

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成27年度）

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 基盤研究(C)（一般） 4. 補助事業期間 平成26年度～平成28年度

5. 課題番号

2	6	4	5	0	0	9	1
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 亜硫酸シグナルによる環境中の硫黄センシングと同化制御機構の解明

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

平成26年度に構築したメタボロミクスによるアプローチに続き、平成27年度では、硫黄分子センシング機構（2）硫黄代謝関連酵素群のタンパク質発現プロファイリングシステムの構築を行った。具体的には、自発的に発光するルシフェラーゼを発現するプラスミドpLuxを用いて、大腸菌の硫黄同化や中央代謝経路に関連する遺伝子群の発現変化を測定できるシステムの構築を目指し、大腸菌における生細胞内の代謝変化に伴う各硫黄代謝関連遺伝子の発現プロファイルを経時的にかつリアルタイムに解析するレポーター遺伝子アクセスシステムを構築した。平成27年度では、構築したシステムの検証とその応用も行った。本システムを用いた検証では、cysPTWAMオペロン由来のプロモーターではなく、cysM独自のプロモーターPcysM2を同定することができた（5'-TTGCTC-17bp-TAGGTT-3'）。このことから、本システムはプロモーター活性を問題なく測定できることが証明された。したがって、本システムのレポーター株コレクションを用いれば、硫黄代謝に限定して網羅的に遺伝子の発現プロファイルを経時的にかつリアルタイムに解析することが可能である。

10. キーワード

(1) 大腸菌	(2) 硫黄同化（代謝）	(3) システイン（代謝）	(4) アミノ酸発酵
(5) レポーターアッセイ	(6) 遺伝子発現	(7)	(8)

11. 現在までの進捗状況

（区分）（1）当初の計画以上に進展している。

（理由）

平成27年度の達成目標である硫黄分子センシング機構（2）硫黄代謝関連酵素群のタンパク質発現プロファイリングシステムの構築を行い完了した。また、RSSのシグナル伝達についても解析を開始し、cysM遺伝子の新たなプロモーター領域を同定した。

12. 今後の研究の推進方策 等

（今後の推進方策）

RSSのシグナル伝達解析のために平成26 - 27年度と、1）LC-MSMSを用いた硫黄のメタボローム解析システムの構築、2）ルシフェラーゼを用いた硫黄同化関連遺伝子群の遺伝子発現プロファイリング解析システムの2つのシステムを構築した。平成28年度は、これらを活用して、RSSシグナル伝達の解明に取り組む。

（次年度使用額が生じた理由と使用計画）

（理由）

平成27年度3月から4月にかけて、研究拠点の移動が生じた。そのため次年度に消耗品費が計上される。

（使用計画）

5月からその時間的ロスを効率的な研究を進めることで補填し、掲げた研究成果をきちんと出す。ここで言う効率的な研究とは、ディスプレイやキット類を活用して進め、効率を上げる。そのための費用に活用いたします。

（課題番号： 26450091 ）

（注）・印刷に当たっては、A4判（縦長）・両面印刷すること。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件/うち査読付論文 計(1)件/うち国際共著 計(1)件/うちオープンアクセス 計(0)件

著者名		論文標題【掲載確定】				
Ikuhisa Nishida, Daisuke Watanabe, Ariunzaya Tsolmonbaatar, Tomohiro Kaino, Iwao Ohtsu, and Hiroshi Takagi		Vacuolar amino acid transporters upregulated by exogenous proline and involved in cellular localization of proline in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
The Journal of General and Applied Microbiology	有	印刷中	2016	印刷中	該当する	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
なし						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

(学会発表) 計(8)件/うち招待講演 計(2)件/うち国際学会 計(0)件

発表者名		発表標題	
河野祐介, 鈴木菜里奈, 仲谷 豪, 大津厳生, 高木博史		微生物の硫黄同化機構の解明と硫黄分子種による新たな様式のシグナリングおよび細胞内フローの可能性	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第15回日本NO学会学術集会(招待講演)	2015年06月26日	千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市)	

発表者名		発表標題	
大津厳生		意外と知らない硫黄同化を最大限に利用した有用物質生産	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本生物工学会関西支部 第107回醗酵学懇話会(招待講演)	2015年08月20日	サントリーワールドリサーチセンター(京都府相楽郡)	

発表者名	発表標題	
大津厳生	若手研究者が切り拓く合成代謝工学による有用物質生産のための新しい技術紹介と実用化への挑戦:メタボローム解析を用いた地球規模での硫黄代謝工学	
学会等名	発表年月日	発表場所
第67回日本生物工学会大会シンポジウム	2015年10月28日	城山観光ホテル(鹿児島県鹿児島市)

発表者名	発表標題	
河野祐介, 秦野智行, 大津厳生, 高木博史	若手研究者が切り拓く合成代謝工学による有用物質生産のための新しい技術紹介と実用化への挑戦:「硫黄代謝」から見える細胞代謝の世界 ~サルファーインデックス解析の活用による合理的な分子育種~	
学会等名	発表年月日	発表場所
第67回日本生物工学会大会シンポジウム	2015年10月28日	城山観光ホテル(鹿児島県鹿児島市)

発表者名	発表標題	
辰巳恭平, 大津厳生, 舟橋依里, 河野祐介, 高木博史	出芽酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> におけるチオ硫酸同化経路の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回イーストワークショップ	2015年11月15日 ~ 2015年11月16日	せとうち児島ホテル(岡山県倉敷市)

発表者名	発表標題	
秦野智行, 氏本貴仁, 河野祐介, 大津厳生, 高木博史	分裂酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i> の無機硫黄同化経路の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回イーストワークショップ	2015年11月15日 ~ 2015年11月16日	せとうち児島ホテル(岡山県倉敷市)

発表者名	発表標題	
氏本貴仁, 秦野智行, 大津巖生	大腸菌における硫化水素生成機構	
学会等名	発表年月日	発表場所
平成27年度国立遺伝学研究所研究会「細菌細胞の増殖と代謝研究会-細菌細胞の増殖と分化研究の新展開」	2015年11月07日	国立遺伝学研究所(静岡県三島市)

発表者名	発表標題	
西口みゆ, 河野祐介, 大津巖生	大腸菌における新規な有機性硫黄化合物の発酵生産	
学会等名	発表年月日	発表場所
平成27年度国立遺伝学研究所研究会「細菌細胞の増殖と代謝研究会-細菌細胞の増殖と分化研究の新展開」	2015年11月07日	国立遺伝学研究所(静岡県三島市)

〔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. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究: -

17. 備考

ストレス微生物科学研究室 http://bsw3.naist.jp/takagi/?page=874
