

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2016～2019

課題番号：15KK0227

研究課題名（和文）タンパク質輸送を制御する - 場の環境変化を利用した膜による能動制御 - （国際共同研究強化）

研究課題名（英文）Control of Protein Mass Transfer: An Active Control Utilizing Variations of Surrounding Conditions(Fostering Joint International Research)

研究代表者

小宮 敦樹 (Komiya, Atsuki)

東北大学・流体科学研究所・教授

研究者番号：60371142

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 9,400,000円

渡航期間： 8ヶ月

研究成果の概要（和文）：本研究では特殊な膜を用いたタンパク質の物質輸送制御の可能性について可視化実験を行い、物質輸送量を定量的に評価した。材料工学を専門とするフランス国の共同研究者と国際共同研究体制を整え、特殊膜の提供を受けてパラメトリックな可視化実験を行った。その結果、タンパク質の膜透過量は、チャネルの形状に大きく影響し、また透過後のタンパク質自由拡散による輸送も透過量に影響を及ぼすことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本国際共同研究で得られる成果は熱工学の分野にとどまらず、多くの分野に貢献できると考えられる。特に、本研究におけるタンパク質能動制御の可能性および実現性の提案により、製薬および医工学分野において各種ニーズに対応したタンパク質輸送の革新的な制御技術の開発が大いに期待できる。生体個体の「内側」における物理的・化学的現象に焦点を当てた本申請課題の貢献は、熱工学にとどまらず多くの学術的波及効果をもたらすことができる。

研究成果の概要（英文）：In this study, a series of visualization experiments of protein mass transport phenomena through special membranes was performed and a potential of its control was evaluated. Forming a framework of international collaborative research with material scientist in France, the experiments were parametrically conducted. The experimental results reveal that the protein mass transport process was strongly affected by the structure of channels, and total mass passing through the membrane was affected by the concentrations at the vicinity of inlet and outlet of channels and free diffusion process in solution area.

研究分野：熱工学

キーワード：タンパク質 物質拡散 結晶成長 位相シフト干渉計 機能性膜

## 様式 F-19-2

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質の分子スケールであるナノスケール領域での基盤技術が革新的に発展し、これまで困難であった微小空間における諸物理現象の能動制御が可能となりつつある。その応用は広範囲に亘り始めており、特に流体工学分野では、マイクロ流路内流れの制御を可能とし、マイクロ流体デバイスの研究開発が盛んに行われている。この学術的進展の中で熱工学分野に着目すると、サブマイクロ・ナノスケール領域での熱物質輸送制御の可能性が見出されているのに対し、他分野の応用展開と比較してみると十分な進展があるとはいえない。

これに対し、研究代表者はこれまでにマイクロ領域における物質移動の高精度可視化技術を確立するとともに、その移動現象論に特化した研究を進めてきた。具体的には、周囲環境が物質移動現象に及ぼす影響を定量的に評価し、特にタンパク質の構造的・物理的特徴がヒト体内の環境においてどのように変化するか実験的研究を進めてきた。これらの研究成果から、タンパク質移動現象は場の pH や濃度に大きく依存し、物質拡散係数は数倍のオーダーで変化していくことを明らかにしてきた。学術応用の点からこれらの知見を再確認すると、サブマイクロスケールの物理的空間とタンパク質物質移動現象の相互関係は能動制御という観点から重要な研究課題であると言える。しかしながら、マイクロ構造を利用した伝熱促進等の熱移動に関する研究は多く報告されているが、物質移動については散見される程度である。製薬、半導体精製等の応用分野において、マイクロ・ナノ領域における物質移動現象解明とその制御の重要性が高まっているという産業的ニーズが有るにも関わらず、熱工学が産業界に貢献すべく研究成果が顕著に現れていないのが現状である。

### 2. 研究の目的

上述の研究背景を踏まえ、本研究課題の基課題研究として、図1に示すようなヒト体内環境においてタンパク質の物質輸送現象を能動制御でき得る周囲環境応答性透過膜の実現を目的とした研究課題を提案している。その基課題研究終了後に、本研究においてタンパク質の対象試料を増加させた測定実験を遂行し、医工学分野に新たなタンパク質物質能動制御技術が提供可能なデータベースの構築を図ることを目的とする。熱流体工学および物質材料工学分野の知見を連携融合させた研究体制を構築し、医工学分野に新たな物質能動制御技術を提供する。

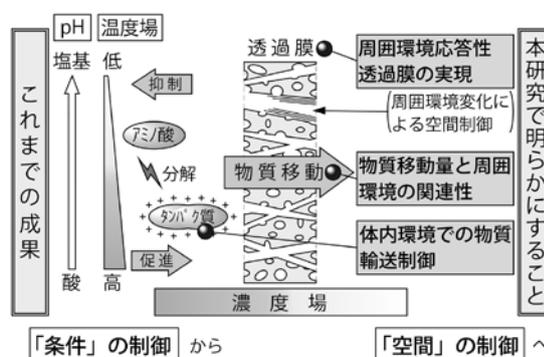


図1 本研究で明らかにすること

### 3. 研究の方法

基課題研究にて「周囲環境応答機能性透過膜の製作」「高精度可視化システムを用いた物質移動量と周囲環境の関連性評価」「ヒト体内環境下におけるタンパク質能動制御の可能性の追求」を行う。基課題研究終了後、相手先研究機関であるフランス国との国際共同研究を組織的に行えるよう研究コミュニティの充実化を図る。本研究の相手先である INSA de Lyon は材料工学が専門のフランス国を代表する研究機関であり、マイクロ構造を有する材料工学研究が大変盛んな研究機関である。このような機関と図2に示すような研究役割を明確化した体制を構築し、基課題研究から引き続き研究を推進する。日仏研究者各々が所属する研究チームを融合させ、基課題研究期間に得られた知見を基に、ヒト体内における代表的な複数種タンパク質移動の能動制御の可能性について材料工学の観点から議論し、実験に必要な機能性透過膜をデザインする。渡航期間中に諸種機能性透過膜の製作を行い、観察実験を始める。パラメトリックな実験研究となることから、日本側の研究チームも並行して実験を進める。渡航期間終了後は、これらのデータを総合評価し、タンパク質移動の能動制御における周囲環境条件をまとめたデータベースの確立を図る。

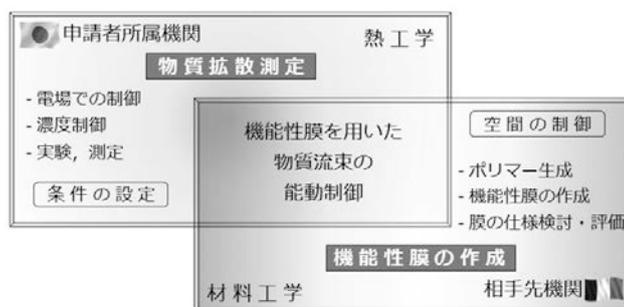


図2 国際共同研究の研究役割

#### 4. 研究成果

交付申請書に記載した研究実施計画では、平成30年2月中旬より渡航を開始することになっていたが、移設する予定の簡易実験装置の準備に時間を要し、同年3月3日より渡航を開始した。研究期間初年度は主として日本滞在時に、基課題研究課題で得た実験結果を整理し、周囲環境条件として定義してきた温度条件や pH 条件等がタンパク質拡散現象にどのような影響を及ぼすかについて、渡航先の研究者と遠隔会議を通して複数回議論した。渡航後は、限られた期限において最大限の成果を出せるように計画的に実験を進めた。まず、フランス側の研究室に小型位相シフト干渉計を組み上げ、観察実験の準備を整えた。相手先の研究機関からは、図3に示すような事前に打ち合わせをした多孔形状を有する機能性透過膜の提供を受け、観察実験を行った。また、並行して、膜内のチャンネルが円筒状となるアイソポア膜も用いて実験を行った。これにより、タンパク質通過チャンネルの形状による影響およびチャンネルのサイズによる影響を評価できることとなる。以下に本研究で得られた成果を示す。

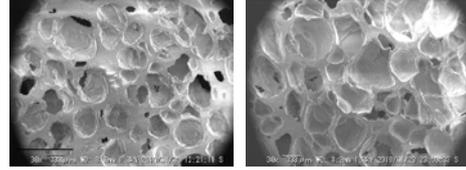


図3 多孔形状を有する機能性透過膜

##### (1) チャンネルの形状による影響

図4に代表チャンネル径が5ミクロンで等しく、形状が異なる2種類の膜を用いた拡散場可視化実験の比較結果を示す。図は拡散時刻  $t=2500$  秒における機能性膜近傍の濃度場を示しており、図から明らかのように2つの鉛直方向濃度分布には大きな違いが観察されず、濃度分布の傾きから導出される物質流束にも違いは観察されなかった。これはチャンネル形状は束縛拡散に影響を及ぼさないことを示している。しかしながら、膜から離れた領域においては濃度分布に有意な差異が観察され、多孔形状を有する膜での物質拡散はタンパク質の正味の透過量がアイソポア膜のそれに比して多いことがわかる。これは、局所的な透過量は膜近傍の濃度分布と膜上下の濃度差によって決定される物質流束に支配され、それはチャンネル径に依存しないが、正味の透過量は膜形状および孔数に依存し、差異を生じさせることを意味している。

