

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	巨大脂質二重膜小胞における超短カーボンナノチューブチャネル形成の研究
Title(English)	
著者(和文)	菅野翔一朗
Author(English)	Shoichiro Kanno
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12820号, 授与年月日:2024年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:八木 透,柳田 保子,林 智広,高山 俊男,石田 忠
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12820号, Conferred date:2024/6/30, 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：	機械	系	申請学位(専攻分野)：	博士	(工学)
Department of, Graduate major in	ライフエンジニアリング	コース	Academic Degree Requested	Doctor of	
学生氏名：	菅野 翔一朗		審査員主査：	八木 透	
Student's Name			Chief Examiner		

要旨(和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は「巨大脂質二重膜小胞における超短カーボンナノチューブチャネル形成の研究」と題し、和文にて全 5 章から構成される。

第 1 章「緒論」では、脂質二重膜を起点として巨大脂質二重膜小胞(giant unilamellar vesicle: GUV)の定義とその応用について述べる。そして GUV の応用用途である、人工細胞そしてそこから派生する GUV ベースのデバイスにおいて、GUV-GUV もしくは GUV-細胞間の分子輸送経路構築が重要であることを示し、その有望な材料として脂質二重膜小胞間に物質輸送を構築可能なナノスケールの長さに切断したカーボンナノチューブ(carbon nanotube: CNT)である、超短 CNT について説明する。さらに超短 CNT のこれまでの研究の流れについて説明し、GUV への超短 CNT 適用の知見が不足していることを指摘し、先述の分子輸送経路構築のために、超短 CNT の挿入が GUV 膜形態に及ぼす影響の解析および超短 CNT を GUV に適用した際の膜の透過性の評価法の開発が必要であることを述べる。

第 2 章「超短 CNT の作製」では、GUV に超短 CNT チャネルを形成するための前段階として、超短 CNT を作製した。自発的な脂質二重膜への挿入を可能とするために、超音波破碎による切断とともに脂質分子である DOPC による物理吸着による水性溶媒中での分散を手法として採用した。作製した超短 CNT の長さに対しては、透過電子顕微鏡観察 原子間力顕微鏡観察、動的光散乱法による分析を行うことで、CNT が 0 ~ 60 nm の範囲に切断されていることを確認した。また超短 CNT のラマンスペクトルを得たところ、CNT のみならず脂質分子固有のスペクトルが観察され、分散液中に脂質分子と CNT の存在を確認できた。さらにラマンスペクトルの低波数領域より超短 CNT の直径が 0.9 nm と 1.6 nm であることが推定できた。最後に、超短 CNT を曝露した脂質二重膜に固定電圧を印加した状態での電流計測により、超短 CNT の脂質二重膜におけるチャネル形成能力について評価したところ、チャネル形成を示唆するステップ状の電流波形が観察された。さらにヒストグラムにおけるコンダクタンスの離散的な分布より単一超短 CNT のコンダクタンスが 0.4 nS であることが推定された。この数値は既報の値と同様のオーダーを示しており、超短 CNT が膜に挿入されたことが示唆された。以上より、今回作製した超短 CNT は数~数十 nm に切断されており、脂質二重膜に自発的に挿入できる特性を持つことがわかった。

第 3 章「超短 CNT 挿入による GUV 変形解析」では、GUV を用いて超短 CNT が脂質二重膜の変形に及ぼす影響を調査することを目的とした。そのために蛍光顕微鏡による観察にて超短 CNT に曝露した GUV の膜形状を評価した。結果として、超短 CNT が GUV の形状を球形から連結した小胞へと変形させることが示された。さらにその変形形態を、膜全体の弾性エネルギーによる膜変形モデルと比較することで、GUV の膜面積と曲率の増加が超短 CNT の膜挿入により発生していることが示唆された。このことから膜の崩壊や融合を引き起こす長い CNT とは異なり、超短 CNT では膜挿入によって脂質分子やペプチドの膜挿入と同様な膜変形メカニズムを持つことが考えられる。

第 4 章「GUV のイオン透過性評価手法の開発」では、GUV 膜における超短 CNT によるイオン透過を評価することを目的とした。そのために蛍光プローブを内包した GUV と蛍光顕微鏡を用い、GUV 膜の形態観察と内部蛍光強度の測定を並行して行い、GUV 膜における Ca^{2+} 透過を評価し、蛍光顕微鏡を用いた本アプローチの原理実証を行った。その結果として、変形の発生していない GUV 膜において GUV 内に Ca^{2+} が透過される様子を顕微鏡下で観察が可能であることを示した。さらに本手法を用い GUV への超短 CNT 導入濃度による Ca^{2+} の透過過程の変化を評価した。超短 CNT の濃度上昇に伴い Ca^{2+} の透過性が上昇すると考えられたが、濃度とイオン透過性の間の関係について評価を試みた。

第 5 章「結論」では、各章で得られた知見をまとめ、残された課題とその解決の方針を示した。さらに本研究によって得られた知見が GUV を用いたデバイスに及ぼす貢献について説明し、本研究が実社会に及ぼす波及効果について述べた。

以上に示すように、本論文は超短 CNT チャネル形成による GUV 膜変形解析、および蛍光プローブと顕微鏡を用いた GUV 中の超短 CNT チャネルの透過性評価手法の開発を通して GUV における超短 CNT チャネル形成のための知見を提供するものである。

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：	機械	系
Department of, Graduate major in	ライフエンジニアリング	コース
学生氏名：	菅野 翔一朗	
Student's Name		

申請学位 (専攻分野)：	博士	(工学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
審査員主査：	八木 透	
Chief Examiner		

要旨 (英文 300 語程度)
Thesis Summary (approx.300 English Words)

Giant unilamellar vesicles (GUVs) are an important tool in artificial cell research to explore biological processes and the origin of life. Encapsulating biomolecules enables to construction of bottom-up artificial cells that mimic biological functions. Furthermore, GUVs can be used as chassis for developing biology-inspired microreactors and biosensing. In GUV-based devices, chemical systems have been constructed within a single GUV. In recent years, the ability to input the output of chemical reactions within a GUV to other GUVs or cells has become important due to increasing system complexity and new approaches to therapy. Typically, GUV-based systems release molecules to the outside through membrane protein channels as a route of molecular delivery to the target. However, this process causes chemical signal attenuation due to diffusion. Therefore, the formation of channels between GUVs and between GUVs and cells is necessary for molecular information transfer. Ultrashort CNTs, which are carbon nanotubes (CNTs) cut to several tens of nanometers, can form channels that connect lipid membrane vesicles. On the other hand, there are few reports on the formation of ultrashort CNTs in GUV. In particular, CNTs may disrupt or deform lipid bilayers. In addition, existing methods for evaluating the ion transport properties of ultrashort CNT channels formed in vesicles are difficult to apply to GUVs. In this study, I analyzed the effect of the formation of ultrashort CNT channels in GUVs on the membrane morphology and discussed the deformation mechanism. I also developed a method to evaluate the ion transport properties of GUV membranes with ultrashort CNTs. These efforts are aimed at providing insight into the establishment of molecular transport pathways using ultrashort CNTs between GUVs.

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).