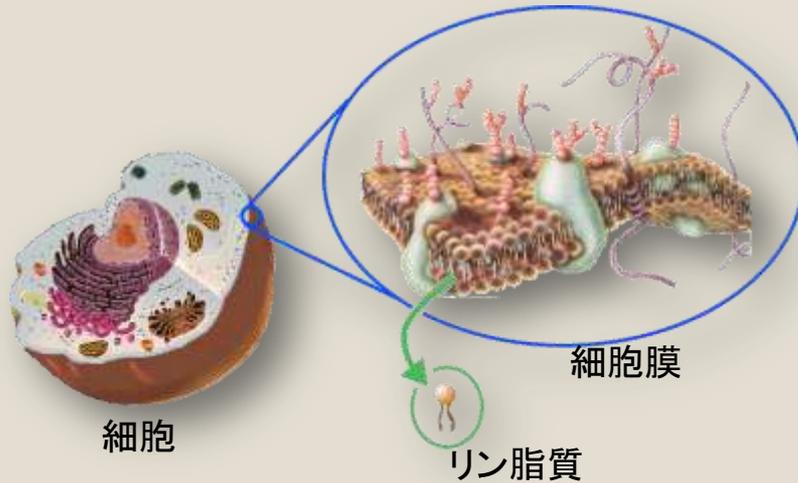


有機溶媒の揮発に伴うリン脂質積層膜 の形成キネティクス

菱田真史^a、山田悟史^b、瀬戸秀紀^b

京都大理^a、高工研物構^b

Introduction



リン脂質は細胞膜の主構成物質であり、水中で自発的に二重膜構造を形成する。さらにその膜は閉じてベシクル構造をなす。

マルチラメラベシクル



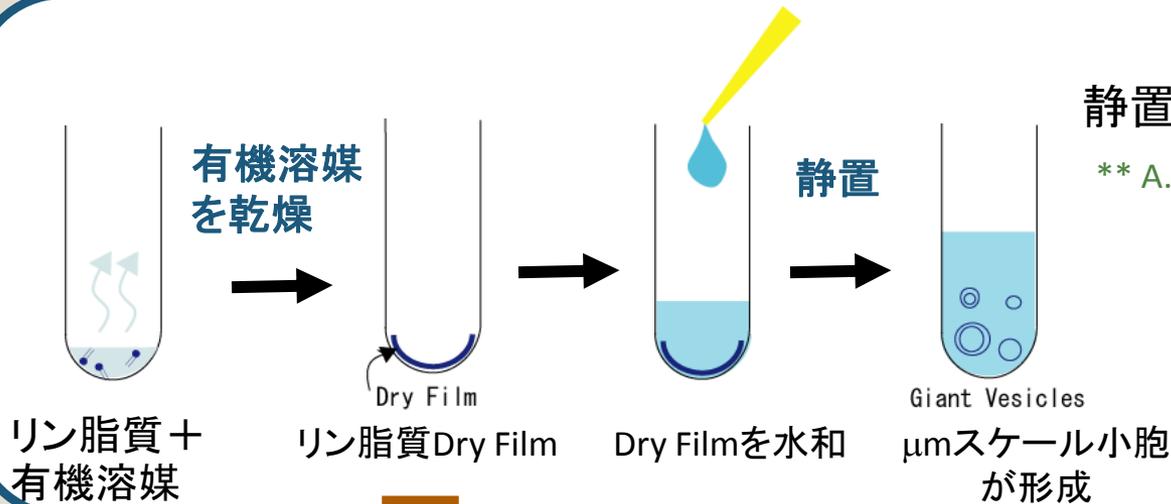
実際の細胞膜は μm スケールの単層膜ベシクルであるのに対し、リン脂質の粉末を単に水中に分散させた時には二重膜が多重に積層したマルチラメラベシクルが形成する。

