

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02902

研究課題名（和文）酢酸菌のペリプラズミック代謝工学

研究課題名（英文）Periplasmic metabolic engineering in acetic acid bacteria

研究代表者

薬師 寿治（Yakushi, Toshiharu）

山口大学・大学研究推進機構 ・教授

研究者番号：30324388

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：酢酸菌は、細胞表層に特徴的な物質酸化系を持ち、酢酸発酵やビタミンC生産におけるソルボース発酵などに利用されてきた。バクテリアの細胞内区画であるペリプラズム空間での代謝には、細胞質での代謝に比べて利点があると考え、ペリプラズムでの代謝を拡張する「ペリプラズミック代謝工学」の可能性を検証した。最初、天然では細胞質に局在する脱水酵素（リアーゼ）のペリプラズムへの移行を試みた。次に天然では細胞質に局在する異性化酵素の移行を試みた。いずれも代謝速度が上昇した。ペリプラズムへの輸送に関わるタンパク質を発現させることによって代謝速度の上昇が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持続可能な発展的経済活動の必要性や二酸化炭素排出低減が訴えられている中、微生物を用いた物質生産は廃棄物利用や環境負荷の低減という意味で魅力的なソリューションの一つである。本研究は、古くから物質生産に利用されている酢酸菌を用いた、新しい概念の代謝工学の検証を行った。いくつかの良好な結果を得ることができたので、当初期待していた新しい代謝工学の有効性を確認することができた。本菌でのさらなる展開はさることながら、大腸菌などの他の微生物を用いた展開が想定できる。この研究が、広く微生物による代謝工学の考え方を換え、新しい物質生産系の構築という形で波及していくことを期待する。

研究成果の概要（英文）：Acetic acid bacteria have a unique oxidation system on the cell surface and therefor, have been used for acetic acid fermentation and also sorbose fermentation in vitamin C production process. Considering that metabolism in the periplasmic space, which is the intracellular compartment of bacteria, has advantages over metabolism in the cytoplasm, this aimed at investigation for efficacy of "periplasmic metabolic engineering" that expands metabolism in the periplasm. The first attempt was to relocate a dehydratase (lyase), which is localized in the cytoplasm in the acetic acid bacteria, to the periplasm. Next, we tried to translocate isomerase, which is naturally localized in the cytoplasm. Both periplasmic metabolic engineering increased the biotransformation rate. Expression of the protein involved in transport to the periplasm also increased the bioconversion rate.

研究分野：応用微生物学

キーワード：応用微生物学 発酵 バイオテクノロジー 酵素 酢酸菌 代謝工学

1. 研究開始当初の背景

酢酸菌は、絶対好気性のグラム陰性菌である。その細胞表面は、細胞質膜と細胞壁に加えて外膜を持つ。細胞質膜と外膜に挟まれた細胞内区画は、ペリプラズムあるいはペリプラズム空間と呼ばれる。酢酸菌はその特徴として「細胞表面物質酸化系」を持つ。これは物質の酸化によって生じる電子を呼吸鎖電子伝達系に繋げ、酸化リン酸化としてエネルギーを得る。最終的に酸素を水に還元することで酸化還元バランスをとる。典型的には、エタノールからの酢酸発酵やソルビトールからのソルボース発酵などをあげることができる。なお、後者はビタミンC生産における中間体生産に利用されてきた。細胞質での代謝に比べると、ペリプラズム空間での代謝は、①細胞質への取り込みや細胞質からの排出に必要な時間とエネルギーの抑制、②毒性物質そのもの、あるいは毒性の中間体を経る代謝経路の構築、③細胞質での代謝との競合からの回避、という点で優位性を持つことができる。

私たちの研究室では、酢酸菌が持つ特徴的な細胞表面代謝の優位性を報告してきた。その一つとして、本研究でも扱うキナ酸の酸化に関連した代謝系を例に挙げるができる。ここでは、酢酸菌が天然に持つ膜酵素キナ酸脱水酵素 (QDH) がキナ酸を酸化してデヒドロキナ酸を生産する。生じたデヒドロシキミ酸はさらにペリプラズム空間に存在するデヒドロキナ酸脱水酵素 (DHQase) がデヒドロシキミ酸へと脱水するというモデルである (図1) (1)。実際、キナ酸を出発物質としたときのデヒドロキナ酸の培地への蓄積量はほぼ定量的で、本菌がこの前半の反応を効率よく行うことが確認できる。しかしながら、DHQase を過剰に作る酢酸菌であっても、デヒドロシキミ酸の生産は低く、ほとんどのデヒドロキナ酸がそのまま残る (2)。そこで、提唱

