

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	天然ゴム合成の鍵となる膜構造変化を担うタンパク質群のダイナミクス解明への挑戦		
研究テーマ (英文)	Challenges to elucidate the dynamics of proteins modulating membrane structure in a key step of natural rubber biosynthesis		
研究期間	2019年 ~ 2021年	研究機関名 金沢大学	
研究代表者	氏名	(漢字)	山下 哲
		(カタカナ)	ヤマシタ サトシ
		(英文)	Yamashita, Satoshi
	所属機関・職名	金沢大学理工研究域物質化学系	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	古寺 哲幸
		(カタカナ)	コデラ ノリユキ
		(英文)	Kodera, Noriyuki
	所属機関・職名	金沢大学ナノ生命科学研究所・教授	

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

天然ゴム (NR) は一部の植物によって合成される超高分子量のイソプレンポリマーであり、産業的に利用される NR は熱帯性植物であるパラゴムノキのラテックスと呼ばれる乳液状樹液から得られる。NR 分子は石油に依存した合成ゴム分子よりも化学的純度が高く、材料としても高性能である。また、カーボンニュートラルや持続可能性という観点から、植物が CO₂ を固定して合成する NR の需要が今後さらに高まることが予想される。しかし、栽培地域が限定される植物に依存した現在の供給体制は、様々な問題により持続可能となっておらず、代替生産系が模索されており、生合成機構の完全解明が求められている。本研究者はパラゴムノキから初めて天然ゴム合成酵素複合体を見出し、疎水性の高い天然ゴムを乳化し貯蔵するゴム粒子 (RP) の生成メカニズムに興味を抱いた。これは、脂質二重膜におけるポリマー合成と連動したダイナミックな過程と予想されていたが、直接観察はされておらず、本研究では高速バイオ AFM (HS-AFM) でリアルタイム観察することを試みた。HS-AFM は、生理的な条件下でタンパク質や膜の動きを観察できる装置であるが、ラテックスから精製した RP の観察を試みたところ、安定な観察が困難であった。続いて、RP に最も大量に存在する Rubber Elongation Factor (REF) の異種発現系を構築し、可溶化と精製に成功した。この組換え型 REF を用い、脂質二重膜との共存下で HS-AFM 測定を行ったところ、数百 nm オーダーのランダムな形状を持つ膜系が迅速に細かく分断される様子が初めて観察された。REF の添加とともに分断された膜は数十 nm サイズの均一性の高い粒子状となっており、REF が脂質と相互作用することにより形成される特異的な構造であることが強く示唆された。今後、REF がポリマー合成とどのように連動して機能するかを明らかにする必要があるが、本研究の成果は REF の膜変形活性を初めて直接観察したという大きな意義を持つと考えられる。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）					
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
図書	書名				
	著者名				
	出版社		発行年	総ページ	
図書	書名				
	著者名				
	出版社		発行年	総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

Natural rubber (NR) is a high-molecular-weight isoprene polymer that is biosynthesized by a rubber-producing plant. NR is emulsified and accumulates in the laticifer cells of the rubber-producing plants as rubber particles (RP), and the emulsion is known as latex. RP consists of a hydrophobic rubber core and a surrounding lipid-monolayer membrane and membrane-bound proteins. One of the most abundant proteins on the RP is termed as the rubber elongation factor (REF). REF is a membrane-associated protein consists of 138 amino acids. Even though the REF is thought to be important for the membrane-budding process to form RPs, the motions of REF have never been observed. In this study, we attempted to investigate the functions of REF by using the high-speed atomic force microscopy (HS-AFM). As a result, a dynamic behavior of REF was directly observed for the first time. While recombinantly expressed and purified REF was incubated with liposome membranes, the membranes were immediately changed into small membrane particles. The putative function of recombinant REF is thought to strongly interact with phospholipids which form a specific REF-lipids structure.