

琉球大学学術リポジトリ

Quenching of pyrene and phenothiazine fluorescence by methylviologen in dihexadecylphosphate vesicle solutions

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学理学部 公開日: 2010-01-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 金城, 昭夫, 佐和田, 正二, 宇地原, 敏夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/15148

Quenching of pyrene and phenothiazine fluorescence by methylviologen in dihexadecylphosphate vesicle solutions

Akio KINJO, Shoji SAWADA and Toshio UCHIHARA

Department of Chemistry, College of Science, University
of the Ryukyus, Nishihara, Okinawa 903-01 Japan .

(Received 21, May 1986)

Abstract

Quenching of pyrene and phenothiazine fluorescence by methylviologen was studied in dihexadecylphosphate vesicle solutions. Methylviologen in the outer aqueous phase of the vesicle quenched the fluorescence more strongly than that in the inner aqueous phase. The Stern-Volmer quenching constants of pyrene fluorescence were determined to be 7.3×10^4 and $1.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ for the solutions containing methylviologen in the outer and inner aqueous phase, respectively. The difference in the quenching constants was then utilized to estimate the transmembrane transport of methylviologen from the inner aqueous phase to the outer one. No transmembrane transport occurred while the solution was kept at the room temperature for a week. And further, the leakage of methylviologen through the vesicle bilayer was not observed even when the solution was submitted to the freezing-thawing-sonication treatment.

ジヘキサデシルホスフェイトベシクル溶液 におけるメチルビオローゲンによるピレン およびフェノチアジン蛍光の消光

金城 昭夫 佐和田正二 宇地原敏夫

1 緒 言

ベシクルは界面活性剤二分子膜からなる分子集合体で膜の内側と外側に水相を有し、生体膜のモデルとして、また光化学的エネルギー変換の場として近年注目を集めている^{1,2)}。その特性を調べるために種々の方法が用いられているが³⁻⁵⁾、蛍光の消光を利用する方法もその一つであり^{6,7)}、主としてベシクルの蛍光分子や消光分子との相互作用の研究に用いられている。しかし、ベシクル溶液における蛍光の消光についてのこれまでの研究のほとんどは消光剤を

外部水相だけに含むものであり、内部水相にある消光剤と外部水相に存在する消光剤の消光作用の差を取り扱った例は少ない。

本研究において著者等は蛍光体であるピレンやフェノチアジンを陰イオン性のジヘキサデシルホスフェイトベシクルの二分子膜に溶解し、消光剤のメチルビオローゲンを内部水相、外部水相、外部と内部の両水相においた場合の蛍光の消光を比較検討し、その相違を利用してメチルビオローゲンの二分子膜透過に対するベシクルの安定性を調べた。

2 実 験

2.1 試 薬

ジヘキサデシルホスフェイト (DHP) ベシクルを調製するのに使用したソディウムジヘキサデシルホスフェイト (NaDHP) は、半井化学薬品社のリン酸ジセチルの特級品を用いて文献に従って合成し⁸⁾、エタノールから再結晶した。ピレンは半井化学薬品社の特級品をエタノールから3回再結晶し、室温で真空乾燥した後、1 mm Hg、90-110°C で真空昇華したものをを用いた。フェノチアジンは関東化学社の特級品をエタノールから2回再結晶した。メチルビオローゲン (MV^{2+}) は半井化学薬品社の特級品をそのまま用いた。またセルロースイオン交換体としては、東京化成工業社のセルロース SE (Capacity : 0.15 meq/g) を用いた。試料溶液はすべて3回蒸留した水を用いて調製した。

2.2 装 置

蛍光スペクトルは204型日立蛍光分光光度計に、日立卓上X-Y記録計057型を接続して記録した。蛍光光度計の光源はXeランプで、励起側フィルターホルダーには自作の2 mm幅スリットを固定した。セル室は小松一ヤマトのクールニックスサーキュレーターCTR-240を用いて $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ に調節した。測定時の励起波長はピレンの場合335 nm、フェノチアジンの場合325 nmに設定した。吸収スペクトルは日立EPS-3T型自記分光光度計を用いて記録した。

ベシクル溶液の調製にはプローブ型のTOMY超音波発生装置UR-200Pを使用した。超音波照射中、溶液は三田村理研工業社の恒温装置13-95を改良したものをを用いて恒温に保った。

2.3 実験方法

ベシクルは通常超音波発生装置の出力を90 Wにして、NaDHP水溶液を60°Cで20分間超音波照射して形成させた。

消光剤である MV^{2+} をベシクルの外部水相だけに含む試料溶液は次のようにして調製した。50 ml ナス型フラスコにNaDHPの結晶を直接必要量精秤するか、あるいはNaDHPの原液(溶媒: MeOH- CHCl_3 (1:1 v/v))の一定量をナス型フラスコに移し取り、窒素ガスを導入して溶媒を蒸発させて必要量の結晶を得る。さらに蛍光体のアルコール溶液を一定量加え、再び窒素ガスで溶媒を蒸発させる。このNaDHPと蛍光体の入ったナス型フラスコに一定量の水を加え超音波処理してベシクルを形成させた後、最後に所要量の MV^{2+} 水溶液を加えた。

MV^{2+} を内部と外部の両水相に含む溶液は、上述のようにして得たNaDHPと蛍光体に所要濃度の MV^{2+} 水溶液を一定量加えて超音波処理することによって調製した。

MV^{2+} を内部水相だけに含む溶液は、NaDHPと蛍光体に高濃度の MV^{2+} 水溶液を加えて超音波処理したものを陽イオン交換体であるセルロースSEを充填したカラムに通して外部水相に存在する MV^{2+} を除去して調製した。セルロースSEカラムによる MV^{2+} の除去効率

を定量的に調べてみたところ、ベシクル調製時に加えた MV^{2+} 濃度によらず約 $1 \times 10^{-6} M$ の MV^{2+} が除去されずに残留していることがわかった。しかしこのセルロース S E 交換体による除去法は我々の実験目的には十分であると思われる。

内部水相に取り込まれた MV^{2+} 濃度は 5 cm セルを用いて 260 nm における吸光度から検量線によって決定した。検量線は、各蛍光体を含む DHP ベシクル溶液の外部水相に既知濃度の MV^{2+} を加えて溶液を調製し、260 nm の吸光度を測定して作成した。

3 結果および考察

3-1 MV^{2+} がベシクルの外部水相、外部と内部の両水相、内部水相に存在する場合の蛍光の消光

図 1 に示してあるようにピレンあるいはフェノチアジン蛍光体 (P) を DHP ベシクルの二分子膜に溶解し、消光剤の MV^{2+} を外部水相 (a)、外部と内部の両水相 (b)、そして内部水相 (c) に入れた場合の蛍光を測定した。

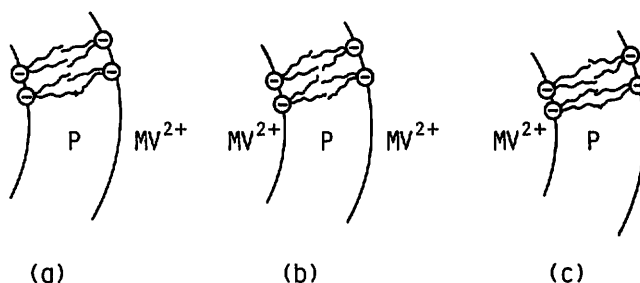


Fig. 1 Vesicular systems used for the study of fluorescence quenching. MV^{2+} was contained in the outer (a), both the outer and inner (b), and the inner aqueous phase (c).

図 2 と図 3 はそれぞれピレンとフェノチアジン蛍光についての Stern-Volmer プロットを示したものである。両蛍光体とも、外部水相だけに MV^{2+} を含む溶液は著しい消光作用を示している ($K_{sv} = 7.3 \times 10^4 M^{-1}$ (ピレン)、 $5.8 \times 10^4 M^{-1}$ (フェノチアジン))。また内部と外部両水相に MV^{2+} を含む溶液も、外部水相だけに MV^{2+} を含む場合よりわずかに小さいが比較的大きな消光作用を示す ($K_{sv} = 6.0 \times 10^4 M^{-1}$ (ピレン)、 $5.0 \times 10^4 M^{-1}$ (フェノチアジン))。しかし、内部水相だけに MV^{2+} を含む溶液は上記の二つの場合に比べて消光作用は著しく小さい ($K_{sv} = 1.1 \times 10^4 M^{-1}$ (ピレン)、 $6.0 \times 10^3 M^{-1}$ (フェノチアジン))。これは蛍光体と MV^{2+} の接近のしやすさがベシクルの内外両界面で異なるためであると思われる。

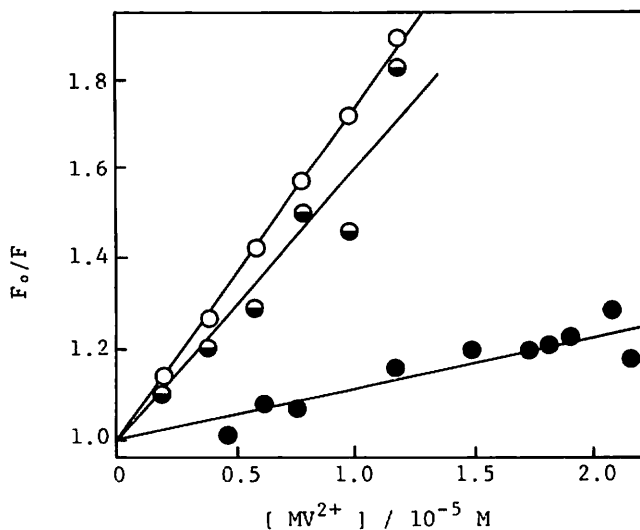


Fig. 2 Stern-Volmer plots for quenching of pyrene fluorescence by MV^{2+} in the DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} in the outer (○), both the outer and inner (◐), and the inner aqueous phase (●).

