

博士学位論文審査要旨

2016年2月17日

論文題目： pH変化感知性の自律運動を示すオレイン酸系ベシクルに関する研究

学位申請者： 名和 愛利香

審査委員：

主査： 同志社大学大学院理工学研究科 教授 塩井 章久

副査： 同志社大学大学院生命医科学研究科 教授 吉川 研一

副査： 同志社大学大学院理工学研究科 教授 松本 道明

要 旨：

近年、化学反応や化学ポテンシャル差を利用して自律的に運動するコロイド系の研究が進展してきている。これらは化学物質感知性や化学走性などの生物学的な特徴を示す微小なエネルギー変換系として機能し、薬、物質の能動輸送系や微小流路系での動力源としての応用が期待されている。このような自律運動するコロイド系の研究では、従来、液滴や微粒子を用いる研究がほとんどであったが、この理由の一つは、これらが大きな異相界面のエネルギーを有する系であり、化学反応などが大きな界面エネルギーの変動を生み出すためであった。本論文では、モデル細胞として利用されることの多い両親媒性分子集合体であるベシクルに微小な pH 勾配を与え、崩壊を伴わない持続的な運動を発生させることに成功した。オレイン酸は、その分子の特徴のために柔軟な両親媒性分子膜を形成し、結果として多様性に富む構造のベシクルを形成する。これらの中で、stomatocyte 型構造が丸まった形状のベシクルが pH 勾配下で形状の反転と自転から構成される周期的な運動を連続的に発生すること、さらに、同じ構造のベシクルがディスク状に変形し、高 pH 方向に向けて可逆的な擬足状構造の伸縮を繰り返すことを見出している。さらに、グルコースオキシダーゼをベシクルに含ませることで、周囲のグルコースを分解して微小な pH 分布を形成し、これによってベシクルが可逆的な擬足状構造物の伸縮を繰り返す、という現象を発生させることにも成功している。さらに、これらの自律的運動は、基本的に pH の絶対値の変化ではなく pH の空間的な勾配に依存することを実験的に示している。本論文では、このような現象を見出すとともに、運動が発生する機構について物理化学的なモデルを提案し、半定量的な説明に成功している。局所的な pH 勾配は、生体内での力学的エネルギー生成の場として利用されているが、本論文におけるベシクルは約 10~20 μm の範囲内の非常に小さな pH 差から連続的に力学的仕事を生み出しており、このようなエネルギー変換系は、これまでほとんど報告がない。

以上、本論文では、pH 感知性という応用発展が期待される性質を備え持続的運動を行うベシクルを作製する方法を示し、その物理化学的機構を解明することで、自己運動性ベシクルを作製するための一般性のある考え方を示している。よって、本論文は、博士（工学）（同志社大学）の学位論文として十分な価値を有するものと認められる。

総合試験結果の要旨

2016年2月17日

論文題目： pH変化感知性の自律運動を示すオレイン酸系ベシクルに関する研究

学位申請者： 名和 愛利香

審査委員：

主査： 同志社大学大学院理工学研究科 教授 塩井 章久

副査： 同志社大学大学院生命医科学研究科 教授 吉川 研一

副査： 同志社大学大学院理工学研究科 教授 松本 道明

要 旨：

論文提出者は、現在、理工学研究科応用化学専攻博士課程（後期課程）3年次に在学中である。本論文の主たる内容は、*Soft Matter*, vol.9, 7832, 2013, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, vol. 88, 1536, 2015 に既に掲載され、さらに、*Colloid and Interface Science Communications* にアクセプトされ印刷中であり、十分な評価を得ている。2016年1月30日午後1時30分より約1時間40分にわたって、提出論文に対する学術講演会（博士論文公聴会）が開催され活発な質疑応答がなされたが、提出者の説明により十分な理解が得られた。さらに講演終了後、審査委員により論文に関する諸問題につき口頭試問をした結果、いずれも十分な能力を有することが確認できた。また、論文提出者は、英語の語学試験に合格しており、語学についても十分な能力を有すると認定されている。よって総合試験の結果は合格であると認める。

