

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02115

研究課題名(和文)植物の有用物質生産に関与する膜酵素複合体のコア構造と膜上ダイナミクスの解明

研究課題名(英文)Understanding the core structures and dynamics of membrane protein complexes related in productions of valuable compounds from plants

研究代表者

山下 哲 (YAMASHITA, SATOSHI)

金沢大学・物質化学系・准教授

研究者番号：70361186

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：植物が生産する有用な二次代謝産物は、膜上で酵素複合体メタボロンの形成により効率的に合成されることが明らかになってきた。代替生産系を構築する上でも、メタボロンの構造と機能を理解することが不可欠であるが、メタボロンの相互作用は一般的に弱く、膜上で一過性に形成される複合体の単離も困難であり、複合体の量論比、相互作用に関する知見は少ない。本研究ではフラボノイドおよび天然ゴム生合成系の複合体の膜上における酵素学的解析、複合体のX線結晶構造解析、化学的架橋による相互作用解析等を行なった。その結果、複合体の量論比と活性発現の相関を解明し、相互作用界面、およびダイナミクスに関する知見を得ることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物が生産する二次代謝産物は、近年は植物特化代謝産物とよばれ、薬用化合物の宝庫である。また、植物特化代謝産物の一種である天然ゴムは、化学成分としては普遍的なイソプレンという繰り返しから合成されるものでありながら、ポリマーとしてのゴムは、特定のゴム生産植物しか合成できない。そのため、植物は奇跡の化学工場とも言われているが、そのキーとなるのが酵素複合体メタボロンの形成である。これらの作用機序、複合体構造、量論比、相互作用界面に関する知見を得ることは、基礎科学として新規性が高いが、微生物などの他の宿主で植物特化代謝の代替生産系を構築する応用上、必要不可欠な情報であり、大きな波及効果がある。

研究成果の概要(英文)：Plant secondary metabolites (so called plant specialized metabolites) have been thought to be efficiently synthesized by a membrane-bound enzyme complex which is termed as metabolon. However, complex structures, stoichiometry and interface of the complex have not yet been clarified because of weak interactions between metabolon components on membrane environment. So far, no metabolon have been isolated and crystallized as a complex. In this project, flavonoid and isoprenoid (especially natural rubber) biosynthetic enzymes, that are known to form metabolon, were investigated. As a result, we successfully determined the stoichiometry and conditions that are required for the enzymatic activity of the core complex for natural rubber biosynthesis. Moreover, the core complex for flavonoid biosynthetic pathway were crystallized as a complex for the first time. This complex structure revealed the interface which was supported by crosslinking experiments.

研究分野：構造生物学

キーワード：天然ゴム フラボノイド メタボロン イソプレノイド 植物特化代謝 二次代謝産物 結晶構造

1. 研究開始当初の背景

植物は、外界からの様々なストレスに対処するために適応代謝を進化させ、薬理活性が知られるフラボノイドや、優れた材料特性を持つ天然ゴムなどの有用化合物を含め、膨大な種類の二次代謝産物を生合成する。これらは有機化学的に大量合成することが困難なものが多く、長年に渡り代謝工学研究の対象となってきた。例えば、酵母でのフラボノイド生合成経路の代替構築の試みでは、多量の副生成物生成が起こり、基質から目的生成物への変換効率は 10%ほどに留まることが知られていた。一方、天然ゴム生合成系を他の生物に構築する試みには成功例がまだなかった。生体内では、代謝系の酵素群による複合体“メタボロン”が形成され、代謝中間体を酵素間で直接受け渡すことで高効率な生合成が達成されるという説が提唱されてきたが、分子レベルでの理解は進んでいなかった。そのため、諸問題の解決には、関与する酵素群がどのように相互作用して活性を発現し、効率的な生合成が進行するのかを明確にする必要があった。

申請者らは、フラボノイド生合成系のタンパク質群の相互作用ネットワークを明らかにし、カルコン合成酵素(CHS)とカルコン異性化酵素(CHIL)からなる構造が生合成の初発段階の効率化に重要であることを示していた。また、天然ゴム生合成系については、活性を再構成するタンパク質複合体(マシナリと呼ぶ)を見出し、ゴム合成酵素(HRT1)とゴム合成酵素類似タンパク質(HRBP)が協働的にゴム合成活性を示し、足場タンパク質がゴムの膜系への取り込みを効率化することを予想していた。しかしながら、植物のメタボロン/マシナリのどの例においても量論比は解明されていなかった。

2. 研究の目的

本研究課題は、メタボロン/マシナリのコア構造がいかなる発現条件および量論比で形成され、どのような相互作用界面をもつのかを原子レベルで明らかにする。また、メタボロン/マシナリが膜上でいかなる動的挙動を示し、その構造状態がどのように推移するかをマクロレベルで可視化することを目的とした。

3. 研究の方法

多くの有用物質を含むフラボノイドと、イソプレノイド(天然ゴムを含む)の各メタボロン/マシナリをおもな解析対象として、研究タスク(1)~(4)を実施した。

(1) 無細胞翻訳系を用いた複合体のナノディスク再構成による量論比の決定

大腸菌で膜足場タンパク質(MSP)を異種発現させ精製し、精製リン脂質とMSPを混合して透析で再構成すると、MSPが二分子導入されたナノディスク(ND)を単離した。これに対し、コムギ胚芽抽出液を用いた無細胞翻訳系を利用して、目的酵素群を導入し、MSPに融合させたHis6タグを利用して精製する。タンパク質を発現させる順番、組み合わせを検討し、NDに導入された酵素の量論比がどのように変化するかをSDS-PAGEで確認し、酵素活性を測定して確認する。

(2) 化学的架橋による複合体の単離と質量分析による相互作用界面の決定

各複合体を、NDに再構成または、溶液中で混合してゲルろ過クロマトグラフィーを行い、単離する。それらに化学架橋剤を作用させ、架橋効率をSDS-PAGEで確認する。架橋複合体と予想されるバンドを回収してトリプシン消化し、LC-MS/MSにより分析する。その後、架橋ペプチドを同定し、相互作用界面を推定する。相互作用界面の情報は、AIを用いた複合体構造予測プログラムを利用して妥当性を評価し、課題3で得られた複合体結晶構造や課題4で得られたHS-AFM像とも比較検証する。

(3) 各構成因子および2者複合体の結晶化と立体構造解析

天然ゴム合成酵素類似酵素、フラボノイド関連酵素やその生成物複合体の立体構造をX線結晶構造解析により明らかにした。結晶は20°Cで蒸気拡散法により取得した。X線回折データは、SPring-8(播磨)のビームライン(BL32XU)において取得し、既往の結晶構造または、AIを用いて構築した複合体モデルをサーチモデルとして、分子置換法により行った。

(4) 高速バイオAFMによる膜上複合体の形成・解離のサブ秒分解能観察

MSPによるNDの形成の後、ND上へのゴム合成関連酵素の再構成と単離を検討した。これらの膜上提示系の妥当性を評価するため、まず、膜貫通タンパク質であるGPCRの一種2アドレナリン受容体(2AR)を用い、酵素タンパク質の膜上提示を高速バイオAFM(HS-AFM)により確認した。その後、NDとホモダイマー型ゴム合成関連酵素の観察をおこなった。また、基板上にNi-NTAを共有結合させた脂質二重膜を展開し、フラボノイド酵素をHis6タグによって配置させ、相互作用パートナーとなる酵素タンパク質を添加して、形成された複合体をHS-AFMで観察した。

4. 研究成果

(1) 無細胞翻訳系を用いた複合体のナノディスク再構成による量論比の決定

パラゴムノキおよびグアユールの天然ゴム合成マシナリについて、ナノディスクへの導入法を確立し、ゴム合成酵素(HRT1 ホモログ)とゴム合成酵素類似タンパク質(HRBP ホモログ)がポリイソプレンの合成に必須なコア構造であることを、ピュアな系で初めて証明した。図1に示すように、活性発現に必要なそれらの構成の、ナノディスク膜上への導入順序などの条件についても解析することに成功した。

