

講座

分子細胞科学講座

2. 3. 6

研究分野：エネルギー変換細胞学分野

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	1名
	大学院修士課程	6名
	専攻4回生	3名
	その他	1名
	研究員	1名

A. 研究活動（2010. 4～2011. 3）

A-1. 研究概要

a) 制限修飾系酵素の構造機能解析

大腸菌の生産する制限修飾系酵素の構造機能相関を明らかにするため、新に2種類の酵素の結晶構造解析を行った。大腸菌H709c株の生産するメチルトランスフェラーゼの単体およびDNA複合体の結晶化を行い、X線回折データを収集した。次に、大腸菌TH38株由来の制限酵素-DNA複合体のX線結晶構造解析を行った結果、2本鎖DNAの片方の鎖だけが活性中心とコンタクトしていることを見出した。立体構造をもとに生化学的解析を行った結果、本酵素は既報の制限酵素とは異なるユニークな反応機構でDNAを切断することを明らかにした。

b) カルシウムに応答した酵母転写因子Msn2の核内分解

酵母のC2H2型ジンクフィンガー転写因子であるMsn2/Msn4が、Ca²⁺処理により核に蓄積し、その標的遺伝子の転写を活性化することを見いだした。Ca²⁺に依存したMsn2/Msn4標的遺伝子の発現誘導は、カルシニューリンの特異的阻害剤であるFK506の添加によりさらに上昇し、カルシニューリンの下流で働く唯一の転写因子であるCrz1の欠損株でも上昇した。この現象は、STRE配列、p38 MAPキナーゼHog1、ならびにMsn2/Msn4の3つの条件が整った場合にのみ観察された。Ca²⁺によるMsn2/Msn4標的遺伝子の発現上昇がFK506やCrz1の破壊によりさらに上昇する原因として、Ca²⁺処理によりCrz1依存的にMsn2/Msn4の核内での分解が促進されることを見いだした。

c) UHRF1のリン酸化制御による機能と構造の変換機構

エピジェネティクスな情報の認識、継承に関与するUHRF1タンパク質のリン酸化による機能制御機構を明らかにした。UHRF1は2つのヒストン結合ドメインを持つが、そのドメイン間のlinkerがリン酸化を受けると、ヒストンH3K9me3の特異的な認識がなくなることを等温滴定型カロリメトリーとNMR解析によって明らかにした。さらにこのリン酸化はUHRF1の核内でのヘテロクロマチンへの局在の制御にも関与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

原著論文（書評論文を含む）

・ Ohdate, T., S. Izawa, K. Kita and Y. Inoue: Regulatory mechanism for expression of GPX1 in response to glucose starvation and Ca²⁺ in *Saccharomyces cerevisiae*: Involvement of Snf1 and Ras/cAMP pathway in Ca²⁺ signaling. (査読有り) *Genes Cells* 15, 59-75, 2010

・ Takatsume, Y., T. Ohdate, K. Maeta, W. Nomura, S. Izawa and Y. Inoue: Calcineurin/Crz1 destabilizes Msn2 and Msn4 in the nucleus in response to Ca²⁺ in *Saccharomyces cerevisiae*. (査読有り) *Biochem. J.* 427, 275-287, 2010

・ Nomura, W., K. Maeta, K. Kita, S. Izawa and Y. Inoue: Methylglyoxal activates Gcn2 to phosphorylate eIF2 α independently of the TOR pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. (査読有り) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86, 1887-1894, 2010

• Ohdate, T., K. Kita and Y. Inoue: Kinetics and redox regulation of Gpx1, an atypical 2-Cys peroxiredoxin, in *Saccharomyces cerevisiae*. (査読有り) FEMS Yeast Res. 10, 787-790, 2010

• Lushchak, O. V., Y. Inoue and V. I. Lushchak: Regulatory protein Yap1 is involved in response of yeast *Saccharomyces cerevisiae* to nitrosative stress. (査読有り) Biochemistry (Mosc). 75, 629-635, 2010

• Izawa, S., K. Ikeda, T. Miki, Y. Wakai and Y. Inoue: Vacuolar morphology of *Saccharomyces cerevisiae* during the process of wine making and Japanese sake brewing. (査読有り) Appl. Microbiol. Biotechnol. 88, 277-282, 2010

• Sekiyama N., Arita K., Ikeda Y., Hashiguchi K., Ariyoshi M., Tochio H., Saitoh H. and Shirakawa M. Structural basis for regulation of poky-SUMO chain by SUMO-like domain of Nip45. (査読有り) Proteins 78, 1491-1502, 2010

• Iwamoto M., Hishiki A., Shimada T., Imasaki T., Tsuda J., Kita K., Shimizu T., Sato M., and Hashimoto H.: Crystallization and X-ray diffraction studies of DNA-free and DNA-bound forms of Eco0109I DNA methyltransferase. (査読有り) Acta Cryst. F66, 1528-1530, 2010

b) 学会発表

• 酵母遺伝学フォーラム第43回研究報告会 (1件)

• 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会・合同大会 (6件)

• 2011年度日本農芸化学会大会 (3件)

• 第4回日本エピジェネティクス研究会年会 (1件)

• 6th NEB Meeting of DNA Restriction and Modification (2件)

A-3. 国内における学会活動など①

所属学会等 (役割)

- ・喜多恵子：日本農芸化学会（理事）、日本農芸化学会（関西支部評議員）、日本生物工学会（評議員）

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）：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
- ・新学術領域 天然変性タンパク質の分子機構と機能発現 公募：有田 恭平：UHRF1 タンパク質のリン酸化制御による構造機能変換機構の解明
- ・若手研究（A）：有田恭平：タンパク質間相互作用によるエピジェネティクス制御機構の構造生物学的基盤

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）

- ・全学共通科目： 応用生命科学（喜多）
- ・学部： 応用生命科学入門II（喜多）、応用生命科学入門 III（井上）、応用微生物学 I（井上）、応用微生物学II（喜多）、応用微生物学III（井上）、応用微生物学IV（喜多）、生化学実験（井上）
- ・大学院： エネルギー変換細胞学（喜多、井上、有田）、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①

留学生・外国人研修員の受入

- ・留学生：修士課程 1名（中国） 研究生等 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）