

令和元年6月11日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04913

研究課題名(和文) セレンタンパク質生合成における活性型セレン特異的反応の解明

研究課題名(英文) Reactions specific to active selenium species in selenoprotein biosynthesis

研究代表者

三原 久明(Mihara, Hisaaki)

立命館大学・生命科学部・教授

研究者番号：30324693

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：セレンタンパク質の生合成において、チオレドキシン上で形成される活性型セレンの化学形態を突き止め、セレノリン酸シンターゼにセレンが供給される前段階の過程を解明した。異化的金属還元菌 *Geobacter sulfurreducens* に、セレノシステイン残基と5つのヘムを有する新奇亜セレン酸還元酵素を見出し、その諸性質を明らかにした。また、本酵素遺伝子が、菌体表面に形成される元素状セレン粒子の生成に関わることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

必須微量元素の作用は、微量であるがゆえに解析が難しく未開拓な部分が多い。セレンの研究は、他の微量元素(鉄、銅、亜鉛など)に比べると、栄養学的な面と細胞、分子、原子のレベルとの橋渡しが未だ十分になされていない。本研究により、微量元素の体内動態を特徴づける一般則およびセレン代謝制御の特殊性の双方の一端が明らかになったと考えられる。また、セレンの栄養学、病理学の発展への波及効果が期待される。

研究成果の概要(英文)：We identified the chemical structure of active selenium that was formed on the active site of thioredoxin as an intermediate in the process prior to the supply of selenium substrate to selenophosphate synthetase, which is required for selenoprotein biosynthesis. We also found a novel selenite reductase that has a selenocysteine residue and five c-type heme in a dissimilatory metal-reducing bacterium *Geobacter sulfurreducens*. The enzymatic properties of the selenoprotein was investigated. In addition, we showed that a gene encoding the novel selenite reductase is involved in the formation of elemental selenium on the surface of the bacterial cells.

研究分野：生化学、応用微生物学、セレンの生化学

キーワード：セレン セレンタンパク質 セレノシステイン チオレドキシン 亜セレン酸還元酵素 活性型セレン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

カルコゲン(酸素、硫黄、セレン)化合物は一般に反応性が高いため、生体にとっては毒物となりえるが、生物はその進化の過程でカルコゲンの反応性を巧みに利用して生命活動を維持してきた。この内セレンは、毒性が高く生体には微量にしか存在しないが、同族の硫黄、酸素と生体内で厳密に区別され、特定のタンパク質(セレンタンパク質)の特定の位置にセレノシステイン残基の形で取り込まれ、酵素触媒反応において必須の役割を果たす。例えば、哺乳動物のグルタチオンペルオキシダーゼやチオレドキシシンレダクターゼ、細菌のギ酸デヒドロゲナーゼやグリシンレダクターゼの活性中心はセレノシステイン残基である。セレンタンパク質のセレノシステイン残基の生成においては、翻訳後修飾あるいは遊離のセレノシステインが直接取り込まれるのではない。本研究代表者らが解析してきたセレノシステインリアーゼ(SCL)を含む一連のセレン特異的な酵素群による化学変換を受けて、セリル-tRNAからセレノシステイル-tRNAが生成し、共翻訳的にタンパク質に取り込まれる。この取り込みにおいては、特殊な翻訳因子群が介在し、UGAコドン(通常はストップコドン)がセレノシステインとして特異的にデコードされる。複数種のタンパク質がtRNAを含んだ超複合体を形成することでセレン選択的の化学変換およびユニークな翻訳イベントが起こると考えられている。

本研究代表者らは、セレノシステイル-tRNAに至る一連の反応を触媒する酵素群の立体構造と反応機構を明らかにし、共翻訳的挿入過程に関わる新規因子も見出してきた。本研究代表者らによる細菌型および哺乳類型SCLの構造機能解析の他には、化学的見地からの詳細な反応解析および構造生物学的解析は遅れており、セレンを選択的に活性化しセレンタンパク質へと導く化学変換の詳細な機構のほとんどは明らかにされていない。さらについ最近、本研究代表者らはこれまで未開拓であった細菌における亜セレン酸およびセレン酸の還元機構と還元に伴って細胞外に生じる元素態セレン粒子の生成機構の解明に取り組み、外膜小胞(outer membrane vesicle)がセレン粒子の細胞外排出に関与するという全く新しい事象を見出すとともに、新規なセレン酸還元酵素および亜セレン酸還元酵素についても突き止めている。本研究はこれまでの研究成果をさらに発展させ、本質的かつ未開拓なセレン特異的の化学変換におけるタンパク質・酵素群の動態の詳細に迫ろうとするものである。

### 2. 研究の目的

本研究では、セレノリン酸シンターゼの基質である活性型セレンの化学形態を明らかにし、セレノリン酸が生成する反応の詳細を解明する。これに伴い、活性型セレンの供給に関与する未知因子を同定し、その構造機能を明らかにする。また、未だ不明な点が多く残る細菌における無機セレン(亜セレン酸、セレン酸)からセレンタンパク質に至るセレン転移・供給経路および無機セレンからの細胞外セレン粒子生成機構についても焦点を当て、関与する酵素群の同定およびそれらの構造機能の詳細を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 細菌におけるセレンタンパク質生合成系へのセレン供給因子の解析

セレンタンパク質は、21番目のタンパク質構成アミノ酸であるセレノシステインが特異的に挿入されたタンパク質の総称である。セレンタンパク質生合成において必須のセレン供給源となるセレノリン酸は、セレニド( $\text{HSe}^-$ )とATPを基質としてセレノリン酸合成酵素(SeI)により生成される。しかし、反応性の高い $\text{HSe}^-$ は、生理的条件下で非常に不安定であるため、遊離の状態ではなくタンパク質などのセレン供給体に結合した安定な状態でSeIに供給されると考えられている。これまでに、哺乳類における $\text{HSe}^-$ 供給では、チオール基を有するグルタチオンやチオレドキシシン還元酵素(TrxR)などの関与が示唆されている。一方で、細菌における $\text{HSe}^-$ 供給体は明らかにされておらず、そのメカニズムも解明されていない。当研究室ではこれまでに、大腸菌の遺伝子欠損株を用いたスクリーニングにより、チオレドキシシン(TrxA)が $\text{HSe}^-$ 供給体としてセレンタンパク質生合成に関与する可能性を見出した。そこで、 $\text{HSe}^-$ 供給体としてのTrxの機能を解析することでSeIへの基質供給メカニズムの解明を行った。

#### (2) 無機セレンの細胞内代謝経路の同定、および関連因子の解析

グラム陰性偏性嫌気性細菌 *Geobacter sulfurreducens* のゲノム上には111種のc型シトクロム(Cyt c)様タンパク質および9種のセレンタンパク質が認められており、これらが嫌気下でのエネルギー代謝における電子伝達および金属還元に関与していると考えられている。当研究室ではこれまでに、サブユニット当たり5つのヘム結合モチーフと1つのセレノシステイン残基を持つCyt c様セレンタンパク質(MHSEP)が本菌のペリプラズム間隙に局在することを見出してきた。mhsep遺伝子は、10個の遺伝子から成る遺伝子クラスター(gsu2940-gsu2930)内に位置しており、本クラスターには電子伝達に関わるCyt a、Cyt bのホモログやポリリン様タンパク質等の遺伝子が含まれる。そのため、MHSEPはgsu2940-gsu2930にコードされる他のタンパク質と相互に作用することで電子伝達に関与する可能性が考えられた。本研究では、MHSEPの生理的機能を解明するために、gsu2940-gsu2930遺伝子クラスターの転写様式を解析し、mhsep欠損株における各種金属の還元能を調べた。また一方で、*G. sulfurreducens*を宿主としたMHSEPの高発現系を確立し、精製したMHSEPの諸性質を解析した。

## 4. 研究成果

### (1) 細菌におけるセレンタンパク質生合成系へのセレン供給因子の解析

*Pseudomonas* sp. F2a 株由来の TrxA と TrxR を His タグ融合タンパク質として精製した。また、TrxA の活性中心である WCxxC モチーフに変異を導入し、変異型 TrxA (C33A、C36A、および C33A/C36A) を作製した。精製したタンパク質を用いて、亜セレン酸を基質とする還元活性を調べた。野生型では還元活性が示された一方で、変異型では野生型と比較して著しい活性の低下が認められた。また、セレン酸、亜硫酸、チオ硫酸を基質とした還元活性測定では、TrxA は活性を示さなかった。これらの結果から、TrxA は亜セレン酸に特異的な活性を有することが明らかとなり、本反応には Cys33 と Cys36 が必須であることが示された。次に、TrxA の亜セレン酸還元過程における反応中間体の存在および化学形態を調べるために、TrxA と亜セレン酸との反応産物を ESI-MS により解析した。その結果、野生型では、TrxA 単体のピークに加えて、反応中間体と推定されるピーク (TrxA + 97 Da) が検出された。一方で、変異型では C36A のみにセレン単体が結合した反応中間体 (TrxA + 78 Da) と推測されるピークが検出された。これらの結果から、野生型では活性中心の二つの Cys 残基にセレン (79.0 Da) と酸素 (16.0 Da) が結合した反応中間体を形成していることが示唆された。さらに、亜セレン酸と反応させた TrxA の酸化還元状態を調べるために、チオール修飾剤を利用したゲルシフトアッセイを行った。その結果、亜セレン酸との反応により、TrxA の活性中心である二つの Cys 残基がチオール修飾に対し不活化されていることが示された。以上の結果より、TrxA と亜セレン酸の反応では、まず Cys33 が亜セレン酸を攻撃し、次に Cys36 が Cys33 に結合したセレンに特異的に攻撃し、図に示す TrxA-S<sub>2</sub>Se=O 中間体を介して SeI<sub>D</sub> へと HSe<sup>-</sup> を供給する可能性が示唆された。

### (2) 無機セレンの細胞内代謝経路の同定、および関連因子の解析

*G. sulfurreducens* 野生株からトータル RNA を抽出し、*gsu2940-gsu2930* の各遺伝子に特異的なプライマーを用いた RT-PCR により mRNA を解析した。その結果、本クラスター上の 10 個の遺伝子は、ひと連りの mRNA 鎖として転写されており、*gsu2940-gsu2930* はオペロンを形成していることが明らかとなった。また、*mhsep* 遺伝子内部にカナマイシン耐性遺伝子を挿入した *mhsep* 遺伝子破壊断片を構築し、本遺伝子破壊断片を *G. sulfurreducens* 野生株に導入することで *mhsep* 欠損株を作製した。MHSEP の欠損が金属還元能に与える影響を調べるために、最終電子受容体となる物質を添加した培地にて両菌株を培養し、それぞれの還元能を比較した。その結果、フマル酸やクエン酸鉄の還元能は、両菌株間で有意な差は認められなかった。一方で、*mhsep* 欠損株における亜テルル酸の還元能は野生株に比べて大きく低下しており、MHSEP が亜テルル酸の還元に関与していることが示唆された。また、亜テルル酸還元における電子伝達経路を特定するために呼吸鎖阻害剤を用いて呼吸鎖系タンパク質・キノンの関与を調べた。その結果、本菌の亜テルル酸還元には ATP 合成酵素、Cyt *b/c* 複合体およびキノンプールが関与することが示唆された。さらに、MHSEP の諸性質を解析するために、MHSEP の精製を試みた。セレンタンパク質である MHSEP の生合成には特異的な翻訳伸長因子を必要とするため、大腸菌を用いた発現系は機能せず、また *G. sulfurreducens* からの精製も困難であった。そこで、*mhsep* 遺伝子を挿入したプラスミドを構築し、*mhsep* 欠損株に導入することで MHSEP 高発現株を作製し、Strep-tag 融合タンパク質として MHSEP を精製した。本精製酵素の酸化還元スペクトルを測定した結果、Cyt *c* 特有のピークが検出され、本精製 MHSEP はヘム *c* を保持していることが確認された。