$\sim \text{nm}$



ジャイアントベシクル²

Giant Vesicle formation

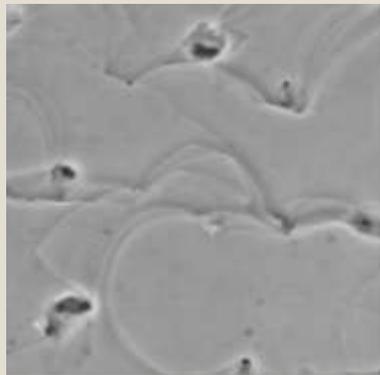


静置水和法

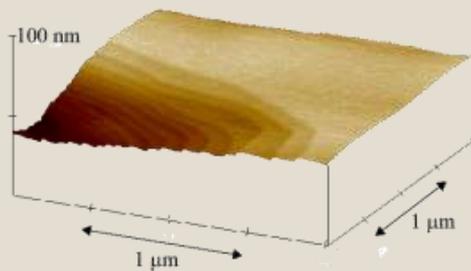
** A.D. Bangham et al., J. Mol. Biol. 13 (1965) 238

Dry Filmの構造

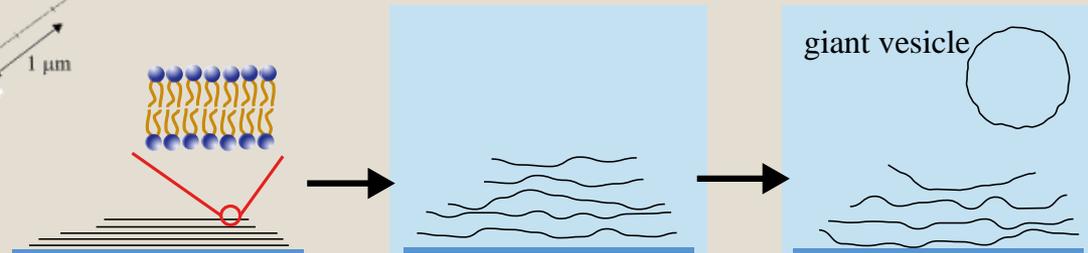
位相差顕微鏡



原子間力顕微鏡 (AFM)



Dry Filmが μm スケールのテラス状構造を形成することがジャイアントベシクル形成に重要

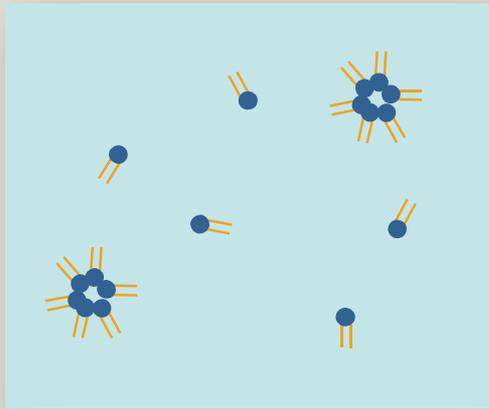


M. Hishida, et al, *Chem. Phys. Lett.* **411** (2005) 267-272.

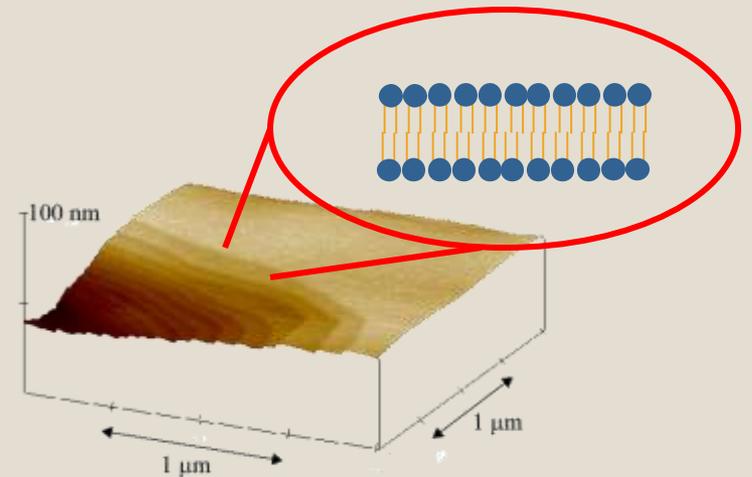
M. Hishida, et al, *Chem. Phys. Lett.* **455** (2005) 297-302.

