

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 31 年 4 月 4 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
 職 名 准教授
 研究代表者名 山田 浩司

下記のとおり平成30年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:281012)

1. 共同利用研究 課題名	熱帯熱マalaria原虫ダイナミンホモログによる膜制御機構			
2. 共同利用研究 目的	生体膜の動態研究が専門の伊藤研究室と共同研究を行い、マalaria原虫タンパクによる膜変形作用の詳細を調べるため。			
3. 共同利用研究 期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 山田 浩司	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	准教授	タンパク調製、膜観察	
(分担研究者) 竹居 孝二	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教授	電子顕微鏡観察	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	生体膜機能研究分野	氏 名	伊藤 俊樹

※ 次の6～9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6～9の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同利用研究計画

岡山大グループは、昆虫細胞及びコムギ胚芽無細胞タンパク発現系を用いマラリアダイナミンホモログを精製し、その酵素活性、脂質膜との相互作用を生化学的に調べる。膜変形とタンパク構造相関を電子顕微鏡にて明らかにする。伊藤グループは、人工脂質膜を調製し、そのタンパクによる変形作用を、蛍光顕微鏡下で観察すると共にタンパクの作用部位が異なる人工脂質膜を調製するために、その調製方法の検討を加える。

7. 共同利用研究の成果

マラリアダイナミンホモログはリポソームを変形し、この変形には、酸性リン脂質が必要であることを見出した。さらに、リポソームに含まれるリン脂質の種類、割合を変化させて、マラリアダイナミンホモログによる膜変形効果を電子顕微鏡にて観察した。直径 200 nm の Phosphatidylinositol 4-phosphate (PI4P)、Phosphatidylinositol (4,5) bis phosphate (PI(4,5)P₂)、Phosphatidic acid (PA) を 10% 含むリポソームを作成した。マラリアダイナミンホモログは、これらリポソームを変形したが、その程度は PS を同割合含むリポソームを用いた場合に比べ顕著に低かった。これらの結果から、マラリアダイナミンホモログは、リン脂質の分子種を認識している可能性が示唆された。

続いて、Phosphatidylserine (PS) を含んだリポソームとマラリアダイナミンホモログを室温で 5 分、15 分間反応させ膜変形の様子を電子顕微鏡で観察した。興味深いことに 5 分間の反応では、細長いチューブ状の膜変形は観察されず、球状のリポソームがくびれた像が観察された。15 分の反応では、チューブ状に変形した膜が散見された。これらの結果は、マラリアダイナミンホモログが、リポソーム表面に集積すると、まずリポソーム内部に向かってくびれが生じ、そのくびれがさらに狭窄して細長いチューブが形成されると考えられた。

本研究では、膜変形のダイナミクスまでは観察することができなかった。これら形態変化を観察するためには、nm オーダーの顕微鏡が必要である。そのため、現在液体中の分子の動態を観察できる唯一の高速原子間力顕微鏡を用い、マラリアダイナミンホモログの膜へのリクルート、続いて起こる膜変形の詳細を観察していく予定である。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

学会発表、論文発表ともないが、研究は順調に推移しており、共同研究の結果がまとまり次第、まずは学会にて発表する予定である。

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

ありません。