

1D10

ヘテロダイン検出和周波発生分光による脂質単分子膜内部にある 弱く水素結合した水の観測

(埼玉大院・理工) ○野嶋優妃, 鈴木雄大, 山口祥一

Weakly hydrogen-bonded water inside lipid monolayer observed with heterodyne-detected sum frequency generation spectroscopy

(Saitama Univ.) ○Yuki Nojima, Yudai Suzuki, Shoichi Yamaguchi

【序】生体膜界面では光合成や物質輸送などの重要な過程が進行する。生体膜は水に囲まれているので、それらの過程の進行は膜界面の水の影響を受ける。中でも、脂質膜内部にある水は膜界面で進行する過程に大きな影響を与えると考えられているが、そのような水の構造やダイナミクスはまだ十分に理解されていない。これまでに和周波発生(SFG)分光法によって、脂質単分子膜界面における水分子の構造が調べられてきたが¹⁻³⁾、それらは脂質親水基近傍の水を観測しており、脂質単分子膜内部の水を実験的に観測した例はまだ限られている³⁻⁴⁾。本研究では、脂質単分子膜/水界面の水の構造を、ヘテロダイン検出 SFG 分光法を用いて調べ、脂質単分子膜内部の水の構造を明らかにした。

【実験】親水基に正電荷をもつ脂質(DPTAP)、負電荷をもつ脂質(DPPG)、正電荷と負電荷の両方をもつ脂質(DPPC)の三種類をそれぞれクロロホルム、またはクロロホルム/メタノール混合液に溶かし、試料溶液を調製した(図1)。その溶液を超純水表面に滴下することで、脂質単分子膜を作成した。試料界面の $\chi^{(2)}$ スペクトルを、シングルチャンネルヘテロダイン検出 SFG 分光計を用いて測定した⁵⁾。この分光計は約 4 cm^{-1} とこれまでに報告されていたものより高い波数分解能を有する。光学系を窒素パージし、酸素濃度が3.9%以下の雰囲気下で測定を行った。OH伸縮の波数領域で振動非共鳴である重水を測定し、 $\chi^{(2)}$ の複素位相のレファレンスとした。偏光配置は、和周波光をS偏光、可視光をS偏光、赤外光をP偏光とした。

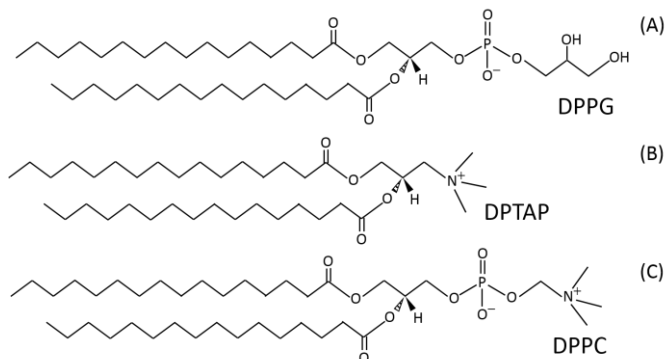


図1：測定に用いたリン脂質の構造式。

【結果と考察】脂質単分子膜/水界面の $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトルを図2に示す。CH伸縮のバンドが、 2875 cm^{-1} , 2937 cm^{-1} , 2962 cm^{-1} に観測された。CH伸縮バンドは三種類の脂質界面についてほぼ同じ形をしており、脂質炭化水素鎖の構造が親水基の構造によらないことを示している。 $3000\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ には水素結合した水の対称伸縮振動のバンドが観測された。 $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトル

の符号は分子の配向と対応しており，DPPG 界面における正の OH バンドは水分子の配向が平均して水素原子を上に向けている状態(H-up orientation)であることを，DPTAP 界面の負のバンドは水分子の配向が平均して水素原子を下に向けている状態(H-down orientation)であることを表わしている(図 3). 過去の報告と同様に，親水基の下バルク水側にある水素結合した水の配向は親水基の電荷によって反転した³⁾. DPPC 界面での正の OH バンドは H-up orientation の水分子に対応しており，先行研究と一致している¹⁾.

