

熱インプリントによるタンパク質表面の直接パターンニング

Direct Surface Patterning on A Protein by Thermal Imprinting

産総研, °銘苅 春隆

AIST, °Harutaka Mekaru

E-mail: h-mekaru@aist.go.jp

はじめに: プロテイン基底膜マトリックスは細胞培養において重要なツールであり、その表面にマイクロ・ナノの微細構造を形成することは、定点観察用グリッド形成や濡れ性制御にとって有効である。タンパク質は 40℃以上に加熱すると高次元構造が崩れて変性すると言われており、タンパク質表面の直接パターンニングは報告例がない。そこで我々は、低い温度での熱ナノインプリントの適用可能性を調査した。

実験: 本実験ではデスクトップ型熱ナノインプリントシステム NI-273(ナノクラフトテクノロジーズ)を用いた。プロテイン基底膜マトリックスは直径 35mm のディッシュ底部に成膜されたバイオコートマトリゲル (Corning Life Sciences) の市販品を使用した。直径 1inch の Si 基板上にフォトリソグラフィーとドライエッチングによって高さ 25μm、線幅 100μm のグリッドメッシュを作製し、その表面にはフッ素系離型剤 HD-1101TH(ダイキン工業)を塗布した。図 1 に示したセットアップによって、高さ 10mm のディッシュ側壁を物理的に避けながら、底部に成膜されたマトリゲル薄膜をインプリントすることができる。メーカー推奨の手順に従ってプロテイン基底膜マトリックスをゲル化した後、下部ステージにセットして成形した。

結果: 図 2 は成形温度を 75、100、125℃と変化させて、プレス力 1kN で 30、60、90 秒間熱インプリントしたプロテイン基底膜マトリックス表面の光学顕微鏡写真である。成形温度が 75℃以下の場合には、インプリントされた痕跡はほとんど観察されなかった。しかし成形温度が 100℃になると、グリッドメッシュ構造が明瞭に観察された。しかし、125℃まで加熱してしまうと、下層のタンパク質構造が白く変色している様子が観察された。したがって、今回の実験条件下では、100℃の成形温度が最適値であると言える

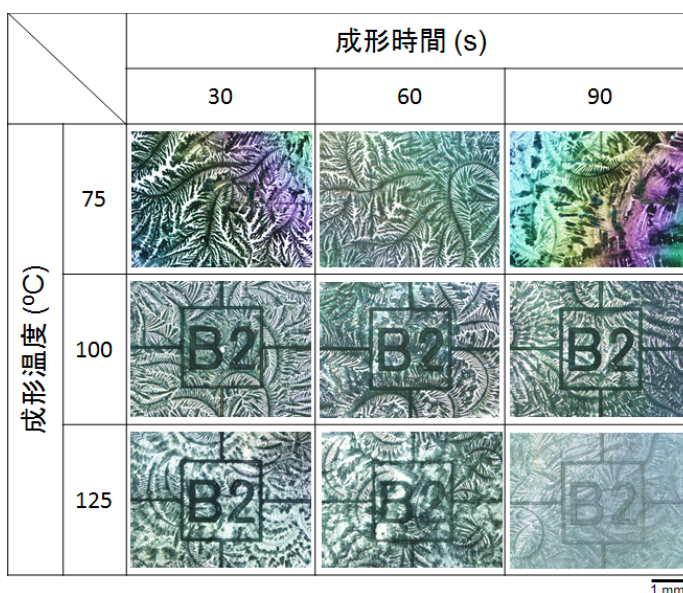
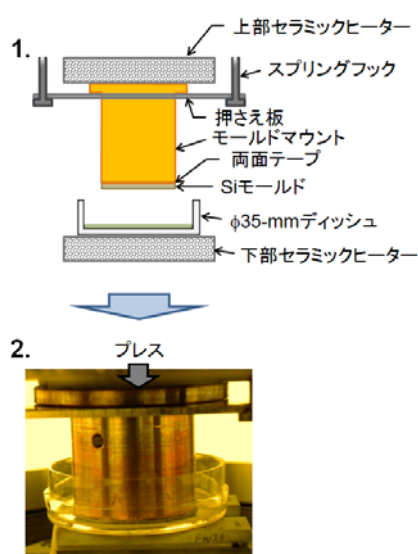


図 1 熱インプリント実験の配置図(上段)と実際のプレス時の写真(下段)

図 2 熱ナノインプリント後のプロテイン基底膜マトリックス表面の光学顕微鏡写真 (35mm ディッシュ中央部)