

(様式 1-1)

提出日：2026 年 5 月 8 日

2025 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名（下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。）

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：花島 慎弥

所属機関名・部局名・職名：鳥取大学・工学部・教授

(3) 研究課題名（申請時に記載したものと同一課題名を記入してください。）

脂質化タンパク質 Lyn の N 末端ユニークドメインと内葉脂質の相互作用の解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：北條裕信 （研究室名：蛋白質有機化学研究室）

(5) 研究成果の概要

【背景および目的】Src キナーゼの一種である Lyn は、N 末端近傍のグリシン残基およびシステイン残基に脂質修飾を受けることで、細胞膜やゴルジ体に局在する。細胞膜において Lyn は、スフィンゴ糖脂質ドメイン（脂質ラフト）の外葉に対応する内葉側に位置し、病原菌由来の糖鎖結合に伴う免疫シグナルを受容して免疫細胞を活性化することが報告されている。また、Lyn は抗がん剤の標的分子としても注目されているが、細胞膜内葉の特定領域に局在し、シグナル伝達を制御する詳細な分子機構については未だ不明な点が多い。

これまでに我々は、N 末端側 7 残基に脂質修飾を施したペプチドモデルを用い、固体 NMR 法によって脂質二重層中での相互作用を解析してきた。その結果、Lyn は脂質分子種に依存してアシル鎖を膜深部へ挿入することを明らかにしたが、膜表面との相互作用を評価するには、従来の 7 残基モデルでは領域が極めて限定的であった。そこで本研究では、脂質分配への関与が示唆される Lyn のユニークドメインのうち、N 末端側 20 残基の領域に着目した。この領域を基盤として、膜環境におけるドメイン親和性の詳細な解析を試みるための、脂質修飾および蛍光部位を導入した新規プローブ分子を合成した。

【方法と結果】本年度は、ペプチドへの位置選択的な蛍光部位の導入を目的とし、C 末端側にハンドルとなるアルキン部位を挿入した、N 末端ミリスチル化 Lyn20 残基ペプチドを Fmoc 固相合成法により調製した。樹脂からの切り出しおよび脱保護を行った後、エーテル沈殿と凍結乾燥を経て得られた粗生成物を、C4 カラムを用いた逆相 HPLC により精製し、目的のペプチドを単離した。

続いて、システイン残基へのパルミチン酸導入を検討した。Kent らの報告に基づき別途合成したパルミチン酸チオエステルを試薬として用い、チオエステル交換反応を進行させることで、システイン側鎖へのパルミトイル化を達成した。さらに、銅触媒存在下でのアジドーアルキンクリック反応（CuAAC）を適用することにより、位置選択的な蛍光団の導入に成功した。以上の工程により、Lyn の膜相互作用を詳細に解析するための分子プローブの構築を完了した。