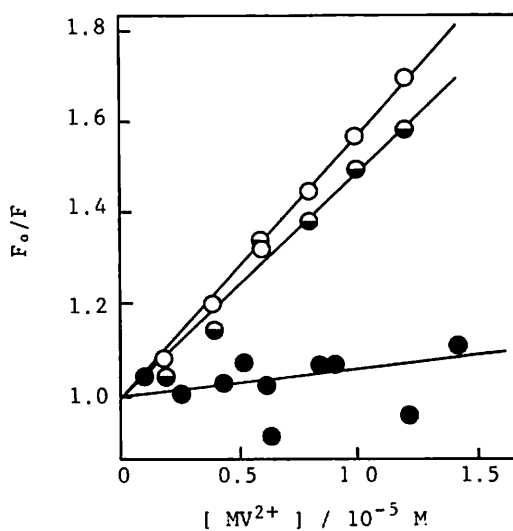


Fig. 3 Stern-Volmer plots for quenching of phenothiazine fluorescence by MV^{2+} in the DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} in the outer (○), both the outer and inner (◐), and the inner aqueous phase (●).

一重層の二分子膜ベシクルは膜の外層と内層の膜構成分子の分布量が異なっており、そのため曲率に差が生じ閉鎖小胞体を形成すると考えられる。しかし、それでもなお超音波照射によって作成した半径の小さい一重層ベシクルでは、内層と外層の膜構成分子の充填密度に

差があり、外層では粗く内層では密になっていることが $^1\text{H-NMR}$ や $^{31}\text{P-NMR}$ による測定からわかっている^{9,10)}。

本研究で用いたDHPベシクルにおいても上記のように充填密度に差があるものとするならば、ベシクルの二分子膜に溶解した蛍光体は膜の内層へは入りにくくなり、平衡状態において内層側に存在する蛍光体の割合は小さくなる。さらに内層側に存在する蛍光体は運動が抑制されるので、内部水相にある消光剤分子 MV^{2+} に接近しにくいと考えられる。

3. 2 MV^{2+} の膜透過に対するDHPベシクルの安定性

前述の実験において、 MV^{2+} の存在位置によって蛍光の消光の程度に相違があることがわかった。そこでこの相違を利用して MV^{2+} の膜透過に対するベシクルの安定性を調べてみた。

まず外部水相に存在する MV^{2+} がベシクルの二分子膜を透過して内部水相へ移動していくかを調べるため、 MV^{2+} を外部水相だけに含む試料溶液を調製して蛍光の消光の経時変化を測定し、 MV^{2+} が内部と外部の両水相に存在する場合の Stern-Volmer プロットに接近するかどうかを調べてみた (図4)。蛍光の測定は試料調製直後から毎日1回、1週間にわたって行った。その間試料溶液は室温で暗所に保存し、蛍光の測定は 25°C で行った。図から K_{sv} を求めてみると、 $6.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ から $7.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ の間で変動している。図の点線は前出の MV^{2+} が内部と外部の両水相に存在する場合の Stern-Volmer プロットを示したものである。もし外部水相の MV^{2+} が内部水相へ二分子膜を透過して流入するのであれば、Stern-Volmer プロットは時間がたつにつれてこの点線に接近していくものと考えられる。結果は一見点線に接近しているように見えるが、経時変化は前後して外部水相から内部水相への MV^{2+} の流入があるかどうかについては判然としない。

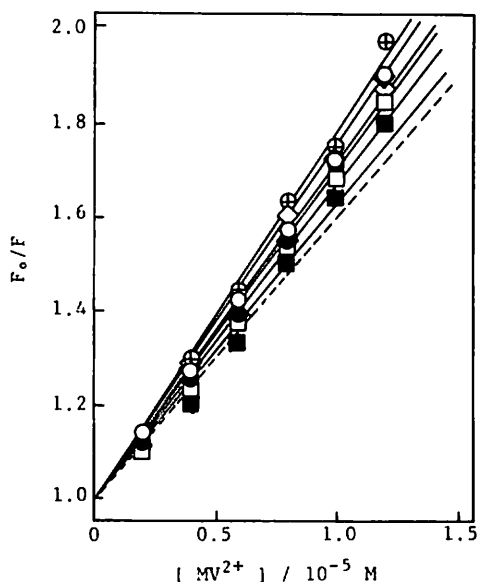


Fig. 4 Stern-Volmer plots for quenching of pyrene fluorescence by MV^{2+} as a function of time in the DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} originally only in the outer aqueous phase. The fluorescence was measured 0(\circ), 1(\bullet), 2(\square), 3(\blacksquare), 4(\diamond), 5(\blacklozenge) and 6(\oplus) days after the solutions were prepared. The broken line shows the result for the solution containing MV^{2+} both in the inner and outer aqueous phases.

