

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K04850

研究課題名(和文)代謝経路の複数酵素比活性のハイスループット測定技術の開発

研究課題名(英文)High throughput technique for measuring specific enzyme activities of a metabolic pathway

研究代表者

戸谷 吉博(Toya, Yoshihiro)

大阪大学・情報科学研究科・准教授

研究者番号：70582162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：有用物質生産を目的とした微生物の代謝工学において、代謝経路の律速段階の同定は生産性を向上させるための重要な課題である。酵素の最大反応速度( $V_{max}$ )は律速段階同定の手掛かりとなるが、複数の酵素反応の $V_{max}$ を一度に測定することは困難であった。本研究では、粗酵素液を利用して試験管内で代謝経路を駆動し、実測した代謝物濃度の時系列データから複数酵素の $V_{max}$ をハイスループットに推定する手法を開発した。大腸菌の解糖系について、実測した代謝物濃度の時系列を説明する $V_{max}$ を推定し、代謝制御解析により律速酵素を同定した。結果の妥当性はin vitroとin vivoの検証実験によって確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞内における代謝の仕組みを理解するために、これまで様々な方法が開発されてきた。なかでも代謝フラックス解析は、代謝経路の流れ(フラックス)を明らかにすることで、代謝の実態を評価するための方法として広く用いられてきた。一方で、なぜその代謝状態だったのかは、フラックスだけを見ているだけではわからなかった。本研究で推定が可能になった各酵素反応の最大反応速度( $V_{max}$ )と実際のフラックスを比較することで、どの反応が酵素量レベルでの制限を受けているのか明らかにできる。また、代謝経路中でどの反応が経路全体のフラックスに強く影響するか詳細な仕組みを解明できるようになる。

研究成果の概要(英文)：In the field of bio-productions, identification of a rate-limiting step in the metabolic pathways is one of the important issues for enhancing the productivity. Although the maximum enzyme activity ( $V_{max}$ ) provides a clue for the identification, measuring the  $V_{max}$  values of many reactions at once is a time-consuming task. Here, I developed a high-throughput method for simultaneously estimating the  $V_{max}$  of the enzymes in a pathway using a time-course data of intermediate concentrations obtained from an in vitro experiment. The  $V_{max}$  values of reactions in glycolysis of *Escherichia coli* were estimated with this protocol. Metabolic control analysis using the estimated  $V_{max}$  values revealed a rate-limiting step. The validity was confirmed by additional in vitro and in vivo experiments.

研究分野：代謝工学

キーワード：代謝経路 律速反応 酵素活性 反応速度論モデル 代謝制御解析 代謝工学 解糖系

### 1. 研究開始当初の背景

微生物の代謝を利用して、燃料アルコールや化成品原料など様々な有用物質が生産されている。代謝工学の研究分野では、代謝経路のフラックス分布を調べることで、原料をより高収率に目的物質に変換するための改変が行われ、多数の成功例が報告されている。しかし、バイオプロセスによる物質生産を実用化するには、収率だけでなく生産速度の向上も必要になっている。そのため、どの反応が律速になっているかを明らかにすることが課題である。酵素比活性 ( $V_{max}$ ) は、細胞に含まれる酵素の触媒する反応速度の最大値である。代謝経路における各反応の  $V_{max}$  とフラックスを比較することで、対象経路全体のフラックスを増強するために発現を強化すべき酵素が明らかになる。従来、 $V_{max}$  は NADH や NADPH を生産・消費する反応と共役することで、吸光度変化として計測する。酵素反応ごとに別々のアッセイ法を必要とするためスループットが低く、代謝経路の複数の酵素について  $V_{max}$  を調べるのは困難であった。

反応速度論モデルは代謝システムを統合的に解釈するための便利なツールである。大腸菌などのモデル生物において、解糖系などの主要経路については精緻なモデルが構築されている。動的モデルには、 $K_m$  や  $V_{max}$  など多くの変数が含まれる。 $K_m$  に比べて、 $V_{max}$  は発現量が関係するため、その値は環境によって変化する。反応速度論モデルがあると代謝制御解析を行って律速反応を定量的に評価できる。すなわち、興味ある条件についての  $V_{max}$  の推定は、速度論モデルがある代謝経路において律速段階の同定を可能にする。

