


 解説

一連の非対称鎖長脂質, D-erythro-スフィンゴミエリンの ゲル-液晶相転移における非等価鎖の構造的役割

児玉美智子, 川崎祐子

(受取日: 2010年6月4日, 受理日: 2010年7月28日)

Structural Role of Inequivalent Chain Segment of a Series of Asymmetric Chain Length D-erythro-Sphingomyelins in the Gel-to-Liquid Crystalline Phase Transition

Michiko Kodama and Yuko Kawasaki

(Received June 4, 2010; Accepted July 28, 2010)

A series of D-erythro (2S, 3R) sphingomyelins (SMs) was synthesized by the acylation of D-erythro-sphingosylphosphorylcholine. In this synthesis, the acyl chain was varied in length from 16 to 24 carbons at intervals of 2 carbons, in contrast to a fixed length of 18 carbons for the other sphingosine chain. For all the SM aqueous dispersions, reversible and reproducible thermal behavior was observed to show the gel-to-gel and the main gel-to-liquid crystal phase transition in heating DSC scan. The main transition enthalpy (ΔH_M) decreased with increasing the effective chain length (N) per molecule of lipid estimated on the basis of a model structure of SM molecule, which contrasted with the generally accepted phenomenon for lipid-water systems. The decrease in ΔH_M with an increase in N was discussed from the viewpoint of the effect of the inequivalent chain segment in the acyl chain on the chain-chain van der Waals interaction energy that accounts for 2/3 of ΔH_M .

1. はじめに

脂質分子 (lipid) は, 親水頭部を有する極性脂質とコレステロールで代表される非極性脂質に大別され, 実在の細胞膜や生体膜は, この極性脂質分子が会合して形成する2分子膜 (bilayer) を基本構造とする。極性脂質は, 親水頭部がリン酸基から成るリン脂質と, 糖から成る糖脂質の2種に分類される。その他, これらの極性脂質分子は2本の長い炭化水素鎖を持ち, 分子内に親水性頭部と疎水性炭化水素鎖を兼ね備えた生体系での典型的な両親媒性分子 (amphiphilic molecule) である。

上述のリン脂質は, 疎水性骨格部位がグリセロールカス

フィンゴシン (1,3-dihydroxy-2-amino-4-octadecene) かの違いに基づいて, それぞれグリセロリン脂質, スフィンゴリン脂質と呼ばれる。グリセロリン脂質は生体膜, 細胞膜中の脂質成分の50~90 mol% を占め, これら膜の主成分であり, 1900年代の脂質研究はこのリン脂質を中心に進展したと言える。その結果, 膜中のグリセロリン脂質の~50 mol% 以上は親水頭部がフォスホコリン (phosphocholine, PC) 基から成るジアシルフォスファチジルコリン (1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphatidyl- choline, diacyl-PC) であることも明らかにされた。この方向において, diacyl-PC は脂質の物理化学的研究の対象物質として最も多く取り上げられ, このリン脂質に関する今日までの研究報告の数は

膨大である。一方、天然に存在する大部分のスフィンゴリン脂質も diacyl-PC と同様に、親水頭部が PC から成る。このスフィンゴリン脂質は一般にスフィンゴミエリン (N-acyl-sphingosine-1-phosphorylcholine, SM) と呼ばれ、この慣用名は神経を取り囲む膜であるミエリン鞘の名に由来する。代表的スフィンゴリン脂質である SM の研究は 1970 年代の早い時期にすでに始まり、特に diacyl-PC との比較において行われた。¹⁻⁶⁾

Fig.1 は SM(a) と diacyl-PC(b) の分子構造を比較するが、官能基を明瞭にする構造を描く。Fig.1 を参照して、これまでの研究によって明らかにされた両リン脂質の構造上の相違を述べる。^{7,8)} SM(a) では、スフィンゴシン骨格の 2 位炭素 (C-2) のアミノ基 (-NH₂) がモノカルボン酸 (別名: 脂肪酸) によってアシル化され、その結果、アミド基 (-HNCO-) を介してもう一方の炭化水素鎖 (R₁) に連結する。この鎖はアシル基 (-OCR) を含むのでアシル鎖と呼ばれ、このアシル鎖とスフィンゴシン鎖 (R₂) が SM 分子の 2 本の鎖を構成する。一方、diacyl-PC(b) では、グリセロールの sn-1 位と 2 位のそれぞれの炭素に結合する水酸基 (-OH) がモノカルボン酸によってアシル化され、その結果、カルボニルエステル基 (-OCO) を介して 2 本の炭化水素鎖を分子内に供給する。従って、diacyl-PC は分子内に 2 本のアシル鎖 (R₁ と R₂) を持つ。その他、SM はスフィンゴシン骨格の C-3 位に水酸基 (-OH) を有し、C-2 位のアミド基を合わせたこれら官能基は水素結合の受容体と供与体の両方において機能する。一方、diacyl-PC のカルボニ

ルエステル基は水素結合の受容体としてのみ機能する。

Fig.1 に示すように diacyl-PC と SM 分子の界面領域に位置する官能基の種類は異なり、これが関係して、両脂質の界面領域の性質も異なる。全般的には、diacyl-PC 分子に比べ、SM 分子はより高い水素結合形成能を持ち、この水素結合によって隣接分子とより強く相互作用すると言える。これに対して、diacyl-PC 膜の界面では、隣接する PC 分子は分子間に水分子を取り込み、それぞれの PC 分子はその水分子との水素結合を介して膜状に配列する。従って、膜界面での PC 分子間の相互作用は SM 分子間に比べるとかなり弱いと言える。

SM 分子の高い水素結合形成能に着目することで、1990 年代の末に細胞膜や生体膜に対する新しい概念が提唱された。^{9,10)} この概念に基づくと、膜中にカベオラ (くぼみ構造) やラフト (いかだ構造) と呼ばれるドメインが局在し、このドメインには SM とコレステロールが多量に存在することが報告されている。2000 年代に入ると膜中のドメインに多くの研究者の目が向けられ、それに伴って SM 分子そのものに対する研究も活発化した。これに関連して、SM 分子内に見られる“鎖長の著しい非対称性”の問題が重要研究課題として注目され始めた。^{11,12)} 本解説においてはこの問題を取り上げ、われわれの研究結果を基にして、**[i]** 非対称鎖長 SM の持つ非等価鎖は 2 分子膜中でどのような構造的役割を担っているのか; **[ii]** 鎖長の非対称性は、鎖間に働く van der Waals 相互作用に、さらにこの相互作用と強く関係するゲル-液晶相転移エンタルピーにどう影響するのか、これらの問題を順次、取り上げて解説する。

2. 鎖長の非対称性と研究対象物質および それに関する研究の背景

Fig.1 を参照して、まず、鎖長の非対称性を説明する。天然 SM (a) のスフィンゴシン鎖 (R₂) の鎖長はほとんど一定で炭素数 18 から成る。しかし、アシル鎖 (R₁) の鎖長は大きく異なり、炭素数が 16 から 24 に渡る。^{7,8)} 従って、天然の SM はアシル鎖長の異なる分子種から成り、2 本のアシル鎖 (R₁ と R₂) の鎖長がほとんど同じである diacyl-PC (b) と対比される。分子内での鎖長の非対称性はスフィンゴ脂質の特性である。

SM 分子の鎖長の非対称性に関する研究を開始するに当たっては、目的鎖長のアシル鎖を持つ SM を確保しなくてはならない。これまで種々の SM 合成法が開発されたが、どの合成法も複雑で十数段階の過程から成り、最終生成物 SM の収率は極めて低い。^{13,14)} これが関係して、現在、市販されている目的アシル鎖長の SM の分子種は限られ (アシル鎖炭素数が 16 と 18 の 2 種 SM のみ)、diacyl-PC の状況とはかなり異なる。過去、天然の SM の脱アシル化と再アシ

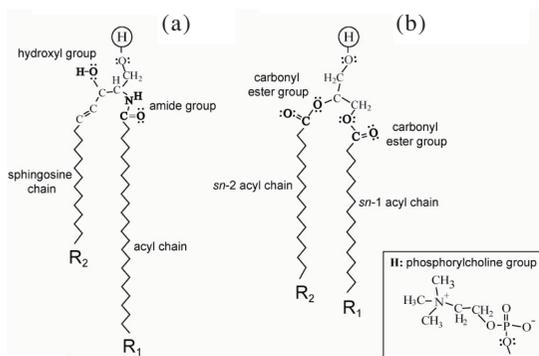


Fig.1 Comparison of two types of phospholipids that have the same phosphorylcholine headgroup, but differ in a backbone moiety.

(a) N-acyl-sphingosine-1-phosphorylcholine is the most typical sphingophospholipid, generally called sphigomyelin and designated SM.

(b) 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine is the most typical glycerophospholipid, generally called PC and designated diacyl-PC.

ル化に依る比較的簡易な半合成法が多々用いられた。¹⁵⁻¹⁷⁾しかし、この方法では目的とするD-erythro体(天然のSMはこの配座を選択している)¹⁸⁾とそれの立体異性体(水酸基の立体配置が異なる)であるL-threo体の混合物が最終生成物として得られ、これら異性体をクロマトグラフィ的手法によって分離することは不可能であることも報告されている。¹⁶⁾これらが関係して、2000年までの大部分のSM研究は、研究対象物質として半合成SMが用いられた。しかし、2000年代の初めに、細胞膜が係わる実在の生化学反応におけるD-erythro配座の構造的役割が明らかにされた。この方向から、細胞膜のモデル脂質としてのSMはD-erythro体であることが必須であることも報告された。¹⁹⁾これらを踏まえると、上述した我々の研究目的を達成する為には、アシル鎖長の異なる一連のD-erythro-SMの入手が不可欠である。幸いにも、近年Avanti Polar Lipids社がD-erythro-SMの前駆体であるD-erythro-スフィンゴシルフォスホリルコリン(1-phosphorylcholine-2-amino-3-hydroxy-4-octadecene)の大量合成に成功し、現在、市販されている(但し、発注から入手までに少なくとも6ヶ月~1年を要する)。我々もこの前駆体を購入し、これに目的鎖長の脂肪酸をアシル化することで、炭素数が16, 18, 20, 22, 24のそれぞれのアシル鎖を持つ一連のD-erythro-SMを合成した。^{19,20)}さらに、シリカゲルクロマトグラフィによる精製を繰り返すことで、純度99%以上の一連のD-erythro-SMを得ることに成功した(合成、精製、同定の詳細に関しては、われわれの原論文を参照)。²¹⁾

