

	おおまつ てるまさ
氏 名	大松 照政
学位(専攻分野)	博士 (工学)
学 位 記 番 号	博甲第 1037 号
学 位 授 与 の 日 付	令和 4 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	工芸科学研究科 物質・材料化学専攻
学 位 论 文 題 目	Membrane transport theory of ionic molecules based on the ion-pair distribution model and its experimental verification (イオン対分配モデルに基づくイオン性分子の膜透過理論と実験的検証)
審 査 委 員	(主査)准教授 吉田裕美 教授 前田耕治 教授 田嶋邦彦 准教授 熊田陽一

論文内容の要旨

細胞膜の基本骨格である脂質二分子膜を介してイオン性分子が膜透過する、このようなイオン性分子の直接膜透過を物理化学的に理解することは、複数のイオン透過が複雑に関与する細胞膜活動を解析する上で重要である。一方、創薬の分野においても、薬物の膜透過性は、薬物の多くがイオン性であることから、イオン性薬物全般の直接膜透過を物理化学的に予測できる膜透過理論が切望されている。

中性分子の膜透過では、分子の疎水性と膜透過性との間に強い相関があることが 1900 年代から知られており、イオン性分子においても、中性分子と同様に、同関係が成立すると予測して盛んに解析されてきた。しかし、中性分子と異なり、イオン性分子の膜透過に関する統一した理論はいまだ確立されていない。その理由は、イオン性分子が中性分子とは異なった特異的な膜透過を示すことがある。例えば、イオン性分子の膜透過性は、共存するイオンの種類や濃度に大きく影響される。また、中性分子が濃度に比例した膜透過性を示すのに対し、イオン性分子の膜透過性は濃度に比例しない。膜内物性、膜表面構造等を考慮した様々な膜透過モデルが提案されているが、いまだ特異的な膜透過を説明するにはいたっていない。

本論文は、標的イオンおよび反対電荷を有する共存イオン、すなわちカチオンとアニオンの対が膜に分配し、その膜内イオン濃度がイオン性分子の膜透過性を支配すること（イオン対分配モデル）に基づいてイオン性分子の膜透過理論を構築し、実験的にこれを証明するものである。

本論文は、5 章で構成されている。

第 1 章では、イオン性分子の膜透過性を研究する意義、イオン性分子の膜透過特異性、膜透過に関する研究動向、それに対する学位申請者の着目点と本研究の目的について記述している。

第 2 章では、イオン対分配モデルの基礎となる脂質二分子膜へのイオン分配理論とそれに基づく分配定数の評価について述べている。リポソーム添加実験を行い、カチオンとアニオンの脂質二分子膜 (BLM) への分配定数や吸着定数を定量的に評価した。その結果、水相中のカチオンとアニオンの濃度から、脂質二分子膜内に分配したカチオンとアニオンの濃度を見積もることがで

きることを示した。

第3章では、イオンの脂質二分子膜透過速度を評価するための新規膜透過測定法、すなわち、膜透過電流・膜透過蛍光シグナル同時測定法を開発している。従来の電気化学測定では、カチオンの膜透過とアニオンの逆方向の膜透過を区別することができず、膜透過イオンの同定が困難であった。これに対し、膜透過電流・膜透過蛍光シグナル同時測定法では、膜電位に応じた膜透過電流と同時に、膜透過直後のイオン性蛍光分子の蛍光強度を測定するため、他イオンの膜透過と区別してイオン性蛍光分子のみの膜透過速度を評価できる。同測定法により、蛍光性カチオン分子そのものの膜透過速度が共存アニオンの疎水性や濃度に依存することを初めて実験的に明らかにした。第4章では、イオン対分配モデルに基づいたイオン性分子の膜透過速度を表す理論を確立し、それに基づいて計算した理論値と第3章で測定した実験値を比較することで、膜透過理論の妥当性を評価した。膜透過理論は、イオン性分子の膜透過速度が脂質二分子膜内のカチオンとアニオンの濃度に対して比例関係にあるという実験事実を基礎にして構築された。得られた理論式を用いると、これまで説明できなかったイオン性分子の膜透過速度に対する膜電位依存性、濃度依存性、共存イオンの影響を矛盾なく再現できることを示した。したがって、理論で仮定したイオン対分配モデルは妥当であると結論付けた。

論文審査の結果の要旨

申請者は、細胞膜や脂質二分子膜におけるイオン性分子の特異的な膜透過性を説明するため、イオン対分配モデルに基づいた膜透過理論を提案し、これを実験的に証明している。提案された膜透過理論式によれば、イオン性分子の特異的な膜透過性（膜電位依存性、濃度依存性や共存イオンの影響）を定量的に説明できる。申請者は、カチオンとアニオンの脂質二分子膜への分配定数と、単独イオンの膜透過速度をそれぞれ独自の方法で実測し、得られた実験値を用いてイオン対分配モデルを実証することに成功した。

学位論文では、イオン性分子の膜透過性を研究する意義、イオン性分子の膜透過特異性、膜透過に関する研究動向（第1章）、イオン対分配モデルの基礎となる脂質二分子膜へのイオン分配理論およびそれに基づくカチオンとアニオンの分配定数の実測（第2章）、イオンの脂質二分子膜透過速度を評価するための新規膜透過測定法の開発（第3章）、イオン対分配モデルに基づいたイオン性分子の膜透過速度を表す理論とその妥当性の評価（第4章）について述べている。目的イオンのみが膜内に分配すると考える従来の膜透過理論を覆す新しい膜透過理論を提案しており、学術的価値が極めて高いと認められる。特に、次の点においては、研究の独自性・新規性という観点から大きな意義があると判断した。第1に、標的イオンの脂質二分子膜透過速度を、電気化学測定と蛍光測定を融合した新しい方法で、評価したことが挙げられる。標的イオンの膜透過速度そのものが共存イオンに影響されていることを初めて実験的に明らかにした。第2に、リポソーム抽出実験によって、標的イオンと共存イオンの脂質二分子膜内への分配定数を実測し、それから見積もった脂質二分子膜内のイオン濃度が標的イオンの膜透過速度を支配していることを世界に先駆けて報告したことが挙げられる。同結果は、膜透過理論式の基礎となり、イオン対分配モデルが妥当であることを裏付けるものとなった。

なお、本論文は、査読制度のある学術雑誌に掲載済みの以下の論文 2 編を基礎としており、すべて申請者が筆頭著者である。

【学位論文の基礎となった論文】

(1) Terumasa Omatsu, Kisho Hori, Yasuhiro Naka, Megumi Shimazaki, Kazushige Sakai, Koji Murakami, Kohji Maeda, Mao Fukuyama and Yumi Yoshida,

Analyst, 2020, 145, 3839-3845 [https://doi.org/10.1039/D0AN00222D]

Dynamic behavior analysis of ion transport through a bilayer lipid membrane by an electrochemical method combined with fluorometry

(2) Terumasa Omatsu, Kisho Hori, Naoto Ishida, Kohji Maeda, Yumi Yoshida

Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes., 2021, 1863, 183724.

[https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2021.183724]

Distribution of ion pairs into a bilayer lipid membrane and its effect on the ionic permeability