

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	白神 慧一郎
論文題目	広帯域テラヘルツ誘電分光に基づく生体分子水溶液および接着性細胞中の水和状態・水素結合ネットワーク評価		
(論文内容の要旨)			
<p>あらゆる生体分子は水分子との相互作用により機能を発現するため、水は細胞が示す生命活動の根源であると考えられている。しかし、水分子はピコ秒程度の寿命を有する水素結合を介して動的・構造的特性を示すうえ、複雑な細胞内環境の中から水分子の情報のみを抽出するのが困難であるため、現在でも細胞内の水が生命活動に及ぼす本質的な影響や役割は十分に理解されていない。ここでテラヘルツ (THz) 波はピコ～サブピコ秒の電場周期を有する電磁波であり、この帯域の誘電特性を調べることで水分子や水素結合の動的・構造的特性を直接観測することが可能である。さらに、THz帯では水分子に比べて生体分子の誘電応答が小さく、THz分光で得られた細胞の複素誘電率は細胞内水分子の動態・構造を選択的に反映していると期待される。そこで本研究では、THz分光を用いて細胞中の水分子の特性評価が可能か否かを検証することを目的とし、①水溶液試料を用いたTHz分光の基礎特性評価、および②HeLa細胞内の水分子ダイナミクスの特性評価を行った。</p> <p>本論文は全10章から構成されており、第1章では本研究の背景・目的を述べている。また、現在に至るまで多くの手法を用いて水の動的・構造的特性が評価されてきたが、時には互いに矛盾する実験結果が報告されている。そこで第2章では水の特性を俯瞰的に理解することを目指し、水分子の動的・構造的特性評価に用いられてきた先行研究をまとめている。第3章では本研究の複素誘電率の解析に必要な手法の基礎原理について詳述し、続く第4章ではTHz帯の複素誘電率から得られる水分子の動的・構造的特性を説明するとともに、THz分光の原理についても説明を加えている。</p> <p>細胞のTHz分光測定に先立ち、THz帯の複素誘電率解析により得られる水分子の動的・構造的特性を体系的に把握するため、アミノ酸水溶液 (第5章)、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)水溶液 (第6章)、グルコース水溶液 (第7章)、アルブミン水溶液 (第8章) を用いた水溶液試料のTHz分光を行った。アミノ酸やグルコースといった小分子は水に溶解するとTHz帯の誘電応答が消失し、アルブミンのような分子内水素結合を有する高分子も水溶液中では水分子に比べて誘電応答が著しく小さいことが示された。したがって、いずれの水溶液試料においても実験で得られた0.25–12 THzの複素誘電率は水分子の動的・構造的特性が支配的であると考えることができ、水分子ダイナミクスを記述する2個のDebye緩和と2個のLorentz緩和成分で非線形最小二乗フィッティングさせ、フィットパラメータの最適解に着目して水溶液中の水和状態と水素結合ネットワーク環境の定量評価を行った。ここで、第5~8章で行った考察を以下にまとめる。生体分子表面の親水基は水分子と強い水素結合を形成することで水和水の配向動態はバルク水に比べて遅滞化しており、疎水基周辺の水分子にも同様の動的遅滞化が認められた。しかし、疎水基周辺ではその摂動影響が第一水和層のみ</p>			

に限られるのに対し、親水性周辺では水和水の摂動影響が2~3層にわたることが明らかとなった。また、親水基-水分子で形成される強い水素結合は水分子間で形成される水素結合構造と異なるため、水本来の水素結合ネットワークを局部的に無秩序化し、単分子で緩和している非水素結合性水分子を多く生産するとともに、ピコ秒の水素結合生成・消失を繰り返しながら瞬間的に作り出される水分子の四面体型水素結合構造を歪ませることが実験的に明らかになった。それに対し、親水基周辺に比べて疎水基周辺では非水素結合性水分子数が少ないうえ、より正四面体型に近い水素結合構造が形成される割合が多いとの知見を得、疎水基は親水基よりも水素結合ネットワークの秩序化を促進すると結論付けた。

第9章ではヒトの接着性がん細胞であるHeLa細胞の複素誘電率測定を行い、Debye関数とLorentz関数でフィッティングを行うことで細胞内水分子の水和状態と水素結合ネットワーク環境の考察を行った。HeLa細胞内のタンパク質、リン脂質、核酸が細胞内水和に寄与すると考えた場合、細胞内水の約25%が水和水として存在することが見出された。また、バルク水中ではおよそ2.8%の水分子が非水素結合性水分子として存在しているのに対し、HeLa細胞内ではその値が4.0%にも及ぶことが明らかになった。さらに本研究ではHeLa細胞内水分子の水素結合が著しく歪んだ四面体構造を形成することも見出されたため、細胞内の水は通常の水に比べて極めて無秩序化した水素結合環境を有しているとの結論に至った。これらの結果は、THz分光を用いることで今まで明らかにされなかった細胞内水分子の動的・構造的特性を詳細に評価できることを表している。第10章では本研究の総括を行うとともに、THz帯の複素誘電率に基づき細胞内水が生命活動に及ぼす本質的な影響や役割を明らかにするための展望を記している。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

細胞中に圧倒的多数存在する水分子は、生体分子の構造や反応に寄与するだけでなく、物質や熱の拡散など生命活動の根幹を担う重要な物質である。しかしこれまで、細胞中の水分子そのものに着目した研究は少なく、その動的・構造的振る舞いが明らかになっていない。本論文ではテラヘルツ波分光法を用い、その複素誘電率にDebye-Lorentz関数をフィッティングすることで水分子の振る舞いを定量的かつ定性的に議論しようとする手法を提案し、詳細な検討結果が述べられている。評価すべき点は、以下のとおりである。

1. 水溶液中の生体高分子はテラヘルツ帯における誘電応答が水分子よりも十分に小さいことを示し、電磁周波数0.25–12 THzの帯域における水溶液の複素誘電率は、水分子の動的・構造的特性が支配的であることを確認した。
2. 実験で得た0.25–12 THzの複素誘電率を2つのDebye関数と2つのLorentz関数に非線形フィッティングさせることで、溶質1分子あたりの水和水の数と非水素結合性水分子の数、そして水分子の水素結合ネットワークの歪みを評価できることを示した。
3. 生体分子水溶液の複素誘電率解析を行い、親水基の周辺には2~3層にわたる水和水層が形成され、水素結合ネットワークは無秩序化していることを示した。一方で、親水基に比べて疎水基周辺では非水素結合性水分子が少なく、水素結合ネットワークの構造もより秩序化していることを明らかにした。
4. 同様の手法を用いてHeLa細胞の水和状態と水素結合ネットワークの評価を行い、細胞内の水分子の約25%が水和水として存在し、さらに通常の水分子に比べて非水素結合性水分子が多く存在することを明らかにした。

以上のように、テラヘルツ帯誘電分光に基づいた生体分子水溶液および接着性細胞中の水分子ダイナミクスを定性的かつ定量的に理解することで得られた知見は、農産物や食品等の新しい評価技術になることが期待される。また本論文において、生命現象の根幹となる細胞中水分子の振る舞いを理解する新たな実験的アプローチを提案した意義は大きい。このことから、農業システム工学、フィールドロボティクス、生物センシング工学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成28年3月14日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)