

NMR 測定による糖脂質 MPIase の 膜タンパク質膜挿入活性発現機構解析

SATテクノロジー・ショーケース2016

■ はじめに

すべての生物は、細胞膜に存在する膜タンパク質を介して、細胞内外の物質や情報のやり取りをしている。膜タンパク質が正常に働くためには、正しい形で膜に挿入される必要がある。我々は、大腸菌の内膜より、タンパク質膜挿入に必須の新因子として、MPIase (Membrane Protein Integrase)を発見した(図1)。従来、単純なタンパク質はそれ自身の疎水性によって自発的に膜挿入すると考えられてきた。しかし、生理的濃度のジアシルグリセロール(DAG)がタンパク質膜挿入を阻害し、MPIaseによって膜挿入が復活する現象が見出されている。そこで、我々は核磁気共鳴(NMR)と有機合成による同位体標識を含めた試料調製を組み合わせることによって、MPIaseによるタンパク質膜挿入の分子機構の解明を試みた。

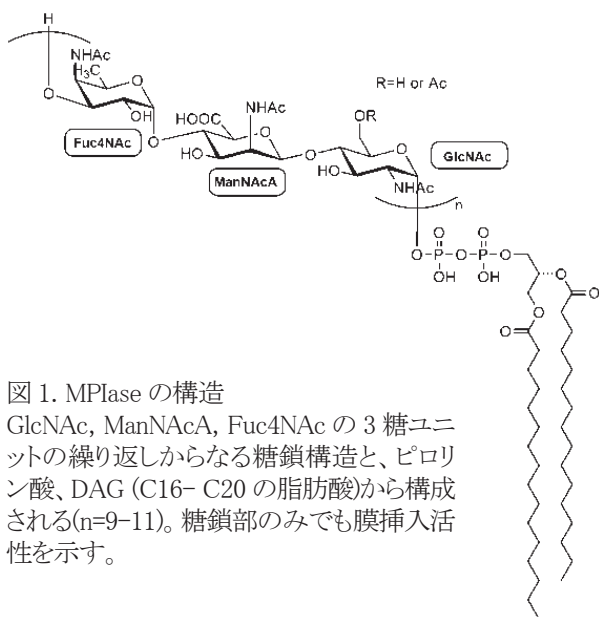


図 1. MPIase の構造

GlcNAc, ManNAcA, Fuc4NAc の 3 糖ユニットの繰り返しからなる糖鎖構造と、ピロリン酸、DAG (C16- C20 の脂肪酸)から構成される(n=9-11)。糖鎖部のみでも膜挿入活性を示す。

■ 活動内容

1. 膜の形態の確認

DAGおよびMPIaseが大腸菌リン脂質膜の形態に与える影響を調べるため、DAGまたはMPIaseを含む膜試料を調製してNMR測定を行い、いずれの膜組成においても二重膜構造を保持していることを確認した。

2. 膜中の脂質の運動性

大腸菌膜の主要な脂質に化学合成によって重水素を導入し、DAGおよびMPIaseによる膜中の脂質分子の運動性の変化を重水素NMRにより検証した。その結果、DAGによって脂質の運動性が低下し、MPIaseによって運動性が上昇することを明らかにした(図2)。同様に重水素標識DAGを化学合成して、重水素NMR測定を行い、MPIaseによってDAGの運動性も上昇することを明らかにした。これらの結果は、DAGによって膜が硬くなり、MPIaseによって膜が柔らかくなることを示しており、このような膜の硬さの変化がDAGによる膜挿入活性阻害およびMPIaseによる膜挿入復活の一因であると考えられる。

3. MPIaseとペプチドの相互作用

MPIaseと、化学合成した膜挿入基質ペプチドを用いたNMR測定より、MPIaseと基質ペプチドとの相互作用が示唆された。

以上より、MPIaseは膜中の脂質分子の運動性を上昇させて膜を柔らかくすると同時に、膜タンパク質と相互作用することで、タンパク質を膜挿入すると推定した。

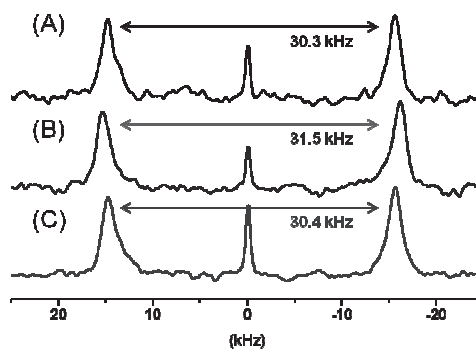


図 2. 重水素標識脂質含有リボソームの重水素 NMR スペクトル

- (A) 大腸菌脂質/²H 標識脂質
(B) + DAG (脂質に対して 5 wt%)
(C) + DAG (5 wt%) + MPIase (5 wt%)

代表発表者 山口 敏幸 (やまぐち としゆき)
所 属 国立研究開発法人 産業技術総合研究所
イノベーションスクール
健康工学研究部門
問合せ先 〒563-8577 大阪府池田市緑丘 1-8-31
TEL: 072-751-7997 FAX: 072-751-9517
toshiyuki.yamaguchi@aist.go.jp

■キーワード: (1) タンパク質膜挿入
(2) 細胞膜
(3) 核磁気共鳴 (NMR)
■共同研究者: 島本 啓子
(サントリー生命科学財団)
西山 賢一
(岩手大農寒冷バイオ)