熱刺激変位電流による脂質単分子膜の相転移温度の測定

正員 金 禹淵 (東工大)

正員 岩本 光正 (東工大)

Detection of Phase Transition Temperature of Lipid Membranes by Thermally Stimulated Displacement Current

Woo-Yeon Kim, Member, Mitsumasa Iwamoto, Member (Tokyo Institute of Technology)

Displacement current across multilayer films of lipid membranes was measured with thermal stimulation and the critical temperature of membrane films due to phase transition from ordered gel to disordered fluid was determined. The membranes used here were L- α -Dilauroyl, Phosphatidylcholine (DLPC) and L- α -Dimyristoyl, Phosphatidylcholine (DMPC). The phase transition temperatures of DLPC and DMPC were determined 43°C and 78°C, respectively.

キーワード : 変位電流, LB膜, 単分子膜, 熱刺激電流, 相転移

1. まえがき

有機分子の持つ固有の性質に着目し、有機超薄膜を用いて電子素子を作製しようとする試みが各所で見られている。これは、有機超薄膜を形成することにより、厚膜では実現不可能であった有機分子の持つ性質を活用することが可能となるためである¹⁾。有機分子の持つ機能性を有効に活用するためには、有機超薄膜を評価する技術と並んで、有機超薄膜の構成分子の性質を引き出す技術を確認しておくことが重要となろう。今までに筆者らは、有機分子の持つ永久双極子モーメントに着目して、単分子膜から発生する変位電流を計測する技術を開発し、分子膜の双極子モーメントの大きさなどを評価してきた^{2) 3)}。すなわち、2枚の電極間に挟まれて配置された有機分子膜が圧力や光などの外部刺激を受けると個々の構成分子は方向を変えるが、こうした変化の途上でのみ外部回路には変位電流が発生する。そこで、この電流を検出する技術を確認するとともに、双極子能率の大きさを求める方法を開発してきた。ところで、液晶分子や脂質膜では、材料固有のある温度(転移温度)でその構造を明確に変化させる。そのため、この変化に伴って生ずる物性に着目した数多くの素子が提案されている。たとえば、脂質単分子膜の相転移にともなう構造変化を直接利用して液晶分子の配向を制御しようという試みが報告されている⁴⁾。こうした電子素子応用では、分子膜の持つ

相転移温度を明確とすることが重要である。一般に、有機材料の転移温度はDSC測定によりもとめられるが⁵⁾、単分子膜あるいは数層の分子膜に対してこの手法を応用することは困難である。そこで、本研究では、熱刺激変位電流法を用いて分子膜の相転移温度を決定することを試みた。

2. 実験方法

2.1 材料

実験に用いた材料は、ホスファジルコリン(PC)で、図1に示すように2本の炭化水素鎖と、コリンが結合したリン酸部がグリセロール骨格によって結び付けられた構造を持つ分子である。この分子は生体膜中に含まれる物質として知られているが、両親媒性(疎水性と親水性)を有しているため、水面上で単分子膜を形成する。すなわち、炭化水素鎖は疎水性であるのに対して、コリンは窒素に正電荷、リン酸部では酸素に負電荷があり親水性を示し、水面上で炭化水素鎖を真空中に置くようにして単分子膜を形成する。今回の実験では炭化水素鎖が12のDLPCと14のDMPCを用いた(Sigma Chemical)。

2.2 LB膜の累積

DLPC, DMPCをクロロフォルムに溶解(0.2mmol/l)し、展開

(a)

(b)

図1. 脂質膜の分子構造

Fig.1. Molecules used in the present study. (a)DLPC and (b)DMPC.

溶媒とした。Kuhn型のLB装置の水槽内に純水(pH6.0)を満したした後、温度20℃にて、水面上にクロロフォルム溶媒を展開した。クロロフォルムが蒸発した後には、水面上に安定な単分子膜が形成されていることが確認された。単分子膜の累積は、累積速度4 mm/min、表面圧力30 mN/mで行った。累積基板として、ガラス基板にCr(20nm)と金(30nm)を真空蒸着(10^{-6} Torr)したものを使用した。脂質の多層膜は等速度で連続的に累積すると、層数の増加に共に累積比率が減少するので⁴⁾、最初の1層目を累積後に十分な乾燥(12時間位自然乾燥)を行った後、1層ずつ積層して累積膜とした。

2.3 変位電流の測定装置

図2に本実験に用いた加熱冷却システムを示す。試料冷却のため、ステンレスの基板(100mmφ, 3mm厚)には液体窒素を流すためのパイプが取り付けられている。また、加熱用として、背面には100Wのシースヒータが取り付けられている。加熱はシースヒータをDC電源に接続し、バイアス電圧80V、電流1.2Aを加えることにより行われる。このシステムでの最大の加冷却速度は0.2℃/s、到達最低温度は約-100℃、最高温度は約400℃である。上記の加熱冷却基板の上に測定試料を保持するが、単分子膜からの変位電流は両電極間隔をできるだけ小さくすることが効果的である((2)式)。上部、下部電極間は電気的には絶縁されているが、電極間を支持するスペーサは十分な熱伝導性を持つことも必要となる。BN材は一般的に電気絶縁性が高くかつ高い熱伝導性を持ち、体積膨張率(-2.9×10^{-6})も小さいので、この材料をスペーサとして用いた。また、図2に示すように、BN基板(厚さ5mm、直径70mm)に深さ1.1mm(ガラス基板の

厚さ1.0mm(空気層の大きさ0.1mm)の溝を形成し、下部電極が配置出来るようにした。そして、溝に沿って下部電極を配置した後、この電極に交差するように上部電極を配置した。なお、上下電極間隔は0.1mmである。また、試料温度は、電極が置かれたステンレス基板上で電極とは異なった位置に銅-コンスタンタン熱電対を配置して測定した。

図 2. 熱刺激変位電流測定システム

Fig. 2. A schematic diagram of the displacement current system with thermal stimulation. Base and Top BN block.

3. 測定原理

図3は熱刺激変位電流測定の大略図である。固体基板上に単分子膜が累積された下部電極と分子が累積されていない上部電極が、間隔 d の空気層を挟んで平行に固定されている。変位電流は、固体基板では分子は固定されているので、外部刺激により分子膜の構造や膜内の双極子が方向を変化させるとき発生する。下部電極上の個々の極性分子の双極子能率を μ とすれば両電極上に電荷 $\pm Q$ が誘起される。

$$Q = - (N/d) (S/\varepsilon_s) \mu \dots\dots\dots (1)$$

ここに、 N は電極間にある極性分子の密度、 d は上下部電極間の距離、 ϵ_s は単分子膜の比誘電率、 μ は基板上の分子膜の双極子モーメントである。そして、 S は $S = \langle \cos \theta \rangle$ で定義される単分子膜のオーダーパラメータである。ここに $\cos \theta$ は分子の双極子モーメントが基板垂直方向に対してなす角度である（図3）。

下部電極の極性分子が熱刺激されたとき、電極上に誘起された電荷 Q の時間的な変化により熱刺激変位電流が流れ

る。すなわち、変位電流は(1)式を時間的に微分して次のようになる。

$$\begin{aligned}
 I &= -\beta (dQ/dT) \\
 &= -\beta (d/dT) ((N/d) (S/\epsilon_s) \mu) \\
 &= -(NS\beta/d) (\mu/\epsilon_s^2) (d\epsilon_s/dT) \\
 &\dots\dots\dots (2)
 \end{aligned}$$

ここで、 β は昇温速度である。なお、双極子能率 $\mu > 0$ の分子に対して、 $d\epsilon_s/dT > 0$ のとき電流計に正の方向に電流が流れるように測定系が構成されている。相転移点では分子膜の比誘電率(ϵ_s)が変化すると考えられ、変位電流は急激に変化する。

図3. 熱刺激変位電流測定の概略図
Fig.3. A schematic figure of the thermal stimulation displacement current system.

