

モデル生体膜におけるナノスケール構造とそのダイナミクス

(お茶の水女子大学) 佐久間 由香・今井 正幸

【はじめに】

ソフトマター物理を生体系へと展開する時に、その手がかりとなる重要な構造体に生体膜がある。生体膜は細胞を外界から切り離し独立した系にする為の境界としての役割の他、膜内での流動性・相転移（相分離）・変形・接着・融合・分裂等を利用して膜内に埋め込まれた蛋白質や糖鎖などの機能を担う分子が代謝反応をする場、外界からの信号を細胞内に伝達する為のインターフェイス、外界と膜内を結ぶ物質輸送、細胞の増殖等、生命活動を維持する上での重要な役割を果たしている。特に生体膜を構成する主要成分である脂質は、多くの脂質混合体という単純な構成により上記の生体膜機能の物理的な部分を担っている。

我々のグループではこの多成分脂質膜をキーワードに、脂質のみからなるモデル生体膜ベシクルが示す物理現象の基本的な理解を目指し、膜内相分離ダイナミクス・相分離と変形の動的結合・相分離が誘起する膜接着転移、およびベシクル内物質が誘起する膜変形などのマイクロメータースケールでの興味深い現象を見出し、その機構について粗視化モデルの立場からの考察を続けている。その一方で生体膜の機能を担う蛋白質・糖鎖等が活躍する空間スケールはナノメータースケールであり、上で掲げたようなマクロスコピックでの脂質の振る舞いがナノスケールでどの様に表れるのかについては不明な点が多い。例えば膜内での脂質分子の相分離が蛋白質との親和性と結合する事によりナノメータースケールでのドメイン構造を形成し、機能発現のプラットフォームとして働くと言われている、いわゆるラフト構造についてもその構造やダイナミクスについてまだまだ不明な点が多い。そこで、本シンポジウムではモデル生体膜ベシクルにおける脂質相分離現象を利用してナノメートルサイズでの構造とそのダイナミクスについて検討した結果について報告する。

本研究では飽和・不飽和リン脂質とコレステロールから成る3成分ベシクルをナノメートルサイズで作成し(SUV: small uni-lamellar vesicle)、その上で脂質相分離を起こす事により幾何学的な制約によるナノメートルサイズのドメインを得た。ナノメートルサイズのドメインの構造は重水素化した飽和リン脂質(d-DPPC)と軽水素化不飽和リン脂質(DOPC)とコレステロール(Chol)を用いることでドメイン(d-DPPC rich)をマークし、コントラストマッチング法を用いた中性子小角散乱(SANS)および中性子スピネコー(NSE)測定をすることによりベシクルの静的および動的構造因子を測定した。この結果をモレキュラーダイナミクス(MD)法で計算したシミュレーション結果と比較することでナノメートルサイズのドメインの静的および動的構造について議論する。

【結果と考察】

最初に、試料となる d-DPPC/DOPC/Chol=4/4/2 混合ジャイアントベシクルの超音波処理による SUV が外径 $R_{out} = (112 \pm 11) \text{ \AA}$, 膜厚 $\delta = (42 \pm 6) \text{ \AA}$ および内径のサイズ多分散性 ($p^2 = \langle R_m^2 \rangle / \langle R_m \rangle^2 - 1$) $p = (0.32 \pm 0.02)$ を持つ事を確認した上で、コントラストマッチングした SANS 実験により、ナノドメイン形成を調べた。この組成の試料は 303 K に相分離点を持ち、それ以上で均一相、それ以下で二相分離する。転移温度前後での SANS 曲線を Fig. 1

に示す。均一相状態ではマッチング条件が満たされており SUV からの散乱は観察されないが、相分離領域ではドメイン形成に特徴的なピークをもつ散乱が観察され、この温度領域でのナノメートルサイズドメインの形成が確認された。

このコントラストマッチさせた3成分SUVの2相分離領域(285K)での中間散乱関数を Fig. 2 に示す。得られた中間散乱関数は2つの緩和モードの和で書き表され、遅い方の緩和は SUV の並進拡散、速い方の緩和が SUV 上でのドメインダイナミクスモードに対応する。ここで注目すべきはドメインモードの緩和速度が q^4 に比例することである(q : 散乱ベクトルの絶対値)。ナノドメインが SUV 上をランダムに拡散する場合、その緩和速度は q^2 に比例する筈であり、実験から得られた q 依存性はナノドメインがベシクル上で単純な拡散ではないダイナミクスを有している事を示している。

