

Title	Studies on Membrane Surface-Enhanced Raman Spectroscopy by Using Phospholipid Membrane Modified with Nanoparticles
Author(s)	Faried, Miftah
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/77516
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

Abstract of Thesis

Name (MIFTAH FARIED)	
Title	Studies on Membrane Surface-Enhanced Raman Spectroscopy by Using Phospholipid Membrane Modified with Nanoparticles (ナノ粒子修飾リン脂質膜を用いた膜表面増強ラマン分光に関する研究)
Abstract of Thesis <p> Studies of biological membranes have been carried out intensively due to their many functions and applications. Various techniques have been utilized to analyze lipid self-assembly systems. The fluorescence probe analysis method has been a well-known approach to characterize the lipid membrane system. However, the fluorescence probe can sometimes disturb the membrane itself, and might have phototoxic effects. Therefore, an alternative method using nanoparticles and Raman spectroscopy was proposed. The nanoparticles have been employed to enhance Raman signals, which is commonly known as surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS). The objective of this thesis is to establish an alternative analysis approach for lipid biomembranes using Membrane-SERS (MSERS). </p> <p> In chapter II, the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) has been done by using ultrasound irradiation as the reducing agent and seaweed <i>K. alvarezii</i> as the natural media. The seaweed <i>K. alvarezii</i> with AgNPs was characterized by UV-vis spectroscopy which showed the localized surface plasmon resonance (LSPR) of the AgNPs. Transmission electron microscopy (TEM) results showed that almost spherical AgNPs with an average diameter of 11.78 nm were successfully synthesized. </p> <p> In chapter III, the MSERS study for 1,2-dioleoyl-<i>sn</i>-glycero-3-phosphocholine (DOPC) lipid membrane has been constructed using AgNPs with several different sizes (AgNP@lipids). The green (532 nm) and red laser (785 nm) were employed to study the effect of excitation wavelength and the enhancement of Raman intensities of liposome membranes. The AgNP@lipids has been used to understand the fundamental behavior of lipids and their biological roles. They showed increased Raman intensities after applying the AgNPs; however, high aggregation also occurred, which was related to the silver properties. </p> <p> In chapter IV, the MSERS technique was applied to gold nanoparticles (AuNPs). Small and large sizes of gold have been utilized for the analysis of modified lipid systems (AuNP@lipids). The MSERS-based characterization for zwitterionic DOPC and cholesterol lipid system was compared using AuNPs with different sizes. The Raman signals of the fingerprint and CH regions of the attached lipid on AuNPs were enhanced differently. Therefore, AuNPs can be potentially used for lipid analysis using MSERS. </p> <p> In chapter V, for further MSERS lipid analysis, 1,2-dimyristoyl-<i>sn</i>-glycero-3-phosphorylglycerol (DMPG) was used. The MSERS method using different sizes of AuNPs has been studied. The anionic lipid-coated AuNPs (AuNP@lipids) resulted in low enhancement of Raman signals due to the loss of hot spot formation caused by electrostatic repulsion of the lipid. On the other hand, the present MSERS method was found to improve the analysis of anionic lipid membranes. </p> <p> In chapter VI, the MSERS method of AuNPs has been used to observe the dynamic behavior of the lipid membranes and amyloid-β. The AuNP@lipids with amyloid-β was found to enhance the Raman signals of both lipid and amyloid-β. The amyloid-β has been analyzed, and its fibrillation behavior was also monitored based on Raman intensities. This method successfully determined the behavior of amyloid-β on the lipid biomembrane. </p> <p> In chapter VII, the general conclusion of the MSERS strategy was to analyze lipid membranes with AgNPs and AuNPs. This provided new insights into enhanced lipid membrane signals that could be an alternative lipid biomembrane analysis method. </p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Miftah FARIED)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	馬越 大
	副 査	教 授	平井 隆之
	副 査	教 授	水垣 共雄
	副 査	准教授	岡本 行広

論文審査の結果の要旨

生体膜機能を活用するために、生体膜やモデル生体膜(リン脂質2分子膜)が有する特徴・特性を定量的・体系的に評価する手法が数多く報告されている。一般的には、蛍光分子プローブ法が最もよく利用される手法であり、生体膜・モデル生体膜(脂質2分子膜)の特性を、簡便かつ網羅的に解析手法としては優れている。しかしながら、膜を構成する成分を分子レベルで解析する用途としては限界があった。本学位論文では、金属ナノ粒子とラマン分光法を融合させた新奇な手法が提案されている。既に知られている表面増強ラマン分光法を基盤とし、粒径の異なる金属ナノ粒子を脂質膜近傍、あるいは脂質膜内部に修飾することにより、通常は微弱な脂質分子のラマン散乱強度を増強させる手法を確立した。第1章では、金属ナノ粒子の調製法および表面増強ラマン分光の基礎に関する背景を調査した。第2章では、Agナノ粒子の調製をケーススタディとして、各種条件におけるTEM/DLS観察を通じて、金属ナノ粒子の調製方法を明らかにし、均一なナノ粒子を調製するために必要な条件について明らかにした。第3章では、粒径の異なるAgナノ粒子を、標準的な中性脂質(DOPC)膜に修飾した結果、脂質膜内部に存在する官能基のシグナルが増強されることを示した。第4章では、前章で示した方法論をAuナノ粒子に適用した。Auナノ粒子を用いたDOPC膜を調製した結果、Agナノ粒子と比較して、リン脂質分子のラマン散乱強度が大きく増強されることを示した。特に、各官能基由来のラマンシフトに相当するピークを詳細に解析した結果、脂質膜内部の異なる位置に存在する各種官能基のラマン散乱強度の増強度は、ナノ粒子のサイズおよび修飾方法に依存することを明らかにした。第4章では、Auナノ粒子を、生体膜の主成分の一つである負電荷脂質(DMPG)膜に修飾して、標準的なラマン分光解析を実施し、第5章では、その結果に基づいて、Auナノ粒子を修飾したモデル生体膜リポソーム(負電荷DMPG/DMPS)とAlzheimer病関連ペプチド(Amyloid- β)との相互作用を解析した。その結果、微弱なラマン散乱強度ゆえに、通常の実験では検出できなかった、リン脂質分子ならびにAmyloid- β 分子、何れについても、強いラマン増強効果が得られることを明らかにした。以上のように、本学位論文では、金属ナノ粒子の調製方法、Ag or Auナノ粒子を修飾した脂質膜の調整方法、ならびに、その表面増強ラマン分光解析を実施して、高感度に生体膜の情報を獲得する手法を確立し、それにより生体高分子-生体膜の相互作用を解析することが可能であることを示した。よって、博士(工学)の学位論文として価値のあるものと認める。