

自発展開法による脂質ラフトドメイン形成

Formation of lipid-raft-like domains by self-spreading method

横国大工 °横田 圭司, 國井 俊祐, 豊城 晃彦, 山崎 憲慈, 荻野 俊郎

Yokohama National Univ.,

°Keiji Yokota, Syunsuke Kunii, Akihiko Toyoki, Kenji Yamazaki, Toshio Ogino

E-mail: yokota-keiji-gn@ynu.ac.jp

【はじめに】人工細胞膜である基板支持脂質二重膜は、膜タンパク質の素地として応用されている。自発展開法は脂質分子が自己組織的に脂質二重膜を形成する手法であり、この手法を用いると人工細胞膜マイクロアレイの集積度が従来(ベシクル融合)法に比べ原理的に 100 倍向上可能といった報告がある^[1]。また実際の細胞膜においては、脂質ラフトとよばれるスフィンゴミエリン(SM)やコレステロール(Chol)からなるマイクロドメインが膜タンパク質機能発現の場を提供している。本研究では、ラフト成分を含む三成分系脂質分子を自発展開させることにより、人工細胞膜に脂質ラフト構造を導入することを目的とした。

【実験方法】三成分系脂質分子には DioleoylPhosphocholine(DOPC)、SM、Chol の三成分を 1:1:1(モル比)の割合で用い、さらに蛍光標識された脂質分子を 1mol%加えた。この混合脂質を SiO₂/Si 基板上に付着させ、50°Cの緩衝溶液中で 30 分間自発展開を行った。その後、蛍光顕微鏡と原子間力顕微鏡の液中 Dynamic Force Mode (DFM)により観察を行った。

【結果】Fig.1 に展開された脂質二重膜の先端付近の蛍光顕微鏡像と DFM 像を、Fig.2 に脂質二重膜の展開起点付近の蛍光顕微鏡像と DFM 像を示す。蛍光顕微鏡像では暗いドメインが、DFM 像ではコントラストの明るいドメインがラフト(SM+Chol リッチな)ドメインである。今回蛍光顕微鏡像と DFM 像共にラフト構造の形成を確認できたが、先端付近では DOPC リッチなドメインの面積が多く、展開起点付近では SM リッチなドメインの面積が多いという結果になった。このような成分の偏りに関して、自発展開法により形成された脂質二重膜には密度勾配が生じ低密度の先端側には占有面積の大きな脂質分子が集まるといった報告がある^[2]。今回用いた脂質分子に関して、占有面積は二重結合が 1 つある SM よりも 2 つある DOPC の方が大きいと考えられ、そのため先端側に DOPC が集まり、展開起点側には SM が集まったと考えられる。

[1] K. Furukawa *et al.*, *Langmuir*. **27** (2011) 7341-7344.

[2] J. Nissen *et al.*, *Eur. Phys. J. B*. **10** (1999) 335-344.

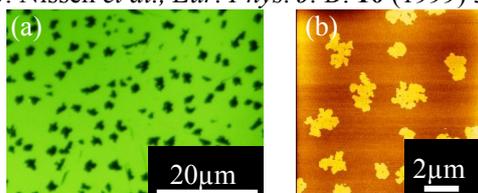


Fig. 1 A distant area from the lipid source.

(a) A fluorescence microscopy image.

(b) A DFM topographic image.

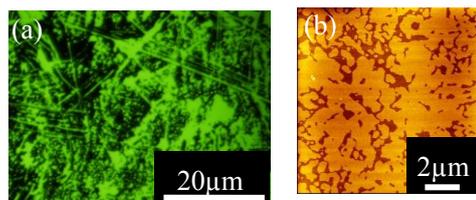


Fig. 2 A near area to the lipid source.

(a) A fluorescence microscopy image.

(b) A DFM topographic image.