

研究題目 細胞膜におけるリン脂質の非対称分布とその崩壊

研究組織

研究代表者：長田重一（大阪大学・免疫学フロンティア研究センター）

共同研究者：小迫英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：瀬川勝盛（大阪大学・免疫学フロンティア研究センター）

櫻木崇晴（大阪大学・免疫学フロンティア研究センター）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

動物の細胞膜は脂質二重層から成り立っているが、それを構成するリン脂質は外膜と内膜で非対称的に分布している。この非対称的分布は、アポトーシスを起こした細胞や、活性化された血小板等において崩壊する。私達は最近、細胞膜の非対称性の維持、崩壊に關与する3種の膜タンパク質を世界に先駆けて同定した。本研究はこれら分子の構造、作用機構を明らかにすることを目的としている。

[1-2]研究の方法・経過

Xkr family に属する膜タンパク質(Xkr4, Xkr8 およびXkr9)はアポトーシス時にカスパーゼによって活性化され、スクランブラーゼとして作用する (Suzuki et al. Science 2013, J. Biol. Chem. 2014)。一方、マウス Ba/F3 細胞でマウス Xkr8 やXkr9 を発現させるとカスパーゼ刺激によらない構成的な活性化が認められる。この活性化はキナーゼの阻害剤で抑制され、フォスファターゼの阻害剤で活性化されることから、Xkr8 やXkr9 のスクランブラーゼ活性はリン酸化によって制御される可能性が考えられた。実際、昨年度の本共同研究においてマウス Xkr8 のC-末端領域に存在する3個の Threonine/Serine 残基がリン酸化されることを見出した。これらの残基がリン酸化されない変異体を作成すると、スクランブラーゼ活性は抑制され、リン酸化を mimic する変異体を作成すると構成的な活性を示した。そこで本年度はマウス Xkr9 のリン酸化部位を同定することを目的とした。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

Flag-が付加されたマウス Xkr9 を発現する Ba/F3 を phosphatase の阻害分子 Caliculin A で処理すると Xkr9 によるリン脂質スクランブラーゼ活性が増加することから、Caliculin A で処理した細胞より抗 Flag 抗体を用いて Xkr9 を精製、LC-MS/MS 法を用いてそのリン酸化部位を決定した。数カ所の残基が同定されたがその変異体は Xkr9 のスクランブラーゼ活性に影響を与えず、他の残基あるいは Xkr9 に会合している他のタンパク質がリン酸化される可能性が指摘された。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

Xkr8 は Basigin/Neuroplastin と呼ばれる Immunoglobulin superfamily に属するタンパク質と複合体を形成している。Xkr9 も何らかのタンパク質と複合体を形成している可能性が考えられるが未だ同定されていない。今回、リン酸化によって活性化される Xkr9 にリン酸化部位を同定できなかったことはこの分子のスクランブラーゼ活性に必要な他の分子がリン酸化される可能性を強く示唆している。

【3】主な発表論文等

なし

【4】今後の課題等

マウス Xkr9 が他のタンパク質と複合体を形成している可能性が指摘されたことから、その partner の同定が課題である。また、最近私達はヒト Xkr8 の三次構造を決定した。今後はこの構造をもとに Cross-linking 法などにより、このタンパク質がリン酸化やカスパーゼによる切断で起こる構造変化を明らかにする必要がある。