



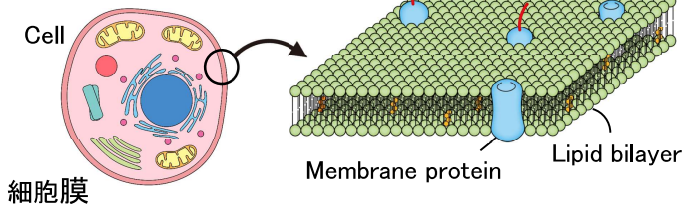
人工脂質二重膜系での 膜タンパク質の構造と機能の評価

応用化学・生命工学系 手老 龍吾、金城 ゆう、本多 恵威士

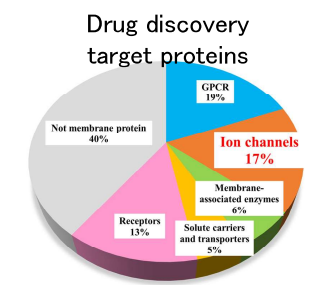


細胞膜モデル系としての脂質二重膜

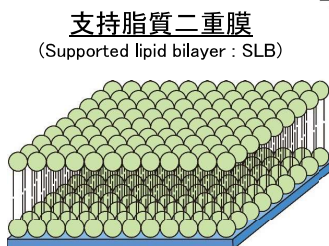
研究背景



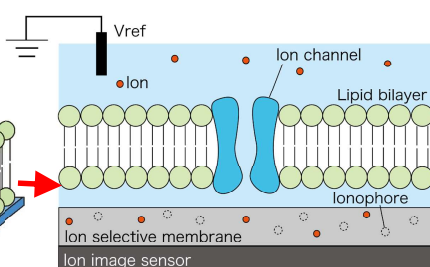
- 脂質二重膜を基本骨格とし、細胞内外を隔てる。
- イオンチャネルなどの膜タンパク質を介して、物質輸送・情報伝達を行う反応場

Revision [L. Tiefenauer & S. Demarche, *Materials*, 5 (2012) 2005–2242]タンパク質をターゲットとした
薬剤の60% が膜タンパク質

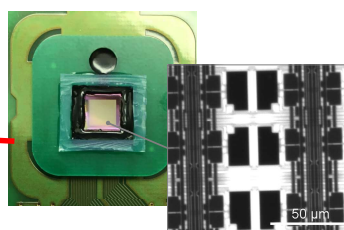
目的



固体基板(センサ表面)と生体試料(細胞)の橋渡し

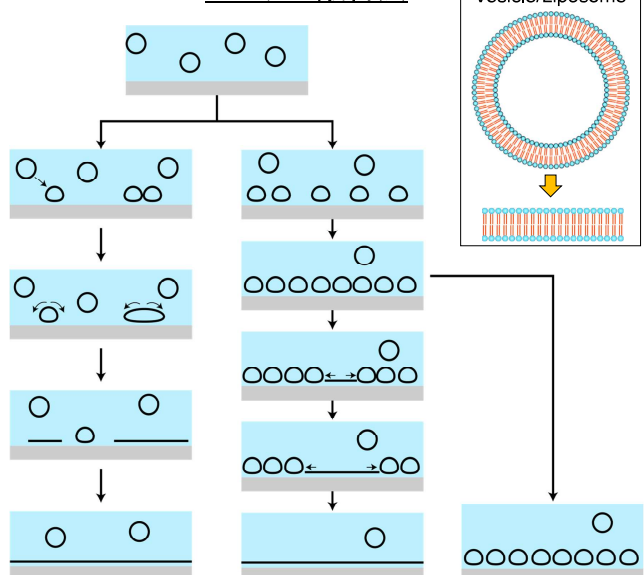


イオンイメージセンサ(澤田G)



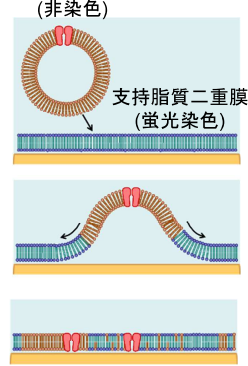
脂質二重膜試料の作製

ベシクル融合法

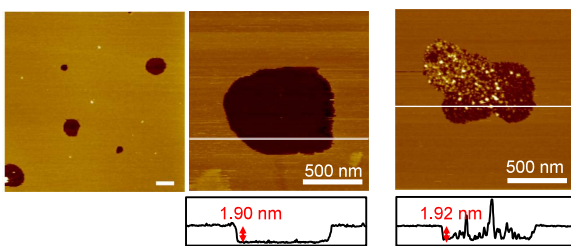
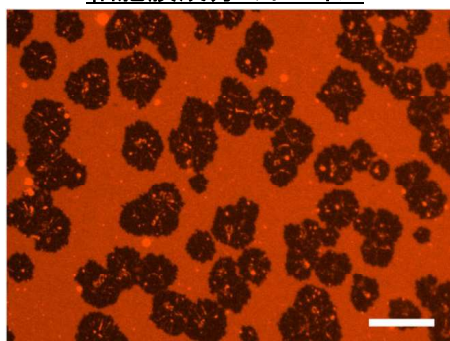
[R. Tero, *Materials*, 5 (2012) 2658.]

