

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23657091

研究課題名（和文）

トランスポーターのリポソーム配向性技術の開発

研究課題名（英文） Development of oriented reconstitution methods for membrane proteins

研究代表者

表 弘志 (Hiroshi Omote)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：10273707

研究成果の概要（和文）：トランスポーターは物質輸送を通じて、栄養素の取り込み、老廃物や薬物の排出、情報の伝達等様々な生命活動に関わっている。これらのトランスポーターの輸送活性の測定はトランスポーター機能の解明や新しい薬の開発に必須な項目となっている。本研究ではリポソームを用いたトランスポーターの輸送活性測定法の改善を目指した。

研究成果の概要（英文）：Transporters contribute to various biological activity including uptake of nutrients, exclusion of waste products and drugs. It also contribute to signal transmission through their transport activity across the membrane. Measurement of transport activity is an essential part of functional study of transporters and development of novel drugs. In this study, we investigated the transport assay with reconstituted liposomes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,300,000	690,000	2,990,000

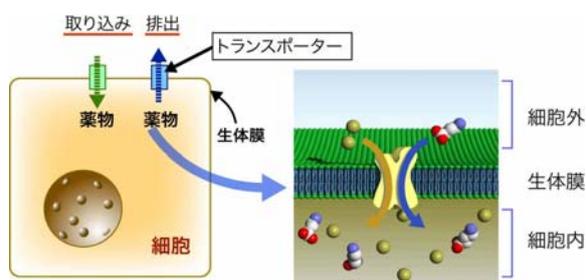
研究分野：生体膜生化学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：生体膜、トランスポーター、タンパク質、生化学、神経、輸送

## 1. 研究開始当初の背景

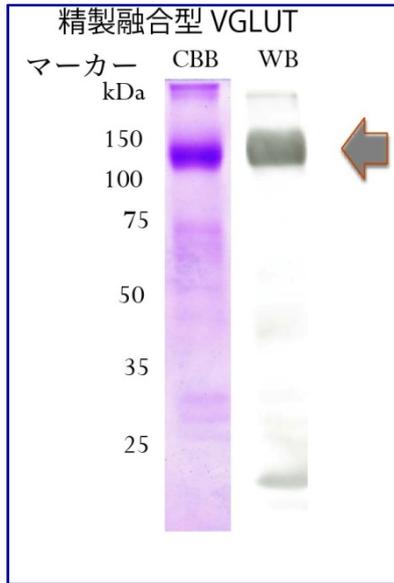
トランスポーターは物質輸送を通じて、栄養素の取り込み、老廃物や薬物の排出、情報の伝達など様々な生命活動に関わっている。



トランスポーターが正常に機能している事は健康の維持に不可欠であるために、多くの研究者の注目を集めている。また、トランスポーターは薬物の体内濃度を決定する重要な因子であるため、新しい薬の開発にあたってはトランスポーターによる薬剤輸送活性の測定が必須となってきている。



に増加している事があるので、この値は通常の VGLUT が持つ活性の 2 倍に相当する。



プロテアーゼ法で検討した配向性については有意な違いは見られなかったが、輸送活性が上昇した事から、より活性測定に適したリポソームが形成されているものと推定した。

また、MATE 型薬物排出トランスポーターおよび小胞型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT) をビオチンタグを付加した H<sup>+</sup>ポンプとともにリポソームに再構成した。ビオチンタグはバクテリア H<sup>+</sup>ポンプの  $\alpha$  サブユニットに付加したものを精製して用いた。このリポソームをストレプトアビジンビーズと混ぜる事により、MATE あるいは VNUT 含有リポソームをビーズに結合させる系を開発した。この系を用いる事で、簡易に輸送活性、リガンド結合活性が測定できるようになる。現在、脂質量、タンパク/脂質量比などを変えて、再構成の最適条件を検索している。また、これを用いて、リポソーム上のタンパク質の配向性、輸送活性を検討している。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

① 表 弘志、森山芳則 (2013) 塩素イオンにより制御されるトランスポーター群の発見と意義  
医学の歩み 245 巻、69-74.

② Omote, H., \*Moriyama, Y. (2012)

Vesicular Neurotransmitter Transporters: An approach for studying transporters with purified proteins.

*Physiology* 28, 39-50. doi: 10.1152/physiol.00033.2012.

③ Togawa N, Miyaji T, Izawa S, Omote, H., \*Moriyama Y. (2012) A Na<sup>+</sup>-phosphate cotransporter homologue (SLC17A4 protein) is an intestinal organic anion exporter.  
*Am J Physiol Cell Physiol.* 302, C1652-C1660. doi: 10.1152/ajpcell.00015.2012.

④ Miyaji, T., Sawada, K., Omote, H., \*Moriyama, Y. (2011) Divalent cation transport by vesicular nucleotide transporter.  
*J. Biol. Chem.* 286, 42881-42887. doi: 10.1074/jbc.M111.277269.

⑤ Miyaji, T., Omote, H., \*Moriyama, Y. (2011) Functional characterization of vesicular excitatory amino acid transport by human sialin.  
*J. Neurochem.* 119, 1-5. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07388.x.

⑥ \*Omote, H., Miyaji, T., Juge, N. and Moriyama, Y. (2011) Vesicular neurotransmitter transporter: bioenergetics and regulation of glutamate transport.  
*Biochemistry* 50, 5558-5565. doi: 10.1021/bi200567k.

⑦ Komatsu, T., Hiasa, M., Miyaji, T., Kanamoto, T., Matsumoto, T., Otsuka, M., Moriyama, Y. and \*Omote, H. (2011) Characterization of the human MATE2 proton-coupled polyspecific organic cation exporter.  
*Int J Biochem. Cell Biol.* 43, 913-918. doi: 10.1016/j.biocel.2011.03.005.

[学会発表] (計 4 件)

① 表 弘志、NPT ホモログは新規尿酸排出トランスポーターである、日本生体エネルギー研究会 第 38 回討論会、2012 年 12 月 22-24 日、岡山

② 表 弘志、NPT ホモログは新規尿酸排出トランスポーターである、生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2012 年 11 月 15-16 日、京都

③ 表 弘志、小胞型グルタミン酸トランスポーターの活性制御、日本生体エネルギー研

研究会 第 36 回討論会、2011 年 12 月 20-22 日、 京都

④ 表 弘志、小胞型神経伝達物質トランスポーターの機能制御、生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2011 年 11 月 24-25 日、 岡山

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)  
○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等

<http://www.pharm.okayama-u.ac.jp/lab/seika/home/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

表 弘志 (Hiroshi Omote)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号 : 10273707

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし