

Title	リポゾーム内における生化学反応と遺伝子進化に関する研究
Author(s)	角南, 武志
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49274">https://hdl.handle.net/11094/49274</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	角 南 武 志
博士の専攻分野の名称	博 士 (情報科学)
学位記番号	第 2 2 1 6 7 号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 情報科学研究科バイオ情報工学専攻
学位論文名	リポソーム内における生化学反応と遺伝子進化に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 四方 哲也 (副査) 教授 清水 浩 教授 前田 太郎 教授 松田 秀雄

#### 論 文 内 容 の 要 旨

この地球上に生物はいかにして誕生したのであろうか。現在、生物の特徴を模した簡単な系を実験的に構築し、そこから得られる知見をもとに原始生命の誕生過程を理解しようという構成的手法が試みられている。本研究では、細胞の特徴の一つである脂質膜に着目し、膜を構成する脂質組成が小胞内への物質封入や小胞内部における生化学反応に与える影響、及び遺伝型に基づく機能選択における膜の遺伝子区画化の効果に関して実験的に検証することを目的とした。

まず始めに、脂質二分子膜小胞であるリポソーム内で三種類の生化学反応 ( $\beta$ -galactosidase の基質分解反応、緑色蛍光タンパク質 (GFP) 合成反応、 $\beta$ -galactosidase 合成反応) を行うことを可能にした。その際、セルソーターで個々のリポソームの蛍光強度を測定することにより、反応液に内部標準として添加した蛍光タンパク質の赤色蛍光強度に基づくリポソームの内封反応液量測定、反応産物の緑色蛍光強度に基づく生化学反応量測定を可能にした。これにより、リポソーム内における生化学反応の経時変化を定量的に測定することが可能となった。

次に、原始細胞モデルとしてリポソームを用い、物質の取り込みや取り込まれた後の小胞内生化学反応が脂質組成の影響をどの程度受けるのかを実験的に検証した。具体的には、十種類の異なる脂質組成のリポソーム内で二種類の生化学反応を行い、その経時変化をセルソーターで測定し、リポソームの反応頻度及び内部反応量を解析した。その結果、リポソームの脂質組成により物質封入量や内部反応速度が大きく変化することが分かった。原始細胞誕生の過程で、器として機能した小胞の組成は表現型に影響を与える重要な要素の一つであったと考えられる。

最後に、リポソームで生化学反応を区画化したとき、どのような条件下において遺伝型に基づく機能選択が可能になるのかを実験的に検証した。具体的には、選択対象の機能を GFP の緑色蛍光強度とし、蛍光強度の異なる二種類の GFP 遺伝子を鋳型としてリポソーム内で GFP を合成し、緑色蛍光の強いリポソームを分取した際の高機能遺伝子の選択率を調べた。その結果、リポソームに内封された遺伝子数が少ないほど、選択後に高機能遺伝子の割合が高くなることが分かった。これは一区内の遺伝子数の減少により遺伝型と表現型の対応が強くなったためと考えられ、生物進化における遺伝子少数性の重要性を強く示唆する結果である。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は生物の特徴を模した簡単な系を実験的に構築し、そこから得られる知見をもとに原始生命の誕生過程を理解することを目的としている。親水性部位と疎水性部位を同一分子内に持つ両親媒性物質は、水溶液中で自発的に集合して小胞を形成することが知られており、原始環境下においてもそのような微小区画が生化学反応の器として機能したと考えられている。そこで、脂質二分子膜小胞であるリポソームを生化学反応の器として用いた実験系を構築し、リポソームを構成する脂質組成が物質封入及び内部反応に与える影響や、リポソームによる遺伝子の区画化が遺伝型に基づく機能選択に与える影響に関する知見を得ている。

最初に、リポソームに内封する反応液に赤色蛍光タンパク質を内部標準として添加しておくことによる、リポソームの内封反応液量の推定、及び反応の結果緑色蛍光を生じる生化学物質を用いることによる、リポソーム内生化学反応量の推定を行っている。リポソームの蛍光強度の測定にセルソーターを使用することにより、一つ一つのリポソーム内で起こる生化学反応を定量的に評価することを可能にしている。次に、様々な脂質組成のリポソームに生化学物質を封入して内部で反応を行い、構築した評価系を用いて定量的に解析することにより、脂質組成の違いが物質の封入量及び生化学反応速度に影響を与えることを明らかにしている。この結果は、生命の起源において小胞の構成成分がその表現型に影響を与える重要な因子であったことを示唆している。最後に、蛍光強度の異なる二種類の緑色蛍光タンパク質（GFP）遺伝子を混合してリポソームに封入し、その内部で GFP 合成反応を行った後に、表現型として緑色蛍光が強いリポソームだけを分取し、リポソームに封入された二種類の遺伝子の割合が分取の前後でどのように変化したのかを調べている。その結果、リポソームに内封された遺伝子数が少ないほど、機能選択後に緑色蛍光の強い GFP 遺伝子の割合が多く、機能選択がかかりやすいことが実証されている。これは遺伝子進化における遺伝子少数性の重要性を強く示唆する結果である。

以上により、本論文の成果は、原始環境下において生化学反応の器として機能したであろうリポソームが及ぼし得る影響を、構成的手法により実証している。これらの実験結果は生命起源の理解に対し大きく貢献するものである。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。