B585

天然のスフィンゴミエリン2分子膜と半合成スフィンゴミエリン2分子膜の水和に関する研究

○川崎 佑子、阿部 正通、足立 俊樹、児玉 美智子（岡山理大・理・生物化学）

細胞膜や生体膜は、脂質分子の2分子膜構造を基本構造としている。脂質分子は、骨格構造の違いに基づいて、グリセロ脂質とスフィンゴ脂質の2種類に大別されるが、今日までの生体膜機能関連の脂質研究では、グリセロ脂質に焦点が絞られてきたため、スフィンゴ脂質に関する研究報告は少ない。しかしながら、スフィンゴ脂質は、脳や神経細胞等の生物の高次組織に局在していること、さらに近年、スフィンゴ脂質が生体膜中でカベオラ（くはみ）やミクロドメイン（島）形成に大きく関与していることが明らかとなり、スフィンゴ脂質に研究者の熱い視線が注がれている。我々は、代表的なスフィンゴリン脂質である天然（牛脳）由来スフィンゴミエリン（*N*-acyl SM）の質量分析を行い、この脂質分子を構成するスフィンゴシン鎖長は炭素数18であるのに対し、アミド結合された脂肪酸鎖長の炭素数14~24と幅をもって存在していることを明らかにした。本研究では、脂肪酸鎖長が不均一な天然のSM、およびアミド結合された脂肪酸鎖長が同一である炭素数16の半合成 *N*-(C16:0)-SMの2種SMを研究対象物質として用いた。これら2種のSM・水系試料に対して示差走査熱量測定（DSC）を行い、得られた水融解DSC曲線を精度よく解析することで、異なる結合様式の水分子数を見積った。研究の結果、天然SMでは、*N*-(C16:0)-SMに比べて約1.6倍もの水分子を2分子膜層間に取り込むことが明らかとなった。以上の結果より、*N*-(C16:0)-SMでは脂肪酸鎖長が同一であるため、2分子膜表面が平面状であるのに対し、天然SMでは、脂肪酸鎖長が不均一であるのが起因して、2分子膜表面に凹凸もしくはカベオラ様のウォーターポケットを形成すること、これにより2分子膜層間に多量の水分子が取り込まれたことを明らかにした。

Y. Kawasaki, M. Abe, T. Adachi and M. Kodama : Calorimetric studies on hydration for Natural Sphingomyelin and semi-synthetic Sphingomyelin bilayers

B587

光リソグラフィーを用いた脂質二分子膜の微細パターン化技術

○森垣 憲一（産総研・人間系）

固体表面上に吸着した脂質二分子膜は、生体膜のモデルシステムとして近年注目されている。我々は、基板上に集積された人工生体膜の構築を目指し、光リソグラフィー技術を用いた脂質膜パターン化手法の開発を行っている。膜パターンは以下のプロセスで形成される。（1）Langmuir-Blodgett/Langmuir-Schaefer法を用いてジアセチレン光重合基を持つリン脂質1,2-bis(10,12-tricosadiynoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine二分子膜を基板上に吸着。（2）膜の一部をマスクで保護しながら紫外光（254nm）照射することにより二分子膜を局所的に光重合。（3）保護されたモノマー膜を有機溶媒（もしくは界面活性剤）によって選択的に除去。（4）基板上に残ったポリマー膜をテンプレートとして空白部に新しい脂質二分子膜（モデル生体膜）を vesicle fusion method を用いて挿入。このようにしてポリマー化二分子膜の間に組み込まれた二分子膜は、細胞膜に類似した物性を持ち、今後膜タンパクなどの機能性分子を導入することで細胞膜のモデルシステムとして用いられることになる。このモデル生体膜が膜流動性を保持していることは、FRAP (Fluorescence recovery after photobleaching) などの手法により確認された。また、光重合過程において照射光量の多少によって脂質二分子膜の重合度を変化させ、ポリマー化膜領域への流動性脂質膜の浸透を制御することが可能であることが示唆された。

(1) Morigaki, K.; Baumgart, T.; Offenhäusser, A.; Knoll, W. Angew. Chem. Int. Ed. 2001, 40, 172-174.

