

グラフェン酸化物上に形成した脂質二重膜への量子ドット修飾

(豊橋技科大) ○岡本 吉晃・茂木 俊憲・岩佐 精二・サンドウー
アダルシュ・手老 龍吾

【序】脂質二重膜は細胞膜の基本骨格であり、膜内外で情報、物質、エネルギーをやり取りするための反応場を形成する役割を持つ。我々はグラフェンを利用した生体膜モデル上での新規生体分子検出手法の開発を目的として、グラフェン酸化物(GO)上に支持平面脂質二重膜(SLB)を形成する方法を確立した¹。本研究では、GO上に形成したSLBの流動性を評価するため、SLBを形成した後に高輝度プローブである量子ドット(Qdot)による標識と蛍光一粒子追跡(SPT)による拡散性の評価を行った。

【実験】 Dioleoylphosphatidylcholine (DOPC)と dipalmitoylphosphatidylthioethanol (DPPE)の混合脂質ベシクルの懸濁液を調製した¹。Modified Hummer's 法に従って調製した GO 懸濁液を熱酸化 SiO₂/Si 基板にドロップキャストした後、ベシクル融合法により SLB を形成した¹。表面に COOH 基を有する Qdot を、マレイミド基とアミノ基を有するヘテロ型リンカー試薬で修飾し、あらかじめ調整した SLB 表面に結合させた。SPT 計測は倒立型蛍光顕微鏡を用いて斜入射照明により行った。

【結果・考察】 Qdot を SLB 表面に標識するにあたり、非特異吸着が問題となる。リンカー試薬のみで修飾した Qdot は拡散せず、これは SLB 表面への非特異吸着、あるいは多数のチオール末端脂質と結合しているためだと考えられる。そこで吸着抑制剤としてアミノエトキシエタノールをリンカー試薬に混ぜて修飾し、非特異吸着を防ぎつつ Qdot と脂質との反応点を制御することで、SLB 表面を拡散する Qdot が観察された。Fig.1a に Qdot 標識した SLB/SiO₂ 表面の蛍光一粒子像と拡散軌跡を示す。Qdot 一粒子だけの平均二乗変位(MSD)解析(Fig.1b)により得られた拡散係数(D)を求めるのに十分長い軌跡を取得することができ、その最大値は $0.64 \mu\text{m}^2/\text{s}$ であった。しかし、多数の粒子間での平均は $D=0.26\pm0.15 \mu\text{m}^2/\text{s}$ とばらつきが大きく、かつ過去のデータと比べて小さかった。そのため、Qdot が複数の脂質と結合していることが予想される。最適化した修飾条件の詳細と、GO 上の SLB への Qdot 修飾の結果についても発表する。

【参考文献】

¹ Y. Okamoto et al., J. Phys.: Conf. Ser. 352 (2012) 012017.

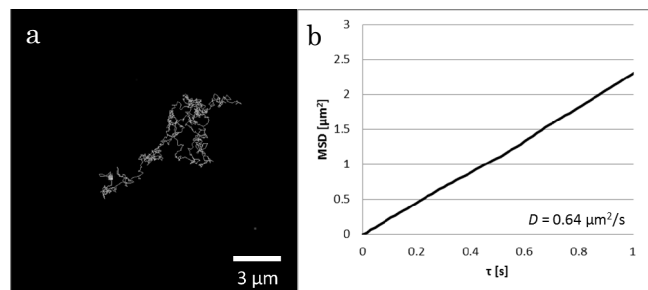


Fig.1 (a) Single particle image and the trajectory of Qdot conjugated to the SLB/SiO₂. (b) MSD vs time interval (τ) plot obtained from the single particle trajectory.

Conjugation of Quantum Dots to Supported Lipid Bilayers Formed on Graphene Oxide

Y. OKAMOTO, T. MOTEGI, S. IWASA, A. SANDHU, R. TERO (Toyohashi Univ. Tech., y093506@tut.ac.jp)

A lipid bilayer is a fundamental structure of plasma membrane, and plays important roles for membrane reactions. We have established the fabrication protocol of support lipid bilayers (SLBs) on the graphene oxide (GO) to develop a new method to measure the behavior of biomolecules in the plasma membrane model using graphene. We tried to conjugate a quantum dots (Qdots) to the surface of SLB to evaluate its fluidity of the SLB on GO. Carboxyl-coated Qdot was modified by the amine-maleimide hetero-cross linker and added to the SLB containing thiol-terminated lipid. Aminoethoxy ethanol was mixed with the linker to hinder the non-specific adsorption and to control the number of the maleimide group on the Qdot surface. We observed the diffusion of Qdot on the SLB surface by single particle tracking, and the diffusion coefficient obtained from the mean-square displacement analysis of Qdot was $0.64 \mu\text{m}^2/\text{s}$ at maximum.