

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07997

研究課題名(和文) 抗結核薬D-サイクロセリンの生合成酵素群を活用した非天然型アミノ酸の合成

研究課題名(英文) Generation of unnatural amino acids using enzymes for the biosynthesis of antitubercular antibiotic D-cycloserine

研究代表者

的場 康幸 (Matoba, Yasuyuki)

広島大学・医歯薬保健学研究科(薬)・准教授

研究者番号：90363051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、D-サイクロセリン(D-CS)生産菌である*Streptomyces lavendulae*の染色体DNAから、D-CS生合成に関わると推測される遺伝子クラスターを取得することに成功した。さらに、クローニングした遺伝子クラスターから産生される酵素群のそれぞれが、いかなる反応を触媒するのかを明らかにし、D-CSの生合成経路を解明した。本研究では、D-CS生合成にかかわる酵素群がアミノ酸を基質とした新規反応を触媒する酵素であることを利用し、これらの酵素を非天然型アミノ酸の産生に応用することを目指す。

研究成果の概要(英文)：Our group has recently cloned a gene cluster containing the biosynthetic genes for an antituberculosis antibiotic, D-cycloserine (D-CS) from D-CS-producing *Streptomyces lavendulae*. The aim of this study is to generate unnatural amino acids by using the enzymes in the D-CS-biosynthetic pathway. Based on the crystal structures of DcsD and DcsG, previously determined by us, mutational analyses were performed to identify the important residues for the catalytic activity and the substrate preference. In addition, crystal structure of DcsA was determined using the single anomalous dispersion method. Catalytic mechanism of DcsA was proposed based on the structural, mutational, and resonance Raman spectroscopic analyses.

研究分野：医歯薬学

キーワード：抗生物質 微生物薬品学 構造生物学 酵素

1. 研究開始当初の背景

環状アミノ酸であるD-サイクロセリン(D-CS)は、肺へ移行しやすく、既存の抗生物質耐性菌にも有効であることから、結核の二次選択薬として使用されている。D-CSはD-アラニンと構造類似性をもつため、細菌の細胞壁合成に必須なアラニンラセマーゼおよびD-アラニル-D-アラニンリガーゼの両酵素に対して阻害作用を示すことで、細胞壁合成を阻害する。研究代表者は、D-CS生産菌 *Streptomyces lavendulae* に着目し、本菌におけるD-CS耐性機構、および、D-CS生合成機構の解明をテーマに研究を進めてきた。特に、本菌がもつアラニンラセマーゼおよびD-アラニル-D-アラニンリガーゼは、D-CSによる阻害を受けにくいことを明らかにした (*J. Biol. Chem.* **279**, 46143-52, 2004; *J. Biol. Chem.* **279**, 46153-61, 2004; *Biochem. J.* **389**, 491-6, 2005)。また、本菌の染色体DNAから、8個の未知遺伝子 (*dcsA* ~ *dcsH*) を含むD-CS生合成遺伝子クラスターを取得した (*Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 1132-39, 2010)。

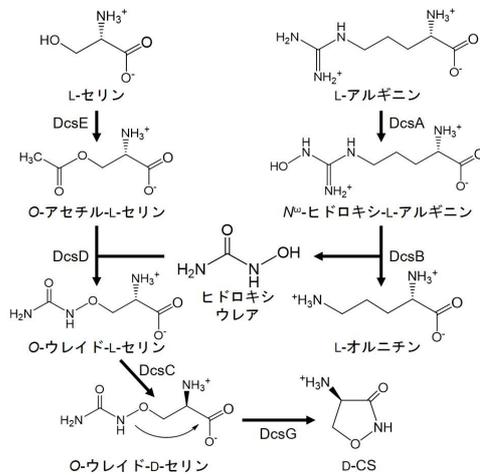


図1 D-CSの生合成経路

研究代表者は、公益財団法人発酵研究所およびノボザイムズジャパン研究ファンドから研究助成を受け、それぞれの遺伝子産物がいかなる酵素反応を触媒するのかを明らかにし、D-CSの生合成経路を決定した (*Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 3682-9, 2012; *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 2603-12, 2013)。本経路では、DcsAとDcsBがヒドロキシウレアを供給し、DcsEがO-アセチル-L-セリンを供給する。続いて、DcsDの作用によりO-アセチル-L-セリンのアセチル基がヒドロキシウレアに置換されることでO-ウレイド-L-セリンが生じ、DcsCの作用によりD-体に変換された後、ATP依存性酵素DcsGにより環状化されD-CSが合成される。特に、DcsEに関しては、その三次元構造を決定し、本酵素がホモセリン-O-アセチル化酵素と相

同性を持つにもかかわらず、セリン-O-アセチル化酵素として機能する構造基盤を明らかにした (*J. Bacteriol.* **195**, 1741-9, 2013)。

D-CS 生合成に関わる酵素のうち、DcsA, DcsB, DcsC および DcsG に関していえば、このような反応を触媒する酵素についての報告はなく、新規の酵素であると考えられる。特に、DcsA と相同性を有する酵素についての機能および構造解析に関する報告はなく、DcsA は新規性の高い酵素であると考えられる。さらに、DcsA, DcsB および DcsC の基質特異性は厳密であった。その一方で、DcsG は、O-ウレイド-D-セリンだけでなく、 $\delta$  位もしくは  $\epsilon$  位に求核性のある原子を有する D-アミノ酸 (D-ホモシステインなど) を基質として、その環状化を触媒した。また、DcsD は O-アセチル-L-セリンと硫化水素から L-システインを合成する O-アセチルセリンスルフィドラーゼと相同性を有し、実際に L-システインを合成する活性を有している。これまでに、いくつかのシステイン合成酵素が O-ウレイド-L-セリンの合成を触媒することが知られている。ただし、DcsD の O-ウレイド-L-セリン合成活性は、既知の O-アセチルセリンスルフィドラーゼのものに比べ極めて高い。

2. 研究の目的

本研究では、D-CS 生合成にかかわる酵素群がアミノ酸を基質とした新規反応を触媒する酵素であることを利用し、これらの酵素を用いて非天然型アミノ酸を産生する技術を開発することを目指す。本研究期間内では、特に、DcsA, DcsD および DcsG を研究対象とし、それぞれの酵素を非天然型アミノ酸合成のための触媒として利用できるように改変することを試みる。具体的には、DcsD は求核基質としてヒドロキシウレアを用いているが、その基質結合部位を改変し、様々な  $\beta$ -置換型-L-アラニン合成酵素として利用する。DcsG の基質結合部位を改変することで、多様な D-型環状アミノ酸の合成酵素として利用する。なお、DcsG の基質のひとつである D-ホモシステインは非常に高価な試薬であるが、ラセミ型のホモシステインは安価な試薬である。本酵素を利用することで、ラセミ体のホモシステインを光学分割することが可能になると考えられる。DcsA を利用することで、現時点では高価な  $N^{\omega}$ -ヒドロキシ-L-アルギニンに安価に供給できるようにする。 $N^{\omega}$ -ヒドロキシ-L-アルギニンは一酸化窒素合成酵素の基質となるため、循環器疾患治療薬となることが期待される。また、DcsA の基質結合部位を改変することで、多様な非天然型の水酸化アミノ酸合成の触媒として利用する。

酵素の触媒活性や基質特異性を改変するためには、その三次元構造を考慮し、特定のアミノ酸残基に望ましい変異を導入する手

法が広く用いられている。それに関連して、DcsDとDcsGの結晶構造解析はすでに完了しており(図2), DcsAの結晶化にも成功している。本研究では、どのような変異を導入すれば望みの変異体を得ることができるのかという指針を得るために、それぞれの酵素の反応機構および基質認識機構を理解しようと試みた。DcsDとDcsGに関しては、三次元構造に基づいて変異を導入し、酵素活性がどのように変化するかを検証した。同時に、精製したDcsGもしくはDcsGを発現させた大腸菌を用いて、ホモシステインの光学分割、および、D-ホモシステインチオラクトンの大量合成ができるかどうかを検討した。また、DcsAに関しては、X線結晶構造解析によりその三次元構造を決定するとともに、変異体解析と共鳴ラマンスペクトル解析を実施し、その反応機構を予測した。

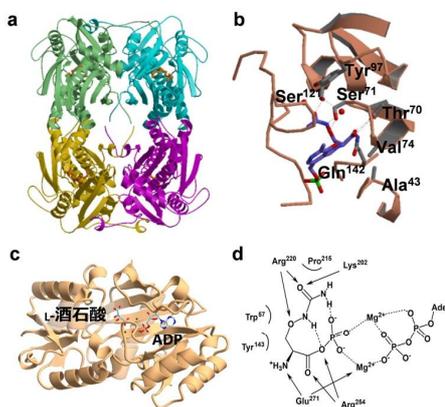


図2 DcsDとDcsGの構造  
(a) DcsDの四量体構造。それぞれのサブユニットを異なる色で示している。PLPとO-ウレイド-L-セリンからなる複合体はオレンジ色のスティックモデルで示す。(b) DcsDの活性中心。PLPおよびO-ウレイド-L-セリンの炭素原子を紫色で示す。(c) DcsGの単量体構造。DcsGに結合したL-酒石酸とADPをスティックモデルで示し、マグネシウムイオンを緑色の球で示す。(d) DcsGの活性中心において、O-ウレイド-D-セリンとATPからO-ウレイド-D-セリルリン酸とADPが生じたときの予測結合様式。矢印はDcsGとリガンドとの間で形成可能な分子間相互作用を示し、点線はリガンド内、もしくは、リガンド間で形成可能な相互作用を示す。AdelはADPのアデニン部分を示す。

### 3. 研究の方法

O-アセチルセリンスルフヒドリラーゼの酵素反応においては、酵素中の補酵素PLPが最初の基質であるO-アセチル-L-セリンと反応し、アセチル基が除去されることで、アミノアクリル酸が結合したPLPが中間体として生成する。続いて、2つ目の基質である硫化水素が反応することで、L-システインが生じる。DcsDにおいては、2つ目の基質としてヒドロキシウレアが反応することで、O-ウレイド-L-セリンが生じる。DcsDの結晶構造に基づき、2つ目の基質の認識に重要と考えられる残基に変異を導入し、L-システイン合成活性とO-ウレイド-L-セリン合成活性を調査した。また、DcsDと同じくO-アセチルセリンスルフヒドリラーゼと相同性をもつものの、その機能が解明されていなかった乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* 由来の酵素 (Lp\_0256)

についても、構造解析と機能解析を実施した。本酵素は、L-システインを合成する活性が通常のO-アセチルセリンスルフヒドリラーゼに比べて弱く、O-アセチル-L-セリンもしくはL-システインを1つ目の基質とし、L-ホモシステインを2つ目の基質としてシスタチオンを合成する活性をもつことを明らかにした。なお、L-システインとL-ホモシステインを基質とするとき、硫化水素が発生する。このため、各種変異体のL-システイン合成活性とシスタチオン合成活性を調査した。

DcsGと相同性を持つATP-GRASPフォルドをもつ酵素は、一段階目の反応でカルボキシル基をもつ基質とATPが反応し、カルボキシル基がリン酸化された中間体が生じる。続いて、アミノ基もしくはチオール基をもつ基質とカルボキシルリン酸が反応し、カルボキシル基とアミノ基(もしくはチオール基)との間に共有結合が生じるとともに、リン酸基が遊離する。DcsGの結晶構造に基づく、その基質結合部位は小さく、分子内での環状化反応を触媒するために適していると考えられた。これを検証するため、基質結合部位に存在する残基に変異を導入し、D-CS合成活性とD-ホモシステインチオラクトン合成活性を調査した。また、D-CSを合成する際には、O-ウレイド-D-セリルリン酸中間体から、カルバモイル基とリン酸基が脱離する必要がある。一時的にカルバモイルリン酸が生じる可能性について、オルニチンカルバモイルトランスフェラーゼを用いた共役酵素法により検討した。同時に、DcsGを利用して、ホモシステインの光学分割、および、D-ホモシステインチオラクトンの大量合成ができるかどうかを検討した。具体的には、ラセミ型のホモシステインにDcsGを作用させ、D-ホモシステインチオラクトンとL-ホモシステインに分割できるかどうかを検討した。また、基質特異性の低いアミノ酸ラセマーゼBsrVをこの系に添加したとき、D-ホモシステインチオラクトン合成量が増加するかどうか検討した。また、DcsGを用いたD-ホモシステインチオラクトンの試験管内合成には、高価なATPを必要とする。この反応を、DcsGを大量発現させた大腸菌株を用いて、安価に進行させることができるかどうかを検討した。

DcsAは、その吸収スペクトルからヘム結合酵素であると予測できた。ただし、DcsAと相同性をもつ酵素の機能および構造解析についての報告はなく、その三次元構造を決定する必要があった。セレノメチオニン誘導体を用いて結晶化を行い、単波長異常分散法にてオープン型の構造を決定した。続いて、反応物であるN<sup>ε</sup>-ヒドロキシ-L-アルギニンとの共結晶化を行い、クローズド型の構造を得た。この結果、基質との結合に重要な残基を特定

できた。また、基質結合ポケットにある残基や、ヘム位置を決定するのに重要な残基に変異を導入し、酵素活性に与える影響について調査した。また、酸化型と還元型、およびCO結合型DcsAについて、共鳴ラマンスペクトル解析を実施した。

#### 4. 研究成果

DcsD に関しては、野生型の結晶構造を分子置換法にて決定し、2.3 Å分解能で精密化した。また、反応生成物である *O*-ウレイド-L-セリンと結合した K43A 変異体の結晶構造を 1.9 Å分解能で決定した(図 2a)。DcsD は、*O*-アセチル-L-セリンと硫化水素から L-システイン合成を触媒する *O*-アセチルセリンスルフヒドリラーゼと構造学的な相同性を有している。しかしながら、*O*-アセチルセリンスルフヒドリラーゼにおける 2 つ目の基質(硫化水素)を収容するポケットに比べ、DcsD におけるポケットは親水性が高く、かつ、水素結合ネットワークが不完全で空間的に大きい(図 2b)。ヒドロキシウレアとの結合に重要と思われる残基に変異を導入すると、ヒドロキシウレアに対する反応性が減少した。また、完全な水素結合ネットワークが形成されるように変異を導入すると、ひとつ目の基質 *O*-アセチル-L-セリンに対する反応性が上昇したが、ヒドロキシウレアに対する反応性は減少した。このため、不完全な水素結合ネットワークはヒドロキシウレアのように大きな基質に対する反応性を増加させるために必要であると結論付けられた。本成果については、*FEBS J* 誌に発表した(*FEBS J.* 282, 3929 - 44, 2015)。

Lp\_0256 に関しては、野生型の結晶構造を分子置換法にて決定し、2.4 Å分解能で精密化した。また、基質アナログである L-メチオニンと結合した K42A 変異体の結晶構造を 3.3 Å分解能で決定した(図 3a)。Lp\_0256 も *O*-アセチルセリンスルフヒドリラーゼと構造学的な相同性を有しているが、2 つ目の基質を収容するポケットが *O*-アセチルセリンスルフヒドリラーゼのものよりも大きくなっている(図 3b)。また、*O*-アセチルセリンスルフヒドリラーゼにおいて、1 つ目の基質(*O*-アセチル-L-セリン)との認識に関わる Ser 残基が Ala になっていた。Lp\_0256 の Ala 残基を Ser に置換すると、1 つ目の基質である *O*-アセチル-L-セリンや L-システインに対する親和性は上昇した。その一方で、2 つ目の基質に対する変化は異なっていた。すなわち、小さな基質である硫化水素に対する親和性は野生型と同程度であったが、L-ホモシステインに対する親和性は減少した。一方、基質結合ポケットを小さくするような変異を導入すると、ひとつ目の基質に対する親和性は

