

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22108007

研究課題名（和文）二次代謝産物生産に適した糸状菌遺伝子発現システムの開発

研究課題名（英文）Development of efficient gene expression systems for secondary metabolite production in filamentous fungi

研究代表者

五味 勝也（Gomi, Katsuya）

東北大学・（連合）農学研究科（研究院）・教授

研究者番号：60302197

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 42,800,000円

研究成果の概要（和文）：麹菌を宿主として複数の遺伝子を効率的に導入するシステムとして、変異型loxP配列を用いた自己切断型選択マーカーカセットによるマーカーリサイクリング方法の開発に成功した。このシステムを利用することにより、多重遺伝子導入および多重遺伝子破壊を容易に行うことが可能になった。高発現用カセットを複数持つ発現用ベクターを構築し、麹菌宿主株への生合成遺伝子群の効率的な導入を可能にした。アフィディコリン生合成酵素とGFPを融合したタンパク質を麹菌で発現させ、それぞれの酵素の細胞内局在を観察するとともに、コウジ酸とアフィディコリンの排出トランスポーターの高発現が生産性向上に重要であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We developed a self-excising Cre/loxP-mediated marker recycling system with mutated lox sequences to introduce a number of biosynthetic genes into *Aspergillus oryzae*. By using the marker recycling system constructed, hyperproduction of kojic acid could be achieved in *A. oryzae* by the introduction of the two genes that each encodes oxidoreductase and transporter. Deletion of the transporter resulted in a significant decrease in the yield of kojic acid compared to the wild type strain, indicating that overexpression of the transporter gene is highly effective in improving the production yield of secondary metabolites. In addition, expression vectors with multiple expression cassettes consisting of the amyB promoter and terminator were also constructed. We examined subcellular localization of the enzyme proteins encoded by a gene cluster involved in aphidicolin biosynthesis from *Phoma betae*, which were expressed as GFP-fusion proteins in *A. oryzae*.

研究分野：応用微生物学

キーワード：二次代謝化合物 多重遺伝子導入 遺伝子破壊 マーカーリサイクリング 生合成酵素 細胞内局在
トランスポーター 物質生産

1. 研究開始当初の背景

20世紀の大発見と呼ばれるペニシリンがアオカビ *Penicillium chrysogenum* によって生産されることが知られているように、糸状菌は放線菌とともに多種類の二次代謝産物生産菌の一大宝庫である。現在の医薬品産業の中で最も市場規模の大きいスタチン類もまた糸状菌の生産する二次代謝化合物がベースとなっている。糸状菌は多種多様な二次代謝化合物を生産する能力を持つことから、高度に発達した二次代謝化合物の生産機構の存在が示唆されるとともに、近年の糸状菌ゲノム情報の整備によりその生合成経路の輪郭が明らかにされつつある。

糸状菌や放線菌の生産する二次代謝化合物は多数の生合成ステップを経て合成されるが、これらの一連の生合成過程に関わる酵素群、すなわち生合成マシナリーを構成する酵素の遺伝子はクラスター構造を形成しており、クラスター内の遺伝子群が協調的に発現することにより、複雑な構造をもつ化合物が生産される。麹菌 *Aspergillus oryzae* は他糸状菌に比べ多くの二次代謝関連遺伝子を保有しているものの、その多くはほとんど発現していないか、きわめてわずかししか発現しておらず、我々が開発した宿主・ベクター系を利用することにより、麹菌自身が生産する代謝産物のバックグラウンドが低く、そのため純度の高い二次代謝化合物生産システムの構築が可能なクリーンホストとして利用できると示されている。しかし、糸状菌では放線菌のように遺伝子クラスターがオペロン構造をとっていないので、生合成遺伝子をそれぞれ高発現プロモーターに連結して導入する必要がある。そのため、麹菌において目的の二次代謝化合物を生産するには、数個から10個以上の生合成マシナリーを構成する酵素遺伝子をそれぞれ高発現プロモーターに連結した遺伝子として導入する必要があるが、麹菌の形質転換に使用できる選択マーカーは数種類に限られており、現状で多数の遺伝子導入を実現することは容易ではなかった。

一方、糸状菌や植物などの真核生物では、二次代謝化合物の生合成の場はペルオキシソームや液胞などの細胞内オルガネラであることが予想されており、生合成マシナリーのオルガネラ局在化の制御が効率的な代謝産物の生産に必要と考えられる。また、二次代謝化合物は一次代謝化合物を基質として合成されるため、基質が存在する場所で反応が進むと推測されるが、最終産物やその前駆体が細胞そのものに悪影響を及ぼしうる場合には、細胞質と隔離されたオルガネラなどで合成が行われることが想定される。しかし、これら一連の遺伝子群による生合成反応がどのオルガネラで行われているかに関する報告はあまりなされていないのが現状であった。さらに、生産された化合物の細胞外排出系であるトランスポーターの解明とその

制御も効率的な生産にとって重要であると考えられるものの、排出系トランスポーターに関する研究もあまり行われていなかった。

2. 研究の目的

相同組換え頻度の高い麹菌宿主株が開発され、この株を用いて相同領域間で選択マーカーを組換えてリサイクリングを行う方法が報告されているものの、このような方法では脱落効率が低く時間と労力を要するため、簡便で効率の良い方法が求められている。そこで、部位特異的組換えシステム *Cre/loxP* を利用し、簡便・迅速で高効率な選択マーカーリサイクリング技術を開発し使い勝手の良い多重遺伝子導入システムを確立することを目的とした。また、糸状菌における二次代謝化合物の生合成反応がどのオルガネラで行われているか解明するため、モデルとして甜菜じゃのめ病菌 *Phoma betae* の生産するDNA polymerase 阻害剤であるアフィディコリンの生合成酵素群の細胞内局在を解析した。さらに、二次代謝化合物の高生産に及ぼす排出系トランスポーターの役割を解明するため、アフィディコリンおよびコウジ酸の生合成遺伝子クラスターに存在するトランスポーター遺伝子の高発現の影響を解析した。

3. 研究の方法

(1) *Cre/loxP* システムを利用して、選択マーカーと条件的発現 *Cre* 遺伝子の両者を変異型 *lox* 配列で挟みこんだ自己切断型選択マーカーカセットを構築することにより、形質転換体を取得した後の選択マーカーの除去が簡便にできるシステムを開発する。生合成酵素遺伝子の発現カセットを複数個持つ発現用ベクターを構築する。(2) 糸状菌の二次代謝化合物生合成遺伝子クラスターに存在する生合成酵素の細胞内局在を解明するため、*Phoma betae* が生産するテルペノイド化合物であるアフィディコリンの生合成酵素をモデルとして、GFP融合タンパク質として麹菌宿主株で発現させた場合の細胞内局在を調べる。(3) アフィディコリンおよびコウジ酸の生合成遺伝子クラスター内に存在するトランスポーターの生産への影響を調べるため、生合成酵素遺伝子高発現株でトランスポーター遺伝子を高発現させることによる高生産の可能性を検討する。

4. 研究成果

(1) 自己切断型選択マーカーカセットを用いた多重遺伝子導入システムの構築

はじめに細胞壁を酵素処理により消化した麹菌のプロトプラストに対して、外部から市販の *Cre* 酵素を導入する「直接導入法」を開発し、簡便に選択マーカーのリサイクリングを行うことで多重マーカーを付与した宿主の造成が容易になった。一方、遺伝子導入とマーカー除去を繰り返すと染色体上に

