

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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	彭 祖 癸	
		氏 名	職 名		
論文審査 審査員	主査	八木 透	教授	審査員	石田 忠
	審査員	山本直之	教授		
		柳田保子	教授		
		林 智広	准教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

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述べている。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、giant unilamellar vesicle (GUV) と supported lipid bilayer (SLB) のそれぞれの利点と欠点を示している。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ている。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述べている。

第2章「小孔支持型 GUV の形成手法」では、GUV 形成の従来手法を説明し、オイルフリーの小孔支持型 GUV の形成に適した手法はポリマーフィルム水和法であることを述べ、同手法の改良を提案している。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述べている。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 透過実験を実施し、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述べている。

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和法を用いて、小孔支持型 GUV を形成した結果を示している。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 であることを示している。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述べている。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ている。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ている。以上の結果から、第2章で提案した手法はオイルフリーの小孔支持型 GUV の形成に有用であると述べている。

第4章「小孔支持型 SLB の形成手法」では、従来の SLB の形成手法と比較し、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ている。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、オイルフリーの小孔支持型 SLB を形成できると述べている。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 (AFM) を用いたフォースカーブ計測について述べている。

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たオイルフリーの小孔支持型 SLB を形成する手法について検証結果を示している。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ている。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述べている。最後に AFM の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ている。以上の結果から、第4章で提案した自発展開法によってオイルフリーの小孔支持型 SLB を形成できると述べている。

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述べている。そして、残された課題と解決の方向性を示すとともに、基礎科学と工学における本研究の意義と波及効果等、将来に向けた展望について述べている。

以上を要するに本論文は、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。したがって本研究で得られた知見は医用生体工学の研究領域において価値が高く、工学上、寄与するところが大きい。よって本論文は博士(工学)の学位論文として十分価値があるものと認められる。

注意:「論文審査の要旨及び審査員」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。