

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月18日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21380059

研究課題名（和文） グルタチオン代謝とポリアミン代謝の古い関係を新しく科学する～基盤から応用へ

研究課題名（英文） Study of the old relation between glutathione metabolism and polyamine metabolism～from the basic study to the applied study

研究代表者

鈴木 秀之 (SUZUKI HIDEYUKI)

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・教授

研究者番号：10202136

研究成果の概要（和文）：

大腸菌のグルタチオン代謝とポリアミン代謝は、グルタチオニルスペルミジンを通じて重なり合う代謝経路であるという視点に立って見直しを行った。特にプトレッシンの異化経路である Puu 代謝系の制御機構を詳細に検討した。リプレッサーである PuuR と菌体内に取り込んだプトレッシンと最初に反応する PuuA のプトレッシンに対するアフィニティーが小さいことは、一定量のプトレッシン濃度を菌体内に保障し、その濃度が極めて高くなってからだけ働くように設計されたシステムであることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Regulation mechanisms of glutathione metabolism and polyamine metabolism were studied from the point of view that both metabolic pathways met at glutathionylspermidine. We studied extensively on the regulation of the Puu pathway, which is a catabolic pathway of putrescine. The affinity for putrescine of the repressor PuuR and PuuA, which is the first enzyme of the Puu pathway, are very low. This indicates that the Puu pathway is regulated, so that the pathway is active only in the presence of high putrescine concentration.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2010年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2011年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：微生物生産学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：グルタチオン、ポリアミン、大腸菌、結晶構造、代謝経路

1. 研究開始当初の背景

グルタチオン(GSH)、プトレッシン(Put)、スペルミジン(Spd)が、大腸菌の生育、surface motility、バイオフィーム形成に関与していることが分かってきていた。大腸菌ではGSH代謝経路とポリアミンの代謝経路がグルタチオニルスペルミジン(GSH-Spd)を介して重

なっていることは古くから知られていたが、何のために GSH-Spd を作るのか、その生成の制御機構はどうなっているのかについては全く不明なままであった。

2. 研究の目的

これまでそれぞれ別々に進めてきた大腸菌の

GSH 代謝とポリアミン代謝の研究を、両者は GSH-Spd を介して重なり合う代謝経路であるという視点に立って見直し、各代謝経路を構成する各酵素、転写調節因子、トランスポーターの構造と機能に関する研究をさらに進めると同時にこれら関連し合う代謝系がお互いをどのように制御し、どのようにシグナルを伝えることによってスウオミングやバイオフィーム形成などの生態・形態変化を引き起こしているかを解明すること、さらに得られた知見を応用分野で利用することを目的とした。

3. 研究の方法

大腸菌を用いたため、Datsenko らが開発した Red リコンビナーゼと FRT 配列を利用した遺伝子破壊法を用いることにより、菌株の作成は他の菌株に比べて簡単に行うことができた。遺伝子の転写量の比較は RT-PCR により、転写因子である PuuR タンパク質と DNA プローブとの結合はゲルシフトアッセイにより、PuuR の DNA 上の結合サイトは DNase I フットプリントにより、またプレッシンの菌体内への取り込みは ^{14}C でラベルしたプレッシンの取り込み量を測定するトランスポートアッセイにより行った。結晶の構造解析には Spring8 の放射光を用いた。

4. 研究成果

なぜ枯草菌の GGT は耐塩性かについて 枯草菌 GGT の結晶構造解析に成功し、大腸菌の GGT と比較した。触媒ポケットを覆う lid-loop を持っていないものの、それ以外に構造的に大きく違っている所はなかった。しかし、食塩非存在下で見られる酵素分子表面の負に帯電した領域が、3M 食塩存在下において、大腸菌の GGT ではなくなるのに対して、枯草菌では依然として存在することが、タンパク質の水和状態を保ち酵素を安定化していると考えられた。

新規プレッシントランスポーター PlaP と YdcSTUV の発見 *yeeF* がコードするタンパク質が PuuP と同種性が高いことから、*yeeF* はプレッシントランスポーターをコードしていると予想し、実験的に確かめ、PlaP と命名した。PlaP のプレッシンに対する K_m 値は他のプレッシンを取り込むトランスポーターと比べて非常に高く、菌体内へのプレッシン取り込みを制限していると考えられた。このトランスポーターを欠損すると 1 型線毛による surface motility を失うことから、プレッシンが菌の間のシグナル伝達物質として働いていることが示唆された。一方、YdcSTUV は培地のグルコース制限時に発現するプレッシントランスポーターであることを明らかにした。

ポリアミン代謝経路の制御 ポリアミン代謝系のうち、Puu代謝系を構成する遺伝子群の発現を抑えている転写調節因子であるPuuRタンパク質が

結合するDNA上の領域のうち、*puuA-puuD*間をゲルシフトアッセイ、フットプリントアッセイにより解析し、結合サイト4箇所を特定し、コンセンサス配列を予想した。この予想コンセンサス配列に変異を導入するとPuuRとの結合が変化低減し、シフトするバンドの量が少なくなることを確認し、15塩基からなるコンセンサス配列を決定した。マイクロアレーやRT-PCRの結果から、*puuP*, *puuE*遺伝子の発現はPuuRタンパク質によって制御されていることを示唆するデータを得ていたが、*puuP*, *puuE*遺伝子の前には予想コンセンサス配列はない。今回、*puuP*遺伝子の転写が*puuA*遺伝子のプロモーターからのリードスルーによって起こること、*puuE*遺伝子の転写が*puuC*遺伝子のプロモーターからのリードスルーによって起こることを、*puuAP*, *puuCBE* mRNAが存在することを確認することにより示した。また、プレッシン存在下では、ゲルシフト量が減るが、スペルミジン存在下では減らないことから、細胞質内のプレッシン量に応じてPuu遺伝子群の転写が制御されていることが明らかとなった。しかし、PuuRのプレッシンに対するアフィニティーは極端に低く、また菌体内に取り込まれたプレッシンを最初にアタックするPuuAのプレッシンに対する K_m 値が大きいことから、これらは菌体内のプレッシン濃度が極めて高くなってから働くように設計されたシステムであると考えられた。このことは、ポリアミンが生物の増殖に必要であることから、一定濃度は常に菌体内に保障するメカニズムであると考えられる。さらに、大腸菌が菌体外に著量のプレッシンを蓄積している時に、ポリアミン代謝系のどの遺伝子の発現が上昇しているかをRT-PCRによって調べたところ、プレッシン生合成酵素であるSpeA, SpeBの他にトランスポーターであるPuuP, PotE, PlaP, YdcSTUV, PotFGHIの遺伝子の発現も上昇していることが分かった。

グルタチオニルスペルミジン合成酵素の基質特異性 グルタチオニルスペルミジン合成酵素は合成活性とアシラーゼ活性を1分子内に持つ酵素である。アシラーゼの活性中心であるCys59をAlaに変異させた変異酵素を用いてグルタチオニルスペルミジンを効率よく酵素合成し、精製する方法を開発した。得られたグルタチオニルスペルミジンの酸化還元電位を測定したところグルタチオンより還元力のはるかに強いことが明らかとなった。この変異酵素を用いて合成反応の基質特異性を調べその結果より、スペルミジンのプロピル基側のアミノ基をグルタチオンのC末端のカルボキシル基と結合させることが分かった。

GshA 遺伝子の翻訳開始にポリアミン濃度が影響するかを in vivo で確かめる 菌が盛んに増殖しているときは GSH もポリアミンも多量に生合成されていること、大腸菌の GSH 合成系の 1 番

目の酵素である γ -グルタミルシステイン合成酵素の遺伝子 *gshA* の開始コドンが TTG であること、大腸菌ではグルタチオンとスペルミジンが結合したグルタチオニルスペルミジンが合成されることから、GshA の翻訳がスペルミジンによって促進されるポリアミンレギュロンに属するのではないかと考え、ポリアミン生合成ができなくなった株と野生株とで、*gshA* の転写量と翻訳量を比較したが、翻訳がポリアミンによって影響を受けているということを示す結果は得られなかった。

