

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ナノ力学計測と顕微・先端増強ラマン分光法を応用したバイオ界面における生体分子および細胞挙動の解析手法の開発
Title(English)	
著者(和文)	望月誠仁
Author(English)	Masahito Mochizuki
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10515号, 授与年月日:2017年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:林 智広,原 正彦,中村 浩之,北本 仁孝,北村 房男
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10515号, Conferred date:2017/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

学位論文の要約

物質電子化学専攻

博士（工学） 望月 誠仁

学位論文題目

ナノ力学計測と顕微・先端増強ラマン分光法を応用した
バイオ界面における生体分子および細胞挙動の解析手法の開発

第1章：序論

本論文では、生体と材料の界面（バイオ界面）における生体分子および細胞挙動の解明を目指し、原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscopy: AFM)、顕微ラマン分光法、先端増強ラマン分光法(Tip-enhanced Raman Spectroscopy: TERS)による新しい測定・解析技術の開発成果を報告している。

第2章：原子間力顕微鏡、ラマン分光法、先端増強ラマン分光法の原理

本研究で利用した原子間力顕微鏡(AFM)、ラマン分光法、表面増強ラマン分光法(Surface-enhanced Raman spectroscopy: SERS)、先端増強ラマン分光法(TERS)の原理を記述した。

第3章：ペプチド-材料間における相互作用の単一分子計測とアンサンブル平均計測の比較

水晶振動子マイクロバランス法(QCM)と AFM により、材料結合ペプチドと材料との相互作用を定量的に解析した。QCM による材料基板上へのペプチドの吸着量の経時変化のモニタリングにより、ペプチドの吸着・脱離キネティクスを評価し、ペプチドのアミノ酸配列と材料親和性の相関を議論した。加えてペプチドの微視的な挙動を見るために、AFM を用いた単一分子力学測定により材料結合ペプチドの接着力を計測した。これらの結果を通じて、ペプチドの吸着量と単一分子接着力との間に明確な相関関係が明らかとなり、巨視および微視的、双方の視点から生体分子と材料間における相互作用の評価に成功した。

第4章：AFM フォースマッピング法によるペプチド-材料界面での相互作用の定量的解析

AFM による単一分子計測を必要とせずに、ペプチド 1 分子の材料に対する親和性の解析する手法を開発した。ここでは、金表面に特異的に結合する金結合ペプチドの材料親和性を評価した。金結合ペプチドの接着確率と反応速度定数を表した関係式を利用した解析法で、金結合ペプチドの各材料に対する親和性を定量的に評価した。この結果、酸化物表面およびペプチドの電荷

間の接着は静電的相互作用に由来する一方、金表面およびペプチド間の接着は異なる相互作用に由来することが明らかとなった。

第 5 章：B-H 結合タグによる単一細胞のラマンイメージング法の開発

B-H 結合を含むホウ素化合物による新しい細胞のラマンイメージング法を提唱した。B-H 伸縮は、細胞を形成する生体分子に由来する振動モードがない領域である波数 2532 cm^{-1} のラマンバンドをもつことから、細胞中におけるターゲット分子の指標として利用した。ホウ素化合物をコレステロールに修飾することで、ラマンイメージングにより単一細胞中におけるコレステロールの局在分布と濃度を可視化した。B-H 結合を分子タグとして利用した細胞のイメージング技術は、蛍光プローブに比べても非常に小さいサイズであるため、ターゲット分子の化学構造の変化を最小限に抑えた細胞内イメージングを可能とする。

第 6 章：レーザー走査型先端増強ラマン顕微鏡の開発

材料表面上の生体分子 1 分子の化学構造を解析できる先端増強ラマン分光(TERS)装置を開発した。TERS 装置には、レーザー走査システムを導入した。レーザー走査システムは、探針の熱ドリフトによる、探針とフォーカススポットの位置ずれを 10 nm 以内に補正可能とした。この結果、長時間にわたり探針先端の増強電場の強度を一定に保てることから、安定な生体分子の TERS イメージングを実現できる。

第 7 章：先端増強ラマン分光法のバイオ応用に向けた探針の温度測定と温度上昇抑制技術の開発

TERS 測定中における金属探針の温度上昇評価と温度上昇抑制技術を開発した。チオール分子は金表面と Au-S 結合による化学結合を形成して、特定の温度 ($60\text{-}100^\circ\text{C}$) で熱脱離する(熱脱離温度は分子長、化学構造、基板上的分子密度などの複数の物理パラメータにより決まる)。本実験では、金蒸着探針に修飾したチオフェノール分子の TERS シグナルの強度減少を観測することで、探針の温度上昇を精密に評価できることを実証した。さらに、探針の温度上昇抑制法を検討したところ、カンチレバーの励振が熱拡散を促進できることを明らかにした。カンチレバー励振により周囲溶媒の対流状態を変えることで、探針から周囲溶媒への熱放散を顕著に促進した。この結果、探針の温度上昇を抑えつつ、強い励起光を入射できるため高感度 TERS 測定を行えることが明らかとなった。熱脱離による温度評価法とカンチレバー励振による温度上昇抑制法は、生体分子への熱的ダメージと力学的ダメージを同時に低減しつつ、高感度 TERS イメージングを行うための有用な測定技術として応用可能である事を示した。

第 8 章：総括

本論文では、AFM、顕微ラマン分光法、TERS をバイオ界面の生体分子および細胞挙動の解析技術に発展させた。今後、医療・バイオデバイスのための材料開発に向けて重要な設計指針とながると期待している。