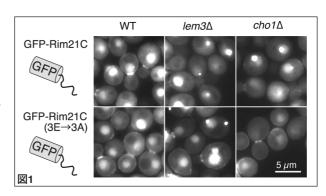
## 平成 25 年度「地神芳文記念研究助成」 成果報告要旨

研究題目:脂質非対称センサーの解剖

研究者:小原 圭介

所属:北海道大学大学院薬学研究院

細胞膜の脂質二重層では、内層(細胞質側)と外層(細胞外側)で脂質組成が大きく異なっている。例えば、ホスファチジルセリン(PS)はほとんどが内層に存在し、複合スフィンゴ脂質は外層に多い。この様な「脂質非対称」の適切な維持・



制御は、膜電位形成、極性形成、小胞輸送、アポトーシス細胞の除去など様々な過程に関わ り、その部分的な破綻でさえ様々な疾患をもたらす。私達はこれまでに、脂質非対称の乱れ を Rim101 経路が感知する事を見出し、そのセンサータンパク質として Rim21 を同定した。 さらに、Rim21のC末端領域(Rim21C)にセンサーモチーフが存在する事も示唆している。 そこで、本研究では Rim21C の網羅的変異解析を行い、センサーモチーフの絞り込みを行っ た。Rim21C が荷電アミノ酸残基に非常に富んでいたので、まずは荷電アミノ酸残基に対する Ala スキャンを行った。その結果、Rim21C内のN末端側に位置する3つのGlu 残基がRim21 の機能に必須であることを見出した。そこで、その 3 つの Glu を Ala に置換した Rim21C (Rim21C (3E→3A)) 部分と GFP を融合したタンパク質の局在を酵母細胞内で観察した。通 常の GFP-Rim21C は、これまでの結果通り、野生株では細胞膜に結合し、脂質非対称が乱れ た lem3Δ株では細胞膜から完全に遊離しており、脂質非対称の変化を感知して反応 (細胞膜 からの遊離) する事が出来た (図 1)。しかし、Rim21C (3E→3A) は lem3∆株でも細胞膜に 結合したままであり、脂質非対称の変化を感知出来なくなっていた。この事から、この3つ の Glu 残基がセンサーモチーフ、あるいはその一部である事が示唆された。そこで周辺領域 の変異解析を進めたところ、近傍にある GluArgLysGluGlu という配列も脂質非対称センシン グに関与する事が明らかになり、「GluArgLysGluGlu による細胞膜への親和性」と「3 つの Glu 残基による細胞膜からの反発力」のバランスによって脂質非対称が感知されている様子が浮 かび上がってきた。

その一方で、Rim21 が感知する脂質分子種の絞り込みも行った。細胞膜内層に多い PS が全く存在しない  $cho1\Delta$ 株では、GFP-Rim21C は細胞膜から遊離した(図 1)。しかし、Rim21C(3E  $\rightarrow$ 3A)は細胞膜に結合したままであった。この事から、3 つの Glu 残基が少なくとも細胞膜内層の PS の有無を見分けている事が示唆された。