

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業ソロタイプ「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」研究開発領域

(英語) Advanced Research & Development Programs for Medical Innovation, Solo-type, “Studies on Specific Activities and Functions of Lipid Molecules to Develop Innovative Medical Technologies”

研究開発課題名：(日本語) 脂質輸送タンパク質の高感度機能解析にむけた生体膜マイクロチップの開発と創薬への応用

(英語) Development of artificial cell membrane microsystems for highly sensitive analysis of lipid transport proteins and pharmacological applications.

研究開発担当者 (日本語) 東京大学大学院工学系研究科・講師・渡邊力也

所属 役職 氏名：(英語) The University of Tokyo, Lecturer, Rikiya Watanabe

実施期間：平成 28 年 10 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 非対称生体膜マイクロチップと脂質輸送体の高感度機能解析技術の開発

細胞内では、生体膜上の脂質組成の非対称性によりアポトーシスなどの様々な生理機能が制御されており、その非対称性の維持および崩壊は、様々な膜タンパク質の脂質輸送により実現している。昨年度は、脂質輸送に関わる膜タンパク質(脂質輸送体)の 1 分子生物物理計測技術を開発し、それらの作動機構の詳細な解明を行った。具体的には、生体膜の外層にのみ蛍光脂質を局在させた非対称な生体膜マイクロチップを開発し、生体膜の非対称性を崩壊させる脂質輸送体である「スクランブラーゼ(TMEM16F)」を再構成させたところ、蛍光脂質が生体膜の内層へ輸送されるに従い、生体膜上の蛍光強度の上昇が観察された。また、TMEM16F の阻害剤である EGCG を添加したところ、蛍光強度の上昇が観察されなかったことから、生体膜チップ上での TMEM16F の脂質輸送活性の計測に成功したと言える。

- Development of novel artificial cell-membrane microsystems with an asymmetric lipid composition allowing highly sensitive analysis of lipid transport proteins.

Most biological membranes possess an asymmetric transbilayer phospholipid distribution, which controls various cellular functions, such as cell apoptosis. Last year we elucidated the working mechanism of lipid-transport protein by developing the novel single-molecule technique. In particular, we developed a novel artificial cell-membrane microsystems with an asymmetric lipid composition where fluorescent lipids was located only in the outer leaflet, and observed the transport of fluorescent lipid into the inner leaflet via TMEM16F, a phospholipid scramblase, as an increment of fluorescent intensity on the membrane. Moreover, the fluorescent increment was suppressed by adding the inhibitor of TMEM16F, EGCG, showing that we succeeded to measure the phospholipid scrambling by the use of artificial cell-membrane microsystems.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 1 件）

1. *Watanabe, R., Soga, N., Ohdate, S., & *Noji, H. “Single molecule analysis of membrane transporter activity by using a microsystem” *Methods in Molecular Biology* (in press)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

✓ 招待講演

1. Watanabe, R. “Artificial biomembrane microsystems for highly sensitive analysis of membrane proteins” *253rd American Chemical Society National Meeting “Biomembrane symposium”*, Apr 5 (2017), San Francisco, USA
2. 渡邊力也 “生体膜マイクロチップを利用したトランスポーターの高感度機能解析” *第90回日本細菌学会総会 シンポジウム「トランスポーターから薬剤耐性を克服する阻害剤開発を考える」*, Mar 19 (2017), Sendai, Japan
3. 渡邊力也 “マイクロチップが実現する膜輸送体の高感度構造機能解析” *第97回日本化学会春季年会 特別企画「分析手法を極めて生命現象に迫る」*, Mar 16 (2017), Yokohama, Japan
4. 渡邊力也 “Single molecule analysis of membrane protein activities” *第64回日本応用物理学会春季学術講演会 シンポジウム「ナノバイオテクノロジーとバイオセンシングに関するジョイントシンポジウム」*, Mar 15 (2017), Yokohama, Japan
5. 渡邊力也 “マイクロチップが実現する膜輸送体の高感度構造機能解析” *第39回日本分子生物学会年会 指定シンポジウム「膜タンパク質の構造ダイナミクスと機能発現」*, Dec 2 (2016), Yokohama, Japan
6. Watanabe, R. “Artificial cell-membrane microsystems for highly sensitive analysis of membrane proteins” *Cold Spring Harbor Conferences Asia “Synthetic Biology”*, Nov 28 (2016), Suzhou, China

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

1. 特願 2017-040664 号