

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32661

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21868

研究課題名（和文）高温適応進化大腸菌を用いた新規高温有用物質生産系の構築

研究課題名（英文）Construction of the production system of novel useful materials by thermo-adaptive evolved *E. coli*

研究代表者

岸本 利彦（KISHIMOTO, Toshihiko）

東邦大学・理学部・教授

研究者番号：90339200

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：高温適応進化47.9℃適応大腸菌までを、バイオプラスチック合成培養を可能とした。46℃、47.4℃適応大腸菌を用いて、世界最高温度43℃でのバイオプラスチック（Polyhydroxybutyrate: PHB）の生産に成功した。汎用バイオプラスチック生産宿主であるJM109株でPHB合成酵素の機能発現に重要な高温適応進化型シャペロンGroEL/ES発現系を構築し、37-40℃でのPHB生産検討が可能な系を構築した。43℃でPHB合成可能なRalstonia属の新しい菌を同定し、全ゲノムを決定しバイオプラスチック合成酵素群phaC, A, Bを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般的な大腸菌の致死温度を超える世界最高温度43℃での大腸菌を用いたバイオプラスチック生産が可能となった。これにより、より硬度の高いバイオプラスチック生産への応用が可能となる。高温でのバイオプラスチック生産に重要なプロテオスタシス系変異が存在することが示され、この遺伝子を発現させることで、汎用宿主大腸菌を用いた高温での有用物質生産系の構築の検討が可能となった。新規バイオプラスチック生産菌を同定し、43℃以上の高温で機能可能なバイオプラスチック生産酵素遺伝子phaC, A, Bが同定された。今後、大腸菌を用いてより高温でバイオプラスチック生産が可能となる可能性が開かれた。

研究成果の概要（英文）：High-temperature-adapted evolutionary *E. coli* up to 47.9°C-adapted *E. coli* was made possible for bioplastic synthesis culture, and bioplastic (Polyhydroxybutyrate: PHB) production at 43°C, the highest temperature in the world, was successfully achieved using 46°C- and 47.4°C-adapted *E. coli*. We have constructed a high-temperature-adapted evolutionary chaperonin GroEL/ES expression system, which is important for functional expression of PHB synthase, in JM109, a general-purpose bioplastic production host, and constructed a system capable of studying PHB production at 37-40°C. We identified a novel bacterium of the genus *Ralstonia* capable of PHB synthesis at 43°C and determined its entire Genomes were determined and bioplastic synthase groups phaC, A, and B were identified.

研究分野：分子細胞進化学

キーワード：バイオプラスチック 大腸菌 高温

1. 研究開始当初の背景

細菌を用いた有用物質生産は、放線菌などによる抗生物質などの薬剤(1)や、代謝機能が改変された微生物を用いたアミノ酸発酵(2)などの生産が広く知られている。1980年台の遺伝子工学による大腸菌などを宿主とした異種遺伝子発現が可能となり、それを用いたタンパク質などの有用物質生産が行われるようになった(3)。現在でも医薬品分野などで大きな成果を生み出している。しかし、微生物の遺伝子組み換えを利用した有用物質生産では、プラスチックなどの高分子化合物生産は、低分子化合物などに比べその進展は大きくはなかった。

微生物によるプラスチック様分子の生産に関しては、1888年に微生物菌体への細胞内の脂肪様物質蓄積の報告(4)により、微生物による有機高分子合成(ポリヒドロキシアルカノエート: polyhydroxyalkanoate: PHA)の可能性が知られるようになった。1926年には、微生物がポリヒドロキシブチレート(polyhydroxybutyrate: PHB)を蓄積することが報告され、今日のバイオプラスチック原料を微生物で生産可能であることが確認された(5)。しかし当時は、これらの物質が石油で生産されるプラスチック代替素材や新素材になることは予想されていなかった。微生物を利用したバイオプラスチックなど高分子有機材料としての合成は、1990年台のイギリスでのPHAの利用が最初である。しかしそのコスト高などにより石油製プラスチックの代替にはならなかった。その後、石油枯渇やCO₂排出などの環境問題、プラスチックごみの環境問題など持続可能社会への取り組みなどから、近年、微生物を用いたバイオプラスチック合成への期待は高まっている。

