蛍光スフィンゴ脂質プローブを用いたモデル膜中でのスフィンゴ脂質ドメイン構造の FRET 解析

（阪大院理[1]・岐阜大 G-CHAIN[2]）○友田 千尋[1]・矢野 陽[1]・花島 慎弥[1]・河村 奈緒子[2]・安藤弘宗[2]・村田 道雄[1]・Erwin London[3]

FRET analysis for the sphingolipid domains in model bilayer membranes using the fluorescent sphingolipid probes ([1]*Graduate School of Science, Osaka University*, [2]*G-CHAIN, Gifu University,* [3]*Dept. Biochem. Cell Biol., Stony Brook University*) ○Tomota Chihiro[1], Yo Yano[1], Shinya Hanashima[1], Naoko Komura[2], Hiromune Ando[2], Michio Murata[1], Erwin London[3]

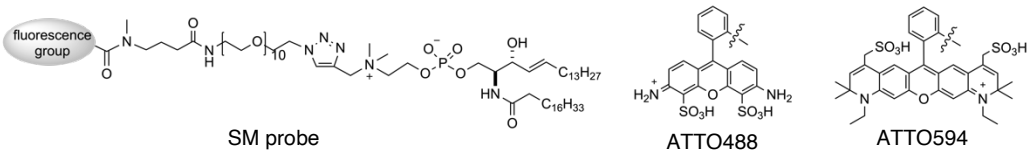
Nano-sized domains composed of sphingomyelin (SM) and cholesterol (Cho) occurring in plasma membranes play vital roles in the cellular functions. We previously performed Förster resonance energy transfer (FRET) experiments using the fluorescent SM probes to find the SM nano-subdomains in the liquid ordered (Lo) domain in phase separated ternary membranes.

Here, we performed FRET experiments in the presence of ganglioside GM1 to the ternary membranes to clarify the effect for the Lo domain using fluorescent lipid pairs including ATTO-labeled sphingolipids with changing the ratio of GM1/SM and temperature. The differences in FRET efficiencies (F/F_0) indicated that SM in Lo phase increased to form more stable domains by addition of a few percent of GM1. In contrast, the larger amount of GM1 leads to a decrease in lipid ordering of the domain by dispersion of SM-rich nanodomains.

Keywords : Lipid Nanodomain; FRET; Sphingomyelin; Ganglioside GM1

細胞膜上に存在する機能性ドメインは生物機能に関係し、スフィンゴミエリン(SM)およびコレステロール(Cho)を主要脂質として構成される。当研究室においてもドメイン形成に重要である SM 間相互作用の解析を進めており、蛍光標識 SM を用いた蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)実験により、SM, dioleoylphosphatidylcholine (DOPC), Cho からなる相分離モデル膜の秩序液体(Lo)相中にナノメートルスケールの SM ゲルドメインが存在することを明らかにした[1)]。

本研究では、SM と同じくセラミド鎖を有するガングリオシド GM1 が同様の脂質組成の相分離系へ与える影響について、FRET 法により詳細に解析した。SM の挙動を再現できる蛍光プローブ・488neg-SSM をドナー脂質に、Lo 相と Ld 相(Lo 以外の液晶相)それぞれに局在するアクセプター脂質として 594neg-SSM、TX-red-DPPE を FRET ペアとして選択し、FRET 効率の違いより脂質分子の局在の程度を見積もった。その結果、数%と少量の GM1 が SM の凝集状態を高め、オーダーが高く安定なドメインを形成する一方で、それを超える濃度の GM1 は SM の凝集状態を解消し、オーダーの低いドメインの形成を促進することが示唆された。



1) Yano,Y. *et al*, *Biophys. J.* **2020**, *119*, 539-552.

© The Chemical Society of Japan