

**機械工学の目線から
細胞機能の再現を!**

渡邊先生は機械工学のご出身ですが、現在は分子生理学研究室で研究をされています。少し変わった経歴かと思いますが、現在の研究内容について教えていただけますか。

渡邊 そもそも生物とは縁遠い機械工学の研究をしていましたが修士課程でバイオに出会い、現在は機械工学や微細加工工学などのテクノロジーを使って「細胞機能を人工的に再現する」ことを目指した研究を行っています。とは言うものの、現在のところ、細胞の構造や機能を完全再現するようなことは人工ではまず不可能です。それだけ細胞は複雑であり、未知のことだらけです。しかし細胞を成すある分子が、細胞という中でどういうことをするものなのかを解明していくことは出来ます。

もう少し補足すると、細胞内に膨大にあるひとつひとつの分子を細胞を模倣したシミュレーターのようなものを作って、その中に入れた時の振る舞いや特性を調べることで細胞機能がどういう風に構築されて機能を発現しているのか、1分子レベルで解き明かしていく研究をしています。さらに、その分子を組み上げていくと、どんな細胞機能を再現出来るのかを検証するという研究になります。

分野で言うと合成生物学になりますが、我々が特殊なのは、実験に使用する細胞膜を自分たちの

研究室で均一に製造して、一定個数揃えて研究するという点です。つまり工学的な技術をうまく使って生物や細胞を調べる研究スタイルとなっています。

先生の研究がこれまでの生物学と違う点について、もう少し詳しく教えていただけますか。

渡邊 実験の手法だけでなく、研究対象である細胞を理解するための発想や方法論もこれまでと異なります。簡単に言うと、細胞を理解するために何をどのように知ろうとしているかが違います。

従来の生物学の研究は、生物や細胞の構成要素を削った場合にどのような表現型が出てくるのかを調べるものでした。その多くは遺伝子を操作し機能を欠損させます。

例えば、あるタンパク質をノックアウトし、それがないとどのような異常が細胞に出るのかを調べるもので、これはトップダウン型のアプローチと言えます。

それに対して我々の研究は、細胞を構成しているパーツを1つ1つ調べ上げて、まずその素性を明らかにし、そして明らかにした構成要素を組み合わせることで細胞機能を模倣して理解していく形をとります。これはボトムアップ型のアプローチです。従来とは考え方が真逆の方向性になります。

まとめると、細胞を成している1分子からの構成的アプローチで紐解く高次生命科学、ということになります。

機械の部品を組み立てるように、まずは部品を理解しようというイメージでしょうか。

渡邊 まさにその通りで、細胞を車に例えると分かりやすいと思います。車が動く仕組みを詳しく理解しようとする時、何かの部品を削った時の現象を調べたりはしませんよね。まず1つ1つの部品の素性を理解して、そのうえで適切に組み上げるアプローチをとるでしょう。我々はそれと同じことを細胞でやろうとしているわけです。

**細胞膜で働く
「膜輸送体」に着目!**

細胞を機械とイメージし、部品から調べていくという例えは想像しやすいです。しかしそうは言っても、細胞の複雑さはまたレベルが違うのでしょうか。

渡邊 まずは簡単に細胞の構造を説明します。

外側を細胞膜で包まれた細胞質に色々な細胞小器官があるわけですが、その中には核酸やタンパク質などの色々な生体分子がごちゃ混ぜになっていて、言わば「ぐちゃっとしたような状態」で存在しています。しかしそのひとつひとつが、なぜか自立的に機能を発揮したり、増幅したりして、恒常性を維持しながら生きながらえているのです。

