

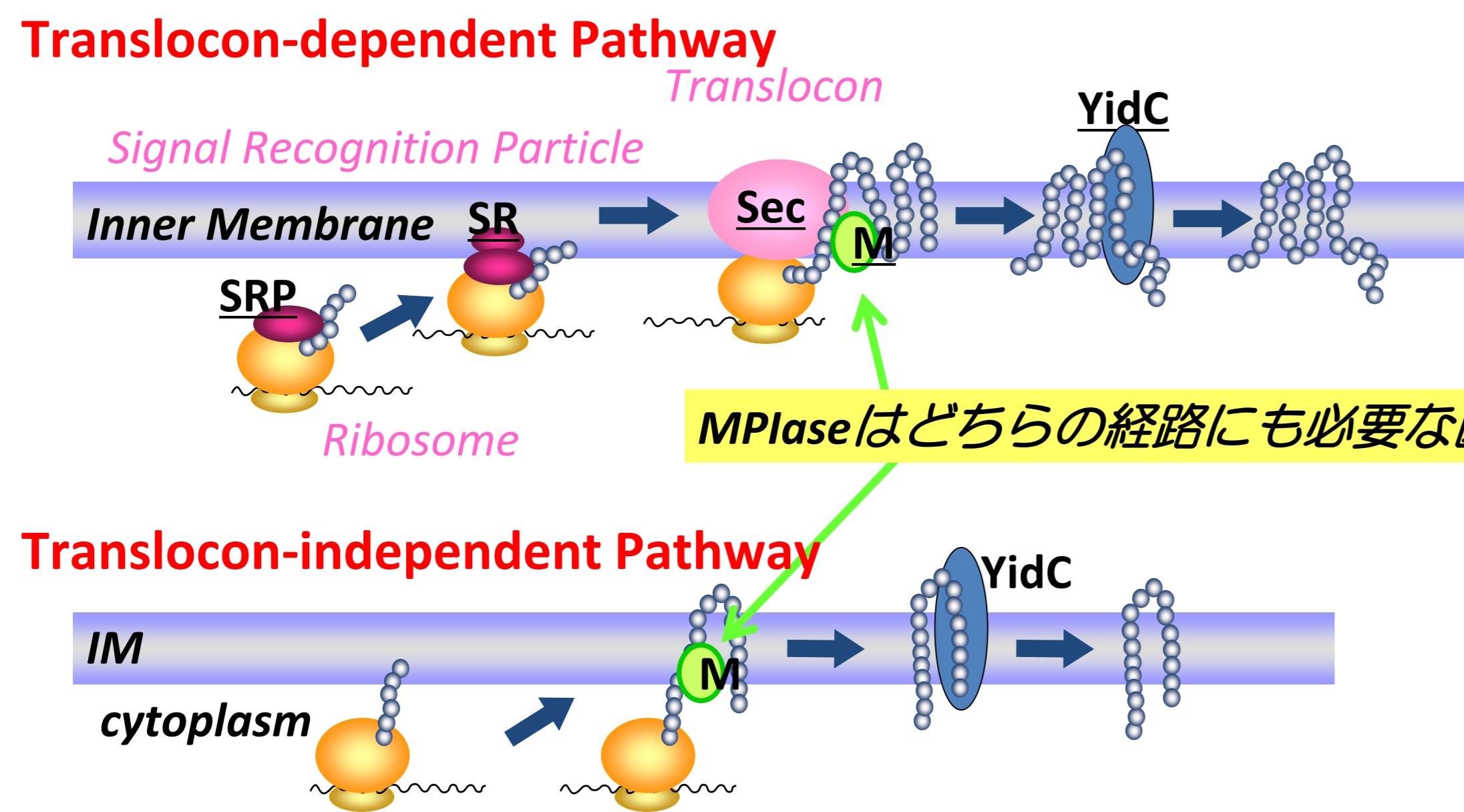
糖脂質MPlase合成類縁体による膜挿入酵素様活性の機構解明

(サントリー生科財団) 島本啓子



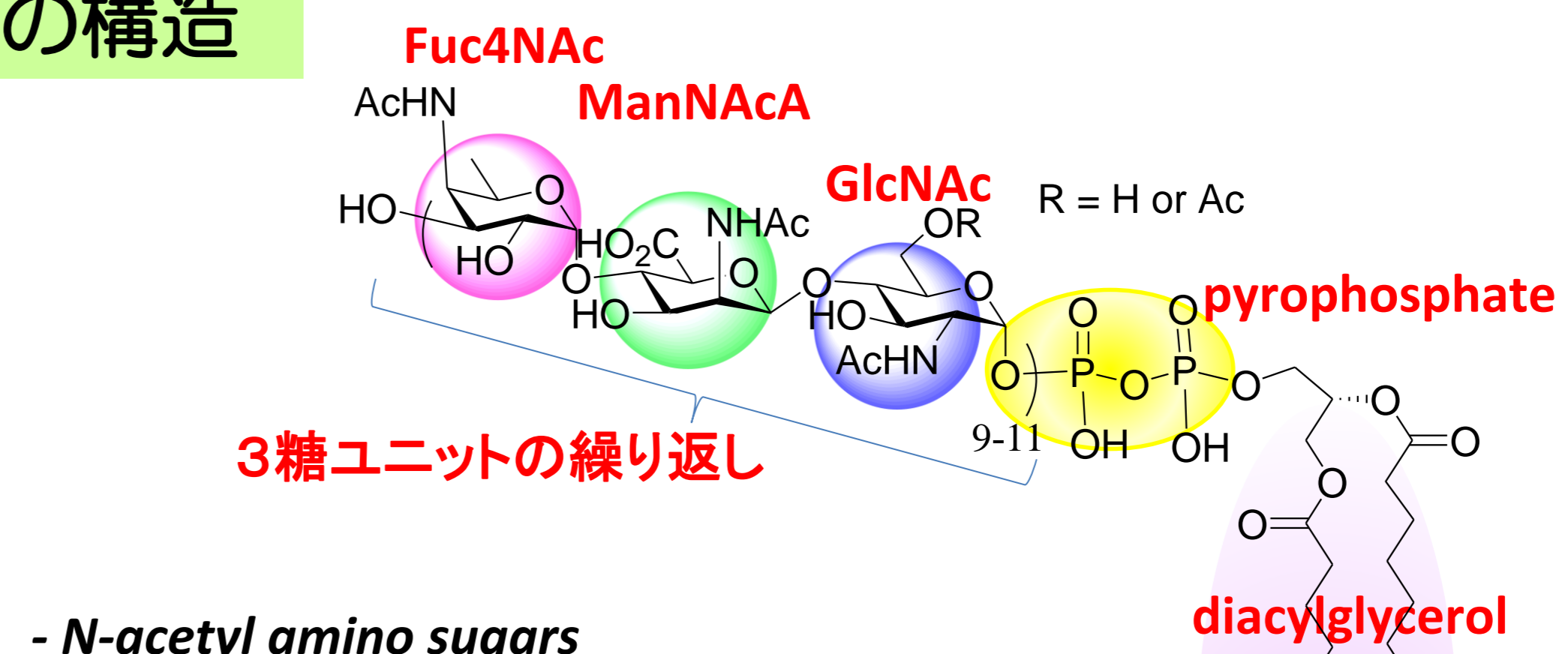
MPIase (Membrane Protein Integrase)は、大腸菌において、タンパク質膜挿入に必須な糖脂質である。合成類縁体を用いて、挿入活性および膜物性を測定し、膜タンパク質の膜挿入機構を分子レベルで明らかにした。

