

Title	タンパク質および有機分子のフェムト秒レーザー誘起結晶化過程に関する研究
Author(s)	中村, 和彦
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47210
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"〉 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	なかむらかずひこ 中村和彦
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第21342号
学位授与年月日	平成19年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	タンパク質および有機分子のフェムト秒レーザー誘起結晶化過程に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 難波 啓一 (副査) 教授 木下 修一 教授 井上 康志 教授 増原 宏

論文内容の要旨

高強度のパルスレーザー光を液体に集光すると、集光点を中心に気泡の発生を伴う形態変化現象が引き起こされる。特にフェムト秒オーダー (10^{-15}) のパルスレーザー光は、体積膨張が追従できない時間スケールで分子の振動エネルギーを増加させることができるため、過渡的な圧力上昇に起因した機械的な形態変化現象を誘起する。本研究グループではこの過渡圧力変化を系に対して局所的に働く力学的な摂動として捉え、フェムト秒パルスレーザー光をトリガーとした新規な結晶化手法を提案してきた。この手法は種々のタンパク質および有機分子の結晶化を容易にするだけでなく、いくつかのタンパク質に対しては初めて結晶化を可能にするなど多くの成功を収めている。

しかしながら現段階においては、この手法に対する分子論的な理解は得られていない。本研究では、フェムト秒レーザー光照射による過飽和溶液の形態変化から結晶化に至るまでの一連の過程を時間・空間的に観察し、結晶化を誘起する駆動力を物理化学的な視点から理解することを目的とした。試料にはタンパク質結晶化のモデル物質であるニワトリ卵白リゾチームと、結晶化過程の観察が容易なアントラセンとを使用し、フェムト秒レーザー誘起結晶化過程の包括的な考察を行った。結晶化と形態変化現象のしきい値エネルギーが良く一致する実験結果を見出し、結晶化過程の時間分解顕微画像観察から、レーザー集光点を中心に発生する短寿命のキャビテーションバブルの膨張・収縮過程と結晶化との相関、および長寿命の気泡の界面と結晶成長との関連性について考察した。本研究より、フェムト秒パルスレーザー光照射による結晶化について全く新しい機構が実証された。以下に各章の内容を総括する。

第1章では高強度パルスレーザー光によって起こる液体の形態変化現象とそれが誘起する過渡圧力発生に関する研究について概観し、過渡圧力変化を利用した研究の現状について説明する。さらにフェムト秒レーザー誘起結晶化を含めた種々の光誘起結晶化の概要に触れた上で、本研究の目的と意義について述べる。

第2章では本研究にて使用したレーザーシステム、およびレーザー光の照射と観察を行うために開発した顕微システムについて述べる。

第3章ではタンパク質結晶化のモデル物質であるリゾチームを用い、形態変化と結晶化との関連性について探索し

た結果について述べる。高濃度のリゾチーム過飽和溶液に高強度のフェムト秒レーザー光を照射すると集光点を中心に気泡の発生が起り、続いて気泡界面から凝集体が形成される現象を見いだした。高粘度のリゾチーム過飽和溶液中に発生する気泡を長時間保持したところ、気泡界面は結晶成長を促進する効果を持つことが明らかとなった。これを踏まえ、気泡界面が結晶成長過程に与える影響について考察した。

第4章では形態変化による結晶成長過程を明らかにするために、代表的な有機分子であるアントラセンを用い結晶化誘起の実験を行い考察した。結晶化は単発照射から数秒の時間スケールで誘起されるため、気泡の発生過程と結晶成長過程の実時間観察が可能となる。本実験より、フェムト秒レーザー誘起結晶化にはしきい値エネルギーがあり、その値は気泡発生のしきい値とよく一致することが明らかとなった。近赤外ピコ秒、紫外フェムト秒レーザーとの比較から、フェムト秒レーザー誘起結晶化は集光点における爆発的な形態変化に起因するものであり、これまで報告されている光誘起結晶化の機構と全く異なることが示された。

第5章では高速度カメラを用い、フェムト秒レーザー光照射による結晶核生成過程の時間分解画像観察を試みた結果について述べる。本実験から、アントラセンの結晶化はフェムト秒レーザー光照射から数 100 ms の時間スケールで顕微観察可能なサイズに成長することが明らかとなった。直交ニコルを組み合わせた時間分解画像観察では、結晶核発生を誘起する駆動力として、約 100 μ s の時間スケールで発生するキャビテーションバブルの膨張による過渡圧力と収縮による攪拌作用の影響が示された。

第6章では本研究の総括を行う。リゾチームとアントラセンを用いた実験から導かれた結果を比較し、フェムト秒レーザー光照射による結晶化過程をまとめる。その上で今後の展望について述べる。

論文審査の結果の要旨

フェムト秒オーダー (10^{-15}) の高強度パルスレーザー光を液体に集光すると、集光点を中心に気泡の発生を伴う過渡的な形態変化現象が引き起こされるが、申請者はこれをトリガーにした結晶化過程の解明を目的に研究を行い、結晶化過程を形態変化現象の観点から物理化学的に考察した。結晶化と形態変化のしきい値エネルギーが良く一致するという実験結果を得て、結晶化過程の時間分解顕微画像観察から、レーザー集光点を中心に発生する短寿命のキャビテーションバブルの膨張・収縮過程と結晶化との相関、および長寿命の気泡の界面と結晶成長との関連性について考察した。本研究より、フェムト秒パルスレーザー光照射による結晶化について全く新しい機構が実証された。

学位論文と口頭発表により、研究分野に関する基礎知識と研究内容に対する理解度の深さ、研究内容とその成果などについて審査を行い、博士号の学位を授与するに十分な質と内容のある論文として仕上がっていること、口頭発表もわかりやすくよくまとまっており、質問にも的確な答えをしていたことから、予備審査は問題なく合格であると判断した。

本審査の口頭発表もわかりやすく明解にまとめられており、質疑応答も的確であったので、主査と副査3名全員が本審査も問題なく合格であると判断した。