

金ナノ粒子を用いた脂質特異的膜タンパク質スクリーニング法の開発

(九州大学理学府¹) ○関本佳乃子¹・森藤将之¹・松森信明¹

Development of lipid-specific membrane protein screening methods based on gold nanoparticles. (¹ Graduate School of Science, Kyushu University) ○Kanoko Sekimoto,¹ Masayuki Morito,¹ Nobuaki Matsumori¹

Biological membranes contain diverse lipids and membrane proteins, whose specific interactions are crucial for membrane structure and function. However, comprehensive methods to analyze these interactions remain underdeveloped.

Our laboratory has analyzed lipid-specific membrane proteins using lipid-immobilized magnetic beads.¹ In this study, we immobilized lipids on gold nanoparticle, instead of magnetic beads, and developed a new screening method for lipid-specific membrane proteins (Figure 1). Gold nanoparticles offer advantages over magnetic beads, such as flexibility in particle size and linker adjustments, as well as reduced SM consumption.

We prepared sphingomyelin (SM)-immobilized gold nanoparticles, treated them with a cell lysate, and performed pull-down experiments. Western blotting detected the known SM-specific protein P24, confirming the validity of this method. Additionally, we optimized gold nanoparticles the size of gold nanoparticles and the linker length between SM and gold nanoparticle to enhance interaction with P24, and the result will be presented.

Keywords : Lipid-membrane protein interactions, Gold nanoparticles

生体膜には多様な脂質と膜タンパク質が含まれており、それぞれの脂質が特異的に膜タンパク質と相互作用することで、生体膜の機能や構造に重要な役割を果たしている。しかし、その網羅的な解析法は未だ確立されていない。

当研究室では、脂質を固定化した磁性ビーズを用いて網羅的な脂質特異的膜タンパク質の解析を行ってきた。¹ 本研究では、磁性ビーズの代わりに金ナノ粒子表面に脂質を固定化した脂質固定化金ナノ粒子を調製し、新たな脂質特異的タンパク質スクリーニング法を開発した(図 1)。金ナノ粒子は磁性ビーズに比べ、粒径やリンカーの条件を柔軟に調整でき、少量の SM で相互作用を検出可能という利点が考えられる。

そこで、まずスフィンゴミエリン (SM) を金ナノ粒子に固定化した SM 固定化金ナノ粒子を調製した。ここに細胞抽出液を作用させ、共沈したタンパク質を SDS-PAGE で分離した。その結果、SM と相互作用することが知られている P24 タンパク質が Western blotting により確認できたことから、本手法の妥当性を示すことができた。また、金ナノ粒子の粒径や、金ナノ粒子と脂質を結合させるリンカーの炭素鎖長の最適化も行ったので、併せて報告する。

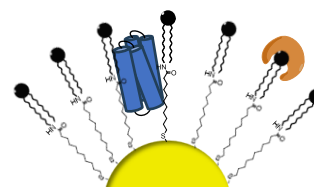


図 1 脂質固定化金ナノ粒子

1, Masayuki, M.; Hiroki, Y.; Takaaki, M.; Masanao, K.; Nobuaki, M. Identification of lipid-specific proteins with high-density lipid-immobilized beads, *Analyst*, **2024**, 149, 3747-3755. DOI: 10.1039/D4AN00579A