

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24540439

研究課題名(和文) 生体膜における不均一構造のダイナミクス

研究課題名(英文) Dynamics of inhomogeneous structures in biomembranes

研究代表者

好村 滋行 (Komura, Shigeyuki)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：90234715

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ラフトモデルでは、多成分の脂質二重膜における動的な不均一構造が重要な役割を果たしている。これまでに得られた具体的な研究成果は、(i) 溶媒の粘弾性効果、(ii) ベシクル上のドメインの成長則、(iii) 脂質二重膜におけるリーフレット拡散、(iv) 二成分溶液中のストークスの抵抗法則、(v) 脂質二重膜のバディング、(vi) 二成分脂質二重膜の緩和ダイナミクスなどである。特に生体膜のダイナミクスに対する溶媒の粘弾性効果を明らかにしたことによって、生体膜マイクロレオロジーという新しい計測手法を提唱するに至った。

研究成果の概要(英文)：In the raft model, dynamical heterogeneity occurring in multi-component lipid membranes plays an essential role. The problems that we have tackled involve (i) anomalous lateral diffusion in a viscous membrane surrounded by viscoelastic media, (ii) growth kinetics of circular liquid domains on vesicles by diffusion-controlled coalescence, (iii) diffusion coefficients in leaflets of bilayer membranes, (iv) drag coefficient of a rigid spherical particle in a near-critical binary fluid mixture, (v) budding of domains in mixed bilayer membranes, (vi) relaxation dynamics of binary lipid bilayers. As an outcome of our investigations, we have proposed a new method called membrane microrheology.

研究分野：数物系科学

キーワード：ソフトマター 生体膜 膜タンパク質 ブラウン運動 異常拡散

1. 研究開始当初の背景

生体膜は細胞や細胞小器官の内外を区別する膜に過ぎないが、一方で生命体の存在自体を根源的に規定するという本質的な役割を果たしている。すなわち、一つ一つの細胞は生体膜に包まれることによって細胞としての独立性を確保し、さらに多数の細胞が機能的に集合して生命体を構築している。従って、生体膜の構造と機能を科学的に解明することは、生命現象の理解にとって不可欠な要素の一つである。典型的な生体膜の主な構成成分は脂質であり、水環境下で二重膜を構成している。これは脂質分子が両親媒的な性質を持ち、その二本の炭化水素鎖が水を遠ざけるように自己集合するためである。しなやかで柔らかい脂質二重膜の厚さはおよそ 7~10nm であり、生体温度では流動性を有している。1972 年にシンガーとニコルソンが「流動モザイクモデル」を提唱して以来、タンパク質は脂質二重膜の「海」の中を浮遊し、拡散によって移動していると考えられてきた。

研究開始当初には、伝統的な生体膜の描像が大きく変わりつつあった。一般に、生体膜は数十種類の脂質で構成されており、多数のステロールなども含まれている。1997 年にシモンズとイコネンによって提唱された「ラフト仮説」によると、多くの成分は生体膜内で均一には分布しておらず、特定の脂質が集まった動的ドメインが特定のタンパク質を取り込み、シグナル伝達などの役割を果たしている。このような生体膜の新しい描像に触発されて、飽和脂質 / 不飽和脂質 / コレステロールの三成分からなる人工膜の物理化学的な研究が、2000 年以降に世界中で爆発的に進展した。人工膜の温度を下げると、脂質の炭化水素鎖の秩序度が高い液体秩序相と、その秩序度が低い液体無秩序相に相分離することが確認され、その結果生じるドメイン構造がラフト仮説の動的ドメインと関連しているのではないかという期待が持たれた。しかし、生体膜の動的ドメインは 10~100nm 程度の有限サイズであり、人工膜で見られるマクロ相分離とは本質的に異なるため、有限サイズドメインの生成機構や動力学を解明することは、ラフト仮説の最重要検討課題となっていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生体膜を多成分の二次元流体とみなして、周囲の溶媒も含めた流体力学的効果および粘弾性効果を詳細に検討することにより、生体膜における不均一構造の形成ダイナミクスを、理論およびシミュレーションの手法を用いて解明することである。