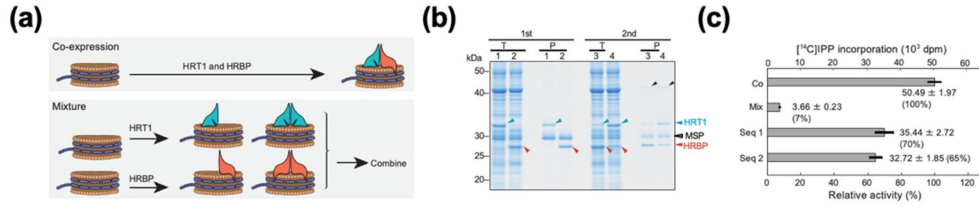


図1. パラゴムノキの天然ゴム合成マシナリのコア構造とポリイソプレン合成活性の証明. (a) HRT1 および HRBP の ND への導入の模式図. (b) HRT1 と HRBP の ND への再構成と複合体の精製. (c) 精製された HRT1-HRBP-ND コア複合体のポリイソプレン合成活性の証明

(2) 化学的架橋による複合体の単離と質量分析による相互作用界面の決定

天然ゴム合成マシナリのコア構造の化学的架橋からは、1:1 または 2:2 複合体の形成が確認された。また、AI を利用した複合体構造予測の支援を導入することにより、HRT1 ホモログと HRBP ホモログの 1:1 ヘテロダイマーの相互作用界面の情報を得ることができた。

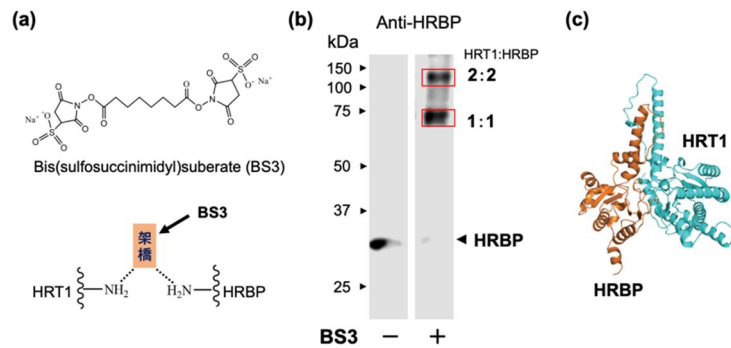


図2. パラゴムノキの天然ゴム合成マシナリのコア構造の架橋と相互作用界面. (a) 化学的架橋剤 BS3. (b) 架橋複合体の分離 (抗 HRBP 抗体を使用して検出). (c) AI によって構造予測された HRT1-HRBP の 1:1 ヘテロダイマーモデル.

フラボノイドの共通前駆体であるカルコン骨格の合成において、CHIL と CHS の複合体がコア構造であるため、両者の溶液中複合体の単離を試み、化学的架橋を行った。それぞれの精製においては、CHIL は単量体、CHS はホモダイマーで存在することが示唆されていた。架橋複合体の質量分析により、量論は CHS:CHIL = 1:1 または 2:1 と推定され、複合体の架橋ペプチドが単離された。これらの結果は、AI 構造予測結果および、課題3の成果である CHS-CHIL 複合体の結晶構造から可視化された相互作用界面と整合性を示すことがわかった。

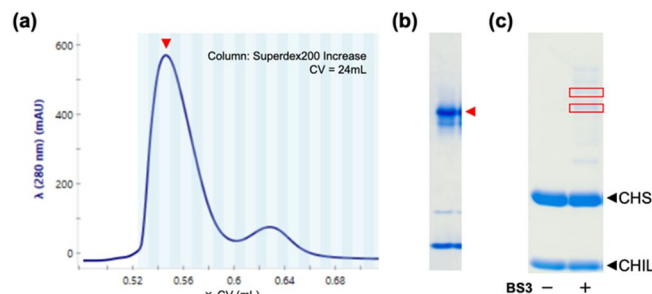


図3. フラボノイドメタボロンのコア構造複合体の単離と架橋. (a) CHS-CHIL 複合体 (矢印) のゲルろ過での単離. (b) 単離した複合体の Native 電気泳動. (c) BS3 を用いた架橋後の SDS-PAGE. 赤の四角のバンドを質量分析した。