そこで MV^{2+} を外部水相に含むベシクル溶液すなわち前の経時変化に用いた溶液を 60°C で 20 分間、さらに 80°C で 20 分間再び超音波処理して外部水相の MV^{2+} の一部をベシクルの内部水相に人為的に取り込ませることを試みた。図 5 がその結果を示したものである。Ksv の値として、 60°C と 80°C で再超音波処理したものについてそれぞれ $6.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ と $5.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ という値が得られた。 80°C で超音波処理したものは消光が小さくなり、 MV^{2+} の一部は内部水相に取り込まれたように見える。しかし MV^{2+} が外部水相だけに存在する場合の Stern-Volmer プロットと MV^{2+} が内外両水相に存在する場合のプロットが元々接近していることと、また前述の Stern-Volmer プロットの経時変化にばらつきがあることを考慮に入れると今回のこの結果を外部水相の MV^{2+} が内部水相へ移ったと見なすのか、あるいはたまたま誤差の範囲内で Stern-Volmer プロットが点線に接近したと見なすのか、明確にすることは難しいように思われる。

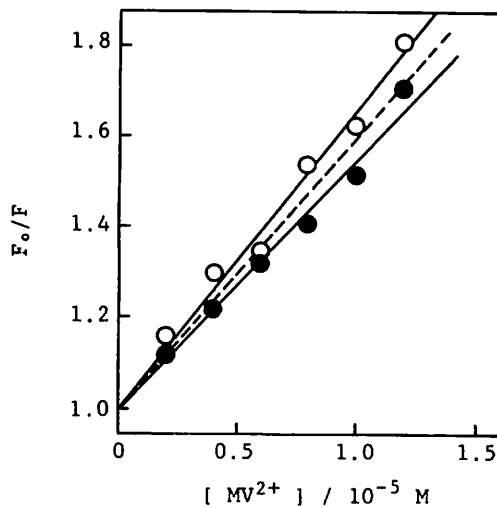


Fig. 5 Stern-Volmer plots for quenching of pyrene fluorescence by MV^{2+} in the resonicated DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} originally only in the outer aqueous phase. Resonifications were made at 60°C (○) and 80°C (●). The broken line shows the result for the solution containing MV^{2+} both in the inner and outer aqueous phases.

そこで次に消光が著しく小さい、内部水相だけに MV^{2+} を含む溶液について蛍光の経時変化を測定し、 MV^{2+} が内部水相から二分子膜を透過して外部水相へ流出するかどうかを調べてみた。図 6 はピレンを、図 7 はフェノチアジンを蛍光体として用いた場合の結果を示したものである。試料調製直後から一週間にわたって測定を行った。またこの場合も溶液は室温で暗所に保存し、蛍光の測定は 25°C で行った。各図における点線は前と同じように MV^{2+} が内外両水相にある場合の Stern-Volmer プロットを示したものである。溶液を保存している間に MV^{2+} が外部水相へ流出するのであれば、蛍光の消光は大きくなり Stern-Volmer プロットは点線に接近するものと考えられる。しかしながら蛍光体がピレン、フェノチアジンい

ずれの場合もプロットの経時変化はある程度上下に変動はしているが、点線へ接近する程の大きな変化は示さない ($K_{sv} = (1.0 - 1.9) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (ピレン)、 $(0.6 - 1.8) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (フェノチアジン))。したがって MV^{2+} の内部水相から外部水相への流出はほとんどないと考えることができる。

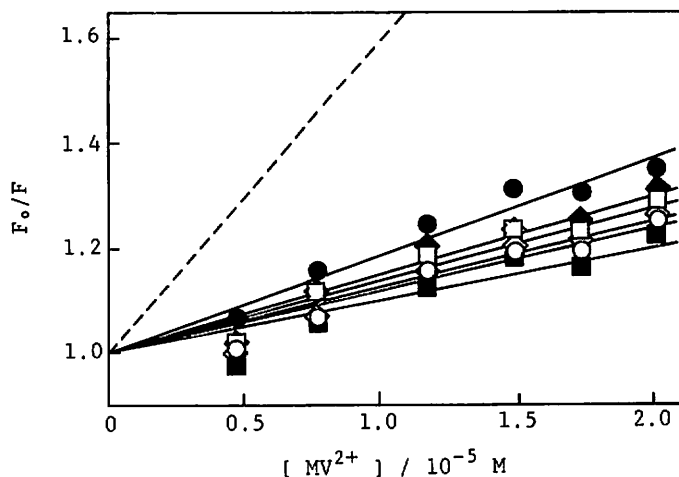


Fig. 6 Stern-Volmer plots for quenching of pyrene fluorescence by MV^{2+} as a function of time in the DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} originally only in the inner aqueous phase. The fluorescence was measured 0(\circ), 1(\bullet), 3(\square), 4(\blacksquare), 5(\diamond) and 6(\blacklozenge) days after the solutions were prepared. The broken line shows the result for the solution containing MV^{2+} both in the inner and outer aqueous phases.

