

「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」  
平成26年度採択研究代表者

H27 年度  
実績報告書

長田 重一

国立大学法人大阪大学免疫学フロンティア研究センター  
寄附研究部門教授

細胞膜におけるリン脂質の非対称分布とその崩壊

## § 1. 研究実施体制

### (1) 長田グループ

- ① 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・寄附研究部門教授)
- ② 研究項目
  - ・細胞膜におけるリン脂質の非対称分布とその崩壊

### (2) 阿部グループ

- ① 主たる共同研究者: 阿部 一啓 (名古屋大学細胞生理学研究センター・准教授)
- ② 研究項目
  - ・フリッパーゼ ATP11C の構造解析

## § 2. 研究実施の概要

細胞膜は内膜と外膜2層から成り立っているが、その構成成分であるリン脂質の分布は、内膜と外膜で異なっている。フォスファチジルコリンやスフィンゴミエリンは主に外膜に、フォスファチジルセリン (PtdSer) やフォスファチジルエタノールアミンはそのほとんどが内膜に局在する。このリン脂質の非対称性は種々の生物学的プロセスで崩壊する。すなわち、細胞がアポトーシスに陥ると PtdSer が細胞表面に暴露され、これが貪食細胞に対して“eat me” シグナルとして作用する。私達はこれまでアポトーシス時に PtdSer が暴露される機構を解析してきた。その過程で、ATP11C と CDC50A 複合体をリン脂質の非対称性分布の維持に関与しているフリッパーゼ、TMEM16F 及び Xkr 8 をその崩壊に関与しているスクランブラーゼとして同定した。TMEM16F は  $\text{Ca}^{2+}$ によって、Xkr8 はカスパーゼによって活性化されるスクランブラーゼである。そこで本研究はこれら分子による細胞膜の非対称性維持の分子機構、それを崩壊させる分子機構を明らかにしようとするものである。

### (1) P4-タイプ ATPase

14 種存在する P4 タイプ ATPase それぞれを ATP11C 欠損細胞に導入、ATP11C の欠損によるフリッパーゼ活性を相補できるかどうか検討した。また、それぞれの分子と GFP との融合タンパク質を作製、これら ATPase の細胞における局在を検討した。その結果、ATP11C 以外に2種(ATP11A 及び ATP8A2)の P4-ATPase が細胞膜に局在、フリッパーゼ活性を示すことを見いだした。

### (2) $\text{Ca}^{2+}$ 依存性スクランブラーゼ

TMEM16 ファミリーのタンパク質は  $\text{Ca}^{2+}$  に依存してリン脂質をスクランブルするあるいはイオンチャネルとして作用すると考えられるがこの分子単独で活性を持つか、他の分子を必要とするか不明であった。私達は TMEM16F や 16K には他の分子が会合していないこと、 $\text{Ca}^{2+}$ はこれら分子に直接結合し、分子を安定化することを見出した。また、TMEM16E は小胞体膜に存在し、小胞体膜上でリン脂質スクランブラーゼとして機能する可能性を指摘した。

代表的な発表原著論文

Gyobu, S., Miyata, H., Ikawa, M., Yamazaki, D., Takeshima, H., Suzuki, J. and Nagata, S.: A role of TMEM16E carrying a scrambling domain in sperm motility. *Mol. Cell Biol.*, 36: 645-659, 2015

Segawa, K., and Kurata, S. and Nagata, S.: Human Type IV P-type ATPases That Work as Plasma Membrane Phospholipid Flippases and Their Regulation by Caspase and Calcium. *J. Biol. Chem.*, 291: 762-772, 2016

Ishihara, K., Suzuki, J. and Nagata, S.: A Role of  $\text{Ca}^{2+}$  in the Stability and Function of TMEM16F and 16K. *Biochemistry*, in press.