

# フォスファチジルイノシトール含有脂質二重膜の構造および流動性評価

## Analysis of Structure and Fluidity of Phosphatidylinositol-Containing Supported Lipid Bilayer

豊橋技科大<sup>1</sup>, 名大院理<sup>2</sup> ◯茂木 俊憲<sup>1</sup>, 滝口 金吾<sup>2</sup>, 滝口 陽子<sup>2</sup>, 手老 龍吾<sup>1</sup>

Toyohashi Univ. Tech.<sup>1</sup>, Nagoya Univ.<sup>2</sup>, ◯Toshinori Motegi<sup>1</sup>, Kingo Takiguchi<sup>2</sup>, Yohko Takiguchi<sup>2</sup>, Ryugo Tero<sup>1</sup>

E-mail: motegi@eiiris.tut.ac.jp

**[序]** 細胞膜は脂質二重膜を基本骨格とした反応場であり、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。フォスファチジルイノシトール(PI)は膜輸送や信号伝達に関わるリン脂質であり、エンドサイトーシスによる物質輸送の際に働くタンパク質である F-BAR の反応因子として働くことが *in vitro* の実験でも明らかにされている[1]。本研究では PI とフォスファチジルコリン(PC)の混合支持脂質二重膜(SLB)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、サブミクロン微小ドメインの存在およびそれらと膜内分子拡散挙動との関係を明らかにした。

**[実験]** ベシクルフュージョン法により HEPES buffer (pH 7.4)中で合成マイカ基板上に PI + PC (1:1)-SLB を形成した。単一蛍光分子観察には色素分子 DiI-C18 を用い、DiI 由来の輝点拡散を CCD カメラにて 33 frames/s (fps)または 500 fps で連続観察した。同様に作製した 3 つの試料から計  $10^3$  分子の軌跡を取得して平均二乗変位解析を行い、その平均値から拡散係数( $D$ )を求めた。

**[結果・考察]** PI + PC-SLB 内にて観察された DiI-C18 の輝点拡散軌跡(Fig. 1)から拡散係数( $D$ )を求めたところ、通常観察(33 fps)時に比べ、高速観察(500 fps)時では  $D$  が大きかった。Fig. 2 に PI + PC-SLB 内の拡散軌跡から得た、時間間隔( $\tau$ )に対する  $D$  の両対数プロットを示す(Fig. 2; 下部)。PI + PC-SLB では、ドメイン構造等の微小な拡散障壁の影響が現れる高速観察領域にて、 $\tau$ に対し  $D$  の段階的の減少が見られた(Fig.2 下部; 赤線)。

AFM 観察においても PI + PC-SLB 内には直径数 100 nm 程度の微小なドメインが観察され、これが PI + PC-SLB 内の分子拡散に強く影響して異常拡散を起こす原因となっていると考えられる。一方、PC のみで構成される SLB 内では  $\tau$ に対して  $D$  はほぼ一定であったことから(Fig. 2; 上部)、PI の添加により微小ドメインが形成されたといえる。分子拡散性に基づいたドメインサイズと AFM 観察結果を比較し、PI + PC-SLB の流動性と時空間依存性への微小ドメインの寄与を定量的に解析する。

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

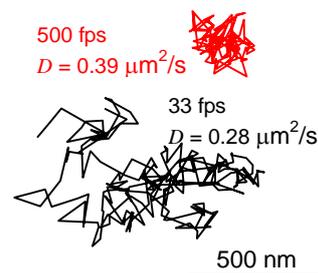


Fig. 1 合成マイカ上 PI + PC-SLB 内 DiI-C18 の輝点軌跡。それぞれ、500 fps(赤線)、33 fps(黒線)での観察結果を示す。また図中に拡散係数( $D$  [ $\mu\text{m}^2/\text{s}$ ])を示した。

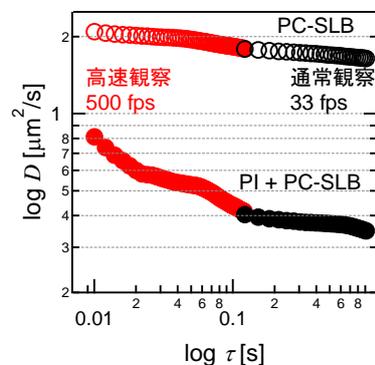


Fig. 2 時間間隔( $\tau$ )に対する  $D$  の両対数プロット。上部; PC-SLB、下部; PI + PC-SLB の結果を示す。それぞれ、通常観察(黒線)および高速観察(赤線)から得た結果である。