

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K05386

研究課題名（和文）生物による物質生産研究を加速する菌体内アルデヒド生成量の可視化技術の開発と応用

研究課題名（英文）Development and application of visualisation technology for aldehyde bioproduction

研究代表者

林 勇樹（Hayashi, Yuuki）

東京大学・環境安全研究センター・准教授

研究者番号：90444059

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）：微生物を用いた物質生産では、目的物の収量が最大化する条件探索（最適化）が行われるが、目的生成物の定量に多くの時間と労力を要するため、最適化の律速段階となっている。本研究では、菌体内で生成された目的生成物の量に応じて発光するアルデヒドセンサー大腸菌を開発し、外部から培養液の発光量を測定することで、非侵襲的、かつ、ハイスループットに目的生成物の量を評価できる系の開発を進めた。次世代燃料の前駆体、医薬品原薬や香料となるアルデヒドに対する発光を確認し、アルデヒドセンサー大腸菌の可能性を実証したが、その実用化のためには、センサー蛋白質の高感度（高発光）化が必要であ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

生体は香料など有用なアルデヒドを生成する一方、酸化ストレスにより有害なアルデヒド（酸化ストレスマーカー）も生成する。こうしたアルデヒドは、反応性が高く不安定であるため、生体内での検出は難しい。本研究で開発するアルデヒドセンサーは、センサータンパク質が生体内のアルデヒドを直接基質として発光するため、非侵襲的、かつ、リアルタイムにアルデヒドの存在を検出できる。そのため、アルデヒドとその誘導体のバイオ生産において、生産プロセスの最適化や酵素改変研究を飛躍的に加速できるだけでなく、生体内での酸化ストレスマーカーの時空間的観測を可能にし、酸化ストレスと病態進行の関係を明らかにするツールとして期待できる。

研究成果の概要（英文）：In bioproduction utilizing microorganisms, determining the optimal conditions to maximize the yield of the target product requires significant time and labor for quantifying the product yield, which becomes the rate-limiting step in the optimization process. This study aims to develop aldehyde-sensing E. coli bacteria that emit light in response to intracellular production of the target aldehyde. This sensing system offers a non-invasive, real-time, high-throughput method to assess amount of the target aldehyde by measuring luminescent intensity. We confirmed that the aldehyde-sensing E. coli can detect target aldehydes, such as next-generation fuels, pharmaceutical ingredients, and flavorings, and emit luminescence. However, the results suggest that the activity of the sensor protein against the target aldehydes needs to be improved for practical use.

研究分野：進化分子工学

キーワード：蛋白質工学 進化分子工学 バイオセンサー アルデヒド 物質生産 発光 非侵襲的 リアルタイム

1. 研究開始当初の背景

微生物による物質生産では、多様な生産条件を数多く試行し、目的生成物を定量し、収率が最大化となる条件の探索(最適化)を行う。しかし、目的生成物を定量するためには、培養液中の細胞を破砕し、有機溶媒などによる抽出、分析機器による定量といった多段階プロセスに多くの時間と労力を要するため、物質生産の最適化における律速段階となっている。特に、目的生成物の反応性が高く不安定な分子であれば、細胞内で直ちに他の分子と反応し、あるいは、内在性酵素により別の分子へと変換されるため、正しく定量することは非常に難しい。代表的な分子としてアルデヒドがあげられる。アルデヒドは、細胞内で生成されたアルデヒドを基質として発光するバイオセンサーを開発することができれば、培養液中でのアルデヒドの生成量を、外部から発光量として測定するだけで(非侵襲的)評価でき、リアルタイムに、かつ、多検体同時に評価でき、物質生産の最適化プロセスを飛躍的に加速できる。さらには、アルデヒドを生成する変異体酵素の活性評価や、アルデヒドを生成する代謝経路のフラックスを非破壊的に評価できるため、微生物による物質生産の分野において研究を強力に推進できるツールになることが期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、大腸菌内で生成されたアルデヒドを基質として、直ちに発光反応を示すバイオセンサーを開発し、外部から大腸菌培養液の発光でモニターすることで、非侵襲的、かつ、リアルタイムに、大腸菌内での生成されたアルデヒドの量を評価できる系(アルデヒドセンサー大腸菌)を構築する。アルデヒドを生成する人工代謝経路を設計・構築し、大腸菌内で生成したアルデヒドの生成量に応じて、アルデヒドセンサー大腸菌が発光することを検証する。

