

## L- $\alpha$ -lecithin으로 재구성된 Bacteriorhodopsin Vesicle에서 Methylene Blue의 Metachromasy

李 弘 · 裴麗玉 · 林春玉 · 李厚禎\*  
원광대학교 자연과학대학 화학과  
(1992. 1. 22 접수)

## Metachromasy of Methylene Blue on the Bacteriorhodopsin Incorporated into L- $\alpha$ -lecithin Vesicle

Hong Lee, Hyun-Ock Pae, Chun-Ock Lim, and Hoo-Seol Lee\*  
Department of Chemistry, Wonkwang University, Iri 570-749, Korea  
(Received January 22, 1992)

**요 약.** L- $\alpha$ -lecithin vesicle, bacteriorhodopsin(BR) 그리고 인지질로 재구성된 BR vesicle(InBR vesicle)의 각각의 수용액에서 methylene blue(MB)의 흡수성질을 20°C에서 60°C까지 흡수분광법으로 측정하였다. 인지질 vesicle에서 묽은 농도의 MB는 단위체와 이합체 사이에 평형을 이루었고, 고농도의 MB는 oligomer를 형성하였다. 대부분의 경우에 지질(vesicle)의 농도가 매우 높아지면 점점 단위체로 재분배 되었다. 일정한 MB 농도에 BR를 첨가할 때 흡광도비( $\alpha/\beta$ )는 감소되며 oligomer가 형성되었다. MB는 InBR vesicle의 상전이 온도 부근에서 흡광도비( $\alpha/\beta$ )가 증가했으나 인지질 vesicle에서는 상전이에 무관했다. 이것은 InBR vesicle 표면 위에서 회합하는 MB 분자들은 지질의 상전이에 영향을 받아 단위체로 재분배 되는 것으로 사료된다.

**ABSTRACT.** Adsorption properties of methylene blue (MB) in L- $\alpha$ -lecithin vesicle, bacteriorhodopsin and incorporated bacteriorhodopsin(InBR) vesicle systems at 20~60°C has been studied by adsorption spectroscopy. The equilibrium of MB between monomer and dimer in lecithin vesicles has been existed at low concentration of MB, but oligomer has been formed in vesicle at higher concentration of MB. In most cases, the MB cluster was redistributed to monomer at the high concentration of lecithin vesicles. Adding BR to constant concentration of MB decreased the absorption ratio ( $\alpha/\beta$ ) of MB, and MB was formed oligomeric aggregate. Absorption ratio ( $\alpha/\beta$ ) of MB was increased during phase transition of InBR vesicles, but independent of phase transition of lecithin vesicles. It suggested that aggregate of MB on the surfaces of InBR vesicles were redistributed to monomer under the influence of lipid phase transition.

### 서 론

Methylene Blue(MB)와 같은 유기색소 분자들의 분광학적인 흡수띠가 Beer's-Lambert 법칙에 벗어나는 metachromasy 현상에 관해 많은 연구가 진행되고 있다. Monomer 형태인 장파장쪽의  $\alpha$ -흡수띠와 dimer 형태인 단파장쪽의  $\beta$ -흡수띠 및 색소 분자의 회합형태에 따라서  $\gamma$  및  $J$  그리고  $H$  흡수띠로 분류되나 유기색소 분자의 회합형태의 입체구조에 관한 이론적 및 구조론적 연구가 계속 진행 중이다<sup>1,2</sup>.

주기적으로 음이온 자리를 가지는 polyvinyl sulfate (PVS)와 polystyrene sulfate(PSS) 및 chondroitin sulfate 등의 고분자의 농도가 증가할수록 다분자회합체가 형성된다<sup>3,4</sup>. 음이온 계면활성제들은 양이온성 유기색소 분자들의 다분자회합체의 형성을 촉진시키며, 인지질이나 dioctadecyldimethylammonium bromide와 같은 합성계면활성제 등으로 이루어진 이중층막에서도 유기색소의 metachromasy가 나타난다<sup>5,6</sup>. 고농도의 염용액에서 자라는 halobacterium

halobium은 한 종류의 단백질인 bacteriorhodopsin (BR)을 가진다. BR은 peptide 결합한 아미노산 중에 216번 잔기인 lysine과 retinal이 Schiff base를 형성하여 광순환회로를 돌게 된다. 광순환회로의 순서는 Rhodopsin(500 nm,  $\epsilon=42000$ ) → Bathorhodopsin(543 nm) → Lumirhodopsin(497 nm) → Metarhodopsin I(480 nm) → Metarhodopsin II(380 nm)이며, 이중 중간체 Metarhodopsin I은 Schiff base linkage가 탈수소화되면서 Metarhodopsin II가 된다<sup>7</sup>. 인지질 vesicle에 재구성된 rhodopsin(InBR)은 막 사이에 proton pumping을 하게 되며<sup>8</sup> 시각세포의 중요한 단백질로 알려져 있다. 그러므로 생체막이나 막단백질에 대한 유기색소 분자의 metachromasy에 관한 연구는 생체조직의 염색이나 항생제 등으로서 유기색소의 기능에 대한 매우 중요한 자료를 제공 하리라 본다.

