

北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科 濱田勉

細胞は、脂質膜から成る器によりユニット構造を維持し、外的・内的な刺激によりダイナミックにその構造を変化させる。すなわち、内部分子システムと膜系の動的カップリングにより細胞機能が発現している。細胞システムの物理学的本質に迫るには、膜系をベースとした複合ソフトマターの非平衡ダイナミクスを理解することが重要である。本研究では、ゲスト分子を含む「複合化ベシクル」を設計し、非平衡環境下で機能する細胞モデル系の作動原理を理解することを目的とした。

(1) ベシクル内 DNA の分子挙動 (文献 1)

生細胞の様な単位体積あたりの膜表面積が増大する微小空間では、膜とゲスト分子との相互作用の比重が大きくなる。細胞モデル系として、脂質膜で覆われた細胞サイズの油中水滴に閉じ込めた DNA 分子の振る舞いを解析した。膜小胞の空間サイズに依存して、DNA 分子が膜への吸着・脱吸着を変化させることを見出した。そして、fold 状態の DNA 分子が膜面に吸着した後 unfold 状態に変化する現象を発見し、この unfolding 転移の確率もまた小胞サイズに依存した。これらの DNA 分子挙動を決定づける膜小胞サイズは 10~100 μm に存在しており、これは典型的な細胞のサイズと等しい。小胞内に存在するポリカチオンとの協同的効果を考慮した自由エネルギーにより、この空間サイズ依存的な DNA 分子ダイナミクスを記述する物理モデルを考案した。さらに、相分離により流動性の異なる領域が共存する膜面への DNA 分子の吸着挙動も明らかとなった。Unfold 状態の DNA 分子は膜面の固い領域 (order 相) に選択的に局在し、fold 状態の DNA 分子は膜面の柔らかい領域 (disorder 相) に局在した。すなわち、DNA 分子の構造的状態が膜との相互作用を制御するパラメータとなることを示している。これらの成果は、細胞サイズ空間に閉じ込められた分子システムが受ける「物理的効果」を示したものである。

(2) 光が駆動するベシクル空間ダイナミクス

上記において、ベシクル内部の DNA 分子の振る舞いを決定する物理パラメータとして、小胞空間サイズが重要であることが分った。膜のダイナミクスをカップルさせた膜-DNA 複合体へとシステムを発展させるために、ベシクル空間の時間発展 (膜融合システム) の設計を行った。膜融合は、細胞内の物質輸送や受精・ウィルス感染など多くの生体現象に関わる重要なプロセスであり、様々なタンパク質の援助によって起こる。ここでは、融合を人工的に制御するため、光応答性界面活性剤を利用した。光照射により膜張力の増減をコントロールすることで、融合システムの構築に成功した。マイクロマニピュレーター実験から、光照射によるリポソームの面積減少率を測定し、張力変化を見積もった。そして、膜の自由エネルギーにより、融合の中間体 (融合ポア) の安定性について説明した。

(3) 静電効果によるベシクル構造制御 (文献 2)

生体膜は、様々な脂質分子が集合し秩序構造を形成している。ここでは膜の非平衡構造をデザインするための物理因子として、静電効果に注目した。生体系における細胞内外のイオン環境の変化は、静電的な相互作用として膜構造に大きな影響を及ぼしていることが予想される。顕微鏡観察の結果、荷電脂質を含む膜が自発的な膜孔形成を示すことを見出した。荷電不飽和脂質と中性飽和脂質の系では膜孔を形成するが、荷電飽和脂質と中性不飽和脂質の系では膜孔は形成されない。さらに、分子動力学シミュレーションにて現象を再現し、荷電脂質が膜孔の縁に局在し膜を安定化していることがわかった。

(4) 運動性ゲスト分子とベシクル膜の結合挙動

原始的な細胞運動モデルとして、生体エネルギー (ATP 分子) を利用する分子モーター・細胞骨格システムとベシクルとの複合化実験を進めた。まず、脂質膜で被覆した油滴上を走る微小管の運動解析を行った。Cholesterol により膜面の流動性を増減させると、微小管の運動特性が変化することを見出した。また、2つの微小管が衝突すると、運動の向きが揃う現象が観察された。これらの結果は、曲率を持ち流動性のある場における微小管の集団運動を初めて明らかにしたものである。今後、微小管の集団運動による膜への力学的フィードバックの機構を解明し、原始的な細胞動態機能を創発させる。

参考文献：

- (1) T. Hamada, R. Fujimoto, S. F. Shimobayashi, M. Ichikawa, M. Takagi, *Phys. Rev. E*, **91**, 062717 (2015).
- (2) H. Himeno, H. Ito, Y. Higuchi, T. Hamada, N. Shimokawa, M. Takagi, *Phys. Rev. E*, **92**, 062713 (2015).