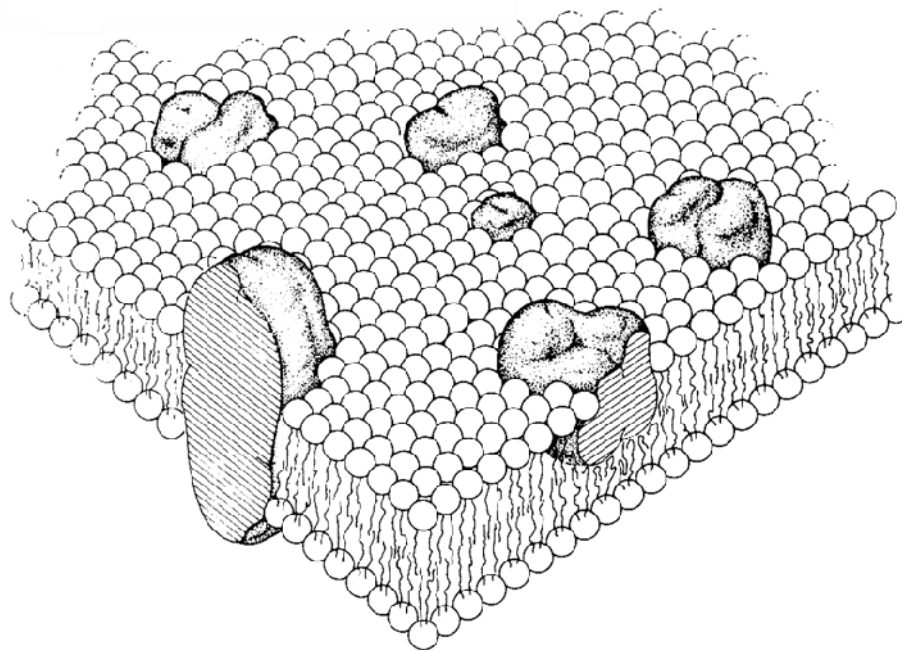
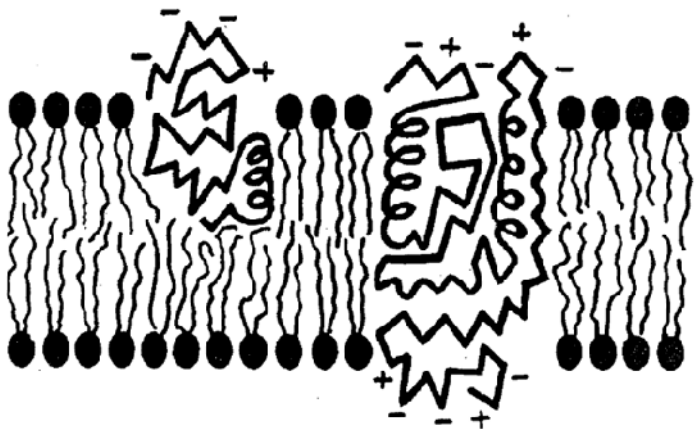