본 연구에서는 BR 존재하에서 MB의 metachromasy를 알아보고, 여러 농도의 MB 용액 조건에서 인지질 vesicle이 존재할 때 MB의 metachromasy를 연구하고자 한다. 또한 인지질로 재구성된 BR vesicle에서 이중층막이 고체상에서 액정상으로서 상전이 가 일어날 때 MB의 metachromasy를 고찰하고자 한다.

## 실 험

**기구 및 시약.** Methylene blue, L- $\alpha$ -lecithin(soy bean), bacteriological peptone, tris(hydroxymethyl) methylamine, dialysis sack 그리고 D-Nase 등은 Sigma사 제품을 사용했고, NaOH, HCl, KCl, NaCl, MgSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, MnSO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, FeCl<sub>2</sub> 그리고 CuSO<sub>4</sub> 등은 Junsei사의 GR급을 정제없이 사용했다. UV/VIS spectrophotometer는 Pye-Unicam사의 model SP8-400을 사용했고, pH 미터는 Orion사의 model 611을 사용했으며, 초음파발생기는 태금사의 20 KHz ultrasonicator를 배지배양기는 Fisher사의 (model 129) shaking water bath( $\pm 1^\circ\text{C}$ )를 원심분리기는 Shimatzu사의 ultracentrifuger를 사용했다.

**Halobacterium halobium R<sub>1</sub>의 배양 및 BR의 분리.** 각 3000 ml 삼각 flask에 배지용액 1000 ml (NaCl 250 g, MgSO<sub>4</sub> 20 g, KCl 2 g, CaCl<sub>2</sub> 0.2 g, ba-

cto-peptone 10 g, MnSO<sub>4</sub> 3 mg, FeCl<sub>2</sub> 23 mg, ZnSO<sub>4</sub> 4.4 mg, CuSO<sub>4</sub> 50 mg)씩을 넣고, 여기에 H-halobium R<sub>1</sub>을 접종하여 100~150 rpm으로 흔들며 배양하였다. 이때 온도는 40°C로 유지하면서 100 W 백열전구 4개로 빛을 조사하면서 4일간 배양하였다. 이 배양액을 13000 g에서 원심분리한 침전물을 기본 용액에 용해시킨 후 D-Nase 5 mg을 넣고 0.1 M-NaCl 용액에서 24시간 투석시켰다. 이때 세포가 파괴된 맑은 적색 용균물을 40000 g에서 40분간 원심분리하여 붉은 자주빛의 BR을 얻었다. 그리고 homogenizer를 사용하여 균일용액을 만든 후 반복 원심분리하여 최종의 침전 BR을 얻었으며, 4°C 이하로 냉장보관했다.

**BR의 재구성 및 MB 수용액의 제조.** 0.1 M-tris base 완충용액(pH=7.5)에 10 mmol L- $\alpha$ -lecithin을 vortexing한 현탁액을 2~3분 초음파 처리하여 맑은 vesicle을 만들고, 이 제조된 vesicle에 진한 BR 용액을 가한 후 얼음물로 냉각하면서 재초음파 처리하여 BR을 재구성 시켰으며 4°C 이하로 보관했다. Tris-buffer에 MB의 보관용액을 1 mM로 만들었으며 차광하에 보관하였다<sup>9</sup>. 이때 사용한 모든 수용액은 이차중류수를 사용했으며, 5일 이내 사용했다.

## 결과 및 고찰

**MB 및 인지질의 농도효과.** 여러 MB 농도에 따른 스펙트럼은 Fig. 1과 같다. MB의 농도 증가에 따른  $\alpha$  흡수띠의 증가율보다  $\beta$  흡수띠의 증가율이 더욱 크게 나타났다. 이것은 MB의 농도가 증가함에 따라 이합체가 형성됨을 의미하며, 더욱 진한 MB 농도에서 더욱 단과장에 새로운  $\gamma$  흡수띠가 나타났다. 이것은 다분자 회합체(oligomer)로 알려져 있다. MB의 농도를  $1.29 \times 10^{-5} M$ 로 유지하면서 지질의 농도를 변화시킬 때 흡광도 변화를 Fig. 2에 나타냈다. 지질과 MB의 농도비([lipid]/[MB])가 60 ( $X_1=0.98$ ) 부근 이상에서는 상대적인 흡광도비( $\alpha/\beta$ )가 다시 증가했다. 또한 MB의 농도를  $2.59 \times 10^{-5} M$ 로 유지할 때에도 농도비가 16( $X_1=0.94$ ) 부근에서 흡광도비가 다시 증가하는 것으로 관측되었다. 더욱 진한 MB 농도( $3.79 \times 10^{-5} M$ )에서는 농도비가 14 ( $X_1=0.94$ ) 부근에서 oligomer에 의한  $\gamma$  흡수띠가

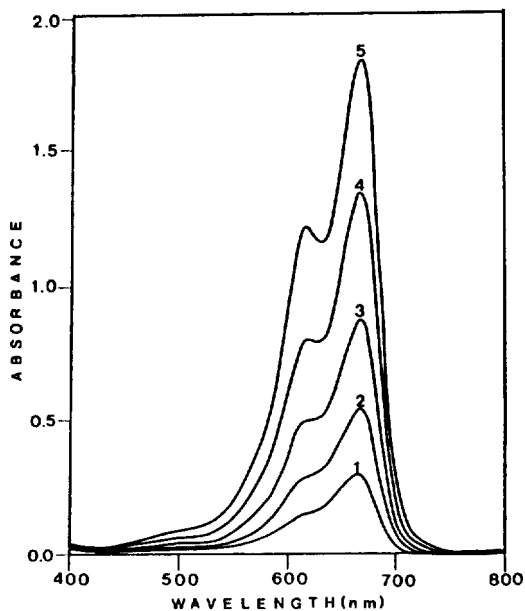


Fig. 1. Absorption spectra of MB at 20°C; 1: [MB] =  $3.24 \times 10^{-6} M$ , 2: [MB] =  $6.47 \times 10^{-6} M$ , 3: [MB] =  $1.29 \times 10^{-5} M$ , 4: [MB] =  $2.55 \times 10^{-5} M$ , 5: [MB] =  $3.79 \times 10^{-5} M$ , 0.01 M tris- buffer (pH=7.4), path length = 10 mm.

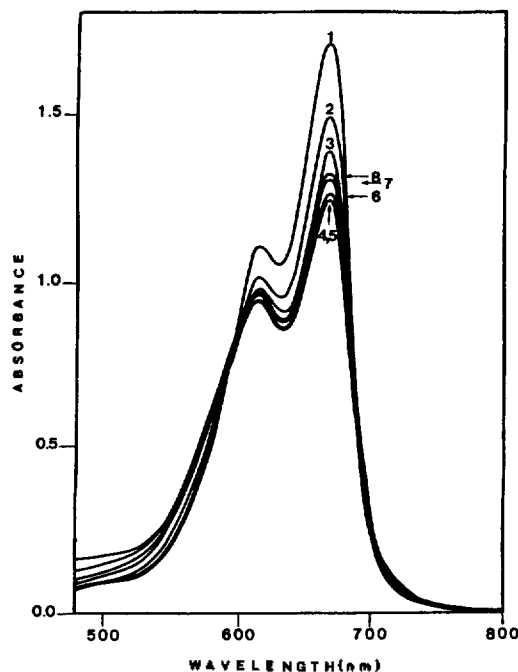


Fig. 3. Absorption spectra of  $3.79 \times 10^{-5} M$  MB in L- $\alpha$ -lecithin vesicle at 20°C; 1:  $X_1=0.300$ , 2:  $X_1=0.390$ , 3:  $X_1=0.658$ , 4:  $X_1=0.818$ , 5:  $X_1=0.876$ , 6:  $X_1=0.936$ , 7:  $X_1=0.965$ , 8:  $X_1=0.976$ , pH=7.4 (tris- buffer),  $X_1 = [\text{lecithin}] / ([\text{lecithin}] + [\text{MB}])$ , path length = 10 mm.

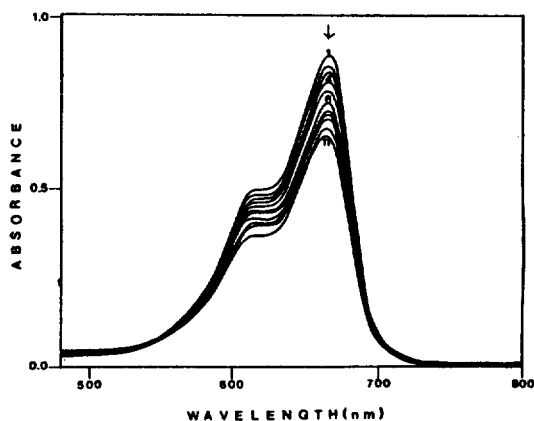


Fig. 2. Absorption spectra of  $1.49 \times 10^{-5} M$  MB in L- $\alpha$ -lecithin vesicle at 20°C; 1:  $X_1=0.460$ , 2:  $X_1=0.635$ , 3:  $X_1=0.723$ , 4:  $X_1=0.886$ , 5:  $X_1=0.919$ , 6:  $X_1=0.966$ , 7:  $X_1=0.974$ , 8:  $X_1=0.985$ , 9:  $X_1=0.988$ , 10:  $X_1=0.991$ , 11:  $X_1=0.993$ , pH=7.4 (tris- buffer),  $X_1 = [\text{lecithin}] / ([\text{lecithin}] + [\text{MB}])$ , path length = 10 mm.

약간 관측되었으며, 더욱 큰 몰분율에서는  $\alpha/\beta$ 가 다시 증가했다(Fig. 3). 묽은 MB 농도에서는 vesi-

cle의 농도가 증가함에 따라 dimer의 형성이 촉진되고, 몰분율 0.95 이상에서는 MB가 monomer로 재분배되나, 비교적 진한 MB 농도에서는 vesicle의 농도가 증가함에 따라 소량의 oligomer( $\gamma$  흡수띠)가 관측되었다. 이는 자체적으로 상당량의 dimer가 형성된 MB 농도 조건에서는 지질이중층막이 MB 분자의 oligomer 형성에 좋은 회합자리를 제공해 주는 것으로 본다. 그러나 MB의 농도가 진할 때에도 vesicle의 양이 많아지면 점점 단위체로 재분배되는 것으로 관측되었다(Fig. 4). 이것은 이중층막 표면에 두 분자 이상의 회합체를 이루고 있던 MB 분자들이 몰분율 0.95 이상에서는 주위의 다량의 이중층막 표면으로 단위체로 재분배가 일어나는 것으로 생각된다.

**Bacteriorhodopsin 효과.** 황산기를 가진 이당류의 반복 사슬구조인 chondroitin sulfate 존재하에서 MB의 metachromasy는  $[\text{polymer}]/[\text{MB}]$  비가 0.8 이상에서  $\gamma$  흡수띠가 명확히 나타난다<sup>6</sup>. 248개의

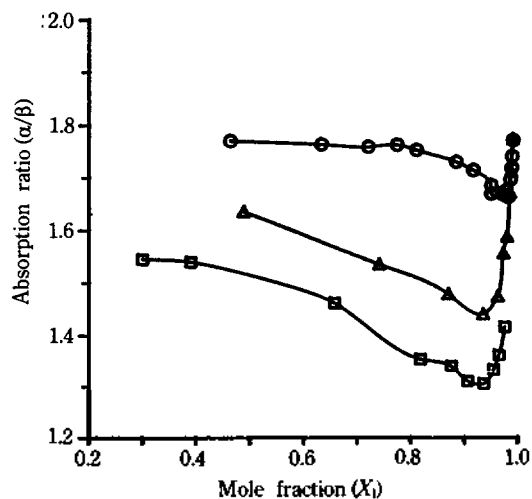


Fig. 4. Plots of absorption ratio ( $\alpha/\beta$ ) of MB as a function of mole fraction of L- $\alpha$ -lecithin vesicle at 20°C:  $\circ$ :  $[MB]=1.29 \times 10^{-5} M$ ,  $\triangle$ :  $[MB]=2.60 \times 10^{-5} M$ ,  $\square$ :  $[MB]=3.79 \times 10^{-5} M$ ,  $X_1=[\text{lecithin}]/([\text{lecithin}] + [MB])$ .

아미노산이 polypeptide 결합을 이룬 BR은 분자는 각각 30개 정도의 아미노산사슬로 구성된  $\alpha$ -helix 구조가 7개의 막대모양으로 지질막에 수직으로 배열되어 있다<sup>11-13</sup>. BR을 여러 인지질막에 재구성시켰을 때에 proton pumping이 나타나며<sup>14</sup>, 본 실험에서 BR의 농도가 약  $7.3 \times 10^{-6} M$ 이 되는  $1.5 \times 10^{-5} M$  InBR vesicle(5 ml)에서  $\Delta pH/\Delta t$ 는 0.001/min으로 나타났다. Fig. 5는  $1.19 \times 10^{-5} M$  BR에서 MB의 농도변화에 따른 흡수스펙트럼이다. MB의 몰분율이 0.6 부근에서  $\alpha/\beta$ 가 최대로 나타났다. 이것은 이 조건에서 MB가 단위체로 가장 많이 존재하며, MB 농도가 더욱 진해지면 MB 분자들 자체가 많은 비율로 이합체를 형성하기 때문에 BR의 존재는 이합체나 다분자회합체의 형성을 더욱 촉진시키는 것으로 생각된다(Fig. 7). Fig. 6은  $1.29 \times 10^{-5} M$  MB 농도에서 BR 첨가에 따른 MB의 흡수스펙트럼이다. BR의 몰분율 0.05 부근까지는 동흡광점(594 nm)이 잘 맞았으나 몰분율이 증가하면서 동흡광점이 일치하지 않았다. 이것은  $\alpha-\beta \leftrightarrow \gamma$  사이의 화학평형이 깨지는 것으로 MB 분자들이 회합되는 BR 분자의 회합자리의 입체적인 위치 차이에 의한 것으로 생각된다. BR 분자에서 친수성 아미노산들은 분자내

