創薬支援のための高効率・高精度な薬効測定装置開発

[1]学術研究院ヘルスシステム統合科学学域、 [2]総合技術部 教育支援技術課
井出 徹[1]、平野 美奈子[1]、朝倉 真実[2]

研究のポイント

- 細胞の生体膜に存在する「イオンチャンネル」は、様々な細胞機能を調節するために不可欠であり、創薬研究の重要なターゲットとなっています。
- しかし、現在までに有効な薬効スクリーニング法が確立されていません。
- 本研究では人工脂質二重層膜を作製する新しい方法を開発し、従来法に比べて格段に効率的なイオンチャネル電流の測定を実現しました。

背景・課題

イオンチャネルは細胞の生体膜に存在し、膜を介したイオンの透過性を制御することで、様々な細胞機能を調節する膜タンパク質です。イオンチャネルの異常は重篤な疾患（チャネル病）を引き起こすことが知られており、そのためイオンチャネルは創薬研究における重要なターゲットとして注目されています。

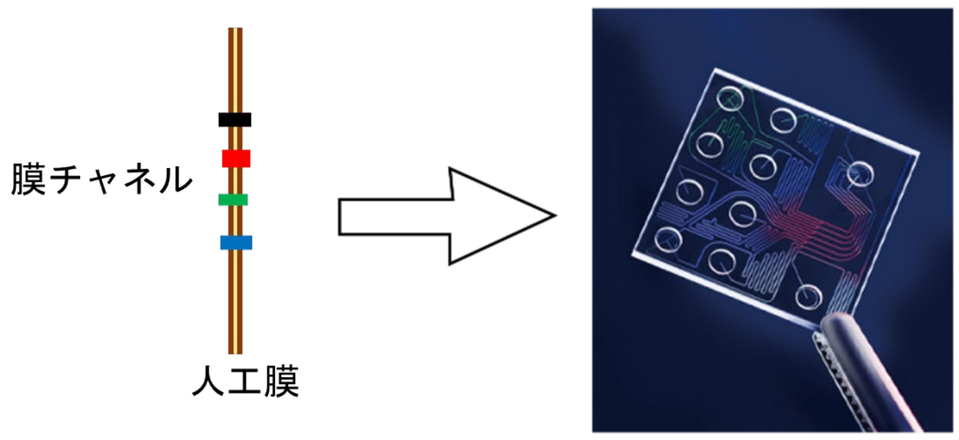
しかし

高効率かつ高精度な薬効スクリーニング法が確立されていないことから、イオンチャネルを標的とした治療薬の開発は遅れています。

種類	（チャネル）病名
Ca^{2+} チャネル	不整脈、糖尿病、筋ジストロフィー、てんかん、高血圧、片頭痛、筋形成不全症
Cl^{-}チャネル	嚢胞性線維症、腎結石症、筋強直
K^{+}チャネル	不整脈、気管支喘息、運動失調、高血圧、心筋梗塞難聴、糖尿病、てんかん、がん、緑内障
Na^{+}チャネル	不整脈、てんかん、片頭痛、筋強直、脳梗塞、疼痛、麻痺
薬物作動性チャネル	アレルギー、気管支喘息、てんかん、逆流性食道炎片頭痛、パーキンソン病、ハンチントン病、脳梗塞

人工膜法

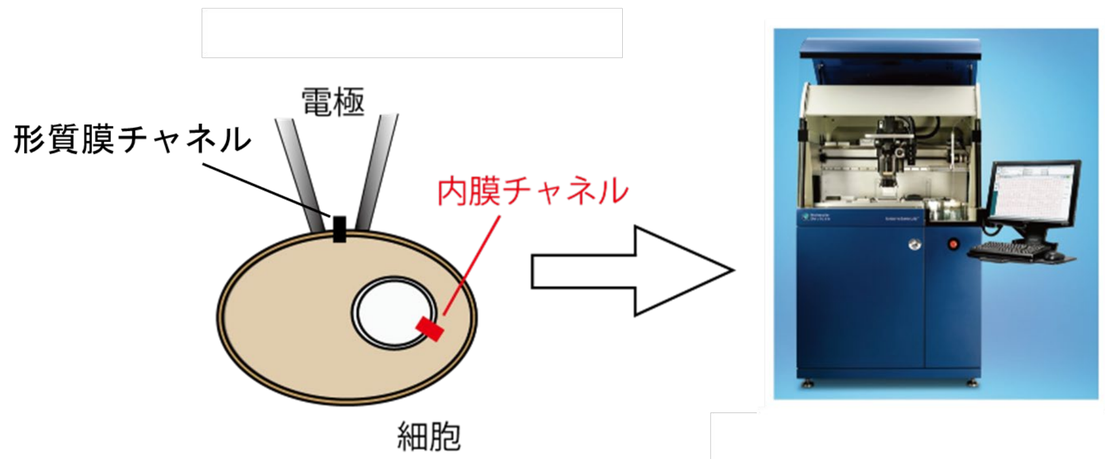
人工脂質二重層膜にイオンチャネルなどの膜タンパク質を組み込み、制御された条件下で膜電位や電流を測定・制御する手法



