SURE 静岡大学学術リポジトリ
Shizuoka University REpository

Entry of cell-penetrating peptide transportan 10 into a sinlge vesicle of lipid membranes and its induced pore formation

メタデータ	言語: en 出版者: Shizuoka University 公開日: 2015-12-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Md., Zahidul Islam メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00009291

（課程博士・様式９）　　審　査　要　旨

専攻　バイオサイエンス　学籍番号　5524-4015　学生氏名　Md. Zahidul Islam

論文題目　Entry of cell-penetrating peptide transportan 10 into a single vesicle of lipid vesicle of lipid membranes and its induced pore formation（細胞透過ペプチド・トランスポータン 10 の脂質膜のリポソーム内部への侵入とそれが誘起するポア形成）

細胞透過ペプチド(CPP)は真核生物の細胞膜を透過して細胞内に侵入する活性を持つペプチドで、蛋白質や薬剤などを細胞内に運ぶことができるので、バイオサイエンスの基礎・応用の両面から注目されている。本研究では、CPP であるトランスポータン 10 (TP10)の細胞内侵入のメカニズムの解明のために、１個の巨大リポソーム(GUV)の構造や物理量の変化を統計的に解析する方法（単一 GUV 法）を用いて、TP10 と脂質膜の相互作用を研究した。

（２章）TP10 の GUV 内侵入を調べる方法を新しく開発し、それを用いて TP10 の脂質膜透過を研究した。直径の小さな GUV と水溶性の蛍光プローブ(AF647) を内部に含む GUV １個と蛍光ラベルした TP10 (CF-TP10)の相互作用を共焦点レーザー顕微鏡を用いて調べ、AF647 の漏れによって示される CF-TP10 による GUV 膜中のポア（小孔）形成の前に、CF-TP10 が GUV 内部に侵入し、直径の小さな GUV の膜に結合することを明らかにした。CF-TP10 がポア形成の前に GUV 内部に侵入する確率はその濃度とともに増大した。CF-TP10 と GUV 膜の相互作用の素過程を表す微分方程式を解くことにより、GUV 膜中の CF-TP10 濃度の時間変化を理論的に求め、実験結果と比較することにより素過程の速度定数を求めた。また TP10 の膜中で形成するポアの大きさを調べ、平均分子量 40000 のデキストランがポアを透過し、直径 1–2 μm のベシクルも一時的に通ることを明らかにした。以上の結果は TP10 の膜透過性とその後のポア形成について多くの新しい情報を提供している。

（３章）真核生物の細胞膜はコレステロールを高濃度含んでいる。TP10 の脂質膜透過に対するコレステロールの効果を、２章で開発した方法を用いて研究した。高濃度コレステロールを含む脂質膜の GUV を用いて実験をした結果、CF-TP10 はポア形成の前に GUV 膜を透過して GUV 内部に侵入することを明らかにした。ただし、コレステロールを含まない脂質膜と比較すると、より高い濃度の CF-TP10 が必要になることが明らかになった。この結果は TP10 が真核生物の細胞膜の脂質膜領域を通過できることを示唆する。

（４章）TP10 の脂質膜透過やポア形成のメカニズムを解明するために、TP10 との相互作用による脂質膜の面積変化や外力が誘起する膜の張力がこれらの TP10 の機能に与える効果を研究した。TP10 が膜に結合すると膜の面積が増加し、これが TP10 による脂質膜中のポア形成に重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、膜の張力が増大するにつれて CF-TP10 がポア形成の前に GUV 内部に侵入する確率が増大することを明らかにした。

以上にように、本論文の内容は独創性に富み、今後の更なる展開が大いに期待できる研究成果を多く含んでいる。従って、本論文は博士（理学）の学位を授与するに値するものと認められる。