

## Regulation of the Two-Dimensional Structure and Osmotic Behavior of Artificial Lipid Membranes by Light

(人工脂質膜の2次元構造および浸透挙動の光による制御)

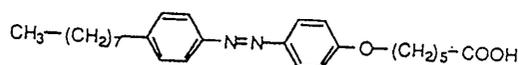
京大院工 田中 求

### 【緒言】

生体膜の基本構造は脂質二分子膜であり、水素結合・ファンデルワールス力による弱い分子間相互作用によって自己組織的に構築される。膜面上の二次元的な構造秩序化と、分子間相互作用によるドメイン形成が、膜に機能性を持たせることが知られている。こうした、構造秩序化やドメイン形成のモデルシステムとして、人工的に再構築された膜におけるゲル相と液晶相との共存状態について、数多くの実験的・理論的研究が行われてきた。フォトクロミック化合物を組み込んだ脂質膜は、特定波長の光を照射することにより、その構造と機能を可逆的かつ選択的に制御することができる。そこで、本研究では、長鎖脂肪酸の置換基を持つアゾベンゼン誘導体を、フォトクロミック化合物として人工脂質 (DMPC) 膜に組み込み、この膜の2次元構造および浸透挙動の光制御を行った。

### 【結果・考察】

アゾベンゼン誘導体は、近紫外光・可視光交互照射にともなって、可逆的にトランス→シス光異性化反応を行う。そこで、アゾベンゼン分子が脂質二分子膜の相転移挙動へ与える影響を、示差走査熱測定 (DSC) を用いて検討した。Table I に、様々なモル分率のアゾベンゼンを組み込んだDMPCの大きな一枚膜リポソーム (Large Unilamellar Vesicle, LUV) の相転移温度および相転移エンタルピーを示す。アゾベンゼン分率の増加にともなって相転移エンタルピーが減少することから、アゾベンゼンが膜に対して強い置換型の不純物として作用すること、特にシス体をとるときにその影響が顕著であることが示された。膜中でのアゾベンゼンの分子占有面積は、気液界面単分子膜の表面圧測定から、トランス体で約30 Å<sup>2</sup>、シス体で約160 Å<sup>2</sup>と概算された。この結果からも、アゾベンゼン分子が膜に対して貫入型の配置をとっていることが示された。



Azobenzene Derivative  
(8A5)

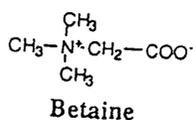


Table I Phase transition temperature,  $T_m$ , and phase transition enthalpy,  $H_m$ , of DMPC LUVs and DMPC LUVs doped with *trans*- and *cis*-8A5

samples	$T_m$ / K	$H_m$ / kJ mol <sup>-1</sup>
DMPC	297.2	20.6
{ <i>trans</i> -8A5}/[DMPC] = 0.02	296.9	19.2
{ <i>cis</i> -8A5}/[DMPC] = 0.02	296.8	18.6
{ <i>trans</i> -8A5}/[DMPC] = 0.05	296.1	18.7
{ <i>cis</i> -8A5}/[DMPC] = 0.05	296.0	18.7
{ <i>trans</i> -8A5}/[DMPC] = 0.10	295.5	13.9
{ <i>cis</i> -8A5}/[DMPC] = 0.10	294.5	13.2

一方、膜構造に起因した『速い』物性として、リポソーム内外の浸透圧勾配によるリポソームの収縮挙動が、ストップド・フロー光散乱法を用いて測定された。この手法では、2種類のサンプルを高流速下で混合するので、リポソームの速い体積変化を系に摂動を与えることなしに高感度でディテクトできる。Fig. 1にDMPCリポソーム水分散液とbetaine水溶液を混合した際の光散乱強度変化を示した。混

