

LB 膜における両親媒性ヘリカルペプチドの アニオン性リン脂質との配位による配向制御性の向上

Orientation of the Amphiphilic Helical Peptides in the LB Monolayer and Improvement in Controllability of the Peptide Orientation Induced by the Complexation with Anionic Phospholipids

明大理工, °檀 知朗, 田中 智大, 加藤 徳剛, 佐々木 貴規, 向井 有理

Meiji Univ., °Tomorou Dan, Tomohiro Tanaka, Noritaka Kato, Takanori Sasaki, Yuri Mukai

E-mail: ce21052@meiji.ac.jp

1.背景と目的 膜貫通タンパク質はポリペプチド鎖の高度な自己組織化能力により、生体膜中でイオンチャネルやレセプターを形成している。我々は、この能力を Langmuir-Blodgett(LB)法に活かすため、両親媒性ペプチド(AP)を使用して、LB 膜中での α ヘリックスの配向制御をし、生体膜を模倣した薄膜の作製を目指している[1-2]。下層液に 21℃のトリス塩酸緩衝液(pH7.0)またはクエン酸緩衝液(pH6.0)を用いた場合、脂質と AP の混合比を変えても、AP のヘリックスは膜面に平行配向するのみで、ヘリックスの配向制御はできなかった[1]。しかし、下層液に 41℃のクエン酸緩衝液(pH6.0)を用いたところ、脂質を混合させなくてもヘリックスの配向をある程度制御することができた[2]。それらの結果を受けて、本研究の目的は、下層液に 41℃のクエン酸緩衝液(pH6.0)を用い、カチオン性の AP とアニオン性の脂質を混合させることで、よりヘリックスを垂直配向に近付け、ヘリックスの配向制御性を向上させることである。

2.実験条件 AP として、 $\text{NH}_2\text{-KKKALALAAAALWLAAAALALA-CONH}_2$ (AP3-19)を使用した。N 末端のリジン(K)3 残基がカチオン性の親水性ドメインで、リジンから C 末端までの 19 残基が疎水性ドメインである。また、アニオン性の脂質として dipalmitoyl phosphatidic acid(DPPA)を用いた。下層液には 41℃のクエン酸緩衝液(pH6.0)を用い、z 型の単層 LB 膜を作製した。ヘリックスの配向と膜表面構造は、それぞれ円偏光二色性(CD)スペクトルと原子間力顕微鏡(AFM)で評価した。

3.実験結果 Fig. 1 に π -A 等温線を示す。また、ヘリックスが膜中で均一な角度で配向していると仮定して、それぞれの累積圧(Fig. 1 中の点)で累積した単層 LB 膜の CD スペクトルを解析して求めた基板法線とヘリカル軸の成す角(θ)の累積圧による変化を Fig. 1 の挿入図に示す。27mN/m 付近のプラトーを境に配向角が大きく変化し、生体膜中のように垂直に近い配向をするようになることが分かった。各累積圧で作製した単層 LB 膜の AFM 像(Fig. 2)から、膜表面形態も大きく変化した。 π -A 等温線と CD スペクトル、AFM 像から得られた情報を基に各累積圧での膜構造のモデルを立て、膜中のヘリックスの配向状態と膜構造の変化の仕方を明らかにする。また、親水性ドメインの異なる AP を用いることで、親水性ドメインが配向に与える影響も調査する。

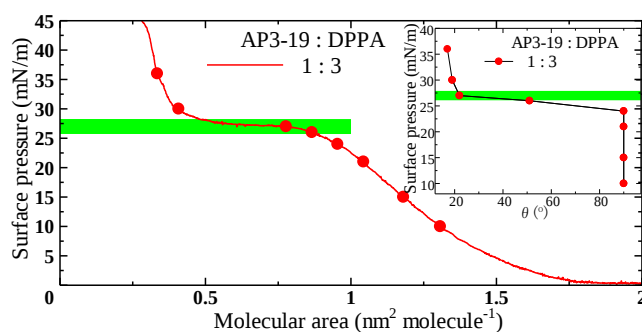


Fig. 1 π -A isotherm of the AP3-19/DPPA mixed monolayer.

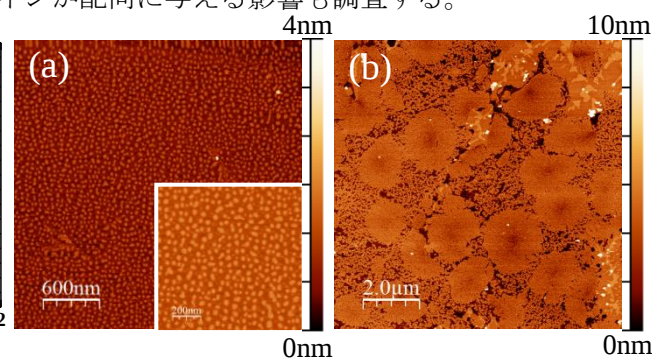


Fig. 2 AFM images of the AP3-19/DPPA mixed LB monolayers deposited at (a) 21mN/m and (b) 36mN/m.

[1] 檀知朗, 他 第 73 回 応用物理学会学術講演会 講演予稿集 (2012) 12a-H4-2

[2] 檀知朗, 他 第 60 回 応用物理学会春季学術講演会 講演予稿集 (2013) 28p-G16-11