

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440048

研究課題名(和文) 線虫におけるシトクロムb561の分子生理機能

研究課題名(英文) Physiological molecular functions of cytochrome b561 in *Caenorhabditis elegans*

研究代表者

鏑木 基成 (Tsubaki, Motonari)

神戸大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00145046

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：線虫をモデルとしてb561タンパク質の生理機能解明を行った。線虫の7種のb561ホモログの内、Cecybtb-5、Cecybtb-1、Cecybtb-2の3種についての研究を行った。Cecybtb-1は咽頭、卵巣に発現して神経伝達物質合成と関係している事が想定された。Cecybtb-5は卵巣で発現している事がわかった。我々は以前にCecybtb-2が腸で発現し線虫のDcytbとしての機能を持つことを明らかにしている。メタノール資化性酵母を用いた発現系を構築し、Cecybtb-1とCecybtb-5タンパク質の発現と精製に初めて成功した。共にヘム結合型として調製でき、アスコルビン酸による素早い還元を示した。

研究成果の概要(英文)：Nematode was used as a model for the elucidation of physiological function of b561 protein. Of the seven b561 homologs of the nematode, we studied three of them, i.e., Cecybtb-5, Cecybtb-1, Cecybtb-2. Cecybtb-1 was found to be expressed in pharynx and ovary, and was thought to be related to the neurotransmitter biosynthesis. Cecybtb-5 was found to be expressed in the ovary. We previously found that Cecybtb-2 is expressed in the intestine and has a function as Dcytb in the nematodes. We constructed the expression system for these proteins using methanol-assimilating yeast and, for the first time, succeeded in the expression and purification of both Cecybtb-1 and Cecybtb-5 proteins. Both proteins can be prepared as a heme-binding holo-type and showed a rapid reduction by ascorbic acid.

研究分野：生物化学

キーワード：膜タンパク質 cytochrome b561 ビタミンC アスコルビン酸 鉄代謝 電子伝達 シトクロムb561 *Caenorhabditis elegans*

1. 研究開始当初の背景

Cytochrome *b*₅₆₁ は元々は高等哺乳動物の神経組織において発見されたが、現在では高等動物に限らず、昆虫類、扁形動物、さらには、植物などにおいても存在している事が明らかになっている。しかしながら、これら他生物種における cytochrome *b*₅₆₁ の生理機能に関しては詳しい事は分かっていない。例えば植物には cytochrome *b*₅₆₁ ファミリー属するタンパク質が複数種存在する事が明らかとなっており、その生理機能は植物液胞膜中における鉄イオン貯蔵に関連したものではないかと考えられてはいるものの、確固たる証拠は得られていない。ヒトには6種類が存在する。具体的には①神経系 CGcytb561, ②小腸絨毛細胞 Dcytb, ③Lcytb, ④癌抑制遺伝子候補産物 101F6, ⑤hb561-3S, ⑥SDR-2, の6種類である。いずれも6回膜貫通型の疎水性タンパク質であり、2個のヘムを含有している。これらの内、①②についてはかなり研究が進み、細胞質に存在するアスコルビン酸(AsA)の還元当量を利用して膜貫通電子伝達を行い、膜の反対側で、①の場合には小胞内神経伝達物質の生合成を行い、②の場合では酸化鉄の還元を行うことにより、鉄イオンの細胞内取り込みにおいて機能している。しかしこれら以外はその生理機能は不明である。

モデル生物である線虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) について、その全ゲノム情報をもとにアミノ酸配列相同性から検索した結果、全部で7種類 (Cecytb-1~7) のファミリーメンバーが存在する事が分かっているが、これらの生理機能は不明である。

我々は既に線虫の7種の cytochrome *b*₅₆₁ ファミリーメンバーの遺伝子を得ており、それぞれについての包括的な分子生理機能解析を進めている。具体的手法としては、①タンパク質レベルでの分子機能を明らかにするため、メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* を用いた膜タンパク質発現系を利用して、それぞれのタンパク質を発現・精製することにより、その分子的性質や電子伝達反応機能を解析する。②特異的抗体や *in situ* hybridization を利用した組織染色法等により、mRNA やタンパク質の発現部位・発現時期の両面にわたる時空間的な挙動を解析する。③線虫に対して RNA 干渉法 (RNA interference) を用いることにより、それぞれの cytochrome *b*₅₆₁ の発現を knock down した際に線虫の表現型にどのような影響が生ずるかを解析する。これら3つの解析手法により個々の cytochrome *b*₅₆₁ タンパク質の分子生理機能を包括的に解明できる。

