

## 論文内容の要旨

### 博士論文題目

生体高分子固定におけるシラン処理表面改質効果に関する研究

氏 名 福田 めぐみ

生体高分子の高度な機能の解明やそれを応用してデバイス作製を行う応用研究が進められている。そのためには、生体高分子の機能解明用に解析可能な形で生体高分子を固定することや、デバイスの機能要素作製用に狙った形で生体高分子を固定することが求められている。

本研究では、FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) 法の高分解能化を目指した SNOM/AFM DNA fiber-FISH を可能にする超平坦で DNA の伸張固定を実現する手法の開発と、電子デバイスに利用可能なフェリチンタンパク質の溶液成分吸着の無い高密度二次元配置を実現するシラン処理基板の開発を目指した。SNOM/AFM DNA fiber-FISH では、DNA を種々のシラン処理を施したへき開マイカ表面へ DNA 吸い上げ法で展開し、その DNA の固定形状を精査して、直線性が良く、表面粗さが 0.08nm (RMS 値) と超平坦で DNA 溶液の夾雑物付着も極めて少ないメチルシラン修飾条件を見出した。得られた DNA 固定基板を用いたモデル実験では、目的遺伝子にハイブリダイズした蛍光色素修飾 PNA の一分子計測に成功し、開発した基板が SNOM/AFM DNA fiber-FISH 法に使用可能であることを示した。さらに、DNA 伸張固定に必要な表面特性の要件を、拡張 Fowkes 理論を用いて表面自由エネルギーの観点から考察し、分散力成分、極性力成分、水素結合力成分の必要とされるエネルギー密度範囲を見積もることに成功した。フェリチンタンパク質の溶液成分吸着の無い高密度二次元配置では、タンパク質保存用に用いる緩衝液であるリン酸緩衝液 (PBS) または HEPES 溶液に、種々のシラン処理を行ったシリコン基板を浸漬してその残留成分を XPS により解析することで、全面メチルシラン修飾シリコン基板が溶液成分、特に Na イオンの吸着を抑制することを見出した。そして、この基板に PBS 溶液中のフェリチンを展開し、ブロー法で余剰溶液を除去乾燥することでフェリチンの高密度二次元吸着ができることを示した。さらには、このメチルシラン処理の特徴を他の反応性官能基のシラン処理と比較することでメチルシラン処理の優位性を明らかにした。

以上の結果は、DNA とフェリチンの基板上固定を、溶液の除去乾燥手法を選択してその手法にあった基板をシラン処理によって実現したもので、基板のシラン処理による表面特性制御のポテンシャルの高さを実証したと共に、任意のバイオ分子の基板固定を可能にする基盤技術になると期待できる。

(論文審査結果の要旨)

生体高分子の基板上固定は多くの応用研究で求められている。しかしながら、生体分子と基板の相互作用は複雑で、その実現のためには、生体高分子溶液の展開・乾燥手法の選択とその手法にあった基板表面特性の改質制御が求められる。すなわち、生体高分子固定手法と基板表面改質を組み合わせ実現することが求められる。本論文では、DNAの基板上伸張固定と溶液成分吸着がないフェリチンの基板上高密度二次元配置を、DNAとフェリチンの固定手法に吸い上げ法とブロー法の手法を採用し、基板特性改質制御をシラン処理で行うことで実現した。得られた成果は以下のとおりである。

1. SNOM/AFMを用いた高分解能DNAfiberFISH法を可能にするDNAの伸張固定を、吸い上げ固定法とそれに適したマイカ基板の開発で実現した。基板はへき開マイカ面をメチルシラン気相法処理して作製され、得られたマイカ基板は表面粗さが0.08nm(RMS値)と極めて平坦で、かつ不純物の吸着が大幅に抑制され、DNAの伸張性が高いことが確認された。開発された基板を用いて $\lambda$ ファージDNAを用いたDNAfiberFISHのモデル実験を行い、ea47遺伝子と相補的結合させた蛍光色素標識PNAの一分子観察に成功し、同開発基板がDNAfiberFISH法に使用できることを確認した。
2. DNA伸張固定に求められる基板の要件を、基板の表面自由エネルギーの観点から分析し、拡張Fowkes理論から導かれる基板の表面自由エネルギーの分散力成分、極性力成分、水素結合力成分、それぞれに求められるエネルギー範囲を明らかにした。
3. シリコン基板を、各種反応性官能基を持つシラン分子を用いて気相法で処理条件を検討しつつ改質し、その特性を解析・分析することで、塩を含む緩衝液浸漬を行っても基板に溶液成分が吸着しないメチルシラン修飾シリコン基板を開発した。
4. 開発したメチルシラン修飾シリコン基板は、リン酸緩衝液中のフェリチンを直接基板上に展開してブロー法により乾燥することで、溶液成分特にナトリウム汚染を排除したメモリデバイス作製に利用可能なフェリチン二次元高密度配置を基板上に簡便に実現できることを見出した。さらに他の反応性官能基との特徴を詳しく比較検討することにより、メチルシラン処理の優位性を明らかにした。

これらの成果は、DNAおよびフェリチンをそれぞれの使用目的に合致した条件で基板上固定することを実現し、さらにその要因を分析したもので学術的価値が高い。よって審査委員一同は、本論文を博士(工学)論文として認定した。