

微細加工シリコンチップにおける脂質二分子膜中の イオンチャネル電流計測

Recording Ion-Channel Currents at Artificial Lipid Bilayers Formed in Microfabricated Silicon Chips

○荒田 航平¹, 平野 愛弓^{1,2}, 但木 大介¹, 山浦 大地¹,
荒木 駿¹, 吉田 美優¹, 大堀 健¹, 山本 英明³, 庭野 道夫¹

(1. 東北大通研, 2. AIMR, 3. 東北大学際研)

○Kohei Arata¹, Ayumi Hirano-Iwata^{1,2}, Daisuke Tadaki¹, Daichi Yamaura¹,
Shun Araki¹, Miyu Yoshida¹, Takeshi Ohori¹, Hideaki Yamamoto³, Michio Niwano¹

(1. RIEC, Tohoku Univ., 2. AIMR, Tohoku Univ., 3. FRIS, Tohoku Univ.)

E-mail: kohei.arata.q7@dc.tohoku.ac.jp

【はじめに】細胞膜に存在するイオンチャネルは、ゲート機構を有し、細胞内外のイオンを選択的に透過させる機能を持つ。このような高度な機能をもつイオンチャネルは、創薬における主ターゲットであり、特に近年、心筋細胞に存在する hERG チャネルの致死性の薬物副作用の問題から、創薬においてイオンチャネル電流を評価することの重要性が高まっている。我々はイオンチャネルを人工脂質二分子膜に包埋した再構成系に基づく薬物スクリーニング系の開発を目指しており、シリコン(Si)微細加工に基づく安定な脂質二分子膜の構築について報告してきた。¹⁾ また、最近我々は、イオンチャネルの膜への包埋が遠心力によって促進されることを見出した。²⁾ 本研究では、遠心力を用いることで、hERG チャネルを含む様々な種類のイオンチャネルの包埋に成功したので、ここに報告する。

【実験結果と考察】 Si₃N₄/Si 基板にフォトリソグラフィ及びウェットエッチングにより微細孔を形成することで、Si 保持体チップを作製した。さらに膜容量低下のためのフッ素樹脂による被覆を施した。基板表面をシランカップリング剤で疎水化した後、この微細孔中に Monolayer Folding 法により脂質二分子膜形成し、イオンチャネルの遠心包埋し、チャネル電流を計測した。ここでは、チャネル発現細胞からプロテオリポソームとして抽出した hERG(電位依存性 K⁺チャネル)、Nav1.5(電位依存性 Na⁺チャネル)、GABA 受容体(リガンド作動性チャネル)などのイオンチャネルを用いた。

はじめに、CHO-hERG、HEK-hERG チャネルの人工脂質二分子膜への包埋、およびチャネル電流計測を行った。その結果、いずれの場合も単一チャネル電流が記録され、その活性は hERG の特異的阻害剤によって抑制された。ともに~10 pS の単一チャネルコンダクタンスを示しており、発現細胞の種類によらず、チャネル固有のコンダクタンスを記録することに成功した。また、これらの計測は同一の電圧プロトコルによって記録されたものであり、イオンチャネルの二分子膜に対する向きの制御がなされていることが示唆される。この他、Nav1.5、GABA 受容体などについても同様に遠心による包埋、チャネル電流記録に成功した。今後は、このチップに基づく high throughput スクリーニング系への展開が期待される。

本研究は、JST-CREST の助成を受けて実施したものである。

[1] A. Hirano-Iwata, et al., *Langmuir*, **26**, 1949 (2010).

[2] A. Hirano-Iwata, et al., *Biophysical Journal*, **110**, 2207 (2016).