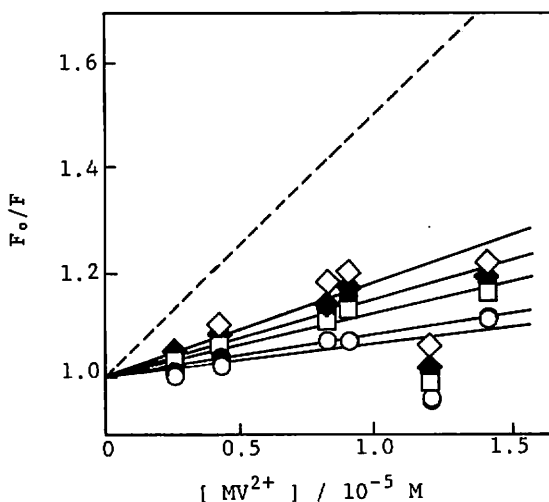


Fig. 7 Stern-Volmer plots for quenching of phenothiazine fluorescence by MV^{2+} as a function of time in the DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} originally only in the inner aqueous phase. The fluorescence was measured 0(\circ), 1(\bullet), 3(\square), 4(\blacksquare), 5(\diamond) and 6(\blacklozenge) days after the solutions were prepared. The broken line shows the result for the solution containing MV^{2+} both in the inner and outer aqueous phases.

経時変化の測定において Stern-Volmer プロットが上下に変動しているのはベシクルの融合に起因するのではないと思われる。ベシクルを形成した溶液を放置しておくこと融合によって形状やサイズが変化するという報告がある¹¹⁾。ベシクルの形状やサイズが変化するのであれば、蛍光の消光の程度にも影響を与えることが予想されるからである。

次に MV^{2+} を内部水相から外部水相へ人為的に流出させることを目的として、内部水相に MV^{2+} を取り込んだベシクル溶液に超音波処理を行った。内部水相にある MV^{2+} が外部水相へ流出すれば、消光の Stern-Volmer プロットは内外両水相に MV^{2+} が存在する場合のプロットに接近するはずである。試料溶液は両蛍光体の場合とも前の経時変化の測定に使用した溶液を用い、蛍光体としてピレンを含む溶液は 60°C で20分間、さらに 80°C で30分間再び超音波処理してその都度蛍光を測定した(図8)。両方ともほぼ同じ K_{sv} の値 ($5.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$) を与えた。蛍光体がフェノチアジンの場合は 80°C で30分間再超音波処理して蛍光の測定を行った(図9、 $K_{sv} = 1.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$)。図の点線は内外両水相に MV^{2+} を含む場合のプロットを示したものである。フェノチアジンの場合(図9)点線に接近しているプロット点もあるが、両蛍光体の場合とも全体的には点線に接近する程の大きな変化は見られない。このことから超音波処理しても MV^{2+} の流出はないように思われる。このことを更に確かめるために、再超音波処理をした溶液に強い還元剤であるジチオナイトを添加してみたが、 MV^{2+} の還元物であるメチルピオローゲンラジカル (MV^{\cdot}) の発色(青色)は見られなかった。ところがメタノールを加えてベシクルを破壊すると、初めて溶液は青色になった。このことから再超音波処理によってさえも内部水相の MV^{2+} は外部水相へほとんど流出しないことがわかる。

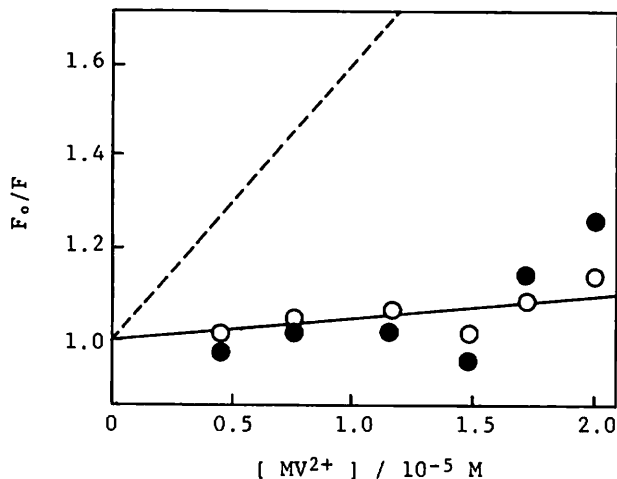


Fig. 8 Stern-Volmer plots for quenching of pyrene fluorescence by MV^{2+} in the resonicated DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} originally only in the inner aqueous phase. Resonifications were made at 60°C (○) and 80°C (●). The broken line shows the result for the solution containing MV^{2+} both in the inner and outer aqueous phases.

