

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：松尾 龍人

所属機関名・部局名・職名：国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・主幹研究員

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

トリパルミトイル化されたカベオリン蛋白質の中性子小角散乱による構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：北條 裕信 (研究室名：蛋白質有機化学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内 で記載。

研究の背景と目的: カベオリン 1 (Cav-1) は、細胞が栄養素等を内部に取り込むエンドサイトーシスに不可欠な膜蛋白質である。Cav-1 には 3 箇所のパルミトイル化部位が存在するが、トリパルミトイル化が Cav-1 の構造や機能に及ぼす影響は不明である。それは、Cav-1 モノマーの単離及び *in vitro* においてトリパルミトイル化が困難なためである。近年、北條教授らのグループは、Cav-1 の全合成及びトリパルミトイル化に初めて成功した (Hojo et al., *Ang. Chem. Int. Ed.*, 60:13900-13905, 2021)。これにより、Cav-1 を脂質膜に埋め込んだ状態でモノマー状態として単離することが可能となった。そこで本研究では、中性子小角散乱 (SANS) を用いて、リン脂質単層リポソームに挿入した Cav-1 およびトリパルミトイル化 Cav-1 モノマーの構造情報を得ることを目的とした。

方法: 本研究で扱う試料はタンパク質と脂質の複合体であるため、それぞれの構造情報を得るためには両者の散乱を分離して測定する必要がある。そこで、15%重水中で散乱が実質的に消えることが報告されている POPA/POPS リポソームを用いた。トリパルミトイル化の有無の両条件において Cav-1 とリポソームの複合体を含む 15%重水溶液試料、およびリポソーム自体の構造を調べるために 100%重水中のリポソーム単独の溶液試料を調製した。SANS 測定は、茨城県東海村の研究用原子炉 JRR-3 に設置されている SANS-J 装置を用いて行い、各試料からの散乱曲線を得た。

結果: 今回調製した POPA/POPS リポソームが、実際に 15%重水中で散乱強度がバックグラウンドレベルまで低下することを確認することができた。また、100%重水中のリポソームのデータ解析から、リポソームの粒径分布や脂質二重層の厚さといったパラメータを導出することができた。Cav-1 については、散乱データのモデルフリー解析より、Cav-1 モノマー分子の大きさがトリパルミトイル化によって変化することがわかった。詳細は、計算機シミュレーションを援用した解析によって進めているところである。