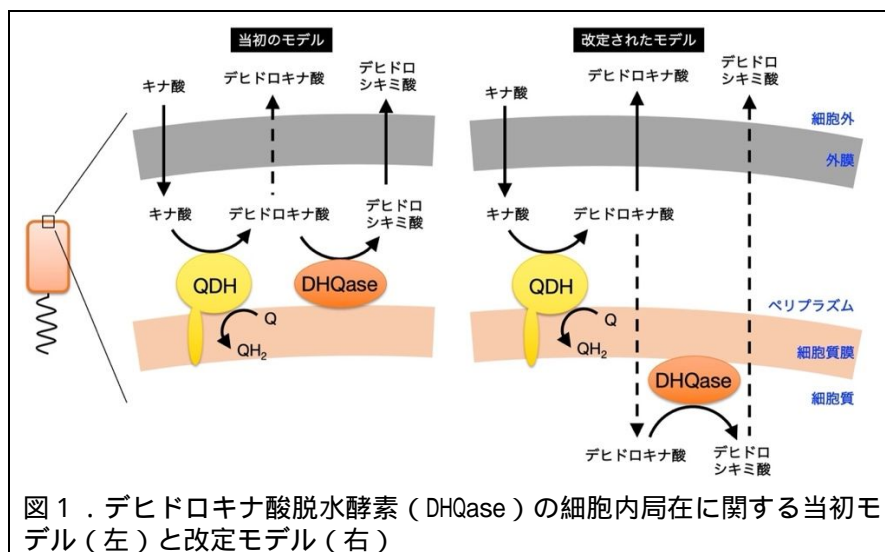


図1. デヒドロキナ酸脱水酵素 (DHQase) の細胞内局在に関する当初モデル (左) と改定モデル (右)

されていた QDH と DHQase がペリプラズムで機能するという仮説を見直した。ペリプラズムへの移行シグナルとされていた領域を欠く変異型 DHQase を発現させ、種々の検討を行ったが、野生型酵素の場合と同様であった (3)。つまり、野生型 DHQase は細胞質に局在すると結論した。

2. 研究の目的

2-1. キナ酸からデヒドロシキミ酸生産のペリプラズミック代謝工学

前節で述べた利点がペリプラズム空間での代謝 (ペリプラズミック代謝) にあるなら、任意の代謝経路を人為的にペリプラズムへ移行することで、細胞質での代謝では困難な物質生産でも実施可能ではないかと考えた。前節で紹介したように細胞質に局在化する野生型 DHQase をペリプラズムに発現させることができれば、キナ酸からのデヒドロシキミ酸生産が、短時間でエネルギー消費を抑えて効率良く行えるのではないかと考えた (図2)。

2-2. キナ酸からプロトカテク酸生産のペリプラズミック代謝工学

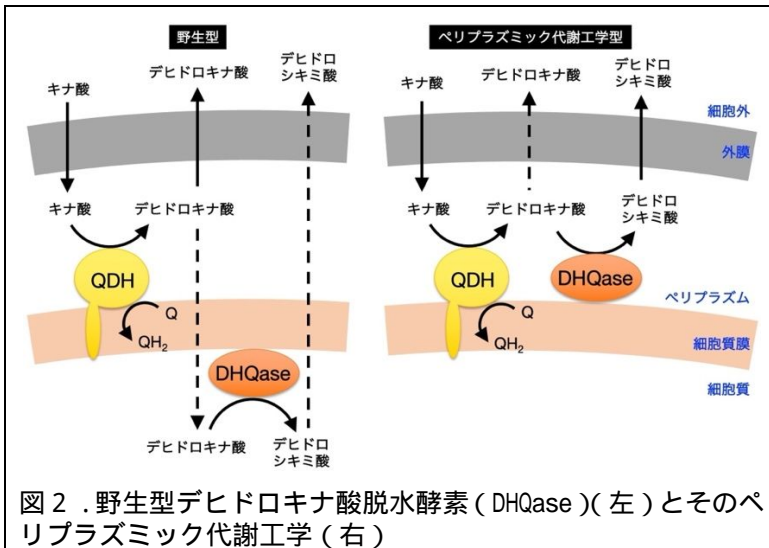
次に考えたのがデヒドロシキミ酸から次の物質変換をペリプラズムで行うことであった。デヒドロシキミ酸脱水酵素 (DHSase) はデヒドロシキミ酸を脱水してプロトカテク酸を生じるが、酢酸菌はこの酵素を持っていない。本研究の狙いに合致するように、土壌細菌 *Acinetobacter baylyi* が持つ天然の DHSase はペリプラズムへの分泌シグナルを持つ。そこで、天然の DHSase を酢酸菌で発現させ、キナ酸からプロトカテク酸への合成経路をペリプラズムで作り上げることを試みた。

2-3. 外膜のキナ酸輸送体の異種発現によるペリプラズミック代謝の高速化

土壌細菌 *A. baylyi* の DHSase を酢酸菌で異種発現する過程で、*A. baylyi* のキナ酸輸送に関わる外膜タンパク質 QuiX を同時に発現する菌株を作製した。外膜タンパク質 QuiX の有無に関わらず、キナ酸からプロトカテク酸を生産することができたが、外膜タンパク質 QuiX を発現する菌株は生産速度が高かった。つまり、外膜タンパク質 QuiX が、キナ酸を反応場であるペリプラズムへ輸送することを示唆している。この仮説を検証するために、外膜タンパク質 QuiX だけを異種発現する酢酸菌菌株を作製し、キナ酸酸化に伴うデヒドロキナ酸生産を QuiX 発現の有無で比較した。

2-4. 異性化酵素を利用したペリプラズミック代謝工学

酵素の分類上、DHQase と DHSase はともにリアーゼに分類される。ペリプラズミック代謝工学



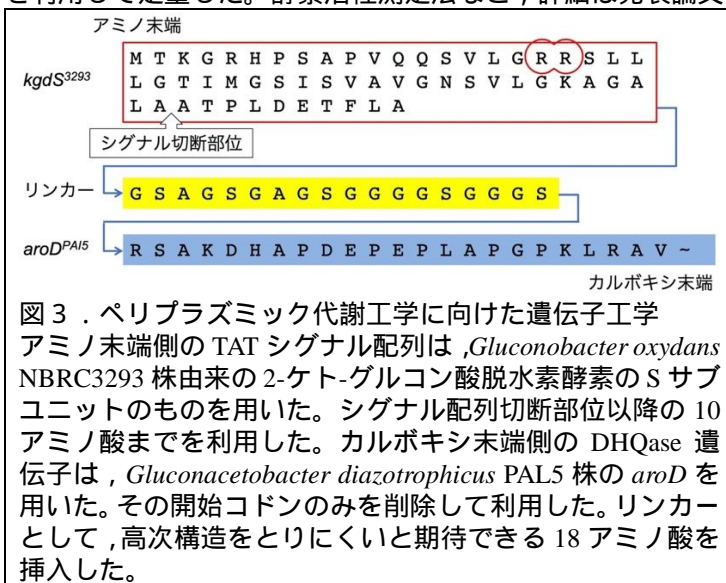
の適用範囲を検討するため、リアーゼ以外の酵素、異性化酵素、でペリプラズミック代謝工学を試みた。細胞質酵素であるマンノース異性化酵素のペリプラズムへの移行を試みた。マンノース異性化酵素は、マンノースからフルクトースを、あるいはフルクトースからマンノースを生産する。

3. 研究の方法

ペリプラズミック代謝工学のプラットフォーム株として、*Gluconobacter oxydans* NBRC3244 株を用いた。DHQase の遺伝子工学は図3

のように行った。アミノ末端側の TAT シグナル配列は、*Gluconobacter oxydans* NBRC3293 株由来の 2-ケト-グルコン酸脱水素酵素の S サブユニットのものを用いた。シグナル配列切断部位以降の 10 アミノ酸までを利用した。カルボキシ末端側の DHQase 遺伝子は、*Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 株の *aroD* を用いた。その開始コドンのみを削除して利用した。リンカーとして、高次構造をとりにくいと期待できる 18 アミノ酸を挿入した。この融合遺伝子を高宿主域ベクターである pBBR1MCS-4 に挿入し実験に用いた。さらに *A. baylyi* が持つ天然の DHSase 遺伝子を挿入した。その際、外膜輸送体 QuiX を持つプラスミドと持たないプラスミドを作製した。マンノース異性化酵素は *Gluconobacter* sp. CHM43 株の *GLF_2594* 遺伝子を用いた。その開始コドンのみを削除して、DHQase と同様の方法で融合遺伝子を構築し、pBBR1MCS-4 に挿入して *G. oxydans* を形質転換した。

物質変換実験は培養中に行う方法と休止菌体を用いる方法を使い分けた。キナ酸、デヒドロキナ酸、デヒドロシキミ酸、プロトカテク酸は HPLC で検出し、標準物質の検量線を利用して定量した。フルクトースはフルクトース脱水素酵素を用いた酵素法により検出し、標準物質の検量線を利用して定量した。酵素活性測定法など、詳細は発表論文に記載した(3, 4)。



株の 2-ケトグルコン酸脱水素酵素のもの (TAT シグナル) を利用した。つまり、4 通りの融合遺伝子を作製した。融合遺伝子の作製の概要は図3に示した通りで、アミノ末端からシグナル配列、18 アミノ酸から成るリンカー配列、最後に *aroD* 遺伝子。このようにして作製した融合遺伝子を広宿主域プラスミドベクターに搭載し、*G. oxydans* NBRC3244 株に導入した。

ペリプラズミック代謝工学の最初の試みは AroQ であった。しかし、TAT シグナルを付加した融合体を持つプラスミドは *Gluconobacter* に保持されなかった。よって、Sec シグナルを付加した融合体 Sec-AroQ を解析したが、物質変換速度の上昇は認められなかった。次に AroD を用いて試みた。しかしながら Sec-AroD のプラスミドをもたせた *Gluconobacter* は生育が悪く、DHQase 活性が低かった。よって、それ以上の解析を断念した。一方、TAT-AroD のプラスミドをもたせた *Gluconobacter* (TAT-AroD 株) は良好に生育した。TAT-AroD 株の DHQase 活性は、野生型 AroD 発現株のその半程度であった。

培養を伴う物質変換実験を行ったところ、ベクターのみを持つ株と比べると、野生型 AroD 発

4. 研究成果

4-1. キナ酸からデヒドロシキミ酸生産のペリプラズミック代謝工学(3)

はじめに、細胞質に局在化する野生型 DHQase をペリプラズムへと移行させるペリプラズミック代謝工学を試みる上で、いくつかの組み合わせを試みた。DHQase のとして、プラットフォーム株が持つ II 型の DHQase、AroQ と近縁の酢酸菌 *Ga. diazotrophicus* PAL5 株が持つ I 型の DHQase、AroD を用い、分泌シグナルとして近縁の *G. oxydans* ATCC621H 株のアルコール脱水酵素のもの (Sec シグナル) と、近縁の *G. oxydans* NBRC3293

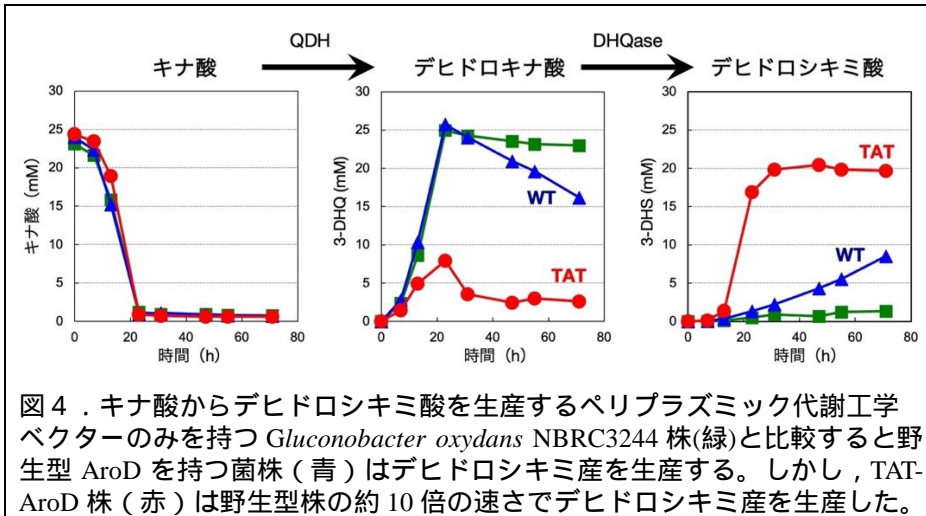


図4．キナ酸からデヒドロキシミ酸を生産するペリプラズミック代謝工学ベクターのみを持つ *Gluconobacter oxydans* NBRC3244 株(緑)と比較すると野生型 AroD を持つ菌株 (青) はデヒドロキシミ酸を生産する。しかし, TAT-AroD 株 (赤) は野生型株の約 10 倍の速さでデヒドロキシミ酸を生産した。

現株はデヒドロキシミ酸をより速く生産した。しかし TAT-AroD 株は、野生型 AroD 発現株の約 10 倍の速度でデヒドロキシミ酸を生産した(図4)。このとき、中間体であるデヒドロキナ酸の蓄積は著しく低下した。極めて高速にデヒドロキナ

酸が代謝されたことが示唆される。

4-2．キナ酸からプロトカテク酸生産のペリプラズミック代謝工学(4)

前節で述べたように、キナ酸からデヒドロキシミ酸の生産が、ペリプラズミック代謝工学によって高速に行えるようになった。次に、デヒドロキシミ酸をさらに脱水しプロトカテク酸を生産することを試みた。すなわち、デヒドロキシミ酸脱水酵素 DHSase をペリプラズムに発現させる試みを行った。 *A. baylyi* は、Sec 経路でペリプラズムに分泌される DHSase を持っているとの報告があったので、 *A. baylyi* から DHSase 遺伝子 (*quiC*) を取得した。その際、DHSase 遺伝子とオペロンを形成する外膜輸送タンパク質 QuiX をコードする遺伝子も取得した。よってここでは、

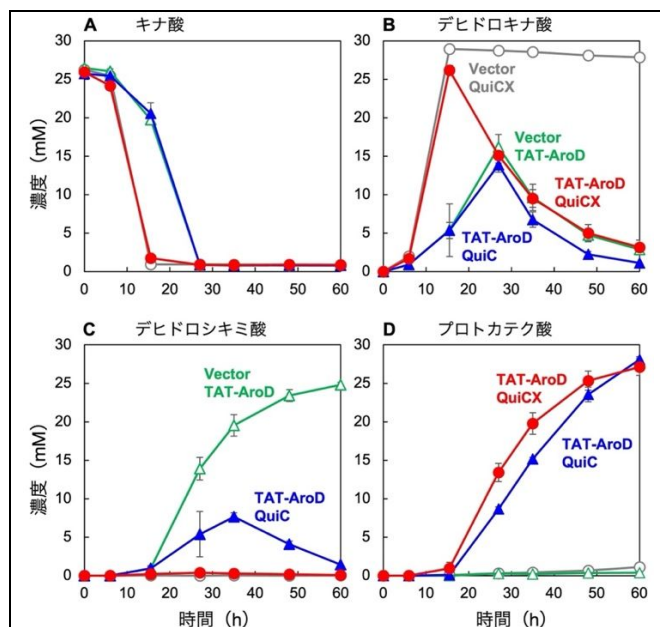


図5．キナ酸からプロトカテク酸を生産するペリプラズミック代謝工学

ベクターのみを持つ *Gluconobacter oxydans* NBRC3244 株(ベクター株)と *quiCX* プラスミドを持たせた株の組み合わせ(グレー)では、デヒドロキナ酸の生産で終了した。ベクター株と TAT-AroD 株の組み合わせ(緑)では、デヒドロキシミ酸まで進んだ。TAT-AroD 株と *QuiC* 株の組み合わせ(青)と TAT-AroD 株と *QuiCX* 株の組み合わせ(赤)ではいずれも良好にプロトカテク酸を生産した。ただし、キナ酸の減少を見てみると *QuiX* の発現がそれを促進したように見える。

図6に示すように、*QuiX* 株の方がキナ酸の消費とそれに伴うデヒドロキナ酸の生産速度が高かった。細胞外からペリプラズムへの輸送も輸送体が介在する場合もあり、その調節を含めさらなる解析が必要である。言い換えると、輸送体の強化によっても生産性が上昇する良い例となった。

TAT-AroD に加え、*quiC* と *quiX* を発現させ、キナ酸からのプロトカテク酸生産の有無を観察した。なお、組み換え *Gluconobacter* には野生株には無い DHSase 活性が認められた。

菌株構築に問題があり、*TAT-aroD* と *quiC* 両方の遺伝子を持つプラスミドを *Gluconobacter* に持たせることができなかった。よって、*TAT-aroD* プラスミドを持つ菌株と *quiC* 遺伝子を持つプラスミドを持つ菌株を作製し、それらを共培養させることで、キナ酸からプロトカテク酸の生産を試みた。図5に示すように、*quiC* の発現によってプロトカテク酸までの生産が可能となった。また、興味深いことに *QuiX* プラスミドを持つことによりキナ酸の減少速度が上がった。この効果を確認するため、*quiX* 遺伝子だけを持つプラスミドを構築した。

4-3 外膜のキナ酸輸送体の異種発現によるペリプラズミック代謝の高速化
前節で述べたように、*QuiX* がキナ酸の消費速度を上げる可能性が考えられたので、*quiX* のみを持つプラスミドを作製し、*Gluconobacter* に持たせた。興味深いことに、*QuiX* 株はベクター株と比べて生育が良くなった。そこで、生育を伴わない方法で物質変換を試みた(図6)。

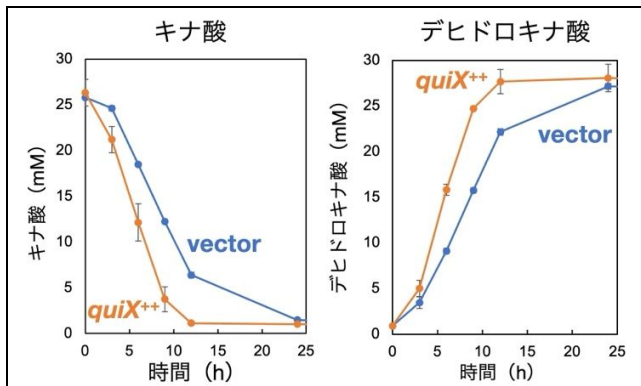


図6．外膜輸送タンパク質 QuiX によるペリプラズミック代謝の高速化

ベクターのみを持つ *Gluconobacter oxydans* NBRC3244 株 (ベクター株, 青) と *quiX* プラスミドを持たせた株 (橙) を用いて, キナ酸からデヒドロキナ酸への休止菌体反応を行った。キナ酸の減少速度とデヒドロキナ酸の増加速度は QuiX の発現により上昇した。

4-4．異性化酵素を利用したペリプラズミック代謝工学の試み

これまでにペリプラズミック代謝工学に試みてきた酵素は, 酵素の分類上いずれもリアーゼであった。ここでは, 酢酸菌で最近見出されたマンノース異性化酵素 (MI) のペリプラズミック代謝工学を試みた(5)。AroQ と AroD と同様に Sec シグナル配列と TAT シグナル配列を付加した。MI の場合, いずれも生育にはほとんど影響がなかった。Sec-MI 株の酵素活性は, 野生型 MI のそれと同程度が低かった。一方, TAT-MI は, 野生型 MI のそれよりも高かった。休止菌体を用いて, マンノースからフルクトースへの変換を試みたところ, 低濃度ながら, TAT-MI 株のみでフルクトースの生産を確認することができた (図7)。

4-5．今後の課題

本研究の結果から, ペリプラズムへ酵素を移行させることによって反応速度を上げることが示すことができた。今後はもう一つの利点としてあげた, 毒性物質の関わる代謝経路の構築を試みたい。

もう一つ大きな課題として, ペリプラズムへ移行させたことを生化学的に示すことに成功していない点があげられる。TAT-AroD の場合には, TAT-AroD を精製し, アミノ末端のアミノ酸配列を調べた。それが, 2-ケト-グルコン酸脱水素酵素の S サブユニットのアミノ酸配列と一致し, 予想されたシグナル配列切断で切断されたことを示すことができた。加えて, 古典的な細胞分画実験や蛍光タンパク質との融合酵素のイメージングなどを通して, 細胞内局在変化を追跡する必要があると感じている。

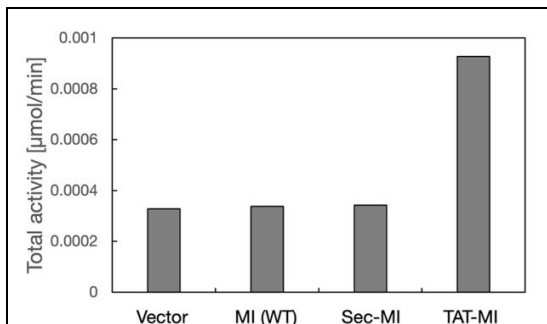


図7．マンノース異性化酵素のペリプラズミック代謝工学

ベクターのみを持つ *Gluconobacter* (ベクター株) と野生型マンノース異性化酵素 (MI), Sec シグナル配列を付加した MI, TAT シグナルを付加した MI を持つプラスミドを持つ *Gluconobacter* を用いた。休止菌体反応により, マンノースの異性化を行い, フルクトースの検出を行った。

文献

- Adachi O, Ano Y, Toyama H, Matsushita K. 2008. A novel 3-dehydroquinate dehydratase catalyzing extracellular formation of 3-dehydroshikimate by oxidative fermentation of *Gluconobacter oxydans* IFO 3244. *Biosci Biotechnol Biochem* 72:1475-82.
- Nishikura-Imamura S, Matsutani M, Insomphun C, Vangnai AS, Toyama H, Yakushi T, Abe T, Adachi O, Matsushita K. 2014. Overexpression of a type II 3-dehydroquinate dehydratase enhances the biotransformation of quinate to 3-dehydroshikimate in *Gluconobacter oxydans*. *Appl Microbiol Biotechnol* 98:2955-63.
- Nakamura K, Nagaki K, Matsutani M, Adachi O, Kataoka N, Ano Y, Theeragool G, Matsushita K, Yakushi T. 2021. Relocation of dehydroquinate dehydratase to the periplasmic space improves dehydroshikimate production with *Gluconobacter oxydans* strain NBRC3244. *Appl Microbiol Biotechnol* 105:5883-5894.
- Nagaki K, Kataoka N, Theeragool G, Matsutani M, Ano Y, Matsushita K, Yakushi T. 2022. Periplasmic dehydroshikimate dehydratase combined with quinate oxidation in *Gluconobacter oxydans* for protocatechuate production. *Biosci Biotechnol Biochem* 86:1151-1159.
- Adachi O, Kataoka N, Matsushita K, Akakabe Y, Harada T, Yakushi T. 2022. Membrane-bound D-mannose isomerase of acetic acid bacteria: finding, characterization, and application. *Biosci Biotechnol Biochem* 86:938-948.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakamura Kentaro, Nagaki Kakeru, Matsutani Minenosuke, Adachi Osao, Kataoka Naoya, Ano Yoshitaka, Theeragool Gunjana, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 105
2. 論文標題 Relocation of dehydroquinase dehydratase to the periplasmic space improves dehydroshikimate production with <i>Gluconobacter oxydans</i> strain NBRC3244	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 5883-5894
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00253-021-11476-8	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 該当する
1. 著者名 Miah Roni, Nina Shun, Murate Takeru, Kataoka Naoya, Matsutani Minenosuke, Ano Yoshitaka, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 204
2. 論文標題 Dissection and Reconstitution Provide Insights into Electron Transport in the Membrane-Bound Aldehyde Dehydrogenase Complex of <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 e0055821
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/jb.00558-21	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 Sriherfyna FH, Matsutani M, Hirano K, Koike H, Kataoka N, Yamashita T, Nakamaru-Ogiso E, Matsushita K, Yakushi T.	4. 巻 87
2. 論文標題 The auxiliary NADH dehydrogenase plays a crucial role in redox homeostasis of nicotinamide cofactors in the absence of the periplasmic oxidation system in <i>Gluconobacter oxydans</i> NBRC3293	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Appl Environ Microbiol.	6. 最初と最後の頁 e02155-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/AEM.02155-20	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 Miah R, Nina S, Murate T, Kataoka N, Matsutani M, Matsushita K, Yakushi T.	4. 巻 105
2. 論文標題 Major aldehyde dehydrogenase AldFGH of <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> is independent of pyrroloquinoline quinone but dependent on molybdopterin for acetic acid fermentation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Appl Microbiol Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 2341-2350
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00253-021-11144-x	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 Kataoka Naoya, Naoki Kotone, Ano Yoshitaka, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 106
2. 論文標題 Development of efficient 5-ketogluconate production system by <i>Gluconobacter japonicus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 7751-7761
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-022-12242-0	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 -

