

ミコール酸の水面上単分子膜における相挙動と微細構造

The Phase Behavior of Langmuir Monolayer of Mycolic Acids and Its Fine Structure

プロジェクト代表者：ヴィレヌーヴ真澄美（理学部基礎化学科・助手）

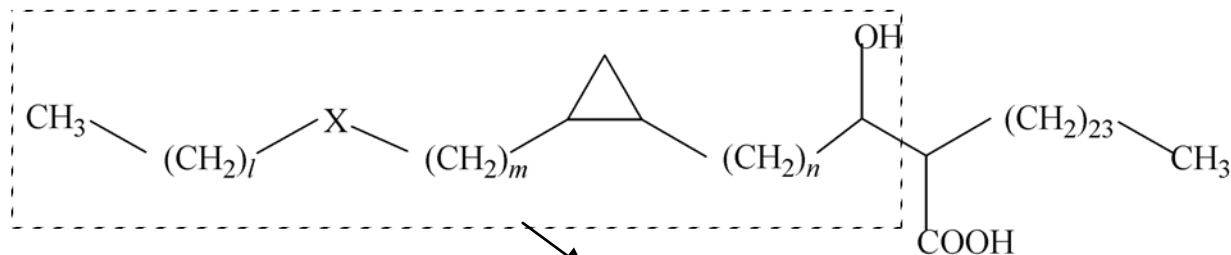
Masumi Villeneuve (Department of Chemistry, Faculty of Science)

1 *Mycobacterium Tuberculosis*（ヒト型結核菌）から抽出したミコ - ル酸の水面上単分子膜の相挙動と分子充填状態の温度依存性

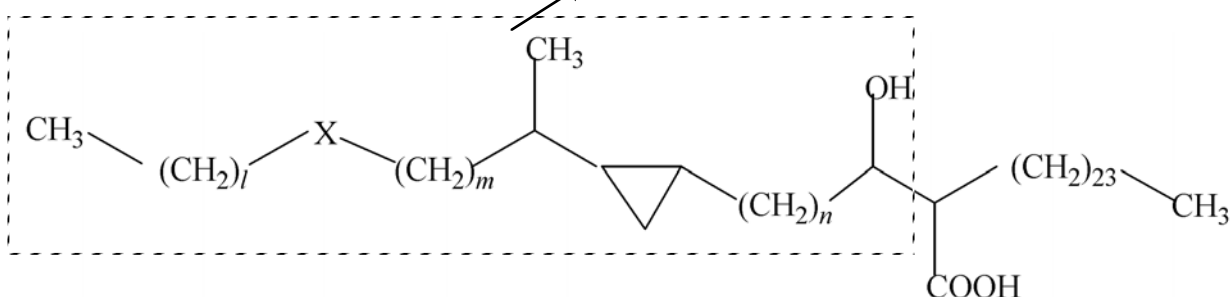
ヒト型結核菌から抽出したミコ - ル酸の分子構造および組成を表 1 に示す。

Table 1. Molecular structures, compositions and average molecular weights of the mycolic acids of *Mycobacterium tuberculosis*.

cis isomer



trans isomer



meromycolate chain

samples	Distal group (X)	Proximal cyclopropane		Content / %	Average MW
		<i>cis/trans</i>	<i>l-m-n</i>		
α -MA	cis-cyclopropane	<i>cis</i>	19-14-11	50	1150
		<i>cis</i>	19-14-13	40	
MeO-MA	CH(CH ₃)-CH(OCH ₃)	<i>cis</i>	17-16-17	60	1259
		<i>trans</i>	17-16-18	20	
Keto-MA	CH(CH ₃)-CO	<i>cis</i>	17-18-15	20	1267
		<i>trans</i>	17-18-16	70	

シクロプロパンを 2 個有する 型ミコ - ル酸、シクロプロパンとメトキシ基を有するメトキ

シ型ミコ - ル酸、およびシクロプロパンとカルボニル基を有するケト型ミコ - ル酸の水面上単分子膜の相図を、表面圧対平均分子占有面積等温曲線を 10 ~ 46 の温度範囲で測定することにより得た。ミコ - ル酸の水面上単分子膜は温度と表面圧に依存して様々な状態をとることが明らかになった。ケトミコ - ル酸は測定した全ての温度と表面圧下でカルボニル基を水面に付着し、4 本鎖の疎水基が密に充填した堅い固体凝縮膜をとることが初めて分かった。それに対して、アルファおよびメトキシミコ - ル酸はカルボニル基程親水的な官能基を持たないので、殆どの条件で液体凝縮膜状態をとることが明らかになった。ミコ - ル酸の分子充填状態に関する以上の発見は、結核菌の細胞壁および病原過程におけるミコール酸の役割を理解するための、新しい研究手段を開くものである。

Temperature dependence of the Langmuir monolayer packing of mycolic acids from *Mycobacterium tuberculosis*

Phase diagrams of the Langmuir monolayer of dicyclopropyl alpha mycolic acid (α -MA), cyclopropyl methoxy mycolic acid (MeO-MA), and cyclopropyl ketomycolic acids (Keto-MA) from *Mycobacterium tuberculosis* were obtained by thermodynamic analysis of the surface pressure vs. average molecular area isotherms at temperatures in the range of 10 —46 . The Langmuir monolayer of MAs were shown to exhibit various phases depending on the temperature and the π values. In the Langmuir monolayer of Keto-MA, the carbonyl group in the meromycolate chain apparently touches the water surface to give the molecule a W-shape in all the temperatures and surface pressures studied. Keto-MA formed a rigid solid condensed film, with four hydrocarbon chains packing together, not observed in the others. In contrast, the monolayer films of α - and MeO-MAs having no such highly hydrophilic intra-chain groups in the meromycolate chain were mostly in liquid condensed phase. This novel insight into the packing of mycolic acids opens up new avenues for the study of the role of mycolic acids in the mycobacterial cell envelopes and pathogenic processes.

(*Biochimica et Biophysica Acta, Biomembrane* vol. 1715 (2005) pp. 71 - 80 掲載。)

2 *Mycobacterium bovis* BCG から抽出したミコ - ル酸の相挙動に対する立体異性体の影響

結核の予防接種に用いられる弱毒株の *Mycobacterium bovis* BCG から抽出したミコ - ル酸には $X = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-}$ (表 1 参照) であるメチレン型とメトキシ型およびケト型が存在する。メトキシ型およびケト型は *M. tuberculosis* と分子構造が同じもので構成されているがシクロプロパンの cis/trans 異性体の混合比が異なる。メトキシ、ケト型とも BCG 株の方がヒト型株の *M. tuberculosis* より cis 体が多く含まれる。BCG 株のメトキシ型およびケト型ミコ - ル酸について水面上単分子膜の表面圧対平均分子占有面積等温曲線を 10 ~ 46 の範囲で測定し、結果を熱力学的に解析することにより相図を得た。また分子充填状態を調べるために、水面上単分子膜の視斜角入射 X 線回折測定と楕円偏光解析を行った。相図におい

では *BCG* 株とヒト型株には同種の相転移が存在するが、*cis* 体がより多く含まれる *BCG* 株の方が相転移が低い表面圧で起こることが明らかになった。また相転移での平均分子占有面積の検討と、図 1 に示すように楕円偏光解析により、メトキシ型のコリ酸は低表面圧、低温度ではメトキシ基を水面に付着して 4 本鎖充填構造をとるが、高表面圧、高温ではメトキシ基が水面から脱着し、炭化水素鎖を伸ばした充填状態を取ることが明らかになった。

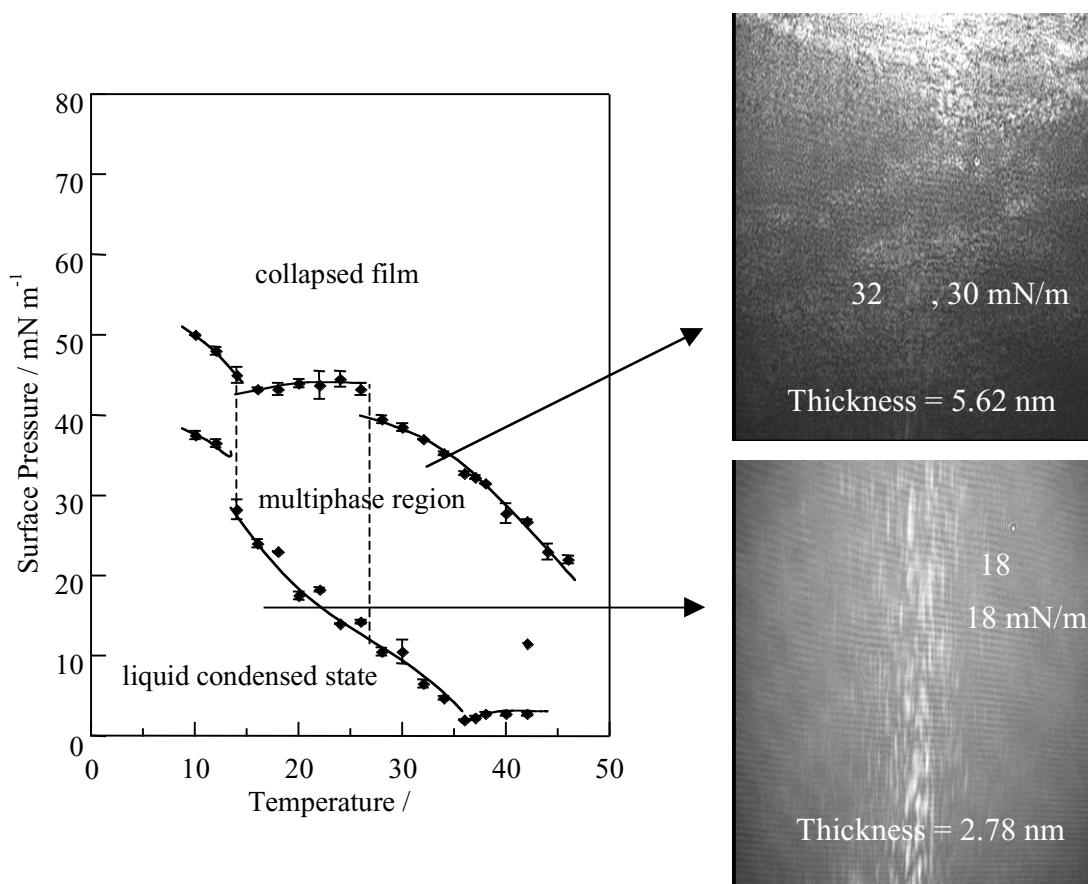


Fig. 1 Phase diagram of methoxy-MA of *M. bovis BCG*, Brewster angle micrographs, and the thickness of the Langmuir monolayer estimated by ellipsometry.

Temperature dependence of Langmuir monolayers of mycolic acid from *Mycobacterium bovis BCG*

Phase diagrams of the Langmuir monolayer of methylene, methoxy-, and keto MAs extracted from *Mycobacterium bovis BCG*, attenuated species used for vaccination, were obtained by thermodynamic analysis of the surface pressure vs. average molecular area isotherms measured in the temperature range of 10 —46 °C. The molecular packing in each phase was investigated by the grazing incidence X-ray diffraction and ellipsometry, both *in situ*. The results were compared with those for MAs from *M. tuberculosis*. Regarding the methoxy- and keto- MAs, the difference between *M. bovis BCG* and *M. tuberculosis* is only the *cis/trans* ratios of cyclopropane in the mero-mycolate chain. The phase diagrams and the physicochemical properties of the MA monolayers were discussed from the view-points of the functional groups and the *cis/trans* ratio of the cyclopropane in the mero-

mycolate chain and the following conclusions were deduced: (1) methoxy and keto MAs take W-shape conformation in the Langmuir monolayer. This is due to the oxygenated functional groups in the meromycolate chains; (2) W-shape conformation of methoxy mycolic acid changes to another one as the temperature and surface pressure increase; and (3) the lower the trans content of cyclopropane, the lower the surface pressure where phase transition of the same kind takes place.

(第58回コロイドおよび界面化学討論会(2005年9月8日~10日)にて発表。投稿論文準備中。)

3 ミコ - ル酸に着目した *Mycobacterium tuberculosis* (ヒト型結核菌) と *Mycobacterium intracellulare* (トリ型結核菌) の違い

トリ型結核菌から抽出したミコ - ル酸の相図を上図の1、2と同様に表面圧測定により得た。ヒト型結核菌と比較すると総じて、同種の相転移はトリ型の方が低表面圧で起こることが分かった。得られた相図の生物学的な解釈についてはまだ検討中である。

Phase behavior and X-ray diffraction studies on monolayers of several mycolic acids extracted from *Mycobacterium intracellulare*

The phase diagrams of several MAs extracted from *M. intracellulare* constructed by measurement of surface pressure vs. average molecular area isotherms at various temperatures ranging from 10 to 48 °C and plotting the surface pressure of the phase transition against the temperature. The most prominent difference found between *M. intracellulare* and *M. tuberculosis* is that the phase transitions occur at lower surface pressure for the former for all types of MAs. Biological interpretation of the above difference is under discussion now.