架橋型脂質二分子膜内における秩序液体相形成のための基板構造

Shape of the supporting substrate for liquid ordered phase formation in freestanding bilayer lipid membranes

NTT 物性基礎研・BMC[1]，兵庫県立大工[2]　○大嶋　梓[1]，山口　真澄[1]，住友　弘二[2]

NTT Basic Res. Labs., BMC[1], Univ. of Hyogo[2],

°Azusa Oshima[1], Masumi Yamaguchi[1], Koji Sumitomo[2]

E-mail: azusa.oshima.xm@hco.ntt.co.jp

【緒言】細胞膜には多様な脂質やコレステロールが混在し，飽和脂質とコレステロールが凝集した周囲とは異なる相状態の秩序液体相状態（*Lo* 相）がドメイン構造をとるモデルが提唱されている．人工脂質二分子膜再構成系である井戸構造基板上の架橋膜に *Lo* 相の形成を制御することができれば，ドメイン形成のメカニズムを理解するだけでなく，膜たんぱく質を機能化するなど，より発展的なインビトロ系として期待できる．しかしこれまで報告してきた井戸構造 [1)]では，無秩序液体相（*Ld* 相）が局在し，*Lo* 相を安定に形成することができなかった．本研究では，架橋膜を支える井戸構造部の熱酸化膜層（図 1(a)）の厚さを減少させ，支持膜から架橋膜へ繋がる境界部分の脂質膜の曲がり方を変化させることで架橋膜中に *Lo* 相の形成を可能とした．

【実験】厚さ 120 nm のシリコン熱酸化膜に直径 1-8 μm の孔が形成された井戸型構造基板を基準とし，フッ化アンモニウムによるエッチングで熱酸化膜層を減少させた．DOPC/Sphingomyelin/Cholesterol の三成分からなるベシクルを展開することによって架橋膜を形成し，Rhodamine-DOPE によって *Ld* 相を標識し，*Lo* 相ドメイン面積の増加・減少過程を蛍光によって観察した．

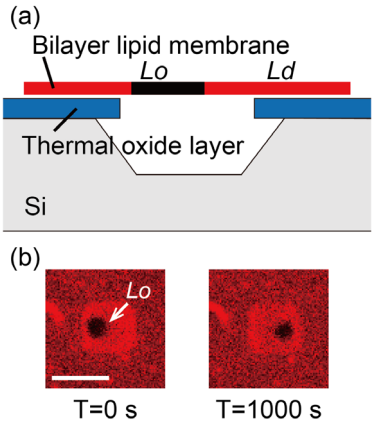

図 1(a)井戸型基板に形成した *Lo/Ld* 相分離脂質二分子膜モデル図．(b) 架橋膜内の *Lo* ドメイン蛍光像（Scale bar: 5 μm）．

【結果・考察】図 1 (b)は熱酸化膜層を減少させた基板での架橋膜内 *Lo* 相の蛍光像である．架橋部に *Lo* 相ドメインが形成され 15 分以上維持された．さらに *Lo* 相が増加する架橋膜もあった．従来の基板では *Lo* 相成分である Sphingomyelin とコレステロールが架橋膜から支持膜エリアに排出される一方向の動きであったが，本基板ではその動きが双方向または逆転したことを示している．酸化膜厚が薄くなると先端部の曲率が増大し脂質膜が曲がって覆うことができなくなり，井戸内への垂れ下がりが減少する．この境界部分での脂質膜の曲がり方の違いにより *Ld* 相より流動性の低い *Lo* 相も架橋部で安定に存在できるようになったと考える．本手法では同一成分の脂質膜に対して架橋膜を支える先端部の厚さによって架橋膜内の *Lo/Ld* 相を変化させることができるため，同一観察場に任意の *Lo/Ld* 相パターニングを形成することが可能となる．

1.　K. Sumitomo, A. Oshima, *Langmuir* **33**, 13277-13283 (2017).

© 2021年 応用物理学会