膜タンパク質再構成

プロテオリポソーム (非染色)



細胞膜成分のドメイン

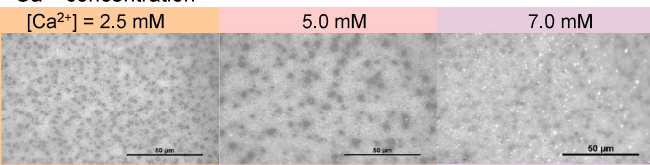


荷電脂質を含む二重膜

荷電脂質を含む二重膜の組成制御

Dioleoylphosphoglycerol: DOPG (negatively charged)
 $T_m = -18\text{ }^{\circ}\text{C}$
→ Fluid (liquid crystalline phase) at 25 °C

Dipalmitoylphosphatidylcholine: DPPC (neutral)
 $T_m = 41\text{ }^{\circ}\text{C}$
→ Solid (gel phase) at 25 °C

Various domain size and area fraction depending on Ca^{2+} concentration

Bright region: DOPG-rich
Fluid and negatively charged

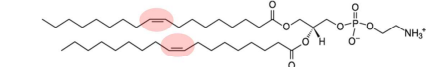
Dark region: DPPC-rich
Solid and Neutral

多価不飽和脂質によって誘起される膜内ドメイン形成と膜融合

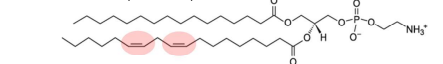
PE : POPC : Chol = C_{PE} :67- C_{PE} :33
(C_{PE} : PE concentration)

PE: phosphatidylethanolamine (from egg)

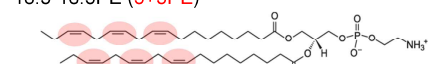
18:1-18:1PE (1+1PE)



16:0-18:2PE (0+2PE)



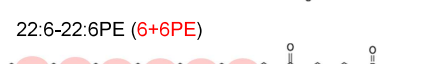
18:3-18:3PE (3+3PE)



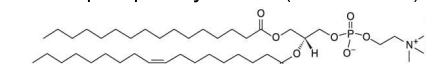
16:0-22:6PE (0+6PE)



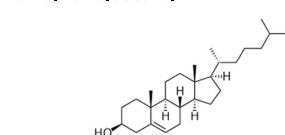
22:6-22:6PE (6+6PE)



POPC: phosphatidylcholine (18:1-18:1PC)



Chol: cholesterol



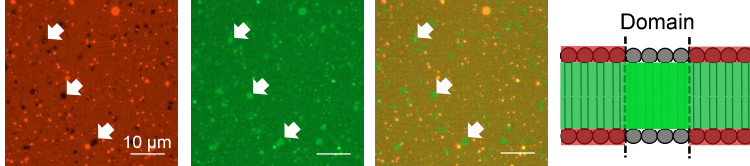
3+3PE+POPC+Chol-SLB

蛍光像 ($C_{PE} = 22\text{ mol}\%$)

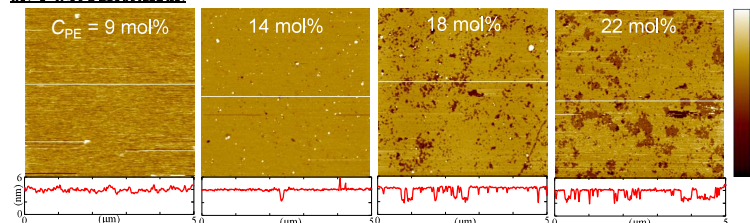
Rb-DPPE

Bis-Bodipy-FL-PC

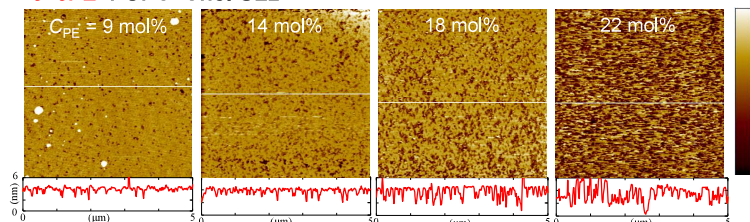
Merged



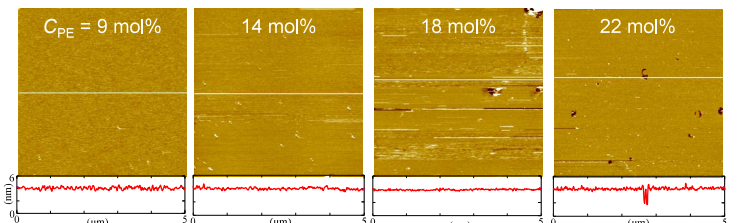
原子間力顕微鏡像



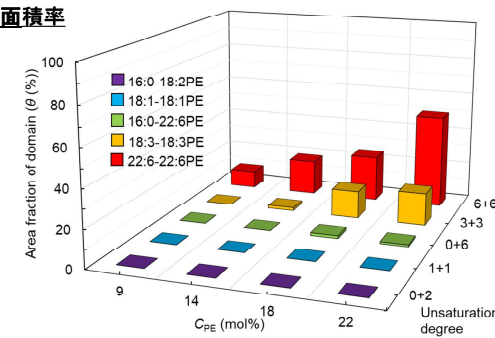
6+6PE+POPC+Chol-SLB



0+6PE+POPC+Chol-SLB



膜内ドメインの面積率



膜融合を介した脂質二重膜間の分子交換

蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET)

