

**「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」**

**追跡調査報告書(平成20年度)**

**平成21年3月**

**株式会社 三菱化学テクノロジー**



## 目次

<b>第1章 調査概要</b> .....	<b>1</b>
第1節 調査概要 .....	1
1. 調査目的 .....	1
2. 調査対象 .....	1
3. 調査方法 .....	3
4. 調査経過 .....	7
(付表) アンケート票 .....	14
<b>第2章 概況調査</b> .....	<b>20</b>
概況調査結果要旨 .....	20
第1節 基礎研究推進事業での課題の研究目的について .....	22
1. 開始時の研究目的の方向 .....	22
第2節 基礎研究推進事業終了後の研究状況について .....	23
1. 研究の継続・発展状況 .....	23
2. 研究チームの継続状況 .....	24
3. 終了以降の主な研究成果 .....	25
第3節 研究成果の波及効果について .....	27
1. 科学技術的波及効果 .....	27
2. 産業技術的波及効果 .....	28
3. 社会的波及効果について .....	29
4. 人材育成効果 .....	30
5. 副次的波及効果 .....	31
第4節 今後の研究の方向について .....	33
1. 現在の研究目的の方向 .....	33
第5節 基礎研究推進事業について .....	34
1. 事業規模 .....	34
2. 課題評価 .....	35
第6節 研究成果と波及効果のクロス集計 .....	36
1. 新製品開発の成果と波及効果 .....	36
2. 農林水産業への応用 .....	39
3. 生物産業への応用 .....	41

第7節 当初の目的と研究成果に関するクロス集計 .....	43
1. 応用目的を持った課題の応用技術開発における成果の達成.....	43
2. 学術的目的を持った課題の応用面での達成 .....	45
3. 学術的目的を持った課題の学術面での達成 .....	46
第8節 国内・海外との共同研究の効果.....	47
1. 共同研究と競争的資金獲得.....	47
2. 共同研究と研究成果.....	48
3. 共同研究と波及効果.....	49

第3章 詳細調査.....	51
第1節 酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出.....	51
1. 研究の背景と位置付け.....	51
2. 研究の展開.....	51
3. 基礎研究推進事業において実施された内容.....	53
4. 事業終了後の状況.....	55
5. 有識者コメント.....	58
6. 主要データ.....	59
第2節 作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発.....	69
1. 研究の背景と位置づけ.....	69
2. 研究の展開.....	69
3. 基礎研究推進事業において実施された内容.....	71
4. 事業終了後の状況.....	72
5. 有識者コメント.....	75
6. 主要データ.....	76
第3節 植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発.....	80
1. 研究の背景.....	80
2. 研究の展開.....	80
3. 基礎研究推進事業において実施された内容.....	82
4. 事業終了後の状況.....	85
5. 有識者コメント.....	88
6. 主要データ.....	89
第4節 ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用.....	99
1. 研究の背景.....	99
2. 研究の展開.....	99
3. 基礎研究推進事業において実施された内容.....	101
4. 事業終了後の状況.....	103
5. 有識者コメント.....	107
6. 主要データ.....	108
第5節 受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発.....	119
1. 研究の背景と位置付け.....	119
2. 研究の展開.....	119
3. 基礎研究推進事業において実施された内容.....	121
4. 基礎研究推進事業終了後の状況.....	124
5. 有識者コメント.....	128
6. 主要データ.....	129

第6節	バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究	138
1.	研究の背景及び位置づけ	138
2.	研究の展開	138
3.	基礎研究推進事業において実施された内容	140
4.	事業終了後の状況	142
5.	有識者コメント	145
6.	主要データ	146
第7節	高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究	153
1.	研究の背景	153
2.	研究の展開	153
3.	基礎研究推進事業において実施された内容	155
4.	事業終了後の状況	157
5.	有識者コメント	160
6.	主要データ	161
第8節	細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子	168
1.	研究の背景と位置づけ	168
2.	研究の展開	168
3.	基礎研究推進事業において実施された内容	170
4.	事業終了後の状況	173
5.	有識者コメント	177
6.	主要データ	178
第9節	病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療	188
1.	研究の背景と位置づけ	188
2.	研究の展開	188
3.	基礎研究推進事業において実施された内容	190
4.	事業終了後の状況	192
5.	有識者コメント	194
6.	主要データ	195
第10節	ナノ FISH 法の開発	201
1.	研究の背景	201
2.	研究の展開	201
3.	基礎研究推進事業において実施された内容	203
4.	事業終了後の状況	207
5.	有識者コメント	210
6.	主要データ	211

## データ集

1. (松本英明、山本洋子) 酸性土壌における生産性向上を目的とした 植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出 .....	1
2. (江川宜伸) 作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発 .....	11
3. (高辻博志) 植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発 .....	14
4. (和田正三、市川裕章、土岐精一) ホモログス・リコンビネーションによる 標的遺伝子の破壊技術の開発と応用 .....	23
5. (佐藤英明) 受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発 .....	38
6. (橋爪一善) バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究 .....	53
7. (松野隆一、安達修二) 高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究 .....	61
8. (佐藤智典) 細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子 .....	69
9. (松本直幸) 病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療 .....	80
10. (大谷敏郎、杉山滋) ナノ FISH 法の開発 .....	84

## 第1章 調査概要

### 第1節 調査概要

#### 1. 調査目的

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター（以下「生研センター」と表記）では、「農林水産業、食品産業等生物系特定産業の分野において、生物の持つ多様な機能を活用することにより新技術・新分野を創出し、それを通じて農林水産業の発展、地球規模での人口、食料、環境問題の解決等に資する」という目的のもと、将来の産業技術のシーズとなる基礎的な試験研究に取り組んでいる。

このような基礎的・独創的な研究については、その終了後一定期間を経過した時点で社会的、産業的あるいは学術的にどのような成果を上げ、または波及したかを把握し、事業運営の参考にするとともに、その結果を広く公表し、基礎研究推進事業に対する国民の理解を得る必要がある。

このため、生研センターで執り行っている「新技術・新分野創出のための基礎的研究推進事業」の追跡調査を行う。

#### 2. 調査対象

基礎研究推進事業の研究課題は、一部を除き、大課題のもとにさらに複数の中課題が設定されている。平成10年度に基礎研究推進事業に採択された大課題は10課題あり、本追跡調査ではこれら10課題全てを調査対象とする。基礎研究推進事業の研究チームは、それぞれの中課題の研究代表者、及び大課題の総括研究代表者から構成されている。調査対象課題の一覧を表1-1-1示す。

表 1-1-1 調査対象課題

研究課題	総括代表研究者	中課題	研究代表者
酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出	松本 英明	酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出	松本 英明
作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発	江川 宜伸	作物の生殖生長期における耐暑性の生理学的および遺伝学的解明	江川 宜伸
		耐暑性に関与する遺伝子の作物への導入とその組換え体の解析	高倍 鉄子
		ミトコンドリアの機能改良による耐暑性作物の作出に関する研究	山崎 秀雄
		アセチルコリンエステラーゼの機能解析とその遺伝子導入による作物の耐暑性の向上	桃木 芳枝
植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発	高辻 博志	植物形態形成を制御するジンクフィンガー型転写因子の機能解析	高辻 博志
		植物形態形成の可変性を支配するホメオドメイン型転写因子の機能解析	青山 卓史
ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用	和田 正三	相同組み換えによるイネ遺伝子ターゲティング法の開発	市川 裕章
		半数世代の植物体を利用して相同組み換えによる遺伝子破壊技術の推進	和田 正三
受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発	佐藤 英明	家畜における卵子の死滅予防法と新しい排卵誘発法の開発	佐藤 英明
		家畜における超未成熟卵子の体外発育法と凍結保存法の開発	星 宏良
バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究	橋爪 一善	牛の胎盤オルガノイド構築のための基礎的研究	橋爪 一善
		受胎・妊娠維持機構の解明	岡野 彰
		受胎機構と母子間免疫の解明	小松 正憲
		子宮・胎盤機能の分子機構の解明	伊東 晃
高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究	松野 隆一	胎盤再構築技術開発のための基礎的研究	大濱 紘三
		熱力学的障壁を克服した機能性食品素材物質の酵素合成	中西 一弘
		新たな脂質粉末化技術の開発と高機能性食品への応用	松野 隆一
細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子	佐藤 智典	エマルション系、濃厚系、極低水分系における相互作用の分子論	森 友彦
		糖鎖プライマーの合成	橋本 弘信
		糖脂質型糖鎖プライマーによる糖鎖ライブラリーの作製	山形 達也
病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療	松本 直幸	踏査ライブラリーの作製と糖鎖高分子の開発	佐藤 智典
		病原性低下因子の探索と評価	松本 直幸
		病原性低下因子導入技術の開発	吉田 幸二
		病原性低下因子の分子学的機能解明	大津 善弘
ナノ FISH 法の開発	大谷 敏郎	ユニバーサルイノキュラムの開発	森永 力
		ナノ領域の蛍光標識法の開発	田中 淳
		ナノ領域の蛍光標識法の開発	廣瀬 玉紀
		試料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出	大谷 敏郎
		ナノ FISH 法のための光プローブ顕微鏡装置の最適化に関する研究	村松 宏

### 3. 調査方法

#### (1) 調査項目と視点

本事業の研究課題が事業終了後に獲得した成果や効果は、それらの当初の目的や、事業期間中に得られた成果により、様々な経過をたどっている。そこで本調査では、「研究の継続・深化・発展」の状況把握、さらには事業終了後の「研究成果の産業化」および「波及効果」について複数の視点から追跡調査を行った。調査項目とそれぞれの調査視点を表 1-1-2 に示した。

表 1-1-2 調査項目

調査項目	調査の視点		
継続・深化・発展	研究の継続と拡大	テーマ、共同研究の継続	総括者や研究員が現所属先で研究テーマや共同研究を継続しているか
		研究の深化	新知見が得られ基礎研究における課題を解決して深化しているか
		研究の発展	新たな共同研究先が得られているか 新たに研究資金を獲得しているか
成果の産業化	応用研究・実用化への進展	応用研究への展開	研究成果が産業分野との共同等による応用研究へ展開したか。
		応用技術の確立	試作など、農林水産業の現場や生物産業に普及可能な技術開発が行われたか
		実用化の達成	新製品販売や受託ビジネスなどの事業化にむずびついているか
波及効果	新領域の創出、関連分野の研究の深化	科学技術的波及効果	他の研究分野との融合などにより研究が拡大したか
			事業終了前及び後の研究成果が学術的に広く利用されているか
			研究開発基盤の整備につながったか
			新たな分科会や学会の設立にむずびついたか
			海外との共同研究、国際ミーティング開催などにより国際的な研究に発展したか
	試作品や新製品・新事業の生成への貢献	産業経済的波及効果	試作品や新製品・新事業が普及して市場拡大につながっているか
			ベンチャー企業設立などによる産業化につながったか
			特許使用許諾や技術移転、技術指導などにより産業化や技術開発の促進につながったか
	農林水産分野における社会的問題解決	社会的波及効果	報道などにより成果が広く国民に認知されたか
			受賞などにより成果が広く評価されたか
研究リーダーの輩出、研究員の学位取得や海外留学などの人材育成につながったか			
人材の育成	人材育成効果	確立した技術が国際的に認知されるに至ったか	
			参画研究者のポスト獲得や学位取得、海外留学などの育成につながったか

## (2) 調査の観点

調査対象としたそれぞれの研究課題の基礎研究推進事業の終了以降の多面的な調査の視点からの追跡調査結果を整理するにあたり、「研究の方向について」「国際的な進出や貢献について」、「研究成果の直接性、間接性について」の観点を盛り込んだ。

### 1) 研究の方向について

それぞれの研究課題がどのような方向で研究目的を設定し、成果を得て発展し、基礎研究推進事業の終了後 5 年を経過した現在には目的がどのような方向に持たれているかを探った。研究の方向として下の項目を設定し、アンケート調査やヒアリング調査、検索調査などを総合して、研究課題ごとに「基礎研究推進事業の開始時の方向」、「事業終了後の方向」、「今後の方向」に整理した。結果は詳細調査の「研究の発展」の項目に記載した。また、概況調査では、当初の研究の方向が、応用面または基礎研究面の成果・効果にどのように関与したか傾向を見るためアンケート集計のクロス分析を行った。

- (1) 新しい製品の開発 (新市場の開拓)
- (2) 農林水産業現場で利用できる新技術の開発 (新品種の作出など)
- (3) 生物関連産業で利用できる新技術の開発 (食品、医療などの分野の技術開発)
- (4) 共通利用可能な研究基盤の整備 (データベースや分析・解析法等の構築)
- (5) 基礎研究領域の基本的な要素課題の解決 (基礎研究の深化)

### 2) 国際的な進出や貢献について

研究課題の中には、農林水産分野での国際的に共通した問題の解決や技術の創出を目的として設定し、日本国内だけでなく、海外にも波及効果が拡大しているものもある。そこで、調査項目としている基礎研究の継続・深化・発展、研究成果の産業化の状況、及び波及効果において、国際的にどのような成果・効果を上げているかという観点から整理を行った。アンケート調査およびヒアリング調査にて得られた結果を、概況調査および詳細調査の研究の展開や波及効果に記載した。また、概況調査では、海外との共同研究が研究成果・効果に及ぼす効果を見るため、アンケート集計のクロス分析を行った。

### 3) 研究成果の直接性・間接性について

近年、研究開発の成果・効果の把握や評価の実施において、研究成果の直接性・間接性の観点から整理が行われている。研究の背景をインプットとし、研究事業の成果を、研究課題の直接の成果 (アウトプット)、そこから生み出された社会・経済等への効果 (アウトカム)、及び波及効果 (インパクト) に分けて把握するものである。ここから、研究をどれだけ行ったかという直接的成果だけでなく、どのような成果がもたらされたかという間接的な効果や、そこからさらに期待される波及効果が整理される。本調査では、調査項目について、研究の背景、成果、波及効果を表 1-1-3 のように整理し、それぞれの研究課題が現在どのような性質の成果を挙げているかを調べた。

表 1-1-3 研究成果の整理

成果	整理する観点	調査項目	調査内容	調査方法	結果の記載
—	研究の背景 (インプット)	(事前調査)	事業開始時の研究背景、事業期間中の成果、取得 Grant	研究成果報告書の 査読、 ヒアリング調査	詳細調査「研究の背景」「基礎研究推進事業において実施された内容」「主要データ(Grantデータ)」、データ集「Grantリスト」
直接的成果	研究の直接の成果 (アウトプット)	研究の継続・ 深化	論文数、 特許数、 研究発表	検索調査、 ヒアリング調査	詳細調査「事業終了後の状況(新たな研究成果)」「主要データ(論文データ、特許データ、講演・シンポジウム開催データ、学会役員データ)」、データ集「論文リスト、特許リスト」
間接的成果	社会・経済等への効果 (アウトカム)	研究の発展、 研究成果の産 業化等の状況	研究成果の 注目度、論文 引用数、文献 ランキング	検索調査、 アンケート調査、 ヒアリング調査	概況調査、詳細調査「研究の発展」「事業終了後の状況(研究発展状況)」、「主要データ(文献ランキング、論文引用データ、報道データ、受賞データ、実用化データ)」
	波及効果 (インパクト)	科学技術的波 及効果、 産業経済的波 及効果、 社会的波及効 果	間接的な効 果	アンケート調査、 ヒアリング調査、 有識者コメント	概況調査、詳細調査「波及効果」

### (3) 調査手順

本調査は、事前準備、概況調査、詳細調査、外部有識者コメントの各段階を追って進めた。各段階における調査内容を図 1-1-1 に示す。

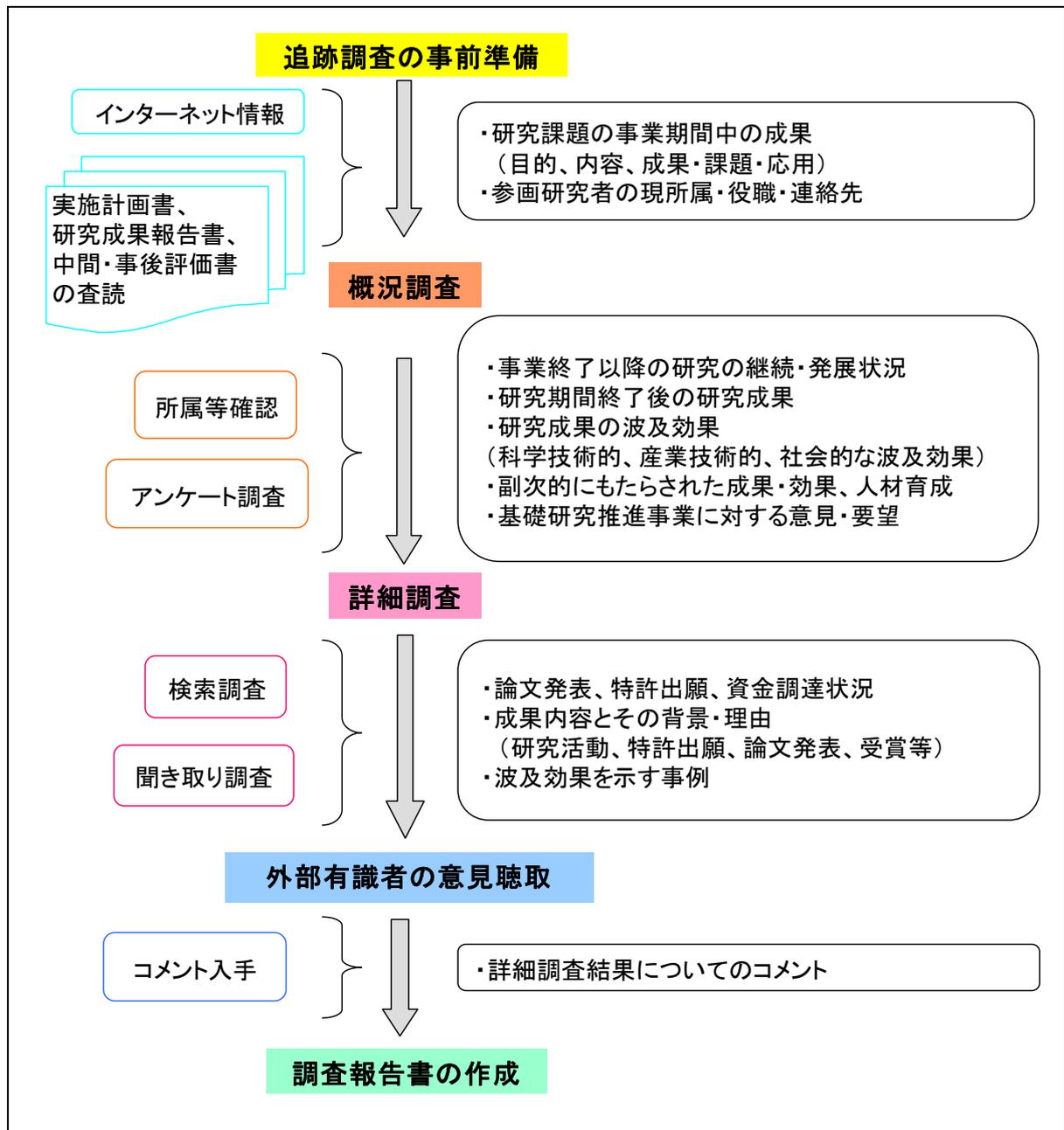


図 1-1-1 調査フロー

## 4. 調査経過

### (1) 事前準備

生研センター所有の実施計画書や研究報告書、及びインターネットで収集した情報をもとにして、各課題の背景・目的や基礎研究推進事業の終了までの研究の経緯や成果を把握するとともに、総括研究代表者および研究代表者の現在の所属・職位・連絡先を確認した。入手した情報を表 1-1-4 に示した。入手した情報を基礎データとし、以降のアンケート調査やヒアリング調査の際の連絡、及び検索調査の際のキーワードの設定等に適切に役立てた。

表 1-1-4 事前準備における収集データ

入手情報の項目			対象
参画研究者情報	職歴情報	事業開始から現在までの所属機関、部署、役職	総括代表研究者 計 10 名
	現在の連絡先	住所、電話番号、電子メールアドレス	代表研究者 計 30 名
事業終了までの状況	研究の背景	ウェブのホームページや研究計画書、中間報告書、中間評価結果、最終報告書等に記載されている情報	研究課題 10 件
	研究目的		
	研究内容		
	研究成果		
	研究実施体制		
	中間評価内容		
	発表論文 特許出願		

### (2) 概況調査

#### 1) アンケート票の送付と回収

概況調査ではアンケートによる調査を行い、調査対象とした 10 課題全体について、調査項目からみてどのような状況にあるかを分析した。

アンケート内容は、前述の調査項目に従って、平成 18 年度及び平成 19 年度に実施された本調査のアンケート項目を吟味して設定した。研究者が回答しやすいように選択形式とし、それぞれの質問項目について自由回答を記入する欄を用意した。アンケート票を付表に示した。

アンケートの対象は、対象 10 課題それぞれの総括代表研究者及び代表研究者、合計 30 名のうち、本調査への協力の承諾を得られた研究者とした。アンケート対象者のうち基礎科学推進事業の終了以降に所属に変更があった研究者は、14 名であった。そのうち、代表研究者が基礎研究推進事業の終了以降に退職などで既に研究から離れていた 4 件は、研究の後継者を紹介していただき回答を得た。調査への協力のお願いとアンケート票は、電話、文書、電子メールなどで対応し、回答の返送は、同封の返送用封筒または電子メールに添付する方式のどちらでも可能とした。最終的に 30 名の対象者のうち 29 名から回答を得た。

なお、昨年・一昨年は総括研究代表者のみをアンケートの対象としていたため、データ

は、総括代表研究者のみの集計と、代表研究者を含めた全回答の集計の両者について解析し、スコアを算出した。

概況調査の協力者一覧表を表 1-1-5 に示した。

表 1-1-5 概況調査協力者（敬称略）

研究課題名	中課題名	調査協力者	現所属・役職	役割
酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出	酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出	松本 英明	岡山大学 名誉教授	総括代表研究者
		山本 洋子	岡山大学資源生物科学研究所 教授	研究者
作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発	作物の生殖生長期における耐暑性の生理学的小および遺伝学的解明	江川 宜伸	(独) 国際農林水産業研究センター熱帯・島嶼研究拠点 所長	総括代表研究者
	耐暑性に関与する遺伝子の作物への導入とその組換え体の解析	高倍 鉄子	名古屋大学大学院生命農学研究科 教授	研究代表者
	ミトコンドリアの機能改良による耐暑性作物の作出に関する研究	山崎 秀雄	琉球大学理学部海洋自然科学科 教授	研究代表者
	アセチルコリンエステラーゼの機能解析とその遺伝子導入による作物の耐暑性の向上	桃木 芳枝	東京農業大学 生物産業学部生物生産学科 教授	研究代表者
植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発	植物形態形成を制御するジンクフィンガー型転写因子の機能解析	高辻 博志	(独) 農業生物資源研究所植物科学領域 耐病性研究ユニット ユニット長	総括代表研究者
	植物形態形成の可変性を支配するホメオドメイン型転写因子の機能解析	青山 卓史	京都大学化学研究所生体機能化学研究室生体分子情報 准教授	研究代表者
ホモロガス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用	相同組み換えによるイネ遺伝子ターゲティング法の開発	市川 裕章	(独) 農業生物資源研究所 植物科学環境領域 上級研究員	研究代表者
	半数世代の植物体を利用して相同組み換えによる遺伝子破壊技術の推進	和田 正三	九州大学理学研究院生物科学部門 特任教授	総括代表研究者
受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発	家畜における卵子の死滅予防法と新しい排卵誘発法の開発	佐藤 英明	東北大学大学院農学研究科動物生殖科学分野 教授	総括代表研究者
	家畜における超未成熟卵子の体外発育法と凍結保存法の開発	星 宏良	株式会社機能性ペプチド研究所 取締役所長	研究代表者

研究課題名	中課題名	調査協力者	現所属・役職	役割
バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究	牛の胎盤オルガノイド構築のための基礎的研究	橋爪 一善	岩手大学 農学部獣医学課程 教授	総括代表研究者
	受胎・妊娠維持機構の解明	岡野 彰	(独) 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所 畜産研究支援センター	研究代表者
	受胎機構と母子間免疫の解明	小松 正憲	(独) 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所 上席研究員	研究代表者
	子宮・胎盤機能の分子機構の解明	伊東 晃	東京薬科大学 薬学部 生化学・分子生物学教室 教授	研究代表者
	胎盤再構築技術開発のための基礎的研究	原 鐵晃	県立広島病院生殖医療科 主任部長	研究者
高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究	熱力学的障壁を克服した機能性食品素材物質の酵素合成	中西 一弘	岡山大学大学院自然科学研究科 教授	研究代表者
	新たな脂質粉末化技術の開発と高機能性食品への応用	安達 修二	京都大学農学研究科食品生物科学専攻 教授	研究者
	エマルション系、濃厚系、極低水分系における相互作用の分子論	森 友彦	畿央大学 健康科学部健康栄養学科 教授	研究代表者
細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと	糖脂質型糖鎖プライマーによる糖鎖ライブラリーの作製	山形 達也	瀋陽薬科大学生命科学部 教授	研究代表者
	踏査ライブラリーの作製と糖鎖高分子の開発	佐藤 智典	慶応義塾大学理工学部生命情報学科 教授	総括代表研究者
病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療	病原性低下因子の探索と評価	松本 直幸	(独) 農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター 研究調整役	総括代表研究者
	病原性低下因子導入技術の開発	吉田 幸二	(独) 農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所 研究管理監	研究代表者
	病原性低下因子の分子学的機能解明	中村 仁	(独) 農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所 主任研究員	研究代表者
	ユニバーサルイノキュラムの開発	森永 力	県立広島大学生命環境学部環境科学科 教授	研究代表者
ナノ FISH 法の開発	ナノ領域の蛍光標識法の開発	田中 淳	(独) 日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門 ユニット長	研究代表者
	試料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出	大谷 敏郎	内閣府 食品安全委員会事務局 次長	総括代表研究者
	ナノ FISH 法のための光プローブ顕微鏡装置の最適化に関する研究	村松 宏	東京工科大学応用生物学部大学院バイオニクス専攻 教授	研究代表者

## 2) 概況調査の集計と分析

アンケートの集計は、それぞれの質問ごとに回答数を集計するとともに、「どちらともいえない」を0軸として表1-1-6の算出方法に従ってスコア化した。このスコアは、その質問に当てはまるほど正の値が大きくなり、最大2になる。逆に質問内容に当てはまらない場合には、負の値となり、最も当てはまらない場合は-2になる。スコアは、平成18年度・平成19年度と同様に総括代表研究者のみの回答を集計した値と、今年度新たに加えた代表研究者全員の回答を集計した値の2種を算出した。データには平成18年度と19年度のアンケート結果を加え、3年度分それぞれについてスコアをグラフ化して、年度ごとの傾向を分析した。

また、質問の中の自由回答については、主な意見を列記した。

表 1-1-6 スコアの算出方法

	そう思う	多少そう思う	どちらとも いえない	あまりそう思 わない	全くそう思わ ない
設問の回答数	A1	A2	A3	A4	A5
スコア	2	1	0	-1	-2
スコアの合計	A1×2	A2×1	A3×0	A4×(-1)	A5×(-2)
平均スコア	$\frac{(A1 \times 2) + (A2 \times 1) + A3 \times 0 + A4 \times (-1) + A5 \times (-2)}{A1 + A2 + A3 + A4 + A5}$				

さらに、アンケート集計の回答数をクロス分析することにより、質問間のデータの関連性を調べた。集計では、全ての質問についてその組み合わせ間の回答数のマトリックスを取り、特に相関が見られたクロス集計結果を抽出した。それらの結果から、本事業の目標「農林水産業、食品産業等生物系特定産業の分野において、生物の持つ多様な機能を活用することにより新技術・新分野を創出し、それを通じて農林水産業の発展、地球規模での人口、食料、環境問題の解決等に資する」の達成状況とその要因を考察した。

### (3) 詳細調査

#### 1) 検索調査

調査対象とした 10 件の研究課題について、論文調査、論文引用調査、h-index 調査、文献ランキング調査、特許調査、報道調査、獲得資金調査、受賞歴調査、講演歴調査を行った。各調査の内容とデータソースを表 1-1-7 にまとめた。

表 1-1-7 検索調査の内容と使用データソース

調査手法	調査内容	使用データソース等
論文調査	平成 10 年以降に発表された、総括代表研究者の著者名と所属機関で検索される論文	・ 学術論文抄録・索引データベース : Scopus (Elsevier 社)
論文引用調査	上記で検索された論文のうち、総括代表研究者が成果対象とした論文全件についての引用論文	
文献ランキング調査	課題研究が属する分野全体の平成 10 年以降の文献を母集団とした、参画研究者および所属機関のランキング	・ 情報検索システム : CA (Chemical Abstracts, American Chemical Society)
特許調査	平成 10 年以降に出願された、総括代表者名が発明者に含まれる特許とその成立状況	・ 日本特許情報検索システム : DocuPat (富士ゼロックス社) ・ 海外特許情報検索システム : Patentweb (MicroPatent 社)
報道調査	平成 10 年以降に発表された、総括代表者名で検索された記事	・ 日経テレコン 21 ・ ウェブ検索
獲得資金調査	平成 10 年以降に総括代表研究者が代表として獲得した、研究資金や国からの委託事業	・ 科学研究費補助金データベース (国立情報学研究所) ・ 助成団体データベース (財団法人助成財団センター) ・ 研究機関、研究室、個人、所属学会等のホームページ ・ 省庁等の競争的資金ホームページ
受賞歴調査	平成 10 年以降に総括代表研究者が受けた賞	・ ReaD 研究開発支援総合ディレクトリ (科学技術振興機構) ・ 研究機関、研究室、個人、所属学会等のホームページ
講演・シンポジウム歴調査	平成 10 年以降に総括研究者が事業終了以降に行った主な講演やシンポジウム開催例	・ 検索エンジン

## 2) ヒアリング調査

ヒアリング調査の対象は、基本的には10課題の総括代表研究者の合計10名とし、総括代表研究者が定年退官や異動などで研究から離れている場合には、その研究を継続している研究者を紹介いただいた。ヒアリング調査の協力者を表1-1-8に示した。時間は約1.5から2時間とし、ヒアリング対象者に詳細調査の結果を説明して内容や文献を確認いただくとともに、調査項目と視点および調査の観点に沿って、事業終了後の研究概要や成果・波及効果について説明をいただいた。なお、実施の際には、アンケート調査結果も参考にした。入手した情報は、研究課題ごとの詳細調査に反映させ、取りまとめて記載した。

表 1-1-8 ヒアリング協力者（敬称略）

研究課題名	研究代表者名	現所属・役職	役割
酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出	松本 英明	岡山大学 名誉教授	総括代表研究者
	山本 洋子	岡山大学資源生物科学研究所 教授	研究者
	佐々木 孝行	岡山大学資源生物科学研究所 助教	研究者
作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発	江川 宜伸	(独) 国際農林水産業研究センター 熱帯・島嶼研究拠点 所長	総括代表研究者
	庄野 真理子	(独) 国際農林水産業研究センター 熱帯・島嶼研究拠点 生物資源分野長	研究者
植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発	高辻 博志	(独) 農業生物資源研究所植物科学領域 耐病性研究ユニット ユニット長	総括代表研究者
ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用	和田 正三	九州大学理学研究院生物科学部門 特任教授	総括代表研究者
	市川 裕章	(独) 農業生物資源研究所植物科学環境領域 上級研究員	代表研究者
	土岐 精一	(独) 農業生物資源研究所遺伝子組換え技術研究ユニット ユニット長	研究者
受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発	佐藤 英明	東北大学大学院農学研究科動物生殖科学分野 教授	総括代表研究者
バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究	橋爪 一善	岩手大学農学部獣医学課程 教授	総括代表研究者
高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究	安達 修二	京都大学農学研究科食品生物科学専攻 教授	研究者
細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子	佐藤 智典	慶応義塾大学理工学部生命情報学科 バイオ分子化学 教授	総括代表研究者
病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療	松本 直幸	(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター 研究調整役	総括代表研究者
ナノ FISH 法の開発	大谷 敏郎	内閣府 食品安全委員会事務局 次長	総括代表研究者
	杉山 滋	(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品工学研究領域ナノバイオ工学ユニット ユニット長	研究者

#### (4) 有識者コメント

詳細調査におけるヒアリング結果や各種データを取りまとめ、それぞれの研究課題について見識の深い外部有識者に送付し、第三者の立場からのコメントを依頼した。外部有識者として、本事業の採択や中間評価に係わった委員で、生研センターに所属しない方をお願いした。調査に協力をいただいた外部有識者を表 1-1-9 に示す。

表 1-1-9 外部有識者の一覧 (50 音順、敬称略)

有識者	所属・職位
秋田 重誠	滋賀県立大学環境科学部 元教授
磯貝 彰	奈良先端科学技術大学院大学 特任教授
今中 忠行	立命館大学生命科学部 教授
上野川 修一	日本大学生物資源科学部 教授
鎌田 博	筑波大学大学院生命環境科学研究科 教授
高橋 迪雄	味の素(株) ライフサイエンス研究所 顧問
武田 和義	岡山大学資源生物科学研究所 所長
塚越 規弘	放送大学愛知学習センター 所長
西野 輔翼	立命館大学 COE 推進機構 特別招聘教授

(付表) アンケート票

「平成20年度基礎的研究業務追跡調査委託事業」に関するアンケート調査

平成10年度に採択され平成14年度まで実施された基礎研究推進事業について、次ページ以降のそれぞれの質問に対する回答を、ご記入くださいますようお願いいたします。

【ご回答いただいたアンケートについて】

- ・本アンケートで得られた情報は、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物系特定産業技術研究支援センター（以下、生研センター）が実施する「平成20年度基礎的研究業務追跡調査委託事業」にのみ用い、他の用途には使用いたしません。
- ・アンケート回答用紙とそのまとめは、生研センター及び株式会社三菱化学テクノロジーサーチ（以下、MCTR）の所属員が、統計処理の解析等のために見ることがあります。
- ・回収したアンケート回答用紙はMCTRにて保管し、調査終了後に廃棄いたします。

【ご氏名・ご所属等について】

本追跡調査のフォローアップのために連絡を取らせていただきたい場合がございますので、差し支えない範囲でご記入いただければ幸いです。

ご氏名	
ご年齢	
現在在籍されている機関名	
ご部署	
ご職位	
ご連絡先	

1. 基礎研究推進事業での課題の研究目的について

(質問1) 基礎研究推進事業での課題の研究目的の方向について

実施された研究課題が、当初目的としていた研究の方向についてお聞きいたします。

以下の①～⑤の質問について、最も近いと思われる回答1つに○をご記入ください。

質問事項	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない
①新しい製品を開発する（新市場の開拓）					
②農林水産業現場で利用できる新しい技術（新しい作物や動物の品種の作出や農林水産業における課題解決のための手法の開発）を開発する					
③生物関連産業で利用可能な新しい技術（アグリビジネス、食品、医療、環境など、生物機能を活用した産業で利用できる技術）を創出する					
④生物関連研究で共通利用可能な研究基盤（データベース作成や分析方法・解析方法の構築等）を整備する					
⑤基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する（基礎研究の深化）					

## 2. 基礎研究推進事業終了後の研究状況について

### (質問2) 研究の継続・発展状況について

基礎研究推進事業で取り組まれた研究課題に関連する研究について、基礎研究推進事業が終了した後の取り組みの状況についてお聞きいたします。次の①～③の項目で、最も近いと思われる回答1つに○をご記入ください。

質問事項	よく 当てはまる	多少 当てはまる	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当ては まらない
①新たな競争的資金を継続的に獲得できている					
②関連分野に研究が拡大している					
③新知見が得られ、学術的な研究が深化している					

### (質問3) 研究チームの状況について

基礎研究推進事業での研究チームについて、事業終了後の状況はどのようになっていますか。以下の①～④の項目で、最も近いと思われる回答1つに○をご記入ください。

質問事項	よく 当てはまる	多少 当てはまる	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当ては まらない
①当時の研究参画者は、現在も主として研究課題の継続となる研究に携わっている					
②当時の研究参画者は、当時と同一の研究機関内で異動・昇進している者が多い					
③新たに国内の研究者と共同研究を開始した					
④新たに海外の研究者と共同研究を開始した					

### (質問4) 基礎研究推進事業の終了以降の主な研究成果について

基礎研究推進事業終了から現在までの5カ年において、基礎研究推進事業で取り組まれた研究課題に関連して創出された成果についてお聞きします。以下の①～⑦の項目で、最も近いと思われる回答1つに○をご記入ください。

質問事項	よく 当てはまる	多少 当てはまる	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当ては まらない
①新市場創出につながる新製品を開発した					
②農林水産業の現場に普及可能な新技術を開発した					
③生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法を開発した					
④研究の共通基盤となるようなシステムや技術を整備した					
⑤幅広い分野に共通する科学的知見を発見・解明した					
⑥当該分野の深化に貢献する基礎科学の新知見を発見・解明した					
⑦上記①～⑥以外に特筆すべき研究成果があった					
備考： ⑦において当てはまる場合には、その成果についてご記入ください					

### 3. 研究成果の波及効果について

基礎研究推進事業終了から現在までの5ヵ年において、基礎研究推進事業で取り組んだ研究課題に関連した成果が、関連する研究分野や産業分野に対して間接的にどのような波及効果を及ぼしたと考えられるかについて、お聞きします。

#### (質問5) 科学技術的波及効果について

科学技術的波及効果について、以下の①～⑧の項目で、それぞれ最も当てはまるとご認識されている回答1つに○をご記入ください。

質問事項	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまり そう思わない	全く そう思わない
①本研究の成果がきっかけとなり、関連分野での新たな現象や法則性の発見・解明につながった					
②本研究が関連研究分野のトレンドにつながった					
③新しい研究領域の創出につながった					
④本研究で得られた知見をきっかけに、関連分野での学術的な研究が深化した					
⑤新たな学会や分科会の設立につながった					
⑥関連分野への参入研究者が増加し、研究者層が厚みを増した					
⑦海外における研究分野での競争力が高くなった					
⑧上記①～⑦以外に該当する科学技術的波及効果があった					
備考： ⑧において当てはまる場合には、その科学技術的波及効果についてご記入ください					

#### (質問6) 産業技術的波及効果について

基礎研究推進事業終了から現在までの5ヵ年において、基礎研究推進事業で取り組んだ研究課題に関連した成果の産業技術的波及効果について、以下の①～⑧の項目で、それぞれ最も当てはまるとご認識されている回答1つに○をご記入ください。

質問事項	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまり そう思わない	全く そう思わない
①本研究の成果が、新市場創出につながる新製品の開発に結びついた					
②農林水産業の現場に応用可能な新技術の開発・普及につながった					
③生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながった					
④特許使用許諾や技術移転、技術指導等により、民間企業や地方自治体での技術開発促進につながった					
⑤ベンチャー企業の実立や事業化につながった					
⑥本研究で得られた成果が、研究開発基盤の整備につながった					
⑦海外で応用可能な技術を開発した					
⑧上記①～⑦以外に該当する産業技術的・経済的波及効果があった					
備考：⑧において当てはまる場合には、その産業技術的波及効果についてご記入ください					

**(質問 7) 社会的波及効果について**

基礎研究推進事業終了から現在までの5ヵ年において、基礎研究推進事業で取り組んだ研究課題に関連した成果の社会的波及効果について、以下の①～⑥の項目で、それぞれ最も当てはまるとご認識されている回答1つに○をご記入ください。

質問事項	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性は ある	あまり そう思わ ない	全く そう思わ ない
①世界規模の食糧問題解決につながった					
②市町村規模の農業・農村問題解決につながった					
③食品の安全や安心な社会づくりにつながった					
④国民生活のQOL向上につながった					
⑤日本の国際貢献が認知された					
⑥上記①～⑤以外に特筆すべき社会的波及効果があった					
備考： ⑥において当てはまる場合には、その社会技術的波及効果についてご記入ください					

**(質問 8) 人材育成効果について**

人材育成効果について、以下の①～⑦の項目で、それぞれ最も当てはまるとご認識されている回答1つに○をご記入ください。

質問事項	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性は ある	あまり そう思わ ない	全く そう思わ ない
①基礎研究推進事業が、若手研究者の成長につながった					
②基礎研究推進事業をきっかけに、ポスドク研究者がポストを獲得した					
③基礎研究推進事業が、大学院生の学位取得につながった					
④基礎研究推進事業をきっかけに、参画研究者の学会での評価が高まった					
⑤基礎研究推進事業の成果が、参画研究者の昇進やポスト就任につながった					
⑥基礎研究推進事業が、参画研究員の海外留学につながった					
⑦上記①～⑥以外に該当する人材育成効果があった					
備考： ⑦において当てはまる場合には、その人材育成効果についてご記入ください					

**(質問9) 副次的な波及効果について**

基礎研究推進事業の内容に関連した研究成果のうち、当初想定していなかった科学的知見の発見・説明はありましたでしょうか。どちらかの回答に○をつけてください。

①ある	
②ない	

上記質問で「①ある」と回答された方にお聞きします。その成果の波及効果として、以下の①～⑧の項目で、それぞれ最も当てはまるとご認識されている回答1つに○をご記入ください。

質問事項	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性は ある	あまり そう思わ ない	全く そう思わ ない
①新しい研究領域創成の萌芽となった					
②当該研究分野のトレンドとなった					
③農林水産業への応用につながった					
④生物産業への応用につながった					
⑤新製品の開発につながった					
⑥国民生活のQOL向上に寄与するものとなった					
⑦ベンチャー企業の設立や事業化につながった					
⑧上記①～⑦以外に該当する波及効果があった					
備考： ⑧において当てはまる場合には、その副次的波及効果についてご記入ください					

**4. 今後の研究の方向について**

**(質問10) 現在目指している研究の方向について**

基礎研究推進事業の終了後5カ年が経過した現在、基礎研究推進事業で取り組まれたご研究に関する研究について、今後目的とされる研究の方向についてお聞きいたします。以下の①～⑤の質問について、最も近いと思われる回答1つに○をご記入ください。

質問事項	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性は ある	あまり そう思わ ない	全く そう思わ ない
①新しい製品を開発する (新市場の開拓)					
②農林水産業現場で利用できる新しい技術(新しい作物や動物の品種の作出や、農林水産業における課題解決のための手法)を開発する					
③生物関連産業で利用可能な新しい技術(アグリビジネス、食品、医療、環境など、生物機能を活用した産業での利用技術)を創出する					
④生物関連研究で共通利用可能な研究基盤(データベース作成や分析方法・解析方法の構築等)を整備する					
⑤基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する (基礎研究の深化)					

## 5. 基礎研究推進事業について

基礎研究推進事業についてのご感想についてお聞きします。それぞれの項目について、最も当てはまると思われる回答1つに○をご記入ください。

### (質問11) 基礎研究推進事業の規模について

質問事項	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまり そう思わない	全く そう思わない
①資金は研究を推進するのに必要十分であった					
②期間は研究を推進するのに必要十分であった					

### (質問12) 課題評価について

質問事項	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまり そう思わない	全く そう思わない
①中間評価の内容は、適切かつ納得できるものであった					
②事後評価の内容は、適切かつ納得できるものであった					

### (質問13) その他

基礎研究推進事業および生研センターに対して、ご意見やご要望がございましたら自由にご記入ください。

--

質問は以上で終わりです。ご協力、有難うございました。

## 第2章 概況調査

### 概況調査結果要旨

#### 1. 研究の継続・発展状況

- ・基礎研究推進事業で実施された研究は、いずれの課題でも何らかの形で継続され、その研究が拡大・深化しているとする回答が殆どであった。

#### 2. 代表的な研究成果

- ・研究成果として、「当該分野の深化に貢献する新知見の発見・解明」、「幅広い分野に共通する科学的知見の発見・解明」をあげた回答が多く、学術面での成果が著しかった。
- ・応用面での成果としては、「生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法の開発」、「共通研究基盤となるようなシステムや技術整備」の回答が比較的多かった。
- ・上記の傾向は、昨年および一昨年とほぼ同じであった。

#### 3. 研究成果の波及効果

- ・科学技術的波及効果が得られたとする回答は全体的に多く、特に「関連分野での学術的な研究の深化」、「関連分野での新たな現象や法則性の発見・解明」、「新しい研究領域の創出」という回答をあげた研究者が多かった。学術的な面で大きく肯定的結果が得られた傾向は、上記の代表的研究成果の傾向と一致し、昨年および一昨年の傾向とも同じであった。また、「海外における研究分野での競争力が高くなった」とした回答も比較的多かった。
- ・産業技術的波及効果については、「研究開発基盤の整備につながった」、「生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながった」とする回答が比較的多く見られ、代表的研究成果の傾向と同じであった。
- ・社会的波及効果では、効果をあげる研究者が全体的に少なく、基礎研究推進事業終了後5年が経過した時点での、顕著な波及効果は見られなかった。
- ・人材育成効果については、殆どの研究者が高い効果があったと回答した。「海外留学につながった」の項目については、若干の効果が見受けられた。

#### 4. 副次的な研究成果とその波及効果

- ・当初想定していなかった副次的効果については、「新しい研究領域創成の萌芽となった」とした研究者が多く、次いで「当該研究分野のトレンドとなった」との回答が見られ、思いがけない効果は殆どが学術面において得られていた。応用面では「生物産業への応用につながった」とする回答が比較的多く見られた。

#### 5. 研究成果と波及効果

- ・クロス集計の結果、「新製品の開発」の波及効果があったかどうかは、その研究成果の有無にほぼ相関していたが、「農林水産業の応用」および「生物産業への応用」については、研究成果と波及効果の間に顕著な相関は見られなかった。

#### 6. 研究目的の方向と研究成果

- ・本事業開始時の目的の方向として応用を意識していない場合には、応用面での研究成果が見られなかった。
- ・基礎研究を強く目的としている場合、生物産業、農林水産業、新製品の順に応用面での達成度が高いと考えられた。
- ・殆どの研究者が事業開始時に学術的深化の研究目的を持っており、学術的な研究成果も殆ど得られていた。

#### 7. 共同研究の効果

- ・事業終了後の国内および海外の新たな共同研究の開始は、新たな競争的資金の継続的な獲得と相関があった。
- ・国内の共同研究の有無と学術的成果の獲得の有無の間には相関する傾向が見られた。一方、海外の共同研究の開始については、同様の傾向は若干見受けられたが、相関は見られなかった。
- ・新しい研究領域の創出の波及効果の有無と、国内や海外の新たな共同研究の有無は、ほぼ相関があり、国内外の共同研究が新しい研究領域の創出につながる傾向が見受けられた。

## 第1節 基礎研究推進事業での課題の研究目的について

基礎研究推進事業の開始から現在までの研究担当者の研究目的の推移を調べることで、研究担当者の研究の方向にどのような変化があるかを知ることができる。基礎研究推進事業を開始する時点での研究目的について質問した。

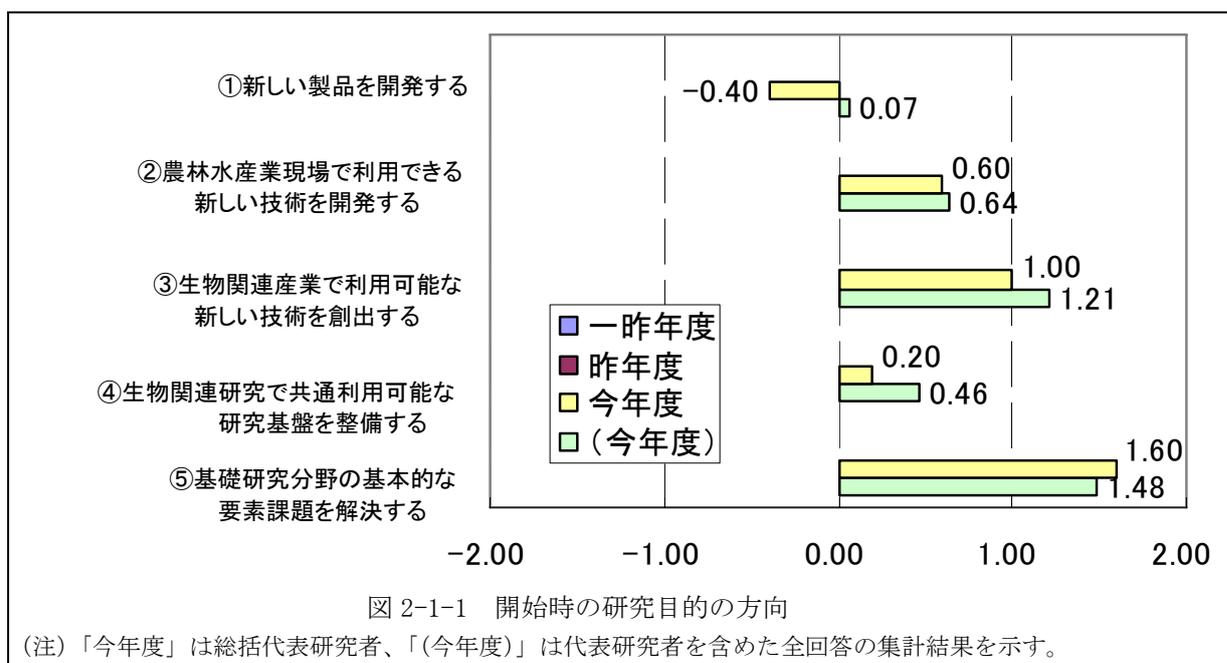
### 1. 開始時の研究目的の方向

実施された研究課題が、当初目的としていた研究の方向に関して、以下の①~⑤について質問した。

結果を下表に示した。基礎研究分野の基本的な要素課題を解決することを目的とする回答が最も多く、次に生物関連産業で利用可能な新しい技術を創出することを目的とする回答が多かった。いずれもスコアの平均値が1を上回っていた。回答の傾向は「多少あてはまる」、「全く当てはまらない」に分かれていたが、スコアは0を超えており、基礎研究を目的とした事業ではあるが、当初の目的として製品開発も意識されていたことが窺われる。

表 2-1-1 開始時の研究目的の方向

(質問1) 基礎研究推進事業での課題の研究目的の方向について	当てはまる	多少あてはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	無回答
①新しい製品を開発する	5	10	2	4	7	1
②農林水産業現場で利用できる新しい技術を開発する	9	10	2	4	3	1
③生物関連産業で利用可能な新しい技術を創出する	13	10	4	0	1	1
④生物関連研究で共通利用可能な研究基盤を整備する	6	11	4	4	3	1
⑤基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する	18	7	4	0	0	0



## 第2節 基礎研究推進事業終了後の研究状況について

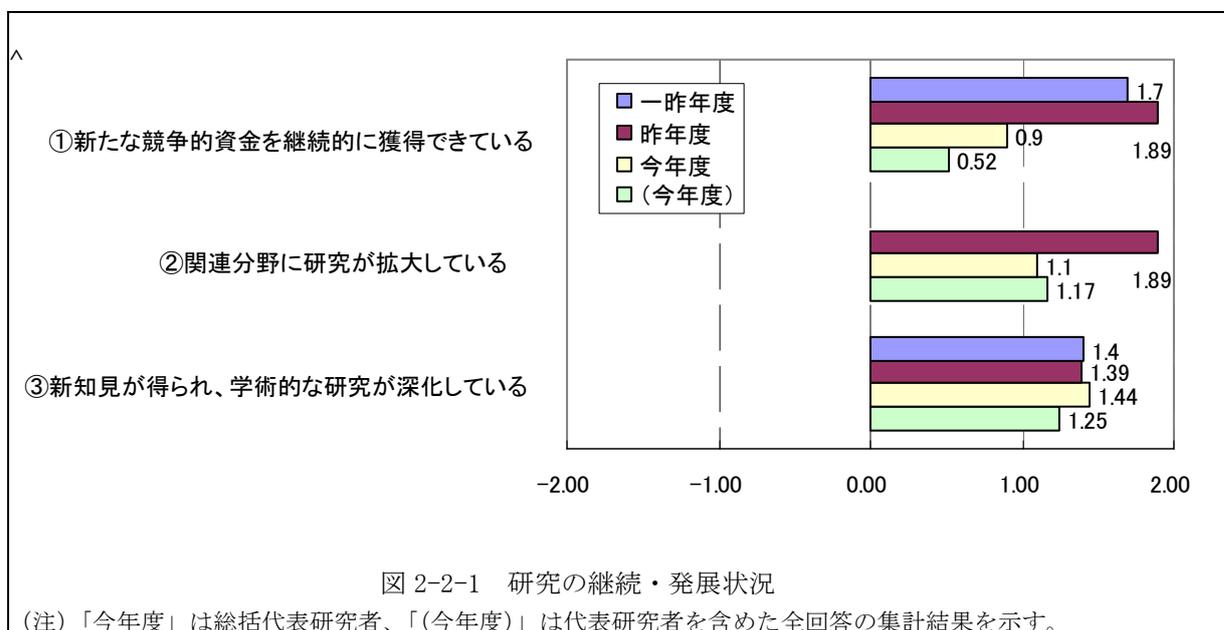
基礎研究推進事業で取り組まれた研究が終了後も継続され、参画した研究者が同じ分野で研究活動を続けることが、研究の発展には必要である。本設問では、研究テーマの継続状況及び研究チームの継続状況について質問した。

### 1. 研究の継続・発展状況

ここでは、基礎研究推進事業が終了した後の、関連する研究テーマへの取組みに関して、①~③について質問した。新たな競争的資金を継続的に獲得している（①、当てはまる、および多少あてはまると回答した）研究者は、半数余りであり、昨年度・一昨年度と比較して少なかった。一方、関連分野への研究の拡大や、学術的な深化についての質問では1以上のスコアであった。

表 2-2-1 研究の継続・発展状況

(質問2) 研究の継続・発展状況について	当てはまる	多少あてはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	無回答
①新たな競争的資金を継続的に獲得できている	10	7	3	6	3	0
②関連分野に研究が拡大している	10	15	3	1	0	0
③新知見が得られ、学術的な研究が深化している	12	13	2	0	1	1

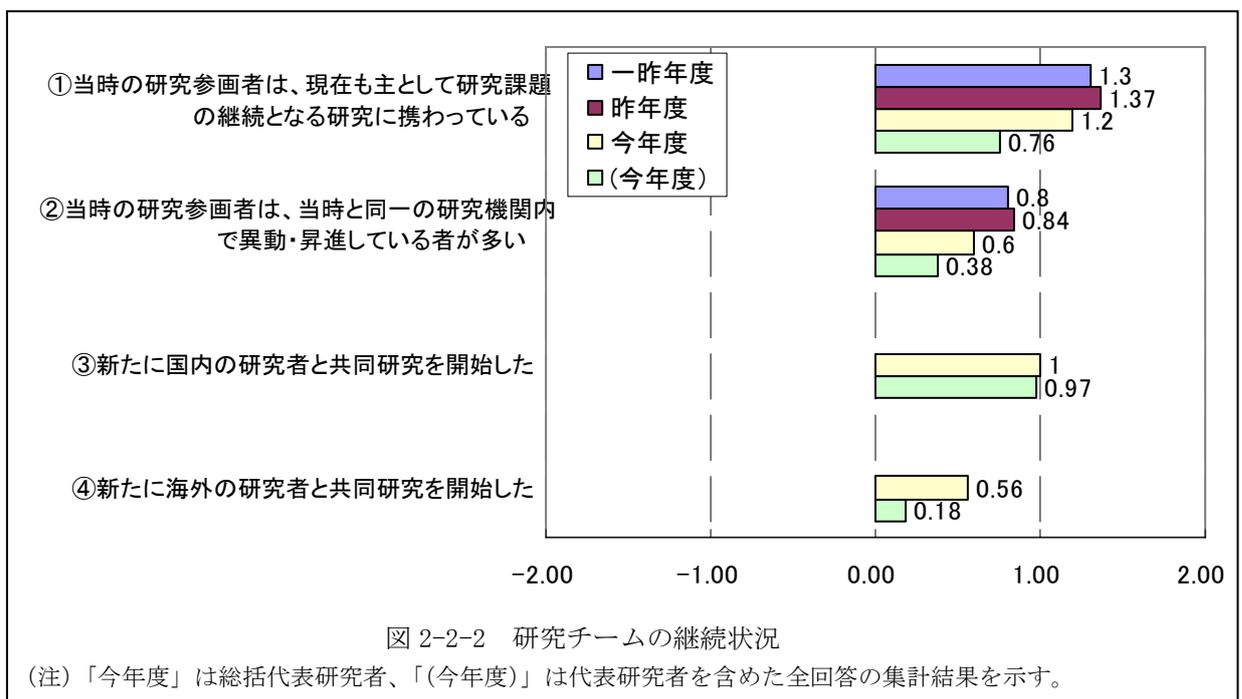


## 2. 研究チームの継続状況

基礎研究推進事業での研究チームの継続について、事業終了後の状況を質問した。当時の研究参加者が継続した研究をしているか(①)、同じ研究機関内で異動しているか(②)、という問いに関しては当てはまらないという回答は少なかったが、スコア平均は1以下であり、昨年や一昨年の採択テーマに比べて継続状態は低かった。また、新たに国内の研究者と共同研究を開始したか(③)という設問に対しては、新たに海外の研究者と共同研究を開始した(④)よりもスコアが高く、国内の方が研究が拡大していると思われる。一方、海外の研究も当てはまる、多少当てはまるとした回答が半数以上であり、海外への発展も行われている傾向にあった。

表 2-2-2 研究チームの継続状況

(質問3)研究チームの状況について	当てはまる	多少あてはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	無回答
①当時の研究参加者は、現在も主として研究課題の継続となる研究に携わっている	9	13	1	3	3	0
②当時の研究参加者は、当時と同一の研究機関内で異動・昇進している者が多い	6	11	5	2	5	0
③新たに国内の研究者と共同研究を開始した	12	8	5	4	0	0
④新たに海外の研究者と共同研究を開始した	4	11	3	6	4	1



### 3. 終了以降の主な研究成果

基礎研究推進事業終了から現在までの5ヵ年において、基礎研究推進事業で取り組んだ研究課題に関連して創出した成果について質問した。

当該分野の深化に貢献する基礎科学の新知見を発見・解明したという回答(⑥)が最も多く、次いで、幅広い分野に共通する科学的知見を発見・解明した(⑤)、生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法を開発した(③)という回答が多かった。しかし、農林水産業の現場に普及可能な新技術の開発(②)ではスコア平均が-0.3に、また新市場創出につながる新製品の開発(①)は-0.72となっており、応用研究までの到達は事業終了から現在までの数年では困難であることが窺われた。新製品の開発に関するこの傾向は、昨年・一昨年と同様であったが全体として低い結果となっていた。

表 2-2-3 終了以降の主な研究成果

(質問4)基礎研究推進事業の終了以降の主な研究成果について	当てはまる	多少あてはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	無回答
①新市場創出につながる新製品を開発した	2	5	2	10	10	0
②農林水産業の現場に普及可能な新技術を開発した	3	5	7	8	6	0
③生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法を開発した	7	10	11	0	1	0
④研究の共通基盤となるようなシステムや技術を整備した	5	11	7	3	3	0
⑤幅広い分野に共通する科学的知見を発見・解明した	8	12	6	1	2	0
⑥当該分野の深化に貢献する基礎科学の新知見を発見・解明した	15	6	6	0	2	0

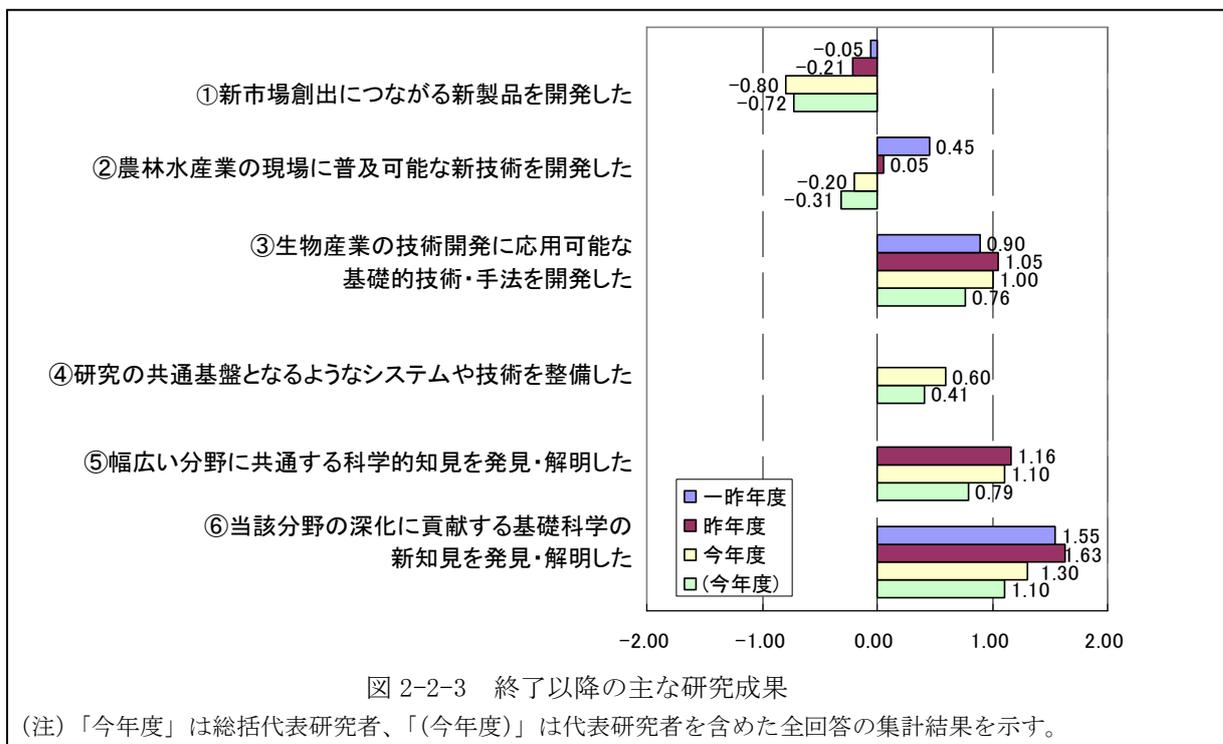


図 2-2-3 終了以降の主な研究成果

(注)「今年度」は総括代表研究者、「(今年度)」は代表研究者を含めた全回答の集計結果を示す。

<自由意見の例>

- 遺伝子組み換え体を作成し、これを高校の学生と教師のテーマとして体験するコースを実施した。また、論文とした一部のデータは高校の教員が半年研究室に滞在した時に出してくれたものである。遺伝子組み換え体は網室での実験でも効果が顕著に現れた。現在、海外の公的センターでイネに遺伝子導入をしている。遺伝子組み換え体は、隔離圃場実験をするために他の遺伝子も加え多重遺伝子導入体を作成している。
- 成果が医学に波及し、NIH に招待講演をおこなった。
- 特筆すべき成果があがりつつある（最終段階）。環境耐性作物の作出に成功。現在、ホモライン化の途上にあります。

### 第3節 研究成果の波及効果について

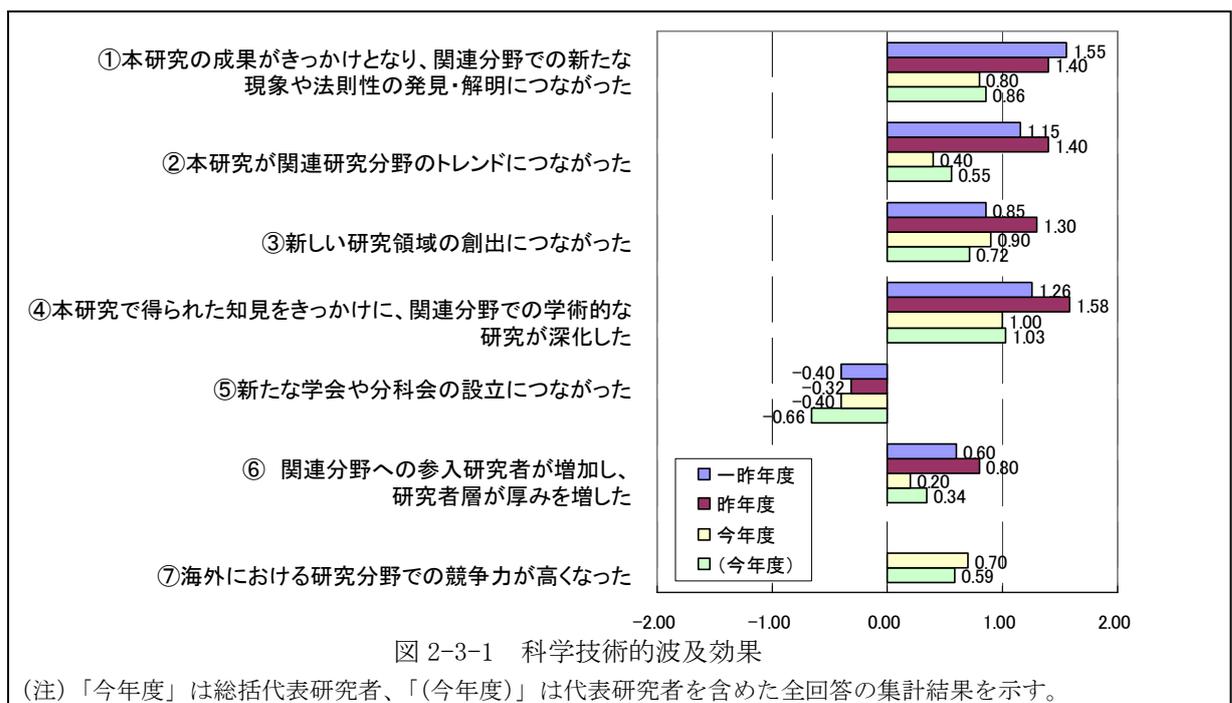
基礎研究推進事業終了から現在までの5ヵ年において、基礎研究推進事業で取り組んだ研究課題に関連した成果が、関連する研究分野や産業分野に対して間接的にどのような波及効果を及ぼしたと考えられるかを質問した。

#### 1. 科学技術的波及効果

科学的波及効果については、新たな学会や分科会の創立(⑤)の項目以外は、全く当てはまらないという回答は殆どなく、本事業が科学技術の新しい分野を切り開くという目的に波及していることが分かる。また、海外における競争力が高くなったとする回答も多く、当初の目的になかった海外への展開が期待される。

表 2-3-1 科学技術的波及効果

(質問5)科学技術的波及効果について	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまりそう 思わない	全くそう思 わない	無回答
①本研究の成果がきっかけとなり、関連分野での新たな現象や法則性の発見・解明につながった	8	12	6	3	0	0
②本研究が関連研究分野のトレンドにつながった	7	8	8	6	0	0
③新しい研究領域の創出につながった	8	10	6	5	0	0
④本研究で得られた知見をきっかけに、関連分野での学術的な研究が深化した	7	17	4	1	0	0
⑤新たな学会や分科会の設立につながった	1	2	11	7	8	0
⑥関連分野への参入研究者が増加し、研究者層が厚みを増した	7	9	2	9	2	0
⑦海外における研究分野での競争力が高くなった	9	6	8	5	1	0



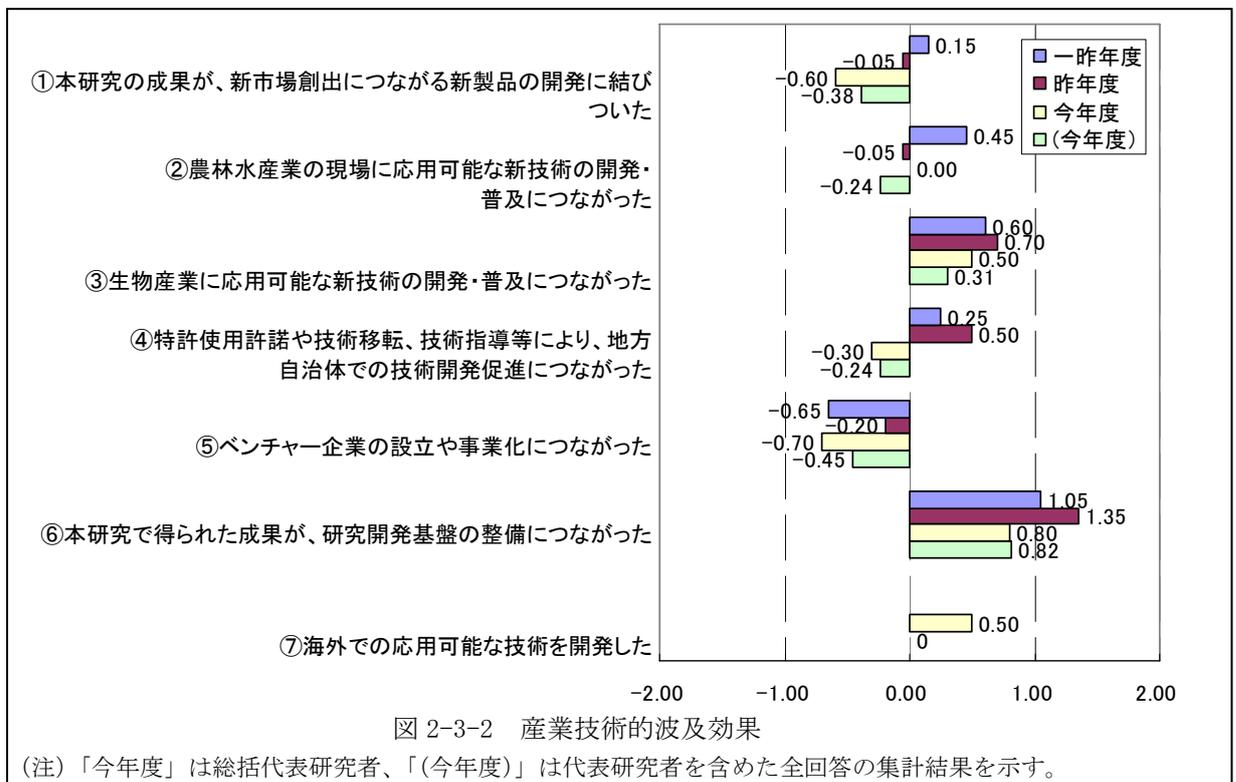
## 2. 産業技術的波及効果

基礎研究推進事業終了から現在までの5ヵ年において、基礎研究推進事業で取り組んだ研究課題に関連した成果の産業技術的波及効果について質問した。

産業技術的波及効果の中では、研究開発基盤の整備につながったとする回答が最も多く次に生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながったとされた。本年度はそれ以外の項目についてはスコア平均がマイナスとなり波及効果が見られなかった。昨年度は、特許使用許諾や技術移転、技術指導等により地方自治体での技術開発促進につながったという回答が見られていた。

表 2-3-2 産業技術的波及効果

(質問6)産業技術的波及効果について	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまりそう 思わない	全くそう思 わない	無回答
①本研究の成果が、新市場創出につながる新製品の開発に結びついた	0	5	12	8	4	0
②農林水産業の現場に応用可能な新技術の開発・普及につながった	1	4	14	7	3	0
③生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながった	3	6	17	3	0	0
④特許使用許諾や技術移転、技術指導等により、民間企業や地方自治体での技術開発促進につながった	2	3	12	10	2	0
⑤ベンチャー企業の設立や事業化につながった	3	2	11	5	8	0
⑥本研究で得られた成果が、研究開発基盤の整備につながった	8	14	1	3	2	1
⑦海外で応用可能な技術を開発した	3	3	15	7	1	0



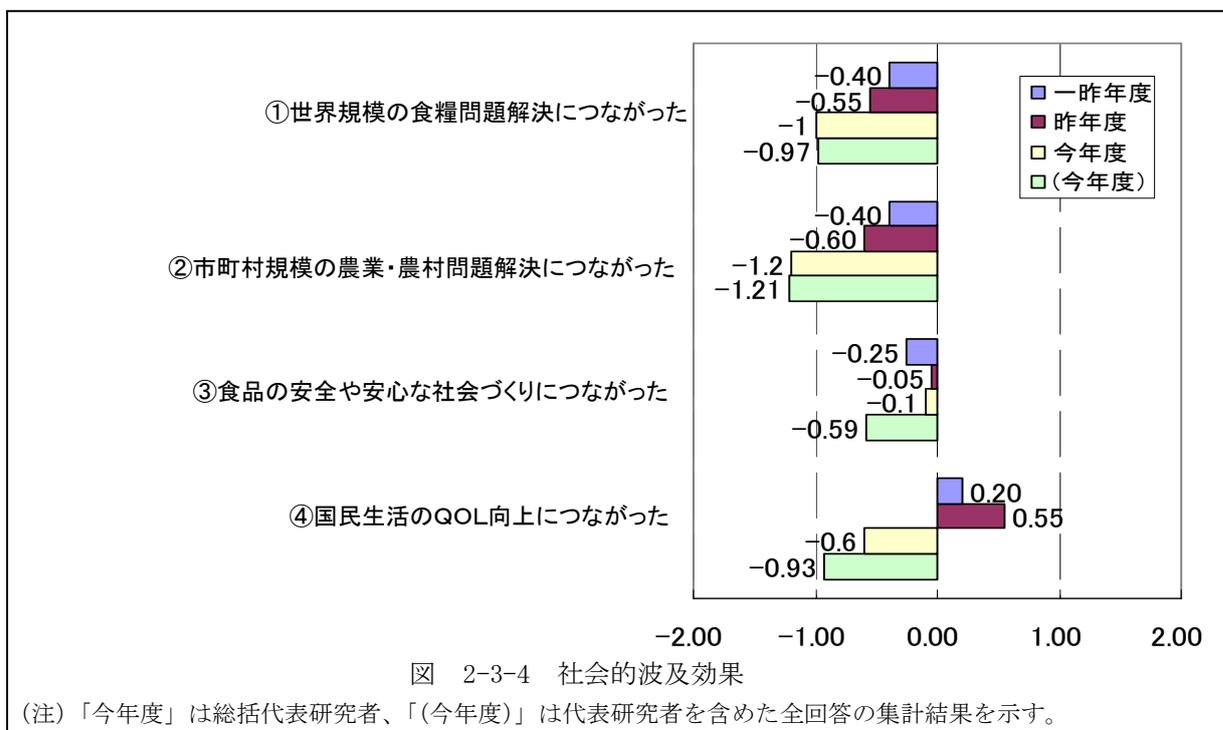
### 3. 社会的波及効果について

基礎研究推進事業終了から現在までの5ヵ年において、基礎研究推進事業で取り組んだ研究課題に関連した成果の社会的波及効果について、質問した。

本年度のアンケート結果では、社会的波及効果についてはあまり当てはまらない、または全く当てはまらないという回答が多く、いずれの質問もスコアがマイナスであった。昨年・一昨年も国民生活のQOL向上につながったという回答のみプラスになっていたが、大まかな傾向は似ていると考えられ、基礎研究の成果が社会的に波及するほどまで展開するには、事業終了から現在までの5年では十分でないとし唆される。

