

Fri. Nov 5, 2021

Room E

Soft matter/Biomaterial(SO/BI)

[3Ea02-11] SO/BI

Chair:Matsumoto Takuya(Osaka Univ.), Ayumi Hirano(Tohoku Univ.)

9:15 AM - 12:00 PM Room E (Naoshima)

[3Ea02] Interfacial structure and size distribution of nanobubbles

*michio niwano¹, Kazuki Iwata¹, Teng Ma², Taisuke Tadaki³, Ayumi Hirano-Iwata^{2,3} (1. Tohoku Fukushi University, 2. AIMR, Tohoku University, 3. RIEC, Tohoku University)

9:15 AM - 9:30 AM

[3Ea03] Introduction of lateral voltage as a new input for artificial lipid bilayer systems

*Takaya Watanabe^{1,2}, Madoka Sato^{1,2}, Maki Komiya², Kensaku Kanomata⁴, Teng Ma³, Daisuke Tadaki², Fumihiko Hirose⁴, Ayumi Hirano^{1,2,3} (1. Graduate School of Biomedical Engineering, Tohoku University, 2. Research Institute of Electrical Communication, Tohoku University, 3. Advanced Institute for Material Research, Tohoku University, 4. Graduate School of Science and Engineering, Yamagata University)

9:30 AM - 9:45 AM

[3Ea04] **Development of nano-endoscopy for visualizing inside of living cells***Keisuke Miyazawa^{1,2}, Takeshi Fukuma^{1,2} (1. Kanazawa University, 2. WPI-NanoLSI)

9:45 AM - 10:15 AM

[その他] Break time

10:15 AM - 10:30 AM

[3Ea07S] *In Situ* Observation of Lipid Bilayer

Construction and Cytochrome c Binding on Cytochrome c Oxidase Modified Electrode

*Ryoya Sano¹, Narumi Yoshida¹, Masaru Kato^{1,2}, Ichizo Yagi^{1,2} (1. Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, 2. Faculty of Environmental Earth Science, Hokkaido University)

10:30 AM - 10:45 AM

[3Ea08S] Free-standing covalent organic framework films prepared via alternating deposition: structural analysis and CO₂ separation

performances

*Masaki Kato¹, Takashi Yanase², Taro Nagahama³, Toshihiro Shimada³ (1. Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University, 2. Faculty of Science, Toho University, 3. Faculty of Engineering, Hokkaido University)

10:45 AM - 11:00 AM

[3Ea09] Research on Polymer Nanomechanics Using Atomic Force Microscopy

*ken nakajima^{1,2} (1. Tokyo Institute of Technology, 2. The University of Tokyo)

11:00 AM - 11:30 AM

[3Ea11] The molecular mechanism of amyloid β aggregation at lipid membrane interface under a non-equilibrium open system*akane iida¹, Hideki Nabika² (1. Graduate School of Science and Engineering, Yamagata University, 2. Faculty of Science, Yamagata University)

11:30 AM - 12:00 PM

Soft matter/Biomaterial(SO/BI)

[3Ea02-11] SO/BI

Chair:Matsumoto Takuya(Osaka Univ.), Ayumi Hirano(Tohoku Univ.)

Fri. Nov 5, 2021 9:15 AM - 12:00 PM Room E (Naoshima)

- [3Ea02] Interfacial structure and size distribution of nanobubbles
*michio niwano¹, Kazuki Iwata¹, Teng Ma², Taisuke Tadaki³, Ayumi Hirano-Iwata^{2,3} (1. Tohoku Fukushi University, 2. AIMR, Tohoku University, 3. RIEC, Tohoku University)
9:15 AM - 9:30 AM
- [3Ea03] Introduction of lateral voltage as a new input for artificial lipid bilayer systems
*Takaya Watanabe^{1,2}, Madoka Sato^{1,2}, Maki Komiya², Kensaku Kanomata⁴, Teng Ma³, Daisuke Tadaki², Fumihiko Hirose⁴, Ayumi Hirano^{1,2,3} (1. Graduate School of Biomedical Engineering, Tohoku University, 2. Research Institute of Electrical Communication, Tohoku University, 3. Advanced Institute for Material Research, Tohoku University, 4. Graduate School of Science and Engineering, Yamagata University)
9:30 AM - 9:45 AM
- [3Ea04] **Development of nano-endoscopy for visualizing inside of living cells**
*Keisuke Miyazawa^{1,2}, Takeshi Fukuma^{1,2} (1. Kanazawa University, 2. WPI-NanoLSI)
9:45 AM - 10:15 AM
- [その他] Break time
10:15 AM - 10:30 AM
- [3Ea07S] *In Situ* Observation of Lipid Bilayer Construction and Cytochrome c Binding on Cytochrome c Oxidase Modified Electrode
*Ryoya Sano¹, Narumi Yoshida¹, Masaru Kato^{1,2}, Ichizo Yagi^{1,2} (1. Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, 2. Faculty of Environmental Earth Science, Hokkaido University)
10:30 AM - 10:45 AM
- [3Ea08S] Free-standing covalent organic framework films prepared via alternating deposition: structural analysis and CO₂ separation performances
*Masaki Kato¹, Takashi Yanase², Taro Nagahama³, Toshihiro Shimada³ (1. Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University, 2. Faculty of Science, Toho University, 3. Faculty of Engineering, Hokkaido University)
10:45 AM - 11:00 AM
- [3Ea09] Research on Polymer Nanomechanics Using Atomic Force Microscopy
*ken nakajima^{1,2} (1. Tokyo Institute of Technology, 2. The University of Tokyo)
11:00 AM - 11:30 AM
- [3Ea11] The molecular mechanism of amyloid β aggregation at lipid membrane interface under a non-equilibrium open system
*akane iida¹, Hideki Nabika² (1. Graduate School of Science and Engineering, Yamagata University, 2. Faculty of Science, Yamagata University)
11:30 AM - 12:00 PM

