

令和 4 年 5 月 2 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02138

研究課題名(和文) アスパラギン酸経路・鍵酵素の複合体形成機構および活性調節機構の構造学的解析

研究課題名(英文) Functional and structural analyses of complex-forming and activity-regulation mechanisms of the key enzymes in aspartate-pathway

研究代表者

櫻庭 春彦 (Sakuraba, Haruhiko)

香川大学・農学部・教授

研究者番号：90205823

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：超好熱細菌 *Thermotoga maritima* 由来の二機能型アスパラギン酸キナーゼ-ホモセリン脱水素酵素 (AK-HseDH) および単一機能型アスパラギン酸キナーゼ (AK) において、AK-HseDHのAK活性はリジン非感受性であるがスレオニンにより強力に阻害を受けること、また単一機能型AKは、スレオニン非感受性であるがリジンにより阻害を受けることを明らかにした。このことから、二機能型AK-HseDH はスレオニン生合成に関与しており、単一機能型AKは、リジン生合成に関与し、それぞれの最終産物によりフィードバック調節を受けることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

二機能型AK-HseDHおよび単一機能型AKはヒトを含む哺乳動物には存在しないため、病原微生物に対する抗菌薬開発の分子標的として注目される。また植物では、本経路の酵素反応によって上記必須アミノ酸含量が決まるため、酵素改変による食用作物や畜産飼料の栄養価改善が期待される。本研究では、*T. maritima*の二機能型AK-HseDHと単一機能型AKを解析し、それぞれ従来と異なるタイプの調節機構を持ち、2つの酵素が役割分担をしていることが示唆された。このような例はこれまで知られておらず、新規な調節機構を提唱する点で学術的意義は大きい。また酵素改変による技術開発につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Aspartate kinase (AK) and homoserine dehydrogenase (HseDH) are involved in the biosynthetic pathway for L-threonine and L-lysine in plants and microorganisms. Both enzymes are important as potential targets for improving the nutritional value of food crops. AK and HseDH function as either a monofunctional enzyme or fused-bifunctional enzyme (AK-HseDH). These enzymes are highly regulated by the end products. However, information on the regulation mechanism remains limited because of their instability.

In the hyperthermophilic bacterium, *Thermotoga maritima*, we found presence of AK-HseDH and AK, both exhibit high stability. We revealed that the former to be an L-threonine-sensitive AK-HseDH, whose activity was not inhibited by L-lysine and the latter to be an L-lysine-sensitive AK, whose activity was not inhibited by L-threonine. Our results suggest that, in *T. maritima*, the AK-HseDH is related to the synthesis of L-threonine, whereas the AK functions in the synthesis of L-lysine.

研究分野：構造生物学

キーワード：超好熱菌 アスパラギン酸キナーゼ ホモセリン脱水素酵素 アスパラギン酸経路 *Thermotoga maritima*

1. 研究開始当初の背景

ヒトにおける必須アミノ酸であるスレオニン・メチオニンは微生物や植物にのみ存在する代謝経路によって、アスパラギン酸から生合成される(アスパラギン酸経路、図1)。この経路を構成する酵素は哺乳動物には存在しないため、病原微生物に対する抗菌薬開発の分子標的として注目される。また植物では、本経路の酵素反応によって上記必須アミノ酸含量が決まるため、酵素改変による食用作物や畜産飼料の栄養価改善が期待される。この経路では、アスパラギン酸はまずアスパラギン酸キナーゼ(AK)によりβ-アスパルチルリン酸(β-AP)にリン酸化される。次いで第二段階のアスパラギン酸セミアルデヒド脱水素酵素(AsaDH)が、β-APをアスパラギン酸セミアルデヒド(Asa)に変換する。Asaはホモセリン脱水素酵素(HseDH)によりホモセリン(Hse)に変換される。このHseがスレオニン・メチオニン合成の前駆体となる。

この経路において第一段階のAKと第三段階のHseDHは代謝調節の中心的役割を担っており、最終産物アミノ酸であるスレオニンやメチオニンによるフィードバック阻害などで厳密に活性調節を受ける鍵酵素である。これにより、生体内でのアミノ酸の生産がコントロールされている(図1)。特にスレオニンによるAKおよびHseDHの制御については、細菌、酵母、植物を用いて広く研究がなされている。

