

X線吸収分光法による脂質二重膜へのイオン配位の測定

Ion Coordination to Lipid Bilayer Measured with X-ray Absorption Spectroscopy

豊橋技科大¹, 分子研², °Goh WeiZheng¹, 長坂 将成², 手老 龍吾¹

Toyohashi. Tech.¹, Inst. Molec. Sci.², °WeiZheng Goh¹, Masanari Nagasaka², Ryugo Tero¹

E-mail: tero@tut.jp

細胞膜の基本骨格は、生体由来の両親媒性分子である脂質が作る脂質二重膜である。細胞内外に存在する Na^+ , K^+ , Ca^{2+} といったイオンは、脂質二重膜に配位することで膜の構造や、流動性・粘弾性などの物性に影響を及ぼす。脂質-イオン間の相互作用強さは脂質二重膜の構造や物性に関わる要因であるにもかかわらず、流動的な状態にある脂質二重膜内の脂質分子に対してイオンがどのように配位するのかに関して、実験的に得られた情報は非常に少ない。本研究では、水溶液中での X 線吸収分光 (XAS) 計測によって脂質二重膜を構成する脂質分子の電子状態を調べることで、脂質分子へのイオン配位の描像を明らかにすることを目的とする。

透過法による XAS 計測は分子科学研究 UVSOR の BL-3U で行った。UV オゾン処理によって清浄化した 2 枚の Si_3N_4 メンブレンで水中 XAS 計測用セルを組み、その内部に脂質懸濁液や緩衝液を流通した。溶液層を挟んだ Si_3N_4 メンブレン外部の He 圧を変えることでセル中の溶液の厚さを約 100 nm に保った状態で、529.0-535.5 eV の範囲で O-K 端の XAS 計測を行った。水中 XAS 計測用セル(図 1) [1] の内壁に、多重層又は単層の支持脂質二重膜を形成し、XAS 計測を行った。

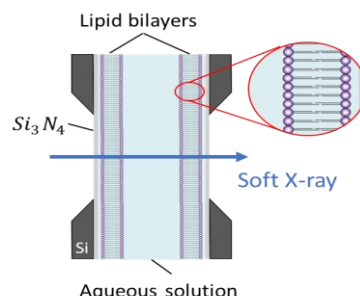


図 1. 水中計測用セルを用いた脂質二重膜の XAS 計測

図 2 に、 Si_3N_4 メンブレン上に形成した単層支持脂質二重膜の O-K 端 XAS スペクトルを示す。531-533 eV の領域に、dioleoylphosphatidylcholine (DOPC), 1,2-di-O-(9Z-octadecenyl)-PC (DietherPC) および digalactosyldiacylglycerol (DGDG) それぞれの脂質二重膜に由来する吸収を検出することができた。DOPC (図 2A) のスペクトルには少なくとも 2 つの成分が含まれており、DOPC のリン酸基とカルボニル基に由来すると考えられる。カルボニル基を持たない DietherPC (図 2B) では 531.5 eV と 532.2 eV の 2 成分が現れ、これらをそれぞれリン酸基の $\text{P}=\text{O}$ と $\text{P}-\text{O}^- \text{Na}^+$ 由来と帰属した。リン酸基を持たずカルボニル基を持つ DGDG (図 2C) では 532.0 eV に強いピークが観察され、これを $\text{C}=\text{O}$ 由来と帰属した。これらの結果から、DOPC の吸収は $\text{P}=\text{O}$, $\text{C}=\text{O}$, $\text{P}-\text{O}^- \text{Na}^+$ の 3 つの成分から構成されていると結論した(図 2A)。脂質二重膜の XAS スペクトルを水溶液中で計測できることを実証し、得られた O-K 端スペクトル中の成分を帰属した。

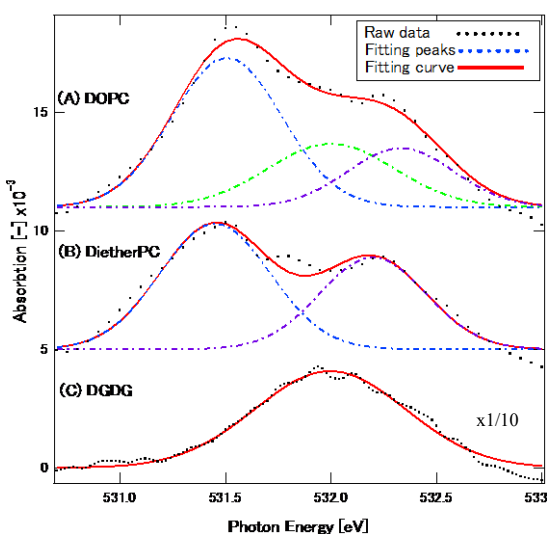


図 2. (A) DOPC, (B) DietherPC, (C) DGDG 二重膜の O-K 端 XAS スペクトル。

[1] M. Nagasaka, et al., *J. Electron Spectros. Relat. Phenomena* **224**, 93 (2018).