2P153

リン脂質二分子膜の分子動力学シミュレーション 1. 炭素鎖の傾きと含水量の関係

○柴田 俊之¹、阿部 義道¹、三井 崇志²、竹内 宗孝² (¹ 理研、² 富士通ライフサイエンス推進室)

リン脂質 L α 相の X 線回折像はラメラ長周期による数本の回折線と 1/(4.6 Å) 付近のハローから成っている。含水量とともに、ラメラの長周期 d は変化し d から計算されたリン脂質の 1 分子当たりの表面積 A は、DMPC/H₂O の系の場合、含水量の 10% から 30% への増加に伴い約 11 Å² 増加すると報告されている (Janiak ら)。一方、1/(4.6 Å) のハローについては、実験的には含水量を変えてもそのピークの位置はほとんど変化しない。1/(4.6 Å) のハローはリン脂質炭素鎖のパッキングの目安である。ボンド数 14.5 の poly(methylene) 鎖はかなり伸びた状態であると考えられ、また、配向試料の実験 (X 線, NMR) からリン脂質炭素鎖の長軸は膜面に垂直であることがわかっている。従って、ハローが変化しないことは、炭素鎖のパッキング、ひいては、リン脂質の平均の分子間距離が変化していないことを意味し、長周期から計算した A の実験結果と矛盾する。理研の桜井が最近この矛盾に言及した。この矛盾の原因を分子レベルで明らかにするために、含水量を変えた DMPC 二分子膜の分子動力学シミュレーションを行い、X 線干渉関数等の算出を行った。計算した系は、DMPC32 分子/H₂O20% と DMPC32 分子/H₂O40% である。計算は NTP(1 atm, 320K)、all-atoms の取り扱いで、ソフトウエア MASPHEC(Fujitsu) とコンピューター VPP700E(Fujitsu) の組み合わせで行った。ポテンシャルは Stouch らのものをを用いた。シミュレーション 1 step の時間刻みを 0.2 fs とし、現在約 5 ns まで進んでいる。脂質 1 分子当たりの表面積 A と含水量の関係は定性的に実験結果と一致した。2 つの系の X 線干渉関数はほとんど同じ 1/(4.2 Å) 付近にピークを持つハローを示し、定性的に実験結果と一致した。膜の法線方向からの炭素鎖の平均の傾きは DMPC/H₂O20% の系では 27°、DMPC32 分子/H₂O40% の系では 35°であった。

T. Shibata, Y. Abe, T. Mitsui and M. Takeuchi : Molecular dynamics simulation study of the chain tilt in phospholipid bilayers with different water contents.

2P155

人工細胞の構築 (1)

-巨大リボソーム内でのタンパク質の結晶化-

○山下 裕子¹、岡 正人¹、田中 智樹²、山崎 昌一^{1,2} (¹ 静岡大・理・物理、² 静岡大・理工・物質科学)

我々は、高分子結合リン脂質を膜に少量混合することで、高イオン強度の緩衝液中で、ホスファチジルコリン (PC) の巨大リボソーム (GUV) の作製に成功し、その特性を解析してきた⁽¹⁾。今回は人工細胞を構築する最初の試みとして、1 個の GUV 内でのタンパク質の結晶成長を試みた結果、microcrystal の生成と結晶成長の観察に成功した。

リゾチーム水溶液と塩溶液を混合した後、速やかに混合脂質膜のフィルム上加え、37℃で 1 時間静置した。それを同じ緩衝液で希釈し、19℃に静置した。その後 1 時間以内に、GUV 内において 10 μ m 程度の正方晶系の結晶が 30~50 μ m の大きさまで成長することをホフマンモジュレーションコントラスト法で観測した (図参照)。また別の条件で、GUV 内においてリゾチームの斜方晶系の結晶が生成し、その結晶の成長により GUV が変形して、破壊することを観察した。以上の結果は、GUV 内における、タンパク質の microcrystal (10~50 μ m) の作製や、種々の条件下における人工細胞の作製が可能であることを示している。

(1) Oka et al. Biophys. Jpn. 38s, 57, 1998

図 巨大リボソーム内におけるリゾチームの結晶成長。GUV は膜に電位をあてたものスケールバーは 20 μ m

2P154

蛋白質を包含した AOT マイクロエマルジョンの構造とダイナミックス

○平井 光博¹、岩瀬 裕希¹、早川 智広¹、瀬戸 秀紀²、武田 隆義²、平井 里香³ (¹ 群大・工、² 広大・総合、³ 明和短)

