

解 説

# 気液界面におけるリン脂質膜 —界面の熱力学の立場からみたリン脂質分散液—

深田和宏, 田嶋和夫\*

(平成8年7月1日受理)

## Phospholipid Membrane at the Air/Water Interface : A Short Review on the Phospholipid Dispersions from the View Point of Surface Thermodynamics.

Kazuhiro Fukada and Kazuo Tajima\*

(Received July 1, 1996)

Thermodynamic nature of bilayer assembly of phospholipids in aqueous medium have been reviewed mainly from the view point of surface properties of lipid dispersions. In particular, emphasized was usefulness of the equilibrium spreading pressure ( $\Pi_e$ ) measurement at the air-water interface related to the phase studies of lipid bilayers. The phospholipids studied were dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC), dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC), and dimyristoylphosphatidylglycerol (DMPG). Also described briefly were the precise heat capacity measurements of DMPG dispersion in aqueous NaCl in the temperature range above main transition, the formation of complex between phospholipids and cholesterol, and the solubilization of apolar compounds in DMPC bilayer.

### 1. はじめに

界面活性剤やリン脂質などの両親媒性物質に水を加えて2成分系にすると、親水基と疎水基が分子内でどのように配置されているか、あるいは親水性と疎水性の強さのバランスに依存して、さまざまな形態、大きな分子集合体が形成され、従来のオーソドックスな溶液論では取り扱い困難

な“組織体（溶液）系”になることが知られている<sup>1)</sup>。組織体（溶液）系では通常の溶液とは異なり、溶質分子は溶媒中に無秩序に分子分散しておらず、ミセルやベシクルなどの分子集合体が単位粒子となって溶媒分子と混合している。このうち、一般的な界面活性剤のように会合数が数十程度の球状ミセルを形成する場合は、マクロ的には均一なミセル溶液（一相系）と見なして取り扱うことが多く<sup>2)</sup>、また、

東京都立大学理学部：〒192-03 八王子市南大沢 1-1

Department of Chemistry, Faculty of Science, Tokyo Metropolitan University, Minamiosawa 1-1, Hachioji-shi, Tokyo 192-03, Japan.

\* 神奈川大学工学部：〒221 横浜市神奈川区六角橋 3-27-1

\* Department of Chemistry, Faculty of Technology, Kanagawa University, Rokkakubashi 3-27-1, Kanagawa-ku, Yokohama 221, Japan.

球状ミセルが紐状に成長して会合数が大きくなつた系では高分子溶液と類似した挙動が見られるようになり、その様な観点からの実験的、理論的研究が盛んに展開されている<sup>3)</sup>。

一方、炭化水素鎖を2本有するリン脂質を水に添加すると、脂質分子が形成した2分子膜の間に一定量の水が取り込まれて膨潤し、簡単な攪拌操作によって粗大粒子（多重層ベシクル）として水中に分散する。一般にはリン脂質の水への溶解度は極めて低いので、リン脂質分散液は“バルク水相+膨潤したリン脂質相”として表わされる2成分二相系と見做されている（ただし、脂質2分子膜が水層を介して積み重なった構造を持つ膨潤リン脂質相を単純な均一相として取り扱うことは必ずしも妥当とは言えないという主張もある<sup>4), 5)</sup>）。

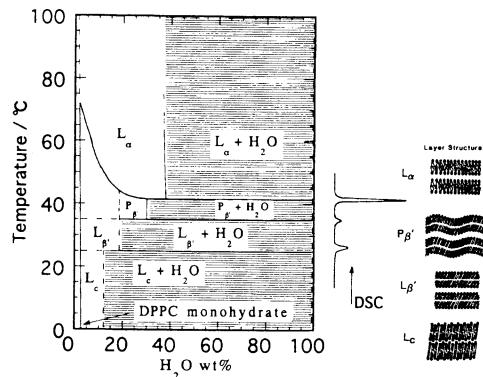
膨潤リン脂質相の熱力学的特性は、生体膜のモデルとしての物性研究のなかで詳細に調べられ<sup>4)-7)</sup>、データ集も出版されている<sup>8), 9)</sup>。また、本誌でもすでに優れた解説が掲載されているが<sup>10)</sup>、リン脂質分散液を多成分多相系（気液界面相をも含めて）としてとらえ、水中に僅かに溶けたリン脂質分子や、気液界面に吸着して膜を形成しているリン脂質の存在を意識した解説は少ないようだと思える（ここで気液界面に着目するのは、リン脂質などの両親媒性物質は界面に寄り集まって気液界面の性質を決定づけ、界面相とバルク相が平衡にある条件下では、リン脂質ベシクルの熱力学的な状態変化は界面の熱力学パラメータに鋭敏に反映すると期待されるからである）。

そこで本稿では、リン脂質分散液において膨潤リン脂質相と平衡に共存する気液界面リン脂質膜を界面熱力学の立場から研究した例を中心として解説し、あわせて筆者らが行なつた関連する研究の紹介をすることにしたい。

## 2. リン脂質-水：2成分系の相図と リン脂質の溶存状態

気液界面のリン脂質膜について述べる前に、まず、バルク相内での相平衡について簡単に触れておきたい。

水中に分散したリン脂質多重層ベシクルを分離相として割りきつてみなし、典型的なリン脂質であるDPPC (dipalmitoylphosphatidylcholine) - H<sub>2</sub>O 2成分系の相図を描くとFig.1のようになる。ここで、水含量が少ない領域と高温度域での相境界線は不確定さが残るので破線で示した。また、各相におけるリン脂質2分子膜の層状構造の模式図と、水の含量が40%程度以上になるまで加えた系で観測されるDSC昇温サーモグラムも示してある。最も大きな吸熱ピークは炭化水素鎖が固体状態から液体状態に転移することに対応し、主転移（あるいはゲル-液晶転移）と呼ばれており、この温度をT<sub>m</sub>と表わす。厳密にいえばこのサーモグラムから得られるΔHは、リン脂質2分子膜が温度上昇にと

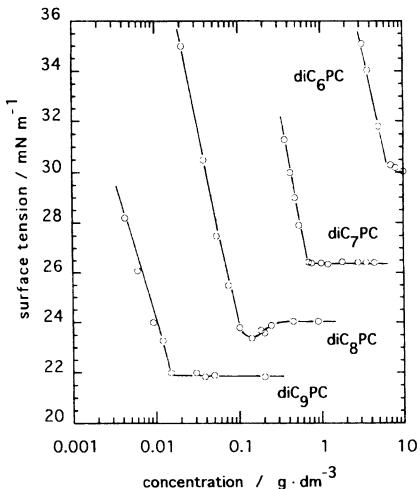


**Fig.1** Phase diagram of the dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC)-water system. L<sub>c</sub>, crystalline DPPC; L<sub>β'</sub>, P<sub>β'</sub>, and L<sub>α</sub> have the layer structure shown at right.

もなってL<sub>c</sub>相→L<sub>β'</sub>相→P<sub>β'</sub>相→L<sub>α</sub>相へと状態変化することによるエンタルピー変化と、リン脂質の状態変化にともなってバルク水相中の水分子がリン脂質2分子膜間に取り込まれていくことによるエンタルピー変化の総和であるが、後者の寄与は小さいと見なされている。

相図中で影をつけた部分が2相分離領域を表しており、この領域では、水を吸って膨潤したリン脂質ベシクルと、ベシクルに吸収されきらずに残されたバルク水相とが共存している。なお、バルク水相には極めてわずかではあるがリン脂質が溶解しており、放射ラベルしたDPPCを使って溶解度を測定した研究で、(4.6 ± 0.5) × 10<sup>-10</sup>M (20.0 °C)という値が報告されている<sup>11)</sup>。平衡に共存する2相の一方で状態変化があれば、もう一方の相でもそれに対応して熱力学的状態に変化が起こるはずなので、リン脂質2分子膜集合体の温度変化に伴う相転移に対応し、水中に溶けたリン脂質濃度がどのように変化するかについて興味が持たれるが、DPPCの溶解度の温度依存性についてはまだ調べられていない。DPPCの親水基をイオン性とし、また、疎水基をmyristoylとして疎水性を落としたDMPG (dimyristoylphosphatidylglycerol) ナトリウム塩の溶解度は20 °Cで3 × 10<sup>-5</sup>M程度であり、濃度測定はずっと容易になる。このものについての溶解度の温度依存性から主転移 (24 °C)でのΔHを見積もると7 kcal mol<sup>-1</sup>となり、DSCで報告されているΔH値とほぼ一致する<sup>12)</sup>。

ところで、アルキル鎖長の短いリン脂質や1本しかアシル基をもたないリソレシチン（可溶性リン脂質とよばれている）はミセルを形成して水中に溶存するので、一般の界面活性剤水溶液の溶液物性の研究で標準的に行なわれる測定方法をそのまま適用することができる。一例として



**Fig.2** Surface tension for several short-chain lecithin homologues at different concentrations in aqueous phosphate buffer ( $10^{-2}$  M; pH = 6.9).

Tausk らによって報告された、hexanoyl から nonanoyl までのアシル基を持つ dialkanoylphosphatidyl choline (diC<sub>6</sub>PC ~ diC<sub>9</sub>PC と略す) 水溶液の表面張力の濃度依存性を Fig.2 に示した<sup>13)</sup>。この図で、diC<sub>6</sub>PC から diC<sub>8</sub>PC では、屈曲点は臨界ミセル濃度 (cmc) に対応しているが、diC<sub>9</sub>PC では液晶相 (2 分子膜ラメラ相) の出現を意味している。また diC<sub>6</sub>PC と diC<sub>7</sub>PC では cmc 近傍でのミセルの会合数は数十程度であり、ミセル形状は球状もしくは半球キャップ付円筒状 (sphero-cylinder) と考えられている<sup>14)</sup>。一方、diC<sub>8</sub>PC では、約 1 g · dm<sup>-3</sup> より高濃度で相分離してしまうためミセル会合数の測定は困難であるが、0.2M LiI 中では相分離は押さえられ、会合数が数百程度のミセルを形成するという<sup>15)</sup>。両親媒性物質の分子集合体の形状や組織形態は、基本的に分子構造に基づく親水性と疎水性のバランスが支配するとの了解されているが<sup>16)</sup>、濃度依存性や温度・添加塩効果をも考慮した詳細なメカニズムは良く解っていない。特に、ミセル溶液から液晶分離相へと至る過程については不明な点が多く、リン脂質系についても更に多面的な研究の遂行が期待される<sup>5)</sup>。

### 3. 気液界面に形成するリン脂質膜の性質

#### 3.1 リン脂質の気液界面における拡張

以上では、リン脂質が水と共に存するときの相挙動や溶存状態に関して概説してきたが、一方で、リン脂質と水との相互作用に関して半定量的な情報を得る手段として、気液界面におけるリン脂質の拡張圧の測定が行なわれている<sup>5), 17)</sup>。

上述したように、リン脂質の水への溶解度は極めて低い

ので、溶解度のデータから種々の熱力学量を求めるることは非常に困難である。ところで、両親媒性の分子を水面に浮かべた時には（ショウノウやオレイン酸で良く知られている様に）、水面上に分子が2次元的に広がって膜を形成し、広大な面積がごく少量の両親媒性分子で覆われることがあり、膜の性質からリン脂質相についての情報をうかがい知ることができる。なお、リン脂質を適当な有機溶媒に溶かして水面上に展開し、表面圧-面積曲線を測定する実験が一般的に行なわれているが<sup>18)</sup>、この方法は熱力学的に不安定もしくは準安定な状態が起こりやすいため平衡状態での膜の性質を知るには適当でない。我々は、有機溶媒を用いずに、リン脂質固体粉末あるいは水を加えてあらかじめ膨潤させたリン脂質を水面に置き、自然に拡張して形成される膜を研究対象としている。こうして形成される膜は“平衡拡張膜”と呼ばれ、リン脂質分散液の気液界面で吸着平衡によって形成される吸着膜と同一の膜圧を示すので、両者は熱力学的に同一であるといえる<sup>19)</sup>。

気液界面で平衡拡張膜が形成されるか否かは、下式で定義される拡張係数 (S) で決まる。

$$S = \gamma_w - \gamma_o - \gamma_{w/o} \quad \dots \quad (1)$$

ここで、 $\gamma_w$  と  $\gamma_o$  はそれぞれ、水の表面張力と水を含んだ膨潤リン脂質相の表面張力であり、 $\gamma_{w/o}$  は水-膨潤リン脂質相間の界面張力である。水面上をリン脂質分子が広がって膜を形成するのは  $S$  が正の場合で、それには、 $\gamma_o$  と  $\gamma_{w/o}$  がともに  $\gamma_w$  に比べて小さな値であることが必要となる。

リン脂質は水にはほとんど溶けないので、極く少量の試料を水面上に浮かべれば ( $S > 0$  であれば)，水面は膜で完全に覆われ、表面張力はある平衡値を示し、さらに試料を追加してもはや表面張力の値は変化しない。この時の水面の表面張力 ( $\gamma_m$ ) とリン脂質の拡張圧 (平衡拡張圧:  $\Pi_e$ ) は下式で与えられる。

$$\gamma_m = \gamma_o + \gamma_{w/o} \quad \dots \quad (2)$$

$$\Pi_e = \gamma_w - \gamma_m \quad \dots \quad (3)$$

平衡拡張圧はまた、①リン脂質相自身の凝集の仕事:  $W_o$  ( $= -2\gamma_o$ ) と②リン脂質相と水相の付着の仕事:  $W_c$  ( $= \gamma_{w/o} - \gamma_w - \gamma_o$ ) の差として下式で表わす事もできる。

$$\Pi_e = W_o - W_c \quad \dots \quad (4)$$

以上の式は界面の膜構造に依存しない熱力学関係式なので特定の膜構造（例えば単分子膜）を想定する必要はなかった。しかし、膜の拡張が完了するまでの時間（つまり平衡状態に至るまでの時間）を考えるには、膜構造をある程度考慮しておく必要があろう。すぐに気がつく点は、リン脂

質相が水相と接している時はリン脂質の親水基が界面に向いているが、気相と接する時は疎水性基が表面に露出するはずなので、膨潤リン脂質からの膜の拡張や、リン脂質分散ペシクルが気液界面に吸着して吸着膜を形成する過程においては、相表面にあるリン脂質分子の“反転”過程を想定しなければならない事である。したがって、リン脂質2分子膜がある程度の流動性を有し、リン脂質の配向が容易に変えられるようないと、なかなか平衡状態が得られない事が予想される。

平衡拡張圧は、つり板法 (Wilhelmy method) や浮子法 (Langmuir-Adam method) によって比較的簡単に測定できるが<sup>18)</sup>、再現性のあるデータを得るには試料や測定環境について種々の注意を払う必要がある。その辺りの事情を DMPC (dimyristoylphosphatidylcholine) の拡張圧の測定結果を例として説明したい<sup>19)</sup>。

先に述べたように、あらかじめ水を加えて膨潤させたりン脂質を水面に浮かべて拡張圧を測定したところ、膜の拡張速度は水面上の気相の湿度によっておおいに変化した (Fig.3 参照)。特に、100% 近い湿度下では、2~3 日間経過しても  $\Pi_e$  はほとんどゼロのままであり、リン脂質はほとんど拡張しない (図中 ◇)。しかし、気相の湿度を低下させてやると、急速に膜は拡張して平衡値を与える (▲)。これは、膨潤リン脂質相から気液界面に膜が拡張するには、界面においてリン脂質がいったん「脱水和」して再配向しなければならないことによるものと思われ、この過程が通常の実

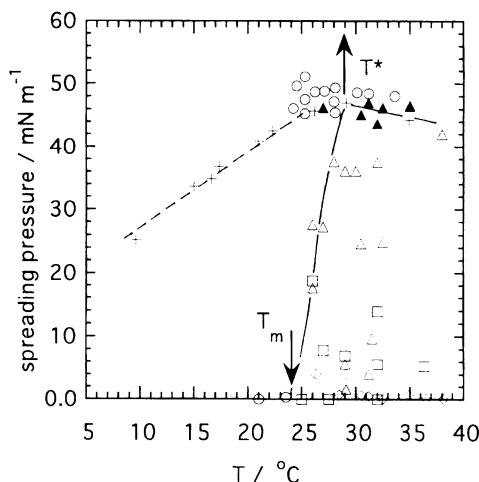


Fig.3 Temperature dependence of the spreading pressure for DMPC at air-water interface. Different symbols indicate different experimental conditions (see text).

