

平成30年6月6日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04629

研究課題名(和文)動物の細胞外マトリクスを標的とする病原性細菌の定着・感染機構に関する構造生命科学

研究課題名(英文)Structural life science of pathogenic bacterial systems targeting animal host extracellular matrix for colonization and infection

研究代表者

橋本 渉 (HASHIMOTO, Wataru)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：30273519

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：連鎖球菌などの病原性細菌による動物細胞への接着や侵入に関して、動物の細胞外マトリクスとして存在する多糖グリコサミノグリカンが標的となることが示されている。本研究では、連鎖球菌におけるグリコサミノグリカンの輸送(フォスフォトランスフェラーゼ)系と分解・代謝機構を構造生命科学の観点から明らかにした。また、連鎖桿菌にグリコサミノグリカンの取り込みに機能する新たなABCトランスポーターを見出した。本成果に基づいて、これらの分子機構を創薬ターゲットとして利用できる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：For colonization and invasion to animal cells, some pathogenic bacteria such as Streptococcus target glycosaminoglycans present in host extracellular matrices. In this study, streptococcal phosphotransferase system involved in the import of a glycosaminoglycan hyaluronan as well as the bacterial degradation/metabolism mechanisms of the fragmented hyaluronan were clarified by molecular and structural biology. A novel ABC transporter was also identified in Streptobacillus to be an importer of fragmented glycosaminoglycans. Based on results obtained here, inhibitors of these bacterial molecular machineries are expected to become promising agents for the bacterial infectious diseases.

研究分野：応用微生物学

キーワード：病原性細菌 スポーター 細胞外マトリクス 分解・代謝酵素 遺伝子クラスター グリコサミノグリカン フォスフォトランスフェラーゼ系 ABCトランスポーター X線結晶構造解析

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

### 1. 研究開始当初の背景

動物の細胞外マトリクスの重要な構成成分として存在するグリコサミノグリカン(GAG)は、主にウロン酸 [グルクロン酸 (GlcA) 或いはイズロン酸 (IdoA : GlcA の C5 位エピマー体)] とアミノ糖 [(アセチル化) グルコサミン或いはガラクトサミン] から成る二糖の繰り返し配列をもつ多糖である。構成糖、糖結合様式、及び硫酸化レベルに基づいて、GAG はヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸などに分類される。ヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸ではウロン酸とアミノ糖が 1-3 グリコシド結合で繋がっているのに対し、ヘパリンとヘパラン硫酸は 1-4 グリコシド結合を示す。

近年、連鎖球菌をはじめとする病原性細菌による動物細胞への接着や侵入に関して、GAG が標的となることが示されている。例えば、ヒアルロン酸を単一炭素源として生育する肺炎(連鎖)球菌 *Streptococcus pneumoniae* は、分泌酵素ヒアルロン酸リアーゼによりヒアルロン酸を、二重結合をもつ不飽和二糖に断片化し、動物細胞へ侵入・感染することが示唆されている。ヒアルロン酸リアーゼは他の病原性細菌にも存在し、コンドロイチン硫酸にも作用する酵素が知られている。連鎖球菌はヒアルロン酸を資化するため、その断片化のみならず輸送・分解・代謝も感染に重要であるが、不飽和二糖の取り込みや分解・代謝に関する研究は遅れている。

本研究者は、連鎖球菌の細胞内で、不飽和二糖(断片化 GAG) の分解酵素(ヒドロラーゼ UGL) 及びその反応により生じる単糖(不飽和ウロン酸)の代謝酵素(イソメラーゼ Dhul とレダクターゼ DhuD) を初めて分子同定し、それらの酵素遺伝子が連鎖球菌のゲノムに一つのクラスター(GAG 遺伝子クラスター)を形成することを明らかにした(図 1)。以上の知見に基づいて、病原性細菌による GAG の断片化、断片化不飽和二糖の取り込みと分解、及び分解物の代謝に関わる分子機構モデルを構築している。