# X線、中性子線を用いた膜脂質ダイナミクスの研究

理化学研究所

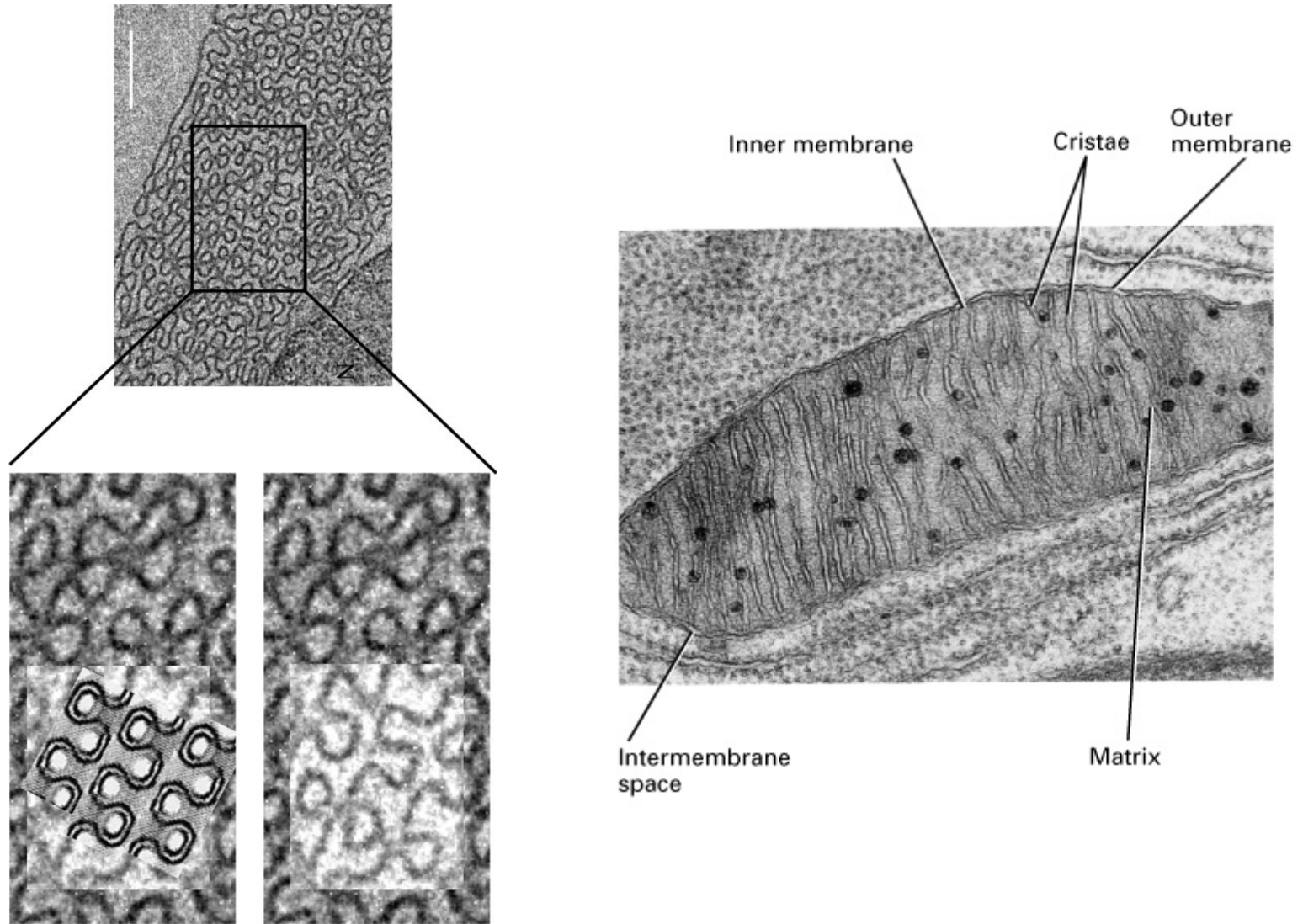
小林 俊秀

kobayasi@riken.jp



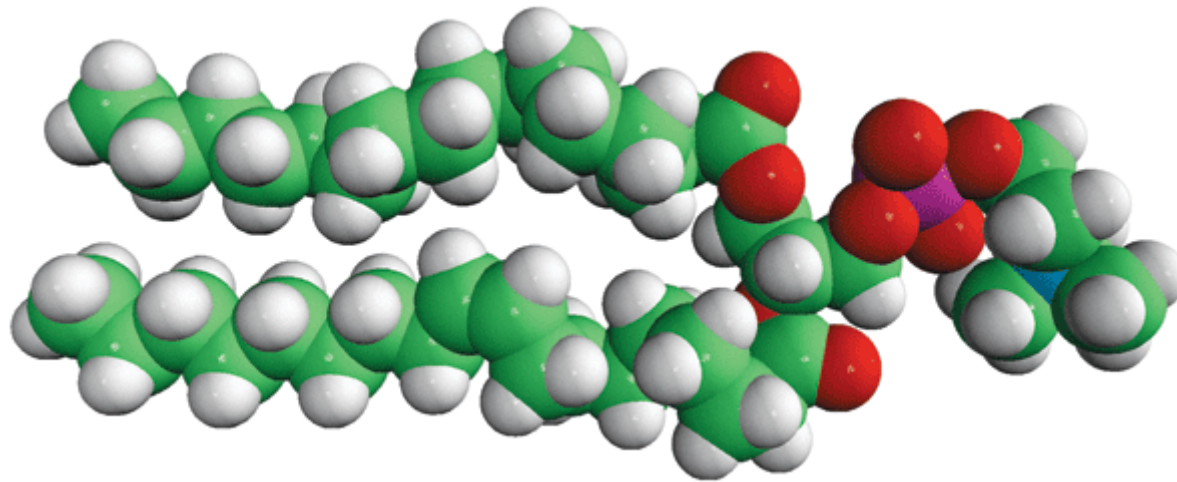
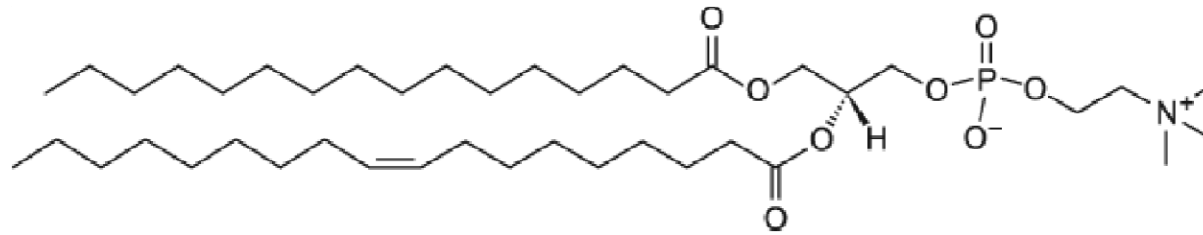
## 流動モザイクモデル (1972)

「細胞膜の基本構造は脂質二重層である」



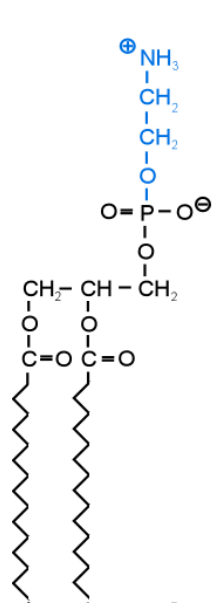
脂質二重層だけですべてが説明できるのだろうか？

# 膜形成脂質

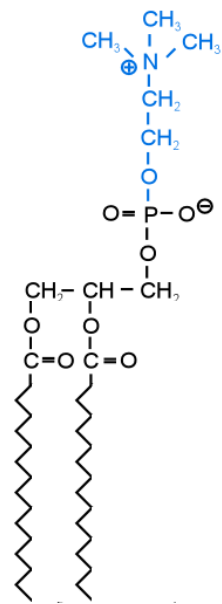


ホスファチジルコリン

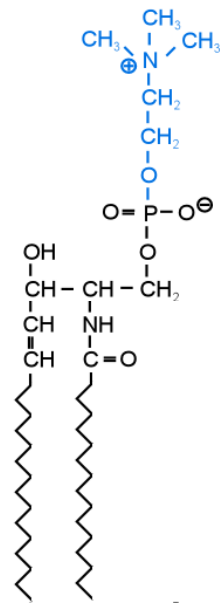
# 膜を作る脂質 (さまざまな極性基)



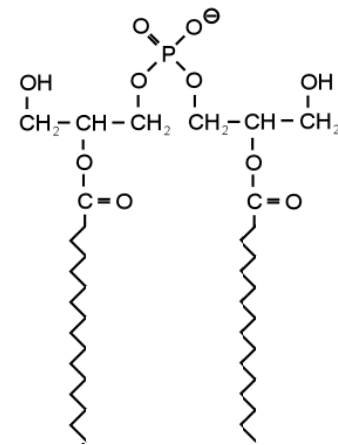
Phosphatidyl-  
ethanolamine



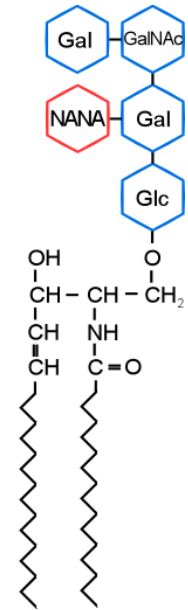
Phosphatidyl-  
choline



Spingomyelin

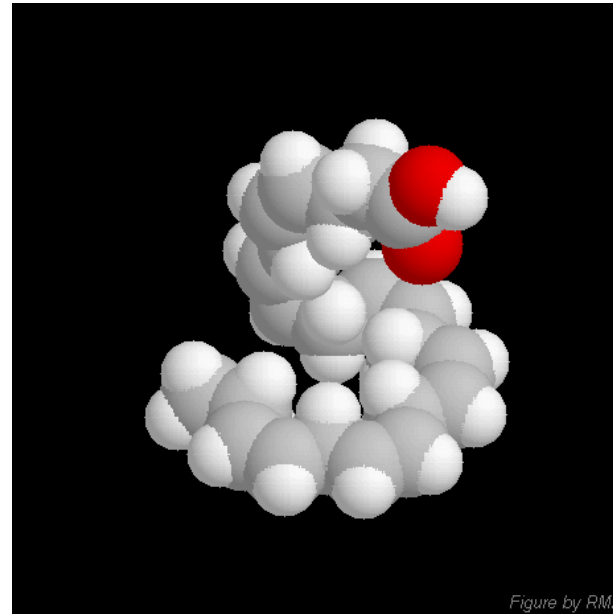
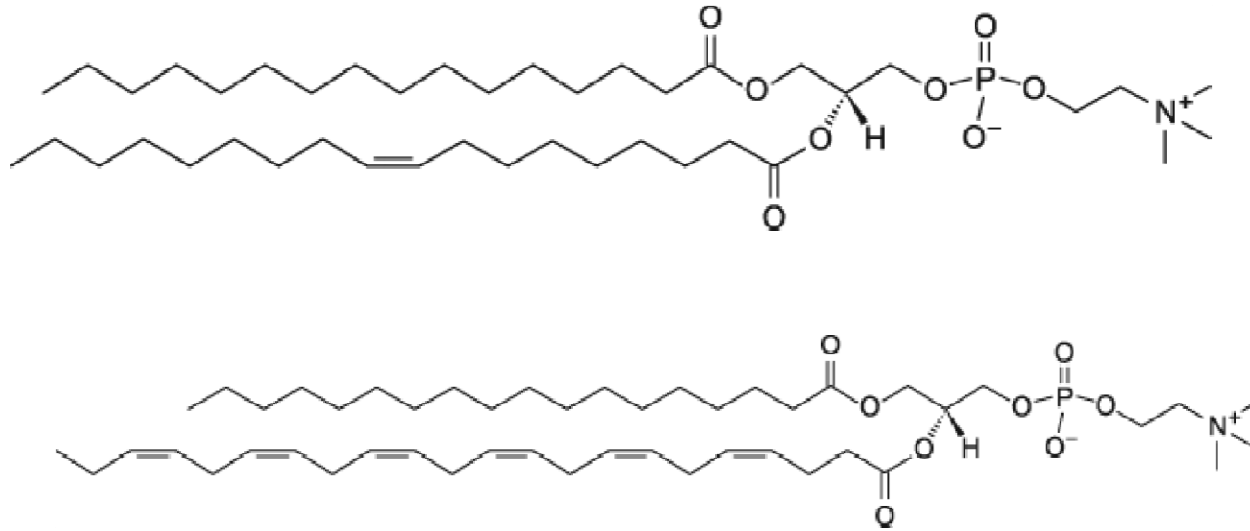


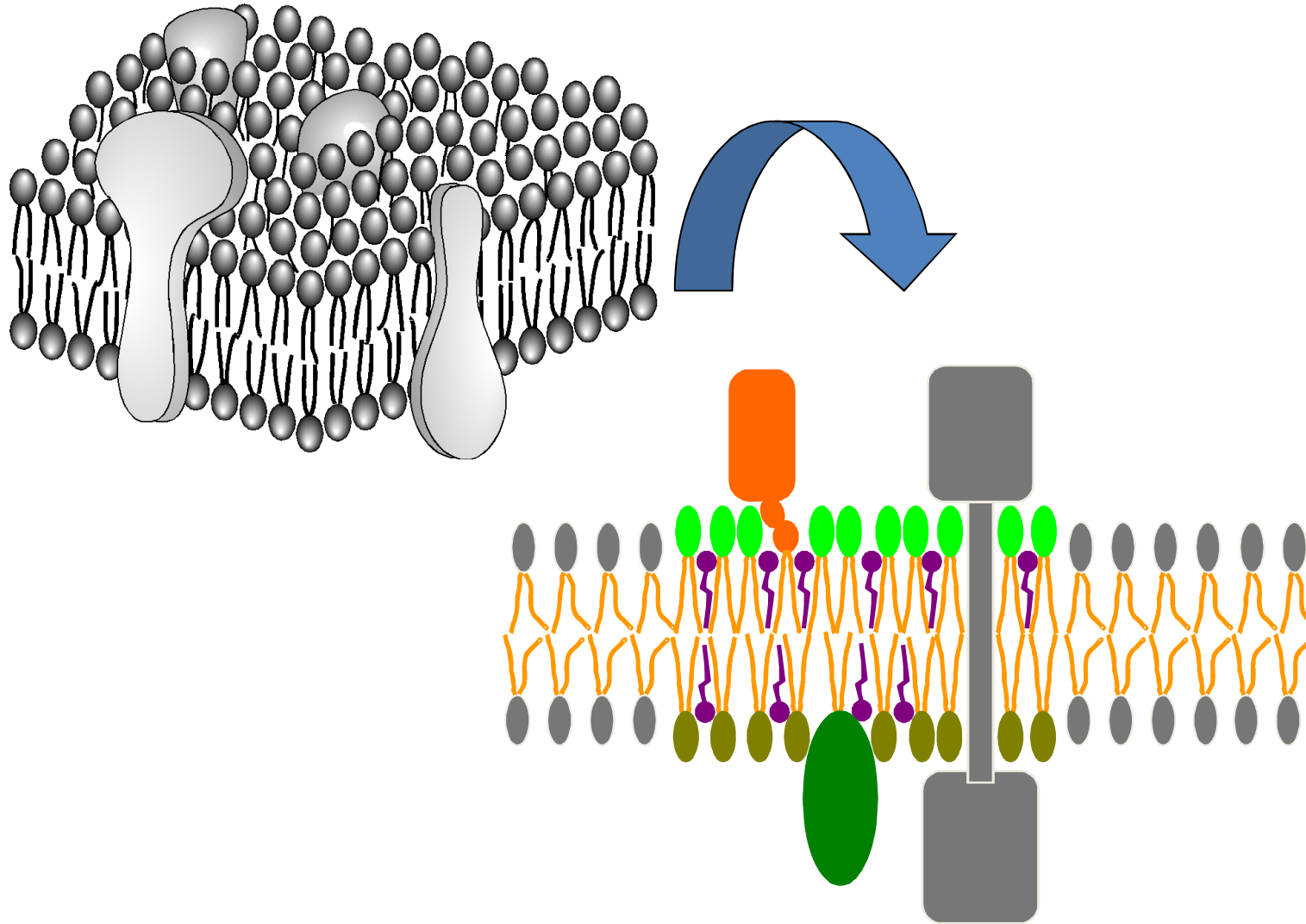
Lysobisphos-  
phatidic acid



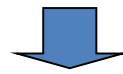
Ganglioside  
(GM1)

# 膜を作る脂質（さまざまな脂肪酸組成）





生体膜の脂質はランダムに分布しているのではない



脂質の分布が膜の機能をコントロールしている？

Plasma membrane

Sphingolipids  
Cholesterol

Phosphatidylethanolamine

Early endosome

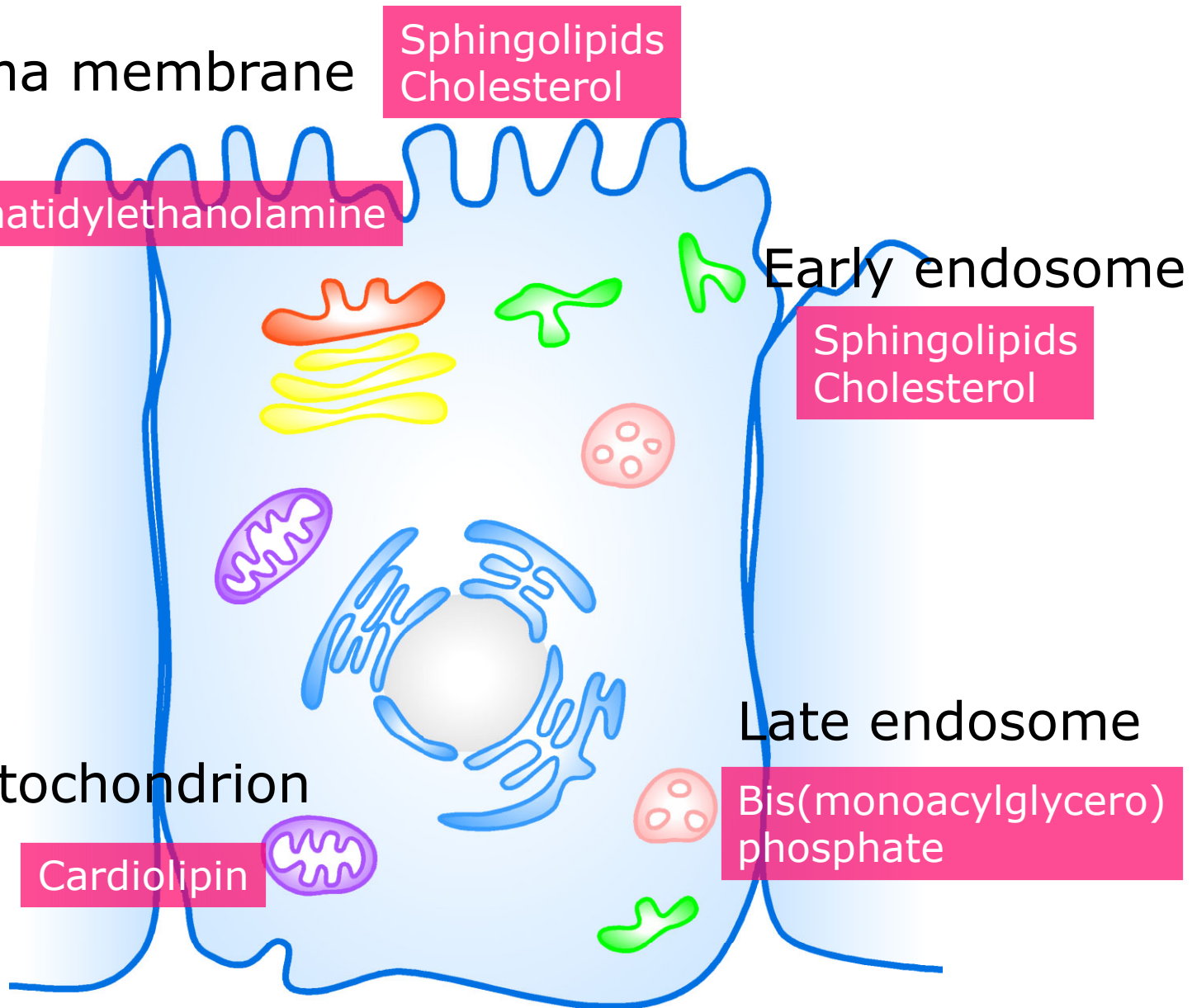
Sphingolipids  
Cholesterol

Late endosome

Bis(monoacylglycero)  
phosphate

Mitochondrion

Cardiolipin





脂質の分布が膜の機能をコントロールしている？

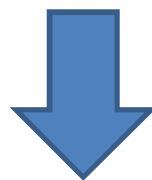


脂質の分布が膜の物性をコントロールしている

脂質の分布が膜のかたちをコントロールしている

(他にもあると思われるが良くわからない)

細胞内で特定の構造を形成する脂質の同定

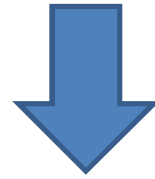


精製した脂質による再構成



X線、中性子線による検証

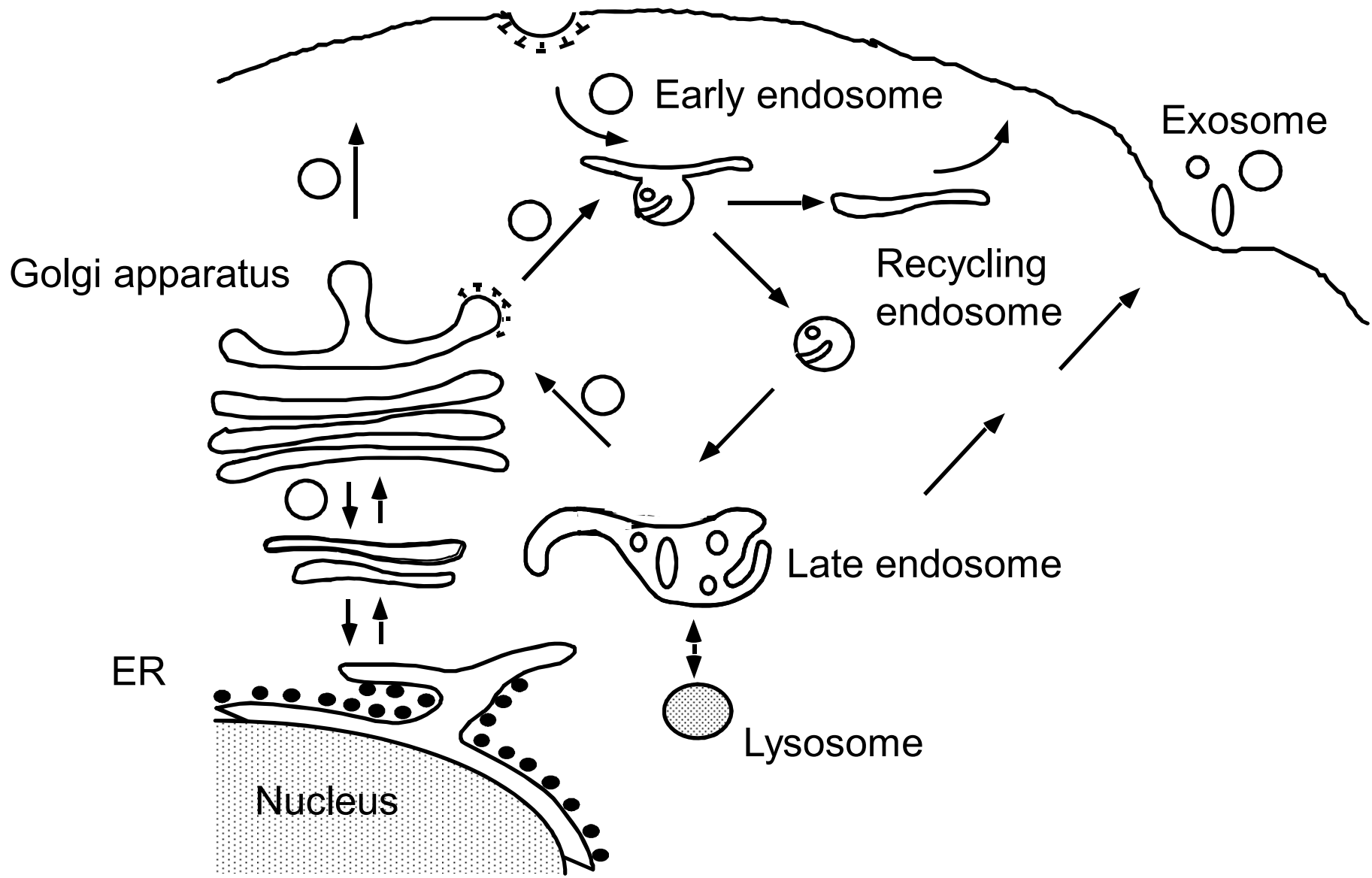
X線による細胞内の特定の構造の検出



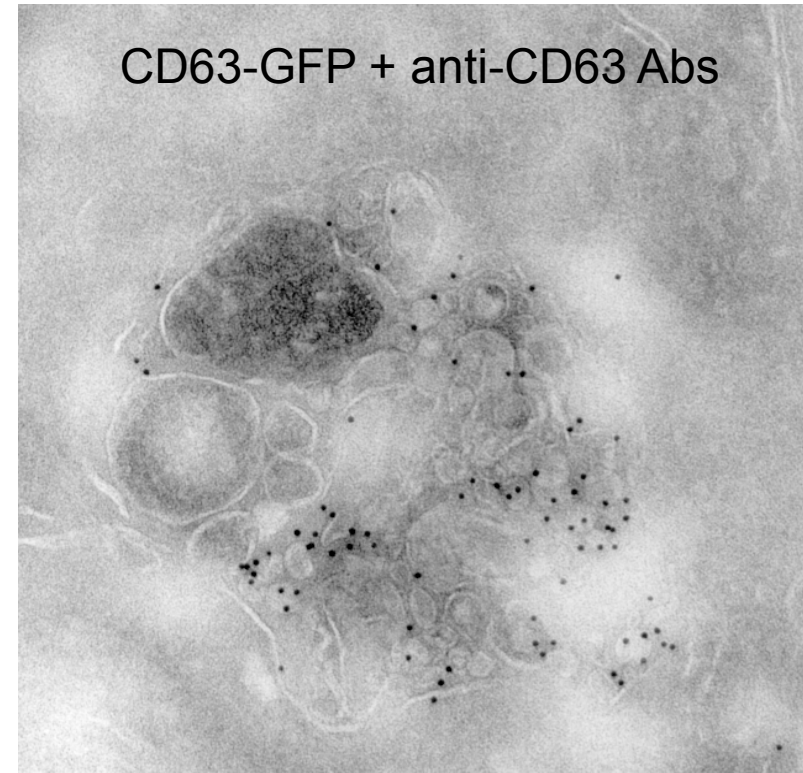
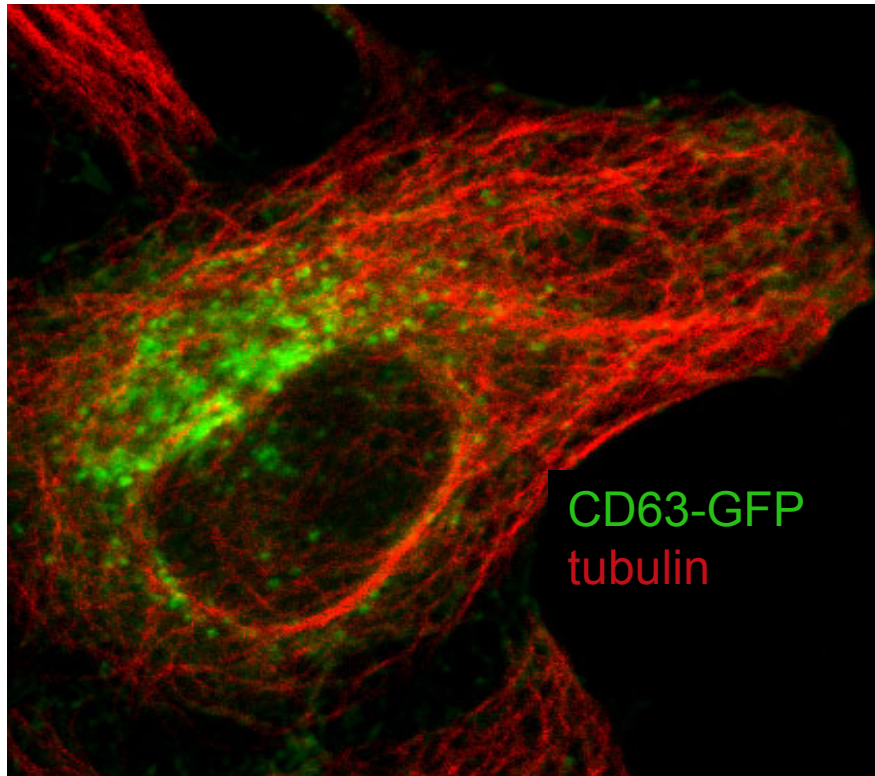
細胞内で特定の構造を形成する脂質の同定



精製した脂質による再構成

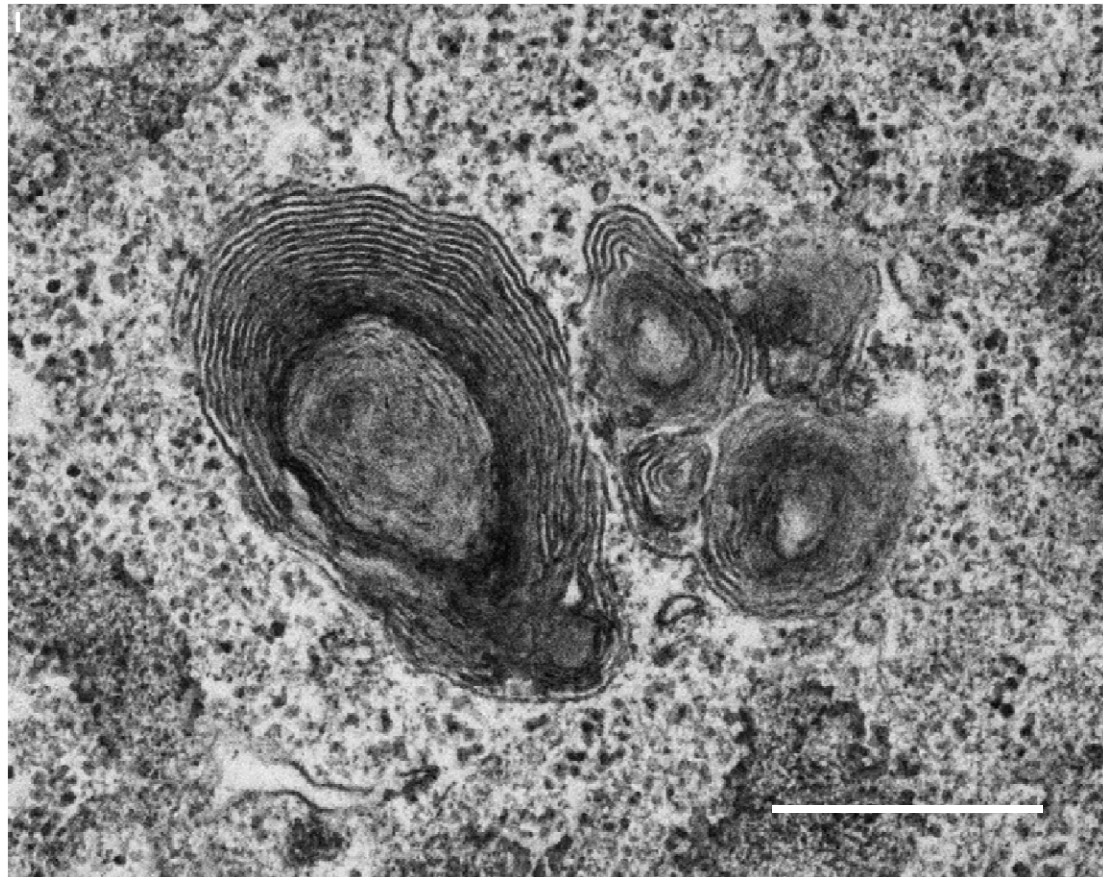
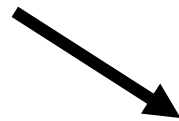
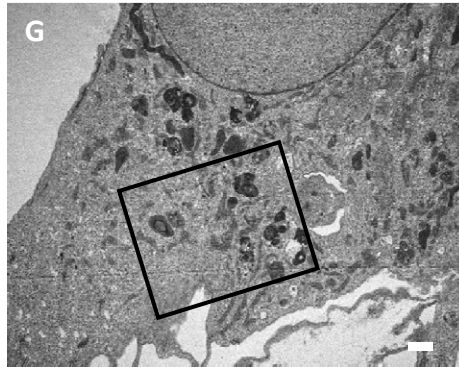


# Structure of late endosome



Kobayashi et al. J. Biol. Chem. 277, 32157(2002)

# リソソーム病における多重膜リソソームの出現

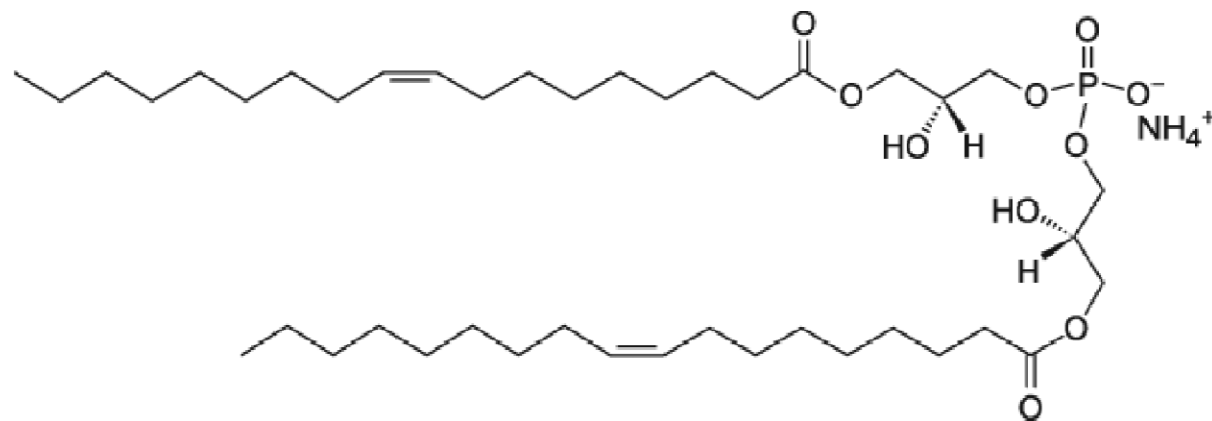
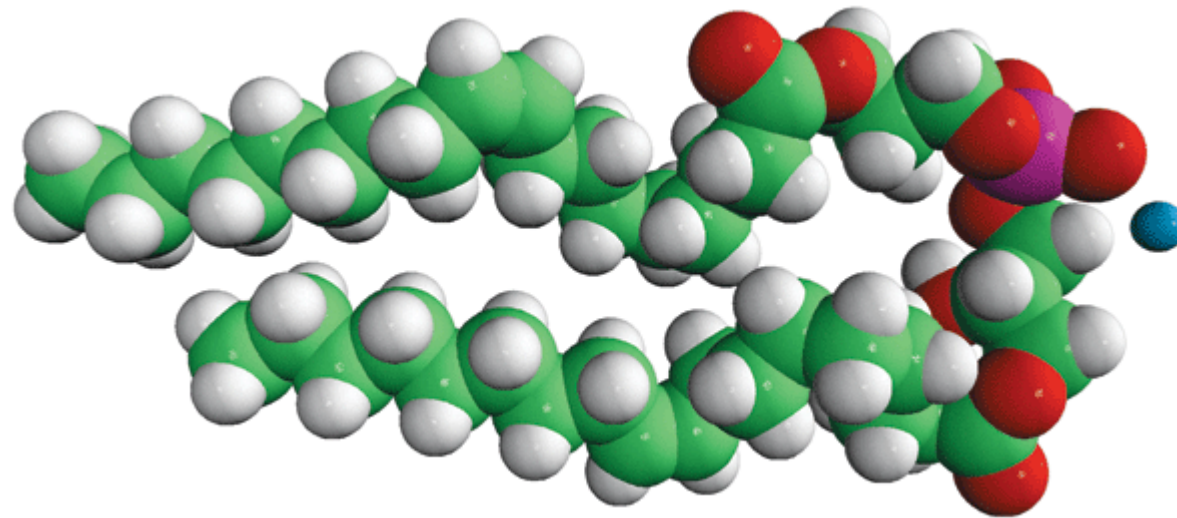


# Lipid composition of various membranes

	Mitochondria, ER	Plasma membranes, Early endosomes	Late endosomes
Phosphatidylcholine	52.9±1.0	47.4±0.3	49.2±1.4
Phosphatidylethanolamine	18.2±3.6	23.2±1.8	18.5±0.4
Sphingomyelin	5.3±0.1	9.0±0.3	3.2±0.3
Phosphatidylserine	5.9±0.2	8.5±0.2	3.9±0.5
Cardiolipin	3.8±0.6	0.2±0.2	0.2±0.1
Phosphatidylinositol	8.6±0.1	8.0±1.0	7.0±0.4
<b>Lysobisphosphatidic acid</b>	<b>0.8±0.4</b>	<b>1.3±0.4</b>	<b>13.8±0.8</b>

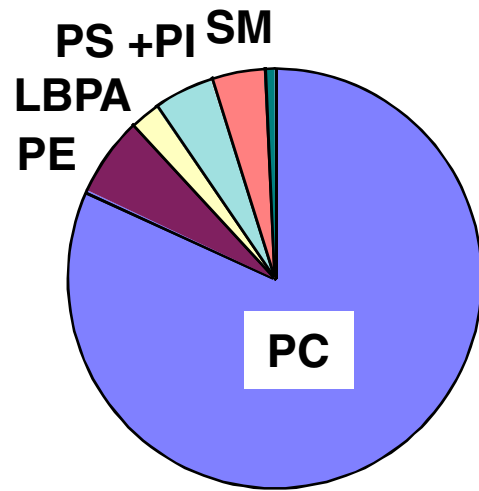
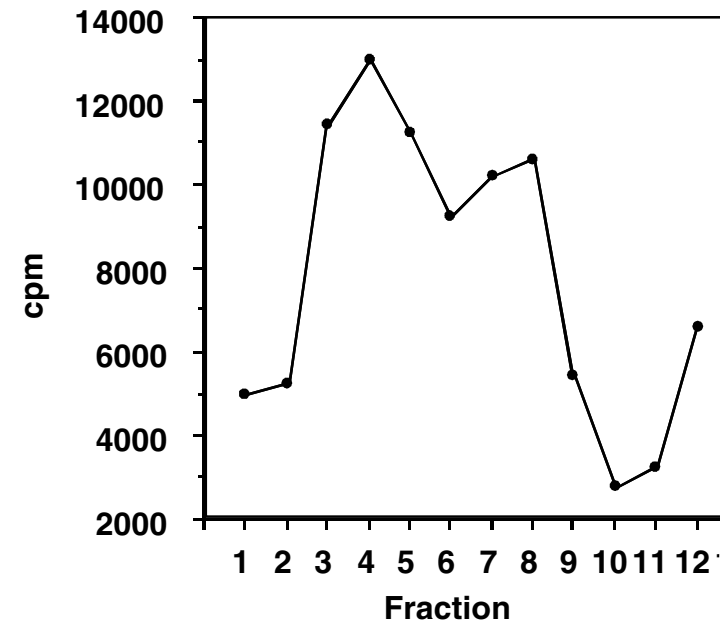
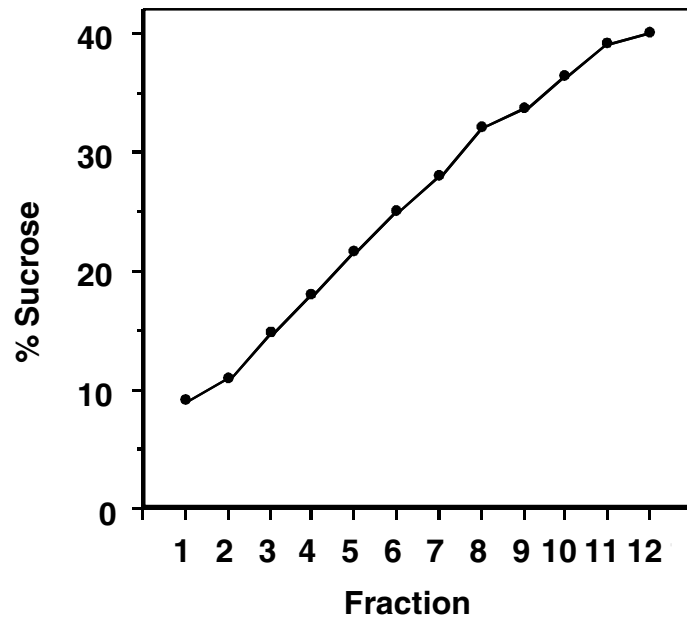
Kobayashi *et al*, Nature 392, 193 (1998)

# ビス(モノアシルグリセロ)リン酸

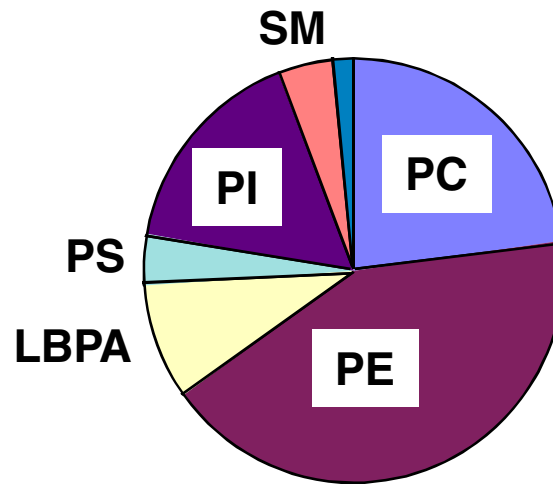




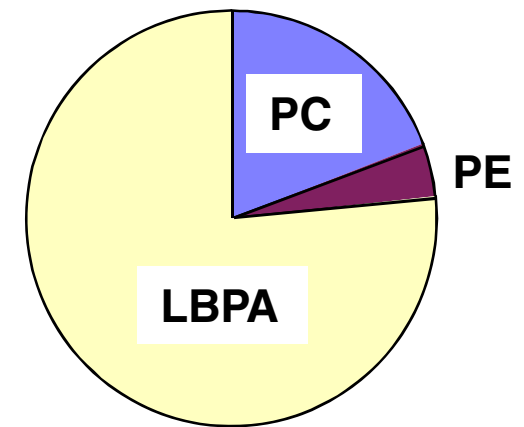
# Fractionation of late endosomes



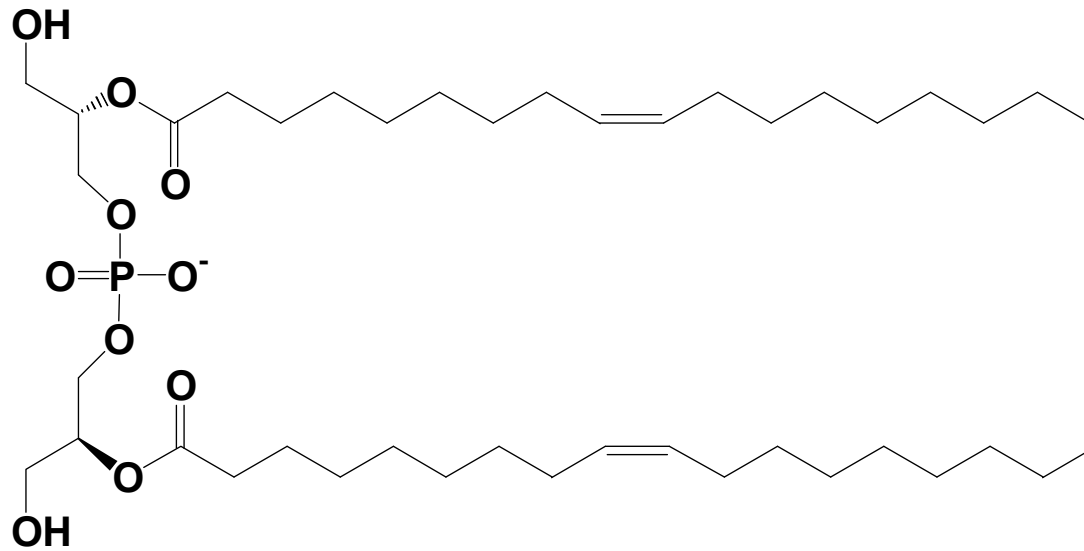
Fraction 5



Fraction 7



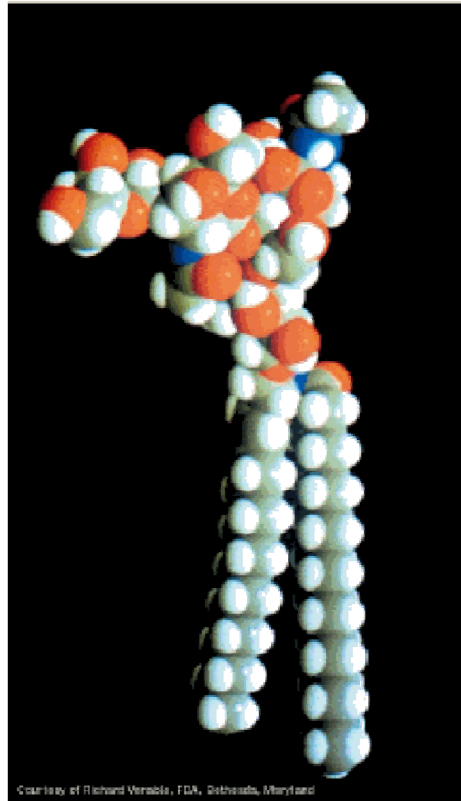
Fraction 12



***sn*-(2-oleoyl-3-hydroxy)-glycerol-1-phospho-*sn*-1'-(2'-oleoyl-3'-hydroxy)-glycerol**

ビス(モノアシルグリセロ)リン酸(BMP)  
リゾビスホスファチジン酸(LBPA)

