解説

リン脂質二重膜の物性に対する 添加分子の効果の体系的理解に向けて

菱田 真史

筑波大学 数理物質系

(受取日:2017年1月20日,受理日:2017年2月26日)

Toward a Systematic Understanding of The Effects of Additive Molecules on a Phospholipid Bilayer

Mafumi Hishida

Department of Chemistry, University of Tsukuba

(Received Jan. 20, 2017; Accepted Feb. 26, 2017)

Biomembranes of cells are mainly composed of phospholipid bilayers, including various kinds of small organic molecules. To understand widely the effects of these small molecules on a phospholipid bilayer, systematization of the effects is desired with focusing on the molecular structures of the additive molecules. Cholesterol is well known to disturb the molecular ordering of a lipid bilayer in the gel (L_{β} ' and P_{β} ') phases, resulting in softening of the bilayer and lowering of the transition temperature between P_{β} ' and L_{α} phases. On the other hand, in the present study, we found *n*-alkane makes the molecular arrangement more ordered in the L_{β} ' phase, resulting in rigidification of the bilayer and raise of the transition temperature. Bulky core-like molecules such as cholesterol and the molecules with a linear and flexible chain contrastingly affect the bilayers due to the contrary effects on the ordering of acyl chains in the bilayer. Indeed, *cis*-stilbene, the bulkier molecule, disturbs the acyl chains more largely than the *trans*-isomer, lowering the transition temperature more drastically. When a core part and an alkyl chain coexist in a molecule like *n*CB, the effects of these parts compete each other. The effect of a whole molecule changes depending on the length of an alkyl chain.

Keywords: Phospholipid bilayer, additive molecules, Membrane elasticity, Phase behavior



菱田 真史 Mafumi Hishida E-mail: hishida@chem.tsukuba.ac.jp

1. はじめに

生命の成り立ちを明らかにするためにこれまで膨大な研 究がなされてきた。これらの研究のほとんどはある特定の 分子に着目し、その機能を明らかにするものであった。し かし、細胞を構成する分子種は無数ともいえる。すべての 分子について個々にその役割を理解することは可能なので あろうか?

一つの例として生体膜が挙げられる。細胞自体や細胞内 オルガネラを形作っている生体膜はすべてリン脂質二重膜 を基本構造としていることは良く知られている。しかし一 言にリン脂質といっても,実際の分子種は多岐にわたり, 真核細胞の生体膜を形作っているリン脂質の種類は数百種 にも及ぶと言われる。1) さらに実際の生体膜は、リン脂質 二重膜の中にさまざまな有機分子が含まれることで成り立 っている。膜内に含まれる有機分子で代表的なものは各種 膜タンパク質であるが、タンパク質のような比較的大きな 分子だけでなく、小さな有機分子も数多く含まれている。 もっともよく知られたものはコレステロールである。それ 以外にも他のステロール類やステロイド類、脂肪酸類、ビ タミン類など、生体膜中には多種多様な有機小分子が含ま れる。膜タンパク質はそれ自身が機能を持つ一方で、これ らの有機小分子は生体膜中でどのような役割をもっている のか,不明な点も多い。

本研究で着目するのはこの膜内有機小分子の役割につい てである。膜内有機小分子もリン脂質分子に負けず,やは り膨大な種類がある。¹⁾ コレステロールに代表される一部 の分子については,多くの研究のおかげでその役割がだい ぶわかってきているが,すべての分子種に対して同様に知 見を深めていくことは,気の遠くなるような話である。ま た,膜物性に対するリン脂質の分子種依存性の研究²⁾と比 較しても,膜内有機小分子の分子種依存性に関する研究は わずかである。そこで我々は,物理化学的な視点から研究 することで,膜内有機小分子の役割を分子種を超えて体系 的に理解するための指標を見出したい,ということを目的 として研究を行ってきている。

2. コレステロールの添加効果

膜内有機分子として唯一よく研究されてきたコレステロ ールの効果を見ると、膜内での分子配列秩序に対する効果 とリン脂質二重膜の相転移に対する効果が顕著である。³⁾ 水中で、リン脂質二重膜は低温では分子が秩序立って配列 したゲル相(L_B相)を,高温では秩序が乱れた液晶相(L_a 相)をとる。たとえばゲル相のリン脂質二重膜にコレステ ロールが添加された場合、脂質分子の配列秩序が幾分か乱 される。一方で液晶相に添加された場合には反対に秩序が 高くなることが知られている。この二様性効果の結果、ゲ ル相の膜は柔らかくなり、液晶相の膜は硬くなる。代表的 なリン脂質である DPPC (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3phosphocholine) について述べると、純粋な DPPC 二重膜で は膜の曲げやすさを表す量である曲げ弾性係数κは二つの 相間で10倍ほど異なる4,5)が、コレステロールを添加する と1.25 倍⁶ ほどにまで下がる。また当然, ゲルー液晶相間 の相転移温度も影響を受け、コレステロール量の増加とと もに相転移温度は低下していく⁷ことが知られている。こ れは凝固点降下の表れと言える。ゲル相の膜にコレステロ ールを添加していくと 25 mol%程度で新たな相である秩序 液体相(L。相)に転移する。

膜に対するコレステロールの効果は、大雑把に言うと、 不純物効果の表れであると捉らえてきた。そのため、他の 有機分子を添加した場合であっても細かな差こそあれ、大 まかには同等な添加効果が現れるのではないかと考えられ てきた。しかし我々の最近の研究で、直鎖アルカンはコレ ステロールとは正反対と言ってもいいような添加効果を見 せることがわかってきた。まずはじめに、その効果につい て解説する。

3. 膜内有機分子としての直鎖アルカン

生体膜中の有機小分子を見てみると、分子内にアルキル 鎖を持つものが多い。これは分子が膜中に安定に入るよう に疎水性部位を持つためであると言えるが、役割はそれだ けであろうか。サーモトロピック液晶性を示す物質には同 様に分子内にアルキル鎖を持つものが多いが、近年の熱力 学的な研究から、液晶の発現には柔軟なアルキル鎖が分子 内溶媒のように振る舞うことが重要であるとわかってきて いる。^{8,9} 同様に、生体膜中の分子においてもアルキル鎖が 何らかの特別な役割を持つ可能性がある。これを探るため、 アルキル鎖をもつ最も単純な分子として直鎖アルカンを用 い、その添加効果を調べた。

主に用いたのは、炭素数 16 の飽和アシル鎖を二本持つリ ン脂質 DPPC および炭素数 14 の直鎖アルカン (テトラデカ ン) である。Fig.1(a)に DPPC にテトラデカンを添加し水中 に分散させたものの DSC 曲線を示す。DPPC はゲル相中に も小さな転移があり、約 35 ℃以下ではラメラゲル相 (L_{β} 相)、35~41 ℃ではリップルゲル相 (P_{β} '相)を示す。約 41 ℃ 以上では液晶相 (L_{α} 相) である。アルカンをわずかに添加 すると L_{β} '- P_{β} '相転移 (前転移と呼ばれる) による熱異常は 消え、 P_{β} '- L_{α} 相転移 (主転移と呼ばれる) による熱異常は 高温側へシフトする。またテトラデカンを 60 mol%添加す ると、5 ℃付近に新たな熱異常が現れる。これはテトラデ カン単体の融解と一致する。リン脂質膜中に溶け切れなく



Fig.1 (a) DSC curves of DPPC with tetradecane in water. (b) A phase diagram of DPPC/tetradecane system. Liq^{TD} and Cr^{TD} indicate the liquid and crystal of tetradecane excluded from the bilayers, respectively.



Fig.2 Rupture of a DPPC/tetradecane vesicle at 30 °C.

