

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	液-液相分離液滴界面を利用した機能性DNAオリガミマイクロカプセルの構築
Title(English)	Construction of functional DNA origami microcapsules using a liquid-liquid phase-separated droplet interface
著者(和文)	山下和誼
Author(English)	Nagi Yamashita
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12837号, 授与年月日:2024年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:瀧ノ上 正浩,山村 雅幸,松浦 友亮,清尾 康志,藤枝 俊宣
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12837号, Conferred date:2024/9/20, 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	山下和誼	
論文審査 審査員		氏名	職名		
	主査	瀧ノ上 正浩	教授	藤枝 俊宣	准教授
	審査員	山村 雅幸	教授		
		松浦 友亮	教授		
		清尾 康志	教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「液-液相分離液滴界面を利用した機能性 DNA オリガミマイクロカプセルの構築」(英題「Construction of functional DNA origami microcapsules using a liquid-liquid phase-separated droplet interface」)と題し、4章より構成されている。

第1章「緒言」では、本研究の背景と目的について述べている。従来から、人工細胞の構築には、脂質やポリマーの自己組織化によるマイクロカプセルが利用されているとしている。人工細胞の機能化は、そのバイオ応用などのために、ますます重要となっているとし、特に、マイクロカプセルの膜透過性等の機能が、人工細胞のシグナル応答や人工細胞間の通信に応用されてきたと述べている。このように、近年急速に発展する機能性マイクロカプセルの構築には、DNA オリガミ分子をはじめとする、デザインビリティの高い DNA ナノ構造体の利用が有効であるとされていると述べている。しかしながら、すでに報告されている DNA オリガミ分子を構成要素としたマイクロカプセルの構築では、油水界面を必要とするため、油相の除去の必要性など依然として課題があるとし、その解決が必要とされていると述べている。また、本博士論文で油水界面に代わって取り扱う、液-液相分離 (liquid-liquid phase-separation, LLPS) 液滴には、segregative LLPS 液滴と associative LLPS 液滴の2種類があることを説明し、人工細胞工学分野での LLPS 液滴の応用の現状を述べている。最後に、LLPS 液滴を用いて DNA オリガミ分子を構成要素としたマイクロカプセルを構築する、本研究の目的や本論文の全体構成について説明している。

第2章「Segregative LLPS 液滴の界面を利用した DNA オリガミマイクロカプセルの構築」では、segregative LLPS 液滴の界面に DNA オリガミ分子を集積させることで機能性 DNA オリガミマイクロカプセルを構築する、新たな手法について述べている。まず、polyethylene glycol (PEG) とデキストランという水溶性の高分子を混合することで、デキストランの segregative LLPS 液滴を作製し、その水溶液に DNA オリガミ分子を分散させると、高分子による枯渇効果によって DNA オリガミ分子が PEG とデキストラン液滴の界面に集積したことを報告している。このデキストラン液滴の界面をテンプレートとして、DNA オリガミマイクロカプセルが構築できることを見出したとしている。ここでは、DNA オリガミ分子のサイズ・濃度等が DNA オリガミマイクロカプセルの形成に与える影響について詳細に分析している。また、DNA オリガミマイクロカプセルの膜安定性を向上させるため、DNA オリガミ分子同士を架橋する方法について説明し、架橋が DNA オリガミマイクロカプセルの安定性の向上だけでなく、膜透過性も変化させることが可能であったと述べている。さらに、構築した DNA オリガミマイクロカプセルにシグナル応答機構を導入し、DNA ハイドロゲルでできた人工細胞との分子的な通信を実現したことを報告している。

第3章「Associative LLPS 液滴の界面を利用した DNA オリガミマイクロカプセルの構築」では、associative LLPS 液滴の界面に DNA オリガミ分子を集積させることで機能性 DNA オリガミマイクロカプセルを構築する手法について述べている。この手法では、分岐型 DNA ナノ構造を集積させてできる associative LLPS 液滴である DNA 凝縮体を構築し、その表面に DNA 塩基対形成反応を介して、DNA オリガミ分子を集積させることで、機能性 DNA オリガミマイクロカプセルを構築できることを見出したとしている。ここでは、2次元的なフレキシブルな構造と3次元的な強固な構造の DNA オリガミ分子を比較し、DNA オリガミ分子の柔軟性や、DNA オリガミが DNA 凝縮体と結合する際の結合価数が、DNA オリガミマイクロカプセルの形成に影響を与えることについて、詳細に分析している。また、DNA オリガミ同士の架橋によって、DNA オリガミマイクロカプセルの膜安定性を向上させることが可能であったと述べている。さらに、DNA オリガミ間の架橋は、膜安定性を向上させるだけでなく、分子の膜透過性に分子サイズ選択性も発現させられることを発見したとしている。最後に、膜安定性を向上させた DNA オリガミマイクロカプセルを用いれば、DNA オリガミマイクロカプセルを

複数集積することも可能であることを見出したとし、将来的には人工的な多細胞体として応用可能であるだろうと述べている。

第4章「総合討論」では、第2章および第3章で示した結果を踏まえて、本論文の機能性 DNA オリガミマイクロカプセルの構築および機能化に関する総合的な考察や残された課題、今後の展望について述べている。DNA オリガミ分子の架橋方法の違いによる DNA オリガミマイクロカプセルの安定化の違いについて、比較および考察するとともに、DNA オリガミマイクロカプセルのサイズ制御や単分散性についての課題、DNA オリガミマイクロカプセルを用いた細胞間通信の可能性などが論じられている。さらに、本手法の適用範囲の限界や、今後の研究の方向性についても述べている。

以上を要するに、本論文は、人工細胞工学分野において重要となる、機能性 DNA オリガミマイクロカプセルの構築のための LLPS 液滴界面を用いた新規手法を提案し、DNA オリガミマイクロカプセルの物性の解析や、機能化についての新たな知見を報告しており、その成果は理学上貢献するところが大きい。よって本論文は博士（理学）の学位論文として十分な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。