2P241

生体膜のキュービック相の構造安定性に対する正電荷を持つペプチドの効果

○ Masum Shah Md¹, Li Shu Jie¹, Awad Tarek S.¹, 山崎 昌一^{1,2} (¹ 静大院・理工・物質科学, ² 静大・理・物理)

To elucidate the stability of IPMS cubic phases of biomembranes is indispensable from biological and physicochemical aspects. We have proposed that electrostatic interactions play important roles in stability of cubic phases of biomembranes[1-3]. In this report, we investigated effects of positively charged peptides on the phase stability of negatively charged cubic phase membrane such as monolein (MO)/dioleoylphosphatidic acid (DOPA) mixture (DOPA/MO membranes) using SAXS[4].

At first, effect of peptide-3K (LLKKK) on 10%DOPA/90%MO membrane in excess water, which is in the Q229 phase, was investigated. At 3.4 mM peptide-3K, a Q229 to Q230 phase transition occurred, and at and greater than 3.4 mM peptide-3K, the membrane was in the Q230 phase. Poly (L-lysine) (Mw:1-4K) also induced the Q230 phase in the same membrane. In contrast, peptide-2K (LLKK) induced a Q229 to Q224 phase transition at 8 mM. We also investigated the effect of peptide-3K on 25%DOPA/75%MO-MLV, which is in La phase. In the absence of peptide, the spacing of MLV was very large (11.3 nm), but at and greater than 8 mM peptide-3K, it greatly decreased to a constant value (5.2 nm), irrespective of the peptide concentration, indicating that peptide-3K and the membranes form an electrostatically stabilized aggregation with low water content. On the basis of these results, we discuss the mechanism of the effects of the positively charged peptides.

[1] BBA, 1461, 96, 1999 [2] Biophys. J. 81, 983, 2001, [3] Langmuir, 19, 4745, 2003, [4] Langmuir, 21, 5290, 2005

S.M. Masum, S.J. Li, T.Awad and M.Yamazaki : Effect of Positively Charged Short Peptides on Stability of Cubic Phases of DOPA/MO Membranes

2P243

1本の炭化水素鎖をもつ物質が誘起する巨大リポソームの変形と膜分裂

○ 稲岡 恭行、佐野 涼子、山崎 昌一 (静大院・理工研・物理)

1個の巨大リポソーム (GUV) を用いた生体膜のダイナミックスの研究により、従来の SUV や LUV を用いた研究とは質的に異なる新しい情報を得る可能性がある (単一 GUV 法) [1]。我々は、水溶液中の CMC 以下のリゾホスファジリコリン (lyso-PC) が秩序液体相 (lo 相) の膜の GUV の変形や膜分裂を誘起することを見出した [2]。この解析により lyso-PC が水中から GUV の外側の lo 相の単分子膜に挿入できることが分かるとともに、膜分裂のメカニズムを提案した [2]。今回はこの膜分裂のメカニズムを詳細に検討するために、lyso-PC 以外の 1本の炭化水素鎖をもつ物質と種々の相の GUV や液晶相 (L_α 相) と lo 相が混合した GUV の相互作用を研究し、それに対する細胞骨格アクチン/フィラミン A-ゲルの効果も調べた。

lo 相の DPPC/chol 膜の GUV の近傍に、マイクロビペットを用いてリゾホスファジン酸 (lyso-PA(18:1))、オクチルグルコシド (OG)、TritonX-100 を CMC 以下の濃度で添加したときの GUV の応答を蛍光位相差顕微鏡で調べた。lyso-PA(18:1) は楕円形の GUV の変形と膜分裂を誘起したが、OG は変形のみ誘起し、TritonX-100 は変形も誘起しなかった。次に lo 相と L_α 相の膜が混合している GUV の変形や膜分裂などを調べるために、3成分系 (スフィンゴミエリン (SM)/DOPC/chol) の膜の GUV と lyso-PC との相互作用を調べた。例えば SM/DOPC/chol(0.615/0.135/0.25) の GUV は膜分裂が起こったが、SM/DOPC/chol(0.135/0.615/0.25) の GUV は膜分裂が起こらなかった。学会では他の実験結果やそれらの考察を提示するとともに、アクチン/フィラミン A-ゲルが 3成分系の膜の GUV や相分離に対する効果についても議論する。