本研究では、既に研究を進めている Cecytb-1, Cecyt-2, Cecyt-5 についての解析を完成すると共に、残りの Cecyt-3, Cecyt-4, Cecyt-6, Cecyt-7 についても同様な3方面からの総合的解析を進める。これらの *b*₅₆₁ の予想される生理的役割としては、高等動物において既に報告されているような、①神経伝

達物質の生合成、②鉄イオンの取り込み・貯蔵、に關与している可能性が高い。しかし、未だ知られていないようなアスコルビン酸の關与する膜貫通電子伝達を利用した生理機能に關与している可能性も大きい。これら分子生理機能を解明することが本研究の目的である。

2. 研究の目的

モデル生物・線虫 *Caenorhabditis elegans* における cytochrome *b*₅₆₁ ファミリーの役割を包括的に解明し、高等生物における多様な cytochrome *b*₅₆₁ ファミリーの生理機能の解明を目的とする。線虫には7種の cytochrome *b*₅₆₁ ファミリーメンバーが存在するが、まず①酵母 *Pichia pastoris* を用いた膜タンパク質発現系を利用して発現・精製し、その分子レベルでの機能を解明する。同時に、②線虫のモデル生物としての利点を最大限利用し、これらの *b*₅₆₁ タンパク質が線虫体内においてはたず役割を細胞内小器官レベル、細胞レベル、組織レベル、個体レベルにおいて解析することにより「分子生理機能」を解明する。これにより、ヒト等の高等動物での cytochrome *b*₅₆₁ の生理機能を明らかにすると共に、ヒトなどへの寄生性線虫に対する応用薬剤開発も目指す。

3. 研究の方法

線虫 cytochrome *b*₅₆₁ ファミリー7種のタンパク質レベルでの分子機能を明らかにするため、メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* を用いた膜タンパク質発現系を利用してそれぞれのタンパク質を発現・精製し、その分子的性質や電子伝達反応機能を解析する。②特異的抗体や *in situ* hybridization を利用した組織染色法等により、cytochrome *b*₅₆₁ それぞれの mRNA やタンパク質の発現部位・発現時期の両面にわたる時空間的な挙動を解析する。③線虫に対して主に feeding 法に基づく RNA 干渉法 (RNA interference) を用いることにより、それぞれの cytochrome *b*₅₆₁ の発現を knock down した際に、線虫の表現型にどんな影響が生ずるかを解析する。これら3つの解析手法を総合的に用いることにより cytochrome *b*₅₆₁ タンパク質の分子生理機能を包括的に解明する。

- (1) Cecyt-3, Cecyt-4, Cecyt-6, Cecyt-7 遺伝子について、pBluescript II KS(+)ベクター中から酵母発現用ベクター-pPICZB 中に導入し、酵母 *Pichia pastoris* GS115 株を形質転換する。この際、*b*₅₆₁ 遺伝子は酵母ゲノム中に相同組換えによって組み込まれる。培地中の抗生物質 zeocin の濃度を徐々に増加させた条件で培養を重ねることによる post transformational vector amplification 法によって *b*₅₆₁ 遺伝子を高コピー数含有する酵母を作製する。培養後、

