

アニオン性リン脂質膜の膜間距離の共イオン価数依存性
および
電気二重層相互作用の新規作用メカニズム
Co-ion valence dependence of lamellar repeat distance of anionic lipid bilayers
and
a novel working mechanism of the electrostatic double-layer interaction

菱田真史*

筑波大学数理物質系化学域, 〒305-8571 つくば市天王台 1-1-1

Mafumi Hishida*

Department of Chemistry, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, 305-8571, Japan

1 はじめに

コロイドや各種ソフトマターが水中で分散するか凝集するかはコロイド化学やソフトマター物理学において理解すべき最も基本的な事象の一つである。とくに荷電性のコロイドやソフトマターの分散・凝集はこれまで DLVO 理論によって説明されてきた。この理論では、電気二重層相互作用と van der Waals 相互作用の足し合わせによってコロイド間の相互作用ポテンシャルが記述される。電気二重層相互作用は約 100 年前に Gouy-Chapman や Debye-Hückel によって Poisson-Boltzmann 方程式を解くことによって得られた静電ポテンシャルを用いることで計算されてきた。DLVO 理論によると、電気二重層相互作用は溶液中のイオン強度に依存すると予想される。そのため、イオン強度が等しければ平衡のコロイド間距離も等しくなると予想される[1]。

一方で近年、この予想とは反する実験結果が得られている。スイス Geneve 大の Trefalt ら[2]は、球状コロイドの臨界凝集濃度が添加した共イオン（コロイドと同じ電荷のイオン）の価数にどう依存するかをしらべ、価数依存性が DLVO 理論から外れることを報告している。ここでは、イオン強度が同じであっても、共イオンの価数が小さいほうが凝集が進みやすいことが報告されている。さらに DNA のコイル-グロビュール転移の共イオン価数依存性に関しても同様の傾向が報告[3]されてきた。

これらの報告から、DLVO 理論もしくはこれまで得られてきた電気二重層相互作用が実際の実験系と合わない点があると考えられる。しかし、その原因は明らかではなかった。

そこで本研究では、幅広いイオン強度領域で相互作用ポテンシャルを議論し、理論的考察を行うため、アニオン性リン脂質膜の膜間距離のイオン濃度依存性を X 線小角散乱によって測定した[4]。

2 実験

アニオン性リン脂質は DOPS (1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phospho-L-serine) を、添加する電解質は NaCl、Na₂SO₄、Na₃PO₄ の 3 つを用いた。添加塩のカチオンは DOPS にあらかじめついている対イオンである Na⁺にそろえた。DOPS は 60 mM になるように調整した。

X 線小角散乱は KEK Photon Factory BL6A および BL10C にて行った。カメラ長は約 2.5 m とし、ベヘン酸銀にて校正を行った。測定はすべて 25 °C で行った。

3 実験結果と考察

X 線小角散乱によって得られたプロファイルはリン脂質膜の形状因子にわずかにラメラ構造に由来する構造因子がのった形となった (図 1)。まず、二重膜の形状因子に対して、二つの親水領域と一つの疎水領域を表す 3 つのガウス関数を仮定したモデル [5]を適用し、フィッティングを行った (図 1 実線)。フィッティング結果から求めた各電解質溶液中の DOPS 膜の電子密度分布が図 2 である。いずれの塩を添加した場合でも膜の構造はほとんど変化せず、膜厚は約 40 Å であることが分かった。

つぎに、ラメラ構造の構造因子由来のピーク位置から、ラメラの膜間距離を各塩濃度において求めた。膜厚 40 Å を引いて膜間の水層の厚みにし、イオン強度に対してプロットしたものが図 3 である。イオン強度が同じであっても添加塩の共イオンによって距離が異なることが分かる。先に述べたように、この結果は DLVO 理論による予想とは一致しない。一方で近年の実験研究の結果とは傾向が一致している。

この実験結果を理解するまえに、DLVO 理論で考えられている力以外に、膜間で働くと考えられている二つの力[6]についても考える必要がある。一つ目は膜に揺らぎ運動に起因した立体斥力 (Helfrich 斥力) である。この力は膜の弾性に依存するが、リン脂質

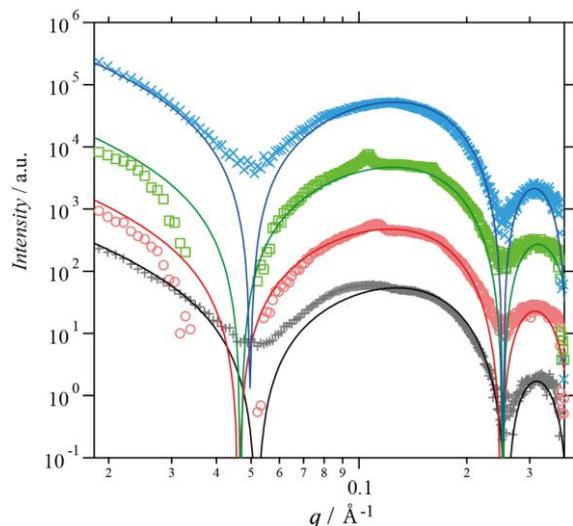


図 1: 各電解質溶液中の DOPS 膜ラメラの X 小角散乱プロファイルと形状因子によるフィッティング結果。(黒: 純水中、赤: NaCl、緑: Na₂SO₄、青: Na₃PO₄。Na⁺濃度 = 30 mM)

