

高圧力顕微鏡法によるタンパク質分子間相互作用コントロール

High-pressure microscopy for controlling protein-protein interactions



京大白眉¹, 名大院理², 阪大蛋白研³

○(PC)西山雅祥¹, 林真人², 瀧口金吾², 原田慶恵³

Kyoto Univ.¹, Nagoya Univ.², Osaka Univ.³,

°(PC)Masayoshi Nishiyama¹, Masahito Hayashi², Yoshie Harada³, Kingo Takiguchi²

E-mail: mnishiyama@icems.kyoto-u.ac.jp

細胞内に含まれる物質のうち 70%は水である。多くの生体分子は周囲を取り囲む水分子と相互作用することで、複雑な立体構造を形成し機能活性を生み出している。我々は、タンパク質水和を変えることができる高圧力技術に着目し、分子の構造変化や機能変調を実時間で観察できる「高圧力顕微鏡」を開発してきた (図 1 a)。この装置を利用すると、地球上で最も深い場所である太平洋マリアナ海溝最深部 (約 11,000 m, ~110 MPa) を超える 150 MPa の圧力をかけながら光学顕微観察を実施できる。今回、代表的な細胞骨格である微小管を人工細胞内に封入して、高圧力によりタンパク質間相互作用を変化させる実験を行った[1-3]。初め球状に近い形状をしていたリポソームの内部で微小管を重合させると (0.1 MPa, 25° C)、膜の内側から押す力で膜突起が形成された。これらの突起は、方向性が揃わない微小管数十本程度から構成されていると考えられる。この膜突起をもつリポソームを加圧したところ (60 MPa)、わずか数十秒で突起が短縮してしまった。その後、すぐに減圧して大気圧に戻し、同じリポソームの観察を続けたところ、膜突起はほぼ同じ位置から伸長しはじめ、約 10 分後には元の長さに戻った。なお、この膜突起の短縮速度も圧力と共に指数関数的に増大し、生細胞を用いた実験結果ともよく似ていることが明らかになった。以上の結果から、高圧力は微小管を構成するチューブリン分子間の相互作用に直接作用し、可逆的に分子間の結合力を変化させることが示された。

【参考文献】

- [1] Hayashi and Nishiyama *et al.*, *Langmuir* **32**(15) 3794-3802 (2016).
 [2] *Research Highlights in Nature Nanotechnology* **11**(5) 403 (2016).
 [3] 西山雅祥, 瀧口金吾, 林真人, *顕微鏡* **51**(2) ??? (2016), *in press*.

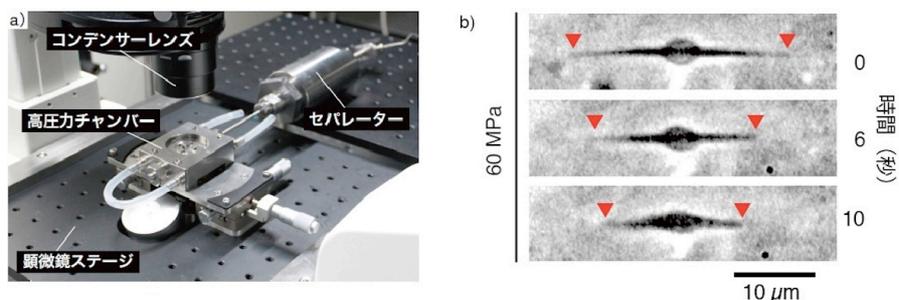


図 1 高圧力顕微鏡。a) 顕微観察用の高圧力チャンバー (2015 年 市販化に成功) b) チューブリンを封入した人工細胞の位相差像。微小管の脱重合に伴い突起の短縮が観察された。