- メタノール添加によるタンパク質発現誘導を行い、Cecyt-3, Cecyt-4, Cecyt-6, Cecyt-7 タンパク質をNi-NTAアフィニティークロマトグラフィーにより精製する。
- (2) 精製タンパク質それぞれについて、紫外可視吸収、MALDI-TOF-MS, EPR, 酸化還元電位測定を行い、*b₅₆₁* タンパク質としての基本的性質を把握する。(参考例：図 2 に Cecyt-2 タンパク質の発現・精製の例を示した。) 次いで、stopped-flow 法によりアスコルビン酸(AsA)からの電子受容反応を解析する。さらにパルスラジオリシス実験により、発生させたモノデヒドロアスコルビン酸(MDA)ラジカルへの還元型へムからの電子供与反応と、引き続いて起こる溶液中のAsA から酸化型へムの再還元過程の解析を行う。これにより AsA, MDA ラジカルとの間の電子伝達の分子機構を解明する。この際、diethylpyrocarbonate (DEPC)によるAsAからの電子受容能の障害の有無が「協調的プロトン電子伝達機構」有無の指標となる。
 - (3) Cecyt-3, Cecyt-4, Cecyt-6, Cecyt-7 遺伝子より転写されて生ずる mRNA をターゲットとする *in situ* hybridization による発現部位の解析を行う。この際、神経組織での分布に注意を払う。今まで、Cecyt-1, Cecyt-2, Cecyt-5 の3種類の mRNA に対しての *in situ* hybridization 解析を行っているが、Cecyt-1, Cecyt-2 には全く神経系での分布が見られなかった。
 - (4) Cecyt-3, Cecyt-4, Cecyt-6, Cecyt-7 それぞれのタンパク質の C 末端部分のターゲットとする特異的抗体作成を目指して、DHFR との融合タンパク質を大腸菌で発現・精製する。高純度に精製した融合タンパク質をウサギに免疫注射することにより(外部業者に委託)、特異的抗体を調製する。特異的抗体をアフィニティークロマトにより高純度精製し、Cecyt-3, Cecyt-4, Cecyt-6, Cecyt-7 それぞれのタンパク質の発現分布を蛍光染色法により解析する。この解析結果が *in situ* hybridization より得られた結果と比較して妥当なものかどうかを検証する。
 - (5) 線虫神経系は頭部に集中する神経節と腹部神経索(ventral nerve cord)とから構成されている。感覚器官も頭部に集中し 18 の感覚子から構成されている。感覚子は化学的刺激を受容する2つのアンフィド(amphid)感覚子と機械的刺激を受容する16感覚子からなる。感覚子を構成する感覚ニューロンは介在ニューロンや運動ニューロンと共に神経節を構成し、腹部神経索から伸びる神経突起と共に神経環(nerve ring)を成し中枢神経となっている。1つのアンフィド(amphid)は1個の鞘細胞, 2個のソケット細胞, 12個のニューロンからなる。鞘細胞は神経線維を取り囲んでおり、その細胞質中には発達したゴルジ装置とマトリックスを封入した小胞が多数存在していることが知られている。
 - (6) このように線虫は非常に発達した神経系を持

- つ。そのため、アセチルコリン、アミド化神経ペプチド、カテコールアミン等、高等動物と同様な神経伝達物質合成系を有している。実際に Y71G12B.4 や T19B4.1 の遺伝子産物が高等動物の PAM 酵素に相当する神経ペプチドアミド化反応を行っていると考えられる。またドーパミンβ水酸化酵素(DBH)のホモログとして、チラミンβ水酸化酵素(TBH)遺伝子 *tbb-1* を有している。TBH は神経伝達物質の一種であるチラミンから同じく神経伝達物質であるオクトパミンを生合成しており、その分子機構はドーパミンからノルアドレナリンを生合成する DBH とほとんど同一である。したがって、神経内分泌小胞内で TBH に電子を供与しているアスコルビン酸(AsA)を膜中の cytochrome *b₅₆₁* が再生している可能性は非常に高いと言える。
- (7) しかし高等動物神経系型 *b₅₆₁* にそのアミノ酸配列の相同性が高い Cecyt-1, Cecyt-2 は何れも神経系特異的な分布は示さなかった(図 1 参照)。一方、相同性が低い Cecyt-5 についての *in situ* hybridization の結果はアンフィド(amphid)部分での発現を示した(図 3 参照)。おそらく鞘細胞中に発現していると考えられる。このことは Cecyt-5 が神経型 *b₅₆₁* の分子生理機能を持つことを意味しているかもしれない。
 - (8) この結果を証明するため、Cecyt-3, Cecyt-4, Cecyt-6, Cecyt-7 遺伝子について RNAi 実験(feeding 法, soaking 法)を行い、線虫にどんな表現型が出るか解析する。このため両端に T7 promoter を持つように L4440 プラスミドに各 *b₅₆₁* 遺伝子を挿入し dsRNA 転写を誘導する。

4. 研究成果

(1)平成 25 年度成果

線虫 *Caenorhabditis elegans* をモデル生物として用いる事により *b₅₆₁* タンパク質の生理機能解明を目指した。線虫には7つの *b₅₆₁* ファミリータンパク質(Cecytb-1 ~ Cecytb-7)が存在している。その中で他のファミリータンパク質とは異なり、C 末端部分に余分な疎水性αヘリックスを持つため7回膜貫通構造をとると推定されている Cecytb-5 に関する研究を進めた。Cecytb-5 タンパク質には2つのアイソフォーム(新規配列を Cecytb-5-1、データベースに登録済みのものを Cecytb-5-2 と命名)が存在することを明らかにしている。まずメタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* に対して pPICZ-B ベクターを用いた遺伝子組換えを行い、ミクロソーム膜中に発現させた Cecytb-5-1 タンパク質と Cecytb-5-2 タンパク質の可溶化・部分精製方法を確立した。部分精製品について酸化・還元時の可視吸収スペクトルを測定し、2種類のアイソフォームタンパク質の構造的差違と AsA(アスコルビン酸)による還元性という機能的差違の相関について調べた。次いで、Cecytb-5-2 タンパク質の線虫体内におけ

る発現局在をしらべるため、*in situ hybridization* により *cecymb-5-2* 遺伝子が転写される部位を明らかにし、次に *Cecymb-5* タンパク質の親水性ループ部分に結合する特異的抗 *Cecymb-2* タンパク質の親水性ループ部分に結合する特異的抗ペプチド抗体を用いて免疫染色を行い、*Cecymb-2* タンパク質が発現する器官を明らかにした。また、*Cecymb-2* タンパク質の線虫体内における生理機能の解明をめざして RNA 干渉(RNAi)を行った。*Cecymb-5-2* 遺伝子を元に合成した dsRNA を *Salking* 法により線虫体内に導入し、*Cecymb-5-2* 遺伝子をノックダウンした線虫と通常の培養方法で得られた線虫の表現型を比較した。

(2)平成 26 年度成果

線虫をモデル生物として用いる事により、*cytochrome b561* タンパク質の生理機能解明を目的とした研究を行っている。ゲノム解析により線虫には 7 つの *b561* ファミリータンパク質 (*Cecymb-1*~*Cecymb-7*)が存在している事がわかっている。今年度はそのアミノ酸配列から考えて、ヒトを含む高等動物の脳神経系に特異的に発現している *GCymb561* に最も類縁と考えられる *Cecymb-1* に関しての研究を進めた。まずメタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* と pPICZ-B ベクターを用いた遺伝子組換え体の作成により、資化性酵母のミクロソーム膜中に発現させた *Cecymb-1* タンパク質の可溶化と部分精製方法を確立した。部分精製標品に対して分光学的解析を行い、神経型 *b561* と非常に良く似た性質(可視吸収スペクトル、アスコルビン酸による還元性)を示す事がわかった。続いて、*Cecymb-1* タンパク質の線虫体内における発現局在を調べた。まず *in situ hybridization* による遺伝子発現部位の解析を行った。その結果、*adult* 期の卵巣においてその転写発現していることが判明した。さらに *Cecymb-1* タンパク質の親水性 C 末端部分に特異的に結合する抗ペプチド抗体を用いた免疫染色を行った。その結果、*Cecymb-1* タンパク質は咽頭、卵巣に発現していることがわかった。これらの発現部位は線虫の神経伝達物質オクトパミンの生合成を行っている酵素 TBH(*tyramine β-hydroxylase*)の発現局在と似ていることがわかった。最後に *Cecymb-1* タンパク質の線虫体内における生理機能を調べるため RNA 干渉(RNAi)を行った。*Cecymb-1* 遺伝子を元に大腸菌で発現作成した dsRNA を *Soaking* 法により線虫体内に導入して遺伝子発現をノックダウンする事を試みたが、この遺伝子は抑制効果を受けにくい事が判明した。

