

枯草菌蛋白質分泌過程における SRP・SRP受容体系とSec分泌系との相互作用

(研究課題番号 09460043)

平成9年度－平成11年度科学研究費補助金
(基盤研究B(2)研究成果報告書)

平成12年3月

研究代表者 山 根 國 男
(筑波大学・生物科学系)

は し が き

文部省科学研究費補助金・基盤研究(B)「枯草菌蛋白質分泌過程におけるSRP・SRP受容体系とSec分泌系との相互作用」は平成9年度に始まり、平成11年度まで3年間継続された。このたび研究の修了にあたって、本研究の3ヶ年にわたる研究成果をここにまとめて報告する。

枯草菌および類縁菌は α -アミラーゼやプロテアーゼなどの有用酵素を培地に大量に分泌生産する能力を持っている。その分子機構を明らかにするために *in vitro* 系を開発して、研究した結果、本分泌系ではヒトやイヌなど高等生物で解析されているSRP・SRP受容体系による分泌蛋白質前駆体の認識・輸送と大腸菌において詳しく研究されてるSec蛋白質群による膜通過系が相互作用し、共同で働くことによって効率の良い蛋白質分泌系を形成しているを示すことができた。蛋白質の分泌・局在化の分子機構の解析は世界的にも非常に活潑な研究が行われており、本研究もその中で少なからず貢献できたと考える。

平成12年 3月

研究代表者 山 根 國 男

研究組織

研究代表者：山根國男（筑波大学・生物科学系・教授）

研究分担者：中村幸治（筑波大学・生物科学系・講師）

研究経費

平成 9 年 8,4 0 0 千円

平成 1 0 年 2,5 0 0 千円

平成 1 1 年 2,6 0 0 千円

計 1 3,5 0 0 千円

研究目的と研究成果

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) は α -アミラーゼやプロテアーゼなどの有用酵素を大量に分泌生産する能力を持っている。工業的に大量生産され、利用されている洗剤用プロテアーゼやデンプン糖化用 α -アミラーゼなどは類縁菌を用いて生産されて居り、工業生産される酵素の 90% 以上が枯草菌およびその類縁菌によっている。枯草菌で得られた情報は直接類縁菌の解析や改良に役立つと考えられている。

このような枯草菌の産業的な有用性、またグラム陽性菌の代表として、そのゲノムの解析が1997年に46研究室、151名の研究者の共同研究としてNature 誌に発表した (Nature 390: 249-256, 1997)。染色体の全長は4,215キロ塩基対であり、4100個の遺伝子が見い出された。日本で分担したのは全体の1/3に当たる1,369キロ塩基対である。この中で我々の研究室では全長の5%に当たる200キロ塩基対の配列を解析し、172個の遺伝子を明らかにした。枯草菌には大腸菌が持っていない特徴的な性質として(1) 生育環境が悪くなると胞子を作ること、(2) 蛋白質の分泌生産量が高いこと、(3) 外から与えた DNA を取り込んで形質転換できることなどを挙げることができる。そのために枯草菌は複雑で、大腸菌に比べて染色体のサイズも大きく、また遺伝子数も多いと考えていた。ところが枯草菌染色体は大腸菌のものより約 400 キロ塩基対も短く、遺伝子数も約 200 個も少ないことが明らかにされた。この結果は枯草菌を研究しているものにとっては意外でした。

明らかにされた4100 遺伝子のうち 58%が機能既知あるいは機能推定可能遺伝子である。また残りの 42%約 1700 遺伝子産物の機能が未知である。この中には現在約 500 個の遺伝子産物は他生物に由来する機能未知遺伝子産物と類似性を示している。しかし約 1200 遺伝子の産物はいかなる蛋白質既知配列とも有意な相同性を示さない。これらの遺伝子産物の中には枯草菌の特性に直接関係するものが含まれる可能性は充分にある。そこで枯草菌の持っている形質転換能を利用した網羅的な遺伝子破壊株の作成が日本-EU の共同研究で進められ、現在約 2000 遺伝子の破壊株が作られている。今後さらなる機能未知遺伝子産物の解析、遺伝子産物間の機能上の相互作用・ネットワークなどゲノム解析が行われ、その結果を利用したゲノム生物学的な生物全体の解析が行われると考えている。

枯草菌の持つ特徴的な高い蛋白質分泌能はどのような機構によっているのだろうか？その分子機構を *in vitro* 系とゲノム解析の結果をもとに解析した。

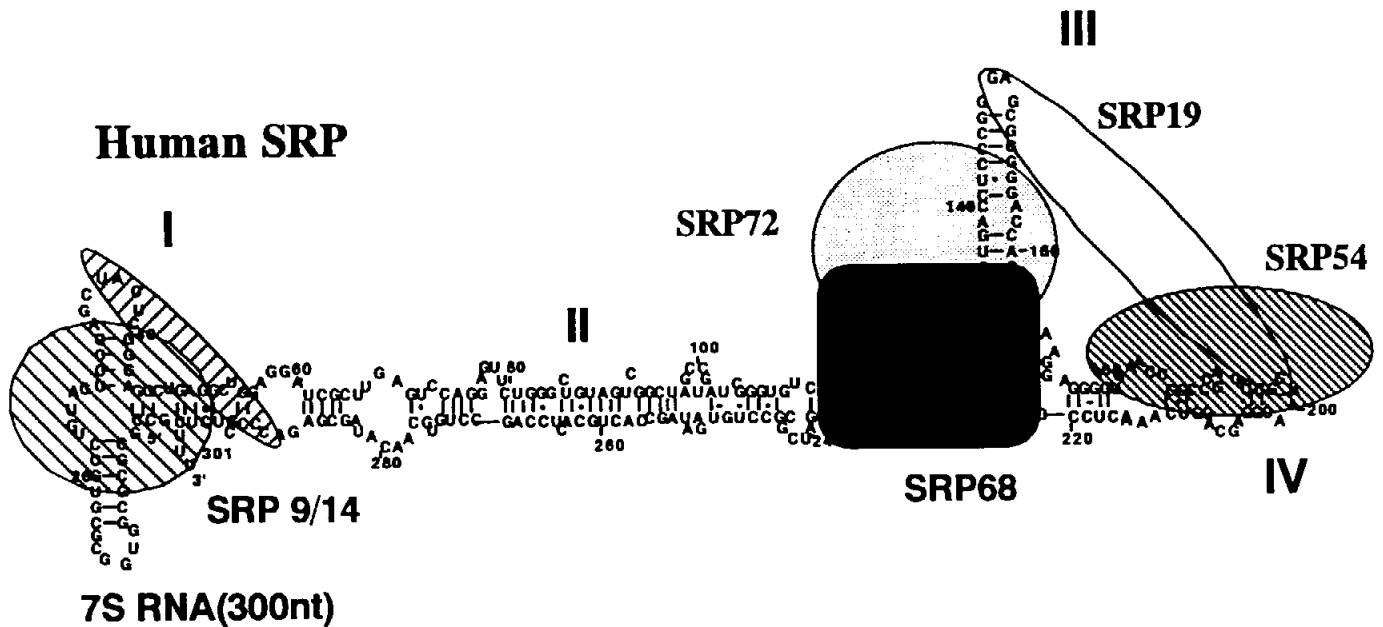
1) *in vitro* 系による枯草菌蛋白質分泌経路の解析：

枯草菌蛋白質分泌系全体を考えるために、分泌蛋白質前駆体の認識・Targeting 系と細胞膜通過系の二つに区別した。前者はヒトやイヌの細胞で詳しく研究されているシグナル認識粒子 (SRP) によると考えられる。大腸菌蛋白質分泌系ではこの役割をSecBが担い、シャペロンとして作用しているが、枯草菌にはSecBと相同性を示す蛋白質は存在しない。そこで枯草菌ではSRP様粒子がSecBにかわって機能していると予想した。ヒトやイヌすい臓細胞で作用するSRPは300塩基からなるRNA (SRP 7S RNA) と6種類の蛋白質 (SRP72、SRP68、SRP54、SRP19、SRP14 およびSRP9) から構成される。SRP 7S RNA と相同な機能を持つRNAとして枯草菌では small cytoplasmic RNA (scRNA、271塩基より構成される)が、

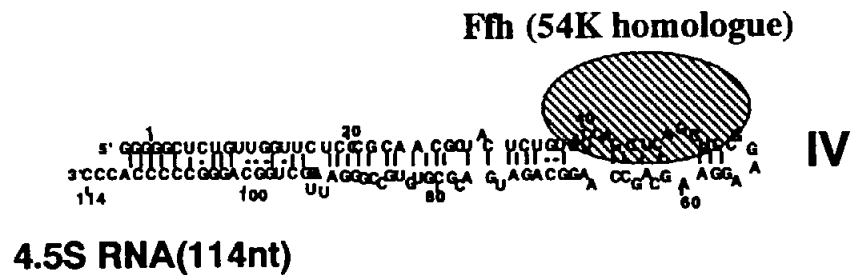
また大腸菌では4.5 S RNA (114 塩基より構成される) が明らかにされている。図 1 に示すように、これらの三者の RNA の二次構造を比較した場合、ヒトSRP 7S RNA は4つのドメイン (I ~ IV) から構成されているのに対し、大腸菌 4.5S RNA はほとんどSRP 7S RNA のドメインIV部分からなる。一方枯草菌 scRNA はドメイン I、II、IIIからなり、ドメイン IIIのみを欠失した構造をとる。しかるに枯草菌 scRNA の構造はヒトSRP 7S RNA と大腸菌 4.5S RNA との中間的構造をとっているとかんがえられる。枯草菌 scRNA の塩基配列とヒトSRP 7S RNA の配列を比較した場合、全体では約 50%の相同性しか見られないがドメインIVのループ部分 22塩基では 76%の相同性を示し、かつ大腸菌 4.5S RNAの相同部分の配列とは 100%の相同性を示す。ヒトSRP 7S RNA のドメインIVのループ部分には SRP54 蛋白質が結合する。大腸菌では SRP54 の相同蛋白質として Ffh (Fifty four homologue) が報告されていた。我々は枯草菌 Ffh の遺伝子をクローン化し、そのアミノ酸配列を推定したところ、ヒトSRP54とは 32.6%、大腸菌 Ffh とは 53.9%の相同性を示した。いずれも約 450 アミノ酸からなり、N-末端側半分は GTP 結合部分モチーフを持つ G-ドメインからなり、C-末端側半分は Met に富む M-ドメインから構成されていた。一方枯草菌 scRNA とヒトSRP 7S RNA に共通するドメイン I にはヒトではSRP 9 とSRP 14 が、また枯草菌ではDNA 結合蛋白質として報告されている HBsu が2糧体で結合していた。HBsuの推定三次元構造はヒトSRP 9/14 の複合体の立体構造と類似していた (J.B.C., 274: 13569-13576, 1999)。

in vitro 系で枯草菌 Ffh が分泌蛋白質前駆体を認識・結合できるか否かを解析するために、大腸菌 β -ラクタマーゼ；および大腸菌外膜蛋白質 OmpA シグナルペプチド；枯草菌の代表的分泌蛋白質であるアルカリ性プロテアーゼのシグナルペプチド；枯草菌の孢子形成時に合成され、孢子側へ移行するペニシリン結合蛋白質 PBPS5*；好アルカリ性バチルス由来サイクロデキストリン合成酵素のシグナルペプチドと β -ラクタマーゼ成熟蛋白質部分との融合蛋白質遺伝子を構築し、Bla、OmpA-Bla、AprE-Bla、PBP5* -BLA、CGT-Bla とした。これらの融合蛋白質は大腸菌 SecA 温度感受性変異株 (*E. coli* BA13) を利用して、非許容温度 (42℃) で合成させると前駆体を多量細胞内に貯蓄するので、実験に必要とする量を調製することができた。また許容温度では完成型蛋白質を得ることができた。そこでこれらの前駆体と完成型蛋白質を混合し、免疫的な方法および化学架橋剤 EDACを用いた化学的な方法によって解析したところ、前駆体のみが Ffh と結合できることが分かった (BBRC, 227: 762-767, 1996)。次に前駆体蛋白質 Ffh のどの部分と結合しているかを解析するために G-ドメインとM-ドメインを欠失した変異 Ffh を大腸菌に合成させた。免疫的方法で解析したところM-ドメインと結合した。さらにM-ドメイン中に含まれる α -ヘリックス部分 (h1~h3) の欠失 Ffh の解析によりh1 部分で結合されることが予想された (Eur. J. Biochem., 248: 575-582, 1996)。一方 Ffh とscRNA の結合には h2 とh3 領域が関係し、その中心となるのは h2 とh3 領域の間にある KKRK...GSG の配列であり、前駆体の認識・結合部位と

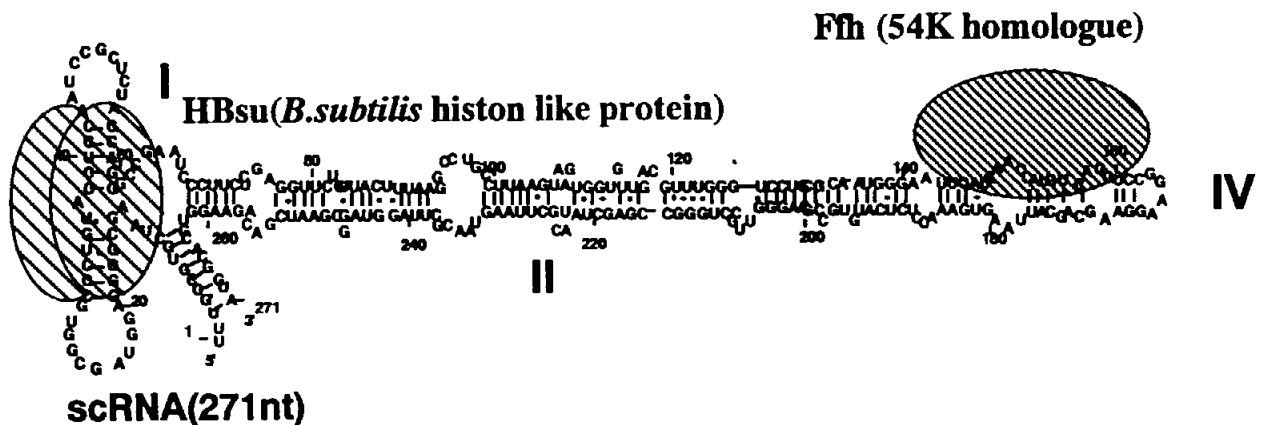
Schematic representation of Human, *E. coli* and *B. subtilis* SRP



E. coli SRP



B. subtilis SRP



scRNA 結合部位とが異なっていることが分かった (J.B.C., 271: 13140-13146, 1996)。

KKRK...GSG 配列は AIDS ウィルス (HIV) における RNA と蛋白質との結合配列と類似していた。

次に scRNA の maturation を解析した。scRNA は 374 塩基からなる前駆体 RNA として合成され、プロセッシングを受けて 271 塩基の完成型 RNA になる。その過程では 5' と 3' の両方が切断・除去される。このプロセッシングに RNase III が働いていることを明らかにした。RNase III によって切断されて生ずる 5' 末端は完成型 5' と一致していたが、3' 末端は 4 塩基ほど異なった。RNase III の作用で 275 塩基の中間体が形成され、何か別の酵素が 3' 末端側をさらにプロセッシングして、完成型 scRNA が形成されることが考えられた。RNase III の欠失変異株では scRNA のプロセッシングが阻害され前駆体 RNA の蓄積が見られた (J.B.C., 273: 19542-19547, 1998)。

SecA は大腸菌における分泌蛋白質系で中心的な働きをしている。枯草菌における SecA の機能、ことに Ffh との関係解析した。枯草菌 SecA は融合分泌蛋白質 AprE-Bla および PBP-BLa の前駆体と結合することを免疫的方法と EDAC による化学架橋剤による方法で明らかにした後、Ffh の効果を調べた。その結果 Ffh は SecA と前駆体蛋白質の結合を増大させることが分かった。また Ffh と SecA 自身も結合することが分かった。これらの結果は前駆体蛋白質はまず Ffh と結合し、そこに SecA が結合し、Ffh-前駆体-SecA の Tertiary complex が形成され、そこに SRP 受容体 FtsY が結合することによって SecA-前駆体複合体が形成されると予想された。さらに SecA-前駆体複合体は SecE、Y、G 膜通過装によって前駆体を細胞の外へ導くと考えられた (J. Biochem., 125: 151-159, 1999)。これらの結果から枯草菌における蛋白質の分泌系では SRP・SRP 受容体系と Sec 蛋白質群の共同作業によって効率良く蛋白質を分泌すると予想された。

今後の問題として、SRP 受容体 (FtsY) はこの系の中でどのような機能を持っているのか、また Ffh も FtsY も GTP 結合モチーフを持っているので、その機能を果たすためには GTP を分解してエネルギーを獲得していることが予想される。そこでこれらのエネルギーの問題を含めた蛋白質分泌系全体を明らかにする研究を今後すすめる予定である。

2) ゲノム解析に基づく蛋白質分泌系の解析

枯草菌におけるポストゲノム時代の研究として、熱ショック、酸素飢餓、グルコース飢餓、高塩濃度などで誘導される蛋白質やカタボライド抑制のかかる遺伝子群などグローバルで解析する研究、また各蛋白質間の相互作用ネットワークを研究することができるようになってきた。そこでは二次元ゲル電気泳動による各蛋白質の分離と TOFF MASS による蛋白質の構造解析が行われるようになった。我々はポストゲノム解析研究の一つとして枯草菌菌体外蛋白質のプロテオームを二次元ゲル電気泳動とアミノ酸シーケンサーによる N-末端付近のアミノ酸配列との組み合わせによって解析した。次にそれらの構成蛋白質が SecA また SRP に依存するか否かを解析し、各蛋白質の分泌経路を解析した。

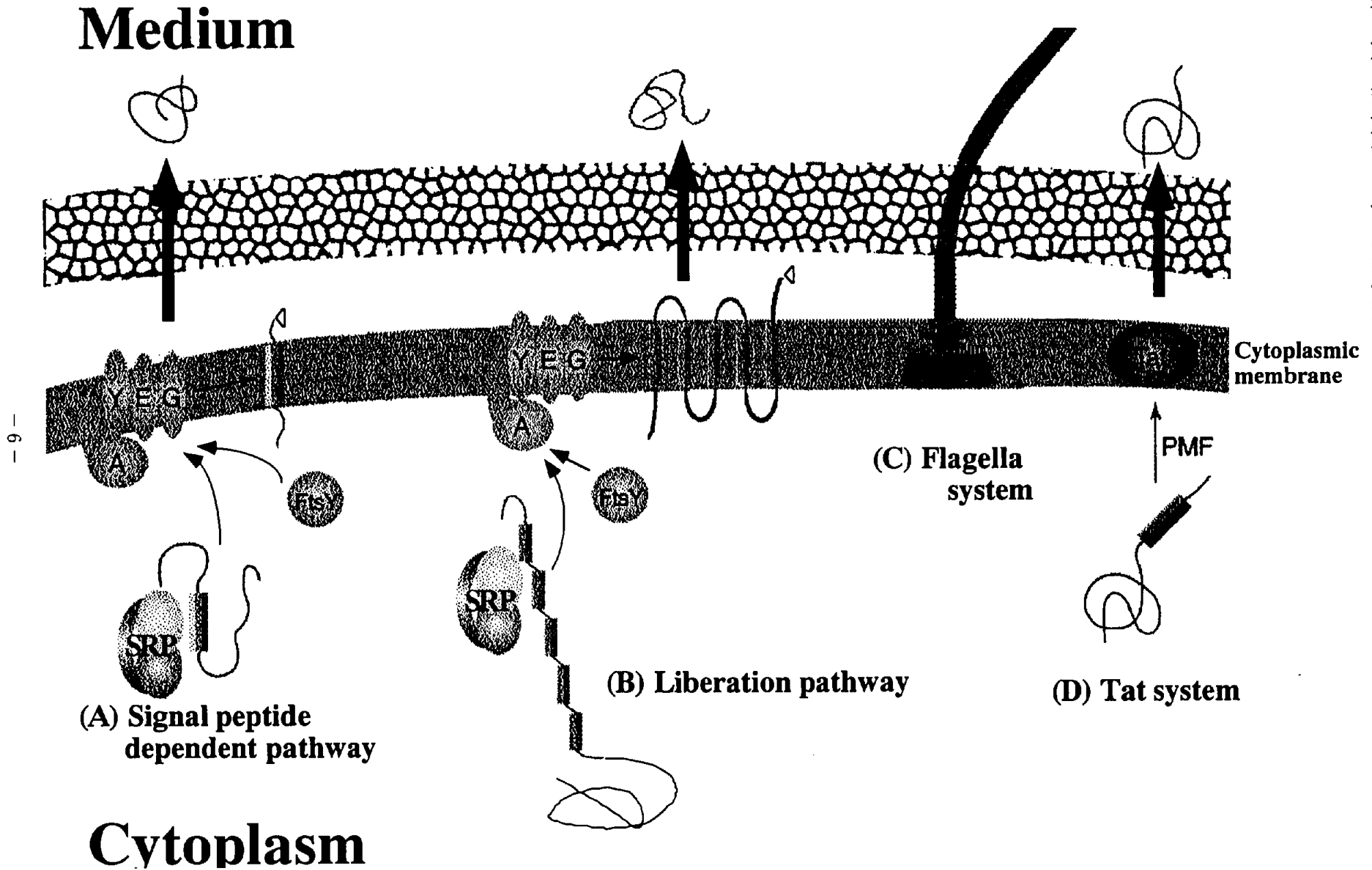
まず第一に枯草菌の全蛋白質4100遺伝子産物のうちシグナルペプチドをその前駆体中に持っていると思われるものをシグナルペプチド予想ソフト (BSORT ソフト) によって抽出した。その結果約 250 種類の遺伝子産物が候補として選択できた。個々の遺伝産物の N-末端付近のアミノ酸配列を確認し、選択したところ138 種類の遺伝子産物がシグナルペプチドによって細胞膜を通過しうる蛋白質と推定された。推定蛋白質中糖質関連酵素が12 種類と最も多く、次にプロテアーゼ・ペプチターゼ類であり、約半分に当たる63 種類は既知または推定可能なものであった。炭素源をグルコース、セロビオース、マルトース、可溶性デンプン (各 0.4%) で培養し、培地中に生産された蛋白質を二次元ゲル電気泳動で解析したところ約 150 個のスポットを明らかにできた。

次にこれら蛋白質分泌生産の SecA とSRP への依存性を調べた。SecA については SecA 温度感受性変異、*secA341* を、またSRP の主要蛋白質成分、Ffh、の発現量が IPTG によって制御可能な *spac-1* プロモータを利用した発現プラスミド PTVE905 : Ffh をそれぞれ *B. subtilis* 168 株に導入した条件変異株を作成した。枯草菌 α -アミラーゼおよび AprE-Bla、PBP5*-Bla の分泌生産は SecA と Ffh の両者に依存していることは既に解析済みである。グルコースを炭素元とした場合の二次元ゲル電気泳動上ではっきりしている 38 個のスポットに注目したところ、36 個のスポットの発現が SecA と Ffh の両者に依存していた。残りの2個は Hag (鞭毛蛋白質) と Gap (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) であった。Hag は特異な分泌によるものであり、Gap は本来は細胞内蛋白質であるがリークしたものと予想された。この結果は培地中に生産される蛋白質の大部分は SRP-SRP 受容体系と Sec 蛋白質群によると考えられた。

一方N-末端のアミノ酸配列の解析ができた23種類の蛋白質から遺伝子と推定し、蛋白質分泌系を予想したところ、シグナルペプチドによるもの19種類、本来は膜蛋白質と推定されるが、プロセッシングを受けて遊離したと考えられる蛋白質2種類、その他 Hag と Gap であった。その結果蛋白質分泌系としては図 2 に示すように A~C の3種類があることが分かった。また第4の分泌系として Tat システムが報告されて居り、Reductoisase、Nitrate reductase のような Co-factor を含んだ一群の蛋白質の分泌に有効に働いていることが予想された (Microbiology 146;65 - 75, 2000)。

枯草菌蛋白質分泌系を利用した異種蛋白質高生産系を開発することを最終的な目的として居り、蛋白質分泌系で作用する各蛋白質成分を高等生物に由来するものに置き換えて解析して行く研究を現在継続中である。

第2図 枯草菌における蛋白質分泌システム



研 究 発 表

I. 学会誌等発表論文

- 1) A. Oguro, H. Kakeshita, H. Takamatsu, K. Nakamura and K. Yamane (1996) The effect of *Srb*, a homologue of mammalian SRP receptor α -subunit, on *Bacillus subtilis* growth and protein translocation. *Gene*, 172;17-24
- 2) Toshinori Shibata, Yasuyuki Fujii, Yoshio Nakamura, Kouji Nakamura, and Kunio Yamane (1996) Identification of protein synthesis elongation factor G as a 4.5S RNA-binding protein in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 271;13162-13168.
- 3) Kei Kurita, Kiyofumi Honda, Satoru Suzuma, Hiromu Takamatsu, Kouji Nakamura, and kunio Yamane (1996) Identification of a region of *Bacillus subtilis* Ffh, a homologue of mammalian SRP54 protein, that is essential for binding to small cytoplasmic RNA. *J. Biol. Chem.*, 271;13140-13146.
- 4) Michael LaCelle, Miyuki Kumano, Kenji Kurita, Kunio Yamane, Peter Zuber and Michiko M. Nakano (1996) Oxygen-controlled regulation of the flavohemoglobin gene in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 178;3803-3808.
- 5) Eder S., Shi L., Jensen K., Yamane K., and Hulett FM (1996) A *Bacillus subtilis* secreted phosphodiesterase alkaline phosphatase is the product of a *pho* regulon gene, *phoD*. *Microbiology*, 142;2041-2047
- 6) Keigo Bunai, Hiromu Takamatsu, Tomoko Horinaka, Akihiro Oguro Kouji Nakamura, and Kunio Yamane (1996) *Bacillus subtilis* Ffh, a homologue of mammalian SRP54, can intrinsically bind to the precursors of secretory proteins. *Biochem. Biochys. Res. Commun.* 227;762-767.
- 7) Kunio Yamane, Miyuki Kumano and Kenji Kurita (1996) The 25⁰ - 36⁰ region of the *Bacillus subtilis* chromomose: determination of the sequence of a 146 kb segment and identification of 113 genes. *Microbiology* 142;3047-3056.
- 8) Kazuaki Harata, Keiko Haga, Akira Nakamura, Masanobu Aoyagi and Kunio Yamane (1996) X-Ray structure of cyclodextrin glucano-transferase from alkalophilic *Bacillus* sp.#1011. Comparison of two independent molecules at 1.8A resolution. *Acta Cryst.* D52,1136-1145
- 9) 山根國男、高松宏治、中村幸治 (1996) 細菌性シグナル認識粒子SRP
—構造・機能の哺乳類SRPとの比較— 蛋白質・核酸・酵素 41;1569
—1579。
- 10) Kunio Yamane, Kouji Nakamura, Hiromu Takamatsu, Akihiro Oguro,

- Keigo Bunai, Yoshio Nakamura, and Hiroshi Kakeshita (1997) SRP-like particle and its receptor system of *Bacillus subtilis* : identification and characterization. In *Membrane protein : Structure, Function and Expression Control*. ed. by N. Iwasaki. Kyushuu University Press/Karger Medical and Scientific Publishers. pp143-152
- 1 1) Miyuki Kumano, Atsuo Tamakoshi, and Kunio Yamane (1997)
A 32-kb nucleotide sequence from the region of the lincomycin-resistance gene (22⁰ - 25⁰) of the *Bacillus subtilis* chromosome and identification of the site of the lin2 muctation. *Microbiology*, 143:2775-2782.
 - 1 2) Harold Tjalsma, M.A. Noback, Sierd Bron, Gerard Venema, Kunio Yamane, and Jan Maarten van Dijl (1997) *Bacillus subtilis* contains four closely related type I signal peptidases with overlapping substrate specificities: Constitutive and temporally controlled expression of different sip genes. *J. Biol. Chem.*, 272:25983-25992
 - 1 3) Hiromu Takamatsu, Keigo Bunai, Tomoko Horinakan Akihiro Oguro, Kouji Nakamura, Kazuhito Watabe, and Kunio Yamane (1997)
Idenstification of a region required for binding to presecretory protein in *Bacillus subtilis* Ffh, a homologue of the 54-kDa subunit of mammalian signal recognition particle. *Eur. J. Biochem.* 248:575-582
 - 1 4) F. Kunst, N. Ogasawara,----K. Yamane and others (1997)
The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature* 390:249-256.
 - 1 5) 山根國男 (1997) 新しい遺伝資源の開発 (1) 微生物ゲノム解析の現状
—*Bacillus*属を中心に— 農業および園芸 72 ; 743—748。
 - 1 6) 山根國男 (1997) 枯草菌と奮闘した人々 ; 丸尾文治研究室の系譜。
蛋白質・核酸・酵素 42 ; 1925—1929。
 - 1 7) 山根國男 (1997) 微生物ゲノムの解析 —*Bacillus*属を中心に—
平成9年度 日本農学大会シンポジウム「新しい遺伝子資源の開発」 pp1-8.
 - 1 8) 中村幸治、山根國男 (1997) 真正細菌SRP RNAの多機能性、生化学
69;192-196
 - 1 9) Shu Ishikawa, Kunio Yamane and Junichi Sekiguchi (1998)
Regulation and characterization of a newly deduced cell wall hydrolase gene (cwlJ) which affects the germination of *Bacillus subtilis* spores. *J. Bacteriol.* 180:1375-1380
 - 2 0) Akihiro Oguro, Hiroshi Kakeshita, Kouji Nakamura, Kunio Yamane, Wei Wang, and David H. Bechhofer (1998) *Bacillus subtilis* RNase III cleaves both 5'- and 3'-sites of the small cytoplasmic RNA precursor. *J. Biol. Chem.* 273:19542-19547.

- 21) Keiko Haga, Osamu Sakamoto, Noriyuki Isii, Kazuaki Harata and Kunio Yamane (1998) Analyses of the reaction mechanism based on the X-ray structure of acrose complexes of wild-type and mutant cyclodextrin glucanotransferases from alkalophilic Bacillus sp. #1011. J. Appl. Glycosci., 45;177-183
(in Japanese. Abstract in English)
- 22) 山根國男 (1998) ヒト・ゲノム解析と微生物ゲノムの解析
大阪医薬品協会会報平成10年2月・589号: 2-8
Bulletin of Osaka Pharmaceutical manufactures Association.
582;2-8 (1998)
- 23) Kouji Nakamura, Yasuyuki Fujii, Toshiya Shibata and Kunio Yamane (1999) Depletion of Escherichia coli 4.5S RNA leads to an increase in the amount of protein elongation factor EF-G associated with ribosomes.
Eur. J. Biochemistry 259, 543-550.
- 24) Keigo Bunai, Kouhei Yamada, Kenji Hayashi, Kouji Nakamura and Kunio Yamane (1999) Enhancing effect of Bacillus subtilis Ffh, a homologue of SRP54 of mammalian signal peptide recognition particle, on the binding of SecA to presecretory proteins in vitro.
J. Biochemistry.125;151-159
- 25) Kouji Nakamura, Shou-ichi Yahagi, Takeo Yamazaki and Kunio Yamane (1999) Bacillus subtilis histone-like protein, HBSu, is an integral component of an SRP-like particle that can bind to the Alu-domain of small cytoplasmic RNA.
J. Biol. Chem.,274;13569-13576
- 26) Takao Yamazaki, Shou-ichi Yahagi, Kouji Nakamura, and Kunio Yamane (1999) Depletion of Bacillus subtilis histone-like protein, HBSu causes defective protein translocation and induces upregulation of small cytoplasmic RNA.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 258;211-214.
- 26) Satoru Suzuma, Kenji Hayashi, Kouji Nakamura, and Kunio Yamane (1999) Analysis of binding affinity of Escherichia coli 5.5S RNA to Ffh and EF-G.
FEMS Microbiol.Lett. 180,271-277.
- 27) 山根國男 (1999) 21世紀は生物の時代! ?
化学と生物 37: 353
- 28) 小笠原直毅、定家義人、藤田昌也、吉田健一、藤田泰太郎、吉川博文、三輪泰彦、山本博規、関口順一、熊野みゆき、山根國男、村田麻喜子、大木令子 (1999)
枯草菌ゲノムと遺伝子の特長。蛋白質核酸酵素 44: 1449-1459
- 29) 小倉光雄、田中輝夫、山根國男、熊野みゆき、佐野和良、広瀬 績、中村幸治
(1999) 枯草菌におけるシグナル伝達、形質転換、蛋白質分泌。蛋白質核酸酵

素44:1467-1474。

- 30) Isao Hirose, Kazuyoshi Sano, Izumi Shioda, Miyuki Kumano, Kouji Nakamura and Kunio Yamane (2000) Proteome analysis of *Bacillus subtilis* extracellular proteins : a two-dimensional protein electrophoretic study. Microbiology, 146: 65-75
- 31) N. Ishii, K. Haga, K. Yamane and K. Harata (1999) Crystal structure of asparagine 233-replaced cyclodextrin glucanotransferase from an alkalophilic *Bacillus* sp. #1011 determined at 1.9Å resolution. J. Mol. Recog. in press.
- 32) N. Ishii, K. Haga, K. Yamane, and K. Harata (2000) Crystal structure of alkalophilic As[aragine 233-replaced cyclodextrin glucanotransferase complexed with an inhibitor, acarbose, at 2.0 Å resolution. J. Biochem. in press.
- 33) 山根國男 (2000) 枯草菌におけるポストゲノム研究: シャペロンと分泌蛋白質. Chaperon News Letter, 6:14-17.

(2) 口頭発表

2-1) 国際会議発表

- 1) K. Yamane, A. Oguro, K. Bunai, Y. Nakamura, H. Kakeshita, H. Takamatsu and K. Nakamura (1996) SRP-like particle and its receptor system of *Bacillus subtilis* : analyses of biological functions. 12th International Spore Conference Madison, WI, USA.
- 2) A. Oguro, H. Kakeshita, K. Nakamura and K. Yamane (1996) RNase III homologue in *Bacillus subtilis* is a processing enzyme of pre-scrRNA. International Conference on RNA. Madison, WI, USA.
- 3) K. Yamane, M. Kumano, A. Tamakoshi and K. Kurita (1996) The 20⁰ to 36⁰ region of the *Bacillus subtilis* chromosome: Nucleotide sequence determination and search of ORFs. *Bacillus subtilis* : Sequencing and functional analysis. Cortona, Italy.
- 4) K. Yamane, A. Oguro, K. Bunai, Y. Nakamura, K. Kurita, H. Kakeshiata, H. Takamatsu and K. Nakamura (1996) SRP-like particle and its receptor system of *Bacillus subtilis*: analyses of biological functions. Gordon Research Conference (Oral presentation) at New England College, Henniker, NH, USA.
- 5) N. Ogasawara, Y. Fujita, Y. Kobayashi, Y. Sadaie, T. Tanaka, H. Yoshikawa, K. Yamane, J. Sekiguchi and H. Yoshikawa (1996)

The *Bacillus subtilis* genome project in Japan.
International Workshop on Recent Advance in Genome Biology of
Micro-organisms. Makuhari, Chiba, Japan.

- 6) K. Yamane, K. Bunai, Y. Nakamura, H. Kakeshita, A. Oguro and K. Nakamura (1997) Action of *Bacillus subtilis* SRP-like particle in cell growth, protein secretion and spore formation.
9th International Conference of Bacilli, Lausanne.
- 7) M. Kumano, A. Tamakoshi and K. Yamane (1997)
Determination of the locus of the lincomycin-resistant gene on the *Bacillus subtilis* chromosome and its functional analysis.
9th International Conference on Bacillis, Lausanne.
- 8) K. Nakamura, E. Hashizume, H. Kakeshita, S.-I. Yahagi, A. Oguro and K. Yamane (1997) Signal recognition particle (SRP) RNA in *Bacillus subtilis* : Biogenesis and much conservation of secondary structure throughout the evolution of Gram-positive bacteria. 9th International Conference on Bacillis, Lausanne.
- 9) A. Oguro, H. Kakeshita, K. Nakamura and K. Yamane (1997)
Gene organization and functional analysis of the *Bacillus subtilis* *srb* operon consisting of three genes for RNase III, a SMC family protein and a homologue of the mammalian SRP receptor α -subunit. 9th International Conference on Bacilli, Lausanne.
- 10) K. Yamane, K. Nakamura, A. Oguro, K. Bunai and H. Kakeshita (1998) *Bacillus subtilis* SRP-like particle: Structure and action on protein secretion and spore formation.
International Conference on Dynamics and regulation of the stress response, Kyoto, Japan.
- 11) K. Yamane (1998) *Bacillus subtilis* SRP-like particle: Structure and action on protein secretion and spore formation.
Gordon Research Conference at Colby-Sawyer College, New London, NH, USA.
- 12) K. Nakamura, K. Bunai, H. Kakeshita, T. Yamazaki, K. Hayashi and K. Yamane (1998) Functional analysis of SRP-SRP receptor system in *Bacillus subtilis* secretion system.
International Conference on Bacilli, Osaka, Japan.
- 13) K. Bunai, H. Kakeshita, K. Hayashi, K. Nakamura and K. Yamane (1998) Ffh, a homologue of mammalian SRP54, possessing the molecular chaperone-like function, passes the presecretory protein to SecA in *Bacillus subtilis*.
International Conference on Bacilli, Osaka, Japan.
- 14) S. Suzuma, H. Miyamoto, K. Nakamura and K. Yamane (1998)
Structural requirements of eubacterial SRP RNAs for cell growth

and binding to Ffh, a homologue of mammalian SRP54 protein, and protein synthesis elongation factor G.
International Conference on Bacilli, Osaka, Japan.

- 15) H. Kakeshita, A. Oguro, R. Amikura, K. Nakamura and K. Yamane (1998) Depletion of *Bacillus subtilis* Srb (FtsY), a homologue of α -subunit of mammalian signal recognition particle receptor, lead to defect in formation of heat-resistant spores and translocation of a sporulation specific protein.
International Conference on Bacilli, Osaka, Japan.
- 16) M. Kumano, K. Sano, H.-H. Liu, M. Murata, R. Ohki, and K. Yamane (1998) Determination of the lincomycin-resistant mutation (*lin-2*) site and analysis of the lincomycin-resistant operon *lmrAB*. International Conference on Bacilli, Osaka, Japan.
- 17) K. Yamane (1999) Proteome analysis of extracellular proteins of *Bacillus subtilis* : a two dimensional protein electrophoresis study. 6th European Meeting on Systematic Analysis of *Bacillus subtilis* genes. Dourdan, France.
- 18) K. Yamane, K. Bunai, H. Kakeshita, K. Hayashi and K. Nakamura (1999) Ffh, a major protein component of signal recognition particle, interacts with SecA to target and translocate presecretory proteins in *Bacillus subtilis*.
10th International Conference on Bacilli. Baveno, Italy.
- 19) K. Yamane, I. Hirose, K. Sano, I. Shioda, K. Nakamura (1999) Proteome analysis of extracellular proteins of *Bacillus subtilis* using Ffh and SecA deficient mutants.
10th International Conference on Bacilli, Baveno, Italy.
- 20) K. Yamane (1999) A major protein secretion pathway consisting of SRP and Sec proteins. 10th International Conference on Bacilli, Baveno, Italy.

2-2) 国内発表

- 1) 坂元 理、羽賀敬子、青柳正信、石井則行、原田一明、山根國男
CGTase の活性中心付近に存在するTyr100とTrp101の機能解析
(1996年度日本農芸化学会大会、京都、平成8年3月)
- 2) 柴田敏典、藤井康行、中村佳央、中村幸治、山根國男
真正細菌SRP RNAの蛋白質合成伸長因子EF-Gとの結合活性・様式
(1996年度日本農芸化学会大会、京都、平成8年3月)
- 3) 藤井康行、柴田敏典、中村佳央、中村幸治、山根國男
大腸菌蛋白質合成系におけるEF-G recycling への4.5S RNAの関与

(1996年度日本農芸化学学会大会、京都、平成8年3月)

- 4) 武内桂吾、高松宏治、堀中倫子、中村幸治、山根國男
scRNAによる枯草菌Ffhと分泌型タンパク質前駆体との親和性の増大
(1996年度日本農芸化学学会大会、京都、平成8年3月)
- 5) 掛下大視、小黑明広、高松宏治、中村幸治、山根國男
枯草菌における哺乳類SRPレセプター・SR α 相同因子Srbの機能および局在様式の解析
(1996年度日本農芸化学学会大会、京都、平成8年3月)
- 6) 石井則行、羽賀敬子、青柳正信、山根國男、原田一明
好アルカリ性*Bacillus* 由来のH 233 N- CGTaseとacarboseとの複合体の結晶構造
(1996年度第69回日本生化学大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会、札幌、平成8年7月)
- 7) 掛下大視、小黑明広、網蔵令子、中村幸治、山根國男
枯草菌における哺乳類SRPレセプター・SR α 相同因子、Srb、の機能解析
(1996年度第69回日本生化学大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会、札幌、平成8年7月)
- 8) 高松宏治、武内桂吾、栗田 啓、堀中倫子、中村幸治、渡部一仁、山根國男
枯草菌Ffhタンパク質における分泌タンパク質前駆体結合領域の解析
(1996年度第69回日本生化学大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会、札幌、平成8年7月)
- 9) 中村幸治、柴田敏典、栗田 啓、中村佳央、山根國男
真正細菌SRP RNAの多機能性－蛋白質合成、蛋白質膜透過過程における機能について－
(1996年度第69回日本生化学大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会、札幌、平成8年7月)
- 10) 小黑明広、掛下大視、中村幸治、山根國男
枯草菌RNase IIIによるscRNA前駆体のプロセンシング
(1996年度第69回日本生化学大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会、札幌、平成8年7月)
- 11) 藤井康行、鈴間 聡、中村佳央、中村幸治、山根國男
大腸菌4.5S RNAの持つEF-G 結合活性の翻訳過程における機能解析
(1996年度第69回日本生化学大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会、札幌、平成8年7月)
- 12) 熊野みゆき、栗田健司、玉越 篤、山根國男
枯草菌ゲノム23°－40° (*amyE-srfA* 領域) の構造解析
(1996年度第69回日本生化学大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会、札幌、平成8年7月)
- 13) 坂東真弓、羽賀敬子、坂元 理、石井則行、原田一明、山根國男
好アルカリ性*Bacillus* sp. #1011由来CGTaseの広範囲なpH領域の活性発現に關与するアミノ酸残基の解析
(1997年度日本農芸化学学会大会、東京、平成9年3月)
- 14) 熊野みゆき、玉越篤男、山根國男
枯草菌ゲノム解析に基づくリンコマイシン耐性遺伝子の同定・発現機構の解析

(1997年度日本農芸化学学会大会、東京、平成9年3月)

15) 橋爪恵里香、中村幸治、山根國男

グラム陽性細菌におけるSRP RNAドメインの構造解析

(1997年度日本農芸化学学会大会、東京、平成9年3月)

16) 武内桂吾、山田浩平、堀中倫子、高松宏治、中村幸治、山根國男

枯草菌SecAの分泌タンパク質シグナル認識能に関する*in vivo*、*in vitro*での解析

(1997年度日本農芸化学学会大会、東京、平成9年3月)

17) 武内桂吾、高松宏治、堀中倫子、山田浩平、小黑明広、中村幸治、山根國男

枯草菌の分泌タンパク質ターゲティング過程におけるSecAとSRP54 相同因子Ffhとの相互作用について (1997年度日本農芸化学学会大会、東京、平成9年3月)

18) 掛下大視、小黑明広、網蔵令子、中村幸治、山根國男

枯草菌タンパク質分泌系に關与するSrbタンパク質の胞子形成への関与

(1997年度日本農芸化学学会大会、東京、平成9年3月)

19) 小黑明広、掛下大視、中村幸治、山根國男

枯草菌RNase IIIによるscRNA 前駆体のプロセシング部位の解析

(1997年度日本農芸化学学会大会、東京、平成9年3月)

20) 藤田泰太郎、小笠原直毅、小林泰夫、定家義人、関口順一、山根國男、吉川博文

枯草菌ゲノムの体系的機能解析に向けて

(1997年度日本農芸化学学会大会、東京、平成9年3月)

21) 宮本英樹、鈴間 聡、藤井康行、中村幸治、山根國男

大腸菌SRP RNA (4.5S RNA) の機能必須ドメイン構造と蛋白質結合能の解析

(1997年度第70回日本生化学学会大会、金沢、平成9年9月)

22) 中村幸治、藤井康行、山根國男

大腸菌SRP RNA (4.5S RNA) の蛋白質合成伸長因子EF-Gのリボソームからのリサイクリング過程における機能解析

(1997年度第70回日本生化学学会大会、金沢、平成9年9月)

23) 山田浩平、武内桂吾、栗田 啓、高松宏治、中村幸治、山根國男

枯草菌SRP54 相同因子、Ffhタンパク質のC末端領域中のRNA 結合及びシグナル結合に関わる部位の解析 (1997年度第70回日本生化学学会大会、金沢、平成9年9月)

24) 村田麻喜子、熊野みゆき、山根國男、大木玲子

枯草菌薬剤排出タンパク質遺伝子*yccA*の機能解析

(1997年度第20回日本分子生物学会年会、京都、平成9年12月)

25) 掛下大視、小黑明広、網蔵玲子、中村幸治、山根國男

枯草菌タンパク質分泌系構成因子Srbの胞子形成過程への関与

(1997年度第20回日本分子生物学会年会、京都、平成9年12月)

26) 宮本英樹、鈴間 聡、中村幸治、山根國男

大腸菌SRP RNA (4.5S RNA) の機能発現に必要な最小機能単位の解析とFfh及びEF-G結合活性 (1997年度第20回日本分子生物学会年会、京都、平成9年12月)

- 27) 小黒明広、掛下大視、中村幸治、Wei Wang、David H. Bechhofer、山根國男
枯草菌RNase III遺伝子欠損変異株におけるScRNA前駆体のプロセシングの阻害
(1997年度第20回日本分子生物学会年会、京都、平成9年12月)
- 28) 矢作彰一、山崎高生、中村幸治、山根國男
枯草菌ヒストン様蛋白質HBsuの枯草菌scRNA (Small Cytoplasmic RNA) への結合能
(1997年度第20回日本分子生物学会年会、京都、平成9年12月)
- 29) 山根國男
枯草菌染色体200-360領域の構造と機能の解析
(1997国際シンポジウム「微生物ゲノム研究のフロンティア」立教大学
平成9年12月)
- 30) 坂東真弓、羽賀敬子、平岡香代子、坂元 理、石井則行、原田一明、山根國男
好アルカリ性*Bacillus* sp. #1011由来 CGTaseの広範囲なpH領域の活性発現に及ぼす
283番目のアミノ酸側鎖の影響
(1998年度日本農芸化学学会大会、名古屋、平成10年3月)
- 31) 鈴間 聡、宮本英樹、中村幸治、山根國男
大腸菌4.5S RNAの機能必須ドメインの検索とFfh 及びEF-G 結合領域の解析
(1998年度日本農芸化学学会大会、名古屋、平成10年3月)
- 32) 掛下大視、土井義邦、小黒明広、網蔵令子、中村幸治、山根國男
枯草菌タンパク質分泌経路におけるFfhとSrbの相互作用について
(1998年度日本農芸化学学会大会、名古屋、平成10年3月)
- 33) 武内桂吾、山田浩平、林 賢二、小黒明広、中村幸治、山根國男
枯草菌SecAと分泌タンパク質前駆体の相互作用におけるSRP様粒子構成成分Ffhの分子シャペロンとしての機能の解析
(1998年度日本農芸化学学会大会、名古屋、平成10年3月)
- 34) 矢作彰一、山崎高生、中村幸治、山根國男
枯草菌SRP様粒子構成成分scRNAのドメインI, II領域に結合する蛋白質の解析
(1998年度日本農芸化学学会大会、名古屋、平成10年3月)
- 35) 山根國男、中村幸治、小黒明広、武内桂吾、掛下大規
枯草菌における蛋白質分泌・局在化に關与するSRP様粒子の構造・機能
(1998年度日本農芸化学学会大会、名古屋、平成10年3月)
- 36) 中村幸治、鈴間 聡、山根國男
大腸菌SRP RNA (4.5S RNA) の蛋白質合成過程における機能解析
(1998年度第71回日本生化学学会大会、名古屋、平成10年10月)
- 37) 武内桂吾、掛下大視、林 賢二、中村幸治、山根國男
枯草菌SRP様粒子構成成分 Ffh は分泌タンパク質前駆体をSecA へ受け渡す
(1998年度第71回日本生化学学会大会、名古屋、平成10年10月)
- 38) 掛下大視、小黒明広、網蔵令子、中村幸治、山根國男
枯草菌蛋白質分泌装置SRP-SRPレセプター系の孢子形成過程への関与
(1998年度第71回日本生化学学会大会、名古屋、平成10年10月)
- 39) 平岡香代子、羽賀敬子、坂元 理、倉持大介、石井則行、原田一明、山根國男

好アルカリ性 *Bacillus* sp. #101 由 CGTase の広範囲な pH 領域の活性発現に関する触媒機構の解析 (1998 年度日本応用糖質科学会平成 10 年度大会 (第 47 回) および糖質関連酵素化学シンポジウム (第 6 回)、札幌、平成 10 年 10 月)

40) 村田麻喜子、大木玲子、山根國男

枯草菌リンコマイシン耐性オペロン *ImrAB* の発現機構の解析

(1998 年度第 21 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 10 年 12 月)

42) 林 賢二、武内桂吾、中村幸治、山根國男

枯草菌 SRP 様粒子構成成分 Ffh 内に存在する SecA 結合部位の解析

(1998 年度第 21 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 10 年 12 月)

43) 井上 靖、安武 望、富田哲司、弥武経也、福井史生、山根國男

Bacillus 属由来耐熱性マルトースホスホリラーゼ及びトレハロースホスホリラーゼ遺伝子のクローニングと解析

(1999 年度日本農芸化学会大会、東京、平成 11 年 4 月)

44) 鈴間 聡、中村幸治、山根國男

枯草菌 DEAD ボックス型 RNA ヘリカーゼ相同遺伝子の検索と機能解析

(1999 年度日本農芸化学会大会、東京、平成 11 年 4 月)

45) 熊野みゆき、中村幸治、藤田昌也、定家義人、山根國男

枯草菌リンコマイシン耐性遺伝子オペロン *ImrAB* の発現機構の解析

(1999 年度日本農芸化学会大会、東京、平成 11 年 4 月)

46) 中村幸治、山崎高生、山根國男

枯草菌細胞内低分子 RNA (scRNA) のドメイン I に結合能を有する蛋白質の構造・機能解析 (1999 年度日本農芸化学会大会、東京、平成 11 年 4 月)

47) 山崎高生、矢作彰一、中村幸治、山根國男

枯草菌ヒストン様蛋白質 HBSu の蛋白質分泌過程への関与について

(1999 年度日本農芸化学会大会、東京、平成 11 年 4 月)

48) 小田川愛、中村幸治、山根國男

真正細菌 SRP RNA の構造についての系統進化学的解析

(1999 年度日本農芸化学会大会、東京、平成 11 年 4 月)

49) 掛下大視、林 賢二、中村幸治、山根國男

枯草菌タンパク質分泌経路における SRP-SR 系と SecA との相互作用について

(1999 年度第 72 回日本生化学会大会、横浜、平成 11 年 10 月)

50) 広瀬 績、山崎高生、塩田いずみ、熊野みゆき、中村幸治、山根國男

枯草菌における SRP/Sec 蛋白質分泌系に依存して分泌される菌体外蛋白質の解析

(1999 年度第 72 回日本生化学会大会、横浜、平成 11 年 10 月)

51) 広瀬 績、山崎高生、塩田いずみ、熊野みゆき、中村幸治、山根國男

枯草菌菌体外蛋白質プロテオーム解析に基づく蛋白質分泌経路の解析

(1999 年度第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月)

52) 鈴間 聡、吉野桂子、中村幸治、山根國男

枯草菌 OEAD ボックス型 RNA ヘリカーゼ遺伝子の検索と機能解析

(1999年度第22回日本分子生物学会年会、福岡、平成11年12月)

53) 中村幸治、鈴間 聡、山根國男

大腸菌4.5S RNAにおける結合蛋白質 (Ffh、EF-G) との相互作用部位の解析
(1999年度第22回日本分子生物学会年会、福岡、平成11年12月)

54) 朝里さやか、鈴間 聡、青木雅文、中村幸治、山根國男

枯草菌新規低分子RNA、BS200 及び BS180 の同定と構造解析
(1999年度第22回日本分子生物学会年会、福岡、平成11年12月)

55) 金井隆太、羽賀敬子、山根國男、原田一明

好アルカリ性 *Bacillus* sp. #1011 由来 CGTase と1-デオキシノジリマイシン複合体のX線結晶構造解析
(平成12年度日本農芸化学学会大会、横浜、平成12年4月発表予定)

56) 朝里さやか、鈴間 聡、山根國男、中村幸治

枯草菌新規低分子RNAの同定と構造・機能解析
(平成12年度日本農芸化学学会大会、横浜、平成12年4月発表予定)

57) 青木雅文、井上道雄、山崎高生、山根國男、中村幸治

枯草菌ヒストン様蛋白質 HBsu における scRNA 結合部位の解析
(平成12年度日本農芸化学学会大会、横浜、平成12年4月発表予定)

58) 塩田いづみ、矢萩正樹、山崎高生、中村幸治、山根國男

枯草菌 α -アミラーゼ高生産株の菌体外蛋白質プロテオームの解析
(平成12年度日本農芸化学学会大会、横浜、平成12年4月発表予定)

59) 鈴間 聡、吉野桂子、中村幸治、山根國男

枯草菌ゲノム上に存在する5種類の DEAD ボックス型 RNA ヘリカーゼ相同遺伝子の機能解析
(平成12年度日本農芸化学学会大会、横浜、平成12年4月発表予定)

60) 山根國男

枯草菌における有用菌体外酵素の生産制御・分泌経路およびゲノムの解析と応用
(受賞講演)
(平成12年度日本農芸化学学会大会、横浜、平成12年4月発表予定)