Purpose

リン脂質Dry Filmの構造を制御するためには、テラス構造といったDry Filmの構造がどのように形成されるのかを理解する必要がある。

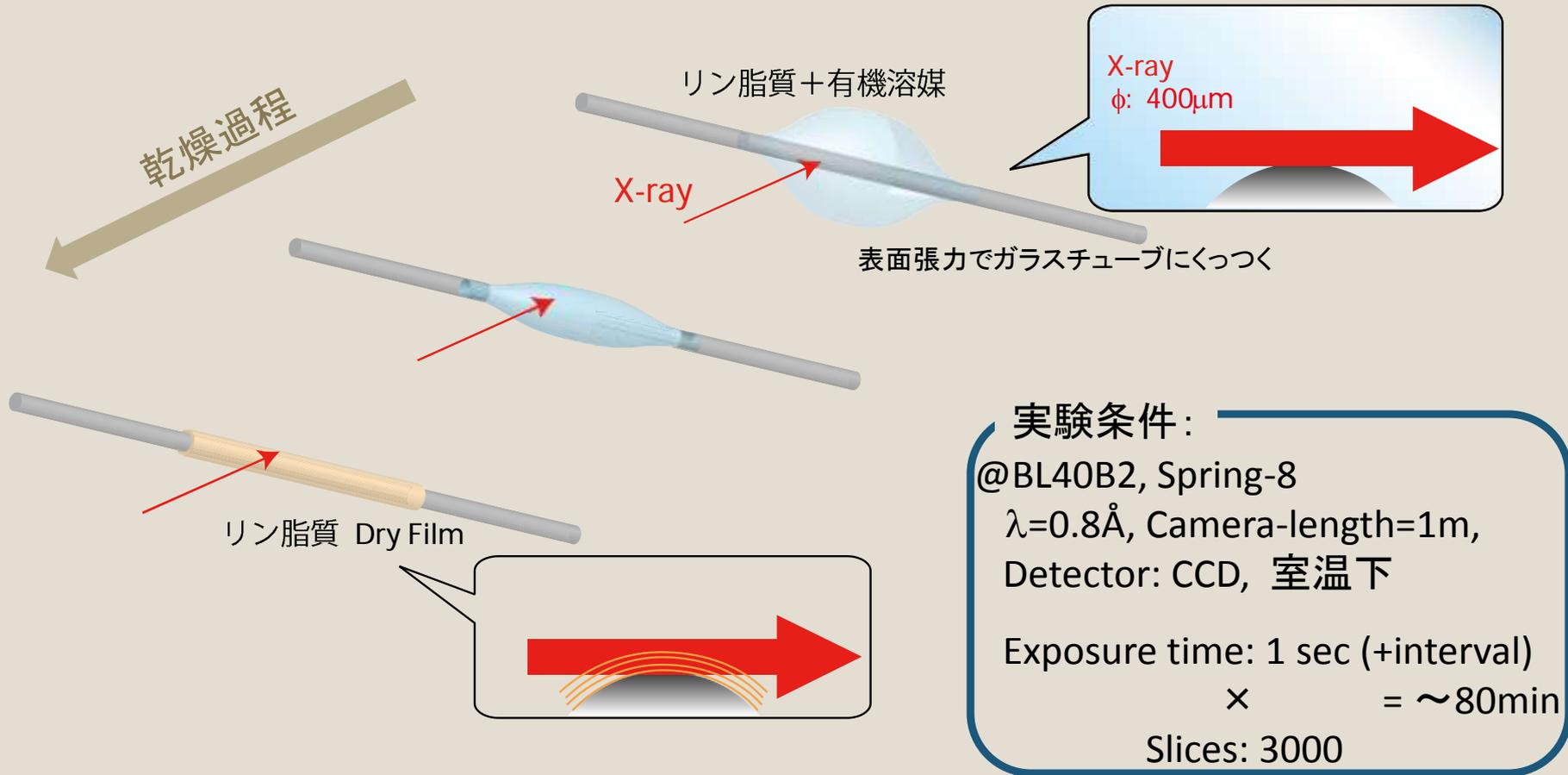


リン脂質＋有機溶媒



有機溶媒の揮発による基板上での脂質Dry Filmの形成はどのようなメカニズムで起こるのか？

Method: 時分割X線小角散乱



実験条件:

@BL40B2, Spring-8

$\lambda = 0.8 \text{ \AA}$, Camera-length = 1m,

Detector: CCD, 室温下

Exposure time: 1 sec (+interval)

× = ~80min

Slices: 3000

リン脂質: **DOPC** 室温下で液晶状態

有機溶媒: **オクタン** 乾燥が遅く観測がしやすい

c.f. 乾燥速度: 1.4 (酢酸ブチル: 1、クロロホルム: 11.6)

