

リン脂質二重膜の構造および相挙動に対する
 添加分子のコアおよびアルキル鎖の効果
 Effects of a core and an alkyl chain parts of incorporated molecules
 on a structure and phase behaviors of a phospholipid bilayer.

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

1. はじめに

細胞膜や細胞中のオルガネラを形作っている生体膜はリン脂質二重膜を基本構造としている。実際の生体膜では、リン脂質二重膜中にさまざまな有機小分子が含まれていることが知られている。コレステロールは生体膜中に含まれている有機小分子の代表であり、膜内に 30-40% も含まれている。そのため、コレステロールがリン脂質二重膜の構造や物性にどのような影響を与えるのかについてはこれまでに膨大な研究がある。一方で、生体膜中にはコレステロール以外にも多くの異なる分子が含まれているが、これらの分子についてコレステロールで得られているような膨大な知見は得られていない。分子の種類はステロイド類だけでなくステロイド類、脂肪酸類など多岐にわたる。そのため、そのすべてにおいてコレステロールで行われているような網羅的な研究を行うことは不可能であろう。こういった種々の分子系が膜に与える影響を明らかにするためには、分子構造に注目して分子を分類することによって、系統的に膜への添加効果を明らかにしていく必要があると考えられる。

本研究では、膜内の有機分子の多くがコア状の部分とアルキル鎖部分を併せ持つことに注目し、それぞれの部分の効果を分けて考えることから、この問題に迫った。この発想は、リン脂質膜に直鎖アルカンを添加した際に、コア状の分子であるコレステロールとは全く異なる添加効果を見せたことから生まれている。そのため、はじめに、直鎖アルカンとコレステロールの添加効果の違いについて述べておく。

2. コレステロールおよび直鎖アルカンの添加効果

リン脂質二重膜は低温で二次元的に分子が秩序立って配列したゲル相を、高温では分子配列が乱れた液晶相をとる。コレステロールをゲル相の膜に添加した場合、リン脂質分子の配列秩序は乱されることが知られている。その結果、ゲル相の二重膜は柔らかくなる。また、二つの相間の相転移温度はコレステロールの添加によって低下する。

一方で DPPC というリン脂質が作る二重膜中にテトラデカンを添加した場合、ゲル相では疎水領域でのアルキル鎖間隔が小さくなるということが Photon Factory BL6A における広角 X 線回折測定の結果わかった (図 1)。その結果、リン脂質膜内での分子密度は増加し、リン脂質二重膜はテトラデカン無添加時と比較して、10 倍以上も硬くなるということがわかった[1]。二重膜ベシクルでも小さいものは、弾性的なストレスによって閉じることができなくなり、開いた板状の構造を形成した。アルカンの効果はおもにゲル相において顕著であり、液晶相では膜の弾性の変化などは見られなかった。

ゲル、液晶相間の相転移に対してもアルカンの添加効果はコレステロールのそれとは正反対のものであった。アルカンを添加すると、相転移温度は上昇し、その上昇傾向はアルカンの鎖長が長いほど顕著であった[2]。相転移温度の上昇傾向のアルカン鎖長依存性をモデルを用いて解析したところ、ゲル相において系のエンタルピーが減少することによって相転移温度が上昇していることがわかった。このことは上記の膜の硬化の結果ともよく整合している。

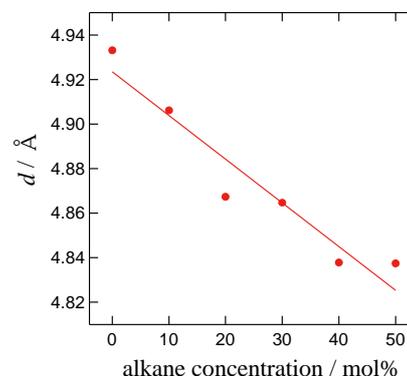


図 1: テトラデカンの添加濃度に依存した、DPPC のゲル相におけるアルキル鎖間隔

3. コア vs アルキル鎖

これまでに知られていたコレステロールの添加効果と今回分かったアルカンの添加効果を比較すると、分子形状によって効果が大きく異なることがわかる。コレステロールは比較的高いコア状の分子である。そのために、リン脂質分子が秩序立って配列したところに入ると、それらを押しよける形で入ることになる。それによって分子配列は乱れ、膜は柔らかくなり、またゲル相におけるエンタルピーが上昇することで、相転移温度は低下するものと考えられる。一方で、リン脂質分子が秩序立って配列したときには、疎水領域にわずかな空隙が存在していることが知られている。アルカンを添加した場合、その空隙をうまく埋めることで、分子の充填密度が上がるのではと考えられる。