AKとHseDHは、融合して二機能型酵素(AK-HseDH)として働くタイプ、またそれぞれ単一の酵素として機能するタイプが存在する。大腸菌やシロイヌナズナは二機能型AK-HseDHを持つが、スレオニンにより強力な阻害を受けるスレオニン感受性酵素と阻害を受けないスレオニン非感受性酵素の両方を合わせ持つことが知られる。このうちスレオニン感受性酵素については、スレオニンが結合して阻害を起こす部位の存在が予想されている。しかし、これらの酵素は総じて不安定なため、その活性調節機構は不明な点が多い。また、第一段階のAKが生成するβ-APおよび第二段階のAsaDHの産物であるAsaは非常に不安定な物質であり、AK-HseDHとAsaDHが複合体を形成して、次々に産物を受け渡すメカニズム(チャネリング)の存在が推測される。しかし、生体内で基質転移がどのようになされているのかは謎のままである。

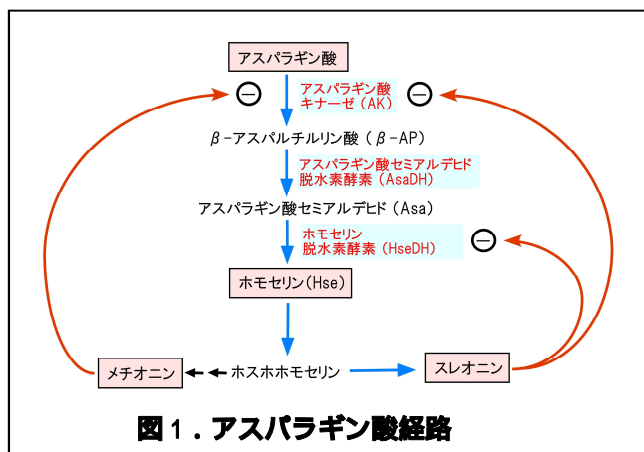


図1. アスパラギン酸経路

2. 研究の目的

(1) 本研究開始時点で、我々は、80°C付近の高温で生育する超好熱細菌 *Thermotoga maritima* に超好熱菌で初めて二機能型 AK-HseDH を見出し、大腸菌における大量生産に成功していた。また、アスパラギン酸経路の第二段階を触媒する AsaDH についても *T. maritima* 由来の酵素の大腸菌における大量生産系を構築した。*T. maritima* の AK-HseDH がスレオニンにより阻害を受けることが判明したので、スレオニンによる阻害メカニズムを解明すること、AK-HseDH と AsaDH の複合体形成および酵素間の基質伝達の可能性を検討することを目的とした。

(2) 一方、*T. maritima* には、二機能型 AK-HseDH 以外に単一機能型 AK をコードすると考えられる遺伝子が存在する。この遺伝子の大腸菌における発現系を構築し、産物のスレオニンに対する感受性を調べ、AK-HseDH との役割の違いを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 二機能型 AK-HseDH の精製と機能解析

大腸菌で生産させた *T. maritima* AK-HseDH を、熱処理、疎水性クロマトグラフィー、ゲルろ過、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーで精製した。精製酵素の活性に及ぼすスレオニン・リジンの効果を評価した。

(2) AsaDH の精製

大腸菌で生産させた *T. maritima* AsaDH を、熱処理、強陰イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過で精製した。

(3) AK-HseDH と AsaDH の複合体形成および酵素間の基質伝達

精製した AK/HseDH と AsaDH を等モル量混合し、氷上で 30 分間静置したのち、ゲルろ過を行った。得られたピーク付近のフラクションを回収後、SDS-PAGE によって AK/HseDH と AsaDH が溶出される画分を確認した。

AK/HseDH と AsaDH を等モル量混合した条件で活性測定を行い、反応開始から 0 分、5 分、10 分、15 分、20 分後のサンプルを回収した。回収したサンプルを氷上で急冷することで反応を停止し、限外ろ過フィルターを用いてタンパクを除去した。得られたサンプルを UPLC にアプライ

し、反応時間毎の Hse の生成量を定量し、NADPH の減少量との比較を行った。

(4) 単一機能型 AK の精製と機能解析

T. maritima AK の大腸菌における大量生産系を構築した。発現産物を 熱処理、陰イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、ゲルろ過で精製した。精製酵素の活性に及ぼすスレオニン・リジンの効果を評価した。

(5) AK-HseDH および AK の結晶化

AK-HseDH および AK の精製酵素について、限外ろ過フィルターを用いてそれぞれ 10 mg/ml および 20 mg/ml になるまで濃縮を行った。結晶化はシッティングドロップ蒸気拡散法で行い、酵素液とリザーバー溶液を 1:1 で混合し 20°C でインキュベートを行った。

4. 研究成果

(1) 大腸菌やシロイヌナズナにも AK-HseDH が存在する。アミノ酸配列を比較すると、*T. maritima* AK-HseDH は特徴的なドメイン配列をもつことが判明した。大腸菌やシロイヌナズナ由来の AK/HseDH のドメイン配列は、N 末端側から AK 領域、スレオニン結合部位 (ACT サイト)、HseDH 領域と配列されているのに対し、今回研究対象とした *T. maritima* 由来の AK/HseDH のドメイン配列は N 末端側から HseDH 領域、AK 領域、ACT サイトという順に並んでおり配列が異なっていた (図 2)。

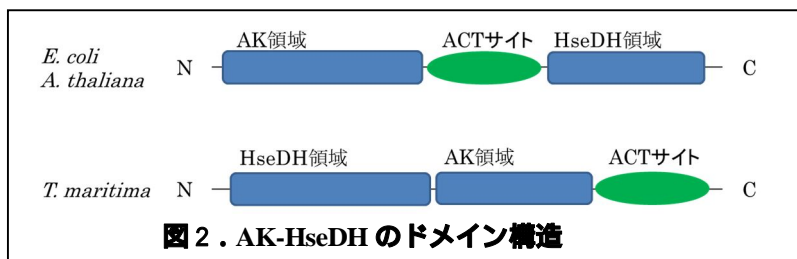


図 2. AK-HseDH のドメイン構造

精製酵素は、HseDH 活性および AK 活性の両方の活性を持つことから、*T. maritima* AK-HseDH 従来知られた酵素とは異なる新規のタイプの二機能型 AK-HseDH であることが明らかとなった。またシロイヌナズナの酵素はスレオニンの結合により、4

次構造が 6 量体から 4 量体に変化するのに対し、*T. maritima* の酵素ではこのような変化が見られないことがゲルろ過による解析で判明した。

(2) *T. maritima* AK-HseDH (二機能型) の活性に及ぼすスレオニン・リジンの効果を評価した。AK 反応のスレオニンによる阻害を測定したところ、cooperative manner で阻害が生じることが判明した (図 3)。阻害様式は、シロイヌナズナの酵素と同様であったが、AK 活性を阻害するのに必要なスレオニン濃度は、*T. maritima* 酵素では $K_{0.5} = 37 \mu\text{M}$; $n_H = 2.44$ で、シロイヌナズナ酵素の $K_{0.5} = 500 \mu\text{M}$; $n_H = 1.95$ [1] と比較して 1/13.5 と大幅に低い値であり、*T. maritima* 酵素は非常に強いスレオニン感受性を持つことが判明した。

一方、シロイヌナズナの AK-HseDH では、HseDH 反応もスレオニンによる阻害を受けることが知られているが ($K_{0.5} = 60 \text{ mM}$) [1]、*T. maritima* 酵素の HseDH 反応はスレオニン非感受性であることが明らかとなった。これらの結果は、*T. maritima* AK-HseDH における阻害様式は、シロイヌナズナ AK-HseDH における阻害様式とは明らかに異なることを示している。

これまでに知られている単一機能型 AK のいくつかは、リジンにより阻害を受けることが知られている。そこで、*T. maritima* AK-HseDH の HseDH 活性および AK 活性の両方でリジン感受性を調べたところ、阻害は検出されずリジン非感受性であることが確認された。

シロイヌナズナ AK-HseDH の ACT サイトには 2 つのスレオニン結合部位の存在が推定されて

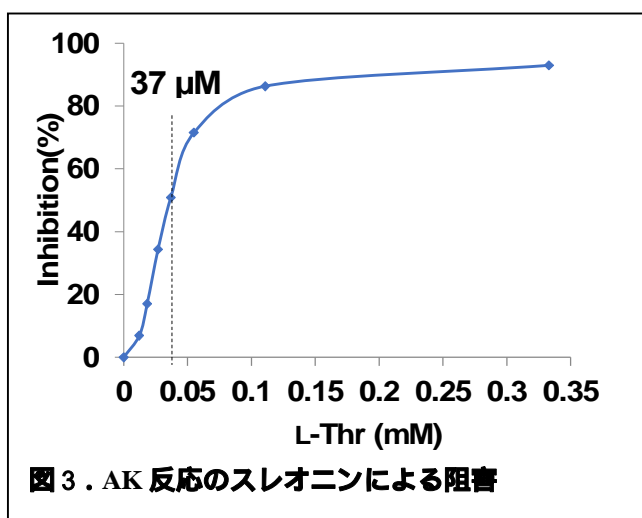
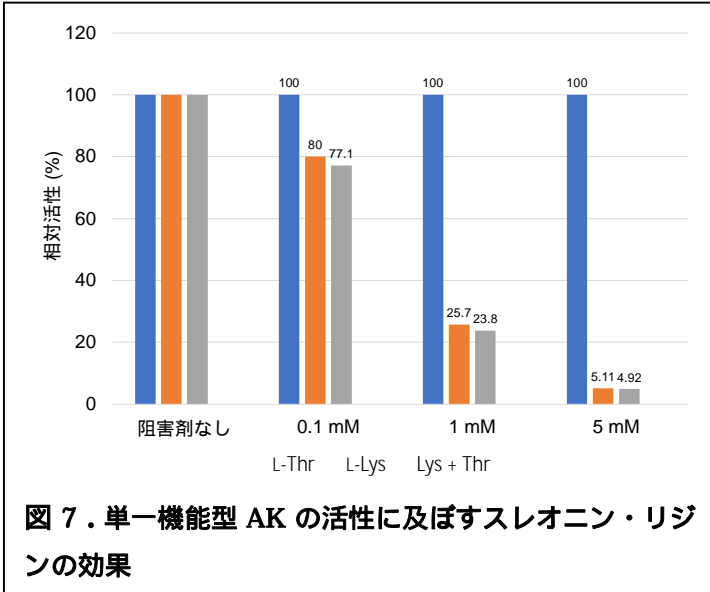
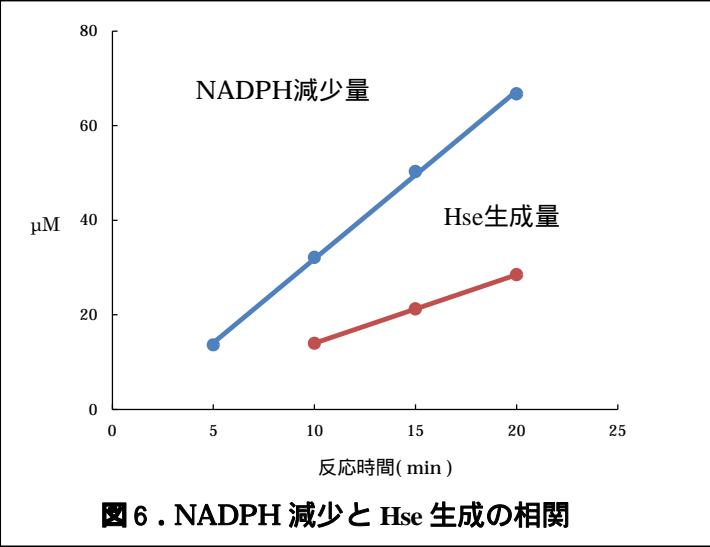
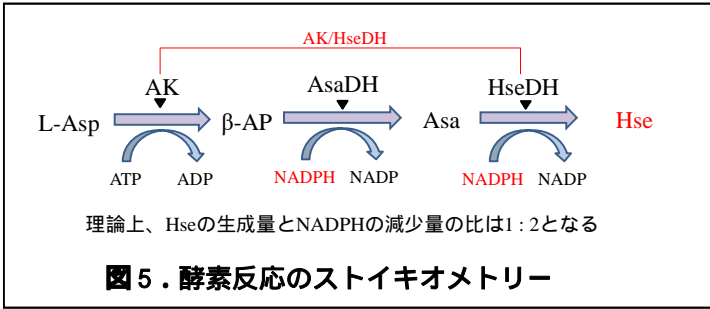
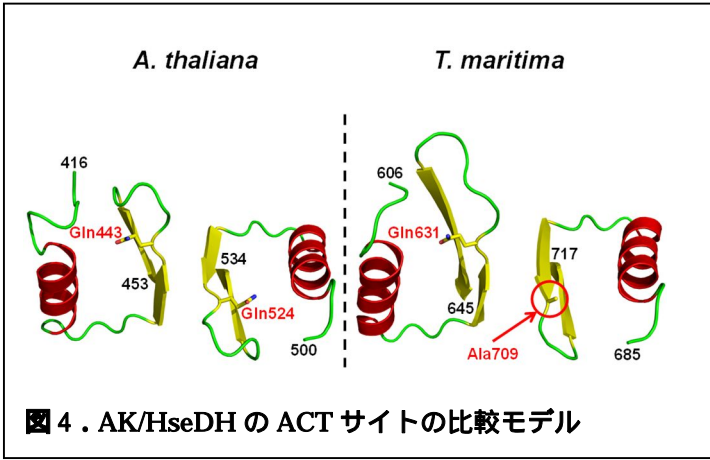


図 3. AK 反応のスレオニンによる阻害

おり、Gln443 に 1 つ目のスレオニンが結合し、AK 反応が阻害されるとともに、もう 1 か所のスレオニン結合部位 (Gln524) の立体構造が変化する。これにより、Gln524 に 2 つ目のスレオニンが結合可能になり、HseDH 反応のスレオニンによる阻害が促進される [1]。*T. maritima* AK-HseDH とシロイヌナズナ AK-HseDH の ACT サイトのアミノ酸配列を比較すると、シロイヌナズナ酵素の Gln443 は *T. maritima* 酵素では Gln631 として保存されているのに対し、Gln524 は Ala709 に置換されていた。両酵素の ACT サイトをモデリングして比較すると (図 4) 類似構造を持つにもかかわらず、*T. maritima* AK-HseDH におけるスレオニン結合様式はシロイヌ



ナズナ AK-HseDH のものと大きく異なることが示唆された。

(3) AK-HseDH と AsaDH の複合体形成および酵素間の基質伝達について検討した。AK-HseDH と AsaDH を等モル量混合液のゲルろ過を行った結果、AK-HseDH と AsaDH が SDS-PAGE 上で別々の画分に溶出されていることが確認され、複合体の形成は認められなかった。

酵素間の基質伝達については、まず、AK-HseDH の濃度を固定し、AsaDH の量を変化させ、活性が最大になる条件を検討した。その結果、AK-HseDH と AsaDH のモル比がおよそ 1:1 となる条件で活性が最大となった。シロイヌナズナ AK-HseDH の場合は、この比率は 5:1 であるため [2]、*T. maritima* AK-HseDH についてはストイキオメトリーにかなう結果となった。

そこで AK-HseDH と AsaDH を等モル量混合液の活性測定を行い、NADPH の減少と Hse の生成の相関を調べた。この反応系では、理論上、Hse の生成量と NADPH の減少量の比は 1:2 となる (図 5)。検討の結果、NADPH の減少速度は、Hse の生成速度の 2 倍になることが明らかになり、理論値と一致した (図 6)。これらの結果は、第一段階の AK が生成する β-AP および第二段階の AsaDH の産物である Asa が効率的に HseDH に受け渡されていることを示している。

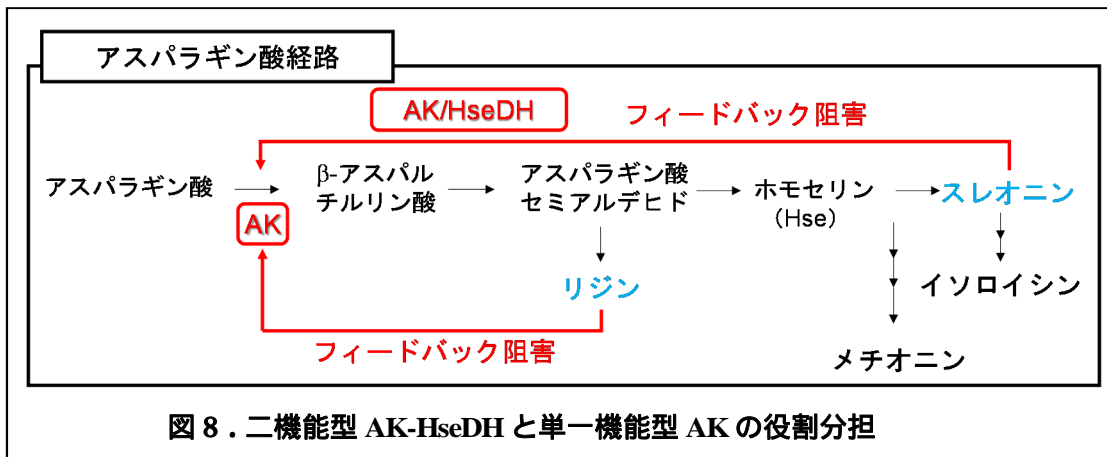
(4) *T. maritima* AK (単一機能型) の活性に及ぼすスレオニン・リジンの効果を評価した。まずスレオニンによる阻害を測定したところ、ほとんど阻害を受けないスレオニン非感受性であることが確認された。一方、リジンでは強力に阻害を受けることが明らかとなった。

他の微生物由来の単一機能型 AK は、*Corynebacterium glutamicum* [3] と *Brevibacterium flavum* [4] 由来の酵素では、リジンとスレオニンの両者が存在するとき、協調的に阻害を受けることが知られている。また、*Thermus thermophilus* 由来の酵素はスレオニンのみで阻害を受けることが報告されている [5]。

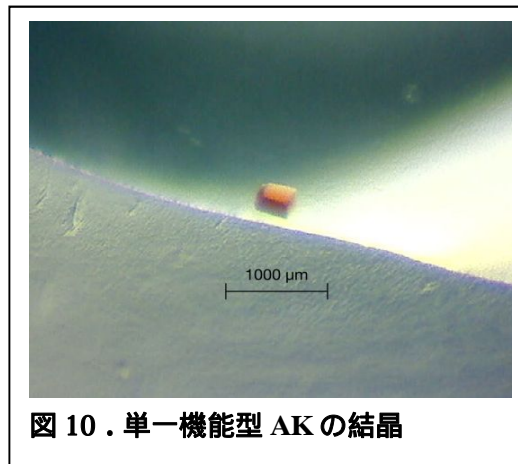
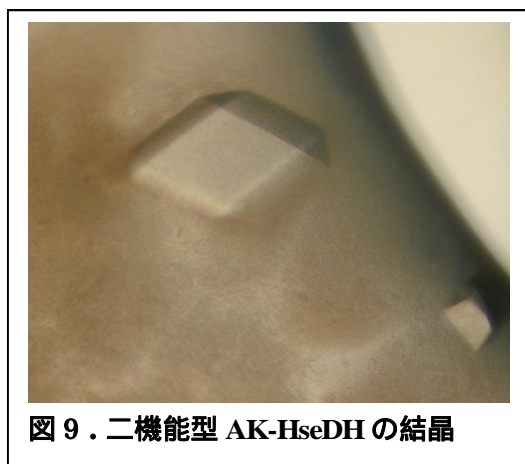
T. maritima の単一機能型 AK では、リジンを共存させてもスレ

オニンによる阻害は増強されず協調的阻害は確認されなかった点から、リジンのみで阻害を受けることが判明した。リジンにのみ感受性を示す単一機能型 AK は、これが初めての例となる。

リジンとスレオニンで協調的に阻害を受ける *C. glutamicum* 由来の AK (以下 CgAK) と *T. maritima* 由来の AK の ACT サイトのアミノ酸配列を比較すると、CgAK において緑で示した部分のスレオニン結合に関与するアミノ酸残基 [3] は *T. maritima* 由来の AK では Val367 しか保存されていない。一方で、黄色で示したリジン結合に関与するアミノ酸残基[3] は Asp291 や Met348、Pro352 など、9 個中 6 個という高い割合で保存されていた。このことから、*T. maritima* 由来の AK は ACT ドメインにリジン結合部位しか持っていないため、リジンのみで阻害を受けることが示唆された。



アスパラギン酸経路では二機能型 AK-HseDH により生成した Hse からスレオニンが生合成されるが、経路中のアスパラギン酸セミアルデヒドからはリジンが生合成される (図 8)。このことから、二機能型 AK-HseDH はスレオニン生合成に関与しており、単一機能型 AK は、リジン生合成に関与し、それぞれの最終産物によりフィードバック調節を受けることが示唆された。すなわち *T. maritima* のアミノ酸生合成経路において二機能型 AK-HseDH と単一機能型 AK が役割分担をしていることが示された。



(5)結晶化条件をスクリーニングした結果、二機能型 AK-HseDH では、0.1 M Tris/HCl (pH 8.5)、2.0M ammonium phosphate monobasic のマザーリカー組成で結晶を得た (図 9)

また、単一機能型 AK では、0.1 M Bicine (pH 9.0)、2 % 1,4-dioxane、10 % w/v PEG20000 の条件で結晶を得た (図 10)。二機能型 AK-HseDH については、香川県のコロナ蔓延防止措置により、高エネルギー加速器研究機構 (KEK) のビームタイムの利用ができなかったため、今後のビームタイムでデータを収集する。また単一機能型 AK については、微結晶であったため、KEK の微結晶解析ビームライン (BL-1A) で解析を行う予定である。

< 引用文献 >

- [1] S. Paris, et al., *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278, 5361–5366.
- [2] S. Paris, et al., *Protein Expression and Purification*, 2002, 24, 99–104.
- [3] A. Yoshida, et al., *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285, 27477-27486.
- [4] M. Nishiyama, et al., *Microbiology*, 1995, 141, 1121-1219.
- [5] I. Shiio and R. Miyajima, *Journal of Biochemistry*, 1969, 65, 849-859.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10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 Ryushi Kawakami, Tatsuya Ohshida, Junji Hayashi, Kazunari Yoneda, Toshio Furumoto, Toshihisa Ohshima, Haruhiko Sakuraba | 4. 巻 208 |
| 2. 論文標題 Crystal structure of a novel type of ornithine -aminotransferase from the hyperthermophilic archaeon <i>Pyrococcus horikoshii</i> . | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 International journal of biological macromolecules | 6. 最初と最後の頁 731-740 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijbiomac.2022.03.114 | 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 Kazunari Yoneda, Haruhiko Sakuraba, Tomohiro Araki, Toshihisa Ohshima | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Stereospecificity of hydride transfer and molecular docking in FMN-dependent NADH-indigo reductase of <i>Bacillus smithii</i> . | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 FEBS open bio | 6. 最初と最後の頁 1981-1986 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13200 | 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 Ryushi Kawakami, Chinatsu Kinoshita, Tomoki Kawase, Mikio Sato, Junji Hayashi, Haruhiko Sakuraba, Toshihisa Ohshima | 4. 巻 85 |
| 2. 論文標題 Characterization of a novel moderate-substrate specificity amino acid racemase from the hyperthermophilic archaeon <i>Thermococcus litoralis</i> . | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Bioscience, biotechnology, and biochemistry | 6. 最初と最後の頁 1650-1657 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbab078 | 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 Kazunari Yoneda, Misa Yoshioka, Haruhiko Sakuraba, Tomohiro Araki, Toshihisa Ohshima | 4. 巻 164 |
| 2. 論文標題 Structural and biochemical characterization of an extremely thermostable FMN-dependent NADH-indigo reductase from <i>Bacillus smithii</i> . | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 International journal of biological macromolecules | 6. 最初と最後の頁 3259 - 3267 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.197 | 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 Kazunari Yoneda, Rina Nagano, Takuya Mikami, Haruhiko Sakuraba, Kenji Fukui, Tomohiro Araki, Toshihisa Ohshima | 4. 巻 140 |
| 2. 論文標題 Catalytic properties and crystal structure of UDP-galactose 4-epimerase-like L-threonine 3-dehydrogenase from <i>Phytophthora infestans</i> . | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Enzyme and microbial technology | 6. 最初と最後の頁 109627-109627 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.enzmictec.2020.109627 | 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 Takenori Satomura, Shin Emoto, Norio Kurosawa, Toshihisa Ohshima, Haruhiko Sakuraba, Shin-Ichiro Suye | 4. 巻 130 |
| 2. 論文標題 Characterization of dye-linked D-amino acid dehydrogenase from <i>Sulfurisphaera tokodaii</i> expressed using an archaeal recombinant protein expression system. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of bioscience and bioengineering | 6. 最初と最後の頁 247 - 252 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2020.04.008 | 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 Ohshida Tatsuya, Hayashi Junji, Yoneda Kazunari, Ohshima Toshihisa, Sakuraba Haruhiko | 4. 巻 88 |
| 2. 論文標題 Unique active site formation in a novel galactose 1 phosphate uridylyltransferase from the hyperthermophilic archaeon <i>Pyrobaculum aerophilum</i> | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics | 6. 最初と最後の頁 669 ~ 678 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prot.25848 | 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 Tatsuya Ohshida, Kohei Koba, Junji Hayashi, Kazunari Yoneda, Taketo Ohmori, Toshihisa Ohshima, Haruhiko Sakuraba | 4. 巻 82 |
| 2. 論文標題 A novel bifunctional aspartate kinase-homoserine dehydrogenase from the hyperthermophilic bacterium, <i>Thermotoga maritima</i> . | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Bioscience, biotechnology, and biochemistry | 6. 最初と最後の頁 2084-2093 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2018.1511365 | 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 Ryushi Kawakami, Tatsuya Ohshida, Haruhiko Sakuraba, Toshihisa Ohshima | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 A Novel PLP-Dependent Alanine/Serine Racemase From the Hyperthermophilic Archaeon Pyrococcus horikoshii OT-3. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in 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) 10.3389/fmicb.2018.01481 | 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 Satomura T, Hayashi J, Ohshida T, Sakuraba H, Ohshima T, Suye SI | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Enzymological characteristics of a novel archaeal dye-linked D-lactate dehydrogenase showing loose binding of FAD. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Extremophiles | 6. 最初と最後の頁 975-981 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00792-018-1054-3 | 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 Kazunari Yoneda, Haruhiko Sakuraba, Tomohiro Araki, Toshihisa Ohshima | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Crystal structure of the NADP+ and tartrate-bound complex of L-serine 3-dehydrogenase from the hyperthermophilic archaeon Pyrobaculum calidifontis | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Extremophiles | 6. 最初と最後の頁 395-405 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00792-018-1004-0 | 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 - |