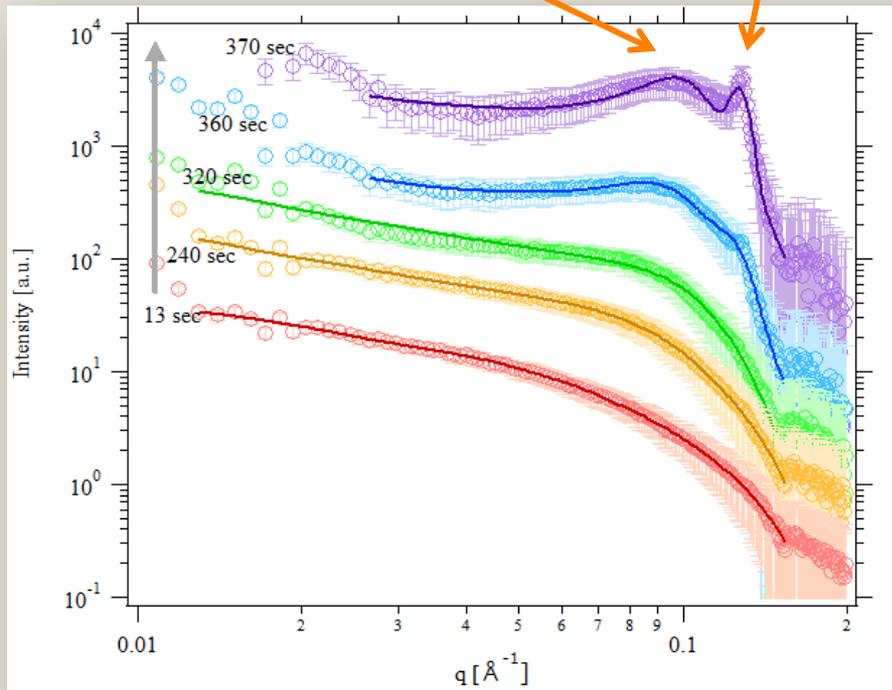
DOPC/オクタン初期濃度: 50mM (volume fraction \doteq 0.035)

Results:時分割X線小角散乱

開始から0秒~370秒(約6分)

S(q)1: ミセル同士の相関
(等方的)

S(q)2: ラメラ構造
(基盤に配向)



Fitting関数

$$I(q) \propto |F(q, R, H)|^2 \cdot S(q)$$

$$|F(q, R, H)|^2 = (4\pi\Delta\rho R)^2 \int_0^{\pi/2} \left| \frac{\sin(qt \cos \alpha) J_1(qR \sin \alpha)}{q^2 \sin \alpha \cos \alpha} \right|^2 \sin \alpha d\alpha$$

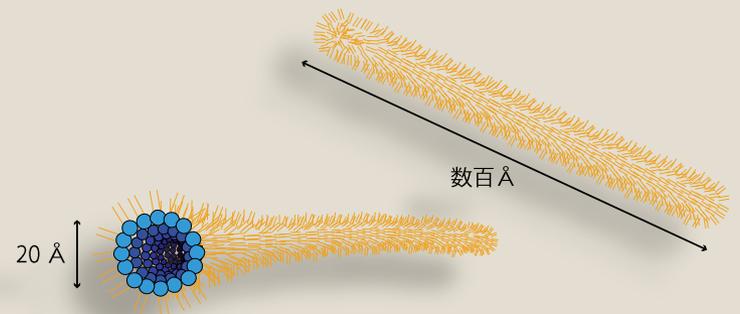
形状因子 → シリンダー構造

(+シリンダーの長さschultz分布)

S(q) 構造因子 → 剛体球モデル+ラメラ構造

X線小角散乱プロファイルの変化(~370sec)

○が実験結果、実線は右の散乱関数でのFit結果
時間は測定開始から(溶液滴下後約30秒)



