

# 鎖長の異なるアルカンを添加した脂質膜の構造とダイナミクス Structure and Dynamics of a Lipid Bilayer Containing *n*-Alkanes with Different Length

臼田初穂、菱田真史\*

筑波大学数理物質, 〒305-8571 つくば市天王台 1-1-1

Hatsuho Usuda, Mafumi Hishida\*

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

## 1 はじめに

生体膜にはコレステロールや脂肪酸といった様々な種類の有機小分子が含まれている。これらの小分子が膜の物性を左右することにより生体膜の機能が保たれている。特に膜の流動性に対して小分子が与える影響に関しては多く調べられてきた。それらの研究により、膜の流動性はタンパク質活性や輸送過程、ホルモン活性、免疫応答に関わっていることが示唆されている[1]。生体膜は二重膜構造であるため、膜の流動性だけでなく外膜と内膜のカップリングもそのような小分子によって制御されていると考えられる。しかし、小分子が膜の流動性や外膜と内膜のカップリングに与える影響はあまり知られていない。

外膜と内膜のカップリングは、弾性シート理論によって膜の曲げ弾性係数 $\kappa$ と面積圧縮率 $K_A$ に関連づけられている[2]。後述のように中性子スピネコー(NSE)で曲げゆらぎと厚みゆらぎを観測することにより $\kappa$ と $K_A$ を独立に求めることが可能となった。[3,4]。

そこで我々は現在、有機小分子が膜の流動性に与える影響をNSEを用いて調べている。これまでに、有機小分子として簡単な構造を持つ直鎖アルカンを合成リン脂質膜に混合し、膜の構造や相挙動、弾性に与える影響を明らかにしている[5,6]。直鎖アルカンが相挙動に与える影響は、添加したアルカンの鎖長に強く依存する。膜の流動性も膜内の分子間力と関係すると予想される。有機小分子が膜物性に与える影響を系統的に理解するために、膜の流動性に対するアルカンの添加効果の鎖長依存性を調べてきた。

NSE測定では、膜の曲げゆらぎと厚みゆらぎを解析するために異なる散乱長密度分布を持つ試料を用意した。曲げ揺らぎを観測するためには、軽水素を持つ脂質膜を重水中に分散させて膜全体にコントラストを付けた。一方、厚みゆらぎ観測用の試料には、アルキル鎖部分が重水素化されたリン脂質と重水素化アルカンからなる膜を重水中に分散させて、脂質膜の親水領域のみにコントラストを付けた。

NSEにより測定される中間散乱関数の緩和速度 $\Gamma$ は次式で表される[4]。

$$\frac{\Gamma}{q^3} = 0.0069 \sqrt{\frac{k_B T}{\kappa} \frac{k_B T}{\eta} + \frac{(\tau_{TF} q_0^3)^{-1}}{1 + (q - q_0)^2 \xi^2}} \quad \text{式 1}$$

右辺第一項は膜全体の波打ち運動に由来し、 $\eta$ は溶媒の粘性である。曲げ揺らぎ解析用の試料の場合は第一項のみを用いて解析する。第二項のローレンツ関数は膜の厚み揺らぎに由来し、 $\tau_{TF}$ は厚み揺らぎの緩和時間、 $\xi^1$ は厚みゆらぎの振幅と比例関係にある。 $q_0$ は厚み揺らぎに由来するピークの位置である。

リン脂質 DPPC (1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine) に、炭素数 8、10、12、14 の直鎖アルカンを 40 mol%ほど膜に添加してNSE測定を行った。曲げゆらぎの解析から、炭素数 10、12、14 の場合は、添加アルカンの鎖長が長いほど膜の曲げ弾性係数が小さくなることがわかった。これは膜が柔らかくなっていることを意味する。また、厚みゆらぎに由来するピークは添加アルカンの鎖長が長いほど低波数側にシフトした。これは膜の厚みが大きくなったことを意味する。しかし、単成分膜に比べてピークがブロードになり、ピーク位置を決定することは困難だった。

そこで、本研究では、アルカン添加膜の厚みの添加アルカン鎖長依存性を求めるために SAXS 測定を行った。厚みゆらぎを特徴づけるパラメータを求めるためには、式 1 をフィッティングする必要があるが、これまでパラメータが多く、確信的なフィッティングが行えていなかった。SAXS で膜の厚みを求めることができればフリーパラメータを減らすことができ、NSEの結果の解釈が大きく進展する。

## 2 実験

NSEの場合と同様、リン脂質は DPPC を用いた。これに、炭素数 8、10、12、14 の直鎖アルカンを 40 mol%となるように膜に添加した。水が全体の 90 wt%となるように調製した。直径 100 nm 前後の一枚膜小胞を測定に用いた。SAXS 測定は PF の BL10C、BL6Aにて行った。カメラ長は 1.1 m とし、ベヘン酸銀を用いて較正を行った。測定はすべて 54 °C で行った。

## 3 結果および考察

炭素数 8、10、12、14 の直鎖アルカンを 40 mol% 添加した DPPC 膜の散乱プロファイルは図 1 のようになった。 $q$  は散乱長ベクトルである。0.2-0.3 Å<sup>-1</sup> の範囲に見られる落ち込み位置が高波数側であるほど膜の厚みが小さいという関係がある。図 1 を見ると、

DPPC 単成分膜の落ち込み位置が最も高波数側にあり、オクタンを添加した場合もほとんど同じ位置にある。より長いアルカンを添加した場合は鎖長が長いほど膜の落ち込み位置が低波数側にシフトした。これは添加アルカンの鎖長が長いほど、膜の厚みが大きくなったことを意味する。

より定量的に膜の厚みを求めるために、**core-multi-shell model** を用いて散乱プロファイルにフィッティングを行った。**core-multi-shell model** は、膜を2つの親水領域、2つのアルキル鎖領域、中心平面と5つに分けた電子密度分布を仮定したものである。フィッティングの結果、アルカン添加膜の厚みが図2のように求められた。

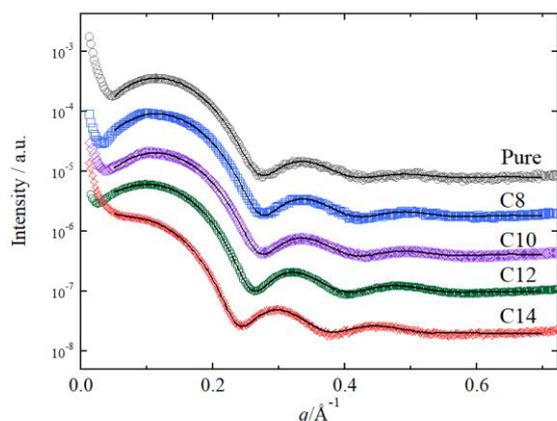


図1: DPPC/alkane = 6:4 (mol)膜の SAXS プロファイル。Pure: DPPC 単成分膜の SAXS プロファイル。実線は core-multi-shell model のフィッティング結果。

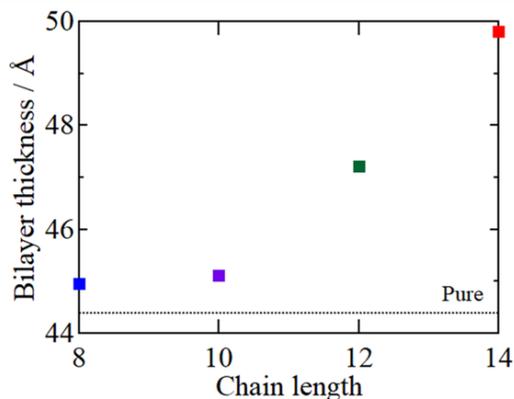


図2: SAXS プロファイルから求めた DPPC/alkane = 6:4 (mol)膜の厚み。Pure: DPPC 単成分膜の厚み。

膜の厚みは、添加アルカンの鎖長が長いほど大きくなることがわかった。オクタンとデカンの場合の厚みの差は小さかったが、デカンとドデカン、ドデカンとテトラデカンの場合の厚みの差は 2 Å 以上あった。これは、オクタンは脂質のアルキル鎖と平行に分布するのに対し、デカンより長いアルカンは膜の中央平面（単分子膜と単分子膜の間）にも分布するからだと考えられる。

この傾向は、NSE 測定により得られた厚みゆらぎのピークが、添加アルカンの鎖長が長いほど低波数側にシフトしたこともとも一致する。しかし、曲げ弾性係数の傾向とは矛盾している。なぜなら、膜の粘性が一定であれば、膜の厚みが大きくなるほど膜は曲げにくくなるはずだが、今回の結果はそれと反対であるからである。このことは添加アルカンが膜の中心平面に分布して、2つの単分子膜のカップリングを弱くしていることが原因だと考えられる。

#### 4 まとめ

DPPC 膜に炭素数 8、10、12、14 の直鎖アルカンを添加した場合、添加アルカンの鎖長が長いほど膜の厚みが大きくなることがわかった。NSE 測定で見られた厚みゆらぎのピーク位置の傾向とも一致した。また、膜の厚みが大きいほど膜が柔らかくなるという結果が得られたことから、鎖長の長いアルカンは膜の中心平面に分布して、2つの単分子膜のカップリングを弱くする可能性が示唆された。

#### 謝辞

本研究は、NIST の M. Nagao 博士、E. Kelley 博士、筑波大学齋藤一弥教授、山村泰久准教授とともに行われました。また、研究の一部は、科研費 (Grant No. 18K03555、18J12652) 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] J. Szöllösi, in *Mobility and proximity in biological membranes*, CRC Press (1994). Haracska, G. Bogdanovics, Z. Torok, I. Horvath, L. Vigh, *Int. J. Hyperthermia* 29, 491 (2013).
- [2] D. Boal, in *Mechanics of the Cell*, 2nd Ed.; Cambridge University Press, 267 (2002).
- [3] A.C. Woodka, P.D. Butler, L. Porcar, B. Farago, M. Nagao, *Phys. Rev. Lett.* 109, 058102 (2012).
- [4] M. Nagao, E. G. Kelley, R. Ashkar, R. Bradbury, P. D. Butler, *J. Phys. Chem. Lett.* 8, 4679 (2017).
- [5] M. Hishida, A. Endo, K. Nakazawa, Y. Yamamura, K. Saito, *Chem. Phys. Lipids*, 188, 61 (2015).
- [6] M. Hishida, R. Yanagisawa, H. Usuda, Y. Yamamura, K. Saito, *J. Chem. Phys.* 144, 041103 (2016).

#### 成果

1. 臼田初穂、菱田真史、Elizabeth G. Kelley、齋藤一弥、長尾道弘「脂質膜の厚みゆらぎに対する添加アルカンの影響」2017年3月22-25日、日本物理学会 2018 年春季年会、東京理科大学野田キャンパス、口頭。
2. 臼田初穂、菱田真史、Elizabeth G. Kelley、齋藤一弥、長尾道弘「脂質膜構造とダイナミクスに対する添加直鎖アルカンの影響」、2018年12月21日、小角散乱 PF 研究会、高エネルギー加速器研究機構筑波キャンパス、口頭。

\* hishida@chem.tsukuba.ac.jp