

物質研 樋口真弘・田口和宏・J. P. Wright、名工大 木下隆利

〔緒言〕 化学物質が刺激となる情報伝達機能は、アセチルコリンレセプターで見られるように、情報分子の受容体への結合が引き金となり、続く伝達・変換機能が発現されている。この特異的な分子の認識機能は、受容体中の結合部位に存在するアミノ酸が、認識対象分子に対し特定の空間配置を取ることで発現されている。本研究では、認識対象分子により誘起される特異的なポリアミノ酸集合体構造を利用し、対応する受容体の構築を試みた。具体的には、アセチルコリンレセプターを対象とし、基質結合部位に存在するアミノ酸 Asp, Tyr, Trp[1] を末端に導入したポリメチルグルタメートをそれぞれ合成し、脂質膜中で基質により誘起されるポリアミノ酸分子集合体の基質認識能について検討した。

〔結果及び考察〕 s-PMG(Asp), s-PMG(Tyr), s-PMG(Trp), 及び s-PMG を含む DPPC 複合単分子膜を buffer 及び 0.1 mM の ACh を含む buffer 上にそれぞれ形成し、ACh との相互作用により膜中に形成されたポリアミノ酸集合体による ACh 認識特性を SPR 法により評価した。ACh 溶液上で調製した複合単分子膜の共鳴角は、buffer 上で調製した複合単分子膜に比べて大きな共鳴角変化を示した。それぞれの膜の ACh 結合等温曲線(図 1)を比較すると、ACh 溶液上で形成した単分子膜では典型的なラングミュア型等の等温線を示した。この結果は、ACh との相互作用により形成されたポリアミノ酸集合体が膜中で ACh に対し有効な結合サイトとして機能していることが示唆される。

この、ACh 受容体の選択認識能を評価するために、ACh と同じく神経伝達物質である GABA の認識能を同様に SPR 法により評価した。ACh と同程度の共鳴角変化を示すに必要な GABA 濃度は 5 倍以上必要であり、また、ランニングバッファに切り替えた後は、buffer 上で調製した膜の ACh 脱離と同様に素早い共鳴角の減少が観察された。この結果は基質との相互作用により誘起されたポリアミノ酸集合体は、調製時の基質に対し選択的な受容体を形成することを示唆するものである。この結果から、予め末端に種々の官能基を有するポリアミノ酸を用意することで、ポリアミノ酸-脂質複合膜調製時に下水相に加える多様な認識対象物質に対し特異的な結合サイトの形成による多様性を有する受容体の構築が期待される。

## Reference

1. Z. Zhong et. al., *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 95, 12088 (1998)

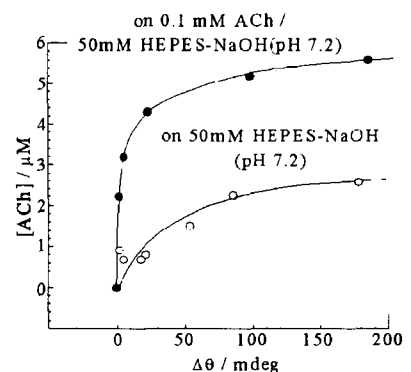


Fig. 1 Binding isotherm of ACh in the DPPC monolayer containing the polypeptide.

名古屋工業大学工学部 土井智清・木下隆利

〔目的〕 神経細胞間の連絡はトランスミッターと呼ばれる化学物質を介して行われているが、トランスミッターによって運ばれた信号は神経膜界面においてインパルスという電気的な振動に変換され、伝達されている。加えて、この信号伝達機能の発現において、神経膜界面での膜タンパク質の両親媒構造に基づく会合形態や分子配向がきわめて重要であるとされている。

そこで本研究では、信号伝達機能を有する界面の人工的構築を主たる目的として、油/水界面において、信号(分子)認識機能を有するポリペプチドを用いて、単分子膜の調製を試みた。具体的には、 $\alpha$ -ヘリックス性のポリ( $\gamma$ -メチル-L-グルタメート)の分子鎖末端に、分子認識能を有しかつ親水性である $\beta$ -シクロデキストリン( $\beta$ -CyD)を配した両親媒性ポリペプチド(PMG<sub>n</sub>-CyD; n: 重合度)を調製し、n-ヘキサン/水界面に単分子膜を形成し、その構造と特性を解析した。その結果、分子配向を制御した状態で $\beta$ -CyD のゲスト分子である 2-p-トルイジニルナフタレン-6-スルホン酸カリウム塩(TNS)を水相に添加したところ周期的な界面圧の変化が自発的に現れた。

〔実験〕 PMG<sub>n</sub>-CyD 単分子膜の形成は、テフロン製トラフに形成したn-ヘキサン/水界面に PMG<sub>n</sub>-CyD の DMF 溶液を逐次展開し行った。その後水相側に CyD のゲスト分子である 2-p-トルイジニルナフタレン-6-スルホン酸(TNS)を添加し、Wilhelmy 法で界面圧の変化を観察した。

〔結果と考察〕 PMG<sub>n</sub>-CyD LB 膜の円二色(CD)スペクトル測定により、PMG<sub>n</sub>-CyD 分子膜中で $\alpha$ -ヘリックス構造をとっていることが示された。n-ヘキサン/水界面における PMG<sub>n</sub>-CyD 単分子膜の界面圧-面積( $\pi$ -A)測定を行った結果、PMG<sub>n</sub>-CyD の界面濃度が増加するに従い $\alpha$ -ヘリックスが界面に対して垂直方向に配向していることが示唆された。そこで、この状態で $\beta$ -CyD のゲスト分子である TNS を水相側に添加し、界面圧の時間変化を測定した。Fig.1 に TNS 添加後(TNS 添加時を横軸ゼロ秒とした)の PMG<sub>19</sub>-CyD 単分子膜の界面圧の挙動を示した。TNS 添加の約 30 秒後から界面圧の自発的な振動が生じた。この界面圧の振動は、0.05Hz を基本周波数とする幾つかの倍音の存在が確認され、規則性の高い振動であることを裏付けた。この振動現象は添加するゲスト分子種やその濃度に依存するため $\beta$ -CyD とゲスト分子との錯体形成が関与しているものと思われる。

このようにゲスト分子という化学信号を認識して、界面圧の振動という形態でこれを伝達するシステムを構築するためには、分子鎖末端に導入した $\beta$ -CyD の分子認識能に加え、界面での分子配向に基づいた PMG ペプチド分子間相互作用が不可欠であろうと考えている。

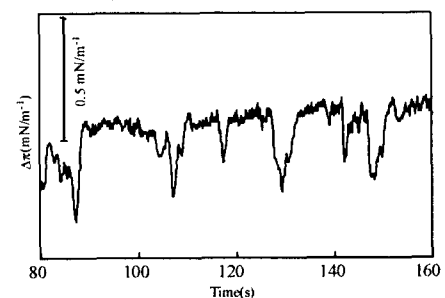


Fig.1 The guest-induced oscillation of the interfacial pressure of PMG<sub>19</sub>-CyD monolayer at n-hexane/water interface.