

氏名	臼田 初穂
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	博甲第 9370 号
学位授与年月日	令和 2年 3月 25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	数理解物質科学研究科
学位論文題目	

Shape Effects of Additives on Properties of Bilayer Membranes
(二分子膜の物性に対して添加分子の構造的特徴が与える影響)

主査	筑波大学	教授	理学博士	齋藤一弥
副査	筑波大学	教授	博士(理学)	石橋孝章
副査	筑波大学	教授	工学博士	中谷清治
副査	高エネルギー加速器研究機構	教授	工学博士	瀬戸秀紀

論文の要旨

脂質分子が構成する二分子膜は、細胞膜などの生体膜の基本的構成要素であり、その構造と物性の理解には物性科学のみならず生物学的にも多大な関心が寄せられている。本審査論文に記述される一連の研究において著者は、生体膜が純粋な脂質二分子膜では無く、脂質分子が多様であることに加えて多くの分子が取り込まれているという事実、さらにこうした添加分子が膜の構造と性質の制御に寄与していると考えられている現状を踏まえ、添加分子の効果を統一的に理解する課題に取り組んでいる。生体膜に最も多く含まれるコレステロール等のステロール類の分子が総じてかさ高い構造をもち、添加物として膜内の構造秩序を破壊するのに対し、鎖状構造を持つ長鎖アルカン類が相反する効果を持つという既存の知見に基づき、分子の形状により添加効果が分類できる可能性を実験的に検討している。本論文は、研究の背景と目的を述べる 1 章、実験方法を述べた 2 章、長鎖アルカン分子を添加物とした場合の結果を述べた 3 章、かさ高い構造と鎖状構造が共存する場合の競合を検討した 4 章、全体を総括した 5 章からなっている。以下では、主要な実験結果と考察を述べた 3 章と 4 章について要点をまとめる。

3.1 節では、長鎖アルカンが、脂質二分子膜のゲル相における構造秩序を高めると報告されている事を踏まえ、化学的にアルカンである事とアルカン様構造(鎖状構造)のいずれが重要であるかを検討している。脂質分子 DPPC (1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine) のつくる二分子膜に、テトラデカンの末端の水素を他の 8 種類の原子・原子団で置換した分子を添加物として加え、構造と相転移挙動を実験的に検討している。置換基の種類によらずゲル相において構造秩序を高める事を確認するとともに、この効果のためゲル相から液晶相への相転移温度が上昇する事を報告している。相転移温度の

上昇の様子は添加物質ごとに異なるものの、テトラデカンを含めた 9 種類の鎖状分子が分子充填と相転移温度に定性的には同じ効果を与えたことを根拠に、著者は鎖状構造持つ分子の添加効果が共通である事を結論している。これに基づき、いくつかの脂質二分子膜に対しアルカンを添加して観測された効果が、鎖状分子の添加効果として一般化されうるという結果となっている。

3.2 節では鎖状分子が液晶相における力学特性に与える効果を検討している。液晶相は構造秩序が低いため散乱実験では十分な情報を得ることが難しい。本研究では、光学顕微鏡を用いて Giant Unilamellar Vesicle の輪郭のゆらぎを観察し、そのゆらぎを基本モードに分解して、その振幅のモード依存性から液晶相における膜の曲げ弾性係数を求めている。DPPC 二分子膜およびテトラデカンを添加した膜の曲げ弾性定数が誤差 10%程度では変化がなく、ゲル相における約一桁の増加とは対照的である事を示している。コレステロールを添加した場合にはゲル相では低下、液晶相では増加するとされていることを踏まえ、かさ高い分子では 2 相の差が縮小、鎖状分子では拡大している事を指摘し、添加物の分子形状によって相反する効果があることを示している。

3.3 節では添加された鎖状分子の二分子膜内での存在様式と、膜のダイナミクスの関係を検討している。X 線だけで無く中性子線の散乱実験も実施し、とくに後者の手法の特徴である同位体(重水素)置換による散乱長密度の制御を利用して、鎖長が比較的短いアルカン分子(オクタン)は二分子膜中の DPPC 分子のアルキル鎖と平行に位置するのに対し、ドデカンのように鎖長が長くなると二分子膜の中央に膜と平衡に位置するものが増えることを明瞭に示している。中性子スピンエコー法の実験により二分子膜の曲げゆらぎと厚みのゆらぎを検出し、アルカンが長い場合に曲げ弾性定数が小さくなるを見出している。著者は、この挙動が二分子膜を構成する一分子膜間のカップリングの低下を意味することを指摘し、上述の構造変化と結びつけ、膜の中央に位置するアルカン分子(膜に平行)がマイクロな潤滑剤となっていることを明らかにしている。

以上のように 3 章は、鎖状分子の添加効果を詳細に実験的に検討し、①「鎖状構造」が確かに意味を持つ、②鎖状分子の添加効果は嵩高いコレステロールの効果と相反する、③鎖状分子であってもその長さに依存性があり得る、ことを明らかにしている。

4 章では、3 章においてかさ高いコレステロールと鎖状分子の添加効果が相反することを結論したことを踏まえ、こうした分子形状の特徴が分子内に共存する場合の添加効果を検討している。この目的のために著者は添加分子として、代表的な液晶性化合物群であるアルキルシアノビフェニル(n CB)を選んでいる。回折実験により膜内で n CB 分子が DPPC 分子のアルキル鎖と平行に位置することを確認した上で相転移挙動を調べ、小さな偶奇効果を見無視すると、アルキル鎖長 n が小さい領域では嵩高い分子の添加効果を反映して純 DPPC 二重膜より低温側に相転移温度があるが、 $n \geq 5$ では転移温度は上昇する事を見出している。この結果は添加分子の形状効果の競合として理解できるとしている。

以上のように、本審査論文において著者は、添加分子の注目して脂質二分子膜への添加効果を実験的に検討し、I) 嵩高さと鎖状という間知形状の違いが相反する添加物効果を与え、II) 分子内に構造的特徴が共存する場合にも効果の競合として現れることを明らかにしている。5 章ではこうした結論をまとめるとともに、特定の物質(実際にはコレステロール)に焦点を当てたものとなっていた脂質二分子膜への添加物効果に関わる既存の研究とは一線を画する研究あることを強調し、生物学や工学などへ少なからず波及効果を持つはずであるとの考えを表明している。

審 査 の 要 旨

〔批評〕

本審査論文の序論および結論において著者が指摘している通り、脂質二分子膜に対する添加物効果は、従来、コレステロールなど少数の分子を対象にして各論的に行われてきており、統一的理解が不十分であった。この点で、分子形状というわかりやすい特徴に注目して添加効果を整理したことに大きな意義が認められる。その一方で、「形状」の定義は必ずしも明確では無く、純粹に幾何学的な「細長さ」が重要なのか、アルキル鎖の持つ柔軟性に意味があるのかについては、検討はおろか言及もされていない。この点は、関連分野における課題として残されていると言わざるを得ない。

鎖状分子の効果については 2.1 節で誘導体の効果の比較により、一般性を確立している。一方で、脂質については頭部置換基により二分子膜の構造や物性に差異があることが知られており、PC を頭部に持つ脂質である DPPC だけを実験対象とした本審査論文の内容は、これだけで十分な一般性・普遍性を持つとは言いがたい。この点も、関連分野における課題として残されている。

上記のような弱点は認められるものの、それぞれの実験およびその解析は丁寧に行われ信頼に足るものであり、導かれた結論も妥当である。とくに、添加されたアルカンの存在様式を決定するために散乱長密度の変調を利用した中性子線散乱の手法は、重水素置換の効果があり得ることを除けば、広い適用可能性を持つものとして重要に思える。また、ゆらぎの解析に関わる部分では、測定をするだけでは実験結果の意味するところは明瞭で無く、理論的な背景の十分な理解も求められる内容であるが、十分な理解に支えられた行き届いた解析が行われていると評価できる。

〔最終試験結果〕

令和2年2月15日、数理物質科学研究科学学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

〔結論〕

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める、