

単層 Langmuir-Blodgett 膜における 両親媒性ヘリカルペプチドの配向と表面形態の残基数依存性

Effect of Residue Number to the Orientation of Amphiphilic Helical Peptides

in the Langmuir-Blodgett Monolayers and their Surface Morphologies

明大理工, °飯塚 巧, 檀 知朗, 加藤 徳剛, 佐々木 貴規, 向井 有理

Meiji Univ., °Takumi Iizuka, Tomorou Dan, Noritaka Kato, Takanori Sasaki, Yuri Mukai

E-mail : nkato@isc.meiji.ac.jp

1. 背景・目的

膜貫通タンパク質は膜貫通領域で α ヘリックスを形成し、そのヘリカル軸は膜に対してほぼ垂直に配向している。このような膜貫通タンパク質はイオンチャネルやレセプターに自己組織化する。膜貫通タンパク質の自己組織化能力を Langmuir-Blodgett(LB)法に活かすため、我々は親水性ドメインと疎水性ドメインで構成されている両親媒性ペプチド(AP)に注目している[1,2]。

リジン 3 残基の親水性ドメインと 19 残基の疎水性ドメインから成る $\text{NH}_2\text{-KKKALALAAAAALWLAAAAALALA-CONH}_2$ (AP3-19) の π -A 等温線には、24mN/m 付近にプラトーな領域が観測された。AP3-19 の単層 LB 膜の円偏光二色性(CD)スペクトルを解析すると、プラトー領域を境にヘリカル軸と膜法線の成角が大きく変化し、低圧側で 90° だったのが、高圧側で 60° 以下になった。そこで本研究は、AP3-19 に対し、親水性ドメイン及び疎水性ドメインの残基数が異なる AP を用いて、AP の残基数が膜内でのヘリックスの配向性と表面形態に及ぼす影響について評価することを目的とした。

2. 実験条件

AP3-19 よりも親水性ドメインが 1 残基長い $\text{NH}_2\text{-KKKKALALAAAAALWLAAAAALALA-CONH}_2$ (AP4-19) と、親水性及び疎水性ドメインの残基数を共に減らした $\text{NH}_2\text{-KKLALAAWALALA-CONH}_2$ (AP2-11) を用いた。なお下線部は疎水性ドメインを示している。下層液にはクエン酸緩衝液(pH6.0, $11.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $21.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $41.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$)を使用し、垂直浸漬法により z 型の単層 LB 膜を作製した。ヘリックスの配向と表面形態は、それぞれ円偏光二色性(CD)スペクトルと原子間力顕微鏡を用いて評価した。

3. 実験結果

Fig.1 に下層液 41.5°C の時の π -A 等温線を示す。残基数の少ない AP2-11 は 25mN/m で崩壊してしまうのに対し、残基数の多い AP4-19 では崩壊せずに相転移し、AP3-19 と同様な圧縮率の低い相を形成した。CD スペクトルの結果から、AP2-11 はヘリックス構造が乱れ、他の二次構造が混在することが分かった。そのため残基数の少ない AP2-11 は脂質分子等の膜安定化物質が無い場合は、ヘリックス構造を安定に保てないことが分かった。一方、AP4-19 は下層液の温度が 41.5°C の場合、比較的安定なヘリックス構造を形成し、22~25mN/m 付近のプラトーな領域を境に、ヘリックスの配向角が AP3-19 と同様に 90° から減少する傾向を示した。しかし、下層液の温度を 11.5°C や 21.5°C にするとランダム構造が多く形成され、ヘリックス構造が不安定になった。このことから AP3-19 から少しでも残基数が異なるとペプチドの二次構造に大きな影響をもたらすことが明らかになった。さらに作製条件や累積圧を変化させ、膜の表面形態への影響を評価する。

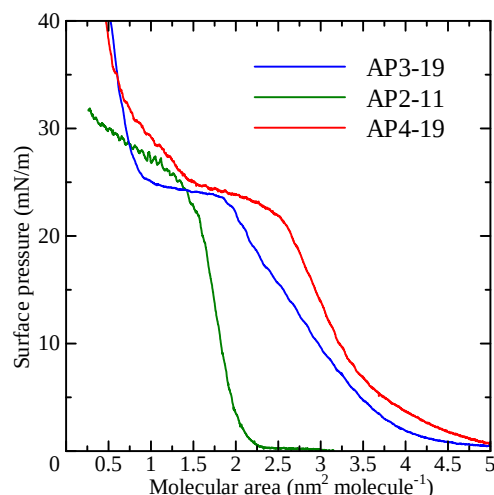


Fig.1 π -A isotherms of the AP monolayers on the citric acid buffer (pH6.0, 41.5°C).

[1] K. Togashi, et al., *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 12, 568-572, 2012.

[2] K. Togashi, et al., *e-Journal of Surface Science and Nanotechnology* 10, 379-387, 2012.