

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H02941

研究課題名(和文)小胞体リン脂質フリップ機構の包括的理解と生体膜動的制御技術の確立

研究課題名(英文)Comprehensive understanding of the phospholipid flip mechanism in the endoplasmic reticulum and establishment of the control technology of biomembrane dynamics

研究代表者

中野 実(Nakano, Minoru)

富山大学・学術研究部薬学・和漢系・教授

研究者番号：70314226

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円

研究成果の概要(和文)：脂質のフリップフロップを担うスクランブラーゼの機能を人工ペプチドで再現することを目指し、スクランブラーゼ機能に最適な膜貫通アミノ酸配列を探索するとともに、そのペプチドを利用して、細胞の機能や生死を制御する、新たな手法を実現することを目指した。膜貫通配列の中央に極性アミノ酸残基を導入し、その残基の種類や配置を変えることでペプチドが示すリン脂質スクランブラーゼ活性を最適化した。スクランブラーゼ活性を示したペプチドを細胞膜へ挿入し、細胞膜の細胞質側に存在するホスファチジルセリン(PS)が外側に露出させること、さらに、このPSを露出させた細胞をマクロファージにより貪食させることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で確立した種々の脂質ダイナミクス評価法は、リン脂質スクランブラーゼやフリッパーゼなどの機能評価、機能解明に貢献すると考えられる。また、本研究により人工ペプチドを用いて細胞の機能や生死を制御する新たな手法を構築することができた。この手法は新たなケミカルバイオロジー技術として、がんなどの様々な疾患に対する新たな治療法の創出に繋がる可能性があり、ペプチドの膜挿入の細胞選択性やスクランブラーゼ活性の向上を図ることで、その実現が期待される。

研究成果の概要(英文)：Aiming to reproduce the function of phospholipid scramblases with artificial peptides, we searched for the optimal transmembrane amino acid sequence to scramble membrane phospholipids and used the peptides to realize a new method to control cell function and survival. We introduced polar amino acid residue(s) into the center of the transmembrane sequence of the peptides and optimized their phospholipid scramblase activity by changing the type and arrangement of the residues. By inserting the peptide with scramblase activity into the cell membranes, we succeeded in exposing the phosphatidylserine (PS) on the cytoplasmic side of the cell membrane to the outside, and in phagocytosis of the PS-exposed cells by macrophages.

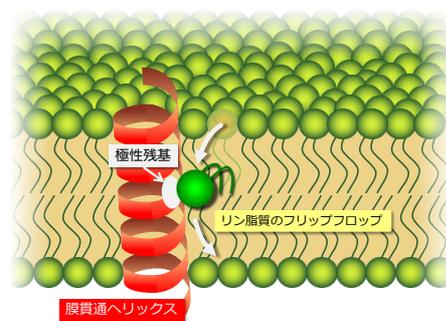
研究分野：生物物理学

キーワード：リン脂質 フリップフロップ 蛍光 中性子散乱 膜貫通ペプチド

1. 研究開始当初の背景

細胞内の脂質の多くは小胞体で合成され、脂質輸送タンパクや輸送小胞を介して各器官に運ばれる。細胞膜(形質膜)では脂質二重層の細胞質側と外側とで脂質組成が大きく異なっており、アポトーシスが誘導されると、非対称性が崩れ、細胞質側に局在していたホスファチジルセリンが外側に露出し、これがマクロファージによる食食のシグナルとなる。このように非対称性の破綻は細胞死に直結する。一方、脂質合成の場である小胞体膜では、新生されたリン脂質は脂質二重層の細胞質側に導入された後、二重層の内側と外側の脂質数のバランスを保つために速やかに内腔側に移行(フリップ)される。この機構により、小胞体膜は表裏の対称性が高い。このエネルギー非依存的フリップフロップには膜タンパク質の関与が強く示唆されている。小胞体の脂質代謝、膜形成、膜輸送機能を理解する上でこの機構の解明は重要な課題であるが、フリップフロップを担う小胞体スクランブラーゼは同定されていない。フリップフロップの機能不全の病態や表現型が見つかっていないことから、小胞体スクランブラーゼには機能的リダンダンシーが存在すると予想される。また、モデル膜(ベシクル)実験で、疎水性アミノ酸(アラニン・ロイシン)からなる膜貫通ペプチドが蛍光脂質のフリップを誘起したことから、単に、小胞体タンパク質の膜貫通ヘリックスの存在がフリップフロップを誘起する可能性も提唱された。

