

令和 6 年 9 月 24 日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01721

研究課題名（和文）酵素安定化の可視化機構を利用した生合成工学・宿主工学技術の開発

研究課題名（英文）Evolutionary Engineering of pathways and host cells using novel biosensors

研究代表者

梅野 太輔（Umeno, Daisuke）

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：00400812

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：ランダム変異導入による「適度な」不安定化によって、任意の酵素をバイオセンサの素子にすることができる。本研究では、この方法で作出したバイオセンサーをつかった酵素・生合成・宿主の改良技術を完成させるとともに、複数の酵素・タンパク質を融合し、Ligand-induced foldingという現象をトリガーとした、融合パートナー間のプロテオミックな相互制御機構の付与にも成功した。さらには、Ligand-induced foldingという作動原理を経ることが、センサー機能の進化を加速することも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、「Ligand-induced folding」という現象が、ランダム変異の蓄積によって、酵素を含むあらゆるタンパク質に頻出する現象であることを改めて示すと同時に、これが代謝工学や宿主工学、そして酵素工学のための有効なスクリーニングツールを提供できることを明確に示すことができた。また、自然界で起きているタンパク質の機能進化において、これまで見過ごされてきた要素を提示するとともに、より複雑なタンパク質の協働機能の設計学、Protein Computingやタンパク質機能への制御機構の埋め込み技術としての新しい可能性を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：We recently found that almost any enzyme can become biosensor component by moderately destabilized through random mutations. In this study, we have developed the technology to improve enzymes, biosynthetic pathways, and microbial hosts using biosensors. Also we have also succeeded in fusing multiple enzymes in the ways where fusion partners are mutual regulating to each other. Furthermore, we have demonstrated that temporary becoming ligand-induced folder allows protein biosensors to rapidly access to the novel sensor functions.

研究分野：バイオプロセス

キーワード：進化工学 合成生物学 バイオセンサー タンパク質 フォールディング 安定化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

微生物細胞は、炭素・窒素固定やバイオマスの糖化、有価物質の全合成、健康診断・治療、環境監視や浄化など、さまざまな機能を「マイクロンの袋の中に不足なく格納した万能のマイクロマシン」である。これらを高度に遺伝子レベルで分子「プログラミング」堅牢かつ高効率に運転するためには、「増殖するフラスコ」としての微生物内部の状態を非破壊、リアルタイム、かつ細胞レベルでモニタリングすることが肝要である。任意の代謝物の変動を監視し、変異や環境変化に応じておこる内部状態の変動をハイスループットに把握できれば、細胞のデジタル育種や高度利用が飛躍的に加速すると期待される。

自然界のバイオセンサは、標的分子との結合に伴い構造を変化させ、これが機能部位の性能調節をもたらす。この「アロステリシティ」の自在なデザインは未だタンパク質工学者にとって、難問中の難問のひとつである。一方で、標的分子との結合によって例外なくもたらされる「見えない」変化が、じつはひとつだけある。それは、親和性に応じた系の安定化 ( $\Delta G_{\text{BIND}} = RT \ln K_d \sim RT \ln K_M$ ) である。我々は、この ligand-induced stabilization という現象に着目し、その安定化効果の「見える化」技術を開発した (研究番号 18H01791: ランダム変異蓄積によるスイッチ機能の創発と高度化)。ここでは、(1) ランダム変異導入による「適度な」不安定化によって、任意の酵素を、基質結合がなければフォールディングできないよう作り変えられること、(2) これに転写因子を連結すると、その酵素の基質メタボライトに対する選択的なバイオセンサ系 (図 1a) が驚くほど簡単に構築できることを示した。本手法は、構造変化デザイン (アロステリシティデザイン) を必要としないため、極端に短い工期で、いくつものセンサを同時につくれる。また、その安定化の度合い ( $\Delta G_{\text{BIND}}$ ) は結合親和性の対数 ( $\ln K$ ) に比例するため、高親和性 ( $K_D \sim 1 \text{ nM}$ ;  $\Delta G_{\text{BIND}} \sim 50 \text{ kJ/mol}$ ) から低親和性 ( $K_D \sim 1 \text{ mM}$ ;  $\Delta G_{\text{BIND}} \sim 10 \text{ kJ/mol}$ ) のものまで、代謝マップに乗っている代謝物なら (それを基質とする酵素があるなら)、およそどんな代謝物もセンシング可能である。本研究では、この技術をさらに深化させ、さまざまな有用なバイオセンサーを開発するとともに、それを利用した生合成経路や酵素・タンパク質の育種、宿主開発などに応用するための道筋をつけることを目的とした。

