

## 中性子小角散乱による脂質膜中カベオリン C 末端領域の構造解析

Structural analysis of the C-terminal region of caveolin-1 in lipid bilayers by small-angle neutron scattering

松尾 龍人<sup>1)</sup>, 北條 裕信<sup>2)</sup>, 末武 勲<sup>3)</sup>, 中川 洋<sup>4)</sup>

Tatsuhito MATSUO, Hironobu HOJO, Isao SUETAKE, Hiroshi NAKAGAWA

<sup>1)</sup>量研, <sup>2)</sup>阪大, <sup>3)</sup>中村学園大, <sup>4)</sup>原子力機構

(概要) エンドサイトーシスに関連するタンパク質カベオリン 1 (Cav-1) の、リン脂質膜における構造情報を得るために中性子小角散乱(SANS)実験を SANS-J を用いて行った。パルミトイル化の有無の両条件において、POPA/POPS から成る単層リポソームに埋め込んだ Cav-1 溶液試料を 15% D<sub>2</sub>O バッファー中で測定した。この重水濃度では、リポソーム由来の散乱が消え、膜に埋め込まれた Cav-1 のみの構造情報が得られる。今回、リポソーム由来の散乱が実際に消えることを確認するとともに、Cav-1 はパルミトイル化の有無に関わらず同様の構造を維持していることがわかった。

キーワード : 中性子小角散乱, カベオリン, タンパク質, リン脂質

### 1. 目的

カベオリン 1 (Cav-1) は、細胞が栄養素等を内部に取り込むエンドサイトーシスと呼ばれる現象に不可欠な蛋白質である。Cav-1 は一部が細胞膜に埋め込まれており(図 1)、オリゴマー形成能を持つ。また、3 箇所のパルミトイル化部位(図 1 赤色)が存在するが、トリパルミトイル化が Cav-1 モノマーの構造、オリゴマー形成、ひいてはエンドサイトーシスに及ぼす影響は不明である。それは、Cav-1 モノマーの単離及び in vitro においてトリパルミトイル化が困難であることによる。さらに、蛋白質-膜複合体は結晶構造解析や NMR の適用が困難であることが多い。このような試料及び測定技術上の問題のため、Cav-1 における構造生物学的研究は停滞している。

これまで Cav-1 を単離することは困難であったが、最近、研究協力者の北條教授及び末武教授は、Cav-1 の全合成及びトリパルミトイル化に初めて成功した[1]。これにより、Cav-1 のモノマー状態における構造解析が現実的となった。そこで本研究では、トリパルミトイル化 Cav-1 を対象に、蛋白質-膜複合体の解析に有効な中性子小角散乱(SANS)を用いて構造解析を行う。Cav-1 の中でも特に機能的に重要な C 末端領域(124-178; 以下 Cav-1<sup>Cter</sup>)に着目し、バイセル(脂質膜)に挿入した Cav-1<sup>Cter</sup> の中性子小角散乱実験を行い、トリパルミトイル化による Cav-1<sup>Cter</sup> 構造変化を明らかにする。

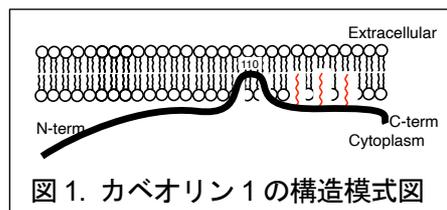


図 1. カベオリン 1 の構造模式図

### 2. 方法

本課題では、以下の試料を調製し、SANS-J にて SANS 測定を行った。温度は 293 K、カメラ長は 4m とした。

1. トリパルミトイル化なし Cav-1<sup>Cter</sup> in 15% D<sub>2</sub>O バッファー
2. トリパルミトイル化あり Cav-1<sup>Cter</sup> in 15% D<sub>2</sub>O バッファー
3. 13 mg/ml 単層リポソーム(POPA:POPS = 1:1) in 15% D<sub>2</sub>O バッファー
4. 15% D<sub>2</sub>O バッファー (20 mM NaHPO<sub>4</sub>, 100 mM NaCl, pD 7.2)

### 3. 結果及び考察

本課題では、脂質膜に埋め込まれた Cav-1 の構造情報を得ることを目的としている。まず、脂質膜由来の散乱が 15% D<sub>2</sub>O バッファー中で実際に消えるかどうかを調べた。右図上に、バッファー(試料 4)の散乱曲線とリポソーム(試料 3)の散乱曲線の比較を示す。このグラフから明らかなように、POPA:POPS=1:1 のリポソームは 15% D<sub>2</sub>O 中で散乱の寄与が実質的に皆無であることを確認することができた。

次に、この条件において、試料 1 および 2 の測定を行った。これらの測定では、リポソームに埋め込まれた Cav-1 のみに由来する散乱曲線を得ることができる。右図下に、非パルミトイル化 Cav-1 (Cav1-nPal) およびパルミトイル化 Cav-1 (Cav1-Pal) の散乱曲線を示した。今回用いた試料濃度が低かった(沈殿形成のため正確な濃度測定は不可能であった)ため、データのばらつきが大きい。両方の散乱曲線は実質的に一致していることがわかる。すなわち、パルミトイル化の有無にかかわらず、Cav-1 は脂質膜中で同様の構造を維持していることを示唆している。

本報告書が原子力機構ホームページで公表されること、且つ解析結果は未発表であり原著論文として公表していないため、これ以上の詳細は記述しない。

### 4. 引用(参照)文献等

1. Hojo H., Takei, T., Asahina, Y., Okumura, N., Takao, T., So, M., Suetake, I., Sato, T., Kawamoto, A., Hirabayashi, Y., *Ang. Chem. Int. Ed.*, 60:13900-13905, (2021).