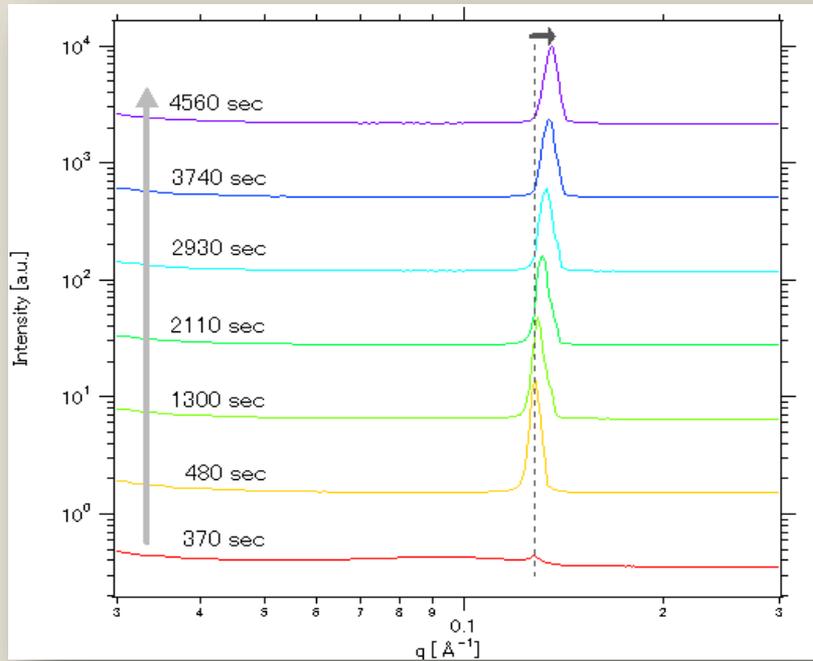
オクタン中でひも状の逆ミセルを作っていたリン脂質が徐々に集積し、基板上に積み重なってラメラ構造となっていく。

Results:時分割X線小角散乱

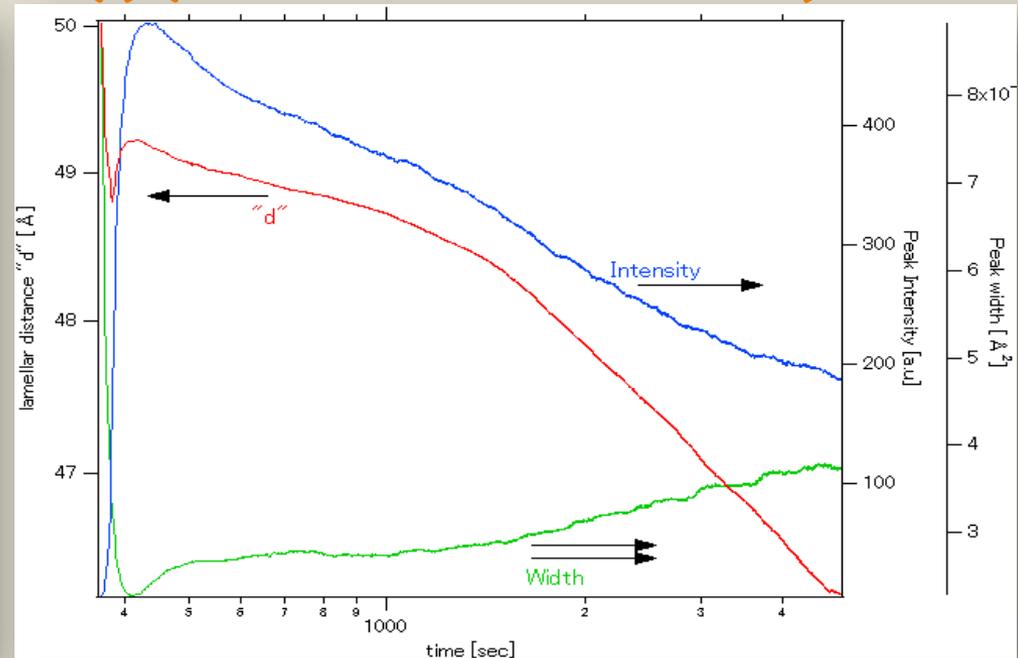
開始から370秒(約6分)~4880秒(約81分)

ラメラの
成長過程

膜間距離減少過程



SAXSプロファイルの時間変化(370~4560sec)



