

(様式 1-2)

提出日：2021 年 4 月 28 日

2020 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	種々のエクソソーム膜を構成する微量なリン脂質分子種の同定と半定量的な解析		
研究代表者	氏名	花島 慎弥	
	所属機関名・部局名	大阪大学大学院・理学研究科	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	宮ノ入 洋平		
<p>100 <math>\mu\text{m}</math> 程度の微小な小胞であるエクソソームは、ガンの特定位点への転移に関与するなど近年、大きな注目を集めている。エクソソームなどの微小な小胞を包む膜には、スフィンゴミエリンやスフィンゴ糖脂質、コレステロールといった細胞膜に存在する脂質ラフトを構成する脂質分子種が豊富に含まれている。しかしながら、その詳細な膜構造に関しては、内葉と外葉を構成する脂質の組成に細胞膜のような非対称性があるのか、脂質ラフトのような機能ドメインを有するかどうか等々、よくわかっていない。そこで、生体由来の微小小胞ならびに人工の微小リポソームの脂質膜を構成する脂質分子を高感度 NMR を用いて膜破壊をとまなうことなく直接観測して、脂質分子の種類と表裏の膜の脂質組成を調べた。</p> <p>今年度は固体 NMR を用いたエクソソーム膜表裏の脂質分子の検出を検討した。まずは、リポソームを用いて 8 kHz または 12 kHz 程度のマジック角回転(MAS)条件下で <math>^1\text{H}</math> NMR 測定することで、エクソソーム膜中のスフィンゴミエリンやホスファチジルコリンの頭部トリメチルアンモニウム基由来のシグナルが観測できた。ここにランタノイドシフト試薬を加えることで外葉由来のシグナルに選択的に化学シフト変化を誘起し、内外葉由来の NMR シグナルを区別して観測できた。この手法をエクソソームに適用することで、エクソソーム膜の内外葉由来の脂質信号の区別ができた。得られたシグナル強度を定量することで、表裏のコリン基を有する脂質分子の割合を定量できる。</p> <p>エクソソーム膜に enrich される糖脂質分子コレステリルグルコシドの脂質間相互作用を固体 NMR などを用いて解析した。コレステロールはグルコース修飾を受けると、スフィンゴミエリンとの相互作用が低下し、脂質ラフトを不安定化することが示唆された。この分子メカニズムは、グルコース修飾によりステロール環が膜法線に平行に近づくことでスフィンゴミエリン炭化水素鎖との疎水的相互作用が低下するとともに、スフィンゴミエリンのアミドを介した水素結合ネットワークと近い深度に親水性のグルコース部位が存在することで、このネットワークを乱すことであつた。この成果をまとめて論文発表した。</p>			