

審査の結果の要旨

氏名 李麗瀟

本論文は 10-1000 nm の細胞間・細胞内空間を模擬したバイオミメティック拡張ナノ空間の分子輸送に関する研究をまとめたものである。以下、10-1000nm を拡張ナノと称する。神経系シナプス間隙やミトコンドリアといった拡張ナノオーダーの細胞間・細胞内空間での分子輸送は、生体機能を決定付ける支配的因子の一つである。近年の研究から、この空間における輸送現象の特異性が示唆されてきた。しかし、空間サイズが極微小なため *in vivo* 研究での解明は困難であり、有効な実験ツールもなかった。一方、本学位申請者が所属する研究室ではガラス基板への拡張ナノ流路の加工法とそこでの流体制御法を確立してきた。これらを用いて拡張ナノ空間に閉じ込めた水の特異性を明らかにして、ガラス表面から約 50 nm の領域に水分子が緩やかに構造化したプロトン移動相が介在する三相モデルを提案するに至った。そこで本研究では、細胞間・細胞内拡張ナノ空間においても特異的な水の構造による流体特性が発現していると推測し、これまでにない *in vitro* 実験ツールとして生体環境を模擬したバイオミメティック拡張ナノ空間を創成して、この実験空間を活用して分子輸送を明らかにすることを着想した。以上より、本学位請求論文は次の構成とした。

第1章 本研究の背景と目的

第2章 細胞間・細胞内空間分子輸送の解明のための *in vitro* ツールの創成

第3章 バイオミメティック拡張ナノ空間における流体特性と表面物性の解明

第4章 バイオミメティック拡張ナノ空間形状による流体特性への影響

第5章 バイオミメティック拡張ナノ空間における分子輸送の解明

第6章 まとめ・今後の展開

以下、各章について簡単に説明する。

第1章では、細胞間・細胞内拡張ナノ空間の研究の現状など、本研究の背景をまとめた。従来の *in vivo* 研究の問題点を整理して、新しい *in vitro* 手法を提案するとともに、分子輸送を解明するための課題として (1) バイオミメティック拡張ナノ空間の創成、(2) 拡張ナノ空間の流体特性と表面物性の測定法の開発、(3) 三相モデルにもとづいた空間サイズ制御による実験的研究を挙げ、本研究の意義を明確にして、その目的を明らかにした。

第2章では、バイオミメティック拡張ナノ空間を創成し、更に拡張ナノ空間の流体特性と表面物性の測定法を開発した。細胞環境を再現するためにガラス基板に加工した拡張ナノ流路へのリン脂質二重膜修飾を着想した。ベシクルを拡張ナノ流路に導入してガラス表面に展開させることでバイオミメティック拡張ナノ空間をはじめて実現し、空間サイズや

形状も自在に制御可能であることを示した。一方、毛管現象を用いて拡張ナノ空間の溶液物性測定法も開発した。圧力駆動により毛管現象を制御し、リン脂質二重膜修飾された疎水性流路での測定などをはじめて実現した。これらの手法は、生物物理化学や薬学の研究に *in vitro* 手法を提供し、また近年発展の著しいナノ流体工学の基礎学理の確立にも大きく貢献すると期待される。

第3章では、バイオミメティック拡張ナノ空間での流体特性と表面物性の関係などを明らかにした。様々なサイズでの測定の結果、バイオミメティック拡張ナノ空間では 1000 nm 以下で水の粘度が上昇することをはじめて明らかにした。ガラス流路における測定結果との比較から、このような特異性はリン脂質二重膜のリン酸基により、ガラス表面のシラノール基と同様 50 nm 程度にプロトン移動相が形成することによると示唆された。

第4章では、バイオミメティック拡張ナノ空間の形状の効果について検討した。流路の幅と深さが同じスクエア型と、幅が深さより十分大きいプレート型のバイオミメティック拡張ナノ空間における測定結果を比較した。その結果、拡張ナノ空間における特異な流体特性は水を二次元的に拡張ナノスケールで閉じ込めたスクエア型でのみ発現し、プレート型の一次元的な閉じ込めでは発現しないことをはじめて明らかにした。なお、この成果は当初予想していない実験から得られた。

第5章では、バイオミメティック拡張ナノ空間における分子輸送を解明するために緑色蛍光タンパク質の拡散定数を測定した。その結果、拡張ナノ空間領域では拡散定数が低下することをはじめて見出した。また、拡散定数の低下は第3章で明らかにした粘度の上昇と対応しており、特異的な流体特性によるものであることを明らかにした。

第6章では本研究の学術上の意義をまとめた。細胞間・細胞内空間を模擬するバイオミメティック拡張ナノ空間を創成して、従来になかった新しい *in vitro* ツールを実現した。これを用いることで、細胞間・細胞内拡張ナノ空間のサイズと形状により特異な水の構造が顕在化して粘度が上昇し、分子拡散速度が低下することをはじめて実証した。これは、生体システムでも拡張ナノスケールの空間ではその大きさと形態により水の物性が通常とは異なり、その特異性のもとで生命現象が発現していることをはじめて実験的に示唆した極めて重要な知見であり、今後の生物物理化学や流体科学への貢献が期待される。

以上、生物物理化学や薬学の分野に新しいツールを創成して、それにより細胞間・細胞内拡張ナノ空間の分子輸送を解明し、生体機能を理解する上で重要な知見を呈した本論文はバイオエンジニアリングに貢献するものであり、博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。