博士學位論文要旨

論文題目： pH 変化感知性の自律運動を示すオレイン酸系ベシクルに関する研究
氏名： 名和 愛利香

要 旨：

生物は自らの体内において実に多様に生体システムを機能させている。それらのシステム内ではそれぞれの目的に合わせて高度な機能を極めて効率的に発現させている。そのような高度な機能の1つの例として細胞内の物質輸送に見られる能動的運動がある。例えば、アクチンフィラメントに沿って貨物を運搬する分子モータや生体膜に存在するタンパク質による自発運動は、このプロセスの重要性を現している。しかしながら、従来の化学プロセス技術において着目される現象の多くは、生物学的な系に比べて静的あるいは受動的な移動現象を利用したものであり、生体システムのような運動性に着目したものはほとんどないといえる。このような観点から、従来型のシステムに生物に見られるような自律的・自発的な運動性を与えることができれば、生物を模倣したような化学システムを構築できるのではないかと考えられる。例えば、化学ポテンシャル勾配によって生じるコロイドサイズの物体の周期的変形や化学走性を研究し理解することは、マイクロメータスケールにおけるドラッグデリバリーシステムや能動輸送などの高性能なキャリアの設計やターゲティング技術につながると期待できる。さらに、運動性を発現するため化学ポテンシャルの場を自ら生み出し、そのポテンシャル勾配を利用して運動する物体を設計することができれば、そのような物体の創製は生物の運動性を模倣した化学システムの構築につながると考えられる。

本論文では、pH 勾配下における様々な構造をもったオレイン酸系ベシクルの様々な周期的・可逆的な運動を実現し、その運動メカニズムの解明を通して生体機能を模倣するようなベシクルを設計するためのモデル系として確立することを目的として、実験および数理モデルによる運動機構の検討をおこなった。ベシクルの運動機構を物理的に理解するとともに、これらの知見に基づいて、化学反応を利用してベシクル自体が周囲に pH 変動を生み出し運動する系を見出した。さらに、本論文のベシクルの運動には pH 勾配が与える影響が大きいことを示した。

第1章では、本研究の意義と目的を述べた。第2章では、pH 勾配下におけるベシクル構造の周期的変化について報告した。このベシクルはオレイン酸とそれがイオン化した物質 (acid/soap) によって形成されており、観測された様々な形状のベシクルの内、2つの異なる構造の部位をもつベシクル (2重球ベシクル) が周期的な運動を示した。その内水相は2重球ベシクルの片側に局在しており (以下、膨潤部)、逆側は水分をほとんど含まない (以下、結合部)。膨潤部に存在する小孔はOH⁻の拡散とともに開き、この結果、ベシクルはトーラス形状へと変化し、ベシクルは初期状態と反対の曲率を持った2重球へと再び閉じた。その後、ベシクルはその向きを初めの向きに戻すように回転した。この周期的な構造変化は何度も繰り返されるが、ベシクルのサイズは運動が繰り返される間、ほとんど一定に維持された。さらに、2重球ベシクルの周期的構造変化によって pH 勾配に沿った物体の輸送が可能であった。また、周期的構造変化を表現するシンプルなモデルを提案し、この運動は2種類の力によって説明できることがわかった。その内の一方は膜弾性であり、もう一方は pH 勾配によって生じる泳動力である。ベシクルの形状安定性は2種類 (結合部と膨潤部) の弾性エネルギーの競り合いによって決定されていると考えられる。また、低 pH 側で小孔が完全に閉じると、回転不安定性が pH 勾配による泳動力によって発現し、ベシクルは初めの状態に戻るよう回転する。本構造変化のメカニズムは最終的に pH 勾配を仕事に変換する分子集合体機械につながると考えられる。

第3章では、pH 勾配下でアメーバのように擬足構造を伸縮させるベシクルについて検討した。このベシクルも第2章と同様にオレイン酸 (acid/soap) で構成されており、NaOH 拡散下で2重球の反転回転サイクルを数回起こした後、2重球構造から扁平構造に変化した。さらなる NaOH の拡散下で、擬足状の突起がベシクルから高 pH 側へ向かって伸長し、続いて収縮した。このとき、可逆的な擬足の形成の方向はベシクル周囲の pH 勾配の方向によってコントロールされていると考えられる。この可逆的な運動は何度も繰り返された。この擬足構造の伸長はベシクル膜内外に生じる浸透圧差によって起こる。その後、 H^+ の高い透過速度が浸透圧差を減少させ、浸透圧差が減少すると、擬足の変形によって蓄積された膜弾性エネルギーによって収縮が生じると考えられる。このような特徴を表現するために構築された数理モデルは実験結果を半定量的に再現することができた。また、このベシクルはアメーバ的な“擬足”の伸縮を示すが、このような運動は生体模倣的性質をもつ両親媒性分子集合体を設計するうえで重要であると考えられる。このような広義の走化性を示すベシクルの例はこれまでにほとんどなく、そのメカニズムの理解も不十分であった。したがって、第3章で報告されるベシクルの運動は、生体模倣型のベシクルを設計するための1つのモデル系になるといえる。

第4章では、グルコースの分解反応によるベシクルの構造変化について検討した。第2、第3章では、pH 勾配はベシクル溶液に直接的に塩基を加えることで形成されていたが、第4章では化学反応を用いてベシクルが自ら周囲に pH 変動を形成する系を考えた。ベシクルの構成成分には第2、第3章と同様にオレイン酸 (acid/soap) を用いた。化学反応にはグルコースオキシダーゼによるグルコースの分解反応を用いた。この反応ではグルコースから最終的にグルコン酸が生成される。第4章では、ベシクルから等方的に伸びる可逆的な擬足構造の伸縮について、主として論述をおこなった。緩衝液の影響によってグルコース溶液、ベシクル溶液の全体の pH はほとんど変わっていないにも関わらず、グルコースの分解反応を用いて可逆的な擬足の伸縮が観察された。ベシクル膜には近辺のバルクよりも約 300 倍の濃度の GOx が含まれていたことがわかったが、これにより、ベシクルの変形や運動に必要な pH 分布は、GOx を含むベシクル自身が周囲のグルコースを反応で消費して形成していると考えられる。これらの構造変化は生物と同様にグルコースを燃料としている点でも興味深いと考えられ、また、ベシクル周囲に直接的な pH 変動を与えなくても、pH 変動を形成するような任意の化学反応を用いてベシクルの可逆的な構造変化を発生させることができる可能性を示した。

第5章では、局所的な pH 勾配下における2重球ベシクルの周期的構造変化および扁平型ベシクルの可逆的な擬足の変形を観察し、ベシクルの運動に対する pH および pH 勾配の依存性について検討した。ベシクルの構成成分には第2から4章と同様にオレイン酸 (acid/soap) を用いた。局所的 pH 勾配はマニピュレータを用いてベシクル溶液に酸や塩基を拡散させることで形成した。第2、第3章では、pH 勾配の作成には塩基を用いていたが、第5章では酸を用いた pH 勾配下でもベシクルが運動することを確認し、またその運動周期はマニピュレータ先端からの距離に依存した。また、ベシクル溶液を作製するとき用いるのと同じ pH のピシン緩衝液を HCl または NaOH を用いて滴定することで、マニピュレータからの距離とベシクル溶液中の pH ならびに pH 勾配の関係を検討し、pH 勾配が大きくなるほどベシクルの1周期分の構造変化に要する時間が短くなっていた。本章の結果から、pH の変化幅が1から2程度の狭い領域では、変形周期は pH 勾配に強く依存しているが、pH の変化幅がそれを超えると、変形周期に対する pH の影響が強く現れることを示した。

第6章では、結言として本論文の内容をまとめた。

以上をまとめると、本論文では pH 勾配下で周期的・可逆的に運動するベシクルを実現し、これを生体模倣型ベシクルのモデル系として確立することを目的として、運動メカニズムの解明をおこなった。これまで、報告されてきたベシクルの周期的運動は単調にサイズを減少させていくものが多かったが、本研究でサイズを維持しながらもポテンシャル勾配を連続的に仕事に変換

するベシクルを実現し、その運動メカニズムを数理モデルを用いて物理的に理解することができた。また、反応によって pH を変動させる反応系を用いれば、様々な化学反応をベシクル自体が誘起し運動できることを示した。また、その構造変化には pH 勾配が大きく影響していると考えられる。現在の実験系で形成される pH 勾配は過渡的なものであり、時間とともに全体の pH レベルが変化してしまうため、ベシクル周囲の局所的な pH の値を知ることは困難であった。今後、定常濃度勾配を形成できる装置を用いれば、時間に依らず空間的に定常な pH 勾配下でベシクルを観察することが可能となり、ベシクル周囲の pH の値を知るとともにベシクルの運動に pH の絶対値がどのように影響するかを検討することできると期待できる。