Annual Meeting of the Japan Society of Vacuum and Surface Science 2021

ナノバブルの界面構造と粒径分布

○庭野道夫¹, 岩田 一樹¹, 馬 騰², 但木 大介³, 平野 愛弓^{2,3}¹東北福祉大, ²東北大 AIMR, ³東北大通研

Interfacial structure and size distribution of nanobubbles

○Michio Niwano¹, Kazuki Iwata¹, Teng Ma², Daisuke Tadaki³, Ayumi Hirano-Iwata^{2,3}¹Tohoku Fukushi Univ., ²AIMR, Tohoku Univ., ³RIEC, Tohoku Univ.

ナノバブル (NB) は超微小サイズの気泡で、通常の気泡にはない様々な特異的な性質を有する。我々は陽極酸化法で形成した 100 nm 径の均一な細孔を有する多孔質アルミナ細孔薄膜に常圧程度で加圧する手法 (ナノ細孔加圧法) を用いてナノバブルを発生し、ナノ粒子トラッキング解析法などを用いてナノバブルの特性を研究している。この発泡法で生成される NB のサイズは 100 nm 程度であり、内包するガスも任意に選択できることから、我々は様々なガス種を内包した NB の基本的特性 (粒径分布やバブルの挙動) を系統的に調べている。

これまで内包ガス種を変えた場合の粒径分布をナノ粒子トラッキング解析法で調べた。その結果、粒径が離散的な値をとること、その離散的な粒径が $\sqrt{2}$ 倍ずつ大きくなっていることを明らかにした。Fig. 1 に典型例として CO₂、O₂ 内包 NB の粒径分布の測定結果を示す。様々な条件で O₂ 内包 NB 粒径分布を多数回測定し、隣同士の粒径の相関を調べた。その結果が Fig. 2 である。粒径比が $\sqrt{2}$ になっていることが分かる。この特異的な粒径分布は、同じ粒径のナノバブル同士が合体し易いことが原因していると解釈している [1]。

何故、ナノバブルが安定で長寿命であるかについて、その原因を探るために赤外吸収分光法と核磁気共鳴法でナノバブルの界面構造を調べた。その結果、界面には氷様 (Ice-like) の水の層が存在することが確認された。

何故同じ大きさの NB が合体し易いかについては、二つの NB が衝突する時の反発力が、粒径が同じ場合に最小になることが原因していると考えている。その効果を取り入れた粒径分布のシミュレーションを行い、実験結果を概ね再現できることが分かったので、

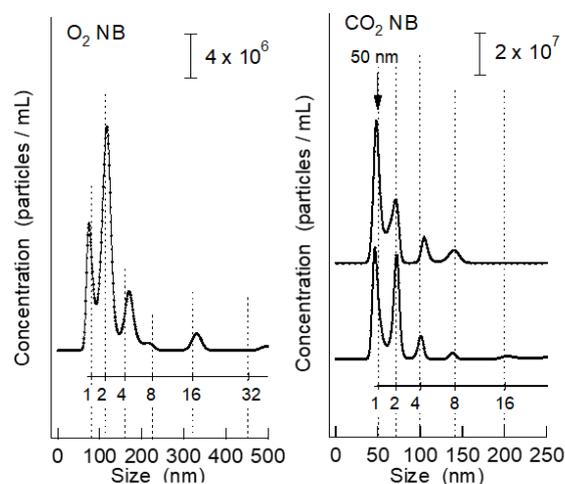


Fig. 1. CO₂、O₂ 内包 NB の粒径分布。NB 粒径が離散的である。

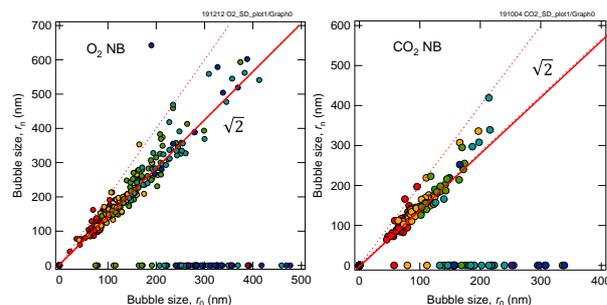


Fig. 2. 大きさが隣同士の NB 粒径の分布。 $\sqrt{2}$ 倍の直線に乗っている。

その結果についても報告する。

本研究は、JSPS 科研費 (18HO1874B、21H01815) の助成を受けたものです。

[1] Teng Ma, Y. Kimura, H. Yamamoto, X. Feng, A. Hirano-Iwata, M. Niwano: J. Phys. Chem. B 2020, 124, 24, 5067–5072.

*E-mail: michio.niwano.d3@tohoku.ac.jp

人工脂質二分子膜系の新入力としての膜平行電圧の導入

○渡辺 恭也^{1,2}, 佐藤 まどか^{1,2}, 小宮 麻希², 鹿又 健作⁴
馬 騰³, 但木 大介², 廣瀬 文彦⁴, *平野 愛弓^{1,2,3}

¹東北大学医工学研究科, ²東北大学電気通信研究所, ³東北大学材料科学高等研究所, ⁴山形大学大学院理工学研究科

Introduction of lateral voltage as a new input for artificial lipid bilayer systems

○Takaya Watanabe^{1,2}, Madoka Sato^{1,2}, Maki Komiya², Kensaku Kanomata⁴
Teng Ma³, Daisuke Tadaki², Fumihiko Hirose⁴, *Ayumi Hirano-Iwata^{1,2,3}

¹Graduate School of Biomedical Engineering, Tohoku Univ.

²Research Institute of Electrical Communication, Tohoku Univ., ³Advanced Institute for Material Research, Tohoku Univ.

⁴Graduate School of Science and Engineering, Yamagata Univ.

1. はじめに

細胞膜の基本構造である脂質二分子膜を人工的に形成した平面脂質二分子膜系は、様々な膜タンパク質の機能評価系として広く用いられている。しかし、その測定方法は数10年間変わらず、膜貫通方向の電圧を制御して電流を計測する1入力1出力システムであった。一方、我々は、この脂質二分子膜系に更なる入力を追加することにより、自然界には無い新しい脂質膜プラットフォームを創出できるのではないかと考え、従来の膜貫通電圧に加えて、膜に平行な方向の電圧を印加できる膜系の構築を試みた^[1,2]。膜平行電圧を印加可能な膜支持体の作製と脂質膜形成、さらにイオンチャネル電流に対する膜平行電圧の効果について検討したので、ここに報告する。

2. 実験方法

厚さ12.5 μm のテフロンフィルムに ϕ 約100 μm の微細孔を形成し、その孔周辺に膜平行電圧を印加するためのTi電極をEB蒸着した。さらに、溶液中へ導通を防ぐためのSiO₂絶縁層をEB蒸着し、これを人工脂質二分子膜の支持体とした(Fig.1)。作製した支持体の表面をシランカップリング剤で疎水化し、単分子膜張り合わせ法による脂質二分子膜の形成について検討した。さらに、この膜中にイオンチャネルを包埋してチャネル電流の計測を行い、膜平行電圧の効果について評価した。

3. 結果、まとめ

はじめに、テフロンフィルム支持体への膜平行電圧印加について検討した。その結果、電圧印加によりTi表面が酸化され、接触抵抗が数 Ω から50 M Ω 以上にまで数分で増大することが分かった。そこで接続部位にPtを被覆したところ、接触抵抗の増加が抑制されて長時間の電圧印加が可能になった。この支持体中で形成した脂質二分子膜の膜抵抗値は>200 G Ω であり、孔周りのTiやSiO₂層の影響を受けることなく脂質二分子膜を形成できることが分かった。次に、この膜中に電位依存性Na⁺チャネル(Na_v1.5)を包埋した結果、膜貫通電圧のみでは観測されなかったチャネル開閉が膜平行電圧によって誘起された(Fig.2)。一方、チャネルを含まない膜ではこのような変化は起こらなかった。これらの結果は、イオンチャネルの新制御因子として膜平行電圧が有用であることを示唆している。膜平行電圧系を様々なイオンチャネルへと展開することにより、チャネル開閉機構に関する新たな学理が創出されると期待される。

4. 文献

[1] T. Ma et al., *ACS Omega*, **4**, 18299 (2019).

[2] T. Ma et al., *Chem. Lett.*, **50**, 418 (2021).

*E-mail: ayumi.hirano.a5@tohoku.ac.jp

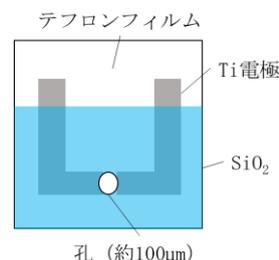


Fig.1 テフロンフィルム支持体.



Fig.2 Na_v1.5 に対する膜平行電圧の効果.

生細胞内部を可視化するナノ内視鏡の開発

○宮澤 佳甫^{1,2}, 福間 剛士^{1,2*}¹金沢大学, ²WPI-NanoLSI

Development of nano-endoscopy for visualizing inside of living cells

○Keisuke Miyazawa^{1,2} and Takeshi Fukuma^{1,2*}¹Kanazawa University, ²WPI-NanoLSI

人体を構成する基本単位である細胞の表面や内部において、たんぱく質や核酸等のナノ動態を理解することは生命現象を理解するために重要である。従来、電子顕微鏡や超解像顕微鏡で細胞表面や内部の観察が行われてきたが、それらの動作環境や空間分解能には制限があり、未解明のナノ動態は数多く残されている。そこで我々は、液中でナノスケールの3次元立体構造を計測できる三次元原子間力顕微鏡(3D-AFM)に着目し、従来の手法では困難であった非染色での細胞内部の三次元構造観察を実現する「ナノ内視鏡」の開発に取り組んでいる。

本研究で開発しているナノ内視鏡の概要図を図1aに示す。3D-AFMでは、探針を試料内部に挿入し、探針が受ける相互作用力の3次元分布を取得することにより試料内部の3次元立体構造を可視化する。本研究では、探針を細胞の内部に挿入する必要があるが、一般にAFMで使用される探針は長さ10 μm前後の円錐形の形状を有しており、探針を細胞内部にダメージを与えることなく挿入することは困難である。そのため、図1aのように、細長い形状の尖鋭プローブ(例:直径200 nm以下、長さ5 μm以上)を作製する必要がある。我々は、再現性良く細胞内に挿入できる探針の作製法として、Si探針をFIB-SEMで加工して先鋭化させる方法(I. obataya et al., Nano Lett., 5(1) (2005) 27)を確立した(図1b)。図1cは、生きたHeLa細胞(ヒトのがん細胞)にプローブを挿入した時に得られたフォースカーブであり、プローブが細胞膜を貫く時にピークが表れていることが分かる。図1eは図1dのHeLa細胞の光学顕微鏡像の赤枠部分で取得した3次元力分布像であり、細胞内部の構造が3次元的に可視化されていることが分かる。また、3D-AFM計測後には蛍光顕微鏡観察により細胞が生きていることを確認した。現在、この計測以外にも、細胞内部のアクチンフィラメントや核膜内部のラミナ構造等の可視化に成功しており、本手法の技術基盤を確立しながら応用計測例を拡大させている。以上のように、本研究では、3D-AFMをベースにナノ内視鏡を開発し、細胞内部の構造を生きたまま可視化できることを実証した。本手法では、細胞内部を非染色かつナノレベルで可視化し、また、光学的手法では測定できない細胞内部の力学的な物性情報も直接測定できる可能性がある。さらに、細胞内に探針を再現性良く挿入できる手法の確立は、今後の細胞内における局所的な2次元・3次元AFM計測の実現につながるため、超解像顕微鏡では見ることのできない10 nm以下のナノ動態を可視化できる可能性が拓かれた。本手法で得られる新たな知見は、細胞の基礎機能や、疾患、薬剤効果などのナノレベルでの理解の改善と、それに基づく医学・薬学技術の発展につながるものと期待される。

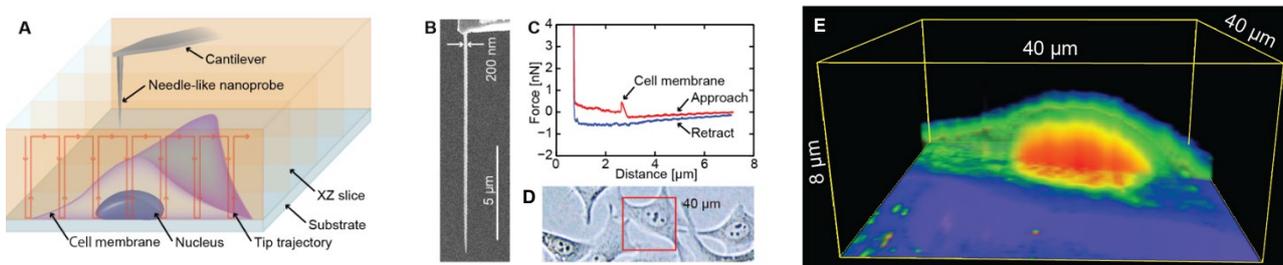


Fig. 1. (a) ナノ内視鏡の概要図。(b) Si製プローブのSEM像と(c) HeLa細胞内部にプローブを挿入した時に得られたフォースカーブ。(d) HeLa細胞の光学顕微鏡像とその赤枠部分で3D-AFMを用いて取得した(d) 3次元力分布像。

*E-mail: k.miyazawa@staff.kanazawa-u.ac.jp

10:15 AM - 10:30 AM (Fri. Nov 5, 2021 9:15 AM - 12:00 PM Room E)

[その他] Break time

シトクロム c 酸化酵素修飾電極における擬似生体膜の構築および シトクロム c 会合のその場観察

○佐野 綾哉¹, 吉田 生未¹, 加藤 優^{1,2}, 八木 一三^{1,2}

¹北海道大学大学院環境科学院, ²北海道大学大学院地球環境科学研究院

In Situ Observation of Lipid Bilayer Construction and Cytochrome *c* Binding on Cytochrome *c* Oxidase Modified Electrode

○Ryoya Sano¹, Narumi Yoshida¹, Masaru Kato^{1,2}, Ichizo Yagi^{1,2*}

¹Grad. School Environ. Sci., Hokkaido Univ., ²Fac. Environ. Earth Sci., Hokkaido Univ.,

1. 緒言

タンパク質は他のタンパク質や生体高分子との相互作用によってその機能を発揮するものも多く存在する。シトクロム *c* 酸化酵素 (CcO) もその一つであり、酸素呼吸生物の主なエネルギー生産過程である呼吸鎖の末端に位置し、シトクロム *c* (Cyt *c*) から電子を供給されることで酸素を還元して水に変換し、呼吸鎖電子伝達系を終結させる重要な役割を果たしている。しかしながら、タンパク質同士の相互作用は完全に解明かされていないわけではなく、新薬や生体模倣触媒開発などの観点からその原理解明が求められている。

表面増強赤外吸収 (SEIRA) 分光計測には表面選択律が存在し、電極表面と垂直な方向に振動する分子を選択的に捉えられる。CcO のような膜タンパク質の場合、膜貫通部位に見られる α -ヘリックス構造由来のアミド I/II バンドのピーク強度比から、表面配向の議論が可能である。そのため、固定化した CcO の配向が Cyt *c* との会合にどのような影響を与えるのか測定することができる。本研究では、自己組織化単分子膜 (SAM) を介して金電極表面に CcO を固定化し、脂質二分子膜 (BLM) 中における Cyt *c* との会合過程を SEIRA 分光計測によって追跡した。

2. 実験

無電解めっき法により Si prism 表面に作製した金薄膜に SAM を形成した。SAM は 3-mercaptopropionic acid (MPA) または 3-mercapto-1-propanol (MPL) のアルカンチオールを用いて、MPA と MPL の比率の異なる混合 SAM を調製した¹⁾。アミド結合形成試薬を用いてカルボキシ基末端に CcO を固定化し、1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC) をリン脂質とした

BLM を構築した²⁾。BLM 構築した電極表面に対し、Cyt *c* をキャストし、CcO との会合過程を SEIRA 分光計測により追跡した。

3. 結果

Cyt *c* と CcO の会合過程を追跡した結果、Cyt *c* 由来の 1650 cm^{-1} および 1450 cm^{-1} に観測されるアミド I, II のバンド強度がそれぞれ正方向に増大した (Fig. 1)。このことから、BLM を構築した電極上に対する Cyt *c* の吸着が示唆された。しかしながら、最終的なアミド I, II のバンド強度は SAM の組成比に大きく依存した。カルボキシ基末端の多い MPA:MPL=3:1 の SAM を用いた際に CcO の Cyt *c* 吸着サイトが溶液側に露出していることが示唆された。また、BLM を構築した CcO 固定電極を用いて酸素雰囲気下において電気化学計測を行うと、酸素還元電流が観察され、Cyt *c* と会合させることで酸素還元電流が増加した。

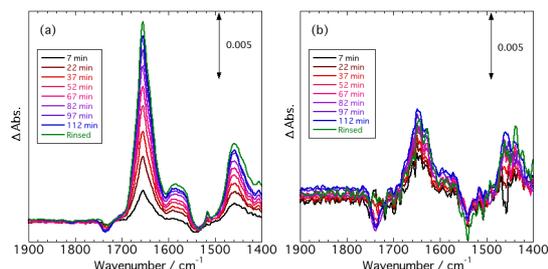


Fig. 1. (a) MPA:MPL=3:1 および(b) 3:1 の SAM に固定化された CcO に対する Cyt *c* 会合過程の SEIRA 差スペクトルの経時変化。Cyt *c* キャスト時刻を $t = 0$ min とし、バックグラウンド : Cyt *c* キャスト前のスペクトル。

文 献

- 1) M. Kato *et al*, *J. Phys. Chem. Lett.*, **9**, 5196 (2018).
- 2) M. Kato *et al*, *Electrochim. Acta*, **373**, 137888 (2021).

*E-mail: iyagi@ees.hokudai.ac.jp

交互蒸着法により作製した共有結合性有機構造体自立膜: 構造評価と CO₂ 分離機能

○加藤 将貴¹, 柳瀬 隆², 長浜 太郎³, 島田 敏宏^{3*}

¹北海道大学大学院総合化学院, ²東邦大学理学部, ³北海道大学工学研究院

Free-standing covalent organic framework films prepared via alternating deposition: structural analysis and CO₂ separation performances

○Masaki Kato¹, Takashi Yanase², Taro Nagahama³ and Toshihiro Shimada^{3*}

¹Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University, ²Faculty of science, Toho University and ³Faculty of Engineering, Hokkaido University

1. 緒言

2次元の周期的な細孔を有する有機材料である共有結合性有機構造体(Covalent Organic Frameworks, COF)は,原料分子の設計により細孔に目的の機能を付与できるため,吸着材,電極触媒,分離膜など様々な応用が期待されている.近年,このような応用を目指してCOFを切れ目のない1枚の自立膜として作製する手法の開発が進められている[1].しかし,これまで自立COF膜は全て液相合成により作製されているため,膜厚の精密な制御や有機溶媒の除去が困難という問題点がある.そこで我々は化学量論を制御した膜を作製できる交互蒸着法[2]を用いて,気相中からCOF膜を作製する新たな手法を開発した.また,COF膜の分離膜としての応用を指向して,CO₂/N₂分離性能の評価を行った.

2. 実験手法

KCl基板の上に1,3,5-Tris(4-aminophenyl)benzeneと1,4,5,8-Naphthalenetetracarboxylic dianhydrideを交互に蒸着した後,真空加熱処理を行うことでFig.1に示すイミド結合を有するCOF膜を作製した.膜の構造評価はFourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Atomic Force Microscopy (AFM), High-Resolution Scanning Transmission Electron Microscopy (HR-STEM)を用いて行った.CO₂/N₂分離性能は,QMSとキャパシタンスゲージを取り付けた自作の装置を用いて,支持体上に乗せた自立COF膜にCO₂,N₂の純粋,ならびに混合気体(モル比=1:1)を透過することで評価した.

3. 結果と考察

原料の蒸着比率により最適なアニーリング条件が異なることが赤外分光の結果より明らかになった.特に,高温アニーリング試料ではランダムに配列した網

目構造が観察された(Fig.1.(a)).一方,低温アニーリング試料ではそのような構造は観察されなかった.これは,既報のCOF膜作製法と同様に,交互蒸着法においても,原料組成比とアニーリング条件が網目構造形成のパラメータとして重要であることを示している.さらに,細孔が気体透過経路として働くことで,高温アニーリングCOFは低温アニーリングCOFと比較して約30倍気体透過量が大きいとの結果が得られた.また,COF膜のCO₂とN₂の選択性能は膜間差圧が10⁵Paの時に4.6となった(Fig.1.(b)).

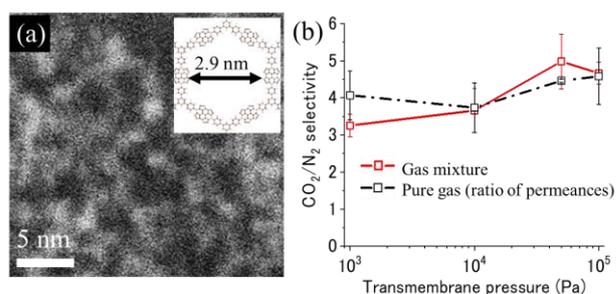


Fig 1. (a) 高温アニーリングしたCOF膜のHR-STEM像. 右上の挿入図は作製したCOFの構造. (b) COF膜のCO₂/N₂選択性能の供給圧力依存性.

文 献

- [1] H. Wang *et al.* *Chem. Soc. Rev.*, 48, 488-516 (2019)
- [2] T. Yanase *et al.* *Jpn. J. Appl. Phys.* 51 041603 (2012)
- [3] Y. Mo *et al.* *ACS Nano*, 11, 11, 11694-11700 (2017)
- [4] X. Liu *et al.* *JACS.*, 135, 28, 10470-10474 (2013)

*E-mail: shimadat@eng.hokudai.ac.jp

原子間力顕微鏡による高分子ナノメカニクスの研究

○中嶋 健^{1,2*}¹東京工業大学物質理工学院, ²東京大学大学院工学系研究科

Research on Polymer Nanomechanics Using Atomic Force Microscopy

○Ken Nakajima^{1,2*}¹Tokyo Institute of Technology, ²The University of Tokyo

1. はじめに

本講演では演者がこれまで行ってきた原子間力顕微鏡 (AFM) をベースにしたナノメカニカル計測、特にその高分子材料表面への応用に関する研究について紹介する。AFM は究極的には原子分解能を有する走査プローブ顕微鏡 (SPM) の一種であるが、そこで用いられる探針を材料表面に押し込む過程で得られる力学応答から、材料表面の力学物性をナノからもう少し大きいスケールの分解能で調べることができる。演者は ISO 標準化のステージでも TC201/SC9 Scanning Probe Microscopy WG7 Mechanical Properties of Materials の主査として活動し、AFM ナノメカニクスとして知られるこの手法を SPM 業界に広めている。特に Johnson、Kendall、Roberts らによって構築された JKR 接触理論を AFM フォースカーブ測定に適用し、柔軟な材料の弾性率を決定する手続きについては ISO 21222 として国際標準化されるに至っている¹⁾。現在では多くの AFM ベンダーの解析ソフトにこの手法が採用されている。

講演では上記の AFM ナノメカニクスを「高分子材料科学」、「高分子物理学」に関するさまざまな課題に適用した事例について紹介する。例えば、Fig. 1 にカーボンブラック (CB) を 30 phr 配合した架橋イソプレンゴム (IR) の JKR 弾性率像を示す²⁾。走査範囲は 1.0 μm である。弾性率の高い CB 領域および弾性率 2 MPa 程度のゴムマトリックス領域に加え、中間的な弾性率をもつ界面領域が可視化されている。この界面の可視化は学術的興味に止まらず、その制御がゴムコンパウンドの物性を制御する鍵であるとして、工業的にも意義深い。ここに示した例以外にもいくつかの話題について限られた時間の中で紹介する予定である。

高分子は完全な弾性体ではない。いわゆる「粘弾性体」である。上記の接触理論は弾性体を仮定した理論

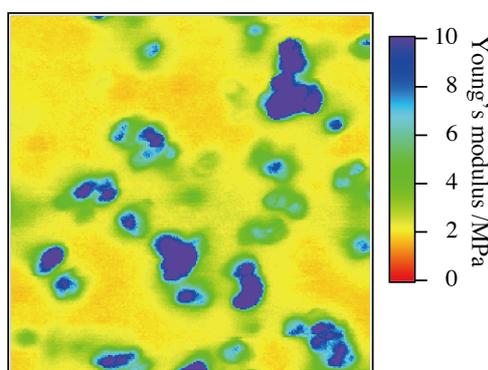


Fig. 1. CB 充填 (30 phr) 架橋 IR の JKR 弾性率像 (1.0 μm)

であるため、そのままでは活用できない。現時点で粘弾性体を対象にした接触理論で、AFM ナノメカニクスの標準となっているものは存在しない。ここではその現状といくつかの可能性も論じる予定である³⁾。また巨視的な粘弾性評価手法にヒントを得て、ナノレオロジー-AFM と呼ばれる新規の装置も開発し⁴⁾、いくつかの応用を行っている。そこでは 6 桁に及ぶ幅広い周波数で試料の貯蔵弾性率・損失弾性率などを画像として可視化し、材料の粘弾性をマッピングすることができる。その最新の話題についても紹介を行いたいと考えている⁵⁾。

文 献

- 1) <https://www.iso.org/standard/70110.html> (最終アクセス 2021 年 8 月 28 日)
- 2) 中嶋 健, 伊藤万喜子, 梁 暁斌: 接着の技術 **35**, 13 (2016).
- 3) 中嶋 健, 関根 慧, 茂木 楓, 伊藤万喜子, 梁 暁斌: 色材協会誌 **93**, 321 (2020).
- 4) T. Igarashi, S. Fujinami, T. Nishi, N. Asao, K. Nakajima: *Macromolecules* **46**, 1916 (2013).
- 5) E. Ueda, K. Nakajima: *J. Soc. Rheol., Jpn.* **48**, 91 (2020).

*E-mail: knakaji@mac.titech.ac.jp

非平衡開放系における脂質膜界面でのアミロイドβ凝集の分子機構解明

○飯田 茜¹, 並河 英紀^{2*}¹山形大学大学院理工学研究科, ²山形大学理学部

The molecular mechanism of amyloid β aggregation at lipid membrane interface under a non-equilibrium open system

○Akane Iida¹ and Hideki Nabika^{2*}¹Graduate School of Science and Engineering, Yamagata University, ²Faculty of Science, Yamagata University

アルツハイマー病 (AD) は、アミロイドβ (Aβ) 蛋白質の脳細胞表面への凝集・蓄積を特徴とした完治が困難な疾患であり、その分子機構は未解明な部分が多い。機構解明を困難にする理由の一つとして脳神経間を流動する間質液の存在が挙げられ、Aβを供給・排斥することで高度な非平衡開放空間を維持している。間質液は、Aβの供給・排斥によりAβ凝集を促進する一方、老廃物除去機構によりAβ凝集を抑制する作用も報告されている。従って、非平衡開放系を考慮した系にてAβと細胞膜との相互作用機構の解明が必要不可欠であるが、既報ではシャール等のAβの供給・排斥を無視した平衡閉鎖系にて実験が行われてきた。そこで本研究では、脂質膜上のAβ凝集の観察が可能な非平衡開放実験系を独自に構築し、本系にてAβの微視的・巨視的凝集過程を追跡することで、系統的な凝集機構解明を目指した。

微視的なAβ観察ではセルホルダーとペリスタポンプを用いて実験系を構築し、基板にDOPC二重膜を製膜した。その後Aβを添加して終濃度を5 nMとし、1時間で全量循環する速度でAβ溶液を流通させ、全反射照明蛍光顕微鏡によりDOPC膜上のAβ挙動を観察した。また平衡閉鎖系では流通を止め静置することで同様の実験を行った。

はじめに、Aβの単量体の蛍光強度を導出するために、個々の輝点の蛍光強度を追跡した。量子化された蛍光退色から単量体の蛍光強度を特定し、蛍光強度分布より単量体から五量体までの定量化を可能とした。そこで、平衡閉鎖系と非平衡開放系にてAβ添加後0.5時間と5時間後の会合数変化を定量化した。その結果、平衡閉鎖系でははじめAβの吸着が進行したが、5時間経過時までに凝集の進行に伴い単量体の吸着量が減少した。一方、非平衡開放系では凝集が進行しても単量

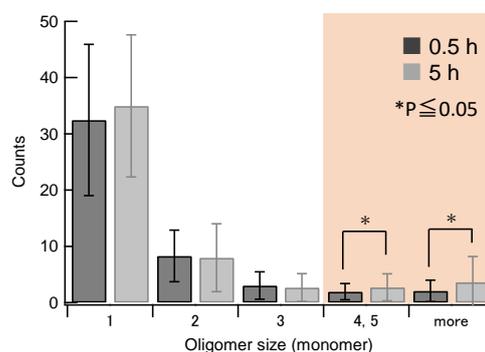


Fig. 1. 非平衡開放系における0.5 hおよび5 h後のAβの会合数ごとの個数変化。標準偏差は $P \leq 0.05$ 、0.5 h後の $n=40$ 、5 h後の $n=56$ 。

体の吸着量が維持されることが確認された (Fig. 1.)。以上の結果より、平衡閉鎖系では吸着・凝集反応ともに平衡定常状態へ、非平衡開放系では非平衡定常状態へ収束する機構が提案される。ただし非平衡定常状態も最終的には吸着量が飽和することが予想される。これらの結果はシミュレーションでも同様の結果を得ており、非平衡開放系がAβの吸着を維持し凝集を促進することが明らかとなった。

次にDMPC膜上で5 μMのAβを供給・排斥し巨視的凝集挙動を観察した。その結果、24時間後の平衡閉鎖系では1 μmの凝集体が観察されたのに対し、非平衡開放系では30 μm程度の凝集体が確認された。従って、巨視的凝集過程においても非平衡開放系が凝集体の形成を促進していることが明らかとなった。

以上より、本研究では間質液による非平衡開放状態の維持がAD病理の進行に関与していることを示唆し、非平衡開放条件下における実験的検証の重要性を提唱する。

文 献

1) A. Iida et al., *J. Phys. Chem. Lett.*, **12**, 4453-4460 (2021).

*E-mail: nabika@sci.kj.yamagata-u.ac.jp