MHSEP のアミノ酸配列を用いて、BLASTP 検索及び Pfam 検索を行なった。その結果、MHSEP のホモログは *Geobacter* 属と一部の脱硫黄細菌にのみ存在し、硝酸・亜硝酸還元酵素と類似のドメイン (NapC/NirT cytochrome *c* family, N-terminal region) が保存されていることが明らかとなり、MHSEP は亜セレン酸・亜テルル酸の還元酵素である可能性が示唆された。*mhsep* 遺伝子に Strep-tag 遺伝子を連結した *mhsep* 発現用ベクターを *G. sulfurreducens* の *mhsep* 欠損株に導入することで MHSEP のリコンビナント発現系を構築した。Strep-tag を利用して精製した MHSEP の紫外可視吸収スペクトルを解析した。その結果、ジチオナイト存在下で、還元型 *c* 型シクロムに特有の吸収ピークが検出され、本精製 MHSEP がヘム *c* を保持していることが示された。また、MHSEP は、還元型メチルピオロゲン電子供与体とした亜セレン酸の還元反応を触媒することを見出した。MHSEP の基質特異性を明らかにするために、硝酸、亜硝酸、硫酸、亜硫酸、テルル酸、セレン酸に対する還元活性を測定した。その結果、いずれも活性が認められなかったことから、MHSEP は亜セレン酸を特異的な基質とする亜セレン酸還元酵素であることが分かった。また、本酵素の温度依存性、pH 依存性、および温度安定性を解析し、最適反応条件を明らかにした。さらに、MHSEP の Sec をシステインまたはアラニンに置換した変異型 MHSEP を作製し、亜セレン酸に対する還元活性を測定した。その結果、どちらの変異型 MHSEP においても亜セレン酸の還元活性は認められず、MHSEP の活性には Sec が必須であることが示された。以上の結果から、本酵素はこれまで報告の無いヘム含有セレンタンパク質型の全く新しい亜セレン酸還元酵素であることが明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

1. Tobe, R., and Mihara, H. (2018) Delivery of selenium to selenophosphate synthetase

- for selenoprotein biosynthesis. *Biochim Biophys Acta* **1862**, 2433-2440, 査読有, 10.1016/j.bbagen.2018.05.023
2. Jahan, M. I., Tobe, R., and Mihara, H. (2018) Characterization of a novel porin-like protein, ExtI, from *Geobacter sulfurreducens* and its implication in the reduction of selenite and tellurite. *Int J Mol Sci* **19**, 809, 査読有, 10.3390/ijms19030809
3. 三原久明. (2018) 毒か? 栄養素か? 必須微量元素セレンの生物学. *海洋科学研究* **31**, 95-100, 査読有
4. 戸部隆太., and 三原久明. (2017) 鉄硫黄クラスターおよびセレンタンパク質生合成とその分子機構. *硫酸と工業* **70**, 23-28, 査読有
5. Tobe, R., Koga, H., Tani, Y., Tajima, H., Tsuji, A., and Mihara, H. (2017) Identification of selenomethionine, selenocysteine, and Se-methylselenocysteine in the selenium-enriched common ice plant. *Biomed. Res. Trace Elem.* **28**, 135-142, 査読有 10.11299/brte.28.135
6. Imai, T., Kurihara, T., Esaki, N., and Mihara, H. (2017) Selective fluorescence detection method for selenide and selenol using monochlorobimane. *Anal Biochem* **532**, 1-8, 査読有, 10.1016/j.ab.2017.05.023
7. Tobe, R., Tani, Y., Kataoka, M., Yamashita, Y., and Mihara, H. (2016) Relationship between the synthesis of glycosphingolipids and phospholipids and mycelial growth in *Neurospora crassa*. *Trace Nutr. Res.* **33**, 13-20, 査読有
8. Kamada, S., Okugochi, T., Asano, K., Tobe, R., Mihara, H., Nemoto, M., Inagaki, K., and Tamura, T. (2016) A non-radioactive assay for selenophosphate synthetase activity using recombinant pyruvate pyrophosphate dikinase from *Thermus thermophilus* HB8. *Biosci Biotechnol Biochem* **80**, 1970-1972, 査読有, 10.1080/09168451.2016.1200458

[学会発表](計 41 件)

1. Tobe, R., Shimizu, A., Hagita, S., Ogawa, T., Hirose, Y., Prakash, N. T., Kurihara, T., and Mihara, H. Functional analysis of thioredoxin in selenium delivery in bacteria. The 7th International Selenium Conference (Se2018), 2018
2. Mihara, H., Jinno, M., Shimamoto, N., Jahan, M. I., Yamane, Y., Kawakami, M., Ishido, Y., and Tobe, R. Selenium metabolism in *Geobacter sulfurreducens*. The 7th International Selenium Conference (Se2018), Doshisha Biwako Retreat Center, 2018
3. Jahan, M. I., Tobe, R., and Mihara, H. Functional analysis of a novel porin-like protein, ExtI, from *Geobacter sulfurreducens* and its implication in selenite and tellurite reduction. The 7th International Selenium Conference (Se2018), 2018
4. 戸部隆太., Jahan, M. I., and 三原久明. *Geobacter sulfurreducens* の新規ポリリン様タンパク質の機能解析. 第 91 回日本生化学会大会, 2018 年
5. Mihara, H., Jahan, M. I., Jinno, M., Shimamoto, N., Matsuzaki, Y., Izu, Y., and Tobe, R. Selenite reduction in the dissimilatory metal-reducing bacterium *Geobacter sulfurreducens*. 12th International Congress of Extremophiles (Extremophiles 2018), 2018
6. Tobe, R., Kuzuno, Y., Ikuta, H., Watanabe, I., Kawamoto, J., Kurihara, T., Hirose, Y., Prakash, N. T., and Mihara, H. Reduction of toxic chalcogen oxyanions, selenite and tellurate, by *Bacillus* sp. NTP-1 isolated from a seleniferous soil. 12th International Congress of Extremophiles (Extremophiles 2018), 2018
7. Kuzuno, Y., Ikuta, H., Tobe, R., Hirose, Y., Prakash, N. T., and Mihara, H. Biochemical characterization of novel tellurate reductases in *Bacillus* sp. NTP-1. 12th International Congress of Extremophiles (Extremophiles 2018), 2018
8. 戸部隆太., 渡邊樹, 生田帆河, 川本純, 今井友也, Prakash, N. T., 栗原達夫, and 三原久明. カルコゲンオキシアニオン還元菌 *Bacillus* sp. NTP-1 株におけるテルル酸還元酵素の解析. 酵素補酵素研究会 2018, 2018
9. 戸部隆太., Jahan, M. I., and 三原久明. *Geobacter sulfurreducens* の新規ポリリン様タンパク質 ExtI の解析. 第 29 回日本微量元素学会学術集会, 2018
10. 葛野侑香, 生田帆河, 戸部隆太., 広瀬侑, Prakash, N. T., and 三原久明. 新規テルル酸還元酵素の *Bacillus* 属細菌における分布とその生化学的諸性質. 第 29 回日本微量元素学会学術集会, 2018
11. Jahan, M. I., Tobe, R., and Mihara, H. Characterization of a novel porin-like protein, ExtI, from *Geobacter sulfurreducens* 第 35 回日本微量栄養学会学術集会, 2018
12. 三原久明., and 戸部隆太. 細菌におけるセレン代謝機構. 日本薬学会第 138 年会, 2018
13. 葛野侑香, 生田帆河, 西田亮, 戸部隆太., 広瀬侑, Prakash, N. T., and 三原久明. *Bacillus* sp. NTP-1 株における新規テルル酸還元酵素の同定とその機能解析. 日本農芸化学会 2018 年度大会, 2018
14. 戸部隆太., 神農美希, 伊豆由記子, 眞本奈々, and 三原久明. *Geobacter sulfurreducens* 由来の新奇マルチヘム含有セレンタンパク質の解析. 日本農芸化学会 2018 年度大会, 2018

