

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月1日現在

機関番号：14603  
 研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2010～2012  
 課題番号：22380061  
 研究課題名（和文） 酵母のプロリン代謝中間体アセチル化酵素 Mpr1 による抗酸化機構の解明とその応用  
 研究課題名（英文） Anti-oxidative mechanism mediated by the yeast Mpr1 that acetylates proline catabolism intermediate and its application  
 研究代表者  
 高木 博史（TAKAGI HIROSHI）  
 奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授  
 研究者番号：50275088

研究成果の概要（和文）：酵母のアセチル化酵素 Mpr1 はプロリン代謝中間体をアセチル化することで、活性酸素種の生成を制御するとともに、酸化ストレスで誘導され、プロリンからのアルギニン合成を介して、NO 生成に関与することが判明した。また、酵母で初めて見出した Tah18 タンパク質依存的な NO 合成機構と NO による抗酸化機構に関する知見を得た。さらに、X 線結晶構造解析と変異型酵素の解析から、Mpr1 は既知アセチル化酵素とは異なる触媒反応機構を有し、活性に重要な残基が酵母の酸化ストレス耐性に寄与していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We found that the yeast *N*-acetyltransferase Mpr1 is a novel anti-oxidative enzyme that acetylates the proline catabolism intermediate, which induces the generation of superoxide anions by inhibiting the mitochondrial respiration, and that accelerates arginine synthesis, leading to the arginine-dependent NO production, which confers oxidative stress tolerance on yeast. Tah18 was first identified as the yeast protein involved in NO synthesis. We also analyzed the X-ray crystal structure and the Mpr1 mutants, indicating that Mpr1 has a unique catalytic reaction mechanism and that the catalytic residues are crucial for oxidative stress tolerance of yeast.

### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2011年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

研究分野：応用生物化学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用生物化学

キーワード：酵母, アセチル化酵素, 酸化ストレス, 活性酸素種, プロリン代謝

#### 1. 研究開始当初の背景

研究代表者が酵母 *Saccharomyces cerevisiae* Σ1278b 株に見出した遺伝子 *MPR1* (*sigma* 1278b gene for proline-analogue resistance) は、プロリン (Pro) アナログのアゼチジン-2-カルボン酸 (AZC) をアセチル化により解毒する酵素 Mpr1 をコードしている。Mpr1 は *N*-アセチルトランスフェラーゼのスーパーファミリーに属し、アセチル CoA 結合モチーフ

やコンセンサス配列も保存され、機能発現に重要な残基も同定されている。*MPR1* は *S. cerevisiae* のゲノム解析株 (S288C 株) には存在しないが、*S. cerevisiae* 同胞種や分裂酵母にも同様の機能を示すホモログが存在する。また、多くの酵母や糸状菌には相同性の高い DNA 配列が存在しており、Mpr1 は真核微生物に広く分布すると考えられる。興味深いことに、Mpr1 は高温や過酸化水素処理により

細胞内に生じる ROS のレベルを制御し、酸化ストレスから細胞を保護している。また、ROS レベルが上昇する冷凍やエタノール処理においても同様の結果が得られ、産業酵母へのストレス耐性付与が期待できる。さらに、MPR1 へのランダム変異導入により、野生型酵素に比べ触媒活性や安定性が向上した変異型 Mpr1 (K63R, F65L) を取得し、同酵素を発現させた清酒酵母やパン酵母では、酸化ストレス耐性の著しい向上が認められた。

一方、遺伝学的手法や組換え酵素の解析から、Mpr1 は Pro 代謝の中間体  $\Delta^1$ -ピロリン-5-カルボン酸 (P5C) / グルタミン酸- $\gamma$ -セミアルデヒド (GSA) をミトコンドリアでアセチル化することで、Pro とアルギニン (Arg) の代謝を連結していることが判明した。また、P5C/GSA はミトコンドリアでの ROS 生成に関与し、細胞死を引き起こすが、Mpr1 は P5C/GSA をアセチル化し、ROS レベルを制御していると考えられる。さらに、Mpr1 が酸化ストレスで誘導され、P5C/GSA をアセチル化し、Arg 合成を亢進すること、および増加した Arg から酵素的に生成した一酸化窒素 (NO) がストレス耐性に関与することを見出した。哺乳類では、NO は NO 合成酵素 (NOS) によって Arg から生成し、ストレス耐性に関与すると考えられている。酵母においても、低レベルの NO がストレスから細胞を保護することが示されているが、酵母のゲノムには NOS のオルソログが存在しておらず、NO の生成機構とその役割は不明である。

以上の結果から、Mpr1 は 1) ストレス下で Pro から生成する P5C/GSA をミトコンドリアでアセチル化することで、ROS の発生を抑える、2) P5C/GSA を N-アセチル GSA に変換し、Arg 合成を亢進することで、酸化ストレス耐性に関与する NO の生成を誘導すると考えられ、図 1 のような Mpr1 による抗酸化機構モデルを提唱した。また、高等生物では Mpr1 の一次構造上のホモログは見出されていないが、ROS レベルや細胞死の制御機構の理解、酸化ストレス耐性の獲得などは重要な

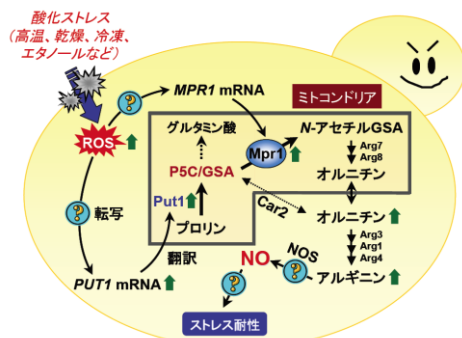


図 1 Mpr1による抗酸化機構モデル

酸化ストレスによりROSレベルが増加すると、Put1によりProがP5C/GSAに酸化されるが、Mpr1がP5C/GSAをN-アセチル化し、ROSの生成を抑える。また、N-アセチルGSAがArg合成経路に流入し、Arg含量が増加すると、酵素的なNO生成が誘導され、酸化ストレス耐性を獲得すると考えられる。酸化ストレスによる各変動を緑色の矢印で示す。□

研究課題である。そこで、高等生物の細胞内で Mpr1 を発現させることにより、酸化ストレスでミトコンドリアに蓄積する P5C/GSA のアセチル化、および Arg の増加に伴い誘導される NO の生成を介して ROS レベルや細胞死が制御される可能性を想定し、本研究の着想に至った。

## 2. 研究の目的

Mpr1 は細胞内の ROS レベルを制御し、細胞を酸化ストレスから防御している。最近、Mpr1 は P5C/GSA をアセチル化し、ROS 生成を防ぐとともに、Arg 合成を亢進し、NO 生成を促進することが判明した。本研究では、Mpr1 について生理機能・分子機構の解明とその応用を目的に、以下の項目に取り組んだ。

### 1) Mpr1 を介した抗酸化機構の解明

P5C/GSA による ROS 発生と Mpr1 による P5C/GSA のアセチル化を介した ROS 制御の分子機構、Mpr1 を介したアルギニン依存的な NO 生成と NO による酸化ストレス耐性の分子機構、などを明らかにする。

### 2) Mpr1 の立体構造と触媒反応機構の解明

Mpr1 と一次構造上の相同性が高い機能既知タンパク質、および AZC のような環状二級アミンを N-アセチル化する酵素は報告されていないため、Mpr1 の立体構造、触媒反応機構、基質認識機構などを明らかにする。

## 3. 研究の方法と 4. 研究成果

### 1) Mpr1 を介した抗酸化機構の解明

P5C は様々な生物種において細胞死を誘導するが、その機構は不明である。そこで、P5C を介した細胞死誘導機構を明らかにするため、酵母の P5C 代謝・ミトコンドリア呼吸鎖・ROS の発生に着目し、解析を行った。遺伝子破壊株の解析から、P5C による細胞死は P5C の代謝に依存しないことが分かった。また、ミトコンドリア呼吸鎖の欠損により、細胞の P5C 感受性は低下した。さらに、P5C がミトコンドリア呼吸鎖の機能を阻害し、ROS の一種であるスーパーオキシドアニオンの発生を誘導することが示された。以上の結果から、P5C はミトコンドリア呼吸鎖を阻害し、ROS 発生を介して細胞死を誘導するが、Mpr1 が P5C/GSA をアセチル化することで ROS の生成を制御しているものと考えられた。

次に、Arg 合成の亢進が細胞の酸化ストレス耐性に関与していると予想し、その分子機構を解析した。まず、ストレス下で Arg 含量が増加しない PUT1 や MPR1 の破壊株は、野生株よりも高温処理後の ROS レベルが増加し、生存率も低下したが、Arg を培地に添加すると生存率が野生株並みに戻ることを見出した。Arg の作用機序としては、哺乳類や微生物と同様に NO の関与が考えられるが、酵母のゲノムには哺乳類や細菌に存在する

NOSのオルソログが存在しておらず、酵母におけるNOの生成機構や生理機能は不明である。そこで、高温処理後の酵母をNO特異的蛍光プローブ(DAF-FM DA)で観察したところ、興味深いことに野生株ではNOが明瞭に検出されたが、*MPR1*や*PUT1*の破壊株では観察されなかった。一方、Argの添加では両破壊株とも細胞内にNOが生成していた。また、NOSの阻害剤(NAME)で野生株を前処理すると、Arg添加や高温処理後もNOは検出されなかった。また、両破壊株をNAMEで前処理すると、Argを添加しても高温処理後の生存率は回復しなかったが、非酵素的NOドナー(SNAP)を添加することで生存率は有意に上昇した。これらの結果から、ArgからNOS活性依存的に発生するNOがストレス耐性に寄与していると考えられた。

さらに、酵母のNOS様タンパク質の同定を試みた。酵母のゲノムにはオキシドレダクターゼと予想される遺伝子が275個存在するが、その中の27個は機能未知の遺伝子である。これら27個の遺伝子を大腸菌で発現させ、細胞抽出液のNOS活性を測定したところ、NOS様タンパク質をコードする遺伝子として*TAH18*が得られた。*Tah18*は細胞質における鉄硫黄クラスターの生成に関与しており、生育に必須なフラボタンパク質であるが、哺乳類NOSに見られるヘムを中心としたオキシゲナーゼドメインが存在していない。*Tah18*を組換え酵素として調製し、解析したところ、哺乳類NOSと類似の特性を有していたが、ヘムではなく鉄イオンがオキシゲナーゼ反応に重要であることが判明した。次に、*Tah18*が細胞内でNOSとして機能するかどうかを解析した。*TAH18*は生育に必須であるため、ガラクトースで発現を誘導する*GALI*プロモーターの下流に*TAH18*を組み込んだプラスミドを構築し、そのプラスミドを保持した状態でゲノム上の*TAH18*を破壊した菌株を作製した。本菌株をグルコース培地で培養すると、細胞内NOS活性は著しく低下していた。また、*Tah18*過剰発現株のNOS活性を測定したところ、野生株より高い活性が検出された。これらの結果から、酵母のNOS活性は*Tah18*に依存していると結論づけた。

さらに、細胞内の*Tah18*依存的なNOS活性と高温下におけるNO合成の関連性を検討した。酸化ストレス下での*TAH18*の転写レベルを調べたところ、高温および過酸化水素によって*TAH18*は誘導されることが分かった。次に、*TAH18*の破壊株を用いて、高温処理におけるNO合成能と生存率の関連性を調べた。その結果、破壊株をグルコース培地で培養すると、高温処理下でもNO含量が増加せず、NO合成能が欠損していた。また、生存率も野生株に比べて著しく低下したが、NOドナー処理により生存率は回復した(図2)。

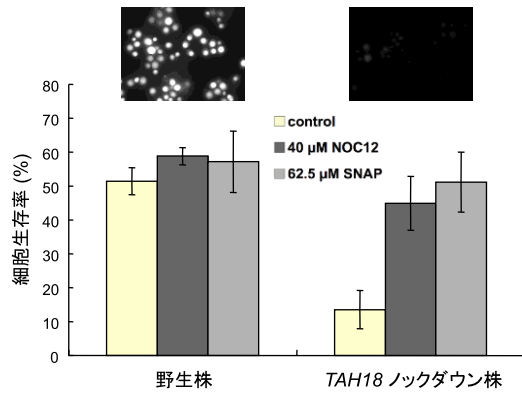


図2 NOの生理的役割  
高温処理後(39°C)の*Tah18*依存的なNO生成と酸化ストレス耐性  
(上図)高温処理後(4時間)の酵母細胞内のNOを蛍光プローブで検出した。  
(下図)高温処理(14時間)の酵母の細胞生存率をコロニー形成能で測定した。

最後に、NOのシグナル伝達経路を解析する目的で、非酵素的なNO発生剤(SNAP)の処理後にDNAマイクロアレイ解析を行った。その結果、酵母の銅イオン代謝(還元、取込み、細胞内輸送など)に関与する転写因子*Mac1*の制御下にある遺伝子群(*CTR1*, *FRE1*, *FRE7*など)の転写量が増加していることが判明した。*Mac1*にはシステイン残基を多く含むモチーフが存在し、銅イオンが結合することで不活性状態になる。また、細胞内の銅イオンが枯渇すると、何らかのシグナルにより*Mac1*は活性化し、銅イオンの取り込みを促進する。著者らは*Mac1*がNOの標的タンパク質であると予想しており、実際にSNAP処理を行った酵母では、未処理の酵母に比べ、細胞内の銅含量や銅依存型スーパーオキシドジスムターゼ*Sod1*の活性が有意に上昇した。以上の結果から、酵母は酸化ストレス下で生成したNOによって活性化された*Mac1*が細胞内の銅含量を増加させることで*Sod1*を活性化し、酸化ストレス耐性を獲得していると考えられた(図3)。

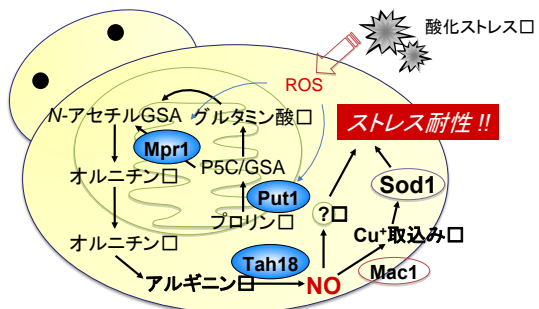


図3 *Mpr1*を介した抗酸化機構モデル

以上のように、本研究では酵母において酸化ストレス下でProからのArg合成が亢進され、増加したArgから*Tah18*のNOS活性依存的に生成するNOが細胞にストレス耐性を付与するという機構を初めて明らかにした。

## 2) Mpr1 の立体構造と触媒反応機構の解明

Mpr1 はそのアミノ酸配列から Gcn5-related *N*-acetyltransferase (GNAT) スーパーファミリーに属すると考えられるが、立体構造は明らかになっていない。これまでに当研究室では Mpr1 の基質 (アセチル基受容体) として、環状 2 級アミンの AZC、*cis*-4-hydroxy-L-proline (CHOP) を同定している。また、P5C/GSA のアセチル化に関しても、真の基質は両者の平衡反応中間体の 5-hydroxy-L-proline である可能性が考えられ、これも環状 2 級アミンである。しかし、これまでに報告されている GNAT タンパク質の基質は、ほとんどが 1 級アミンであり、環状アミンのアセチル化は報告されていない。このことから、Mpr1 は酵母の細胞内 ROS レベルの制御において重要な役割を担うだけでなく、ユニークな立体構造と触媒反応機構を有していると考え、これらを明らかにすることを目的に研究を行った。

まず、大腸菌から組換え酵素として精製した Mpr1 を用いて結晶を調製し、X 線結晶構造解析を試みた。その結果、セレンメチオン多波長異常分散 (Se-SAD) 法により 2.1Å の分解能で Mpr1 の立体構造を決定した (図 4)。Mpr1 の立体構造はこれまでに報告されている GNAT タンパク質と類似したフォールディングを有しており、アミノ酸配列だけでなく立体構造からも Mpr1 が GNAT スーパーファミリーに属することを明らかにした。続いて、Mpr1 の反応機構を速度論的に解析するため、モデル基質として用いた AZC の各濃度における反応初速度を測定した。Lineweaver-Burk プロットから、Mpr1 による触媒反応は逐次機構により進行し、Mpr1-アセチル CoA-AZC の三者複合体を経て進行することが明らかになった。

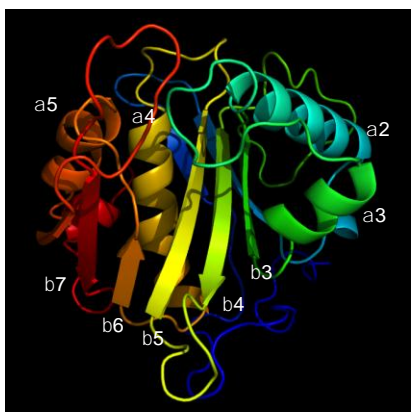


図 4 Mpr1 の結晶構造

N 末端 (青) から C 末端 (赤) にかけてカラースケールで示した Mpr1 単量体の cartoon モデル。白字はそれぞれの二次構造を示している。□

次に、Mpr1 の立体構造を用いて立体構造のホモロジー検索を行い、構造が上位にヒットしたタンパク質の中から、アセチル CoA との複合体の構造を用いて、Mpr1 における

AcCoA 結合部位を推定した。その結果、アセチル CoA のカルボニル酸素が Phe138 の主鎖アミドの NH 基と、硫黄原子が Asn178 および Trp185 の側鎖とそれぞれ結合していることが示唆された。また結晶構造から、AZC に相当すると考えられる電子密度が Asn135 に結合していることも示唆された。これらのアミノ酸残基の置換体について速度論的解析を行ったところ、N135A-Mpr1 は野生型酵素に比べて AZC に対する  $K_m$  値が約 20 倍に上昇し、N135D-Mpr1 は活性が検出されなかった。このことから、Asn135 が AZC のカルボキシル基と結合することが強く示唆された。一方、N178A-Mpr1、W185F-Mpr1 は野生型酵素に比べてそれぞれ約 1/40、1/8 の  $k_{cat}$  値を示し、N178D-Mpr1 は活性が消失していた。このことから、Asn178 の側鎖アミドおよび Trp185 の側鎖インドール環が触媒活性に重要であることが示された。Mpr1 の立体構造および変異型酵素の解析から、次のような触媒反応機構を考えている。基質の AZC が Mpr1 の Asn135 に結合した後、Phe138 の主鎖アミドが AZC のアセチル CoA に対する求核攻撃によって生じる正四面中間体を安定化することで、触媒として機能する。また、Asn178 および Trp185 はアセチル CoA の硫黄原子を分極により静電的に正の状態に保つことで、反応を促進する (図 5)。多くの GNAT タンパク質では触媒残基として Tyr が保存されており、正四面体中間体の分解後に生じる CoA チオレートアニオンをプロトン化によって CoA に変換し、触媒として機能することが報告されている。しかし、Mpr1 のように分極という方法で反応を触媒する *N*-acetyltransferase はこれまで報告されていないため、Mpr1 が新規の触媒反応機構を有していること、また Mpr1 は GNAT スーパーファミリーの中の新しいグループを形成しているということが強く示唆された。

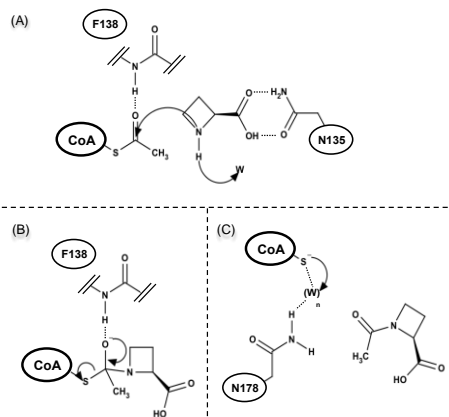


図 5 Mpr1 の反応機構モデル

(A) AZC が Asn135 に認識される。(B) 正四面体中間体は Phe138 の主鎖アミドにより安定化される。(C) チオレートアニオンは Asn178 により安定化され、その後水によりプロトン化される。W および (W)<sub>n</sub> は、1 個もしくは複数の水分子を示し、点線は相互作用、矢印は電子移動を表す。□

一方、Mpr1 の遺伝子破壊株では、高温などの酸化ストレスによって細胞内 P5C 含量が増加する。上記で示したように活性が消失した N135D-Mpr1 や N178D-Mpr1 を発現させた酵母は、野生型 Mpr1 発現株に比べてストレス処理後の P5C 含量が有意に増加し、Mpr1 の遺伝子破壊株と同レベルの値を示した。以上の結果から、P5C/GSA の代謝により細胞に抗酸化能を付与する Mpr1 の生理機能において Asn135 および Asn178 が重要な残基であること、また Mpr1 タンパク質自体ではなく、その酵素活性が酸化ストレス耐性に重要であることを明らかにした。

以上のように、酵母の酸化ストレス耐性に関与する Mpr1 の立体構造を明らかにし、Mpr1 が既知の GNAT タンパク質とは異なる機構で反応を触媒することを示した。また、活性残基が細胞内基質 (P5C/GSA) の代謝においても重要であることから、Mpr1 のアセチルトランスフェラーゼ活性が酸化ストレス耐性に必要であることが明らかになった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① 高木博史, 一酸化窒素を介した酵母の新しい抗酸化メカニズムとその応用. バイオサイエンスとインダストリー, 印刷中, 査読無
- ② Thi Mai Hoa Bach, Ryotaro Hara, Kuniki Kino, Iwao Ohtsu, Nobuyuki Yoshida, Hiroshi Takagi, Applied Microbiology and Biotechnology, 97, 247-257, 2013, 査読有
- ③ Akira Nishimura, Nobuhiro Kawahara, Hiroshi Takagi, The flavoprotein Tah18-dependent NO synthesis confers high-temperature stress tolerance on yeast cells, Biochemical and Biophysical Research Communications, 430, 137-143, 2013, 査読有
- ④ Akira Nishimura, Ryo Nasuno, Hiroshi Takagi, The proline metabolism intermediate  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate directly inhibits the mitochondrial respiration in budding yeast, FEBS Letters, 586, 2411-2416, 2012, 査読有
- ⑤ Bach Thi Mai Hoa, Takao Hibi, Ryo Nasuno, Goh Matsuo, Yu Sasano, Hiroshi Takagi, Production of *N*-acetyl *cis*-4-hydroxy-L-proline by the yeast *N*-acetyltransferase Mpr1, Journal of Bioscience and Bioengineering, 114, 160-165, 2012, 査読有
- ⑥ 高木博史, セルフクロニグ法による実用パン酵母の育種: プロリン・アルギニン代謝に着目したストレス耐性の向上.

生物学, 89, 8-12, 2011, 査読無

- ⑦ Akira Nishimura, Tetsuya Kotani, Yu Sasano, Hiroshi Takagi, An antioxidative mechanism mediated by the yeast *N*-acetyltransferase Mpr1: Oxidative stress-induced arginine synthesis and its physiological role, FEMS Yeast Research, 10, 687-698, 2010, 査読有

[学会発表] (計 20 件)

- ① 那須野 亮, 平野良憲, 伊藤貴文, 箱嶋敏雄, 日弁隆雄, 高木博史, 酵母の酸化ストレス耐性に関与する *N*-アセチルトランスフェラーゼ Mpr1 の構造機能解析, 日本農芸化学会 2013 年度大会, 2013.3.25, 仙台
- ② 那須野 亮, 平野良憲, 伊藤貴文, 箱嶋敏雄, 日弁隆雄, 高木博史, 酵母の酸化ストレス耐性に関与する *N*-アセチルトランスフェラーゼ Mpr1 の構造機能解析, 第 85 回日本生化学会大会, 2012.12.15, 福岡
- ③ 高木博史, プロリン・NO 代謝を強化した「実用パン酵母」開発への挑戦, 第 20 回酵母合同シンポジウム, 2012.9.7, 宇治
- ④ 西村 明, 那須野 亮, 高木博史, 出芽酵母におけるプロリン代謝中間体  $\Delta^1$ -ピロリン-5-カルボン酸を介した細胞死発現機構の解析, 酵母遺伝学フォーラム第 45 回研究報告会, 2012.9.4, 宇治
- ⑤ Hiroshi Takagi, Akira Nishimura, Yu Sasano, The physiological role of nitric oxide in *Saccharomyces cerevisiae* and its applications to baker's yeast, 13<sup>th</sup> International Congress on Yeasts, 2012.8.28, 米国マディソン
- ⑥ Thi Mai Hoa Bach, Takao Hibi, Kuniki Kino, Hiroshi Takagi, Microbial production *N*-acetyl *cis*-4-hydroxy-L-proline, 第 63 回日本生物工学会大会, 2011.9.27, 小金井
- ⑦ 高木博史, 酵母に見出した酸化ストレスで誘導される一酸化窒素生成に関与する新規酵素, 第 84 回日本生化学会大会シンポジウム「特殊環境下における微生物の潜在能力: 酵素研究の新展開」, 2011.9.24, 京都
- ⑧ 那須野 亮, 高木博史, 酵母の酸化ストレス耐性に関与する *N*-アセチルトランスフェラーゼ Mpr1 の構造機能解析, 第 84 回日本生化学会大会, 2011.9.22, 京都
- ⑨ Hiroshi Takagi, A novel antioxidative mechanism mediated by proline/arginine in yeast *Saccharomyces cerevisiae*, The International Union of Microbiological Societies 2011 Congress: symposium "Yeast, a front runner of applied microbiology and biotechnology", 3011.9.7, 札幌
- ⑩ 西村 明, 高木博史, 出芽酵母における一

- 酸化窒素合成とその生理的意義, 酵母遺伝学フォーラム第 44 回研究報告会, 2011.9.5, 福岡
- ⑬ 那須野 亮, 高木博史, 酵母の酸化ストレス耐性に関する *N*-アセチルトランスフェラーゼ Mpr1 の構造機能解析, 第 11 回日本蛋白質科学会年会, 2011.6.9, 吹田
- ⑭ 西村 明, 笹野 佑, 高木博史, 酵母における酸化ストレスで誘導される一酸化窒素生成とその生理的意義, 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, 2010.12.8, 神戸
- ⑮ 那須野 亮, 高木博史, 酵母の酸化ストレス耐性に関する *N*-アセチルトランスフェラーゼ Mpr1 の反応メカニズム解析, 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, 2010.12.7, 神戸
- ⑯ Hiroshi Takagi, A novel antioxidative mechanism mediated by proline/arginine in yeast cells, The 3<sup>rd</sup> International Symposium on Proline Metabolism, 2010.11.8, 米国リンカーン
- ⑰ Akira Nishimura, Hiroshi Takagi, Proline- and arginine-mediated nitric oxide synthesis and its physiological role in yeast *Saccharomyces cerevisiae*, The 3<sup>rd</sup> International Symposium on Proline Metabolism, 2010.11.8, 米国リンカーン
- ⑱ Ryo Nasuno, Hiroshi Takagi, Structural and functional analysis of the yeast *N*-acetyltransferase Mpr1 involved in oxidative-stress tolerance, The 3<sup>rd</sup> International Symposium on Proline Metabolism, 2010.11.8, 米国リンカーン
- ⑲ 西村 明, 笹野 佑, 大津巖生, 高木博史, 出芽酵母におけるプロリン・アルギニン代謝を介した NO 合成とその生理的意義, 酵母遺伝学フォーラム第 43 回研究報告会, 2010.9.9, 奈良
- ⑳ Hiroshi Takagi, Akira Nishimura, Novel antioxidative mechanism of the yeast *N*-acetyltransferase Mpr1: The oxidative stress-induced arginine/NO synthesis and its physiological role, The 11<sup>th</sup> Asian and Oceanian Conference on Transcription, 2010.7.3, 沖縄
- ㉑ Hiroshi Takagi, Akira Nishimura, Oxidative stress-induced NO synthesis and its physiological role in yeast *Saccharomyces cerevisiae*, The 6<sup>th</sup> International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, 2010.6.17, 京都
- ㉒ 西村 明, 笹野 佑, 高木博史, 酸化ストレスで誘導される出芽酵母のアルギニン合成機構とその生理的意義, 第 57 回日本生

化学会近畿支部例会, 2010.5.22, 生駒

〔図書〕 (計 1 件)

- ① 高木博史: 酵母の発酵環境ストレス耐性機構の解析と実用酵母の育種への応用, 「発酵・醸造食品の最新技術と機能性 II」 (監修 北本勝ひこ), pp.50-59, 2011

〔産業財産権〕

○取得状況 (計 1 件)

名称: 変異型アセチルトランスフェラーゼ Mpr1  
 発明者: 高木博史  
 権利者: 国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学  
 種類: 特許  
 番号: 国内特許第 5087775 号 (米国特許第 8101390 号)  
 取得年月日: 平成 24 年 9 月 21 日  
 国内外の別: 国内 (米国)

〔その他〕

ホームページアドレス

<http://bsw3.naist.jp/takagi/takagi-j.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高木 博史 (TAKAGI HIROSHI)  
 奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授  
 研究者番号: 50275088

### (2) 研究分担者

吉田 信行 (YOSHIDA NOBUYUKI)  
 奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教  
 研究者番号: 10273848

大津 巖生 (OHTSU IWAO)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教  
 研究者番号: 60395655

### (3) 連携研究者

篠崎 一雄 (SHINOZAKI KAZUO)  
 独立行政法人理化学研究所・植物科学研究センター・センター長  
 研究者番号: 20124216

日 井 隆雄 (HIBI TAKAO)

福井県立大学・生物資源学部・教授  
 研究者番号: 00285181