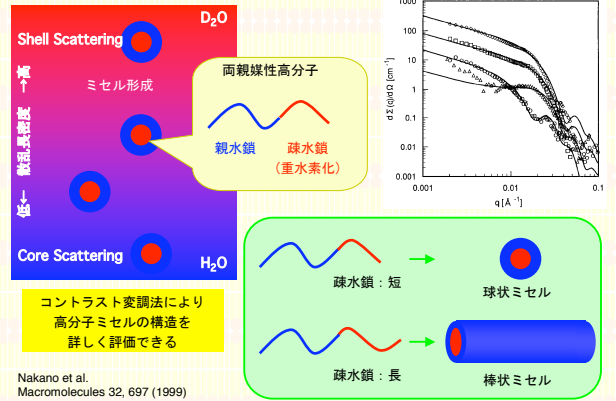


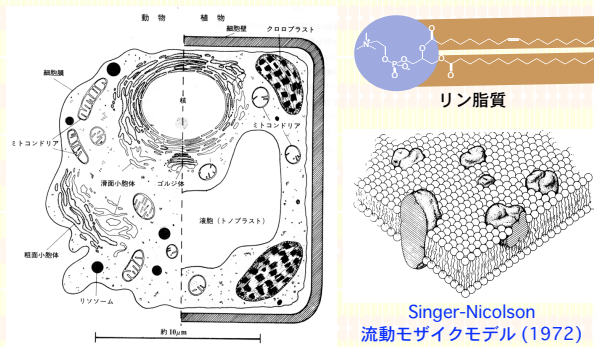
中性子小角散乱のリン脂質膜への適用
～構造とダイナミクス～

京都大学大学院薬学研究科 准教授
中野 実

中性子小角散乱による構造評価

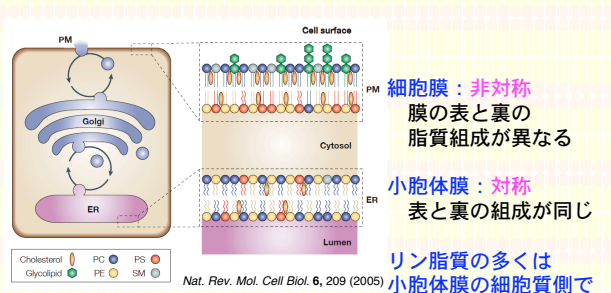


生体膜

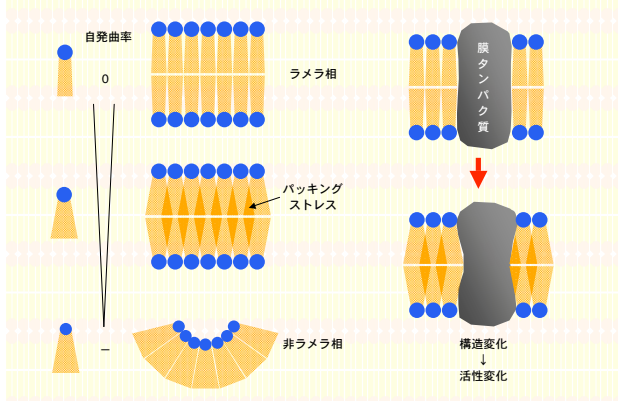


細胞膜は生体膜の約1%!