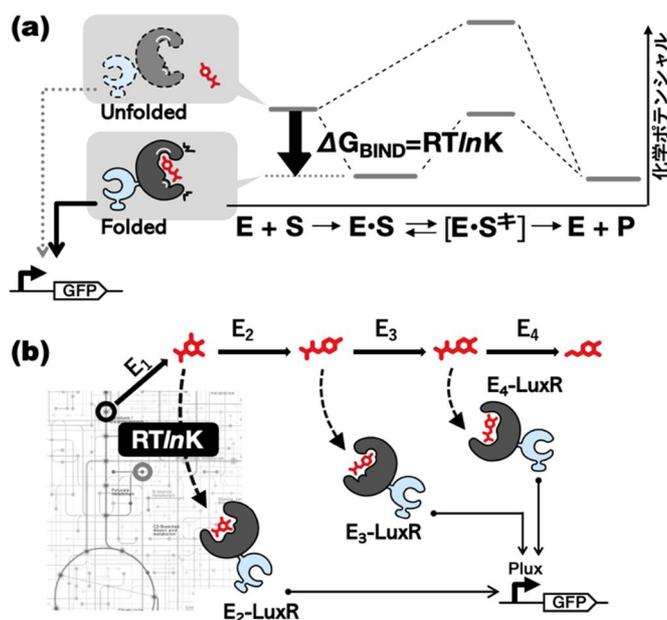


図 1. 酵素の安定化を指標とした生合成中間体の網羅的センシング技術

### 2. 研究の目的

どんな酵素でもセンサ素子化できるのであれば、生合成経路に関わる全ての中間体を「見える化」できる可能性が出てくる。代謝工学に資する様々な中間体センサーを開発し、それを巧みに利用して生合成経路あるいは酵素の改良を実現することが第一の目標である。もう一つの目標は、ただ細胞内の代謝物の検出・測定のためのツール開発からさらに一歩踏み出して、細胞外の成分の検出技術への展開を果たすこと、さらには、この Ligand-induced Folding という現象を利用して、酵素やタンパク質の機能を「その場」でオンオフする技術への展開に挑戦することである。

### 3. 研究の方法

さまざまなタンパク質（特に酵素）の遺伝子を転写因子などレポータ機能を示すことのできるタンパク質の遺伝子と in frame 融合し、プラスミドにて大腸菌（宿主）に導入した。必要に応じてその部分配列をランダム化してライブラリを調製した。転写因子各種の標的プロモータの下流に蛍光タンパク質や選抜マーカー遺伝子を配置し、その基質・リガンド応答性を評価した。

### 4. 研究成果

**(1) 転写因子型センサーのノイズキャンセリング機構の開発:** 転写因子型のバイオセンサーの欠点として、その出力が転写および翻訳リソースの変動に敏感である点が挙げられる。通常、転写因子型バイオセンサーは、標的分子との結合によって構造変化をおこし、そのオペレータ配列への結合親和性を変化させ、これがレポータ遺伝子の転写頻度の変化をひきおこす。続く翻訳過程、フォールディング過程、さらには細胞増殖による希釈過程が一定ならば信頼おける振る舞いをするが、とくに翻訳リソース（tRNA やリボソームプール）が細胞間で大きく異なるため、それが～2桁にもおよぶ出力分布となる。我々のバイオセンサーは転写因子の構造変化ではなく、標的結合に拠る安定性変化、すなわち細胞内の実効濃度の変化に翻訳することによってレポータ遺伝子の発現量を変える点で従来の転写因子と作動メカニズムは異なるが、その出力に翻訳過程が含まれる点では同じ問題を抱えている。せっかく「なんでもセンサにでき」ても、その出力が細胞生理を反映した大きなノイズを含むならば、その応用の場は大きく制限されてしまう。

そこで我々は、転写因子型バイオセンサーのためのノイズリダクションの機構を考案した。ここで応用したのは、転写干渉（transcription interference）という現象である。2つの異なる蛍光タンパク質の遺伝子を、対向する2つのプロモーターの制御下に配置する（図2）。この形式では、2つの蛍光タンパク質の転写イベントが互いに干渉（抑制）しあうため、一方の蛍光タンパク質（GFP）の転写の亢進は、もう一方の蛍光タンパク質（RFP）の転写量の低下をもたらす。そのため両者の出力強度比をとることによって、バイオセンサーとしての出力ダイナミックレンジ（あるいは Signal-to-Noise 比）を上げることができる。

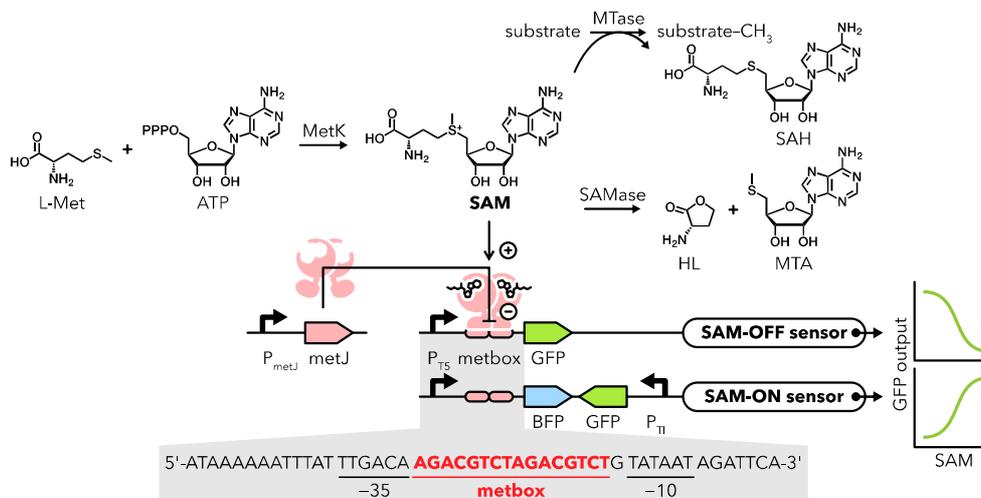


図2: 転写干渉を用いたバイオセンサーのノイズリダクション

この「比をとる」ということにはさらに重要な意義がある。それは、対向しあうレポータ遺伝子の個々の発現は細胞の翻訳リソースの変動による影響を受けるものの、両者が同じ細胞にあるため、両者（分子と分母）の変動はほぼ完全に同調することになる。結果として、その出力比はたがいにキャンセルしあい、出力は飛躍的に堅牢化する。

実際に我々は、S-アデノシルメチオニン（SAM）のレベルを反映して遺伝子転写をオン・オフできる転写スイッチ系を構築した。SAMは細胞の主たるメチル化源であるため、その濃度の変動は宿主の生理状態に大きな影響を与え、デフォルト状態からのSAM濃度のずれは、細胞の翻訳リソースの大きな変動源となる。我々は、SAM誘導性リプレッサーの制御下にGFPを、それと対向するプロモータの下流にRFPを配置し、細胞内のSAM濃度を変動させながら、その蛍光変化を測定した。はたして、RFP/GFPとGFP/RFPのいずれをとっても、RFP、GFPの単独出力をモニタリングするよりもはるかに変動係数が低く、そして高い出力ダイナミックレンジを与えることがわかった。この原理は、我々の追求する ligand-induced folding という作動原理のみならず、アロステリック型を含めてすべての転写因子型センサー・制御装置に適用できる普遍的

なノイズキャンセリング技術になり得る。センサー・遺伝子制御系に本原理が使われることによって、さまざまなセンサーや遺伝子回路の動作安定化が実現するものと期待される。

**(2) バイオセンサーを使った酵素改良:** ある酵素の生産物に対して特異的なセンサーが構成できれば、その活性のスクリーニングが可能となるため、進化工学の標的とすることができる。本研究では、任意性高くさまざまな酵素を入力装置(分子検出装置)として利用することができるため、その酵素が基質とする代謝物を産する酵素改良が可能となるはずである。本研究では、以下2つの酵素工学への応用を達成した。

改良型 DOXP 合成酵素(dxs)の開発: イソプレノイド・テルペノイドの微生物生産において、その前駆体の供給経路の育種努力がなされてきた。とくに大腸菌などが持つ非メバロン酸経路は、真核生物が持つメバロン酸経路と比べて、25年間のあいだほとんど生産性の向上が果たされてこなかった。我々は、その生産物である DOXP を基質とする次のステップの酵素、DOXP レダクトイソメラーゼ(DXR)を転写因子 LuxR に in-frame 融合した。2ラウンドの進化工学によって安定性チューニングしたところ、性能はよくないが Dxs の過剰発現にわずかに応答するセンサーが得られた。そこで dxs 遺伝子全域にランダム変異を導入し、この Dxr-LuxR センサーを発現する大腸菌株に導入した。LuxR 制御下に配置した GFP の蛍光がとくに高いコロニーの中から、複数の高活性な dxs 変異体を得た。これら dxs 変異体の発現は、カロテノイドやモノテルペン生産量をそれぞれで10倍近く向上させる効果があることが明らかになった。