3500 ~ 3800 cm^{-1} には今回新たにバンドが観測された. DPPG 界面では負，DPTAP 界面では正の幅の広いバンドが観測され，DPPC 界面ではバンドは観測されなかった. これらのバンドの符号は 3000 ~ 3500 cm^{-1} の水素結合 OH のバンドと逆である. この結果は，3500 ~ 3800 cm^{-1} のバンドが親水基の下の水と逆の配向をとる水に由来することを意味している. そのような配向をとる水分子は，親水基より上側の脂質膜内部に分布すると考えられる(図 3). これは親水基の電荷の作る静電場の向きが親水基の上下で逆になることと整合している. また，これらのバンドはフリー-OH よりも幅が広く，3000 ~ 3500 cm^{-1} の水素結合 OH のバンドよりも高波数側にあることから，脂質膜内部にある水は弱く水素結合していると予想される. 有機溶媒中の孤立した水分子の FT-IR スペクトルから，膜内部の水は脂質疎水部のカルボニル基やエステル部位の酸素原子と水素結合していると推測される. DPPC 界面で 3500 ~ 3800 cm^{-1} の領域にバンドが観測されなかったのは，DPPC が電的に中性なため膜内部の水が特定の配向をとらないからであると考えられる. これまで脂質親水基の電荷より下側にある，水素結合した水の配向が脂質の電荷によって決まることがわかっていたが，本研究の結果から脂質膜内部にある水の配向も脂質の電荷によって決まることが明らかになった.

【参考文献】 [1] J. A. Mondal, S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi, T. Tahara, *J. Am. Chem. Soc.* **132** (2010) 10656. [2] X. Chen, W. Hua, Z. Huang, H. C. Allen, *J. Am. Chem. Soc.* **132** (2010) 11336. [3] J. A. Mondal, S. Nihonyanagi, S. Yamaguchi, T. Tahara, *J. Am. Chem. Soc.* **134** (2012) 7842. [4] G. Ma, X. Chen, H. C. Allen, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 14053. [5] S. Yamaguchi, *J. Chem. Phys.* **143** (2015) 034202.

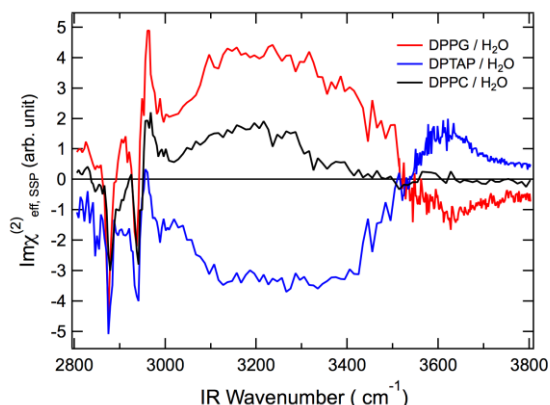


図 2 脂質単分子膜/水界面の $\text{Im}\chi^{(2)}$ スペクトル.

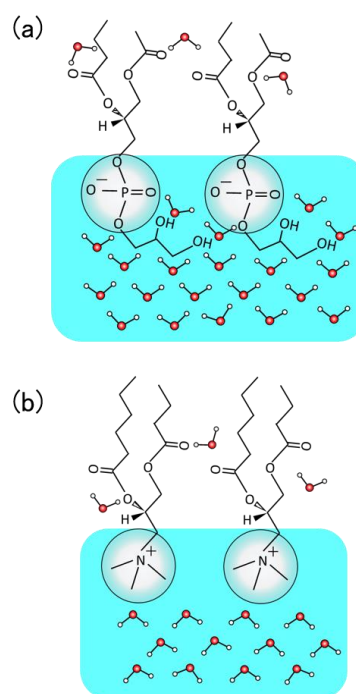


図 3 (a) DPPG 界面 (b) DPTAP 界面における水分子の概略図.