

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06135

研究課題名(和文) 澱粉枝作り酵素の構造機能解析、テーラーメイド澱粉の生産に向けて

研究課題名(英文) Structure-function relationship of starch branching enzyme, towards a production of tailor-made starch

研究代表者

鈴木 龍一郎 (Suzuki, Ryuichiro)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：70632397

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではシアノバクテリア由来GS、BE、およびGlgXの構造生物学的および生化学的解析を行った。比活性、基質特異性、反応産物特異性、酵素表面糖鎖結合部位(SBS)の役割、BEが生産する分岐鎖の長さを制御する仕組みを解明した。また、これまでに不明であったBEアイソザイム3およびGlgXアイソザイム2の結晶構造を解明することに成功した。さらに、GS、BE、およびGlgXは酵素間相互作用を形成しないことを示した。本研究では、当初の研究目的全てを達成するまでには至らなかったが、澱粉の分岐構造を制御する仕組みを解き明かすために重要な情報を複数得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

澱粉の分岐構造は、物性や食味に関係することがわかっている。澱粉を生合成する酵素を用いて澱粉の分岐構造を制御できれば、澱粉素材(バイオプラスチックなど)としての応用利用が期待できる。しかし、分岐構造を制御する仕組みはわかっていなかった。本研究では、分岐構造を制御する仕組みを解き明かすために重要な情報を複数得ることができた。本研究で得られた成果は、分岐構造を制御した澱粉の酵素合成などの応用へ向けた研究基盤となるものである。将来的に分岐構造を制御した澱粉の生産が可能となれば、食料自給率の向上や澱粉素材の生産などに貢献できると期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed structural and biochemical analyses of cyanobacterial GS, BE, and GlgX. Specific activity, substrate specificity, product specificity, role of surface binding site (SBS), and mechanism controlling the length of branched chains formed by BE were clarified. In addition, the crystal structures of BE isoform 3 and GlgX isoform 2 were determined. Furthermore, our results confirmed that GS, BE, and GlgX did not form enzyme-enzyme interaction. We have obtained important information in order to elucidate the mechanism controlling the branched structure of starch, although all of the research purposes were not achieved.

研究分野：酵素学、構造生物学、応用微生物学

キーワード：酵素学 構造生物学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) グリコーゲンおよび澱粉はグルコース分子のみから成る多糖であり、主要なエネルギー源である。グリコーゲンは無秩序な分岐構造を有しているが、澱粉は規則正しい分岐パターンから成るアミロペクチンを主成分としている。アミロペクチンの分岐構造は物性や食味に関係することがわかっている (Fujita, 2014)。これら多糖は、澱粉/グリコーゲン合成酵素 (SS/GS, EC 2.4.1.21) 枝作り酵素 (BE, EC 2.4.1.18) 枝切り酵素 (PUL, EC 3.2.1.41; ISA, EC 3.2.1.68) など複数の酵素群によって生合成される (Nakamura *et al.* 2010)。これら酵素を用いてアミロペクチンの分岐構造を制御できれば、澱粉素材 (バイオプラスチックなど) としての応用利用が期待できる。しかし、分岐構造を制御する仕組みはわかっていなかった。

(2) シアノバクテリアは酸素発生型光合成を行う原核生物であり、植物の葉緑体の祖先である。シアノバクテリアは約 30 億年前に誕生したと言われており、当時の原始的な姿のままを留めている。一般にシアノバクテリアは原始的なグリコーゲンを生産するが、*Cyanothece* sp. ATCC 51142 株などの一部の単細胞種は進化型の澱粉を生産することが知られている (Nakamura *et al.* 2005; Suzuki *et al.* 2013)。これまでの遺伝子解析から、シアノバクテリアは地球上で最もシンプルな澱粉合成の仕組みを持つことがわかっているため、研究と応用利用に適していると考えた。しかし、澱粉生産性シアノバクテリアに注目しているのは著者と共同研究実績のあるフランスの研究グループのみであり、関連酵素の構造と機能は未解析であった。そこで著者はアミロペクチンの分岐構造を制御する仕組みの解明を目的として、分岐パターンを決定 (分岐点を生産) する BE に注目し、51142 株由来 BE1 の構造機能解析を行ってきた。これまでに、BE の基質結合部位を世界で初めて同定し、さらに酵素表面糖鎖結合部位 (SBS) を 5 ヶ所 (A1、A2、C1、C2、C3) 見出している。SBS は、“基質との結合”、“活性中心付近の基質濃度の向上”、“別の酵素との相互作用インターフェイス”などとして機能すると考えている。これまでに著者らは、BE が生産する分岐鎖の長さを決める仕組みを明らかにし、反応機構モデルを提唱したことで (Hayashi *et al.* 2017; Suzuki and Suzuki, 2021)、分岐構造を制御する仕組み解明へ向けて最先端を走っている。

(3) 著者はグリコーゲン生産性シアノバクテリア (*Synechococcus elongatus* PCC 7942 株および *Synechocystis* sp. PCC 6803 株) および澱粉生産性シアノバクテリア (51142 株、*Cyanobacterium* sp. NBRC 102756 株、*Cyanobacterium* sp. CLg1 株、*Cyanobacterium aponinum* 10605 株、および *Rippkaea orientalis* PCC 8802 株) を有している。これらのうち著者らは、7942 株、51142 株、および 102756 株由来リコンビナント BE について、唯一の例として特性解析を報告している (Suzuki *et al.* 2015; Hayashi *et al.* 2015)。しかし、澱粉生産性シアノバクテリア由来関連酵素 (GS、DBE) の特性解析は未報告であった。著者らは GS および DBE (シアノバクテリア由来 DBE は GlgX と呼ぶ) の精製リコンビナント酵素の調製に成功しており、BE、GS、および GlgX を用いた研究を世界に先駆けて行うことができると考えた。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では、GS、BE、および GlgX の構造機能相関ならびに酵素間相互作用を調べることで、アミロペクチンの分岐構造を制御する仕組みを解明することを目的とした。

(2) 澱粉生産性シアノバクテリア株は、3 種類の BE アイソザイム (BE1、BE2、BE3) を有する (例外として 8802 株は 2 種)。BE2 および BE3 について結晶構造解析を行い、反応機構モデルと SBS の普遍性を検証する。また、酵素-糖鎖結合実験を行う事で、SBS の機能解明を目指す。

(3) GS、BE、および GlgX の詳細な特性を解析する。これら酵素を混合し、酵素間相互作用の有無を調べる。さらに、分岐構造をコントロールした澱粉 (分岐多糖) の酵素合成に挑戦する。

### 3. 研究の方法

(1) BE 変異体の構築: BE3 に特徴的なサブドメイン TR を欠損させた変異体プラスミド DNA は、51142 株由来 BE3 (*cce\_1806*) 遺伝子を含むプラスミド DNA を鋳型として、当該領域を欠損させたプライマーセットを用いて PCR を行うことで構築した。BE1 の変異体 (F323W, D373Y) のプラスミド DNA は、野生型 BE1 (*cce\_2248*) 遺伝子を含むプラスミド DNA を鋳型とし、変異を導入したプライマーセットを用いてインバース PCR することで構築した。これらの遺伝子を大腸菌内で大量発現させ、Ni-アフィニティーカラムおよびゲルろ過カラムを用いて精製酵素標品を調製した。精製度と分子質量は、SDS-PAGE を用いて確認した。

(2) BE の活性測定法: 5 mg/mL ポテト由来アミロペクチン (PAP) または 1 mg/mL 合成アミロース (SAM) と 0.1 M HEPES-NaOH (pH 7.0) を含む反応液に精製酵素標品を加えて 30 分で反応させ、ヨウ素染色法によって比活性を定量した。GlgX の活性測定法: 5 mg/mL PAP、5 mg/mL カキグリコーゲン (OGG) または 5 mg/mL プルラン (Pul) と 0.1 M HEPES-NaOH (pH 7.0) を含む反応液

に精製酵素標品を加えて 30 で反応させ、ソモギーネルソン法によって比活性を定量した。GS の活性測定法：0.79 mg/mL PAP、0.37 mg/mL SAM、または 1 mM マルトオリゴ糖と 0.05 M HEPES-NaOH (pH 7.5)を含む反応液に精製酵素標品を加えて 30 で反応させた。GS の反応で生じた ADP をクレアチンキナーゼによって ATP に変換し、Glc を加えてヘキソキナーゼを用いて G6P を生産させた。G6P を NADP<sup>+</sup>存在下でグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼと反応させ、生産された NADPH の吸光度 (波長 340 nm) を測定することで比活性を定量した。