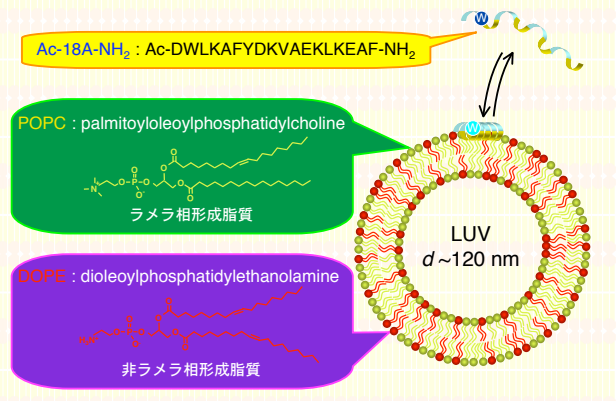
生体膜の形成

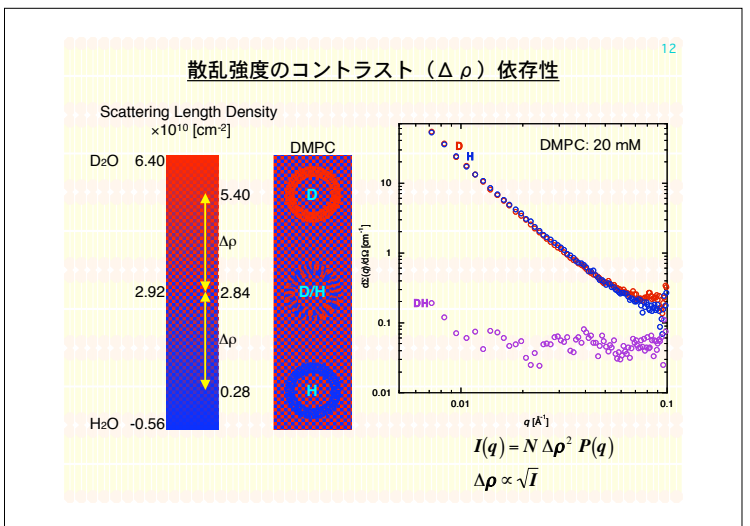
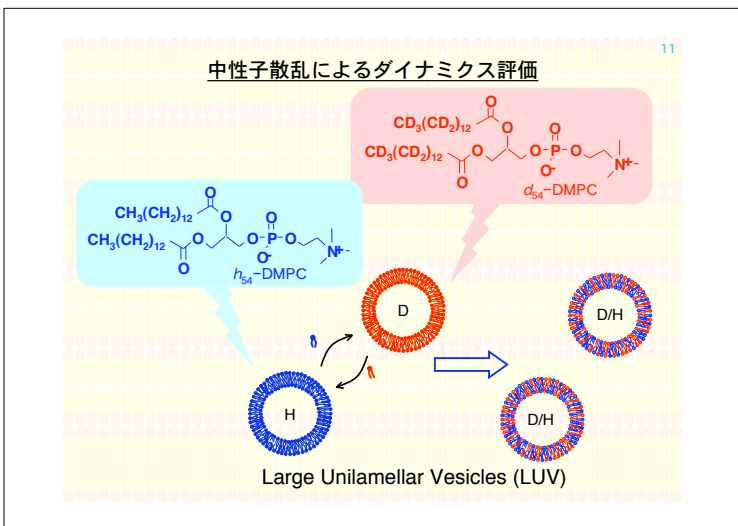
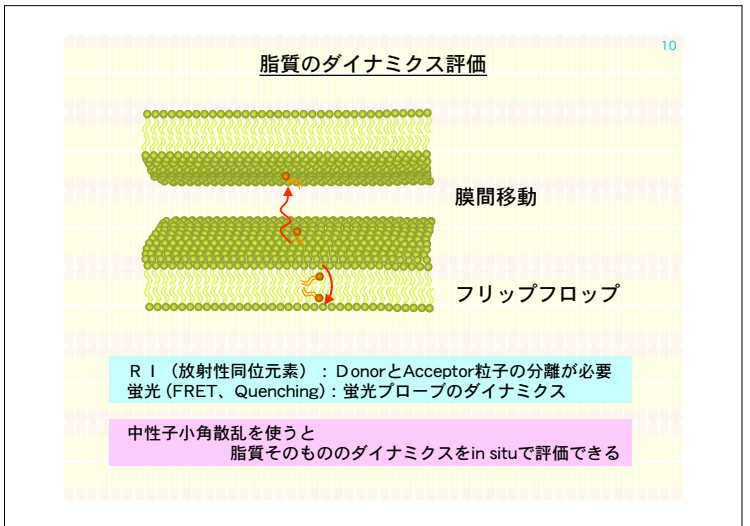
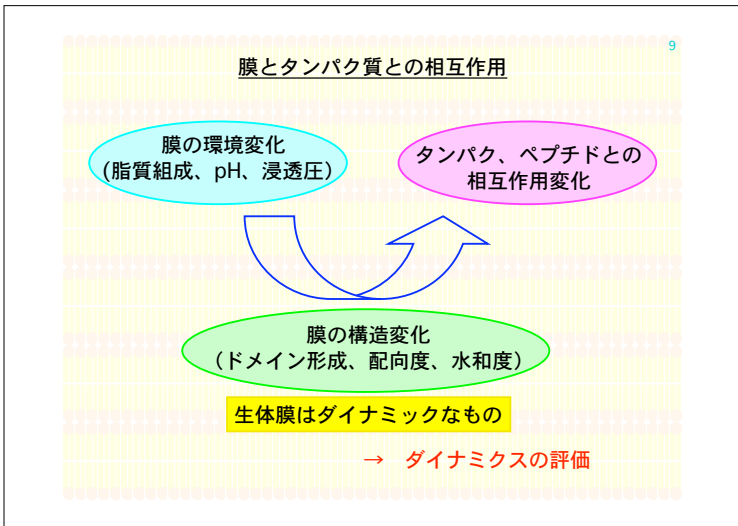
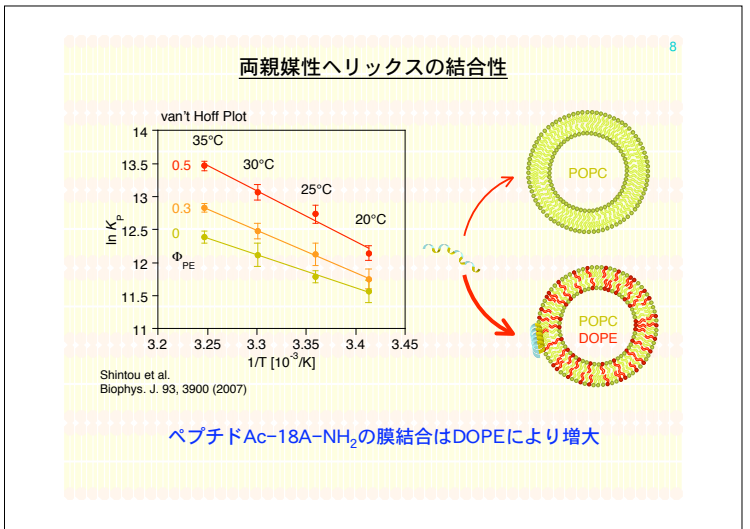
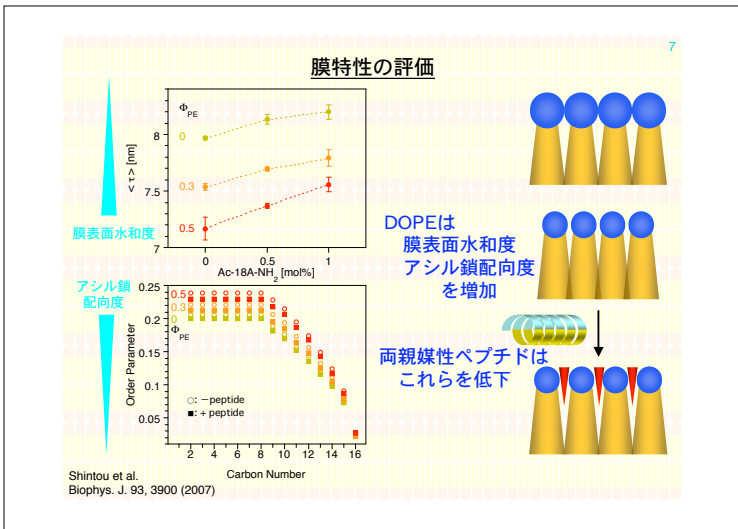