(3) 出版物

- 1) K. Yamane, K. Nakamura, H. Takamatsu, A. Oguro, K. Bunai, Y. Nakamura and H. Kakeshita (1997) SRP-like particle and its receptor system of *Bacillus subtilis*: identification and characterization. In Membrane protein: Structure, Function and Expression Control.ed.by N.Hamasaki. Kyushuu University Press/Karger Medical and Scientific Publishers, pp143-152.
- 2) Kunio Yamane, Osao Hirose, and Kouji Nakamura (2000) Proteome analysis of *Bacillus subtilis* extracellular enzymes using secA and ffh conditional mutants. In *Bacillus subtilis*. ed. by Schuman,

主 要 論 文 の 別 刷

- 1) A. Oguro, H. Kakeshita, H. Takamatsu, K. Nakamura and K. Yamane (1996) The effect of *Srb*, a homologue of mammalian SRP receptor α -subunit, on Bacillus subtilis growth and protein translocation. *Gene*, 172;17-24
- 2) Toshinori Shibata, Yasuyuki Fujii, Yoshio Nakamura, Kouji Nakamura, and Kunio Yamane (1996) Identification of protein synthesis elongation factor G as a 4.5S RNA-binding protein in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 271;13162-13168.
- 3) Kei Kurita, Kiyofumi Honda, Satoru Suzuma, Hiromu Takamatsu, Kouji Nakamura, and kunio Yamane (1996) Identification of a region of *Bacillus subtilis* Ffh, a homologue of mammalian SRP54 protein, that is essential for binding to small cytoplasmic RNA. *J. Biol. Chem.*, 271;13140-13146.
- 4) Michael LaCelle, Miyuki Kumano, Kenji Kurita, Kunio Yamane, Peter Zuber and Michiko M. Nakano (1996) Oxygen-controlled regulation of the flavohemoglobin gene in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 178;3803-3808.
- 5) Eder S., Shi L., Jensen K., Yamane K., and Hulett FM (1996) A Bacillus subtilis secreted phosphodiesterase alkaline phosphatase is the product of a pho regulon gene, phoD. *Microbiology*, 142;2041-2047
- 6) Keigo Bunai, Hiromu Takamatsu, Tomoko Horinaka, Akihiro Oguro Kouji Nakamura, and Kunio Yamane (1996) Bacillus subtilis Ffh, a homologue of mammalian SRP54, can intrinsically bind to the precursors of secretory proteins. *Biochem. Bioohys. Res. Commun.* 227;762-767.
- 7) Kunio Yamane, Miyuki Kumano and Kenji Kurita (1996) The 25⁰ - 36⁰ region of the Bacillus subtilis chromosome: determination of the sequence of a 146 kb segment and identification of 113 genes. *Microbiology* 142;3047-3056.
- 8) Kazuaki Harata, Keiko Haga, Akira Nakamura, Masanobu Aoyagi and Kunio Yamane (1996) X-Ray structure of cyclodextrin glucano-transferase from alkalophilic *Bacillus* sp.#1011. Comparison of two independent molecules at 1.8Å resolution. *Acta Cryst.* D52,1136-1145
- 9) 山根國男、高松宏治、中村幸治 (1996) 細菌性シグナル認識粒子SRP
一構造・機能の哺乳類SRPとの比較一 蛋白質・核酸・酵素 41;1569
-1579。
- 10) Miyuki Kumano, Atsuo Tamakoshi, and Kunio Yamane (1997)
A 32-kb nucleotide sequence from the region of the lincomycin-resistance gene (22⁰ - 25⁰) of the Bacillus subtilis chromosome

and identification of the site of the lin2 muctation.
Microbiology, 143:2775-2782.

- 1 1) Harold Tjalsma, M.A. Noback, Sierd Bron, Gerard Venema, Kunio Yamane, and Jan Maarten van Dijl (1997) Bacillus subtilis contains four closely related type I signal peptidases with overlapping substrate specificities: Constitutive and temporally controlled expression of different sip genes.
J. Biol. Chem., 272;25983-25992
- 1 2) Hiromu Takamatsu, Keigo Bunai, Tomoko Horinakan Akihiro Oguro, Kouji Nakamura, Kazuhito Watabe, and Kunio Yamane (1997) Idenstification of a region required for binding to presecretory protein in Bacillus subtilis Ffh, a homologue of the 54-kDa subunit of mammalian signal recognition particle.
Eur. J. Biochem. 248:575-582
- 1 3) F. Kunst, N. Ogasawara,----K. Yamane and others (1997) The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium Bacillus subtilis. Nature 390:249-256.
- 1 4) 中村幸治、山根國男 (1997) 真正細菌SRP RNAの多機能性、生化学 69;192-196
- 1 5) Shu Ishikawa, Kunio Yamane and Junichi Sekiguchi (1998) Regulation and characterization of a newly deduced cell wall hydrolase gene (cwlJ) which affects the germination of Bacillus subtilis spores. J. Bacteriol.180:1375-1380
- 1 6) Akihiro Oguro, Hiroshi Kakeshita, Kouji Nakamura, Kunio Yamane, Wei Wang, and David H. Bechhofer (1998) Bacillus subtilis RNase III cleaves both 5'- and 3'-sites of the small cytoplasmic RNA precursor. J. Biol. Chem. 273;19542-19547.
- 1 7) Keiko Haga, Osamu Sakamoto, Noriyuki Isii, Kazuaki Harata and Kunio Yamane (1998) Analyses of the reaction mechanism based on the X-ray structure of acrbiose complexes of wile-type and mutant cyclodextrin glucanotransferases from alkalophilic Bacillus sp. #1011. J. Appl. Glycosci., 45;177-183
(in Japanese. Abstract in English)
- 1 8) Kouji Nakamura, Yasuyuki Fujii, Toshiya Shibata and Kunio Yamane (1999) Depletion of Escherichia coli 4.5S RNA leads to an increase in the amount of protein elongation factor EF-G associated with ribosomes.
Eur. J. Biochemistry 259, 543-550.
- 1 9) Keigo Bunai, Kouhei Yamada, Kenji Hayashi, Kouji Nakamura and Kunio Yamane (1999) Enhancing effect of Bacillus subtilis Ffh, a homologue of SRP54 of mammalian signal peptide recognition particle, on the binding of SecA to presecretory proteins

in vitro.

J. Biochemistry.125;151-159

- 20) Kouji Nakamura, Shou-ichi Yahagi, Takeo Yamazaki and Kunio Yamane (1999) Bacillus subtilis histone-like protein, HBSu, is an integral component of an SRP-like particle that can bind to the Alu-domain of small cytoplasmic RNA.
J. Biol. Chem.,274;13569-13576
- 21) Takao Yamazaki, Shou-ichi Yahagi, Kouji Nakamura, and Kunio Yamane (1999) Depletion of Bacillus subtilis histone-like protein, HBSu causes defective protein translocation and induces upregulation of small cytoplasmic RNA.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 258;211-214.
- 22) Satoru Suzuma, Kenji Hayashi, Kouji Nakamura, and Kunio Yamane (1999) Analysis of binding affinity of Escherichia coli 5.5S RNA to Ffh and EF-G.
FEMS Microbiol.Lett. 180,271-277.
- 23) 小笠原直毅、定家義人、藤田昌也、吉田健一、藤田泰太郎、吉川博文、三輪泰彦、山本博規、関口順一、熊野みゆき、山根國男、村田麻喜子、大木令子(1999) 枯草菌ゲノムと遺伝子の特長。蛋白質核酸酵素44:1449-1459
- 24) 小倉光雄、田中輝夫、山根國男、熊野みゆき、佐野和良、広瀬 績、中村幸治(1999) 枯草菌におけるシグナル伝達、形質転換、蛋白質分泌。蛋白質核酸酵素44:1467-1474。
- 25) Isao Hirose, Kazuyoshi Sano, Izumi Shioda, Miyuki Kumano, Kouji Nakamura and Kunio Yamane (2000) Proteome analysis of Bacillus subtilis extracellular proteins : a two-dimensional protein electrophoretic study. Microbiology, 146:65-75

以下の頁は著作権者の許諾を得ていない
ため、公表できません。

p. 22 ~ p.

p. ~ p.

p. ~ p.

p. ~ p.

p. ~ p.