

提出日：2019年 5月 17日

平成 30 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	生体膜間脂質交換輸送の再構成	
研究代表者	氏名	中津 史
	所属機関名・部局名	新潟大学・大学院医歯学総合研究科
	職名	准教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	三間 穰治	
<p>近年になり、細胞小器官はお互いに近接・接触することで物質や情報を交換しながら細胞機能を維持していることがわかってきた。細胞小器官などの生体膜同士が接触する部位は幕接触部位と呼ばれ、2つの膜がわずかに10-30nmの距離で近接している。中でも小胞体は、細胞内全体に広く分布することで、ほとんどのオルガネラ膜や細胞膜と膜接触部位を形成している。膜接触部位では、脂質の交換輸送が行われていることがわかってきた。申請者は、小胞体と細胞膜の間で、2種類の異なる脂質（ホスファチジルセリンとイノシトールリン脂質 PI4P）が交換輸送される仕組みを解明した。これは、オキシステロール結合タンパク質ファミリーの ORP5 および ORP8 が、小胞体膜と細胞膜が近接する“小胞体—細胞膜接触部位”で制御するオルガネラ間脂質交換輸送である。</p> <p>本研究では、疑似細胞膜と疑似小胞体膜を人工脂質二重膜（リポソーム）で構築し、小胞体—細胞膜接触部位における脂質交換輸送系の再構成系の構築を目指す。膜蛋白質化学研究室で樹立された人工脂質二重膜（リポソーム）を用いた再構成実験系を用い、再構成プロテオリポソームの調製および機能解析のノウハウ・プロトコルを習熟し、再構成リポソーム作製の予備実験や、蛍光プレートリーダー等を使用した機能解析の予備実験等を行った。昨年度の成果として得られたリポソーム作成プロトコルでは、我々が行う脂質交換輸送アッセイに適していないことが判明したため、今年度はまずそのプロトコルの改変を行った。脂質フィルム作成、脂質フィルムの乾燥、Mini-extruder によるサイズ調整ステップ、リポソームの洗浄、などの各ステップの条件検討を行い、最終的に至適プロトコルの樹立に至った。このプロトコルをもとに、精製タンパク質を用いた脂質交換輸送アッセイをおこなったところ、この精製タンパク質による脂質群の交換輸送活性を検出することができた。</p>		

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：令和元年 5 月 17 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp