

生体環境における脂質と膜活性分子の構造と機能の解明

(阪大院理) ○村田道雄

Structures and Functions of Lipids and Membrane-active Molecules in Biological Environments

(Graduate School of Science, Osaka University) Michio Murata

The structure and dynamics of lipids in biological membranes have been regarded as the last frontier of life science since the membrane lipids and fatty acids are representative endogenous substances that do not have a clear conformation. That is, we aimed to precisely analyze the conformations and intermolecular interactions of highly flexible biomolecules by using solid-state NMR under the biological environments. The correlation between structure and function of the lipids was examined by semiquantitative treatment of ensembles of rapidly changing conformations. An overview of major research results will be presented.

Keywords : Lipid bilayers; solid-state NMR; Lipid rafts; sphingomyelin.

生物機能を有する生体分子、特に、低分子有機化合物の化学構造の研究には古い歴史があるが、現在でもその重要性は失われていない。分析手法の進歩に伴って構造解析の対象が、溶液や結晶から脂質二重膜や分子会合体に拡大し、立体配座や動態の解析が可能になってきた。特に、生命科学の最後のフロンティアとも云える生体膜での脂質の構造についても、固体 NMR を用いて原子レベルでの解明が進んでいる。

1. モデル膜におけるラフト脂質の立体配座

生体膜における脂質の構造と機能については、近年、学際的研究が盛んに行われている。特に脂質ラフトは、膜脂質の相分離によって生じる微小で短寿命のドメインであり、細胞間情報伝達を司るプラットフォームとして注目を集めている。真核生物の生体膜は数千種の脂質から構成され、さらに膜脂質とタンパク質が相互作用する複雑な分子集合体であり、その解析的究明は非常に困難である。一方で、原子・分子レベルの研究では、この複雑性を回避するために脂質組成を単純化したモデル膜を用いることが多い。我々はこの脂質ラフトの難問を解くために、モデル膜を用いて生体膜脂質本来の構造と相互作用を解明することを試みた。すなわち、モデル膜を用いて生体膜で脂質分子が形成する自己会合体を再現すること、また、極性頭部、中間極性部、炭化水素鎖の各部分について立体配座と動態を精密に解明することを試みた。例えば、化学合成によって脂肪鎖部分の各メチレン基を位置特異的に重水素標識し、固体 NMR によって二重膜中の脂質の揺らぎと配向を綿密に調べた。その結果、典型的ラフト脂質であるスフィンゴミエリンのみが密に充填されたクラスターが、コレステロールの存在時に生じることを実験的に明らかにし、細胞膜上の脂質ラフト形成に関する長年の疑問に答えることができた。

2. 古細菌膜の高熱・高塩濃度耐性を司る枝分かれ脂質の立体配座と平均配向

古細菌膜脂質として、好塩菌 *Halobacterium salinarum* のホスファチジルグリセロリ

ン酸メチルエステル (PGP-Me) を取り上げ、そのメチル分岐鎖の平均的な立体配座を明らかにした。メチル分岐の3か所を部分的に重水素化した PGP-Me の固体重水素 NMR を用いて、水和二重層膜中のメチル基とメチレン基の立体配座と平均配向を調べた。この結果と共同研究者による分子動力学シミュレーションを組み合わせることにより、PGP-Me 鎖が典型的な膜脂質とは異なる平均配向を取ることを明らかにした。すなわち、通常のリン脂質ではすべての C-C 結合が膜の法線に対して同じ角度を取ることが多いが、PGP-Me 鎖の C-C 結合は、法線に対して平行または傾斜した配向を交互に取っていた。この古細菌脂質に特徴的な平均配向はメチル分岐鎖の絡み合いを引き起こし、優れた熱安定性と高塩濃度耐性に重要な役割を果たすと考えられる。

3. 脂肪酸と結合タンパク質の相互作用・認識機構

水溶性の低い長鎖脂肪酸を細胞質中ミトコンドリアへ輸送してエネルギー生産に利用するためには、脂肪酸結合タンパク質 (FABP) が必要である。末端カルボキシル基以外は炭化水素鎖からなる脂肪酸の長さを FABP が認識するメカニズムを調べた。この問題を解くために、共同研究者とともに開発した熱量測定法を用いて両者の親和性を総合的に評価し、さらに高分解能結晶 X 線回折によって、FABP の脂質認識機構を精査した。その結果、心筋型 FABP が、ミトコンドリアにおける β 酸化の基質として重要な炭素数 $C_{10} \sim C_{18}$ の脂肪酸を、結合ポケットにおける水クラスターの水分分子数を増減することによって、ほぼ同じ親和性で取り込むことを明らかにした。これらの知見は、タンパク質が鎖長の異なる多様な脂質を認識する一般的機構の解明に役立つ。

4. 生物活性天然物の膜中での自己集合体の構造

我々は、脂質二重膜に結合して生物活性を表す天然有機化合物の構造研究を長年行ってきた。例えば、渦鞭毛藻の抗真菌物質アンフィジノール、抗生物質アンフォテリシン B や植物由来サポニンについて膜中で形成される分子会合体や膜脂質との相互作用を解明した。特に、有機合成と固体 NMR を駆使することによって、アンフォテリシン B の薬理作用を担うイオンチャネル会合体の構造決定に最近成功した事例は特筆に値する。

講演内容に関する総説

モデル膜について: Molecular substructure of the liquid-ordered phase formed by sphingomyelin and cholesterol: Sphingomyelin clusters forming nano-subdomains are a characteristic feature. Murata, M., Matsumori, N., Kinoshita, M., London, E. *Biophysical Reviews* **14**, 655–678 (2022).

脂肪酸と結合タンパク質について: Experimental and theoretical investigations into the mechanism of interactions between membrane-bound fatty acids and FABPs: A model system to investigate the behavior of lipid acyl chains in contact with proteins. Sugiyama, S., Matsuoka, D., Hara, T., Sonoyama, M., Matsuoka, S., Murata, M. *Chem. Phys. Lipids* **247**, 105227 (2022).