

提出日:2025 年 6 月 9 日

2024 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名		タンパク質やポリマー合成における構造ダイナミクス	
申請者 (実験責任者)	氏名	濡木 理	
	所属機関名・部局名	東京大学 理学系研究科 生物科学専攻	
	職名	教授	
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)			原子分解能/3D-AFM
		○	高速 AFM
			SICM
			細胞測定 AFM
NanoLSI 受入担当教員名		ナノ生命科学研究所 教授 古寺 哲幸, 教授 柴田 幹大	
【非典型翻訳 IRD によるリボソーム動態】 リボソームはタンパク質合成装置としての側面に加え、タンパク質発現制御装置としての側面も併せ持つ。その制御メカニズムの一つとして、リボソームが合成する新生ポリペプチドとリボソーム出口トンネルとの相互作用がある。中でもリボソーム自身がダイナミックに動く現象として、特定のアミノ酸配列を翻訳する途中でリボソームが不安定化されたり、mRNA 上の他の位置に飛び移ったりする現象が報告されている。これらの現象におけるリボソームのダイナミックなふるまいを理解するために、HS-AFM による翻訳観察を試みた。 リボソームによる翻訳反応を観察するにあたって、HS-AFM の観察では通常、観察用試料を薄く希釈しなければならないため、翻訳反応を進めることが困難であるという課題があった。そこで、基板上にストレプトアビジン二次元結晶を張り、その上に Strep タグを付加したリボソームを載せることにより基盤へのリボソーム特異的な吸着を実現した。この条件において、観察用プール中にきわめて濃い溶液である無細胞翻訳系を原液で注入してもリボソームが観察できること、そのうちいくつかはモノソームを形成していることを見出した。本成果はリボソームが翻訳する様子を観察するうえでたいへん有望な結果となった。今後は観察を安定させるため、Strep タグの数を増やしたりリボソームを作製し、リボソームの翻訳観察系を改良する計画を立てている。 【イソペプチドポリマー合成酵素の分子基盤】 生分解性や環境、人体への影響の点で既存の化学ポリマーの代替品としてイソペプチドポリマーが注目されている。その分子エンジニアリングの基盤として、HS-AFM と Cryo-EM 単粒子解析を組み合わせることでイソペプチドポリマーの一種の分子基盤の解明を試みている。 今回の観察では、マイカ基盤を APTES やストレプトアビジン二次元結晶で処理した上で、イソペプチドポリマー合成酵素の観察を行い、一分子の観察に成功した。ポリマー合成反応の観察には至っていないため、今後はポリマー合成に必要な基質や因子を観察プール中に付加した条件で反応ダイナミクスの可視化を試みる。			

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、NanoLSI Web サイト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:2025 年 5 月 9 日(金) ※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 国岡 E-mail: nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp