

Article

Dielectric Behavior of an Aqueous System of Multi-wall Vesicles Formed with 1,2 dioleoyl-*sn*-glycero-3[phospho-*L*-serine] sodium salt

Bruno DEMÉ* and Hiroshi WATANABE**

*Institute Laue-Langevin, B. P. 156, F-38042 Grenoble Cedex 9, France

**Institute for Chemical Research, Kyoto University, Uji, Kyoto 611-0011, Japan

Dielectric behavior was examined for an aqueous solution of a two-tail lipid, 1,2 dioleoyl-*sn*-glycero-3[phospho-*L*-serine] sodium salt (DOPS Na). At the concentration and temperatures examined (0.02 g cm⁻³ and 15-60 °C), the lipid molecules formed unilamellar and multilamellar vesicles having a large, correlated fluctuation in curvature. The system exhibited the dielectric dispersion attributable to the electrode polarization of the mobile ion, Na⁺. The observed dispersion frequency and intensity were higher and smaller, respectively, than those expected for the Na⁺ ions freely moving between the electrodes. This result suggested that the motion of Na⁺ in the DOPS-Na system was mostly confined between the vesicle walls. Furthermore, analysis of the dielectric behavior of the DOPS Na system at various *T* suggested that the spatial confinement for the Na⁺ motion loosens with increasing *T*.

Key Words: 1,2 dioleoyl-*sn*-glycero-3[phospho-*L*-serine] sodium salt / multi-wall vesicle / dielectric dispersion / electrode polarization

1,2 ジオレオイル-*sn*-グリセロ-3 [フォスフォ-*L*-セリン] ナトリウム塩の多重壁ベシクル水溶液系の誘電緩和挙動

デメ ブルーノ*, 渡辺 宏**

(原稿受理: 2007年3月27日)

1. 緒 言

親水性基と疎水性基を有する両親媒性分子は、水中において、球状ミセル、二分子膜、ベシクルなどの多種の高次構造を形成する。この構造と系の遅いダイナミクスの関連は多くの研究者の注目を集めている。¹⁻⁷⁾ 特に、多数の球殻状二分子膜が積み重なった形の多重壁ベシクルは、最も高度に組織化された構造の一つであり、興味深い研究対象である。²⁻⁶⁾

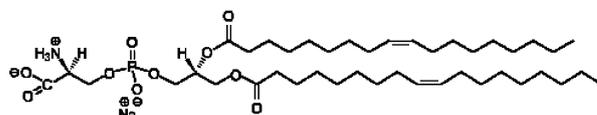
最近、Deméらは、中性子およびX-線散乱と電子顕微鏡観察を併用して、二分岐型脂質である1,2ジオレオイル-*sn*-グリセロ-3 [フォスフォ-*L*-セリン] ナトリウム塩(DOPS Na; Scheme 1)が水中で形成する多重壁ベシクルの構造を詳細に検討した。³⁾ その結果、DOPS Na分子は疎水性のジオレオイル基を内側にした二分子膜を形成し、この二分子膜が積み重なって多重壁ベシクルが形成されることが明らかになっている。さらに、この多重壁は褶曲したものであり、DOPS Na濃度の低下と共に褶曲の程度が大きくなっていることも明らかとなっている。この褶曲が系の性質に与える効果は興味深い研究対象である。

本研究で、我々は、DOPSの対イオンであるNa⁺の運動に着

目する。イオンが放電しない条件下では、イオンの運動は、電極分極に由来する誘電分散を低周波数域において誘起する。Macdonald理論⁸⁾が示すように、この分散の特性周波数と分散強度は、イオンの易動度、濃度のみならず、イオンの運動が許される空間スケールに強く依存する。従って、DOPS Na水溶液の誘電分散挙動を調べることによって、系中のNa⁺の運動に対する空間的拘束の程度を検討することができる。本論文では、この検討の結果を報告する。

2. 実 験

1,2ジオレオイル-*sn*-グリセロ-3 [フォスフォ-*L*-セリン] ナトリウム塩(DOPS Na)はAvanti Polar Lipids, Inc. (Alabaster, AL, USA)から購入し、そのまま使用した。測定に供した試料は、DOPS Naを細胞実験用高純度水(Cambrex Bio Science,



Scheme 1. Chemical Structure of DOPS Na.

* ラウエ-ランジュバン研究所, B. P. 156, F-38042 グルノーブル, フランス

** 京都大学化学研究所, 〒 611-0011 宇治市五ヶ庄

Walkersville, MD, USA)に濃度 $C = 0.02 \text{ g cm}^{-3}$ で溶解した水溶液である。 $C = 0.05\text{--}0.3 \text{ g cm}^{-3}$ の範囲で、溶液内に多重壁ベシクルが形成されることが、以前の研究で明らかになっている。³⁾ これよりやや低濃度である本研究の試料についても、小角中性子散乱測定から、単壁ベシクルと共存した多重壁ベシクルの存在が確認され、これらのベシクル内の壁（二分子膜）の表面間の平均距離が約44 nmと見積もられている。⁹⁾ また、後述の測定温度域（15–60 °C）では、この壁の中のオレオイル基は融解状態の L_a 相にある。³⁾

上記のDOPS Na水溶液 ($C = 0.02 \text{ g cm}^{-3}$) をガード電極付きの平行平板電極型誘電セルに装填し、インピーダンス・アナライザー (1260, Solartron) と誘電インターフェイス (1296, Solartron) を用いて、15 °C – 60 °C の温度域で誘電測定を行った。電極間距離は $L = 0.5 \text{ mm}$ であった。

3. 結果と考察

3.1 DOPS Na/ 水系の誘電分散の特徴

Fig. 1aは15 °CにおけるDOPS Na/水系の動的誘電率 ϵ' (○) と誘電損失 ϵ'' (●) の角周波数 (ω) 依存性を示す。 ω の低下と共に、 ϵ' は、媒体である水の静的誘電率 ($\epsilon_m = 78.3$)¹⁰⁾ よりはるかに大きな値 ($\cong 1 \times 10^4$) まで増加し、この値で飽和する傾向を示している。また、 ϵ'' は、高周波数域においては通常の直流的な電導挙動 ($\epsilon'' \propto \omega$) を示すが、低周波数域では明確な極大を持つ。これらの ϵ' 、 ϵ'' の特徴 (特に 1×10^4 に至る ϵ' 値) は、通常の電気双極子の回転運動に由来する誘電緩和現象では決して観察されないものであり、電極で放電しないイオンの電極分極^{8,11,12)} に特有のものである。(電極分極現象においては、低周波数域で、極板付近にイオンが偏在することで非常に大きな ϵ' 値が発現する。) 過塩素酸リチウムを含む極性高分子系¹¹⁾ や過塩素酸リチウム水溶液¹²⁾ について確認されているように、電極分極に由来する誘電分散は、Macdonald理論⁸⁾ でかなり良好に記述される。以下では、Fig. 1aの分散がこの理論で定量的に記述されるかどうかを検討する。

付録Aに示すように、1価の正負のイオンを含む系の電極分極に対して、Macdonald理論は、正負各イオンの数密度 n 、正イオンの易動度 μ_+ 、負イオンの易動度 μ_- 、および媒体誘電率 ϵ_m の関数として、系の ϵ' 、 ϵ'' を与える。DOPS Naは強塩基(NaOH)とリン酸の塩なので、水中では100%電離をすると考えてよい。従って、DOPS Naの質量濃度 $C = 0.02 \text{ g cm}^{-3}$ から、イオン数密度が

$$n = 1.53 \times 10^{25} \text{ m}^{-3} \quad (1)$$

と求められる。また (SeO_3^- を対アニオンとする) Na^+ イオンの無限希釈時の移動度の文献値は

$$\mu_+^0 = 4.12 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1} \quad (15^\circ \text{C}) \quad (2)$$

である。¹³⁾ さらに、DOPS⁻イオンは、 Na^+ に比べてはるかに巨大であり、二分子膜 (ベシクルの壁) に組み込まれているので、その移動度は無視してよいと考えられる ($\mu_+ \gg \mu_- \cong 0$)。これらの数値データと極板間距離 $L = 0.5 \text{ mm}$ を用いてMacdonald理論から計算した ϵ' 、 ϵ'' をFig. 1bに示す。

Macdonald理論が与える電極分極の特徴 (Fig. 1b) は、定性的にはDOPS Na系の特徴 (Fig. 1a) と一致するが、定量的には全く一致しない。すなわち、 ϵ'' の極大の高さに反映される緩和強度は実測の方が1/500倍程度小さく、また、 ϵ'' の極大周波数として見積もられる緩和周波数は実測の方が50倍程度高い。Macdonald理論は過塩素酸リチウムを含む極性高分子系¹¹⁾ や過塩素酸リチウム水溶液¹²⁾ の電極分極による誘電分散をかなり良好に記述するので、この不一致の主因は、計算に用いたパラメータが適切に選択されていなかったことにあると推察される。以下では、この不一致について考察を行う。

3.2 単純なMacdonald式とDOPS Na/水系の誘電分散の差

Fig. 1aのデータとFig. 1bの計算値の不一致の原因として、まず、無限希釈時の μ_+^0 値 (Eq. 2) を計算に用いた事が疑われる。拘束のない無限希釈状態に比べ、有限濃度でベシクルを形成しているDOPS Na系中の μ_+ が μ_+^0 より小さいことは十分に考えられる。しかし、 μ_+^0 より小さい μ_+ を使用してMacdonald理論から ϵ' 、 ϵ'' を計算すると、Fig. 1bの分散曲線は低周波数にシフ

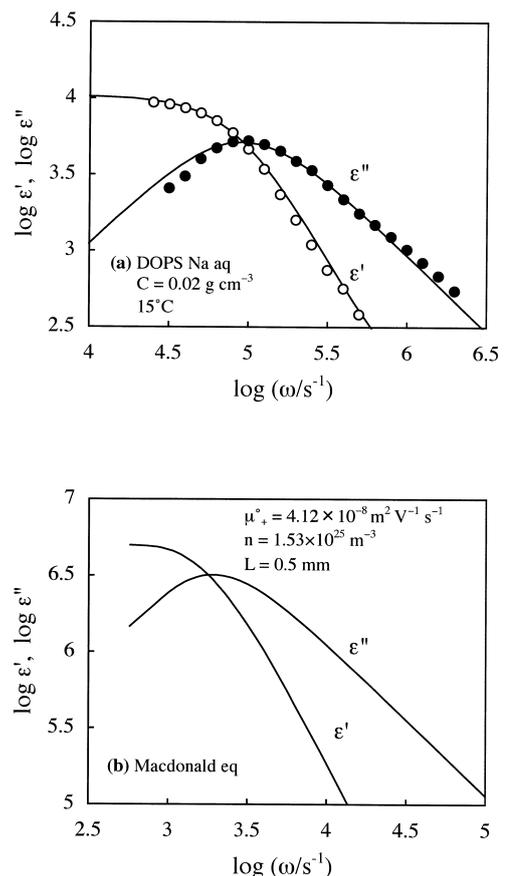


Fig. 1. Dielectric behavior of DOPS Na aqueous system with $C = 0.02 \text{ g cm}^{-3}$ at 15 °C (symbols in part (a)) and the dispersion curves calculated by utilizing the intrinsic mobility μ_+^0 of dilute Na^+ cation and macroscopic electrode gap L in the Macdonald theory (curves in part (b)). The curves in part (a) represent ϵ' and ϵ'' calculated from the Macdonald theory with adjusted parameters, effective mobility μ_+ of Na^+ cation interacting with vesicle walls and the effective moving stroke d of Na^+ cation. For further details, see text.

トするのみで、緩和強度に変化はない。¹⁴⁾したがって、 μ_+ 値を μ_+^0 より減少させるだけでは、計算値より高周波数側に観察される誘電分散 (Fig. 1a) を説明することはできない。

また、DOPS Naは100%電離しているが、大半のNa⁺はDOPS⁻の二分子膜からの静電引力を受け不動化し、可動のNa⁺の数密度 n が Eq. (1) の値より小さくなっていると考えることも不可能ではない。しかし、Macdonald理論から計算される電極分極は、イオンの数密度の減少とともに、緩和強度を低下させながら低周波数域へと移行するので、この考えでは Fig. 1a のデータを説明することはできない。

そこで、Fig. 1aのデータと Fig. 1bの計算値の不一致の原因は、 μ_+ 値に加えて、ベシクル構造そのものにあると考えられる。Macdonald理論においては、十分に低周波数域でのイオン濃度分布は極板間距離 L を半波長とする定在波を形成する。しかし、Fig. 2aに模式的に示すように、Na⁺の運動がベシクルの壁の間に拘束されていると考えれば、このような長い波長にわたる定在波は形成されず、緩和強度は低下する。粗く見ればベシクルは球状であるが、その壁がいたるところで電極と平行である訳ではなく、また、壁の褶曲のために壁間距離は系内で一定とはならない。Macdonald理論をこのような構造に拘束されたNa⁺の運動に拡張することは、そう単純ではない。しかし、ここでは、壁による拘束が Fig. 1aの実験結果をもたらす要因となりえるかどうかを検証するという意味において、理論の L をNa⁺のベシクル壁間の有効移動距離 (Na⁺に対する有効壁間距離) d と読み替え、 d と μ_+ をフィッティングパラメータとして、実験結果と理論の比較を行う。この読み替えは、系を Fig. 2bに示すような厚みのない隔壁で仕切られた積層系とみなすことに対応する。

Fig. 1aの実線は、以下の d 値、 μ_+ 値、および Eq. 1 の n 値に対して Macdonald理論から計算される ϵ' 、 ϵ'' を示す。

$$d = 750 \text{ nm}, \quad \mu_+ = 3.43 \times 10^9 \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1} \quad (3)$$

計算値はデータとかなり良い一致を示すことがわかる。この一致を与える d 値は、ベシクル内の壁の表面間の平均距離 ($\cong 44 \text{ nm}$) より1桁程度大きい。ベシクル壁が電極に垂直な部分ではNa⁺の移動距離が壁間平均距離よりはるかに長くなり、 ϵ' 、 ϵ'' への寄与が大きくなること、また、ベシクル壁が電極に平行な部分においても壁の褶曲によって壁間距離が平均距

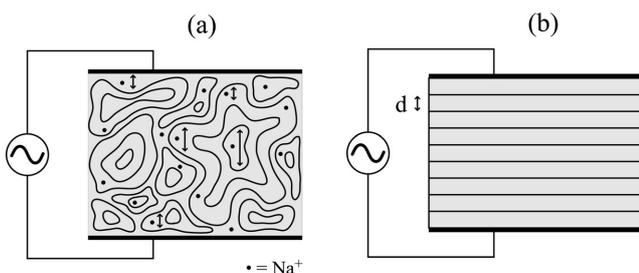


Fig. 2. Schematic illustration of the DOPS Na aqueous system containing vesicles (part (a)) and a layered structure mimicking the constraint for the Na⁺ motion due to the vesicle walls (part (b)).

離より大きくなっている部分も存在するであろうことを考えれば、Eq. 3の d 値は非現実的な値ではなく、Na⁺の有効移動距離の目安であると解釈できる。また、Eq. 3の μ_+ は無限希釈時の自由なNa⁺の μ_+^0 (Eq. 2) に比べて1桁程度小さいが、このように小さな μ_+ は、ほとんど運動性をもたず表面が一様に負に帯電した壁 (DOPS⁻ 二分子膜) とNa⁺の引力的相互作用を考えれば妥当のように思える。(実際、Eq. 2の μ_+^0 値と $d = 750 \text{ nm}$ に対して計算される誘電分散は、実測より1桁程度速いものとなる。)

以上の結果から、ベシクルのような層構造に拘束されたイオンの運動に由来する電極分極は、自由なイオンの電極分極に比べて、強度が小さい誘電緩和を与えることが定性的に結論される。また、この層構造がイオンと逆符号に荷電していれば、電極分極に由来する誘電分散は遅延されることも結論される。

これらの結論は、誘電緩和測定という手法がイオン性の膜構造の特性決定の上で有用であることを示唆する。以下では、この特性決定の試みとして、DOPS Na/水系の誘電分散の温度依存性を検討する。

3.3 DOPS Na/水系の誘電分散の温度依存性

Fig. 3のプロットは、15–60 °Cの範囲の代表的温度におけるDOPS Na/水系の ϵ' 、 ϵ'' データを示す。全温度において、Na⁺の電極分極に帰因される顕著な誘電分散が観察される。昇温とともに、 ϵ'' の極大の高さに反映される緩和強度はゆるやかに増加し、 ϵ'' の極大周波数 (緩和周波数) もわずかではあるが増加している。これらの変化は、壁間距離などのベシクル構造とNa⁺の運動性が温度とともに変化したことを示唆する。そこで、前節と同様に、 ϵ' 、 ϵ'' データを積層系に対するMacdonald理論でフィットすることによって、Na⁺の易動度 μ_+ と有効移動距離の目安 d を求めた。これらの量の温度依存性を Fig. 4に示す。

Fig. 4aに示すように、 μ_+ (○)は昇温によって増加するが、この増加は無限希釈時の自由なNa⁺の μ_+^0 (●; 文献値¹³⁾) に比べてはるかにゆるやかである。 μ_+^0 の温度依存性は昇温によるNa⁺の水和状態の変化を主に反映すること¹³⁾を考えれば、DOPS Na/水系の μ_+ を支配する構造は、水和層ではなく、表面が一様に負に帯電した壁 (DOPS⁻ 二分子膜) であることが推察される。この壁の荷電がNa⁺に与える引力的相互作用は、測定域内では温度に依存しないと考えてよい。この場合、水和状態の変化は、DOPS Na/水系のNa⁺にとっては副次的因子となり、 μ_+ にゆるやかな増加を与えるに留まることが容易に想像される。この考察は、 μ_+ が μ_+^0 よりかなり小さいという結果を帯電壁との相互作用に帰因した前記の考察と良く対応する。

Fig. 4bが示すように、ベシクルの有効壁間距離の目安 d は、昇温とともにかなりの増加する。(15 °Cから60 °Cまでの昇温で d は30%程度増加する。) この結果は、ベシクルの壁の褶曲が高温ほど著しくなることを示唆する。また、褶曲の増加と対応して、多重壁ベシクルから単壁ベシクルへの変化も顕在化しているのかもしれない。この点は、今後の研究課題である。

最後に、本研究で行ったMacdonald理論によるフィットは、系を Fig. 2bに示すような積層系とみなすことに対応し、あくまで近似であることを再度強調しておきたい。この近似は半定量的な議論には有効であるが、より精密な議論のためには、有限の厚みを持ち褶曲した壁よりなるベシクル構造に対

してMacdonald理論を拡張する必要がある。この拡張は今後の課題である。

4. 結 論

濃度 $C = 0.02 \text{ g cm}^{-3}$ のDOPS Na/水系は、低周波数域において、 Na^+ イオンの電極分極に由来する誘電分散を示した。電極間を自由に運動している Na^+ イオンが示す分散の緩和強度と緩和周波数に比べて、DOPS Na/水系中の Na^+ の緩和強度はかなり小さく、緩和周波数はかなり高いことが見いだされた。この結果は、DOPS Na/水系の Na^+ イオンの運動がベシクルの壁の間に拘束されていることを示唆する。また、種々の温度におけるDOPS Na/水系の誘電データの解析から、系中の Na^+ イオンの運動に対する空間的拘束は高温ほど緩むことが示唆された。ただし、これらの結果は、ベシクル系を厚みのない隔壁で仕切られた積層系とみなしてMacdonald理論を適用して得られたものであり、あくまで半定量的なものである。より定量的な議論は今後の課題である。

付録 A 電極分極に対する Macdonald 理論

正負のイオンを含む系に正弦的電場を印加すると、イオンの濃度分布関数は電場と同一周波数で振動する定在波を形成する。この定在波の振幅と位相は、イオンの易動度などの物質のみならず、電極間距離にも依存する。

Macdonald理論⁸⁾は、このような状況におけるイオンの濃度分布を、イオン間の相互作用とイオンの熱拡散の効果まで考慮して計算する。誘電分散を示さない媒体中に1価の正負の

イオンを含む系において、これらのイオンが電極で放电せず、また、イオンの全濃度が電場によって影響されない場合、理論が予言する系の複素アドミッタンスは

$$y(\omega) = \frac{en}{L} \left\{ \mu_+ + \mu_- + \frac{W_3}{W_1 - W_2} \right\} \quad (\text{A1})$$

と表される。^{8,11)}ここで、 e は電気素量($= 1.602 \times 10^{-19} \text{ C}$)、 n は各イオンの数密度、 L は電極間距離、 μ_+ および μ_- は正負の各イオンの易動度である。Eq. A1に含まれる関数 W_1 、 W_2 、 W_3 は、パラメタ ξ_+ 、 γ_+ 、 θ_+ を用いて以下のように表される。

$$W_1 = \frac{(\gamma_+ - 1)(\gamma_- + 1)\theta_+(\theta_+ - \tanh\theta_+)}{\xi_+} - \gamma_+(\gamma_- + 1)\theta_+\theta_- \quad (\text{A2})$$

$$W_2 = \frac{(\gamma_+ + 1)(\gamma_- - 1)\theta_+(\theta_- - \tanh\theta_-)}{\xi_-} - (\gamma_+ + 1)\gamma_-\theta_+\theta_- \quad (\text{A3})$$

$$W_3 = (\gamma_- + 1)(\gamma_+\mu_- - \mu_+)\theta_+\tanh\theta_+ - (\gamma_+ + 1)(\gamma_-\mu_- - \mu_-)\theta_+\tanh\theta_- \quad (\text{A4})$$

さらに、これらのパラメタは、真空の絶対誘電率 $\epsilon_{\text{vac}} (= 8.854 \times 10^{-12} \text{ F m}^{-1})$ 、媒体の誘電率 ϵ_m (より正確には真空に対する比誘電率)、ボルツマン定数 $k_B (= 1.381 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1})$ 、イオンの数

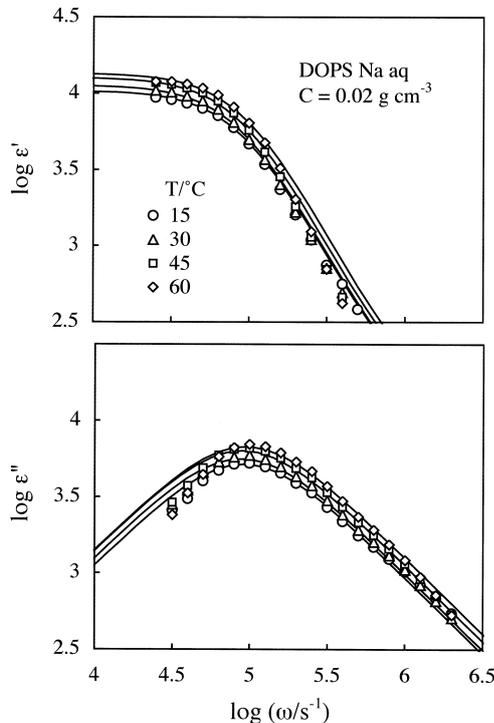


Fig. 3. Dielectric behavior of DOPS Na aqueous system with $C = 0.02 \text{ g cm}^{-3}$ at various temperatures as indicated (symbols). The curves indicate results of fitting with the Macdonald theory.

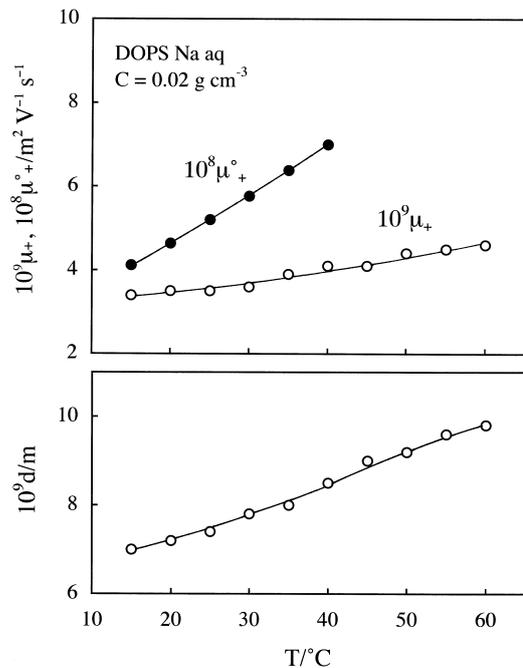


Fig. 4. Temperature dependencies of effective mobility μ_e of Na^+ (unfilled circles part (a)) and effective moving stroke d of Na^+ (part (b)). The filled circles in part (a) indicate the intrinsic mobility μ_e^0 of dilute Na^+ reported in literature.¹³⁾

密度 n と易動度 μ_+ および μ_- 、電場の角振動数 ω 、および、電極板間距離 L を用いて以下のように表される。¹¹⁾

$$\xi_{\pm} = 1 + i \frac{(\mu_+ + \mu_-) \varepsilon_{\text{vac}} \varepsilon_m \omega}{2\mu_+ \mu_- en} \pm \left\{ 1 - \frac{(\mu_+ + \mu_-)^2 \varepsilon_{\text{vac}}^2 \varepsilon_m^2 \omega^2}{4\mu_+^2 \mu_-^2 e^2 n^2} \right\}^{1/2} \quad (i = \sqrt{-1}) \quad (\text{A5})$$

$$\gamma_{\pm} = 1 + i \frac{\varepsilon_{\text{vac}} \varepsilon_m \omega}{\mu_+ en} - \xi_{\pm} \quad (\text{A6})$$

$$\theta_{\pm} = \left(\frac{n \xi_{\pm}}{\varepsilon_{\text{vac}} \varepsilon_m k_B T} \right)^{1/2} \frac{eL}{2} \quad (\text{A7})$$

本研究に用いた DOPS Na のような強塩基に対する塩は水中では 100% 電離をするので、 n は塩の体積数密度に等しいと考えてよい。従って、正負のイオンの易動度 μ_+ および μ_- と電極板間距離 L が既知であれば、 W_1 、 W_2 、 W_3 および複素アドミッタンス $y(\omega)$ が Eq. A1–A7 によって計算される。系の動的誘電率 ε' と誘電損失 ε'' は、 $y(\omega)$ の実部 $\text{Re}\{y(\omega)\}$ と虚部 $\text{Im}\{y(\omega)\}$ を用いて、下式のように求められる。

$$\varepsilon'(\omega) = \varepsilon_m + \frac{L}{\omega \varepsilon_{\text{vac}}} \text{Im}\{y(\omega)\},$$

$$\varepsilon''(\omega) = \varepsilon_m + \frac{L}{\omega \varepsilon_{\text{vac}}} \text{Re}\{y(\omega)\} \quad (\text{A8})$$

REFERENCES

- 1) Israelachvili JN, *Intermolecular and surface forces: with applications to colloidal and biological systems*, Academic Press, London, 1985.
- 2) Yamagata Y, Senna M, *Nihon Reoroji Gakkaishi*, **28**, 73 (2000).
- 3) Demé B, Dubois M, Gulik-Krzywicki T, Zemb T, *Langmuir*, **18**, 997 (2002).
- 4) Kato T, Miyazaki K, Kawabata Y, Komura S, Fujii M, Imai M, *J Phys-Condensed Matter*, **17**, S2923 (2005).
- 5) Hirai M, Hirai H, Koizumi M, Kasahara K, Yuyama K, Suzuki N, *Physica B- Condensed Matter*, **385-386**, 868 (2006).
- 6) Komura S, Shimokawa N, Andelman D, *Langmuir*, **22**, 6771 (2006).
- 7) Imai M, Suganuma Y, Nakaya K, Komura S, *J Phys-Condensed Matter*, **17**, S2929 (2005).
- 8) Macdonald JR, *Phys Rev*, **92**, 4 (1953).
- 9) Deme B, Kanaya T, to be published.
- 10) Chem Soc Japan ed, *Kagaku Binran II*, Maruzen (in Japanese), Tokyo, 1984.
- 11) Matsumiya Y, Balsara NP, Kerr JB, Inoue T, Watanabe H, *Macromolecules*, **37**, 544 (2004).
- 12) Sakurai T, *Electrode Polarization in Ionic Conductive Polymers*, MS Dissertation (in Japanese), School of Science Osaka University, 1995.
- 13) Vlaev LT, Genieva SD, *J Structural Chem*, **45**, 825 (2004).