大腸菌の膜タンパク質膜挿入機構



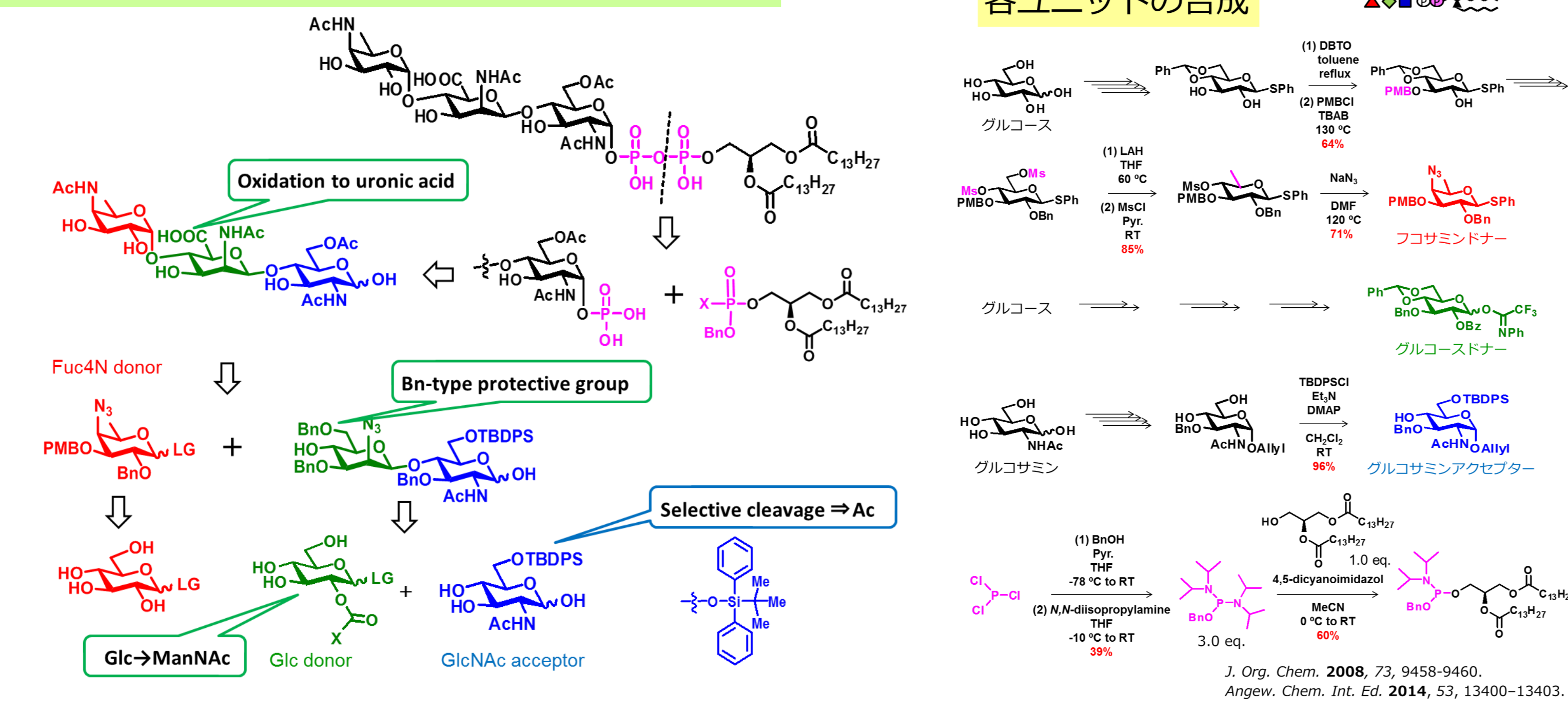
MPlaseはどちらの経路にも必要な因子

MPlaseの構造

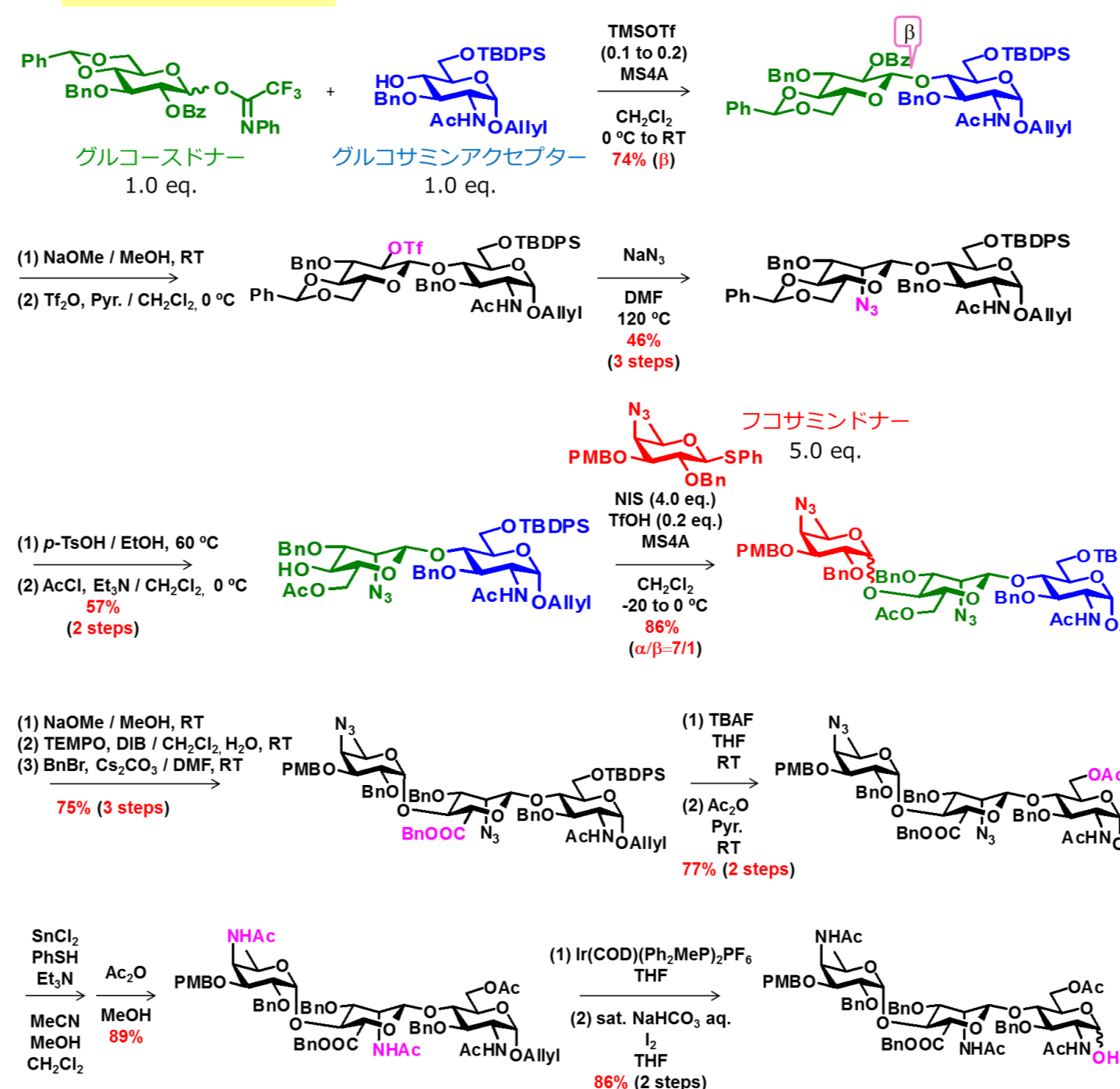


- N-acetyl amino sugars (GlcNAc, ManNAc, Fuc4NAc)
- Acetylation of 6-OH on GlcNAc
- Repeating trisaccharide units (9-11)
- Pyrophospholipid
- Variety of fatty acids

