平成 26 年度　未来研究ラボシステム　研究成果報告書

研究種目：　個人研究　　研究期間：平成 26 年 10 月～平成 27 年３月
研究課題名：自己集積化現象・非平衡状態を利用した革新的 Lab-on-a-Membrane
ラボ長　岡本　行広
　所属：物質創成専攻 化学工学領域
　氏名：岡本　行広

研究成果（当初の研究目的と得られた結果を記載してください。図表を含め２ページ程度）：

[当初の研究目的]

持続可能な社会を構築するためには現状の大量エネルギー・物質投与による物質生産から省エネルギーで高品質な物質合成を可能とする物質生産プロセス（合成および分離精製）へのシフトが必須である．このような状況の中で,ナノ・マイクロメートル空間の特性を活かしたマイクロリアクター・Lab on a Chip は有望な手法の一つであると考えられているが,持続可能な社会構築に貢献可能な物質生産プロセスを現状の Lab on a chip で達成するには限界があると報告されている.つまり Lab on a chip の利点・アプローチ法を有し,かつ異なる視点および原理による物質生産プロセス法の創成が切望されている.

そこで、申請者は自己組織化材料および非平衡系である脂質二分子膜に着目し,(1)自己組織化材料および自己組織化膜を用いたファインケミカル（省エネルギーで高品質な物質）合成に適したナノ空間の簡便な作製方法の検討,(2)非平衡状態から平衡状態へと遷移する際のエネルギーを利用した分離精製法の開発.さらに(3)自己組織化材料および非平衡系による揺らぎの場を利用したガラスなどの容器では実現不可能な合成・分離を可能とする Lab on a chip を凌駕する Lab on a membrane の創成を目的とした.

［得られた成果］

1. <u>自己組織化材料および自己組織化膜を用いたファインケミカル（省エネルギーで高品質な物質）合成に適したナノ空間の簡便な作製方法</u>

薄膜水和法を用いて 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DOPC) / sphin- gomyelin (SM) / cholesterol (Ch) = 1/1/1 からなる脂質のクロロホルム溶液(2 mg/mL)を 150 μL をガラス基板に滴下後，真空下で 1 h 乾燥させ，脂質薄膜を構築した.そして,10 mM dithiothreitol を含む 19.8 U/mL SLO 水溶液中に，基板上脂質膜を室温で 1 h 浸漬した.

この SLO 導入脂質膜を AFM 測定によって確認したところ

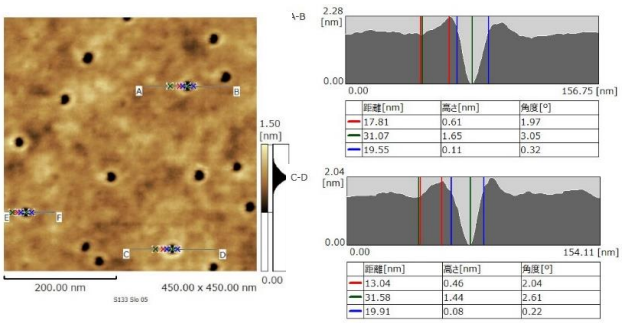

Fig.1 Surface structure of SLO embedded in supported lipid membrane observed by AFM.

図 1 に示す AFM 測定結果より脂質膜内への SLO によるナノ空間構築が確認された.本手法は簡便に規則正しいナノメートルサイズの空間を作製可能な手法であると言える.

2.　非平衡状態から平衡状態へと遷移する際のエネルギーを利用した分離精製法の開発.

今年度は SLO により構築されたナノ空間を外部電場により輸送可能とする条件検討を実施した.まずは,脂質膜の特性を解明するために FRAP 測定による流動性の評価を実施した.その結果を図 2 に記載する.脂質膜は生体内と同様に流動性を有していることが明らかとなり,当初の計画どおり脂質膜の特性を維持し,基板表面に脂質膜を固定化可能であると実証した.さらに,この脂質膜に埋め込まれた SLO の一定方向への輸送を検討するために,この膜場に電圧を印可し,電気泳動による SLO の輸送を試みた.

