

脂質二重膜が形成する多重層ベシクルの 階層構造に対する塩・糖の効果

広島大学 生物圏科学研究科 山田 悟史¹
京都大学 理学部 菱田 真史
京都大学 理学部 瀬戸 秀紀

生体膜の骨格をなすリン脂質は水中で nm スケールのラメラ構造を球殻とした μm スケールの多重層ベシクルを形成する。このようなベシクルの物性を明らかにすることは膜の分離、融合のメカニズム、具体的には細胞分裂やゴルジ体によるホルモン分泌の過程等を物理学的に明らかにする上で興味深い。また、擬似細胞やマイクロカプセルとして用いるといった応用も期待されており、今までに細胞サイズ (数十 μm) の単層膜ベシクルを作成する方法がいくつか提案されている。[1] しかし、その生成メカニズムについてはあまり研究が行われておらず、経験則による方法から抜け出せていないというのが現状である。これを解決するためには、脂質膜の構造形成要因を明らかにすることが重要であり、これまでに nm スケールの構造とその形成要因が熱心に研究されてきた。しかし、その高次構造であるベシクルとの関連性を議論するには至っておらず、そもそも階層性を意識した研究自体あまり行われていない。

講演者はこれまでの研究で電氣的に中性のリン脂質 DPPC が CaCl_2 水溶液中が液晶相と呼ばれる生体膜に近い状態で "unbound transition" を起こすことを明らかにした。[2] この転移が起きると水の量が許す限り膜間に水を吸い続けるが、脂質の炭化水素鎖がのびきって膜が非常に硬いゲル相と呼ばれる状態ではこの転移は起きなかった。この転移メカニズムを明らかにするために膜の自由エネルギーを計算してその出現条件について考察を行った結果、van der Waals 引力と Helfrich 斥力と呼ばれる膜の揺らぎに起因する斥力との和が膜間距離 100\AA 付近で極大値を持ち、 CaCl_2 を添加することによって生じる静電斥力が膜をこの極大値を超えるための駆動力となって unbound transition が起きることが明らかになった。(図 1) また、ゲル相では膜が硬いため Helfrich 斥力が弱く、unbound transition は起きないということも再現された。この結果は脂質膜間に μm スケールに及ぶ斥力が働くこと、そしてそれにより高次構造であるベシクルの構造に影響を与える可能性があることを示唆している。

一方、細胞サイズのベシクルを作成するには脂質を溶かした有機溶媒を基板上で乾燥させ、できあがったフィルムを水和させることによって作られる。この際、有機溶媒に塩や糖を同時に溶かしておくことと巨大、かつ膜の枚数の少ないベシクルが形成されるという実験結果がある。[3] 講演者

¹E-mail:yamadada@hiroshima-u.ac.jp

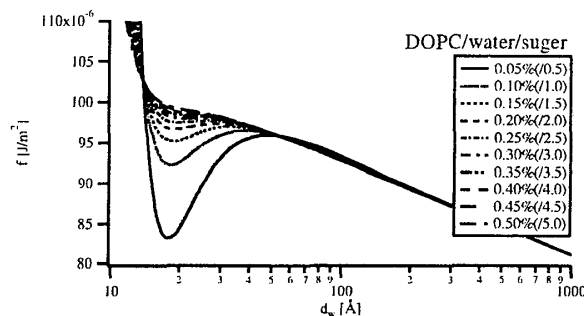
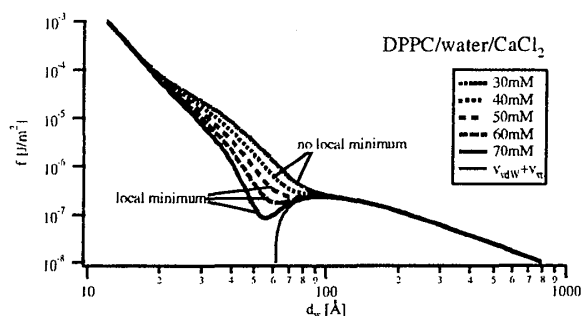


図 1: DPPC/水/CaCl₂ 系における自由エネルギーの膜間距離依存性 図 2: DOPC/水/塩 (糖) 系における自由エネルギーの膜間距離依存性

はこの現象と unbound transition が関連づけられると同時に、今まであまり議論されてこなかったベシクルの構造における階層性を明らかにすることができると期待して研究を行った。

まず、unbound transition が起こるためには van der Waals 引力と Helfrich 斥力がつくる極大値を超えるための駆動力が必要である。また、塩や糖は後から水溶液の形で添加するのではなく、脂質と混合して乾燥させることによって添加されている。これらのことから、講演者は以下のようにして unbound transition とベシクルの構造が関連づけられるのではないかと考えた。

1. 有機溶媒中では脂質と塩や糖は均一に分布している。
2. 基板上に乾燥させた際に、脂質の間に塩や糖が入り込む。
3. 水を加えると脂質間の水が外部の水と比較して高張になるため浸透圧差が生じ、水が膜間に流入する。
4. van der Waals 引力と Helfrich 斥力がつくる極大値を超え、unbound transition が起きる。

この仮定を裏付けるために van der Waals 引力、Helfrich 斥力、水和層による斥力、そして浸透圧による斥力を考慮して自由エネルギーの計算を行った。その結果、脂質に対する糖 (塩) のモル比が 0.3% 付近で極小値が消え、unbound transition が起こることが分かった。(図 2)

実際の発表では中性子小角散乱による逆空間の観測結果と位相差顕微鏡による実空間の観測結果をもとに詳細な議論を行う予定である。

参考文献

- [1] K. Akashi, H. Miyata, H. Itoh, K. Kinoshita Jr., *Biophys. J.* **74**, 2973 (1998)
- [2] N.L. Yamada, H. Seto, T. Takeda, M. Nagao, Y. Kawabata, K. Inoue (submitted to *Phys. Rev. E*)
- [3] K. Tsumoto, private communication