1K1345

リン脂質膜におけるコレステロール分布の研究：その2

○安達 智宏¹、古坂 道弘²、大友 季哉²、八田 一郎³（¹ 理研、² 物構研、³ 名大・院工・応物）

リン脂質とコレステロールの系はこれまでから長い間研究されてきた。その手法も様々である。その中でも我々は、中性子回折法を採用し研究してきた。中性子回折は脂質の炭化水素鎖とコレステロールの間にコントラストがつけられるので、脂質膜中のコレステロールの分布を見るような場合に有効な方法である。そして1998年、リップル相においてコレステロールは局所的に分布していることを示す回折ピークを観測し、その年の年会で発表した。しかし、そこでの構造形成のメカニズムにまで踏み込むことはできなかった。現在のところ、コレステロールを含まない純粋な系のリップル相における膜構造の詳細についてもまだ完全にはわかっていない。そのような状況の中で、我々はリップル相における膜構造は、ある意味でミクロ相分離していると考え、そこでのコレステロール分布は20mol%以下では均一ではないと予想している。それを検証するため、コレステロール濃度が0、5、10mol%の3点でリップル相をまたいでゲル相から液晶相の間で温度を変えながら中性子回折実験を行った。その結果を基にし、リップル構造からの回折ピークの強度変化をモデル計算と比較し、その構造形成のメカニズムを考察する。

T.Adachi, M.Furusaka, T.Otomo and I.Hatta : Study on cholesterol distribution in a phospholipid membrane: II

1K1415

リン脂質、dipalmyoyl phosphatidyl choline (DPPC)－水系ゲル相での層間水の挙動－ 2H－NMR測定による縦緩和時間（T1）からの検討－
○佐口 秀幸、中村 浩士、青木 宏之、児玉 美智子（岡山理大・理・生物化学）

我々はすでに、水分率の異なる一連のDPPC－水系ゲル相試料のDSC氷融解曲線を測定、解析することで、この二分子膜系に不凍結、凍結層間水およびバルク水として存在する水分子の水分率に対する分布図を完成している。本研究においては、この分布図を基にして、目的水分率試料の2H－NMR測定から縦緩和時間（T1）を求め、それぞれの水分子の運動状態を評価した。【実験】 H2Oの代わりにD2Oを用い、水分子の異なる3種のゲル試料（～14、～20、～30wt%）を調整した。（溶液用）高分解能NMR装置（ブルカー社製、400MHz）を用いて、これら試料の温度5℃での180°- τ -90°パルス法（反転回復法）による、T1測定を行った。【結果】 T1測定によって得られた磁化（Mz）を τ に対してプロットし得られた非指数減衰曲線を非線形最小2乗法に基づくコンピュータープログラム（Origin）に従って単一の指数減衰関数に成分分割し、各々の関数からT1と成分比を求めた。バルク水の存在しない14wt%試料では3成分の凍結層間水（T1：～5、～20、～50ms）が検出された。20および30wt%試料ではさらにバルク水（T1：～260ms）に相当する成分が加わり、計4成分が検出された。T1測定から求めた各々成分の成分比は、DSCの水融解エンタルピーから見積もった成分比に対応した。

H.Saguchi , H.Nakamura , H.Aoki and M.Kodama : The behavior of interlamellar water in DPPC-water system as studied by 2H-NMR

1K1400

リン脂質、phosphatidylethanolamine（PE）-水系における凍結水の挙動
- DSCと2H-NMR測定との比較 -
○厚東 民子、青木 宏之、児玉 美智子（岡山理大・理・生物化学）

我々はすでに、dimyristoylphosphatidylethanolamine(DMPE)-水系において各々の水分率で不凍結層間水、凍結層間水、およびバルク水として存在する水分子数を明らかにしている（ref.1）。本研究では、この系のゲル相試料の示差走査熱量測定（DSC）によって得られた氷融解曲線を基にして、この曲線に対応する目的温度での2H-NMRによる縦緩和時間（T1）測定を行ない、凍結水の成分とそれらの成分比を求め、DSCの結果と比較した。【試料と方法】 H2Oの代わりにD2Oを用いて、水分率が約22wt%のDMPE-水系ゲル相試料を作成し、（溶液用）高分解能NMR（Bruker社、400MHz）装置を用いて-60℃から温度を徐々に上げていき、目的温度の-20、-5、および5℃で180°- τ -90°パルス法（反転回復法）によってT1測定を行なった。【結果】 -60℃から温度を昇温することで、2H-NMRスペクトルを測定すると、-40℃からスペクトルが観測され、これはDSCの水融解曲線に対応した結果である。T1測定によって得られた磁化（Mz）を遅延時間（ τ ）に対してプロットし、得られた非指数減衰曲線を非線形最小2乗法に基づくコンピュータープログラム（Origin）に従って単一の指数減衰関数に成分分割し、各々の関数からT1と成分比を求めた。その結果、温度の上昇に伴って凍結層間水成分は増加し、温度5℃ではバルク水に対応するT1の長い成分が観測された。REFERENCE [1] M.Kodama et.al., Biochem. Biophys. Acta 1326, 61(1997).

T.Koto, H.Aoki and M.Kodama : The behavior of freezable water in DMPE-water system as compared by DSC and 2H-NMR

1K1430

マウス角質層のX線回折による研究

○太田 昇¹、八田 一郎¹、坂 貞徳²、田中 浩²、中田 悟²（¹ 名大院・工・応物、² 日本メナード化粧品(株)総合研究所）

角質層は、皮膚の表皮の一番外側にあり、主にレンガ状のケラチン部分とそれを囲む細胞間脂質で構成されている。界面活性剤のドデシル硫酸ナトリウム（SDS）を皮膚に作用させると、皮膚には紅斑が生じることが知られている。この現象は、界面活性剤が皮膚に対して刺激物として作用するものとされている。我々は、SDSを作用させたマウス角質層と作用させていないマウス角質層の細胞間脂質構造の比較検討をX線回折像を基に行った。マウスの皮膚に対して、1wt% SDS溶液を24時間、クローズドパッチ（50 μ l/cm²の条件）した。そして、除去後3日後の皮膚をサンプリングした。以下この試料をSDS-SCと称する。また、SDS処理を行っていない試料をCONT-SCと称する。X線回折パターンには、この2つのサンプルに違いが現れた。図は、広角X線回折パターンを示している。このパターンでは、脂質のパッキングを示すピークで、CONT-SCに比べSDS-SCの方が強度が弱く示された。ここでは、この2つのサンプルを比較するために、ソフトケラチンの散乱強度を基に規格化を行った。また、見易さを考慮し2つの曲線は互いにずらして示した。SDS処理により生じたSCの脂質構造の破壊は、広角X線回折研究により区別できることを示している。

図 SDSを作用させた角質層(SDS-SC)と作用させていない角質層(CONT-SC)の広角X線回折パターン

N.Ohta, I.Hatta, S.Ban, H.Tanaka, S.Nakata : X-ray diffraction study on mouse stratum corneum