1P213

イオンの吸着による脂質膜界面の電気双極子の分極

○Levadny Victor^{1,2}、山崎 昌一¹ (¹ 静大・理・物理、²The Scientific Council for Cybernetics, Russian Academy of Sciences)

We have analysed the effects of adsorbed ions on physical state of the phospholipid bilayer. Based on the estimation of interaction energy between ions and electric dipole of neighbor lipid molecules we assumed that each adsorbed ion polarizes nearest molecules, i.e. it imposes the certain orientation to their dipoles. The affect of the polarization on membrane state for different valences of adsorbed ions was considered. We showed that in case of one-valence ions the effect of polarization is negligible. In this case the adsorption results in membrane stretching as classical double electrical layer theory predicts. But in cases of two- and especially three- valence ions the polarization plays important role. In this case the adsorption results in membrane compression. The theory can be applied also for description of mixed membrane composed on neutral (such as PC and PE) and charged lipid (such as PG or PA):

V.Levadny, M.Yamazaki : The lateral polarisation of lipid membrane surface dipoles by adsorbed ions

1P215

膜タンパク質の配向制御と評価

○山口 直人、小山 行一 (桐蔭横浜大・院工)

膜タンパク質は生体膜を隔てて、細胞内外での分子認識、物質輸送、情報伝達といった機能を有しており、したがって、その構造と機能は非対称性をもつ。このような膜タンパク質を再構成などで工学的に利用しようとする、その配向 (表裏の区別) を制御する必要がある。われわれは感光性の膜タンパク質であるバクテリオロドプシン (BR) を、抗体技術を利用することで基板上に任意の方向に配向させることに成功した (1)。この方法によって膜タンパク質の配向制御可能になったが、経済性、操作性といった観点で問題があった。そこでより簡便的な電気化学的な配向制御法を検討した。本方法で、単分子膜もしくはそれに近い配向膜を得る工夫として、下図のようなチャンバー内に、BR の溶液を入れて電場を印加し、BR を各電極に泳動させた。電極に付着した薄膜の配向性はコロイド金で修飾した抗 BR 抗体をプローブとして用い、これを電子顕微鏡で観察した。その結果、基板を親水化処理し、かつ陰極側に設置した場合に配向した BR 薄膜が得られた。

(1) Koyama et. al. Science, 265 762 (1994)

K.Koyama and N.Yamaguchi : Controlling orientation of membrane proteins and its verification

1P214

秩序液体相 (lo 相) の平面 2 分子膜の膜融合法による固体基板上への構築とその特性

佐野 涼子、斉藤 敦子、○島内 英樹、山崎 昌一 (静大・理・物理)

固体基板上への平面 2 分子膜の構築とそれと蛋白質の相互作用の原子間力顕微鏡 (AFM) による研究は重要である [1]。その構築の方法としては LB 膜法 [1] と膜融合法 [2] があるが、膜融合法の方がいろいろな基板への応用が可能で有用であると考えられる [2]。今回は lo 相 [3] の平面 2 分子膜の膜融合法による構築法とその特性について報告する。

lo 相である DPPC-Chol と SOP-/Chol の 1 枚膜ベシクル (SUV) を超音波法で作製して、雲母基板上にその懸濁液をのせ 60℃ で静置することで、基板上に lo 相の平面 2 分子膜を作成することに成功した。DPPC-Chol 膜に biotin-X-DHPE を混合して平面 2 分子膜を作製し、水中で AFM を用いて測定を行うと平面 2 分子膜に相分離が観察された。SOPC-Chol 膜と biotin-X-DHPE においても同様の結果が得られた。SOPC-Chol/biotin-X-DHPE 膜の場合は相分離の高さの差は約 3 nm であった。このことから、確かに lo 相の平面 2 分子膜が雲母基板上にできたと考えられる。また、カンチレバーのチップに架橋剤を用いて先端に biotin を共有結合したものを作成し、avidin の存在下で SOPC-Chol/biotin-X-DHPE 混合膜とこの biotin 修飾カンチレバーの相互作用をしらべた。コンタクトモードのフォースカーブを測定したところ、カンチレバーとサンプルが離れる時の引力の値は約 100 pN であった。学会では lo 相の平面 2 分子膜を利用した他の物性のデータも示す。

[1]BBA, 1615, 1-6, 2003 [2]Langmuir, 20, 7526-7531, 2004 [3] 本学会 田中智樹らのポスターおよび Langmuir, in press, 2004

R. Sano, A. Saito, H. Shimauchi and M. Yamazaki : Suported lipid bilayer membrane in lo phase formed by vesicle fusion method

1P216

バクテリオロドプシン蛋白の N 末端ペプチドを基にしたペプチド設計とレチノイン酸との複合薄膜化の試み

○後藤 研滋、鳴海 能仁、大石 洋樹、辻内 裕 (秋田大・工資・材料工)

膜蛋白質のペプチドを、生体高分子を材料として応用する道を探るため、われわれは高度好塩菌に含まれる光駆動プロトンポンプ蛋白質バクテリオロドプシン (bR) の二次構造の N 末端側の α -ヘリックス A を構成するペプチドのアミノ酸配列をもとに、人工ペプチドを設計、合成し、色素分子レチノイン酸との二成分による混合溶液を調製し、ラングミュア-ブロッジェット (LB) 膜を作製した。研究目的は人工ペプチドが膜を作る最小単位として機能するかどうか調べることである。今回天然のアミノ酸配列を有しているペプチド (1) と、酸性アミノ酸を付加したペプチド (2)、塩基性アミノ酸を付加したペプチド (3) の三つの人工設計ペプチドを用意した。実験では、3 種類のペプチドとレチノイン酸の分子数比が 1:0, 5:1, 1:5 となるクロロホルムを溶媒とする混合溶液を計 9 種類調製し用いた。LB 膜作製は研究室で作製した装置を用いて垂直浸漬法により行った。得られた薄膜の化学結合状態を FTIR 赤外分光装置を用いて調べた。これにより石英基板上に求める薄膜が累積されているかを確認した。次に、得られた複合薄膜の可視紫外吸収スペクトルを測定した。ペプチド (1) はレチノイン酸との分子数比が 1:0 から 5:1 になると、ペプチドによる光吸収の減少とともに、レチノイン酸による光吸収は増大したが、1:5 レチノイン酸の比率が増大すると逆にレチノイン酸による光吸収は減少した。ペプチド (2) の場合はレチノイン酸の数比が増大してもペプチドによる光吸収だけでなくレチノイン酸による光吸収も減少した。ペプチド (3) の場合はペプチド (1) と似たような結果となったが、レチノイン酸による光吸収はペプチド (1) に比べてシャープであった。得られた結果に対して、ペプチド-レチノイン酸間相互作用モデルを考案し、考察を行う。

K. Goto, Y. Narumi, H. Oishi and Y. Tsujiuchi : An attempt of peptide design based on N-terminal sequence of bacteriorhodopsin and fabrication of hybrid film of retinoic acid and peptide