

リン脂質 Dry Film からの Giant Vesicle 形成

— Giant vesicle formation from dry film of lipids —

京都大学 理学部理学研究科 菱田 真史¹

1 はじめに

リポソームとはリン脂質で作られた閉じた二重層膜であり、生体膜のモデルとして盛んに研究されてきている [1]。Nomura らによる実験より、Cell サイズリポソーム内ではタンパク質合成反応が促進されることがわかっており [2]、生命体において細胞膜に囲まれた空間は重要な反応場であると考えられる。そこで物理的側面から生体膜の状態を観察してやり、vesicle 状の形態をとる過程を理解することは重要である。これまで、実験室でリポソームを形成する方法やその形成過程について数多くの研究が行われてきた [3][4][5][6]。今回はそのなかでも静置水和法と呼ばれるリポソーム形成法における形成過程に注目して実験を行った。静置水和法では、まず有機溶媒 (クロロホルム : メタノール = 2 : 1) に溶かしたリン脂質を試験管の中に少量入れ、溶媒だけを乾燥させることによってリン脂質のみでできた薄膜 (Dry Film) をつくる。次にそこに水を入れてリン脂質を水和させることで自然にリポソームが形成される。その過程についてはこれまで、一様に stack した Dry Film からリポソームが発芽するモデルで説明されてきた [5]。しかし、このモデルではリポソームが形成する途中でエネルギーの高い状態を経なければならない、リポソームに高分子が取り込まれるという実験結果が説明できないなど、いくつかの問題があった。本研究では、これまで全く行われていなかった、リポソーム形成前の Dry Film の状態や形成過程の実験的な検証を行い、それをもとにしてこのような問題点を解決するような新たなモデルを提案する。

2 リン脂質 Dry Film の形態形成

静置水和法でリポソーム形成させる時と同様に、ガラス面上にリン脂質の Dry Film を形成し、位相差顕微鏡と原子間力顕微鏡 (AFM) で観察した。今回は試料として、室温下で液晶状態をとる DOPC とゲル状態をとる DPPC の二つを使用した。その結果、それぞれのリン脂質に

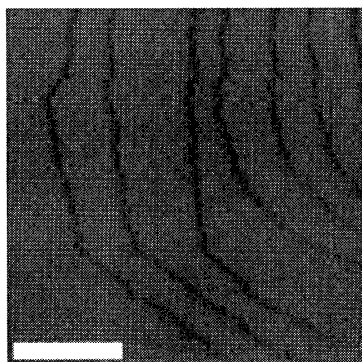


図 1: dry films of DOPC,
スケールバー : 0.3 μ m

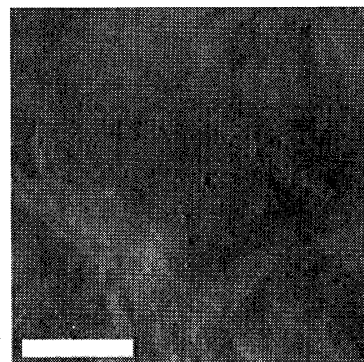


図 2: dry films of DPPC,
スケールバー : 0.3 μ m

¹E-mail: hishida@chem.scphys.kyoto-u.ac.jp

よって Dry Film の形成の仕方が大きく異なることがわかった (図 1, 図 2)。これは脂質の相状態によって結晶成長の過程が異なることによるためと思われる。この結果は、これまでに提唱されてきたリポソーム形成のモデルでは示されていなかった結果であり、新たなメカニズムを考える必要があると思われる。

3 静置水和法によるリポソーム形成

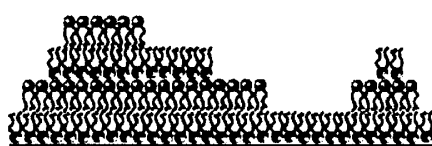


図 3: イメージ : stack した Film

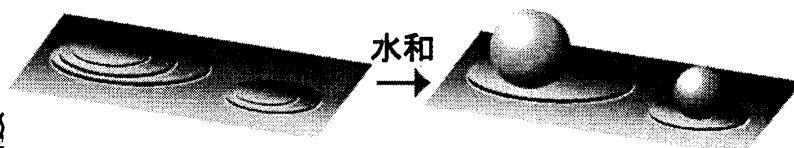


図 4: イメージ : リポソーム形成モデル

上で得た実験結果から考えると、ある大きさのドメインに分かれたリン脂質 Dry Film が、水中に疎水基を接触させることによるエネルギーロスを解消するためにベシクルを形成する、というの新たなリポソーム形成モデルを考えることができる (図 3, 図 4)。またこれを基にして実際にリポソームを形成した。その結果、Dry Film から形成されるリポソームの形成効率やそのサイズは、その元となる Dry Film の形態によっていることがわかった。この結果より、ここで考えた静置水和法における新たなリポソーム形成理論の妥当性を議論できるとと思われる。また本発表では Helfrich による自発曲率モデルをもとに [7] 理論的考察もする予定である。

参考文献

- [1] R.Lipowsky; Curr. Opin. Struct. Biol. **5** (1995), 531.
- [2] S-i. M. Nomura; Chem.Bio.Chem. **4** (2003), 1172
- [3] P.Mueller, T.F.Chien, and B.Rudy; Biophys. J. **44** (1983), 375.
- [4] D.Needham, and E.Evans; Biochemistry. **27** (1988), 8261.
- [5] J.P.Reeves, and R.M.Dowben; J. Cell. Physiol. **73** (1969), 49.
- [6] D.D.Lasic; Biochem. J. **256** (1988), 1.
- [7] R.Lipowsky, U.Seifert; Mol. Cryst. Liq. Cryst. **202** (1991), 17