

報道資料

令和2年9月11日

報道機関各位

長岡技術科学大学産学融合トップランナー養成センター 庄司 観
東京農工大学大学院工学研究院生命機能科学部門 川野竜司

脂質二分子膜の引き剥がしによる 膜タンパク質によるポア形成メカニズムの解析

本研究成果のポイント

- ポア形成膜タンパク質・ペプチドによるポア形成メカニズムの解析手法を新たに開発
- 金ニードルの先端に形成した脂質二分子膜を引きはがす際のイオン電流を計測
- “ポアの新規挿入”と“ポアの拡大”を区別し、その比率を解析することに成功

I. 研究の概要

国立大学法人長岡技術科学大学産学融合トップランナー養成センターの庄司観産学融合特任講師、国立大学法人東京農工大学大学院工学研究院生命機能科学部門の川野竜司准教授、Department of Chemistry, University of Cincinnati, USA の Ryan J. White 准教授は、生体ナノポア(注1)が再構築された脂質二分子膜を引き剥がす際に計測されるナノポアの引き抜き電流を計測することによって、ナノポアの形成メカニズムを解析する新たな手法を開発しました。本手法を4つの異なるポア形成膜タンパク質・ペプチドに応用し、ポア形成メカニズムを解析することに成功しました。本計測手法は、ポア形成膜タンパク質やペプチドの解析に広く応用されることが期待されます。

II. 研究の背景

ポア形成膜タンパク質・ペプチドのポア形成メカニズムを解析することは、これらのタンパク質・ペプチドによって引き起こされる様々な疾患に関する知見を得ることができるため非常に重要です。ポアの形成メカニズムは大きく分けて、“ポアの新規挿入”と“ポアの拡大”があります。従来、ポア形成メカニズムの評価は原子間力顕微鏡や透過型電子顕微鏡による観察によって行われていましたが、操作の煩雑さやポアのサイズによっては観察が難しいなどの問題がありました。また、ポア形成を観察するチャンネル電流測定では、上記二つのポア形成メカニズムにより観察される電流シグナルが類似しているため、電気計測を用いたポア形成メカニズムの解析は困難でした(図1)。

III. 研究の成果

本研究では、金ニードルの先端への脂質二分子膜の形成技術(参考文献 1, 2)を応用することで、脂質二分子膜を引き剥がす際に得られるナノポアの引き抜き電流を計測することに成功し、得られた電流シグナルを解析することで、脂質二分子膜に再構築された生体ナノポアの情報を得ることに成功しました。さらに、ポアが形成される時に観測される電流シグナルと引き抜き電流シグナルを比較することで、ポア形成膜タンパク質がどのようなメカニズムでポアを構築するのかを解析することに成功しました(図 2)。本論文では、本計測手法を用いて溶血性毒素である α -hemolysin、Streptolysin O、抗菌性ペプチドである Alamethicin、アルツハイマー病の原因とされる Amyloid beta のポア形成メカニズムを解析しました。その結果、それぞれの生体ナノポアにおいて、“ポアの新規挿入”と“ポアの拡大”が起こる比率を世界で初めて解析することができました (図 3)。

IV. 今後の展開

本研究によって、原子間力顕微鏡や透過型電子顕微鏡等の顕微鏡技術を使用せずに、ポアを通過するチャンネル電流を計測するだけで、ポア形成メカニズムを解析することが可能になりました。本解析手法は、非常にシンプルな計測メカニズムでありポアサイズの制限なくポア形成メカニズムの解析を行うことが可能です。しかしながら、ナノポアの引き抜き電流の計測精度の向上が課題であり、今後は脂質二分子膜を形成するプローブの位置制御をより正確に行うことで、引き抜き電流をより正確に計測可能なシステムを構築し、ポア形成メカニズムに関する解析をより詳細に行うことを目指しています。

V. 研究成果の公表

本研究成果は、米国化学会が発行する **Langmuir** (電子版 8 月 3 日付)に掲載されました。

URL: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.langmuir.0c00833>

論文名: Analysis of Membrane Protein Deinsertion-Associated Currents with Nanoneedle-Supported Bilayers to Discover Pore Formation Mechanisms

著者: Kan Shoji, Ryuji Kawano, and Ryan J. White

VI. 研究体制

本研究は、産学融合トップランナー養成センターの庄司観産学融合特任講師、東京農工大学大学院工学研究院生命機能科学部門の川野竜司准教授、Department of Chemistry, University of Cincinnati 及び東京農工大学グローバルイノベーション研究院の招聘准教授である Ryan J. White 博士らによって実施されました。(科研費 19K15418 により実施)

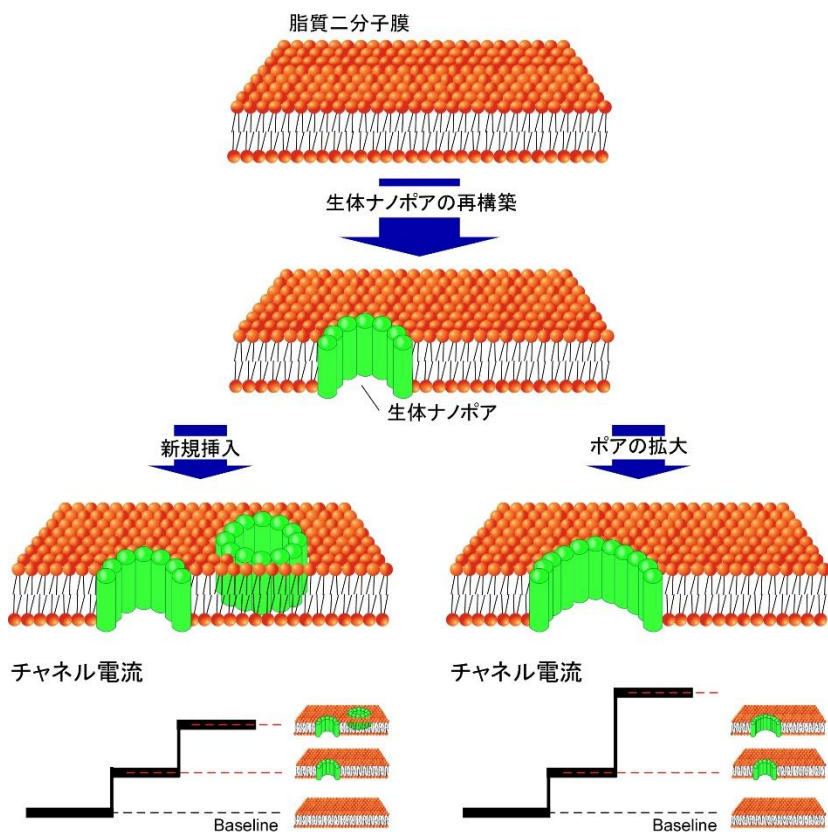
VII. 用語解説

注1) 生体ナノポア

膜タンパク質やイオンチャネルによって、脂質二分子膜中に形成されるナノサイズの孔 (1 ナノメートルは1 ミリメートルの百万分の1で、1 マイクロメートルの千分の1)。

VIII. 参考文献

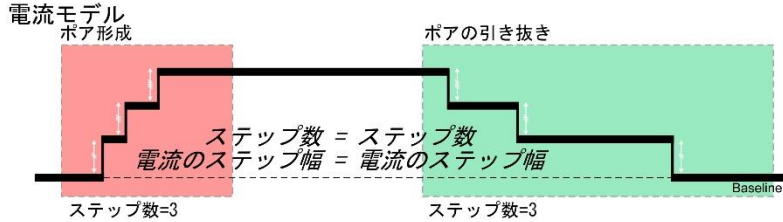
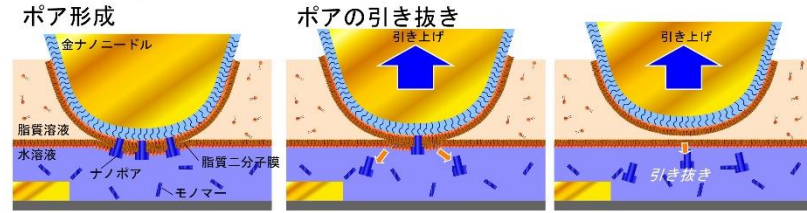
1. D. Okuno, M. Hirano, H. Yokota, Y. Onishi, J. Ichinose, and T. Ide, “A Simple Method for Ion Channel Recordings Using Fine Gold Electrode,” *Analytical Sciences*, vol. 32, no. 12, pp. 1353–1357, 2016.
2. K. Shoji, R. Kawano, and R. J. White, “Spatially Resolved Chemical Detection with a Nanoneedle-Probe-Supported Biological Nanopore,” *ACS Nano*, vol. 13, no. 2, pp. 2606–2614, 2019.



