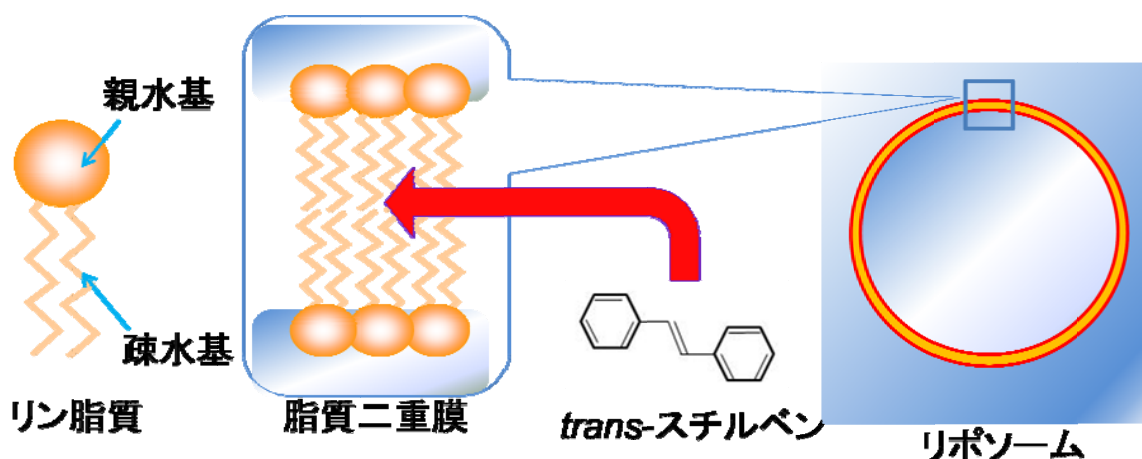


1P032

化学反応場としてのリポソーム膜：トランススチルベンの
光異性化反応速度および回転緩和速度からの描像
(学習院大理) ○野嶋優妃, 岩田耕一

【序】電子伝達や物質輸送など細胞膜中で進行する生化学反応は多数ある。化学反応の速度は周りの環境に左右されるため、生化学反応をより深く理解するには脂質二重膜中の環境を知ることが重要である。一分子中に親水部と疎水部を持つリン脂質の小胞であるリポソームは生体膜のモデルとして広く用いられている。本研究ではピコ秒時間分解けい光分光法を用いてリポソーム脂質二重膜中の環境について調べた。リポソーム脂質膜中に *trans*-スチルベンを封入し、そのけい光寿命とけい光異方性の減衰速度から膜中の粘度を見積もった。



【実験】卵黄由来ホスファチジルコリンと *trans*-スチルベンをクロロホルム・メタノール混合液中に溶解した。溶媒を減圧除去し薄膜を形成した。薄膜に蒸留水を加え振とうして *trans*-スチルベン内封リポソーム水溶液を得た。得られたリポソームの径をエクストルーダーにより 100 nm に調整した。リポソーム中の *trans*-スチルベンのけい光スペクトルの時間変化をピコ秒時間分解けい光分光計を用いて測定した。ピコ秒時間分解けい光分光計は、モード同期チタンサファイアレーザー、再生増幅器、光パラメトリック増幅器、分光器、ストリークカメラからなる。光パラメトリック増幅器の出力を和周波発生、第二高調波発生により 300 nm に変換し、励起光として用いた。再生増幅器の出力 800 nm の一部をストリークカメラのトリガー光として用いた。試料はマイクロポンプにより循環させ、光励起による劣化を防いだ。試料から生じたけい光を偏光子、偏光解消板、励起光除去用のフィルタを経て分光器に導入し、ストリークカメラで検出した。

【結果と考察】リポソーム脂質膜中の *trans*-スチルベンのけい光減衰曲線をマジックアングルで測定した。その結果を図 1 に示す。けい光減衰曲線は単一指数関数では再現できず、二重指数関数でよく近似できた。これはリポソーム脂質膜中に複数の環境が存在していることを示している。二重指数関数をモデル関数とした最小二乗解析によって得られたけい光寿命は $\tau_1 = 130 \text{ ps}$ と $\tau_2 = 480 \text{ ps}$ であった。求めたけい光寿命と既知の *trans*-スチルベンの放射減衰速度 ($k_r = 6.0 \times 10^8$

s⁻¹)とから *trans*-スチルベンの異性化反応速度定数 k_{iso} を算出した。アルカン中での *trans*-スチルベンの k_{iso} と粘度の関係(既知)から脂質膜中の *trans*-スチルベン近傍の粘度を見積もった(図2)。見積もられた粘度はそれぞれ、 τ_1 について 2.0 mPa s、 τ_2 について 320 mPa s となり、リポソーム脂質膜中にはアルカンに近い粘度をもつ環境と、それと比べずっと粘稠な環境が共存していることが示唆される。

直線偏光した励起光によって誘起されるけい光異方性 r

$$r = \frac{I_{//} - I_{\perp}}{I_{//} + 2I_{\perp}}$$

の減衰速度は、溶媒の粘度に依存する。ただし $I_{//}$ と I_{\perp} はそれぞれ励起光の偏光方向と平行および垂直方向に偏光したけい光の強度である。脂質膜中の *trans*-スチルベンのけい光異方性の減衰曲線を測定した結果、けい光異方性の減衰曲線も二重指数関数でよく近似できた(図3)。得られたけい光異方性の減衰速度は、アルカン中の *trans*-スチルベンのものと同程度の成分(20 ps)と、その約20倍遅い成分(430 ps)の二成分であった。この結果からもリポソーム脂質膜中にはすくなくとも二種類の環境があると推測できる。

今回の二種類の実験結果は、いずれも脂質二重膜中にはアルカンと同程度の粘度を持つ環境と、その百倍以上の粘度を持つ環境の二種類が存在すると仮定するとよく説明される。*trans*-スチルベン近辺のリポソーム脂質膜は二種類かそれ以上の環境から成る、不均一な化学反応場であることがわかった。

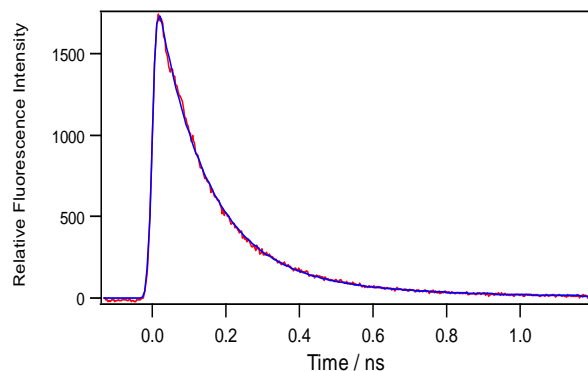


図1: リポソーム脂質膜中の *trans*-スチルベンのけい光減衰曲線。赤線が測定値、青線が二重指数関数による近似曲線を示す。マジックアングルでの測定。

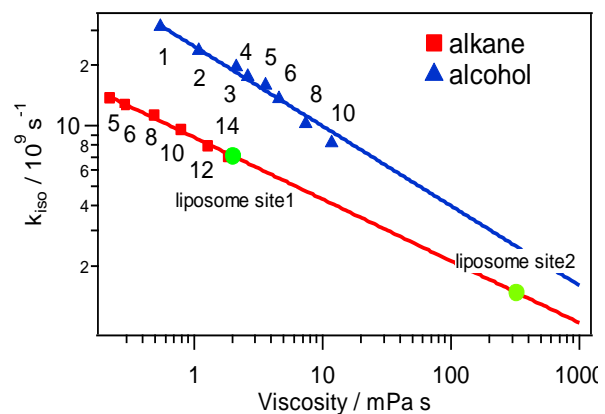


図2: *trans*-スチルベンの異性化反応速度定数と粘度の関係。図中の数字は炭素数を示す。

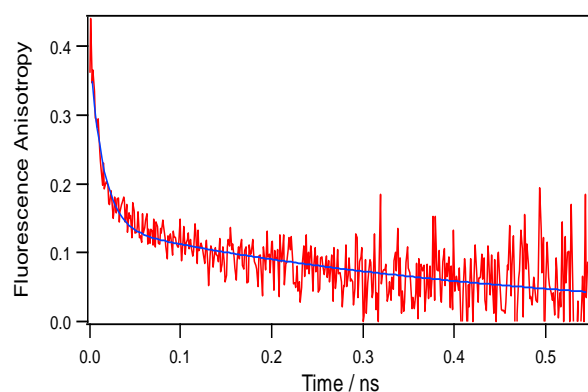


図3: リポソーム脂質膜中の *trans*-スチルベンのけい光異方性の減衰曲線。赤線が測定値、青線が二重指数関数による近似曲線を示す。