験室環境下では極めて遅いため、十分に待ち時間をとらないと測定値はたいそうバラついてしまう (△, □)。また、乾燥リン脂質粉末を水面に浮かべた場合は、ゲル-液晶転移温度 ( $T_m$ ) 以下では  $\Pi_e$  はほぼゼロだが、 $T_m$  になると一挙に 50 mN · m<sup>-1</sup> までジャンプした (○)。これは、微結晶表面の熱力学的に不安定な部分のリン脂質が水面上に広がってしまったためと考えられる。図中にはまた、有機溶媒に溶かした十分量のリン脂質を水面に展開した場合のデータも示してある (+)。この時は、 $T_m$  以下であってもリン脂質は有機溶媒とともに水面上を拡張する。そして、有機溶媒は蒸発し、水面はリン脂質被膜に覆われるが、この状況で測定される拡張圧は平衡値とみなすことはできない。

以上の点に留意して DMPC および DPPC の平衡拡張圧の温度依存性を示したものが Fig.4 である<sup>20)</sup>。一見してわかるように、 $\Pi_e$  はリン脂質の炭化水素鎖が固体状態から液体状態となる  $T_m$  付近で急激に上昇はじめ、約 50 mN · m<sup>-1</sup> にまで達し、その後は温度とともに徐々に減少する。なお、 $\Pi_e$  が極大となる温度は、臨界温度 ( $T^*$ ) と呼ばれている<sup>21)</sup>。

以上の挙動は、定性的には次の様に解釈することができよう。すなわち、 $T_m$  以下ではリン脂質の炭化水素鎖は固体状に固定されているので、 $W_o$  は大きな負の値をとる。そのためほとんど膜として拡張せず、測定される  $\Pi_e$  の値は極めて低い。 $T_m < T < T^*$  の温度域では、リン脂質は液晶状態となり、 $W_o$  の絶対値は温度とともに急激に低下はじめ、 $T^*$  ではほぼ一定値に落ち着く。 $T^*$  以上では、主として  $W_c$  の温度依存性を反映して  $\Pi_e$  は温度に対して負の勾配を示すようになると考えられる。

一方、<sup>3</sup>H 標識-DMPC を用いて表面吸着量 ( $\Gamma$ ) の温度依存性を測定したところ、Fig.5 のような結果が得られた<sup>20)-22)</sup>。すなわち、 $T_m$  以下の DMPC の吸着量はわずかであるが、 $T_m$  以上に温度をあげると  $\Gamma$  は急激に上昇し、29 °C ( $T^*$  に対応) ではほぼ 2 分子膜に相当する吸着量となる。さらに高

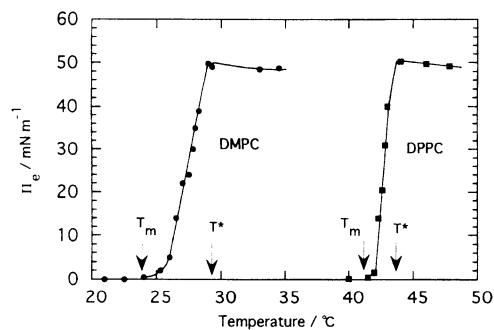


Fig.4 Temperature dependence of the equilibrium spreading pressure ( $\Pi_e$ ) for DMPC and DPPC.

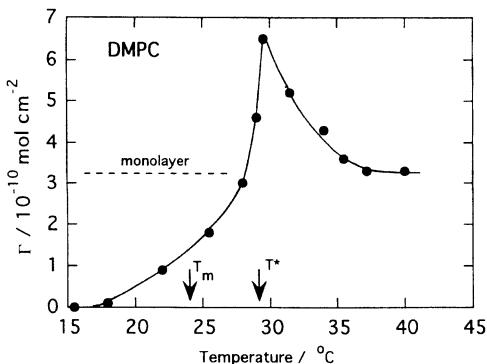


Fig.5 Temperature dependence of the surface concentration ( $\Gamma$ ) for DMPC aqueous dispersions.

温になると徐々に減少はじめ、35℃以上では単分子膜に相当する吸着量となる。この様に、 $T^*$ 付近の温度において膨潤リン脂質相から自然に拡張して形成される水面上の脂質膜は、一般にいわれている単分子膜ではなく、むしろ2分子膜状態に近いように思われる。DMPC分散液の気液界面からのX線反射の測定より、 $T^*$ 温度では界面近傍で脂質多重膜の形成が著しく促進されるという報告例もある<sup>23)</sup>。

Gershfeld等は、種々の生体由来のリン脂質成分について $\Pi_e$ の温度依存性を測定し、 $\Pi_e$ が必ず極大を持っていることを示し、 $T^*$ の生理学的な意味について考察している<sup>21)</sup>。しかし、 $T^*$ の物理化学的な意味や界面2分子膜形成との関係についてはまだ良く解っておらず、今後、さまざまな角度から検討されることが期待される。

### 3.2 リン脂質相の熱容量と $T^*$

$T_m$ から $T^*$ の温度域で見出された気液界面リン脂質膜の特異な現象が、バルク相中の膨潤リン脂質の状態変化との様に対応しているかについて、熱測定で得られている結果を示して簡潔に説明したい。

リン脂質分散液の熱容量は、断熱型熱量計<sup>24)</sup>、断熱型DSC<sup>25), 26)</sup>、あるいはACカロリメータ<sup>27)</sup>を用いて研究されてきており、最近では熱容量の加熱周波数依存性を詳細に検討した研究も報告されている<sup>28), 29)</sup>。我々は、擬似断熱・双子セル型の超高感度熱量計を用いて $T_m$ から $T^*$ の温度域に焦点をあて、定圧熱容量( $C_p$ )を詳しく調べた<sup>30)</sup>。装置の詳細については文献を参照されたい<sup>31)</sup>。

ここでは、種々の濃度のNaCl水溶液に分散したDMPGについて、 $T_m$ (約24℃)よりも数℃高い温度域で $C_p$ を測定した結果を示す<sup>32)</sup>。なお、Fig.6に示すようにDMPGの $\Pi_e$ は水相のNaCl濃度とともに若干増加し、 $T^*$ は31.6℃から30.0℃まで変化する。これらの系について、分散液の熱容量から分散媒の熱容量を差し引いて求めた $C_p$ は、 $T_m$ でリン

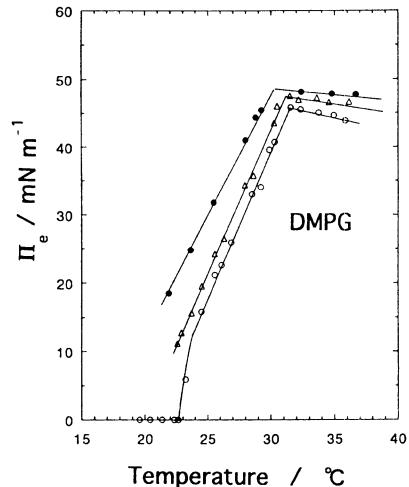


Fig.6 Temperature dependence of the equilibrium spreading pressure ( $\Pi_e$ ) for DMPG at air-aqueous NaCl interface. NaCl concentrations are 0M (○), 0.2M (△), and 0.4M (●).

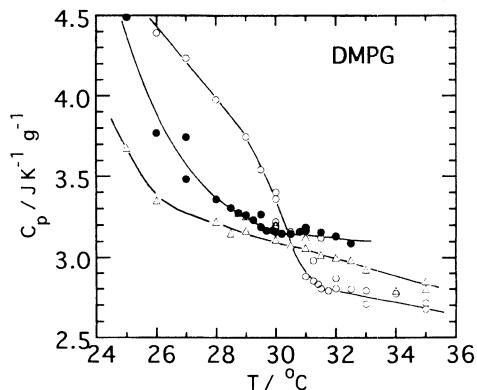


Fig.7 Temperature dependence of the specific heat ( $C_p$ ) of DMPG in aqueous NaCl solutions. NaCl concentrations are 0M (○), 0.2M (△), and 0.4M (●).

脂質膜の相転移のために発散した後、温度とともに減少するが、 $T^*$ 辺りを境界点としてあまり変化しなくなる傾向が見られる(Fig.7)。したがって $C_p$ の温度微係数は $T^*$ で不連続となる。

DMPCの $T^*$ 近傍でも $C_p$ の温度微係数は不連続となり<sup>30)</sup>、また、DMPC分散液の小角X線回折から求められたリン脂質相のラメラ面間隔の温度変化も $T^*$ 付近を境界として勾配を変えることが解っている<sup>33)</sup>。

以上の実験事実は、気液界面にあるリン脂質膜のみならず、膨潤リン脂質相も  $T^*$  である種の状態変化を起こしていることを示唆するものである。ただし、この変化は潜熱を伴わず、X線回折の変化もわずかなため、極めて検出し難い。今後、ESR や蛍光プローブ法、NMR 等の測定を進め、ミクロスコピックな情報の解析によって  $T^*$  の意味がより明確になるであろう<sup>5)</sup>。

#### 4. 添加物の作用

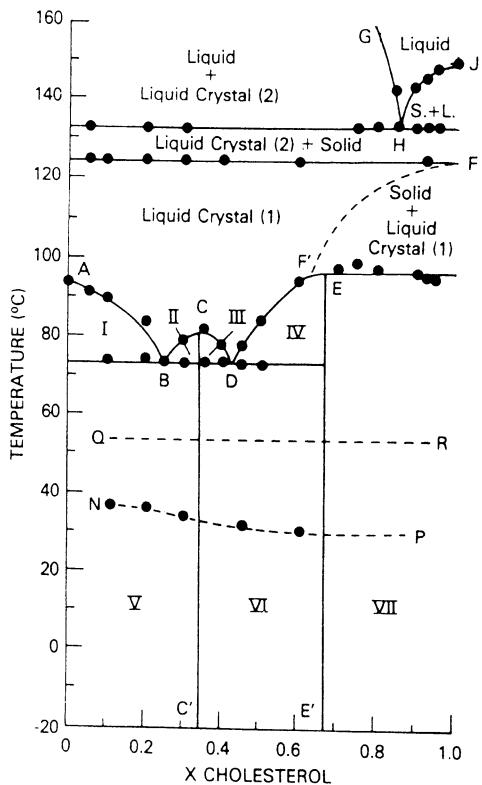
##### 4.1 リン脂質とコレステロールの混合性

リン脂質にコレステロール (CHOL) を添加すると凝集作用が現れることがLeathesによって見いだされて以来<sup>34)</sup>、多くの研究者によって分子間の錯体形成として関心が持たれ研究が行われてきた。しかし、その錯体の組成は研究者によって多様であった。例えば、無水系でのIR<sup>35)</sup> やX線回折<sup>36), 37)</sup> ではリン脂質：コレステロール = 1 : 2 錯体の形成が報告され、水分散系では 1 : 2 錯体の形成が沈降法<sup>38)</sup>、1 : 1 錯体の形成が熱量測定<sup>39)</sup>、NMR<sup>40)</sup>、X線<sup>36)</sup>、2 : 1 錯体の形成がDSC<sup>41)</sup>、X線回折<sup>42)</sup>で報告されている。また、ESR 測定では錯体の形成が見られないと報告されている<sup>43)</sup>。

一例として、DSC 測定より作成されたDMPC-CHOL2成分系の相図を示す (Fig.8)<sup>44)</sup>。混合物は曲線ABCDE以上 の温度域では液晶状態だが (C点は調和融解点: congruent transition), 88 °Cで DMPC : CHOL = 2 : 1 ( $X_{CHOL} = 0.33$ ) の錯体を形成することがわかる。

水分散系については、H<sub>2</sub>O-D<sub>2</sub>O の傾斜密度溶媒中に混合組成比を変えてDMPCとCHOLを分散させ、超遠心 (2 × 10<sup>5</sup>G) で強制沈降をさせた後、脂質バンドの位置とその組成分析から水中で形成する錯体組成とその密度との関係が調べられた<sup>44)</sup>。その結果、30.0 °Cにおける密度はDMPC (1.023 g · cm<sup>-3</sup>)、2 : 1 錯体 (1.040 g · cm<sup>-3</sup>)、一水和CHOL (1.022 g · cm<sup>-3</sup>) となり、2 : 1 錯体の形成が確認された。しかし、この方法は組成の決定に分離操作を経るため、2 : 1 錯体の形成を系の平衡状態として熱力学的に説明することはできない。

これまでに種々の錯体組成が報告されているのは、系の熱力学的安定域が複雑なためではなく、混合試料の調製方法によるもの、すなわち、リン脂質分散系が平衡状態に到達するのが極めて遅いことと関係していると思われる<sup>45), 46)</sup>。そこで田嶋らは、リン脂質-CHOL混合系分散液の表面張力の測定を行い、平衡拡張圧の組成依存性を求めて平衡状態での錯体組成を検討した<sup>47)</sup> (なお、リン脂質とCHOLの混合性は水面の“展開” 単分子膜法によても調べられ、錯体は蒸気膜では形成されないが<sup>48)</sup> 凝縮膜で形成される<sup>49)</sup> ことが指摘されているが、展開膜での測定は必ずしも系全



**Fig.8** Phase diagram for anhydrous DMPC-CHOL system. Each point represents the temperature at the endothermic peak in DSC measurements.

体の熱力学的平衡を反映しているとは限らない)。

リン脂質-CHOL混合系分散液の表面張力は、CHOL が酸化されないように湿潤窒素気流中 (29.5 °C) で、測定値が時間変化しなくなるまで注意深く測定された<sup>50)</sup>。Fig.9 がその結果であり、 $X_{CHOL} = 0.33$  (DMPC : CHOL = 2 : 1) を境界として平衡拡張圧が階段状に変化することがわかる。この結果は、表面相を考慮した相律によって以下の様に解釈することができる。

温度、圧力一定の系で、表面相の自由度  $F_s$  は<sup>51)</sup>、

$$F_s = C - P_b - P_s + 1 \quad \dots \dots \dots \quad (5)$$

ここで、C は成分の数 (窒素、水、リン脂質、CHOL)、 $P_b$  はパルク相の数 (気相、パルク水相、ある組成の分散粒子)、 $P_s$  は表面相の数である。

実験より  $X_{CHOL} < 0.33$  では拡張圧は組成によらず一定で、純粋なDMPCの値を示している (したがって表面には純粋なDMPC膜が形成している) ことから、 $F_s = 0$ 、 $P_s = 1$  である。故に、(5) 式より  $P_b = 4$  となる。これは、互いに混合

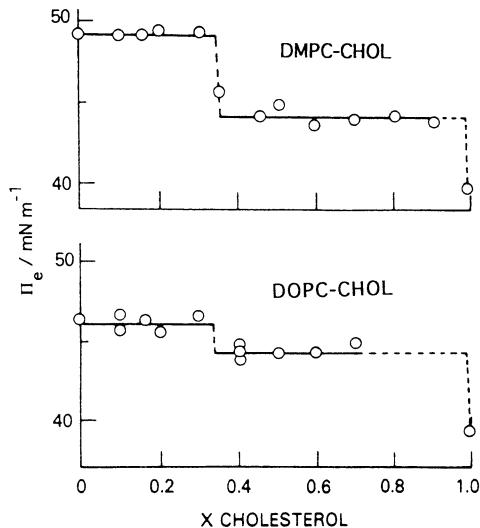


Fig.9 Equilibrium spreading pressure ( $\Pi_e$  for aqueous dispersions of DMPC-CHOL and DOPC (di-oleoylphosphatidylcholine)-CHOL as a function of the mole fraction of CHOL at 29.5 °C.

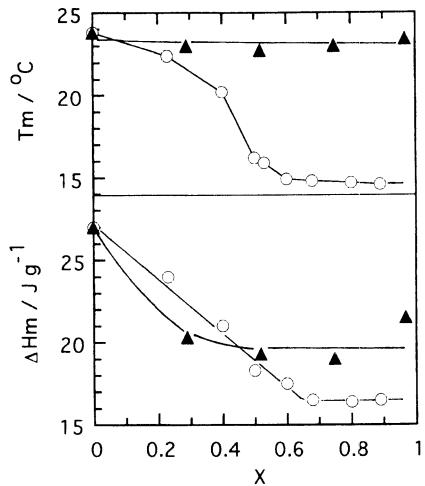


Fig.10 Gel-liquid crystalline phase transition temperature ( $T_m$ ) and the latent heat ( $\Delta H_m$ ) for DMPC-octane (○) and DMPC-perfluorononane (▲) aqueous dispersions as a function of the mole fraction of the added oil.

しあわない2種類の分散粒子が共存する場合（このときの表面膜は拡張圧の高い方の分散粒子組成で決まる<sup>51)</sup>）に相当し、 $P_b = 4$ の中身は、気相、バルク水相、DMPC 分散粒子、そして  $X_{CHOL} = 0.33$  の組成を持つ分散粒子（おそらく 2 : 1 錯体の分散粒子）となる。一方、 $0.03 < X_{CHOL} < 1$  では拡張圧は  $X_{CHOL} = 0.33$  での値を示しているので、表面膜は 2 : 1 の組成にあるといえる。この場合の  $P_b$  の中身は、気相、バルク水相、2 : 1 錯体分散粒子、および CHOL 分散粒子の4相と見做される。

以上の結果は、DMPC と CHOL が水中で安定に形成する錯体の組成は 2 : 1 であり、この 2 : 1 錯体は純脂質や CHOL とは混合もしなければ包晶（peritectic）も作らない事を示唆するものである。これと同様の挙動は DOPC (di-oleoylphosphatidylcholine)-CHOL 系でも観察されている (Fig.9)。

#### 4.2 炭化水素やフッ化炭素との混合性

リン脂質の液晶二分子膜が他の脂質や界面活性剤と混合二分子膜を形成することが多くの系で報告されている。しかし、炭化水素やフッ化炭素などの無極性化合物が二分子膜へ可溶化する現象についての報告はまだ多くない。最近我々は、DMPC-水分散系にオクタン ( $C_8H_{18}$ ) あるいはペルフルオロノナン ( $C_9F_{20}$ ) を二分子膜に添加し、DSC で DMPC のゲル-液晶転移の組成依存性を検討したので、その結果を簡潔に紹介したい<sup>52)</sup>。

Fig.10 は DMPC に  $C_8H_{18}$  を添加し、25 °C で一昼夜保温した系についての結果である。転移温度 ( $T_m$ ) は添加量の増加につれて減少し、 $X = 0.66$  以上で一定になる。 $T_m$  は二分子膜の融点と考えられるので、 $T_m$  の減少は二分子膜中に炭化水素が可溶化したための融点降下と考えられる。一方 DMPC の単位量当たりのゲル-液晶転移潜熱 ( $\Delta H_m$ ) はオクタンの添加量增加につれて減少し、やはり  $X = 0.66$  以上で一定になっている。これは  $X = 0.66$  でオクタンの可溶化が飽和に達するためである。飽和可溶化が DMPC の 1 鎮対 1 炭化水素の分子比で起こることは理解しやすい。もしもオクタンがさらに二分子膜中に可溶化するならば、可溶化したオクタン同士が直接相互作用し、可溶化は際限なく起ることになる。その結果、二分子膜は肥大化して安定な二分子構造は保てなくなるであろう。

同一条件で DMPC 二分子膜へ  $C_9F_{20}$  を添加した時は、 $\Delta H_m$  は添加量の少ない領域でいったん減少し、その後は一定となる。 $\Delta H_m$  の減少は、DMPC が  $C_9F_{20}$  に単分子膜吸着して乳化安定化するのに使われて、二分子膜状態で分散している DMPC が減少したためと思われる。しかし、 $T_m$  はまったく変化していないので、二分子膜中の  $C_9F_{20}$  の可溶化はほとんどないと考えられる。ペルフルオロヘキサンでも同様で、二分子膜中の可溶化は起こらなかった。

## 5. おわりに

本稿では、リン脂質分散系（多重膜ベシクル）に関して筆者らが行ってきた界面熱力学の立場からの研究を中心にして解説してきた。そして、平衡拡張圧の測定が、DSCなどの熱測定の情報を補強し、系の熱力学的状態の変化を知る上で有用であることを述べてきた。

リン脂質分散系をはじめとする両親媒性物質がつくる分子集合体の物性は、コロイド・界面化学や生物物理学、薬品物理化学などの諸分野の研究者によって盛んに研究されているが、本稿がこれらの系に関心を持つ読者の参考となれば幸いである。