シグナルが類似!

図1 生体ナノポアのポア形成メカニズム。従来のチャンネル電流測定では、得られた電流シグナルが類似しているためポア形成メカニズムを解析することは困難。

ポアの新規挿入



ポアの拡大

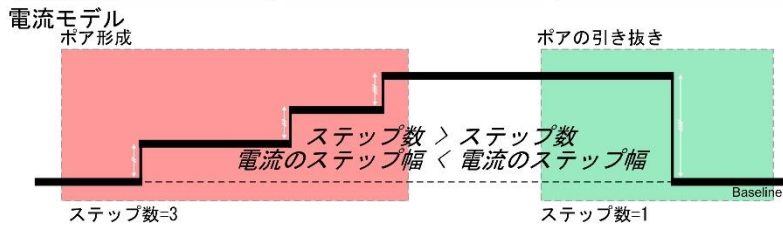
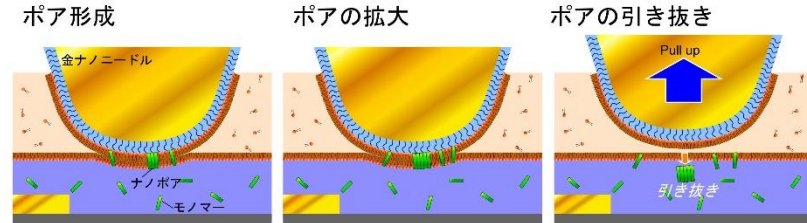


図2 新たに開発したポアの引き抜き電流計測によるポア形成メカニズムの解析手法。ポア形成時に確認されるチャンネル電流とポアの引き抜きによって確認されるチャンネル電流を比較することで“ポアの新規挿入”と“ポアの拡大”のどちらのメカニズムでポアが形成されているかを解析することができる。

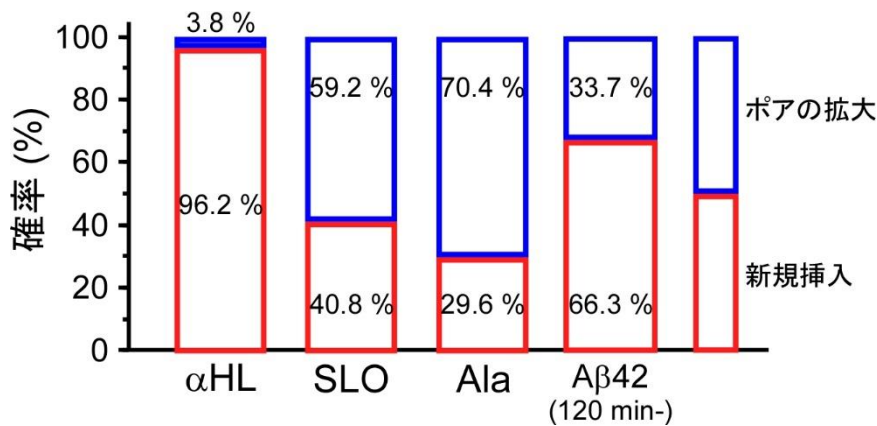


図3 ポア形成メカニズムの解析結果。ポアの種類によって“ポアの新規挿入”と“ポアの拡大”の比率が異なる。

【本件問い合わせ先】

長岡技術科学大学

産学融合トップランナー養成センター 産学融合特任講師

庄司 観

E-mail: kshoji@mech.nagaokaut.ac.jp

TEL: 0258-47-9767

東京農工大学

大学院工学研究院 生命機能科学部門 准教授

川野 竜司

E-mail: rjkawano@cc.tuat.ac.jp

TEL: 042-388-7187

【取材申し込み先】

長岡技術科学大学総務部大学戦略課企画・広報室

Email: skoho@jcom.nagaokaut.ac.jp

TEL: 0258-47-9209

FAX: 0258-47-9010

東京農工大学企画課広報係

Email: koho2@cc.tuat.ac.jp

TEL: 042-367-5930

FAX: 042-367-5553