

提出日：平成 30 年 5 月 18 日

平成 29 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	脂質バイセルと溶液 NMR を組み合わせた膜タンパク質—脂質膜相互作用解析		
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	藤原敏道、宮ノ入洋平		
<p>シトクロム <i>c</i> は通常、ミトコンドリア内で電子伝達を行っているが、生体膜に強く相互作用するとアポトーシスを引き起こすカルジオリピン酸化活性に機能変換されることが知られている。膜と結合したタンパク質を溶液 NMR で観測出来れば、原子レベルの構造情報をもとにした機能変換メカニズムの理解が可能になるが、一般に生体膜は巨大であり膜結合したタンパク質の NMR シグナル観測は困難である。本研究では、生体膜のモデルとしてナノメートルオーダーの微小な脂質バイセルをサイズ制御して作製し、脂質バイセルと選択的アミノ酸 ^{15}N 同位体標識法を組み合わせることにより、脂質膜と相互作用したシトクロム <i>c</i> のシグナル帰属および構造の解析を行った。</p> <p>本実験では、分子サイズの異なる脂質バイセルを作製した。シトクロム <i>c</i> は添加する脂質バイセルのサイズ依存的に構造変化し、脂質バイセルのサイズが大きくなると、天然様構造からヘリックス構造の領域が減少した部分変性構造へと変わることが明らかになった。本年度は部分変性状態にあるシトクロム <i>c</i> の性質を調べるため、まず、シグナル帰属を特定のアミノ酸を ^{15}N 同位体標識したシトクロム <i>c</i> を用いて行った。アラニン、グリシン、イソロイシン、リシン、スレオニン、チロシン、フェニルアラニン、ロイシン、メチオニン、バリンをそれぞれ選択標識したシトクロム <i>c</i> を作製し、部分変性状態の HSQC スペクトルにおけるシグナルのアミノ酸の種類を決定し、アミノ酸配列と照らし合わせることで、39-60 番目のアミノ酸残基が変性部位であることを明らかにした。また、脂質バイセルと相互作用しているシトクロム <i>c</i> の構造ダイナミクスを重水素交換実験により調べたところ、天然様構造の状態では遊離状態のシトクロム <i>c</i> と同様にヘリックス構造が保持されていたが、部分変性状態では一部残っていたヘリックス構造でも重水素交換が加速されており、シトクロム <i>c</i> 全体が緩い構造をとっていることが示唆された。以上の結果より、シトクロム <i>c</i> は相互作用する脂質膜のサイズに依存して運動性が大きく異なる膜結合状態をとり、機能変換を行っていると考えられる。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点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：平成 30 年 5 月 18 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp