

様 式 C - 7 - 1

平成 27 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

基盤研究(A)（一般）

4. 研究 期 間

平成 25 年度～平成 27 年度

5. 課 題 番 号

2 5 2 5 2 0 6 5

6. 研究課題名

酵母における一酸化窒素の生成機構と生理的役割の解明

7. 研究代表者

研究 者 番 号	研究 代 表 者 名	所 属 部 局 名	職 名
5 0 2 7 5 0 8 8	タカギ ヒロシ 高木 博史	バイオサイエンス研究科	教授

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
8 0 1 2 5 9 2 1	カワモト ススム 川本 進	千葉大学・真菌医学研究センター	その他
3 0 3 3 3 4 8 8	チバナ ヒロジ 知花 博治	千葉大学・真菌医学研究センター	准教授

9. 研究実績の概要

1) NOの生成機構の解析 NO特異的蛍光プローブを用いて細胞内のNOレベルを測定したところ、酵母の野生型株を過酸化水素処理した時に観察されるNO生成が、TAH18遺伝子の発現抑制や哺乳類NOSの阻害剤であるL-NG-Nitroarginine methyl ester (NAME) 処理により抑制された。このことから、過酸化水素処理条件下でTah18依存的なNOS様活性によりNOが合成されることが示された。またDRE2過剰発現株では、TAH18発現抑制株と同程度までNO合成が低下したことから、Dre2タンパク質が酵母のNOS様活性を阻害することが示唆された。一方、共免疫沈降とウェスタンブロッティングによる解析から、過酸化水素処理条件下でTah18-Dre2複合体が経時的に解離することが示された。 2) NOの生理的役割の解析 過酸化水素処理後の細胞生存率測定により細胞死の程度を評価したところ、TAH18発現抑制やNAME処理により細胞死は有意に阻害された。興味深いことに、TAH18発現抑制株にNAMEを処理しても阻害効果は軽微であったことから、Tah18依存的なNOS様活性により合成されるNOが細胞死誘導に寄与するものと考えられた。これらの結果は、Tah18依存的なNOS活性・NO合成が、ストレスの種類や条件に応答して「細胞死・細胞保護」と言う異なる機能を発現する可能性を提示している。 3) 病原真菌におけるNOの生成機構・生理的役割の解析と病原性への寄与の検証 Aspergillus fumigatus 培養時に、過酸化水素添加や高温ストレス処理すると、NO特異的蛍光プローブによる染色が菌糸内に確認できたことから、これらのストレスに応答したNOの生成が示唆された。また、Cryptococcus neoformansにおいて、プロモーター部位を改変してTAH18の発現抑制株を構築したところ、生育が抑制されたことから、TAH18 は必須遺伝子であることが示唆された。
--

10. キーワード

(1) 一酸化窒素

(2) 酵母

(3) シグナル伝達

(4) ストレス耐性

(5)

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの進捗状況

(区分)

(理由)

27年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

27年度が最終年度であるため、記入しない。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

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

著 者 名	論 文 標 題				
Rika Indri Astuti, Daisuke Watanabe, Hiroshi Takagi	Nitric oxide signaling and its role in oxidative stress response in Schizosaccharomyces pombe				
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
Nitric Oxide-Biology and Chemistry	有	52	2016	29-40	-
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
org/10.1016/j.niox.2015.11.001					
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					

著 者 名	論 文 標 題 【掲載確定】				
Yuki Yoshikawa, Ryo Nasuno, Nobuhiro Kawahara, Akira Nishimura, Daisuke Watanabe, Hiroshi Takagi	Regulatory mechanism of the flavoprotein Tah18-dependent nitric oxide synthesis and cell death in yeast				
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
Nitric Oxide-Biology and Chemistry	有	印刷中	2016	印刷中	-
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(17)件/うち招待講演 計(5)件/うち国際学会 計(5)件

発 表 者 名	発 表 標 題	
Susumu Kawamoto, Eric V Virtudazo, Zuzana Moranova, Misako Ohkusu, Kiminori Shimizu, Akio Toh-e, Hiroshi Takagi, Akiko Suganami, Yutaka Tamura, Vladislav Raclavsky	Towards understanding cell cycle regulation, hypoxic adaptation and nitric oxide (NO) signaling in Cryptococcus neoformans	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
19th International Society for Human and Animal Mycology Congress(国際学会)	2015年05月06日 ~ 2015年05月08日	Melbourne (Australia)

