

Title	単層膜ジャイアントリポソームを用いた人工細胞モデルの構築とその性質に関する研究
Author(s)	西村, 晃司
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34560
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (西村 晃司)	
論文題名	単層膜ジャイアントリボソームを用いた人工細胞モデルの構築とその性質に関する研究
<p>論文内容の要旨</p> <p>細胞は脂質二分子膜に覆われた微小な小胞であり、膜を介して外界と応答し、その内部で様々な物質の相互作用による生化学反応が行われている。細胞内で行われている生化学反応を理解するために、大腸菌などのモデル生物を使った研究が行われているが、それらは複雑かつ未知の成分を多く含むため、理解困難な場合が多い。そのため、すべて既知の成分からなるより単純な生化学反応系を人工的に再構成することは、細胞内反応の理解促進に寄与すると期待されている。そこで本論文では、微小反応場として単層膜の脂質二分子膜小胞（リボソーム）を、内部生化学反応系として完全再構成型無細胞翻訳系を用いて人工細胞モデルを構築し、細胞という反応場の特性である微小さ、膜及び膜を介した外液が、内部での生化学反応へ及ぼす影響に関して定量的な評価を行った。</p> <p>これまで、リボソームを用いた人工細胞モデルの研究はいくつもなされてきた。しかし、過去のそれらの研究は複雑な内部構造を持った多重膜リボソームを用いたものが多く、定量的な評価が困難であった。それを改善するために、2章では内部構造を持たない単層膜リボソーム内での転写・翻訳系を構築した。そして、試験管にはない微小さによる脂質二分子膜との接触が、反応に及ぼす影響に関して調べた。その結果、平均的なタンパク質合成濃度はリボソームの大きさに依らず試験管内反応と同程度であった。しかし、個々のリボソーム内でのタンパク質合成濃度は、リボソームの大きさがほぼ同じであっても大きく異なることが分かった。3章では、単層膜リボソームの膜透過性を評価した。過去の研究では脂質二分子膜を透過しないとされていた電荷や極性を持った低分子も、一部のリボソームでは透過することが分かった。このリボソームの透過性のばらつきが、2章でのタンパク質合成濃度のばらつきの一因になっている可能性が示唆された。そこで、外的要因を排除し内部反応の特性を評価するために、4章ではこのリボソームごとの膜透過性の違いを制御し、均一の性質にすることを試みた。リボソーム作製後に外部から脂質や脂肪酸を脂質二分子膜に導入することで、一部のリボソームに見られた電荷を持った物質の膜透過を抑制したり、逆にほぼすべてのリボソームに膜透過性を与えたりすることに成功した。この、電荷を持った分子の透過を抑制した条件でもタンパク質合成濃度のばらつきは見られた。このことから、合成濃度のばらつきは透過性のばらつきが原因でないことが分かった。</p> <p>以上のように、単層膜の人工細胞モデルを構築することで、リボソームごとの内部生化学反応や膜透過性の違いなど、試験管内反応では調べられない細胞特有の性質を明らかにした。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (西 村 晃 司)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	四 方 哲 也
	副 査	教 授	松 田 秀 雄
	副 査	教 授	清 水 浩
	副 査	教 授	若 宮 直 紀
	副 査	教 授	前 田 太 郎

論文審査の結果の要旨

細胞は脂質二分子膜に覆われた微小な小胞であり、膜を介して外界と応答し、その内部で様々な物質の相互作用による生化学反応が行われている。細胞内で行われている生化学反応を理解するために、大腸菌などのモデル生物を使った研究が行われているが、それらは複雑かつ未知の成分を多く含むため、理解困難な場合が多い。そのため、すべて既知の成分からなるより単純な生化学反応系を人工的に再構成することは、細胞内反応の理解促進に寄与すると期待されており、脂質二分子膜小胞（リポソーム）を用いた人工細胞モデルの研究がいくつもなされてきた。しかし、過去のそれらの研究は複雑な内部構造を持った多重膜リポソームを用いたものが多く、定量的な評価が困難であった。

この論文は、微小反応場として単層膜のリポソームを、内部生化学反応系として完全再構成型無細胞翻訳系を用いて人工細胞モデルを構築することで、細胞という反応場の特性である微小さ、膜及び膜を介した外液が、内部での生化学反応へ及ぼす影響に関して定量的な評価を行うことを目的としたものである。

2章では内部構造を持たない単層膜リポソーム内での転写・翻訳系の構築を行った。そして、試験管にはない微小さによる脂質二分子膜との接触が、反応に及ぼす影響に関して調べた。その結果、平均的なタンパク質合成濃度はリポソームの大きさに依らず試験管内反応と同程度であることを示した。また、個々のリポソーム内でのタンパク質合成濃度は、リポソームの大きさがほぼ同じであっても大きく異なることを明らかにした。3章では、単層膜リポソームの膜透過性を評価した。過去の研究では脂質二分子膜を透過しないと言われていた電荷や極性を持った低分子も、一部のリポソームでは透過することを発見した。4章ではリポソームごとの外的要因の影響の違いを排除し、内部反応の特性を評価するために、電荷や極性を持った低分子に対するリポソームの膜透過性を制御し、均一の性質にすることを試みた。リポソーム作製後に外部から脂質や脂肪酸を脂質二分子膜に導入することで、一部のリポソームに見られた電荷を持った物質の膜透過を抑制したり、逆にほぼすべてのリポソームに膜透過性を与えたりすることに成功した。そして、この電荷を持った分子の透過を抑制した条件でも、リポソーム内でのタンパク質合成濃度のばらつきが見られた。このことから、タンパク質合成濃度のばらつきは脂質膜の透過性のばらつきが原因ではないことを明らかにした。

以上のように、単層膜の人工細胞モデルを構築することで、リポソームごとの内部生化学反応や膜透過性の違いなど、試験管内反応では調べられない細胞特有の性質を明らかにした。本論文で構築された定量評価系を応用することで、今後さらに複雑な生化学反応系の細胞と同様の微小反応場での挙動の理解に役立つと期待される。

よって、博士（情報科学）の学位論文として価値のあるものと認める。