3P237

微細パターン化モデル生体膜の作製：ベシクル融合法による流動性膜の組み込み過程

○岡崎 敬^{1,2}、森垣 憲一² (¹ 阪大院理、² 産総研)

固体基板上に固定化された脂質二分子膜 (SPB) は生体膜のモデルとして近年非常に注目されている。我々は光リソグラフィー技術を用いて重合性の脂質分子 1,2-bis(10,12-tricosadiynoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine (DiynePC) の微細パターン化モデル生体膜を固体基板上に固定化する技術を開発した。この微細パターン化モデル生体膜は、パターン化されたポリマー脂質二分子膜のマトリックスとその間に組み込まれる流動性脂質二分子膜がコンボジット化された形態であり、膜タンパク質のアレイ化など多様な応用が期待出来る。流動性脂質二分子膜はベシクル融合法によって容易にポリマー脂質二分子膜の間に組み込むことができるだけでなく、脂質二分子膜構造を維持したポリマー膜に囲まれることによって、通常の SPB よりも安定化されるものと考えられる。本研究では、微細パターン化モデル生体膜の作製に欠かすことができないベシクル融合法による流動性膜の組み込みに関して quartz crystal microbalance (QCM) と total internal reflection fluorescence microscopy (TIR-FM) によってその融合過程を観察した。その結果、ポリマー脂質二分子膜端部にベシクル融合を促進する効果 (active edge) があることが確認された。このことは脂質二分子膜構造を維持したポリマー膜のマトリックスが内部の流動性脂質二分子膜と連続的な二分子膜を形成することを意味している。安定なポリマー膜に囲まれて一体化した内部の流動性膜はより安定に存在できるものと考えられる。本発表ではこれら観察された結果を定量的に考察し、ポリマー脂質二分子膜のベシクル融合に対する効果について報告する予定である。

T.Okazaki and K.Morigaki : Micropatterned composite membranes of polymerized and fluid lipid bilayers: Incorporation of fluid bilayers by the vesicle fusion process

3P239

高度含フッ素エーテル型リン脂質液晶膜の構造安定性

○馬場 照彦、高井 克毅、高木 俊之、金森 敏幸 (産総研・バイオニクス研セ)

含フッ素脂質膜は、炭化水素系脂質膜に比べて化学的安定性や界面安定性が高いとされ、DDS や膜型センサなどにおける有望な膜材料として期待されている。しかし、perfluoroalkyl 鎖は疎水性が高く剛直であるため結晶性会合体となりやすく、流動性のある膜として利用するには、疎水鎖長やフッ素導入率に制限がある。我々は、生体膜リン脂質と同程度の疎水鎖長 (C_{18}) で、かつ高いフッ素導入率を有しながら、室温で流動性のある液晶膜を形成する高度含フッ素エーテル型リン脂質 I を開発した¹⁾。本研究では、対応する炭化水素系エーテル型リン脂質 II 液晶膜の構造と比較することにより、含フッ素リン脂質液晶膜の構造的特徴を示し、その構造安定性について議論する。疎水鎖末端から 8 個の炭素までがフッ素化されている I、および対応する炭化水素系リン脂質 II から成る液晶膜の構造比較は、XRD 測定による膜厚、層間水厚などの導出により行った。I および II は、水重量分率 0.1 以下で、ともに H_{II} 相 (25℃) を形成するが、水添加に伴って L_o 相に転移し、I および II とも、膜厚 3.4-3.7 nm、層間水厚 2.6-3.1 nm と高い膨潤性を示し、 C_{18} エステル型リン脂質 dioleoyl-PC (DOPC、膜厚 3.6 nm、層間水厚 2.8 nm、25℃)²⁾ と類似の膜構造をとっていることが推測された。いっぽう膜内分子占有面積は、II では $0.7 \text{ nm}^2/\text{molec}$ であるのに対し、I は $0.9 \text{ nm}^2/\text{molec}$ と膨張し、飽和水和量も I では II の約 1.5 倍となった。このことは、I においては、膜疎水領域中心に局在する perfluoroalkyl 鎖が専ら膜内 packing を支配していることを示しており、また、拡大した平均極性基間距離を補償するよう、極性基近傍における水和量を増大させて、negative curvature 構造よりも lamellar 構造をより安定化させる機構が考えられた。

1) 高木ら、日本化学会第 85 春季年会 (2005) 1PB142; 2) Lis, L.J. et al., *Biophys. J.*, **37** (1982) 657-666.

