

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）

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

1．研究種目名 挑戦的研究（萌芽） 2．課題番号 19K22282

3．研究課題名 酵母に見出したプロリン代謝酵素の多機能性の解明と細胞機能の向上への挑戦

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

プロリンはワインの原料であるブドウ果汁に最も多く含まれているアミノ酸であるが、発酵中の酵母はプロリンをほとんど利用することができず、発酵後も多量に残存することが知られている。残存したプロリンは苦味の増加や酸味の減少を引き起こし、最終製品であるワインの酒質を低下させる。そこで、発酵環境下においてプロリンを効率良く資化できる酵母の創製を目的に、プロリン資化抑制に関わる因子を同定し、解析を行った。プロリン資化能を酵母の生育によって評価するために、プロリン要求性株を用いて解析したところ、ブドウ中に2番目に多い窒素源であるアルギニンが阻害因子であることを見出した。さらに、アルギニンはユビキチンリガーゼRsp5とそのアダプタータンパク質であるArt3依存的にプロリントランスポーターPut4のエンドサイトーシスを強力に誘導することで酵母のプロリン取込み能を抑制していることも判明した。現在、アルギニン存在下でもプロリン資化が可能な自然突然変異株を単離し、解析を行っている。一方、酵母の寿命は分裂寿命と経時寿命に大別され、分裂寿命は母細胞から娘細胞が何回分裂できるか、経時寿命は分裂を停止した細胞がいつまで生存できるかをそれぞれ示している。今年度は細胞内プロリン含量が経時寿命に及ぼす影響について調べた。その結果、細胞内プロリン含量と経時寿命は無関係であり、プロリンオキシダーゼPut1をコードする遺伝子の欠損によって顕著に短くなることが判明した。Put1はプロリンを酸化分解し、電子とプロトンをミトコンドリア電子伝達系に送ることから、膜電位の形成維持に関わっている可能性がある。経時寿命は糖源が枯渇した条件下における細胞の恒常性維持であるため、プロリン-Put1経路によるエネルギー産生が経時寿命の制御に関わっている可能性がある。

6．キーワード

酵母 Saccharomyces cerevisiae 窒素源 プロリン資化 プロリントランスポーター アルギニン

7．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
プロリン代謝の新しい生理機能に着目し、プロリン資化抑制に関わる因子の同定とその作用機序の解析を行ったところ、プロリンの取り込みに関与するトランスポーター群（Gap1, Gnp1, Put4）およびプロリンの分解に関与する酵素（Put1, Put2）をコードする遺伝子の発現がアルギニンによって抑制されることを見出し、学会発表と特許出願を行った。今年度は、その結果を原著論文に纏めて公表するとともに、アルギニンがPut4のエンドサイトーシスを介してプロリンの取込みを抑制していることを見出し、原著論文として公表した。また、当初の計画に記載したプロリン代謝による細胞寿命の制御についても、昨年度は分裂寿命に関する結果を纏めた原著論文を公表した。今年度は、経時寿命に及ぼす影響を解析し、新規な知見が得られたため、現在原著論文を作製しており、次年度の早い時期に投稿の予定である。以上の理由により当初の計画以上に進展していると判断した。

3 版

8. 今後の研究の推進方策

1) アルギニンによるプロリン資化抑制機構を解明するために、アルギニン存在下でもプロリン資化が可能な自然突然変異株を取得する。取得した変異株については、全ゲノム解析を通して、プロリン資化抑制機構に関与する遺伝子の同定を試みる。また、同定した遺伝子を解析することで、プロリン資化抑制の詳細な機構を明らかにする予定である。

2) 新規なアルギニン合成を介して細胞の抗酸化に関与する「N-アセチルトランスフェラーゼMpr1」が酵母の分裂寿命に及ぼす影響について、Mpr1をコードする遺伝子の過剰発現株、破壊株を用いて解析する。

9. 次年度使用が生じた理由と使用計画

当初の計画で使用する消耗品費については、既存の試薬や実験器具を使用することで抑制できたため。また、当初口頭あるいはポスター発表を予定していた各種学会がオンライン開催になり、旅費が発生しなかったため。次年度については、新たな研究を含めて研究全体を加速する目的でもおもに消耗品費に使用する予定。

10. 研究発表（令和2年度の研究成果）

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

1. 著者名 Akira Nishimura, Tsubasa Tanikawa, Hiroshi Takagi	4. 巻 37
2. 論文標題 Inhibitory effect of arginine on proline utilization in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Yeast	6. 最初と最後の頁 531-540
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/yea.3504	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Akira Nishimura, Ryoya Tanahashi, Hiroshi Takagi	4. 巻 531
2. 論文標題 The yeast α -arrestin Art3 is a key regulator for arginine-induced endocytosis of the high-affinity proline transporter Put4	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 416-421
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.07.117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 西村明、高崎友里恵、高木博史	4. 巻 93
2. 論文標題 酵母におけるプロリンの新しい生理機能と代謝調節機構	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 203-211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2021.930203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 西村 明、棚橋亮弥、高木博史
2. 発表標題 酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> におけるプロリン資化抑制機構の理解
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村 明、谷川 翼、棚橋亮弥、高木博史
2. 発表標題 酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> におけるアルギニンによるプロリン資化抑制機構の解析
3. 学会等名 令和2年度日本醸造学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田史香、谷川 翼、棚橋亮弥、西村 明、高木博史
2. 発表標題 酵母におけるプロリン資化抑制機構の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部例会(第513回講演会)
4. 発表年 2020年

3 版

1．発表者名 西村 明、高木博史
2．発表標題 アルギニンによる酵母のプロリン資化抑制機構
3．学会等名 日本農芸化学会2021年度大会（招待講演）
4．発表年 2021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

-