表面プラズモン顕微イメージングシステムを用いた支持脂質二重膜を通過したカリウムイオンの動態観察

Potassium Ion Dynamics Imaging Through Supported Lipid Bilayer Based on Surface Plasmon Resonance Microscope

産総研・阪大先端フォトバイオ [1]，阪大 [2]，豊橋技科大 [3]，MAScIR[4], Mohammed V Univ.[5]

°(D)田中 宏知 [1,2]，増井 恭子 [1,2]，手老 龍吾 [3]，石飛 秀和 [1,2]，Zouheir Sekkat[2,4,5], 井上 康志 [1,2]

PhotoBIO-OIL, AIST[1], Osaka Univ.[2], Toyohashi Univ. Tech.[3], MAScIR[4], Mohammed V Univ.[5]

(D)H. Tanaka[1,2], K. Masui[1,2], R. Tero[3], H. Ishitobi[1,2], Z. Sekkat[2,4,5], Y. Inouye[1,2]

E-mail: tanaka_h@ap.eng.osaka-u.ac.jp

細胞のカリウムイオン(K^+)授受の動態をラベルフリーかつ高空間分解能にイメージングすることは生命機能の詳細な理解につながるため、様々な病気の原因解明、新薬開発への展開が期待される。これに対し我々は金属イオンイオノフォアを添加した可塑化 PVC 膜を利用した表面プラズモンイメージングセンサー(SPRi)の開発を行っており[1]、イオン濃度上昇を反射率変化としてイメージングできることを実証した。しかしながら、本手法が細胞膜を通過したイオンによって生じるイオン濃度変化を測定可能かは未検証であった。そこで今回細胞膜を擬似的に再現できる支持脂質二重膜(SLB)を SPR 基板上に製膜し、K^+を透過するイオンチャネル(グラミシジン A, GA)を SLB に挿入することで、SPR 基板が K^+の細胞外排出の観察に適用できるか検討した。

まずガラス基板に金薄膜、K^+とキレート化するイオノフォアを含んだ可塑化 PVC 膜を成膜した基板を用意した。基板上に SLB を製膜して長作動対物レンズを利用した自作の SPRi 用光学系に装着し、高濃度の K^+溶液を滴下した際に発生する K^+濃度の 2 次元的拡散を SPRi で観測したところ、図 1(a)のように反射率の上昇が画像上側から下側に向かって流れるように発生する様子を観察できた。さらにエタノールに溶解した GA を滴下して SLB 内に GA を挿入し、同観察領域にて SPRi を行った。図 1(a)の×で示した箇所で K^+濃度の上昇に要する時間(t_{const})を算出した結果、図 1(b)のように GA を添加する前の場合と比較して t_{const} が短くなった。これは SLB に挿入された GA を通過した K^+が SLB と SPR 基板の間隙に流入したことに起因していると考えられ、本手法が金属イオン細胞外放出の観察に適していることを示唆している。

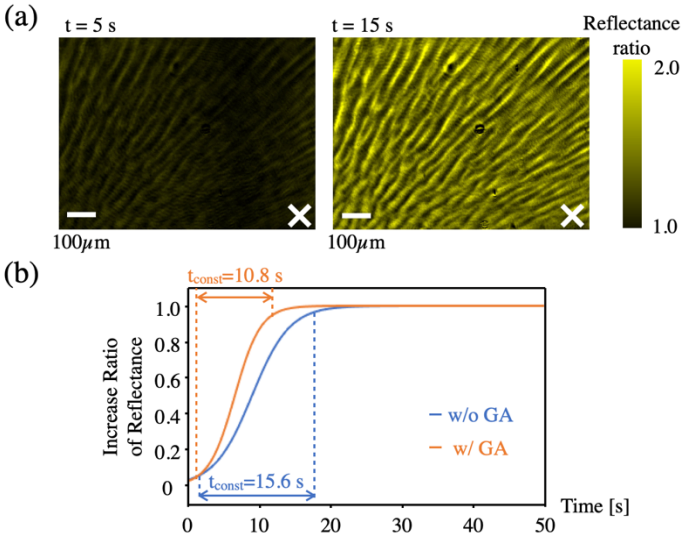

Fig. 1(a) SPR imaging result after dropping K^+ on SLB w/o GA (t=5, 15 s). (b) Temporal change of increase ratio of reflectance at the white cross indicated in Fig. 1 (a).

Reference: [1] 田中 他, 第 81 回応用物理学会秋季学術講演会 (2020).