

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19780061
 研究課題名 (和文) 代謝制御機構の理解と有用菌株デザインに向けた大腸菌の
 代謝ダイナミクス解析
 研究課題名 (英文) Metabolic dynamics analysis in *Escherichia coli* toward understanding
 metabolic regulation and design of useful strains
 研究代表者
 平沢 敬 (HIRASAWA TAKASHI)
 大阪大学・大学院情報科学研究科・助教
 研究者番号：20407125

研究成果の概要：本研究では、代謝制御機構の理解と産業上有用とされる化合物を生産する有用菌株デザインを目的として、大腸菌の細胞内の代謝のダイナミックな変化を代謝フラックス分布の変化からとらえることを目的とした。

生物の代謝は、遺伝子発現レベルでさまざまなタンパク質により制御を受けていることが知られている。代謝制御に関わるタンパク質の遺伝子を欠損させた細胞を培養することで、親株とは異なる細胞内酵素濃度組成になった状態の細胞が得られると予想される。そこで、大腸菌の野生株および細胞内代謝を制御するタンパク質をコードする遺伝子の欠損株を培養し、代謝の変化を測定した。また、野生株をさまざまな酸素レベルの状態でも連続培養を行い、代謝フラックスの変化を解析した。さらには、細胞内遊離のアミノ酸についての分析データから、代謝フラックス分布を決定する手法の開発を試みた。

本研究により確立された手法を有機酸などの有用物質を生産する菌株に適用させることにより、微生物を用いた有用物質生産においてさらなる生産性向上を目指した育種の指針を導出することができると思われる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	0	2,000,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：応用微生物学・代謝工学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：応用微生物・バイオテクノロジー・分析科学・代謝ダイナミクス

1. 研究開始当初の背景

生物は、遺伝子発現・タンパク質発現・代謝のフローからなる階層的なネットワークを激しく働かせることで、増殖基質濃度や pH、

温度、浸透圧などの環境因子の変化や遺伝子の変異などの摂動に対して適応していると考えられている。このような階層的なネットワークの中でも代謝ネットワークは、エネルギー

一生産やアミノ酸や脂質など細胞を構成する成分の生合成に直結するため、生物の理解のためには代謝ネットワークをいかに解析するかが非常に重要となる。また、有機酸やアミノ酸、化成品、バイオ燃料などの有用物質生産を、生物を用いて行わせる場合を考えても、物質生産をさせることにより細胞内の代謝ネットワークがどのように変化するかを詳細に解析することが非常に重要となる。

2. 研究の目的

本研究では、代謝制御機構の理解と産業上有用とされる化合物を生産する有用菌株デザインに向けて、大腸菌の細胞内の代謝のダイナミックな変化を代謝フラックス分布の変化からとらえることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 使用菌株

本研究では、大腸菌 *Escherichia coli* BW25113 (*lacI^f rrnB_{T14} ΔlacZ_{WJ16} hsdR514 ΔaraBAD_{AH33} ΔrhaBAD_{LD78}*)とその *crp*・*fruR*・*crr*・*dgsA*・*zwf*の各一遺伝子欠損株 (Keio collection; Baba et al., *Mol. Syst. Biol.* 2006, 2:2006.0008)を使用した。

(2) 培養条件

培養は、グルコースを炭素源とした M9 合成培地を用いて、37°C で行った。一遺伝子欠損株の代謝フラックス解析を行うために、500 ml 容坂口フラスコによる振とう培養を行った。また酸素レベルの変化に対する野生株の代謝フラックスの変化を解析するために、500 ml 容ジャーファーメンター (Able)を用いた連続培養 (希釈率 0.2 h⁻¹)を行い、攪拌回転数を変化させることで酸素レベルを変化させた。なお、培養体積は 200 ml、通気量は 200 ml/min で行った。

(3) 細胞外代謝物質濃度の測定

培養上清中のグルコース濃度は、Glucose CII test Wako (和光純薬)を用いて測定した。細胞外に排出された有機酸濃度の測定は、高速液体クロマトグラフィー (HITACHI L-6200)により測定した。カラムは TSKgel Oapak-A (東ソー)およびガードカラム TSKgel Oapak-P(東ソー)を用い、サンプルの 210 nm での吸光を測定することにより検出した。溶媒には 0.75 mM 硫酸を用いた。細胞外に排出されたエタノールの定量は、ガスクロマトグラフ (HITACHI G-5000)およびカラム TC-FFAP (GL Sciences)を用いて行った。

(4) 連続培養系における代謝フラックス解析

大腸菌 BW25113 株を、攪拌回転数 300・680

rpm で連続培養 (供給培地中のグルコース濃度は 5 g/l)した。定常状態に達したことを確認した後に、天然グルコース:[1-¹³C]グルコース=1:1 の割合のグルコースを含む供給培地に切り替えて 30 時間培養し、菌体を遠心分離により回収した。回収した菌体を 6 N HCl で加水分解した後、MTBSTFA (Thermo Scientific)によるアミノ酸の誘導体化を行い、JMS-AMSUN200HS ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS; 日本電子製)により、アミノ酸のフラグメントイオンの ¹³C 濃縮度を測定した。得られたフラグメントイオンの ¹³C 濃縮度から、Shirai らの手法により (Shirai et al., *J. Biosci. Bioeng.* 2006, 102:413-424)、代謝フラックス分布を決定した。

(5) フラスコ培養系における代謝フラックス解析

天然:U-¹³C 標識:1-¹³C 標識 = 8:1:1 となるようにグルコースを加えた M9 培地 (グルコース濃度 4 g/l)で大腸菌を培養した。対数増殖中期の培養液から遠心により菌体を回収し、上記と同様にして菌体を酸加水分解した。同時に、菌体をメンブレンフィルター上に回収し、メタノールにつけることで、菌体内遊離アミノ酸も抽出した。菌体加水分解物中のアミノ酸および菌体内遊離アミノ酸について、GC-MS により各アミノ酸のフラグメントイオンの ¹³C 濃縮度を測定し、代謝フラックス解析に供した。

4. 研究成果

(1) 代謝制御に関わるタンパク質をコードする遺伝子の欠損株の代謝解析

細胞内の代謝は、それを構成する酵素をコードする遺伝子の発現を制御する転写因子等さまざまなタンパク質により制御を受けている (表 1)。代謝制御に関わるタンパク質の遺伝子を欠損させた細胞を培養することで、親株とは異なる細胞内酵素濃度組成になった状態の細胞が得られると期待される。そこで、代謝制御に関わるタンパク質の遺伝子のうち *crp*・*fruR*・*crr*・*dgsA* の各遺伝子を欠損させた株について、坂口フラスコによる振とう培養を M9 培地 (グルコース濃度は 4 g/l)を用いて行い、細胞外に排出された有機酸のプロファイルを比較することで代謝状態の変化を解析した。

表 1 本研究で解析対象とした大腸菌の代謝制御タンパク質

代謝制御タンパク質 (コードする遺伝子)	機能
cAMP receptor protein (<i>crp</i>)	cAMP と結合し、糖代謝関連酵素遺伝子の転写を制御
IIA ^{PTC} (<i>crr</i>)	Phosphotransferase system (PTS)によるグルコース取り込みや adenylate cyclase の活性を調節
Fructose operon repressor (<i>fruR/cra</i>)	中心炭素代謝経路酵素遺伝子の転写を調節する global regulator
Mlc (<i>dgsA</i> または <i>mcl</i>)	グルコース代謝に特異的な global regulator (repressor)

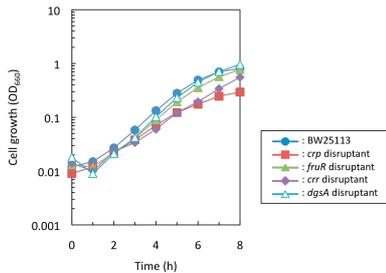


図1 大腸菌の代謝を制御するタンパク質をコードする遺伝子の欠損株の生育

これら4つの破壊株とも、野生株と比べて増殖速度が低下した(図1)。いずれの菌株も、主に酢酸を生成することが確認された。しかしながら、*crp* 欠損株においては乳酸を生産することが見出され(表2)、それに伴い酢酸の生成が減少することが明らかとなった。*crp* 遺伝子の破壊により、代謝の変化が起きていることが示唆された。

(2) 異なる酸素レベル環境下における大腸菌の代謝フラックス解析

外的環境の変化に対する大腸菌細胞内の代謝フラックスの変化をとらえ、代謝制御の機構を理解するために、BW25113株について、攪拌速度300・680rpmの連続培養系(希釈率 0.2 h^{-1})における代謝フラックス解析を行った。

攪拌回転数300rpmという酸素レベルの低い環境では、定常状態において酢酸やギ酸の蓄積が確認された(図2)。また菌体濃度は、酸素レベルの高い環境の方が高くなっていた。

次に、攪拌速度300・680rpmの連続培養系における代謝フラックス分布を求め、比較した(図3)。まず、解糖系からペントースリン酸経路へ向かうフラックスを比較すると、300rpmと比べて680rpmでは約2倍となっていた。ペントースリン酸経路には、NADPHを生成する反応が含まれている。このNADPHは還元的生合成に用いられており、好気的な環境ではペントースリン酸経路へのフラックスが大きくなったことで、NADPHの生成が増加し、その結果菌体量が増加したと推測される。

解糖系からTCAサイクルへ向かうフラックスについても大きな違いが見られた。300rpmではアセチル-CoAからの生合成フラックスが大きく、680rpmではTCAサイクルへのフラックスが大きくなっていた。アセチル-CoAからの生合成フラックスには酢酸やエタノールの生成を含む。300rpmでは、TCAサイクルへフラックスを向かわせてNADHの酸化を行うのではなく、酢酸やエタノールを生成す

表2 *crp* 欠損株における乳酸生産

菌株	対等収率 (%)	
	酢酸	乳酸
BW25113	69.1	-
<i>crp</i> 欠損株	54.4	28.7

- 対糖収率は、消費グルコース(モル)に対する生成有機酸(モル)の割合を計算することで求めた。
- BW25113株において、乳酸生産は確認されなかった。

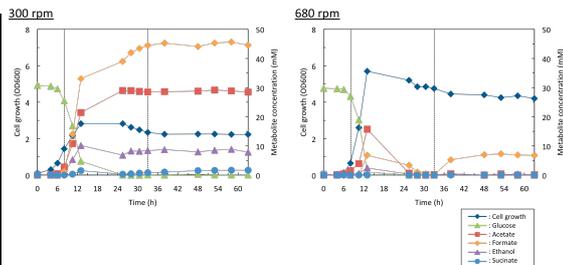


図2 酸素レベルの異なる連続培養における菌体の増殖と代謝物質濃度の変化
大腸菌 BW25113 株を対数増殖中期まで培養した後(培養開始8時間後)、希釈率 0.2 h^{-1} の連続培養に切りかえた。定常状態に達したことを確認した後(培養開始33時間後)、供給培地を ^{13}C 標識グルコースを含む培地に切りかえて培養を継続した。

ることでNADHの再酸化を行っていることが示唆された。680rpmでは酸素レベルが十分であるので、電子伝達系によりNADHを再酸化することができる。すなわち、TCAサイクルにフラックスを流すことで、電子伝達系でNADHの酸化を行っていることが示唆された。

(3) 細胞内遊離アミノ酸のGC-MSデータを用いた代謝フラックス解析

細胞内の代謝フラックスを解析するためには、細胞内の代謝状態が一定となる連続培養系における定常状態に関して行うのが一般的である。その際、細胞を構成するタンパク質に由来するアミノ酸の ^{13}C 濃縮度からフラックスを決定する。代謝フラックスのダイナミ

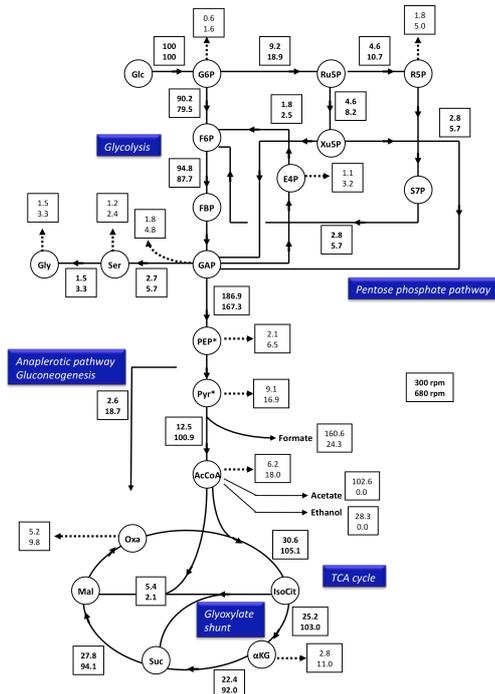


図3 酸素レベルの違いによる代謝フラックス分布の変化
大腸菌 BW25113 株を希釈率 0.2 h^{-1} でグルコースを制限基質とした連続培養を行い、代謝フラックス分布を決定した。実線が中継代謝経路のフラックス、点線が生合成フラックスを示す。四角内の上段が攪拌回転数300rpm、下段が680rpmでのフラックスを示す。フラックスは、グルコース取り込みを100としたときの比として表す。なお、このフラックス解析では、ホスホエノールピルビン酸とピルビン酸を区別して扱うことができない。

Glc: グルコース、G6P: グルコース-6-リン酸、F6P: フルクトース-6-リン酸、FBP: フルクトース-1,6-二リン酸、GAP: グリセルアルデヒド-3-リン酸、PEP: ホスホエノールピルビン酸、Pyr: ピルビン酸、Ru5P: リブローズ-5-リン酸、R5P: リボース-5-リン酸、S7P: セドヘブツロース-7-リン酸、Xu5P: キシルロース-5-リン酸、E4P: エリスロース-4-リン酸、AcCoA: アセチル-CoA、IsoCit: イソクエン酸、 α KG: 2-オキソグルタル酸、Suc: コハク酸、Mal: リンゴ酸、Oxa: オキサロ酢酸。

ックな変化をとらえるためには、代謝状態がさまざまに変化する際の代謝フラックス分布を決定する技術が必要となる。そのためには、細胞内の代謝状態の変化が瞬時に反映される細胞内遊離の代謝物質の ^{13}C 濃縮度をもとにした代謝フラックス解析手法の確立が要求される。そこで、細胞内遊離のアミノ酸の ^{13}C 濃縮度から代謝フラックス分布を求めることができるのか検討した。

大腸菌 BW25113 株およびペントースリン酸経路の酵素をコードする *zwf* 遺伝子の欠損株を、 ^{13}C 標識グルコースを含んだグルコースを基質として培養し、対数増殖中期で細胞内遊離のアミノ酸を抽出するとともに菌体を回収した。そして、フラックス分布を細胞内遊離のアミノ酸の ^{13}C 濃縮度から決定し、菌体構成タンパク質由来のアミノ酸の ^{13}C 濃縮度から決定したフラックス分布と比較した (図 4)。対数増殖中期においては、細胞内状態は定常であるとみなすことができるため、この 2 つのサンプルを用いた代謝フラックス解析の結果はほぼ一致すると予想される。解析の結果、菌体構成タンパク質由来のアミノ酸の ^{13}C 濃縮度から決定したフラックス分布と遊離のアミノ酸 ^{13}C 濃縮度から決定したフラックス分布がほぼ同一の結果となった。このとき、*zwf* 欠損株では解糖系からペントースリン酸経路へ向かうフラックスが 0 と決定された。これらの結果から、遊離のアミノ酸の

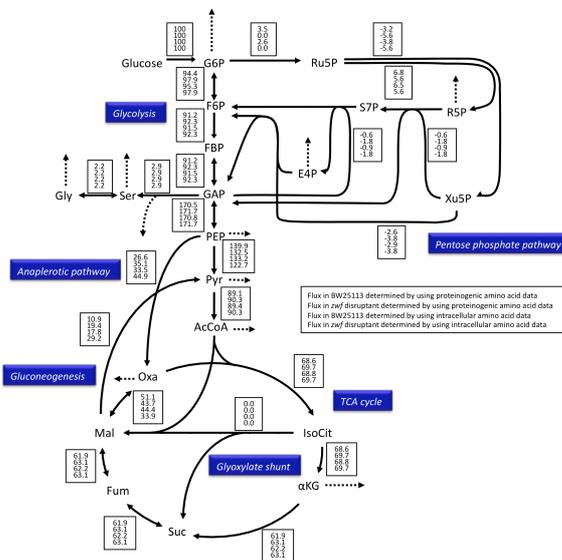


図 4 細胞内遊離アミノ酸の GC-MS データを利用した代謝フラックス解析
大腸菌 BW25113 および *zwf* 破壊株を坂口フラスコで振とう培養し、対数増殖中期で細胞を回収するとともに細胞内遊離アミノ酸を抽出した。菌体構成タンパク質由来のアミノ酸および細胞内遊離アミノ酸の GC-MS データを取得してフラックス解析に供した。四角内の 1 段目と 3 段目が BW25113 株のフラックス、2 段目と 4 段目が *zwf* 破壊株のフラックスを表す。また、1 段目と 2 段目が菌体構成タンパク質由来のアミノ酸の GC-MS データを用いて決定したフラックス、3 段目と 4 段目が細胞内遊離のアミノ酸の GC-MS データを用いて決定したフラックスを表す。フラックスは、グルコース取り込みを 100 としたときの比として表す。
Glc: グルコース、G6P: グルコース-6-リン酸、F6P: フルクトース-6-リン酸、FBP: フルクトース-1,6-リン酸、GAP: グリセルアルデヒド-3-リン酸、PEP: ホスホエノールピルビン酸、Pyr: ピルビン酸、Ru5P: リブローース-5-リン酸、R5P: リボース-5-リン酸、S7P: セドヘプツロース-7-リン酸、Xu5P: キシルローース-5-リン酸、E4P: エリスロース-4-リン酸、AcCoA: アセチル-CoA、IsoCit: イソクエン酸、αKG: 2-オキソグルタル酸、Suc: コハク酸、Fum: フマル酸、Mal: リンゴ酸、Oxa: オキサロ酢酸。

^{13}C 濃縮度から代謝解析を行うことが可能であることが示唆され、培養フェーズによらない大腸菌の代謝フラックス解析を可能とするプラットフォームを確立することに成功した。

(5) 結論と今後の展開

本研究では、大腸菌の代謝を制御するタンパク質をコードする遺伝子の破壊株の代謝変化を明らかにするとともに、代謝のダイナミックな変化を解析する手法の確立を行った。その結果、*crp* 破壊株が乳酸を生産することや、酸素レベルの変化に対する代謝制御の機構を明らかにした。本研究で確立された手法に遺伝子発現や細胞内代謝物質の網羅的測定を組み合わせることで、さらに細胞内代謝の理解につながることを期待される。

微生物を用いた有用物質生産における培養では、基質濃度や副生成物の蓄積など外的環境が刻々と変化することがある。細胞内遊離の代謝物質の ^{13}C 濃縮度から代謝フラックスを決定する手法を、有用物質を生産する株に対して適用させることで、さまざまな培養フェーズでの代謝状態を理解することができると思われる。そしてその結果をもとに、さらなる生産性向上のための育種指針を立てることができれば、効率良く有用菌株の育種が行えるものと期待される。また、遺伝子発現や細胞内代謝物質の網羅的測定を組み合わせることで、さらに有用菌株を育種するための指針を精度よく導き出せることができるものと思われる。

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 11 件)

- ① S. A. Mahmud, K. Nagahisa, T. Hirasawa, K. Yoshikawa, K. Ashitani, H. Shimizu (2009) Effect of trehalose accumulation on response to saline stress in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast 26: 17-30. 査読有
- ② K. Yoshikawa, T. Tanaka, C. Furusawa, K. Nagahisa, T. Hirasawa, H. Shimizu (2009) Comprehensive phenotypic analysis for identification of genes affecting growth under ethanol stress in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Yeast Res. 9: 32-44. 査読有
- ③ J. Kim, T. Hirasawa, Y. Sato, K. Nagahisa, C. Furusawa, H. Shimizu. (2009) Effect of *odhA* overexpression and *odhA* antisense RNA expression on Tween-40-triggered glutamate production by *Corynebacterium glutamicum*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 81: 1097-1106. 査読有
- ④ A. Ookubo, T. Hirasawa, K. Yoshikawa, K. Nagahisa, C. Furusawa, H. Shimizu. (2008)

