

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	10名
	大学院修士課程	6名
	博士研究員 (PD)	1名

A. 研究活動 (2010. 4～2011. 3)

A-1. 研究概要

a) 外膜ポーリタンパク質の膜挿入と構造形成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

南極海水より単離された低温菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 は、低温誘導的にエイコサペンタエン酸 (EPA) をアシル鎖とするリン脂質を生合成する。EPA は、生体膜の流動性や透過性、曲率などの物理化学的特性を変化させることで、膜タンパク質の機能発現に関与すると考えられているが、EPA の機能発現機構の詳細は明らかでない。本菌の EPA 合成遺伝子を破壊した EPA 欠損株において、外膜ポーリン (Omp74) が野生株とは異なるフォールディングで生産されていたことから、Omp74 の低温での機能発現に EPA が関与していることが示唆された。EPA 含有リン脂質が Omp74 の構造形成に及ぼす影響を解析するために、円二色性偏光 (CD) スペクトル解析とトリプトファン蛍光解析を行った。その結果、EPA を含むリポソームにおいて、Omp74 は速やかに β -シート構造を形成すること、また、トリプトファン残基と、近傍の酸性アミノ酸残基や他のトリプトファン残基との相互作用が促進されることが示された。以上の結果から、EPA 含有リン脂質は Omp74 の膜内での二次構造形成、およびトリプトファン残基が関与する分子内相互作用を促進する機能を有することが示唆された。

b) 低温菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 の鉄代謝機構の解明

南極海水より単離された低温菌 *Shewanella livingstonensis* Acl0 は、低温誘導的にエイコサペンタエン酸 (EPA) をアシル鎖とするリン脂質を生合成する。EPA は、生体膜の流動性や透過性、曲率などの物理化学的特性を変化させることで、膜タンパク質の機能発現に関与すると考えられているが、EPA の機能発現機構の詳細は明らかでない。本菌の EPA 合成遺伝子を破壊した EPA 欠損株において、外膜ポーリン (Omp74) が野生株とは異なるフォールディングで生産されていたことから、Omp74 の低温での機能発現に EPA が関与していることが示唆された。EPA 含有リン脂質が Omp74 の構造形成に及ぼす影響を解析するために、円二色性偏光 (CD) スペクトル解析とトリプトファン蛍光解析を行った。その結果、EPA を含むリポソームにおいて、Omp74 は速やかに β -シート構造を形成すること、また、トリプトファン残基と、近傍の酸性アミノ酸残基や他のトリプトファン残基との相互作用が促進されることが示された。以上の結果から、EPA 含有リン脂質は Omp74 の膜内での二次構造形成、およびトリプトファン残基が関与する分子内相互作用を促進する機能を有することが示唆された。

A-2. 研究業績 (国内・国外含む)

a) 成果刊行

著 書

- ・ 栗原達夫: 好冷酵素の特性と利用法. 酵素利用技術大系 239-243, 2010.
- ・ 栗原達夫: 有機ハロゲン化合物代謝関連酵素. 酵素利用技術大系 88-92, 2010.

原著論文 (書評論文を含む)

- ・ Kurihara, T.: A mechanistic analysis of enzymatic degradation of organohalogen compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75; 189-198, 2011
- ・ Hidese, R., H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: *Escherichia coli* dihydropyrimidine dehydrogenase is a novel NAD-dependent heterotetramer essential for the production of 5,6-dihydrouracil. *J. Bacteriol.* 193; 989-993, 2011
- ・ Sato, S. B., S. Sato, J. Kawamoto, and T. Kurihara: Differential roles of internal and terminal double bonds in docosahexaenoic acid: Comparative study of cytotoxicity of polyunsaturated fatty acids to HT-29 human colorectal tumor cell line. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 84; 31-37, 2011

• 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 MoaD in the biosynthesis of molybdopterin in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 285; 2302-2308, 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.* 66; 801-804, 2010

• Omori, T., H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: The Distribution of Phosphatidyl-D-serine in the Rat. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74; 1953-1955, 2010

• 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

• Mowafy, A. M., T. Kurihara, A. Kurata, T. Uemura, and N. Esaki: 2-Haloacrylate hydratase, a new class of flavoenzyme that catalyzes the addition of water to the substrate for dehalogenation. *Appl Environ Microbiol.* 76; 6032-6037, 2010

総説

• Kurihara, T.: A mechanistic analysis of enzymatic degradation of organohalogen compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75; 189-198, 2011

• 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

b) 学会発表

• 第57回日本生化学会近畿支部例会 (1件)

- ・ The 9th International Symposium on Selenium in Biology and Medicine (Selenium 2010) (2件)

- ・ 第27回日本微量栄養素学会 (1件)

- ・ 第21回日本微量元素学会 (1件)

- ・ 第62回日本生物工学会大会 (3件)

- ・ MICROPERM WORKSHOP – CIRCUMPOLAR INTEGRATION OF PERMAFROST MICROBIOLOGICAL STUDIES (2件)

- ・ 第83回日本生化学会大会 (6件)

- ・ 極限環境微生物学会第11回年会 (4件)

- ・ 2011年度日本農芸化学会大会 (7件)

A-3. 国内における学会活動など①

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（近畿支部幹事、生化学教育委員会委員）

A-3. 国内における学会活動など②

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)：栗原 達夫：新規低温生物学プロセスの確立を目指した低温特殊環境微生物の探索
- ・ 基盤研究(B)：栗原 達夫：高度不飽和脂肪酸含有リン脂質のシャペロン機能の解明と膜タンパク質高生産への応用
- ・ 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

- ・ 財団法人 発酵研究所 一般研究助成：栗原 達夫：極地由来好冷性微生物を宿主とした新しいタンパク質低温生産システムの開発

A-4. 国際交流・海外活動①

所属学会等（役割）

- ・ ：栗原 達夫：アメリカ微生物学会（会員）
- ・ 栗原 達夫：

国際会議・研究集会等（国、役割）

- ・ 栗原 達夫：第9回国際セレン学会（日本、国内組織委員）
- ・ 川本 純：第9回国際セレン学会（日本、国内組織委員）

B. 教育活動（2010. 4～2011. 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）、環境生物・物質化学（地球環境学舎サステイナビリティ学コース）（栗原、川本）、統合材料化学Ⅲ（GCOE連携講義）（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：京都府立洛北高等学校（サイエンスII）
- ・栗原 達夫：京都府立洛北高等学校附属中学校（洛北サイエンス）

B-3. 国際的教育活動①

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 7名（中国 3、韓国 2、エジプト 1、インド 1）