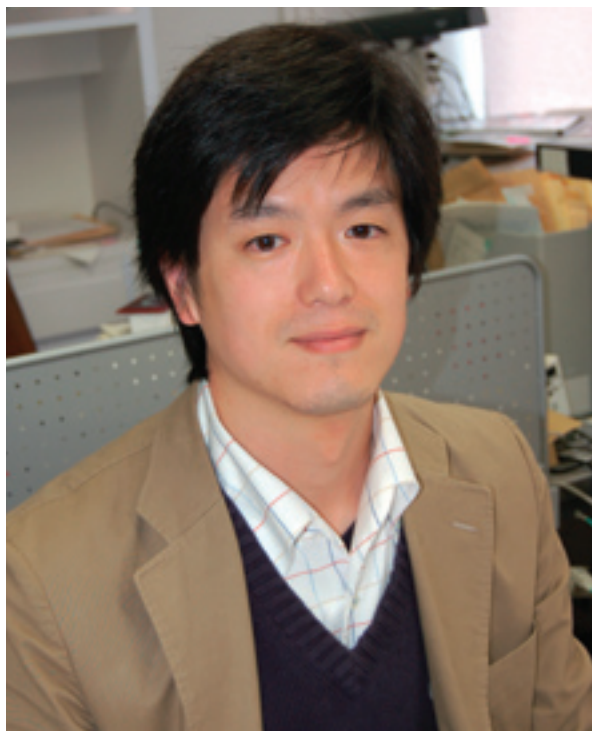


東京大学生産技術研究所助教授

竹内昌治

MEMSに 脂質二重膜を張って、 膜タンパク質研究の デバイスをつくる



細胞内外の情報伝達を担う膜タンパク質。開発が進む多くの新薬が、この膜タンパク質を標的分子としているが、データの安定性や再現性、コストの問題などから誰もが容易かつ無尽蔵に細胞試験を実施できるものではない。東京大学生産技術研究所助教授の竹内昌治は、膜タンパク質を埋め込める脂質二重膜をMEMSに張る技術を開発。これをチップ化することで、自由な膜タンパク質の機能解析を可能とし、安定性、再現性の高い低コストの創薬スクリーニングへつなげようとしている。

●取材・写真：斉藤勝司 サイエンスライター

1972年、生まれ。1995年、東京大学工学部産業機械工学科卒業。1997年同大学大学院工学系研究科機械情報工学専攻修士課程修了。2000年、同博士課程修了。博士(工学)。2000～2001年、日本学術振興会特別研究員(PD)。2001年、東京大学生産技術研究所講師を経て、2003年より現職。2004～2005年、ハーバード大学化学科客員研究員。2005年からJSTさきがけ研究者(構造機能と計測分析)(兼任)。

SHOJI TAKEUCHI

に、膜に入った“自然な”状態を保ったまま結晶化し、構造を解析するのが非常にむずかしいのだ。立体構造が既知のタンパク質のデータベースと比較して、膜タンパク質の立体構造を類推し、化合物とのドッキング・シミュレーション^{*1}をする試みはあるものの、まだまだ精度が低く、新薬開発において細胞試験は必要不可欠な手段なのである。

ならば細胞を用いる代わりに、細胞膜をMEMS (Micro Electro Mechanical Systems) に張って、そこに膜タンパク質を埋め込んで、擬似的な細胞をつくって創薬スクリーニングに活かそうとしている研究者がいる。東京大学生産技術研究所助教授の竹内昌治である。

MEMSは半導体集積回路の製作プロセスを応用したデバイスで、すでに各種センサーやプリンタヘッドなどで実用化されている。バイオ研究では、MEMSの微細な流路を使って微量の化合物を反応させる試験が広く利用されており、“Lab-on-a-Chip^{*2}”という言葉も定着している。

竹内は、このMEMSの微細流路中に細胞膜を模した脂質二重膜を張り、そこに膜タンパク質を埋め込んで、膜タンパク質チップをつくらうとしてい

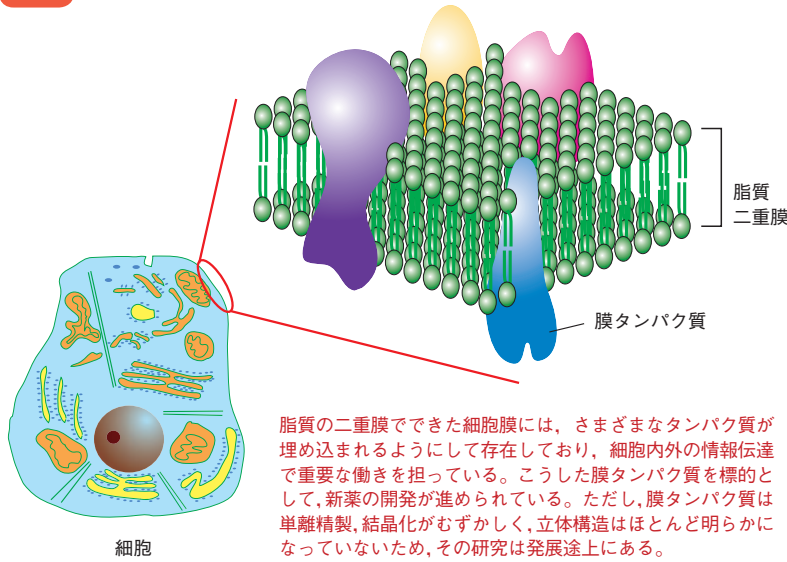
膜タンパク質チップによる 創薬スクリーニング

細胞膜に存在する膜タンパク質は、細胞内外の情報伝達を担っている。そのため多くの場合、薬が効くかどうかは、膜タンパク質を介して薬が細胞内に入るか否かによって決まってくる。開発が進められている新薬の多くが、その標的分子を膜タンパク質にしているのも頷けるだろう(図1)。

ただし、膨大な数にのぼる新薬候補の化合物を、一つ一つ細胞を用いて試験していると開発費はどんどんかさんでしまう。一部には、細胞試験の前に、タンパク質の情報を蓄積したデータベースを活用して、薬効の有無をコンピュータ・シミュレーションする研究手法も取り入れられているものの、これにも問題がある。

膜タンパク質は、脂質でできた細胞膜に埋め込まれて存在しているがゆえ

図1 細胞膜と膜タンパク質



脂質の二重膜でできた細胞膜には、さまざまなタンパク質が埋め込まれるようにして存在しており、細胞内外の情報伝達で重要な働きを担っている。こうした膜タンパク質を標的として、新薬の開発が進められている。ただし、膜タンパク質は単離精製、結晶化がむずかしく、立体構造はほとんど明らかになっていないため、その研究は発展途上にある。

*1
薬が効くには、薬になる化合物が標的分子に結合し、その働きを阻害したり促進したりしなければならない。コンピュータを駆使した創薬スクリーニングでは、標的分子と化合物の立体構造から、結合しえるものかどうかをシミュレーションすることがあり、これをドッキング・シミュレーションとよぶ。

*2
タンパク質などの生体分子を大量に用意することはむずかしい。少量の検体でも試験ができるように、ガラスなどの基板の上に微細な流路をつくって、反応、分離、検出をする研究デバイスのこと。チップ上の実験室という意味から、Lab-on-a-Chipとよばれる。

同様の試験ができるわけだ。細胞の種類によっては、その確保がむずかしいため、膜タンパク質チップは創薬スクリーニングに大きく貢献できるだろう。

脂質一重膜を接触させて 脂質二重膜をつくる

なのだ。竹内がこう説明する。

「脂質二重膜で隔てられた流路の電位差計測や蛍光イメージングなどによって、流路に入れた物質が膜タンパク質とどのようにかかわるか調べることができるでしょう (図2a)」

さらに脂質二重膜を張った孔をアレイ状に並べておき、それぞれに埋め込む膜タンパク質を変えれば、ある化合物(新薬候補物質など)のもつ作用を複数の膜タンパク質に対して一気に調べる膜タンパク質チップをつくることも可能だ。これが実現すれば、膜タンパク質に対する作用がある化合物だけを選別するハイスループット・スクリーニングさえ実現しえるのだ(図2b)。

「これからの新薬では、あらかじめ決められた標的分子に対して、新薬候補の化合物がなんらかの作用をもっているかどうかを調べることが重要になります。しかし、膜タンパク質の種類によっては、それをもった細胞が簡単には用意できないこともあります。その点で、望みの膜タンパク質を埋め込んだチップができるわけですから、多くの製薬会社に利用してもらえないかと考えています」(竹内)

たとえば、肝臓の病気に効く薬を開

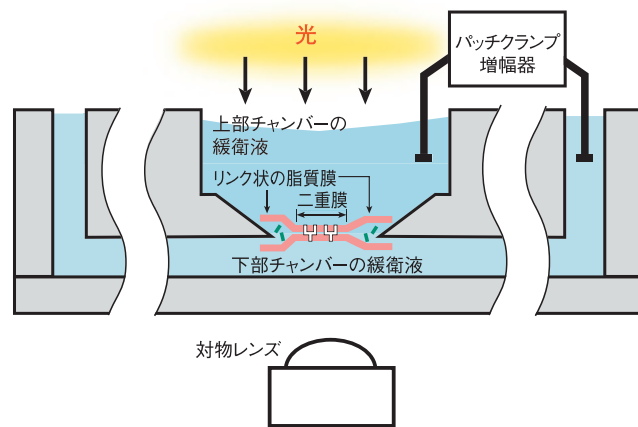
発しようとするれば、肝細胞を使った試験が必要となる。しかし、肝細胞を大量に用意することはたやすくはない。肝細胞の膜タンパク質を埋め込んだチップができれば、肝細胞を使うのと

では、膜タンパク質チップはどのように作製されるのだろうか。竹内がこう続ける。

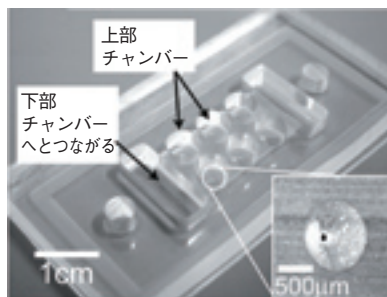
「半導体の製造技術が進化したことで、MEMSに小さな孔を開けるのはむずか

図2 MEMSに脂質二重膜を張った膜タンパク質チップ

a MEMSに平面の脂質二重膜を張る

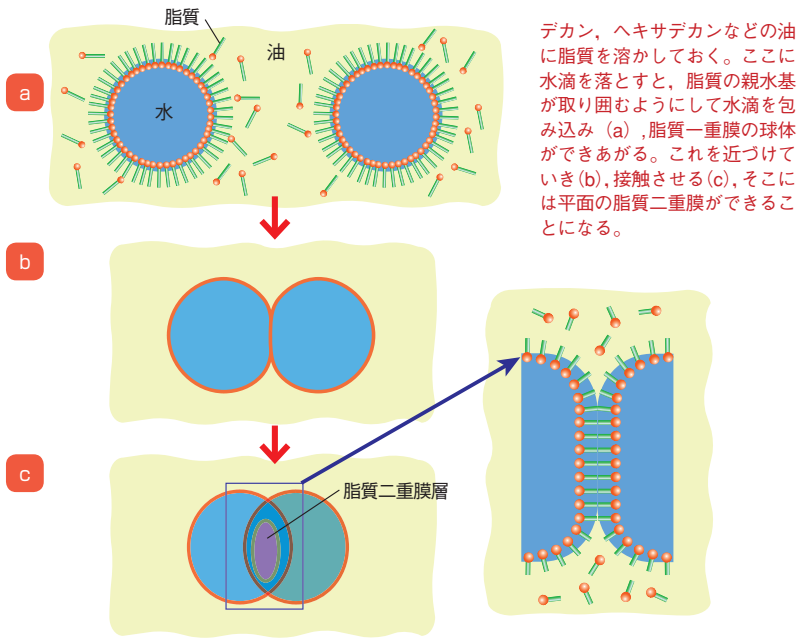


b 膜タンパク質チップ



MEMS上に、上下にチャンバーのある孔に脂質二重膜を張り、そこに膜タンパク質を埋め込むことで、新薬候補となる化合物が膜タンパク質に作用するかどうかを調べることができる(a)。これを一つのチップ上に複数つくことで、複数の試験を同時におこなうことができ、創薬スクリーニングに役立てられる(b)。

図3 平面の脂質二重膜ができる原理



膜ができる。さらに流し込む水の量を増やして、水圧を加えていくと、接触面が広がって、そこには脂質の二重膜ができあがっていく。

図4bを見ていただきたい。これは上下にチャンバー（空間）がある穴に脂質二重膜を張るようすを示したものが、穴の部分に脂質が溶けた油を配して、上部から水圧を加えていくと、徐々に二重膜部分が広がってくれる。竹内がこう説明する。

