Journal of the Korean Chemical Society
Vol. 37, No. 11, 1993
Printed in the Republic of Korea

단 신

光化學反應 微分照射熱量法에 의한 L-α-Lecithin으로 재구성된 Bacteriorhodopsin Vesicle계에서 Methylene Blue의 회합효과에 의한 상전이 연구

李 弘* · 李厚卨
원광대학교 자연과학대학 화학과
(1993. 6. 11 접수)

A Study on the Phase Transition by the Association of Methylene Blue in Bacteriorhodopsin-Incorporated L-α-Lecithin Vesicle System using Photochemical Reaction Differential Scanning Calorimetry

Hong Lee* and Hoo-Seol Lee
Department of Chemistry, Wonkwang University, Iri 570-749, Korea
(Received June 11, 1993)

유기색소분자들이 수용액하에서 색소분자의 일정 농도 범위에서 색소분자의 농도의 증가에 따라 색소분자들이 자체 분자회합(self-association)을 형성하거나[1~5], 친수성 표면을 가지는 인지질 vesicle 수용액에서 분자회합[6] 및 음이온성 고분자 전해질 존재하에서의 색소분자들에 분자회합에 기인한 흡수 spectra의 특성적인 변화현상[7~15]을 총괄하여 metachromasy 현상이라고 한다. 이와 같은 색소분자의 회합현상을 본 연구진은 친수성을 가지는 인지질 vesicle 수용액 존재하에서 metachromatic dye인 Methylene blue(MB)가 나타내는 특성적인 metachromasy을 연구한 바 있으며[16], 또한 bacteriorhodopsin(BR)으로 재구성된 인지질 vesicle(InBR) 존재하에서도 MB의 분자회합 효과에 관한 보고를 한 바 있다[17](*Fig.* 1). 이는 인지질만으로 이루어진 vesicle 존재에서보다 BR으로 재구성시킨 vesicle의 존재하에서 나타내는 MB 분자의 분자회합 효과가 이중층막의 상전이 온도부근에서 monomer와 dimer의 흡수대의 흡광도의 비(α/β)가 크게 증가했다. 이것은 상전이 온도 이하의 고체상에서는 인지질의 사슬과 BR의 소수성 부분의 소수성 효과보다는 안정화된 BR의 머릿국과 친수성 부분과의 친수성 효과가 BR의 친수성 부분에 결합하여 회합한 MB 분자들이 막 전체표면에 재분배된 것으로 설명했다[17].

Rhodopsin과 비슷한 구조를 가지는 BR은 친할로겐 박테리아의 바깥 막에서 발견되며, 이는 빛의 조사에 따라 광순환이 일어나며 proton을 pumping을 한다[18]. 인지질로 재구성된 BR vesicle에서도 빛을 조사하면 또한 proton을 pumping 한다[19,20]. 이와 같이 빛의 조사에 따라 vesicle의 내부에서 외부로 proton을 pumping하므로 이 효과가 vesicle 표면에서 MB 분자들이 나타내는 분자회합 효과와 인지질의 이중층막의 상전이 효과의 특성에 어떠한 영향을 미치고 있는가를 고찰하기 위하여 본 연구에서는 photochemical reaction differential scanning calorimeter(SSC 5200H Seiko Instruments Inc.)를 사용하여 빛의 유무에 따른 L-α-lecithin vesicle, Halobacterium halobium으로부터 분리한 BR, L-α-lecithin으로 재구성된 BR vesicle(InBR), 마지막으로 MB와 L-α-lecithin계, L-α-lecithin으로 재구성된 InBR vesicle 존재하에서 MB가 첨가된 계들의 thermogram들을 각각 얻어서 고찰하고자 한다.

