

氏名（本籍）	井上 滋登（和歌山県）
学位の種類	博士（工学）
学位授与番号	甲 第52号
学位授与日付	平成24年3月23日
専攻	システム工学専攻
学位論文題目	Development of Novel Atomic Force Microscope Technology for Two-Dimensional Visualization of Pseudo-Biological Membrane and Hair Surface 【邦題】擬似生体膜及び毛髪表面の二次元可視化のための新規原子間力顕微鏡技術の開発
学位論文審査委員	(主査) 教授 木村 恵一 (副査) 教授 坂本 英文 准教授 矢嶋 撰子 田中 睦夫（産業技術総合研究所）

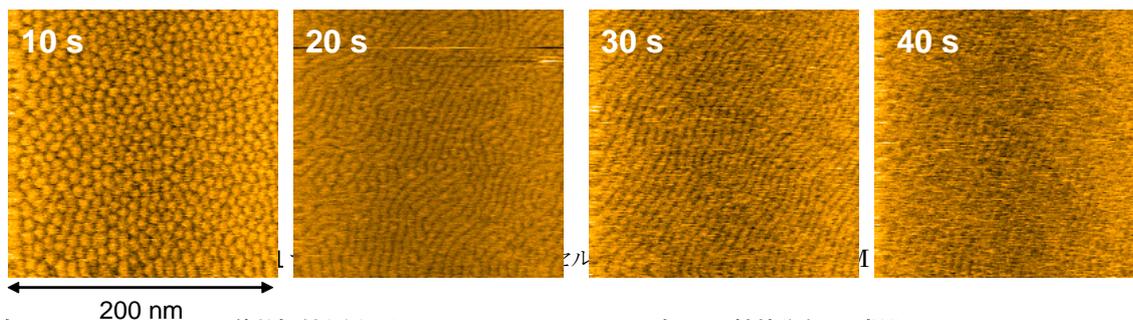
## 論文内容の要旨

### 緒言

ウィルスの感染等の生命科学現象は、生体膜における情報伝達や物質移動を介して生じる現象であることが知られている。この生命科学現象（生体反応）を本質的に理解するためには、タンパク質などの物質移動やその量的変化だけではなく、その動的な挙動や、情報伝達部位の二次元的な分布などを明らかにし、さまざまな情報を統合して議論すべきである。本研究では、生命科学の本質解明に資する原子間力顕微鏡（AFM）を用いた二次元可視化分析技術の開発及び応用の可能性について検討を行った。

### 1章 高速AFMを用いたマイカ表面上における脂質会合の直接観察

モータータンパク質のダイナミクスを可視化することが可能な最先端の高速AFM技術を用いれば、生体膜表面の動的挙動を直接捉えることができると期待されている。本章では、基礎的な検討として、固体表面上形成されるナノ集合構造が既に報告されており、生体膜を構成するリン脂質類と同様な両親媒性分子をモデル分子として、それらが形成する構造を可視化し、その平衡状態に至る秒スケールの動的挙動を捉えることに挑戦した。結果として、ミセル及び二分子膜のマイカ表面上における構造変化の動的挙動の観察に成功した（Fig.1）。このような会合構造を観察可能であることは、リン脂質等によって形成される生体膜などのダイナミクスの研究にも適用可能であることを示唆している。

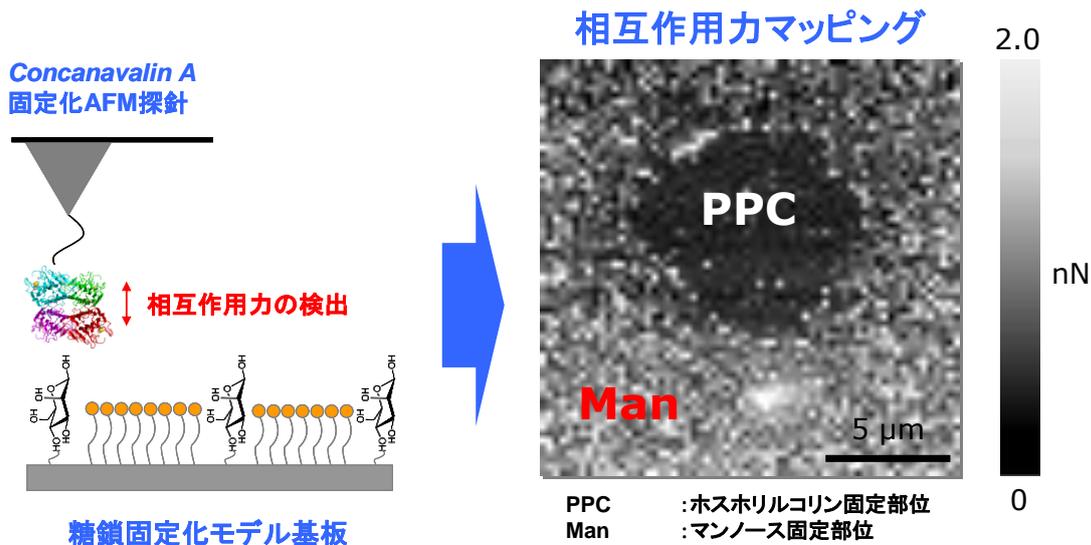


### 2章 コンカナバリンA修飾探針を用いたAFMフォースセンシングによる糖鎖分布の可視化

生体膜表面では、主に糖鎖が細胞間の情報伝達に関与していることが知られている。また、HIVやインフルエンザウイルス等の感染にも糖鎖が関与していることが明らかとなりつつあり、生体膜上の糖鎖について詳細な情報を得ることが求められている。

最も基礎的な情報のひとつとして、生体膜における糖鎖の二次元的な分布を明らかにすることは極めて重要であるが、ナノスケールで、また、蛍光等を用いず、直接検出によって分布を明らかにした例はほとんどない。本章では、糖鎖を認識することが知られているレクチンタンパク質（コンカナバリンA）を固定化したAFM探針を用い、糖鎖との特異的な相互作用力を検出し、その力の二次元的な分布をマッピングする技術的検討を行った。まず、基板表面に糖鎖を固定化し、さらに、マイクロソグラフィ技術を応用することによって、糖鎖が二次元的に規則的に分布したモデル表面を得た。続いて、コンカナバリンAをAFM探針に固定化し、モデル表面とのフォースセンシングを行った結果、糖鎖固定化部位において、糖鎖とコンカナバリンAとの特異的な相互作用力が検出され、さらに、その相互作用力の大きさに基づいて、糖鎖の二次元的なマッピングに成功した（Fig.2）。

本技術は、様々な物質から形成されており、非常にヘテロな高次構造を有する生体膜における糖鎖選択的な分布解析法として有用であると考えられる。



**Fig.2** 作製した糖鎖固定化モデル基板とコンカナバリン A 修飾探針のモデル図 (左図), 及びこれらを用いて得られた, 相互作用力に基づく糖鎖の二次元的分布像 (右図)

### 3章 様々な表面分析技術を用いたヒト毛髪表面の構造解析

生体試料表面の物理化学的性質は, 生体表面間の親和性を制御していることが知られているが, 生体の「美」に関与することも明らかとなりつつあり, 化粧品科学分野において注目されている。近年, 髪的美しさは, 毛髪表面の状態と密接な関係があることが見出された。本章では, 特に毛髪表面に存在する脂質である 18-methyleicosanoic acid (18-MEA) について着目し, ヘアカラー時の変化について表面解析技術を駆使して詳細に明らかにした。さらに, 得られた知見に基づいて毛髪表面のケア技術の開発を行った。結果, 生体が本来有する健康美, 機能美を実現するためには, 毛髪の表面状態を制御することが重要であることを示した。

### 結論

生体表面における反応や変化は, 生命科学領域において極めて重要であるにも関わらず十分な理解に至っていないのが現状である。現象をナノスケールで可視化することは, 巨視的な現象の本質を明らかにできるだけではなく, 思いもよらない新たな現象の発見が期待でき, 様々なブレイクスルーを生む可能性を秘めている。本研究において得られた成果は, 生体表面における様々な現象を AFM で可視化する技術に主視点を置いて遂行され, 結果として, 生命現象の解明に資する技術的知見が多数得られたものとする。

本研究で得られた技術的知見は, 生命科学領域における基礎研究を推進し得るものであり, 今後の更なる応用展開が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

本研究では、生命科学の本質解明に資する原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた二次元可視化分析技術の開発及び応用の可能性について検討を行った。

第一章では、高速 AFM 技術の基礎的な検討として、生体膜を構成するリン脂質類に類似する両親媒性分子をモデル分子として、それらが形成する構造を可視化し、その平衡状態に至る秒スケールの動的挙動を捉えることに挑戦し、ミセル及び二分子膜のマイカ表面上における構造変化の動的挙動の観察に成功した。第二章では、糖鎖を認識することが知られているレクチンタンパク質 (コンカナバリン A) を固定化した AFM 探針を用い、糖鎖との特異的な相互作用力を検出し、その力の二次元的な分布をマッピングする技術的検討を行った結果、糖鎖固定化部位において糖鎖とコンカナバリン A との特異的な相互作用力が検出できた。さらに、その相互作用力の大きさに基づいて、糖鎖の二次元的なマッピングに成功した。第三章では、毛髪表面に存在する脂質である 18-methyleicosanoic acid (18-MEA) に着目し、ヘアカラー時の変化について表面解析技術を駆使して詳細に明らかにした。その結果、生体が本来有する健康美や機能美を実現するためには、毛髪の表面状態を制御することが重要であることを示した。

本研究は、生体表面におけるさまざまな現象を AFM で可視化する技術に主視点を置いて遂行され、結果として、生命現象の解明に資する技術的知見が多数得られたものとする。

当該論文は新しい研究成果を含んでおり、優れた研究であることが認められた。このことは、権威ある学会誌で数編の研究論文として公表され、また、国内外の学会においても数多くの口頭発表がなされていることから明らかである。さらに、予備審査の結果を受けて、新たな研究結果を得た上、論文を加筆修正したことを確認した。

以上の結果および博士論文公聴会を含む審査委員会の審査により、本論文は博士論文として価値あるものとする。

## 最終試験の結果の要旨

平成 24 年 2 月 8 日、全審査員出席のもとに学位申請者に対し、論文内容およびこれに関する事項について試問を行い、最終試験において合格と判定した。