1P197

GD3 ガングリオシド／コレステロール混合系の構造の温度・塩依存性

○平井 春顕¹、平井 光博¹、笠原 浩二²、鈴木 直子²、湯山 耕平²、早川 智広³ (¹群馬大・工、²東京都臨床研、³理研)

ガングリオシドは主として細胞外表面に存在するスフィンゴ糖脂質 (GSL) の一種であり、細胞同士の接着や認識、情報伝達に関与し、様々なリガンドや細菌・ウイルス等のレセプターとして機能する事が知られている。また、スフィンゴ糖脂質、コレステロール、GPI アンカー型蛋白質などが会合して構造的ユニット (ラフト) を形成し、シグナル伝達、細胞間接着、細胞表面での脂質、会合タンパク質選択などの機能的構造ユニットとして働いていると考えられている。細胞膜表面におけるリガンドとの反応性や結合特異性、会合タンパク質との相互作用は、GSL ミクロドメインの性質により大きく影響されると考えられる。GSL を含む生体膜のミクロドメインの構造物性に関する知見を得ることは、「ラフトの機能的構造」を理解する上で本質的に重要である。本研究では、このラフト (GSL) の主要構成物質である GD3 ガングリオシド／コレステロールの混合系を X 線溶液散乱法により測定し、コレステロール含量、温度と塩添加に依存した凝集構造を評価した。

試料には、WAKO 社製の GD3, 及び SIGMA 社製のコレステロールを用いた。HEPES バッファー (pH7.0) に各試料を分散した。[ガングリオシド]:[コレステロール] = 1:1, 及び 1:0.5 でガングリオシド濃度はそれぞれ 0.5 % w/v, 及び 1.0 % w/v とした。測定には小角散乱測定を PF BL-10C 酵素回折計 (高エネルギー加速器研究機構)、広角散乱測定は BL-40B2 (SPRING-8) において行った。今までに得た他種類のガングリオシドの凝集構造との比較・検討を行う。

H.Hirai, M.Hirai, K.Kasahara, N.Suzuki, K.Yuyama and T.Hayakawa : Structure of GD3 Ganglioside/Cholesterol Mixture Depending on Temperature and Salts

1P199

ガングリオシド GM3 を含む SOPC 多重層膜の X 線回折

○松岡 審爾、山田 大邦 (札幌医科大学医学部物理)

ある種の細胞膜上にはスフィンゴ糖脂質を含むマイクロドメインが存在すると考えられており、そのドメインには飽和アシル鎖をもつスフィンゴミエリン (SM) を多く含む。一方ドメインの外には不飽和アシル鎖をもつリン脂質が存在すると考えられている。これまで我々は、GM3 を含む DPPC 多重層膜、GM3 を含む SM の多重層膜の X 線回折像を調べることで、スフィンゴ糖脂質のひとつである GM3 の膜上の集合体の研究を行ってきた。このとき用いた脂質は飽和したアシル鎖のみをもっていた。そこで、今回は不飽和のアシル鎖を含む SOPC と GM3 とからなる多重層膜の X 線回折を行い、GM3-DPPC 系、GM3-SM 系とラメラ間隔の GM3 濃度依存性を比較した。その結果、5 mol% 以上から GM3-SM 系のラメラ間隔が他の系よりも増大すること、また GM3-SOPC 系では、GM3-DPPC 系よりもさらにゆるやかにラメラ間隔が増大し、10mol% 付近で飽和することがわかった。すなわち、ラメラ間隔増大が飽和する GM3 濃度は GM3-SM 系 < GM3-DPPC 系 < GM3-SOPC の順となった。前回の年会で報告したようにユニラメラベシクルの抗 GM3 抗体による凝集の閾値も GM3-SM 系 < GM3-DPPC 系 < GM3-SOPC の順である。抗 GM3 抗体は GM3 の集合体を認識するので、ラメラ間隔の依存性と GM3 の集合体の形成とが関係していることが示唆される。また、GM3 のまわりの脂質のアシル鎖が飽和しているときより不飽和の方が GM3 の集合体をつくりにくいこと、PC よりも SM の方が GM3 の集合体をつくりやすいことがわかった。

S.Matuoka : Binary mixtures of ganglioside GM3 and SOPC studied by x-ray diffraction.

