1P217

ジミリストイルホスファチジルコリン・レチノイン酸複合薄膜の定量的特性解析

○伊藤 学、後藤 研滋、辻内 裕（秋田大・工資・材料工）

ジミリストイルホスファチジルコリン (DMPC) は、生体内で膜蛋白質を安定化させる働きのある脂質の一種である。我々は、この DMPC を人工の有機分子複合薄膜の作製に応用する可能性を探ることを目的としている。第一段階として、レチノイン酸との複合薄膜を作製した。実験は、クロロホルムを溶媒として、DMPC とレチノイン酸、合わせて 2mM の濃度になるように混合溶液を作製した。そして、分子数比率を DMPC : レチノイン酸比を、9:1, 4:1, 1:1, 1:4, 1:9 とする 5 種類の溶液を作製した。DMPC とレチノイン酸の複合薄膜の作製には垂直浸漬法を用いた。次に作製した複合薄膜の化学構造特性を調べるため、FTIR 赤外分光測定装置を用いて薄膜の赤外吸収特性を調べた。5 種類の実混合比率のスペクトルにおいて、DMPC の長鎖アルキルに起因する 1500cm⁻¹ 近辺の吸収、700cm⁻¹ 近辺のアルケンに起因する吸収、1650cm⁻¹ 近辺のレチノイン酸のカルボキシル基に起因する吸収が確認された。次に DMPC : レチノイン酸複合薄膜の紫外可視光吸収スペクトル測定を行った。混合溶液のスペクトル測定では、260nm 近辺にレチノイン酸とその溶媒であるクロロホルムとの相互作用による吸収が確認された。複合薄膜のスペクトル測定では、レチノイン酸とクロロホルムとの相互作用による吸収が確認されなかった。分子数比の影響をみると DMPC : レチノイン酸比 1 : 4 の場合に最も吸収値は大きく、DMPC : レチノイン酸比 1 : 9 の場合よりも大きかった。これらの実験結果をもとにして DMPC のもたらす効果について考察する。

M.Ito, K.Goto, Y.Tsujiuchi : A qualitative analysis of the properties of the hybrid film of dimyristoylphosphatidylcholine and retinoic acid

1P219

DPPC-コレステロール混合二分子膜の相挙動；蛍光プローブ Prodan による観測

○盛林 伸孝、楠部 真崇、玉井 伸岳、松木 均、金品 昌志（徳島大・工・生物）

生体膜では膜脂質分子とステロール類が「ラフト」と呼ばれるドメインを形成し、膜の機能に重要な役割を果たしている。興味あることに、生体膜中でのコレステロールの存在には偏りがあり、多い場所ではその組成が 40 % を超えている。リン脂質-コレステロール混合二分子膜の相挙動を明らかにすることは、膜機能の解明において基礎的で大変重要な情報を引き出すことができる。本研究では、最も代表的なリン脂質、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) 二分子膜の相挙動におよぼすコレステロールの影響を、蛍光プローブ Prodan を用いた蛍光スペクトル観察により検討した。

所定の組成 (0~0.30) になるようにコレステロールを添加した DPPC 二分子膜はバンガム法により作製した。DPPC 濃度は 1 mmol kg⁻¹ とし、DPPC : Prodan の比は 500 : 1 の割合となるようにベシクル溶液を調製した。

コレステロール無添加の場合は主転移温度である 42 °C で Prodan の蛍光極大波長が 447nm (膜は P_β' 相) から 488 nm (膜は L_α 相) に急激に (温度幅 : 2 °C) 変化した。コレステロール添加の場合、蛍光極大波長のシフトは 41 °C から始まるが、コレステロール組成の増加に伴って蛍光極大波長のシフトは広い温度範囲で起こり、コレステロールモル分率 0.1 では 15 °C の温度幅を示した。また、コレステロールモル分率 0.07 以上では、前転移 (蛍光極大波長 440nm から 447nm へのシフト) が消失した。

蛍光スペクトルの結果をもとにして DPPC-コレステロール混合二分子膜の相図を作製することで、二分子膜液晶 (L_α) 相と秩序液体 (L₀) 相の二相共存状態を確認できた。二層共存状態では二分子膜の側方相分離をおこしており、性質の異なる 2 つのドメイン構造を形成していると判断される。

