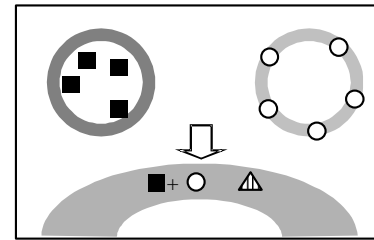


# 3P044 ベシクル間静電相互作用を用いたジャイアントベシクルによる分子輸送

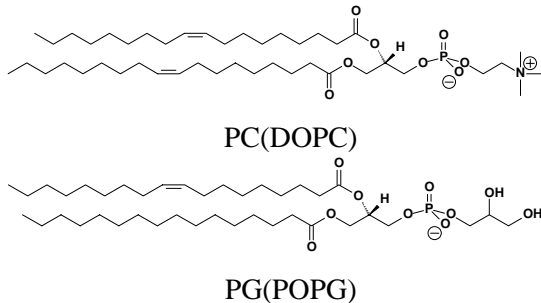
(東大院総合) 鈴木健太郎, 菅原正

【序】リン脂質などの両親媒性分子は、水中で自己集散的に会合し、袋状構造体であるベシクルを構築する。中でも粒径が 1  $\mu\text{m}$  を超えるベシクルは、ジャイアントベシクルと呼ばれている。ジャイアントベシクルは光学顕微鏡での直接観測が可能のため、膜構成分子が示す様々なダイナミクスを直接的かつリアルタイムで観測でき興味深い。当研究室では、生命システムの構成的に理解する立場から、これらジャイアントベシクルを原始細胞のモデルと捉え、ジャイアントベシクルが自己複製するシステムを構築することを目指した研究を行っている。近年、ベシクル膜内での膜分子生成反応によって、親であるベシクルと同一組成のベシクルが複製される反応系を見出し報告している。<sup>1)</sup>

ベシクル上で継続的に化学反応を行うためには、外部より反応分子を供給する必要がある。ベシクルへの分子供給は一般に水溶液として分子を水中に拡散させた状態で行うが、多くの有機分子は水に溶けないので、供給可能な分子の種類は限られてくる。ここで、分子をベシクルに担持させ輸送を行えば、より多くの分子種をベシクル上に供給することが可能になる(Fig. 1)。



さらに、ベシクルによる輸送系では、輸送される分子が膜表面の融合箇所を局所的に侵入することになるため、水中に拡散させた分子が均一にベシクル表面に侵入する場合とは異なるダイナミクスも期待される。



本研究ではベシクル間の接着および融合を利用したベシクルによる分子輸送のシステムの実現を目指した。中性溶液中において、リン脂質 PC(DOPC)と PG(POPG)からなる hybrid ベシクルの表面電荷はアニオン性を示す。溶液の pH が低下すると、リン脂質の酸解離平衡によって、アニオン性から電気的中性状態を経てカチオン性まで変化する。

膜表面電荷が零になる pH( $\text{pH}_0$ )は、組成比の違いにより異なるので(Fig. 2)、膜組成の異なる hybrid ベシクルが同じ溶液に混在していると、 $\text{pH}_0$ の違いにより、特定の pH でアニオン性とカチオン性のベシクルが混在することになる。異符号の電荷を持ったベシクルが混在すれば、それらの間で選択的に接着が起こることがため、一方のベシクルに輸送される分子を担持しておけば、分子輸送のシステムに利用できると期待される。

【実験】薄膜法により膜組成が PC:PG = 9:1, 5:5, 1:9 の hybrid ベシクル溶液(PC90, PC50, PC10)を中性の水で調整した。これらのうち二種類を当量混合した溶液(PC90+PC50, PC90+PC10, PC50+PC10)について、塩酸添加により pH を 4 - 2 に調整し、酸添加直後からのベシクル集団の挙動を位相差顕微鏡で観測した。

