

3E13

実在の細胞膜を模倣した混合脂質二重層膜内での脂質分子 wobble の解析

(名大院工) ○安藤 嘉倫, 岡崎 進

【序】細胞膜の物性を検討する方法の一つに蛍光偏光測定がある。蛍光偏光測定のうち特に蛍光偏光解消測定では DPH (diphenylhexatriene) に代表される蛍光プローブ分子を細胞膜に混入させた状態で偏光励起光を照射し、放出された蛍光異方性の時間減衰から膜流動性に関する諸量を算出する。例えば正常胸腺細胞およびその癌化細胞 GRSL の細胞膜についての蛍光偏光解消測定の結果、膜の microviscosity および DPH 分子配向のオーダーパラメータ S_{DPH} が後者の細胞膜において共に減少し、膜がより流動的であることが示唆されている[1,2]。しかしこれらはあくまで DPH を介した間接測定であり脂質分子自体のダイナミクスについてはほとんど未解明であった。一方、過去我々はこれら 2 種の細胞膜の脂質組成を模倣した混合脂質二重層膜 (表 1 参照) を構築し生理学的条件下において長時間の分子動力学計算を行いその構造および脂質ダイナミクスの差異を報告した[3]。そこでは癌化膜において脂質尾部はより乱れた構造を持ち、側方向の脂質重心位置についてもより無秩序な構造を持つこと、さらに同膜で脂質分子の側方拡散がより顕著であることを示した。引き続き本発表では上記蛍光偏光解消測定で得られている知見との比較および脂質分子ダイナミクスの解析を行うことを目的に、脂質分子 wobble 運動を時間自己相関関数により評価した結果を報告する。

【計算内容】脂質二重層膜中で蛍光異方性の時間減衰 $r(t)$ は蛍光プローブ分子の wobble によって生じる[4]。DPH のような棒状かつ発光双極子 μ_e が分子長軸に平行な分子の場合、蛍光異方性 $r(t)$ は μ_e の時間自己相関関数として次のように与えられる[4] (μ_e は規格化してある)。

$$r(t)/r(0) = \langle P_2(\mu_e(0) \cdot \mu_e(t)) \rangle_{t=0} \quad (1)$$

ここで P_2 は二次のルジャンドル関数である。本研究では脂質二重層膜を構成する脂質分子を筒状の剛体として近似しその慣性テンソルを対角化することで定めた分子長軸方向の単位ベクトル I_z の時間自己相関関数、

$$C_{\text{wob}}(t) = \langle P_2(I_z(0) \cdot I_z(t)) \rangle_{t=0} \quad (2)$$

を計算した。平均は 2 種の膜に含まれる脂質分子の種類ごと (リン脂質, リゾリン脂質およびコレステロール) および全体について取った。

表 1: 混合脂質二重層膜の組成 / mol% (丸括弧内は実験値[2])

	PC	PE	PS	PI	SM	lyso-PC, PE	cholesterol
正常	29.7 (29.9)	10.9 (10.9)	6.3 (5.3)	3.1 (3.5)	4.6 (4.4)	3.2 (3.3)	42.2 (42.5)
癌化	37.5 (37.9)	21.9 (22.0)	7.8 (7.4)	4.7 (4.9)	0.0 (0.7)	4.7 (4.4)	23.4 (24.2)

PC:phosphatidylcholine, PE:phosphatidylethanolamine, PS: phosphatidylserine, PI: phosphatidylinositol, SM: sphingomyelin

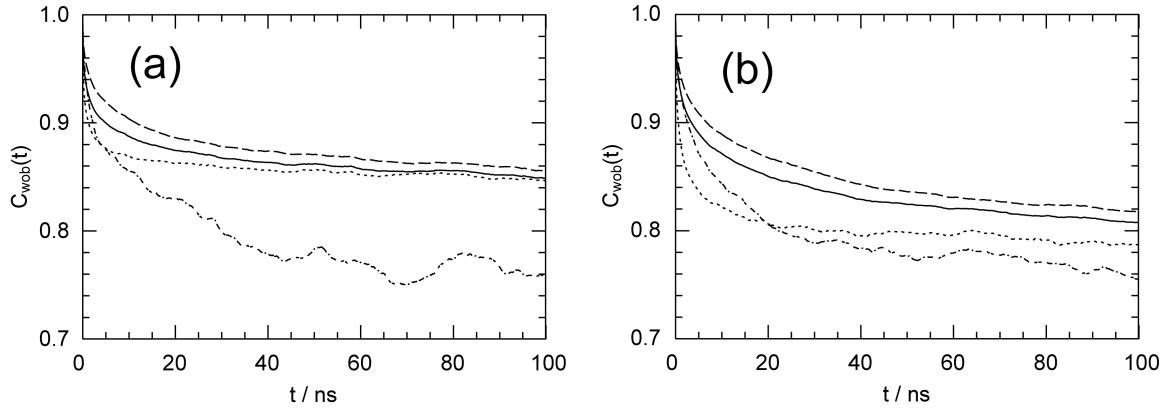


図 1 算出した $C_{wob}(t)$. (a) 正常膜 および (b) 癌化膜. リン脂質 (破線), リゾリン脂質 (鎖線), コレステロール (点線) および全体 (実線).

【結果および考察】図 1 には $C_{wob}(t)$ の計算結果を示した. $C_{wob}(t)$ は観測時間 100 ns 内では 0 へと減衰せず一定値へと漸近する傾向を示した. これは脂質分子が二重層膜状に拘束されその分子長軸を反転させる運動 (フリップ・フロップ) が 100 ns オーダーの計算では再現され得ないためである. この漸近値 $C_{wob}(\infty)$ は分子長軸配向のオーダーパラメータ,

$$S_{I_z} = \langle P_2(\mathbf{e}_z \cdot \mathbf{I}_z) \rangle \quad (3)$$

と $C_{wob}(\infty) = S_{I_z}^2$ の関係にある[4]. ここで \mathbf{e}_z は膜に垂直方向の単位ベクトル. 表 2 には算出した S_{I_z} および S_{DPH} の実験値[2]を載せた. S_{I_z} はリゾリン脂質を除き癌化膜においてより小さく実験の傾向を定性的に再現した. より小さな S_{I_z} は癌化膜において脂質分子配向がより乱れていることを示している. 一方 $C_{wob}(t)$ を次の形,

$$C_{wob}(t) = (1 - C_{wob}(\infty))C'_{wob}(t) + C_{wob}(\infty) \quad \text{則ち} \quad C'_{wob}(t) = (C_{wob}(t) - C_{wob}(\infty)) / (1 - C_{wob}(\infty)) \quad (4)$$

と仮定し $C'_{wob}(t)$ の有効緩和時間 $\tau_{wob} = \int_0^\infty C'_{wob}(t) dt$ を算出した結果についても表 2 に載せた. リゾリン脂質を除き τ_{wob} は癌化膜においてより大きい. これは同膜においてより広範な角度範囲を wobble 運動していることからの帰結である. これら結果をもとに wobble 拡散係数を算出した結果についても報告する.

表 2: S_{I_z} および τ_{wob}

	S_{I_z}				S_{DPH}				τ_{wob} / ns			
	PL	Ly	Ch	WL	Exp.[2]	PL	Ly	Ch	WL			
正常	0.92	0.86	0.92	0.92	0.71	27.6	28.8	8.9	19.8			
癌化	0.88	0.86	0.88	0.88	0.62	36.3	31.3	13.2	30.3			

PL:リン脂質, Ly:リゾリン脂質, Ch:コレステロール および WL: 脂質全体

参考文献

- [1] W. J. van Blitterswijk et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **467**, 30 (1977). [2] W. J. van Blitterswijk et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **688**, 495 (1982). [3] 安藤, 岡崎, 第二回分子科学会予稿集, 3C08, 福岡 (2008). [4] K. Kinosita Jr., S. Kawato, A. Ikegami, *Biophys. J.*, **20**, 289 (1977).