合後の膜内外でのbetaineの濃度差によってリポソーム内から外へと水が流出し、リポソームは収縮する。その結果、 $dV/dt \propto d(1/Abs)/dt$  という関係に従って光散乱強度の増加が観測された。膜がゲル相（図中 a - f）あるいは流動相（図中 i - k）をとる温度域では、光散乱強度変化は1次のカイネティクスに従う。また、速度定数  $k$  の Arrhenius Plot (Fig. 2) からゲル相での見かけの活性化エネルギーはおおよそ  $650 \text{ kJ mol}^{-1}$  と算出された。また相転移温度近くの極めて狭い温度域（図中 g, h）では、その初期段階に、数百ミリ秒以下の新規な光散乱シグナルが観測された。この新しく観測された特異なシグナルは、相転移周辺でのゲル相-流動相共存した膜の、周辺環境のダイナミックな変化に対する、再秩序化過程によるものと考えられ、他の熱力学的な応答関数の特異性と対応する。DMPCのみからなるリポソームと、トランス体、シス体をそれぞれ含むリポソームは、脂質膜がゲル相をとるとき異なる光散乱シグナルを示し (data; ref. 4)、単分子膜において観測された膜の曲げ弾性の違いとの相関が示唆された。

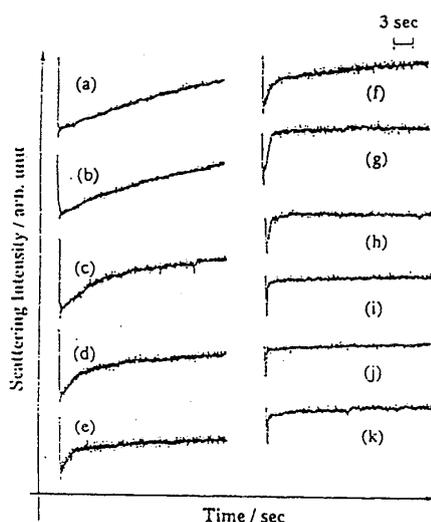


Fig. 1 Stopped-flow light scattering signals of the pure DMPC LUVs. 200  $\mu\text{l}$  of 300  $\mu\text{M}$  liposome dispersion and 200  $\mu\text{l}$  of 200 mM aqueous solution of betaine were injected into the cuvette at the time indicated by an arrow. Time constant used throughout this measurements was 16 msec  $\text{scan}^{-1}$ . Temperature conditions: a, 292.5 K; b, 293.4 K; c, 294.3 K; d, 295.4 K; e, 296.1 K; f, 296.6 K; g, 297.0 K; h, 297.5 K; i, 298.4 K; j, 299.5 K; k, 300.4 K.

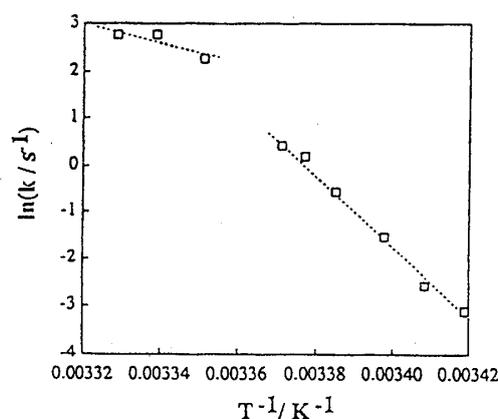


Fig. 2 The Arrhenius plot of  $\ln k$  against  $1/T$  for the light scattering increase due to the osmotic shrinkage of the pure DMPC LUVs. The rate constant of the scattering increase,  $k$ , was calculated by the first order approximation.

### 【結語】

アゾベンゼンは膜に貫入した置換型の能動的な不純物 (active impurity) として働き、分子占有面積の大きなシス体をとるときにより膜構造を乱した。熱測定・単分子膜物性測定の結果示されたように、脂質膜の秩序構造は、紫外光・可視光照射によって光化学的にチューニングされた。また、ここで用いたストップド・フロー光散乱法は、膜構造を反映した速い浸透挙動のカイネティクスを高感度で解析する有効な手法として期待される。

- 1) Tanaka, M.; Sato, T.; Yonezawa, Y. *Langmuir* 1995, 11, 2834.
- 2) Tanaka, M.; Sato, T.; Yonezawa, Y. *Thin Solid Films* 1996, 284-285, 829.
- 3) Tanaka, M.; Kohno, Y.; Yonezawa, Y.; Shimidzu, T. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 1997, 101, 265.
- 4) Tanaka, M.; Jutila, A.; Kinnunen, P.K.J. submitted to *J. Phys. Chem B*.