N.Moribayashi, M.Kusube, N.Tamai, H.Matuki, S.Kanesina : Phase Behavior of DPPC-Cholesterol Binary Bilayers: Observation by Fluorescent Probe Prodan

1P218

中性子溶液散乱によるラフトモデル生体膜の構造と水透過の研究

○平井 光博¹、小泉 将治¹、平井 春顕¹、笠原 浩二²、湯山 耕平²、鈴木 直子² (¹ 群大・工、² 東京都臨床研)

現在、細胞表面において、スフィンゴ糖脂質 (GSL)、コレステロール、膜蛋白質などが会合して「ラフト」と総称される構造的ユニット (マイクロドメイン) を形成し、このドメインが情報伝達の受容と発信の機能的構造ユニットとして働いていると考えられており、ドメインを介した情報伝達機構について活発に研究が進められている。我々は、GSL の主要な成分である各種 ganglioside とそれを含む脂質混合系の構造とダイナミクスについて実験的研究を行ってきた。脂質混合系に関する研究は多いが、ラフト様の脂質成分比における膜構造と物性に関しては未だに十分な理解は得られていない。そこで、今回、ganglioside、コレステロール、リン脂質を含むラフトモデルリポソームを作成し、時分割中性子溶液散乱法と新たに考案した重水/軽水ジャンプ法の組み合わせにより、温度および塩添加にともなう構造変化を追跡した。中性子の軽水素と重水素にたいする散乱振幅が大きく異なる (正負の符号も逆転する) ことを利用したこの方法では、X 線溶液散乱法では観測が不可能なリポソーム膜内外の水の透過 (交換) が測定可能である。また、マウス小脳から抽出したラフト分画に関して、中性子溶媒コントラスト変化測定も行った。同一試料を用いて行った X 線溶液散乱の実験結果と合わせ、ラフトモデル生体膜の構造と水の透過、ラフト分画の構造に関して議論を行う。

M. Hirai, M. Koizumi, H. Hirai, K. Kasahara, K. Kouhei and N. Suzumi : Structure of raft-model membrane and permeability of water studied by using solution neutron scattering

1P220

高圧蛍光プローブ法によるリン脂質-コレステロール混合二分子膜の相挙動の解明

○玉井 伸岳、カンマニウォン ソンマノ、植村 麻衣子、松木 均、金品 昌志（徳島大工）

生体膜の主成分の一つであるリン脂質は、一つの分子の中にコリン基やエタノールアミン基からなる親水部と炭化水素鎖からなる疎水部をもつ両親媒性物質である。そのためリン脂質は、水中で自己組織化して容易に二分子膜を形成し、実際生体膜においても、「膜」という構造を保持するという点で重要な役割を果たしている。我々はこれまでに、多くのリン脂質二分子膜について、熱力学の立場から系統的に研究を進めてきた。その結果、膜物性に及ぼす炭化水素鎖の影響 (鎖長や二重結合の有無など) や親水基の立体障害の影響など、多くの基礎的性質を明らかにしてきた。

近年、生体膜の機能と構造がより詳細に明らかになるにつれて、より複雑な膜物性が注目されるようになりつつある。ラフト構造と呼ばれる膜の不均一構造もその一つで、本来生体膜が多成分系であることに起因する構造であり、物理化学的に見れば相分離の一種として捉えることができる。ラフト構造の形成には、特に、生体膜に多量に存在するコレステロールが重要な役割を果たしていると考えられている。しかしコレステロールを含むリン脂質二分子膜では、相転移が不明瞭になり観測が困難になるため、系統的な基礎研究の例は極めて少なく、未だに混合二分子膜の相挙動には不明な点が多い。そこで我々は、最近確立した蛍光プローブ (Prodan) を用いて二分子膜の相挙動を追跡する手法 (高圧蛍光プローブ法) により、リン脂質とコレステロールの混合二分子膜について圧力-コレステロール組成相図を構築し、リン脂質二分子膜の相挙動に及ぼすコレステロールの影響についての検討を試みた。なお本研究では、リン脂質として炭素数 18 の炭化水素鎖を二本もつジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) を使用した。

N. Tamai, S. Khammanivong, M. Uemura, H. Matsuki and S. Kaneshina : Observation of barotropic phase behavior of phospholipid-cholesterol binary bilayer membrane using fluorescent probe method