(3) 各構成因子および2者複合体の結晶化と立体構造解析

天然ゴム合成酵素類似体として、植物由来シス型プレニルトランスフェラーゼの高分解能 X 線結晶構造を 4 つ決定した (PDB ID: 7VPC, 8X35, 8X36, 8X37). また、フラボノイドメタボロンのコア構造の各構成因子として、ダイズ CHS の CoA との複合体構造を決定し (PDB ID: 8JRD), コケ類の CHS および CHIL の結晶構造を決定した (論文発表まで非公開). さらに, CHS と CHIL の複合体結晶構造を初めて明らかにした (図 5 参照, 論文発表まで非公開).

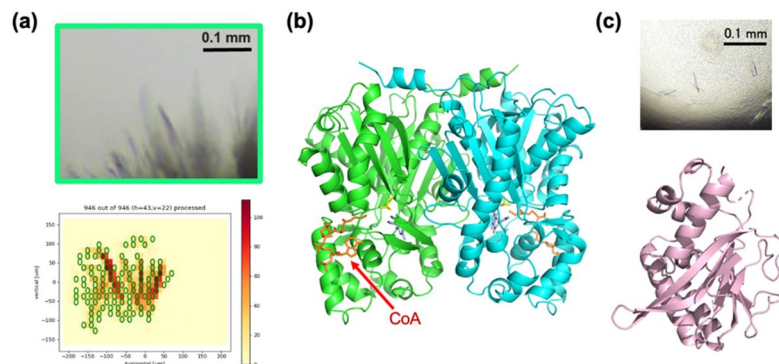


図 4. CHS と CHIL の結晶構造 (a) 得られた結晶の写真および BL32XU における自動測定結果 (ヒートマップ). (b) CHS と CoA 複合体の結晶構造. (c) CHIL の結晶の写真と結晶構造.

(4) 高速バイオ AFM による膜上複合体の形成・解離のサブ秒分解能観察

ND に再構成したの膜タンパク質の HS-AFM 観察を評価するため、GPCR の一種 2 アドレナリン受容体 (2AR) を観察した. また、膜結合性のゴム関連酵素を ND に導入したところ、サブ秒スケールで酵素が ND 上を移動する様子が初めて観察された. 続いて、基板に NTA が付加した脂質二重膜を展開し、His タグ付きの CHS を固定して CHIL の添加を試みたところ、一部の CHS がより高高く観察され、複合体の結晶構造で見られたような、2:2 複合体モデルと類似した像が初めて捉えられた.

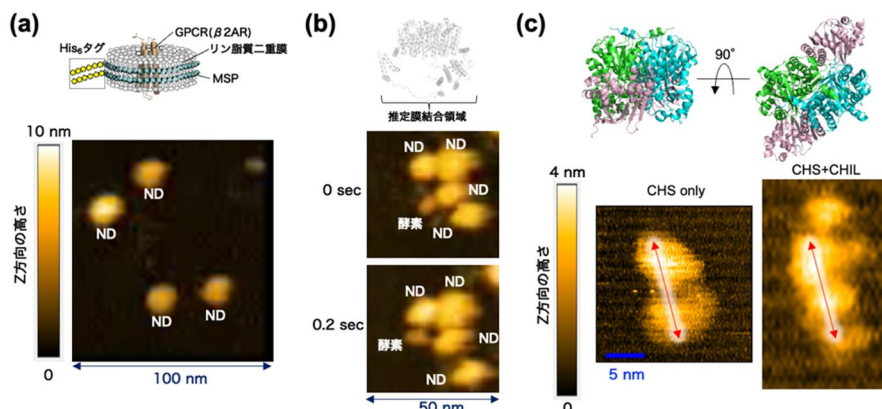


図 5. 天然ゴム関連酵素およびフラボノイド酵素の高速 AFM 観察像. (a) ND と 2AR 複合体. (b) 複数の ND と天然ゴム関連酵素の時分解観察 (0 sec - 0.2 sec). (c) CHS-CHIL の 2:2 複合体構造 (上) と HS-AFM 観察.

