

Phosphatidylinositol 含有脂質二重膜内

微小ドメインの構造と物性

(豊橋技科大エレクトロニクス先端融合研¹・名大院理²)

○茂木俊憲¹・滝口 金吾²・滝口 陽子²・手老 龍吾¹

[序] 細胞膜は脂質二重膜を基本骨格とした流動的な反応場であり、内在する脂質やタンパク質等の分子運動は様々な生体反応に関与している。膜変形モジュールタンパク質 F-BAR はエンドサイトーシス等による物質輸送や細胞内小器官の構造形成の際に膜変形を誘起する役割を果たす^[1]。F-BAR 反応に活性を示す phosphatidylinositol (PI) + phosphatidylcholine (PC) 膜内に形成される微小ドメイン構造の構造、サイズと流動性は F-BAR の反応初期過程と密接に関わる重要な要因であると考えられる。そこで本研究では PI+PC 二重膜内の単一蛍光分子拡散観察および原子間力顕微鏡(AFM)観察を行い、ドメインサイズおよびその内部での分子状態を明らかにすることを目的とした。

[実験] ベシクルフュージョン法により HEPES buffer (pH 7.4)中でマイカ基板上に PI + PC 二重膜を形成した。単一蛍光分子観察には膜内で異なる分配を示す 2 つの色素分子 BODIPY-C5-HPC と DiI-C18 を用いた。532 nm レーザーを励起光源として得た膜内色素由来の輝点拡散を CCD カメラにて連続観察した(33 fps)。また PI + PC 二重膜の膜内ドメイン構造を AFM により観察した。

[結果・考察] Fig. 1 に BODIPY-HPC および DiI-C18 の輝点拡散軌跡を示す。同様の観察時間内にて DiI-C18 は BODIPY-HPC よりも低拡散を示し、その平均の拡散係数 (D)はそれぞれ $0.32, 0.51 \mu\text{m}^2/\text{s}$ であった。また、DiI-C18 ではより拡散の低い成分($D < 0.1 \mu\text{m}^2/\text{s}$)が約 30 %存在した。また Fig.2 に複数輝点の解析から得た、時間間隔(τ)に対する D のプロット (D - $\log \tau$ プロット)を示す。BODIPY-HPC を観察した場合、 τ に対して D はほぼ一定であることから、膜内ドメイン構造による分子拡散への影響は小さい (Fig.2, 灰線)。一方で DiI-C18 を観察した場合、 τ に対し D の段階的変化が見られたことから、膜内微小ドメインが分子拡散挙動に強く影響することがわかった(Fig.2, 黒線)。本結果から分子拡散性に基づいたドメインサイズの算出が可能であり、AFM 観察から得たドメインサイズ、密度等と合わせて PI+PC 二重膜内の微小ドメイン構造の詳細な評価について述べる。

[1] Y. Tanaka-Takiguchi et al., *Langmuir* **2013**, 29, 328-36.

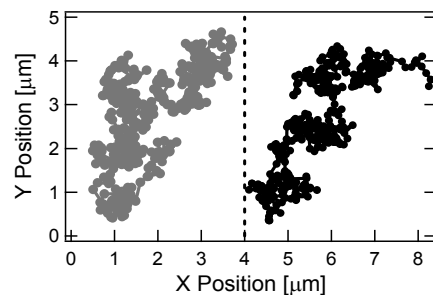


Fig. 1 The single molecule trajectories of BODIPY-HPC(gray) and DiI-C18(black) in the PI + PC lipid bilayer on mica. The diffusion coefficient [$\mu\text{m}^2/\text{s}$] and tracking time (t) [s] are $D=0.24, t=12.4$ and $D=0.22, t=12.3$, respectively.

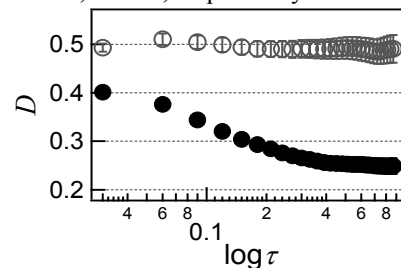


Fig. 2 The averaged D - $\log \tau$ plots of BODIPY-HPC(gray) and DiI-C18(black) for a number of trajectories. Error is SE.

Structure and Properties of Microdomains in Phosphatidylinositol-Containing Supported Lipid Bilayers
T. MOTEKI, K. TAKIGUCHI, Y. TANAKA-TAKIGUCHI, R. TERO (Toyohashi Univ. Tech., Nagoya Univ., moteki@eiiris.tut.ac.jp) Heterogeneity in cell membranes typified by the formation of microscopic domains is an important factor for the control of cell membrane reactions. In this study, we investigated the diffusivity, structure and size of microscopic domains in the PI+PC artificial bilayer on mica by using single molecule tracking and AFM. The detailed analyses of the single molecular diffusion of dye-labeled lipids revealed the spatiotemporal dependence of the lipid diffusion and the quantitative domain size. Comparing with the AFM observation results, we discuss the effective domain size and the relation with the lipid diffusion.