本研究グループは、中性子散乱を利用したフリップフロップ計測法を世界に先駆けて実現し、天然脂質の主要アシル鎖組成をもつ1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルコリン(POPC)は自発的にフリップしないこと、さらに、上述のアラニン・ロイシンの繰り返し配列からなる膜貫通ペプチドはPOPCのフリップフロップ誘起能をもたないことを実証した。ところが、面白いことに、膜貫通ペプチドの中央に親水性アミノ酸を1残基導入するだけで、フリップフロップが誘起されることを発見した(右図)。さらに、バイオインフォマティクスにより、ヒト小胞体膜タンパク質の膜貫通領域の中央付近に荷電アミノ酸が4.5%の割合で含まれていることを明らかにした。これらの知見は、種々の膜タンパク質の膜貫通部位が、そのアミノ酸配列によっては十分にフリップ誘起能を発揮しうることを示している。実際、2つのヒト小胞体膜タンパク質の膜貫通配列ペプチドが、高いフリップ誘起能をもつことも明らかにしている。



2. 研究の目的

先述の知見に基づき、本研究では、脂質のフリップフロップを担うスクランブラーゼの機能を人工ペプチドで再現することを目指し、スクランブラーゼ機能に最適な膜貫通アミノ酸配列を探索するとともに、そのペプチドを利用して、細胞の機能や生死を制御する、新たな手法を実現することを目指した。

3. 研究の方法

(1) スクランブラーゼ作用のある膜貫通ペプチドのデザイン、合成

ペプチドは既報の膜貫通ペプチド KALP の配列をもとにして、膜貫通領域のアラニン・ロイシンの繰り返し配列中に種々の極性残基を導入した。ペプチドは Fmoc 固相合成法により合成し、HPLC により精製した。

(2) 蛍光法及び中性子散乱によるペプチドのスクランブラーゼ活性の評価

リン脂質スクランブラーゼ活性評価は蛍光法、中性子散乱の2種類の方法で実施した。蛍光法ではペプチドを組み込んだリン脂質ベシクルに NBD 脂質を添加して、ベシクルの外葉に NBD 脂質を導入し、様々な時間経過後に亜ジチオン酸の添加により外葉の NBD を還元した。残存 NBD 蛍光強度から、内葉に移行(フリップ)した NBD 脂質の割合を算出し、その時間変化からフリップ速度を算出した。中性子散乱法ではペプチドを組み込んだリン脂質ベシクルを、通常の(軽水素)リン脂質(H脂質)とアシル鎖が重水素化されたリン脂質(D脂質)とを用いてそれぞれ調製し、両者を Methyl- β -cyclodextrin 存在下で混合した。ベシクル間および内外葉間での H 脂質と D 脂質の交換により中性子散乱強度が低下することを利用して、散乱強度の時間変化からフリップフロップ速度を算出した。中性子散乱測定は J-PARC 実験施設の小角散乱装置 TAIKAN を使用した。

(3) スクランブラーゼ活性ペプチドを用いた細胞制御

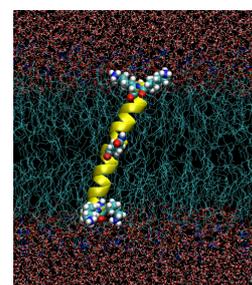
膜貫通ペプチドが細胞膜に組み込まれ、スクランブラーゼ作用を示せば、細胞膜の細胞質側に存在するホスファチジルセリン(PS)が外側に露出すると考えられる。PSの露出はアポトーシ

