

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02899

研究課題名（和文）イソプレノイド生産に向けた革新的シャーシとなる微生物細胞の創製

研究課題名（英文）Creation of microbial cells as the innovative chassis for isoprenoid production

研究代表者

邊見 久 (Hemmi, Hisashi)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：60302189

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：我々が近年見出した低エネルギー消費型代謝経路である古細菌型メバロン酸経路を大腸菌に導入し、有用イソプレノイドの発酵生産に応用することで、より効率的な物質生産が可能となるか検証を進めた。条件次第では既存経路を有する大腸菌株を上回る生産量が達成され、古細菌型メバロン酸経路の応用可能性を示すことができた。さらに、同経路に関連する新奇酵素群の酵素学的解析を進め、多くの知見を得た。特に一部酵素の酸素感受性については同経路の応用に関わる重要な情報であった。その他にも、一部古細菌に特有な変形メバロン酸経路に特異的に含まれる酵素について活性制御に関わる興味深い知見を得ている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

古細菌という生物群が広く有する古細菌型の変形メバロン酸経路は、一部異なる酵素によって構成される真核生物型のメバロン酸経路に比べて、生産される物質あたり消費するエネルギーが少なく済む、低エネルギー消費型代謝経路である。この古細菌型経路を微生物による有用な物質生産に利用することで、以前よりも効率的な生産が可能になると期待される。本研究ではその可能性を検証し、酸素供給などの条件次第では予想通り古細菌型メバロン酸経路による効率的な物質生産が行えることを示した。

研究成果の概要（英文）：We introduced the archaeal mevalonate pathway, which is an energy-saving metabolic pathway that we have discovered recently, in *Escherichia coli* to apply it for fermentative production of useful isoprenoids and examined whether the cells can be used for more efficient material production. We also conducted enzymological analyses of novel enzymes related to the pathway and obtained a plenty of knowledge. For example, the oxygen sensitivity of some enzymes was important information concerning with the application of the pathway. In addition, we obtained some interesting knowledge on the activity regulation of an enzyme that is involved in a modified mevalonate pathway specific to a part of archaea.

研究分野：酵素化学

キーワード：メバロン酸経路 イソプレノイド 古細菌 大腸菌

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々はATP消費量の少ない「低エネルギー負荷型」の代謝経路である古細菌型メバロン酸経路を超好熱性古細菌より見出し¹⁾、代謝工学による各種イソプレノイドの発酵生産に同経路を利用しようと考えていた。メバロン酸経路はイソプレノイド合成の前駆体供給経路である。イソプレノイドはビタミンやホルモンなどの重要な生理活性物質や、香料や燃料として使われるテルペン類、天然ゴムなどの工業原料といった多様な有用物質を含む生体化合物群であり、発酵生産の試みが長年行われている。大腸菌のような細菌に、本来存在しないメバロン酸経路を導入することでイソプレノイド生産を強化できることはすでによく知られた事実であり、このメバロン酸経路を古細菌型経路に置換することで、イソプレノイド生産をさらに高効率化できると期待された。実際に大腸菌に古細菌型メバロン酸経路の後半部分を導入し、イソプレノイドの一種であるカロテノイド色素を指標として、イソプレノイド生産性への影響を評価したところ、培地にメバロン酸を添加し、かつ嫌氣的に培養を行った場合にのみ、カロテノイド生産が増強されることが明らかとなった²⁾。しかしながら、この実験においては、一般的な(真核生物型)メバロン酸との比較を行っておらず、古細菌型経路の優位性は不明であった。

(2) 古細菌型メバロン酸経路は大部分の古細菌によって利用されている代謝経路であるが、その中には、真核生物型メバロン酸経路には見られない複数の酵素、ホスホメバロン酸デヒドラターゼ(PMDh)、ホスホ-*trans*-アンヒドロメバロン酸デカルボキシラーゼ(AMPD)、イソペンテニリン酸キナーゼ(IPK)が含まれる。さらに、AMPDはプレニル化フラビンモノヌクレオチド(prFMN)という補酵素を利用し、その合成にはprFMN合成酵素(PFS)や、PFSに基質を供給する酵素などが必要とされる。このような特徴的な酵素群に関しては、酵素学的な特性や反応触媒機構などの研究は進んでいなかった。また、我々は古細菌型経路に先立ち、一部の古細菌に特異的に存在する変形メバロン酸経路である、*Thermoplasma*型メバロン酸経路を見出し³⁾、同経路に含まれる酵素についても研究を続けていた。特に同経路においてATP非依存的な脱炭酸反応を触媒する酵素、3,5-ビスホスホメバロン酸デカルボキシラーゼ(MBD)については、酵素学的な研究が十分に行われていなかった。

2. 研究の目的

(1) 本研究の第一の目的は、大腸菌に古細菌型メバロン酸経路を導入することにより、イソプレノイド生産性を飛躍的に高めた大腸菌、すなわちイソプレノイド生産に向けた革新的なシャーシとなる微生物細胞が構築できるかを検討することであった。我々はこれまでにイソプレノイド生産の指標としてカロテノイド色素を用いてきたが、大腸菌に生産させた場合、カロテノイドは細胞膜に蓄積し、生産量の上限に達するのが早い。そのため、菌体外に放出されるような化合物を新たに指標としたイソプレノイド生産性の評価系を確立する必要があった。また、古細菌型経路の優位性を評価するために、既存の研究で多用されている真核生物型メバロン酸経路を対照とし、なるべく比較が可能な条件で実験系を組み立てることとした。

(2) 第二の目標は、古細菌型メバロン酸経路に関連する酵素群の特定と酵素学的な解析であった。特にPMDh、AMPDといった新奇酵素の特性を明らかにすること、および古細菌におけるprFMN合成経路を解明することを優先課題とした。また、*Thermoplasma*型メバロン酸経路に含まれるMBDについては、共同研究先から提供されたX線結晶構造という貴重なデータを活用し、酵素学的な解析を行うことを目指した。

3. 研究の方法

(1) まずはイソプレノイド生産性の指標として利用すべき化合物の検討を行った。当初はモノテルペンであるミルセンの大腸菌における生産を目指したが、生合成酵素の活性が低く、十分量のミルセンを検出することができなかった。そこでセスキテルペンであるファルネセンを利用した評価系の構築を行うことに方針を変更した。ファルネセンは疎水性の小分子であり、大腸菌の膜を通過して細胞外に排出されるため、蓄積されることで毒性を示さないと予想された。その一方で、培地への溶解度が低いため、大腸菌の培養液に適切な有機溶剤を重層し、ファルネセンを捕集することとした。検討を行った結果、重層する溶媒としてはドデカンが適切であることがわかった。ファルネセン生合成系は、大腸菌由来のファルネシル二リン酸シンターゼ(FPPS)と植物由来のファルネセンシンターゼ(FS)の組み合わせにより構築した。次に、比較対照に用いる真正細菌由来メバロン酸経路を選定した。複数の候補から、マンチェスター大学のScrutton博士らによって構築され、我々による簡易的な試験で最もファルネセン生産性を向上させたpMVA2RBS035(以降、pMVA2と略す)⁴⁾を用いることとした。同プラスミドには大腸菌に最適化された、各種細菌由来のメバロン酸経路遺伝子が含まれており、かつp15A複製起点を有するため、我々が作製したファルネセン生産用プラスミドpTrec-FFと共存が可能である。このプラスミド

中の真核生物型メバロン酸経路後半の遺伝子群をそっくり古細菌型メバロン酸経路の遺伝子で置換することとした。

(2) PMDh の生成物であり、AMPD の基質でもある代謝中間体、5-ホスホ-*trans*-アンヒドロメバロン酸 (tAHMP) を、大阪公立大学の品田博士らとの共同研究により有機合成し、これを利用して酵素活性測定系を確立することとした。複数酵素反応とのカップリングにより、目的酵素の活性を比色定量することを可能とし、この活性測定系により各種酵素学的性質を解明した。また、PFS については、反応で生成するラジカル型 prFMN の特徴的な吸光スペクトルを利用し、古細菌由来 PFS にとってジメチルアリルニリン酸 (DMAPP) とジメチルアリルリン酸 (DMAP) のどちらがより良いプレニルドナー基質であるのかを確認した。さらに、DMAPP からの DMAP の合成に関与する酵素の候補を単離し、予想される加水分解活性を検証した。MBD については、酵素の結晶構造中に見られる電子密度から、古細菌のイソプレノイド脂質生成の中間体であるゲラニルゲラニルニリン酸 (GGPP) が同酵素に結合し、酵素活性に影響する可能性がすでに示されていたため、その確認を放射標識基質とラジオ TLC 解析を利用した活性測定系により調べた。

4. 研究成果

(1) ファルネセン生産用プラスミド pTrc-FF と真核生物型メバロン酸経路導入用プラスミド pMVA2 を大腸菌 Top10 株に導入し、IPTG による酵素遺伝子の発現誘導を行いつつ、ドデカンを重ねた LB 培地 100 mL で 24 h 培養した。SDS-PAGE 解析の結果、FS と一致するバンドのみが確認され、FPPS のバンドは観察されなかった。ドデカン層を回収し、含まれるファルネセンの濃度を、既知濃度のファルネセンを含むドデカンを用いて検量線を作製することにより測定した。1%グリセロールを含む LB 培地では培地 1 L あたり 18 mg、0.5 g/L メバロノラクトンを含む LB 培地では 11 mg のファルネセンが生産された。これらの値は Scrutton らによる培地 1 L あたりリモネン 87 mg と比較して低かった。その理由の一部には彼らが LB 培地ではなく TB 培地を用いていたことや、重ねたドデカン量の違いも挙げられるが、上述した通り FPPS が十分な量発現しなかったことが原因ではないかと疑われた。

続いて、古細菌型メバロン酸経路を真核生物型経路と比較するために、pMVA2 に含まれる、メバロン酸以降の代謝反応を触媒する酵素遺伝子を、古細菌型メバロン酸のものに入れ替えた、いくつかのプラスミドを構築した。そのうち古細菌型メバロン酸経路導入用プラスミド pMVA6 を、pTrc-FF と共に大腸菌に導入したところ、pMVA2 導入株と比較可能な量のファルネセンが生産されることがわかった。しかしこのファルネセン生産は、培養時の攪拌速度を上昇させ、酸素供給を向上させると消失した。この結果は、以前我々がカロテノイド色素を指標として行った実験の結果と一致しており²⁾、古細菌型経路が酸素に感受性であるとの我々の仮説を支持した。一方で、pMVA2 導入株では明らかな生育遅延が観察され、したがって菌体あたりのファルネセン生産量では pMVA2 導入が大きく上回っていた。

上述の実験で見出されたファルネセン生産系の問題点を克服すべく、各プラスミドに改良を加えた。まず、pTrc-FF 中の FPPS 遺伝子の upstream に trc プロモータを挿入した pTrc-FTF を構築し、以降はこのプラスミドを実験に用いることとした。また、pMVA6 が pMVA2 に比べ劣っていたのは、一部酵素の活性が不足し、古細菌型メバロン酸経路中に律速過程が生じていたためだと予想し、イソプレノイド合成前駆体の供給バランスを整えるイソペンテニルニリン酸イソメラーゼ (IDI) 遺伝子、もしくは酸素感受性であることがすでに分かっていた PMDh の遺伝子の upstream に trc プロモータを挿入し、それぞれ pMVA6-1、pMVA6-2 を構築した。また、メバロン酸経路後半の遺伝子を除いたプラスミド pMVA0 をコントロールとして作製した。しかしこの段階で、pTrc-FF と改良メバロン酸経路導入用プラスミドを共に有する大腸菌が全く生育しないという現象が頻発するようになった。検討の結果、この現象は前培養の段階で酵素の発現が誘導されてしまい、プラスミドが脱落するせいで起きていることが分かった。そこでこれ以降、宿主を Top10 株から誘導開始前の酵素発現を抑制できる JM109 株に変えることとなった。試験管サイズで各大腸菌株の培養を 48 h、酸素供給の低い条件で行った結果、pTrc-FTF と共に pMVA6-2 を導入した株のファルネセン生産量 1 L あたり 8 mg と最も高いことが示された (図 1)。pMVA6-1 導入株は pMVA6 導入株と比べればファルネセン生産が向上していたが、pMVA2 導入株とはあまり差がなかった。それに対し pMVA6-2 株は、培地あたり生産量だけでなく、菌体量あたりの生産量でも pMVA2 株を上回っていた。つまり、条件次第では古細菌型メバロン酸経路が真核生物型経路を上回ることができることを、本研究では明らかとすることができた。

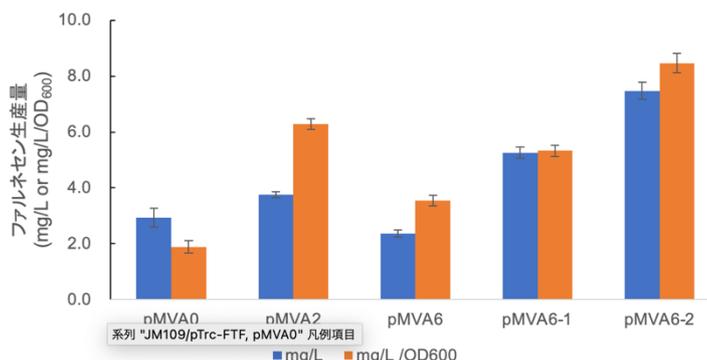


図 1 各大腸菌株によるファルネセン生産量

(2) tAHMP を有機合成し、これを基質とした逆反応により PMDh の酵素活性測定系を構築した⁵⁾。まずは嫌気条件における PMDh との反応によりホスホメバロン酸を生成させ、酵素を限外濾過で取り除いた。その後、ホスホメバロン酸デカルボキシラーゼ、もしくはホスホメバロン酸キナーゼおよび ATP との反応で、含まれるホスホメバロン酸に相当する量の ADP を生じさせ、これをピルビン酸キナーゼとホスホエノールピルビン酸との反応で等量のピルビン酸に変換する。最後にピルビン酸を乳酸デヒドロゲナーゼおよび NADH と反応させ、最終的に NADH の減少量としてホスホメバロン酸を定量した。また、その変法として、ピルビン酸キナーゼとピルビン酸オキシダーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼとのカップリング反応により Amplex Red から生じるレゾルフィンを定量する方法も立ち上げた。さらに、AMPD 反応についても、tAHMP から生じるイソペンテニルリン酸(IP)を IPK 他複数酵素とのカップリングにより比色定量する酵素活性測定系を構築した。これらの手法を用いて複数生物由来の PMDh および AMPD の酵素学的特性評価を進めることが可能になった。

PMDh については、3つのシステイン残基によって構築される 4Fe-4S 型の鉄硫黄クラスターが酸素感受性であり、同酵素の酸素感受性の原因であることを、超好熱性古細菌 *Aeropyrum pernix* 由来酵素の活性測定やスペクトル解析、変異解析や EPR 解析によって明らかにした⁶⁾。AMPD については、同じく *A. pernix* 由来酵素を用いて様々な酵素学的特性を解明し、特に prFMN の獲得によるホロ化の過程を明らかにしている。AMPD と PFS の間にタンパク質間相互作用が存在することも分かったが、その相互作用が AMPD 活性にどのように影響しているかは今後明らかにしていく必要がある。また、未培養真正細菌に由来する AMPD について、結晶構造解析を目指して結晶化条件の最適化を進めているところである。

メタン生成古細菌 *Methanosarcina mazei* 由来 PFS は DMAPP よりも DMAP をより良いプレニルドナー基質とすることが明らかになった⁷⁾。古細菌細胞中で DMAP 供給に関わりうる酵素の1つとして、*M. mazei* 由来 Nudix ヒドロラーゼを単離し、同酵素が IPP および DMAPP に対して高い活性と低い K_m 値を有することを明らかにした。

また、*Thermoplasma* 型メバロン酸経路に特異的な酵素である MBD については、*Thermoplasma* 目の好熱好酸性古細菌 *Picrophilus torridus* 由来酵素を用いて研究を進め、結晶構造中に観察された電子密度の位置に GGPP が結合し、それによって同酵素が活性化されることを示した⁸⁾。この電子密度は MBD に相同な ATP 依存性デカルボキシラーゼにおいて ATP が結合する部位に相当しており、酵素の分子進化と変形メバロン酸経路の成立を考える上できわめて興味深い知見であった。

<引用文献>

- (1) Hayakawa H et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences, U. S. A.*, **115**, 10034-9 (2018)
- (2) Yoshida R et al., *Applied and Environmental Microbiology*, **86**:e02889-19 (2020)
- (3) Azami Y. et al., *Journal of Biological Chemistry*, **289**, 15957-67 (2014)
- (4) Jervis A. J. et al., *ACS Synthetic Biology*, **8**, 127-36 (2019)
- (5) Yasuno Y. et al., *Journal of Natural Products*, **84**, 2749-54 (2021)
- (6) Komeyama M. et al., *Frontiers in Microbiology*, **14**:1150353 (2023)
- (7) Ishibashi Y. et al., *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **86**, 246-53 (2021)
- (8) Aoki M. et al., *Journal of Biological Chemistry*, **298**:102111 (2022)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Yoshida Ryo, Hemmi Hisashi	4. 巻 5
2. 論文標題 Construction of an artificial biosynthetic pathway for hyperextended archaeal membrane lipids in the bacterium <i>Escherichia coli</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 ysaa018
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/synbio/ysaa018	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 Ito Tomokazu, Matsuoka Mai, Goto Masaru, Watanabe Soichiro, Mizobuchi Taichi, Matsushita Kazuma, Nasu Ryoma, Hemmi Hisashi, Yoshimura Tohru	4. 巻 1868
2. 論文標題 Mechanism of eukaryotic serine racemase-catalyzed serine dehydration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics	6. 最初と最後の頁 140460 ~ 140460
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbapap.2020.140460	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 Okada Miyako, Unno Hideaki, Emi Koh-Ichi, Matsumoto Mayuko, Hemmi Hisashi	4. 巻 296
2. 論文標題 A versatile cis-prenyltransferase from <i>Methanosarcina mazei</i> catalyzes both C- and O-prenylations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100679 ~ 100679
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jbc.2021.100679	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 Yasuno Yoko, Nakayama Atsushi, Saito Kai, Kitsuwa Kohei, Okamura Hironori, Komeyama Mutsumi, Hemmi Hisashi, Shinada Tetsuro	4. 巻 84
2. 論文標題 Total Synthesis and Structure Confirmation of trans-Anhydromevalonate-5-phosphate, a Key Biosynthetic Intermediate of the Archaeal Mevalonate Pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 2749 ~ 2754
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jnatprod.1c00615	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 Ito Tomokazu, Tono Mayuka, Kitaura Yasuyuki, Hemmi Hisashi, Yoshimura Tohru	4. 巻 41
2. 論文標題 Urinary l-erythro- -hydroxyasparagine -- a novel serine racemase inhibitor and substrate of the Zn ²⁺ -dependent d-serine dehydratase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience Reports	6. 最初と最後の頁 BSR20210260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BSR20210260	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 Ishibashi Yumi, Matsushima Natsumi, Ito Tomokazu, Hemmi Hisashi	4. 巻 86
2. 論文標題 Isopentenyl diphosphate/dimethylallyl diphosphate-specific Nudix hydrolase from the methanogenic archaeon Methanosarcina mazei	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 246 ~ 253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbab205	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 Ito Tomokazu, Ogawa Honoka, Hemmi Hisashi, Downs Diana M., Yoshimura Tohru	4. 巻 204
2. 論文標題 Mechanism of Pyridoxine 5 -Phosphate Accumulation in Pyridoxal 5 -Phosphate-Binding Protein Deficiency	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 jb.00521-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/jb.00521-21	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 該当する

1. 著者名 Ashida Hiroyuki, Murakami Kaho, Inagaki Kenji, Sawa Yoshihiro, Hemmi Hisashi, Iwasaki Yugo, Yoshimura Tohru	4. 巻 171
2. 論文標題 Evolution and properties of alanine racemase from Synechocystis sp. PCC6803	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 421 ~ 428
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab155	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 Abe Tohru, Hakamata Mariko, Nishiyama Akihito, Tateishi Yoshitaka, Matsumoto Sohkiichi, Hemmi Hisashi, Ueda Daijiro, Sato Tsutomu	4. 巻 289
2. 論文標題 Identification and functional analysis of a new type of Z,E mixed prenyl reductase from mycobacteria	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 4981 ~ 4997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.16412	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 Tanaka Yui, Yoshimura Tohru, Hakamata Maho, Saito Chiaki, Sumitani Megumi, Sezutsu Hideki, Hemmi Hisashi, Ito Tomokazu	4. 巻 172
2. 論文標題 Identification and characterization of a serine racemase in the silkworm Bombyx mori	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 17 ~ 28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvac026	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 Aoki Mizuki, Vinokur Jeffrey, Motoyama Kento, Ishikawa Rino, Collazo Michael, Cascio Duilio, Sawaya Michael R., Ito Tomokazu, Bowie James U., Hemmi Hisashi	4. 巻 298
2. 論文標題 Crystal structure of mevalonate 3,5-bisphosphate decarboxylase reveals insight into the evolution of decarboxylases in the mevalonate metabolic pathways	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 102111 ~ 102111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2022.102111	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 該当する

1. 著者名 Ito Tomokazu, Muto Natsumi, Sakagami Haruna, Tanaka Miho, Hemmi Hisashi, Yoshimura Tohru	4. 巻 290
2. 論文標題 d amino acid auxotrophic Escherichia coli strain for in vivo functional cloning of novel d amino acid synthetic enzyme	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.16734	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 Komeyama Mutsumi, Kanno Kohsuke, Mino Hiroyuki, Yasuno Yoko, Shinada Tetsuro, Ito Tomokazu, Hemmi Hisashi	4. 巻 14
2. 論文標題 A [4Fe-4S] cluster resides at the active center of phosphomevalonate dehydratase, a key enzyme in the archaeal modified mevalonate pathway	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1150353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2023.1150353	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 -

[学会発表] 計21件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 邊見 久、Riko Kuriki、吉田 稜
2. 発表標題 未培養真正細菌に存在する古細菌型メバロン酸経路
3. 学会等名 第30回イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松嶋 夏海、栗木 莉子、保野 陽子、品田 哲郎、吉村 徹、邊見 久
2. 発表標題 アーキア型メバロン酸経路の鍵酵素ホスホ-trans-アンヒドロメバロン酸デカルボキシラーゼの酵素学的研究
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石橋 裕美、松嶋 夏海、吉村 徹、邊見 久
2. 発表標題 Methanosarcina mazei 由来プレニルニリン酸特異的 Nudix hydrolase の機能解明
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 米山 睦、三野 広幸、保野 陽子、品田 哲郎、吉村 徹、邊見 久
2. 発表標題 超好熱性アーキア由来ホスホメバロン酸デヒドラターゼの活性中心に存在する鉄硫黄クラスターの解析
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西山 尚来、伊藤 智和、邊見 久、吉村 徹
2. 発表標題 哺乳類のPLレダクターゼ同定に向けた取り組み
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西山尚来、伊藤智和、邊見 久、吉村 徹
2. 発表標題 哺乳類のピリドキサルレダクターゼ同定に向けた取り組み
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 米山 睦、三野広幸、保野陽子、品田哲郎、伊藤智和、邊見 久
2. 発表標題 アーキア型メバロン酸経路の鍵酵素であるホスホメバロン酸脱水酵素は[4Fe-4S]型鉄硫黄クラスターを有する
3. 学会等名 日本Archaea研究会第33回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 稜、邊見 久
2. 発表標題 大腸菌における長鎖アーキア膜脂質の生合成経路の構築
3. 学会等名 第31回イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長坂有紗、Kitty Sompiyachoke、吉村 徹、邊見 久
2. 発表標題 ヘテロサブユニットの融合による古細菌由来cis-プレニルトランスフェラーゼの解析
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾ひなの、伊藤智和、邊見 久、吉村 徹
2. 発表標題 Escherichia coliにおけるビタミンB6脱リン酸化酵素の同定
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋拓矢、吉田 稜、伊藤智和、吉村 徹、邊見 久
2. 発表標題 アーキア型メバロン酸経路を用いた大腸菌のイソプレノイド生産能強化
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中優衣、伊藤智和、邊見 久、吉村 徹
2. 発表標題 カイコセリンラセマーゼの同定と酵素学的性質の解析
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松尾ひなの、邊見 久、吉村 徹、伊藤智和
2. 発表標題 Escherichia coliにおけるピリドキシン5'-リン酸の脱リン酸化酵素の同定
3. 学会等名 日本ビタミン学会第74回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 邊見 久、青木瑞希、本山賢人、石川りの、伊藤智和
2. 発表標題 Picrophilus torridus由来3,5-ビスホスホメバロン酸デカルボキシラーゼにおける奇妙な活性制御
3. 学会等名 日本Archaea研究会第34回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅野航佑、米山 睦、三野広幸、品田哲郎、保野陽子、伊藤智和、吉村 徹、邊見 久
2. 発表標題 超好熱性古細菌Aeropyrum pernix由来ホスホメバロン酸脱水酵素の鉄硫黄クラスターに関する研究
3. 学会等名 第30回イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hisashi Hemmi
2. 発表標題 Production of archaeal membrane lipids in bacterial cells to overcome lipid divide and engineer a membrane
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石川りの、青木瑞希、本山賢人、伊藤智和、邊見 久
2. 発表標題 ゲラニルゲラニルリン酸による3,5-ビスホスホメパロン酸デカルボキシラーゼの活性制御
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松尾ひなの、邊見久、吉村徹、伊藤智和
2. 発表標題 Escherichia coli におけるビタミンB6発酵生産法の開発
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 青木浩一郎、邊見久、伊藤智和
2. 発表標題 乳酸菌のD-アミノ酸トランスポーターの同定と性状解析
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋拓矢、伊藤智和、邊見 久
2. 発表標題 低酸素条件におけるイソプレノイド生産を強化する古細菌型メバロン酸経路
3. 学会等名 2023年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小瀬有里奈、邊見久、伊藤智和
2. 発表標題 大腸菌における新奇フォルリポリ- γ -グルタミン酸合成酵素の同定と機能解析
3. 学会等名 2023年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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
研究 分担者	海野 英昭 (Unno Hideaki) (10452872)	長崎大学・工学研究科・准教授 (17301)	
研究 分担者	伊藤 智和 (Ito Tomokazu) (90584970)	名古屋大学・生命農学研究科・講師 (13901)	

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			
米国	University of California Los Angeles			