

提出日：平成 30 年 5 月 17 日

平成 29 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>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が、その詳細なメカニズムや統合的な定量的キネティクス解析等は進んでいない。そこで本研究では、人工脂質二重膜（リポソーム）を用いて小胞体—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的とした。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、Mini-extruder を用いて、1,2-dioleoyl-<i>sn</i>-glycero-3-phosphocholine (DOPC) をベースに、種々のリン脂質を含有するリポソームの調整方法を検討・習得した。また、スクロース含有リポソームの調整プロトコルの確立を行い、安定的な調整プロトコルを樹立した。さらに、脂質輸送タンパク質群の脂質結合ドメインを GST タグ付加し、大腸菌から精製するプロトコルを確立した。そして前述の方法により作成したリポソームと、精製したタンパク質を試験管内で混合し、脂質交換輸送アッセイの予備的解析を行った。精製タンパク質と混合したリポソームは、クロロホルムおよびメタノールを用いて脂質抽出を行い、脱アシル化したのちにクロマトグラフィーにより定量した。</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：平成 30 年 5 月 18 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