

的には次の事情にもよる。実測の λ 値を ϵ 値に変換する際に文献10(および9)では $\epsilon=3k_B T/4\lambda$ を用いているが、式(6)のすぐ上にある $\epsilon=k_B T/2\lambda$ を用いた方が方法1~3の結果と直接比較できる。このとき方法4による ϵ 値は(2/3)倍される。いずれにしても、以上の結果を総合するとFAやtFは $2\sim 5 \times 10^{-17}$ dyn \cdot cm 2 の曲げの剛性率を持つといえよう。

ϵ 値の逆数あるいは柔らかさの指標 λ を用いていうならば、「細いフィラメントは、筋肉の収縮条件に近づけば近づくほど、柔らかくなる」と結論される。この生理的意義については幾つかの考えをもつが、まだ憶測の域にあり、紙数の関係もあるので一切省く。

「フィラメントの柔らかさ」を提唱して10年が過ぎた。ゆらぎをK空間で捕えることについて生物系の人々の理解がなかなか得られなかった。その後の研究、特に暗視野法によって形態のゆらぎを肉眼に直接訴えてから生物系の人々の関心を得始めている。筋収縮の舞台の一方の立役者である細いフィラメントの研究がどう発展するか興味のある問題である。

文 献

- 1) S. Fujime: J. Phys. Soc. Jpn. **29** (1970) 751.
- 2) S. Fujime and M. Maruyama: Macromolecules

- 6 (1973) 237.
- 3) Y. Umazume and S. Fujime: Biophys. J. **15** (1975) 163.
- 4) T. Maeda and S. Fujime: Macromolecules **14** (1981) 809.
- 5) S. Fujime and S. Yoshino: Biophys. Chem. **8** (1978) 305.
- 6) T. Yanagida and F. Oosawa: J. Mol. Biol. **126** (1978) 507.
- 7) 斎藤信彦: 高分子物理学, 第8版(裳華房, 1978) 第9章.
- 8) M. Sugi, M. Fuke and A. Wada: Polymer J. **1** (1970) 457.
- 9) T. Takebayashi, Y. Morita and F. Oosawa: Biochim. Biophys. Acta **492** (1977) 357.
- 10) H. Nagashima and S. Asakura: J. Mol. Biol. **136** (1980) 169.
- 11) S. Fujime and S. Ishiwata: J. Mol. Biol. **62** (1971) 251.
- 12) S. Ishiwata and S. Fujime: J. Mol. Biol. **68** (1972) 511.
- 13) S. Ishiwata and S. Fujime: J. Phys. Soc. Jpn. **31** (1971) 1601.
- 14) S. Yoshino, Y. Umazume, R. Natori, S. Fujime and S. Chiba: Biophys. Chem. **8** (1978) 317.
- 15) T. Yanagida and F. Oosawa: J. Mol. Biol. **140** (1980) 313.

生体膜と飽和移動 ESR 法

楠 見 明 弘
大 西 俊 一*

§ 1. はじめに

生命の単位である細胞には、細胞膜をはじめ細胞内部にも種々の膜構造物が存在する。これらを総称して生体膜というが、それらは主としてタンパク質とリン脂質からできている。その構造は、リン脂質が二分子層膜をつくりその中にタンパク質が溶け込んだモザイクである(第1図)。¹⁾ 1970年代になってはじめて明らかにされた興味ある事実は、これらの生体膜がきわめて動的な状態にあることで、例えばリン脂質分子は膜

内を横方向(膜面に沿った方向)に速かに拡散している。その拡散定数は $10^{-8}\sim 10^{-7}$ cm 2 s $^{-1}$ で、粘性係数としては数ポアズ相当になる。このような流動性媒体中に溶けたタンパク質も、それぞれに見合った横拡散や回転運動が可能である。

細胞膜には、この本来の成分の他にその裏側で裏打ちしているタンパク質も存在している(第1図)。これらは網目構造をつくり、細胞膜タンパク質などに結合してそれらの動きを制御している。この相互作用が、細胞の外側からの情報を内側に伝えるのに重要な役割りを果している。

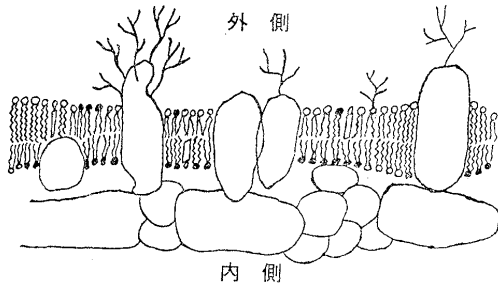
生体膜内での分子の動的な状態を知ることは、その機能を理解するために必要である。現在ではその研究方法もかなり豊富になってきた。タンパク質やリン脂

National Biomedical ESR Center, Medical College of Wisconsin

POB 26509, Milwaukee, Wisconsin 53226, U.S.A.

* 京都大学理学部生物物理学教室

606 京都市左京区北白川追分町

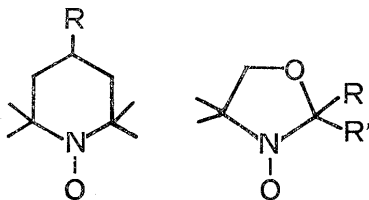


第1図 生体膜の概念図。脂質二分子層膜中にタンパク質が埋め込まれている。膜の細胞質側には裏打ちタンパク質の一群があって、膜タンパク質と相互作用している(大西俊一: 生体膜の動的構造(東京大学出版会, 1980)より転載)。

質の並進運動(横拡散)を測定する方法として蛍光退色回復法が開発され、回転的な運動を測定するものには光学的な偏光解消法やスピラベルを用いる ESR がある。本稿の目的は、スピラベルによる膜内でのタンパク質の回転運動の研究の紹介である。

ふつう生体物質は反磁性で ESR の対象でない。これらの物質に人工的な遊離基(ラジカル)を結合させて、その ESR から磁気共鳴に特有の情報(とくに動的な情報)を得ようとするのがスピラベル法である。人工的な遊離基としてはニトロキンドラジカル誘導体を用いられる(第2図)。このラベルは g 値, 超微細結合ともに異方性をもつので、ラベルの回転的な運動により ESR スペクトルの線形や線幅が著しく変化する。敏感に応答する時間スケールは、 g 値, 超微細結合の異方性の大きさ ($\Delta g, \Delta T$) によるわけであるが、それは $10^{-7} \sim 10^{-8}$ s 程度である。

膜内でのタンパク質の回転運動は異方的である。膜面への垂線に平行な軸のまわりの回転と、それに垂直な軸のまわりの回転の速さが著しく異なる。垂直な軸

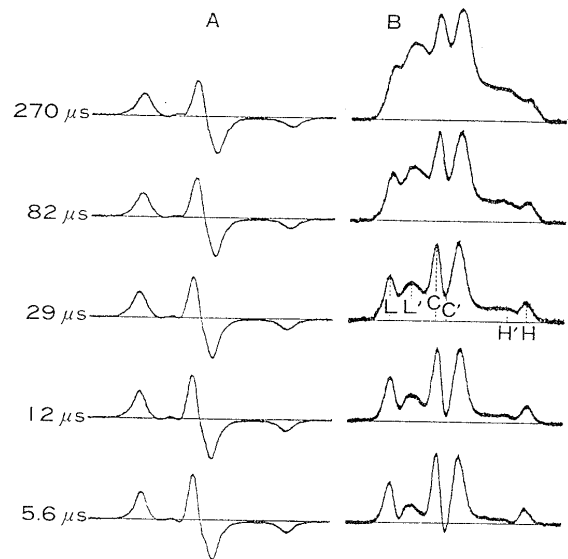


第2図 スピラベルに用いられる代表的ニトロキンドラジカル。R, R' を反応性の基にしたり、生体分子に類似の構造にする。

のまわりの回転が遅い理由は、それが起こるためには、それまで水と接していたタンパク質表面の極性基や電荷をもつ基が、膜内部の炭化水素と接しなければならぬからである。これは膜の非対称構造を維持するためにも必要な条件である。さて、平行な軸のまわりの回転は速いというが、その回転拡散定数 D_{\parallel} の大きさを見積もると((1)式)²⁾ $5 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ 程度になる。ただし

$$D_{\parallel} = k_B T / 4\pi\eta r^2 h \quad (1)$$

(1)式はタンパク質を円筒とし、その半径を r 、膜内の厚さを h 、粘性係数を η としている。上記の数値は $r=2 \text{ nm}$, $h=4 \text{ nm}$, $\eta=4$ ポアズとして得られたものである。回転の緩和時間は $10^{-6} \sim 10^{-8}$ s 程度であり、ニ



第3図 回転相関時間 $10^{-6} \text{ s} \leq \tau_2 \leq 10^{-8} \text{ s}$ に対応する、(A) 従来の ESR スペクトルと (B) 飽和移動スペクトル(梶見明弘, 大西俊一: 化学の領域 33 (1979) 791 より転載)。ともに吸収モード。牛血清アルブミンに脂肪酸スピラベルを結合させて、グリセロール-水(モル比 47:53)中で測定したもの。温度を変えることによって溶媒の粘度を変えて τ_2 を変化させた。測定条件は (A) $2H_m = 2 \text{ gauss}$, $\omega_m = 2\pi \times 100 \text{ kHz}$, マイクロ波電力 10 mW 。(B) $2H_m = 4.2 \text{ gauss}$, $\omega_m = 2\pi \times 50 \text{ kHz}$, 位相検波は 100 kHz , 90° out-of-phase。マイクロ波電力は上から順に 31, 32, 33, 36, 37 mW。照射電力を変化させることによって試料の誘電損失の違いを補い、試料中のマイクロ波磁場を一定に保っている。^{11, 21, 22)}

トロキシドラジカルにとっては遅い運動であり、通常の ESR 測定法では検出の限界を越えている。

ESR によって測定可能な回転運動の時間スケールを遅い方に拡張するために、Hyde ら^{3,4)}は飽和移動法を開発した。第 3 図に、通常の測定法と飽和移動法による、非常にゆっくりと回転拡散しているニトロキシドラジカルの ESR スペクトルを示した。⁵⁾ 回転相関時間 τ_2^* がマイクロ秒から数百マイクロ秒のあいだで、従来の測定法では少しの変化しか見られない。これはラジカルの磁氣的異方性 (80 MHz 程度) よりも回転相関時間が長いので普通の ESR スペクトルには変化が現われないのである。これに対し、飽和移動法によるスペクトルは τ_2 の変化を鋭敏に捉えている。

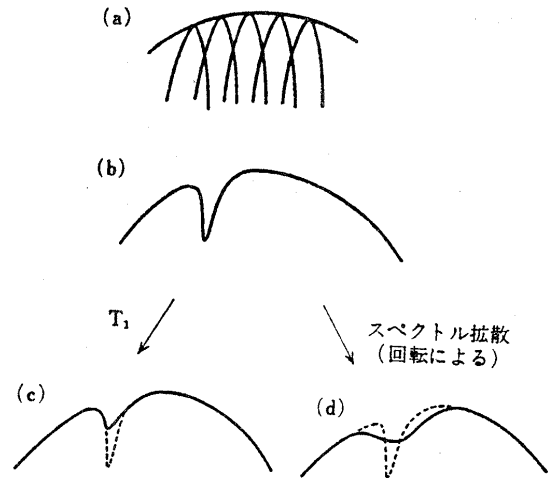
§ 2. 飽和移動とは

粘性の高い溶液中で、ゆっくりとブラウン運動しているラジカルの試料を考えよう。 τ_2 はマイクロ秒程度とする。ラジカルの磁氣的異方性のため、各ラジカルの共鳴磁場の大きさはラジカル主軸と定常磁場とのなす角度に依存する。したがって ESR 吸収線は試料中でいろいろな方向を向いているラジカルからの寄与のために、第 4 図 (a) のような幅の広い吸収線を示す。この試料に強いマイクロ波を照射すると、共鳴条件をみたすスピンパケットは飽和する** (第 4 図 (b))。この状態からの緩和には二つの経路が考えられる。一つはスピン系と格子系との相互作用による過程 (T_1 過程、第 4 図 (c))、もう一つはスペクトル拡散と呼ばれる過程 (第 4 図 (d)) である。図のようにスペクトル拡散機構は観測スピンパケットから別のスピンパケットへと飽和を移動させる。最終的には各パケットの T_1 過程によって全系は平衡状態にもどることになる。

我々の興味は、スペクトル拡散、あるいは飽和移動を観測することである。この方法は T_1 ($10^{-5} \sim 10^{-6}$ s 程度) の間に隣接スピンパケットへ飽和移動が起こるのを観測するために、 T_1 の間に起こるわずかの回転を捉えることができ、遅い運動の測定が可能になるの

