

ベシクル融合過程の観察とその促進因子 Observation of vesicle fusion and its promoting factor

兵庫県立大工 °住友弘二, 安原杏実, 部家彰

Univ. of Hyogo °Koji Sumitomo, Ami Yasuhara, Akira Heya

E-mail: sumitomo@eng.u-hyogo.ac.jp

【緒論】ベシクル融合は、生体内での分子輸送とシグナル伝達をコントロールしている要素の一つである。膜タンパク質を含まない人工ベシクルの融合過程を観察し、融合を促進する因子を検討するために、巨大ベシクル (GUV) と蛍光内包ベシクルの融合を観察した。

【実験】1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine(DOPC)と 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanol-amine(DOPE)を混合した脂質で、Electroformation 法により GUV を作製した。ここでは、GUV に蛍光ラベルは付けていない。また、DOPC からなる直径 100 nm のベシクル (LUV) には、自己消光が顕著になる程度に高濃度 (50 mM) のカルセイン (緑色) を内包させ、脂質には Rhodamine (赤色) ラベルの脂質を混合してある。これらを混合し、GUV 内に取り込まれる Rhodamine やカルセインの蛍光を観察することで、ベシクル融合を評価した (Fig.1)。

【結果と考察】Fig. 2 に、GUV に DOPE を含まない場合と DOPE を含んだ場合の蛍光像の違いを示している。LUV/GUV 間の静電反発を抑制するために、 Ca^{2+} イオン (1 mM) を溶液中に添加してある。DOPC のみからなる GUV と混合した場合でも、LUV の付着やヘミフュージョンは進行し、LUV に含まれていた Rhodamine が GUV の脂質膜に移動し、赤色蛍光が見られた。しかし、

内包したカルセインの GUV 内への移動はごくわずかであり、全融合まではほとんど進行していない。一方で、

DOPE を含む GUV の場合には、LUV 内のカルセインが

GUV 内に移動し、全融合ま

で進行していることが分かる。

GUV の脂質膜に DOPE を含む場合、DOPE の小さなヘッドグループが脂質二重層を不安定にし、融合を促進したものと考えられる。同様の実験を、LUV の脂質膜に DOPE を混合した場合、さらに融合が促進することが分かった。曲率の小さい LUV に DOPE を混合することで、脂質膜の曲げ応力がより顕著になったものと考えられる。

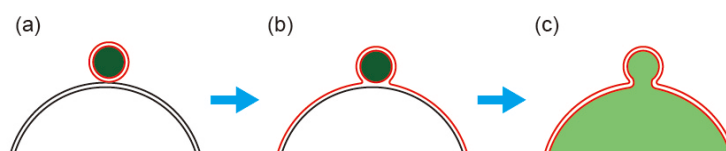


Fig. 1: Schematic illustration of vesicle fusion between LUV encapsulating fluorescent dye and GUV. (a) Adhesion, (b) hemifusion, and (c) full fusion state.

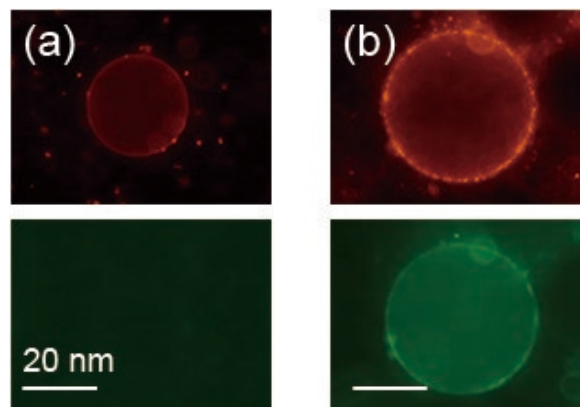


Fig. 2: Fluorescent images of (a) DOPC GUV and (b) DOPC+DOPE GUV after vesicle fusion with DOPC LUV for 1 h.