

脂質と膜タンパク質の相互作用解析法の開発とその応用

Development of method for interaction analysis between lipids and proteins and its application

九州大学 松森信明

生体膜には数千種類に及ぶ多様な脂質が存在する。しかし脂質二重膜を形成するためにはこれほど多様な脂質を必要とせず、この「脂質多様性」の意義は現在でも十分理解されていない。一方、近年膜タンパク質と脂質の共結晶構造が数多く報告され、さらに脂質が膜タンパク質の構造および機能を能動的に制御している事例が次々と明らかになってきた。つまり、脂質は膜タンパク質を浮かべる単なる媒質ではなく、相互作用を介して様々な膜タンパク質の機能を調節している。これが「脂質多様性」の意義の一つと考えられる。しかし、方法論の欠如により脂質の系統的な機能解析は進展していない。そこで我々は脂質の機能解明を目指し、脂質-膜タンパク質相互作用の解析手法の開発に着手した。

すでに我々は表面プラズモン共鳴法 (SPR) を用い、膜タンパク質と脂質の相互作用を簡便に評価する方法を開発したり。本手法では、センサー表面を脂質膜で修飾し、ここに膜タンパク質を多少埋もれた状態で結合させる。これによって膜タンパク質に膜環境をある程度付与でき、より多量の膜タンパク質を固定化できる。この手法を用いて、高度好塩菌が生産する膜タンパク質バクテリオロドプシン (bR) が糖脂質 S-TGA-1 と強く相互作用することを見出した。さらに S-TGA-1 が bR の三量体形成や光駆動プロトンポンプ活性を促進することも明らかにした²⁾。次に本手法を放線菌由来のカリウムチャンネル KcsA に適用し、カルジオリピン (CL) と強く相互作用することを見出した。CL は、KcsA のチャンネル活性を向上させるだけでなく、結合部位から離れたチャンネルゲートを開かせるアロステリック効果を示すことを明らかにした。このように、代表的な膜タンパク質である bR や KcsA ですら脂質との相互作用や脂質の効果が十分解明されておらず、本手法の有用性が示された。また本方法の発展形として、金ナノ粒子表面を脂質膜で修飾し、これに膜タンパク質を固定化することで、膜タンパク質結合脂質を取得する手法も検討している。これらの手法は膜タンパク質に相互作用する脂質ばかりでなく薬剤の探索にも応用できる。

次に上記手法との相補性を鑑み、脂質に特異的な膜タンパク質を解析する手法も開発した。すなわち、脂質を固定化したビーズを用いて、脂質分子に結合する膜タンパク質をプロテオーム解析する。まずは、脂質ラフトの構成脂質であり生理活性も強いスフィンゴミエリンやセラミドをビーズに固定化した。このビーズにおける脂質の密度は脂質膜に匹敵し、「脂質膜模倣ビーズ」と呼べるものである。つぎにタンパク質抽出液をこのビーズに作用させ、脂質に結合するタンパク質のプロテオーム解析を行った。その結果、がん関連の膜タンパク質がスフィンゴミエリンに結合することが示された。現在この相互作用をより詳細に解析している。

このように、我々は脂質と膜タンパク質の相互作用に関して、「膜タンパク質特異的脂質」「脂質特異的膜タンパク質」両面からアプローチしている。脂質-膜タンパク質相互作用が膜タンパク質の機能に与える影響を精査することで、「脂質ケミカルバイオロジー」の発展と、脂質多様性の意義の解明につなげたい。

【参考文献】

- 1) Inada, M.; Kinoshita, M.; Sumino, A.; Oiki, S.; Matsumori, N. *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1059*, 103–112.
- 2) Inada, M.; Kinoshita, M.; Matsumori, N. *ACS Chem. Biol.* **2020**, *15*, 197–204.