

## 2.3.13 研究分野：分子微生物科学

構成員：	准教授	栗原 達夫
	助教	川本 純
	大学院博士後期課程	8名
	大学院修士課程	8名
	その他	1名
	博士研究員 (PD)	2名
	研究員	1名

### A. 研究活動 (2009. 4~2010. 3)

#### A-1. 研究概要

##### a) 低温誘導性外膜ポーリントキパク質のフォールディングにおけるエイコサペンタエン酸含有リン脂質の生理機能

南極海水より採取された *Shewanella livingstonensis* Ac10 は、大腸菌のような常温微生物とは異なり 0°C 付近でも良好に生育する低温菌である。本菌は、4°C で高度不飽和脂肪酸の一種であるエイコサペンタエン酸 (EPA) を生産する。EPA は自然界では魚油中に多く含まれる高度不飽和脂肪酸であり、生理的に重要な機能性脂質である。本菌が低温誘導的に生産するポーリントキパク質 (OmpC74) は、野生株の細胞膜中では少なくとも 2 種類の立体構造を形成していたが、EPA 合成遺伝子を欠損させた EPA 非生産株では野生株と異なる立体構造を形成していた。OmpC74 と EPA との相互作用を *in vitro* で解析するために、OmpC74 の人工膜への再構築実験を行った結果、EPA 含有リン脂質を含む人工膜には、EPA を含まない人工膜に比べて速やかに OmpC74 が組み込まれることがわかった。また、膜上に再構築した OmpC74 の C 末端側の立体構造が EPA の有無により変化していることがわかった。

##### b) 合成分子プローブを用いた EPA 含有リン脂質の動態の解析

エイコサペンタエン酸 (EPA) は、プロスタグランジンやトロンボキサンなどのエイコサノイド系生理活性物質の前駆体として重要な必須脂肪酸であるが、EPA 含有リン脂質の機能の詳細は明らかでない。好冷性細菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 は EPA 含有リン脂質を低温誘導的に生産する。一方で、EPA を欠損させた変異株では細胞分裂が正常に進行せず、また、その細胞内には通常のグラム陰性細菌には見られない細胞内多重膜構造が発達していた。以上の結果から、EPA の特殊な分子構造が

膜タンパク質の機能維持に重要であり、EPA と膜タンパク質間に分子間相互作用の存在が示唆された。 *in vivo* で EPA 含有リン脂質の動態解析を行うために、ホスファチジルエタノールアミンのアミノ基に蛍光分子 NBD を導入し、sn-2 位に EPA を持つエーテル型蛍光リン脂質を合成し、EPA 非生産株に添加した。 その結果、細胞中央部に EPA 含有リン脂質由来の蛍光を検出することができ、細胞分裂サイトに EPA 含有リン脂質が局在する可能性が示唆された。

## A-2. 研究業績 (国内・国外含む)

### a) 成果刊行

#### 著 書

・栗原達夫, 三原久明, 江崎信芳: 細胞がセレンをタンパク質に取り込む機構の解析とその応用. 環境・資源保全のためのメタルバイオテクノロジー 241-246, 2009

#### 原著論文 (査読付)

・Omi, R., S. Kurokawa, H. Mihara, H. Hayashi, M. Goto, I. Miyahara, T. Kurihara, K. Hirotsu, and N. Esaki: Reaction mechanism and molecular basis for selenium/sulfur discrimination of selenocysteine lyase. *J. Biol. Chem.* 285; 12133-12139, 2010

・Toyoda, M., K. Jitsumori, B. Mikami, L. P. Wackett, T. Kurihara, and N. Esaki: Crystallization and preliminary X-ray analysis of L-azetidine-2-carboxylate hydrolase from *Pseudomonas* sp. strain A2C. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* in press, 2010

・Zhang, W., A. Urban, H. Mihara, S. Leimkühler, T. Kurihara, and N. Esaki: IscS functions as a primary sulfur-donating enzyme by interacting specifically with MoeB and MoeD in the biosynthesis of molybdopterin in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 285; 2302-2308, 2010

・Goto, M., T. Yamauchi, N. Kamiya, I. Miyahara, T. Yoshimura, H. Mihara, T. Kurihara, K. Hirotsu, and N. Esaki: Crystal structure of a homolog of mammalian serine racemase from *Schizosaccharomyces pombe*. *J. Biol. Chem.* 284; 25944-25952, 2009

・Imai, T., H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: Selenocysteine is selectively taken up by red blood cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 73; 2746-2748, 2009

・Imai, T., H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: Possible role of red blood cells in selenocysteine metabolism. *Trace Nutri. Res.* 26; 22-25, 2009

- Jitsumori, K., R. Omi, T. Kurihara, H. Mihara, I. Miyahara, K. Hirotsu, and N. Esaki: X-ray crystallographic and mutational studies of fluoroacetate dehalogenase from *Burkholderia* sp. FA1. *J. Bacteriol.* 191; 2630-2637, 2009
- Kamachi, T., T. Nakayama, O. Shitamichi, K. Jitsumori, T. Kurihara, N. Esaki, and K. Yoshizawa: The catalytic mechanism of fluoroacetate dehalogenase: A computational exploration of biological dehalogenation. *Chemistry* 15; 7394-7403, 2009
- Kawamoto, J., T. Kurihara, K. Yamamoto, M. Nagayasu, Y. Tani, H. Mihara, M. Hosokawa, T. Baba, S. B. Sato, and N. Esaki: Eicosapentaenoic acid plays a beneficial role in membrane organization and cell division of a cold-adapted bacterium, *Shewanella livingstonensis* Ac10. *J. Bacteriol.* 191; 632-640, 2009
- Nakamura, T., A. Yamaguchi, H. Kondo, H. Watanabe, T. Kurihara, N. Esaki, S. Hirono, and S. Tanaka: Roles of K151 and D180 in L-2-haloacid dehalogenase from *Pseudomonas* sp. YL: Analysis by molecular dynamics and ab initio fragment molecular orbital calculations. *J. Comput. Chem.* 30; 2625-2634, 2009
- Omori, T., H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: Occurrence of phosphatidyl-D-serine in the rat cerebrum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 382; 415-418, 2009
- Tobe, R., H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: Identification of proteins interacting with selenocysteine lyase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73; 1230-1232, 2009
- Yamauchi, T., M. Goto, H.-Y. Wu, T. Uo, T. Yoshimura, H. Mihara, T. Kurihara, I. Miyahara, K. Hirotsu, and N. Esaki: Serine racemase with catalytically active lysinoalanyl residue. *J. Biochem.* 145; 421-424, 2009

## 総説

- 栗原達夫, 川本純, 江崎信芳: 低温細菌における長鎖高度不飽和脂肪酸の生合成と機能. *蛋白質核酸酵素* 55; 94-99, 2010
- 栗原達夫: 低温細菌における高度不飽和脂肪酸含有リン脂質の機能. *生化学* 81; 716-719, 2009
- 栗原達夫: 新規不斉還元酵素によるキラル有機ハロゲン化合物の生産. *バイオサイエンスとインダストリー* 67; 161-163, 2009
- 栗原達夫, 川本純, 江崎信芳: 好冷性細菌の低温適応に関わるタンパク質とリン脂質. *生化学* 81; 1072-1079, 2009
- 栗原達夫, 江崎信芳: 低温下で機能する酵素. *化学工学* 73; 324-327, 2009

b) 学会発表

- ・ 第 20 回日本微量元素学会 : 1 件
- ・ 第 61 回日本生物工学会大会 : 1 件
- ・ The Fifth International Conference on Iron-Sulfur Cluster Biogenesis and Regulation : 1 件
- ・ 第 82 回日本生化学会大会 : 6 件
- ・ 極限環境微生物学会第 10 回年会 : 1 件
- ・ 第 61 回日本ビタミン学会大会 : 1 件
- ・ Xth SCAR International Biology Symposium : 2 件
- ・ NAIST Global COE International Symposium 2009 Environmental Adaptation : 1 件
- ・ 2010 年度日本農芸化学会大会 : 5 件

**A-3. 国内における学会活動など**

所属学会等 (役割)

- ・ 栗原 達夫 : 日本生物工学会 (和文誌編集委員会副委員長)、日本生化学会 (近畿支部評議員、幹事、生化学教育委員会)

競争的資金等獲得状況

①科学研究費補助金

- ・ 基盤研究(B) : 栗原 達夫 : 好冷微生物の低温環境適応を可能にする分子基盤の解明
- ・ 基盤研究(B) : 川本 純 : レアメタル汚染の浄化と資源回収システムの開発を目指した新規金属代謝微生物の探索

②その他の競争的資金

- ・ シーズ発掘試験研究費 (JST) : 栗原 達夫 : 環境浄化と物質生産に資する新しい有機ハロゲン化合物変換酵素の開発
- ・ シーズ発掘試験研究費 (JST) : 川本 純 : 低温でのタンパク質生産システムの開発

**B. 教育活動 (2009. 4~2010. 3)**

**B-1. 学内活動**

a) 開講授業科目 (担当教員)

- ・大学院： 分子微生物科学専攻演習（栗原、川本）、分子微生物科学専攻実験（栗原、川本）、分子微生物科学（栗原）

## **B-2. 学外における教育活動**

### 学外非常勤講師

- ・栗原 達夫：奈良女子大学理学部（生体機能化学）

## **B-3. 国際的教育活動**

### 留学生・外国人研修員の受入

- ・留学生： 修士課程 1名（中国） 博士課程 5名（エジプト 1、中国 2、韓国 1、インド 1） 研究生等 1名（中国）