



Title	Studies on Protein Refolding Process and Stress-Responsive Functional Materials Using Liposomes
Author(s)	吉本, 誠
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42191
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	吉 本 誠
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 9 7 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 10 月 20 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 基礎工学研究科 化学系専攻
学 位 論 文 名	Studies on Protein Refolding Process and Stress-Responsive Functional Materials Using Liposomes (リポソームを用いるタンパク質のリフォールディングプロセスおよびストレス応答型機能材料に関する研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 久保井亮一 (副査) 教 授 駒沢 勲 教 授 田谷 正仁 教 授 葛西道生 教 授 菅 健一

論 文 内 容 の 要 旨

人工生体膜であるリポソーム（脂質二分子膜から形成される機能性分子集合体）は、生体膜モデルとして、あるいは薬物担体として種々の利用が試みられている。しかし、生体膜が本来有する、外部環境因子を認識して非線形に構造・機能を変化させるストレス応答機能、およびストレス条件下における脂質-タンパク質超分子集合体の形成に着目し、新規な材料を開発しようとする研究は、世界的にも極めて少ない。

本研究では、脂質膜の動的な構造、およびストレス条件が負荷された非平衡条件下における、生体高分子との自己組織的な複合体の形成を通じて発現する機能に着目し、タンパク質のリフォールディングプロセスやバイオリアクターなど、脂質膜-タンパク質超分子集合体のストレス応答機能を高度利用した、新規なバイオプロセスの開発を目的とする。

第 1 章では、脂質分子の揺らぎにより生じた、脂質二分子膜の膜流動性や局所的疎水部位を始めとする、動的特性のストレス因子による制御方法に関し、基礎的しかし新規な知見を集積した。また、リポソームの膜流動性、局所的疎水性、表面電荷密度等が、リポソーム誘導型のタンパク質の再活性化、不活性化に及ぼす影響を定量的に明らかにした。第 2 章では、脂質膜が、第 1 章で示した機能を発現するメカニズムを明らかにするため、ストレス条件下でも安定なリポソームのゲルへの固定化法（共有結合法）を開発すると共に、リポソーム固定化ゲルを組み込んだリポソームクロマトグラフィー（ILC）を利用し、非平衡条件下において、揺らぎを通した脂質膜-タンパク質間相互作用、および変性中間体を含むストレス条件下のタンパク質の高次構造を簡便かつ定量的に評価する方法を開発した。第 3 章では、得られた知見を総合し、ストレス条件下におけるタンパク質と脂質膜間の超分子集合体の形成および ILC を高度利用するバイオプロセスを開発した。1、2 章で評価したタンパク質、リポソームの特性を基に、収率、反応濃度、処理時間等を大幅に改善した、タンパク質のリフォールディングプロセスを開発した。さらに、酵素封入リポソームと基質封入リポソームを、構造変化したタンパク質を介して凝集・融合させることにより、新規な薬物担体にも利用し得る、ストレス応答型バイオリアクターを開発した。

以上の研究成果は、ストレス因子により誘発される、揺らぎを介した脂質膜-タンパク質超分子集合体の形成過程に

おける、高次の秩序構造の形成を利用する、全く新規なバイオプロセスの設計に寄与するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

人工生体膜であるリポソーム（脂質二分子膜から形成される機能性分子集合体）は、生体膜モデルとして、あるいは薬物担体として種々の利用が検討されている。本論文は、これまで体系的な検討が行われていない、生体膜が有する、外部環境因子を認識して非線形に構造・機能を変化させるストレス応答機能、およびストレス条件下における脂質-タンパク質超分子集合体の形成に着目し、タンパク質のリフォールディングプロセスやバイオリアクターなど、新規な機能材料の開発を試みたものであり、主な結果は次の通りである。

まず、脂質分子の揺らぎにより生じた、脂質二分子膜の膜流動性や局所的疎水部位を始めとする、動的特性のストレス因子による制御方法に関し、基礎的しかし新規な知見を集積した。また、リポソームの膜流動性、局所的疎水性、表面電荷密度等が、リポソーム誘導型のタンパク質の構造変化に及ぼす影響を定量的に明らかにした。次に、脂質膜が、ストレス応答機能を発現する機構を明らかにするため、ストレス条件下でも安定なリポソームのゲルへの固定化法（共有結合法）を開発すると共に、リポソーム固定化ゲルを組み込んだリポソームクロマトグラフィー（ILC）を利用し、非平衡条件下において、揺らぎを通した脂質膜-タンパク質間相互作用、および変性中間体を含むストレス条件下のタンパク質の高次構造を簡便かつ定量的に評価する方法を開発した。以上の結果に基づき、ストレス条件下におけるタンパク質と脂質膜間の超分子集合体の形成および ILC を高度利用するバイオプロセスを開発した。特に、収率、反応濃度、処理時間等を大幅に改善した、タンパク質のリフォールディングプロセス、および、新規な薬物担体にも利用し得る、ストレス応答型バイオリアクターを開発した。

以上のように、本論文は、(1)リポソームのストレス応答、および(2)ストレス条件下におけるタンパク質-リポソーム間相互作用に関し、定量的な評価を行い、さらに、(3)ストレス条件下における、脂質膜-タンパク質超分子集合体の形成を利用する、全く新規なバイオプロセスを設計できることを明らかにした。よって、博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める。