

2B06

高速時間分解分光法を用いた生化学反応の場としての生体膜の評価：

リポソーム脂質二重膜中のエネルギー移動特性

(学習院大・理) ○野嶋優妃, 高屋智久, 岩田耕一

Biomembrane examined as chemical reaction field with picosecond time-resolved spectroscopies: Energy transfer characteristics

(Gakushuin University) ○Yuki Nojima, Tomohisa Takaya, Koichi Iwata

【序】生体膜中では光合成などの数多くの生化学反応が進行する。化学反応の速度は周囲の化学的性質の影響を受ける。したがって生体膜中で進行する生化学反応をよりよく理解するには、たとえば生体膜の主構成要素である脂質二重膜内部の微視的な粘度^{1,2)}を調べるのが重要である。反応場のエネルギー移動特性も化学反応の速度に大きな影響を与える。化学反応が進行するためには、反応物は周囲の溶媒分子からエネルギーを受け取ってエネルギー障壁を乗り越えなければならない。そして余剰エネルギーを周囲に放出することで安定な生成物へと変化する。本研究ではピコ秒時間分解ラマン分光法を用いて、生体膜のモデルであるリポソーム脂質二重膜のエネルギー移動特性を評価した。

【実験】リン脂質(ホスファチジルコリン)から、薄膜法を用いて直径 100 nm の *trans*-スチルベン内封リポソーム水溶液を作製した。リポソーム脂質二重膜中の最低励起一重項(S_1)状態の *trans*-スチルベン(S_1 -tSB)のラマンスペクトルの時間変化を、ピコ秒時間分解ラマン分光計³⁾を用いて測定した。試料をギアポンプにより循環させて試料の光励起による劣化を防いだ。 S_1 -tSB の冷却速度定数の温度依存性を調べる測定では、リポソーム水溶液が入った容器を恒温水槽に入れて試料の温度を変化させた。

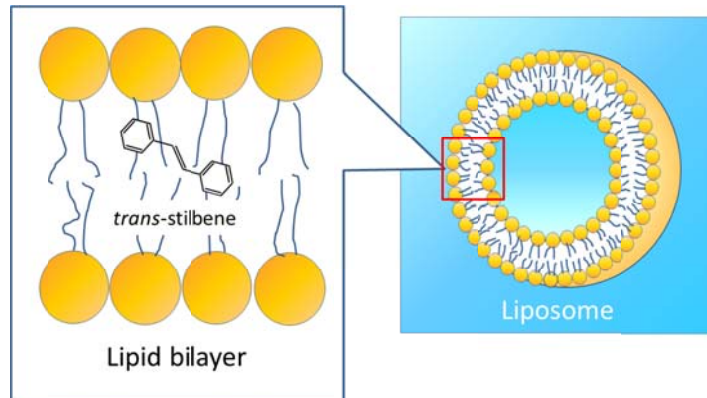


図 1: *trans*-スチルベン内封リポソーム水溶液

【結果と考察】 S_1 -tSB のラマンスペクトルでは、分子中央の C=C 二重結合伸縮振動に由来するラマンバンドが 1570 cm^{-1} に観測される。*trans*-スチルベンを振動余剰エネルギーとともに光励起すると、このラマンバンドの位置は時間とともに高波数側にシフトする⁴⁾。 1570 cm^{-1} のラマンバンドの位置は S_1 -tSB の温度に対応しているため、ピーク位置の時間変化から S_1 -tSB の冷却過程を観測できる。バンド位置の時間変化を単一指関関数で近似することで、 S_1 -tSB の冷却速度定数を

得ることができる。

DMPC(dimyristoyl-phosphatidylcholine) 脂質二重膜中における S_1 -tSB の冷却曲線の温度依存性を図 2 に示す。DMPC 脂質二重膜中における S_1 -tSB の冷却速度定数はそれぞれ 18 °C で 0.10 ps^{-1} , 26 °C で 0.12 ps^{-1} , 31 °C で 0.13 ps^{-1} であり、膜の温度が高くなるにつれて冷却速度定数は大きくなった。

