

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02404

研究課題名(和文) 大腸菌膜内切断プロテアーゼ RsePの生理機能と特異的基質切断機構

研究課題名(英文) Physiological functions and selective substrate-cleavage mechanism of *E. coli* intramembrane protease RseP

研究代表者

秋山 芳展 (Akiyama, Yoshinori)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授

研究者番号：10192460

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：研究成果の概要(和文)：大腸菌RsePは、S2Pファミリーに属する膜内切断プロテアーゼあり、大腸菌 E経路 表層ストレス応答における膜越えたシグナル伝達やシグナルペプチドの分解除去等により、細胞表層機能の維持に必須の役割を果たす。本研究では、スクリーニングによりRsePの新規基質同定し、その切断の意義を明らかにした。また、in vitro で定量的にRseP活性を解析しうるアッセイシステムの構築を行った。これらの成果は、RsePの細胞機能と作用機序を明らかにする為に貢献するものと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、申請者ら独自の発見・研究成果を直接踏まえ展開するもので、BepA機能解明を通じて、大腸菌等グラム陰性細菌の外膜形成・維持機構のみならず、protease制御機構に新たな知見を供し、基礎から応用まで広くインパクトを与えるだろう。本研究は、新奇発見に基づくアプローチによる独創性と、独自の成果を統合・発展させる着実性の、両面を兼ね備えたものである。

研究成果の概要(英文)：Intramembrane cleaving proteases (I-CLiPs) are known to act in a variety of important cellular processes in diverse organisms. RseP, an *Escherichia coli* S2P family intramembrane cleaving protease, is involved in the regulation of the sigma E pathway extracytoplasmic stress response and membrane quality control through specific cleavage of substrates within the lipid bilayer. We have identified novel substrates of RseP and analyzed the physiological significance of their RseP-dependent cleavage. Also, we tried to construct an in vitro assay system that enables quantitative analysis of the RseP activity. These results would contribute to the elucidation of the cellular roles of and the mechanism underlying proteolysis by RseP.

研究分野：分子生物学

キーワード：膜内切断プロテアーゼ 大腸菌 切断基質

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

「制御された膜内部でのタンパク質切断 (RIP: Regulated Intramembrane Proteolysis)」は、膜タンパク質分解の新たな様式であり、膜タンパク質機能調節や膜を越えたシグナル伝達に働くが、基質の特異的な認識・切断やその調節機構は不明の点が多い。

本研究で対象とした大腸菌 RseP は、S2P ファミリーに属する膜内切断プロテアーゼである。S2P protease は、真核細胞の脂質代謝や、細菌の環境応答・病原性発現等多様なプロセスに関わり、その機能欠損は疾病の原因となる。細菌では、環境変化により生じる表層ストレスに応答して、種々の遺伝子の発現が誘導される。この「表層ストレス応答」は、環境変化への適応に重要である。我々はこれまでに、RseP が大腸菌 σ^E 経路表層ストレス応答における膜越えたシグナル伝達に必須の役割を果たすことを明らかにした。 σ^E 表層ストレス応答は膜タンパク質 RseA の 2 段階切断により誘導される。膜プロテアーゼ DegS は「ストレスセンサー」として表層ストレスを感知して活性化し、RseA のペリプラズム領域を切断する。これが引き金となり、RseP が RseA を膜内部でさらに切断し、最終的にストレス応答転写因子 σ^E が膜から遊離して機能する。RseP は、全長の (DegS による切断を受けていない) RseA は切断をしないよう抑制する負の制御を受けている。RseP の負の制御は、DegS センサーに依存した σ^E の活性化に重要である。RseP は 2 つの PDZ ドメイン (PDZ タンデム) を持つ。PDZ ドメインは、一般にタンパク質相互作用に関わる機能モジュールである。我々は、変異解析等から、RseP の負の制御に PDZ タンデムが関与することを示した。さらに、PDZ タンデムの構造及び機能解析から、PDZ タンデムが「サイズ排除フィルター」として働くことで、大きなペリプラズム領域を持つ膜タンパク質が RseP 活性部位へアクセスすること妨げること、これが RseA 分解中間体のみを切断する「基質特異性」を RseP に付与することを示した。また、RseP が分泌タンパク質のシグナル配列 (SP) の分解にも働くことを見出したが、この場合もペリプラズム側の分泌タンパク質本体が SP から切り離されることが、SP の分解には必要である。このように、PDZ タンデムは、RseP による選択的基質切断に働き、RseP の負の制御によるストレスに依存した σ^E の活性化に寄与する。この PDZ タンデムによる基質選別に加え、RseP の細胞質側「GFG 領域」と「MRE β -loop 領域」5)、及び「3 番目の膜貫通領域(TM3)」は、基質と順次相互作用して特異的認識に関わり、中でも MRE β -loop は、基質 TM に結合して構造変化を誘起し、膜内部の protease 活性部位へと提示すると推測される。

