

生体膜モデル脂質二分子膜へのタンパク吸着構造の中性子反射率測定による検討

Neutron Reflectometry Study on Proteins-Adsorbed Lipid Bilayer Structures

飯村 兼一¹⁾, 松崎 智子¹⁾, 川岸 明菜¹⁾, 鳥飼 直也²⁾, 山崎 大³⁾

Ken-ichi Iimura, Tomoko Matsuzaki, Akina Kawagishi, Naoya Torikai, and Dai Yamazaki

1) 宇都宮大学 2) 高エネルギー加速器研究機構 3) 日本原子力研究開発機構

石英基板上的脂質二分子膜/タンパク吸着構造について、中性子反射率測定による解析を試みた。本測定系による二分子膜構造の解析が可能であることを確認したとともに、脂質膜組成に依存したタンパク吸着膜構造の変化を示唆する結果を得た。

キーワード：中性子反射率，脂質二分子膜，Langmuir-Blodgett (LB) 膜，タンパク吸着膜構造

1. 目的

固/液界面の脂質二分子膜を生体膜モデルとして用い、コレラ菌溶血毒タンパク VCH（ただし本研究では遺伝子組換えにより無毒性とした pro-VCH を使用）およびアルツハイマー病原物質であるアミロイド Aβペプチド (Aβ) を吸着させた試料について、中性子反射率法 (NR) を適用し、脂質膜-タンパク吸着構造を解明することを目的として行った。

2. 方法

NR 測定は、JRR-3 中性子反射率計 SUIREN において実施した。石英基板上に LB 法により移行した脂質二分子膜試料を、本測定用に作製したセルにセットして NR 測定を行った。このセルの石英基板の脂質二分子膜が載っている面には、タンパクを分散させた重水で満たされたテフロン製の小型水槽が設置されている。中性子ビーム（波長 3.93 Å）は石英基板側から重水/石英基板の界面に入射させた。

3. 研究成果

Fig.1 には、石英基板 (SiO₂)、ジオレオイルホスファチジルコリン (DOPC) の二分子膜および pro-VCH を DOPC 膜に吸着させた試料の NR 測定結果を示す。石英基板と DOPC 二分子膜に対する NR 曲線が大きく異なることから、石英/重水界面に脂質分子膜が存在していることが確認される。DOPC 膜に対する NR 曲線をカーブフィット解析したところ、疎水鎖を背中合わせにし、親水基部を基板と重水側に向けた DOPC の二分子膜構造としてベストフィットされた。また、DOPC 膜と DOPC/pro-VCH 試料に対する NR 曲線にも違いがあることがわかるが、それらの解析結果からは、pro-VCH の吸着によって DOPC 二分子膜の水に接した側の親水基層の散乱長密度 (SLD) が変化するとともに、膜の水槽側に比較的大きな SLD を有する領域が発達していることが示唆された。これは、DOPC/pro-VCH 試料では、DOPC の親水基部に pro-VCH が吸着し、更にその外側には pro-VCH による拡散層が存在するとして解釈できる。また、脂質膜を DOPC とコレステロール (Chol) の混合膜とした場合には、pro-VCH は、基板側 1 層目の疎水基部まで侵入し、水側層の拡散層も DOPC 単成分膜に吸着させたときよりも、長距離まで成長していることを示唆する結果が得られた。

4. 結論・考察

SUIREN を用いた生体膜モデルの NR 測定が可能であることを示したとともに、脂質膜組成に依存したタンパク吸着膜構造の違いを示唆する結果を得ることができた。VCH と Chol の間には、特異的な相互作用が働くことが報告されており、現時点で提案されている VCH の結合サイトが Chol に到達するためには、二分子膜に深く侵入する必要がある。本測定で、Chol が存在する場合に深部までの侵入吸着構造が示されたことから、特異的相互作用による吸着構造を支持する結果として興味深い。また、Aβ に対しても、上記と同様の測定・解析を行ったが、pro-VCH の場合ほどの明瞭な変化は今のところ見出せていない。これは、Aβ の吸着量が少ないか、両者の SLD の差があまり大きくないためであろうと考えている。今後は、より高精度の構造解析を可能とするために、装置測定系および試料系ともに改良を加えてゆく予定である。

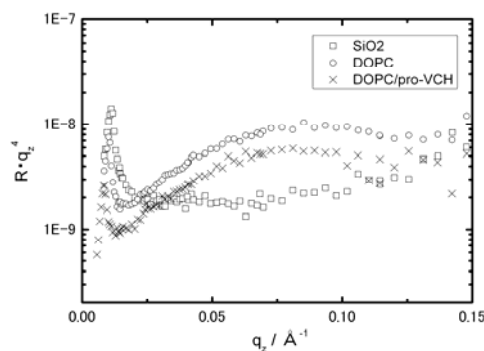


Fig.1 SiO₂ 基板, DOPC 二分子膜, pro-VCH 吸着 DOPC 二分子膜の NR プロファイル。