

細胞の動的・高次構造体
2020年度採択研究代表者

2022年度
年次報告書

土谷 正樹

京都大学 大学院工学研究科
助教(青藍プログラム)

ゲノムレベルで細胞内脂質ダイナミクスを解明するラベル化戦略

研究成果の概要

昨年度において、ヒト細胞の主要なリン脂質分子ホスファチジルコリン(PC)を標的として、オルガネラレベルでの PC の細胞内空間分布情報に基づいた遺伝子スクリーニング法を開発し、実証していた。本年度では、この研究過程で見つかった FLVCR1 について、詳細の特性解析を実施した。アルファフォールドを用いた立体構造予測計算から、FLVCR1 は物質の細胞膜通過を促進する MFS 型 12 回膜貫通型トランスポーター構造をとることが推測された。FLVCR1 はヘムと呼ばれる代謝物を細胞膜の内から外へと排出する役割があるとこれまで考えられてきたが、真の役割については、近年、議論が巻き起こっていた。そこで、本研究では、アジドコリンの細胞内取り込みをフローサイトメトリーで定量解析する系で、コリン関連誘導体及びヘム関連誘導体について競合阻害実験を実施した。その結果、アジドコリン取り込みは、一部のコリン関連誘導体で阻害され、ヘム関連誘導体では顕著な阻害が認められなかった。また、ヒトの遺伝性神経疾患の原因となる C192R (192 番目のシステインがアルギニンに変化)および A241T (241 番目のアラニンがスレオニンに変化)の FLVCR1 を発現する細胞では、アジドコリン取り込み活性をほとんど示さなかった。これらの変異アミノ酸は膜貫通ヘリックスに位置し、MFS 型トランスポーターは物質輸送の過程でダイナミックに構造変化することを踏まえると、疾患型変異により構造変化が妨げられコリン輸送が損なわれる可能性が考えられた。これら一連の解析によって、FLVCR1 は細胞膜の外側から内側へとコリンを輸送する新規コリントランスポーターであることが判明した。この知見を含む PC 代謝の遺伝子スクリーニングに関する内容を Cell Metabolism に報告した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Organelle-selective click labeling coupled with flow cytometry allows high-throughput CRISPR screening of genes involved in phosphatidylcholine metabolism”, Cell Metabolism, vol. 35, pp.1072-1083, 2023