

特異な化学反応場としての脂質二重膜-時間分解分光法による特性評価

学習院大理

○岩田耕一

Lipid bilayer membrane as peculiar field for chemical reactions - characterization with time-resolved spectroscopies

○Koichi Iwata

Department of Chemistry, Faculty of Science, Gakushuin University, Japan

【Abstract】 The lipid bilayer membrane is a major constituent of biomembranes, where a large number of biochemical reactions proceed. The lipid bilayer membranes, however, have peculiar characters as a field of chemical reactions. Their thickness is several nanometers, or the length of two lipid molecules, with the hydrophobic interior sandwiched by the polar head groups and the water layer outside. We examine the characters of the lipid bilayer membranes by using time-resolved spectroscopies. We solubilize *trans*-stilbene as a fluorescence probe in liposome lipid bilayer membranes formed by a single phosphatidylcholine with a diameter of 100 nm. The rate of its photoisomerization reaction in the fluorescent excited state observed with picosecond time-resolved fluorescence spectroscopy reveals that there are two domains with the viscosity values different by several tens of times in the liposome lipid bilayer membranes. The thermal diffusivity and polarity of the membranes are also evaluated with time-resolved Raman spectroscopy and time-resolved near-infrared absorption spectroscopy.

【序】 脂質二重膜は、細胞膜の主要な構成要素である。多くの重要な生化学反応が、脂質二重膜の内部あるいはその近傍で進行する。しかし、この脂質二重膜は化学反応の場としては特異な存在である。脂質二重膜の厚さはリン脂質分子2個分に相当する数ナノメートルしかないが、膜の内部は疎水的であり、外部は水相である。水の中に油の擬2次元構造が形成されていることになる。いうまでもなく、化学反応の媒体としての水と油は正反対といってもよい程に大きく異なる特性を持っている。脂質二重膜が、タンパク質や核酸とは異なり、化学結合ではなく分子間力によって形成された構造体であることも注目し得る。細胞膜とその近傍で進行する生化学反応が、水溶液中に浮かぶ脂質分子の集合体といえる脂質二重膜の化学的特性をどのように活用しているのかを明らかにすることは、興味深い研究課題である。

「脂質ラフト」は、細胞膜の構造を説明するための強力なモデルである。脂質ラフトモデルでは、細胞膜を構成する脂質二重膜が均質ではなく、高密度のラフト構造が低密度の非ラフト構造の中に混在していることを想定している。

細胞膜におけるラフト構造を

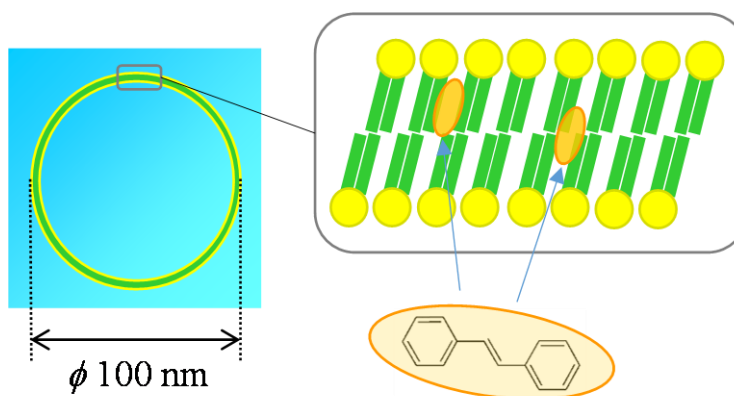


Fig. 1. Probe molecule solubilized in liposome lipid bilayer membrane.

実験的に検証することは、現代の分子科学にとって重要で魅力ある問題といえる。

われわれは最近、脂質二重膜を対象としていくつかの時間分解分光法による測定を行い、その結果をもとに化学反応場としての脂質二重膜の特性を議論してきた。本講演では、これらの研究の結果を報告したい。

【方法】 人工脂質二重膜を対象とした実験では、6種類のホスファチジルコリン (DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, egg-PC) のいずれかから直径 100 nm の単層リポソームを調製して、その脂質二重膜中に分光測定の対象となるプローブ分子を可溶化した。天然の細胞膜を対象とした実験では、HeLa 細胞の細胞膜中にプローブ分子を可溶化した。ピコ秒時間分解けい光分光法 [1,2]、ピコ秒時間分解ラマン分光法 [3]、およびフェムト秒時間分解近赤外分光法 [4]による分光測定を行って、これらの脂質二重膜における粘度や熱拡散定数、および極性を評価した。

【結果・考察】 時間分解けい光分光測定のプローブ分子として、*trans*-スチルベンとその誘導体を用いた。これらのプローブ分子を用いると、けい光寿命の測定からスチルベン部位の光異性化反応の速度定数を算出できる。算出された測定定数から、スチルベン部位周囲の粘度を推定することができる。*trans*-スチルベンを人工脂質二重膜に可溶化して時間分解けい光スペクトルを測定すると、スチルベンのけい光減衰曲線が単一指数関数減衰では再現できず、実測の再現には二重指数関数が必要なことが分かった。この結果は、単一のホスファチジルコリンから成るリポソーム脂質二重膜中に粘度が数十倍異なる2種類の領域が混在することを意味する [1,2]。ただし、*trans*-スチルベンを脂質二重膜中に可溶化する実験では、膜中でのスチルベンの深さを制御できない。脂質二重膜の一定の深さでの粘度を測定するために、スチルベンと極性基がスパーサーで連結された一群のプローブ分子を中村浩之教授（東工大）のグループと共同で開発した。この新たなけい光プローブを利用した測定によって、スチルベンのけい光が膜中の一定の深さにおいても二重指数関数によって減衰することが分かった。この結果は、脂質二重膜の面内方向に粘度の不均一性があることを示す。直径 100 nm のリポソーム脂質二重膜の面内方向に粘度が異なる2種類の領域が存在することが強く示唆された。

実際の細胞膜における粘度を評価するために、申恵媛准教授（京大）と共同で HeLa 細胞の細胞膜中に可溶化した *trans*-4-ヒドロキシスチルベンの時間分解けい光スペクトルを測定した。この測定から、細胞膜中にも粘度が数十倍程度異なる複数の領域が存在することが明らかになった。この結論は、細胞膜における脂質ラフトの存在と矛盾しない。

ピコ秒時間分解ラマン分光法によって脂質二重膜の熱拡散定数を評価すると、液晶相の膜の方がゲル相の膜よりも大きな熱拡散定数を示すことが明らかになった。フェムト秒時間分解近赤外分光測定からは、脂質二重膜中に可溶化した 9,9'-ビアントリルの光誘起分子内電荷移動反応が複数の速度定数で進行することが明らかになった。講演ではこれらの実験の結果についても報告して、その結果にもとづいて脂質二重膜の特性について議論する。

【謝辞】 すべての共同研究者の方々に深く感謝する。

【参考文献】

- [1] Y. Nojima and K. Iwata, Chem. Asian J. **6**, 1817 (2011).
- [2] Y. Nojima and K. Iwata, J. Phys. Chem. B, **118**, 8631 (2014).
- [3] K. Yoshida, K. Iwata, Y. Nishiyama, Y. Kimura and H. Hamaguchi, J. Chem. Phys. **136**, 104504 (2012).
- [4] T. Takaya and K. Iwata, Analyst **141**, 4283 (2016).