*In vitro* における代謝経路の再構成系は、システムの振る舞いや制御の仕組みを調査する上で有効な方法である。反応に必要な基質や補酵素を加えることで、一連の代謝経路を駆動することができる。細胞からの粗酵素液を利用して、解糖系やアミノ酸の生合成経路など様々な代謝経路の再構成が報告されている。試験管内の環境は細胞内に比べて調節しやすいので、良質なタイムコースデータの取得が可能である。本研究において、研究代表者らは速度論モデルの  $V_{max}$  を最適化パラメータとして、実測データを説明するように最適化によって推定する方法を提案した。

### 2. 研究の目的

本研究では、細胞から抽出した粗酵素液を使った *in vitro* の反応系と速度論モデルを利用し、中枢代謝経路に含まれる複数酵素の  $V_{max}$  をハイスループットに測定する技術を開発することを目的とした。図 1 に本解析による代謝経路の  $V_{max}$  ハイスループット測定と律速反応同定手法の概要を示す。調べたい細胞から細胞粗抽出液を獲得する。*In vitro* の反応系において、基質や補酵素と細胞粗抽出液を混合し、代謝経路を駆動する。時系列に反応液をサンプリングし、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて中間代謝物質濃度の時系列データを取得する。解析対象経路の速度論モデルを利用して、中間代謝物質濃度時系列の実測とシミュレーションの差が最小になるように  $V_{max}$  の値を最適化する。

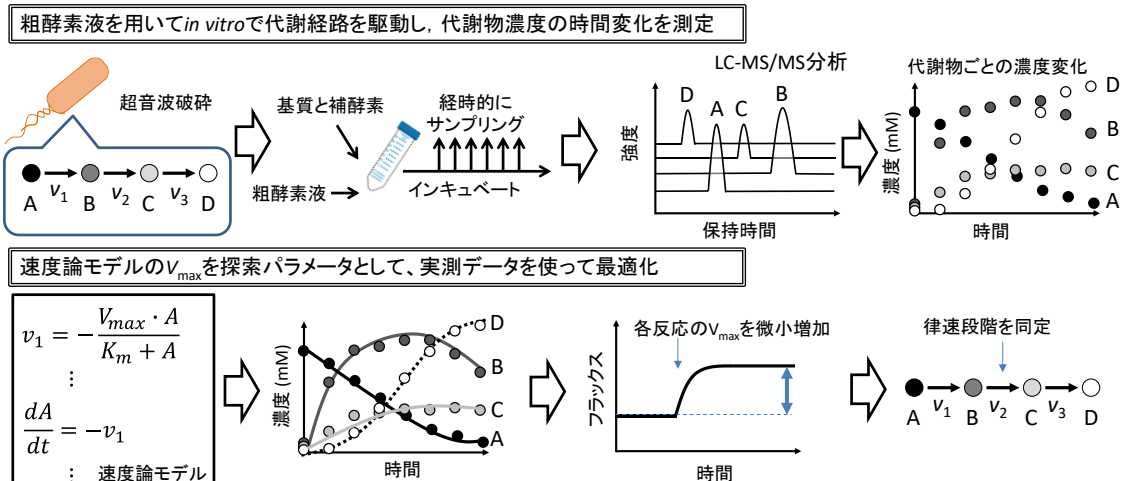


図 1. 本解析の概要

### 3. 研究の方法

#### (1) 反応速度論モデルと *in silico* 仮想実験による手法の開発と検証

大腸菌のグルコース 6 リン酸 (G6P) からピルビン酸 (PYR) までの解糖系の反応速度論モデルを構築した。各反応の速度式に含まれるミカエリス・メンテン定数などのパラメータは、先行研究の値を利用した。初期の代謝物質濃度は、後述の *in vitro* の実験条件と同じ値に設定した。本手法の概念実証のため、モデルに任意の  $V_{max}$  のセットを入力し、*in silico* 仮想実験を行い、各中間代謝物濃度の時系列データを得た。ここでは律速段階とする反応の  $V_{max}$  だけが 0.01 mmol/mg/min、他の 9 つの反応の  $V_{max}$  は 1.00 mmol/mg/min とした。反応開始から 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30 分目に濃度データを取得した。得られた濃度データに変動係数が 5% となるノイズを加えることで仮想実験データとした。仮想実験および後述の  $V_{max}$  の最

適化には MATLAB R2020a を利用し、数値積分には *ode15s* ソルバーを用いた。

#### (2) 大腸菌の培養と粗酵素抽出液を利用した *in vitro* 反応実験

大腸菌の ASKA クローンの親株 AG1 株を利用して *in vitro* 反応実験に用いる菌体を得た。検証のための定常期におけるグルコース消費速度の評価には、解糖系の各一遺伝子過剰発現株を利用した。前培養は LB 培地を用いて 37°C, 150 rpm の振盪速度で一晩培養を行った。本培養は、4 g/L グルコース、40 mg/L ヒスチジン、25 mg/L クロラムフェニコールを含む M9 合成培地 50 mL を加え、初期 OD<sub>600</sub> が 0.05 になるように植菌した。37°C, 150 rpm の振盪速度で培養を行った。培養開始 6 時間後に 100 μM の IPTG を添加し、16 時間後に遠心分離により菌体を回収した。菌体を洗浄バッファに懸濁し、超音波破碎により粗酵素抽出液を調整した。粗酵素抽出液の総タンパク質量は BCA アッセイにより測定した。*In vitro* 反応実験では、基質として 1 mM ATP, 5 mM ADP, 5 mM NAD<sup>+</sup>, 5 mM G6P を含む反応液を 5 分間 37°C でインキュベートした後、粗酵素抽出液を反応液容量の 20 分の 1 加えて反応を開始させた。反応開始から 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30 分目に反応液を回収し、コールドメタノール法による前処理を行った後、LC-MS/MS を用いて中間代謝物を定量した。また、分光光度計を用いて 340 nm の吸光度を測定することで NADH の生産速度を計測した。

#### (3) 反応速度論モデルを用いた各酵素反応の V<sub>max</sub> 推定と代謝制御解析

(仮想) 実験データとシミュレーション結果との残差二乗和 (RSS) が最小になるように、以下の評価関数を用いて速度論モデルに含まれる V<sub>max</sub> の値を最適化した。

$$RSS = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k (E_{i,j} - S_{i,j})^2$$

$E$  は実験データ、 $S$  はシミュレーション結果、 $n$  は評価した中間代謝物質の数、 $k$  はサンプリングのタイムポイント数を表す。また、最適化計算には遺伝的アルゴリズム (GA) を用いた。最適化によって求めた V<sub>max</sub> の値をモデルに実装し、基質と補酵素の濃度を 0.1 mM G6P, 0.1 mM ATP, 5 mM ADP, 0 mM NADH, 5 mM NAD<sup>+</sup> に固定し、定常状態になるまでシミュレーションを実施した。その後、各酵素の V<sub>max</sub> の値を 1% 増加させ、次の定常状態になるまでシミュレーションを実施した。フラックス制御係数 (FCC) は以下の式で計算した。