マイクロエマルジョン (非極性溶媒/界面活性剤/水) 系は、複雑液体としての物性的観点のみならず、同系には活性を損わずに蛋白質を包含できることから、非水溶性基質からの有用な反応生成物の大量分離・精製のためのプロセス工学的実用やドラッグデリバリーといった医薬応用に至る広範囲にわたって関心がもたれている。しかし、残念ながら、マイクロエマルジョン系の構造特性と蛋白質活性機能発現との関連については知見が不足している。既に、AOT 逆ミセル・マイクロエマルジョンの構造については、DLS、放射光 X 線・中性子小角散乱、中性子準弾性散乱の測定から、含水率の増加にしたがって多量体相→遷移相→単量体相の 3 つの異なる状態相が現れること、AOT 炭化水素鎖領域への溶媒の浸潤と非極性溶媒依存性、低含水率域におけるスローダイナミックスの異常などに関して報告した。また、同系にタンパク質を溶解させた場合のマイクロエマルジョンの構造と溶存蛋白質の構造について放射光 X 線小角散乱と CD により研究した結果、内包された蛋白質はマイクロエマルジョンの構造には影響を与えず二次構造も基本的には変化しないが、低含水率領域において酵素反応速度に著しい増大 (水溶液中の数倍から数十倍) が現れることも報告した。現在、最適含水率領域 (逆ミセル内の水核サイズが蛋白質と同程度になる領域) と多量体逆ミセル相が重なることにより、酵素/基質/産物の代謝回転が加速されて著しい酵素活性の増大が現われると考えているが、推測の域を出ていない。そこで今回、中性子準弾性散乱法を用いて、蛋白質を内包した状態での界面ダイナミックスの変化を測定した結果、蛋白質濃度の増加に伴い、変形拡散運動が大きくなることが分かった。中性子小角散乱の結果と合わせ報告する。尚、実験には日本原子力研究所 (東海) の中性子準弾性散乱装置を使用した。

M. Hirai, H. Iwase, T. Hayakawa, H. Seto, T. Takada, and R. K. Hirai : Structure and dynamics of AOT microemulsion occluding proteins

2P156

細胞サイズのリボソーム内における化学反応に伴う非平衡状態の形成

○野村 慎一郎¹、湊元 幹太² (¹ 京大院・理・物理、² 名大院・人情)

細胞は、膜によって隔てた内外に化学的非平衡環境を自ら形成し、これを利用して生命活動を営む。ここでは、細胞サイズのリボソームに対して、膜を介した非平衡状態を形成させる試みについて述べる。リボソームは実際の細胞膜同様、浸透圧一定の条件下で内外のイオン環境の差を保つ壁として作用することから、その内部に生化学反応を封入する実験が Luisi ら [1]、四方ら [2] のグループによって報告されてきている。一方で、膜を介した化学的非平衡状態の形成およびその影響について着目した研究は皆無である。演者らは、細胞サイズのリボソーム内における T7DNA からの転写反応系を構築した。この系において、リボソーム内部における RNA の形成および、形成された RNA が外部に存在する RNase による分解反応から保護されることが蛍光顕微鏡を用いた直接観察によって示された。また、リボソームごと光ピンセットで捕捉することで、内部の化学反応を保護しつつ搬送が可能であることを見出した [3]。これらは、内部および外部環境の変化による膜を介した化学的非平衡状態が自発的、また人為的にも容易に形成可能であることを示す。以上について報告し、さらに形成された非平衡状態が、膜によって隔てられた細胞サイズの空間に及ぼす影響を、リボソームの膜の状態に着目して調べた結果についても報告する予定である。

[1] P. Walde et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 7541.

[2] 第 38 回年会講演予稿集 : 1K1630, 1K1730.

[3] K. Tsumoto et al., *Langmuir*, in press.

Y. Yamashita, M. Oka, T. Tanaka and M. Yamazaki : Construction of Artificial Cells (1)
-Growth of Protein Microcrystals in a Giant liposome-

S.-i. M. Nomura and K. Tsumoto : Giant Liposome as a Biochemical Reactor: Transcription of DNA and Transportation by Laser Tweezers