上記の様に、RseP の基質として、RseA や SP が同定されているが、それ以外の基質は殆ど分かっていない。RseP は通常の細胞の生存に必須であるが、これは RseA の切断を介した転写因子 σ^E の活性化が必要であるためと考えられてきた。しかしながら申請者らは、特定の条件下 (内在性 toxin の活性化) では、 σ^E は生存に必須ではない事を見出し、その一方、予想外にも、そのような条件下でも RseP は欠損できず細胞の生存に必須であることから、RseP の基質は他にも存在し、その切断が細胞機能に重要な役割を果たすことが強く推定された (未発表)。

2. 研究の目的

我々は、これまでに、RseP がストレス応答における膜を超えたシグナル伝達や膜の品質管理にキーとなる役割を果たすことを明らかにした。予備的結果から RseP には未同定の基質が存在し、これまで知られていない生育に必須の細胞機能を持つこと強く推定される。また、RseP による特異的な基質認識機構の研究を進め、多段階での基質選別 (認識) 機構が存在することを示唆してきた。しかしながら基質の特異的な認識・切断がどのように実現されているのか、分子機構の詳細は不明である。これを明らかにする為には、さらなる基質の同定を行い、その切断機構を比較解析する必要がある。また、それらは RseP の未知の生理機能への手掛かりを与えるものと期待される。本研究では以下の項目を具体的な目的とした。(1) 小分子膜タンパク質(SMP; small membrane protein) に注目し、系統的なスクリーニングにより RseP の新たな基質を同定し、その切断が細胞機能調整に果たす役割を解明する。また、網羅的探索により新規の RseP 基質を同定し、その切断の意義を明らかにする。(2) *in vitro* 解析系を構築して、速度論的解析により RseP の特異的基質 TM 認識・相互作用の分子的基盤を解明するとともに、阻害剤の検索と作用機序の解析を行う。

3. 研究の方法

(1) RseP の新規基質の同定と解析

大腸菌には、3-10 kDa 程度の SMP (TM を 1 つ持つ) が 50 個以上存在し、様々な機能を持つ (下記参照) が、機能の不明なものも多い。SMP は、大きなペリプラズム領域を持たず、我々が RseP の分解基質として見出したシグナルペプチド(SP)と構造が類似しており、直接 RseP による切断を受ける可能性がある。SP 切断の解析に用いて成功した手法を適用し、全ての SMP について、N 末端に HA-MBP (maltose binding protein) ドメインを付加した派生体を作製・発現し、*in vivo* での RseP 依存的切断を解析する (HA-MBP の付加は基質切断に影響しない)。研究開始までに予備的なスクリーニングを開始しており、抗生物質耐性に関わる Blr や programmed cell death

に関わる Hok、2 成分系調節因子 SafA 等複数の SMP が、RseP による切断を受けることを見出している。

RseP の基質候補 SMP について、小さな HA/Myc/PA タグ等を付加した派生体を作製して、また、特異抗体を作製し用いることで、*in vivo* で RseP による native な SMP の切断を確認する。*in vivo* での検出が難しい SMP に関しては、PURE システム等の *in vitro* 翻訳系で合成した³⁵S-Met 標識 SMP を下記の *in vitro* 解析系を用いて調べる。

同定した基質 SMP の切断を種々の条件で調べ、また、該当 SMP 遺伝子の破壊株や過剰生産株を作製し表現型を解析する。さらに、下記解析で明らかにする各 SMP TM の「affinity や切断されやすさ」と細胞機能の関係を調べる。これらにより、SMP 生理機能と RseP による切断の意義・制御機構等を明らかにする。

マスマスペクトロメトリを用いた網羅的な RseP 基質の探索と、同定した基質の RseP による切断の意義を明らかにする。

(2) RseP による基質認識・切断機能の *in vitro* 解析系の構築

これまで高純度の RseP や基質を大量に調製することが困難だった。研究協力者(禾晃和博士) は特異性の高い PA タグを用いた精製によりこれを可能にした。タグの付加位置や精製法を検討・改良し、高純度の RseP を大量に調整する。基質切断反応の速度論的解析に用いるため、モデル基質 RseA の TM 領域を持つペプチドを合成する。ペプチド内の基質切断部位を挟んだ適切な位置に、高感度の FRET ペアとなる蛍光基を導入し、FRET を利用して切断をリアルタイムで簡便に測定できる。detergent や塩の種類濃度・反応温度・脂質の添加等反応条件を検討し、高効率の基質切断条件を決定する。上記以外の FRET ペアや蛍光試薬の挿入位置についても種々検討し、最適なものを用いる。

