

学位論文審査結果の要旨

専攻名	材料科学 専攻	氏名	西上 美佐子
学位論文題目	ウイルスー膜相互作用評価を可能とする油／水界面人工細胞膜形成法の開発		
主査・副査	主査	湊元 幹太	㊞
	副査	久保 雅敬	㊞
	副査	宮本 啓一	㊞
<p>審査結果の要旨</p> <p>本学位論文は、申請者筆頭執筆の査読のある原著論文 1 編(2 章と 3 章)ならびに同投稿準備中の査読のある原著論文 1 編(4 章)の内容で主に構成されており、①従来のバキュロウイルス出芽粒子(BV)ーリポソーム膜融合によるプロテオリポソーム作製法をベースに、可視化に有利で膜組成や構造の制御性が良い界面通過法で作製した巨大リポソーム(GUV)を導入し、ウイルスー脂質膜間の相互作用を解析評価することが可能となる新規法を提案したこと、②前記手法に光感受性光感受性ケージドプロトン化合物(NPE-caged-proton)の利用を取り入れ、共焦点レーザー顕微鏡のステージ上、紫外線照射でウイルス膜融合が活性化される弱酸性条件へシフトさせることにより、膜融合前後を含む過程の経時観察に成功し、膜組成による BVー膜相互作用挙動の影響も見出せた。</p> <p>具体的には、2 章で共焦点顕微鏡観察によりリン脂質(DOPC/DOPG)からなる GUV へ脂溶性蛍光分子(R18)でエンベロープ膜を標識した BV の膜融合を弱酸性 pH で惹起できることを示し、異なるシヨ糖密度勾配超遠心画分における膜融合効率の比較評価、膜融合前後における内容物保持能の影響評価、に成功した。</p> <p>3 章では、赤色蛍光タンパク質(TagRFP)と同一読み枠で融合した膜タンパク質(GP64 ならびに CRF 受容体(CRHR1)) を搭載した BV による同様の試験を行っている。膜融合により導入された膜タンパク質が発する RFP 由来蛍光の GUV 円周方向の分布($0\sim 2\pi$)の解析から界面通過法で作製した GUV を用いる本方法で検出される BV 融合の特徴を明らかにしている。</p> <p>4 章では、R18 標識 BV と GUV の膜融合の経時変化を上述の方法で可視化評価が可能であることを世界で初めて示した。本手法により、融合前後の内水相蛍光強度変化を調べ GUV からの漏洩が少ないこと、天然 BV 受容体脂質の PS とそうでない PG を含む GUV では前者で膜融合開始前後の GUV 膜近傍における BV 集合挙動が観察されること、を見出した。</p> <p>本論文研究において、申請者は、油／水界面人工細胞膜形成法を用いたウイルスー膜相互作用評価を可能とする新手法を確立しており、新規性・独創性が高いと判断された。</p> <p>公聴会質疑応答および最終試問においてなされた、科学的・学術的観点からの適切な議論・説明を通じて、本研究が有用な新評価法の提案につながると期待されると分かり、かつ、学位論文としての妥当性を審査委員全員で合意できたことから、本論文が博士学位論文に値すると判断した。</p>			