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 額田 大輝, 大森 勇門, 大島敏久, 櫻庭 春彦 |
| 2. 発表標題 好熱菌Geobacillus kaustophilusに存在する二種類のL-アラニンデヒドロゲナーゼのX線結晶構造解析 |
| 3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部第61回講演会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 西野 祥平, 櫻庭 春彦 |
| 2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> 由来アスパラギン酸キナーゼに関する研究 |
| 3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部第59回講演会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 川上 竜巳, 河瀬 智紀, 佐藤 樹夫, 櫻庭 春彦, 大島 敏久 |
| 2. 発表標題 超好熱アーキア <i>Pyrococcus horikoshii</i> における L-Ile/D-allo-Ile によるアミノ酸ラセマーゼ遺伝子の発現制御 |
| 3. 学会等名 極限環境生物学会年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 櫻庭 春彦, 大志田 達也, 川上 竜巳, 林 順司, 米田 一成, 大島 敏久 |
| 2. 発表標題 好熱アーキア <i>Pyrococcus horikoshii</i> 由来オルニチンアミノトランスフェラーゼの構造解析 |
| 3. 学会等名 ビタミンB研究協議会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 林 順司, 大志田 達也, 川上 竜巳, 里村 武範, 若山 守, 大島 敏久, 櫻庭 春彦 |
| 2. 発表標題 超好熱菌由来色素依存性D-乳酸脱水素酵素のX線結晶構造解析 |
| 3. 学会等名 農芸化学会中四国支部第58回講演会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 伊藤佑衣, 里村武範, 岩田峻弥, 櫻庭春彦, 大島敏久, 末信一朗 |
| 2. 発表標題 好熱菌由来色素依存性L-グルタミン酸脱水素酵素の酵素化学的性質の解析 |
| 3. 学会等名 極限環境生物学会2020年度 (第21回) 年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大志田 達也、林 順司、米田 一成、大島 敏久、櫻庭 春彦 |
| 2. 発表標題 超好熱アーキアPyrobaculum aerophilum由来新規ガラクトース1-リン酸ウリジリルトランスフェラーゼに関する研究 |
| 3. 学会等名 日本農芸化学会大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 川上 竜巳、半澤 七菜、大志田 達也、櫻庭 春彦、大島 敏久 |
| 2. 発表標題 超好熱アーキアPyrococcus horikoshii OT 3のオルニチンアミノトランスフェラーゼの機能解析と構造解析 |
| 3. 学会等名 日本ビタミン学会第71回大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 櫻庭 春彦 |
| 2. 発表標題 超好熱菌由来ガラクトース1-リン酸ウリジリルトランスフェラーゼの構造解析 |
| 3. 学会等名 第457回ビタミンB研究協議会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 櫻庭春彦 |
| 2. 発表標題 超好熱アーキア由来NAD(P)依存性脱水素酵素の新奇な補酵素認識機構 |
| 3. 学会等名 日本生化学会大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 櫻庭春彦 |
| 2. 発表標題 D アミノ酸脱水素酵素の構造情報に基づく基質特異性の改変 |
| 3. 学会等名 日本生物工学会大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 櫻庭春彦 |
| 2. 発表標題 超好熱菌由来の新規なアスパラギン酸キナーゼ・ホモセリンデヒドロゲナーゼ融合酵素 |
| 3. 学会等名 ビタミンB研究協議会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 林 順司, 牟田口祐太, 米田 一成, 大森 勇門, 大島 敏久, 櫻庭春彦 |
| 2. 発表標題 新規分岐鎖アミノ酸ラセマーゼ, イソロイシン2-エピメラーゼの構造解析 |
| 3. 学会等名 日本ビタミン学会大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 米田一成, 櫻庭春彦, 荒木朋洋, 大島敏久 |
| 2. 発表標題 Bacillus smithii 由来 FMN-NADH 依存性インジゴ還元酵素の機能と構造 |
| 3. 学会等名 日本ビタミン学会大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 櫻庭春彦, 大島敏久 | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 朝倉書店 | 5. 総ページ数 672 |
| 3. 書名 ビタミン・バイオフィクター総合事典 [2.2 ビタミンB2 生化学・生理学(代謝と作用機序)] | |

〔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 |
|-------|--|--------------------------------------|----|
| 連携研究者 | 大島 敏久 (Ohshima Toshihisa) (10093345) | 大阪工業大学・工学部・教授 (34406) | |

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 |
|---------|---------|