

高感度 DSC によって求めた DC13PC-コレステロール混合系の詳細な相図

京都工芸繊維大学 ○紙谷泰史、岡崎文洋、猿山靖夫、八尾晴彦

[緒言]

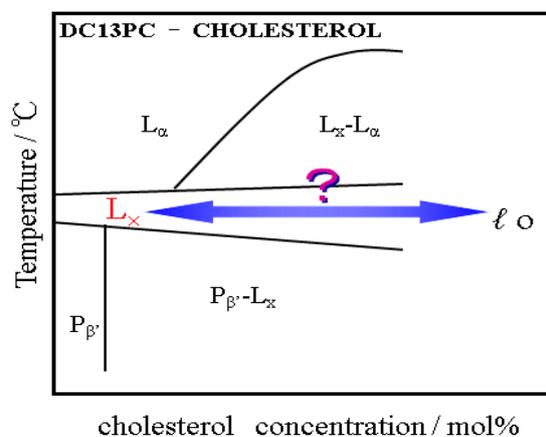
生体膜は細胞の内側と外側を区別する境界の役割だけでなく、細胞の構造や機能においても重要な役割を果たしている。その研究は、生物や化学などの分野で進められている。生体膜は脂質、コレステロール、タンパク質などから構成されており、それらの成分が微妙に異なるだけで構造が変化するという性質があり、成分と構造との詳細な関係は未だに解明されていない。我々は、リン脂質とコレステロールの二成分からなる生体膜のモデル物質を作成することで、成分と構造との詳細な関係を調べようと試みた。モデル物質を2成分に限定する理由は、系を単純化し、変化の原因と結果を明確にするためである。リン脂質-コレステロール混合系について、これまでいくつか測定されているが、未だ測定されずシミュレーションだけで検討されたものが多い[1]。我々は、未だ詳細な測定が行われていないリン脂質である DC13PC(1,2-ditridecanoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine)とコレステロール混合系の性質を調べた。

DC13PC の純粋系には、 L_x 相という、どの相に属しているのか分かっていない相が存在することが最近報告された [2]。一方、リン脂質-コレステロール混合系においてコレステロールを高濃度にしてゆくと ℓ_o 相

(liquid-ordered phase : 秩序液体相) に変化することが以前から報告されている。我々は、これまでの研究結果から L_x 相は ℓ_o 相であると仮説をたてた (Fig.1)。この仮説を実際に確かめるために、コレステロールの混合割合を連続的に変えて測定し、相図上で L_x 相と ℓ_o 相が繋がっていることを証明する。試料の熱容量は、当研究室で開発した高感度 DSC によって測定し、解析することで相図にして評価した。

[実験]

試料は DC13PC(Avant Polar Lipids)とコレステロール(Sigma Chemical Co.)を溶媒 (クロロホルム : メタノール=3 : 1) に溶かして混合した。次に超音波で攪拌しながら窒素ガスを吹き付けて溶媒を飛ばし、真空中に 12 時間置いて溶媒を除去した。その後、リン脂質濃度が 5~25 wt%になるように緩衝溶液 (HEPES 50 mM、pH 7.0) を加えて試料を調製した。これを純金製のセル (直径 7.5 mm、高さ 1.8 mm) に約 4 mg 封入した。高感度 DSC によって熱容量を測定した。



cholesterol concentration / mol%
Fig1. expectation of phase diagrams of DC13PC-cholesterol mixture system.

[結果・考察]

<相転移の機構>

DC13PC 純粋系を高温にしてゆくと、リップルゲル相 (P_{β} 相)、 L_x 相、液晶相 (L_{α} 相) に相転移する。それぞれの転移現象は主転移、 L_x - L_{α} 相転移と呼ばれている (Fig. 2)。リップルゲル相は、電子顕微鏡で観察すると表面が波のような形をしており、脂質分子の炭素鎖は傾斜していると考えられている。液晶相は生体膜における脂質の大部分と考えられており、脂質分子の炭素鎖はかなりの乱れがある。 L_x 相はリップルゲル相と液晶相の中間の性質を持つと考えている。

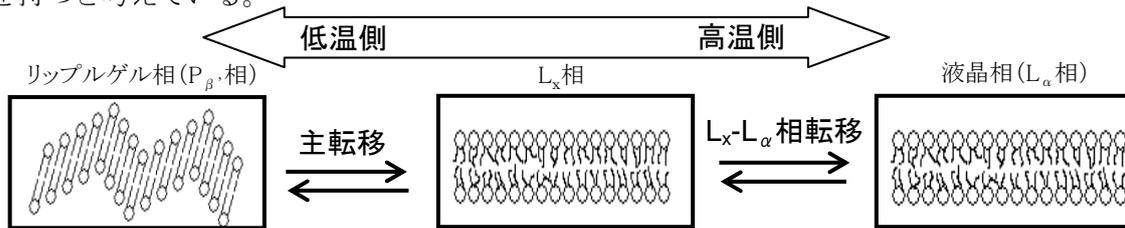


Fig2. Phase transition mechanism of pure DC13PC system.

<DC13PC-コレステロール混合系の相図>

各コレステロール濃度における降温過程の熱容量測定結果を Fig. 3 に示す。主転移と L_x - L_{α} 相転移の 2 つの熱異常が観測された。コレステロール濃度を上げてゆくと主転移は低温側へ、 L_x - L_{α} 相転移は高温側へ変化してゆくという結果が得られた。熱異常の鋭さは DC13PC 純粋系が最も鋭く、コレステロール濃度が高まるにつれて熱異常は幅広くなっていることが分かった。各コレステロール濃度と転移温度をまとめた相図を Fig. 4 に示す。コレステロール濃度 21mol% を境にして L_x - L_{α} 相転移は急激に転移温度が上昇していくことが分かった。また、コレステロール濃度 21mol% 以上では主転移は測定できなかった。相図ではコレステロール濃度を連続的に変えても L_x 相と ℓ_o 相を隔てる曲線は無く、最初に予想していた『 L_x 相は ℓ_o 相である』という仮説はほぼ証明できると考えられる。

[参考文献]

- [1] Ipsen et. al, J. Biochem. Biophys. Acta905, 1987, 162-172
- [2] F. Okazaki, Y. Saruyama, H. Yao, Abstracts of 46th Annual Meeting of the Japan Society of Calorimetry and Thermal Analysis, 2010, 2B1420.

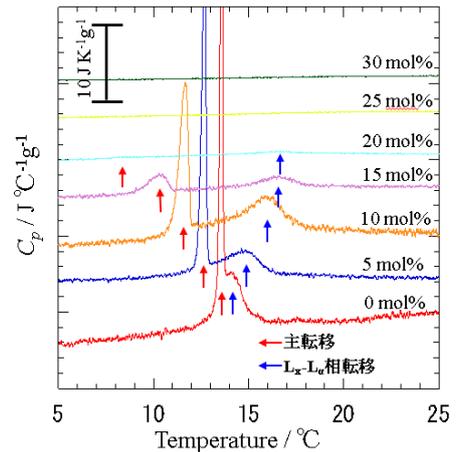


Fig3. dependency of heat capacity with each cholesterol concentrations.

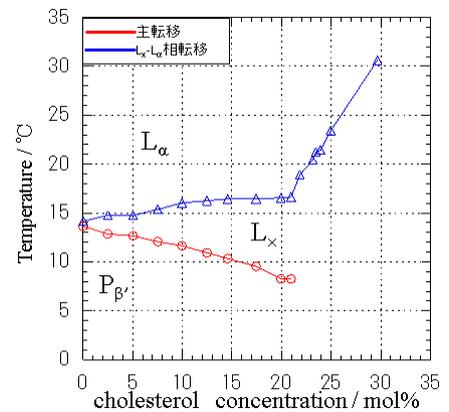


Fig4. phase diagram of DC13PC-cholesterol mixture system.