研究成果のまとめ

フラボノイドメタボロンおよび天然ゴムマシナリのコア構造の構成と複合体形成様式を明らかにし、これらの複合体形成の量論や酵素活性への重要性を検証した. 天然ゴム生合成の鍵酵素である HRT1 と、そのパートナータンパク質である HRBP を、ND に再構成し、精製することで、初めてピュアな状態で量論と酵素活性の発現条件を明らかにすることができた. また、フラボノイド生合成の鍵酵素 CHS と、そのパートナータンパク質である CHIL の溶液中での複合体を単離し、それらの立体構造を X 線結晶構造解析により明らかにした. ND への膜タンパク質群の提示技術の基盤を構築し、HS-AFM によりダイナミクスを観察することに成功した. それらの直接的に観察と、他の実験手法および AI を用いた構造予測との比較を行い、整合性を確認した. 本研究の成果は、植物特化代謝において、特に重要な化合物群に關与する合成系の進化的側面の理解や生産制御に向けて重要な知見を提供するものである.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9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 黒岩風, 戸澤謙	4. 巻 80
2. 論文標題 天然ゴムの生合成コア酵素系の試験管内再構成	5. 発行年 2022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 488-490
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 Kuroiwa Fu, Nishino Akira, Mandal Yasuko, Honzawa Masataka, Suenaga-Hiromori Miki, Suzuki Kakeru, Takani Yukie, Miyagi-Inoue Yukino, Yamaguchi Haruhiko, Yamashita Satoshi, Takahashi Seiji, Tozawa Yuzuru	4. 巻 12
2. 論文標題 Reconstitution of prenyltransferase activity on nanodiscs by components of the rubber synthesis machinery of the Para rubber tree and guayule	5. 発行年 2022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/s41598-022-07564-y	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 Kutsukawa Ryo, Imaizumi Riki, Suenaga Hiromori Miki, Takeshita Kohei, Sakai Naoki, Misawa Shuto, Yamamoto Masaki, Yamaguchi Haruhiko, Miyagi Inoue Yukino, Waki Toshiyuki, Kataoka Kunishige, Nakayama Toru, Yamashita Satoshi, Takahashi Seiji	4. 巻 -
2. 論文標題 Structure based engineering of a short chain cis prenyltransferase to biosynthesize nonnatural all cis polyisoprenoids: molecular mechanisms for primer substrate recognition and ultimate product chain length determination	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	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) 10.1111/febs.16392	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 Takamura Natsuki, Yamazaki Akihiko, Sakuma Nozomi, Hirose Sakiko, Sakai Motonari, Takani Yukie, Yamashita Satoshi, Oshima Masahiro, Kuroki Makoto, Tozawa Yuzuru	4. 巻 187
2. 論文標題 Catalytic promiscuity of rice 2-oxoglutarate/Fe(II)-dependent dioxygenases supports xenobiotic metabolism	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 816 ~ 828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plphys/kiab293	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 Kuroiwa Fu, Suda Hiraku, Yabuki Maho, Atsuzawa Kimie, Yamaguchi Haruhiko, Toyota Masatsugu, Kaneko Yasuko, Yamashita Satoshi, Takahashi Seiji, Tozawa Yuzuru	4. 巻 88
2. 論文標題 Cell-free translation system with artificial lipid-monolayer particles as a unique tool for characterizing lipid-monolayer binding proteins	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 555 ~ 560
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbae026	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 Imaizumi Riki, Matsuura Hiroaki, Yanai Taro, Takeshita Kohei, Misawa Shuto, Yamaguchi Haruhiko, Sakai Naoki, Miyagi Inoue Yukino, Suenaga Hiromori Miki, Waki Toshiyuki, Kataoka Kunishige, Nakayama Toru, Yamamoto Masaki, Takahashi Seiji, Yamashita Satoshi	4. 巻 25
2. 論文標題 Structural Functional Correlations between Unique N terminal Region and C terminal Conserved Motif in Short chain cis Prenyltransferase from Tomato	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ChemBioChem	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) 10.1002/cbic.202300796	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 Yanai Taro, Takahashi Yukino, Katsumura Eri, Sakai Naoki, Takeshita Kohei, Imaizumi Riki, Matsuura Hiroaki, Hongo Shuntaro, Waki Toshiyuki, Takahashi Seiji, Yamamoto Masaki, Kataoka Kunishige, Nakayama Toru, Yamashita Satoshi	4. 巻 174
