

Title	Atomic Force Microscopy Studies of Structure of Vesicle and Formation Mechanism of Amyloid Fibril
Author(s)	菅野, 誉士
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45102">https://hdl.handle.net/11094/45102</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	菅野 誓士
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 18387 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	Atomic Force Microscopy Studies of Structure of Vesicle and Formation Mechanism of Amyloid Fibril (原子間力顕微鏡によるベシクルの構造とアミロイドフィブリルの形成機構に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 川合 知二  (副査) 教授 中村 春木 教授 後藤 祐児

#### 論文内容の要旨

固体表面上を探針でなぞり、その軌跡を画像化する装置(走査プローブ顕微鏡)の一つに原子間力顕微鏡(AFM)がある。電子顕微鏡のように生体分子を画像化でき、さらにその簡便さと測定環境の広さから、近年 AFM による生体分子の研究が盛んに行われている。今回私は AFM を用いてベシクルの構造とアミロイドフィブリルの形成機構に関する研究を行った。

ベシクルは脂質二重層からなる球状のカプセルで、ドラッグデリバリーへの応用が期待されている。動的光散乱法と電子顕微鏡によりベシクルの粒径が測定されていたが、両者の結果は一致しなかった。そこで3番目の手法として AFM でベシクルの粒径を測定することにした。ベシクルを基板上に吸着させ AFM で観察した結果、吸着により変形したベシクルが観測された。この構造から溶液中でのベシクルの粒径を見積もったところ約 300 nm であった。この結果は動的光散乱法の結果を支持するものであった。

アミロイドフィブリルは蛋白質が針状に集合したものの総称で、体内に蓄積し様々な病気を引き起こす。 $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2-m)はそのうちのひとつで、透析患者の骨関節症を引き起こす事が知られている。線維の構造に関しては X 線繊維回折や電子顕微鏡により、数本の細い線維が絡まって剛直な線維を形成していることがわかってきているが、なぜこのような構造を形成するのかわからない。そこで私は様々な条件下で  $\beta$ 2-m 線維を形成し、AFM で線維の構造を観察することにより形成機構に関する知見を得ようと試みた。その結果、私の研究から次の2点のことが示唆された。一つは seed の役割。 $\beta$ 2-m 線維を砕いたものを seed として線維伸長を行った場合、細い線維を経由せずに剛直な線維が形成される。もう一つはおそらく細い線維は疎水性相互作用で絡まり合うということ。20% trifluoroethanol (TFE) 溶液中では細い線維は絡まり合わないが、この細い線維を水溶液中に移すと会合して太い剛直な線維を形成する。疎水性の TFE は分子間の疎水性相互作用を弱める働きをするので、線維は疎水性相互作用で絡まっていると示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

生体分子の研究における原子間力顕微鏡 (AFM) の有用性はわかっているが、観察だけでおわる研究が多くそこから新しい知見を得るのは難しい。申請者はベシクルの研究において、80 nm のベシクルが壊れて 300 nm のベシクルが再構築される事を示唆し、動的散乱で粒径が二つ観測される原因を解明した。またアミロイド線維の研究においては、線維伸長における seed の役割、線維同士が疎水性相互作用で絡まる等、定性的ではあるが多くの新しい知見を見出している。分析化学の手法の一つとして AFM の有用性を示し、多くの知見を得たことは学術的内容が高く、博士 (理学) の学位論文として十分価値のあるものと認める。