微生物によるバイオプラスチック生産は、バイオマスなどからの合成検討が可能で、環境へのCO₂負荷の小さい生産系として注目されている。また、近年の海洋プラスチックゴミ問題などの解決策として生分解性プラスチックが注目されており、生分解性プラスチックの代表格であるバイオプラスチックは、日本でも国家プロジェクトレベルでその生産技術の開発に取り組んできている。微生物のバイオプラスチック生産においては、*Ralstonia eutropha*(現 *Cupriavidus necator*)がPHB高生産株として知られており(6)、この株の育種や、*Ralstonia eutropha*由来のPHB合成酵素群の分子進化によるポリ乳酸などの新規バイオプラスチック合成など、新しい高機能プラスチック合成の試みが、近年なされている(7)。しかし、*Ralstonia eutropha*などのバイオプラスチック生産菌はその培養条件などの制限などもあり、バイオプラスチック生産菌由来のプラスチック合成酵素遺伝子群(phaC, A, Bなど)を大腸菌に導入した、遺伝子組み換えによる(高機能)バイオプラスチック生産が期待されている。

高機能バイオプラスチックに関しては、透明度、硬度、柔軟性などの新しい機能が注目されている。その際に、微生物菌体内で合成されるバイオプラスチックの硬さがその生産性に影響していると考えられる。高温では合成されるプラスチック分子の柔軟性が上昇し、合成酵素のアクセシビリティなどに影響すると考えられている。このため、新しいバイオプラスチック生産の可能性を広げるためには、高温での生産系を構築することが重要と考えられている。

PHB高生産菌 *Ralstonia eutropha* によるPHB生産は、30℃付近で最も効率が良く、それ以上の温度ではプラスチック合成効率が著しく低下する。大腸菌に *Ralstonia eutropha* 由来のプラスチック合成酵素遺伝子群(phaC, A, B)を導入してバイオプラスチックを生産させる場合も30℃が最適温度であることから、プラスチック合成酵素遺伝子群の活性の温度依存性が大きな影響を与えていると考えられていた。このため、大腸菌を用いた高温でのバイオプラスチック生産の検討は、本テーマ申請当時ほとんどなされていなかった。

大腸菌は遺伝子組換え宿主として最も広く用いられている。しかし、異種遺伝子を発現させると、その多くは細胞内環境の違いや高発現誘導のため不溶化タンパク質となる。このため、不溶化させない仕組みを組込んだ大腸菌が市販されているが、その効果は不十分である。また有用物質生産では、反応温度が律速となる場合が多く、より高温での物質生産反応の場合、即ち高温での物質生産可能な宿主が望まれている。以上の点から、異種遺伝子をより可溶化して発現でき、かつ高温で有用物質生産が可能な宿主大腸菌の構築が望まれていた。

我々は生物の適応進化メカニズムの解明を目指し、15年以上にわたり大腸菌の高温適応進化を行い、現在までに最高増殖温度48℃以上、シャペロニンの高発現、高機能化、耐熱化が生じており、ストレスや異常タンパク質発現などの細胞内タンパク質の不溶化が起こりやすい条件で、タンパク質の可溶化が亢進する。また、高温適応進化に伴い、巨大化し大きな細胞質体積を有する。この高温適応進化大腸菌は、細胞内タンパク質恒常性(プロテオスタシス)の安定化に重要な変異が、多数蓄積していることが判明している。これらの性質は、この大腸菌を用いて「多様な異種遺伝子を細胞内で可溶性タンパク質として発現させ、高温で有用物質を大量に生産する」という、これまでにない物質生産系構築の可能性を強く示唆していた。

2. 研究の目的

有用物質の多くは、石油等の化石資源から化学合成されている。しかし、有限資源の大量消費、危険な合成プロセス、汚染物質の排出など環境負荷が大きいため、化石資源に頼らない有用物質生産が切望されている。微生物を用いた有用物質生産は、生物由来原料を用いる物質循環型生産であり、環境負荷が小さく持続可能な物質生産が見込める。また、代謝系を組み込んだ細胞を生

