

## 研究題目 脂質動態を制御するタンパク質の同定

### 研究組織

研究代表者：鈴木 淳（京都大学高等研究院 物質 - 細胞統合システム拠点）

共同研究者：小迫英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

### 【1】研究の概要

#### [1-1] 本研究の目的・概要

細胞膜を構成するリン脂質は非対称性を有しており、生体内における様々な条件下においてその非対称性は崩壊し、これにより細胞外へ種々のシグナルを伝達していると考えられている。我々はこれまでにこの脂質動態を制御するタンパク質を複数同定してきた (Suzuki et al., 2010 Nature, Suzuki et al., 2013 JBC, Suzuki et al., 2014 JBC, Suzuki et al., 2016 PNAS)。2017年に鈴木が京都大学で研究室を主宰してからは、cDNA library screening や CRISPR/Cas9 sgRNA library screening を組み合わせることで世界に先駆けて新しい脂質動態制御タンパク質を同定することに成功している (Maruoka et al., unpublished results)。これらの新しいタンパク質のサブユニット、活性化因子を同定する過程で小迫英尊教授との共同研究を開始した。本研究では、脂質動態制御タンパク質のサブユニット、活性化因子等をプロテオーム解析により同定することで細胞膜構成脂質の動態を起点としたシグナル機構を解明し、生物学・医学の発展に寄与することを目的とする。

#### [1-2] 研究の方法・経過

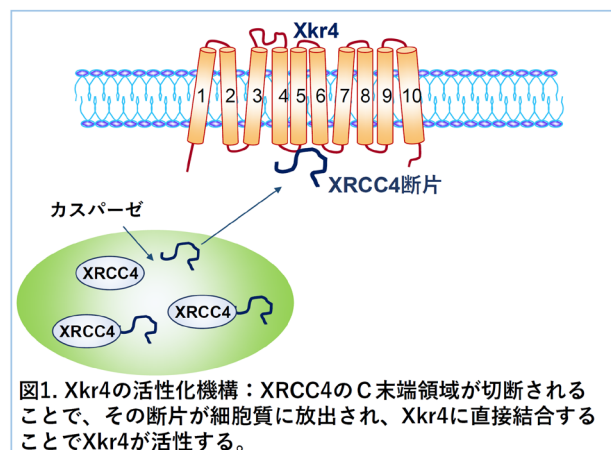
細胞膜スクランブラーゼ Xkr4 の C 末端に SPOT-tag を付加したコンストラクトレンチウイルスを用いて細胞に発現させる。細胞にスタウロsporin を用いてアポトーシスを誘導後、界面活性剤を用いて膜画分を可溶化し、SPOT を認識する Nanobody が結合した Magnet beads を用いて Xkr4 複合体を免疫沈降する。その後、タンパク質を消化した後、質量分析により解析し、Xkr4

複合体に含まれるタンパク質を同定する。

### 【2】研究成果

#### [2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

CRISPR スクリーニングによって同定した Xkr4 の活性化因子 XRCC4 が Xkr4 と直接結合することで Xkr4 を活性化することが明らかとなった (図 1)。特に、カスパーゼによって切断された Xkr4 の C 末端の断片が Xkr4 と結合することが分かった。XRCC4 の C 末端の断片は天然非変性領域から成っており、本来、DNA 修復に関わる XRCC4 を不活性化すると思われていたカスパーゼによる切断により XRCC4 が異なる機能を獲得することは意外な発見であった。



#### [2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本研究により、DNA 修復に関わる XRCC4 のカスパーゼによる切断によって生成された断片が Xkr4 を直接活性化することが分かった。驚くことに、DNA 修復に関わる多くのタンパク質

(BRCA1, Ku80, MLH1, DNA-PK 等) もカスパーゼによる切断を受けることが分かっている。この切断の意味は、それらを不活性化することとして捉えられてきたが、XRCC4 のように新たな機能を獲得する可能性も考えて今後、新しい研究がすすめられることが期待される。

### 【3】主な発表論文等

#### [3-1]論文発表

1. Caspase cleavage releases a nuclear protein fragment that stimulates phospholipid scrambling at the plasma membrane. Maruoka M, Zhang P, Mori H, Imanishi E, Packwood DM, Harada H, Kosako H, Suzuki J. Mol Cell. 2021 Apr 1;81(7):1397-1410. e9. doi: 10.1016/j.molcel.2021.02.025.
2. Regulation of phospholipid dynamics in brain. Maruoka M, Suzuki J. Neurosci Res. 2021 Jan 18:S0168-0102(21)00007-9. doi: 10.1016/j.neures.

#### [3-2]学会発表

2020年11月14日 1<sup>st</sup> Cell Death Colloquium  
On line ZOOM  
2021年2月5日 徳島大学先端酵素学研究所  
共同利用・共同研究拠点 成果報告会 On line  
ZOOM  
2021年3月4日 生体膜上の生物化学 大阪  
大学タンパク質研究所 On line ZOOM

#### [3-3]成果資料等

iCeMS プレスリリース

<https://www.icems.kyoto-u.ac.jp/news/3946/>

AMED プレスリリース

<https://www.amed.go.jp/news/seika/kenkyu/20210331.html>

### 【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

現在、異なるスクランブラーゼの活性化因子、調節因子のスクリーニングも進め、既にいくつかの興味深い因子を同定している。今後、それらのタンパク質の複合体の解析を進めることで、どのようなスクランブラーゼの活性化が制御されているのかを明らかにしたい。