

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15736

研究課題名（和文）コリネ型細菌の物質生産宿主としての汎用性拡大に向けた代謝工学と合成生物学的利用

研究課題名（英文）Metabolic engineering and synthetic biological utilization of coryneform bacteria aiming to expand its versatility as a production host

研究代表者

片岡 尚也（Kataoka, Naoya）

山口大学・大学研究推進機構・助教

研究者番号：50713509

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：コリネ型細菌を用いて、2-オキソグルタル酸を高蓄積する培養条件を探索するとともに、その条件において2-ヒドロキシグルタル酸脱水素酵素を高発現させた組換え株を培養することで、グルコースから効率的に2-ヒドロキシグルタル酸を生成することに成功した。加えて、フィードバック阻害に非感受的な酵素の活用、チロシンへの流量遮断と抑制変異株の変異点解析、ホスホエノールピルビン酸-ピルビン酸代謝の改変、を施すことで、フェニルアラニンを高生産可能なコリネ型細菌の造成を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、再生可能資源から2-ヒドロキシグルタル酸およびフェニルアラニンを高生産可能なコリネ型細菌を造成した。まず2-ヒドロキシグルタル酸は、2-オキソグルタル酸から誘導される有用化合物の一つであり、これまで報告例の少なかったコリネ型細菌での2-オキソグルタル酸派生物の生産を実現した点で意義がある。一方フェニルアラニンは、植物二次代謝産物の生合成における重要中間体であることから、本研究で開発した組換えコリネ型細菌を基盤にさらなる改変を行うことで、コリネ型細菌での植物二次代謝産物の高生産の実現が期待される点で意義がある。

研究成果の概要（英文）：To realize the production of 2-oxoglutarate-related compounds in *Corynebacterium glutamicum*, the culture conditions to induce the production of 2-oxoglutarate was firstly explored. The recombinant *C. glutamicum* overexpressing the *hgd* gene encoding 2-hydroxyglutarate dehydrogenase produced 2-hydroxyglutarate efficiently when cultured in the optimized 2-oxoglutarate production-inducing conditions. In addition, the efficient phenylalanine-producing *C. glutamicum* was successfully developed by three steps of metabolic engineering: (i) utilization of feedback resistant enzymes, (ii) redirection of carbon flow to tyrosine to phenylalanine and analysis of suppressor mutations, and (iii) modifications of phosphoenolpyruvate-pyruvate metabolism.

研究分野：微生物代謝

キーワード：2-オキソグルタル酸 2-ヒドロキシグルタル酸 フェニルアラニン チロシン リボヌクレアーゼ アナプレロティック経路 抑制変異株 フィードバック制御

## 様式 C-19, F-19-1, Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

1956年、協和発酵工業の木下、鶴高らによって、糖とアンモニアから直接グルタミン酸を生成するアミノ酸生産コリネ型細菌 *Corynebacterium glutamicum* が単離された。それ以降、代謝制御発酵、代謝工学、合成生物学、と科学技術の発展を経ることで、本菌を宿主として、アミノ酸や有機酸だけでなく、植物二次代謝産物や非天然化合物の生産に関する報告が数多くなされてきた。しかしながら、中枢代謝の根幹をなす代謝物の一つであるアセチル CoA を重要中間体に生成される化合物や、2-オキソグルタル酸からグルタミン酸を経ないで生成される化合物の生産報告は少なかった。また、本菌による植物二次代謝産物の生産に関する研究報告は存在するものの、その重要中間体であるフェニルアラニンやチロシンの供給量そのものに課題を抱えており、その生産収量は極めて低いのが現状であった。

### 2. 研究の目的

前述の背景を受け本研究では、コリネ型細菌における (1) TCA 回路の制御によるアセチル CoA 誘導体、2-オキソグルタル酸およびその誘導体の生産技術開発、(2) 植物二次代謝産物の効率的生産を指向するフェニルアラニン生産菌の造成、の二つを目的に研究を実施した。これらの課題を解決することで得られる知見は、コリネ型細菌の物質生産宿主としての汎用性のさらなる拡大に貢献すると期待された。

### 3. 研究の方法

全ての実験において *C. glutamicum* ATCC 13032 を親株として用いた。

#### (1) TCA 回路の制御によるアセチル CoA 誘導体、2-オキソグルタル酸およびその誘導体の生産技術開発

遺伝子 (*ldhA*, *aceA*, *mdh*: 乳酸脱水素酵素, イソクエン酸リアーゼ, リンゴ酸脱水素酵素をそれぞれコードする) の欠損, *tuf* 遺伝子プロモーター ( $P_{tuf}$ ) 下流に *Acidaminococcus fermentans* DSM 20731 由来 *hgdH* 遺伝子 (2-ヒドロキシグルタル酸脱水素酵素をコードする) を配置した断片  $P_{tuf}$ -*hgdH* の挿入, 変異型 *gltA*<sup>S252C</sup> (クエン酸合成酵素をコードする) への置換は、二重相同組換え法によって導入した。3-ヒドロキシ酪酸生産遺伝子 [*phaA* (*Cupriavidus necator* NBRC 102504 由来), *phaB* (*C. necator* NBRC 102504 由来), *tesB* (*Escherichia coli* MG 1655 由来):  $\beta$ -ケトチオラーゼ, アセトアセチル CoA 還元酵素, アシル CoA チオエステラーゼ II をそれぞれコードする] を IPTG 誘導型プロモーター- $P_{lac}$  の支配下にクローニングした pCNKS-*tesB*-*phaAB* (p3HB) を 3-ヒドロキシ酪酸生産用プラスミドとして用いた。各菌株は、222 mM のグルコースを含む最小培地 (CGXII) で 500 mL 容羽付フラスコまたは 2 L 容ジャーファーメンターを用いて回分培養し、その発酵特性を解析した。

#### (2) 植物二次代謝産物の効率的生産を指向するフェニルアラニン生産菌の造成

遺伝子 (*qsuB*, *qsuD*, *hdpA*, *tyrA*, *rnj*, *ppc*, *pyc*, *pyk*: デヒドロシキミ酸脱水素酵素, キナ酸/シキミ酸脱水素酵素, ジヒドロキシアセトンリン酸脱リン酸化酵素, プレフェン酸脱水素酵素, リボヌクレアーゼ J, ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ, ピルビン酸カルボキシラーゼ, ピルビン酸キナーゼをそれぞれコードする) の欠損, *aroE* 遺伝子 (シキミ酸脱水素酵素をコードする) プロモーターの  $P_{tuf}$  への置換, 変異型 *gltA*<sup>S252C</sup> への置換は、二重相同組換え法によって導入した。フェニルアラニン生産用プラスミド (pPhe) は、pCNKS の  $P_{lac}$  支配下に *E. coli* MG 1655 由来 *aroH* (3-デオキシ-D-アラビノヘプトロソクエン酸-7-リン酸合成酵素をコードする), *pheA*<sup>T326P</sup> (フェニルアラニン/チロシン非感受性コリスミ酸異性化酵素/プレフェン酸脱水素酵素をコードする) をクローニングすることで構築した。各菌株は、444 mM のグルコースおよび 10 g/L の酵母エキスを含む培地 (CGXII-YE) で 2 L 容ジャーファーメンターを用いて回分培養し、その発酵特性を解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) TCA 回路の制御によるアセチル CoA 誘導体、2-オキソグルタル酸およびその誘導体の生産技術開発

##### ① 2-オキソグルタル酸を高蓄積する培養条件の検討

*C. glutamicum* において窒素源が豊富に存在する場合、2-オキソグルタル酸は還元的アミノ化されグルタミン酸へと変換される。グルタミン酸は培地中のピオチンを制限することで誘導されること、CGXII は窒素源として 20 g/L の  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  が添加されていることを考慮して、グルタミン酸生成を誘導するピオチン量 (2.5  $\mu\text{g/L}$ ) における  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  量の変化が 2-オキソグルタル酸/グルタミン酸生成量に及ぼす影響を野生株 (WT) を用いてジャーファーメンター培養で調査した。その結果 20, 10, 8, 6 g/L へと  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  量を減少させることで、グルタミン酸の生成が減少し、それと相関し 2-オキソグルタル酸の蓄積が亢進した。ここで得られた結果から、CGXII からピオチン量と  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  量をそれぞれ 2.5  $\mu\text{g/L}$ , 6 g/L へと変更した改変 CGXII を 2-オキソグルタル酸生産培地として②の実験に用いた。

## ② *C. glutamicum* による 2-ヒドロキシグルタル酸生産

①で得られた知見をもとに、*C. glutamicum* での 2-ヒドロキシグルタル酸生産を試みた。2-オキソグルタル酸への炭素流量を強化するべく *LdhA*, *AceA*, *Mdh* を欠損した  $\Delta 3$  を作製し、本実験では親株として用いた。 $\Delta 3$  に 2-オキソグルタル酸を還元的に 2-ヒドロキシグルタル酸へ変換する酵素 *HgdH* を強力かつ恒常的に発現可能なプロモーター  $P_{urf}$  の支配下に配置した断片 ( $P_{urf}$ -*hgdH*) を挿入した変異株  $\Delta 3 P_{urf}$ -*hgdH* を作製し、 $\Delta 3$  株とともに改変 CGXII で回分培養した。その結果、 $\Delta 3$  が 53.8 mM の 2-オキソグルタル酸、11.8 mM のグルタミン酸を生成した一方で、 $\Delta 3 P_{urf}$ -*hgdH* 株での 2-オキソグルタル酸、グルタミン酸生成量はそれぞれ 6.04 mM、0.65 mM へと減少し、それと相関して最大 72.3 mM の 2-ヒドロキシグルタル酸を培地中に蓄積した (図 1)。

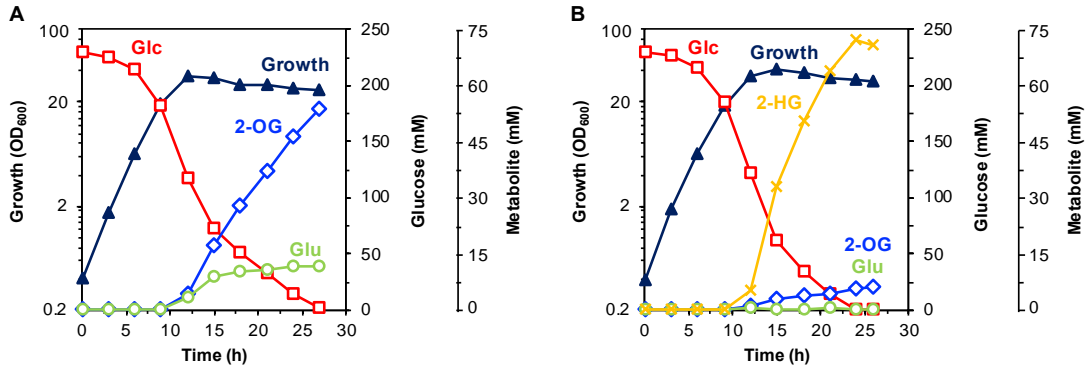


図1.  $\Delta 3$  (A) および  $\Delta 3 P_{urf}$ -*hgdH* (B) の培養結果。  
各株を222 mMのグルコースを含む改変CGXIIでジャーファーメンターを用いて回分培養を行った。

## ③ *C. glutamicum* による 3-ヒドロキシ酪酸生産

これまでの実験で、WT を p3HB で形質転換した組換え株で 3-ヒドロキシ酪酸生産が確認されなかったことから、TCA 回路への流量低下を目的に作製したクエン酸合成酵素活性が WT の約 1%に減少した変異株 (*CS*<sup>S252C</sup>) を作製し、p3HB で形質転換したのち、WT-p3HB とともに羽付フラスコを用いて培養試験した。しかしながら、両組換え株で 3-ヒドロキシ酪酸生産は確認できなかった。

## (2) 植物二次代謝産物の効率的生産を指向するフェニルアラニン生産菌の造成

### ① フェニルアラニン高生産に向けた基盤菌の構築

*C. glutamicum* におけるフェニルアラニンおよびチロシンの生合成は、フェニルアラニン、チロシンによる複雑なフィードバック制御下にある (図 2)。そのため、*C. glutamicum* におけるフェニルアラニン生産の第一段階として、これらフィードバック阻害の解除が重要となる。そこで、*C. glutamicum* では厳密に生合成が制御されているトリプトファンに感受性の大腸菌由来 3-デオキシ-D-アラビノヘプツロソン酸-7-リン酸合成酵素とフェニルアラニンおよびチロシンによるフィードバック阻害が解除されたコリスミ酸異性化酵素/プレフェン酸脱水酵素をコードする遺伝子をクローニングした pPhe を構築し、WT を形質転換した。WT-pPhe をジャーファーメンターを用いて CGXII-YE で回分培養したところ、17.9 mM のフェニルアラニンの生成が確認された (図 3)。これは、クローニングした遺伝子が機能的に *C. glutamicum* で発現・機能したことを示していた。芳香族アミノ酸は、図 2 に示すように、シキミ酸経路を経ることで生成される。そこで、これまでに報告されている *C. glutamicum* でのシキミ酸生産に有効である変異 (*qsuB*, *qsuD*, *hdpA* の欠損, *aroE* の高発現) の導入がフェニルアラニン生産を向上させるか検討した。三遺伝子の欠損, *aroE* プロモーターの  $P_{urf}$  への置換を導入した組換え株 AD3 を作製したのち、pPhe で形質転換した。得られた AD3-pPhe を同様の方法で試験したところ、22.8 mM のフェニルアラニンの蓄積が見られた。これは WT-pPhe の 1.27 倍の値であった。そこで、AD3-pPhe を以降の実験の基盤菌として用いることにした。

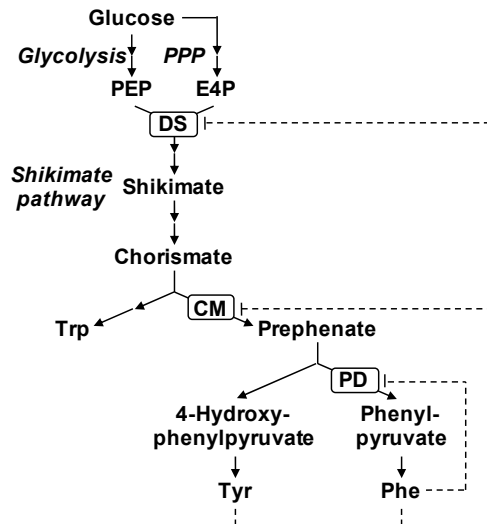


図2. *C. glutamicum* のフェニルアラニン、チロシン生合成経路。  
図中の点線はフィードバック阻害を示している。  
DS: 3-デオキシ-D-アラビノヘプツロソン酸-7-リン酸合成酵素, CM: コリスミ酸異性化酵素, PD: プレフェン酸脱水酵素。

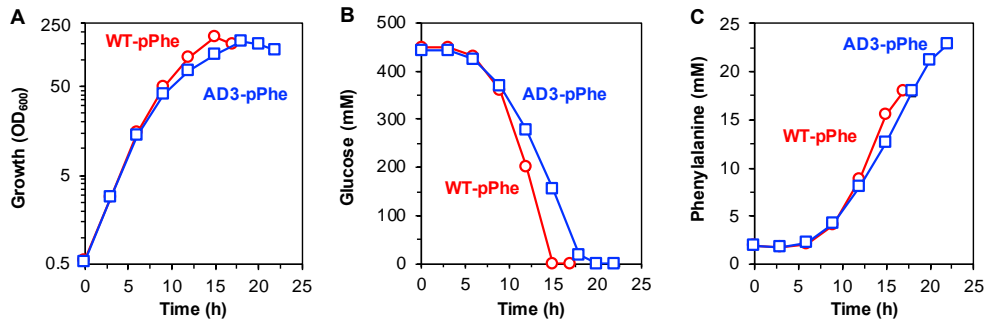


図3. WT-pPhe, AD3-pPheでのフェニルアラニン生産. 生育 (A), グルコース消費 (B), フェニルアラニン生産 (C).

## ② チロシン合成の遮断とフェニルアラニン生産

チロシンはフェニルアラニン同様、プレフェン酸から誘導される。チロシンへの流量を遮断することでフェニルアラニン生成が亢進すると考え、プレフェン酸脱水素酵素 (TyrA) の AD3 からの欠損を試みた。しかし、抑制変異株の出現が確認された。そこで、中でも良好な生育を示した二株を単離したのち、pPhe で形質転換するとともにフェニルアラニン生産を評価した。その結果、一つの抑制変異株 (AD4S1) の形質転換体で 40.9 mM のフェニルアラニンの生産が確認された (図 4)。これは、親株の 1.79 倍の値であった。AD4S1 のゲノムを解析したところ、RNase J に一つのアミノ酸置換 (L180R) を伴う変異が見出された。本変異が、RNase J の機能にどのように関わるかを AD4S1 から RNase J を欠損することで調査したところ、その変異株 (AD4S1  $\Delta$ rnj) の pPhe 形質転換体が AD4S1-pPhe と同じ表現型を示した (図 4) ことから、RNase J に見出されたアミノ酸置換は、機能の低下 (または不活化) に関与するものと示唆された。これらの結果を受けて、以降の実験では、AD4S1-pPhe を用いることにした。

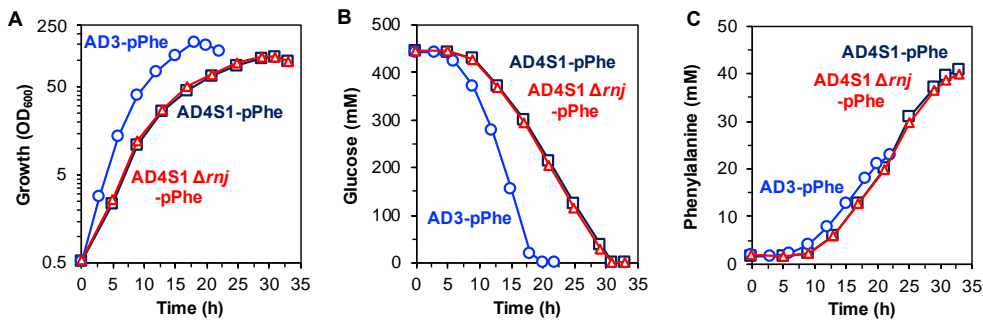


図4. AD3-pPhe, AD4S1-pPhe, AD4S1  $\Delta$ rnj-pPheでのフェニルアラニン生産. 生育 (A), グルコース消費 (B), フェニルアラニン生産 (C).

## ③ アナプレロティック経路の改変はフェニルアラニン生産を向上させる

フェニルアラニンを含む芳香族アミノ酸は、解糖系で供給されるホスホエノールピルビン酸とエリスロース 4-リン酸の縮合からシキミ酸経路へと入っていく。そのため、ホスホエノールピルビン酸の供給量強化は、フェニルアラニン生成に有利に働くと予想された。そこで、ホスホエノールピルビン酸-ピルビン酸代謝周りの改変がフェニルアラニン生産に及ぼす影響を調査した。Ppc, Pyc, Pyk の欠損, CS<sup>S252C</sup> の変異を AD4S1 にそれぞれ導入した組換え株を作製したのち、pPhe で形質転換するとともにフェニルアラニン生産を評価した。その結果、Pyk 変異株は発酵培地での生育が見られない一方で、他の組換え株は発酵培地で生育した。中でも、Ppc, Pyc 変異株は親株と比較してそれぞれ 1.24, 1.17 倍の値であった (図 5)。CS<sup>S252C</sup> 変異株は、親株よりも低いフェニルアラニン生産結果を示した (図 5)。

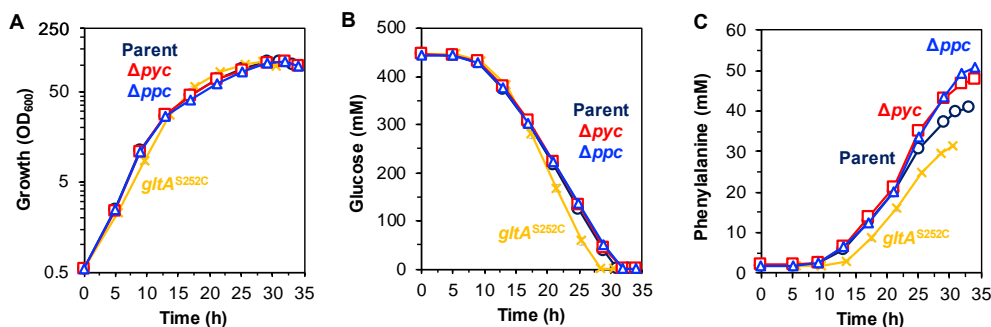


図5. AD4S1-pPhe (Parent), AD4S1  $\Delta$ ppc-pPhe, AD4S1  $\Delta$ pyc-pPhe, AD4S1 *gltA*<sup>S252C</sup>-pPheでのフェニルアラニン生産. 生育 (A), グルコース消費 (B), フェニルアラニン生産 (C).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 9件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yakushi Toshiharu, Takahashi Ryota, Matsutani Minenosuke, Kataoka Naoya, Hours Roque A., Ano Yoshitaka, Adachi Osao, Matsushita Kazunobu	4. 巻 137
2. 論文標題 The membrane-bound sorbosone dehydrogenase of <i>Gluconacetobacter liquefaciens</i> is a pyrroloquinoline quinone-dependent enzyme	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Enzyme and Microbial Technology	6. 最初と最後の頁 109511-109511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.enzmictec.2020.109511	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 該当する
1. 著者名 Adachi Osao, Nguyen Thuy M, Hours Roque A, Kataoka Naoya, Matsushita Kazunobu, Akakabe Yoshihiko, Yakushi Toshiharu	4. 巻 84
2. 論文標題 5-Keto-D-fructose production from sugar alcohol by isolated wild strain <i>Gluconobacter frateurii</i> CHM 43	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1745-1747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2020.1767500	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 該当する
1. 著者名 Adachi Osao, Hours Roque A, Akakabe Yoshihiko, Arima Hideyuki, Taneba Rie, Tanaka Junya, Kataoka Naoya, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 84
2. 論文標題 Taro koji of <i>Amorphophallus konjac</i> enabling hydrolysis of konjac polysaccharides to various biotechnological interest	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2160-2173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2020.1787812	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 該当する
1. 著者名 Sriherfyna Feronika Heppy, Matsutani Minenosuke, Hirano Kensuke, Koike Hisashi, Kataoka Naoya, Yamashita Tetsuo, Nakamaru-Ogiso Eiko, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 87
2. 論文標題 The Auxiliary NADH Dehydrogenase Plays a Crucial Role in Redox Homeostasis of Nicotinamide Cofactors in the Absence of the Periplasmic Oxidation System in <i>Gluconobacter oxydans</i> NBRC3293	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AEM.02155-20	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 該当する

1. 著者名 Kataoka Naoya, Hirata Kaori, Matsutani Minenosuke, Ano Yoshitaka, Nguyen Thuy Minh, Adachi Osao, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 105
2. 論文標題 Three ATP-dependent phosphorylating enzymes in the first committed step of dihydroxyacetone metabolism in <i>Gluconobacter thailandicus</i> NBRC3255	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1227-1236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-021-11092-6	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 Miah Roni, Nina Shun, Murate Takeru, Kataoka Naoya, Matsutani Minenosuke, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 105
2. 論文標題 Major aldehyde dehydrogenase AldFGH of <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> is independent of pyrroloquinoline quinone but dependent on molybdopterin for acetic acid fermentation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 2341-2350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-021-11144-x	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 Nguyen Thuy Minh, Naoki Kotone, Kataoka Naoya, Matsutani Minenosuke, Ano Yoshitaka, Adachi Osao, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 85
2. 論文標題 Characterization of a cryptic, pyrroloquinoline quinone-dependent dehydrogenase of <i>Gluconobacter</i> sp. strain CHM43	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 998-1004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbab005	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 Nantapong Nawarat, Murata Ryutarou, Trakulnaleamsai Sarvit, Kataoka Naoya, Yakushi Toshiharu, Matsushita Kazunobu	4. 巻 103
2. 論文標題 The effect of reactive oxygen species (ROS) and ROS-scavenging enzymes, superoxide dismutase and catalase, on the thermotolerant ability of <i>Corynebacterium glutamicum</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 5355-5366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-019-09848-2	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 該当する

1. 著者名 Matsumoto Nami, Matsutani Minenosuke, Azuma Yoshinao, Kataoka Naoya, Yakushi Toshiharu, Matsushita Kazunobu	4. 巻 84
2. 論文標題 In vitro thermal adaptation of mesophilic Acetobacter pasteurianus NBRC 3283 generates thermotolerant strains with evolutionary trade-offs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 832-841
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1703638	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 Matsutani Minenosuke, Matsumoto Nami, Hirakawa Hideki, Shiwa Yuh, Yoshikawa Hirofumi, Okamoto-Kainuma Akiko, Ishikawa Morio, Kataoka Naoya, Yakushi Toshiharu, Matsushita Kazunobu	4. 巻 202
2. 論文標題 Comparative Genomic Analysis of Closely Related Acetobacter pasteurianus Strains Provides Evidence of Horizontal Gene Transfer and Reveals Factors Necessary for Thermotolerance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 1-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JB.00553-19	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 Kataoka Naoya, Saichana Natsaran, Matsutani Minenosuke, Toyama Hirohide, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 86
2. 論文標題 Characterization of 3 phylogenetically distinct membrane-bound D-gluconate dehydrogenases of Gluconobacter spp. and their biotechnological application for efficient 2-keto-D-gluconate production	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 681-690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac024	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 該当する

1. 著者名 Miah Roni, Nina Shun, Murate Takeru, Kataoka Naoya, Matsutani Minenosuke, Ano Yoshitaka, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 204
2. 論文標題 Dissection and Reconstitution Provide Insights into Electron Transport in the Membrane-Bound Aldehyde Dehydrogenase Complex of Gluconacetobacter diazotrophicus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/jb.00558-21	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 Kataoka Naoya, Matsutani Minenosuke, Murata Ryutarou, Koga Ryo, Nantapong Nawarat, Yakushi Toshiharu, Matsushita Kazunobu	4. 巻 133
2. 論文標題 Potassium ion leakage impairs thermotolerance in <i>Corynebacterium glutamicum</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 119-125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2021.10.005	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 該当する

1. 著者名 Nakamura Kentaro, Nagaki Kakeru, Matsutani Minenosuke, Adachi Osao, Kataoka Naoya, Ano Yoshitaka, Theeragool Gunjana, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 105
2. 論文標題 Relocation of dehydroquinase to the periplasmic space improves dehydroshikimate production with <i>Gluconobacter oxydans</i> strain NBRC3244	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 5883-5894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-021-11476-8	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 該当する

1. 著者名 Nguyen Thuy Minh, Goto Masaru, Noda Shohei, Matsutani Minenosuke, Hodoya Yuki, Kataoka Naoya, Adachi Osao, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 203
2. 論文標題 The 5-Ketofructose Reductase of <i>Gluconobacter</i> sp. Strain CHM43 Is a Novel Class in the Shikimate Dehydrogenase Family	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 1-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JB.00558-20	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 Matsumoto Nami, Osumi Naoki, Matsutani Minenosuke, Phathanathavorn Theerisara, Kataoka Naoya, Theeragool Gunjana, Yakushi Toshiharu, Shiraishi Yasushi, Matsushita Kazunobu	4. 巻 85
2. 論文標題 Thermal adaptation of acetic acid bacteria for practical high-temperature vinegar fermentation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1243-1251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbab009	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 該当する



〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松本 奈実, 松谷 峰之介, 片岡 尚也, 薬師 寿治, 松下 一信
2. 発表標題 酢酸菌 <i>Acetobacter pasteurianus</i> SKU1108の耐熱化育種株TH-3の耐熱化機構解析
3. 学会等名 日本農芸化学会 2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永木 翔, 松谷 峰之介, 片岡 尚也, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 キナ酸からプロトカテク酸を産生するための酢酸菌のペリプラズミック代謝工学
3. 学会等名 日本農芸化学会 2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田 侑里, Toulaphone Keokene, 片岡 尚也, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 グルコノバクター属酢酸菌の膜結合型グルコース脱水素酵素によるラクトビオン酸生産と二糖類酸化の改善
3. 学会等名 日本農芸化学会 2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 直木 琴音, 片岡 尚也, 薬師 寿治, 松下 一信
2. 発表標題 <i>Gluconobacter japonicus</i> NBRC 3271を宿主とした効率的5-ケトグルコン酸生産技術の開発
3. 学会等名 日本農芸化学会 2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 足立 収生, 片岡 尚也, 松下 一信, 赤壁 善彦, 薬師 寿治
2. 発表標題 細胞膜結合型D-マンノース異性化酵素の発見と異性化糖の新しい製造法
3. 学会等名 日本農芸化学会 2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片岡 尚也
2. 発表標題 合成生物学的手法による有用物質の効率的生産に関する研究
3. 学会等名 日本生物工学会 西日本支部大会2020 (第5回講演会) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松下 一信, 松本 奈実, 松谷 峰之介, 片岡 尚也, 薬師 寿治
2. 発表標題 酢酸菌の耐熱化育種とストレス耐性機能
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本 奈実, 水町 優希, 松谷 峰之介, 片岡 尚也, 薬師 寿治, 松下 一信
2. 発表標題 酢酸菌 <i>Acetobacter pasteurianus</i> と <i>Komagataeibacter medellinensis</i> における共通の耐熱化機構の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村 謙太郎, 永木 翔, 松谷 峰之介, 片岡 尚也, 松下 一信, 足立 収生, 薬師 寿治
2. 発表標題 酢酸菌を用いるペリプラズミック代謝工学の試み
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 足立 収生, 有馬 秀幸, 種場 理絵, 田中 淳也, 片岡 尚也, 赤壁 善彦, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 珣弱芋蕪による珣弱マンナンの加水分解と多様な用途開発
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Toulaphone Keokene, 内田 侑里, 桐生 高明, 松谷 峰之介, 片岡 尚也, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 Gluconobacter属酢酸菌の膜結合型グルコース脱水素酵素の高発現によるラクトースの高速酸化
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡 尚也, 大田 諒子, Natsaran Saichana, 松谷 峰之介, 外山 博英, 薬師 寿治, 松下 一信
2. 発表標題 Gluconobacter japonicus NBRC 3271が持つ膜結合型グルコン酸脱水素酵素に関する研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本 奈実, 大澄 直樹, Theerisara Phathanathavorn, 末吉 里帆, 松谷 峰之介, 片岡 尚也, 薬師 寿治, Gunjana Theeragool, 白石 靖, 松下 一信
2. 発表標題 実用的酢酸発酵を目指したAcetobacter pasteurianusの低栄養育種と高温適応育種
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上利 浩輝, 中西 里菜, 松本 奈実, 片岡 尚也, 薬師 寿治, 松下 一信
2. 発表標題 高温育種酢酸菌Acetobacter pasteurianus TH-3の細胞表層及びアミノ酸代謝と耐熱化機構
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡 尚也, 加藤 瑠華, 谷口 和彌, 松谷 峰之介, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 フェニルアラニン高生産に向けたコリネ型細菌の代謝工学
3. 学会等名 第73回 日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永木 翔, 松谷 峰之介, 片岡 尚也, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 Acinetobacter baylyi由来ペリプラズム型デヒドロシキミ酸脱水酵素の異種発現とプロトカテク酸生産への利用
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下一信, 水町 優希, 片岡 尚也, 薬師 寿治
2. 発表標題 高温酢酸発酵におけるストレス耐性と膜小胞生成
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Editors: Masayuki Inui, Koichi Toyoda	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 388
3. 書名 Corynebacterium glutamicum Biology and Biotechnology Second Edition	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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		
タイ	スラナリー工科大学		