3. 非対称鎖長脂質の2分子膜充填配列

これまでの非対称鎖長脂質の2分子膜充填配列に関する研究は、対象物質として合成によって得られた非対称鎖長のdiacyl-PCを用いて行われた。⁷⁾すなわち、Fig.1(b)に示すdiacyl-PCの一方のアシル鎖を脱アシル化し、続いて目的鎖長の脂肪酸を再アシル化することで非対称鎖長のdiacyl-PCは合成された。diacyl-PCが代用されたのは、2項で述べたことに基づく。この非対称鎖長diacyl-PCの研究は、X線回折を主たる研究手段として行われたが、Fig.1(b)に示すsn-1とsn-2のアシル鎖の鎖長を比較し、鎖長の非対称性の大・小からFig.2に示す3型の2分子膜充填配列を提唱した。これらの配列はゲル相を対象とし、アシル鎖に回転異性体を含む液晶相には適用されないことを断わっておく。(a)は等価な鎖長に対応し、単分子膜を形成するそれぞれの脂質分子のメチル基末端が2分子膜の中央で互いに向き合って配列する。(b)と(c)は鑄込み、または組み合わせ(interdigitation)充填と呼ばれ、鎖長の非対称性の増加に伴って(b)から(c)に移行する。(b)の部分鑄込み充填では、一方の膜の脂質分子のより短い鎖のメチル基末端が他方の膜

の脂質分子のより長い鎖のメチル基末端と互いに向き合って配列する。X線回折測定からは、この鑄込み充填が特徴的電子密度プロフィールを示すことが報告されている。^{11,22)}

(c)の完全鑄込み充填では、一方の膜の脂質分子のより短い鎖のメチル基末端が他方の膜の脂質分子のより短い鎖のメチル基末端と互いに向き合って配列し、この配列を挟んで両脂質分子のより長いアシル鎖がそれぞれ並列する。この鑄込み充填においては、親水頭部が取り込む鎖の数は3本であり((a)と(b)では2本)、これは鎖間距離に依存するvan der Waals相互作用(詳しく後述)が増す原因となる。その結果、完全鑄込み充填を選択するゲル相のエンタルピーは低下するので(換言すれば、エンタルピー的に安定化される)、このゲル相から液晶相への相転移エンタルピーは、他の充填様式に比べて、かなり大きい値を示す。これが完全鑄込み充填の特徴である。²³⁾

4. 鎖間に働く van der Waals 相互作用エネルギー

長鎖両親媒性分子(超分子)の特徴は、分子集合体を形成する能力を備えていることである。この能力は鎖間に作用するvan der Waals引力に由来し、この引力に対する脂質のmole当たりの近似的エネルギー、すなわちvan der Waals相互作用エネルギー(U_{vdw})は式(1)で与えられる。^{24,25)}

$$U_{vdw} = -2.4N \times (r_0/r)^5 \quad (1)$$

式(1)に示す U_{vdw} は kcal mol^{-1} lipidの単位で表される。 r_0 と r は0 Kおよび目的温度での鎖間距離である。絶対温度0 K、すなわち $r=r_0$ の時、 CH_2 基のmole当たりの U_{vdw} は -2.4 kcal であるので $N=1$ を与える。従って、 N は鎖間相互作用に寄与する分子当たりの有効鎖長を炭素数で表わす。式(1)が示す様に、目的温度での U_{vdw} は N と r^{-5} に依存し、位置エネルギーとして定義される。物質が有する内部エネルギーは運動エネルギーと位置エネルギーから成り、 r の減少に伴って U_{vdw} は負の方向に増大し、その結果、内部エネルギー(=エンタルピー)は低下する。また、 N の増大も U_{vdw} を負の方向に増大させ、内部エネルギーが低下する要因となる。

ゲル状態に在る脂質2分子膜は昇温によって液晶状態に転移する。実在の細胞膜を構成する大部分の脂質は液晶状態を選択しているが、その膜中でスフィンゴ脂質はゲル状態に在ることが報告されている。これに関連して、示差走査熱量測定(DSC)から得られるゲル-液晶相転移エンタルピー(ΔH_M)はゲル相に関する多くの情報を与えてくれる。これまでの研究から、van der Waals相互作用エネルギーの ΔH_M への寄与は極めて大きく、式(2)で定義する ΔU_{vdw} 、すなわち—液晶相のvan der Waals相互作用エネルギー($U_{vdw}(l.c)$)とゲル相のvan der Waals相互作用

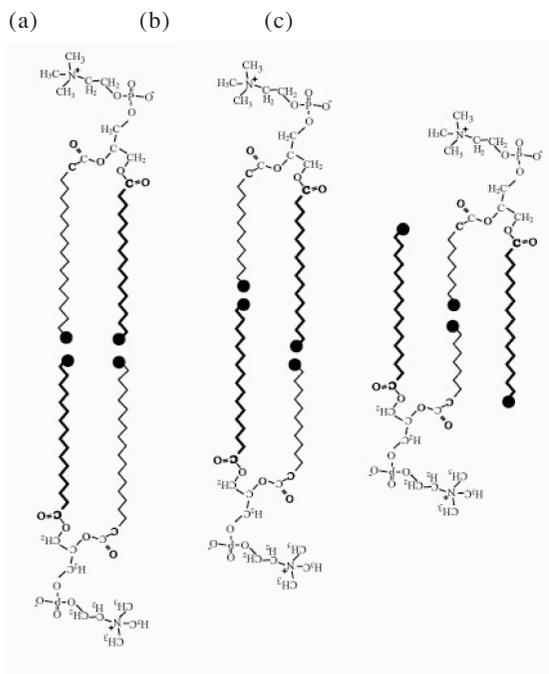


Fig.2 Three types of bilayer packing arrangements in the gel phase. Terminal methyl ends of chains in lipid are shown by a mark (●). (a) bilayer packing arrangement for symmetric chain length lipid; (b) partial integration for asymmetric chain length lipid; (c) full (mixed) interdigitation for highly asymmetric length lipid.

