

提出日:2020 年 5 月 20 日

2019 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

| | | | |
|--|-----------|-------------------------------------|---------------------------|
| 実験課題名 | | リン脂質人工膜内ドメインが誘起する二次元膜タンパク質結晶形成挙動の評価 | |
| 申請者 (実験責任者) | 氏名 | 茂木俊憲 | |
| | 所属機関名・部局名 | 群馬大学大学院 理工学府分子科学部門 | |
| | 職名 | 助教 | |
| 利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○) | | ○ | 超解像 AFM(FM-AFM 及び、3D-AFM) |
| | | | 高速 AFM |
| | | | SICM |
| NanoLSI 受入担当教員名 | | 浅川雅 | |
| <p>本研究では、膜タンパク質の構造解析や薬剤等の分子との反応解析に有用な、固体基板上の平面人工脂質二重膜(SLB)内に埋め込まれた膜タンパク質の会合体形成および結晶化を脂質膜物性に着目して達成することを目指した。申請者の表面科学に基づく人工脂質膜系での研究経験を活かし、脂質膜と膜タンパク質間の分子間相互作用の明確化に取り組んだ。今年度は脂質膜に特有の物性の一つである、異なる炭化水素鎖を持つ脂質が局所集合して形成する「ドメイン」構造に着目し、モデル膜タンパク質バクテリオロドプシン(bR)結晶の直接計測を行った。DLPC(C12)および DPPC(C18)からなる SLB の FM-AFM 計測から、bR 二次元結晶構造及びドメイン構造が観察された。観察視野内において、最も低い領域である DLPC-rich ドメインを基準として、~0.7 nm 高い DPPC ドメイン、~1.0 nm 高い DPPC ドメインが観察された。2 つの DPPC ドメインの高低差は、DPPC のみからなる SLB にて観察された高低差と一致する。また、bR 結晶部分の FM-AFM 像および 2D-FFT 像から、bR はヘキサゴナル格子を形成している事が分かった。さらに、bR 結晶は DLPC-rich 領域に局在していた。DLPC SLB および DPPC SLB 系での FM-AFM 実験結果より、bR は DLPC と DPPC のどちらとも親和性が低いことが示唆されたが、DPPC/DLPC 混合系の結果から、bR は DPPC との親和性の方がより低く、DPPC ドメインからの排斥が起こり、DLPC 側に局在したと考えられる。この親和性の違いを生む要因として、膜タンパク質と脂質間での positive/negative ミスマッチの違いが考えられる。bR と DLPC はタンパク質疎水部がより長い positive ミスマッチ、DPPC とはタンパク質疎水部がより短い negative ミスマッチである。positive ミスマッチでは、脂質の疎水炭化水素鎖部が伸長する一方で、negative ミスマッチでは疎水炭化水素鎖部が収縮する。シミュレーションおよび実験による先行研究から、収縮状態の方が自由エネルギー的に不利であり、negative ミスマッチの方が不安定であると考えられている。bR と DLPC および DPPC の疎水部長さを比べた場合、疎水部長さの差は絶対値として bR-DPPC 間で小さくなるが、negative ミスマッチによる不安定化への寄与が大きいことがわかった。</p> | | | |

※本様式 3 は、「事業成果報告」として、ホームページ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:2020 年 5 月 8 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 E-mail: Bio-spmscr_nano@ml.kanazawa-u.ac.jp