2. 論文標題 Structural insights into a bacterial α -glucosidase capable of degrading sesaminol triglucoside to produce sesaminol: toward the understanding of the aglycone recognition mechanism by the C-terminal lid domain	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 335 ~ 344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvad048	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 Oikawa Daiki, Yamashita Satoshi, Takahashi Seiji, Waki Toshiyuki, Kikuchi Koichi, Abe Takaaki, Katayama Takane, Nakayama Toru	4. 巻 590
2. 論文標題 (+)-Sesamin, a sesame lignan, is a potent inhibitor of gut bacterial tryptophan indole-lyase that is a key enzyme in chronic kidney disease pathogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 158 ~ 162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.12.088	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 Nishida Sayaka, Sumi Hinata, Noji Haruna, Itoh Akira, Kataoka Kunishige, Yamashita Satoshi, Kano Kenji, Sowa Keisei, Kitazumi Yuki, Shirai Osamu	4. 巻 152
2. 論文標題 Influence of distal glycan mimics on direct electron transfer performance for bilirubin oxidase bioelectrocatalysts	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioelectrochemistry	6. 最初と最後の頁 108413 ~ 108413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bioelechem.2023.108413	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 Suzuki Yohei, Itoh Akira, Kataoka Kunishige, Yamashita Satoshi, Kano Kenji, Sowa Keisei, Kitazumi Yuki, Shirai Osamu	4. 巻 146
2. 論文標題 Effects of N-linked glycans of bilirubin oxidase on direct electron transfer-type bioelectrocatalysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioelectrochemistry	6. 最初と最後の頁 108141 ~ 108141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bioelechem.2022.108141	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29件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Haruhiko Yamaguchi, Yukino Miyagi-Inoue, Ryo Kutsukawa, Riki Imaizumi, Miki Suenaga-Hiromori, Syuto Misawa, Toshiyuki Waki, Toru Nakayama, Satoshi Yamashita, Seiji Takahashi
2. 発表標題 Biosynthesis of non-natural polyisoprenoids by functionally modified cis-prenyltransferases
3. 学会等名 33rd Annual Association for Advancement of Industrial Crops (AAIC) meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山下哲
2. 発表標題 Structural basis and protein engineering of polyisoprenoid synthase
3. 学会等名 第3回天然ゴム研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢内太朗, 田村夏美, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 竹下浩平, 片岡邦重, 戸澤讓, 高橋征司, 山下哲
2. 発表標題 Protein Engineering of the Regulatory Factor for Natural Rubber Synthase and its Structural Evaluation
3. 学会等名 第3回天然ゴム研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田城啓, 黒澤悠太郎, 林文晶, 山口晴彦, 島春奈, 川端健太, 竹下浩平, 宮城ゆき乃, 片岡邦重, 山下哲
2. 発表標題 Purification and Structural Analysis of a Membrane Protein Involved in Emulsification of Natural Rubber
3. 学会等名 第3回天然ゴム研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今泉瑠城, 三沢柊人, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 竹下浩平, 廣森美樹, 高橋征司, 山下哲
2. 発表標題 Structural determination and identification of regulation mechanisms of a natural rubber synthase homolog from plant
3. 学会等名 第3回天然ゴム研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井澤大輔, 三輪幸祐, 廣森美樹, 青木裕一, 和氣駿之, 小島幸治, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 山下哲, 戸澤讓, 中山亨, 高橋征司
2. 発表標題 Enzymatic characterization of a trans-prenyltransferase from Manilkara zapota MztPT2
3. 学会等名 第3回天然ゴム研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三上智世, NADIA NUR SHAZANA BINTI ABU TALIB KHAN, 小島幸治, 山口 晴彦, 廣森 美樹, 和氣 駿之, 宮城 ゆき乃, 山下 哲, 戸澤 謙, 中山 亨, 高橋 征司
2. 発表標題 olubilization of rubber particle membrane proteins by amphiphilic copolymers
3. 学会等名 第3回天然ゴム研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中山隆司, 開琢海, 三輪 幸祐, 廣森 美樹, 和氣 駿之, 山下 哲, 戸澤 謙, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 岩井 雅子, 太田 啓之, 中山 亨, 高橋 征司
2. 発表標題 脂肪滴およびゴム粒子の構造維持に関わる膜タンパク質の比較解析
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 安田あおい, 今泉璃城, 中多舜, 竹下浩平, 坂井直樹, 和氣駿之, 片岡邦重, 中山亨, 山下哲
2. 発表標題 Structural insight into the inhibition of chalcone synthase, the initial enzyme of flavonoid biosynthesis
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 矢内太朗, 今泉璃城, 田村夏美, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 片岡邦重, 高橋征司, 山下哲
2. 発表標題 Purification and characterization of N-terminally truncated HRBP, a regulatory protein for natural rubber synthase
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 高橋由季乃、矢内太朗、勝村恵理、和氣駿之、片岡邦重、中山亨、山下哲
2. 発表標題 Functional study of putative catalytic residues of sesaminol glycoside hydrolyzing enzyme
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 吉田城啓、黒澤悠太郎、林文晶、山口晴彦、竹下浩平、宮城ゆき乃、片岡邦重、山下哲
2. 発表標題 天然ゴム生合成に関与する膜結合型タンパク質の末端構造の解析
3. 学会等名 2022年度日本化学会北陸地区講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森麻人、今泉璃城、矢内太朗、山口晴彦、竹下浩平、宮城ゆき乃、片岡邦重、高橋征司、山下哲
2. 発表標題 植物由来トランス型プレニルトランスフェラーゼの精製と結晶化
3. 学会等名 2022年度日本化学会北陸地区講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三沢 柊人、今泉璃城、廣森美樹、片岡邦重、中山亨、高橋征司、山下哲
2. 発表標題 X線結晶構造に基づくシス型プレニルトランスフェラーゼの末端領域の機能解析
3. 学会等名 日本生化学会北陸支部第40回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒岩風, 矢吹真帆, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 山下哲, 高橋征司, 戸澤譲
2. 発表標題 天然ゴム生合成機構の解明に向けた脂質単層膜ベシクルシステムの構築
3. 学会等名 第3回天然ゴム研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒岩風, 西野輝, 廣森美樹, モンドル慶子, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 山下哲, 高橋征司, 戸澤譲
2. 発表標題 パラゴムノキおよびグアヤール由来タンパク質によるナノディスク上へのプレニルトランスフェラーゼ活性の再構成
3. 学会等名 イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三輪幸祐, 廣森美樹, 青木裕一, 和氣駿之, 小島幸治, 山下哲, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 戸澤譲, 中山亨, 高橋征司
2. 発表標題 サボジラ(Manilkara zapota)由来trans型プレニルトランスフェラーゼの酵素機能解析
3. 学会等名 イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 開琢海, 三輪幸祐, 廣森美樹, 和氣駿之, 山下哲, 戸澤譲, 山口晴彦, 宮城ゆき乃, 岩井雅子, 太田啓之, 中山亨, 高橋征司
2. 発表標題 無細胞翻訳系を用いた脂肪滴への外来酵素導入によるイソプレノイドポリマー生産
3. 学会等名 イソプレノイド研究会例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Nadia NUR SHAZANA BINTI ABU TALIB KHAN、廣森美樹、和氣駿之、山下哲、戸澤讓、山口晴彦、宮城ゆき乃、中山亨、高橋征司
2. 発表標題	パラゴムノキの天然ゴム生合成酵素複合体におけるタンパク質間相互作用ドメインとその機能的意義の解析
3. 学会等名	日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	今泉璃城、三沢柊人、竹下浩平、坂井直樹、山口晴彦、宮城ゆき乃、片岡邦重、中山亨、高橋征司、山下哲
2. 発表標題	トマト由来ネリルニリン酸合成酵素NDPS1のX線結晶構造解析
3. 学会等名	日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	黒岩風、西野輝、本澤正隆、廣森美樹、モンドル慶子、山口晴彦、宮城ゆき乃、山下哲、高橋征司、戸澤讓
2. 発表標題	天然ゴム生合成マシナリーのコアサブユニットの解析
3. 学会等名	日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	Yamashita S. Kutsukawa R. Suenaga-Hiromori M. Imaizumi R., Misawa S., Takeshita K., Sakai N., Waki T. Yamaguchi H., Miyagi-Inoue Y. Kataoka K., Yamamoto M. Nakayama T., Takahashi S.
2. 発表標題	Structural basis of short-chain cis-prenyltransferase from plant
3. 学会等名	TERPNET2023 (国際学会)
4. 発表年	2023年

