

脂質膜でシールした Si 基板上の微小井戸におけるイオン拡散メカニズム Mechanism of Ion Diffusion from/into Microwells on a Si Substrate Sealed with a Lipid Membrane

NTT 物性基礎研¹, 兵庫県立大² 榎村吉晃¹, 大嶋梓¹, 住友弘二^{1,2}, 中島寛¹

NTT Basic Res. Labs.¹, Univ. of Hyogo² Yoshiaki Kashimura¹, Azusa Oshima¹, Koji Sumitomo^{1,2}, Hiroshi Nakashima¹

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

【緒言】我々は脂質膜でシールしたシリコン基板上の微小井戸を用いて、チャネルタンパク質の機能で動作するナノバイオデバイスの構築を目指している[1]。しかしながら、脂質膜と基板表面との間にある薄い水層からのイオン拡散が、微小なチャネル信号検出の妨げになっており、解決すべき課題の一つとなっている(Fig. 1)。本研究では、脂質膜の荷電状態を細かに制御することにより、基板と脂質膜との間の静電相互作用が水層におけるイオン拡散現象に及ぼす影響を検討した。

【実験】微小井戸基板($\phi \sim 2-4 \mu\text{m}$)を Ca^{2+} インジケータ(fluo-4)を含む電解質溶液(KCl 20 mM, グルコース 200 mM)に浸漬させ井戸内部を蛍光プローブで満たした後、巨大脂質膜ベシクル(GUV)を基板上に沈降・展開することにより井戸を脂質膜でシールした。蛍光プローブを含まないグルコース溶液で外液を置換した後、外液に CaCl_2 (終濃度 1 mM)を加え、蛍光観察を行った。中性脂質膜として DPhPC:Cholesterol = 8:2 の混合脂質を用い、アニオン性脂質膜では DOPS、カチオン性脂質膜では EDOPC をそれぞれ一定の割合で中性脂質膜に混合し、GUV を作製した。

【結果と考察】脂質膜を透過するイオンおよび蛍光プローブの影響はほぼ無視できるため[1]、Fig. 1に示したように水層を介したイオン流入が起こると井戸内に緑色の蛍光が観測される。Fig. 2 にさまざまな脂質膜組成において、井戸内に緑色蛍光が観測されるまでの時間をプロットした結果を示す。中性脂質膜では7分程度で Ca^{2+} イオンの流入を示す fluo-4 由来の蛍光が観測された。同様のイオン流入は、アニオン性脂質膜では、荷電脂質の濃度によらず 2-3 分で見られ、イオン拡散速度が大きいことがわかった。一方、カチオン性脂質膜では、正荷電脂質の濃度が増加するほどイオン流入までの時間が長くなり、30mol%では30分以上経過してもイオン流入は観測されなかった。これらの結果は、負にチャージしたシリコン基板と脂質膜の間の静電相互作用が変化したためであると考えられる。電気的中性を保つために、水層中の K^+ 濃度は正荷電脂質が多くなるほど低くなる。 Ca^{2+} イオンが井戸内に拡散するためには、水層中の K^+ とのイオン交換が必要であり、交換速度は K^+ 濃度に依存するため、荷電脂質の割合に依存したイオン拡散現象が観測されたと考えられる。

[1] K. Sumitomo, Y. Kashimura *et al.*, Biosens. Bioelectron., **31**, 445 (2012).

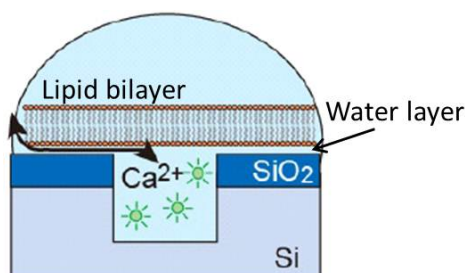


Fig. 1 微小井戸からのイオンリークのメカニズム

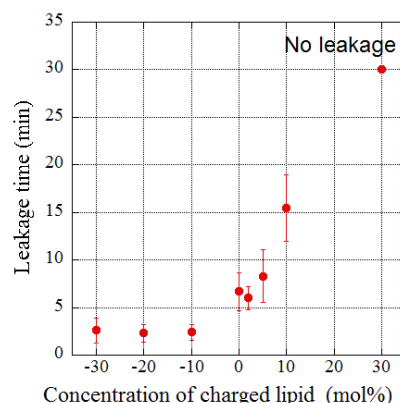


Fig. 2 さまざまな脂質膜組成におけるイオン拡散時間プロット。横軸の負はアニオン性脂質、正はカチオン性脂質の割合を示す。