産工場とするため、原材料の自由度が高く複雑な物質生産が可能である。しかし生産条件が温度などの生育条件に制限され、合成可能な物質に限りがある。このため、新しい有用物質生産が可能な宿主微生物の開発が必須である。本申請では、宿主として高温適応進化大腸菌に着目し(8) バイオプラスチック生産系の開発を目的とした。具体的には、1) 高温でのバイオプラスチック生産可能な宿主大腸菌の構築、2)高温での異種遺伝子群の発現最適化、3) 高温での異種遺伝子群発現によるバイオプラスチック生産系の検討を行った。

3. 研究の方法

1) 高温でのバイオプラスチック生産可能な宿主大腸菌の構築

高温適応進化培養

高温で安定増殖可能な大腸菌の構築のため、高温適応進化系(岸本ら)を用いた最少培地 mM63 を用いた対数増殖を維持した進化培養をおこなった。大腸菌株は、DH1 (*leuB:gfpuv5-kmr*)およびその高温適応進化株を用いた。

LB 培地馴化培養

バイオプラスチック生産のためには、培地中のグルコースをプラスチック生産原料とする必要があるため、高温適応進化大腸菌の LB 培地馴化培養を行なった。46 以上適応大腸菌は、mM63 100%から、mM63:LB=1:0 0.25:0.75 0.5:0.5 0.75:0.25 0:1 の順で馴化培養を行い、最終的に LB100%で増殖可能な高温適応進化大腸菌を得るまで馴化を続けた。

形質転換およびキュアリング

高温適応進化大腸菌へのバイオプラスチック合成遺伝子発現ベクター (pGEM-*phaC,A,B* および pGEX-*phaC,A,B*)は、エレクトロポレーションで行なった。エレクトロポレーション後のコロニーでバイオプラスチック合成の検討後、プラスチック合成可能なコロニーに関して、抗生物質(Amp)を抜いたLB培地で1週間以上継代培養し、LB-Kmプレートでコロニーを形成させた。コロニーをLB-KM, AmpプレートとLB-Kmプレートにレプリカし、LB-Kmプレートで増殖しLB-KM, Ampプレートで増殖しないコロニーをキュアリング株として選択した。

2)高温での異種遺伝子群の発現最適化

プラスチック合成遺伝子発現誘導型ベクターpGEX-*phaC,A,B* の構築

pGEM-*phaC,A,B* を鋳型として、プライマーpGEX-*pha C for* : CAGGAAACAGTATTCA-TGGCGACCGGCAAAGGCGCGGCA、pGEX-*pha B rev* : GAGGCAGATCGTCAGTC-AGCCCATATGCAGGCCGCGGTT を用いて *phaC,A,B* 遺伝子カセットを PCR で増幅した。同時に pGEX-4T1 を鋳型として、プライマーpGEX *for* : CTGACGATCTGCCTCGCGCGTTTC、pGEX *rev* : GAATACTGTTTCCTGTGTGAAATTG を用いてリニア pGEX-4T1DNA を調整した。*phaC,A,B* 遺伝子カセットとリニア pGEX-4T1DNA を用いて Infusion システム(Takara)によりクローニングを行い、pGEX-*phaC,A,B* を構築した。

3)高温での異種遺伝子群発現による有用物質(バイオプラスチック)生産系の検討

PHB 合成培養 PHB 合成は、2% グルコース添加 LB 培地で行なった。適宜抗生物質を添加した。

4. 研究成果

1) 宿主大腸菌の高温適応進化

高温でのプラスチック生産のためには、菌の高温適応進化を目的とする高温での増殖が可能な大腸菌を構築する必要がある。本研究開始までに12年以上かけて高温適応進化した大腸菌を用いて高温でのバイオプラスチック生産を検討するが、さらなる高温でのバイオプラスチック生産検討が可能なように、本研究でも大腸菌の高温適応進化を続けた。