loxP 配列が蓄積し、それらの間で望まない除去が起こる恐れがあるため、一度反応を受けるとその後の反応性が著しく低下する変異型 *lox* 配列ペア (*lox66*, *lox71*) の利用を試みたが、変異型 *lox* 配列の Cre 反応性が低いため、「直接導入法」ではマーカ除去できた株は得られなかった。そこで、細胞内で条件的に Cre 遺伝子を発現させるとともに、この条件的発現 Cre 遺伝子と選択マーカの両者を変異型 *lox* 配列で挟みこんだ自己切断型選択マーカカセットを持つプラスミドを構築することを試みた。このような Cre/*loxP* システムでは高効率で *lox* 配列に挟まれた領域が除去できるため、どのような選択マーカでも利用可能であるが、今回はコロニーの着色でマーカ脱落が容易に判定可能な *adeA* 遺伝子を選択マーカに用いた。*adeA* 遺伝子に欠損がある場合、アデニンの前駆体が重合した赤色化合物が細胞に蓄積するため、オレンジ色のコロニーを形成することから、マーカの脱落を容易に判定できる。一方、Cre 発現誘導にはキシロースで誘導、グルコースで抑制がかかる麹菌または *P. chrysogenum* のキシラナーゼ遺伝子 (*xynG2*, *xylP*) プロモーターを用いることとした。*xynG2* や *xylP* のプロモーターによる Cre の発現制御が予想通り可能であることを確認し、選択マーカの *Aspergillus nidulans* の *adeA* 遺伝子と条件発現型 Cre を変異型 *lox* 配列間に挟んだ自己切断型選択マーカカセットを持つ発現用ベクターの構築を試みた。大腸菌内で *cre* 遺伝子が僅かに発現してしまいプラスミドが取得できない問題に直面したが、麹菌 *xynG2* 遺伝子のイントロンを *cre* 遺伝子中に挿入することにより、目的の選択マーカカセットを持つプラスミドを得ることができた。このプラスミドを麹菌 *adeA* 遺伝子破壊株に導入し、得られた形質転換株をキシロース培地で培養すると、非常に高効率で選択マーカカセットが除去された株が取得できたことから、所期の目的通りの自己切断型選択マーカカセットのシステムの開発に成功した。(図1)。このシステムを用いることにより図2に示すような方法で多重遺伝子発現株の取得が可能となった。

図1. 自己切断型選択マーカカセットのキシロース培養による脱落

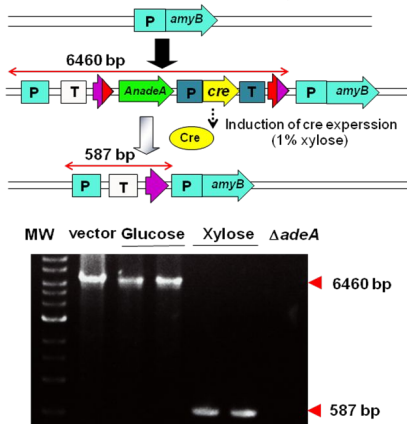
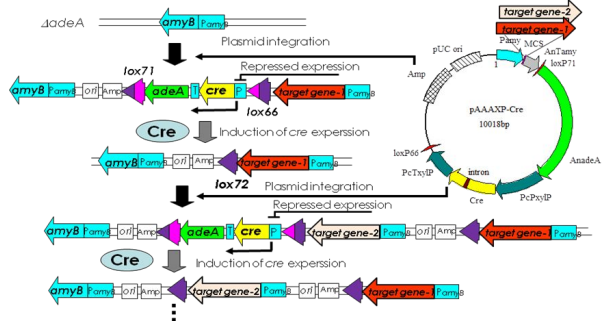
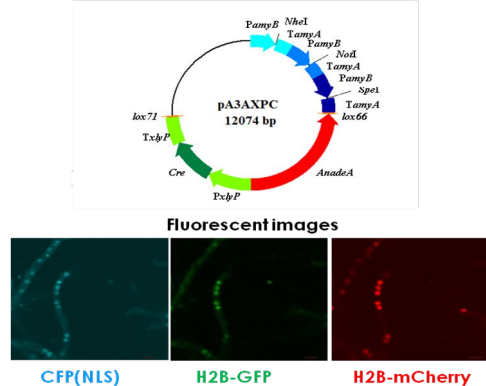


図2. 自己切断型選択マーカカセットを利用した多重遺伝子導入システム



さらに、選択マーカが *argB* と *sC* と異なるベクターに遺伝子発現カセットを2個タンデムに連結したベクター、ならびに自己切断型選択マーカカセットを持つベクターに発現カセットを3個タンデムに連結したベクターを構築した。前者のベクターを用いて *P. betae* のベタエノンと *Aspergillus flavus*, *Penicillium paxilli* のアフラトレムの生合成酵素遺伝子の多重発現株を得ることができた。また、後者のベクターに3種類の波長の異なる蛍光タンパク質を挿入して、麹菌に導入することによりそれぞれを発現させることができた(図3)。