動的ドメインの形成機構については、大きく分けて二つの異なる解釈がある。一方は生体膜が相分離温度以下の二相共存状態にあってドメインが形成されるという立場であり、他方は生体膜が転移温度以上の一相状態

にあって動的な濃度ゆらぎが生じているという見方である。最近では、不飽和脂質が膜内の液液界面で配向することにより実効的に線張力が減少して、結果的にミクロ相分離を誘発するという新しいシナリオも提唱されている。さらに、生体膜における動的不均一性の物理的起原を議論するには、生体膜の周囲に存在するバルク溶媒（具体的には水）を媒介とする流体力学的相互作用を考慮することが本質的に重要である。本研究では特にバルク溶媒の粘弾性効果、脂質二重膜間の結合効果、生体膜の曲率効果の三点に焦点を絞って、多成分生体膜の構造形成とダイナミクスに関する研究を行うことを目的とした。

本研究は生体膜が多成分系であることに着目して、相分離および流体力学的効果や粘弾性効果という純粋に物理的な現象のみで、どれだけ実在する生体膜に接近できるかを理論的に見極めようとするチャレンジングな課題である。また、この研究を通じて非平衡状態下の物質と生命の境界を明らかにしようとしている。

3. 研究の方法

具体的な研究テーマとしては、(1) 溶媒の粘弾性効果、(2) ベシクル上のドメインの成長則、(3) 脂質二重膜におけるリーフレット拡散、(4) 二成分溶液中のストークスの抵抗法則、(5) 脂質二重膜のパディング、(6) 二成分脂質二重膜の緩和ダイナミクスなどを扱った。それぞれの研究方法と内容は以下で述べる。

4. 研究成果

(1) 溶媒の粘弾性効果と異常拡散

細胞膜の内側には多くのタンパク質や細胞小器官、アクチンフィラメントから成る細胞骨格が含まれている。また、細胞の外側は細胞外マトリックスやヒアルロン酸のゲルで満たされている。そのため、周囲の溶媒は粘弾的な性質をもつ高分子溶液とみなすことができる。我々は、周囲の溶媒が粘弾性体である場合の生体膜のダイナミクスを議論した。

具体的には、図 1 のように二次元粘性率 η の平坦な流体膜の位置を $z=0$ とし、その上下には周波数に依存する粘性率 $\eta_s(\omega)$ の三次元的な粘弾性体が存在する状況を考えた。さらに、この溶媒は $z=\pm h$ で二つの壁に挟まれているとする。流体膜と溶媒に対してそれぞれ独立に非圧縮条件とストークス方程式を適用し、流体膜と溶媒の境界で速度は連続、壁面での速度はゼロという境界条件を用いた。波数空間における速度 $\mathbf{v}[\mathbf{k}, \omega]$ と力 $\mathbf{F}[\mathbf{k}, \omega]$ を、関係式 $\mathbf{v}[\mathbf{k}, \omega] = \mathbf{G}[\mathbf{k}, \omega] \cdot \mathbf{F}[\mathbf{k}, \omega]$ によって結びつける易動度テンソルを解析的に導出した。簡単のために、溶媒の粘性率の周波数依存性は $\eta_s(\omega) = G_0(i\omega)^{\beta-1}$ のように冪関

数で表されると仮定した。揺動散逸定理を用いて得られた易動度テンソルから、膜面上の二点の相関関数の時間依存性を求めた。二点間の距離が十分に大きい極限で、変位の相関関数は t^β に比例するため、異常拡散が起こることが導かれた。

