

平成19年度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

14603

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 (B)

4. 研究期間

平成18年度～平成20年度

5. 課題番号

18380062

6. 研究課題名 酵母のアセチル化酵素Mpr1による抗酸化機構の解明と有用酵母の育種への応用

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
50275088	高木, 博史	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
00285181	日并, 隆雄	福井県立大学・生物資源学部	准教授

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

酵母*Saccharomyces cerevisiae* Σ1278b株に見出したMpr1は、アゼチジン-2-カルボン酸(AZC)をアセチル化し解毒する新規酵素であるが、細胞内の活性酸素種レベルを制御し、熱ショック、冷凍、エタノールなどのストレスから酵母を保護することが判明した。今年度は、Mpr1の機能発現に重要な残基の同定と立体構造の解析を目的に研究を実施し、以下の成果を得た。

1) Mpr1の機能発現に重要な残基の同定

基質との結合や触媒機能に関与すると考えられるアミノ酸残基を置換したMpr1遺伝子を大腸菌で発現させ、AZC感受性を示す変異型Mpr1を取得した。組換え酵素を用いたキネティクス解析により、N-アセチルトランスフェラーゼスーパーファミリー内で保存性の高いArg145をAla, Gly, Trp, Asp, Gluにそれぞれ置換すると、AZC、アセチルCoAの両基質に対する親和性が顕著に減少したことから、Arg145が基質との結合に関与することが示された。また、保存性の高いTyrをAlaに置換した結果、ほとんどの変異型酵素で触媒効率が低下し、温度安定性が低下したものもあった。さらに、各TyrをPheに置換すると、Tyr166Pheのみ酵素機能が低下したことから、Tyr166の側鎖のOH基が触媒活性に重要であることが示された(論文印刷中)。

2) Mpr1の立体構造解析

昨年度報告した結晶は双晶であったことから、再度結晶化を行い、空間群P1 (a=80.3Å, b=84.3Å, c=106.3Å, α=99.6°, β=90.7°, γ=89.8°)に属する単結晶を新たに得た。本単結晶を用いて初期位相を求め、3.5Å分解能の電子密度図を得た。その結果、Mpr1はアリルアミンN-アセチルトランスフェラーゼの形状に類似しており、低分子物質を基質とする解毒酵素である可能性が示唆された。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4判縦長横書1枚)を添付すること。

10. キーワード

(1) 酵母

(2) アセチルトランスフェラーゼ

(3) 酸化ストレス

(4) 活性酸素種

(5)

(6)

(7)

(8)

(裏面に続く)

11.研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（3）件

著者名	論文標題			
X. Du and H. Takagi	N-Acetyltransferase Mpr1 confers ethanol tolerance on <i>Saccharomyces cerevisiae</i> by reducing reactive oxygen species			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Applied Microbiology and Biotechnology	有	75	2007	1343-1351

著者名	論文標題			
高木博史	エタノールから酵母を守る新しいアセチル化酵素Mpr1			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
バイオサイエンスとインダストリー	無	66	2008	75-77

著者名	論文標題			
T. Kotani and H. Takagi	Identification of amino acid residues essential for the yeast N-acetyltransferase Mpr1 activity by site-directed mutagenesis			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
FEMS Yeast Research	有		2008	印刷中

〔学会発表〕 計（2）件

発表者名	発表標題	
小谷哲也, 高木博史	酵母アセチルトランスフェラーゼMpr1の活性に重要なアミノ酸残基の同定	
学会等名	発表年月日	発表場所
2007年度日本生物工学会大会	2007年9月26日	広島大学（東広島市）

発表者名	発表標題	
日弁隆雄, 五十嵐弘子, 山本弘美, 高木博史	酵母由来アセチルトランスフェラーゼMpr1のX線結晶構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本農芸化学会2008年度大会	2008年3月28日	名城大学（名古屋）

〔図書〕 計（0）件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

12. 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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