SAM 合成酵素の改良: モルヒネをはじめ様々な有価物質の生合成に欠かせないメチル化源である SAM の供給力を高めることは、それらの微生物生産系を開発する上では非常に重要である。そこで、宿主の SAM 合成酵素の機能改良を目指した。SAM 合成酵素の構造遺伝子全域に error-prone PCR によってランダム変異を導入してライブラリを作製した。このライブラリを、上述の転写干渉によって高性能化された SAM バイオセンサーとともに、細胞に導入した。とくに蛍光値が野生型と異なるクローンを単離したところ、はたして、その中から、わずかながら確実に SAM 供給力の向上した SAM 合成酵素変異体を得られた。

以上、生合成経路の中間体や重要代謝物のセンサーを構成しさえすれば、そのセンサーの出力を羅針盤とした生合成工学・酵素工学が可能であることを明らかにすることができた。

**(3) 酵素/タンパク質の「相互制御」の創発技術:** 合成生物学分野では、誘導型の転写因子を多用して細胞内の蛋白質機能のオン・オフ制御をすることが多い。この20年、そのパーツのラインナップと性能の改良によって、細胞操作の自由度は飛躍的に向上した。しかしこの「発現調節」にはいくつかの欠点がある。ひとつには、命令入力から出力までに、蛋白質機能の発現(出力)までに検知→オペレータの状態変化→転写開始頻度の変更→翻訳量の変更→機能構造をもつタンパク質実効濃度の変化、という多段階のプロセスを経るため、その応答に相当(数分以上)の遅延が生じる点である。もう一つには、それぞれの素過程は純粋な多成分の相互作用に依存する分子協働であるため、増殖(体積変化)や代謝変動による細胞内の要素濃度の変化によってその振る舞いは大きな影響を受ける。ある状況で正しく動作していたシステムも、細胞の種類や環境を変えたと動作不良を起こしてしまう。

この問題を軽減するためには、細胞内で働く酵素や蛋白質が労働環境の変化を自ら感知し、その性能(スペック)を自律的に変更できることが望ましい。デバイスとしての振る舞いの決定因子から「濃度項」をへらすことによって、より堅牢、かつ遷移時間の短い制御が可能となる。我々は、この「Protein Computing」ともいえる制御埋め込み技術のひとつの動作原理として、本研究で注目する Ligand-induced Stabilization という現象を利用して、遺伝子レベルで融合した2つのタンパク質にプロテオミックな相互制御関もたせる技術の開発を目指した。具体的には、一方のタンパク質 A をもう一方のタンパク質 B のループ部に in-frame 挿入し、ランダム変異を導入する。低分子リガンド(酵素であれば基質)との相互作用によってタンパク質 B が安定化すると、融合パートナータンパク質 A の機能構造の形成が許され、他方のフォールディング効率に正の影響を与えるためである。

全く機能的に無関係な2つのタンパク質、糖応答型の転写因子 AraC とアセチル転移酵素 CAT をさまざまなリンカーによってさまざまな部位で融合させたキメラを作出した。ランダム変異を与えたところ、得られた変異体集団の一部が、AraC のアンタゴニストとして知られるフコースを加えることによって、その CAT 活性を大きく変化させることがわかった。フコース添加で活性が上がるもの(Fucose-ON 型)、逆に下がるもの(Fucose-Off 型)のいずれも、数世代にあたるランダム変異導入プロセスによって、簡単にその Signal-to-noise 比を拡大してゆき、切れ味のよいスイッチとなった(図3)。この結果は、融合したタンパク質が、ランダム変異の蓄積によって極めて容易に相互制御関係を得ることを示している。なお、十分に「切れ味進化」を遂げた Fucose-ON 型 CAT、Fucose-Off 型 CAT の遺伝子全域にランダム変異を導入すると、頻繁にその逆の振る舞いをする変異体が現れることがわかった。

複数のタンパク質遺伝子が遺伝子レベルで融合し、多機能「ドメイン」型のタンパク質を構成することは、自然界でも散見される。これら「互いに繋がれたタンパク質機能」の進化は、生理学的には、協働するタンパク質どうしの時空間的な共局在を保証する効果があると認知されているが、じつは連結状態にあるタンパク質は、互いにより積極的な相互調節機能を果たしているのかもしれない。これは、タンパク質機能の外的調節技術となり得るものであり、そもそもタンパク質の高度な制御・被制御ネットワークがどのように生まれてきたのか、その来し方についても、構成的で客観的な情報をたくさんあたえてくれるものと期待される。

