

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02909

研究課題名(和文) ポリマーファクトリーセル構築に向けた植物細胞内における疎水性化合物貯蔵機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of mechanisms for transport and storage of hydrophobic metabolites in plant cells toward establishment of a polymer factory cell system

研究代表者

高橋 征司 (Takahashi, Seiji)

東北大学・工学研究科・准教授

研究者番号：90343061

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、無細胞タンパク質合成系にクラミドモナス由来の脂肪顆粒(LD)を添加することで、翻訳・フォールディングと共役させながら外来タンパク質をLDに導入する手法を開発した。その手法を用いた機能解析により、LDやゴム粒子(RP)の膜タンパク質の膜結合ドメインが解明された。さらに、その膜結合ドメインを超長鎖trans-1,4-ポリイソプレン(tPI)合成酵素(tPT)に融合させることで、LD膜上にtPTを導入することに成功した。これにより、生成物であるtPIの重合度が10倍に増大することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

代謝工学により植物細胞内で有用疎水性化合物を高生産・高蓄積させるためには、細胞への悪影響を回避することが必要となる。LDやRPなどの脂質一重層オルガネラは、疎水性化合物を隔離的に貯蔵することから、それらの膜上に種々の外来酵素を配置することで、反応生成物を膜内部へ効率よく蓄積させる系の構築が可能となる。本研究で解明されたLD膜結合配列は、外来酵素のLD膜上への配置を可能とすることから、その学術的・産業的なインパクトが非常に大きい。また、本研究で初めてtPI合成酵素が同定された。これらの発見の統合により、脂質一重層オルガネラをシンク器官としたポリマーファクトリーセル構築が可能となった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed a method to introduce foreign proteins into lipid droplets (LDs), coupled with translation and folding, by adding LDs prepared from *Chlamydomonas reinhardtii* to a wheat germ cell-free protein expression system. Functional analysis using this method revealed the membrane binding domain of LD membrane proteins, which consists of some amphipathic helices. Furthermore, by fusing the membrane binding domain, we were able to introduce a trans-prenyltransferase, first identified as an ultra-long chain trans-1,4-polyisoprene (tPI) synthase, to the LD membrane. This resulted in a tenfold increase in the degree of polymerization of the products, tPI.

研究分野：植物分子細胞生物学

キーワード：脂肪顆粒 ゴム粒子 ポリイソプレン 無細胞翻訳系 プレニルトランスフェラーゼ 天然ゴム

1. 研究開始当初の背景

化石燃料の枯渇による化成品の原料不足、温室効果ガスによる地球温暖化などの世界的諸問題解決の鍵の一つとして、植物における物質生産が注目されている。植物の二次代謝物の中には、医薬品や工業材料として高機能で化学合成が困難な構造を有するものも多いため、代謝工学的手法により標的化合物を高生産・高蓄積する植物を作出することは、ポスト石油化学時代の物質生産システムを構築する上で極めて重要な課題である。しかし、目的の化合物が脂溶性である場合、細胞内におけるそれらの高蓄積は膜構造に影響を及ぼし細胞死などが誘発されるため、細胞外への排出、あるいはオルガネラ内への隔離的貯蔵を促進させる必要がある。一般に、植物細胞外のアポプラスト空間は酸化環境であるため、目的化合物の酸化等の悪影響を考慮すると、細胞外への排出よりも細胞内におけるオルガネラ内への貯蔵が望ましい。疎水性化合物の貯蔵オルガネラとしては、トリアシルグリセロール (TAG) やステロールエステルを貯蔵する脂肪顆粒

(lipid droplet, LD) がよく知られている (図 1)。LD は真核生物に普遍的なオルガネラであり、小胞体から発生 (出芽) する際にリン脂質一重層構造が形成される。また、天然ゴム (*cis*-1,4-ポリイソプレン) 生産植物のラテックス (乳管細胞の細胞質) 内では、LD と同様に脂質一重層で覆われたオルガネラであるゴム粒子 (rubber particle, RP) が形成され、その内部に天然ゴム分子が隔離貯蔵されている。これらのオルガネラの膜表面には、その構造維持に寄与すると想定されるタンパク質群に加え、内含する疎水性分子の生合成関連酵素が存在しており、オルガネラ内への効率的な取り込みが行われている。