図3. 3個の発現用カセット搭載ベクターによる蛍光タンパク質発現

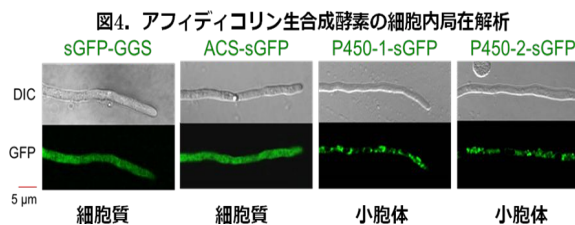


(2) 二次代謝化合物生合成酵素群の細胞内局在解析

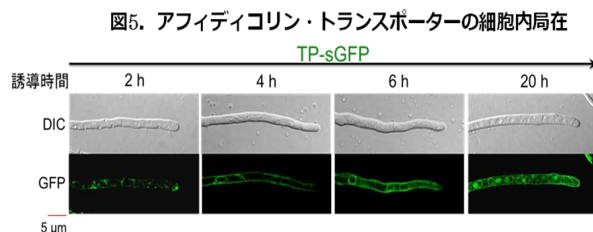
P. betae のアフィディコリン生合成遺伝子クラスターには、生合成経路の前半の反応を触媒する geranylgeranyl diphosphate synthase (GGs) および aphidicolan-16β-ol synthase (ACS) aphidicolan-16 β-ol から aphidicolin への酸化反応を触媒する2種類の cytochrome P450 (P450-1, P450-2) の4種類の生合成酵素遺伝子が存在する。それぞれのタンパク質の細胞内局在の予測プログラムから、GGs と ACS は細胞質に存在している一方で、P450-1 は N 末端領域に典型的なシグナル配列とそれに続く膜貫通ドメインを有しており、P450-2 も N 末端に膜貫通ドメインを持つことが予想された。真核生物では小胞体中存在する P450 が知られているので、膜貫通ドメインを持つ P450-1 と P450-2 はともに小胞体中存在しているものと推定されるが、P450-1 はシグナル配列を持つことから、小胞体から

分泌経路を経て細胞外に分泌されることも考えられる。そこで、これらの各生合成酵素に緑色蛍光タンパク質 (GFP) を連結させた融合タンパク質を麹菌マルトーストランスポーター遺伝子 (*malP*) プロモーター下で発現させるプラスミドを構築して、麹菌へ導入した。作製したこれらの株を用いて共焦点顕微鏡による蛍光観察を行い、融合タンパク質の細胞内局在を観察した。また、細胞内局在部位の確認のため、麹菌の各オルガネラを可視化するためのオルガネラマーカータンパク質として、膜融合因子である SNARE タンパク質などに赤色蛍光タンパク質 mCherry を連結させた融合タンパク質を発現するプラスミドを作製した。

オルガネラマーカーとの共局在観察の結果、アフィディコリン生合成経路の前半の反応を触媒する GGS および ACS は細胞質に局在することが認められた。また、P450-1 と P450-2 は、いずれも小胞体に局在するものと考えられた (図 4)。



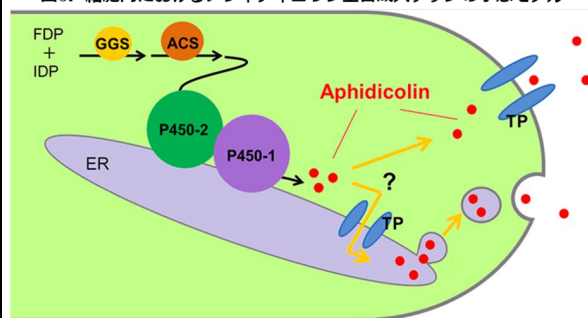
一方、生合成遺伝子クラスター内に存在する TP についても GFP との融合タンパク質を作製し麹菌に導入して、他の融合タンパク質と同じ条件で蛍光顕微鏡観察したところ、細胞内のオルガネラと細胞膜の両方で蛍光が観察され、その蛍光の強度も一様ではなく正確な局在部位が特定できなかった。そこで、融合タンパク質の発現を誘導した初期から経時的に蛍光観察を行った結果、誘導発現初期には細胞内のドット状またはリング状の蛍光しか見られないが、時間が経過するにしたがって細胞膜上にも蛍光が強く観察されるようになることが認められた (図 5)。オルガネラマーカーとの共局在解析により、細胞内では TP-GFP は小胞体に局在していることが示されたことから、TP はメインには小胞体に局在するものの一部は細胞膜にも輸送されていくものと考えられた。



