

提出日:2025 年 4 月 23 日

2024 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名	セラミド輸送蛋白質 CERT の構造解析	
申請者 (実験責任者)	氏名	児嶋長次郎
	所属機関名・部局名	横浜国立大学・大学院工学研究院
	職名	教授
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		原子分解能/3D-AFM
	○	高速 AFM
		SICM
		細胞測定 AFM
NanoLSI 受入担当教員名	古寺哲幸教授	

真核生物に普遍的に存在するスフィンゴ脂質は様々な生理機能を制御するシグナル伝達物質であり、脳の発達や神経機能に深く関与している。その前駆体であるセラミドは、小胞体で合成された後にゴルジ体へ輸送され、化学修飾を受けてスフィンゴ脂質に変換される。この過程で、CERT は小胞体からゴルジ体へのセラミド輸送を担い、スフィンゴ脂質代謝において主要な役割を果たしている。CERT の変異体はスフィンゴ脂質代謝に異常を引き起こすことから、先天性精神発育不全症の病因蛋白質として同定されている。したがって、CERT 蛋白質の構造・機能の理解は精神疾患への治療薬開発に繋がると期待される。

CERT は 68kDa の細胞質蛋白質で、N 末端にはゴルジ体膜局在に関与する PH ドメインを、C 末端にはセラミド結合活性を持つ START ドメインを有する。PH ドメインと START ドメインの中間領域 Middle region は天然変性領域と推定されているが、小胞体膜局在に関与する FFAT モチーフや、多重リン酸化によりセラミド輸送機能を抑制する SRM などの機能セグメントが存在する。

これまでに、各ドメインの立体構造は決定されているが、CERT 全長の立体構造は未解明である。CERT によるセラミド輸送には、CERT の全ての領域が関わるため、詳細な輸送機構を解明するには CERT 全長での構造解析が必要である。そこで、本研究では、セラミド輸送機構の解明を目的として、これまで報告されていない CERT 全長での立体構造解析を試みた。解析対象には、セラミド輸送活性型の CERT WT、不活性型の CERT 10E(SRM 多重リン酸化模倣変異体)を選択し、高速 AFM を用いて単分子観察を行った。その結果、CERT WT はイチョウ型構造を、CERT 10E はカリフラワー型構造を呈していることが分かった。特に CERT 10E では棒状領域と球状領域から構成される特徴的な構造であった。これにより、CERT SRM の多重リン酸化模倣が CERT 全長の立体構造に大きな変化を引き起こすことが明らかになった。

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、NanoLSI Web サイトにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2025 年 5 月 9 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 国岡 E-mail: nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp