

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)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻:	物質電子化学	専攻	申請学位 (専攻分野):	博士 (工学)
Department of			Academic Degree Requested	Doctor of
学生氏名:	望月 誠仁		指導教員 (主):	林 智広 准教授
Student's Name			Academic Advisor(main)	
			指導教員 (副):	原 正彦 教授
			Academic Advisor(sub)	

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は、「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」と題し、日本語で記述され、8 章から構成されている。

第 1 章「序論」では、バイオ界面の概要、生体分子および細胞挙動の解析の重要性、バイオ界面の計測手法として原子間力顕微鏡(AFM)、ラマン分光法、先端増強ラマン分光法(TERS)に着目した経緯を論じている。

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」では、ナノ力学計測法の一つである AFM、分子イメージング法としてラマン分光法および先端増強ラマン分光法の測定原理を論じている。

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」では水晶振動子マイクロバランス法(QCM-D)と AFM による材料結合ペプチドと材料間との相互作用を定量的に解析している。本章では、ペプチドの吸着量と単一分子接着力との間における相関関係を明らかにしており、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ている。

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」では、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を解析する手法を開発している。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議論している。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を実験的に実証している。

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」では、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案している。B-H 伸縮は、細胞を形成する生体分子に由来する分子振動モードがない領域に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着目している。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できることを実証している。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実現できることを論じている。

第 6 章「レーザー走査型先端増強ラマン顕微鏡の開発」では、材料表面上の生体分子 1 分子の化学構造を解析できる TERS 装置の開発を述べている。レーザー走査システムの導入により、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 以内に補正可能と論じている。本研究は長時間にわたり安定な生体分子の TERS イメージングを実現できることを論じている。

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」では、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述べている。特定の温度 (60-100°C) で熱脱離するチオール分子を利用し、金属探針の温度上昇を精密に評価している。さらに探針の温度上昇抑制法としてカンチレバーの励振が熱拡散を促進できることを論じている。本章は、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できる事を実証している。

第 8 章「総括」では、本研究を統括し、将来的な展望を述べている。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻：	物質電子化学	専攻
Department of		
学生氏名：	望月 誠仁	
Student's Name		

申請学位(専攻分野)：	博士	(工学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員(主)：	林 智広	准教授
Academic Advisor(main)		
指導教員(副)：	原 正彦	教授
Academic Advisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

The aim of this study is the development of the methods to analyze biomolecules and cells on the material surfaces based on atomic force microscopy (AFM), Raman microscopy and tip-enhanced Raman spectroscopy (TERS). This dissertation is written in Japanese and consists of 8 chapters.

Chapter 1 Introduction. This chapter presents the importance of biointerfaces; interfaces between materials and biological samples (ex. proteins, cells, etc). It is mentioned that AFM, Raman microscopy and TERS are promising tools for the analysis of the biointerfaces.

Chapter 2 Principles of AFM, Raman Spectroscopy and TERS. This chapter describes the principles of AFM-based force measurement, Raman scattering, surface-enhanced Raman scattering and TERS.

Chapter 3 Correlating Single-Molecule and Ensemble-Average Measurements of Peptide Adsorption onto Different Inorganic Materials. The affinity of material-binding peptide to the inorganic materials was evaluated by quartz crystal microbalance (QCM) and AFM. A combination of the two experimental approaches allowed us to compare the adsorption kinetics and binding affinity of peptide attachment for the different substrates through measurements conducted at the single-molecule and ensemble-average levels.

Chapter 4 Quantitative Evaluation of Peptide-Material Interactions by a Force Mapping Method: Guidelines for Surface Modification. A new AFM force mapping method was developed to evaluate the affinity of material-binding peptides to inorganic materials without a conventional single-molecule force spectroscopic approaches. Through the statistical analysis of adhesion probabilities of a gold-binding peptide (GBP), it was found that the affinity of the GBP to oxides (Al_2O_3 , TiO_2 and SiO_2) results from the electrostatic interaction between GBP and surface charges. By contrast, the affinity between the GBP and gold mainly originates from the electrostatic interaction between GBP and their image charges.

Chapter 5 Raman Imaging Method of Small Molecules in Single Cell Using B-H bond. This chapter presents a Raman imaging technique to visualize the distribution and concentration of target molecules in a single cell using a Raman signal of B-H stretching vibration. The vibration mode does not overlap with that of cellular components, which results in interference-free Raman imaging of target molecules. By functionalizing the boron cluster including B-H bonds with cholesterol, the distribution and concentration of the cholesterol in the single cell was successfully visualized by Raman microscopy. The small tag such as B-H bond is enable to minimize the size change of the target molecule compared with the bulky fluorescence probe.

Chapter 6 Laser Scanning-Assisted Tip-Enhanced Optical Microscopy for Robust Optical Nanospectroscopy. This chapter describes the development of the TERS microscope for the measurements of biomolecules on the material. By introducing a laser-scanning unit in the system, the time-dependent drift of the probe in the focused spot was completely compensated within the accuracy of 10 nm. This technique is usable for long-term and robust TERS measurements of biomolecules with compensating thermal and mechanical drifts.

Chapter 7 Damage-Free Tip-Enhanced Raman Spectroscopy for Soft and Heat-Sensitive Materials. This chapter presents a method to evaluate and suppress an increase in temperature of an AFM metallic probe during TERS measurements. By employing thiol molecules, which desorb at 60–100°C, the increase in temperature of the metallic probe was evaluated with the high accuracy of 2°C. Moreover, it was found that the oscillation of the metallic probe promotes heat transfer between the probe and the surrounding medium. A combination of the two method is effective in simultaneously acquiring strong TERS signals with suppressing thermal and mechanical damages on biomolecules.

Chapter 8 Summary. The conclusion of this dissertation is summarized with future plans.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).