1PD013

DSPC のサブメイン転移の相転移挙動

○加藤知、瀧友康、久保博毅、中沢寛光（関学大・理）

炭素数 18 の飽和炭化水素鎖を持つ中性リン脂質ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) 多重層膜では、200 mM KCl 存在下で前転移と主転移の間にサブメイン転移と呼ばれる新たな転移が現れることが知られている。本研究では、このサブメイン転移がイオン種やイオン濃度勾配によってどのような影響を受けるかを、熱測定により解析した。その結果、Na⁺や Ca²⁺でも同様なサブメイン転移を示すことがわかった。さらに、Ca²⁺の場合には、Ca²⁺濃度の増加に伴って前転移温度が上昇するのに対して、サブメイン転移温度はほぼ一定に保たれるために、前転移温度とサブメイン転移温度の逆転が見られた。このことは、サブメイン転移がリップル相から新たなリップル相への転移ではないことを示唆している。つぎに、塩存在下で主転移温度を挟んで昇温降温を繰り返したところ、サブメイン転移の転移エンタルピーの増大が観測された。この転移エンタルピーの増大は、多重層ベシクルの内外に濃度勾配を作った場合に特に顕著に見られ、条件によっては主転移と大きさが入れ替わる。また、ベシクルの内部を高濃度にした場合の方が効果が大きいこともわかった。濃度勾配の形成がサブメイン転移のエンタルピー増大を助長することから、浸透圧の寄与が考えられる。そこで、シュクロースを添加して実験を行ったところ、濃度勾配を形成することの効果はあまりはっきり確認できなかったが、100 mM 存在下でかなり大きな転移エンタルピーを持ったサブメイン転移が現れることがわかった。これらの実験結果は、イオンやシュクロースの添加によって DSPC 多重層膜内にドメイン構造が形成されることを示唆している。電子顕微鏡凍結断面法による予備実験では、主転移と前転移の間の温度領域でリップル構造と平坦な膜面構造の共存が観察され、2つのドメインの相分離があることを支持しているが、これについては、条件を変えてさらに検討して行く必要がある。学会では、サブメイン転移の出現機構について、分解産物の影響などを議論する。

S. Kato, T. Taki, H. Kubo, H. Nakazawa: Properties of the submain transition in DSPC multilamellar vesicles.

1PD015

生体膜モデルの物性への糖の効果

○田口修一、若山信行

桐蔭横浜大・工

二糖類の一種であるトハロースは、生体膜や膜蛋白質の安定化作用や保水作用があることが知られているがそのメカニズムについてはまだはっきり解っていない。

本研究では、ホスファチジルコリン(PC)脂質二分子膜への糖の効果を、次の二つの測定から調べた。

- 1) 二糖類の蛍光プローブ疎水滴な DPH、両親媒性の TMA-DPH を用いた、蛍光異方性測定によるジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)ベシクルの膜流動性の観察
- 2) 気液界面ジミリストイルホルファチジルコリン(DMPC)単分子膜からの水の蒸発速度の測定

実験 1)において、時間分解異方性測定の結果から、主転移後の 50℃で、トレハロース、スクロース溶液では異方性が高く膜の流動性を減少させる結果となった。主転移前以下の 25℃では、両プローブとも初期異方性が糖溶液中では減少する結果となった。しかし、トレハロース溶液中でプローブにDPHを用いた場合においては、その後約 8ns も糖がない場合よりも減少するが、スクロース溶液中では糖がない場合と変わらない結果となった。

また、気液界面単分子膜には、本来蒸発抑制効果があるが 2)の実験において、DMPC 単分子膜の蒸発抑制効果が、トレハロース、スクロース溶液上では、純粋水上よりも大きい事が解った。

更に AFM を用いた、PC のベシクル、LB 膜の構造観察により糖の膜構造に及ぼす効果を観察し、機能との関係を検討中である。

S.Taguchi, N.Wakayama :Effects of sugars (carbohydrates) on the physicochemical properties of biomembrane models.

