

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）（令和２年度）

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

1．研究種目名 若手研究

2．課題番号 19K15808

3．研究課題名 真核生物に共通する新規な一酸化窒素合成機構の解明およびその生理的役割の理解

4．補助事業期間 令和元年度～令和３年度

5．研究実績の概要

通年行っている一酸化窒素（NO）合成酵素のスクリーニングについては、有力な候補が得られておらず、条件検討など1から実験内容の見直しを行っている。一方2019年度より、酸化的なストレス条件下に対して感受性であることが知られているペントースリン酸回路（PPP）欠損株において条件特異的に見出した酸化およびNOストレス耐性機構の解明に注力した。PPP欠損株は、最小培地条件で生育することで細胞内NADPH量が極端に制限され、細胞内が酸化的な状態に陥る。これによって、酵母における酸化ストレス応答性転写因子であるYap1の活性化を介してNADPH非依存性抗酸化因子である細胞質局在性カタラーゼCtt1のタンパク質量が顕著に増加した。増加したCtt1に応じて過酸化水素および一酸化窒素ストレスに対して高い耐性を示し、NADPHに依存しないストレス応答機構を明らかにし、原著論文にて報告した(Yoshikawa et al., Yeast, 2021)。

また新たに酵母のNOストレス応答機構に関与する因子として、メタロチオネインに着目した。糸状菌Aspegillus nidulansにおいては、メタロチオネインは重金属に対してだけでなく、NOとも結合することがin vitroの解析において示され、実際にA.nidulansのNO耐性に寄与することが報告されている。しかし、酵母におけるメタロチオネインとNO耐性機との関りについては現時点で報告がない。そこで、現在は酵母のメタロチオネインをコードするCUP1-1およびCUP1-2遺伝子を共に破壊したメタロチオネイン欠損株を構築し、銅およびNO暴露条件における生育を観察したところ、酵母のメタロチオネインもNOストレス耐性機構に関与する可能性が示された。

6．キーワード

酵母 一酸化窒素 ペントースリン酸回路 NADPH カタラーゼ メタロチオネイン

7．現在までの進捗状況

区分 （3）やや遅れている。

理由
当初の計画にある酵母における一酸化窒素合成酵素の探索において有力な候補が得られていないため、計画の軌道修正を行いつつ新たな研究課題に取り組んでいる。そのため一定の成果が得られているが計画通りの進捗とは言えない状況にある。

3 版

8．今後の研究の推進方策

現在までの進捗においては、研究内容の変更を余儀なくされ期待していた結果は得られていないが、新たに取り組んでいる研究課題において一定の成果が得られている。最近、酵母において一酸化窒素（NO）に対する影響は未だ報告されていないメタロチオネインがNO応答機構に關与する可能性が見いだされたため、現在はメタロチオネインとNO応答機構の關連性について詳細に解析を行う予定である。またバクテリアでの報告ではあるが、金属が過剰となる環境条件において、NOを合成するという報告があり、この研究過程で得られた銅やカドミウムといった金属の毒性回避に寄与するメタロチオネインの欠損株を用いて金属ストレス条件下でのNO合成能を評価する予定である。

9．次年度使用が生じた理由と使用計画

本年度はコロナ禍の影響もあり、当初計画していた実験内容の全てを実施することが困難であった。これにより、2020年度の研究に対する使用額が計画を下回り、2021年度使用額が生じた。2021年度においては、2020年度に行えなかった菌株のゲノムシーケンスにおける依頼解析や、計画している実験内容に必要な実験試薬に必要とする経費を既に算出しており本年度および次年度の助成金をそれぞれ必要とする。そのため使用する日程は遅れてしまったが、現在想定している実験計画に沿って、繰越した予算と合わせてそれぞれ使用する。

10．研究発表（令和2年度の研究成果）

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

1．著者名 Yuki Yoshikawa, Ryo Nasuno, Hiroshi Takagi	4．巻 -
2．論文標題 An NADPH-independent mechanism enhances oxidative and nitrosative stress tolerance in yeast cells lacking glucose-6-phosphate dehydrogenase activity	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Yeast	6．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） 10.1002/yea.3558	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1．発表者名 吉川雄樹、那須野亮、高木博史
2．発表標題 酵母におけるペントースリン酸回路と イソブタノール耐性との關連性
3．学会等名 日本農芸化学会大会2021年度仙台大会
4．発表年 2021年

1. 発表者名 吉川雄樹、那須野亮、高木博史
2. 発表標題 NADPH量が制限された酵母細胞内における過酸化水素および一酸化窒素ストレス耐性機構
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第52回研究報告会
4. 発表年 2020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

-