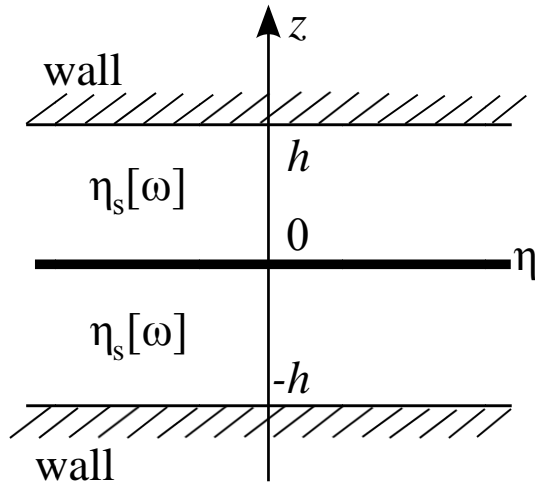


図1：粘弾性体に挟まれた生体膜

(2) ベシクル上のドメインの成長則

生体膜上の相分離ともなうドメイン成長は、近年、実験的にも理論的にも調べられつつある。これまでの理論的な取り扱いでは、無限に広い二次元膜を考えていたが、実験的には閉じたベシクル上での相分離を観察することが多い。我々はベシクルが有限の半径をもつ球面と仮定して、その表面を拡散する円形状ドメインの定常状態における衝突頻度を解析的に求めた。さらにその結果とスモルコフスキーの理論を用いて、平均のドメインサイズが漸近的に時間の1/2乗に比例して増大することを示した。

(3) 脂質二重膜におけるリーフレット拡散

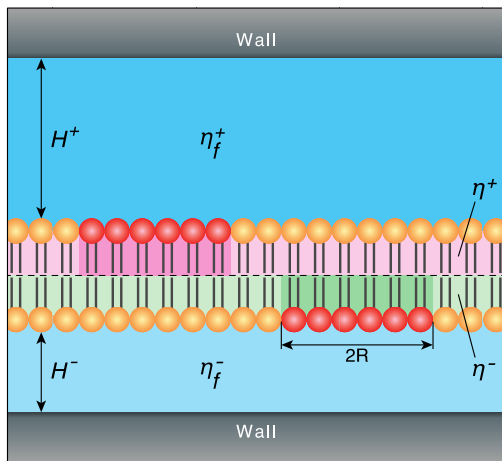


図2：壁近傍における脂質二重膜のドメイン

これまでの生体膜のモデルでは、脂質二重膜を単一の二次元流体として扱い、その中で

の拡散の振る舞いなどが議論されてきた。近年の実験的技術の進展により、一方の単層膜（リーフレット）のみに含まれるタンパク質やドメインのダイナミクスに関する知見が得られるようになってきている。我々は図2のように、脂質二重膜を二枚の結合した二次元流体として扱い、周囲の非対称な溶媒も取り入れた流体モデルを考察した。特に二枚のリーフレット間には、速度差に比例する摩擦力が働くとした。具体的な計算として、液体ドメインの拡散係数の摩擦係数依存性や、サイズ依存性などを詳細に調べた。

(iv) 二成分溶液中のストークスの抵抗法則

我々は流体の一方の成分との親和性を考慮した二成分流体中の流体力学を定式化して、ストークスの抵抗法則がどのように変更されるかを調べた。その結果、抵抗係数の補正は相関長の6乗に比例することが示された。この結果は、抵抗係数の補正が相関長に比例すると考えられていた従来の予測と異なり、マイクロレオロジーの理論にも影響を与える可能性がある。

(4) 脂質二重膜のバディング

細胞はバディング（出芽）によって分裂や増殖をするため、その物理化学的なメカニズムを解明することは重要である。我々は二成分の脂質二重膜を考え、膜内のドメインによって誘起されるバディングのモデルを提唱した。バディングを記述するエネルギーとして、ドメインの曲率弾性エネルギー（曲げ剛性率に比例）、ドメインの境界で働く線エネルギー（線張力に比例）、二重膜の相分離エネルギーの三つの寄与を考慮した。また、重要な仮定として、それぞれの単層膜の自発曲率は、二種類の脂質分子の濃度差に対して線形的に依存するとした。ドメインの形状としては、図3のように(a)平坦、(b)不完全バディング、(c)完全バディングの三状態を想定した。全自由エネルギーをドメインの曲率（球面の一部と仮定）について最小化し、最終的には共通接線法によって、換算温度と平均濃度を変数とする相図を作成した。いくつかのパラメータについて相図を計算した結果、二枚の単層膜間の濃度の非対称性によってバディングが誘起されることがわかった。また、あるパラメータ範囲では、一次転移と二次転移が連続的につながる三重臨界点や、三重点の存在が予測されている。