なったテトラデカンが水中でマクロに相分離しているもの と考えることができる。これらをまとめてラフな相図にし たものが Fig.1(b)である。テトラデカンは少なくとも 40 mol%までは DPPC 膜に入ることがわかったので、この後に 述べる顕微鏡観察の実験は 40 mol%添加した DPPC 膜を用 いて行った。

4. アルカンによる膜の硬化¹⁰⁾

リン脂質二重膜は適切に調整すると、µm スケールのベ シクル(二重膜が閉じて小胞になったもの)になる。テト ラデカンを添加していない単成分の DPPC の場合, 液晶相, ラメラゲル相いずれにおいてもベシクルは閉じた球状が安 定である。液晶相においては膜が柔らかいため、水中で膜 が揺らいでいる様子を観察することができる。ラメラゲル 相では揺らぎは観察できず、完全な球形のベシクルが多く 観察される。今回, DPPC にテトラデカンを 40 mol%添加 した膜を用いた場合でも、液晶相である 50 ℃ではテトラ デカン無添加時と同様に閉じたベシクルが安定に形成した。 また膜が揺らぐ様子も観察することができた。しかしこの 試料を冷却し、ラメラゲル相である 30 ℃にすると、多く のベシクルが破裂し、開いた板状の構造に変化することが わかった(Fig.2)。このような破裂は他のリン脂質二重膜 系では報告されていない。再び 50 ℃に昇温すると、板状 の膜が閉じてベシクルに戻る様子も観察された。ラメラゲ ル相に冷却した際のベシクルの破裂にはわずかに熱履歴の 影響が見られ、1 回目の冷却時には破裂が起こりにくかっ たが、数回昇温・冷却を繰り返すうちに毎回ほぼ同様の割 合で破裂するようになったように見えた。

膜の運動を観察していると、 ラメラゲル相で膜が非常に 硬くなることで閉じた形状が弾性的に不安定になり、破裂 しているように見える。これを確かめるために、破裂の確 率がベシクルのサイズにどのように依存するのかを調べた。 Fig.3(a)はある試料の冷却前(液晶相)と冷却後(ラメラゲ ル相)での閉じたベシクルのサイズ分布を示したものであ る。ラメラゲル相においては多くのベシクルが破裂するが, 閉じたまま残るものもある。ここで示しているのは閉じた まま残ったベシクルのみを数え上げたものである。また、 ラメラゲル相における分布は昇温・冷却を3回繰り返した 後のものであり、液晶相の分布はラメラゲル相での測定後 に昇温した後のものである。いずれの相においても800個 以上のベシクルの長径を計測している。同一の試料で比較 しているため、ラメラゲル相における閉じたベシクルの数 は液晶相におけるそれを超えることができない。そのため, すべてのサイズでラメラゲル相の分布が液晶相の分布を超 えないように任意の係数をかけて示している。二つの分布 をみると、ラメラゲル相ではピークがサイズの大きい方に シフトしていることがわかる。これは小さいベシクルほど 破裂しやすいということを示しており、弾性的なストレス によって破裂が起こっていることを裏付けている。この二 つの分布の比を取ることで、Fig.3(b)のように、ベシクルの サイズに依存した破裂の確率を計算することができる。ベ シクルの長径が約5 µm のときに破裂確率が 50%となるこ とがわかる。



Fig.3 (a) Size distribution of closed DPPC/tetradecane vesicles in L_{α} and L_{β}' phases. (b) Rupture probability against a vesicle size.

いずれの相でも熱平衡状態におけるサイズ分布を測定で きていると仮定すると、破裂確率が50%であるということ は、ラメラゲル相において、膜が閉じて球系になった時と 開いて板状になった時とで自由エネルギーが等しいという ことを意味している。

膜の自由エネルギーを表すモデルはこれまでLipowsky¹¹⁾ によって示されてきた。内膜と外膜が対称な二重膜は自発 曲率が0であるので、球形になるために膜が曲がると弾性 エネルギーは上昇する。開いて平板になると弾性的なスト レスはなくなるが、疎水性である膜の端を水にさらすこと によるエネルギーロスが起こる(線張力)。これらの競合で 膜形状が決まる。閉じた球と開いた平板のエネルギーが等 しいとき、破裂に際して膜面積は不変であるので、曲げ弾 性係数κは以下のように計算される。

$$\kappa = \frac{D_{\lim \Sigma}}{4} \tag{1}$$

 D_{lim} は二つの自由エネルギーが等しくなる時のベシクル直径(今は 5 μm),Σは膜の端が水中にさらされた時の線張力である。アルカンを添加した場合でもΣは DPPC 単成分膜と同じ(=0.95×10⁻¹¹ N¹²))と考えると,曲げ弾性係数κは 1.2×10^{-17} J と計算できる。これは 30 ℃で約 3000 $k_{\rm B}T$ に値する非常に大きな値である。一方で、単成分の DPPC 二重

Netsu Sokutei 44 (2) 2017



Fig.4 In-plane chain-chain distance in the DPPC/tetradecane bilayer in the L_{B}' phase against tetradecane ratio.

膜のラメラゲル相における曲げ弾性係数 κ は 1.0×10^{-18} J^{4,5)} であることが知られている。したがって、テトラデカンを 40 mol%添加することによって 10 倍以上も膜が硬くなった 結果、膜は閉じていることが弾性的に不安定となり破裂し たと結論できる。

アルカンの添加によるラメラゲル相での膜の硬化の原因 は、X線回折実験の結果から考察することができる。ラメ ラゲル相ではリン脂質のアシル鎖は膜面内で六方格子状に 配列していることが知られ、広角X線回折を用いれば、こ の配列に起因した回折ピークを得ることができる。アルカ ンはリン脂質分子のアシル鎖と並列して添加されることが わかっているため、テトラデカンはリン脂質のアシル鎖と 合わさって格子を作ると考えられる。回折ピークの位置か ら求まるアシル鎖間隔をテトラデカンが増えていくにした がって、アシル鎖間隔が狭くなっていくことがわかる。す なわち、二重膜の疎水領域における分子充填が密になること で膜が硬化したのだと考えることができる。

ラメラゲル相においては膜の破裂が観察されたが、液晶 相ではそのような特徴的なベシクル形態の変化は見られな かった。しかし、液晶相におけるアルカンの効果は顕微鏡 で観察される膜の揺らぎを解析することで知ることができ る。13) 膜が完全な球形から揺らいで変形するときに、球か らのズレを全角度方向でとり、その自己相関関数をルジャ ンドル多項式でフィットすることで揺らぎのモードを分解 することができる。その時の各モードの振幅から曲げ弾性 係数κがわかる(膜が硬いと細かい揺らぎは抑えられるの で,低い次数のモードのみが顕著になる)。この方法で,テ トラデカンを 40 mol%添加した DPPC 膜の 50 ℃での κを求 めると、1.4×10⁻¹⁹ Jとなった。この値はテトラデカンを添 加していない場合($1.6 \times 10^{-19} J^{4,5}$)とほとんど変わらない。 ラメラゲル相とは異なり、液晶相においてはアルカンの 添加は膜の弾性にほとんど影響を与えないということがわ かった。

5. リン脂質膜の相挙動に対するアルカンの効果¹⁴⁾

アルカンの添加は膜の弾性的な性質だけでなく,相挙動 にも大きな影響を与える。たとえば, Fig.1(b)に示した通り, DPPC にテトラデカンを添加すると,リップルゲル相は消 失し,主転移温度は上昇する。こういった相挙動の変化の 原因を明らかにするために,我々は種類の異なる3つのリ ン脂質二重膜に炭素数8~14の4つの直鎖アルカン(オク



Fig.5 Main transition temperatures $T_{\rm m}$ of DMPC, DMPS, DMPE with 30 mol % of four alkanes (octane, decane, dodecane and tetradecane). Dashed lines are $T_{\rm m}$ of the pure lipids.

タン、デカン、ドデカン、テトラデカン)を添加し、主転 移温度の変化を調べた。使用したリン脂質はいずれも炭素 数 14 の二本の飽和アシル鎖を持ち、親水基頭部のみが異な る DMPC、DMPS、DMPE である。それぞれの脂質にアル カンを 30 mol%添加したときの主転移温度を Fig.5 にまと めた。いずれのリン脂質でもアルカン鎖長の伸長とともに、 主転移温度は上昇している。とくに、弾性の実験を行った DPPC と親水基が同じであり、アシル鎖長が炭素数 2 異な るだけの DMPC の場合、テトラデカンの添加によって主転 移温度は大きく上昇しており、DPPC の結果とよく整合し ている。

- 方で,リン脂質分子の親水基によって主転移温度の 上昇の大きさが異なることがわかる。この違いの原因を明 らかにするために、主転移温度の変化を Suezaki らのモデ ル¹⁵⁾を用いて解析した。このモデルでは、相転移に伴う膜 のエンタルピーとエントルピーの変化を、脂質そのものの 変化分とアルカンを添加することで生じる変化分に分けて 考える。アルカン添加により生じる新たなエンタルピー変 化 ΔH_{alkane} には、脂質とアルカンの相互作用による項 Δh_A と、アルカン同士の相互作用による項Δεが含まれる。アル カンは脂質と並列しているため、それぞれの項はアルカン の長さnに比例する。また、アルカン添加により生じる新 たなエントロピー変化 ΔSalkaneには、アルカン分子の並進 エントロピーなどアルカンの長さに依存しない項 Δs_1 と, アルカンのコンフォメーション変化に起因した長さに依存 する項 Δs_2 がある。主転移温度を T_m としてまとめると、以 下の式になる。(なお,Δはゲル相と液晶相間での差を意味 する。)

$$T_{\rm m} = \frac{\Delta H_{\rm total}}{\Delta S_{\rm total}} = \frac{\Delta H_{\rm lipid} + \Delta H_{\rm alkane}}{\Delta S_{\rm lipid} + \Delta S_{\rm alkane}}$$
$$= \frac{\Delta H_{\rm lipid} + n\Delta h_{\rm A}x + n\Delta \varepsilon [x^2/(1+x)]}{\Delta S_{\rm lipid} + (\Delta S_1 + n\Delta S_2)x} \quad (2)$$

xはアルカンの濃度である。リン脂質の種類が関係しない 項である Δs_2 や $\Delta \varepsilon$ はすべてのサンプルで共通として、この モデルを用いてすべての結果に対して同時にフィッティン



Fig.6 (a) DSC curves of DMPE with 30 mol% of octane. (b) Wide-angle X-ray diffraction patterns against the diffraction vector q of DMPE with four alkanes at room temperature.

グを行った。最適値からわずかに値を変化させ、それぞれ の項の影響を調べたところ、アルカン鎖長の伸長に伴う主 転移温度の変化の大きさは、主にΔh_Aが支配していること がわかった。要するに、アルカンとリン脂質の相互作用の 大きさが親水基によって異なり、それが主転移温度の変化 を支配しているということである。アルカンは柔軟な分子 であり大きな自由度を持つにもかかわらず、エントロピー ではなくエンタルピーに大きな寄与を与えるということは 興味深い。

弾性に関する研究から、アルカンの影響はラメラゲル相 でより大きいことがわかった。鎖長の長いアルカンを添加 した場合、ラメラゲル相において分子充填が密になること で液晶相に比べて系のエンタルピーが大きく減少し、相転 移温度が上昇したのだと言える。アルカンは液晶相よりも ゲル相の膜の方が安定に入りやすいということを意味して おり、相転移温度の上昇は「凝固点上昇」の表れであると 言える。また、長鎖アルコールや長鎖脂肪酸などもアルカ ンと同様に主転移温度を上昇させることが報告されてい る。^{16,17)} 相転移挙動の類似性を鑑みると、分子構造にわず かな違いはあっても、長い直鎖状の分子であれば、添加効 果はいずれも同等なのではないかと推察される。

アルカンの添加は主転移温度だけではなく,他の相挙動 にも影響を与える。2,3節において、リン脂質二重膜は低 温でゲル相を、高温で液晶相をとると述べたが、実はこれ は正確な表現ではない。いくつかの種類のリン脂質二重膜 は、0℃付近の低温で数週間から数カ月置くと、ゲル相か ら結晶相(L_c相、サブゲル相とも呼ばれる)へと緩和する ことが知られている。¹⁸⁾この場合、ゲル相は準安定な相で あると言える。ただしゲル相から結晶相への緩和が非常に 遅く、結晶相はめったに観察されることがないため、便宜



Fig.7 Confocal microscope image of vesicles composed of DPPC/DOPC/tetradecane mixture.

的にゲル相は安定な相として扱われることが多かったので ある。しかし今回,アルカンを添加したサンプルを観察す ると,サンプル調整後に室温で数時間置くだけで,結晶相 へと緩和することがわかった。たとえば Fig.6(a)は室温で 数時間置いた後に DSC 測定を行った結果である。最初の昇 温時だけ,結晶相から液晶相への相転移が観測されている。 また Fig.6(b)は室温で1日程度置いた後の広角 X 線回折測 定の結果である。アルカン無添加のリン脂質二重膜はゲル 相にあり,面内での分子秩序に起因した回折ピークが一つ しか観測されていないが,アルカンを添加した系では結晶 構造に起因した多数のピークが観測されている。アルカン を添加することでゲル相における分子充填が密になった結 果,結晶相への緩和が速くなったと考えられる。

話題は少し飛ぶが,ある温度で液晶相をとるリン脂質と ゲル相を取るリン脂質を混ぜると膜面内でゲル相と液晶相 ドメインに相分離する(秩序-無秩序相間の相分離)。ここ にコレステロールを添加すると,ゲル相で分子配列の秩序 が乱されることで無秩序相同士の相分離となる。^{1,19}この 無秩序相同士の相分離によって形成したドメインは生体膜 中でのラフト構造^{1,20}の基盤と考えられており,相分離形 態が広く研究されている。今回,コレステロールに変えて テトラデカンを添加してみた。すると,ゲル相の DPPC ド メインが非常に剛直な板状となり,その板を柔らかな液晶 相のドメイン (DOPC という脂質を主体とする)が繋ぐよ うな特徴的な膜形状が見られた(Fig.7:実際にはカラーな ので,是非 WEB 版もしくは文献¹⁰⁾をご覧いただきたい)。 これも,アルカンによるゲル相の秩序化効果の表れである と言える。

6. コレステロールとアルカンの添加効果の比較

ここまでの結果を見ると、直鎖アルカンの添加効果はコ レステロールのそれと全く正反対であることがわかる。コ レステロールはゲル相において分子の配列秩序を乱し膜を 柔らかくするが、アルカンは秩序を正し膜を硬くする。ま たコレステロールは主転移温度を下げる(凝固点降下)が、 アルカンは上げる(凝固点上昇)。この差はリン脂質分子の 特徴的な構造が関係していると思われる。リン脂質分子は 親水部が比較的大きいため、二次元に配列した時には親水 部同士の立体反発により疎水部に隙間が生まれると言われ ている。²¹⁾ とくにゲル相では分子が秩序立って密に配列す るため、隙間が顕著に現れる。直鎖アルカンはこの隙間に ちょうどよく入り込むことでゲル相の膜を安定化させてい 解 説



Fig.8 Main transition temperature of DPPC with *cis*-stilbene (circle) or *trans*-stilbene (square).

るのではないかと予想される。一方で、コレステロールは 分子がコア状で嵩高いために、隙間にうまくフィットせず、 分子の配列秩序を乱すのではないかと考えられる。すなわ ち、分子形状によってその添加効果に違いが現れていると 期待される。

7. 添加分子の嵩高さの効果²²⁾

分子の「嵩高さ」が添加効果にどう影響を与えるのか, 分子を変えることなく調べるために,幾何異性体を持つス チルベンを用いて DPPC 膜の主転移に対する影響を調べた。 スチルベンは cis 体, trans 体,ともに室温付近では熱的に 安定である。cis 体は trans 体に比べて球形に近い分子形状 をしており,分子の嵩高さは cis 体の方が大きいと言える。

Fig.8 に cis 体および trans 体のスチルベンを添加した時 の DPPC 膜の主転移温度を示している。いずれもコレステ ロールの場合と同様に,添加とともに主転移温度は低下し ている。これはゲル相においてスチルベンがリン脂質分子 の配列秩序を乱しているからであると考えられ,分子の嵩 高さの影響が現れていると言える。主転移温度の低下は cis 体を添加した場合の方が大きい。すなわち,より嵩高い cis 体は膜を乱す効果も大きく,主転移温度も大きく低下した と言える。実際に赤外吸収分光を用いてゲル相におけるア ルキル鎖の乱れを評価すると, cis 体が添加された場合の方 が乱れが大きかった。