## 文 献

- 1) 篠田耕三，“溶液と溶解度：機能性溶液・組織体溶液、第3版”，丸善（1991）。
- 2) C. Tanford, “The Hydrophobic Effect : Formation of Micelles and Biological Membranes, 2nd ed.”, Wiley-Interscience (1980), Chap. 7.
- 3) 加藤直, 表面 **33**, 23 (1995).
- 4) 八田一郎, 高橋 浩, 加藤 知, 応用物理 **60**, 239 (1991).
- 5) 田嶋和夫, “コロイド科学III：生体コロイドおよびコロイドの応用”, 日本化学会編, 東京化学同人 (1996), 第8章。
- 6) 大木和夫, 物理学会誌 **49**, 369 (1994).
- 7) M. Rosoff, “Vesicles : Surfactant Scicence Series 64”, Dekker (1996).
- 8) D. Marsh, “CRC Handbook of Lipid Bilayers”, CRC Press (1990).
- 9) M. Caffrey, “LIPIDAT : A Database of Thermo-dynamic Data and Associated Information on Lipid Mesomorphic and Polymorphic Transitions”, CRC Press (1993).
- 10) 児玉美智子, 関 集三, 热測定 **18**, 81 (1991).
- 11) R. Smith and C. Tanford, *J. Mol. Biol.* **67**, 75 (1972).
- 12) N.L. Gershfeld, *Biochemistry* **28**, 4229 (1989).
- 13) R.J.M. Tausk, J. Karmiggelt, C. Oudshoorn and J. Th.G. Overbeek, *Biophys. Chem.* **1**, 175 (1974).
- 14) R.J.M. Tausk, J. Van Esch, J. Karmiggelt, G. Vordouw and J.Th.G. Overbeek, *Biophys.Chem.* **1**, 184 (1974).
- 15) R.J.M. Tausk, C. Oudshoorn and J.Th.G. Overbeek, *Biophys. Chem.* **2**, 53 (1974).
- 16) J.N. Israelachvili, “Intermolecular and Surface Forces, 2nd ed”, Academic Press (1991), Chap. 17.
- 17) D.M. Small, “Handbook of Lipid Research; Vol4 : The Physical Chemistry of Lipids”, Plenum (1986), Chap. 3.
- 18) 中原弘雄, “第4版 実験化学講座 13：表面・界面” 丸善 (1993), 第2章.
- 19) K. Fukada and N.L. Gershfeld, 未発表データ.
- 20) K. Tajima and N.L. Gershfeld, *Biophys. J.* **47**, 203 (1985).
- 21) N.L. Gershfeld, *Biophys. Biochem. Acta* **988**, 335 (1989).
- 22) N.L. Gershfeld and K. Tajima, *Nature* **279**, 708 (1979).
- 23) G. Cevc, W. Fenzl and L. Sigl, *Nature* **249**, 1161 (1990).
- 24) M. Kodama, H. Hashigami and S. Seki, *Biochim. Biophys. Acta* **814**, 300 (1985).
- 25) D.A. Wilkinson and J.F. Nagle, *Biochim. Biophys. Acta* **688**, 107 (1982).
- 26) A. Blume, *Biochmistry* **22**, 5436 (1983).
- 27) S. Imaizumi, K. Suzuki and I. Hatta, *Rev. Sci. Instrum.* **54**, 1180 (1983).
- 28) H. Yao, H. Nagano, Y. Kawase and K. Ema, *Biochim. Biophys. Acta* **1212**, 73 (1994).
- 29) H. Nagano, H. Yao and K. Ema, *Phys. Rev. E* **51**, 3363 (1995).
- 30) N.L. Gershfeld, K. Tajima, C.P. Mudd and R.L. Berger, *Biophys. J.* **65**, 1174 (1993).
- 31) C.P. Mudd, N.L. Gershfeld, R.L. Berger and K. Tajima, *J. Biochem. Biophys. Methods* **26**, 149 (1993).
- 32) K. Fukada, K. Tajima and N.L. Gershfeld, *Biophys. J., Part 2*, **66**, A289 (1994).
- 33) S. Kirchner and G. Cevc, *Europhys.Lett.* **23**, 229 (1993).
- 34) J.B. Leathes, *Lancet* **208** 853 (1925).
- 35) J.E. Zull, S. Greanoff and H.K. Adam, *Biochemistry* **1**, 4172 (1968).
- 36) H. Lacuyer and D.G. Dervichian, *J. Mol. Biol.* **45**, 39 (1969).
- 37) R. Freeman and J.B. Finean, *Chem. Phys. Lipids* **14**, 313 (1975).
- 38) C. Horowitz, L. Krut and L. Kaminsky, *Biochim. Biophys. Acta* **239**, 329 (1971).
- 39) B.D. Ladbrooke, R.M. Williams and D. Chapman, *Biochim. Biophys. Acta*, **50**, 333 (1968).
- 40) M.C. Phillips and E.G. Finer, *Biochim. Biophys. Ac-*

- ta* **356**, 199 (1974) .
- 41) H.J. Hinz and J.M. Sturtevant, *J. Biol. Chem.* **247**, 3697 (1972) .
- 42) D. Engleman and J. Rothman, *J. Biol. Chem.* **247**, 3694 (1972) .
- 43) E.J. Shimshick and H.M. McConnell, *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **53**, 446 (1973) ; J.E. Cronan, Jr. and E.P. Gelmann, *Bacteriol. Rev.* **39**, 232 (1975) .
- 44) N.L. Gershfeld, *Biophys. J.* **22**, 469 (1978) .
- 45) D. Chapman, *Chem. Rev.* **62** 433 (1962) .
- 46) E.S. Lutton, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **49**, 1 (1972) .
- 47) K. Tajima and N.L. Gershfeld, *Biophys. J.* **22**, 489 (1978) .
- 48) K. Tajima and N.L. Gershfeld, *Adv. Chem. Ser.* **144**, 165 (1975) .
- 49) D.A. Cadenhead, B.M.L. Kellner and M.C. Phillips, *J. Colloid Interface Sci.* **57**, 224 (1976) .
- 50) K. Tajima and N.L. Gershfeld, *J. Colloid Interface Sci.* **52**, 619 (1975) .
- 51) D.J. Crisp, "Surface Chemistry", 1949, London, Suppl. Res., p.23.
- 52) 田嶋和夫, 今井洋子, 越沼征勝, 中村昭雄, 日化第70春季年会講演要稿集 I, p.115 (1996) .



## 国際会議のお知らせ

### 52nd Annual Calorimetry Conference

Asilomar Conference Center  
Pacific Grove, California, U.S.A.

August 3-8, 1997

Chairperson-Elect :

Karen C.Thompson

Merck, Sharp and Dohme

Pharmaceutical Research and Development

West Point, PA 19486 U.S.A.

Local Arrangements Chairman :

Joseph A.Rard

Geosciences and Environmental Technologies

Environmental Programs Directorate

Lawrence Livermore National Laboratory

Livermore, CA 94550 U.S.A.

### The Symposia and Chairs :

#### 1) Biological Applications

K.Murphy and D.Remeta

#### 2) Nucleic Acids and Lipids

B.Chowdhry

#### 3) Thermodynamics of Fluid Mixtures : Electrolytes and Non-electrolytes

J.Oscarson and B.Ott

#### 4) Material Science

E.F.Westrum, Jr. and J.Sipowska

#### 5) Food Science

D.S.Reid

#### 6) Marketed Technology

B.Parrish

#### 7) Calorimetry of Energetic Materials

A.Cin

#### 8) Novel Application

A.Bakri

#### 9) Temperature Modulated Calorimetry

T.Atake

#### 10) General Session

K.C.Thompson