

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9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 岐阜大学研究推進・社会連携機構生命の鎖統合研究センター  
 職 名 教授  
 研究代表者名 鈴木健一

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: 301008)

1. 共同利用研究 課題名	パターン化人工膜上での1分子観察による脂質ラフト動態の解明		
2. 共同利用研究 目的	ラフト領域と非ラフト領域が明確に分かれているパターン化人工膜上で、膜タンパク質や脂質の1分子観察を行い、ラフトが分子の局在と機能をどのように調節するかを解明することを目的とする。		
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) 鈴木健一	岐阜大学研究推進・社会連携機構生命の鎖統合研究センター	教授	1分子観察と解析
(分担研究者) 廣澤幸一朗	岐阜大学研究推進・社会連携機構生命の鎖統合研究センター	研究員	1分子観察と解析
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル分子応答研究 部門・環境物質応答研究 分野	氏 名 森垣憲一

※ 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。

(課題番号: 301008)

#### 6. 共同利用研究計画

- 1) ガラス基板上に光重合性リン脂質の二分子膜を形成させ、それを光リゾグラフィー技術で UV 重合して、**パターン化ポリマー脂質膜を形成させる。**これは受入研究者の森垣が開発した技術である。
- 2) 一方、細胞膜から膜骨格タンパク質を除去し、ブレップと呼ばれる膜断片を単離し、パターン化脂質膜と融合させる。パターン化ポリマー膜は、非ラフト相であり、ポリマー膜のない部分はラフト相であるので、**細胞膜由来の膜タンパク質や脂質を蛍光色素でラベル後 1 分子追跡して、ラフト相、非ラフト相のどちらに分配されるかを可視化する。**膜タンパク質としては、代表的ラフトマーカーの GPI アンカー型タンパク質 (CD59, uPAR など) や糖脂質のガングリオシド、代表的ラフト脂質のスフィンゴミエリンなどを観察する。
- 3) 申請代表者は、糖脂質のガングリオシドは EGF 受容体と相互作用し、活性制御する (EGF 受容体のダイマー化を抑制する) ことを見出した。しかし、EGF 受容体は、非ラフトマーカーであり、どのように相互作用するのか不明であった。**ガングリオシドと EGF 受容体がラフトと非ラフトの境界線で相互作用するという仮説を立て、その検証を本研究で行う。**また、EGF 受容体が境界線上と非ラフト相にあるときの、ダイマー形成能を比較する。

#### 7. 共同利用研究の成果

まず、Bleb とパターン化脂質膜と融合させる方法の開発を試みた。Bleb 膜は単にそれ自体がパターン化脂質膜と融合はせず、融合促進剤を加える必要がある。そこで、様々な濃度の Bleb と POPC/PEG-PE を添加し、パターン化膜との融合が起こるかどうかを、Bleb 膜上の GPI-アンカー型タンパク質や膜貫通型タンパク質の蛍光 1 分子観察により検証した。結果、パターン化膜との融合のための、Bleb と POPC/PEG-PE の最適な量比を見出すことに成功した。特に、両者の濃度を低めにした方が上手く行くことが明らかとなった。今後は、この技術を用いて、膜分子間の相互作用がラフト、非ラフトのどちらで起きているのかを検証していく。

#### 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。)

1. 第 56 回日本生物物理学会年会 Regulation of mechanisms of EGFR activity by ganglioside homodimer rafts as revealed by single-molecule imaging. 岡山、2018 年 9 月 15 日

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。