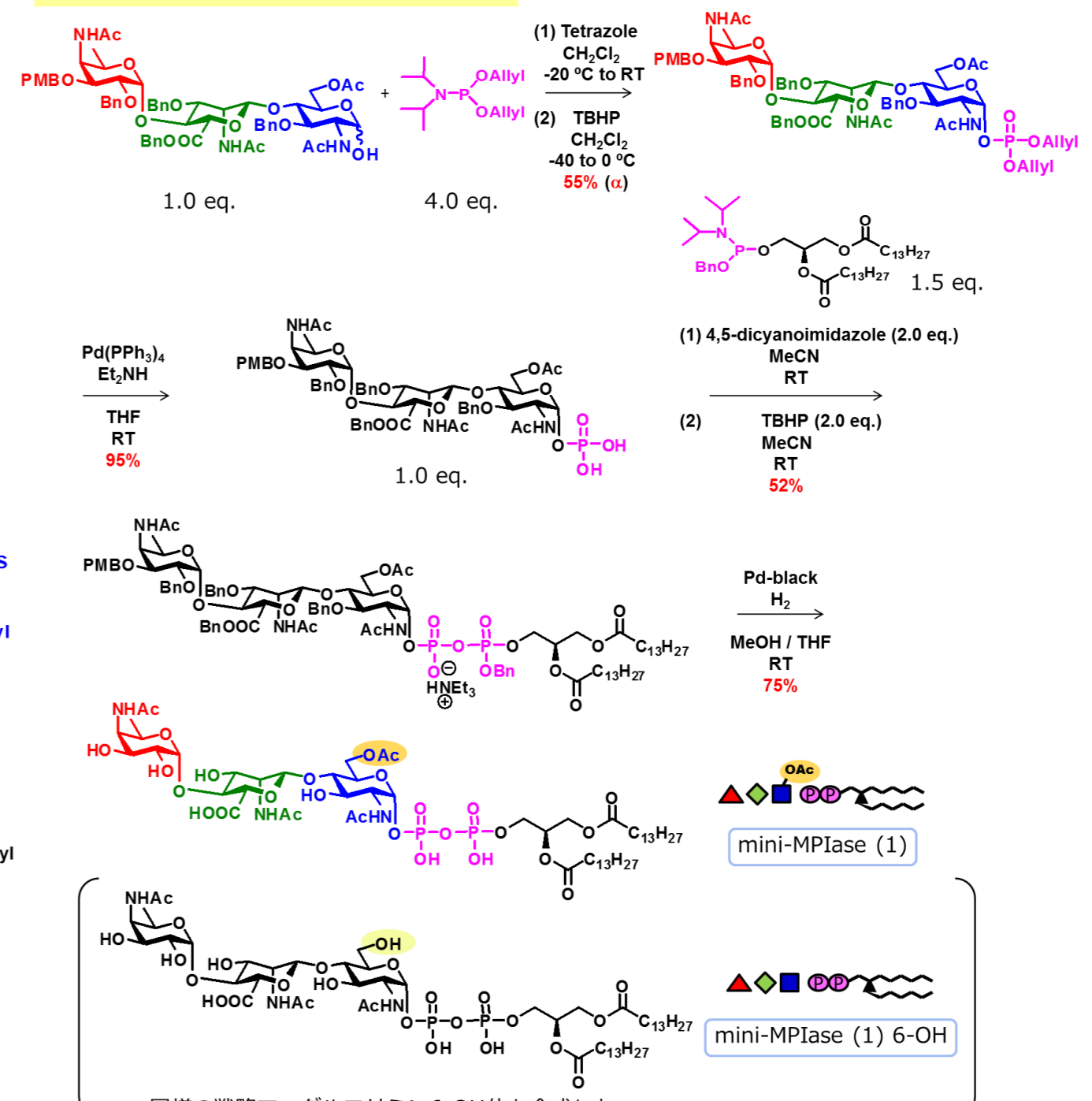
最小ユニット(mini-MPlase-3)の合成戦略



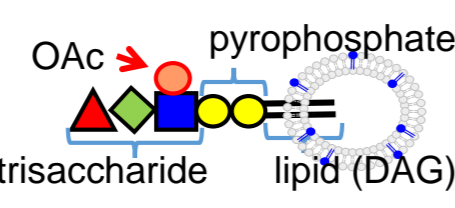
三糖の合成



ピロリン脂質の導入



膜タンパク質膜挿入活性



| Liposomes | Additive | Glycan | Ac | Linker | Lipid | Activity |
|--|----------------------|--------|----|--------|-------|--|
| Liposomes prepared from PL Without DAG | | | | | | ★★★★★ spontaneous integration |
| | | | | | DAG | ★ spontaneous integration is inhibited by DAG |
| | MPlase | | | | | ★★★★★ a long glycan shows more potent activity |
| | Mini-MPlase-3 | | | | | ★ an essential structure |
| | Mini-MPlase-3 (6-OH) | | X | | | ★ O-Ac group is important |
| PL + 5 wt%DAG | | | | X | | ★ pyrophosphate linker is essential |
| | Trisac-P | | | | X | ★ anchoring in membrane is crucial |
| | Polysac-P | | | | X | ★ anchoring in membrane is crucial |
| | Polysac | | | X | | ★ anchoring in membrane is crucial |

MPlase糖鎖と基質タンパク質の相互作用(シャペロン活性)