Photochemical reaction differential scanning calorimeter의 Xe-lamp로부터 중심파장이 436 nm인

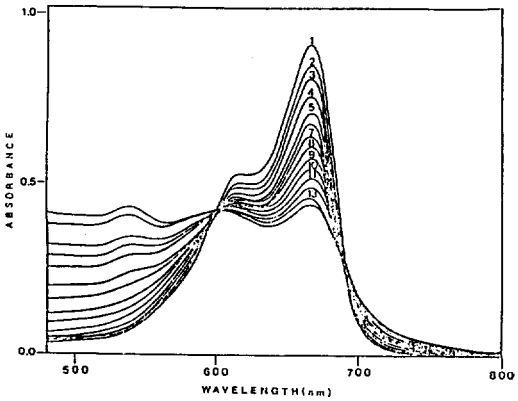

Fig. 1. Absorption spectra of $1.29\times10^{-5}M$ MB in the presence of incorporated BR-L-α-lecithin vesicle at 20℃; 1: $X_{InBR}=0.369$, 2: $X_{InBR}=0.506$, 3: $X_{InBR}=0.635$, 4: $X_{InBR}=0.744$, 5: $X_{InBR}=0.839$, 6: $X_{InBR}=0.883$, 7: $X_{InBR}=0.933$, 8: $X_{InBR}=0.968$, 9: $X_{InBR}=0.977$, 10: $X_{InBR}=0.982$, 11: $X_{InBR}=.985$, 12: $X_{InBR}=0.987$, 13: $X_{InBR}=0.990$, 14: $X_{InBR}=0.991$, $X_{InBR}=[InBR]/([InBR]+[MB^-])$, pH=7.4[5].

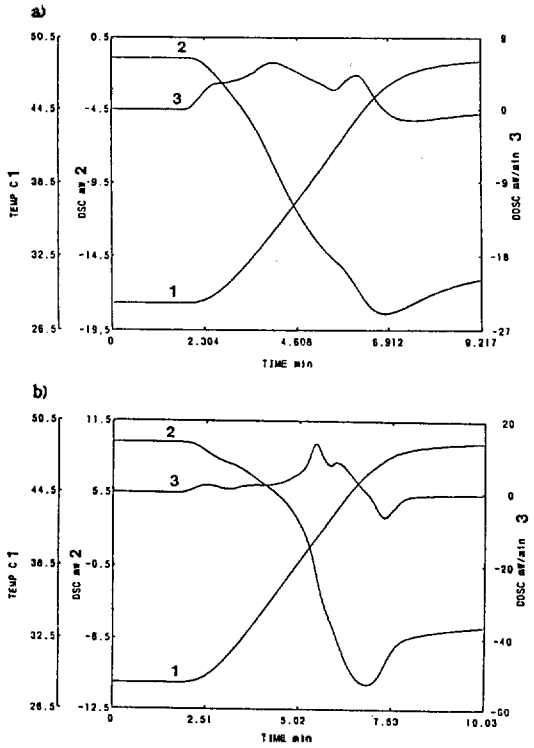

Fig. 2. D.S.C. thermograms of L-α-lecithin vesicle: (a) no illumination of light, (b) steady illumination of light (436 nm). [lipid]=$6.27\times10^{-4}M$; [vesicle+tris-buffer]=32.5 mg, reference=Al pan.

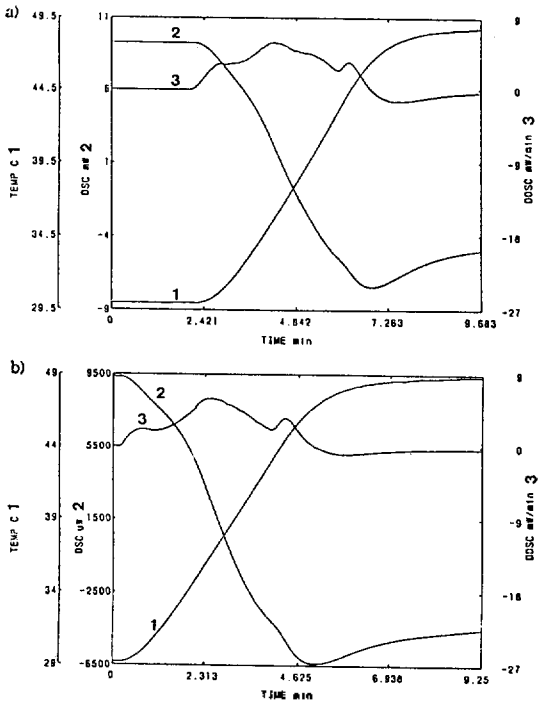

Fig. 3. D.S.C. thermogram of bacteriorhodopsin; (a) no illumination of light (436 nm), [BR]=$1\times10^{-5}M$; [BR+tris-buffer]=24.1 mg, reference=Al pan.

