

近年、両親媒性分子が水中で疎水相互作用により形成する内部に水相を有する袋状の構造体が、注目されている。ベシクル(小胞)と呼ばれるこの構造体は、その膜構造が生体細胞と類似していることから原始細胞モデルとして、また、薬物を体内に運ぶマイクロなカプセルとして関心が集まっている。本論文は、ベシクルをさらに集合化し、ベシクル集合体という階層性が一段高い構造体を構築することで、新たな機能を発現させることを目指している。そのために「膜になじむ疎水部と選択的認識部位とをスパーサーで繋いだ連結分子」を新たに合成することで、サブミクロン(平均粒径 0.2 マイクロメータ)のベシクルを選択的に集合化させることに成功した。さらに形成されたベシクルクラスターに、ある種の界面活性剤を添加することで、平均粒径 3 ミクロンのジャイアントベシクルへと融合させる条件を確立した。この方法論をもちいて、ベシクルを生体細胞に取り込ませると言う挑戦的課題を掲げ、試行錯誤の末、見事にその手法を確立した。以下、審査の結果の概要を記述する。

第 1 章では本研究の目的を述べている。水中での疎水相互作用による自己集合化により形成されるベシクルは、多くの場合、表面電荷を持つので、分散しており多価イオンを用いたコロイド凝集の手法などを用いないと、通常集合化することはない。よって、ベシクルの選択的集合化には、連結分子の設計と合成が不可欠であることを指摘している。

第 2 章の「DNA-コレステロール連結分子の合成」では、先に述べた「連結分子」の具体例として、選択的認識部位に DNA の 15 量体とその相補鎖を利用した「DNA-コレステロール連結分子」を設計し、さらに「I 型」、「T 型」という異なる形状を持つ二種の連結分子を合成している。特に T 型は、DNA 15 量体の非末端部位に、膜に突き刺さる部位を組み込むことで、DNA をベシクル膜に平行に配置することを可能にした独自性の高い分子である。また、相補的な DNA の配列に関しても、オール T、オール A というような配列と、ランダムな相補的配列を、DNA 固相合成を用いて、正確に作り分けている点は、高く評価された。

第 3 章では「DNA 担持ベシクル」の集合化について記述している。合成した 4 種の「DNA-コレステロール連結分子」をベシクル二分子膜に導入した「DNA 担持ベシクル」を調製し、相補鎖を持つベシクル同士を混合した場合にのみ、クラスタ状ベシクル集合体がさらに集合化したネットワーク状の構造体が室温で可逆的に形成されることを、動的光散乱型粒度分布計、透過型電子顕微鏡、位相差型顕微鏡などの測定機器を用いて確認している。特記すべきは、I 型の DNA と同程度の融解温度をもつ T 型連結分子のランダム配列を用いた「DNA 担持ベシクル」が、集合化しないことを見出し、この現象が、ベシクル表面に形成されている厚さ数 nm の電気二重層間の静電反発と、多点水素結合による引力的相互作用の競合により引き起こされたとの解釈を与えている点である。自ら合成した構造の異なる連結分子により、初めて見出されたベシクルの集合化に関するこの結果と解析は、審査員

より高い評価を得た。なお、第2, 3章関連の研究は、*Nucleic Acid Symposium Series* **48**, 2004 に成果が掲載されており、現在、本論文を投稿準備中である。

第4章の「集合化した DNA 担持ベシクルの界面活性剤存在下における融合」においては、クラスタ状に集合化した DNA 担持ベシクルの融合現象を扱っている。第3章で得られた DNA 担持ベシクルのクラスタ状構造体に、界面活性剤である Triton X-100 を作用させると、約 0.2 μm の大きさを持つ多数のベシクル間に連続的な融合が起こり、結果として、約 3 μm のジャイアントベシクルが形成されることを見出した。さらに水溶性蛍光分子を封入したベシクルを利用することで、連続的な融合の過程を経てもベシクル内包物の少なくとも一部が、融合したジャイアントベシクルへ受け渡されていることを明らかにした。まだ定量的なデータではないものの、選択的に集合化したベシクルを用いて、界面活性剤でスモールベシクルの融合を誘導できることを発見した点は、今後の応用も含め関連分野の進展に貢献する知見といえる。本研究結果は、*Chemistry Letters* **37**, 2008 に掲載予定である。

第5章「ベシクルと胚性幹細胞の複合体形成」においては、これまでの研究で確立した方法を用いて「ベシクル-ES 複合体」の形成を目指している。試行錯誤を繰り返し、細胞外マトリクス蛋白質であるコラーゲンとラミニンに ES 細胞に対する親和性があることを見出したことは、申請者の多大な努力の賜物と認めることができる。これらの蛋白質のうち、ラミニンに着目し、ラミニンにチオール基を導入し、マレイミド基を介して膜分子の先端に結合させた連結分子を合成し、これを用いて「ラミニン担持ベシクル」を作製している。同時に、新たに合成した「膜親和性蛍光分子」でベシクルを染色することで、ラミニン担持ベシクルが ES 細胞に取り込まれることを、蛍光顕微鏡で検証することを可能にした。その結果ついに、目的としたベシクル-ES 細胞複合体が形成されることを蛍光顕微鏡によって確認した。これらの成果は、ES 細胞に対する分化誘導因子の添加方法の問題点に新たな解決法を提供するものであり、注目すべき成果といえよう。なお、ES 細胞との複合体形成に関しては、ごく最近成果が出たところなので、現在論文投稿準備中である。

以上、本論文は、精緻な分子設計と分子論的な解析というアプローチで、生命科学との接点まで攻め上った意欲的な内容であり、審査委員会で専門分野の審査委員より高い評価を得た。また、審査会での質問への的確な応対を含め、申請者である丸君は、既にこの分野で独り立ちのできる研究者であるとの印象を得た。学術論文に関しては、いずれも共著であるが、申請者の寄与が大であることを確認した。また、参考論文が *Langmuir* **24**, 2008 に掲載予定である。

従って、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。