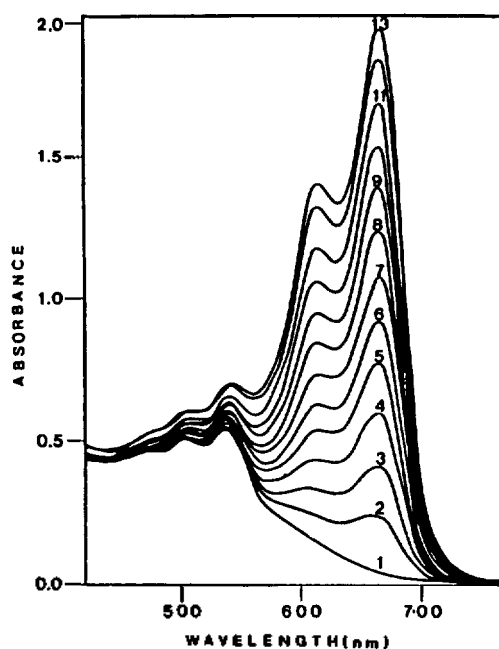


Fig. 5. Absorption spectra on the various MB concentration in the presence of  $1.19 \times 10^{-5} M$  BR at 20°C: 1:  $X_{MB}=0$ , 2:  $X_{MB}=0.214$ , 3:  $X_{MB}=0.354$ , 4:  $X_{MB}=0.451$ , 5:  $X_{MB}=0.522$ , 6:  $X_{MB}=0.578$ , 7:  $X_{MB}=0.621$ , 8:  $X_{MB}=0.657$ , 9:  $X_{MB}=0.685$ , 10:  $X_{MB}=0.711$ , 11:  $X_{MB}=0.732$ , 12:  $X_{MB}=0.750$ , 13:  $X_{MB}=0.766$ ,  $X_{MB}=[MB]/([BR]+[MB])$ , pH=7.4.

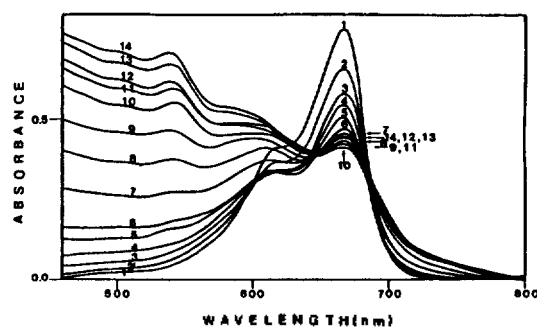


Fig. 6. Absorption spectra of  $1.29 \times 10^{-5} M$  MB in the presence of BR at 20°C: 1:  $X_{BR}=0$ , 2:  $X_{BR}=0.0206$ , 3:  $X_{BR}=0.0406$ , 4:  $X_{BR}=0.0600$ , 5:  $X_{BR}=0.0961$ , 6:  $X_{BR}=0.160$ , 7:  $X_{BR}=0.215$ , 8:  $X_{BR}=0.264$ , 9:  $X_{BR}=0.307$ , 10:  $X_{BR}=0.380$ , 11:  $X_{BR}=0.439$ , 12:  $X_{BR}=0.463$ , 13:  $X_{BR}=0.489$ , 14:  $X_{BR}=0.529$ ,  $X_{BR}=[BR]/([BR]+[MB])$ , pH=7.4.

부에 놓이게 되어 친수성결합을 이루며, 소수성 아미노산들은 BR 분자의 바깥쪽에 놓이게 되며 pro-

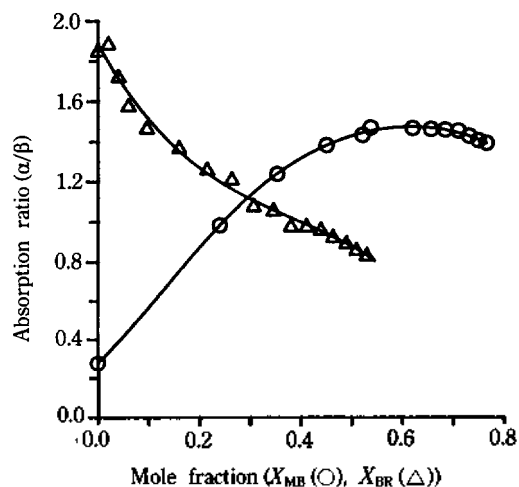


Fig. 7. Plots of absorption ratio ( $\alpha/\beta$ ) of MB as a function of mole fraction of MB and BR in the presence of  $1.19 \times 10^{-5} M$  BR (○) and  $1.29 \times 10^{-5} M$  MB (Δ),  $X_{MB} = [MB]/([BR] + [MB])$ ,  $X_{BR} = [BR]/([BR] + [MB])$ , respectively, pH=7.4.

