

非対称ベシクルの相分離形成と側方圧誘起構造転移

北陸先端科学技術大学院大学・助教 濱田勉

成果概要

生体ソフトマターである細胞膜(リン脂質による2層膜ベシクル)は、環境に応じた様々な形状や、融合・分裂等の膜変形、膜面上でのドメイン構造(ラフト)形成などの多様な挙動を示す。我々は、細胞膜の物性および組織化メカニズムを理解するため、リン脂質ベシクルを用いたモデル膜実験を行った。主に、(1)界面活性剤可溶化過程におけるベシクルの非平衡ダイナミクス、(2)ペプチドとの相互作用が引き起こす膜ダイナミクス、(3)W/O液滴界面の組織化膜構造、について明らかにした。

1. リン脂質ベシクルの周期的膜孔形成 (文献1)

リン脂質ベシクルの非平衡ダイナミクスとして、界面活性剤との相互作用による可溶化ダイナミクスを実験的に解析した。ベシクルはリン脂質(Dioleoyl-Phosphatidylcholine, DOPC)から形成した。ベシクル溶液を界面活性剤(Triton X-100)溶液とゆるやかに混合させ、可溶化過程の顕微鏡リアルタイム測定を行った結果、膜面にマイクロメートルサイズの膜孔が観察された。膜孔は数秒以内に閉じ、開閉を繰り返しながらベシクルサイズが減少した。また、膜孔が開き続けるダイナミクスも観察された。すなわち、ベシクルの可溶化ダイナミクスには「周期的膜孔 (rhythmic-pore)」および「連続的膜孔(continuous-pore)」の2つのパターンが共存した。この2種のダイナミクスは、ベシクルサイズと界面活性剤濃度に依存して選択された。また、物理メカニズムを膜面の弾性エネルギーにより説明できることを示した。

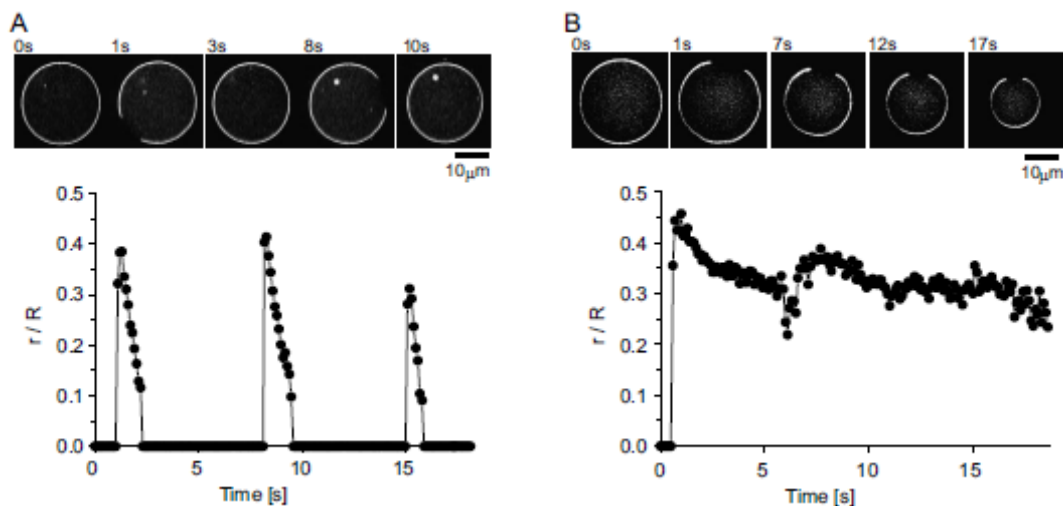


図1 ベシクルの可溶化ダイナミクス。(A)周期的膜孔(rhythmic-pore)および (B)連続的膜孔(continuous-pore)形成。顕微鏡像(上)、膜孔半径 r とベシクル半径 R の比の時間発展(下)。

2. アミロイドβペプチドによる膜ダイナミクス (文献2)

アルツハイマー病の原因物質であるアミロイドβペプチドは、細胞膜表面へ沈着することにより毒性を引き起こすと考えられている。我々は、リン脂質(DOPC)ベシクルを用いて、アミロイドβペプチドにより引き起こされる膜ダイナミクスを明らかにした。観察された主な膜ダイナミクスは、膜揺らぎおよび内部への膜陥入であった。様々なペプチド会合条件により膜ダイナミクスを観察した結果、最も毒性が強いとされているオリゴマー状態において、大きな膜陥入が引き起こされた。また、膜ダイナミクスに伴い、ベシクル表面積が増加することが分かった。

3. リン脂質コートW/O液滴の相分離構造形成 (文献3)

我々は、より生体に近いシステムとして、W/O液滴を利用した非対称2層膜ベシクルの作成方法を考案している(文献4)。非対称2層膜の相分離構造を単層膜間相互作用の観点から理解するため、前駆段階であるW/O液滴単層膜の解析を行った。図2に、リン脂質コートW/O液滴界面における相分離構造(ラフト様ドメイン)の模式図を示す。様々なオイル種におけるドメイン形成率を測定し、安定な相分離ドメイン構造を有するW/O液滴システムの構築に成功した。また、界面における分子吸着測定として、アミロイドβペプチドの膜局在を観察した。結果、アミロイドβペプチドが秩序液体相(Ld相)に選択的に吸着することが分かった。

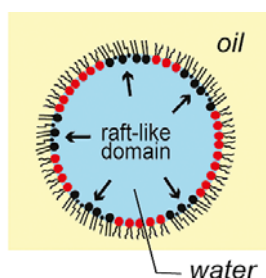


図2 リン脂質コートW/O液滴界面における相分離。不飽和リン脂質(DOPC)、飽和リン脂質(DPPC)、コレステロールの3成分により界面を構築した。

<参考文献>

- (1) "Rhythmic pore dynamics in a shrinking lipid vesicle" T. Hamada, Y. Hirabayashi, T. Ohta, M. Takagi, *Phys. Rev. E*, 80, 051921 (2009).
- (2) "Real-time observation of model-membrane dynamics induced by Alzheimer's amyloid beta" M. Morita, M. Vestergaard, T. Hamada, M. Takagi, *Biophys. Chem.*, 147, 81-86 (2010).
- (3) "Biomimetic microdroplet membrane interface: detection of the lateral localization of amyloid beta peptides" T. Hamada, M. Morita, Y. Kishimoto, Y. Komatsu, M. Vestergaard, M. Takagi, *J. Phys. Chem. Lett.*, 1, 170-173 (2010).
- (4) "Construction of asymmetric cell-sized lipid vesicles from lipid-coated water-in-oil micro-droplets" T. Hamada, Y. Miura, Y. Komatsu, Y. Kishimoto, M. Vestergaard, M. Takagi, *J. Phys. Chem. B*, 112, 14678-14681 (2008).