1. 著者名 Nagaki Kakeru, Kataoka Naoya, Theeragool Gunjana, Matsutani Minenosuke, Ano Yoshitaka, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 86
2. 論文標題 Periplasmic dehydroshikimate dehydratase combined with quinate oxidation in <i>Gluconobacter oxydans</i> for protocatechuate production	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1151-1159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac090	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 Adachi Osao, Kataoka Naoya, Matsushita Kazunobu, Akakabe Yoshihiko, Harada Toshihiro, Yakushi Toshiharu	4. 巻 86
2. 論文標題 Membrane-bound D-mannose isomerase of acetic acid bacteria: finding, characterization, and application	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 938-948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac049	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 Kataoka Naoya, Saichana Natsaran, Matsutani Minenosuke, Toyama Hirohide, Matsushita Kazunobu, Yakushi Toshiharu	4. 巻 86
2. 論文標題 Characterization of 3 phylogenetically distinct membrane-bound D-gluconate dehydrogenases of <i>Gluconobacter</i> spp. and their biotechnological application for efficient 2-keto-D-gluconate production	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 681-690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac024	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 Kataoka Naoya, Matsutani Minenosuke, Matsumoto Nami, Oda Misuzu, Mizumachi Yuki, Ito Kohei, Tanaka Shuhei, Kanesaki Yu, Yakushi Toshiharu, Matsushita Kazunobu	4. 巻 13
2. 論文標題 Mutations in degP and spoT Genes Mediate Response to Fermentation Stress in Thermally Adapted Strains of Acetic Acid Bacterium Komagataeibacter medellinensis NBRC 3288	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 802010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2022.802010	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8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 永木 翔、松谷 峰之介、片岡 尚也、松下一信、薬師 寿治
2. 発表標題 Acinetobacter baylyi 由来ペリプラズム型デヒドロシキミ酸脱水酵素の異種発現とプロトカテク酸生産への利用
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村謙太郎、永木翔、松谷峰之介、片岡尚也、松下一信、足立収生、薬師寿治
2. 発表標題 酵素の細胞内局在を改変することによる酢酸菌のペリプラズミック酸化系の拡張
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永木翔、松谷峰之介、片岡尚也、松下一信、薬師寿治
2. 発表標題 キナ酸からプロトカテク酸を生産するための酢酸菌のペリプラズミック代謝工学
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下 璃貫, 片岡 尚也, 松谷 峰之介, Gunjana Theeragool, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 Komagataeibacter 属酢酸菌の遺伝子操作法の開発
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第62回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 和泉 理緒, Roni Miah, 片岡 尚也, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 酢酸菌膜結合型アルデヒド脱水素酵素における鉄・硫黄クラスターの関与
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浅野連太郎, 小東 陽, 後藤 勝, 平田花織, 吉富 宙, 片岡 尚也, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 酢酸菌Gluconobacter thailandicus の2つの第二級アルコール脱水素酵素が関与する2,3-ブタンジオール代謝
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉富 宙, 平田花織, 片岡 尚也, 松下 一信, 薬師 寿治
2. 発表標題 グルコノバクター属酢酸菌の細胞表層酸化系代謝の細胞増殖における役割
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 村上 果穂, 片岡 尚也, 松下一信, 松谷 峰之介, 薬師 寿治
2. 発表標題 Acetobacter pasteurianus の酢酸耐性因子AarCとそのパラログによる酢酸代謝
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

山口大学応用微生物学研究室 http://ds0n.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~obi/index.html 山口大学中高温微生物研究センター https://ds0n.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~yurctmr/

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
研究分担者	阿野 嘉孝 (Ano Yoshitaka) (00403642)	愛媛大学・農学研究科・准教授 (16301)	

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		
タイ	カセサート大学	ラジャマンガラ工科大学	
ドイツ	ユーリッヒ研究所		