

広帯域誘電分光法によるホスホリルコリン基を有する脂質の動的挙動に及ぼす水和の影響

¹神戸大院理, ²神戸大分子フォト
○門村友¹, 山本直樹¹, 富永圭介^{1,2}

Hydration Effect on the Dynamics of Phospholipid Studied by Broadband Dielectric Spectroscopy

○Yu Kadomura¹, Naoki Yamamoto¹, Keisuke Tominaga^{1,2}
¹Graduate School of Science, Kobe University, Japan
² Molecular Photoscience Research Center, Kobe University, Japan

【Abstract】 Biological membrane is mainly composed of phospholipid bilayers, and its hydration water is considered to have critical roles in many processes on the membrane. In spite of its importance, the structure or the dynamics of hydration water around phospholipids are not sufficiently understood. Here, we investigated the hydration effect on the dynamics of phospholipid (DMPC) in GHz – THz region by Broadband Dielectric Spectroscopy. We used Vector Network Analyzer and THz-Time Domain Spectroscopy to obtain complex dielectric constant spectra. By experiment, we found a relaxational mode affected by hydration water especially in GHz region.

【序】 生体膜は主にリン脂質の二重膜から成り、その付近では生物化学的に重要な多数の過程が進行する。生体膜は水に囲まれているため、生体膜付近で進行する過程にはその周囲の水和水の構造や動的挙動が大きく関与していると考えられている。そのため、

脂質の水和水についてこれまで熱力学的測定や分光学的測定などの多くの研究がされてきた。水和水は脂質表面に静電相互作用で束縛され、熱エネルギーにより時々刻々と揺らいでいるが、そのようなダイナミクスはギガヘルツ (GHz) 領域からテラヘルツ (THz) 領域の分子間振動や回転緩和に反映される。以前、我々は水和水が脂質の動的挙動に対して与える影響について調べるために DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine、図 1) について THz 時間領域分光法を用いた複素誘電率測定を行い、スペクトルの温度依存性及び水和量依存性を報告した[1,2]。モデル関数を用いて解析を行った結果、水和状態の試料について常温付近では速い Debye 緩和成分 ($\Delta\epsilon\sim 0.5$, $\tau\sim 1$ ps) が存在すると示された。この速い Debye 緩和を含め、水和状態の脂質のダイナミクスを調べるためには、より低周波の複素誘電率に関する実験が必要である。近年、我々はサブ GHz 領域から THz 領域に及ぶ広帯域での複素誘電率測定を行うことで、低周波数領域の成分について議論している[3]。そこで、本研究では DMPC について広帯域での複素誘電率測定を行うことにより、水和水が脂質の動的挙動に与える影響をより詳細に検討した。

【実験】 DMPC の固体粉末をすりつぶし、錠剤成形器によりペレット状にしたものを

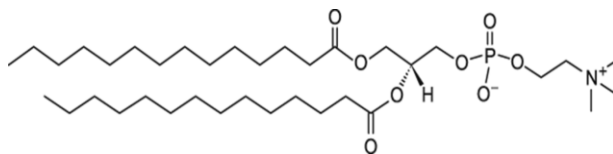


Fig. 1. Chemical Structure of DMPC.

分光測定に用いた。ペレット作製後、減圧下に 12 時間以上静置して含有水分を可能な限り除いたものを脱水和状態の試料とした。水和レベルの違いによる影響を観察するため、純水により蒸気圧を制御した空間にペレットを任意時間静置することにより水和量を調節した試料を作製した。試料の水和量は、脂質 1 分子に対する水分子数を表す指標 R を用いて評価した。脱水和状態における R の値は、脱水和状態の試料を 95°C の真空オーブン中で 2 時間静置し、その前後での質量を測定することで決定した。分光測定においては 0.5-20 GHz の領域でベクトルネットワークアナライザによる誘電緩和測定を行い、0.3-2.0 THz の領域で時間領域分光測定を行った。0.5-20 GHz 領域の測定では 233-293 K の範囲で、0.3-2.0 THz 領域の測定では 83-293 K の範囲で温度を変化させた。

【結果・考察】脱水和状態の試料の R 値は 3.4 と決定され、脱水和状態のサンプルにおいても脂質に強く結合した水分子が存在することが分かった。図 2(a) に脱水和状態 ($R = 3.4$) の試料、図 2(b) に水和状態 ($R = 7.9$) の試料の複素誘電率スペクトル (0.5 GHz – 2 THz, 293 K) を示す。スペクトルの評価のために、以下に示すモデル関数によるスペクトル解析を行った。

$$\epsilon^*(\nu) = \frac{\Delta\epsilon}{1 + (i2\pi\nu\tau)^\beta} + \sum_{k=1}^2 \frac{A_k}{\nu_k^2 - \nu^2 + i\nu\gamma_k} + \epsilon_{inf}$$

ここで、右辺の第 1 項は Cole-Cole 関数を用いた緩和成分 ($\Delta\epsilon, \tau, \beta$ は、それぞれ、緩和強度、緩和時定数、及び緩和の広がりパラメータを表す)、第 2 項は THz 領域に見られる振動成分 (A_k, ν_k, γ_k は、それぞれ、強度、中心周波数、及び摩擦項を表す)、第 3 項は高周波極限における定数項を表す。脱水和状態の試料は振動成分及び定数項を用いて解析した。水和状態の試料については GHz 領域に緩和成分を観測し、スペクトル解析から、得られたパラメータは、 $\Delta\epsilon = 1.8$, $\tau = 89.3$ ps, $\beta = 0.42$ であった。この緩和時定数は、液体の水の回転緩和成分 (時定数約 9 ps) よりも 1 桁遅い領域に存在している。一方、 β 値が 1 よりも小さいため、このスペクトル成分は、複数の Debye 緩和成分が重なり合ったもので、その時定数が広く分布していると解釈できる。実際、この成分の高周波端は THz 帯に及んでおり、先行研究[2]において観測された速い緩和成分の存在とつじつまが合う。このように水和状態の脂質は約 90 ps を中心にダイナミクスに分布があり、水和水と脂質が複雑に相互作用しているものと思われる。今後、Cole-Cole 関数で表される緩和成分の分布の広がりを検討するためには、サブ THz 帯における測定値が必要であり、発表ではその点について議論を行う。

【参考文献】

- [1] T. Andachi et al. *J Infrared Milli Terahz Waves* **35**, 147 (2014).
- [2] N. Yamamoto et al. *J.Phys. Chem. B* **119**, 9359 (2015).
- [3] N. Yamamoto et al. *J.Phys. Chem. B* **120**, 4743 (2016).

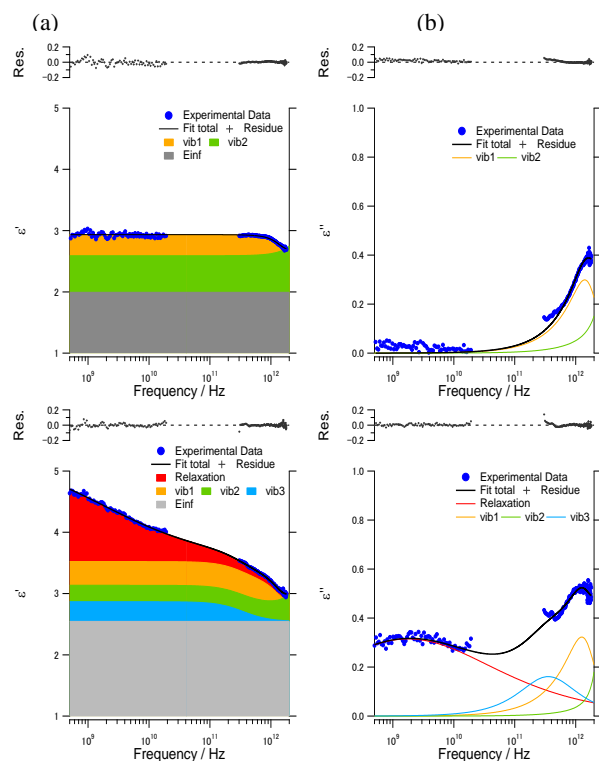


Fig. 2. Dielectric spectra of (a) dehydrated sample and (b) hydrated sample.