2P249

細胞サイズリポソームの脂質組成と内部体積および膜体積の関係について

○大日方 圭¹、佐藤 周知¹、卜部 格²、四方 哲也^{1,2,3,4} (¹ 阪大院・情報科学研究科、² 阪大院・工学研究科、³ 阪大院・生命機能研究科、⁴ 科学技術振興機構 ERATO)

リポソームは脂質二重膜からなる小胞であり、人工細胞における膜の候補である。一般的に脂質組成によって内部体積や膜体積、透過性、安定性などの特性が異なることが知られているが、細胞サイズのリポソームではそれが個々で非常にばらついている。人工細胞としては、うまくいくものが少しでもあればよいので、平均からずれたものも無視できない。そのため個々のリポソームの特性を定量的に評価する必要がある。今回は POPC, DSPE-PEG, Cholesterol からなるリポソームの内部体積・膜体積を測定した結果と、それらの脂質組成による変化を発表する。

体積測定は FACS を用いる佐藤らの方法¹を用いて行った。図は POPC:DSPE-PEG:Cholesterol=94:3:3 の組成で作製したリポソームの内部体積-膜体積の散点図である。2つの集団に分かれているが、形成時のプロセスの違いによるものと考えている。下の集団は膜が薄い集団であり、この集団が現れるには DSPE-PEG が必要不可欠であった。上の集団は形成時に2つ以上のリポソームがくっついてできた集団ではないかと予想している。

体積測定は FACS を用いる佐藤らの方法¹を用いて行った。

図は POPC:DSPE-PEG:Cholesterol=94:3:3 の組成で作製したリポソームの内部体積-膜体積の散点図である。2つの集団に分かれているが、形成時のプロセスの違いによるものと考えている。下の集団は膜が薄い集団であり、この集団が現れるには DSPE-PEG が必要不可欠であった。上の集団は形成時に2つ以上のリポソームがくっついてできた集団ではないかと予想している。

¹ K. Sato et al. 生物物理学会第 42 回年会 1P196

K.Obinata, K.Sato, I.Urabe and T.Yomo : Correlation between lipid composition of cell-sized liposome and its volume of internal/lipid membrane

2P251

リン脂質ホスファチジルコリンの anomalous swelling における臨界熱容量

○八尾 晴彦、江間 健司 (東工大院・理工・物性物理)

リン脂質ホスファチジルコリンの主転移において、ラメラ周期が臨界的に膨張すること (anomalous swelling) が報告されている。この異常の起源については、相転移近傍で密度揺らぎにより膜が柔らかくなって Helfrich 立体相互作用が大きくなりラメラ周期が増加するためと考えられているが、実験的には脂質膜、水層共に膨張するという結果が出ており、結論が出ていない。本研究では、DLPC, DC₁₃PC, DMPC の 3 種類のホスファチジルコリンの主転移近傍の臨界熱容量を測定した。その結果、DLPC の主転移の 6.8 °C 上の L_x-L_α 相転移は臨界的な熱容量異常を示し、その揺らぎは 3 次元 XY であるらしいことがわかった。また、DC₁₃PC では主転移の 0.6 °C 上に L_x-L_α 相転移があることがわかった。よって、DC₁₃PC の anomalous swelling における揺らぎの一部は L_x-L_α 相転移のものである。残念ながら L_x 相の秩序パラメーターがまだ明らかでないで、どのような秩序パラメーターの揺らぎかわからないが、従来の見方を修正する必要がある。DMPC では L_x-L_α 相転移は認められなかった。DC₁₃PC よりアシル鎖長が長くなると anomalous swelling は徐々に小さくなることが報告されている。よって、DMPC では L_x-L_α 相転移は主転移より低温側にあり、L_x-L_α 相転移する前に主転移して P_{β1} 相になるため、DC₁₃PC より anomalous swelling が小さく観測されている可能性がある。

H.Yao and K.Ema : Critical heat capacity in the anomalous swelling region of diacylphosphatidylcholines

2P250

原子間力顕微鏡を用いた細胞膜と脂質膜の力学的解析

○岡 昌男、安田 恵美、上原 大典、Rehana Afrin、関口 博史、猪飼 篤 (東工大院・生命理工)

近年、原子間力顕微鏡 (以下 AFM) を用いたナノマニピュレーション技術は広く発達している。その一例として、当研究室では化学修飾した AFM 探針を細胞に接触させることによる膜タンパク質の、また強く押し込むことによる mRNA の採取に成功している。

以上の実験では探針が細胞膜を貫通したかどうかを判別することが重要である。特に探針を強く細胞膜に押し付けた際のフォースカーブ測定において、ジャンプインする特異的なカーブが見られた (図)。この特異的な曲線は AFM 探針が細胞膜を突き破る挙動を示していると考えられる。ジャンプインする直前の力を膜の貫通力と呼ぶことにする。

我々はこのジャンプインする現象を理解するため、まずは細胞膜の人工モデルである LB 膜や脂質二重膜、リポソームを基板上に固定し、その貫通力について解析した。DPPC や DMPC, DOPC で構成される LB 膜における貫通力は、それぞれ 3.22 ± 1.60, 3.50 ± 1.29, 4.38 ± 1.29 (nN) であった。

本発表では、脂質二重膜、リポソームでの AFM 探針貫通力について解析し、細胞膜の強度について議論する。

M.Oka, M.Yasuda, H.Uehara, R.Afrin, H.Sekiguchi and A.Ikai : Mechanics of cell membrane and lipid layer by Atomic Force Microscopy

2P252

DMPG 膜における Highly Crystalline 相形成のイオン強度依存性

○木下 祥尚¹、加藤 知² (¹ 関学大院・理工、² 関学大・理工)

酸性リン脂質 DMPG は、生理的条件下において、10 °C 以下の温度領域で数週間放置すると 40 °C 付近に転移点 ($\Delta H_m \approx 80$ kJ/mol) を持つ Highly Crystalline 相と呼ばれる結晶化した相が形成されることが報告されている。本実験では高感度示差走査熱測定により、DMPG 試料の Highly Crystalline 相から流動相への相転移エンタルピーを保温時間に対してプロットすることにより、Highly Crystalline 相形成のキネティクスをしらべた。また DMPG の相転移挙動はイオン強度に依存することが知られているため、Highly Crystalline 相形成過程についてもイオン強度依存性があるのではないかと考え実験を行った。300mM NaCl を含む DMPG 懸濁液を流動相温度 (60 °C) で保温後、1 °C で放置すると Highly Crystalline 相の形成が開始されるまでにおよそ 2 時間のタイムラグが見られた。一方、一旦形成が開始されると、その後急速に Highly Crystalline 相ドメインが成長することが示唆された。タイムラグのイオン強度依存性を調べたところ 200mM NaCl 存在下では 4 時間、100mM NaCl 存在下の試料では 3 日以上となり、イオン強度が減少するとともにタイムラグは増加する傾向にあることがわかった。

我々はイオン強度に依存した Highly Crystalline 相形成のキネティクスの変化を、負に帯電した DMPG 分子頭部と Na⁺ イオン間の相互作用に基づいて議論した。

M.Kinoshita and S.Kato : Effect of ionic strength on highly crystalline phase formation in DMPG dispersion