

リン脂質二重膜のゲル-液晶相転移に対するアルカンの添加効果 Effect of added alkanes on the gel/liquid-crystalline phase transition of phospholipid bilayers

菱田真史*

筑波大学数理物質系化学域, 〒305-8571 つくば市天王台 1-1-1

Mafumi Hishida*

Department of Chemistry, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, 305-8571, Japan

はじめに

生体膜は両親媒性分子であるリン脂質が二重膜構造を形成することで成り立っている。生体膜の機能や構造を物理化学的に調べるために、これまでリン脂質を水中に分散させて人工的に形成したリン脂質二重膜の物性の研究が多く行われてきている。本研究で注目したのは、このリン脂質二重膜に疎水性の有機分子を添加した際に、どのように膜の物性が影響を受けるのかである。実際の生体膜では、リン脂質二重膜中にコレステロールをはじめとする疎水性有機分子が多く含まれ、膜の機能を左右していると言われている。しかし、その作用機序はよくわかっておらず、基礎的な研究が必要であった。

本研究では最も単純な有機分子として直鎖状のアルカンを選択し、親水基頭部の構造が異なる三種類のリン脂質 (DMPC、DMPS、DMPE) に添加した。アルカンの添加によってリン脂質のゲル-液晶相転移 (秩序-無秩序相転移) がどのような影響を受けるのか、また膜構造はどのように変化するのか、それらの関係はどのようにになっているのかに注目し、研究を行った[1]。

実験

長さの異なるアルカン (オクタン: C8、デカン: C10、ドデカン: C12、テトラデカン: C14) をそれぞれ DMPC、DMPS、DMPE に対して 30 mol% になるように添加し、それを純水中に分散させた。ゲル-液晶相転移温度の決定のために DSC 測定を、膜構造の観測のために X 線小角広角回折測定を行った。X 線回折は高エネルギー加速器研究機構 Photon Factory BL6A で行った。リン脂質がゲル相の時には広角領域に脂質分子のアシル鎖のパッキングに由来するピークが検出されるため、ゲル相においては主に広角回折を、液晶相ではこのピークが出ないために小角回折で観測される膜同士の間隔から構造を見積もった。

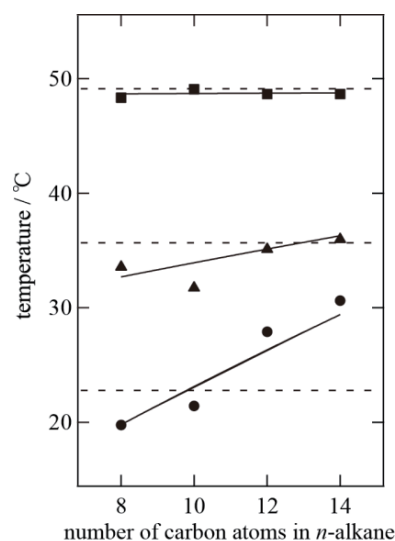


図 1: DMPC (●)、DMPS (▲)、DMPE (■) のゲル-液晶相転移温度の添加アルカン鎖長依存性。点線はアルカン無添加時の相転移温度。実線はモデルフィットの結果。

結果

図 1 に DSC 測定から得られたそれぞれのサンプルのゲル-液晶相転移温度を示す。いずれの脂質においても添加したアルカンの鎖長が長くなると相転移温度が上昇することが分かる。ここで注目するのはその上昇の傾きである。傾きの大きさは DMPC > DMPS > DMPE の順である。

この傾きの原因を探るために X 線回折を行った。図 2 に各リン脂質のゲル相におけるアシル鎖のパッキングの格子間隔を示す。これを見ると、アルカンの鎖長が長くなるにつれて格子間隔が小さくなる様子がわかる。ここでも間隔の減少の傾きが脂質によって異なることが分かる。その順番は DSC の時と同様に DMPC > DMPS > DMPE であった。

また小角回折によって液晶相のときの膜間隔をみると、アルカンの添加によって膜間隔はほとんど変化しないことが分かった。つまり膜構

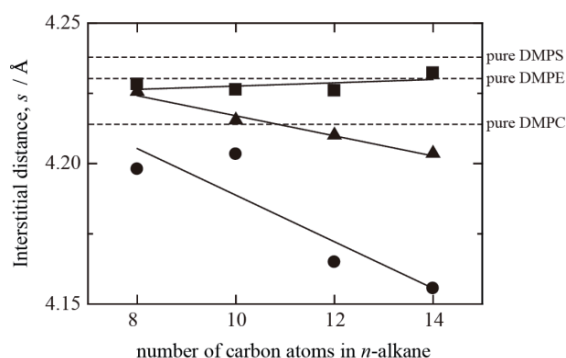


図 2: 広角 X 線回折から得られたゲル相における脂質分子のアシル鎖のパッキングの格子定数。DMPC (●)、DMPS (▲)、DMPE (■)。

造に対するアルカンの影響は主にゲル相において表れることが分かった。

考察

相転移温度がなぜアルカン鎖長に依存するのかをより定量的に理解するために、理論モデル [2] による解析を行った。このモデルではアルカンと脂質、脂質同士、アルカン同士の相互作用を分け、その合計から算出される系全体のエントロピーとエンタルピーから相転移温度を計算する。すると相転移温度は次式となる。 m はアルカン鎖長である。

