ApoA-I の Fragment peptides の水 - 空気境界面に おける動態の解析*

横 山 信 治** 福 島 大 吉*** Ferenc, J. Kézdy****
Emil T. Kaiser*****

Apo A-I のアミノ酸配列中¹⁾には22個前後の残基の繰り返し構造が6個あり、その各々が α -helix構造をとりやすく、かつその構造をとった時阻水性残基が軸方向投影図にて約120°の面に集まって全体の構造を両親媒性とすることが知られた^{2,3)}。われわれは、これらの構造が Apo A-I 分子の重要な生理活性、すなわち界面親和性および酵素の活性化に果たす役割を合成ペプチドを用いて検討してきた。ここでは水-空気境界面での各ペプチド単分子膜の動態の解析について述べたい。

固相法によって合成し用いたペプチドは、apo A-I のアミノ酸残基配列¹⁾ 144-165⁴⁾ および 121-164⁵⁾、人工的にデザインした両親媒性 α -helical ペプチド (22 アミノ酸) (ペプチド 1)⁶⁾、およびその阻水面の中央にアルギニン (親水性) が存在するもの (ペプチド 2)⁷⁾ の4種で、いずれも両親媒性ヘリックスである。

装置はラングミュア型水槽を原理としたラウダ社製のサーフェイスバランスを用いた。

約 1 l の水槽中緩衝液 (0.01 M Tris-HCl, 0.15 M KCl, pH 7.4) 上に、同じ緩衝液に溶解したペプチド (約 2×10^{-4} M) 10—30 μ g を、水面上に斜めに固定した薄いガラス板上にたらしながら重層する。装置の可動ブームを 2 cm²/sec で移動し、単分子膜面積を200—700 cm² の間で変化させ、膜による表面張力の低下を表面圧 (π) として測定、膜の面

積 (A) の函数として記録した。

解析の方法は以下でのとおりある。表面圧 1 dyn/cm 以下の低圧部分に対しては、理想気体の状態方程式の応用式 $\pi(A-A_0)=nRT$ (Eq. 1)⁸⁾ を用いる。A₀ は分子自身が表面に占める面積で、A-A₀ が実際に分子運動に利用される自由表面の面積となる。この直線化変型式 $\pi A=A_0 \pi+nRT$ に依り、 π , πA をプロットして A₀, nRT をもとめ、分子数の値より分子量を計算することができる (Fig. 1)。さらに高表面圧領域については次の実験式を適用した。 $\pi(A-A_0(1-K\pi))=nRT$ (Eq. 2)⁵⁾。ここで K は、A₀ の値が π 直線函数として減少する、すなわち分子の面積が水平方向の圧力でおしちぢめられることを示すパラメータ (次元 cm/dyn) である。これを変型し ($A=A_0+A_0K\pi+nRT/\pi$), π , $1/\pi$, A について三次元回帰平面をもとめ、パラメーター A₀, A₀K, nRT をもとめ A₀, K, n の値を計算する。これらによって得られた理論曲線と実験値を Fig. 2 に示す。Eq. 1, Eq. 2 より求めた

Table 1 Eq 1, Eq 2 による各パラメーター

	Eq(1)			Eq(2)		
	MW	MW	A ₀ ¹	MW	A ₀ ¹	K ²
apoAI ³	28000				(20.6)	(3.7)
apoAI (144-165)	2515	3309	24.2	3597	29.9	5.5
apoAI (121-164)	5068	5370	18.8	5230	18.3	3.1
peptide 1	2650	2351	21.7	2493	20.9	1.8
peptide 2	2693	2531	22.1	2532	23.3	4.1

1. Area per amino acid residue, Å²

2. Constant, cm/dyn

3. Shen and Scanu Biochemistry (1980) 19, 3650

* 1980年12月, 日本動脈硬化学会 昭和55年度冬季大会において発表

** 国立循環器病センター研究所

*** 小野薬品工業中央研究所

**** シカゴ大学生化学

***** シカゴ大学化学

Fig. 1 ペプチド単分子膜の表面圧 (π , dyn/cm) - 面積 (A , cm^2) 曲線の実験値の低圧部分の直線プロット ($\pi A = A_0 \pi + nRT$). ○ apoA-I (144-165) 24 μg ; ●, apoA-I (121-164) 27.5 μg ; △ ペプチド 1, 15 μg ; ▲, ペプチド 2, 29 μg . 縦軸切片, nRT ; 勾配, A_0 .

おのおののパラメーターを Table 1 に示す. Eq. 1 のパラメーターは Eq. 2 の対応するそれとよい一致を示し, Eq. 1 は Eq. 2 の $\pi \approx 0$ での近似式とみなせる.

結 論

1) 両親媒性ヘリックスペプチドはアミノ酸組成, 大きさにかかわらず水-空気境界面でのアミノ酸あたりの面積は一定で, apo A-I のそれとも一致する.

2) ここに示された両親媒性ペプチドは界面では monomer である.

3) したがって apo A-I の各 Segment は, それぞれ同等に界面との作用を行っていることが推察される.

文 献

- 1) Brewer, H. B., Fairwell, T., LaRue, A., Ronan, R., Houser, A. and Bronzert, J. J.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **80**: 623-630 (1978).
- 2) Fitch, W. M.: Genetics **86**: 623-644 (1977).
- 3) MacLachlan, A. D.: Nature **267**: 465-467 (1977).
- 4) Kroon, D. J., Kupferberg, J. P., Kaiser, E. T. and Kédy, F. J.: J. Am. Chem. Soc. **100**: 5975-5977 (1978).
- 5) Fukushima, D., Yokoyama, S., Kroon, D. J.,

Fig. 2 Eq. 2 を用いて計算した各パラメーターを使った理論曲線と実験値. symbol は Fig. 1 と同じ. A の単位は $\text{\AA}^2/\text{amino acid}$, 点線は理論曲線の漸近線で, 勾配は $-1/KA_0$, その横軸切片は A_0 .

ApoA-I の Fragment peptides の水 - 空気境界面における動態の解析

- Kézdy, F. J. and Kaiser, E. T.: J. Biol. Chem. **255**: 10651-10657 (1980).
- 6) Yokoyama, S., Fukushima, D., Kupferberg, J. P., Kézdy, F. J. and Kaiser, E. T.: J. Biol. Chem. **255**: 7333-7339 (1980).
- 7) Fukushima, D., Yokoyama, S., Kézdy, F. J. and Kaiser, E. T. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **78**, 2732-2736 (1981).
- 8) Kézdy, F. J. Membrane Molecular Biology, edited by C. F. Fox and A. Keith. Sinauer Associates Inc. Publishers, Stamford, Conn. USA (1972) pp. 123-144.