小胞体に局在する 2 種類の cytochrome P450 が触媒する酸化反応が小胞体内で行われているか、細胞質側で行われているかを明

らかにするため、protease protection assay (PPA) により解析を行った。C 末端に GFP を融合した P450 を発現させた麹菌を緩やかな条件下で破碎してミクロソーム画分を調製し、界面活性剤の存在下および非存在下でプロテアーゼ処理を行った。その結果、界面活性剤非存在下においてもプロテアーゼにより GFP を含む C 末端領域が消化されたことから、P450-1、P450-2 ともに活性ドメインは細胞質側に存在していることが明らかとなった。麹菌で発現させた TP も含めてアフィディコリン生合成酵素の細胞内局在解析結果から、麹菌でのアフィディコリン生合成のモデルを下記のように推定した (図 6)。

図6. 細胞内におけるアフィディコリン生合成ステップの予想モデル

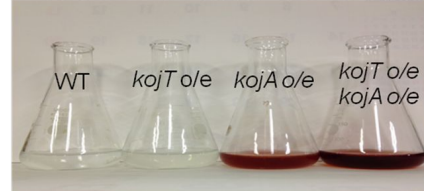


(3) 二次代謝化合物に特異的なトランスポーターの高発現による高生産

二次代謝化合物の効率的な生産において、細胞外排出系であるトランスポーター (TP) の解明とその制御も重要である。そこで、コウジ酸合成酵素遺伝子 *kojA* に加えてコウジ酸 TP 遺伝子 *kojT* を導入した二重高発現株では、コウジ酸生産量が顕著に増加した (図 7A)。また、同じプラスミドを利用して、*kojA* 高発現と *kojT* 破壊を組み合わせた株を取得したところ、コウジ酸の生産量は野生株よりも多いものの、*kojA* 高発現株より低いことが明らかとなり (図 7B)、コウジ酸生産における TP の重要性が示された。

図7. コウジ酸生産におけるトランスポーターの重要性

A トランスポーター高発現によるコウジ酸高生産



B トランスポーター破壊によるコウジ酸生産量低下



アフィディコリン生合成遺伝子クラスター内に存在する TP が細胞膜および小胞体膜上に局在することから、合成されたアフィディコリンの分泌高生産に重要な役割を果た

していることが推測されたため、GGs、ACS、P450-1、P450-2 の生合成に關与する 4 種類の酵素遺伝子を高発現させた麹菌株に TP 高発現用プラスミドを導入して、さらなる高生産が可能か検討した。その結果、アフィディコリンに相当するシグナルは 4 種類の生合成酵素遺伝子高発現株より TP も高発現させた株の方が著しく濃くなっており、TP 高発現によってアフィディコリンの高生産も可能であることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 10 件)

Liu, C., Tagami, K., Minami, A., Matsumoto, T., Frisvad, J. C., Suzuki, H., Ishikawa, J., Gomi, K., Oikawa, H.; Reconstitution of biosynthetic machinery for the synthesis of the highly elaborated indole diterpene Penitrem, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 5748–5752 (2015). 査読有

Ugai, T., Minami, A., Fujii, R., Tanaka, M., Oguri, H., Gomi, K., Dairi, T., Oikawa, H.: Heterologous expression of highly reducing polyketide synthase involved in betaenone biosynthesis. *Chem. Commun.*, **51**, 1878–1881 (2015). 査読有