interference filter를 지나 광섬유를 통해 나온 빛의 강도가 10 mW/cm²인 빛의 조사 유무에 따른 L-α-lecithin vesicle의 thermogram을 *Fig.* 2에 나타냈다. 이 thermogram을 살펴보면 빛의 조사 유무에 관계없이 L-α-lecithin의 주성분인 dipalmitoyl phosphatidyl choline의 상전이 온도 구간인 37~41℃로 나타났다. 한편 *Fig.* 3은 BR만의 thermogram으로서 BR내에 존재하는 proteolipid의 영향 때문에 일어나는 온도 구간인 36~40℃에서 상전이가 나타난 것으로 사료된다.

BR의 효과를 관찰하기 위하여 기준 cell에 L-α-lecithin vesicle을 넣고 시료 cell에는 L-α-lecithin로 재구성된 BR vesicle(InBR)를 넣고 비교 측정한 thermogram(*Fig.* 4)이다. 여기서 *Fig.* 4(a)는 빛을 조사하지 않고 측정한 thermogram이고, *Fig.* 4(b)는 빛을 조사하고 측정한 thermogram이다. 위의 결과들은 빛의 조사 유무에 관계없이 흡열적 상전이 효과가 나타났다. 그러나 빛을 조사하여 측정한 경우에는 40℃ 부근에서 상전이가 관측된다. 이것은 BR의

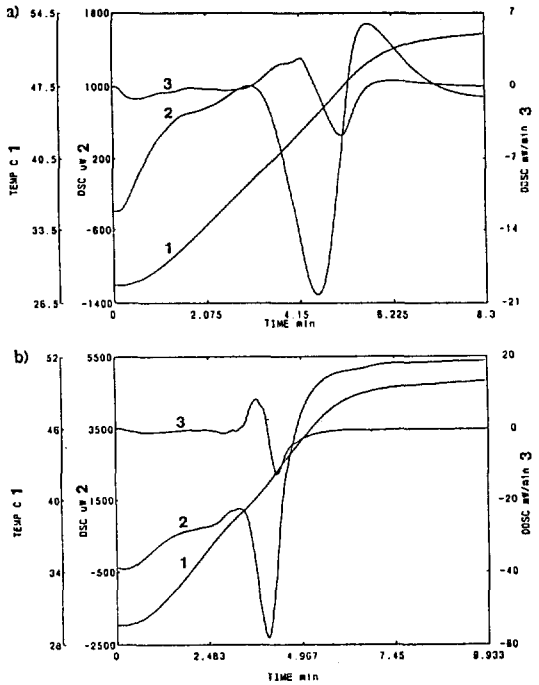

Fig. 4. D.S.C. thermogram of InBR vesicle; (a) no illumination of light (b) steady illumination of light (436 nm), [InBR]=6.27×10^{-4} *M*; [InBR+tris-buffer]=24.7 mg, reference=[vesicle+tris-buffer]=24.0 mg.

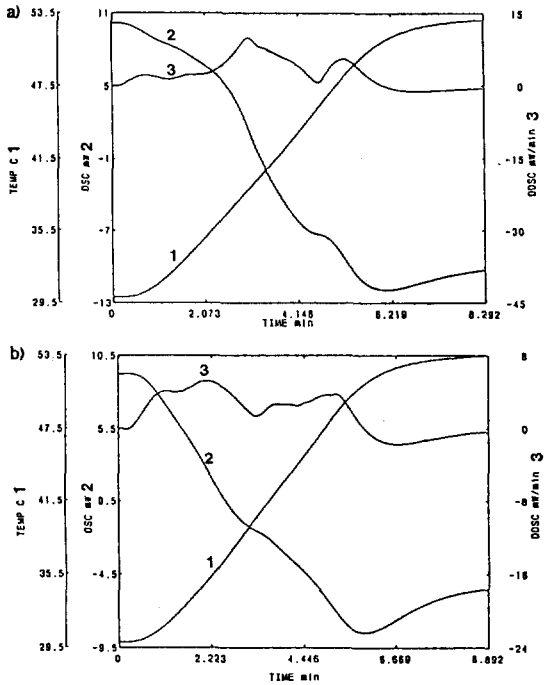

Fig. 5. D.S.C. thermogram of L-α-lecithin vesicle with MB; (a) no illumition of light, (b) steady illumination of light (436 nm), [lipid]=6.72×10^{-4} *M*, [MB]=3.79×10^{-4} *M*; [MB-lipid+tris-buffer]=33.6 mg, reference=Al pan.