発 表 者 名	発 表 標 題	
那須野 亮, 佐藤裕士, 高木博史	酵母のNOS活性に関するフラボタンパク質Tah18依存的な細胞死誘導機構の解析	
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	2015年06月26日 ~ 2015年06月27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	
吉川雄樹, 那須野 亮, 渡辺大輔, 高木博史	酵母に見出したTah18タンパク質依存的なNO生成と制御機構	
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	2015年06月26日 ~ 2015年06月27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	
那須野 亮, 高木博史	酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> における一酸化窒素の合成とその生理機能	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
真菌NO研究会	2015年08月11日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県生駒市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Astuti Rika Indri, 渡辺大輔, 高木博史	分裂酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i> における一酸化窒素シグナリング	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
真菌NO研究会	2015年08月11日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県生駒市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
川本 進, 萩原大祐, 東江昭夫	病原真菌(アスペルギルス系状菌, クリプトコックス酵母)における一酸化窒素(NO)の生成と生理機能の検討	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
真菌NO研究会	2015年08月11日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県生駒市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
宇野 潤, 佐藤美智代, 高木博史, 知花博治	病原酵母Candida glabrata の転写抑制系を用いた出芽酵母NO合成関連遺伝子のオルソログ(CgTAH18)の機能解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
真菌NO研究会	2015年08月11日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県生駒市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
那須野 亮, 佐藤裕士, 高木博史	酵母のNOS活性に関するフラボタンパク質Tah18依存的な細胞死誘導機構の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
酵母遺伝学フォーラム第48回研究報告会	2015年08月31日 ~ 2015年09月02日	広島大学(広島県東広島市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Hiroshi Takagi	Nitric oxide-mediated antioxidative mechanism in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and its application to baker's yeast	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
The 27th International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology(招待講演)(国際学会)	2015年09月06日 ~ 2015年09月12日	Levico Terme (Italy)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Yuki Yoshikawa, Ryo Nsuno, Hiroshi Takagi	Regulatory mechanism and physiological role of the flavoprotein Tah18-dependent nitric oxide synthesis in yeast	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
The 27th International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology (国際学会)	2015年09月06日 ~ 2015年09月12日	Levico Terme (Italy)

発 表 者 名	発 表 標 題	
比留間淳一郎, 宇野 潤, 原田和俊, 矢口貴志, 比留間政太郎, 知花博治, 高木博史	Candida glabrata TC転写抑制系によるカイコを用いたin vivo必須遺伝子の評価系の構築	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第59回日本医真菌学会総会・学術総会	2015年10月09日 ~ 2015年10月10日	ホテルさっぽろ芸文館(北海道札幌市中央区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Hiroshi Takagi	Nitric oxide-mediated antioxidative mechanism in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and its application to fermentation	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
Microbial Stress: From Molecules to Systems (招待講演) (国際学会)	2015年11月12日 ~ 2015年11月15日	Sitges (Spain)

発 表 者 名	発 表 標 題	
中田悠平, 河本純子, 那須野 亮, 渡辺大輔, 高木博史	出芽酵母におけるS-ニトロソ化タンパク質の検出系の確立と解析網羅的解析と機能解析	
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13日 ~ 2015年11月14日	せとうち児島ホテル(岡山県倉敷市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Hiroshi Takagi	Nitric oxide-mediated antioxidative mechanism in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and its application to baker's yeast	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
The 27th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference (招待講演) (国際学会)	2015年11月17日 ~ 2015年11月20日	Bangkok (Thailand)

発 表 者 名	発 表 標 題	
高木博史	酵母におけるプロリン・アルギニン代謝を介した新しい酸化ストレス耐性機構	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会(招待講演)	2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市中央区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
吉川雄樹, 那須野 亮, 渡辺大輔, 高木博史	酵母に見出した酸化ストレス応答的なNO生成とその制御機構	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会	2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市中央区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
高木博史	酵母における酸化ストレス下における一酸化窒素の合成機構と生理機能の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本農芸化学会2016年度大会(招待講演)	2016年03月27日 ~ 2016年03月30日	札幌コンベンションセンター(北海道札幌市白石区)

(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

--