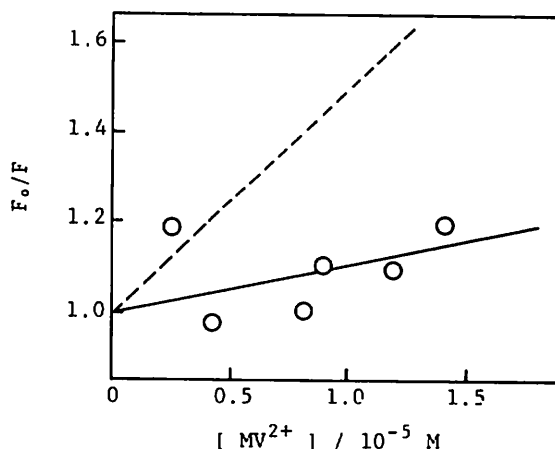


Fig. 9 Stern-Volmer plots for quenching of phenothiazine fluorescence by MV^{2+} in the DHP vesicle solutions resonicated at 80°C , which contained MV^{2+} originally only in the inner aqueous phase. The broken line shows the result for the solution containing MV^{2+} both in the inner and outer aqueous phases.

3. 3 内部水相に MV^{2+} を取り込んだベシクルの破壊—再形成によるピレン蛍光の消光の変化

前節で再超音波処理を行っても蛍光の消光に大きな変化が見られなかったことから、DHPベシクルは一旦形成されると安定で、再超音波処理によっても内部水相の MV^{2+} は外部水相へ流出しないと考えた。しかしながら陽イオン性のジオクタデシルジメチルアンモニウムクロライド (DODAC) ベシクルの場合、再超音波処理するとベシクルは開きそして再び閉じるので、外部水相にあったピラニンの一部が内部水相へ移行して内外両水相に再分配するという報告がある⁷⁾。それゆえ再超音波処理によっても内部水相の MV^{2+} が外部水相へ流出しないという今回の実験結果を更に確認するため、内部水相だけに MV^{2+} を取り込んだベシクルを何らかの方法で一旦破壊し、再びベシクルを形成させた時 Stern-Volmer プロットが内外両水相に MV^{2+} を含む場合のプロットに接近するかどうかを調べた。

3. 3. 1 ベシクル溶液の凍結による破壊の試み

ベシクル溶液を冷却し凍結させると沈澱を生ずるのでベシクル構造が破壊されるのではないかと考えられる。そこで内部水相だけに MV^{2+} を取り込んだ DHP ベシクル溶液を冷凍庫で凍結し、そして自然解凍した後再び超音波処理を行ってベシクルを形成させて蛍光の消光を調べた。試料溶液はこれまでとは異なる方法で調製した。蛍光体を含まずに MV^{2+} だけを内部水相に取り込んだベシクル溶液を作った後、超音波処理によって蛍光体をベシクルの二分子膜に溶解させるという方法である。このように調製した試料溶液は蛍光の消光実験を行ったところ、従来の方法で調製した溶液と同じ結果を与えた。この試料溶液を冷凍庫に入れて完全に凍結させた後暗所で自然解凍し、 60°C で再び超音波処理してベシクルを形成させて蛍光の測定を行った。凍結前と凍結後の Stern-Volmer プロットを図10に示してある。凍結

後の溶液についてのプロット (●) は、図からわかるように一点を除いて凍結前のものと同程度差がなく、Ksvの値として同じ値 ($1.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) を示した。このことは凍結解凍してもベシクルが破壊されないことを示しているように思われる。しかしながら解凍した溶液は室温で白色の沈澱物を析出しているので、ベシクルは破壊されずに MV^{2+} を内部水相に保持したまま析出するものと考えられる。

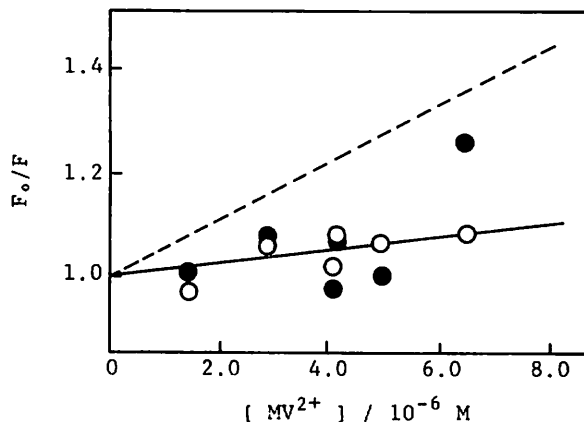


Fig. 10 Stern-Volmer plots for quenching of pyrene fluorescence by MV^{2+} before (○) and after (●) the freezing-thawing-sonication treatment was given to the DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} originally only in the inner aqueous phase. The broken line shows the result for the solution containing MV^{2+} both in the inner and outer aqueous phases.

リン脂質の一重層リポソームの水溶液を急激に冷却凍結させ、これをゆっくり解凍し、更に少時間超音波照射すると、内部水相の大きな一重層リポソームに変わるという報告があり、これは急激に冷却する際リポソームが会合し、解凍する段階で融合するのであろうと考えられている¹²⁾。DHPベシクル溶液の場合も凍結によってベシクルは会合して析出するだけでベシクル構造は破壊されないで残り再超音波処理した場合、再び溶解して凍結前と同じ消光結果を示すものと考えられる。

3. 3. 2 ベシクル溶液へのメタノール添加による破壊の試み

凍結によってベシクルを破壊するという試みはうまくいかなかったので、次にメタノール添加による破壊を試みた。ベシクル溶液にメタノールを加えるとベシクルが壊れてDHPの沈澱が析出することはこれまでも分かっている。しかしそのままの状態ではメタノールが存在するのでベシクルを再形成させることは不可能である。そこでメタノールによってベシクルを一旦破壊し、加えたメタノールと溶媒である水を蒸発によって完全に除去した後、再び水を加え超音波処理によってベシクルを再形成させ、消光実験に用いた。

この実験において最初従前の方法で調製したベシクル溶液を用いたところ、長時間(約二日間)にわたる溶媒の除去の間に蛍光体であるピレンも昇華して失われてしまうので、ベシ

クルを再形成させた後の消光実験に支障を来した。それゆえ前節で用いた試料溶液の調製方法を応用し、次のように実験を行った。まず蛍光体であるピレンは含まずに MV^{2+} を内部水相だけに含むベシクル溶液を調製し、この溶液を15mlずつに二等分した。一方の溶液には所量のピレン結晶を加えて超音波処理を行い、ピレンをベシクルの二分子膜に可溶化してベシクルを破壊する前の試料溶液とした。そして他方の溶液には10mlのメタノールを加えてベシクルを破壊し、湯浴上で約40℃に加温しながら乾燥した窒素ガスを導入してメタノールと溶媒である水を蒸発させて除去した。これに所量のピレン結晶を加え、更に15mlの水を加えた後、60℃で20分間超音波処理してベシクルを再形成させベシクル破壊後の試料溶液とした。なおこの場合、水を加えて超音波処理を行う段階において固形物がなかなか溶解しなかったため、0.1 M NaOH を2-3滴滴下して溶解を容易にした。固形物がなかなか溶解しなかったのは元々Na形のNaDHP結晶を用いて調製したDHPベシクルがH形のセルロースSEカラムに通した段階で、DHPの対イオンである Na^+ が H^+ に置き換えられたために、溶媒の除去によってH形のDHP結晶として析出したためであると思われる。NaOHを加えたのはDHPを元のNa形に戻すためである。

上述のような方法で調製したベシクル溶液のベシクル破壊前と破壊後の消光実験の結果を図11に示してある。図の点線はこれまでと同様、 MV^{2+} を内外両水相に含む場合のStern-Volmerプロットを示したものである。図から分かる通り、破壊-再形成した場合のプロット(●、 $K_{sv} = 5.5 \times 10^4 M^{-1}$)は、ばらついてはいるが内部水相だけに MV^{2+} を含んだ破壊前のもの(○、 $K_{sv} = 1.3 \times 10^4 M^{-1}$)より明らかに消光が大きくなり点線に接近している。このことはメタノールによってベシクルは破壊されて MV^{2+} は内部水相から解放され、超音波処理によって再びベシクルを再形成させた時、 MV^{2+} が内部と外部の両水相に存在するような形でベシクルが再形成されたことを示している。

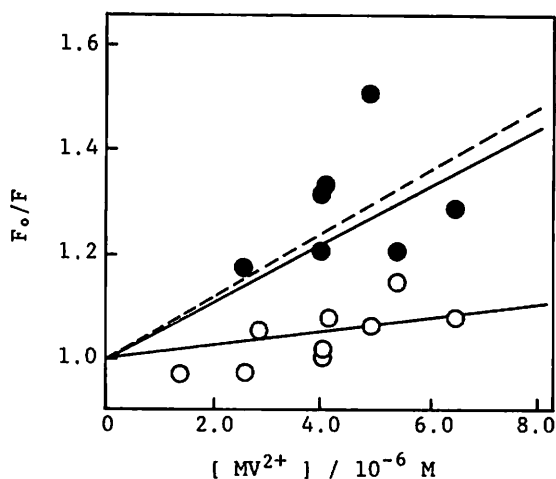


Fig. 11 Stern-Volmer plots for quenching of pyrene fluorescence by MV^{2+} before (○) and after (●) the vesicles were destroyed by the addition of methanol to the DHP vesicle solutions which contained MV^{2+} originally only in the inner aqueous phase. The broken line shows the result for the solution containing MV^{2+} both in the inner and outer aqueous phases.

4 結 論

蛍光の消光を利用して MV^{2+} の膜透過に対する DHP ベシクルの安定性を調べる実験を行い次の結論を得た。

MV^{2+} を DHP ベシクルの内部水相だけに含む溶液を (1) 室温で一週間放置しても、(2) 60℃ と 80℃ で 20 分ないし 30 分超音波処理しても、(3) 凍結、解凍後 60℃ で 20 分超音波処理しても、内部水相の MV^{2+} の外部水相への移行は認められなかった。しかし同じ溶液にメタノールを加えてベシクルを破壊し、メタノールと溶媒である水を除去した後、再び水を加えて 60℃ で 20 分超音波処理すると内外両水相に MV^{2+} を含むベシクル溶液が形成された。以上のことから DHP ベシクルは一旦形成されると非常に安定であることが分かった。

しかしながらベシクルが相転移する際、膜内に隙間ができて膜を通しての物質の移動が容易になるという説^{4,5)}があるので、今後 DHP ベシクルの相転移温度付近における安定性についても調べてみる必要があろう。

参 考 文 献

- 1) (a) Infelta, P. P., Grätzel, M., and Fendler, J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 1479 (1980). (b) Tunuli, M. S. and Fendler, J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2507 (1981). (c) Hurst, J. K., Lee, L. Y. C., and Grätzel, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 7048 (1983). (d) Takayama, N., Sakaguchi, H., Hashiguchi, Y., Shimomura, M., Nakamura, H., Kunitake, T., and Matsuo, T. *Chem. Lett.*, **1985**, 1735. (e) Rafaeloff, R., Tricot, Y. -M., Nome, F., and Fendler, J. H. *J. Phys. Chem.*, **89**, 533 (1985). (f) 松尾拓、“光エネルギー変換”、高分子錯体 6、高分子錯体研究会編、学会出版センター (1983) p. 65. (g) 国武豊喜、“分子集合体”、化学総説 No. 40、日本化学会編、学会出版センター (1983) p. 122.
- 2) Fendler, J. H. *Acc. Chem. Res.*, **13**, 7 (1980).
- 3) (a) Berden, J. A., Barkar, R. W., and Radda, G. K. *Biochem. Biophys. Acta*, **375**, 186 (1975). (b) Lim, Y. Y. and Fendler, J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 4023 (1979). (c) Tran, C. D., Klahn, P. L., Romero, A. and Fendler, J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 1622 (1978). (d) Li, A. S. W. and Kevan, L. *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 5752 (1983). (e) Lukac, S. *J. Phys. Chem.*, **87**, 5045 (1983). (f) Lee, L. Y. -C., Hurst, J. K., Politi, M., Kurihara, K., and Fendler, J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 370 (1983). (g) Mcneil, R. and Thomas, J. K. *J. Colloid Interface Sci.*, **73**, 522 (1980).
- 4) 中島直敏、国武豊喜、“人工細胞へのアプローチ”、化学増刊98、国武豊喜、田伏岩夫、土田英俊共編、化学同人 (1983) P. 15.
- 5) 国武豊喜、岡畑恵雄、化学の領域、**34**, 480 (1980).
- 6) (a) Almgren, M. *J. Phys. Chem.*, **85**, 3599 (1981). (b) Sunamoto, J., Iwamoto, K., Iwamoto, H., Kondo, H., Kano, K., and Ogawa, T. *Chem. Lett.*, **1981**, 15. (c) Kano, K., Kawazumi, H., and Ogawa, T. *J. Phys. Chem.*, **85**, 2204 (1981).
- 7) Nomura, T., Escabi-Perez, J. R., Sunamoto, J., and Fendler, J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 1484 (1980).
- 8) Shioyama, H., Takami, A., and Mataga, N. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **58**, 1029 (1985).
- 9) 中村朝夫、須藤幸夫、戸田不二緒、“バイオミメテックケミストリー”、化学総説 No. 35、日本

化学会編、学会出版センター (1982) p. 94.

- 10) Cornell, B. A., Middlehurst, J., and Separovic, F. *Biochem. Biophys. Acta*, 598, 405 (1980).
- 11) Hermann, U. and Fendler, J. H. *Chem. Phys. Lett.*, 64, 270 (1979).
- 12) Pick, U. *Arch. Biochem. Biophys.*, 212, 186 (1981).