3. 研究の方法

(1) 本研究で使用するアルデヒドセンサー大腸菌の構築

(2) アルデヒドセンサー遺伝子を発現する条件、アルデヒドの添加条件の検討

(3) アルデヒドセンサー蛋白質が基質として利用できるアルデヒドの探索

(4) アルデヒドセンサー蛋白質の発現・精製

(5) 標的アルデヒドを生成する人工代謝経路の設計と構築

(6) 標的アルデヒドに対してより高活性(高発光)を示すアルデヒドセンサーの探索のためのハイスループット評価系の構築

4. 研究成果

(1) 本研究で使用するアルデヒドセンサー大腸菌の構築

本研究でアルデヒドのセンサーとして使用する遺伝子(以下、アルデヒドセンサー遺伝子)について、複数種の生物由来の遺伝子入手し、うち1つの遺伝子を用いて、大腸菌用の発現ベクターである pET15b に組み込み、発現ベクターを構築した。この大腸菌で発現することで、目的遺伝子が発現することを SDS-PAGE で確認した。

(2) アルデヒドセンサー遺伝子を発現する条件、アルデヒドの添加条件の検討

大腸菌でアルデヒドセンサー遺伝子の発現条件(菌株、培地、温度)の検討を行った。大腸菌内で発現・培養温度は、大腸菌の生育至適温度(37℃)より、室温(25℃)がアルデヒドセンサーとしては適していることが明らかとなった。また、発現誘導後のアルデヒド添加するタイミングについて最適化を完了し、アルデヒドセンサー大腸菌を用いたアルデヒドの活性評価系を確立した。

(3) アルデヒドセンサー蛋白質が基質として利用できるアルデヒドの探索

(2)で確立した、アルデヒドセンサー大腸菌による活性評価系に対し、さまざまなアルデヒド(短鎖アルデヒド、短鎖分岐アルデヒド、芳香族アルデヒド、二重結合を有するアルデヒドなど)をさまざまな濃度で添加後、大腸菌培養液の発光量の経時変化を化学発光用プレートリーダーで測定した。その結果、次世代燃料の前駆体となるアルデヒドであり、本研究の標的アルデヒドの1つである、短鎖分岐アルデヒドに対して高い発光を示すことが明らかとなった(図1)。続いて、芳香族アルデヒドにおいて、ベンズアルデヒドに対しては発光を示さなかったものの、

芳香環とアルデヒド基との間の炭素鎖の長さ（メチレン基の数）によって発光強度が異なることが明らかとなった（図2）。医薬品原薬や香料であり、本研究のもう1つの標的アルデヒドである芳香族アルデヒドに対して、高い発光を示したことから、本センサー蛋白質は、次世代燃料や香料としてのアルデヒドの物質生産の最適化プロセスを飛躍的に加速させるツールとして可能性が示された。また、アルデヒド生成酵素の活性センサーとして可能性も示された。しかし、本センサー蛋白質を用いて、菌体内のアルデヒド生成量をモニターするためには、菌体内でアルデヒド生成速度 < センサーによる基質消費速度となる条件（アルデヒド生成速度が律速段階となる条件）を満たす必要がある。そのためには、センサー蛋白質の本来の基質とは異なる標的アルデヒドに対して、より高活性（高発光）なセンサー蛋白質へと改変する必要性が示唆された。一方で、この実験で得られた発光強度は、センサー蛋白質の基質特異性だけでなく、添加したアルデヒドの膜透過性、アルデヒドの細胞毒性にも依存していることから、センサー蛋白質の基質特異性について正確に議論するために、新たに、精製したセンサー蛋白質を用いて、各種アルデヒドに対する試験管内（in vitro）での活性を評価すべきである判断した。