1. 発表者名 Yanai T., Takeshita K. Imaizumi R., Tamura N. Yamaguchi H., Miyagi-Inoue Y. Kataoka K., Yamamoto M. Nakayama T., Takahashi S. Yamashita S.
2. 発表標題 Protein engineering, purification and characterization of a regulatory protein for cis-prenyltransferase from plant
3. 学会等名 TERPNET2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kuroiwa F., Yamaguchi H. Miyagi-Inoue Y., Yamashita S. Takahashi S., Tozawa Y.
2. 発表標題 In vitro reconstitution of core components of the rubber synthesis machinery based on a cell-free translation system
3. 学会等名 TERPNET2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Imaizumi R., Misawa S. Yanai T., Takeshita K. Matsuura H., Yamaguchi H. Miyagi-Inoue Y., Sakai N. Kataoka K., Yamamoto M. Nakayama T., Takahashi S. Yamashita S.
2. 発表標題 Structural and functional importance of the C-terminal conserved region of neryl diphosphate synthase from tomato
3. 学会等名 TERPNET2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kuroiwa F. Suenaga-Hiromori M. Yamashita S., Takahashi S. Miyagi-Inoue Y. Yamaguchi H., Tozawa Y.
2. 発表標題 In vitro natural rubber biosynthesis on rubber particles from Hevea brasiliensis and nanodiscs
3. 学会等名 Association for the Advancement of Industrial Crops 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Imaizumi R. Kutsukawa R. Suenaga M. Yamaguchi H. Miyagi-Inoue Y. Nakayama T., Yamashita S. Takahashi S
2. 発表標題 Studies on allylic substrate recognition and prenyl-chain elongation mechanisms in cis-prenyltransferase from plant
3. 学会等名 Pacifichem2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yanai T., Katsumura E. Hongo S., Takahashi Y. Waki T., Kataoka K. Nakayama T., Yamashita S.
2. 発表標題 Aglycone recognition of a bacterial -glucosidase that is highly specific to sesaminol triglucoside to produce sesaminol
3. 学会等名 Pacifichem2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Miyagi-Inoue Y., Yamaguchi H., Yamashita S. Ishii T., Suenaga-Hiromori M. Yanbe F., Waki T., Mizuno M. Tozawa Y., Nakayama T. Takahashi S.
2. 発表標題 In vitro natural rubber biosynthesis by various prenyltransferases introduced onto rubber particles from Hevea brasiliensis
3. 学会等名 DKT International Rubber conference 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021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
研究分担者	戸澤 譲 (Tozawa Yuzuru) (90363267)	埼玉大学・理工学研究科・教授 (12401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	和氣 駿之 (Waki Toshiyuki)		
研究協力者	竹下 浩平 (Takeshita Kohei)		
研究協力者	古寺 哲幸 (Kodera Noriyuki)		

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