人工脂質二重膜内電界制御に基づく新規イオンチャネル機能評価システムの構築

Construction of a novel analysis system for ion channel functions based on artificial lipid bilayers under control of intramembrane electric fields

東北大学医工学研究科 [1], 東北大学電気通信研究所 [2] 山形大学 [3]
○(D)佐藤まどか [1] 小宮麻希 [2]・鹿又健作 [3]・馬騰 [2]・但木大介 [2]・廣瀬文彦 [3]・平野愛弓 [1,2].
Graduate School of Biomedical Engineering, Tohoku Univ. [1], Research Institute of Electrical , Tohoku Univ.[2], Yamagata Univ.[3]
○(D) Madoka Sato[1], Maki Komiya[2], Kensaku Kanomata[3], Teng Ma[2], Daisuke Tadaki[2], Fumihiko Hirose[3], Ayumi Hirano-Iwata[1,2].
E-mail: madoka.sato.p6@dc.tohoku.ac.jp

【はじめに】細胞膜に存在するイオンチャネルは、細胞膜におけるイオンの流出入を制御する膜タンパク質である。その中でも電位依存性イオンチャネルは、活動電位の発生や神経伝達において中心的役割を担っているが、不活性化が起こりやすいものも多く、その解除には過剰な過分極電圧を必要とする等、チャネル機能の評価が困難な場合も多い。一方、我々は、細胞膜もまた 3 次元空間であり、膜貫通方向の電圧のみが細胞膜を制御する電気的要因であるとは限らないのでは？との着想から、細胞膜に平行な方向に電圧を印加できる人工細胞膜系を構築し、膜貫通方向の膜電流信号が膜平行電圧によって増幅される現象を報告してきた[1]。そこで本研究では、この膜平行電圧印加系にイオンチャネルを包埋し、膜貫通方向のイオンチャネル電流に対する膜平行電圧の効果について検討したので、その結果を報告する。

【実験方法】微細孔（φ: 80-150 μm）を形成したテフロンフィルム（厚さ 12.5 μm）を基盤材料として人工細胞膜の支持体を作製した。その微細孔周辺に膜平行電圧を印加するための Ti 電極を蒸着し、さらにその上に絶縁層として SiO_2 を蒸着した。作製した支持体表面をシランカップリング剤で疎水化した後、人工細胞膜の基本構造となる脂質二分子膜を、単分子膜張り合わせ法により微細孔中に形成した。この膜中にイオンチャネルを包埋してチャネル電流の計測を行い、膜平行電圧の効果について検討した。

【結果・考察】はじめに、テフロンフィルム支持体の電気特性について評価した結果、膜平行電圧の印加に伴って Ti 電極の接続部位が酸化され、5分程度のうちに接触抵抗が数Ωから＞50 MΩへと増大することが分かった。そこで、接続部位を Pt で被覆したところ、接触抵抗の増大が抑制され、長時間の電圧印加が可能となった。次に、この膜中に電位依存性 Na チャネル(Nav1.5)を包埋した結果、膜貫通方向の電圧のみでは観測されなかったチャネル活性が、膜平行電圧の印加によって誘起されることを見出した[2]（Fig.1）。さらに、gramicidin A のチャネル電流も膜平行電圧によって変調されることが分かった。これらの結果は、膜平行電圧によりイオンチャネルの開閉が制御できる可能性を示唆している。本系はイオンチャネル解析における新機軸を提案するものであり、本系を様々なイオンチャネルへと展開することで、チャネル開閉機構に関する新たな学理が創出されると期待される。

Fig.1 The effect of intra-membrane electric fields

【文献】 [1] T. Ma, A. Hirano-Iwata, et al., *ACS Omega*, **4**, 18299, 2019.
[2] T. Ma, M. Sato, et al., *Chem. Lett.*, **50**, 418, 2021.