

【基盤研究(S)】

総合系(複合領域)



研究課題名 生体モデル膜における脂質分子の動的配座とドメイン構造

大阪大学・大学院理学研究科・教授 **むらた みちお**
村田 道雄

研究課題番号: 16H06315 研究者番号: 40183652

研究分野: 複合領域

キーワード: 動的配座、ドメイン構造、脂質二重膜、スフィンゴミエリン、脂質ラフト

【研究の背景・目的】

生体モデル膜における脂質分子の動的配座とドメイン構造: 生命現象を支える生体膜は分子量 800 程度の小さな脂質分子が水中で形成する平面状の分子会合体を主体とする。生命科学のフロンティアと云える細胞膜の機能について、今までは膜タンパク質についての研究が主流であったが、最近、膜脂質抜きでは議論ができないことが分かってきた。本基盤研究 S では、生体膜を構造生物学の土俵に乗せるために、細胞膜上に形成されるドメイン形成の分子機構を原子分解能で解明することを目指す。具体的には、各種同位体で位置特異的に標識した膜脂質を化学合成して固体 NMR を測定することによって、膜脂質アルキル鎖の立体配座、脂質分子によるナノクラスター形成に関わる分子間相互作用および膜タンパク質の周辺脂質について立体配座を解明し、これら脂質同士、脂質-タンパク質系の動態についても直接的実験データを得て、計算科学的手法とともに脂質分子の動的実像の解明を目指す。

【研究の方法】

a) ラフト系におけるスフィンゴミエリン(SM)分子の立体配座: 脂質分子の立体配座と分子間相互作用研究の過程でわれわれが開発した方法論を用いて、SM アシル鎖の立体配座とコレステロール(Cho)の配向決定法を確立する。SM の 4/5 位、16/17 位に重水素/炭素-13 を置換した脂肪酸を合成し、Lo ドメインにおける立体配座の変化を調べる。磁気双極子相互作用は REDOR を用いて測定し、温度、Cho および Ld 脂質(DOPC)のモル比を変えて、立体配座変化と膜物性の相関を調べる。NMR 解析において、サポニンアグリコンと Cho を比較することによって Cho のオーダー効果を担う構造的要因を解明する。

b) 原子分解能におけるラフト系における脂質分子の分子間相互作用: 固体 NMR による SM の分子内磁気双極子相互作用の測定において、 ^{13}C - ^{15}N 結合が大きな緩和を誘発することを見出した。この緩和過程を定量的に解析することができれば、従来の方法では正確に測定するのが困難であった回転相関時間を高い精度で求めることができる。実験的に求めたドメイン当たりの平均分子数や回転相関時間はシミュレーションによって求めた値と比較する。

c) 膜タンパク質との相互作用における周辺脂質の立体配座: 膜タンパク質と周辺脂質についてはバクテリオロドプシン(bR)をモデルタンパク質として用いて研究を進めてきたが、この過程で確立した生体モデル膜における NMR 測定技術を利用して、膜タンパク質の存在下、効率的に周辺脂質の立体配座と運動性を評価する手法を確立する。具体的には、前項で求めた膜脂質の立体配座と分子間相互作用が、bR などの膜タンパク質の有無により、また、膜の水和度を変えた時にどのように変化するかを、標識脂質(SM, Chol, 標識フォスファチジルクリセロール)を用いて固体 NMR によって精査する。

【期待される成果と意義】

脂質ラフトには、タンパク質が選択的に集合し、細胞内外のシグナル伝達における重要な働きを担っているが、細胞膜に脂質ドメインが形成される分子機構やタンパク質と周辺脂質の相互作用については不明な点が多い。本研究によって、これら脂質の構造と機能を構造生物学的に解明することができれば、創薬に重要な膜タンパク質の理解が深まり、さらに、生体膜の分子基盤の理解が促進される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Nakagawa, Y., Umegawa, Y., Tsuchikawa, H., Hanashima, S., 他 4 名, Murata, M. Structure of bimolecular complex between amphoterin B and ergosterol in membrane is stabilized by face-to-face Van der Waals interaction with their rigid cyclic cores. *Biochemistry* (2016). Published online.
- Matsumori, N., Yamaguchi, T., Maeta, Y. and Murata, M. Orientation and order of the amide group of sphingomyelin in lipid bilayers determined using solid-state NMR *Biophys. J.* 108(12), 2816-2824 (2015).

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度-32 年度 140,600 千円

【ホームページ等】

<http://www.chem.sci.osaka-u.ac.jp/lab/murata/murata@chem.sci.osaka-u.ac.jp>