

細胞サイズリポソームを用いた静電作用による 脂質膜構造の秩序形成メカニズムの解明

SATテクノロジー・ショーケース2016

■ はじめに

生体膜の基本構造は、様々な脂質分子からなる脂質二分子膜構造である。生体膜は2次元的、3次元的に多様な膜構造が存在し、様々な生命現象に動的な構造変化を介して関わっている。2次元的には、脂質ラフトと呼ばれる相分離構造がある。脂質ラフトは主に飽和脂質とコレステロール、膜タンパク質で構成されており、細胞のシグナル伝達機構の足場となっていると考えられている。また、3次元的にはエンドサイトーシスやオートファジーといった膜の形態変化が存在し、細胞内外の物質輸送に重要な役割を持っている。このような生体膜構造の形成・制御には、タンパク質だけでなく脂質分子の性質が大きく関与していると考えられる。細胞が持つ様々な機能や、種々疾患に関わる細胞応答を分子レベルで理解するには、脂質膜の持つ物理化学的性質を理解することが重要である。

そこで本研究では、脂質膜での構造形成に寄与するパラメータとして、脂質分子の電荷に注目した。生体膜には負電荷脂質が含まれており、生体分子のプラス電荷の部位が吸着し配向を一意的に決定していることや、生体内イオンの流出入に関与していることが考えられている。しかしながら、脂質分子の電荷が膜構造そのものに与える影響は明らかになっていない。

本研究では、理想化された単純な脂質混合系からなる脂質二分子膜小胞(リポソーム:Fig.1)を用いることで、負電荷脂質と膜構造の関係性を明らかにした。中性脂質、負電荷脂質を用いて様々な組成比のリポソームを作製し、膜の2次元構造(相分離)や3次元構造(膜形状)を解析することで、脂質分子の電荷が膜構造に与える影響を実験・理論の両面から明らかにし、その性質の生物学的意義について議論した。

■ 研究内容

本研究では、中性不飽和脂質(DOPC)、中性飽和脂質(DPPC)、マイナス荷電不飽和脂質(DOPG⁻)、マイナス荷電飽和脂質(DPPG⁻)、そしてコレステロール(Chol)を用いて様々な組成比のリポソームを作製し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて膜構造を解析した。

1. 脂質分子の電荷が引き起こす膜の2次元構造変化

中性脂質でできたリポソームの構造を基準とし、負電荷脂質の種類や割合を変えたところ、膜表面の相分離構造が変化した(Fig.2)。さらにこの構造変化は負電荷脂質の電荷を塩(NaCl)で遮蔽することで抑制されることがわかった。

2. 脂質分子の電荷が引き起こす膜の3次元構造変化

次に、リポソームの3次元構造(膜形状)に焦点を置き、1.と同様、中性脂質でできたリポソームの構造を基準とし、負電荷脂質の種類や割合を変えて構造を解析した。中性脂質で構成されるリポソームは球形であるのに対し、負電荷脂質で構成されるリポソームではカップのような膜孔(ポア)を持つ構造を形成した(Fig.3)。さらに、塩による負電荷脂質の電荷の遮蔽によってポアが閉じる様子が観察された。また、分子動力学シミュレーションを用いて実験条件を再現したところ、負電荷脂質がポアの縁に集まることによって膜構造が安定化されており、相分離構造がポアの形成に重要であることが明らかとなった。

これらの研究結果から、脂質膜に含まれる負電荷脂質が膜の2次元構造(相分離)や3次元構造(ポア)の形成に与え、電荷の遮蔽によってこれらの構造が制御されることが明らかとなった。細胞においても、生体膜中に含まれる負電荷脂質や溶液内のイオンを利用して膜構造を制御していることが考えられる。本研究で得られた知見は信号伝達をはじめとする細胞機能メカニズムの解明や、膜構造制御を利用したDDSの構築など基礎・応用の両面で役立てることができる。

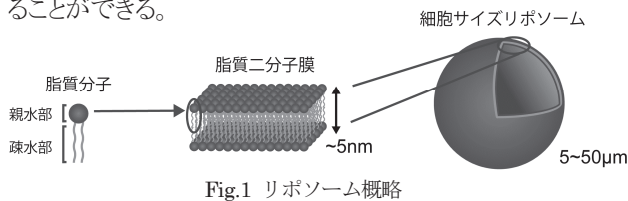


Fig.1 リポソーム概略

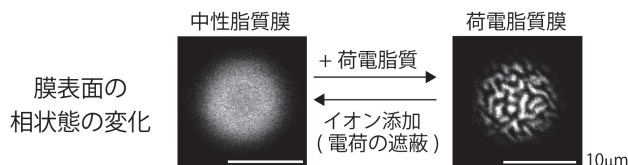


Fig.2. リポソームの表面構造。負電荷脂質によって相分離が誘起され、電荷の遮蔽によって相分離が抑制される系

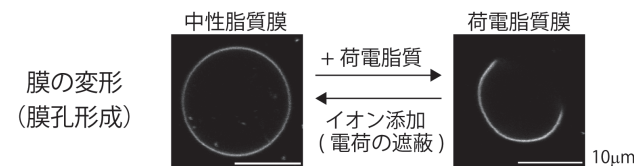


Fig.3. リポソームの断面 (形状)。負電荷脂質によって膜孔 (ポア) が形成され、電荷の遮蔽によって球状に戻る

代表発表者 姫野 泰輝 (ひめの ひろき)
所 属 産業技術総合研究所 健康工学研究部門
バイオマーカー診断研究グループ
問合せ先 〒761-0395 香川県高松市林町 2217-14
TEL:087-869-3563 FAX:087-869-3553
himeno.hr@aist.go.jp

■キーワード: (1)リポソーム
(2)相分離構造
(3)形態変化

■共同研究者:

下川 直史¹、濱田 勉¹、高木 昌宏¹、伊藤弘明²、
樋口 祐次³
1.北陸先端科学技術大学院大学 マテリアルサイエンス
研究科
2.京都大学 理学研究科
3.東北大学 工学研究科附属エネルギー安全科学国際
研究センター