図4(a). 熱刺激によるDLPC単分子膜の変位電流

図4(b). 熱刺激によるDMPC単分子膜の変位電流
Fig.4. A typical example of experimental result of the displacement current obtained for (a)DLPC and (b)DMPC monolayers.

4. 実験結果

図4(a)はAu/DLPC/空気層/Au素子のDLPC脂質3層膜の熱刺激変位電流の波形である。曲線1は昇温速度0.04°C/s、曲線2は昇温速度0.06°C/sの場合である。同図に見られるようにDLPCは43°C付近で急激に変化する負の電流ピークが得られる。これらのピークは昇降温を何回も繰り返しても減衰することなく常に現れることから、分子膜の相転移に起因するものと考えられる。なお、今回の測定は微小電流測定であったため β 依存性はあまり明確には現れなかった。けれども相転移温度は明確に得られた。図4(b)にも見られるようにAu/DMPC/空気層/Au素子に対しても同様に熱刺激変位電流が観測されたが、この場合には電流の急激な変化は78°C付近に認められる。以上のように、変位電流法を用いれば分子膜の相転移温度が求められる。

5. 検討

<5.1> 転移点における電流の方向

DLPCでは43°C付近にゲル相 (gel相 (partially ordered gel)) から流動相 (disordered, fluid) への相転移が、DSCやX線測定により報告されている⁷⁾。筆者らも粉末のDLPC試料を用いてDSC測定により、やはりこの温度付近に相転移点が存在することを認めている。さて、今回実験に用いた試料についても、図4に示したように43°C付近にこ

図5. 脂質膜の温度により構造変化の模式図

Fig.5. A model of phase transition by temperature in lipid membranes.

うした相転移に起因すると見られる電流ピークが認められる。そこで、このような転移が起こっているものとして電流ピークについて考察してみる。

ゲル相では分子は秩序をもって配置しているが、流動相ではランダムな構造となる(図5)。オーダーパラメータ S について考えてみると、 S は分子配列の秩序度に比例するので、転移温度を境界にしてやはり急激に減少することとなる($dS/dT < 0$)。すなわち、図5に構造変化の様子を模式的に示したが、DLPCの分子膜は低温では、炭化水素鎖が結晶化しているのに対して、高温では流動相となるものであると思われる。つまり、ゲル相では炭化水素鎖は一定方向に規則正しく配列し、流動相では炭化水素鎖がグリセロール骨格部を支点として自由に動き回りうる。したがって、オーダーパラメータ S は、転移点で $dS/dT < 0$ となるような変化を伴う。一方、図5に示すように分子膜が基板上に配置しているときには $\mu > 0$ であるので、電流は転移点で負($I < 0$)の急激な変化を伴うことになる。図4の実験結果には、この様子がはっきりと認められている。また、炭化水素鎖の長いものほど、分子間の相互作用が強く転移温度は高くなる⁷⁾。そのため相転移温度はDMPCの方がDLPCより高くなる。

<5. 2> 誘電率の温度変化

誘電率は、外部電界に対する物質の分極のしやすさの度合いをあらわす。ゲル相では、分子が秩序構造を持つ状態が最も安定であって、電界はその秩序を壊す方向に作用する。すなわち、電界方向に配列しようとする運動が低温では束縛されているが、温度上昇により、その束縛が部分的に解放される。つまり、温度上昇により電界方向への配向が可能となるため誘電率が大きくなる。一方、相転移温度以上の流動相では分子がランダムな状態が最も安定であり、電界は分子膜を分極すなわち秩序を増やす方向に作用する。したがって、温度が上昇するとき電界方向への配向運動が比較的自由であり、電界方向に配列しているがその配向が熱擾乱により乱され、温度上昇とともに誘電率が小さくなる。つまり、転移温度を境にして、 $T < T_c$ では比誘電率の温度変化は $d\epsilon_r/dT > 0$ であり、 $T > T_c$ では比誘電率の温度変化