### 2. 研究の目的

連鎖球菌はヒトに常在することも知られているため、GAG の分解が動物細胞への定着に重要である可能性が考えられる。従って、病原性細菌による GAG の断片化、輸送、及び分解・代謝機構を明らかにすることは、細菌による動物細胞外マトリクスを介した定着・感染機構の理解に繋がる。これまで、本研究者らも含めて、連鎖球菌による 1-3 結合のヒアルロン酸の断片化に関わるヒアルロン酸リアーゼの構造と機能、或いはその感染における生理的意義が研究されてきた。しかし、単一のヒアルロン酸の断片化だけでは、病原性細菌による多様な GAG の認識や分解について包括的に理解することは困難である。本研究者は、GAG 遺伝子クラスターに 1-4 結合のヘパラン硫酸に作用するヘパラン硫酸リアー

ゼ HepC と低いながらも相同性を示すタンパク質の遺伝子を見出し、1-3 と 1-4 結合を含む多様な GAG の断片化・取り込み・分解・代謝に本遺伝子クラスターが寄与することを示唆している。そこで、本研究では、GAG の分解による細菌の動物(ヒトを含む哺乳類)細胞への定着・感染機構を明らかにすることを目的とし、研究の遅れている 1-4 結合のヘパリンやヘパラン硫酸の断片化、多様な GAG から生じる断片化不飽和二糖の取り込み、並びにその分解と代謝に関わる病原性細菌の分子機構に焦点を当て、それらの構造と機能との時空間的相関を解明し、その成果を細菌感染症治療へ応用する。対象とするコアタンパク質を以下の三つに分類する：(i) GAG 断片化多糖リアーゼ(HepC)、(ii) 断片化 GAG の膜輸送体(超分子複合体: フォスフォトランスフェラーゼ系 PTS)、及び(iii) 断片化 GAG の分解酵素(UGL)と代謝酵素(DhuI、DhuD)。

### 3. 研究の方法

GAG に作用するコアタンパク質の立体構造解析のため、多検体スクリーニングにより結晶化条件を確立した。京都大学農学研究科或いは放射光実験施設(SPring-8)で X 線回折データを収集し、結晶学的性質(格子定数、空間群、分解能など)を決定した。セレノメチオン誘導体タンパク質を用いた異常分散法或いは分子置換法により位相を決定し、初期モデルを構築後、構造を精密化した。これにより、リガンド非結合型タンパク質の立体構造を明らかにした。また、基質との結合型タンパク質の結晶構造も決定した。酵素・タンパク質における各残基の役割を明らかにするため、部位特異的変異体を作製し、その機能を解析した。

**(1) 細胞外断片化酵素 : HepC** これまでに、HepC の遺伝子が約 200 種類の細菌ゲノムに見出されているが、その酵素活性は GAG 遺伝子クラスターをもたない二種類の細菌にのみ認められている。そこで、HepC 遺伝子を対象に比較ゲノム解析を行い、本酵素遺伝子のゲノム座位及びその酵素活性を調べた。さらに、HepC の構造機能相関を解析した。

**(2) 膜輸送体 : PTS** PTS は、フォスフォエノールピルビン酸を脱リン酸化した後、そのリン酸基を複数のサブユニットタンパク質 [Enzyme I、HPr、IIA、IIB、IIC-IID] を介して基質に転移し、同時にリン酸化基質として細胞質内に取り込む。Enzyme I と HPr は糖質特異的でない構成タンパク質であるのに対し、IIA、IIB 及び IIC-IID は糖質特異性を示す。そのため、主に可溶性サブユニットタンパク質 (IIA と IIB) 及び膜ドメインを構成するヘテロ二量体 (IIC-IID) を中心にそれらの構造と機能を解析した。また、連鎖球菌における断片化 GAG の輸送系を同定するため、PTS 測定系を確立した。

**(3) 細胞質分解酵素 : UGL** 連鎖球菌由来 UGL について、1-3 結合をもつ断片化 GAG に

対する作用機構を明らかにしている。また、本酵素が 1-4 結合の断片化基質にも弱いながらも作用することを見出した。そこで、連鎖球菌 UGL の基質特異性と触媒反応機構に関わる構造要因を解析した。

**(4) 細胞質代謝酵素: DhuI と DhuD** 不飽和グルクロン酸/イズロン酸の代謝に関わる連鎖球菌由来イソメラーゼ (DhuI) とレダクターゼ (DhuD) を初めて分子同定し、それらの酵素学的性質と立体構造を決定している。そこで、DhuI と DhuD について、それらの基質認識と触媒反応に関わる分子機構を解析した。