(3) 分岐多糖の構造 (鎖長分布) 解析法：各精製酵素標品とイネ *amylose extender* 変異体から精製した *ae*-アミロペクチンを反応させた。これにシュードモナス由来イソアミラーゼ ((株) 林原) を作用させて分岐点を加水分解し、得られたグルカン直鎖の還元末端を APTS で蛍光ラベルした。これをキャピラリー電気泳動装置 P/ACE MDQ carbohydrate system で分画した。

(4) 酵素の結晶化法：精製酵素標品 (F323W、D373Y、51142 株由来野生型 BE3、および CLg1 株由来野生型 G1gX2) を 5 mM HEPES-NaOH (pH 7.0) に溶解し、濃度を 10 mg/mL ~ 30 mg/mL とした。各精製酵素溶液 2 μL とリザーバー液 2 μL を混合し、ハンギングドロップ蒸気拡散法によって 20 で結晶化した。F323W および D373Y 変異体は 0.1 M HEPES-NaOH (pH 7.9)、8% EtOH、0.2 M MgCl<sub>2</sub> の条件、51142BE3 は 0.1 M HEPES-NaOH (pH 7.2)、0.3 M 酒石酸ナトリウムカリウムの条件、CLg1G1gX2 は 0.1 M Tris-HCl (pH 8.5)、8% PEG 8,000 の条件で十分な X 線回折像を与える単結晶が得られた。F323W、D373Y、および 51142BE3 については、単結晶に 300 mM のマルトヘプタオース (G7) を約 5 分間ソーキングすることで、G7 が結合した状態の結晶構造も決定した。

(5) アフィニティーゲル電気泳動 (AGE) 法：各精製酵素 (7 μg) を PAP (0-2.8 mg/mL)、SAM (0-2 mg/mL) または OGG (0-21 mg/mL) を含む非変性アクリルアミドゲル (12%) を用いて泳動・CBB 染色し、各バンドの移動距離 (cm; R<sub>m</sub> 値) を測った。横軸と縦軸にそれぞれ多糖濃度 (mg/mL) と 1/R<sub>m</sub> 値を取ってグラフ化し、横軸との交点から K<sub>d</sub> 値 (mg/mL) を求めた (Ei Mannai *et al.* 2021)。多種酵素を混合した Native-PAGE 法：各精製酵素 (7 μg) を非変性アクリルアミドゲル (12%) を用いて泳動・CBB 染色し、バンドの移動距離の変化を観察した。

#### 4. 研究成果

(1) 51142 株由来野生型 BE3 のリガンドフリー状態の結晶構造を 2.5 Å 分解能で決定し、成果を RCSB PDB に登録した (PDB ID: 7XSY)。51142BE3 は CBM48、ドメイン A (触媒ドメイン) およびドメイン C から構成されていた (図 1)。さらに、BE3 に特徴的なサブドメイン TR を見出した (図 1 橙色)。27 残基 (E320-A346) から成るサブドメイン TR はループ構造と 1 本の α-ヘリックスを含み、4-4 間に挿入されていた (図 1 橙色)。4-4 間の挿入配列は結核菌由来 BE (Pal *et al.* 2010) などにも見られるが、サブドメイン TR は α-ヘリックスを含む精度の高い構造を

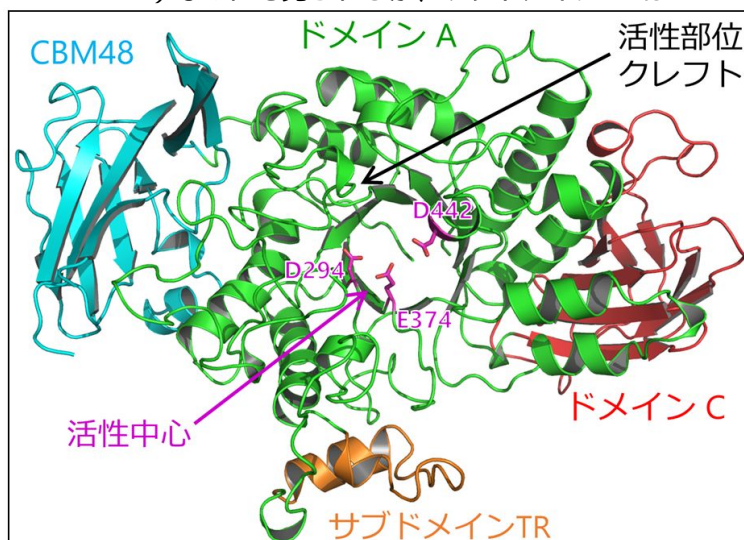
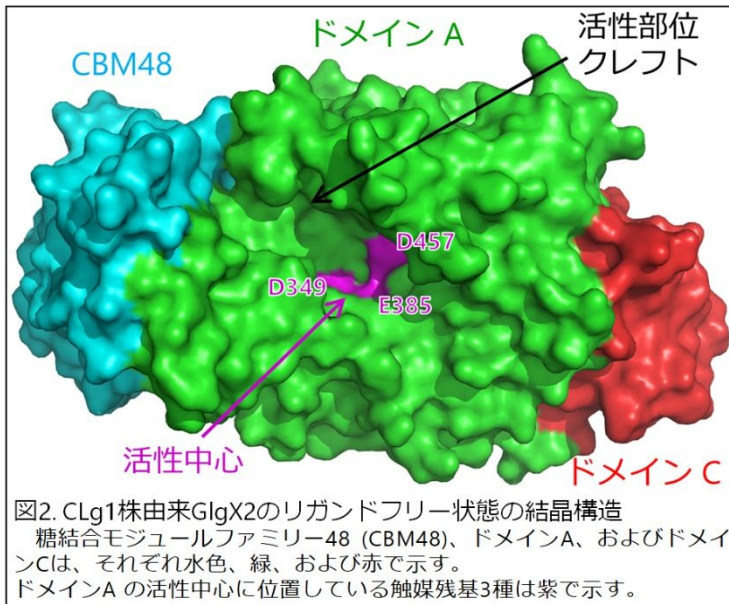


図1. 51142株由来BE3のリガンドフリー状態の結晶構造  
糖結合モジュールファミリー48 (CBM48)、ドメインA、ドメインC、およびサブドメインTRは、それぞれ水色、緑、赤、および橙で示す。ドメインAの活性中心に位置している触媒残基3種は紫で示す。

明らかにした世界で初めての例である。サブドメイン TR は活性中心近傍に位置していることから、酵素特性および活性に関与すると予想された。そこで、サブドメイン TR を欠損させた変異体の特性解析を試みたところ、比活性は約 1/10 にまで低下したが、重合度 (DP) 6 と 7 の反応産物 (分岐鎖) を特異的に生産するように改変されていた (野生型 BE3 が特異的に生産する分岐鎖は無い)。このことからサブドメイン TR は、基質の結合に関わることが示された。サブドメイン TR の機能をさらに調べることで、BE3 が生産する分岐鎖を制御できる可能性がある。

(2) CLg1 株由来 G1gX1 および G1gX2 ならびに 8802 株由来 G1gX1、G1gX2、および G1gX3 の比活性および触媒特性を解析した。両株由来 G1gX2 は、二価カチオン非存在下では全く活性を示さなかったが、Mg<sup>2+</sup>イオン存在下でのみ PAP に対して高い比活性を示した。これは、Mg<sup>2+</sup>イオンの有無によって G1gX2 の活性のオンオフを制御できることを意味しており、この性質は多糖の酵素合成や加工などに利用できる可能性がある。G1gX1 および G1gX3 はやや低めの比活性を PuI に対してのみ示し、Mg<sup>2+</sup>イオンの添加によって 2~3 倍にまで値が上昇した。PAP を含む非変性ゲルを用いて、これら G1gX アイソザイムを単独または混合した状態で Native-PAGE 活性染色を行った





ところ、混合した場合は単独の場合と比べて活性バンドが太くなっていたことから、GlgXアイソザイムは何らかの相互作用を形成している可能性が示された。しかし、活性バンドの出現位置は変化しておらず、相互作用形成の証拠は得られなかった。この現象の原因を調査するため、Clg1株由来GlgX2のリガンドフリー状態の結晶構造を2.3分解能で決定した(図2, PDB登録準備中)。GlgX2はCBM48、ドメインA(触媒ドメイン)、およびドメインCから構成されていた。Mg<sup>2+</sup>イオンおよび糖鎖が結合した状態の結晶構造解析も試みたが、構造は得られなかった。ただし、活性部位クレフトと予想される

溝が明らかになったため(図2, 活性部位クレフト) 基質結合部位を予測することができた。これは、GlgXを多糖の酵素合成や加工などへ利用するための研究基盤が得られたことを示している。

(3) 7942株、6803株、8802株、51142株、および102756由来BEを用いてAGE法を行い、分岐構造の異なる多糖(PAP、OGG、SAM)に対する解離定数( $K_d$ 値: 親和性)を求めた。これらBEは、PAPとSAMに対しては同程度の親和性を示したが、OGGに対しては著しく低い親和性を示した。これはこれらBEは、分岐点が多く重合度が大きい(長い)グルカン鎖に強く結合することを示している。さらに51142株由来BE1について、SBSで糖鎖との相互作用に重要なアミノ酸残基に変異を導入(アラニンに置換)した変異体を用いてAGE法を行ったところ、3カ所のSBS(A2、C1、およびC2)は多糖と強く結合することが明らかとなった(EI Mannai *et al.* 2021)。また、これらSBSの変異体3種の比活性は野生型と比べて低下していた。これらの結果から、分岐を伴ったポリマー(アミロペクチン)および分岐を持たないポリマー(アミロース)の基質は、触媒反応の際にA2、C1、およびC2に結合していることが強く示された(EI Mannai *et al.* 2021)。

(4) 51142株由来GS1およびGS2について比活性を求め、OGGとPAPに対して同等の比活性を示すことを明らかにした。これらGSはマルトオリゴ糖(DP2-10)に対しても比活性を示したが、OGGとPAPに対する値よりも低かったことから、両GSは分岐を含む基質を好むことが示された。マルトオリゴ糖を基質とした場合は、いずれのGSもマルトテトラオース(DP4)に対して最も高い比活性を示したが、GS2の比活性はGS1よりも約1/4低い値に留まっていた。以上の結果からGS1およびGS2はそれぞれ、短い多糖および重合度が大きい(長い)多糖を基質とすることにより、アミロペクチン生合成において役割分担している可能性が考えられた。

(5) BEが触媒する反応の仕組み(Hayashi *et al.* 2017)を検証するため、51142株由来BE1の活性部位クレフトに位置しているアミノ酸残基F323およびD373を別の残基に置換した(F323W、D373Y)変異体の触媒特性解析および結晶構造解析を行った。F323WのPAPおよびSAMに対する比活性は野生型BE1と同等レベルの値を維持していたが、D373Yでは1/100以下にまで低下していた。F323Wは主にDP6と7の分岐鎖を生産していたが、野生型と比べてDP6の生産量が減少しDP7の生産量が増加していた(野生型はDP6を最も多く生産する)。F323Wのリガンドフリー状態の結晶構造を1.9分解能で決定したところ、活性部位クレフトの形はDP7の基質が結合できるように変化していた。

D373Yは、SAMを基質とした場合、DP3を特異的に生産していた。基質としてアミロペクチンを用いた場合は、DP3と4を特異的に生産していた。D373Yのリガンドフリー状態の結晶構造を2.2分解能で決定したところ、373番目のTyr(点変異導入残基)の側鎖は活性部位クレフトの4番目のグルコースの結合部位を塞いでおり、DP4以上の基質が結合できないように変化していた。これらのことからBEが生産する分岐鎖の長さは、活性部位クレフトが制御していることが証明された。本成果は、分岐構造を制御した澱粉の酵素合成法を開発するための重要な基盤となる。

(6) 本研究(上記4.研究成果(1)-(4))で特性解析を行ったGS、BE、およびGlgXアイソザイムを用いて、単独または混合した状態で非変性ゲル電気泳動(Native-PAGE)を行った。いずれの組み合わせについてもバンドのシフトは見られなかったことから、これら酵素アイソザイムは相互作用していないと考えられた。これはシアノバクテリア由来澱粉生合成関連酵素は、タン

パク質 - タンパク質複合体を形成しないことを示している。ただし GlgX については、アイソザイムの混合および Mg<sup>2+</sup>イオンの有無によって活性に変化が見られたことから (上記 4 . 研究成果 (2) ) 酵素間相互作用している可能性は否定できない。今後は、金属イオン存在下などの条件での酵素間相互作用を検討していく必要がある。少なくとも本研究で解析した条件では、シアノバクテリア (原核生物) における澱粉生合成の仕組みは、陸上植物とは異なることが明らかとなった。

本研究ではシアノバクテリア由来 GS、BE、および GlgX の構造機能解析を行い、詳細な特性 (比活性、基質特異性、反応産物特異性、SBS の役割) および結晶構造 (51142 株由来 BE3、CLg1 株由来 GlgX2) を世界で初めて解明した。また、BE が生産する分岐鎖の長さを制御する仕組みを証明した。さらに、GS、BE、および GlgX は、酵素間相互作用を形成しないことを示した。本研究では、当初の研究目的全てを達成するまでには至らなかったが、澱粉の分岐構造を制御する仕組みを解き明かすために重要な情報を複数得ることができた。今後は、本研究で得られた成果を基盤として研究をさらに進めることで、澱粉生合成系の解明および分岐構造を制御した澱粉の酵素合成などの応用に繋がると期待している。

#### <引用文献>

- Fujita, N. (2014) Starch biosynthesis in rice endosperm. *Agri-Biosci. Monogr.*, **4**, 1-18
- Nakamura, Y., Utsumi, Y., Sawada, T., Aihara, S., Utsumi, C., Yoshida, M. and Kitamura, S. (2010) Characterization of the reactions of starch branching enzymes from rice endosperm. *Plant Cell Physiol.*, **51**, 776-794
- Nakamura, Y., Takahashi, J., Sakurai, A., Inaba, Y., Suzuki, E., Nihei, S., Fujiwara, S., Tsuzuki, M., Miyashita, H., Ikemoto, H., Kawachi, M., Sekiguchi, H. and Kurano, N. (2005) Some Cyanobacteria Synthesize Semi-amylopectin Type  $\alpha$ -Polyglucans Instead of Glycogen. *Plant Cell Physiol.*, **46**, 539-545
- Suzuki, E., Onoda, M., Colleoni, C., Ball, S., Fujita, N. and Nakamura, Y. (2013) Physicochemical variation of cyanobacterial starch, the insoluble  $\alpha$ -glucans in cyanobacteria. *Plant Cell Physiol.*, **54**, 465-473
- Hayashi, M., Suzuki, R., Colleoni, C., Ball, S.G., Fujita, N. and Suzuki, E. (2017) Bound Substrate in the Structure of Cyanobacterial Branching Enzyme Supports a New Mechanistic Model. *J. Biol. Chem.*, **292**, 5465-5475
- Suzuki, R. and Suzuki, E. (2021) The branched structure and properties of starch - determined from studies on branching enzymes. *Glycoforum*, **24**, A7
- Suzuki, R., Koide, K., Hayashi, M., Suzuki, T., Sawada, T., Ohdan, T., Takahashi, H., Nakamura, Y., Fujita, N. and Suzuki, E. (2015) Functional characterization of three (GH13) branching enzymes involved in cyanobacterial starch biosynthesis from *Cyanobacterium* sp. NBRC 102756. *Biochim. Biophys. Acta*, **1854**, 476-484
- Hayashi, M., Suzuki, R., Colleoni, C., Ball, S.G., Fujita, N. and Suzuki, E. (2015) Crystallization and crystallographic analysis of branching enzymes from *Cyanothece* sp. ATCC 51142. *Acta Crystallogr. F Struct. Biol. Commun.*, **71**, 1109-1113
- El Mannai, Y., Deto, R., Kuroki, M., Suzuki, R. and Suzuki, E. (2021) Cyanobacterial branching enzymes bind to  $\alpha$ -glucan via surface binding sites. *Arch. Biochem. Biophys.*, **702**, 108821
- Pal, K., Kumar, S., Sharma, S., Garg, S. K., Alam, M. S., Xu, H. E., Agrawal, P., and Swaminathan, K. (2010) Crystal structure of full-length *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv glycogen branching enzyme: insights of N-terminal  $\alpha$ -sandwich in substrate specificity and enzymatic activity. *J. Biol. Chem.* **285**, 20897-20903

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 El Mannai Yousra, Deto Ryota, Kuroki Miho, Suzuki Ryuichiro, Suzuki Eiji	4. 巻 702
2. 論文標題 Cyanobacterial branching enzymes bind to $\alpha$ -glucan via surface binding sites	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Biochemistry and Biophysics	6. 最初と最後の頁 108821 ~ 108821
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.abb.2021.108821	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Ryuichiro, Suzuki Eiji	4. 巻 32
2. 論文標題 Structure and Function of Branching Enzymes in Eukaryotes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Trends in Glycoscience and Glycotechnology	6. 最初と最後の頁 E21 ~ E30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4052/tigg.1974.1E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 鈴木龍一郎、鈴木英治	4. 巻 32
2. 論文標題 真核生物における枝作り酵素の構造と機能	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Trends in Glycoscience and Glycotechnology	6. 最初と最後の頁 J19 ~ J28
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4052/tigg.1974.1J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 鈴木龍一郎	4. 巻 9
2. 論文標題 糖質に関わる酵素の構造生物学 澱粉生合成メカニズムの解明に向けて	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 応用糖質科学	6. 最初と最後の頁 11 ~ 16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 鈴木龍一郎	4. 巻 2
2. 論文標題 澱粉の酵素合成を目指した枝作り酵素の構造生物学	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 46-50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田村救、林真里、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 シアノバクテリア由来枝作り酵素の機能改変および変異体の結晶構造解析
3. 学会等名 日本応用糖質科学会 2021 年度大会 (第 70 回)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川久保杏樹、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 グリコーゲンの分解に関わるシアノバクテリア由来枝切り酵素の解析
3. 学会等名 日本応用糖質科学会 2021 年度大会 (第 70 回)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木龍一郎
2. 発表標題 多糖の分岐を考える ～澱粉構造と枝作り酵素の研究から～
3. 学会等名 第14回多糖の未来フォーラム2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田村救、林真里、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 シアノバクテリア <i>Crocospaera subtropica</i> ATCC 51142株由来枝作り酵素BE1の反応特異性の改変
3. 学会等名 日本応用糖質科学会2020年度大会（第69回）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mannai Yousra、出戸涼太、黒木みほ、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 酵素-糖鎖相互作用解析による枝作り酵素の糖鎖結合部位の同定
3. 学会等名 日本応用糖質科学会2020年度大会（第69回）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yousra El Mannai、出戸涼太、黒木みほ、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 シアノバクテリア由来枝作り酵素の分岐構造が異なる多糖に対する親和性の解析
3. 学会等名 第68回日本応用糖質科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田村救、林真里、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 シアノバクテリア <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142株由来枝作り酵素 BE3 の結晶構造と変異解析
3. 学会等名 第68回日本応用糖質科学会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 鈴木龍一郎、林真理、黒木みほ、松浦祐貴、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 相同性が高いオルソログタンパク質間でのin vitroにおける挙動の差異
3. 学会等名 藍藻の分子生物学2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田村救、林真理、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 構造解析に基づいた多糖代謝酵素の反応特異性の改変
3. 学会等名 藍藻の分子生物学2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木龍一郎、林真理、黒木みほ、松浦祐貴、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 In vitro における相同性が高い枝作り酵素間の安定性の差異
3. 学会等名 東北植物学会第9回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田村救、林真里、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 シアノバクテリア株由来枝作り酵素アイソザイム(BE3)の結晶構造と機能改変
3. 学会等名 東北植物学会第9回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木龍一郎
2. 発表標題 糖質に関わる酵素の構造生物学 澱粉生合成メカニズムの解明に向けて
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成30年度大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木龍一郎、黒木みほ、松浦祐貴、林真里、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 貯蔵多糖特性の異なるシアノバクテリア由来枝作り酵素の特性
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成30年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yousra El Mannai、出戸涼太、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 シアノバクテリア由来枝作り酵素と分岐構造の異なる多糖との結合解析
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成30年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木柁秀、Christophe Colleoni、Steven G. Ball、鈴木龍一郎、藤田直子、鈴木英治
2. 発表標題 新規特性を有するシアノバクテリア由来枝切り酵素アイソザイム 3 種の基質特異性
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成30年度大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

(1) Ryuichiro Suzuki and Eiji Suzuki, The branched structure and properties of starch - determined from studies on branching enzymes. (2021) Glycoforum 24, A7, DOI: <https://doi.org/10.32285/glycoforum.24A7>

(2) 鈴木龍一郎, 鈴木英治, 多糖の分岐を考える ~ 澱粉構造と枝作り酵素の研究から ~, (2021) Glycoforum, 24, A7, DOI: <https://doi.org/10.32285/glycoforum.24A7J>

(3) 多糖代謝酵素タンパク質の構造生物学  
<https://www.dbp.akita-pu.ac.jp/~plant-physiol/naiyou6.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------