

表面場・光照射が誘起する脂質二重膜の形状変化と相分離

(分子研・名大院工) 手老 龍吾・宇治原 徹

【はじめに】固体基板に支持された平面脂質二重膜(supported planar lipid bilayer; SPLB) (図 1)は細胞膜反応を調べるためのモデル反応場として、また 2 次元流動性材料として注目されている¹。固体基板と SPLB の間には 1-2 nm の水の層が存在するため、脂質膜の流動性が保たれている。そのため膜内での分子拡散や相分離といった動的過程を、プローブ顕微鏡などの高分解能・高感度な表面科学的手法を用いて追跡することができる利点がある。また、脂質膜が固液界面という非対称な場に存在するためフリースタンディングの膜とは異なる特異的な現象が起きることが知られている。本講演では固体基板上での脂質二重膜の相分離構造と形状への表面力場および光照射の影響について述べる。

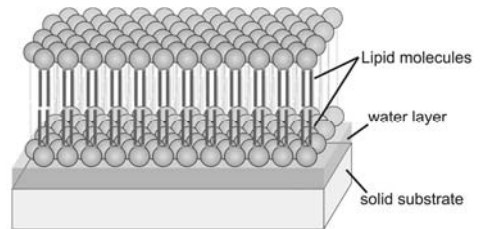


図 1. 固体基板上の平面脂質二重膜。

【結果と考察】1. 酸化物表面場における脂質二重膜

SPLB-基板間の水の層を介していても、固体表面と脂質膜の間の相互作用には固体表面の物理的・化学的物性が大きく影響する。図 2 に種々の酸化物について DLVO 力と水和斥力を考慮して求めた酸化物表面-脂質膜間相互作用エネルギーを示す^{2,3}。基板として用いる材質によって相互作用エネルギーは最大で約 10 倍違い、例えば SiO₂ と TiO₂ 表面上でのエネルギー極小値はそれぞれ -9.71 μJ m⁻² (D=1.94 nm), -99.6 μJ m⁻² (D=1.08 nm)である。この差は SPLB 中での分子拡散速度にも影響し、1 分子追跡法によって測定した DPOPC-SPLB 中の蛍光標識脂質(BODIPY-H-PC)の拡散係数は SiO₂ 上で 1.77 μm² s⁻¹, TiO₂(100)表面上で 1.27 μm² s⁻¹と表面場の強さによって膜内の拡散係数が減少していることがわかる。また、大きな相互作用エネルギーが働く TiO₂ 表面上においては、表面原子スケール構造が SPLB の相分離構造にも影響を及ぼす。図 3 は原子ステップとテラスからなる単結晶 TiO₂(100)表面(図 3a)上に形成した DPOPC+DPPC-SPLB の AFM 像である。DPOPC (ゲル-液晶相転移温度(T_c)=-36°C)リッチな液晶相ドメインの中に DPPC (T_c=41°C)リッチなゲル相ドメインが析出しており、そのドメイン境界が基板の原子ステップに沿って走っているのが観察された²。このように酸化物上の表面場は SPLB の物性および構造に有意に影響を与える要因であり、材質の他に表面処理・化学修飾と組み合わせることで SPLB 物性の制御と新規現象の発見が期待できる。

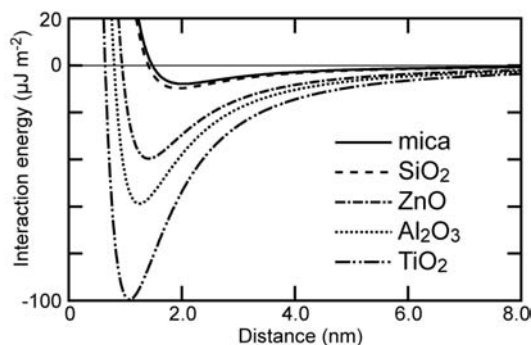


図 2. 水中での脂質膜-酸化物基板間相互作用エネルギーの距離依存性。

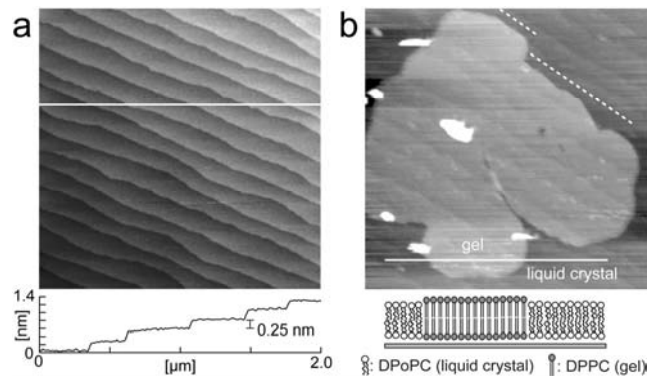


図 3. (a)原子ステップ&テラス TiO₂(100)表面および (b) その上に形成した DPOPC+DPPC-SPLB の AFM 像。

脂質名の略称: DPOPC: dipalmitoleoylphosphatidylcholine; BODIPY-H-PC: BODIPY-labeled hexanoylphosphatidylcholine; DPPC: dipalmitoylphosphatidylcholine; DOPC: dioleoyl-phosphatidylcholine; DMPC: dimyristoylphosphatidylcholine; TR-DHPE: Texas Red-labeled dihexanoylphosphatidylethanolamine; SM: sphingomyelin (from bovine brain); chol: cholesterol

2. 光照射が誘起する脂質膜の局所的相分離と形状変化

表面場が全域的な外場であるのに対し、光照射は局所的な外場として脂質膜の相分離や形状変化を誘起する。図 4 は SiO_2 上の DMPC+DOPC (1:1)-SPLB (1mol% TR-DHPE) に、励起光を断続的に照射しながら冷却した場合の蛍光顕微鏡像であり、暗い部分と明るい部分がそれぞれゲル相および液晶相のドメインである⁴。光照射領域のゲル相ドメイン密度が著しく増加しており、光照射の影響が無い領域でのゲル相ドメインの割合が 5%なのに対し、光照射領域ではゲル相の割合が 34%であった。光照射領域では蛍光色素の励起を介して脂質分子運動が活性化され、局所的な SPB の温度上昇と膜の膨張が起きていると考えられる。その結果生じる側方圧を緩和するために、占有面積の大きな DOPC ($59\text{-}82 \text{ \AA}^2$) が光照射領域から排除され、占有面積の小さい DMPC ($59\text{-}65 \text{ \AA}^2$) 濃度が上昇したと説明される。同様の局所光励起によって脂質膜の形状を領域選択的に変化させた例が図 5 である。吸着ベシクル層と SPLB が共存する $\text{TiO}_2(100)$ 表面上において、光照射を行った領域で吸着ベシクルから平面膜への形状変化が進行した⁵。これらは平衡状態にある脂質膜を光照射によって励起することで起きる現象であり、膜内での物質移動の制御や脂質膜アレイの作製などのための要素技術としても有用である。

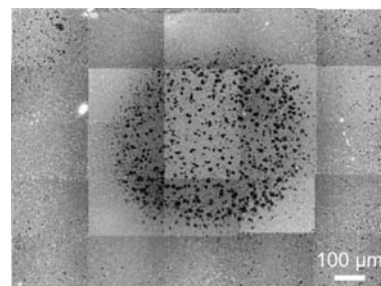


図 4. 光照射をしながら冷却し $\text{SiO}_2(100)$ 上の DMPC+DOPC-SPLB の蛍光顕微鏡像。

図 5 (a) DPoPC の吸着ベシクル(明るい領域)と SPLB(暗い領域)が共存する $\text{TiO}_2(100)$ 表面の蛍光顕微鏡像。(b-d) 光照射によって吸着ベシクルから平面膜への形状変化が領域選択的に進行する。

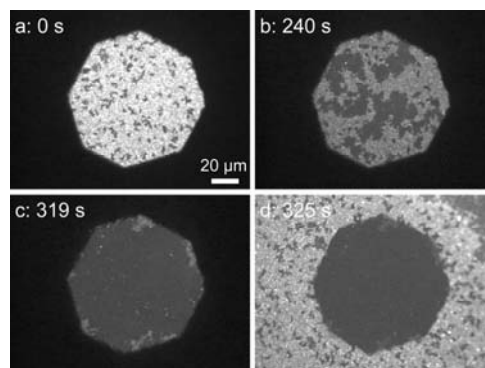


図 5. (a) DPoPC の吸着ベシクル(明るい領域)と SPLB(暗い領域)が共存する $\text{TiO}_2(100)$ 表面の蛍光顕微鏡像。(b-d) 光照射によって吸着ベシクルから平面膜への形状変化が領域選択的に進行する。

3. ラフト組成 SPLB の相分離

細胞膜中のスフィンゴ脂質とコレステロールに富んだドメインは「ラフト」と呼ばれ、信号伝達を担う種々の膜タンパク質の反応場として働いていると考えられている。その実態が短寿命の微小ドメインである可能性も示唆されており、ラフト組成脂質膜の動的な挙動を知ることは重要である。図 6 に光照射が誘起するマイカ上の SM+DOPC+chol (1:1:1)-SPLB の相分離の顕微鏡像である。光照射領域に現れる相分離構造が時間と共に周囲に伝播した。前述の基板表面との相互作用や光励起による膜膨張の他に、脂質の光改質などが関わる複雑な現象である。AFM を用いたフォースカーブ測定による粘弾性計測や、1 分子蛍光追跡法による流動性の評価を相分離過程において in-situ で行い、膜物性やドメインの組成変化について詳細に調べていきたいと考えている。

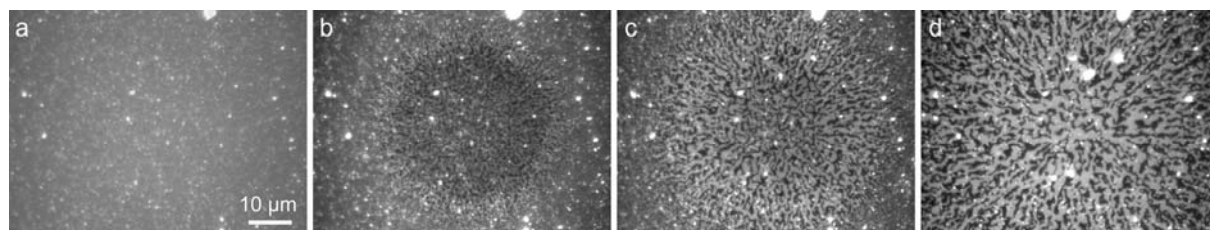


図 6. (a) SM+DOPC+chol (1:1:1)-SPLB (1mol% Rb-DOPE) の蛍光顕微鏡像。(b-d) (a) の中心部に光照射をすることで誘起され、時間発展する相分離。(b) 光照射直後、(c) 32 s 後、(d) 246 s 後。

【参考文献】[1]古川, 並河, 村越, 森垣, 手老, *表面科学*, **30** (2009), 207. [2] R. Tero, T. Ujihara and T. Urisu, *Langmuir*, **24** (2008) 11567. [3] R. Tero, T. Ujihara and T. Urisu, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.*, in press. [4] T. Ujihara, S. Suzuki, Y. Yamauchi, R. Tero and Y. Takeda, *Langmuir*, **24** (2008) 10974. [5] R. Tero, T. Ujihara and T. Urisu, *Proc. SPIE* (invited paper), **6769** (2007) 67690J-1.