$$FCC_i^{\mathcal{J}^A} = \frac{\Delta J}{\Delta e_i} \frac{e_i}{J^A}$$

$e_i$  は  $i$  番目の酵素の酵素活性、 $\mathcal{J}^A$  はフラックスを表す。

#### (4) フェノール添加が大腸菌の中核代謝フラックスに及ぼす影響の解析

本手法の応用として、目的化合物であるフェノールが大腸菌の中核代謝経路に及ぼす影響を調査した。解糖系、ペントースリン酸経路、クエン酸回路を含む中核代謝全体を評価するため、直線経路の解析に効果的な本提案手法と分岐・合流を含む経路全体の解析に有効な <sup>13</sup>C 代謝フラックス解析を組み合わせて実施した。本実験には大腸菌野生株 BW25113 株を使用し、4 g/L の [1-<sup>13</sup>C] グルコースを単一炭素源として含む 50 mL の M9 合成培地に初期 OD<sub>600</sub> が 0.05 となるように植菌し、37°C, 200 rpm で培養を実施した。培地に添加したフェノール濃度は 0%, 0.1%, 0.15% の 3 条件を比較した。<sup>13</sup>C 代謝フラックス解析には、ガスクロマトグラフ質量分析計で測定したタンパク質由来アミノ酸の同位体標識情報を利用した。

### 4. 研究成果

#### (1) *in silico* 仮想実験による手法の開発と検証

大腸菌の解糖系について、G6P から PYR までの速度論モデルを構築した。構築したモデルは、各酵素の V<sub>max</sub> のセットを入力値として、時系列での中間代謝物質の濃度をシミュレーションできる。本研究では、実験的に取得した代謝濃度の時系列データを最も説明できるように RSS を最小にする V<sub>max</sub> のセットを推定した。本手法の概念実証のため、解糖系前半のホスホフルクトキナーゼ (PFK) もしくは後半のホスホグリセリン酸キナーゼ (PGK) の反応の V<sub>max</sub> が最も小さいときについて複数酵素の V<sub>max</sub> の同時推定を行った。

仮想実験の結果、PFK や PGK の V<sub>max</sub> は 13 回の GA の試行において、すべて 0.01 mmol/mg/min に収束し、推定範囲の幅を非常に狭く限定して推定することができた。一方で、経路上流に律速反応が存在した場合に、以降の反応における V<sub>max</sub> の推定は難しい (解が一意に定まらなくなる) という課題が見出された。このような場合には、最初小さい V<sub>max</sub> の値を持つ反応の生成物を基質とした実験を追加して行い、以降の反応の V<sub>max</sub> を別途推定するなどの工夫が必要になるであろう (北村, 博士学位論文)。ただし、一連の代謝経路における律速反応の予測が目的である場合は、低い値を持つ V<sub>max</sub> が狭い範囲で推定できたことが重要であるため、本研究の目的においては、このアプローチで目的を達成できることが確認できた。

#### (2) 大腸菌の粗酵素抽出液を利用した *in vitro* 反応実験

グルコースを炭素源とする M9 最小培地で培養した大腸菌細胞から調整した粗酵素抽出液を

利用して、*in vitro*において解糖系の代謝経路を駆動した。LC-MS/MSで測定した解糖系の中間代謝物質の濃度時系列を図2に示す。基質のG6Pが徐々に減少し、それ以外の中間代謝物質が増加した様子が観察された。解析対象経路の最終産物であるPYRの濃度も増加しており、経路全体が駆動していることが確認できた。

