

膜曲率に依存したリポソーム間リン脂質交換

(富山大院医薬) ○中野 実

【緒言】 時間分解中性子小角散乱 (SANS) による脂質ダイナミクス評価法は、同位体間の散乱能の違いを利用してモデル粒子中の脂質の粒子間移動及びフリップフロップを *in situ*、*real time* で精度良く求める手法である。今回、この手法を粒径の異なるリポソームに適用し、脂質膜の曲率の効果について検討した。

【実験】 1,2-Dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC)、1-palmitoyl-2-oleoylphosphatidylcholine (POPC) と、それぞれの飽和アシル鎖が重水素化された DMPC- d_{54} 、POPC- d_{31} を用いて、粒径約 120 nm のリポソーム (H-LUV, D-LUV)、並びに粒径約 35 nm のリポソーム (H-SUV, D-SUV) を調製した。H-リポソームと D-リポソームを混合し、その後の SANS 強度変化を測定し、リン脂質交換速度を算出した。また、蛍光プローブ 1-palmitoyl-2-(3-(diphenylhexatrienyl)propanoyl)phosphatidylcholine (DPH-PC) を POPC リポソームの外葉または内葉に選択的に導入し、時分割蛍光異方性測定から脂質膜の配向性 (オーダーパラメータ) を算出した。

【結果及び考察】 時分割蛍光異方性から求めた DPH-PC のオーダーパラメータは飽和アシル鎖のみからなる DMPC 膜のほうが不飽和アシル鎖をもつ POPC 膜よりも高く、いずれの膜でも LUV に比べて SUV のほうが高い値となった。さらに、POPC 膜の片側へ DPH-PC を選択的に導入して検討した結果、SUV において、外葉の方が内葉よりもオーダーパラメータが大きくなった。このことから、高い曲率を有する膜の外葉は配向性の高い、密なパッキングをとることが示唆された。

SANS により求めたリン脂質交換速度はアシル鎖長の短い DMPC のほうが POPC よりも速く、いずれの膜でも LUV に比べて SUV のほうが速かった。アレニウスプロットにより、活性化自由エネルギーと、エンタルピー、エントロピーの寄与を算出したところ、DMPC の粒子間移動の活性化エンタルピー、エントロピーはいずれも LUV に比べて SUV のほうが大きくなることが判明した。これは、膜の曲率の上昇に伴って外葉膜のパッキングが増加することによって、膜脂質のもつエンタルピーとエントロピーを減少させることが原因であると考えられる。

Curvature-Dependent Phospholipid Exchange Between Liposomes

M. NAKANO (Univ. of Toyama, mnakano@pha.u-toyama.ac.jp)

We applied time-resolved fluorescence anisotropy and small-angle neutron scattering to large (LUVs) and small unilamellar vesicles (SUVs) consisting of POPC or DMPC to elucidate the effect of curvature on the dynamics of lipid membranes. The order parameter of DPH-PC was larger in SUVs than in LUVs. Moreover, the order parameter was significantly larger when the probe was located at outer leaflet of SUVs, suggesting the acyl chain ordering. Interventricular exchange of DMPC was faster in SUVs than in LUVs. In addition, both the activation enthalpy and entropy of DMPC for the intervetricular exchange was greater in SUVs than in LUVs. These results suggest that the increase in the curvature induces tighter packing and reduces the enthalpy and entropy of lipids in membranes, which facilitates the lipid exchange by making these processes entropically less unfavorable.