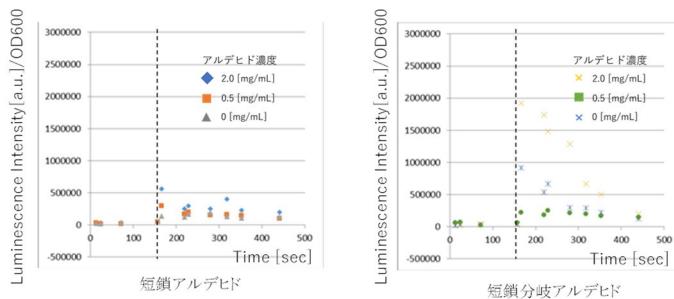


図1 アルデヒドセンサー大腸菌の培養液の発光の経時変化。縦軸は、大腸菌の菌体量あたりの培養液の発光強度を示している。横軸は、センサー蛋白質の発現誘導を開始した時間を示している。大腸菌培養液にアルデヒドを添加した時間を点線で示す。アルデヒドの種類によって、異なる発光強度を示している。

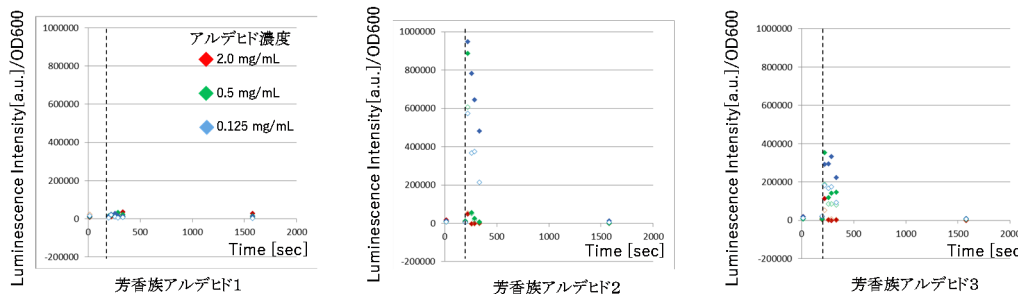


図2 アルデヒドセンサー大腸菌の培養液の発光の経時変化。縦軸は、大腸菌の菌体量あたりの培養液の発光強度を示している。横軸は、センサー蛋白質の発現誘導を開始した時間を示している。大腸菌培養液にアルデヒドを添加した時間を点線で示す。各点の色は添加したアルデヒド濃度を示す。白抜き点は、発現誘導剤を添加していない大腸菌培養液を示す。芳香族アルデヒドの種類によって、異なる発光強度を示している。

(4) アルデヒドセンサー蛋白質の発現・精製

さまざまなアルデヒドに対するセンサー蛋白質の基質特異性を議論するためには、アルデヒドの膜透過性、大腸菌への細胞毒性を排除した条件での測定が必要である。そこで、アルデヒドセンサー遺伝子の発現ベクターで大腸菌を形質転換し、発現誘導によりセンサー蛋白質を発現し、大腸菌を破砕後、Ni²⁺-アフィニティーカラムにて精製した。精製したセンサー蛋白質は、試験管内でオクタデカナルをコントロール基質として発光することを確認し、試験管内（in vitro）でのセンサー蛋白質の活性測定系を構築した（図3）。今後は、精製したセンサー蛋白質を用いて、試験管内（in vitro）においてさまざまなアルデヒドに対する活性を調べ、センサー蛋白質の基質特異性を明らかにする。

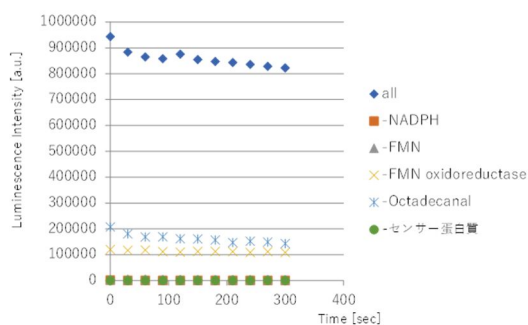


図3 精製したセンサー蛋白質を用いた試験管内活性系における発光強度の経時変化。縦軸は、反応液の発光強度を示す。横軸は、測定開始からの時間を示す。オクタデカナルをアルデヒドのコントロール基質として使用した。試験管内活性測定系によりセンサー蛋白質の活性を確認できた。

