

Effect of membrane potential on action of antimicrobial peptides lactoferricin B and its fragment

メタデータ	言語: en 出版者: Shizuoka University 公開日: 2020-11-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Hossain, Farzana メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00027770

(課程博士・様式 9)

審 査 要 旨

専攻 Bioscience 学籍番号 55744031 学生氏名 Farzana Hossain

論文題目 Effect of membrane potential on action of antimicrobial peptides lactoferricin B and its fragment (抗菌ペプチド・ラクトフェリシン B およびそのフラグメントの作用に対する膜電位の効果)

本論文は、抗菌ペプチド(AMP)の抗菌活性のメカニズムを解明するために、膜電位が AMP の活性に与える効果を研究する方法を開発し、それを用いて膜との相互作用が違ふ 2 種類の AMP (ラクトフェリシン B (LfcinB)とそのフラグメントで 6 個のアミノ酸残基からなる LfB4-9) の活性に対する膜電位の効果を解明したものである。

(2 章) LfcinB と 1 個の大腸菌細胞やスフェロプラスト (大腸菌由来)、および 1 個の大腸菌由来の脂質の巨大リポソーム(GUV)との相互作用の共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM)による研究成果とそれに対する膜電位の効果が記載されている。蛍光プローブ・カルセインを細胞質内にロードされた大腸菌やスフェロプラストと LfcinB が相互作用すると、急激なカルセインの膜透過がランダムに起こるが、 H^+ イオノフォアの CCCP が存在するとその膜透過が抑制されることを見出した。また、大腸菌由来の脂質の GUV の膜にイオンチャネル・グラミシジン A を含有させ、 K^+ の濃度勾配を作成することにより、GUV に膜電位をかけることに成功した。LfcinB と 1 個の GUV の相互作用では、GUV 内腔の蛍光プローブ AF647 の急激な膜透過が誘起され、局所的な膜破裂が起こることを見出した。GUV に膜電位をかけると、低い濃度の LfcinB でも局所的な膜破裂を誘起し、その膜破裂の速度定数は負の膜電位が増加するにつれて増大することを見出した。これらの結果は、LfcinB が誘起する大腸菌やスフェロプラストや GUV からの内容物の膜透過は LfcinB とそれらの膜との直接的な相互作用による膜の局所的なダメージによるものであり、それに対して膜電位が重要な効果を果たしていることを明らかにした。

(3 章) 蛍光プローブでラベルした LfB4-9 (Rh-LfB4-9) は大腸菌やスフェロプラストからカルセインを誘起せずにそれらの細胞質内に侵入することを見出した。これはこのペプチドが膜にダメージを与えずに細胞膜を透過することを示す。CCCP が存在すると、この細胞質内への侵入は抑制されることを見出した。一方、Rh-LfB4-9 は大腸菌由来の脂質の GUV の膜にダメージを与えずに、GUV の内腔に侵入した。その侵入の速度は、負の膜電位が増加するにつれて増大することを見出した。

以上のように、本論文の内容は独創性に富み、AMP の抗菌活性に対する膜電位の効果の新しい研究方法を開発し、抗菌活性の素過程が異なる 2 種類の AMP の活性が膜電位に大きく依存することを初めて見出した。これらの結果は AMP の抗菌活性のメカニズムに対して新しい視点を与え、開発された方法は今後他の AMP の研究に活用されることが期待される。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文としてふさわしいものと認められる。