- 基盤技術のみ開発済み、応用展開は発展途上
- 再構成可能な膜チャネル（■■■■）に幅広く適用可能
- 膜成分や環境条件を自由に制御可能
- 装置の小型化が可能、低ランニングコスト

パッチクランプ法

生きた細胞膜に微小なガラスピペットを密着させて、イオンチャネルなどの膜タンパク質を通る電流を直接測定・制御する手法

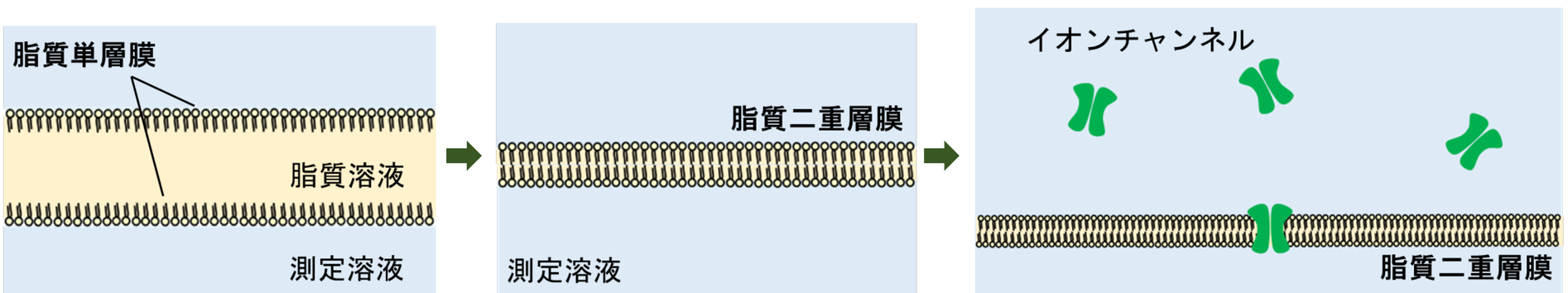


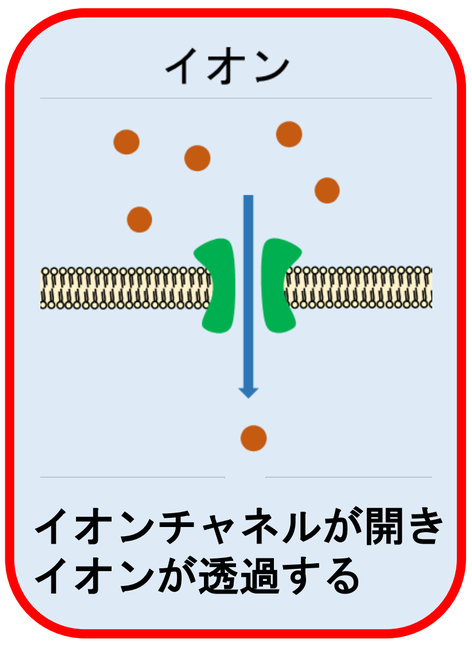
- 既に自動化、製品化されている
- 内膜系チャネル（■）には適用不可
- 大型かつ高額装置、高ランニングコスト

人工膜法の課題

脂質二重層膜の形成に時間を要する

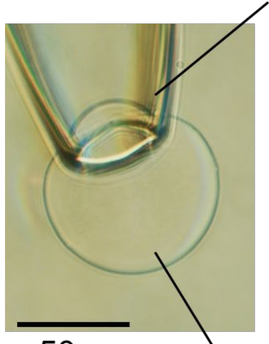
脂質二重層膜にイオンチャネルが組込まれるまでに時間を要する





研究内容

基盤の作製



ガラスピペット(開口径 約30μm)

