

Biotin-avidin 結合によるマイクロウェル架橋膜へのベシクルの配置 Arrangement of vesicles to lipid bilayer suspended over microwells using biotin-avidin binding

兵庫県大¹, NTT 物性研² 中谷悠人¹, 安原杏実¹, 大嶋梓², 上野祐子², 部家彰¹, [○]住友弘二¹

Univ of Hyogo¹, NTT BRL², Yuto Nakatani¹, Ami Yasuhara¹, Azusa Oshima², Yuko Ueno²,

Akira Heya¹, [○]Koji Sumitomo¹

E-mail: sumitomo@eng.u-hyogo.ac.jp

Si 基板上のマイクロウェルを架橋する脂質二分子膜は、膜タンパク質の機能計測可能なナノバイオデバイスの基本構造として期待されている¹⁾。膜タンパク質を架橋脂質膜に配置する方法として、プロテオリポソームのベシクル融合が挙げられる。しかしながら、架橋脂質膜へのベシクル融合は、膜のエッジの部分への融合が支配的であり、架橋脂質膜への直接的な融合は主ではないことをこれまでに示してきた²⁾。そこで本研究では、biotin-avidin 相互作用を用いて架橋脂質膜へ直接的にベシクルを供給する方法を提案する (Fig.1)。

DPPC (1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine), DOPC (1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine), コレステロール混合脂質を用いて、秩序液体相(L_o 相)/液晶相(L_α 相)分離巨大ベシクル (GUV) を作成し、マイクロウェル基板上で展開した。ヘッド部に biotin を修飾した脂質 (1 mol%) と、蛍光観察のための NBD 修飾脂質を混合している。

Fig.2a に示すように架橋膜からは NBD の蛍光が観察され、 L_α 相で安定になっていることが分かる³⁾。biotin を修飾した脂質も L_α 相に局在するため、架橋膜に多く存在することになる。そこに avidin を結合させた後、biotin 脂質を混合したベシクル (直径 100 nm, Rhodamine ラベル) を供給すると、架橋膜にベシクルは選択的に結合した (Fig.2b)。

L_α 相脂質が架橋膜に凝集することを利用して、架橋膜にベシクルを配置することに成功した。架橋膜に膜タンパク質等を配置制御する技術への応用も期待できる。

- 1) K. Sumitomo *et al.*, *Biosens. Bioelectron.* **31**, 445 (2012).
- 2) Y. Nakatani *et al.*, *JJAP* **58**, SIID06 (2019).
- 3) K. Sumitomo, A. Oshima, *Langmuir* **33**, 13277 (2017).

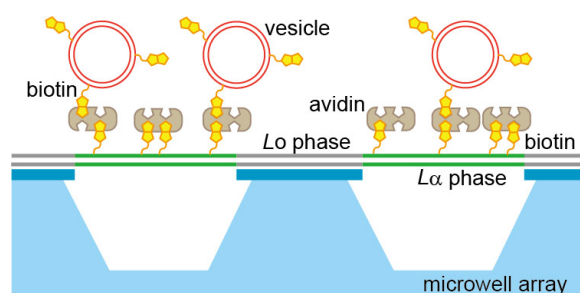


Fig. 1: Schematic illustration of selective attachment of vesicles to lipid bilayers suspended over microwells.

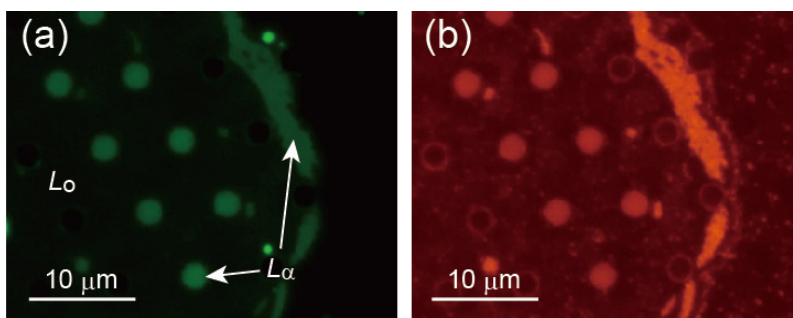


Fig. 2: (a) Fluorescent image of L_o/L_α phase separation in the lipid bilayer on a microwell substrate. (b) Selective attachment of vesicles to freestanding part.