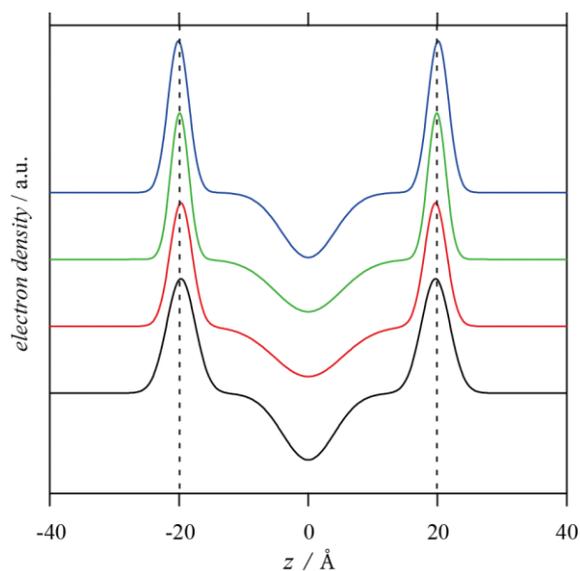


図 2: フィッティングから得られた DOPS 膜の電子密度分布 (黒: 純水中、赤: NaCl、緑: Na₂SO₄、青: Na₃PO₄)

膜の弾性はイオンの添加にはあまり影響を受けないということが報告されており、この力の変化が今回の実験結果と DLVO 理論の不一致の原因とは考えづらい。もう一つは膜近傍で働く近距離斥力(水和斥力)であるが、この力はそもそも数 Å 以内でしか働かないため、今回の差異を生み出すことはあり得ない。さらに van der Waals 力は膜と水溶液の誘電率に依存するが、図 2 に見られたように膜構造の変化は少なく、また塩濃度も水溶液の誘電率が大きく変化するほどには高くなく、その影響も考えづらいこと

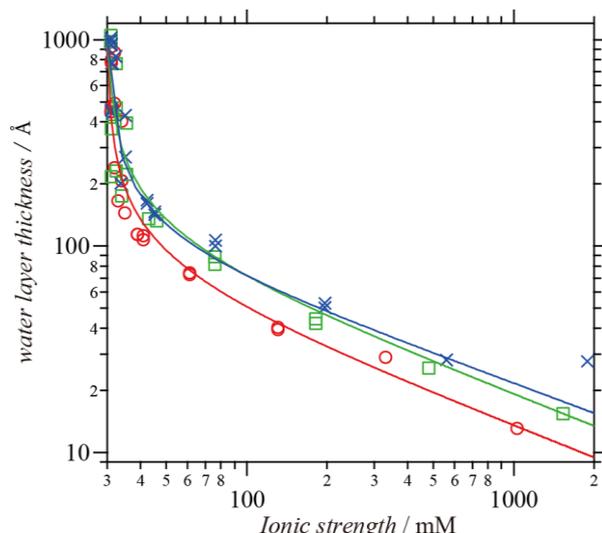


図 3: 各電解質溶液中の DOPS の膜間距離のイオン強度依存性と理論計算の結果(実線)。(黒: 純水中、赤: NaCl、緑: Na₂SO₄、青: Na₃PO₄)

が分かった。すなわち、今回の実験結果が DLVO 理論に合わないのは、電気二重層斥力がこれまで考えられていたものとは異なる形式となるからである可能性が大きい。

4 理論的考察

ここでは電気二重層斥力の起源とその作用メカニズムを再考する前に、試料中でのイオン分布について理論的に考える。約 100 年前に Donnan[7]は、系内の一定の領域にコロイドが凝集してバルク相と共存した際の各相におけるイオン分布の計算を行った(Gibbs-Donnan 平衡)。ここではコロイド相が半透膜中に隔離されていると考えているが、理論的には半透膜は重要ではなく、コロイド相がバルク相と共存してさえいればいい。このモデルでは、「各相における電気的中性条件」、「各イオンの全量保存条件」、および、「静電ポテンシャルの相間での差がアニオンから見た場合とカチオン見た場合で一致すること」(この条件は自由エネルギーを最小化する)の 3 つの条件を考え、矛盾なく解くことでイオン分布を計算する。細胞内外のイオン濃度を計算する際などによく用いられてきている。

今回の系でもラメラ相がバルク相と共存するため、このモデルが適用できる。そこでバルク相とラメラ中の水相でのイオン濃度を計算すると、添加した塩のほぼすべてがバルク相へと排斥されるということが分かった。膜間には脂質に元からついていた対イオンのみが存在することになる。このイオン分布は Gouy-Chapman や Debye-Hückel が考えてきた分布とは本質的に異なる。

