

酸性糖脂質ガングリオシドの熱安定性と機能構造

平井光博

群馬大学大学院工学研究科

1. はじめに

生体膜は、多量に含まれる中性リン脂質、少量の酸性リン脂質、コレステロール、糖脂質などを含む100種類を超える脂質と、機能発現を担う様々な膜蛋白質で構成されたまさに複雑系である[1]。最近では、膜脂質の多彩な役割、特に膜を介した情報伝達機能・生理活性調節機能における重要な働きがますます明らかになってきた[2]。また、それら生体脂質や、界面活性剤、ブロック共重合体等の両親媒性分子が自己会合により、ミセル、逆ミセル、2分子膜、3次元網目構造など条件によって多種多様な構造形態をとり、条件が変わるとそれらの間で相互に転移することもよく知られている[3]。一方、膜構造や会合体の理論的取り扱いや実験的手法の展開も目覚ましく、生体膜脂質系の分子レベル・会合体レベルでの構造物性的研究は、生体膜の生理的機能を系統的、統一的に理解する上で一層重要な知見を与えるものと考えられる。

膜構造や会合体の構造物性的研究にとって、放射光X線・中性子溶液散乱法は汎用性の高い手法であり、結晶構造解析と光散乱の中間レベルの空間構造や同程度の構造揺らぎを観測するのに適している。散乱法では一般的に散乱パターンが空間平均されるために得られる構造情報は限られるが、解析に構造モデルや粒子間相互作用ポテンシャルを考慮することで、構成粒子の内部構造や有効電荷などの外部環境変化にたいする応答をある程度定量的に評価することが可能である。

最近筆者らが放射光X線溶液散乱法を用いて行なった両親媒性分子会合体の最小構造であるミセル系に関する構造学的研究を紹介する。ここで紹介する散乱実験には、物質構造科学研究所（旧高エネルギー物理学研究所）放射光施設X線小角散乱装置を利用した。

2. ガングリオシドミセルの熱構造転移と内部構造、水和の解析

リン脂質と比較して巨大な親水性糖鎖頭部の存在により、ガングリオシドはcmc ($\sim 3 \times 10^{-8} \text{M}$)以上の濃度で単分散性の高いミセル構造を形成する。ガングリオシドミセルのように糖鎖頭部と脂肪酸尾部で大きく散乱密度が異なる場合には、2重殻回転楕円体の散乱関数を用いたモデル解析によりミセル内部の構造パラメータを直接求める方法が有効である。内核（脂肪酸尾部）及び外殻（親水性頭部）のそれぞれの半径、軸比、有効平均散乱密度（内核或は外殻領域の平均散乱密度と溶媒の平均散乱密度との差＝コントラスト）を変数として用い、初期値としては幾何学的な分子構造から考えられる炭化水素鎖や糖鎖頭部の長さ、有効平均散乱密度を与えて各変数の最適化を行なう。Fig. 1に散乱曲線と距離分布関数の実験データと剛体球、剛体回転楕円体、2重殻回転楕円体モデルで実験データを最適化した結果を示す ($q = (4\pi/\lambda)\sin(\theta/2)$, 散乱角 θ , 入射波波長 λ)。散乱曲線のフーリエ変換によって求まる距離分布関数は、散乱体粒子の形状と内部

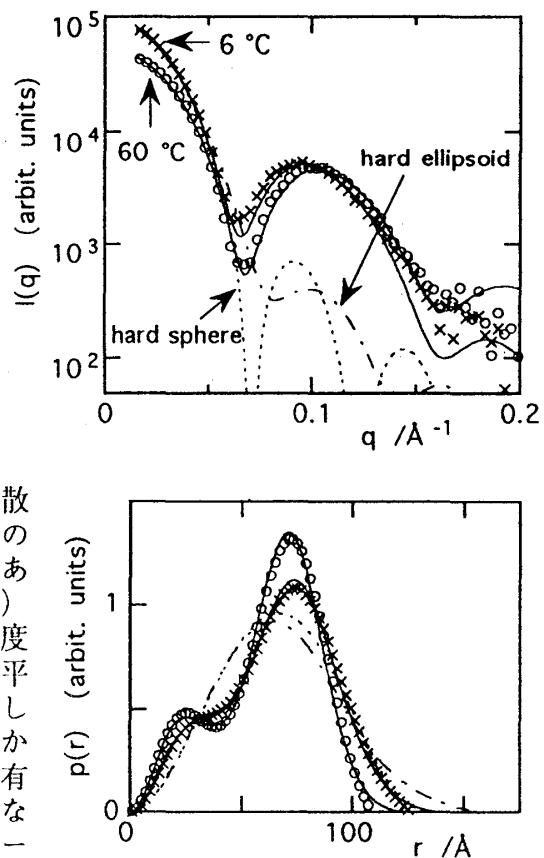


Fig. 1. Modeling analysis of scattering curve and distance distribution function using three different models. Solid lines, double-shell ellipsoid model; marks, experimental data.

散乱密度分布の様子を実空間で把握する際、小角散乱では広く用いられる。短距離側に肩をもち長距離側にピークをもつ距離分布関数の形は、単分散粒子の内部散乱密度分布に大きな揺らぎが存在することを反映しており、内部散乱密度分布を考慮しなければ実験結果を説明できないことは明らかである。各温度の散乱曲線にこの解析を行ないミセル構造パラメータの温度変化を評価できる。得られたモデルの妥当性は、実験から得られた距離分布関数、回転半径、全散乱強度変化との比較やミセルの幾何学的充填条件[5]を満足しているかどうかを検討することにより確かめる。

このような解析から、ミセル親水性領域（糖鎖頭部領域）の広がりや昇温に伴う収縮、熱履歴、親水性部分と疎水性部分の散乱密度の変化等が明らかになり、細胞膜表面に存在するガングリオシド頭部構造が温度変化に対して敏感に応答することが分かった[6]。さらに、モデル解析で得られた構造パラメータを用いて、ミセル親水性領域の吸蔵水の量、すなわち、熱構造転移に伴うミセル親水性領域の水の出入りを定量できる (Fig. 2)。評価したガングリオシド一分子あたりの吸蔵水の量は、一般の糖質に関して知られている水和量よりかなり大きい。すなわち、ガングリオシド糖鎖頭部領域は極めて親水的な環境にあり、それが、熱可逆的な多量の水の吐出・吸蔵を伴いながら、生理的溫度領域において大きく変化することを示している[7]。また、単分散系で粒子の構造異方性が小さく、粒子間斥力が支配的である場合には、粒子間相互作用によるピークを含む広角域の散乱曲線を利用することにより、構成粒子の構造と粒子間相互作用ポテンシャルを散乱曲線から直接分離して求めることは比較的容易である。

ガングリオシドミセル系では、シアル酸残基の解離によるクーロン斥力相互作用の影響が散乱曲線の小角側にブロードなピークとして現れ、脂質濃度（体積分率）に依存してピーク位置が移動する。2重殻回転楕円体モデルと斥力クーロンポテンシャルの平均球面場近似（RMSA）から得られた粒子間相互作用に関する構造因子[8]を実験で得られた散乱曲線の濃度依存性に適用することで、ミセルの内部構造と表面電荷を同時に直接評価できる (Fig. 3) [9]。

文献

- [1] ロバートB.ゲニス著：生体膜，シュプリンガー・フェアラー東京1990
- [2] 竹縄忠臣，西島正弘監修，細胞工学，vol.14，no.11，秀潤社1995
- [3] J.N.イスラエルアチヴィリ：分子間力と表面力，朝倉書店1996
- [4] 箱守仙一郎，入村達郎編「糖鎖と細胞」，pp.20-29，別冊日経サイエンス1994
- [5] J. N. Israelachvili et al.: *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II*, 72, 1525-1568 (1976)
- [6] M. Hirai et al.: *J. Phys. Chem.* 100, 11675-11680 (1996); *Biophys. J.* 70, 1761-1768 (1996); *Thermochim. Acta*, in press
- [7] M. Hirai et al., submitted
- [8] J. P. Hansen, J. B. Hayter: *Molec. Phys.* 46, 651-656 (1982)
- [9] M. Hirai et al.: *J. Chem. Soci., Faraday Trans.* 92, 4533-4540 (1996)

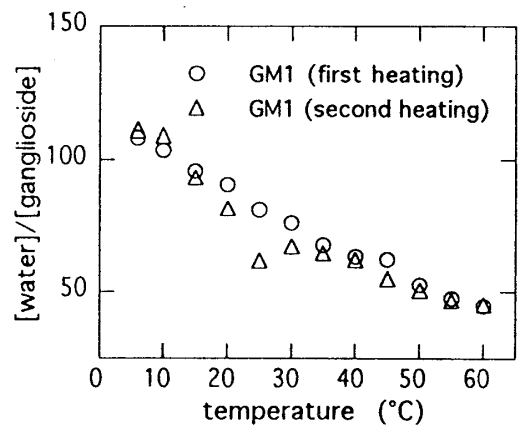


Fig. 2. Temperature dependence of water molecule per ganglioside in micelle structure

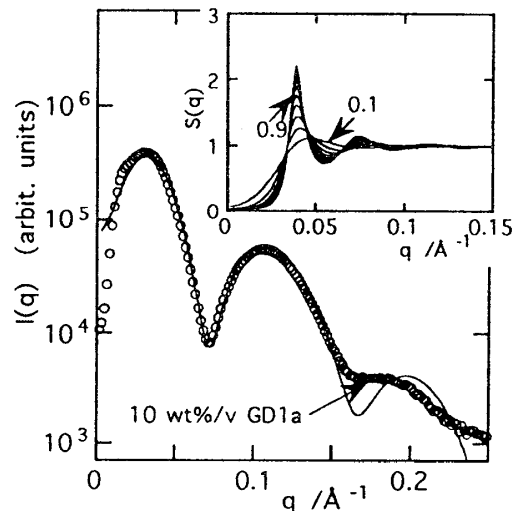


Fig. 3. Modeling analysis of scattering curve using shell-ellipsoid model and RMSA. The insert shows the structure factor of interparticle interaction depending on the ionization factor.