최대파장(500 nm) 보다는 짧은 파장의 빛을 흡수하여 광순환 회로를 돌면서[21] 이중층막내에서 일정한 배열 형태를 취하고 L-α-lecithin의 사슬과의 소수성 작용효과가 감소된 것으로 생각된다.

MB의 분자회합에 대한 효과를 관찰하기 위하여 L-α-lecithin vesicle에 MB를 첨가하여 얻은 thermogram(*Fig.* 5)으로서 빛의 조사 유무에 관계없이 상전이 온도가 38~40℃ 부근임이 나타나고 있다. 이것은 L-α-lecithin vesicle만의 thermogram(*Fig.* 2)에 나타난 바와 같이 MB 분자들이 vesicle 표면에서 분자회합을 하고 있는 MB 분자회합체들이 흡수한 빛의 에너지가 L-α-lecithin 구조변화에 영향을 주지 못하는 것으로 여겨진다.

L-α-lecithin으로 재구성된 InBR vesicle 존재하에서 MB 분자들이 첨가되었을 경우의 thermogram (*Fig.* 6)으로 빛을 50분 이상 차광하였을 경우는 InBR의 thermogram(*Fig.* 4(a))와 같이 41~42℃ 부근에서 강한 흡열적 상전이가 관측되었으나 연속적으로 빛을 조사하였을 경우에는 발열적 상전이 현상인 46~48℃ 부근에서 상전이가 관측된다. 이 결과는 InBR vesicle의 경우와 아주 다른 현상을 나타내고 있다.

일반적으로 유기색소분자들은 이중층막의 표면에서 분자회합을 하는 것으로 알려져 있고[22], 색소가 긴 소수성 사슬을 가진 경우에는 색소의 사슬부분이 이중층막의 소수성 부분에 파고들며 또한 상전이 전후에 있어서 형광의 편극도에 민감한 영향을 준다. 한편 수용액하에서 일정농도의 MB 분자의 흡수 spectra에 대한 온도효과[23]에서 온도증가는 MB 분자의 분자회합 효과를 약화시킨다. 그러나 본 연구의 경우 cationic dye로 잘 알려진 MB는 감광제로서 감광기능을 가지나, 광색성을 가진 Hemithioindigo 유도체들에서처럼[24] 이중층막의 상전이 현상이 일어나서 액정상에 도달하면 열적인 탈색화 기능을 가지거나 열적인 cis-trans 이성질화 기능을 가진다고 규정할 수 없다. 그렇지만 InBR계에 감광기능과 분자회합 효과를 가진 MB가 존재할 때, 연속적인 빛의