* この場合 ($3 \cos^2 \theta - 1$) などの時間相関がうすれる特性時間、ただし θ はスピンラベルの主軸の一つと外部磁場のなす角度。

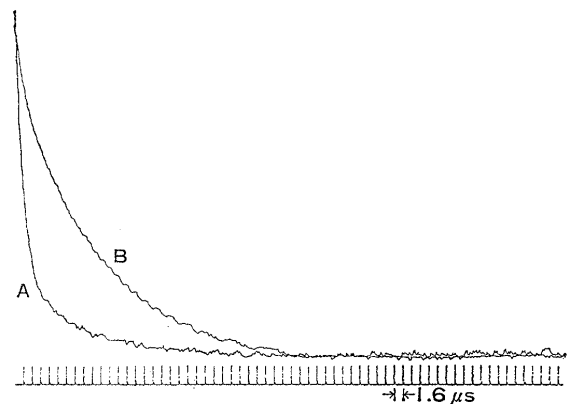
**スピンパケット：外部磁場に対してある傾きをもつスピンラベルの群をいう。これらのラベルはある定まった磁場の位置にガウス型あるいはローレンツ型の線形の共鳴吸収を示す。



第 4 図 不均一に広がった ESR 吸収線の飽和と、飽和からの回復の概念図 (楠見明弘, 大西俊一: 化学の領域 33 (1979) 791 より転載)。

である。また、飽和移動を起こすあらゆるスピン交換過程の特性時間をも得ることが出来る。

最も直接的な飽和移動の観測はパルス ESR 装置による飽和回復法を用いて行われた。⁶⁾ 第 4 図と全く同様に、この方法では、強いマイクロ波パルスで一部のスピンパケットを飽和させた後、そのパケットのボルツマン分布への回復が観測される。短いパルスを試料にかけた時 (第 5 図 A) には、上述の二つの過程、すな



第 5 図 パルス ESR 法による飽和回復曲線。試料はチオ尿素中のコレスタン・スピンラベル (包接化合物)。⁶⁾ 温度は -80°C 。強力な飽和マイクロ波のパルス幅だけが A (0.3 マイクロ秒) と B (30 マイクロ秒) で異なっている。飽和マイクロ波電力は 120 mW。観測電力は 1.4 mW。 3×10^6 回積算。横軸の目盛は 1.6 マイクロ秒おき。

わち T_1 過程とスペクトル拡散過程のために、二つの指数関数で記述される⁷⁾回復曲線が得られた。速い回復はスペクトル拡散によるもので数マイクロ秒、遅い回復は T_1 過程によるもので十数マイクロ秒であった。次に長いパルスを試料に与え(第5図B), その回復を観測した。それは一つの指数関数で記述され、時定数は短いパルスの時の長い時定数(T_1)と同じであった。この結果は次のように解釈できる。長いマイクロ波パルスのために、共鳴条件にあるスピ packets ばかりでなく、スペクトル拡散によって、その周囲のスピ packets もパルスを与えている間に飽和した。したがって、スペクトル拡散による緩和機構ははたらかなくなり、 T_1 過程だけが観測された。

もう一つの直接的方法に、ELDOR (Electron Double Resonance) 法がある。^{8,9)} この方法を用いるとパルス法と相補的な観測ができる。

§ 3. 高速断熱通過法による飽和移動の検出

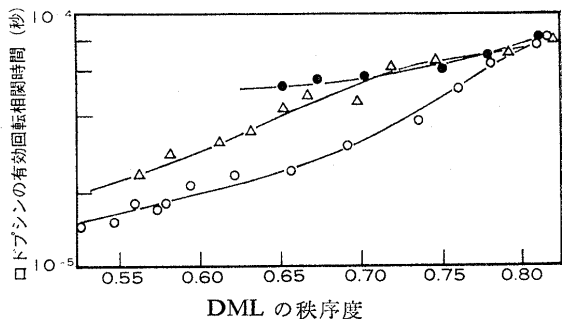
パルス ESR 法、ELDOR 法の難点は装置が非常に大がかりになること、生体物質に応用する場合には十分な S/N 比を得るのが困難なことである。この点、情報量は減るが、高速断熱通過法を用いると、既存の ESR 分光器を少し改良すれば飽和移動を簡単に観測でき、十分に大きい S/N 比が得られる。この方法が通常、飽和移動 ESR 法^{3,4,10)} と呼ばれるものである。高速断熱通過というものは、“有効磁場の変化に対してスピ packets が緩和することなく追従する”ということである。したがってこの条件をほぼ満たす正弦的外部変調磁場を試料にかけると、ラジカルが静止していれば、スピ系は変調磁場に一定の位相関係を保って応答する。このコヒーレントな応答は、位相検波器を用いることによって普通の ESR 信号と区別して取り出すことが出来る。すなわち、分散信号を観測する時には位相を 90° ずらして、吸収信号を観測する時には、変調の2倍の周波数で 90° 位相をずらして位相検波器を動作させればよい。このコヒーレントな応答は、ラジカルのランダムな運動によって乱され、運動が大きくなるほど位相検波器の出力信号は減少する。ところで回転運動の効果はスペクトルの各部分で異なる。第3図Bからわかるように、 τ_2 の変化に対しピーク高、 L, C, H はあまり変化しないのに比べ、 L', C', H' は顕著に変化する。従って、通常、 $L'/L, C'/C, H'/H$ など

