

提出日:2023 年 5 月 8 日

2022 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

## 研究成果の概要

実験課題名		天然ゴムおよびフラボノイド生合成酵素複合体の膜との相互作用の観察
申請者 (実験責任者)	氏名	山下 哲
	所属機関名・部局名	金沢大学理工研究域物質化学系
	職名	准教授
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		<input type="checkbox"/> 超解像 AFM (FM-AFM 及び、3D-AFM) <input checked="" type="checkbox"/> 高速 AFM <input type="checkbox"/> SICM
NanoLSI 受入担当教員名		古寺哲幸 教授
<p>植物が生産する有用な二次代謝産物は、植物特化代謝産物とよばれ、小胞体膜上で酵素複合体「メタボロン」の形成により効率的に合成制御されることが近年明らかになってきている。したがって、他の宿主での代替生産系を構築する上でも、メタボロンの構造と機能を正確に理解することは必要不可欠である。メタボロンを構成するタンパク質同士の相互作用は一般的に弱く、膜上で一過性に形成されると予想されている酵素複合体の単離も一般的に困難である。そのため、複合体の量論比、相互作用様式、ダイナミクスに関する知見は極めて少ないのが現状である。本申請で扱う、フラボノイドおよび天然ゴムは、いずれも人間社会に有用である。フラボノイドについては、ヒトへの健康効果が注目されており、本研究により植物内での増産につながる知見が期待できる。また、天然ゴム関連では、ゴムの生合成機構の知見が得られれば、良質のゴム生産によってカーボンニュートラルに貢献でき、植物による CO<sub>2</sub> の固定を促進させるための知見が得られると期待できる。これらの因子の膜上動態は、蛍光ラベル化した組換えタンパク同士の FRET などを利用して観察されてきたが、直接観察の例は皆無であり、HS-AFM 測定が成功すれば世界初である。</p> <p>本年度の研究では、代表的な高分子量ポリイソプレン合成酵素を、溶液中またはリポソーム等の脂質膜系の存在下で高速 AFM により観察したところ、ポリイソプレン合成酵素が、脂質二重膜系の表面に付着し、細動する様子が初めて観察された。また、その挙動は、基質の存在下で変化することがわかった。また、フラボノイド生合成系では、代謝経路上の重要酵素であるカルコン合成酵素と、その活性を矯正するパートナータンパク質の共存状態を初めて観察することができた。今後は、ポリイソプレン合成酵素が観察中に生成するポリマーの確認と、フラボノイド系酵素複合体の形成の頻度を決定する実験を行いたいと考えている。</p>		

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2023 年 5 月 8 日(月) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 E-mail: [nanolsi\\_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp](mailto:nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp)