

環境とバイオテクノロジー
2021 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

和氣 駿之

東北大学 大学院工学研究科
助教

フラボノイド生合成の細胞内動態を探る

研究成果の概要

細胞内で生じる代謝は連続的な代謝酵素の複合体(メタボロン)の形成により時空間的に制御されていることが提唱されている。代謝系を構成する個々の酵素は細胞内に一様に拡散しているわけではなく、代謝は細胞内の微小空間に区画化され、これによって、代謝中間体の濃縮や、連続する二つの酵素間での直接的な基質の受け渡し(基質チャネリング)が可能となると想定されている。これにより、代謝の連続反応が効率的に進行すると考えられる。本研究では、植物のフラボノイド合成に着目し、特定の代謝酵素との新規相互作用タンパク質を同定することで、タンパク質間相互作用を介した代謝酵素の特異性制御や基質チャネリングによる代謝効率化機構を明らかにすることを目的としている。

2022年度は、共免疫沈降(Co-IP)および酵母ツーハイブリッド法(Y2H)による相互作用タンパク質のスクリーニングを行った。Co-IPでは、フラボノイド生合成のメタボロン形成に関わるタンパク質間相互作用は弱いことが想定されたので、クロスリンカー試薬を用いた架橋反応後に免疫沈降を行った。免疫沈降後、トリプシンにより消化してLC-MS/MS解析を行うことで相互作用候補タンパク質リストを得たが、対象酵素との架橋ペプチドは検出されなかった。クロスリンカー試薬による架橋効率が低いことが考えられたため、今後、実験材料の選定や使用するクロスリンカー試薬の検討が必要である。Y2Hでは、GAL4 ツーハイブリッドに基づいた mating 法により相互作用タンパク質のスクリーニングを行った。その結果、いくつかの相互作用候補遺伝子が見出されたが、そのすべてが偽陽性であった。Y2Hの系をスプリットユビキチンシステムへ変更して再度スクリーニング予定である。また、2023年度はBioID法を用いた相互作用タンパク質のスクリーニングも行う予定である。