

学位申請論文公開講演会

日時：2026年1月29日(木) 13:00~

申請者：金岡 優依 (D研)

場所：物理会議室 (C207)

題目：論文題名

Study on the Functional Dynamics of Single Membrane Proteins by High-Speed Atomic Force Microscopy (高速原子間力顕微鏡による単一膜タンパク質の機能動態に関する研究)

主論文の要旨

物質輸送やエネルギー変換など生命活動に必須の機能は、膜タンパク質が支えている。その機能発現の解明には環境に応じた構造変化の観測が必要であるが、単粒子解析等で得られるのは静的な立体構造であり、動的変化の取得は困難であった。高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) は生理条件に近い溶液下で單一分子の動態観察を可能とするが、従来の方法では分子配向が制限され、細胞質側および細胞外側の両面の変化を捉えるのは困難であった。本研究ではナノディスク技術によりこれを実現した。タンパク質膜透過装置 Sec トランスロコンと多剤排出トランスポーターである P-糖タンパク質を対象に、構造動態と機能の相関を明らかにすることを目的として研究を行った。Sec トランスロコンは細胞質で合成されたタンパク質前駆体を膜透過させる機能を持つ。好熱菌由來の SecA/SecYEG 融合体をナノディスクへ再構成して HS-AFM 観察を行った。シミュレーション画像と実験画像の相関解析により基板上での分子配向を決定した後、基質タンパク質の輸送過程の観察を行った。基質が SecA 側から SecYEG チャネルへと輸送される様子を実時間で捉えた。さらに、SecA のポリペプチド架橋ドメインがスクレオチド結合状態に応じて開閉構造変化を繰り返す様子を可視化し、このドメイン運動が ATP 加水分解サイクルと連動して基質輸送を駆動することを明らかにした。P-糖タンパク質は、薬物や異物の細胞外への排出を制御する機能を有する。試料を観察すると、スクレオチド非存在下では 2 つのスクレオチド結合ドメイン (NBD) が非常に大きな自発的開閉運動を示した。一方で、ATP の存在下では閉鎖状態の分子が多くなった。また、濃度依存的に基質排出機能または阻害剤作用機能をスイッチングする阻害剤 (Elacridar) による動態への影響を解析した。その結果、NBD は低濃度条件下で比較的広い角度分布を示し、これは基質排出の機能を示唆した。対照的に、高濃度では動態が抑制され、NBD を単一の閉鎖状態に安定化させた。これらの結果から、Elacridar は複数の結合部位へ結合することにより立体障害を生じ、排出に必要な構造変化を阻害することで作用することが示唆された。ナノディスク再構成と HS-AFM による計測および解析により、膜タンパク質の動態を両側方から観察するための新しい技術を確立した。