

複数の連結孔（膜で繋がった孔）を有する Giant Liposome

明石憲一郎¹、宮田英威²、伊藤博康³、木下一彦^{1,3}

慶應義塾大学理工学部物理学科¹、東北大学大学院理学研究科物理学専攻
領域横断物理学講座²、CREST 生命活動のプログラム チーム 13³

細胞内小器官、例えば、核、ゴルジ体若しくは小胞体は、単に一重の閉胞状になっているのではなく、核孔などの膜で構成された孔（いわゆる worm hole、以下連結孔と呼ぶ。）を多数有する構造を成していることがよく知られている。例えば、核は、外膜と内膜とを有し、これらの膜は互いに多数の連結孔によって繋がっている。近年、このような複雑な形態（位相学的には、種数 ≥ 1 の形態）について理論的に且実験的に研究がなされ、脂質膜だけからなる Liposome に於いて数個程度（ ~ 4 ）の連結孔を有するもの（連結孔が一個ならば、ドーナツ型）が形成されることが報告されている⁽¹⁾。しかしながら、実際の細胞内に見られる孔及びその周辺には、種々の蛋白質が存在しており、従って、連結孔を有する膜構造は、蛋白質によって、形成され安定化されているように思える。

本研究では、リン脂質膜だけからなる一枚膜 Giant Liposome に於いて数十個の連結孔を有するものが自発的に形成されることを見出した。Liposome は、静置水和法により調製し⁽²⁾、位相差顕微鏡若しくは共焦点顕微鏡（横河電機 CSU10）を用いて観察した。Liposome の大きさは数十 μm であり、連結孔の直径は数 μm であった。連結孔を有する Liposome の形態は、大別すると以下の通り。(A)ドーナツ及びボタン型：一つの Liposome に連結孔が一個または数個あるもの。(B)蓮根型：円盤状の Liposome であって、複数の連結孔が円盤の両側を貫通しているもの。(C)プレッツェル型：多数の細長いチューブ状の Liposome が互いに連結し複数のループを形成した状態のもの。(D)核型：二枚膜の閉胞であって、内膜と外膜との間に空間を有し且内膜と外膜が多数の連結孔で繋がっているもの。これらの Liposome の膜は、膜の像のコントラスト及び熱揺らぎの様子から、一枚膜であると思われる。⁽²⁾

これらの連結孔を有する Liposome は、一枚膜の Giant Liposome が多数形成される条件（脂質膜を帯電させる。具体的には、脂質成分に電荷を有する脂質を混入させるか若しくは水溶液中に Ca^{2+} 若しくは Mg^{2+} を入れる。詳細は図1の説明を参照。）のいずれの場合に於いても観察された。このことにより、脂質膜が一枚膜で安定に存在することができる環境では、細胞内に見られる種々の複雑な構造が脂質膜だけで自発的に形成され得ることが示唆される。

References

[1]Michalet et al.,1994, *Phys. Rev. Lett.* 72:168; Michalet and Bensimon, 1995, *Science* 269:666.

[2] Akashi et al., *Biophys. J.* (1996) 3242

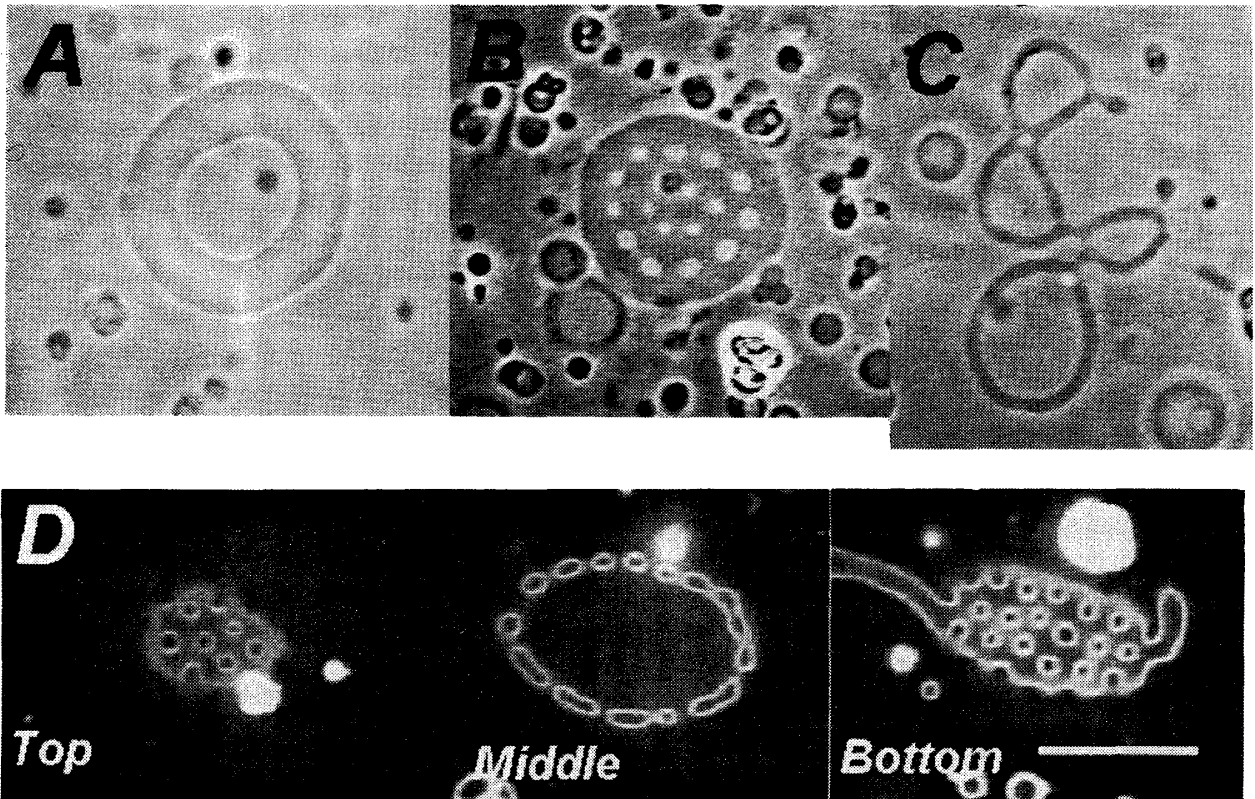


図1 連結孔を有する Giant Liposome の顕微鏡像。(A) ドーナツ型;(B) 蓮根型;(C) プレツェル型(位相差像); (D)核型の共焦点顕微鏡蛍光像： 蛍光色素 Nile Red で染色。脂質として phosphatidylcholine (電氣的に中性) を用いた場合、水溶液は 1~30mM CaCl₂, 0.1 M sucrose とした。脂質として 90% phosphatidylcholine と 10% phosphatidylglycerol (負に帯電) との混合物を用いた場合、水溶液は、100mM KCl, 0.1M sucrose を用いた。 Bar: 25 μ m.