大腸菌の菌体外に GSH を著量蓄積させる GSH 発酵法の開発 (1)グルタチオン生合成の2つの酵素遺伝子を多コピープラスミドにのせて、発現量を増やし;(2)*gshA* 遺伝子の開始コドンを TTG から ATG に置き換え翻訳頻度を高め;(3)グルタチオンを分解する GGT とインポーターである YliABCD を破壊した株を宿主として用い;(4)培地の S 源をチオ硫酸にすること、これらの組み合わせにより、菌体外に GSH を著量 (170 mg/L) 蓄積させる GSH 発酵法を確立した。本法ではシステインを大腸菌に生合成させているわけであるが、システイン生合成経路の上流にあり Cys によりフィードバック阻害を受けることが分かっている CysE に知られている脱感作変異(M256I)を導入したが GSH 蓄積に効果は見られなかった。

味噌醸造時に GGT を添加してうま味とコク味を増強する方法の開発 味噌醸造時に耐塩性である枯草菌の GGT を添加し、その効果を調べた。経時的にサンプリングして、醗中のグルタミン酸濃度を測定したところ、GGT を添加したものは無添加のものに比べて 20 mM 程度高くなっていることが分かった。また、コク味ペプチドとして報告のある γ -Glu-Val と γ -Glu-Val-Val の仕込み3ヶ月後の溜中の濃度を測定したところ、GGT を添加したものは無添加のものに比べて、1.5 倍の値を示した。このことから GGT の添加は、味噌のうま味とコク味の増強に有効であることが分かった。

GGT による γ -Glu-Gln の酵素合成法の開発 水溶液中で不安定なグルタミンに代わって輸液などに用いることができる Gln 誘導体候補として γ -Glu-Gln がある。このジペプチドを Gln を基質として GGT により合成する方法を開発した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件) (全て査読有)

- 湯浅(小島)明子、林綾子、韓立友、渡辺文太、平竹潤、湯浅勲. γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) 阻害剤によるコラーゲンおよびエラスチン産生の亢進効果とそのメカニズム. **日本化粧品学会誌**, *in press* (2012).
- N. Nemoto, S. Kurihara, Y. Kitahara, K. Asada, K. Kato, and H. Suzuki. Regulation mechanism of the putrescine utilization pathway by the transcription factor PuuR in *Escherichia coli* K-12. **Journal of Bacteriology**, *in press*, doi:10.1128/

JB.00097-12 (2012).

- S. Kurihara, H. Suzuki, M. Oshida, and Y. Benno. A novel putrescine importer required for type 1 pili-driven surface motility induced by extracellular putrescine in *Escherichia coli* K-12. **Journal of Biological Chemistry**, **286**(12), 10185-10192 (2011).
- A. S. A. F. El Sayed, S. Fujimoto, C. Yamada, and H. Suzuki. Enzymatic synthesis of γ -glutamylglutamine, a stable glutamine analogue, by γ -glutamyltranspeptidase from *Escherichia coli* K-12. **Biotechnology Letters**, **32**(12), 1877-1881 (2010).
- 栗原新、鈴木秀之. γ -グルタミル中間体を経る大腸菌の新規ポリアミン代謝系と取り込み系の発見: プトレシンの効率的な発酵生産に資するか? **化学と生物**, **48**(10), 664-666 (2010).
- S. Kurihara, K. Kato, K. Asada, H. Kumagai, and H. Suzuki. A putrescine-inducible pathway comprising PuuE-YneI in which γ -aminobutyrate (GABA) is degraded into succinate in *Escherichia coli* K-12. **Journal of Bacteriology**, **192**(18), 4582-4591 (2010).
- H. Suzuki, C. Yamada, K. Kijima, S. Ishihara, K. Wada, K. Fukuyama, and H. Kumagai. Enhancement of glutaryl-7-aminocephalosporanic acid acylase activity of γ -glutamyltranspeptidase of *Bacillus subtilis*. **Biotechnology Journal**, **5**(8), 829-837 (2010).
- K. Wada, M. Irie, H. Suzuki, K. Fukuyama. Crystal structure of the halotolerant γ -glutamyltranspeptidase from *Bacillus subtilis* in complex with glutamate reveals its unique architecture of the solvent-exposed catalytic pocket. **FEBS Journal**, **277**(4), 1000-1009 (2010).と表紙
- S. Kurihara, H. Suzuki, Y. Tsuboi, and Y. Benno. Swarming dependent on spermidine and the spermidine importer in *Escherichia coli* K-12. **FEMS Microbiology Letters**, **294**(1), 97-101 (2009).

[学会発表] (計 57 件)

- 坪田亜香里、澤野達哉、小山武志、渡辺文太、平竹潤、大喜多守、松村靖夫. 新規選択的 γ -glutamyl transpeptidase 阻害薬 GGsTopTM による心虚血再灌流障害の保護効果について. 日本薬学会第 132 年会(札幌市、札幌コンベンションセンター; 3/30/12)
- 栗原新、鈴木秀之、Philip N. Rather、辨野義己. 細菌における細胞外シグナルとしてのポリアミンとそのトランスポーター. 平成 24 年度日本農芸化学会大会 シンポジウム/招待講演(京都市、京都女子大学; 3/25/12)
- 鈴木秀之、栗原新. モデル生物としての大腸菌のポリアミン代謝. 平成 24 年度日本農芸化学会大会 シンポジウム/招待講演(京都市、京都女子

- 大学;3/25/12)
4. 坂井友美, 栗原新, 松本光晴, 木邊量子, 辨野義己, 鈴木秀之. 大腸菌をモデル生物としたヒト腸内ポリアミン濃度を調節する手法の確立. 平成24年度日本農芸化学会大会(京都市, 京都女子大学;3/25/12)
 5. 関田葵, 大西晶子, 佐藤郁恵, 佐藤優理, 井塚俊介, 梶本陽子, 福井啓太, 鈴木秀之. グルタチオンを高生産する大腸菌株の作成および直接醗酵法の開発. 平成24年度日本農芸化学会大会(京都市, 京都女子大学;3/24/12)
 6. 村松幸治, 澤木笑美子, 木邊量子, 栗原新, 坂井友美, 鈴木秀之, 根本直樹, 辨野義己, 松本光晴. アルギニン経口投与による腸内常在菌を介した大腸内ブレッシン濃度上昇の誘導. 平成24年度日本農芸化学会大会(京都市, 京都女子大学;3/23/12)
 7. 田中亮輔, 山本真也, 渡辺文太, 平竹潤, 大喜多守, 松村靖夫. 虚血性急性腎障害に対する新規選択的 γ -glutamyl transpeptidase 阻害薬 GGsTopTM の保護効果について. 第85回日本薬理学会年会(京都市, 京都国際会館;3/15/12)
 8. 掛川苑美, 鈴木秀之. 大腸菌におけるバイオフィーム形成とポリアミンの関係. 第3回日本ポリアミン学会年会(さいたま市, 市民会館;1/26/12)
 9. 松本光晴, 澤木笑美子, 村松幸治, 木邊量子, 栗原新, 坂井友美, 鈴木秀之, 根本直樹, 辨野義己. アルギニンによる腸内常在菌を介した大腸内ブレッシン濃度上昇. 第3回日本ポリアミン学会年会(さいたま市, 市民会館;1/26/12)
 10. 鈴木秀之, 栗原新, 押田麻由, 辨野義己. 1型繊毛による surface motility に必要な大腸菌の新規ブレッシントランスポーター, YeeF. 平成23年日本農芸化学会関西支部中部支部合同支部大会(京都市, 京都大学農学部;10/2/11)
 11. 根本直樹, 栗原新, 北原譲, 朝田圭, 加藤健二, 鈴木秀之. ブレッシン代謝の転写抑制因子 PuuR の認識配列解析. 平成23年日本農芸化学会関西支部中部支部合同支部大会. (京都市, 京都大学農学部;10/2/11)
 12. 根本直樹, 栗原新, 北原譲, 朝田圭, 加藤健二, 鈴木秀之. 転写抑制因子 PuuR による大腸菌ブレッシン代謝制御. 平成23年度日本生化学会大会シンポジウム(京都市, 京都国際会館;9/24/11)
 13. 伊田知代, 平竹潤, 鈴木秀之, 福山恵一, 和田啓. 枯草菌 γ -グルタミルトランスペプチダーゼに対する阻害剤アシピシンの結合様式. 第84回日本生化学会年会(京都市, 京都国際会館;9/22/11)
 14. 鈴木秀之, 栗原新, 辨野義己. ポリアミンは細菌の新しいシグナル伝達物質? 平成23年度日本生化学会大会シンポジウム/招待講演(京都市, 京都国際会館;9/21/11)
 15. 根本直樹, 栗原新, 北原譲, 朝田圭, 加藤健二, 鈴木秀之. 転写抑制因子 PuuR による大腸菌ブレッシン代謝制御. 第4回トランスグルタミナーゼ研究会&日本ポリアミン学会合同学術集会(京都市, 京都工芸繊維大学60周年記念館;9/20/11) 優秀発表賞受賞
 16. H. Suzuki, S. Kurihara, and H. Kumagai. A novel putrescine metabolic pathway of *Escherichia coli*: Its related enzymes and transporter. 第16回日独酵素工学ワークショップ/基調講演(富山市, 富山国際会議場;9/14/11)
