

二次元機能性原子・分子薄膜の創製と利用に資する基盤技術の創出
平成 26 年度採択研究代表者

2018 年度 実績報告書

平野 愛弓

東北大学材料科学高等研究所
教授

超絶縁性脂質二分子膜に基づくイオン・電子ナノチャネルの創成

§ 1. 研究成果の概要

(1) 「縦方向イオンチャンネルに基づく脂質二分子膜デバイス」グループ(平野 Gr)

本研究では、hERG チャンネルを包埋した脂質二分子膜に基づく薬物副作用の構築を目指している。そのボトルネックとなっていた脂質二分子膜の脆弱性の問題に手老Grと共同で取り組み、両疎媒性表面となるようにチップを化学修飾することにより、膜安定性を著しく向上できることを明らかにした。さらに、戸澤Grとの共同により、無細胞合成 hERG チャンネル(野生型および変異型)に対する薬物副作用の定量化に成功し、本膜系の個別化医療への展開可能性を示した。また、廣瀬 Gr との共同で、脂質二分子膜中に C₆₀ 誘導体の C₆₁ 酪酸メチルエステル(PCBM)をドーブし、この膜の電気特性を調べた結果、光照射により可逆的な光応答電流が誘起される現象を発見し、脂質二分子膜センサーの更なる応用可能性を見出した(図1)。

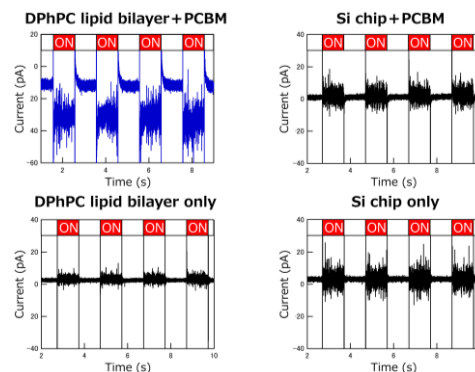


図1. PCBMドーブ脂質二分子膜の可逆的光応答電流.

(2) 「チャンネル包埋脂質二分子膜内の分子構造の評価」グループ(手老 Gr)

昨年度の研究では、人工脂質二分子膜中で形成される微小ドメインが、膜中にイオンチャンネルを導入する際の融合サイトとして働くことを見出している。本年度は、この微小ドメインの組成と形成機構の詳細を明らかにした。室温で流動相にある2種類の脂質から二分子膜を形成すると脂質同志は完全に混合するが、そこにコレステロールを添加すると微小ドメインが形成される。この特異的現象に着目し、親水頭部の構造と疎水尾部の不飽和度に起因するドメイン形成機構を提案した。また、同組成の支持脂質二分子膜への無細胞合成イオンチャンネルの再構成について検討し、融合過程に依存してイオンチャンネルの局在状態が異なることを明らかにするとともに、原子間力顕微鏡により観察した分子像から会合状態についての情報を取得することができた。

(3) 「無細胞合成系によるイオンチャンネルタンパク質の合成」グループ(戸澤 Gr)

本グループでは、無細胞(試験管内)タンパク質合成技術を基盤としたイオンチャンネルタンパク質の機能型複合体の再構成技術の構築を進めている。イオンチャンネルの機能発現には、個々のタンパク質サブユニットの正しい折りたたみ構造の獲得と、サブユニットのアッセムブリによる機能型多量体の形成を要する。本研究の対象分子である hERG チャンネルについては、野生型タンパク質と、開口率が大幅に上昇する変異型タンパク質の2種類を合成する系の構築に加え、サブユニットの4量体形成の促進因子である DNAJB12 タンパク質の共発現系の構築も進め、より効率的に機能型 hERG を試験管内で再構成できるシステムを整備した。さらに、巨大な分子量を持つ痛覚に関連するナトリウムチャンネルについても発現ベクターの構築およびタンパク質の合成系構築を完了した。これらの試料は、平野グループおよび手老グループによる解析の材料として提供している。

(4) 「脂質二分子膜電界効果トランジスタ」グループ(廣瀬 Gr)

脂質二分子膜電界効果トランジスタの構築のため、フレキシブルで使い捨て可能な脂質二分子膜トランジスタ評価チップの作製プロセスの構築と特許化の活動を行った。そのフレキシブル評価チ

ップを活用して、電荷メディエータとなるフラーレン誘導体 PCBM をドーピングした脂質二分子膜の膜越しに流れる電流について検討した。昨年度までに、外部可視光による膜越し電流のスイッチングに成功していたが、本年度は PCBM ドーピング脂質二分子膜の光電流依存性を調べ、センサー応用のためのメカニズムの評価を行った。また、脂質二分子膜電界効果トランジスタの動作メカニズムの解明を目指し、脂質二分子膜に電位差を与えた時の内部電界分布の解析を行った。

代表的な原著論文

- [1] K. Kanomata, T. Deguchi, T. Ma, T. Haseyama, M. Miura, D. Yamaura, D. Tadaki, M. Niwano, A. Hirano-Iwata, F. Hirose, " Photomodulation of electrical conductivity of a PCBM doped free-standing lipid bilayer in buffer solution ", J. Electroanal. Chem., 832, 55-58 (2019).

- [2] D. Yamaura, D. Tadaki, S. Araki, M. Yoshida, K. Arata, T. Ohori, K. Ishibashi, M. Kato, T. Ma, R. Miyata, H. Yamamoto, R. Tero, M. Sakuraba, T. Ogino, M. Niwano, and A. Hirano-Iwata, "Amphiphobic septa enhance the mechanical stability of free-standing bilayer lipid membranes", Langmuir, 34, 5615-5622 (2018).

- [3] Y. Kakimoto, Y. Tachihara, Y. Okamoto, K. Miyazawa, T. Fukuma and R. Tero, "Morphology and physical properties of hydrophilic-polymer-modified lipids in supported lipid bilayers", Langmuir, 34, 7201-7209 (2018).

§ 2. 研究実施体制

(1)「縦方向イオンチャネルに基づく脂質二分子膜デバイス」

- ① 研究代表者:平野 愛弓 (東北大学材料科学高等研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・正常型および変異型 hERG チャネルの副作用の定量化
 - ・電極内蔵型チップの作製と膜特性の評価
 - ・有機半導体含有脂質二分子膜の電気特性の評価とデバイス応用

(2)「チャネル包埋脂質二分子膜内の分子構造の評価」グループ

- ① 主たる共同研究者:手老 龍吾 (豊橋技術科学大学環境・生命工学系 准教授)
- ② 研究項目
 - ・脂質二分子膜へのチャネル包埋制御因子の探索
 - ・膜内チャネル分子構造の高分解能観察および環境応答の観察

(3)「無細胞合成系によるイオンチャネルタンパク質の合成」グループ

- ① 主たる共同研究者:戸澤 譲 (埼玉大学大学院理工学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・正常型および変異型 hERG チャネルの無細胞合成
 - ・薬物スクリーニング系構築のためのイオンチャネル無細胞合成

(4)「脂質二分子膜電界効果トランジスタの構築」グループ

- ① 主たる共同研究者:廣瀬 文彦(山形大学大学院理工学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・有機半導体ドーブ脂質二分子膜の電気伝導度の光変調効果の解明とセンサー応用
 - ・有機半導体およびナノ粒子包埋脂質二分子膜の電気特性の評価とデバイス応用