T.Baba, K.Takai, T.Takagi and T.Kanamori : Structural stability of liquid-crystalline membranes composed of highly fluorinated ether phospholipids

3P238

表面プラズモン分光法 (SPR) と表面プラズモン励起蛍光分光法 (SPFS) を用いた固体基板上におけるリン脂質二分子膜吸着挙動の解析

○森垣 憲一、田和 圭子 (産総研・セルエンジニアリング)

生体膜のモデルシステムとして固体基板上に固定化された脂質二分子膜が近年注目されている。我々は、光リソグラフィー技術を用いてポリマー化脂質二分子膜と流動性脂質二分子膜をパターン化するモデル生体膜作製手法を開発してきた。本研究では、基板上に形成されたモデル生体膜の構造と物性を評価する手法として、表面プラズモン分光法 (SPR) と表面プラズモン励起蛍光分光法 (SPFS) の同時観測を行った。SPR は、基板表面における脂質膜の膜厚をオングストロームレベルの精度で計測することが出来る。一方、SPFS は金基板への距離依存的なエネルギー移動 (消光) により脂質膜と基板との距離に関する情報をもたらす。我々は、金基板上にチオール単分子膜もしくはシリカ薄膜を積層し、その表面に蛍光色素 (DiD) を微量含んだリン脂質膜 (Egg-PC) を吸着させた。SPR-SPFS 法を併用することで基板上に吸着した脂質膜が球状 (ベシクル) であるか平面膜を形成しているかを区別することが可能であった。また、SPR-SPFS 法においては、これまで脂質膜物性の解析に用いられてきた蛍光顕微鏡手法を応用することが可能である。その例として、1) パターン化脂質二分子膜の膜厚・蛍光強度同時イメージング、2) 蛍光消光回復 (FRAP) 法による脂質分子の水平拡散速度計測を行ったので本会で報告する。
(1) Morigaki, K.; Kiyosue, K.; Taguchi, T. *Langmuir* 2004, **20**, 7729.
(2) Tawa, K.; Morigaki, K. *Biophys. J.* 2005 (in press)

K. Morigaki and K. Tawa : Substrate supported phospholipid membranes studied by SPR and surface plasmon fluorescence spectroscopy (SPFS)

3P240

環状脂質は二本鎖脂質と如何にコミュニケーションするのか

○芝上 基成、後藤 理恵、三由 伸 (産総研)

「高温・高圧・強酸性」等の極限環境下に棲息する古細菌の耐環境性は、生体膜に含まれるユニークな環状脂質に由来する。これまで我々は環状脂質をモデルとした各種の人工環状脂質の合成を行ってきた。人工環状脂質に共通する構造的な特徴は (1) 環状骨格、(2) ジアセチレン基、そして (3) 両端に位置する親水基である。これらの性質から、膜中では環状脂質同士の分子間相互作用は非常に強いものと予測される。

それではこの環状脂質と二本鎖脂質を構成分子とする脂質膜中では、両者は如何にコミュニケーションするのであろうか？環状脂質間の相互作用が強固であれば、二本鎖脂質の存在下では両者は相分離するはずであろう。逆に環状脂質が二本鎖脂質とコミュニケーションするのであれば、新たな相が出現するであろう。

そこで環状脂質と二本鎖脂質 (DMPC) のコミュニケーションを検討するために、超高感度熱量測定および走査プローブ顕微鏡 (SPM) 観測を行ったところ、環状脂質が脂質膜中に僅か数%存在するだけで、サーモグラムや SPM 画像に大きな変化が見られた。環状脂質は確かに DMPC とコミュニケーションするようである。本発表ではこれらの結果を基に、このコミュニケーションに関する議論を展開する。

M.Shibakami, R.Goto and S.Miyoshi : Cyclic lipid-two-tailed lipid communication