Tagami, K., Minami, A., Fujii, R., Liu, C., Tanaka, M., Gomi, K., Dairi, T., Oikawa, H.: Rapid reconstitution of biosynthetic machinery for fungal metabolites in *Aspergillus oryzae*: Total biosynthesis of Aflatrem. *ChemBioChem*, **15**, 2076–2080 (2014). 査読有

Asai, T., Yamamoto, T., Shirata, N., Taniguchi, T., Monde, K., Fujii, I., Gomi, K., Oshima, Y.: Structurally diverse chaetophenol productions induced by chemically mediated epigenetic manipulation of fungal gene expression. *Org. Lett.*, **15**, 3346–3349 (2013). 査読有

Fujii, R., Minami, A., Gomi, K., Oikawa, H.: Biosynthetic assembly of cytochalasin backbone. *Tetrahedron Lett.*, **54**, 2999–3002 (2013). 査読有

Chiba, R., Minami, A., Gomi, K., Oikawa, H.: Identification of Ophiobolin F synthase by a genome mining approach: A sesterterpene synthase from *Aspergillus clavatus*. *Org. Lett.*, **15**, 594–597 (2013). 査読有

Tagami, K., Liu, C., Minami, A., Noike, M., Isaka, T., Fueki, S., Shichijo, Y., Toshima, H., Gomi, K., Dairi, T., Oikawa, H.: Reconstitution of biosynthetic machinery for indole-diterpene Paxilline in *Aspergillus oryzae*. *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 1260–1263 (2013). 査読有

Mizutani, O., Masaki, K., Gomi, K., H. Iefuji: Modified Cre-loxP recombination in *Aspergillus oryzae* by direct introduction of Cre recombinase for marker gene rescue. *Appl. Environ. Microbiol.*, **78**, 4126–4133 (2012). 査読有

江原直樹、水谷治、五味勝也：糸状菌における効率的な多重遺伝子導入系の開発、*生物工学*, **90**, 298–301 (2012). 査読有

小池英明、町田雅之：ゲノム科学に基づくコウジ酸生合成遺伝子の解明、*バイオサイエンスとインダストリー*, **70**, 206–208 (2012). 査読有

[学会発表](計 24 件)

五味勝也 他：Effects of α -1,3-glucan synthase gene knockout on α -amylase adsorption onto the cell wall and productivity of enzymes and metabolites in *Aspergillus oryzae*, 12th International *Aspergillus* meeting (Asperfest12), 2015 年 3 月 16–17 日, Asilomar, USA

張 斯来 他：麹菌細胞壁の α -グルカン合成に關わる多重遺伝子破壊株の形態および物質生産特性、第 14 回糸状菌分子生物学コンファレンス、2014 年 11 月 15–16 日、仙台市

五味勝也：Cre/loxP-based recombination system for fungal secondary metabolites production in *Aspergillus oryzae*, 2014 KSBB (Korean Society for Biotechnology and Bioengineering) Fall Meeting and International Symposium, 2014 年 10 月 6–7 日, Changwon, Korea (Invited lecture)

張 斯来 他：選択マーカーリサイクリングシステムにより得られた麹菌 α -グルカン合成に關わる多重遺伝子破壊株の特性、第 66 回 日本生物工学会大会、2014 年 9 月 9–11 日、札幌市

伴 暁彦 他：麹菌でアフィディコリンを異種高発現させるための生合成酵素の細胞内局在解析、2014 年度日本農芸化学会大会、2014 年 3 月 27–30 日、川崎市

張 斯来 他：麹菌における自己切断型 Cre/loxP 選択マーカーリサイクリングカセットを利用した多重遺伝子導入・破壊システム、2014 年度日本農芸化学会大会、2014 年 3 月 27–30 日、川崎市

五味勝也 他：Self-excising Cre/mutant lox marker recycling system for multiple gene integrations and consecutive gene deletions in *Aspergillus oryzae*, 11th International *Aspergillus* Meeting (Asperfest11), 2014 年 3 月 22–23 日, Seville, Spain

伴 暁彦 他：麹菌で異種発現させたアフィディコリン生合成酵素の細胞内局在解析、第 13 回糸状菌分子生物学コンファレンス、2013 年 11 月 20–21 日、つくば市

張 斯来 他：麹菌における自己切断型 Cre/loxP 選択マーカーリサイクリングシステムの確立、第 13 回糸状菌分子生物学コンファレンス、2013 年 11 月 20–21 日、つくば市

張 斯来 他：麹菌におけるイントロン導入 Cre を用いた自己切断型選択マーカーリサイクリングシステムの構築、第 65 回 日本生物工学会大会、2013 年 9 月 18–20 日、広島

市

伴 暁彦 他：麹菌で異種発現させたアフィディコリン生合成酵素の細胞内局在解析、2013 年度日本農芸化学会大会、2013 年 3 月 24-27 日、仙台市

張 斯来 他：麹菌における自己切断型選択マーカーカセットを用いた多重遺伝子導入システムの構築、2013 年度日本農芸化学会大会、2013 年 3 月 24-27 日、仙台市

五味勝也 他：Subcellular localization of aphidicolin biosynthesis enzymes from *Phoma betae* expressed heterologously in *Aspergillus oryzae*, 27th Fungal Genetics Conference, 2013 年 3 月 12-17 日, Asilomar, CA, USA

梅村舞子 他：Design of culture conditions for secondary metabolite production of fungi based on large-scale transcriptome data, 27th Fungal Genetics Conference, 2013 年 3 月 12-17 日, Asilomar, CA, USA

五味勝也 他：Multiple gene integration system using a self-excisable marker cassette in *Aspergillus oryzae*, 10th International *Aspergillus* Meeting (Asperfest10), 2013 年 3 月 11-12 日, Asilomar, CA, USA

伴 暁彦 他：糸状菌の二次代謝産物生合成酵素の細胞内局在解析、第 12 回糸状菌分子生物学コンファレンス、2012 年 11 月 12-13 日、名古屋市

張 斯来 他：麹菌における Cre-loxP 選択マーカーリサイクリングシステムの改良、第 12 回糸状菌分子生物学コンファレンス、2012 年 11 月 12-13 日、名古屋市

五味勝也：Application of Cre/loxP recombination system for efficient production of secondary metabolites in *Aspergillus oryzae*, International Conference of Natural Product Biosynthesis (ICNPB), 2012 年 6 月 17-22 日, Awaji, Japan

江原直樹 他：変異型 loxP 配列を用いた麹菌における多重遺伝子導入法の確立、2012 年度日本農芸化学会大会、2012 年 3 月 22-25 日、京都市

五味勝也：糸状菌を宿主とした効率的な二次代謝化合物生合成遺伝子発現系の開発、2012 年度日本農芸化学会大会 (シンポジウム) 2012 年 3 月 22-25 日、京都市

② 五味勝也 他：Multiple gene expression system by means of Cre/loxP-mediated marker recycling with mutated loxP sites in *Aspergillus oryzae*, 9th International *Aspergillus* Meeting (Asperfest9), 2012 年 3 月 29-30 日, Marburg, Germany

③ 江原直樹 他：Cre-loxP システムを用いた麹菌における多重遺伝子導入システムの開発、第 11 回糸状菌分子生物学コンファレンス、2011 年 11 月 16-17 日、東京

④ 小池英明：Bioproduction of commercially valuable metabolites in *Aspergillus oryzae* based on genomic analysis, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress

(IUMS2011), 2011 年 9 月 6-10 日, Sapporo, Japan

⑤ 水谷 治 他：Marker recycling in *Aspergillus oryzae* by application of the Cre/loxP system using direct introduction of Cre recombinase into the cell, 26th Fungal Genetics Conference, 2011 年 3 月 15-20 日, Asilomar, CA, USA

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

五味 勝也 (GOMI, KATSUYA)
東北大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：60302197

(2) 研究分担者

町田 雅之 (MACHIDA, MASAYUKI)
産業技術総合研究所・生物プロセス部門・
チームリーダー
研究者番号：30358006

(3) 連携研究者

新谷 尚弘 (SHINTANI, TAKAHIRO)
東北大学・大学院農学研究科・准教授
研究者番号：70374973

小池 英明 (KOIKE, HIDEAKI)
産業技術総合研究所・生物プロセス部門・
主任研究員
研究者番号：90344118