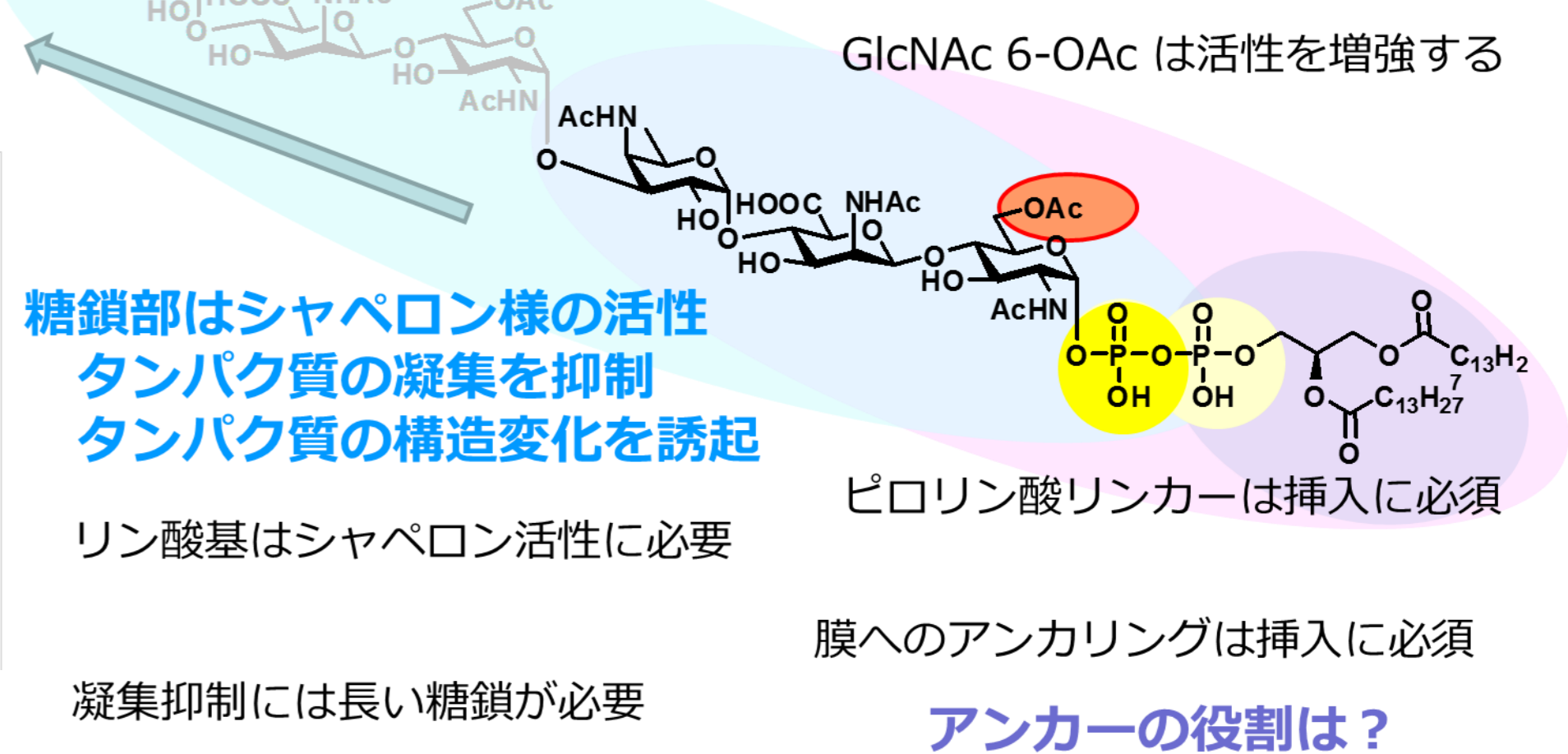
| Liposome | Additive | Activity |
|-----------------------|-----------|-----------------------------|
| mini-MPlase-3 (5 wt%) | | ★ |
| | Polysac-P | ★★★★★ enhance |
| | Trisac-P | ★ inhibit |
| PL 5 wt%DAG | | ★ |
| | Polysac | ★ no effect |
| PL trace DAG | | ★★★★★ partially spontaneous |
| | Polysac-P | ★★★★★ enhance |

