

ヘテロダイン検出振動和周波発生分光法による

モデル生体膜界面における水の構造

(理研・田原分子分光) Mondal, A. Jahur, 二本柳聡史、山口祥一、○田原太平

【序】脂質やたんぱく質等の生体分子と水の相互作用を理解することは種々の生物化学過程を理解する上で決定的に重要である。殊に、双イオン性リン脂質膜は生体膜の重要構成物質であり、その膜界面における水和構造は興味深い。これまでに界面水の分子情報を得るためには、界面選択的な振動分光法である赤外可視振動和周波発生(VSFG)分光法が用いられてきた。しかしながら、従来の VSFG 分光法では 2 次の非線形感受率の二乗($|\chi^{(2)}|^2$)を計測するため、 $\chi^{(2)}$ が本来持っている符号の情報を得ることはできない。また、水の OH 伸縮領域のように、 $|\chi^{(2)}|^2$ が重なり合う複数の共鳴項および非共鳴項をふくむ場合は正確なピーク分離が困難であり、 $|\chi^{(2)}|^2$ とバルクの吸収スペクトル($\chi^{(1)}$ の虚部)を直接比較することが難しくなる。我々が開発したマルチプレックス方式のヘテロダイン検出 VSFG(HD-VSFG)分光法を用いると比較的に複素 $\chi^{(2)}$ スペクトルを測定することが可能である^{1,2}。 $\chi^{(2)}$ の虚部($\text{Im}\chi^{(2)}$)から界面分子の振動情報が直接得られる。

我々はヘテロダイン検出の VSFG 分光法を用いて生体膜のモデルである空気/脂質単分子膜/水界面の研究を行ってきた。昨年の討論会において、正あるいは負のイオン性脂質/水界面と、正と負の両方の電荷をもつ中性な双イオン性脂質分子/水界面とで OH 伸縮振動領域のスペクトルが顕著に異なることを報告している³。本研究では、双イオン性脂質分子と類似する中性な双イオン性界面活性剤分子の単分子膜/水界面に対する測定を行い、この界面における水の配向と水素結合構造を直接決定した。

【実験】HD-VSFG 分光法の詳細は既報の通りである²。SF, ω_1 , ω_2 光はそれぞれ、s-, s-, p-偏光である。実験は分子内カップリングの効果を除去するために同位体希釈した水($\text{H}_2\text{O}/\text{HOD}/\text{D}_2\text{O} = 1/8/16$)を使用した⁴。ここに示す試料の $\chi^{(2)}$ は全て水晶の $\chi^{(2)}$ で規格化してある。図 1 に示す種々の脂質分子のクロロフォルム溶液を水面に展開し、試料とした。単分子膜の表面圧はおよそ 25 mN/m である。水に可溶性双イオン性界面活性剤分子 DDAO については 0.1 mM 同位体希釈

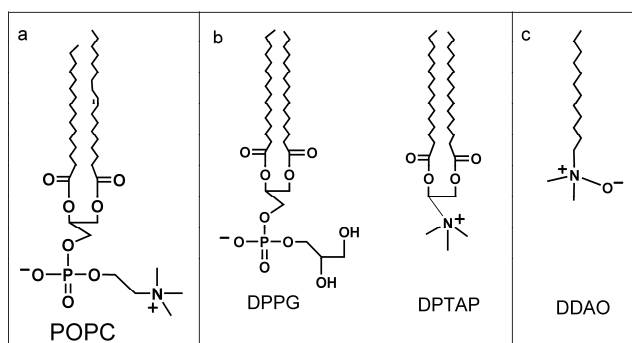


図 1. 本研究で用いた脂質分子の化学構造 (a) 双イオン性脂質 POPC (b) 負イオン性脂質 DPPG および正イオン性脂質 DPTAP (c) 双イオン性界面活性剤, DDAO。(対イオンは簡単のため省略)

水溶液を用いた。

【結果と考察】

図 2 に示すように DDAO 溶液/空気界面の $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトルは 3000 cm^{-1} 以下の領域に負の CH 伸縮振動バンド、 3000 cm^{-1} 以上の領域にブロードな OH 伸縮振動バンドを示す。CH バンドの符号が負であることは末端メチル基が空気側を向いて配向していることを意味する。一方、OH 伸縮領域のスペクトルは正と負の符号を持つバンドを持つ複雑な形状をしている。 3200 cm^{-1} 付近の正の OH バンドは水素上向きに配向した水、 3450 cm^{-1} 付近の負の OH バンドは水素下向き配向の水に対応する。これらの上向き、下向きの水は DDAO の O⁻ 近傍の水と N⁺ 近傍の水に帰属できる。つまり、測定された $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトルは双イオン性界面活性剤の界面には、二つの異なる水和構造が共存することを明確に示している。この結果は図 3 に示す POPC 単分子膜/水界面における $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトルに見えるディップ($\sim 3500\text{ cm}^{-1}$)が正に帯電したコリン基に水和した水に由来するという解釈を支持するものである。また、 3650 cm^{-1} 付近の正のバンドは界面活性剤単分子膜中に存在する炭化水素部分と弱く相互作用している水の OH に帰属される。

これら双イオン性界面活性剤に関する新しい実験結果を加え、脂質単分子膜/水界面におけるわれわれの研究を総括する。

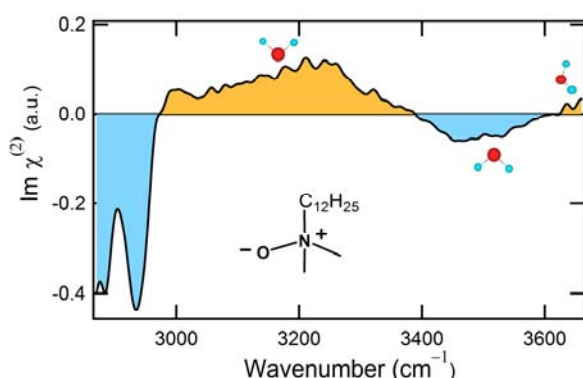


図 2. 双イオン性界面活性剤 DDAO 溶液(HOD) と空気の界面の $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトル。正の信号をオレンジ、負の信号を青で示す。

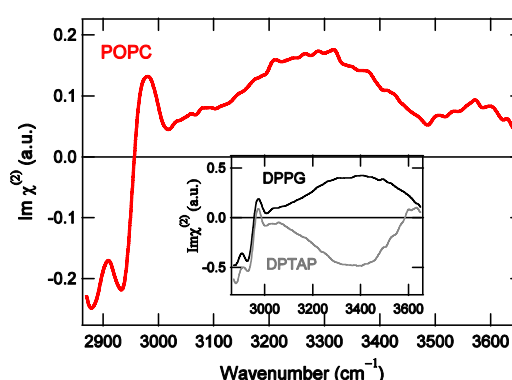


図 3. 双イオン性リン脂質 POPC と水(HOD) の界面の $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトル。インセットに DPPG と DPTAP と水の界面の $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトルを示す。

References ;

- (1) Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2008**, *129*, 101102.
- (2) Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2009**, *130*, 204704.
- (3) Mondal, J. A.; Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10656-10657.
- (4) Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6867-6869.