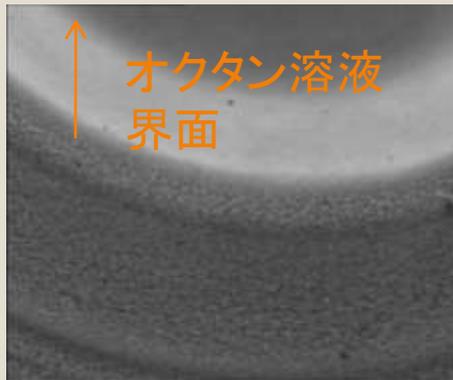
ラメラの膜間距離、Bragg Peakの強度、半値幅の変化

ラメラ構造の脂質膜間からオクタンが蒸発し、膜間距離が減少していく。

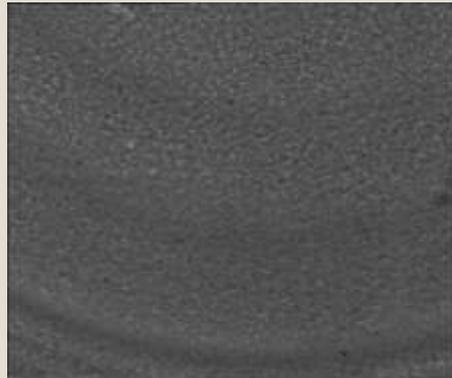
- ・ ひも状ミセルからラメラが成長する過程で膜間距離の一時的増加がみられる。
- ・ その後、二つの速度過程で膜間距離が減少する。(約1500secで変わる)

