

環境とバイオテクノロジー
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

倉持 昌弘

茨城大学 大学院理工学研究科
助教

凍結低温制御分子の構造特異機能の解明および個体丸ごと保存技術の開発

研究成果の概要

本研究では、氷晶制御および低温細胞保護を示す氷晶結合タンパク質 (Ice-Binding Protein, IBP) に着目し、構造特異的な分子機構解明および基礎科学知見に基づいた個体生物丸ごとの保存技術を確立する。IBP 分子は、寒冷地域に生息する生物が有するタンパク質で、氷晶に結合するユニークな性質をもつ。これまでに IBP 分子の立体構造や氷晶作用の物理特性が調べられてきた。特に構造特異的な氷晶結合能について構造レベルで詳細な解析がなされており、近年では IBP 分子の氷晶結合面に形成される水和構造の重要性が示唆されるようになった。しかし、その知見は限定的である。また、IBP 分子は非凍結低温でも細胞保護機能を示すことが報告されているが、この低温における分子メカニズムは明らかになっていない。

2022 年度は、設定した 4 課題を同時並行して取り組んだ。1 つ目は、中性子回折実験に向けた IBP 分子の結晶作製およびテスト測定を実施した。予備検証を J-PARC BL03 にて行った。その結果、これまで生じていた結晶劣化や破壊を抑えることができ、長時間計測できることを示せた。次年度は本測定を実施、分子表面に形成される水和構造を同定する。2 つ目は、IBP 低温効果の分子機序を調べるため、IBP 野生型および 5 種類の変異体を作製、線虫の遺伝子導入株を作出した。次年度は、FRAP 実験を行い、細胞膜流動性を評価する。3 つ目は、IBP 分子を用いた個体生物の凍結保存効果を検証した。3 種類の IBP 発現線虫株を凍結保存し、その効果を調べた。凍結保存後の IBP 発現株 (一部) の生存率は、野生株と比べて有意に高いことがわかった。今後、他の IBP 分子についても検証する。4 つ目は、線虫体内の氷晶を捉える X 線計測技術開発に取り組んだ。予備検証として、IBP 溶液の氷晶像を測定し、氷形状や大きさ、成長過程を分析した。今後、線虫体内でも計測を実施し、生体内における氷晶制御過程を調べていく。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “A mutation to a fish ice-binding protein synthesized in transgenic *Caenorhabditis elegans* modulate its cold tolerance”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 628, pp.98-103, 2022.
- 2) “The effect of ice-binding proteins on the cryopreservation of *Caenorhabditis elegans*”, *microPub. Biol.*, 10.17912/micropub.biology.000734., 2023.