

# 学位論文要旨

論文題目：溶液 NMR と分子動力学シミュレーションによるリン脂質膜の相互作用とダイナミクスの研究

氏名：新谷 恵

## transient NOE-SE 法の開発

交差緩和速度定数 $\sigma$ を知ると、核間の距離と相関時間の情報が得られるため、ソフトな不均一系である脂質膜の構造とダイナミクスの解明に大変有効である。しかし、直径が大きな膜であるほどそのスペクトルは非常にブロードになるため、積分値を求めるような定量的な解析は困難となる。そこで、直径の大きなベシクルの幅広いピークを消して定量的な解析を行うため、従来の transient NOE 法に spin-echo (SE) 法をつなげたパルスシーケンス「transient NOE-SE 法」を開発した。transient NOE-SE 法の妥当性は、その混合時間依存性を従来法と比較することで確かめた。種々のリン脂質膜系に対して transient NOE-SE 法を適用し、その NOE 強度の定量解析に成功した。

## 脂質ダイナミクスの曲率依存性

分子間距離や配向に影響する膜曲率は、脂質ダイナミクスと密接に関わると考えられる。transient NOE-SE 法を利用することで、溶液状態における直径 5~800 nm という幅広い曲率のモデル膜における NOE 強度の定量測定に成功し、交差緩和速度定数 $\sigma$ の曲率依存性を見出した。さらに、球状ミセルおよび平面二分子膜の MD シミュレーションを行い、それぞれを高曲率および低曲率の極限モデルとして、NMR 実験結果と比較した。MD 計算からは、注目する相関対の距離分布関数および配向の時間相関関数を計算した。その結果、large unilamellar vesicle (LUV) 系では核間距離  $r$  に比べて配向相関時間 $\tau_c$ のサイト依存性が強く、最近接サイト間の $\tau_c$ と脂質分子の両端同士の $\tau_c$ には約 2 桁の差があることが分かった。この $\tau_c$ の違いは、ラテラル拡散および、ベシクル全体のタンブリング運動によって説明することができる。 $\sigma$ の曲率依存性は、強い動的不均一性を反映したものであることが明らか

になった。 $\sigma$ に主に反映される情報は、ミセル系では距離情報であることに對し、LUV系ではダイナミクス情報である。

#### 疎水性小分子の膜内位置と配向

transient NOE-SE法を用い、溶液状態のLUV中における疎水性小分子の幅広い分布の直接観測に成功した。親水基末端PC $\gamma$ 照射と疎水基末端PC14照射の場合の、1-naphtholおよび1-methylnaphthaleneの各 $^1\text{H}$ サイトの $\sigma$ 値の定量を行った。疎水性小分子がリン脂質親水部とも近接するという実験結果は、以前のMD研究による指摘と一致した。これらのナフタレン誘導体の膜結合モードのより詳細な解析を行うため、MDシミュレーションを相補的に組み合わせ、 $\sigma$ に対する距離と相関時間の寄与を分割した。親水基をもつ1-naphtholは、親水基をもたない1-methylnaphthaleneよりも膜中の運動が遅く、そのOH基をリン脂質の親水基側に向ける弱い配向性をもつことが明らかになった。一方で、親水基をもたない1-methylnaphthaleneの配向性については、本研究から明らかな結論は下せなかった。脂質同士のNOEとは異なり、 $\sigma$ は距離情報を主に反映することが分かった。つまり、小分子の運動のタイムスケールは、リン脂質の運動に比べてサイト依存性が弱く、均一であると言える。

#### 長鎖と短鎖脂質混合系の形状解析

添加物の無い二種の脂質混合系について、ディスク状バイセルやひも状ミセルが形成する領域を明らかにした。混合比(=[長鎖脂質]/[短鎖脂質]) $q=2$ 系では、25~60 $^{\circ}\text{C}$ の全測定温度範囲にわたって、 $^1\text{H}$ および $^{31}\text{P}$ シグナルはシャープであり、溶液は無色透明で粘性の低いものであった。25 $^{\circ}\text{C}$ の $q=3$ 系も同様であった。交差緩和速度定数 $\sigma$ は、直径約30~50 nmの球状LUVと同程度の大きさを示した。これらは、球状の混合ミセルや等方的回転を行う小バイセルの形成を示している。 $q=3$ 系では、28~48 $^{\circ}\text{C}$ において $^1\text{H}$ シグナルは非常にブロードとなり、2本の $^{31}\text{P}$ シグナルを示した。これは、磁場配向性のバイセルの形成を意味する。49 $^{\circ}\text{C}$ 以上で、溶液は完全に白濁し、シャープな $^1\text{H}$ シグナルおよび1本の $^{31}\text{P}$ シグナルが観測された。NOE $\sigma$ 値から、この集合体の曲率がLUVよりも高いことが分かった。これらは、ひも状ミセルの形成を支持する結果である。球状ベシクル系の曲率依存性の知見を元に、研究例の少ない脂質混合系の形状についての基礎的な知見が得られた。