8. コアとアルキル鎖の競合²³⁾

コア状で嵩高い分子と直鎖分子の添加効果は相反するこ とがわかってきた。しかし,実際に生体膜中に含まれてい る有機分子を見てみると,コア状の部分と直鎖状の部分を 分子内に併せ持つものが多いことに気が付く。こういった 場合はどちらの効果が支配的になるのであろうか?そこで 我々は次に,分子内にコア部とアルキル鎖を持つ nCB 分子 を用いてその添加効果を調べた。nCB はシアノビフェニル 基に長さの異なるアルキル鎖がついた分子(Fig.9(a))であ る。単体の nCB は液晶性物質として有名である。

アルキル鎖の長さnの異なるnCB をそれぞれ DPPC 膜に 添加した。DSC の結果から相図を描いたものが Fig.9(b)で ある。とくにラメラゲル相 (L_β'相) とリップルゲル相 (P_β' 相) 間の前転移に大きなn 依存性が見て取れる。アルキル 鎖長が短い時にはnCB の添加とともに前転移温度は低下 する。これはコレステロールを添加した場合と同じである。 アルキル鎖長が長くなると前転移温度は上昇に転じている。 これは Fig.1 に示したアルカン添加の場合と同様の傾向で ある。リップルゲル相と液晶相 (L_a相) 間の主転移にもn



Fig.9 (a) *n*CB molecule. (b) Phase diagrams of DPPC with *n*CB. (c) Main transition temperatures of DPPC with *n*CB. Dashed line is that of pure DPPC.

依存性が見て取れた。**Fig.9(c)**は DPPC 膜に nCB を 12 mol% 添加した時の主転移温度をnに対して示したものである。 アルキル鎖長が短い時には主転移温度はほぼ一定であるが, nが4以上ではnの増加とともに主転移温度は上昇してい る。アルキル鎖長の伸長に伴う主転移温度の上昇は、アル カンの場合(**Fig.5**)と同じ傾向である。

これらの結果はコアの効果とアルキル鎖の効果が競合し ており、アルキル鎖長によってそのバランスが変化してい ることを示している。アルキル鎖長が短い場合にはコアの 効果が顕著であるため、添加効果はコレステロールと類似 したものになる。アルキル鎖長が長くなるにつれて、アル キル鎖の効果が徐々に優勢になってくる。ただし、アルキ ル鎖長が長い時でも、主転移温度は無添加時より低い。す なわち、コアの効果が支配的であると言える。一方で、ア ルキル鎖長が長い時、前転移温度は添加濃度に対して上昇 しており、アルキル鎖の効果が支配的になっている。二つ の相転移に対して支配的となる部位に違いがあることは興 味深いが、その理由は現時点ではわからない。n が 4 以下 のときには主転移温度はほぼ一定であったが、これは短い アルキル鎖が十分な柔軟性を持たず、コアの一部として振 る舞っていること示唆している。^{9,24)}

一連の研究の結果、リン脂質二重膜の構造や弾性、相挙

動に対してコア状の分子と直鎖状の分子は正反対の添加効

- 9. おわりに
- J. F. Faucon, P. Mitov, P. Méléard, I. Bivas, and P. J. Bothorel, *J. Phys. (Paris)* **50**, 2389-2414 (1989).
 M. Hishida, A. Endo, K. Nakazawa, Y. Yamamura, and K.
- Saito, Chem. Phys. Lipids 188, 61-67 (2015).
- Y. Suezaki, H. Kamaya, and I. Ueda, *Biochim. Biophys.* Acta 818, 31–37 (1985).
- 16) K. Lohner, Chem. Phys. Lipids 57, 341-362 (1991).
- 17) S. Mabrey and J. M. Sturtevant, *Biochim. Biophys. Acta* 486, 444-450 (1977).
- 18) 野島庄七,砂本順三,井上圭三,「リポソーム」(4章), 南江堂 (1988).
- S. L. Veatch and S. L. Keller, *Biophys. J.* 85, 3074-3083 (2003).
- 20) K. Simons and E. Ikonen, Nature 387, 569-572 (1997).
- 21) T. J. McIntosh, Biophys. J. 29, 237-245 (1980).
- 22) K. Nakazawa, M. Hishida, S. Nagatomo, Y. Yamamura, and K. Saito, *Chem. Lett.* **43**, 1352-1354 (2014).
- 23) H. Usuda, M. Hishida, Y. Yamamura, and K. Saito, *Langmuir* 32, 5966-5972 (2016).
- 24) K. Horiuchi, Y. Yamamura, R. Pełka, M. Sumita, S. Yasuzuka, M. Massalska-Arodź, and K. Saito, *J. Phys. Chem. B* **114**, 4870–4875 (2010).

果を持つことがわかった。また、添加分子がコアと直鎖を 併せ持つ場合には、それぞれの効果は競合し、全体の添加 効果は鎖の長さに左右されることも明らかになった。 実際に生体膜中に含まれている有機小分子を見ると、コ ア部とアルキル鎖を両方持つものが多い。たとえばステ ロール類などには、同じコア構造を持つが、アルキル鎖は 異なるという分子が多く存在する。生体膜中でもコアの効 果とアルキル鎖の効果がバランスすることで全体としての

役割が決まっている可能性がある。これまでこういった 種々の分子の添加効果を知るには、すべての分子をしらみ つぶしに添加して調べるしか方法はなかった。しかし、今 回の結果はコア部と鎖部を分けて考えることで、系統的に 添加効果を議論できる可能性を示唆している。もちろん、 二つの効果の単純な足し合わせでは詳細は議論できないで あろうが、大まかな指針を与えてくれることが重要である。 生物学的研究において物理化学的視点をもつことの重要性 ではないだろうか。この知見は、生体膜中における有機分 子の働きを知るためだけでなく、生体膜中で働く薬や化粧 品の開発などにも役立つことが期待される。

謝 辞

本研究を行うにあたって、筑波大学の齋藤一弥教授、山 村泰久准教授には様々な議論を行っていただきました。ま たアルカンを用いた実験の多くは筑波大学の大学院生であ った遠藤麻未さんと柳澤隆大さんに、スチルベンおよび nCBを用いた実験はそれぞれ筑波大学の大学院生である中 澤暦さん、臼田初穂さんに行っていただきました。皆様に は深く感謝しております。また、X線を用いた実験は高エ ネルギー加速器研究機構の Photon Factory (課題番号 2013G525, 2013G530, 2015G604, 2015G571) にて行いま した。研究の一部は科学研究費助成事業 (24740289, 15K13546)の助成を受けて行われました。

文 献

- 1) 梅田真郷 編,「生体膜の分子機構」,化学同人 (2014).
- 2) 松木 均,後藤 優樹,玉井 伸岳,熱測定 41,66-73 (2014).
- 3) 八田一郎,村田昌之,「生体膜のダイナミクス」(1章), 共立出版 (2000).
- 4) C. H. Lee, W. C. Lin, and J. Wang, *Phys. Rev. E* 64, 020901(R) (2001).
- H. Seto, N. L. Yamada, M. Nagao, M. Hishida, and T. Takeda, *Eur. Phys. J. E* 26, 217-223 (2008).
- T. Baumgart, S. T. Hess, and W. W. Webb, *Nature* 425, 821-824 (2003).
- T. P. W. McMullen and R. N. McElhaney, *Biochim. Biophys. Acta* 1234, 90-98 (1995).
- 8) 齋藤一弥, 熱測定 32, 133-140 (2005).
- 9) 齋藤一弥, 熱測定 40, 2-9 (2013).
- M. Hishida, R. Yanagisawa, H. Usuda, Y. Yamamura, and K. Saito, J. Chem. Phys. 144, 041103 (2016).
- 11) R. Lipowsky, J. Phys. II France 2, 1825-1840 (1992).
- 12) N. Srividya and S. J. Muralidharan, J. Phys. Chem. B 112, 7147-7152 (2008).