3P233

(DPPC + GM3)、(DOPC + GM3) 膜における抗 GM3 分子の分布

○山田 大邦¹、松岡 審爾¹ (¹札幌医大・医・物理、²札幌医大・医・物理)

GM3は脊椎動物の細胞膜中で成長分化に関連した働きをしている。マウス黒色腫細胞内ではGM3が大量発現している。抗GM3との抗原抗体反応では、GM3が10Mol%以上で反応結合性が強まり、これ以下の低濃度では反応性を示さないことが示されている。ここでは(DPPC+GM3)、(DOPC +GM3)の単分子膜を作成し、室温でGM3に付着する抗GM3抗体(M2590)を用いて13Mol%と2Mol%における抗体の集合状態を、電子顕微鏡を用いて調べた。DOPCのTc(-22℃)以上では膜は液体状であり、横からの力によって凝集することが可能である。結果 DPPC-GM3単分子膜(13Mol%)：抗GM3の密集が常態である。割合規則的に配列している場所での粒子間距離は20nmほどである。抗GM3を結合させた多層膜(33Mol%)の凍結エッチングにより現れる規則配列部分での抗GM3粒子間距離は19nmであり、単分子膜系でも抗GM3分子は最密充填に近い分布をしている。抗GM3の周囲で、有るべき場所に抗GM3分子が欠けている所がある。膜内でのGM3分布に揺らぎ、または脂質膜のパッチサイズを反映していると思われる。(2%GM3)：抗GM3の分散が大多数だが、1割以下ではあるが13Mol%と同様の密度で集合している場所(直径10μ程度)がある。膜展開の過程でGM3集積を起こしている可能性がある。(DOPC-GM3単分子膜)：横から圧力をかけた結果では、(GM3+DPPC)系の集合の傾向と同じである。

H.Yamada and S.Matuoka : Distribution of antiGM3 molecules on the membranes of (DPPC+GM3) and (DOPC+GM3)

3P235

光重合を利用したパターン化モデル生体膜の構築

○切通 義弘、森垣 憲一（産総研）

生体膜より単離した膜タンパク質は活性を失いやすく、*in vitro* 実験系における機能評価のためには生体膜と同等の膜環境を構築する必要がある。そのため、固体基板上で自発的に形成するリン脂質二分子膜に目的の膜タンパク質を組み込むシステムが注目されている。しかしながら、リン脂質二分子膜は界面活性剤や気液界面で破壊されるなど外乱の影響を受けやすいため、膜の安定性向上が望まれている。本研究では、重合性リン脂質二分子膜を光リソグラフィ技術によりパターン化重合して鋳型とすることで、鋳型に組み込まれた流動性リン脂質との親和性を損なうことなく、安定性向上を図ったモデル生体膜の構築を目指している。重合性リン脂質として1,2-bis-[(*E,E*)-octadeca-2,4-dienoyl]-*sn*-glycero-3-phosphocholine (BisDenPC)を用い、ベシクルフュージョン法によってガラス基板上にBisDenPC二分子膜を形成した。マスクを用いたパターン化光重合に際しては、紫外線光量、波長、照射光量ならびに重合開始剤組成などを調節して反応の制御を試みた。マスクにより保護されたモノマー膜を、紫外線露光後に界面活性剤によって選択的に除去し、基板上に残ったポリマー二分子膜を鋳型として、一部蛍光標識したリン脂質二分子膜をベシクルフュージョン法で挿入した。蛍光顕微鏡観察により、重合後に導入したリン脂質二分子膜の側方拡散による良好な流動性を確認した。またXPS測定により、基板上に残存したリン脂質量は紫外線強度ならびに照射時間に比例して大きくなることがわかった。すなわちBisDenPCの重合が紫外線により促進され、BisDenPCポリマー膜の安定性が向上したと結論できる。しかし一方で、重合と同時に紫外線によるポリマーの分解反応も生起している可能性がQCM測定により示唆された。

Y.Kiritoshi, K.Morigaki : Preparation of model biological membrane on a substrate by photo polymerization of phospholipid bilayer

