

人工脂質膜内ドメインによる膜タンパク質局在性への寄与解明

Elucidation of contribution to membrane protein localization

by artificial lipid bilayer domain

群馬大¹, 金沢大² [○](M2)清水 万葉¹, 松井 彩香², 浅川 雅², 茂木 俊憲¹

Gunma Univ.¹, Kanazawa Univ.², [○]Kazuha Shimizu¹, Sayaka Matsui², Hitoshi Asakawa², Toshinori Motegi¹

E-mail: tmotegi@gunma-u.ac.jp

【序】 生体膜上に存在する膜タンパク質は細胞内外の物質輸送や免疫機能などの生理現象に関与している。生体膜内では特定の脂質や膜タンパク質等が集合したドメインが形成され、膜タンパク質機能の発現において必須であることが提唱されてきた。脂質分子は疎水性尾部の構造や親水性頭部の電荷等の違いに起因して脂質ドメインを形成する。しかし、ドメインへの膜タンパク質局在化を引き起こす因子や、膜タンパク質構造および機能への影響については不明な点が多い。本研究ではモデル膜タンパク質としてバクテリオロドプシン(bR)を用い、基板に支持した人工脂質二重膜(SLB)における bR の構造および分子拡散性を調べる事で、ドメインによる膜タンパク質局在性への寄与解明を目指した。

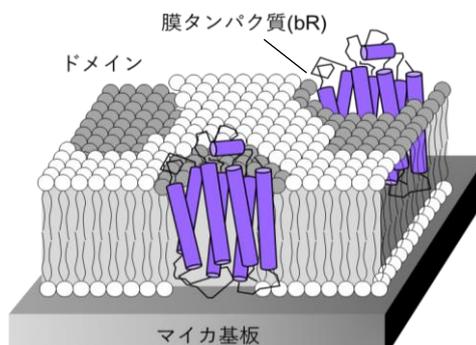


図 1. マイカ上のドメインを有する SLB に再構成された膜タンパク質 bR.

【実験】 脂質 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine(DMPC)に対し、負電荷脂質 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphorylglycerol(DMPG)の比を 0, 0.2, 0.5, 0.8, 1 とした脂質ベシクルを Tris-HCl buffer (pH 7.8)中にて各々作製した。bR は Triton X-100 により可溶化しベシクルへ再構成した。ベシクル懸濁液にマイカ基板を浸漬し、基板表面上に SLB を作製した。

【結果・考察】 液中にて原子間力顕微鏡(AFM)により SLB 膜表面形状を測定したところ、DMPG の混合比が 0.5 以上の場合において、周囲よりも 1 nm 程度低いドメインが見られた(図 2 左)。また、bR を再構成した SLB ではドメイン形状が変化した(図 2 右)。続いて、液中 FM-AFM 測定では、周囲膜表面から~2 nm 程度高い bR 結晶が、高さの低いドメイン上にて多く観察されたことから、ドメインと bR との親和性が bR 局在性および結晶形成に寄与することが示唆された。今後は蛍光顕微鏡による一分子計測法を用いて、bR が結晶形成に至るまでの分子ダイナミクスを直接計測する。また頭部電荷の違いだけでなく、アシル鎖長の違いに起因する脂質ドメイン系と比較検討することで、膜タンパク質とドメインとの相互作用因子を明らかにしていく予定である。

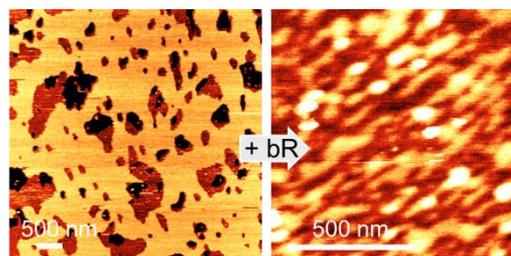


図 2. (左)DMPC/DMPG 混合 SLB の AFM 像. (右)bR 再構成 SLB の AFM 像.