減少し、L-ホモシステインに対する親和性も減少した。一方、硫化水素に対する親和性は上昇した。これらのことは、Lp\_0256 は硫化水素を利用してL-システインを合成するよりも、L-システインとL-ホモシステインを利用して硫化水素を産生する能力が高いことを示している。これらの知見は、新しい非天然型アミノ酸合成を触媒する酵素を創生するために重要であると考えられる。本研究成果は *Protein Sci* 誌に報告した(*Protein Sci.* 26, 763 - 83, 2017)。

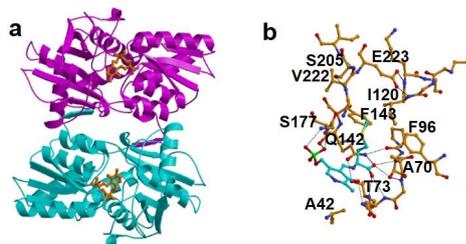


図3 Lp\_0256の構造  
(a) Lp\_0256の二量体構造。それぞれのサブユニットを異なる色で示している。PLPとL-メチオニンからなる複合体はオレンジ色のスティックモデルで示す。(b) Lp\_0256の活性中心。PLPおよびL-メチオニンの炭素原子を紫色で、タンパク質由来の残基の炭素原子をオレンジ色で示す。

DcsG に関しては、セレノメチオニン置換体を調製し、ADP とマグネシウムイオン存在下で結晶を作製した。結晶構造は、多波長異常分散法にて決定し、2.4 Å分解能で精密化した(図 2c)。本酵素のアミノ酸配列は、ATP-grasp ファミリーに属するグルタチオン合成酵素や D-アラニル-D-アラニンリガーゼのものと同じ相対性を有する。ATP-grasp ファミリーの酵素は、基質の結合によりオープン型からクローズド型に構造を変化させることが知られている。得られた DcsG の結晶構造は、クローズド型のものに類似していた。なお、DcsG の活性中心には、沈殿剤として用いた L-酒石酸が結合しており、L-酒石酸との結合により、DcsG の構造がクローズド型へと誘導されたと考えられる。本酵素の基質結合ポケットには、基質と水素結合すると考えられる残基に加え、環状化反応を促進するために、ポケット空間を小さくする残基も存在している(図 2d)。また、変異体解析を実施することにより、これらの残基が *O*-ウレイド-D-セリンおよび D-ホモシステインの環状化反応に重要であることを明らかにした(*バイオサイエンスとインダストリー* 74, 510 - 3, 2016)。

また、D-CS を合成する際には、*O*-ウレイド-D-セリルリン酸中間体から、カルバモイル基とリン酸基が脱離する必要がある。一時的にカルバモイルリン酸が生じる可能性について、オルニチンカルバモイルトランスフェラーゼを用いた共役酵素法により検討した。

その結果、DcsG が *O*-ウレイド-D-セリンを環状化する際、カルバモイルリン酸が生じていることが支持された。ただし、共役酵素法から推定されるカルバモイルリン酸の合成量は、D-CS の合成量に比べて低く、生じたカルバモイルリン酸の大部分は、DcsG の酵素作用により速やかに加水分解されると考えられた。

また、DcsG をラセミ型のホモシステインに作用させると、D-ホモシステインチオラクトンと L-ホモシステインとに光学分割できることが示された。この系に、基質特異性の低いアミノ酸ラセマーゼ BsrV を添加したところ、D-ホモシステインチオラクトン合成量が増加した。また、DcsG を大量発現させた大腸菌の洗浄菌体を用い、DL-ホモシステインを D-ホモシステインチオラクトンに変換させることを試みた。DcsG 反応では、ATP を必要とする。このため、大腸菌内で ATP を合成させることを目的として、洗浄菌体に DL-ホモシステイン (10 mM) とともに D-グルコースを添加した。検討の結果、3 時間ごとに D-グルコースを 0.1% となるように添加したときに、ほぼすべての D-ホモシステインを D-ホモシステインチオラクトンに変換できた。

