

温度感受性チャネルの反応機構解明に向けた 表面増強赤外分光装置の立ち上げ

～リンカーを介した金表面とタンパク質の適切な結合環境を目指して～

理学研究科 生命科学専攻

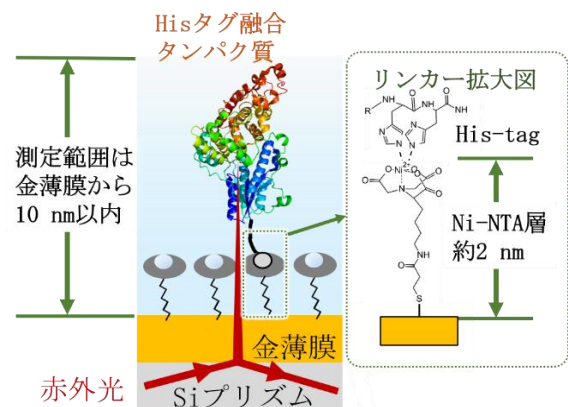
◎M2 きたやま み さき 北山実咲、助教 やまだ だい ち 山田大智、教授 くぼ み の る 久保 稔

キーワード

温度感受性チャネル、赤外分光法、表面増強赤外分光法 (SEIRAS)、金薄膜

研究概要

温度感受性チャネルは、哺乳類の細胞膜上に存在する膜タンパク質で、温度を感知するセンサーとして多様な生体機能に関わっている。しかし、温度による刺激をどのように感知するのか、その分子機構はまだ明らかになっていない。そこで、私は表面増強赤外分光法 (SEIRAS : surface-enhanced infrared absorption spectroscopy) を用いて、温度感受性チャネルが温度を感知する仕組みを解明したいと考えている。赤外分光法は、分子の振動モードを検出ことができ、原子・分子レベルの構造変化の解析に用いることができる分光法である。しかし、一般的な赤外分光測定では、水分子の存在が測定結果に大きく影響する。一方、SEIRAS は金表面の赤外吸収強度を数十～数百倍に増強することで、金表面から 10 nm 以内に存在する分子の信号のみを精度良く観測できる。そのため、SEIRAS を用いれば、バルクの水分子の影響を抑制しながら温度変化による温度感受性チャネルの構造変化を捉えられると考え、SEIRAS 装置の立ち上げを試みた。具体的には、Si プリズム表面に SEIRAS に適した金薄膜を作製し、金表面上にリンカーとして Ni-NTA を形成させた。そして、Ni-NTA を介して His タグ融合タンパク質を金表面に吸着させたところ、タンパク質に由来する赤外シグナルの検出に成功した。しかし、His タグ融合タンパク質の脱離実験を行ったところ、タンパク質が Ni-NTA を介さず、金表面に直接結合している可能性が示唆された。タンパク質が金表面に直接結合するとタンパク質自身の機能や構造に影響を及ぼす可能性がある。そこで、本発表ではメルカプトエタノールを用いて金表面上の隙間を埋めることで、タンパク質の金表面への直接結合を防ぐことができるか検証を行った結果を報告する。



SEIRAS の模式図

アピールポイント

SEIRAS は、タンパク質を金表面に固定化することで水溶液中でも高感度な測定が可能なので、微量試料 (数十ピコモル / cm^2) での測定や濃縮・乾燥に弱い試料を用いた測定にも適用できる。また、金表面を電気化学測定に利用することで、酸化還元反応を伴うタンパク質の機能解析と構造解析を同時に行う測定系にも拡張できる。このように SEIRAS が確立できれば、これまで赤外分光測定が困難だった多くのタンパク質試料に対して、構造変化の解析が可能になるため、タンパク質の分子機構の解明を目的とした生物物理学の分野の発展に寄与できると考えている。