MPlaseの糖鎖部は基質タンパク質と相互作用して、凝集を抑制するシャペロン様活性がある

構造活性相関

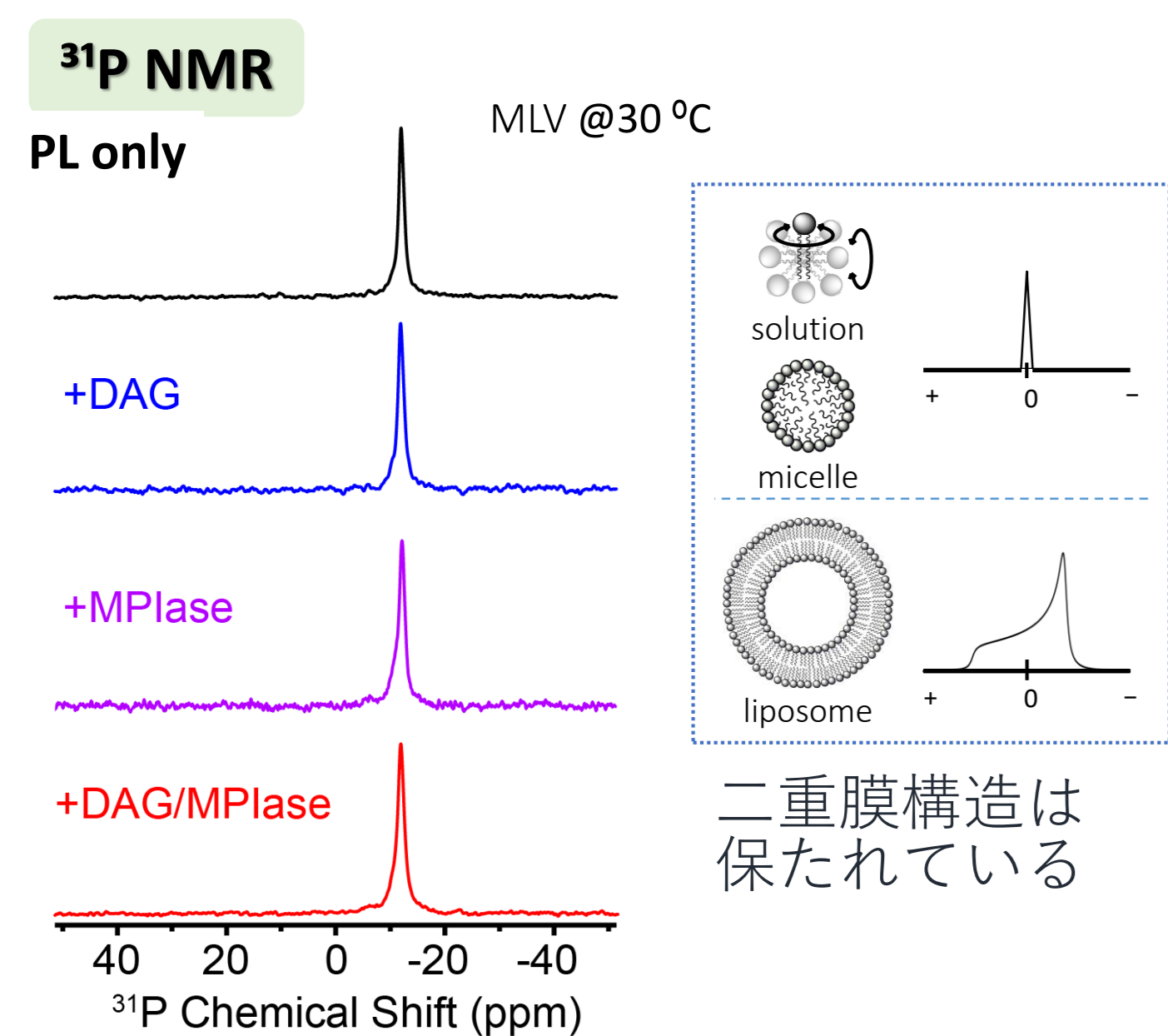
mini-MPlase-3 は最小活性構造を含む

長い糖鎖の方が効率は良いが、3糖ユニットだけでも膜上では有意な挿入活性を示す

