

脂質膜シール微小井戸構造を用いた電気生理計測

Electrophysiological Detection Using Patterned Microwells Sealed with Lipid Bilayers

NTT 物性基礎研[○]榎村吉晃, Ruaridh Forbes, 大嶋梓, 住友弘二NTT Basic Res. Labs., [○]Yoshiaki Kashimura, Ruaridh Forbes, Azusa Oshima, Koji Sumitomo

E-mail: kashimura.yoshiaki@lab.ntt.co.jp

【緒言】我々はシリコン基板上の微小井戸構造を人工脂質膜でシールし、膜タンパク質を再構成することによって、シナプス型ナノバイオデバイスの実現を目指している。これまでに我々は、上記構造の作製方法や光学的手法によるデバイス動作確認について報告してきた[1,2]。本研究では、膜タンパク質研究のゴールドスタンダードとして電気生理学的手法によるデバイス動作の実現へ向けて、高ギガオームシーリングの形成、デバイスの低ノイズ化のためにデバイス構造の最適化を検討した。

【実験】底部に電極を備えた微小井戸(直径 2 μm , 深さ 1 μm)をシリコン基板上に作製した。微小井戸の周囲に金のリング構造を作製した(Fig. 1(b))。この基板をオクタデカンチオール/エタノール中に一晩浸漬させ、金リング表面への SAM 形成を行った。この基板に巨大脂質膜ベシクル(GUV)(DPhPC:Cholesterol=4:1 + Rhodamine-DPPE 1 mol%)を、100 mM NaCl(電気生理計測時)あるいは 5 mM CaCl_2 (蛍光計測時)中で沈降させ、微小井戸を脂質膜でシールした。

【結果と考察】Fig. 1(d)はカルセインを封入した微小井戸の蛍光像である。金リング内側をレーザで消光したところ、蛍光回復が観察されたことから、Fig. 1(a)で示したデバイス構造が実現されていることが確認できた。Fig. 2 は金リングのないデバイス(従来型デバイス)と金リング付きデバイスを用いて、微小井戸内に Ca^{2+} インジケータ(fluo-4)を封入し、蛍光強度の経時変化を観測した結果である。従来型デバイスでは、開始直後から蛍光強度の増大が見られた。これは、基板表面と脂質膜の水層から Ca^{2+} が流入してきたためであると考えられる。一方、金リング付きデバイスでは、観測中に蛍光強度の変化はほとんどなかった。これは、新たに導入した金リング上の SAM 構造により Ca^{2+} の流入が防がれたためであると考えられる。膜抵抗の測定をしたところ、従来型デバイスでは 4-10 G Ω 、金リング付きデバイスでは 20-100 G Ω 以上と一桁程度のシール抵抗の向上が見られた。バックグラウンドノイズ(rms)もそれぞれ、2.7 pA, 1.3 pA と 1.4 pA の減少が見られ、金リング付き構造が低ノイズ化に有効であることが示された。

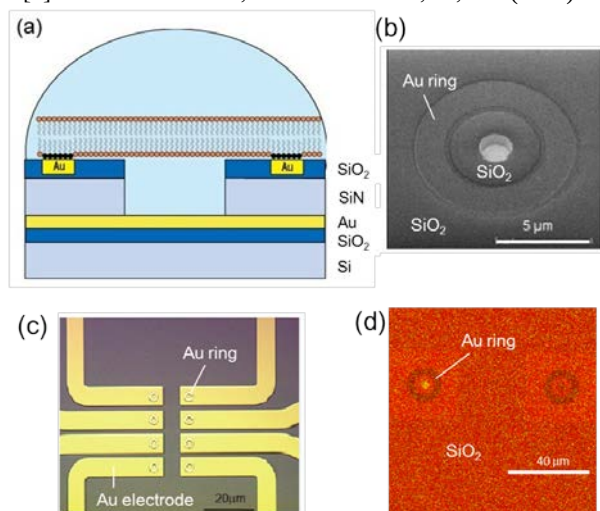
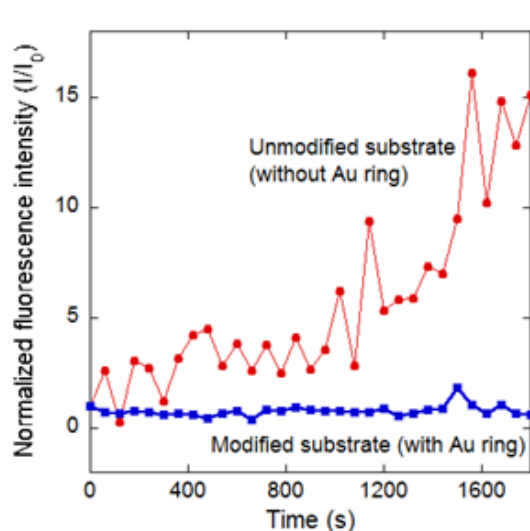
[1] K. Sumitomo *et al.*, Appl. Phys. Express, 3, 107001 (2010).[2] K. Sumitomo *et al.*, Biosens. Bioelec., 31, 445 (2012).

Fig. 1 (a-c) デバイス構造、(d) カルセイン封入微小ホール蛍光像。

Fig. 2 Ca^{2+} インジケータを封入した微小井戸の蛍光強度変化。