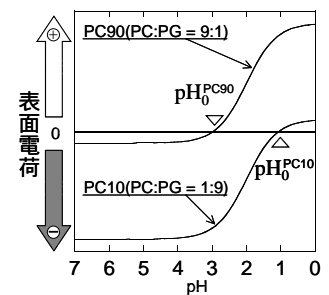


Fig. 2 Hybrid ベシクル表面電荷の pH 応答性( $\text{p}K_a = 2.0$ とした場合の計算値)

【結果と考察】それぞれの溶液は、塩酸を添加して pH を変化させた後も、最初の数時間は分散したままであり、大きな変化は見られなかった。約 10 時間程度経過するといくつかの溶液でベシクル同士が互いに接着したネットワーク状の構造体の形成が見られた(Table)。

Table 酸添加後 24h 経過したときの、溶液中のベシクル集団の様子

	溶液の pH			
	~3.0	2.4	2.2	2.0
PC90+PC50	分散	集合化	集合化	集合化
PC90+PC10	分散	集合化	集合化	集合化
PC50+PC10	分散	分散	分散	分散

PC90+PC50 および PC90+PC10 で、溶液の pH が 2.4 - 2 の範囲のときにネットワーク状の構造体の形成が確認された(Fig. 3)。それ以外の溶液では、数日を経ても集合体の形成は見られなかった。集合体を形成しているベシクルでは、さらに数日経過すると、ベシクルの粒径の増大が観測され、融合が起きていることが示唆された。

ベシクル集団の pH 応答性の違いは、膜組成の違いによる膜表面電荷の pH 依存性の違いによると考えられる。溶液が中性付近では両イオン性である PC 分子は低 pH 条件でカチオンの振舞う。一方 PG 分子は、低 pH 領域までカチオン性である。そのため、PC を多く含む PC90 では、pH の減少とともにカチオン性へと変化するが、比較的 PC 分子の少ない PC50 および PC10 の表面電荷は低 pH の領域でもアニオン性のままである。従って PC90+PC50、および PC90+PC10 では、溶液中の PC90 のみが pH 2.4 以下でカチオン性になり、アニオン性の PC50 あるいは PC10 と静電引力で互いに接着したと考えられる。一方、PC50+PC10 では、pH を低下させても PC50、PC10 ともにアニオン性であるので、静電引力が働くことはない。

以上の結果から、ベシクル表面電荷の酸応答性の差を利用して、選択的にベシクル間接着を起こし、さらに融合化させ得ることを確認した。この機構を利用して、輸送した異分子をベシクルに担持させ、ターゲットベシクルに輸送させることが可能であると考えられる。DOPC ベシクルに、蛍光標識した POPG ベシクルを接着融合させることで、DOPC 側も蛍光を発することを確認した。講演では、消光分子による蛍光の消光作用を利用して、分子輸送のより確実な証拠を報告する予定である。

references:

1) K. Takakura, T. Toyota, T. Sugawara, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 8134.

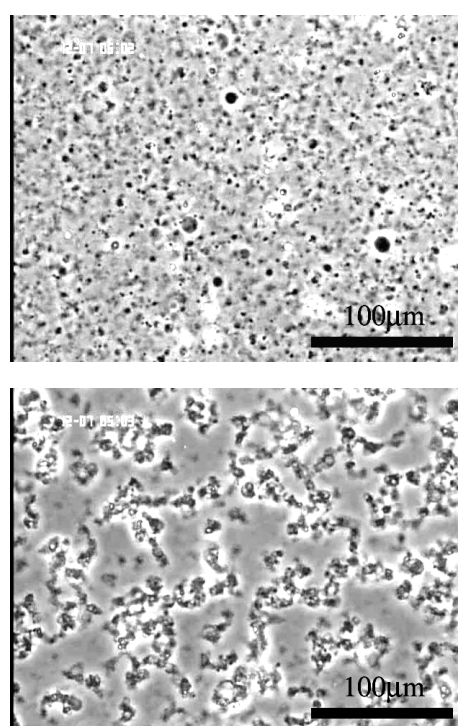


Fig. 3 PC90+PC10 の酸応答 (24 時間後)。(上段)pH 3.0 (下段)pH 2.4。