

4P-055

ホスファチジルコリン脂質膜の物性・構造に対する アシル鎖へのフッ素原子導入効果

(群馬大・院工¹、産総研・幹細胞工研セ²) 吉野 賢¹、高橋 浩¹、高木 俊之²、馬場 照彦²
森田 康平¹、網井 秀樹¹、金森敏幸²、園山 正史¹

Effect of partial fluorination in the acyl chains on physical properties and structure of DMPC membrane

(Gunma Univ.¹, AIST²) Masaru Yoshino¹, Hiroshi Takahashi¹, Toshiyuki Takagi², Teruhiko Baba²,
Kohei Morita¹, Hideki Amii¹, Toshiyuki Kanamori², Masashi Sonoyama¹

【序】膜タンパク質の可溶化や再構成において、界面活性剤や人工脂質等は極めて重要な役割を果たすが、市販の試薬を用いた場合、膜タンパク質の失活等、致命的な困難に直面することが多く、新たな界面活性剤や人工脂質の開発が強く望まれている。近年高木らは、膜タンパク質を安定に再構成することを目的に、疎水鎖末端側の水素原子を系統的にフッ素原子に置換した一連の三重結合型部分フッ素化リン脂質を新たに設計・合成し、単分子膜の物性を調べた¹⁻²。その結果、末端ペルフルオロ鎖長の増加とともに平衡拡張圧は増加し、より安定な単分子膜の形成が示されたが、その効果はペルフルオロブチル基ではほぼ一定になることがわかった。そこで本研究では、膜タンパク質の研究に広く用いられる飽和型リン脂質の1つである dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) にフッ素原子を導入した 1,2-di(11,11,12,12,13,13,14,14,14-nonafluorotetradecanoyl)-sn-glycero-3-phosphatidylcholine (diF4H10-PC、図1)を新たに合成し、その熱および界面物性を調べ、DMPCと比較・検討した。

【実験】本研究で用いた新規部分フッ素化リン脂質 diF4H10-PC は高木らが開発した方法¹⁻³を組み合わせることによって合成した。得られた最終生成物は、ODS/HPLCにおいて単一の溶出ピークを示した。DMPCはAvanti Polar Lipids, Inc.から購入し、そのまま用いた。示差走査熱量測定にはSEIKO DSC6100を用いた。試料の濃度は100 mM、昇温速度は1 K/minとした。脂質単分子膜の表面圧-面積等温曲線は、KSV Instrumentsの装置を用いて30 °Cにおいて測定した。さらに、脂質二重膜中の親水性・疎水性界面付近のpolarityを、環境応答型蛍光色素LAURDANを用いて調べた。361 nm励起による蛍光スペクトルを島津RF-5300により測定し、Parasassiらにより提案されたpolarityを反映する指標Generalized Polarization (GP)値⁴を求めた。

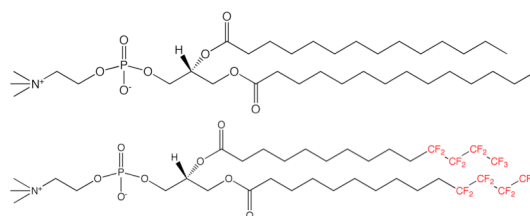


図1. 本研究に用いたリン脂質の化学構造
(上:DMPC、下:diF4H10-PC)

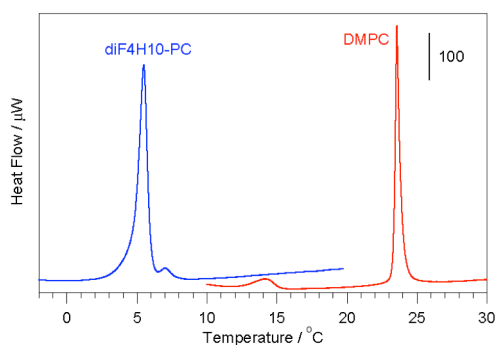


図2. リン脂質リポソームのDSC曲線

【結果と考察】 diF4H10-PC リポソームの DSC 測定 (図2) で見られた 5.4 °C の鋭い吸熱ピークは、広角X線回折ピークの温度変化の結果を考慮すると、ゲル-液晶転移に由来すると考えられる。DMPC のゲル-液晶転移温度に比べて、およそ 18 °C の低下が見られた。一方、転移エンタルピーは部分フッ素化により、18.9 kJ/mol から 30.0 kJ/mol へ増加した。

液晶相における diF4H10-PC と DMPC の単分子膜の界面物性を比較するために、30 °C における表面圧 (Π)-面積(A)等温曲線を測定した結果、いずれの脂質も液体膨張膜の特徴を示した(図3)。 Π - A 曲線から得られた崩壊圧 Π_c および極限占有面積 A_{limit} はそれぞれ、DMPC では 45.6 ± 0.5 mN/m、 0.715 ± 0.007 nm²/molecule であるの対し、diF4H10-PC では 49.3 ± 0.3 mN/m、 0.857 ± 0.007 nm²/molecule に大きく増加した。 Π_c の増加は部分フッ素化により単分子膜の安定性が高くなったことを意味し、これはアシル鎖末端へのフッ素原子導入による rigidifying effect である。通常の炭化水素鎖部分と末端ペルフルオロブチル鎖部分の分子鎖の排除体積が異なるため分子間の相互作用が弱まり、その結果 A_{limit} の増加および diF4H10-PC のゲル-液晶相転移温度の大きな低下が引き起こされると考えられる。

脂質二分子膜の親水性・疎水性界面付近の polarity を、LAURDAN 蛍光スペクトルの GP 値により調べたところ、液晶相における diF4H10-PC の GP 値は DMPC に比べて十分に小さい値を示した(図4)。このことは、diF4H10-PC 膜の安定性は高いにもかかわらず、親水性・疎水性界面付近の polarity は高いことを示しており、部分フッ素化リン脂質 diF4H10-PC の持つ興味深い特徴である。この特徴は、末端ペルフルオロブチル鎖部分と炭化水素鎖部分の排除体積の違いに起因すると考えられる。

【結論】 非含フッ素リン脂質 DMPC 膜に比べて、新規部分フッ素化リン脂質 diF4H10-PC 膜は、疎水性・親水性界面の高い polarity と低いゲル-液晶転移温度を示す一方、高い安定性と大きな占有面積を有することが明らかになった⁵。

【参考文献】

1. K. Takai, T. Takagi, T. Baba, T. Kanamori, *J. Fluorine Chem.* **2004**, *125*, 1959.
2. K Takai, T. Takagi, T. Baba, T. Kanamori, *J. Fluorine Chem.* **2008**, *129*, 686.
3. T. Takagi, T. Kanamori, *J. Fluorine Chem.* **2011**, *132*, 427.
4. T. Parasassi, G. D. Stasio, A. d'Ubaldo, E. Gratton, *Biophys. J.* **1990**, *57*, 1179.
5. M. Yoshino, H. Takahashi, T. Takagi, T. Baba, K. Morita, H. Amii, T. Kanamori, M. Sonoyama, *Chem. Lett.* **2012**, in press.

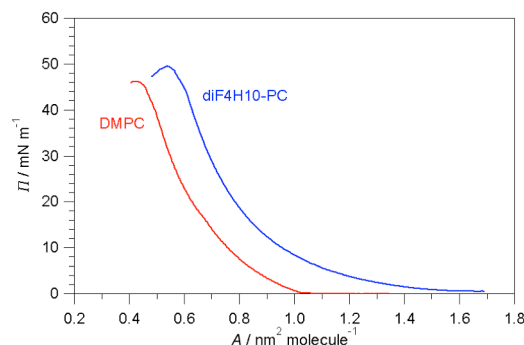


図3. 脂質単分子膜の表面圧-面積等温曲線

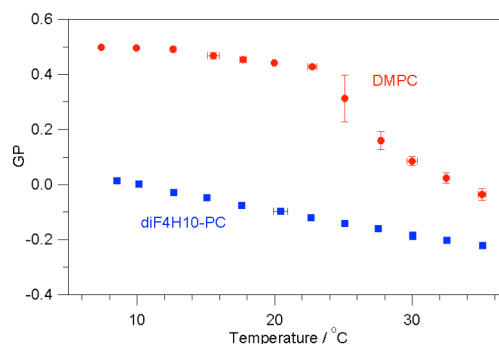


図4. 脂質二分子膜中の LAURDAN 蛍光スペクトルから求めた GP 値の温度変化