Results: 顕微鏡観察

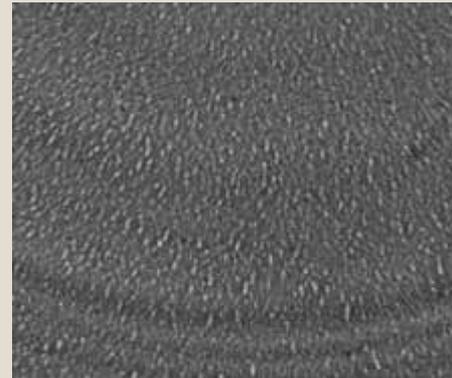
100 μ m



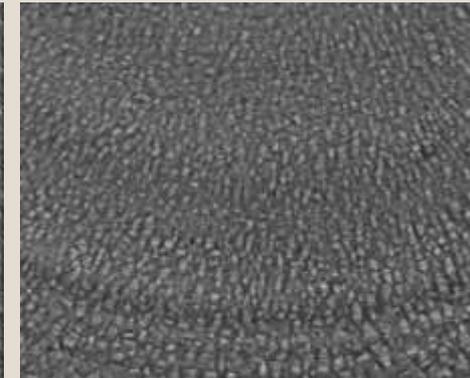
約357sec



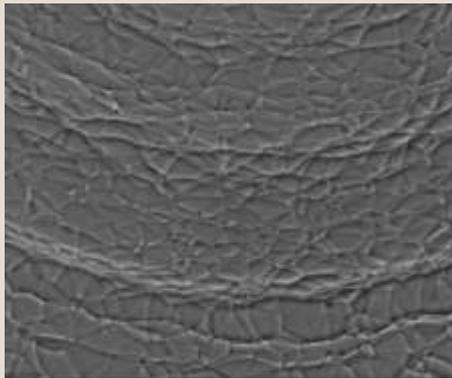
360sec



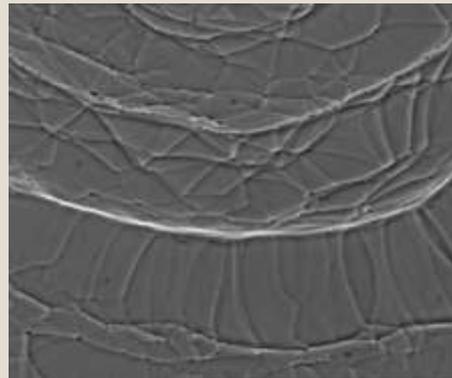
420ec



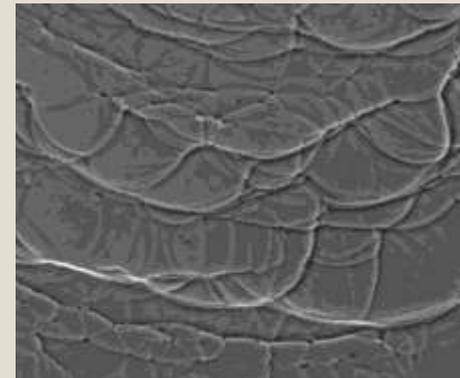
540sec



660sec



1060sec

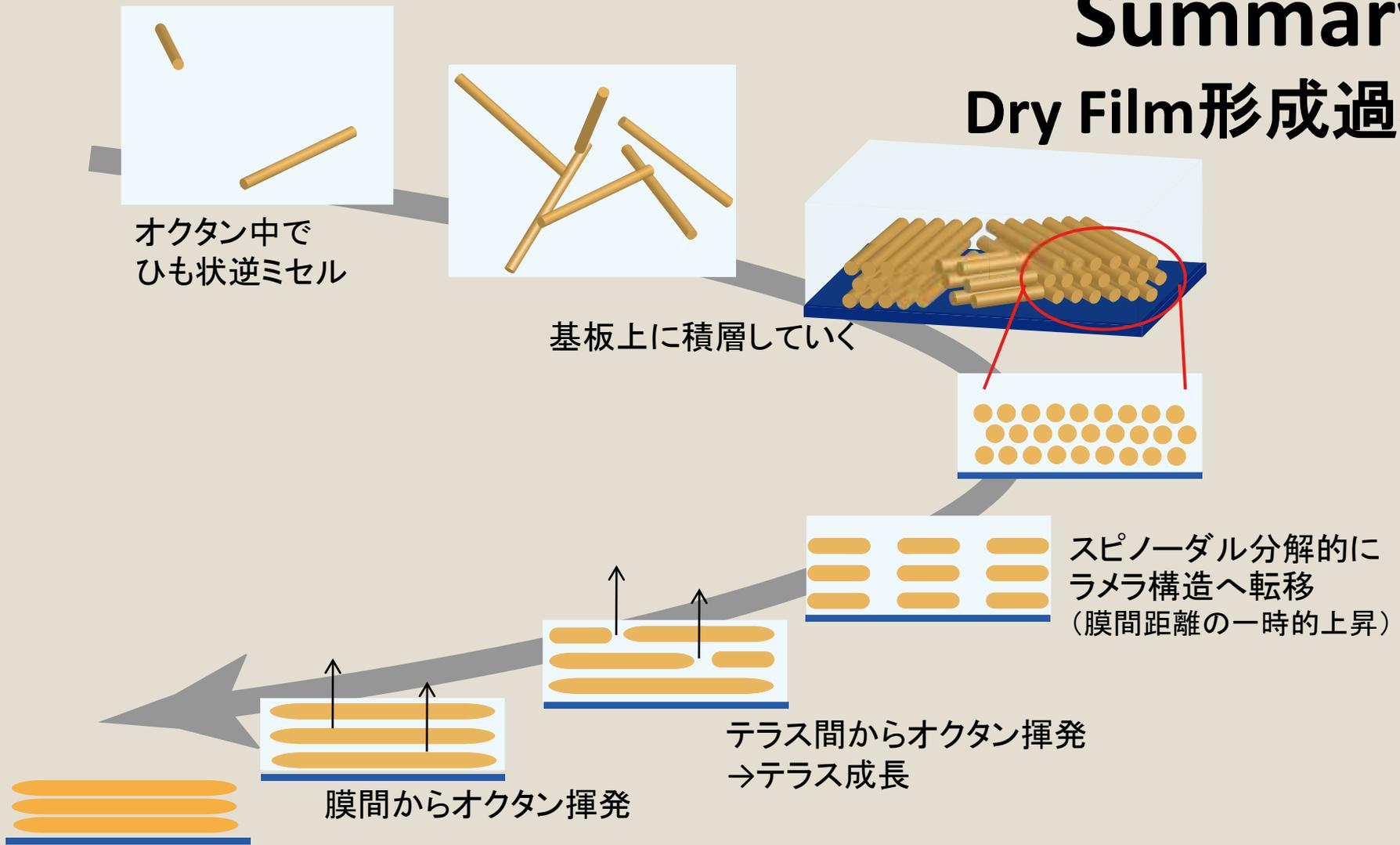


1620sec

滴下後約6分後にスピノーダル分解的にテラス構造のDry Filmができ、時間とともにテラスの大きさが成長していく。

約1500秒後以降は大きさはほとんど変化せず。(SAXSで見られた"d"の速度過程と相関)

Summary: Dry Film形成過程



ひも状逆ミセルからスピノーダル分解でラメラ構造へ転移することでテラス状構造が形成
テラス成長過程ではテラス間とラメラの膜間いずれもから、その後はラメラ膜間からのみ
溶媒が揮発するので速度過程が変わると考えられる。