

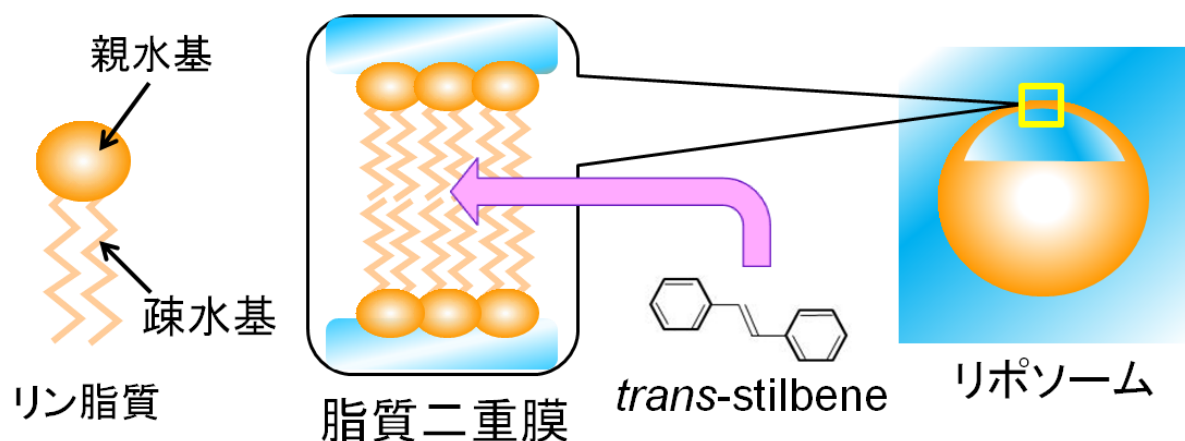
## 2B06

### ピコ秒時間分解けい光分光法によるリポソーム脂質二重膜の粘度の評価

：温度およびリン脂質の種類に依存した膜内環境の変化

(学習院大理)○野嶋優妃, 岩田耕一

【序】 光合成における電子伝達など生体膜内で進行する生化学反応は多数ある。これらの化学反応の速度および機構は化学反応場の環境に左右される。そのため生化学反応を理解するためには、化学反応場としての生体膜の環境を知る必要がある。本研究では生体膜のモデルであるリポソームの脂質二重膜中の局所的環境をピコ秒時間分解けい光分光法を用いて調べた。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。脂質の種類や温度に対する膜中の粘度の依存性を比較し、化学反応場としての脂質二重膜の特性について考察した。



【実験】 薄膜法を用いて、リン脂質より *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。リン脂質として、炭化水素鎖の炭素数が異なる以下の六種類の脂質を用いた; Egg-PC, DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC. 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第四高調波発生により 300 nm に変換し、励起光として用いた。試料はギアポンプにより循環させ、光励起による劣化を防いだ。異なる温度におけるリポソーム試料のけい光寿命の測定には、温度可変セルホルダーを用いた。試料から生じたけい光を偏光子、偏光消光板、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】

①膜中の粘度の炭化水素鎖長に対する依存性: リポソーム脂質二重膜中のスチルベンのけい光寿命をマジックアングルで測定した。Egg-PCリポソーム膜中でのけい光減衰曲線<sup>1)</sup>を図1に示す。スチルベンのけい光減衰曲線は、通常の有機溶媒中においては単一指数関数でよく近似されるが、リポソーム膜中では二重指数関数でよく近似された。これは脂質二重膜中に二種類の異なる環境が存在することを示唆する。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定数 ( $k_f = 6.0 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) 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)。測定の結果から、リポソーム脂質

二重膜中にはアルカン程度の粘度をもつ環境と、その百倍程度の大きさの粘度をもつ環境の二種類が存在すると推測した。どちらの環境でも、脂質の炭化水素鎖の炭素数が多くなるにつれて、粘度が大きくなった。

けい光異方性減衰曲線の測定より得られた回転緩和時間からも脂質二重膜中の粘度を見積もった。<sup>1)</sup> その結果、脂質二重膜中に粘度が 50 倍程度異なる二種類の環境が観測された。回転緩和時間から見積もられた粘度も、脂質の炭化水素鎖の炭素数が多くなるにつれ、大きくなった。

## ②DMPC リポソーム脂質二重膜における膜中の粘度

**温度依存性:** 脂質二重膜は周囲の温度によって主にゲル相と液晶相の二種類の状態をとる。液晶相と比べ、ゲル相の脂質二重膜では炭化水素鎖のパッキングが良いため膜の流動性が小さい。炭化水素鎖の炭素数が 14 の DMPC から成る脂質二重膜のゲル相から液晶相への相転移温度は 23.9 °C と報告されている。DMPC から調整した *trans*-スチルベン内封リポソーム水溶液の温度を 50 °C から 7 °C まで変化させて、けい光寿命を測定し、その値から膜中の粘度を見積もった。DMPC リポソーム膜中でのスチルベンの各温度でのけい光減衰曲線は、二重指数関数でよく近似された。近似より得られた二種類のけい光減衰成分( $\tau_1$ ,  $\tau_2$ )の強度比( $I_1/I_2$ )の温度変化を求めた結果、相転移温度の前後で膜の温度が低くなるにつれて強度比が小さくなる傾向が観測された。けい光寿命の強度比を、膜内の粘度が異なる二種類の環境の存在比だと仮定すると、脂質二重膜の温度が低くなるにつれて、膜内の環境がより不均一になっていくと考えることができる。

①と②から、リポソーム脂質二重膜中は粘度が異なる二種類の環境が存在する不均一な反応場であることがわかった。また、脂質二重膜中の環境は低温になるにつれてさらに不均一になることが示唆された。

【参考文献】1. Y. Nojima and K. Iwata, *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 1817 – 1824.

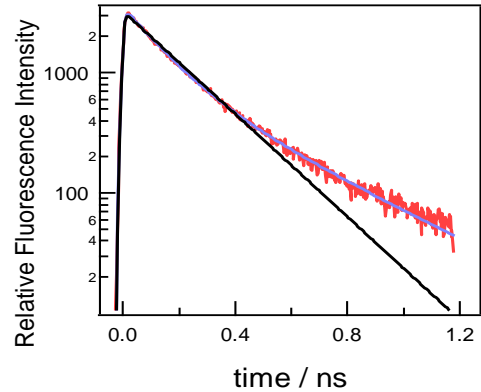


図 1: Egg-PC リポソーム膜中におけるけい光減衰曲線. 赤線が実測値, 青線が二重指数関数による近似曲線, 黒線が単一指数関数による近似曲線を表す。

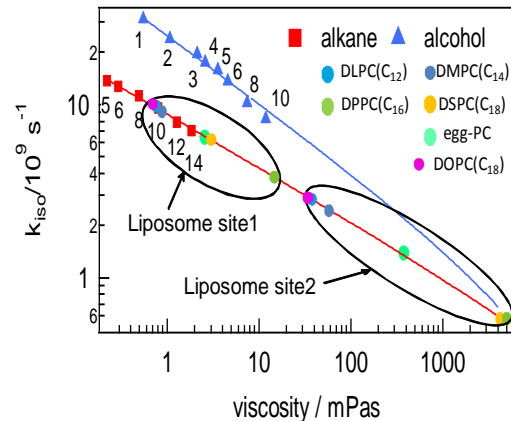


図 2: スチルベンの光異性化反応速度定数  $k_{iso}$  と溶媒の粘度の相関. 図中の数字は溶媒分子の炭素数を示す.  $k_{iso}$  の値から見積もられた膜中の粘度が丸で表されている。

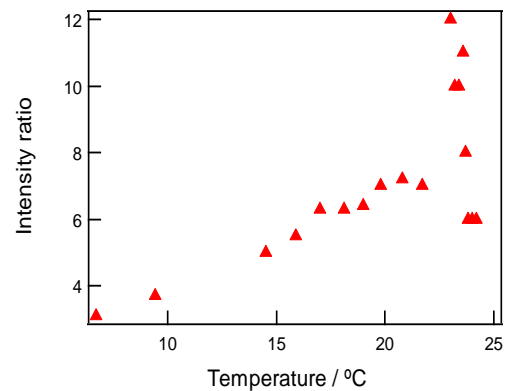


図 3: スチルベンの二種類のけい光減衰成分 ( $\tau_1$ ,  $\tau_2$ )の強度比( $I_1/I_2$ )の温度変化。