

平成25年度科学研究費助成事業（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 特別研究員奨励費 4. 研究期間 平成25年度～平成25年度

5. 課題番号

2	5	・	9	7	0	8
---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 チオ硫酸を優先的に硫黄源とするシステイン合成機構「チオ硫酸リプレッション」の解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	なかに 仲谷 たけし 豪	バイオサイエンス研究科	特別研究員(DC2)

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。

これまで硫黄源に関する優先的な利用機構については、分子レベルでの理解がほとんど進んでいない。大腸菌には、硫酸イオンとチオ硫酸イオンをそれぞれ硫黄源とする2種類のシステイン(Cys)合成経路が存在する。チオ硫酸経路の主要遺伝子 *cysM* を欠損させた *cysM* 欠損株は、硫酸イオンを単一硫黄源とする培地条件では硫酸経路を介して Cys を合成できる。しかし、*cysM* 欠損株はチオ硫酸イオンの更なる添加により Cys 合成が著しく抑制されることを見出した。また、チオ硫酸経路は硫酸経路と比較して、ATP と NADPH の消費、反応ステップが少ないなどの利点がある。以上のことから、チオ硫酸イオンと硫酸イオンの両方が細胞外に存在する場合、チオ硫酸イオンによって硫酸イオンの利用が抑制され、チオ硫酸イオン優先的な Cys 合成が起こることが示唆された。申請者は、この現象を無機硫黄源の優先的な利用機構であると考え、「チオ硫酸リプレッション (TSR)」と名付けた。本研究では、この TSR の分子機構の解明を目的とした。

平成25年度は、TSR が起こらないサプレッサー変異株の解析から、チオ硫酸イオンの取り込みに ABC トランスポーターである *CysPTWA* タンパク質が重要であることを明らかにした。また、マイクロアレイ解析などの実験により、細胞質内に取り込まれたチオ硫酸イオンによって、システイン生合成に必要な遺伝子群の転写を制御している転写因子 *CysB* 依存的に硫酸経路遺伝子群の転写が抑制されることを見出した。さらに、硫黄源を硫酸イオンからチオ硫酸イオンに変えることで、大腸菌の生育が促進されることも判明した。これは、大腸菌のシステイン生合成において、チオ硫酸経路が硫酸経路と比較して ATP や NADPH の消費が少ないことに起因すると考えられ、TSR の生理的意義についても重要な知見を蓄積しつつある。

10. キーワード

- (1) システイン (2) チオ硫酸イオン (3) 優先的利用 (4) 大腸菌
 (5) (6) (7)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷し、左端を糊付けすること。

(8)

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。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。
<区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

(区分) ②おおむね順調に進展している。
(理由) マイクロアレイ解析などから、転写因子 CysB 依存的な硫酸経路遺伝子群の転写制御が TSR の制御に重要であることを見出した。さらに、チオ硫酸イオン存在下での細胞内還元力の向上、生育促進効果が確認され、生理的意義に関する重要な知見を得ることができたため。

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。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。

TSR のメカニズムとして、転写因子 CysB 依存的な下流遺伝子の転写制御が重要なことを見出した。しかし、細胞内に取り込まれたチオ硫酸イオンがどのように CysB の活性に影響を与えているのかは不明である。既知の CysB の立体構造からチオ硫酸イオンの結合サイトを予測しており、チオ硫酸イオンが CysB のホモ 4 量体形成を阻害する可能性が考えられた。CysB はホモ 4 量体を形成することで活性化し下流遺伝子の転写を誘導するため、チオ硫酸イオンによる CysB の多量体形成の阻害が転写活性の制御に重要であることを証明する。具体的には、ネイティブ PAGE やゲル濾過クロマトグラフィーを活用することで、大腸菌から発現・精製した CysB タンパク質の多量体形成がチオ硫酸イオンにより影響を受けるかを検証する。

13. 研究発表（平成 25 年度の研究成果）

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

〔雑誌論文〕 計 (0) 件 うち査読付論文 計 () 件

著者名		論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					

著者名		論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					

著者名		論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷し、左端を糊付けすること。

【学会発表】計(2)件 うち招待講演 計()件

発表者名	発表標題		
仲谷 豪	大腸菌におけるチオ硫酸イオン優先的なシステイン合成制御機構		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第7回日本ゲノム微生物学若手の会	2013年9月20日	静岡	

発表者名	発表標題		
仲谷 豪	大腸菌におけるチオ硫酸イオン優先的なシステイン合成制御機構		
学会等名	発表年月日	発表場所	
2013年度国立遺伝学研究所研究会	2013年11月29日	静岡	

【図書】計(0)件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

14. 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
				出願年月日	

15. 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。

--

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷し、左端を糊付けすること。