

様式 F - 7 - 2

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）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. 補助事業期間 平成23年度～平成24年度
5. 課題番号

2	3	7	8	0	0	8	1
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 細胞膜リン脂質の品質管理に働くシステイン/シスチンのシャトルシステム

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	オオツ イワオ 大津 厳生	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者

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

大腸菌の内膜に局在するCysトランスポーターYdeDの遺伝子破壊株は過酸化水素（H₂O₂）に感受性を示し、過剰発現株は耐性を示す。また、CySSと結合するペリプラズム内タンパク質FlhYの遺伝子破壊株もH₂O₂に感受性を示すことから、H₂O₂の還元に伴い生成するCySSがFlhY依存的に細胞質内に取り込まれる可能性が示唆された。以上の結果から、Cys/CySSシャトルシステムが、カタラーゼが存在しないペリプラズム内で生じるH₂O₂の除去に重要な役割を果たすことが示され、遊離のシステインがペリプラズムで生じるH₂O₂を消去し、細胞を酸化ストレスから防御するユニークな機構を明らかにした。本研究課題では、1)ペリプラズムに生じたH₂O₂の検出、2)生じたH₂O₂によるリン脂質の酸化、3)リン脂質の酸化と細胞分裂障害との関連性を評価することを目的とした。

Hpx変異株（カタラーゼ、ペルオキシダーゼの機能欠損株）は、1μM程度のH₂O₂を細胞質に蓄積することがすでに報告にされている。H₂O₂は、細胞膜を自由に通り抜けることができるので、ペリプラズムにも1μM程度のH₂O₂が蓄積していると考えられる。このような条件下でH₂O₂特異的検出試薬（非細胞膜透過性BES）を用いることで、大腸菌のペリプラズムに生じているH₂O₂の検出を蛍光顕微鏡観察により行った。その結果、Hpx変異株と比較してH₂O₂消去に働くシステイントランスポーターYdeDを欠損させた変異株では、ペリプラズムにH₂O₂が有意に蓄積していた。

次に、過酸化脂質のバイオマーカーであるマロンジアルデヒドの量を測定したところ、ydeDFlhY欠損株は野生株と比較して約1.5倍のMDA量が検出された。したがって、Cys/CySSシャトルシステムの生理的意義の一つとして、細胞膜の構成物質である脂質の酸化を未然に防ぐことが明らかになった。

10. キーワード

- (1) 大腸菌 (2) システイン (3) 酸化ストレス (4) シスチン
 (5) トランスポーター (6) ペリプラズム (7) (8)

11.研究発表

〔雑誌論文〕計(1)件 うち査読付論文 計(1)件 (最終年度分)

著者名	論文標題 [掲載確定]			
Takeshi Nakatani, Iwao Ohtsu, Gen Nonaka, Natthawut Wiriyathanawudhiwong, Susumu Morigasaki, Hiroshi Takagi	Enhancement of thioredoxin/glutaredoxin-mediated L-cysteine synthesis from S-sulfocysteine increases L-cysteine production in Escherichia coli.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Microb. Cell Fact.	有	11	2 0 1 2	ページなし
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
10.1186/1475-2859-11-62				

〔学会発表〕計(4)件 うち招待講演 計(1)件 (最終年度分)

発表者名	発表標題	
大津厳生、高木博史	大腸菌における硫黄源の選択的利用機構とシステイン代謝との共役	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本農芸化学会2013年度大会 シンポジウム(招待講演)	2013年03月26日～2013年03月27日	宮城県仙台市

発表者名	発表標題	
仲谷豪、大津厳生、高木博史	大腸菌における新規L-システイン生成酵素の同定と発酵生産への応用	
学会等名	発表年月日	発表場所
創立90周年記念第64回日本生物工学会大会2012年	2012年10月24日	福岡県福岡市

発表者名	発表標題	
仲谷豪、大津厳生、高木博史	大腸菌におけるチオ硫酸イオンの選択的利用によるシステイン合成機構(チオ硫酸リプレッション)	
学会等名	発表年月日	発表場所
第85回日本生化学会大会2012年	2012年12月16日	兵庫県神戸市

発表者名		発表標題	
大津厳生		硫黄代謝を利用した有用物質生産への応用	
学会等名		発表年月日	発表場所
代謝、増殖、分裂研究会		2012年12月08日	静岡県三島市

〔図書〕計(2)件 (最終年度分)

著者名		出版社		
大津厳生, 鈴木菜里奈, 高木博史		日本農芸化学会		
書名		発行年	総ページ数	
化学と生物		2 0 1 2	370-377	

著者名		出版社		
大津厳生, 鈴木菜里奈, 仲谷豪, 高木博史		シーエムシー出版		
書名		発行年	総ページ数	
バイオインダストリー		2 0 1 2	53-60	

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕計(1)件 (最終年度分)

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
L-システイン生産能が高められた腸内細菌科に属する細菌	大津厳生	同左	特許、特願2013-056247	2013年03月19日	国内

〔取得〕計(0)件 (最終年度分)

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
				出願年月日	

13.備考

ストレス微生物科学研究室(高木研究室)
<http://bsw3.naist.jp/takagi/>