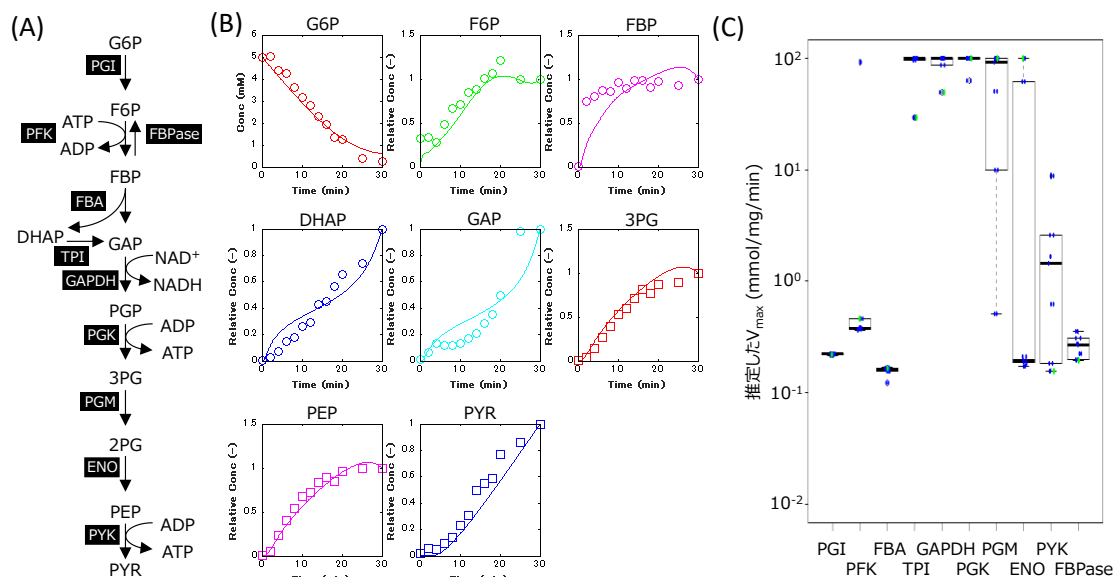


図2. コントロール株の *in vitro* 実験における解糖系酵素の  $V_{max}$  推定結果

(A)は解糖系の反応名と中間代謝物の略号、(B)はLC-MS/MSで実測した各中間代謝物質の濃度時系列データ(○)と推定した $V_{max}$ によるシミュレーション結果(実線)、(C)は $V_{max}$ の推定結果。中央太線は中央値、箱の最上端と下端は第3と第1四分位数を表す。青色点は11回のGAの結果、緑色点は最小のRSSを実現する $V_{max}$ を表す。

### (3) 反応速度論モデルを用いた各酵素反応の $V_{max}$ 推定とフラックス制御係数の評価

解糖系の速度論モデルを利用し、実測した図2の中間代謝物濃度の時系列データを説明するように全酵素の $V_{max}$ の値を同時推定した。13回のGAの試行のうちRSSが最小値の試行で得られた各酵素反応の $V_{max}$ はPGI: 0.22, PFK: 0.45, FBA: 0.16, TPI: 29, GAPDH: 49, PGK: 99, PGM: 100, ENO: 100, PYK: 0.16, FBPase: 0.19 mmol/mg/minであった(図2C)。この最適解の $V_{max}$ のセットを利用して、速度論モデルを数値積分した結果を図2Bに実線として示す。実測データのプロットとシミュレーション結果の実線はよく一致しており、実測データをよく説明できる $V_{max}$ を同時に推定することができた。RSSが最小となる $V_{max}$ の推定結果では、一連の代謝経路の中でFBAとPYKが小さい値として推定された。PYKは推定された $V_{max}$ の範囲が広いのに対して、FBAは $V_{max}$ が0.12 ~ 0.17 mmol/mg/minと推定範囲が狭い範囲に限定されており、かつ最小の値であった。そこで、推定したFBAの $V_{max}$ の妥当性を確認するため、従来の酵素反応をカップリングしてNADHの吸光度変化に基づいて測定する手法で得られた値と比較した。従来の酵素法で得られたFBAの $V_{max}$ の値は $0.23 \pm 0.01$  mmol/mg/minであり、本研究で新規に開発した複数酵素の $V_{max}$ 同時推定法で推定した値とおよそ一致していた。

代謝経路において個々の反応がどれだけフラックスに寄与していたか調べるには、代謝制御解析によって評価できる。フラックス制御係数(FCC)は各酵素の $V_{max}$ を微小変化させた際に、どれだけ全体のフラックス分布が増加したかを評価する指標である。FCCが大きい反応ほど経路全体のフラックス増加に対する寄与が大きい。計算したFCCの値は、PGI: 0.12, PFK: 0.24, FBA: 0.32, TPI: 0.01, GAPDH: 0.06, PGK: 0.05, PGM: 0.00, ENO: 0.00, PYK: 0.31, FBPase: -0.11(単位なし)であり、FBAの $V_{max}$ 増大が経路全体のフラックスに及ぼす影響が最も大きいことが示唆された。