スを起こした細胞で見られ、アポトーシス細胞はマクロファージによって認識、貪食されることが知られている。種々のペプチドをヒト胎児腎細胞 (HEK293) に作用させた。細胞障害性はトリパンブルーにより評価した。PS の露出は Annexin V-FITC を用いてフローサイトメトリおよび共焦点レーザー顕微鏡により評価した。PS を露出した HEK293 細胞のマクロファージによる貪食は、HEK293 細胞を蛍光物質 pHrodo により染色後、ペプチドを作用させ、その後マウスマクロファージ細胞株 J774 と共培養した。J774 細胞に取り込まれた HEK293 細胞をフローサイトメトリおよび共焦点レーザー顕微鏡により評価した。

4. 研究成果

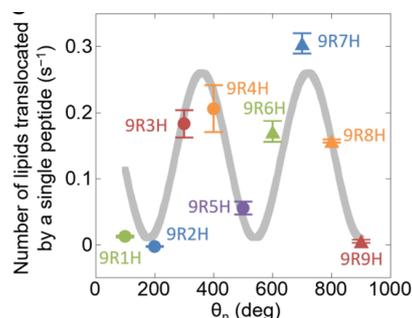
(1) 極性アミノ酸を1残基導入した膜貫通モデルペプチドのスクランブラーゼ活性評価

アラニン・ロイシンの繰り返し配列の中央に極性アミノ酸を1残基導入した膜貫通モデルペプチドを作成した。ペプチドの両端には親水性アミノ酸のリジンをそれぞれ2残基ずつ導入してペプチドが脂質膜にアンカリングされるようにデザインした。ベシクルに組み込んだペプチドのリン脂質スクランブラーゼ活性を NBD 蛍光消光法により評価した。スクランブラーゼ活性はペプチド中央の極性アミノ酸残基の種類に依存し、極性残基の親水性度とスクランブラーゼ活性との間に高い相関が見られ、グルタミン残基を導入したペプチドが最も高い活性を示した。また、膜貫通領域の長さにも依存し、膜貫通領域が17アミノ酸のペプチドは高い活性をもち、21アミノ酸、および25アミノ酸のペプチドは活性を示さなかった。17アミノ酸が α ヘリックスを形成したときの長さは、リン脂質二重層の疎水性領域の厚さよりもやや短く、この negative mismatch がスクランブラーゼ活性の要因となっていることが示唆された。一方、膜貫通領域が19アミノ酸のペプチドは高いスクランブラーゼ活性とベシクル内封物質の漏出活性を示した。MDシミュレーションを用いて各ペプチドの膜貫通状態を再現したところ、膜貫通領域が19アミノ酸のペプチドでは両端のリジンと中央の極性残基の側鎖が同一方向に整列することが明らかになり (右図)、膜中でのこれらの極性残基側鎖の配置が高い膜不安定化作用をもたらしたと考えられた。



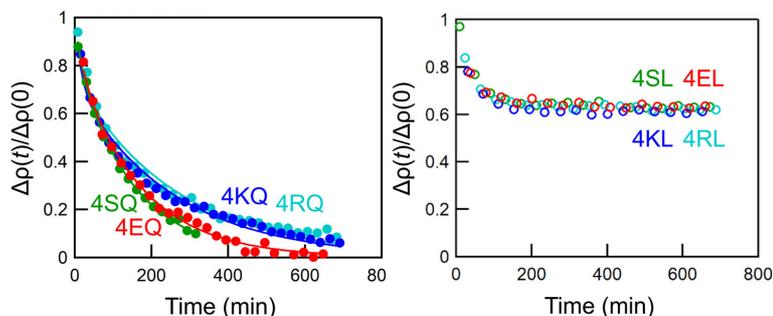
(2) 極性アミノ酸を2残基導入した膜貫通モデルペプチドのスクランブラーゼ活性評価