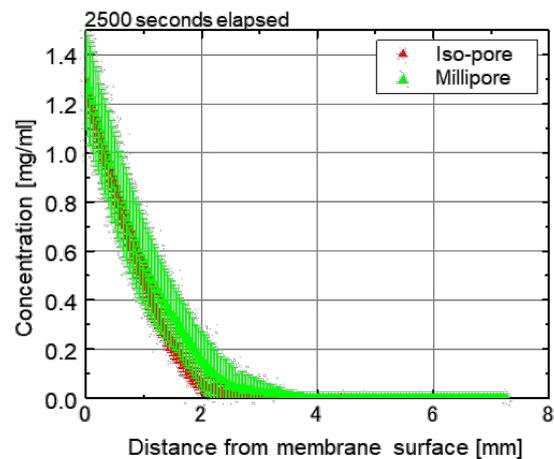


図4 チャンネル形状の異なる実験での濃度場比較

##### (2) チャンネルサイズの影響

図5には孔径が5ミクロンと10ミクロンのアイソポア膜を用いた実験結果を示している。正味の透過量も評価するために、両膜のチャンネル面積割合(孔面積/膜の透過面全面積)は6%と等しくしている。図は(1)と同様に拡散時刻  $t=2500$  秒における機能性膜近傍の濃度場を示しており、図からわかるように膜近傍の濃度分布には有意な差が確認され、物質流束はチャンネル径に依存することを実験的に明らかにした。膜近傍においては、孔径が小さい膜を用いた場合に濃度勾配が大きくなっており、これは小さい孔径の方が大孔径の膜に対して物質輸送量が増しており、自由拡散領域による拡散律速がもたらしているものと示唆される。

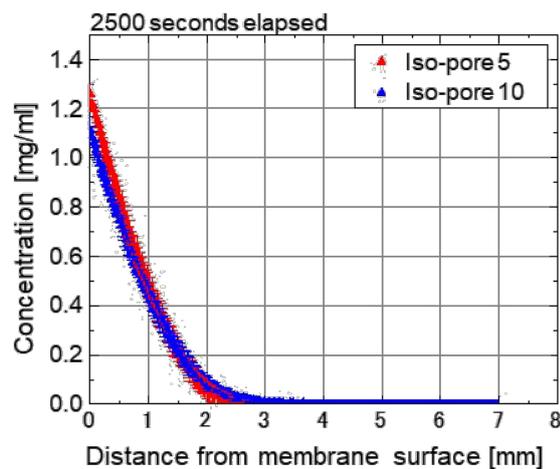


図5 孔径の異なる実験での濃度場比較

上述のように、本研究では国際共同研究のフレームワークを構築し、基課題研究で得られた成果を拡張させた研究を推進してきた。機能性透過膜を用いたタンパク質の束縛拡散観察実験をパラメトリックに行い、広範な条件下におけるタンパク質の膜透過量の評価を行ってきた。相手先期間滞在中は、本研究課題終了後の国際共同研究の進め方についても議論を行い、海外共同研究者と今後の機能性透過膜の仕様についても議論を行った。相手先の機関では本年度中にも多くの新たな機能を有する膜材質を開発しており、これらの新材料がどのように本研究に利用できるかについても検討し、機能性透過膜の膜壁の濡れ性について制御可能かどうかの意

見交換を行った。

研究計画書では昨年度中に本事業を終了させる予定であったが、昨年末の研究総括において、相手側研究者との予定が合わなく十分な議論ができなかったことから、論文化作業を本年度の4月に行うため事業期間を延長した。本年度初頭に研究報告会の機会を設け、これまでの研究を総括するとともに研究成果を国際共著論文として年度内に学術会議にて発表した。なお、この発表で本研究成果が優秀講演論文賞を受賞した。また、年度初頭の報告会の後も、別途予算を利用して海外共同研究者が訪日し、引き続き本研究の今後の方向性について議論を行ってきた。相手先の機関では今後も複数種の新たな機能を有する膜材質を開発しており、本事業の発展的形態として国際共同研究を進めていくこととなった。特に、機能性透過膜の膜壁の濡れ性について制御可能かどうかについて、実験的アプローチから進めていくこととなった。一旦は本事業は終了するが、今回の渡航で築いた国際研究コミュニティを維持し、引き続き研究を進めていくこととなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Atsuki Komiya and Sebastien Livi
2. 発表標題 Experimental Study on Active Control of Protein Mass Flux by Functional Membrane
3. 学会等名 ELyT Workshop 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Atsuki Komiya and Sebastien Livi
2. 発表標題 Experimental Study on Active Control of Protein Transport Phenomena by Membrane
3. 学会等名 The 28th International Symposium on Transport Phenomena (ISTP-28) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Atsuki Komiya, Ryo Watanabe, Hani Alkitabi Aldaftari, Shuichi Moriya and Sebastien Livi
2. 発表標題 Evaluation of the Relations between Hindered Diffusion Process of Protein and Membrane Structure
3. 学会等名 The Second Pacific Rim Thermal Engineering Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Watanabe, Shuichi Moriya, Sebastien Livi and Atsuki Komiya
2. 発表標題 Measurement of protein mass flux through porous membrane
3. 学会等名 ELyT Workshop 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Watanabe, Shuichi Moriya, Sebastien Livi, Hani Alkitabi Aldaftari and Atsuki Komiya
2. 発表標題 Quantitative Evaluation of the Influence of Membrane Structure on Protein Mass Diffusion
3. 学会等名 16th International Conference on Flow Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsuki Komiya, Ryo Watanabe and Sebastien Livi
2. 発表標題 Protein Mass Transfer Control by Using Hindered Diffusion in Membrane
3. 学会等名 19th International Symposium on Advanced Fluid Information (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	リビ セバスチャン  (Livi Sebastien)	I N S A L y o n ・ I M P ・ A s s i s t a n t P r o f e s s o r	