

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 26 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) 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

今年度は、硫黄分子センシング機構（1）サルファーインデックスの構築と育種戦略への活用を目的に取り組んだ。細胞内の含硫黄化合物は細胞内含量が低く、炭素や窒素代謝産物のようなメタボロミクスのな理解は遅れていた。しかし、最近、応募者は各硫黄分子のチオール基をBromobimane試薬で修飾し、LC-MS/MSで分離・選択的検出・定量可能な新たな方法を確立し、その成果を報告した（Journal of Bioscience and Bioengineering, 119, 310-313, 2015; PLoS one, doi: 10.1371/journal.pone.0120619, 2015）。この方法では、低分子の硫黄化合物を修飾試薬により検出しやすい高分子へと変換し、さらにLC-MS/MSのMRM解析による高選択性かつ高感度な検出系を組み合わせることで、硫黄分子種の網羅的な検出を世界に先駆けて可能にした。測定サンプルの作製も簡便であり、細胞を有機溶媒処理して低分子化合物を抽出するのみである。検出に関しては、システインやグルタチオンの他にも、チオ硫酸イオンや亜硫酸イオン、硫化物イオンなどの硫黄同化経路の主要な中間体が、網羅的に（現在、計9種）、数百ナノからマイクロモルレベルで、一度に定量可能であり、スループット性も高い（20分/ラン）。このシステムを用いることで、各種微生物のサルファーインデックスを構築し、システイン高生産への育種戦略に活用することに成功した（Journal of Bioscience and Bioengineering, 119, 176-179, 2015）。

10. キーワード

| | | | |
|-----------|----------|----------|--------|
| (1) システイン | (2) 硫黄代謝 | (3) チオ硫酸 | (4) 硫酸 |
| (5) 大腸菌 | (6) | (7) | (8) |

11. 現在までの達成度

(区分) (1) 当初の計画以上に進展している。

(理由)

平成26年度の達成目標である硫黄分子センシング機構(1)サルファーインデックスの構築と育種戦略への活用に成功し、大腸菌のみならず酵母においてもそのシステムを構築し、新規な硫黄代謝の同定および、シグナル分子である硫化水素生成機構を見出した。また、その成果を4報の国際学術論文に投稿し既に受理されているため、計画以上の成果が出ていると判断した。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

平成27年度は新たに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目指しており、最終年度に2つのシステムを効率良く活用するためにも精度の高いシステムの構築を目指すとともに、その成果を論文へと繋げ、情報発信をしていきたいと考えている。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

(使用計画)

13. 研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(4)件 うち査読付論文 計(4)件

| 著者名 | | 論文標題【掲載確定】 | | | |
|--|-------|---|---------------|---------|--|
| Eri Funahashi, Kyohei Saiki, Kurara Honda, Yuki Sugiura, Yusuke Kawano, Iwao Ohtsu, Daisuke Watanabe, Yukari Wakabayashi, Tetsuya Abe, Tsuyoshi Nakanishi, Makoto Suematsu, and Hiroshi Takagi | | A finding of thiosulfate pathway for synthesis of organic sulfur compounds in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and an improvement of ethanol production. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| J. Biosci. Bioeng. | 有 | 印刷中 | 2 0 1 5 | 印刷中 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| なし | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題【掲載確定】 | | | |
|--|-------|---|---------------|---------|--|
| Iwao Ohtsu, Yusuke Kawano, Marina Suzuki, Susumu Morigasaki, Kyohei Saiki, Syunsuke Yamazaki, Gen Nonaka, and Hiroshi Takagi | | Uptake of L-cystine via an ABC transporter contributes defense of oxidative stress in the L-cysteine export-dependent manner in <i>Escherichia coli</i> . | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| PLOS One | 有 | 10 | 2 0 1 5 | 1-14 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| doi: 10.1371/journal.pone.0120619 | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題【掲載確定】 | | | |
|---|-------|--|---------------|-----------|--|
| Yusuke Kawano, Iwao Ohtsu, Ai Tamakoshi, Maeka Shiroyama, Ai Tsuruoka, Kyouhei Saiki, Kazuhiro Takumi, Gen Nonaka, Tsuyoshi Nakanishi, Takako Hishiki, Makoto Suematsu, and Takagi Hiroshi. | | Involvement of the <i>yciW</i> gene in L-cysteine and l-methionine metabolism in <i>Escherichia coli</i> . | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| J. Biosci. Bioeng. | 有 | 119 | 2 0 1 5 | 310 - 313 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| なし | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題【掲載確定】 | | | |
|--|-------|---|------|-----------|--|
| Yusuke Kawano*, Iwao Ohtsuji*, Kazuhiro Takumi, Ai Tamakoshi, Gen Nonaka, Eri Funahashi, Masaki Ihara, and Takagi Hiroshi. | | Enhancement of L-cysteine production by disruption of yciW in Escherichia coli. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| J. Biosci. Bioeng. | 有 | 119 | 2015 | 176 - 179 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| なし | | | | | |

(学会発表) 計(4)件 うち招待講演 計(1)件

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|---------------|-------------|---|--|
| 舟橋依里 | | チオ硫酸塩によるSaccharomyces cerevisiaeの生育促進やエタノール生産性の向上 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第66回日本生物工学会大会 | 2014年09月09日 | 札幌コンベンションセンター, 北海道札幌市 | |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|---------------|-------------|----------------------------------|--|
| 城山真恵加 | | 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の解明 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第66回日本生物工学会大会 | 2014年09月09日 | 札幌コンベンションセンター, 北海道札幌市 | |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|----------------------------|-------------|-----------------------------------|--|
| 大津厳生 | | 進化の果てに消滅した硫黄同化: 大腸菌における硫黄の選択的利用機構 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第5回愛媛微生物学ネットワークフォーラム(招待講演) | 2014年10月25日 | 愛媛大学情報メディアセンター メディアホール, 愛媛県松山市 | |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|---------------------|--|--------------------------------|-----------------------|
| 鶴岡愛 | | 新規CysBレギュロンタンパク質YciWの機能解析とその応用 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 2014年度日本農芸化学会関西支部大会 | | 2014年09月20日 | 奈良先端科学技術大学院大学, 奈良県生駒市 |

〔図書〕計(1)件

| 著者名 | | 出版社 | |
|-------------------------------------|--|------|-------|
| 大津厳生, 河野祐介, 高橋砂予, 城山真恵加, 舟橋依里, 高木博史 | | 洋土社 | |
| 書名 | | 発行年 | 総ページ数 |
| 実験医学増刊: 驚愕の代謝システム | | 2014 | 237 |

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

| |
|--|
| |
|--|