teolipid들과 소수성 상호작용을 하게 된다(inside-out 형태)<sup>15</sup>. 그러므로 MB 분자들은 peptide 결합 사슬 중에 끝잔기에 있는 친수성 아미노산 부분에서 보다 많이 회합되게 될 것이다. 물분율이 0.05 이상에서는  $\alpha$ 나  $\beta$  흡수띠는 약해지며 더욱 단파장쪽의 흡수띠가 크게 증가하였다. 이것은 BR이 고분자인 chondrothin sulfate에 비해 MB 분자들의 회합체 형성을 매우 촉진시키며, 장파장에서 보이는 J-회합체의 흡수띠가 나타나지 않는 것으로 보아 이합체 이상의 회합체를 형성한 것으로 보인다. 또한 단파장에서의 흡수띠의 증가율은 BR만의 흡수띠의 (500 nm;  $\epsilon = 42000 M^{-1} cm^{-1}$ ) 증가량보다 크게 나타났다(Fig. 6의 스펙트럼 10;  $[BR] = 3.4 \times 10^{-6} M$ ). Fig. 8은 인지질로 재구성된 InBR vesicle의 농도 증가에 대한  $1.29 \times 10^{-5} M$  MB의 흡수스펙트럼이다. Fig. 6과 8은 물분율에 대한  $\alpha/\beta$ 를 Fig. 9에 각각 그렸다. Fig. 8에서 MB의 농도가 일정할 때 InBR이 증가함에 따라  $\gamma$  흡수띠가 증가하면서 594 nm에서 동흡광점이 잘 일치했다. 인지질에 재구성된 BR(InBR)은 integrated protein이므로 유리 BR에 비해 구조적으로 안정하다. 결과적으로 InBR vesicle에서 MB 분자들은 지질의 친수성 부분에서 보다 구조적으로 안정화된 BR의 친수성 부분에서 많은 회합체를 형

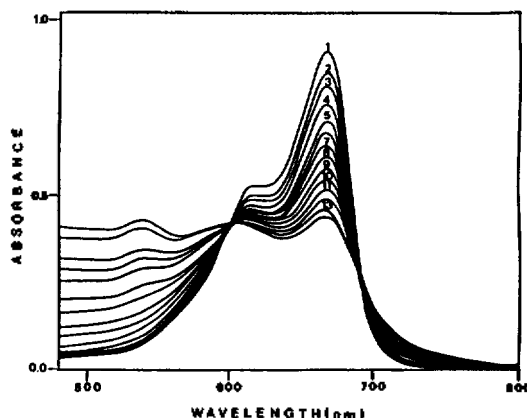


Fig. 8. Absorption spectra of  $1.29 \times 10^{-5} M$  MB in the presence of incorporated BR-L- $\alpha$ -lecithin vesicle at 20°C: 1:  $X_{InBR} = 0.369$ , 2:  $X_{InBR} = 0.506$ , 3:  $X_{InBR} = 0.635$ , 4:  $X_{InBR} = 0.744$ , 5:  $X_{InBR} = 0.839$ , 6:  $X_{InBR} = 0.883$ , 7:  $X_{InBR} = 0.933$ , 8:  $X_{InBR} = 0.968$ , 9:  $X_{InBR} = 0.977$ , 10:  $X_{InBR} = 0.982$ , 11:  $X_{InBR} = 0.985$ , 12:  $X_{InBR} = 0.987$ , 13:  $X_{InBR} = 0.990$ , 14:  $X_{InBR} = 0.991$ ,  $X_{InBR} = [InBR]/([InBR] + [MB])$ , pH=7.4.

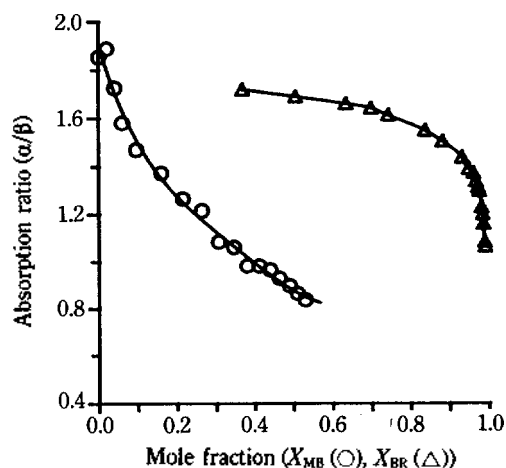


Fig. 9. Plots of absorption ratio ( $\alpha/\beta$ ) of  $1.29 \times 10^{-5} M$  MB as a function of mole fraction of BR (○) and InBR vesicle (Δ) at 20°C

