

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	溶媒支援型自己組織化を利用した脂質二重膜の作製・評価
Title(English)	
著者(和文)	前川達洋
Author(English)	Tatsuhiko Maekawa
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11511号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:林 智広,曾根 正人,和田 裕之,柘植 丈治,石田 忠
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11511号, Conferred date:2020/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	材料 ライフエンジニアリング	系 コース	申請学位 (専攻分野)： 博士 (工学) Academic Degree Requested Doctor of
学生氏名： Student's Name	前川 達洋		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main) 林 智広 准教授
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

本博士学位論文「溶媒支援型自己組織化を利用した脂質二重膜の作製・評価」は全部で6つの章から構成されている。第1章「固体表面に支持した脂質二重膜の作製・評価に関する研究意義」では、本博士学位論文の導入として、細胞の内外を隔てる細胞膜について述べた。細胞膜の主要な構成要素であるリン脂質分子の構造と種類について紹介し、細胞膜は様々な種類のリン脂質分子が混成した脂質二重膜であり、脂質二重膜のリン脂質分子がドメインを形成する事を述べた。脂質二重膜に形成されたドメインは細胞外の生体分子を認識する膜タンパク質を偏在させており、細胞内外の情報伝達におけるプラットフォームとして機能する事を述べた。そして、生体分子を認識する機能に倣ったバイオセンサーに広く用いられている、固体表面上に人工的に作製した脂質二重膜の重要性と作製方法を述べた。その上で、固体表面上に脂質二重膜を作製する際に主に用いられてきた従来法の問題点を挙げ、それを解決する為に溶媒支援型自己組織化という手法を導入し、今まで作られた事のない脂質二重膜の作製および評価が可能で、固体支持脂質二重膜の研究プラットフォームを確立するという本研究の学術的意義および本博士論文の構成について記述した。

第2章「本研究で行った脂質膜作製とその評価手法」では、本研究で実際に行った脂質膜の作製手法、脂質膜の評価を行う為の分析手法について述べた。脂質膜の作製に関しては、脂質膜を作製する為の前駆体脂質溶液の調整手順、溶媒支援型自己組織化による脂質膜作製手順について述べた。また、作製した脂質膜を評価する為に用いた蛍光顕微鏡法、光褪色後蛍光回復法 (Fluorescence recovery after photobleaching: FRAP) および原子間力顕微鏡法 (Atomic force microscopy: AFM) によるイメージングとナノ力学測定の原理について述べた。さらに、脂質膜の作製と評価に使用可能な独自に開発したマイクロ流路チャンバーについて述べた。

第3章「溶媒支援型自己組織化を利用して作製した脂質膜の拡散係数評価」では、溶媒支援型自己組織化を利用して室温において液相であり蛍光標識された 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DOPC) とゲル相である 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC) を様々な組成比で混成して作製した脂質膜を、蛍光顕微鏡観察および FRAP により評価した。蛍光顕微鏡観察では、DPPC が含まれている脂質膜には蛍光を発していないドメインが確認され、さらに、脂質膜に含まれる DPPC の割合の増加に伴って脂質膜表面を占めるドメイン面積の割合が増加した事も確認された。各組成比の脂質膜蛍光画像の蛍光強度を比較する事で、脂質膜作製前の前駆体脂質溶液における DOPC と DPPC の組成比が、溶媒支援型自己組織化を用いて基板上に作製した脂質膜にも良く再現される事が判明した。加えて、FRAP 測定によって、全ての組成比の脂質膜において DOPC が側方拡散している事が確認され、さらに、脂質膜に含まれる DPPC の割合の増加に伴い、脂質膜内のリン脂質分子の全体的な拡散係数が減少した事も確認された。これらの結果より、溶媒支援型自己組織化により作製された DOPC と DPPC が混成した脂質膜は脂質二重膜としての特徴を確かに有している事が示された。

第4章「作製した脂質膜の機械特性評価」では、様々な組成比で DOPC と DPPC を混成して作製した脂質膜を AFM で評価した事について述べた。AFM のイメージングより、液相である DOPC のみで構成された脂質膜の表面にはドメインや膜の欠陥などが観察されなかった。一方、ゲル相である DPPC を含む脂質膜にはドメインが形成されている事が観察された。さらに、脂質膜に含まれる DPPC の割合が低い脂質膜において、蛍光顕微鏡観察では確認する事の出来なかった小さなドメインが確認され、脂質膜に含まれる DPPC の割合の増加に伴い脂質膜表面を占めるドメイン面積の割合が増加した。これは、脂質膜に含まれる DPPC の割合と脂質膜表面を占めるドメイン面積の割合との間に相関がある事を示している。さらに、AFM を用いて本研究で作製した脂質膜の膜厚を評価し、過去に報告されている脂質二重膜の膜厚と比較した。その結果、溶媒支援型自己組織化を利用した本研究の脂質膜は脂質二重膜と同等の膜厚を有する事が判明した。拡散係数の評価と合わせて、溶媒支援型自己組織化により DOPC と DPPC を混成した脂質二重膜が作製可能である事が示された。

第5章「液相とゲル相が拡散係数・機械特性および膜機能に与える影響」では、本研究において溶媒支援型自己組織化を利用して作製した脂質二重膜の拡散係数や機械特性を、これまで行われてきた脂質二重膜研究の結果と比較した。その上で、脂質二重膜を構成するリン脂質分子の種類、膜を支持する基板表面の物理化学的性質、固体支持脂質二重膜の系の温度などによる拡散係数や機械特性への影響を述べた。加えて、それらの条件によるドメインの構造や膜機能との関連について述べた。

第6章「総括と今後の展望」では総括として、溶媒支援型自己組織化は細胞膜を人工的に模倣する、高品質で複雑な組成のモデル生体膜を作製する為の有望なアプローチである事を示している。さらに今後の展望として、本研究で確立した溶媒支援型自己組織化による脂質二重膜の作製・評価のプラットフォームが、基礎生物学・生物物理学やバイオセンサーの発展に貢献可能である事を解説した。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	材料 ライフエンジニアリング	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	前川 達洋		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	林 智広 准教授	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words )

In this Ph.D. thesis study, I report that multi-phase supported lipid bilayers (SLBs), which have not been formed by conventional techniques, are fabricated at room temperature by combining a solvent-assisted self-assembly and a newly designed microfluidic chamber and characterized subsequently without exposure of the bilayers to the air. The characterization by fluorescence microscopy, fluorescence recovery after photobleaching, and atomic force microscopy revealed that the solvent-assisted self-assembly enabled to form uniform SLBs at any composition ratio of liquid phase 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DOPC) and gel phase 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC). From the characterization, I found that the composition ratio of DOPC and DPPC in the precursor solution was well reproduced in the SLB. Moreover, I recognized that the diffusion coefficients of the labeled DOPC in the SLBs and the thickness of SLBs decreased with increasing the fraction of DPPC. This result indicated that DPPC (gel phase) increased the average interactions between phospholipids in SLBs, resulting in the low fluidity of the phospholipids and the suppression of the thermal undulation of SLBs. Through this study, I conclude that the solvent-assisted self-assembly is a robust technique to form SLBs with precise control of any composition of phospholipids. Taken together, this technique is able to become a robust platform that supplies multi-phase SLBs to elucidate mechanisms of cell responses and to develop biosensing applications.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).