

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		細胞から切出したモデル細胞膜を用いたウィルス感染時の細胞膜のイメージング解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Imaging analysis of cell membrane infected with virus using model cell membrane prepared from cultured cell			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) オクノ	名) タカシ	研究期間 B	2011～ 2012 年
	漢字 CB	奥野	貴士	報告年度 YR	2012 年
	ローマ字 CZ	Okuno	Takashi	研究機関名	山形大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		山形大学理学部・准教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) インフルエンザウィルスの感染は、宿主の細胞膜表面への定着で始まり、細胞膜からの脱出で終わる。細胞膜で行われる“感染”は、未だに不明な点が多く、特に膜蛋白質が制御する感染の分子機構には不明な点が多い。本研究は、宿主細胞膜における、ウィルス由来のエンベロープタンパク質の構造解析を目的とした。研究期間において、1)エンベロープタンパク質を観察する新しい細胞膜の調製方法の開発と、2)各種顕微鏡を用いた構造解析を実施した。申請者は、細胞膜を直接切り出したモデル細胞膜(Giant Plasma Membrane Vesicles)をもとに、エンベロープタンパク質の構造解析に適したモデル細胞膜および観察システムの構築を行なった。既存のGPMVs 作製方法では、膜機能の不可逆的な失活が問題であった。そこで、申請者は、膜機能失活を回避した新しい細胞膜切り出し方法を開発した。【特許出願中】。GPMVs は球状であるため、蛍光顕微鏡や原子間力顕微鏡などのイメージング解析は難しい。そこで、申請者は GPMVs を平面性の高い基板に展開する方法を開発した。細胞から切り出した細胞膜が硝子基板上に吸着し、ドーム状の構造体に変形する事を見だし、ドーム部分を除く事により、基板上に細胞膜その物を貼付けた「細胞膜シート」の構築に成功した【論文投稿準備中】。この「細胞膜シート」は基板上で平面構造を維持するため、蛍光顕微鏡および原子間力顕微鏡観察に非常に適した、モデル膜であることを見いだした。研究期間の後半においては、ウィルス由来のエンベロープタンパク質の培養細胞での発現および細胞膜への局在を確認した。さらに、発現細胞を用いて細胞膜切り出しの条件検討を行なうことが出来た。今後、エンベロープタンパク質の構造/機能解析をさらに発展させていく予定である。					
キーワード FA		細胞膜	インフルエンザ		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	投稿準備中							
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

The influenza virus attaches on host cell membrane via sialic acid, which is specific receptor. Then, the multiplied virus releases from host cell membrane. The host cell membrane is very important reaction field in infection of influenza virus. But the structure and functions of influenza virus envelope proteins on host cell membrane has not been understood. In this study, we developed new methods of preparation of cell model membrane for structural and functional analysis of the envelope proteins. Giant plasma membrane vesicles (GPMVs) derived from cell membrane are one of cell model membrane utilized analysis of physical properties of cell membrane. But irreversible inactivation of membrane proteins in preparation limits application as a model membrane. We focused GPMVs and succeeded in preparation of GPMVs, which retain membrane protein activity (patent pending). Observation of molecular reaction in spherical GPMVs is difficult by using fluorescent microscopic and atomic force microscopic imaging (AFM) techniques, because flatness of observation object is needed. We developed a cell membrane flat sheet from GPMVs (manuscript preparing). Then we succeeded in preparation of HeLa cells which is expressed an envelope protein. We will analyze the envelope protein in the cell membrane flat sheet on glass by using fluorescent microscopic and AFM observation.