

脂 質 膜 の 変 形

昭和大学 教養部 物理 美島 清

はじめに

生体膜の基本構造である脂質膜は構造的にも形態的にもさまざまな振る舞いを示す。これらの振る舞いは生物的には生体膜機能との関連で重要であるが、物理的にもやわらかい2次元系が示す物性として注目される。我々は脂質膜が示すさまざまな形態を観察してきたが、ここでは脂質膜の(1)交流電場による配向および(2)エタノールによる指組み構造膜への変化について報告する。前者の交流電場による配向に関しては、脂質分子の親水基の配向が重要な役割を担っていること、後者では、指組み膜形成が脂質分子のパッキングによって大きく影響を受けることを示す。

(1) 交流電場による脂質膜の配向

リン脂質の凝集体に過剰な水を加え、液晶相の条件下にすると、凝集体の表面から二分子膜ラメラ層が同心円状に積層した管状構造体が成長する。この構造体はミエリン形と呼ばれている。ホスファチジルコリンなどのミエリン形に交流電場を加えると管の長軸方向が電場方向に平行に配向する。このとき、管の先端以外では脂質膜の膜面は電場に平行となっている。図1に示したのは交流電場印加前後の卵黄ホスファチジルコリン(Egg-PC)ミエリン形の光学顕微鏡写真で、管の根本部分と先端部分が電場に平行になるように配向したために曲げ変形が起きたものである。ミエリン管の曲げエネルギーは管中央線の曲率の自乗 $1/R^2$ に比例するので、変形前後の曲率半径 R_0 および R の測定から配向の程度を知ることができる [1]。

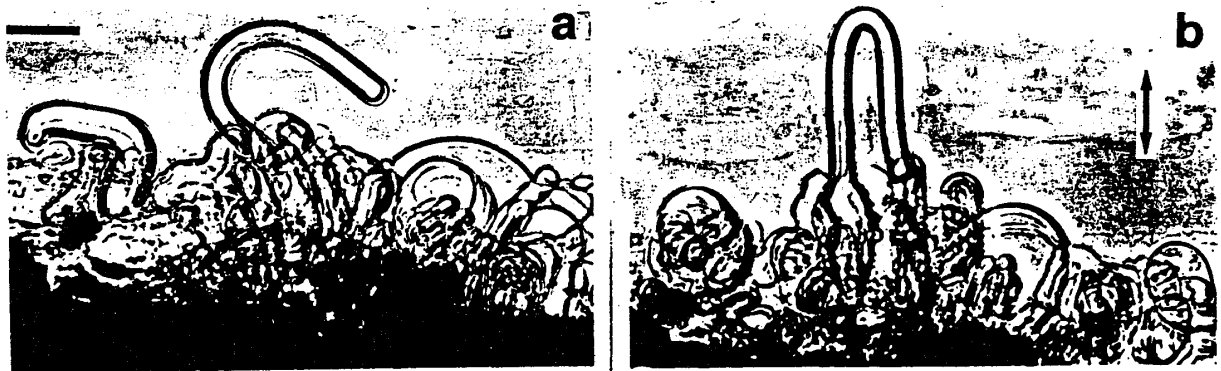


図1 卵黄ホスファチジルコリン (Egg-PC) ミエリン管の (a) 交流電場印加前と (b) 印加後の配向による曲げ変形の光学顕微鏡写真。スライドガラス上に2枚のステンレス板を平行に装着(板間距離: 0.5 mm)した電極セル上にミエリン管を成長させ、成長が止まった後、周波数1 MHz、電場強度100 V/cmの正弦波交流電圧を印加した。矢印は電場方向を示す。Bar: 50 μ m