ペプチドの膜貫通配列中に2つの親水性アミノ酸 (アルギニンとヒスチジン) を導入し、その位置、間隔を変えて、NBD 蛍光消光法によりスクランブラーゼ活性評価を行った。その結果、2つの親水性残基が3、4、または7残基離れた位置にあり、 α ヘリックスの同じ側に存在するとき誘起活性が高まることを見出した (右図)。また、MDシミュレーションにより、ペプチド近傍の脂質頭部がこれらの親水性残基と相互作用し、局所的に膜厚を減少させていることが明らかになった。スクランブラーゼ活性の指標として1秒間にペプチド分子がフリップさせる NBD 脂質数を計測したところ、最大で0.3 molecule/s という値を得た。



(3) 膜挿入型ペプチドのスクランブラーゼ活性評価

上記のペプチドは、両端にリジンを2残基ずつ導入しているため、脂質膜調製時に混合する必要があったが、N末端のみに親水性アミノ酸を4残基有するペプチドをデザインした。配列の中央にグルタミン残基を有し、N末端にグルタミン酸、アルギニン、リジン、セリンのいずれかを4残基有するペプチド (それぞれ4EQ、4RQ、4KQ、4SQ) はベシクルに添加すると速やかに膜に組み込まれ、スクランブラーゼ活性を示すことを NBD 蛍光消光法および中性子散乱法により明らかにした。一方、配列の中央に極性残基を持たないペプチド (4EL、4RL、4KL、4SL) ではスクランブラーゼ活性は見られなかったことから (右図)、中央の極性残基が活性に必要であることが確認できた。

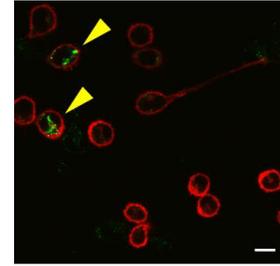


(4) 膜挿入型ペプチドによる細胞制御

ベシクルを用いた実験でスクランブラーゼ活性を示した4EQ、4RQ、4KQ、4SQの細胞への作用を評価した。いずれのペプチドも細胞障害性を示さなかった。蛍光標識ペプチドを用いてその局在を評価したところ、いずれのペプチドも、添加5分後には細胞膜に分配しており、中でも4RQの細胞膜結合性が高いことが明らかになった。細胞膜PSの露出をフローサイトメトリにより評

価したところ、4RQ が PS を露出させること、すなわちスクランブラーゼ活性を示すことが示された。この細胞においてはアポトーシスの指標となるカスパーゼ 3/7 の活性化が見られなかったことから、4RQ はアポトーシスを生じさせずに直接、細胞膜のスクランブリングを起こして PS を外側に露出させていることが示唆された。

pHrodo で蛍光標識した HEK293 に 4RQ を添加し、J774 と共培養した。フローサイトメトリによる評価では、ペプチドを添加しなかった場合と比べ、pHrodo 蛍光を示す J774 の割合が増加した。さらに、共焦点レーザー顕微鏡により、pHrodo 蛍光が J774 の内部に観察され (右図)、HEK293 が J774 により貪食されたことが確認できた。これらの結果から、4RQ を用いて細胞膜表面に PS を露出させることで、細胞貪食を誘導できることが明らかとなった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Sugiura Taichi, Nakao Hiroyuki, Ikeda Keisuke, Khan Danish, Nile Aaron H., Bankaitis Vytas A., Nakano Minoru	4. 巻 1863
2. 論文標題 Biophysical parameters of the Sec14 phospholipid exchange cycle - Effect of lipid packing in membranes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183450 ~ 183450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2020.183450	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ikeda Keisuke, Horiuchi Ayame, Yoshino Misa, Shimizu Chinatsu, Nakao Hiroyuki, Nakano Minoru	4. 巻 37
2. 論文標題 Amphipathic Peptide-Phospholipid Nanofibers: Phospholipid Specificity and Dependence on Concentration and Temperature	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 713 ~ 721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.0c02819	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakao Hiroyuki, Kimura Yusuke, Sakai Ami, Ikeda Keisuke, Nakano Minoru	4. 巻 8
2. 論文標題 Development of membrane-insertable lipid scrambling peptides: A time-resolved small-angle neutron scattering study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Structural Dynamics	6. 最初と最後の頁 024301 ~ 024301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/4.0000045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Anada Chiharu, Ikeda Keisuke, Egawa Ayako, Fujiwara Toshimichi, Nakao Hiroyuki, Nakano Minoru	4. 巻 588
2. 論文標題 Temperature- and composition-dependent conformational transitions of amphipathic peptide-phospholipid nanodiscs	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Colloid and Interface Science	6. 最初と最後の頁 522 ~ 530
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcis.2020.12.090	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukuda Ryosuke, Saito Mio, Shibukawa Shiori, Sumino Ayumi, Nakano Minoru, Murakami Tatsuya	4. 巻 59
2. 論文標題 Urea-Assisted Reconstitution of Discoidal High-Density Lipoprotein	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1455 ~ 1464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onogi Yasuhiro, Wada Tsutomu, Okekawa Akira, Matsuzawa Takatoshi, Watanabe Eri, Ikeda Keisuke, Nakano Minoru, Kitada Munehiro, Koya Daisuke, Tsuneki Hiroshi, Sasaoka Toshiyasu	4. 巻 10
2. 論文標題 Pro-inflammatory macrophages coupled with glycolysis remodel adipose vasculature by producing platelet-derived growth factor-B in obesity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 670
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-57368-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakao Hiroyuki, Sugimoto Yuta, Ikeda Keisuke, Saito Hiroaki, Nakano Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 Structural Feature of Lipid Scrambling Model Transmembrane Peptides: Same-Side Positioning of Hydrophilic Residues and Their Deeper Position	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1662 ~ 1667
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.0c00175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano Minoru	4. 巻 67
2. 論文標題 Evaluation of Interbilayer and Transbilayer Transfer Dynamics of Phospholipids Using Time-Resolved Small-Angle Neutron Scattering	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 316 ~ 320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c18-00942	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uyama Makoto, Handa Tetsuro, Nakano Minoru	4. 巻 67
2. 論文標題 Novel Cubosome System Resistant to Lipid Removal by Serum Albumin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1099 ~ 1103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c19-00370	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugiura Taichi, Takahashi Chisato, Chuma Yusuke, Fukuda Masakazu, Yamada Makiko, Yoshida Ukyo, Nakao Hiroyuki, Ikeda Keisuke, Khan Danish, Nile Aaron H., Bankaitis Vytautas A., Nakano Minoru	4. 巻 116