「一般的なイメージでは、流路から流れてしまってMEMSの上でも扱いにくいものと思われるかもしれませんが、しかし、マイクロメートルオーダーの微細な流路の中では、水の粘性が大きく影響して、比較的扱いやすいものなのです。水の粘性以外にも、さまざまなノウハウを盛り込んではいませんが、ポンプで押して界面に水圧を加えると、脂質二重膜ができてくれるのです」

この方法だと、MEMSの孔の直径や高さ、水圧などが細かく設定できるた

しいことではなくなっています。ただ、その孔に脂質の二重膜を張ることは決して簡単ではなく、私たちは独自の方法を開発する必要がありました」

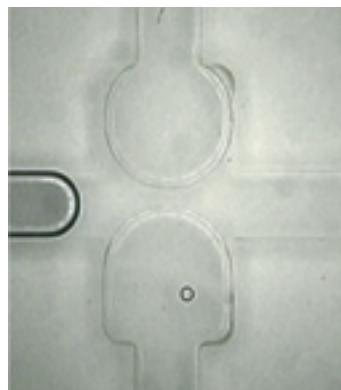
まずデカン、ヘキサデカンといった油のなかに、脂質を溶かしておく。ここに水滴を落とすと、脂質が水滴を取り囲む。内側に親水基が、外側に疎水基が向いた脂質一重膜ができるのだ(図3a)。こうした水滴を抱えた脂質一重膜を二つ作り、これらを接触させてやる(図3b)。すると、その接触面には平面の脂質二重膜ができる(図3c)。これと同じことをMEMSの孔でおこなえば、そこに脂質二重膜を張れるというわけだ。

竹内は、基板上に流路幅500 μmの十字形の微小流路をつくった(図

4a)。十字の横方向の流路に脂質を溶かした油が満たされていて、縦方向の流路の両端から水が流し込まれる。すると十字の交点付近で、上からの水の界面と、下からの水の界面に脂質一重

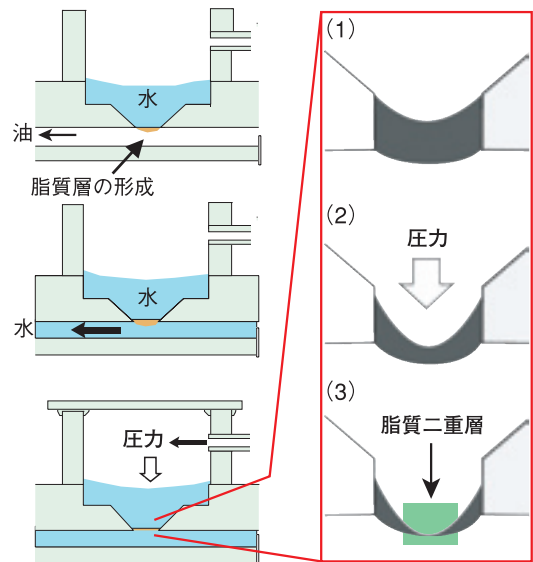
図4 MEMSの微細流路に脂質二重膜をつくる

a MEMS上の十字流路に脂質二重膜をつくる



MEMS上の十字流路の横方向に脂質を溶かした油が満たされ、縦方向の流路の両端から水が流し込まれる。十字の交点付近では、上下からの水の界面にできた脂質一重膜どうしが重なり合い、脂質二重膜ができる。(a)。(a)の方法を上下にチャンバーのある微細な孔で再現すれば、孔の中心部分に脂質の二重膜ができあがる(b)。

b 上下にチャンバーのある孔に脂質二重膜を張る



め、実験を繰り返すことで最適値を見いだせたのだという。その結果、90%もの成功率で脂質二重膜ができるようになったのだ。

膜タンパク質を自由に合成できる技術がなければ…

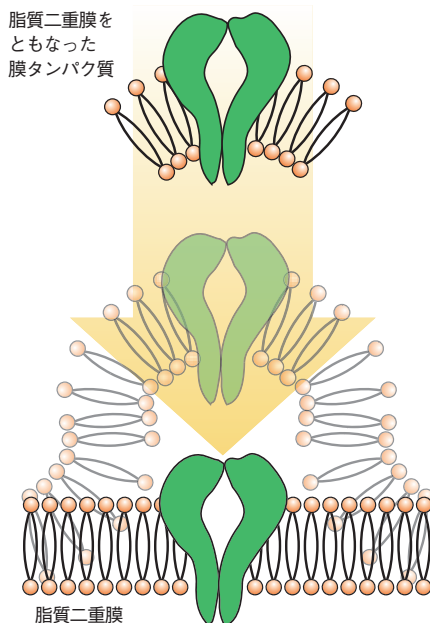
こうしてMEMSに脂質二重膜を組み込めたわけだが、これを膜タンパク質チップにするには、脂質二重膜に膜タンパク質を埋め込まなければならない。いくら膜タンパク質が巨大な分子だといっても、ピンセットでつまみ上げて、二重膜に埋め込むような芸当ができるわけではない。竹内がこう続ける。

「私たちの研究室ではできないため、共同研究者に頼らなければならないのですが、まず膜タンパク質を精製しなければなりません。このとき、膜タンパク質は常に細胞膜に埋め込まれて存在しているため、活性を保持したまま精製するには脂質の存在は必須となります。脂質二重膜に膜タンパク質を埋め込む場合、この脂質が好都合に働き、二重膜上にばら撒くだけで、自然と埋め込まれていくと考えております(図5)」

ならば自由に膜タンパク質チップができるようになるかといえば、実はまだ問題がある。膜タンパク質は方向性をもって細胞の内外での情報伝達にかかわり、さまざまな分子を出し入れしている。つまり膜タンパク質を埋め込む場合、その向き(配向)を制御できなければならないのだが、いまのところ、その技術は確立されていない。

とはいえ、竹内にはこの問題を解決するアイデアがあるようだ。そもそも細胞膜は脂質二重膜できているわけだが、その外側と内側は異なる脂質できている。これが膜タンパク質の配向がそろそろ一因になっていると考えら

図5 膜タンパク質を脂質二重膜に埋め込む



脂質でできた細胞膜に埋め込まれている膜タンパク質は精製する際に、脂質が混入してしまう。しかし、この脂質が橋渡しになるため、脂質二重膜状にばら撒くだけで、膜タンパク質は埋め込まれていく。今後は膜タンパク質の向き(配向)を制御する技術を開発し、より精度の高い膜タンパク質チップの開発が待たれるところだ。

れている。竹内はこの原理を利用しようとしているのだ。

「MEMSに脂質二重膜を張るのに、上側の膜と下側の膜の脂質を変えられれば、膜タンパク質の配向のしくみを謎解く糸口が見えてくるのではと考えています。このアイデアが機能するかどうかをたしかめるのが、今後の研究課題ですね」と竹内は説明する。アイデアを聞くかぎり、案外、容易に制御できるように思えるが、竹内が想い描く膜タンパク質チップが活用されるようになるには、膜タンパク質を自由自在に合成できる技術が開発されねばならない。

方法によって一長一短はあるものの、すでに大腸菌やバキュロウイルスを活用したタンパク質の生合成技術は

*3

細胞膜に存在する受容体タンパク質の総称。英語表記ではG Protein-Coupled Receptorであることから、GPCRと略されることが多い。GPCRを介した情報伝達は多くの生命現象にかかわっている。とくにヒトでは、多くの疾病現象に関係していることが判明していて、創薬の標的分子になっている。

開発されているし、コムギ胚芽の抽出物を使った無細胞でのタンパク質合成技術も実用化段階にある(本誌2006年11月号P14「News Review」参照)。ところが膜タンパク質となると、立体構造をも再現した生合成はなかなかうまくいかないようだ。

脂質二重膜を張ったMEMSは、膜タンパク質試験のプラットフォームにすぎない。竹内の研究成果を生かすも殺すも、今後の膜タンパク質生合成技術の進展にかかっていると

いってよいだろう。だからこそ、竹内は「私はデバイス屋。私がつくったデバイスを使ってもらえる研究者がいれば、ぜひ共同研究したいですね」と語る。

たとえば、網膜の神経細胞に存在するロドプシンをチップに埋め込めば、視覚を理解する研究ツールとなるだろう。また、鼻や舌の粘膜の細胞がもっているGタンパク質結合受容体*3なら、高感度の嗅覚センサー、味覚センサーをつくることもできるかもしれない。要は、竹内が開発した膜タンパク質チップにいかなる膜タンパク質を埋め込むかが肝心なのだ。そうなれば、膜タンパク質チップを使った研究は、創薬スクリーニングに限らず、その用途は広がっていくことだろう。

(文中敬称略)