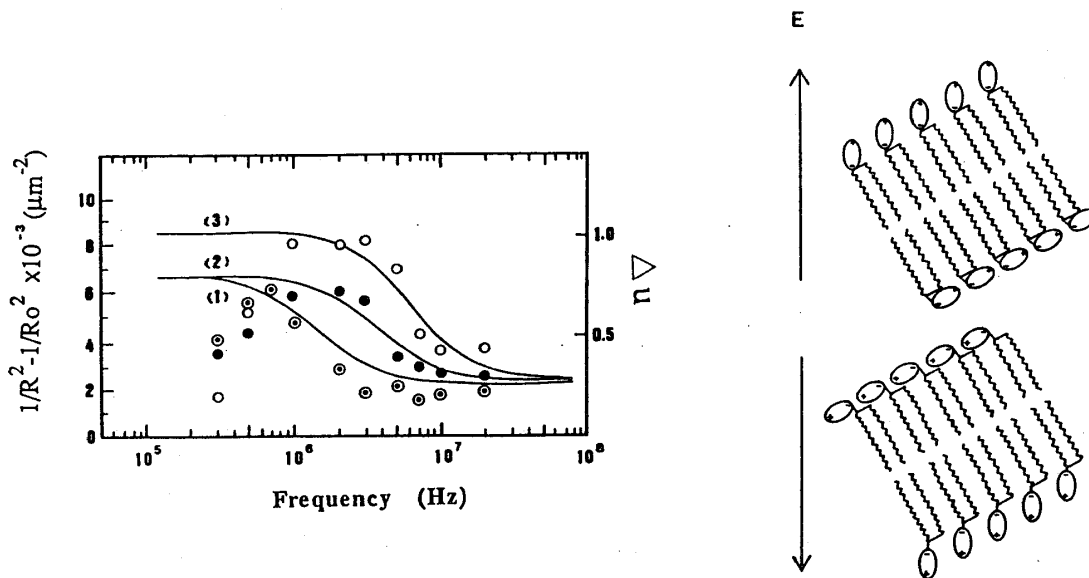


図2 交流電場による Egg-PC ミエリン管曲げ変形の周波数依存性と粒子配向理論との比較
測定は一定の電場強度 (120 V/cm) のもとでミエリン管の外部溶液のイオン強度を KCl で変えて
行った (◎:0.6mM, ●:1.5mM, ○:3mM)。測定温度は室温。実線は配向によるポテンシャル
エネルギー変化をシュワルツ等の理論より計算したもので、詳細は文献2を参照されたい
図3 交流電場中での脂質分子の親水基の動き

図2は外部溶液のイオン強度を変えて、曲げエネルギーの周波数依存性を調べた結果で、高い周波数領域では周波数と共に変形が小さくなった。また低周波領域では逆に周波数を低くするとともに変形が小さくなった [2]。

高周波領域の結果はシュワルツ等 [3、4] の交流電場による粒子配向理論によって説明することが出来る。この理論は、誘電的性質が外液 (誘電率 ϵ_0 、導電率 σ_0) と異なる等方性粒子 (誘電率 ϵ 、導電率 σ) に交流電場をかけると電気ポテンシャルエネルギーが最小になる方向に配向するというもので、ポテンシャルエネルギーの変化が曲げエネルギーの増加に等しいとすると、曲げ変形は

$$(1/R)^2 - (1/R_0)^2 = 4 \epsilon_0 d \Delta u E^2 / 3 \kappa \quad (1)$$

で与えられる。ここで d はラメラ層における二分子膜の繰り返し周期、 κ は二分子膜の曲げ弾性率、 E は電場強度、 Δu は電場に対して垂直に配向していた粒子が平行に配向した時の無次元化したポテンシャルエネルギー変化である。図2の実線は Δu を示したもので、高周波領域での曲げ変形の変化に対応している。

しかし低周波領域では曲げ変形が Δu と大きくずれていて、この理論では説明出来ない。より統一的にミエリン管の電場配向を理解するためにはさらに、脂質親水基の電場中での動きを考える必要がある。ホスファチジルコリンの親水基は双極子を持っているために電場方向に配向しようとする。図3のように膜面が電場に平行でない脂質分子はアシル鎖が立体障害となって親水基の動きが制限され、エネルギー的に不利な状態にある。そこで、親水基が電場の極性変化に追従して動くことが出来るように、膜面が電場と平行に配

向することになる。低い周波数だと電場の極性変化はゆっくりとなり、親水基がアシル鎖方向に折れ曲がる時間が長くなって二重層構造が維持できない場合が生ずる。実際、図2の低周波数領域よりさらに低い周波数にするとミエリン管は壊れ、不定形な凝集体になるのが観察される。図2の低周波数領域における曲げ変形の減少は局所的に二重層構造の破壊が起きた結果である。

合成脂質であるジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) のミエリン管も Egg-PC ミエリン管と同程度の電場配向を示した。しかし、アシル鎖の長さが DPPC と同じジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (DPPE) のミエリン管に強い電場 (~ 400 V/cm) をかけてもほとんど配向しなかった。DPPC 親水基の断面積は液晶相のアシル鎖二本の断面積とほぼ同じであるのに対して、DPPE 親水基の断面積は2割から3割小さい[5]。そのため交流電場がかかっても親水基は自由に動くことが出来、膜を配向させないと考えられる。以上みてきたように、脂質膜の電場による配向は親水基の動きと深く関与しているが、このことを考慮した理論を築くことが今後の課題である。

(2) エタノールによる指組み構造膜への変化

ゲル相の脂質二重層膜に低級アルコールなどを作用させると、アシル鎖が互いに指組みのように入り込んだ構造の一層膜 (指組み構造相、 $L_{\beta 1}$) に変化し [6]、温度をあげると液晶相の二重層膜に戻る。我々はベシクルにエタノールを作用させたときの形状変化から、指組み構造膜の形成に対するコレステロールおよび一本のアシル鎖からなる Lyso-PC の影響について調べた。

DPPC ベシクルにエタノールを作用させると、液晶相では球形であったものが指組み相になると図4のように、多面体となる。

この変形は二重層膜が一層膜になって、膜の表面積が増加したためである。

ベシクルをガラスキャピラリーに封入し、光学顕微鏡下で回転することによって、ベシクルの表面積を測定したところ、液晶相のときにくらべて約2倍に増えていて、二重層膜が全域にわたって指組み一層膜に変化していること示した。

コレステロールを含むベシクルでは、多面体に変形するベシクル数がコレステロール 10 mol% で急激に減少し、20 mol% 以上では全く観測されなかった。このことはコレステロールが指組み構造形成に対して抑制効果を持っていることを示す。また、変形したベシクルの表面積増加率もコレステロール含量と共に減少した (図5)。この結果は、コレステロールが分布している部分では指組み構造をとらないとして計算した表面積増加率

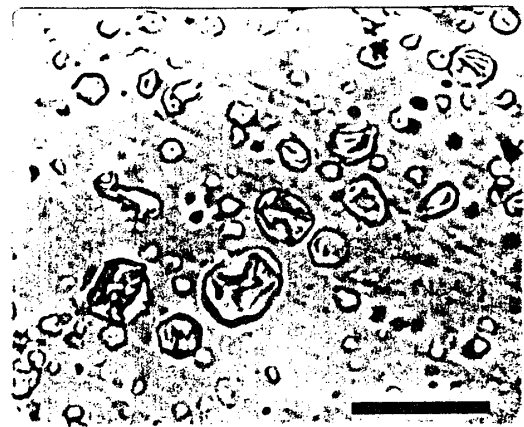


図4 指組み構造膜形成による DPPC ベシクルの変形. Ethanol:80mg/ml. Bar:20 μ m

(図の直線 a と b) と矛盾しない。 エタノールによって指組み構造が形成されるのは、脂質親水基と会合している水分子がエタノールと置き換わり、親水基の占有断面積がアシル鎖のそれより大きくなるために反対側のアシル鎖が入り込むと考えられている [7]。コレステロールはアシル鎖と相互作用してアシル鎖のパッキングを高める効果がある [8]。このために、たとえ親水基の占有断面積が大きくなっても、コレステロールは指組み構造形成を阻止すると考えられる。

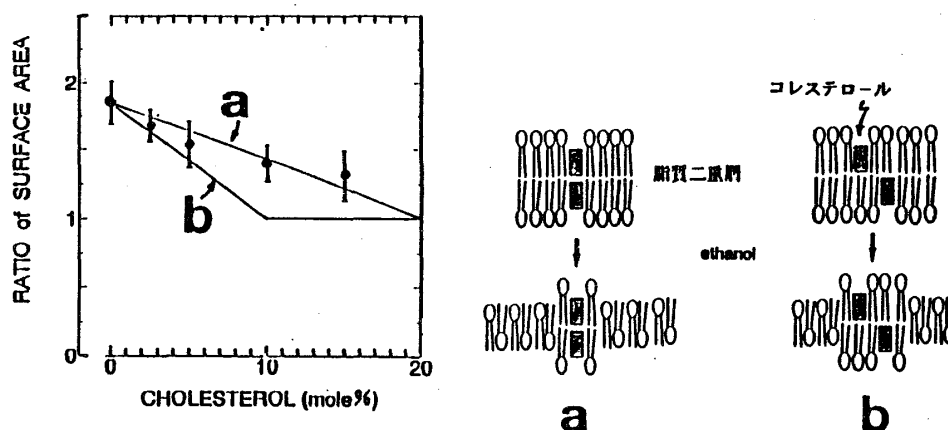


図5. 指組み構造膜ベシクルの表面積増加率に対するコレステロールの影響
エタノール濃度は80 mg/ml。a) はコレステロールが二重層の両側で重なって分布する場合、b) は重ならない場合の模式図でそれぞれの表面積増加率が直線 a と b である

一方、Lyso-PC を含むベシクルでは指組み構造形成を促進する。図6は Lyso-PC 含量が異なる DPPC ベシクルの変形を調べたもので、Lyso-PC によって指組み構造が形成されるエタノール濃度が大きく低下している。このことは Lyso-PC が入るとアシル鎖のパッキングが粗くなり、膜表面に少量のエタノールが分配されても指組み構造が形成されることを示している。

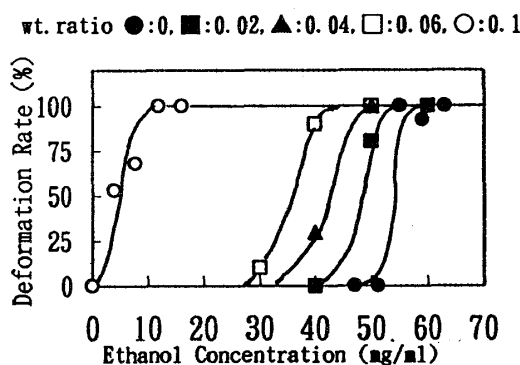


図6. Lyso-PC を含む DPPC ベシクルの指組み構造による変形

参考文献

[1]Mishima,K. and Morimoto,T.:BBA, 985(1989) 351
 [2]Mishima,K., Nakamae,S., Ohshima,H. and Kondo,T.:BBA, 1191(1994) 157
 [3]Schwarz,C., Saito,M. and Schwan,H.P.:J.Chem.Phys.,43(1965)3562
 [4]Saito,M., Schwan,H.P. and Schwarz,C.:Biophys.J.,6(1966)313
 [5]Hauser,H.,Pascher,I.,Pearson,R.H. and Sundell,S.:BBA,650(1981)21
 [6]Rowe,E.S.:Biochemistry,22(1983)3299
 [7]Komatsu,H. and Rowe,E.S.:Biochemistry,30(1991)2463
 [8]Mishima,K., Satoh,K. and Suzuki,K.:COLLOIDS and SURFACES B,7(1996)83