

液中高分解能 FM-AFM を用いた 機能性タンパク質表面の水和構造の観察

Hydration Structure Measurement of Functional Protein Surfaces in Liquids
by High Resolution FM-AFM

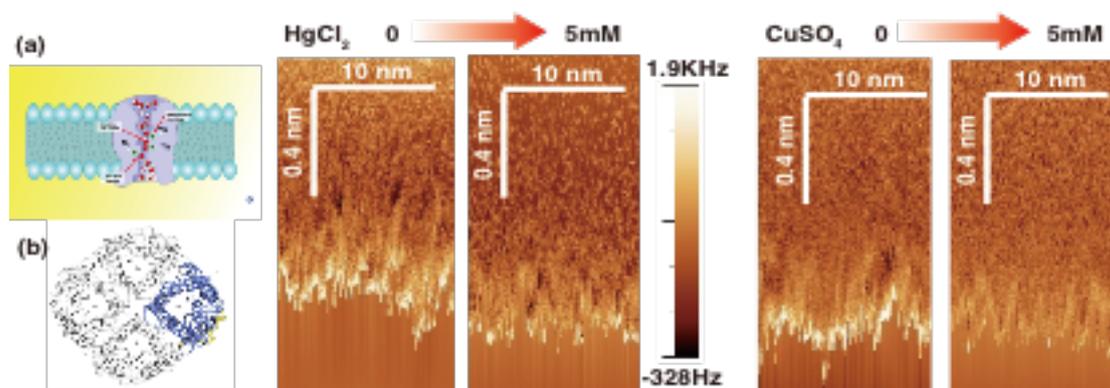
○平田芳樹¹、小林 圭²、山田啓文²、田中睦生¹ (1.産総研、2.京大工)

○Yoshiki Hirata¹, Kei Kobayashi², Hirofumi Yamada², Mutsuo Tanaka¹ (1.AIST, 2.Kyoto Univ.)

E-mail: y-hirata@aist.go.jp

すべての生物にとって水は必要不可欠な物質である。水は生体を構成する物質の中で最も多く含まれており、生命現象を司る化学反応の場を提供し、また水そのものが種々の化学反応の基質となっている。生体内の水は細胞内、細胞間隙、体液の3つの領域に存在し、それらの領域間を静水圧および浸透圧勾配に従って動的に移動して平衡を保っている。これらの機能を担っているのは、細胞膜中に存在する膜タンパク質であるアクアポリン (AQP) である⁽¹⁾。アクアポリン(AQP)は細菌から植物、動物まで様々な細胞に存在して細胞内外の浸透圧調節に利用されている。一方、我々は液中高分解能 FM-AFMを用いて生体機能情報と構造情報を分子レベルで識別して生体分子の機能・構造を分子スケールで可視化する原子間力顕微鏡をベースとするツールの構築を目的としている。この装置の特徴は、高い力分解能を有しているため、界面に存在する水和構造を可視化する事が可能である⁽²⁻³⁾。今回の報告では、このAQPを含む膜断片の表面構造と水輸送の機能をFM-AFM用いて行い、AQP分子の持つ水チャンネル機能と表面水和構造の関連を調べる事が出来ないか可能性を探った。

今回の報告では、ブタまたはヒツジの眼球のレンズ組織から採取した AQP を対象にして測定を行った。AQP を含む膜断片は重なりが多い凝集体を形成しており、わずかに存在する1枚膜部分を拡大すると縁部分が高くなった正方形のタイル状の構造が観察された。これはヘリックス6回貫通型の膜タンパク質が平板状に4量体を形成している状態を観察しているものと考えられる。この構造の上に生じている水和構造を計測すると、8-10nmの繰り返しで水和構造が強まる部分があり、その中間点で水和が弱まる繰り返し構造がある事が分かった。これは、水チャンネルのポア上空で水和構造が乱れるが、AQPの構造体のヘリックス上では構造化した水和が存在する、と言った複雑な繰り返し構造を反映していると考えられる。次に、水透過機能と水和構造の関係を調べるために、透過能を阻害するイオンを水層に添加して、水和構造の変化を調べた。一般に水銀やニッケル、銅などの重金属イオンの添加によって AQP の水透過能が阻害されるとされている⁽⁴⁾。HgCl₂ 5mM(最終濃度)を添加すると表面から~0.5nmにある強い水和層の構造が壊れてコンパクトな弱い水和に変化した。CuSO₄の場合も同様に上部の構造がなくなり、より弱い水和層のみになり、層状構造はほとんど消失した。このため、AQPの水透過能と表面水和構造の間には何らかの関連があるものと考えられる。



- 1) B.M. Denker, B.L. Smith, F.P. Kuhajda, & P. Agre. *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263, 15634.
- 2) T. Fukuma, K. Kobayashi, K. Matsushige, and H. Yamada. *Appl. Phys. Lett.*, **2005**, 87, 034101.
- 3) H. Yamada, K. Kobayashi, T. Fukuma, Y. Hirata, T. Kajita, K. Matsushige, *Appl. Phys. Express.*, **2009**, 2, 095007.
- 4) Y. Hirano, N. Okimoto, I. Kadohira, M. Suematsu, K. Yasuoka, & M. Yasui, *Biophys. J.*, **2010**, 98, 1512.