

赤外多角入射分解分光法によるロイシンファスナー解析

(日大生産工・千葉大教育) 長谷川健, 角田洋幸, 山田哲弘

【緒言】ペプチド間相互作用のひとつロイシンジッパー仮説は, α -ヘリックスに沿って並ぶ4つのロイシン残基配列同士の噛み合いを仮定しているが, 分光的な実験的証拠は得られていない。同様の分子間相互作用は, β -シートに結合したロイシン残基配列間でも起こり, ロイシンファスナーと呼ばれるが, これも実験的にとらえられたことがない。本研究では, 赤外多角入射分解分光法(MAIRS)[1]を用いて, ロイシンファスナーがかみ合う前後の状態を, 平行 β -シート構造を示す単分子膜中で明確なスペクトル変化として捉えることに初めて成功し, これまでの仮説とは異なる分子配座などを明らかにした。

【実験】実験に用いた化合物は, Fig. 1 に示すように4つのロイシン残基を中心に配列させ, その両側に一本鎖および二本鎖の飽和炭化水素鎖が結合した両親媒性化合物(Leu4)[2]である。この分子は, 水面上で安定した単分子膜を作り, 一方向にはアミド基間の水素結合を形成し, それに垂直な方向にはロイシンのY字型基が伸びて分子間でファスナーのようにかみ合うと考えられている。これをLangmuir-Blodgett法で単分子膜として金板およびGe基板上に転写し, 赤外透過・RAおよびMAIRSスペクトルを測定した。

【結果と議論】Leu4分子からなる単分子膜の表面圧-面積(π -A)曲線を測定したところ, 膜の圧縮に伴って, 明瞭な表面圧降下を示す部分が現れた。 π -A曲線のサイクリック測定やポテンシャル測定から, この表面圧降下は膜の崩壊によるものではないことが確かめられたため, ロイシンファスナーが噛み合ったことによる圧力緩和であると考えた。そこで, 表面圧降下の前後で単分子膜LB膜を作り, 赤外分光法で解析を行った。従来法の透過分光法とRA法を組み合わせで解析しようとしたところ, 基板の違いが膜構造に強く影響し, 特に金属面は平行 β -シート構造を破壊してしまい, 解析ができなかった。

そこで, 赤外MAIRS法により解析したところ, 膜分子の構造異方性に関する情報を取り出すことができた。また, CH_3 非対称伸縮振動モードが高波数のバンド(2895 cm^{-1})として現れ, ロイシンファスナーの噛み合いを強く示唆するバンドを, はじめて観測することができた。さらに面外スペクトルから, 平行 β -シート構造が一部崩れていることが初めて確認できたほか, ロイシンのY字型基がこれまでの予想とは 90° 回転した配座をとっていること, などが示唆された。

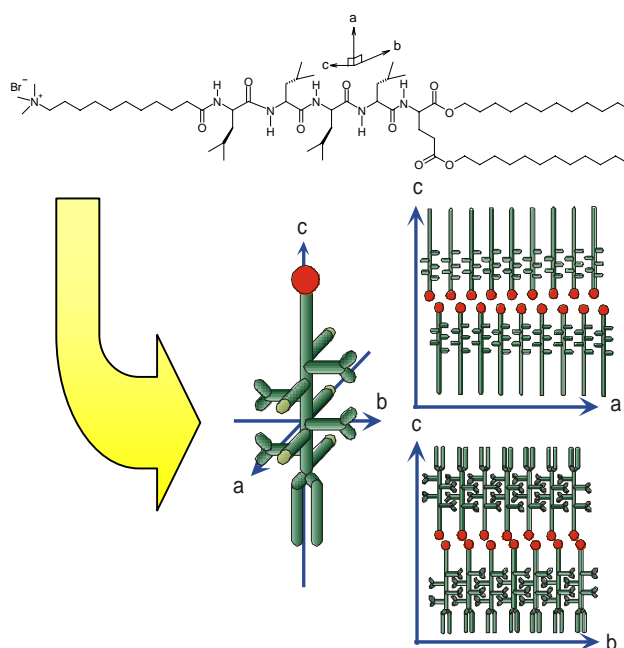
[1] T. Hasegawa, *J. Phys. Chem. B* **106**, 4112-4115 (2002).[2] N. Yamada et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **42/44**, 5496-5499 (2003).

Figure 1 Chemical structure of Leu4 and conventional schematic images of Leu4 aggregates.