

## 光ピンセットによる神経細胞由来巨大膜小胞膜ドメインの操作

### Direct Manipulation of Membrane Domains in Giant Plasma Membrane Vesicles Using Optical Tweezers

阪市大理<sup>1</sup>, 阪公大院理<sup>2</sup> ○(B)平杉 嘉孝<sup>1</sup>, 谷本 泰士<sup>2</sup>, 増井 恭子<sup>2</sup>, 細川 千絵<sup>2</sup>

Osaka City Univ.<sup>1</sup>, Osaka Metropolitan Univ.<sup>2</sup>, ○Yoshitaka Hirasugi<sup>1</sup>, Yasushi Tanimoto<sup>2</sup>,

Kyoko Masui<sup>2</sup>, Chie Hosokawa<sup>2</sup>

E-mail: a21sd026@st.osaka-cu.ac.jp

神経細胞の細胞膜ドメインは特定の膜タンパク質と脂質で構成され、神経伝達をはじめとした細胞膜機能の調節において重要な役割を担っている。細胞膜ドメインを外部から操作することにより神経伝達効率の局所的な操作が期待される。光ピンセットは、集光レーザービームの光圧により微小な物体を非接触、非破壊に操作する手法である。先行研究では、液体秩序相 (Liquid order: Lo)と液体無秩序相 (Liquid disorder: Ld)に相分離した脂質二分子膜から成る巨大膜小胞において、Lo 相ドメインを光ピンセットにより直接操作することに成功している [1]。本研究では、より生体膜に近い条件下で膜ドメイン操作を実証するため、細胞膜由来の巨大膜小胞 (Giant Plasma Membrane Vesicle: GPMV)を作製し、光ピンセットによる膜ドメイン操作を試みた。

試料として、Ld 相を蛍光性脂質プローブ Octadecyl Rhodamine B Chloride (R18)で標識した培養 16 日目のラット胎児大脳由来神経細胞を Paraformaldehyde と Dithiothreitol で処理し、分泌した GPMV を上清と共に回収した。次に、回収した GPMV を蛍光標識タンパク質 Cholera Toxin B subunit Alexa conjugate 488 (CTB 488)で標識し、ガラス基板上に静置して蛍光観察を行った。GPMV 膜内の R18 と CTB 488 の蛍光像から、両者が異なる位置に局在し、室温において GPMV 膜が相分離している様子が観察された (Fig. 1 (A))。波長 1064 nm の Nd:YVO<sub>4</sub> レーザーを 100 倍油浸対物レンズ (N.A. 1.3)を用いてガラス基板上的 GPMV 表面にレーザー光強度 300 mW の条件で集光したところ、照射直後より R18 の蛍光強度が均一になり、GPMV 膜の相転移が示唆された。さらに、相分離した GPMV の Ld相と Lo相の境界にレーザー (レーザー光強度 100 mW)を集光したところ、Lo 相ドメインが局所的に光捕捉される様子が確認された (Fig. 1 (B))。以上の結果は、光ピンセットにより神経細胞由来の細胞膜中の膜ドメインを操作可能であることを示唆している。

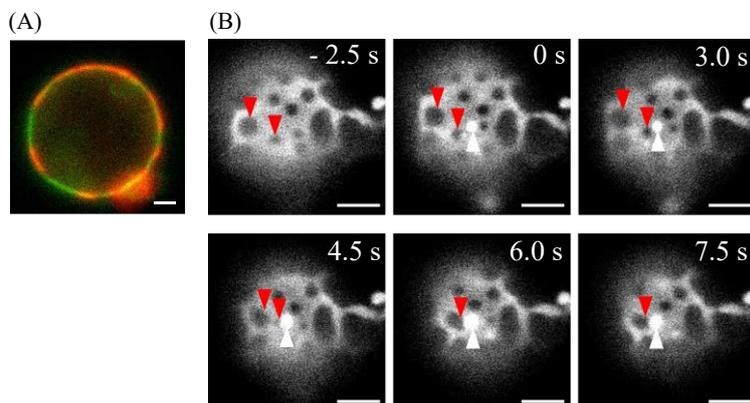


Fig.1 (A) Fluorescence images of R18 (red) and CTB 488 (green) to show a phase-separated GPMV. (B) Time evolution of fluorescence images of R18 under optical trapping of membrane domain. The white and red arrows indicate the laser focus and the Lo domains, respectively. The laser power is 100 mW. The laser was switched on at 0 s and maintained for 7.5 s. The scale bars are 3  $\mu$ m.

[1] M. S. Friddin et al., Commun. Chem., 2, 6 (2019).