



Title	環境に応答する人工細胞モデルの構築に関する研究
Author(s)	小堀, 峻吾
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/60005">https://hdl.handle.net/11094/60005</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">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【34】

氏 名	小 堀 峻 善
博士の専攻分野の名称	博 士 (情報科学)
学 位 記 番 号	第 25871 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 25 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	環境に応答する人工細胞モデルの構築に関する研究
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 教 授 若宮 直紀

#### 論文内容の要旨

生物は様々な環境変化に応答し、その環境に適した対応をとることができる。我々はこうした天然細胞のもつ機能を再構築することでその理解を深め、また応用できるツールの開発を試みている。これまでに我々の構築した人工細胞モデルは、未だ生物のよう

な応答能を有していない。そこで本研究では、環境応答能をもつ人工細胞モデルを構築することを目的とした。そしてその応答能力をシグナル/ノイズ(S/N)比を用いて評価した。

本学位論文は第1章から第4章より構成される。以下に本論文の内容を示す。第1章では本研究の背景と目的を記述した。第2章では、TPPに特異的に応答するRNA分子（アプタザイム）を無細胞翻訳系と共に脂質二重膜小胞の中に封じ込めてことで、環境中のTPPに応答する人工細胞モデルの構築を行った。さらに、応答反応を理解するために数理モデルを作成した。応答のタイムスケールを測定し各パラメーターを求めた。シミュレーションによってシグナルとノイズの発生源を定量的に解析することで、ノイズ低減のためにアプタザイムのどこを改良すべきかの指針を得ることが出来た。指針に基づいて改良した変異体を作成したところ、最大で50倍とS/N比が上昇したものを得ることができた。次に脂質二重膜内でTPPアプタザイムを反応させた。二重膜の外部環境にあるTPPに対して内部の遺伝子発現が変化した。これによって、最も単純な応答機構であるRNAによって基本的な応答モデルを構築できた。第3章ではタンパク分子（Lacリプレッサー）を使った応答系を構築した。さらに、RNAポリメラーゼによるフィードバック回路を組み合わせた系を構築した。Lacリプレッサーのみを用いた反応ではS/N比は70であったが、フィードバック回路によってシグナルを増幅することで最大12倍にまで上昇させることができた。同様の反応を脂質二重膜内でも行った場合でもフィードバック回路による増幅効果が確認できた。これによって応答性が著しく上昇した応答モデルを構築できた。第4章は研究の総括を行い、今後の展望について述べた。このように、RNAおよびタンパク質を用いて、高いS/N比で環境に応答することができる人工細胞モデルを構築することができた。これらモデルを基礎とし、他の物質に応答できるように改良すれば、デリバリーシステムやバイオセンサーとして応用できると考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文は、環境中の低分子化合物に応答する能力を持つ人工細胞モデルを構築することを試みた。またその構築により、生物が持つ天然の遺伝子発現スイッチの役割を実証することができた。

2章では、まず生物の持つ遺伝子発現スイッチのひとつであるリボスイッチに着目し、無細胞翻訳系中で機能するリボスイッチの探索を行った。見つかったリボスイッチについて、その反応機構を数理モデル化し、スイッチング能力（S/N比）を制限している過程を理解することにより、スイッチング能力の改良を行った。これにより、現在、無細胞翻訳系中で機能することが知られているリボスイッチの中でも最高レベルのS/N比をもつスイッチを開発することに成功した。さらに、脂質2重膜に封入することにより、環境中に存在する低分子化合物に応答して遺伝子発現を変化させる人工細胞モデルを構築することができた。

3章では、生物が有する遺伝子発現スイッチのもうひとつのタイプであるタンパク質を用いた遺伝子発現スイッチを人工細胞モデルに導入した。タンパク質を用いることにより、リボスイッチを用いた場合よりもさらに高いS/N比を達成することができた。さらにこのタンパク質ベースのスイッチとポジティブフィードバックループを組み合わせることにより、シグナルの増幅をすることにも成功した。最終的に得られた人工細胞モデルは、環境中の低分子化合物を認識し、内部の遺伝子発現を高いS/N比でスイッチングできるようになった。

4章では、2章、3章で行った人工細胞モデル構築で得られた知見の意義、そして構築された人工細胞モデルの将来的な応用の可能性について議論した。2章で提唱した数理モデルによるリボスイッチの改良は、一般的なリボスイッチの応用のために有用である。また3章で示したポジティブフィードバックループによるスイッチング能の向上は、細胞の有する高いS/N比を持つ遺伝子発現スイッチの

メカニズムについて新たな実験的証拠を与えた。さらに本研究で構築した人工細胞モデルは、バイオセンサーや、新たなドックデリバリーシステムとして将来的な応用を可能にした。

本論文は、環境中の低分子に応答し遺伝子発現をスイッチングするというこれまでにない人工細胞を構築することに成功した。本研究は、将来の人工細胞を使った研究、応用の先駆けとなるものである。よって、本論文は博士（情報科学）の学位論文として価値のあるものと認める。