そのパーツを1つ1つ1分子ごとに調べていくわけですが、我々が特に興味を持っているのは細胞の

科学の
峰々 106

国立研究開発法人 理化学研究所
開発研究本部 渡邊分子生理学研究室
わたなべ りきや
渡邊 力也 先生 に聞く

**生体膜マイクロチップを製造し
細胞の秘密を1分子レベルで解明!
工学を駆使した新感覚の生物研究 上**

聞き手：高橋 秀雄 日本科学機器協会 広報副委員長
川窪 恭平 株式会社池田理化
岡田 康弘 日本科学機器協会 事務局長
(取材・撮影・編集協力：クリエイティブ・レイ(株) 安井久雄)

取材日：2020年7月30日
国立研究開発法人 理化学研究所
開発研究本部 渡邊分子生理学研究室

渡邊力也 先生のプロフィール

- 2004年 3月 早稲田大学理工学部機械工学科 卒業
- 2006年 3月 東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻修士課程 終了
- 2009年 3月 大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻博士課程 終了
- 2009年12月 博士(工学)
- 2009年 4月 大阪大学産業科学研究所 研究員
- 2011年 4月 東京大学大学院工学系研究科 助教
- 2013年 4月 科学技術振興機構 さきがけ研究員(兼任)
- 2016年 4月 東京大学大学院工学系研究科 講師
- 2018年 4月 国立研究開発法人 理化学研究所 開発研究本部 渡邊分子生理学研究室 主任研究員
- 2020年 4月 自然科学研究機構 分子科学研究所 客員教授(兼任)

[主な研究内容]
膜タンパク質の1分子生物物理学
1分子計測技術の社会実装

[所属学会]
一般社団法人日本生物物理学会
日本応用物理学会
アメリカ生物物理学会
アメリカ化学会

[受賞]
2012年 日本生物物理学会 若手奨励賞
2015年 文部科学大臣表彰 若手科学者賞
2016年 Lab on a Chip, Emerging Investigator



ると考えています。

渡邊先生が機械工学出身だからこそ、こうした発想が湧き、実現出来たということですね。

渡邊 そうなると思います。実は今話したような微小な穴を作ることに関しては、半導体の製造プロセスに関わっている人にとっては20年から30年前からあるごくごく普通の製造技術なのです。今や古典的とも言える技術ですが、生物学にあまり応用されてなかったということです。私の研究にはスケールのにもちょうど相性が良いものでした。

マイクロチップの製造プロセスもすごくシンプルで、半導体製造プロセスの1つですがフォトリソグラフィという方法を使います。フォトレジストと呼ばれる感光性の樹脂とUVの照射を使って、先ほどの微小な穴を造形します。最先端の半導体製造技術を使えば、例えば今の100分の1の微細な加工も出来るでしょう。現在の研究段階ではそこまでは求めていませんので使っていませんが、もっとサイズを微細にすると、例えば活性が小さくて、今までのマイクロチップで測れなかった生体分子が測定範囲に入るということも出来るかもしれません。そうするとまた新しいサイエンスの展開が見込めると思っています。

技術はまさに日進月歩です。しかし生物学の研究とリンクしないと意味がないので、どうリンクして役立てられるかを考えて、新しい技術を用いていくかを判断したいと思っ

ています。

まさに生物学と機械工学が出会って生まれたイノベーションですね。

膜輸送体を1分子レベルで測定する技術を確立

人工生体膜を作り上げた見事さやうかがいでしたが、これを使った膜輸送体の研究ではどのような発見が出来たのでしょうか。

渡邊 先程話した人工生体膜を使うことで、膜輸送タンパク質の高感度機能解析を1分子レベルで行うことが出来ました。そもそも膜タンパク質の膜輸送体がどうやって細胞の内外に分子を行き来させるかという、脂質膜の間に水溶性の分子を行き来させる機能を持っている穴を作るのです。

映像を見せていただきましたが、細胞膜に穴が開き、内と外で、ものが行き来しています。これが私たちの細胞で行われているわけですね。

渡邊 この膜輸送体の機能がないと、栄養素である糖などが細胞の外側にあったとしても細胞の中に入ることは出来ません。なぜかという、細胞膜は疎水的で、糖など親水的なものは反発して中に入れないのです。しかし細胞すなわち人間は、糖などの栄養素を中に摂り入れて代謝を回さないと生きていくことが出来ません。そこで膜

