科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：34504

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292045

研究課題名(和文) 超好熱菌の低温適応機構に関する包括的理解

研究課題名(英文) Cold temperature adaptation of hyperthermophiles

研究代表者

藤原 伸介 (Fujiwara, Shinsuke)

関西学院大学・理工学部・教授

研究者番号：90263219

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では超好熱菌 *Thermococcus kodakarensis* を低温ストレス下で培養し、誘導される遺伝子をリストアップした。発現特性から分子シャペロニン CpkA と RNA ヘリカーゼ Tk-DeaD が、重要な役割を果たすと考えられた。特に低温活性が強化された CpkA が導入された変異株は、低温での生育促進がみられ、CpkA の重要性が示された。細胞内の主要なポリアミンは生育温度の低下に伴い、分岐型長鎖ポリアミンから、スペルミジンへと変化した。分岐型長鎖ポリアミンは DNA を A 型構造へ変換する。このためポリアミンの組成変化は、温度依存的な遺伝子の発現制御に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Hyperthermophile is considered as the most primitive life. Study of the adaptive mechanisms of hyperthermophiles to cold environments may provide insight into evolutionary processes. In the project, cold inducible genes in *Thermococcus kodakarensis* were listed and evaluated their biological functions. Cold inducible molecular chaperonin CpkA and RNA helicase Tk-DeaD play an important role for cold adaptation. Especially, a mutant chaperonin that is functional at lower temperatures enables *T. kodakarensis* to grow under further colder environments. Polyamine contents in cytoplasm also seem to be correlated with temperature adaptation as cytoplasmic amount of branched chain polyamine (BCPA) is decreased and that of spermidine is increased at cold stressed environment. BCPA induce the A-form in the secondary structure of DNA, while linear-PA have only a minimum effect in vitro, suggesting that temperature dependent expression is correlated with polyamine balance in cytoplasm.

研究分野：微生物生化学

キーワード：アーキア 分子シャペロニン ヘリカーゼ 低温適応

1. 研究開始当初の背景

原始生命は好熱性の微生物であり、進化の過程でより低い温度に適応順化することで多様性を獲得していったと考えられている。超好熱菌ゲノムで遺伝子数と生育温度範囲について検討したところ、生育温度が低くなるにつれて遺伝子のパラログが増え、ゲノムのサイズも大きくなる傾向がみられた。特に類縁菌どうして比較すると低い温度で生育する種ほど遺伝子数(パラログの数)が多い。例えば *Pyrococcus* 属と *Thermococcus* 属は共通の生理的特徴を有すが、*Thermococcus* 属は *Pyrococcus* 属に比べ 10 以上低い温度でも生育する。*Thermococcus* 属のゲノムサイズは *Pyrococcus* 属に比べ約 200kbp ほど大きく、689 個の遺伝子は *Thermococcus* 属にしか存在しない。また超好熱菌の多くはいくつかのアミノ酸の生合成経路を欠落している。この欠落数は生物種によって異なるが、生育下限温度の低下に伴い減ってくる。また、超好熱菌のアミノ酸生合成経路自体も他の生物に比べ特殊である (Yokooji ら, 2013)。我々は以前に *Thermococcus kodakarensis* をモデル生物として 60°C~93 で培養し、細胞の膜脂質分析や発現量の変動するタンパク質、低分子物質の変化を調べた。膜の流動性は脂質炭化水素鎖の飽和度で保たれるのではなく、炭化水素鎖長の変化でなされた (Matsuno ら, 2009)。培養温度の低下に伴い細胞内のポリアミン価数も小さくなり (Morimoto ら, 2010)、RNA ヘリカーゼ Tk-Dead (Shimada ら, 2009) やクラス分子シャペロン CpkA が特異的に誘導された (Fujiwara ら, 2008)。また熱ショックとは独立に誘導されるプレフォルデンも存在した (Danno ら, 2008)。興味深いことは、低温で誘導される遺伝子の多くが *Pyrococcus* 属には存在しないことである。つまり超好熱菌の低温適応に、これら遺伝子の関与があることが示唆される。尚、高温ストレス下での誘導機構は熱依存性転写因子が中心的役割を果たしているが (Kanai ら, 2010)、低温での誘導機構は依然不明な点が多い。研究代表者は平成 23 年度~25 年度の基盤研究(C)「超好熱菌低温ショックシャペロンの作用機序」において低温誘導型分子シャペロン CpkA が特異的に認識するタンパク質群が存在することを解明した (Gao ら, 2012)。また *cpkA* 欠損株は低温ストレス下で生育できないことも示された。分子シャペロンの高発現は基質特異性を曖昧にすることから (Tokuriki ら 2009)、*cpkA* を獲得したことが低温での生育を可能にすると推察された。また低温誘導型 RNA シャペロンである RNA ヘリカーゼ (*Tk-Dead*) の低温ストレス下での必須性を示し、その誘導に必要な領域を特定した (Nagaoka ら, 2013)。上記研究を遂行する過程で、低温誘導される遺伝子群には生育段階や生育速度に依存する遺伝子が混在することが明らかになった。正確な低温適応機構を考えるためには、より精密な

誘導因子のプロファイリングが必要である。また既に知見を得ている低温誘導型分子シャペロンに関する研究及びポリアミン組成変動については、変動機構を含めたより詳細な解析が必要である。

Danno, A. et al., *J. Mol. Biol.*, 382, 298-311 (2008)
 Fujiwara, S. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 7306-7312 (2008)
 Shimada, Y. et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 389, 622-627 (2009)
 Tokuriki and Tawfic, *Nature*, 459, 668-673 (2009)
 Morimoto, M. et al., *J. Bacteriol.*, 192, 4991-5001 (2010)
 Kanai, T. et al., *J. Biochem.*, 147, 361-370 (2010)
 Gao, L. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, 3806-3815 (2012)
 Yokooji, Y. et al., *J. Bacteriol.*, 195, 1940-1948 (2013)
 Nagaoka, E. et al., *J. Bacteriol.*, 195, 4991-5001 (2013)

2. 研究の目的

本研究では超好熱菌の低温適応に必要な因子を精密プロファイリングし、その因子の作用機序とストレス下での誘導機構を解明することを目的とする。特に以下の項目を具体的な研究項目として掲げた。

- (1) 増殖速度依存的遺伝子のプロファイリング
- (2) 低温誘導遺伝子の誘導機構の解明
- (3) 低温誘導型シャペロンの機能解析
- (4) ポリアミンの組成変動と分岐鎖ポリアミンの合成メカニズム
- (5) 超好熱菌の特殊代謝系の温度依存性

3. 研究の方法

- (1) 増殖速度依存的遺伝子のプロファイリング: 生育温度の違いによる遺伝子の発現動態を正確に把握するためには、生育温度の低下による増殖低下と分裂速度の低下による増殖低下を区別する必要がある。そこで連続培養を行い、増殖速度の異なる細胞を調製し、トランスクリプトーム解析を行い、低温特異的に応答する遺伝子と生育速度の低下に依存的な遺伝子群の差異を検討する。
- (2) 低温誘導遺伝子の誘導機構の解明: 特定された各誘導遺伝子の制御機構をレポーターアッセイ系により明らかにする。
- (3) 低温誘導型シャペロンの機能解析: 分子シャペロン CpkA が認識している標的タンパク質の認識機構と作用機序を解明する。RNA ヘリカーゼ *Tk-DeaD* の作用機序を他のヘリカーゼと比較し、低温での触媒機構解明を目指す。また、*Tk-DeaD* に発現が支配される被調節遺伝子を探索する。
- (4) ポリアミンの組成変動と分岐鎖ポリアミンの合成メカニズム: 生育温度の変化に伴い変動する細胞内のポリアミン組成 (生育温度の上昇に伴い長鎖・分岐鎖ポリアミンの割合が増加する) について、その割合を調節するメカニズムを明らかにする。
- (5) 超好熱菌の特殊代謝系の温度依存性: 超好熱菌特有のエネルギー代謝が低温適応時にはどのような役割があるのか、硫黄代謝

と水素呼吸に注目し、検証する。

4. 研究成果

(1) 増殖速度依存的遺伝子のプロファイリング: *Thermococcus kodakarensis* を 85 °C で連続培養し、比増殖速度が 0.2 と 0.8 の細胞を調製し、脂質の分析を行ったところ、増殖速度の低下に伴いカルドアーキオール型脂質 (C40) が減少し、アーキオール型脂質 (C20) が増加した。これは培養温度が低下するときと同様の傾向である。同じ細胞から RNA を抽出してマイクロアレイ解析を行ったところ、増殖速度の変動に伴う膜脂質合成系遺伝子に顕著な変動は見られなかった。一方、増殖速度が低下すると糖新生系遺伝子の転写量が増加し、解糖系遺伝子の低下が見られた。このような傾向は培養温度の変化ではみられなかった。また、増殖速度の依存性がなく、低温にのみ依存する遺伝子として分子シャペロニン CpkA、RNA ヘリカーゼ (Tk-DeaD) 等が挙げられた。これらは低温ストレス下での生育に重要であることが確認された。これら 2 つについてはさらに詳細な解析を行った。

(2) 低温誘導遺伝子の誘導機構の解明: 低温誘導される RNA ヘリカーゼ (Tk-DeaD) 遺伝子は、リボソーム結合部位から開始コドンまでに存在するアデニンの連続配列領域で、高温 (85 °C 以上) で特異的な転写終結 premature termination が起きていることが明らかになった。60 °C で低温誘導される遺伝子上位 23 個の遺伝子のうち 19 遺伝子で SD 配列から開始コドンまでの間にアデニンまたはチミンが連続した配列が存在した。特に低温誘導性のシャペロニン *cpkA* の発現制御領域に着目し、*cpkA* の開始コドンまでに存在する AAT をグアニンの連続配列 (GGG) に置換したところ、低温誘導性が消失した。これらの結果からアデニンとチミンによる不安定な水素結合の連続が、高温で転写終結を引き起こしていると考えられる。

(3) 低温誘導型シャペロニンの機能解析

低温誘導型ヘリカーゼの機能解析

低温誘導型ヘリカーゼ Tk-DeaD (TK0306) の性質を、温度依存性を示さない他の SF2 ヘリカーゼ (Tk-EshA, TK0450, TK0460, TK0928) と比較した。Tk-DeaD は 50 °C で ATPase 活性が最大となり、5' 末端が突出した dsDNA や ssDNA の分子内に形成された二次構造を解消した。Tk-EshA は 80 °C で最大活性を示し、3' 末端が突出した dsDNA 及び両端が突出した dsDNA に対してアンワインド活性を示したが、両端が平滑末端の dsDNA や 5' 末端が突出した dsDNA に対しては作用しなかった。一方、TK0460 は 5' 末端が突出した dsDNA 及び両端が突出した dsDNA に対して活性を示し、両端が平滑末端の dsDNA や 3' 末端が突出した dsDNA に対しては作用しなかった。つまり、Tk-EshA は 3' 突出末端側から作用しているのに対し、TK0460 は 5' 突出末端側から作用していると考えられる。Tk-DeaD

の一本鎖分子に対するアンワインド活性の特徴から、本酵素は主に低温ストレス下で mRNA に形成される翻訳を妨げるような構造を優先的にほくしていると推察する。

低温誘導型分子シャペロニンの機能解析: 低温誘導型分子シャペロニン CpkA の 530 番目の Glu を Gly に置換した変異 CpkA-E530G は 50 °C において高い ATPase 活性を有する。この遺伝子を導入した *T. kodakarensis* DA4 株は 50 °C でも最小培地で生育した。また、本株を野生株と混合し、最小培地にて 50 °C での選抜を行ったところ、DA4 株が優位に選抜された。この結果はわずかにひとつの点変異がシャペロニン分子に入ることで、より低い温度で生育できる性質を獲得したことを示す。分子シャペロニンが低温で変性するタンパク質を積極的に再生し、低温適応を可能にしたと考えられる。

(4) ポリアミンの組成変動と分岐鎖ポリアミンの合成メカニズム

ポリアミンの組成変動メカニズム: *T. kodakarensis* は生育温度の下降に伴い、分岐鎖ポリアミンである *N*⁶-ビスアミノプロピルスペルミジン [3(3)(3)4] の割合が減少し、スペルミジン [34] の割合が高まる。そこで 3(3)(3)4 生合成系の各遺伝子の発現動態解析を行い、転写量から生合成の温度依存性を推測した。その結果 3(3)(3)4 合成系遺伝子に温度依存性は無く、S-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素遺伝子に温度依存性がみられた。ポリアミン成分の温度変化は生合成系遺伝子の発現量変化では無く、反応基質の量により変化していると考えられる。

分岐鎖ポリアミン合成酵素の合成メカニズム: 3(3)(3)4 生合成系の中心的酵素である BpsA について反応速度論解析を行った。本酵素はピンポン Bi Bi 機構で反応が進行することが示された。つまり、Asp159 のカルボキシル基が脱炭酸化された S-アデノシルメチオニンのアミノプロピル基のメチレン炭素を求核攻撃することで、Asp159 がアミノプロピル化され、次にスペルミジン及び *N*⁶-アミノプロピルスペルミジンの *N*⁶ 位のアミノ基がアミノプロピル化された Asp159 を求核攻撃することで反応が進行すると考えられる。

アセチル化ポリアミンの検出: 超好熱菌の分岐鎖ポリアミンのアセチル体は報告されていなかった。探索を行ったところ、分岐鎖ポリアミンのアセチル体 (*N*⁴-bis(aminopropyl)-*N*¹-acetylspermidine) の存在が確認された。培養温度を問わず定常期でアセチル体の割合は増加する傾向がみられた。

分岐鎖ポリアミンの核酸構造へ与える影響: 3(3)(3)4 を含む様々な構造のポリアミンを DNA に添加し、DNA 構造に与える影響を原子間力顕微鏡、円偏光二色性分析計で調べたところ、分岐鎖ポリアミンは高効率に DNA をコンパクト化し、A 型構造を導入している

ことが示された。この傾向はスペルミジンではみられない。培養温度の変化に伴い細胞内ポリアミン組成が変化するが、この変動は遺伝子の発現に影響を与えると推察される。

(5) 超好熱菌の特殊代謝系の温度依存性チアミン、モリブドプテリン、鉄硫黄クラスターなどの含硫補因子はあらゆる生物の生命維持に寄与しているが、L-システインの硫黄原子を脱離する反応を触媒するシステインデスルフラゼ(CDS)は、本菌において不明であり、硫黄が関与する呼吸様式とその温度依存性も明らかではなかった。今回、CDSオルソログの酵素学的解析と遺伝子破壊実験を行ったところ、本菌がCDSを獲得した事で環境中の元素硫黄の要求性から脱し、それが水素発生型呼吸など代謝の多様化を促したと考えられた。ただし本遺伝子に顕著な温度依存性はみられなかった。

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22件)

Gao,L., Hidese,R., and Fujiwara,S. Function of a thermophilic archaeal chaperonin is enhanced by electrostatic interactions with its targets. J.Biosci. Bioeng.(doi:10.1016/j.jbiosc.2017.04.008.)(2017) 印刷中 査読有

Okano,H., Baba,M., Yamasaki,T., Hidese,R., Fujiwara,S., Yanagihara,I., Ujiiye,T., Hayashi,T., Kojima,K., Takita,T., and Yasukawa,K. High sensitive one-step RT-PCR using MMLV reverse transcriptase, DNA polymerase with reverse transcriptase activity, and DNA/RNA helicase. Biochem. Biophys. Res. Commun. (doi:10.1016/j.bbrc.2017.04.030) (2017) 印刷中 査読有

藤原伸介、藤原綾子、秀瀬涼太 耐熱性ヘリカーゼを利用した高精度核酸検出技術の開発 日本生物工学会誌 95/7, (2017) 印刷中 査読有

Kanai,T., Yasukochi,A., Simons,JR., Walker,J., Scott,W.J., Wakao Fukuda, Imanaka,T., and Atomi,H. Genetic analyses of the functions of [NiFe]-hydrogenase maturation endopeptidases in the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakarensis*. Extremophiles 21/1, 27-39 (2017) (doi: 10.1007/s00792-016-0875-1. Epub 2016 Oct 13.) 査読有

Muramatsu,A., Shimizu,Y., Yoshikawa,Y., Fukuda,W., Umezawa,N., Horai,Y., Higuchi,T., Fujiwara,S., Imanaka,T., and

Yoshikawa,K. Naturally occurring branched-chain polyamines induce a crosslinked meshwork structure in a giant DNA. J.Chem. Phys. J. Chem. Phys.145, 235103 (2016) (doi: 10.1063/1.4972066) 査読有

Fujiwara,A., Kawato,K., Kato,S., Yasukawa,K., Hides,R., and Fujiwara,S. Enzyme characteristics of an euryarchaeota specific helicase from *Thermococcus kodakarensis* and its application for noise reduction in PCR. Appl. Environ. Microbiol. 82/10, 3022-3031(2016)(doi:10.1128/AEM.04116-15.) 査読有

Makino,Y., Sato,T., Kawamura,H., Hachisuka,S., Takano,R., Imanaka,T., and Atomi,H. An archaeal ADP-dependent serine kinase involved in cysteine biosynthesis and serine metabolism. Nature Communications 18/7, 13446(2016) (doi: 10.1038/ncomms13446)

秀瀬涼太、藤原伸介 超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* 由来分岐鎖ポリアミン合成酵素の構造と機能 酵素工学ニュース 第75号, 31-36 (2016) 査読有

Gao,L., Imanaka,T., and Fujiwara,S. A mutant chaperonin that is functional at lower temperatures enables hyperthermophilic archaea to grow under cold-stress conditions. J.Bacteriol., 197/16, 2642-2652 (2015) (doi: 10.1128/JB.00279-15) 査読有

Watanabe,S., Kawashima,T., Nishitani,Y., Kanai,T., Wada,T., Inaba,K., Atomi,H., Imanaka,T., and Miki,K. Structural basis of a Ni acquisition cycle for [NiFe] hydrogenase by Ni-metallochaperone HypA and its enhancer.Proc Natl Acad Sci USA. 112, 7701-7706(2015) (doi: 10.1073/pnas.1503102112. Epub 2015 Jun 8.) 査読有

Aiba H, Nishiya Y, Azuma M, Yokooji Y, Atomi H, Imanaka T.Characterization of a thermostable glucose dehydrogenase with strict substrate specificity from a hyperthermophilic archaeon *Thermoproteus* sp. GDH-1.Biosci Biotechnol Biochem. 79, 1094-102. (2015) (doi: 10.1080/09168451.2015.1018120. Epub 2015 Mar 9.) 査読有

Aono,R., Sato,T., Imanaka,T., and

Atomi, H. A pentose bisphosphate pathway for nucleoside degradation in Archaea. *Nat Chem Biol.* 11, 355-360 (2015). (doi: 10.1038/nchembio.1786. Epub 2015 Mar 30.) 査読有

藤原伸介 超好熱菌の低温ストレス応答 極限環境生物学会誌 14/2, 63-69 (2015) 査読有

秀瀬涼太、藤原伸介 好熱菌の低温ストレス耐性 日本生物工学会誌 93/8, 464-467 (2015) 査読有

Hidese, R., Inoue, T., Imanaka, T., and Fujiwara, S. Cysteine desulfurase plays an important role in environmental adaptation of the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakarensis*. *Mol. Microbiol.*, 93/2, 331-345 (2014) (doi: 10.1111/mmi.12662) 査読有

藤原伸介 超好熱性アーキアの低温誘導性遺伝子に見出された新しい調節配列. 化学と生物 56/11, 714-715 (2014) 査読有

[学会発表](計48件)

秀瀬涼太, ウィハルドジャギタ, 豊田真孝, 溝端栄一, 井上豪, 藤原伸介. *Thermus thermophilus* HB27 株由来分岐鎖ポリアミン合成酵素の構造と機能(2017年3月20日) 日本農芸化学会 2017年度大会 京都女子大学(京都府・京都)

川戸克展, 秀瀬涼太, 藤原綾子, 保川清, 藤原伸介. 超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* 由来ヘリカーゼのPCR反応への影響(2017年3月20日) 日本農芸化学会 2017年度大会 京都女子大学(京都府・京都)

林基煥, 秀瀬涼太, 小林正樹, 新津勝, 藤原伸介. 超好熱菌からの新規アセチルポリアミンの同定(2017年3月18日) 日本農芸化学会 2017年度大会 京都女子大学(京都府・京都)

川戸克展, 秀瀬涼太, 保川清, 藤原伸介. 超好熱性アーキア由来ヘリカーゼのPCR反応への影響(2016年9月30日) 第68回日本生物工学会大会富山国際会議場(富山県・富山)

Ryota Hidese, Ka Man Tse, Seigo Kimura, Eiichi Mizohata, Tadayuki Imanaka, Tsuyoshi Inoue, Shinsuke Fujiwara. A novel aminopropyltransferase responsible for the production of branched-chain polyamine: catalytic mechanism and distribution (2016年9月15日)

Extremophiles2016 京都大学(京都府・京都)

Ayako Fujiwara, Katsuhiro Kawato, Ryota Hidese, Shinsuke Fujiwara. Noise reduction in PCR by *Eurichaeota* specific helicase from *Thermococcus kodakaraensis* (2016年9月15日) Extremophiles2016 京都大学(京都府・京都)

Le Gao, Ryota Hidese, Shinsuke Fujiwara. Development novel apparatus for protein trapping using thermostable chaperonin (2016年9月13日) Extremophiles2016 京都大学(京都府・京都)

Masafumi Hamakawa, Ryota Hidese, Shinsuke Fujiwara. Identification of proteins under branched-chain polyamine control in a Hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* (2016年9月13日) Extremophiles2016 京都大学(京都府・京都)

Gita A. Wihardja, Ryota Hidese, Shinsuke Fujiwara. Mechanistic and kinetic differences between branched-chain polyamine synthases of *Thermus thermophilus* and *Thermococcus kodakaraensis* (2016年9月13日) Extremophiles2016 京都大学(京都府・京都)

S. Fujiwara. Properties of branched-chain polyamines (BCPA) in thermophiles and enzyme characteristics of BCPA synthase (2016年9月6日) 4th International Conference on Polyamines: Biochemical, Physiological and Clinical Perspectives Roma (Italy)

濱川匡史, 秀瀬涼太, 藤原伸介. 超好熱性アーキア *Thermococcus kodakaraensis* における分岐鎖ポリアミンにより制御される遺伝子の網羅的同定(2016年7月8日) 日本 Archaea 研究会第29回講演会 東洋大学(東京・白山)

R. Hidese, S. Fujiwara. Cysteine desulfurase, a key enzyme for thriving outside solfataric environment in a hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis* (2015年12月16日) PACIFICHEM2015 Honolulu, Hawaii. (USA)

A. Fujiwara, K. Yasukawa, S. Fujiwara. Enhancing effect of thermostable archaeal helicase on the PCR (2015年12月16日) PACIFICHEM2015 Honolulu, Hawaii. (USA)

S. Fujiwara. Cold-stress response and adaptation in hyperthermophilic archaea

(2015 年 12 月 16 日) PACIFICHEM2015
Honolulu, Hawaii. (USA)

