1G0900

ジアセチレン脂質ポリマー化を用いた二分子膜の固体表面上での微細パターン化

○森垣 憲一（産総研）

平滑な固体表面上に吸着した脂質二分子膜 (substrate supported planar lipid bilayer: SPB) は、生体膜を模した人工膜系として近年注目されている。SPB の特徴は、固体に支持されることによる膜の安定化と電気化学的・光学的界面分析手法を利用できる点にある。本研究は、基板上で微細化加工することが可能であるという SPB のもうひとつの特徴を活かし高度に集積された人工生体膜を構築するため、脂質の光重合反応を用いた二分子膜のパターン化手法を開発した。Langmuir-Blodgett/ Langmuir- Schaefer 法を用いてジアセチレン光重合基を持つリン脂質 1,2-bis(10,12-tricosadiynoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine 二分子膜をガラス基板上に吸着し、膜の一部をマスクで保護しながら紫外光 (254nm) 照射することにより二分子膜を局所的に光重合した。保護されたモノマー膜を有機溶媒で選択的に除去すると、ポリマー化した二分子膜のみが基板上に残る。そのポリマー膜を鋳型としてその間の空白部に新しい脂質二分子膜 (卵黄より抽出したレシチン: egg-PC) を vesicle fusion method を用い挿入した。パターン化されたポリマー二分子膜によって定められた空間に組み込まれた egg-PC の二分子膜が生体膜に類似した膜流動性を保持していることは、膜中に含まれる蛍光標識分子 (NBD-PE) を局所的に強い照射光を用いて消光し、蛍光が脂質分子の水平拡散で回復する過程を観察することで確認された。以上の結果より、生体膜を模した脂質二分子膜をポリマー膜の鋳型中に組み込むというパターン化手法が原理的に可能であることが示された。(参考文献) Morigaki, K.; Baumgart, T.; Offenhäusser, A; Knoll, W. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2001, 40, 172-174.

K.Morigaki : Patterning solid-supported lipid bilayer membranes by lithographic polymerization of a diacetylene lipid

1G0930

直鎖及び分岐鎖を持つ脂質二重層膜の構造の比較：分子動力学シミュレーションによる研究

○篠田 渉¹、三上 益弘¹、馬場 照彦²、羽藤 正勝² (¹ 産総研・計算科学、² 産総研・ナノテク)

メチル分岐のあるフィタニル鎖を持つ脂質分子が形成する二重層膜は分岐のない膜に比べて安定性が高く、プロトンなどの透過性が低い。この特性を利用した合成糖脂質膜にはバイオテクノロジー分野における機能性材料としての有用性が期待されている。しかし、メチル分岐の存在が膜の性質にどのような機構で影響を及ぼすのかについて、その分子論的な知見は乏しい。そこで本研究では、疎水鎖が直鎖の DPPC とフィタニル鎖の DPhPC が、それぞれ形成する二重層膜の分子動力学 (MD) シミュレーションを行い、構造及びダイナミクスの比較を行った。MD は等温 (323K) 等圧 (0.1MPa) で 2.5ns の計算をそれぞれ行った。疎水鎖の配向分布では、いずれの脂質も膜垂直方向への配向が最も多くみられ、DPhPC 分子はより広い分布を示した。疎水鎖のオーダーパラメータ, S_{CD} は DPhPC でやや低く、疎水鎖に沿ってのプロフィールは分岐の位置において不連続に変化した。これは分岐位置で、主鎖二面角の *gauche* 構造の増加と関連するものと考えられる。二面角異性化速度は DPhPC でより遅く、アルキル鎖中央部で約 5 倍もの差が見られた。また、脂質分子の重心に対する膜面内でのボロノイ解析から、DPhPC は分子の配列秩序がより高く、膜面積揺らぎの時定数がより長いことがわかった。以上のことから、分岐鎖を持つ脂質分子では、アルキル鎖の局所的秩序は低くなるが分子の膜面内における並びはより規則的で、運動性が低く、揺らぎによる膜の破れや pore の形成は起こりにくいものと推測される。また、膜疎水領域における (水分子に相当する大きさを持つ) 空隙の存在確率分布の調査から、DPPC では比較的大きな空隙が見られるが、DPhPC では小さな空隙が分散して存在することがわかった。この結果は、プロトン透過において重要な役割を担うと考えられる水分子ワイヤの生成確率が、メチル分岐の存在によって低下することを示唆するものである。

W. Shinoda, M. Mikami, T. Baba, and M. Hato : A comparison of straight- and branch-chained lipid bilayers for the static and dynamic properties: a molecular dynamics study.

1G0915

水素化アモルファスシリコンと有機材料の接合による膜構造システムの試み

○須藤 純也¹、後藤 研滋¹、柴田 重樹¹、石丸 正¹、伊原 学³、増本 博²、後藤 孝²、辻内 裕¹ (¹ 秋田大・工学資源・材料工、² 東北大・金研、³ 東北大・多元研)

生体膜などに含まれる有機高分子と無機材料の接合した二次元的な空間構造を持つ人工的な膜構造システムを構築し、構成される元素や薄膜、生体膜の構造と機能の間に有意な相互作用が生じる可能性を模索することを目的とする。無機材料側にはアモルファスシリコン、及び水素化アモルファスシリコンを薄膜状に作製したものをを用い、有機材料にはバクテリオロドプシン蛋白の天然蛋白及び構成ペプチド、アントシアニン系色素を用いている。アモルファスシリコン、及び水素化アモルファスシリコンの薄膜の作製を ECR プラズマスパッタ法で行なった。原子間力顕微鏡による像から 0.8 ナノメートル以下の凹凸の極めて平坦な薄膜として作製できていることがわかった。作製条件は、ターゲット基板間距離 160mm、マイクロ波実効電力 500W、RF 電源用実効電力 500W、ガス流量 27.8 SCCM (アモルファスシリコンの場合のアルゴンガス) などであった。有機高分子との接合、特に生体高分子などの高機能の分子の単分子膜の接合、積層膜の作製に適した条件を満たすものとして可能性を検討し始めている。バクテリオロドプシン蛋白の場合、アモルファスシリコンの可視領域の光吸収帯と重なる光吸収帯をもち、アモルファスシリコン、及び水素化アモルファスシリコンの薄膜に接合した場合、水素量によって異なる吸収スペクトルを示すことが解析の結果わかってきた。アモルファスシリコンとペプチド内の水素との間の相互作用がアモルファスシリコンの水素化の量に影響されるものと考えられるが、現在検討中である。

J.Suto, K.Goto, S.Shibatani, T.Ishimaru, M.Ihara, H.Masumoto, T.Goto, Y.Tsujuchi : An attempt for thin film structural systems of organic materials jointed with hydrogenated amorphous silicon

1G0945

生体膜及び膜タンパク質の分子動力学シミュレーションプロトコル

○橋戸 公則、池口 満徳、木寺 詔紀 (横市大院・総合理学)

生体膜と膜タンパク質の物性・機能を解析するためには、分子動力学シミュレーションが有効な手段である。しかし、生体膜や膜環境中の膜タンパク質の系は、従来の水溶性タンパク質の系とは異なり異方的な系であるため、新たなシミュレーションプロトコルが必要である。そこで本研究では、アンサンブル、境界条件などの各種条件を探索し、より現実を反映した生体膜及び膜タンパク質の分子シミュレーションプロトコルを確立することを目的とした。まず、生体膜を構成する脂質分子は、飽和脂肪酸として dimyristoilphosphatidylcholine (DMPC) を、また不飽和脂肪酸として palmitoyloleoilphosphatidylcholine (POPC) を選んだ。力場パラメータは CHARMM27 を用い、時間積分にはエネルギー保存精度の高い部分剛体時間反転分子動力学法を用いた。静電気力の計算には PME 法を使用した。プログラムは当研究室で開発している MARBLE を用いた。条件検討として等温等圧 (NPT) アンサンブル、等温等圧等表面積 (NPAT) アンサンブル、また、セルの形状が直方体を保って変化する通常の方法のほかに、セルの各軸間の角度が変化し、平行六面体に変形することができる Parrinello-Rahman 法を試した。order parameter、電子密度マップの実験値と比較したところ、すべての系で比較的良好なデータが得られたが、NPT アンサンブルでは表面積が実験値より若干低い値を示す傾向にあり、表面積を実験値に固定する NPAT アンサンブルが、order parameter の実験値と最もよく一致を示した。続いて、このプロトコルで得られた膜を用いアクアポリンのシミュレーションを行った。この詳細は当日議論する予定である。

M.Hashido, M.Ikeguchi, A.Kidera : Protocol of molecular dynamics simulation for lipid bilayers and membrane proteins