

非対称型ホスファチジルコリン二分子膜の圧力誘起相転移

(徳島大院先端技術科学教育部¹・同ソシオテクノサイエンス研究部²)
○矢野貴大¹・森神佳彦¹・後藤優樹²・玉井伸岳²・松木 均²

1. 緒言 DPPC は親水性のコリン基と疎水性の同一な 2 本のアシル鎖を有する対称型 PC であり、DPPC が形成する二分子膜は生体膜モデルとして数多くの研究がなされている。DPPC 二分子膜は、昇温に伴い、ラメラ結晶 (L_c) 相、ラメラゲル (L_β') 相、リップルゲル (P_β') 相および液晶 (L_α) 相を形成し、 L_c/L_β' 転移を副転移、 L_β'/P_β' 転移を前転移、そして P_β'/L_α 転移を主転移と呼ぶ。また、高圧下においては、非二分子膜の一種である指組みゲル ($L_\beta I$) 相を形成することも知られている。一方、実際の生物の細胞膜中では 2 本のアシル鎖が異なる非対称型リン脂質の存在比率が高いことが知られており、本研究室においても、これまで飽和アシル鎖を有する非対称型 PC 二分子膜の相挙動を調査してきた。結果、各相の安定性はアシル鎖先端の整列具合に顕著に依存していることが明らかとなった。本研究では非対称度 (2 本のアシル鎖の先端差) が炭素数約 5.5 個分あるステアロイルミリストイル PC (C18-14PC) およびその位置異性体で、非対称度が炭素数約 2.5 個分であるミリストイルステアロイル PC (C14-18PC) が形成する二分子膜の大気圧および高圧下における相挙動を調べ、アシル鎖のさらなる非対称性が PC 二分子膜の相安定性におよぼす影響を検討した。

2. 実験 2 種類の脂質、C18-14PC および C14-18PC は Avanti Polar Lipids 社製のものをそのまま使用した。試料調製は超音波照射法、あるいはバンガム法により行った。これら両 PC 二分子膜の相転移は、大気圧下においては示差走査熱量測定 (DSC) で、高圧力下においては光透過率測定および高圧蛍光プローブ測定で観測した。DSC 測定には MCS-DSC (MicroCal 社製) を使用し、高圧光透過率測定には高圧容器 PCI-400 (Syn Corp. 社製) を設置した分光光度計 U-3010 (日立社製) を、高圧蛍光プローブ測定には同じく PCI-400 を設置した蛍光光度計 F-2500 (日立社製) を使用した。

3. 結果と考察 C18-14PC および C14-18PC 二分子膜の常圧下における DSC 曲線には、それぞれ 25.2 および 29.1 °C に L_c 相から P_β' 相への副転移、18.5 および 18.4 °C に前転移、そして 30.9 および 38.8 °C に主転移を観測した。ピーク面積から計算したエンタルピー変化 (ΔH) は、両二分子膜共に副転移において非常に大きな値 (C18-14PC (51.9 kJ mol⁻¹), C14-18PC (50.9 kJ mol⁻¹)) となり、著しく安定な L_c 相を形成することが判明した。これら 3 種類の相転移温度は加圧と共に上昇し、相転移温度の圧力依存性は前転移、副転移、主転移の順序で増大した。二分子膜の指組み構造形成に関しては、C14-18PC 二分子膜は約 110 MPa 以上で $L_\beta I$ 相が出現したが、C14-18PC 二分子膜は今回測定した 0.1 から 350 MPa の圧力範囲では $L_\beta I$ 相は認められなかった。得られた結果をアシル鎖の全炭素数の等しい飽和対称型のジパルミトイルホスファチジルコリン (C16-C16PC) の形成する二分子膜のものと比較してみたところ、 P_β' 相の安定性は先端部分の非対称度 (ミスマッチ) が大きくなるほど低くなる傾向が見られ、以前の結果と良い一致を示した。また、 $L_\beta I$ 相が誘起される最小圧力は非対称度が小さいほど低値となり、 $L_\beta I$ 相の安定性と非対称度は明確に相関した。これに対して、 L_c 相の安定性は、対称型の C16-C16PC 二分子膜より非対称型の C18-14PC および C14-18PC 二分子膜で著しく高くなることがわかった。この理由は現在、検討中であるが、これは非対称 PC が L_c 相を形成した場合、そのアシル鎖非対称性に起因して隣り合う親水基位置にずれを生じ、スタッガード状の構造へ移行するため、ゲル相への相転移時には、脱水和に加えて極性基間の静電的な変化を伴うものと推測している。

Pressure-induced Phase Transitions of Asymmetric Phosphatidylcholines Bilayers

T. YANO¹, Y. MORIGAMI¹, M. GOTO², N. TAMAI², H. MATSUKI² (¹Grad. Sch. of Advan. Technol. & Sci. and ²Inst. of Technol. & Sci., The University of Tokushima, t-yano@bio.tokushima-u.ac.jp)

The bilayer phase transitions of asymmetric PCs, stearoylmyristoyl-phosphatidylcholine (C18-14PC) and myristoylstearyl-PC (C14-18PC) were observed by differential scanning calorimetry and high-pressure optical method. The thermodynamic quantities associated with the phase transitions were calculated and the temperature-pressure phase diagrams were constructed on the basis of the obtained phase-transition data. Both PC bilayers showed the remarkably stable lamellar crystal (L_c) phase, and the pressure-induced interdigitated ($L_\beta I$) phase was only observed in the C14-18PC bilayer. Present results evidently revealed that the bilayer properties of asymmetric PCs strongly depend on the degree of the acyl chain alignment at the terminal methyl ends. In particular, the thermodynamic quantities related to the L_c phase increase in proportion with a mismatch of the terminal methyl ends of two acyl chains in the PC molecule. We speculate that the large quantities may be attributable to a staggered structure of the PC molecules formed in the L_c phase.