성하게 될 것이므로 높은 InBR vesicle 농도에서 더 많은 다분자회합체를 이루게 되는 것으로 생각된다. MB 분자들은 유리 BR과 비교할 때 InBR vesicle에서 monomer-dimer $\leftrightarrow$ oligomer 평형이 잘 이루어지는 것으로 본다. 또한 Fig. 4와 비교할 때, Fig. 9에서는 물분율( $X_{InBR} = [InBR]/([MB] + [InBR])$ )

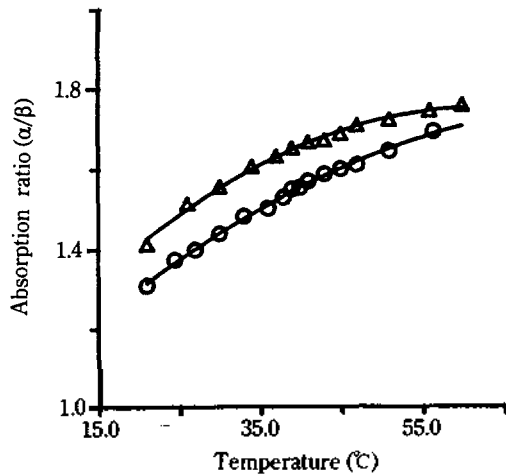


Fig. 10. Temperature dependences of absorption ratio ( $\alpha/\beta$ ) of  $3.64 \times 10^{-5} M$  MB (○) and  $2.45 \times 10^{-5} M$  MB (△) in the presence of  $3.75 \times 10^{-4} M$  L- $\alpha$ -lecithin vesicle, pH=7.4 (tris- buffer).

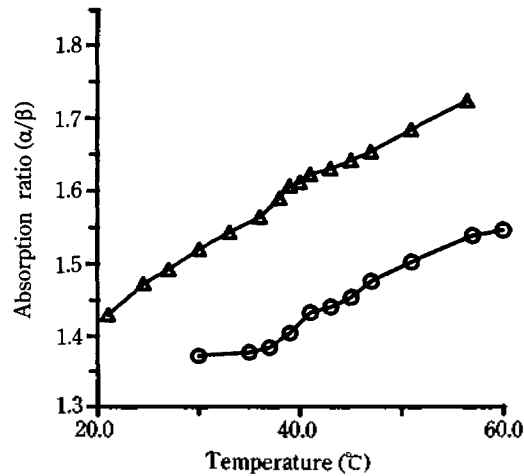


Fig. 11. Temperature dependences of absorption ratio ( $\alpha/\beta$ ) of  $1.60 \times 10^{-5} M$  MB in the presence of  $1.12 \times 10^{-3} M$  InBR vesicle (○) and  $2.93 \times 10^{-3} M$  InBR vesicle (△).

0.95 이상에서  $\alpha/\beta$ 가 다시 증가하지 않는 것으로 나타났다. 이것은 BR 분자 위에 이미 형성된 MB 분자 회합체는 InBR vesicle에서 매우 안정화되어 L- $\alpha$ -lecithin vesicle에 비해 단위체로 재분배가 쉽게 일어나지 않는 것으로 생각된다.

**온도효과.** Fig. 10에  $[\text{lecithin}] = 3.75 \times 10^{-4} M$ 에서 MB의 농도가 각각  $3.64 \times 10^{-5} M$ 과  $2.45 \times 10^{-5} M$ 일 때 온도에 대한 흡광도비( $\alpha/\beta$ )를 나타내었다. 두 경우 L- $\alpha$ -lecithin의 주성분인 dipalmitoyl phosphatidyl choline의 상전이 온도( $38 \sim 42^\circ\text{C}$ )에<sup>16</sup> 크게 영향을 받지 않았다. MB만의 수용액에서 온도에 대한  $\alpha/\beta$ 는 Fig. 10에 비해 매우 완만한 곡선으로 나타난다<sup>17</sup>. 또한 유기용매 증발법으로 제조한  $3.2 \times 10^{-5} M$  lecithin vesicle에서  $4.5 \times 10^{-5} M$  MB의 온도에 대한  $\alpha/\beta$ 의 그래프에서도 Fig. 10에 비해 비교적 완만한 곡선으로 관측되었다<sup>6</sup>. 이것은 본 실험에서 직접 초음파 처리법으로 제조한 vesicle보다 유기용매 증발법으로 제조한 vesicle이 매우 크기 때문에<sup>18</sup> 이중층막의 유동도가 증가함에 따라 막의 친수성 부분에서 회합하는 MB 분자들의 평형에는 큰 영향을 주지 못하거나, 또는 vesicle의 상대적인 농도가 묽기 때문인 것으로 생각된다. 그리고 MB의 단위체의 흡수띠(667 nm)나 이합체의 흡수띠(612 nm)는 비교적 단파장인 BR의 흡수띠(540 nm 이하)

의 영향을 적게 받으며, BR이나 InBR의 온도에 따른 흡수대의 변화에 의한 MB 흡수띠들( $\alpha$ ,  $\beta$ )의 영향은 매우 미약하다. 진한 InBR vesicle 농도( $[\text{InBR}] = 1.12 \times 10^{-3} M$ )에서 지질막의 상전이에  $\alpha/\beta$ 가 영향을 받았다(Fig. 11). 이것은 상전이 이하의 낮은 온도의 InBR vesicle에서는 지질의 사슬과 BR간의 큰 소수성 효과로 인해 BR의 친수성부분이 안정화되어 BR의 친수성부분과 MB분자들의 회합을 잘 이루나, 상전이 온도에 도달하면 지질사슬의 유동도가 증가되면서 지질의 머릿군과 BR의 친수성부분과의 친수성 효과가 증가하기 때문에, BR의 친수성 부분에서 회합을 이루고 있던 MB 분자들은 막의 전체 표면으로 재분배되어 단위체로 존재하게 되는 것으로 사료된다.

## 결론

L- $\alpha$ -lecithin vesicle 존재하에서 MB 분자의 회합은 묽은 MB 농도에서는 단위체와 이합체 간의 평형만이 나타났으나, 진한 MB 농도에서는 oligomer가 형성되었다. MB 농도에 비해 vesicle의 농도가 매우 진할 때 MB 회합체는 단위체로 재분배되었다. 일정한 유리 BR 농도에서( $[\text{MB}]/[\text{BR}] \approx 1.5$ ) MB는 단위체가 가장 많이 존재했으나, 일정한

MB 농도하에서 MB 분자들은 BR의 농도가 증가함에 따라 단위체나 이합체와 평형을 거의 이루지 않는 다분자회합체를 형성하였다. InBR vesicle 존재하에서 MB 분자들은 단위체나 이합체가 oligomer와 평형을 이루었으며, lecithin vesicle에 비해 다분자회합체를 상당량 형성하였다. InBR vesicle에서 MB 분자들은 vesicle의 상전이 온도에서 흡광도비( $\alpha/\beta$ )가 증가했으나 lecithin vesicle에서는 상전이 온도에 거의 무관하게 나타났다. 이것은 InBR vesicle에서 BR 분자에 회합되어 있던 MB 분자들은 지질분자의 상전이에 영향을 받는 BR의 친수성부분에서 단위체로 vesicle의 지질표면에 재분배되는 것으로 사료된다.

#### 인 용 문 헌

1. E. T. Clark and H. G. Drickamer, *J. Phys. Chem.*, **90**, 589 (1986).
2. I. L. Arbeloa and K. K. Rohatgi-Mukerjee, *Spectrochimica Acta*, **44A**, 423 (1981).
3. R. E. Ballard and C. H. Park, *J. Chem. Soc.*, (A), 1340 (1970).
4. V. Vitagliano and L. Costantino, *Bull. Soc. Natur. Napoli*, **78**, 169 (1976).
5. B. Lerebours, H. J. Watgke, and J. H. Fendler, *J. Phys. Chem.*, **94**(4), 1632~1641 (1990).
6. H. Lee and H. S. Lee, *J. Kor. Chem. Soc.*, **35**(6), 612~616 (1991).
7. (a) K. K. B. Fung and L. Stryer, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **77**, 2500~2504 (1980); (b) C. W. Wu and L. Stryer, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 1104~1108 (1972).
8. C. T. Cordoran, K. Z. Ismail, and M. A. Elsayed, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **84**, 4094~4098 (1987).
9. R. R. Birge, L. A. Finsen, and B. M. Pier, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5041~5043 (1987).
10. K. Bergmann and C. T. O'Konski, *J. Phys. Chem.*, **67**, 2169 (1963).
11. D. M. Engelman, R. Henderson, A. D. McLachlan, and B. A. Wallace, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **77**, 2023~2027 (1980).
12. K. S. Huang, H. Bayley, and H. G. Khorana, *Proc. Natl. Sci. U. S. A.*, **77**, 323~327 (1980).
13. J. S. Seehra and H. G. Khorana, *J. Biol. Chem.*, **259**, 4187~4193 (1984).
14. M. Renard and M. Delmelle, *Biochimica Biophysica Acta*, **809**, 331~336 (1985).
15. D. M. Engelman, *Biophys. J.*, **37**, 187~188 (1982).
16. S. Mabrey, P. L. Mateo, and J. M. Sturtevant, *Biochemistry*, **17**, 2464~2468 (1978).
17. D. R. Lemin and T. Vikerstaff, *Trans. Faraday Soc.*, **43**, 491 (1947).
18. D. Deamer and A. D. Bangham, *Biochimica Biophysica Acta*, **443**, 629~634 (1976).