

非対称な脂質組成を有する生体モデル膜を用いた脂質分子の膜動態解析

安田智一・西直也・梅川雄一・花島慎弥・村田道雄

分野横断プロジェクト研究部門

細胞表面の分子基盤解明プロジェクト・生体膜の脂質と糖鎖の研究拠点

生体膜の外側 (外葉) と細胞質側 (内葉) で脂質は非対称に分布し、その膜動態を介して様々な生物機能に参与している。例えば内葉に多く分布するホスファチジルエタノールアミン (PE) は膜の曲率変化に寄与し、膜融合や細胞質分裂を駆動する。外葉に多く分布するスフィンゴミエリン (SM) などラフト脂質については、モデル膜における膜動態が詳細に調べられてきた。一方で、内葉を構成する脂質に特異的な動的挙動や相互作用は、非対称モデル膜の不安定性から分子論的視点で捉えることが難しい。

そこで本研究では、脂質分布の非対称性が長時間維持されるモデル膜の作製法を確立し、蛍光標識脂質をプローブとした蛍光寿命測定によって内外葉における脂質の動的挙動を解析する。これによって、生体膜における内葉脂質である PE を、代表的膜脂質であるホスファチジルコリン (PC) と比較することで、非対称膜の動態に対して内葉脂質が与える影響の解明を目的とした。

まず、シクロデキストリン法¹⁾によって外葉に SM、内葉に DOPE または DOPC を配置した (コレステロールは両葉に分布) 非対称膜を作製した (図 1)。発色試薬による PE の標識やシフト試薬を用いた固体 NMR によって内外葉への脂質の分配比を正確に見積り、生体膜に近い膜環境を再現することに成功した。次に、非対称膜の脂質分子の動的挙動を詳細に調べるために、共役テトラエン脂肪酸である *trans*-パリナリン酸 (t-PA) を置換した tPA-SM を外葉に、O-tPA-PC を内葉に選択的に導入し、蛍光寿命測定を行った。各小葉の脂質組成の対称膜と比較した結果、PE 膜、PC 膜ともに外葉のオーダーはほぼ同じであったが、内葉のオーダーは対称膜より有意に大きいことが明らかになった。また、それら平均蛍光寿命値の差から外葉が内葉のオーダーに与える影響は PC 膜に比べて PE 膜の方が小さいことが示された。これは PE が水素結合供与基であるアミノ基を有しており分子同士が密にパッキングされるため、PC に比べて側方間の結合が強く、膜小葉間の相互作用の影響を受けにくいためと推定される。また、PE と PC の頭部の大きさによるコレステロールとの親和性の違いが、内外葉へのコレステロール分配に影響することで、内外葉のオーダーに差が生じた可能性も考えられる²⁾。

このように本研究から、非対称モデル膜を構成する脂質の動態を選択的に観測することで、小葉間の脂質相互作用には複数の要因が寄与していることが示された。

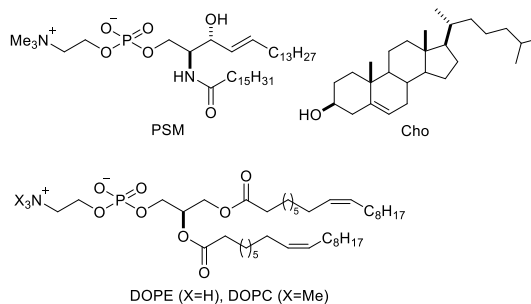


図 1 非対称モデル膜の構成脂質

参考文献：

[1] Hui-Ting, C. *et al. Biophys. J.* **2011**, 100, 2671.

[2] Jonathan, D. *et al. Chem. Phys. Lipids.* **2015**, 192, 87.

研究業績リスト

I 査読論文

Lipid chain-driven interaction of a lipidated Src-family kinase Lyn with the bilayer membrane.

S. Hanashima, K. Mito, Y. Umegawa, M. Murata, H. Hojo.

Org. Biomol. Chem. **2022**, *20*, 6436-6444.

DOI: 10.1039/D2OB01079H

PRC 時代の成果

LnDOTA- d_8 , a versatile chemical-shift thermometer for ^2H solid-state NMR.

Y. Umegawa, T. Shimonishi, H. Tsuchikawa, M. Murata. *Magn. Reson.*

Chem. **2022**, *60*, 1005-1013.

DOI: 10.1002/mrc.5303

Amphotericin B assembles into seven-molecule ion channels: An NMR and molecular dynamics study.

Y. Umegawa, T. Yamamoto, M. Dixit, K. Funahashi, S. Seo, Y. Nakagawa, T. Suzuki, S. Matsuoka, H.

Tsuchikawa, S. Hanashima, T. Oishi, N. Matsumori, W. Shinoda, M. Murata.

Sci. Adv. **2022**, *8*, eabo2658.

DOI: 10.1126/sciadv.abo2658

Depth-Dependent Segmental Melting of the Sphingomyelin Alkyl Chain in Lipid Bilayers.

H. Tsuchikawa, M. Monji, Y. Umegawa, T. Yasuda, J. P. Slotte, M. Murata.

Langmuir **2022**, *38*, 5515-5524.

DOI: 10.1021/acs.langmuir.2c00092

II 国際会議等における発表

なし

III 国内会議等における発表

なし

IV 著書

なし

V 受賞と知的財産

なし

VI その他研究業績、発表文献

なし