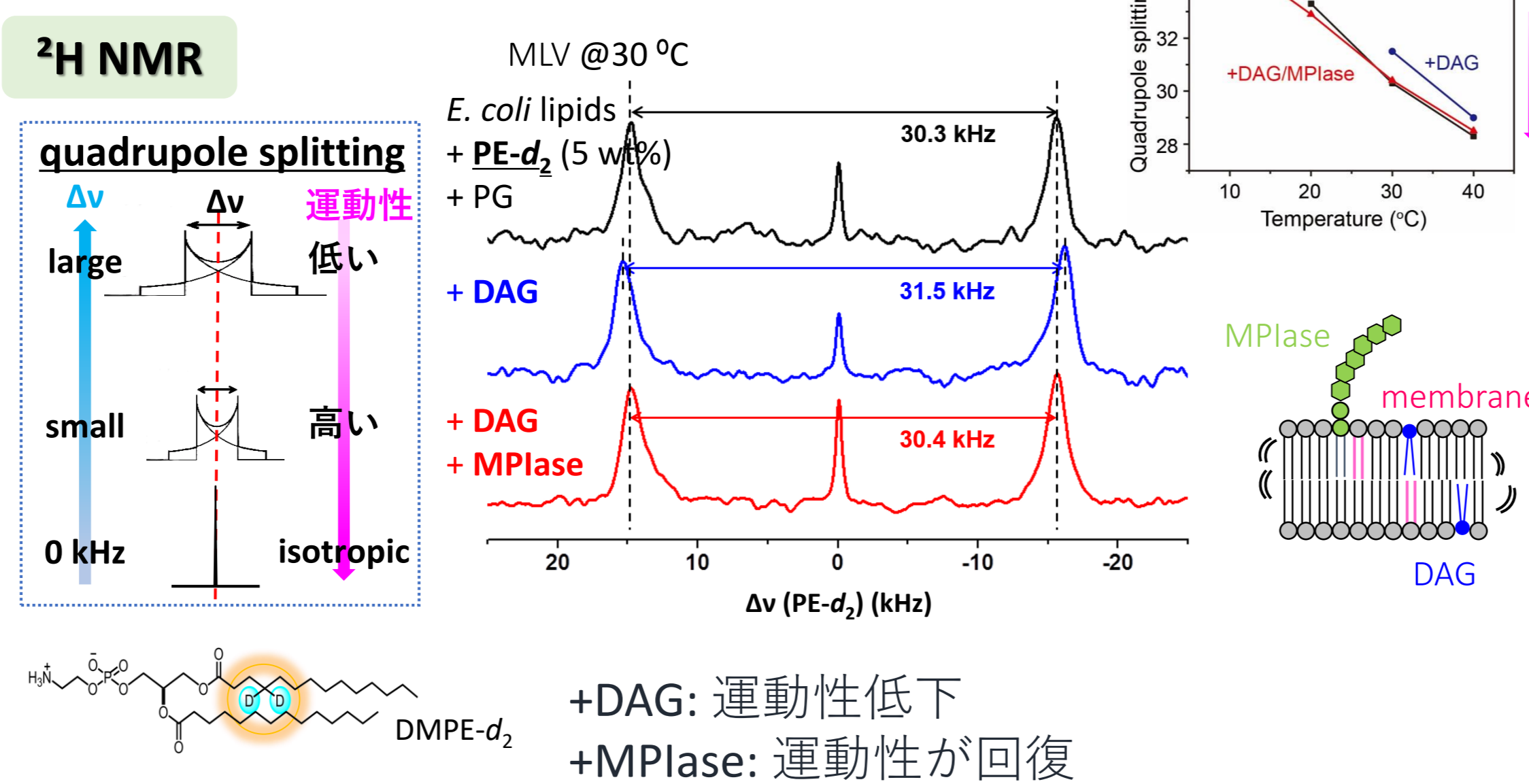


膜物性に対する影響

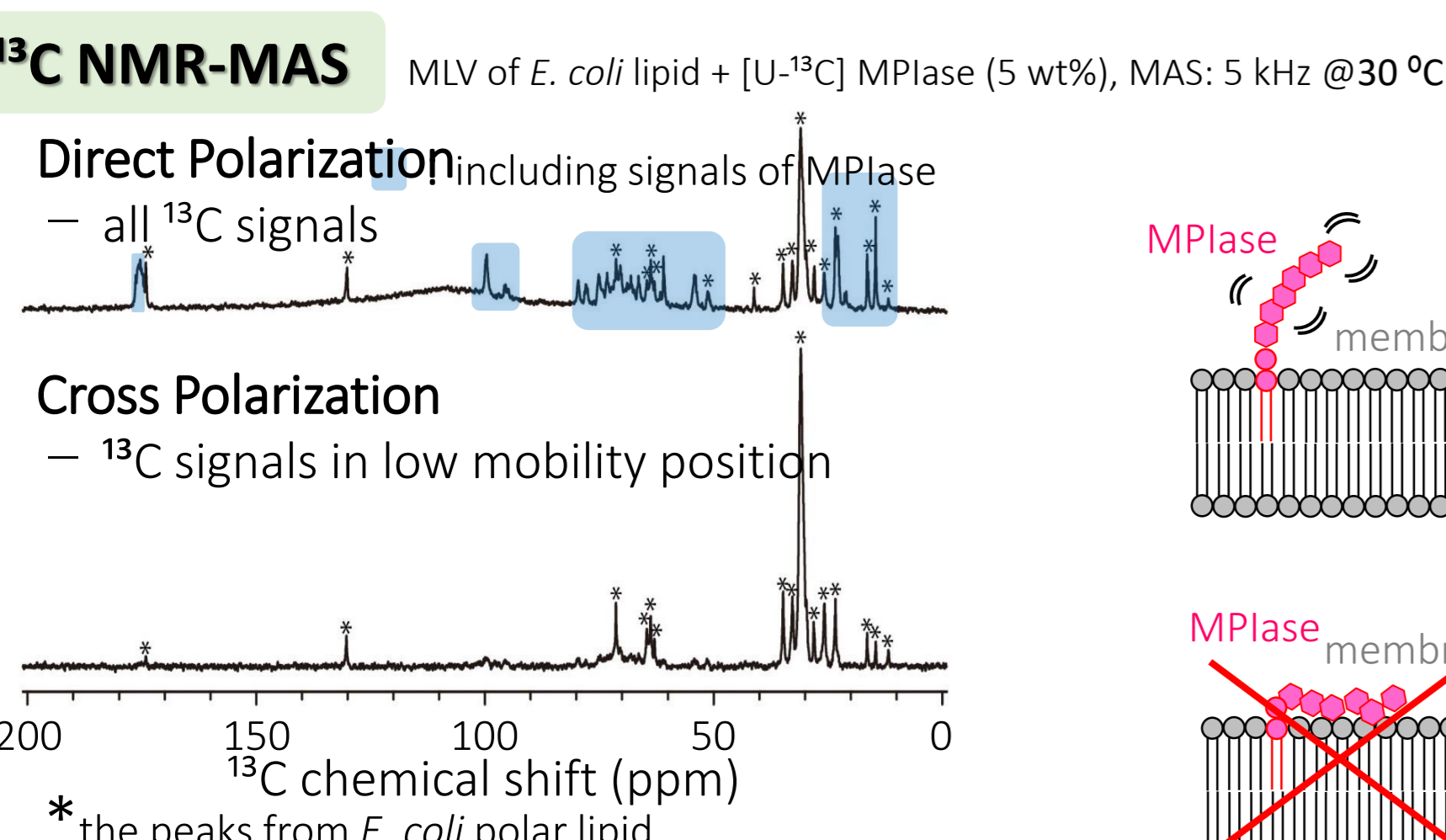
リポソームの形状



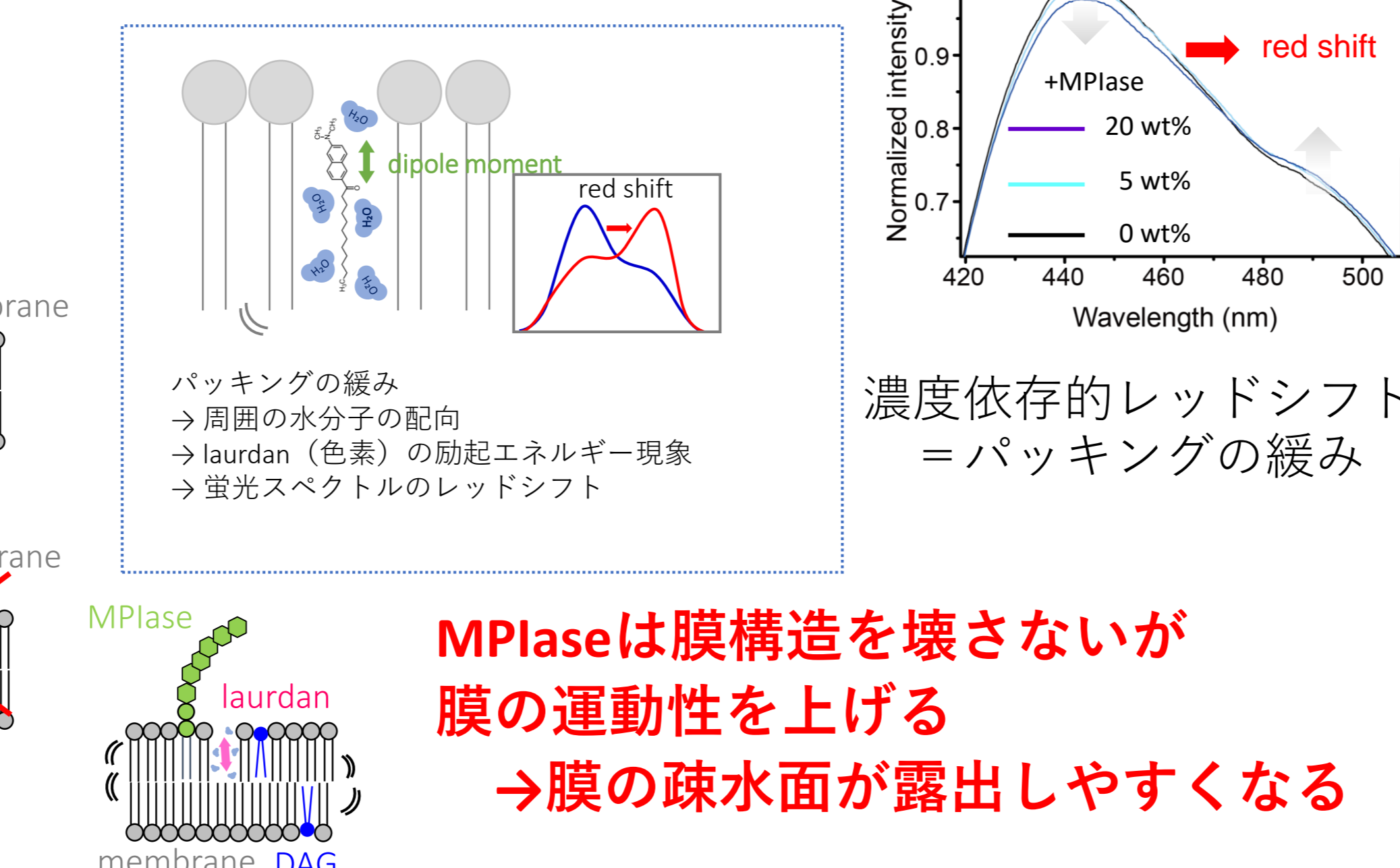
脂質パッキング



膜表面の運動性



