

リン脂質リポソームに再構成したバクテリオロドプシンの構造・機能に対するアシル鎖部分フッ素化の影響

(¹ 群馬大院理工、¹ 北大先端生命、³ 産総研、⁴ 名大院工) 吉野賢 ¹・
菊川峰志 ²・高橋浩 ¹・高木俊之 ³・横山泰範 ⁴・網井秀樹 ¹・金森敏之 ³・
○園山正史 ¹

【緒言】 脂質二分子膜に存在する膜タンパク質は、基礎・応用の両面から、現代の生命科学における最も重要な研究対象の1つである。しかしながら、機能を保持した膜タンパク質試料の調製が困難なために *in vitro* 実験において失活等の深刻な困難に直面することが多く、得られている知見は非常に限られている。膜タンパク質における諸問題を克服するため、私たちは、フルオロカーボンセグメントをアシル鎖末端に導入した新規部分フッ素化リン脂質群を開発し、膜物性・構造、さらに膜タンパク質の再構成に関する研究を進めている。本研究では、Dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) のミリストイル鎖末端ブチル基を全フッ素化した新規部分フッ素化リン脂質 diF4H10-PC (Fig. 1) にバクテリオロドプシン (bR) を再構成したプロテオリポソーム試料の構造・物性を詳細に調べ、DMPC 再構成試料との比較により、アシル鎖部分フッ素化の影響について検討した。

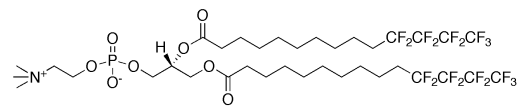


Fig. 1 Chemical structure of diF4H10-PC

【実験】 高度好塩菌 *H. salinarum* 由来の bR を、既報に従い diF4H10-PC リポソームに再構成した。bR と diF4H10-PC のモル比は 1:150 とした。80%以上の収率で bR/diF4H10-PC プロテオリポソームが得られ、bR の最終濃度は約 4 μM であった。得られたプロテオリポソーム中の bR の構造・機能中間体を、紫外可視吸収、可視円二色性 (CD)、レーザーフラッシュホトリシスにより調べた。

【結果と考察】 ゲル相に相当する 4 $^{\circ}\text{C}$ において、bR/diF4H10-PC の UV-vis スペクトルの吸収極大波長は 575 nm であり、bR 分子の集合状態を敏感に反映する可視 CD スペクトルは、三量体に由来する、極大ピークと極小ピークからなる bipolar なパターンを示した。また、532 nm 励起のレーザーフラッシュホトリシス測定により、光サイクルが約 10 倍長くなるものの、光中間体の生成・減衰挙動は天然紫膜に類似していた。以上のことから、ゲル相にある bR/diF4H10-PC は天然紫膜に類似した構造・機能中間体を有し、bR/DMPC との間に顕著な違いは見られなかった。温度上昇による液晶相転移後の bR/diF4H10-PC においても、ゲル相とほぼ同様の結果が得られ、天然紫膜に類似した構造・機能を保持していることが明らかになった。このことは、bR/DMPC では脂質膜相転移により、bR の三量体が単量体に解離し、可視光照射により変性が生じることと極めて対照的であった。bR の構造・機能中間体に対するアシル鎖の部分フッ素化の影響に関する詳細を報告する予定である。

Effect of Partial Fluorination in the Acyl Chain on Structure and Function of Bacteriorhodopsin in Phosphatidylcholine Membrane

M. YOSHINO, T. KIKUKAWA, H. TAKAHASHI, T. TAKAGI, Y. YOKOYAMA, H. AMII, T. KANAMORI, M. SONOYAMA (Gunma Univ., Hokkaido Univ., AIST, Nagoya Univ., sonoyama@gunma-u.ac.jp)

Bacteriorhodopsin (bR) reconstituted in liposome of a novel partially fluorinated analog of DMPC with the perfluorobutyl segments in the myristoyl groups, diF4H10-PC, has been investigated to clarify effects of substitution of nine hydrogen atoms by fluorine atoms on structural and physical properties of the membrane protein. Below the gel-to-liquid crystalline phase transition of diF4H10-PC bilayer, bR molecules adopt native-like structure and photocycle like reconstituted bR in DMPC liposome in the gel phase. Even upon heating up to temperatures well above the phase transition, the native-like functional reconstitution and higher structural stability of bR molecules in diF4H10-PC liposome are retained, which strikingly contrasts with lipid phase transition-induced disaggregation of protein molecules and light-induced denaturation in DMPC liposome.