2. 論文標題 Biophysical Parameters of the Sec14 Phospholipid Exchange Cycle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 92 ~ 103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2018.11.3131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Okamoto Takumi, Kawaguchi Kosuke, Watanabe Shiro, Agustina Rina, Ikejima Toshiki, Ikeda Keisuke, Nakano Minoru, Morita Masashi, Imanaka Tsuneo	4. 巻 496
2. 論文標題 Characterization of human ATP-binding cassette protein subfamily D reconstituted into proteoliposomes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1122 ~ 1127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.01.153	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakao Hiroyuki, Hayashi Chihiro, Ikeda Keisuke, Saito Hiroaki, Nagao Hidemi, Nakano Minoru	4. 巻 122
2. 論文標題 Effects of Hydrophilic Residues and Hydrophobic Length on Flip-Flop Promotion by Transmembrane Peptides	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 4318 ~ 4324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.8b00298	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iitsuka Hirofumi, Koizumi Keiichi, Inujima Akiko, Suzaki Mikiko, Mizuno Yusuke, Takeshita Yoshiki, Eto Takeshi, Otsuka Yoshiki, Shimada Ryo, Liu Mengxin, Ikeda Keisuke, Nakano Minoru, Suzuki Ryo, Maruyama Kazuo, Zhou Yue, Sakurai Hiroaki, Shibahara Naotoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Discovery of a sugar-based nanoparticle universally existing in boiling herbal water extracts and their immunostimulant effect	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 62 ~ 68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2018.08.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takaoka Rina, Kurosaki Haruko, Nakao Hiroyuki, Ikeda Keisuke, Nakano Minoru	4. 巻 1860
2. 論文標題 Formation of asymmetric vesicles via phospholipase D-mediated transphosphatidylation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 245 ~ 249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2017.10.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uyama Makoto, Inoue Kaori, Kinoshita Koichi, Miyahara Reiji, Yokoyama Hirokazu, Nakano Minoru	4. 巻 67
2. 論文標題 Effect of Dialkyl Ammonium Cationic Surfactants on the Microfluidity of Membranes Containing Raft Domains	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Oleo Science	6. 最初と最後の頁 67 ~ 75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5650/jos.ess17124	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikeda Keisuke, Horiuchi Ayame, Egawa Ayako, Tamaki Hajime, Fujiwara Toshimichi, Nakano Minoru	4. 巻 2
2. 論文標題 Nanodisc-to-Nanofiber Transition of Noncovalent Peptide-Phospholipid Assemblies	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 2935 ~ 2944
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.7b00424	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計59件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 加藤 達也, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 アミノ酸変異がリン脂質 - 両親媒性ペプチドナノファイバー形成に与える影響
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞榮城 佑, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 蛍光自己消光を用いたリン脂質フリップフロップ新規測定法の確立
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中尾裕之, 杉本佑太, 池田恵介, 斎藤大明, 中野 実
2. 発表標題 モデル脂質スクランプリングペプチドの構造的特徴の解明
3. 学会等名 日本膜学会第42年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西川優太, 中尾裕之, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 ラメラ - キュービック相転移の観測によるリン脂質自発曲率の評価
3. 学会等名 日本膜学会第42年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 穴田千晴, 中尾裕之, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 ジスルフィド結合形成を用いた熱力学的に安定なリン脂質 - ペプチドナノディスクの開発
3. 学会等名 膜シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村優介, 中尾裕之, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 膜貫通ペプチドによる細胞膜リン脂質のフリップフロップ促進と貪食誘導
3. 学会等名 膜シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西川優太, 中尾裕之, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 ラメラ - キュービック相転移を利用したリン脂質自発曲率の評価
3. 学会等名 膜シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 愛, 池田恵介, 中尾裕之, 中野 実
2. 発表標題 自己集合性ペプチドのアシル化修飾が集合体形成に与える影響
3. 学会等名 富山薬学研究会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎 萌, 池田恵介, 中尾裕之, 中野 実
2. 発表標題 モデルペプチドを用いたアミロイド線維形成機構の解明
3. 学会等名 富山薬学研究会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辻井 俊樹, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 膜貫通ペプチドの二量体化によるリン脂質フリップフロップの促進
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 愛, 池田 恵介, 中尾 裕之, 中野 実
