



**揺らぐ分子が細胞膜モデル内で作る集合体
～親水性高分子修飾脂質が作る脂質二重膜内ドメイン～**

<概要>

豊橋技術科学大学は金沢大学と共同で、親水性高分子鎖を持つ脂質分子が脂質二重膜に作る集合体とその物性を明らかにしました。また、かさ高い高分子鎖の集合体が原子間力顕微鏡で低く観察される反転現象を見出し、その原因を明らかにしました。これらの知見は、感染や免疫反応に関連する糖脂質や膜タンパク質の働きを理解し、そのための実験手法を開発することにつながります。この研究成果は2017年5月23日 *Langmuir* 上で発表されました。

<詳細>

細胞外部の環境を認識してその情報を細胞内に伝える役目は、細胞の最外層に位置する細胞膜に存在する脂質と膜タンパク質が担っています。これらは細菌やウイルスの感染、免疫反応、神経伝達などに深く関わることから、生物学・医療・創薬分野での重要な研究対象です。外部認識や信号伝達の反応過程においては、糖鎖やイノシトール環などのかさ高い親水基を持つ脂質が細胞膜上で2次元的な集合体を形成することが必要であると考えられています。この集合体は10分子程度までの小さい物はクラスター、より多くの分子が集まり広く成長したものはドメインと呼ばれます。

脂質は生体に由来する両親媒性分子であり、分子内に親水的な部分と疎水的な部分を持ちます。脂質二重膜内でのドメイン形成において疎水性部位での相互作用、例えば炭化水素鎖の相転移や混和性 (*miscibility*)、が主要な役割を果たすことが過去の多くの研究により示されてきました。一方、脂質の親水性部位の相互作用については研究が少なく、不明な点が多いです。特に糖鎖などのかさ高い親水性部位では、親水基が水中で揺らぐことで生じる斥力が生じるため、相互作用が複雑になります。この揺らぎによる斥力は、原子間力顕微鏡 (AFM) のように微細な力を検出する計測手法にも影響を及ぼします。

豊橋技術科学大学の手老龍吾准教授のグループは、親水性高分子のポリエチレングリコール (PEG) で修飾した脂質を含む人工脂質二重膜を、蛍光顕微鏡および AFM を用いて詳細に調べました。その結果、PEG 修飾脂質の濃度に依存してクラスターとドメインの2種類の集合体が形成されること、高濃度で現れるドメインにはほとんど流動性が無いことを明らかにしました。これらの集合体は、脂質の疎水性部位ではなく親水性部位の相互作用で形成されていることを示しました。興味深いことに、AFM 観察において、かさ高いはずの PEG 修飾脂質ドメインは周囲よりも凹んで観察されました。

この理由について、手老准教授は金沢大学の福間剛教授と共同実験を行いました。周波数変調型 AFM (FM-AFM) を用い、試料と探針の間の力を精密に制御することで、ほとんど力を印加せずに観察すれば PEG 修飾脂質ドメインが周囲の脂質膜領域よりも高く観察されることを明らかにしました(図 1)。印加される力に依存して親水性高分子鎖の揺らぎによる斥力が変化するため、一般的な振幅変調型 AFM (AM-AFM) 観察の条件では真の立体構造とは反転した像が現れることが示されました(図 1)。

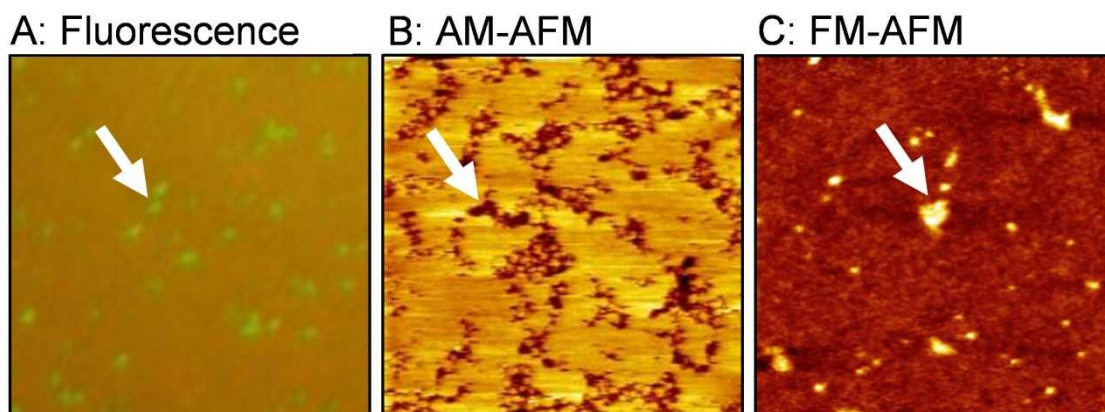


図 1 : Polyethylene glycol (PEG)修飾脂質が脂質二重膜中に形成するドメイン。
(A) 蛍光像、(B) AFM 形状像、(C) 周波数変調型(FM)AFM 形状像。

