

## 表裏の脂質組成の異なる二重膜リポソームにおけるコレステロール内外葉分布の解明

(阪大院理) ○渡辺宏史・花島慎弥・村田道雄

Cholesterol Distribution in The Inner and Outer Leaflets of Asymmetric Bilayer Membranes  
(*Graduate School of Science, Osaka University*) Hirofumi Watanabe, Shinya Hanashima, Michio Murata

Cell membranes are asymmetric, in which the molecular species and composition of the phospholipids greatly differ between the inner and outer leaflets. This asymmetry is strictly maintained by enzymes and biosynthesis to fulfil the crucial role in the physiological functions of cell membranes. Besides phospholipids, the asymmetric distribution of cholesterol (Cho) is thought to be essential for biomembranes. The distribution of Cho, which is largely due to thermodynamic equilibrium controlled by Cho-lipid interactions, remains elusive because the flip-flop movement of Cho is much faster than phospholipids.

We examined Cho distribution in the inner- and outer-leaflet of the asymmetric large unilamellar vesicles (aLUV) that were composed of sphingomyelin for the outer leaflet and unsaturated phosphatidylcholine (PC) for the inner leaflet. aLUVs were prepared using a cyclodextrin-mediated lipid exchange method. Förster resonance energy transfer (FRET) was measured between the NBD-PE with leaflet selective distribution and cholestatrienol (CTL), a fluorescence analogue of Cho. The results strongly suggest asymmetric distribution of Cho in aLUV.

**Keywords :** Cholesterol, asymmetric large unilamellar vesicle, FRET

細胞膜では、内葉と外葉を構成するリン脂質の分子種や組成が大きく異なっている。この内外葉の非対称性は生体膜の機能や生理活性の発現に重要であると考えられており、酵素や生合成によって厳密に制御されている。一方で、コレステロール (Cho) も生体膜に必須な構成脂質であるが、内葉・外葉間のフリップフロップ運動がリン脂質と比べて格段に速く、非対称な生体条件における Cho の内外葉分布については定説が得られていない。

そこで、本研究では外葉がスフィンゴミエリン (SM)、内葉が DOPC で構成された非対称モデル膜 (asymmetric unilamellar vesicle, aLUV) をシクロデキストリンによる脂質交換法<sup>1)</sup>によって調製し、小葉選択的に標識した NBD-PE と Cho の蛍光アナログ体であるコレスタトリエノール (CTL) との間の蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を測定した。その結果、リン脂質の非対称性を有するモデル膜における Cho の内葉・外葉の分布を推定することができたので報告する。

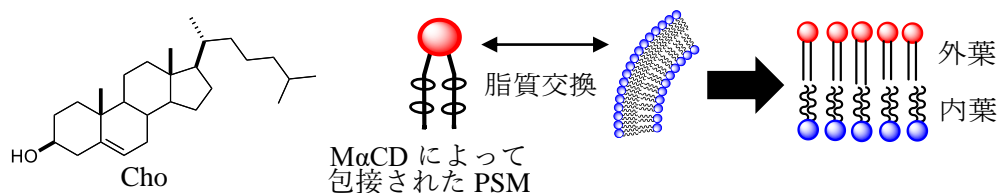


図 1. コレステロールの構造 (左) と脂質交換法による非対称膜の調製 (右)

1) Doktorova, M.; Heberle, F. A.; Eicher, B.; Standaert, R. F. *et al. Nat Protoc.*, **2018**, 13, 2086.