エネルギー ($U_{vdw}(g)$) の差 ΔU_{vdw} が ΔH_M の 2/3 を占めることが報告されている。^{25,26)}

$$\begin{aligned} \Delta U_{vdw} &= U_{vdw}(l.c) - U_{vdw}(g) \\ &= 2.4N ((r_g/r_c)^5 - (r_g/r_l.c)^5) \end{aligned} \quad (2)$$

式(2)において, r_g と $r_{l.c}$ は相転移以下と以上の温度で出現するゲル相と液晶相の鎖間距離をそれぞれ示す。

5. アシル鎖長の異なる一連の D-erythro-SM のゲル-液晶相転移エンタルピー (ΔH_M)

天然 SM のアシル鎖の鎖長は炭素数が 16 から 24 に渡るので, 炭素数が 16, 18, 20, 22, 24 のアシル鎖をそれぞれ持つ一連 D-erythro-SM を合成, 精製した。これらの SM はアシル鎖長に基づいてそれぞれ C16-SM, C18-SM, C20-SM, C22-SM, C24-SM と表す (Fig.4)。これら SM のそれぞれの薄膜を作製し, 純水に単独で懸濁することで, 5 種 SM のベシクル分散液を調整した。Fig.3 はこれら SM 分散液の昇温 DSC 曲線群を示す。全ての SM は一般に低温領域にサブ/前駆転移と呼ばれる低温ゲル相から高温ゲル相へのゲ

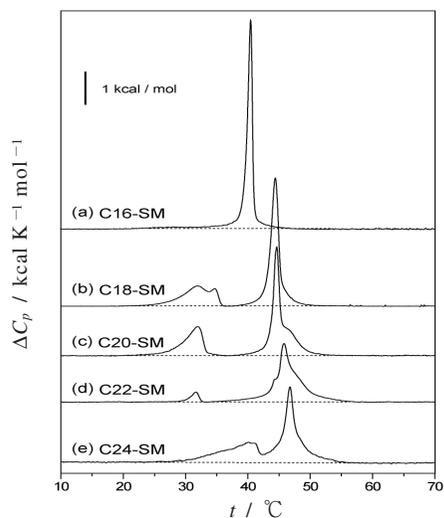


Fig.3 Heating scans by DSC for extremely dilute aqueous dispersions of the series D-erythro-sphingomyelins (SMs). All the thermal behavior was reversible and reproducible upon reheating.

ル相内転移と, 高温領域に高温ゲル相から液晶相の主転移を示す。この主転移に伴われるエンタルピー変化量 (ΔH_M) と主転移温度 (T_M) を Table 1 に示す。さらに, ΔH_M と T_M を式(1)に示す有効鎖長 N に対してプロットした。5 種 D-erythro-SM の N 値の見積もりは, Fig.4(a) に示すこれら SM 分子のモデル構造を基にして式 (3) から算出した。これらモデル構造はコンピュータープログラム (Winmostar Tencube Lab, Tokyo, Japan) と PDB ファイル (Biochemical compounds Declarative Database, <http://www.biocheminfo.org/klotho/>) を用いて作製した。Fig.4(b) は C24-SM のモデル構造の拡大図を示す。この拡大図から, スフィンゴシン鎖は C(5)-C(6) 結合にゴーシュ配座を挿入することで分子内アシル鎖と平行に並ぶ。^{7,8,27)} 従って C(6) から C(18) までのスフィンゴシン鎖が有効鎖長と見なされる。一方, アシル鎖のアシル基炭素 (すなわち C(1)) と α 炭素 (すなわち C(2)) は 2 分子膜表面に平行に配列するので, これら 2 個の炭素は鎖間相互作用に関与しないことが判る。²⁸⁾ 従って, 鎖間相互作用に関与する分子当たりの有効鎖長 N は, 炭素数表示による式(3)で定義される。

$$N = 13 (= 18 - 5) + (n - 2) \quad (16 \leq n \leq 24) \quad (3)$$

式(3)に示す第一項の 13 はスフィンゴシン鎖の寄与に, 第二項の $(n - 2)$ はアシル鎖の寄与にそれぞれ対応し, n はアシル鎖の炭素数を表す。Table 1 にそれぞれの SM の N 値を加える。式(3)から, C16-SM ではスフィンゴシン鎖とア

Table 1 Thermal data associated with the gel-to-gel and the gel-to-liquid crystal transition of the series D-erythro-SMs.

