

EIIIRISプロジェクト研究計画書(2020年度)

系・センター名 応用化学・生命工学系

氏 名 手老 龍吾

■新規 □継続

研究課題	人工脂質二重膜系への膜タンパク質の再構成と機能解析手法の開発		
研究目的	<p>(EIIIRIS・VBLの研究テーマとの関連、および施設・設備使用目的を明らかに)</p> <p>細胞膜は細胞内外での物質・情報・エネルギーの輸送が行われる反応場であり、これらは代謝異常や神経疾患などの疾病とも直接関わる。細胞膜の基本骨格は脂質二重膜であり、膜内の脂質およびタンパク質分子の拡散やドメイン形成は膜タンパク質機能に関わる重要な素過程である。申請者はEIIIRIS所長の澤田和明教授との共同研究として、電荷転送型イオンイメージセンサ(IIS)上への脂質二重膜形成とイオン応答計測に取り組んでいる。本研究では、膜タンパク質の1つであるイオンチャネルの機能を解析するための計測手法の確立を目指し、人工脂質膜の作製・構造観察・物性評価を通してイオンチャネルの機能を保持したまま再構成することのできる人工脂質膜系を構築することを目的とする。実験設備としては澤田研究室がEIIIRIS先端バイオ実験室内に設置しているIIS計測装置に加えて、EIIIRISの共通設備である粒度分布計測装置とレーザースキャニング共焦点顕微鏡(LSCM)、VBL設備である熱酸化炉とエリプソメーター(平面膜作製の基板として用いる熱酸化シリコン基板の調製のため)を用いる。</p>		
研究計画及び方法	<p>(過去の経過、研究準備状況等)</p> <p>申請者はこれまでに、PVC膜で被覆したK⁺センサおよびSi₃N₄層をH⁺官能膜として用いるIIS上に脂質二重膜を作製し、イオン濃度の異なる溶液で置換した後の経時変化の測定を行ってきた。十分なイオン遮蔽能を持つ脂質二重膜が形成されたこと、チャンネルペプチドが活性を示すことを、イオン濃度変化後のIISの電位変化から判別しうることを示した。また、平坦な固体基板上に形成した平面脂質二重膜中へのカリウムイオンチャネルの再構成と膜内分子構造観察を行った。</p>		
	<p>(今後の研究計画及び方法、利用希望設備など、EIIIRIS教員と打合せている場合はその状況)</p> <p>申請者は澤田和明教授と共同研究の実績があり、IIS上への脂質二重膜形成とIISによる電位応答の計測を行ってきた。本研究課題ではこれまでの成果を発展させることを目指す。現在は約16000画素中の10%前後が正しい応答をしてい見積もっているが、全画素からの信号を統計的に扱うためのソフトウェアを作成して歩留まりの評価と改善を行う。また、パッチクランプ法で行われているのと同様の、イオンチャネルを活性化するためのパルス電位印加をIIS上の脂質二重膜でも行うための方法を試行する。</p>		
EIIIRIS・VBL内で研究プロジェクトを行う理由	<p>これまでの研究においてIIS上への脂質膜形成と計測については、EIIIRIS先端バイオ実験室に設置された澤田研究室の装置を使用してきた。本申請課題を通して、2020年度もEIIIRISでの実験を継続する。IISセンサの使用法や測定条件については同じ実験室でIISを用いた実験を行っている澤田研究室メンバーと意見交換を行って進めており、実験結果の検討とフィードバックが容易である。また、IIS上への平面脂質膜形成には脂質ベシクルを用いる。脂質ベシクルの粒径を評価するための粒度分布計測装置や、平面脂質膜の流動性を評価するためのレーザースキャニング共焦点顕微鏡装置など、本研究の推進に有用な計測機器がEIIIRISに揃っており、常に使用できる状態にある。IIS上に限らず、蛍光顕微鏡観察や流動性計測を行うFRAP法など蛍光を用いた計測手法においては、Z方向の光の干渉による感度上昇を利用するために、熱酸化SiO₂/Si基板のSiO₂層厚さを制御した基板をVBLで作製する。以上の理由から、EIIIRIS研究プロジェクトを行うこと希望します。</p>		
研究組織	研究者氏名	所属・職名	役割分担
	<p>(研究代表者名の後ろに◎を付す)</p> <p>手老 龍吾◎</p> <p>Melvin Goh Wei Shern</p> <p>竹内 郁弥</p>	<p>応用化学・生命工学系・准教授</p> <p>応用化学・生命工学専攻・D2</p> <p>応用化学・生命工学課程・M1</p>	<p>研究統括、酸化物および有機膜基板の調整、固体基板上への脂質平面膜形成。</p> <p>脂質二重膜の流動性と脂質ベシクル粒径の計測。</p> <p>CCD-IIS上への面脂質二重膜作製と電位応答測定。</p>
<p>研究期間: 2020年4月 ~ 2023年3月(原則として3年間)</p> <p>(研究期間の始期は、研究を開始した年を記入する。終期は原則として、開始した年から3年後を記入する。)</p>			

