

The bactericidal mechanism of lactoferricin B and its fragment revealed by the single GUV method

メタデータ	言語: en 出版者: Shizuoka University 公開日: 2017-06-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Md., Moniruzzaman メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00024341

専攻 バイオサイエンス 学籍番号 55344021 学生氏名 Md. Moniruzzaman

論文題目 The bactericidal mechanism of lactoferricin B and its fragment revealed by the single GUV method (単一巨大リポソーム法により明らかにされたラクトフェリシンBとそのフラグメントの殺菌活性のメカニズム)

本論文は、抗菌ペプチドのラクトフェリシンB (LfcinB) とそのフラグメントである LfcinB (4-9) の殺菌活性のメカニズムの解明を目的として、これらのペプチドと大腸菌の相互作用や単一巨大リポソーム法によるこれらのペプチドと脂質膜の巨大リポソーム (GUV) の相互作用の研究を行い、それらの相互作用のモードや素過程を明らかにしたものである。

第1章では、研究の背景や目的が記載されている。第2章では、LfcinB と大腸菌や脂質膜のリポソームの相互作用の研究結果が記載されている。まず LfcinB と大腸菌の相互作用では、膜を透過できない蛍光プローブである SYTOX green が10分以内で大腸菌の細胞質に侵入しDNAに結合することを示した。この結果は、LfcinB が短時間で大腸菌の細胞膜にダメージを与え、SYTOX green が細胞膜を透過できるようにしたことを示している。次に、LfcinB とジオレオイルホスファチジルグリセロール(DOPG)とジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC)のGUVの相互作用を単一GUV法により調べ、水溶性蛍光プローブであるカルセインのGUV内部から外部への急速な漏れがランダムに起こることを見出し、その統計的な解析からLfcinBの誘起する膜中のポア形成の速度定数 k_p を求めた。一方、LfcinBはGUVからスクロースの急速な漏れを誘起し、同時にGUVの直径がわずかに減少した。この局所的な膜破裂の速度定数 k_b と k_p がほぼ一致したことから、カルセインの漏れはこの膜破裂のときに生じていると考えられる。LfcinBと膜の静電相互作用が大きくなると k_p が増大することや、LfcinBが誘起するGUVの変形の解析からGUVの外側の単分子膜の面積が増大することも見出した。以上の結果はLfcinBが大腸菌の細胞膜の脂質膜領域にダメージを与え、細胞内物質の急速な漏れを誘起することがLfcinBの殺菌活性の要因であることを示唆する。第3章では、LfcinB (4-9)と大腸菌や脂質膜のリポソームの相互作用の研究結果が記載されている。まずLfcinB(4-9)と大腸菌の相互作用では、SYTOX greenの細胞質への侵入は観測されなかった。次に、蛍光ラベルしたLfcinB(4-9) (Rh-LfcinB(4-9))とカルセインを取り込んだ大腸菌1個の相互作用を共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)を用いて調べ、カルセインの漏れなしにRh-LfcinB(4-9)が大腸菌の細胞質内に侵入することを明らかにした。また、ベシクルと水溶性の蛍光プローブであるAF647を含むDOPG/DOPC-GUVとRh-LfcinB(4-9)の相互作用をCLSMにより単一GUV法で調べた結果、AF647の漏れなしにRh-LfcinB(4-9)がGUV内部に侵入し、GUV内部に侵入する確率はその濃度とともに増大することを見出した。以上の結果は、LfcinB (4-9)が大腸菌の細胞膜にダメージを与えずに細胞内に侵入することがその殺菌活性の要因であることを示唆する。第4章では以上の結果の総括的な議論がなされている。

以上のように、本論文の内容は独創性に富み、LfcinBとLfcinB (4-9)の殺菌活性に関する有用な知見を与えるだけでなく、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。