- Improvement of L-lactate production by *CYB2* gene disruption in a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain under low pH condition. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72: 3063-3066. 査読有
- ⑤ K. Yoshikawa, C. Furusawa, T. Hirasawa, H. Shimizu. (2008) Genome-wide analysis of relationship between location and number of stress response element and gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biosci. Bioeng.* 106: 507-510. 査読有
- ⑥ T. N. Dinh, K. Nagahisa, T. Hirasawa, C. Furusawa, H. Shimizu (2008) Adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* cells to high ethanol concentration and changes in fatty acid composition of membrane and cell size. *PLoS ONE* 3: e2623. 査読有
- ⑦ H. Sato, K. Orishimo, T. Shirai, T. Hirasawa, K. Nagahisa, H. Shimizu, M. Wachi. (2008) Distinct roles of two anaplerotic pathways in glutamate production induced by biotin limitation in *Corynebacterium glutamicum*. *J. Biosci. Bioeng.* 106: 51-58. 査読有
- ⑧ J. Ou, T. Yamada, K. Nagahisa, T. Hirasawa, C. Furusawa, T. Yomo, H. Shimizu. (2008) Dynamic change in promoter activation during lysine biosynthesis in *Escherichia coli* cells. *Mol. Biosyst.* 4: 128-134. 査読有
- ⑨ N. Ishii*, K. Nakahigashi*, T. Baba*, M. Robert*, T. Soga*, A. Kanai*, T. Hirasawa*, 他 19 名 (2007) Multiple high throughput analyses monitor the response of *E. coli* to perturbations. *Science* 316: 593-597. *Equally contributed. 査読有
- ⑩ T. Hirasawa, K. Yoshikawa, Y. Nakakura, K. Nagahisa, Y. Katakura, C. Furusawa, H. Shimizu, S. Shioya. (2007) Identification of target genes conferring ethanol stress tolerance to *Saccharomyces cerevisiae* based on DNA microarray data analysis. *J. Biotechnol.* 131: 34-44. 査読有
- ⑪ Y. Toya, N. Ishii, T. Hirasawa, M. Naba, K. Hirai, K. Sugawara, S. Igarashi, K. Shimizu, M. Tomita, T. Soga. (2007) Direct measurement of isotopomer of intracellular metabolites using capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry for efficient metabolic flux analysis. *J. Chromatogr. A* 1159: 134-141. 査読有
- [学会発表] (計 2 2 件)
- ① 井田祥弘、古澤 力、Sunisa Chatsurachai、新福洋平、平沢 敬、清水 浩 ゲノムスケール代謝反応モデルを用いた酵母の代謝解析 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 2008 年 12 月 11 日 神戸
- ② 戸谷吉博、石井伸佳、平沢 敬、曾我朋義、富田 勝、清水和幸 CE-TOF/MS を利用した ¹³C 代謝流束解析の回分培養への応用 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 2008 年 12 月 11 日 神戸
- ③ 石井伸佳、中東憲治、馬場知哉、Martin Robert、曾我朋義、金井昭夫、平沢 敬、他 19 名 マルチオミクスによる大腸菌の遺伝・環境変化に対する応答解析 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 2008 年 12 月 11 日 神戸
- ④ H. Shimizu, Y. Shinfuku, M. Sono, C. Furusawa, T. Hirasawa. Metabolic flux balance analysis of an industrially useful microorganism *Corynebacterium glutamicum* by a genome-scale reconstructed model. The 3rd International Conference on Bio-Inspired Models of Network, Information, and Computing Systems. 2008 年 11 月 27 日 淡路
- ⑤ K. Yoshikawa, T. Tanaka, C. Furusawa, K. Nagahisa, T. Hirasawa, H. Shimizu. Comprehensive phenotypic analysis of yeast under ethanol stress condition. The 13th International Biotechnology Symposium and Exhibition. 2008 年 11 月 15 日 中国
- ⑥ H. Shimizu, C. Furusawa, T. Hirasawa. Systems biotechnology of coryneform bacteria. The 13th International Biotechnology Symposium and Exhibition. 2008 年 11 月 15 日 中国
- ⑦ 平沢 敬、大久保亜紀、吉川勝徳、永久圭介、古澤 力、清水 浩 乳酸生産能を付与した酵母の網羅的遺伝子発現情報に基づいた生産性向上のための育種 化学工学会第 40 回秋季大会シンポジウム 2008 年 9 月 25 日 東北大学
- ⑧ 白井智量、古澤 力、平沢 敬、清水 浩 コリネ型細菌の代謝評価とアミノ酸生産機構の解明 化学工学会第 40 回秋季大会シンポジウム 2008 年 9 月 24 日 東北大学
- ⑨ J. Kim, T. Hirasawa, Y. Sato, K. Nagahisa, C. Furusawa, H. Shimizu. Effect of *odhA* antisense RNA expression on glutamate production in *Corynebacterium glutamicum*. 第 60 回日本生物工学会大会 2008 年 8 月 27 日 東北学院大学
- ⑩ 新福洋平、古澤 力、平沢 敬、清水 浩 ゲノムスケール代謝モデルを用いた *Corynebacterium glutamicum* の代謝解析 第 60 回日本生物工学会大会 2008 年 8 月 27 日 東北学院大学
- ⑪ 平沢 敬、福田洋久、永久圭介、和地正明、清水 浩 ペニシリンに誘導されるグル

- タミン酸生産におけるコリネ型細菌のプロテオーム解析 第60回日本生物工学会大会 2008年8月27日 東北学院大学
- ⑫ 平沢 敬、大久保亜紀、吉川勝徳、永久圭介、古澤 力、清水 浩 酵母を用いたL-乳酸生産に対するCYB2遺伝子破壊の効果 日本農芸化学会 2008年度大会 2008年3月27日 名城大学
- ⑬ 吉川勝徳、田中忠昌、永久圭介、平沢 敬、古澤 力、清水 浩 ストレス環境下における酵母一遺伝子破壊株のフェノーム解析 化学工学会第73年会 2008年3月19日 静岡大学
- ⑭ 平沢 敬、吉川勝徳、中倉悠岐、永久圭介、古澤 力、片倉啓雄、塩谷捨明、清水 浩 DNA マイクロアレイデータ解析に基づいたエタノールストレス耐性を示す酵母菌株の創製 第2回日本ゲノム微生物学会年会 2008年3月8日 大阪大学
- ⑮ 石井伸佳、中東憲治、馬場知哉、Martin Robert、曾我朋義、金井昭夫、平沢 敬、他 19名 網羅的ハイスループット解析による大腸菌の遺伝的・環境的変動への応答の解析 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会 2007年12月11日 パシフィコ横浜
- ⑯ 吉川勝徳、田中忠昌、永久圭介、平沢 敬、古澤 力、清水 浩 浸透圧・エタノールストレス環境下における酵母1遺伝子破壊株の網羅的解析 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会 2007年12月11日 パシフィコ横浜
- ⑰ H. Shimizu, T. Hirasawa, K. Nagahisa, K. Yoshikawa, C. Furusawa, S. Shioya. Molecular breeding based on multi-omics analyses. Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2007. 2007年11月6日 メキシコ
- ⑱ 石井伸佳、中東憲治、馬場知哉、Martin Robert、曾我朋義、金井昭夫、平沢 敬、他 19名 マルチオミクスによる大腸菌の遺伝・環境変化に対する応答解析 第二回メタボロームシンポジウム 2007年11月6日 東京大学
- ⑲ 平沢 敬 ゲノムワイドな網羅的解析を用いた微生物代謝工学の展開 2007年日本ゲノム微生物学会若手の会 2007年11月22日 八王子セミナーハウス
- ⑳ N. Ishii, K. Nakahigashi, T. Baba, M. Robert, T. Soga, A. Kanai, T. Hirasawa, 他 19名 Multi-omics data reveals the response of *Escherichia coli* to perturbations. The Eighth International Conference on Systems Biology. 2007年10月2日 アメリカ
- ㉑ 吉川勝徳、田中忠昌、永久圭介、平沢 敬、古澤 力、清水 浩 ストレス環境下における酵母の遺伝子破壊株の網羅的解析

日本生物工学会平成19年度大会 2007年9月25日 広島大学

- ㉒ 平沢 敬、芦谷建吾、吉川勝徳、永久圭介、古澤 力、片倉啓雄、塩谷捨明、清水 浩 DNA マイクロアレイデータを用いた高浸透圧ストレスに対する酵母の遺伝子発現応答の解析 第39回化学工学会秋季大会シンポジウム 2007年9月14日 北海道大学

〔図書〕(計2件)

- ① 平沢 敬 (2008) ベーシックマスター生化学「第9章 クエン酸回路と電子伝達系」 大山 隆監修 西川一八・清水光弘共編 オーム社
- ② H. Shimizu, T. Hirasawa. (2007) Production of glutamate and glutamate-related amino acids: Molecular mechanism analysis and metabolic engineering. *In* Microbiology Monograph. Volume 5. Amino acid biosynthesis-pathways, regulation and metabolic engineering. Volker F. Wendisch (ed), Springer. pp 1-38.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称: L-グルタミン酸の製造方法

発明者: 清水 浩、永久圭介、福田洋久、和地正明、平沢 敬

権利者: 財団法人地球環境産業技術研究機構

種類: 特許

番号: 特許出願 2007-330383

出願年月日: 平成19年12月

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

平沢 敬 (HIRASAWA TAKASHI)

大阪大学・大学院情報科学研究科・助教

研究者番号: 20407125

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: