

様式 C-7-1

平成19年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 特定領域研究 4. 研究期間 平成19年度～平成20年度
5. 課題番号 1 9 0 3 9 0 2 2
6. 研究課題名 植物における亜鉛に応答した細胞内膜輸送系のプロテオーム解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
8 0 4 3 2 5 9 0	フカオ, ヨウイチロウ 深尾, 陽一朗	バイオサイエンス研究科	特任助教

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
	フカオ		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

亜鉛に応答して変動するタンパク質群を同定するために、二次元電気泳動を利用して比較解析を行った。膜タンパク質の解析を行う場合、通常 SDS-PAGE を用いるが、微量タンパク質は主要タンパク質に隠れてしまい検出できないことが多い。そのため膜タンパク質を効率良く可溶化するために SDS を含む溶液でサンプルを溶解し、直接等電点電気泳動で分離するための手法を確立した。この結果、1.5%SDS を含む溶液でも効率良くタンパク質スポットを分離することに成功した。等電点電気泳動に供するサンプルをアセトン沈殿などで前処理すると、沈殿を再溶解する時に凝集したままで可溶化しないタンパク質を損失するが、本法は前処理を一切行うことがないため、より多くのタンパク質を解析対象とすることができる。共に、定量性に優れているという特徴がある。次に発芽後 10 日目のシロイヌナズナに 300μM を 3 時間処理し、根から抽出したタンパク質を二次元電気泳動にて分離し、未処理サンプルとの比較解析を行った。この結果、液胞膜に局在する Vacuolar type H⁺-ATPase (VHA) のサブユニット A と E3 の発現増加が見られた。VHA は液胞内へ H⁺ を輸送し、酸性環境を作り出している。液胞膜には H⁺ を駆動力として亜鉛を液胞内へと取り込む輸送体 MTP (Metal tolerance protein) 1 が存在することから、植物細胞が過剰量の亜鉛にさらされたときに、液胞内の H⁺ 濃度を高めることで MTP1 による亜鉛の液胞への隔離を促進していると考えられる。さらに同条件にて亜鉛処理したシロイヌナズナからマイクロゾーム画分と細胞膜画分を抽出し、LC-MS を用いてショットガン解析を行った。この結果、亜鉛誘導されるタンパク質として小胞体に局在する亜鉛輸送体やトランスゴルジネットワークの分泌を活性化する small GTPase などが同定された。以上より、亜鉛に応答した細胞内膜輸送系を理解するための基礎的知見を得ることができた。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

10. キーワード

- | | | |
|-------------|------------|--------------|
| (1) 亜鉛 | (2) 細胞内膜系 | (3) プロテオーム解析 |
| (4) 二次元電気泳動 | (5) 膜タンパク質 | (6) シロイヌナズナ |
| (7) | (8) | (裏面に続く) |

11.研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 1 ）件

著者名		論文標題			
Kenji Yamada		Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in Arabidopsis thaliana.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
J. Biol. Chem.	有	282	2007	37794-37804	

著者名		論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	

著者名		論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	

〔学会発表〕 計（ 1 ）件

発表者名		発表標題		
深尾陽一朗		二次元ゲル電気泳動を利用した膜タンパク質の解析		
学会等名	発表年月日	発表場所		
日本植物生理学会	2007年3月21日	札幌		

〔図書〕 計（ 0 ）件

著者名		出版社		
書名			発行年	総ページ数

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--