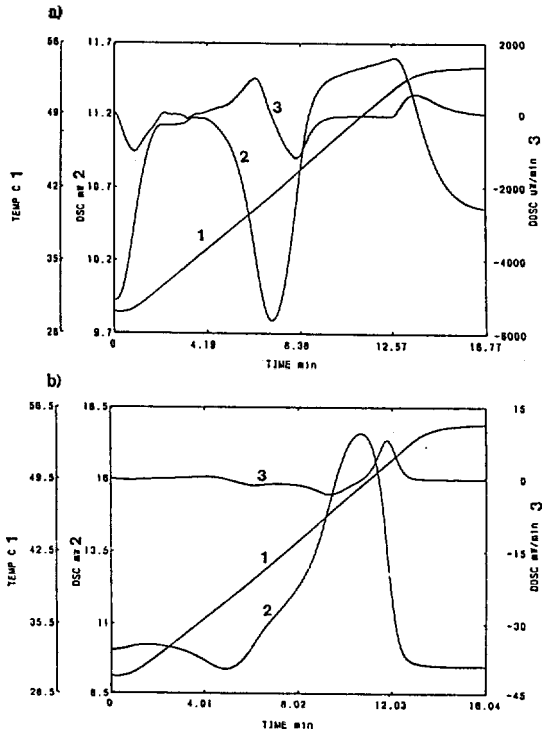

Fig. 6. D.S.C. thermogram of MB-InBR vesicle; (a) no illumination of light, (b) steady illumination of light (436 nm), [MB]$=3.79\times10^{-5}M$, [lipid]$=6.27\times10^{-4}M$, [BR]$=1.81\times10^{-6}M$; [MB-InBR+tris-buffer]=32.4 mg, reference=[vesicle+tris-buffer]=33.0 mg.

조사에 의해 InBR내의 BR이 빛의 영향을 받아서 proton을 pumping하여 vesicle 표면에서의 친수력과 막내부의 소수력이 증가하고, 온도의 영향을 받아 분자회합 효과가 감소하여 이중층막의 물리적 상태와 유동성의 변화에 따라 비교적 높은 온도에서 발열적 상전이가 일어나도록 영향을 준 것으로 사료되나 세부적인 광화학적 mechanism은 앞으로 더욱 많은 연구를 요한다.

이 논문은 1992년도 원광대학교 학술연구조성비(교비)의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

인 용 문 헌

1. P. Mukerjee and A. K. Gosh, *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 6403 (1970).
2. A. K. Gosh and P. Mukerjee, *ibid.*, **92**, 6408 (1970).
3. S. Hada, S. Neja, and N. Funasaki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **65**(2), 314 (1992).
4. E. H. Braswell, *J. Phys. Chem.*, **88**, 3653 (1984).
5. R. E. Ballard and C. H. Park, *J. Chem. Soc.*, A, 1340 (1970).
6. V. Vitagliano and L. Contantino, *Boll. Soc. Natur. Napoli*, **78**, 169 (1969).
7. M. Shirai, T. Nagatsuga, and M. Tanaka, *Chem. Lett.*, 291 (1976).
8. M. Shirai, Y. Nagaoka, and M. Tanaka, *Markromol. Chem.*, **178**, 2141 (1977).
9. M. Shirai, T. Nagatsuka, and M. Tanaka, *ibid.*, **179**, 173 (1978).
10. B. Simionescu and G. Smets, *Die Makromolekulare Chemie. Suppl.* **1**, 249 (1975).
11. V. Vitagliano, L. Costantino, and R. Sartorio, *J. Phys. Chem.*, **80**(9), 959 (1976).
12. M. Shirai, T. Nagatsuka, and M. Tanaka, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.* Ed., **15**, 2083 (1977).
13. V. Vitagliano, L. Costantino, and A. Zagari, *J. Phys. Chem.*, **77**(2), 204 (1973).
14. J. S. Tan and R. L. Schneider, *J. Phys. Chem.*, **79** (134), 1380 (1975).
15. C. H. Park, D. H. Shin, S. S. Yun, M. S. Park, and H. Lee, *J. Kor. Chem. Soc.*, **30**(3), 289 (1986).
16. H. Lee and H. S. Lee, *J. Kor. Chem. Soc.*, **35**(6), 612 (1991).
17. H. Lee, H. O. Pae, C. O. Lim, and H. S. Lee, *J. Kor. Chem. Soc.*, **36**(4), 504 (1992).
18. B. K. K. Fung and L. Stryer, *Pro. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77(5), 2500 (1980).
19. M. Seigneuret and J. L. Rigaud, *FEBS Lett.*, **188** (1), 102 (1985).
20. R. R. Birge, L. A. Finsen, and B. M. Pier, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5041 (1987).
21. N. R. S. Reddy, R. Picorel, and G. J. Small, *J. Phys. Chem.*, **96**, 6458 (1992).
22. N. Nakashima and T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 4261 (1982).
23. C. H. Park, H. A. Park, Y. I. Kim, and S. S. Yun, *Thermochimica Acta*, **80**, 131 (1984).
24. T. Seki, T. Tamaki, T. Yamaguchi, and K. Ichimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **65**, 657 (1992).