平滑な先端開口を作製

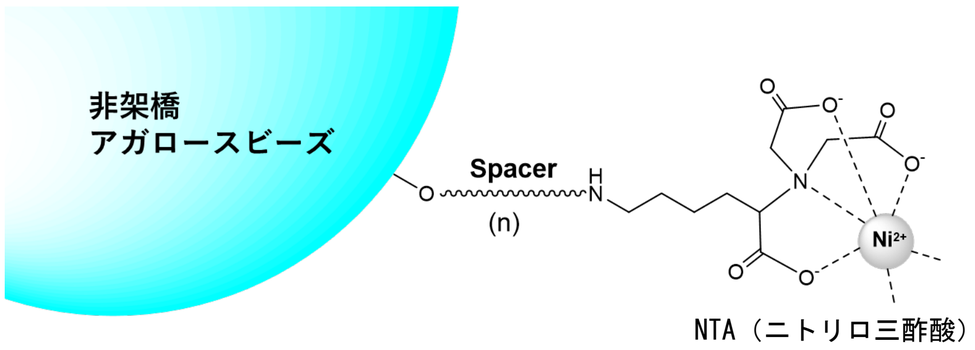
ガラスキャピラリーを加熱しながら引き延ばして切断し、微細な先端を有するピペットを作製

⬇

ピペット先端部を滑らかになるように加工

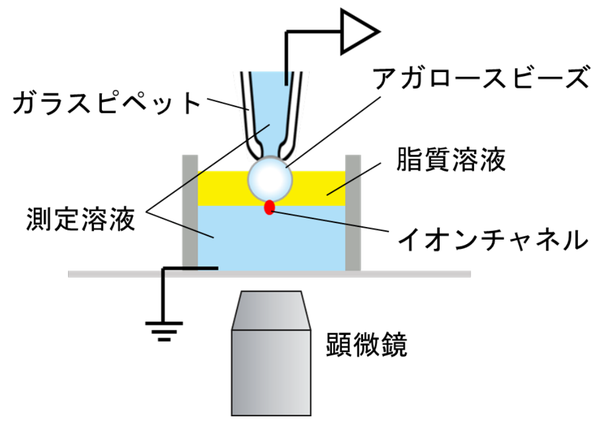
非架橋アガロースビーズ(球径 80-100μm)

柔らかいゲルビーズの表面を化学修飾

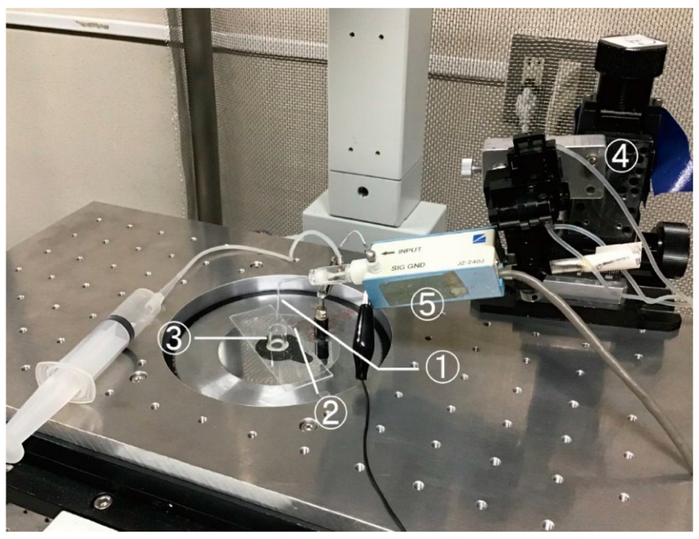


アガロースビーズにタグを介してイオンチャネルを固定

測定装置

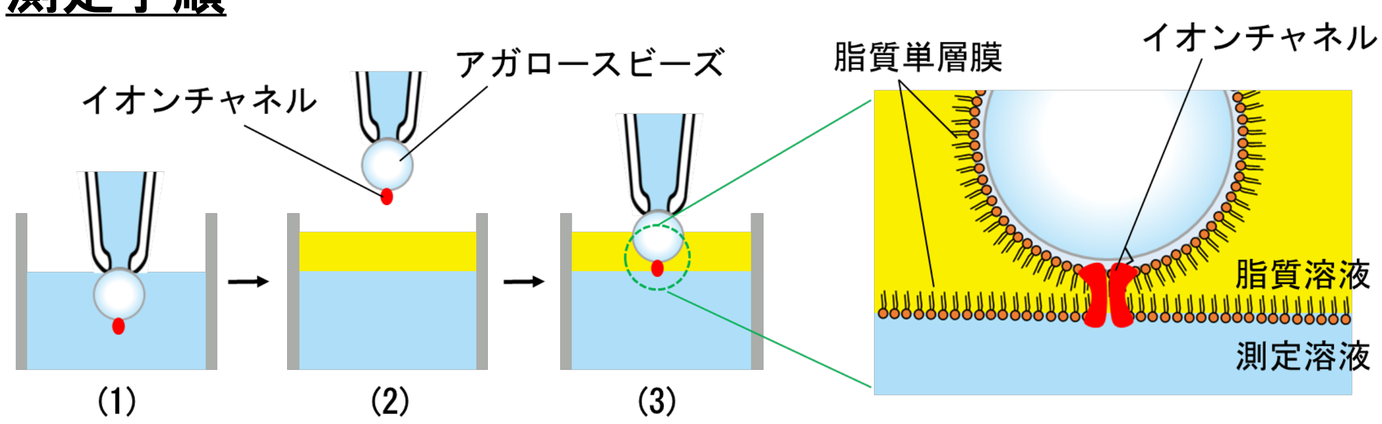


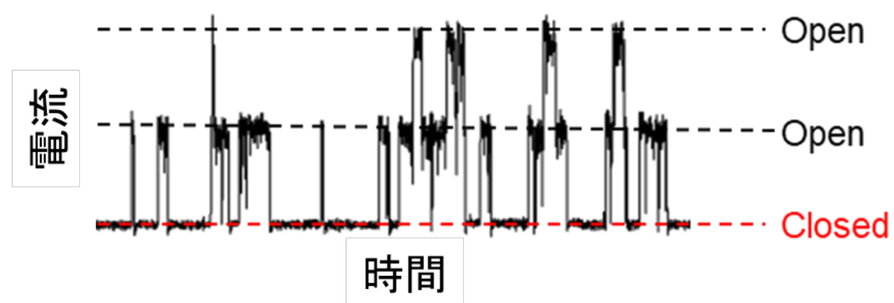
概略図



①ガラスピペット ②バス電極 ③バスチャンバー
④マニピュレータ ⑤増幅器

測定手順



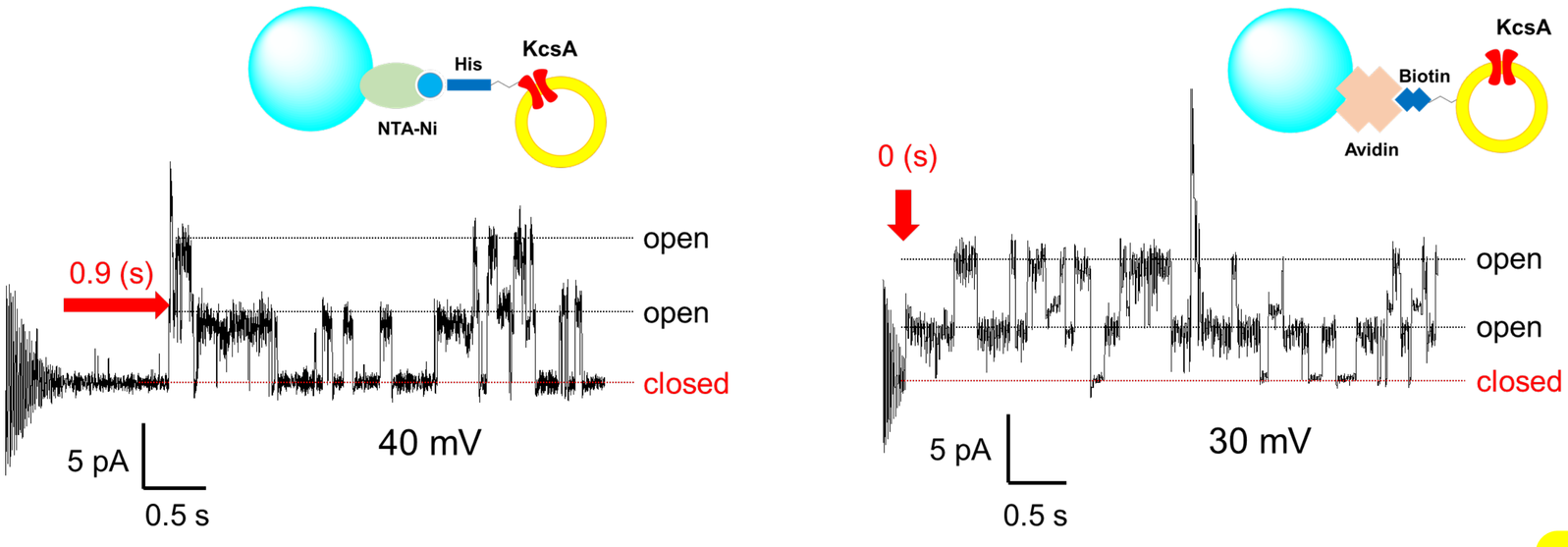


(1) アガロースビーズをガラスピペットの先端に吸引固定する。
(2) ビーズを引き上げ、脂質溶液を測定溶液に重層する。
(3) ビーズを脂質溶液と測定溶液の界面まで下ろす。

脂質二重層膜にチャネルが組み込まれるとチャネルの開閉によってイオンが透過し、電流として観測される。

結果

KcsA:カリウムイオンを選択的に透過させるイオンチャネル



チャネル電流が観測されるまでの時間

His, KcsA, NTA-Ni	< 400 (s)