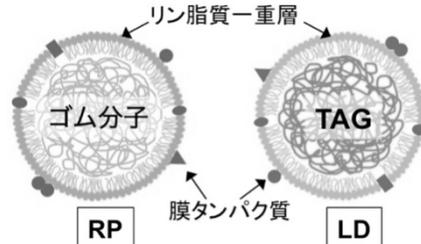


図 1 RP と LD の比較

代表者らは最近、長らく謎であった天然ゴム生合成機構の解明に世界に先駆け成功した。以前より、天然ゴムの生合成 (重合) 酵素は *cis* 型プレニル鎖延長酵素 (cPT) の一種と推定されていたが、天然ゴム生合成活性の再現には成功していなかった。代表者らは、その要因が酵素の RP 膜への適正な導入にあることを見出し、無細胞タンパク質発現系を利用することで、翻訳・折り畳みと共役させながら外来タンパク質を RP 膜に導入する系を開発した。その手法で RP に導入されたパラゴムノキ (主要天然ゴム産生植物) の cPT は酵素活性を示し、世界で初めて組換え酵素により分子量 10^6 以上 (重合度 $\sim 5,000$) の天然ゴムを *in vitro* 合成することに成功した。驚いたことに、通常は重合度 20 程度までのポリイソプレンしか生合成しないヒトや酵母由来の cPT でも、パラゴムノキの RP に導入することで、天然ゴムサイズのポリイソプレンを合成するようになることが分かった。以上より研究代表者は、LD や RP の膜上に様々な有用疎水性ポリマー合成酵素を配置させることで、疎水性化合物の効率的な収容による重合反応の促進が達成できるという着想を得るに至った (図 2)。

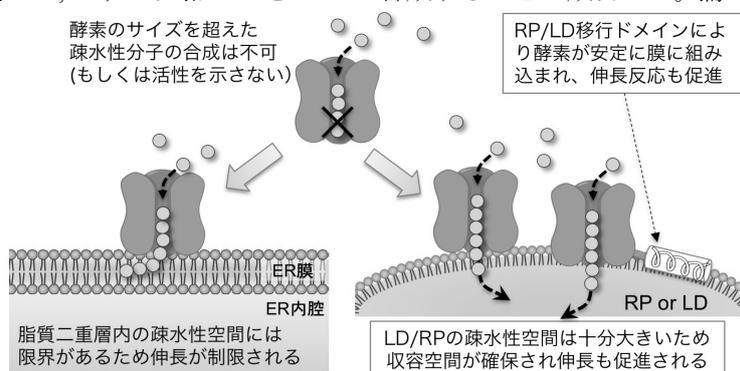


図 2 本計画の基本概念および作業仮説

LD、RP いずれのオルガネラも、その発生機構だけでなく、脂質一重層膜へのタンパク質移行機構は未解明の点が多い。酵母などにおける遺伝学的研究により、細胞内における LD の数や粒径に影響するタンパク質は見出されているが、機構の全容解明には程遠いのが現状である。また、このタンパク質移行機構は、各オルガネラに特定の疎水性化合物 (TAG や天然ゴム) が蓄積すること、すなわち、特定の酵素が選択的に膜上に配置されるという事実から、LD と RP では異なる機構が存在している可能性も示唆されていた。

2. 研究の目的

本研究では、脂質一重層オルガネラ膜上に外来酵素を導入することで内部に疎水性ポリマーを隔離貯蔵させるための基盤構築を最終的な目的として、まず、「(1) 脂質一重層オルガネラ膜への移行に必要なタンパク質モチーフと制御機構の解明」を行い、その機構をもとに「(2) 脂質一重層オルガネラ膜への外来酵素導入による有用疎水性化合物生産系の構築」を行うことを目的として研究をおこなった。

3. 研究の方法

本研究における 2 つの研究目的について、それぞれを達成するための研究課題を設定した。

- (1) 脂質一重層オルガネラ膜への移行に必要なタンパク質モチーフと制御機構の解明

① LD 膜移行タンパク質の同定

動物細胞の LD 膜タンパク質は、LD の出芽とともに ER 膜から持ち込まれた Class I と、サイトゾルから LD 膜上に移行する Class II に大別される。Class II タンパク質は明確な膜貫通ドメインを持たず、両親媒性ヘリックスを介し LD 膜と結合すると予想されているが、その機構の詳細は不明である。また、高等植物では、その分類自体が適用可能かどうか不明である。そこで本研究では、アボカドおよびクラミドモナスの LD、およびパラゴムノキの RP のプロテオミクスデータを活用し、二次構造予測から Class II と予想されたタンパク質を探索し、同時進行する②にて開発された手法を用いて LD、RP への *in vitro* 導入を行い、実際の膜移行を検証する。

