

氏 名	藤 田 克 彦
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学位記番号	工 博 第 1421 号
学位授与の日付	平 成 7 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 高 分 子 化 学 専 攻
学位論文題目	Supramolecular Assembly Containing $\alpha$ -Helical Peptide Molecules in Lipid Bilayer Membrane and at the Air/Water Interface ( $\alpha$ -ヘリックス形成ペプチドに基づく、脂質膜中及び気/液界面での高次構造形成)
論文調査委員	(主 査) 教 授 今 西 幸 男    教 授 砂 本 順 三    教 授 田 中 渥 夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、 $\alpha$ -ヘリックス構造をとるペプチド分子を合成し、その集合体形成を脂質膜中、および空気/水溶液(気/液)界面で調べて、集合体形成におけるペプチド分子の分子間相互作用を検討した結果をまとめたものであって、序論と2編6章および結論から成っている。

序論においては、タンパク質が会合して超分子システムを形成し、効率よい機能を発現することに鑑み、ペプチドの超分子集合体に関する基礎的な知見を得ることの重要性を述べている。

第一編においては、 $\alpha$ -ヘリックス状ペプチドの気/液界面における単分子膜形成を、表面圧-表面積( $\pi$ -A)関係とケイ光顕微鏡法によって研究した。

第1章では、アラニンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸(Aib)の交互16量体から成る疎水性 $\alpha$ -ヘリックス状ペプチドを合成し、その気/液界面における分子間相互作用を検討している。さらに、様々な末端基をもつ $\alpha$ -ヘリックス状ペプチドを合成して、それらが気/液界面において形成する単分子膜の挙動が研究された。

第2章においては、上記の疎水性 $\alpha$ -ヘリックス状ペプチドと、ケイ光性末端基を有する誘導体とを混合して気/液界面に展開すると、形成された単分子膜が表面圧の上昇に伴って液体膜から固体膜への相転移を起こすことがわかり、これをケイ光顕微鏡で目視することができた。

第3章においては、液体膜から固体膜への相転移を示す種々のペプチド単分子膜を基板の上に移し取ってLB膜を形成させた。この状態でCDスペクトルを測定すると、ペプチドが $\alpha$ -ヘリックス構造を取ることが明らかになった。さらに、透過赤外分光法と反射吸収分光法により、これらのペプチドがヘリックス軸を気/液界面に平行に配向させて配列していることが示された。

第2編においては、気/液界面に展開した $\alpha$ -ヘリックス状ペプチドの配列を利用して、その下部水相におけるタンパク質(ストレプトアビジン, SA<sub>v</sub>)の二次元結晶の形成を試みた。さらに、生理活性な天然

ペプチドであるマストパラン X (MPX) の脂質膜中でのコンホメーション、配向、および集合体形成について調べた。

第4章においては、N末端にビオチン基を導入した疎水性 $\alpha$ -ヘリックス状ペプチドを合成し、気/液界面に展開して単分子膜を形成させた。その下部水相にケイ光ラベルしたSAvを加え、ケイ光顕微鏡で観察すると、明るく輝くドメインの形成と、ドメインに含まれるSAvの配向が確認された。これはSAvの二次元結晶が形成されたことを示すものである。

第5章では、第4章で調製されたSAvの二次元結晶をマトリックスとして、その空配位点に両末端にビオチン基を有する分子(リンカー分子)を配位させて、SAvの2層二次元結晶を作ることを試みた。綿密な分子設計により、6個のリシンと12個のAibから成る疎水性 $\alpha$ -ヘリックス状18量体ペプチドを合成し、その両端にビオチンを結合させたものをリンカー分子として用いた。第二層としてケイ光ラベルSAvを用いてケイ光顕微鏡で観察すると、配向したドメインの形成が認められ、SAvの2層二次元結晶の生成が示された。さらに、この過程を表面プラズモン共鳴によって追跡することができた。

第6章においては、天然の生理活性な14量体ペプチドMPXと脂質膜との相互作用を研究した。MPXは $\alpha$ -ヘリックス構造を形成すると両親媒性構造を形成し、脂質膜に進入しやすくなる。C端のセリン基に光エネルギー受容性のアントリル基(Ant)を結合した誘導体(MPX-A)を合成し、第三残基のトリプトファン基を光励起し、そこからAntへの光エネルギーの分子内移動を調べることにより、MPX-Aは脂質膜に取り込まれると $\alpha$ -ヘリックス構造が安定化し、ヘリックス軸を脂質膜表面に平行に配向させることが示された。また、分子間光エネルギー移動の研究により、MPX-Aは非常に低い濃度で脂質膜中で会合することが示された。

最後に本研究で得られた成果がまとめられ、将来の展開の可能性が論じられている。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、 $\alpha$ -ヘリックス構造をとる種々のペプチド分子を合成し、その集合体形成特性を分子構造と関連づけて解析し、超分子集合体を構築することを目的として行われた研究の成果をまとめたものであり、得られた主な成果は次の通りである。

1.  $\alpha$ -アミノイソ酪酸(Aib)を含み、種々の末端基をもつ疎水性16量体ペプチドが合成された。これらのペプチドは気/液界面で $\alpha$ -ヘリックス構造をとり、単分子膜を形成した。
2. 気/液界面におけるペプチド単分子膜の表面圧-表面積曲線は、液体膜から固体膜への相転移が起こることを示した。ケイ光法により、固体膜中でペプチド分子はヘリックス軸を界面に平行に配向させた規則的配列をとることが示された。
3. 末端にビオチンを結合した疎水性 $\alpha$ -ヘリックス状ペプチドは、気/液界面でストレプトアビジン(SAv)と特異的に結合し、SAvを界面で規則正しく配列させた。
4. 両末端にビオチン基を有し、3 nm程度の長さをもつ剛直な $\alpha$ -ヘリックスペプチドが合成された。これをリンカーに用いて、SAvの二重層結晶構造を構築することができた。
5. 蛍光プローブとしてアントリル基を結合したマストパラン X (MPX-A) が合成された。MPX-A が

脂質膜に取り込まれると $\alpha$ -ヘリックスの割合が増え、ヘリックス軸を膜平面に平行に配向させる。

MPX-A は非常に低い濃度で脂質膜中で会合し、一定の大きさの会合体を形成することが示された。

気/液界面におけるペプチド単分子膜の形成は、分子デバイスとして機能するタンパク質超薄膜の調製の基礎的情報を与えるものとして学術上、実際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の論文として価値あるものと認める。また、平成7年1月11日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。