

微細加工チップ中に形成した脂質二分子膜への 無細胞合成イオンチャネルの包埋と薬物副作用の定量

Quantification of Drug Side Effects on Cell-Free Synthesized Ion-Channels in Solvent-Free Lipid Bilayers Based on Microfabricated Silicon Chips

○加藤美生¹, 吉田美優¹, 山浦大地¹, 荒田航平¹, 但木大介¹, 山本英明², 戸澤 譲³,
庭野道夫⁴, 平野愛弓^{1,5}

(1. 東北大通研, 2. 東北大学際研, 3. 埼玉大院理工学, 4. 東北福祉大, 5. 東北大 AIMR)

○M. Kato¹, M. Yoshida¹, D. Yamaura¹, K. Arata¹, D. Tadaki¹, H. Yamamoto², Y. Tozawa³,
M. Niwano⁴, A. Hirano-Iwata^{1,5}

(1. RIEC, Tohoku Univ., 2. FRIS, Tohoku Univ., 3. Saitama Univ., 4. Tohoku Fukushi Univ.,
5. AIMR, Tohoku Univ.)

E-mail: ayumi.hirano.a5@tohoku.ac.jp

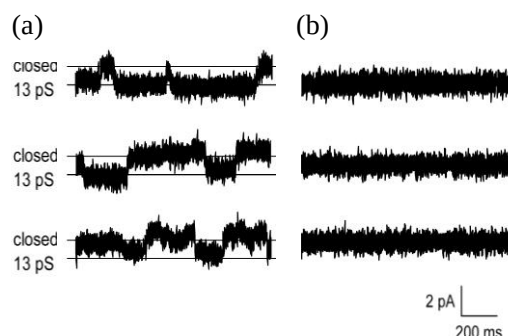
【はじめに】細胞膜に存在するイオンチャネルは、ゲート機構を有し、細胞内外のイオンを選択的に透過させる機能を持つ。イオンチャネルは、創薬における主ターゲットでもあり、近年は特に、心筋細胞に存在する hERG チャネルの致死性の薬物副作用の問題から、創薬におけるイオンチャネル電流計測の重要性が高まっている。我々はイオンチャネルを人工脂質二分子膜に包埋した再構成系に基づく薬物スクリーニング系の開発を目指しており、シリコン(Si)微細加工に基づく安定な脂質二分子膜の構築や^{1,2)}、イオンチャネルの膜への包埋促進に³⁾ついて報告してきた。今回は、この膜系を、無細胞合成系を用いて合成した hERG チャネルに展開し、このチャネルに対する薬物副作用の定量化を試みたのでここに報告する。

【実験方法】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し²⁾、この微細孔中で脂質二分子膜を形成した。小麦胚芽抽出液を用いて無細胞合成した hERG チャネルを形成した膜中に遠心包埋法によって包埋し、チャネル電流を計測した³⁾。副作用薬物を添加し、hERG チャネルの開口時間に基いて阻害曲線を作成した。

【結果と考察】無細胞 hERG チャネルを人工脂質二分子膜に包埋し、チャネル電流を計測した結果、13 pS の単一チャネルコンダクタンスが観測された。この値は、細胞由来の hERG チャネルのコンダクタンス値^{3),4)}と一致した。観測されたチャネル活性は、副作用薬物であるアステミゾール(1 μM)によって抑制された(図)。さらに、アステミゾールによるチャネル活性阻害の濃度依存性について検討し、50%阻害濃度(IC₅₀)の定量を試みた。発表では、本法によって得られた IC₅₀ と、従来のパッチクランプ法での報告値との比較を行い、本法による副作用評価の特徴についても議論する。

本研究は、JST- CREST (JPMJCR14F3) および JSPS 科研費 (15H03822) の助成を受けて実施された。

- [1] A. Hirano-Iwata, et al., *Langmuir*, **26**, 1949 (2010).
- [2] D. Tadaki et al., *Sci. Rep.*, **7**, 17736 (2017).
- [3] A. Hirano-Iwata, et al., *Biophys. J.*, **110**, 2207 (2016).
- [4] A. Zou, et al., *Am. J. Physiol.*, **272**, H1309 (1997).



図, 無細胞合成 hERG チャネル電流の例. (a)コントロール (b)1 μM アステミゾール添加後