② 無細胞タンパク質発現系を利用した LD へのタンパク質導入系の開発

既に確立済みである RP へのタンパク質導入法をもとに、LD への外来タンパク質導入法を確立する (図 3)。精製アボカド LD をコムギ胚芽由来無細胞翻訳系に添加し反応させた後、超遠心分画により LD 層を回収し、Western 解析でタンパク質の導入を確認する。なお、研究成果にて後述する通り、アボカド LD の安定性の低さから、LD をクラミドモナスから単離・精製することに変更した。

③ LD、RP 膜への移行に必須なドメインの解明

課題①、②で解明された複数の LD 膜、RP 膜結合タンパク質に関し、構造予測に基づき構造ドメインごとに分割した各種配列断片を作製し、それらを各膜系に導入することで、移行に必須なドメインを探索する。さらに、RP 移行配列、LD 移行配列がヘテロな膜系である LD、RP にそれぞれ導入されるかを検証する。

(2) 脂質一重層オルガネラ膜への外来酵素導入による有用疎水性化合物生産系の構築

④ 膜移行配列と融合させた新規ポリイソプレノイド合成酵素の LD、RP への導入

課題②で確立した無細胞翻訳系を利用し、LD 膜、RP 膜への移行ドメインを融合させた異種酵素を LD、RP に導入する。LD にはパラゴムノキ由来の天然ゴム合成酵素 (cPT) の導入を試みる。また、RP、LD の両方に、*trans* プレニル鎖延長酵素 (tPT) を導入する。自然界には、*cis*-1,4-ポリイソプレンである天然ゴムの他に、*trans*-1,4-ポリイソプレン (分子量 $>10^4$ 、図 4) も存在するが、この生合成機構は未解明である。tPT は全ての生物が有する酵素であるが、それにより生成するポリイソプレン鎖は一般に重合度 10 程度までである。超長鎖の *trans*-1,4-ポリイソプレンの生合成も、天然ゴム生合成と同様に、tPT が脂質一重層オルガネラの膜上に配置されることが鍵となっていると考えられるため、それを検証する。チクル (チューンガムの天然原料) を産生するサボジラのラテックスには *trans*-1,4-ポリイソプレンが含まれる。そこでサボジラのラテックスより tPT のホモログをクローニングし、それを無細胞翻訳系で RP、LD に導入する。モノマー基質である ^{14}C -IPP を用いたアッセイとゲル浸透クロマトグラフィーにより、*trans*-1,4-ポリイソプレン合成を実証する。

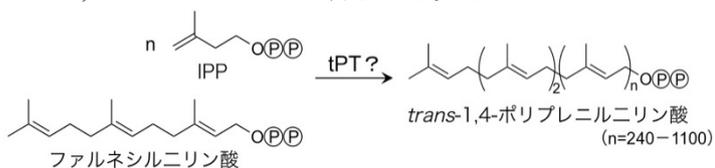


図 4 *trans*-1,4-ポリイソプレンの推定生合成反応

4. 研究成果

(1) 脂質一重層オルガネラ膜への移行に必要なタンパク質モチーフと制御機構の解明

① LD 膜移行タンパク質の同定

既往のプロテオームデータから、パラゴムノキの RP の膜には、SMALL RUBBER PARTICLE PROTEIN (SRPP) と呼ばれる機能未知のタンパク質が高蓄積している。また、SRPP と類似配列を有する RUBBER ELONGATION FACTOR (REF) も同様に高蓄積している。一方、植物由来の LD 膜タンパク質には、SRPP と配列類似性を示す LIPID DROPLET-ASSOCIATED PROTEIN (LDAP) と呼ばれるタンパク質が高蓄積している。これらのタンパク質について AlphaFold2 を用いた立体構造予測を行った結果、いずれも複数の疎水性あるいは両親媒性ヘリックスからなるタンパク質であることが示された。そこで、これらの脂質一重層オルガネラ間に共通した膜タンパク質移行機構が存在することを予想し、本研究ではまず、SRPP、REF、LDAP を解析対象とすることとした。

② 無細胞タンパク質発現系を利用した LD へのタンパク質導入系の開発

まず、LD へのタンパク質移行を解析するための手法として、植物細胞より LD を調製し、それを無細胞タンパク質合成系に添加することで、翻訳・折り畳みと共役させながら外来タンパク質を導入する系を開発した。まず、無細胞タンパク質合成系に添加する LD をアボカド中果皮から精製し、それを無細胞タンパク質合成系に導入した。しかし、アボカド LD の安定性が低く、外来タンパク質導入後の LD 精製過程において、その多くが壊れてしまうことが明らかになった。

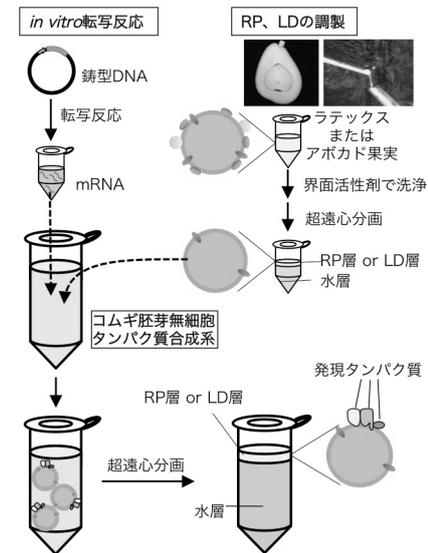


図 3 無細胞翻訳系によるタンパク質導入

また、材料であるアボカド果実の入手経路(市場や国内生産者からの購入)や品種などによって、調製するLDの安定性が大きく異なることも示された。これらから、アボカド由来LDを本研究に用いることは難しいと考え、LDを調製するための植物材料を緑藻であるクラミドモナスに変更した。クラミドモナスは培地の窒素欠乏などによって細胞内にLDを発達させることが知られているため、種々の培養条件におけるクラミドモナス細胞からLDを調製し、安定なLDを高収量で回収できる条件を検討した。これによって得られた精製LDをコムギ胚芽由来無細胞翻訳系に導入し、翻訳反応を大きく阻害しないLD添加量を決定した。ここで、LDをクラミドモナスから調製することに変更したため、クラミドモナスのLDAPホモログであるMAJOR LOPID DROPLET PROTEIN (MLDP)も解析対象とすることとした。この無細胞翻訳系においてGFPを発現させた場合は、ほとんどLDにはGFPが移行しなかったのに対し、LDAP、MLDPのそれぞれをGFPと融合させたタンパク質は明確にLDへ移行することが示された。さらに、この解析系において、RP膜タンパク質であるSRPP、REFもLDへ移行することが示された。これらの結果から、SRPP、REF、LDAP、MLDPはClass IIの特性を示すタンパク質であることが示された。また、RP膜の主要タンパク質であるSRPPおよびREFと、植物のLD膜の主要タンパク質であるLDAPやMLDPの一次構造には類似性があることから、これらのタンパク質間で共通した脂質単層膜結合ドメインが存在することが予想された。

③ LD、RP膜への移行に必須なドメインの解明

脂質単層膜結合ドメインを解明するため、立体構造モデルをベースとしてMLDPのデリーションシリーズを設計し、それをGFPに融合させたタンパク質について、LDへの*in vitro*タンパク質導入アッセイを行った。その結果、LD膜への結合に特に寄与する両親媒性ヘリックスドメインを特定することに成功した。さらに、ベンサミアナタバコにおける*in vivo*解析において、上記の膜タンパク質群はLDが形成されていない細胞内ではサイトゾル、ゴルジ体、ER等に局在するのに対し、LD形成を誘導させた細胞内では専らLDに局在することが示された。この*in vivo*解析系を用いてSRPP、REF、LDAPについても脂質単層膜結合ドメインを探索したところ、MLDPの脂質単層膜結合ドメインに対応する両親媒性ヘリックスドメインが特にLD結合に重要であることが示された。これらの結果から、上記の膜タンパク質群は脂質単層膜との親和性が高い両親媒性ヘリックスドメインを有することが明らかとなった。

④ 膜移行配列と融合させた新規ポリイソプレノイド合成酵素のLD、RPへの導入

課題③で特定したLD膜結合配列を融合させた種々のcPTは、効率よくLDに導入されることが明らかになった。その一方で、LDに導入したcPTはいずれも酵素活性が極めて低くなることが判明した。それらをRPに導入した際は明確な活性が示されることから、クラミドモナスLDに何らかのcPT活性阻害因子が存在することが示唆された。本研究においては、その要因の特定には至らなかった。次に、超長鎖の*trans*-1, 4-ポリイソプレン (tPI)の合成酵素の探索を進めた。tPIを合成することが報告されているサボジラのトランスクリプトームデータを取得し、*trans*型プレニル鎖延長酵素 (tPT)のホモログから解析候補を絞り込み、大腸菌、コムギ胚芽由来無細胞翻訳系などで異種発現させ、酵素アッセイを行った結果、tPI合成酵素 (MztPT2)の同定に成功した。MztPT2はtPTファミリーに属するが、一般的なtPTには存在しない長いN末端領域を有する。この領域は複数の両親媒性ヘリックスから成り、ER膜結合配列を含む。また、この領域を含む全長タンパク質を大腸菌内で異種発現させることは困難であるが、この領域を欠損させたMztPT2ΔNは可溶性酵素として発現し、その精製酵素は平均分子量が約 10^4 のTPIを合成することが明らかになった。また、MztPT2ΔNのN末端側にクラミドモナス由来LD膜タンパク質MLDPを融合させることで、クラミドモナスから調製したLDにMztPT2ΔNを導入することに成功した。MLDP-MztPT2ΔNが導入されたLDを用いたtPT活性測定とその生成物の解析を行ったところ、平均分子量が約 10^5 のTPIが合成された。また、MztPT2はRPにも効率的に導入可能であり、その生成物の分子サイズは $10^4 \sim 10^6$ となった。これらの結果から、tPTは脂質単層膜オルガネラへ導入することで生成物サイズが増大することが示された。すなわち、膜上に配置された酵素からリリースされた疎水性のポリイソプレン鎖が、脂質単層膜オルガネラの内部の疎水性空間に導入されることで、生成物の伸長が促進されることが示唆される。また、本研究にて世界で初めてtPI合成酵素が機能同定された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Waki Toshiyuki, Terashita Miho, Fujita Naoki, Fukuda Keishi, Kato Mikiya, Negishi Takashi, Uchida Hiromi, Aoki Yuichi, Takahashi Seiji, Nakayama Toru	4. 巻 62
2. 論文標題 Identification of the Genes Coding for Carthamin Synthase, Peroxidase Homologs that Catalyze the Final Enzymatic Step of Red Pigmentation in Safflower (<i>Carthamus tinctorius</i> L.)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1528 ~ 1541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab122	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 中山 亨、和氣 駿之、高橋 征司	4. 巻 56
2. 論文標題 植物特化代謝とメタボロン	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 植物の生長調節	6. 最初と最後の頁 14 ~ 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18978/jsr.p.56.1_14	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 Ohira Hideo, Tsuruya Atsuki, Oikawa Daiki, Nakagawa Wao, Mamoto Rie, Hattori Masahira, Waki Toshiyuki, Takahashi Seiji, Fujioka Yoshio, Nakayama Toru	4. 巻 16
2. 論文標題 Alteration of oxidative-stress and related marker levels in mouse colonic tissues and fecal microbiota structures with chronic ethanol administration: Implications for the pathogenesis of ethanol-related colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0246580
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0246580	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 Kurokawa Hirofumi, Ambo Takanori, Takahashi Seiji, Koyama Tanetoshi	4. 巻 532
2. 論文標題 Crystal structure of <i>Thermobifida fusca</i> cis-prenyltransferase reveals the dynamic nature of its RXG motif-mediated inter-subunit interactions critical for its catalytic activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 459 ~ 465
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.08.062	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 Waki Toshiyuki、・・・、Takahashi Seiji、Nakayama Toru	4. 巻 11
2. 論文標題 A conserved strategy of chalcone isomerase-like protein to rectify promiscuous chalcone synthase specificity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 870
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-14558-9	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 Yamashita Satoshi、Takahashi Seiji	4. 巻 89
2. 論文標題 Molecular Mechanisms of Natural Rubber Biosynthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annual Review of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 821 ~ 851
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1146/annurev-biochem-013118-111107	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 Imaizumi Riki、Mameda Ryo、Takeshita Kohei、Kubo Hiroki、Sakai Naoki、Nakata Shun、Takahashi Seiji、Kataoka Kunishige、Yamamoto Masaki、Nakayama Toru、Yamashita Satoshi、Waki Toshiyuki	4. 巻 89
2. 論文標題 Crystal structure of chalcone synthase, a key enzyme for isoflavonoid biosynthesis in soybean	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 126 ~ 131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prot.25988	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 Ohira Hideo、Tsuruya Atsuki、Oikawa Daiki、Nakagawa Wao、Mamoto Rie、Hattori Masahira、Waki Toshiyuki、Takahashi Seiji、Fujioka Yoshio、Nakayama Toru	4. 巻 16
2. 論文標題 Alteration of oxidative-stress and related marker levels in mouse colonic tissues and fecal microbiota structures with chronic ethanol administration: Implications for the pathogenesis of ethanol-related colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0246580
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0246580	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 Waki Toshiyuki, Takahashi Seiji, Nakayama Toru	4. 巻 43
2. 論文標題 Managing enzyme promiscuity in plant specialized metabolism: A lesson from flavonoid biosynthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BioEssays	6. 最初と最後の頁 2000164 ~ 2000164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bies.202000164	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 高橋 征司	4. 巻 98
2. 論文標題 天然ゴム生合成機構から考える次世代の植物工学	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 600-603
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 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 高橋 征司, 和氣 駿之, 中山 亨	4. 巻 23
2. 論文標題 膜上の酵素複合体による巧妙な植物特化代謝の制御戦略	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 公益社団法人日本化学会 バイオテクノロジー部会 NEWS LETTER	6. 最初と最後の頁 3-12
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 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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 天野博之, 栗栖尚嗣, 山家史大, 廣森美樹, 和氣駿之, 中山亨, 高橋征司
2. 発表標題 比較機能解析によるテルペン合成酵素の生成物特性制御機構の解明
3. 学会等名 2022年日本農芸化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名	NUR SHAZANA BINTI ABU TALIB KHAN Nadia;廣森美樹;和氣駿之;山下哲;戸澤讓;山口晴彦;宮城ゆき乃;中山亨;高橋征司
2. 発表標題	パラゴムノキの天然ゴム生合成酵素複合体におけるタンパク質間相互作用ドメインとその機能的意義の解析
3. 学会等名	2022年日本農芸化学会大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	高橋朋宏;山家史大;酒井勇貴;皆川知歩;和氣駿之;中山亨;高橋征司
2. 発表標題	ドリコール生合成に寄与するcis型プレニルトランスフェラーゼのリン酸化修飾による活性制御
3. 学会等名	2022年日本農芸化学会大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	三輪幸祐;廣森美樹;青木裕一;和氣駿之;小島幸治;山下哲;山口晴彦;宮城ゆき乃;戸澤讓;中山亨;高橋征司
2. 発表標題	サボジラ(Manilkara zapota)由来trans型プレニルトランスフェラーゼの酵素機能解析
3. 学会等名	第31回イソプレノイド研究会例会講演要旨集
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	黒岩風;西野輝;廣森美樹;モンドル慶子;山口晴彦;宮城ゆき乃;山下哲;高橋征司;戸澤讓
2. 発表標題	パラゴムノキおよびグアヤール由来タンパク質によるナノディスク上へのプレニルトランスフェラーゼ活性の再構成
3. 学会等名	第31回イソプレノイド研究会例会講演要旨集
4. 発表年	2021年

1. 発表者名 開琢海;三輪幸祐;廣森美樹;和氣駿之;山下哲;戸澤謙;山口晴彦;宮城ゆき乃;岩井雅子;太田啓之;中山亨;高橋征司
2. 発表標題 無細胞翻訳系を用いた脂肪滴への外来酵素導入によるイソプレノイドポリマー生産
3. 学会等名 第31回イソプレノイド研究会例会講演要旨集
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Seiji Takahashi
2. 発表標題 In vitro synthesis of natural rubber by recombinant enzymes introduced on rubber particles
3. 学会等名 Association for the Advancement of Industrial Crops (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ポリイソプレノイドの製造方法、ベクター、形質転換植物、空気入りタイヤの製造方法及びゴム製品の製造方法	発明者 山口晴彦, 井之上ゆき乃, 伏原和久, 高橋征司, 山下哲, 中	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/006637	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------