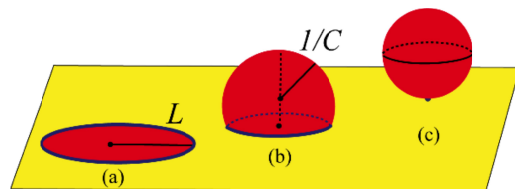


図3：ドメインのバディング

(5) 二成分脂質二重膜の緩和ダイナミクス
我々は二種類の脂質からなる二重膜を「曲げ弾性をもった二成分流体」としてモデル化し、その動的挙動を調べた。膜外部の流体力学方程式と膜自身の流体力学方程式を連立させて解くことにより、膜の運動の緩和率を導出した。膜は曲げ弾性を持つとし、膜間では摩擦が生じると考える。また、膜の曲げによって脂質密度が平均の値からずれること(脂質密度と膜の曲げのカップリング)も考慮した。加えて我々は、二成分系に拡張するにあたり、膜内や膜間での脂質の相互作用の効果を導入した。計算の結果、五つの緩和モードを得た。そのうちの三つは、膜の曲げと結合した緩和モードであり、残りの二つは曲げとは結合しない。二成分に拡張したことによって、以前に得られていた緩和モードに加えて、新たに相互拡散に起因する二つの新たな緩和モードが現れる。特に、相分離臨界点近くにおいてはこれらのモードが他のモードに比べてはるかに遅い緩和モードとなることがわかった。

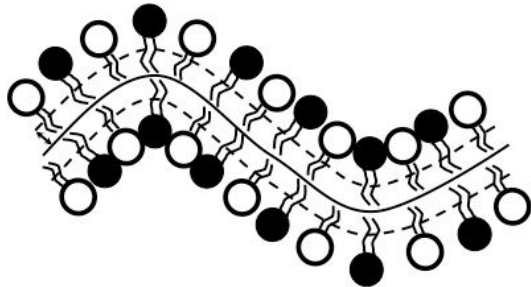


図4：二成分の脂質二重膜の曲げと圧縮

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計12件)

J. Wolff, S. Komura, and D. Andelman, Budding of domains in mixed bilayer membranes, *Phys. Rev. E* 91, 012708 (10pp) (2015). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.91.012708>

H. Himeno, N. Shimokawa, S. Komura, D. Andelman, T. Hamada, and M. Takagi, Charge-induced phase separation in lipid membranes, *Soft Matter* 10, 7959-7967 (2014). 査読有
10.1039/C4SM01089B

S. Komura and D. Andelman, Physical aspects of heterogeneities in multi-component lipid membranes, *Adv. Coll. Int. Sci.* 208, 34-46 (2014). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2013.12>

.003

K. Seki, S. Mogre, and S. Komura, Diffusion coefficients in leaflets of bilayer membranes, *Phys. Rev. E* 89, 022713 (12pp) (2014). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.89.022713>

R. Okamoto, Y. Fujitani, and S. Komura, Drag coefficient of a rigid spherical particle in a near-critical binary fluid mixture, *J. Phys. Soc. Jpn.* 82, 084003 (10pp) (2013). 査読有
<http://dx.doi.org/10.7566/JPSJ.82.084003>

K. Seki, S. Komura, and S. Ramachandran, Growth kinetics of circular liquid domains on vesicles by diffusion-controlled coalescence, *J. Phys.: Condens. Matter* 25, 195105 (8pp) (2013). 査読有
10.1088/0953-8984/25/19/195105

C.-Y. D. Lu, S. Komura, and K. Seki, Viscoelasticity of two-layer-vesicles in solution, *Phys. Rev. E* 86, 061401 (11pp) (2012). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.86.061401>

S. Komura, S. Ramachandran, and K. Seki, Lateral dynamics in polymer-supported membranes, *Materials* 5, 1923-1932 (2012). 査読有
10.3390/ma5101923

Y. Hirose, S. Komura, and D. Andelman, Concentration fluctuations and phase transitions in coupled modulated bilayers, *Phys. Rev. E* 86, 021916 (13pp) (2012). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.86.021916>

S. Komura, S. Ramachandran, K. Seki, and M. Imai, Dynamics of heterogeneity in fluid membranes, *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes* 16, 129-164 (2012). 査読有
10.1016/B978-0-12-396534-9.00005-2

S. Komura, S. Ramachandran, and K. Seki, Anomalous lateral diffusion in a viscous membrane surrounded by viscoelastic media, *EPL* 97, 68007 (6pp) (2012). 査読有
10.1209/0295-5075/97/68007

