



リポソーム中のタンパク質の小角散乱

杉本泰伸^{1,2}, 森田大貴²

1 名古屋大学シンクロトン光研究センター, 2 名古屋大学工学研究科

キーワード：X線小角散乱 膜タンパク質 リポソーム

1. 背景と研究目的

細胞膜は脂質二重層を主な構成単位としており、生物は外界と自己を隔てている。細胞膜を模したリポソームは近年、人工細胞などの研究にも用いられている。本研究では、外部から隔てられた空間としてリポソームを用い、リポソーム内にタンパク質を内包させた形で X 線小角散乱の測定を試みる。この研究はさらに、リポソーム膜にイオンポンプなどの膜タンパク質を埋め込んだ系を構築することで、内側空間の環境 (pH、塩環境など) を変化させながらタンパク質の構造を測定することを目指すものである。このような測定環境が可能となれば、細胞内に近い条件でタンパク質の構造をリアルタイムで観測することが期待される。

2. 実験内容

リポソームを調製しタンパク質を内包させた。内包させるタンパク質はモデルタンパク質として BSA およびリゾチームを用いた。タンパク質溶液中においてエタノール注入法によりリポソームを調製し、ソニケーションとフィルターによる処理を行った。外液中のタンパク質は透析によるバッファ交換で除去した。X 線小角散乱は BL8S3 を利用し、カメラ長 2.2 m、波長 0.15 nm の条件で行った。溶液セルを用い、露光時間は 180 秒とした。二次元検出器 Pilatus100K を用いて得られた散乱パターンは一次元化してバックグラウンド散乱の引き算、ギニエプロットなどを行った。

3. 結果および考察

散乱強度を測定しバックグラウンド処理の後、ギニエプロットを行った。比較のため、通常の溶液中のタンパク質についても測定を行い、同様の処理を行った。Figure 1 に両試料からの散乱強度のギニエプロットと近似直線を示した。ギニエプロットから求められた慣性半径は、リポソーム内と溶液中とでおよそ一致した。これはリポソーム内という環境下でタンパク質の構造解析が可能であることを示唆している。一方で、小角領域においては両者で乖離が見られた。リポソーム中では、一般的には分子の会合などが生じている際に見られる散乱強度の特徴と似た傾向を示した。今後はこうした乖離の原因を探り、さらにリポソームに膜タンパク質を埋め込む実験へと進めて微小環境下でのタンパク質構造測定を目指す。

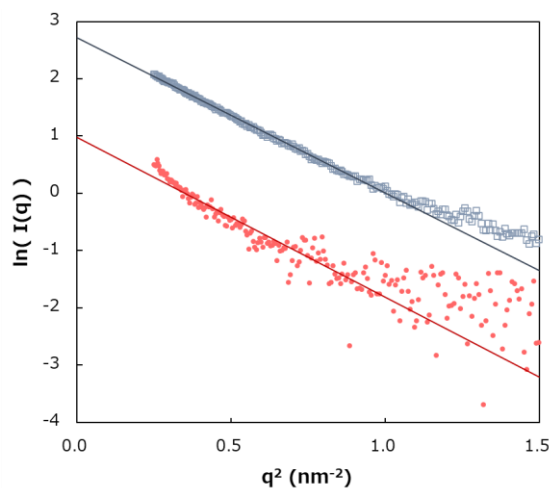


Fig.1 リポソーム内の BSA および溶液中の BSA に対するギニエプロット。実測値と近似直線を示す。灰色はコントロールとしての溶液中の BSA、赤色はリポソーム内の BSA からの散乱強度を示す。