

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18380055

研究課題名 (和文) 還元 TCA サイクル関連代謝系の統合的研究

研究課題名 (英文) Integrated study on reductive TCA cycle-related metabolism

研究代表者

石井正治 (Ishii Masaharu)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：30193262

研究成果の概要：還元 TCA サイクルを機能させることにより、70 で独立栄養的に生育する細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* を用い、同サイクル関連代謝系に関して、統合的な研究を行った。具体的成果として、フマル酸還元酵素の精製と特徴づけ、GS-GOGAT 系の酵素の精製と特徴づけ、アミノトランスフェラーゼに関する包括的研究 (3 種類の酵素の精製と特徴づけ) 同化的硝酸還元酵素系についての包括的研究 (硝酸還元酵素の精製と特徴づけ、さらに、異種発現株からの亜硝酸還元酵素の精製と特徴づけ) フェレドキシン：NADP 酸化還元酵素の異種発現による精製と特徴づけ、ヒドロゲナーゼの転写解析、脱窒関連酵素・遺伝子に関する研究、さらには全ゲノム配列の決定を行った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
2007 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2008 年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：微生物代謝

## 1. 研究開始当初の背景

還元 TCA サイクルは、他の炭酸固定系に比べて、サイクル中物質の炭素数の多様性が大きい。そのため、サイクルを進行させるためのバランスのとれた代謝システムが成立していることが予想されていた。

## 2. 研究の目的

*H. thermophilus* を材料として、炭素の流れを中心とした解析により還元 TCA サイクルの代謝システムを統合的に理解することを目指し、さらに、微生物による物質生産の学問的基盤に資することを目的とした。

## 3. 研究の方法

*H. thermophilus*、あるいは *H. thermophilus* 由来の遺伝子を組み込んだプラスミドを有する大腸菌をそれぞれ培養し、通常的手法により目的酵素の精製を行い、動力学的手法により、反応のキネティクスを明らかにした。

## 4. 研究成果

フマル酸還元酵素の精製と特徴づけ、GS-GOGAT 系の酵素の精製と特徴づけ、アミノトランスフェラーゼに関する包括的

研究(3種類の酵素の精製と特徴づけ) 同化的硝酸還元酵素系についての包括的研究(硝酸還元酵素の精製と特徴づけ、さらに、異種発現株からの亜硝酸還元酵素の精製と特徴づけ) フェレドキシン:NADP 酸化還元酵素の異種発現による精製と特徴づけ、ヒドロゲナーゼの転写解析、脱窒関連酵素・遺伝子に関する研究、さらには全ゲノム配列の決定を行った。

#### 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7件)

Miho Suzuki, Tadao Hirai, Hiroyuki Arai, Masaharu Ishii, and Yasuo Igarashi. Purification, characterization, and gene cloning of thermophilic cytochrome cd1 nitrite reductase from *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. J. Biosci. Bioeng., 101 (5), 391-397 (2006) 査読有

Miho Suzuki, Hiroyuki Arai, Masaharu Ishii, and Yasuo Igarashi, Gene structure and expression profile of cytochrome *bc* nitric oxide reductase from *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. Biosci. Biotechnol. Biochem., 70 (7), 1666-1671 (2006) 査読有

Yamamoto Masahiro, Arai Hiroyuki, Ishii Masaharu, Igarashi Yasuo, Role of two 2-oxoglutarate: ferredoxin oxidoreductases in *Hydrogenobacter thermophilus* under aerobic and anaerobic conditions. FEMS MICROBIOLOGY LETTERS, 263 (2), 189-193 (2006) 査読有

Kameya, M, Arai, H, Ishii, M, Igarashi, Y, Purification and properties of glutamine synthetase from *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. JOURNAL OF BIOSCIENCE AND BIOENGINEERING, 102 (4), 311-315 (2006) 査読有

Kameya M, Ikeda T, Nakamura M, Arai H, Ishii M, Igarashi Y, A novel ferredoxin-dependent glutamate synthase from the hydrogen-oxidizing chemoautotrophic bacterium *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. JOURNAL OF BACTERIOLOGY 189 (7): 2805-2812 (2007) 査読有

Yasufumi Ueda, Masahiro Yamamoto, Takashi Urasaki, Hiroyuki Arai, Masaharu Ishii and Yasuo Igarashi, Sequencing and Reverse

Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Analysis of Four Hydrogenase Gene Clusters from an Obligately Autotrophic Hydrogen-Oxidizing Bacterium, *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. J. Biosci. Bioeng., 104 (6), 470-475 (2007) 査読有

Ikeda, Takeshi; Nakamura, Miyuki; Arai, Hiroyuki; Ishii, Masaharu; Igarashi, Yasuo. Ferredoxin-NADP+ reductase from the thermophilic hydrogen-oxidizing bacterium, *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. FEMS Microbiol. Lett. 印刷中 査読有

[学会発表](計11件)

池田丈, 中村みゆき, 新井博之, 石井正治, 五十嵐泰夫, 好熱性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 株由来 ferredoxin:NADP+ oxidoreductase の解析, 日本農芸化学会大会 (2007)

亀谷将史, 新井博之, 石井正治, 五十嵐泰夫, 好熱性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 株由来 ferredoxin-dependent glutamate synthase の解析, 日本農芸化学会大会 (2007)

三浦茜子, 亀谷将史, 新井博之, 石井正治, 五十嵐泰夫, 好熱性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 株由来 fumarate reductase の解析, 日本農芸化学会大会 (2007)

Masaharu Ishii, Akane Miura, Masafumi Kameya, Hiroyuki Arai, and Yasuo Igarashi, Fumarate reductase from *Hydrogenobacter thermophilus*, ゴードン会議 (Molecular basis of microbial one-carbon metabolism) (2008)

中村みゆき, 新井博之, 石井正治, 五十嵐泰夫, 好熱性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 株の ferredoxin 関連タンパク質の解析, 日本農芸化学会大会 (2008)

石井正治, 尹基石, 五十嵐泰夫, 西原宏史, バイオプロセスへのヒドロゲナーゼの応用, 日本生物工学会大会 (2008)

佐藤由也, 遠藤三千雄, 亀谷将史, 新井博之, 石井正治, 五十嵐泰夫, 好熱性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 株の ferredoxin とその関連代謝に関する研究, 日本農芸化学会大会 (2009)

亀谷将史, 新井博之, 石井正治, 五十嵐泰夫, 好熱性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 株の硝酸同化酵素群の解析, 日本農芸化学会大会 (2009)

新井博之,神邊悠奈,石井正治,五十嵐泰夫,好熱性絶対独立栄養性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 の全ゲノム解析,日本農芸化学会大会(2009)

三浦茜子,亀谷将史,新井博之,石井正治,五十嵐泰夫,好熱性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 株由来 fumarate reductase の解析,日本農芸化学会大会(2009)

西原宏史,五十嵐泰夫,石井正治,水素利用バイオプロセスによる環境調和型物質生産の検討,日本農芸化学会大会(2009)

〔図書〕(計2件)

微生物学 化学同人 共著(2007)

西原宏史,五十嵐泰夫,石井正治,第II編 第5章 ヒドロゲナーゼ反応のエネルギー供給系への応用,微生物機能を活用した革新的生産技術の最前線,166-174,シーエムシー出版(2007)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

石井 正治 (Ishii Masaharu)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号:30193262

(2)研究分担者

(3)連携研究者