**(5) GAG を介した細菌と動物細胞との相互作用** 6 穴培養プレートに形成させた GAG 産生ヒト培養細胞の単一層に、GAG 存在または非存在下で細菌を添加し作用させた。その後、非特異的に相互作用していた細菌を洗浄除去し、ヒト培養細胞に接着していた菌体数を計測することにより、GAG を介した細菌と動物細胞との相互作用を解析した。

#### 4. 研究成果

**(1) 細胞外断片化酵素: HepC** 比較ゲノム解析の結果、GAG 遺伝子クラスターに HepC 遺伝子が認められる細菌が多数存在することが分かった。当該細菌の一つとして、乳酸桿菌の HepC 遺伝子をクローニングし、組換え酵素を調製した。本酵素がヘパリンを分解したことから、1-4 結合の GAG に作用する遺伝子クラスターの存在が明らかになった。また、細菌が多様な GAG のそれぞれに作用できるように、GAG 遺伝子クラスターを進化 (多様化) させていることが示唆された。

本研究者らは、土壌細菌 *Pedobacter heparinus* 由来 HepC の立体構造を X 線結晶構造解析により明らかにしているため、乳酸桿菌 HepC の立体構造をホモロジーモデリングにより決定した。乳酸桿菌 HepC は N 末端に  $\alpha$  構造を、C 末端に  $\beta$  構造をもつことが示唆された。また、N 末端の  $\alpha$  ドメインは  $\alpha/\alpha$  パレル構造を、C 末端の  $\beta$  ドメインは逆並行  $\beta$  シート構造を形成すると考えられた。

**(2) 膜輸送体: PTS** 連鎖球菌 *Streptococcus agalactiae* はヒアルロン酸を分解する。ヒアルロン酸の断片化と分解に関わる酵素群をコードする本菌の遺伝子クラスターには、フォスフォエノールピルビン酸 (リン酸供与源) を駆動力とする輸送体 PTS 遺伝子が存在する (図 1 上)。

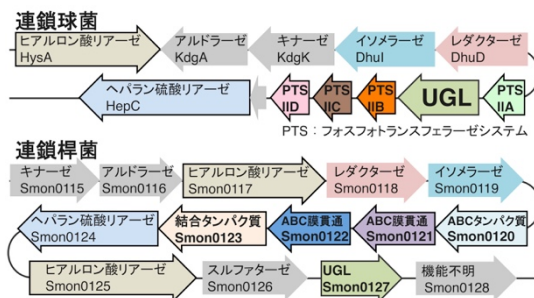


図 1. GAG 遺伝子クラスター

そこで、PTS の輸送活性測定法として、連鎖球菌のトルエン処理細胞によるフォスフォエノールピルビン酸の消費を定量する方法が適していることを確認した。実際、トルエン処理した連鎖球菌細胞が、断片化ヒアルロン酸 (不飽和二糖) 存在下で、フォスフォエノールピルビン酸をピルビン酸に変化させることを見出し、断片化ヒアルロン酸が PTS により取り込まれることを初めて明らかにした。そこで、IIA の結晶化を行い、得られた結晶から X 線回折データを収集した。

連鎖球菌の GAG 遺伝子クラスターと類似のセグメントを連鎖桿菌のゲノムに見出し、PTS の代わりに基質結合タンパク質 (SBP) 依存 ATP 結合カセット (ABC) トランスポーターがコードされていることを発見した (図 1 下)。そこで、SBP の組換え体を調製し、本タンパク質が断片化 GAG と結合することを明らかにした。SBP について、基質結合体と非結合体のそれぞれの立体構造を決定し、断片化 GAG を結合する構造要因を明らかにした (図 2)。

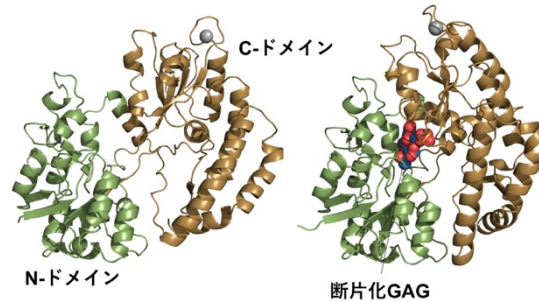


図 2. SBP の立体構造 (左: 基質非結合体、右: 基質結合体)

SBP は、N-ドメインと C-ドメインから構成されており、そのドメインの中央で断片化 GAG を結合し、断片化糖の各糖残基を特異的に認識するアミノ酸残基を配置していることが明らかになった。また、本 SBP が基質の硫酸基数に応じて、基質結合に伴うドメインの開閉度を変化させることを見出し、多様な細菌 SBP において、新規な動的基質認識機構を提唱した。

組換え大腸菌の細胞膜より、各種界面活性剤とクロマトグラフィーを駆使し、ABC トランスポーターを精製した。本 ABC トランスポーターは、SBP と断片化 GAG の存在下でのみ ATPase 活性を示した。このことから、断片化 GAG が ABC トランスポーターにより取り込まれることが明らかになった。

**(3) 細胞質分解酵素: UGL** *S. agalactiae* に由来する UGL (SagUGL) は、Asp-175 を酸・塩基触媒残基として分解反応を行う。一方、活性部位に位置する Asp-115 は、細菌由来 UGL に高度に保存されているにもかかわらず、その役割は不明である。そこで、SagUGL の Asp-115 を Asn に置換した変異体 (D115N) を構築し、組換え変異体の酵素活性を測定した。その結果、活性が顕著に低下したことから、

Asp-115 が酵素反応に重要であることが示唆された。その残基の機能を明らかにするため、本変異体の立体構造を X 線結晶構造解析により決定した。変異体は、野生型酵素と同等の基本骨格 ( $\alpha_6/\alpha_6$ -バレル) を示した (図 3 左)。しかし、活性部位に着目して野生型酵素と比較すると、変異体の Asn-115 (野生型: Asp-115) と触媒残基 Asp-175 の側鎖の配向が異なっていることが示された (図 3 右)。Asn-115 は、触媒残基 Asp-175 と水素結合を形成し、相互作用していた。そのため、この水素結合により、Asp-175 が活性型の位置にシフトできなくなり、変異体酵素の活性低下が引き起こされることが明らかになった。このことから、SagUGL の Asp-115 は、触媒残基である Asp-175 と、互いの負電荷に基づいた静電的反発により、Asp-175 を活性型配置にシフトさせることに機能すると考えられた。また、本酵素反応は、グリシンにより顕著に阻害されることが分かった。

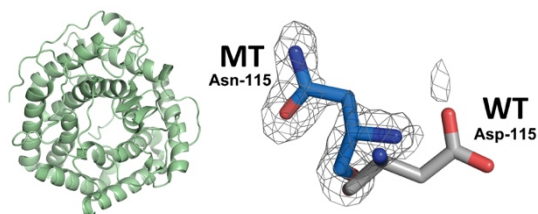


図 3. UGL の全体構造と触媒残基

1-3 結合型及び 1-4 結合型断片化 GAG のそれぞれに特異的に作用する UGL の比較構造解析により、活性部位のポケット構造とループが 1-4 結合型断片化 GAG の認識に重要であることを明らかにした。

(4) 細胞質代謝酵素: DhuI と DhuD GAG (不飽和ウロン酸) の代謝に機能する連鎖球菌 *Streptococcus pyogenes* 由来 NADH 依存レダクターゼ SpyDhuD の立体構造を、X 線結晶構造解析により決定した。その結果、本酵素は、三層からなる  $\alpha/\beta/\alpha$  を基本骨格として補酵素結合モチーフ Rossmann fold と二本のループをもつことが分かった。その補酵素結合部位におけるアデニル酸リボース 2'位結合部位では、電荷が負に帯電しており、空間容積が小さいことから、本酵素が NADPH を利用できず、NADH に特異性を示す構造要因が明らかになった (図 4)。

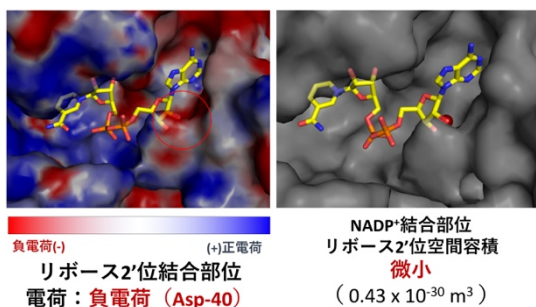


図 4. DhuI の補酵素結合部位

乳酸桿菌の GAG 遺伝子クラスターでは、DhuI と DhuD とそれぞれ同一の反応を触媒する酵素 KduI と KduD がコードされている。そこで、乳酸桿菌由来 KduI と KduD の組換え酵素をそれぞれ調製し、その酵素活性を解析した。その結果、GAG 遺伝子クラスターにコードされる KduI と KduD が GAG の代謝に機能することを初めて明らかにした。

