

# 多成分ベシクルの変形挙動

(お茶の水女子大学) 佐久間由香・今井正幸

【はじめに】生体膜は生命系を構成する最も基本となる構造単位であり、その変形を通しての物質移動により代謝活動等の生命活動を維持している。その基本的な膜変形は、接着、融合、孔形成などであり、このような変形は、現在の生命系では蛋白質と脂質膜の高度な協奏システムによって制御されている。蛋白質が制御する膜変形の鍵は、蛋白質の吸着等による局所的な自発曲率の導入であるので、何らかの方法で局所的な自発曲率を導入することにより、生体膜が有する機能を発現する最小モデル[Minimal Cell Model]が構築できるものと考えられる。本研究では、脂質分子のもつ自発曲率を膜内相分離と結合させることによりモデル生体膜に局所的な自発曲率を導入し、それにより機能性膜変形を誘起する事を目的に、多成分ベシクルによる膜変形の物理を系統的に調べた。

## 【逆コーン型脂質を含む2成分ベシクルの接着】

まず、負の自発曲率（逆コーン型脂質）をもつ脂質と零の自発曲率をもつ脂質（シリンダー型脂質）からなる2成分ベシクルで相分離を起こすことにより、局所的に負の自発曲率を持つドメインをベシクル上に形成をさせ、図1(a)に示す様に脂質の負の自発曲率を用いて近接したベシクル間にstalkと呼ばれる橋架け構造を形成し、ベシクルの接着を誘起することを考える。逆コーン型脂質としてDPPEを、シリンダー型脂質としてDOPCを用いた2成分ベシクルDPPE/DOPC系で実験を行なった。この系は図1(b)に示す様に高温（白い領域）ではベシクル成分は均一に混合して一相を示し、低温になると2種類の脂質が相分離してDPPEがドメイン構造を形成する。この相分離の相図を基に、マイクロマニピュレーション法を用いて2つのベシクルを接触させ、接着するか確認を行った。DPPE/DOPC系ベシクルは、図1(b)に示す様に均一相を示す高温領域では接着しないが、二相分離している低温領域では接着することがわかり、接着転移曲線と相分離曲線がよく一致していることから、接着が相分離によって誘起されていることが明らかになった。この接着は負の自発曲率を持つDPPEのドメインを通して行われていることから温度に対して可逆であり、温度を上げるとドメインが消失する一相領域で接着していたベシクルは2つのベシクルへと解離する。この接着はドメインの外膜にある逆コーン型脂質がstalkの形態を取ることで、曲げエネルギー的に安定になること、およびドメインとマトリックス間の界面エネ

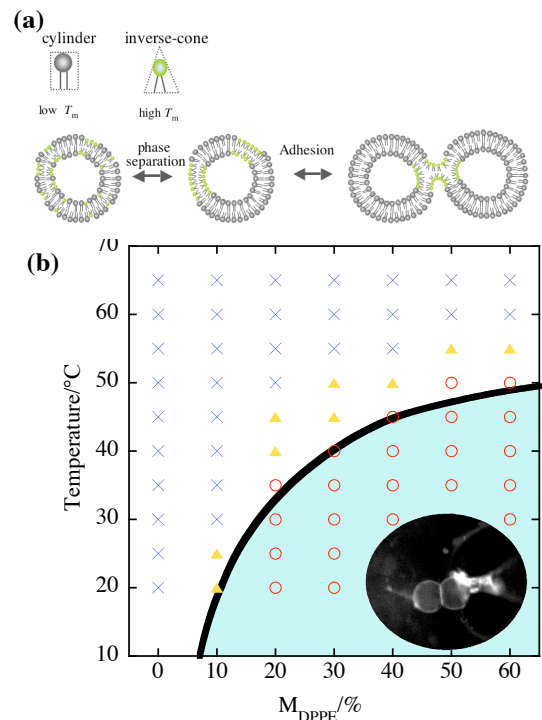


図1 (a)負の自発曲率を持つ脂質と相分離の結合による接着モデル(b)DPPE/DOPC系の接着相図。xはベシクル非接着、oは接着、Δは境界

ルギーを解消するために接着したことがエネルギー計算からわかった。この stalk 形成による hemifusion 状態は蛍光色素を用いて着色したものと無着色の二つのベシクルを接着させて着色ベシクルから無着色ベシクルへの移動を蛍光顕微鏡で確認した。

### 【コーン型脂質を含む 2 成分ベシクルの孔形成】

次に、正の自発曲率を持つ（コーン型）脂質とシリンダー型脂質の組み合わせの場合は、図 2 (a)に示す様に相分離により凝集した正の自発曲率を持つ脂質が、2 分子膜の縁を覆う様に凝集し孔形成を促進することが予想される。コーン型脂質として DHPC を用い、円筒型脂質 DPPC を用いた 2 成分ベシクル DHPC/DPPC 系で実験を行なった。DHPC/DPPC 2 成分ベシクルは、DHPC 濃度に関わらず均一相状態の 60°C で直径 20~40 $\mu\text{m}$  の球形を示すが、DPPC のアシル鎖の無秩序-秩序転移温度より下げると各濃度においてベシクル膜に直径 5~10 $\mu\text{m}$  の孔が 1 つだけ開くことがわかった。孔の形状は DHPC 濃度によって異なり、図 2 (b)に示す様に大きく分けて 3 種類ある。0.01~1 %では主に孔の縁がシンプルな円形状の孔が開く。1~5 %では孔の縁が外側に反り返った形状が観察されるが、5~40 %では、反り返った縁は解消され、その代わり孔に向かって周期的な放射状の皺が観察された。

DHPC/DPPC 2 成分ベシクルの温度を下げると、DPPC のアシル鎖の秩序化により DHPC と DPPC の相分離が始まるとともにベシクルの表面積は小さくなる。この時、ベシクル内部の圧力が高まり、この内圧を解消するためにベシクル膜の脆弱な部分である DHPC ドメインを破壊し、残ったコーン型脂質である DHPC が 2 分子膜の縁を覆い、孔あきベシクルを安定化させると考えている。さらに 2 分子膜の縁に DHPC によるキャップが形成される（図 1 (b)）ことにより、外膜と内膜の間の脂質の移動が可能になる。従って、膜を構成する脂質の非対称性が膜の曲率と結合し、より曲がったところに DHPC が集まるといふ正のフィードバックによる膜の変形が観察され、図 2 (b)に示す様な外側に 1 周反り返った縁が観察されたと考えている。このような変形機構は、緩和型の膜形状の時間発展方程式を基にしたシミュレーションでも確かめられた。

【結論】脂質分子の自発曲率と相分離を結合することにより単純な 2 成分膜でもベシクル膜の出芽・分裂・接着孔形成・非対称膜形成など生体膜の示す重要な機能的変形を再現できる事を実験的に示した。これらの素過程を更に組み合わせる事より高次な膜変形の制御も可能になると考えられ、原始生体膜誕生時に次第に分子膜が生命性を帯びて行ったプロセスを、分子集合体の物理として解明する手がかりになると考えている。

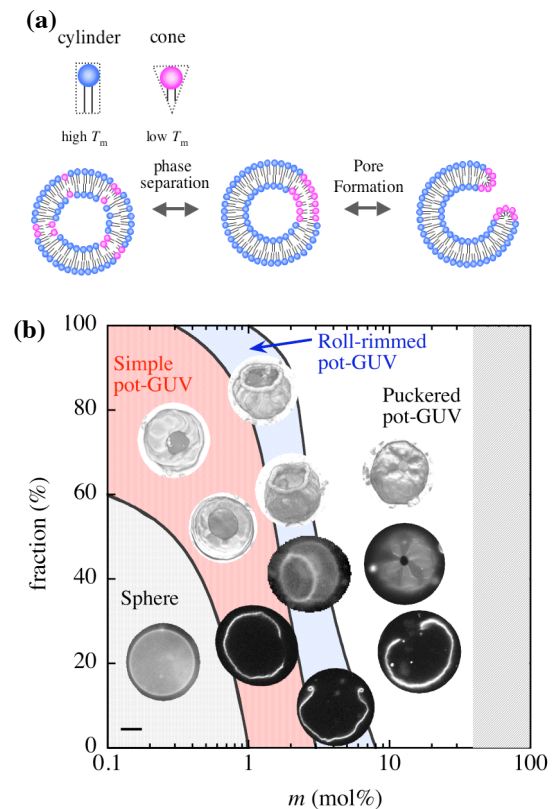


図 2 (a) 正の自発曲率を持つ脂質と相分離の結合による孔形成モデル (b) DHPC/DPPC 系ベシクルのモルフォロジー相図