

30E08-pm01S

M2 プロトンチャネルの pH 依存的会合状態の変化

○河野 健一¹, 大前 薫¹, 松崎 紗矢香¹, 矢野 義明¹, 松崎 勝巳¹ (¹京大院薬)

【目的】インフルエンザ A ウィルスの外皮に発現する M2 プロトンチャネルは、ウィルス粒子内を酸性化することにより、ウィルスが宿主細胞に感染する際のゲノム RNA の逆転写過程に関わる重要な役割を果たしていると考えられている。M2 はこれまで X 線結晶構造解析や NMR 解析により四量体であると報告されている (*Nature* (2008) 451; 596, *Nature* (2008) 451; 591) が、生細胞膜上での会合状態は明らかにされていない。本研究では、当研究室で開発された小分子蛍光ラベル法 (コイルドコイルラベル法; *ACS, Chem. Biol.* (2008) 3, 341) を用いて、生細胞膜上に発現させた M2 の会合状態を FRET により定量的に解析した。

【方法】M2 の N 末端に E3 タグ (EIAALEK)₃ を遺伝子導入 (E3-M2) し、CHO 細胞に一過性発現させた。Förster 距離が 82 Å ある FRET donor-acceptor を使い、各色素で標識した K4 プロープ (KIAALKE)₄ で E3-M2 を共染色した。スペクトル検出器を備えた共焦点顕微鏡で観察して、細胞膜部分のスペクトルデータを得た。これを各色素の蛍光スペクトル成分にデコンボリューションし、FRET 由来の acceptor の増感蛍光を指標にして、見かけ上の FRET 効率である E_{app} を算出した。donor モル分率 (X_D) を変化させた時の曲線から会合状態の定量的解析を行った。

【結果・考察】M2 は常時四量体を形成するのではなく、pH 依存的に会合状態が変化した。中性付近の pH では二量体として存在するが、pH 4.9 では完全な四量体 (会合率 100%) を形成した。M2 の His37 が低 pH 条件でプロトン化して、Trp41 と cation- π 相互作用することにより、M2 の四量体形成の安定化に寄与していると考えられる。