DcsA に関しては、セレノメチオニン置換体を調製し、基質非結合型の結晶を作製した。結晶構造は、単波長異常分散法にて決定し、1.47 Å 分解能で精密化した(図4)。なお、この構造は、オープン型構造であると考えられる。この結果、DcsA は新規のフォールドをもつ酵素であることを明らかにできた。また、酵素反応生成物である *N*<sup>ω</sup>-ヒドロキシ-L-アルギニンとの共結晶化を行い、クローズド型の構造を 1.15 Å 分解能で精密化した。この結果、基質との結合に重要な残基を特定できた。基質結合ポケットにある残基や、ヘムの位置を決定するのに重要な残基に変異を導入したところ、全ての変異体で活性が減少し、これらの残基の重要性を明らかにできた。DcsA と同じ反応を触媒する一酸化窒素合成酵素の結晶構造と比較すると、DcsA の基質結合ポケットは小さくなっており、これが原因で、DcsA は *N*<sup>ω</sup>-ヒドロキシ-L-アルギニンから一酸化窒素を遊離させる酵素活性をもたないと考えられた。そこで、酸化型と還元型、および CO 結合型 DcsA について共鳴ラマンスペクトル解析を実施した。その結果、アルギニンが結合するとヘム周辺的环境が変わること、L-ヒドロキシアルギニンと CO は共存できないこと、遠位配位子であるチオール基からヘム鉄への電子供与性は、DcsA と同じくチオール基を遠位配位子とする酸素添加酵素 P450 に比べて弱いことを明らかにした。これらの知見は、DcsA の反応機構を類推するのに役立つと考えられる。

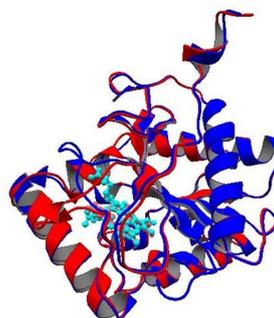


図4 DcsAの構造  
赤および青のリボン図は、リガンド非結合型と結合型DcsAの三次元構造を示す。また、ピンク色はリガンド非結合型DcsAに結合したヘムを、シアン色はリガンド非結合型DcsAに結合したヘムと $N^{\omega}$ -ヒドロキシ-L-アルギニンを示す。

## 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4件)

1. Matoba Y, Yoshida T, Izuhara-Kihara H, Noda M, Sugiyama M, **Crystallographic and mutational analyses of cystathionine  $\beta$ -synthase in the  $H_2S$ -synthetic gene cluster in *Lactobacillus plantarum***, *Protein Sci.* **26**, 763 - 83, 2017 査読有り
2. 的場 康幸, **非天然型アミノ酸 D-サイクロセリン合成酵素の結晶構造**, *バイオサイエンスとインダストリー* **74**, 510 - 3, 2016 査読有り
3. Uda N, Matoba Y, Oda K, Kumagai T, Sugiyama M, **The structural and mutational analyses of *O*-ureido-L-serine synthase necessary for D-cycloserine biosynthesis**, *FEBS J.* **282**, 3929 - 44, 2015 査読有り
4. Kumagai T, Ozawa T, Tanimoto M, Noda M, Matoba Y, Sugiyama M, **High level heterologous production of D-cycloserine by *Escherichia coli***, *Appl. Environ. Microbiol.* **81**, 7881 - 7, 2015. 査読有り

[学会発表](計13件)

1. Shimotani N, Furukawa Y, Uda N, Kuroda T, Yanagisawa S, Ogura T, Mizohata E, Inoue T, Kamachi T, Yoshizawa K, Matoba Y, **Catalytic mechanism of a heme-binding arginine hydroxylase responsible for the biosynthesis of D-cycloserine**, 第27回金属の関与する生体関連反応シンポジウム, 2017年6月16日~17日(東京理科大学神楽坂キャンパス, 東京)
2. 安武 千晶, 吉田 智喜, 伊豆原-木原 久枝, 黒田 照夫, 杉山 政則, 的場 康幸, **細菌由来シスタチオニン $\beta$ -シターゼの性質**

