

Title	Studies on Characterization Methods of Model Biomembranes Modified with Cholesterol and Its Derivatives
Author(s)	Bui, Tham Thi
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.18910/76197
DOI	10.18910/76197
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

Abstract of Thesis

Name (THAM THI BUI)	
Title	Studies on Characterization Methods of Model Biomembranes Modified with Cholesterol and Its Derivatives (コレステロールおよびその誘導体により修飾されたモデル生体膜の特性解析法に関する研究)
Abstract of Thesis	
<p>Lipids and sterols have been studied for better understanding of their self-assembly behaviors and functions in biological membranes. The functions of membranes, such as molecular recognition and transportation, can be controlled by the physicochemical membrane properties that are regulated by the presence of sterols, while the details of the sterol-incorporated membrane properties should be furthermore investigated. The objective of this thesis is to establish the characterization methods to investigate the interaction mechanism of sterol molecules at the lipid membranes.</p> <p>In chapter II, the sterol-modified liposome membranes were systematically characterized using multiple fluorescent probes. Herein, the localized membrane properties were estimated by comparing the fluorescence emission properties of TMA-DPH, Prodan, ANS, Laurdan, and DPH. Cholesterol (Chol) showed significant ordering effects in unsaturated 1,2-dioleoyl-<i>sn</i>-glycero-3-phosphocholine (DOPC) membranes, whereas those effects of Lanosterol (Lan), a precursor of all sterols, were less especially at the membrane surface regions.</p> <p>In chapter III, the potential interaction behaviors between unsaturated phospholipids and Chol and Lan were extendedly estimated using Langmuir monolayer systems. The interpreted data from surface pressure-area isotherms were utilized to distinguish the ordering effect of each sterol. Particularly, the results of DOPC/Chol systems revealed a stronger condensing effect of Chol even though at low concentration, while the condensing effect of Lan became significantly at higher Lan content. The findings using monolayer membrane systems could be responsible to weak but sure ordering effect of Lan in unsaturated lipid bilayers.</p> <p>In chapter IV, the sterol Ergosterol (Erg) is known to regulate membrane properties in lower <i>eukaryotes</i>. Compared to Chol, which orders both saturated and unsaturated phospholipid membranes, Erg only preferentially ordered saturated lipids such as 1,2-dipalmitoyl-<i>sn</i>-glycero-3-phosphocholine (DPPC) above their melting temperature (T_m). The results from both monolayer and bilayer studies indicated the formation of a liquid-ordered phase with saturated acyl tail lipids above T_m and the interaction of Erg in different membrane phase states to modulate membrane fluidity and polarity.</p> <p>In chapter V, the ordering effects of Chol and Erg in ternary lipid mixture systems composed of unsaturated DOPC, saturated DPPC, and sterol were studied. Based on the results from isotherm studies and the dependence of membrane fluidity on environmental temperatures, the coexisting phase states in ternary lipid mixture systems could be estimated and diagram was constructed. It should be emphasized that Erg had higher efficiency for ordering membranes enriched in saturated DPPC at high temperatures ($T > T_m$ of DPPC). However, no ordering effect observed in enriched unsaturated lipid membranes. Estimated diagrams contribute to modeling the mammalian and lower <i>eukaryote</i> membranes, respectively.</p> <p>In chapter VI, a strategy to characterize the physicochemical membrane properties had been suggested, which efficiently provided insights into the ordering effects of sterol derivatives in biomembranes. Deeper understandings in the membrane properties are expected to contribute to the regulation mechanism of biological membrane properties, and to the design of functional membranes that enable the selective interaction with target molecules.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (THAM THI BUI)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	馬越 大
	副 査	教 授	松林 伸幸
	副 査	教 授	境 慎司

論文審査の結果の要旨

生体膜の基盤は、リン脂質が自己組織的に形成する二分子膜構造にあり、その構造は高い秩序を有することが知られているが、体系的・定量的な評価手法に関する研究は少ない。脂質分子の中でも、ステロイド骨格を有する各種分子は、スクアレン分子の代謝によりラノステロール(Lan)という中間体を経て、動物細胞ではコレステロール(Chol)、また、真核細胞に分類される真核細胞ではエルゴステロール(Erg)が生成されることが知られている。このようなコレステロール誘導体はリン脂質分子と膜表層で結合することにより、脂質膜全体の柔軟性あるいは不均一性を制御し、生体膜としての(動的な)構造・機能を制御していることが知られているが、生体膜(モデル生体膜)における振る舞いを解析する方法論は確立されていないのが現状である。

本学位論文では、各種コレステロール誘導体を対象として、モデル脂質膜中における振る舞いを定量的・体系的に評価解析する手法について検討されている。第1章では、ステロイド骨格を有する各種分子の特徴・解析方法に関する背景を調査した。第2章では、Chol分子を対象として、DOPCリン脂質2分子膜閉鎖小胞(所謂、リボソーム膜)における振る舞いを解析する手法を確立した。膜表層における局在性の異なる5つの傾向プローブ(TMA-DPH, Prodan, ANS, Laurdan, DPH)を同時に解析し、膜中における相互作用機序を理解する方法論が確立された。第3章では、CholとLanを対象として、DOPC単分子膜における振る舞いを確立した。表面圧-単分子膜面積(所謂、 π -A曲線)よりステロール誘導体と脂質分子の相互作用の強さを定量的に評価する手法が確立された。第4章では、以上で述べた方法論に基づいて、理解が進んでいないErgを対象として、単分子膜ならびに二分子膜における振る舞いを解析した。CholやLanは、比較的柔らかなDOPC膜と相互作用するが、Ergは、比較的硬いDPPC膜と相互作用し、膜特性を制御していることを初めて示された。第5章では、DOPCとDPPCとErgの組成を系統的に変化させて、膜特性を解析し、4章の知見を拡張するとともに、Ergの膜物性が顕在化される組成条件を明らかにした。

以上のように、本学位論文では、複数蛍光プローブ解析法ならびに単分子膜解析法を活用して、膜中におけるコレステロール誘導体の振る舞いを定量的・体系的に解析する手法が確立されている。本論文で明らかにされた方法論は、特定の生理活性物質や薬剤性分子など、未知の膜内在性分子の振る舞いを評価する手法として活用できると期待される。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。