

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 15 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名		マラリア原虫アピコプラストへの蛋白質輸送メカニズムの解明	
研究代表者	氏名	齊藤貴士	
	所属機関名・部局名	北海道科学大学・薬学部	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		○	共同研究員
			超高磁場NMR 共同利用研究課題
			クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
			客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		藤原敏道	
<p>マラリア感染症を引き起こすマラリア原虫はアピコンプレックス門に属し、細胞内に取り込んだ紅色植物の葉緑体が退化したと考えられている四重包膜に囲まれた二次共生色素体:アピコプラストを持つ。四重包膜のうち、外側は小胞体膜と共生体の細胞膜由来、内側の二膜は紅色植物由来と考えられている。ピコプラストで使用されるタンパク質 (アピコプラスト蛋白質)の大部分は核ゲノム DNA にコードされている。よって、アピコプラスト蛋白質は小胞体で合成された後、本研究で研究対象とする Tic22 タンパク質など様々な膜透過関連タンパク質の助けをかりて四つの膜を通過しアピコプラスト内へと運ばれていく。これらマラリア原虫アピコプラストのタンパク質の構造生物学的研究は近年増加傾向にあるものの、アピコプラスト蛋白質間の相互作用ネットワークについては未解明の部分が多く残っている。そこで本研究では、アピコプラスト内で電子伝達タンパク質として機能している [2Fe-2S]フェレドキシンと膜透過関連タンパク質 Tic22 との相互作用、そしてアピコプラスト内へと取り込まれたフェレドキシンの電子伝達能力について解明を目指している。</p> <p>Tic22 によるアピコプラストタンパク質の分子認識メカニズムを解明するために、Tic22 によるアピコプラスト内へと輸送される電子伝達タンパク質:フェレドキシンに対する分子認識メカニズムの解明を目指した。アピコプラストへと輸送されるタンパク質は膜透過の際、アンフォールド状態を維持していると考えられるため、本研究ではフェレドキシンをアンフォールド状態に保つため[2Fe-2S]クラスターを除去し apo-フェレドキシンとして実験に用いた。相互作用メカニズムの解明する手法には、超高磁場 N M R スペクトル解析とよび Bio-Layer Interferometry (BLI) 法を用いる予定である。本年度は、超高磁場 N M R 法による解析を目指したタンパク質の安定同位体ラベル化技術の構築をおこなった。これにより、所属研究機関においてもタンパク質の安定同位体ラベルを安定して得ることができる環境を整えた。また BLI 法については、センサーチップへの Tic22 タンパク質の固定化手法として、これまでに用いてきた GST-Tag による固定化に変え、ビオチン化による固定化を行うため Tic22 のビオチン化を実施した。</p>			