

低流量電子線散乱を用いた脂質二重層膜に形成される脂質ラフト様秩序相内部の構造解析

(九大院理¹) ○前田 万優¹・木下 祥尚¹・松森 信明¹

Low-flux electron diffraction discloses chain packing structures inside ordered domains formed in lipid bilayers (¹Graduate School of Science, Kyushu University) ○Mayu Maeda,¹ Masanao Kinoshita,¹ Nobuaki Matsumori¹

Lipid rafts are ordered membrane domains and work as a platform for important signal transductions. So far, structural information of lipid rafts has been obtained with phase separated membrane between the raft-like ordered and non-raft-like disordered phases. In the present study, we addressed packing structures of lipid carbon chains inside the ordered membrane domains using electron diffraction with high convergence. We firstly prepared a distearoylphosphatidylcholine (DSPC)/dioleoylphosphatidylcholine (DOPC) bilayer, which undergoes phase separation between DSPC-rich ordered and DOPC-rich disordered phases whose size is ~ten micrometer (Fig. 1). Then, we directed electron beam (1.1 μm in diameter) to the DSPC-rich phase. As a result, we found that the DSPC-rich phase shows similar diffraction pattern to pure DSPC bilayers (Fig. 2). On the other hand, calorimetry indicates that the DSPC-rich phase contains small amounts of DOPC. Taken together, we speculate that the DSPC-rich phase consists of two or more subdomains, one of which consists of pure DSPC.

Keywords : electron diffraction; lipid bilayer; chain packing; phase separation; lipid rafts

細胞膜に存在する秩序的膜領域「脂質ラフト」は細胞内外のシグナル伝達に関与する。それゆえ、ラフトの構造情報は生体機能発現の機序を理解するうえで不可欠である。本研究では収束性に優れた電子線を秩序/無秩序相分離二重層膜に適用することで、ラフト様秩序相内部の脂質炭素鎖充填構造を精査した。まず、代表的リン脂質である distearoylphosphatidylcholine (DSPC) と dioleoylphosphatidylcholine (DOPC) を混合することで、10 μm サイズの秩序相(DSPC-rich 相)と無秩序相が相分離した二重層膜を形成した(Fig. 1)。次に、DSPC-rich 相に対して直径 1.1 μm の電子線を照射したところ、広角側に肩を有する散乱パターン(2.51 nm^{-1} , 2.85 nm^{-1})が得られ、このパターンは純粋な DSPC 膜の場合(2.52 nm^{-1} , 2.83 nm^{-1})とほぼ一致した(Fig. 2)。一方、DSPC-rich 相には DOPC が含まれるという熱測定の結果を勘案すると、DSPC-rich 相内部には幾つかのサブドメインが存在し、その一部は pure DSPC で形成されることが推測できる。

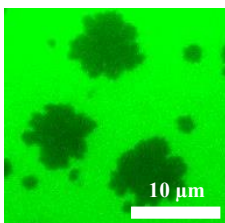


Fig. 1. 基盤上に展開した DSPC/DOPC=3/7 二重層膜の顕微鏡画像。暗い領域が秩序領域を示す。

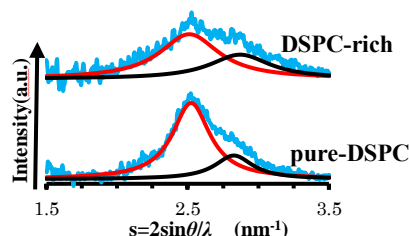


Fig. 2. DSPC-rich 相と DSPC 膜の電子線散乱パターン(青)とフィッティング曲線(赤と黒)。