(3)平成 27 年度成果

今年度はそれらのアミノ酸配列を考慮して、ヒトを含む高等動物の腸組織に特異的に発現している *Dcymb* に最も類縁であると思われる *Cecymb-2* に関しての研究を推進した。この *Cecymb-2* については、以前に当研究室所属の三浦氏によって、線虫の腸組織に発現しており、線虫での *Dcymb* としての生理機能を持つことが明らかにされており、またメタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* と pPICZ-B ベクターを利用した

大量発現系の構築と発現タンパク質の高純度精製方法も確立されている。

今回の研究においては、一昨年に明らかにされた植物シロイヌナズナの *cytochrome b561* の X 線結晶構造解析で得られた情報を元に、*Dcymb* の持つ酸化鉄還元活性 (*ferric reductase*)発現のための鉄イオン結合部位を明らかにする事を目指した。そのため、7 種類の部位特異的変異体 (*D64S*, *T123H*, *T132Y*, *T132F*, *E199S*, *D207S*, *E215A*) 発現用プラスミドを pPICZ-B ベクターを利用して作成した。これらの内、鉄イオンの還元活性に与える影響が大きいと考えられた *D64S* と *E199S* 変異体について、実際に酵母を pPICZ-B プラスミドを用いて形質転換した。高コピー株を選定し、変異タンパク質を発現・精製した。精製後の *D64S* および *E199S* 変異タンパク質標品はいずれも AsA(アスコルビン酸)還元によって直ちに還元され、特徴的な 561nm にピークを持つ可視吸収スペクトルを示した。SDS-PAGE による解析でも単一バンドを示した。このことから、これら 2 種類の変異タンパク質は正しくフォールディングをしており、ヘム結合型として精製できていることが分かった。

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 2 件)

① "The Radical S-Adenosyl-L-methionine

Enzyme QhpD Catalyzes Sequential

Formation of Intra-protein

Sulfur-to-Methylene Carbon Thioether

Bonds", Tadashi Nakai, Hiroto Ito, Kazuo

Kobayashi, Yasuhiro Takahashi, Hiroshi

Hori, Motonari Tsubaki, Katsuyuki

Tanizawa, and Toshihide Okajima, *J. Biol.*

Chem. 290 (17), 11144-11166 (2015),

doi:10.1074/jbc.M115.638320 (査読有り)

② "Pulse Radiolysis Study of the Dynamics of

Ascorbic Acid Free Radicals within a

Liposomal Environment", Kazuo

Kobayashi, Yumiko Seike, Akinori Saeki,

Takahiro Kozawa, Fusako Takeuchi, and

Motonari Tsubaki, *ChemPhysChem*,

15(14):2994-2997 (2014), DOI:

10.1002/cphc.201402297 (査読有り)

[学会発表] (計 35 件)

