

平成 26 年度 共同研究報告書

研究課題		細胞膜脂質ラフトにおけるリン脂質非対称性の制御機構の解明
研究区分		一般共同研究
研究代表者	所属	杏林大学
	氏名	助教 岸本拓磨
受け入れ教員名	氏名	田中一馬先生
研究目的		細胞膜脂質は、その膜上で不均一に分布し機能性ドメイン構造を形成する。近年、機能性ドメインの一つ脂質ラフトが多く疾患に関わる事が明らかとなった事から、脂質ラフトの制御機構の解明が、疾患発症機構の解明に寄与すると期待される。本申請課題では、脂質ラフトが示す特徴的な膜物性（秩序液体層）に焦点をあて、この膜物性の制御機構を様々な遺伝学的角度から検討する。①脂質ラフトおよび細胞膜を形成する脂質合成関連遺伝子。②脂質の輸送経路関連遺伝子。③生体膜のリン脂質非対称性制御関連遺伝子。④細胞骨格関連遺伝子。これらの膜物性とラフト形成機構、脂質分布機構の関わりを明らかにし、脂質ラフトと疾患原因の関わりに迫る。
研究内容・成果		<p>上述のように、本課題の目的は脂質ラフトの における膜の物性の決定メカニズムの解明である。</p> <p>現在までに、脂質ラフト（膜物性が固い等の特徴）に関わる遺伝子変異体の小スクリーニングを行い、1）膜輸送関連、2）脂質合成関連、3）脂質動態制御関連の遺伝子変異で脂質膜の物性が変化する事を確認した。3）のうち膜のリン脂質非対称性を制御する <i>lem3</i> 遺伝子では成長とともに膜物性が変化するパターンが野生株とは異なり、膜の非対称性とラフトに関わる可能性が示された。また、変異株の脂質分析を行い大きな変化が無い事も確認しており膜の非対称性と膜の物性が密接して関わっている事が明らかとなっている。</p> <p>本年度、初回において膜の物性を観察する実験方法を、昨年度より継続している酵母遺伝学を駆使した酵母変異株から得られた結果をさらに確度をあげるため、薬理学的手技同様の実験を行った。得られた結果を比較検討したところ、今回行った実験では、アクチン細胞骨格を異常を引き起こす薬剤処理により、膜の物性の異常が確認された（重合阻害時に膜物性の上昇）</p> <p>第二回目の訪問では、研究所共通機器の顕微鏡を用いた光褪色後蛍光回復法を行った。その結果として、細胞膜の非対称性が壊れるような酵母変異株において、膜の流動性が遅くなっている事が明らかとなった。膜物性を細胞内で観察する方法では、膜物性の上昇（固くなる、流動性が遅くなる事）が確認されており、現在までに確認されている遺伝学の結果と一致している。</p>

	<p>本年度で得られた結果と昨年度まで得られている遺伝学的相互作用の結果と比較しても、膜の非対称性とラフトの形成機構が密接関わっている可能性を示す良好な結果を得ている。現在のところ、本務先に戻り投稿論文としてまとめれるかを精査するため、得られたデータを本務先にて詳細な解析を行っている。将来的に投稿論文として報告できる事が期待される。</p>
成果	<p>【学会報告】</p> <p>該当なし</p>
	<p>【論文発表】</p> <p>該当なし</p>
	<p>【プロジェクト】</p> <p>該当なし</p>
	<p>【新聞報道】</p> <p>該当なし</p>