このことを考えると、かさ高いコア状の分子と直鎖状の分子では添加効果が正反対であると言える。しかし実際の生体膜中に含まれる有機分子の多くは、一つの分子内にコア状の部分とアルキル鎖を併せ持っている。一分子内に存在するコアとアルキル鎖の効果はどのように競合するのか。これを調べるために本研究では、*n*CB という分子を用いてその添加効果を明らかにすることにした。

4. コアと鎖を併せ持つ分子 *n*CB の添加効果[3]

*n*CB (4-*n*-alkyl-4'-cyanobiphenyl) とは図 2 に示したような分子である。コア部とアルキル鎖を併せ持っており、*n* はアルキル鎖の長さを表している。今回は *n* = 0 - 8 のものを用いた。*n*CB の添加効果がアルキル鎖長 *n* が変化した時にどう変化するかを議論するためには、まずすべての *n*CB が二重膜内に同等に入っていることを確かめる必要がある。そこで我々は Photon Factory BL10C にて *n*CB を含む DPPC 二重膜の X 線小角散乱を行った。一枚膜のベシクルを作製することで、二重膜の形状因子のみを観測した。*n*CB を添加していない場合と、8CB を添加した

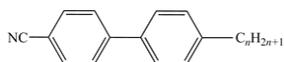


図 2 : *n*CB 分子

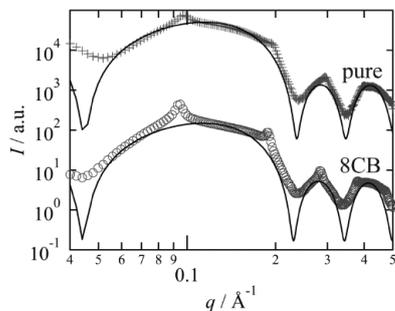


図 3 : *n*CB 無添加時及び 8CB 添加時の DPPC 二重膜の X 線小角散乱パターン

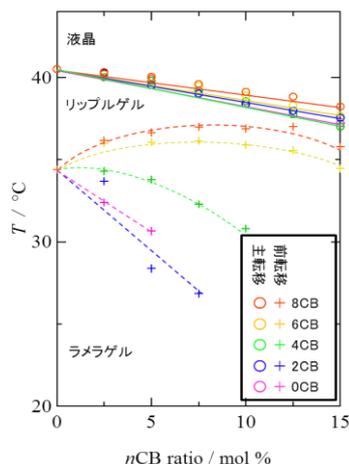


図 4 : DPPC/*n*CB 系の相図

場合の散乱パターンを図 3 に示す。二重膜の形状因子を表す散乱関数を用いてフィッティングを行うこ

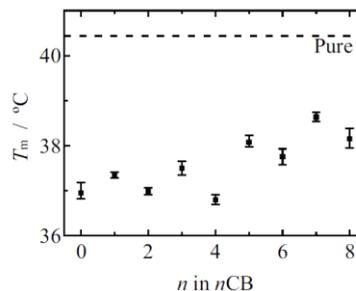


図 5 : DPPC/*n*CB 系の主転移温度

とで、膜の電子密度分布を得た。その結果、いずれの *n*CB を添加しても二重膜の厚みは変化せず、疎水領域の電子密度が増加するだけであった。また同時に X 線広角回折を行うと、*n*CB 添加によって面内での分子間距離がわずかに変化していた。これらの結果は *n*CB がリン脂質分子と平行に配列していることを示している。この配列はコレステロールやアルカンの場合と同じであるため、添加効果を比較することができる。

そこで次に、DPPC 二重膜に *n*CB を添加したものの相図を DSC 測定を行うことで作成した (図 4)。ゲル相と液晶相の間の相転移温度 (主転移温度) は、いずれの *n*CB を添加した場合でも低下した。これはコレステロールと似た挙動である。しかし、主転移温度のアルキル鎖鎖長依存性を詳しくみると (図 5)、鎖長が短い時には一定の相転移温度であるのに対し、鎖長が 4 以上になると、鎖長の伸長に伴って相転移温度が上昇していくことがわかった。鎖長の伸長に伴う相転移温度の上昇はアルカンにおいても見られる。

また、DPPC はゲル相内においても微小な相転移 (前転移) を起こす。前転移より低温ではラメラゲル相を、高温ではリップルゲル相をとる。*n*CB を添加すると、アルキル鎖の鎖長によって全転移の挙動

は大きく異なった。鎖長が短い場合、コレステロールのときと同様に前転移の温度は低下したが、長い場合にはアルカン添加時と同様に上昇した。この鎖長依存性の転換もやはり $n=4$ 付近で起こることがわかった。

n CB 分子単体に対する過去の研究から、アルキル鎖のコアに近い部分はトランス-ゴーシュ配座の入れ替わり運動がアルカンのように自由にできるわけではなく、ある程度抑制されていることが知られている[4]。コアから炭素原子 4 つほど離れると、運動性は完全に自由となる。今回の結果はこのこととよく整合する。つまり、アルキル鎖長が短い場合にはアルキル鎖はアルカンと同様に働くことはなく、運動性の抑制のためにコアの一部のようにふるまっている。そのため、その添加効果はコレステロールのそれとよく似通ったものになる。一方で炭素数が 4 以上となると、アルキル鎖の運動性がアルカンと同様になり、アルカン添加時と同様の効果が現れる。炭素数が 4 以上の n CB ではコア部分による効果とアルキル鎖の効果が競合し、全体としては主転移温度は低下するが、鎖長が伸長するにつれてアルキル鎖の効果が顕著になっていき、相転移温度の低下度合いが小さくなったと考えられる。

5. さいごに

本研究によって、生体膜中に含まれる有機小分子の効果を考える際には、その効果をコア部とアルキル鎖に分解して考えることが重要であるとわかった。実際にステロール類の分子構造を眺めてみると、同様のコア（ステロール環）に異なるアルキル鎖がついたものであることが分かる。実際の生体中에서도、コアとアルキルの効果をうまく競合させることで、分子を使い分けている可能性が大きい。ただし、実際の膜内有機分子のコア構造は様々であるし、アルキル鎖も二重結合が含まれていたり、枝分かれがあったりする。今後は、そういった個々の効果を明らかにしていくことで、二つの組み合わせから、分子全体の添加効果を予言していくことができるであろう。

謝辞

本研究は筑波大学齋藤一弥教授、山村泰久准教授、および学生の臼田初穂氏、柳澤隆大氏、遠藤麻未氏、中澤暦氏とともに行われました。また、研究の一部は、科研費（Grant No. 24740289、15K13546）の助成を受けて行われました。ここに感謝いたします。

参考文献

[1] Mafumi Hishida, Ryuta Yanagisawa, Hatsuho Usuda, Yasuhisa Yamamura, Kazuya Saito, *J. Chem. Phys.* **144**, 041103 (2016).

[2] Mafumi Hishida, Asami Endo, Koyomi Nakazawa, Yasuhisa Yamamura, Kazuya Saito, *Chem. Phys. Lipids*, **188**, 61-67 (2015).

[3] Hatsuho Usuda, Mafumi Hishida, Yasuhisa Yamamura, and Kazuya Saito, *Langmuir*, **32**, 5966-5972 (2016).

[4] K. Horiuchi, Y. Yamamura, R. Pelka, M. Sumita, S. Yasuzuka, M. Massalska-Arodz, K. Saito, *J. Phys. Chem. B*, **114**, 4870 (2010).

連絡先 : hishida@chem.tsukuba.ac.jp