

様式 F-7-1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和元年度）

所属研究機関名称	奈良先端科学技術大学院大学		機関番号	14603
研究代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	助教		
	氏名	田中 良樹		

1. 研究種目名 基盤研究(C)(一般)

2. 課題番号 19K06526

3. 研究課題名 植物の環境ストレス耐性に関わる金属イオントransporterの構造基盤

4. 補助事業期間 令和元年度～令和3年度

5. 研究実績の概要

生命活動を維持するためには細胞内の各種代謝産物の濃度を一定の範囲に維持し、細胞内恒常性を保つておく必要がある。例として、金属イオンは生命活動の為に必須となる一方で、必要以上の濃度では酵素活性を阻害したりタンパク質の構造を不安定化するなどして、細胞に障害を与えることがある。本研究計画においては、金属イオンを輸送して細胞内の恒常性を維持する膜タンパク質輸送体ファミリーに着目し、それらの三次元構造を決定して構造面からの機能理解を目指して研究を進めている。本研究課題の解析目標である亜鉛輸送体ファミリーに関しては、30種ほどの真核生物から輸送体の遺伝子を選択して遺伝子合成によりDNAを調製した。ベクターへクローニングを行い、酵母発現系を利用した大量発現条件の検討を進めた。大量発現を確認した系を用いて酵母を大量培養し、解析サンプルを大量調製した。膜画分を取り出し、そこから結晶化に使用可能な高純度サンプルを得るための精製系の検討を進め、最終的に結晶化のための質と量の両方の条件を満たす精製系の構築を達成した。
これまでの実験により単独での高分解能構造解析の達成が困難であることがわかったため、高純度に単離精製した解析対象サンプルを用いて、特異的結合抗体を作製した。作製した抗体とサンプルの結合を確認しつつ、抗体との複合体結晶化や脂質ナノディスク再構成、電子顕微鏡測定を行った。本年度までの実験の結果、低分解能の回折を示す結晶と、予備的な電子顕微鏡像が得られている。

6. キーワード

膜タンパク質 結晶構造解析 クライオ電子顕微鏡

7. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。
理由 作製した抗体とサンプルが結合することが確認できた。 電子顕微鏡像が得られたことで、精製した解析対象タンパク質の安定性が確認でき、構造決定へ一步近づいた。

8. 今後の研究の推進方策

複数の抗体が存在し、それぞれの結合強度や構造安定性への寄与が異なると考えられるため、慎重に評価しつつ結晶化および電子顕微鏡測定を行って構造決定を達成する。

9. 次年度使用が生じた理由と使用計画

消耗品費用が少なく済んだため。翌年度に、遺伝子合成や電子顕微鏡測定およびデータ解析機器用の費用として使用予定。

10. 研究発表（令和元年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

11. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件／うち取得0件）

12. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

13. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

14. 備考

-