

所属・資格 生命科学科・助手

申請者氏名 清水 洋輔

研究課題		異なる温度環境に適応するキネシンの特性比較と、低温適性をもたらすアミノ酸残基の探索
報告の概要	研究目的 および 研究概要	<p>多くの生物において類似の役割を果たすタンパク質も、生物種によって少しずつ配列が異なり、性質にも違いがある。特に高温環境に適応した生物は、構造が熱安定なタンパク質を発現していると考えられ、逆に低温環境に適応した生物は、構造がよりフレキシブルである代わりに活性化エネルギーが低く、低温でも活性を発揮しやすいタンパク質を発現していると期待される。</p> <p>進化的に近縁でありながら、一方は常温環境、他方は低温環境に適応した2生物種に着目する。目的タンパク質を発現・精製し、その特性を調べるとともに、アミノ酸配列の比較等から温度適性の違いをもたらしている箇所を推測し、その箇所に対し遺伝子操作によるタンパク質の改変を行い、性質の変化があるかどうかを調査した。特に、運動活性という形で性質を調べられる、モータータンパク質・キネシンを対象とし、運動速度や酵素活性速度、およびその温度依存性を指標とした。</p>
	研究の結果	<p>糸状菌すなわちカビである、37°C適応の <i>Aspergillus nidulans</i>、低温適応の <i>Sclerotinia borealis</i> を対象とした。前者由来のキネシン AnKinA-WT、および配列比較により低温適性をもたらすであろうアミノ酸置換変異体 AnKinA-P60G, AnKinA-S323G の大腸菌発現系を作成し、精製に成功した（後者由来のキネシン SbKin1 については、作成はできたが精製は断念した）。運動速度を見る <i>in vitro</i> motility assay、酵素活性速度を見る ATPase assay を行い、その温度依存性を見た。当初の予測通り、特定のアミノ酸残基の置換により低温適性が得られるとの知見を得た。その知見は学会にて発表し、また学術誌に採択となった。</p>
	研究の考察・反省	<p>発現系作成・精製は、1つは断念したが3つは成功し、その3つをもとに学術論文作成のためのストーリーを組み直しており、成功裏に研究を終えることができた（断念した1つに余計な時間を使わずに済ませている）。実験および成果発表の進行はおおむね予定通りであり、計画設計は妥当であったと言える。</p>
研究発表 学会名 発表テーマ 年月日/場所	<p>※この欄は、本報告書提出時点で判明している事項についてご記入ください。</p> <p>学会名：第56回日本生物物理学会 発表テーマ：糸状菌キネシンへの1残基置換が低温適性をもたらす代わりに熱安定性を損なう 年月日/場所：2018年9月16日/岡山県岡山市</p>	
研究成果物 テーマ 誌名 巻・号 発行年月日 発行所・者	<p>学会名：2019年生体運動研究合同班会議 発表テーマ：Possible cold-adaptation for the fungal kinesin in compensation for thermal stability acquired by single amino acid substitution 年月日/場所：2019年1月6日/福岡県福岡市</p> <p>テーマ：Possible cold-adaptation for the fungal kinesin in compensation for thermal stability acquired by single amino acid substitution 誌名/巻・号/発表年月日：Journal of Biochemistry, in press (published online Dec. 5, 2018) 発行所・者：Oxford University Press</p>	