

脂質二重膜の波状運動に対する面内ネットワーク構造の影響 Effect of in-plane network structure on undulation motion of lipid bilayer

山田 悟史

高エネルギー加速器研究機構, 〒319-1106 那珂郡東海村白方 203-1

N. L. Yamada

¹KEK, 203-1 Shirakata, Tokai, Naka 319-1106, Japan

1 はじめに

細胞やその小器官は、両親媒性分子であるリン脂質の二分子膜（脂質二重膜）をベースとした生体膜によって内外が仕切られている。この脂質二重膜はセミフレキシブルな曲面としてモデル化することができ、熱揺らぎによって膜に特有の波状運動を起こしていることが知られている。ただし、生体膜はタンパク質のネットワークによる細胞骨格によりその形状を支配されており、実際の膜の運動を理解するためには面内ネットワークに拘束された状況下における脂質二重膜の挙動を理解する必要がある。これまで、リン脂質の水溶液中で自発的に形成される脂質二重膜は生体膜のモデルとして精力的に研究が行われてきたが、しかしながら面内のネットワーク構造に着目した研究はほとんどない。

そこで、本研究では「重合性脂質」を用いて脂質二重膜の面内にネットワーク構造を作成し、斜入射小角散乱実験(GI-SAXS)による評価を行う。試料としては、モデル膜として良く用いられる飽和リン脂質 Dipalmitoylphosphatidylcholine(DPPC)と炭化水素鎖に三重結合を含む重合性リン脂質 1,2-bis(10,12-tricosadiynoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine (DiynePC)を混合した試料を用いる。DiynePCはUVを照射することにより隣接する分子間で重合を起こし、ネットワークを形成する。この際、DiynePCの割合変化させることでネットワークの密度を制御することができる。ネットワークが形成された脂質二重膜は運動性が著しく減少すると予想され、その結果、膜の波状運動が抑制されると考えられる。このような運動性の変化はリン脂質の積層に対応する Bragg ピークの散漫散乱を解析することによって評価することが可能で、特にシリコン基板の上に作成可能な配向膜を利用することによって GI-SAXS による多次元的な構造解析を行うことができる。また、リン脂質は水蒸気雰囲気下で、その蒸気圧に応じて面間に水を吸着することが知られており[1]、これを制御することによって膨潤度による影響を評価する。

2 実験

試料となるリン脂質はクロロホルム:メタノール=2:1(体積分率)で混合した有機溶媒に溶かし、シリコン基板(10 mm × 25 mm, 表面処理無し)の上にスピんキャスト法で成膜した。リン脂質の濃度は

50 mM とし、DPPC:DiynePC のモル比が 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100 の割合となるよう混合した。スピんキャストは 1500 rpm で行い、残留溶媒を除去するために一晚真空乾燥を行った。湿度の制御は自作の湿度調整機構を用いて行った。これは密閉系で空気をポンプで循環させ、途中で水をバブリングすることで加湿する機構で、水の温度を調節することで蒸気圧変化させ、湿度を制御する。同時に、試料容器はチラーによる温調を行い、23°Cで一定になるようにした。GI-SAXS 実験は BL-15A2 にビームライン標準の斜入射小角散乱実験用スイベルステージを組み合わせて実験を行った。検出器は PILATUS 3M を用い、波長は 0.1653 nm、カメラ長は 1559 mm (ペヘン酸銀を用いて較正)、試料への入射角は 0.08 度とした。

3 結果および考察

図 1 に相対湿度 68%での GI-SAXS プロファイルを示す。 $Q_z \sim 0.1 \text{ nm}^{-1}$ に現れた Bragg ピークはリン脂質の積層に対応するピークで、リン脂質の混合比に応じて若干の変化が見られる。DPPC の混合比が高いほどピーク位置は low- Q_z 側にシフトしており、膜間により多くの水を含んでいることを示している。また、図 2 に示す相対湿度 87%の結果についても同様に Bragg ピークが観察されており、ピーク位置に関しても 68%と同じ傾向が見られる。このピーク位置の傾向をまとめたものが図 3 で、Bragg ピークより見積ったラメラの積層周期 $d (=2\pi/Q_z)$ の湿度、組成依存性を示している。興味深いことに、DPPC の割合が 40%以上と 20%以下で膨潤挙動が大きく異なっており、膜の物性に大きな変化が起きたことを示唆している。

リン脂質二分子膜の膜間距離は膜間に働く相互作用のバランスで決まることが知られている。この際、膜に特有の斥力として膜の波状運動に起因したエントロピックな相互作用(いわゆる Helfrich 斥力[2])が挙げられる。これは、膜が柔らかく波状運動を起こしやすいと膜間距離が広がりやすくなることを意味している。これに基づき今回の実験結果を考察すると、DiynePC 濃度が 60%と 80%の間でパーコレーション転移によって面内にネットワークが行き渡り、膜が急激に硬くなったことが予測される。

4 まとめ

シリコン基板上に作成した重合性リン脂質を含む脂質二分子膜について GI-SAXS 実験を行い、構造の温度依存性について評価を行った。Bragg ピークの位置から得られる膜の繰り返し周期について、湿度依存性と合わせて検討したところ、重合性リン脂質の濃度が 20%と 40%の間で膜の運動性低下に対応する変化を観測する事に成功した。今後は、転移を示す濃度について定量的な検討を行うと共に、散漫散乱の解析を行うことによって、膜の曲げ弾性係数の変化との対応について評価を行う予定である。

謝辞

GI-SAXS 実験を行うに当たってはビームラインスタッフの五十嵐氏、清水氏、森氏に多大なるご協力をいただいた。ここに感謝の意を示したい。

参考文献

- [1] J. F. Nagle *et al.*, *Phys. Rev. E* **59**, 7018 (1999).
- [2] W. Helfrich, *Z. Naturforsch* **33**, 305 (1978).

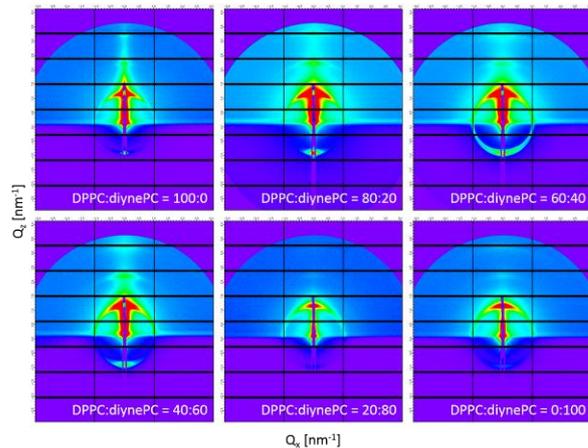


図 1: 相対湿度 68%での GI-SAXS プロファイル。縦軸は積層方向に対する散乱ベクトル Q_z に、横軸は面内方向に対する散乱ベクトル Q_x に対応しており、それぞれ $-3.091 < Q_z < 3.076 \text{ nm}^{-1}$ 、 $-2.895 < Q_x < 4.118 \text{ nm}^{-1}$ の領域をカバーしている。

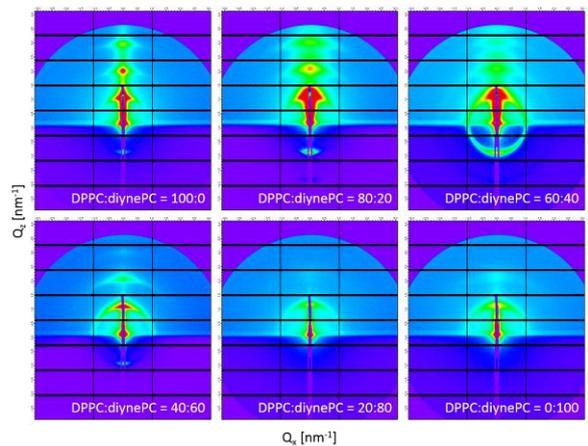


図 2: 相対湿度 87%での GI-SAXS プロファイル (縦軸と横軸は図 1 と同様)。

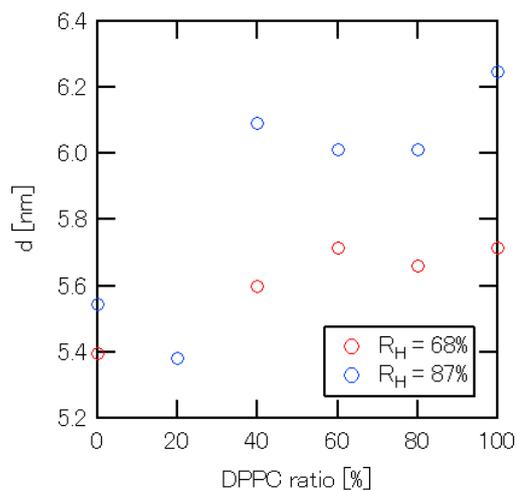


図 3: Bragg ピークより見積もられたラメラの積層周期 d の湿度、組成依存性。