Osaka University Knowledge Archive

Title	リポソームを用いた人工生命モデル構築に関する基礎的研究
Author(s)	佐藤, 周知
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45840
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【23】

氏名	佐藤周知（さとう かねとも）
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 19461 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	**リポソームを用いた人工生命モデル構築に関する基礎的研究**
論文審査委員	（主査） 教授 卜部　格 （副査） 教授 福井 希一　東京大学大学院総合文化研究科教授 菅原　正 教授 金谷 茂則　教授 小林 昭雄　教授 原島　俊 教授 大竹 久夫　教授 塩谷 捨明　教授 室岡 義勝 教授 清水　浩　教授 関　達治　教授 仁平 卓也

論文内容の要旨

本論文は、人工生命モデル構築の基礎的方法と、構築したモデルの評価方法についてまとめた論文であり、緒論、本章3章、総括からなる。

緒論では、本研究の背景と目的、およびその意義について記述した。

第1章では、人工生命モデル構築の基礎として、リポソームの中で蛋白質の合成反応を行ない、合成された蛋白質が、本来備えた機能を持つのかということについて検討した。具体的には、GFP（緑色蛍光蛋白質）をモデル蛋白質として、リポソーム内で大腸菌 S30 無細胞蛋白質転写翻訳溶液を用いた、GFP 遺伝子の転写翻訳反応を試みた。セルソーターによる測定結果、および共焦点レーザー顕微鏡の観察結果から、リポソーム内部での GFP の緑色蛍光が観察された。これにより、生命が持つ特徴である遺伝子の転写翻訳反応が、細胞モデルとしてのリポソームの中において可能である事が分かった。

第2章では、第1章で示された生化学反応よりも複雑な生化学反応として、リポソーム中でネットワーク構造を持つ生化学反応を行うことについて試みた。具体的には、S30 無細胞蛋白質翻訳溶液中において、SP6 プロモーター下流の T7RNA ポリメラーゼ遺伝子と、T7 プロモーター下流の GFP 遺伝子の転写翻訳反応が、SP6RNA ポリメラーゼの添加によって、カスケード的に進行する系を構築した。この反応における GFP の蛍光強度の経時変化について、リアルタイム蛍光強度計を用いて、その経時変化を観察した。その結果、カスケード特有の性質として、GFP 翻訳反応の時間遅れが観察された。また、リポソーム内での反応について、セルソーターを用いて測定した結果、リポソーム内での GFP の緑色蛍光が観察された。

第3章では、構築した人工生命モデルを評価する方法として、セルソーターを用いた、個々のリポソームの内部体積と膜量をハイスループットに測定する方法の構築について試みた。リポソームの内部体積指標として GFP を、また膜量の指標として赤色蛍光リン脂質（BODIPY-RED-PC）を用いた。FACS 測定における、各蛍光色素の分子数と蛍光強度の検量線を作成し、リポソームの内部体積と膜量を定量化した。求めた内部体積と膜量の総和によるリポソームの体積と、顕微鏡観察による実像から考慮した体積との整合性に関して比較検討を行なったところ、その相関性は高かった。これにより、リポソームの内部体積および膜量を調べる方法として信頼性のある測定方法である事が示

唆された。

最後に、以上で得られた知見を総括し、より複雑な人工生命モデル構築への可能性について記述した。

論文審査の結果の要旨

生命の進化やその起源に関する理解にあたっては、従来の分子生物学的手法に加えて、生命の特徴を備えた人工生命モデルを構成的手法によって構築する研究が必要である。本論文では、生化学材料を用いた人工生命モデルを構築するにあたり、細胞膜モデルとしてのリポソームを用いた基礎的研究を試みている。具体的には、リポソーム内での蛋白質合成反応、リポソーム内での遺伝子ネットワーク反応の構築、およびリポソームとリポソーム内での化学反応の評価系の構築を試みている。

これらの成果を要約すると以下のとおりである。

(1) リポソーム内での蛋白質合成反応のモデルとして、GFP（緑色蛍光蛋白質）遺伝子によるS30無細胞転写翻訳溶液を用いた、GFPの転写翻訳反応が可能であることを示している。

(2) 遺伝子ネットワーク反応のモデルとして、SP6プロモーターとT7RNAポリメラーゼ遺伝子および、T7プロモーターとGFP遺伝子を用いた2段階カスケード反応を構築し、そのカスケード反応がS30無細胞転写翻訳溶液を用いて、リポソーム内で可能であることを示している。

(3) 大きさや形が不均一である個々のリポソームの内部体積と膜量を、それぞれ蛍光標識し、セルソーターでの測定によって定量化する方法を開発している。そして、リポソーム溶液中における個々のリポソームの内部体積と膜量が、溶液中でどの様に分布しているかを示している。またこの方法により、個々のリポソームにおける体積あたりの反応効率を評価できることを示している。

以上のように、本論は人工生命モデル構築に関する基盤として有益な知見を明らかにしており、これまでのリポソームを用いた人工生命モデルに関する研究や、リポソームを医薬・工学に応用してゆく応用生物工学の発展に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。