脂質の形と構造変化



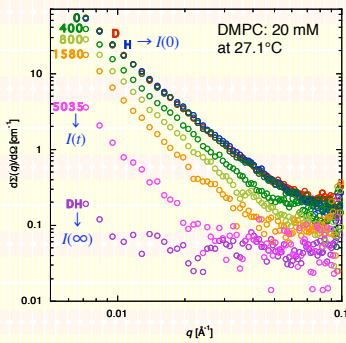
脂質組成依存性評価





散乱強度の時間変化(DMPC)

13

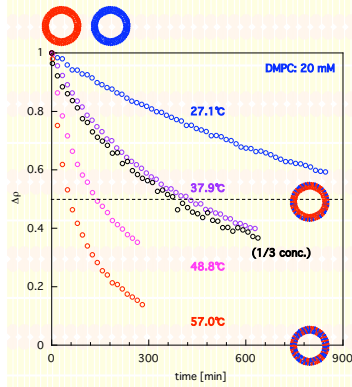


D-DMPC LUVとH-DMPC LUVを混合後、時間とともに散乱強度が低下
脂質交換が起こっている

$$\frac{\Delta\rho(t)}{\Delta\rho(0)} = \frac{\sqrt{I(t)} - \sqrt{I(\infty)}}{\sqrt{I(0)} - \sqrt{I(\infty)}}$$

$\Delta\rho$ の時間変化(DMPC)

