

平成 30 年 1 月 20 日

若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 20170222

氏 名

山際 来佳

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。
なお、下記記載の内容については相違ありません。

記

1. 派遣先：都市名 リバプール (国名 英国)
2. 研究課題名（和文）：膜貫通型一酸化窒素還元酵素の高分解能構造解析による酵素反応機構の解明
3. 派遣期間：平成 29 年 9 月 25 日 ～ 平成 29 年 12 月 25 日 (92 日間)
4. 受入機関名・部局名：リバプール大学・統合的生物学研究所
5. 派遣先で従事した研究内容と研究状況（1/2 ページ程度を目安に記入すること）

脱窒菌は、酸素を必要としない呼吸（脱窒）により生育することができる。脱窒過程では、銅含有亜硝酸還元酵素（CuNiR）により細胞毒である一酸化窒素（NO）が生成されるが、膜貫通型一酸化窒素還元酵素（NOR）が NO を分解するため、脱窒菌が死滅することはない。これは「細菌内で CuNiR と NOR が複合体を形成することにより NO の拡散を防いでいる」という仮説を立て、複合体の構造解析に取り組んだ。

NOR は膜タンパク質であるため、精製の際に界面活性剤を用いて可溶化させるが、可溶化 NOR と CuNiR を用いてゲルろ過を行うと複合体形成は確認できなかった。そこで脂質二重膜環境を模倣した「NanoDisc」に NOR を再構成し、再構成 NOR と CuNiR の複合体について電子顕微鏡法での構造解析に取り組んだ。NanoDisc を用いることで、可溶化 NOR を用いた時には得られなかったゲルろ過時のピークを得ることができた。その画分を用いてネガティブ染色による電子顕微鏡像を取得したところ、複合体のような分子を確認することができた。さらに、その標品を用いて、クライオ電子顕微鏡法のためのサンプル凍結を行った。

6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本研究の成果は、Hasnain 教授のグループとの共著論文として発表する予定である。

本研究により、NOR と CuNiR が溶液中で複合体を形成することが示唆された。今後の研究計画の方向性としては、NanoDisc に再構成した NOR と CuNiR が複合体を形成しやすい条件(例えば、塩濃度、pH、NOR と CuNiR の混合比、それぞれの基質の有無や酸化還元状態など)を最適化し、複合体の割合を増やすことで、NOR-CuNiR 複合体のクライオ電子顕微鏡法による構造決定ができると考えられる。さらに、NOR と CuNiR がどのようなストイキオメトリーで複合体を形成しているのか、また、CuNiR と NOR の単体についても溶液中でどのような四次構造を形成しているのかは未解明であるため、新たな知見となる。それらの構造情報を明らかにし、統合することは、実際に脱窒菌の細胞内で CuNiR と NOR がどのように複合体を形成し、細胞毒である NO が拡散しないように機能しているのかを知ることにつながる。さらに、NOR-CuNiR 以外で脱窒に関わる酵素群との超複合体の構造研究にも貢献できる。

7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本プログラムを通して、以下の 3 点を得ることができた。

1. 海外の研究室での研究の進め方について

滞在した研究室では、自ら積極的に発言していかないと研究が進まないだけでなく、実験をすることもできなかった。Ph.D. Student が多いこともあり、常に論文を書きながら研究を進め、普段から学生間で議論をしていた。また、夜遅くまで実験はせずに、ワークライフバランスを考慮した研究生活をしていると感じた。

2. 研究室間の繋がりについて

日本の研究室とは設備のあり方に違いがあった。各研究室には最低限必要な設備しかなく、他の研究室に装置を借りに行くことが頻繁にあった。そのため、他の研究室との垣根が低く、所属研究室以外の人とも話す機会が多かった。また、装置を他所の人が頻繁に使うため、装置の管理が徹底されていた。

3. 英語に関して

短期間であったが、ディスカッションの機会も多かったため、英語力が向上したように感じる。他、研究以外でも、海外の文化に触れ、歴史を感じることで、私自身の視野が広がった。

このプログラムでの経験を生かして、今後、研究の進め方、研究との向き合い方を改善していきたいと感じた。