- と構造, および, その阻害剤開発**, 第90回日本細菌学会総会, 2017年3月19日~21日(仙台国際センター展示棟, 仙台)
3. Matoba Y., Crystallographic and spectroscopic studies of DcsA, a heme-binding arginine hydroxylase responsible for the biosynthesis of D-cycloserine, 感応性化学種が拓く新物質科学 第4回若手国際シンポジウム, 2016年12月12日~13日(大阪大学工学研究科サントリーメモリアルホール, 吹田)
  4. 工藤 真子, 的場 康幸, 宇田 成利, 熊谷 孝則, 黒田 照夫, 杉山 政則, **D-サイクロセリン合成酵素DcsGの構造生物学的研究およびホモシステインの定量と光学分割への応用**, 第55回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会, 2016年11月5日~6日(就実大学, 岡山)
  5. 的場 康幸, 古川 裕貴, 柳澤 幸子, 宇田 成利, 熊谷 孝則, 小倉 尚志, 杉山 政則, **D-サイクロセリン生合成に関わる新規ヘムタンパク質DcsAの構造と性質**, 第68回日本生物工学会大会, 2016年9月28日~30日(富山国際会議場, 富山)
  6. 熊谷 孝則, 小澤 智紀, 青田 達明, 谷本 桃子, 的場 康幸, 野田 正文, 杉山 政則, **大腸菌による抗結核薬D-サイクロセリンの高レベル異種生産**, 第68回日本生物工学会大会, 2016年9月28日~30日(富山国際会議場, 富山)
  7. 吉田 智喜, 的場 康幸, 木原 久枝, 熊谷 孝則, 野田 正文, 東川 史子, 杉山 政則, **O-アセチル-L-セリン依存型シスタチオンin-β-シクターゼによる硫化水素産生機構の解明**, 第54回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会, 2015年10月31日~11月1日(高知市文化プラザかるぼーと, 高知)
  8. 的場 康幸, 宇田 成利, 熊谷 孝則, 杉山 政則, **D-サイクロセリン合成酵素DcsGの構造生物学的研究**, 第67回日本生物工学会大会, 2015年10月26日~28日(城山観光ホテル, 鹿児島)
  9. 古川 裕貴, 的場 康幸, 柳澤 幸子, 宇田 成利, 工藤 真子, 熊谷 孝則, 小倉 尚志, 杉山 政則, **D-サイクロセリン生合成に関わるアルギニンヒドロキシラーゼ**, 第48回酸化反応討論会, 2015年10月23日~24日(同志社大学寒梅館, 京都)
  10. 古川 裕貴, 的場 康幸, 柳澤 幸子, 宇田 成利, 工藤 真子, 熊谷 孝則, 小倉 尚志, 杉山 政則, **D-サイクロセリン生合成に関わるアルギニン水酸化酵素の構造と性質**, 第9回バイオ関連化学シンポジウム, 2015年9月10日~12日(熊本大学工学部・黒髪南地区キャンパス, 熊本)
  11. 吉田 智喜, 的場 康幸, 木原 久枝, 野田 正文, 杉山 政則, **O-アセチル-L-セリン依存型シスタチオンin-β-シクターゼの構造生物学的研究**, 第9回バイオ関連化学シンポジウム, 2015年9月10日~12日(熊本大学工学部・黒髪南地区キャンパス, 熊本)
  12. 熊谷 孝則, 小澤 智紀, 的場 康幸, 野田 正文, 杉山 政則, **cysJ および cysK 遺伝子の二重破壊大腸菌株の使用によるD-サイクロセリン生産性の向上**, 2015年度(第30回)日本放線菌学会大会, 2015年9月7日~8日(富山国際会議場, 富山)
  13. 古川 裕貴, 的場 康幸, 柳澤 幸子, 宇田 成利, 工藤 真子, 熊谷 孝則, 小倉 尚志, 杉山 政則, **D-サイクロセリン生合成に関わるアルギニンヒドロキシラーゼの構造化学的研究**, 第25回金属の関与する生体関連反応シンポジウム, 2015年5月30日~31日(長崎大学文教スカイホール, 長崎)
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
的場 康幸 (MATOBA YASUYUKI)  
広島大学・大学院医歯薬保健学研究科・准教授  
研究者番号: 90363051
  - (2)研究分担者  
なし
  - (3)連携研究者  
なし
  - (4)研究協力者  
なし