

令和 2 年 2 月 25 日

豊橋技術科学大学長 殿

応用化学・生命工学専攻

学位審査委員会

委員長 岩佐 精二



論文審査及び最終試験の結果報告

このことについて、博士学位論文審査を実施し、下記の結果を得ましたので報告いたします。

学位申請者	柿本 恭宏		学籍番号	第 133411 号
申請学位	博士（工学）	専攻名	大学院工学研究科博士後期課程 応用化学・生命工学専攻	
博士学位 論文名	Development and application of observation methods for functional lipid domains and assembled structures in supported lipid bilayers (支持脂質二重膜系における機能性脂質ドメインおよび構造体のための観測手法の開発と応用)			
論文審査の 期間	令和 2 年 1 月 16 日 ～ 令和 2 年 2 月 21 日			
公開審査会 の日	令和 2 年 2 月 18 日		最終試験の 実施日	令和 2 年 2 月 18 日
論文審査の 結果※	合格		最終試験の 結果※	合格
審査委員会(学位規程第6条) 学位申請者にかかる博士学位論文について、論文審査、公開審査会及び最終試験を行い、別紙論文内容の要旨及び審査結果の要旨のとおり確認したので、学位審査委員会に報告します。 委員長 岩佐 精二 委員 沼野 利佳 手老 龍吾				

※論文審査の結果及び最終試験の結果は「合格」又は「不合格」の評語で記入すること。

論文内容の要旨

本論文は、細胞膜における輸送反応の要因である機能性膜内ドメインの形成過程と物性について、糖脂質などが有する親水性高分子鎖の役割に着目し、新規現象の発見と計測手法の開発ならびにその応用展開に関する研究成果をまとめたものである。本論文は7章より構成されており、第1章に本研究に関する背景と目的、第2章に実験手法、第3章から第6章に研究成果、第7章にまとめと結論および将来展望が記されている。各章の概要は以下の通りである。

第1章では、細胞膜とその基本構造である脂質二重膜の生命活動における重要性、その構成要素である脂質と膜タンパク質が形成する集合体が細胞内外の物質輸送・情報伝達に果たす役割と機能についての記述と、細胞膜反応の詳細な機構を理解するための実験系として人工脂質二重膜系の概論と、その中で特に本研究で主に用いる支持脂質二重膜系についての解説に続いて、この系を用いて達成すべき本博士論文研究の目的が述べられている。

第2章において本研究で用いた脂質二重膜試料の作製方法や蛍光顕微鏡・原子間力顕微鏡観察といった実験手法とその原理が述べられているのに続いて、第3章から第6章では「親水性高分子が及ぼす力」、「糖脂質」、「機能性膜内ドメイン」をキーワードとした博士論文研究が4つの項目に分けて記述されている。

第3章では、親水性高分子鎖を有する脂質二重膜中で形成される2種類の集合体の構造・性質および、その原子間力顕微鏡観察時に発見された形状像の反転現象についての実験結果が述べられている。親水性高分子鎖間の相互作用によってドメインが形成されることを明らかにし、また、試料-探針間に働く力を精密に制御した観察結果から、高分子鎖の揺らぎに起因する斥力により原子間力顕微鏡像の反転現象が起きる機構を明らかにした。

第4章では、大腸菌由来の天然脂質を用いた支持脂質二重膜および3次元的な脂質集合体の形成過程と構造に関して詳細に調べられている。脂質種、基板材料、溶液中のイオン種の影響を網羅的に探索した実験結果に基づいて、静電相互作用および基板表面微細構造を主要因とする脂質構造体の形成機構が述べられている。

第5章では、第4章の成果に基づいて得られた最適環境下において、大腸菌膜中に含まれる膜タンパク質挿入作用を持つ糖脂質および膜タンパク質挿入を阻害する疎水性脂質を含有する脂質二重膜の作製方法が述べられている。これらの分子が膜内でドメインを形成することを初めて明らかにし、その濃度・温度依存性と流動性といった基礎的物性の詳細について調べた成果が記述されている。

第6章では、微細井戸構造を持つシリコン基板上に自立型脂質二重膜を形成することで起きるドメイン局在化現象において、糖脂質の揺らぎで生じる斥力とドメイン形成といった親水性高分子鎖の性質を、ドメイン形成の速度および局在化するドメインの種類の制御へと応用した。

第7章では本研究で得られた各章の研究成果を総括すると共に、本博士論文研究成果を主要な創薬ターゲットである膜タンパク質の研究へと展開する将来展望、および波及効果について述べている。

審 査 結 果 の 要 旨

細胞膜に代表される生体膜の基本構造は脂質二重膜であり、人工脂質二重膜系は生体膜反応に関わる脂質やタンパク質の物理化学的性質を調べるための実験系として有用である。細胞膜で行われる物質輸送・信号伝達や環境認識は、生命活動や感染に関わる反応である。タンパク質に作用する医薬品の約60%が細胞膜に存在するいわゆる膜タンパク質に作用していることや、ウイルスが細胞膜表面の糖鎖を認識して宿主を選別することからも、膜内および膜状での分子挙動の詳細を知ることは、化学のみならず生物および医薬分野においても重要な研究課題であることは明らかである。

本論文は、細胞膜反応における脂質・膜タンパク質の機能を定める要因である膜内ドメインにおいて、糖脂質が持つ糖鎖などの親水性高分子鎖の役割を調べるための実験系と観察手法の開発、およびこれらを用いて行われた研究成果が述べられたものである。脂質二重膜内の集合体形成に関する研究は、脂質の疎水部分の相転移・相分離に起因するものについては多くの研究が行われてきた。一方で、糖鎖のように揺らぎの大きい親水性高分子鎖がドメイン形成にどのように関わるかについては不明な点が多く、材料科学の観点からも興味深い課題である。第3章で述べられているように、親水性高分子鎖を頭部に持つ脂質はその膜内密度に依存してドメインを形成する。高分子鎖が集まり嵩高いはずの領域が原子間力顕微鏡観察において低く観察される現象は、興味深くまた測定上の困難を与える現象である。精密に力を制御して同一領域を観察した実験結果は、親水性高分子鎖の揺らぎによって生じる力(fluctuation repulsion)の作用を明快に示しており、高く評価できる。第4章で述べられている、大腸菌由来の脂質を用いた支持脂質二重膜形成に関する網羅的な探索は、バクテリアのモデル膜を形成するための要素技術として有用である。この結果に基づいて第5章では、大腸菌膜に特有の糖脂質および疎水性脂質を含んだ支持脂質二重膜を作製し、これらの脂質がドメインを形成することと、その基礎物性を明らかにした。また、第6章では、前章までで得られた基礎科学的研究の応用展開として、微細加工シリコン基板上での膜内ドメイン制御に成功した。この章で示された微細加工シリコン基板上への「機能性ドメインアレイ」は糖脂質および膜タンパク質のスクリーニング技術への展開を期待させる。これらの成果は、様々な細胞膜反応に関与する糖脂質、膜タンパク質とその集合体の挙動を分子レベルで理解するための実験系および評価手法として重要な基盤となる価値あるものである。また、本博士論文は全編英語で執筆されており、公開審査会および最終試験においても英語で発表が行われた。専門分野における研究内容と自身の意見を発信するために十分な語学力を有している。

以上の博士論文の内容および最終試験の評価から、学位申請者は博士(工学)の学位を授与するにふさわしい研究能力と学識を備えていると判定した。