は $d\epsilon_r/dT < 0$ となる⁸⁾。そこで、分子膜の比誘電率の温度変化を調べるためにAl/DLPC/Al素子(DLPC 3層)の容量(C)の温度変化を調べた。素子の容量(C)は

$$1/C = 1/C_{LB} + 1/C_{AL2O3} \quad \dots\dots\dots (3)$$

であらわされる。ここで、 C_{AL2O3} は電極アルミナ酸化膜の容量、 C_{LB} はLB膜の容量である。測定温度範囲では C_{AL2O3} は一定であるので C の変化は C_{LB} の変化を反映したものである。6図に容量(C)の温度(T)変化の測定結果(測定周波数 1kHz)を示したが、図5に見られるように転移点 4.3°C を境にして素子の容量は変化しており、このことから膜がゲル相から流動相へ相転移したことが示唆される。なお、単分子膜についても同様の実験を行ったが3層膜ほど転移は明確でなく今後の検討が必要に思われる。

図6. 容量(C)の温度(T)変化, 測定周波数 1 kHz
Fig.6. Capacitance(C) - Temperature(T) characteristic of Al/DLPC/Al junctions. (at 1kHz).

6. まとめ

基板上に形成した脂質分子(DLPC, DMPC)膜の持つ相転移温度が、熱刺激変位電流により求められることが明かとなった。すなわち、DLPCおよびDMPCの相転移温度は 4.3°C と 7.8°C と求められた。また、この相転移により、電流ピークは、昇降温に対して繰り返し現れ、かつ、ピーク温度は炭化水素鎖の長いものほど高く、また小さいものほど低い事も分かった。さらに、この相転移が、ゲルから流動相への相転移であることを容量測定から確認した。以上の様に変位電流は高感度に分子膜の構造変化を捉えることから相転移現象を研究するのに役立つものと思われる。

文 献

- (1) G.G.Roberts : "Langmuir-Blodgett Films",
(plenum, New York, 1990)
- (2) M.Iwamoto and Y.Majima : "Investigations of the
dynamic behavior of fatty acid monolayers at
the air-water interface using a displacement-
current-measuring technique coupled with the
Langmuir-Blodgett film technique", J. Chem.
Phys. 94, 5135(1991)
- (3) T.Kubota and M.Iwamoto : "Measurement of dis-
placement current across single monolayers with
thermal stimulation", Rev. Sci. Instrum. 64,
2627(1993)
- (4) Flatis Chler, L.Komitov, S.T.Lagerwall and B.
Stebler : "Surface induced alignment transition
in a nematic layer with symmetrical boundary
conditions", Mol. Cryst. Liq. Cryst, 119, 198
(1991)
- (5) B.D.Ladbrooke, R.M.Williams and D.Chapman :
"Studies on lecithin-cholesterol-water interac-
tions by differential scanning calorimetry and
X-ray diffraction", Biochim. Biophys. Acta, 150,
333(1968)
- (6) D.M.Taylor and M.G.B.Mahboubian-Jones : "The
electrical properties of synthetic phospholipid
Langmuir-Blodgett films", Thin solid Films. 87,
167(1982)
- (7) Derek Marsh, M.A. : "CRC handbook of lipid
bilayers", CRC press(1990)
- (8) フレーリッヒ : "誘電体論", 吉岡書店, 13(1958)

金 禹淵

(正員)1959年6月4日生まれ. 83年3月-
93年3月金星社(GOLD STAR)開発企画材
料部勤務. 94年4月東京工業大学大学院理
工学研究科博士課程. 電子物理工学専攻.
応用物理学会会員.

岩本 光正

(正員)1952年1月21日生まれ. 81年3月
東京工業大学大学院理工学研究科博士課程
修了. 現在, 同大学工学部教授. 工学博士.
主として, 有機超薄膜の電子物性に関する
研究に従事. 85年電気学会論文賞, 90,94
年日本素材物性学会山崎賞, 91年応用物理
学会賞受賞. IEEE, 応用物理学会, 電子情
報通信学会, 表面科学会, 日本素材物性学
会, 高分子学会会員.