

平成22年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 若手研究(B) 4. 研究期間 平成21年度～平成22年度

5. 課題番号 2 1 7 8 0 0 7 3

6. 研究課題名 大腸菌のジスルフィド結合形成酵素 DsbA の新たな還元ストレス除去機能とその応用

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
6 0 3 9 5 6 5 5	おおつ 大津 いわお 徹生	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

DsbA-DsbB-ユビキノン酸化システムによる還元ストレス除去機構の解明を目的に本年度は、還元ストレスにより蓄積した Cys-Cys の細胞内再取り込みについて解析を行った。 Cys-Cys トランスポーター FliY の欠損株を用いて、平成21年度に確立した測定法により、ペリプラズム中の Cys-Cys の蓄積を明らかにした。またアイソトープラベルした Cys-Cys はを用いて、FliY 依存的に細胞内に取り込まれることを明らかにした。この知見を活用し、これまでに構築した Cys 発酵生産菌（生合成系の強化：フィードバック阻害非感受性型変異型セリンアセチルトランスフェラーゼの過剰発現と排出系の強化：Cys トランスポーター YdeD 過剰発現を有する）に、課題1）、2）の知見を活用し、DsbB 欠損を組み合わせることで、Cys の DsbA による Cys-Cys への酸化を防ぎ、生育阻害を緩和することで、生産性の向上に成功した。また、培地に排出された Cys は次第に Cys-Cys に酸化され、蓄積すると考えられる。そこで Cys-Cys 取り込み系の破壊（FliY）も併用し、さらなる生産性の向上に成功した。以上のことから、毒性の高い Cys を大腸菌の酸化環境であるペリプラズムで Cys-Cys に酸化し毒性を下げることで、生育阻害を緩和し、生産性の向上につながったと示唆された。また、大腸菌の立場で考えるとこの DsbA-DsbB-ユビキノン酸化システムは、Cys のような還元剤に対するストレスへの防御システムとも考えることができる。

10. キーワード

- | | | |
|--------------|-------------|-------------------|
| (1) ジスルフィド結合 | (2) DsbA | (3) 生育阻害 |
| (4) ペリプラズム | (5) システイン発酵 | (6) システイントランスポーター |
| (7) 大腸菌 | (8) シスチン | (裏面に続く) |

11.研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 3 ）件 うち査読付論文 計（ 2 ）件

著者名	論文標題			
Yuka Kobayashi, Iwao Ohtsu, Makoto Fujimura, and Fumiyasu Fukumori	A mutation in <i>dnaK</i> causes stabilization of the heat shock sigma factor σ^{32} , accumulation of heat shock proteins and increase in toluene-resistance in <i>Pseudomonas putida</i> .			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Environ. Microbiol.</i>	有	10	2010	1462-1472

著者名	論文標題			
Iwao Ohtsu, Natthawut Wiriyathanawudhiwong, Susumu Morigasaki, Takeshi Nakatani, Hiroshi Kadokura, and Hiroshi Takagi	The L-cysteine/L-cystine shuttle system provides reducing equivalents to the periplasm in <i>Escherichia coli</i> .			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>J. Biol. Chem.</i>	有	285	2010	17479-17487

著者名	論文標題			
大津巖生, 高木博史	システイン/シスチンのシャトルシステムによる新しい酸化ストレス防御機構			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
化学と生物	無	49	2011	81-83

〔学会発表〕 計（ 7 ）件 うち招待講演 計（ 1 ）件

発表者名	発表標題	
大津巖生, Natthawut Wiriyathanawudhiwong, 高木博史	大腸菌ペリプラズム内におけるシステインの生理的役割	
学会等名	発表年月日	発表場所
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	札幌市

発表者名	発表標題	
大津巖生, Natthawut Wiriyathanawudhiwong, 高木博史	大腸菌ペリプラズム内におけるシステインの生理的役割	
学会等名	発表年月日	発表場所
第57回日本生化学会近畿支部例会	2010年5月22日	生駒市

発表者名	発表標題	
大津巖生, Natthawut Wiriyathanawudhiwong, 鈴木茉莉奈, 高木博史	大腸菌のペリプラズムにおける過酸化水素の消去機構	
学会等名	発表年月日	発表場所
第4回ゲノム微生物学会若手の会	2010年10月1日	神戸市

発表者名	発表標題	
佐々木 翠, Natthawut Wiriyathanawudhiwong, 大津巖生, 高木博史	システインによる大腸菌の生育阻害機構の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本農芸化学会関西支部例会 (第467回講演会)	2010年12月4日	神戸市

発表者名	発表標題	
佐々木 翠, Natthawut Wiriyathanawudhiwong, 大津厳生, 高木博史	システインによる大腸菌の生育阻害機構の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会	2010年12月9日	神戸市

発表者名	発表標題	
鈴木茉莉奈, Natthawut Wiriyathanawudhiwong, 大津厳生, 高木博史	システイン/シスチンのシャトルシステムによるユニークな酸化ストレス防御機構	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会	2010年12月9日	神戸市

発表者名	発表標題	
佐々木翠, 大津厳生, 高木博史	システインによる 大腸菌の生育阻害機構の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本農芸化学会2011年度大会	2011年3月28日	京都市で開催予定であったが、中止となり、大会講演要旨集をもって発表が成立

【図書】 計 (0) 件

著者名	出版社		
	書名	発行年	総ページ数

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出願】 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

【取得】 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--