

氏名 諸 根 信 弘  
 学位(専攻分野) 博士 (工 学)  
 学位記番号 工 博 第 1854 号  
 学位授与の日付 平成 11 年 5 月 24 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 工学研究科合成・生物化学専攻  
 学位論文題目 Poly(ethylene oxide)-Substituted Lipids  
 —Dynamics on Liposomal Surface—  
 (ポリエチレンオキッド置換脂質 —そのリポソーム表層における運動性—)

論文調査委員 (主査) 教授 砂本順三 教授 齋藤 烈 教授 北川 進

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、細胞融合能を有するポリエチレンオキッド置換脂質(以下 PEO 脂質と略記する)のリポソーム表層での運動性と水和について種々の角度から研究し、その結果を序論と結言に加えて 4 章にまとめたものである。第 1 章では PEO 脂質により修飾したリポソーム膜の形態を動的散乱法及び透過型電子顕微鏡法により検証し、また PEO 脂質修飾過程のリポソーム膜への摂動を蛍光法を用いて検討している。第 2 章ではこの PEO 脂質修飾リポソーム膜中の脂質の運動性を、第 3 章では PEO 鎖への水和について NMR 緩和法及び蛍光偏光解消法により明らかにしている。第 4 章ではこの PEO 修飾リポソームと脂質単分子膜間の膜融合過程について表面圧測定に基づく解析法を新しく提案し、その有効性を検討している。主な研究成果は以下のとおり要約される。

第 1 章では、通常のレシチンリポソーム膜の表面を PEO 脂質で効率良く修飾することに成功し、修飾後の形態および修飾過程のリポソーム膜への摂動について検討している。その結果、(1) PEO 脂質修飾を受けた後でもリポソーム由来の二分子膜構造は維持されていること、(2) PEO 鎖長が長くなるほど PEO 脂質修飾過程でのリポソーム膜の摂動は大きくなることを見出した。またこの PEO 脂質修飾リポソームが高分子薬剤(1.96 kDa 相当の親水性物質)を輸送するのに適していることをも実証した。

第 2 章では、リポソーム表層での PEO セグメントの運動性を NMR 緩和法により、またリポソーム膜疎水部の流動性を蛍光偏光解消法によって定量的に評価した。その結果、リポソーム膜表面での PEO セグメントの微視的運動性は PEO 鎖長に依存しないにも関わらず、リポソーム膜の流動性は PEO 鎖長に依存することを明らかにした。これは脂質の親水性頭部の分子運動が膜の疎水部の物性に影響するという興味深い結果である。

PEO 脂質修飾リポソームの持つ細胞融合性は脂質膜表面の水和水と PEO 鎖との相互作用に依存すると考えられる。第 3 章では、PEO セグメントへの水和を NMR 緩和法により解析し、その結合水の分子数、運動性、水素結合エネルギーについて明らかにしている。その結果、PEO 脂質に結合している水の数には PEO 鎖長とは無関係にエチレンオキッド残基あたり 1 分子であり、この結合水の運動性は PEO 鎖長が短いほど抑制されることを明らかにした。さらにこの水和様式について、結合水の水素原子が PEO 鎖のエーテル酸素間を橋かけする形での水素結合モデルを提案した。

第 4 章では、PEO 脂質修飾リポソームと脂質単分子膜との相互作用による表面圧上昇を追跡することで膜融合過程を解析する新しい方法を提案した。表面圧上昇速度の PEO 鎖長依存性から単分子膜表面での水和水とリポソーム表層 PEO 鎖との相互作用がこの過程の速度を支配していることを明らかにした。即ち PEO 脂質修飾リポソームと細胞との融合過程が両膜表面の水和構造に大きく依存することを実証した。即ち、本解析法はリポソーム膜と脂質単分子膜との相互作用における膜表層の構造の影響を調べるための有効な手法であることを示した。

以上本論文は、PEO 脂質修飾リポソーム表層での PEO 鎖の運動性と水和を調べることで PEO 鎖の細胞融合機能が発現

される機構を理解するための重要な知見を報告し、細胞融合リボソームの設計のための重要な指針を与えている。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、細胞融合能を有するポリエチレンオキシド置換脂質（PEO 脂質）のリボソーム表層での運動性と水和についてまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

(1) 通常のレシチンリボソーム膜の表面を PEO 脂質で効率良く修飾することに成功した。PEO 脂質修飾時のリボソーム膜に及ぼす摂動は PEO 鎖長が長くなるほど増加した。

(2) リボソーム膜疎水部の流動性を蛍光偏光解消法によって定量的に評価した。リボソーム膜表面での PEO セグメントの微視的運動性は PEO 鎖長に依存しないにも関わらず膜疎水部の流動性は PEO 鎖長に依存することから、脂質親水性頭部の運動性がリボソーム膜の疎水部の流動性を制御していることを明らかにした。

(3) PEO 脂質の水和は PEO 鎖長とは無関係にエチレンオキシド残基あたり 1 分子であり、水和水の運動性は PEO 鎖長が短いほど大きく抑制されることを明らかにした。この水和機構として隣接する PEO 鎖のエーテル酸素間を水分子による水素結合で橋かけしているモデルを提案した。

(4) PEO 脂質修飾リボソームと脂質単分子膜との相互作用による単分子膜の表面圧上昇を追跡することで膜融合過程を解析する新しい方法を提案した。表面圧上昇速度の PEO 鎖長依存性から単分子膜表面での水和水とリボソーム表層の PEO 鎖との相互作用がこの過程の速度を支配していることを明らかにした。

以上本論文は、PEO 脂質修飾リボソーム表層での PEO 鎖の運動性と水和を調べて PEO 脂質修飾リボソームが細胞融合機能を発現する機構を理解するための重要な知見を報告している。即ち本論文は細胞融合リボソームの設計のための有益な指針を与えた。それ故これらの研究成果は学術的にも実際的にも極めて有意義である。よって、本論文は博士（工学）の論文として価値あるものと認める。また、平成 11 年 3 月 18 日、論文内容とそれに関連した試問を行った結果、合格と認めた。