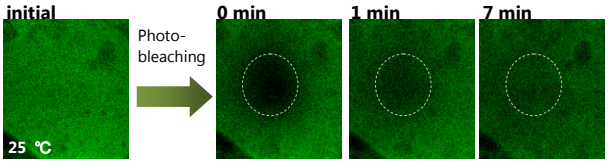

Fig.2 Confocal laser scanning microscope images of DOPC/SM/Ch lipid membrane embedding SLO after photobleaching. White dotted circles in each images indicate photobleached area.

図 3 に基板上脂質膜中の SLO の電気泳動前後の蛍光顕微鏡観察結果ならびにその蛍光強度のラインプロファイルを示す. この結果から, 脂質膜中に均一に分布していた SLO を電気泳動により陰極(右側)から陽極(左側)へ輸送可能であることが明らかとなった.

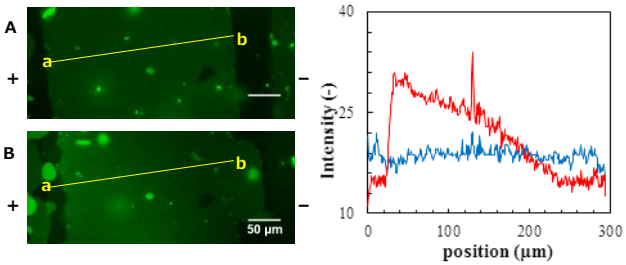

Fig.3 Fluorescence microscopic images of SLO embedded in DOPC/SM/Ch lipid membrane (A) before and (B) 10 min after applying voltage. The line traces of fluorescence intensity are shown in (C).

以上の結果より,当初予定していた目標の半分を達成可能であると証明した.今後は引き続き,当初の目的である非平衡から平衡状態への遷移に伴う SLO の輸送および SLO により構築されたナノ空間内でのファインケミカル合成の検討を実施し Lab on a Membrane の構築を目指す.

キーワード：Lab on a Membrane, membrane protein, nano-pore

研究経費（H26 年度）の内訳

備品費	消耗品費	旅費	謝金	その他	合計
円	474,200 円	2,570 円	円	13,230 円	490,000 円

共同研究者等

(1)共同研究者（氏名・所属）

(2)研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

辻本 悠亮・物質創成専攻 化学工学領域・M1

発表論文等（平成 27 年 3 月 31 日現在）

〔雑誌論文〕

T. Ishigami, Y. Kaneko, K. Suga, **Y. Okamoto,** H. Umakoshi, Homochiral Polymerization of l-Histidine with Liposome Membrane, *to be submitted*

〔著書〕

1. 岡本 行広, 支持脂質膜を利用した膜タンパク質の電気泳動分離分析, ぶんせき, 2014, 691
2. 岡本 行広, 辻本 悠亮, 馬越 大, ナノバイオ分析の新展開 ～新たな駆動力・分子認識場の活用～, 分離技術, **2014,** *44,* 23-27.

〔学会発表〕

1. 辻本悠亮、岡本行広、菅敬嗣、馬越大. 変性を生じない膜内在性タンパク質の分離法の創成, 2015, 化学工学会第 80 年会
2. 辻本悠亮、岡本行広、菅敬嗣、馬越大. 基板上脂質膜を利用した膜内在性タンパク質の電気泳動分離・分析, 2015, 日本化学会 第 95 春季年会
3. Yusuke TSUJIMOTO, **Yukihiro OKAMOTO**, Keishi SUGA, Hiroshi UMAKOSHI. *Chem. Eng. English Colloquium, 2015*

〔その他〕

外部資金獲得状況・申請状況（本研究課題に関連して、科研費、JST 等の競争的資金、受託研究、奨学寄付金を受給された場合、また、申請された場合はその状況を記入ください）

*本課題に関しての外部資金獲得には至っていない.

参考となるＨＰ等

なし