

22R-pm19

親水性アミノ酸残基の位置・膜深さが膜貫通ペプチドのスクランブラーゼ活性に与える影響

○中尾 裕之¹, 杉本 佑太², 池田 恵介¹, 齋藤 大明³, 中野 実¹ (¹富山大院薬, ²富山大薬, ³理研)

【目的】 膜タンパク質が脂質フリップフロップを促進する(スクランプリング)メカニズムは未だ明らかになっていない。我々はこれまでの研究で、小胞体膜タンパク質 EDEM1 の膜貫通配列ペプチドが高いスクランブラーゼ活性を示すことを明らかにした。EDEM1 配列で見られるように、2つの親水性残基がヘリックス中央の同じ側に位置することが高い活性をもたらすのではないかと考え、本研究では、Arg・His 残基の位置・膜深さを様々に変えた膜貫通ペプチドを合成し、そのスクランブラーゼ活性を評価した。

【方法】 Phosphatidylcholine とペプチドを混合したリポソームを調製し、二重層の外葉を蛍光脂質で標識した。種々の時間インキュベーションした後、膜を透過しない水溶性の消光剤を添加し、外葉に残存する蛍光脂質による蛍光を消光させた。消光剤添加前後の蛍光強度比から蛍光脂質のフリップフロップを評価した。また、全原子 MD シミュレーションを行い、親水性アミノ酸残基側鎖の膜深さ分布やペプチド近傍の脂質・水原子分布を評価した。

【結果・考察】 ペプチドの活性は、Arg・His のらせん軸周りの回転角に依存して変化し、Arg・His が同じ側にあるペプチドほど高い活性を示した。Arg・His の膜深さの影響については、2残基を配列中央に近づけるほどペプチドの活性が上昇した。MD シミュレーションより、高い活性を示したペプチドの場合のみ、2残基両方の側鎖が炭化水素領域に位置していることが明らかになった。親水性の側鎖が炭化水素領域に位置することで、脂質の親水性頭部が通過する際の活性化エネルギーを減少させ、フリップフロップを促進していると考えられる。