

大学名	長崎大学		
University	Nagasaki University		
外国人研究者	シャーク ムハマド アブドゥ ラオフ		
Foreign Researcher	Shakh Mohammad Abdur Rouf		
受入研究者	根本 孝幸	職名	教授
Research Advisor	Takayuki Nemoto	Position	Professor
受入学部/研究科	大学院総合医歯薬学研究科		
Faculty/Department	Graduate School of Biomedical Sciences		

<外国人研究者プロフィール/Profile>

国籍	バングラデシュ
Nationality	Bangladesh
所属機関	イスラム大学
Affiliation	Islamic University
現在の職名	教授
Position	Professor
研究期間	2018年9月3日 ~ 2018年12月1日 (90日間)
Period of Stay	90 days (Sep 3, 2018 - Dec 1, 2018)
専攻分野	生化学
Major Field	Biochemistry



2018年10月1日 ラオフ先生の研究室セミナー

<外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

①研究課題 / Theme of Research
Mechanism of dipeptide incorporation in Porphyromonas gingivalis
②研究概要 / Outline of Research
Porphyromonas gingivalis (Pg) utilizes extracellular polypeptides as sole sources of carbon and energy. During the metabolic process, Pg produces mercaptan and hydrogen sulfide with specific smell for periodontal disease. We previously identified peptidases of Pg responsible for the hydrolysis of extracellular peptides and reported that 4 dipeptidyl-peptidases (DPPs) are expressed in the bacterium and are sufficient for complete digestion from polypeptides into dipeptides. Accordingly, in this study, I analyzed amino acid and peptide transporters of Pg responsible for the transport of dipeptides. Informatic analysis revealed 3 transporter genes, Ser/Thr, OPT, and POT. Among them, I expressed POT in E. coli and tested its ability of dipeptide incorporation.
③研究成果 / Results of Research
The gene of the E. coli POT (TppB) was cloned by PCR and inserted into an expression plasmid, pQE60, and the expression of POT in transformed E. coli was confirmed by immunoblotting. The conditions for POT expression, the alomarbblue analysis methods were defined. In addition, 3 putative transporter genes of Pg were cloned by PCR and were expressed in E. coli. They were expressed as membrane proteins, and thus, suspected to function as transporters even in E. coli. As a result, I found that POT works as a dipeptide transporter in E. coli.
④今後の計画 / Further Research Plan
The laboratory of Professor Takayuki Nemoto and Associate professor Yuko-Ohara Nemoto is studying on the roles of peptidases expressed by periodontopathic bacteria and reported that such bacterial peptidases are closely related to the systemic diseases, such as type-2 diabetes mellitus. On the other hand, after I got Ph.D. and left Japan in March 2013, I independently started the study on diabetes mellitus, and found that sweet fruit of Bangladesh, such as Sugar Palm (Borassus flabellifer) and Elephant Foot Yam (Amorphophallus paeoniifolius) have the effect to reduced the blood glucose level, despite their sweetness. Accordingly, we want to develop a collaboration of the study on the effects on sweet plant components on periodontal disease and diabetes mellitus.

## <受入研究者からの報告/Research Advisor Report>

### ①研究課題 / Theme of Research

歯周病菌Porphyromonas gingivalisのジペプチド取り込み機構の解明

### ②研究概要 / Outline of Research

本研究では、歯周病菌P. gingivalis(Pg)におけるジペプチド取込に関するアミノ酸トランスポーターの解析を行った。本菌は細胞外タンパク質を栄養源とし、アミノ酸代謝によりエネルギー産生と有機物合成を行う。この過程で硫黄を含むメルカプタンや硫化水素などを産生するため、いわゆる卵の腐った臭いを発するのが本菌の特徴である。これまで我々は歯周病菌Pgの菌体外ペプチド分解に関与するペプチダーゼ群を同定し、その結果、4種類のジペプチジルペプチダーゼ(DPP)が協同的に機能することを明らかにしてきた。糖分解に依存せず、DPP機能によって産生されたジペプチドとしてアミノ酸を取込むことにより、口腔細菌叢における優位性を保つものと考えられる。ジペプチドトランスポーターを明らかにする事により、Pg菌の増殖阻害が可能になると考えられる。ゲノム解析の結果から、本菌には3種類のアミノ酸関連トランスポーター (Ser/Thr、POT、OPT) 遺伝子があることがわかった。そこで本研究では、まず、大腸菌POT遺伝子発現系を構築し、各種ジペプチド取り込み活性をアロマブルー法による測定系を確定した。加えて、3種類のPgトランスポーターの発現を試みた。

### ③研究成果 / Results of Research

大腸菌POT遺伝子(TppB)配列よりPCR断片を精製し、大腸菌発現プラスミドpQE60に組込み、大腸菌での発現を免疫染色で確認した。POT発現条件、およびアロマブルー測定までの分析系について検討し、ジペプチド(GG、GL)の取込実験をおこなった。また、Pgの3種類のトランスポーター遺伝子Ser/Thr、POT、OPTオルソログをPCRクローニングし、大腸菌での発現を試みた。発現分子は膜タンパクとして局在し、トランスポーター機能を担うことができると考えられた。加えて、ジペプチド取り込み実験の結果、POT発現による効果が大きい結果を得た。

### ④今後の計画 / Further Research Plan

我々は歯周病菌のペプチダーゼの役割を中心に研究しており、歯周病菌のペプチダーゼが宿主であるヒトの全身疾患である糖尿病にも関わっていることを明らかにしてきた。一方でAbdur Rouf博士は2013年に日本より母国に戻った後に糖尿病の研究を開始し、自国の甘い果物であるシュガーパーム (Borassus flabellifer) やエレファントフットヤム (Amorphophallus paeoniifolius)に血糖値を下げる効果があることを発見している。そこで我々は今後糖尿病と歯周病菌の相互関係について共同研究を考えている具体的には、これらの植物より有効成分を抽出することと、その成分と歯周病菌ペプチダーゼを併用した際に糖尿病モデルマウスの血糖値にどのような効果を及ぼすかを検討する予定である。



長崎県立大学でのセミナー 10月24日  
Seminar in Nagasaki Prefectural University (Oct. 24)



実験風景 11月22日  
Experiment Nov. 22