

脂質膜でシールした微小井戸における BSA コーティングの効果

Effect of BSA Coating on Microwells Sealed with Lipid Membrane

NTT 物性基礎研 [○] 榎村吉晃, 大嶋梓, 中島寛

NTT Basic Res. Labs., [○]Yoshiaki Kashimura, Azusa Oshima, Hiroshi Nakashima

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

【緒言】シリコン基板上の微小井戸を脂質膜でシールした人工的な細胞環境は、ナノバイオデバイスのプラットフォームとして期待される。これまでに我々は、微小井戸内に蛍光プローブを封入しその蛍光強度の変化を計測することで、架橋脂質膜に再構成されたチャネルタンパクの機能計測に成功した[1]。微小なチャネル信号計測のためには、脂質膜でシールした井戸内部と外液間の物質移動を極力抑える必要がある。しかしながら、脂質膜と基板表面との間にある薄い水層を介したイオン流入が、微小なチャネル信号検出の妨げになっており、解決すべき課題となっている[2]。本研究では、外液からのイオンの流入パスとなっている脂質膜パッチの縁をウシ血清アルブミン(BSA)をコーティングすることによりブロックし(Fig. 1)、脂質膜でシールした微小井戸の閉じ込め性能におよぼす影響を検討した。

【実験】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、電界形成法により巨大脂質膜ベシクル(GUV)を作製した。表面が SiO_2 で覆われた井戸基板($\phi \sim 4 \mu\text{m}$)を Ca^{2+} 蛍光プローブ(fluo-4)を含む電解質溶液(KCl 20 mM, グルコース 160 mM)に浸漬させ井戸内部を蛍光プローブで満たした後、GUV を基板上で展開し、微小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、BSA 溶液(0.05 wt%, グルコース 200 mM, pH7.4)に 1 時間浸漬した。再び外液をグルコース溶液で置換し、外液に CaCl_2 (終濃度 1 mM)を加え、蛍光変化観察を行った。

【結果と考察】今回用いた荷電状態の異なる 3 種類の脂質膜のうち、アニオン性およびカチオン性脂質膜では、 SiO_2 上と脂質膜上の双方において BSA 分子の吸着が確認された。一方、中性脂質膜では、 SiO_2 上にも BSA 分子が吸着し(Fig. 2)、Fig. 1 の構造形成を示唆する結果が得られた。Fig. 3 に BSA コーティングあり／なしの条件で、中性脂質膜でシールした井戸内の蛍光強度の経時変化を示す。BSA コーティングなしの時は、10 分程度で Ca^{2+} イオンの流入に起因する fluo-4 由来の蛍光強度増加が観測された。しかしながら、BSA コーティングをした試料では、1 時間以上経過後も蛍光強度の変化は見られず、外液からのイオン流入は抑制されることがわかった。これは、Fig. 1 で提示した構造の形成により、 SiO_2 基板に物理吸着した BSA が脂質膜パッチの縁における、脂質膜－基板間の水層と外液との界面をブロックし、外液からのイオン流入パスを封止した効果だと考えられる。本手法は、閉じ込め効果の高い井戸構造が簡便に得られるため、今後のナノバイオデバイス作製手法の指針として期待が持たれる。

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

[2] 榎村他、第 77 回応用物理学会秋季学術講演会、14p-P18-15.

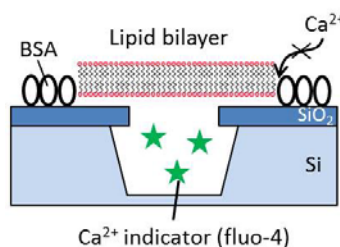


Fig. 1 BSA コーティングした微小井戸

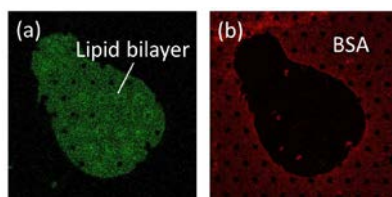


Fig. 2 BSA コーティングした微小井戸基板の蛍光像。(a) NBD でラベルした中性脂質膜、(b) ローダミンでラベルした BSA

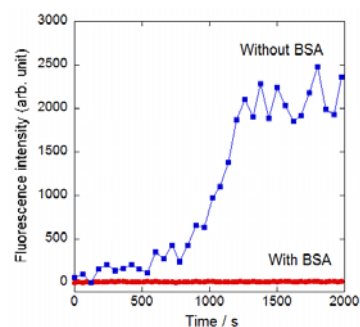


Fig. 3 BSA コーティングあり／なしにおける微小井戸内の蛍光強度変化