

人工脂質膜における電位の自励発振現象とフラクタル次元

九大工 林 健司、都甲 潔、山藤 馨

はじめに

人工脂質膜は、味覚や嗅覚といった生物の化学感覚を模倣するセンサのトランスデューサとして積極的に研究が行なわれている¹⁻⁵⁾。合成脂質ジオレイルフォスフェート(DOPH)を用いた人工膜はその様な人工脂質膜の中でも最も詳しく調べられている膜の一つであり、5基本味、すなわち塩味、酸味、苦味、甘味およびうま味それぞれに対して異なった電氣的応答をすることが判っている^{1,2)}。

DOPH膜の応答の中で、特に膜電位の自励発振はセンサの出力として非常に有望である。DOPH膜の自励発振は膜に直流電流を印加した際に生じるものであり、この膜は興奮性を有する人工神経膜といえる。生体系では神経膜は情報の伝播に用いられ、さらに嗅細胞などでは、直接、外界からの刺激をインパルス情報に変換する。DOPH膜の自励発振は塩の流れと膜の相転移という非線形特性の結合で生じるので、外界の刺激に対する振動の応答は鋭敏であり、従ってその周波数領域にセンサとしての外部環境に関する多くの情報を含んでいることが期待される。実際、味物質により自励発振は鋭敏にその形状を変化させることが実験的に確かめられている⁶⁾。原理的には自励発振からは離散的フーリエ変換により時系列の長さと同じだけの変数が得られるはずである。しかしながら人工脂質膜の自励発振は一般に再現性という観点で劣っており、定量化された量をセンサとしての有用な出力の形で得ることは難しい。これに対し、印加電流量が多い状況下で生じる乱れた自励発振は、後述するようにある意味で再現性を有し、なんらかの情報を引き出せる可能性がある。

本研究は人工脂質膜が生じる乱れた電位振動を解析し、その化学物質応答を調べたものである。その際、振動を特徴づける量としてGrassbergerとProcaccia⁷⁾による相関次元を計算した。相関次元が塩味、酸味、苦味および甘味という4つの基本味物質によりどの様に変化するかを実験した結果、相関次元がセンサの出力情報として有用であることが判明した。

実験方法

DOPHは図1のような構造を持つ生体由来のリン脂質に良く似た脂質である。

DOPH膜の調製は従来の方法と同じである¹⁾。DOPHをベンゼンに溶かした溶液に市販のセルロースフィルタ（ミリポア社製、ポアサイズ $5\mu\text{m}$ ）を浸し、その後空气中で乾燥させる。作成した膜は 100mMKCl 中で保存する。フィルタに吸着する脂質の量は $0.4\sim 1\text{mg}/\text{cm}^2$ とした。この吸着量は、膜抵抗を下げる目的で従来¹⁾の値よりも小さくした。このDOPH膜を 1mMKCl 溶液を入れたアクリル製の2つのセルではさむ（図2）。その際膜はセルに開けてある直径 1mm あるいは 0.6mm の穴の部分で溶液に接することになる。この穴のサイズは従来¹⁾の直径 5mm の穴¹⁾に比べかなり小さいが、これは膜表面に存在する振動に参与したフィルタの孔の数を減らすことにより、系の自由度を低減させることを意図したためである。また、セルには2組のAg/AgCl電極が取り付けられている。1組は膜電位測定用、もう1組は膜への電流印加用である。膜電位はA/Dコンバータを通してパーソナルコンピュータに取り込んだ。呈味物質は両側のセルの 1mMKCl 溶液に加えた。実験は室温（ $27\pm 2^\circ\text{C}$ ）で行なった。

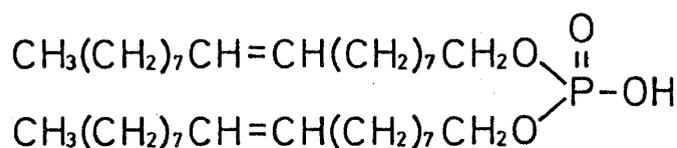
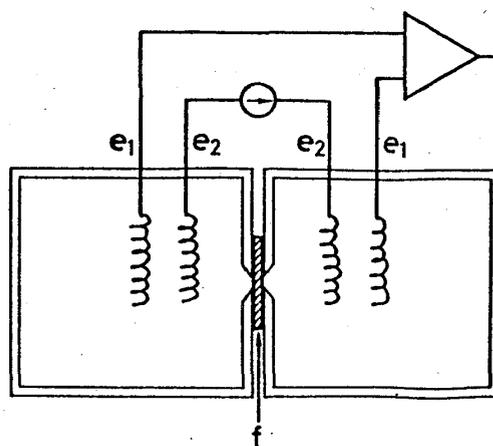


図1 DOPHの構造

図2 実験装置

- f : 脂質吸着膜
- e₁ : 膜電位測定用Ag/AgCl電極
- e₂ : 電流印加用Ag/AgCl電極



結 果

今回用いた膜の電気抵抗は数百 $\text{M}\Omega$ であり、膜には $20\sim 60\text{nA}$ の電流を印加した。この範囲の電流値で自励発振の波形は十分に乱れ、非周期的な振動状態となる。もっと小さい電流値では振動は周期的であるが、そのような振動は今回用いた両側が等塩濃度の膜系では安定に持続しなかった。

図3にDOPH膜の非周期振動の例を示す。この振動はセルの穴の直径 1mm で印加電流 60nA の場合である。個々の振動波形は従来⁶⁾のものと同じ弛緩型をしている。この振動のスペクトル分布は図4(a)に示す通り、ほぼ $f^{-2.8}$ とな

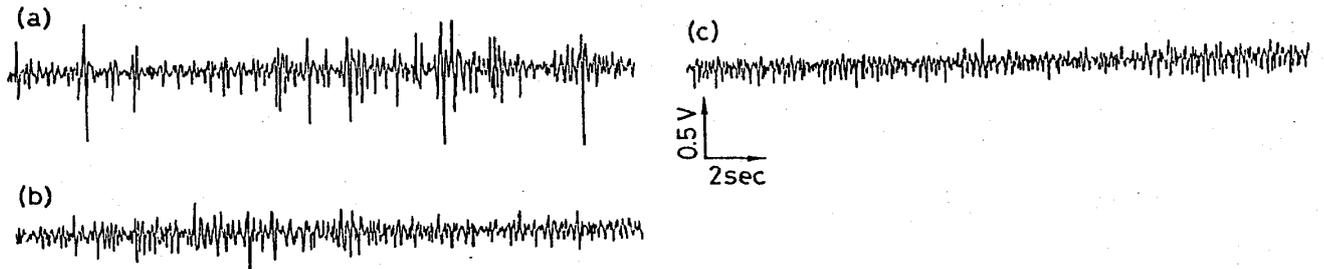


図3 膜電位の振動波形 (a) : 呈味物質無添加
(b) 0.1 mM キニーネ、(c) 3 mM キニーネ

っているが、この分布の形は加える化学物質の種類および濃度による特異的な変化は無かった(図4(b))。

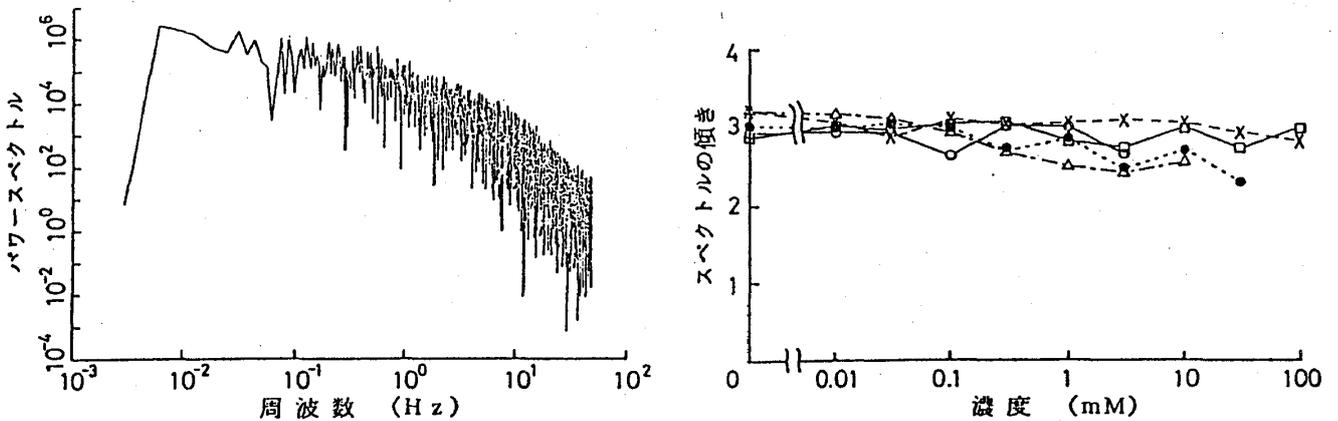


図4 (a) スペクトル分布
(b) スペクトル分布の傾きの化学物質による変化
(O) : キニーネ、(Δ) : ニコチン、
(●) : HCl、(×) : NaCl、
(□) : しょ糖

