ノ ー ト

Propagation Constant in Dispersions of Spherical Particles III. Measurements of Ultrasonic Velocity in Erythrocyte Ghost Suspensions and Mechanical Properties of Membrane

by

Shigeki MITAKU and Akio SAKANISHI

(Faculty of Science, University of Tokyo, Tokyo)

The ultrasonic velocity was measured by a sing-around method in bovine erythrocyte ghosts suspended in four mediums with different density ρ_0 and bulk modulus K_0 . The limiting numbers of velocity $[V]$ and density $[\rho]$ and the intrinsic bulk modulus $[K]$ were obtained from the concentration dependence of the ultrasonic velocity and the density of the erythrocyte ghost suspensions. The density ρ_m , the bulk modulus K_m and the hydration δ_M of the membrane were determined, with the theoretical relation that $[\rho] = (1/\rho_0 - 1/\rho_m)(1 + \delta_M)$ and $[K] = (K_m - K_0)(1 + \delta_M)/\rho_m K_m$.

球形粒子分散系の伝播定数 Ⅲ . 赤血球ゴースト懸濁液の超音波音速測定と膜物性

美 宅 成 樹・坂 西 明 郎*

(原稿受理：1975年12月1日)

1. 緒 言

血液は血球が血漿中に懸濁した細胞分散系の一つであり、赤血球の力学的性質は血液の流れを左右する重要な要素と考えられる。先に我々は牛赤血球から中のヘモグロビン濃厚溶液を除いた赤血球ゴースト懸濁液の超音波音速と密度を20°から40°Cの温度範囲で測定し、31°C前後に転移と思われる温度変化の異常を見いだした¹⁾。ここでは更に牛赤血球膜の力学的性質を定量的に求めることを目的として、媒質の密度と体積弾性率を変えて超音波音速と密度を測定した。その結果を球殻構造体分散系における音波の散乱の理論¹⁾を用いて解析し、膜の密度、体積弾性率および膜に対する水和量を求めた。

2. 装置と試料¹⁾²⁾

超音波音速は3MHzのチタン酸ジルコン酸鉛セラミック振動子を用いて、シングアラウンド法により測定した。10MHzのタイマーを持つ周期カウンターでシングアラウンドの周期を測定することにより7桁の音速値を得た。密度は浮力法により体積約5mlのガラスの錘の重量を電気天秤で測定し求めた。

赤血球ゴーストは和牛雌の新鮮な赤血球を20mOsmのリン酸緩衝水溶液(pH7.4)で溶血させ媒質に懸濁した後、37°Cで1時間インキュベーションして用いた。媒質は密度と体積弾性率の異なる次の4種類を用いた。すなわち、150mM NaCl, 150mM CsCl および 150mM NaCl におおの 8.82 重量%と12.0重量%のグルコースを加えた水溶液である。赤血球ゴーストの乾燥重量濃度は約110°Cで真空乾燥後秤量し決定した。

3. 結 果

牛赤血球ゴーストの濃度を乾燥重量で7mg/ml以下の範囲で変化させ、超音波音速と密度を測定したところ、用いた4種類の媒質について音速と密度は直線的な濃度依存性を示した。これより、次式で一般的に定義される極限音速数 $[V]$ と極限密度数 $[\rho]$ が求められる。

$$[A] \equiv \lim_{c \rightarrow 0} \frac{A - A_0}{A_0 c} \quad (1)$$

ただし、文字 A は音速 V または密度 ρ を代表し、右辺の A , A_0 はおおの懸濁液と媒質の対応する量で、 c はゴーストの乾燥重量濃度である。

Fig. 1に極限音速数 $[V]$ の温度依存性を示す。 $[V]$ は温度

* 東京大学理学部 東京都文京区本郷7-3-1

Fig. 1. Temperature dependence of the limiting velocity number of bovine erythrocyte ghosts suspended in three mediums (●: 150 mM NaCl, ○: 150 mM CsCl, ◐: 150 mM NaCl plus 8.82% glucose).

に対してはほぼ直線的に減少し、30~33°Cに急激な温度変化を示し、高温側で小さくなっている。媒質が CsCl の場合は 33~35°C に跳びが見られる。

極限密度数 $[\rho]$ は $[V]$ の場合と同じ温度範囲で急激な減少があり、150mM NaCl を含む媒質では、30°C において $[\rho] = 0.19 \text{ cm}^3/\text{g}$ であるのが、33°C では $[\rho] = 0.16 \text{ cm}^3/\text{g}$ となる。この温度の上下では、 $[\rho]$ は誤差の範囲内で一定であり、媒質の密度が大きくなるほど平行移動の形で小さくなっている。

4. 考 察

固有体積弾性率 $[K]$ を式(1)に従って定義する。ただし、この場合、文字 A は体積弾性率 K を代表する。懸濁液の音速 V と密度 ρ 、体積弾性率 K の間に関係式 $V = \sqrt{K/\rho}$ が成り立つことと、 $[V]$ 、 $[\rho]$ および $[K]$ の定義より、次式が得られる。

$$[V] = \frac{1}{2}([K] - [\rho]) \quad (2)$$

式(2)を用いて、 $[V]$ と $[\rho]$ の温度変化から各媒質における固有体積弾性率 $[K]$ を求めると、温度の上昇と共に $[K]$ は減少し、 $[V]$ 、 $[\rho]$ の場合と同じ温度範囲で急激な減少を示す。体積弾性率のほぼ等しい 150mM NaCl と 150mM CsCl の媒質に対しては、 $[K]$ は転移温度の領域を除いて誤差の範囲でよく一致している。また、グルコースを加えて媒質の体積弾性率を大きくすると、 $[K]$ は減少する。

球殻構造体分散系における音波の散乱の理論により、密度と体積弾性率の逆数についての加算性が示されているので³⁾、 $[V]$ 、 $[\rho]$ および $[K]$ は次式で与えられる。

$$[\rho] = \left(\frac{1}{\rho_0} - \frac{1}{\rho_m} \right) (1 + \delta_M) \quad (3)$$

$$[K] = (K_m - K_0) \frac{1 + \delta_M}{K_m \rho_m} \quad (4)$$

ここで、 ρ_0 、 ρ_m 、 K_0 、 K_m 、 δ_M はおのおの媒質と膜の密度、対応する体積弾性率および 1g の膜に水和した水の g 数である。

媒質の密度と体積弾性率を変えるのに用いたグルコースは、膜の透過性を調べるために使われており⁴⁾、グルコースの二量体であるシュクロースは膜系の分離によく用いられている⁵⁾。また、

Table I. Characteristics of Erythrocyte Membrane

Temp. (°C)	ρ_m (g/cm ³)	K_m (10 ¹⁰ d/cm ²)	$[\rho]$	δ_M [K]
25	1.12 ₉	3.13	0.68	0.63
38	1.11 ₄	3.01	0.49	0.47 ₅

CsCl も生体系の試料を分離するための密度勾配を作るのに用いられている。したがって、グルコース、CsCl と膜に対してほとんど影響しないと考えられる。実際、4種類の媒質について求めた $[\rho]$ と $[K]$ の温度依存性から各温度における $[\rho]$ と $1/\rho_0$ 、 $[K]$ と K_0 の関係をプロットすると誤差の範囲でよく直線となっている。式(3)、(4)により、各直線関係の横軸の切片から膜の密度 ρ_m 、体積弾性率 K_m が得られ、傾きからは独立に膜の水和量 δ_M が求められる。Table I に25°C と 38°C における牛赤血球膜の ρ_m 、 K_m および $[\rho]$ と $[K]$ から独立に求めた δ_M の値を示す。 ρ_m 、 K_m は転移の高温側でおおの約 1.4% および 4% 小さくなっている。一方、独立に求められた δ_M の値は実験誤差の範囲でよく一致し、転移温度の高温側で約30%減少している。Table I の値と他の物質と比較すると ρ_m 、 K_m は 20°C におけるエチレングリコールの値 1.113 g/cm^3 、 $3.039 \times 10^{10} \text{ dyne/cm}^2$ とほぼ同じであり、水和した膜の密度と体積弾性率が転移の前も後も液体の領域にあることを示している。

生体膜はリビッドの二重層の中に蛋白分子が二次元的に溶解したモザイク構造をとっていると考えられ、生理的溫度の近くで転移を示すことが知られている。この転移の機構として、リビッド二重層の結晶状態と液晶状態の間の転移と膜中の蛋白分子の集合状態の変化が考えられる。本研究における牛赤血球膜の密度と体積弾性率の減少を伴った転移が、いずれの転移であるかは今後の研究をまたねばならない。

謝 辞

本研究の一部は文部省科学研究費心臓・血管系特定研究「赤血球分散系のレオロジー」により行われた。本研究に有益な助言を下された東京大学理学部、池上助教に深く感謝します。

(昭和50年10月12日、第23回レオロジー討論会にて講演)

参 考 文 献

- 1) 坂西明郎, 高野 庸, 美宅成樹, 池上 明, 日本レオロジー学会誌, **3**, 35 (1975).
- 2) Mitaku, S., A. Sakanishi, and A. Ikegami, *Japan. J. Appl. Phys.*, **14**, 395 (1975).
- 3) Sakanishi, A., and Y. Takano, *Rept. Progr. Polym. Phys. Japan*, **18**, 625 (1975).
- 4) Hankin, B.L., and W.D. Stein, *Biochim. Biophys. Acta*, **288**, 127 (1972).
- 5) 大西 勁編, “生体膜実験技術”, (1967) 南江堂.