

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

|                   |                                                                                                                                                                                                |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 題目(和文)            | 固体表面上に吸着したタンパク質の組成分析技術の開発                                                                                                                                                                      |
| Title(English)    |                                                                                                                                                                                                |
| 著者(和文)            | 廣原周                                                                                                                                                                                            |
| Author(English)   | Makoto Hirohara                                                                                                                                                                                |
| 出典(和文)            | 学位:博士(工学),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第11510号,<br>授与年月日:2020年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:林 智広,曾根 正人,和田 裕之,柘植 丈治,石田 忠                                                                          |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Engineering),<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第11510号,<br>Conferred date:2020/3/26,<br>Degree Type:Course doctor,<br>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

|                                  |             |                           |           |
|----------------------------------|-------------|---------------------------|-----------|
| 系・コース：                           | 材料系         | 申請学位(専攻分野)：               | 博士(工学)    |
| Department of, Graduate major in | ライフエンジニアリング | Academic Degree Requested | Doctor of |
| 学生氏名：                            | 廣原 周        | 指導教員(主)：                  | 林 智広      |
| Student's Name                   |             | Academic Supervisor(main) |           |
|                                  |             | 指導教員(副)：                  |           |
|                                  |             | Academic Supervisor(sub)  |           |

### 要旨(和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

本学位論文「固体表面上に吸着したタンパク質の組成分析技術の開発」は全部で6つの章から構成されている。

第1章では、「体液中から固体表面上に吸着したタンパク質の組成分析技術開発の意義」では、近年の医療技術における生体材料の役割、生体材料が体液に触れた際に起こるタンパク質の吸着反応について述べ、吸着したタンパク質の組成や構造が細胞や組織の挙動を決定する因子であることを述べた。また、従来のタンパク質組成分析技術について述べ、固体表面に吸着したタンパク質に対する従来の組成分析技術が抱える問題点を述べた。そして、問題を克服した固体表面に吸着したタンパク質組成分析技術を開発するという本研究の学術的意義を説明している。

第2章「本研究に用いた主な分析手法」では、本研究に使用した分析手法のマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法(MALDI-ToF-MS)やエネルギー散逸測定が可能な水晶振動子マイクロバランス(QCM-D)法、蛍光顕微鏡法の原理について述べている。MALDI-ToF-MS の項では、タンパク質同定手法であるペプチドマスフィンガープリント法についても述べている。

第3章「固体表面上に吸着したタンパク質の組成分析技術の開発」では、本研究で開発した固体表面に吸着したタンパク質の組成分析技術について述べている。従来のタンパク質組成分析技術では体液から固体表面に吸着したタンパク質を分析するには抽出・分画操作が必要であったが、材料表面上で酵素処理しタンパク質を消化した後に MALDI-ToF-MS で試料を測定することで抽出・分画操作をすることなく測定することを可能にした。また、分析対象とするタンパク質の組成を調整し作製した試料(対象に設定したタンパク質の特定のモル比に調整した試料)を分析することでマスペクトルのピーク強度比とモル比の相関係数を算出し、モル比が未知の試料でもピーク強度比からのモル比を算出することを可能にした。

第4章「血清溶液から自己組織化単分子膜に吸着したタンパク質の組成および構造変化と細胞接着挙動との相関の解析」では、ウシ胎児血清溶液(FBS)から物理化学的性質の異なる9種類の自己組織化単分子膜(SAM)に吸着したタンパク質の組成および構造変化を分析し、細胞接着との相関を調べた結果について述べた。タンパク質が吸着したSAMへのヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)の接着を蛍光顕微鏡で取得した接着像から接着密度を算出した結果、SAMによって接着密度が異なることが観測された。また、開発した組成分析技術を用いてFBSからSAMに吸着したタンパク質の細胞接着に関与するタンパク質のモル比を分析した結果、細胞接着に関与するタンパク質のモル比がSAMによって異なることが示された。HUVECの接着密度と組成分析の結果から、吸着した細胞接着に関与するタンパク質のモル比が少ないSAMでは、細胞の接着密度が低い傾向が示された。また、QCM-D法による吸着したタンパク質の粘弾性分析から、SAMの物理化学的性質によって吸着したタンパク質の粘弾性が大きく異なることが確認され、表面の物理化学的性質によってタンパク質吸着構造が異なることが示唆された。この結果とHUVECの接着密度の2つの結果から、吸着したタンパク質の粘弾性が高いSAMでは接着密度が高く、吸着したタンパク質の粘弾性が低いSAMでは接着密度が低いという傾向が示された。

第5章「表面に吸着したタンパク質の構造変化と細胞接着との相関」では、第4章で議論したSAMに吸着したタンパク質の粘弾性および構造変化について過去の研究報告を交え、SAM表面近傍に存在するバルクとは異なる状態の水分子の存在が粘弾性に影響を与えることを議論した。また、SAMに吸着したタンパク質の粘弾性測定から、吸着タンパク質の構造変化を予測し、構造変化が細胞の接着に必要なタンパク質が持つ細胞接着部位の露出に相関があることを過去の過去の研究報告から述べ、本研究では吸着したタンパク質の粘弾性が低いSAMでは細胞接着部位の露出しづらいため、細胞の接着が起きづらかったと結論づけた。

第6章「総括」では本学位論文にて取り組んだ内容の総括をすると共に、今後解決すべき課題についても論述している。本研究で開発した組成分析技術は、高分子や金属などの様々な材料に対するタンパク質の挙動からその後の拒否反応や発ガン性などの巨視的な反応までのメカニズムの解明への応用が期待され、今後の医療用生体材料開発に広く活用されることが期待できる。

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).

(博士課程)  
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

|                                  |             |     |                           |           |      |
|----------------------------------|-------------|-----|---------------------------|-----------|------|
| 系・コース：                           | 材料          | 系   | 申請学位(専攻分野)：               | 博士        | (工学) |
| Department of, Graduate major in | ライフエンジニアリング | コース | Academic Degree Requested | Doctor of |      |
| 学生氏名：                            | 廣原 周        |     | 指導教員(主)：                  | 林 智広      |      |
| Student's Name                   |             |     | Academic Supervisor(main) |           |      |
|                                  |             |     | 指導教員(副)：                  |           |      |
|                                  |             |     | Academic Supervisor(sub)  |           |      |

要旨(英文 300 語程度)  
Thesis Summary (approx.300 English Words )

In this Ph.D. thesis study, I developed a method to analyze adsorbed proteins on the materials. And I succeeded in the identification of the composition and calculating the molar ratio of adsorbed proteins in this study. Furthermore, I analyzed a correlation of cellular adhesion with composition and conformational change of adsorbed proteins on materials. The developed method revealed that the composition of the adsorbed protein was dependent on the physicochemical properties of the surface. And It was found that when the ratio of the cell adhesion protein was small, adhesion and cell adhesion did not occur. However, even when proteins involved in cellular adhesion were adsorbed, there was no cell adhesion on some surfaces. We measured viscoelasticity by using a quartz crystal microbalance with dissipation monitoring. On the surface showing high viscoelasticity, I thought that the interaction with the surface denatured the protein and changed the conformation. Even when the amount of cell-adhesive protein is abundant, cellular adhesion does not occur on surfaces with little conformational change. So this result showed indicating that protein conformational change plays an important role in cellular adhesion. From the above results, it became clear that the composition of cell-adhesive proteins and the conformation of the adhered proteins are important for cellular adhesion.

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).