

# 学位審査報告書

(ふりがな) 氏名	しんたに めぐみ 新谷 恵
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第 号
学位授与の日付	平成 年 月 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科 化学専攻
(学位論文題目)	溶液NMRと分子動力学シミュレーションによるリン脂質膜の相互作用とダイナミクスの研究
論文調査委員	(主査) 松林 伸幸 准教授 長谷川 健 教授 寺西 利治 教授

理学研究科

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理 学 )	氏名	新谷 恵
論文題目	溶液 NMR と分子動力学シミュレーションによるリン脂質膜の相互作用とダイナミクスの研究		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>本論文では、溶液 NMR 法と分子動力学シミュレーションを用いて、リン脂質膜の原子レベルでの構造とダイナミクスについて議論した。溶液 NMR 法による核オーバーハウザー効果(NOE)測定のための新規手法を提案し、低曲率の脂質膜における定量 NOE 解析を可能とした。この新手法と大規模な分子動力学(MD)シミュレーションとを相補的に組み合わせることによって、脂質ダイナミクスの強い曲率依存性を明らかにした。同様の手法を用いて、これまで理論計算からのみ指摘されていた疎水性小分子の膜内分布を、実験的に観測することに成功した。さらに、脂質ダイナミクスの曲率依存性の知見に基づき、長鎖と短鎖の脂質混合系の形状変化を明らかにした。</p> <p>本研究では、溶液系の大きなベシクルの NMR シグナルのブロードニングを解消するため、transient NOE-SE 法を考案した。従来の transient NOE 法と spin-echo(SE)法を組み合わせ、定量解析を妨げる幅広いシグナルを優先的に減衰させるものである。この transient NOE-SE 法を用いることで、溶液状態における直径 5~800 nm という幅広い曲率の膜の NOE 定量測定に成功し、その強い曲率依存性を見出した。高曲率のミセルでは、最近接の相関対のみ NOE が観測されたことに対し、低曲率のベシクルでは、最も遠い相関対と最近接の相関対の NOE が同じオーダーで検出された。</p> <p>NOE の曲率依存性の起源を明らかにするため、NOE 実験と MD シミュレーションを相補的に組み合わせ、交差緩和速度定数に寄与する核間距離と配向相関時間の分割を行った。その結果、低曲率の膜では核間距離に比べて相関時間のサイト依存性が非常に強いことが明らかとなった。NOE の曲率依存性は、強い動的不均一性を反映したものである。NOE に主に反映される情報は、ミセル系では距離情報であることに対し、大きなベシクル系ではダイナミクス情報であることが明らかになった。</p> <p>疎水性小分子の膜結合位置や配向を解析するために、疎水性の置換基をもつ 1-methylnaphthalene および親水性置換基をもつ 1-naphthol の 2 種のナフタレン誘導体を用いて、それらとリン脂質間の transient NOE-SE 測定を行った。置換基の種類に関わらず、両方のナフタレン誘導体が、膜の親水部から疎水末端まで幅広く分布することを実験的に示した。疎水性小分子の幅広い膜内分布は、これまで MD 研究からのみ指摘されており、実験的に観測することに成功したのは本研究が初めてである。さらに、NOE 実験と MD 計算を組み合わせることにより核間距離を見積もり、1-naphthol は OH 基を親水基側に向ける弱い配向性をもつことを明らかにした。また、1-methylnaphthalene は、1-naphthol よりも膜の疎水部にやや近い分布をとることが分かった。</p> <p>添加物の無い脂質混合系について、<math>^1\text{H}</math>-、<math>^{31}\text{P}</math>-NMR、<math>^1\text{H}</math>-NOE 測定を行い、その集合体の形状を明らかにした。球状ミセルおよび球状ベシクル系の NOE の曲率依存性の知見に基づいて、球状混合ミセルや平面部をもつディスク状バイセル、高曲率のひも状ミセルの存在を議論した。特に、これまで意見の分かれていた温度・混合条件において、ひも状ミセルが主要な形状であることを示した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

学位論文は、生体モデル膜としてのリン脂質二分子膜の構造とダイナミクスに関する論文を基礎として構成されている。NMR 法における核オーバーハウザー効果(NOE)測定のための新規手法を提案し、低曲率の脂質膜における定量 NOE 解析を可能にしたことは、大きな成果である。この新手法と大規模な分子動力学(MD)計算を相補的に組み合わせることによって、NOE 測定による不均一系の動的構造解析という NMR 法の新局面を拓いている。また、これまでは理論計算のみから指摘されていた疎水性小分子の膜内分布を、実験的に観測することに成功しており、実験と理論研究との乖離を埋める役割を果たしている。単一脂質系から、小分子を含む系および脂質混合系へと展開しており、NMR 法の発展のみならず、複雑な生体膜の構造の理解に向けた発展可能性の観点からも、高い価値の内容が含まれていると判断した。

申請者が提案した新規な NOE 測定手法は、これまで溶液状態では困難であった大きなベシクルの定量 NOE 解析を可能とするものである。これまで、溶液 NMR 法による脂質膜の測定は、鋭いシグナルが得られる高曲率の系に限られており、生体膜の重要な因子の一つである膜曲率の議論は限られていた。申請者は、従来の NOE 測定法と spin-echo 法を組み合わせ、定量解析を妨げるブロードな NMR シグナルを優先的に減衰させ、シャープな成分の定量解析を可能にする手法を案出した。これを用いて、幅広い曲率の脂質膜の定量 NOE 解析を成功させている。

一般に、NOE は核間距離という静的構造情報に対応すると考えられているが、本研究は、低曲率の脂質膜の場合には、NOE が配向相関時間というダイナミクス情報に対応することを見出している。MD 計算から得られた距離情報を相補的に利用することで、NOE に寄与する核間距離と配向相関時間を分割して評価し、配向相関時間の強い曲率依存性の存在を明らかにしている。NOE 実験と MD 計算を組み合わせた動的構造解析の可能性を拓くに至っている。非常に遅い運動モードをもつ系に対しては、NOE を距離情報とする「通常の解析手法」は誤る可能性を指摘しており、脂質膜のみならず動的に不均一な系の NOE 解析にとって重要な知見である。

本論文では、疎水性小分子の膜内分布の実験的観測にも成功している。脂質と他の分子の相互作用についての実験研究は、比較的大きな機能性分子を対象としたものが多い。一方で、理論研究は小分子系に限られており、実験研究と理論研究にギャップが存在していた。申請者が新規に提案した NOE 測定法によって脂質と小分子の定量 NOE 解析を行い、脂質膜中における疎水性小分子の実験的観測に初めて成功している。さらに、NOE 測定に MD 計算を組み合わせる解析手法により、小分子の膜内分布、配向、ダイナミクスについての系統的な議論を可能にしている。

得られたベシクル系の曲率依存性の知見に基づいて、添加物の無い脂質混合系の形状を明らかにしている。特に、これまで統一的理解が得られていなかった温度および混合条件について、ひも状ミセルが形成する領域を明らかにしている。最小モデル膜として注目されるバイセルを形成する条件探索の基盤となる知見である。

以上の審査結果から、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 25 年 3 月 19 日に、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った。その結果合格と認めた。

要旨公開可能日： 年 月 日以降