

有機溶媒の揮発に伴うリン脂質積層膜の形成キネティクス In situ observation of evaporation induced self-assembly of phospholipid

菱田真史^{1*}、山田悟史²、瀬戸秀紀²
M. Hishida^{1*}, N. L. Yamada², H. Seto².

¹Department of physics, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan.

²High Energy Accelerator Research Organization, Tsukuba, 305-0801, Japan.

*e-mail: hishida@chem.scphys.kyoto-u.ac.jp

両親媒性分子であるリン脂質は疎水性相互作用により二重膜を形成することで生体膜を構成している。また実際の細胞中で生体膜はアクチンなどのタンパク質でできた細胞骨格に支持されて形態を維持していることが知られており、それを模して、基板上に支持されたリン脂質二重膜は生体膜のモデルとして盛んに研究されている[1]。また一方で、顕微鏡で観察可能な細胞モデルとして近年よく用いられている細胞サイズのリン脂質二重膜小胞（リン脂質ジャイアントベシクル）を水中で形成する方法の一つとして、基板上のリン脂質二重膜を水和する方法が経験的に知られており[2]、我々はこれまで、基板上の膜の形態がこの方法での小胞形成メカニズムおよび形成効率に関係することを明らかにしてきた。[3,4]

これらの研究により、基板上に形成したリン脂質膜の形態制御やいかにうまく基板上に二重膜として形成させるかが、基板上の膜における膜機能の研究や細胞サイズ小胞の形成に重要であることが明らかになってきている。ところが、これまでその形成メカニズムというのはほとんど研究されてこず、

経験に頼るものばかりであった。そこで今回我々は、有機溶媒にとけたリン脂質が溶媒の揮発に伴って基板上にどのように二重膜を形成していくのか、そのメカニズムを明らかにすべく、光学顕微鏡、X線小角散乱を用いて nm~ μ m のスケールで膜形成のキネティクスの観測をおこなった。

有機溶媒は比較的乾燥の遅いオクタンを主に用い、リン脂質は室温で液晶相をとる DOPC (1,2-Dioleoyl-*sn*-Glycero-3-Phosphocholine) を用いて実験を行った。図1に有機溶媒の乾燥に伴ってリン脂質膜が形成されていく様子を顕微鏡で観測した結果を示す。有機溶媒の乾燥に伴ってリン脂質膜が積層して作るテラス状構造の大きさが成長していくのがわかる。フーリエ変換を行って解析したところ、この構造形成過程はスピノーダル分解的であることが示唆された。

さらに nm スケールで、オクタン中の脂質の自己組織化構造、およびそれがオクタンの揮発に伴ってどのように基板上に積層し、二重膜積層構造を形成していくのか、そのキネティクスを時分割 X 線小角散乱 (Spring8、BL40B2) を用いて観測した。X 線波長は 0.8 Å、CCD を

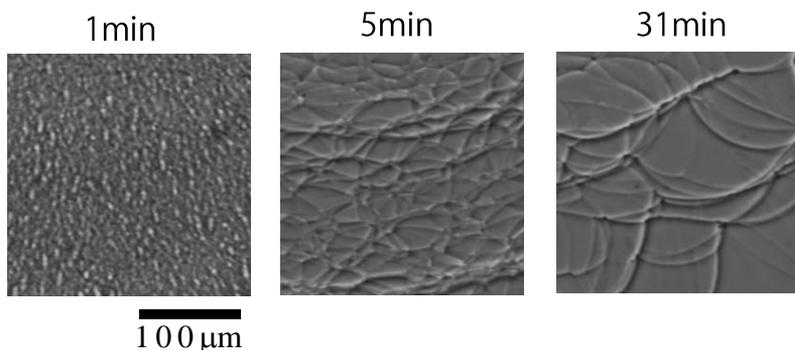


図1: オクタンの揮発に伴うリン脂質積層膜の成長過程。時間は表面上からオクタンのバルク溶液が乾燥してから。テラス状構造のサイズの変化が観測される。

用いることで1~1.5秒間隔で構造の変化を観測した。

図2にオクタンの揮発に伴って変化する脂質からの散乱パターンの変化を示す。この結果から、オクタン揮発に伴う二重膜積層構造の形成は、オクタン中でディスク状の逆ミセルを形成していた脂質が徐々に基板上につもっていくことによりおこるということがわかった。またディスクの集積によってできた基板上的積層膜における膜間距離は、形成し始めてから3つないし4つの速度過程をもって変化していくということもわかった。特に初期課程（数秒以内）では一度膜間が狭くなったあと広くなるという奇妙な現象が観測された。この過程は基板上的積層膜の構造形成の開始（Bragg ピークの増大）と同期しておこっており、この膜間距離の挙動は顕微鏡で観測されたスピノーダル分解に伴うものであると考えられる。本発表では顕微鏡の観察結果と合わせることでより詳細に基板上的膜形成

の過程を議論し、膜の自己組織化メカニズムについてのべる。

References (参考文献)

- [1] R. P. Richter et al., *Langmuir* **22** 3497-3505 (2006)
- [2] A. D. Bangham et al., *J. Mol. Biol.* **13** 238 (1965)
- [3] M. Hishida et al., *Chem. Phys. Lett.* **411** 267-272 (2005)
- [4] M. Hishida et al., *Chem. Phys. Lett.* **455** 297-302 (2008)

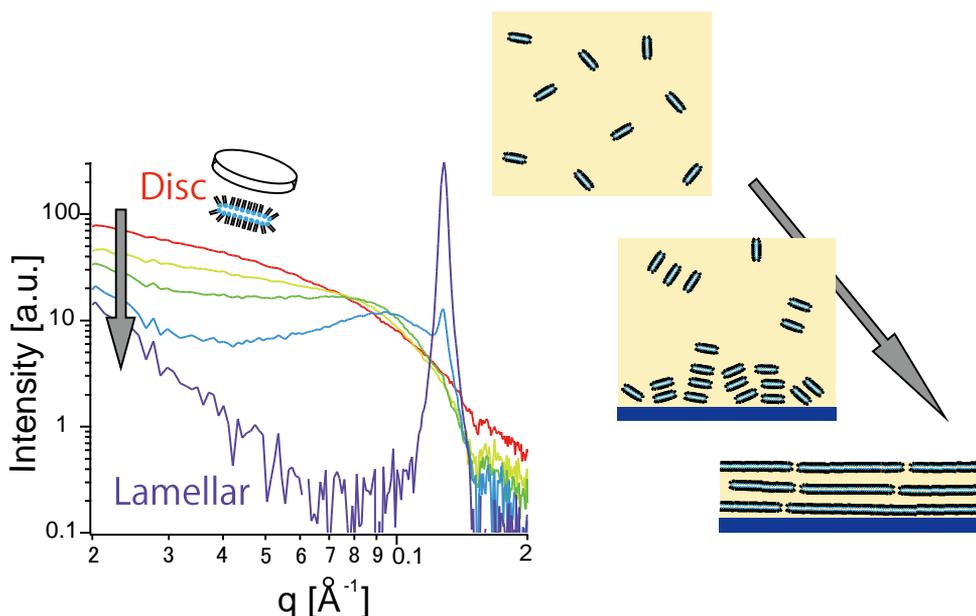


図2: 時分割 X 線小角散乱による、オクタンの揮発に伴った DOPC の膜構造自己組織化の観測。オクタンが十分あるとき、DOPC はディスク状の逆ミセルを形成し、それがオクタンの揮発による濃縮に伴って基板上に積層する。その後、顕微鏡で見られるようなテラス構造の成長が起こると考えられる。