「糖脂質の集合状態と機能を調べるための実験手法を確立するために、まずは入手が容易な PEG 修飾脂質を用いました。PEG 修飾脂質を含む脂質二重膜は、試料調製や AFM 観察の最適な条件を見つけるのに苦労しました。特に PEG 修飾脂質の濃度を増やすほど凹んだ領域が増えるのは予想とは全く違っていました。何かの間違いではないかと思い、実験を繰り返して再現性を確かめました。直観的には、かさ高い分子が多い場所が AFM で低く見えるとは考えられませんが、高分子の状態や AFM の原理についてよく考えると、実は非常に理にかなっているのです。金沢大学での共同実験で、FM-AFM に切り換えて表面の凹凸が反転した時にはとても興奮して、” やっぱりそうだ!” と叫んでいました。」と筆頭著者である博士後期課程の柿本恭宏(文部科学省博士課程教育リーディングプログラム履修生)は説明します。

研究チームのリーダーである手老龍吾准教授は、「脂質やタンパク質のようにやわらかい分子が水中で揺らぐ姿を捉えるのは、生体分子の機能を分子レベルで理解するために重要なことです。実は、糖脂質を多く含む領域が AM-AFM で低く観察されるという実験結果は、約 10 年前からいくつかの系で得られていました。親水性部位の揺らぎによる斥力が原因だろうと推測していましたが、この研究で裏付けられました。決定的だったのはやはり、福間教授の最先端の FM-AFM 装置を用いた結果(図 2)であり、素晴らしい共同研究成果だと思っています。」と話しています。

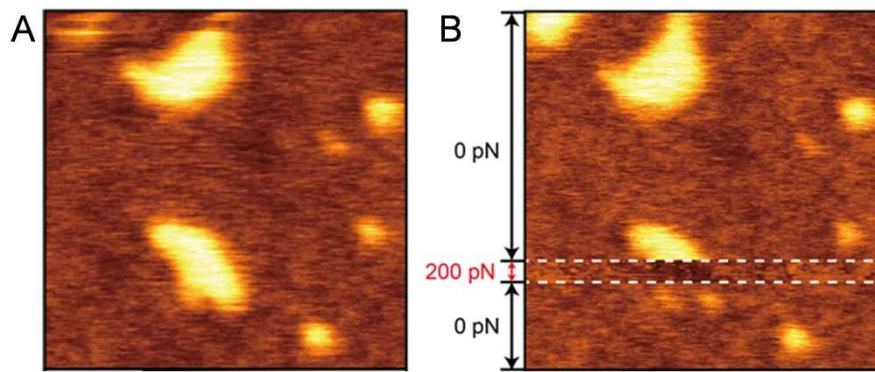


図2：印加する力に依存して変化する PEG 修飾脂質ドメインの形状。

本研究成果によって得られた親水性高分子鎖の相互作用によるドメイン形成の原理は、細胞膜中の糖脂質などにも共通するものであり、糖脂質や膜タンパク質の集合体形成に関わる細胞認識や信号伝達の仕組みを理解するのに役立つと研究グループは考えています。さらに、かさ高いはずの物が条件によって凹んで見える、という実験上の知見は、原子間力顕微鏡で水中の生体分子を観察している多くの研究者にとって有用です。また、PEG はタンパク質などの非特異的吸着を抑制する作用があり、バイオインターフェースやドラッグデリバリーにも用いられています。PEG-rich なクラスターおよびドメインの形成と力応答はこれらの分野にも波及効果があると期待されます。

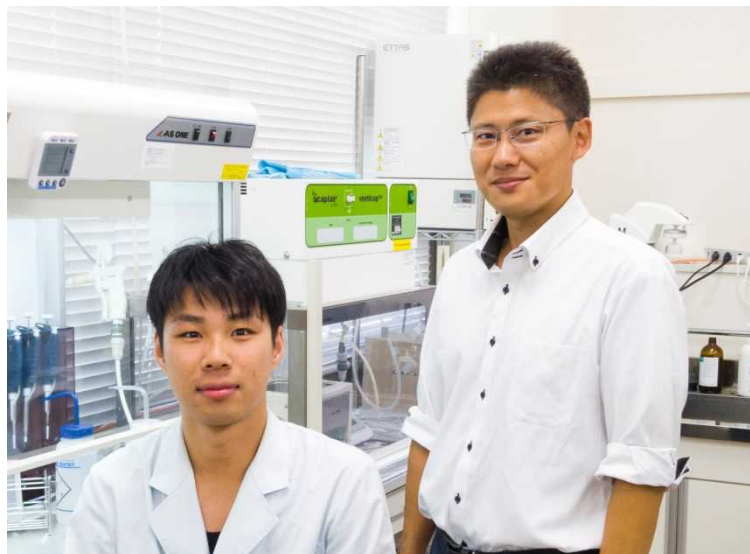


図3：柿本恭宏、手老龍吾

ファンディングエージェンシー：

本研究は、日本学術振興会 (JSPS) 科研費 JP15H03768、JP15H00893、科学技術振興機構 (JST) CREST (JPMJCR14F3)、JST A-STEP からの支援を受けて行われました。

Reference:

Yasuhiro Kakimoto, Yoshihiro Tachihara, Yoshiaki Okamoto, Keisuke Miyazawa, Takeshi Fukuma, and Ryugo Tero (2018).

Morphology and Physical Properties of Hydrophilic-Polymer-Modified Lipids in Supported Lipid Bilayers, *Langmuir*, 34(24), 7201-7209. 10.1021/acs.langmuir.8b00870

本件に関する連絡先

広報担当：総務課広報係 河合・高柳・梅藤 TEL:0532-44-6506