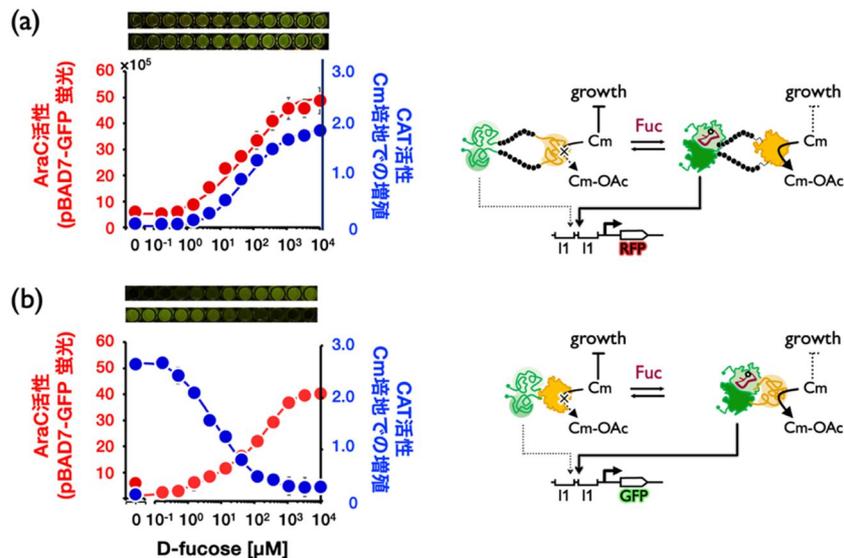


図 3. Ligand-induced folding による融合パートナー活性の(a) 正および(b) 負の制御

**(4) Ligand-induced Folding はセンサー機能の進化を加速する:**我々は、本研究で注目する「Ligand-induced folding」という原理で作動するバイオセンサーが、いわゆるアロステリック型センサーよりもはるかに高頻度に新しいセンサー機能を獲得できることを見出した。

先行研究において、アラビノース応答型転写因子 AraC のリガンド認識部位をなす 5 つの残基に変異を導入すると、サリチル酸応答センサーとして働くことが報告されている。この 5 つの残基置換「有無」の全パターン ( $2^5=32$ ) を網羅した AraC 変異体セットを用意し、そのサリチル酸センサーとしての機能を「アロステリックモード」「非アロステリックモード」の 2 つの作動原理において比較した。アロステリックセンサーではその 5 つの変異全てがなければサリチル酸応答機能は得られなかったが、非アロステリックモード (Ligand-induced folding モード) では 32 変異体の大多数がサリチル酸センサーとして機能した。つまりアロステリックセンサーにくらべて、非アロステリックな作動原理で働くセンサーの進化能は圧倒的に高いことが示された。

自然界には AraC をはじめ、高度なアロステリック機構によってセンサー機能を発現するタンパク質が数多く知られている。本研究の結果は、このアロステリック機構を損なうことなく、タンパク質は高頻度に「Ligand-induced folder」としての性質を簡単に帯びることができることを明確に示す結果となった。Ligand-induced folder はリガンド結合による安定化効果を自らの folding エネルギーに算入することによって ligand 依存的な機能スイッチングを示す。ランダム変異の蓄積によりこの特質を帯びることによって、アロステリックタンパク質は高い進化能を一時的に獲得し、新規特異性を得るのかもしれない。