SM	$T_{g-g} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H_{g-g} / \text{kcal mol}^{-1}$	$T_M / ^\circ\text{C}$	$\Delta H_M / \text{kcal mol}^{-1}$	N	ΔC
C16-SM	27.5	$0.22 \pm 0.07^*$	40.4	8.02 ± 0.04	27	1
C18-SM	33.4	3.64 ± 0.06	44.1	7.74 ± 0.04	29	3
C20-SM	32.4	3.35 ± 0.06	44.6	7.53 ± 0.06	31	5
C22-SM	31.7	0.53 ± 0.04	45.8	7.32 ± 0.07	33	7
C24-SM	44.0	4.32 ± 0.08	46.7	7.21 ± 0.07	35	9

T_{g-g} is the temperature of the gel-to-gel phase transition.

ΔH_{g-g} is the enthalpy change of the gel-to-gel phase transition.

T_M is the temperature of the gel-to-liquid crystal phase transition.

ΔH_M is the enthalpy change of the gel-to-liquid crystal phase transition.

N is the total effective chain length given in the number of carbon atoms per molecule of lipid.

ΔC is the difference in the number of carbon atoms between the effective sphingosine and acyl chains per molecule of lipid.

*) Standard deviations of DSC measurements.

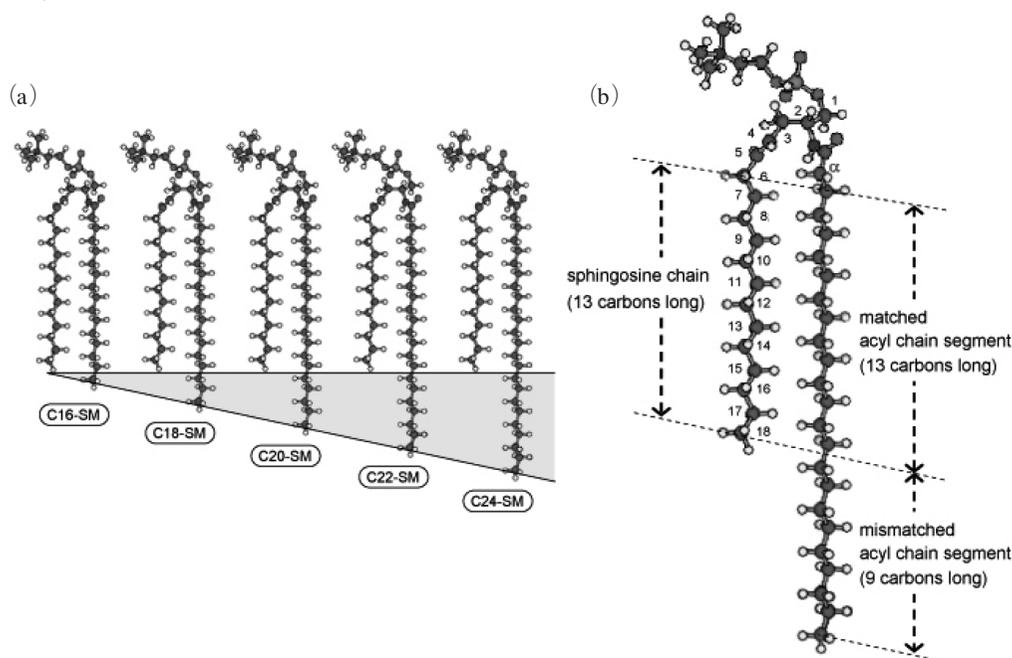


Fig.4 (a) Structural models of the series D-erythro-sphingomyelins (SMs). (b) The model structure of the C24-SM is shown in enlarged scale.

シル鎖の有効鎖長 N への寄与がほぼ等しいことが示され、このSMは対称鎖長脂質 (symmetric chain length lipid) と見なされる。一方、 $16 < n$ のC18-SM, C20-SM, C22-SM, C24-SMに関しては $13 < (n - 2)$ が成立するので、非対称鎖長脂質(asymmetric chain length lipid) に分類される。**Fig.5(a)**と**(b)**は、 T_M と ΔH_M を N に対してそれぞれプロッ

トする。比較のために、対称鎖長diacyl-PCの T_M と ΔH_M を**Fig.5(a)**と**(b)**にそれぞれ加える。²³⁾ diacyl-PCの有効鎖長 N の見積もりは、アシル鎖のC(1)とC(2)を除外して、²⁸⁾ 次式、 $N = 2(n - 2)$ から見積もった。**Fig.5(a)**と**(b)**は、一連の両脂質の T_M と ΔH_M が共に有効鎖長 N に依存することを示すが、両脂質は明らかに異なる挙動を示す。すなわち、

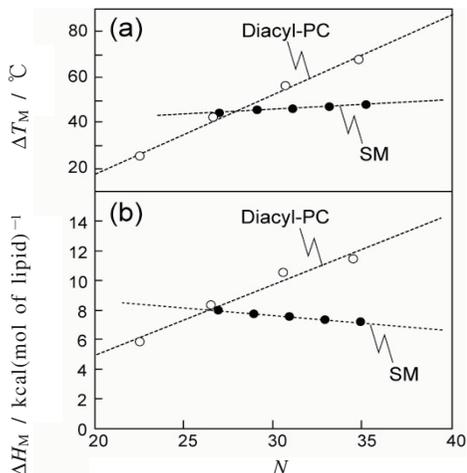


Fig.5 (a) The transition temperature T_M and (b) the transition enthalpy ΔH_M associated with the main gel-to-liquid crystalline phase transition for the series D-erythro-sphingomyelins (SMs) (●) are plotted against the total effective chain length N expressed as the number of carbon atoms per molecule (see Table 1). T_M and ΔH_M of the corresponding transition for the series diacyl-PCs (○) are compared in a and b of this figure, respectively.

(1) 一連のD-erythro-SMに対する T_M vs. N 曲線の勾配 (CH_2 基当たり 0.45°C) は一連のdiacyl-PCの対応する曲線の勾配 (CH_2 基当たり 3.5°C) よりもかなり小さい; (2) 一連のD-erythro-SMに対する ΔH_M vs. N 曲線は負 (マイナス) の勾配 (CH_2 基の mole 当たり -0.1 kcal) を与え、一連のdiacyl-PCが示す勾配 (CH_2 基の mole 当たり 0.48 kcal) とは全く対照的である。

これまでの研究からは、Fig.5の一連のdiacyl-PCが示すように、 T_M と ΔH_M は共に有効鎖長の増大に伴って増加することが明らかにされている。しかしながら、この現象に反して、一連のD-erythro-SMの T_M は有効鎖長の増大に伴ってわずかに増加し、さらに、最も注目すべき点は、 ΔH_M の有効鎖長の増大に伴うわずかな減少である。上述したように、C16-SM以外のSMは非対称鎖長脂質と見なされる。一連のD-erythro-SMに見られた特異的挙動を非対称鎖長SMの2分子膜様充填配列から検討する。

7. 非対称鎖長SMの部分鑄込み充填配列

半合成のC24-SM (30%のL-threo-C24-SMを含む) を用いたX線回折研究から、このSMはFig.2(b)に示す部分鑄込み充填配列を選択することが報告されている。^{11,22)} 従っ

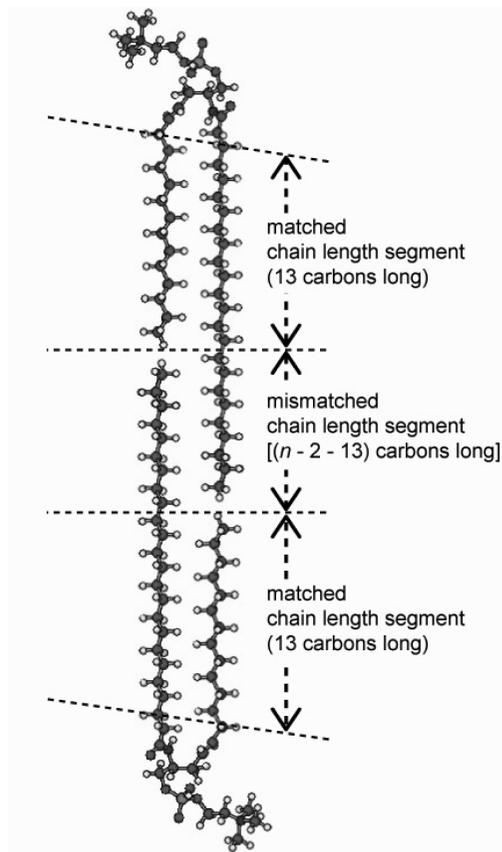


Fig.6 A partial interdigitation in bilayer packing arrangement for the highly asymmetric chain-length C24-SM. The partial interdigitation explains that the effective chain region in the bilayer is divided into three parts of matched-, mismatched-, and matched-chain length segments. A point to be noted in this figure is that the mismatched chain length segments from two opposing lipids appose with each other across the geometric center of the bilayer.

て、我々もそれに従う。1例として、D-erythro-C24-SMの2分子が形成する部分鑄込み充填配列をFig.6に示す。アシル鎖とスフィンゴシン鎖の有効鎖長の差 (ΔC) は式(3)に基づいて次式、 $\Delta C = (n - 2) - 13$ で与えられる。

ΔC の値をTable 1に加える。従って、Fig.4(b)に示すように、非対称鎖長SMのアシル鎖は、鎖長がスフィンゴシン鎖と同じである等価鎖の部分と、鎖長が ΔC によって評価される非等価鎖の部分から構成される。この非対称鎖長SMが部分鑄込み充填配列を選択すると、2分子膜の有効鎖領域は、Fig.6に示す等価鎖、非等価鎖、等価鎖の3部分から

構成される。これに関して注目すべきことは、互いに向き合った非対称鎖長SM分子のそれぞれが持つ非等価鎖は2分子膜の幾何学的中央を横切って並列することである。この部分鑄込み2分子膜に基づいて一連D-erythro-SMを比較すると、Fig.6に示す等価鎖の鎖長は全SMで等しく、これに対して非等価鎖の鎖長 (ΔC) はアシル鎖長の増大に伴って増加することが理解される (Table 1 参照)。ここで再度、Fig.4のSM分子のモデル構造に着目する。ゲル状態の炭化水素鎖は一般にトランス-zigzag配座を選択していることが知られている。しかし、その鎖の末端メチル基はゲル状態においても回転運動を行い、その結果、このメチル基が占有する体積はエチル基の体積の2倍にも達することが報告されている。²⁴⁾ このかさ張ったメチル基の回転運動は、隣接するアシル鎖の非等価鎖部分の配列を乱す。^{7,29)} 具体的には、非等価鎖のC-C結合に120°回転に基づくゴーシュ配座を誘導する。すなわち、トランスからゴーシュ配座への異性化が生じる。この現象は、アシル鎖の非等価鎖部分が T_M 直下の温度領域 (高温ゲル相として存在する) ですでに、部分的に融解していることを提示する。従って、アシル鎖の非等価鎖部分は、主転移に直接、かつ熱力学的に寄与しないことが示唆される。この見解に基づく、主転移に寄与するアシル鎖は等価鎖部分のみであり、この等価鎖の鎖長は一連のD-erythro-SMにおいて全て等しい。従って、一連のD-erythro-SMにおいて主転移に寄与する分子当たりの鎖長は全て等しく、炭素数で表わすと26 (=13 (スフィンゴシン鎖の寄与) + 13 (アシル鎖の寄与)) と見積もれる。従って、Fig.5(b)の ΔH_M vs. N 曲線が示す挙動は、アシル鎖の非等価鎖部分が主転移に寄与しないことを証明する。

8. 非等価鎖のvan der Waals 相互作用 エネルギーへの寄与

Fig.5(b)において ΔH_M は N の増大に伴ってわずかに減少する。7項で、主転移に寄与する分子当たりの鎖長は一連のD-erythro-SMにおいて全て等しいことを述べた。従って、 ΔH_M の N への依存性を考慮すると、 ΔH_M vs. N 曲線の勾配はゼロであるのが妥当であろう。しかしながら、 ΔH_M は N の増大に伴って僅かであるが減少する。最後に、この現象を ΔH_M の大部分を占めるvan der Waals相互作用エネルギーの観点から議論する。²⁴⁻²⁶⁾

これまでの研究から、液晶相のエンタルピーとゲル相のエンタルピーとの差に対応する ΔH_M の内容に関して次の事柄が明らかにされている。鎖のトランスからゴーシュ配座への回転異性化に伴われるエンタルピー変化量 (C-C結合のmole当たり約0.5 kcal) は平均して ΔH_M の30%を占める。上述したように、本研究の5種SMの主転移に寄与する鎖長 (炭素数で26) は等しいので、鎖のトランスからゴー

シュ配座への回転異性化に伴われるエンタルピー変化量はこれらSMにおいて等しいと見なされる。また、親水頭部の ΔH_M への寄与は5%程度と見積もられ、5種SMは同じPC親水頭部を持つので、親水頭部の ΔH_M への寄与も5種SMでは等しいと見なされる。従って、我々によって明らかにされた ΔH_M の N に伴う減少は、 ΔH_M の残り65%を占める鎖間van der Waals相互作用エネルギーに起因すると考えられる。そこで、4項で議論した式(2)に着目する。

式(2)の N 値は5種SMでは等しく26となるので、ゲル相と液晶相の鎖間距離 r_g と r_{lc} が ΔU_{vdw} の決定因子となる。この方向において、我々は再び主転移直下温度で出現する高温ゲル相のアシル鎖が含む非等価鎖部分の部分融解に目を向ける。この非等価鎖部分はこれに連結する等価鎖部分に多少の構造的影響を与えるだろう。その結果、主転移に寄与するこの等価鎖は隣接する鎖長の等しいスフィンゴシン鎖への距離を広げられることを強いられる。これは式(2)が示す r_g の増大を意味する。より長い非等価鎖はより多くのゴーシュ配座を導入することで、部分融解をより強めるだろう、その結果、それに続く等価鎖はスフィンゴシン鎖との距離をより広げることになる。これに基づく、 r_g は次の順で増大する：C16-SM < C18-SM < C20-SM < C22-SM < C24-SM。従って、 r_g^{-5} はC24-SM < C22-SM < C20-SM < C18-SM < C16-SMの順で増大する。一方、鎖が全体に亘って融解している液晶相では、5種SMの r_{lc} はほとんど変わらないことが推測される。5種SMの r_{lc} がほとんど等しいと仮定することで、式(2)の ΔU_{vdw} は r_g^{-5} と同じ順序で、すなわちC24-SM < C22-SM < C20-SM < C18-SM < C16-SMの順で、増大することが理解される。この結果を反映して、Fig.6(b)に示すように、 ΔH_M もこの順序で、すなわち N の増大に伴って減少することが説明される。

9. 非対称鎖長脂質の非等価鎖部分の役割

上述の結果から、非対称鎖長脂質が形成する部分鑄込み2分子膜のゲル相の特性は次のように集約される：(1) 主転移直下温度に出現する一方のより長い鎖は、他方のより短い鎖と鎖長が等しい等価鎖部分と残りの非等価鎖部分に分けられる。この非等価鎖部分は部分融解を伴い、従って、主転移に寄与しない。等価鎖部分と他方のより短い鎖が主転移に寄与する；(2) 部分融解した非等価鎖部分は、主転移に寄与する等価鎖間の距離を広げる。この鎖間距離の増大は、ゲル相の鎖間van der Waals相互作用エネルギーを減少させる (エンタルピー的に高い状態に移行する)。これを反映して、このゲル相から液晶相の相転移に伴われる鎖間van der Waals相互作用エネルギー変化量は減少するので、その結果、主転移エンタルピーも減少する。

文 献

- 1) Y. Barenholz, J. Suurkuusk, D. Mountcastle, T. E. Thompson, and R. L. Biltonen, *Biochemistry* **15**, 2441 (1976).
- 2) W. I. Calhoun and G. G. Shipley, *Biochim. Biophys. Acta* **555**, 436 (1979).
- 3) T. N. Estep, W. I. Calhoun, Y. Barenholz, G. G. Shipley, and T. E. Thompson, *Biochemistry* **19**, 20 (1980).
- 4) R. Cohen, Y. Barenholz, S. Gatt, and A. Dagan, *Chem. Phys. Lipids* **35**, 371 (1984).
- 5) P. K. Sripada, P. R. Maulik, J. A. Hamilton, and G. G. Shipley, *J. Lipids Res.* **28**, 710 (1987).
- 6) P. R. Maulik, D. Atkinson, and G. G. Shipley, *Biophys. J.* **50**, 1071 (1986).
- 7) C. Huang and J. T. Mason, *Biochim. Biophys. Acta* **864**, 423 (1986).
- 8) R. Koynova and R. M. Caffrey, *Biochim. Biophys. Acta* **1255**, 213 (1995).
- 9) K. Simons and E. Ikonen, *Nature* **387**, 569 (1997).
- 10) A. Rietveld and K. Simons, *Biochim. Biophys. Acta* **1376**, 467 (1998).
- 11) P. R. Maulik and G. G. Shipley, *Biophys. J.* **69**, 1909 (1995).
- 12) Xin-Min. Li, J. M. Smaby, M. M. Momsen, H. L. Brockman and R. E. Brown, *Biophys. J.* **78**, 1921 (2000).
- 13) K. S. Bruzik, *Biochim. Biophys. Acta* **939**, 315 (1988).
- 14) Hoe-Sup Byun, J. A. Sadlofsky, and R. Bittman, *J. Org. Chem.* **63**, 2560 (1998).
- 15) R. Cohen, Y. Barenholz, S. Gatt, and A. Dagan, *Chem. Phys. Lipids* **35**, 371 (1984).
- 16) P. K. Sripada, P. R. Maulik, J. A. Hamilton, and G. G. Shipley, *J. Lipids Res.* **28**, 710 (1987).
- 17) M. Kodama, M. Abe, Y. Kawasaki, K. Hayashi, S. Ohira, H. Nozaki, C. Katagiri, K. Inoue, and H. Takahashi, *Thermochim. Acta* **416**, 105 (2004).
- 18) D. Shapiro, H. M. Flowers, and S. Spector-Shefer, *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 374 (1959).
- 19) B. Ramstedt and J. P. Slotte, *Biophys. J.* **76**, 908 (1999).
- 20) B. Ramstedt and J. P. Slotte, *Biophys. J.* **77**, 1498 (1999).
- 21) M. Kodama and Y. Kawasaki, *Chem. Phys. Lipids*, **163**, 514 (2010).
- 22) H. Takahashi, T. Hayakawa, H. Kawasaki, K. Ito, T. Fujisawa, M. Kodama, and T. Kobayashi, *J. Appl. Cryst.* **40**, 312 (2007).
- 23) L. Chen, M. L. Johnson, and R. L. Biltonen, *Biophys. J.* **80**, 254 (2001).
- 24) J. F. Nagle and D. A. Wilkinson, *Biophys. J.* **23**, 159 (1978).
- 25) J. F. Nagle, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **31**, 157 (1980).
- 26) D. A. Wilkinson and J. F. Nagle, *Biochemistry* **20**, 187 (1981).
- 27) I. Pascher and S. Sundell, *Chem. Phys. Lipids* **20**, 175 (1977).
- 28) J. T. Mason and C. Huang, *Lipids* **16**, 604 (1981).
- 29) J. T. Mason, C. Huang, and R. L. Biltonen, *Biochemistry* **20**, 6086 (1981).

要 旨

一連のD-erythro-スフィンゴミエリン (SM) は、同じ配座のスフィンゴシルフォスホリルコリンのアシル化によって合成した。この合成では、一方のスフィンゴシン鎖の鎖長を18炭素長に固定して、他方のアシル鎖の鎖長は、炭素長16から24までに渡って炭素数を2個の間隔で変えた。これらSMの水分散系は全て可逆的で再現性のある熱挙動を示し、昇温DSCにおいて、ゲル-ゲル相転移に続いてゲルから液晶相への主転移が観察された。この主転移に伴われるエンタルピー変化量 (ΔH_M) をSMのモデル構造から見積もった分子当りの有効鎖長 (N) に対してプロットすると、 ΔH_M は N の増大に伴って減少し、脂質-水系で一般に認められている現象と対照をなした。本研究で明らかにした N に伴う ΔH_M の減少は、この転移エンタルピーの2/3を占める鎖間 van der Waals 相互作用エネルギーに対する非等価アシル鎖の役割の観点から議論した。



児玉美智子 Michiko Kodama
学校法人 広島加計学園, Hiroshima
KAKE Educational Institution
E-mail: kodama1015@major.ocn.ne.jp
研究テーマ: 非対称鎖の脂質
趣味: これまでの研究の後始末



川崎佑子 Yuko Kawasaki
ジョンズホプキンス大学 生物学部, Dept.
of Biology, The Johns Hopkins
University, TEL.+1-410-516-8433, FAX.
+1-410-516-6469
研究テーマ: 各種プロテアーゼ阻害剤の
開発とそれら薬効の熱的, 構造的評価
趣味: 料理