 17. 平竹潤. γ -グルタミルトランスペプチダーゼ阻害剤によるアンチエイジング効果. 第2回コスメティクスジャパン 国際化粧品開発展(東京都, 東京ビックサイト;7/1/11)
 18. H. Suzuki, S. Kurihara, A. Iwai, and Y. Tsuboi. A novel putrescine importer YdcSTUV in *Escherichia coli* K-12. Gordon Research Conference: Polyamines (Waterville Valley;6/20-21/11)
 19. S. Kurihara, H. Suzuki, M. Oshida, and Y. Benno. A novel putrescine importer required for type 1 pili-driven surface motility induced by extracellular putrescine in *Escherichia coli* K-12. Gordon Research Conference: Polyamines (Waterville Valley;6/20-21/11)
 20. N. Nemoto, S. Kurihara, Y. Kitahara, K. Asada, K. Kato, and H. Suzuki. Regulation of putrescine utilization pathway by a transcriptional factor PuuR in *Escherichia coli* K-12. Gordon Research Seminar: Polyamines (Waterville Valley;6/18/11) / Gordon Research Conference: Polyamines (Waterville Valley;6/20-21/11)
 21. Y. Sakai, S. Kurihara, M. Matsumoto, R. Kibe, Y. Benno, and H. Suzuki. Identification of a regulator which increases the extra-cellular polyamine concentration of *Escherichia coli*. Gordon Research Seminar: Polyamines (Waterville Valley;6/18/11) / Gordon Research Conference: Polyamines (Waterville Valley;6/20-21/11)
 22. A. Kambe, S. Kurihara, M. Oshida, and H. Suzuki. Oxidation and degradation of γ -glutamylputrescine synthetase (PuuA) in *Escherichia coli* K-12. Gordon Research Seminar: Polyamines (Waterville Valley;6/18/11) / Gordon Research Conference: Polyamines (Waterville Valley;6/20-21/11)
 23. 湯浅(小島)明子, 平竹潤, 渡辺文太, 韓立友, 湯浅勲. γ -グルタミルトランスペプチダーゼ阻害剤による皮膚のアンチエイジング効果とそのメカニズム. 第36回日本化粧品学会年会(東京都, 有楽町ホール;6/9/11)
 24. 和田啓, 岡田敏洋, 鈴木秀之, 熊谷英彦, 平竹潤, 福山恵一. 結晶構造に基づいた γ -グルタミルトランスペプチダーゼの成熟化および反応機構の解明. 第11回日本蛋白質科学会年会(吹田市, ホテル阪急エキスポパーク;6/8/11)
 25. 平竹潤. 瓢箪から駒 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ阻害剤とコラーゲン. 2011年度エミール研究会セミナー/招待講演(京都市, コーポイン・京都;4/12/11)

26. 根本直樹、栗原新、北原謙、朝田圭、加藤健二、鈴木秀之。大腸菌プロレッシン代謝に関わる転写因子PuuRの機能解析。平成23年度日本農芸化学会大会(京都市、京都女子大学;3/27/11)
27. 関田葵、大西晶子、佐藤郁恵、佐藤優理、井塚俊介、梶本陽子、福井啓太、鈴木秀之。大腸菌によるグルタチオン直接発酵法の開発。平成23年度日本農芸化学会大会(京都市、京都女子大学;3/27/11)
28. 坂井友美、栗原新、松本光晴、木邊量子、辨野義己、鈴木秀之。大腸菌をモデル生物とした腸内ポリアミン濃度制御物質の同定。平成23年度日本農芸化学会大会(京都市、京都女子大学;3/26/11)
29. 栗原新、岩井杏依子、壺井雄一、鈴木秀之。大腸菌の新規プロレッシンインポーターPucABCD。日本ポリアミン学会第2回年会(宇都宮市、帝京大学宇都宮キャンパス、;1/28/11)
30. 根本直樹、栗原新、北原謙、朝田圭、加藤健二、鈴木秀之。大腸菌のプロレッシン代謝制御。日本ポリアミン学会第2回年会(宇都宮市、帝京大学宇都宮キャンパス;1/28/11)
31. 坂井友美、栗原新、松本光晴、木邊量子、辨野義己、鈴木秀之。モデル生物大腸菌を用いた腸内ポリアミン濃度制御物質の同定。日本ポリアミン学会第2回年会(宇都宮市、帝京大学宇都宮キャンパス;1/27/11)
32. 松本光晴、栗原新、木邊量子、大賀拓史、坂井友美、村松幸治、澤木笑美子、鈴木秀之、辨野義己。腸内ポリアミン濃度に影響を与える腸内細菌由来代謝産物のメタボローム解析。日本ポリアミン学会第2回年会(宇都宮市、帝京大学宇都宮キャンパス;1/27/11)
33. J. Hiratake, M. Nakajima, H. Liyou, K. Wada, T. Okada, M. Irie, H. Suzuki, K. Fukuyama. Glutathione-like transition-state analogue inhibitors of γ -glutamyl transpeptidase (GGT) to probe the human GGT active site. Pacificchem 2010 (Symposium #129 "Bioorganic Reaction Mechanisms"), Honolulu, Hawaii, USA; Dec. 17, 2010)
34. 栗原新、岩井杏依子、壺井雄一、鈴木秀之。大腸菌の新規プロレッシンインポーターYdcSTUV。日本分子生物学会年会・日本生化学会大会合同大会(神戸市、神戸ポートアイランド;12/9/10)
35. 根本直樹、栗原新、北原謙、朝田圭、加藤健二、鈴木秀之。大腸菌由来プロレッシン代謝系転写因子PuuRの転写調節機構の解明。日本分子生物学会年会・日本生化学会大会合同大会(神戸市、神戸ポートアイランド;12/8/10)
36. 林田果乃子、栗原新、北田雄祐、鈴木秀之。大腸菌のグルタチオニルスペルミジン合成/分解酵素(Gsp)を用いたグルタチオニルスペルミジンの合成。日本分子生物学会年会・日本生化学会大会合同大会(神戸市、神戸ポートアイランド;12/7/10)
37. 伊田知代、和田啓、平竹潤、鈴木秀之、福山恵、二。グルタチオン代謝の鍵酵素 γ -グルタミルトランスペプチダーゼに対する古典的阻害剤アンピシリンの結合様式。日本分子生物学会年会・日本生化学会大会合同大会(神戸市、神戸ポートアイランド;12/7/10)
38. S. Kurihara, H. Suzuki, M. Oshida, Y. Tsuboi, A. Iwai, Y. Sakai, and Y. Benno. A novel polyamine importer, YeeF, required for swarming induced by extracellular polyamines in *Escherichia coli* K-12. 2010 International Polyamine Conference (御殿場、時の栖;6/16/10)
39. K. Hayashida, S. Kurihara, Y. Kitada, and H. Suzuki. Synthesis of glutathionylspermidine using glutathionylspermidine synthetase/amidase (Gsp) from *Escherichia coli* K-12. 2010 International Polyamine Conference (御殿場、時の栖;6/16/10)
40. A. Kambe, S. Kurihara, M. Oshida, and H. Suzuki. Oxidation and degradation of γ -glutamylputrescine synthetase (PuuA) in *Escherichia coli* K-12. 2010 International Polyamine Conference (御殿場、時の栖;6/15/10)
41. H. Suzuki, Y. Sato, I. Sato, S. Izuka, A. Onishi, Y. Kajimoto. Production of glutathione as a kokumi-enhancing substance by direct fermentation. 9th Wartburg Symposium on Flavor Chemistry & Biology (Eisenach, Germany;4/16/10)
42. 林田果乃子、栗原新、北田雄祐、鈴木秀之。大腸菌のグルタチオニルスペルミジン合成酵素/アミダーゼ(Gsp)によるグルタチオニルスペルミジンの合成。平成22年度日本農芸化学会大会(東京都、東京大学駒場キャンパス;3/30/10)
43. 栗原新、鈴木秀之、押田麻由、岩井杏依子、辨野義己。大腸菌の細胞外プロレッシンによって誘導される遊走に必要な新規プロレッシントランスポーターYeeF。平成22年度日本農芸化学会大会(東京都、東京大学駒場キャンパス;3/28/10)トビックス賞受賞
44. H. Suzuki, C. Yamada, K. Kijima, S. Ishihara, C. Miwa, K. Wada, T. Okada, K. Fukuyama, and H. Kumagai. Effective improvement of glutaryl-7-aminocephalosporanic acid acylase activity of *Escherichia coli* γ -glutamyltranspeptidase. 8th KIT-Vietnam Seminar (京都市、工繊大;3/23/10)
45. 栗原新、織田晋平、壺井雄一、金玄国、押田麻由、熊谷英彦、鈴木秀之。大腸菌の γ -グルタミルトランスペプチダーゼ合成酵素(PuuA)の生理的意義と酵素学的性質。平成21年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会(那覇市、西原町;10/31/09)
46. 押田麻由、栗原新、鈴木秀之。大腸菌 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ合成酵素の活性アミノ酸残基の酸化修飾と分解。平成21年度日本農芸