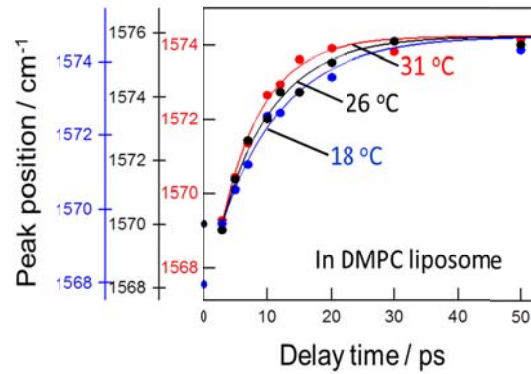


図 2: DMPC 脂質二重膜中における S_1 -tSB の冷却曲線の温度依存性。

アルカンやアルコールなどの有機溶媒中では、 S_1 -tSB の冷却速度定数と溶媒の熱拡散定数の間に相関がある⁴⁾。熱拡散定数 κ は $\kappa = \lambda / c\rho$ (λ : 熱伝導率, c : 比熱, ρ : 密度) で表現される量である。図 3 に S_1 -tSB の冷却速度定数と熱拡散定数の相関を示す。この既知の相関と、得られた脂質二重膜中における S_1 -tSB の冷却速度定数から、脂質二重膜の熱拡散定数を見積もることができる。見積もられた DMPC 脂質二重膜の熱拡散定数の値を図 3 に示す。見積もられた熱拡散定数の値は、脂質二重膜の温度が高くなると大きくなった。

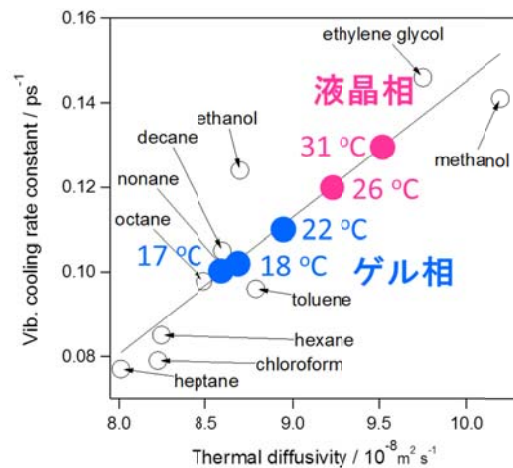


図 3: S_1 -tSB の冷却速度定数と溶媒の熱拡散定数の相関。各温度において見積もられた熱拡散定数の値を図中に丸で示した。

脂質二重膜は温度によってゲル相と液晶相の 2 つの相を示す。この 2 つの相では脂質の炭化水素鎖の立体配座が異なる。ゲル相の脂質二重膜では脂質の炭化水素鎖は all-trans 型の立体配座をとり、液晶相の膜では炭化水素鎖は trans 型、gauche 型両方の立体配座をとる。ゲル相の脂質二重膜を構成する脂質の炭化水素鎖は、液晶相の膜と比べてより密に充填されている。DMPC 脂質二重膜のゲル相と液晶相の相転移温度は 23.6 °C である。DMPC 脂質二重膜は 17, 18, 22 °C ではゲル相、26 °C と 31 °C では液晶相を示す。液晶相の脂質二重膜の熱拡散定数の値はゲル相の膜の値よりも大きいことになる。この結果はリン脂質の炭化水素鎖に含まれる炭素原子数と C=C 二重結合の数が異なる 6 種類の脂質二重膜の測定により得られた結果と一致している。講演ではリポソーム脂質二重膜の熱拡散定数の見積もりによって得られた知見をもとに、生体膜のエネルギー移動特性についても議論する。

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

2. Y. Nojima and K. Iwata, *J. Phys. Chem. B*, **2014**, 118, 8631.

3. K. Yoshida, K. Iwata, Y. Nishiyama, Y. Kimura, and H. Hamaguchi, *J. Chem. Phys.*, **2012**, 136, 104504.

4. K. Iwata and H. Hamaguchi, *J. Phys. Chem. A*, **1997**, 101, 632.