その結果、高温適応進化を実施した2系統で安定した最高増殖可能温度が48.1 以上に進化し、その中でも第2系統の48.1 適応株は、増殖至適温度45 以上であり、高温菌の要件を満たすことが確認された。

この大腸菌の安定増殖可能温度は、現在報告されている中で最高温度であり、高温菌の要件を満たした第2系統に関しては、実験室進化で種を超える進化を確認できた初めての例となった。

2) 高温適応進化大腸菌のバイオプラスチック生産宿主に向けた馴化

高温適応進化大腸菌は、進化過程で最大限の遺伝子が機能する状態で進化が起こるように、最少培地(mM63)を用いてきた。ところが、本研究でまず検討するPHBの生産は、細胞内のAcetyl-CoAがその原料である(図1)。

このため、グルコースを生存・増殖のための炭素源としてではなく、バイオプラスチック原料として利用可能な大腸菌と培養条件を使用する必要があることが必要であった。本研究では、PHB生産検討においては、従来のPHB合成研究に倣って2% glucose 添加LB培地を使用した。

そこで、まず初めに高温適応進化大腸菌がLB培地で増殖可能かを検討した。45、46.0、47.3、47.9 適応株をLB培地で培養したが、45 適応株以外は、LB培地で適応温度での増殖ができなかった。そこで、mM63 100%での培養から、継代時に mM63:LB=1:0 0.25:0.75

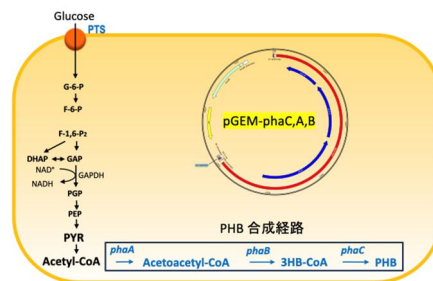


図1 大腸菌でのPHB生産経路

0.5:0.5 0.75:0.25 0:1 の順で LB 培地の濃度を上げてゆく馴化培養を行い、最終的に LB100% で増殖可能な高温適応進化大腸菌を得るまで馴化を続けた。その結果、46.0 , 47.3 , 47.9 適応第 1 系統株、46.0 , 47.4 , 47.9 適応第 2 系統株の計 6 株で LB 適応株を確立することに成功した。長期間 mM63 培地で培養を続けてきた高温適応進化大腸菌が、LB 培地で増殖できなかった理由としては、大腸菌が進化によりグルコース依存的な増殖様式になっていることが考えられた。しかし、最終的にグルコースの存在しない LB 培地で高温での安定増殖可能な大腸菌が得られたため、この大腸菌を用いて高温でのバイオプラスチック生産の検討を実施した。

3) 高温環境でのバイオプラスチック生産の検討

上述の検討で、LB 培地単独で高温での培養可能な大腸菌の樹立に成功した。そこで、これまでに大腸菌での PHB 生産に成功している *Ralstonia eutropha* 由来の PHB 合成酵素群 *phaC*, *A*, *B* を組み込んだ *pGEM-phaC*, *A*, *B* を用いて、高温適応大腸菌での PHB 生産を検討した。

まず、*pGEM-phaC*, *A*, *B* の形質転換をおこなった。*phaC*, *A*, *B* によるバイオプラスチック生産のコントロールとなる JM109 では、用いたプラスミドに相応な形質転換体を得られた。しかし高温適応進化大腸菌では、45 適応株、46 適応株 (第 1 系統) では形質転換体を得られず、46 適応株 (第 2 系統) 47.3 適応株 (第 1 系統) 47.4 適応株 (第 2 系統) でわずかな形質転換体を得られた。また、高温適応進化の先祖株となる Anc 株 (DH1 由来) では、JM109 の 1/10 以下であるが形質転換体を得られた。これらの形質転換体でバイオプラスチック生産の確認を実施した。

・ *pGEM-phaC*, *A*, *B* を用いたバイオプラスチック生産

バイオプラスチック生産条件として、2% glucose 添加 LB 培地を用いた。培養温度は、大腸菌でのバイオプラスチック生産温度 30 、通常の大腸菌至適増殖温度 37 、高温適応大腸菌 (46 適応株以上) の至適増殖温度帯から 43 を用いた。43 は、一般的な大腸菌の致死温度であり、43 でバイオプラスチック合成が可能であると、大腸菌を用いた最高温度でのバイオプラスチック生産温度となる。

検討の結果、コントロールの JM109 以外では、高温適応大腸菌で、46.0 適応株 (第 2 系統) の 43 培養でのみ、ガスクロマトグラフィーによる PHB 生産が確認された。この結果は、世界最高温度での大腸菌を用いたバイオプラスチック生産に成功したことを示している。興味深いことに Anc 株ではバイオプラスチック合成が確認できなかった。これより、46.0 適応株 (第 2 系統) に進化する過程で 43 での PHB 生産可能な変化を遂げた可能性が強く示唆された。

上記の検討により、高温適応進化大腸菌で *pGEM-phaC*, *A*, *B* を用いて 43 でグルコースから PHB 生産が可能であることが示された。しかし高温適応進化大腸菌は *pGEM-phaC*, *A*, *B* の形質転換効率が非常に悪いことが判明した。その原因として、*pGEM-phaC*, *A*, *B* が *phaC*, *A*, *B* を恒常的に発現することによる細胞毒性、高温適応進化大腸菌の形質転換効率が悪い、の二つが考えられた。そこで、*pGEM-phaC*, *A*, *B* で形質転換された 46.0 適応株 (第 2 系統) 47.4 適応株 (第 2 系統) について、*pGEM-phaC*, *A*, *B* をキュアリングした株を取得することで、*pGEM-phaC*, *A*, *B* 形質転換の耐性が高い株が得られる可能性を検討した。その結果、46.0 適応株 (第 2 系統) 47.4 適応株 (第 2 系統) のキュアリング株を得ることに成功した。

さらに、*pGEM-phaC*, *A*, *B* で恒常的に *phaC*, *A*, *B* が発現する細胞毒性に関して、*phaC*, *A*, *B* を誘導発現可能なベクター (*pGEX-4T1*) に移植し、形質転換、PHB 生産を検討することとし、*pGEX-phaC*, *A*, *B* を構築した。*pGEM-phaC*, *A*, *B*、*pGEX-phaC*, *A*, *B* を用いて、47.4 適応株 (第 2 系統) および 47.4 適応株 (第 2 系統) キュアリング株に形質転換をおこなった。その結果、*pGEM-phaC*, *A*, *B* では、形質転換 4 回中 3 回で形質転換体を得られなかった。一方、*pGEX-phaC*, *A*, *B* では、安定して数百個の形質転換体を得ることができた。この結果より、高温適応進化大腸菌では、*phaC*, *A*, *B* の発現が形質転換に大きな影響を与えることが示唆された。

次に新たに構築した *pGEX-phaC*, *A*, *B* を用いて、47.4 適応株 (第 2 系統) および 47.4 適応株 (第 2 系統) キュアリング株での PHB 生産を検討した。その結果、47.4 適応株 (第 2 系統) キュアリング株で 43 での PHB 生産を確認できた (図 2)。キュアリング前の 47.4 適応株 (第 2 系統) では、30 での PHB 生産を確認できた。この結果は、高温適応進化大腸菌 (第 2 系統) では、PHB 生産が可能であること、47.4 適応大腸菌ではキュアリングサイクルを取り入れることで *phaC*, *A*, *B* 発現耐性の高い大腸菌が選択され、より効率的に PHB 生産が可能大腸菌が得られたことが示唆された。

上記の通り、高温適応進化大腸菌を用いて 43 で PHB 生産可能な大腸菌を得ることに成功した。また Anc 株では 30 でも PHB 生産が確認できなかったことから、高温適応進化の過程で、*phaC*, *A*, *B* が機能できる状況となった可能性が高い。*phaC*, *A*, *B* の中では、PHB 重合酵素である *phaC* が 30 での機能律速となっていることが示唆されている。今回高温で PHB 生産ができたことは、43 で *phaC* が機能したことを示しており、高温で不安定な異種遺伝子 (*phaC*, *A*, *B*) が高温適応進化大腸菌では、43 で折り畳まれ機能したと考えられる。このことは、高温適応進化でタンパク質恒常性を維持しているプロテオスタシス系が大きく変化していることと整合する。

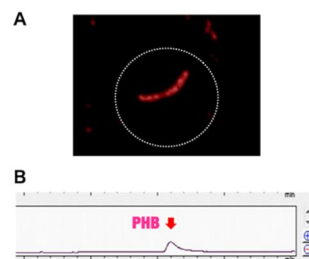


図2 高温適応進化大腸菌を用いたPHB生産

A: PHB 生産高温適応大腸菌 (47.4°C 適応株 (第 2 系統)) のナイルレッド染色像
明るい粒がバイオプラスチック
B: PHB 生産高温適応大腸菌 (47.4°C 適応株 (第 2 系統)) の
ガスクロマトグラフィーによる PHB 生産分析

しかし、PHB 生産効率の点では、JM109 など通常の大腸菌には及ばない。その理由として、高温適応進化の過程で増殖のグルコース依存性が亢進しているため、LB 培地での培養を可能とした株でも、やはりグルコースが増殖に一部用いられ PHB 生産に利用されるグルコースに限界があることが考えられた。そのため、高温適応大腸菌の遺伝子発現状態を RNAseq 解析で知り、PHB などのバイオプラスチック生産への大腸菌代謝系改変の基礎データを取得することとし、今回検討に用いた高温適応大腸菌の RNAseq までを完了した。

一方で、高温で phaC, A, B を機能させられるコンポーネントとして、高温適応進化大腸菌の変異型 GroEL/ES シャペロニンを用いて、通常の PHB 生産に使用されている大腸菌 (JM109 など) で 30 より高温での PHB 生産の可能性を検討することとした。

4) 高温適応進化大腸菌の変異型シャペロニンを用いたバイオプラスチック合成検討

Anc 株ゲノム解析の結果、JM109 株と必須遺伝子の配列の違いを確認した。その結果、必須遺伝子の中で異種遺伝子機能発現に関わると考えられる違いは、プロテオスタシス系での必須遺伝子 GroEL 遺伝子の 1 箇所だけであった。この違いは、126 番目のアミノ酸 (Anc 株: Valine, JM109: Alanine) であった。興味深いことに、43 での PHB 生産に成功した 46 適応株 (第 2 系統) では、126 番目のアミノ酸は JM109 と同じ Alanine に変異していた。

また、高温適応進化大腸菌では、GroEL 遺伝子が中心的な役割を果たしているプロテオスタシス系が大きく変化し、高温でのタンパク質不溶化を防止し、タンパク質の折りたたみが向上している可能性が示唆されている。

そこで、高温適応進化で 3 箇所 (蓄積順に D41N, V126A, G9A) に変異が蓄積し、phaC, A, B の折りたたみに関与していると考えられるシャペロニン GroEL/ES に着目し、Anc 株のシャペロニン GroEL/ES を野生型として、変異を 1~3 種類持つ変異型 GroEL/ES、計 4 種類の発現系 (pGEX-GroEL/ES) を構築した。GroEL/ES の安定発現に必要な IPTG 濃度を 0.05mM に決定し、各種 GroEL/ES を発現させた Anc 株で GroEL/ES の高温での細胞増殖に与える影響を検討したところ、GroEL/ES に蓄積される変異が多くなるにつれ、高温での増殖が安定化することが判明した。次に、4 種類の GroEL/ES 発現ベクターを JM109 に導入し 30、37、40 での PHB 合成を検討した。その結果、ナイルレッド染色レベルであるが、D41N, V126A 変異を有する GroEL/ES 発現 JM109 で 37、40 での PHB 合成を示唆する染色顆粒が観察された。今後、ガスクロマトグラフィーによる PHB の同定が必要であるが、高温適応進化大腸菌の高温での phaC, A, B 機能発現機構を他の PHB 合成に適した大腸菌に移植できる可能性があることが示された。

5) 新規プラスチック合成ラリストニア属細菌の同定と全ゲノム解析

47.4 適応株 (第 2 系統) での PHB 生産検討の培養中に、明かに大腸菌より小さい微生物の増殖するサンプルがあり、そのサンプルで 43 培養グルコース添加 LB 培地において PHB 様のナイルレッド染色顆粒が多数見られた。そこで、新しい微生物に 43 でグルコースから PHB を生産可能な酵素が存在する可能性があると考え、この菌を単離し、ゲノム解析を行った。

その結果、16s rRNA 配列から、この菌は Ralstonia 属の新種であり、大小 2 つのゲノムを持つこと、phaC, A, B 遺伝子も持つことが明らかとなった。この phaC, A, B は、43 で機能する Ralstonia eutropha に近いものである可能性があり、今後、高温での PHB 生産、高機能バイオプラスチック生産に向けた良い素材となる可能性がある。

参考文献

- (1) Hall, M. J. Microbial product discovery un the biotech age, *Bio/Technology*, 7, 427-430 (1989)
- (2) Aida, K., Chibata, K., Nakayama, K., and Esaki, N.(eds) Biotechnology of amino acid production, 24, *Progress in Industrial Microbiology* (1986)
- (3) Datar, R.V., Cartwright, T. and Rosen, C.-G., Process economics of animal cell and bacterial fermentations: A case study analysis of tissue plasminogen activator, *Bio/Technology*, 11, 349-357 (1993)
- (4) Beijerinck, M.W., Die Bakterien der Papilionaceenknöllchen., *Bot. Ztg.*, 46, 726-804 (1888)
- (5) Lemoigne, M., Produit de deshydratation et de polymerisation de l'acide β -oxybutyrique, *Bull. Soc. Chem. Biol.*, 8, 770 (1926)
- (6) 佐藤 俊輔, 有川 尚志, 小林 新吾, 藤木 哲也, 松本 圭司, 微生物による生分解性ポリマー PHBH 製造法の開発, *生物工学会誌*, 97, 66-74 (2019)
- (7) Kageyama, Y., Tomita, H., Isono, T., Satoh, T. and Matsumoto, K., Artificial polyhydroxyalkanoate poly[2-hydroxybutyrate-block-3-hydroxybutyrate] elastomer-like material, *Sci Rep*, 11, 22446 (2021)
- (8) T. Kishimoto, L. Iijima, M. Tatsumi, N. Ono, A. Oyake, T. Hashimoto, M. Matsuo, M. Okubo, S. Suzuki, K. Mori, A. Kashiwagi, C. Furusawa, Bei-Wen Ying, T. Yomo, Transition from positive to neutral in mutation fixation along with continuing rising fitness in thermal adaptive evolution, *PLoS Genetics*, 6 (10), e1001164 (2010)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2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 岸本利彦	4. 巻 75
2. 論文標題 大腸菌を用いた長期実験進化への挑戦 -ストレスを受け入れ生き延びる方法の探求-	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 生産と技術	6. 最初と最後の頁 35-37
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 Ezema, C. A. Ooi, T. Matsumoto, K.	4. 巻 2
2. 論文標題 Heat-Press Technique for Coating Ammonium Nitrate Granules with Biodegradable Hydrophobic Polymer Blend of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) and Poly(epsilon-caprolactone)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acs Agricultural Science & Technology	6. 最初と最後の頁 1179-1186
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsagscitech.2c00061	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 Arai, S. Sakakibara, S. Mareschal, R. Ooi, T. Zinn, M. Matsumoto, K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Biosynthesis of Random-Homo Block Copolymer Poly[Glycolate-ran-3-Hydroxybutyrate (3HB)]-b-Poly(3HB) Using Sequence-Regulating Chimeric Polyhydroxyalkanoate Synthase in Escherichia coli	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	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） 10.3389/fbioe.2020.612991	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 Hori, C. Sugiyama, T. Watanabe, K. Sun, J. Kamada, Y. Ooi, T. Isono, T. Satoh, T. Sato, S. Taguchi, S. Matsumoto, K.	4. 巻 179
2. 論文標題 Isolation of poly[D-lactate (LA)-co-3-hydroxybutyrate]-degrading bacteria from soil and characterization of D-LA homo-oligomer degradation by the isolated strains	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Polymer Degradation and Stability	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） 10.1016/j.polymdegradstab.2020.109231	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13件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 穂積侑伽, 富田宏矢, 荒井修造, 榊原早也果, MARESCHAL Robin, 大井俊彦, ZINN Manfred, 松本謙一郎
2. 発表標題 配列制御型酵素を用いたグリコール酸含有ポリヒドロキシアルカン酸の生合成
3. 学会等名 第73回日本生物工学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤原悠暉, 齋藤樹理, 永田暁洋, 大潟祥梧, 二宮太樹, 谷口遼, 松本直己, 堀千明, 大井俊彦, 蘆田弘樹, 松本謙一郎
2. 発表標題 RuBisCO経路を利用した組換え大腸菌によるポリヒドロキシアルカン酸の合成とRuBisCO評価系への応用
3. 学会等名 日本農芸化学会大会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岸本利彦, 松尾萌, 河野暢明, 田村 武幸
2. 発表標題 大腸菌高温適応進化とその生き残り戦略
3. 学会等名 第1回総合微生物学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 外山弘恵, 松尾萌, 小西隆介, 菅野暢, 加瀬遥菜, 鈴木裕茄, 山内長承, 河野暢明, 岸本利彦
2. 発表標題 大腸菌の高温適応進化におけるプロテオスタシス系のネットワーク変化解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岸本利彦
2. 発表標題 大腸菌の高温適応進化から見える生命の生き残り戦略
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西広翔, 山内長承, 木所恵利佳, 菅野暢, 小西隆介, 松尾萌, 古倉健嗣, 岸本利彦
2. 発表標題 大腸菌の高温進化における特性解析
3. 学会等名 第23回日本進化学会年大会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西広翔, 菅野暢, 小西隆介, 松尾萌, 古倉健嗣, 山内長承, 岸本利彦
2. 発表標題 大腸菌高温適応進化過程における進化の変遷
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西広翔, 木所恵利佳, 菅野暢, 小西隆介, 松尾萌, 古倉健嗣, 山内長承, 岸本利彦
2. 発表標題 高温適応進化大腸菌の特性解析
3. 学会等名 第22回日本進化学会年大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小西隆介、西広 翔、菅野 暢、松尾萌、古倉健嗣、山内長承、岸本利彦
2. 発表標題 大腸菌の高温適応進化とシャペロニンGroELの進化の相関
3. 学会等名 第22回日本進化学会年大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菅野暢、西広翔、小西隆介、松尾萌、古倉健嗣、山内長承、岸本利彦
2. 発表標題 高温適応進化大腸菌におけるProteostasisの変異機能解析
3. 学会等名 第22回日本進化学会年大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小西隆介、菅野 暢、西広 翔、松尾 萌、古倉健嗣、山内長承、岸本利彦
2. 発表標題 大腸菌の高温適応進化とシャペロニンGroELの進化の相関
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菅野暢、山本椰香、西広翔、小西隆介、松尾萌、古倉健嗣、山内長承、岸本利彦
2. 発表標題 高温適応進化大腸菌におけるProteostasisの変異機能解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西広翔、木所恵利佳、小西隆介、菅野暢、松尾萌、古倉健嗣、山内長承、岸本利彦
2. 発表標題 高温適応進化大腸菌の適応戦略
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

科研費成果紹介 東邦大学理学部生物分子科学科 岸本利彦 https://www.youtube.com/watch?v=q7KeL0Srt2k
--

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	大井 俊彦 (001 Toshihiko) (40223713)	北海道大学・工学研究院・准教授 (10101)	

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
---------	---------