

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：31311

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380046

研究課題名(和文)細菌ペプチドグリカン結合型カダベリンの合成制御並びに表層膜安定の分子及び原子機構

研究課題名(英文)Molecular basis for the maintenance of envelope integrity in *Selenomonas ruminantium*: Controlled mechanism of cadaverine biosynthesis which covalently links to the peptidoglycan

研究代表者

神尾 好是(Kamio, Yoshiyuki)

尚絅学院大学・総合人間科学部・名誉教授

研究者番号：00109175

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,000,000円、(間接経費) 4,500,000円

研究成果の概要(和文)：セレノモナス ルミナンチウムのペプチドグリカン(PG)に共有結合して存在するカダベリン(Cad)合成酵素LDC/ODCはリボソーム蛋白質L-10によりその合成が制御されている。次の3点が本研究の成果である。(1)LDC/ODC-L10複合体分解酵素ClpXPプロテアーゼ遺伝子がクローニングされ、同遺伝子産物の精製および特性が明らかにされた。(2)本菌の外膜主要蛋白質Mep45のN末端領域に存在するSLHドメインがペリプラズム空間でPG結合型Cadと特異的に結合して、外膜を安定化させる機構が明らかにされた。(3)PGへのCad結合酵素(Ldt)遺伝子が同定され、その遺伝子産物が精製された。

研究成果の概要(英文)： *Selenomonas ruminantium* has cadaverine(Cad), which links covalently to the peptidoglycan (PG) for the cell division. In this bacterium, Cad is synthesized constitutively from L-lysine by lysine/ornithine decarboxylase (LDC/ODC) and transferred to PG. Here, we found that (1) LDC/ODC was degraded at an early stationary phase by ATP dependent ClpXP. This degradation requires a ribosomal protein L10 which is induced into cytoplasm by putrescine in the cells. The induced L10 has similar biochemical and biophysical characteristics to those of an antizyme (AZ), which have been reported only in mammalian cells. (2) PG-bound Cad mediates an interaction between PG and the periplasm-exposed S-layer homologous domain of Mep45, a major outer membrane (OM) protein of this bacterium, thereby forms the structural linkage between the PG and OM. (3) The gene of lipid intermediate:diamine transferase (Ldt) for cadaverine-adding reaction into the lipid intermediate was cloned and the gene product was purified.

研究分野：農芸化学

科研費の分科・細目：微生物機能学

キーワード：バクテリアアンチザイム リボソーム蛋白質L-10 L10遺伝子 ポリアミン生合成制御機構 ペ
プチドグリカン結合型ポリアミン ClpXP protease

1. 研究開始当初の背景

すべての生体内に存在する脂肪族アミンであるポリアミンは、遊離の形で存在して酸性生体成分とイオンの相互作用、核酸や蛋白質の合成促進、酵素活性の調節などの生理作用を発揮することが報告されてきた。ところが1981年以降、研究代表者らにより(1)*S. ruminantium*の細胞壁 peptidoglycan (PG)の D-Glu 残基に共有結合して存在するカダベリン、(2)本共有結合を触媒する lipid intermediate : diamine transferase (Ldt)、(3)カダベリンの欠損時に起きる PG からの外膜の剥離、およびそれに誘発される細胞死、等が発見され [Y. Takatsuka & Y. Kamio, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68, 1-19 (2004) (Review)], 生体高分子に共有結合して存在するポリアミンの新規生理機能の発見として注目を集めた。さらに、*S. ruminantium* は一般の G(-)菌に存在して表層構造の安定に必須なムレインリポ蛋白質を欠き、さらに遺伝子においては、*tol-pal* gene cluster を欠くことから、本菌における PG 結合型カダベリンが関与する新規な表層膜安定機構の解明が期待された。1986年に研究代表者らにより、本菌のカダベリン生合成を担う LDC/ODC 活性が α -difluoromethyl lysine; DFML) によって不可逆的に阻害されることが見出され、これにより PG 結合型カダベリンの生理機能解明への手掛りが得られた。本菌を DFML 存在下で培養すると PG 結合型カダベリンが劇的に減少することが示され、本条件下で細胞は、外膜の剥離を伴う表層膜構造の異常並びに細胞形態の変形を起こして生育阻害に至ることが明らかとなった。DFML による阻害効果は培地中に遊離カダベリン分子を添加することで完全に解消され、細胞に取り込まれたカダベリン分子はそのほぼ全てが PG 結合型に移行していた。このことから、PG 結合型カダベリンは本菌表層膜の維持・安定化に寄与すると推察された。そして2010年に本結合型カダベリンは、*S. ruminantium* 外膜構成蛋白質 Map45 の SLH ドメインを介した外膜-PG 間のアンカーの役割をする果たすことが明らかになった[S. Kojima, KC Ko, Y. Takatsuka, N. Abe, J. Kaneko, Y. Itoh & Y. Kamio, *J. Bacteriol.* 192, 5953-596 (2010)]。一方、*S. ruminantium* における LDC の研究で、「生物では存在しない」とされていたアンチザイム(AZ)を介した真核生物型ポリアミン分解制御機構が発見された[Y. Yamaguchi, Y. Takatsuka & Y. Kamio, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 1431-1434 (2002)]。しかも本菌にお

いて、真核生物で報告された AZ とは分子の実体が異なり、リボソーム 50S サブユニット L10(発見当初は P22 と命名された)が AZ として機能していた。*S. ruminantium* の L10 の構成アミノ酸配列には、既知の原核生物の L10 には存在しない2領域(A, B領域)が存在し、両領域とも AZ 活性に必須であった。その後、真核生物型オルニチン脱炭酸酵素(ODC)を有する超高温性真正 G(-)細菌 *Aquifex aeolicus* および *Thermotoga maritima* にも *S. ruminantium* L10 の上記2領域の存在が見出された。これまで、マウスにおいて過剰のポリアミン蓄積時で見られるポリアミン誘導性の調節蛋白質 AZ を介した ODC 分解制御機構が解明されているが、下等生物ではポリアミンが過剰に存在しても毒性を誘発しないことから、高等生物に見られるような負のフィードバック機構は存在しないと考えられてきた。しかるに、我々の発見した L10 を介したポリアミン分解制御機構は原核生物で見つかった初の負の制御機構であった。以上のように、ポリアミン結合型細胞壁をもつ細菌で、リボソーム構成蛋白質 L10 が分解制御因子として機能する新たな真核生物型ポリアミン分解制御機構の発見は国内外で初めてである。しかし、これまで本機構の解明はなされていない。また、PG の D-Glu 残基へのカダベリンの共有結合の分子機構、並びに外膜 SLH ドメインを介した外膜-PG 間の結合に関与するカダベリンの役割の分子・原子機構は未解明であった。

2. 研究の目的

上記の研究背景下、本研究で我々は(1)*S. ruminantium* における PG 結合型カダベリンの外膜安定機構の分子レベルでの解明、(2)*S. ruminantium* LDC の L10 を介した ATP 依存性プロテアーゼによる分解機構の解明、および(3)Ldt 遺伝子のクローニングおよび本酵素の生化学的および構造科学的特性の解明を行う。本研究で我々は、これら(1)~(3)の未解明課題を解決し、*S. ruminantium* の LDC 分解制御機構を規範として、真核・原核生物の領域を越えた生物全般のポリアミン合成制御機構に関しての共通原理を提案すると共に、G(-)菌の表層構造の安定に係る新規概念を細菌表層研究に植え付ける。

3. 研究の方法

3-1. PG 結合型カダベリンの外膜安定機構の解明に係る研究方法:

3-1-1. *S. ruminantium* の PG 結合型カダベリンと相互作用し得る外膜側因子の選抜: 本菌の主要外膜蛋白質 Mep45 に着眼した。その理由として、唯一の推定 PG 結合蛋白質 (常温 SDS 処理で難溶性) であり、本菌表面積の 80~85% を占めていることと、N 末端側 SLH ドメインを保持していることである。

3-1-2. Mep45 の配向性モデルの決定に係る研究方法: フレンチプレス破碎による反転膜小胞を作製しプロテアーゼ K による SLH ドメインの分解を生菌を対象にして測定し、分解が起きた場合は SLH ドメインはペリプラズム側に配向していると判定した。

3-1-3. SLH ドメインと PG 結合型カダベリンとの相互作用に係る研究方法: SLH-Mep45 を作製し、無細胞系での PG 結合解析をインタクト SLH-Mep45 と比較検討して決定した。さらに組換え GST-SLH ドメインを作製し、無細胞系での PG 結合解析を行って判定した。

3-1-4. Mep45 の精製並びに可溶化: *S. ruminantium* の膜画分を 1% Triton X-100 処理し、遠心後上記処理後の膜画分を 5M 塩酸グアニジンに懸濁し、遠心後遠心上清を PBS に透析し可溶化 Mep45 を調製した。

3-1-5. プルダウン法による *in vitro* 結合解析系の構築: 精製 PG (不溶性) と可溶化 Mep45 を室温で 15 分間混合した後、遠心した。沈澱画分 (結合画分) を SDS-PAGE で解析した。

3-2. *S. ruminantium* の L10 を介した ATP 依存性プロテアーゼによる蛋白質分解機構の解明に係る研究方法:

3-2-1. L10 の特性解明に係る研究方法: L10 の LDC への結合アミノ酸残基を同定する。既に LDC における L10 結合部位が決定され、さらに結合常数が 8×10^{-11} と決定された。L10 は大腸菌を含む一般の真正細菌のリボソーム構成蛋白質 RPLJ (RpIJ) とアミノ酸配列で 80% 以上の相同性を有しているが、大腸菌の RpIJ には LDC 分解促進活性が見られなかった。既に L10 にのみ存在し、他の細菌の RPLJ では欠損している A (K¹⁰¹NKLD¹⁰⁵) および B 領域 (G¹⁶⁰VIRNAVYVLD¹⁷⁰) の両領域が L10 の機能に必須であることが明らかになったので、大腸菌リボソーム蛋白質 RpIJ に欠損している上記 A および B 領域に *S. ruminantium* 由来の

A および B ペプチド断片を挿入して RpIJ 変異蛋白質を作製する。そして本変異蛋白質が LDC に対して結合活性および分解促進活性を持つか否かを検証し、両領域の L10 機能の必須性を確認する。

3-2-2. ATP 依存性プロテアーゼ遺伝子の選抜およびクローニングに係る研究方法: 我々と製品評価技術基盤機構 (NITE) の共同研究にて決定された *S. ruminantium* ゲノム塩基配列から MEROPS data base より推定されたセリンプロテアーゼおよび ATP 要求性の 2 項目で本遺伝子を検索した。その結果、SR1624, SR1526 および SR1625 の 3 遺伝子候補が特定された。SR1524 は Lon 型プロテアーゼであり、SR1526 および SR1625 はそれぞれ ClpP および ClpX に相当し両者共同でプロテアーゼ活性を持つことが知られている。さらに ClpXP 型は分解される蛋白質に結合するアダプターを要求する。一方、Lon 型はアダプターを要求しない。これらの知見から今回は、ClpXP 型を第一候補遺伝子に挙げた。これら 2 遺伝子を pET15b プラスミドベクターに挿入し、プラスミド psClpP および psClpX を得た。各プラスミドで大腸菌 BL21 (DE3) を形質転換した。

3-2-3. 組換え sClpP および sClpX の精製並びに酵素反応に係る研究方法: *E. coli* BL21 (DE3)/psClpP および *E. coli* BL21 (DE3)/psClpX を IPTG (1 mM), ペニシリン (100 μ g/ml) 存在下、35 °C で 2 時間培養し集菌した。菌体を海砂で破壊した後、20,000 x g で遠心後 sClpP については上清をポリエチレンイミン塩析、DEAE-5PW および TSK ゲル G3000W で SDS 電気泳動的に単一バンドまで精製した。sClpX については、ニッケルカラム、DEAE-SPW および TSK ゲル G3000W で SDS 電気泳動的に単一バンドまで精製し、7 量体として回収された。sClpP 標品はインタクト ClpP の N 末端 2 アミノ酸残基が離脱した 14 量成熟体として回収された。精製 sClpP および sClpX 標品を 20 mM MgCl₂, 1 mM ATP, 1 mM DTT, 1 μ M LDC/ODC, 500 nM L10, 1 μ M sClpP, および 500 nM sClpX を含む 25 mM Tris-HCl buffer (pH7.5) を 37 °C で保温し、分解される LDC/ODC の量を経時的に LDC/ODC 抗体法で測定した。

3-3. Ldt 遺伝子のクローニングおよび本酵素の生化学的特性の解明に係る研究方法:

3-3-1. Ldt 候補遺伝子選抜法: 本菌ゲノム塩基配列より推定された ATP-grasp motif の中で ATP 依存性 carboxylate-amine ligase family 遺伝子を検索した。しかも推定 ATP 利用率においては機能未知であり、大腸菌遺伝子と相同性を示さず *Veillonellaceae* で保存されている遺伝子を選択した。これに該当する遺伝子を検討した結果、8 ORFs が選抜された。

