

## 論文内容の要旨

博士論文題目 ジェミニペプチド脂質を用いたベシクルソーティング

氏名 大槻 理志

脂質二分子膜小胞体 (ベシクル) は、人工細胞や薬物運搬体、さらには分子デバイスの基板など幅広く利用が検討されている高機能性物質である。このようなベシクルの機能をさらに拡張することは極めて有意義なことであるが、そのための重要な課題としてベシクルの動的挙動の制御が挙げられる。

本研究では、ベシクルの動的挙動の一つである会合挙動を分子認識にもとづいて自在に制御する超分子システムの開発を目的とした。そのための分子スイッチとなる脂質として、金属イオン認識能を有するジェミニペプチド脂質を新たに設計してその合成を行った。この脂質を組み込んだベシクルの水溶液中ならびに基板上における集積挙動の制御について検討を行い、以下の知見を得た。

まず、生体由来のジェミニ型脂質であるカルジオリピンの構造的特徴を取り入れた人工のジェミニペプチド脂質が、遷移金属イオンに選択的な会合挙動を示すことに着目し、生体内で重要な役割を担うカルシウムイオンを標的として、アスパラギン酸残基を導入した新規のジェミニペプチド脂質を設計してその合成を行った。また、参照脂質として、カルボキシル基を保護した脂質ならびにジェミニ型構造をもたない脂質も合成した。

水中において、アスパラギン酸残基を導入したジェミニペプチド脂質を組み込んだリン脂質のベシクルは、カルシウムイオンによって特異的に会合を起こすことが、動的光散乱測定による粒径評価、フリーズ・フラクチャー・レプリカ法による電子顕微鏡観察、及び示差走査熱量分析による相転移挙動の評価から明らかになった。また、この現象が融合ではなく会合であることは、キレート剤の添加による粒径回復挙動などから示された。ベシクル間会合の詳細について検討し、カルボキシル基とジェミニ型構造が会合に寄与していること、ならびにベシクルの相状態の相違は会合挙動に顕著に反映されることを明らかにした。参照脂質との会合挙動の比較から、ジェミニペプチド脂質が脂質間を架橋することによる会合機構を提唱した。また、pHやキレート剤の添加により可逆的な会合・脱会合制御系へと展開できることを示した。

さらに、上記のベシクル間会合の成果を、平面脂質二分子膜を固定化した基板上へのベシクル集積へと展開した。すなわち、ジェミニペプチド脂質のイオン認識にもとづいてベシクルを基板上へ集積できることを、水晶発振子マイクロバランス法による質量変化測定、蛍光スペクトル測定、原子間力顕微鏡観察、ならびに蛍光顕微鏡観察から明らかにした。この挙動は、ジェミニペプチド脂質と金属イオンの組み合わせに極めて選択的であり、異なるジェミニペプチド脂質を組み込んだ二種類のベシクルを金属イオン選択的に基板上へ集積させる「ベシクルソーティング」の手法を新たに開発した。さらに、ベシクルソーティングはベシクルの相状態を利用して制御可能であり、液晶状態とゲル状態のベシクルが共存するときには、液晶状態のベシクルのみを選別して基板上へ集積できることも明らかにした。

## 論文審査結果の要旨

氏名	大槻 理志
----	-------

脂質二分子膜小胞体 (ベシクル) は、人工細胞、薬物運搬体、分子デバイスの基板として幅広い分野で利用されている。これまで、細胞モデルとしてのベシクルの会合や融合挙動に関する研究例は多いが、ベシクルを目的に応じて選別する「ソーティング」に成功した例はほとんど無い。

本論文では、金属イオン認識能を有する分子スイッチとしてのジェミニペプチド脂質を用いて、水溶液中ならびに基板上におけるベシクルの集積制御についてまとめたものであり、以下のような成果を得ている。

- (1) ヒスチジン残基を導入した人工のジェミニペプチド脂質が、遷移金属イオンとの相互作用により選択的なベシクル間会合を生じることに着目し、カルシウムイオンを標的としてアスパラギン酸残基を導入したジェミニペプチド脂質を設計し合成した。また、参照脂質としてカルボキシル基を保護したジェミニペプチド脂質、及びジェミニ構造を有さない脂質などを合成した。
- (2) アスパラギン酸残基を導入したジェミニペプチド脂質をリン脂質のベシクル中に組み込むことで、水溶液中においてカルシウムイオン選択的なベシクル会合挙動を見出した。また、会合にはカルボキシル基とジェミニ型構造が寄与していること、ならびにベシクルの相状態の相違が会合挙動に顕著に反映されることを明らかにした。さらに、ベシクルの表面電荷により会合制御が可能であることを示した。参照脂質との比較により、ベシクル間会合にはジェミニペプチド脂質のベシクル間架橋の重要性を指摘した。これらの成果にもとづき、pH 変化やキレート剤の添加によってベシクルの可逆的な会合・脱会合制御系が構築できることを示した。
- (3) 平面脂質二分子膜を形成した基板上へ、ジェミニペプチド脂質を組み込んだベシクルを金属イオンの認識にもとづき集積させることに成功した。また、異なるジェミニペプチド脂質を含む二種類のベシクルについて、特定のベシクルを金属イオン選択的に基板上へ集積できることを見出し、イオン認識によりベシクルを選り分ける「ベシクルソーティング」の手法を新たに開発した。さらに、ベシクル及び基板上の脂質二分子膜がともに液晶状態であるときにのみ、選択的にベシクルを集積できることを見出し、液晶状態とゲル状態のベシクルが共存するときには液晶状態のベシクルのみを基板上へソーティングできることも明らかにした。

以上のように、本論文において申請者は、ジェミニペプチド脂質を用いてベシクルの会合挙動を水溶液中ならびに基板上において制御することに成功した。特に、分子認識を利用して超分子化学の視点に立ったベシクルのソーティングはこれまでに例がなく、これらの成果は学術的ならびに技術的に貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認めた。