(5) 標的アルデヒドを生成する人工代謝経路の設計と構築

本研究の標的アルデヒドである、短鎖分岐アルデヒド、芳香族アルデヒドを菌体内で生成する人工代謝経路の設計を行った。人工代謝経路の発現ベクター構築に向けて、バリン合成経路から短鎖分岐アルデヒドを、フェニルアラニン合成経路から芳香族アルデヒドを供給する 2-ケト酸脱炭酸酵素（KDC）の遺伝子について、乳酸菌を入手した。今後、そのゲノム DNA を鋳型として、人工代謝経路発現ベクターを構築する。

(6) 標的アルデヒドに対してより高活性（高発光）を示すアルデヒドセンサーへの改変のためのハイスループット評価系の構築

標的アルデヒド（短鎖アルデヒドと芳香族アルデヒド）に対するアルデヒドセンサー大腸菌を

実用化するためには、標的アルデヒドに対して選択性を有し、かつ、高感度で発光するセンサー蛋白質が必要となった。そのため、多数の変異体センサー蛋白質ライブラリから、標的アルデヒドを基質として高発光する変異体を迅速に探索できるハイスループットスクリーニング系の構築を進めた。本手法では、数百～数千種の変異体センサー蛋白質を発現するコロニーを、標的アルデヒドを含む寒天培地上で培養し、各コロニーの発光強度の経時変化をタイムラプス撮影することで、同時に各変異体の活性(発光強度)を評価し、高発光変異体を選択できる革新的手法である。すでに変異体ライブラリの構築手法、変異体ライブラリのスクリーニング手法は確立した(図4)。今後は、スクリーニングに用いるアルデヒド濃度などの条件検討の後、変異体ライブラリから高発光変異体の探索を進める予定である。

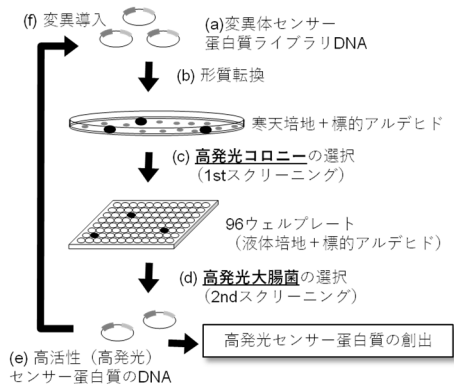


図4 発光を指標とした進化分子工学による高活性(高発光)センサー蛋白質の創出の概略図。変異と選択からなる(a)~(f)のサイクルを繰り返し、高活性変異体を創出する。(c) 寒天培地では、コロニーの状態で、同時に数百～千種の変異体センサー蛋白質を発光評価が可能。(d) 液体培地では、増殖速度(濁度)を考慮した、より定量性の高い発光評価が可能。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Suetaka Shunji, Oka Yoshiki, Kunihara Tomoko, Hayashi Yuuki, Arai Munehito	4. 巻 12
2. 論文標題 Rational design of a helical peptide inhibitor targeting c-Myb-KIX interaction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 816
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-04497-w	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 林勇樹、工藤恒、新井宗仁	4. 巻 99
2. 論文標題 ラン藻が持つアルカン合成関連酵素の高活性化	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生物工学	6. 最初と最後の頁 469-472
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Chang Mari, Shimba Keigo, Hayashi Yuuki, Arai Munehito	4. 巻 84
2. 論文標題 Electrostatic interactions at the interface of two enzymes are essential for two-step alkane biosynthesis in cyanobacteria	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 228 ~ 237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1677142	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 工藤恒、林勇樹、新井宗仁	4. 巻 78(4)
2. 論文標題 バイオ燃料生産に向けたラン藻由来アルカン合成酵素の高活性化	5. 発行年 2020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 320 ~ 321
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 工藤恒、林勇樹、新井宗仁	4. 巻 29(5)
2. 論文標題 酵素の高機能化によるバイオ燃料の生産性の向上	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 クリーンエネルギー	6. 最初と最後の頁 26～32
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 Wada, M., Hayashi, Y., & Arai, M.	4. 巻 83
2. 論文標題 Mutational analysis of a catalytically important loop containing active site and substrate-binding site in Escherichia coli phytase AppA.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biosci. Biotech. Biochem.	6. 最初と最後の頁 860-868
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1571897.	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 Kudo, H., Hayashi, Y., & Arai, M.	4. 巻 12
2. 論文標題 Identification of non-conserved residues essential for improving the hydrocarbon-producing activity of cyanobacterial aldehyde-deformylating oxygenase.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biotechnology for Biofuels	6. 最初と最後の頁 89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13068-019-1409-8	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 Shimizu, T., Kacprzak, S.M., Mochizuki, N., Nagatani, A., Watanabe, S., Shimada, T., Tanaka, K., Hayashi, Y., Arai, M., Leister, D., Okamoto, H., Terry, M.J., & Masuda, T.	4. 巻 116
2. 論文標題 The retrograde signaling protein GUN1 regulates tetrapyrrole biosynthesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 24900-24906
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1911251116	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 該当する