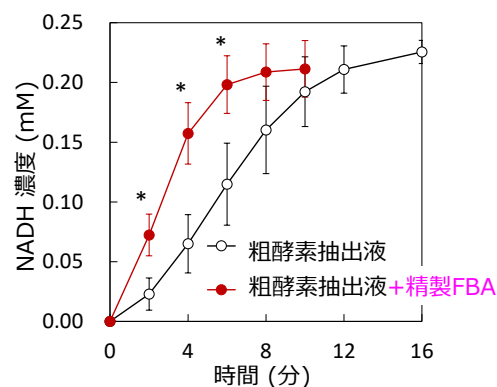


図3. 精製FBAの添加が *in vitro* の解糖系フラックスに及ぼす影響

経路下流のGAPDHの反応でNADHが生産されるため、NADH生成を340 nmの吸光度変化として計測した。

### (4) *in vitro* と *in vivo* における代謝経路の律速段階の確認

$V_{max}$ の推定と速度論モデルを利用した代謝制御解析から、FBAの反応が解糖系における律速段階と予測された。もしFBAの反応が律速段階であるならば、この反応を触媒する精製酵素を



*in vitro* の反応系に追加することで、解糖系全体のフラックスが増加するはずである。粗酵素液を利用した試験管内の反応系において、FBA の精製酵素を添加することで解糖系のフラックスが向上したことを確認した (前頁の図 3)。

本研究ではさらに FBA の酵素発現の増加が、実際の細胞内においても解糖系のフラックス増加に寄与することを確認した。解糖系の各酵素遺伝子を過剰発現させた大腸菌を培養し、増殖を停止した定常期においてグルコースの比消費速度を比較した。空ベクターを含むコントロール株と比較して、過剰発現株の中で FBA 過剰発現株だけがグルコースの比消費速度が増加した (図 4)。この結果は、*in vivo* においても FBA が律速であることを示唆している。

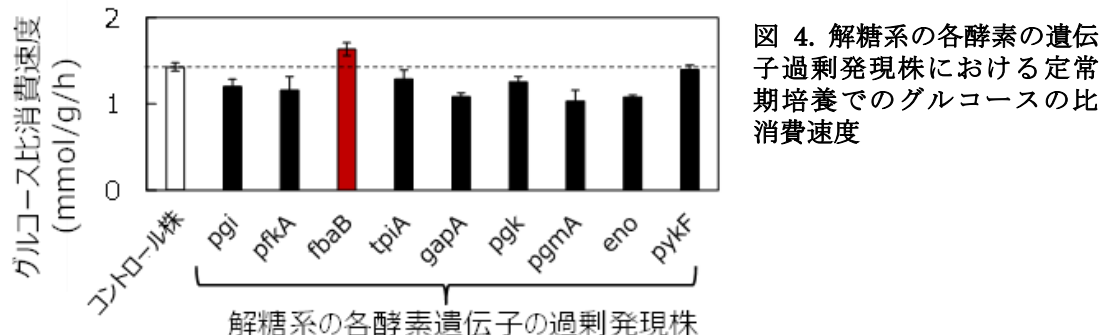


図 4. 解糖系の各酵素の遺伝子過剰発現株における定常期培養でのグルコースの比消費速度

#### (5) フェノール添加が大腸菌の中核代謝フラックスに及ぼす影響の解析

本手法の応用として、目的化合物であるフェノールが大腸菌の中核代謝経路に及ぼす影響を調査した。フェノールの添加濃度に応じて著しい細胞増殖の低下がみられ、代謝経路の一部が阻害されたことが示唆された (図 5A)。フラックス分布の情報から経路分岐点に関する律速反応を絞り込み (図 5B), *in vitro* の実験よりクエン酸回路のクエン酸合成酵素の活性がフェノールによって低下することを実験的に明らかにした (図 5C)。

