

令和 4 年 3 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08138

研究課題名(和文)天然ゴム生合成を包括的に制御する転写制御機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of transcriptional regulation mechanisms for natural rubber biosynthesis-related genes

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) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：天然ゴム(NR)はゴム工業製品に不可欠な天然材料であるため、遺伝子工学的手法によるNR生産性の向上が期待されている。NR生合成関連タンパク質群は乳管細胞内で特異的に発現しているが、その転写制御機構に関する知見はほとんど得られていなかった。本研究では、パラゴムノキのNR生合成関連遺伝子群の包括的な発現制御を可能とする転写制御因子の同定を目的とした。yeast one-hybrid screeningおよび遺伝子発現プロファイルをもとにした探索の結果、NR生合成関連遺伝子のプロモーター領域に結合する転写制御因子を二種同定することに成功した。これらを用いたNR生産性の向上が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で同定された転写制御因子の過剰発現による、天然ゴム生合成関連遺伝子群の包括的な発現制御と天然ゴム生産性の向上が期待できる。また、本成果を応用することで、ラテックス特異的遺伝子発現システムの基盤構築も可能となる。このシステムにより、様々な有用二次代謝物生合成系をパラゴムノキで異種発現させることで、蓄積した目的代謝物をラテックスにとともに簡便に、かつ繰り返し回収可能である。主に熱帯地域で生育するパラゴムノキの機能改変による石油化学製品代替天然有機化合物の生産は、温室効果ガス低減と化石燃料枯渇対策を両立可能であり、世界の持続的発展の基盤となり得る。

研究成果の概要(英文)：Since natural rubber (NR) is a non-fungible natural polymer for rubber industries, improvement of the NR yield from the Para rubber tree (*Hevea brasiliensis*) through the molecular breeding approach is desired. Although many proteins involved in the NR biosynthesis have been identified, transcriptional regulation mechanisms for them in latex (cytoplasm of laticifer cells) remain to be elucidated. In this study, transcription factors involved in the metabolic regulation of NR were screened by yeast one-hybrid screening and transcriptional profiling of genes in *H. brasiliensis*. As results, two transcription factors predominantly expressed in laticifers in the Para rubber tree were shown to interact with 5' upstream regions of coding sequences of the NR biosynthesis-related genes. These transcription factors are expected to be applied for the improvement of NR yields.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：天然ゴム ラテックス パラゴムノキ 乳管細胞 イソプレノイド 転写制御因子

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

天然ゴムは、化石燃料から合成される合成ゴムでは再現不可能な優れた物性を有するため、現在においてもタイヤなどのゴム工業製品には不可欠な天然ポリマーである。工業材料としての天然ゴムの大部分は、熱帯地域で栽培されるパラゴムノキのラテックスから生産されている。ラテックスは、樹皮付近にネットワーク状に形成された乳管細胞の細胞質成分であり、その中では、疎水性の天然ゴム分子は脂質一重膜と膜タンパク質で囲まれたゴム粒子 (RP) として存在している。モーター化の加速に伴い天然ゴムの需要が年々伸び続けている一方で、その生産は熱帯諸国における伝統的農法に依存しているのが現状である。また、限られた数のパラゴムノキ優良品種を接ぎ木で増殖させるクローン栽培が主流であるため、病害虫の蔓延による大規模被害の危険性ははらむ。そのため、遺伝子工学的手法による天然ゴム高生産株の育種と、代替品種/生物による生産系の開発が期待されている。そのためには、(A)天然ゴム生合成酵素の解明と、(B)ラテックス特異的遺伝子発現制御機構の解明が必須であるが、その解明には至っていなかった。

上記(A)に関して、申請者らは、天然ゴムの基本骨格を生合成するシス型プレニル鎖延長酵素 (cPT) を同定し、組換え酵素で天然ゴムを生合成させることに世界で初めて成功した[1]。また、cPT と相互作用するタンパク質群を RP のプロテオーム解析と網羅的タンパク質間相互作用解析より同定し、それらを cPT とともに RP 上に再構成することで、天然ゴム生合成活性が著しく増強されることを発見した。これらの結果から、RP 上において複数のタンパク質が結合した天然ゴム生合成マシナリーが形成されていることを世界で初めて明らかにした (図 1) [2]。国内外の研究グループからも cPT 相同遺伝子のクローニングの報告があるが、*in vitro* の天然ゴム生合成活性の実証に成功しているのは申請者らのみであり、当該分野を大きく牽引している。

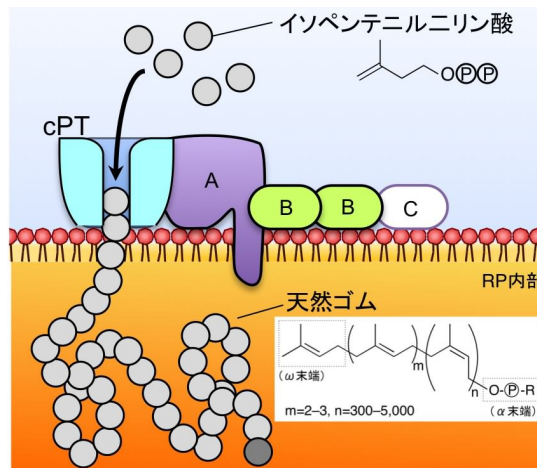


図 1 天然ゴム生合成機構の模式図

天然ゴム生合成マシナリーのタンパク質群はいずれもラテックス特異的発現を示す(図 2)ことから、申請者らは上記(B)の解明も目指した。まず、パラゴムノキラテックスの EST 解析を行い、それを基にラテックス特異的高発現遺伝子群を網羅的に同定した[3]。特にラテックス発現特異性の高い遺伝子 (天然ゴム生合成マシナリータンパク質群を含む) に着目し、それらのプロモーター領域をクローニングし比較解析したところ、複数の共通配列モチーフが見いだされた。ラテックス特異的遺伝子の多くは類似の組織別発現パターンを示すことから、限られた数の上位転写因子によるラテックス特異的発現制御機構の存在が示唆された。EST 解析からはラテックス特異的な発現を示す 5 つの転写因子も同定することが出来たが、それらの天然ゴム生合成制御への寄与は未解明であった。

また、申請者らはパラゴムノキ培養細胞における天然ゴム生産系の構築を目指し、乳管細胞を多く含む茎や葉柄から安定な懸濁培養細胞ラインを作製していた[4]。しかし、この培養細胞系では天然ゴム生合成能は全く検出できなかった。そこで、培養細胞における天然ゴム生合成関連遺伝子群の発現レベルを解析したところ、いずれもラテックスと比較して極めて低かった(図 2)。一方で、植物体においてこれらの遺伝子群が示す植物ホルモン応答性発現誘導は培養細胞でも保持されていた。以上の結果から、ラテックス特異的な発現を制御する転写因子は、培養細胞内ではほとんど発現/機能していないことが想定された。そこで申請者は発想を転換し、この培養細胞系を、ラテックス特異的な遺伝子発現制御に寄与する転写因子の機能評価を迅速かつ簡便に行うためのプラットフォームとして利用することが出来ると考えた。そのため、申請者らはこの懸濁培養細胞の形質転換法も確立した。

2. 研究の目的

本課題においては、パラゴムノキにおける天然ゴム生合成関連遺伝子のラテックス特異的発現制御機構の解明を目的として、これまでの申請者の研究背景を基に以下の点を明らかにする；

(1) 天然ゴム生合成関連タンパク質群の発現制御に寄与する転写因子の同定

天然ゴム生合成関連遺伝子のプロモーター領域に結合する転写因子タンパク質をスクリーニングし、各遺伝子の発現制御における機能を明らかにする。

(2) 天然ゴム生合成制御における転写因子の機能解明

通常は天然ゴムを生合成しないパラゴムノキ培養細胞に候補転写因子を導入し、遺伝子発現プロファイルや天然ゴム生合成能を評価することで、(1) で同定出来た転写因子がラテックス特異的遺伝子の発現や天然ゴム生合成において果たす役割を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 天然ゴム生合成関連タンパク質群の発現制御に寄与する転写制御因子の同定