膜機能です。リン脂質と呼ばれる分子が二重層になって膜を作っています。

この膜において色々な働きを起こす機能素子を、膜タンパク質と言います。膜タンパク質には、薬のCMで耳にすることがある受容体や酵素、それから膜輸送体というものなど、いくつか種類がありますが、これらを全て研究していきたいのですが、まず今着目しているのは膜輸送体です。

「膜輸送体」は、細胞膜でどのような動きや働きをしているのでしょうか。

渡邊 これが非常に面白いのです。まず細胞の中から外へ、あるいは外から中へと分子のやりとりを行っています。しかしそれだけではなく、分子を運ぶ時にエネルギーが発生し、そのエネルギーを使って、実はATPの合成みたいな生理的な機能につながることを起こしているのです。

さらに最近では、膜輸送体が薬理的な重要性を担っているということがよく言われています。

例えば、耐性菌に感染してしまって薬が効かなくなる、という事例に関係しています。膜輸送体は人間だけでなくバクテリアにもあるのですが、病気を抑えるために抗生物質を与えたのに、耐性菌の膜輸送体がこの抗生物質を吐き出してしまい、その効果を妨げているというのです。この事は、医学や生物学の人々には広く知られています。

この膜輸送体を詳しく調べて理解したいと考えたわけですが、今お話したような機能は細胞膜上で発現するので、詳細に知るためにはそれを見ることが出来る細胞膜を作る、すなわち人工生体膜を作らなくてはいけなかったのです。

均一な人工細胞膜を半導体工学の応用で達成

その人工生体膜を作る技術はあったのでしょうか。

渡邊 従来からもありました。「溶媒膜法」「リポソーム法」「基盤支持膜法」といった名称の生体膜形成技術があったのですが、いずれにしても技術的な問題点がありました。共通する弱点は、均一なクオリティで生体膜が作れないことでした。実際、人工生体膜が均一のクオリティで出来ないゆえに、膜タンパク質の研究をすすめるうえで色々な障壁がありました。

そこで我々は、新しい手法で均一のクオリティの膜を人工的に作りました。

これまで難しかった均一な人工生体膜をどのようにして作ったのでしょうか。

渡邊 実は半導体製造装置を使って均一な生体膜を形成するためのマイクロチップを開発しました。どういうものかと言いますと、ガラス基板上にフッ素樹脂を塗り、そこに直径数マイクロメートルの大変小さな穴を10万個あけます。穴と

いうよりもくぼみに近く、直径の数マイクロメートルというのは、人間の髪の毛の太さが100マイクロメートルですのでその数10分の1程度になります。そしてくぼみの深さは500ナノメートル、つまり1マイクロメートルの半分です。くぼみの体積は数フェムトリットル程度で1リットルの10の15乗分の1になります。大腸菌1匹よりも少し大きい程度の大きさです。

このくぼみのような穴の開口部に水溶液と脂質溶液を流すことで人工生体膜を形成するのです。半導体製造装置を使ってマイクロチップを作成しているので、穴の開口部の大きさは均一になります。そのため、開口部に形成される生体膜は均一な大きさになり、これが私達が生み出した均一な人工生体膜を作る技術の鍵となるのです。また、先ほど申し上げたように穴は10万個あるので1度に10万の均一なクオリティの生体膜が出来ます。

これは膜タンパク質の機能を高感度で検証するプラットフォームに使えるだけでなく、様々な高感度のバイオ分析、さらにはこのマイクロチップの技術を応用して、先程申し上げたような細胞機能の再構築などのプラットフォームにも使うことが出来ます。

半導体の工場ですべて均一なチップが出来るように、均一なクオリティで人工生体膜が出来たわけですね。

渡邊 そういうことです。実はこのような試みは世界中で幾つかのグ

値をひたすら読み込んでいくとDNAの配列を1本レベルで読み込むことが出来ます。その技術は既に確立していて既に市販化されています。

また、私たちのような微小試験管を利用してPCR反応を行い、DNAを1本単位で検出できる技術も市販化されています。これらの技術は、次世代のリキッドバイオシーなどの医療診断に応用されることが強く期待されています。

そして最初にお話いただいたように、1つ1つの機能が組み合わさった時に、またどんな機能を発揮するのかということも突き止めていきたいですね。

渡邊 そうですね。今は1分子ごとの理解をすすめているのでこれからということになります。

分子と分子が組み合わさる事で機能が発現するのだろうということは知られている事ではあるのですが、それを1分子単位で詳細に調べた人はあまりいません。この分子とこの分子は影響し合っている、でもどれだけの量で集まると細胞が求める機能が発現するかなどは分かっていません。ですので、それを検証できると思いません。それが明らかになるように思っています。

例えば、ある機能を持つ分子がメインプレーヤーとして存在していた場合、それに対してその機能を制御する分子も近くには絶対あるのです。つまりそれが一緒になると機能が向上する、または逆に低

下するといったことです。そうした色々な複雑な組み合わせがある中で、細胞が求めるような一定のスペックが出るように細胞の中でチューニングされているように思っています。

それを明らかにすることを実現するにはどうしなければいけないかというと、やはり1個1個、数を数えながらそれらを組み合わせて、定量的に調べることが必要になります。

最初に戻りますが、そうしたボトムアップ型の研究活動になるわけです。今まで分かっている現象の組み合わせが、どういった量で混ぜると最適なもの生まれてくるのかをまず知り、それが分かたら全く未知の構成要素を試して混ぜて、何が起きるのかを再現して見てみたいと思っています。

これまで生物や細胞はファジイなことが多い学問だというイメージがありましたが、渡邊先生のアプローチは一般の方にも分かりやすいように感じます。

渡邊 実際の細胞でそれを知らうとすると、あまりに色々な物が影響し合うので、何が本当のキープレーヤーなのかを同定するのは非常に難しいのが現実です。1つを操作すると別の物が影響を受け、その影響でまたさらに…という連続でよく分からなくなります。

それが明快に1個1個検証できるのが、我々のマイクロチップの良い点だと思います。

すでに機能が知られていた現

輸送体が言わばゲートのように働き、適切な分子だけを細胞内に摂り入れる、さらに老廃物を外に吐き出すというのをやって細胞は生きていく必要な機能を獲得しているわけです。

そんな膜輸送体ですが、非常に計測が難しいのが現状です。基本的には細胞膜をそのまま取ってきて、とても小さなガラス電極を突き刺し、分子の流れを電流値として測るという研究方法が主流だったのですが、膜輸送体の輸送活性は非常に小さいため、測れる膜輸送体には制約がありました。これは、膜輸送体が物をやり取りするパターンが1つでないことも関係しています。

先ほどお話しのように、ゲートのように大きな穴をあける場合は大きな分子の流れを発生するのですが、実際の膜輸送体はそれだけに限らずいろんな種類があるので、これが非常に面白くて、穴を

貫通させずに分子をやりとりさせる機能もあるのです。

穴を貫通させずに物質をどうやってやりとりするのでしょうか。

渡邊 その内の1つなどは、膜輸送体の外側または内側の片方だけに穴が開き、標的分子が結合すると、その穴が閉じます。すると次に逆側の穴が開いて分子が解離し、細胞の反対側に運ばれます。ただし、この場合の輸送は、膜輸送体の構造変化を伴うので速度がとても遅く、つまり、やりとりをする分子の量が非常に少ないので、従来の電気を使った計測では測ることが極めて困難だったのです。しかしこの機能は生物にとって非常に重要な役割をしているので、何とか測りたいものでもあるのです。

それが我々のマイクロチップにより可能になったのです。今、膜輸

送体の機能が発現する場を私たちの人工生体膜上で作り出し、その機能を高感度で測定することを進めています。

渡邊研究室によって完成したマイクロチップによって測定出来なかったものが可能に、つまり未知であった細胞のふるまいを明らかにしているわけですね。

渡邊 なぜ「高感度の測定」が出来るかを補足します。マイクロチップのくぼみの開口部に均一な人工生体膜があるわけですが、このくぼみを微小な試験管としてうまく利用するのです。

ここに膜輸送体を埋め込むと、試験管内に分子が流れ込んで濃縮されるので、それが分かるように、分子の濃度に応答する蛍光指示薬を試験管に入れておくのです。そうすると、分子濃度の変化に伴って蛍光強度が変化し、分子がどれくらい運ばれたかを知ることが出来ます。従来の電気測定では測れないほどの小さな分子量の変化ですが、この試験管は10-15フェムトリットルと非常に小さいサイズですので、数千の分子が入るだけでも濃度変化は劇的に大きいものになり、通常の蛍光指示薬で検出できるくらいの濃度になってくれるわけです。

そういったわけで、私たちは膜タンパク質の膜輸送体の活性を1分子単位で計測出来る技術を、実はもう開発することが出来ているのです。

こうした形で1分子ずつ素性を



理研・渡邊分子生理学研究室にてスタッフと語る渡邊先生(右)



半導体の製造装置を活用して作る
人工生体膜チップは
世界トップレベルの品質です。
工学、化学など複合的な目線で
細胞活動に迫っています。

象の中に、実は隠れたプレーヤーとなっている分子があるかもしれません。そういったものを1から掘り出してくることも私たちのボトムアップの手法で出来るようになるかもしれません。

特に、私たちが注目している生体膜機能および膜タンパク質は技術的な障壁が多いので、時間がかかる研究分野だと思います。そして装置などもこれから自分で作らないといけませんし、技術的なチャレンジも多いです。今、理研で機会をいただいていますので、どん欲にチャレンジを続けたいと考えています。

また、物理や化学の視点を積極的に取り入れ、生物の理解に挑みたいとも考えています。

従来の生物学の研究手法では、例えば遺伝子を操作して結果的に起きる現象が観察されてきましたが、その間の過程はブラックボックスになっていたわけです。その入り口と出口の反応をつなぐ、ブラックボックスを明らかにし、理解することを実現していきたいと思っています。

工学と生物学、サイエンスの融合技術で生み出される賜物ということですね。こうして細胞を細かいレベルで解明していこうと考えたきっかけは何かあったのでしょうか。

渡邊 恩師である東京大学の野地博行先生の下で、1分子で物を見るということを教えていただきました。

野地先生が研究しているのは「分子モーターATP合成酵素」というものです。これは文字通りモーターのように回転するタンパク質です。まるで発電のタービンのようにくると回転して、生命活動のエネルギー源となるATPを合成しています。非常に面白いメカニズムで、野地先生はこの研究に長年取り組まれ、世界的にも第一人者です。

私は野地先生の研究室に数年前まで所属し、分子モーターを1分子で見て、物理的な視点から機能や作動機序を理解するというアプローチを学びました。そのおかげで、今の膜タンパク質の研究にもつながっていますし、さらにマ

イクロチップで可能になる応用研究の方にも繋がっています。

もともとは現在の研究とは全く違うことをしていたわけですが、体験してきた研究が、今行っていることに上手く展開していることを考えると、非常にハッピーな経歴だったのだなと思います。



高橋広報副委員長の質問に答える渡邊先生(左)

次号「科学の峰々」では、引き続き国立研究開発法人 理化学研究所 開発研究本部 渡邊分子生理学研究室 渡邊 力也先生にお話を伺います。