**(5) 総括:** 本研究は、「Ligand-induced folding」という現象が、ランダム変異の蓄積によって、酵素を含むあらゆるタンパク質に頻出する現象であることを改めて示すとともに、これが代謝工学や宿主工学、そして酵素工学のための有効なスクリーニングツールを提供できることを明確に示すことができた。そしてこの現象によって、融合した全く無関係な 2 つのタンパク質どうしが、簡単に互いの機能を制御しあう関係を構築することをみいだした。さらには、この Ligand-induced folding という作動原理ではたらくバイオセンサーは、新しい分子への応答性を超高速に獲得できることを示した。これらは、自然界で起きているタンパク質の機能進化において、これまで見過ごされてきた要素を提示するとともに、より複雑なタンパク質の協働機能の設計学、Protein Computing やタンパク質機能への制御機構の埋め込み技術としての新しい可能性を示すことができた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kanna Sugaya, Satoshi Yasuda, Shingo Sato, Chen Sisi, Taisei Yamamoto, Daisuke Umeno, Tomoaki Matsuura, Tomohiko Hayashi, Satoshi Ogasawara, Masahiro Kinoshita, Takeshi Murata	4. 巻 31
2. 論文標題 A methodology for creating thermostabilized mutants of G-protein coupled receptors by combining statistical thermodynamics and evolutionary molecular engineering	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Protein Sci.	6. 最初と最後の頁 e4404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.4404	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 Takumi Ojima, Yusuke Otani, Shigeko Kawai-Noma, Kyoichi Saito, Daisuke Umeno	4. 巻 32
2. 論文標題 Redesigning carotenoid-producing Escherichia coli to geranyl pyrophosphate accumulator.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Carotenoid Science	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) 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 Yusuke Otani, Takashi Maoka, Kawai-Noma Shigeko, Kyoichi Saito, Daisuke Umeno	4. 巻 599
2. 論文標題 A novel carotenoid biosynthetic route via oxidosqualene.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 75-80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.01.105	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 Yusuke Otani, Takumi Ojima, Miho Takemura, Norihiko Misawa, Shigeko, Kawai-Noma, Kyoichi Saito, Daisuke Umeno	4. 巻 32
2. 論文標題 Oxidosqualene-based carotenoid pathway for the detection of triterpene cyclase activities	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Carotenoid Science	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) 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 Rina Ayuba, Daisuke Umeno, Shigeko Kawai-Noma	4. 巻 133
2. 論文標題 Off-switching property of quorum sensor LuxR via As(III)-induced aggregation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Biosci. Bioeng.	6. 最初と最後の頁 335-339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2021.12.013.	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 Daisuke Umeno, Yuki Kimura, Kawai-Noma Shigeko	4. 巻 37
2. 論文標題 Transcription Factors as Evolvable Biosensors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 699 - 705
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20SCR12	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 Taro Watanabe, Yuki Kimura, Daisuke Umeno	4. 巻 in press
2. 論文標題 Systematic promoter design for plasmid-encoded S-adenosylmethionine sensing systems	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of General and Applied Microbiology	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) 10.2323/jgam.2024.01.002	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 Taro Watanabe, Yuki Kimura, Daisuke Umeno	4. 巻 13
2. 論文標題 MetJ-based Mutually Interfering SAM-ON/SAM-OFF Biosensors	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ACS Synth. Biol.	6. 最初と最後の頁 624-633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.3c00621	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 Yuki Kimura, Shigeko Kawai-Noma, Daisuke Umeno	4. 巻 NA
2. 論文標題 Mutational destabilization accelerates the evolution of novel sensory and network functions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BioRxiv	6. 最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2023.11.23.564566	査読の有無 無
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 Ryo Yamaguchi, Tetsuaki Yamamoto, Daisuke Umeno, Katsumasa Kamiya, Shigeko Kawai-Noma	4. 巻 9
2. 論文標題 Imparting As(III) Responsiveness to the Choline Response Transcriptional Regulator BetI	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 16035-16043
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.3c09604	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56件 (うち招待講演 13件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Daisuke Umeno
2. 発表標題 Breaking symmetry: laboratory evolution of carotenoid pathways to explore extra-natural space of carotenoid functions
