面プラズモン共鳴 (SPR) 法を行い、cPLA₂α との結合親和性を測定した。C1P 含有・非含有膜の解離定数 (K_D) 比を比較した結果、C1P ドメイン形成能が高い膜環境であるほど cPLA₂α との結合親和性が高くなることが示された (図 3)。したがって、C1P の特異的な膜動態が、cPLA₂α の分子認識に C1P が果たす重要な機能になっていると考えられる。

参考文献：

- [1] Pettsu, J. *et al*, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 11320-11326.
 [2] Subramanian, P. *et al*, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 17601-17607.

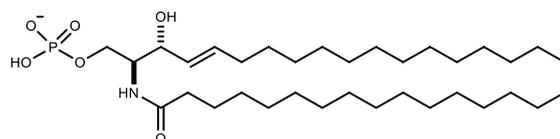


図 1 セラミド 1-リン酸 (C1P)

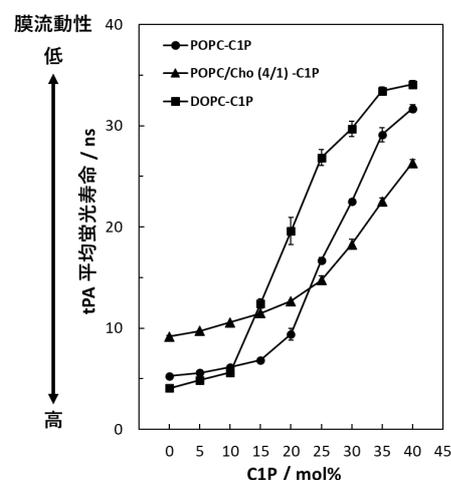


図 2 膜構成脂質による C1P ドメイン形成能の変化

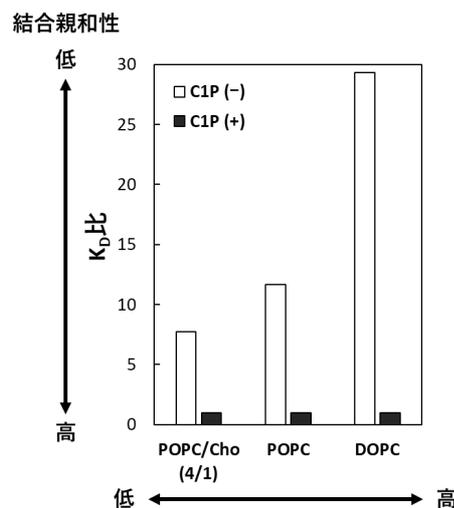


図 3 C1P-cPLA₂α 結合親和性の比較 (各 C1P 含有膜の K_D を 1 とした時の比)

研究業績リスト

I 査読論文

Amphotericin B Assembles into Seven-Molecule Ion Channels in Membrane Domain

Yuichi Umegawa, Tomoya Yamamoto, Mayank Dixit, Kosuke Funahashi, Sangjae Seo, Yasuo Nakagawa, Taiga Suzuki, Shigeru Matsuoka, Hiroshi Tsuchikawa, Shinya Hanashima, Tohru Oishi, Nobuaki Matsumori, Wataru Shinoda, Michio Murata

ChemRxiv, 2022

DOI:10.33774/chemrxiv-2021-46790-v2

II 国際会議等における発表

Phospholipid nanodomains mainly constitute liquid-ordered phase in cholesterol-containing membranes

Michio Murata, Yo Yano, Yuichi Umegawa, Shinya Hanashima

Pacificchem 2020

2021年12月16-21日

online

Trends in bioorganic chemistry inspired by natural products, gift from Koji Nakanishi

Michio Murata

Pacificchem 2020

2021年12月16-21日

online

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