(5) GAG を介した細菌と動物細胞との相互作用 GAG 産生ヒト細胞として、腸管様 (大腸癌) 細胞 Caco-2 を理化学研究所より購入した。そこで、細菌と宿主細胞との GAG を介した相互作用を明らかにするため、ヒアルロン酸存在或いは非存在下で、連鎖球菌の Caco-2 細胞への接着を調べた。その結果、連鎖球菌の Caco-2 への接着はヒアルロン酸存在下で競合的に阻害される傾向にあり、本菌がヒアルロン酸を介して Caco-2 と接着することが示唆された。

【結論】本研究により、病原性細菌における GAG 輸送系と分解・代謝機構を構造生命科学の観点から明らかにし、これらの分子機構を創薬ターゲットとして利用できる可能性を示した。例えば、UGL 阻害剤として機能するグリシンは有望な薬剤となることが期待される。また、細菌における多様な GAG 輸送と代謝系 (PTS/ABC トランスポーター、DhuI/KduI, DhuD/KduD) の存在並びに輸送タンパク質の構造と機能を明らかにすることができた。さらに、輸送系の基質認識に関わる新たな動的構造を解明した。

特に、GAG 遺伝子クラスターの多様性を見出し、病原性連鎖球菌 (*Streptobacillus*) に、断片化 GAG を細胞内に輸送する新たな ABC トランスポーターを分子同定した成果は特筆すべきものである。実際、本成果は、新聞と Yahoo ニュースをはじめとする各種メディアに報道されたことにより、広く社会に発信された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① Sayoko Oiki, Reiko Kamochi, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Alternative substrate-bound conformation of bacterial solute-binding protein involved in the import of mammalian host glycosaminoglycans. *Sci. Rep.*, 査読有, Vol. 7, No. 1, Article number: 17005 (2017). DOI: 10.1038/s41598-017-16801-8
- ② Ai Kaneko, Kasumi Uenishi, Yukie Maruyama, Nobuhiro Mizuno, Seiki Baba, Takashi Kumasaka, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. A solute-binding protein in the closed conformation induces ATP hydrolysis in a bacterial ABC transporter

- involved in the import of alginate. *J. Biol. Chem.*, 査読有, Vol. 292, No. 38, 15681-15690 (2017).  
DOI: 10.1074/jbc.M117.793992
- ③ Sayoko Oiki, Bunzo Mikami, Yukie Maruyama, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. A bacterial ABC transporter enables import of mammalian host glycosaminoglycans. *Sci. Rep.*, 査読有, Vol. 7, No. 1, Article number: 1069 (2017).  
DOI: 10.1038/s41598-017-00917-y
- ④ 老木紗予子、中道優介、丸山如江、村田幸作、橋本 渉. 病原細菌による宿主細胞外グリコサミノグリカンの断片化・輸送・分解・代謝に関わる分子機構. *生化学*, 査読有, Vol. 89, No. 6, 866-871 (2017).  
DOI:10.14952/SEIKAGAKU.2017.890866
- ⑤ Yusuke Nakamichi, Sayoko Oiki, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Conformational change in the active site of Streptococcal unsaturated glucuronyl hydrolase through site-directed mutagenesis at Asp-115. *Protein J.*, 査読有, Vol. 35, No. 4, 300-309 (2016).  
DOI: 10.1007/s10930-016-9673-y
- ⑥ Ryuichi Takase, Yukie Maruyama, Sayoko Oiki, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Structural determinants in bacterial 2-keto-3-deoxy-D-gluconate dehydrogenase KduD for dual-coenzyme specificity. *Proteins*, 査読有, Vol. 84, No. 7, 934-947 (2016).  
DOI: 10.1002/prot.25042
- ⑦ 橋本 渉、丸山如江、伊藤貴文、高瀬隆一、村田幸作. ヘテロ多糖の輸送にかかわる細菌由来超分子の構造基盤. *化学と生物*, 査読有, Vol. 54, No. 12, 885-891 (2016).  
DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.54.885
- ⑧ Yukie Maruyama, Takafumi Itoh, Ai Kaneko, Yu Nishitani, Bunzo Mikami, Wataru Hashimoto, and Kousaku Murata. Structure of a bacterial ABC transporter involved in the import of an acidic polysaccharide alginate. *Structure*, 査読有, Vol. 23, No. 9, 1643-1654 (2015).  
DOI: 10.1016/j.str.2015.06.021
- [学会発表] (計 12 件)
- ① 老木紗予子、佐藤賢宏、蒲地玲子、三上文三、村田幸作、橋本 渉. グリコサミノグリカンの輸送に関わる細菌タンパク質は二種類の基質結合型 closed 構造をとる. 日本農芸化学会 2018 年度大会、2018 年 3 月 16 日、名城大学.
- ② 岩瀬久夢、山田章文、河合桂吾、老木紗予子、三上文三、村田幸作、橋本 渉. ヘパリンの分解と代謝に関わる乳酸菌酵素系の構造・機能解析. 日本農芸化学会関西支部第 502 回講演会、2018 年 2 月 3 日、京都大学.
- ③ 金子あい、老木紗予子、丸山如江、三上文三、村田幸作、橋本 渉. 酸性多糖の輸送に関わる基質結合タンパク質と ABC トランスポーターとの相互作用様式. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (第 90 回日本生化学会大会)、2017 年 12 月 8 日、神戸国際展示場.
- ④ 老木紗予子、中道優介、村田幸作、橋本 渉. ヒト分泌物であるヒアルロン酸の取り込みに関わる腸内細菌の新規なホストトランスフェラーゼ系. 日本応用糖質科学会平成 29 年度大会 (第 66 回)、2017 年 9 月 7 日、日本大学.
- ⑤ 老木紗予子、蒲地玲子、三上文三、村田幸作、橋本 渉. グリコサミノグリカンの輸送に関わる細菌由来基質結合タンパク質のドメインダイナミクス. 日本農芸化学会 2017 年度大会、2017 年 3 月 20 日、京都女子大学.
- ⑥ 河合桂吾、蒲地玲子、老木紗予子、村田幸作、橋本 渉. 腸内細菌における宿主多糖グリコサミノグリカン分解菌の多様性. 日本農芸化学会関西支部第 498 回講演会、2017 年 2 月 4 日、京都大学.
- ⑦ 老木紗予子、三上文三、村田幸作、橋本 渉. 病原性連鎖桿菌による動物細胞外マトリックス (グリコサミノグリカン) の分解. 第 89 回日本生化学会 2016 年度大会、2016 年 9 月 27 日、仙台国際センター.
- ⑧ 中道優介、河合桂吾、村田幸作、橋本 渉. 腸内細菌による宿主多糖グリコサミノグリカンの分解に関するメタゲノム解析. 日本農芸化学会 2016 年度関西支部大会、2016 年 9 月 17 日、滋賀県立大学.
- ⑨ 高瀬隆一、丸山如江、老木紗予子、三上文三、村田幸作、橋本 渉. 酸性多糖の代謝に関わる還元酵素の補酵素要求性に関わる構造要因. 日本農芸化学会 2016 年度大会、2016 年 3 月 30 日、札幌コンベンションセンター.
- ⑩ 老木紗予子、丸山如江、三上文三、村田幸作、橋本 渉. 動物細胞外マトリックス (グリコサミノグリカン) を基質とする病原性細菌 ABC トランスポーター. 日本農芸化学会 2016 年度大会、2016 年 3 月 28 日、札幌コンベンションセンター.
- ⑪ 上西加純、金子あい、丸山如江、水野伸宏、馬場清貴、熊坂 崇、三上文三、村田幸作、橋本 渉. 細菌 ABC トランスポーターの ATP 加水分解は、closed 型の基質結合タンパク質との相互作用によって惹起される. 日本農芸化学会関西支部第 493 回講演会、2016 年 2 月 6 日、京都大学.
- ⑫ 老木紗予子、丸山如江、三上文三、村田幸作、橋本 渉. グリコサミノグリカン輸送に関わる連鎖桿菌由来基質結合タンパク質の X 線結晶構造解析. 日本農芸化学会中部・関西支部合同大会、2015 年 9 月 20 日、富山県立大学.

