

Brewster角顕微鏡による繊維状ペプチド単分子膜の

分子凝集過程の検討

日大生産工(院) 佐藤 賀子

東工大院理工 長谷川 健, 日大生産工 澁川 雅美

【はじめに】

人間の脳内での β -アミロイドペプチド($A\beta$)の凝集は、アルツハイマー病の原因のひとつであると考えられているが、 $A\beta$ の凝集沈着のメカニズムは解明されていない。そこで、 $A\beta$ の凝集沈着のメカニズムを詳細に検討するため、 $A\beta$ 中の主要なペプチドセグメントを含むモデル化合物を用いて単分子膜を作製し、分光学的手法やトポグラフィ解析を試みている。

これまでに、 $A\beta$ 中の主要なペプチドセグメント(IIGLM)と同じ構造を持つモデル化合物 C_{18} IIGLM-X(X = $-NH_2$ と $-OH$)を用いてそれぞれ純水表面上に作製した2種類の単分子膜の凝集構造を解析した。その結果、 C_{18} IIGLM- NH_2 単分子膜は、逆平行 β -シート構造を形成し、 C_{18} IIGLM- OH 単分子膜は、平行 β -シート構造を形成している¹⁾ことがわかり、末端基が異なるだけで大きく構造が異なることが明らかになった。

一方、Leblancらは、希薄なCongo Red溶液を下層溶液として C_{18} IIGLM- OH 単分子膜を作製すると、IIGLM間での β -シート構造の形成が抑制されることをエビ蛍光画像解析から示したが、その分子論的な機構はわかっていない。

本研究では、 C_{18} IIGLM- NH_2 単分子膜を希薄なCongo Red溶液を下層溶液として作製し、この単分子膜の圧縮に伴う表面圧および表面双

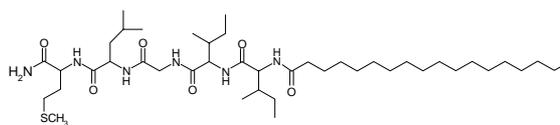
極子モーメントの変化の測定およびBrewster角顕微鏡(BAM)観察により、 C_{18} IIGLM- NH_2 凝集体の成長過程の検討をした。また、既にわかっている下層溶液を純水として作製した単分子膜の凝集体と比較を行った。

【実験】

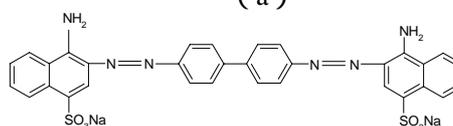
本研究で用いた両親媒性分子 C_{18} IIGLM- NH_2 (分子量 779.17 g mol^{-1})は、Leblancグループにより提供された(図1(a))。 C_{18} IIGLM- NH_2 をクロロホルム-メタノール(体積比5:1)混合溶液(0.375 mg mL^{-1})とし、 $1.00 \times 10^{-7}\text{ M}$ のCongo Red(図1(b))水溶液上(18)に展開して単分子膜を作製した。その後、BAMにより、この単分子膜の凝集体の成長を観察すると同時に、表面圧(π) - 表面積(A)および表面双極子モーメント($\Delta\mu_{\perp}$) - 表面積曲線を測定した。

【結果および考察】

純水およびCongo Red水溶液($1.00 \times 10^{-7}\text{ M}$)



(a)



(b)

図1. (a) C_{18} IIGLM- NH_2 と(b)Congo Redの化学構造

Study of Fibril Formation of a Peptidelipid in Monolayers on Water
by Brewster Angle Microscopy

Yoshiko SATO, Takeshi HASEGAWA, and Masami SHIBUKAWA

上で測定した $C_{18}IIGLM-NH_2$ 単分子膜の π -A曲線を図2に示し, $C_{18}IIGLM-NH_2$ 単分子膜を展開した直後(図2の矢印位置)でのBAMの観察結果を図3に示す。BAMの観察結果から,Congo Red水溶液上では分子自己凝集がほとんど見られないのに対し,純水上ではすでに自己凝集が進んでドメイン構造が点在している。これは,Leblancらのエピ蛍光顕微鏡画像解析による予想と一致する。

