1P221

リン脂質 Dry Film の構造におけるリポソーム形成要因

○菱田 真史¹、瀬戸 秀紀¹、吉川 研一¹、Ploysai Kaewsaiha²、松岡 秀樹² (¹ 京大院・理、² 京大院・工)

細胞のモデルとして適用する為に直径数 μm 以上の単層のリポソームをつくる場合、リン脂質 Dry Film を水和する方法がよく用いられる。しかしなぜこの方法で巨大リポソームが形成されるのか、そのメカニズムはいまだ解明されていない。そこで今回、ガラス面上に形成したリン脂質 Dry Film の膜内構造と膜間構造の関係、及びリポソームの形成しやすさとの関係について調べた。試料は室温で液晶状態をとる DOPC とゲル状態をとる DPPC を用いた。図は AFM による DOPC と DPPC の形態のイメージを示す。DOPC は階段状に stack しているのに対し、DPPC は無秩序に配列している。すなわち、膜内の nm スケールの構造では DOPC は disorder (液晶)、DPPC は order (ゲル) しているにもかかわらず、 μm スケールでは DOPC は order、DPPC は disorder であるとの結果となった。リポソーム形成効率は DOPC の方が圧倒的に高いという実験事実と合わせると、 μm スケールで膜が order することがリポソーム形成において重要であると考えられる。我々は、さらに nm スケールでの構造を詳しく知るために X 線反射率測定を行った。本講演では、 μm ・nm 両スケールにおける Dry Film の構造とリポソーム形成要因について議論する予定である。

M.Hishida, H.Seto, K.Yoshikawa, P.Kaewsaiha, H.Matsuoka: Liposome formation from phospholipid dry films

1P222

原子間力顕微鏡による高湿度下での脂質膜の観察 II. DMPC-コレステロール混合系

○岡本 淳、江間 健司、八尾 晴彦 (東工大・院・理工・物性物理)

原子間力顕微鏡を用いて大気中で脂質膜を観察する場合、水和が十分でなく、生理条件とは異なった条件で観察が行われる。一方、水中で観察する場合、ノンコンタクトモードでは高分解能で観察できず、コンタクトモードでは脂質膜は壊れてしまう。そこで、前回我々は十分に水和した脂質膜を高分解能で観察するため、大気中、高湿度条件下での脂質膜の AFM 観察を試み、リン脂質 DMPC のリップル (P_{β}) 相が観察できることを報告した [1]。今回は、DMPC-コレステロール混合系のリップル相の観察を試みたので、その結果について報告する。

[1] 日本生物物理学会 第 41 回年会, B590 (2003)。

J.Okamoto, K.Ema and H.Yao: Atomic force microscopic observation of lipid membranes at high humidity II. DMPC-cholesterol mixtures

1P223

分枝鎖型モデル脂質の合成とその物性評価 (2)
— methyl 分枝鎖が lamellar 構造に与える効果 —

○小松 寛^{1,2}、馬場 照彦²、高木 俊之²、金森 敏幸²、酒井 清孝¹ (¹ 早大理工、² 産総研バイオニクス RC)

安定構造を保ち苛酷な環境に適応・棲息する古細菌の膜脂質は、真正細菌や真核生物由来の脂質とは異なり、1) 疎水鎖と glycerol は ether 結合、2) 疎水鎖に多くの methyl 分枝鎖が存在する、などの構造的特徴がある。本研究では、この分子構造的特徴が、膜構造やその安定性にいかに寄与するのかを明らかにする目的で、古細菌脂質をモデルとしたリン脂質群を系統的に合成し、それらが形成する会合構造を、直鎖型リン脂質の場合と比較することによって、結合様式の差異および分枝鎖の効果を議論する。

methyl 分枝鎖を有する古細菌モデル脂質としては 1,2-diisovaleroyl-sn-glycero-3-phosphocholine ($\text{diC}_{4+1}\text{PC}$) など、疎水鎖が C_{4+1} 、 C_{8+2} 、 C_{12+3} (C_{n+m} , n : 主鎖炭素数, m : methyl 分枝鎖数) であり、ester または ether 結合を持ち、親水基が phosphocholine (PC) である新規な分枝鎖型リン脂質を合成した¹⁾。直鎖型リン脂質としては、疎水鎖が C_8 、 C_{10} 、 C_{12} の ester 結合を持つ市販のリン脂質 (PC) を用いた。水中での相構造を偏光顕微鏡で観察し、 L_{α} 相を形成する脂質については、脂質/水 (1:1, 重量比) に調製した脂質分散液により SAXS 測定を行った。その結果、broad な広角回折ピークは、 C_8 直鎖型では 0.43 nm であるのに対し、 C_{8+2} 分枝鎖型では ester 型、ether 型ともに 0.46 nm と膨張する傾向が認められた。一方、長周期は C_8 直鎖型が 4.2 nm であるのに対し、 C_{8+2} 分枝鎖型は ester 型で 4.6 nm、さらに ether 型では 4.9 nm と、分枝鎖型脂質の方がより大きくなる傾向が観察された。以上から分枝鎖型脂質は、分枝鎖自体が面内側方方向に及ぼす立体的障害はあるものの、直鎖型脂質に比べて分枝鎖が延伸していること、および液晶安定性は直鎖型脂質より高いこと、が分かった。

1) 小松ほか: 第 43 回日本油化学会年会 1B-30 (2004)。

H.Komatsu, T.Baba, T.Takagi, T.Kanamori and K.Sakai: Synthesis and characterization of branched model lipids(2) -Effects of methyl branches on lamellar structures-

1P224

スフィンゴミエリンのリップル相に対するコレステロールの効果

○木下 祥尚¹、加藤 知² (¹ 関学大院・理、² 関学大・理工)

スフィンゴミエリン (SM) とコレステロールは、近年生体膜内に形成される機能性構造として注目されているラフトの主成分と考えられており、これらの分子間相互作用に関する知見は、ラフト構造の形成機構解明に必要不可欠である。SM は主転移点以下の幅広い温度領域でリップル相を示すこと、またコレステロールは SM と同じ頭部構造を持つジアシルホスファチジルコリン (PC) との混合系においてリップル周期を増大させることが知られている。これらのことから我々は、SM とコレステロールの相互作用を解析するためにリップル周期がよい指標になると考え、凍結断断電子顕微鏡法を用いて実験を行った。

試料調整において、クロロホルムを用いて SM とコレステロールを混合するとリップル周期の分布がベシクルごとに異なり、不均一なコレステロールの分布を示唆する結果が得られた。それに対してクロロホルム/メタノールではより均一に混合した試料が得られることがわかった。したがって、以下ではクロロホルム/メタノールで調整した試料を使用して実験を行った。その結果、SM 系のリップル周期は PC 系と同様にコレステロール濃度に依存して増大したが、その増大はジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) /コレステロール混合系よりも緩やかであることがわかった。さらコレステロール濃度を固定してリップル周期の温度依存を調べたところ、SM/コレステロール系でのリップル周期は温度上昇に対して減少傾向を示した。同様の傾向が DPPC/コレステロール系でも観測され、温度上昇に対するリップル周期の減少率もほぼ一致していることがわかった。年会ではリップル周期の変化にもとづいて、リップル相における SM とコレステロールの相互作用について DPPC/コレステロール系と比較しつつ議論する。

M.Kinoshita and S.Kato: Effect of cholesterol on the ripple phase in sphingomyelin bilayers