2024 年度

創発的研究支援事業　年次報告書【公開版】

研究担当者	田村　朋則
研究機関名	京都大学大学院工学研究科
所属部署名	大学院工学研究科　合成・生物化学専攻
役職名	講師
研究課題名	光近傍ラベリングによる in vivo インタラクトーム解析
研究実施期間	2024 年 10 月 1 日～2025 年 3 月 31 日

研究成果の概要

本研究課題の基盤となる光近傍ラベリング法 PhoxID は本研究課題スタート時にはプレプリントでの成果掲載のみであったが、査読の末 2024 年度に Nature Chemical Biology 誌に掲載された。本手法は、我々の独自技術であるタンパク質修飾技術（リガンド指向性化学）と、光増感剤が産生する一重項酸素による周辺タンパク質の酸化反応を利用して、標的受容体近傍のインタラクトームを網羅的に同定することが可能である。実際に本手法をマウス脳内の AMPA 受容体(AMPAR)および GABAA 受容体（GABAAR）に適用したところ、わずか 1-10 分の光照射で、既知相互作用タンパク質を含む複数のタンパク質を同定した。また、高い時間分解能を有する本手法は、生後発達過程における受容体インタラクトーム変化のスナップショット解析を可能にし、発達期特異的な AMPAR の近傍タンパク質（NECTIN3 など）の同定に繋がった。2024 年度は、本手法の標的受容体の拡張および細胞内インタラクトーム解析用プロトコルの確立に向けた検討を主に進めた。

これと並行して、オルガネラ膜選択的な脂肪酸代謝物解析法の開発を行い、その成果を論文投稿した。この手法では、アジド基を有する脂肪酸（パルミチン酸アジド、オレイン酸アジド）を代謝導入した細胞に対し、我々が開発したオルガネラ局在性クリック試薬を添加することで、狙ったオルガネラ膜内の脂肪酸代謝物を空間選択的に標識可能である。標識された脂質を薄層クロマトグラフィーや質量分析によって定性・定量解析することで、各オルガネラ膜の脂質組成をプロファイリングできる。この新技術によって、オルガネラ分画無しで小胞体/ゴルジ体膜とミトコンドリア膜における脂質組成の違いを検出することに成功した。