そこで、このイオン分布を考慮したうえで電気二重層相互作用を再考する。膜間には添加塩は存在し

ないので、電気二重層斥力は対イオンのみからのものとなる。このときの圧力は、距離によって \exp で減衰する Debye-Hückel 型ではなく、べき乗で減衰する形となる。また、添加塩はバルクに存在するので、膜間とでイオン濃度差が大きくなる。それによって浸透圧差が生まれる。この浸透圧は膜間に対して引力として働く。この二つの力を足し合わせ、積分することで相互作用ポテンシャルにしたものが下式である。

$$U(d) = \frac{2\pi^2 \epsilon_0 \epsilon}{\beta^2 e_0^2} \left(\frac{1}{d} - \frac{1}{d_{max}} \right) + \frac{2I - \rho_0}{Z\beta} (d - d_{max})$$

ここで、 $\epsilon_0 \epsilon$ は溶液の誘電率、 e_0 は電気素量、 ρ_0 はリン脂質の濃度、 d_{max} はシステムサイズで決まる最大の膜間距離、 $\beta = 1/kT$ で、 I がイオン強度、 Z が共イオンの価数である。

このポテンシャルと van der Waals 相互作用ポテンシャルを足し合わせ、極小の位置から平衡の膜間距離を計算した (図 3 の実線)。このモデルでは式に示す通り、自由なパラメータは存在しないにもかかわらず、実験結果と非常によい一致をしていることが分かる。また、van der Waals 相互作用は、浸透圧に由来する引力よりも弱く、ポテンシャル形状にはわずかにしか影響しないことも分かった。実際に、van der Waals 相互作用を足し合わせない場合でも、計算結果は実験をよく表した。

このように理論計算と実験結果が非常に良い一致を示すということは、本理論で考えたイオン分布が正しいということを強く示唆している。この不均一分布は DLVO 理論では考慮されてきていなかった。コロイド近傍のポテンシャルだけでなく、系全体の熱力学を考慮することが重要であることを示している。

5 結論

X 線小角散乱によって求めた電解質溶液中のアニオン性リン脂質膜の平衡膜間距離が、DLVO 理論に合わないことを発見し、その原因がイオンの不均一分布にあることを明らかにした[4]。このような不均一分布はこれまでの電気二重層斥力を計算するためのモデルでは考慮されていなかったが、コロイド凝集系ではほぼすべてで成り立つと考えられる。今後、DLVO 理論が適用できる範囲や我々のモデルとの齟齬を理論的に明確にしていく必要がある。また、他の系においても成り立つのか、普遍性について実験を通じて検証していく必要がある。

謝辞

本研究は九州大学の秋山良准教授、筑波大学の齋藤一弥教授、山村泰久准教授、および学生の野村遥子氏とともに行われました。また、研究の一部は、

科研費 (Grant No.15K13546) の助成を受けて行われました。ここに感謝いたします。

参考文献

- [1] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*, 3rd ed. (Academic Press, Amsterdam, 2010).
- [2] G. Trefalt, I. Szilagyi, and M. Borkovec, *J. Colloid Interface Sci.* 406, 111 (2013).
T. Cao, I. Szilagyi, T. Oncsik, M. Borkovec, and G. Trefalt, *Langmuir* 31, 6610 (2015).
F. J. Montes Ruiz-Cabello, M. Moazzami-Gudarzi, M. Elzbieciak-Wodka, P. Maroni, C. Labbez, M. Borkovec, and G. Trefalt, *Soft Matter* 11, 1562 (2015).
G. Trefalt, *Phys. Rev. E* 93, 032612 (2016).
G. Trefalt, T. Palberg, and M. Borkovec, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 27, 9 (2017).
G. Trefalt, I. Szilagyi, G. Téllez, and M. Borkovec, *Langmuir* 33, 1695 (2017).
B. Uzelac, V. Valmacco, and G. Trefalt, *Soft Matter* 13, 5741 (2017).
- [3] T. Saito, T. Iwaki, and K. Yoshikawa, *Chem. Phys. Lett.* 465, 40 (2008).
T. Saito, T. Iwaki, and K. Yoshikawa, *Biophys. J.* 96, 1068 (2009).
- [4] M. Hishida, Y. Nomura, R. Akiyama, Y. Yamamura, K. Saito, 96, 040601(R) (2017)
- [5] G. Pabst, M. Rappolt, H. Amenitsch, and P. Laggner, *Phys. Rev. E* 62, 4000 (2000).
- [6] M. Hishida, H. Seto, N. L. Yamada, and K. Yoshikawa, *Chem. Phys. Lett.* 455, 297 (2008).
- [7] F. G. Donnan, *Chem. Rev.* 1, 73 (1924).

* hishida@chem.tsukuba.ac.jp