

細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の
創出

2018年度採択研究代表者

2020年度 年次報告書

鈴木 健一

岐阜大学 糖鎖生命コア研究所

教授

高精度 1 分子観察によるエクソソーム膜動態の解明

§ 1. 研究成果の概要

がん細胞由来の細胞外小胞(エクソソーム)は、将来の転移先の細胞に取り込まれた後に、がん細胞が転移しやすい環境を形成すると言われている。エクソソームと標的細胞との結合には、インテグリンと細胞外マトリックスが関与する場合が多く、エクソソーム膜上のインテグリンの種類が、標的細胞を決めると報告されている。一方、エクソソーム膜には、ラフト脂質、特に糖脂質ガングリオシドが濃縮されると報告されている。ガングリオシドはインテグリン活性を制御することが知られているが、標的細胞上でのエクソソームに関する分子レベルの機構は不明である。本研究では、エクソソームの機能は、糖鎖とラフトにより制御されるという仮説に基づき、エクソソームと標的細胞の結合、取り込み機構、取り込み後のエクソソーム由来分子の機能発現を解明する。

今年度、鈴木 G は、超解像・1分子観察顕微鏡と独自に開発した解析法により、がん細胞由来エクソソーム中の subtype の存在やエクソソームの標的細胞による取り込み経路の普遍性を検証した。異なるがん細胞由来エクソソームでも subtype は存在し、標的細胞を変えても、取り込み経路は大きくは変わらなかった。また、安藤 G が開発した光反応性基を結合させたガングリオシド蛍光プローブを用いた実験により、細胞膜でもエクソソーム膜でも GM3 がインテグリン beta1 とシアル酸を介して相互作用することを明らかにした。花島 G は、固体 NMR 解析と蛍光寿命測定により、エクソソーム膜には表裏非対称性がある程度維持されていること、エクソソームにはラフト様ドメインが存在することを見出した。また、木塚 G は、エクソソーム膜中のインテグリン beta1 の N 型糖鎖には、高分岐型が多く、シアル酸含有量も多いことを見出した。また、エクソソームマーカーを含まない細胞外小胞中には、高分岐型 N 型糖鎖の合成酵素が豊富に存在することも明らかにした。

§ 2. 研究実施体制

(1) 鈴木グループ

① 研究代表者: 鈴木 健一 (岐阜大学糖鎖生命コア研究所糖鎖分子科学研究センター 教授)

② 研究項目

- ・高精度 1 分子イメージングによるエクソソームの結合・取り込み機構の解明
- ・エクソソーム膜物性のイメージング

(2) 「安藤」グループ

① 主たる共同研究者: 安藤 弘宗 (岐阜大学糖鎖生命コア研究所糖鎖分子科学研究センター 教授)

② 研究項目

- ・脂質・糖脂質プローブの合成

(3) 「花島」グループ

①主たる共同研究者:花島 慎弥 (大阪大学大学院理学研究科化学専攻 准教授)

② 研究項目

•エクソソーム膜脂質の NMR 解析

(4)「木塚」グループ

①主たる共同研究者:木塚 康彦 (岐阜大学糖鎖生命コア研究所糖鎖分子科学研究センター 准教授)

② 研究項目

•エクソソーム膜上の N 型糖鎖の Glycomics と糖鎖構造の改変技術の開発

【代表的な原著論文情報】

- 1) "Efficient diversification of GM3 gangliosides via late-stage sialylation and dynamic glycan structural studies with ^{19}F solid-state NMR". Takahashi, M., Shirasaki, J., Komura, N., Sasaki, K., Tanaka, H. N., Imamura, A., Ishida, H., Hanashima, S., Murata, M., Ando, H.* Organic & Biomolecular Chemistry, vol. 18, No. 15, pp. 2902–2913, 2020.
- 2) "The SH3 domain in the fucosyltransferase FUT8 controls FUT8 activity and localization and is essential for core fucosylation". Tomida, S., Takata, M., Hirata, T., Nagae, M., Nakano, M., Kizuka, Y.* J. Biol. Chem., vol. 295, No. 23, pp. 7992–8004, 2020.
- 3) "Development of fluorescent ganglioside GD3 and GQ1b analogs for elucidation of raft-associated interactions". Konishi, M., Komura, N., Hirose, Y., Suganuma, Y., Tanaka, H. N., Imamura, A., Ishida, H., Suzuki, K. G. N.*, Ando, H.* Journal of Organic Chemistry, vol. 85, No. 24, pp. 15998–16013, 2020.
- 4) " β -Glucosylation of cholesterol reduces sterol-sphingomyelin interactions." Hanashima, S.*, Fukuda, N., Malabed, R., Murata, M., Kinoshita, M., Greimel, P., Hirabayashi, Y. Biochimica et Biophysica Acta. Biomembranes, vol. 1863, No. 2, 183496, 2020.
- 5) "Stereoselective Synthesis of Diglycosyl Diacylglycerols with Glycosyl Donors Bearing a β -Stereodirecting 2,3-Naphthalenedimethyl Protecting Group". Yagami, N., Vibhute, A. M. Tanaka, H. N. Komura, N., Imamura, A., Ishida, H., Ando, H.* Journal of Organic Chemistry, vol. 85, No. 24, 16166–16181, 2020.