また、本手法を利用して、解糖系の酵素についてフェノール存在下と非存在下において  $V_{max}$  を推定し、フェノールの有無によって  $V_{max}$  が変化しないことを明らかにした。代謝フラックス解析と本手法を組み合わせることで、経路全体における律速反応を同定し、目的物質生産の向上に有効な知見を得られることを示した。

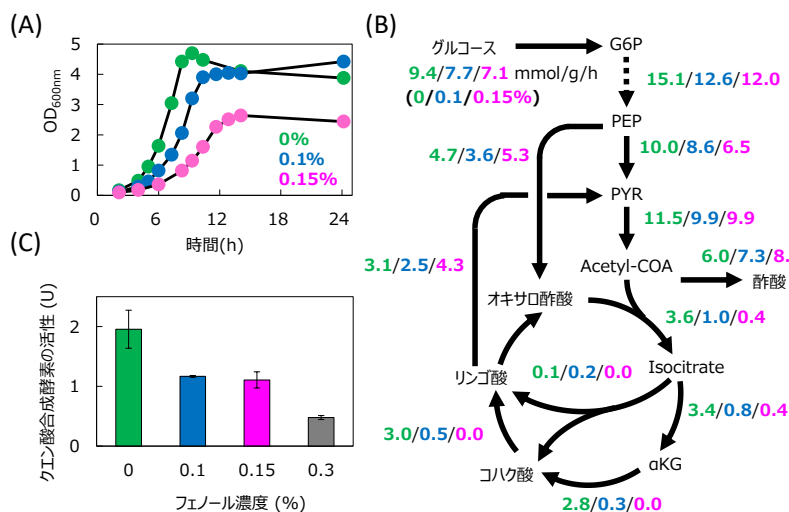


図 5. 培養液へのフェノール添加が代謝に及ぼす影響

(A) はフェノールが細胞増殖に及ぼす影響、(B) は <sup>13</sup>C 代謝フラックス解析によって推定した各反応のフラックス、(C) はフェノール添加濃度とクエン酸合成酵素の活性の関係。

#### (6) まとめ

本研究では、*in vitro* の反応実験と速度論モデルを利用した最適化計算を組み合わせることで、経路に含まれる複数酵素の  $V_{max}$  を一度に求める技術を開発した。大腸菌の解糖系の酵素について  $V_{max}$  の同時推定を行い、 $V_{max}$  が小さく最大の FCC をもつ FBA を律速反応と同定した。結果の妥当性は、*in vitro* の酵素付加実験と *in vivo* の培養評価の検証実験によって確認した。