そこでこの自励発振の相関次元を計算した。図5(a)に距離 r に対する相関積分 $C(r)$ のグラフを示す。この計算に用いたデータは 10ms 間隔で 10^5 点サンプリングしたものである。 $C(r)$ の傾きが、埋め込み次元を増加させるのにしたがって収束する様子を図5(b)に示す。埋め込み次元は1から19まで2おきに増加させた。収束した値が相関次元であるが、図から解るように自励発振の相関次元は直径 1mm の穴のセルを用いた場合は約5.1に、また 0.6mm の穴の場合は約4.2になっている。この値は溶液に呈味物質を加えていない場合、すなわち 1mM KCl 溶液に対して得られた値であるが、今回用いた膜では再現性良く1

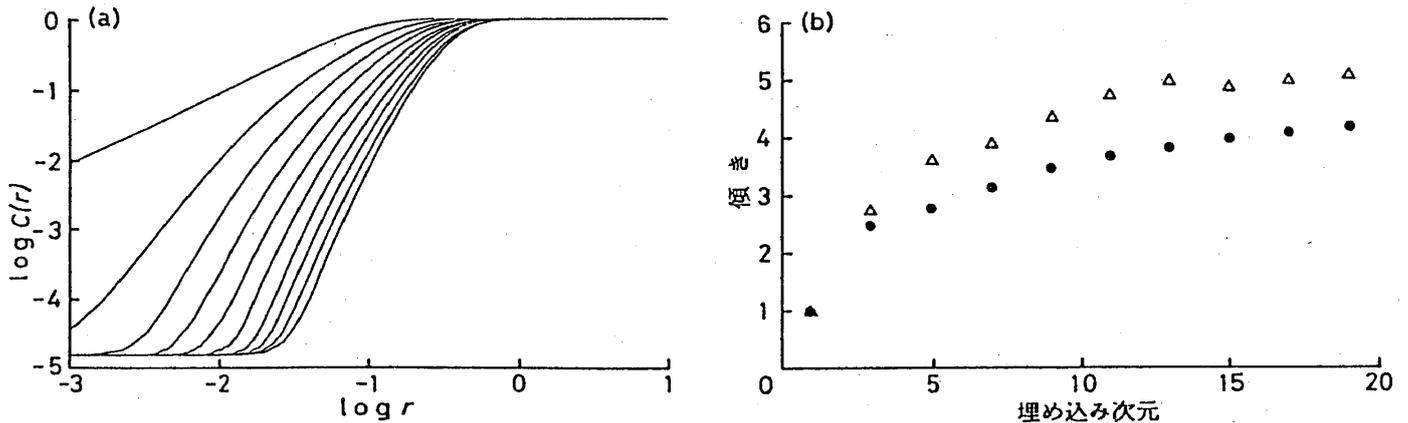


図5 (a) : 相関積分、埋め込み次元は1から19まで2おきに増加
 (b) : 傾きの収束、 Δ : セルの穴の直径1 mmの場合
 \bullet : セルの穴の直径0.6 mmの場合

1 mmの穴の場合は5～6に、0.6 mmの穴の場合は3～4に収束した。DOPH膜の非周期振動のメカニズムの解析の容易さという点からは、0.6 mmの穴の方が自由度が低いと考えられるため研究に適していると考えられる。しかしながら、0.6 mmの穴の場合、振動が持続する時間は1 mmの穴に比べて短く、また膜抵抗が高くなりすぎるといった実験上の問題点も存在するため、味物質応答の実験には1 mm穴のセルを用いた。

図6に自励発振の相関次元の時間変化を示す。初期の時間は変動が大きいものの、数10分経過した後は相関次元は5付近の値を保ち安定である。このため以下の実験において味物質は、電流を印加して40分以上経過した後、溶液に添加した。

相関次元の4種類の味物質への応答を図7に示す。加えた物質はキニーネ（苦味）、ニコチン（苦味）、HCl（酸味）、NaCl（塩味）およびしょ糖（甘味）である。各物質とも10分おきに溶液に添加し濃度を上昇させていった。苦味物質であるキニーネとニコチンは相関次元を大きく変化させることが解る。キニーネは低濃度では次元を若干増加させるが、0.3 mM以上では減少させ、1.0 mMのキニーネは振動を停止させ次元を0にする。ニコチンは0.1 mM以上で次元を増加させ1.0 mM以上で突然減少させる。この様に苦味物質が他の基本味物質に比べると低い濃度から作用を及ぼすという結果は、DOPH膜の膜抵抗や膜電位などの静的応答の結果と一致しており、さらに生体系での実験的知見とも一

図6 相関次元の時間変化

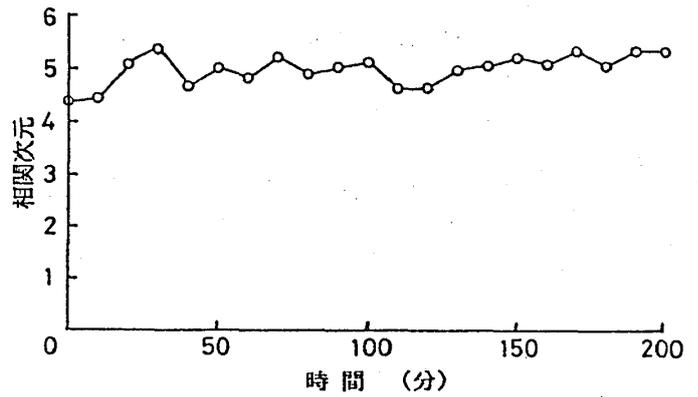
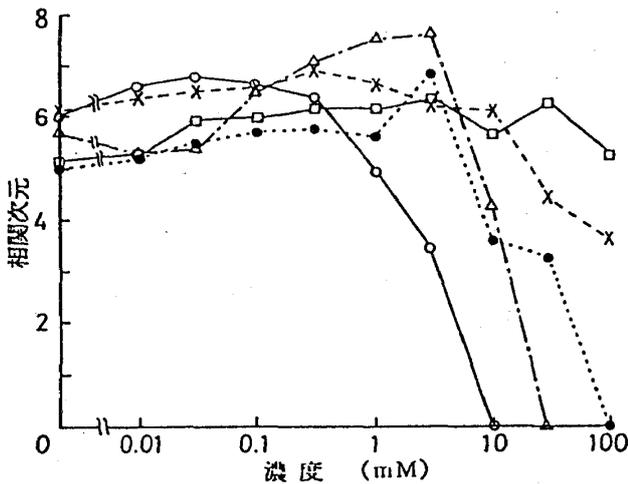


図7 相関次元の呈味物質による変化

- (○) : キニーネ
- (△) : ニコチン
- (●) : HCl
- (×) : NaCl
- (□) : しょ糖

致する⁸⁾。HClは1 mM以上の濃度で次元を大きく変化させるが、この影響は他の物質のものに比べて再現性を欠いていた。図には結果の1例を示している。この様な再現性の無さはHClによって振動波形が時間的に安定でなくなり、大きく変化することに起因すると考えられる。一方、相関次元に及ぼすNaClの効果は小さく、しょ糖の効果はさらに小さい。

考 察

生体系においてカオス的な振舞いが、ヤリイカの巨大軸索の興奮現象⁹⁾や脳波(相関次元: ~5)¹⁰⁾などにおいて見られており、生物はカオスをなんらかの目的に使っていると想像されるが、現段階では生物がカオス的な情報をどの様に利用しているか不明である。今回使用したDOPH膜では苦味物質により相関次元が大きく変化した。この変化の様子はこれまで得られている膜電位とか膜抵抗¹⁾といった静的応答とは違ったものであり、膜から引き出せる新たな情報の一つとして期待できる。この様な膜からのダイナミックな信号をセンサの情報として使うことは、従来のセンサには無い新しい試みである。

しかしながら、次元を変化させるメカニズムに関しては現時点では明らかでは

ない。得られた相関次元の値から1 mmの穴の膜系は高々6個、0.6 mmの穴では高々5個の変数で記述できることが解る。穴の面積が0.6 mmの穴では1 mmの穴の0.36倍になっているのに対し、次元が1（比5/6）しか低下していないことを考えると、振動は膜の厚み方向にもその成分を持っていると考えられる。一方、苦味物質は脂質の疎水鎖部分に入り込むが、その苦味物質が次元を大きく変えることから、膜の表面のみならず膜内部のDOPH分子の集合体の構造的な特性の変化が次元変化をもたらすものと考えられる。HClの作用の再現性の無さも、脂質分子間に作られるH⁺による強い水素結合がDOPH分子の集合状態を変化させるためであろう¹¹⁾。

今回相関次元を計算した理由の一つは、スペクトル解析によってはDOPH膜の非周期振動から添加された化学物質に関する有効な量を得ることができなかったためである（図3）。すなわち次元変化に比べるとスペクトル分布の型は大きな変化を示さなかった。また、DOPH膜が高次元系であるためと考えられるが、リヤプノフ指数は収束しなかった¹²⁾。

生物は味や匂いといった刺激を認識するために、舌表面に存在する非常に多数の味細胞からの電位出力の時空間情報を利用している。DOPH膜によってうま味の相乗作用²⁾や、苦味と塩味の間での抑制効果¹³⁾が検出でき、人間が感じているものと同じ感覚を数値的にセンサの出力として得られる可能性があるが、生体系が実際に用いている情報の数に比べるとDOPH膜から得られる情報はまだ少なく、5基本味の混合溶液、あるいは未知の溶液の味を識別するには、もっと多くの情報を脂質膜から引き出す必要がある。本研究ではそのような観点からセンサの出力として相関次元が新しい有用な量であることを指摘した。この値は従来の膜電位膜抵抗といった静的特性値とは異なり、動的な自励発振を特徴づける量という観点からも重要である。実際の味覚センサはこの様な動的および静的な信号と、特性の異なるいくつかの膜を使うことにより実現可能であろう。また、今のDOPH膜では、その構造の単純さから理論的解析も比較的容易であり、今後このような単純な物理化学系におけるカオス的振舞いの理論解析を行なうことにより、生体系のカオス的振舞いの解明の可能となると考えられる。さらにDOPH膜は塩濃度勾配下では非常に安定な規則的振動を生じる興奮性人工神経膜であり、膜の各孔（ドメイン）間の相互作用に起因する引き込み型振動も観測されていることから、新しい分子素子としての発展が期待される。

参考文献

- 1) 飯山、都甲、山藤：膜(Membrane) 12(1987)231.
- 2) K. Toko, K. Hayashi, K. Yamafuji and S. Iiyama: Technical Digest of the 7th Sensor Symposium, Tsukuba, 1988 (IEE Japan, 1988)p.127.
- 3) K. Hayashi, K. Yamafuji, K. Toko, N. Ozaki, T. Yoshida, S. Iiyama and N. Nakashima: Sens. & Actuators 16(1989)25.
- 4) K. Shimoide, Z. Qingde and T. Moriizumi:
Jpn. J. Appl. Phys. 25(1986)L569.
- 5) K. Yoshikawa and Y. Matsubara: J. Am. Chem. Soc. 106(1984)4423.
- 6) K. Toko, M. Tsukiji, S. Iiyama and K. Yamafuji:
Biophys. Chem. 23(1986)201.
- 7) P. Grassberger and I. Procaccia: Phys. Rev. Lett. 50(1983)346.
- 8) C. Pfaffmann: Handbook of Physiology, Neurobiology, ed. J. Field
(American Physiological Society, Washington D. C., 1959)
Vol. 1, p.507.
- 9) K. Aihara, T. Numajiri, G. Matsumoto and M. Kotani:
Phys. Lett. A116(1986)313.
- 10) S.P. Layne, G. Mayer-Kress and J. Holzfuss:
Dimensions and Entropies in Chaotic Systems, ed. G. Mayer-Kress
(Springer-Verlag, Berlin, 1986)p.246.
- 11) K. Toko and K. Yamafuji: Biophys. Chem. 14(1981)11.
- 12) J.-P. Eckmann and D. Ruelle: Rev. Mod. Phys. 57(1985)617.
- 13) S. Iiyama, K. Toko and K. Yamafuji: Agric. Biol. Chem. 50(1986)2709.