1PD014

リン脂質 PE(phosphatidylethanolamine)-水系の最安定結晶相移行における層間水の挙動

○青木宏之、厚東民子、児玉美智子
(岡山理大・理・生物化学)

我々はこれまでに、中性リン脂質 PE(phosphatidylethanolamine)-水系は、ゲル相よりもさらに熱力学的に安定な結晶相が存在し、その相には、ほとんど層間水が存在しないことを明らかにしている[1]。この最安定結晶相はゲル相に 2 段階の熱処理を施すことで得られる。

そこで本研究においては、ゲル相から結晶相への移行過程を水分子の挙動から追跡した。示差走査熱量測定(DSC)からはこの移行に伴われる脂質分子の熱的挙動を検討し、さらに、この移行に伴われる層間水分子の結合様式の変化を氷融解DSC曲線と²H-NMR測定から検討した。

【実験と結果】

DMPEゲル相試料(30g%)に核生成のための熱処理(−60℃, 5h)を施し、その後、昇温速度(0.2~1℃/min)を変えて、示差走査熱量測定(−60~80℃, Mettler社, TA4000)を行うことで、以下のような異なる熱的挙動が観測された。

1) 昇温速度が0.2℃/min以下のとき、ゲル-液晶相転移直前温度(42~48℃)にゲル相から結晶相への移行に伴う大きな発熱現象が観測され、その後、結晶相から液晶相への吸熱ピークが観測された。2) 昇温速度が0.2~0.5℃では、液晶相温度(51~55℃)に液晶相から結晶相への移行に伴う発熱現象が観測され、その後結晶相から液晶相への吸熱ピークが観測された。3) 昇温速度が0.5℃以上では、ゲル-液晶相転移のみが観測された。

以上の熱的挙動をもとにして、発熱温度領域に着目し、²H-NMRスペクトルと縦緩和測定を行い層間水の結合状態と相挙動の関係について考察した。

[1] Kodama, M., Aoki, H., Takahashi, H., and Hatta, I. (1997) BBA 1329, 61-73.

H. Aoki, T. Koto, M. Kodama

The behavior of interlamellar water in the conversion of the gel to stable crystalline phases in DMPE-water system

1PD016

氷と水が共存する条件下でのリン脂質と糖の相互作用

○伊藤千広、高橋 浩、八田一郎

(名大院・工・応用物理)

糖、特にトレハロースやスクロースなどの二糖は、周囲の水が凍結、乾燥することによるストレスから、生体膜や蛋白質を保護する働きがあることが知られている。しかし、その詳細は明らかでない。

我々の目的は、糖が生体膜を保護するメカニズムを理解する足がかりとして、リン脂質と糖の相互作用の詳細を知ることにある。具体的には、リン脂質からなる多重膜を用いて、膜の構造や相挙動に糖が与える影響を調べている。

リン脂質として DHPC (Dihexadecylphosphatidylcholine)、糖は二糖であるトレハロース、スクロース、マルトース、ラクトースを用いて、これらの相互作用を調べている。具体的には、熱測定とX線回折実験により、20℃~50℃の温度領域で糖濃度を変化させたときの DHPC の相図を作成した。相図から、糖を加えると脂質 1 分子あたりの水との接触面積が減少することがわかった。しかし 0℃以下の温度領域での NMR 測定から、糖は膜の横方向に働く力を減らすことを示唆する報告がなされた (1)。これは脂質 1 分子あたりの水との接触面積を増やすことを意味する。これらのことから水が存在する条件下では、脂質と糖の相互作用が変化することが考えられる。

氷と水が共存する温度領域でのリン脂質と糖の相互作用を、X線回折実験により膜の構造的観点(膜厚、水の相の厚さなど)から調べた。詳細については学会にて報告する。

(1)Y.H.Yoon, and J.Wolfe, *Biophys.J.* 74 (1998) 1949.

C.Ito, H.Takahashi, I.Hatta:

Interaction between Phospholipid and Sugar below Freezing Temperature.