好村滋行, 今井正幸, 生体膜における不均一構造の物理, *日本物理学会誌* 68(11),

714-723 (2013). 査読無

〔学会発表〕(計 17 件)

岡本隆一、兼森優一、好村滋行、
Jean-Baptiste Fournier
二成分脂質二重膜の緩和ダイナミクス
日本物理学会第 70 回年次大会
早稲田大学(東京都・新宿区)
2015 年 3 月 21 日

星野拓馬、好村滋行、David Andelman
積層脂質膜における相分離の運動性
日本物理学会第 70 回年次大会
早稲田大学(東京都・新宿区)
2015 年 3 月 21 日

瀧真理、岡本隆一、好村滋行
くせ毛の弾性モデル
第 13 回関東ソフトマター研究会
首都大学東京(東京都・八王子市)
2014 年 8 月 19 日

星野拓馬、好村滋行、David Andelman
積層脂質膜におけるドメインの成長ダイナ
ミクス
第 13 回関東ソフトマター研究会
首都大学東京(東京都・八王子市)
2014 年 8 月 19 日

兼森優一、岡本隆一、好村滋行
二成分脂質二重膜の緩和モード
第 13 回関東ソフトマター研究会
首都大学東京(東京都・八王子市)
2014 年 8 月 19 日

好村滋行、Jean Wolff、David Andelman
脂質二重膜のパディング
日本物理学会第 60 回年次大会
東海大学(神奈川県・平塚市)
2014 年 3 月 30 日

関和彦、Saurabh Mogre、好村滋行
脂質 2 重膜を構成する 1 重膜中での拡散係数
日本物理学会第 60 回年次大会
東海大学(神奈川県・平塚市)
2014 年 3 月 30 日

兼森優一、好村滋行
二成分脂質二重膜の粘性モード
日本物理学会第 60 回年次大会
東海大学(神奈川県・平塚市)
2014 年 3 月 30 日

星野拓馬、好村滋行、David Andelman
積層脂質膜における相分離のシミュレーシ
ョン
日本物理学会第 60 回年次大会
東海大学(神奈川県・平塚市)
2014 年 3 月 30 日

藤井修治、好村滋行

スメクチック相における非平衡配向相から
の構造形成
第 3 回ソフトマター研究会
首都大学東京(東京都・八王子市)
2013 年 12 月 14 日

兼森優一、好村滋行

粘弾性体に囲まれた生体膜における異常拡
散
第 3 回ソフトマター研究会
首都大学東京(東京都・八王子市)
2013 年 12 月 14 日

好村滋行

和食に潜むソフトマター科学の試み
第 3 回ソフトマター研究会
首都大学東京(東京都・八王子市)
2013 年 12 月 14 日

兼森優一、好村滋行

生体膜中の拡散に対する溶媒の粘弾性効果
第 12 回関東ソフトマター研究会
お茶の水女子大学(東京都・文京区)
2013 年 8 月 24 日

好村滋行、兼森優一、関和彦

高分子に支持された脂質二重膜のダイナミ
クス
日本物理学会第 68 回年次大会
広島大学(広島県・東広島市)
2013 年 3 月 28 日

赤松芳昇、好村滋行

二成分脂質二重膜におけるドメインのパデ
ィング
第 11 回関東ソフトマター研究会
東京大学物性研究所(千葉県・柏市)
2012 年 10 月 20 日

好村滋行、関和彦

粘弾性体に挟まれた脂質二重膜における異
常拡散
第 2 回ソフトマター研究会
九州大学(福岡県・福岡市)
2012 年 9 月 25 日

赤松芳昇、好村滋行

二成分脂質二重膜におけるドメインのパデ
ィング
日本物理学会 2012 年秋季大会
横浜国立大学(神奈川県・横浜市)
2012 年 9 月 21 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.comp.tmu.ac.jp/shigekomura/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

好村 滋行 (KOMURA Shigeyuki)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：90234715

(2) 研究分担者

関 和彦 (SEKI Kazuhiko)

独立行政法人産業技術総合研究所・

ナノシステム研究部門・主任研究員

研究者番号：60344115