

(様式 3)

平成 24 年度学融合推進センター学融合研究事業 研究成果報告書

研究テーマ名称	生体分子の自己組織化過程の時間分解観察を可能にするモデル脂質二分子平面膜系の構築
応募事業区分	事業枠②「若手研究者研究支援」
申請代表者氏名	木村哲就

○ 研究状況報告

膜タンパク質が生体内で多様な機能を発現することは一般に認識されているが、その自己組織化（フォールディング）の分子機構は未解明である。本申請研究課題では、脂質二分子平面膜の単一層を金膜上に精密に制御して形成し、その脂質二分子平面膜で起こる膜タンパク質のフォールディングダイナミクスを実験的に実時間で観察し、膜タンパク質の *in vitro* フォールディング機構の解明を目指した。また、アフリカツメガエルの卵母細胞の脂質二分子平面膜での *in cell* フォールディング機構についても実時間観察を試み、*in cell* と *in vitro* での膜タンパク質フォールディング機構の相違についても検討する。

そのためには一分子レベルで膜タンパク質の構造形成を追跡する手法の開発が必要であったが、本研究事業によって高開口数の対物レンズを購入することができ、一分子レベルでの蛍光観察が可能になった。それに伴い、高感度検出系の構築が可能となり、蛍光標識を行った膜タンパク質の構造変化の追跡に成功した。残念ながら、平成 25 年 3 月 31 日付で総合研究大学院大学および自然科学研究機構における職を辞する運びとなったため、平成 25 年度における継続申請を断念せざるを得ない。ただし、学融合推進センターよりの助成は受けないものの、予定していた平成 25 年度分の研究、およびその後に展開されると考えていたボソームやシャペロンなどが介在する生体内 (*in vivo*) フォールディングシステムの分子機構の解明に関する研究へと進展させることによって、本支援事業が萌芽的な役割を果たしていることを明らかにしたいと考えている。

○ 当該事業年度において達成された研究成果

平成 24 年度においては、脂質二分子平面膜の単一層を金膜上に精密に制御して形成することに成功した。表面増強赤外分光法において確立した膜タンパク質の修飾技術を応用し、 β バレル膜タンパク質である OmpA を鋳型とした脂質二分子平面膜の調製に成功し、蛍光標識を行った OmpA が脂質二分子平面膜に存在する様子を一分子観察し確認した。この脂質二分子平面膜で起こる膜タンパク質のフォールディングダイナミクスを実験的に実時間で観察するために、異なる 2 種類の蛍光標識を施した一本膜貫通型ヘリックス構造を持つ膜タンパク質 KCNE1 を脂質二分子平面膜上に展開し、その *in vitro* フォールディングを追跡した。その結果、KCNE1 が膜に到達し結合する anchoring とその後に起こる folding と考えられる蛍光強度の変化の観察に成功した。検体数を増やすことでバルクの計測との違いを検討し、膜タンパク質のフォールディングダイナミクスの解析を推進する予定である。

○ 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名等のリスト（論文があれば添付）

該当なし