[1]e-J. Surf. Sci. Nanotech. 3, 218, 2005 [2] Langmuir, 20, 9526, 2004

Y.Inaoka, R.Sano and M.Yamazaki : Shape change and vesicle fission of GUVs induced by substances with a hydrocarbon chain

2P242

電気的に中性の脂質膜界面と相互作用するペプチドとイオンが秩序液体相の脂質膜の構造と安定性に与える効果

○ 佐野 涼子、Masum Shah Md、山崎 昌一 (静大・理・物理)

Interactions of water-soluble substances such as peptides/proteins and ions with membranes of electrically neutral lipids such as phosphatidylcholine (PC) are not well understood. We investigated effects of a de novo designed peptide, WLFLKKKK (peptide-1), and La3+ on the stability of PC membranes in the La phase [1,2]. In this report we investigated effect of these substances on the liquid-ordered (lo) phase-membranes [3].

Spacing of POPC-MLV in the La phase increased with an increase in peptide-1 concentration. The addition of peptide-1 near a GUV of DOPC induced several kinds of shape changes. In contrast, peptide-1 did not change the spacing of the lo phase-membranes, and also it did not change any shapes of GUVs of the lo phase-membranes. These results indicate that the peptide-1 can be partitioned into the interface of PC membranes in the La phase, but not into that of the lo phase-membranes. La3+ induced shape changes of GUVs of the lo phase-membrane, which are the same as those of GUVs in the La phase [2]. It indicates that the binding of La3+ induced an increase in the lateral compression pressure in the membrane, which decreased the surface area of the membrane. The lateral polarization of dipole moments of PC molecules [4] near the adsorbed La3+ is one of its main reasons. On the basis of these results, the difference of the membrane interface of between the La and the lo phases is discussed.

[1] Langmuir, 18, 9638, 2002 [2] BBA, 1564, 173, 2002 [3] J.Phys.;Condens. Matt, in press [4] Langmuir, 21, 5677, 2005

R.Sano, S.M.Masum and M.Yamazaki : Effect of Peptides and Ions Interacting with Electrically Neutral Membrane Interface on Structure of Lipid Membranes in the Lo Phase

2P244

ホスファチジルセリン (DOPS)/モノオレイン (MO) 混合膜の構造や相の pH 依存性

○ 岡本 喜日出、山崎 昌一 (静大院・理工研・物理)

我々は、脂質膜の表面電荷密度 (負電荷を持つ脂質の混合や電荷をおびたペプチドの結合による) に基づく静電相互作用により、キュービック相と L_α 相の相転移や異なるキュービック相間の相転移が起こることを見出している [1,2]。細胞中の環境を考えたとき、これらの相転移に対する pH 効果を解明することは重要である。昨年の年会で、新規に設計したペプチドである Ac-WLFLLEE が膜界面に結合したモノオレイン (MO) 膜は pH7.0 で Q²²⁹ 相であるが、pH を下げるにつれて pH6.4 で Q²²⁴ 相に相転移することを見出した [3]。この相転移のメカニズムを考察するために、今回はジオレイルホスファチジルセリン (DOPS)/MO 膜の構造や相転移に対する pH 依存性を X 線小角散乱を用いて測定した。

pH7.0 で 0mM NaCl の条件下で DOPS/MO 混合膜の相は DOPS の濃度が増加するにつれて Q²²⁴ 相 ⇒ Q²²⁹ 相 ⇒ L_α 相と相転移した。この相転移は液体中の NaCl により抑制されたので、静電相互作用が主因であると考えられる。2%DOPS/98%MO は 0mM NaCl のとき、pH7.0 から pH3.0 まで Q²²⁹ 相であった。一方 15%DOPS/85%MO は 100mMNaCl 存在下で、pH7.0 では Q²²⁹ 相であったが、pH を下げるにつれて pH6.1 で Q²²⁴ 相に相転移した。本学会では他の詳細なデータを示すと共に、これらの相転移に対する pH の効果を考察する。また、pH7.0 で L_α 相をとる DOPS/MO の構造の pH 依存性のデータも示し、考察する。

[1] Biophys.J.81,983,2001 [2] Lngmuir,19,4745,2003 [3] 生物物理学会予稿集,S80,2004

Y.Okamoto and M.Yamazaki : Effect of pH on structure and phase of DOPS/MO membranes