

論文審査の結果の要旨

論文題目            Analysis on Membrane Dynamics of Giant Vesicles  
                         ジャイアント・ベシクルの膜ダイナミクスの解析

氏 名        豊田    太郎

近年、ジャイアント・ベシクルと呼ばれる「両親媒性分子が水中で形成する粒径 1  $\mu\text{m}$  以上の袋状二分子膜」が、構造や大きさの類似性から原始細胞モデルとして注目されている。本研究は、1) ジャイアント・ベシクルの二分子膜内での分子変換（マイクロなレベルの膜ダイナミクス）が、ジャイアント・ベシクルの形態変化（マクロなレベルの膜ダイナミクス）を引き起こしうる系を構築し、2) そのダイナミクスを蛍光プローブを用いた光学顕微鏡によるリアルタイム観測、および光散乱型フローサイトメーターによる統計的解析を通じて解明し、3) 異なる階層間で起こるダイナミクスの時間発展の仕組みを考察することで、物質科学から生命科学にわたる膜ダイナミクスの普遍性を明らかにすることを目的としている。

第1章では、本研究の特色が、「素性のよく知れた基本的な有機分子を用いて、化学反応する膜分子とジャイアント・ベシクルの形態変化との相関を解明する」という新しい視点より、目的に適した解析手法（単一ジャイアント・ベシクルの蛍光計測とジャイアント・ベシクル集団の統計解析）を確立しつつ、その本質に迫る点にあることを論じている。これまで生体機能の分子論的解析という、機能性分子を模倣した人工分子を合成し、相同の働きを示すことを確認するというアプローチが主流であったのに対し、本論文は、それ

とは相補的な構成的アプローチを提示して課題に挑戦している点で、意欲的な試みといえよう。

第2章「脱水縮合反応に伴う反応活性型ジャイアント・ベシクルの示す形態変化」では、膜分子前駆体がジャイアント・ベシクルの二分子膜へ混入し、膜内で異種の膜分子を生産することで膜組成を変化させ、ジャイアント・ベシクルの形態変化を誘発するという新規な反応系の構築について記述している。さらに、形態変化というマクロなダイナミクスを顕微鏡観測により精査し、疎水性部位の末端に反応部位をもつ両親媒性分子で形成された“入れ子”構造のジャイアント・ベシクルに、膜分子と鍵と鍵穴の関係で選択的に反応し得る両親媒性分子を添加すると、内部に入れ子状になって封じ込められたベシクルが、外膜をすり抜けて飛び出すダイナミクスを観測している。反応性膜分子の設計・合成に関しては、博士研究員との共同研究であるが、位相差顕微鏡を用いたリアルタイム観測システムの立ち上げ、およびそのダイナミクスの観測に関しては、申請者の貢献が大であると認められた。

第3章「ジャイアント・ベシクルの形態変化の蛍光リアルタイム観測」では、第2章の結果を受けて、二分子膜に異種の両親媒性分子を混入させることが引き起こす多重膜ジャイアント・ベシクルの形態変化について、そのメカニズムを解明するために、それぞれの膜構成分子を蛍光プローブで選択的に標識し、蛍光顕微鏡によるリアルタイム観測を行っている。界面活性剤と脱水縮合反応の生成物である“双頭極性型の両親媒性分子”を共に添加すると、蛍光変色した外膜から、内部の非侵襲状態のベシクルがすり抜けて飛び出す birthing というダイナミクスの観測に成功しているが、これまで詳細な研究例がなかった多重膜ベシクルのダイナミクスに関し、このように顕著な形態変化の観察に成功したことは、本論文の一つのハイライトといえよう。第二章で見つかったダイナミクスの要因をより一般的な系で再構成し、その本質を解明した構成的研究展開は迫力があり、研究者の問題解決に対する高い能力が見て取れる。申請者はさらに、こうした非平衡状態での形態変化の要因として、異種の両親媒性分子が二分子膜に浸透する際に生じる「膜の張力変化」と「浸透圧による膜内外の圧力差」を指摘している。ジャイアント・ベシクルのダイナミクスを普遍的に理解する上で妥当な考察といえよう。

第4章「両親媒性のシッフ塩基誘導体の加水分解反応に伴うジャイアント・ベシクルの過渡的な形成」においては、申請者は独自の発想に基づいて、シッフ塩基が極性部に比較的近い位置に組み込まれた両親媒性分子を設計・合成している。この両親媒性分子は、分子設計のねらいの通り、会合体中で徐々に加水分解を受け、それに伴い会合体の形態が、スモール・ベシクル（粒径数十 nm）→ジャイアント・ベシクル（数 mm）→オイルエマルジョン（数 mm）と自発的に時間発展することを発見した。また水溶液の濃度を10倍に濃縮すると、可逆反応であるシッフ塩基への縮合反応が進行して元の膜分子が再生され、ジャ

イアント・ベシクルが再び出現するという部分的可逆性があることを見出している点は大変興味深い。さらに、これらの形態変化の要因として、1)加水分解反応によって脂溶性分子が増加するために構造体界面の曲率が変化すること、2)水相中の電解質濃度の増加により構造体界面の電気二重層の厚みが減少し、構造体どうしが会合すること、の2点を挙げ、そのダイナミクスを合理的に解釈している。

第5章「ベシクルの形状に対する光散乱型フローサイトメーターによる統計解析」では、ジャイアント・ベシクルのダイナミクスの本質を理解するには、個々のベシクルのダイナミクスを光学顕微鏡で解析するだけでなく、ジャイアント・ベシクルの集団を対象とし、そのダイナミクスを統計的に解析することの重要性を提起し、このような目的に対し、光散乱型フローサイトメーターによる評価方法が有用なことを指摘している。この方法は従来細胞の形態分析には多用されてきたが、ベシクルのような構造に不安定性のある試料については、殆ど適応例がなかった。申請者は、フローサイトメーターの分析法に種々の改良を加え、水溶液中のジャイアント・ベシクルの分布を統計的に解析するプロトコルを確立した。この業績は点は高く評価できよう。

さらに、自ら確立した手法を用い、リン脂質からなるジャイアント・ベシクルは、時間をおいても生成時の粒形分布が全く変化しないのに対し、オレイン酸のアルカリ性水溶液(pH~8.5)で形成されるジャイアント・ベシクルは、時間が経過すると、粒径1mm以上のジャイアント・ベシクルを形成し、かつベシクル集団のサイズ分布が、次第に正規分布に近づくことを見出している。この結果は、脂質の構造の違いや電気二重層の厚みの変化が、ジャイアント・ベシクル集団の分布の動的平衡の有無に大きな影響を及ぼすことを明確に示したものである。このような方向性をもった研究の展開に関しては、審査委員より大きな期待が寄せられた。

以上、ジャイアント・ベシクルという、生体膜の動的なモデルであり、また人工細胞構築の分野においても注目されている魅力的な分子集合体を対象とし、有機合成、計測・物性評価にわたる幅広い研究を展開して得られた成果は、現在活発な研究が展開されている“膜物性ダイナミクス”研究分野の発展に大きく貢献するものと判断される。

よって、本論文は博士（学術）の学位論文として合格であると認められる。