



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Site-Switchable Dynamic Nuclear Polarization NMR Measurement on Dynamics of Liposome-Environment Water [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	李, ギョレ
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第15108号
Issue Date	2022-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86386
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	LEE_GYEORYE_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

総合化学専攻 博士（理学） 氏名 李 ギョレ

学位論文題名

Site-Switchable Dynamic Nuclear Polarization NMR Measurement on Dynamics of Liposome-Environment Water

(リポソーム近傍の水のダイナミクスの位置可変型動的核分極 NMR による計測)

本論文では、中空球状のリン脂質二分子膜に取り込まれた水や、その膜を取り囲む水のダイナミクスを *in-situ* で定量的に比較できる測定法の創出を目指した研究について、4章構成で著述した。

第1章では、研究の背景、目的、動的核分極 NMR (DNP-NMR) について述べた。水はミクロからマクロまで生命現象に関わっている。水和特性の重要性は近年強く認識されるようになり、それを調べる研究も増えてきた。NMR はその水和特性を解析できる手法の一つであるものの、低感度である。その弱点を克服した DNP-NMR が近年注目されつつある。この手法は、電子スピンの分極を、その近傍に存在する水のプロトン核スピンの分極へと移動させることで、NMR シグナルを増幅させる。Han らによって提案された hydration dynamics overhauser DNP (ODNP) 法は、ラジカル周りの水のダイナミクスを位置特異的に計測することができる。実際、脂質二分子膜の周りの水のダイナミクス計測に用いられてきた。著者は、この手法で用いられるスピンプローブを有機合成で工夫すれば、もっと多様な計測が可能となると考えた。その一例として、サンプル交換を伴わずに複数の部位を位置選択的に計測する手法を構築することにした。具体的には光照射によって不均一系内でのラジカルの位置が変わるラジカルプローブ (Figure 1) を用いれば、全く同じベシクルを対象にした異なる位置の水のダイナミクスを計測することができると考えた。

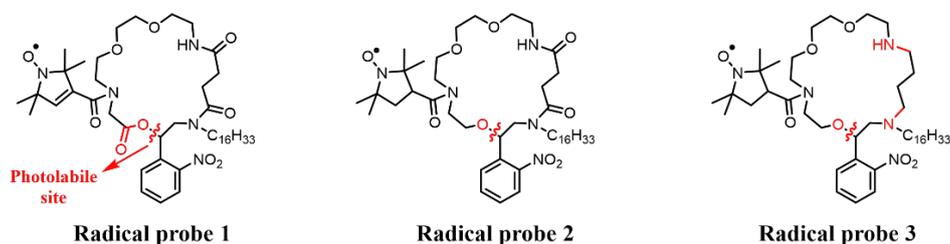


Figure 1: 光開裂性ラジカルプローブのデザイン

第2章は実験の部であり、ラジカルプローブの合成と光開裂反応、および DNP-NMR 計測の実験の詳細を述べた。

第3章では、ラジカルプローブ **1**、**2**、**3** の合成、光反応、ESR、HD-ODNP の実験結果と考察を述べた。光開裂基として *o*-ニトロベンジルエステルを用いたラジカルプローブ **1** は、低い光反応効率のため、長時間の露光を必要とし、その副次的結果として二次的反応が進行した。一方で *o*-ニトロベンジレーテルの光反応は 10 秒間の照射で 72% 進行し、二次反応の進行は抑えられた。

ESR スペクトルから、リン脂質ベシクル(DMPC・POPG ベシクルまたは DOPC・POPG ベシクル) 分散液中のプローブ **2** は照射前後のいずれもベシクル膜内に埋もれていることが判明した。DNP-NMR の結果、計測された水の相関時間は、DMPC ベシクルでは 464 ps (照射前)、400 ps (照射後) であり、DOPC ベシクルでは 300 ps (照射前)、319 ps (照射後) であった。この相関時間を、過去の研究例を参照して拡散係数へと変換すると、それぞれ $0.25 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 、 $0.29 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 、 $0.39 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 、 $0.36 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ になった(Figure 2a)。照射前後のいずれも、ラジカル部位がベシクルに留まっていたため、計測された水の拡散係数も変化しなかった。また、DMPC の膜の内部の水の拡散係数が DOPC に比べて遅いことは、DMPC の疎水部の流動性が低いことによるものと推測している。

一方、親水的なリンカーを有したプローブ **3** の ESR のスペクトルは、照射前後でスペクトル線形の明確な変化を示し、ラジカル部位が膜内部から膜表面へと移動したことが分かった。HD-ODNP の結果で得られた相関時間から推定された水の拡散係数は、DMPC ベシクルでは $0.33 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ (照射前) から $0.54 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ (照射後)、DOPC ベシクルでは $0.35 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ (照射前) から $0.54 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ (照射後) であり、照射によって大きく増加した。アルキル鎖の低い流動性により水の動きが阻害されている膜内部とは異なり、膜表面では水が速く動いていることが明示された。ただし、バルクの水(拡散係数： $2.0 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$)よりは動きが遅かった(Figure 2b)。

第4章では、第1章から3章までを総括し、展望を述べた。本研究では、生体膜周辺や内部の異なる環境における水のダイナミクスを *in-situ* で位置可変的に計測できる DNP NMR 法を、機能性をもったラジカルプローブの開発により構築した。このようにラジカルプローブへの機能性の付与により、水と環境での水の特性に対する分子レベルの理解が深まることで、生体分子システムと同様に水和した環境で働く人工分子デバイスの開発が進展するであろう。

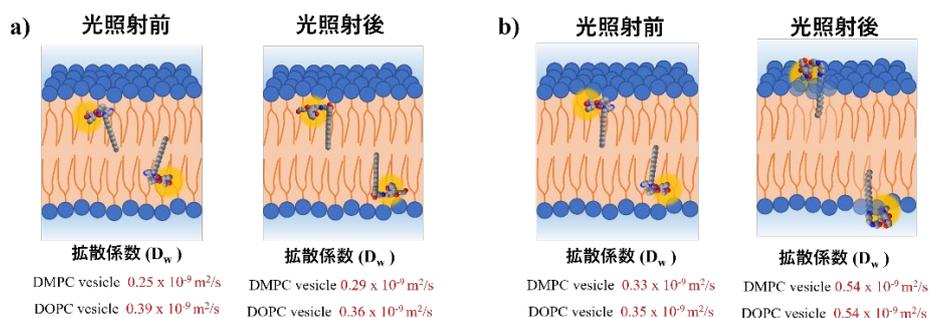


Figure 2: リン脂質ベシクル近傍の水のダイナミクス(a) プローブ 2、(b) プローブ 3