3P234

パリレンパターンニング法を用いた均一径ジャイアントリポソーム

○栗林 香織、竹内 昌治（東京大学 生産技術研究所 マイクロメカトロニクス国際研究センター）

リポソームは、脂質2重膜で水溶液を包含した球体であり、細胞膜と同様の構造を持つ。その中で特に直径が10-100umのものをジャイアントリポソームと呼ぶ。これらは、人工細胞やマイクロカプセルとして用いることができ、細胞への薬物投入など遺伝子治療分野での利用が期待されている。リポソーム中に同量の薬物を含むためには、径の揃ったリポソームを作成することが重要である。更に、リポソームと細胞を効率よく融合するためには、細胞と同じサイズのリポソームを使用することが要求されている。本研究では、パリレン樹脂の微細加工技術を用いてリン脂質膜のパターンニングし、均一サイズのリポソームを作成する方法を提案する。さらに、一枚膜構造を持つジャイアントリポソームを作成することができるエレクトロフォーメーション法にも着目した。実験は、まず、ITOガラスプレート（電極）にリン脂質膜をパターンニングした。パリレンをガラスプレートに蒸着し、O2プラズマによりパターン化された穴あきシートを作る。その上からリン脂質（ホスファチジルコリンとホスファチジン酸）と有機溶媒を混ぜた溶液を流し込み、真空中で乾燥させる。すると穴の部分にリン脂質膜ができ、パリレンを剥がすとパターンニングができる。その後、シリコーンゴムで作られたマイクロチャネル（幅360um、高さ500um）に、水溶液を導入し、同時に電圧（AC, 10 Hz, 1.5 V）を印加する。電圧により、リン脂質膜が基板から剥離され、リポソームが作成される。結果、異なるサイズ（20um x 20 umと50um x 50um）のリン脂質のパターンから作成されたリポソームの径は、パターンサイズに依存して変化することが分かってきた。サイズの変動係数は、11%であり、リン脂質のパターンニングとエレクトロフォーメーション法を利用することで、より径の揃ったジャイアントリポソームを作成することができた。

K. Kuribayasih and S. Takeuchi : Uniform-sized Giant Liposomes using Parylene Patterning Method

3P236

DMPCとレチノイン酸、クーマリン複合薄膜の作製と光反応特性

○伊藤 学、楨野 行修、畑澤 俊宏、辻内 裕（秋田大・工学資源・材料）

ジミリストイルホスファチジルコリン（DMPC）は、生体内で膜蛋白質を安定化させる働きのある脂質の一種である。我々は、タンパク質の構成分子などの有機材料と無機材料を接合することで、機能性を持った比較的小分子から成る有機分子システムと無機物質からなるバイオ分子デバイスを構築できないかと考えている。そして、このDMPCによる人工の有機分子複合薄膜を作製し、分子間相互作用や機能発現を調査し、基礎的な物性評価を行うことを目的とする。実験は、第一段階としてレチノイン酸との複合薄膜を作製した。溶媒にはクロロホルムまたはヘキサンを用いた。ヘキサンを用いるときはDMPCとレチノイン酸を3mMの混合分散溶液を作製した。ヘキサン溶媒中にDMPCは難溶であったので、超音波処理を施した。超音波処理の関連する分野は無機・有機化学だけでなく生物・医学など多岐にわたっている。有機化学の分野では、各種有機化合物の合成と反応、及び反応促進などの目的に強力超音波が利用されている。超音波を用いた反応は、単に反応速度や収率を向上するだけでなく、励起種による反応が起こることも大きな特徴である。DMPCとレチノイン酸との分子数比は、1：0、5：1、1：5とする3種類の分散溶液を作製した。複合薄膜の作製には、垂直浸漬法を用いた。次に作製した複合薄膜の化学構造特性を調べるため、FTIR赤外分光測定装置を用いて薄膜の赤外吸収特性を調査した。次に得られた複合薄膜の可視紫外吸収スペクトルを測定した。また、励起発光するクーマリン分子(7-ヒドロキシ-4-メチルクーマリンまたは4-ヒドロキシクーマリン)とDMPC複合薄膜の可能性についても検討した。

M.Ito, Y.Makino, T.Hatasawa, Y.Tsujiuchi : Preparation of thin films using retinoic acid, coumarin and DMPC and their photo absorption and emission characteristics