1P198

GM1/コレステロール/リン脂質混合系の分子動力学シミュレーション

○森 健一¹、畑 晶之²、根矢 三郎²、星野 忠次² (¹千葉大院・医薬・創薬生命、²千葉大院・薬)

【目的】

細胞表面には、スフィンゴ糖脂質 (GSL)、コレステロール、蛋白質が会合したミクロドメインが存在し、情報伝達に重要な役割をしている。特に GM1 は神経系に豊富に存在する GSL であり、GM1 がクラスターを形成するときだけに、アルツハイマー β 蛋白質 ($A\beta$) と相互作用することから、アルツハイマー病の病態との関わりが重要視されている。この GM1 クラスターは GM1/POPC=20:80 (モデル 1) のモル比では形成されず、GM1/スフィンゴミエリン (SM) /コレステロール (CHL) =20:40:40 (モデル 2) では形成されるが、その微視的描像は不明である。そこで本研究は、分子動力学法を用いて、この GM1 含有二重膜の物性の違いを明らかにすることを目的とした。

【方法】

膜モデルは 50 Å 四方の POPC 二重膜をもとに、POPC 分子を GM1、SM、CHL に変換し、これに水分子を発生させ構築した。分子動力学プログラムには NAMD、力場には CHARMM27、及び PARM22 を用いた。計算は、まず脂質頭部の運動に膜面法線方向のみに制限をかけながら、NPT アンサンブルで 2.5ns の平衡化を行い、さらに制限なしで膜面積が一定になるまで 3ns の平衡化を行った。その後、温度圧力表面積一定の NPAT アンサンブルで 3ns の本計算を行った。

【結果】

モデル 1 では、GM1 はクラスターを形成しなかったのに対し、モデル 2 では、GM1 クラスターが形成された。これは実験事実と一致しており、MD シミュレーションによって、GM1 含有二重膜の挙動を再現できたと考えられる。当日は、このシミュレーションモデルを用いた GM1 含有二重膜の物性の違いを報告する。

K. Mori, M. Hata, S. Neya, T. Hoshino : Molecular dynamics simulation of GM1/cholesterol/phospholipid mixed membranes

1P200

マイクロビーム X 線を用いたキューティクル内の細胞膜複合体 (CMC) 構造の解析

○太田 昇¹、岡 俊彦²、井上 勝晶¹、八木 直人¹、加藤 知³、八田 一郎⁴ (¹SPRING-8/JASRI、²慶応大・理工、³関学大・理工、⁴福井工大・工)

ヒト毛髪やラット髭などの繊維毛の外側約 5 μ m には、キューティクルと呼ばれる鱗状に張付いた角化細胞がある。この角化した細胞の周りに細胞膜複合体 (CMC) と呼ばれる脂質-タンパク質-脂質の 3 層構造があり、毛髪内部への物質の拡散、透過に重要な役割を果たす。高密度 X 線が得られる SPRING-8 の 40XU では、直径 5 μ m のピンホールを置くことで高密度マイクロビーム X 線を得る。この X 線を用いれば、外側約 5 μ m 厚のキューティクルに照射でき、染色などの処理をせずに物質の透過に関わる CMC 構造を知る小角散乱実験が行える。今回、比較的強い散乱像が得られるラット髭を用い、その散乱像の解析方法の検討を行った。

ラット髭からの散乱強度と理論曲線を図に示す。細線は CMC の電子密度モデルをフーリエ変換により求めた強度に S^4 を強度に掛けたものである。いくつかのピーク強度が、長周期のうねりを伴って見られる。ピーク強度間の溝の位置は、CMC 内の 2 脂質層の中心間距離に、長周期のうねりは脂質層の厚さに依存する。さらに、それぞれの層の分布を考慮することで太線のように測定強度に近い曲線が得られた。したがって、単純なモデルを基にした解析で CMC の構造の詳細な情報が得られることを示している。

Figure. X-ray diffraction profile of cuticle and fitting curves

N.Ohta, T.Oka, K.Inoue, N.Yagi, S.Kato and I.Hatta : Structural analysis of cell membrane complex (CMC) in cuticle using a micro X-ray beam