

# ホスファチジルコリン二重膜の圧力誘起指組み構造化のメカニズム

(徳島大院・PSI 研究所\*) ○後藤優樹・Agnieszka Wilk\*・玉井伸岳・Joachim Kohlbrecher\*・松木 均

**1. 緒言** モデル膜研究に頻用されるリン脂質であるジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) やジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) は水中で二重膜を形成し、温度上昇に伴いラメラゲル ( $L_{\beta}'$ ) 相からリップルゲル ( $P_{\beta}$ ) 相への前転移および  $P_{\beta}$  相から液晶 ( $L_{\alpha}$ ) 相への主転移を起こす。これら PC 二重膜はアルコールや麻酔薬などの添加物により、向かい合う脂質分子のアシル鎖が相互貫入する形態の非二重膜構造である指組みゲル ( $L_{\beta}I$ ) 相を形成する。添加物誘起による指組み構造化は、添加物が二重膜内 PC 分子の極性基に作用することで PC 分子の親水基間引力を弱めることで誘起される。一方、これら PC 二重膜は圧力によっても  $L_{\beta}I$  相を誘起するが、その形成機構は未だ不明である。我々のこれまでの研究で圧力誘起  $L_{\beta}I$  相形成に必要な条件は、かさ高い親水基と長鎖飽和アシル鎖を有し、且つそのアシル鎖のグリセロール骨格への結合様式がエステル結合であるリン脂質であることを見出した。加圧は二重膜体積を減少させ分子間相互作用を強める方向へ作用するので、これだけでは  $L_{\beta}I$  相は生じ得ない。我々は圧力誘起による指組み構造化は、加圧に伴う親水基の配座変化から生じる親水基間の反発力に起因するものと推測している。本研究では PC 二重膜の圧力誘起指組み構造化における我々の仮説の妥当性を検証する目的で高圧光散乱実験を実施した。

**2. 実験** 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine ( DPPC ) および 1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine ( DSPC ) は Avanti Polar Lipids 社製のものをそのまま使用した。重水を用いてこれら PC を水中に分散させ、濃度  $1 \text{ mmol kg}^{-1}$  のベシクル懸濁液を調製した。高圧光散乱実験はスイスのポールシェラー研究所における高圧(多重)光散乱測定装置を用いて、波長  $632.8 \text{ nm}$  の He-Ne レーザーを用いて、測定は等温条件下、昇圧速度約  $10 \text{ MPa min}^{-1}$  で行った。

**3. 結果と考察** DSPC 二重膜の温度-圧力相図を参考に一定温度下 ( $65^{\circ}\text{C}$ )、昇圧過程に伴う散乱光変化を測定したところ、緩和時間から計算した平均粒子径は  $L_{\alpha}/P_{\beta}$  相転移ではほとんど変化が見られなかったが、指組み構造化 ( $P_{\beta}/L_{\beta}I$ ) の起こる圧力 ( $90 \text{ MPa}$ ) 付近において不連続に 3 倍程度増加後、さらなる圧力上昇で再び増加前の粒子径と同様な値となった。この結果は指組み構造化直前に遷移的にベシクルサイズが急激に増大することを意味する。脂質分子の体積 ( $V$ )、アシル鎖長 ( $l$ ) および極性頭部面積 ( $a$ ) で定義される臨界充填因子 ( $\text{CPP} = V/al$ ) を用いてこの平均粒子径の挙動を考察した。通常、PC 分子の CPP 値は 1/2-1 の間となり、比較的曲率の大きな二重膜を形成する。加圧により粒径が大きくなるためには、CPP 値が増加し、曲率の小さな二重膜を形成する必要がある。同じゲル相中では  $l$  値への加圧の影響は僅かであることを考慮すると、CPP 値が増加するには、 $V$  値の増加か  $a$  値の減少、あるいはその両方が考えられるが、一般に加圧は両値を減少させる。そのため、同相中ならば CPP 値はあまり変化せず、粒子径に対する圧力の効果は少ないと思われる。ここで、もし指組み構造化時、遷移的に極性頭部が平衡から垂直になるとすると  $a$  値が一気に小さくなるので、CPP 値が増加し、粒径が一時的に大きくなることを説明できる。一旦、指組み構造化が起ってしまったら、 $V$  値は減少し、 $a$  値は増大するために CPP 値は一気に小さくなることから、粒子径の急激な減少によく対応する。今回の結果は圧力誘起指組み構造化の分子メカニズムに対する我々の仮説を実験的に証明するものと言える。

## Molecular Mechanism for Pressure-induced Interdigitation of Phosphatidylcholine Bilayer Membranes

M. Goto, A. Wilk, N. Tamai, J. Kohlbrecher, H. Matsuki (Tokushima Univ., goto@bio.tokushima-u.ac.jp)

A mechanism for pressure-induced interdigitation of the DPPC and DSPC bilayers was investigated by dynamic light scattering measurements under high pressure. Average particle size of the DSPC bilayer increased transiently about three times at pressures near the bilayer interdigitation, indicating that the vesicle size increases abruptly just before the bilayer interdigitation. Considering a Critical Packing Parameter (CPP) of the PC molecule, it turned out that the cross-sectional area of the head group must decrease temporarily in the process of the bilayer interdigitation. This study confirmed our hypotheses that the bilayer interdigitation is caused by the transient repulsive interaction between the neighboring polar head groups of the PC molecule, which is induced by the transient perpendicular conformation of the head groups.

○ごとうまさき、アグネシカ・ウィルク、たまいのぶたけ、ヨアヒム・コールブレッツヒャ、まつきひとし

徳島大院ソシオテクノサイエンス研(〒770-8506 徳島市南常三島町 2-1). E-mail: goto@bio.tokushima-u.ac.jp