

## EIIIRISプロジェクト研究計画書(2023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	人工脂質二重膜系での膜タンパク質の構造と機能の評価		
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>細胞膜は脂質二重膜を基本骨格として様々な種類の脂質や膜タンパク質で構成されており、細胞内外での物質・情報・エネルギーの輸送を行う反応場として働く。これらは神経疾患・代謝異常・感染などと直接関わるため、医療・創薬分野の研究対象としても重要である。膜タンパク質は両親媒性の脂質分子が形成する脂質二重膜内に包埋されることで正しい構造と機能を保つことができ、膜内の脂質・タンパク質分子の集合体形成が反応の要因である。本研究では、主要な膜タンパク質の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。イオンイメージセンサ(IIS)上で平面脂質二重膜形成とイオンチャネルの再構成を行い、イオンチャネルの活性をIISで検出することを目指す。溶液中のイオンを遮蔽できる脂質二重膜の作製および活性を保った状態でイオンチャネルを再構成すること、また二重膜に電位を印加下状態でIISでの応答を検出するための実験方法を開発する。</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きた。これまでは最外層がSi<sub>3</sub>N<sub>4</sub>のセンサ素子を用いてきたが、新しいTa<sub>2</sub>O<sub>5</sub>のセンサ素子を用いて、K<sup>+</sup>官能PVC膜膜の作製と平面脂質二重膜を行う。Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>素子表面上のμmオーダーの凹凸がないため脂質二重膜に高いイオン遮蔽効果が得られると期待している。</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>EIIIRIS2階バイオ実験室に脂質二重膜の作製用の器具および観察用の蛍光顕微鏡装置を設置しており、これらを継続して使用する。Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>センサ素子を用いたイオンイメージセンサ(IIS)を使用する。これらに加えて、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ブソメーター(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>		
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、2023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SiO<sub>2</sub>/Si基板のSiO<sub>2</sub>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研究プロジェクトとして本研究を実施することを強く希望する。</p>		
研究組織	研究者氏名	所属・職名	役割分担
	(研究代表者は氏名の後ろに◎を付す) 手老 龍吾◎	応用化学・生命工学系・准教授	研究統括、脂質二重膜の作製と評価。
	金城 ゆう	応用化学・生命工学課程・M2	脂質二重膜の作製と評価。
	新卒研究生1名配属予定	応用化学・生命工学課程・B4	CCD-IIS 上への面脂質二重膜作製と電位応答測定。
研究期間:	2023年 4月 ~ 2026年 3月(原則として3年間)		
(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。)			