1. “ペプチドのマルチサイト分子内架橋形成を触媒するラジカル SAM 酵素の反応機構”, 岡島俊英, 中井忠志, 小林一雄, 高橋康弘, 堀 洋, 鏝木基成, 谷澤克行, 日本農芸化学会 2016 年度大会(札幌・札幌コンベンションセンター, 北海道)(2016 年 3 月 28 日)(ポスター)
2. “Cytochrome *b*₅₆₁ ホモログタンパク質・SDR2 分子生理機能解析”, ○東田怜, 高橋優馬, 山添貴子, 朝田晃一, 鏝木基成, 若手フロンティア研究会 2015, 神戸大学研究基盤センター, (C25) (神戸, 兵庫県, 2015.12.25)(ポスター)
3. “線虫 *C. elegans* Ferredoxin, Ferredoxin Reductase の大腸菌発現系の構築とその機能解析”, ○和田亮平・堀洋・武内総子・古家圭人・鏝木基成, BMB2015 (Kobe) 日本生化学会・日本分子生物学会合同年会 (1P0501) (2015.12.1)(ポスター) (神戸ポートピアホテル, 神戸国際会議場, 兵庫県)
4. “ヒト 101F6 タンパク質によるアスコルビン酸・モノデヒドロアスコルビン酸ラジカル依存性電子伝達反応機構”, 鏝木基成, 山添貴子, 岡野弘明, Mariam C. Recuenco, 武内総子, 堀 洋, 小林一雄, BMB2015 (Kobe) 日本生化学会・日本分子生物学会合同年会 (4W9-7) (2015.12.4)(ワークショップ口頭) (神戸ポートピアホテル, 神戸国際会議場, 兵庫県)
5. “ペプチドを分子内架橋するラジカル SAM 酵素の反応機構”, 岡島俊英, 中井忠志, 小林一雄, 高橋康弘, 堀 洋, 鏝木基成, 谷澤克行, BMB2015 (Kobe) 日本生化学会・日本分子生物学会合同年会 (4W9-2) (2015.12.4)(ワークショップ口頭) (神戸ポートピアホテル, 神戸国際会議場, 兵庫県)
6. “ペプチドの翻訳後修飾を触媒するラジカル SAMスーパーファミリー酵素”, 中井忠志, 小林一雄, 高橋康弘, 堀洋, 鏝木基成, 外山博英, 谷澤克行, 岡島俊英, BMB2015 (Kobe) 日本生化学会・日本分子生物学会合同年会 (1W16-2) (2015.12.1)(ワークショップ口頭)(神戸ポートピアホテル, 神戸国際会議場, 兵庫県)
7. “ヒト cytochrome *b*₅₆₁ ホモログ form 3 (hb561-3) タンパク質の生理機能解析”, 高橋優馬, 田中涼, 朝田晃一, 鏝木基成, BMB2015 (Kobe) 日本生化学会・日本分子生物学会合同年会 (1P0407) (2015.12.1)(ポスター)(神戸ポートピアホテル, 神戸国際会議場, 兵庫県)
8. “ヒト cytochrome *b*₅₆₁ ホモログタンパク質・ヒト SDR2 の細胞内局在解析”, 東田怜, 高橋 優馬, 山添貴子, 朝田晃一, 鏝木基成, BMB2015 (Kobe) 日本生化学会・日本分子生物学会合同年会 (1P0394) (2015.12.1)(ポスター)(神戸ポートピアホテル, 神戸国際会議場, 兵庫県)
9. “線虫 *C. elegans* Ferredoxin, Ferredoxin Reductase の大腸菌発現系の構築とその機能解析”, 和田亮平・堀洋・武内総子・古家圭人・鏝木基成, 第 5 回 CSJ 化学フェスタ(東京都江戸川区, タワーホール船堀)(P7-093) (2015.10. 13~15)(ポスター)
10. “癌抑制タンパク質 101F6 のアスコルビン酸からの電子受容機構, Electron transfer mechanism from ascorbate to human tumor suppressor 101F6 protein”, 鏝木基成, 山添貴子, 岡野弘明, 武内総子, 小林一雄, 第 53 回日本生物物理学会年会(金沢大学・角間キャンパス, 石川県)(2Pos062) (2015.9.12~14)(ポスター)
11. “ヒト cytochrome *b*₅₆₁ ホモログタンパク質・ヒト SDR2 の生理機能解析, Function analysis of human stromal cell-derived receptor 2, a homolog of cytochrome b561”, 東田怜, 高橋優馬, 山添貴子, 朝田晃一, 鏝木基成, 第 53 回日本生物物理学会年会(金沢大学・角間キャンパス, 石川県)(3Pos062) (2015.9.12~14)(ポスター)
12. “Expression and characterization of *Caenorhabditis elegans* ferredoxin and ferredoxin reductase”, Ryohei Wada, Hiroshi Hori, Yoshito Furuie, Fusako Takeuchi, and Motonari Tsubaki, in “Metals in Biology” in Wako: Riken Symposium series, Wako, Saitama, (2015.06.16-17) (ポスター).
13. “レドックス機能を付与したリポソーム内での反応活性種のダイナミクス -h101F6 及び hb561-3 の細胞内局在, 活性種との反応, 電子伝達機構-”, 鏝木基成, 山添貴子, 高橋優馬, 岡野弘明, 田中涼, 古家圭人, 堀 洋, 武内総子, 小林一雄, 古澤孝弘, 第 5 回物質・デバイス領域共同研究拠点活動報告会 (九州大学 カーボンニュートラル・エネルギー国際研究所, 福岡県) (2015.4.20) (ポスター)
14. “レドックス機能を付与したリポソーム内での反応活性種のダイナミクス -h101F6 及び hb561-3 の細胞内局在, 活性種との反応, 電子伝達機構-”, ○鏝木基成, バイオデバイス構築のための材料・プロセス・計測システム開発・特定研究 B-4 研究会, 大阪大学産業科学研究所, 大阪府) (2015.2.23)(口頭)
15. “ヒト cytochrome *b*₅₆₁ form 3 (hb561-3) タンパク質の機能解析”, ○高橋優馬, 山添貴子, 朝田晃一, 鏝木基成, 先端融合科学シンポジウム「生体分子のダイナミクスを眺める」神戸大学大学院理学研究科 Z201,202, 兵庫県)(2015.1.20)(ポスター)
16. “鉄源制限培地中の線虫における鉄輸送関連遺伝子の応答”, ○田原秀俊, 三浦雅央, 鏝木基成, 先端融合科学シンポジウム「生体分子のダイナミクスを眺める」神戸大学大学院理学研究科 Z201,202, 兵庫県) (2015.1.20)(ポスター)
17. “シトクロム *b*₅₆₁ とそのホモログ・ヒト癌抑制 101F6 タンパク質の構造と電子伝達機構”, ○鏝木基成, (招待講演), 先端融合科学シンポジウム「生体分子のダイナミクスを眺める」神戸大学大学院理学研究科 Z201,202, 兵庫県) (2015.1.19~20) (口頭)
18. “癌抑制タンパク質候補 101F6 のアスコルビン酸からの電子受容機構”○山添貴子, 岡

野弘明、朝田晃一、小林一雄、古澤孝弘、鏝木基成、先端融合科学シンポジウム「生体分子のダイナミクスを眺める」神戸大学大学院理学研究科 Z201,202, 兵庫県) (2015.1.20)(ポスター)

19. “ヒト cytochrome *b₅₆₁* form 3 (hb561-3) タンパク質の機能解析”, ○高橋優馬、山添貴子、朝田晃一、鏝木基成、若手フロンティア研究会 2014、神戸大学研究基盤センター、(神戸、兵庫県)、2014.12.25)(ポスター)

20. “線虫の鉄代謝系に関する研究”, ○田原 秀俊、三浦雅央、鏝木基成、第 87 回日本生化学会大会、(4P-151) (京都国際会議場、京都府、2014.10.18) (ポスター)

21. “ヒト癌抑制遺伝子候補 *101F6* によるカスパーゼ非依存性細胞死の機構分析”, ○山添貴子、岡野弘明、朝田晃一、小林一雄、古澤孝弘、鏝木基成、第 52 回日本生物物理学会年会(札幌コンベンションセンター、北海道)(2P102) (2014.9.26)(ポスター)

22. “ヒト cytochrome *b₅₆₁* form 3 (hb561-3) タンパク質の機能解析”, ○高橋優馬、山添貴子、朝田晃一、鏝木基成、第 52 回日本生物物理学会年会(札幌コンベンションセンター、北海道)(1P115) (2014.9.25)(ポスター)

23. “線虫 cytochrome *b₅₆₁* ホモログ *Cecytb-1* の生理機能解析”, ○手嶋明恵、平野友里恵、三浦雅央、鏝木基成、第 52 回日本生物物理学会年会(札幌コンベンションセンター、北海道) (3P091) (2014.9.27)(ポスター)

24. “Controlling nanostructures of insulin amyloid fibrils using metal ions”, ○Yokoyama Misaki, Furuie Yoshito, Hori Hiroshi, Tsubaki Motonari, Nishida Takamasa, Eda Kazuo, Chatani Eri, The 28th annual symposium of the protein society (2014.7.27-30), Manchester Grand Hyatt, San Diego, CA, USA) (ポスター)

25. “線虫ミトコンドリアにおけるフェレドキシン依存性電子伝達経路の機能解析”, Characterization of ferredoxin-dependent electron transfer system in *Caenorhabditis elegans* mitochondria”, 和田亮平、堀 洋、古家圭人、武内総子、鏝木基成、第 53 回日本生物物理学会年会(金沢大学・角間キャンパス、石川県)(1Pos049) (2015.9.12~14)(ポスター)

26. “ヒト癌抑制遺伝子候補 *101F6* による細胞死誘導メカニズムの解析”, ○山添貴子、岡野弘明、朝田晃一、小林一雄、古澤孝弘、鏝木基成、第 41 回生体分子科学討論会、(一般 30) (九州大学西新プラザ、福岡県、2014.6.6~7) (口頭)

27. “線虫 cytochrome *b₅₆₁* ホモログ *Cecytb-1* の分子生理機能解明”, 手嶋明恵、平野友里恵、三浦雅央、鏝木基成、若手フロンティア研究会 2013、神戸大学研究基盤センター、(P010) (神戸、兵庫県、2013.12.25)(ポスター)

28. “ヒト癌抑制遺伝子候補 *101F6* の細胞内局在解析”, 山添貴子、朝田晃一、鏝木基成、若手フロンティア研究会 2013、神戸大学研究基盤センター、(P018) (神戸、兵庫県、2013.12.25)(ポスター)

一)

29. “線虫 cytochrome *b₅₆₁* ホモログ *Cecytb-1* の機能解析”, Akie Tejima, Yurie Hirano, Masahiro Miura, Motonari Tsubaki, 第51回日本生物物理学会年会(京都国際会館、京都府)(1P094) (2013.10.28)(ポスター)

30. “線虫 cytochrome *b₅₆₁* ファミリーの生理機能解析”, Yurie Hirano, Masahiro Miura, Motonari Tsubaki, 第 51 回日本生物物理学会年会(京都国際会館、京都府)(1P093) (2013.10.28)(ポスター)

31. “シトクロム *b₅₆₁* ファミリータンパク質の膜貫通電子伝達機構”, 鏝木基成、岡野弘明、田中涼、亀井美奈、藤戸優充、武内総子、小林一雄、第86回日本生化学会大会 (3P-201) (2013.09.13)パシフィコ横浜、神奈川県 (ポスター)

32. “線虫 *C. elegans* の 2Fe-2S 型 ferredoxin の大腸菌発現系構築とその機能の解析”, 和田亮平、手嶋明恵、山添貴子、平野友里恵、武内総子、古家圭人、堀洋、鏝木基成、第86回日本生化学会大会 (1P-133) (2013.09.11)パシフィコ横浜、神奈川県(ポスター)

33. “ヒト癌抑制タンパク質候補 *101F6* の細胞内局在解析”, 山添貴子、朝田晃一、鏝木基成、第 86 回日本生化学会大会 (2P-384) (2013.09.12) パシフィコ横浜、神奈川県(ポスター)

34. “ペプチド分子内チオエーテル架橋形成酵素によるマルチサイト架橋形成反応の解析”, 中井忠志、伊藤寛人、岡嶋俊英、小林一雄、高橋康弘、堀洋、鏝木基成、谷澤克行、第 86 回日本生化学会大会 (2013.09.11, 13) (2P-136) (3T18p-07)パシフィコ横浜、神奈川県(口頭)

35. “選択的スプライシングによって生ずる新規 [2Fe-2S] 型フェレドキシンとその細胞内局在”, 古家圭人、堀洋、鏝木基成、第 40 回生体分子科学討論会、大阪大学吹田キャンパス 銀杏会館、大阪府 (2013. 6. 7-8)(口頭)

[図書] (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

鏝木研究室

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/sci-tsubaki/Pages/aboutus.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

鏝木 基成 (TSUBAKI, Motonari)

神戸大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号： 00145046