〔図書〕（計1件）

- ①橋本 渉. 微生物がつくる多様な増粘安定剤. *食と微生物の事典*（北本勝ひこ、春田伸、丸山潤一、後藤慶一、尾花望、斎藤勝晴 編），朝倉書店, pp122-125 (2017).

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

該当なし

○取得状況（計0件）

該当なし

〔その他〕

報道関連情報（計23件）

- ①2017年12月14日. 小さな原子団が巨大分子のかたちを変える. 京都大学 HP  
[http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research\\_results/2017/1712\\_05\\_2.html](http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2017/1712_05_2.html)
- ②2017年4月24日. 細菌によるコンドロイチン分解・吸収機構の実体解明－感染症に対する予防や治療薬の開発に期待－. 京都大学 HP  
[http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research\\_results/2017/1704\\_21\\_1.html](http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2017/1704_21_1.html)
- ③2017年4月22日. 病原菌の糖類吸収メカニズムを解明－感染症、新治療薬に期待－. 京都新聞 朝刊 25面.
- ④2015年7月31日. 細菌の大規模改変を可能にする新技術の確立－巨大分子輸送 ABC トランスポーターの全構造と輸送機構を解明－. 京都大学 HP  
[http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research\\_results/2015/1507\\_31\\_1.html](http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2015/1507_31_1.html)
- ⑤2015年7月31日. 大きな分子を取り込む細菌の輸送機構解明. 日刊工業新聞 21面.

研究成果データベース（計13件）

- ①Sayoko Oiki, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Crystal structure of solute-binding protein complexed with sulfate group-free unsaturated chondroitin disaccharide. Protein Data Bank: 5GUB (2016).  
<https://pdj.org/mine/summary/5gub>
- ②Sayoko Oiki, Reiko Kamochi, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Conformational change of bacterial solute-binding protein involved in import of glycosaminoglycans. *SPring-8 User Experiment Report*, 2016B2574 (2016).  
<https://user.spring8.or.jp/apps/form/ExperimentReport.action?proposalSummary=26169>
- ③Ryuichi Takase, Yukie Maruyama, Sayoko Oiki, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Crystal structure of 2-keto-3-deoxy-D-gluconate dehydrogenase from *Pectobacterium carotovorum*. Protein Data Bank: 4Z9Y (2015).

- ④Yukie Maruyama, Ryuichi Takase, Sayoko Oiki, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Crystal structure of 2-keto-3-deoxy-D-gluconate dehydrogenase from *Streptococcus pyogenes*. Protein Data Bank: 4Z9X (2015).  
<https://pdj.org/mine/summary/4z9x>

- ⑤ Sayoko Oiki, Kasumi Uenishi, Yukie Maruyama, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Crystal structure of *Streptobacillus* solute-binding protein involved in import of glycosaminoglycans. *SPring-8 User Experiment Report*, 2015B2058 (2015).  
<https://user.spring8.or.jp/apps/form/ExperimentReport.action?proposalSummary=23806>

アウトリーチ活動（計3件）

- ①2017年10月28、29日、「京都大学宇治キャンパス公開」にて、一般市民向けに研究内容を紹介するパンフレットとポスターの作成に協力した。
- ②2016年10月22、23日、「京都大学宇治キャンパス公開」にて、一般市民向けに研究内容を紹介するパンフレットとポスターの作成に協力した。
- ③2015年10月24、25日、「京都大学宇治キャンパス公開」にて、一般市民向けに研究内容を紹介するパンフレットとポスターの作成に協力した。

6. 研究組織

(1)研究代表者

橋本 渉 (HASHIMOTO, Wataru)  
京都大学・大学院農学研究科・教授  
研究者番号：30273519

(2)研究分担者

三上 文三 (MIKAMI, Bunzo)  
京都大学・大学院農学研究科・教授  
研究者番号：40135611

丸山 如江 (MARUYAMA, Yukie)  
摂南大学・理工学部・助教  
研究者番号：90397563

(3)連携研究者

村田 幸作 (MURATA, Kousaku)  
摂南大学・理工学部・教授  
研究者番号：90142299