

論文審査の結果の要旨

氏名 松永 宗一郎

本論文では走査トンネル顕微鏡(STM)を用い、金属基板上に展開した脂質膜(モデル細胞膜)上の生理化学反応をナノメートルの空間分解能で可視化することでその生理反応メカニズムの解明にせまった研究成果について報告されている。

論文は8章からなる。

第1章は本研究の背景、目的から構成され、生理活性を維持した状況下での細胞膜のナノスケール観測の重要性について述べてある。

第2章では本研究中で用いられた測定装置である水溶液中 STM、赤外吸収分光法(ATR-IR)、動的散乱(DLS)などについて測定原理やその特徴が述べられている。また測定試料として用いたモデル細胞膜としての金属基板上に展開した脂質分子膜の作製法やその特徴が詳細に述べられている。

第3章では水溶液中 STM によるモデル細胞膜の観測に関する結果が述べられている。生理活性を維持した状況下における STM による細胞膜のナノスケール観測は既存の報告例が全くなく、本研究において STM によるモデル細胞膜の観測が成功したこと、およびモデル細胞膜が細胞膜に必須の流動性を保持していることを観測できたことが特筆すべき点である。

第4章ではモデル細胞膜に電位刺激を与えたときの脂質膜の挙動を分子スケールの空間分解能を持って詳細に観測した結果について述べられている。本研究では STM による可視化に加え ATR-IR による振動分光の手法を用いることで、分子スケールでの脂質分子の動的挙動に加えて脂質分子の構造変化を詳細に追跡している。生体系の反応メカニズムを解明するためには、ナノスケール領域の動的構造変化に加えて分子構造や化学組成も追跡することが必要不可欠であり、STM と IR 観測を組み合わせることによってもたらされた本研究の結果は非常に意義深い。

第5章では親水基の違う脂質分子で構成されたモデル細胞膜の物性の違いを STM で観測した結果が述べられている。脂質二重膜の厚さ、柔らかさの違いを STM を用いて可視化できたことが新規な研究結果である。

第6章では本研究の主要な研究対象といえる細胞膜中の局所構造体である「脂質ラフト」を実際に可視化した研究について述べられている。ホスファチジルコリン(PC)とホスファチジルセリン(PS)の混合膜において PS が直径 5 nm 程度の脂質ラフトを形成し、カルシウムイオンやアネキシン V と呼ばれる PS 特異結合タンパク質と反応する様子を STM を用いて実空間可視化した。この 5 nm 脂質ラフトは約 40 分子程度の脂質分子から構成されていると見積もられ、現在報告されている中で最小の脂質ラフトである。脂質ラフトのようなナノメートル局所構造体は STM によるナノメートルスケールの顕微手法を持って初めて明らかなるものであり、細胞膜上生理反応メカニズムの解明に STM が大き

く寄与できることを実際に示した研究成果である。

第 7 章では実際の生体内にみられる長鎖の脂質分子を用い、水溶液中に分散した脂質の集合体についての研究を行った。超音波処理により極小まで小さくした脂質の集合体を基板上に展開することにより、極小脂質集合体の可視化を行っている。実際に実空間可視化を行うことで、従来光散乱などの情報により見積もられていたものよりも小さい直径 8 nm 程度の脂質集合体(minimal lipid particle; MLP)を新規に発見した。また Duramycin と呼ばれるホスファチジルエタノールアミン(PE)特異結合たんぱく質と MLP の相互作用を可視化することで、Duramycin の毒性メカニズムが脂質膜の融合にあることを突き止めている。

第 8 章では本論文の結論が述べられており、STM によるナノスケール観測によって初めて明らかになった現象についてまとめられ、STM による可視化技術がもたらす分子細胞生物学分野への展望についての総括が述べられている。

以上のように本論文で著者は STM を用いてモデル細胞膜としての脂質膜を可視化することで、種々の生理反応メカニズムの解明に STM 可視化が有効であることを示した。ナノスケールの局所構造体の観測が生理活性を維持した水溶液中で達成されたことは非常に意義深く、生物学をボトムアップ的な手法で研究するための大きなきっかけとなる研究成果である。

本論文の内容においては川合眞紀、山田太郎、小林俊秀との共同研究、第 7 章ではさらに岩本邦彦、松永拓郎、柴山充弘との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験、解析を行ったものであり論文提出者の寄与が十分であると判断とする。よって本論文は博士(科学)の学位論文として合格と認められる。