高楽, 藤原伸介. 超好熱性アーキアの低温誘導型分子シャペロニンの役割 (2015 年 12 月 3 日) 第 38 回分子生物学会年会 第 88 回日本生化学会大会 合同大会 神戸ポートアイランド(兵庫・神戸)

藤原伸介. 好熱菌(耐熱性酵素)の低温適応機構(2015 年 12 月 1 日) 第 38 回分子生物学会年会 第 88 回日本生化学会大会 合同大会 神戸ポートアイランド(兵庫・神戸)

藤原伸介. Biosynthesis Pathway and Unique Functions of Branched Chain Polyamine from Thermophilic Microbes. Gordon Research Conferences (2015 年 6 月 15 日) Waterville Valley NH, (USA)

西川諒, 籠谷さやか, Sahara Tatit Novi, 秀瀬涼太, 今中 忠行, 藤原伸介. 超好熱菌 *Thermococcus kodakarensis* の低温誘導機構(2015 年 3 月 27 日) 日本農芸化学会 2015 年 度大会 岡山大学(岡山県・岡山市)

〔図書〕(計 4 件)

Gao, L. and Fujiwara, S. Functional distribution of archaeal chaperonins. In Santosh Kumar, Shekhar Mande Prokaryotic Chaperonins (Springer Co.Ltd., New York)(2017)印刷中

Ryota, H., Fukuda, W., Niitsu, M., and Fujiwara, S. Identification of branched-chain polyamines in hyperthermophiles. In Ruben Alcazar and Antonio Tiburcio (ed.) Plant Polyamines: Methods and Protocols(Springer Co.Ltd., New York)(2017)印刷中

Fukuda, W., Hidese, R., and Fujiwara, S. Long-chain and branched polyamines in thermophilic microbes. In T. Kusano and H.Suzuki (ed.), Polyamines, a universal molecular nexus for growth, survival and specialised metabolism (Springer Co.Ltd., New York)(2014)336(16-25)

Fujiwara, S., Hidese, R., Inoue, T., and Fukuda, W. Protein synthesis and polyamines in thermophiles: Effect of polyamines on nucleic acid maintenance and gene expression. In T. Kusano and H.Suzuki (ed.), Polyamines, a universal molecular nexus for growth, survival and specialised metabolism (Springer Co.Ltd., New York)(2014)336(143-152)

〔産業財産権〕

出願状況(計 3 件)

名称: 活性型タンパク質の製造方法若しくはタンパク質の安定化方法、並びにそれらの方法のために用いられるポリペプチド、そのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、及びそのポリヌクレオチドを有するベクター

発明者: 藤原伸介、高楽
権利者: 学校法人 関西学院
種類: 特許
番号: 特願 2016-171308
出願年月日: 2016 年 9 月 1 日
国内外の別: 国内

名称: 好熱性アーキア由来 DEAD - box 型 RNA ヘリカーゼ及びその改変体を用いる DNA 増幅方法、並びにその方法のために使用する好熱性アーキア由来 DEAD - box 型 RNA ヘリカーゼ及びその改変体

発明者: 藤原綾子、藤原伸介
権利者: 学校法人 関西学院
種類: 特許
番号: PCT/JP2015/070980
出願年月日: 2015 年 7 月 23 日
国内外の別: 国外

取得状況(計 1 件)

名称: 変異型逆転写 DNA ポリメラーゼ

発明者: 藤原伸介、佐野創太郎
権利者: 学校法人 関西学院
種類: 特許
番号: 特許第 5641939 号
取得年月日: 2014 年 11 月 7 日
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等
<http://sci-tech.ksc.kwansei.ac.jp/~fujiwara/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤原 伸介 (FUJIWARA SHINSUKE)
関西学院大学・理工学部・教授
研究者番号: 90263219

(2) 研究分担者

跡見 晴幸 (ATOMI HARUYUKI)
京都大学・工学研究科・教授
研究者番号: 90243047