His, KcsA, NTA-Ni	< 10 (s)
Biotin, KcsA, Avidin	< 10 (s)

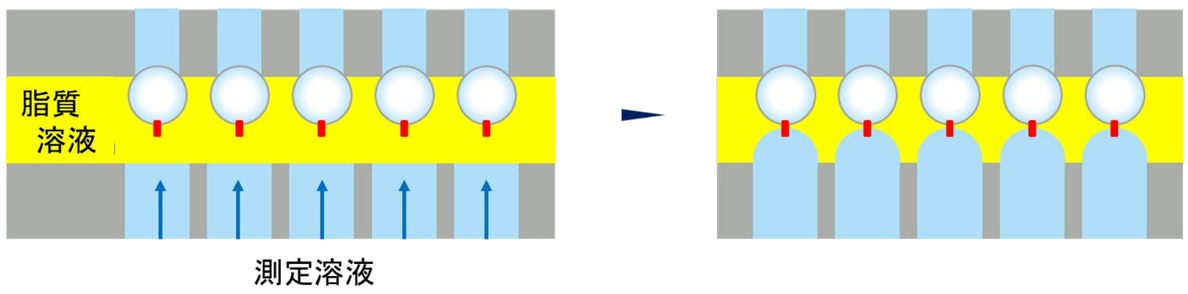
アガロースビーズにイオンチャネルを固定し、膜形成と同時にイオンチャネルを膜中に組込むことに成功

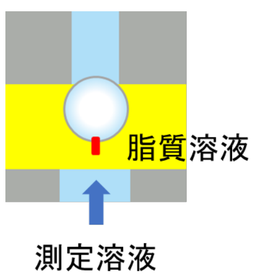
人工膜法の課題を改善

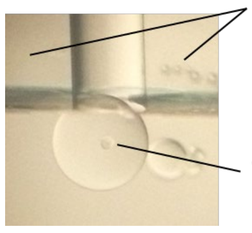
実用化に向けて

微小流路技術とアガロースビーズ測定法を組み合わせた小型装置を開発するために、流路の素材や形状などを検討しています。

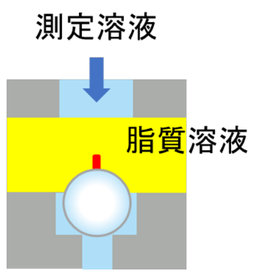
微小流路に複数のビーズを配置し、多チャンネルを同時に計測

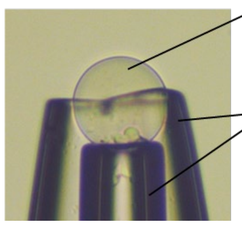






PDMS
（ポリジメチルシロキサン）
アガロースビーズ





アガロースビーズ
ガラスキャピラリー