15. 清水敦貴, 桐山海斗, 波北悟, 戸部隆太, 田村隆, 小川拓哉, 栗原達夫, Prakash, N. T., and 三原久明. チオレドキシンによるセレノリン酸合成酵素へのセレニド供給メカニズム. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 2017
16. 葛野侑香, 生田帆河, 西田亮, 戸部隆太, 広瀬侑, Prakash, N. T., and 三原久明. *Bacillus* sp. NTP-1 株におけるテルル酸還元酵素の同定. 第 5 回メタロミクス研究フォーラム, 2017
17. 三原久明. カルコゲンオキシアニオン還元に関わる新奇セレンタンパク質. 阪大蛋白研セミナー, 2017
18. 三原久明, 戸部隆太, 神農美希, 畠本奈々, 松寄佑樹, Jahan, M. I., 山根祥伸, and Kadiri, O. H. *Geobacter sulfurreducens* の亜セレン酸・亜テルル酸還元に関与するオペロンの解析. 特殊環境微生物セミナー 2017, 2017
19. 戸部隆太, 西田亮, 生田帆河, 葛野侑香, 森聡美, 安間友香理, 広瀬侑, Prakash, N. T., and 三原久明. 細菌におけるテルル酸還元酵素の解析. 特殊環境微生物セミナー 2017, 2017
20. 清水敦貴, 桐山海斗, 波北悟, 戸部隆太, 田村隆, 小川拓哉, 栗原達夫, Prakash, N. T., and 三原久明. 細菌におけるセレンタンパク質生合成系へのセレン供給メカニズムの解明. 日本生物高分子学会 2017 年度大会, 2017
21. 谷川友音, 山下泰典, 戸部隆太, 谷泰史, and 三原久明. *Neurospora crassa* のフィットセラミド型中性スフィンゴ糖脂質糖転移酵素の糖結合部位の解析. 日本生物高分子学会 2017 年度大会, 2017
22. 戸部隆太, 名田イサナ, 田島寛隆, 広瀬侑, 今井友也, Prakash, N. T., and 三原久明. *Cellulomonas* sp. D3a 株におけるカルコゲンオキシアニオン還元機構の解析. 環境微生物系学会合同大会 2017, 2017
23. 葛野侑香, 生田帆河, 西田亮, 戸部隆太, 広瀬侑, Prakash, N. T., and 三原久明. *Bacillus* sp. NTP-1 株における新規テルル酸還元酵素の同定とその機能解析. 環境微生物系学会合同大会 2017, 2017
24. Mihara, H., Jinno, M., Shimamoto, N., Matsuzaki, Y., Jahan, M. I., Yamane, Y., Tobe, R., and Kadiri, O. H. A novel operon involved in selenite reduction in *Geobacter sulfurreducens*. Se2017 (The 11th International Symposium on Selenium in Biology and Medicine and The 5th International Conference on Selenium in the Environment and Human Health, 2017
25. Tobe, R., Shimizu, A., Hagita, S., Tamura, T., Ogawa, T., Kiriya, K., Kurihara, T., Prakash, N. T., and Mihara, H. Delivery of selenide to selenophosphate synthetase for selenoprotein biosynthesis in bacteria. Se2017 (The 11th International Symposium on Selenium in Biology and Medicine and The 5th International Conference on Selenium in the Environment and Human Health, 2017
26. 戸部隆太, and 三原久明. 細菌におけるセレン化合物の代謝とセレンタンパク質生合成. 第 28 回日本微量元素学会学術集会, 2017
27. 森聡美, 西田亮, 安間友香理, 田島寛隆, 戸部隆太, and 三原久明. 大腸菌におけるテルル酸・セレン酸還元関連遺伝子の同定. 第 34 回日本微量栄養学会学術集会, 2017
28. 葛野侑香, 生田帆河, 西田亮, 戸部隆太, 広瀬侑, Prakash, N. T., and 三原久明. *Bacillus* sp. NTP-1 株のテルル酸還元酵素の同定とその機能解析. 日本ビタミン学会第 69 回大会, 2017
29. 戸部隆太, 神農美希, 畠本奈々, and 三原久明. *Geobacter sulfurreducens* が有するマルチヘム含有セレンタンパク質の精製と機能解析. 日本農芸化学会 2017 年度大会, 2017
30. Jahan, M. I., Tobe, R., Kawamoto, J., Kurihara, T., and Mihara, H. In vitro and in vivo analyses of a putative outer membrane channel protein, GSU2939, of the metal-reducing bacterium *Geobacter sulfurreducens*. 日本農芸化学会 2017 年度大会, 2017
31. 三原久明, 戸部隆太, 葛野侑香, 森聡美, 生田帆河, 神農美希, Jahan, M. I., Kadiri, O. H., 清水敦貴, 桐山海斗, Ahmed, A. M. F., 伊豆由記子, 川本純, 栗原達夫, 今井友也, 広瀬侑, Prakash, N. T., and 江崎信芳. 細菌のカルコゲンオキシアニオン還元. 四私大合同生命科学シンポジウム, 2017
32. Tobe, R., Shimizu, A., Hagita, S., Prakash, N. T., and Mihara, H. Selenium delivery system for selenophosphate synthetase in bacteria. The 6th International Selenium Conference (2016), 2016
33. Mihara, H., Jinno, M., Shimamoto, N., and Tobe, R. Unique multi-heme-containing selenoprotein from the metal-reducing bacterium *Geobacter sulfurreducens*. The 6th International Selenium Conference (2016), 2016
34. 三原久明. 鉄硫黄クラスターの生合成解析手法および生合成酵素利用法の開発. 第 89 回日本生化学会大会, 2016
35. 清水敦貴, 波北悟, 戸部隆太, 広瀬侑, Prakash, N. T., and 三原久明. 亜セレン酸還元菌 *Pseudomonas* sp. F2a のチオレドキシンホモログの機能解析. 第 89 回日本生化学会大会,

2016

36. Jahan, M. I., Tobe, R., and Mihara, H. Characterization of a putative porin of the metal-reducing bacterium *Geobacter sulfurreducens*. 11th International Congress on Extremophiles, 2016
37. Jinno, M., Shimamoto, N., Sugiyama, S., Matsuzaki, Y., Tani, Y., Saito, S., Tobe, R., and Mihara, H. Characterization of a unique multiheme-containing selenoprotein from a Gram-negative metal-reducing bacterium, *Geobacter sulfurreducens*. The Fifth International Conference on Cofactors & Active Enzyme Molecule 2016, 2016
38. Tobe, R., Kataura, M., Nakao, R., and Mihara, H. Purification and characterization of D-cysteine desulphydrase from Gram-positive bacterium *Clostridium sticklandii*. The Fifth International Conference on Cofactors & Active Enzyme Molecule 2016, 2016
39. 戸部隆太, 清水敦貴, 波北悟, Prakash, N. T., and 三原久明. セレンタンパク質生合成系におけるセレン供給体の解明. 第27回日本微量元素学会学術集会, 2016
40. Tobe, R., Hirose, Y., Nada, I., Saito, S., Tajima, H., Prakash, N. T., and Mihara, H. Characterization and genome analysis of *Cellulomonas* sp. D3a, a selenium and tellurium oxyanions-reducing bacterium. The 13th International Conference on the Chemistry of Selenium and Tellurium, 2016
41. Mihara, H., and Tobe, R. Reduction of selenium/tellurium in bacteria. The 13th International Conference on the Chemistry of Selenium and Tellurium, 2016

〔図書〕(計 2件)

1. Staicu, L. C., Oremland, R. S., Tobe, R., and Mihara, H. (2017) Bacteria versus selenium: A view from the inside out. in *Selenium in Plants* (Pilon-Smits, E. A. H., Winkel, L. H. E., and Lin, Z.-Q. eds.), Springer, Cham, pp 79-108
2. Mihara, H., Tobe, R., and Esaki, N. (2016) Mechanism, structure, and biological role of selenocysteine lyase. in *Selenium: Its Molecular Biology and Role in Human and Health 4th Ed.* (Hatfield, D. L., Schweizer, U., Tsuji, P., and Gladyshev, V. N. eds.), Springer, New York. pp 113-123

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：戸部 隆太

ローマ字氏名：(Ryuta Tobe)

所属研究機関名：立命館大学

部局名：生命科学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：00758823

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。