Fluorescence of laurdan



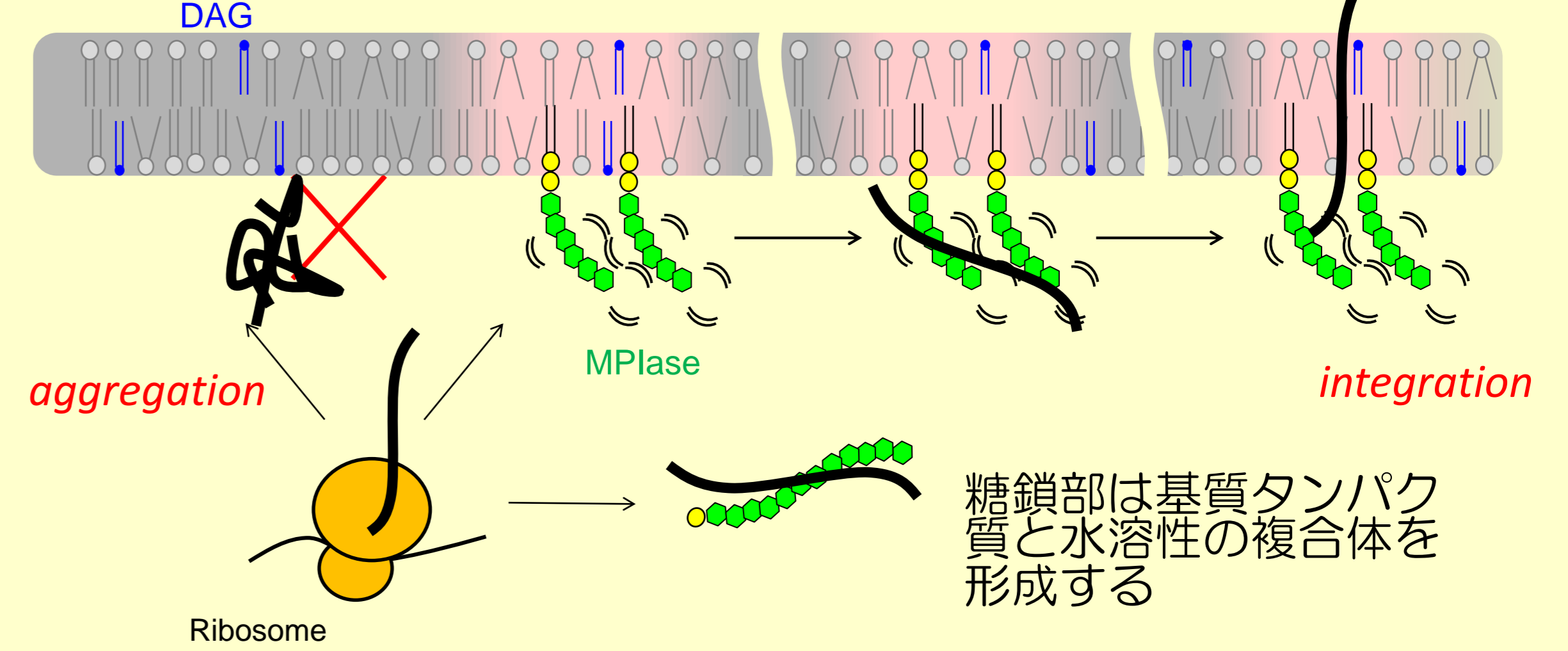
MPlaseは膜構造を壊さないが膜の運動性を上げる → 膜の疎水面が露出しやすくなる

トランスロコン非依存性挿入の推定活性機構

DAGは膜脂質の秩序を高め運動性を低下させる。膜との疎水性相互作用により基質タンパク質は膜内に移動する (=挿入)

MPlaseは膜の流動性を上げる

MPlaseは膜表面で基質タンパク質を捕捉する



MPlaseは膜タンパク質挿入に関わる糖脂質として初めての例である。MPlaseの糖鎖部は基質タンパク質を捕捉し、凝集を抑制するシャペロン様活性を示す。MPlaseにより膜の流動性が上がっており、柔らかくなった膜に基質タンパク質が移動する。