

非対称性側鎖を持つ天然型全合成スフィンゴミエリンからなる
ナノサイズ・ベシクルの小角散乱測定

**Small angle X-ray scattering measurements on fully synthetic
naturally occurring asymmetric sphingomyelin nano-size vesicles**

高橋 浩^a, 青木宏之^b, 大平 進^b, 児玉美智子^b, 井上勝晶^c
Hiroshi Takahashi^a, Hiroyuki Aoki^b, Susumu Ohira^b, Michiko Kodama^b, Katsuaki Inoue^c

^a群馬大学・工学研究科、^b岡山理科大学・理学部、^c高輝度光科学センター
^aGunma University, ^bOkayama University of Science, ^cJASRI

細胞内情報伝達において重要な役割を担っているとされるラフト脂質ドメインは、主にスフィンゴミエリンとコレステロールから成る。細胞から抽出されるスフィンゴミエリンの多くが2本の炭化水素鎖の炭素数が大きく異なっている。脂質ドメイン形成に、この非対称性がどう関係しているかを明らかにする目的で、スフィンゴシン鎖の炭素数を18で固定し、アシル鎖の炭素数は16から24までの変化させた全部で5種類の天然型スフィンゴミエリンを合成し、その試料に対して、小角・広角X線散乱測定を行い、非対称度が膜面内における分子パッキングに及ぼす影響を調べた。その結果、非対称性の増加により分子パッキングの長距離相関が失われる傾向にあることが分かった。

Lipid domain, so-called "raft", which contains mainly sphingomyelin and cholesterol, is said to play important roles in cellular signaling. Many of sphingomyelin extracted from cells are different with the carbon number of both two hydrocarbon chains. In order to get the fundamental knowledge on how this asymmetry affects on the lipid domain formation, small-angle/wide-angle X-ray scattering measurements were performed for various synthetic asymmetry sphingomyelin bilayers, paying attention to the molecule packing. In this study, five different asymmetry sphingomyelins were synthesized, in which the carbon number of the sphingosine chain was fixed with 18, and the carbon number of the acyl chain was changed from 16 to 24. As a result, it was found that the long-distance correlation of the hydrocarbon chain packing is reduced by increasing the degree of asymmetry.

キーワード：ベシクル、ラフト、非対称性脂肪酸側鎖、ドラックデリバリー

背景と研究目的： 生体膜中には、主にスフィンゴミエリンとコレステロールから成る流動性の乏しいラフト（筏）と呼ばれる脂質ドメインが存在し、細胞内情報伝達において重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、そのラフト形成機構は未だに良く理解されていない。ところで、脳から抽出されるスフィンゴミエリンの3割近くは、脂肪酸側鎖の炭素数が24でスフィンゴシン鎖の炭素数は18であり、非常に非対称度が大きい。このように、生体膜のスフィンゴ脂質の大半の分子種は、2本の疎水性側鎖の長さが異なる非対称性を持つ。この非対称性が、ドメイ

ン形成にどうか関わっているかは全く不明である。その理由の一つは、抽出・合成の難しさから、非対称度が大きいスフィンゴミエリン膜そのものの物性や分子パッキング等といった膜構造の報告例¹⁾は少数しか存在せず、基礎的知見が蓄積していないからである。

実験： 本研究では、異なる非対称度を持つ高純度の全合成天然型スフィンゴミエリンからなるベシクルに対して小角・広角X線散乱測定をBL40B2で行い、非対称度が膜内の分子パッキングに及ぼす影響を調べた。測定に使用したスフィンゴミエリンは、スフィンゴシン鎖の炭素数を18で固定し、アシル鎖の炭

素数は16から24までの偶数のものとし、全部で5種類の全合成天然型スフィンゴミエリンについて測定を行った。

結果および考察： Figure 1 に、広角領域に観察される炭化水素鎖のパッキングに由来する反射プロファイルを示した。測定温度は10°Cである。図中のC16等は、アシル鎖の炭素数を表している。この反射ピークの半値幅を、炭素数を横軸にしてプロットしたのがFig.2である。このグラフから炭素数の増加にしたがって、半値幅が増加している傾向が読みとれる。つまり、非対称性の増加により分子パッキングの長距離相関が失われる傾向にあることを示している。

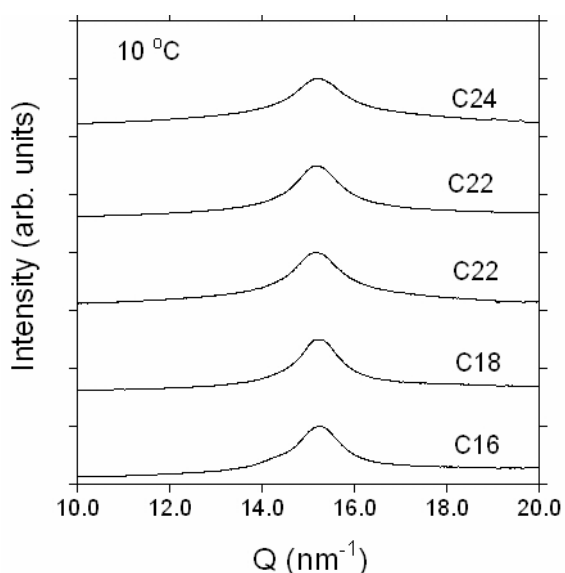


Fig.1 Wide-angle X-ray scattering profiles of various sphingomyelins recorded at 10°C.

これは、電子顕微鏡観察から、非対称性の大きいスフィンゴミエリンほど、径の小さい(200nm程度)ベシクルを形成しやすい傾向を持つことと一致している。

期待されること： ベシクルは、薬剤を内包することが可能であり、ドラッグデリバリーとしての使用が検討されている。通常のリン脂

質からなるベシクルはサイズ分布が広く、また、超音波やフィルターによる処理を行わないと、ナノサイズのベシクルを得ることは出来ない。そのため、ナノサイズベシクルを自発的に形成する新規な化学物質の合成研究も盛んに行われている。しかし、生体への安全を考えると生体内に存在する物質の使用が望まれる。

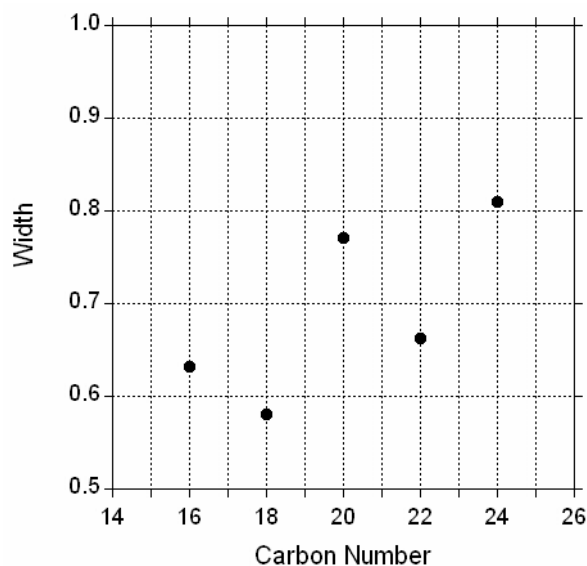


Fig.2 The dependence of diffraction peak widths (Fig.1) on the carbon number.

本研究で使用した天然型非対称性スフィンゴミエリンは、生体膜に存在するリン脂質でありながら、水和させるだけで自発的にナノメータサイズのベシクルを形成する。このナノサイズベシクルの自発的形成メカニズムが、さらに詳細に解明出来れば、脂質ベシクルのドラッグデリバリーへの応用研究が進展するものと期待される。

参考文献

- 1) H. Takahashi *et al.*, *J. Appl. Cryst.* **40** (2007) s312-s317