2. 発表標題 自己集合性ペプチドのN末端アシル化が集合体の熱力学的安定性および構造に与える影響
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 ベシクル可溶化による脂質二重層中でのリン脂質間相互作用熱力学量の計測
3. 学会等名 日本膜学会第41年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 愛, 池田 恵介, 中尾 裕之, 中野 実
2. 発表標題 脂質修飾アミロイドペプチドを用いたリポソームの高機能化
3. 学会等名 日本膜学会第41年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 穴田 千晴, 池田 恵介, 江川 文子, 藤原 敏道, 中尾 裕之, 中野 実
2. 発表標題 リン脂質 - ペプチドナノディスク構造の温度・組成依存性に基づく集合体形成原理の理解
3. 学会等名 日本膜学会第41年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野 実, 杉浦 太一, 中尾 裕之, 池田 恵介
2. 発表標題 中性子散乱を用いた酵母脂質輸送タンパク質Sec14 の機能評価
3. 学会等名 生理研研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田 右京, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 Sfh1のリン脂質輸送能評価
3. 学会等名 第17回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村 優介, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 膜挿入可能なリン脂質フリップフロップ促進ペプチドの開発
3. 学会等名 第17回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中尾 裕之, 杉本 佑太, 池田 恵介, 齋藤 大明, 中野 実
2. 発表標題 モデル膜貫通ペプチドを用いた脂質スクランプリングメカニズムの解明
3. 学会等名 第17回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 穴田 千晴, 池田 恵介, 江川 文子, 藤原 敏道, 中尾 裕之, 中野 実
2. 発表標題 リン脂質 - ペプチドナノディスク構造の熱安定性と集合体形成メカニズムの解明
3. 学会等名 第41回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村 優介, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 膜貫通ペプチドの脂質膜への挿入とフリップフロップ促進能評価
3. 学会等名 膜シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田 右京, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 Sfh1脂質輸送におけるリン脂質依存性
3. 学会等名 膜シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田 右京, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 Sfh1のリン脂質輸送能の評価とその脂質組成依存性
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第131回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中尾 裕之, 杉本 佑太, 池田 恵介, 齋藤 大明, 中野 実
2. 発表標題 親水性アミノ酸残基の位置・膜深さが膜貫通ペプチドのスクランブラーゼ活性に与える影響
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒崎 晴子, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 Phospholipase D による脂質非対称性リポソームの作成
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水 千夏, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 リン脂質-ペプチドナノファイバー形成過程の可視化
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤原 裕平, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 ベシクル可溶化法による脂質二重層中でのリン脂質-リン脂質間相互作用に伴う熱力学量の測定
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野 実
2. 発表標題 蛍光および中性子を用いたリン脂質のフリップフロップ・膜間移動速度の計測
3. 学会等名 理研シンポジウム 細胞システムの動態と論理 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田 右京, 杉浦 太一, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 Sec14相同タンパク質のリン脂質輸送機構の解明
3. 学会等名 日本膜学会第40年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中尾 裕之, 杉本 佑太, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 膜貫通ヘリックス中の親水性アミノ酸残基対の位置に依存したリン脂質フリップフロップ促進能の評価
3. 学会等名 日本膜学会第40年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中尾 裕之, 中尾 千尋, 池田 恵介, 齋藤 大明, 長尾 秀実, 中野 実
2. 発表標題 膜貫通ペプチドのスクランブーゼ活性に対する中央残基の親水度と疎水性配列長の影響の評価
3. 学会等名 生理研研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Minoru Nakano
2. 発表標題 Determination of protein-mediated intervesicular phospholipid transfer by time-resolved neutron scattering.
3. 学会等名 59th International Conference on the Bioscience of Lipids (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ukyo Yoshida, Taichi Sugiura, Hiroyuki Nakao, Keisuke Ikeda, Minoru Nakano
2. 発表標題 Elucidation of phospholipid transport mechanism of Sec14 homologues
3. 学会等名 The 2nd TAA-Pharm Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rikuto Inaba, Hiroyuki Nakao, Keisuke Ikeda, Minoru Nakano
2. 発表標題 Kinetic analysis of phospholipase D activity on phosphatidylcholine bilayers
3. 学会等名 The 2nd TAA-Pharm Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦 太一, 吉田 右京, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 脂質膜環境によるリン脂質輸送タンパク質Sec14の機能制御メカニズムの解明
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田 恵介, 杉浦 裕樹, 中野 実
2. 発表標題 A thermodynamic model of amyloid- protein oligomerization on negatively charged lipid bilayers
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野 実, 杉浦 太一, 中尾 裕之, 池田 恵介
2. 発表標題 中性子小角散乱によるリン脂質輸送タンパク質の脂質輸送機構の解明
3. 学会等名 第69回コロイドおよび界面化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福田 拓己, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 コイルドコイル形成ペプチドを用いたリボソームの会合制御
3. 学会等名 第69回コロイドおよび界面化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉野 実紗, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 脂質 - ペプチドナノファイバー形成の熱力学的解析
3. 学会等名 第69回コロイドおよび界面化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦 太一, 吉田 右京, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 中性子小角散乱法によるリン脂質輸送タンパク質Sec14の脂質輸送機能の解析
3. 学会等名 第40回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦 太一, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 脂質膜パッキングによるリン脂質輸送タンパク質Sec14の活性制御
3. 学会等名 膜シンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩下 侑矢, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 示差走査熱量測定を用いたセラミドIIIと生体脂質との相互作用の評価
3. 学会等名 膜シンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木 哲哉, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 Amyloid- と脂質膜の相互作用における膜曲率および酸性リン脂質の影響
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第130回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩下 侑矢, 中尾 裕之, 池田 恵介, 中野 実
2. 発表標題 示差走査熱量測定を用いたセラミドIIIの結晶性の低下をもたらす物質の探索
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第130回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松澤 崇俊, 和田 努, 小野木 康弘, 桶川 晃, 渡邊 愛理, 池田 恵介, 中野 実, 恒枝 宏史, 笹岡 利安
2. 発表標題 マクロファージによる血管新生を介した内臓脂肪組織肥大化機構の解明
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第130回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Keisuke Ikeda, Yuuki Sugiura, Minoru Nakano
2. 発表標題 A Thermodynamic Model of Amyloid- Protein Oligomerization on Negatively Charged Lipid Bilayers with High Curvatures
3. 学会等名 Asian Biophysics Association Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Taichi Sugiura, Minoru Nakano, Ukyo Yoshida, Hiroyuki Nakao, Keisuke Ikeda
2. 発表標題 Quantitative analysis of Sec14-mediated lipid transfer by using small-angle neutron scattering
3. 学会等名 Asian Biophysics Association Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroyuki Nakao, Yuta Sugimoto, Keisuke Ikeda, Minoru Nakano
2. 発表標題 Scramblase Activities of Transmembrane Peptides Depend on Relative Position of Hydrophilic Amino Acid Residues and Their Depth in the Membrane.
3. 学会等名 The 62th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩下侑矢, 中尾裕之, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 示差走査熱量測定によるセラミド3の結晶性の低下をもたらす物質の探索
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲場陸人, 中尾裕之, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 Phospholipase Dによる脂質膜上での酵素反応の速度論的解析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀内彩萌, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 ナノファイバー状リン脂質-ペプチド集合体形成因子の解明と形態制御法の開発
3. 学会等名 日本膜学会第39年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 坂井亜美, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 膜貫通ペプチドのリン脂質膜への挿入とフリップフロップ誘起能の評価
3. 学会等名 日本膜学会第39年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉浦太一, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 メチル- α -シクロデキストリンによるベシクル間リン脂質輸送の速度論的解析
3. 学会等名 日本膜学会第39年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野 実, 杉浦太一, 中尾裕之, 池田恵介
2. 発表標題 蛍光および中性子を用いた脂質の膜間移動の検出
3. 学会等名 生理研研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 ベシクル可溶化法によるリン脂質 - リン脂質間相互作用熱力学量の測定
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉本佑太, 中尾裕之, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 親水性アミノ酸残基の位置に依存した膜貫通ペプチドのリン脂質flip-flop促進能の評価
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野 実
2. 発表標題 リボソーム・ナノディスクの膜環境と脂質ダイナミクス
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉浦太一, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 脂質膜環境によるリン脂質輸送タンパク質Sec14の基質輸送制御機構の解明
3. 学会等名 膜シンポジウム2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 内田裕樹, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 蛍光ラベルペプチドを用いたアミロイド線維形成とペプチド間相互作用の評価
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第129回例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 塚越智仁, 池田恵介, 中野 実
2. 発表標題 シトクロムcの膜への結合に対するカルジオリピンの効果
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第129回例会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 中野 実	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 310
3. 書名 脂質の物性, 脂質解析ハンドブック (新井洋由、清水孝雄、横山信治 編) pp34-48	

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室ホームページ
<http://www.pha.u-toyama.ac.jp/biointerface/index-j.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	池田 恵介 (Ikeda Keisuke) (00553281)	富山大学・学術研究部薬学・和漢系・准教授 (13201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		