

2.3.6 研究分野：エネルギー変換細胞学

構成員：	教授	喜多 恵子
	准教授	井上 善晴
	助教	有田 恭平
	大学院博士後期課程	2 名
	大学院修士課程	5 名
	専攻 4 回生	3 名

A. 研究活動（2009.4～2010.3）

A-1. 研究概要

a) 制限修飾系タンパク質の構造解析

大腸菌由来の制限修飾系を構成するタンパク質について、DNA 認識機構を明らかにすることを目的として結晶化条件の検討を行った。大腸菌 TH38 株由来の制限酵素 EcoT38I について、DNA 複合体の結晶化条件を検討した結果、単結晶が得られる条件を見出した。大腸菌 H709c 株由来の制限酵素 Eco0109I 変異酵素について DNA 存在下で結晶化条件の検討を行った。得られた結晶について X 線構造解析を行った結果、DNA の電子密度は得られなかったが、酵素単体の立体構造を明らかにした。野生型酵素と比較した結果、全体構造に大きな違いがないことを明らかにした。

b) 酵母 GPX1 遺伝子の発現制御機構の解明

Saccharomyces cerevisiae は 3 種類のグルタチオンペルオキシダーゼホモログ遺伝子 (GPX1、GPX2、GPX3) を持つ。これらのうちで、GPX1 遺伝子の発現はグルコース枯渇とカルシウムにより誘導されることを見いだした。その発現制御は転写因子 Msn2 と Msn4、ならびに GPX1 プロモーター上のシス配列 STRE に依存していた。さらに今回、グルコースシグナリングに重要な Ras/cAMP 経路と Snf1 キナーゼが、カルシウムにより制御されていることを発見した。すなわち、前者はカルシウムにより負に制御され、後者は Tos3、Sak1、ならびに Elm1 により Snf1 の Thr210 がリン酸化され、活性化を受けることを明らかにした。

c) UHRF1 タンパク質によるヒストン認識の構造学的基盤

UHRF1 タンパク質はヒストン結合、メチル化 DNA の結合の 2 つの主要なエピジェネティクスな情報の読み取りに関与し、遺伝子発現の制御、ヘテロクロマチンの形成に関与する。UHRF1 には 2 つのヒストン結合モジュール、PHD finger と Tudor domain

が隣接して存在している。UHRF1 の PHD finger とヒストン H3 との複合体の X 線結晶構造解析を行った。得られた構造および等温滴定型カロリメトリー (ITC)、NMR 滴定実験による物理化学的な実験から UHRF1 の PHD finger がヒストン H3 の Arg2 の修飾 (メチル化) 状態を認識することを明らかにした。さらに Tudor-PHD の 2 つのヒストン結合モジュールがリジン 9 がメチル化されたヒストン H3 (H3K9me3) に特異的に 1:1 で結合することを ITC 実験により明らかにした。つまり UHRF1 の Tudor-PHD domain が複数のヒストン H3 の修飾サイトを一つのコードとして認識していることを見出した。

A-2. 研究業績 (国内・国外含む)

a) 成果刊行

著 書

- ・喜多恵子：応用酵素学概論．コロナ社、東京、2009

原著論文 (査読付)

- ・Lushchak, O. V., N. Z. Nykorak, T. Ohdate, Y. Inoue and V. I. Lushchak: Inactivation of genes encoding superoxide dismutase modifies yeast response to S-nitrosoglutathione-induced stress. Biochemistry (Mosc) 74(4); 445-451, 2009
- ・Sekiyama N., K. Arita, Y. Ikeda, K. Hashiguchi, M. Ariyoshi, H. Tochio, H. Saitoh and M. Shirakawa: Structural basis for regulation of poky-SUMO chain by SUMO-like domain of Nip45 Proteins 6; 1491-1502, 2009
- ・Otani, J., T. Nankumo T, K. Arita, S. Inamoto, M. Ariyoshi and M. Shirakawa: Structural basis for recognition of H3K4 methylation status by the DNMT3A ADD domain. EMBO Rep. 11; 1235-1241, 2009

総説

- ・Izawa, S., and Y. Inoue: Post-transcriptional regulation of gene expression in yeast under ethanol stress. Biotechnol Appl Biochem 53(2); 93-99, 2009

特許

- ・チオレドキシン高含有酵母およびその製造法、特許第 4412658 号、平成 21 年 11 月 27 日

b) 学会発表

- ・酵母遺伝学フォーラム第 42 回研究報告会 (2 件)
- ・2010 年度日本農芸化学会大会 (5 件)
- ・第 82 回日本生化学会大会 (1 件)

- ・第 32 回日本分子生物学会年会（4 件）

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

- ・喜多 恵子：日本農芸化学会（理事）、日本生物工学会（評議員）、バイオインダストリー協会（編集幹事）
- ・井上 善晴：酵母研究会（運営委員）、日本生物工学会（関西支部委員）

学術会議関連（役割）

- ・井上 善晴：日本学術振興会レドックス生命科学第 170 委員会（委員）

競争的資金等獲得状況

①科学研究費補助金

- ・基盤研究（B）：井上 善晴：メタボリックシグナリング：解糖系代謝中間体によるシグナル伝達の意義とメカニズム
- ・若手研究（スタートアップ）：有田 恭平：エピジェネティクスに關与する生体超分子の構造生物学的研究

②その他の競争的資金

- ・京都大学 若手研究者ステップアップ研究費：有田 恭平：エピジェネティクスに關与するタンパク質の構造生物学的研究

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）

- ・全学共通科目： 応用生命科学（喜多）
- ・学部： 農学概論 II（喜多）、応用生命科学入門 I（喜多）、応用生命科学入門 II（喜多）、応用微生物学Ⅱ（喜多）、生化学実験（井上、有田）、応用生命科学入門Ⅲ（井上）
- ・大学院： エネルギー変換細胞学専攻演習（喜多、井上、有田）、エネルギー変換細胞学専攻実験（喜多、井上、有田）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

- ・井上 善晴：滋賀県立大学大学院工学研究科（生体機能化学特論）

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）

C. その他

- ・喜多恵子：大阪市地方独立行政法人評価委員会（委員）