1. 著者名 Kudo, H., Hayashi, Y., & Arai, M.	4. 巻 12
2. 論文標題 Improving hydrocarbon production by engineering cyanobacterial acyl-(acyl carrier protein) reductase.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biotechnology for Biofuels	6. 最初と最後の頁 291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13068-019-1623-4	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 Chang, M., Shimba, K., Hayashi, Y., & Arai, M.	4. 巻 84
2. 論文標題 Electrostatic interactions are essential for binding of two enzymes in cyanobacterial alkane biosynthesis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biosci. Biotech. Biochem.	6. 最初と最後の頁 228-237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1677142	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 Kunihara Tomoko, Hayashi Yuuki, Arai Munehito	4. 巻 509
2. 論文標題 Conformational diversity in the intrinsically disordered HIV-1 Tat protein induced by zinc and pH	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 564 ~ 569
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.12.126	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 Kenri Tsuyoshi, Kawakita Yoshito, Kudo Hisashi, Matsumoto U., Mori Shigetaro, Furukawa Yukio, Tahara Yuhei O., Shibayama Keigo, Hayashi Yuuki, Arai Munehito, Miyata Makoto	4. 巻 508
2. 論文標題 Production and characterization of recombinant P1 adhesin essential for adhesion, gliding, and antigenic variation in the human pathogenic bacterium, Mycoplasma pneumoniae	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1050 ~ 1055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.11.132	査読の有無 無
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 Kujirai Junichi, Nanba Sato, Kadowaki Taro, Oka Yoshiki, Nishiyama Yoshitaka, Hayashi Yuuki, Arai Munehito, Hihara Yukako	4. 巻 8
2. 論文標題 Interaction of the GntR-family transcription factor SII1961 with thioredoxin in the cyanobacterium Synechocystis sp. PCC 6803	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-018-25077-5	査読の有無 無
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 Arai Munehito, Hayashi Yuuki, Kudo Hisashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Cyanobacterial Enzymes for Bioalkane Production	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 119 ~ 154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-13-0854-3_6	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56件(うち招待講演 2件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 吉村匡隆、青野侑基、林勇樹、佐藤守俊、新井宗仁
2. 発表標題 Improving dimer affinity of Magnets photodimerizers by computational design
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松本彩里、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Rational design of neutralizing antibodies against the receptor-binding domain of SARS-CoV-2 Spike protein
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島村博太郎、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Rational design of immune checkpoint binding proteins targeting the PD-1 receptor
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青山莉奈、松本彩里、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Theoretical design of neutralizing antibodies that are effective for SARS-CoV-2 variants
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 磯田正覚、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Rational design of highly active mutants of an alkane-producing enzyme
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 季高駿士、佐藤那音、本多栄治、高島一、岡芳樹、榎原朋子、竹原大、吉森篤史、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Rational drug design to inhibit α -helix-mediated protein-protein interactions
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤那音、季高駿士、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Rational design of the peptide inhibitor targeting the interactions involved in transcriptional activation
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 寺西美月、佐野美桜、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Rational design of an interleukin-33/ST2 inhibitor for suppressing allergic asthma
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大窪理仁、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Facilitating a two-step enzymatic reaction by trapping two enzymes in light-inducible droplets
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hajime Takashima, Atsushi Yoshimori, Eiji Honda, Tomonori Taguri, Jun Ozawa, Satoshi Shuto, Shunji Suetaka, Nao Sato, Yuuki Hayashi, Munehito Arai, Dai Takehara
2. 発表標題 Visualized and Quantitative Structural Analysis of Peptidomimetics for PPI Drug Discovery
3. 学会等名 CBI学会2021年大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 季高駿士、岡芳樹、榎原朋子、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 c-Myb-KIX間相互作用を阻害するヘリカルペプチドの合理的設計
