

様 式 C - 7 - 1

平成 3 0 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）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	1 4 6 0 3
研究 代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	高木 博史		

1．研究種目名

基盤研究(A)(一般)

2．課題番号

16H02601

3．研究課題名

真菌における一酸化窒素の合成制御機構と生理機能の解明

4．研究期間

平成 2 8 年度～平成 3 0 年度

5．領域番号・区分

-

6．研究実績の概要

1) 酵母におけるNOの合成機構とその制御機構：酵母におけるNO合成にNADPHが必要であるかは明らかでない。そこで、NADPH代謝関連酵素の遺伝子破壊株を作製し、NO特異的な蛍光プローブDiaminofluorescein-FM diacetate (DAF-FM DA) およびフローサイトメーターを用いてNO合成に与える影響を評価した。その結果、6-ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼGnd1をコードする遺伝子（GND1）の破壊株において、過酸化水素処理条件下でのNO合成量が顕著に低下した。また、プラスミドを用いた遺伝子の相補実験の結果からも、Gnd1依存的にNOが合成されることが明らかになった。従って、酵母のNO合成において、ペントースリン酸回路を介して合成されるNADPHが必要である可能性が示された。

2) 酵母におけるNOおよびNO標的タンパク質の生理機能：ビオチンスイッチ（BS）法および液体クロマトグラフ質量分析（LC-MS/MS）を用いて、S-ニトロソ（SNO）化されるタンパク質を同定した。酵母の細胞から抽出したタンパク質溶液をS-ニトロソグルタチオン（GSNO）で処理し、BS法に供した後、抗ビオチン抗体を用いたウェスタンブロットを行った。続いて、アビジン結合樹脂を用いたブルダウンにより濃縮したビオチン化タンパク質をLC-MS/MSに供し、SNO化タンパク質候補を多数同定した。これらの中には、解糖系やTCA回路の酵素が多く含まれ、SNO化修飾により炭素代謝が制御されることが示唆された。

3) 病原真菌におけるNOの合成制御機構と生理機能：Aspergillus fumigatusにおいて、ストレスがNO産生を誘導するかどうか検討した。その結果、高温または過酸化水素処理によって、DAF-FM DA由来の蛍光シグナルが検出され、菌糸内でNOが発生することが示された。

7．キーワード

酵母 一酸化窒素 酸化ストレス シグナル伝達 病原真菌

8．現在までの進捗状況

区分

理由

平成30年度が最終年度であるため、記入しない。

3 版

9. 今後の研究の推進方策

平成30年度が最終年度であるため、記入しない。

10. 研究発表（平成30年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著論文 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Daisuke Hagiwara, Hiroki Takahashi, Hiroshi Takagi, Akira Watanabe, Katsuhiko Kamei	4. 巻 59
2. 論文標題 Heterogeneity in pathogenicity-related properties and stress tolerance in <i>Aspergillus fumigatus</i> clinical isolates	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Medical Mycology Journal	6. 最初と最後の頁 E63-E70
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3314/mmj.18-00007	査読の有無 有
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	国際共著 -

1. 著者名 Rika Indri Astuti, Ryo Nasuno, Hiroshi Takagi	4. 巻 72
2. 論文標題 Nitric oxide signaling in yeast	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in Microbial Physiology	6. 最初と最後の頁 29-63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/bs.ampbs.2018.01.003	査読の有無 有
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	国際共著 該当する

1. 著者名 那須野 亮, 吉川雄樹, 高木博史	4. 巻 90
2. 論文標題 酵母における一酸化窒素シグナルを介したストレス応答機構	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 701-705
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Daisuke, Hagiwara, Caitlin H. Kowalski, Robert A. Cramer, Hiroki Takahashi, Hiroshi Takagi, Akira Watanabe, Katsuhiko Kamei
2. 発表標題 Diversity of <i>Aspergillus fumigatus</i> clinical strains in the potential pathogenicity-related properties
3. 学会等名 The 8th Advances Against Aspergillosis conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉川雄樹, 那須野 亮, 高木博史
2. 発表標題 酵母に見出したフラボタンパク質Tah18依存的な一酸化窒素合成の制御機構と細胞死誘導
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉川雄樹, 那須野亮, 高木博史
2. 発表標題 酵母に見出したフラボタンパク質Tah18依存的な一酸化窒素の合成制御機構の解析
3. 学会等名 第18回日本NO学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 示野誠也, 吉川雄樹, 那須野 亮, 高木博史
2. 発表標題 酵母におけるS-ニトロソ化タンパク質の同定
3. 学会等名 第18回日本NO学会学術集会
4. 発表年 2018年

3 版

1. 発表者名 示野誠也, 吉川雄樹, 那須野 亮, 高木博史
2. 発表標題 酵母におけるS-ニトロソ化タンパク質の探索・同定・機能解析
3. 学会等名 第65回日本生化学会近畿支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Takagi
2. 発表標題 Novel stress tolerant mechanisms of yeast and their application to biotechnology
3. 学会等名 The 6th International Conference on Biochemistry and Molecular Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuki Yoshikawa, Ryo Nasuno, Hiroshi Takagi
2. 発表標題 Regulatory mechanism of the flavoprotein Tah18-dependent nitric oxide synthesis and cell death in yeast
3. 学会等名 The 13th International Meeting on Yeast Apoptosis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉川 雄樹、那須野 亮、高木 博史
2. 発表標題 酵母に見出した新規な一酸化窒素合成の制御機構の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第51回研究報告会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 示野誠也, 吉川雄樹, 那須野 亮, 高木博史
2. 発表標題 Saccharomyces cerevisiaeにおけるS-ニトロソ化タンパク質の同定・機能解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第51回研究報告会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Supapid Eknikom, Ryo Nasuno, Hiroshi Takagi
2. 発表標題 Identification and functional analysis of nitrated proteins in the yeast Saccharomyces cerevisiae
3. 学会等名 The 34th International Specialized Symposium on Yeasts (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 萩原大祐, 二宮章洋, 浦山俊一, 高木博史
2. 発表標題 RNA-sequencingによる糸状菌の一酸化窒素応答の解析
3. 学会等名 第18回糸状菌分子生物学コンファレンス
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件／うち取得0件）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4. 備考

-