

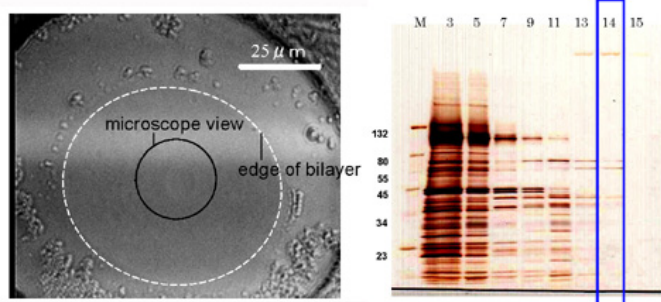
ホームページ : <http://www.sssj.org/ejssnt> 電子メール : ejssnt@sssj.org

J-Stage アーカイブ : <http://ejssnt.jstage.jst.go.jp>

アネキシン 5 によって脂質二重膜の流動性を下げる

Annexin 5 decreases the diffusion of lipid and channel molecules in an artificial lipid bilayer (Conference -MB-ITR2005-) <http://dx.doi.org/10.1380/ejssnt.2005.213>, T. Ichikawa, Y. Takeuchi, T. Aoki, and T. Ide, Vol. 3, pp. 213-217 (18 June, 2005)

アネキシン 5 は Ca^{2+} 濃度に依存して酸性リン脂質に結合する膜結合タンパク質である。著者らは、アネキシン 5 が脂質二重膜の流動性にどのような影響を与えるかを調べるために、蛍光標識した脂質分子 (BODIPY-DHPE) および膜タンパク質 (リアノジン受容体: Cy5-RyR) 1 分子の人工脂質膜中での拡散を直接観察した。その結果、1 μM アネキシン 5 は、脂質分子と膜タンパクの拡散をアネキシン 5 が無い場合に比べて 1/100~1/500 に減少させることがわかった。また、RyR2 の生理機能 (チャネル機能) へのアネキシン 5 の効果を測定し、アネキシン 5 が RyR2 の機能に大きな影響を与えないことを明らかにした。これらは、人工脂質平面膜中で RyR2 の 1 分子電気・光学的同時測定を行う際に RyR2 を脂質膜中に固定する方法としてアネキシン 5 が有効であることを示している。

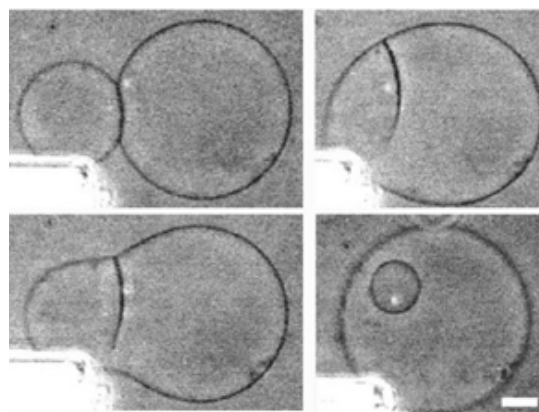


単一巨大リポソーム法による生体膜の研究

The Single GUV Method for Probing Biomembrane Structure and Function (Conference -MB-ITR2005-) <http://dx.doi.org/10.1380/ejssnt.2005.218>, Masahito Yamazaki and Yukihiro Tamba, Vol. 3, pp. 218-227 (10 July, 2005)

直径が 5~10 μm 以上の生体膜/脂質膜 1 枚から作られたリポソームは、巨大リポソームまたは巨大単一膜ベシクル (GUV; Giant Unilamellar Vesicle) と呼ばれる。水や緩衝液中の GUV を光学顕微鏡で直接観察できるため、1 個の GUV の構造・物性、細胞骨格との相互作用などの測定が可能となり、従来のリポソームの研究とは質的に異なる新しい情報が得られ

ることがわかり始めた。従来の研究では、小さな直径 (50~200 nm) のリポソーム (SUV や LUV) や多重層リポソーム (MLV) がたくさん存在する水溶液を用いて、蛍光分光法、ESR、光散乱や X 線小角散乱などが行われてきたため、物理量の集団平均しか測定されず、多くの情報が失われてきた。それに対して GUV を用いた実験では、水中で 1 個の GUV の構造や物理量の変化をリアルタイムで測定することが可能であり、蛋白質や DNA の分野の 1 分子の研究に相当する。本研究ではこの利点を生かして、ペプチドなどの物質と脂質膜界面の相互作用の高感度測定や膜融合・膜分裂の過程の詳細な観察などに成功した。また、GUV は脂質膜で覆われた直径が 10~50 μm 程度の球形の微小空間を提供するので、蛋白質の結晶化や化学反応などのための微小容器としての応用の可能性も高い。ここでは、高イオン強度下 (2 M 程度までの NaCl や CaCl_2) で PC 膜の GUV を作成する方法 (PEG-lipid 法) を開発し、それを用いて蛋白質の結晶を GUV 中で作成することに成功した。

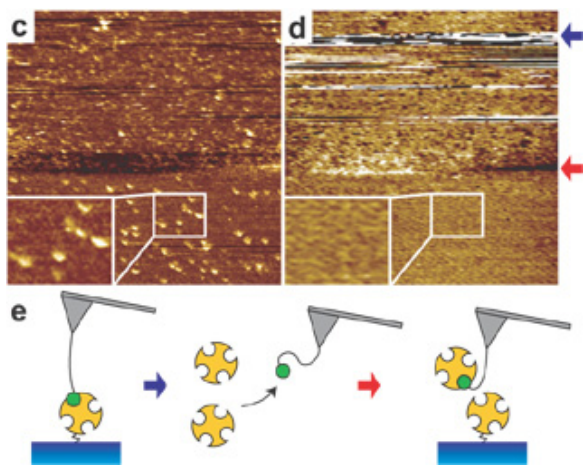


酸化シリコン表面のバイオ修飾

Fabrication of avidin single molecular layer on silicon oxide surfaces and formation of tethered lipid bilayer membranes (Conference -MB-ITR2005-) <http://dx.doi.org/10.1380/ejssnt.2005.237>, R. Tero, N. Misawa, H. Watanabe, S. Yamamura, S. Nambu, Y. Nonogaki and T. Urisu, Vol. 3, pp. 237-243 (30 August, 2005)

固体表面をバイオマテリアルで修飾して、バイオセンサーや診断デバイスに利用しようとする研究が盛んに行われている。特に、シリコンや酸化シリコンなどの電子マテリアルの表面をバイオ機能化することは、生体反応を電気信号に直接変換するために極めて重要である。本研究では、生体機能を保ったま

まの生体分子の単分子層を形成して「良く規定されたバイオ機能化表面」の作成および評価を行った。SiO₂ 表面上に共有結合的に固定化された avidin 単分子層を形成することに成功した。SiO₂ 表面をエステル基で修飾した後、HCl 中で加水分解してカルボキシル基で末端された表面を準備した。この化学修飾した基板表面の COOH 基と avidin 分子の NH₂ との間のアミド結合によって avidin 分子が固定された。この表面モルフォロジーを AFM で観察し、界面での化学結合状態を赤外反射吸収分光によって調べた。その結果、avidin 分子は会合状態ではなく、個々の分子として表面上に吸着固定化されていることが明らかとなった。また、biotinylated カンチレバーを使った「バイオ機能化された AFM」観察により、avidin 分子層は、バイオ機能性を維持しており、ビオチン結合性を示した。さらに、この avidin 単分子層上に biotinylated phospholipid 脂質二重膜を形成することに成功した。



DNA センサーのための DNA 自己組織化単分子層

The Length Effect of Probe DNA for Hybridization using DNA Self-Assembled Monolayer

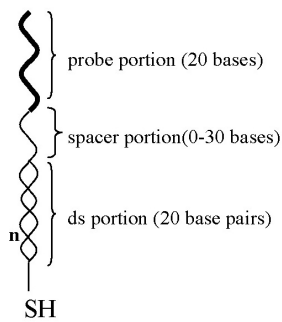
(Conference -Nano-org & Func.-)

<http://dx.doi.org/10.1380/ejsnt.2005.250>,

F. Nakamura and M. Hara,

Vol. 3, pp. 250-253 (30 September, 2005)

遺伝子診断などでは、DNA チップのような DNA マイクロアレイを用いて高スループット化をはかっている。極微量のターゲット DNA の高感度検出のために、現状では polymerase 連鎖反応などが利用されているが、反応中にターゲット DNA が変化してしまうなどの問題がある。本研究では、高感度の DNA センサーを開発するため、プローブ DNA を基板表面上に固定化して良く規定された自己組織化(SAM)膜の作成を行った。とくに、固定化されたプローブ DNA の活性を最適化する



ために、その分子の「スペーサー」部分の長さを調節した。このプローブ DNA が、チオール基で末端された金表面上に固定化されて SAM 膜を形成される過程を表面プラズモン共鳴(SPR)法で観測した。さらに、ターゲット DNA とプローブ DNA との結合の様子も SPR 法で観測して、スペーサー部分の最適な長さを決定した。

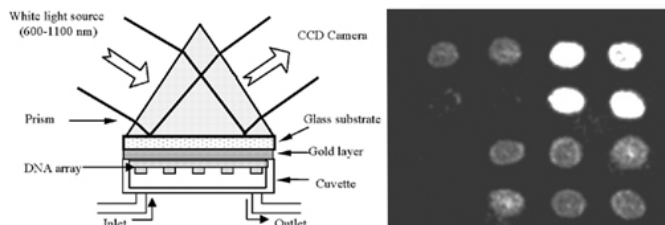


Photo-bleaching による脂質二重膜のダメージ測定 Fluorescence Recovery after Photo-bleaching Apparatus Using Second Harmonic of 1120 nm Semiconductor Laser for Illumination

(Conference -MB-ITR2005-)

<http://dx.doi.org/10.1380/ejsnt.2005.254>,

Z.L. Zhang, T. Hara, H. Oguri, Y.J. Mo, M. Aoyama, H.

Yoshida, Y.H. Kim, Md.M. Rahman, R. Tero and T. Urisu,

Vol. 3, pp. 254-257 (7 October, 2005)

Fluorescence Recovery After Photo-bleaching (FRAP)法は、生きた細胞内や脂質二重膜での脂質分子の動きやダメージを研究する手段として重要になりつつある。この方法では、観察する領域に選択的に大強度の光を照射して photo-bleaching を行い、その後、周囲から蛍光標識化された分子などが浸入してきて蛍光強度が回復するが、その蛍光強度の時間変化を測定することによって、蛍光分子によって標識された組織体の拡散係数や移動量などを知ることができる。本研究では、この手法のために、市販の蛍光顕微鏡をベースにしたコンパクトな FRAP 装置を開発した。光源として半導体レーザーからの2倍高調波(波長 560 nm)を利用した。これは、蛍光色素分子 rhodamine B sulfonyl の吸収ピーク波長にほぼ一致するので、効率よく photo-bleaching が可能である。この装置を使って脂質二重膜を測定し、蛍光強度の回復変化から膜中での脂質分子の拡散係数を求めることができた。

