

課題番号 : F-15-HK-0085
利用形態 : 共同研究
利用課題名(日本語) : LDLの吸着に最適な金基板の作製
Program Title (English) : Preparation of Au layer for binding of Biomolecule such like lipoprotein
利用者名(日本語) : 武田晴治
Username (English) : Seiji Takeda
所属名(日本語) : 北海道大学大学院保健科学研究所
Affiliation (English) : Faculty of Health Sciences, Hokkaido University

1. 概要(Summary)

生体分子の観察に原子間力顕微鏡(AFM)が利用されることが多くなってきている。しかし、観察には基板上に固定化する必要がある。このとき基板側には原子レベルで平坦な面が要求される。研究利用で多い基板としては、シリコン、グラファイト、マイカ、金など利用されている。

本研究はアテローム性動脈硬化の引き金になるとして知られている低比重リポタンパク質(LDL)の酸化状態の評価を一粒子レベルで AFM を用いて硬さなどを評価して、その分布の変化を研究している。LDL の粒子径は約 25 nm であるため、その物理特性の分布を測定する上では LDL を効率よく吸着させる構造(ステップの数や大きさなど)と広い平坦性がある基板が求められる。金基板は他の基板と比較して LDL の吸着が大きいため、本研究ではマイカ基板上にエピタキシャル成長させた Au(111)薄膜を作製した。さらに、Au(111)薄膜の平坦性やステップおよびテラス構造を制御する目的として真空中熱処理や水素中熱処理をおこない、LDL などの吸着性を検討した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

EB 加熱・抵抗加熱蒸着装置(AV096-000); ナノカーボン成長炉 Easy Tube System

【実験方法】

Au(111)薄膜は劈開したマイカ基板上に抵抗加熱蒸着法によりエピタキシャル成長させた。蒸着は 500°C の基板温度、0.1~0.5 nm/s のレートで行ない、膜厚は 100 nm とした。さらに平坦化および膜質向上のため水素雰囲気中で 500°C の熱処理をおこなった。

作製した金基板を PBS(リン酸緩衝溶液 pH7.4)に浸し室温で AFM により形状を観察した。また、血清から分画した LDL(分画方法は文献参照、濃度 0.1 mg/ml)を基板に滴下して室温で 5 分静置した後、PBS で洗浄した後

にリポタンパク質の形状を測定した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

作製した金基板を AFM で観察したときに得られたトポグラフィ像および LDL を吸着したときに得られたトポグラフィ像を示した。Fig. 1 の a) と b) を比較すると、20~30 nm の小さい粒子が金表面の平坦な領域に主に吸着していることが分かる。これらは LDL であると考えられる。しかし、固定化前の金のトポ像より金(111)面のステップに 20~50 nm の粒子が存在していることが分かり、これらは作製時の段階で生成している。大きさが LDL と近いことよりこれらの構造が生成しない条件が必要になると考えられる。

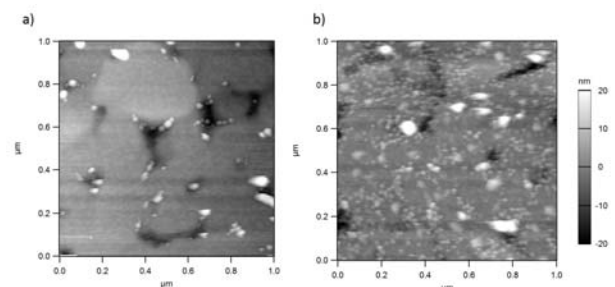


Fig. 1 Topography of Au on mica before (a) and after (b) immobilization of low density

4. その他・特記事項(Others)

・共同研究者

千葉仁志, 北海道大学大学院保健科学研究所
末岡和久, 北海道大学大学院情報科学研究科
スバギョアグス, 北海道大学創成研究機構

・科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金)基盤研究(C) 15K08607 の研究の一部である。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

S. Takeda et al. "Elastic modulus of low-density lipoprotein as potential indicator of its oxidation" Ann Clin Biochem, 2015 Nov; 52(Pt 6):647-53.

6. 関連特許(Patent)

なし