

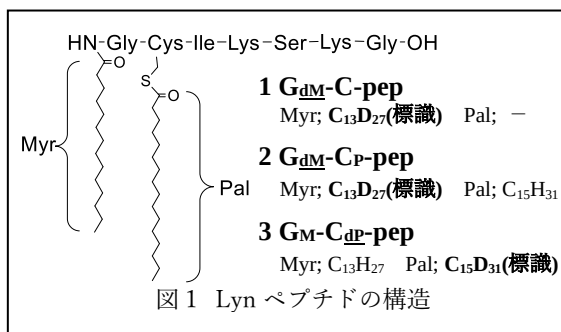
生体モデル膜における Src ファミリーキナーゼ Lyn 脂質アンカー鎖の動態解析

(阪大院理¹・阪大蛋白研²) ○水戸 佳奈子¹・花島 慎弥¹・梅川 雄一¹・村田 道雄¹・北條 裕信²

Lipid-chain dynamics of Src family kinase Lyn in model biomembranes (¹*Graduate School of Science, Osaka University*, ²*Institute for Protein Research, Osaka University*) ○Kanao Mito¹, Shinya Hanashima¹, Yuichi Umegawa¹, Michio Murata¹, Hironobu Hojo²

Lyn, which belongs to the Src family kinase (SKF) family, has two acylation sites at the N-terminal region. The N-myristoylation at the terminal Gly and S-palmitoylation at the adjacent Cys regulate the signal transduction of SFKs localizing in the cytosolic leaflet of the cell membrane [1]. However, the precise membrane function and dynamics of Lyn's two lipid anchors have not yet been elucidated. In this study, we demonstrated significant differences in motility of the lipid anchors depending on the number of the lipid anchors and surrounding lipids in membranes using solid-state NMR. We synthesized three types of N-terminal peptides **1**, **2**, and **3** having deuterated lipid chain(s) (Fig. 1) and incorporated them in the model membranes consisting of POPC or POPC/POPE/POPS. The ²H NMR spectra indicated that the order of the deuterated myristoyl chain in the POPC membrane was higher in S-palmitoyl **2** than in **1**, suggesting S-palmitoylation increased the stability of the myristoyl chain in the membrane. The peptides in POPC/POPE/POPS membranes showed larger quadrupole coupling width than that in the POPC membrane, showing that affinity of the lipid anchor was enhanced in the ternary membranes that mimicked the cytosolic leaflet. *Keywords* : *Src Family Kinase; Lyn; solid-state NMR; ITC*

非貫通型膜タンパク質 Src ファミリーキナーゼ (SKF) のひとつである Lyn は、N末端側に SKF 特有の2つの脂質修飾部位を有する。N末端 Gly の N-ミリスチル化部位と隣接 Cys の S-パルミトイル化部位は、細胞膜内葉へ局在している Lyn のシグナル伝達を制御している^[1]。しかし、SKF の脂質アンカー部位の精密な運動性と生物活性制御機構の関連は未だ解明されていない。本研究では、重水素固体 NMR を用いてペプチド脂質アンカーの膜中での運動性が、ペプチド脂質鎖の数と周辺脂質の種類で大きく異なることを見いだしたので報告する。はじめに3種類の脂質鎖標識ペプチド **1-3** を合成し、POPC 単一成分および内葉構成脂質である POPC/POPE/POPS の3成分からなるモデル膜中での重水素固体 NMR 測定を行った。その結果、POPC 膜中で重水素化ミリスチン酸のオーダーは、S-パルミトイル化によって顕著に高まり、アンカーが2本になることで脂質鎖の膜中での安定性が増大したことを示唆している。さらに3成分膜を用いた系ではすべてのペプチドで POPC 膜中よりアンカーの運動性が抑制され、ペプチドの膜親和性が増大した。



[1] Luc Brunsveld, *et al*, *Biochimica et Biophysica Acta*. **2009**, 1788, 273-288.