

水晶振動子マイクロバランス法を用いた自己組織化単分子膜上に 吸着したタンパク質の解析：吸着量及び吸着による構造変化

Analysis of protein adsorption on self-assembled monolayers by the quartz crystal
microbalance method: amounts of adsorbed proteins and their structural changes

東工大総理工 〇(M1) 水下 佳紀, 関根 泰斗, 久保 光亮, 小出 裕基, 矢野 隆章,

原 正彦, 林 智広

Tokyo Tech, 〇 Yoshiki Mizushita, Taito Sekine, Kosuke Kubo, Yuki Koide, Taka-aki Yano,

Masahiko Hara, and Tomohiro Hayashi

E-mail: mizushita.y@echem.titech.ac.jp

1. 緒言

細胞は材料表面上に形成されたタンパク質の層を足場として材料表面に接着し、足場タンパク質の量や構造は細胞の動態(接着、活性化、細胞死等)に影響を与える。そのため材料表面上における細胞の動態が決定されるメカニズムを理解するためには、材料表面上に吸着したタンパク質の量や構造に関する知見が必要となる。自己組織化単分子膜(SAM)を用いた今までの研究から、高い親水性を示す SAM に対してはタンパク質の吸着が少ない傾向にあることが示されている。しかしながら例外も多く、材料表面の物理的・化学的性質がタンパク質の吸着量と構造にどのような影響を及ぼすのかについては不明な点が多い。そこで、本研究では粘弾性測定が可能な水晶振動子マイクロバランス法(QCM-D)を用いて様々な末端官能基を持つ SAM 表面へのタンパク質吸着量及びに吸着に伴う構造変化を測定し、SAM 表面の物理的・化学的性質、末端基の種類との相関、さらに抗タンパク質吸着特性の物理的起源について詳細に議論した。

2. 実験方法

SAM 作製のために Fig. 1 に示した末端基を持つチオール溶液を用意した。Au(111)基板と QCM-D の Au センサーを各チオール溶液に浸漬させて SAM を構築した。Au(111)基板上の SAM 表面の親水性を接触角測定装置で測定し、QCM-D の Au センサー上の SAM 表面の PBS 中におけるフィブリノーゲンと BSA の吸着量および粘弾性を QCM-D で測定した。

3. 実験結果・考察

親水性末端基である EG3-OH、疎水性末端基である EG3-OMe を有する分子のいずれの SAM も高い抗タンパク吸着特性を示した。さらに様々な末端基を持つチオール分子からなる SAM の水の接触角とタンパク質の吸着量の相関(Fig. 1)から、抗タンパク質吸着特性は単純に SAM 表面の親水性に依存しないことが判明した。続いて粘弾性測定から、同じ最末端官能基であっても EG ユニットを有する分子の SAM 表面において、タンパク質の吸着に伴う構造変化は比較的小さいということわかった。また、近年の我々の研究において、(EG3-OH)-SAM の表面近傍には構造化した水分子の層が形成されており、それが物体の接近を妨げていることが分かっている¹⁾。以上のことから、SAM の抗タンパク質吸着特性およびタンパク質の吸着に伴う構造変化は水の接触角測定のような巨視的な手法で観測された SAM 表面の親水性では説明できず、微視的な手法で観測された構造化した水分子の層の有無に相関性があることがわかった。

1) T. Hayashi *et al.*, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14**, 10196-10206 (2012).

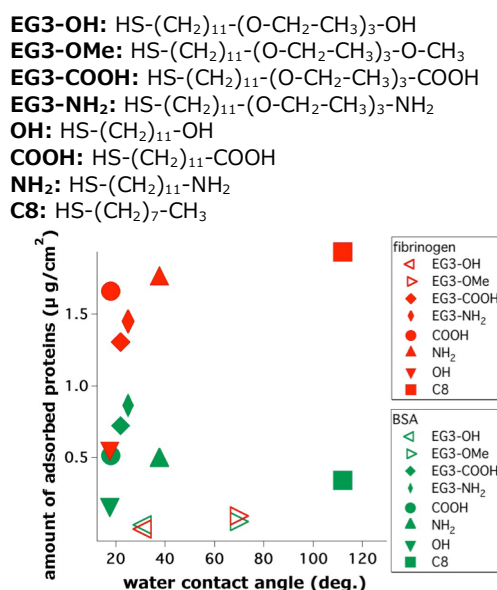


Fig. 1 The amounts of adsorbed BSA and fibrinogen in the PBS solution as a function of water contact angles.