

氏名	はま だ つとむ 濱 田 勉
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第2972号
学位授与の日付	平成18年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科物理学・宇宙物理学専攻
学位論文題目	Morphological Dynamics and Biological Functions in a Cell-Sized Lipid Vesicle (細胞サイズ脂質膜小胞の動的形態変化と生物学的機能)
論文調査委員	(主査) 教授 吉川 研一 助教授 瀬戸 秀紀 教授 小貫 明

論 文 内 容 の 要 旨

本学位論文は7章から構成されており、細胞サイズの脂質二分子膜小胞を用いて細胞空間のモデルを実験的に作り出し、顕微鏡による直接観察からその動的現象の研究を進めている。第1章では研究の動機ならびに本分野における過去の研究についての紹介を行っている。第2章では本実験系の性質についてまとめている。そして第3章から第6章にかけて、4つのトピックスについてそれぞれ説明している。第7章では、全体の総括とこれからの展望について述べている。以下、各章の要旨を述べる。

第1章では、細胞サイズ膜小胞の研究に対するこれまで行われてきた生物物理学的研究の到達段階について論じられている。モデル膜研究では、従来は平衡系の議論が大半であり、その時間発展の振る舞いに対する研究はほとんど進んでおらず、生命現象との関連で理解を深めるためには単純なモデル膜系での動的構造の研究が重要である事が示唆されている。

第2章では、脂質膜小胞の物理化学的性質、特に膜面を議論する際に必要な数理モデル(弾性体モデル)について簡潔にまとめられている。数十分程度の時間スケールでの脂質膜の形態変化には、曲げ弾性エネルギーが支配的な効果を有し、膜面積を一定の条件で考えることでよりその本質を捉えることができる事が示唆されている。また、本研究の実験で用いられている位相差顕微鏡の原理についても説明されている。

第3章では、光異性化反応による構成分子の構造変化(Trans体-Cis体)が脂質膜小胞の可逆的な形態転移を引き起こす事を顕微鏡直接観察により見出したことが述べられている。更に、単分子膜の実験から分子表面積と表面圧との関係を評価し、マクロな膜形態変化の原因が光感受性分子の異性化反応に伴う分子断面積の増減である事を明らかにしている。そして、これらの形態転移のメカニズムを表面積変化を考慮に入れた弾性エネルギーにより統一的に理解できる事を示している。この成果はLangmuir誌に掲載されている。

第4章では、固液界面との相互作用(分子間相互作用)を利用する事で、水溶液中のリポソームを平衡状態から離し、多層膜剝離に伴う形態変化を顕微鏡で直接観察する事に成功した。この膜剝離ダイナミクスにおいて、膜小胞の初期半径に依存した2つのタイプの形態変化を起こす事を見出し、そのメカニズムをbending energy, line energy, surface energyの3つ項の寄与を考慮に入れた自由エネルギーにより説明している。また、膜の剝離過程が等速度であることを実験から示し、膜の厚さをオーダーパラメーターとした時間依存性Ginzburg-Landau理論の枠組みにより説明した。これらの成果はChemical Physics Letters誌に掲載された。

第5章では、膜小胞上でのドメイン成長ダイナミクスに関する研究を述べている。飽和・不飽和脂質とコレステロールから構成された膜小胞上で、温度変化における相分離ダイナミクスの顕微鏡観察を試みた。ドメイン平均半径が ≈ 0.15 のスケールで成長することを見出し、膜面の曲げ弾性エネルギーを考慮に入れたブラウン運動による衝突と融合による成長を取り入れた理論モデルにより説明した。この成果はJournal of the Physical Society of Japanに掲載された。

第6章では、細胞サイズリポソーム内での遺伝子発現反応に関する研究を論じている。溶液中の対イオンの濃度をコント

ロールし、脂質の成分を調整する事によって、ある程度高塩濃度の遺伝子発現反応系を含む水溶液中でも安定に存在するリポソームを形成した。その結果、リポソーム内部でタンパク質を合成する細胞モデル実験系を構築する事に成功した。さらに、リポソームの内部では外部溶液空間よりもタンパク質合成反応が促進される事を発見し、その成果は ChemBioChem 誌に掲載された。

最後に第7章では、全体の総括を行い今後の展望を述べている。学問的な問題点や今後取り組むべき課題に関して述べている。

論文審査の結果の要旨

本学位論文では、リン脂質で形成された細胞サイズの人工膜小胞を用いた実験系を構築し、細胞スケールの空間における膜の動的形態変化や微小空間内の化学反応についての研究を行っている。この脂質膜小胞は細胞膜と同様の構造を備えていることから単純な細胞のモデル系となる。これまでは平衡状態についての研究が主であったが、本研究では主に時間軸上の現象の解析を行っている。また、実験手法として顕微鏡直接観察法を用いる事で、膜及び内封された高分子の状態や化学反応の進行を実時間で観測し解析し、光散乱などのアンサンブル平均で得られる実験結果では見逃していたアンサンブルの構成要素を観測する事の重要性を指摘している。

第3、4章においては脂質膜小胞の形態に注目した研究を行っている。生体内では、膜に埋め込まれた高分子の光異性化反応によるコンフォメーション変化が情報の伝達などの重要な働きを引き起こしていることが知られており、これら構成分子の構造変化が脂質膜形態へ与える影響について第3章で調べられている。その結果、ミクロな分子構造変化が膜のマクロな形態を転移させる事を見出し、理論モデルにより説明している。また第4章では、水溶液中で安定に存在しているリポソームをガラス界面と相互作用させることで平衡状態から離し、新たな平衡状態への遷移過程における動的形態変化を位相差顕微鏡により観察した。結果、多層膜リポソームの膜剥離過程においてマイクロメートルの細胞スケールで動的形態変化の分岐現象がおきる事を実験で見出し、それらの解析に基づき物理的なモデルを提案している。生体内での細胞膜の融合・分裂などの現象は時間に依存した非平衡状態の下で起きていることから、平衡から離れた系でのリポソームの動的形態変化に関する研究はきわめて重要であるがほとんど進んでいないのが現状であり、この研究成果は細胞サイズ空間の細胞膜の融合・分裂過程などの動的な現象の解明につながるものと期待できる。

第5章の研究については、生物学の分野においても生体膜でのドメイン形成 (raft) は1990年代後半から非常に大きな関心をもたれており、物理学的観点からの研究が進む事が期待されている。最近になり、モデル膜を用いた研究が幾つか行われてきているが、本研究のような動的過程に注目した研究はほとんどなく、平衡構造の測定・解析等に研究が集中しているのが現状であった。しかし、生命現象を理解するためには、平衡から遠く離れた動的な現象に着目した物理化学的取り扱いが必須であり、本研究はその先駆けとして重要な成果であるといえる。

第6章では、リポソーム内部でタンパク質合成反応を起こす細胞モデル実験系の確立に成功し、リポソーム内部空間と外部バルク空間でのタンパク質合成速度が大きく異なる事を発見している。この結果は細胞サイズの反応場の特異性を示唆する研究成果として非常に重要なものであると言える。

以上に述べた点から総合的に判断し、本学位申請論文はその創造性に優れたものとなっている。さらに、物理学をはじめとする基礎的学問に関する学識は優れたものと判定した。以上のことより、博士(理学)の学位論文として十分学問的価値を有すると判断し、合格と認めた。