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Carotenoids (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 梅野太輔
2. 発表標題 Bio-DBTLのキラーツールとしてのメタボライトセンサの高速開発DBTL
3. 学会等名 発酵と代謝研究会 2023年度講演会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 梅野太輔
2. 発表標題 Bioものづくり革命を志向した「よるづセンサ」計画
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 梅野太輔
2. 発表標題 Evolutionary Complete? モノリシック合成生物学
3. 学会等名 微生物奨励会・バイオテクノロジー懇談会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 矢内祐希, 塚田美結, 金網真作, 木村友紀, 梅野太輔
2. 発表標題 リガンド依存的なアンフォールディングスイッチの進化デザイン
3. 学会等名 第23回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroto Ando, Takumi Ojima, Daisuke Umeno
2. 発表標題 Converting squalene synthase into carotenoid synthase for biosynthesis of minisqualene
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Carotenoids (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Daichi Ishihara, Yumi Onozato, Katsuya Minakata, Miki Iwasaki, Shigeko Kawai-Noma, Daisuke Umeno
2. 発表標題 Directed evolution of high-titer non-mevalonate pathway
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Carotenoids (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tomoki Chino, Yohei Saito, Kayo Takemoto, Shigeko Kawai-Noma, Takahiro Seki, Kyoichi Saito, Daisuke Umeno
2. 発表標題 In situ feeding of non-cognate apocarotenoids to racterial rhodopsins
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Carotenoids (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yui Araki, Takumi Ojima, Hiroto Ando, Daisuke Umeno
2. 発表標題 Molecular breeding of C 20 carotenoid pathways
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Carotenoids (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Aya Nagashima, Daichi Ishihara, Yui Araki, Hiroto, Ando, Miki Tashiro, Takumi Ojima, Daisuke Umeno
2. 発表標題 Promiscuous carotenoid pathways as indicators for intercellular proportion of IPP and DMAPP
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Carotenoids (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 関貴洋, 田中琴葉, 木村友紀, 梅野太
2. 発表標題 ペリプラズムDisplayシステムを利用した環境異依存性酵素の実験室進化
3. 学会等名 第75回日本生物工学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中琴葉, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 ランタノイドセンサ開発を指向したペリプラズムDisplay
3. 学会等名 第75回日本生物工学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安藤大翔, 尾島匠, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 スクアレン合成酵素のカロテノイド合成酵素としてのサイズ進化
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金網真作, 野々下芽以, 木村友紀, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 構造安定化を指標とした非ヘム鉄酸化酵素特異性の定向進化
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 早川葵咲, 矢内祐希, 塚田美結, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 クロラムフェニコールアセチル転移酵素機能の高速発散進化
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 荒木 優衣, 尾島匠, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 ミニカロテノイド生合成経路の実験室内進化
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加藤涼大, 長谷川悟史, 塚田美結, 早川葵咲, 木村友紀, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 転写因子機能を用いたタンパク質の構造安定性因子の探索
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 栗田凌, 市川智之, 木下葵子, 石原大地, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 モノテルペン合成酵素特異性の高速発散
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中琴葉, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 金属結合モチーフのハイスループット解析・進化プラットフォーム
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸山慶一, 塚田美結, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 指向性ミューテータを用いた酵素「進化能」のスクリーニング技術
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢内祐希, 塚田美結, 木村友紀, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 酵素機能の非アロステリックな制御機構の実験室内創発
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 関貴洋, 田中琴葉, 矢内祐希, 梅野太輔
2. 発表標題 膜貫通型シグナル伝達系のゼロベース設計
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石原大地, 長島綾, 小野里由美, 南方克哉, 田代美紀, 梅野太輔
2. 発表標題 原料枯渇を選抜原理とした非メバロン酸経路の進化学
3. 学会等名 第33回イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢内祐希, 塚田美結, 関貴洋, 木村友紀, 梅野太輔
2. 発表標題 Rapid evolution of controlling mechanism of enzyme activity
3. 学会等名 微生物研究会2023年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安藤大翔, 尾島匠, 梅野太輔
2. 発表標題 サイズ特異性変異と反応特異性変異の掛け合わせを利用した新規トリテルペン合成酵素の創出
3. 学会等名 微生物研究会2023年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石原大地, 長島綾, 小野里由美, 南方克哉, 田代美希, 梅野太輔
2. 発表標題 前駆体枯渇を利用した非メバロン酸経路の進化学
3. 学会等名 微生物研究会2023年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 千野朋希, 斉藤遥平, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 ロドプシン機能拡張のための生合成工学
3. 学会等名 微生物研究会2023年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 早川葵咲, 矢内祐希, 塚田美結, 梅野太輔
2. 発表標題 アセチル転移酵素の機能発散を指向した実験室進化
3. 学会等名 微生物研究会2023年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小野里由美, 尾島匠, 石原大地, 田代美希, 梅野太輔
2. 発表標題 テルペン増産を目指した非メバロン酸経路の進化デザイン
3. 学会等名 テルペン・精油学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安藤大翔, 尾島匠, 多田和樹, 梅野太輔
2. 発表標題 カロテノイド合成酵素化を経たスクアレン合成酵素の特異性進化
3. 学会等名 酵素工学研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 関貴洋, 田中琴葉, 梅野太輔
2. 発表標題 ペリプラズムDisplayを利用したレアメタルセンサーの開発
3. 学会等名 令和5年度遺伝研研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 荒木優衣, 尾島匠, 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 Mini-Carotenoid生合成酵素の創出と活性進化
3. 学会等名 第35回カロテノイド研究談話会・第17回アスタキサンチン研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長島綾, 梅野太輔
2. 発表標題 多能性カロテノイド経路を用いた細胞内IPP/DMAPP比の可視化技術の開発とスクリーニング応用
3. 学会等名 第35回カロテノイド研究談話会・第17回アスタキサンチン研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安藤大翔, 多田和樹, 坂本康二, 眞岡孝至, 梅野太輔
2. 発表標題 カロテノイド酵素化を介したボトリオコッセン合成酵素のサイズ進化
3. 学会等名 第35回カロテノイド研究談話会・第17回アスタキサンチン研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 早川葵咲, 矢内祐希, 加藤涼大, 塚田美結, 梅野太輔
2. 発表標題 クロラムフェニコールアセチル転移酵素機能の高速発散進化
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長島綾, 石原大地, 梅野太輔
2. 発表標題 新規IPP/DMAPP比スクリーニング法を用いた4-ヒドロキシ-3-メチル-2-プテニルニリン酸レダクターゼIspHの生産物特異性の改変
3. 学会等名 日本化学会第104春季年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 長谷川悟史, 加藤涼大, 梅野太輔
2. 発表標題 電子伝達鎖のスイッチングによる酸化酵素活性の外的制御
3. 学会等名 日本化学会第104春季年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 梅野太輔
2. 発表標題 分子システムの進化工学システムの進化
3. 学会等名 生物工学会第9回SBJシンポジウム 未来の生物工学のあらたな潮流をつくる(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梅野太輔
2. 発表標題 超天然天然物経路の進化デザイン
3. 学会等名 極限生物学会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梅野太輔
2. 発表標題 知覚する分子系の進化デザイン学
3. 学会等名 日本分析化学会若手の会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梅野太輔
2. 発表標題 進化工学がもたらした, センサ工学と酵素工学の邂逅
3. 学会等名 AT1バイオ単分子研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梅野太輔, 木村友紀, 関 貴洋
2. 発表標題 安定性駆動型バイオセンサーの機能的可塑性
3. 学会等名 生物工学会シンポジウム バイオセンシングの新潮流 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 D. Umeno
2. 発表標題 Directed evolution of information processing
3. 学会等名 New Horizons in Developmental Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 D. Umeno
2. 発表標題 Directed evolution of biocomputing
3. 学会等名 TUM-Waseda Joint Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 酵素の金属補酵素選択性の実験室内進化
3. 学会等名 日本遺伝学会 第94回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 栗田 凌, 梅野太輔
2. 発表標題 実験進化学的手法によるモノテルペン合成酵素の特異性発散
3. 学会等名 日本遺伝学会 第94回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塚田美結, 梅野太輔
2. 発表標題 融合パートナーの安定性をもたらす酵素進化能への影響
3. 学会等名 日本遺伝学会 第94回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 千野朋希, 梅野太輔
2. 発表標題 ロドプシン機能拡張のための非天然アポカロテノイド生合成
3. 学会等名 第34回カロテノイド研究談話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾島 匠、河合（野間）繁子、梅野太輔
2. 発表標題 稀少ポリエン実現のための非対称骨格カロテノイド生合成
3. 学会等名 第34回カロテノイド研究談話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Kimura, Shinsaku Kanetsuna, Mei Nonoshita, Ryo Kurita, and Daisuke Umeno
2. 発表標題 Enzyme evolution as biosensor components for forward engineering its catalytic properties
3. 学会等名 Symposium on Active Enzyme Molecules (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塚田美結, 河合(野間)繁子, 梅野太輔
2. 発表標題 融合パートナーを介したクロラムフェニコールアセチル転移酵素の活性・進化能調節
3. 学会等名 第12回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松本惇生, 関貴洋, 河合(野間)繁子, 梅野太輔
2. 発表標題 GPCRを入力素子とする大腸菌センサーの開発
3. 学会等名 第12回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金網真作, 渡邊太郎, 木村友紀, 梅野太輔
2. 発表標題 基質結合による構造安定化を指標とした非ヘム鉄酸化酵素の進化デザイン
3. 学会等名 第12回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 関貴洋, 梅野太輔
2. 発表標題 難進化酵素の改良を可能とするペリプラズムDisplay
3. 学会等名 2022年度国立遺伝学研究所研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梅野 太輔
2. 発表標題 情報処理機能の「創発」? ~進化分子工学という実学から学ぶこと~
3. 学会等名 大隅財団 学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅野 太輔
2. 発表標題 超天然イソプレノイド生合成の進化デザイン
3. 学会等名 農芸化学会 年会シンポ (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 石原大地, 長島綾, 梅野太輔	4. 発行年 2024年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 275
3. 書名 カロテノイドの科学	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 細胞外化学環境の細胞内伝達機構を有する細胞及び該細胞の用途	発明者 梅野太輔, 関貴洋	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2023-103802	出願年 2023年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 非対称性骨格を有するカロテノイド及び蛍光性非対称性骨格を有するカロテノイド	発明者 梅野太輔, 尾島 匠	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2023-112676	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔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
---------	---------