

平成 2 4 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(B)

4. 補助事業期間

平成 2 2 年度 ~ 平成 2 4 年度

5. 課 題 番 号

2

2

3

8

0

0

6

1

6. 研 究 課 題

酵母のプロリン代謝中間体アセチル化酵素M p r 1 による抗酸化機構の解明とその応用

7. 研究代表者

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

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
1 0 2 7 3 8 4 8	ヨシダ ノブユキ	バイオサイエンス研究科	助教
	吉田 信行		
6 0 3 9 5 6 5 5	オオツ イワオ	バイオサイエンス研究科	助教
	大津 厳生		

9. 研究実績の概要

Mpr1は高温や過酸化水素処理などの酸化ストレスで誘導され、プロリン代謝中間体（P5C/GSA）をN-アセチル化し、アルギニンおよび一酸化窒素の合成を促進することで、酵母に酸化ストレス耐性を付与すると考えられている。今年度は、Mpr1の結晶構造解析を行い、Mpr1の触媒反応機構の解明を目的に研究を実施した。

まず、セレノメチオニン多波長異常分散を用いたX線結晶構造解析によりMpr1の立体構造を2.1Å/197°分解能で決定した。Mpr1の立体構造はGcn5-related N-acetyltransferase（GNAT）と類似しており、GNATスーパーファミリーに属することが判明した。また、速度論的解析からMpr1による触媒反応は逐次機構により進行し、Mpr1-アセチルCoA-AZCの三者複合体を経て進行することが示された。次に、立体構造上、類似性の高いタンパク質との比較から、Phe138の主鎖アミドのNH基、Asn178の側鎖、Trp185の側鎖がアセチルCoAや水分子との結合を介して触媒反応に関与していることが示唆された。また、立体構造および変異体酵素を用いた解析から、Asn135の側鎖がAZCをはじめとする基質との結合に関わることが示唆された。さらに、活性が消失した変異体を酵母で発現させると、野生型Mpr1に比べてストレス処理後のP5C含量が有意に増加したことから、Mpr1の生理機能においてもAsn135やAsn178が重要な残基であると考えられた。多くのGNATではTyrが保存されており、正四面体中間体の分解後に生じるCoAチオレートアニオンをプロトン化によってCoAに変換し、触媒として機能する。しかし、Mpr1のように分極によって反応を触媒するN-acetyltransferaseは報告されておらず、Mpr1が新規の触媒反応機構を有していることが示唆された。

10. キーワード

(1) 酵母

(2) アセチル化酵素

(3) 酸化ストレス

(4) 活性酸素種

(5) プロリン代謝

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

24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)

24年度が最終年度であるため、記入しない。

13.研究発表(平成24年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計(3)件 うち査読付論文 計(3)件

著 者 名		論 文 標 題						
Akira Nishimura, Ryo Nasuno, Hiroshi Takagi		The proline metabolism intermediate Δ 1-pyrroline-5-carboxylate directly inhibits the mitochondrial respiration in budding yeast						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年				最初と最後の頁
FEBS Letters		有	586	2	0	1	2	2411-2416
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)								
doi.org/10.1016/j.febslet.2012.05.056								

著 者 名		論 文 標 題				
Akira Nishimura, Nobuhiro Kawahara, Hiroshi Takagi		The flavoprotein Tah18-dependent NO synthesis confers high-temperature stress tolerance on yeast cells				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Biochemical and Biophysical Research Communications		有	430	2	0 1 3	137-143
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.11.023						

著 者 名		論 文 標 題				
Thi Mai Hoa Bach, Ryotaro Hara, Kuniki Kino, Iwao Ohtsu, Nobuyuki Yoshida, Hiroshi Takagi		Microbial production of N-acetyl cis-4-hydroxy- L-proline by coexpression of the Rhizobium L-proline cis-4-hydroxylase and the yeast N-acetyltransferase				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Applied Microbiology and Biotechnology		有	97	2	0 1 3	247-257
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
DOI 10.1007/s00253-012-4204-z						

〔学会発表〕計(6)件　うち招待講演　計(3)件

発 表 者 名	発 表 標 題	
高木博史	酵母に見出した酸化ストレスで誘導される一酸化窒素の生成とその生理的役割	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
変異機構研究会第25回夏の学校(招待講演)	2012年06月30日	愛知県小牧勤労センター (愛知県小牧市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Hiroshi Takagi, Akira Nishimura, Yu Sasano	The physiological role of nitric oxide in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and its applications to baker's yeast	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
13th International Congress on Yeasts(招待講演)	2012年08月28日	Monona Terrace Community and Convention Center (Madison, Wisconsin, USA)

発 表 者 名	発 表 標 題	
西村 明, 那須野 亮, 高木博史	出芽酵母におけるプロリン代謝中間体Δ1-ピロリン-5-カルボン酸を介した細胞死発現機構の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
酵母遺伝学フォーラム第45回研究報告会	2012年09月04日	京都大学宇治キャンパス (京都府宇治市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
高木博史	プロリン・NO代謝を強化した「実用パン酵母」開発への挑戦	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第20回酵母合同シンポジウム(招待講演)	2012年09月07日	京都大学宇治キャンパス (京都府宇治市)

発 表 者 名	発 表 標 題		
那須野 亮, 平野良憲, 伊藤貴文, 箱嶋敏雄, 日比隆雄, 高木博史	酵母の酸化ストレス耐性に関与するN-アセチルトランスフェラーゼMpr1の構造機能解析		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第85回日本生化学会大会	2012年12月15日	福岡国際会議場 (福岡県福岡市)	

発 表 者 名	発 表 標 題		
那須野 亮, 平野良憲, 伊藤貴文, 箱嶋敏雄, 日比隆雄, 高木博史	酵母の酸化ストレス耐性に関与するN-アセチルトランスフェラーゼMpr1の構造機能解析		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
日本農芸化学会2013年度大会	2013年03月25日	東北大学川内北キャンパス (宮城県仙台市)	

(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.備考