一方,同時に測定した π -A曲線を見ると,圧縮に伴って表面積 $1.52 \text{ nm}^2 \text{ molecule}^{-1}$ 付近で,いずれも表面圧の上昇およびそれに続く短い表面圧緩和(プラトー)領域が現れており,BAMで大きな違いが見られたほどには π -A曲線には顕著な差が見られない。

表面圧が上昇を始める面積が,Congo Red水溶液に較べて純水上で小さな値を示しているのは,ドメイン構造が単純なものではないことを意味している。すなわち,固い単分子膜ドメインが海-島構造を持つのであれば,膜に覆われていない水面領域がみかけの膜表面積を大きくし,結果として表面圧の上昇位置が大きくなるはずである。このことから,ドメインが単分子膜構造ではなく,すでに繊維化¹⁾などの3次元化を起こし,予想以上に大きな面積の減少を引き起こしていると考えられる。

続くプラトー領域では,BAM観察結果によると,純水上で顕著にドメイン構造が増加するのに対し,Congo Red水溶液上では多少ドメインが生ずるものの,純水上に較べると有意にその増加は抑制されていた。

ところで,表面双極子モーメントの変化($\Delta\mu_{\perp}$)は,大きな双極子モーメントを有する基の配向変化を反映する。表面双極子モーメントが大きく変化するとき,配向変化に伴って分子占有面積が減少するため, $\Delta\mu_{\perp}$ -A曲線は π -A曲線と関連づけて議論することが可能である。

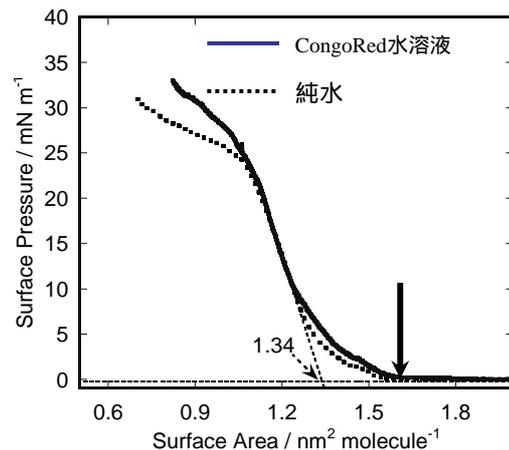


図2. Congo Red水溶液および純水上での $C_{18}IIGLM-NH_2$ 単分子膜の π -A曲線

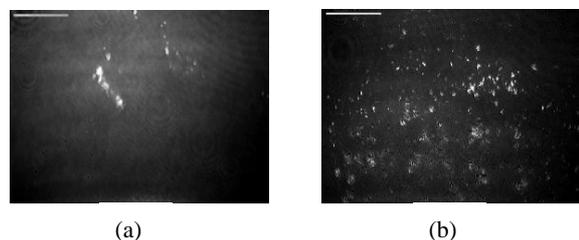


図3. 図2の矢印位置での $C_{18}IIGLM-NH_2$ 単分子膜のBAM画像(a)Congo Red水溶液および(b)純水上の結果

Congo Red水溶液上では,表面積 $1.6 \sim 2.0 \text{ nm}^2 \text{ molecule}^{-1}$ 付近で, $\Delta\mu_{\perp}$ は大きな増減を繰り返す不安定な動きを見せた(データ省略)。一方,純水上では,同じ表面積領域で $\Delta\mu_{\perp}$ は小さな変動を示した。不安定な変化は,点在するドメインが電位センサーを横切ることに対応すると考えれば理解できる。また,増減の振幅が水面上のときに小さかったのは,全体にドメインが大きく広がって,マクロに見れば均一に近いことを示す。

また,Congo Red水溶液上と水面で,表面積 1.6 および $1.4 \text{ nm}^2 \text{ molecule}^{-1}$ 付近で $\Delta\mu_{\perp}$ の値が急激に増加した。 $\Delta\mu_{\perp}$ 増加の終了位置と π -A曲線のプラトー終了位置が,いずれの場合も一致したことから,プラトーは極性基の配向変化に対応する領域と考えられる。

【参考文献】

- 1) T. Hasegawa, et al., *J. Phys. Chem. B*, **109**, 12856 (2005).