ナノホール上に形成した二分子膜へのベシクル融合観察

Bilayer Lipid Membranes Formed on Nano-holes

NTT 物性基礎研, ○大嶋 梓, 田中 あや, 樫村 吉晃, 住友 弘二

NTT Basic Res. Labs., [°]Azusa Oshima, Aya Tanaka, Yoshiaki Kashimura, Koji Sumitomo E-mail: oshima.azusa@lab.ntt.co.jp

【緒言】高度な分子認識機能を有する膜タンパク質を組み込んだナノデバイスは、創薬スクリーニングや高感度バイオセンサとしての応用が期待されている。膜タンパク質の機能を維持するための唯一のマトリクスである脂質二分子膜は安定性が課題となっていたが、微細加工基板との組み合わせることにより克服してきている。我々もシリコン酸化膜上に作製した微細孔に脂質二分子膜を形成することにより、安定化に成功している。「基板上に形成した脂質二分子膜への膜タンパク質の組み込みは、膜タンパク質を有したベシクルを融合させることによって行われる。そのため、ベシクルを基板上の脂質二分子膜へ効率的に融合させることは、膜タンパク質を基板上へ配置するために重要である。本研究では基板上に巨大ベシクル(GUV)によって形成した脂質二分子膜と微小ベシクル(SUV)間の静電相互作用による融合促進を行った。

【実験】ナノホール (直径 200 nm) を有する酸化膜が形成されたシリコン基板上に,カチオン性 GUV (EDPPE: DPhPC:Chol=1:7:2 + Rhodamine-DPPE) によって架橋膜を形成した。 架橋膜が形成 されているか確認のため,ホール内に 50 μMピラニンを封入した (Fig.1)。100 mM カルセインを 内包したアニオン性 SUV (DOPS: DPhPC:Chol=1:7:2 + Rhodamine-DPPE) を添加し,架橋膜への融合を蛍光により観察を行った。

【結果・考察】カチオン性 GUV を基板上に添加したところ、Ca²⁺や Na⁺等の金属イオンを含まない条件でも基板上への脂質二分子膜の形成が観測された。架橋膜が形成されたホールは、ピラニンに由来する蛍光が観測された。カルセインを内包したアニオン性 SUV による平面膜ーベシクルの融合は、支持膜部分の淵に SUV が融合することによる膜面積の増加が観察された。ホール内にベシクル融合によるカルセインの封入、および基板部分にはアニオン

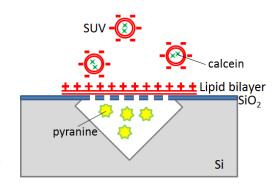


Fig.1 脂質二分子膜形成図

性 SUV の吸着・融合は観察されなかった。アニオン性 SUV が,カチオン性の架橋膜・支持膜に 選択的にベシクル融合しており,静電相互作用を利用する本手法は SUV のターゲットとなる架橋 膜・支持膜にだけ融合させることに有効であることを示された。しかし,支持膜淵部分での融合が支配的である。より架橋膜部分で融合を促進させることが必要であり,架橋膜部分へのベシクル融合を促進する因子について検討していく。

[1] Aya Tanaka, et al., Appl. Phys. Express 7, 017001 (2014).