天然ゴム生合成関連遺伝子のコード領域の 5' 上流領域 (プロモーター領域) に結合するタ

ンパク質を、ラテックス cDNA ライブラリーより Y1H で選抜した。Real-time RT-PCR により組織別の発現解析を行うことでラテックス特異的発現を示す転写制御因子をさらに選抜した。また、プロモーター領域内に存在する既知の転写制御因子結合配列（コンセンサス配列）を検索するとともに、その分布をもとにプロモーター領域を分割し、それらに対する Y1H アッセイを行うことで、候補となる転写制御因子の結合領域を絞り込んだ。候補となる転写制御因子の細胞内局在性を解析するため、それらを蛍光タンパク質融合型として *Nicotiana benthamiana* で一過的に発現させ、共焦点レーザー顕微鏡で解析した。また、候補転写因子と相互作用しうるタンパク質を split ubiquitin-based yeast two-hybrid system (SU-Y2H) で探索した。

(2) 天然ゴム生合成制御における転写因子の機能解明

転写因子をエストラジオール誘導型発現ベクターに導入した。それをパラゴムノキ培養細胞に導入するため、パラゴムノキの培養細胞は葉柄や葉より誘導し、液体懸濁培養細胞化を試みた。

4. 研究成果

(1) 天然ゴム生合成関連タンパク質群の発現制御に寄与する転写因子の同定

①ABA-STRESS-RIPENING family protein の同定と機能解析

ラテックス特異的な発現を示し、RP 膜上でもっとも存在量の多いタンパク質である Rubber Elongation Factor (REF) の 5' 上流約 3 kbp (プロモーター領域) に対し結合しうる転写因子を単離するため、パラゴムノキのラテックス cDNA ライブラリーを Yeast one-hybrid system (Y1H) でスクリーニングした。ここで、ラテックス内では発現遺伝子の偏りが大きく、20 種の遺伝子の mRNA が全体の 30% 以上を占めてしまうため、cDNA ライブラリーの平均化処理により、比較的発現レベルの低い転写因子を同定し易くした。その結果、ABA-STRESS-RIPENING (ASR) ファミリーに属すると推定される遺伝子が単離された。ASR は、アブラナ科などの例外を除き植物界に広く分布し、アブシジン酸 (ABA) 処理や乾燥などのストレス処理で発現誘導されるものが多いのが特徴である。種々の植物由来の ASR ファミリーの機能解析において、DNA 結合能を有することやシャペロンタンパク質として機能することなどが示され、多面的な制御に関与する転写因子の一種であると考えられている。このパラゴムノキの ASR ファミリータンパク質 (HbASRL) について、Real-time RT-PCR による組織別遺伝子発現解析を行ったところ、高いラテックス特異性を示した。また、ラテックス内において発現している遺伝子の中でも *HbASRL* の発現レベルは非常に高いことが明らかとなった。環境ストレス応答解析では、乾燥ストレス処理に対する弱い発現誘導性を示したが、ABA 処理では遺伝子発現レベルの顕著な応答はみられなかった。

REF のプロモーター領域には ASR の結合モチーフとして報告されているコンセンサス配列 ((C/G)CC(C/G)A) が複数箇所見出される。そこで、*REF* のプロモーター領域 3.2 kbp をコード領域から上流に 500 bp ごとに分割し Y1H による結合アッセイを行ったところ、コンセンサスモチーフを含む特定の領域に対する明確な結合特性を示した。そこで、他のラテックス特異的遺伝子である、*Protease Inhibitor Protein (PI)*、*HRT1* (天然ゴム合成酵素)、*HRT1-REF bridging protein (HRBP)* のプロモーター領域についても HbASRL の結合アッセイを行った。その結果、いずれの配列においても、コンセンサスモチーフを含むプロモーター領域に対して明確な結合が示された。

HbASRL が転写制御因子として機能することの根拠を示すため、植物内で HbASRL を mVenus 融合型として発現させるコンストラクトを作製し、それをアグロインフィルトレーション法で *N. benthamiana* の葉の表皮細胞で一過的に発現させた。その結果、mVenus-HbASRL に由来する蛍光が核内で検出された。またサイトゾルにおいてもその存在が確認された。ASR は多面的な機能を有し、その細胞内局在も変化することが知られている。ラテックス内においても、他のタンパク質との相互作用などによって局在を変化させ、多面的な機能を示す可能性が示唆された。そこで、天然ゴム生合成に寄与する cPT である *HRT1* との相互作用解析を SU-Y2H および Bimolecular fluorescence complementation (BiFC) assay にて検証したが、明確な相互作用は確認されなかった。本研究においては実施に至らなかったが、HbASRL と相互作用するラテックスないタンパク質のスクリーニングを実施していく予定である。

②Basic helix-loop-helix 型転写制御因子の同定と機能解析

上記の (1) ①に加え、これまでに我々が行ってきた EST 解析データ、および、公共データベースの情報を統合解析することで、ラテックス内で高発現している既知の転写制御因子ファミリーと配列類似性を示す遺伝子を探索した。その結果、9 つの候補遺伝子を見出すことができた。それらの遺伝子の詳細な発現解析を行った結果、7 種の候補配列がラテックスに特異的な発現を示すことが明らかとなった。

これらが天然ゴム生合成関連遺伝子のラテックス特異的な遺伝子発現制御に寄与している可能性を検証するため、まず、(1) ①と同様の手法で *REF* のプロモーター領域との相互作用を Y1H で検証した。その結果、一つの転写制御因子候補が *REF* のコード領域の 5' 上流 1.5 kbp から 2 kbp の領域と結合することがわかった。この候補タンパク質はシロイヌナズナの basic helix-loop-helix (bHLH) 型転写因子である *AtbHLH6* (*AtMYC2*) と類似性が高く、bHLH 型転写

因子ファミリーに分類される。シロイヌナズナの AtbHLH6/AtMYC2/RD22BP1 は、MYB 型転写因子 AtMYB2 と協調的に機能し、ABA シグナル伝達における転写活性化因子として機能することが報告されている。MYC 型転写制御因子の標的配列のコンセンサスモチーフは CAANNG であるが、上述の Y1H アッセイにおいて結合が確認できた REF のプロモーター領域には、CATTG 配列が見出され、さらに、その約 50 bp 下流には、MYB2 の結合コンセンサスモチーフ (YAACKG) に対応する CCGTTG (相補鎖) が見出された。このことは、REF の転写制御においても、bHLH 型転写因子と MYB 型転写因子が協調的に寄与している可能性が示唆された。MYC2-MYB2 は ABA やジャスモン酸 (JA) を介した環境応答に関与していることがモデル植物の解析などで明らかにされているが、パラゴムノキにおいて ABA と JA は、それぞれ、ラテックスの産生量や乳管細胞の分化に関連していることが報告されていることから、ラテックス特異的に高発現している REF がこれらの植物ホルモンによっても発現制御されている可能性が示唆された。

(2) 天然ゴム生合成制御における転写因子の機能解明

研究 (1) で絞り込まれた候補転写因子について、パラゴムノキ細胞内における機能を明らかにするため、エストラジオール誘導型過剰発現が可能であるバイナリーベクターを作製し、各遺伝子を連結した。当初の計画では、それらを用いてパラゴムノキ培養細胞を形質転換する予定であったが、当研究室で維持していたパラゴムノキ培養細胞ラインが継代時のトラブルにより死滅してしまった。そのため、新たにパラゴムノキの組織から懸濁培養細胞ラインを確立することとなった。分化ステージの異なる葉や葉柄から様々なカルス系統を誘導することには成功したが、それらを懸濁培養細胞化する際に、有望な増殖速度を示す系統が得られなかった。それらの原因を解明するため、培地中のオーキシンおよびサイトカイニンの分子種および添加濃度や培地組成を検討したが、解明には至らなかった。

そこで、別のアプローチとして、パラゴムノキの外植片に対して上述のバイナリーベクターが導入されたアグロバクテリウムで感染させ、そこから形質転換カルスを獲得手法の開発に取り組んだ。入手しやすい材料として、パラゴムノキの葉を対象として感染実験を行った。パラゴムノキの葉への感染効率を簡便にモニターするため、CaMV35S プロモーターに連結した sGFP を含むコンストラクトを導入することとした。単純なパラゴムノキの葉とアグロバクテリウムの共培養では感染効率が低いことが明らかとなったため、感染時に界面活性剤である Silwet L-77 を種々の条件で添加するとともに、短時間の減圧処理を施すバキュームインフィルトレーションを試みた。その結果、Silwet L-77 添加と減圧処理の組み合わせで有望な感染条件が確立できた。本研究期間内では転写制御因子候補の導入までには至らなかったが、本手法は今後のパラゴムノキにおける遺伝子機能解析の強力なツールとなる。

(3) 総括および展望

本研究では、ラテックス特異的高発現遺伝子のプロモーターに結合し、それらの発現制御に寄与することが示唆される転写制御因子の同定に成功した。これらの転写制御因子の過剰発現による、天然ゴム生合成関連遺伝子群の包括的な発現制御が期待できる。本成果を応用することで、ラテックス特異的遺伝子発現システムの基盤構築も可能となる。このシステムは、天然ゴム生産性の向上に貢献するだけでなく、ラテックス内有用物質高生産系の開発にも展開可能である。本成果をもとにしたラテックス特異的発現系により、様々な有用二次代謝物生合成系を異種発現させ、蓄積した目的代謝物をラテックスにとともに簡便に回収可能である。ラテックスは樹皮を傷付けるだけで一時間に数百 ml 得ることが出来、さらにそれを何度も繰り返すことが可能であるため、植物宿主を毎回伐採する必要の無い、簡便かつ持続的な有用物質回収システムである。また、熱帯林の CO₂ 固定量は陸上の生物圏全体の約 30% 以上にも及ぶため、主に熱帯地域で生育するパラゴムノキの機能改変による石油化学製品代替天然有機化合物の生産は、温室効果ガス低減と化石燃料枯渇対策を両立可能であり、世界の持続的発展の基盤となり得る。

<引用文献>

- [1] K. Asawatreratanakul, Y.W. Zhang, D. Wititsuwannakul, R. Wititsuwannakul, S. Takahashi, A. Rattanapittayaporn, T. Koyama, Molecular cloning, expression and characterization of cDNA encoding *cis*-prenyltransferases from *Hevea brasiliensis*. A key factor participating in natural rubber biosynthesis, *Eur. J. Biochem.* 270 (2003) 4671-4680.
- [2] S. Yamashita, H. Yamaguchi, T. Waki, Y. Aoki, M. Mizuno, F. Yanbe, T. Ishii, A. Funaki, Y. Tozawa, Y. Miyagi-Inoue, K. Fushihara, T. Nakayama, S. Takahashi, Identification and reconstitution of the rubber biosynthetic machinery on rubber particles from *Hevea brasiliensis*, *eLife* 5 (2016) e19022. 10.7554/eLife.19022.
- [3] Y. Aoki, S. Takahashi, D. Takayama, Y. Ogata, N. Sakurai, H. Suzuki, K. Asawatreratanakul, D. Wititsuwannakul, R. Wititsuwannakul, D. Shibata, T. Koyama, T. Nakayama, Identification of laticifer-specific genes and their promoter regions from a natural rubber producing plant *Hevea brasiliensis*, *Plant Sci.* 225 (2014) 1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.05.003>.

- [4] Y. Aoki, S. Takahashi, S. Toda, T. Koyama, T. Nakayama, Transcriptional responses of laticifer-specific genes to phytohormones in a suspension-cultured cell line derived from petioles of *Hevea brasiliensis*, *Plant Biotechnol.* 31 (2014) 593-598. [10.5511/plantbiotechnology.14.1015a](https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.14.1015a).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fujino Naoto, Tenma Natsuki, Waki Toshiyuki, Ito Keisuke, Komatsuzaki Yuki, Sugiyama Keigo, Yamazaki Tatsuya, Yoshida Saori, Hatayama Masayoshi, Yamashita Satoshi, Tanaka Yoshikazu, Motohashi Reiko, Denessiouk Konstantin, Takahashi Seiji, Nakayama Toru	4. 巻 94
2. 論文標題 Physical interactions among flavonoid enzymes in snapdragon and torenia reveal the diversity in the flavonoid metabolon organization of different plant species	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 372 ~ 392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.13864	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 Mameda Ryo, Waki Toshiyuki, Kawai Yosuke, Takahashi Seiji, Nakayama Toru	4. 巻 96
2. 論文標題 Involvement of chalcone reductase in the soybean isoflavone metabolon: identification of GmCHR5, which interacts with 2-hydroxyisoflavanone synthase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 56 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.14014	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 Sakurai Akinori, Hongo Shuntaro, Nair Arun, Waki Toshiyuki, Oikawa Daiki, Nishio Takuma, Shimoyama Takefumi, Takahashi Seiji, Yamashita Satoshi, Nakayama Toru	4. 巻 82
2. 論文標題 Identification and characterization of a novel bacterial α -glucosidase that is highly specific for the α -1,2-glucosidic linkage of sesaminol triglucoside	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1518 ~ 1521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2018.1476123	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 Dimitriou Polytimi S., Denesyuk Alexander, Takahashi Seiji, Yamashita Satoshi, Johnson Mark S., Nakayama Toru, Denessiouk Konstantin	4. 巻 85
2. 論文標題 Alpha/beta-hydrolases: A unique structural motif coordinates catalytic acid residue in 40 protein fold families	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 1845 ~ 1855
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prot.25338	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 該当する

1. 著者名 Yamashita Satoshi, Mizuno Makie, Hayashi Hidehiko, Yamaguchi Haruhiko, Miyagi-Inoue Yukino, Fushihara Kazuhisa, Koyama Tanetoshi, Nakayama Toru, Takahashi Seiji	4. 巻 82
2. 論文標題 Purification and characterization of small and large rubber particles from Hevea brasiliensis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2017.1401913	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 Fujino Naoto, Tenma Natsuki, Waki Toshiyuki, Ito Keisuke, Komatsuzaki Yuki, Sugiyama Keigo, Yamazaki Tatsuya, Yoshida Saori, Hatayama Masayoshi, Yamashita Satoshi, Tanaka Yoshikazu, Motohashi Reiko, Denessiouk Konstantin, Takahashi Seiji, Nakayama Toru	4. 巻 94
2. 論文標題 Physical interactions among flavonoid enzymes in snapdragon and torenia reveal the diversity in the flavonoid metabolon organization of different plant species	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 372~392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.13864	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, 山下哲	4. 巻 75
2. 論文標題 明らかになりつつある天然ゴム生合成の分子機構	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリー	6. 最初と最後の頁 292 298
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 山下哲, 高橋征司	4. 巻 37
2. 論文標題 パラゴムノキの天然ゴム生合成酵素の試験管内再構成	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 月刊機能材料	6. 最初と最後の頁 66-72
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 高橋征司, 山下哲, 伏原和久	4. 巻 66
2. 論文標題 天然ゴム生合成機構の謎に迫る	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 高分子	6. 最初と最後の頁 278-280
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 中山 亨、和氣 駿之、高橋 征司	4. 巻 65
2. 論文標題 バイオ資源の探索研究	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 化学と教育	6. 最初と最後の頁 12~15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20665/kakyoshi.65.1_12	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 和氣 駿之, 山下 哲, 中山 亨, 高橋 征司	4. 巻 72
2. 論文標題 バイオ工学を駆使した天然ゴムの合成: 生合成機構の解明と安定供給に大きく前進	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 化学	6. 最初と最後の頁 12-18
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 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Tomoki Ishii, Miki Suenaga-Hiromori, Satoshi Yamashita, Fumihiro Yanbe, Toshiyuki Waki, Kouji Kojima, Haruhiko Yamaguchi, Yukino Miyagi-Inoue, Kazuhisa Fushihara, Toru Nakayama and Seiji Takahashi*
2. 発表標題 In vitro natural rubber biosynthesis by prenyltransferases introduced on rubber particles from <i>Hevea brasiliensis</i>
3. 学会等名 The 23rd International Symposium on Plant Lipids (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 茂木大介, 末永美樹, 菊池洋平, 角掛 陽, 童 佳麗, 栗栖尚嗣, 青木裕一, 新藤一敏, 古谷昌弘, 下山武文, 和氣駿之, 中山亨, 高橋 征司
2. 発表標題 セイヨウトウキ由来テルペン合成酵素ファミリーの網羅的探索と機能解析
3. 学会等名 第28回イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋 征司
2. 発表標題 ゴム粒子膜へのタンパク質導入系で明らかにされた天然ゴム生合成の分子機構
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋 征司
2. 発表標題 ゴム粒子上に再構成した天然ゴム生合成マシナリによる多様なイソプレノイドポリマーの試験管内合成
3. 学会等名 マテリアル・ファブリケーション・デザインセミナー/第7回日本セラミックス協会 MFD 研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋 征司
2. 発表標題 パラゴムノキのゴム粒子膜上への異種酵素の 導入による新規ポリイソプレノイド生合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋征司
2. 発表標題 天然ゴムの生合成機構の解明
3. 学会等名 第18回 酵素応用シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Satoshi Yamashita, Haruhiko Yamaguchi, Toshiyuki Waki, Yuichi Aoki, Makie Mizuno, Fumihiro Yanbe, Tomoki Ishii, Ayuta Funaki, Yuzuru Tozawa, Yukino Miyagi-Inoue, Kazuhisa Fushihara, Toru Nakayama and Seiji Takahashi
2. 発表標題 Identification and reconstitution of the rubber biosynthetic machinery from <i>Hevea brasiliensis</i>
3. 学会等名 Plant Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 皆川知歩, 和氣駿之, 山家史大, 石井智樹, 解良康太, 平間匠, 工藤雅史, 山下哲, 中山亨, 高橋征司
2. 発表標題 高等植物のシス型プレニルトランスフェラーゼの活性制御における NgBR ファミリータンパク質の役割
3. 学会等名 第 27 回イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石井 智樹, 末永 美樹, 山下 哲, 山家 史大, 和氣 駿之, 小島 幸 治, 山口 晴彦, 井之上 ゆき乃, 伏原 和久, 中山 亨, 高橋 征司
2. 発表標題 天然ゴム生合成機構におけるゴム粒子の重要性
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度名古屋大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大竹興一郎, 山家史大, 田部井仁美, 和氣駿之, 舛本寛, 柴田大輔, 中山亨, 高橋征司
2. 発表標題 異種生物由来メバロン酸経路の移植による高等植物におけるイソプレノイド高生産プラットフォームの構築
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋征司
2. 発表標題 パラゴムノキの乳管特異的な遺伝子発現制御に寄与するタンパク質の探索
3. 学会等名 第26回イソプレノイド研究会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 化学同人編集部 編、高橋征司 (1章、共著)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 140
3. 書名 バイオ実験を安全に行うために	

1. 著者名 水谷 正治、土反 伸和、杉山 暁史 / 編、高橋 征司 (3章、共著)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 328
3. 書名 基礎から学ぶ植物代謝生化学	

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------