

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 5 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

| | | |
|---|-----------|---|
| 課題名 | | バイセルを用いた脂質-タンパク質およびタンパク質-タンパク質複合体の溶液 NMR 解析 |
| 研究代表者 | 氏名 | 長尾 聡 |
| | 所属機関名・部局名 | 奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学領域 |
| | 職名 | 助教 |
| 事業名 (該当の事業名の右欄に○) | | 共同研究員 |
| | ○ | 超高磁場NMR共同利用研究課題 |
| | | クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題 |
| | | 客員フェロー |
| 蛋白研受入担当教員名 | | 宮ノ入 洋平 |
| <p>生体内では、タンパク質がタンパク質または脂質と複合体を形成することにより、複数の活性部位が協同して機能したり、細胞内外への物質輸送などの複雑な働きをしている。シトクロム <i>c</i> はミトコンドリア内に存在する表在性膜タンパク質であり、呼吸鎖における複合体 III-複合体 IV 間の電子輸送や、細胞のアポトーシス期におけるカルジオリピン酸化を担っている。シトクロム <i>c</i> の機能変換にはリン脂質膜との相互作用が重要な役割を果たすと考えられているが、その分子機構は詳細に明らかになっていない。そこで、シトクロム <i>c</i> がリン脂質膜と相互作用して起こる動的な状態変化を高分解能構造解析により捉えることがシトクロム <i>c</i> の機能変換の分子機構解明に重要だと考えられる。</p> <p>膜結合したシトクロム <i>c</i> の溶液 NMR シグナルを感度良く観測するには、分子サイズが非常に小さく、溶液中で安定な脂質膜が必要不可欠である。脂質バイセルは、長いアシル鎖を有する脂質分子がつくる二分子膜構造を短いアシル鎖を有する脂質分子が側面から取り囲み可溶化することで形成するディスク状構造のモデル脂質膜である。本研究では、長鎖脂質として負電荷リン脂質のジミリストイルフォスファチジルグリセロール(DMPG)、短鎖脂質として中性リン脂質のジヘキサノイルフォスファチジルコリン(DHPC)を用いて脂質バイセルを作製した。膜結合したシトクロム <i>c</i> の構造情報を得るために、¹³C および ¹⁵N 均一標識したシトクロム <i>c</i> を、炭素源として ¹³C グルコース、窒素源として ¹⁵N 塩化アンモニウムを使用した M9 培地で大腸菌培養により作製した。¹³C, ¹⁵N 同位体標識シトクロム <i>c</i> に上述の脂質バイセルを添加し、HNCO 測定、続けて HNCACO 測定を行った。HNCO スペクトルでは部分変性構造のシトクロム <i>c</i> に由来すると考えられるシグナルが観測された。一方、HNCACO スペクトルでは一部のシグナルだけしか観測されなかった。HNCACO 測定後の試料の状態を確認するために ¹H-¹⁵N HSQC 測定を行ったところ、HNCO 測定前には観測されていなかったシグナルが多く現れており、長時間の HNCACO 測定中にシトクロム <i>c</i> の状態が経時変化することが示唆された。今後は、試料の経時変化でシトクロム <i>c</i> に何が起きているのかを明らかにすることと、測定方法や試料濃度を検討して短時間で測定を完了させ、すべてのシグナルの帰属を目指す。</p> | | |