*in vivo* の実験と比べて、*in vitro* の実験のほうが実験操作や条件設定に利点がある。細胞の集菌を必要としないため、迅速なサンプリングや簡便なサンプルの前処理を可能にする。また、細胞は取り込むことができない中間物質から経路を開始することも可能である。目的によっては代謝経路を分断できる。例えば、G6P と NAD、ATP を基質に用いれば解糖系を駆動でき、G6P と NADP を基質に用いればペントースリン酸経路を駆動できる。駆動する経路を限定することで、速度論モデルを使った最適化計算を簡略できる。本手法は反応速度論モデルの存在を前提とするため、モデルが存在するよく研究されているモデル微生物の主要経路について実行できる。興味のある代謝経路中の律速反応を簡便に予測できるため、代謝工学のツールとして活用できるであろう。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Senoo Sachie, Tandar Sebastian Tommi, Kitamura Sayaka, Toya Yoshihiro, Shimizu Hiroshi	4. 巻 116
2. 論文標題 Light inducible flux control of triosephosphate isomerase on glycolysis in Escherichia coli	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biotechnology and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 3292 ~ 3300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bit.27148	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 Kitamura Sayaka, Toya Yoshihiro, Shimizu Hiroshi	4. 巻 10
2. 論文標題 13C-Metabolic flux analysis reveals effect of phenol on central carbon metabolism in Escherichia coli	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2019.01010	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 Tandar Sebastian Tommi, Senoo Sachie, Toya Yoshihiro, Shimizu Hiroshi	4. 巻 55
2. 論文標題 Optogenetic switch for controlling the central metabolic flux of Escherichia coli	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Metabolic Engineering	6. 最初と最後の頁 68 ~ 75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymben.2019.06.002	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 Kamata Kentaro, Toya Yoshihiro, Shimizu Hiroshi	4. 巻 116
2. 論文標題 Effect of precise control of flux ratio between the glycolytic pathways on mevalonate production in Escherichia coli	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biotechnology and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 1080 ~ 1088
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bit.26923	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 Kentaro Kamata, Yoshihiro Toya, Hiroshi Shimizu	4. 巻 116
2. 論文標題 Effect of precise control of flux ratio between the glycolytic pathways on mevalonate production in <i>Escherichia coli</i> .	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biotechnology and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 1080
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bit.26923	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 Rikuto Kamiura, Yoshihiro Toya, Fumio Matsuda, Hiroshi Shimizu	4. 巻 41
2. 論文標題 Theophylline-inducible riboswitch accurately regulates protein expression at low level in <i>Escherichia coli</i> .	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biotechnology Letters	6. 最初と最後の頁 743 ~ 751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10529-019-02672-8	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 Kitamura Sayaka, Shimizu Hiroshi, Toya Yoshihiro	4. 巻 131
2. 論文標題 Identification of a rate-limiting step in a metabolic pathway using the kinetic model and in?vitro experiment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 271 ~ 276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2020.10.008	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 Nochino Naoya, Toya Yoshihiro, Shimizu Hiroshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Transcription Factor ArcA is a Flux Sensor for the Oxygen Consumption Rate in <i>Escherichia coli</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biotechnology Journal	6. 最初と最後の頁 1900353 ~ 1900353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/biot.201900353	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10件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kitamura Sayaka, Toya Yoshihiro, Shimizu Hiroshi
2. 発表標題 High-throughput measurement method for multiple enzyme specific activities using a kinetic model
3. 学会等名 APCCHE 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北村 さや香, 戸谷 吉博, 清水 浩
2. 発表標題 代謝経路の動的モデルを使ったin vitroの酵素反応系による複数酵素Vmaxの予測
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北村 さや香, 戸谷 吉博, 清水 浩
2. 発表標題 フェノールが大腸菌の中核代謝に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 第70回日本生物工学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸谷 吉博, 鎌田 健太郎, 妹尾 幸枝, TANDAR SEBASTIAN TOMMI, 清水 浩
2. 発表標題 大腸菌の代謝経路のフラックス比が物質生産に及ぼす影響
3. 学会等名 第12回メタボロームシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 鎌田 健太郎, 戸谷 吉博, 清水 浩
2. 発表標題 大腸菌中枢代謝経路のフラックス制御が物質生産に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 化学工学会第50回秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸谷 吉博
2. 発表標題 微生物の中枢代謝経路フラックスを制御するための技術
3. 学会等名 関西スマートセルフォーラム2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北村 さや香, 戸谷 吉博, 清水 浩
2. 発表標題 試験管内反応系を利用した代謝経路の律速段階の同定
3. 学会等名 化学工学会第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 戸谷 吉博
2. 発表標題 フラックスバランス解析を利用した増殖連動型物質生産のための代謝設計とその応用
3. 学会等名 2020年日本バイオインフォマティクス学会年会・第9回生命医薬情報学連合大会(IIBMP2020) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 楠田 みのり, 戸谷 吉博, 清水 浩
2. 発表標題 蛍光タンパク質を利用した共培養のための菌体比率 制御技術の開発
3. 学会等名 化学工学会第86年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塚本 雅士, 戸谷 吉博, 清水 浩
2. 発表標題 光誘導スイッチを利用した代謝フラックスの動的な調節技術の開発
3. 学会等名 化学工学会第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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