

膜電位と張力が抗菌ペプチドや細胞透過ペプチドの機能に与える効果とメカニズムの解明

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2023-03-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山崎, 昌一 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10297/00029710

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03193

研究課題名(和文) 膜電位と張力が抗菌ペプチドや細胞透過ペプチドの機能に与える効果とメカニズムの解明

研究課題名(英文) Effects of membrane tension and membrane potential on the function of antimicrobial peptides and cell-penetrating peptides and their mechanisms

研究代表者

山崎 昌一 (Yamazaki, Masahito)

静岡大学・電子工学研究所・教授

研究者番号：70200665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：単一巨大リボソーム(GUV)法を用いて、抗菌ペプチド(AMP)や細胞透過ペプチド(CPP)の機能や膜との相互作用に対する膜電位や膜張力の効果を研究した。負の膜電位が増加するにつれて、AMPによる膜中のポア(小さい孔)形成や膜損害の速度が増加するとともに、CPPのGUV内腔への侵入速度が増大することを見出し、それらの素過程を明らかにすることによりメカニズムを解明した。浸透圧でGUVに発生する膜張力を実験的に評価し、その膜張力がAMPによるポア形成に与える効果を定量的に解明した。1個の細菌細胞やスフェロプラストとAMPの相互作用や膜電位の効果も研究し、GUVによる研究結果を比較検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗菌ペプチド(AMP)や細胞透過ペプチド(CPP)の機能や膜との相互作用に対する膜電位や膜張力の効果は今まで十分に解明されていなかった。本研究では、AMPやCPPと膜との相互作用や機能の素過程が解明できる単一巨大リボソーム(GUV)法を用いて、それらに対する膜電位や膜張力の効果を研究できる方法を新しく開発した。それらの方法を用いて、AMPによる膜中のポア形成や膜損害、およびCPPのGUV内腔への侵入などに対する膜電位や膜張力の効果を明らかに、それらの素過程の解明によりメカニズムを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effects of membrane potential and membrane tension on the functions of antimicrobial peptides (AMPs) and cell-penetrating peptides (CPPs) and their interactions with membranes using the single giant unilamellar vesicle (GUV) method. We found that as negative membrane potential in single GUVs increases, the rate constant of AMP-induced pore formation and local rupture increases and the rate of entry of CPPs into the GUV lumen without pore formation increases. By revealing these effects on the elementary processes, we proposed their mechanisms. We estimated membrane tension in a GUV under osmotic pressure experimentally, and using this method, we revealed the effect of osmotic pressure on the AMP-induced pore formation quantitatively. We also examined the interaction of AMPs with single bacterial cells and single spheroplasts, and revealed the effect of membrane potential on these interactions.

研究分野：生体膜の生物物理学

キーワード：抗菌ペプチド 細胞透過ペプチド 膜張力 膜電位 ポア形成 ペプチドのベシクル内侵入 ペプチドの膜透過 浸透圧

1. 研究開始当初の背景

我々は、単一巨大リポソーム (GUV) 法を用いて、抗菌ペプチド(AMP)や細胞透過ペプチド(CPP)の膜との相互作用の種々の素過程を解明し、それらの機能のメカニズムについて新しい知見を得てきた。これらのペプチドは細胞膜の脂質膜領域と相互作用すると考えられているが、上記の GUV を構成する脂質膜と細菌や真核生物の細胞膜の脂質膜領域には違いがある。細胞膜には膜電位 ($-60 \sim -140$ mV) のために強い電場が膜にかかっているため、この膜電位は、正電荷を帯びた AMP や CPP と膜との相互作用に大きな影響を与えると考えられるが、その効果やメカニズムはほとんど解明されていなかった。また、細菌はいろいろな溶媒環境のところに移動し、浸透圧変化を受けるだけでなく、常時高い静水圧をもっているため、その結果細胞膜に張力がかかっている場合が多いが、その浸透圧による膜張力が AMP の膜に対する作用に与える効果は解明されていなかった。

2. 研究の目的

AMP や CPP が実際にその機能を果たすのは、細菌や真核生物の細胞膜の脂質膜領域との相互作用のときである。本研究では、それらの細胞膜の条件に近い GUV とペプチドとの相互作用を単一 GUV 法により研究し、ペプチドの機能のメカニズムを深く解明することを目的として、以下の研究をおこなう。

- (A) 膜電位が抗菌ペプチドのポア形成や細胞透過ペプチドの膜透過に与える効果を単一 GUV 法により研究し、それらのメカニズムを解明する。
- (B) 膜張力(浸透圧や脂質/ペプチドの非対称性分布による)が抗菌ペプチドのポア形成に与える効果を単一 GUV 法により研究し、それらのメカニズムを解明する。
- (C) 1 個のスフェロプラスト(細菌から細胞壁やペプチドグリカンを取り除いたもの)や 1 個の細菌と抗菌ペプチドの相互作用を研究し、GUV との相互作用と比較考察する。

3. 研究の方法

(1) 単一 GUV 法を用いて AMP や CPP と膜との相互作用に対する膜電位の効果を研究するために、イオンチャネルであるグラミシジン A を膜中に含む GUV を作成し、GUV 内外に K^+ の濃度勾配をかけることにより、膜電位をかける方法を開発した。膜電位の大きさは、蛍光プローブ・DiOC₆(3) の GUV の膜中濃度により評価した (*Biophys. J.*, 118, 57, 2020)。

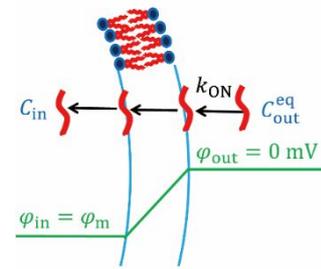
(2) 単一 GUV 法を用いて AMP と膜との相互作用に対する浸透圧の効果を研究するために、緩衝液(150 mM NaCl を含む)中の GUV の膜の張力を実験的に求め、理論と比較した (*J. Phys. Chem. B*, 124, 5588, 2020)。これには我々がすでに開発した方法(浸透圧下にある水中での GUV にかかる膜張力の評価法) (*Biophys. J.*, 111, 2190, 2016) を応用した。

(3) 1 個のスフェロプラストや 1 個の細菌と抗菌ペプチドの相互作用を研究するための方法(単一細菌法)を単一 GUV 方法に基づいて開発した (*J. Biol. Chem.* 2019)。

4. 研究成果

(1) トランスポーター 10 (TP10) の膜透過性に対する膜電位の効果

蛍光ラベルした TP10 (CF-TP10) の GUV 内腔への侵入は、小さなリポソームである LUV を内腔に含む GUV と CF-TP10 との相互作用を用いて、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) により検出した (*Chem. Phys. Lipids*, 212, 120, 2018)。膜電位を増大させると、蛍光プローブ AF647 の漏れは誘起せずに (つまりポア形成は起こさずに) CF-TP10 は GUV 内腔へ侵入した。CF-TP10 の GUV 内腔への侵入確率または侵入速度 V_{entry} は膜電位とともに増大した。また、CF-TP10 の GUV 膜中濃度は膜電位とともに増大した。その他の実験結果も併せて考えると、膜電位の増大による CF-TP10 の内側の単分子膜中の濃度の増加が起こり、それが V_{entry} を増大させたと考えられる。この結果は、CPP の V_{entry} に対する膜電位の効果やそれに関連する素過程を初めて明らかにした。 (*Biophys. J.*, 118, 57, 2020)



(2) LfcinB による蛍光プローブの膜透過や GUV の膜破裂に対する膜電位の効果

まず、LfcinB と 1 個の大腸菌と相互作用により細胞質内にドープした蛍光プローブ・カルセインの急激な膜透過が起こることを見出した。この膜透過は、 H^+ -イオノフォア・CCCP の存在下で抑制されることを見出した。また、同様の結果を LfcinB と 1 個の大腸菌スフェロプラストとの相互作用においても見出した。一方、LfcinB と 1 個の GUV (大腸菌から抽出した脂質からなる膜) との相互作用を単一 GUV 法で研究し、局所的な膜破裂による急激な蛍光プローブ・AF647 の膜透過が起こることを見出した。さらに、局所的な膜破裂の速度定数が膜電位により増大することを見出した。この結果は、AMP と膜の相互作用に対する膜電位の効果を初めて直接的に示した。 (*J. Biol. Chem.* 2019)

(3) 蛍光プローブなどでラベルされていない CPP の GUV 内腔への侵入を検出する方法の開発

蛍光プローブによるラベルがペプチドと膜との相互作用やペプチドの細胞内で挙動に影響を与える場合がある。本研究では、蛍光ラベルされていない CPP の GUV の内腔への侵入やそこの濃度を検出する方法を開発することに成功した。この方法では、高濃度のカルセインを含む LUV を多く含む GUV を用いる。この状態は自己消光により GUV 内腔の蛍光強度は小さい。CPP が GUV 内腔へ侵入して、LUV と相互作用してカルセインの漏れを誘起すると、自己消光が解消され蛍光強度が増大する。この方法を用いて、蛍光ラベルされていない TP10 の GUV 内腔への侵入を CLSM を用いた単一 GUV 法により研究した。その結果、TP10 は GUV の膜にポア形成をせずに膜を透過して GUV 内腔に侵入することを見出した。カルセインの GUV 内腔の濃度を測定することにより、TP10 の侵入の時間経過をモニターすることができた。また、その侵入速度はペプチド濃度とともに増加した。 (*Biochemistry* 59, 1780, 2020)

(4) Mag のポア形成に対する膜電位の効果

Mag の GUV 膜中のポア形成に対する膜電位の効果を、上記の (1) や (2) に記載した方法を用いて研究した。膜電位存在下でも、膜電位がない場合と同じようなカルセインの膜透過を Mag が誘起し、ポア形成が起こっていることを示した。ポア形成の速度定数 k_p は負の膜電位の増加とともに増加することを見出した。また、蛍光ラベルした Mag (CF-Mag) と GUV の相互作用を CLSM により観測すると、GUV の外側の単分子膜の膜界面での CF-Mag 濃度 (X_{OM}) の時間変化を測定することが可能である。負の膜電位が存在すると、CF-Mag の結合による GUV 膜の蛍光強度は増大する。負の膜電位が増加するにつれて GUV 膜の蛍光強度は増大し、そのことは負の膜電位が増加するにつれて CF-Mag の GUV の外側の単分子膜での濃度 X_{OM} が増大

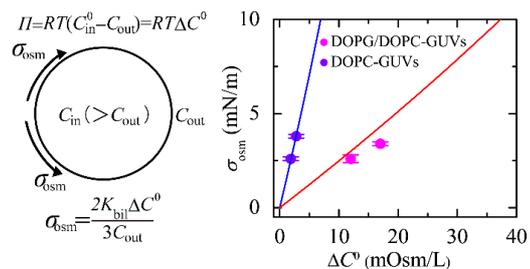
することを示している。さらにこの結果を理論的に解析し、合理的に説明することに成功した。この現象のメカニズムとして、負の膜電位の増大につれて X_{OM} の増加が起こり、それが内側単分子膜の張力を増大させてポア形成の速度定数を増大させたと考えられる。(BBA-Biomembranes, 1862, 183381, 2020)

(5) 脂質やペプチドの外側と内側の単分子膜での非対称分布による脂質膜の膜張力

まず、脂質が外側と内側の単分子膜で非対称分布をしている場合のベシクルでの、それぞれの単分子膜中の脂質の断面積や膜張力を理論的に求めた。非対称分布のパラメーターとしては、外側と内側の単分子膜中の脂質の数の比 η を用いた。 η が 1 より大きくなるにつれて、内側の単分子膜中の脂質の断面積は増大し、外側の単分子膜中の脂質の断面積は減少した。この依存性は、分子動力学法で求めた結果と良く一致した。さらにこの結果より、外側と内側の単分子膜での張力を求めることができ、張力の絶対値は同じだが、符号が逆であることがわかった。言い換えれば、 η が 1 より大きくなるにつれて、内側の単分子膜は伸展し、外側の単分子膜は圧縮していることがわかる。次に、ペプチドの非対称性分布を理論的に解析した。ペプチドの非対称性分布のモデルとして、外側の単分子膜はペプチドが膜界面に結合し、ペプチド/脂質複合体の領域と脂質膜のみの 2 種類の領域から構成されるが、内側の単分子膜は脂質のみの膜で構成される。ペプチドが外側の単分子膜の膜界面に結合した場合の、外側と内側の単分子膜での張力を理論的に求めた。この場合も張力の絶対値は同じだが、符号が逆であることがわかった。つまり、内側の単分子膜が進展している場合は、外側の単分子膜の脂質膜領域は圧縮される。内側の単分子膜の張力の理論式は、外側の単分子膜のペプチド濃度に比例するが、これは実験結果と一致した。(J. Phys. Chem. B, 123, 4645, 2019)

(6) 生理的イオン強度の緩衝液中の負に荷電した脂質のベシクルが浸透圧下にある時の膜張力

浸透圧によって誘起される 緩衝液 (150 mM NaCl を含む) 中の DOPG/DOPC-GUV の膜の張力 σ_{osm} の評価を実験的に行い、理論式と比較した。まず、マイクロピペットで一定張力 σ_{ex} を GUV の膜にかけた時の GUV の破裂の速度定数 k_r を種々の浸透圧下で測定し、どの浸透圧下



でも k_r が σ_{ex} の増加につれて増大することを見出した。浸透圧下ではマイクロピペットによる一定張力 σ_{ex} と浸透圧による膜の張力 σ_{osm} を合わせた全体の膜張力が GUV を破裂させることを考え、浸透圧下の k_r - σ_{ex} 曲線と浸透圧がない場合のその曲線を比較することにより、 σ_{osm} を定量的に求めた。また、緩衝液中の GUV の σ_{osm} を理論的に求め、実験結果と誤差範囲内で一致することを明らかにした。次に、浸透圧下の GUV の体積変化の測定から σ_{osm} を実験的に求め、それらが理論値と誤差範囲内で一致することを明らかにした。今回求められた DOPG/DOPC-GUV の σ_{osm} は同じ浸透圧による DOPC-GUV の σ_{osm} より小さいが、その要因が GUV の懸濁液の溶質濃度と膜の弾性率の違いであることを明らかにした。最後に、脂質のフリップフロップの速度定数の浸透圧依存性を測定し、 σ_{osm} が増大するにつれて、脂質のフリップフロップの速度定数が大きく増大することを見出した。(J. Phys. Chem. B, 124, 5588, 2020)

(7) LfcinB (4-9) の細胞質やベシクル内腔への侵入速度に対する膜電位の効果

蛍光プローブをラベルした LfcinB (4-9) (Rh-LfcinB (4-9)) と 1 個の大腸菌細胞や大腸菌スフ

エロプラストのとの相互作用を CLSM で研究し、低濃度の Rh-LfcinB (4-9) がカルセインの漏れを起こさずに大腸菌やそのスフェロプラストの細胞質に侵入することを見出した。この結果は細胞膜にポア形成などの損害を与えずに、このペプチドが細胞質に侵入することを示している。一方、 H^+ -イオノフォアである CCCP はこれらの細胞質への侵入を阻害した。CCCP 存在下では膜電位を消失させるので、ペプチドの細胞質侵入には膜電位が重要な役割を果たしていることが分かった。次に、Rh-LfcinB (4-9) の *E.coli*-lipid GUV の内腔への侵入に対する膜電位の効果を、上記 (1) の方法を用いて研究した。ここでは、ペプチドの GUV 内腔への侵入の検出に小さな GUV を内腔を含む GUV を用いた。Rh-LfcinB (4-9) は膜にポアを形成せずに膜電位がかかっている *E.coli*-lipid GUV の内腔へ侵入した。GUV 内腔への侵入の速度を意味するペプチドの内腔への侵入の確率は負の膜電位の増加とともに増加することを見出した。以上の結果は、膜電位が Rh-LfcinB (4-9) の大腸菌細胞質や GUV 内腔への侵入の速度を増大させ、その結果細胞死が誘起されることを示している。(*J. Bacteriol.* 203, e00021-21, 2021)