K.Morigaki : Lithographic micro-patterning of substrate-supported lipid bilayers

B586

新規設計・合成されたネオ糖脂質（Lac-DPPEとLac-DPPA）の脂質膜の構造と安定性

○斉藤 敦子¹、原田 陽一郎²、Masum Shah³、丹波 之宏³、碓氷 泰市²、山崎 昌一^{1,3}（¹ 静大理・物理、² 静大院・農・応用生化、³ 静大院・理工・物質科学）

スフィンゴ糖脂質は糖による特異的な相互作用により、リセプターや細胞間の相互作用で重要な役割を果たしている。しかし、その合成の困難さから、それらの物性や機能および応用の研究は遅れている。我々は、リン脂質の頭部に糖を持つ新しい糖脂質（ネオ糖脂質）を合成し、それらの物性や機能を研究するとともにその応用を展開している。今回は、リン脂質 DPPE や DPPA の頭部にラクトースが結合した Lac-DPPE と Lac-DPPA が形成する脂質膜の構造や相安定性などを報告する。

100% Lac-DPPE の脂質膜から形成された多重層リボソームの20℃における構造を X 線散乱法により調べた結果、7.6 nm のスペーシングを持つ L_{β} 相（電子密度から求めた膜の厚さ d_{pp} は 4.9 nm）であることがわかった。また、超高感度カロリーメーターを用いて10℃から80℃まで1.0℃/minの昇温速度でスキャンすると、39.6℃、41.4℃、42.9℃に3つのほぼ同じ大きさの吸熱のピークが観測された。1回目の昇温と2回目以降の昇温でDSC曲線はほぼ同じであったが、昇温前の10℃でのインキュベーション時間が長くなるにつれて、3本のピークの分離は良くなった。この結果は、同じ炭化水素鎖（C16:0）を持つラクトシルセラミド（LacCer）と大きく異なっている。

5% Lac-DPPE/95% DOPC の混合2分子膜を雲母表面上に固定し、原子間力顕微鏡（AFM）を用いて水中で観察すると、膜が相分離を起こし、Lac-DPPE の濃度が高いミクロドメインが形成されていることがわかった。また、その2分子膜にレクチンである RCA120 が結合することが AFM による観察で明らかになった。

年会では Lac-DPPA の実験結果も報告するとともに、これらのネオ糖脂質と LacCer の構造・物性の違いを議論する。

A.Saito, Y.Harada, S.M.Masum, Y.Tamba, T.Usui, and M.Yamazaki : Structure and Stability of Membranes Composed of de Novo Designed Glycolipids (Lac-DPPE and Lac-DPPA)

B588

マイクロビームX線を用いたヒト毛髪中の細胞膜複合体（CMC）構造の解析

○太田 昇¹、岡 俊彦¹、井上 勝晶¹、八木 直人¹、加藤 知²、八田 一郎³（¹SPRING-8/JASRI、² 関学大・理工、³ 福井工大・工）

高密度X線を得るSPRING-8の40XUでは、直径5μmのピンホールを置くことでマイクロビームX線を得る。このX線を用いれば直径約5μm領域にX線を照射できる。今回、マイクロビームX線をヒト毛髪の外側にある約5μm厚のキューティクルに照射し小角散乱実験を試みた。鱗状に張付いた角化細胞からなるキューティクルにはCMCと呼ばれる2層の脂質膜とタンパク質1層のサンドイッチ構造があり、毛髪内部への物質の拡散、透過に重要な役割を果たす。マイクロビームX線によるキューティクルの小角散乱実験は、CMC構造の特徴を知る上で重要な測定である。

精密ステージに固定した毛髪を2μm幅で走査し、約3mm離れた2次元X線検出器で散乱像を取得した。CMC構造はキューティクルの表面にはほぼ平行であるが、キューティクルが毛軸から数度傾くため、キューティクルからの配向した散乱像は毛軸に垂直な方向からずれる。この散乱像よりCMCの全膜厚は約24nmであった。毛髪を有機溶剤で処理すると、その処理時間に従いCMCの厚みが徐々に薄くなり、6時間処理では約21nmになった。年会では、散乱像をCMCモデルにより解析し、CMC中のタンパク質層、脂質層の厚み、水和した時の振舞を検討する。

Figure. Small-angle X-ray scattering profiles for human hair without treatment (a) and with organic solvent treatment (b).

N.Ohta, T.Oka, K.Inoue, N.Yagi, S.Kato and I.Hatta : Microdiffraction analysis of cell membrane complex (CMC) structure in human hair