3. 学会等名 CBI学会2021年大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eiji Honda, Hajime Takashima, Dai Takehara, Atsushi Yoshimori, Shunji Suetaka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Structural Peptidomimetics (2): PPIs Hit Discovery Using PepMetics Library
3. 学会等名 ACS Fall 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 寺西美月、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Rational design of inhibitors targeting the interaction between interleukin-33 and its receptor ST2
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 季高駿士、林勇樹、本多栄治、高島一、新井宗仁
2. 発表標題 Discovery of helix mimetic inhibitors targeting the interactions between the transcriptional activators and coactivator
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤那音、季高駿士、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 Rational design of the peptide inhibitor targeting the interaction of the KIX domain of the transcriptional coactivator CBP with transcriptional activators
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 High-throughput screening of acyl-ACP reductase using the activity-dependent E. coli luminescence and evaluation of highly active mutants
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 寺西美月、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 IL33-ST2のPPI阻害剤の論理的設計と実験的検証
3. 学会等名 第10回日本生物物理学会関東支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 季高駿士、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 実験的手法と理論的手法によるc-Myb - KIX間相互作用に重要なアミノ酸残基の特定同定
3. 学会等名 第10回日本生物物理学会関東支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤那音、季高駿士、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 転写コアクチベーター-CBPのKIXドメインと転写アクチベーターとの相互作用を標的としたPPI阻害剤の合理的設計
3. 学会等名 第10回日本生物物理学会関東支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shunji Suetaka, Yoshiki Oka, Tomoko Kunihara, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Rational design of an alpha-helical peptide to inhibit c-Myb-KIX interaction
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nao Sato, Shunji Suetaka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Rational design of the peptide inhibitor targeting the KIX domain of CBP and transcriptional activators interaction
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroki Sato, Aya Kodama, Hisashi Kudo, Koji Ooka, Shunji Setaka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai, Makoto Miyata
2. 発表標題 Structural analysis of MMOB1620 which composes Mycoplasma mobile's motor
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shunji Suetaka, Yoshiki Oka, Tomoko Kunihara, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Rational design of small proteins that inhibit a transcriptional activator-coactivator interaction
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nao Sato, Shunji Suetaka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Rational design of an inhibitor for the interaction of the KIX domain of CBP with transcriptional activators
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 工藤恒、張マリ、大岡紘治、季高駿士、佐野美桜、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 ラン藻由来アルカン合成関連酵素の高活性化に重要な非保存部位の探索
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshiki Oka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Rational design of high-affinity ATP biosensors
3. 学会等名 The 5th International GTP Workshop（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野美桜、岡芳樹、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 アレルギー性喘息に関わるインターロイキン33阻害剤の開発に向けて
3. 学会等名 第9回日本生物物理学会関東支部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 細胞内発光を利用したハイスループットスクリーニングにより得られた高活性変異体アシルACP還元酵素の評価
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤宏樹、工藤恒、児玉彩、大岡紘治、季高駿士、林勇樹、新井宗仁、宮田真人
2. 発表標題 Mycoplasma mobile が持つモーターを構成する機能未知タンパク質、MMOB1620 の構造
3. 学会等名 第93回日本細菌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shunji Suetaka, Yoshiki Oka, Tomoko Kunihara, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Computational design of a peptide inhibitor targeting c-Myb-KIX interaction
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuhisa Ohara, Yoshiki Oka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Improving activity of dihydrofolate reductase by theoretical saturation mutagenesis
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroki Sato, Aya Kodama, Hisashi Kudo, Koji Ooka, Shunji Suetaka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai, Makoto Miyata
2. 発表標題 Structural analysis of MMOB1620 which composes Mycoplasma mobile's motor
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mio Sano, Yoshiki Oka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Toward the development of an inhibitor of interleukin-33 responsible for allergic asthma
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nao Sato, Shunji Suetaka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Rational design of peptides that inhibit interactions between the KIX domain of CBP and transcription factors
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kudo, H., Hayashi, Y., Arai, M.
2. 発表標題 Identification of the residues that are responsible for improving the activities of cyanobacterial enzymes for hydrocarbon biosynthesis
3. 学会等名 Enzyme Engineering XXV (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 季高駿士、岡芳樹、榎原朋子、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 c-Myb-KIX間相互作用を標的としたペプチド阻害剤の合理的設計
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 細胞内酵素活性に応じて発光する大腸菌を利用したアシル-ACP還元酵素の高活性変異体の創出
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 工藤恒、張マリ、大岡紘治、季高駿士、佐野美桜、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 ラン藻由来アルカン合成関連酵素の高活性化に重要な非保存部位の探索
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 張マリ、榛葉啓悟、工藤恒、季高駿士、大岡紘治、佐野美桜、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 アルカン合成関連酵素間の結合に必要な静電相互作用
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 工藤恒、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 アルカン合成関連酵素の高活性化に重要な非保存部位の同定
3. 学会等名 第19回 東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 季高駿士、岡芳樹、榎原朋子、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 タンパク質間相互作用を阻害しうるペプチドの合理的設計
3. 学会等名 第19回 東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和田愛未、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 進化分子工学による大腸菌フィターゼAppAの低温高活性化
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 難波理、鯨井純一、門脇太朗、岡芳樹、林勇樹、新井宗仁、園池公毅、日原由香子
2. 発表標題 シアノバクテリア <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803 におけるGntR型転写因子SII1961の機能解析： 2. 遺伝子の発現制御
3. 学会等名 第13回ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 季高駿士、岡芳樹、榎原朋子、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 c-Myb-KIX間相互作用を阻害するペプチドの合理的設
3. 学会等名 第8回日本生物物理学会関東支部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 工藤恒、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 ラン藻由来アルカン合成関連酵素の活性向上に重要なアミノ酸残基の同定
3. 学会等名 第8回日本生物物理学会関東支部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 張マリ、榛葉啓悟、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 ラン藻でのアルカン合成に必要な2つの酵素間の相互作用
3. 学会等名 在日韓国科学技術者協会 第10回合同分科会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshiki Oka, Shunji Suetaka, Hinako Ago, Yuna Miyachi, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Rational design of nucleotide sensors for intracellular quantitative imaging
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mio Sano, Yoshiki Oka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Development of a protein that inhibits interleukin-33 responsible for allergic asthma
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuhisa Ohara, Yoshiki Oka, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Enhancing activity of dihydrofolate reductase by theoretical mutational analysis
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Satoru Yoshizaki, Yuma Suematsu, Shunji Suetaka, Tomoko Kunihara, Yuuki Hayashi, and Munehito Arai
2. 発表標題 Structural analysis of the intrinsically disordered c-Jun and its interaction with the KIX domain of the transcriptional coactivator CBP
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shunji Suetaka, Yoshiki Oka, Tomoko Kunihara, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Rational design of peptides that inhibit interaction of the transcription factor c-Myb with the KIX domain of CBP
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hisashi Kudo, Yuuki Hayashi, Munehito Arai
2. 発表標題 Identification of amino acid residues essential for hydrocarbon production in aldehyde deformylating oxygenase from cyanobacteria
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 工藤恒、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 変異解析によるラン藻由来アルカン合成関連酵素の機能発現に重要な部位の同定
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 林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 細胞内酵素活性の可視化を利用したアシルACP還元酵素の高活性変異体のハイスループットスクリーニング
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 和田愛未、林勇樹、新井宗仁
2. 発表標題 リン酸化合物加水分解酵素フィターゼの活性に重要なループ領域の変異解析
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 榎原朋子、林勇樹、工藤恒、河合秀信、岡芳樹、新井宗仁
2. 発表標題 天然変性タンパク質HIV-1 Tatの構造特性と分子認識
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 林勇樹、工藤恒、新井宗仁	4. 発行年 2021年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 9
3. 書名 バイオ燃料生産に向けたラン藻由来アルカン生成酵素の高活性化（植田充美監修「バイオエネルギー再燃」）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>林研究室ホームページ https://sites.google.com/g.ecc.u-tokyo.ac.jp/hayashi-lab/</p>
--

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
---------	---------