が τ_2 に対する便利な指標として用いられる。未知試料の τ_2 は第3図のような標準試料のスペクトルと比較することによって得られる。

§ 4. 飽和移動法の生体膜への応用

生体膜から精製された単一の膜タンパク質と、化学的に合成された分子構造のきちんと判っているリン脂質を用いて、人工的に生体膜に近い再構成膜を調製することが、近年、種々のタンパク質と脂質について可能になった。この比較的単純な再構成膜を用いて脂質とタンパク質の相互作用、すなわち脂質の動態、秩序度、相転移などが膜タンパク質のブラウン運動にどのように影響するか、また膜タンパク質の存在が脂質の運動、相転移などにどのような効果を及ぼすか、を調べることは物理学的にも生物学的にも興味のあることである。このような研究を通して、膜の性質、膜タンパクと脂質の相互作用等に関する基本的概念を得ることが可能になるからである。以下に、筆者らがスピラベル法を用いて行った、再構成膜中でのタンパク間、タンパク-脂質間の相互作用研究の結果の一部を述べる。脂質アルキル鎖の運動性は脂肪酸スピラベルを用いて通常の ESR により、膜タンパク質の回転拡散はタンパク質のシステイン残基に固く共有結合するマレイミドスピラベルを用いて飽和移動法により観測された。膜タンパクの回転相関時間は、ちょうど飽和移動法で最も感度の良い時間スケールに当たるため、この方法は膜タンパクの回転拡散測定にはうってつけである。タンパク質として視細胞桿体外節膜中の感光タンパク質ロドプシンと、赤血球膜中の陰イオン輸送タンパク質バンド3が、リン脂質として主にジミリスチルレンチン(DML)が用いられた。DML 膜は $23, 10, -15^\circ\text{C}$ 付近で相転移を行うが、ここでは 23°C 付近の固相-液晶相転移に話を限る。

まず、DML 膜の液晶相(相転移点より上の温度)でのロドプシンの挙動を見てみよう。¹¹⁾ ロドプシンの回転相関時間と膜を作っている DML のアルキル鎖の秩序度との関係を第6図に示す。この場合、秩序度は脂肪酸スピラベルがラジカルの異方性の時間スケールのあいだに ($10^{-7} \sim 10^{-8}$ s), どれだけの角度をおおえるか、ということによって定義される(詳しくは図の説明参照)。予想される通り、脂質の秩序度が上がるにしたがってロドプシンの運動は遅くなる。この図で興味をひくの

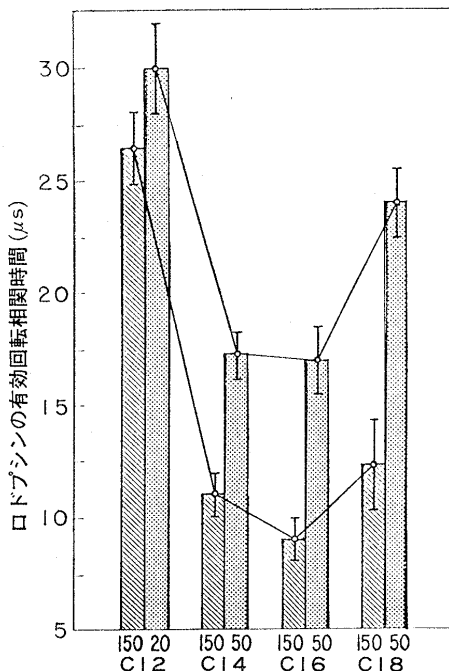


第6図 ロドプシンの回転相関時間と DML (リン脂質) アルキル鎖の秩序度との相関を示す。¹¹⁾ スピンラベルされたロドプシンの τ_2 は飽和移動法により、DML の秩序度は脂肪酸スピラベルを用いて通常の ESR 法により測定された。DML の秩序度は $\langle (3 \cos^2 \theta - 1)/2 \rangle$ と定義される。ここに θ は脂肪酸スピラベルの主軸と膜法線のなす角度、 $\langle \rangle$ は $10^{-7} \sim 10^{-8}$ s で行われる平均を示す。アルキル鎖がオールトランス型の場合は $\theta = 0$ であり、秩序度は 1、ゴーシェ型が生じると θ は大きくなり秩序度は小さくなる。ロドプシンと DML のモル比は、1/22 ●, 1/43 △, 1/153 ○. (A. Kusumi, *et al.*: J. Biochem. 88 (1980) 1103 より転載.)

は、ロドプシンと脂質のモル比が変化すると、脂質の秩序度が同じでも、ロドプシンの回転速度が変化することである。ロドプシン量が増すと、脂質の状態が同じであっても、ロドプシンの運動性は減少する。これはロドプシン分子間に相互作用があるためと解釈できる。

第7図には、極性基は同じで(レシチン)疎水的なアルキル鎖の長さのみが異なる(炭素数にして12, 14, 16, 18)脂質の膜にロドプシンを組み込んだ結果を示す。¹²⁾ 実験は各脂質の相転移温度より 4°C 上の温度で行い、各脂質について脂質とロドプシンのモル比も変えた。ロドプシンの回転相関時間は C16 アルキル鎖中で最小となり、アルキル鎖がそれより長くても短くても τ_2 は長くなる。そして、この傾向は脂質量が少ない(ロドプシン量が多い)ほど顕著になる。ロドプシンの疎水部の長さや脂質アルキル鎖の長さの間に不釣合があるとロドプシンが会合しやすくなる、という事でこの現象は説明できる。特に C12 鎖中では、凍結破砕法による電子顕微鏡を用いた研究によっても、ロドプシンの会合が見出されている。¹³⁾

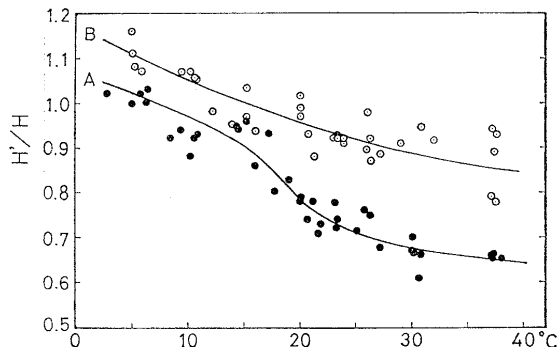
既存のタンパク質-脂質相互作用の理論では、常に、



第7図 ロドプシンの回転相関時間とレシチンアルキル鎖の長さとの関係を示す。¹²⁾ τ_2 は各脂質膜の相転移点より 4°C 上の温度で求められた。C12, C14, C16, C18 は各脂質のアルキル鎖の炭素数を示す。その上の数字は脂質/ロドプシンのモル比を示す。

脂質の秩序度を変化させることによって自由エネルギーの極小点が見出されてきた(たとえば文献14)。しかし、これらの実験は、自由エネルギーを極小にするために、膜は別の策略も持っていることを示している。すなわち、タンパク質同士を会合させることにより、エントロピーで損をしても、エントルピーで稼ぐことによって全系の自由エネルギーを極小にするのである。

次にタンパク質バンド3の再構成膜中でのふるまいを調べてみよう。第一節で細胞膜表面には細胞内部から裏打ちをしているタンパク質が存在し、生理機能に大きな役割を果していることを述べた。このような裏打ちタンパク質と膜タンパク質間に相互作用のあることが非常に純粋な系で実際に示された。¹⁵⁾ まず DML 膜中にバンド3を埋め込み、その回転運動の温度依存性を観測した(第8図A)。DML の相転移付近で H'/H 値(第3図参照)の大きな変化が見られた。再構成膜を配向させることにより、バンド3上のスピラベル主軸と膜法線のなす角がほぼ 20° であることがわかっ



第8図 バンド3のDML再構成膜中での回転拡散の温度依存性(A)。ただし、縦軸には H'/H 値(第3図参照)が目盛られている。 H'/H 値が小さくなると τ_2 も小さくなる。DMLとバンド3のモル比は 250:1。Bは裏打ちタンパク質を再構成膜に加えてインキュベーションしてから測定されたもの。¹⁵⁾

たので、 37°C での回転拡散定数 $D_{\parallel} = 4 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ が得られた。別に蛍光褪色回復法によって、バンド3の横拡散定数 $D_{\perp} = 1.6 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$ (30°C) が求められた。¹⁶⁾ $D_{\perp}/D_{\parallel} = 4 \times 10^{-13} \text{ cm}^2$ はバンド3の半径を数 nm としたときの Saffman と Delbrück の拡散理論²⁾ とよく一致している。次に赤血球膜から精製された裏打ちタンパク質(アンキリン・スペクトリン・アクチン・バンド4・1)を再構成膜に加えた。回転相関時間は数倍の増加を示し(第8図B)、裏打ちタンパク質によりバンド3の回転運動が制限されることがわかる。蛍光褪色回復法によって得られた横拡散定数 D_{\perp} も裏打ちタンパク質によって $1.6 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$ から $9 \times 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$ へと減少を示した。

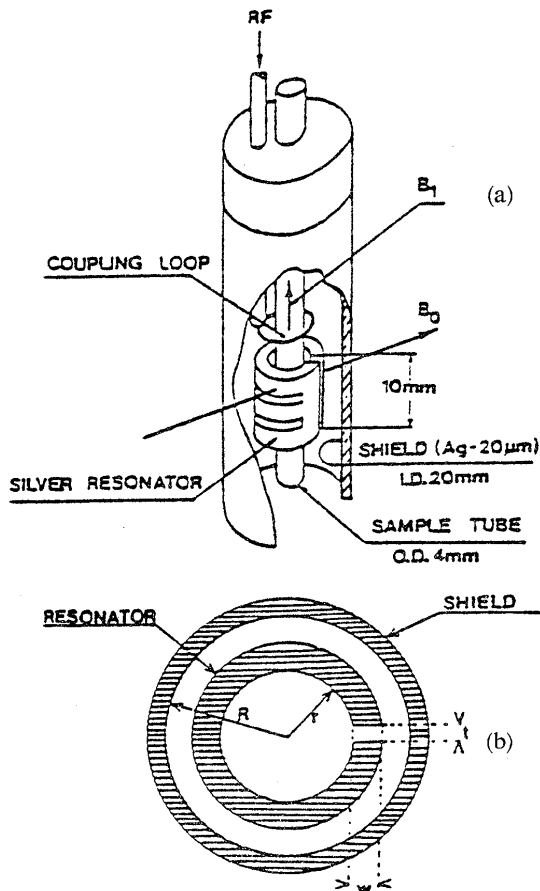
§5. 終わりに

飽和移動 ESR 法の特徴は、装置が非常に単純で、市販の ESR 分光器さえあれば誰にでも手軽に使用できることである。しかも、大抵の飽和移動過程の特性時間を直接法よりもずっとよい S/N 比で観測できる。また、普通の ESR 法と併用することによって(スイッチを切り換えるだけ) $10^{-11} \text{ s} \leq \tau_2 \leq 10^{-8} \text{ s}$ という類例のない広範囲の回転拡散の時間スケールを覆うことができるのも大きな利点である。膜タンパク質の回転拡散の特性時間が飽和移動法で観測するのにちょうどよい時間スケールであること、ESR 法は光学的方法と違って膜による光散乱が問題にならないことから、こ

の方法は膜タンパク質の回転測定に適している。

スピンラベル法の欠点の一つは、他のラベル法(例えば蛍光法)に比較して S/N 比が必ずしも良くなく、多量の試料を要する事が多いことであった。最近開発された loop-gap 共振器(第9図)^{17,18)} はこの壁を破るものといえる。この共振器を通常の空洞共振器の代わりに用いて、数十ピコモルの試料で飽和移動スペクトルが観測でき、さらに改善の努力が続けられている。また、重水素化された ^{15}N -ニトロキシドによる S/N 比の改善も報告されている。^{19,20)}

飽和移動法の今後の発展のためには、パルス法によるスピンラベルの T_1 の測定、パルス ELDOR 法によるスペクトル拡散の詳細な観測、膜系への応用のために D_{\parallel} をスペクトルから直接求める実験と理論の開発、などが必要であると思われる。



第9図 loop-gap 共振器の見取図(a)と断面図(b)。但し、図中の寸法は s バンド (2~4 GHz) 用のものである。

文 献

- 1) 大西俊一: 生体膜の動的構造 (東京大学出版会, 1980) [UP バイオロジー 38].
- 2) P.G. Saffman and M. Delbrück: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72 (1975) 3111.
- 3) J.S. Hyde and L.R. Dalton: Chem. Phys. Lett. 16 (1972) 568.
- 4) J.S. Hyde and D.D. Thomas: Ann. New York Acad. Sci. 222 (1974) 680.
- 5) 楠見明弘, 大西俊一: 化学の領域 33 (1979) 791.
- 6) A. Kusumi, W. Froncisz, C. Mailer and J.S. Hyde: 10th Int. Conf. Mag. Res. Biol. Syst., Abstract, Stanford, 1982.
- 7) J.H. Freed: *Time Domain Electron Spin Resonance*, ed. L. Kevan and R.N. Schwartz (John Wiley & Sons, 1979) p. 31.
- 8) J.S. Hyde, J.C.W. Chien and J.H. Freed: J. Chem. Phys. 48 (1968) 4211.
- 9) M. D. Smigel, L. R. Dalton, J. S. Hyde and L.A. Dalton: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71 (1974) 1925.
- 10) D. D. Thomas, L. R. Dalton and J. S. Hyde: J. Chem. Phys. 65 (1976) 3006.
- 11) A. Kusumi, T. Sakaki, T. Yoshizawa and S. Ohnishi: J. Biochem. 88 (1980) 1103.
- 12) A. Kusumi and J.S. Hyde: Biochemistry 印刷中.
- 13) Y.S. Chen and W.L. Hubbell: Exp. Eye Res. 17 (1973) 517.
- 14) J. C. Owicki, M. W. Springgate and H. M. McConnell: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75 (1978) 1616.
- 15) T. Sakaki, A. Tsuji, C.-H. Chang and S. Ohnishi: Biochemistry 21 (1982) April.
- 16) C.-H. Chang, H. Takeuchi, T. Ito, K. Machida and S. Ohnishi: J. Biochem. 90 (1981) 997.
- 17) W. Froncisz and J.S. Hyde: J. Magn. Resonance 印刷中.
- 18) J.S. Hyde and W. Froncisz: Proc. Natl. Electron. Conf. 35 (1981) 602.
- 19) A. H. Beth, S. D. Venkataramu, K. Balasubramanian, B.H. Robinson, L.R. Dalton, D.E. Pearson, C. R. Park and J.H. Park: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (1981) 967.
- 20) B. J. Gaffney, C. H. Elbrecht and J. P. A. Scibilia: J. Magn. Resonance 44 (1981) 436.

偏光解消法と膜内分子の運動

木 下 一 彦

偏光解消法という道具を使うと、分子の回転運動を見ることができる。原理は単純で、文字どおり目で見るとに近い——と少なくとも筆者は思っている。この道具を使って例えば生体膜の中を覗いてやると、蛋白や脂質分子など、膜を構成する分子の運動状態が見えてくる。覗いた結果を後半に述べることにし、まず原理の説明から始めよう。

§ 1. 偏光解消法の原理

もちろん、分子は直接目で見るとは小さすぎるし、仮に特製の虫眼鏡があったとしても、分子の動きは速すぎて“目にもとまらない”。動きを捉えるには、何らかの物理的測定手段が要る。いま考えている回転というのは、向きが時間とともに変化することだから、あ

る分子の向きを時間をおいて少なくとも二度決定できれば、すなわち回転運動が測定できることになる。

偏光解消法では、光吸収または発光の異方性を利用して分子の向きを決める。ある分子が光を吸収する場合、その分子に固定された吸収軸に沿って偏光した光を選択的に吸収する。また、分子がいったん吸収した光を蛍光または燐光の形で再び放出する場合、出てくる光は分子固有の発光軸の方向に完全に偏光している。従って、どの方向に偏光した光を吸収できるか、あるいは発光がどちらの方向に偏光しているか、を見てやれば分子の向きが推定できる。

分子1個が相手ならここで話が終るのだが、実際の試料中では第1図Aのように数多くの分子がテンデンバラバラに動き回っている。これがもしスローモーション・フィルムだとしたら、最初の1コマの中で例えば上下方向を向いている分子だけを選んで印をつけ、以