(8) 蛍光プローブラベルされていない PGLa の膜透過と GUV 内腔への侵入の検出

上記 (3) の方法を用いて、蛍光プロープでラベルされていない PGLa の GUV の内腔への侵入を CLSM を用いた単一 GUV 法により研究した。その結果、低い濃度の PGLa は GUV の膜にポア形成をせずに膜を透過して GUV 内腔に侵入することを見出した。PGLa の侵入速度はペプチド濃度とともに増加した。高濃度のペプチド存在下では、ペプチドの GUV 内腔への侵入後に膜にポア形成が誘起された。PGLa の単一 GUV 内腔への侵入と GUV の膜面積の変化を同時に測定する方法を開発し、GUV の膜面積が最初の一定値から最後の一定値に変化する間に、PGLa が GUV 内腔へ侵入することを見出した。このことは、PGLa が外側の単分子膜から内側の単分子膜に移行するときに、GUV 内腔へ侵入することを意味している。PGLa の単一 GUV 内腔への侵入速度は膜の張力の増加とともに増大した。これらの実験結果に基づき、PGLa の膜透過やベシクル内腔への侵入のメカニズムを考察した。

(*BBA-Biomembranes*, 1863, 183680, 2021)

(9) Mag のポア形成に対する浸透圧の効果

浸透圧により発生する膜張力は、最近我々の研究室で開発した方法 (上記 (6)) で実験的に求めた。小さな浸透圧の場合は Mag はナノポアを GUV の膜中に形成したが、大きな浸透圧の場合は GUV の破裂を誘起する場合もあった。ポア形成の速度定数 k_p は浸透圧の増加とともに増加することを見出した。Mag による GUV の破裂のプロセスを解明するために、GUV 膜に蛍光ラベルした脂質 (NBD-PE) を少量含ませて、10 ms の分解能で GUV の破裂を観測した。その結果、まず小さなマイクロメートルサイズのポアが発生し、その直径が時間とともに増加するとともにポアの縁の NBD-PE による蛍光強度が増大していき、最終的には脂質膜の凝集体になった。浸透圧下にある GUV と Mag の相互作用による GUV の面積変化率を測定した。浸透圧下にある GUV が Mag と相互作用した時の、内側の単分子膜にかかる張力 (σ_{in}) は Mag による張力と浸透圧による張力の和になることを用いて、 σ_{in} を数値的に評価した。その結果を用いて、Mag によるポア形成の速度定数 k_p が σ_{in} の増加とともに増大することを見出した。以上の結果より、Mag のポア形成とその進化に対する浸透圧の効果のメカニズムを議論した。

(*Phys. Chem. Chem. Phys.* 24, 6716, 2022)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hossain Farzana, Dohra Hideo, Yamazaki Masahito	4. 巻 203
2. 論文標題 Effect of Membrane Potential on Entry of Lactoferricin B-Derived 6-Residue Antimicrobial Peptide into Single Escherichia coli Cells and Lipid Vesicles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 e00021-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JB.00021-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ali Md. Hazrat, Shuma Madhabi Lata, Dohra Hideo, Yamazaki Masahito	4. 巻 1863
2. 論文標題 Translocation of the nonlabeled antimicrobial peptide PGLa across lipid bilayers and its entry into vesicle lumens without pore formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2021.183680	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Achadu Ojodomo J., Abe Fuyuki, Hossain Farzana, Nasrin Fahmida, Yamazaki Masahito, Suzuki Tetsuro, Park Enoch Y.	4. 巻 193
2. 論文標題 Sulfur-doped carbon dots@polydopamine-functionalized magnetic silver nanocubes for dual-modality detection of norovirus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 113540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2021.113540	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Moghal Md. Mizanur Rahman, Shuma Madhabi Lata, Islam Md. Zahidul, Yamazaki Masahito	4. 巻 2083
2. 論文標題 A Single GUV Method for Revealing the Action of Cell-Penetrating Peptides in Biomembranes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell-Penetrating Peptides: Methods and Protocols, third edition, Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 167 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1752-6_11	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Billah Md. Masum, Saha Samiron Kumar, Or Rashid Md. Mamun, Hossain Farzana, Yamazaki Masahito	4. 巻 24
2. 論文標題 Effect of osmotic pressure on pore formation in lipid bilayers by the antimicrobial peptide magainin 2	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 6716 ~ 6731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1CP05764B	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 M. M. R. Moghal, F. Hossain, M. Yamazaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Action of antimicrobial peptides and cell-penetrating peptides on membrane potential revealed by the single GUV method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biophys. Rev.	6. 最初と最後の頁 339-348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-020-00662-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 M. L. Shuma, M. M. R. Moghal, M. Yamazaki	4. 巻 59
2. 論文標題 Detection of the entry of nonlabeled transportan 10 into single vesicles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1780-1790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00102	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 A. D. Chowdhury, S. Sharmin, F. Nasrin, M. Yamazaki, F. Abe, T. Suzuki, E. Y. Park	4. 巻 3
2. 論文標題 Use of target- specific liposome and magnetic nanoparticle conjugation for the amplified detection of nanovirus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 3560-3568
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsabm.0c00213	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 M. M. O. Rashid, M. M. R. Moghal, M. M. Billah, M. Hasan, M. Yamazaki	4. 巻 1862
2. 論文標題 Effect of membrane potential on pore formation by the antimicrobial peptide magainin 2 in lipid bilayers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BBA- Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2020.183381	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. K. Saha, S. U. A. Shibly, M. Yamazaki	4. 巻 124
2. 論文標題 Membrane tension in negatively charged lipid bilayers in a buffer under osmotic pressure	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 5588-5599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c03681	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 F. Nasrin, A. D. Chowdhury, A. B. Ganganbonina, O. J. Achadu, F. Hossain, M. Yamazaki, E. Y. Park	4. 巻 187
2. 論文標題 Fluorescent and electrochemical dual-mode detection of Chikungunya virus E1 protein using fluorophore-embedded and redox probe-encapsulated liposomes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microchimica Acta	6. 最初と最後の頁 674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00604-020-04656-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 M. Hasan, M. M. R. Moghal, S. K. Saha, M. Yamazaki	4. 巻 11
2. 論文標題 The role of membrane tension in the action of antimicrobial peptides and cell-penetrating peptides in biomembranes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophys. Rev.	6. 最初と最後の頁 431-448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-019-00542-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 V. Levadnyy, M. Hasan, S. K. Saha, M. Yamazaki.	4. 巻 123
2. 論文標題 Effect of transmembrane asymmetric distribution of lipids and peptides on lipid bilayers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 4645-4652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.9b01562	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 F. Hossain, M. M. R. Moghal, M. Z. Islam, M. Moniruzzaman, M. Yamazaki	4. 巻 294
2. 論文標題 Membrane potential is vital for rapid permeabilization of plasma membranes and lipid bilayers by the antimicrobial peptide lactoferricin B	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem	6. 最初と最後の頁 10449-10462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.007762	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 M. M. R. Moghal, M. Z. Islam, F. Hossain, S. K. Saha, M. Yamazaki	4. 巻 118
2. 論文標題 Role of Membrane Potential on Entry of Cell-Penetrating Peptide Transportan 10 into Single Vesicles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biophys. J.	6. 最初と最後の頁 57-69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2019.11.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計38件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 Farzana Hossain, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 World Microbe Forum (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Md. Hazrat Ali, Madhabi Lata, Shuma, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Translocation of the nonlabeled antimicrobial peptide PGLa across lipid bilayers and its entry into vesicle lumen without pore formation
3. 学会等名 2021 (20th) International Biophysics Congress (IUPAB) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 2021 (20th) International Biophysics Congress (IUPAB) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Modes of action of antimicrobial peptides revealed by the single giant unilamellar vesicle method and single cell experiments
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Md. Masum Billah, Samiron Kumar Saha, Md. Mamun Or Rashid, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of osmotic pressure on antimicrobial peptide magainin 2-induced pore formation in giant unilamellar vesicles
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Md. Hazrat Ali, Madhabi Lata, Shuma, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Entry of nonlabeled antimicrobial peptide PGLa into giant unilamellar vesicle lumen without pore formation
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Minimum interaction time for bactericidal activity of antimicrobial peptides
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 The 8th International Symposium toward the Future of Advanced Research of Shizuoka University (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Farzan Hossain, Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Mamun Or Rashid, Md. Zahidul Islam, and Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on action of cell-penetrating peptides and antimicrobial peptides in single giant unilamellar vesicles and single bacterial cells
3. 学会等名 令和3年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丹波之宏、杉田直哉、寺田美花、山崎昌一
2. 発表標題 緑茶由来フラボノイドにより誘起される巨大単一膜ベシクルの破裂の張力による阻害
3. 学会等名 令和3年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masahito Yamazaki
2. 発表標題 The single GUV method for revealing mode of action of antimicrobial peptides (AMPs) and cell-penetrating peptides (CPPs)
3. 学会等名 日本生物物理学会第58回年次大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Madhabl Lata Shuma, Md. Mizanur Rahman Moghal, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Detection of entry of nonlabeled cell-penetrating peptide transportan 10 with single giant unilamellar vesicles
3. 学会等名 日本生物物理学会第58回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of antimicrobial peptide LfcinB (4-9) into single E. coli cells, spheroplasts, and GUVs
3. 学会等名 日本生物物理学会第58回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Md. Mamun Or Rashid, Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Masum Billah, Moynul Hasan, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on antimicrobial peptide magainin 2 -induced pore formation in lipid bilayers
3. 学会等名 日本生物物理学会第58回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Samiron Kumar Saha, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 The effect of osmotic pressure on the transbilayer movement (flip-flop) of lipid molecules
3. 学会等名 日本生物物理学会第58回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hazrat Ali, Madhabi Lata Shuma, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Interaction of nonlabeled antimicrobial peptide PGLa with single giant unilamellar vesicles
3. 学会等名 日本生物物理学会第58回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naoya Sugita, Mika Terada, Yukihiro Tamba, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Epigallocatechin gallate induces the burst of giant unilamellar vesicles in the tension-dependent manner
3. 学会等名 日本生物物理学会第58回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Farzan Hossain, Hideo Dohra, and Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 令和2年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丹波之宏、杉田直哉、山崎昌一
2. 発表標題 緑茶由来フラボノイドにより誘起される巨大単一膜ベシクルの破裂の張力による阻害
3. 学会等名 令和2年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Zahidul Islam, Md. Moniruzzaman, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Membrane potential is vital for rapid permeabilization of plasma membranes and lipid bilayers by the antimicrobial peptide lactoferricin B
3. 学会等名 American Biophysical Society 64th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Zahidul Islam, Samiron Kumar Saha, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of cell-penetrating peptide transportan10 into single vesicles
3. 学会等名 American Biophysical Society 64th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Md. Mamun Or Rashid, Md. Mizanur Rahman Moghal, Moynul Hasan, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on antimicrobial peptide magainin 2 (mag)-induced pore formation in lipid bilayers
3. 学会等名 The 4th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Madhabl Lata Shuma, Md. Mizanur Rahman Moghal, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Interaction of non-fluorescent probe-labelled cell-penetrating peptide transportan 10 with single giant unilamellar vesicles
3. 学会等名 The 4th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Samiron Kumar Saha, Sayed Ul Alam Shibly, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Estimation of Membrane Tension of DOPG/DOPC-GUVs Induced by Osmotic Pressure
3. 学会等名 The 4th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	Farzana Hossain, Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Zahidul Islam, Md. Moniruzzaman, Masahito Yamazaki
2. 発表標題	Membrane potential is vital for rapid permeabilization of plasma membranes and lipid bilayers by the antimicrobial peptide lactoferricin B
3. 学会等名	The 4th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Md. Mamun Or Rashid, Md. Mizanur Rahman Moghal, Moynul Hasan, Masahito Yamazaki,
2. 発表標題	Effect of membrane potential on antimicrobial peptide magainin 2-generated pore formation in lipid bilayers
3. 学会等名	The 6th International Symposium toward the Future of Advanced Research of Shizuoka University (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Madhabl Lata Shuma, Md. Mizanur Rahman Moghal, Masahito Yamazaki
2. 発表標題	Interaction of non-fluorescent probe-labelled cell-penetrating peptide transportan 10 with single giant unilamellar vesicles
3. 学会等名	The 6th International Symposium toward the Future of Advanced Research of Shizuoka University (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Samiron Kumar Saha, Sayed Ul Alam Shibly, Masahito Yamazaki,
2. 発表標題	Estimation of Membrane Tension of DOPG/DOPC-GUVs Induced by Osmotic Pressure
3. 学会等名	The 6th International Symposium toward the Future of Advanced Research of Shizuoka University (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Zahidul Islam, Md. Moniruzzaman, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Membrane potential is vital for rapid permeabilization of plasma membranes and lipid bilayers by the antimicrobial peptide lactoferricin B
3. 学会等名 The 6th International Symposium toward the Future of Advanced Research of Shizuoka University (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Zahidul Islam, Md. Moniruzzaman, Masahito Yamazaki,
2. 発表標題 Membrane potential is vital for rapid permeabilization of plasma membranes and lipid bilayers by the antimicrobial peptide lactoferricin B
3. 学会等名 日本生物物理学会第57回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Zahidul Islam, Samiron Kumar Saha, Masahito Yamazaki,
2. 発表標題 Effect of membrane potential on the entry of cell-penetrating peptide transportan10 into the lumen of single vesicles and its mechanism
3. 学会等名 日本生物物理学会第57回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Md. Mamun Or Rashid, Md. Mizanur Rahman Moghal, Moynul Hasan, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on antimicrobial peptide magainin 2 (mag)-induced pore formation in lipid bilayers
3. 学会等名 日本生物物理学会第57回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Madhabl Lata Shuma, Md. Mizanur Rahman Moghal, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Interaction of non-fluorescent probe-labelled cell-penetrating peptide transportan 10 with single giant unilamellar vesicles
3. 学会等名 日本生物物理学会第57回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Samiron Kumar Saha, Sayed Ul Alam Shibly, Masahito Yamazaki,
2. 発表標題 Estimation of Membrane Tension of DOPG/DOPC-GUVs Induced by Osmotic Pressure
3. 学会等名 日本生物物理学会第57回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukihiro Tamba, Mika Terada, Naoya Sugita, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Mechanism of the burst of giant unilamellar vesicles induced by epigallocatechin gallate
3. 学会等名 日本生物物理学会第57回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Farzan Hossain, Md. Mizanur. Rahman Moghal, Md. Moniruzzaman, Md. Zahidul Islam.and Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Membrane potential is vital for rapid permeabilization of plasma membranes and lipid bilayers by the antimicrobial peptide lactoferricin B ”
3. 学会等名 令和元年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丹波之宏、中川元斗、手老龍吾、岡本吉晃、山崎昌一
2. 発表標題 グラフェン酸化物が誘起する巨大単一膜ベシクルの破裂と収縮
3. 学会等名 令和元年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

山崎研究室（静岡大学電子工学研究所）生体膜のイメージングからメカニズムへ
<https://wpp.shizuoka.ac.jp/masahito-yamazaki-1a/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岡 俊彦 (Oka Toshihiko) (60344389)	静岡大学・電子工学研究所・准教授 (13801)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ロシア連邦	ロシア科学アカデミー			
バングラデシュ	Jahangirnagar University			