

平成 22 年 5 月 6 日現在

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2007 ～ 2010

課題番号：19201028

研究課題名（和文） イオンチャンネルバイオセンサーの単一神経細胞解析への応用

研究課題名（英文） Application of ion-channel biosensor to single neural cell analysis

研究代表者

宇理須 恒雄 (URISU TSUNEO)

分子科学研究所・生命・錯体分子科学研究領域・教授

研究者番号：50249950

研究代表者の専門分野：物理化学、表面科学、ナノバイオエレクトロニクス

科研費の分科・細目：ナノマイクロ科学・マイクロナノデバイス

キーワード：神経細胞ネットワーク、イオンチャンネルバイオセンサー、アルツハイマー病

## 1. 研究計画の概要

これまで研究代表者のグループで開発したイオンチャンネルバイオセンサーにおいて、素子内で神経細胞ネットワークを培養し形成する技術を開発し、従来からの膜電位観測に加え、これまでになされたことのないイオンチャンネルによる神経伝達物質観測を加え、神経細胞の機能の解析を行う。特に生体系の場合新陳代謝や成長という回路構成の時々刻々の変化がある点が Si 電子回路系との大きな違いで、このような構造と機能の経時変化の観測に着目して研究を行う。さらに、開発した素子の神経変性疾患機構解明、や創薬への応用を目指す。

## 2. 研究の進捗状況

(1) グリア細胞の制御：単一チャンネル Si 基板素子内でマウス大脳皮質初代培養細胞のネットワーク形成を行い、神経細胞とグリア細胞の存在比を制御して培養することに成功した。この技術は、光受容体チャンネル ChR2 の遺伝子導入や、シナプスの成熟化に今後必要となる技術である。また、グリア細胞を制御することにより、シンドビスウイルスをベクターとする ChR2 の素子内での遺伝

子導入に成功した。

(2) 長期計測の可能性の実証：培養型プレーナーパッチクランプ素子は長時間培養ができること、および、平面型であるので液交換が容易であることから、長時間の経過観察が可能である。痛みや温度に感応してチャンネルを開くイオンチャンネル TRPV1 を発現した HEK293 細胞を用い、カプサイシン刺激によるチャンネル電流応答の長時間経過観察をし、その有用性を実証した。発表論文を執筆中

(3) 素子応用探索としてアルツハイマー病発症原因の研究：GM1/SM/Chol 脂質二重膜表面での A $\beta$ 凝集反応を調べ、GM1 分子のヘッドグループが折れ曲がってシアル酸基が表面に現れると凝集反応が大幅に加速されることを発見し解明し、これらの解析を通して、アルツハイマー病の機構解明には、細胞核関連の反応解析が重要であるとの認識を一層強め、素子の応用実験の方向がより明確となった。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

当初計画では光励起による活動電位発生は全く考慮していなかったが、平成 20 年度末にこのアイデアを提案し、21 年度には成功しスイス、フランスで国際会議にて発表。この技術は神経細胞機能解析に極めて重要。

#### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 形成した単一神経細胞について光受容体チャンネル、チャンネルロドプシン 2 の遺伝子導入技術を開発し、単一神経細胞のホールセル電流計測を行い、素子を完成させる。

(2) 素子内での、アルツハイマー病の目印といわれるアミロイドベータ凝集の実験を行い、アルツハイマー病の発症機構解明や、創薬への応用研究を展開する。

#### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 6 件) すべて査読あり

① Y. L. Mao, Z. G. Shang, Y. Imai, T. Hoshino, R. Tero, M. Tanaka, N. Yamamoto, K. Yanagisawa, T. Urisu, "Surface-induced phase separation of a sphingomyelin/cholesterol/ganglioside GM1-planar bilayer on mica surfaces and microdomain molecular conformation that accelerate A $\beta$  oligomerization", *BBA Biomembranes*, (2010) in printing.

② T. Y. Chiang, T. Makimura, T. C. He, S. Torii, T. Yoshida, R. Tero, C. S. Wang and T. Urisu, "Synchrotron-radiation-stimulated etching of polydimethylsiloxane (PDMS) using XeF<sub>2</sub> as a reaction gas" *J. Synchrotron Rad.* 17 (2010) 69-74.

③ T. Asano, T. Nakamura, A. Wakahara and T. Urisu, "Noise Property of Incubation Type Planar Ion Channel Biosensor", *Jpn. J. Appl. Phys.* 48 (2009) 027001-1-4.

④ Md. A. Sayed, H. Uno, K. Harada, K. Tanaka, Y. H. Kim, Y. Nakaoki, K. Okumura, R. Tero and T. Urisu, "New Infrared reflection absorption spectroscopy (IRRAS) system for observation of solid-solution interface biomaterials" *Chem Phys. Lett.* 466 (2008) 235-239..

⑤ Y. L. Mao, R. Tero, Y. Imai, T. Hoshino, T. Urisu, "The morphology of GM1<sub>x</sub>/SM<sub>0.6-x</sub>/Chol<sub>0.4</sub> planar bilayers supported on SiO<sub>2</sub> surfaces", *Chem. Phys. Lett.* 460 (2008) 289-294.

⑥ T. Urisu, T. Asano, Z. L. Zhang, H. Uno, R. Tero, J. K. Han, I. Hiroko, Y. Arima, H. Iwata, K. Shibasaki, M. Tominaga, "Incubation type Si-based planer ion channel biosensor", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391 (2008) 2703-2709.

[学会発表 (国際会議) (計 10 件内招待 2 件) 詳細略

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: 「細胞光応答制御用基板、細胞光応答制御装置、細胞光応答検出装置、細胞光応答制御方法および細胞光応答検出方法」

発明者: 宇理須恒雄他 2 名

権利者: 大学共同利用機関法人自然科学研究機構  
種類: 特許

番号: 特願 2009-079411

出願年月日: 2009 年 3 月 27 日

国内外の別: 国内

名称: 「分析装置」

発明者: 宇理須恒雄ほか 2 名

権利者: アイシン精機株式会社, 大学共同利用機関法人自然科学研究機構

種類: 特許

番号: 特願 2008-185167、特開 2010-25637

出願年月日: 2008 年 7 月 16 日

国内外の別: 国内