4. 研究成果

(1) 我々は SMP のスクリーニングを進め、計 13 種の SMP (N 末端 HA_MBP 融合体) が RseP により *in vivo* で切断されうることを見出した。SMP に付加するタグをより低分子の HA タグに変更し、本来の SMP に近い状態での RseP に依存した切断を検証した。SDS-PAGE システムの検討や³⁵S-Met 標識タンパク質を用いた高感度の検出系の改良により、*in vivo* において 5 種の HA-SMP を分離・検出する系を構築した。しかしながら細胞中での RseP 非依存的な SMP の分解等により RseP 依存的な切断の定量的解析は困難と判断し、*in vitro* での SMP の切断アッセイ系の構築を試みた。まず、無細胞タンパク質合成系 PURE システムを用いて既存のモデル基質 HA-MBP-RseA148 が合成できることを確認し、さらに精製した RseP と混合して反応させることで RseP のプロテアーゼ活性に依存した基質切断を検出する系を構築した。次に幾つかの SMP に対し合成系の条件検討を行い、³⁵S-Met 標識時のシグナル増強のためにヘキサメチオニンタグを付加した HA-Met₆-SMP を用いることで、*in vitro* 合成した SMP を明確に検出できることを確認した。合成した SMP 基質と精製 RseP を用いて切断アッセイを試み幾つかについて RseP の活性依存的に切断断片が生成されることを確認した。本研究を通して、SMP のような極めて分子量の小さい膜タンパク質を検出・解析する系を構築した。また一部の SMP については *in vitro* においてより本来の状態に近い形で RseP のプロテアーゼ活性に依存した切断を検出することに成功した。

RseP の新奇基質候補として見出された SMP の一つである HokB に注目し、解析を進めている。HokB は一型 Toxin-antitoxin system を構成する内在性 toxin の一つであり、膜で多量体化することで小孔を形成する。この小孔は細胞内の ATP を細胞外に流出させるため、細胞は生理機能が低下し休眠状態となる。このようにして HokB の発現により休眠状態となった細胞は抗生物質に曝されても高い生存率を保つ「persister」となることが近年報告された。そこで我々は、RseP が HokB の切断を介して細胞の persister 化に関与している可能性について検討した。*in vivo* において HokB の発現誘導に伴う HokB の動態と ATP の細胞外流出量を調べたところ、RseP のプロテアーゼ活性依存的に HokB は切断され、ATP 流出量も低下することを見出した。また、HokB のホモログであり、同様に RseP の新奇基質候補として見出された HokE は、過剰発現させると菌の生育阻害を引き起こすが、RseP を共発現させるとプロテアーゼ活性依存的に生育阻害効果が抑制され、同時に HokE が切断されていることも見出した。以上の結果は、RseP がプロテアーゼ活性依存的に Hok toxin の機能を抑制しうることを示しており、RseP が HokB の誘導する persister 化において負の制御に働く可能性を示唆する (Fig. 1 右)。

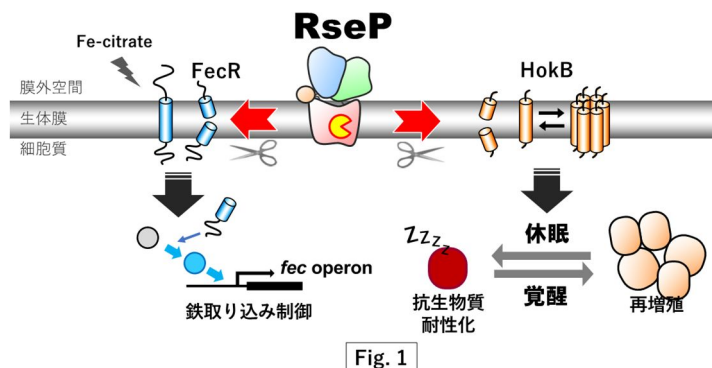


Fig. 1

RseP の新たな生理基質・機能の同定を目的として、野生型及び活性変異型の RseP を過剰発現

した細胞の膜画分からタンパク質を抽出し、定量プロテオーム解析によってその蓄積量を比較した。その結果、鉄クエン酸錯体の細胞内への取り込みに関わる Fec システムを構成するタンパク質群の蓄積量が、RseP 機能不全により低下することを見出した。これを元に、RseP が Fec システム因子をコードする Fec 遺伝子群の転写活性化に必須であることを明らかにした。さらに、Fec 遺伝子群の転写を調節する Type II 一回膜貫通タンパク質 FecR に注目し、FecR とそのモデル基質を用いた解析から、RseP が FecR を切断すること、その切断断片が Fec 遺伝子群の転写を誘導することを見出した (Fig. 1 左)。以上の結果は、RseP が FecR の切断を介して Fec 遺伝子群の発現を調節し、大腸菌の鉄取り込み制御に関与することを示唆する。大腸菌 Fec システムは牛の乳房炎の感染・発症に関与することが報告されており、本成果はそのメカニズムの解明や治療に貢献することが期待される。

(2) RseP 酵素活性の詳細な解析を行うために、PA タグを用いて RseP を精製し、また、RseA タンパク質(基質)の膜貫通配列を元にした蛍光標識モデル基質を複数合成した。これらは標識した 2 種類の蛍光基間の FRET を指標として、切断を定量的にアッセイできるものと期待された。これらモデル基質の RseP による切断を検討し、少なくともその一つでは、効率よく切断が起こり、RseP 依存的な切断をリアルタイムで追跡できることが分かった。

(3) 当初の研究計画に加えて、RseP 機能の解析の一環として RseP のペプタズム PCT-H1 領域 (PDZ ドメインの C 末端側に存在) の役割を解析し、この領域が切断基質の選択に関与するペリプラズム PDZ ドメインと膜プロテアーゼドメインの間に位置してアダプターとなり、両ドメインの機能連携や基質認識に働くことを示した (Fig. 2)。

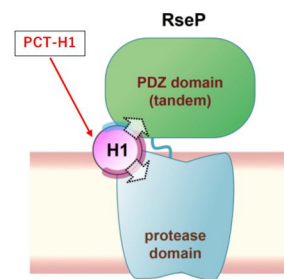


Fig. 2

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Daimon Yasushi, Narita Shin-ichiro, Miyazaki Ryoji, Hizukuri Yohei, Mori Hiroyuki, Tanaka Yoshiaki, Tsukazaki Tomoya, Akiyama Yoshinori	4. 巻 117
2. 論文標題 Reversible autoinhibitory regulation of Escherichia coli metalloprotease BepA for selective barrel protein degradation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences, USA	6. 最初と最後の頁 27989 ~ 27996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2010301117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miyake Takuya, Hizukuri Yohei, Akiyama Yoshinori	4. 巻 11
2. 論文標題 Involvement of a Membrane-Bound Amphiphilic Helix in Substrate Discrimination and Binding by an Escherichia coli S2P Peptidase RseP	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 607381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2020.607381	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyazaki Ryoji, Akiyama Yoshinori, Mori Hiroyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Fine interaction profiling of VemP and mechanisms responsible for its translocation-coupled arrest-cancelation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e62623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.62623	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tamura-Sakaguchi, R., Aruga, R., Hirose, M., Ekimoto, T., Miyake, T., Hizukuri, Y., Oi, R., Kaneko, M. M., Kato, Y., Akiyama, Y., Ikeguchi, M., Iwasaki, K., and Nogi, T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Moving toward generalizable NZ-1 labeling for 3D structure determination with optimized epitope tag insertion.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Crystallogr. D	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yokoyama, T., Niinae, T., Tsumagari, K., Imami, K., Ishihama, Y., Hizukuri, Y., and Akiyama, Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Escherichia coli S2P family intramembrane protease RseP is engaged in the regulated sequential cleavages of FecR in the ferric citrate signaling.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshitani, K., Hizukuri, Y., and Akiyama, Y.	4. 巻 593
2. 論文標題 An in vivo protease activity assay for investigating the functions of the Escherichia coli membrane protease HtpX.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Lett.	6. 最初と最後の頁 843-851
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13368.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshitani, K., Ishii, E., Taniguchi, K., Sugimoto, H., Shiro, Y., Akiyama, Y., Kato, A., Utsumi, R., and Eguchi, Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of an internal cavity in the PhoQ sensor domain for PhoQ activity and SafA-mediated control.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biosci. Biotechnol. Biochem.	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2018.1562879.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 秋山芳展	4. 巻 33
2. 論文標題 大腸菌表層ストレス応答：インプットとアウトプットに働くプロテアーゼの機能	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IFO Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 217-220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shahrizal Mohammad, Daimon Yasushi, Tanaka Yoshiki, Hayashi Yugo, Nakayama Shintaro, Iwaki Shigehiro, Narita Shin-ichiro, Kamikubo Hironari, Akiyama Yoshinori, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 431
2. 論文標題 Structural Basis for the Function of the α -Barrel Assembly-Enhancing Protease BepA	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 625 ~ 635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2018.11.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yura Takashi, Miyazaki Ryoji, Fujiwara Keigo, Ito Koreaki, Chiba Shinobu, Mori Hiroyuki, Akiyama Yoshinori	4. 巻 93
2. 論文標題 Heat shock transcription factor σ^{32} defective in membrane transport can be suppressed by transposon insertion into genes encoding a restriction enzyme subunit or a putative autotransporter in <i>Escherichia coli</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes & Genetic Systems	6. 最初と最後の頁 229 ~ 235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1266/ggs.18-00040	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mori Hiroyuki, Sakashita Sohei, Ito Jun, Ishii Eiji, Akiyama Yoshinori	4. 巻 293
2. 論文標題 Identification and characterization of a translation arrest motif in VemP by systematic mutational analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 2915 ~ 2926
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M117.816561	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Ryoji, Myougo Naomi, Mori Hiroyuki, Akiyama Yoshinori	4. 巻 293
2. 論文標題 A photo-cross-linking approach to monitor folding and assembly of newly synthesized proteins in a living cell	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 677 ~ 686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M117.817270	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Ryoji, Akiyama Yoshinori, Mori Hiroyuki	4. 巻 1864
2. 論文標題 A photo-cross-linking approach to monitor protein dynamics in living cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129317 ~ 129317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.03.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 MIYAZAKI Ryoji, MORI Hiroyuki, AKIYAMA Yoshinori	4. 巻 61
2. 論文標題 PiXie Analysis for Monitoring Dynamic Protein Interaction and Folding in a Living Cell	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Seibutsu Butsuri	6. 最初と最後の頁 036 ~ 039
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.61.036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 石井英治、秋山芳展、森 博幸
2. 発表標題 新生ポリペプチド鎖依存的な膜局在化によるmRNA分解促進
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮崎亮次、吉谷亘平、森 博幸、秋山芳展
2. 発表標題 菌の外膜生合成と品質管理に関わる2機能性プロテアーゼBepAの基質認識機構
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 檜作洋平、横山 達彦、秋山芳展
2. 発表標題 大腸菌膜内切断プロテアーゼRsePを介したTA systemの制御：細胞休眠・覚醒における意義
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横山達彦、新苗智也、津曲和哉、今見考志、石濱泰、檜作洋平、秋山芳展
2. 発表標題 大腸菌S2PファミリープロテアーゼRsePの基質探索：鉄取り込みに関与する転写制御因子の切断とその生理的意義
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 7.三宅拓也、檜作洋平、秋山芳展
2. 発表標題 大腸菌膜内切断プロテアーゼRsePの基質切断と構造維持に重要な膜表在・両親媒性ヘリックスPCT-H1の解析
3. 学会等名 第16回21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 10.檜作洋平、秋山芳展
2. 発表標題 FRET蛍光ペプチドを用いた細菌S2Pファミリー膜内切断プロテアーゼのリアルタイム切断kinetics計測系の構築
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 12. 三宅拓也、檜作洋平、秋山芳展
2. 発表標題 大腸菌膜内切断プロテアーゼRsePの基質切断と構造維持に重要な膜表在・両親媒性ヘリックスの解析
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 13. 横山達彦、檜作洋平、秋山芳展
2. 発表標題 大腸菌膜内切断プロテアーゼRsePの新規基質切断とその生理的意義：低分子膜タンパク質HokBの切断を介したパーシスター形成制御
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 14. 檜作洋平、秋山芳展
2. 発表標題 Kinetic analysis of the proteolytic reaction catalyzed by S2P family intramembrane protease RseP using a FRET-based real-time assay system
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三宅拓也、檜作洋平、秋山芳展
2. 発表標題 大腸菌膜内切断プロテアーゼRsePの新規機能調節領域の解析
3. 学会等名 第15回21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miyake, T., Hizukuri, Y. and Akiyama, Y.
2. 発表標題 Functional and structural roles of a membrane-periplasm interface domain in RseP, an Escherichia coli S2P family intramembrane protease.
3. 学会等名 International symposium Proteins: From the Cradle to the Grave (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三宅拓也、檜作洋平、秋山芳展
2. 発表標題 大腸菌膜内切断プロテアーゼRsePの構造維持と機能調節に関わる新規ドメインの解析
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	檜作 洋平	京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・助教	
	(Hizukuri Yohei)		
	(70568930)	(14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------