

様 式 F - 7 - 2

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実績報告書（研究実績報告書）

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	1 4 6 0 3
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ランスポーターの構造基盤

4．補助事業期間

令和元年度～令和2年度

5．研究実績の概要

初年度の時点で、サンプルの大量発現および精製方法の確立と結晶化スクリーニングを試みていたが、構造解析に必要な結晶化には成功していなかった。タンパク質構造を安定化させるため、抗体との共結晶化を行うことにした。抗体作製時に脂質と混合し、リボソーム再構成をすることでより構造を維持した抗原から構造認識抗体を得られるような工夫を施した。マウス腹水から結合可能性のある抗体候補を複数得ることができた。複数の抗体が得られたため、その中からサンプルと安定した強い結合を示す抗体を選択するため、それぞれをFab化後、サンプルと混合してゲル濾過することで単一の結合サンプルピークが得られるものの選別を行った。小スケールでの結合確認の結果、目的サンプルと十分な結合を示すFab化抗体が複数作製できたことを確認した。結合が確認できた抗体についてスケールを上げて、結晶化を行った。脂質キュービック法やバイセル法などの膜タンパク質輸送体に適した結晶化法を使用して結晶化を試み、微小結晶を得ることに成功し、回折実験に供した。いくつかの結晶化条件で予備的な低分解能データを得たが、分子置換可能なレベルのデータではなかった。それぞれ結晶化条件のリファインを行ったものの、分解能を向上するには至らず、立体構造の決定はできなかった。本研究期間中に全てのFab化抗体との組み合わせでの結晶化を実施できていないため、引き続き組み合わせを変え結晶化を行っていく必要があると考えている。

6．キーワード

結晶構造解析

7．研究発表

- 〔雑誌論文〕 計0件
- 〔学会発表〕 計0件
- 〔図書〕 計0件

8．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）

9．科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

10．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

11．備考

-