

## 生体モデル膜における内葉脂質フォスファチジルエタノールアミンの動的挙動解析

(阪大院理<sup>1</sup>) ○西 直也<sup>1</sup>・安田 智一<sup>1</sup>・花島 慎弥<sup>1</sup>・村田 道雄<sup>1</sup>

Dynamic behavior of phosphatidylethanolamine as an inner leaflet lipid in biological model membranes (<sup>1</sup>*Graduate School of Science, Osaka University*) ○Naoya Nishi,<sup>1</sup> Tomokazu Yasuda,<sup>1</sup> Shinya Hanashima,<sup>1</sup> Michio Murata<sup>1</sup>

Phosphatidylethanolamine (PE), a type of inner-leaflet lipids, is involved in cellular processes such as membrane fusion. In order to clarify the dynamic behavior of PE in the biomimetic environments, we established a method for preparing asymmetric membranes bearing unsaturated PE (DOPE)/cholesterol (Cho) in the inner leaflet and sphingomyelin (PSM)/Cho in the outer leaflet. In this preparation, Cho was subsequently introduced into the asymmetric membrane after the exchange of phospholipids between vesicles by cyclodextrin (M $\beta$ CD). As a result, we succeeded in suppressing the contamination of donor vesicles and obtaining purer asymmetric membrane. Moreover, we estimated the distribution ratio of DOPE using an aminophospholipid derivatization method with TNBS reagent, and that of PSM from the peak intensity ratio detected by solid-state NMR using shift reagents. These results enabled us to evaluate the asymmetry of the prepared membrane.

**Keywords :** *Phosphatidylethanolamine, asymmetric membrane, interleaflet distribution of lipids, solid-state NMR*

フォスファチジルエタノールアミン (PE) は生体膜の内葉と外葉に非対称に分布することで膜融合や細胞質分裂などの重要な生理機能を果たしている。その分子基盤を明らかにするには、PE を含む脂質二重膜の膜物性を正確に理解することが必要である。

本研究では、より生体膜に近い環境で PE の動的挙動を詳細に調べるために、DOPE とコレステロール (Cho) を内葉に、スフィンゴミエリン (PSM) と Cho を外葉に配置した非対称モデル膜の調製法の確立を目指した。この調製法において、メチル- $\alpha$ -シクロデキストリン (M $\alpha$ CD) よりも高い包接機能を有するメチル- $\beta$ -シクロデキストリン (M $\beta$ CD) を用いてリン脂質交換を行い、Cho を後から非対称モデル膜に導入した。この操作によって遠心分離能率が向上し、ドナー脂質膜のコンタミネーションが抑えられ、より純度の高い非対称膜を得ることに成功した。また、調製したモデル膜の内外葉の非対称性を確かめるために、2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) 試薬によるアミノリン脂質誘導体化法やシフト試薬を用いた固体 NMR を用いて DOPE と PSM の分配比を算出した。これらの分析によって、調製したモデル膜表裏間の非対称性に関する知見を得ることができた。