

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	人工細胞の実現に向けた小孔支持型脂質二重膜の研究
Title(English)	
著者(和文)	彭祖癸
Author(English)	Zugui Peng
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12229号, 授与年月日:2022年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:八木 透,山本 直之,柳田 保子,林 智広,石田 忠
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12229号, Conferred date:2022/9/22, 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

(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

申請学位 (専攻分野)： 博士
Academic Degree Requested Doctor of (工学)

学生氏名： 彭 祖癸
Student's Name

指導教員 (主)： 八木 透
Academic Supervisor(main)

指導教員 (副)：
Academic Supervisor(sub)

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は、「人工細胞の実現に向けた小孔支持型脂質二重膜の研究」と題し、和文で書かれ、全6章から構成されている。

第1章「序論」では、人工細胞の定義とその応用について説明した。まず人工細胞の構成要素である脂質二重膜の性質について触れ、従来の2種類の脂質二重膜である **giant unilamellar vesicle (GUV)**と **supported lipid bilayer (SLB)**のそれぞれの利点と欠点を示した。次に GUV と SLB 両者の利点を兼ね備えた小孔支持型脂質二重膜について説明し、その性能向上には有機溶媒の残留を解決する必要があることを示した。そして有機溶媒が完全に除去されている条件下で、オイルフリーの小孔支持型脂質二重膜の形成手法を開発するという本研究の目的について説明した。

第2章「小孔支持型 GUV の形成手法」では、オイルフリーの GUV 形成の従来手法を説明し、小孔支持型 GUV の形成に適した手法はポリマーフィルム水合法であることを述べ、同手法の改良を提案した。すなわち、脂質フィルムに傷をつけて不均一化することで、**agarose** 溶液内での小孔支持型 GUV の形成を促進するように設計することを説明した。そして、形成した小孔支持型 GUV の機械的強度を評価する浸透圧試験、小孔支持型 GUV に導入された膜タンパク質の活性を評価する **calcein** 透過実験、および小孔支持型 GUV の脂質二重膜層数と **agarose** 包埋率を評価する手法について説明した。

第3章「形成した小孔支持型 GUV の評価」では、第2章で提案したポリマーフィルム水合法を用いて、小孔支持型 GUV を形成した結果を示した。まず、共焦点顕微鏡による蛍光観察の結果、脂質フィルムを傷つけることでベシクルの収率が大きく上昇し、その9割以上は **0.6-0.7%(w/v)**の **agarose** を含む小孔支持型 GUV であることを示した。また、提案手法を使って形成した小孔支持型 GUV が約1週間の寿命を持つと説明した。次に、浸透圧試験の結果より、小孔支持型 GUV が通常の支持物のない GUV より高い機械強度を有すること、すなわち **agarose** が脂質二重膜を支持して小孔支持型 GUV の機械的強度を向上させる機能を有することを示した。そして **calcein** 透過実験の結果、小孔支持型 GUV に赤血球由来の膜タンパク質の導入に成功したことを示した。以上の結果から、第2章で提案した手法はオイルフリ

一の小孔支持型 GUV を形成できると説明した。

第 4 章「小孔支持型 SLB の形成手法」では、従来のオイルフリーの SLB の形成手法を比較し、小孔支持型 SLB の形成に適した手法は自発展開法であることを示した。すなわち、直径 50 nm のポリマーフィルム上で自発展開を行うことで、小孔支持型 SLB を形成できると説明した。そして、形成した小孔支持型 SLB の展開速度を評価する手法、リン脂質分子の流動性を確認する fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) 法、および小孔支持型 SLB の機械的特性の評価手法である原子間力顕微鏡を用いたフォースカーブ計測について説明した。

第 5 章「形成した小孔支持型 SLB の評価」では、第 4 章で提案した自発展開法を用いて小孔支持型 SLB を形成する手法の検証結果を示した。まず共焦点顕微鏡による蛍光観察実験から、多孔質基板であるポリカーボネート基板上に SLB を展開でき、さらにポリカーボネート基板上の SLB がガラス上より展開速度が低いことを示した。次に FRAP 実験の結果、ポリカーボネート基板上の SLB が流動性を有していると説明した。最後にフォースカーブ計測実験から、小孔支持型 SLB が形成され、そのバネ定数は 0.039 ± 0.007 N/m であり、先行研究と同等な機械的強度を有していることを示した。以上の結果から、第 4 章で提案した自発展開法はオイルフリーの小孔支持型 SLB を形成できると説明した。

第 6 章「結論」では、本論文全体の総括として、本研究で提案した小孔支持型 GUV と小孔支持型 SLB の形成手法が有用であることを説明した。そして、残された課題と解決の方向性を示すとともに、本研究が基礎科学と工学における意義と波及効果等、将来に向けた展望について説明した。

このように本論文は、ポリマーフィルム水和法と自発展開法をそれぞれオイルフリーの小孔支持型 GUV と小孔支持型 SLB の形成に適用することを提案し、実験によってその有用性を明らかにしたものである。

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 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： 機械 系
Department of, Graduate major in ライフエンジニア リング コース

申請学位 (専攻分野) : 博士
Academic Degree Requested Doctor of (工学)

学生氏名 : 彭 祖癸
Student's Name

指導教員 (主) : 八木 透
Academic Supervisor(main)

指導教員 (副) :
Academic Supervisor(sub)

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Research on artificial cells that reproduce the complex functions of cells by combining lipid bilayers, DNA, proteins, and other biomolecules has attracted much attention. As a tool for understanding how cell-like living systems are created from nonliving matter, such artificial cells contribute greatly to the understanding of materials science and life science. The lipid bilayer is responsible for partitioning the inside and outside of the artificial cell. Recently, lipid bilayers supported by nanoporous substrates come to attract attention due to their high mechanical stability. However, their formation method always requires the use of organic solvent. These organic solvents can remain in the lipid bilayer and results in bilayer denaturation. Therefore, the development of a solvent-free nanoporous substrate-supported lipid bilayer formation method is desired. In this study, I developed two formation methods for nanoporous substrate-supported (i) giant unilamellar vesicle (nano-GUV) and (ii) planar lipid bilayer (nano-SLB). For (i), I adapted the polymer-assisted swelling method, which is a solvent-free GUV formation method, and found an inhomogeneous lipid film is more suitable for nano-GUV formation. Moreover, I found the formed nano-GUV have higher mechanical stability than non-supported GUV. For (ii), I utilized the solvent-free self-spreading method to form nano-SLB on a nanoporous polycarbonate membrane. I found that nano-SLB with high fluidity can spread on the polycarbonate membrane successfully. Moreover, with atomic force microscopy, I confirmed that nano-SLB span the nanopores and have similar mechanical stability to those reported by previous studies. Putting it together, both the two methods proposed in this study can form solvent-free nanoporous substrate-supported lipid bilayers with high mechanical stability. Future work is required to incorporate membrane protein in the obtained lipid bilayers and exam their activities.

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: The thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).