そこで我々は MD シミュレーションによりベシクル上での相分離過程を再現し、その中間散乱関数を求めた。その結果、深い温度クエンチの場合、ベシクル上に一つの大きなドメインが観察されその緩和速度は q^2 に比例することが確認された。それに対して浅いクエンチの場合はベシクル上でのドメインは安定した一つのドメインを形成できず、ドメインは熱揺らぎにより合体・分裂を繰り返し、この時の緩和速度はおおよそ q^4 に比例した。すなわち、ナノメートルサイズにおいてはドメインの安定性は熱揺らぎにより大きく影響を受け、マイクロメートルサイズでは安定化されるドメインもサイズ効果により不安定化される場合があることが明らかになった。

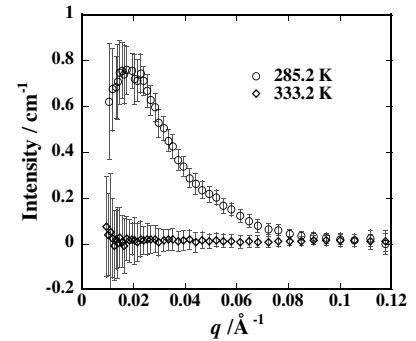


Fig. 1. SANS profiles from SUVs at the contrast matching condition at 333.2 K and 285.2 K.

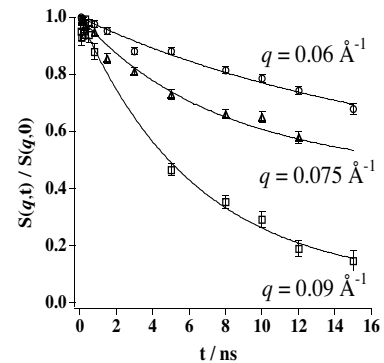
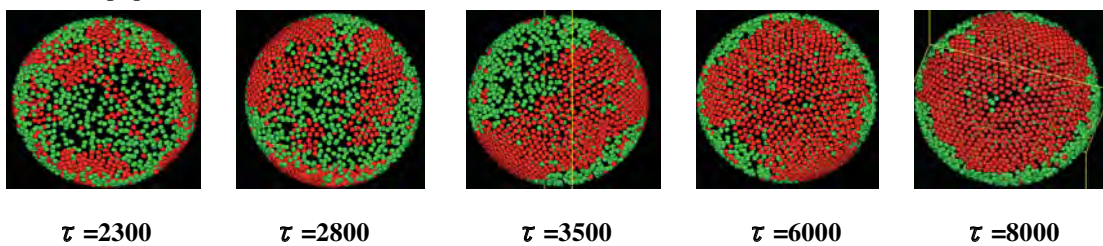


Fig. 2. Intermediate scattering function for the ternary SUVs at the contrast matching condition at 285.2 K

(a) Deep quench



(b) Shallow quench

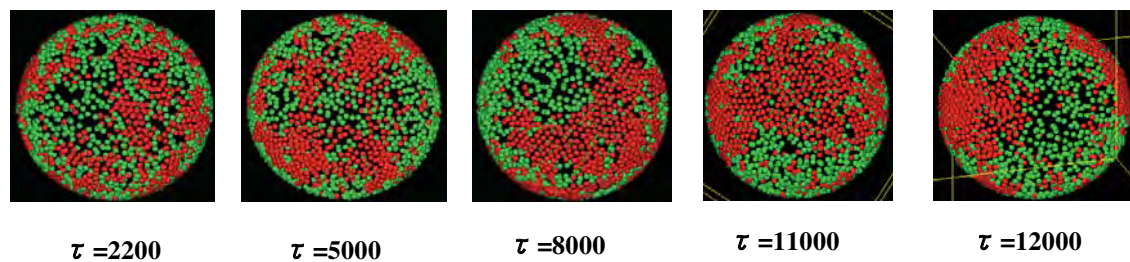


Fig. 3. Time evolution of domains formation obtained by Molecular Dynamics Simulation, (a) deep quench and (b) shallow quench.