- 化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会（那覇市、西原町；10/31/09）
47. 藤本紫野、El Sayed, Ashraf、山田千晶、鈴木秀之。バクテリア由来の γ -グルタミルトランスペプチダーゼによる γ -グルタミル化合物の酵素合成法の開発。平成21年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会（那覇市、西原町；10/31/09）
 48. 栗原新、鈴木秀之、押田麻由、辨野義己。大腸菌の細胞外ポリアミンによって誘導される遊走に必要な新規プロテシニンインポーター。第82回日本生化学会大会（神戸市、神戸国際会議場、展示場；10/23/09）口頭発表&ポスター。
 49. 押田麻由、栗原新、鈴木秀之。大腸菌における酸化修飾と分解。第82回日本生化学会大会（神戸、神戸国際会議場、展示場；10/23/09）優秀発表賞受賞
 50. 和田啓、入江麻智子、鈴木秀之、福山恵一。枯草菌に由来する耐塩性 γ -グルタミルトランスペプチダーゼの構造解析。第82回日本生化学会大会（神戸市、神戸国際展示場；10/22/09）
 51. H. Suzuki, C. Yamada, K. Kijima, S. Ishihara, C. Miwa, K. Wada, T. Okada, K. Fukuyama, and H. Kumagai. Effective improvement of glutaryl-7-aminocephalosporanic acid acylase activity of bacterial γ -glutamyltranspeptidase. 15th German-Japanese Workshop on Enzyme Technology/招待講演(Rostock, Germany; 9/26/09)
 52. 北原謙、栗原新、朝田圭、加藤健二、鈴木秀之。大腸菌のPuu代謝系調節因子PuuRに関する研究。「ポリアミンと核酸の共進化」第8回合同シンポジウム（東京都、慈恵医大；9/12/09）
 53. M. Oshida, S. Kurihara, S. Oda, and H. Suzuki. Oxidation and degradation of γ -glutamylputrescine synthetase in *Escherichia coli* K-12. The 11th International Congress on Amino acids, Peptides and Proteins (Vienna, Austria; 8/6/09)
 54. S. Kurihara, H. Suzuki, M. Oshida, Y. Tsuboi, Y. Ogasa, and Y. Benno. Polyamine importers, including a novel putrescine importer, required for swarming induced by extracellular polyamines in *Escherichia coli* K-12. The 11th International Congress on Amino acids, Peptides and Proteins (Vienna, Austria; 8/6/09)
 55. H. Suzuki, M. Oshida, S. Kurihara, Y. Tsuboi, and S. Oda. Putrescine utilization pathway of *Escherichia coli*. The 2009 Molecular Genetics of Bacteria and Phages Meeting (Madison, WI, USA; 8/4-9/09)
 56. H. Suzuki, S. Kurihara, S. Oda, M. Oshida, Y. Tsuboi, and H. Kumagai. γ -Glutamylputrescine synthetase in the putrescine utilization pathway of