$$T_m = \frac{\Delta H_{total}}{\Delta S_{total}} = \frac{\Delta H_{lipid} + \Delta H_{alkane}}{\Delta S_{lipid} + \Delta S_{alkane}}$$

$$= \frac{\Delta H_{lipid} + m\Delta h_A x + m\Delta \epsilon' [x^2 / (1+x)]}{\Delta S_{lipid} + (\Delta s_1 + m\Delta s_2)x}$$

この式を用いて DSC の結果に対してフィッティングを行ったものが図 1 の実線である。フィッティングから得られたパラメータを比較した結果、相転移温度の傾きの違いは、アルカンによってゲル-液晶相間での系のエンタルピー差が変化し、その変化が脂質によって異なることが原因であることが分かった。またアルカン添加によってゲル-液晶相間での系のエンタルピー差は増加することが分かった。

X 線回折の結果から、膜構造の変化はゲル相において顕著であることが分かった。このことはつまり、系のエンタルピーは主にゲル相において変化していることを示している。これを踏まえると、ゲル-液晶相間での系のエンタルピー差がアルカン添加によって変化した原因は、ゲル相におけるエンタルピーが変化したことによると言える。これは DSC で見られた傾きの脂質依存性と広角 X 線回折で見られた格子間隔の傾きの脂質依存性が一致したことから裏付け

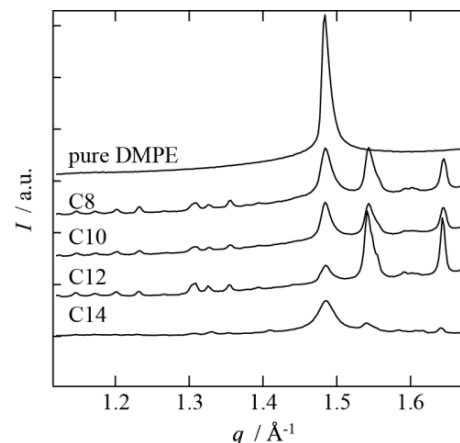


図 3: DMPE にアルカンを添加した際の広角 X 線回折パターン。図 2 のものは一度液晶相まで昇温した後に冷却してとったものであるが、この結果は昇温前のもの。アルカンを添加すると多数のピークがあらわれ、結晶相になっていることが分かる。

られる。またゲル-液晶相間での系のエンタルピー差が増加したということは、ゲル相においてエンタルピーが減少したことを示しているが、これもアルカン添加によって格子間隔が減少したこととよく整合している。

つまりアルカンの添加によって相転移挙動が変化したのは、アルカンがゲル相をより安定化したからであると結論付けられた。ゲル相において脂質のパッキングがより密になったことにより、膜がゲル相から結晶相 (サブゲル相) へと緩和しやすくなったことも分かった。結晶相は低温で最安定な構造であるが、一般にゲル相からの緩和時間が非常に長くほとんど観察されない相である。しかしアルカンを添加したサンプルでは、容易に観測することができた (図 3)。

結論

リン脂質二重膜にアルカンを添加すると、主にゲル相において脂質分子のパッキングが密になることが分かった。その結果、ゲル相が安定化され、液晶相への相転移挙動も変化することが分かった。またゲル相においてパッキングが密になったことにより、結晶相への緩和が速くなり、容易に結晶相が観測された。フレキシブルな分子であるアルカンであるが、エントロピー項に影響を与えるのではなく、主に系のエンタルピーを変化させるというのは意外であり、興味深い結果である。

謝辞

X 線小角散乱実験は Photon Factory BL6A で行われました。その際、五十嵐教之准教授

(KEK)、清水伸隆 准教授 (KEK)には実験サポートで大変お世話になりました。また実験結果の考察については筑波大学の齋藤一弥教授、山村泰久准教授と議論させていただき、有意義なご意見を多数頂きました。学生の遠藤麻未さん、中澤暦さんにはたくさんの実験をともに行っていただきました。ここに謝意を表します。

参考文献

- [1] Mafumi Hishida, Asami Endo, Koyomi Nakazawa, Yasuhisa Yamamura, Kazuya Saito, *Chem. Phys. Lipids*, **188**, 61 (2015).
- [2] Y. Suezaki, H. Kamaya, I. Ueda, *Biochim. Biophys. Acta.* **818**, 31 (1985).

* hishida@chem.tsukuba.ac.jp