- ✓ 全リン脂質の1-2 %
- ✓ 後期エンドソームリン脂質の15 %
- ✓ 後期エンドソーム内膜ドメインリン脂質の70 %

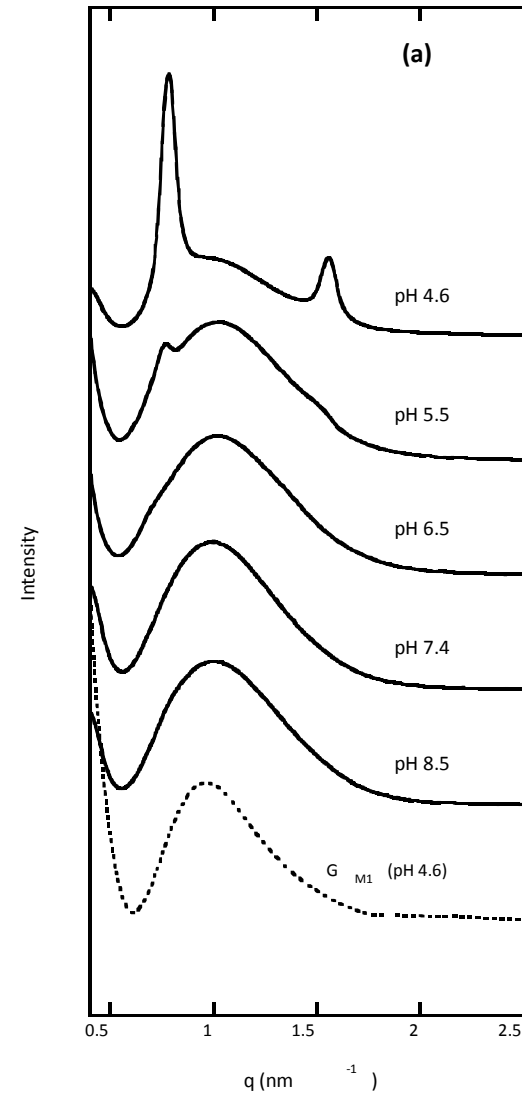
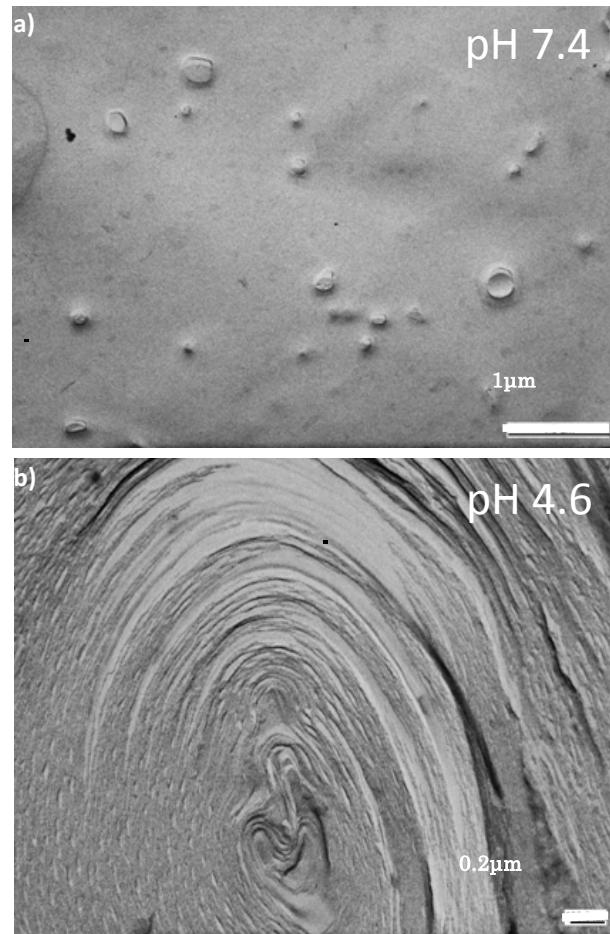


Gangliosides serve as specific hormone receptors; receptors for bacterial protein toxins; important in cell-cell recognition

Metabolic diseases: sphingolipid storage diseases (Tay-Sachs)

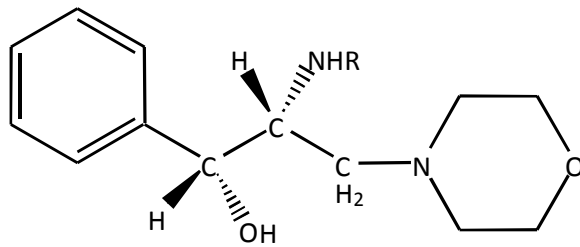
Ganglioside  $G_{M1}$ : space-filling model with H in white, C in gray, N in blue, and O in red

# 多重膜構造はBMPとGM1により酸性条件下で再現できる

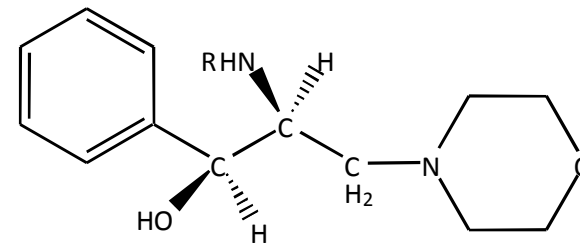


# 多重膜構造を誘起する薬剤

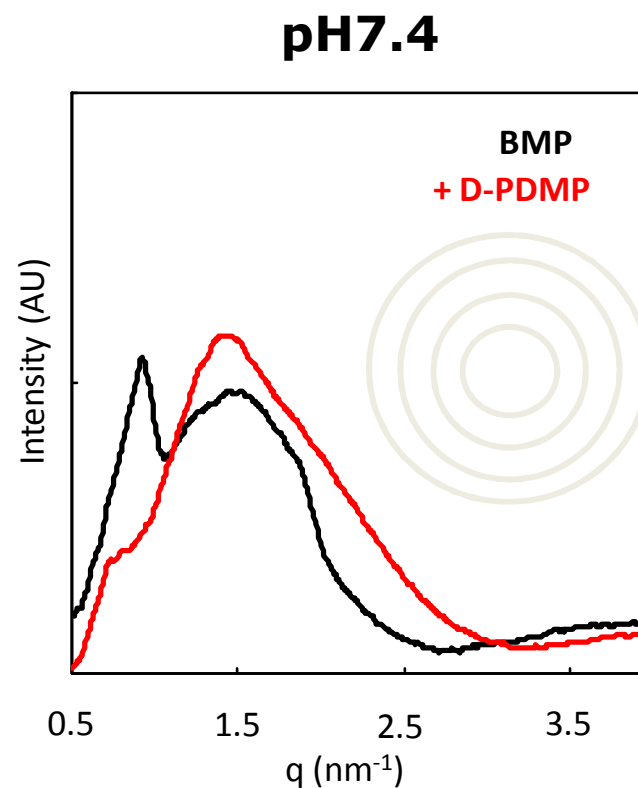
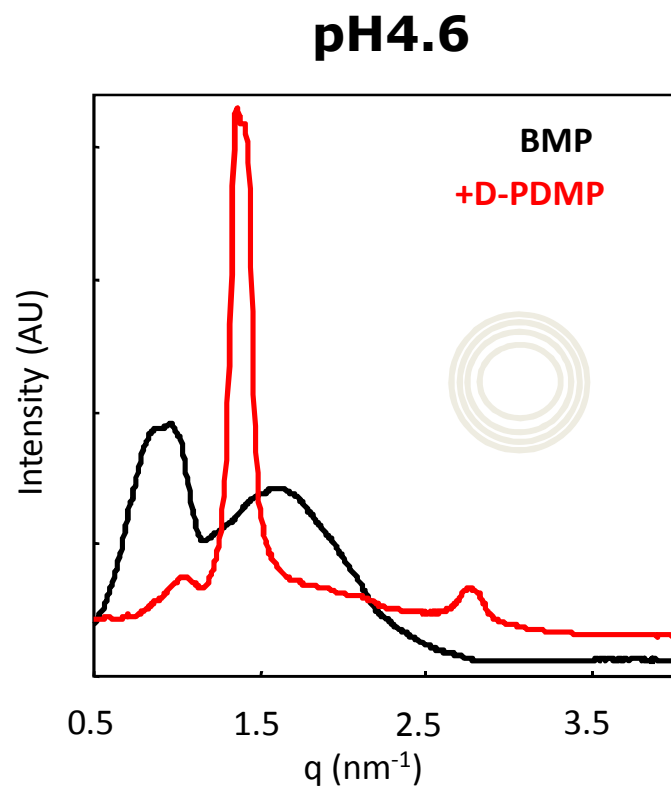
**D-PDMP**



**L-PDMP**



# 特定の薬剤はpH依存的にBMP膜の構造を変化させる



多重膜リソソームは特殊な脂質BMPとGM1  
あるいは低分子化合物によりpH依存的に  
再現される。

Makino et al. Biochemistry 45, 4530-4541 (2006)  
Hayakawa et al. Biophys. J. 92, L13-16 (2007)

村手源英（理研）

早川智広（理研（現ソニー））

高橋 浩（群馬大学大学院・工学研究科）

鳥飼直也（三重大学大学院・工学研究科）