

平成 31 年 1 月 24 日

若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 201880084

氏名

松本 惇志

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。
なお、下記記載の内容については相違ありません。

記

- 派遣先: 都市名 ニューヨーク州 イサカ (国名 米国)
- 研究課題名 (和文) : 人工膜小胞を用いたアルコールの生物作用の解析
- 派遣期間: 平成 30 年 8 月 1 日 ~ 平成 30 年 12 月 25 日 (147 日間)
- 受入機関名・部局名: コーネル大学 Department of Molecular Biology & Genetics
- 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

麻酔薬の作用機構は未解明である。仮説の一つである脂質説では、麻酔薬は細胞膜に溶け込み膜の物性を変えることで麻酔を引き起こすと考えられているが、麻酔薬の溶け込みが脂質膜の物性に与える影響の全貌は明らかになっていない。派遣先の Feigenson 研究室では、直径 100 nm 程度の large unilamellar vesicles (LUV) を用いた分光学的手法と、直径 10-100 μm の giant unilamellar vesicles (GUV) を用いた蛍光顕微鏡観察法を組み合わせ、脂質のみからなる人工膜小胞の膜ドメイン構造の特徴を明らかにする研究を行っている。そこで本研究では、人工膜小胞のドメイン構造に対するアルコールの影響を定量的に解析することを目的とし、人工膜小胞に溶け込んだ物質の量を測定する技術の開発と、アルコール存在下での GUV の観察を行った。

人工膜小胞に溶け込んだ物質の量の測定技術の開発には、2色の蛍光アナログが存在するホスファチジルイノシトール-4,5-ビスリン酸 (PIP2) を用いた。PIP2 と蛍光アナログを混合し、その水溶液を LUV に添加した。蛍光アナログは水溶液中では自己消光しており、人工膜に溶け込むと消光は緩和される。そこで消光の割合から二重膜中への分配量を推定したところ、ほぼ全量が移行した PIP2 含有 LUV の作製に成功した。異なる蛍光波長の PIP2 蛍光アナログを用いた FRET による定量でも、同様の結果が得られた。また実際にアルコールを用いた実験では、GUV はオタマジャクシの麻酔濃度を超える 50mM の 1-ブタノールを含むバッファー中でも崩壊せずに観察できることを確認した。さらに、大きな liquid disordered (Ld) ドメインと liquid ordered (Lo) ドメインが分かれて存在する組成の GUV を用いた実験では、50mM ブタノールの添加により、Ld ドメイン面積が減少したり、小さな Ld ドメインに分かれる現象が観察され、ブタノールが人工膜上のドメイン構造を乱すことが分かった。

6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本研究の一部として取り組んだ、蛍光 PIP2 を用いた PIP2 の LUV 中への取り込みの定量法、およびこの手法で得た PIP2 含有小胞の調製法は、受け入れ先の研究室とともに学術雑誌への論文投稿の準備を進めている。アルコールが人工膜のドメイン構造に与える影響については、成果として発表するにはさらなる定量的な解析が必要である。

現在、所属研究室において GUV を用いた実験系の立ち上げを試みている。GUV を用いた実験が可能となり次第、アルコールの水溶液中の濃度依存的なドメイン構造変化を定量的に解析する予定である。さらに、自己消光と FRET を用いた膜内取込の定量法を他の蛍光物質に応用することで、水中から膜中への物質の溶け込みを定量化することを予定している。これにより、膜中の薬剤濃度とドメイン構造変化との関係を明らかにし、膜中への薬剤の溶け込みが及ぼす影響を、物理的な観点から理解する。

以上の人工膜小胞を用いた *in vitro* 解析に加えて、派遣前までと同様に微生物を材料とする *in vivo* 解析も並行して実施する。特に遺伝子操作が容易な出芽酵母を用いて、人工膜小胞で見られるドメイン構造の変化が、生物細胞でも同様に起こるかどうかや、生物作用との関連を調べていくことを計画している。

7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本派遣以前まで、私は麻酔薬と微生物を用いた研究を行ってきた。その中で、麻酔作用機構を正しく理解するためには、脂質のみを用いた実験系が不可欠であるという考えに至った。今回訪問した Gerald Feigenson 教授の研究室は、脂質のみからなる人工膜小胞の挙動についての研究を牽引してきたグループである。本プログラムで、短期間ではあるがその一員として活動したことで、今後の脂質を用いた研究に自信をもって取り組んでいくだけの知識と方法を学ぶことができた。とりわけ、GUV を作製し、そのドメイン構造を顕微鏡下で直接観察する手法は国外を含めても扱うことのできる研究者は少なく、今後の研究の特色として生かしていきたい。また、Feigenson 教授は脂質のみからなる人工膜研究のパイオニアとして、GUV 以外にも新たな解析手法を開発してきた。本プログラムの中でも、新たな手法を開発するプロセスや考え方に直接触れることができたと考えている。

また、同じ部屋で研究した研究者たちとは、派遣終了後も交流を続けている。研究室内に限らず、米国で活躍する他の研究者とも話をする機会に恵まれた。直接に対話することによる人とのつながりも、本プログラムで得られたものの一つである。

研究活動を含む海外での生活の経験自体も、得たことの一つとして挙げられる。これまで、海外の長期滞在の経験はなく、日本語を使わず英語で生活し、研究活動を遂行していくことの苦勞について、漠然としたイメージしか持っていなかった。本プログラムで私は約 5 ヶ月間米国に滞在したが、当然、全くストレスのないほど順応できたとは思わない。しかし、母語でない生活においてどのような問題が生じ、どう解決していけばよいかを実践することはできたことは大きな財産と考えている。それに関連して、海外というものをそれほど遠い存在だと思わなくなった。今の私にとって、今後の研究生活博士課程修了後の進路あるいは共同研究先として、海外の研究機関は現実的な選択肢である。