3-3-2. 無細胞系による Ldt の活性測定法: 上記 *Ldt* 候補遺伝子を大腸菌で発現し、得られた組換え大腸菌由来の粗膜画分を ^{14}C -ジアミン、ATP、UDP-GlcNAc、 MgCl_2 、UDP-MurNAc-pentapeptide と共に 37 で保温した後、ペーパークロマトグラフィーおよびオートラジオグラフィーで解析した。そして、ペプチドグリカン画分に取り込まれた放射能を測定した。

4. 研究成果

4-1. *S. ruminantium* における PG 結合型カダベリンの外膜安定機構の分子レベルでの解明:

上述した研究背景の項の一連の研究成果・知見により、本菌の PG 結合型カダベリンは外膜 - PG 間接着構造に作用して大腸菌におけるムレインリポ蛋白質に相当する機能を果たすと推察され、本分子と相互作用する外膜側因子の存在が想定された。本因子の特定は長年の課題であったが、本研究により、*S. ruminantium* の主要外膜蛋白質 Mep45 が PG 結合型カダベリンの存在依存的に本菌の PG に結合することが見出され、これにより本課題の解決をみた。Mep45 は本菌における唯一の主要外膜蛋白質であり、ペリプラズム側に露出した アミノ末端側 SLH ドメインと、カルボキシル末端側の外膜貫通領域で構成される。SLH ドメインは多くの原核微生物の表層蛋白質に見出される機能ドメインとして、種々の細胞壁構成成分との相互作用を持つことがこれまでに知られていた。無細胞系 PG 結合解析により、本菌の外膜主要蛋白質 Mep45 のペリプラズムに露出した 46-アミノ酸残基から成る SLH ドメインを介した外膜 - PG 間の強固なアンカーとなり、表層構造の安定に必須物質として存在することが証明された。本相互作用は反応系中の高濃度の塩や遊離カダベリン分子の存在により阻害されないことから、両者間の相互作用はイオン結合や単なる

カダベリン分子への構造認識によるものではないことが示唆された。SLH ドメインとの相互作用に必要な PG の最小構造の決定のため、本菌 PG の peptide stem 並びにリゾチームによる PG 分解産物 (分子量約 30 k) を単離し、SLH ドメイン - PG 間相互作用に対する阻害効果の解析がなされたが、その結果後者のみが阻害効果を示すことがわかった。このことから、両者間の相互作用は SLH ドメインがカダベリンを含む本菌 PG の構造全体を認識することによって生じると結論された。

これらの研究に続いて、Mep45 の SLH ドメインと PG 間の結合力の強弱が細胞の表層膜安定性に直結することが実証された。この研究にはカダベリンと類似した構造を持つジアミン分子種 $[\text{NH}_3^+ (\text{CH}_2)_n \text{NH}_3^+ (n=3\sim 6)]$ 、カダベリンは $n=5$ が使用され、これらのジアミン種がカダベリンと同程度に PG に取り込まれる性質が研究進展への足掛かりとなった。すなわち、*S. ruminantium* のカダベリン生合成を阻害する条件で本菌を培養しつつ、培地中に本ジアミン種を添加すると、これらは PG に取り込まれるので、本菌の PG 結合型カダベリンを他の任意ジアミン種に置き換えることができた。各ジアミン種結合型 PG それぞれに対する Mep45 の SLH ドメインの結合力が解析され、その結果本ドメインはカダベリン結合型 PG に対してのみ特異的に強い相互作用を示すことが見出された。さらに、カダベリン以外のジアミン種結合型 PG を保持する細胞においては外膜の剥離、および毒性物質への耐性低下が起こることが明らかとなった。しかも、結合型カダベリンをプトレシン等の他のポリアミンに変換した変異株は、野生株が元来持つ SDS (80 $\mu\text{g}/\text{ml}$) や novobiocin (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の薬剤耐性および高温 (43) 生育特異性を喪失した。本結果より、PG 結合型カダベリンの分子機能は Mep45 の SLH ドメインと本菌 PG との相互作用を媒介して外膜 - PG 間接着構造に寄与し、本菌の表層膜を維持・安定化することにあると結論付けられた。

4-2. *S. ruminantium* の L10 を介した ATP 依存性プロテアーゼによる蛋白質分解機構の解明:

4-2-1. L10 の特性解明及び大量発現系の構築:

