

Title	SERS Study of Effects of Magnetic Stretching Forces on Molecular Conformational Equilibria
Author(s)	後藤, 剛喜
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57991
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	後藤剛喜
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第23568号
学位授与年月日	平成22年3月23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	SERS Study of Effects of Magnetic Stretching Forces on Molecular Conformational Equilibria (分子のコンフォメーション平衡におよぼす磁気張力効果のSERS分光研究)
論文審査委員	(主査) 教授 渡會 仁 (副査) 教授 篠原 厚 教授 水谷 泰久

論文内容の要旨

本論文では、分子単層膜への張力の影響を分析することを目的に、磁性微粒子を用いた新規な Force-SERS(表面増強ラマン散乱)分光分析法の開発、展開を紹介する。試料分子は磁性微粒子と銀ナノ粒子基板間を架橋結合させた。外部より Nd・Fe・B 磁石により磁場勾配を印加させることにより、磁性微粒子を媒介として架橋分子に張力を作用させる。磁気作用力は試料基板と磁石間の距離を厳密に制御することで、可変させることが可能である。

3-mercaptopropanoic acid (3-MPA)を succinimidyl ester 化し、アミン修飾磁性微粒子(1 μm)にアミド結合させた。その磁性微粒子を銀ナノ粒子基板に滴下し、3-MPA を分子架橋させた。試料基板に Nd・Fe・B 磁石を設置することにより、磁場勾配(2500 T/m)を印加し、一磁性微粒子あたり 100pN の磁気力を作用させ、SERS スペクトルを測定した。SERS スペクトルから、磁気力により 3-MPA の SC・CC の回転異性の平衡状態が *gauche* から *trans* 異性が優位に変化したことが観測された。

磁気力の作用量を可変するために、磁石・試料基板間の距離を 10 μm 間隔で制御できるように、顕微測定部を改良した。試料として cysteamine をカルボキシル修飾磁性微粒子にアミド結合させ、銀ナノ粒子基板と架橋反応させた。そして、磁気力の作用量に対し SC・CN の回転異性の平衡状態がどのように変化をするか検討した。一磁性微粒子あたり 80 pN 以下では、回転異性の平衡状態は変化せず、80 pN 以上で *trans* 異性が大きく優位になることが観察された。このことから、80 pN 程度で磁性微粒子と銀ナノ粒子間のファンデルワールス相互作用を上回り、磁性微粒子・銀ナノ粒子間の距離が広がり、それに架橋分子が応じてより分子鎖が長い *trans* 異性が優位に回転異性変化が進んだと考えられる。

張力がタンパク質の folding 状態に与える影響を検討することを目的に、ヘムタンパクである Cytochrome c (Cyt c) をカルボキシル修飾磁性微粒子と 6-mercaptohexanoic acid (6-MHA) 単層膜に架橋させ、磁気力を作用させつつ、架橋 Cyt c の SERRS 測定を行った。一磁性微粒子あたり 100 pN 以上でヘムの配位子が native の Methionine80 から Histidine に変化することが SERRS スペクトルから観察された。このことから磁気張力により、架橋 Cyt c が unfold され、ヘムの配位子が変化したと考えられる。

磁性微粒子と SERS 分光法を用いたこの新規な分析法は、様々な分子の応力変化を振動分光法により明らかにでき、様々な分子の dynamics 現象や機構を検討する手法として期待できる。

論文審査の結果の要旨

後藤剛喜君は、「分子のコンフォメーション平衡におよぼす磁気張力効果の SERS 分光研究」という題目で研究を行い、以下の成果を挙げた。

- 1) 磁気微粒子とガラス基板上の銀ナノ粒子との間に目的の分子を架橋し、磁気勾配を磁気微粒子に作用させることで、測定対象分子に100 pNオーダーの張力を印加する方法を確立した。そして、同時に分子の表面増強ラマン散乱 (SERS) を測定し、張力印加時の分子のコンフォメーション変化を測定する方法を考案した。すなわち、この方法は、張力作用下における分子の状態変化を高感度振動分光法であるSERS法により高感度に測定するものである。
- 2) この方法を用いて、3-メルカプトプロピオン酸およびシステアミンを架橋分子とし、磁気張力SERSスペクトルを測定した結果、磁気張力下においては、銀ナノ粒子に結合しているC-S結合回りのトランス-ゴーシュ回転異性体の平衡がトランス型にシフトすることを見出した。そして、その自由エネルギー変化を求めた。この磁気張力下におけるトランス型の安定化は、トランス型の方が分子の長さが約1Å長いためであると結論した。
- 3) チトクローム c を磁性微粒子とガラス基板表面の銀ナノ粒子との間に化学的に架橋結合させ、チトクローム c に磁気張力を290 pNまでかけながらSERSスペクトルを測定した。その結果、ヘムに配位していたMetおよびHisが80 pN以上の張力で置換することを見出した。これらの成果は、微小作用力を用いる分光分析化学に新しいアプローチを提案するものであり、分析化学の発展に貢献するものである。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値のあるものと認める。