

## モデル膜分子を用いた細胞膜間相互作用解析

### Intermembrane interaction studied using model membrane molecules

九大先導研 °有馬 祐介, 大野 友輔, 玉田 薫

Kyushu Univ., °Yusuke Arima, Yusuke Ohno, Kaoru Tamada

E-mail: arima@ms.ifoc.kyushu-u.ac.jp

【緒言】 細胞表面で起こる分子間相互作用は、周辺環境に対する細胞応答の開始起点として重要な役割を果たしている。細胞膜上にある分子の相互作用は弱く (解離定数  $K_D$ :  $\sim \mu\text{M}$ )、細胞膜上における弱い相互作用の動作原理を理解することができれば人工システムへの活用にもつながる。我々は、細胞表面を単鎖 DNA-ポリエチレングリコール-リン脂質 (ssDNA-PEG-lipid, Fig. 1) で修飾し、相補対形成を介した細胞間接着の誘導を行ってきた。ssDNA-PEG-lipid は分子設計が容易なことから、弱い相互作用の動作原理を理解するためのモデル膜分子として利用できると考えた。本研究では、ssDNA-PEG-lipid の塩基長を変えることで、分子間相互作用の強さが細胞膜間での相互作用へ与える影響を調べた。

【実験】 塩基長 6, 10, 21, PEG 分子量 5000, 1,2-dipalmitoyl-sn-glycerol-3-phosphatidyl-ethanolamine (DPPE) からなる ssDNA-PEG-DPPE を合成した。細胞表面での相補対形成を調べるため、ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞株を ssDNA-PEG-DPPE で修飾後、蛍光標識した相補 ssDNA' を  $4^\circ\text{C}$  で作用させ、その直後および  $20^\circ\text{C}$ ,  $37^\circ\text{C}$  で 30 分間静置後の蛍光強度を測定した。また、細胞間接着の塩基長依存性を調べるため、片方の細胞を蛍光標識 ssDNA-PEG-DPPE, 別の細胞を相補 ssDNA'-PEG-DPPE で修飾後、室温または  $37^\circ\text{C}$  にて混合した。

【結果】 塩基長の異なる ssDNA-PEG-DPPE で細胞表面を修飾後、相補対形成の温度依存性を調べた。蛍光標識した相補 ssDNA' を  $4^\circ\text{C}$  で結合後昇温すると、6 mer では  $20^\circ\text{C}$  で、10 mer では  $37^\circ\text{C}$  で蛍光強度が大きく減少し、DNA 相補対の解離が見られた (Fig. 2)。一方、21 mer では  $37^\circ\text{C}$  においても相補対はほとんど解離せず、細胞表面での相補鎖 1 対の結合・解離は溶液中と同程度であることが分かった。

次に、細胞間接着の塩基長依存性を調べたところ、6 mer の場合でも  $T_m$  以上の  $37^\circ\text{C}$  で細胞間接着は誘導され、ssDNA-PEG-DPPE は界面に集積した (Fig. 3)。細胞膜間では、面一面での接触および分子の集積による多価効果によって相互作用が増強され、1 分子レベルの相互作用が小さくても細胞間接着の誘導には十分であることが分かった。

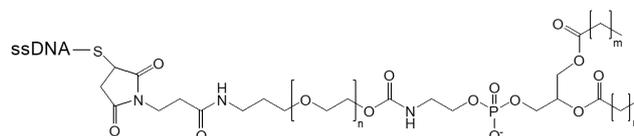


Fig. 1 ssDNA-PEG-DPPE の構造

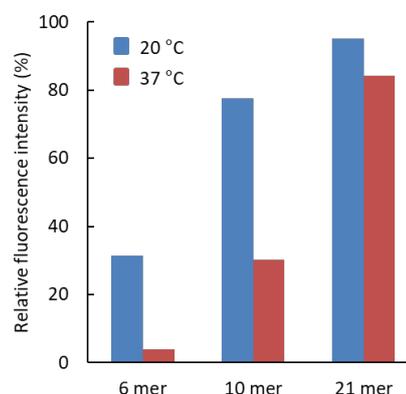


Fig. 2 ssDNA-PEG-DPPE 修飾した細胞表面における相補 ssDNA' 結合の温度依存性

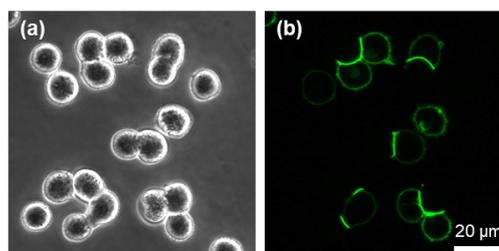


Fig. 3 蛍光標識 ssDNA-PEG-DPPE 修飾細胞と ssDNA'-PEG-DPPE 修飾細胞の  $37^\circ\text{C}$  における接着。(a) 位相差像, (b) 蛍光像