

水中でのガラス基板アミノ基修飾における温度の効果

Temperature effects on process for amino-functionalization of glass surface in water

JST-CREST¹⁾, 東大院工²⁾○倉持 宏実^{1,2)}, 小野 愛子²⁾, 上野 真吾^{1,2)}, 一木 隆範^{1,2)}JST-CREST¹⁾, Sch. Eng. Univ. of Tokyo²⁾○Hiromi Kuramochi^{1,2)}, Aiko Ono²⁾, Shingo Ueno^{1,2)}, Takanori Ichiki^{1,2)}

E-mail: kuramochi.hiromi@bionano.t.u-tokyo.ac.jp

【緒言】基板上で生体分子を評価するには、表面への分子固定の均一性と、分子機能を阻害するコンタミネーションの低減が正確性の鍵となる。固定化基板には、シランカップリング剤 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) でアミノ基修飾したガラスや Si 表面を用いるのが一般的である。修飾プロセスにおける APTES の濃度調整には、多くの場合、トルエンなどの有機溶媒[1]が用いられるが、残留溶媒の影響が懸念される。水溶媒では、アミノ基終端表面の均一性と平坦さがトルエン溶媒に及ばない [2] が、水は生体分子に無害であり、環境に対して低負荷、疎水性の残留分子による反応阻害が生じないなど、利便性が高い。トルエン溶媒と同レベルの表面修飾を行うには、複雑な反応を制御する必要があり、現時点では修飾条件の詳細な検討が不足している。

【実験および結果】条件を体系的に変化させて APTES 水溶液でガラス基板をアミノ基修飾し、表面の均一性と平坦さから、修飾に適した条件を検討した。前回報告した、APTES 水溶液の pH 最適領域内で、温度・昇温速度・濃度などを変化させ、原子間力顕微鏡(AFM)、アミノ基反応性蛍光試薬、X 線光電子分光を用いて、表面アミノ基の分布と活性を比較した。昇温速度が速くなると、凝集物は大きくなり (Fig.1)、反応温度と共に、縮合反応に大きな影響を及ぼすことが分かった。また、検出可能な表面アミノ基の密度を得るには、0.5%以上の APTES 水溶液濃度が必要であった (Fig. 2)。更に thiol-DNA-Cy5 及び DNA-Cy5 をアミノ基修飾表面に固定化し、蛍光測定の結果から NHS-マレイミドを介さない非特異吸着の割合を求めた。これらを総合して最適条件を求め、分子レベルで平坦なアミノ単分子層を作製した。

[1] S. G. Thakurta and A. Subramanian, Colloids and Surfaces A 414, 384 (2012).

[2] W. Wang and M. W. Vaughn, Scanning 30, 65 (2008).

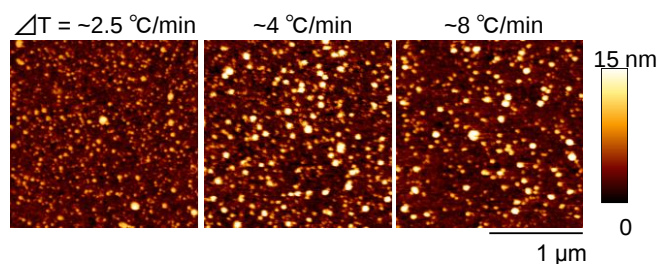


Fig.1 AFM images of APTES treated glass surfaces with different rate of temperature increase (pH 4, 70°C).

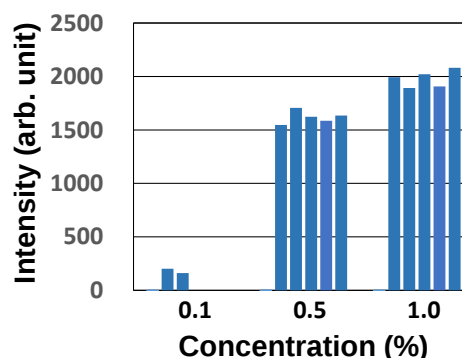


Fig.2 Fluorescence intensity of NHS-fluorescein reacted with surface amino-group made from APTES solution of different concentration