Escherichia coli K-12. Gordon Research Conference on Polyamines (Waterville Valley, NH, USA; 6/21-26/2009)

57. S. Kurihara, H. Suzuki, and Y. Benno. Polyamine importers, including a novel putrescine importer, required for swarming induced by extracellular polyamines in *Escherichia coli* K-12. Gordon Research Conference on Polyamines (Waterville Valley, NH, USA; 6/21-26/2009)

〔図書〕（計3件）

1. J. Hiratake, H. Suzuki, K. Fukuyama, K. Wada, and H. Kumagai. Chapter 853: γ -Glutamyltranspeptidase and Its Precursor. *In Handbook of Proteolytic Enzymes*, 3rd Ed. Elsevier, *in press* (2013).
2. H. Suzuki. Microbial production of amino acids and their derivatives for use in foods, nutraceuticals, and medications. *In Microbial production of food ingredients, enzymes and nutraceuticals*. Ed. by B. McNeil, D. Archer, I. Giavasis, and L. Harvey. Woodhead Publishing, Cambridge, UK. *in press* (2012).
3. H. Suzuki, Y. Sato, I. Sato, S. Izuka, A. Onishi, and Y. Kajimoto. Direct fermentation process for production of glutathione: A kokumi-enhancing substance. *In Advances and Challenges in Flavor Chemistry & Biology*. Ed. by T. Hofmann, W. Meyerhof, and P. Shieberle, pp. 229-234. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (2011).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 秀之 (SUZUKI HIDEYUKI)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・教授
研究者番号：10202136

(2) 研究分担者

福山 恵一 (FUKUYAMA KEIICHI)
大阪大学・理学研究科・教授
研究者番号：80032283

平竹 潤 (HIRSATAKE JYUN)
京都大学・化学研究所・教授
研究者番号：80199075

井沢 真吾 (IZAWA SHINGO)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・准教授
研究者番号：10273517

和田 啓 (WADA KEI)
大阪大学・理学研究科・助教
研究者番号：80379304

(3) 連携研究者

()

研究者番号：