

脂質混合リポソームの浸透圧に誘導される変形とその可逆性

小内輝明¹、木下祥尚²、加藤知³、平井光博¹
1 群馬大学、2 大阪大学、3 関西学院大学

生体脂質二重層膜より形成される閉鎖小胞構造（リポソーム）は古くからモデル生体膜として取り扱われている。我々は代表的なスフィンゴ糖脂質の一つであるガングリオシドを含んだリポソームの構造に注目して研究を行ってきた。ガングリオシドは生体中のほぼ全ての細胞に存在し、生体膜表面でのラフト状ドメインの形成やシグナル伝達、またアルツハイマー病への関与などが示唆されている。これまでの研究で、ガングリオシド分子のリポソーム膜上における構造物性を検討するために、ガングリオシドを含む脂質混合リポソームの浸透圧依存的な構造変化について調べてきた。浸透圧調製剤として吸湿性の高い高分子 Polyvinylpyrrolidone (PVP) を使用し、PVP 溶液をリポソーム懸濁液中へ添加した。高濃度の PVP 溶液中では、一枚膜の LUV (Large Uni-lamella Vesicle) 構造から LUV の内側にもう一つのリポソームを含む「二重シェル構造」へと形状変形する事を示した [T. Onai, M. Hirai, J. of Phys Conference Series 247 (2010)]。この変形はリポソーム組成に含まれるガングリオシド分子の糖鎖領域の脱水和、及び屈曲に起因すると考えられる。

この構造の転移は比較的低い浸透圧差から（ ~ 0.424 atm.以下から）生じはじめた。実際の生細胞においては、エンドサイトーシス/エキソサイトーシスや、細胞内膜系においてセルサイズ以下のリポソームの生成/崩壊が常に生じており、上述のリポソーム形状の変化は、膜組成中の特定の脂質（ガングリオシドなど）が細胞内環境の僅かな摂動により局所的にリポソームの自発生成/崩壊を促し得ることを示している。

このような膜の形状変形が生体中で生じた場合、その変形が環境の変化に対して可逆的か否かという事は生理的機能との関わりを考えたとき非常に重要であり、またその変形の機構を予測する上でも重要である。

本研究では、このリポソームの形状変形の可逆性について検討した。リポソーム懸濁液の PVP 濃度を高濃度から希釈し（PVP 濃度 20 %v/v \rightarrow 5 % v/v）、SAXS 測定による溶液中リポソームの構造解析を行った。その結果、PVP 濃度 20 %v/v において $q \sim 0.10 \text{ \AA}^{-1}$ 付近の「二重シェル構造」を反映する散乱プロファイルは、希釈に伴い PVP 添加前の一枚膜の LUV 構造を反映するプロファイルに近づく傾向を示し、PVP の添加により誘導された「二重シェル構造」の形成が溶液中の PVP 濃度の変化に対して可逆的であることを示した。

また、同様のリポソーム溶液試料の凍結切断試料を調製し、電子顕微鏡観察を行った。得られた画像と SAXS による解析データを併せて検討した。

脂質混合リポソームの調製や形状変形には、その脂質組成、特に今回は糖脂質の有無が大きな影響を及ぼしているのは明らかである。今後、GISAS の利用により脂質膜界面上において、糖脂質の果たす構造上の役割（糖鎖領域の変化や、脂質組成毎の局在の仕方など）が明らかにできるのではないかと考えている。