14

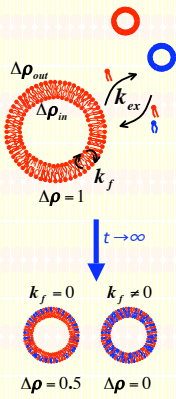


$\Delta\rho$ の減少は脂質濃度に依存しない
脂質交換は粒子の衝突ではなく、単分子の水中拡散によって生じている

$\Delta\rho$ が0.5を下回る
flip-flopが起こっている

$\Delta\rho$ についてのKinetics

15



$$\Delta\rho = \frac{\Delta\rho(t)}{\Delta\rho(0)} = \frac{\sqrt{I(t)} - \sqrt{I(\infty)}}{\sqrt{I(0)} - \sqrt{I(\infty)}}$$

$$\frac{d(\Delta\rho_{out})}{dt} = k_{ex}(\Delta\rho_{out}) + k_f(\Delta\rho_{out} - \Delta\rho_{in})$$

$$\frac{d(\Delta\rho_{in})}{dt} = -k_f(\Delta\rho_{out} - \Delta\rho_{in})$$

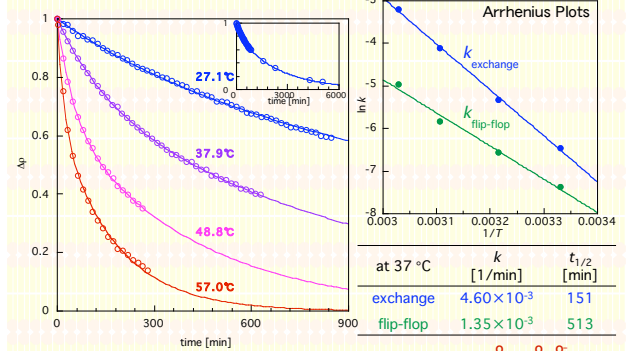
$$\Delta\rho_{out}(0) = \Delta\rho_{in}(0) = 1$$

$$\Delta\rho = \frac{\Delta\rho_{out} + \Delta\rho_{in}}{2} = F(k_{ex}, k_f, t)$$

$$= \left(\frac{1}{2} - \frac{k_f}{\sqrt{4k_f^2 + k_{ex}^2}} \right) \exp\left(-\frac{k_{ex} + 2k_f + \sqrt{4k_f^2 + k_{ex}^2}}{2} t \right) + \left(\frac{1}{2} + \frac{k_f}{\sqrt{4k_f^2 + k_{ex}^2}} \right) \exp\left(-\frac{k_{ex} + 2k_f - \sqrt{4k_f^2 + k_{ex}^2}}{2} t \right)$$

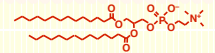
フィッティングによる k_{ex} , k_f の算出(DMPC)

16



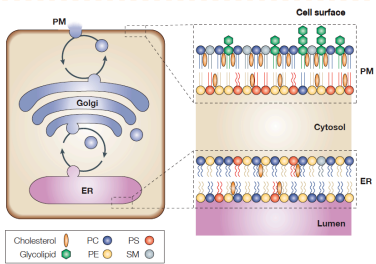
Nakano et al. Phys. Rev. Lett. 98, 238101 (2007)

DMPC (C14,C14)



生体膜中のコレステロール

17



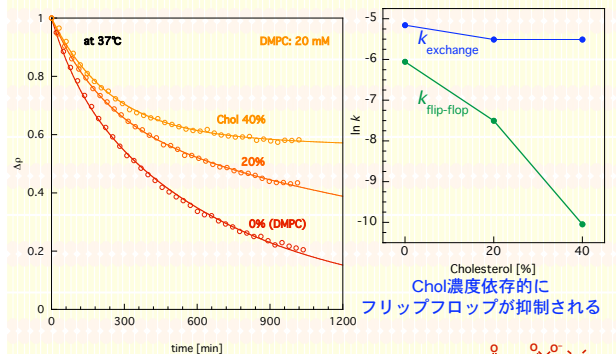
細胞膜：非対称
Chol: ~30%

小胞体膜：対称
Chol: ~5%

コレステロールは脂質の自発的なフリップフロップを抑制する方向に働いていると予想される

Cholesterolの効果(DMPC)

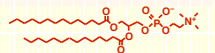
18



Chol濃度依存的にフリップフロップが抑制される

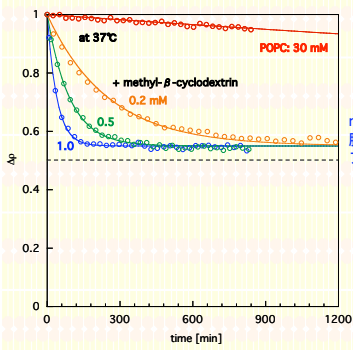
Nakano et al. J. Phys. Chem. B 113, 6745 (2009)

DMPC (C14,C14)



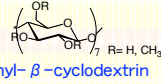
Δρの時間変化(POPC)

19

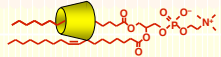


POPCはほとんど膜間移動しない
 $t_{1/2}(\text{exchange}) \sim 87 \text{ h}$

methyl-β-cyclodextrinにより
膜間移動が促進されるが、
フリップフロップは起こらない



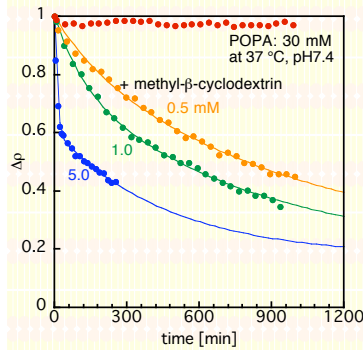
POPC (C16,C18:1)



Nakano et al.
J. Phys. Chem. B 113, 6745 (2009)

Δρの時間変化(POPA)

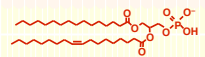
20



POPAは全く膜間移動しない

POPAは約7時間の半減期で
フリップフロップする

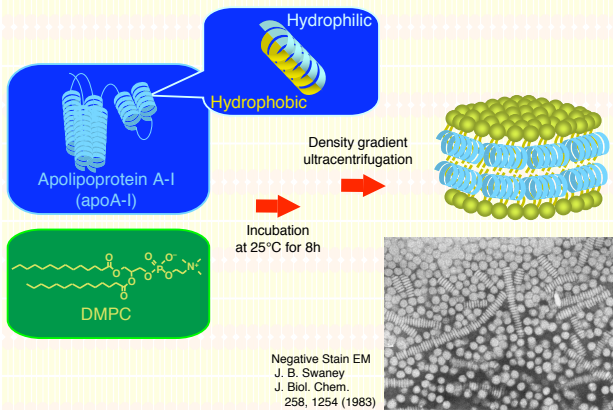
POPA (C16,C18:1)



Nakano et al.
J. Phys. Chem. B 113, 6745 (2009)

Nanodisc:ディスク状DMPC/apoA-I複合体

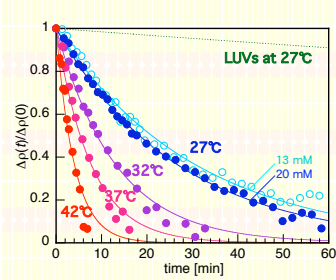
21



Negative Stain EM
J. B. Swaney
J. Biol. Chem.
258, 1254 (1983)

DMPC/apoA-I Diskの脂質交換

22



DMPC/apoA-I複合体

H-disc D-disc

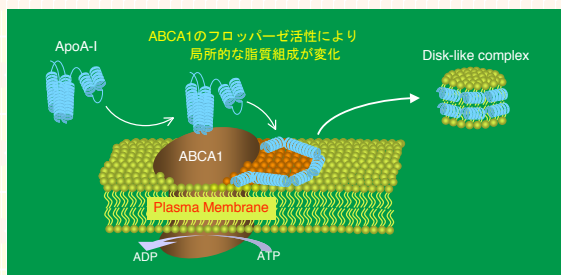
Disk中のDMPCの交換速度は
LUV中の場合と比べ約20倍速い
しかし、
濃度依存性は見られない

↓
Discではリン脂質が、
より解離しやすい環境にあると
考えられる

Nakano et al.
J. Am. Chem. Soc. 131, 8308 (2009)

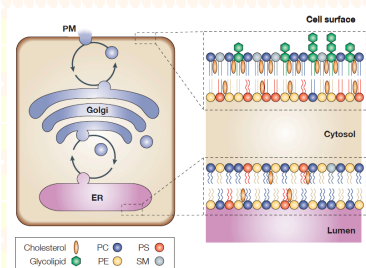
HDL新生反応

23



生体膜中の脂質のダイナミクス

24



細胞膜：非対称
アミノリン脂質トランスロカーゼ

小胞体膜：対称
フリッパーゼ

脂質の膜間移動
脂質輸送タンパク質

タンパク質の脂質輸送機能の評価にもSANSが有効