大腸菌リボソーム蛋白質 RpIJ に欠損している上記 A および B 領域に *S. ruminantium* 由来の A および B ペプチド断片を挿入して RpIJ 変異蛋白質を作製し、本変異蛋白質が LDC に対して結合活性および分解促進活性を持つか否か

を検証した結果, RplJ変異蛋白質は *S. ruminantium* L10と同様の作用を持った。従って, 両領域のL10機能における必須性が証明された。

4-2-2. *S. ruminantium* のカダベリン合成酵素

素であるLDC/ODCの分解制御機構の解明:

研究代表者はNITE との共同研究で, 本菌の全ゲノム配列を決定したので, これを参考に本菌からCip型プロテアーゼ遺伝子 (*clpP-clpX*) を予測し, 大腸菌にクローニングした後, 組換え蛋白質 (rCipP 並びに rCipX) を得た。これら組換え対蛋白質を SDS電気泳動的に単一バンドとして精製後, プロテアーゼ活性を測定した結果, 予想通り精製 rCipP 標品が精製 rCipX 標品と共同して, ATP および L10 依存的に LDC/ODC を分解することを明らかにした。

4-3. Ldt 遺伝子のクローニングおよび本酵素

生化学的および構造科学的特性の解明:

次の3点を明らかにした。

選抜された8 ORFsのうち ORF2750 がプトレシン転移活性を示した。

ORF2750 酵素活性における各因子の効果を解析した結果, ORF2750 によるプトレシンの PG 画分への取り込み活性には, ATP, UDP-GlcNA, UDP-MurNAc-pentapeptide が要求された。本要求性は, Ldt の反応機構と一致した。従って, 本結果は ORF2750 が Ldt であることを強く示唆した。

ORF2750 のアミノ酸配列解析と推定触媒機構を検討すると ORF2750 は, ATP 依存性 carboxylate-amine ligase に広く保存され, アシルリン酸中間体を經由する触媒機構をもつ ATP-grasp ドメインを保持していた。しかも ORF2750 オルソログは *Veillonellaceae* で保存されていた。本特徴は, *Veillonellaceae* における PG 結合型ポリアミンの系統分布の裏付けとなった。

4-4. 結論

結論 : *S. ruminantium* の表層膜安定化機構に関しては, PG 結合型カダベリンは外膜蛋白質 Mep45 と PG 間の相互作用を媒介し, Mep45 と PG 間の結合力の強弱が表層膜安定性に直結する ATP-grasp 蛋白質 ORF2750 がジアミン転移反応を触媒する。

結論 : グラム陰性型表層膜の構造的多様性に関する新視点については, グラム陰性型表層膜構造が, プロテオバクテリア型 (ムレイン

リポ蛋白質・Tol-Pal システム) グラム陰性-陽性中間型 (Mep45 型外膜蛋白質) の二つに大別されることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者および連携研究者には下線)
〔雑誌論文〕(計9件)

- (1) S. Kojima, J. Kaneko, N. Abe, Y. Takatsuka & Y. Kamio, Cadaverine covalently linked to the peptidoglycan serves as the correct constituent for the anchoring mechanism between the outer membrane and peptideglycan in *Selenomonas ruminantium*, *J. Bacteriol.*, 193, 2347-2350 (2011).
- (2) Y. Tanaka, N. Hirano, J. Kaneko, Y. Kamio, M. Yao, & I. Tanaka, 2-Methyl-2,4-pentanediol induces spontaneous assembly of staphylococcal α -hemolysin into heptameric pore structure, *Protein Science*, 20, 448-456 (2011).
- (3) N. Tomita, K. Abe, Y. Kamio & M. Ohta, Cluster-forming property correlated with hemolytic activity by staphylococcal γ -hemolysin transmembrane pores, *FEBS Letter*, 585, 2452-2456 (2011).
- (4) K. Yamashita, Y. Kawai, Y. Tanaka, M. Hirano, J. Kaneko, N. Tomita, M. Ohta, Y. Kamio, M. Yao & I. Tanaka. Crystal structure of the octameric pore of staphylococcal γ -hemolysin reveals the β -barrel pore formation mechanism by two components. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 108, 17314-17319 (2011).
- (5) N. Tomita, K. Abe, J. Kaneko, Y. Kamio & M. Ohta, Probabilistic study on subunit mismatch arrangement in staphylococcal γ -hemolysin heteroheptameric trans-membrane pore, *J. Biomechanical Science and Engineering*, 6, 286-298 (2011).
- (6) M. Fukuda, S. Yoshida, H. Itoh, S. Watanabe, Y. Itoh, Y. Kamio, & J. Kaneko, AxyR, an AraC family transcriptional activator of the xylanase 3 gene requires xylooligosaccharides as a cofactor for DNA binding in *Paenibacillus* strain W-61, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 78, 1051-1054 (2012).
- (7) 児島征司, 神尾好是, 偏性嫌気性細菌 *Selenomonas ruminantium* の表層膜安定機構 -細胞壁結合型カダベリンの分子機能およびその合成・制御系-, *ビタミン*, 86, 1-12 (2012).

- (8) T. Sugawara, D. Yamashita, Y. Tanaka, J. Kaneko, Y. Kamio, I. Tanaka & M. Yao, Preliminary X-ray crystallographic study of staphylococcal α -haemolysin monomer, *Acta Cryst.*, F69, 868-870 (2013).
- (9) S. Kojima & Y. Kamio. Molecular basis for the maintenance of envelope integrity in *Selenomonas ruminantium*: Cadaverine biosynthesis and covalent modification into the peptidoglycan play a major role, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 58, 153-160 (2013).

〔学会発表〕(計 8 件)

- (1) Y. Kamio, Bacterial two component, and hetero-oligomeric cytolytic toxin: Structure, pore forming mechanism, and organization of the genes. 8th International conference of Fluid Science of Flow dynamics (招待講演), 9th November 2011, Hotel Metropolitan Sendai, Sendai.
- (2) H. Numako, Y. Takatsuka, S. Yamada-Narita, J. Kaneko, N. Fujita & Y. Kamio, Degradation of a *Selenomonas ruminantium* lysine/ornithine decarboxylase by ClpXP proteolysis system which requires bacterial antizyme, P22, International Union of Microbiological Society 2011 Congress, 14th September 2011, Sapporo.
- (3) 児島征司, 高塚由美子, 阿部直, 金子淳, 神尾好是, *Selenomonas ruminantium* におけるペプチドグリカン(PG) 結合型カダベリンを介した外膜-PG 間接着機構の解析, 日本農芸化学会全国大会, 2011 年 3 月 27 日, 京都.
- (4) 児島征司, 高塚由美, 阿部直, 金子淳, 神尾好是, *Selenomonas ruminantium* におけるペプチドグリカン(PG) 結合型カダベリンを介した外膜-PG 間安定化機構の解析, 日本ポリアミン学会 第 2 回年会, 2011 年 1 月 28 日, 宇都宮.
- (5) Y. Kamio, Degradation of a *Selenomonas ruminantium* lysine/ornithine decarboxylase by ClpX/P proteolysis system which requires bacterial antizyme, P22. *Japan-Finland Biotechnology Symposium*, (招待講演), 4th June 2012, Sendai.
- (6) Y. Kamio, Molecular basis for the maintenance of cell envelope integrity in *Selenomonas ruminantium* which possesses cadaverine as an essential constituent of the peptidoglycan and

regulation of the biosynthesis of cadaverine, 第 4 回ポリアミン学会大会 (招待講演) 2013 年 1 月 24 日, 仙台.

- (7) 神尾好是, 細菌細胞壁結合ポリアミンの膜安定化機構と合成制御, 日本農芸化学会大会シンポジウム (招聘講演), 2013 年 3 月 28 日, 仙台.
- (8) 小野寺智子, 神尾好是, 金子淳, ルーメン細菌 *Selenomonas ruminantium* subsp. lactilytica TAM6421 株のゲノム解析, 日本農芸化学会大会, 2013 年 3 月 25 日, 仙台.

〔図書〕(計 1 件)

- (1) Y. Kamio, Y. Yamaguchi & J. Kaneko, Bacterial antizyme in “*Polyamines: A universal molecular nexus for growth, survival and specialized metabolism*”, edited by T. Kusano and H. Suzuki, Springer, Tokyo. 印刷中

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 0 件)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者 :

神尾好是 (KAMIO YOSHIYUKI)
尚綱学院大学・名誉教授
研究者番号 : 0010917

(1) 研究分担者 :

田中勲 (TANAKA ISAO)
北海道大学大学院先端科学研究科・特任教授
研究者番号 : 70093052

金子淳 (KANEKO JUN)
東北大学大学院農学研究科・准教授
研究者番号 : 30221188

(2) 連携研究者 :

高塚由美子 (TAKATSUKA YUMIKO)
山形大学大学院理工学研究科・助教
研究者番号 : 70570810