表 2-3-4 社会的波及効果

(質問7)社会的波及効果について	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまりそう 思わない	全くそう思 わない	無回答
①世界規模の食糧問題解決につながった	0	1	8	11	9	0
②市町村規模の農業・農村問題解決につながった	0	1	5	10	13	0
③食品の安全や安心な社会づくりにつながった	2	2	10	7	8	0
④国民生活のQOL向上につながった	0	1	9	10	9	0
⑤日本の国際貢献が認知された	3	5	10	5	6	0
⑥その他特筆すべき社会的波及効果があった	0	0	6	12	4	7



#### 4. 人材育成効果

それぞれの課題における人材育成効果について質問した。

設問①若手研究者の成長につながったという設問には、全員が当てはまるまたは多少当てはまるという回答をしている。その他、ポストドク研究者がポストを獲得したり、学会での評価が高まった、あるいは参画研究者のポスト就任につながったなどの効果を得ており、本事業が若手研究者の育成に大いに役立っていることが分かる。この傾向は昨年・一昨年と同様であった。また、参画研究員の海外留学にもやや効果があるようである。

表 2-3-5 人材育成効果

(質問8)人材育成効果について	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性は ある	あまりそう 思わない	全くそう思 わない	無回答
①基礎研究推進事業が若手研究者の成長につながった	20	9	0	0	0	0
②基礎研究推進事業をきっかけに、ポストドク研究者がポストを獲得した	19	6	2	1	1	0
③基礎研究推進事業が、大学院生の学位取得につながった	14	7	3	1	4	0
④基礎研究推進事業をきっかけに、参画研究者の学会での評価が高まった	15	10	2	2	0	0
⑤基礎研究推進事業の成果が、参画研究者の昇進やポスト就任につながった	14	12	1	1	1	0
⑥基礎研究推進事業が、参画研究員の海外留学につながった	9	5	4	5	5	1

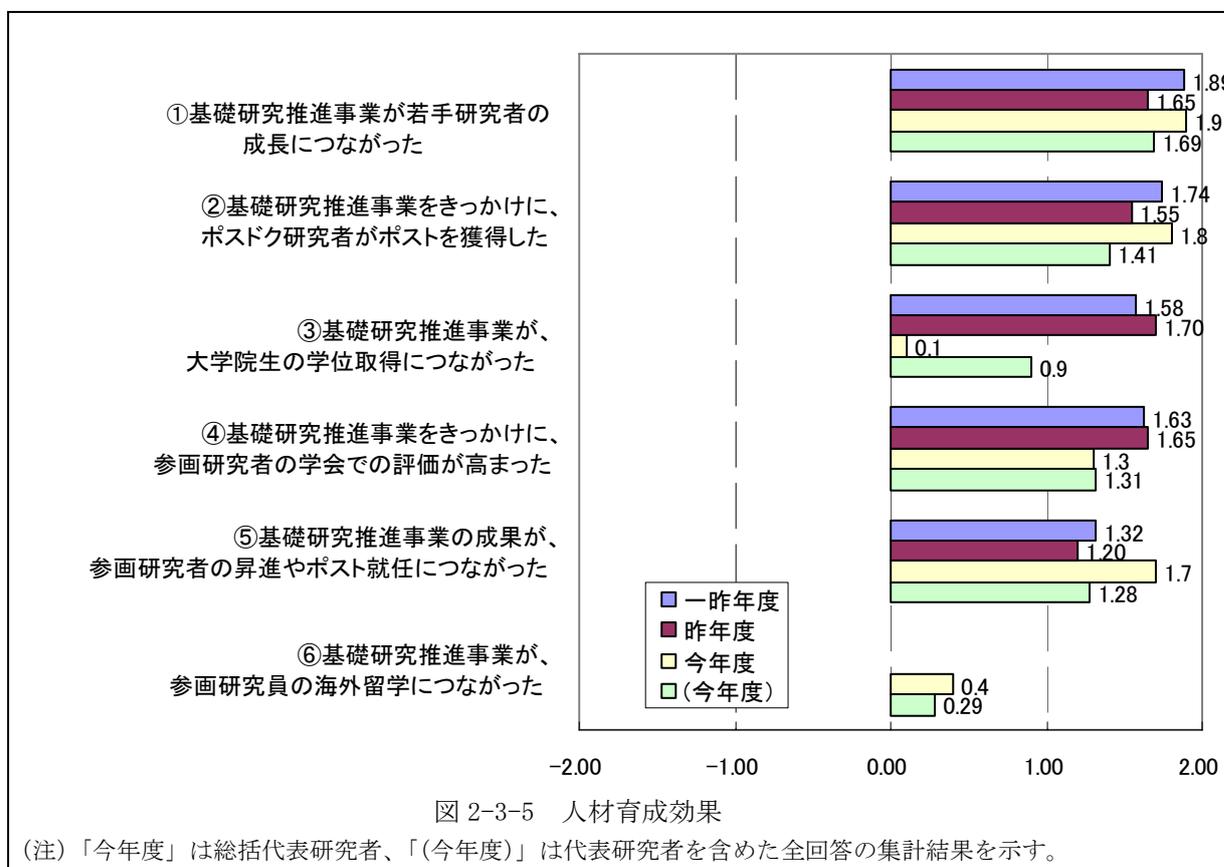


図 2-3-5 人材育成効果

(注)「今年度」は総括代表研究者、「(今年度)」は代表研究者を含めた全回答の集計結果を示す。

<自由意見の例>

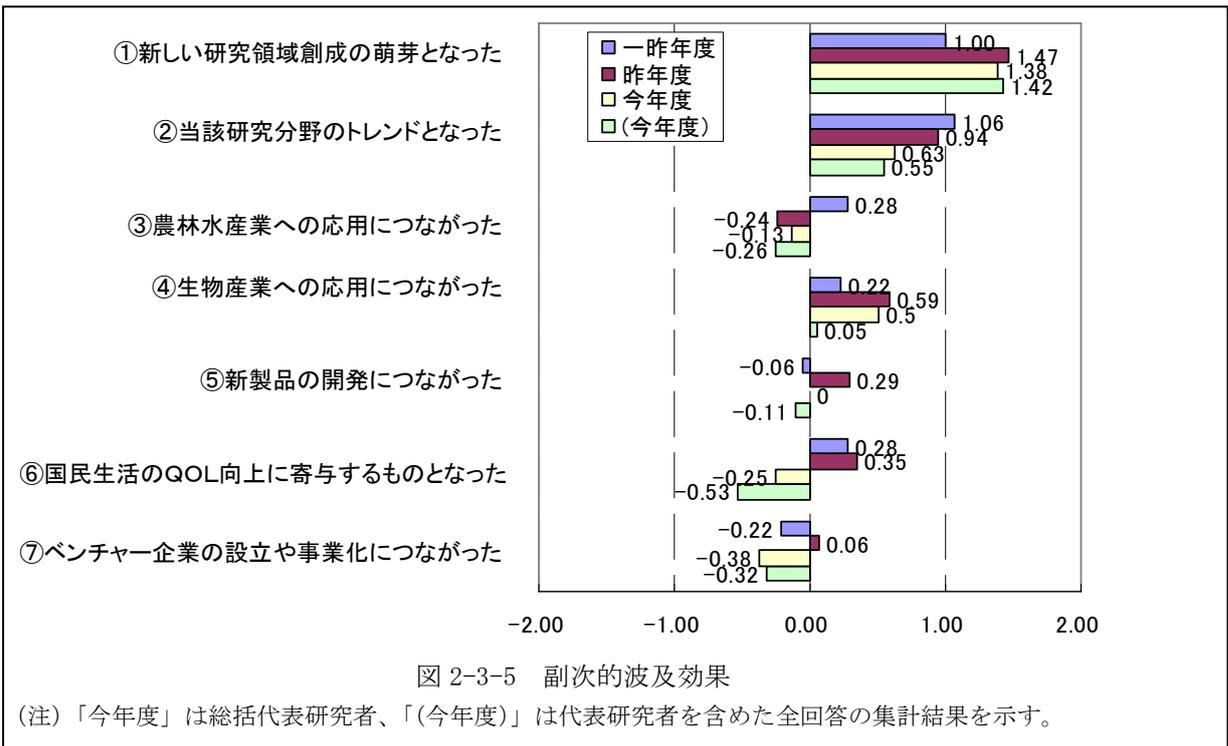
- ・ 遺伝子組換え作物に疑いを持つ一般人（学生、教員）に現場を見てもらうことで、安心感を持ってもらったことが人材育成効果としてあげられる。食の安心、環境への影響を考慮して、最後に劣悪環境下で生育する不稔のポプラを作出したことは、大学院学生に自信を持たせた。
- ・ 基礎研究推進事業に関連する研究推進のため少なくとも7ヶ国、10名程度の研究者が長期滞在した。他に国際共同研究、国際シンポの開催などを行い、当該研究課題遂行の国際的拠点として認知された。また多くの若手研究者（主としてポストドク）にとり国際的な研究交流や国際的な生活観を理解する上で大いに効果が得られた。

### 5. 副次的波及効果

基礎研究推進事業の内容に関連した研究成果のうち、当初想定していなかった科学的知見の発見・解明について質問した。新しい研究領域創成の萌芽となった(①)という質問には殆ど全員が当てはまる、または多少当てはまると回答し、当該研究分野へのトレンドとなった(②)という質問にも肯定的な回答が多かった。応用へのつながりや国民生活のQOLへの寄与への回答はあまり肯定的ではなく、基礎研究分野において思いがけず波及効果を生んだケースが多く見られたという見解であった。

表 2-3-5 副次的波及効果

(質問9)副次的な波及効果について	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまりそう 思わない	全くそう思 わない	無回答
①新しい研究領域創成の萌芽となった	10	7	2	0	0	10
②当該研究分野のトレンドとなった	4	7	5	4	0	9
③農林水産業への応用につながった	0	1	14	2	2	10
④生物産業への応用につながった	1	3	12	2	1	10
⑤新製品の開発につながった	1	2	11	4	1	10
⑥国民生活のQOL向上に寄与するものとなった	0	1	9	7	2	10
⑦ベンチャー企業の設立や事業化につながった	3	0	8	4	4	10



## 第4節 今後の研究の方向について

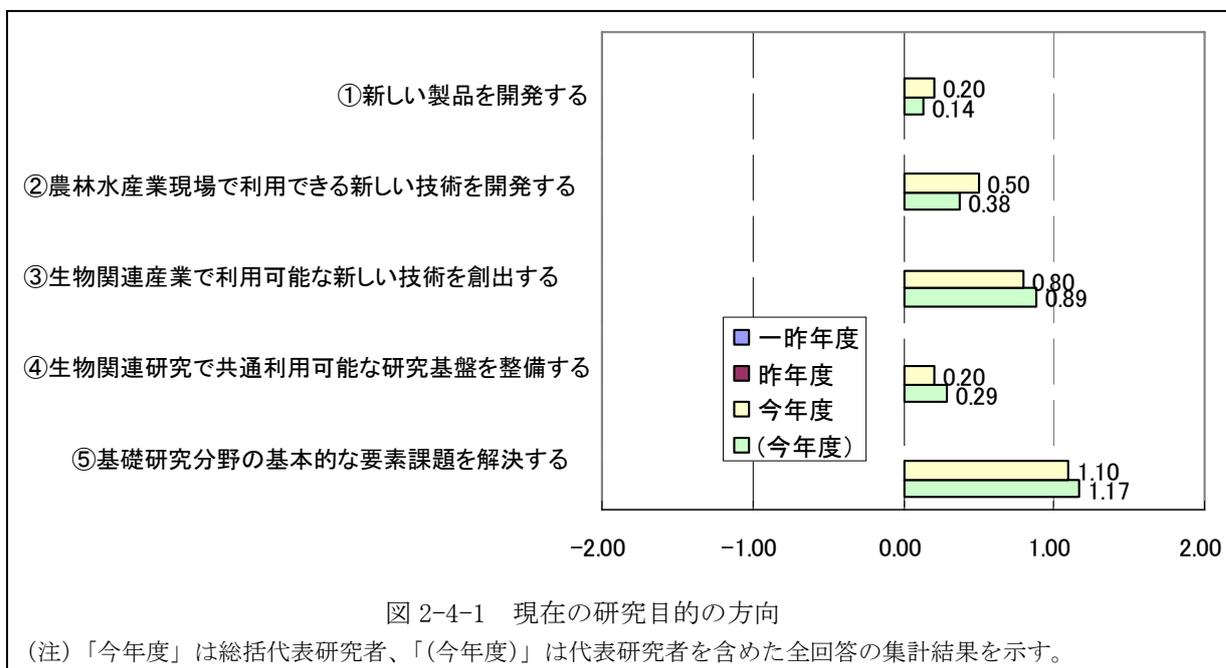
### 1. 現在の研究目的の方向

基礎研究推進事業の終了後 5 ヶ年が経過した現在、基礎研究推進事業の研究に関連する研究について、今後目的とする研究の方向について質問した。

基礎研究推進事業の終了後 5 年を経過した現在も、当初の目的と同様の傾向を示していた。すなわち、基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する (⑤)、および生物関連産業で利用可能な新しい技術を創出する (③) という目的がより多く見られた。質問全体に対してプラスのスコアとなっており、積極的に目的が設定されていると思われる。

表 2-4-1 現在の研究目的の方向

(質問10)現在目指している研究の方向について	そう思う	多少 そう思う	今後そうなる 可能性はある	あまりそう 思わない	全くそう思 わない	無回答
①新しい製品を開発する	2	8	11	6	1	1
②農林水産業現場で利用できる新しい技術を開発する	8	2	14	3	2	0
③生物関連産業で利用可能な新しい技術を創出する	11	4	12	1	0	1
④生物関連研究で共通利用可能な研究基盤を整備する	5	9	5	7	2	1
⑤基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する	14	8	6	0	1	0



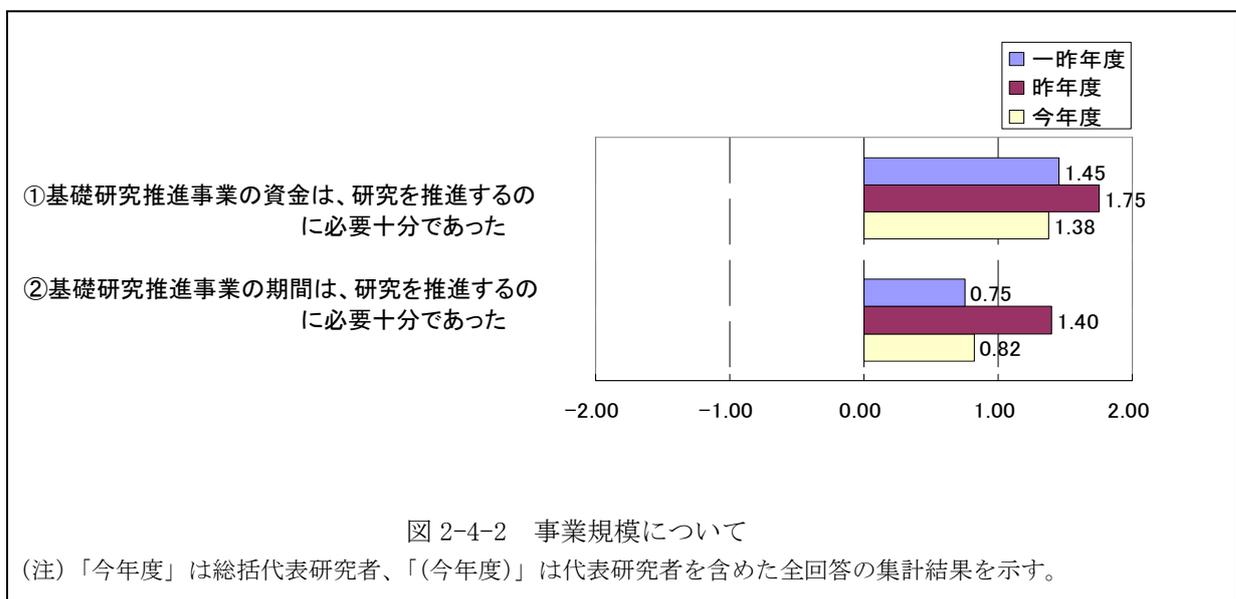
## 第5節 基礎研究推進事業について

### 1. 事業規模

基礎研究推進事業の規模については、資金、機関共に研究を推進するのに必要十分と思うという回答が多かった。

表 2-4-2 事業規模について

(質問11)基礎研究推進事業の規模について	そう思う	多少 そう思う	どちらとも いえない	あまりそう 思わない	全くそう思 わない	無回答
①基礎研究推進事業の資金は、研究を推進するのに必要十分であった	18	7	2	1	1	0
②基礎研究推進事業の期間は、研究を推進するのに必要十分であった	10	6	9	3	0	1

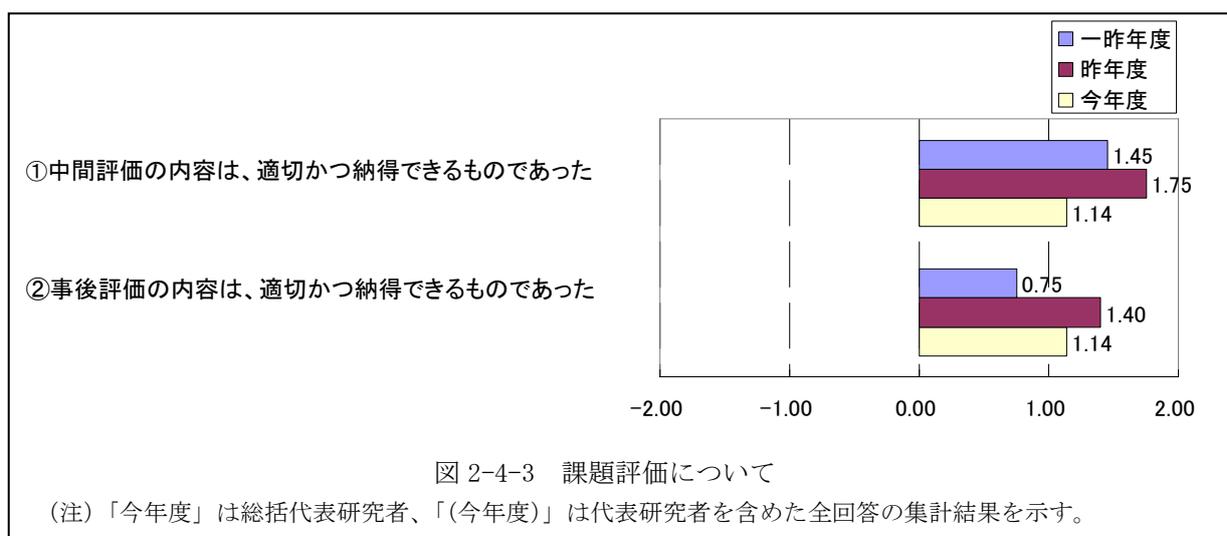


## 2. 課題評価

課題評価については、中間評価、事後評価ともその内容は適切かつ納得できるものであったとする回答が殆どであった。

表 2-4-3 課題評価について

(質問12)課題評価について	そう思う	多少 そう思う	どちらとも いえない	あまりそう 思わない	全くそう思 わない	無回答
①中間評価の内容は、適切かつ納得できるものであった	15	8	3	1	2	0
②事後評価の内容は、適切かつ納得できるものであった	15	7	3	1	2	1



### <自由意見の例>

- ・研究活動を個人ないし所属研究室の単位で行っていたのだが、本事業により、他の研究者ないし他の研究室と組んでチームとして行うことができ、情報発信や学会活動、大学・大学院教育活動で協力・提携が充実し、付随的に大きな効果が派生した。その効果は、次世代・次々世代の発展に結実する遅効性のものだろう。
- ・社会的学術的成果の波及については、長期的に見ていただき、今後とも支援いただければ幸いです。
- ・自由度が比較的高く、若手があまり実績のない研究者でも、アイデア次第で採用される可能性のあるたいへん良い制度であり、ぜひ長く続けて欲しい。
- ・本事業に採択されることにより、研究を飛躍的に発展させることが出来、深謝申し上げます。成功の原因としては、異なる研究領域から若手博士研究員を採用出来たことが大きいと思います。
- ・大学が独立行政法人化されて以来、特許（特に国際特許）の申請時および取得後の維持などに発明者（研究者）の負担が大きくなり、財政的な援助があれば有難いと思います（勿論、特許の帰属の問題も関連しますが）。また特許取得後の利用についても、その可能性や企業名などの有益な情報を提供していただけると大変助かります。

## 第6節 研究成果と波及効果のクロス集計

本事業は、「農林水産業、食品産業等生物系特定産業の分野において、生物の持つ多様な機能を活用することにより新技術・新分野を創出し、それを通じて農林水産業の発展、地球規模での人口、食料、環境問題の解決等に資する」ことを目標としている。目標の一つである「農林水産業の発展」や関連する生物関連産業の発展につながる要因を把握し、基礎研究から応用への発展の問題点を探るため、昨年および一昨年に引き続き、応用面での研究成果と各種波及効果について、課題全体の傾向をクロス集計し分析した。

### 1. 新製品開発の成果と波及効果

#### 1) 今年度の結果

基礎研究推進事業の終了以降の主な研究成果の質問「新市場創出につながる新製品を開発した」に対する回答と、産業技術的波及効果の質問「本研究の成果が、新市場創出につながる新製品の開発に結びついた」に対する回答を用いて、クロス集計を行った。

結果を表 2-6-1 に示した。新製品の研究開発の成果と波及効果の認識にはほぼ相関があり、研究成果の有無が波及効果への認識に関係していることがうかがわれた。また、研究成果として新製品の開発まで至っていないとした研究者は、その半数近く（20名中8名）が今後新製品の開発に結びつく可能性はあるという見方であった。この傾向は総括代表研究者のみの結果でも同様であった。

表 2-6-1 新製品開発に関するクロス集計（今年度）

研究成果： 新市場創出につながる 新製品を開発した	波及効果：新市場創出につながる新製品の開発に結びついた					合計
	そう 思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少 そう思う	そう思う	
そう思わない	11 (4)		8 (3)	1 (0)		20 (7)
あまりそう思わない	1 (0)		1 (0)	0 (0)		2 (0)
どちらともいえない	0 (0)		3 (2)	4 (1)		7 (3)
多少そう思う	0 (0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)
そう思う	0 (0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)
(無回答)	0 (0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)
合計	12 (3)	0 (1)	12 (5)	5 (1)	0 (0)	29 (10)

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。赤は8名以上、黄は3-4名を示す。

新製品開発の研究成果に対する回答では、その成果があったとした回答自体が少なかった。そこで、新製品の開発まで至っていないと回答した研究者について、新製品開発の前段階と考えられる新技術の開発・普及に関する研究成果についての回答を見てみると、表 2-6-2 に示したように、半数以上（20名中12名）が生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながった成果をあげたとしていた。この傾向は総括代表研究者のみの結果でも同様であった。このことから、現段階では製品化に至っていない研究については、生物産業

に応用可能な新技術の開発や普及の成果をもとに、今後の新製品の開発への波及効果が期待されているケースがあると考えられる。

表 2-6-2 新製品開発と生物産業の新技術の研究成果に関するクロス集計（今年度）

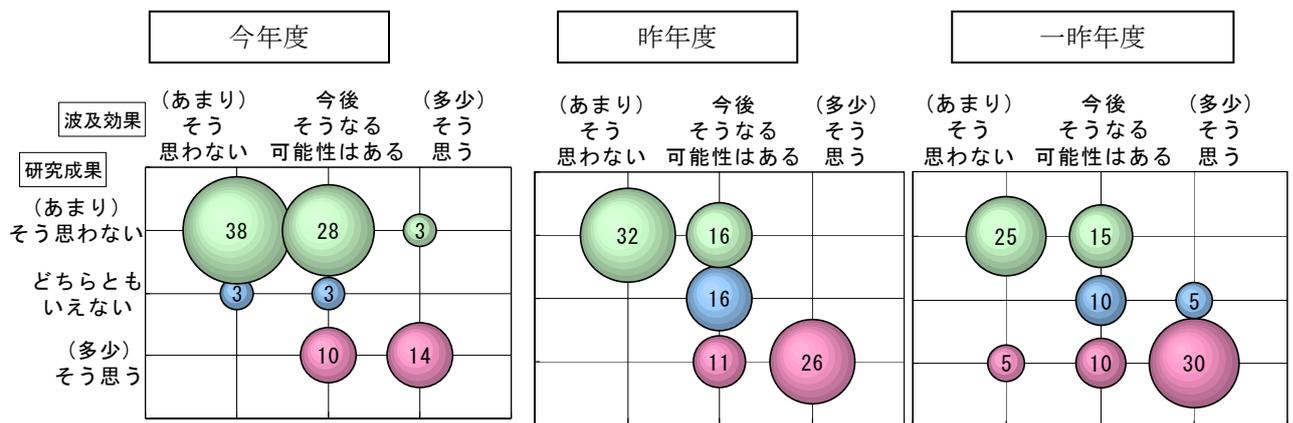
研究成果： 新市場創出につながる 新製品を開発した	研究成果： 生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながった					合計
	そう思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少 そう思う	そう思う	
そう思わない	1 (0)		7 (2)	12 (5)		20 (7)
あまりそう思わない						
どちらとも いえない	0 (0)		0 (0)	2 (0)		2 (0)
多少そう 思う	0 (0)		4 (0)	3 (3)		7 (3)
そう 思う						
(無回答)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計	1 (0)	0 (0)	11 (2)	17 (5)	0 (3)	29 (10)

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。赤は8名以上、橙は5-7名、黄は3-4名。

## 2) 昨年度及び一昨年度との比較

新製品開発についての研究成果と波及効果の相関について、今年度の結果と昨年および一昨年の結果との比較を図 2-6-1 に示した。また昨年度と一昨年度のクロス集計結果を表 2-6-3 および表 2-6-4 に示した。

昨年および一昨年は今年度以上に相関が顕著に現れており、新製品開発の波及効果への認識が、より研究成果の有無に起因していた。昨年度および一昨年度は新製品開発の研究成果自体が多く、より傾向が強く現れたことの一因と考えられる。



数字は各年における全回答に対する回答の割合 (%) を示す。

図 2-6-1 新製品開発に関するクロス集計 (3年間)

表 2-6-3 新製品開発に関するクロス集計（昨年度）

研究成果： 新市場創出につながる 新製品を開発した	波及効果：新市場創出につながる新製品の開発に結びついた					合計
	そう思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少そう 思う	そう思う	
そう思わない	6		3	0		9
あまりそう思わない	0		3	0		3
どちらともいえない	0		2	5		7
多少そう思う	0		0	1		1
そう思う	0		0	1		1
(無回答)	0		0	1		1
合計	4	2	8	3	3	20

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。橙は5-7名、黄は3-4名を示す。

表 2-6-4 新製品開発に関するクロス集計（一昨年度）

研究成果： 新市場創出につながる 新製品を開発した	波及効果：新市場創出につながる新製品の開発に結びついた					合計
	そう思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少そう 思う	そう思う	
そう思わない	5		3	0		8
あまりそう思わない	0		2	1		3
どちらともいえない	0		2	6		9
多少そう思う	1		0	0		0
そう思う	0		0	0		0
(無回答)	0		0	0		0
合計	6	0	7	7	0	20

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。橙は5-7名、黄は3-4名を示す。

## 2. 農林水産業への応用

### 1) 今年度の結果

基礎研究推進事業の終了以降の主な研究成果の質問「農林水産業の現場に普及可能な新技術を開発した」に対する回答と、産業技術的波及効果の質問「農林水産の現場に利用可能な新技術の開発・普及に結びついた」に対する回答を用いて、クロス集計を行った。

結果を表 2-6-5 に示した。農林水産業に関する研究成果の有無にかかわらず、今後農林水産現場に応用可能な新技術の開発や普及に結びつく可能性があるという見方であった。この傾向は総括代表研究者のみの結果でも同様であり研究成果と波及効果に大きな相関は見られなかった。

表 2-6-5 農林水産業に関するクロス集計（今年度）

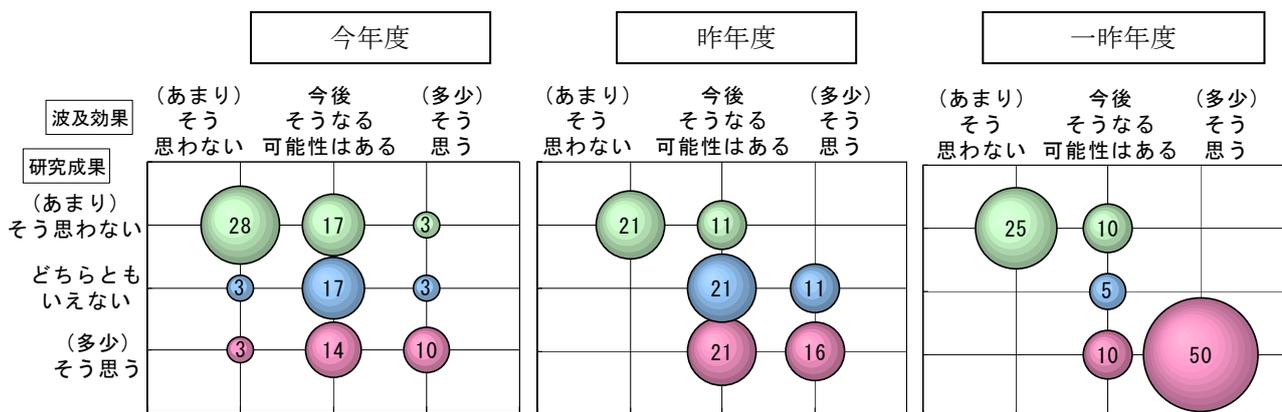
研究成果：農林水産業の現場に普及可能な新技術を開発した	波及効果：農林水産業の現場に応用可能な新技術の開発・普及に結びついた					合計
	そう思わない	あまりそう思わない	今後そうなる可能性はある	多少そう思う	そう思う	
そう思わない	8 (2)		5 (1)	1 (1)		14 (4)
あまりそう思わない	1 (0)		5 (1)	1 (1)		7 (2)
どちらともいえない	1 (1)		4 (0)	3 (3)		8 (4)
多少そう思う	1 (1)		4 (0)	3 (3)		8 (4)
そう思う	1 (1)		4 (0)	3 (3)		8 (4)
合計	10 (2)	0 (1)	14 (2)	5 (4)	0 (1)	29(10)

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。赤は8名以上、橙は5-7名、黄は3-4名。

### 2) 昨年度、一昨年度との比較

農林水産業についての研究成果と波及効果の相関について、今年度の結果と昨年および一昨年の結果との比較を図 2-6-2 に示した。また昨年度と一昨年度のクロス集計結果を表 2-6-6 および表 2-6-7 に示した。

一昨年度は研究成果と波及効果に相関が見られたが、昨年度は今年度と同様に研究成果の有無に関わらず、農林水産業に関する新技術開発は今後の可能性という見方であった。昨年度や今年度は農林水産業分野における技術開発が普及にまで至らなかったか、基礎的研究に留まっていたか、あるいは具体的な用途が設定できておらず成果として認められなかったことにより、農林水産業に関する研究成果や波及効果が低い認識結果になったと考えられる。



数字は各年における全回答に対する回答の割合 (%) を示す。

図 2-6-2 農林水産業に関するクロス集計 (3年間)

表 2-6-6 農林水産業に関するクロス集計 (昨年度)

研究成果：農林水産業の現場に普及可能な新技術を開発した	波及効果： 農林水産業の現場に应用可能な新技術の開発・普及に結びついた					合計
	そう思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少そう 思う	そう思う	
そう思わない	4		2	0		6
あまりそう思わない	0		4	2		6
どちらともいえない	0		4	3		7
多少そう思う	0		4	3		7
そう思う	0		4	3		7
(無回答)			1			1
合計	4	0	11	5	0	20

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。黄は3-4名を示す。

表 2-6-7 農林水産業に関するクロス集計 (一昨年度)

研究成果：農林水産業の現場に普及可能な新技術を開発した	波及効果： 農林水産業の現場に应用可能な新技術の開発・普及に結びついた					合計
	そう思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少そう 思う	そう思う	
そう思わない	5		2	0		7
あまりそう思わない	0		1	0		1
どちらともいえない	0		1	0		1
多少そう思う	0		2	10		12
そう思う	0		2	10		12
合計	5	0	5	10	0	20

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。赤は8名以上、橙は5-7名を示す。

### 3. 生物産業への応用

#### 1) 今年度の結果

基礎研究推進事業の終了以降の主な研究成果の質問「生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法を開発した」に対する回答と、産業技術的波及効果の質問「生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法の開発・普及につながった」に対する回答を用いて、クロス集計を行った。

結果を表 2-6-8 に示した。研究成果および波及効果のいずれについても、そう思う、多少そう思う、あるいは今後そうなる可能性はあるとした回答がほとんどであり、全体的に生物産業への応用に関して成果や効果が得られたという理解であった。この傾向は総括代表研究者のみの結果でも同様であった。

表 2-6-8 生物産業に関するクロス集計（今年度）

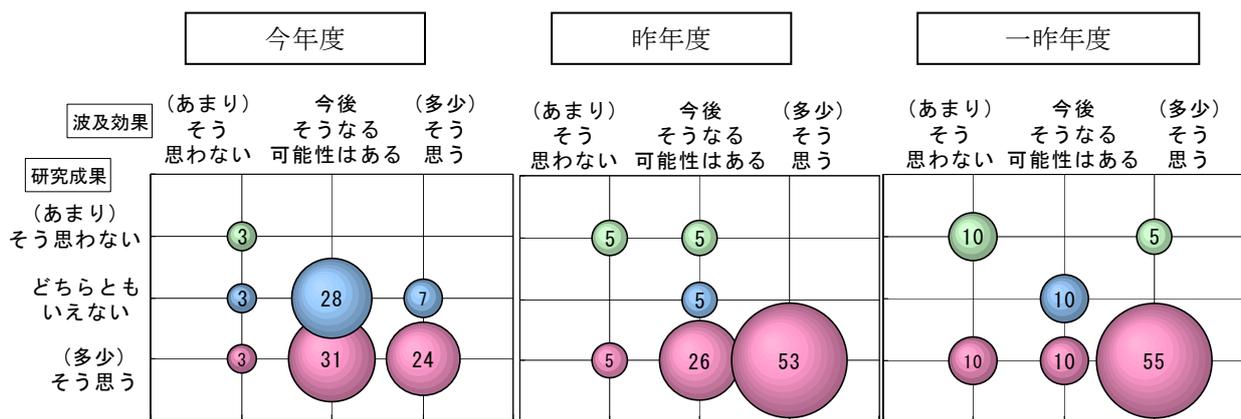
研究成果： 生物産業の技術開発に 応用可能な基礎的技 術・手法を開発した	波及効果： 生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながった					合計
	そう思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少そう 思う	そう思う	
そう思わない	1 (0)		0 (0)	0 (0)		1 (0)
あまりそう思わない	1 (0)		8 (2)	2 (1)		11 (3)
どちらともいえない	1 (1)		9 (2)	7 (4)		17 (7)
多少そう思う	1 (1)		9 (2)	7 (4)		17 (7)
そう思う	1 (1)		9 (2)	7 (4)		17 (7)
合計	3 (0)	0 (1)	17 (4)	9 (4)	0 (1)	29 (10)

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。赤は8名以上を示す。

#### 2) 昨年度、一昨年度との比較

生物産業についての研究成果と波及効果の相関について、今年度の結果と昨年および一昨年の結果との比較を図 2-6-3 に示した。また昨年度と一昨年度のクロス集計結果を表 2-6-9 および表 2-6-10 に示した。

今年度の傾向と同様に、昨年度および一昨年度も生物産業における技術開発について研究成果および波及効果があったという見方であった。近年、農林水産業と生物産業との技術的境界は低くなりつつあり、本事業での成果およびその波及効果が生物産業への応用開発に結びついているものと考えられる。



数字は各年における全回答に対する回答の割合 (%) を示す。

図 2-6-3 生物産業に関するクロス集計 (3年間)

表 2-6-9 生物産業に関するクロス集計 (昨年度)

研究成果： 生物産業の技術開発に 応用可能な基礎的技 術・手法を開発した	波及効果： 生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながった					合計
	そう思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少そう 思う	そう思う	
そう思わない	1		1	0		2
あまりそう思わない						
どちらともいえない	0		1	0		1
多少そう思う	1		5	10		16
そう思う						
(無回答)				1		1
合計	2	0	7	11	0	20

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。赤は8名以上、橙は5-7名を示す。

表 2-6-10 生物産業に関するクロス集計 (一昨年度)

研究成果： 生物産業の技術開発に 応用可能な基礎的技 術・手法を開発した	波及効果： 生物産業に応用可能な新技術の開発・普及につながった					合計
	そう思わない	あまり そう思わない	今後そうなる 可能性はある	多少そう 思う	そう思う	
そう思わない	2		0	1		3
あまりそう思わない						
どちらともいえない	0		2	0		2
多少そう思う	2		2	11		15
そう思う						
合計	4	0	4	11	0	20

数字は全回答数、( )内の数字は総括代表研究者の回答数を示す。赤は8名以上を示す。

## 第7節 当初の目的と研究成果に関するクロス集計

本事業は、生物の持つ多様な機能を活用する分野における基礎研究を推進するものであるが、その目的としては、新技術や新分野を創出すること、さらに農林水産業の発展に寄与することが目標とされている。ここでは、本事業の当初の目的として応用目的を持った課題が、新製品の創出や、農林水産業や生物産業への応用可能な技術の開発を達成したかどうか、また、当初の目的として学術的目的を強く持った課題が、応用に関する研究成果を達成するケースがあったかどうかを把握する。当初の研究目的と応用面での成果の関連を、5年という期間を経た時点で解析することにより、応用技術の成果が得られる要因を探る。

### 1. 応用目的を持った課題の応用技術開発における成果の達成

本事業において、当初の研究目的としてどのような方向を持っていた場合に、応用技術として「新市場創出につながる新製品の開発」、「農林水産現場に普及可能な新技術の開発」、「生物産業の技術開発に応用可能な新技術の開発」の研究成果につながったかを調べた。

研究目的の方向の質問である、「新しい製品を開発する」、「農林水産現場で利用できる新しい技術を開発する」、「生物関連産業で利用可能な新しい技術を創出する」のそれぞれに対する回答と、研究成果の質問である「新市場創出につながる新製品を開発した」、「農林水産現場に普及可能な新技術を開発した」、「生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法を開発した」に対する回答をクロス集計した。

それぞれの結果を表 2-7-1、2-7-2、2-7-3 に示した。いずれの結果でも、研究目的として応用面をあまり意識していない研究者（「あまり当てはまらない」または「全く当てはまらない」という回答をした研究者）で、応用の研究成果を得たという回答（「よく当てはまる」または「多少当てはまる」とした回答）は見られなかった（水色のセル）。

これらの結果は、「副次的波及効果」の質問において、「新製品の開発につながった」「農林水産への応用につながった」の回答が少なかった結果と一致した。また、副次的効果で「生物産業への応用につながった」とした回答は若干見られたが、これは、生物産業において応用を目的としていたが、応用目的の対象でなかったテーマについて、意外にも応用が達成されたケースが該当したと考えられる（第3節 5）。

一方、応用を目的に掲げた場合に、応用面での結果が達成されたかどうかについては、新製品開発と農林水産の新技術のクロス集計においては、応用を意識した研究者でも、新製品開発および農林水産の新技術開発を達成したとする回答と達成しないとする回答のいずれも見られ、必ずしも達成できていると限らなかった。しかしながら、研究目的で「よく当てはまる」と「多少当てはまる」を比較すると、目的が「よく当てはまる」研究のほうが成果の達成度も高く、目的と成果に強い関連性があることが考えられる。生物産業に

関するクロス集計では、応用目的を持った研究者 22 名のうち、14 名が応用面での成果が得られたという回答をしており、応用を達成したケースが多かった。

以上のように、当初の研究目的の方向として応用があまり含まれなかった課題では、研究成果として応用に至っていない傾向にあり、思いがけず応用に結びつくケースは、少ないと見られた。また、生物関連産業への応用については、応用目的を持っている場合に達成されるケースが多い

表 2-7-1 新製品に関するクロス集計

研究目的： 新しい製品を開発する	研究成果：新市場創出につながる新製品を開発した				
	よく 当てはまる	多少 当てはまる	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当て はまらない
よく当てはまる	2	2		1	
多少当てはまる		3	1	4	2
どちらともいえない				1	1
あまり当てはまらない				3	1
全く当てはまらない			1		6
その他				1	

数字は回答数を示す。

表 2-7-2 農林水産業に関するクロス集計

研究目的： 農林水産現場で利用できる 新技術を開発する	研究成果：農林水産の現場に普及可能な新技術を開発した				
	よく 当てはまる	多少 当てはまる	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当ては まらない
よく当てはまる	2	2	3	1	1
多少当てはまる	1	3	2	4	
どちらともいえない				1	1
あまり当てはまらない			2	1	1
全く当てはまらない					3
その他				1	

数字は回答数を示す。

表 2-7-3 生物関連産業に関するクロス集計

研究目的：生物関連産業で 利用可能な新しい技術を開発する	研究成果：生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法を開発した				
	よく 当てはまる	多少 当てはまる	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当ては まらない
よく当てはまる	3	5	4		1
多少当てはまる	3	3	4		
どちらともいえない	1	2	1		
あまり当てはまらない					
全く当てはまらない			1		
その他			1		

数字は回答数を示す。

## 2. 学術的目的を持った課題の応用面での達成

当初の目的の方向として基礎研究分野を目指した場合の応用の達成について探るために、研究目的の質問「基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する」に対する回答と、研究成果の質問「新市場創出につながる新製品を開発した」「農林水産の現場に普及可能な新技術を開発した」「生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法を開発した」に対するそれぞれの回答とのクロス集計を行った。

結果を表 2-7-4、2-7-5、2-7-6 に示した。研究目的の回答ごとのスコアのうち、基礎研究分野の目的で「よく当てはまる」の回答のスコア（緑色セル）を、新製品開発、農林水産業、生物産業間で比較すると、生物産業＞農林水産業＞新製品となっていた。このことから、基礎研究を強く目的としている場合、生物産業、農林水産業、新製品の順に応用面での達成度が高いと考えられる。実際、生物産業に関しては、基礎研究を目的とした研究者 25 名のうち 15 名が、研究成果として応用可能な技術を開発したと回答した。

表 2-7-4 新製品に関するクロス集計

研究目的：基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する	研究成果：新市場創出につながる新製品を開発した					スコア
	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	
よく当てはまる	1	3		6	8	-0.94
多少当てはまる	1	1		4	1	-0.43
どちらともいえない		1	2		1	-0.25
あまり当てはまらない						0
全く当てはまらない						0

数字は回答数を示す。

表 2-7-5 農林水産業に関するクロス集計

研究目的：基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する	研究成果：農林水産の現場に普及可能な新技術を開発した					スコア
	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	
よく当てはまる	3	2	5	5	3	-0.17
多少当てはまる		2	1	3	1	-0.43
どちらともいえない		1	1		2	-0.75
あまり当てはまらない						0
全く当てはまらない						0

数字は回答数を示す。

表 2-7-6 生物産業に関するクロス集計

研究目的：基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する	研究成果：生物産業の技術開発に応用可能な基礎的技術・手法を開発した					スコア
	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	
よく当てはまる	5	5	8			0.83
多少当てはまる	2	3	2			1.00
どちらともいえない		2	1		1	0.00
あまり当てはまらない						0
全く当てはまらない						0

数字は回答数を示す。

### 3. 学術的目を持った課題の学術面での達成

当初の目的の方向として基礎研究分野を目指した場合の、基礎研究の深化の達成について探るために、研究目的の質問「基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する」に対する回答と、研究成果の質問「幅広い分野に共通する科学的知見を発見・解明した」、「当該分野の進化に貢献する基礎科学の新知見を発見・解明した」、および波及効果の質問「新しい研究領域の創出につながった」に対するそれぞれの回答とのクロス集計を行った。

結果を表 2-7-7、2-7-8、2-7-9 に示した。本事業の性質上、基礎研究分野の研究目的を持たない回答がなく、学術的な研究成果も殆ど得られていた。

表 2-7-7 幅広い分野の科学的知見発見の研究成果に関するクロス集計

研究目的：基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する	研究成果：幅広い分野に共通する科学的知見を発見・解明した				
	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない
よく当てはまる	7	7	3	1	
多少当てはまる	1	4	2		
どちらともいえない		1	1		2
あまり当てはまらない					
全く当てはまらない					

数字は回答数を示す。

表 2-7-8 当該分野の新知見発見の研究成果に関するクロス集計

研究目的：基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する	研究成果：当該分野の進化に貢献する基礎科学の新知見を発見・解明した				
	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない
よく当てはまる	11	3	4		
多少当てはまる	4	2	1		
どちらともいえない		1	1		2
あまり当てはまらない					
全く当てはまらない					

数字は回答数を示す。

表 2-7-9 新しい研究領域の波及効果に関するクロス集計

研究目的：基礎研究分野の基本的な要素課題を解決する	波及効果：新しい研究領域の創出につながった				
	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない
よく当てはまる	8	3	4	3	
多少当てはまる		5	1	1	
どちらともいえない		2	1	1	
あまり当てはまらない					
全く当てはまらない					
その他			1		

数字は回答数を示す。

## 第8節 国内・海外との共同研究の効果

本事業では、国内の複数の研究グループが共同で同じ課題に取り組むことにより、基礎研究推進をさらに農林水産業の発展や生物関連産業の発展につなげていくことが意図されている。さらに事業終了後の国内および海外の研究者との共同研究の状況と成果や波及効果との関係を調べることにより、その後の共同研究がどのような効果を持っているかを把握し、共同研究の重要性を検討した。ここでは、特に共同研究との間に何らかの傾向があった質問を抽出して分析を行った。

### 1. 共同研究と競争的資金獲得

基礎研究推進事業の終了以降の研究チームの状況についての質問「新たに国内の研究者と共同研究を開始した」、「新たに海外の研究者と共同研究を開始した」に対する回答と、研究の継続・発展状況の質問「新たな競争的資金を継続的に獲得できている」に対する回答を用いて、クロス集計を行った。

結果を表 2-8-1 に示した。本事業終了後の国内および海外の新たな共同研究の開始については、新たな競争的資金の継続的な獲得と相関があり、共同研究の開始が研究費を入手することに大きく関連すると見られた。

表 2-8-1 共同研究と競争的資金獲得

国内の共同研究								海外の共同研究										
研究状況： 新たに国内の研究者と共同研究を開始した	研究状況： 新たな競争的資金を継続的に獲得できている							合計	研究状況： 新たに海外の研究者と共同研究を開始した	研究状況： 新たな競争的資金を継続的に獲得できている							合計	
	当 て は ま る	よ く 当 て は ま る	多 少 当 て は ま る	い え な い	ど ち ら と も	あ ま り 当 て は ま ら な い	全 く 当 て は ま ら な い			そ の 他	当 て は ま る	よ く 当 て は ま る	多 少 当 て は ま る	い え な い	ど ち ら と も	あ ま り 当 て は ま ら な い		全 く 当 て は ま ら な い
よく 当てはまる	8	2	1			1		12	よく 当てはまる	2	2							4
多少 当てはまる	2	4			1	1		8	多少 当てはまる	5	3	2			1			11
どちらとも いえない		1	1		2	1		5	どちらとも いえない	2					1			3
あまり当て はまらない			1		3			4	あまり当て はまらない	1	1	1		3				6
全く当て はまらない								0	全く当て はまらない		1			2	1			4
その他								0	その他						1			1
合計	10	7	3		6	3	0	29	合計	10	7	3		6	3	0	0	29

数字は回答数を示す。

## 2. 共同研究と研究成果

基礎研究推進事業の終了以降の研究チームの状況についての質問「新たに国内の研究者と共同研究を開始した」、「新たに海外の研究者と共同研究を開始した」に対する回答と、学術的研究成果についての質問「幅広い分野に共通する科学的知見を発見・解明した」、「当該分野の進化に貢献する基礎科学の新知見を発見・解明した」に対する回答を用いて、クロス集計を行った。

結果を表 2-8-2 に示した。国内の共同研究が大きいほど、「幅広い分野に共通する科学的知見の発見・解明」や「当該分野の進化に貢献する基礎科学の新知見の発見・解明」の学術的成果がある傾向にあった。一方、海外の共同研究の開始については、同様の傾向は若干見受けられたが、強い相関は見られなかった。

表 2-8-2 共同研究と学術的成果に関するクロス集計

国内の共同研究								海外の共同研究							
研究状況： 新たに国内の研究者と共同研究を開始した	研究成果： 幅広い分野に共通する科学的知見を発見・解明した							研究状況： 新たに海外の研究者と共同研究を開始した	研究成果： 幅広い分野に共通する科学的知見を発見・解明した						
	当てはまる よく	当てはまる 多少	どちらとも いえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	その他	合計		当てはまる よく	当てはまる 多少	どちらとも いえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	その他	合計
よく当てはまる	4	4	4				12	よく当てはまる	2	2					4
多少当てはまる	2	3	1		2		8	多少当てはまる	3	5	2	1			11
どちらともいえない	1	3		1			5	どちらともいえない		1	2				3
あまり当てはまらない	1	2	1				4	あまり当てはまらない	2	4					6
全く当てはまらない							0	全く当てはまらない			2		2		4
その他							0	その他	1						1
合計	8	12	6	1	2	0	29	合計	8	12	6	1	2	0	29

数字は回答数を示す。

国内の共同研究								海外の共同研究							
研究状況： 新たに国内の研究者と共同研究を開始した	研究成果： 当該分野の進化に貢献する基礎科学の新知見を発見・解明した							研究状況： 新たに海外の研究者と共同研究を開始した	研究成果： 当該分野の進化に貢献する基礎科学の新知見を発見・解明した						
	当てはまる よく	当てはまる 多少	どちらとも いえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	その他	合計		当てはまる よく	当てはまる 多少	どちらとも いえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	その他	合計
よく当てはまる	9	1	2				12	よく当てはまる	4						4
多少当てはまる	2	2	2		2		8	多少当てはまる	7	1	3				11
どちらともいえない	2	1	2				5	どちらともいえない		1	2				3
あまり当てはまらない	2	2					4	あまり当てはまらない	2	3	1				6
全く当てはまらない							0	全く当てはまらない	1	1			2		4
その他							0	その他	1						1
合計	15	6	6	0	2	0	29	合計	15	6	6	0	2	0	29

### 3. 共同研究と波及効果

#### (1) 共同研究と科学技術的波及効果

基礎研究推進事業の終了以降の研究チームの状況についての質問「新たに国内の研究者と共同研究を開始した」、「新たに海外の研究者と共同研究を開始した」に対する回答と、波及効果についての質問「新しい研究領域の創出につながった」、「当該研究分野のトレンドとなった」に対する回答を用いて、クロス集計を行った。

結果を表 2-8-5 に示した。新しい研究領域の創出の波及効果の有無と、国内や海外の新たな共同研究の有無については、若干の相関があり、国内外の共同研究の有無が新しい研究領域の創出につながる傾向が見受けられた。

表 2-8-3 共同研究と新研究領域に関するクロス集計に関するクロス集計

国内の共同研究								海外の共同研究									
研究状況： 新たに国内の研究者と共同研究を開始した	波及効果： 新しい研究領域の創出につながった							合計	研究状況： 新たに海外の研究者と共同研究を開始した	波及効果： 新しい研究領域の創出につながった							合計
	当てはまる よく	当てはまる 多少	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当て はまらない	その他	当てはまる よく			当てはまる 多少	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当て はまらない	その他			
よく当てはまる	5	6	1				12	よく当てはまる	4						4		
多少当てはまる	2	3	3				8	多少当てはまる	3	5	2	1			11		
どちらともいえない	1	1	1	2			5	どちらともいえない		1	2				3		
あまり当てはまらない			1	3			4	あまり当てはまらない	1		2	3			6		
全く当てはまらない							0	全く当てはまらない		3		1			4		
その他							0	その他		1					1		
合計	8	10	6	5	0	0	29	合計	8	10	6	5	0	0	29		

数字は回答数を示す。

国内の共同研究								海外の共同研究									
研究状況： 新たに国内の研究者と共同研究を開始した	波及効果： 当該研究分野のトレンドとなった							合計	研究状況： 新たに海外の研究者と共同研究を開始した	波及効果： 当該研究分野のトレンドとなった							合計
	当てはまる よく	当てはまる 多少	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当て はまらない	その他	当てはまる よく			当てはまる 多少	どちらとも いえない	あまり当て はまらない	全く当て はまらない	その他			
よく当てはまる	2	5	3			2	12	よく当てはまる	1	3					4		
多少当てはまる	2	1	1	1		3	8	多少当てはまる	3	2	3	1		2	11		
どちらともいえない		1	1	1		2	5	どちらともいえない		1				2	3		
あまり当てはまらない				2		2	4	あまり当てはまらない			1	3		2	6		
全く当てはまらない							0	全く当てはまらない		1				3	4		
その他							0	その他			1				1		
合計	4	7	5	4	0	9	29	合計	4	7	5	4	0	9	29		

(2) 共同研究と産業技術的波及効果

基礎研究推進事業の終了以降の研究チームの状況についての質問「新たに国内の研究者と共同研究を開始した」、「新たに海外の研究者と共同研究を開始した」に対する回答と、波及効果についての質問「新市場創出につながる新製品を開発した」に対する回答を用いて、クロス集計を行った。

結果を表 2-8-4 に示した。新製品の開発の波及効果があったという見解自体が少なかったが、国内の共同研究については、波及効果があったとしたケースはいずれも国内の共同研究を新たに開始していた。海外の共同研究については特筆すべき傾向は見られなかった。

表 2-8-4 共同研究と新製品開発に関するクロス集計

		国内の共同研究						海外の共同研究									
研究状況： 新たに国内の研究者と共同研究を開始した	波及効果： 新市場創出につながる新製品を開発した							研究状況： 新たに海外の研究者と共同研究を開始した	波及効果： 新市場創出につながる新製品を開発した								
	当てはまる	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	その他		合計	当てはまる	よく当てはまる	多少当てはまる	どちらともいえない	あまり当てはまらない	全く当てはまらない	その他	合計
よく当てはまる		3	6	3				12	よく当てはまる		2	2					4
多少当てはまる		2	4	2				8	多少当てはまる		1	5	3	2			11
どちらともいえない			1		4			5	どちらともいえない			3					3
あまり当てはまらない			1	3				4	あまり当てはまらない		1	1	3	1			6
全く当てはまらない								0	全く当てはまらない		1	1	2				4
その他								0	その他					1			1
合計	0	5	12	8	4	0	29	合計	0	5	12	8	4	0	29		

数字は回答数を示す。

### 第3章 詳細調査

#### 第1節 酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出

ヒアリング協力者	松本 英明
本課題における担当	酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出、総括研究代表者
現所属および役職	前岡山大学資源生物科学研究所所長
ヒアリング実施日	2009年1月8日

ヒアリング協力者	山本 洋子
本課題における担当	植物および植物培養細胞における Al 耐性・毒性機構及び耐性株の選抜と解析、研究者
現所属および役職	岡山大学 資源生物科学研究所 教授
ヒアリング実施日	2009年1月8日

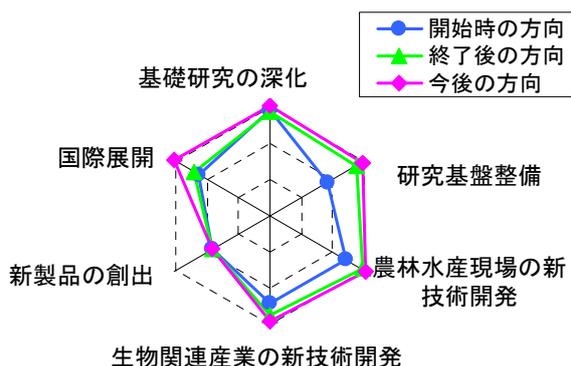
ヒアリング協力者	佐々木 孝行
本課題における担当	植物における Al 耐性遺伝子の単離と解析、研究者
現所属および役職	岡山大学 資源生物科学研究所 助教
ヒアリング実施日	2009年1月8日

#### 1. 研究の背景と位置付け

植物の生育に不都合な土壌（問題土壌）は世界中に多く存在する。酸性土壌は典型的な問題土壌で、世界の農耕地の約40%である約4億ヘクタールを占めると言われ、その4.5%程度が農耕地として利用されているにすぎない。日本を含む東南アジア地域にも多く、最近の酸性雨等により酸性土壌は拡大する傾向にある。このような状況のため、酸性土壌における植物生産量の向上を達成する技術を開発することは、日本を含めた世界における食糧問題にとって重要な課題である。アルミニウムは土壌中の金属の中で最も含有率が多い元素で、土壌が中性付近ではケイ酸と結合した不溶性のケイ酸アルミニウムとして存在し毒性を示さない。しかし、酸性土壌ではアルミニウム (Al) イオンとして土壌中に溶出し、植物の根の成長を妨げる主要な生育阻害因子となっている。

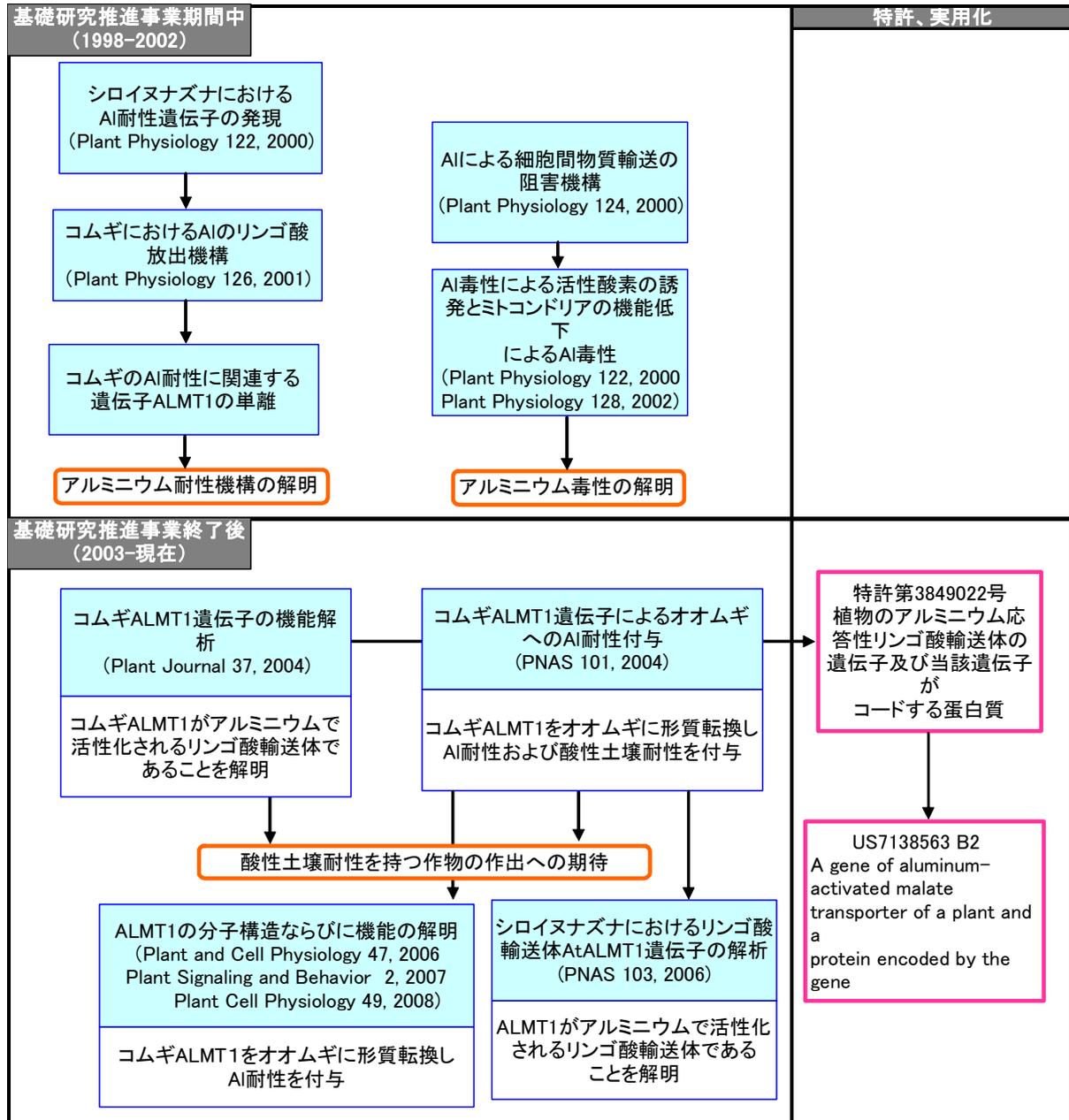
#### 2. 研究の展開

基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



開始時は基礎研究に比重をおいた目的とし、終了後はその成果をもとに農林水産や生物関連産業現場への新技术開発への展開を図った。今後は国際的共同研究を継続し、さらに基礎的研究を進展させていく。

基礎研究推進事業の開始から終了後現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

酸性土壌における植物の主要な生育阻害因子は、低 pH によって土壌中で溶出し、植物の根の成長を妨げるアルミニウム (Al) イオンである。そこで、本研究では、酸性土壌の中で起こる複雑な Al 毒性の機構を明らかにするとともに、一部の植物が長い進化の過程で獲得した Al 毒性機構を解明するとともに、耐性機構を解明し、Al 耐性遺伝子を発見することによりその機能を応用して Al 耐性植物を作出することを目的とした。

具体的には、Al 毒性機構を解析することにより酸素ストレスの軽減などの機構を見出す。また、Al 耐性機構の解析によりそのターゲットとなる遺伝子を同定して機能を詳しく調べ、得られた遺伝子を導入した Al 耐性植物の作出を試みることにした。

#### (2) 研究内容

##### 1) Al 毒性の機構の解明

Al が細胞内で引き起こす毒性について明らかにし、毒性によって障害が起こる機構を明らかにするため、以下の研究を実施した。

- ・ Al 障害の指標となるカロースと原形質連絡の阻害
- ・ Al による酸素ストレスとミトコンドリア機能阻害
- ・ Al による細胞壁、原形質膜機能障害
- ・ Al による細胞分裂阻害

##### 2) Al 耐性機構の解明

植物の Al 耐性機構として、細胞の外で働く Al 排除機構と細胞の内働く耐性機構がある。Al 排除機構としては、酸性土壌で生育するソバがシュウ酸を利用して Al を無毒化することを本研究開始時に見出していた。また、コムギにおいては、オーストラリアの研究グループが準同質遺伝子系統の Al 耐性(ET 8)と Al 感受性(ES 8)のコムギを作出し、電気的分析により Al 耐性系統にのみ Al 応答性のリンゴ酸輸送体が発現していることを見出したという知見があった。本研究では、細胞の外で働く Al 排除機構を分子遺伝学および植物生理学的に解明するため、これらの Al 耐性・感受性コムギを用いて以下の研究を試みた。

- ・ Al によるリンゴ酸分泌とシグナル伝達
- ・ 原形質膜上のリンゴ酸トランスポーター遺伝子同定および電気生理学的アプローチによる分子機構解明
- ・ コムギリンゴ酸トランスポーター遺伝子のタバコ細胞とイネへの導入
- ・ 植物や土壌微生物に含まれる Al 耐性遺伝子のスクリーニング

(研究実施体制)

	中課題名	開始	終了	所属(事業当時)	研究代表者名(注)
1	インタクト植物根における Al 耐性機構に関する生理生化学的解析	10	14	岡山大学資源生物科学研究所	松本 英明*

(注) 総括研究代表者は\*印。

### (3) 主な研究成果

#### 1) Al 毒性について

- Al が膜に結合し特性を変化させる作用について研究し、原形質膜表面のゼータ電位の負電荷が  $Al^{3+}$  の結合によりプラス側電位に変化し、その結果、膜上の  $H^+$ -ATPase 活性と量を低下させていることが明らかとなった。
- Al ストレスによる根の伸長阻害が起こる以前に、Al による原形質連絡に特異的にカロールが集積し、原形質連絡の径が細くなることによって細胞間物質輸送が抑制されたことが見出された。
- カルシウム溶液中でのタバコ培養細胞とエンドウ根について調べ、Al によりミトコンドリアの機能が低下し、活性酸素が誘発され、これにより細胞死が誘発されることが明らかになった。
- Al によって細胞壁の伸展性が阻害されることが、明らかとなった。
- Al により細胞分裂に関わる紡錘体(チューブリン)が消滅したことを確認した。

#### 2) Al 耐性機構について

- Al に対する初期応答反応として、ET 8 のリンゴ酸分泌は Al 処理後数分以内に起こり、その過程にキナーゼの活性化による 48 KD のタンパク質のリン酸化が必要であることを見出した。また、リンゴ酸放出には根の周りのカリウムの存在が必要であることが明らかになった。
- ET 8 根端で ES 8 に比較してより高い発現を示す cDNA を発見し、クローニングと機能解析を行った。その結果、この遺伝子は Al 応答性のリンゴ酸輸送体であり、タバコ培養細胞に導入することで植物由来の Al 耐性遺伝子であることを初めて明らかにし、*ALMT-1* と名付けた。
- *ALMT-1* を、リンゴ酸を分泌しないイネに導入すると、Al の存在下でリンゴ酸を分泌することが確認された。
- Al 耐性を示す真菌を土壌から分離し、その耐性遺伝子を解析した。

#### 4. 事業終了後の状況

##### (1) 研究発展状況

基礎研究推進事業の終了後も、日本学術振興会等から継続的に研究資金を獲得し、海外との共同研究活動を活発に行いながら、アルミニウム耐性機構の解明と耐性機構獲得植物の創出についての研究を深めてきた。事業において発見した新規の Al 耐性遺伝子 *ALMT1* については、日本及び米国において特許化され、その後オーストラリア、米国、中国などの研究グループとの共同研究も進んでいる。オオムギへの利用などの実用化を視野に入れた研究が成果を得ており、基礎研究面での深化と共に国際的な応用研究面での展開も見せている。松本英明氏の退官後は山本洋子氏及び佐々木孝行氏が本研究を継続し、さらに本耐性遺伝子やその発現産物タンパク質の分子生物学的な機能・構造解析へと精力的に研究を発展させている。

##### (2) 新たな研究成果

###### 1) *ALMT1* 遺伝子の酸性土壌感受性オオムギの酸性土壌耐性付与への利用

事業期間中に発見した Al 耐性遺伝子 *ALMT1* を酸性土壌感受性オオムギに形質転換した結果、アルミニウム存在下で根からリンゴ酸放出が観察され、オオムギに酸性土壌耐性を付与することに成功した。

###### 2) コムギの *ALMT1* 遺伝子上流の発現制御領域の解析

コムギ *ALMT1* 遺伝子上流域に関して、6 種のパターンの異なる *ALMT1* 上流の発現制御配列（プロモーター配列）が存在することを明らかにした。それらは、基本配列をもとにその一部が 2-3 回の繰返しを示しており、その繰返しが Al 耐性度ならびに遺伝子の高発現に関与することが強く示唆された。（図 1）

###### 3) *ALMT1* タンパク質の膜トポロジーの解明

コムギの *ALMT1* は細胞膜に局在する植物に特異的な新規輸送体である。*ALMT1* の膜トポロジーを調べるために、動物の培養細胞に *ALMT1* 遺伝子を導入し一過的に発現させた。その際、*ALMT1* の N 末端や C 末端へ GFP または His タグを付加したタンパク質や、膜貫通領域間にある親水性領域の一部を His で置換したタンパク質として発現させ、抗 His 抗体や *ALMT1* の N および C 末端側の親水性領域のペプチドに対する抗体で免疫染色し、蛍光顕微鏡で観察した。このとき、界面活性剤処理の有無で免疫染色の程度を比較し、エピトープ領域の配向性を判断した。細胞の内側にエピトープがある場合、界面活性剤により細胞内に抗体が透過した場合にのみ染色がみられるが、エピトープが外側にある場合には界面活性剤処理の有無にかかわらず染色がみられる。解析の結果、*ALMT1* は 6 つの膜貫通領域をもち、N 末端および C 末端は細胞の外側に存在する可能性が強く示唆された。

#### 4) シロイヌナズナの相同遺伝子 AtALMT1 の解析

コムギの ALMT1 とシロイヌナズナの相同タンパク質 AtALMT1 は 39%の相同性を示し、ヒドロパシー解析から、共に N 末半分に膜貫通領域をもつ輸送体と推測された。日本、米国、オーストラリアのグループとの共同研究により、シロイヌナズナの *AtALMT1* 遺伝子も、リンゴ酸輸送体をコードし、アルミニウム耐性を決定づける遺伝子であることを明らかにした。このことは、単子葉のみならず双子葉においても、*ALMT1* 遺伝子がアルミニウム耐性遺伝子として保存されていることを意味している。(図2)

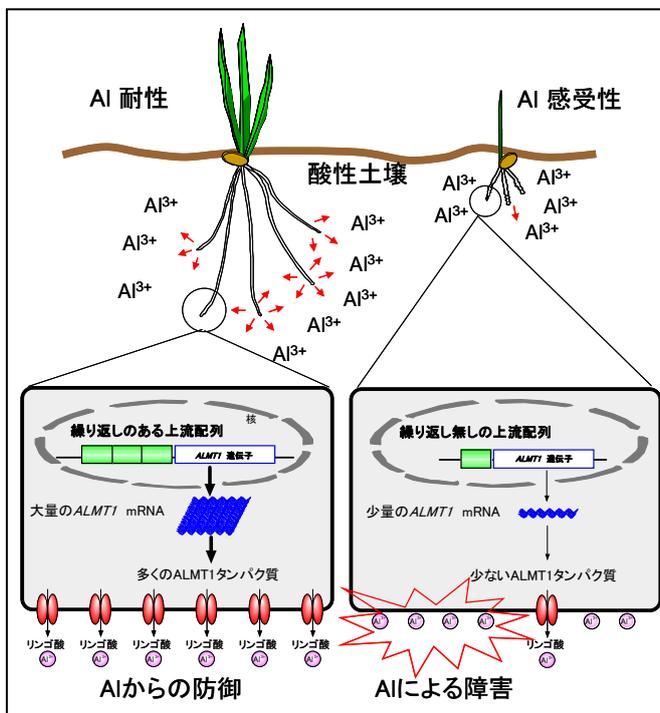


図1 コムギのALMT1遺伝子上流の繰返し配列

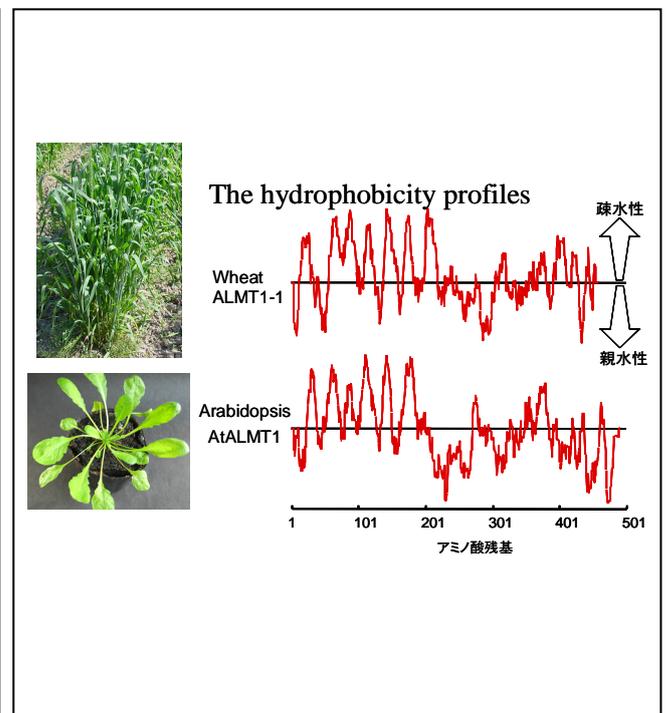


図2 シロイヌナズナの相同遺伝子AtALMT1

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的波及効果

酸性土壌耐性遺伝子 ALMT1 は植物特有の遺伝子であり、最初に発見された単子葉植物のコムギに続き、その後双子葉植物のシロイヌナズナにも見出され、植物全体が持つ耐性機構の研究として新たな領域を築いた。研究分野におけるランキングでは、総括代表研究者が1位であり、共同研究者も上位に入っている。ALMT1 についてはリンゴ酸放出によるAl耐性機構が分子的に解明され、その論文は高い被引用数を示している。

今後、本研究の発展をもとにして、本研究室で見出されたクエン酸放出における遺伝子解明などへと基礎的研究が拡大されていくものと思われる。さらに、本成果における知見を基礎として、遺伝子を用いた作物の分子育種技術を応用する研究へと進めることにより、種々の作物について酸性土壌における作物生産性を向上させることが期待される。

#### 2) 産業技術的波及効果

近年、海外では植物生産の増大を目的として遺伝子組換え植物が栽培される状況となり、海外企業のモンサント社やダウケミカル社などは、組換え作物の種苗販売の市場を広げて成長している。オーストラリアでは、酸性土壌により毎年10億ドル相当の農産物の損害を受けているといわれており、組換え作物による酸性土壌対策が注目されている。遺伝子発見から現実的な実用化までには安全性試験などを経る必要もあり年月がかかることは予想されるが、酸性土壌は海外における面積が圧倒的に大きいため、本研究は海外での利用の可能性も高く、今後の産業技術的波及に期待がかかる。

#### 3) 社会的波及効果

現在、酸性雨の問題なども影響し、酸性土壌は世界で広がる傾向にある。また、酸性ストレスに加え、乾燥ストレスや高温ストレスが起こる地域では、さらに植物へのダメージが大きい。従って、酸性の土壌において良好に生育する作物を創出していくことにより、それらの地域での食糧生産に大きく貢献するだけでなく、積極的な食糧生産により世界的な食糧供給に寄与することも期待される。

本研究では、海外との共同研究が継続されており、オオムギへの酸性土壌耐性付与の成果も得られている。酸性土壌が広がっているアジアや他の諸国の研究者との共同研究による科学技術的貢献も行われており、実用化に向けてさらに国際的に展開される可能性もある。

#### 4) 人材育成的波及効果

本研究に参画した研究者のうち、日本人研究者2名が国立大学教授に、日本人ポスドク3名が大学や企業へ、海外からの研究者2名が海外の大学にポジションを得ており、それぞれの研究実績が高く評価されている。また、8名が学位を取得、さらに6名が海外にポスドクとして留学するなど、多くの人材を輩出し、海外でも活躍している。

## 5. 有識者コメント

アルミニウム応答性のリンゴ酸輸送にかかわる ALMT1 の発見、アルミニウム耐性の分子機構の解析など世界的な学術上の貢献は不動のものであり、事業終了後も得られた成果を利用した世界的な研究の展開は被引用数などにも反映されている。本研究終了後 5 年近くが経過したが、本基礎的研究成果を反映した産業への貢献、具体的技術の創出はなされてはいないことから、酸性土壌という複雑な問題土壌に実用的に使える技術になるまでには多少の時間を要するものと思われるとの意見が得られた。

本研究は、世界の農耕地の 40% を占める問題土壌における食糧生産の向上、安定化にとって上大きな意味を持つ研究と位置づけられているが、農業生産上の意義は、そのような問題土壌地帯に住まざるを得ない人々が持続的に食糧生産を行うための農業に寄与する点にあり。本研究の成果は、食糧生産を目的とした農業研究という側面もあるが、広く、緑地の消失などに対する地球緑化に寄与するという色彩の方がより強いと考えられる。本研究の成果が、イネ、麦類など世界の主要食糧の増産に寄与する日が来るのが待たれるところであるが、まずは、作物に限らず植物全体を対象にした環境問題などの解決にも大いに活用されることを期待すると評価された。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキング

#### 1) 検索式

内容	検索式	件数	検索式 (CA)
アルミニウム耐性	L1	992	(AI OR ALUMINUM OR ACID(W)SOIL#)(3A)(RESISTAN? OR TOLERAN?)(S)(PLANT# OR MALATE OR CITRATE)
1998 年以降	L2	519	L1 AND PY>=1998
特許除外	L3	487	L2 NOT P/DT

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	55	<b>MATSUMOTO, HIDEAKI</b>
2	19	MA, JIAN FENG
3	17	KOCHIAN, LEON V.
4	16	<b>YAMAMOTO, YOKO</b>
5	15	RYAN, PETER R.
6	14	DELHAIZE, EMMANUEL
7	14	<b>SASAKI, TAKAYUKI</b>
8	12	KOYAMA, HIROYUKI
9	9	<b>EZAKI, BUNICHI</b>
10	9	PINEROS, MIGUEL A.

#### 3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
1	43	<b>OKAYAMA UNIVERSITY</b>
2	20	ZHEJIANG UNIVERSITY
3	11	SOUTH CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY
4	10	YAMAGATA UNIVERSITY
5	9	GIFU UNIVERSITY
6	9	UNIVERSITY OF HANNOVER
7	8	NANJING AGRICULTURAL UNIVERSITY
8	8	THE UNIVERSITY OF TOKYO
9	7	CSIRO PLANT INDUSTRY

## (2) 成果論文データ

### 1) 基礎研究推進事業の期間中の主要論文数

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	0	9	7	10	6	32
その他	0	0	1	1	2	4

(出典：終了時の研究成果報告書)

### 1) 基礎研究推進事業の終了以降の主要論文数

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	合計
原著論文	5	12	11	6	6	4	44
その他	0	3	2	1	1	0	7

### 2) 論文の被引用数の推移

Year	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位 10	651
1998-2002	成果	上位 10	897
2003～	終了後	上位 10	410

### 3) 被引用数上位文献

全機関の論文を対象とし、基礎研究推進事業の期間中の成果論文を白抜き、終了後の成果論文を緑で示した。

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
1	2000	Cell biology of aluminum toxicity tolerance in higher plants	Matsumoto H.	International Review of Cytology	200	188
2	1998	High aluminum resistance in buckwheat: I. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips	Zheng S.J., Ma J.F., Matsumoto H.	Plant Physiology	117	131
3	2004	A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter	Sasaki T., Yamamoto Y., Ezaki B., Katsuhara M., Ahn S.J., Ryan P.R., Delhaize E., Matsumoto H.	Plant Journal	37	119
4	2000	Expression of aluminum-induced genes in transgenic Arabidopsis plants can ameliorate aluminum stress and/or oxidative stress	Ezaki B., Gardner R.C., Ezaki Y., Matsumoto H.	Plant Physiology	122	105
5	2001	Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in Pea roots	Yamamoto Y., Kobayashi Y., Matsumoto H.	Plant Physiology	125	88
6	2002	Aluminum toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells	Yamamoto Y., Kobayashi Y., Devi S.R., Rikiishi S., Matsumoto H.	Plant Physiology	128	80

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用 数
7	2004	Engineering high-level aluminum tolerance in barley with the ALMT1 gene	Delhaize E., Ryan P.R., Hebb D.M., Yamamoto Y., Sasaki T., Matsumoto H.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	101	76
8	1998	High aluminum resistance in buckwheat: II. oxalic acid detoxifies aluminum internally	Ma J.F., Hiradate S., Matsumoto H.	Plant Physiology	117	76
9	2000	Aluminum-induced 1→3-β-D-glucan inhibits cell-to-cell trafficking of molecules through plasmodesmata. A new mechanism of aluminum toxicity in plants	Sivaguru M., Matsumoto H., Fujiwara T., Samaj J., Baluska F., Yang Z., Osawa H., Maeda T., Mori T., Volkmann D.	Plant Physiology	124	69
10	2000	Pattern of aluminum-induced secretion of organic acids differs between rye and wheat	Li X.F., Ma J.F., Matsumoto H.	Plant Physiology	123	66
11	2003	Aluminum-induced gene expression and protein localization of a cell wall-associated receptor kinase in Arabidopsis	Sivaguru M., Ezaki B., He Z.-H., Tong H., Osawa H., Baluska F., Volkmann D., Matsumoto H.	Plant Physiology	132	50
12	2001	Possible involvement of protein phosphorylation in aluminum-responsive malate efflux from wheat root apex	Osawa H., Matsumoto H.	Plant Physiology	126	44
13	2000	Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean ( <i>Glycine max</i> )	Yang Z.M., Sivaguru M., Horst W.J., Matsumoto H.	Physiologia Plantarum	110	44
14	2001	Different mechanisms of four aluminum (Al)-resistant trans-genes for Al toxicity in Arabidopsis	Ezaki B., Katsuhara M., Kawamura M., Matsumoto H.	Plant Physiology	127	39
15	2001	Changes in cell-wall properties of wheat ( <i>Triticum aestivum</i> ) roots during aluminum-induced growth inhibition	Tabuchi A., Matsumoto H.	Physiologia Plantarum	112	39
16	1998	Continuous secretion of organic acids is related to aluminium resistance during relatively long-term exposure to aluminium stress	Zheng S.J., Ma J.F., Matsumoto H.	Physiologia Plantarum	103	38
17	2001	Characterization of aluminium-induced citrate secretion in aluminium-tolerant soybean ( <i>Glycine max</i> ) plants	Yang Z.M., Nian H., Sivaguru M., Tanakamaru S., Matsumoto H.	Physiologia Plantarum	113	32

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用 数
18	2006	AtALMT1, which encodes a malate transporter, is identified as one of several genes critical for aluminum tolerance in Arabidopsis	Hoekenga O.A., Sasaki T., Matsumoto H., Yamamoto Y., Koyama H., Kochian L.V., Maron L.G., Pineros M.A., Cancado G.M.A., Shaff J., Kobayashi Y., Ryan P.R., Dong B., Delhaize E.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	103	30
19	2005	Molecular characterization and mapping of ALMT1, the aluminium-tolerance gene of bread wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	Raman H., Imtiaz M., Drake-Brockman F., Waters I., Martin P., Sasaki T., Yamamoto Y., Matsumoto H., Hebb D.M., Delhaize E., Ryan P.R., Zhang K., Cakir M., Appels R., Garvin D.F., Maron L.G., Kochian L.V., Moroni J.S., Raman R.	Genome	48	30
20	1998	Protective roles of two aluminum (Al)-induced genes, HSP150 and SED1 of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , in Al and oxidative stresses	Ezaki B., Gardner R.C., Ezaki Y., Kondo H., Matsumoto H.	FEMS Microbiology Letters	159	28
21	2003	Oxidative stress triggered by aluminum in plant roots	Yamamoto Y., Kobayashi Y., Devi S.R., Rikiishi S., Matsumoto H.	Plant and Soil	255	27
22	1999	Differential impacts of aluminium on microtubule organisation depends on growth phase in suspension-cultured tobacco cells	Sivaguru M., Yamamoto Y., Matsumoto H.	Physiologia Plantarum	107	27
23	2002	Aluminium-induced growth inhibition is associated with impaired efflux and influx of H <sup>+</sup> across the plasma membrane in root apices of squash ( <i>Cucurbita pepo</i> )	Ahn S.J., Sivaguru M., Chung G.C., Rengel Z., Matsumoto H.	Journal of Experimental Botany	53	26
24	2002	A gene encoding multidrug resistance (mdr)-like protein is induced by aluminum and inhibitors of calcium flux in wheat	Sasaki T., Ezaki B., Matsumoto H.	Plant and Cell Physiology	43	26
25	2000	Responses to aluminium of suspension-cultured tobacco cells in a simple calcium solution	Ikegawa H., Yamamoto Y., Matsumoto H.	Soil Science and Plant Nutrition	46	24
26	1999	Accumulation of aluminium in the cell wall pectin in cultured tobacco ( <i>Nicotiana tabacum</i> L.) cells treated with a combination of aluminium and iron	Chang Y.-C., Yamamoto Y., Matsumoto H.	Plant, Cell and Environment	22	24

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
27	2001	Aluminum inhibits the H <sup>+</sup> -ATPase activity by permanently altering the plasma membrane surface potentials in squash roots	Sung Ju Ahn, Sivaguru M., Osawa H., Gap Chae Chung, Matsumoto H.	Plant Physiology	126	23
28	2000	Mucilage strongly binds aluminum but does not prevent roots from aluminum injury in <i>Zea mays</i>	Li X.F., Ma J.F., Hiradate S., Matsumoto H.	Physiologia Plantarum	108	23
29	1999	Acquisition of aluminum tolerance in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> by expression of the BCB or NtGDI1 gene derived from plants	Ezaki B., Sivaguru M., Ezaki Y., Matsumoto H., Gardner R.C.	FEMS Microbiology Letters	171	22
30	2005	Citrate secretion coupled with the modulation of soybean root tip under aluminum stress. Up-regulation of transcription, translation, and threonine-oriented phosphorylation of plasma membrane H <sup>+</sup> -ATPase	Shen H., Hideo S., Matsumoto H., Long F.H., Sasaki T., Yamamoto Y., Shao J.Z., Ligaba A., Xiao L.Y., Sung J.A., Yamaguchi M.	Plant Physiology	138	21
31	2003	An intracellular mechanism of aluminum tolerance associated with high antioxidant status in cultured tobacco cells	Devi S.R., Yamamoto Y., Matsumoto H.	Journal of Inorganic Biochemistry	97	21
32	2005	Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in buckwheat	Shao J.Z., Jian L.Y., Yun F.H., Xue H.Y., Zhang L., Jiang F.Y., Ren F.S., Matsumoto H.	Plant Physiology	138	20
33	1999	Al binding in the epidermis cell wall inhibits cell elongation of okra hypocotyl	Ma J.F., Yamamoto R., Nevins D.J., Matsumoto H., Brown P.H.	Plant and Cell Physiology	40	20

#### 4) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業期間中の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
1	—	—	3	16	18	19	39	31	18	25	19	188
2	1	6	12	16	17	11	12	18	12	16	10	131
4	—	—	1	12	9	13	14	20	6	17	13	105
5	—	—	—	2	5	7	12	14	9	20	19	88
6	—	—	—	—	1	9	10	19	10	15	16	80
8	2	4	9	6	10	11	12	7	4	11	2	76
9	—	—	0	11	7	13	7	10	9	9	3	69
10	—	—	1	8	9	11	10	12	3	8	4	66
11	—	—	—	—	—	2	6	13	11	14	4	50
12	—	—	—	2	1	3	10	10	7	8	3	44
13	—	—	0	5	2	5	11	6	2	10	3	44
14	—	—	—	0	0	3	9	15	4	6	2	39

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
15	—	—	—	1	1	5	4	12	3	6	7	39
16	1	0	2	9	3	3	8	5	3	1	3	38
17	—	—	—	0	1	4	7	6	5	8	1	32
20	0	4	3	3	2	2	6	3	1	3	1	28
21	—	—	—	—	—	0	2	7	8	5	5	27
22	—	0	6	3	2	4	2	7	1	1	1	27
23	—	—	—	—	—	2	3	7	3	7	4	26
24	—	0	0	0	0	4	7	2	4	6	3	26
25	—	—	0	3	1	5	4	3	2	4	2	24
26	—	0	1	2	3	1	2	8	2	2	3	24
27	—	—	—	0	2	5	5	5	2	3	1	23
28	—	—	0	1	3	4	2	6	1	3	3	23
29	—	0	3	6	1	2	2	2	3	2	1	22
33	0	0	1	2	0	1	5	7	1	2	1	20

・基礎研究推進事業終了後の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
3	—	—	—	—	—	—	5	31	24	41	18	119
7	—	—	—	—	—	—	0	19	17	26	14	76
18	—	—	—	—	—	—	—	—	1	20	9	30
19	—	—	—	—	—	—	—	0	6	18	6	30
30	—	—	—	—	—	—	—	1	6	8	6	21
31	—	—	—	—	—	0	1	5	4	6	5	21
32	—	—	—	—	—	—	—	1	3	6	10	20

5) 引用論文の分野

分野	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
農学、生物科学	156	109	98	87	77	62	58	61	59	55
生化学、遺伝学、分子生物学	53	35	50	29	23	36	37	25	21	21
環境科学	17	8	5	5	7	3	3	6		4
化学	11	13	4	4	4	5	5	10		4
化学工学	4	3			1	3	1	4		
医学	3	3	15	3	2	2	8	2	4	3
薬学、毒性学、薬剤学	3	2		1	2	1		2		
工学	2	1		1	1			2		
免疫学、微生物学	2	2		1	1	1		1	2	
多分野	2	1	6	3	1	1	2	1		
物理学、天文学	2					1	1		1	
地球科学	1	3	2				1	1		1
神経科学							1			

### (3) 共同研究先データ

#### 1) 基礎研究推進事業での共同研究先

研究者名	所属機関	所在国	分野
Walter J. Horst	ハノーバー大	ドイツ	植物栄養
Njue E. Mugai	JKUAT	ケニア	植物栄養
Hai Nian	南中華農業大	中国	育種
Mu-yuan Zhu	Zhejiang Univ.	中国	植物生理
Refat Abdel-Basset	Assiut Uni.	エジプト	植物生理
Hong Shen	南中華農業大	中国	植物栄養
Mayandi Sivaguru	ミズーリ大	アメリカ	植物生理
Zdenko Rengel	西オーストラリア大	オーストラリア	植物栄養
Peter Ryan	CSIRO	オーストラリア	植物生理
Emanuel Delhaize	CSIRO	オーストラリア	植物分子
Saule S. Kenjebaeva	カザフスタンアカデミー	カザフスタン	植物栄養
Zhen Ming Yang	吉林大学	中国	植物栄養
Leon Kochian	コーネル大/USDA	アメリカ	植物栄養
Sung-Ju Ahn	全南大	韓国	園芸
Shao Jian Zheng	Zhejiang Univ.	中国	植物栄養
Sanjib Kumar Panda	Assam(Central) Univ.	インド	植物生理

#### 2) 基礎研究推進事業以降の共同研究先

研究者名	所属機関	所在国	分野
P. Ryan	CSIRO	オーストラリア	植物栄養学
E. Delhaize	CSIRO	オーストラリア	植物栄養学
Kochian, L.	コーネル大学、USDA	USA	植物栄養学
荻原保成	横浜市立大学	日本	植物栄養学

### (4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	出願人・権利者名	発明者・考案者	出願日
特許第 3849022 号 特開 2004-105164	植物のアルミニウム応答性リンゴ酸輸送体の遺伝子及び当該遺伝子がコードする蛋白質	岡山大学長	松本英明 佐々木孝行 山本洋子 江崎文一 且原真木	2003/3/4
US7138563 2006年11月21日 (米国)	A gene of aluminum-activated malate transporter of a plant and a protein encoded by the gene.	岡山大学長	松本英明 佐々木孝行 山本洋子 江崎文一 且原真木	2003/3/4

### (5) 報道データ

見出し	出展
生物機能を生かせ：(4) 生研機構、新産業技術創出事業 アルミの毒性機構を解明	1998/08/27 日本工業新聞
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞
次期所長に松本英明氏 岡山大資源生物科学研究所 /岡山	2000/02/11 朝日新聞
岡山大資源生物科学研究所長に松本英明教授＝岡山	2000/02/11 大阪読売新聞
岡山大資生研所長に松本氏	2000/02/11 山陽新聞朝刊

がんばります 岡山大資源生物科学研究所長に就任した 松本英明さん (まつもと・ひであき)	2000/04/15	山陽新聞朝刊
最新バイオ技術を中高生らに公開 岡大資源生科研=岡山	2001/05/13	大阪読売新聞
酸性土壌に強い遺伝子 岡山大資源生科研が発見 小麦の根から防御機能物質 作物の安定収穫期待	2002/12/28	山陽新聞朝刊
来て見て学んで楽しんで 植物と暮らし題材にシンポ 岡山で 30 日	2002/03/28	山陽新聞朝刊
キャンパスかわら版 ノートルダム清心女子大/岡山県立大/岡山大/情報待ってます	2002/03/25	山陽新聞朝刊
◎岡山大付属病院の院長に清水教授	2002/02/09	中国新聞朝刊
酸性土壌に強い遺伝子発見	2002/1/15	産経新聞朝刊
耐性遺伝子組み込む 酸性土壌で育つ大麦 栽培に成功	2005/1/4	山陽新聞朝刊
第 42 回 読売農学賞 受賞者決まる 酸性土壌における生産性の向上を目的としたアルミニウム毒性機構の解析と耐性植物の作出	2005/4/4	読売新聞朝刊

## (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
植物が生産する低分子化合物による Al ストレス耐性獲得の分子機構	1997-1999	日本学術振興会	科研基盤 B	研究代表者：松本英明
高等植物におけるアルミニウム毒性の発現とカルシウムの作用	1998-1999	日本学術振興会	特別研究員奨励費	研究代表者：松本英明
植物のアルミニウム障害における脂質過酸化の関与ならびに防御機構	1998-1999	日本学術振興会	基盤研究 (C)	研究代表者：山本洋子
植物の膜機能からみた環境ストレスに対する耐性獲得の戦略	1998-2000	日本学術振興会	国際共同研究 (日韓科学協力事業)	-
植物のアルミニウム耐性機構に関する研究	1999	日本学術振興会	特別研究員奨励費	研究代表者：松本英明
植物の Al ストレスに対する応答反応の解析と耐性植物の作出に関する基礎研究	1999-2001	日本学術振興会	基盤研究 (A)(2)	研究代表者：松本英明
植物におけるアルミニウム障害と耐性発現の制御機構	2002-2003	日本学術振興会	国際共同研究 (日米科学協力事業)	-
植物のアルミニウム毒性に対する耐性分子機構の解明と耐性植物の作出	2002-2004	日本学術振興会	基盤研究 (A)(2)	研究代表者：松本英明
植物細胞においてアルミニウムが誘発するミトコンドリア機能障害による細胞死の解析	2002-2004	日本学術振興会	基盤研究 (C)	研究代表者：山本洋子
植物のアルミニウム障害と耐性に関与するカリシウム分子機構	2003-2004	日本学術振興会	国際共同研究 (日豪科学協力事業)	-
植物のアルミニウム耐性遺伝子の分離とその機能解析にもとづく分子育種への応用	2003-2005	日本学術振興会	特別研究員奨励費	研究代表者：松本英明
アルミニウムによるショ糖の輸送阻害に基づく植物生育抑制機構の解明	2005-2007	日本学術振興会	基盤研究 (B)	研究代表者：山本洋子
アルミニウム活性化型有機酸トランスポーターの分子機構	2005-2008	日本学術振興会	特定領域研究	研究代表者：佐々木孝行

### (7) 受賞データ

受賞年	賞	受賞内容
1993年	日本土壌肥料学会賞	アルミニウムを中心としたイオンストレスによる植物の障害と耐性機構に関する研究
2004年	財団法人 山下太郎 顕彰育英会 学術研究奨励賞	コムギのアルミニウム耐性遺伝子：アルミニウム活性型リンゴ酸輸送体遺伝子の発見とその応用 (佐々木孝行)
2005年	日本農学賞 読売農学賞	酸性土壌における生産性の向上を目的としたアルミニウム毒性機構の解析と耐性植物の作出 (松本英明)

### (8) 主な講演・シンポジウム開催データ

開催日	場所	講演・シンポジウムタイトル
2002年 11月2日	東京大学弥生講堂	日本学術会議シンポジウム 21世紀の食料・環境問題に向けて—植物栄養学からのアプローチ— 講演：酸性土壌に多い毒性アルミニウムによる植物の傷害と抵抗性の仕組み (松本英明) 山本洋子 (オーガナイザー)
2002年 3月30日	日本植物生理学会 2002年度年会および第42回シンポジウム	シンポジウム8 「根圏環境における植物の適応応答」 松本英明、山本洋子 (オーガナイザー)
2002年 9月15日-16日	倉敷市芸文館	International Symposium on Impact of Potential Tolerance of Plants on the Increased Productivity under Aluminum Stress 松本英明、山本洋子 (オーガナイザー)
2004年 8月7日	岡山大学資源生物科学研究所	International Symposium in Kurashiki Al Stress Research in Plants Present Status and New Directions for Future 松本英明、佐々木孝行 (オーガナイザー)
2004年 8月1日-5日	仙台市	6th International symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH 基調講演 Molecular aspect of Al tolerance in crop plants: Novel Al-activated malate transporter gene in wheat roots 松本英明 (編集委員長)、 Mechanism of internal aluminum toxicity and tolerance in plant cells 山本洋子(組織委員会委員)
2005年 4月5日	東京大学山上会館	日本農学賞受賞講演 酸性土壌における生産性の向上を目的としたアルミニウム毒性機構の解析と耐性植物の作出 松本英明
2006年 7月9日-15日	米国ペンシルバニア	18th World Congress of Soil Science, Frontiers of Soil Science における Theater (3.3P Plant responses and Adaptation to Ionic stresses) のオーガナイザー 松本英明・山本洋子

### (9) 学会役員歴データ

年	学会名	役職
2000-2003 (第18期) 2004-2005 (第19期)	日本学術会議	土壌・肥料・植物栄養学研究連絡委員会 研究連絡委員 (山本洋子)
2004-2005	日本植物生理学会	評議委員 (山本洋子)
2004-2007	日本植物生理学会	学会誌 Plant Cell Physiology 編集委員 (山本洋子)
2004-現在	酸性土壌と植物の研究に関する国際組織	運営委員 (International steering committee member of Plant-Soil Interaction at low pH) (山本洋子)
2006-2007	Plant Nutrition & Transport	特定領域研究「植物の養分吸収と循環系」 評価メンバー (松本英明)
2007年～	日本学術会議	連携会員 (松本英明)
	文部科学省科学研究費補助金 特定領域研究	評価者 (松本英明)
2008-2009	日本土壌肥料学会	代議員 (山本洋子)

### (10) 実用化データ

CSIRO Plant Industry のオーストラリア人研究者、マニー・デレーズ博士とピーター・ライアン博士は共同で研究を進め、現在酸性と闘うムギの品種改良を目指した基礎研究が行われている。

#### (付記) 主な調査参考資料

1. 佐々木孝行、山本洋子、化学と生物、43 (9)、2005
2. 佐々木孝行、山本洋子、蛋白質 核酸 酵素、52 (6)、2007
3. 松本英明、根の研究、12(4)、149-162、2003

## 第2節 作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発

ヒアリング協力者	江川 宜伸
本課題における担当	作物の生殖生長期における耐暑性の生理学的小よび遺伝学的解明
現所属および役職	(独) 国際農林水産業研究センター 熱帯・島嶼研究拠点 所長
ヒアリング実施日	2009年1月14日

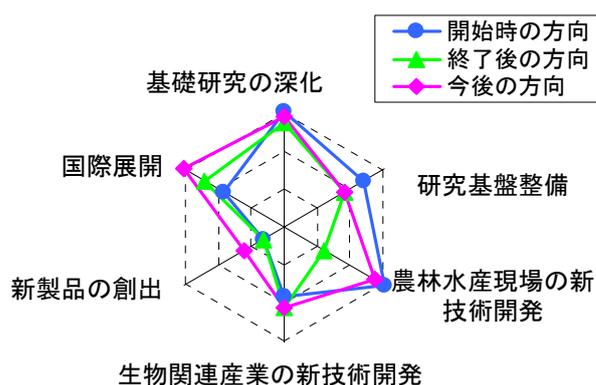
ヒアリング協力者	庄野 真理子
本課題における担当	作物の生殖生長期における耐暑性の生理学的小よび遺伝学的解明
現所属および役職	(独) 国際農林水産業研究センター 熱帯・島嶼研究拠点
ヒアリング実施日	2009年1月14日

### 1. 研究の背景と位置づけ

近年、地球温暖化が徐々に進行していることが社会問題となっており、高温による植物の生産量低下が避けられない状況が危惧されている。また、沖縄等亜熱帯地域の夏場では頻発する異常高温のため作物の安定生産が困難であり、世界の熱帯・亜熱帯地域においては人口の増加に伴い食糧の需要が増大しているが、比較的冷涼な熱帯高地での生産地の拡大が限界に近づきつつあり、熱帯低地での生産向上が強く望まれている。これらの状況の中、食糧供給の観点から作物を安定的に生産するために、耐暑性作物を開発することが望まれている。

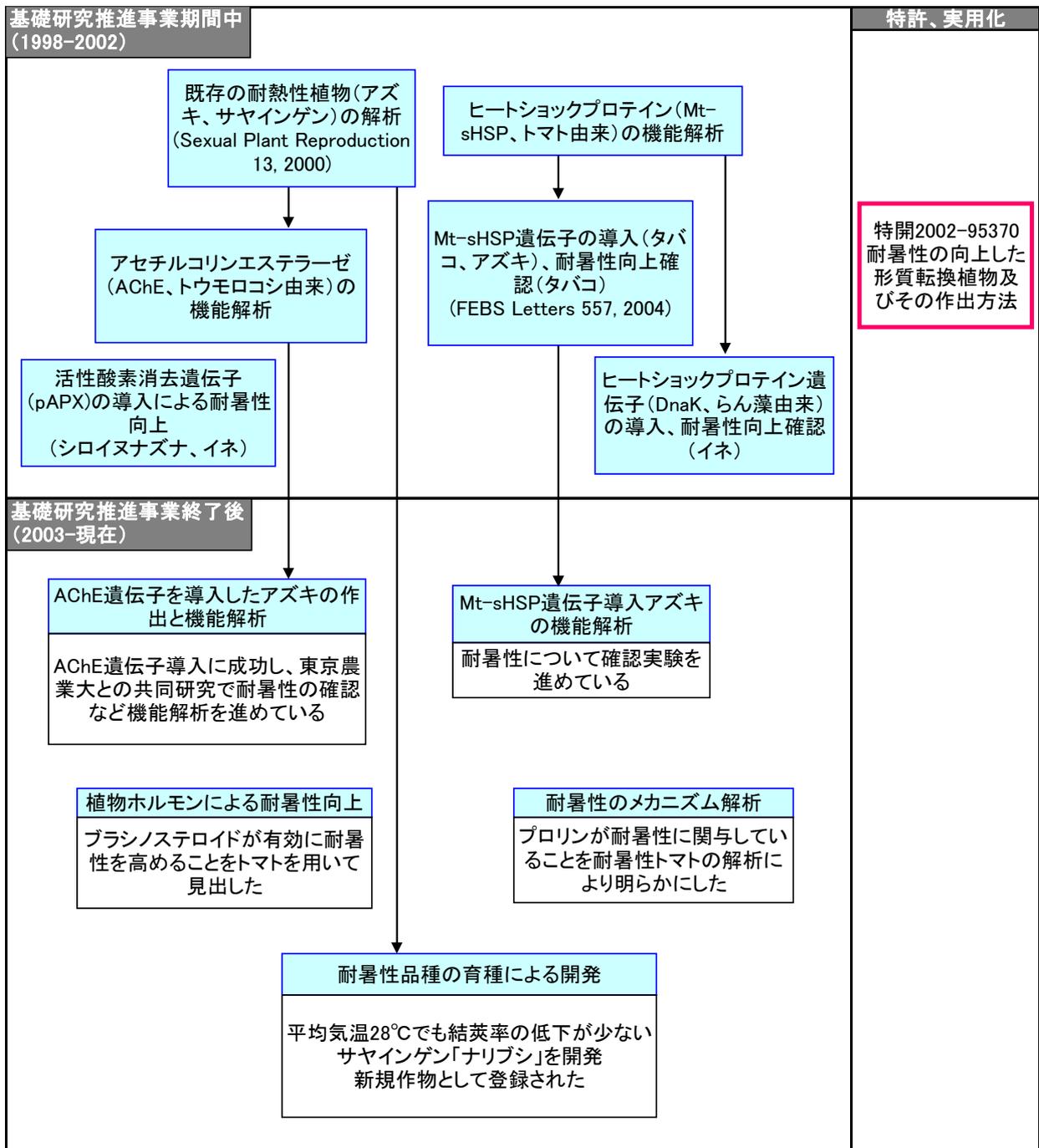
### 2. 研究の展開

基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



開始時は、基礎研究の深化、研究基盤整備ならびに農林水産現場の新技术開発を目的とした。終了後は基礎研究の深化を中心とする方向に絞られたが、今後は基礎研究に加え、農林水産現場の新技术開発にも力を入れ、海外の研究所との共同研究をもとにした国際展開を進めていく。

基礎研究推進事業の開始から終了後現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

本研究では、植物の高温における反応機構を明らかにし、そこから得られた知見をもとにして遺伝的、また育種的手法やバイオテクノロジーの手法を用いて、作物の耐暑性を向上させることを目指し、以下の項目を研究目的として研究を実施した。

- 1) 高温ストレスに応答する物質を探索し、耐暑性発現メカニズムを明らかにする。
- 2) 高温ストレスで発生する遺伝子を探索し、その遺伝子を用いて耐暑性組換え体を作出する。
- 3) 熱帯などに既存の耐暑性遺伝資源を利用して耐暑性作物の育成を行う。

#### (2) 研究内容

本研究では、耐暑性作物と感受性作物の生殖成長期雄性器官で高温ストレスにより不稔になる現象を細胞学的に解析した。また、高温感受性のアズキと熱帯に自生する耐暑性のアズキ近縁野生種の QTL 解析を行い、耐暑性の遺伝的制御について調べた。熱耐性に関連するヒートショックプロテインや活性酸素消去能を持つ遺伝子の導入により、耐暑性付与作物の作成を試みた。さらに、作物の物質輸送に關与するアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 遺伝子の機能を解析し、作物への導入により耐暑性を向上させることを検討した。

#### (研究実施体制)

中課題名	開始	終了	所属 (事業当時)	研究代表者名 (注)
作物の生殖生長期における耐暑性の生理学および遺伝学的解明	10	14	国際農林水産業研究センター	江川 宣伸*
耐暑性に關与する遺伝子の夏作物への導入とその組換え体の解析	10	14	名古屋大学大学院生命農学研究科	高倍 鉄子
アセチルコリンエステラーゼの機能解析とその遺伝子導入による作物の耐暑性の向上	10	14	東京農業大学生物産業学部	桃木 芳枝
ミトコンドリアの機能改良による耐暑性作物の作出に關する研究	10	11	琉球大学理学部	山崎 秀雄

(注) 研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

#### (2) 主な研究成果

- 1) 耐暑性サイインゲン品種「ハイブシ」の生理学的特長を調べることにより、耐暑性品種は高温時の花蕾の浸透ポテンシャルの低下の程度が緩やかであること、高温および高光下での日中の蒸散速度が高く維持されていること、また吸水能力が高く、根における水の吸収制御が一部 AChE により行われていることが分かった。
- 2) 熱帯地域に自生する野生のヒナアズキの DNA マーカー地図を作成し、耐暑性に関連する QTL を検出した。高温下で花粉稔性を高く維持する性質に関連する QTL は 2

種存在し、アズキへの導入を開始した。

- 3) トマトのミトコンドリア型スモールヒートショックプロテイン (Mt-sHSP) の分子シャペロン機能を明らかにし、この遺伝子をタバコに導入することにより耐暑性を向上させることに成功した。また、本遺伝子を導入したアズキも作出した。さらに、ラン藻類のヒートショックプロテインホモログ DnaK 遺伝子の組換え体をタバコとイネで作出し、耐暑性を向上させて種子の収量が約2倍に増大した。
- 4) オオムギのペルオキシソーム型 APX 遺伝子を、アラビドプシス (シロイヌナズナ) とイネに導入し、APX 遺伝子が栄養成長期の熱ストレス耐性を向上させ、生殖期の種子の収量が増大することを確認した。
- 5) アセチルコリンエステラーゼ (AChE) は、耐暑性に優れた作物において応答が認められる上、耐暑性品種の AChE 活性は感受性品種と比較して高く、高温ストレスに対しても活性の変化を示す。トウモロコシの幼苗から、アセチルコリンエステラーゼ 2 種 (88 kDa、44 kDa) を抽出して精製・同定し、遺伝子の全塩基配列を同定した。

#### 4. 事業終了後の状況

##### (1) 研究発展状況

国際農林水産センター・熱帯・島嶼研究拠点では、国内の農業に対する貢献に加え、沖縄の石垣という日本でも高温を示す気候を利用して、海外の熱帯・亜熱帯地域への貢献をも担う国際拠点として位置づけられている。本研究では、事業終了後にインド、中国、バングラデシュ、タイから研究者が訪れ、遺伝子導入技術を用いた組み換え作物の開発や日本が古くから培ってきた育種技術について共同研究を進め、国際貢献を果たしている。また、本事業期間中に耐暑性の分子機構に関与していることが見出されたアセチルコリンエステラーゼについては、アズキへの形質転換が成功し、東京農業大学との共同研究へと展開を拡大している。

##### (2) 新たな研究成果

###### 1) AChE 遺伝子の導入による耐暑性向上

AChE 遺伝子を導入したアズキはこの研究は、東京農業大学との共同研究で種子から増殖を行い、解析を行っている。

###### 2) Mt-sHSP 遺伝子の導入による耐暑性向上

Mt-sHSP を導入したアズキを増殖し、機能解析を続行している。

### 3) 植物ホルモンによる耐暑性向上

スプレー試験によりトマトに植物ホルモンであるブラシノステロイドを与えると、高温条件における収量が増強したため、ブラシノステロイドが耐暑性に有効であることが示唆された。

### 4) 高耐暑性品種の育種による開発

耐暑性が高いインゲンマメの新品種「ナリブシ」を育種の手法により作出し、平成 20 年に登録となった（第 16451 号）。従来、インゲンマメの結莢率は高温により大きく低下するため、高温期の若莢の生産は困難であった。本事業開始時にインゲンマメ「ハイブシ」を育成していたが、平均気温 28℃の高温条件で結莢率の低下が小さい耐暑性を持ち、しかも「ハイブシ」と莢の形状の異なる丸莢のインゲンマメ「ナリブシ」を開発することに成功した。

### 5) 耐暑性のメカニズム解析

トマトの耐暑性は生殖成長段階では認められなかったが、耐暑性を持つトマトの細胞内にプロリンが蓄積しており、耐暑性のないトマトではプロリン蓄積がないことを見出した。また、熱ストレスの他、乾燥や紫外線ストレスの抵抗性にもプロリンが関与していることが明らかになった（図 1）。現在、光合成や水ポテンシャルに関連するストレス抵抗性トマトの生理・生態学的特性の解明、および、ストレス抵抗性と遺伝子発現との関連性を分析してプロリン合成・輸送遺伝子の解析を行っている。

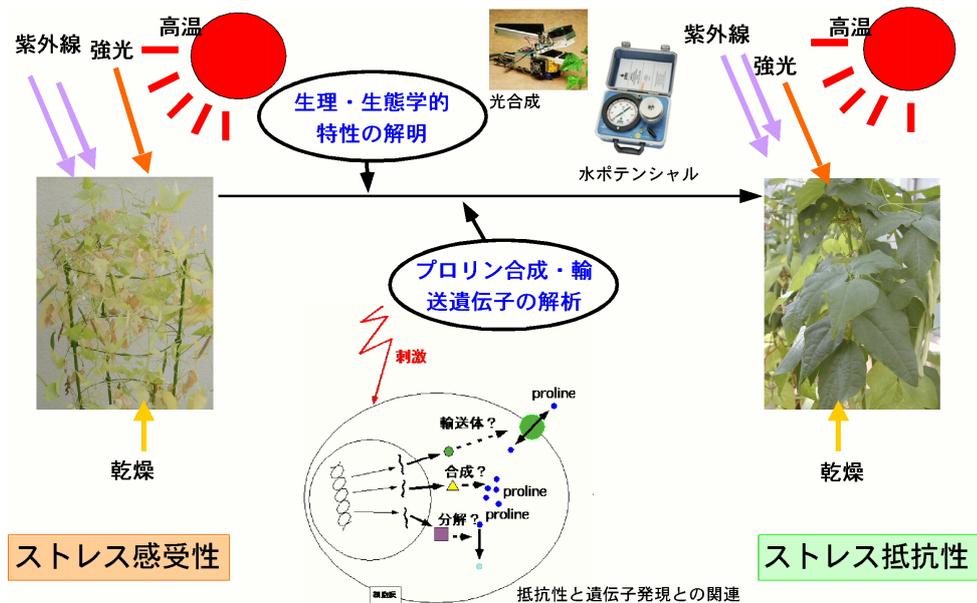


図 1 プロリンによるストレス抵抗性の獲得

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的な波及効果

既存の耐暑能力を持つ植物の耐暑性機能解析を行うことにより、アセチルコリンエステラーゼの作用が明らかとなった。本研究では、暑さに弱いアズキにアセチルコリンエステラーゼ遺伝子を形質転換することにより耐暑性を付与しており、東京農業大学との共同研究などへと研究が拡大している。また、アズキの他にも主要な食糧であるイネやコムギ等に耐暑性を獲得させ、より利用価値の高い植物に応用していくことが今後期待される。また、インゲンマメやトマトの耐暑性に関する学術文献の検索では、本研究者は上位に位置し、この領域の研究での第一人者となっている。事業期間中から現在に至るまで継続的にアジアを中心とした地域からの研究者を受け入れる共同研究も増加しており、耐暑性を付与する研究のアジア等の亜熱帯・熱帯地域での需要が多く、海外からの期待も高い。

#### 2) 産業技術的な波及効果

本研究において育種技術により作出した高温耐性のサヤインゲン「ハイブシ」や「ナリブシ」は、サカタのタネ社をとおして双葉種菌社から販売している。平均気温の高い地域では、夏の間には青い野菜を採るのが困難であるという問題があり、耐暑性の高いサヤインゲンの利用が今後増えることが期待される。遺伝子改変植物については、国内では承認を受けた例がないが、海外では既に市場ができており、今後海外を対象として、耐暑性を付与した形質転換植物の安全性が確認された上で市場に出回ることも考えられる。

#### 3) 社会的な波及効果

現在、地球規模の温暖化が予想され、社会的に様々な取り組みが開始されている。特に熱帯・亜熱帯ではこの温暖化の影響がより大きく影響することが懸念されている。加えて熱帯・亜熱帯に位置する国々では人口増加が著しく 1990 年代に飢餓人口が約 8 億人と言われていたが 2000 年代には約 9 億人になっており、食糧の確保が課題となっている。一方、現在作物が育たない熱帯地域で最適に生育する植物があれば、農地や人員の確保が行いやすい熱帯地域に世界の食糧やバイオエネルギー材料を生産するという構想も考えられる。本研究で目的とされている耐暑性作物の開発は、日本のみならず、世界で食糧が不足しているといわれる熱帯・亜熱帯での食糧増産に寄与する可能性がある。

#### 4) 人材育成の波及効果

事業期間中、及び事業終了後の研究においても中国、インド、パキスタン、タイ、アゼルバイジャン等、アジアを中心とした亜熱帯地域から継続的に研究者が訪れて共同で研究を行っている。これらの研究者は、育種技術や遺伝子改変技術を習得して本国に持ち帰ると共に、熱ストレスに耐える植物の開発をさらに拡大している。

## 5. 有識者コメント

本研究は、地球温暖化の趨勢に対応し、また熱帯・亜熱帯における生物生産拡大のために必要な「作物の耐暑性に関する生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発」に取り組んだ課題である。この研究において具体的な成果が得られ、東京農業大学との共同研究など一部の課題については研究が継続しており、また、品種育成事業の中から耐暑性サヤインゲン品種「ナリブシ」がリリースされる等、研究の発展が認められる、という意見が得られた。

また、地球温暖化ならびに熱帯・亜熱帯における耐暑性の問題は、低緯度地方の課題であり、当該地域の国々における科学研究のレベルは高くないので、我が国の研究者が果たすべき役割は大きく、今後の展開が期待されると評価された。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキングデータ

#### 1) 検索式

内容	検索式	件数	検索式 (JSTPlus)
植物種と付与耐性	L1	369	(インゲンマメ or トマト or タバコ)/CW and ((耐候性 or 耐熱性 or 暑熱ストレス or 高温)/CW or 耐暑性)
1998 年以降	L2	244	L1 and PY>=1998 (1998 年以降)

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
<b>1</b>	<b>33</b>	江川宜伸
1	33	鈴木克己
<b>3</b>	<b>29</b>	庄野真理子
4	17	柏葉晃一
5	16	竹田博之
5	16	塚口直史
5	16	大前英
8	13	KUMAR ASHOK
9	10	高市益行
10	8	中野有加

#### 3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
<b>1</b>	<b>33</b>	国際農林水産業研セ 沖縄支所
2	21	生物系特定産業技術研究推進機構
3	17	JIRCAS
4	14	CCS HARYANA AGRICULTURAL UNIV., HISAR, IND
4	14	農研機構 野菜茶研
6	13	静岡県農試
7	7	愛媛大 農
7	7	千葉大 園芸
9	6	北海道農試
10	4	KYUSHU UNIV., FUKUOKA, JPN

## (2) 成果論文データ

### 1) 主要成果論文

- ・基礎研究推進事業の期間中の主要論文

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	0	0	1	2	1	4
その他	0	0	1	0	1	2

(出典：終了時の研究成果報告書)

- ・基礎研究推進事業の終了以降の主要論文

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	合計
原著論文	2	1	4	1	1	0	9
その他	6	3	1	0	0	0	10

### 2) 論文の被引用数の推移

年	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位 10	39
1998-2002	成果	上位 10	41
2003～	終了後	上位 10	48

### 3) 被引用数上位文献

基礎研究推進事業期間中の論文を白抜き、基礎研究推進事業終了後の論文を緑で示した。

文献 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol	引用数
1	2004	Mitochondrial small heat-shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants	Sanmiya K., Suzuki K., Egawa Y., Shono M.	FEBS Letters	557	26
2	2000	Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) under heat stress	Suzuki K., Takeda H., Tsukaguchi T., Egawa Y.	Sexual Plant Reproduction	13	15
3	2003	Water status of flower buds and leaves as affected by high temperature in heat-tolerant and heat-sensitive cultivars of snap bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Tsukaguchi T., Kawamitsu Y., Takeda H., Suzuki K., Egawa Y.	Plant Production Science	6	11
4	2001	Decrease of pollen stainability of green bean at high temperatures and relationship to heat tolerance	Suzuki K., Tsukaguchi T., Takeda H., Egawa Y.	Journal of the American Society for Horticultural Science	126	10

4) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業期間中の論文

文献No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
2	—	—	0	0	1	2	0	2	5	6	0	16
3	—	—	—	—	—	0	0	3	3	4	1	11
4	—	—	—	0	0	1	0	4	3	2	0	10

・基礎研究推進事業期間終了後の論文

文献No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
1	—	—	—	—	—	—	2	5	5	8	6	26

5) 引用論文の分野

文献 No.	論文 No.									
	1	2	4	5	6	7	8	9	10	
農学、生物科学	23	14	11	10	4	2	2	1	1	
生化学、遺伝学、分子生物学	7	3						1		
医学	2									
環境科学	1	3	1							
免疫学、微生物学		1		1						

(3) 共同研究データ

1) 基礎研究推進事業期間の共同研究先

研究者名	所在国
Jian Liu	中国
Ishwar Singh	インド

2) 基礎研究推進事業終了後の共同研究先

研究者名	所在国
Jian Liu	中国
Ishwar Singh	インド
Jalal ud Din	パキスタン
Payungsak Rauyaree	タイ
Ashok Kumar	インド
Tarlan G. Mamedov	アゼルバイジャン、現在 USA
Prakash C. Nautiyal	インド
Subbarayan Sivakumar	インド

(4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	発明者・考案者	出願人・権利者名	出願日
特開 2002-95370	耐暑性の向上した形質転換植物及びその作出方法	庄野真理子 柳原誠司 江川宜伸 鈴木克己 竹田博之 イシュワルシン 劉箭 三宮一宰 塚口直史	独立行政法人国際農林水産業研究センター 生物系特定産業技術研究推進機構	2000/9/20

#### (5) 報道データ

見出し	出展
生物機能を生かせ：(3) 生研機構、新産業技術創出事業 熱帯・亜熱帯で安定生産	1998/08/26 日本工業新聞
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞
サヤインゲン「ハイブシ」育成、農水省国際農水研究センター	1998/07/23 日本農業新聞
耐暑性サヤインゲン育成へ、農水省国際農研センター	2000/01/20 日本農業新聞
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(2)	2003/03/19 日本工業新聞
国際農林水産業研究センター／暑さに強いインゲンマメ 樹高が低いパパイヤ／新品種2品を開発	2007/03/28 琉球新報
暑さに強い新品種開発／インゲン「ナリブシ」・パパイヤ「石垣珊瑚」／国際農林水産業研究センター	2007/03/28 沖縄タイムス

#### (6) グラントデータ

該当なし

#### (7) 受賞データ

該当なし

#### (8) 主な講演・シンポジウム開催データ

該当なし

#### (9) 学会役員データ

年	学会名	役職
2000年-2001年 2006年-2007年	日本育種学会	会長指名幹事

#### (10) 実用化データ

該当なし

#### (付記) 主な調査参考資料

1. [http://ss.jircas.affrc.go.jp/kankoubutsu/research/seika2003/2003\\_30.html](http://ss.jircas.affrc.go.jp/kankoubutsu/research/seika2003/2003_30.html)
2. [http://ss.jircas.affrc.go.jp/kankoubutsu/research/seika2006/2006\\_22.html](http://ss.jircas.affrc.go.jp/kankoubutsu/research/seika2006/2006_22.html)
3. <http://ryukyushimpo.jp/news/storyid-22479-storytopic-4.html>

### 第3節 植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発

ヒアリング協力者	高辻 博志 ユニット長
現所属および役職	独立行政法人農業生物資源研究所 植物科学領域 耐病性研究ユニット
ヒアリング実施日	2008年12月18日

#### 1. 研究の背景

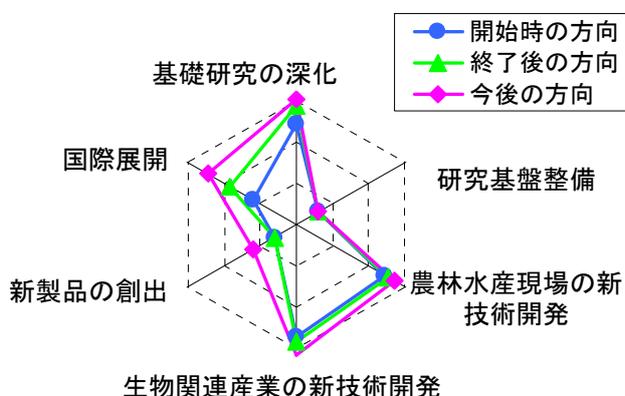
植物の形態形成及び細胞分化の制御は、作物の生産性や作業効率ならびに園芸植物の観賞価値などの農産業と深く関わっている。形態形成、ストレス応答、ホルモン応答をはじめとした植物機能の制御には様々な転写因子が関与していることが明らかになってきており、遺伝的プログラムによって巧妙にコントロールされた形態形成制御の分子機構を解明し、その理解に基づいて植物の形態を任意に制御できれば農業・園芸に貢献するところは大きい。

一方、染色体の高次構造の変化や DNA の修飾 をともなう転写制御、転写因子のタンパク質安定性が基礎となる制御様式などが近年明らかになり、遺伝子の発現制御機構を解明する際には、より広範囲の制御様式を考慮に入れることが必要となってきた。このような状況から、転写因子の機能解明研究も新たな局面を迎えていると考えられる。

本研究では、発現誘導系や遺伝子破壊などの新しい技術を用いてそれぞれの転写因子の機能を深く解明し、個々の現象の分子機構の理解を深めることを目指している。また、解明した分子機構に基づいて植物の形態を遺伝子工学的に改変するための基本的ストラテジーを開発することを目標とする。

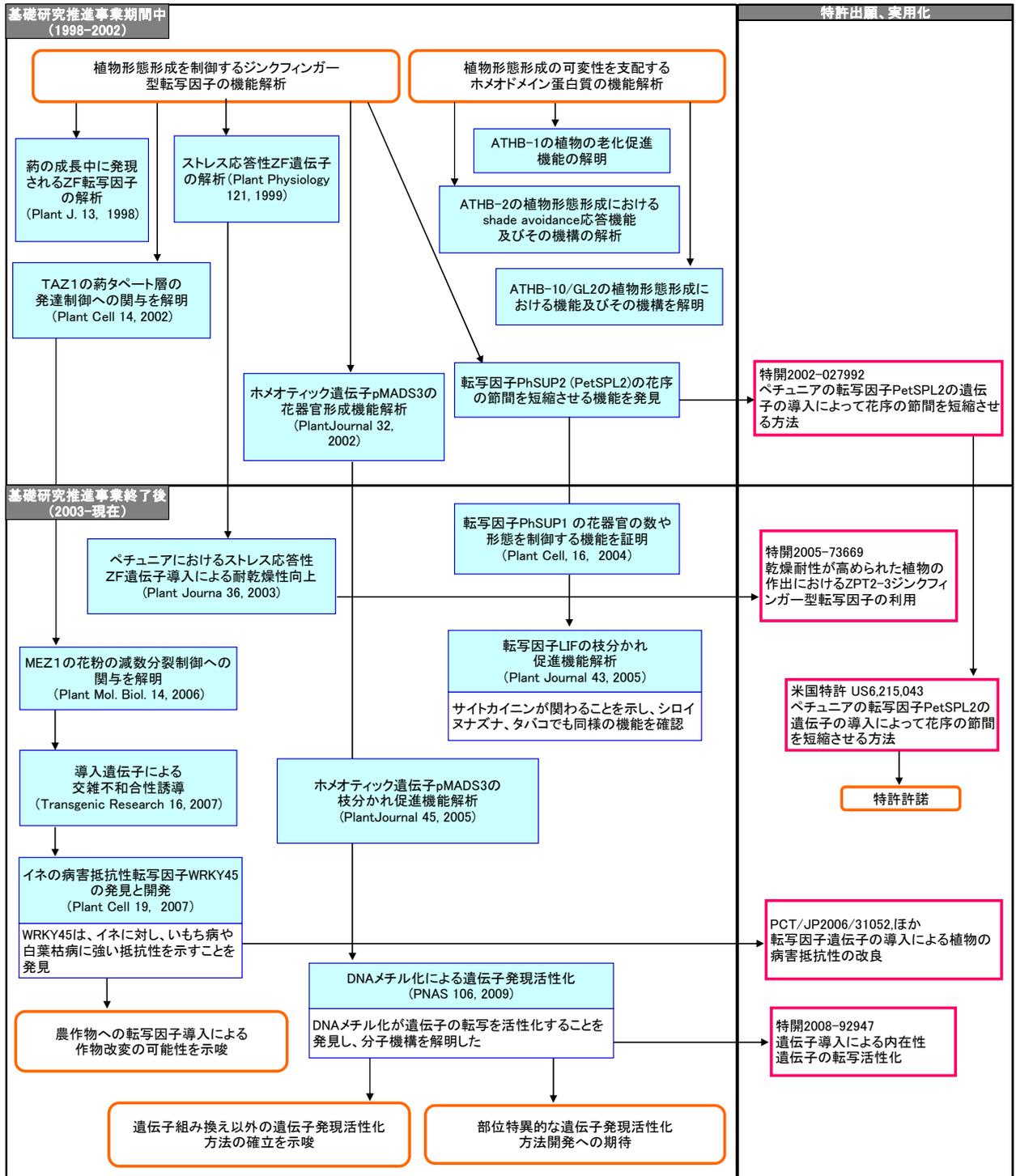
#### 2. 研究の展開

基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



開始時は基礎研究と生物関連産業の新技术開発を主要な目的とし、終了後は農林水産や生物関連産業現場への新技术開発へ展開させた。今後は、海外での共同研究の要請を受けつつ、新技术開発と基礎的研究を充実させていく。

基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

本研究では、ジンクフィンガー型とホメオドメイン型の転写因子に着目し、植物の形態形成や細胞分化の制御機構を解明する。具体的には、枝分かれや shade avoidance 反応などの形態形成や稔性に関連する花粉細胞の分化や発達の制御に重要な影響を及ぼす転写因子を見出し、その作用の分子機構を解明し、その分子機構を利用して植物の形態形成を変換する技術を開発することを目的とした。

#### (2) 研究内容

ペチュニアのジンクフィンガー(ZF)型転写因子およびシロイヌナズナのホメオドメイン(HD)型転写因子について、突然変異体や形質転換体を用いる逆遺伝学的手法によって形態形成、細胞分化における機能を見出し、細胞形態や植物ホルモンの内性量と応答性の解析、標的遺伝子の探索、標的遺伝子の認識機構などを通じてそれぞれの転写因子の作用の分子機構の解明を行った。

#### (研究実施体制)

中課題名	開始	終了	所属 (事業当時)	研究代表者名 (注)
植物形態形成を制御するジンクフィンガー型転写因子の機能解析	10	14	農業生物資源研究所	高辻 博志*
植物形態形成の変異性を支配するホメオドメイン型転写因子の機能解析	10	14	京都大学化学研究所	青山 卓史

(注) 研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

#### (3) 主な研究成果

本研究では、ジンクフィンガー型およびホメオドメイン型の様々な転写因子が持つ機能を、それぞれペチュニアおよびシロイヌナズナを用いて、遺伝子導入による形質転換実験などを用いて明らかにした。

##### 1) 植物形態形成を制御するジンクフィンガー型転写因子の機能解析

- ・ペチュニアの頂芽優勢、節間伸長、花器官発達におけるジンクフィンガー型転写因子の機能解析

ペチュニアのジンクフィンガー遺伝子 LIF を導入して過剰発現する形質転換体について、生長すると著しい枝分かれの亢進を示した。LIF 過剰発現による枝分かれの促進は、サイトカイニンレベルの上昇によってもたらされた。また、LIF 過剰発現形質転換体では、花卉の表皮細胞において外側の細胞にのみ肥大が認められ、不均等な細胞の肥大によって花卉の湾曲がもたらされ、独特の星状の形状

を示すことが分かった。

また、PhSUP 2 (PetSPL2) 遺伝子は細胞伸張制御機構に関与しており、過剰発現により節間伸長の抑制によりペチュニアの矮化を引き起こすことを突き止めた。

シロイヌナズナ *SUP* のペチュニア・ホモログである PhSUP1 は、SUP と同様の花の器官数を決定する機能以外に、細胞分裂制御を介した葯や胚珠の形態形成など、ペチュニア特有の機能を有することを明らかにした。

- ・葯および花粉の発達に果たすジンクフィンガー型転写因子の役割の解析

ペチュニアの TAZ1 遺伝子がタペト層の発達制御に関与していることを見出した。TAZ1 遺伝子は四分子期前後の葯のタペト層に特異的に発現しており、TAZ1 のサイレンシングによってタペト層の発達が異常になり、花粉の発達も影響を受けることが分かった。

ペチュニアの MEZ1 遺伝子は、花粉の減数分裂と胚乳の発達に関与していることを明らかにした。MEZ1 は TAZ1 よりわずかに遅れて発現のピークを示し、花粉母細胞に特異的に発現した後タペト層にも発現した。MEZ1 のサイレンシングによって花粉の減数分裂に異常をきたし、雌性配偶子にも影響を及ぼした。TAZ1 または MEZ1 遺伝子の導入により、雄性不稔形質を導入することができた。

- ・ストレス応答性ジンクフィンガー遺伝子の解析

ジンクフィンガーモチーフを 2 個含む ZPT2-2 や ZPT2-3 遺伝子は、ストレス応答性および植物ホルモン応答性の発現を示した。ZPT2-3 を過剰発現させると乾燥耐性が高まることを示した。

- ・ホメオティック遺伝子 pMADS3 の機能解析

ペチュニアの花の pMADS3 遺伝子は、雄ずいと雌ずいの特異性を決定する機能、および花序の分裂組織への回帰を抑制する機能を持つことが明らかとなった。pMADS3 遺伝子を発現抑制すると花卉の二重化などの形質が得られた。

## 2) 植物形態形成の可変性を支配するホメオドメイン蛋白質の機能解析

- ・ATHB-1 の植物形態形成における機能及びその機構

シロイヌナズナにおいて ATHB-1 は葉の老化を促進することが示された。また、ATHB-1 は葉のみでなく、花序などのシンク組織においても、老化に伴う栄養素の転流や代謝の制御に関わっていることが示唆された。

- ・ATHB-2 の植物形態形成における機能及びその機構

シロイヌナズナの ATHB-2 遺伝子は shade avoidance 応答における形態的变化

において中心的な働きをしていることが明らかとなった。更に、標的遺伝子の探索からその過程にはホメオドメイン型転写因子相互の遺伝子発現が介在しており、ATHB-2 が転写抑制因子であることが示唆された。

- ATHB-10/GL2 の植物形態形成における機能及びその機構

ATHB-10/GL2 遺伝子はトライコームの形態形成、ならびに発生パターン形成の制御機構に関与していることが示された。また、ATHB-10/GL2 遺伝子は根毛発生の制御において、転写抑制因子として働くと結論された。

#### 4. 事業終了後の状況

##### (1) 研究発展状況

基礎研究推進事業の終了後、本事業に関連した転写因子についての研究テーマとしては、ペチュニアの pMADS3 遺伝子および PetSPL2(PhSUP 2)遺伝子の機能の詳細な研究を進めた。花の形態に影響を与える転写因子 pMADS3 の研究ではその転写制御の分子機構を詳細に解析し、転写制御における DNA メチル化の新たな機能の発見につながった。矮化に関連する転写因子 PetSPL2 については米国特許 US6,215,043 B1 を取得し、平成 18 年 11 月 14 日に特許ライセンスを行った。また、基礎研究推進事業で蓄積した遺伝子工学や遺伝学に関する手法や知見を活用して、農業生物資源研究所の研究の主軸となっているイネを研究ターゲットとし、転写因子の研究を精力的に進めて植物の病害に対する抵抗性遺伝子 WRKY45 を発見した。これらの研究は、文部科学省化学振興調整費（平成 11 年から 15 年）ゲノムの環境応答に関する研究「植物の分化制御に関わるゲノム機構の解明に関する研究」や農林水産省委託研究「有用遺伝子活用のためのイネゲノム育種による効率的品種育成技術の開発」および「新農業展開プロジェクト」などによる農業生物資源研究所における研究や、筑波大学連携大学院生命環境科学研究科の連携大学院（教授兼務）において実施しており、学術的に重要な知見を蓄積してきた。WRKY45 の研究では 2007 年農林水産研究 10 大トピックスの第一位に選定され、現在飼料用イネを対象として事業化に向けて 5 年間の農林水産省の研究プロジェクトが進行中である。

##### (2) 新たな研究成果

###### 1) DNA メチル化による遺伝子発現活性化

ペチュニアのおしべとめしべの形成を方向づける転写因子 pMADS3 が既知のメカニズムでは説明できない状況で花びらで活性化することにより、花びらが雄しべに変化する現象を見出し、その分子機構に DNA メチル化が関与していることを突き止めた（図 1）。この機構では、pMADS3 遺伝子の内部にある転写抑制配列の DNA にメチル化が起こることにより、pMADS3 遺伝子の転写が活性化されていた。また、この DNA メチル化による遺伝子機能の活性化は次の世代にも継承されることも分かった。これまでの知見では、DNA メチル化は遺伝子発現の抑制（gene silencing）を引き起こすとして一般的に知られていたが、本研究において、DNA メチル化が、その逆に遺伝子の転写の促進により遺伝子発現を増強することが明らかとなり、動・植物を含めた世界で最初の発見例になった。さらに、DNA メチル化による転写活性化は、ターゲット配列の逆反復 RNA を発現させることによって人為的に誘導できることを示し、人為的な遺伝子発現制御にも利用できることを示した。

###### 2) ペチュニアの転写因子 PetSPL2 遺伝子による枝分かれ促進

ペチュニア由来の転写因子 PetSPL2 は、過剰発現すると茎の伸長抑制により植物

を矮化させ、強風でも植物が倒れにくくなる効果が得られる。米国特許 US6,215,043 B1 (平成 18 年 11 月 14 日許諾)「ペチュニアの転写因子 PetSPL2 の遺伝子の導入によって花序の節間を短縮させる方法」を取得した。国内では遺伝子組み換え体は認められていないが、米国の企業が興味を持ち特許許諾を与えた。

### 3) イネの誘導病害抵抗性に関わる転写因子 WRKY45 の発見とその利用

イネに病害抵抗性を誘導する抵抗性誘導剤ベンゾチアジアゾールの作用に転写因子 WRKY45 が必須の役割を担うことを見出し、この転写因子を過剰発現させたイネが、いもち病および白葉枯病等の複数の病害に極めて強い抵抗性を示すことを明らかにした (図 2)。詳しい分子機構解析の結果、WRKY45 は数百もの病害抵抗性遺伝子の発現を制御する転写因子で、植物が病害に抵抗する力を活性化する機能を持っていることが明らかとなった。コムギなどイネ以外の植物にも利用できると思われる。さまざまな作物の農薬依存度を大幅に減らすことも可能と期待される。

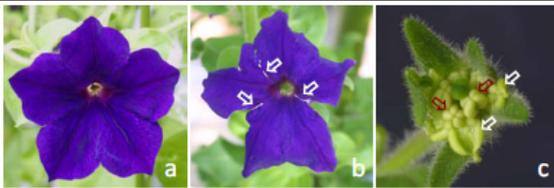


図1 pMADS3遺伝子の発現異常によって表れた花卉の雄しべ化

a.正常なペチュニアの花。b.内在性 pMADS3 遺伝子が花卉に異所的発現した結果、花卉の一部が葯化したペチュニア。c.内在性 pMADS3 遺伝子が花卉に強く異所的発現した結果、花卉が雄しべ化した (白矢印) ペチュニア。赤矢印は本来の雄しべ。

出典：農業生物資源研究所のプレスリリース



図3 PetSPL2 の矮化促進効果

ペチュニア由来の転写因子PetSPL2は、茎の伸長抑制による矮化を促進し、強風で倒れにくくすることを確認。特許ライセンスを行った。

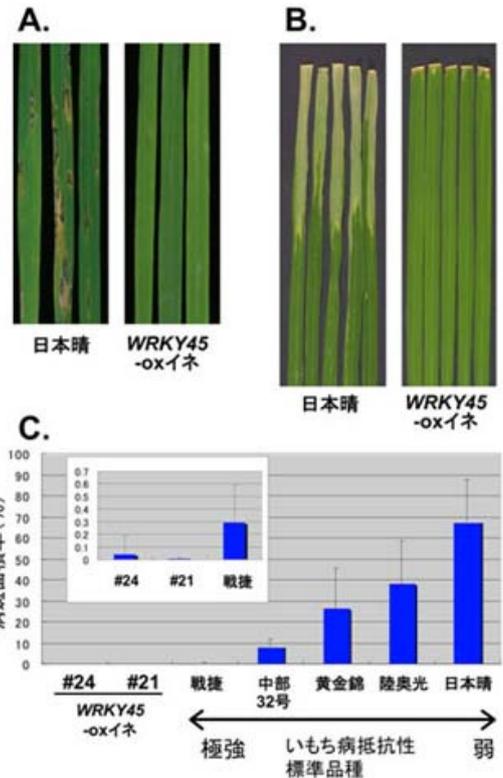


図2 WRKY45 のイネいもち病および白葉枯病の抵抗性

A.いもち病抵抗性。B.白葉枯病抵抗性。C.いもち病抵抗性は、極強の抵抗性品種「戦捷」より強い。

出典：農林水産研究情報総合案内のホームページ

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的な波及効果

基礎研究推進事業の期間中は植物の種々の転写因子を解析し、機能解明を行ったが、その後、研究テーマを2つの遺伝子に絞り、イネの転写因子の研究にも着手している。発表論文も、農学分野ならびに分子生物学や医学分野などの方面など広く引用されている。特に pMADS3 の研究については、花のおしべ化への詳細な分子機構を解明して新たな発見をした。DNA メチル化が、従来知られていた遺伝子サイレンシングとは逆に、遺伝子発現の活性化を引き起こすことを発見し、エピジェネティクスの新たな分野を開拓した。今回はペチュニアを材料として成果を上げたが、植物種に限らない新たな遺伝子発現制御技術として汎用化を目指すこともでき、新規の遺伝子発現の活性化法として技術的発展性が見込まれる。

#### 2) 産業技術的な波及効果

DNA メチル化の一部は次の世代にも受け継がれていくため、DNA メチル化によって導入された遺伝子発現活性化とそれによってもたらされる形質は世代を越えて残っていく。DNA メチル化は「DNA 組換え」の範疇には入らないため、現在国内で受け入れが困難な遺伝子組換え作物に較べて受け入れられやすいと考えられる。特定の遺伝子の発現を任意の組織で活性化させる新たな技術として、応用面でも利用が広がると期待される。産業化目的のため、論文発表以外にも各国への特許出願も行われている。

また、WRKY45 遺伝子の導入による植物の病原抵抗性獲得の手法については、現在、飼料用イネとしての産業化を視野に入れており、5年間のプロジェクトが開始されている。海外の研究グループもこの技術に興味を示しており、ムギ、トウモロコシ、サトウキビなども対象とした品種開発に発展する可能性もある。

転写因子 PetSPL2 遺伝子による矮化促進技術は、国内より海外から興味をもたれ、特許許諾に至った。

#### 3) 社会的な波及効果

遺伝子組換えによる作物の改良は、従来育種では困難な形質改良が達成される場合特に重要である。たとえば WRKY45 を過剰発現すると特定の病気だけでなく様々な病気に抵抗性になる。これが達成できれば、無農薬または減農薬による経費や労働コストの削減、環境負荷の低減が可能になると期待される。エネルギー問題に関し、バイオエタノールの原料となる作物は低コスト栽培が必須であるため、無農薬・減農薬粗放栽培が可能な組換え体の価値は非常に大きい。将来的には食料不足の解決にも発展する可能性もある。米国を含む諸外国では、バイオエタノールを含め様々な用途に組換え植物がすでに大規模に用いられている。今後日本でも、遺伝子改変や DNA メチル化等のエピジェネティクスのコントロール技術を活用し、食糧問題、環境問題、

エネルギー問題などの社会問題の解決に貢献していくことが望まれる。

#### 4) 人材育成の効果

- ・人材輩出：新しいポジションを得た人は4人いる。(インドや北海道、高崎、鳥取で)
- ・人材育成：研究指導、論文指導を通じて特別研究員等の若手の指導に力を入れている。筑波大学連携大学院として教育・指導および学位の授与ができる。
- ・海外留学：3人留学した。また、海外からここに留学したいという希望は多い。中国が最も多く、インド、バングラデッシュ、韓国などアジアの国々が主である。

### 5. 有識者コメント

本研究は、ペチュニアを材料としてジンクフィンガー型転写因子を、また、アラビドプシスを用いてのホメオドメイン型の転写因子の植物の形態形成、細胞分化における機能を解析し、植物の形態形成を改変する技術に活用しようとしてものである。本研究の期間中には、いくつかの転写因子の機能が明らかになったが、その中で、ストレス応答性が高まる転写因子が明らかにされた。本研究終了後、本研究グループは、材料をイネに集中し、転写因子の導入による機能改変作物の創出を目指し、イネの病害抵抗性転写因子 WRKY45 を見いだすとともに、それを導入イネが病害抵抗性を示すことを明らかにした。この結果は、本研究の過程で検討された転写因子を用いた形態形成や形質の変換が、実用レベルでも可能なことが実証されたことで、意味のあることであるとの見解が得られた。

また、本研究グループは、転写因子ではないが、DNAメチル化により転写活性が強まることがあることを示し、新たな遺伝子発現活性化の手法の開発の可能性を示している。現在、我が国では、遺伝子組み換え作物の実用化には、いろいろなバリエーションがあるが、機能改変作物の作出手法の開発、また、それに用いることが出来る遺伝子の発見は、重要な課題であり、現時点では、こうしたデータを将来に向けて積み上げ、圃場レベルでの実験を行っていくことが必要である。そうしてそれらのデータや形質転換植物試料が、将来の国際的な食糧問題にも貢献することが期待される。その点で、本研究は作物の機能改変の一つの方向性を示したということ意義があると評された。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキング

#### 1) 検索式

内容	番号	件数	検索式 (CA)
ジンクフィンガー/MADS BOX	L1	13181	ZINC(W)FINGER OR MADS(W)BOX
転写因子/転写制御、植物/花	L2	659	L1(S)(TRANSCRIPT?(W)(FACTOR# OR REGULAT?)) AND (FLOWER OR PLANT#)
MADS、遺伝子発現、植物/花	L3	1266	MADS#
	L4	253441	GENE(W)EXPRESS?
	L5	237	L3 AND L4 AND (FLOWER OR PLANT#)
誘導・制御、サリチル酸、植物/花	L6	311	(INDUC?(A)RESISTAN? OR PLANT(W)ACTIVATOR) AND (SALICYLIC(W)ACID) AND (FLOWER OR PLANT#)
1998 年以降	L7	1118	L2 OR L5 OR L6
	L8	999	L7 AND PY>=1998

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	25	SAEDLER, HEINZ
2	17	ANGENENT, GERCO C.
<b>3</b>	<b>16</b>	<b>TAKATSUJI, HIROSHI</b>
4	15	AESCHLIMAN, DANA
4	15	BARBER, SARAH
4	15	BENOIT, FRANCOIS
4	15	BOHLMANN, JORG
4	15	BUTTERFIELD, YARON S. N.
4	15	CHUN, ELIZABETH
4	15	COOPER, DAWN

#### 3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
1	19	UTRECHT UNIVERSITY
2	16	CHINESE ACADEMY OF SCIENCES
2	16	UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA
4	14	TOHOKU UNIVERSITY
5	13	SANGAMO BIOSCIENCES INC
6	12	MAX PLANCK INSTITUTE FOR PLANT BREEDING RESEARCH
6	12	PLANT RESEARCH INTERNATIONAL
8	11	NANJING AGRICULTURAL UNIVERSITY
<b>9</b>	<b>9</b>	<b>NATIONAL INSTITUTE OF AGROBIOLOGICAL SCIENCES、NATIONAL INSTITUTE OF AGROBIOLOGICAL RESOURCES MINI</b>
9	9	THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE
9	9	UNIVERSITA DEGLI STUDI DI MILANO
9	9	YALE UNIVERSITY

## (2) 成果論文データ

### 1) 主要成果論文

・基礎研究推進事業の期間中の主要論文

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	3	2	1	1	2	9
その他	0	2	3	1	0	6

(出典：終了時の研究成果報告書)

・基礎研究推進事業の終了以降の主要論文

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	合計
原著論文	1	1	2	1	3	2	3	13
その他	2	1	0	0	4	6	3	16

### 2) 論文の被引用数の推移

年	基礎研究推進事業	対象論文	引用数
～1997	以前	引用上位 10 報	261
1998-2002	成果	引用上位 10 報	299
2003～	終了後	引用上位 10 報	74

### 3) 被引用上位文献

基礎研究推進事業の期間中の成果論文を白抜きで、終了後の成果論文を緑で示した。

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal Title	Vol.	引用数
1	1998	Zinc-finger transcription factors in plants	Takatsuji H.	Cellular and Molecular Life Sciences	54	72
2	1999	Zinc-finger proteins: The classical zinc finger emerges in contemporary plant science	Takatsuji H.	Plant Molecular Biology	39	58
3	2002	Silencing of the tapetum-specific zinc finger gene TAZ1 causes premature degeneration of tapetum and pollen abortion in Petunia	Kapoor S., Kobayashi A., Takatsuji H.	Plant Cell	14	39
4	1998	CYS2/His2 zinc-finger protein family of petunia: Evolution and general mechanism of target-sequence recognition	Kubo K.-I., Sakamoto A., Kobayashi A., Rybka Z., Kanno Y., Nakagawa H., Nishino T., Takatsuji H.	Nucleic Acids Research	26	35
5	1999	Developmental and wound-, cold-, desiccation-, ultraviolet-B-stress-induced modulations in the expression of the petunia zinc finger transcription factor gene ZPT2-2	Van Der Krol A.R., Van Poecke R.M.P., Vorst O.F.J., Voogt C., Van Leeuwen W., Borst-Vrengen T.W.M., Takatsuji H., Van Der Plas L.H.W.	Plant Physiology	121	31

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal Title	Vol.	引用数
6	2003	Stress-responsive zinc finger gene ZPT2-3 plays a role in drought tolerance in petunia	Sugano S., Kaminaka H., Rybka Z., Catala R., Salinas J., Matsui K., Ohme-Takagi M., Takatsuji H.	Plant Journal	36	28
7	1998	Seven zinc-finger transcription factors are expressed sequentially during the development of anthers in petunia	Kobayashi A., Sakamoto A., Kubo K., Rybka Z., Kanno Y., Takatsuji H.	Plant Journal	13	23
8	2002	Role of petunia pMADS3 in determination of floral organ and meristem identity, as revealed by its loss of function	Kapoor M., Tsuda S., Tanaka Y., Mayama T., Okuyama Y., Tsuchimoto S., Takatsuji H.	Plant Journal	32	20
9	2004	The petunia ortholog of arabidopsis SUPERMAN plays a distinct role in floral organ morphogenesis	Nakagawa H., Ferrario S., Angenent G.C., Kobayashi A., Takatsuji H.	Plant Cell	16	15
10	2001	The Plant Zinc Finger Protein ZPT2-2 Has a Unique Mode of DNA Interaction	Yoshioka K.-I., Fukushima S., Yamazaki T., Yoshida M., Takatsuji H.	Journal of Biological Chemistry	276	15
11	2005	Overexpression of a petunia zinc-finger gene alters cytokinin metabolism and plant forms	Nakagawa H., Mander L.N., Takatsuji H., Jiang C.-J., Sakakibara H., Kojima M., Honda I., Ajisaka H., Nishijima T., Koshioka M., Homma T.	Plant Journal	41	12
12	2007	Rice WRKY45 plays a crucial role in benzothiadiazole-inducible blast resistance	Shimono M., Sugano S., Nakayama A., Jiang C.-J., Ono K., Toki S., Takatsuji H.	Plant Cell	19	10

#### 4) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業期間中の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
1	1	6	8	7	9	5	4	8	10	8	6	72
2	—	1	8	4	4	7	9	6	4	7	8	58
3	—	—	—	—	0	5	8	7	7	6	6	39
4	1	2	5	1	3	2	4	7	2	4	4	35
5	—	0	0	4	4	4	5	4	3	5	2	31
7	1	2	4	3	2	1	2	2	1	3	2	23
8	—	—	—	—	0	5	5	3	3	2	2	20
10	—	—	—	0	3	2	4	2	1	1	2	15

・基礎研究推進事業終了後の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
6	—	—	—	—	—	0	2	7	3	10	6	28
9	—	—	—	—	—	—	0	6	3	3	3	15
11	—	—	—	—	—	—	—	1	2	6	3	12
12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	10	10

5) 引用論文の分野

分野	文献 No.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
生化学、遺伝学、分子生物学	48	37	21	25	14	16	17	11	7	11
農学、生物科学	32	26	28	10	19	16	14	13	10	6
医学	8	5	4	2	2			3		1
免疫学、微生物学	3	2		1		1				1
化学	2	2	1	1						1
化学工学	1	1	1							
工学	1									
環境科学	1									
薬学、毒性学、薬剤学	1	2		1						1
医療			1					1		
多分野	6	2		1				1		

(3) 共同研究先データ

1) 基礎研究推進事業での共同研究先

該当なし

2) 基礎研究推進事業以降の共同研究先

該当なし

#### (4) 特許出願データ

##### (1) 基礎研究推進事業終了以降の主要特許出願

公開番号 登録番号	発明・考案の名称	発明者・考案者	出願人・権利者名	出願日
特開平 11-262390 登録特許 3054694	植物の形態を変化させる転写因子の 遺伝子およびその利用	高辻博志、中川仁	農林水産省農業生物 資源研究所長	1998/ 3/16
特開 2000-50873 登録特許 3357907	ペチュニアの転写因子 PetSPL2 の遺 伝子の導入によって花序の節間を短 縮させる方法	高辻博志、中川仁	農林水産省農業生物 資源研究所長	1998/ 8/7
特開 2001-145430 登録特許 3952246	花粉特異的ジंकフィンガー転写因子の遺 伝子を用いて花粉稔性を低下させる 方法	高辻博志、カプ ール サンジャエ、 小林晃	独立行政法人農業生 物資源研究所 独立 行政法人農業食品産 業技術総合研究機構	1999. 11.19
特開 2002-125684 登録特許 3943321	MADS ボックス遺伝子を標的とした 植物に花型の改良	高辻博志、ミヌ・ カプール	独立行政法人農業生 物資源研究所 独立 行政法人農業食品産 業技術総合研究機構	2000. 10.30
特開 2003-92936	タペート層特異的ジंकフィンガー 転写因子の遺伝子を用いて花粉稔性 を低下させる方法	カプールサンジ ャエ 小林晃 高 辻博志	独立行政法人農業生 物資源研究所 生物系 特定産業技術研究推 進機構	1999/ 11/19
特開 2003-92937	花粉特異的ジंकフィンガー転写因 子の遺伝子を用いて花粉稔性を低下 させる方法	カプールサンジ ャエ 小林晃 高 辻博志	独立行政法人農業生 物資源研究所 生物系 特定産業技術研究推 進機構	1999/ 11/19
特開 2003-319780	花粉特異的ジंकフィンガー転写因 子の遺伝子を用いて花粉稔性を低下 させる方法	カプールサンジ ャエ 小林晃 高 辻博志	独立行政法人農業生 物資源研究所 生物系 特定産業技術研究推 進機構	1999/ 11/19
特開 2004-197	タペート層特異的ジंकフィンガー 転写因子の遺伝子を用いて花粉稔性 を低下させる方法	カプールサンジ ャエ 小林晃 高 辻博志	独立行政法人農業生 物資源研究所 生物系 特定産業技術研究推 進機構	2003/ 4/15
特開 2005-73669 登録特許 4238358	乾燥耐性が高められた植物の作出に おける、ZPT2-3 ジंकフィンガー型 転写因子の利用	高辻博志 菅野正 治 上中弘典	独立行政法人農業生 物資源研究所	2003/ 9/3
特開 2006-109766	遺伝子導入による植物の交雑特性の 改変	高辻博志 久保健 一	独立行政法人農業生 物資源研究所	2004/ 10/15
特開 2006-158402	タペート層特異的ジंकフィンガー 転写因子の遺伝子を用いて花粉稔性 を低下させる方法	カプールサンジ ャエ 小林晃 高 辻博志	独立行政法人農業生 物資源研究所 独立行 政法人農業食品産業 技術総合研究機構	2006/ 1/20
特開 2007-202561	花粉特異的ジंकフィンガー転写因 子の遺伝子を用いて花粉稔性を低下 させる方法	カプールサンジ ャエ 小林晃 高 辻博志	独立行政法人農業生 物資源研究所 独立行 政法人農業食品産業 技術総合研究機構	2007/ 2/23

公開番号 登録番号	発明・考案の名称	発明者・考案者	出願人・権利者名	出願日
特開 2007-295934	雌しべの各組織に特異的な活性を有するプロモーターおよびその利用	高辻博志	独立行政法人農業生物資源研究所 独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構	2007/ 7/3
特開 2008-92947	遺伝子導入による内在性遺伝子の転写活性化	高辻博志 渋谷健市	独立行政法人農業生物資源研究所	2007/ 9/11
WO2000/ 071704 登録特許 4134281	雌しべの各組織に特異的な活性を有するプロモーターおよびその利用	高辻博志	独立行政法人農業生物資源研究所 独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構	1999. 5.21
WO2006/ 126671	転写因子遺伝子の導入による植物の病害抵抗性の改良	高辻博志、菅野正治、霜野真幸、姜昌杰、加来久敏	独立行政法人農業生物資源研究所	2006. 5.26
カナダ特許 CA2406820	MADS ボックス遺伝子を標的とした植物に花型の改良	高辻博志、ミノ・カプール	独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構 独立行政法人農業生物資源研究所	2001. 10.30
米国特許 US7354766	遺伝子導入による植物の交雑特性の改変	高辻博志、久保健一	National Institute of Agrobiological Sciences	2005. 8.12
米国特許 USRE39685 2007.6.5 特開 2002-027992	ペチュニアの転写因子 PetSPL2 の遺伝子の導入によって花序の節間を短縮させる方法	高辻博志 中川 仁	農林水産省農業生物資源研究所長	1998. 9.18
米国特許 US6,215,043 B1 (実施許諾) 2001.4.10 登録	ペチュニアの転写因子 PetSPL2 の遺伝子の導入によって花序の節間を短縮させる方法	高辻博志、中川仁	農林水産省農業生物資源研究所長	1998. 9.18
米国特許 US7,098,382 2006.8.29 登録	雌しべの各組織に特異的な活性を有するプロモーター及びその利用	高辻博志	National Institute of Agrobiological Sciences, Bio-Oriented Technology Research Advancement Institution	1999. 5.21

(5) 報道データ

見出し	出典
植物の枝分かれ促進遺伝子発見ーつくば・農業生物資源研	1998/05/15 毎日新聞
植物の枝分かれ促進遺伝子発見 芽つみ省力化にもー農業生物資源研究所	1998/05/15 毎日新聞
生物研、転写因子を確認、植物の枝分かれを制御	1998/05/15 化学工業日報
農業生物資源研究所、植物の枝分かれを制御する転写因子を発見	1998/05/15 日刊工業新聞
枝分かれ遺伝子を発見、農業生物資源研究所	1998/05/15 日本農業新聞
[タイムス・NEWS・FLASH] /植物の品種改良に道	1998/05/16 沖縄タイムス
「枝分かれ」遺伝子発見 多くの植物に共通か 新品種の開発めざす	1998/05/18 朝日新聞
枝分かれ遺伝子 品種改良に応用へ 農水省農業生物資源研究所	1998/05/19 京都新聞
高辻博志さん 植物の枝分かれ遺伝子を発見(夢中人)	1998/08/07 朝日新聞
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞
生物機能を生かせ:6)生研機構、新産業技術創出事業 植物形態を遺伝子工学的に改変	1998/09/01 日本工業新聞
遺伝子組み換え効率、宇宙なら10倍以上 向井さんらの実験で確認	1999/04/20 朝日新聞
研究者の生まれ方・米国との違いは(5)情報「公開前の論文が集まる」	1999/11/25 日刊工業新聞
わい化遺伝子ペチュニアに導入、背丈を自由に制御、農水省生資研	1999/12/01 日本農業新聞
研究者の生まれ方・米国との違いは(6)独立「勝ち残りへ実績作り」	1999/12/02 日刊工業新聞
研究者の生まれ方・米国との違いは(7)エピローグ「雑用に追われる日本」	1999/12/09 日刊工業新聞
生物機能で産業創出:生研機構の2002年度終了課題(3)	2003/03/26 日本工業新聞
生物研/植物由来遺伝子で花粉稔性を低下させる技術を開発	2004/02/16 日経バイオテク
Trendー遺伝子拡散や繁殖をしない組み換え植物ーターミネーターは死なず 次世代GMO制覇の鍵	2005/02/15 日経バイオビジネス
稲“病気抵抗力高める”遺伝子 世界初 農業生物資源研が特定	2007/07/17 NHKニュース
複数の病害に抵抗性 イネからキー遺伝子発見 他作物に応用も 生物研	2007/07/18 化学工業日報
いもち病に強い遺伝子/農業生物資源研が発見	2007/07/18 東奥日報
いもち病に強い遺伝子を世界で初めて特定 農薬減も可能に 農業生物資源研究所	2007/07/18 秋田魁新報
いもち病防ぐ 遺伝子を発見/農業生物資源研究所	2007/07/18 下野新聞
いもち病防ぐコメ遺伝子 世界初 農業生物資源研が特定	2007/07/18 中国新聞朝刊
いもち病に極めて強い抵抗性転写因子の遺伝子発見 世界初、実用化めざす 農業生物資源研	2007/07/18 常陽新聞
いもち病に強い遺伝子発見	2007/07/18 佐賀新聞
稲いもち病と白葉枯病の抵抗遺伝子発見/農業生物資源研究所	2007/07/18 日本農業新聞
いもち病に強いイネ遺伝子 農業生物資源研が発見	2007/07/18 毎日新聞
イネの複数病害防御機能遺伝子 農生研が発見	2007/07/18 日経産業新聞
潜在的に高度病害抵抗性 イネ遺伝子で発見 農業生物資源研	2007/07/18 ビジネスアイ
いもち病などイネの病害 防御遺伝子を発見 農生資研	2007/07/20 日刊工業新聞
いもち病防ぐ遺伝子 農業生物資源研が発見	2007/7/23 産経新聞
イモチに強い抵抗性示す遺伝子発見	2007/7/25 農業共済新聞
いもち病・防御機能遺伝子発見 農業生物資源研が世界初	2007/7/27 科学新聞
農業生物資源研究所、イネ遺伝子 WRKY45 に強い病害防御機能があることを発見	2007/7/30 日経バイオテク
07年の10大農水産研究成果 「WRKY45」発見が1位に	2007/12/20 日本農業新聞

[技術開発この1年 10大農林水産研究成果から] (上)	2007/12/25	日本農業新聞
07年の10大農水産研究成果 病害耐性遺伝子発見がトップ	2007/12/28	化学工業日報
農林水産技術会議が選んだ07年の10大研究成果	2008/1/11	全国農業新聞
実用化へ期待の新技术 抵抗性品種を安定的に育成	2008/1/16	農業共済新聞
DNAメチル化で遺伝子発現活性化	2009/1/30	科学新聞
メチル化で遺伝子活性化、作物改良技術に期待	2009/1/22	茨城新聞
DNAメチル化」遺伝子発現時も、農生研、仕組み発見	2009/1/22	日経産業新聞
DNAのメチル化 定説覆す機能 遺伝子発現を活性化	2009/1/22	化学工業日報

## (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
1. ゲノムの環境応答に関する研究 3) 生体内環境における細胞間のゲノム応答機構 (1) 植物の分化制御に関わるゲノム機構の解明	第1期 1994- 1998	科学技術振 興調整費	文部科学省	サブリーダー： 高辻博志
1. ゲノムの環境応答に関する研究 (4) 植物の分化制御に関わるゲノム機構の解明 に関する研究	第2期 2003- 2007	科学技術振 興調整費	文部科学省	サブリーダー： 高辻博志
病害抵抗性に関与する転写因子の同定と作用機 構の解明	2003- 2007	重要形質プ ロジェクト	農林水産省 委託研究	研究代表者： 高辻博志
花のホメオティック遺伝子のエピジェネティッ クな発現制御に関わる分子機構の解明	2004- 2005	日本学術振 興会	基盤研究(B)	研究代表者： 高辻博志
イネの誘導抵抗性におけるシグナル・ネットワ ーク解明	2008- 2012	新農業展開 プロジェクト PMI0008	農林水産省 委託研究	研究代表者： 高辻博志
WRKY45の過剰発現による細菌病、糸状菌病に 対する複合抵抗性飼料イネの開発	2008- 2012	新農業展開 プロジェクト GMA0001	農林水産省 委託研究	研究代表者： 高辻博志

## (7) 受賞データ

該当なし

(8) 主な講演・シンポジウム開催データ

開催日	場所	講演・シンポジウムタイトル
2001年 11月29日-30日	つくば国際会議場	農業生物資源研究所/COEプログラム 及び生物系特定産業技術研究推進機構 国際シンポジウム NEW ERA OF TRANSCRIPTION FACTOR RESEARCH IN PLANTS 「植物の転写因子研究の新しい時代」 オーガナイザー
2005年 9月13日	東京理科大学野 田キャンパス	東京理科大学再生工学研究センター 植物部門シンポジウム「未知な植物機能の探索とその高度利用」 高辻博志「ペチュニアの花の器官形成に関わる転写因子の機能とエ ピジェネティック発現制御」
2006年 3月21日	筑波大学	第47回日本植物生理学会年会シンポジウム「転写抑制因子を用い た遺伝子機能解析の展望」「ペチュニアの花のホメオティック遺伝 子 pMADS3 におけるエピジェネティック転写制御機構」高辻博志 他
2007年 10月15日-17日	つくばエポカル	The 5th International Symposium of Rice Functional Genomics.”WRKY45 is a key regulator of benzothiadiazole-inducible disease resistance in rice” Takatsuji, H. et al.
2007年 11月27日	東京国際フォー ラム	農林水産・食品分野の技術交流展示会 アグリビジネス創出フェア 2007 「イネの複数の病害に対して極めて強い防御機能がある遺伝子 WRKY45」 高辻 博志
2007年 12月3日	コクヨホール	植物科学シンポジウム「植物科学の発展：植物生産力の向上による 食料、生物生産、環境保全への貢献」「イネの誘導抵抗性の分子機 構解明と耐病性育種への利用」高辻博志
2008年 3月22日	札幌コンヴェン ションセンター	第49回日本植物生理学会年会シンポジウム「機能付加による遺伝 子機能研究」—基礎から応用への展開—「イネの誘導抵抗性におけ る転写因子 WRKY45 の役割とその利用」高辻博志他 オーガナイ ザー
2008年 4月15日	中国科学院上海 植物生理研究所	Microarray in Plant Research seminar in Shanghai “Discovery and utilization of WRKY45, a key regulator of benzothiadiazole-inducible disease resistance in rice”
2008年 6月4日	ホテルモントレ エーデルホフ札 幌	Bio Week in Sapporo 2008 分子育種を活用した植物機能改変の最先端 「イネの複合耐病性育種：転写因子 WRKY45 (ワーキー45) によ るプライミング効果の利用」 高辻 博志
2008年 7月8日-9日	つくば農林交流 センター	Crop Science Seminar in East Asia 2008 “Discovery and potential application of WRKY45, a key regulator of benzothiadiazole-inducible disease resistance in rice” Takatsuji, H. et al
2008年 8月7日-9日	余暇活用センタ ー	植物感染生理談話会“イネの誘導抵抗性に関わる分子機構の解明と その利用”高辻博志他
2008年 11月9日-12日	韓国濟州島コン ヴェンションセ ンター	The 6th International Symposium of Rice Functional Genomics. “Discovery of rice WRKY45, a key regulator of induced disease resistance, and its potential utility for developing multi-resistant crops” Takatsuji, H. et al.
2009年 3月18日	東京大学弥生講 堂	第34回日本農薬学会シンポジウム「生物機能からの抵抗性誘導剤 の将来展望」「イネの誘導抵抗性の分子機構—サリチル酸シグナル 伝達経路の解明とその利用に向けて」高辻博志他
2009年 3月29日	山形大学	植物病理学会バイオコントロール研究会「微生物と植物の相互作用 を利用した病害防除—生物防除の基礎と応用—」「イネの誘導抵抗 性を担う転写因子 WRKY45 の解析から見えるイネ—いもち病菌の 攻防」高辻博志他

### (9) 学会役員歴

年	学会名	役職
2008年1月1日～2009年12月31日	日本植物生理学会	評議員

### (10) 実用化リスト

#### 1) 特許許諾、技術移転

米国の企業への特許許諾

米国特許 US6,215,043 B1 (平成 18 年 11 月 14 日許諾)

「ペチュニアの転写因子 PetSPL2 の遺伝子の導入によって花序の節間を短縮させる方法」

発明者：高辻博志、中川仁

#### 2) 実用化研究

WRKY45 遺伝子改変を利用した病害抵抗性向上イネの事業化

農林水産省の 5 年のプロジェクト、飼料用イネを対象

### (追記) 主な調査参考資料

1. [http://www.affrc.go.jp/ja/research/seika/data\\_nias/h19/02003](http://www.affrc.go.jp/ja/research/seika/data_nias/h19/02003)
2. [http://www.nias.affrc.go.jp/renkei\\_daigakuin/](http://www.nias.affrc.go.jp/renkei_daigakuin/)
3. <http://www.nias.affrc.go.jp/press/20090121/>

## 第4節 ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用

ヒアリング協力者	和田 正三
現所属および役職	九州大学理学研究院生物科学部門 教授
ヒアリング実施日	平成20年12月17日

ヒアリング協力者	市川 裕章
現所属および役職	(独)農業生物資源研究所 植物科学環境領域 光環境応答ユニット 兼 基盤研究領域ゲノムリソースセンター 上級研究員
ヒアリング実施日	平成21年1月13日

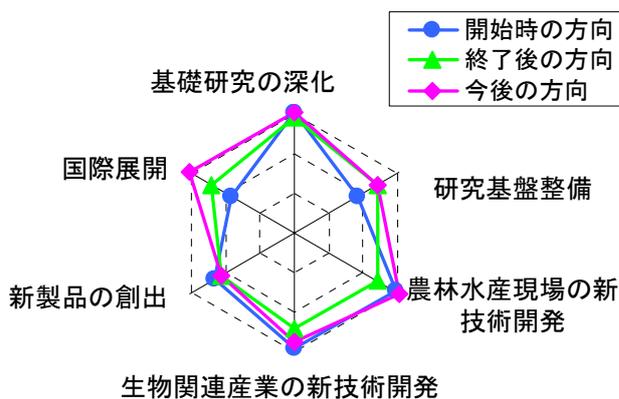
ヒアリング協力者	土岐 精一
現所属および役職	(独)農業生物資源研究所 遺伝子組換え技術研究ユニット ユニット長
ヒアリング実施日	平成21年1月13日

### 1. 研究の背景

遺伝子操作により生産性の向上や病害虫に対する抵抗性向上などの品種改良を効果的に行うには、遺伝子を導入する技術と同時に、特定の遺伝子を安定に破壊あるいは改変する技術が必須である。また、機能未知の遺伝子の機能を解明する手段としても、遺伝子破壊・改変技術は重要である。相同組換え法はこの遺伝子破壊技術の一つとして、主に微生物分野で有効に利用され、コケ植物でも可能になったが、一般に高等植物では導入遺伝子がゲノム上にランダムに挿入されるため、意図的に遺伝子を特定領域に組み込むことは極めて難しく、その技術開発が望まれながらも解決されていない緊急課題であった。

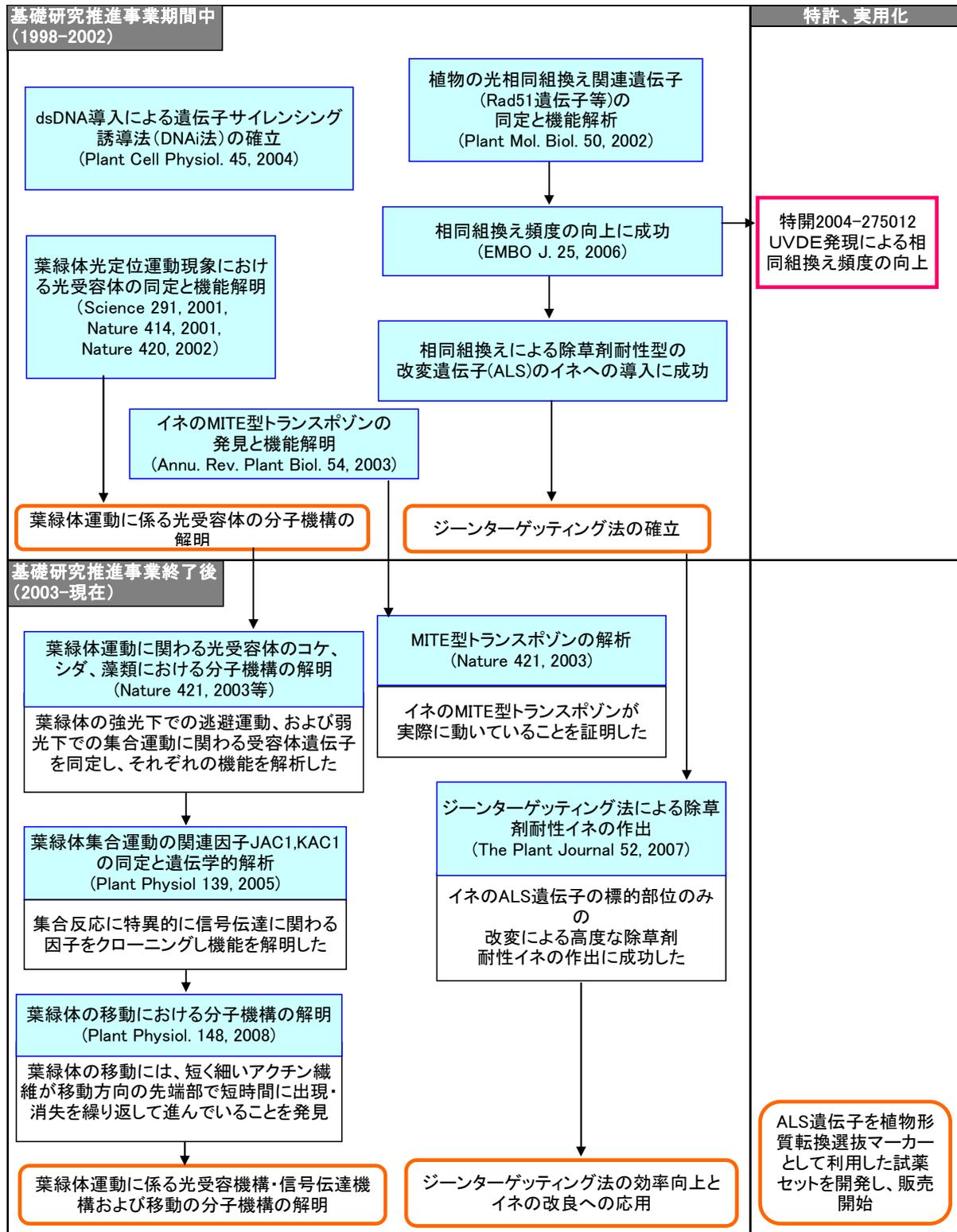
### 2. 研究の展開

基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



開始時は基礎研究の深化、農林水産現場の新技术開発、生物関連産業の新技术開発に比重をおいてスタートした。終了後はその成果や派生した基礎研究をさらに深化し世界的な研究へと発展させた。今後は国際的共同研究を本格的に開始し、さらに基礎的研究を進展させて農林水産現場の新技术開発に結び付けていく。

基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

本研究課題では、相同組換えが高頻度にかかる半数世代の植物体において、塩基配列が既知の標的遺伝子を、DNA 相同組み換えを介して破壊あるいは改変する手法、および標的遺伝子の機能発現を抑制する遺伝子サイレンシング技術の開発を目的とした。

#### (2) 研究内容

「半数世代の植物体を利用した相同組換えによる遺伝子破壊技術の推進」では、半数世代のイネ蒴培養カルスにおいて、相同組換えによる標的遺伝子の破壊を行い、シダにおいて遺伝子サイレンシングの開発を行った。また、「高等植物における相同組み換え系の解析と遺伝子ターゲティング技術の開発」では、相同組換えや遺伝子単離・解析、種子植物の相同組み換えによる遺伝子置換技術に関する研究を行った。

#### (研究実施体制)

	中課題名	開始	終了	所属 (事業当時)	研究代表者名 (注)
1	半数世代の植物体を利用した相同組み換えによる遺伝子破壊技術の推進	10	14	東京都立大学大学院 理学研究科	和田 正三*
2	高等植物における相同組み換え系の解析と遺伝子ターゲティング技術の開発	10	14	農業生物資源研究所	市川 裕章/ 土岐 精一

(注) 研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

#### (3) 主な研究成果

- 1) シダ配偶体世代において、標的遺伝子の遺伝子断片、またはその cDNA 断片をパーティクルボンバートメントにより細胞内に導入すると、エクソンであれば 500bp の短い断片でも効率的に遺伝子サイレンシングを誘導できることを発見し、DNAi 法と命名した。
- 2) DNAi 法では、PCR 法で増幅した DNA 断片で十分効果があること、同時に複数の遺伝子を導入しても有効であることなど、機能未知遺伝子の機能解析には簡便かつ有効な方法であることを明らかにした。この方法により phytochrome3 遺伝子の機能を解明した。
- 3) 副次的な結果として、解析のために用いた葉緑体光定位運動現象の光受容体の同定とその機能を明らかにした。

- 4) Rad51 様遺伝子など植物の相同組み換え関連遺伝子をアラビドプシスとイネより 11 種クローン化した。Rad52 経路遺伝子の発現は、DNA 損傷を誘発する  $\gamma$  線照射により上昇することを見出した。また Rad52 経路タンパク質間の相互作用を解析し、高等植物の Rad52 経路タンパク質は高等動物と同様な複合体を形成することを明らかにした。
- 5) シロイヌナズナやイネにおいて、Rad52 経路遺伝子の過剰発現、CAF (chromatin assembly factor) 遺伝子のノックアウト、紫外線障害を受けた塩基の除去修復を行う一本鎖 DNA 切断酵素 UVDE をコードする遺伝子の導入等により、相同組み換え頻度が向上することを見出した。
- 6) 除草剤耐性型の改変 Acetolactate synthase (ALS) 遺伝子を導入したシロイヌナズナ後代から除草剤耐性個体が選抜され、解析の結果、相同組換え個体を得ることに成功した。イネの葯培養カルスの系においても Waxy 遺伝子の相同組み換えに成功した。
- 7) 副次的な結果として、イネの MITE (Miniature Inverted-repeat Transposable Elements) 型トランスポゾンを発見し、現在でも転移していることを証明した。トランスポゾンはゲノム DNA の中を動き回る (転移する) DNA 因子で、動物や植物に普遍的に存在することは知られていたが、実際に「動く」ことが確認されたのは、世界で初めてであった。

## 4. 事業終了後の状況

### (1) 研究発展状況

基礎研究推進事業終了後、総括研究代表者の和田正三氏は継続的に日本学術振興会などから研究費を獲得し、本事業で副次的に同定された葉緑体光定位運動現象の光受容体をはじめとした葉緑体光定位運動に関する分子機構の解明の領域で新分野を構築している。植物が強光に耐える術である葉緑体の光逃避運動のメカニズムの解明について基礎的成果を蓄積し、世界をリードしてきた。また DNAi の研究については、京都大学佐藤文彦氏と共同でメカニズム解明の研究を継続し、シダの細胞内への遺伝子導入技術のテストへと展開している。

ジーンターゲット法に関する研究は、研究担当者の一人であった土岐精一氏が農業生物資源研究所において精力的に研究を進展させている。本事業において発見した除草剤耐性型 Acetolactate synthase (ALS) 遺伝子をイネに導入して、イネ ALS 遺伝子の一部分を改変し、ALS 阻害型除草剤ピリチオバックナトリウム塩（クミアイ化学）に耐性を持つイネを作出した。本成果は、2007 年農林水産研究成果 10 大トピックスに「特定の除草剤に耐性をもつイネを、必要な遺伝子だけをピンポイントで組み換えて作ることに世界で初めて成功」として選ばれた。また、平成 18 年度基礎研究推進事業に「クロマチン構造と細胞周期制御による高等植物の高効率・高精度遺伝子操作技術の開発」として採択され、クロマチン構造と細胞周期と相同組換えのクロストークについて解析を行い、効率的なジーンターゲット系に活用する研究へと展開している。また、市川裕章氏と土岐精一氏がクミアイ化学工業（株）と共同開発した ALS 遺伝子を利用した植物形質転換選抜マーカーセット試薬（PalSelect pSTARA シリーズ）が 2008 年秋、フナコシ社から販売されており、この選抜マーカー系を活用しつつ、市川氏がイネ有用遺伝子の探索を実施中である。

### (2) 新たな研究成果

#### 1) 葉緑体運動にかかわる光受容体をコケ・シダで確定

葉緑体は強光下では光から逃げ(逃避運動)、弱光では光に集まる(集合運動)。ホウライシダにおいて、フォトリロピン 2 (phot2) が葉緑体逃避反応の青色光受容体であり (図 2)、シダ特有のフィトクロムとフォトリロピンのキメラであるフィトクロム 3 (phy3) が赤色光依存の集合反応の光受容体であることを明らかにした。また、ヒメツリガネゴケのフィトクロムおよびフォトリロピンの同定と詳細な機能解析も行った。新たに緑藻のヒザオリ中にシダ phy3 と同じ構造を持つキメラ光受容体遺伝子を発見し、フィトクロムとフォトリロピンのキメラ光受容体を **neochrome** と命名し、系統の異なる種が同じ遺伝子を持つ稀な例として確認した。

#### 2) 葉緑体運動にかかわる因子 JAC1、KAC1 遺伝子のクローニングと機能解析

葉緑体運動において、集合反応に特異的な信号伝達に関連する因子で、細胞膜に沿って存在する JAC1、同じく集合反応に特異的な因子 KAC1 をシロイヌナズナに

において発見し、遺伝学的な機能解析を行った。

### 3) 葉緑体運動に働く cp-actin の発見

葉緑体の移動は、従来、細胞膜上の既存のアクチン繊維上を葉緑体に結合したミオシンを介して進むと考えられていたが、シロイヌナズナの葉緑体移動中のアクチン繊維を詳細に解析した結果、従来の説とは異なり、短く細いアクチン繊維(cp-actin filament)が葉緑体の移動方向の先端部で短時間に出現しては消える「消長」を繰り返していることを発見した。

### 4) 葉緑体運動に働く CHUP1 遺伝子の同定

葉緑体上でのアクチン繊維の消長に関与していると考えられる CHUP1 遺伝子を同定し、CHUP1 タンパク質が外包膜上に存在し、アクチン繊維の重合・脱重合を介して葉緑体の異動に関与していることを明らかにした。(図1)

### 5) 葉緑体運動の信号の移動速度の解析

シダ原糸体細胞の一部に赤色微光束を照射し、光照射を受けなかった部分の葉緑体が照射部位へ向かって動き出すまでの時間と、照射部位から葉緑体までの距離の関係から、信号の移動速度を測定する方法を確立した。ホウライシダの長い原糸体細胞においては、信号が細胞内を伝達される速度は、照射部位から先端側と根元側とは異なり、前者は約 2  $\mu\text{m}/\text{min}$ 、後者は約 0.8 $\mu\text{m}/\text{min}$  であることが明らかとなった。

### 6) シダの前葉体で発現している遺伝子配列 (EST) 解析

光形態形成に関する研究に用いたホウライシダの前葉体で発現している遺伝子配列 (EST) を解析した。白色光下で培養した前葉体からの cDNA ライブラリーより、約 10,000 クローンの塩基配列を決定し、重複を除いた合計 7,100 の独立した EST グループが得られた。2 度目の解析では 20,000 クローン (重複を含む) が得られており、DDBJ に登録する予定である。

### 7) ジーンターゲティング法による除草剤耐性イネの作出

イネ及びシロイヌナズナにおいて、ジーンターゲティングにより標的遺伝子特異的に変異を導入することに成功した。目的の遺伝子のみを正確かつ最少限改変できるジーンターゲティングは、社会的受容性の高い新規植物の創出につながる技術である。植物における成功例は少なく、ジーンターゲティングによる作物への有用形質の付与は前例が皆無に等しい状態であった。しかし、「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業基礎研究推進事業」による研究を継続することで、ジーンターゲティングにより、イネのアセト乳酸合成酵素(ALS)遺伝子の標的部位のみ

を改変することに成功し、これまでにない高度な除草剤耐性イネを作出した。(図1、2)

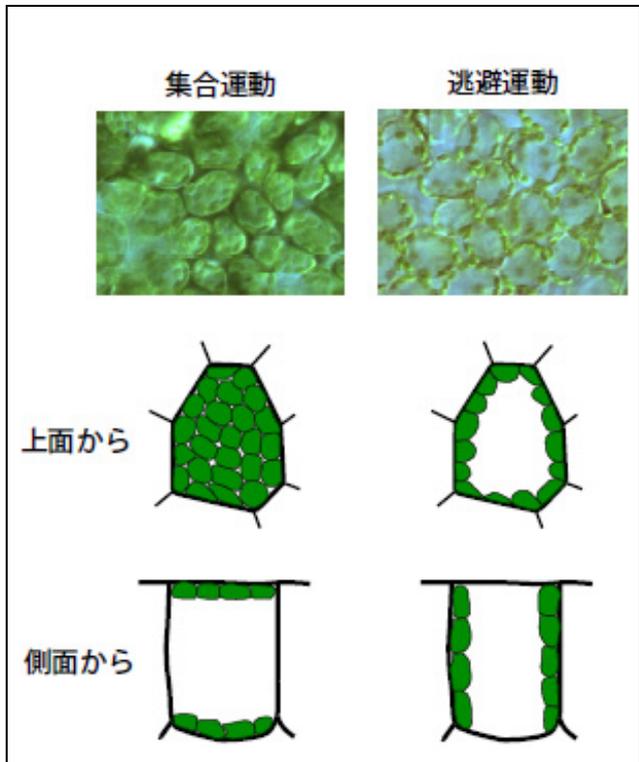


図1 葉緑体運動  
左：光集合運動、右：光逃避運動

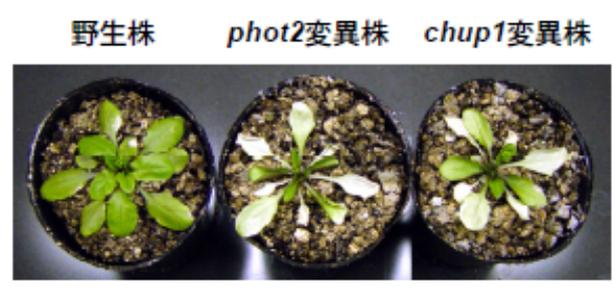


図1 葉緑体光逃避反応突然変異株の表現型  
強い光に長時間さらしたシロイヌナズナ

(出典：岡崎国立共同研究機構ホームページ)

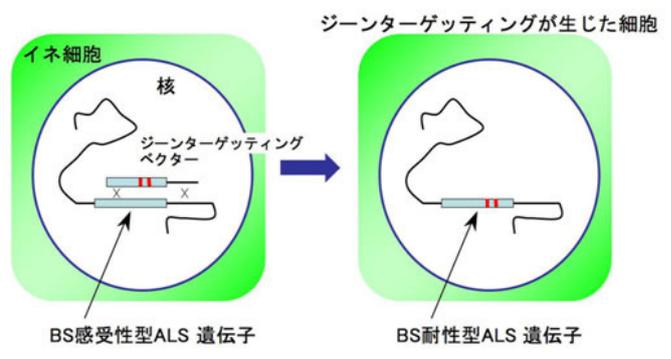


図2 ジーンターゲティングによるALS遺伝子の改変



図3 農薬散布試験  
A, D：野生型、B, C, E：ジーンターゲティング個体

(出典：農林水産研究情報総合センターホームページ)

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的波及効果

葉緑体運動についての研究領域において、植物の強光に対する応答反応や葉緑体の機能そのものに関連する多くの重要な知見を蓄積し、世界を先導する研究を継続している。光受容体フォトトロピン研究では *Nature* 誌などの著名な雑誌に数報掲載され、生物科学系の雑誌だけでなく環境科学、地球科学などの広い分野の雑誌から多数引用されている。この研究の成果により日本植物学会をはじめ、米国、ドイツなど海外からも賞を受けた。

シダの前葉体で発現している遺伝子配列の解析結果は、近く DDBJ に登録される予定である。このゲノムデータは、本研究で進展した光応答関連遺伝子の研究や、種子植物にはみられない遺伝子の研究など、今後植物遺伝子の機能解析や進化を研究する上で重要な情報を提供し、シダのモデル植物として位置づけられる。

DNAi 技術は、PCR により増幅した断片の挿入により機能することから、遺伝子破壊技術として医薬分野でも応用されている RNAi と比較して、簡便である。今後、一般的な遺伝子破壊方法として汎用技術となることが期待される。

また、ジーンターゲット法によりピンポイントで遺伝子操作を行う技術は、染色体のクロマチン構造と細胞周期を制御することによりさらに効率と精度を向上させる研究へと発展しており、現在注目を集めている。

#### 2) 産業技術的波及効果

イネのトランスポゾン遺伝子は、これを含有するプラスミドを使用して、イネの形質転換体を作製する技術に応用することが考えられる。もともとイネが持つ遺伝子であるため、DNA 組換えの範疇に入らず自由に圃場で栽培することができる。今後、新たな DNA 改変技術として大規模に栽培し、大量の変異株の形質を評価することにより、高効率で遺伝子の機能解析を行うなど、産業的に利用される可能性がある。また、イネのトランスポゾンが挿入されている DNA の位置を、フットプリント法などで特定することにより、米の生産地を特定する実用化が考えられる。ボイス・トンプソン社では、トウモロコシでトランスポソンの利用が研究されており、特許ライセンス化などによる産業界への波及が期待される場所である。

ジーンターゲット法では、ジーンターゲット法で開発した ALS 遺伝子とピリチオバックナトリウム塩を利用した植物形質転換選抜マーカーセット試薬が実用化され、フナコシ社から販売されている。

#### 3) 人材育成的波及効果

トランスポソンの研究を進展させた研究員が、ボイス・トンプソン研究所に留学している。その他米国に 2 名、英国に 1 名が海外で研究を行っており、それぞれの研究成果が認められて国際的に活躍し、人材の育成とともに技術の利用が拡大さ

れている。また、2009年からドイツ・フライブルグでシダのフィトクローム研究に関して共同研究を行うことになっており、国際的な広がりを見せている。また、基礎研究推進事業開始以来学位取得者の6名など、基礎研究分野にも優秀な人材を輩出している。

## 5. 有識者コメント

本研究は遺伝子操作技術として主に微生物分野ですでに利用されている相同組み換えを高等植物にも導入しようとするものである。半数世代であるイネの約培養カルスおよびシダの配偶体を用いて研究は極めて活発に展開され、多数の論文と3編の特許出願、多数のマスコミ報道として結実している。中でも、標的遺伝子の断片を導入することによって遺伝子サイレンシングを誘導する DNAi 法の発見、また副次的な成果として葉緑体光定位運動現象における光受容体の同定やイネのトランスポゾンである MITE 遺伝子が実際に動いていることの証明などは特筆される。事業終了後も葉緑体光定位運動に関する研究や RNAi 法の研究は重要課題として展開しており、論文発表やグラントの取得が活発に進められている。ジーンターゲッティングについても分担代表者が「2007年農林水産研究成果10大トピック」に選ばれ、さらに平成18年度生研センター基礎研究推進事業に採択されるなど、顕著な発展を示していると評された。

研究成果の実用化例としては形質転換マーカーセット試薬が市販された。科学技術的波及効果としては RNAi 技術が今後の展開を期待されており、シダのゲノム情報が DDBJ に公開されることによってモデル植物として活用されることが予想される。さらに副次的なテーマである葉緑体光定位運動について多くの重要な知見が集積された。産業技術的波及効果としてはイネのトランスポゾンを利用した遺伝子操作技術が実用化される可能性が考えられる。また、関係した6名の研究員が学位を取得し、数名が海外で活躍するなど、人材育成面の効果も顕著であるとの意見が得られた。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキングデータ

#### 1) 検索式

内容	番号	件数	検索式 (CA)
光形態形成	L1	818	PHOTOMORPHOGENESIS
青色光	L2	31818	BLUE(S)LIGHT
フォトトロピン	L3	306	PHOTOTROPIN#
葉緑体運動	L4	284	CHLOROPLAST(S)MOVEMENT
1998年以降	L5	473	(L1 AND L2 OR L3 OR L4) AND PY>=1998

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	44	<b>WADA, MASAMITSU</b>
2	30	TOKUTOMI, SATORU
3	24	KAGAWA, TAKATOSHI
4	23	BRIGGS, WINSLOW R
5	21	SHIMAZAKI, KEN-ICHIRO
6	20	CHRISTIE, JOHN M.
7	16	IWATA, TATSUYA
7	16	KINOSHITA, TOSHINORI
9	15	MATSUOKA, DAISUKE
10	13	KANDORI, HIDEKI

#### 3) 研究機関ランキング

番号	件数	所属機関
1	20	<b>TOKYO METROPOLITAN UNIVERSITY</b>
2	18	KYUSHU UNIVERSITY
2	18	NATIONAL INSTITUTE FOR BASIC BIOLOGY
4	17	CARNEGIE INSTITUTION OF WASHINGTON
5	14	KYOTO UNIVERSITY
6	12	UNIVERSITAET REGENSBURG
6	12	UNIVERSITY OF CALIFORNIA
8	11	NAGOYA INSTITUTE OF TECHNOLOGY
9	9	UNIVERSITY OF MISSOURI
10	8	UNIVERSITY OF GLASGOW
10	8	OSAKA PREFECTURE UNIVERSITY
10	8	INDIANA UNIV
10	8	UNIVERSITY OF PARMA

## (2) 成果論文データ

### 1) 主要成果論文

・基礎研究推進事業の期間中の主要論文

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	0	8	6	7	3	24
その他	0	0	0	0	0	0

(出典：終了時の研究成果報告書)

・基礎研究推進事業の終了以降の主要論文

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	合計
原著論文	10	11	8	10	14	6	1	60
その他	2	0	3	2	4	5	0	12

### 2) 論文の被引用数の推移

年	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位 10	234
1998-2002	成果	上位 10	1197
2003～	終了後	上位 10	399

### 3) 被引用数上位文献

基礎研究推進事業の期間中の成果論文を白抜きで、終了後の成果論文を緑で示した。

文献 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
1	1999	LOV (light, oxygen, or voltage) domains of the blue-light photoreceptor phototropin (nph1): Binding sites for the chromophore flavin mononucleotide	Christie J.M., Salomon M., Nozue K., Wada M., Briggs W.R.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	96	196
2	2001	phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening	Kinoshita T., Doi M., Suetsugu N., Kagawa T., Wada M., Shimazaki K.-I.	Nature	414	193
3	2001	Arabidopsis nph1 and npl1: Blue light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation	Sakai T., Kagawa T., Kasahara M., Swartz T.E., Christie J.M., Briggs W.R., Wada M., Okada K.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	98	189
4	2001	Arabidopsis NPL1: A phototropin homolog controlling the chloroplast high-light avoidance response	Kagawa T., Sakai T., Suetsugu N., Oikawa K., Ishiguro S., Kato T., Tabata S., Okada K., Wada M.	Science	291	186

文献 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
5	2001	The phototropin family of photoreceptors	Briggs W.R., Nagatani A., Okada K., Salomon M., Rudiger W., Sakai T., Takano M., Wada M., Watson J.C., Beck C.F., Cashmore A.R., Christie J.M., Hughes J., Jarillo J.A., Kagawa T., Kanegae H., Liscum E.	Plant Cell	13	133
6	2002	Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants	Kasahara M., Kagawa T., Oikawa K., Suetsugu N., Miyao M., Wada M.	Nature	420	79
7	2001	A role for LKP2 in the circadian clock of Arabidopsis	Schultz T.F., Kiyosue T., Yanovsky M., Wada M., Kay S.A.	Plant Cell	13	76
9	2003	The plant MITE mPing is mobilized in anther culture	Kikuchi K., Terauchi K., Wada M., Hirano H.-Y.	Nature	421	63
10	2002	Cryptochrome light signals control development to suppress auxin sensitivity in the moss <i>Physcomitrella patens</i>	Imaizumi T., Kadota A., Hasebe M., Wada M.	Plant Cell	14	54
11	2003	Chloroplast Movement	Wada M., Kagawa T., Sato Y.	Annual Review of Plant Biology	54	53
12	2003	Blue light activates calcium-permeable channels in Arabidopsis mesophyll cells via the phototropin signaling pathway	Stoelzle S., Kagawa T., Wada M., Hedrich R., Dietrich P.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	100	51
13	2001	Choice of tracks, microtubules and/or actin filaments for chloroplast photo-movement is differentially controlled by phytochrome and a blue light receptor	Sato Y., Wada M., Kadota A.	Journal of Cell Science	114	48
14	2000	Blue light-induced chloroplast relocation in <i>Arabidopsis thaliana</i> as analyzed by microbeam irradiation	Kagawa T., Wada M.	Plant and Cell Physiology	41	43
15	2003	Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor	Kawai H., Kanegae T., Christensen S., Kiyosue T., Sato Y., Imaizumi T., Kadota A., Wada M.	Nature	421	40

文献 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
16	2003	Chloroplast Unusual Positioning1 Is Essential for Proper Chloroplast Positioning	Oikawa K., Wada M., Kasahara M., Kiyosue T., Kagawa T., Suetsugu N., Takahashi F., Kanegae T., Niwa Y., Kadota A.	Plant Cell	15	39
17	2003	Light-induced structural changes in the LOV2 domain of Adiantum phytochrome3 studied by low-temperature FTIR and UV-visible spectroscopy	Iwata T., Nozaki D., Tokutomi S., Kagawa T., Wada M., Kandori H.	Biochemistry	42	39
18	2000	Cryptochrome nucleocytoplasmic distribution and gene expression are regulated by light quality in the fern Adiantum capillus-veneris	Imaizumi T., Kanegae T., Wada M.	Plant Cell	12	38
19	2000	LKP1 (LOV kelch protein 1): A factor involved in the regulation of flowering time in Arabidopsis	Kiyosue T., Wada M.	Plant Journal	23	34
20	1999	Mechanically induced avoidance response of chloroplasts in fern protonemal cells	Sato Y., Kadota A., Wada M.	Plant Physiology	121	33
21	2003	A Genome-Wide Analysis of Blue-Light Regulation of Arabidopsis Transcription Factor Gene Expression during Seedling Development	Jiao Y., Wada M., Gerstein M., Zhao H., Qu L.-J., Deng X.W., Yang H., Ma L., Sun N., Yu H., Liu T., Gao Y., Gu H., Chen Z.	Plant Physiology	133	32
23	2002	Blue light-induced chloroplast relocation	Kagawa T., Wada M.	Plant and Cell Physiology	43	30
24	2005	A chimeric photoreceptor gene, NEOCHROME, has arisen twice during plant evolution	Suetsugu N., Mittmann F., Wagner G., Hughes J., Wada M.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	102	28
25	2004	Function analysis of phototropin2 using fern mutants deficient in blue light-induced chloroplast avoidance movement	Kagawa T., Kasahara M., Abe T., Yoshida S., Wada M.	Plant and Cell Physiology	45	28

4) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業期間中の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
1	—	5	14	30	19	27	23	25	12	24	17	196
2	—	—	—	0	20	39	32	30	15	35	22	193
3	—	—	—	6	24	38	23	34	16	29	19	189
4	—	—	—	13	24	35	29	26	13	30	16	186
5	—	—	—	8	27	21	21	17	10	18	11	133
6	—	—	—	—	0	10	12	13	9	21	14	79
7	—	—	—	0	9	13	8	13	9	18	6	76
8	0	5	18	10	5	6	7	4	6	7	3	71
10	—	—	—	—	4	14	10	13	8	1	4	54
11	—	—	—	—	—	2	14	11	7	11	8	53
12	—	—	—	—	—	12	10	10	6	11	2	51
13	—	—	—	1	5	11	5	7	5	12	2	48
14	—	—	2	5	4	8	7	7	3	4	3	43
15	—	—	—	—	—	5	7	8	5	10	5	40
18	—	—	5	4	2	6	5	4	3	6	3	38
19	—	—	0	6	7	4	3	3	3	5	3	34
20	—	0	3	1	0	7	2	2	3	7	8	33
22	1	6	5	2	3	5	2	3	2	2	1	32
23	0	0	0	0	0	10	6	6	2	5	1	30

・基礎研究推進事業終了後の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
9	—	—	—	—	—	4	10	17	17	12	3	63
16	—	—	—	—	—	1	6	10	5	9	8	39
17	—	—	—	—	—	0	12	7	4	11	5	39
21	—	—	—	—	—	0	5	12	4	7	4	32
24	—	—	—	—	—	—	—	0	8	12	8	28
25	—	—	—	—	—	—	3	6	4	12	3	28

### 5) 引用論文の分野

分野	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
生化学、遺伝学、分子生物学	126	101	101	99	76	34	51	48	48	25
農学、生物学	65	105	106	102	63	60	52	38	32	35
化学	17	15	12	15	15	2		5	1	1
免疫学、微生物学	16	5	5	5	3			1	1	
物理、天文学	5	5	4	5	4			1		1
医薬	4	3	5	3	7		6	1	15	4
コンピューター科学	1	1		1					1	
地球科学	1				1	1				
工学	1	1	1	1	2					
環境科学	1	3	4	3	2	6		1		
保健	1									
材料科学	1	2	1			1				
薬学、毒性学、薬剤学	1	1		1	1					
化学工学			4		3			2		1
神経科学					1					
数学									1	
多分野	20	18	19	15	9	4	6	9	3	1

### (3) 共同研究先データ

#### 1) 基礎研究推進事業での共同研究先

研究者名	所属機関	所在国	分野
—	筑波大学	日本	ターゲティング
平野博之	東京大学	日本	トランスポゾン
飯田、寺田	自然科学研究機構 基礎生物学研究所	日本	トランスポゾン

#### 2) 基礎研究推進事業以降の共同研究先

研究者名	所属機関	所在国	分野
佐藤文彦	京都大学農学部	日本	シダ DNAi のメカニズム
菊池一浩	ボイス・トンプソン研究所	米国	トランスポゾン
—		ドイツ	シダのフィトクロム

### (4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	出願人・権利者名	発明者・考案者	出願日
特開 2001-299118	C4 植物の光合成酵素を発見する C3 植物体	農林水産省農業生物資源研究所長	吉村智美 倉田のり 片寄裕一 土岐精一 王子軒 山内歌子 河野いづみ	1997/ 3/19
特開 2001-352851	トランスジェニック植物及びその作製方法	科学技術振興事業団	松岡信 徳富光恵 土岐精一 モーリス スノーベンクウ	1997/ 3/11
WO03/40363	イネのトランスポゾン遺伝子	独立行政法人科学技術振興機構	松岡信 徳富光恵 土岐精一 モーリス スノーベンクウ	1997/ 3/11

公開番号	発明・考案の名称	出願人・権利者名	発明者・考案者	出願日
特開 2003-339386	葉緑体光定位運動に係わる遺伝子、それを用いた核酸プローブ、及び葉緑体光定位運動欠損植物	タマティールエルオー株式会社	清末知宏 和田正三	2000/ 6/14
特開 2004-275011	部位特異的組換え酵素遺伝子の一過的発現によるマーカー遺伝子の除去技術	独立行政法人農業生物資源研究所 独立行政法人農業生物系特定産業技術研究機構	菊池一浩 平野博之 和田正三	2001/ 11/8
特開 2004-275012	UVDE 発現による相同組換え頻度の向上	独立行政法人農業生物資源研究所 東北大学長 独立行政法人農業生物系特定産業技術研究機構	和田正三 加川貴俊 笠原賢洋 末次憲之 及川和聡	2002/ 7/30
WO05/92082	単子葉植物の種子の形質転換法	独立行政法人農業生物資源研究所	土岐精一 市川裕章 刑部敬史	2003/ 3/12
特開 2005-143338	カルス及び種子胚特異的発現活性を有するプロモーター	独立行政法人農業生物資源研究所	土岐精一 市川裕章 刑部敬史 安井明	2003/ 3/12
特開 2005-168470	花粉特異的発現活性を有するプロモーター	独立行政法人農業生物資源研究所	土岐精一	(2004/ 3/25)
特開 2005-168471	緑色組織特異的発現活性を有するプロモーター	独立行政法人農業生物資源研究所	市川裕章 田中宥司 中村英光 古賀保徳 菊池尚志	2003/ 11/12
特開 2005-168472	葉特異的発現活性を有するプロモーター	独立行政法人農業生物資源研究所	市川裕章 田中宥司 中村英光 宮原研三 菊池尚志	2003/ 12/15
特開 2005-224112	シュート維管束特異的発現プロモーター	独立行政法人農業生物資源研究所	市川裕章 田中宥司 中村英光 土岐精一 佐々木卓治	2003/ 12/15
特開 2005-224118	維管束特異的発現プロモーター	独立行政法人農業生物資源研究所	市川裕章 田中宥司 中村英光 佐々木卓 治 菊池尚志	2003/ 12/15
特開 2005-224120	構成的発現プロモーター	独立行政法人農業生物資源研究所	市川裕章 田中宥司 中村英光 佐々木卓 治 菊池尚志	2004/ 2/10
特開 2005-287504	アセト乳酸合成酵素遺伝子プロモーター	クミアイ化学工業株式会社 独立行政法人農業生物資源研究所	市川裕章 田中宥司 中村英光 佐々木卓 治 菊池尚志	2004/ 2/10
特開 2006-246837	単子葉並びに双子葉植物に維管束特異的発現をもたらす D 型サイクリン遺伝子プロモーター	独立行政法人農業生物資源研究所	市川裕章 田中宥司 中村英光 佐々木卓 治 菊池尚志	2004/ 2/10
特開 2007-107	イネの根特異的プロモーターおよびその利用	国立大学法人北海道大学 独立行政法人農業生物資源研究所	土岐精一 市川裕章 中村英光 河合清 角康一郎 清水力	2005/ 3/4
特開 2007-49970	植物の着粒数を増加させ、且つ植物を矮性化させる遺伝子。	独立行政法人農業生物資源研究所	市川裕章 中島麻里 奈 中村英光 土岐 精一 田切明美	2005/ 3/14
特開 2007-50000	イネのトランスポゾン遺伝子	独立行政法人科学技術振興機構	山口淳二 池田亮 園田裕 市川裕章 中村英光	2005/ 6/27
特開 2008-271805	作物の生育や花成の促進、種子肥大をもたらすイネ ZIM モチーフ遺伝子ファミリー並びにその利用法	独立行政法人農業生物資源研究所 独立行政法人理化学研究所	田口文緒 土岐精一 田切明美 小野寺治 子 原奈穂	2005/ 8/19

## (5) 報道データ

タイトル	出典
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞
生物機能を生かせ：(9)生研機構、新産業技術創出事業 有害植物を“有用”に	1998/09/04 日本工業新聞
葉緑体の目「見つけた」 岡崎国立共同研 光感じるタンパク質特定	2001/03/16 中日新聞朝刊
強い光を感知する「目」発見 植物のシロイヌナズナ 危険避け葉緑体移動 京大研...	2001/03/16 京都新聞朝刊
◎葉緑体の運動をコントロール タンパク質の機能発見 岡崎国立共同研基礎生物学研「食料増産に道」	2001/03/16 熊本日日新聞
岡崎・基生研、青色光受容体「NPL1」の機能を解明	2001/03/16 日刊工業新聞
東京都立大など、葉緑体光逃避反応の制御機構で知見、原因遺伝子特定	2001/03/19 化学工業日報
植物に強い光感知の「目」 京大などのチームが発見 /京大	2001/03/22 毎日新聞
◎植物シロイヌナズナ／細胞内タンパクが葉緑体の運動制御／岡崎国立共同研研究員...	2001/03/22 神戸新聞朝刊
光センサーの遺伝子を解明 東京都立大グループ	2001/03/23 朝日新聞
太陽光強すぎると...葉緑体に避難信号、都立大、調整物質を確認。	2001/03/26 日本経済新聞
九大など、たんぱく質発見、気孔の開閉を制御。	2001/12/06 日経産業新聞
九大と都立大、植物の気孔開口に青色光受容体が関与することを解明	2001/12/06 日刊工業新聞
九大などがメカニズム解明 青色光による植物の気孔開口 色素タンパク2種関与	2001/12/06 日本工業新聞
技術立国を支える日本の基礎研究：01年度科学研究費補助金採択テーマより	2002/03/27 日本工業新聞
植物生命維持の知恵、強い光から葉緑体避難、壊死を防ぐ—岡崎国立共同研グループ。	2002/12/19 日本経済新聞
都立大など、葉緑体、強い光から逃避、遺伝子段階で解明。	2002/12/19 日経産業新聞
植物の葉緑体逃避運動は自衛手段 岡崎国立共同研教授ら【名古屋】	2002/12/19 朝日新聞
葉緑体、強い光避け身を守る 岡崎研究機構が実証＝東海	2002/12/19 中部読売新聞
「葉緑体の強光回避」初実証 岡崎国立共同研究機構グループ 植物の自衛手段	2002/12/19 中日新聞朝刊
岡崎・基礎生物学研、葉緑体の光逃避運動をシロイヌナズナで実証	2002/12/19 日刊工業新聞
葉緑体の重要性実証／岡崎国立共同研	2002/12/19 日本農業新聞
植物の葉緑体、強い光から細胞が防御	2002/12/24 佐賀新聞
東大など研究チーム、イネゲノムから新トランスポゾンを発見	2003/01/09 化学工業日報
東大と都立大、イネからトランスポゾン発見—遺伝子単位で染色体間を移動	2003/01/09 日刊工業新聞
イネで新しい「動くDNA」発見 変異部分探しが容易に 東大と岡崎国立共同研	2003/01/09 日本工業新聞
稲に動く遺伝子を発見 品種改良に応用期待／東大のグループ	2003/01/09 日本農業新聞
薄暗い場所でシダ育つ秘密、赤い光感じる物質、都立大教授ら発見。	2003/01/16 日本経済新聞
都立大が発見、シダの高い光感受性、特殊たんぱく関与。	2003/01/16 日経産業新聞
シダ植物、木漏れ日を拾って生存 光に敏感な受容体発見	2003/01/16 朝日新聞
シダ植物、赤い光で光合成 暗い場所でも育つ仕組み証明 都立大グループ	2003/01/16 産経新聞
都立大、シダ植物でPHY3遺伝子の働き解明—赤い光でも光合成	2003/01/16 日刊工業新聞
都立大 赤い光にも反応する特殊なタンパク発見 日陰でも育つシダ植物の光合成解明	2003/01/16 日本工業新聞
シダに光の受容体 都立大教授ら発見 薄暗くても生き残るため	2003/01/20 東京読売新聞

タイトル	出典
基生研、東大／イネ新規トランスポゾンの転移活性確認、機能解明への応用期待	2003/01/20 日経バイオテク
都立大グループ 「ネイチャー」に発表 シダ類の繁栄 赤い光がカギ 白亜紀末期に能力獲得	2003/01/28 東京新聞朝刊
都立大グループ 「ネイチャー」に発表 シダ類の繁栄 赤い光がカギ 白亜紀末期に能力獲得	2003/01/28 中日新聞夕刊
都立大など、効率的なイネの相同組み換え手法確立ー葯で改変遺伝子作製	2003/02/27 日刊工業新聞
植物の科学、2氏が講演 きょう東大阪の近大で /大阪	2003/03/29 朝日新聞
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(4)	2003/04/02 日本工業新聞
シダ植物の「光センサー」、藻類にも 基礎生物学研究所の和田特任教授ら発見	2005/09/16 朝日新聞
サイエンス・チャンネル 1月のみどころ	2005/12/26 化学工業日報
シダ植物、気孔開口、葉緑素絡む―九大と基礎生物学研、メカニズム解明。	2006/08/16 日経産業新聞
シダ、弱い光でも反応―首都大学東京など、センサーの仕組み解明。	2006/11/15 日経産業新聞

#### (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
蛋白質リン酸化酵素型光受容体の作用機作に関する共同研究	1998-2000	日本学術振興会	基盤研究(B)	研究代表者 和田正三
種子植物のフィトクロム作用の起源について	2000-2002	日本学術振興会	特別研究員奨励費	研究代表者 和田正三
葉緑体光定位運動の意義と機構の解析	2001-2003	日本学術振興会	基盤研究(A)	研究代表者 和田正三
植物の青色光受容体 PHOT の光受容とその作用機作	2001-2005	日本学術振興会	特定領域研究(B)→特定領域研究	研究代表者 和田正三
組換え体を用いたイネ有用遺伝子のプロモーターおよび機能に関する解析	2002-2004	農林水産省	農水受託プロ「組換え体利用型」	研究代表者 市川裕章
DNA 相同組換えによるイネ ALS 遺伝子ターゲットング技術の開発	2002-2004	農林水産省	農水受託プロ「組換え体利用型」	研究代表者 土岐精一
葉緑体光定位運動による信号伝達と運動機構の解析	2004-2008	日本学術振興会	科学研究費補助金基盤研究(S)	研究代表者 和田正三
葉緑体光定位運動における phot2 の情報発現機構の解析	2005-2008	日本学術振興会	特定領域研究	研究代表者 和田正三
葉緑体定位運動におけるシグナル伝達と運動機構の解析	2006	日本学術振興会	特別研究員奨励費	研究代表者 和田正三
クロマチン構造と細胞周期制御による高等植物の高効率・高精度遺伝子操作技術の開発	2006-2010	新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業	農業・食品産業技術総合研究機構	研究代表者 土岐精一
葉緑体光定位運動における新規アクチン構造の機能解析	2008-2009	日本学術振興会	科学研究費補助金基盤研究(S)	研究代表者 和田正三

### (7) 受賞データ

受賞年	賞	受賞内容
2009年3月	Humboldt Research Award (ドイツ)	和田正三教授の従来の研究成果に対して
2007年7月	アメリカ植物生理学会 (The Fellow of ASPB award)	和田正三特任教授(光情報研究部門)が受賞
2006年3月	2006年度日本植物生理学会賞	和田正三教授、葉緑体光定位運動の光受容体と運動機構の解析
2005年6月	American Society of Plant Biologists 「Corresponding Membership Award」	和田正三教授の光生物学研究における業績と植物科学分野における貢献に対して
2004年9月	日本植物学会 学術賞	「植物の光形態形成に関する研究」 和田正三 (東京都立大学 大学院理学研究科)

### (8) 講演・シンポジウム開催データ

開催日	場所	講演・シンポジウムタイトル
平成18年9月24日	東京国際フォーラム	自然科学研究機構シンポジウム 「爆発する光科学の世界——量子から生命体まで——」 和田正三 葉緑体の光による細胞内移動
2007.09.08	東京理科大学野田キャンパス	日本植物学会誌 JPR 創刊 120 周年記念公開シンポジウム パネルディスカッション 「社会は植物科学に何を期待しているのか、或いは、していないのか？」 座長：和田正三 (基礎生物学研究所)
平成14年11月9日	小石川植物園3階会議室	第36回小石川植物園市民セミナー 「細胞内を動き回る葉緑体を追って」 和田正三 東京都立大学教授
平成20年10月14日	大阪大学	葉緑体関連の国際シンポジウム『The Ins and Outs of Chloroplasts』 葉緑体のすべてに迫る 葉緑体光定位運動における光受容と運動機構 和田 正三 (九州大学)
2000年7月24-25日	静岡	第18回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム 「シダ植物の光形態形成に関与する光受容体とその作用機作」 和田 正三

### (9) 学会役員歴データ

年	学会名	役職
2002	日本植物生理学会	学会賞選考委員 和田 正三
2004-2009	International Union of Photobiology (国際光生物学連合)	会長 和田 正三
2005-2008	日本植物学会	会長 和田 正三
2009	第20回国際生物学オリンピックつくば	委員 和田 正三

### (10) 実用化例

植物形質転換選抜マーカーセット (フナコシより販売)

ALS 遺伝子およびピリチオバックナトリウム塩のセット

(追記) 主な調査参考資料

<http://www.jspp.org/17hiroba/ippan/siminkouza/>

[http://www.orion.ac.jp/data/main\\_html/oshirase/houdou/pdf/221219.pdf](http://www.orion.ac.jp/data/main_html/oshirase/houdou/pdf/221219.pdf)

[http://www.affrc.go.jp/ja/research/seika/data\\_nias/h19/02005](http://www.affrc.go.jp/ja/research/seika/data_nias/h19/02005)

<http://www.s.affrc.go.jp/docs/10topics/2007/topics10.htm>

## 第5節 受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発

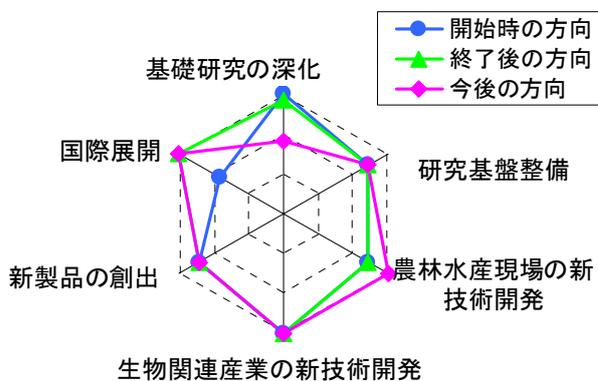
ヒアリング協力者	佐藤 英明
本課題における担当	家畜における卵子の死滅予防法と新しい排卵誘発法の開発
現所属および役職	東北大学大学院農学研究科 動物生殖科学分野
ヒアリング実施日	2009年1月6日

### 1. 研究の背景と位置付け

雌の家畜は超未成熟卵子を含み数千から数万個を超える卵子を卵巣にもつが、発育過程で99%が退行し死滅する。この卵子の死滅は、従来行われてきた排卵誘発法や卵子の体外成熟・体外受精技術では予防できないため、受精可能な卵子はごくわずかしか得ることができなかった。優良な雌の家畜を使って家畜の改良や増産、あるいはクローン個体の作出を行うためには、新しい発想に基づき、同一個体の卵巣にある多くの卵子を効率的に得て受精可能にする技術の開発が必要であった。

### 2. 研究の展開

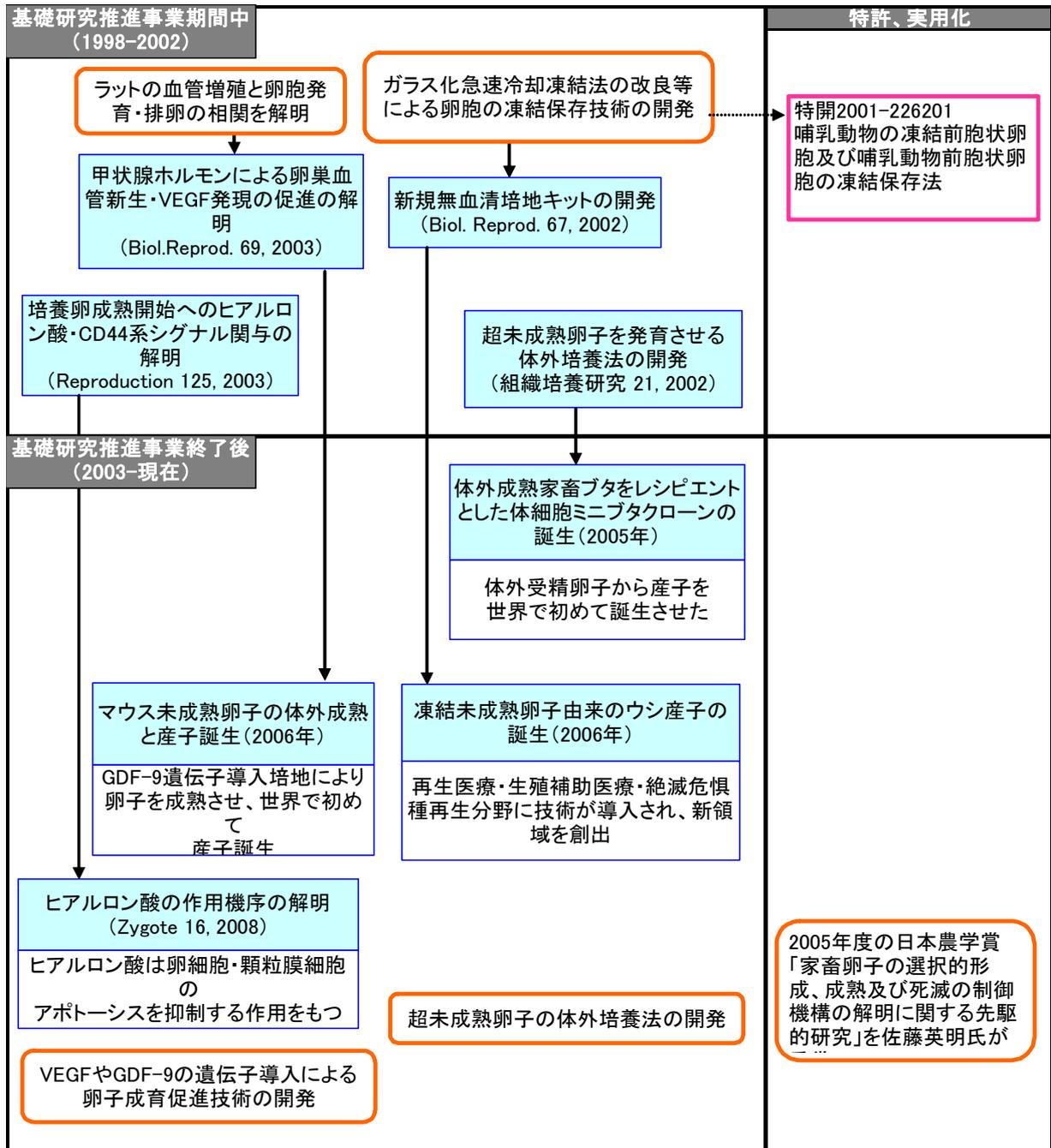
基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



開始時は基礎研究および農林水産現場や生物産業の新技术開発への貢献を目的とした。終了後は、産子誕生の成果により同様の研究方向を持ち、イタリアやスウェーデンとの共同研究を開始。今後さらに生物関連産業や農林水産現場の新技术開発に力を入れる。

また、基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に次ページの図に記した。

基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

本研究の課題申請時に、マウスにおいて卵子や卵胞の発育と血管網の発達に関係することを主として形態学的に明らかにしていたが、内分泌学的研究が進んでいるラットを材料として、卵巣の血管網の動態、及び血管網の増殖を調節する因子や遺伝子を同定しその作用機序を解明することを目的とした。さらに、それらの因子や遺伝子を用いて、血管系を調節する排卵誘発法や超未成熟卵子の体外培養法を確立することにより、多数の卵子を発育し排卵させて、受精可能な家畜卵子を大量に生産する技術を開発することを目指した。

#### (2) 研究内容

##### 1) 家畜における卵子の死滅予防法と新しい排卵誘発法の開発

卵子を雌家畜の体内で受精可能なレベルまで十分に成熟させる方法、及び多くの卵子を排卵させる方法を確立した。すなわち、卵子周辺の卵胞に豊富で均一な血管網を発達させると同時に性腺刺激ホルモン受容体も均一に発現させ、次に性腺刺激ホルモンを投与することにより、卵子の死滅を予防するとともに、多くの卵子を排卵させる排卵誘発法を開発した。(中課題1)

##### 2) 家畜における超未成熟卵子の体外発育法と凍結保存法の開発

超未成熟卵子の発育と成熟のメカニズムを明らかにするとともに、発育促進因子の検索・同定を行い、超未成熟な卵子を体外で受精可能なレベルまで十分に成熟させる方法を確立した。また、超未成熟卵子の低温や凍結時における損傷やその防御のメカニズムを解明し、家畜の超未成熟卵子の凍結保存技術を開発して、超未成熟卵子を活用した体外培養胚の作出と移植実証試験を行った。(中課題2)

#### (研究実施体制)

中課題名	開始年度	終了年度	所属(事業当時)	研究代表者名
家畜における卵子の死滅予防法と新しい排卵誘発法の開発	10	14	東北大学大学院農学研究科	佐藤 英明*
家畜における超未成熟卵子の体外発育法と凍結保存法の開発	10	14	株式会社機能性ペプチド研究所	星 宏良

(注) 研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

### (3) 主な研究成果

#### 1) 卵子の選択的発育の機構の解明

ラットにおいて血管増殖と卵胞発育・排卵に相関があり、血管増殖因子およびその受容体が深く関与していることを、排卵不全ラットを用いて明らかにした。また、卵巣においては甲状腺ホルモンが卵巣の血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の発現を促進すると同時に、血管新生も促進しており、死滅へ至る卵子を救助していることを見出した。

次にブタとウシで前排卵卵胞の血管形成について、またブタでは卵胞発育に伴う遺伝子発現について解析を行い、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) およびその受容体が血管形成と卵胞発育に重要な因子であることを突き止めた。

#### 2) 新しい排卵誘発法の開発

TAP 発現ベクターに組み込んだブタ VEGF 遺伝子を未成熟ラットの背側やミニブタの卵巣皮質に注射することによって、卵胞の発育促進および卵胞の閉鎖抑制に成功した。この遺伝子投与を行った前排卵卵胞の卵子は、全て正常に受精能力を持っており胚発生能力も備えていた。このように、ベクターそのものが卵胞の基底膜を通過して顆粒層細胞に到達して機能した例は世界初であった。本方法で救助した卵子を用いて新生子を誕生させることにラットで成功した。

#### 3) 超未成熟卵子を含むウシ前胞状卵胞の発育に必須の生理活性因子の同定

インスリンおよびインスリン様成長因子 (IGFs) が卵胞・卵子の成長促進に必要であり、FSH や LH の添加により促進効果が増強されることを見出した。また、長期間卵胞の体外発育培養を可能とする、ウシ初期前胞状卵胞と間質系細胞とを共培養する方法を開発した。

#### 4) 超未成熟卵子を完全発育させる体外培養法の開発

無血清コラーゲンゲル包埋およびインスリン・卵胞刺激ホルモン (FSH)・黄体形成ホルモン (LH) 含有培養により、体外成熟・体外受精・体外胚培養で移植可能な胚 (胚盤胞) を作出した。この胚を仮腹牛に移植し、受胎を確認した。

#### 5) 超未成熟卵子の凍結保存技術の確立

前胞状卵胞を、コラーゲンゲルに包埋後にナイロンメッシュ付き凍結バイアルに入れ、急速冷却凍結 (ガラス化处理) を行うことにより、卵胞の凍結保存を可能にした。本技術により遠距離輸送等が可能となった。

#### 6) 未成熟卵子の体外培養方法の確立

ウシ初期前胞状卵胞 (直径 40-70  $\mu\text{m}$ ) を単離し、ウシ間質系細胞 (単層皮質細胞、

皮膚繊維芽細胞など)との共培養、無血清培地の利用により卵胞を長時間生存させ、卵胞サイズを増加させることが可能となった。

また、後期前胞状卵胞をコラーゲンゲル包埋して三次元培養し、無血清培地を用いることにより胞状卵胞に発育させることに成功した。

#### 7) 超未成熟卵子を活用した体外培養胚の作出と移植実証試験

上記6)で得られた胞状卵胞は、切開して卵子-卵丘・顆粒膜細胞複合体とし、体外培養により完全発育卵子を作製した。これを成熟・人工授精させ、移植可能な胚(胚盤胞)を作製することに成功した。この胚を仮腹牛に移植したところ受胎が確認された。また、体外成熟させた卵子をレシピエント卵子として、EGFP 遺伝子導入繊維芽細胞をドナー体細胞として核移植したところ、胚盤胞期胚まで発生した。

#### 8) 培養下での卵成熟開始に伴う MAP キナーゼの活性化にヒアルロン酸・CD44 系のシグナルが係わることを明らかにした。

#### 4. 基礎研究推進事業終了後の状況

##### (1) 研究発展状況

基礎研究推進事業では、卵子の成熟機構にかかわる生殖生物学の基礎的知見を見出し、卵子の救済に卵子のみならず卵胞の血管形成など卵子周辺の環境を制御するという、生殖工学としての新しい方向を示した。その後、独立行政法人 農業生物資源研究所のプロジェクト研究「増殖・分化機構の解明による動物細胞機能制御技術の開発（2005-2007）」において、研究課題「着床に伴う細胞相互作用の解析と受胎率改善手法の開発」の委託研究を実施し、卵子の着床や受胎率にも研究を発展させた。特に、本事業で開発した卵子保存や卵子成熟促進についての新規技術を利用して、ウシ、ミニブタ、マウス等の家畜の体外受精卵子から産子を世界で初めて誕生させ、注目を集めている。これらの技術は再生医療・生殖補助医療・絶滅危惧種再生分野に導入された。平成 17 年度には、総括研究代表者の佐藤英明氏が行ってきた「家畜卵子の選択的形成、成熟及び死滅の制御機構の解明に関する先駆的研究」に対し、日本農学賞が授与された。また、(株)機能性ペプチド研究所の星宏良氏やイタリアの形態学を専門とする G.Macchiarelli University of L'Aquila との共同研究も継続しており、加えて家畜繁殖学を専門とするスウェーデンの Swedish University of Agricultural Science の Heriberto Rodriguez-Martinez とも共同研究も開始し、国際的な研究展開へと進んでいる。

##### (2) 新たな研究成果

###### 1) 体外成熟家畜ブタのレシピエント卵を用いた体細胞ミニブタクローンの誕生

ミニブタはヒトに移植可能な臓器の生産やヒト疾患モデルブタとして期待されており、体細胞核移植技術開発が進められているが作出効率が 1%以下と極めて低い。そこで、ミニブタの体細胞移植に用いる胚作製に最適な卵母細胞の体外培養条件、核移植操作におけるカフェイン添加培地の利用、イオノマイシンおよびシクロヘキシミドの薬剤のみの活性化による胎盤胞形成などの条件を設定した。また、作製した体外成熟培養系を用いて死滅から救助して作製したレシピエント卵を使用してミニブタ体細胞クローンを作成した。そのクローン胚の移植時に単為発生胚を共移植して、家畜ブタに卵子を入れたところ誕生に成功した（2005 年）。その後、クローンミニブタは順調に発育している（図 1）。

###### 2) 未成熟卵子の凍結保存とウシ産子の誕生

卵巣の未成熟卵子のガラス化凍結保存法について、ブタ未成熟卵子を遠心して偏在した脂質を除去し、段階的に耐凍剤に暴露する新しい凍結保存法を考案した。本方法により、凍結保存マウス未成熟卵子由来の新生子を得ることに成功した。さらに現在までに 2 例目の子ウシが凍結未成熟卵子から誕生した（2006 年）。

### 3) 卵母細胞の死滅のメカニズム解明

卵巣の中で卵子が死滅するときにマクロファージが関与するが、ブタ卵胞閉鎖におけるマクロファージの CD44 タンパク質の糖鎖修飾が卵胞閉鎖に伴うアポトーシス残渣除去に効率的に働くことを明らかにした。また、ブタ卵巣において卵胞発育促進遺伝子のベクター-TAP-GDF-9 を連続投与することにより、顕著な卵胞閉鎖抑制が認められ、GDF-9 による卵胞周囲血管網の増殖機序を確認した。さらに、卵子の死滅にヒアルロン酸が抑制的に働くことを見出し、ヒアルロン酸の卵細胞・顆粒膜細胞のアポトーシス抑制作用の作用機序を解明した。

### 4) マウス未成熟卵子の体外成熟と産子誕生

マウス卵胞の体外培養系では直径 70 $\mu$ m 以下の未成熟卵子を培養し、成熟卵子を得ることは従来不可能であったが、培地中に TAP-GDF-9 遺伝子を導入して培養することによって成熟卵子を得ることが可能となり、世界で初めて産子を得ることに成功した(図 2)。

### 5) 受精能の高い卵子の大量生産

ラット卵巣に VEGF120 および VEGF164 を直接注入することによって排卵させた卵子数は顕著に増加した。排卵卵子はすべて受精して新生児に発育した。

### 6) 卵母細胞成熟の指標

凍結融解卵子(卵核胞期)における活性型ミトコンドリアの分布は異常を示したが、正常卵子との間で卵核胞置換を行うと体外成熟能は回復したことから、活性型ミトコンドリア分布が卵母細胞成熟の指標になることを明らかにした。

### 7) 卵成熟の進行を制御するシグナル伝達

マウスの卵子を用いて、Protein Kinase B (PKB)が卵母細胞の減数分裂の完了を制御することを発見し、そのメカニズムを解明した(図 3)。



図1. 東北大学で誕生させた体細胞ミニブタクローン (2005年)



図2. Tap-GDF-9 遺伝子導入体外培養システムによる獲得産子 (2006年)

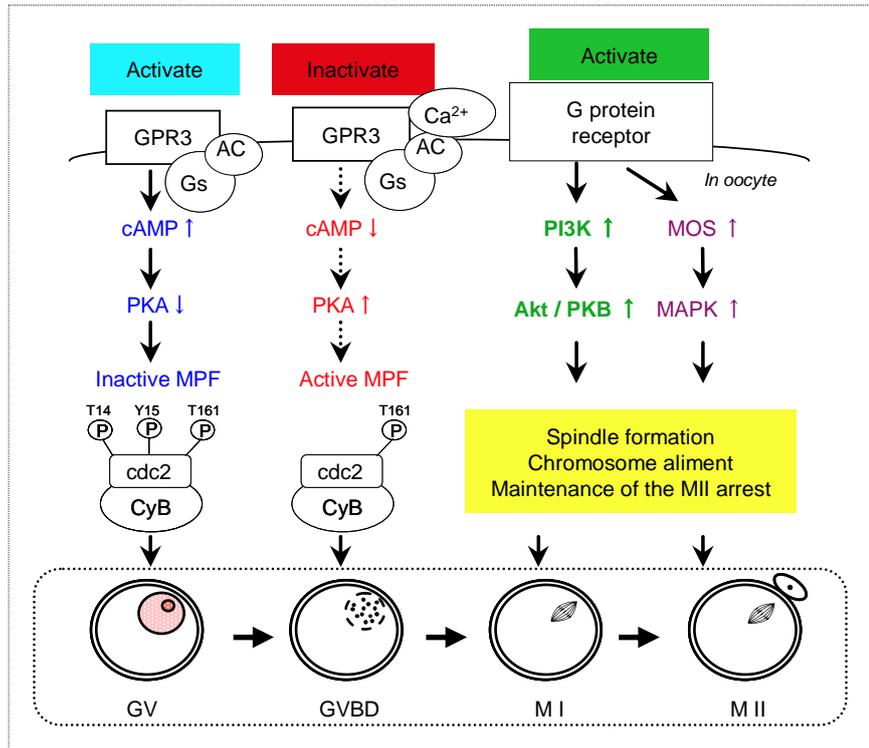


図3. 卵成熟の進行を制御するシグナル伝達

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的な波及効果

本研究は、基礎研究推進事業の開始年度以降継続的に論文発表が続けられており、卵母細胞や卵胞の成熟・血管新生因子等の領域において論文数が、研究者ランキング、研究機関ランキング共にトップとなっている。また、日本学術振興会などから継続的にグラントを取得し、2005年に日本農学会から「家畜卵子の選択的形成、成熟及び死滅の制御機構の解明に関する先駆的研究」に対して、また、2006年には海外から「マウス卵成熟におけるAkt/Protein kinase Bの機能」に対して受賞を受けており、基礎研究分野における深化や発展が広く評価されている。

研究内容では、血管網の発達という切り口をもって、卵子成熟のメカニズム解明や成熟手法の開発を行っており、海外との共同研究も近年締結されて応用を見据えた国際的研究へと波及している。また、ブタ卵巢にTAP発現ベクターに組み込んだ血管内皮細胞増殖因子(VEGF)遺伝子やGDF-9遺伝子を卵巢に直接注射するという新技術を開発し、卵胞周囲血管網の増殖機序を明らかにした。遺伝子の機能解析手法として蛋白質を投与するより遺伝子を直接組織に投入して蛋白質の発現を促す本方法の方が、より明確に卵胞発育促進・閉鎖抑制機能を解析できた例となっており、蛋白質がなくとも遺伝子があれば機能解析を行えることを実証した。ベクターが卵胞の基底膜を通過して顆粒層細胞に到達した例は世界初である。この遺伝子の直接注入による機能解析法は、今後他の研究でも利用されるものと考えられる。

#### 2) 産業技術的な波及効果

近年、年間3千頭以上のウシ胚移植が行われるなど、優良な受精胚が生産現場で家畜改良などに使用されており、家畜の受精胚のニーズが高まっている。このような状況の中、採取した未受精卵子の生体外成熟効率が低いことや、従来の過排卵方法による処置を行った家畜は生産性が年々低下するということが問題視されてきた。本研究の成果である生体外での効率的な未受精卵子成熟の促進技術と、超音波観察しながら生体の卵胞を吸引して同一の家畜から連続的に未受精卵を採取するOPU法(Ovum Pick Up法)とを組み合わせることにより、従来より効率的、安定的な家畜の受精胚の生産・供給が見込まれる。この技術により卵巢卵の有効性を向上させ、家畜の改良や増産、コスト低減に大きく貢献することができると考えられる。

#### 3) 社会的な波及効果

日本では、体外受精による出生児が2004年は62人に1人、2007年は56人に1人と学会報告されており、今後更にその割合は増えていくと思われる。不妊症の夫婦は10組に1組といわれ、体外受精は一般的な不妊治療になりつつあり、平成16年度より国の助成制度が始まっている。このような社会状況の中、受精可能な卵子を培養する技術の重要性は高まっており、本課題から進展した卵子の体外成熟や血管

増殖因子を用いる卵胞発育誘起法は、不妊治療領域でも応用が開始されている。さらに、再生医療領域でも卵子の受精効率の向上は大きな課題であり、本研究結果が今後医療の領域でも貢献していくものと期待される。

#### 4) 人材育成効果

- ・人材輩出：事業費で雇用した博士研究者の中から、鹿児島大学農学部助教授、帯広畜産大学准教授、山形大学農学部准教授、佐賀大学准教授、東北大学先進医工学研究機構助手を輩出した。また、取得時の助教授、助手がそれぞれ宇都宮大学教授、宇都宮大学助教授に昇進した。
- ・人材育成：計 18 名の博士課程後期修了者、及び計 29 名の博士課程前期修了者を輩出し、それぞれ農学博士、農学修士を取得させるとともに、この中の計 7 名が学術振興会特別研究員（DC1・3 名、DC2・4 名）に採用された。
- ・海外留学：計 5 名が米国の研究機関の博士研究員に採用され、計 2 名がイタリア・ラキユラ大学にそれぞれ 3 ヶ月間留学した。

### 5. 有識者コメント

優良家畜の生産、育種に、精液の利用が最大の貢献をしていることは異論の無いところであり、人の不妊生殖医療においても、精液の活用は欠くことのできないツールである。一方、同様な意味での卵子の活用は甚だ遅れているが、これは、哺乳類にあっては、卵子が排卵された後受精卵が着床して母体により妊娠が維持されなければならないという生物学的特性から、排卵する時点でその数が極小になるような仕組みが存在するためであろう。例えば、魚類の卵子が事実上受精可能な状態に全て成育することとは対照をなしている。

本研究は、基礎研究の視点では、成熟卵の排卵を極小にするメカニズムの研究でもあるが、卵巣内の血管網形成に偏りが生じることに着目し、血管増殖因子 VEGF の投与により、成熟卵の増数が実用的に図れることを見出している。一方、成熟卵の選択が生体内で起きる前に（超）未成熟卵を取り出し、それらを生体外で成熟させ、さらにそれらを保存する方法を開発すれば、卵子数に関する隘路を越えられるとして、メカニズム解析に基づくいくつかの方法論を組み合わせることで、少なくとも実験室レベルでの技術の確立に成功している。

以上概観したように、目標の設定、新規なメカニズムの発見、実用技術への展開という一連の研究が極めて合理的に進められており、家畜育種・繁殖を基盤とする生物産業への貢献度、波及効果は高いと考えられる。さらに、この技術は人の生殖医療の新たな展開にも相当程度のインパクトを持つと思われるとの評価が得られた。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキングデータ

#### 1) 検索式

内容	番号	件数	検索式 (CA)
卵母細胞成熟、成長因子/血管新生因子	L1	404	(OOCYTE#(A)MATURATION OR OOCYTE#(S)VITRO(W)MATURATION)(S)(GENE# OR (GROWTH OR ANGIOGENIC)(W)FACTOR#)
卵胞成熟/卵胞閉鎖/卵胞形成の遺伝子/因子、ブタ/ラット	L2	264	(FOLLICULAR(W)(GROWTH OR DEVELOPMENT OR ATRESIA) OR FOLLICULOGENESIS) AND (GENE# OR GROWTH(W)FACTOR#) AND (PORCINE OR PIG OR RATS)
卵母細胞の凍結保存/ガラス化	L3	70	OOCYTE#(S)CRYOPRESERVATION(S)VITRIFICATION
	L4	733	L1 OR L2 OR L3
1998年以降	L5	493	L4 AND PY>=1998
特許以外	L6	475	L5 NOT P/DT

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	研究者名
1	13	<b>SATO, EIMEI</b>
4	5	BOBE, JULIEN
4	5	KIM, NAM-HYUNG
4	5	LUCY, MATTHEW C.
4	5	MANABE, NOBORU
4	5	MONGET, PHILIPPE
4	5	NAGAHAMA, YOSHITAKA
4	5	PARBORELL, FERNANDA
4	5	PRATHER, RANDALL S.
4	5	TESONE, MARTA

#### 3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
1	13	<b>TOHOKU UNIVERSITY</b>
2	8	CHINESE ACADEMY OF SCIENCES
3	7	NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY
4	6	UNIVERSITY OF MISSOURI
5	5	CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY
5	5	COLORADO STATE UNIVERSITY
5	5	OBIHIRO UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND VETERINARY ME
5	5	UTRECHT UNIVERSITY

## (2) 成果論文データ

### 1) 主要成果論文

・基礎研究推進事業の期間中の主要論文

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
件数	9	9	8	12	17	55
その他	7	4	3	4	5	23

(出典：終了時の研究成果報告書)

・基礎研究推進事業の終了以降の主要論文

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	合計
件数	10	14	18	11	8	9	1	71
その他	7	3	5	5	13	3	0	36

### 2) 論文の被引用数の推移

年	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位 10	523
1998-2002	成果	上位 10	276
2003～	終了後	上位 10	164

### 2) 被引用数上位文献

基礎研究推進事業の期間中の成果論文を白抜き、終了後の成果論文を緑で示した。

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
1	1998	Mitogen-activated protein kinase translocates into the germinal vesicle and induces germinal vesicle breakdown in porcine oocytes	Inoue M., Naito K., Nakayama T., Sato E.	Biology of Reproduction	58	59
2	2001	Vitrification of large quantities of immature bovine oocytes using nylon mesh	Matsumoto H., Jiang J.Y., Tanaka T., Sasada H., Sato E.	Cryobiology	42	38
3	2002	Expression of hyaluronan synthases and CD44 messenger RNAs in porcine cumulus-oocyte complexes during in vitro maturation	Kimura N., Konno Y., Miyoshi K., Matsumoto H., Sato E.	Biology of Reproduction	66	34
4	2003	Induction of follicular development by direct single injection of vascular endothelial growth factor gene fragments into the ovary of miniature gilts	Shimizu T., Jiang J.-Y., Iijima K., Miyabayashi K., Ogawa Y., Sasada H., Sato E.	Biology of Reproduction	69	30
5	2003	Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles	Jiang J.Y., Macchiarelli G., Tsang B.K., Sato E.	Reproduction	125	29
6	2002	Changes of messenger RNA expression of angiogenic factors and related receptors during follicular development in gilts	Shimizu T., Jiang J.-Y., Sasada H., Sato E.	Biology of Reproduction	67	28

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用 数
7	2003	Erasure of methylation imprinting of Igf2r during mouse primordial germ-cell development	Sato S., Yoshimizu T., Sato E., Matsui Y.	Molecular Reproduction and Development	65	26
8	2004	Phosphatidylinositol 3-kinase and Akt participate in the fsh-induced meiotic maturation of mouse oocytes	Hoshino Y., Yokoo M., Yoshida N., Sasada H., Matsumoto H., Sato E.	Molecular Reproduction and Development	69	20
9	2000	Establishment of a porcine cell line from in vitro-produced blastocysts and transfer of the cells into enucleated oocytes	Miyoshi K., Taguchi Y., Sendai Y., Hoshi H., Sato E.	Biology of Reproduction	62	19
10	1998	MAP kinase cascade, but not ERKs, activated during early cleavage of mouse embryos	Haraguchi S., Naito K., Sato E.	Molecular Reproduction and Development	51	19
11	2004	Bax-inhibiting peptide derived from mouse and rat Ku70	Yoshida T., Abe Y., Kanouchi T., Sasada H., Wang D., Yokota T., Sato E., Matsuyama S., Tomioka I., Nagahara T., Holyst T., Sawada M., Hayes P., Gama V., Okuno M., Chen Y.	Biochemical and Biophysical Research Communications	321	18
12	1998	Rapid detection of male-specific DNA sequence in bovine embryos using fluorescence in situ hybridization	Kobayashi J., Sekimoto A., Uchida H., Wada T., Sasaki K., Sasada H., Umezumi M., Sato E.	Molecular Reproduction and Development	51	17
13	1998	Evaluation and Characterization of Congenital Hypothyroidism in rdw Dwarf Rats	Umezumi M., Kagabu S., Jiang J., Sato E.	Laboratory Animal Science	48	17
14	1999	Neuronal apoptosis inhibitory protein (NAIP) may enhance the survival of granulosa cells thus indirectly affecting oocyte survival	Matsumoto K., Nakayama T., Sakai H., Tanemura K., Osuga H., Sato E., Ikeda J.-E.	Molecular Reproduction and Development	54	16
15	1998	Microtubule and microfilament dynamics in rat embryos during the two-cell block in vitro	Matsumoto H., Shoji N., Umezumi M., Sato E.	Journal of Experimental Zoology	281	16
16	2002	Identification of hyaluronic acid-binding proteins and their expressions in porcine cumulus-oocyte complexes during in vitro maturation	Yokoo M., Miyahayashi Y., Naganuma T., Kimura N., Sasada H., Sato E.	Biology of Reproduction	67	15

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
17	1999	Effect of hyaluronic acid on the development of porcine 1-cell embryos produced by a conventional or new in vitro maturation/fertilization system	Miyoshi K., Umezu M., Sato E.	Theriogenology	51	15
18	2003	Meiotic arrest maintained by cAMP during the initiation of maturation enhances meiotic potential and developmental competence and reduces polyspermy of IVM/IVF porcine oocytes	Somfai T., Kikuchi K., Onishi A., Iwamoto M., Fuchimoto D.-I., Papp A.B., Sato E., Nagai T.	Zygote	11	14
19	2003	Seminal immunoreactive relaxin in domestic animals and its relationship to sperm motility as a possible index for predicting the fertilizing ability of sires	Kohsaka T., Hamano K., Sasada H., Watanabe S., Ogine T., Suzuki E., Nishida S., Takahara H., Sato E.	International Journal of Andrology	26	14
20	2002	Parthenogenetic Activation and Subsequent Development of Rat Oocytes in Vitro	Jiang J.-Y., Mizuno S., Mizutani E., Sasada H., Sato E.	Molecular Reproduction and Development	61	13
21	2000	Analysis of the role of egg integrins in sperm-egg binding and fusion	Takahashi Y., Yamakawa N., Matsumoto K., Toyoda Y., Furukawa K., Sato E.	Molecular Reproduction and Development	56	13
22	1999	Superovulation of immature hypothyroid rdw rats by thyroxine therapy and the development of eggs after in vitro fertilization	Jiang J.Y., Miyoshi K., Umezu M., Sato E.	Journal of Reproduction and Fertility	116	13
23	1998	Microscopic analysis of enzyme activity, mitochondrial distribution and hydrogen peroxide in two-cell rat embryos	Matsumoto H., Shoji N., Sugawara S., Umezu M., Sato E.	Journal of Reproduction and Fertility	113	12
24	1998	Expression of murine novel zinc finger proteins highly homologous to Drosophila ovo gene product in testis	Masu Y., Ikeda S., Okuda-Ashitaka E., Sato E., Ito S.	FEBS Letters	421	12
25	2006	Developmental ability of cloned embryos from neural stem cells	Mizutani E., Ohta H., Kishigami S., Thuan N.V., Hikichi T., Wakayama S., Kosaka M., Sato E., Wakayama T.	Reproduction	132	11
26	2005	Feasibility of a nylon-mesh holder for vitrification of bovine germinal vesicle oocytes in subsequent production of viable blastocysts	Abe Y., Hara K., Matsumoto H., Kobayashi J., Sasada H., Ekwall H., Rodriguez-Martinez H., Sato E.	Biology of Reproduction	72	11
27	2002	Follicular microvasculature in the porcine ovary	Jiang J., Macchiarelli G., Miyabayashi K., Sato E.	Cell and Tissue Research	310	11

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
28	2000	Improvement of follicular development rather than gonadotrophin secretion by thyroxine treatment in infertile immature hypothyroid rdw rats	Jiang J.Y., Umezu M., Sato E.	Journal of Reproduction and Fertility	119	11

### 3) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業期間中の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
1	0	4	11	10	11	6	5	4	2	4	2	59
2	—	—	—	0	6	4	5	5	5	8	5	38
3	—	—	—	—	3	9	6	5	5	3	3	34
5	—	—	—	—	—	1	6	9	8	4	1	29
6	—	—	—	—	0	5	7	6	4	5	1	28
9	—	—	1	3	6	3	2	0	0	4	0	19
10	0	1	3	1	2	0	2	3	0	3	4	19
12	0	2	0	3	1	1	3	2	1	4	0	17
13	0	0	5	2	0	0	4	2	2	2	0	17
14	—	0	1	1	2	3	3	1	2	2	1	16
15	0	1	2	1	2	1	2	3	1	1	2	16
16	—	—	—	—	0	0	2	2	4	4	3	15
17	—	0	3	0	3	2	1	4	0	1	1	15
20	—	—	—	—	1	4	6	0	0	1	1	13
21	—	—	0	2	0	1	1	2	3	3	1	13
22	—	0	3	1	4	1	3	1	0	0	0	13
23	0	0	2	1	1	0	2	3	1	2	0	12
24	1	0	2	1	3	1	2	1	0	1	0	12
27	—	—	—	—	0	3	2	2	2	2	0	11
28	—	—	0	2	1	2	3	2	0	1	0	11

・基礎研究推進事業終了後の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
4	—	—	—	—	—	0	6	8	6	6	4	30
7	—	—	—	—	—	1	2	7	6	2	8	26
8	—	—	—	—	—	—	0	7	6	1	6	20
11	—	—	—	—	—	—	0	3	8	5	2	18
18	—	—	—	—	—	—	0	2	5	3	4	14
19	—	—	—	—	—	—	2	4	3	4	1	14
25	—	—	—	—	—	—	—	—	0	4	7	11
26	—	—	—	—	—	—	—	0	5	5	1	11

#### 4) 引用論文の分野

分野	論文 No.							
	2	3	5	6	7	8	9	10
生化学、遺伝学、分子生物学	53	17	24	16	14	14	20	18
医学	26	30	24	22	20	21	12	10
農学、生物科学	10	14	9	10	14	14	2	1
薬学、毒性学、薬剤学						1	1	
免疫学、微生物学							1	
物理、天文学			1	1	2			
獣医学	4	4	5	3	7	4		1
材料科学				1				
多分野	1						3	1

#### (3) 共同研究先データ

##### 1) 基礎研究推進事業期間の共同研究先

研究者名	所属機関	所在国	分野
G.Macchiarelli	University of L'Aquila	イタリア	形態学

##### 2) 基礎研究推進事業終了後の共同研究先

研究者名	所属機関	所在国	分野
眞鍋 昇	東京大学	日本	畜産学
竹家達夫	奈良先端科学技術大学院大学	日本	畜産学
G.Macchiarelli	University of L'Aquila	イタリア	形態学
Heriberto Rodriguez-Martinez	Swedish University of Agricultural Science	スウェーデン	家畜繁殖学

#### (4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	出願人・権利者名	発明者・考案者	出願日
特開 2001-226201	哺乳類の凍結前胞状細胞及び哺乳動物前胞状卵胞の凍結保存方法	株式会社機能性ペプチド研究所	伊藤丈洋、星宏良	2002/02/10

(5) 報道データ

見出し	出典
臓器移植用クローン動物、国内でも研究盛んに―拒絶反応抑える、来年初めにも誕生。	1998/07/25 日本経済新聞
牛の未成熟卵子 人工培養に挑む、東北大とペプチド研	1998/08/04 河北新報
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞
生物機能を生かせ：(5) 生研機構、新産業技術創出事業 家畜改良が進展	1998/08/28 日本工業新聞
体細胞クローン牛、東北で2例目、宮城でも誕生	1999/02/10 河北新報
東北大、牛の未受精卵、大量に凍結保存―効率高めた新手法。	1999/05/07 日経産業新聞
おいしい肉をつくる(下) 和牛、乳牛を代理母に(イノベーション市場発)	1999/06/03 日経産業新聞
クローン研究討議、仙台で日本繁殖生物学会	1999/09/28 河北新報 朝刊
英企業が成功したクローン豚/移植臓器の生産へ前進/日本では東北大など	2000/04/17 河北新報朝刊
◎〈あなたの科学〉臓器生産へクローン豚/英国製薬会社が初成功/人間に移植可能...	2000/04/18 神戸新聞夕刊
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(5)	2003/04/09 日本工業新聞
イヌの遺伝子解明へ/仙台の専門学校/2006年4月、研究所開設/特殊犬	2003/12/14 河北新報朝刊
岩谷直治記念財団、清水氏(神鋼)に記念賞―助成金は18人に	2004/01/07 日刊工業新聞
東北の本棚/「畜産」分かりやすく/東北大教授・佐藤英明さん/新技術から	2004/01/26 河北新報朝刊
新刊図書 卵細胞の不思議、体系的にまとめ/朝倉書店	2004/12/14 日本農業新聞
「いい大学」先生で選ぶ、理系文系100選	2004 朝日新聞 weekly AERA
畜産技術の現状と未来	2004 全酪新報
済州黒毛和牛繁殖喜んで助力する	2004 ハンナラ日報(韓国)
家畜を増殖させるために人間はどのような技術を応用してきたか	2004 中央公論
今を読み解く	2004 日本経済新聞
「畜産」わかりやすく	2004 河北新聞
未来の済州のための選択と課題	2005 NARA Publishing
第42回読売農学賞 受賞者決まる=特集	2005/04/04 東京読売新聞
第42回読売農学賞の授賞式	2005/04/06 東京読売新聞
安全な繁殖探る―静岡で生物学会開幕、あす市民向けシンポジウム	2005/09/15 静岡新聞 朝刊
済州黒韓牛はブランド化の可能性十分	2006 ハンラ日報

### (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
生殖細胞系列の完全連続培養を可能にする生殖細胞分化促進因子の同定	1998-2000	基盤研究(A)	日本学術振興会	研究代表者:佐藤英明
異種臓器移植ドナーとしての遺伝子改変ブタ作出技術の開発	1998-2000	基盤研究(B)	日本学術振興会	研究代表者:佐藤英明
体細胞クローン技術による遺伝子改変ブタ作出技術の開発	2000-2000	基盤研究(C)	日本学術振興会	研究代表者:佐藤英明
卵子の細胞分化・死滅調節系の解明による次世代型動物発生工学技術の基盤形成	2004	基盤研究(S)	日本学術振興会	研究代表者:佐藤英明
自然排卵数の20倍以上の排卵を可能とするGDF-9・VEGF 遺伝子導入法の開発	2005-2006	萌芽研究	日本学術振興会	研究代表者:佐藤英明
増殖・分化機構の解明による動物細胞機能制御技術の開発	2005-2007	-	独立行政法人 農業生物資源研究所	-
Akt 及び Oct4 の機能発現調節系の重複検索による体細胞初期化因子の同定	2007-2008	萌芽研究	日本学術振興会	研究代表者:佐藤英明

### (7) 受賞データ

受賞年	賞
1998	BSVER Annual Lecture Award
2002	世界体外受精会議記念賞「マウス卵成熟における Akt/Protein kinase B の機能」
2005	日本農学賞・読売農学賞 「家畜卵子の選択的形成、成熟及び死滅の制御機構の解明に関する先駆的研究」
2006	6th AAAP Animal Science Award

### (8) 主な講演・シンポジウムデータ

開催年	講演・シンポジウムタイトル
2003	第1回日本動物専門学院シンポジウム「イヌの科学」
2003	龍谷大学人間科学宗教 ORC 第5回公開講義（公開講座）
2003	日本畜産学会公開講演会「東北の家畜と動物性食品のフロンティアサイエンス」
2003	近畿大学 21世紀 COE プログラム・第2回国際 COE 講演会
2004	農学部オープンキャンパス（公開授業・講演）
2004	(社) 日本畜産学会創立80周年記念講演会（公開講座）
2005	岡山大学重点プロジェクト・第5回生殖生命科学セミナー
2005	河合塾文理・文化講演会「知の広場」（公開講座）
2006	Cheju National University 教授会主催特別講演
2006	スズキ記念病院特別セミナー
2006	(独) 農業・生物系特定産業技術研究機構 東北地域農林水産・食品ハイテク研究会生物機能部会セミナー 「家畜増殖新技術の活用による優良肉牛の生産の現状と課題」

### (9) 学会役員データ

年	学会名	役職
1998-現在	Asian-Australasian Journal of Animal Science	Section Editor(Reproduction and Physiology)
2000	畜産学研究連絡委員会	委員
2001-2003	Journal of Reproduction and Development	Editor-in-Chief
2002-	環境省 (国)	希少野生動植物種保存推進員
2003-2006	日本繁殖生物学会	理事会・理事長
2004	Journal of Fertilization and Implantation (Tokyo)	編集委員長
2006-	日本受精着床学会	理事会・理事長
2006-	Reproduction in Domestic Animals (Blackwell)	Associate Editor-in-Chief
2006-	日本学術会議 (国)	連携会員
2007-	日本畜産学会	理事会・理事長
2007	日本受精着床学会	会長
2008	(社) 日本畜産学会	理事長
2008	日本農学会	評議員

### (10) 実用化データ

高品質な体外受精卵を効率よく生産するために、体外培養に用いる培養液として、血清を含まない新しいタイプの培地（無血清培地）の開発と製品化を目指した。その結果、国内で初めてウシ卵子の成熟、受精、受精卵（胚）の発生を効率よく進める新規無血清培地キットの開発を行った。その後、対象となった特許出願は、(株)機能性ペプチド研究所において汎用性や利益性の観点から取り下げられたが、本方法はひきつづき実用化研究において継承されている。

#### (付記) 主な調査参考資料

1. <http://db.tohoku.ac.jp/whois/detail/34b0b77a410b78164106dee5e216fef4.html>
2. 平成 18 年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究状況報告書  
[http://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/12\\_kiban/data/c\\_kekka18/b04\\_seibutsu/8003\\_sato\\_u.pdf](http://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/12_kiban/data/c_kekka18/b04_seibutsu/8003_sato_u.pdf)
3. 平成 18 年度旗影会助成研究、佐藤英明（東北大学大学院農学研究科）  
<http://www.nakashima-foundation.org/kieikai/pdf/18/11.pdf>
4. 自治医科大学ピッグセンターシンポジウム「ミニブタ体細胞クローン個体作出成功に係わる要因解析」、2007 年 12 月 11 日、  
[http://www.dialogue2005.com/jichi\\_pigcenter/index.html](http://www.dialogue2005.com/jichi_pigcenter/index.html)
5. 福永憲隆、学位論文内容要旨（平成 18 年）、マウスをモデルとした卵胞発育促進遺伝子、GDF-9 を導入する新規体外卵胞培養システムの開発に関する研究、  
<http://ir.library.tohoku.ac.jp/re/bitstream/10097/37740/1/A1H180874.pdf>

## 第6節 バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究

ヒアリング協力者	橋爪 一善
本課題における担当	牛の胎盤オルガノイド構築のための基礎的研究
現所属および役職	岩手大学 農学部獣医学課程 教授
ヒアリング実施日	2009年1月9日

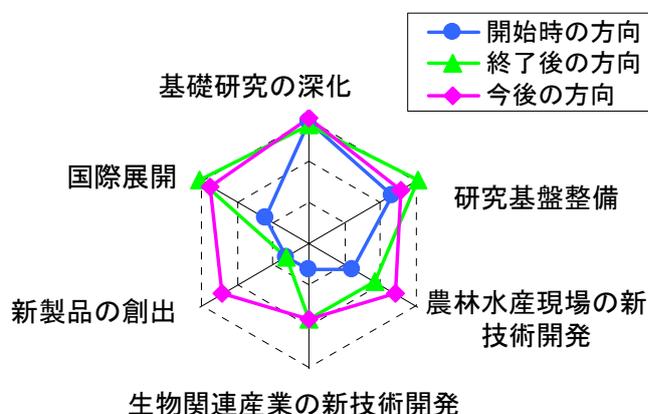
### 1. 研究の背景及び位置づけ

家畜が流産や早産を起こす原因の多くは、胎盤の形成・機能の不全である。ウシの場合には、受精卵移植などによる優良形質牛の大量生産を計画しても、産子生産率が30%に満たないのが実状である。この分野は従来、適正な生体外解析モデルがなく、取り組みの不十分な研究領域であった。このため、受胎と着床機構の解明を進め、その対応技術を開発することにより受胎率を改善し、優良牛を安定的に増産する技術の確立が望まれていた。

本研究では、ウシ胎盤の組織工学的な基盤的研究を行うことにより、ウシの産子生産率を向上させるための知見を得ることを目的とした。

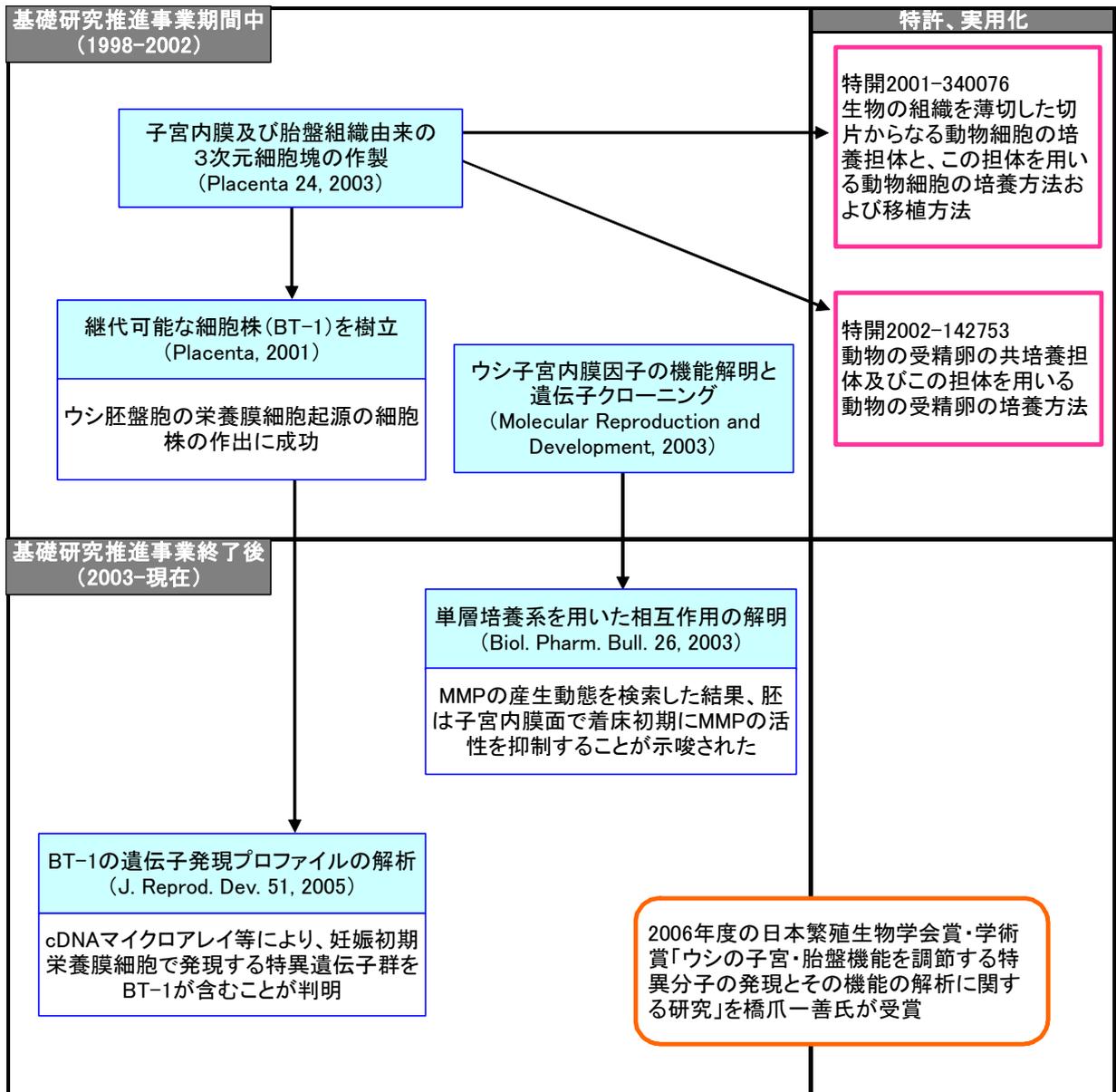
### 2. 研究の展開

基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



開始時は基礎研究の深化を重点的に目指し、終了後はその成果をもとに研究基盤整備や国際展開への発展を行った。今後は基礎研究の深化をさらに継続し、国際的共同研究も取り入れながら、農林水産現場の新技术開発や新製品の創出も視野に入れた研究に取り組んでいく。

基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

本研究は、ウシの子宮内膜機能の解析および生体外の着床・妊娠機構研究用細胞系モデルの開発、さらに、作成した子宮・胎盤様細胞構造体によるウシ子宮および卵巣機能の制御することを目的とした。具体的には以下のとおりである。

- 1) ウシの子宮および胎盤由来の培養細胞を組織工学的手法により胎盤様器官（オルガノイド）に再構築するための基礎研究を行う。
- 2) 着床・受胎に必要な情報伝達物質を明らかにするとともに、その関連遺伝子をオルガノイドに導入し、生体外での受精胚子の発生、分化、着床機構の解明を図る。
- 3) オルガノイドの生体移植による受胎率改善技術を開発する。

#### (2) 研究内容

本研究では、ウシの子宮内膜機能を解析するとともに、ウシ子宮、胎盤および受精胚子由来の細胞系を組織工学的に再構築し、生体外で着床、妊娠機構を解明するモデルの開発を試みた。また、子宮・胎盤様細胞構造体を生体へ移植することによりウシの子宮および卵巣機能の制御を試みた。

(研究実施体制)

中課題名	開始	終了	所属（事業当時）	研究代表者名（注）
牛の胎盤オルガノイド構築のための基礎的研究	10	14	農業生物資源研究所	橋爪 一善*
受胎・妊娠維持機構の解明	13	14	農研機構 畜産草地研究所	岡野 彰
受胎機構と母子間免疫の解明	10	12	中国農業試験場	小松 正憲
子宮・胎盤機能の分子機構の解明	10	14	東京薬科大学	伊東 晃
胎盤再構築技術開発のための基礎的研究	10	14	広島大学医学部	大濱 紘三

(注) 研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

#### (3) 主な研究成果

- 1) 子宮内膜及び胎盤組織由来の細胞系の確立と3次元細胞塊の作製

胎盤オルガノイド構築を目的として、子宮内膜及び胎盤組織由来の各種細胞系を確立し、3次元細胞塊の作製に成功した。ここでは、アスコルビン酸を培養細胞に添加して細胞の増殖性を高めておく方法を用いた。この子宮内膜様モデルは形態的及び機能的に生体内の子宮内膜組織と類似し、生体内において子宮内膜機能再現の

可能性を示すことができた。さらに、胎盤オルガノイドを生体に移植して収集した受胎調節因子に関する情報も得た。

## 2) 子宮内膜の ECM 改変に関与する分子機構の解明

ウシ子宮内膜の ECM<sup>\*1)</sup> 改変は着床や胎盤形成に必須な生体反応である。本研究では、子宮内膜及び栄養膜細胞の MMP<sup>\*2)</sup> およびその阻害因子である TIMP<sup>\*3)</sup> が子宮内膜の ECM 改変に重要な役割を担っていること、ウシ MMP の活性発現調節は他の動物種とは異なることを明らかにした。ウシ MMP 遺伝子のクローニングも行い、次いで、新規物質 EMMPRIN<sup>\*4)</sup> のクローニング及びその機能解析を行うことにより、MMP の活性発現に EMMPRIN<sup>\*4)</sup> が関与することを示した。

\*1) ECM : Extracellular matrix (細胞外マトリックス)

\*2) MMP : Matrix metalloproteinase (マトリックスメタロプロテナーゼ)

\*3) TIMP : Tissue inhibitors of metalloproteinase (MMP 阻害因子)

\*4) EMMPRIN : Extracellular matrix metalloproteinase inducer (MMP 発現制御因子)

## 3) 胎盤の小丘領域および小丘間領域の細胞の単離培養技術の確立

子宮内膜は胎盤を形成する小丘領域とそれ以外の小丘間領域とに分かれる。これらの細胞を単離培養する技術を確立し、細胞ごとにステロイドホルモンに対する反応性や増殖性が異なることを解明した。また、妊娠認識の臨界時期に子宮内膜で産生され黄体退行を引き起こさせるプロスタグランジン産生を、 $\text{INF}\tau$  および  $\text{INF}\alpha$  が抑制することを明らかにした。

## 4) ウシ胚盤胞栄養膜細胞由来の細胞株 (BT-1) の樹立

基礎研究推進事業において実施された胎盤オルガノイド構築技術の開発には、生体外の胎盤モデル細胞株が極めて有用であるが、利用できる細胞株はヒトあるいはげっ歯類の細胞株に限られており、しかもそのほとんどが絨毛癌由来の細胞であった。そこで、ウシの着床および胎盤研究の生体内モデルとして細胞株の作出を試み、BT-1 細胞株の樹立に成功した。BT-1 細胞株は培養下で 150 代以上の継代が可能であり、胎盤性プロラクチンファミリー分子やインターフェロン $\tau$  を発現している点でも生体内の胎盤の栄養膜細胞の機能を反映している。

また、BT-1 細胞株について cDNA マイクロアレイ、RT-PCR を用いて遺伝子発現プロファイルの解析を開始した。

## 5) 受精胚の培養担体の作製

受精胚と共培養可能な細胞を含む培養担体を作製し、着床様現象を再現した。

#### 4. 事業終了後の状況

##### (1) 研究発展状況

基礎研究推進事業終了後、総括研究代表者であった橋爪一善氏は、2003年に農業生物資源研究所から岩手大学に異動となり、引き続き事業期間中の研究を精力的に発展させている。伊藤記念財団から2004年及び2005年の2回「子宮・胎盤特異的 cDNA マイクロアレイによるウシ妊娠子宮、胎盤の領域および時期特異的発現遺伝子の解析」についてグラントを受賞し、また、日本学術振興会科学研究費も継続的に獲得して、ウシの cDNA マイクロアレイ解析技術およびそれを用いたウシの超早期妊娠診断法の開発について、新たな知見が得られている。また、日本学術振興会科学研究費をもとに、「ウシ子宮・胎盤細胞外マトリックスを用いた子宮内膜様構造体の再構築と機能解析」に関する研究も継続している。農業生物資源研究所とは子宮・胎盤機能の解析の共同研究を進めており、ウシ胎盤におけるプロラクチン関連タンパク質の役割等の成果をあげた。これらの成果が大きく評価され、平成18年度の第99回日本繁殖生物学会学術賞を「ウシの子宮・胎盤機能を調節する特異分子の発現とその機能の解析に関する研究」により受賞している。

##### (2) 新たな研究成果

###### 1) ウシ cDNA マイクロアレイの作製と解析

ウシ栄養膜細胞の分化と機能を明らかにするために、ウシ栄養膜細胞株 BT-1 について cDNA マイクロアレイ、RT-PCR を用いて遺伝子発現プロファイルの解析を行った。アレイ解析の結果では、BT-1 では1773遺伝子中933遺伝子が生体の妊娠初期栄養膜および胎盤組織と比較して2倍以上の発現差を示した。これら933遺伝子についてクラスタリング解析により各遺伝子を6クラスターに分配したところ、クラスター2は栄養膜細胞に特異的な PL、数種 PAG 遺伝子を含んでいた。この発現動態は、BT-1 および妊娠初期栄養膜細胞、並びに胎盤組織において同様であり、BT-1 が妊娠初期栄養膜細胞で発現する特異遺伝子群を含み、ウシの着床および胎盤研究の生体内モデルとして適切であることが示唆された。(J. Reprod. Dev. (51: pp. 211-220, 2005) (図1)。

平成10年から平成14年の開放的融合研究においては、ウシ子宮・胎盤の cDNA、4000 遺伝子についてカスタムメイドのマイクロアレイを作製し、多数の分子要因が変動する着床時の遺伝子発現解析を行った。妊娠60日の子宮・胎盤組織において発情期と比較して栄養膜細胞・妊娠特異的な遺伝子群を明らかにした。また、体細胞クローン動物においては、妊娠25日目の胚および子宮内膜において、通常の妊娠子宮と比較して特異的な遺伝子発現の変動が見出された。

その後さらに高度なマイクロアレイ解析法の開発に取り組み、ウシ cDNA のオリゴマイクロアレイ 15,000 遺伝子のアレイを作製し、栄養膜分化の解析ならびに原腸肺形成の解析などに進展させている。

2) ウシ子宮・胎盤細胞外マトリックスを用いた子宮内膜様構造体の再構築と機能解析  
ウシの子宮および胎盤から尿素溶液を用いて細胞外マトリックス(extra-cellular matrix, ECM)成分を抽出し、生体外での培養担体あるいは培養系に添加して子宮内膜由来線維芽細胞を用いて子宮内膜様構造体を再構成し、着床機構解析モデル作製の基盤を確立した。足場担体として用いた場合および培養系へ添加した場合、いずれにおいても細胞増殖を促進し、その効果はマウス腫瘍由来の市販抽出液に比べ遜色のない効果であった。また、三次元的な共培養系を開発するため、界面活性剤の一種である温度感受性高分子(Pluronic)を用いた培養法を検討し、本高分子と I 型コラーゲンを混合することにより栄養膜細胞の培養可能な方法を開発した。

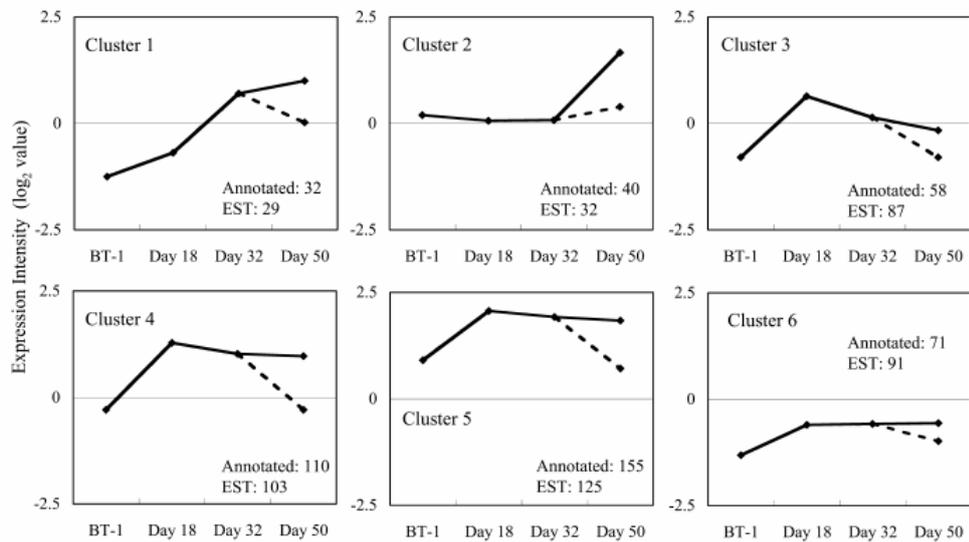


図1 クラスタ解析  
6つのクラスターにおける、933 遺伝子の発現データを正規化し  $\log_2$  変換して示した。

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的波及効果

卵子に関する研究は近年再生医療における関心の高まりもあいまって発達しているが、家畜の生産を向上させることを目的として、卵子が実際に生体に着床し、妊娠に進めていく技術を開発し、受胎率や出産率を向上させることが大変重要である。本研究では、ウシの胎盤や子宮の cDNA のマイクロアレイをカスタムメイドして、着床や妊娠における遺伝子発現解析法を確立し、着床機構等の基礎的な知見を集積した。この結果により、マイクロアレイがクローン動物の発生機構や妊娠機構を解明する有効な手段であることが明らかとなった。本研究以前は、ウシ胎盤の研究は日本において行われておらず、また世界的にもオーストラリアやニュージーランドにおけるヒツジの研究が中心であった。本研究以降は、米、フランス、ドイツで研究が開始され、論文の引用も高くなっている。今後、さらに詳細な発生機構の研究に役立っていくものと思われる。

#### 2) 産業技術的波及効果

本研究で確立したマイクロアレイによる遺伝子発現解析の手法により、胚の異常が遺伝子の発現変動や遺伝子機能の欠如によることが示された。この結果から、妊娠早期の胚死滅の要因が発現異常や遺伝子機能異常によることが推定され、体外受精技術などにおいて利用した受精胚の質を区別する方法への応用に発展させることが期待される。

#### 3) 社会的波及効果

現在、ブタやトリについては、家畜の安定な生産技術が確立されており、供給が企業化されている。しかし、ウシはミルクや食肉として重要な食糧源であるにもかかわらず、生産が安定していない。特にミルクの供給は妊娠中の雌ウシにしかできないが、雌ウシのうち妊娠するものは 60%といわれており、妊娠回数も 1 頭あたり 3、4 回と少ないのが現状である。ウシの受胎率を向上させることにより、畜産現場の負担も軽減され、ミルクの増産に寄与できると考えられる。

#### 4) 人材育成的波及効果

本事業には、13 人のポスドクが参画したが、その後も多くの学生が、本事業がきっかけとなった研究に従事し、学位の取得や大学・研究所でのポジションを獲得している。特に、ウクライナ、オーストラリア、バングラデシュ、米国などの外国人がそれぞれポジションを得るなど、国際的にも人材育成に貢献している。

## 5. 有識者コメント

畜産業にあって、ミルクの供給は出産後の雌ウシにしかできないが、雌ウシのうち妊娠するものは60%といわれており、妊娠回数も1頭あたり3、4回と少ないのが現状であるから、これらの改善の産業に対する貢献度はきわめて高い。妊娠を全うするものが少ない理由は、主に妊娠初期の“流産”にあるとされ、妊娠継続か、敢えて流産してより良い環境で次のチャンスを選ぶかの“母体の総合的選択”などの複雑事象が関与すると考えられるため、原因の追究、その対処法の確立は求められている割には進歩していない。本研究は、体外に胎盤様の組織塊（胎盤オルガノイド）を構築し、生体内で実際に起きる複雑性を軽減するとともに、単なる子宮内膜、あるいは受精卵を取り扱った研究では得られない複雑系を再現しようとした試みであり、重要性のある狙いであるとの見解が得られた。

また、目的とした胎盤オルガノイドの作出には成功しているが、必ずしもこのツールを活用した、流産原因の解明などの実用的な見地からの研究の展開にはまだ至っていないが、その後、本研究は、着床に伴う子宮の遺伝子発現の網羅的解析などに重点が置かれた。ウシの胎盤研究は、そもそも研究材料のコスト自体が高く、一般の研究者には取り扱いにくい対象であり、本研究で得られたこのような知見は研究を活性化するという意味で評価に値するとの意見が出された。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキング

#### 1) 検索式

内容	No.	件数	検索式 (CA)
ウシ・動物、 着床・胎盤・至急	L1	42329	(BOVINE OR ANIMAL) AND (IMPLANTATION OR PLACENTA? OR UTERUS)
細胞培養・子宮内 膜・細胞外マトリッ クス	L2	2001	L1 AND ((CELL OR TISSUE)(W)CULTURE OR ((ENDOMETRIUM OR UTERINE)(5A)EXTRACELLULAR(W)MATRIX))
1998年以降	L3	1276	L2 AND PY>=1998
特許以外	L4	722	L3 NOT P/DT

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	10	<b>HASHIZUME, KAZUYOSHI</b>
2	9	GOTOH, YASUHITO
3	9	ISHIKAWA, JUNZO
4	9	TAKAHASHI, TORU
5	9	TSUJI, HIROSHI
6	8	SHULER, MICHAEL L.
7	7	SATO, HIROKO
8	7	VAN BLITTERSWIJK, C. A.
9	6	DE BRUIJN, J. D.
10	6	VAN BLITTERSWIJK, CLEMENS A.
11	5	FUSSENEGGER, MARTIN

#### 3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
1	14	KYOTO UNIVERSITY
2	9	NARA MEDICAL UNIVERSITY
3	7	CORNELL UNIVERSITY
4	6	<b>NATIONAL INSTITUTE OF AGROBIOLOGICAL SCIENCES</b>
5	6	UNIVERSITY OF TOKYO
6	5	THE UNIVERSITY OF TOKYO
7	5	UNIVERSITY OF PITTSBURGH

### (2) 成果論文データ

#### 1) 主要成果論文

・基礎研究推進事業の期間中の主要論文

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	0	0	2	6	6	14
その他	0	0	0	2	1	3

(出典：終了時の研究成果報告書)

・基礎研究推進事業の終了以降の主要論文

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	合計
原著論文	10	9	5	5	7	2	38
その他	3	4	2	1	0	0	10

2) 論文の被引用数の推移

年	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位 10	33
1998-2002	成果	上位 10	175
2003～	終了後	上位 10	197

3) 被引用数上位文献

全論文を対象として、基礎研究推進事業期間中の論文を白抜き、基礎研究推進事業終了後の論文を緑で示した。

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol	引用数
1	2002	Implantation and placental development in somatic cell clone recipient cows	Hashizume K., Takahashi S., Katsuma S., Shiojima S., Hirasawa A., Tsujimoto G., Todoroki J., Izaike Y., Ishiwata H., Kizaki K., Yamada O., Takahashi T., Imai K., Patel O.V., Akagi S., Shimizu M.	Cloning and Stem Cells	4	50
2	2003	Characterization of gene expression profiles in early bovine pregnancy using a custom cDNA microarray	Ishiwata H., Ikawa H., Suzuki Y., Tsujimoto G., Izaike Y., Todoroki J., Hashizume K., Katsuma S., Kizaki K., Patel O.V., Nakano H., Takahashi T., Imai K., Hirasawa A., Shiojima S.	Molecular Reproduction and Development	65	38
3	2001	Expression of heparanase mRNA in bovine placenta during gestation	Kizaki K., Nakano H., Takahashi T., Imai K., Hashizume K.	Reproduction	121	29
4	2004	cDNA microarray analysis of bovine embryo gene expression profiles during the pre-implantation period	Ushizawa K., Tsunoda Y., Tsujimoto G., Hashizume K., Herath C.B., Kaneyama K., Shiojima S., Hirasawa A., Takahashi T., Imai K., Ochiai K., Tokunaga T.	Reproductive Biology and Endocrinology	2	28
5	2003	Genome-wide analysis of DNA methylation status of CpG islands in embryoid bodies, teratomas, and fetuses	Kremenskoy M., Kremenska Y., Ohgane J., Hattori N., Tanaka S., Hashizume K., Shiota K.	Biochemical and Biophysical Research Communications	311	26

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol	引用数
6	2001	Expression of placental lactogen and cytokeratin in bovine placental binucleate cells in culture	Nakano H., Takahashi T., Imai K., Hashizume K.	Cell and Tissue Research	303	24
7	2001	Isolation and characterization of a bovine blastocyst-derived trophoblastic cell line, BT-1: Development of a culture system in the absence of feeder cell	Shimada A., Nakano H., Takahashi T., Imai K., Hashizume K.	Placenta	22	22
8	2004	Pregnancy-associated changes in genome-wide gene expression profiles in the liver of cow throughout pregnancy	Herath C.B., Tsujimoto G., Hashizume K., Shiojima S., Ishiwata H., Katsuma S., Kadowaki T., Ushizawa K., Imai K., Takahashi T., Hirasawa A.	Biochemical and Biophysical Research Communications	313	19
9	2002	Expression of prolactin-related protein I at the fetomaternal interface during the implantation period in cows	Yamada O., Todoroki J., Kizaki K., Takahashi T., Imai K., Patel O.V., Schuler L.A., Hashizume K.	Reproduction	124	17
10	2002	Bovine trophoblastic cell differentiation on collagen substrata: Formation of binucleate cells expressing placental lactogen	Nakano H., Shimada A., Imai K., Takezawa T., Takahashi T., Hashizume K.	Cell and Tissue Research	307	16
11	2003	Differential regulation of the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases by cytokines and growth factors in bovine endometrial stromal cells and trophoblast cell line BT-1 in vitro	Hirata M., Sato T., Tsumagari M., Shimada A., Nakano H., Hashizume K., Ito A.	Biology of Reproduction	68	12
12	2005	Gene expression profiles of bovine trophoblastic cell line (BT-1) analyzed by a custom cDNA microarray	Ushizawa K., Takahashi T., Kaneyama K., Tokunaga T., Tsunoda Y., Hashizume K.	Journal of Reproduction and Development	51	11
13	2004	Temporospatial expression of placental lactogen and prolactin-related protein-1 genes in the bovine placenta and uterus during pregnancy	Patel O.V., Yamada O., Kizaki K., Todoroki J., Takahashi T., Imai K., Schuler L.A., Hashizume K.	Molecular Reproduction and Development	69	11

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol	引用数
14	2003	A three-dimensional cell culture model for bovine endometrium: Regeneration of a multicellular spheroid using ascorbate	Yamauchi N., Yamada O., Takahashi T., Imai K., Sato T., Ito T., Hashizume K.	Placenta	24	11
15	2005	Cloning and expression of a new member of prolactin-related protein in bovine placenta: Bovine prolactin-related protein-VII	Ushizawa K., Kaneyama K., Takahashi T., Tokunaga T., Tsunoda Y., Hashizume K.	Biochemical and Biophysical Research Communications	326	10
16	2002	Association of Dolichos biflorus lectin binding with full differentiation of bovine trophoblast cells	Nakano H., Shimada A., Imai K., Takahashi T., Hashizume K.	Reproduction	124	10
17	2002	The dynamic expression of extracellular matrix in the bovine endometrium at implantation	Yamada O., Todoroki J.-I., Takahashi T., Hashizume K.	Journal of Veterinary Medical Science	64	10

#### 4) 被引用数の年次推移

##### ・基礎研究推進事業期間中

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
1	—	—	—	—	0	5	8	8	10	11	8	50
2	—	—	—	—	—	2	5	11	9	7	4	38
3	—	—	—	0	5	1	8	3	4	4	4	29
6	—	—	—	1	3	3	3	4	1	8	1	24
7	—	—	—	0	2	2	3	2	2	6	5	22
9	—	—	—	—	0	2	4	3	4	1	3	17
10	—	—	—	—	2	3	3	2	1	3	2	16
11	—	—	—	—	—	2	2	2	1	4	1	12
14	—	—	—	—	—	3	1	1	2	3	1	11
16	—	—	—	—	0	2	0	1	2	2	3	10
17	—	—	—	—	0	4	1	1	1	1	2	10

##### ・基礎研究推進事業終了後

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
4	—	—	—	—	—	—	0	5	7	9	7	28
5	—	—	—	—	—	0	2	6	8	4	6	26
8	—	—	—	—	—	—	1	10	3	4	1	19
12	—	—	—	—	—	—	—	2	1	4	4	11
13	—	—	—	—	—	—	0	1	4	5	1	11
15	—	—	—	—	—	—	—	1	3	5	1	10

5) 引用論文の分野

分野	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
生化学、遺伝学、分子生物学	37	23	21	14	20	14	14	10	12	9
医学	21	12	11	10	8	15	12	5	6	10
農学、生物科学	18	19	4	10	2	6	6	8	5	4
免疫学、微生物学	9	5	2	2			1	4		1
獣医学	8	8	4	5		2	2	5	2	1
神経科学	1									
薬学、毒性学、薬剤学		1	3	1	1				1	
ビジネス、経営、会計			1							
工学				1						
神経科学					1					
社会科学					1					

(3) 共同研究先データ

1) 基礎研究推進事業での共同研究先

研究者名	所属	国
雨宮浩	国立小児病院小児医療研究センター	日本

2) 基礎研究推進事業以降の共同研究先

機関	国
テキサス A&M 大学	アメリカ

(4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	出願人・権利者名	発明者	出願日
特開 2001-340076	生物の組織を薄切した切片からなる動物細胞の培養担体と、この担体を用いる動物細胞の培養方法および移植方法	農林水産省畜産試験場 長 竹澤俊明	竹澤俊明 今井敬 高橋透 橋爪一善	2001/3/30
特開 2002-142753	動物の受精卵の共培養担体及びこの担体を用いる動物の受精卵の培養方法	生物系特定産業技術研究推進機構 独立行政法人農業技術研究機構	竹澤俊明 今井敬 高橋透 橋爪一善	2000/1/15

### (5) 報道データ

見出し	出典
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞
生物機能を生かせ：(7)生研機構、新産業技術創出事業 受胎率向上技術発展へ	1998/09/02 日本工業新聞
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(6)	2003/04/16 日本工業新聞
牛の卵巣機能制御に関わるプロテアーゼ及びそのインヒビター系の解明	2007/12/11 農林水産技術会議ホームページ
ウシ子宮内膜マトリックスメタロプロテナーゼの妊娠中の動態	2007/12/11 農林水産技術会議ホームページ
ウシ栄養膜由来細胞株(BT-1)の樹立	2007/12/11 農林水産技術会議ホームページ
動物組織の切片を機能性培養担体として活用した新しい細胞培養法	2008/04/07 農林水産技術会議ホームページ
ウシ子宮内膜組織様構造体の構築法とその機能	2008/04/07 農林水産技術会議ホームページ

### (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
生殖系列細胞の再生と再構築のための基礎的研究 ②牛の胎盤オルガノイド構築のための基礎的研究	1998-2002	重点研究支援研究課題	(独)農業生物資源研究所	統括責任者:居在家義明 研究代表者:橋爪一善
ウシ生殖系列細胞の分化と機能解析	2001-2005	交付金	(独)農業生物資源研究所	-
子宮・胎盤特異的 cDNA マイクロアレイによるウシ妊娠子宮、胎盤の領域および時期特異的発現遺伝子の解析	2004、2005	家畜増殖先端技術部門	伊藤記念財団	代表研究者 橋爪一善
ウシ肝 cDNA マイクロアレイの評価と妊娠ウシ肝の特異発現遺伝子の検索	2004-2005	日本学術振興会科学研究費	萌芽研究	代表研究者 橋爪一善
ウシ子宮・胎盤細胞外マトリックスを用いた子宮内膜様構造体の再構築と機能解析	2005-2007	日本学術振興会科学研究費	基盤研究(B)	代表研究者 橋爪一善
増殖・分化機構の解明による動物細胞機能制御技術の開発	2005-2007	委託研究事業	農業生物資源研究所	-
DNAチップによるウシの超早期妊娠診断法の開発	2007-2008	日本学術振興会科学研究費	萌芽研究	代表研究者 橋爪一善
ウシ栄養膜幹細胞系の確立	2008	日本学術振興会科学研究費	基盤研究(B)	代表研究者 橋爪一善

### (7) 受賞データ

受賞年	賞	受賞内容
平成18年9月7～9日	第99回日本繁殖生物学会学術賞	ウシの子宮・胎盤機能を調節する特異分子の発現とその機能の解析に関する研究

(8) 講演・シンポジウム開催データ

開催日	場所	講演・シンポジウムタイトル
2004	東京	発生分化研究公開シンポジウム「生殖と発生・分化制御機構研究の現状と動物産業への応用」 招待講演「胎盤細胞の分化機構」
2004	福井	第19回日本家畜受精卵移植技術研究会大会 「ウシ着床機構の調節」
2007.1.8	京都	The 33rd Annual Conference of the International Embryo Transfer Society. "Gene expression and maintenance of pregnancy in bovine: Roles of trophoblastic binucleate cells-specific molecules."
2007.10.18	パリ	2nd International Meeting on Mammalian Embryogenomics. "Global gene expression profiling in bovine trophoblast cell lineage."
2008.5.30	東京	第40回日本結合組織学会学術大会 「着床制御に関わる機能分子」
2008.8.6	バングラデシュ	15th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction. "Global gene expression profiling and differentiating bovine trophoblast cells."

(9) 学会役員歴データ

該当なし。

(10) 実用化データ

該当なし。

## 第7節 高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究

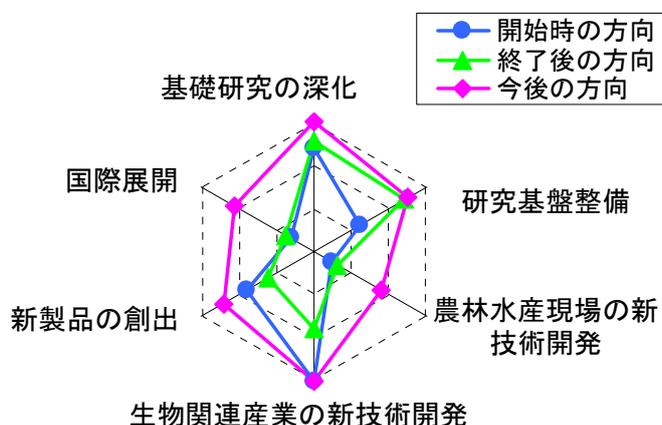
ヒアリング協力者	安達 修二
本課題における担当	中課題「新たな脂質粉末化技術の開発と高機能性食品への応用」
現所属および役職	京都大学大学院農学研究科 教授
ヒアリング実施日	平成20年12月9日

### 1. 研究の背景

脂質は人間の生体の生理機能を維持し、健康を保持していく上で不可欠である。しかし、最近の食生活の西欧化に伴い高脂肪・高コレステロール食品を食する機会が増加し肥満などの生活習慣病が問題になってきた。そのため脂質に代わる食品が望まれているところである。また、美容への関心等により、魚油や植物油などかつては十分に摂取されてきた不飽和脂肪酸の摂取量が減少してきている。そのため不飽和脂肪酸をバランスよく摂取できる食品材料を供給することが重要視されてきた。さらに、食品中に含まれる生体調節機能物質を、機能や構造を保持したまま効率的に取り込む必要があるが、その含有量が少ないことから生理活性物質を酵素合成する手法や吸収効率の優れた食品形態を創出することが期待されてきた。

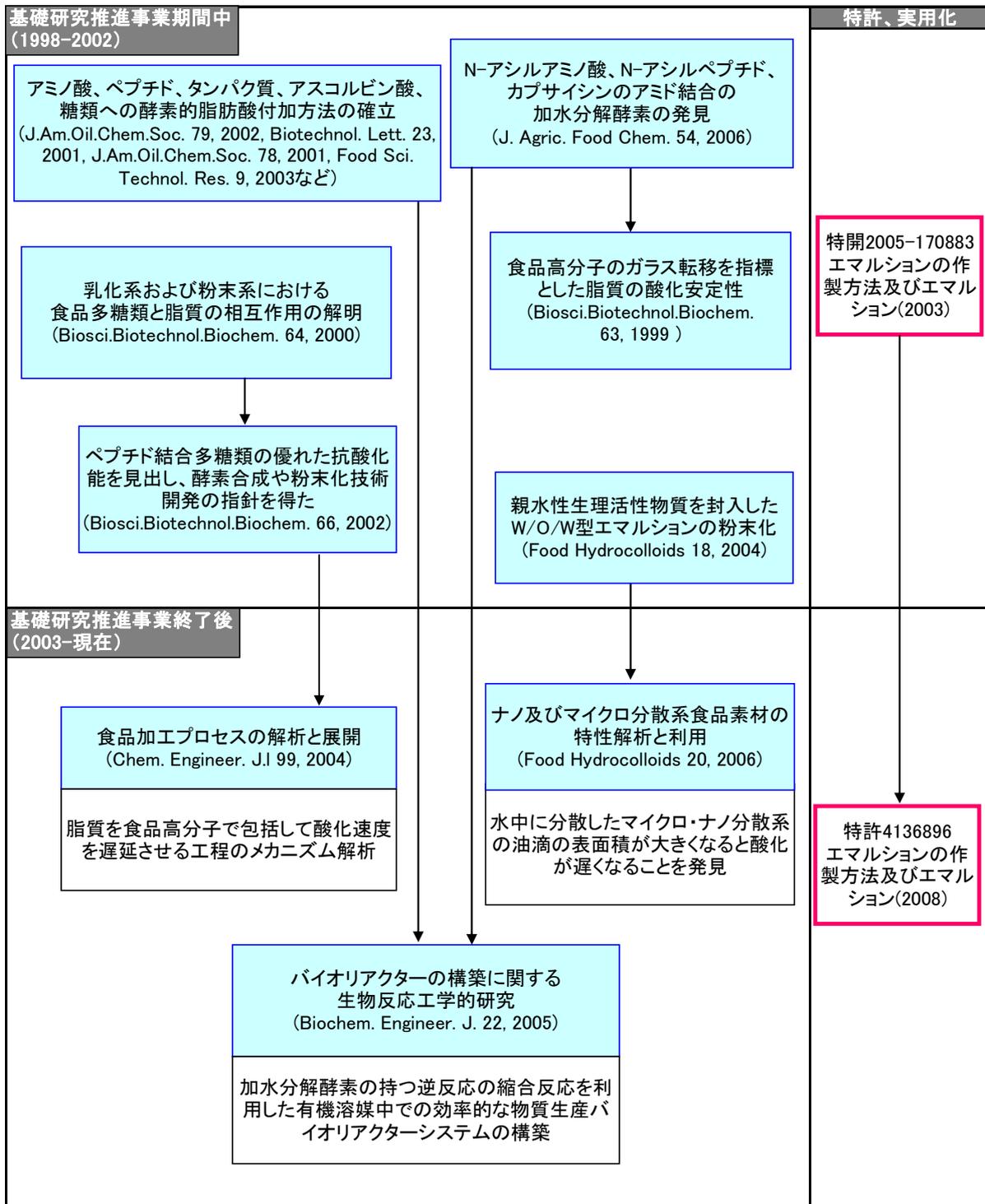
### 2. 研究の展開

基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



基礎研究推進事業当初は、基礎研究の深化及び生物関連産業の新技术開発を研究の方針とした。事業終了後はさらに研究基盤整備の方向へも研究が広がり、今後はさらに基礎研究の進化や生物産業の新技术開発に加えて新製品の創出や国際展開へと研究を進めていく。

基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

脂質は栄養学的・生理学的に欠くことのできない成分であるばかりでなく、食品に美味しさを与えるなど、現代の食生活において重要な役割を果たす。本研究は、脂質が持つ特性を活用し、新たな高機能性脂質食品素材を開発する生体触媒工学、食品製造工学に関する基盤的研究を通して、食品産業や健康で豊かな生活に貢献することを目的としている。特に、脂質素材の分子論（食品化学）的背景を解明し、健康の維持にとって重要な抗酸化機能を具備した食品素材の開発を目指す。

#### (2) 研究内容

生物体内で機能している生体触媒である酵素を利用して転移反応や加水分解反応の逆反応などの熱力学的に不利な反応系に工夫をこらすことにより、脂質を他の食品成分、とくに親水性成分に付加して、抗酸化性や乳化性を備えた新たな高機能性食品素材物質を効率的に合成する（中課題 1）。また、これらの新素材と食品高分子を用いて、その濃厚水溶液のエマルジョンを乾燥することにより、脂質の酸化抑制能や生理機能物質の腸管吸収能に優れた粉末化脂質を創製するための工学的基盤を確立する。ここでは、脂溶性または水溶性生理活性物質を経口投与した後、活性を保持したまま腸管まで輸送し、速やかに吸収させるキャリアとして粉末化技術を応用することを目標とした（中課題 2）。さらに、脂質と食用高分子等の食品成分間の相互作用を解明し、得られた知見を酵素合成や粉末化プロセスに還元することにより、高機能性を備えた脂質食品素材を合理的にデザインする指針を得る（中課題 3）。

#### (研究実施体制)

中課題名	開始	終了	所属（事業当時）	研究代表者名 （注）
1 熱力学的障壁を克服した機能性食品素材物質の酵素合成	10	14	岡山大学工学部	中西 一弘
2 新たな脂質粉末化技術の開発と高機能性食品への応用	10	14	京都大学大学院農学研究科	松野 隆一*
3 エマルジョン系、濃厚系、極低水分系における相互作用の分子論	10	14	京都大学大学院農学研究科	森 友彦

（注）研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

### (3) 主な研究成果

#### 1) アミノ酸、ペプチド、タンパク質、アスコルビン酸、糖類への酵素的脂肪酸付加方法の確立

主要な食品素材物質であるアミノ酸、ペプチド、タンパク質、アスコルビン酸、糖類およびバニルアミン等の水溶性物質に脂肪酸を付加する酵素を容易に入手できる市販の工業用酵素群からスクリーニングして新機能を付加した。アミノ酸、ペプチドに対してはブタ腎臓由来 aminoacylase I が、タンパク質に対しては *Streptomyces* 由来トランスグルタミナーゼが脂肪酸付加反応を触媒することが分かった。また、アスコルビン酸、糖類への脂肪酸付加は市販品の固定化リパーゼにより高効率で合成されることを新たに見出した。

#### 2) N-アシルアミノ酸、N-アシルペプチド、カプサイシンのアミド結合の加水分解酵素の発見

N-アシルアミノ酸、N-アシルペプチド、カプサイシンのアミド結合など多様な物質のアミド結合の選択的かつ効率的な加水分解反応を触媒する新規な酵素を発見し、その特性を明らかにした。本新規酵素は放線菌 *S. mobaraensis* の培養上清から得られたもので、N-アシルアミノ酸、N-アシルペプチドの反応は約 80% (V/V) のグリセロール水溶液中で高効率に触媒されることが見出され、特許申請を行った。

#### 3) 乳化系および粉末系における食品多糖類と脂質の相互作用の解明

多糖類は粉末化脂質の包括剤である。食品多糖類の脂質包括剤としての適性について調べたところ、乳化系で多糖類と強い相互作用を示したアラビアゴムは、粉末系で脂質包括剤として使用された場合に強い酸化抑制効果を持つことが明らかになった。この結果から脂質と多糖類との相互作用が脂質の酸化作用に大きな影響を及ぼすことが確認された。

#### 3) 食品高分子のガラス転移を指標とした脂質の酸化安定性

脂質と多糖との相互作用をガラス転移挙動を指標として解析し、貯蔵する相対湿度が上昇すると包括剤は 37℃の貯蔵温度でガラス状態からラバー状態へ転換し、包括されていた脂質の酸化が起りやすくなったことが分かった。ガラス転移が酸化抑制効果に優れた包括剤を選定する規準となりうることを示した。

#### 5) ペプチド結合多糖類の優れた抗酸化能を見出し、酵素合成や粉末化技術開発の指針を得た。

大豆に由来する水溶性多糖 SSPS が優れた乳化性と酸化抑制作用を有することを発見した。さらに、粉末化脂質を調製する際に用いられる包括剤であるマルトデキストリンを添加することにより粉末化脂質の酸化を大幅に抑制することが可能であ

ることを明らかにした。

#### 6) 親水性生理活性物質を封入した W/O/W 型エマルジョンの粉末化

内水相に親水性の生理活性物質を封入した W/O/W 型のエマルジョンの粉末化という新たな概念を提出し、それを噴霧乾燥法で実現する技術を確立した。この方法で得られた粉末は、1 ヶ月程度の長期保存に安定であり、内水相に封入した生理活性物質は腸管内での消化に伴って生成するモノグリセリドにより親水性物質の吸収が促進されること、及び脂質の分解速度が油滴径に依存することを見出した。

### 4. 事業終了後の状況

#### (1) 研究発展状況

基礎研究推進事業において食品材料として用いる脂質の酸化制御等についての知見を蓄積し、その研究は総括研究代表者の松野隆一氏の退官後も本課題の中課題 2 において中心的に研究に携わった安達修二氏に継続された。事業終了後は、脂質のナノ・マイクロ分散系における特性解析や生物反応工学的研究、食品加工プロセス工学等の領域で研究がさらに深化されている。2006 年には、学術振興会からグラントを獲得し、ナノ粒子化による脂質の酸化の遅延機構を詳細に解明した。また、新たに食品には極めて重要な水の特性の研究領域に研究を発展させ、2001 年から 2004 年に学術振興会から連続して 2 度のグラントを受け、亜臨界水を用いて脂質等の疎水性物質を高濃度で溶解する食品加工技術についての技術開発も進展している。また、2007 年 4 月に設立された「京都大学・日清製粉グループ穀物科学コンソーシアム」に参画し、それまでに蓄積した抗酸化特性の測定技術などを利用して小麦粉及び小麦由来成分の抗酸化特性についての研究を精力的に進めている。

これらの研究の成果が広く評価され、松野隆一氏が 2003 年に日本食品工学会学会賞を「食品製造プロセスの合理的な設計法の確立に関する基盤的研究」で、また 2004 年に日本食品科学工学会学会賞を「脂質の高度利用に関する食品工学的研究—Food Science and Technology と Food Engineering の相乗的連携—」で受賞した。さらに、2004 年に安達修二氏が日本食品工学会研究賞を「脂質の高度利用を指向した食品工学的基礎研究」で受賞した。今後さらに、食品業界を牽引する基礎的データが蓄積されていくと期待されている。

#### (2) 新たな研究成果

##### 1) ナノ及びマイクロ分散系食品素材の特性解析と利用

水中に分散した油滴の大きさを数 10 nm 程度のナノメートルオーダーの大きさに微細化すると、マイクロメートルオーダーのより大きな油滴と比べて表面積が圧倒的に大きくなる。この時のナノ分散系の油滴の物理的・化学的性質を詳細に解析し、油的の表面積が大きくなると酸化が遅くなることを見出した。食品分野におけるナノテクノロジーは新しい方向性として近年注目を集めており、本知見はナノメートルオーダーの脂質を新たな食品素材として利用する重要な基礎的データとなると期

待されている（図1）。

## 2) バイオリアクターの構築に関する生物反応工学的研究

基礎研究推進機構で得られた酵素による食品素材と脂質の複合体を獲得する研究結果のうち、特に加水分解酵素の持つ逆反応の縮合反応を利用して有機溶媒中で界面活性物質などの機能性食品素材を合成する反応に注目し、効率的な物質生産を行うバイオリアクターシステムの構築を行った。

## 3) 食品加工プロセスの解析と展開

食品加工のうち、脂質を食品高分子で包括して酸化速度を遅延させる工程について、そのメカニズムを解析した。脂質を食品高分子で被覆して粉末化する工程では、脂質の酸化が大幅に遅くなることが知られていたが、その要因として、脂質と被覆する包括剤の間の相互作用がその酸化抑制に大きく影響していることが明らかになった。

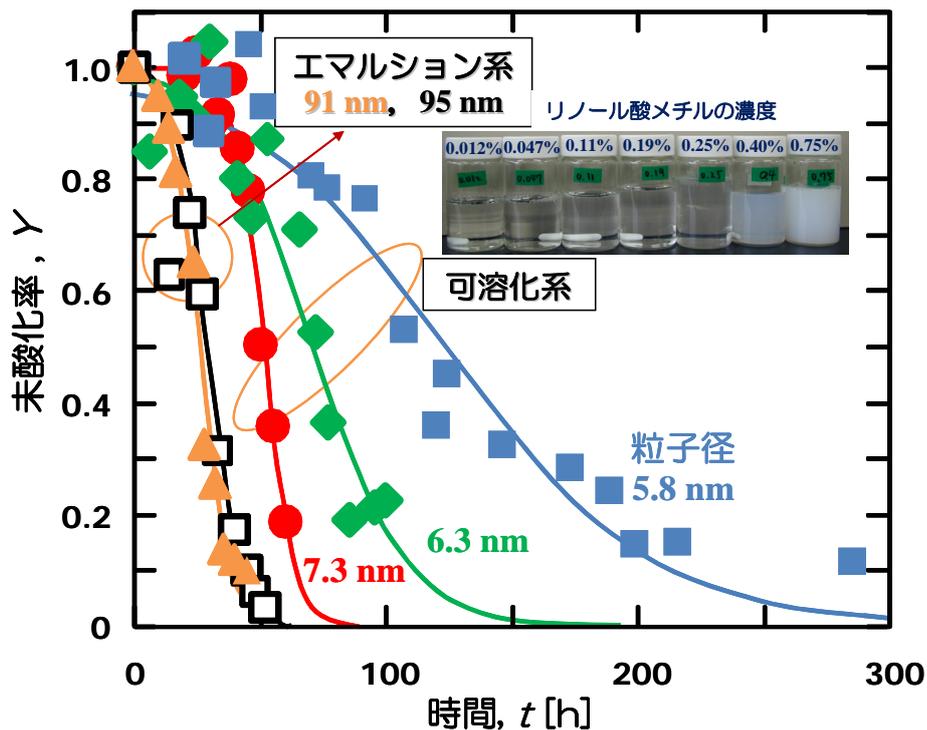


図1 エマルションの粒径と未酸化率

水中に不飽和脂肪酸を油相とする粒子が分散する可溶化系およびO/W型エマルション系において、分散粒子が微細化すると比表面積が著しく増大するにもかかわらず、脂質の酸化が遅延することを見出した。この結果を合理的に説明するモデルを提出し、ナノ粒子化により酸化安定性に優れた脂質分散系食品素材が調製できる可能性を示した。

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的波及効果

本研究では、食品素材の特質が有効である要因を理論的に突き止め、その理論を産業界に還元してさらに有用な食品素材を開発していくことが目的とされている。具体的には、脂質粉末化と抗酸化性の方法とそのメカニズムを詳細に解析し、動力学的な理論を提唱した。基礎研究終了後には、論文数も期間中よりさらに増加して公表されており、新しい知見が次々と獲得されていることがうかがわれる。

また、本研究で発見された新規の加水分解反応を触媒する酵素は効率が極めて高く、食品開発に利用されていくことが期待される。リパーゼを基質の特性からデザインした研究では、2003年の論文が掲載雑誌でのその年の被引用アクセス数で世界第2位を示しており、これらの酵素研究の世界的注目度が高く今後の波及が見込まれる。その他の酵素についても、脂質の付加によって食品素材の機能を向上させることが可能となるなど、今後量産する応用開発へと進んでいくと期待される。

#### 2) 産業技術的波及効果

食品業界は、中堅企業の比率が高く、基礎研究を自社で行う体力を保持している企業は医薬品業界等の他の業界に比べて大変少ない。そのため本研究で得られた理想系における食品素材の機能や性質の解明は公的機関でこそ可能な基礎研究であり、これらの結果が指針となって、産業界での食品開発に貢献するものと考えられる。

例えば、脂質の粉末化を行うことにより酸化速度を遅くすることができるが、その要因は被覆形態等ではなく、粉末内での脂質と包括剤との相互作用であることが明らかになった。酸素の拡散を抑え、かつ相互作用を増強することにより、抗酸化性が向上することが分かったため、今後、食品開発でも発想を転換し、包括剤の選択などにこれらの知見を生かした開発が進められていくことが考えられる。2007年度からは、日清製粉グループと共同で、小麦粉及び小麦由来成分の抗酸化特性についての研究が進められており、本研究で蓄積した知見を応用に結びつけていく方向にある。

現在、ナノテクノロジーを食品分野でも応用していく気運が高まっており、世界各国で取り組みが進められている。今後も本研究が積極的に取り進めてきた基礎的研究の成果により、食品の安定性や機能性、味や食感など、消費者が望む性質のメカニズムやそれらを獲得するための工学が展開され、その結果が食品業界に利用されて、産業の活性化につながることが期待される。

#### 3) 人材育成波及効果

本研究に参加した派遣研究員がアカデミックな分野にポジションを得た例は3例、博士研究員が大手企業に就職した例が2例、その後博士課程の学生が学位を取得した例が6例など、本研究に関連した研究者は多数その業績が認められ、学位やポジションを獲得した。

## 5. 有識者コメント

本研究は、食品素材として利用するための高機能性脂質についての研究であり、乳化系および粉末系において脂質酸化の分子論・食品化学的メカニズムを解明することにより、脂質酸化を抑制する技術を開発しようとするものである。特に、粉末化と抗酸化性に関する解析は、食品分野においてあまり詳細な解析が行われてこなかった分野であり、大変意義深いという意見が出された。

本研究では、基礎研究推進事業の終了後も生物反応工学的な側面から研究が進められ、ナノ粒子化によって、脂質の酸化が遅延されるメカニズムを詳細に解析するなど、これまで食品分野で明らかにされなかった領域での進展が見られ、論文として多数公表されている。食品分野におけるナノテクノロジーの利用は有効な食品の新素材の開発の新しい方向として期待されている。また、本研究によって得られた理論や解析法を小麦粉や小麦由来の成分の抗酸化性特性に応用する、食品企業との共同研究も進められており食品分野に貢献しているといえるとの評価が得られている。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキング

#### 1) 検索式

内容	No.	件数	検索式 (CA)
エマルション	L1	2,300	(WATER(1W)OIL(1W)WATER OR W(W)O(W)W(S)EMULSION#
脂質の封入、乾燥、粉末	L2	762	(ENCAPSULATED OR SPRAY(W)DRYING OR POWDER?)(3A)LIPID#
1998 年以降	L3	2,071	L1 OR L2) AND PY>=1998
	L4	1,119	L 3 NOT P/DT

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	19	HIRAI, TAKAYUKI
2	14	HATATE, YASUO
3	14	KOMASAWA, ISAO
4	13	<b>ADACHI, SHUJI</b>
5	13	SEILLER, M.
6	12	NAKASHIMA, TADAO
7	11	DENG, XIANMO
8	10	<b>MATSUNO, RYUICHI</b>
9	10	SHIMIZU, MASATAKA
10	10	YOSHIDA, MASAHIRO

(注) 本課題研究に関連した研究者を太字で示した。

#### (3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
1	19	CHINESE ACADEMY OF SCIENCES
2	17	<b>KYOTO UNIVERSITY</b>
3	17	OSAKA UNIVERSITY
4	14	THE HEBREW UNIVERSITY OF JERUSALEM
5	7	EGE UNIVERSITY
6	7	EWHA WOMANS UNIVERSITY
7	7	HOSHI UNIVERSITY
8	7	NATIONAL UNIVERSITY OF SINGAPORE
9	7	PHILIPPS UNIVERSITY
10	7	SECOND MILITARY MEDICAL UNIVERSITY
11	7	TULANE UNIVERSITY
12	7	UNIVERSITY OF ALBERTA
13	7	UNIVERSITY OF CALIFORNIA
14	7	UNIVERSITY OF OTAGO
15	7	UNIVERSITY OF WATERLOO
16	7	ZHEJIANG UNIVERSITY

(注) 本課題研究に関連した研究機関を太字で示した。

## (2) 成果論文データ

### 1) 主要成果論文

・基礎研究推進事業の期間中の主要論文

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	0	5	5	12	7	29
その他	0	0	0	0	1	1

(出典：終了時の研究成果報告書)

・基礎研究推進事業の終了以降の主要論文

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	合計
原著論文	16	13	8	14	5	7	1	64
その他	0	0	0	0	0	0	0	0

### 2) 論文の被引用数の推移

年	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位 10	396
1998-2002	成果	上位 10	181
2003～	終了後	上位 10	111

### 3) 被引用数上位文献

全論文を対象として、基礎研究推進事業の期間中の成果論文を白抜きで、終了後の成果論文を緑で示した。

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol	引用数
1	2002	Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying	Minemoto Y., Hakamata K., Adachi S., Matsuno R.	Journal of Microencapsulation	19	28
2	2002	Suppressive effect of saturated acyl L-ascorbate on the oxidation of linoleic acid encapsulated with maltodextrin or gum arabic by spray-drying	Watanabe Y., Fang X., Minemoto Y., Adachi S., Matsuno R.	Journal of Agricultural and Food Chemistry	50	21
3	1999	Autoxidation of linoleic acid encapsulated with polysaccharides of differing weight ratio	Minemoto Y., Adachi S., Matsuno R.	Bioscience, Biotechnology and Biochemistry	63	19
4	1999	Condensation of L-ascorbic acid and medium-chain fatty acids by immobilized lipase in acetonitrile with low water content	Watanabe Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R.	Food Science and Technology Research	5	18
5	2001	Continuous production of acyl mannoses by immobilized lipase using a packed-bed reactor and their surfactant properties	Watanabe Y., Miyawaki Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R.	Biochemical Engineering Journal	8	17

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol	引用 数
6	2000	Synthesis of lauroyl saccharides through lipase-catalyzed condensation in microaqueous water-miscible solvents	Watanabe Y., Miyawaki Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R.	Journal of Molecular Catalysis - B Enzymatic	10	17
7	2001	Lipase-catalyzed synthesis of unsaturated acyl L-ascorbates and their ability to suppress the autoxidation of polyunsaturated fatty acids	Watanabe Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R.	JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society	78	16
8	2001	Oxidation of linoleic acid and methyl linoleate mixed with saturated fatty acid or its methyl ester	Ishido E., Minemoto Y., Adachi S., Matsuno R.	LWT - Food Science and Technology	34	16
9	2004	Preparation of fine W/O/W emulsion through membrane filtration of coarse W/O/W emulsion and disappearance of the inclusion of outer phase solution	Shima M., Kobayashi Y., Fujii T., Tanaka M., Kimura Y., Adachi S., Matsuno R.	Food Hydrocolloids	18	15
10	1999	Lipase-catalyzed condensation of erythritol and medium-chain fatty acids in acetonitrile with low water content	Adachi S., Nagae K., Matsuno R.	Journal of Molecular Catalysis - B Enzymatic	6	15
11	2000	Lipase-catalyzed synthesis of 6-O-eicosapentaenoyl L-ascorbate in acetone and its autoxidation	Watanabe Y., Minemoto Y., Adachi S., Nakanishi K., Shimada Y., Matsuno R.	Biotechnology Letters	22	14
12	2004	Kinetics on the hydrolysis of fatty acid esters in subcritical water	Khuwijitjaru P., Fujii T., Adachi S., Kimura Y., Matsuno M.	Chemical Engineering Journal	99	12
13	2004	Relationships between structure and high-throughput screening permeability of peptide derivatives and related compounds with artificial membranes: Application to prediction of Caco-2 cell permeability	Ano R., Kimura Y., Shima M., Matsuno R., Ueno T., Akamatsu M.	Bioorganic and Medicinal Chemistry	12	12
14	2003	Lipase-catalyzed condensation of p-methoxyphenethyl alcohol and carboxylic acids with different steric and electrical properties in acetonitrile	Kobayashi T., Adachi S., Matsuno R.	Biotechnology Letters	25	12
15	1999	Autoxidation kinetics for polyunsaturated acylglycerols	Minemoto Y., Ishido E., Adachi S., Matsuno R.	Food Science and Technology Research	5	12

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol	引用 数
16	2003	Synthesis of 6-O-unsaturated acyl L-ascorbates by immobilized lipase in acetone in the presence of molecular sieve	Kuwabara K., Watanabe Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R.	Biochemical Engineering Journal	16	11
17	2005	Synthesis of esters by immobilized-lipase-catalyzed condensation reaction of sugars and fatty acids in water-miscible organic solvent	Adachi S., Kobayashi T.	Journal of Bioscience and Bioengineering	99	11
18	2005	Kinetics on sucrose decomposition in subcritical water	Haghighat Khajavi S., Kimura Y., Oomori T., Matsuno R., Adachi S.	LWT - Food Science and Technology	38	10
19	2004	Decomposition kinetics of maltose in subcritical water	Haghighat Khajavi S., Kimura Y., Oomori T., Matsuno R., Adachi S.	Bioscience, Biotechnology and Biochemistry	68	10
20	2001	Equilibrium constant for lipase-catalyzed condensation of mannose and lauric acid in water-miscible organic solvents	Watanabe Y., Miyawaki Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R.	Enzyme and Microbial Technology	29	10
21	1999	Synthesis of alkyl fucosides through $\beta$ -glucosidase-catalyzed condensation of fucose and 1-alcohols	Kobayashi T., Adachi S., Matsuno R.	Biotechnology Letters	21	10
22	1998	Asymmetric reduction of acetophenone by immobilized <i>Hansenula capsulata</i> cells	Hasegawa Y., Adachi S., Matsuno R.	Journal of Fermentation and Bioengineering	85	10

#### 4) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業期間中の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	>2008	total
1	—	—	—	—	4	1	3	4	6	4	5	1	28
2	—	—	—	—	0	3	3	4	5	2	4	0	21
3	—	1	2	1	3	3	3	1	4	0	1	0	19
4	—	0	2	2	1	4	3	3	0	2	1	0	18
5	—	—	—	0	1	3	2	2	4	3	1	1	17
6	—	—	0	2	2	3	4	1	2	1	1	1	17
7	—	—	—	0	1	6	3	4	1	0	0	1	16
8	—	—	—	0	4	2	1	1	3	3	2	0	16
10	—	1	1	3	0	4	3	1	1	0	0	1	15
11	—	—	0	1	1	4	2	4	0	2	0	0	14
15	—	0	1	2	2	1	2	1	2	1	0	0	12
20	—	—	—	0	0	3	2	1	1	1	1	1	10
21	—	0	3	2	1	0	0	0	2	1	1	0	10
22	0	0	2	1	2	1	1	1	0	2	0	0	10

・基礎研究推進事業終了後の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	>2008	total
9	—	—	—	—	—	—	3	3	5	2	2	0	15
12	—	—	—	—	—	—	0	2	4	3	3	0	12
13	—	—	—	—	—	—	3	3	4	2	0	0	12
14	—	—	—	—	—	0	2	2	2	3	2	1	12
16	0	0	0	0	0	0	1	2	1	4	3	0	11
18	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	4	0	10
19	0	0	0	0	0	0	0	3	3	4	0	0	10

5) 引用論文の分野

分野	文献 No.							
	1	3	5	6	7	8	9	10
農学、生物科学	22	17	17	9	6	5	10	16
化学	13	6	9	5	6	1	6	9
化学工学	7	5	5	7	7	9	2	3
生化学、遺伝学、分子生物学	6	7	3	9	9	13	3	3
工学	4	2	1	1	2		2	3
免疫学、微生物学	3	3	3	2	4	6		3
環境科学	1				1			
材料科学		1			1		3	
物理学、天文学					1			
獣医学		1						
薬学、毒性学、薬剤学			1					
医薬						1		

(注)空欄は引用論文数0を示す。

(3) 共同研究先データ

1) 基礎研究推進事業での共同研究先

研究者名	所属機関	分野
渡邊義之	近畿大学工学部	酵素工学
峰本康正	富山工業高等専門学校	食品化学工学
前田淳史	徳島文理大学	生体触媒工学

2) 基礎研究推進事業以降の共同研究先

多数

#### (4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	出願人・権利者名	発明者	出願日
特開 2005-170883 (特許 4136896)	エマルションの作製方法及びエマルション	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構	安達修二, 中嶋光敏	2003/12/12 (2008/08/27)

#### (5) 報道データ

見出し	出典
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞
生物機能を生かせ：(1)生研機構、新産業技術創出事業	1998/08/24 日本工業新聞
【21世紀の食卓】教科書に載っていないバイオ 第一部(6)不飽和脂肪酸 粉末にして酸化を防ぐ	2001/09/07 産経新聞
バイオを拓くキーマン：(19) 京都大学大学院農学研究科教授・松野隆一氏	2001/10/26 日本工業新聞
「バイオフィォーラム 2001 OSAKA」閉幕 ヒト、環境、食の夢ふくらむ	2001/11/13 日本工業新聞
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(7)	2003/04/23 日本工業新聞
社会的整備が必要 遺伝子組換えフォーラム／京都市	2003/08/22 日本農業新聞
京都大学と日清製粉グループが穀物科学をテーマに共同研究 日本食品科学工学会で発表	2008/09/05 日清製粉グループホームページ

#### (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
食品の構造と機能の相関関係の解析とその食品加工への応用	1996-1998	日本学術振興会科学研究費補助金	基盤研究(A)	研究代表者：松野 隆一
疑似血流とリンパ流を具備した疎水性物質用腸管吸収モデルの構築	2000-2002	日本学術振興会科学研究費補助金	基盤研究(B)	研究代表者：松野 隆一
亜臨界水に対する脂質の溶解度と新規食品加工技術の創造	2001-2002	日本学術振興会科学研究費補助金	萌芽研究	研究代表者：松野 隆一
亜臨界条件下における水・有機溶媒混合液を用いた食品素材物質の合成の可能性	2003-2004	日本学術振興会科学研究費補助金	萌芽研究	研究代表者：安達 修二
亜臨界水による食品成分の分解に及ぼす塩の影響に関する基礎的検討	2006	ソルト・サイエンス	-	研究代表者：安達修二
ナノ粒子化は脂質の酸化を遅延させる?	2006-2007	日本学術振興会科学研究費補助金	萌芽研究	研究代表者：安達 修二
クロマトグラフ手法を用いた塩とオリゴ糖の結合定数の算出	2007	ソルト・サイエンス	-	研究代表者：安達修二
亜臨界水による酸性多糖類の分解に及ぼす対イオン形の影響	2008	ソルト・サイエンス	-	研究代表者：安達修二

### (7) 受賞データ

受賞年	賞	受賞内容
2003	日本食品工学会 学会賞	食品製造プロセスの合理的な設計法の確立に関する基盤的研究 (松野隆一)
2004	日本食品科学工学会 学会賞	脂質の高度利用に関する食品工学的研究－Food Science and Technology と Food Engineering の相乗的連携－ (松野隆一)
2004	日本食品工学会研究賞	脂質の高度利用を指向した食品工学的基礎研究 (安達修二)

### (8) 講演・シンポジウム開催データ

開催日	場所	講演・シンポジウムタイトル
2008年1月29 日～2月1日	(社)日本食品機械工 業会フーマビル4階	FOOMA アカデミー (塾長) (松野隆一) 食品機械に関わる技術中心のカリキュラム
2008年 10月13日	中国	13th International Biotechnology Symposium and Exhibition 招待講演 (安達修二)
2007年9月	中国	中国・江南大学招待講演 (安達修二)
2006年 11月17日	韓国	2006 Gwangju International Food Symposium on Health and Safety 招待講演 (安達修二)
2006年 7月28日	東京	食品高機能化のための微細分散科学応用シンポジウム2006 「液系ナノ分散系の最先端と食品高機能化」(安達修二)
2006年3月	中国	中国・江南大学招待講演 (安達修二)
2003年10月	中国	5th International Conference of Food Science and Technology 招待講演 (安達修二)
1998年10月 23日	東京	酵素工学会主催 国際酵素工学シンポジウム (代表) (松野隆一)

### (9) 学会役員歴

年	学会名	役職
1996-2000	日本アイソトープ協会	理事 (松野隆一)
1997-2000	酵素工学会	会長 (松野隆一)
1999-2000	日本農芸化学会	関西支部長 (松野隆一)
1998-1999	日本食品科学工学会	理事 (松野隆一)
2000-2003	日本食品工学会	会長 (松野隆一)
2003-2005	農林水産省関係任意団体近畿ア グリハイテク推進会議	会長 (松野隆一)
2000-	日本食品工学会	理事 (安達修二)
2006-2008	酵素工学会	副会長 (安達修二)

### (10) 実用化例

該当なし

## 第8節 細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子

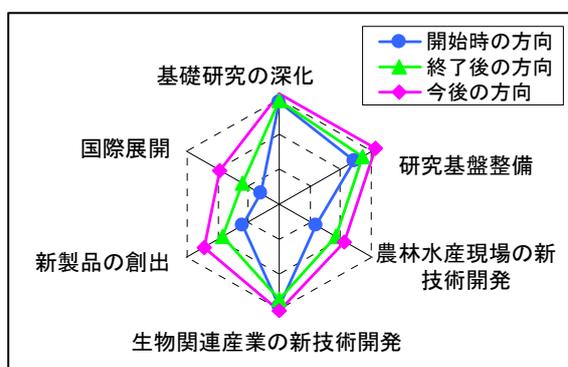
ヒアリング協力者	佐藤 智典
本課題における担当	総括研究代表者
現所属および役職	慶応義塾大学理工学部生命情報学科バイオ分子化学 教授
ヒアリング実施日	平成 20 年 12 月 12 日

### 1. 研究の背景と位置づけ

糖鎖生物学の進展に伴い、生体反応における糖鎖の様々な機能が明らかにされてきたが、その成果が研究や産業に生かされて飛躍的に進歩するには大きな壁があった。最大の問題は、糖鎖の研究や実用化のために必要な材料や技術の不足である。糖鎖の生産法として、自然界からの抽出、有機合成、酵素による合成があるがいずれも、多種・多量・安価・短期間での調製が実際上不可能であり、糖鎖の供給が大変困難であった。従って、今後、糖鎖研究を実用化レベルにまで引き上げ、多種の糖鎖を大量に供給する技術を確立することが、きわめて重要である。本研究結果に基づいて、新たな高機能性糖鎖を供給することができれば、食品の品質保持・向上、食品・医薬品の機能向上、多様な新規機能性素材の開発など、新産業の創出に大きく寄与することが期待される。

### 2. 研究の展開

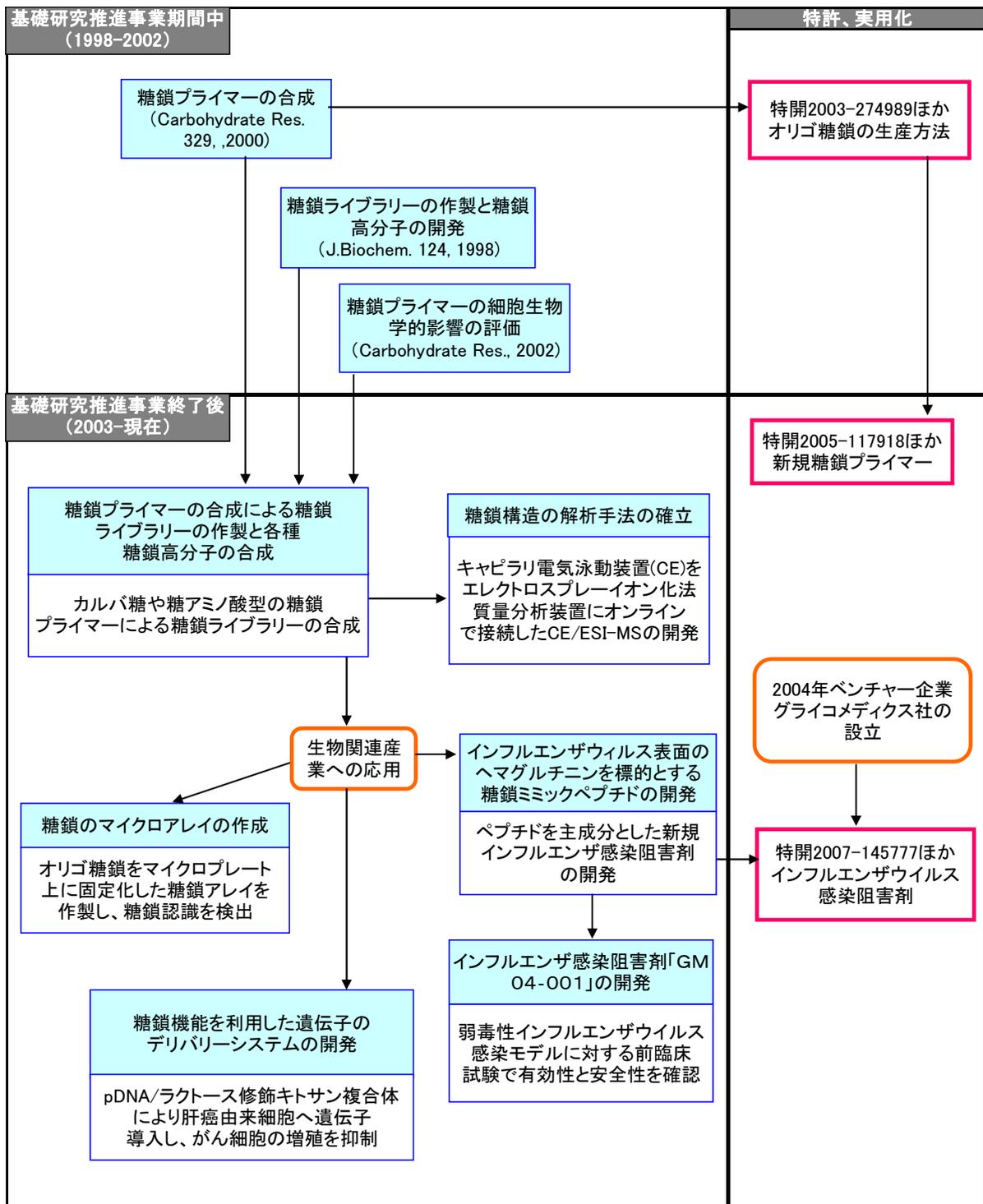
基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



当初は糖鎖の自由な合成に立脚した新産業の創出を目指し、終了後は開発技術を基に、研究基盤整備およびベンチャー企業設立・インフルエンザウイルス薬開発が進んだ。今後も基礎研究及び生物関連産業への技術展開を展開する。

また、基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に次ページに記した。

基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

細胞はその由来によって、各細胞に特異的な構造の糖鎖を合成しているため、細胞を選択することにより様々な糖鎖を細胞外に分泌させることが出来る。このように、細胞をオリゴ糖鎖の工場として利用するという新しい発想により、細胞と糖鎖プライマーを掛け合わせて、原理的には自然界に存在する全てのオリゴ糖鎖を合成することができる。本研究の第一の目的は、この方法を「バイオコンビナトリアル合成法」と呼んで、その技術を開発することとした。すなわち、糖脂質の生合成経路の前駆体を模倣した「糖鎖プライマー」を細胞に与えて、オリゴ糖鎖を付加・分泌させる方法と、遺伝子組み換え方法の二つの方法を用いて、糖鎖ライブラリーを構築する。次いで、得られた糖鎖の機能解析を行って、優れた機能を有する糖鎖を素材とした機能性糖鎖高分子を大量に作製することを目指した。

#### (2) 研究内容

本研究では、各種の動・植物細胞を細胞工場と見立て、糖鎖プライマー法により細胞に糖鎖ライブラリーを作らせるための基本的技術の確立を行った。具体的には、糖鎖に疎水基を付けた「糖鎖プライマー」の合成法の確立と構造の最適化（中課題1）、糖鎖プライマーを細胞に与えて糖鎖を伸長させるバイオコンビナトリアル合成法による、多岐にわたる糖鎖ライブラリーを細胞に作らせる。さらに、生産を目指して糖鎖ライブラリーを高分子化して高機能化する手法および糖鎖チップを作製する手法を開発する（中課題2）。さらに、糖鎖プライマーが細胞に与える生物学的な影響を調べることにより、糖鎖の伸長の原理を明らかにする（中課題3）。また、糖タンパク質型の糖鎖を得るために、糖転移を受けるペプチドを細胞内で作らせるプラスミドを設計して人工的に糖ペプチドを生産する手法について検討した。

#### (研究実施体制)

中課題名		開始	終了	所属（事業当時）	研究代表者名 (注)
1	糖鎖プライマーの合成	10	14	東京工業大学生命理工学部	橋本 弘信
2	糖鎖ライブラリーの作製と糖鎖高分子の開発	12	14	慶応大学理工学部	佐藤 智典*
3	糖鎖プライマーの細胞生物学的影響の評価	10	14	(財) 日本皮革研究所	山形 達也

(注) 研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

### (3) 主な研究成果

#### 1) 糖鎖プライマーの合成と最適化

糖鎖プライマーとして擬似糖脂質を考案した。アグリコン部分（脂質部分）は、細胞内で糖転移酵素の受容体となり、培養液に分泌されて溶解するための水溶性を有しており、最初に細胞に取り込まれる疎水性を持つことが要求される。

糖鎖構造の異なるもの 17 種類、アグリコン部分の構造の異なるもの 12 種類を合成して、約 10 種類の細胞での糖鎖伸長反応について検討したところ、多くの糖鎖プライマーで糖鎖伸長反応が確認され、糖鎖伸長生成物として約 60 種類のオリゴ糖鎖が得られた。それらの中で、特に効率よく多種類の糖鎖伸長物を得た糖鎖プライマーは、糖鎖構造がラクトースや N-アセチルグルコサミンで、アグリコンがドデシル基を有するものであった。

#### 2) 糖鎖ライブラリーの作製と大量合成

糖鎖プライマーと細胞との組み合わせを広げることにより、「バイオコンビナトリアル法」による糖鎖ライブラリーを構築した。単糖や二糖を糖鎖プライマーとして利用し、種々の糖鎖合成経路を発現している細胞を複数準備して、多種のオリゴ糖を合成し糖鎖ライブラリーを作製した。単糖・二糖など簡単な構造の糖鎖を人工的に合成し、複雑で多様な構造の糖鎖を細胞に作らせるという概念が達成された。

また、工業的な糖鎖合成を視野に入れ、マイクロキャリア法を導入して高密度細胞培養法を確立した。得られた培地画分をカラムクロマトグラフィーと液体クロマトグラフィーを行うことにより、生成した糖鎖の大量単離・精製が可能であることを示した。マイクロキャリア法では、DEAE (Diethylaminoethyl) やコラーゲンで表面コーティングされた約 150  $\mu\text{m}$  径のビーズを用い、スピナーボトルによるスケールアップも確認した。

#### 3) 糖鎖高分子および糖鎖チップの開発

アグリコンとしてアジド基などの反応活性基を導入した糖鎖プライマーを作成し、糖鎖プライマー法により反応活性な糖鎖を合成することが可能となった。具体的には 2-アジドドデシルをアグリコンとするアジドアルキルラクトシドを糖鎖プライマーとし、B16 細胞によりガングリオシド GM3 糖鎖を合成した。また、この GM3 を用いてオリゴマー化や高分子化が可能であることを見出した。さらに、基盤への固定化を行ってレクチンの結合を確認し、糖鎖チップとしての有用性を示した。

#### 4) 糖鎖プライマーの細胞生物学的影響の評価

C<sub>12</sub> ラクトシドプライマーとその細胞内小胞輸送の阻害剤を用いて、糖鎖プライマーの輸送経路を検討した。その結果、細胞に取り込まれたプライマーは、エンドソームから、ATP 駆動性の小胞輸送系でゴルジ体に運ばれて、糖鎖伸長を受けること

が明らかとなった。また、糖鎖プライマーはカベオラ経路やクラスリン依存性経路のいずれにも依らず、エネルギー依存的な経路で細胞に取り込まれることが示唆された。

#### 5) 糖鎖プライマー法における糖鎖伸長酵素の特定

ラクトースを含むプライマーによる糖脂質型糖鎖の合成以外に、糖タンパク質型糖鎖を作らせる試みとして、 $C_{12}$ アルキル  $GlcNAc\beta 1,2Man$  の二糖プライマーとして B16 細胞に与え、 $SA\alpha 2,3Gal\beta 1,4GlcNAc\beta 1,2Man$  の生成に成功した。この合成経路は、主に細胞内の糖脂質合成酵素であるガラクトース転移酵素  $\beta 4Gal T-VI$  による糖転移であると考えられた。

## 4. 事業終了後の状況

### (1) 研究発展状況

本事業では、糖鎖プライマー法によるバイオコンビナトリアル合成法を確立して合成可能な糖鎖の種類を拡大し、生産効率を向上し、糖鎖の大量生産・調製を現実のものとして、糖鎖合成の新しい研究領域を創出した。また、それまで困難であった糖鎖の構造解析を、質量分析法を利用することにより微量サンプルから精度よく行うことを可能とした。

統括代表研究者であった佐藤智典氏は、その後も本研究を継続し、この「糖鎖プライマー法による糖鎖合成法」技術を基盤として、グライコメディクス社が平成16年に設立され、糖鎖チップの研究開発および糖鎖をターゲットとした医薬品や検査薬の提供を中心とした事業化が取り組まれている。グライコメディクス社は平成17年に慶応大学と共同研究契約を締結し、特許の譲渡と技術移転を受けた。具体的には、糖鎖ライブラリーを用いて創薬に適する糖鎖のハイスループットスクリーニングを行うことにより、産業上有用なオリゴ糖鎖を探索し、医薬品の開発を目指している。今後の医療分野への展開が期待される。

平成18年度からNEDO受託事業「糖鎖機能活用技術開発」における助成を受け「糖鎖機能を用いた糖鎖生産方法の改良と糖鎖機能の解析手法の開発」において、糖鎖プライマーを用いて動物細胞により合成される糖鎖の種類がさらに広がり、飛躍的に糖鎖ライブラリーの数を増大させた。これらの糖鎖ライブラリーを構築する方法や、ライブラリーそのものは、今後有意義に生物関連産業などへの応用を目指して活用される予定である。

### (2) 新たな研究成果

#### 1) バイオコンビナトリアル合成による糖鎖ライブラリー作成と糖鎖伸長モニタリング

糖鎖プライマー法により、4種類の糖鎖プライマーを種々の細胞に投与し、ガングリオ系列、グロボ系列、ネオラクト系列、およびムチン型等を含む糖鎖ライブラリーを作製した。また、質量分析により細胞分化による糖鎖伸長生成物の構造変化を継時的に追跡する技術を開発し、糖鎖生合成経路のモニタリングへの応用が可能であることを明らかにした。モニタリングでは、ラクトースを有する Lac-C<sub>12</sub> や N-アセチルグルコサミンを有する GlcNAc-C<sub>12</sub> を糖鎖プライマーとした糖鎖伸長生成物の構造変化や、硫酸基転移酵素の遺伝子を導入した細胞における硫酸化された GlcNAc-C<sub>12</sub> 糖鎖伸長生成物の構造変化を検出した。さらに、O-結合型糖鎖の伸長を目的とした糖-アミノ酸型の糖鎖伸長生成物の構造解析も実施し、糖鎖プライマー法を利用してムチン型やグリコサミノグリカン型の糖鎖生合成経路のモニタリング技術を開発した。

## 2) 質量分析による糖鎖構造の解析手法の確立

質量分析装置を用いた糖鎖の構造解析手法を確立した。単糖の異性体を ESI-CID スペクトルにより同定できる事を見出し、さらに糖鎖プライマー由来の糖鎖伸長生成物の構造を、キャピラリー電気泳動装置(CE)をオンラインで接続したエレクトロスプレーイオン化法質量分析装置(ESI-MS)により分析することに成功した(図1)。また、ESI-MSを用い、ヘキソース、ヘキソサミン、アセチルヘキソサミン、およびメチルグルコース( $\alpha$ 体と $\beta$ 体)の異性体を一斉に同定できる手法を開発した。さらに、キャピラリー電気泳動とエレクトロスプレーイオン化法質量分析装置を接続したオンラインシステム(CE/ESI-MS)を用いて、糖鎖プライマー法により癌細胞に作らせた糖鎖生成物の分離・解析を簡便に行う手法を確立した。また、高速液体クロマトグラフィーを接続した質量分析装置(LC/ESI-MS)を用いて、細胞により合成された糖鎖伸長生成物を一斉に分離・分析する手法の確立をおこなった。これにより高感度かつハイスループットな構造解析を可能にした。

## 3) 糖鎖マイクロアレイの開発

オリゴ糖鎖をマイクロプレート上に固定化した糖鎖アレイを作製し、糖鎖認識のハイスループットな検出を可能にした(図1)。固定化用糖鎖としてアジド基を脂肪側鎖末端に有するアジド化糖を使用した。まず、マイクロプレート上に提示されているアミノ基との縮合反応によりトリフェニルホスフィンリンカーを固定化し、さらにアジド化糖を結合させることにより糖鎖を固定化した。固定化した糖鎖は、FITC 標識レクチンにより定性的および定量的に検出可能である。アジド化糖は細胞内で安定であり、プライマーとして細胞へ投与することにより糖鎖伸長反応を受けることができるため、種々のアジド化糖を入手して固定化することが可能である。本マイクロアレイは固定した糖鎖に対する抗体を特異的に結合することで、その性能が確認された。

## 4) 糖鎖機能を利用した遺伝子のデリバリーシステム

糖鎖認識を有した遺伝子キャリアーの開発を行い、ガン移植マウスを用いた遺伝子発現および遺伝子治療に成功した。遺伝子キャリアーとして、糖修飾したキトサンと DNA の複合体を作製し、動物レクチンを標的とした遺伝子デリバリー系を構築した。実際、pDNA/ラクトース修飾キトサン複合体による肝癌由来細胞への遺伝子導入は、in vitro と in vivo において遺伝子導入効率の向上を示した。また、pDNA/マンノース修飾キトサン複合体は細胞毒性も低く、マクロファージに対して有用な遺伝子キャリアーであることが示された。pDNA/キトサン/ラクトース修飾ポリエチレングリコール誘導体を肝がん細胞移植マウスに投与したところ遺伝子の発現が確認された。さらに、チミジンキナーゼをコードしたプラスミドを用いた3次元複合

体を肝がん移植マウスに投与して遺伝子を発現させ、ガンシクロビルを投与する事でがん細胞の増殖を抑制する事に成功した。

5) インフルエンザ感染阻害剤「GM04 - 001」の開発

平成17年度NEDO大学発事業創出実用化研究開発事業(大学発マッチングファンド)「インフルエンザの感染を阻害する糖鎖ミミックペプチドの開発」において、糖鎖構造を擬態したペプチド合成法により、新規化合物 GM04 - 001 を探索・開発した。グライコメディクス社は、本化合物について弱毒性の H1N1 型インフルエンザウイルス感染モデルに対する前臨床試験を実施し、有効性と安全性を確認した。H5N1 型を含めた強毒性インフルエンザウイルスに対する前臨床試験も 2008 年度中に始めるとしており、国内外での新薬治験許可 (IND) 申請を目指している。GM04 - 001 は、インフルエンザウイルスの表面上に存在する糖蛋白質ヘマグルチニンに対し、糖鎖を擬態したペプチドを直接結合させ、ウイルスの宿主細胞内への侵入を阻害する。タミフル等の既存の抗インフルエンザウイルス薬とは異なる新規作用機序であり、他剤との併用も可能と考えられている。

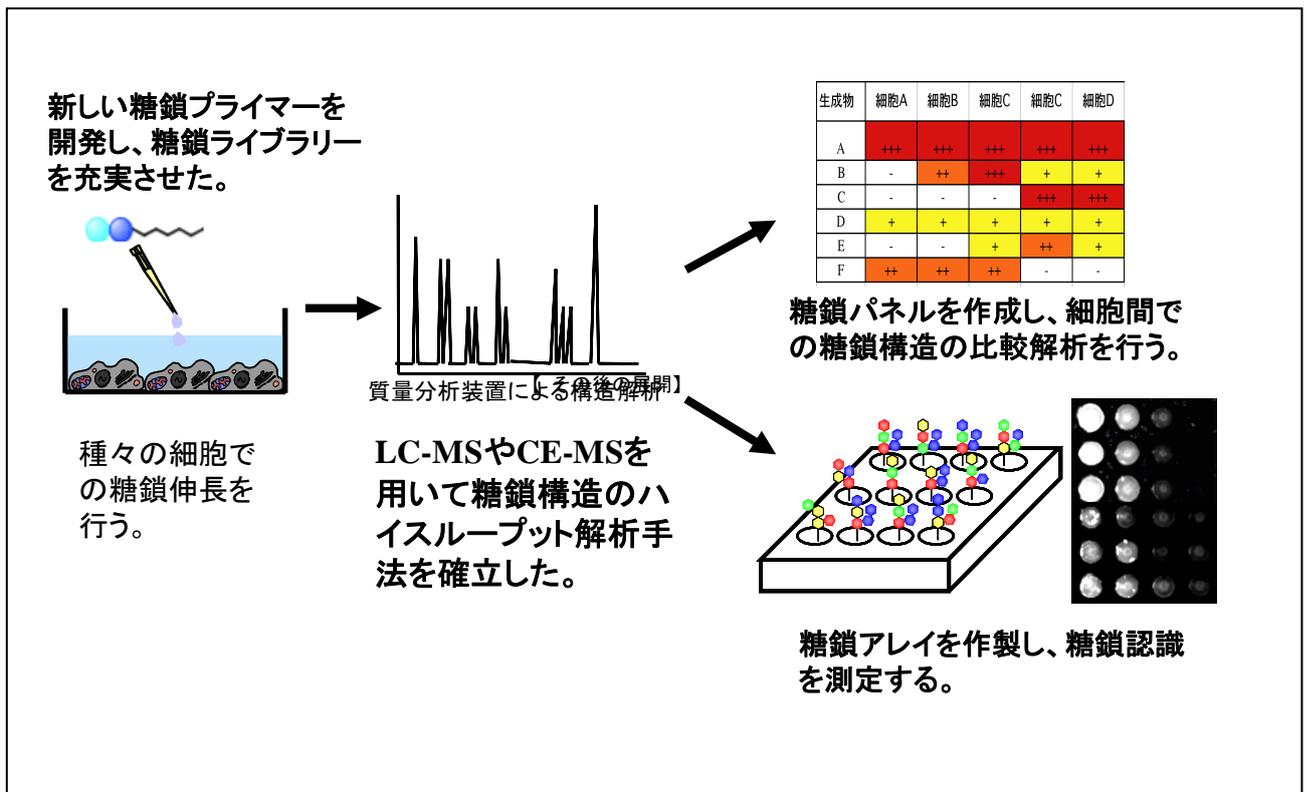


図1 研究発展図

### (3) 波及効果

#### 1) 科学的波及効果

本事業終了以降、NEDO や 21 世紀 COE プログラム等のグラントを獲得し、本事業で開発した新規糖鎖合成法の技術基盤のさらなる強化とともに、病態や感染に関わる糖鎖のスクリーニングに用いられる糖鎖パネル法や糖鎖アレイ技術が開発された。事業終了以降に公表された論文は、佐藤智典氏の引用数ランキング 10 位以内に入っており、生化学・分子生物学、薬学の分野や化学・材料科学・工学分野など広い分野から引用されている。

糖鎖を主眼とした創薬開発においては、細胞の中で発現しているどの糖鎖を創薬ターゲットとして取り上げるかがポイントとなるが、細胞の持つ糖鎖構造を明らかにし、その機能や疾病との関連性を解明する手法として、本研究で開発した糖鎖プライマーを利用することが期待される。また、最近糖鎖を使ってドラッグデザインを行なう方向もあり、薬剤候補が得られて注目されているが、糖鎖ライブラリーを用いることにより、創薬の対象となる糖鎖をハイスループットでスクリーニングすることも可能となる。糖鎖を DDS (ドラッグ・デリバリー・システム) に使用する研究も進められており、糖鎖合成の基礎研究の成果が、診断や治療分野へと波及していくことが考えられる。

#### 2) 産業技術的な波及効果

糖鎖プライマー法を技術の軸としたグライコメディクス社が大学発ベンチャー企業として本事業終了 2 年後に設立された。また、NEDO プロジェクトなどでオリゴ糖鎖の利用技術の開発を目指して検討が進められている。本研究で開発した糖鎖合成法を活用して、生物産業分野を中心とした応用研究が進められており、感染症の解析や治療薬の開発研究に発展する可能性がある。また、糖鎖はがん細胞の表面でも発現しており、現在実用化されているがん腫瘍抗原のルイス抗原以外の抗原の発見や、がん治療薬の開発でも期待されている。また、がん以外の病態の糖鎖抗原の存在も指摘されており、糖鎖による診断・治療領域がさらに拡充されていくものと思われる。

従来、糖鎖分野は外国に比べて日本が優位にあったが、インパクトのある産業化目標の設定で日本は出遅れている感がある。今後、本研究で得られた糖鎖解析法や糖鎖ライブラリーを用いて有効な創薬ターゲットを探索することにより、新しい市場が開拓されることが期待される。

## 5. 有識者コメント

糖鎖に関する研究は困難な因子が多いためこれまでなかなか実用性のある成果が出てこなかったというのが実情であるが、本研究はそのような状況を乗り越えるきっかけを提供した点で高く評価できる。糖鎖を大量に供給する技術を確立することが実用化への第一歩であることは明らかであり、本研究は糖鎖合成法の基礎研究にチャレンジして開発に成功した。この基盤的成果は、産業的にも社会的にも大きな波及効果をもたらすことは言うまでもないことであろう。事実、本基礎研究推進事業による研究が終了した後、現在に至るまでに着実に応用研究へ向けて発展を続けてきた実績があり、日本が誇れる研究分野の一つになってきた点は高く評価すべきであろうとの見解が出された。

具体的には、各種の糖鎖を合成するのみでなく、それとともに必須となる糖鎖構造の解析手法を確立することによって、各種の応用研究が可能となる態勢を整えた。その上で、糖鎖のマイクロアレイの作製、糖鎖機能を利用した遺伝子のデリバリーシステムの開発などの基礎的成果を挙げ、さらに、実用的成果としては、インフルエンザウイルスの表面上に存在する糖蛋白質ヘマグルチニンを標的とする糖鎖ミミックペプチドを開発して、インフルエンザ感染阻害剤「GM04-001」を完成させた。以上の成果は、当然多くの特許を生み出すことに繋がっており、その点からも高く評価できる。いずれにしても本研究の発展性は極めて高く、今後も引き続き多くの成果を挙げるであろうことは間違いないと思われると評価された。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキング

#### 1) 検索式

内容	番号	件数	検索式 (CA)
糖鎖	L1	373384	SUGAR(W)CHAIN# OR SACCHARIDE# OR OLIGOSACCHARIDE# OR POLYSACCHARIDE# OR CARBOHYDRATE#
プライマー、認識	L2	2589	L1(3A)(PRIMER# OR RECOGNITION#)
1998 年以降	L3	1657	L2 AND PY>=1998
特許以外	L4	1544	L3 NOT P/DT

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	22	DRICKAMER, KURT
1	22	GABIUS, HANS-JOACHIM
<b>3</b>	<b>19</b>	<b>SATO, TOSHINORI</b>
4	18	ANDRE, SABINE
4	18	HIRABAYASHI, JUN
6	17	LEFFLER, HAKON
6	17	REID, KENNETH B. M.
6	17	TAYLOR, MAUREEN E.
9	16	BORASTON, ALISDAIR B.
9	16	CROUCH, ERIKA C.
9	16	HARTSHORN, KEVAN L.

#### 3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
1	42	UNIVERSITY OF OXFORD
2	16	INDIAN INSTITUTE OF SCIENCE
2	16	THE UNIVERSITY OF TOKYO
2	16	UNIVERSITY OF CALIFORNIA
5	15	UTRECHT UNIVERSITY
6	13	BOSTON UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE
<b>7</b>	<b>12</b>	<b>KEIO UNIVERSITY、又は、KEIO UNIV.</b>
7	12	MEDICAL COLLEGE OF WISCONSIN
7	12	NAGOYA UNIVERSITY
9	11	CHANG GUNG UNIVERSITY
9	11	NANKAI UNIVERSITY

## (2) 成果論文データ

### 1) 主要成果論文数

・基礎研究推進事業の期間中の成果論文数

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	3	5	2	5	3	18
その他	3	0	0	4	4	11

(出典：終了時の研究成果報告書)

・基礎研究推進事業の終了以降の成果論文数

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	合計
原著論文	0	2	5	8	9	6	30
その他	5	3	6	4	5	1	24

### 2) 論文の被引用数の推移

基礎研究推進事業以前、期間中および終了以降の被引用数上位10報について示した。

対象期間	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位10	103
1998-2002	成果	上位10	311
2003～	終了後	上位10	78

### 3) 被引用数上位論文

全期間の論文を対象とした引用上位論文のうち、基礎研究推進事業の期間中の成果論文を白抜きで、終了後の成果論文を緑で示した。

論文 No.	Year	Document Title	Authors	Journal Title	Vol	引用数
1	2001	In vitro gene delivery mediated by chitosan. Effect of pH, serum, and molecular mass of chitosan on the transfection efficiency	Sato T., Ishii T., Okahata Y.	Biomaterials	22	111
2	2001	Mechanism of cell transfection with plasmid/chitosan complexes	Ishii T., Okahata Y., Sato T.	Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes	1514	85
3	1998	Quantitative measurements of the interaction between monosialoganglioside monolayers and wheat germ agglutinin (WGA) by a quartz-crystal microbalance	Sato T., Serizawa T., Ohtake F., Nakamura M., Terabayashi T., Kawanishi Y., Okahata Y.	Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects	1380	30
4	1999	Selection of ganglioside GM1-binding peptides by using a phage library	Matsubara T., Ishikawa D., Taki T., Okahata Y., Sato T.	FEBS Letters	456	23

論文 No.	Year	Document Title	Authors	Journal Title	Vol	引用 数
5	2000	Azido glycoside primer: A versatile building block for the biocombinatorial synthesis of glycosphingolipid analogues	Kasuya M.C.Z., Yamagata T., Wang L.X., Lee Y.C., Mitsuki M., Nakajima H., Miura Y., Sato T., Hatanaka K., Yamagata S.	Carbohydrate Research	329	17
6	2006	Lactosylated chitosan for DNA delivery into hepatocytes: The effect of lactosylation on the physicochemical properties and intracellular trafficking of pDNA/chitosan complexes	Hashimoto M., Morimoto M., Saimoto H., Shigemasa Y., Sato T.	Bioconjugate Chemistry	17	13
7	1998	Selective bindings of a lectin for phase-separated glycolipid monolayers	Hashizume M., Sato T., Okahata Y.	Chemistry Letters		13
8	2006	Gene transfer by DNA/mannosylated chitosan complexes into mouse peritoneal macrophages	Hashimoto M., Morimoto M., Saimoto H., Shigemasa Y., Yanagie H., Eriguchi M., Sato T.	Biotechnology Letters	28	12
9	2005	A peptide motif recognizing a polymer stereoregularity	Serizawa T., Sawada T., Matsuno H., Matsubara T., Sato T.	Journal of the American Chemical Society	127	12
10	2000	Facile preparation of a fluorescence-labeled plasmid	Ishii T., Okahata Y., Sato T.	Chemistry Letters		11
11	2006	Hyaluronic acid and its derivative as a multi-functional gene expression enhancer: Protection from non-specific interactions, adhesion to targeted cells, and transcriptional activation	Ito T., Iida-Tanaka N., Niidome T., Kawano T., Kubo K., Yoshikawa K., Sato T., Yang Z., Koyama Y.	Journal of Controlled Release	112	9
12	2004	Fluorous-tagged compound: A viable scaffold to prime oligosaccharide synthesis by cellular enzymes	Kasuya M.C.Z., Cusi R., Ishihara O., Miyagawa A., Hashimoto K., Sato T., Hatanaka K.	Biochemical and Biophysical Research Communications	316	7
13	2002	Receptor-independent augmentation of adenovirus-mediated gene transfer with chitosan in vitro	Kawamata Y., Nagayama Y., Nakao K., Mizuguchi H., Hayakawa T., Sato T., Ishii N.	Biomaterials	23	7

論文 No.	Year	Document Title	Authors	Journal Title	Vol	引用数
14	2002	Synthesis of an ether-linked alkyl 5a-carba-β-D-glucoside, a 5a-carba-β-D-galactoside, a 2-acetamido-2-deoxy-5a-carba-β-D-glucoside, and an alkyl 5a'-carba-β-lactoside	Ogawa S., Aoyama H., Sato T.	Carbohydrate Research	337	7
15	1998	Morphology and proliferation of B16 melanoma cells in the presence of lanthanoid and Al <sup>3+</sup> ions	Sato T., Hashizume M., Hotta Y., Okahata Y.	BioMetals	11	7
16	2005	Efficient sialylation on azidododecyl lactosides by using B16 melanoma cells	Murozuka Y., Kasuya M.C.Z., Kobayashi M., Watanabe Y., Sato T., Hatanaka K.	Chemistry and Biodiversity	2	6
17	1999	Binding affinity of GM3 lactone for influenza virus	Sato T., Ishii M., Ohtake F., Nagata K., Terabayashi T., Kawanishi Y., Okahata Y.	Glycoconjugate Journal	16	6

#### 4) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業の期間中の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	>2008	total
1	—	—	—	1	9	8	11	14	26	18	23	1	111
2	—	—	—	0	2	6	12	9	24	11	20	1	85
4	—	0	0	4	1	1	2	3	5	5	2	0	23
10	—	—	0	1	0	2	1	2	2	2	1	0	11
14	—	—	—	—	0	0	2	2	1	2	0	0	7
17	—	0	0	0	1	1	1	1	0	2	0	0	6

・基礎研究推進事業の終了以降の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	>2008	total
6	—	—	—	—	—	—	—	—	1	7	5	0	13
8	—	—	—	—	—	—	—	—	1	7	4	0	12
9	—	—	—	—	—	—	—	0	3	6	3	0	12
11	—	—	—	—	—	—	—	—	0	2	7	0	9
12	—	—	—	—	—	—	0	3	1	3	0	0	7
16	—	—	—	—	—	—	—	0	0	1	5	0	6

5) 引用論文の分野

分野	論文 No.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
生化学・遺伝学・分子生物学	45	34	17	18	11	6	9	4	3	8
薬学、毒性学、薬剤学	44	41	1	4	12	2	1	3		3
化学	24	18	16	7	12	3	7	2	5	4
材料科学	22	14			1	4		5	4	3
化学工学	17	10	10	2	1	3	1	2	5	3
工学	16	12	1	1		3		3	3	2
免疫学、微生物学	4	4	3	2		1		1		
医学	4	5		1	1					
農学、生物科学	3	2	2		1	1				
地球科学	1									
物理・天文学	1	2	4							
獣医学	1	1		1						
数学		1								
コンピューター・サイエンス			2							
環境科学			1							
多分野		1								

(注)空欄は引用論文数0を示す。

(3) 共同研究データ

1) 基礎研究推進事業での共同研究先

研究者名	所属機関
畑中 研一	東京大学
	東レ

2) 基礎研究推進事業以降の共同研究先

所属機関
長崎大学
東レ
グライコメディクス
国立成育医療センター研究所
国立長寿医療センター研究所
大妻女子大学
財) 野口研究所

(4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	出願人・権利者名	発明者・考案者	出願日
特開平 11-209281	ヘマグルチニン結合活性及びシ アリダーゼ活性に対する阻害剤、 及び、これを用いてウイルス又は 微生物の感染を治療及び/又は予 防する方法	ダイキン工業株式会 社	岡畑恵雄 佐藤智 典 大平豊	1998/ 1/21
特開 2000-157270	遺伝子導入用キャリアー、該キャ リアーと遺伝子との複合体及び 細胞への遺伝子導入方法	焼津水産化学工業株 式会社	佐藤智典 岡畑恵 雄 勝見亮介	1998/ 11/27
特開 2000-253900	糖脂質に結合するペプチドの選 別方法	大塚製薬株式会社	佐藤智典 岡畑恵 雄 石川大 荻野晃 一 瀧孝雄	2000/ 1/5
特開 2001-289851	DNA の蛍光標識プローブ、蛍光 標識プラスミド	東京工業大学長	佐藤智典 岡畑恵 雄	2000/ 4/3
WO00/59932	インフルエンザウイルス・ヘマグ ルチニン結合性ペプチド	大塚製薬株式会社	佐藤智典 石川大 田中理紀 荻野晃 一 瀧孝雄	1999/ 3/31
特開 2002-284798	インフルエンザウイルス・ヘマグ ルチニン結合性ペプチド	学校法人慶應義塾 大塚製薬株式会社	佐藤智典 石川大 田中理紀 荻野晃 一 瀧孝雄	2001/ 3/27
特開 2003-231748	医用高分子及びその用途	学校法人慶應義塾	佐藤智典 小山義 之 山岡哲二	2002/ 11/27
特開 2003-274989	オリゴ糖鎖の生産方法	学校法人慶應義塾 東レ株式会社	佐藤智典 近藤哲 司	2002/ 3/25
特開 2003-274990	オリゴ糖鎖の生産方法	学校法人慶應義塾 東レ株式会社	佐藤智典 近藤哲 司	2002/ 3/25
特開 2003-274993	オリゴ糖鎖の生産方法	学校法人慶應義塾 東レ株式会社	佐藤智典 近藤哲 司	2002/ 3/25
特開 2004-59536	新規擬似糖質、並びに新規擬似糖 質を含む糖鎖合成用プライマー およびグリコシダーゼ阻害剤	北興化学工業株式会 社	小川誠一郎 青山 弘 佐藤智典	2002/ 7/31
WO02/81723	オリゴ糖鎖の生産方法	学校法人慶應義塾 東レ株式会社	佐藤智典佐野恵海 子	2001/ 4/2
特開 2005-117918	新規糖鎖プライマー	有限会社グライコメ ディクス	佐藤智典	2003/ 10/14
特開 2005-176830	核酸導入用キャリアー	日本油脂株式会社	小山義之 伊藤智 子 新留琢郎 佐藤 智典 桑原愛	2004/ 6/14
特開 2006-101709	ヘマグルチニン結合ペプチド、イ ンフルエンザウイルス感染阻害 剤、リポソーム、インフルエンザ 治療薬、インフルエンザ予防薬	株式会社グライコメ ディクス	佐藤智典 松原輝 彦	2004/ 9/30
特開 2007-145777	インフルエンザウイルス感染阻 害方法	株式会社グライコメ ディクス	佐藤智典 松原輝 彦	2005/ 11/29
WO05/99338	新規糖鎖プライマー	株式会社グライコメ ディクス	佐藤智典	2003/ 10/14
特開 2007-282630	オリゴ糖鎖合成方法	株式会社グライコメ ディクス 株式会 社 林原生物化学研究所	佐藤智典 盛山優 子 福田恵温 山本 重人	2007/ 3/15
WO05/84694	インフルエンザウイルス感染抑 制剤	株式会社グライコメ ディクス	佐藤智典	2004/ 3/9

(5) 報道データ

見出し	出典
慶大、基板上に糖鎖を固定する手法確立ー糖鎖チップ開発に前進	2003/02/25 日刊工業新聞
経営ひと言／慶応義塾大学・佐藤智典教授「次は応用」	2003/03/17 日刊工業新聞
慶応大、糖鎖を基板上に固定、検査・診断チップに応用へ。	2003/03/24 日経産業新聞
慶応大／糖鎖プライマーで細胞の糖鎖合成モニターに成功	2003/03/31 日経バイオテク
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(8)	2003/04/30 日本工業新聞
非ウイルスベクター 実用化へ研究活発化	2003/06/24 日刊工業新聞
慶大、細胞内合成糖鎖を基板に高密度固定化ープライマーを利用	2004/03/05 日刊工業新聞
グライコメディックス、慶応大／糖鎖ミミックペプチドでウイルス感染阻止	2004/12/20 日経バイオテク
慶大教授ら、糖鎖でウイルス感染抑制、創薬支援など事業化。	2005/02/15 日経産業新聞
慶応大教授佐藤智典氏ー糖鎖工学使った創薬で起業(大学VB人知を生かす)	2005/03/10 日経産業新聞
特集 1ー糖鎖はこう使う！ー進化した糖鎖の基盤技術 鍵は糖鎖ライブラリー	2005/05/15 日経バイオビジネス
<会長挨拶>DDSへの期待 第21回日本DDS学会	2005/07/11 edicalAcademyN
<編集企画>DDSへの期待ーRoad to Practical Applications 第21回日本DDS学会総会	2005/07/20 薬事日報
慶応大学、グライコメディックスーウイルスと薬結合(点検大学発VB)	2006/12/19 日経産業新聞
インフルエンザ気道でブロック、慶大、細胞に感染させぬ薬開発。	2007/10/08 日本経済新聞
グライコメディックス、抗インフルエンザ薬を日米治験申請	2008/06/16 化学工業日報
グライコメディックス、新作用のインフルエンザ薬、年度内にも治験申請。	2008/06/16 日経産業新聞
<記事>新規インフルエンザ、感染阻害剤を開発へー宿主細胞内への侵入を阻止 グライコメディックス	2008/06/18 薬事日報
グライコメディックス 年内にインフルエンザ感染阻害剤のIND申請	2008/06/18 日刊薬業

## (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
システム生物学者育成プログラム	2001-2005	科学技術振興調整費	文部科学省	岡 浩太郎 慶應義塾大学教授
システム生物学による生命機能の理解と制御	2002-2006	21世紀COEプログラム 平成14年度採択拠点事業	慶應義塾大学 21世紀COEプログラム	柳川 弘志 慶應義塾大学教授
細胞を用いた糖鎖合成と高機能高分子化	2003	科学研究費:基盤研究(B)(2)	日本学術振興会	畑中研一 東京大学教授
分子進化フェージライブラリー法を用いた感染阻害剤の開発	2005-2008	科学研究費:基盤研究(B)(2)	日本学術振興会	佐藤智典 教授
インフルエンザの感染を阻害する糖鎖ミミックペプチドの開発	2005-2007	大学発事業創出実用化研究開発費助成金	NEDO (株)グライコメディクス	佐藤智典 教授
細胞機能を利用したO-結合型糖鎖の合成を可能にする糖鎖プライマーの開発	2005-2006	萌芽研究	日本学術振興会	佐藤智典 教授
糖鎖認識を利用した新たな遺伝子デリバリーシステムの構築と機能解析	2006	財団法人 武田科学振興財団	一般研究奨励贈呈	佐藤智典 教授
糖鎖プライマー法を利用した白血病等の発現糖鎖パネル化と発現糖鎖プローブの開発による診断・治療への応用	2006-2009	厚生科研費	厚生労働省	藤本純一郎 国立成育医療センター研究所、副所長
糖鎖機能活用技術開発	2006-2010	受託研究	NEDO	畑中研一 東京大学教授
ヒアルロン酸で被覆したキトサン微粒子へのタンパク質のカプセル化と機能評価	2007	コスメトロジー研究振興財団		佐藤智典 教授
インフルエンザ感染阻害ペプチドの活性向上を目指した分子設計	2008	シーズ発掘試験	JST	佐藤智典 教授
農水産資源である天然多糖を用いた新機能DDS材料の開発	2008-2009	地域イノベーション創出研究開発事業	関東経済産業局	野口 良平 MRCポリサッカライド株式会社、代表取締役社長

## (7) 受賞データ (1998年以降)

該当なし。

(8) 主な講演・シンポジウム開催データ

開催日	場所	講演・シンポジウムタイトル
1998年 12月4日	東京工業大学・長 津田キャンパス	GlycoTIT98 シンポジウム 「糖鎖ライブラリーの構築」
1999年 3月27-30日	横浜	第76回日本化学会春季年会(依頼講演) 「超分子集合体を用いた遺伝子の細胞内導入」
1999年 3月31日	徳島	日本薬学会第119年会シンポジウム(依頼講演) 「スフィンゴ糖脂質の脂質膜でのトポロジーと認識機能」
2000年 5月11日	東京	第1回遺伝子・デリバリー研究会シンポジウム
2001年 12月13日	日本化学会生命 化学研究会	第4回生命化学研究会シンポジウム・横浜(2001) 生命化学の新しき潮流 ーゲノム・プロテオーム・グライコームの研究のすすめー 代表 佐藤 智典
2003年 10月1日 (注:2004-2006年 度にも行われた)	COE 拠点慶応義 塾大学矢上キャン パス(理工学研究 科)	第2回 COE 生命科学特別講義第一(遠隔講義) 「グライコインフォマティクスを目指した糖鎖の構造と機能解 析」
2003年 10月4日	ば・る・るプラザ 京都	日本農芸化学会 2003年度(平成15年度)関西・中部支部合同大会 シンポジウム 細胞を用いた糖鎖ライブラリーの構築とグライコミクスへの応用

(9) 学会役員データ

年	学会名	役職
1997年4月 -2004年12月	FCCA	幹事(平成11年4月~平成16年12月 庶務幹事)
1998年3月 -2008年2月	日本化学会生命化学研究会	理事
1999年5月・	日本糖質学会	評議員
2001年5月・	日本再生医療学会	評議員
2002年4月・	高分子学会バイオ・高分子研究会	運営委員
2004-2006年	遺伝子・デリバリー研究会	副会長
2005年4月・	東京糖鎖研究会(GlycoTOKYO)	会長
2008年3月・	日本化学会フロンティア生命化学研究会	理事

## (10) 実用化データ

### 1) グライコメディクス社と共同での実用化研究

グライコメディクス社は本研究課題を基にして築かれた「糖鎖プライマー法による糖鎖合成法」を技術の軸とし、様々な疾患や病態に対して、新しい予防法や診断・治療法を開発し提供することを目的として設立された。事業化の内容は以下のとおりである。

1	合成糖鎖の生産性向上と高機能付加糖鎖の生産
2	がんに対する糖鎖関連創薬事業
3	インフルエンザ感染阻害剤（ペプチド製剤）
4	有用糖鎖の探索と他社への供給

### 2) 実用化例

糖鎖構造を擬態したペプチド合成法の開発。この技術を用いてグライコメディクス社は、ペプチドを主成分とした新規インフルエンザ感染阻害剤「GM04 - 001」を開発し、現在全臨床段階にある。本剤は NEDO の 2005 年度大学発事業創出実用化研究開発事業（大学発マッチングファンド）に採択され、その研究補助金によって開発が進められた。

また、糖鎖プライマーを使った事業化内容は、林原生物科学研究所との共同で検討されている。

### (付記) 主な調査参考資料

1. [http://www.coebio.keio.ac.jp/cgi-bin/public/display.cgi?table\\_id=4&data\\_id=65](http://www.coebio.keio.ac.jp/cgi-bin/public/display.cgi?table_id=4&data_id=65)
2. <http://www.coebio.ac.jp/file/kyouin.pdf>
3. [http://www.coebio.keio.ac.jp/cgi-bin/public/display.cgi?table\\_id=4&data\\_id=65](http://www.coebio.keio.ac.jp/cgi-bin/public/display.cgi?table_id=4&data_id=65)

## 第9節 病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療

ヒアリング協力者	松本 直幸
本課題における担当	病原性低下因子の探索と評価
現所属および役職	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター
ヒアリング実施日	2008年12月19日

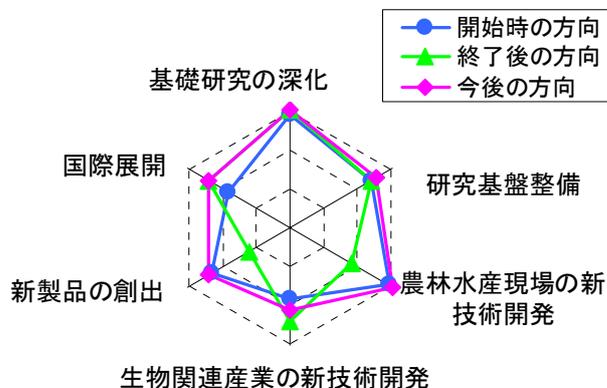
### 1. 研究の背景と位置付け

紋羽病は土壤中で果樹類の地下部を侵害する糸状菌性の伝染性病害であり、ビニールハウスや矮化栽培などの集約的な栽培技術の普及により、永年性作物に全国的に発生する脅威となっている。紋羽病にはリンゴなどに発生する *Helicobasidium mompa* による紫紋羽病と、ナシやブドウなどに発生する *Rosellinia necatrix* による白紋羽病があり、これらの防除には、1樹あたり50から200Lの農薬を土壌灌注すると効果が得られるが、その効果は一時的であり大抵の場合隔年の処置が必要とされていた。また、農薬の土壌処理は農薬やその分解物の土壌環境を悪化させるリスクについてあまり考慮されていない状況であった。一方、拮抗菌等を利用する生物防除は持続的な効果が期待され、環境への影響も少なく使用が望まれるが、拮抗菌を定着させることが困難であることが問題視されていた。拮抗菌の活動に好適な土壌環境を維持管理するには大きな労力を要するため、根系が広く永年性の果樹では特に難しい技術であった。

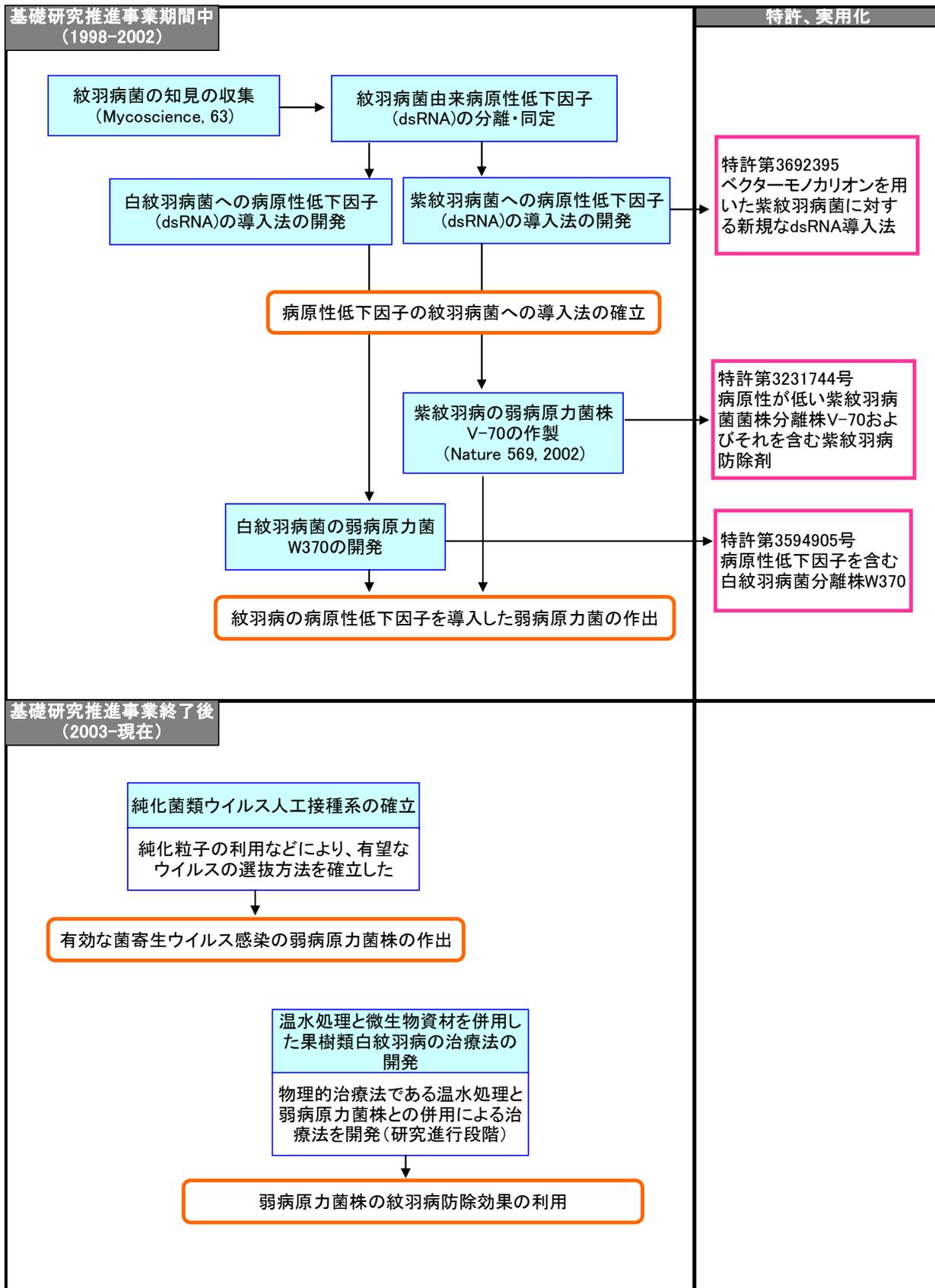
本研究は、土壤中の紋羽病菌の菌糸にその病原性を低下させる性質を持つ菌類ウイルスを感染させることにより、拮抗菌で問題となった定着の困難さを回避し、集約的に栽培されている果樹農園の樹木の病害治療法として有効となる技術を開発することを目指したものである。

### 2. 研究の展開

基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

菌類ウイルスに由来する紋羽病の病原性低下因子(dsRNA)を利用して、罹病果樹に感染している紋羽病菌（野生株）の病原力を低下させることにより紋羽病を治療する生物防除法を開発することを目的とした。dsRNAは病原糸状菌の病原力を低下させる際に、導入された野生株の細胞質中でのみ定着・増殖するため、土壌条件に影響されず、その効果は半永久的である。

dsRNAを罹病植物体上の病原菌に導入する技術として、dsRNAを感染させた培養菌を野生株病巣に接種し、両者の菌糸を接触させてdsRNAを野生株の細胞質に移行させる方法を構築する。この時、dsRNAの移行は細胞質和合性の菌株間の完全菌糸融合によってのみ起こり、遺伝的に異なる菌糸融合において融合細胞は死滅しdsRNAの移行は阻止されるため、野生株と培養菌との細胞質和合性の高い菌種を選択する必要がある。そのため、任意の野生株への感染方法を確立する。また、病原性低下因子の探索も行う。

#### (2) 研究内容

本研究では、dsRNAに感染させた培養菌を植物根部の病原菌(野生株)と接触させ、野生株にdsRNAを感染させることで病気を治療する遺伝子治療法を確立するため、次の内容について研究を行った。

- 1) 紋羽病菌を収集し、菌学的な基礎知見を集積して治療効果の高いdsRNAを探索・評価する。(中課題1)
- 2) 野生株へ効率的にdsRNAを導入する法を開発する。(中課題2)
- 3) 病原性低下因子の機能を分子生物学的に解明する。(中課題3)
- 4) 任意の野生株にも適合する接種源(ユニバーサルイノキュラム)を作成する。(中課題4)

#### (研究実施体制)

中課題名		開始	終了	所属（事業当時）	研究代表者名 (注)
1	病原性低下因子の探索と評価	10	14	農業環境技術研究所	松本 直幸*
2	病原性低下因子導入技術の開発	10	14	農研機構 果樹試験場	吉田 幸二
3	病原性低下因子の分子学的機能解明	10	14	農研機構 果樹試験場興津支場	大津 善弘
4	ユニバーサルイノキュラムの開発	10	14	広島県立大学生物資源学部	森永 力

(注) 研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

### (3) 主な研究成果

#### 1) 菌学的な基礎知見の集積と治療効果の高い dsRNA の探索・評価

白紋羽菌については、罹病根からの白紋羽病菌子座の形成法や無菌培養中での分生子柄束形成法を作成し、正確な新規同定法を確立した。

また、国内外の紫紋羽病菌の菌糸融合観察や遺伝子変異解析を行い、国内外の菌株は完全に単一系統であり dsRNA を用いた遺伝子治療を行うに当たり障壁となるような種内の変異は認められないことが明らかとなった。

紫紋羽病菌について 1375 菌株、白紋羽病菌について 776 菌株を収集し、紫紋羽病菌の効率的分離法、菌群の分化についての知見を得た。また、紫紋羽病菌、白紋羽病菌の個体群構造など、従来、知見の乏しかった紋羽病菌に関する生態学的、分類学的な基礎知見を蓄積した。紫紋羽病菌 559 菌株のうち約 65%、白紋羽病菌 424 菌株のうち約 20%から dsRNA を検出した。

#### 2) 効率的な dsRNA 導入法の開発

紫紋羽病菌では、dsRNA 導入のベクターとしてモノカリオン(一核菌糸体)を利用することにより、紫紋羽病菌 V70 の dsRNA を細胞質和合性の異なる菌株へ導入することに成功し、病原力の低下した菌株の作出を行った。

白紋羽病菌では、菌糸から調製したプロトプラストにウイルスを取り込ませ、このプロトプラストを再生してウイルスが感染した菌糸を得る系を確立して薬剤耐性遺伝子を付与した菌株へ W370 ウイルスを移行させ、W370 ウイルスの病原力低下効果を証明した。

また、クリ胴枯病菌で見出されたウイルスを利用して、パーティクルガン法により菌糸を直接導入することにより、本来の宿主菌以外の異種菌にも dsRNA が感染し、培養性状や病原力低下に影響することも示された。

#### 3) 病原性低下因子の分子生物学的な機能解析

上記の紫紋羽病菌弱病原力菌および白紋羽病菌弱病原力菌の株数株から見いだされた dsRNA の塩基配列及び関連ウイルス粒子の性状等を解析し、新規ウイルス 3 種 (Partitivirus 属に属する *Helicobasidium mompa* 70 virus、Reoviridase 科 Colitivirus 属に近縁のウイルス、Totivirus 属に属するウイルス) を同定した。これらのうち W370 から見出された Reoviridase 科ウイルスは、菌類ウイルスとしては初めての発見であった。

#### 4) 任意の野生株に適合する接種源(ユニバーサルイノキュラム)の作成

ユニバーサルイノキュラム作出のための基礎知見として、両紋羽病菌の核相及び生活環を明らかにし、候補となる菌株をスクリーニングした。

## 4. 事業終了後の状況

### (1) 研究発展状況

本事業期間中は、紋羽病を菌類ウイルスに由来する紋羽病の病原性低下因子(dsRNA)を用いて遺伝子治療する手法を開発した。この研究は、果樹研究所にて継続されている。平成15年に、農林水産省「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業」に「病原菌を病気にする果樹類紋羽病生物防除法の開発」(代表：吉田幸二氏、3年間)が採択され、基礎研究推進事業期間中に得られた弱病原力菌株の紋羽病防除効果の解明やより効果的な菌株の開発などについて、(株)環境エンジニアリングなどとの共同研究のもと、実用的な防除技術化試験が進められた。平成19年度にも同高度化事業に「温水処理と微生物資材を併用した果樹類白紋羽病の治療法」(代表：中村 仁氏、3年間)が採択された。ここでは、白紋羽病のさらなる効果的な治療法として、本研究で得られた生物学的処理法に物理的消毒法である温水処理を組み合わせる治療技術の構築を目的として、エムケー精工(株)や長野県南信農業試験場等との共同により、実用的な方向で研究が展開されている。

### (2) 新たな研究成果

#### 1) 白紋羽病の防除に利用する菌類ウイルスの純化粒子の人工接種系の開発

白紋羽病の防除に利用する dsRNA を含む菌類ウイルスを、さらに効果の高いものにするため、病原力が弱い白紋羽病に感染しているウイルスを純化した。ウイルスの純化粒子は、ウイルスが感染している白紋羽病菌株の破碎液からショ糖密度勾配遠心法により調製した。次に、この純化粒子を、ウイルスを含まないウイルスフリーの白紋羽病菌の菌糸から調製したプロトプラストに人工接種し、プロトプラストを再生して純化したウイルス感染白紋羽病菌株を作出した。

本方法により、菌類とウイルスの任意の組み合わせで dsRNA の導入が可能となり、病原力低下効果を効率的に検討する技術が確率された。

#### 2) リンゴ実生苗に対する遺伝子治療の検討

基礎研究推進事業で作出した白紋羽病に対する W370 弱病原性菌をリンゴに対して接種し、病原力を確認した(図1)。W370 株の単菌糸分離によりウイルスフリー化して強病原力を示す株を作成し、W370 株と対峙培養することにより W370 株に含まれるウイルスを導入した。このウイルス導入した菌株を接種したリンゴの発病率は、非導入菌株接種リンゴに比べて低かったことから、W370 ウイルスの感染により白紋羽病菌の病原性が低下することが明らかとなった。

#### 3) 温水処理と微生物資材を併用した果樹類白紋羽病の治療法

40-50℃の温水処理により白紋羽病菌が死滅することが明らかとなり、低コストで温水を灌水する土壌の温水処理機を開発し、その性能を確認した。本技術を実用化段

階に進めていくことにより、多くの果樹についても物理的な消毒法として温水処理が利用できるかと期待される。また、温水処理と併用する微生物資材として、耐熱性及び拮抗性が高い細菌及び基礎研究推進事業で得られた白紋羽病菌が利用され、研究が進められている。



図1 リンゴ苗に白紋羽病菌を接種。  
左：マイコウイルスを導入して弱病原性になった菌株。  
右：野生株。

(独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所リンゴ研究部 兼松聡子氏提供)

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的波及効果

本研究により、作物病害生物防除へのウイルスの有用な利用法が提唱され、それまで低調だった菌類ウイルス分野が刺激された。特に、紋羽病菌の細胞学や遺伝学は、研究対象とされていない領域であったが、そのため新たな発見も多く、本研究によって活性化された。紋羽病に対するウイルス治療については、まだ実用化には至っていないが、農業現場での試験も進められており、実用性が視野に入れられる研究に発展している。

また、菌類ウイルスを強制的に遺伝的背景の異なる菌種に導入することにより、菌糸内においてウイルスが感染・増殖する例が、プロトプラストによる dsRNA 導入系やウイルスの感染性 cDNA による人工接種に関する研究において見出された。紋羽病菌で発見されたウイルスを、クリ胴枯病などの腐らん病をはじめとする他の病原糸状菌による病害に応用することにより、紋羽病と同様に防除効果を示す可能性が期待される。

## 2) 産業的波及効果

従来の紋羽病の治療には、200Lもの農薬を土壌に隔年散布する必要があり、コスト、安全性などの面から農家に大きな負担となっていた。安全性の高い生物防除法を開発することにより、環境負荷のない持続的な紋羽病の治療法として、農業現場に貢献することが期待される。

## 3) 社会的波及効果

白紋羽病は世界的に果樹などの植物に対する病害として栽培農家を脅かしている。スペインやニュージーランド、アメリカ、イタリアなどでも報告があり、効果の長い遺伝子治療法が一般化され、汎用されればその波及効果は大きいと考えられる。

また、dsRNAや菌類ウイルスは白紋羽病以外の菌類病害においても多く分離され、分子学的解析が進められているがその知見の蓄積は十分とは言えなかった。本研究が発端となって世界で種々の栽培植物病害に関連する解析が行われ、栽培現場に役立つ研究が進むことが期待されている。

## 4) 人材的波及効果

本研究期間中に研究に従事していたポスドクや大学生は殆どが大学や農林水産省関連の研究所などにポジションを得ており、本研究で培われたそれぞれの研究能力が高く評価されている。

## 5. 有識者コメント

本研究はカビが原因で引起されるリンゴの紫紋羽病やナシ・ブドウの白紋羽病を農薬の代わりに菌類ウイルスに由来する病原性低下因子(dsRNA)を利用した生物除去法を開発し、環境負荷を軽減し、集約的に栽培されている果樹農園の樹木の病害治療法へ実用化することを目的として、病原性低下因子の検索とともに任意の野生株への感染方法の確立を試みた。本研究期間内では、大規模な紋羽病菌の分類学的解析を行い、紋羽病菌に関する重要な基礎的知見を上げた。また、dsRNAの塩基配列の決定や野生株への導入方法の開発など生物除去法の開発に向けた基礎的な研究成果を上げた。また、病原性低下因子を利用した樹木の病害治療への応用研究が実施されず、生物除去法が実用化可能か評価できなかったが、本研究終了後も果樹研究所において実用的な研究が継続され、これまでの知見に基づいた実用的な防御技術化試験が進められ、さらには、温水処理(40-50℃)による土壌の処理法へ発展し、より実用的な研究へと展開されている。礎科学的には、紋羽病菌の細胞学や遺伝学の研究に大きく貢献した。また、本菌の形質転換系の開発も評価でき、紋羽病菌以外の菌類病害にも応用可能と考えられ、本技術の完成と普及に期待する。しかし、このようなdsRNAなどを利用した遺伝子治療法が一般化されるには安全性の評価を厳密に実施することが必須となる。将来dsRNAが変異せず安全であるかを検証する必要があるが、本技術が一般化され、汎用されればその社会的波及効果は大きいと評価された。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキング

#### 1) 検索式

内容	番号	件数	検索式 (CA)
二本鎖 RNA	L1	16458	DOUBLE(W)STRANDED(W)RNA OR DSRNA
<i>Helicobasidium Mompa</i> , <i>Rosellinia Necatrix</i> , かび	L2	471	L1 AND (HELICOBASIDIUM(W)MOMPA OR FUNGI OR FUNGUS OR ROSELLINIA(W)NECATRIX)
1998 年以降	L3	350	L2 AND PY>=1998
特許以外	L4	192	L3 NOT P/DT

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	14	<b>MATSUMOTO, NAOYUKI</b>
2	7	GHABRIAL, SAID A.
2	7	NAKAMURA, HITOSHI
2	7	NUSS, DONALD L.
2	7	OSAKI, HIDEKI
2	7	SUZUKI, NOBUHIRO
7	6	HILLMAN, BRADLEY I.
7	6	SASAKI, ATSUKO
9	5	BRASIER, CLIVE M.
9	5	BUCK, KENNETH W.
9	5	DOERING, TAMARA L.
9	5	KANEMATSU, SATOKO
9	5	NOMURA, KINYA
9	5	OHTSU, YOSHIHIRO

#### 3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
1	10	<b>NATIONAL INSTITUTE OF FRUIT TREE SCIENCE</b>
2	5	JOHN INNES CENTRE
2	5	OKAYAMA UNIVERSITY
4	4	NATIONAL INSTITUTE FOR AGRO ENVIRONMENTAL SCIENCES
4	4	UNIVERSITY OF KENTUCKY
4	4	UNIVERSITY OF MARYLAND BIOTECHNOLOGY INSTITUTE
7	3	AUSTRIAN ACADEMY OF SCIENCES
7	3	CORNELL UNIVERSITY
7	3	IMPERIAL COLLEGE LONDON
7	3	IMPERIAL COLLEGE OF SCIENCE TECHNOLOGY AND MEDICINE
7	3	KYOTO UNIVERSITY
7	3	NATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH ORGANIZATION NARO
7	3	UNIVERSITY OF CALIFORNIA

## (2) 成果論文データ

### 1) 主要成果論文

・基礎研究推進事業の期間中の主要論文

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	0	0	1	3	5	9
その他	0	1	1	2	0	4

(出典：終了時の研究成果報告書)

・基礎研究推進事業の終了以降の主要論文

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	合計
原著論文	4	7	4	2	0	1	18
その他	0	0	0	0	0	1	1

### 2) 論文の被引用数の推移

年	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位 10	16
1998-2002	成果	上位 10	98
2003～	終了後	上位 10	73

### 3) 被引用数上位文献

基礎研究推進事業の期間中の成果論文を白抜き、終了後の成果論文を緑で示した。

論文 No.	Year	Document Title	Authors	Journal Title	Vol.	引用数
1	2002	Presence and distribution of Double-stranded RNA elements in the white root rot fungus <i>Rosellinia necatrix</i>	Arakawa M., Nakamura H., Uetake Y., Matsumoto N.	Mycoscience	43	21
2	2002	Nucleotide sequences of double-stranded RNA segments from a hypovirulent strain of the white root rot fungus <i>Rosellinia necatrix</i> : Possibility of the first member of the Reoviridae from fungus	Osaki H., Wei C.Z., Arakawa M., Iwanami T., Nomura K., Matsumoto N., Ohtsu Y.	Virus Genes	25	19
3	1998	Biological control of root diseases with dsRNA based on population structure of pathogens	Matsumoto N.	Japan Agricultural Research Quarterly	32	18
4	2002	Detection of a double-stranded RNA virus from a strain of the violet root rot fungus <i>Helicobasidium mompa</i> Tanaka	Osaki H., Nomura K., Iwanami T., Kanematsu S., Okabe I., Matsumoto N., Sasaki A., Ohtsu Y.	Virus Genes	25	16
5	2000	Observations on the teleomorph of the white root rot fungus, <i>Rosellinia necatrix</i> , and a related fungus, <i>Rosellinia aquila</i>	Nakamura H., Uetake Y., Arakawa M., Okabe I., Matsumoto N.	Mycoscience	41	15

論文 No.	Year	Document Title	Authors	Journal Title	Vol.	引用数
6	2003	Molecular characterization of dsRNA segments 2 and 5 and electron microscopy of a novel reovirus from a hypovirulent isolate, W370, of the plant pathogen <i>Rosellinia necatrix</i>	Wei C.Z., Osaki H., Iwanami T., Matsumoto N., Ohtsu Y.	Journal of General Virology	84	14
7	2003	Cloning and characterization of a totivirus double-stranded RNA from the plant pathogenic fungus, <i>Helicobasidium mompa</i> Tanaka	Nomura K., Osaki H., Iwanami T., Matsumoto N., Ohtsu Y.	Virus Genes	26	12
8	2004	Diversity and vertical transmission of double-stranded RNA elements in root rot pathogens of trees, <i>Helicobasidium mompa</i> and <i>Rosellinia necatrix</i>	Ikeda K.-I., Nakamura H., Arakawa M., Matsumoto N.	Mycological Research	108	9
9	2004	A reovirus causes hypovirulence of <i>Rosellinia necatrix</i>	Kanematsu S., Sasaki A., Suzaki K., Yoshida K., Matsumoto N., Arakawa M., Oikawa Y., Onoue M., Osaki H., Nakamura H., Ikeda K., Kuga-Uetake Y., Nitta H.	Phytopathology	94	8
10	2004	Characterization of double-stranded RNA elements in the violet root rot fungus <i>Helicobasidium mompa</i>	Osaki H., Nomura K., Matsumoto N., Ohtsu Y.	Mycological Research	108	8
11	2003	Mycelial incompatibility operative in pairings between single basidiospore isolates of <i>Helicobasidium mompa</i>	Ikeda K.-I., Nakamura H., Matsumoto N.	Mycological Research	107	7
12	2002	Genetic relationships among violet root rot fungi as revealed by hyphal anastomosis and sequencing of the rDNA ITS regions	Uetake Y., Arakawa M., Nakamura H., Akahira T., Sayama A., Cheah L.-H., Okabe I., Matsumoto N.	Mycological Research	106	7
13	2004	Complete nucleotide sequences of genome segments 1 and 3 of <i>Rosellinia</i> anti-rot virus in the family Reoviridae	Wei C.Z., Osaki H., Iwanami T., Matsumoto N., Ohtsu Y.	Archives of Virology	149	6

4) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業期間中の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
1	—	—	—	—	4	4	3	4	4	2	0	21
2	—	—	—	—	0	4	8	4	2	1	0	19
3	0	0	1	0	3	3	3	5	2	1	0	18
4	0	0	0	0	0	4	4	4	2	1	1	16
5	—	—	—	—	4	2	3	0	4	1	1	15
7	—	—	—	—	—	0	2	4	3	3	0	12
11	—	—	—	—	—	0	4	2	1	0	0	7
12	—	—	—	—	0	3	3	1	0	0	0	7

・基礎研究推進事業終了後の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
6	—	—	—	—	—	0	6	4	2	2	0	14
8	—	—	—	—	—	—	1	2	5	1	0	9
9	—	—	—	—	—	—	2	3	2	1	0	8
10	—	—	—	—	—	—	1	2	4	0	1	8
13	—	—	—	—	—	—	1	2	1	2	0	6

5) 引用論文の分野

分野	論文 No.									
	1	2	3	4	5	6	8	9	10	
農学、生物科学	11	5	11	6	12	2	5	4	1	
免疫学、微生物学	11	14	5	8	5	11	6	5	4	
生化学、遺伝学、分子生物学	8	8	11	11	3	6	5	2	1	
環境科学	2	1	2	1		1	1	2	2	
化学工学	1									
化学	1									
医学		1								

(3) 共同研究先データ

1) 基礎研究推進事業での共同研究先

該当なし

2) 基礎研究推進事業以降の共同研究先

広島県立大学、株式会社環境エンジニアリング、青森県農業総合研究センター、佐賀県果樹試験場、エムケー精工株式会社、長野県南信農業試験場、長野県果樹試験場、茨城県農業総合センターなど

#### (4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	出願人・権利者名	発明者・考案者	出願日
特開 2000-157258	土壌の病害抑止性の評価方法	農林水産省農業環境技術研究所長	松本直幸 横山和成	1998/ 11/25
特許第 3231744 号 (特開 2001-78752)	病原性が低い紫紋羽病菌菌株分離株 V-70 およびそれを含む紫紋羽病防除剤	農林水産省農業環境技術研究所長 生物系特定産業技術研究推進機構	松本直幸 岡部郁子 植竹ゆかり 須崎浩一 吉田幸二	1999/ 9/14
特許第 3692395 (特開 2002-65279)	ベクターモノカリオンを用いた紫紋羽病菌に対する新規な dsRNA 導入法	独立行政法人農業技術研究機構 生物系特定産業技術研究推進機構	須崎浩一 吉田幸二 兼松聡子 大崎秀樹 松本直幸 佐々木厚子 宮西征揮 植竹ゆかり 中村仁	2000/ 9/1
特許第 3594905 号 (特開 2002-218968)	病原性低下因子を含む白紋羽病菌分離株 W370	独立行政法人農業環境技術研究所 生物系特定産業技術研究推進機構	松本直幸 岡部郁子 荒川征夫 中村仁 植竹ゆかり	2001/ 1/25

#### (5) 報道データ

見出し	出典
生研機構、98 年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など 9 件	1998/08/12 日刊工業新聞
生物機能を生かせ：(8)生研機構、新産業技術創出事業病原性低下因子の機能を解明	1998/09/03 日本工業新聞
果樹の紋羽病防除に新手 効果は半永久的／農業環境技術研究所	2003/01/29 日本農業新聞
生物機能で産業創出：生研機構の 2002 年度終了課題(9)	2003/05/14 日本工業新聞
菌類ウイルスの一種 totivirus の紫文羽病菌に対する病原力低下能	2007-12-11 農林水産技術会議ホームページ
モノカリオンを利用した紫紋羽病菌への菌類ウイルスの導入法	2007-12-11 農林水産技術会議ホームページ
モノカリオンを利用した紫紋羽病菌への菌類ウイルスの導入法	2007-12-11 農林水産技術会議ホームページ
白紋羽病菌の病原力を低下させる菌類レオウイルス	2007-12-11 農林水産技術会議ホームページ
紋羽病菌に見出された菌類ウイルス由来の病原力低下因子の発見	2008-04-08 農林水産技術会議ホームページ
果樹類白紋羽病菌への純化菌類ウイルス人工接種系の確立	2008-12-22 農林水産技術会議ホームページ

### (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
病原性低下因子導入技術の開発及び導入菌株の作出	1998-2002	生研一般型	-	研究代表者：松本直幸
病原菌を病気にする果樹類紋羽病生物防除法の開発	2003-2005	平成15年度先端技術を活用した農林水産研究高度化事業	農林水産省地域研究課	研究代表者：吉田 幸二
温水処理と微生物資材を併用した果樹類白紋羽病の治療法	2006-2008	平成19年度先端技術を活用した農林水産研究高度化事業	農林水産省地域研究課	研究代表者：中村 仁
果樹の紋羽病等難防除病害抑制のための要素技術の開発	2006-2007	交付金	果樹研究所	研究代表者：佐々木厚子、兼松聡子、中村仁、島根孝典、吉田幸二

### (7) 受賞歴調査

受賞年	賞	受賞内容
2004	日本植物病理学会 学会賞	病原糸状菌の個体群構造の解析とその防除への対応
2006	日本植物病理学会学術奨励賞	紋羽病菌における dsRNA の多様性とその動態

### (8) 講演・シンポジウム開催

開催日	場所	講演・シンポジウムタイトル
2004年 1月26日	つくばサイエンスアカデミー	第3回つくばテクノロジー・ショーケース インデクシング・セッション 病原菌を病気にして農作物を守る 松本直幸
2004年 10月4日	農業環境技術研究所	平成16年度微生物・小動物研究グループセミナー 菌類ウイルスのベクターは存在するか? 松本 直幸
2004年 11月19日	理化学研究所 和光本所 (埼玉県和光市) 鈴木梅太郎記念ホール	第2回農薬バイオサイエンス研究会 理研シンポジウム「生物学の新知見と農薬科学」菌類ウイルスを利用した病害防除—果樹類紋羽病に対する取り組み 松本直幸
2005年 12月2日	岡山大学資源生物科学研究所	学術講演会 松本 直幸 マイコウイルスを利用した果樹類紋羽病生物防除研究の現状-カギとなるのは糸状菌のウイルス感染阻止機構-
2007年 6月12日	つくばリサーチギャラリー	第53回作物研究所セミナー 病原菌を病気にして作物を守る—果樹類紋羽病の生物防除

### (9) 学会役員データ

該当なし

### (10) 実用化例

該当なし

### (付記) 主な調査参考資料

1. 植物防疫、58(2)、47-66、2004
2. 植物ウイルス病研究会レポート(PSJ Plant Virus Dis. Rept.)、8、51-59、2006
3. 植物ウイルス病研究会レポート(PSJ Plant Virus Dis. Rept.)、9、19-24、2008
4. <http://www.naro.affrc.go.jp/ET/h19/5/5-03.pdf>
5. [http://www.fruit.affrc.go.jp/publication/news/14/14\\_05.pdf](http://www.fruit.affrc.go.jp/publication/news/14/14_05.pdf)

## 第10節 ナノ FISH 法の開発

ヒアリング協力者	大谷 敏郎
本課題における担当	試料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出
現所属および役職	農林水産省 農林水産技術会議事務局研究開発官（環境）室 研究調整官（ヒアリング当時）
ヒアリング実施日	2008年12月22日

ヒアリング協力者	杉山 滋
本課題における担当	試料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出
現所属および役職	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品工学研究領域 ナノバイオ工学ユニット ユニット長
ヒアリング実施日	2009年1月13日

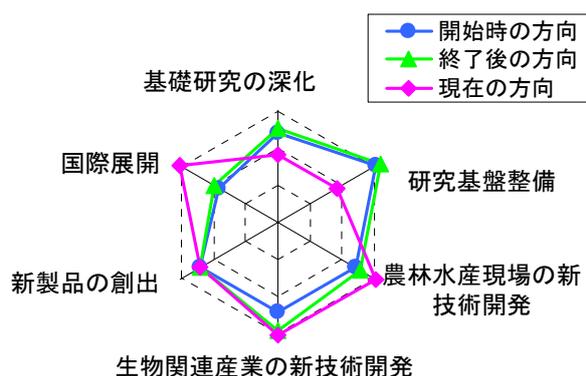
### 1. 研究の背景

生物の遺伝子発現制御には、塩基配列のみならず各遺伝子の染色体上における位置関係が重要な役割を果たしている。染色体上あるいは DNA 上での遺伝子やその構成要素の位置解析は、一般に光学顕微鏡を用いた蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（FISH）法により行われてきた。しかし、このような従来型の FISH 法では、その解像度は光学顕微鏡の分解能の限界（光波長の 1 / 2 程度）があるため、実際には 1  $\mu\text{m}$  以下の領域を細かく観察することができなかった。

本研究では、この光学的限界を超えたナノメートルレベルの空間分解能を持ち、高感度かつ効率的に遺伝子の位置や構成要素を同定する新しい手法を開発することとした。

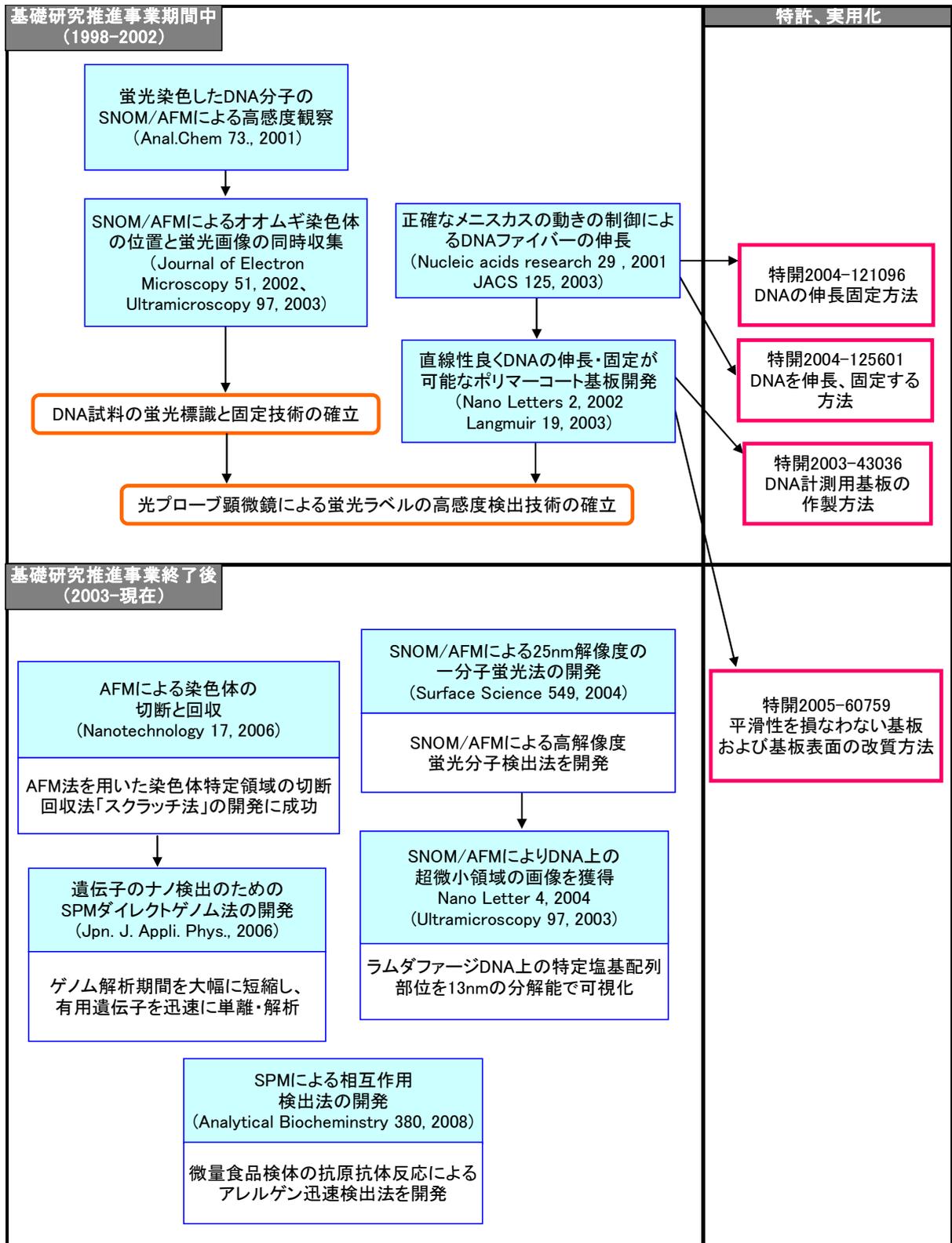
### 2. 研究の展開

基礎研究推進事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



開始時は新領域のナノ FISH 法の確立を目指した技術基盤整備に主に注目し、終了後は成果を生物関連産業への応用へと発展させた。今後は国際展開を視野に入れて、食品領域を中心とした農林水産分野への新技术開発へと研究を広げていく。

基礎研究推進事業の開始から事業終了後の現在までの研究の展開を俯瞰的に図に記した。



### 3. 基礎研究推進事業において実施された内容

#### (1) 研究目的

ナノメートルレベルの空間分解能を有する走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (SNOM/AFM, Scanning near-field optical/atomic force microscope) と FISH 法を融合させ、任意の DNA 断片上における解析対象の DNA の位置や構成要素を、直接的に高感度で効率よく同定する新たな手法とする「ナノ FISH 法」の確立を目指した。具体的には観察対象とする DNA 上の特定の塩基配列を FISH 法で効率的に蛍光標識し(色をつける)、コーミング法あるいは新規な物理的方法で平坦な基板の上に直線状に伸長・固定し(伸ばす)、極微小の開口を持つ光ファイバーを用いた走査型光プローブ原子間力顕微鏡を用いて、形状像および蛍光像を同時に取得・解析する方法(見る)を検討し、ナノ FISH 法の確立を目指した。

#### (2) 研究内容

##### 1) DNA 上の特定塩基配列の FISH 法による蛍光標識方法の検討 (中課題 1)

ナノ領域の蛍光標識 (高分解能化、高感度化)、分光解析を利用する多色同時検出の最適組み合わせ (マルチカラー化)、DNA の標識から観察試料の作成までの所要時間の短縮 (簡素化、迅速化) について、最適化条件を決定する検討を行った。

##### 2) 平坦な基板の上に直線状に蛍光標識 DNA を固定する方法の検討 (中課題 2)

DNA 鎖の固定法 (コーミング法) または新規な物理的方法による試料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出を行った。コーミング法では、極めて平坦な基板の上に直線状に DNA を伸長・固定することが可能な基板を開発する。また、光ピンセット等を用いて DNA を機械的に固定する方法 (アクティブ・コーミング法) の開発では、伸長・固定の位置制御が可能な撥水性基板上の液滴を移動させる方法、DNA の伸長・固定に対し適切な相互作用が働く基板表面の開発、伸長状態にある DNA を他の基板表面に移し取る方法の確立を行った。

##### 3) 形状像及び蛍光像を同時に取得・解析する方法の検討 (中課題 3)

市販の倒立顕微鏡と自作の操作ユニットから構成されるナノ FISH 用光プローブ顕微鏡の実験ユニットの製作・評価、ピエゾスキャナを装備した音響ノイズに関連が高い操作ユニットの選定を行い、性能向上を図った。

また、マルチカラー化に対応した検出系については、短時間測定可能な簡素化した装備を目指し、高感度 CCD カメラを利用した専用の光信号処理システムを製作した。

さらに、50nm 程度の分解能を実現する光プローブの性能の向上を目的として、DNA 計測における光プローブの特性の影響を解析し、光分解能の改善、形状像分解能の改善を中心に最適化を行った。

(研究実施体制)

	中課題名	開始	終了	所属 (事業当時)	研究代表者名 (注)
1	ナノ領域の蛍光標識法の開発	11	14	日本原子力研究所高崎研究所	田中 淳
2	試料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出	11	14	食品総合研究所	大谷 敏郎*
3	ナノ FISH 法のための光プローブ顕微鏡装置の最適化に関する研究	11	14	セイコーインスツルメンツ株式会社	村松 宏

(注) 研究者名の欄中、総括研究代表者は\*印

### (3) 主な研究成果

SNOM/AFM により、DNA の形状像および特定の DNA の位置を標識した蛍光像を同時に取得する技術を初めて開発した。本技術では、DNA 一本鎖と二本鎖を明確に区別する分解能を得た他、DNA の特定位置をマルチカラーで標識する技術、ならびに蛍光色素 1 分子を検出することに成功した。

#### 1) ナノ領域の蛍光標識法の開発

検出対象となる二本鎖 DNA を切断することなくナノ領域の塩基配列を特定し、高効率で蛍光標識することが可能となった。この技術においては、PNA (Peptide Nucleic Acids、ペプチド核酸) プローブの利用とスピнкаラムの反復使用による試料の精製が重要なポイントとなった。

- ・  $\lambda$  DNA 上の約 10kb の広い領域をハイブリダイゼーションにより蛍光標識して可視化する標準実験系を構築した。その領域の中で、DNA の特定塩基配列約 5 nm 相当の部分を特異的に標識する技術を開発した。
- ・ マルチカラー化の検討では、近赤外領域の蛍光色素 Cy5 および赤色領域の Cy3 は背景光、迷光が少なく、長波長領域での高感度検出に適し、DNA の対比染色には緑領域で高コントラストが得られる YOYO-1 が適していることを見出し、1 分子蛍光イメージングによる 3 色の同時検出に成功した。
- ・ 蛍光標識に 5 個以上連続したポリピリミジン配列を含む PNA プローブを用いることにより、 $\lambda$  DNA 上の 15bp のナノ領域を 80%以上の高確率で標識できる技術を確立した。また、Alexa532 結合 PNA プローブにより、 $\lambda$  DNA 上の 1 点を 1 分子蛍光標識することができた。
- ・ 簡素化・迅速化に関しても PNA プローブの適用が最も効果的であった。また、スピнкаラムによる平衡化ゲル濾過の反復使用が、DNA 鎖切断の防止や未反応プローブの除去の迅速化に最も有効であった。

## 2) 試料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出

基板上に $\pi$ 共役化合物を含むポリマーをスピコートし、吸い上げ法や液滴制御法等により DNA を直線状に伸長・固定することに成功した。また、マイカ基板上を分子レベルで平滑に保って疎水化し、吸い上げ法にて DNA を固定化する方法を開発した。

- ・マイカ基板の処理に MMS (Methoxytrimethylsilane) を使用することにより、基板を平滑に保持した状態で DNA を直線状に固定できる表面を作製することが可能となった。
- ・DNA 鎖の固定法としてスピコート法を改良し、DNA 溶液の滴下量をコントロールすることにより、直径数 mm 程度まで伸長・固定できる技術を確立した。
- ・DNA の機械的固定法 (アクティブ・コーミング法) では、ビオチン化 DNA にストレプトアビジン化マイクロビーズを結合してマイクロビーズを先端に結合した DNA を作製し、光ピンセットにより DNA を引き伸ばすことができた。
- ・DNA を含む液滴を、シラン化により撥水性を高めたガラス基板上で適切な速度で移動させる方法 (液滴制御 (Controlled Droplet, CD) 法) により、液滴の軌跡に沿って DNA を伸長・固定することに成功した。
- ・DNA 溶液を基板上に滴下して液滴を作成し、マイクロピペットで吸い上げ、気液固界面の移動を生じさせて DNA を伸長・固定する方法 (吸い上げ法) を開発した。
- ・DNA を伸長・固定した PDMS (Poly dimethylsiloxane) シート表面を、ガラス、マイカ等の他の基板表面に接触させ、PDMS 上の DNA をすべて他の基板表面に転写する方法 (TP (Transfer-Printing) 法、DNA プリント法) を開発した。

## 3) ナノ FISH 法のための光プローブ顕微鏡の最適化に関する研究

装置面では、SNOM/AFM 装置と光プローブ探針を DNA 観察用として改良し、DNA の形状像と蛍光像を同時に計測する方法や、蛍光色素 1 分子を約 13 nm の空間分解能で検出する方法を開発した。これらの検出には、励起光として多波長レーザーを、検出系には CCD カメラを装備した分光 SNOM/AFM を開発した。

- ・装置全体にレーザー光源の冷却ファン等に起因する音響ノイズが入り、走査モジュール周辺でも音響ノイズを受けていることが確認されたため、最適な走査モジュールを選定し性能を向上させた。
- ・液中観察用モジュールを開発し、形状像と蛍光像の液中同時計測を可能にした。
- ・画像信号処理システムを製作し、CCD カメラで得た情報をもとに簡便にマルチカラー計測が可能な技術を開発した。
- ・励起光源として、複数励起波長を用いる波長可変レーザーを使用した場合、光信号処理システムを用いることにより計測が可能であることを確認した。

- 被覆膜厚を 2 倍以上に増加させることにより、従来よりも強い光に対応できる光プローブを製作することができた。更に、蛍光分子の Alexa532 をスピコートした試料を用い、20~30nm（励起波長の約 1/20）の分解能が得られることを確認した。
- DNA 上の特定配列を蛍光色素で 1 点標識した試料および近接した 2 点を標識した試料を、ナノメートルレベルで解析が可能であることを確認した。

#### 4. 事業終了後の状況

##### (1) 研究発展状況

本事業では、ナノ FISH 用光プローブ顕微鏡に画像信号処理システムを導入し、SNOM/AFM の有用性を具体例で示した。事業終了後も本顕微鏡を用いた遺伝子等の生体高分子の解析を進め、平成 15 年度には生研センター基礎研究推進事業「SPM ダイレクトゲノム解析法の開発」のグラントを獲得し、染色体を観察しながら DNA 試料のナノメートルオーダーでの採取を行い、続いて DNA 配列を解析するシステムを開発した。また、同年から、セイコーインスツル株式会社が主となった独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構の「物性・生体情報ナノマッピングシステム（機能性ナノプローブ）」において共同研究を実施し、それまで基礎研究で蓄積した知見をもとにして、液中で作動できる機能性ナノプローブとそれらのアレイ化デバイスを搭載した観察システムの開発、及び生体高分子の分子間相互作用の検出にそのシステムを応用したバイオチップシステムの開発研究を発展させた。また、近年各国から注目を集め始めている食品のナノテクノロジー分野にも本研究で得られた解析システムを活用させている。大谷敏郎氏が平成 19 年に現職に異動した後は、中課題 2 において貢献した杉山滋氏が研究を精力的に進めている。

##### (2) 新たな研究成果

###### 1) AFM による染色体の特定位置の切断・回収技術（スクラッチ法）の開発

AFM を使って染色体上の特定位置を 200nm 程度から任意の幅で、切断・回収する技術（スクラッチ法）の開発に成功した。スクラッチ法では、染色体の切断には往復操作を入れず、1 回のラインスキャンの後強制的に探針を引き上げて、切断した DNA を付着させて回収する。溶液中での効率的な回収も可能とした（図 1）。

###### 2) 走査型プローブ顕微鏡（SPM）による遺伝子解析（ダイレクトゲノム法）の確立

スクラッチ法でゲノム DNA を連続的にナノサイズの断片に切断・回収し、順次解析していくことにより、省力でかつ迅速にゲノム解読をする技術（ダイレクトゲノム法）を開発した。具体的には、工学的な手法をベースとして染色体を見る・切る装置を作製し、SNOM/AFM の光学系・測定系を改良して、遺伝子の物理地図作成や近接した BAC クローンの分離を可能とするような高い分解能を持った検出系を確立した（図 1）。

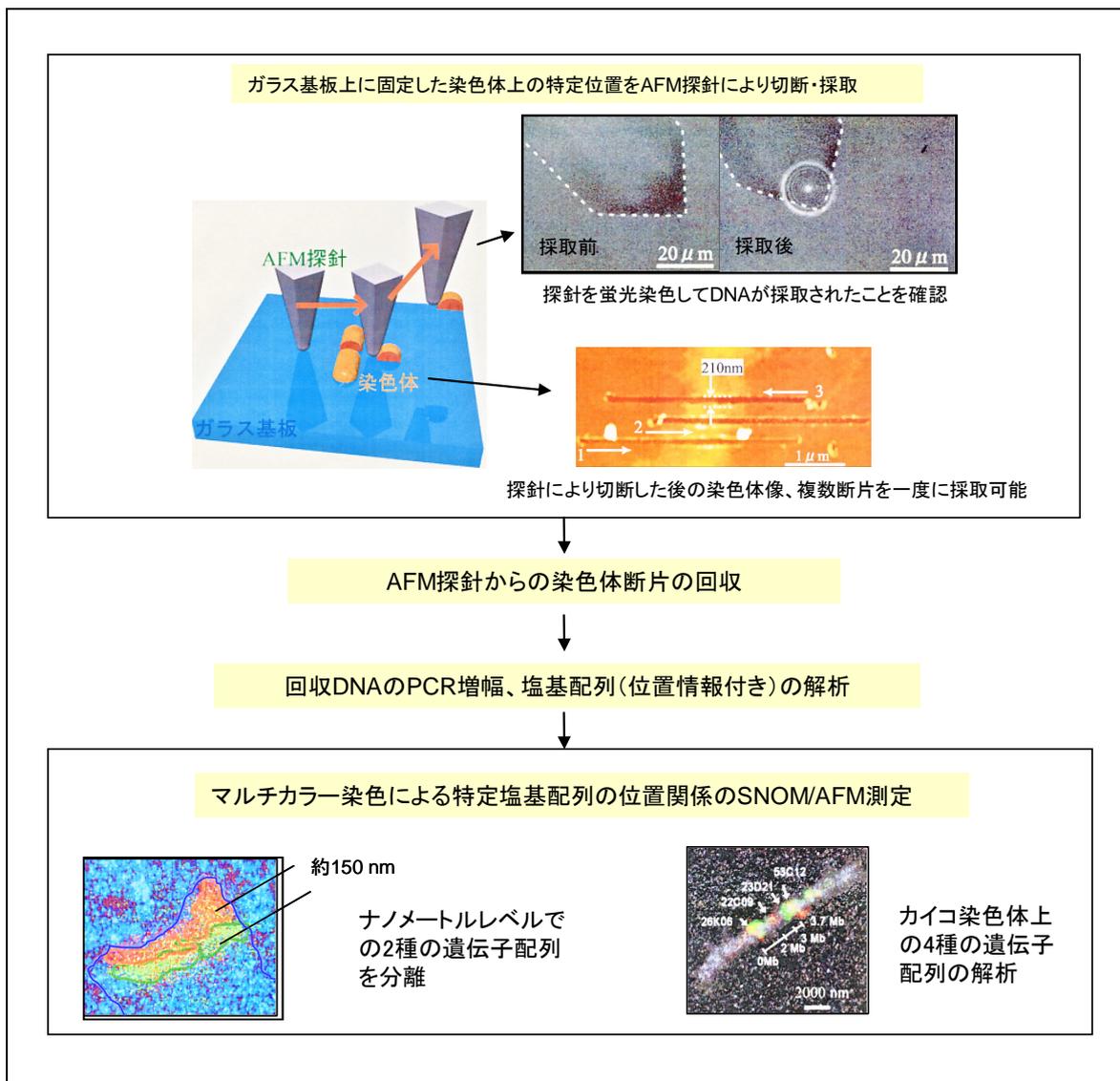


図1 ダイレクトゲノム法の確立

### 3) 液中プローブの生体物質への応用評価

二量体タンパク質のイソプロピルリンゴ酸脱水素酵素 (IPMDH) を用い、液中用プローブによるタンパク質力学特性の解析が可能であることを明らかにした。IPMDH のサブユニットの一方をプローブ先端部に、他方を基板上に固定し、溶液中で微小力を測定しつつ二量体を延伸し、延伸にともなうタンパク構造の変化またはサブユニット間結合の破断と思われる力のピークの解析に成功した。

### 4) プローブ試料間相互作用力検出評価

従来非常に困難であった抗原と抗体の間に働く微弱な力を、非特異的な吸着力と明確に区別して SPM により検出することに成功した。抗体を固定した AFM の探針を基盤上に固定した抗原と溶液中で短時間接触させた後、引き離す時に働く力を測定する。溶液中にタンパク質加水分解物及び界面活性剤を添加すること、及びプローブの引張速度を最適化すること等の条件の最適化により、フェリチンやオボムコイドの抗原と抗体数分子との相互作用を測定することが可能となった。さらに、アミノシラン修飾マイカ基板上に微小なタンパク質（抗原）スポットアレイを作成する手法を開発し、バイオチップシステムにおいて微弱な力を検出する技術を確立した。実例として、フェリチン及びオボムコイドのスポットアレイを作成し、相互作用をすることに成功した。

### (3) 波及効果

#### 1) 科学技術的波及効果

本研究では、生物試料を対象に走査型光プローブ原子間力顕微鏡のプローブや試料を固着する基板、及び試料調製・固定方法等の最適化研究を実施した。それまで原子間力顕微鏡では、主に無機材料の表面形状・固さ、摩擦力などを主とした物理計測が主体であったのに対し、新たに柔脆な生物試料を主とした計測へと応用領域を拡大し、走査型プローブ顕微鏡 (SPM) による新しい計測・解析分野を開拓した。

本事業開始の 1998 年以降のこの領域における論文発表数ランキングでは、本課題に参画した研究者が上位を占めている。また、論文引用数上位 10 報の合計を見ると、本事業開始前、事業期間中と増加し、終了後の引用数合計が最も大きく、引用雑誌の領域も材料科学、物理学、工学と幅広い。本事業をもとにしてインパクトのある研究が継続されていることがうかがわれる。

本技術により、位置情報をもつ遺伝子の解析が可能になったことから、対染色体上のゲノムの位置を迅速にナノレベルで解明することができるようになった。現在、シーケンサーの高速化が著しく進み、DNA 解析のスピードは格段に速くなったが、染色体上のゲノムの位置情報をナノレベルで解析できる方法は本方法が初めてであり、唯一の方法である。今後、ゲノムサイズの大きな絶滅危惧種などの多様な生物のゲノム研究等への波及が考えられる。また、本方法と次世代の高速シーケンサーとの組み合わせなどにより、目的とする特定の位置の配列を多量に効率的に解析することが可能になり、農林水産業や生物産業に有用な遺伝子を獲得し、品種改良や創薬ターゲットの特定などに貢献することが期待できる。

#### 2) 産業技術的波及効果

本研究にて培われた詳細な最適化技術は、特許出願・権利化が行われている。液体中での AFM 探針による試料の切断・採取が可能になったことから、採取率が向上

するとともにもとの高分子の構造や性質を保った状態での採取が可能になった。産業への応用を視野に入れた応用開発は、NEDO におけるセイコーインスツル社との共同研究にて実施され、測定機器の開発についてはセイコーインスツル社で進められている。

また、蛋白質の相互作用解析においても、これまで物理的な計測限界であった弱い相互作用について定量ができるようになり、ピコニュートン (pN) レベルの相互作用解析が可能な SPM ナノセンサーの作製が可能になった。具体的には食品中のアレルギーンの検出への研究が進められており、さらなる開発や汎用化が期待されている。

### 3) 人材育成的波及効果

本研究では、バイオ領域、機械工学の領域、表面化学の領域など、ナノ FISH 法に必要とされる複数の領域を融合させて研究が進められてきた。各領域からポスドクを選抜し、活発に議論を交わしたことからそれぞれの研究眼や研究技術が広がった。ポスドク 4 名が大学や独立法人等の研究領域で正規ポジションを獲得しており、韓国からのポスドクは母国の大学で職を得た。

## 5. 有識者コメント

本研究で開発された成果として、ナノ領域の蛍光標識法の開発、資料の固定と光プローブ顕微鏡による蛍光ラベルの高感度検出、その最適化などが挙げられる。本事業が終了した後は、生研センター基礎研究推進事業および NEDO の支援を得て、新たな研究成果を上げている。また、液中で作動できる機能性ナノプローブとそれらをアレイ化したデバイスを搭載したシステムの開発を行っている。特に、走査型プローブ顕微鏡による遺伝子のナノ検出と切断・回収をする装置の開発に成功している。これらはゲノムの大きな生物について、今後の遺伝子解析研究に大きな役割を果たすと思われる。またプローブ試料間の相互作用力を検出できるのは大きな成果であろうと評された。また、これらの性能を基礎研究に活かすことは可能だが、商品として売り出すには従来の製品との違いや、価格競争など問題も多いのではないかと指摘もあった。本研究では、重要な論文と 6 件の特許（その内で何件が正式特許になるかは分からないが）は日本の成果として国際的にも評価されるであろうとの見解が出された。

## 6. 主要データ

### (1) 研究分野における文献ランキング

#### 1) 検索式

内容	No.	件数	検索式 (CA)
走査型近接場光学顕微鏡	L1	13,378	SCANNING(W)NEAR(W)FIELD(W)OPTICAL OR SNOM OR SNOW
原子間力顕微鏡	L2	57,979	ATOMIC(W)FORCE(W)MICROSCOPY OR AFM
	L3	266	L1 AND L2
1998 年以降	L4	215	L3 AND PY>=1998
特許以外	L5	208	L4 NOT P/DT

#### 2) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	26	MURAMATSU, HIROSHI
2	16	<b>OHTANI, TOSHIO</b>
3	12	YAMAMOTO, NORITAKA
4	10	<b>SUGIYAMA, SHIGERU</b>
5	9	FUJIHIRA, MASAMICHI
6	8	ROYER, P.
7	8	YOSHINO, TOMOYUKI
8	7	CHIBA, NORIO
9	6	CRICENTI, A.
10	6	KAUPP, GERD
11	6	KIM, J. M.
12	6	TAMIYA, EIICHI

#### 3) 研究機関ランキング

順位	件数	所属機関
1	13	<b>NATIONAL FOOD RESEARCH INSTITUTE</b>
2	7	UNIVERSITE DE TECHNOLOGIE DE TROYES
3	6	SEIKO INSTRUMENTS INC
4	5	TOKYO INSTITUTE OF TECHNOLOGY
5	4	JAPAN ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
6	4	KYOTO UNIVERSITY
7	4	UNIVERSITY OF OLDENBURG
8	3	ELECTRONICS AND TELECOMMUNICATIONS RESEARCH INSTITU
9	3	TSINGHUA UNIVERSITY

## (2) 成果論文データ

### 1) 主要成果論文数

・基礎研究推進事業の期間中

年	1998	1999	2000	2001	2002	合計
原著論文	0	0	1	2	7	10
その他	0	0	0	3	2	5

(出典：終了時の研究成果報告書)

・基礎研究推進事業の終了以降

年	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	合計
原著論文	12	4	4	5	2	1	1	29
その他	6	3	4	3	6	4	2	29

### 2) 論文の被引用数の推移

基礎研究推進事業以前、期間中、および終了以降の被引用数上位 10 報の合計を示した。

年	基礎研究推進事業	対象論文数	被引用数
～1997	以前	上位 10 報	18
1998-2002	成果	上位 10 報	137
2003～	終了後	上位 10 報	234

### 3) 被引用数上位文献

基礎研究推進事業の期間中の成果論文を白抜き、終了後の成果論文を緑で示した。

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
1	2003	Highly Ordered Assemblies of Au Nanoparticles Organized on DNA	Nakao H., Shiigi H., Yamamoto Y., Tokonami S., Nagaoka T., Sugiyama S., Ohtani T.	Nano Letters	3	95
2	2003	Transfer-printing of highly aligned DNA nanowires	Nakao H., Gad M., Sugiyama S., Otobe K., Ohtani T.	Journal of the American Chemical Society	125	44
3	2002	Development of Novel Polymer-Coated Substrates for Straightening and Fixing DNA	Nakao H., Hayashi H., Yoshino T., Sugiyama S., Otobe K., Ohtani T.	Nano Letters	2	38
4	2001	Simultaneous topographic and fluorescence imaging of single DNA molecules for DNA analysis with a scanning near-field optical/atomic force microscope	Kim J.M., Ohtani T., Sugiyama S., Hirose T., Muramatsu H.	Analytical Chemistry	73	26
5	2003	Molecular flat mica surface silanized with methyltrimethoxysilane for fixing and straightening DNA	Sasou M., Sugiyama S., Yoshino T., Ohtani T.	Langmuir	19	22

論文 No.	Year	Title	Authors	Journal	Vol.	引用数
6	2004	25 nm resolution single molecular fluorescence imaging by scanning near-field optical/atomic force microscopy	Kim J.M., Ohtani T., Muramatsu H.	Surface Science	549	13
7	2003	Nano-scale imaging of chromosomes and DNA by scanning near-field optical/atomic force microscopy	Yoshino T., Ohtani T., Sugiyama S., Hagiwara S., Fukushi D., Shichiri M., Nakao H., Kim J.-M., Hirose T., Muramatsu H.	Ultramicroscopy	97	12
8	2001	Behavior of DNA fibers stretched by precise meniscus motion control.	Otobe K., Ohtani T.	Nucleic acids research	29	12
9	2003	Analysis by atomic force microscopy of morphological changes in barley chromosomes during FISH treatment	Shichiri M., Fukushi D., Sugiyama S., Yoshino T., Ohtani T.	Chromosome Research	11	11
10	2002	Simultaneous collection of topographic and fluorescent images of barley chromosomes by scanning near-field optical/atomic force microscopy	Yoshino T., Sugiyama S., Hagiwara S., Ushiki T., Ohtani T.	Journal of Electron Microscopy	51	11
11	2005	Fabricating and aligning $\pi$ -conjugated polymer-functionalized DNA nanowires: Atomic force microscopic and scanning near-field optical microscopic studies	Nakao H., Hayashi H., Iwata F., Karasawa H., Hirano K., Sugiyama S., Ohtani T.	Langmuir	21	10
12	2004	Effects of acetic acid treatment on plant chromosome structures analyzed by atomic force microscopy	Sugiyama S., Yoshino T., Kanahara H., Shichiri M., Fukushi D., Ohtani T.	Analytical Biochemistry	324	10
13	2003	Atomic force microscopic imaging of 30 nm chromatin fiber from partially relaxed plant chromosomes	Sugiyama S., Yoshino T., Kanahara H., Kobori T., Ohtani T.	Scanning	25	9
14	2003	Atomic force microscopy study of chromosome surface structure changed by protein extraction	Liu X.Q., Sugiyama S., Xu Q.Y., Kobori T., Hagiwara S., Ohtani T.	Ultramicroscopy	94	8
15	2002	DC electric-field-induced DNA stretching for AFM and SNOM studies	Kim J.M., Ohtani T., Park J.Y., Chang S.M., Muramatsu H.	Ultramicroscopy	91	8

4) 被引用数の年次推移

・基礎研究推進事業期間中の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
3	—	—	—	—	0	6	6	8	12	3	3	38
4	—	—	—	0	6	7	4	4	2	1	2	26
8	—	—	—	0	2	1	2	0	4	2	1	12
9	—	—	—	—	—	1	0	2	4	2	1	11
10	—	—	—	—	4	4	0	0	2	0	1	11
13	—	—	—	—	—	1	1	3	3	1	0	9
14	—	—	—	—	—	2	1	1	2	1	1	8
15	—	—	—	—	0	3	1	1	1	1	1	8

・基礎研究推進事業終了後の被引用数上位の論文

論文 No.	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	total
1	—	—	—	—	—	1	9	27	23	21	14	95
2	—	—	—	—	—	2	4	12	10	12	4	44
5	—	—	—	—	—	0	3	6	5	5	3	22
6	—	—	—	—	—	—	3	1	5	2	2	13
7	—	—	—	—	—	0	1	2	6	0	3	12
11	—	—	—	—	—	—	—	0	4	5	1	10
12	—	—	—	—	—	—	0	3	5	1	1	10

5) 引用論文の分野

分野	論文 No.						
	1	2	3	4	5	6	7
化学	51	18	14	11	9	2	4
材料科学	42	20	14	10	6	4	3
物理学、天文学	28	7	13	11	9	8	9
工学	13	10	8	3	3	2	1
化学工学	12	7	8	2	4		
生化学、遺伝学、分子生物学	9	9	3	4	3		1
コンピューター・サイエンス	2	1					
医学	2	5		1			
薬学、毒性学、薬剤学	2						1
地球科学	1						
エネルギー	1						
環境科学	1	1	1				
多分野		1					
神経科学		1					
社会科学		1					
農学、生物科学				1			

### (3) 共同研究先データ

#### 1) 基礎研究推進事業での共同研究先

該当なし

#### 2) 基礎研究推進事業以降の共同研究先

研究者	機関	国	分野
村松宏	セイコーインスツル株式会社 (東京工科大学)	日本	SMOM/AFM の実用化

### (4) 特許出願データ

公開番号	発明・考案の名称	発明者・考案者	出願人・権利者名	出願日
特開 2001-165840	遺伝子解析方法及び装置	大谷敏郎 萩原昌司 乙部和紀 廣瀬玉紀 村松宏 山本典孝	セイコーインスツルメンツ 株式会社 農林水産省食品 総合研究所長	1999/ 12/7
特開 2003-43036	DNA 計測用基板の作製方 法	乙部和紀 中尾秀信 大谷敏郎 林英樹	独立行政法人農業技術研究 機構 独立行政法人食品総 合研究所	2001/ 7/26
特開 2004-121096	DNA の伸長固定方法	大谷敏郎 杉山滋 吉 野智之	独立行政法人食品総合研究 所 生物系特定産業技術研 究推進機構	2002/ 10/2
特開 2004-125601	DNA を伸長、固定する方 法	大谷敏郎 杉山滋 吉 野智之 佐宗めぐみ	独立行政法人食品総合研究 所 生物系特定産業技術研 究推進機構	2002/ 10/2
特開 2004-268192	分子細線パターン <sup>の</sup> 作製 方法	乙部和紀 中尾秀信 大谷敏郎	独立行政法人農業生物系特 定産業技術研究機構 独立 行政法人食品総合研究所	2003/ 3/7
特開 2005-60759	平滑性を損なわない基板 および基板表面の改質方 法	大谷敏郎 佐宗めぐ み 杉山滋	独立行政法人食品総合研究 所	2003/ 8/11
特開 2005-102613	ゲノム塩基配列を解読す る方法及び装置並びにゲ ノム物理地図を作成する 方法及び装置	大谷敏郎 山本公子 杉山滋	独立行政法人食品総合研究 所 独立行政法人農業生物 資源研究所	2003/ 9/30
特開 2005-102614	ゲノム物理地図作成法及 び作成装置	大谷敏郎 山本公子 杉山滋	独立行政法人食品総合研究 所 独立行政法人農業生物 資源研究所	2003/ 9/30
特開 2006-129717	染色体の微小領域を回収 する方法	杉山滋 塚本和己 大 谷敏郎	独立行政法人食品総合研究 所	2004/ 11/2
特開 2007-139681	抗原抗体反応の検出方法 と抗原抗体反応検出用キ ット	杉山滋 若山純一 関 口博史 佐宗めぐみ 大谷敏郎	独立行政法人農業食品産業 技術総合研究機構	2005/ 11/22

### (5) 報道データ

見出し	出典
食総研、主婦や学生向けに講演会を開催、科学技術週間で	1998/04/07 化学工業日報
生研機構、99年度10課題を決定、基礎研究推進事業	1999/08/02 化学工業日報
生研機構、99年度「新技術・新分野創出の基礎研究推進事業」の新規課題を決定	1999/08/02 日刊工業新聞
技術創出に生かせ生物機能：(8) 生研機構 遺伝子特許取得に貢献期待	1999/11/11 日本工業新聞
新技術・新分野創出の基礎研究 99年度採択課題(4) 生研機構	1999/09/20 化学工業日報
計測・加工技術と食品で講演会、9月21日に都内、食品総研	2001/08/10 日本農業新聞
食品総合研究所、9月21日公開講演会開催	2001/08/13 日本食糧新聞
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(10) ナノFISH法の開発	2003/05/21 日本工業新聞
農生機構、新技術創出事業で新規採択課題を決定ー食品総合研など7件	2003/10/20 日刊工業新聞
食総研ー生物研、ゲノム解析新手法開発へ、SPM技術とナノテク融合	2003/11/27 化学工業日報
顕微鏡で効率的に発見	2005/04/01 日経産業新聞
数分で原因特定	2005/09/13 日経産業新聞
講演会：「バイオの世界」テーマにー17日、広大庄原キャンパス／広島	2006/11/10 毎日新聞

### (6) グラントデータ

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職
SPM ダイレクトゲノム解析法の開発	2003-2007	新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業	生物系特定産業技術研究支援センター	研究代表者：大谷敏郎
物性・生体情報ナノマッピングシステム (機能性ナノプローブ)	2003-2007	基盤技術研究促進事業	NEDO	研究代表者：大谷敏郎、杉山滋
染色体の構造と機能解明のためのナノデバイスに関する総合研究「新しいナノテクノロジーの染色体解析への展開」	2000-2005	科学振興調整費総合研究	文部科学省	研究担当者：大谷敏郎
食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発	2007-2011	農林水産技術会議	農林水産省	研究代表者：杉山滋

### (7) 受賞データ

受賞年	賞	受賞内容
2000年	第6回コンピューター・ビジュアライゼーション・コンテスト、入選	「一玄米粒内部成分の立体分布可視化法」大谷敏郎、他7名との共同受賞
2002年	第2回 MICS 研究発表会アート賞	「SNOM/AFM における染色体および DNA の高分解能計測への挑戦」杉山滋、大谷敏郎（他9名との共同受賞）
2003年	第3回 MICS 研究発表会アート賞	「生物資料の液中 AFM の試み」杉山滋、大谷敏郎（他2名との共同受賞）
2004年度	第13回学術集会 バイオイメージング賞 カールツァイス賞	走査型プローブ原子間力顕微鏡による染色体やDNA上の特定塩基配列の可視化 （独）食品総合研究所食品工学部 大谷敏郎 （他6名との共同受賞）
2005年度	国際ナノテクノロジー総合展ナノテック大賞（環境エネルギー部門）（共同受賞）	SPM の応用による生体試料のナノ解析手法 大谷敏郎、杉山滋
2006年度	科学技術分野の文部科学大臣表彰 科学技術賞（研究部門）	生体高分子のナノ計測とナノマニピュレーションに関する研究 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 企画管理部 業務推進室 室長 大谷敏郎 （東京工科大学 バイオニクス学部 村松 宏 教授と）
2006年度	第6回 MICS 研究発表会アート賞	走査型顕微鏡応用による生体試料のナノレベル解析 杉山滋、大谷敏郎

### (8) 講演・シンポジウム開催データ（2003年以降）

開催日	場所	講演・シンポジウムタイトル
2001年 12月13日	IBARAKIKEN TV - ビジネス	㈱つくば研究支援センター主催 「つくば講座」より「微生物計測技術を用いた食品素材。バイオ機能の評価」大谷 敏郎
2003年 10月7日	(財)新世代研究所会議室	(財)新世代研究所 第11回研究報告会 第1回ナノプローブ研究会 Fluorescence in situ Hybridization (FISH) Method of DNA by SNOM/SFM 大谷 敏郎
2005年 9月2日	幕張メッセ	「SNOM/AFMを用いたナノFISH法の開発とゲノム解析への応用」 大谷敏郎
2005年 11月9日	つくば研究支援センター	「つくば新技術講座」杉山滋 「走査型プローブ顕微鏡による生体と食品のナノレベル計測」
2007年 10月4,5日	産業技術総合研究所 東北センター	平成19年度 産業技術連携推進会議東北地域部会周期合同分科会（食品・バイオ分科会）講演 杉山茂
2008年 1月30日	独立行政法人科学技術振興機構、研究開発戦略センター	フードテクノロジー検討会「日本の取り組み、農水省プロジェクト研究」 大谷敏郎
2008年 5月27日	東京ビッグサイト	「ナノテクノロジーの食品分野への応用」大谷敏郎、杉山滋
2008年9月6日、10月4,5日	北海道大学理学部	ナノトライ「未来への食」への注文、ミニ・コンセンサス会議 メインコメンテーター 杉山滋
2008年 10月20日	台湾、薬物食品検験局	Nanofood in Japan/world, future and safety 杉山茂
2008年 10月22日	台湾、食品開発研究所	Present Situation of Food Nanotechnology and Research Project 杉山茂
2008年 11月10日	英国、Nanotechnology: Food and Agriculture Symposium (Defra, Campden BRI)	Applications of nanotechnologies in Far East 杉山茂

### (9) 学会役員データ

年	学会名	役職
2006年度～	有機バイオ SPM 研究会	世話人 杉山滋
2006、2007年度	応用物理学会有機分子・バイオエレクトロニクス分科会	幹事 杉山滋
1996年度～	食品科学工学学会	編集委員 大谷敏郎

### (10) 実用化データ

試作機の作製 (セイコーインスツル株式会社)

#### (追記) 主な調査参考資料

1. 吉野智之、大谷敏郎、光プローブ顕微鏡で DNA の特定部位を見る、バイオサイエンスとインダストリー、62(12)、11-12 (2004)
2. 塚本和己、桑崎誠剛、山本公子、七里元晴、吉野智之、大谷敏郎、杉山滋、原子間力顕微鏡 (AFM) による染色体の切断および回収、表面科学、26 (7)、404-409 (2005)
3. 若山純一、赤沼哲史、関口博史、大谷敏郎、杉山滋、原子間力顕微鏡による抗体抗原反応測定のための新しい方法、ブレインテクノニュース、113、26-31 (2006)
4. 若山純一、大谷敏郎、杉山滋、SPM ナノセンサーと食品応用「バイオセンサーの先端科学技術と応用」、2007年12月 シーエムシー出版、p.303-311
5. 山内武志、吉野智之、桑崎誠剛、末次克行、山本公子、大谷敏郎、光を検出・利用した走査型顕微鏡 (SNOM など) : 走査型近接場光学顕微鏡による高分解能 FISH 法、表面科学、28 (9)、536-538 (2007)

平成20年度 基礎研究推進事業追跡調査  
データ集

## 目次

1. (松本英明、山本洋子) 酸性土壌における生産性向上を目的とした 植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出 .....	1
2. (江川宜伸) 作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発 .....	11
3. (高辻博志) 植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発 .....	15
4. (和田正三、市川裕章、土岐精一) ホモログス・リコンビネーションによる 標的遺伝子の破壊技術の開発と応用 .....	24
5. (佐藤英明) 受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発 .....	39
6. (橋爪一善) バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究 .....	54
7. (松野隆一、安達修二) 高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究 .....	62
8. (佐藤智典) 細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子 .....	70
9. (松本直幸) 病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療 .....	81
10. (大谷敏郎、杉山滋) ナノ FISH 法の開発 .....	85

1. (松本英明、山本洋子) 酸性土壌における生産性向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出

(1) 論文リスト

1) 原著論文

2003年

- 【1】 Nian H., Ahn S.J., Yang Z.M., Matsumoto H. “Effect of phosphorus deficiency on aluminium-induced citrate exudation in soybean (*Glycine max*)”, *Physiologia Plantarum*, 117, 229–236 (2003)
- 【2】 Zhu M.-Y., Ahn S.-J., Matsumoto H. “Inhibition of growth and development of root border cells in wheat by Al”, *Physiologia Plantarum*, 117, 359–367 (2003)
- 【3】 Yamamoto Y., Kobayashi Y., Devi S.R., Rikiishi S., Matsumoto H. “Oxidative stress triggered by aluminum in plant roots”, *Plant and Soil*, 255, 239–243 (2003)
- 【4】 Sivaguru M., Ezaki B., He Z.-H., Tong H., Osawa H., Baluska F., Volkmann D., Matsumoto H. “Aluminum-induced gene expression and protein localization of a cell wall-associated receptor kinase in *Arabidopsis*”, *Plant Physiology*, 132, 2256–2266 (2003)
- 【5】 Devi S.R., Yamamoto Y., Matsumoto H. “An intracellular mechanism of aluminum tolerance associated with high antioxidant status in cultured tobacco cells”, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 97, 59–68 (2003)

2004年

- 【6】 Tabuchi A., Kikui S., Matsumoto H. “Differential effects of aluminium on osmotic potential and sugar accumulation in the root cells of Al-resistant and Al-sensitive wheat”, *Physiologia Plantarum*, 120, 106–112 (2004)
- 【7】 Shen H., Ligaba A., Yamaguchi M., Osawa H., Shibata K., Yan X., Matsumoto H. “Effect of K-252a and abscisic acid on the efflux of citrate from soybean roots”, *Journal of Experimental Botany*, 55, 663–671 (2004)
- 【8】 Sasaki T., Yamamoto Y., Ezaki B., Katsuhara M., Ahn S.J., Ryan P.R., Delhaize E., Matsumoto H. “A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter”, *Plant Journal*, 37, 645–653 (2004)
- 【9】 Ahn S.J., Rengel Z., Matsumoto H. “Aluminum-induced plasma membrane surface potential and H<sup>+</sup>-ATPase activity in near-isogenic wheat lines differing in tolerance to aluminum”, *New Phytologist*, 162, 71–79 (2004)
- 【10】 Ligaba A., Shen H., Shibata K., Yamamoto Y., Tanakamaru S., Matsumoto H. “The role of phosphorus in aluminium-induced citrate and malate exudation

from rape (*Brassica napus*)”, *Physiologia Plantarum*, 120, 575–584 (2004)

- 【11】 Kobayashi Y., Yamamoto Y., Matsumoto H. “Studies on the mechanism of aluminum tolerance in pea (*Pisum sativum* L.) using aluminum-tolerant cultivar 'Alaska' and aluminum-sensitive cultivar 'Hyogo””, *Soil Science and Plant Nutrition*, 50, 197–204 (2004)
- 【12】 Ezaki B., Suzuki M., Motoda H., Kawamura M., Nakashima S., Matsumoto H. “Mechanism of gene expression of arabidopsis glutathione S-transferase, AtGST1, and AtGST11 in response to aluminum stress”, *Plant Physiology*, 134, 1672–1682 (2004)
- 【13】 Nian H., Yang Z., Huang H., Yan X., Matsumoto H. “Combined effect of short-term water deficit stress and aluminum toxicity on citrate secretion from soybean roots”, *Journal of Plant Nutrition*, 27, 1281–1293 (2004)
- 【14】 Shen H., Yan X., Cai K., Matsumoto H. “Differential Al resistance and citrate secretion in the tap and basal roots of common bean seedlings”, *Physiologia Plantarum*, 121, 595–603 (2004)
- 【15】 Delhaize E., Ryan P.R., Hebb D.M., Yamamoto Y., Sasaki T., Matsumoto H. “Engineering high-level aluminum tolerance in barley with the ALMT1 gene”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 15249–15254 (2004)
- 【16】 Nian H., Yang Z., Huang H., Yan X., Matsumoto H. “Citrate secretion induced by aluminum stress may not be a key mechanism responsible for differential aluminum tolerance of some soybean genotypes”, *Journal of Plant Nutrition*, 27, 2047–2066 (2004)
- 【17】 Ligaba A., Yamaguchi M., Shen H., Sasaki T., Yamamoto Y., Matsumoto H. “Phosphorus deficiency enhances plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity and citrate exudation in greater purple lupin (*Lupinus pilosus*)”, *Functional Plant Biology*, 31, 1075–1083 (2004)

2005 年
--------

- 【18】 Sivaguru M., Yamamoto Y., Rengel Z., Sung J.A., Matsumoto H. “Early events responsible for aluminum toxicity symptoms in suspension-cultured tobacco cells”, *New Phytologist*, 165, 99–109 (2005)
- 【19】 Jian L.Y., Shao J.Z., Yun F.H., Matsumoto H. “Aluminium resistance requires resistance to acid stress: A case study with spinach that exudes oxalate rapidly when exposed to Al stress”, *Journal of Experimental Botany*, 56, 1197–1203 (2005)
- 【20】 Yamaguchi M., Sasaki T., Sivaguru M., Yamamoto Y., Osawa H., Sung J.A.,

- Matsumoto H. “Evidence for the plasma membrane localization of Al-activated malate transporter (ALMT1)”, *Plant and Cell Physiology*, 46, 812–816 (2005)
- [21]** Lin C., Yu Y., Kadono T., Iwata M., Umemura K., Furuichi T., Kuse M., Isobe M., Yamamoto Y., Matsumoto H., Yoshizuka K., Kawano T. “Action of aluminum, novel TPC1-type channel inhibitor, against salicylate-induced and cold-shock-induced calcium influx in tobacco BY-2 cells”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 332, 823–830 (2005)
- [22]** Kikui S., Sasaki T., Maekawa M., Miyao A., Hirochika H., Matsumoto H., Yamamoto Y. “Physiological and genetic analyses of aluminium tolerance in rice, focusing on root growth during germination”, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99, 1837–1844 (2005)
- [23]** Raman H., Zhang K., Cakir M., Appels R., Garvin D.F., Maron L.G., Kochian L.V., Moroni J.S., Raman R., Imtiaz M., Drake-Brockman F., Waters I., Martin P., Sasaki T., Yamamoto Y., Matsumoto H., Hebb D.M., Delhaize E., Ryan P.R. “Molecular characterization and mapping of ALMT1, the aluminium-tolerance gene of bread wheat (*Triticum aestivum* L.)”, *Genome*, 48, 781–791 (2005)
- [24]** Ezaki B., Sasaki K., Matsumoto H., Nakashima S. “Functions of two genes in aluminium (Al) stress resistance: Repression of oxidative damage by the AtBCB gene and promotion of efflux of Al ions by the NtGDI1 gene”, *Journal of Experimental Botany*, 56, 2661–2671 (2005)
- [25]** Matsumoto H. “Molecular aspect of Al tolerance in crop plants: Novel Al-activated malate transporter gene in wheat roots”, *Soil Science and Plant Nutrition*, 51, 613–615 (2005)
- [26]** Shen H., He L.F., Sasaki T., Yamamoto Y., Zheng S.J., Ligaba A., Yan X.L., Ahn S.J., Yamaguchi M., Sasakawa H., Matsumoto H. “Erratum: Citrate secretion coupled with the modulation of soybean root tip under aluminum stress. Up-regulation of transcription, translation, and threonine-oriented phosphorylation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase”, *Plant Physiology*, 139, 557–(2005)
- [27]** Shen H., Long F.H., Sasaki T., Yamamoto Y., Shao J.Z., Ligaba A., Xiao L.Y., Sung J.A., Yamaguchi M., Hideo S., Matsumoto H. “Citrate secretion coupled with the modulation of soybean root tip under aluminum stress. Up-regulation of transcription, translation, and threonine-oriented phosphorylation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase”, *Plant Physiology*, 138, 287–296 (2005)
- [28]** Shao J.Z., Jian L.Y., Yun F.H., Xue H.Y., Zhang L., Jiang F.Y., Ren F.S., Matsumoto H. “Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in buckwheat”, *Plant Physiology*, 138,

## 2006 年

- 【29】 Shen H., Chen J., Wang Z., Yang C., Sasaki T., Yamamoto Y., Matsumoto H., Yan X. “Root plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase is involved in the adaptation of soybean to phosphorus starvation”, *Journal of Experimental Botany*, 57, 1353–1362 (2006)
- 【30】 Hoekenga O.A., Maron L.G., Pineros M.A., Cancado G.M.A., Shaff J., Kobayashi Y., Ryan P.R., Dong B., Delhaize E., Sasaki T., Matsumoto H., Yamamoto Y., Koyama H., Kochian L.V. “AtALMT1, which encodes a malate transporter, is identified as one of several genes critical for aluminum tolerance in Arabidopsis”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 9738–9743 (2006)
- 【31】 Osawa H., Matsumoto H. “Cytotoxic thio-malate is transported by both an aluminum-responsive malate efflux pathway in wheat and the MAE1 malate permease in *Schizosaccharomyces pombe*”, *Planta*, 224, 462–471 (2006)
- 【32】 Sasaki T., Ryan P.R., Delhaize E., Hebb D.M., Ogihara Y., Kawaura K., Noda K., Kojima T., Toyoda A., Matsumoto H., Yamamoto Y. “Sequence upstream of the wheat (*Triticum aestivum* L.) ALMT1 gene and its relationship to aluminum resistance”, *Plant and Cell Physiology*, 47, 1343–1354 (2006)
- 【33】 Sivaguru M., Horst W.J., Eticha D., Matsumoto H. “Aluminum inhibits apoplastic flow of high-molecular weight solutes in root apices of *Zea mays* L.”, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169, 679–690 (2006)
- 【34】 Ligaba A., Katsuhara M., Ryan P.R., Shibasaka M., Matsumoto H. “The BnALMT1 and BnALMT2 genes from rape encode aluminum-activated malate transporters that enhance the aluminum resistance of plant cells”, *Plant Physiology*, 142, 1294–1303 (2006)

## 2007 年

- 【35】 Kikui S., Sasaki T., Osawa H., Matsumoto H., Yamamoto Y. “Malate enhances recovery from aluminum-caused inhibition of root elongation in wheat”, *Plant and Soil*, 290, 1–15 (2007)
- 【36】 Ezaki B., Kiyohara H., Matsumoto H., Nakashima S. “Overexpression of an auxilin-like gene (F9E10.5) can suppress Al uptake in roots of Arabidopsis”, *Journal of Experimental Botany*, 58, 497–506 (2007)
- 【37】 Ligaba A., Katsuhara M., Sakamoto W., Matsumoto H. “The BnALMT1 protein that is an aluminum-activated malate transporter is localized in the plasma

membrane (Plant Signaling and Behavior)", *Plant Signaling and Behavior*, 2, 255–257 (2007)

- 【38】 Panda S.K., Matsumoto H. "Molecular physiology of aluminum toxicity and tolerance in plants", *Botanical Review*, 73, 326–347 (2007)
- 【39】 Hiradate S., Ma J.F., Matsumoto H. "Strategies of Plants to Adapt to Mineral Stresses in Problem Soils", *Advances in Agronomy*, 96, 65–132 (2007)
- 【40】 Motoda H., Sasaki T., Kano Y., Ryan P.R., Delhaize E., Matsumoto H., Yamamoto Y. "The membrane topology of ALMT1, an aluminum-activated malate transport protein in wheat (*Triticum aestivum*)", *Plant Signaling and Behavior*, 2, 467–472 (2007)

2008 年
--------

- 【41】 Basset R.A., Matsumoto H. "Aluminum toxicity and Ca depletion may enhance cell death of tobacco cells via similar syndrome", *Plant Signaling and Behavior*, 3, 290–295 (2008)
- 【42】 Panda S.K., Yamamoto Y., Kondo H., Matsumoto H. "Mitochondrial alterations related to programmed cell death in tobacco cells under aluminium stress", *Comptes Rendus - Biologies*, 331, 597–610 (2008)
- 【43】 Raman H., Ryan P.R., Raman R., Stodart B.J., Zhang K., Martin P., Wood R., Sasaki T., Yamamoto Y., MacKay M., Hebb D.M., Delhaize E. "Analysis of TaALMT1 traces the transmission of aluminum resistance in cultivated common wheat (*Triticum aestivum* L.)", *Theoretical and Applied Genetics*, 116, 343–354 (2008)
- 【44】 Zhang W.-H., Ryan P.R., Sasaki T., Yamamoto Y., Sullivan W., Tyerman S.D. "Characterization of the TaALMT1 protein as an Al<sup>3+</sup>-activated anion channel in transformed tobacco (*Nicotiana Tabacum* L.) cells", *Plant and Cell Physiology*, 49, 1316–1330 (2008)

(2) その他

2004年

- 【1】 アルミニウム(Al)耐性のための新規遺伝子の特性化とシロイヌナズナエンハンサー標識ラインの機構 Ezaki B, Kiyohara H, Matsumoto H, Nakashima S (Okayama Univ., Okayama, Jpn) *Biotechnol Sustain Util Biol Resour Trop* Vol.17 Page:136-141(2004)
- 【2】 コムギのアルミニウムで活性化されるリンゴ酸輸送体タンパク質をコードする遺伝子 Sasaki T, Yamamoto Y, Katsuhara M, Ryan P R, Delhaize E, Matsumoto H (Okayama Univ., Okayama, Jpn, Csiro Plant Ind., Act, Aus) *資源生物科学シンポジウム* Vol.20th Page:4-8(2004)
- 【3】 Al 活性化リンゴ酸輸送体の検出 Sasaki T, Katsuhara M, Ryan P F, Delhaize E, Hebb D M, Yamamoto Y, Matsumoto H (Okayama Univ., Csiro Plant Ind.) *生化学* Vol.76 No.8 Page:724(2004)

2005年

- 【4】 タバコの培養細胞におけるアルミニウムストレス応答および細胞質カルシウムイオン濃度の変化 Yamamoto Yoko, Tsuchiya Yoshiyuki, Sasaki Takayuki, Matsumoto Hideaki (Okayama Univ.) *日本植物生理学会年会およびシンポジウム講演要旨集* Vol.46th Page:94(2005)
- 【5】 作物に見られるアルミニウム毒性の多様性と耐性の分子メカニズム Sasaki T, Yamamoto Y *化学と生物*, Vol.43, No.9, (2005)

2006年

- 【6】 アブラナ(*Brassica napus*)のアルミニウム誘導性マレイン酸輸送体遺伝子のクローニングおよび機能解析 Ligaba Ayalew, Matsumoto Hideaki, Katsuhara Maki (Okayama Univ.) *日本植物生理学会年会およびシンポジウム講演要旨集* Vol.47th Page:201(2006)

2007年

- 【7】 アルミニウム耐性の分子機構 Sasaki T, Yamamoto Y *蛋白質 核酸 酵素*, Vol.52, No.6 (2007)

## (2) 特許リスト

継続している特許出願について記載した。

発明の名称	植物のアルミニウム応答性リンゴ酸輸送体の遺伝子及び当該遺伝子がコードする蛋白質		
発明者	松本英明、佐々木孝行、山本洋子、江崎文一、且原真木		
出願人	岡山大学長		
優先権主張番号	発明の名称	発明の名称	発明の名称
JP2002217598	US2003391610	US20040019935	US7138563
	JP200357426	JP2004105164	-

発明の名称	A gene of aluminum-activated malate transporter of a plant and a protein encoded by the gene.		
発明者	松本英明、佐々木孝行、山本洋子、江崎文一、且原真木		
出願人	岡山大学長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2002298259	US2005530429	US7262212	US7262212
	WO2003JP13070	WO2004033463	-
	EP2003754085	EP1555267	-

## (3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
植物が生産する低分子化合物による Al ストレス耐性獲得の分子機構	1997-1999	日本学術振興会	科研基盤 B	研究代表者:松本英明	1998 年度 : 2800 千円 1997 年度 : 10600 千円	山本洋子、江崎文一
植物のアルミニウム耐性機構に関する研究	1999	日本学術振興会	特別研究員奨励費	研究代表者:松本英明	1999 年度 : 1200 千円	YANG, Z.
高等植物におけるアルミニウム毒性の発現とカルシウムの作用	1998-1999	日本学術振興会	特別研究員奨励費	研究代表者:松本英明	1999 年度 : 1000 千円 1998 年度 : 1200 千円	M.SIVA GURU
植物のアルミニウム障害における脂質過酸化の関与ならびに防御機構	1998-1999	日本学術振興会	基盤研究 (C)	研究代表者:山本洋子	1998 年度 : 2,200 千円 1999 年度 : 1,300 千円	-
植物の膜機能からみた環境ストレスに対する耐性獲得の戦略	1998-2000	日本学術振興会	国際共同研究(日韓科学協力事業)	-	-	-
植物の Al ストレスに対する応答反応の解析と耐性植物の作出に関する基礎研究	1999-2001	日本学術振興会	基盤研究 (A) (2)	研究代表者:松本英明	2001 年度 : 9880 千円 2000 年度 : 11000 千円 1999 年度 : 12000 千円	山本洋子、江崎文一

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
植物におけるアルミニウム障害と耐性発現の制御機構	2002-2003	日本学術振興会	国際共同研究<日米科学協力事業>	-	-	-
植物細胞においてアルミニウムが誘発するミトコンドリア機能障害による細胞死の解析	2002-2004	日本学術振興会	基盤研究(C)	研究代表者:山本洋子	2004年度:800千円 2003年度:800千円 2002年度:1400千円	-
植物のアルミニウム毒性に対する耐性分子機構の解明と耐性植物の作出	2002-2004	日本学術振興会	基盤研究(A)(2)	研究代表者:松本英明	2004年度:13260千円 2003年度:17160千円 2002年度:19500千円	山本洋子、佐々木孝行
植物のアルミニウム障害と耐性に関与するカリシウムの分子機構	2003-2004	日本学術振興会	国際共同研究<日豪科学協力事業>	-	-	-
植物のアルミニウム耐性遺伝子の分離とその機能解析にもとづく分子育種への応用	2003-2005	日本学術振興会	特別研究員奨励費	研究代表者:松本英明	2005年度:700千円 2004年度:1200千円	PANDA Sanjib Kumar
アルミニウムによるショ糖の輸送阻害に基づく植物生育抑制機構の解明	2005-2007	日本学術振興会	基盤研究(B)	研究代表者:山本洋子	2005年度:7,600千円 2006年度:3,600千円 2007年度:4,680千円	-
アルミニウム活性化型有機酸トランスポーターの分子機構	2005-2008	日本学術振興会	特定領域研究	研究代表者:佐々木孝行	2008年度:15500千円 2007年度:16500千円 2006年度:16500千円 2005年度:16500千円	-

#### (4) 報道リスト

見出し	出典	概要
耐性遺伝子組み込む 酸性土壌で育つ大麦 栽培に成功	2005/1/4 山陽新聞	岡山大・松本英明教授らは酸性土壌でも育つ大麦の栽培に成功した。有害なアルミニウムに耐性を発揮する遺伝子を小麦の根から取りだし組み込んだ。世界で酸性土壌が広がる中、他の作物への応用につながる成果として注目される。
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞	同上 生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など上記を含めて9件
生物機能を生かせ：(4) 生研機構、新産業技術創出事業アルミの毒性機構を解明	1998/08/27 日本工業新聞	生研機構、98年度の新規課題として岡山大・松本英明教授の「酸性土壌における生産性の向上を目的とした植物のアルミニウム耐性機構の解明と耐性植物の作出」を採択。酸性土壌中で起こる複雑なアルミニウム毒性の機構を解明する。同時に、一部の植物が長い進化の過程で獲得した耐性機構を解明し、その機能を応用してアルミニウム耐性植物を作出する。
がんばります 岡山大資源生物科学研究所長に就任した松本英明さん(まつもと・ひであき)	2000/04/15 山陽新聞朝刊	岡山大資源生物科学研究所長に就任した松本英明氏のインタビュー記事。研究所の歴史、松本氏の経歴や抱負を記載。
次期所長に松本英明氏 岡山大資源生物科学研究所 / 岡山	2000/02/11 朝日新聞	
岡山大資源生物科学研究所長に松本英明教授＝岡山	2000/02/11 大阪読売新聞	
岡山大資生研所長に松本氏	2000/02/11 山陽新聞	
最新バイオ技術を中高生らに公開 岡大資源生科研＝岡山	2001/05/13 大阪読売新聞	岡山大資源生物科学研究所(松本英明所長)で5月12日、研究施設と実験農場が一般公開され、高校生や小中学生らが、最新のバイオテクノロジーを実地に学んだ。
酸性土壌に強い遺伝子 岡山大資源生科研が発見 小麦の根から防御機能物質 作物の安定収穫期待	2002/12/28 山陽新聞	岡山大・松本英明教授らは小麦の根から植物の生育障害の原因となる酸性土壌のアルミニウムに耐性を与える遺伝子を、世界で初めて発見した。この遺伝子を組み込むと酸性土壌でも安定収穫が見込める作物が作れる可能性があり、発展途上国での飢餓や人口の爆発的増加で危ぐされる食糧危機の解決につながる成果として期待される。
酸性土壌に強い遺伝子発見	2002/1/15 産経新聞	—
◎岡山大付属病院の院長に清水教授	2002/02/09 中国新聞	岡山大は2月8日医学部付属病院院長に清水信義教授を選出、資源生物科学研究所の松本英明所長＝植物生理生化学＝は再任を決めた。
キャンパスかわら版 ノートルダム清心女子大/岡山県立大/岡山大/情報待ってます	2002/03/25 山陽新聞	日本植物生理学会による公開シンポジウム「植物と私たちの暮らし」が3月30日岡山市で開催され、岡山大・松本英明教授が「植物の生育と根の役割」と題して講演。その他2つの公園でも最新の植物研究を紹介する。
来て見て学んで楽しんで 植物と暮らし題材にシンポ 岡山大で30日	2002/03/28 山陽新聞	

見出し	出典	概要
酸性土壌に強い植物遺伝子発見 松本氏（岡山大教授）に日本農学賞	2005/03/29 山陽新聞	岡山大・松本英明教授が 2005 年度日本農学賞を受賞することが決まった。植物の生育障害の原因となる酸性土壌のアルミニウムに対し、強い防御機能を発揮する遺伝子を世界で初めて発見したことが評価された。日本農学賞は農学分野で最も優れた成果を挙げた研究者に贈られ、今回は松本教授ら 8 人。
第 42 回 読売農学賞 受賞者決まる 酸性土壌における生産性の向上を目的としたアルミニウム毒性機構の解析と耐性植物の作出	2005/4/4 読売新聞	農学分野の優れた研究に対し「読売農学賞」の第 42 回（2005 年度）受賞者 8 人が決まった。受賞者の 1 人、岡山大学・松本英明名誉教授は「酸性土壌における生産性の向上を目的としたアルミニウム（Al <sup>3+</sup> ）毒性機構の解析と耐性植物の作出」の研究で、酸性土での Al <sup>3+</sup> の植物毒性の解明し、耐性植物で耐性に関与するタンパク質の遺伝子を解明、更にこの遺伝子の導入による耐性植物の作出に成功した。

## 2. (江川宜伸) 作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発

### (1) 論文リスト

#### 1) 原著論文

2003年

- 【1】 Tsukaguchi T., Kawamitsu Y., Takeda H., Suzuki K., Egawa Y. “Water status of flower buds and leaves as affected by high temperature in heat-tolerant and heat-sensitive cultivars of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.)”, *Plant Production Science*, 6, 24–27 (2003)
- 【2】 Suzuki K., Shono M., Egawa Y. “Localization of calcium in the pericarp cells of tomato fruits during the development of blossom-end rot”, *Protoplasma*, 222, 149–156 (2003)

2004年

- 【3】 Sanmiya K., Suzuki K., Egawa Y., Shono M. “Mitochondrial small heat-shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants”, *FEBS Letters*, 557, 265–268 (2004)

2005年

- 【4】 Nautiyal P.C., Shono M., Egawa Y. “Enhanced thermotolerance of the vegetative part of MT-sHSP transgenic tomato line”, *Scientia Horticulturae*, 105, 393–409 (2005)
- 【5】 Sanmiya K., Suzuki K., Tagiri A., Egawa Y., Shono M. “Ovule-specific expression of the genes for mitochondrial and endoplasmic reticulum localized small heat-shock proteins in tomato flower”, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 83, 245–250 (2005)
- 【6】 Tsukaguchi T., Fukamachi H., Ozawa K., Takeda H., Suzuki K., Egawa Y. “Diurnal change in water balance of heat-tolerant snap bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivar and its association with growth under high temperature”, *Plant Production Science*, 8, 375–382 (2005)
- 【7】 Omae H., Kumar A., Egawa Y., Kashiwaba K., Shono M. “Midday drop of leaf water content related to drought tolerance in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.)”, *Plant Production Science*, 8, 465–467 (2005)

2006年

- 【8】 Kumar A., Omae H., Egawa Y., Kashiwaba K., Shono M. “Adaptation to heat and drought stresses in snap bean (*Phaseolus vulgaris*) during the reproductive stage

of development”, *Japan Agricultural Research Quarterly*, 40, 213–216 (2006)

2007年

- 【9】 Kumar A., Omae H., Egawa Y., Kashiwaba K., Shono M. “Influence of irrigation level, growth stages and cultivars on leaf gas exchange characteristics in snap bean (*Phaseolus vulgaris*) under subtropical environment”, *Japan Agricultural Research Quarterly*, 41, 201–206 (2007)

2) その他

2003年

- 【1】 ツルアズキが持つマメゾウムシ類抵抗性のアズキへの導入、友岡憲彦,江川宜伸,柏葉晃一,加賀秋人,伊勢村武久,VAUGHAN D A (農業生物資源研,国際農林水産業研究セ)、熱帯農業 Vol.47 No.Extra Issue 2 Page:75-76(2003)
- 【2】 アンチモン酸法によるトマト尻腐れ果の果皮細胞におけるカルシウムの分布、鈴木克己,江川宜伸 (国際農林水産業研究セ)、園芸学会雑誌 別冊 Vol.72 No.1 Page:234(2003)
- 【3】 サヤインゲンの高温による落花と変形きょうの発生、鈴木克己,庄野真理子,江川宜伸 (国際農研 沖縄支所)、野菜茶業研究成果情報 Vol.2002 Page:63-64(2003)
- 【4】 ミトコンドリア型スモールヒートショックプロテイン遺伝子を導入したタバコの耐暑性、庄野真理子,三宮一幸,LIU J,SIHGH I,DIN J U,鈴木克己,塚口直史,江川宜伸 (国際農林水産業研究セ,Shandong Teacher Univ. CHN,Indian Inst. Sugarcane Res., IND, Land Resources Res. Inst., PAK,新潟大)、国際農林水産業研究成果情報 No.10 Page:47-48(2003)
- 【5】 サヤインゲンの高温による落花と変形さやの発生、鈴木克己,庄野真理子,江川宜伸 (国際農林水産業研究セ)、国際農林水産業研究成果情報 No.10 Page:45-46(2003)
- 【6】 サヤインゲンの高温による落花と変形さやの発生、鈴木克己,庄野真理子,江川宜伸 (国際農研 沖縄支所)、九州沖縄農業研究成果情報 No.18 上巻 Page:381-382(2003)

2004年

- 【7】 アズキ近縁野生遺伝資源のアズキうどんこ病抵抗性、江川宜伸,柏葉晃一,大前英,庄野真理子 (国際農林水産業研究セ,国際農研 沖縄支所) 熱帯農業 Vol.48 No.Extra Issue 1 Page:63-64(2004)
- 【8】 アズキ近縁野生種 *Vigna hirtella* に見出されたアズキうどんこ病抵抗性、江川宜伸,大前英,庄野真理子,柏葉晃一 (国際農林水産業研究セ)、国際農林水産業研究成果情報 No.11 Page:59-60(2004)
- 【9】 インゲンの耐暑性に関する研究 16. 高温条件がサヤインゲンの水消費に及ぼす

影響、大前英,KUMAR A,江川宜伸,柏葉晃一,庄野真理子（国際農林水産業研究セ,CCS Haryana Agricultural Univ., Hisar, IND）、熱帯農業 Vol.48 No.Extra Issue 1 Page:3-4(2004)

2005年

【10】耐暑性サイインゲンの特性評価と利用、柏葉晃一,大前英,KUMAR Ashok,庄野真理子,江川宜伸（国際農林水研セ 沖縄支所,CCS ハリヤナ農大）、日本作物学会講演会要旨・資料集 Vol.219th Page:142-143(2005)

(2) 特許リスト

継続している特許出願の該当なし

(3) グラントリスト

該当なし

(4) 報道リスト

見出し	出典	概要
サイインゲン「ハイブシ」育成、農水省国際農水研究センター	1998/07/23 日本農業新聞	亜熱帯地域などの農業技術研究に取り組む農水省国際農林水産業研究センター沖縄支所は沖縄県の夏場でも栽培できるサイインゲンの新品種「ハイブシ」を育成、栽培試験でも好結果を出した。
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞	平成10年度生研機構の新産業技術創出事業に採択された「作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発」（総括研究代表者：江川宜伸氏）についての解説。今後地球温暖化に伴って耐暑性作物の開発が望まれている。本研究は、高温障害発生の機構を生理学的・遺伝学的に解析し、耐暑性作物の開発を目的とする。耐暑性作物と感受性作物の差を解明し耐暑性に関与する形質遺伝子を作物に導入し、耐暑性品種を作出する。
	1998/08/26 日本工業新聞	
耐暑性サイインゲン育成へ、農水省国際農研センター	2000/01/20 日本農業新聞	農水省国際農林水産業研究センター沖縄支所・作物導入栽培研究室・江川宜伸室長の研究内容の紹介。耐暑性サイインゲン経済品種の育成が成功に一歩近づいた。
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題（2）	2003/03/19 日本工業新聞	平成10年度生研機構採択課題「作物耐暑性の生理・遺伝学的解明と耐性作物の開発」（総括研究代表者：農林水産省国際農林水産業研究センター・江川宜伸氏）の研究概要について解説。植物の高温に対する反応を解明し、遺伝・育種的手法やバイオテクノロジーの手法を通じて作物の耐暑性を向上させる目的で研究。耐暑性品種の耐暑機構解明、耐暑性に関与する遺伝子導入による作物の耐暑性向上を確認した。
国際農林水産業研究センター／暑さに強いインゲンマメ 樹高が低いパパイア／新品種2品を開発	2007/03/28 琉球新報	(独)国際農林水産業研究センター熱帯・島嶼研究拠点(仙北俊弘所長)は暑さに強いインゲンマメ「ナリブシ」と、樹高が低く手軽に栽培できるパパイア「石垣珊瑚」の二品種を開発を3月27日発表した。前者は江川宜伸博士がマレーシアから遺伝資源を導入し
暑さに強い新品種開発／インゲン「ナリブシ」・パパイア「石垣珊瑚」	2007/03/28 沖縄タイムス	

／国際農林水産業研究センター		て開発した耐暑性の高い新品種、後者はポット栽培可能で高糖度で食味が優れている。
----------------	--	---

### 3. (高辻博志) 植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発

#### (1) 論文リスト

##### 1) 原著論文

2003年

- 【1】 Sugano S., Kaminaka H., Rybka Z., Catala R., Salinas J., Matsui K., Ohme-Takagi M., Takatsuji H. “Stress-responsive zinc finger gene ZPT2-3 plays a role in drought tolerance in petunia”, *Plant Journal*, 36, 830–841 (2003)

2004年

- 【2】 Nakagawa H., Ferrario S., Angenent G.C., Kobayashi A., Takatsuji H. “The petunia ortholog of arabidopsis SUPERMAN plays a distinct role in floral organ morphogenesis”, *Plant Cell*, 16, 920–932 (2004)

2005年

- 【3】 Nakagawa H., Jiang C.-J., Sakakibara H., Kojima M., Honda I., Ajisaka H., Nishijima T., Koshioka M., Homma T., Mander L.N., Takatsuji H. “Overexpression of a petunia zinc-finger gene alters cytokinin metabolism and plant forms”, *Plant Journal*, 41, 512–523 (2005)
- 【4】 Kapoor M., Baba A., Kubo K.-I., Shibuya K., Matsui K., Tanaka Y., Takatsuji H. “Transgene-triggered, epigenetically regulated ectopic expression of a flower homeotic gene pMADS3 in Petunia”, *Plant Journal*, 43, 649–661 (2005)

2006年

- 【5】 Kapoor S., Takatsuji H. “Silencing of an anther-specific zinc-finger gene, MEZ1, causes aberrant meiosis and pollen abortion in petunia”, *Plant Molecular Biology*, 61, 415–430 (2006)

2007年

- 【6】 Kubo K., Takatsuji H. “Transgene-dependent incompatibility induced by introduction of the SK2:ZPT2-10 chimeric gene in petunia”, *Transgenic Research*, 16, 85–97 (2007)
- 【7】 Shimono M., Sugano S., Nakayama A., Jiang C.-J., Ono K., Toki S., Takatsuji H. “Rice WRKY45 plays a crucial role in benzothiadiazole-inducible blast resistance”, *Plant Cell*, 19, 2064–2076 (2007)
- 【8】 Agarwal P., Arora R., Ray S., Singh A.K., Singh V.P., Takatsuji H., Kapoor S., Tyagi A.K. “Genome-wide identification of C2H2 zinc-finger gene family in rice and their phylogeny and expression analysis”, *Plant Molecular Biology*, 65, 467–

## 2008 年

- 【9】 Jiang C.-J., Aono M., Tamaoki M., Maeda S., Sugano S., Mori M., Takatsuji H. “SAZ, a new SUPERMAN-like protein, negatively regulates a subset of ABA-responsive genes in Arabidopsis”, *Molecular Genetics and Genomics*, 279, 183–192 (2008)
- 【10】 Jiang, C.-J., Sugano, S., and Takatsuji, H. “An Arabidopsis SUPERMAN-like gene, AtZFP12, Expressed at Shoot Organ Boundaries Suppresses cell Growth.”, *Journal of Plant Biology*, 51-6, 413–417 (2008)

## 2009 年

- 【11】 Kondou Y, Higuchi M, Takahashi S, Sakurai T, Ichikawa T, Kuroda H, Yoshizumi T, Tsumoto Y, Horii Y, Kawashima M, Hasegawa Y, Kuriyama T, Matsui K, Kusano M, Albinsky D, Takahashi H, Nakamura Y, Suzuki M, Sakakibara H, Kojima M, Akiyama K, Kurotani A, Seki “Systematic approach to using the FOX hunting system to identify useful rice genes.”, *Plant Journal* 57, 883-894 (2009)
- 【12】 Shibuya, K., Fukushima, S., and Takatsuji, H. “RNA-directed DNA methylation induces transcriptional activation in plants-possible mechanism to generate a new type of epiallele.”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106, 1660-1665 (2009).
- 【13】 Jiang, C.-J., Shimono, M., Maeda, S., Inoue, H., Mori M., Hasegawa M., Sugano, S. and Takatsuji H.” Suppression of the rice fatty acid-desaturase gene OsSSI2 enhances resistance to blast and leaf blight diseases in rice.” *MPMI* (in press)

## 2) その他

## 2003 年

- 【1】 ペチュニア・PhSUP2 遺伝子の導入によるトリアの形態改変、間竜太郎,柴田道夫,高辻博志,岸本早苗,大宮あけみ (花き研,生物研)、花き研究成果情報 Vol.2002 Page:1-2(2003)
- 【2】 ペチュニアのホメオティック遺伝子 pMADS3 の発現抑制は花の二重化をもたらす、高辻博志,カプール ミーナ,津田晋三,田中良和,土本卓,間山智子,奥山洋平 (農業生物資源研,サントリー,東大 分子細胞生物学研)、農業生物資源研究所主要な研究成果 Vol.2002 Page:72-73(2003)

## 2004 年

- 【3】 ペチュニアのジンクフィンガー型転写因子 ZPT2-3 の導入によって乾燥耐性が向上

する、菅野正治,上中弘典,高辻博志(農業生物資源研)、農業生物資源研究所主要な研究成果 Vol.2003 Page:44-45(2004)

2007年

- 【4】 イネの誘導抵抗性に関わる転写因子 WRKY45 の発見とその利用、高辻博志(農業生物資源研)、植物防疫 VOL.62 NO.7 PAGE:383-386(2007)
- 【5】 イネのBTH誘導性WRKY型転写因子が誘導抵抗性において果たす役割について、霜野真幸,菅野正治,JIANG C J,林長生,加来久敏,中山明,高辻博志(農業生物資源研)、日本植物病理学会報 VOL.73 NO.3 PAGE:198(2007)
- 【6】 イネの誘導抵抗性に関与する転写因子 OsWRKY45 の下流遺伝子の探索と活性制御機構の解析、中山明,菅野正治,JIANG C J,霜野真幸,高辻博志(農業生物資源研)、日本植物病理学会報 Vol.73 No.3 Page:198-199(2007)
- 【7】 遺伝子組換えによるバイオ燃料資源作物改良の展望週間農林 高辻博志(農業生物資源研) 1994,4-5(2007)

2008年

- 【8】 最新の農林水産研究トピックス 複数の病害に対する極めて強い抵抗性を与えるイネの遺伝子 WRKY45 の発見とその利用、高辻博志(農業生物資源研)、農林水産技術研究ジャーナル Vol.31 No.3 Page:7-10(2008)
- 【9】 イネの誘導抵抗性に関わる転写因子 WRKY45 の発見とその利用、高辻博志,霜野真幸,菅野正治,中山明,姜昌杰,林長生,加来久敏(農業生物資源研)、農業生物資源研究所主要な研究成果 Vol.2007 Page:8-9(2008)
- 【10】 誘導抵抗性に関わる転写因子 WRKY45 の発見とその利用、高辻博志(農業生物資源研)、ブレインテクノニュース No.125 Page:1-7(2008)
- 【11】 イネの誘導抵抗性に主要な役割を果たす転写因子WRKY45 病害抵抗性の“プライミング”の誘導に関与. 耐病性イネの育種に期待、高辻博志(農業生物資源研)、化学と生物 Vol.46 No.5 Page:300-301(2008)
- 【12】 イネの誘導抵抗性に関わる分子機構の解明とその利用、高辻博志,霜野真幸,菅野正治,JIANG C.-J.,中山明,林長生(農業生物資源研)、日本植物病理学会植物感染生理談話会論文集 No.44 Page:59-68(2008)
- 【13】 誘導抵抗性に関わる転写因子 WRKY45 の発見とその利用、高辻博志(農業生物資源研)、STAFF newsletter 19, 7(2008)

2009年

- 【14】 イネの遺伝子 WRKY45 を用いた複合抵抗性イネ作出に向けて、高辻博志(農業生物資源研)、米麦改良、4月号、19-25(2009)
- 【15】 イネの誘導抵抗性を担う転写因子 WRKY45 の解析から見えるイネ—いもち病菌の

攻防、「微生物と植物の相互作用を利用した病害防除—生物防除の基礎と応用—」バイオコントロール研究会レポート第11号 7-15 (2009)

- 【16】モデル植物を用いた機能解析—イネ「微生物と植物の相互作用—病害と生物防除—」高辻博志（農業生物資源研）、百町満朗、對馬誠也編（ソフトサイエンス社）（2009）

## （2）特許リスト

継続している特許出願について記載した。

発明の名称	植物の形態を変化させる転写因子の遺伝子およびその利用		
発明者	高辻博志 中川仁		
出願人	農林水産省農業生物資源研究所長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP199865921	JP199865921	JP11262390	JP3054694
	US1998156579	-	US6297429
	EP1998307565	EP945509	-
	EP1998307565	EP945509	-
	EP1998307565	-	EP945509
	DE69825966	-	DE69825966

発明の名称	ペチュニアの転写因子 PetSPL2 の遺伝子の導入によって花序の節間を短縮させる方法		
発明者	高辻博志 中川仁		
出願人	農林水産省農業生物資源研究所長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP1998224852	JP1998224852	JP2000050873	JP3357907
	US1998156580	-	US6215043
	US2002265415	USRE39685	-
	EP1998307564	EP979873	-

発明の名称	ペチュニアの転写因子 PetSPL2 の遺伝子の導入によって花序の節間を短縮させる方法		
発明者	高辻博志、中川 仁		
出願人	農林水産省農業生物資源研究所長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
US1998156579	US2002327343	-	USRE38966

発明の名称	花粉特異的ジंकフィンガー転写因子の遺伝子を用いて花粉稔性を低下させる方法		
発明者	カプールサンジャエ、小林晃、高辻博志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所 独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP1999330681	JP1999330681	JP2001145430	JP3952246

発明の名称	雌しべの各組織に特異的な活性を有するプロモーターおよびその利用		
発明者	高辻博志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所 独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
WO1999JP2692	JP2000620081	WO2000071704	JP04134281
	US2002979433	-	US7098382
	WO1999JP269	WO2000071704	-
	AU7253500	-	AU775138
	CA2374375	-	-

発明の名称	花粉特異的ジंकフィンガー転写因子の遺伝子を用いて花粉稔性を低下させる方法		
発明者	カプールサンジャエ、小林晃、高辻博志		
出願人	農林水産省農業生物資源研究所所長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
WO1999JP6467	US2002130731	-	US6989473
	WO1999JP6467	WO2001037643	-
	WO1999JP6467	WO2001037643	-
	EP1999974206	EP1230843	-
	EP1999974206	EP1230843	-

発明の名称	タペート層特異的ジंकフィンガー転写因子の遺伝子を用いて花粉稔性を低下させる方法		
発明者	カプールサンジャエ、小林晃、高辻博志		
出願人	農林水産省農業生物資源研究所所長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
WO1999JP6468	WO1999JP6468	WO2001037644	-
	EP1999974207	EP1240819	-
	EP1999974207	EP1240819	-

発明の名称	MADS ボックス遺伝子を標的とした植物の花型の改良		
発明者	高辻博志、ミヌカプール		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所 独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2000330642	JP2000330642	JP2002125684	JP3943321
	US2003169426	US20040255349	-
	US2003169426	-	US7282622
	WO2001JP9511	WO2002036776	-
	EP2001976874	EP1357188	-
	EP2001976874	EP1357188	-

発明の名称	花粉特異的ジंकフィンガー転写因子の遺伝子を用いて花粉稔性を低下させる方法		
発明者	カプールサンジャエ、小林晃、高辻博志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所 生物系特定産業技術研究推進機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2003110912	JP2003110912	JP2003319780	-

発明の名称	乾燥耐性が高められた植物の作出における、ZPT2-3 ジंकフィンガー型転写因子の利用		
発明者	高辻博志、菅野正治、上中弘典		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2003311535	JP2003311535	JP2005073669	JP4238358
	US2006570037	US20060272059	-
	WO2004JP12464	WO2005024028	-
	EP2004772420	EP1676921	-
	EP2004772420	EP1676921	-

発明の名称	遺伝子導入による植物の交雑特性の改変		
発明者	高辻博志、久保健一		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2004301043	JP2004301043	JP2006109766	-
	US2005250098	US20060101538	-
	US2005250098	-	US7354766

発明の名称	転写因子遺伝子の導入による植物の病害抵抗性の改良		
発明者	高辻博志、菅野正治、霜野真幸、姜 昌杰、加来久敏		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2005154731	WO2006JP310542	WO2006126671	-
	EP2006756642	EP1889909	-

発明の名称	遺伝子導入による内在性遺伝子の転写活性化		
発明者	高辻博志、渋谷健市		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2006245164	JP2007235222	JP2008092947	-

### (3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
1. ゲノムの環境応答に関する研究 3) 生体内環境における細胞間のゲノム応答機構 (1) 植物の分化制御に関わるゲノム機構の解明	第1期 1994- 1998	科学技術振興調整費	文部科学省	研究代表者： 高辻博志 上野修	テーマの総経費 1,805 百万円	-
1. ゲノムの環境応答に関する研究 (4) 植物の分化制御に関わるゲノム機構の解明に関する研究	第2期 1999- 2003	科学技術振興調整費	文部科学省	研究代表者： 高辻博志、 菅野正治、 上野修	6テーマの総経費 203 百万円	-
病害抵抗性に関与する転写因子の同定と作用機構の解明	2003- 2007	重要形質B13	農業生物資源研究所	研究代表者： 高辻博志	-	-
花のホメオティック遺伝子のエピジェネティックな発現制御に関わる分子機構の解明	2004- 2005	基盤研究(B)	日本学術振興会	研究代表者：高辻博志	2005年度： 6400 千円 2004年度： 8900 千円	-

#### (4) 報道リスト

見出し	出典	概要
枝分かれ遺伝子 品種改良 に応用へ 農水省農業生物 資源研究所	1998/05/15 毎日新聞 毎日新聞 化学工業日報 日刊工業新聞 日本農業新聞	農業生物資源研究所・高辻博志・主任研究官らは植物の「枝分かれ」にかかわる遺伝子を発見、ペチュニア（ナス科）これを導入してその機能を確認したこの遺伝子は、枝分かれに必要な遺伝子たちを働かせるスイッチの役目をしておりナス科以外の多くの植物に共通しているらしい。この技術は、キクやバラ、カーネーションなどで「スプレー咲き」の新品種の作製や果樹の枝を増やして、収量が多く、収穫作業が楽な品種を開発するなど、農作物の品種改良にも使える可能性がある。
	1998/05/16 沖縄タイムス	
	1998/05/18 朝日新聞	
	1998/05/19 京都新聞	
高辻博志さん 植物の枝分 かれ遺伝子を発見（夢中人）	1998/08/07 朝日新聞	農業生物資源研究所・高辻博志主任研究官植物は「枝分かれ」を起こすスイッチ役の遺伝子を発見、ペチュニアを使って、実際に枝分かれを増やせることを証明した。様々な花や農作物の新品種づくりへの応用を期待する国内外のバイオテクノロジーや食品関係の会社から多くの問い合わせが来た。将来はトマトやメロンは枝分かれを減らし実を大きくして、農家を「芽欠き」作業から開放したいと意気込む。
生研機構、98年度の新規課 題を決定。高機能性脂質食品 素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞	—
生物機能を生かせ：6）生研 機構、新産業技術創出事業 植物形態を遺伝子工学的に 改変	1998/09/01 日本工業新聞	平成10年度生研機構採択課題「植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発」（農業生物資源研究所・高辻博志氏）の研究構想を解説。 植物の形態形成の制御の中心的な役割を担っている転写因子について、発現誘導系や遺伝子破壊などの新しい技術を用いてその機能を解明し、植物の形態を遺伝子工学的に改変するための基本的戦略を開発する。植物の形態を任意に制御できれば農業・園芸に貢献するところは大きい。
遺伝子組み換え効率、宇宙な ら10倍以上 向井さんらの 実験で確認	1999/04/20 朝日新聞	宇宙の無重量状態を利用すると、植物の遺伝子組み換えを地上の10倍以上の効率で実現できることがわかった、と米ウィスコンシン大が発表した。宇宙飛行士の向井千秋さんが昨年秋、米スペースシャトル「ディスカバリー」で行った大豆の培養細胞に、遺伝子を導入する実験で確かめた。同大学は、作物の品種改良や医薬品開発などの遺伝子操作に宇宙利用が有望なことを示す成果としている。農水省農業生物資源研究所・高辻博志主任研究官は大豆は遺伝子を組み込むことが難しいといわれており、事実だとすれば大きな進歩だ。無重量下で効率がよくなる詳しいメカニズムを知りたいとコメント。
研究者の生まれ方・米国の 違いは（5）情報「公開前の 論文が集まる」	1999/11/25 日 刊工業新聞	優れた研究者の育成方法に関するシリーズ。研究者にとって情報交流は極めて大切で情報量、情報交換のしやすさという点では、米国は進んでいる。米国には優秀な研究者が世界中から集まり、また全土から毎週のようにゲストを呼んで、論文になる前の新しい話題が聴ける。（農水省農業生物資源研究所・高辻博志主任研究官）

見出し	出典	概要
わい化遺伝子ペチュニアに導入、背丈を自由に制御、農水省生資研	1999/12/01 日本農業新聞	農水省農業生物資源研究所・高辻博志主任研究官らは、植物のわい化遺伝子をペチュニアから見つけ、これを再導入しわい化させることに成功した。この遺伝子と類縁の遺伝子を使って、雌性不ねんにする手法も確立した。現在、ほかの花や果樹などにこの遺伝子を組み込み試験を進めているが、植物の背丈を自由に制御できれば、花では新しい需要を開拓できる可能性がある。また、果樹などでは作業性がよくなる低樹高栽培に結びつけられそうだ。
研究者の生まれ方・米国の違いは(6)独立「勝ち残りへ実績作り」	1999/12/02 日刊工業新聞	優れた研究者の育成方法に関するシリーズ。若手研究者の研究環境が日米でかなり異なり、米国の研究者は若いときに激しい競争にさらされる。大学院を出てからの10年弱、能力的に一番プロダクティブな期間終身在職権を得るまで必死に働く。また業績が認められてテニユアを取得した後も自分で研究費を取らないと何もできない。「研究費の大きさと研究スペースも再配分される」(農業生物資源研究所の高辻博志主任研究官)
研究者の生まれ方・米国の違いは(7)エピソード「雑用に追われる日本」	1999/12/09 日刊工業新聞	優れた研究者の育成方法に関するシリーズ。日本の研究者は、研究支援部門が充実している米国に比べて、会議に代表される雑用が多く、時間面や研究の継続性の点から軽視できない問題。一方日本の研究者は米国に比べて「身分が安定しており、リスクを冒せる思い切ったテーマを立てることもできる」(農業生物資源研究所の高辻博志主任研究官)。今後は日本ならではの仕組みが必要である。
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(3)	2003/03/26 日本工業新聞	平成10年度生研機構採択課題「植物の形態形成を制御する転写因子の機能解明と利用法の開発」(農業生物資源研究所・高辻博志氏)の研究概要について解説。形態形成や稔性にかかわる花粉細胞の分化・発達の制御にかかわる転写因子を見だし、その作用の分子機構を解明することを目的とした。研究の結果、枝分かれの制御にかかわる転写因子の発見や花粉の減数分裂に関与する転写因子を見だし、これらの遺伝子をそれぞれ用いて雄性不稔形質を導入できることを示した。
生物研／植物由来遺伝子で花粉稔性を低下させる技術を開発	2004/02/16 日経バイオテク	農業生物資源研究所生物機能研究グループチーム長・高辻博志氏は、植物由来の転写因子遺伝子を活用して花粉の稔性を低下させる方法を開発した。植物の形態や形質に影響を与えることなく不稔性を付与することができ、花粉飛散など環境への悪影響などといった不要な懸念を払しょくできる可能性がある。
Trendー遺伝子拡散や繁殖をしない組み換え植物－ターミネーターは死なず 次世代GMO制覇の鍵	2005/02/15 日経バイオビジネス	組み換え植物の遺伝子拡散や意図しない繁殖を抑制する技術への注目が世界中で高まっている。遺伝子組み換え生物を生物学的に隔離する技術で、組み換え体の花粉や種子の繁殖を抑制する技術を指す。日本でも農業生物資源研究所・高辻博志チーム長は、転写因子の導入により組み換え体と野生株の間では種子が形成されないことを確認。また花芽形成特異的発現プロモーターで、花芽形成だけを阻害する技術もある。
いもち病に強い遺伝子を世界で初めて特定 農薬減も	2007/07/17 NHK ニュース	農業生物資源研究所は7月17日、稲のいもち病を防ぐ働きのある遺伝子「ワーキー45」を世界で初めて特定したと

見出し	出典	概要
可能に 農業生物資源研究所	2007/07/18 化学工業日報 東奥日報 秋田魁新報 下野新聞 中国新聞朝刊 常陽新聞 佐賀新聞 日本農業新聞 毎日新聞 日経産業新聞 ビジネスアイ	発表した。白葉枯れ病についても強い抵抗性を示し、小麦などほかの作物への利用も期待される。代表研究者の高辻博志ユニット長は「まずは飼料用の稲で実用化を目指したい」と話している。
	2007/07/20 日刊工業新聞	
	2007/7/23 産 経新聞	
	2007/7/25 農 業共済新聞	
	2007/7/27 科 学新聞	
	2007/7/30 日経 バイオテク	
07年の10大農水産研究成果 「WRKY45」発見が1位に	2007/12/20 日本農業新聞	—
[技術開発この1年 10大 農林水産研究成果から](上)	2007/12/25 日本農業新聞	農水省農林水産技術会議事務局は、2007年の「10大農林水産研究成果」を決めた。今年は上位10課題のうち、遺伝子にかかわるテーマが6課題と、過半数を占めた。1位は、いもち病や、白葉枯病など複数の病害に抵抗性を持つ稲の遺伝子「WRKY45」の発見。農業生物資源研究所が世界で初めて見つけた。同研究所耐病性研究ユニットの高辻博志ユニット長は「5年以内に実用化のめどをつけたい」としている。
07年の10大農水産研究成果 病害耐性遺伝子発見がトップ	2007/12/28 化学工業日報	—
農林水産技術会議が選んだ 07年の10大研究成果	2008/1/11 全 国農業新聞	—
実用化へ期待の新技术 抵 抗性品種を安定的に育成	2008/1/16 農 業共済新聞	—

#### 4. (和田正三、市川裕章、土岐精一) ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用

##### (1) 論文リスト

###### 1) 原著論文

2003年

- [1] Kikuchi K., Terauchi K., Wada M., Hirano H.-Y. “The plant MITE mPing is mobilized in anther culture”, *Nature*, 421, 167–170 (2003)
- [2] Kawai H., Kanegae T., Christensen S., Kiyosue T., Sato Y., Imaizumi T., Kadota A., Wada M. “Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor”, *Nature*, 421, 287–290 (2003)
- [3] Suetsugu N., Wada M. “Cryptogam blue-light photoreceptors”, *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 91–96 (2003)
- [4] Sato Y., Kadota A., Wada M. “Chloroplast movement: Dissection of events downstream of photo- and mechano-perception”, *Journal of Plant Research*, 116, 1–5 (2003)
- [5] Stoelzle S., Kagawa T., Wada M., Hedrich R., Dietrich P. “Blue light activates calcium-permeable channels in Arabidopsis mesophyll cells via the phototropin signaling pathway”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 1456–1461 (2003)
- [6] Sato Y., Wada M., Kadota A. “Accumulation response of chloroplasts induced by mechanical stimulation in bryophyte cells”, *Planta*, 216, 772–777 (2003)
- [7] Iwata T., Nozaki D., Tokutomi S., Kagawa T., Wada M., Kandori H. “Light-induced structural changes in the LOV2 domain of Adiantum phytochrome3 studied by low-temperature FTIR and UV-visible spectroscopy”, *Biochemistry*, 42, 8183–8191 (2003)
- [8] Wada M., Kagawa T., Sato Y. “Chloroplast Movement”, *Annual Review of Plant Biology*, 54, 455–468 (2003)
- [9] Oikawa K., Kasahara M., Kiyosue T., Kagawa T., Suetsugu N., Takahashi F., Kanegae T., Niwa Y., Kadota A., Wada M. “Chloroplast Unusual Positioning1 Is Essential for Proper Chloroplast Positioning”, *Plant Cell*, 15, 2805–2815 (2003)
- [10] Jiao Y., Yang H., Ma L., Sun N., Yu H., Liu T., Gao Y., Gu H., Chen Z., Wada M., Gerstein M., Zhao H., Qu L.-J., Deng X.W. “A Genome-Wide Analysis of Blue-Light Regulation of Arabidopsis Transcription Factor Gene Expression during Seedling Development”, *Plant Physiology*, 133, 1480–1493 (2003)

2004年

- 【11】 Jiao Y., Yang H., Ma L., Sun N., Yu H., Liu T., Gao Y., Gu H., Chen Z., Wada M., Gerstein M., Zhao H., Qu L.-J., Deng X.W. “Erratum: A Genome-Wide Analysis of Blue-Light Regulation of Arabidopsis Transcription Factor Gene Expression during Seedling Development (*Plant Physiology* (2003) 133 (1480-1493))”, *Plant Physiology*, 134, 880(2004)
- 【12】 Srinivas A., Behera R.K., Kagawa T., Wada M., Sharma R. “High Pigment1 Mutation Negatively Regulates Phototropic Signal Transduction in Tomato Seedlings”, *Plant Physiology*, 134, 790–800 (2004)
- 【13】 Lamparter T., Kagawa T., Brucker G., Wada M. “Positive and negative tropic curvature induced by microbeam irradiation of protonemal tip cells of the moss *Ceratodon purpureus*”, *Plant Biology*, 6, 165–170 (2004)
- 【14】 Kagawa T., Kasahara M., Abe T., Yoshida S., Wada M. “Function analysis of phototropin2 using fern mutants deficient in blue light-induced chloroplast avoidance movement”, *Plant and Cell Physiology*, 45, 416–426 (2004)
- 【15】 Kagawa T., Wada M. “Velocity of chloroplast avoidance movement is fluence rate dependent”, *Photochemical and Photobiological Sciences*, 3, 592–595 (2004)
- 【16】 Kasahara M., Kagawa T., Sato Y., Kiyosue T., Wada M. “Phototropins mediate blue and red light-induced chloroplast movements in *Physcomitrella patens*”, *Plant Physiology*, 135, 1388–1397 (2004)
- 【17】 Mochizuki T., Onda Y., Fujiwara E., Wada M., Toyoshima Y. “Two independent light signals cooperate in the activation of the plastid psbD blue light-responsive promoter in Arabidopsis”, *FEBS Letters*, 571, 26–30 (2004)
- 【18】 Kawai-Toyooka H., Kuramoto C., Orui K., Motoyama K., Kikuchi K., Kanegae T., Wada M. “DNA interference: A simple and efficient gene-silencing system for high-throughput functional analysis in the fern *Adiantum*”, *Plant and Cell Physiology*, 45, 1648–1657 (2004)
- 【19】 Wada M., Suetsugu N. “Plant organelle positioning”, *Current Opinion in Plant Biology*, 7, 626–631 (2004)
- 【20】 Abbasi F., Onodera H., Toki S., Tanaka H., Komatsu S. “OsCDPK13, a calcium-dependent protein kinase gene from rice, is induced by cold and gibberellin in rice leaf sheath”, *Plant Molecular Biology*, 55, 541–552 (2004)
- 【21】 Jan A, Yang G, Nakamura H, Ichikawa H, Kitano H, Matsuoka M, Matsumoto H, Komatsu S. “Characterization of a xyloglucan endotransglucosylase gene that is up-regulated by gibberellin in rice”, *Plant Physiology* 136, 3670-3681 (2004)

2005 年
--------

- 【22】 Yamauchi D., Sutoh K., Kanegae H., Horiguchi T., Matsuoka K., Fukuda H.,

- Wada M. “Analysis of expressed sequence tags in prothallia of *Adiantum capillus-veneris*”, *Journal of Plant Research*, 118, 223–227 (2005)
- 【23】 Tucker E.B., Lee M., Alli S., Sookhdeo V., Wada M., Imaizumi T., Kasahara M., Hepler P.K. “UV-A induces two calcium waves in *Physcomitrella patens*”, *Plant and Cell Physiology*, 46, 1226–1236 (2005)
- 【24】 Suetsugu N., Mittmann F., Wagner G., Hughes J., Wada M. “A chimeric photoreceptor gene, NEOCHROME, has arisen twice during plant evolution”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 13705–13709 (2005)
- 【25】 Uenaka H., Wada M., Kadota A. “Four distinct photoreceptors contribute to light-induced side branch formation in the moss *Physcomitrella patens*”, *Planta*, 222, 623–631 (2005)
- 【26】 Suetsugu N., Kagawa T., Wada M. “An auxilin-like J-domain protein, JAC1, regulates phototropin-mediated chloroplast movement in *Arabidopsis*”, *Plant Physiology*, 139, 151–162 (2005)
- 【27】 Osakabe K., Abe K., Yamanouchi H., Takyuu, T., Yoshioka T., Ito Y., Kato T., Tabata S., Kurei S., Yoshioka Y., Machida Y., Seki M., Kobayashi M., Shinozaki K., Ichikawa H., Toki S. “*Arabidopsis* Rad51B is important for double-strand DNA breaks repair in somatic cells”, *Plant Molecular Biology*, 57, 819–833 (2005)
- 【28】 Abe K., Osakabe K., Nakayama S., Endo M., Tagiri A., Todoriki S., Ichikawa H., Toki S. “*Arabidopsis* RAD51C gene is important for homologous recombination in meiosis and mitosis.”, *Plant Physiology*, 139, 896–908 (2005)
- 【29】 Osakabe K., Endo M., Kawai K., Nishizawa, Y., Ono K., Abe K., Ishikawa Y., Nakamura H., Ichikawa H., Nishimura S., Shimizu T., Toki S. “The mutant form of acetolactate synthase genomic DNA from rice is an efficient selectable marker for genetic transformation”, *Molecular Breeding* 16, 313–320 (2005)

2006 年
--------

- 【30】 Doi M., Wada M., Shimazaki K.-I. “The fern *Adiantum capillus-veneris* lacks stomatal responses to blue light”, *Plant and Cell Physiology*, 47, 748–755 (2006)
- 【31】 Tsuboi H., Suetsugu N., Wada M. “Negative phototropic response of rhizoid cells in the fern *Adiantum capillus-veneris*”, *Journal of Plant Research*, 119, 505–512 (2006)
- 【32】 Kanegae T., Hayashida E., Kuramoto C., Wada M. “A single chromoprotein with triple chromophores acts as both a phytochrome and a phototropin”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 17997–18001 (2006)

- 【33】 Jan A, Nakamura H, Handa H, Ichikawa H, Matsumoto H, Komatsu S. “Gibberellin regulates mitochondrial pyruvate dehydrogenase activity in rice.”, *Plant and Cell Physiology* 47, 244-253 (2006)
- 【34】 Endo M., Osakabe K., Ichikawa H., Toki S. “Molecular Characterization of True and Ectopic Gene Targeting Events at the Acetolactate Synthase Gene in Arabidopsis”, *Plant Cell Physiology*, 47, 372–379 (2006)
- 【35】 Yang G., Nakamura H., Ichikawa H., Kitano H., Komatsu S. “OsBLE3, a brassinolide-enhanced gene, is involved in the growth of rice” *Phytochemistry*, 67, 1442-54, (2006)
- 【36】 Toki S., Hara N., Ono K., Onodera H., Tagiri A., Oka S., Tanaka H. “Early infection of scutellum tissue with Agrobacterium allows high-speed transformation of rice.”, *Plant Journal*, 47, 969-76, (2006) Sep
- 【37】 Kitanaga Y., Jian C., Hasegawa M., Yazaki J., Kishimoto N., Kikuchi S., Nakamura H., Ichikawa H., Asami T., Yoshida S., Yamaguchi I., Suzuki Y. “Sequential regulation of gibberellin, brassinosteroid, and jasmonic acid biosynthesis occurs in rice coleoptiles to control the transcript levels of anti-microbial thionin genes”, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 70, 2410-2419 (2006)
- 【38】 Endo M., Ishikawa Y., Osakabe K., Nakayama S., Kaya H., Araki T., Shibahara K., Abe K., Ichikawa H., Valentine L., Hohn B., Toki S. “Increased frequency of homologous recombination and T-DNA integration in Arabidopsis CAF-1 mutants”, *EMBO Journal*, 25, 5579–5590 (2006)
- 【39】 Osakabe K., Abe K., Yoshioka T., Osakabe Y., Todoriki S., Ichikawa H., Hohn B., Toki S. “Isolation and characterization of the *RAD54* gene from *Arabidopsis thaliana*”, *Plant Journal*, 48, 827–842 (2006)

2007 年
--------

- 【40】 Mimuro M., Wada M., Shichida Y. “Symposium-in-print: Photobiology in Asia”, *Photochemistry and Photobiology*, 83, 1 (2007)
- 【41】 Wada M. “The fern as a model system to study photomorphogenesis”, *Journal of Plant Research*, 120, 3–16 (2007)
- 【42】 Suetsugu N., Wada M. “Phytochrome-dependent photomovement responses mediated by phototropin family proteins in cryptogam plants”, *Photochemistry and Photobiology*, 83, 87–93 (2007)
- 【43】 Suetsugu N., Wada M. “Adaptation to environmental light conditions and stress by chloroplast photorelocation movement”, *Tanpakushitsu kakusan koso. Protein, nucleic acid, enzyme*, 52, 587–593 (2007)

- 【44】 Tsuboi H., Suetsugu N., Kawai-Toyooka H., Wada M. "Phototropins and neochrome1 mediate nuclear movement in the fern *Adiantum capillus-veneris*", *Plant and Cell Physiology*, 48, 892–896 (2007)
- 【45】 Suetsugu N., Wada M. "Chloroplast photorelocation movement mediated by phototropin family proteins in green plants", *Biological Chemistry*, 388, 927–935 (2007)
- 【46】 Takahashi F., Yamagata D., Ishikawa M., Fukamatsu Y., Ogura Y., Kasahara M., Kiyosue T., Kikuyama M., Wada M., Kataoka H. "AUREOCHROME, a photoreceptor required for photomorphogenesis in stramenopiles", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 19625–19630 (2007)
- 【47】 Mimida N., Kitamoto H., Osakabe K., Nakashima M., Ito Y., Heyer W. D., Toki S., Ichikawa H. "Two alternatively spliced transcripts generated from OsMUS81, a rice homolog of yeast MUS81, are up-regulated by DNA-damaging treatments.", *Plant and Cell Physiology*, 48, 648–654 (2007)
- 【48】 Toriba T., Harada K., Takamura A., Nakamura H., Ichikawa H., Suzaki T., Hirano H.-Y. "Molecular characterization the YABBY gene family in *Oryza sativa* and expression analysis of OsYABBY1", *Molecular Genetics and Genomics*, 277, 457–468 (2007)
- 【49】 Komatsu S., Yang G., Khan M., Onodera H., Toki S., Yamaguchi M. "Over-expression of calcium-dependent protein kinase 13 and calreticulin interacting protein 1 confers cold tolerance on rice plants", *Molecular Genetics and Genomics*, 277, 713–723 (2007)
- 【50】 Shimono M., Sugano S., Nakayama A., Jiang C. J., Ono K., Toki S., Takatsuji H. "Rice WRKY45 plays a crucial role in benzothiadiazole-inducible blast resistance", *Plant Cell*, 19, 2064–2076 (2007)
- 【51】 Koiwai H., Tagiri A., Katoh S., Katoh E., Ichikawa H., Minami E., Nishizawa Y. "RING-H2 type ubiquitin ligase EL5 is involved in root development through the maintenance of cell viability in rice", *Plant Journal*, 51, 92-104. (2007)
- 【52】 Endo M., Osakabe K., Ono K., Handa H., Shimizu T., Toki S. "Molecular breeding of a novel herbicide-tolerant rice by gene targeting" *Plant Journal*, 52, 157–166 (2007)
- 【53】 Nakamura H., Hakata M., Amano K., Miyao A., Toki N., Kajikawa M., Pang J., Higashi N., Ando S., Toki S., Fujita M., Enju A., Seki M., Nakazawa M., Ichikawa T., Shinozaki K., Matsui M., Nagamura Y., Hirochika H., Ichikawa H. "A genome-wide gain-of function analysis of rice genes using the FOX-hunting system", *Plant Molecular Biology*, 65, 357–371 (2007)

2008年

- 【54】 Ogura Y., Komatsu A., Zikihara K., Nanjo T., Tokutomi S., Wada M., Kiyosue T. “Blue light diminishes interaction of PAS/LOV proteins, putative blue light receptors in *Arabidopsis thaliana*, with their interacting partners”, *Journal of Plant Research*, 121, 97–105 (2008)
- 【55】 Kodama Y., Tsuboi H., Kagawa T., Wada M. “Low temperature-induced chloroplast relocation mediated by a blue light receptor, phototropin 2, in fern gametophytes”, *Journal of Plant Research*, 121, 441–448 (2008)
- 【56】 Ogo Y., Kobayashi T., Nakanishi Itai R., Nakanishi H., Kakei Y., Takahashi M., Toki S., Mori S., Nishizawa K. N. "A novel NAC transcription factor, IDEF2, that recognizes the iron deficiency-responsive element 2 regulates the genes involved in iron homeostasis in plants", *Journal of Biological Chemistry*, 283, 13407–13417 (2008)
- 【57】 Sakane I., Kamataki C., Takizawa Y., Nakashima M., Toki S., Ichikawa H., Ikawa S., Shibata T., Kurumizaka H. "Filament formation and robust strand exchange activities of the rice DMC1A and DMC1B proteins", *Nucleic Acids Research*, 36, 4266–4276 (2008)
- 【58】 Ogawa T, Kawahigashi H, Toki S, Handa H. “Efficient transformation of wheat by using a mutated rice acetolactate synthase gene as a selectable marker”, *Plant Cell Reports*, 1325–1331 (2008)
- 【59】 Yao S.-G., Sonoda Y., Tsutsui T., Nakamura H., Ichikawa H., Ikeda A., Yamaguchi J. "Promoter analysis of *OsAMT1;2* and *OsAMT1;3* implies their distinct roles in nitrogen utilization in rice", *Breeding Science*, 58, 201–207 (2008)

2009年

- 【60】 Saika H., Toki S. "Visual selection allows immediate identification of transgenic rice calli efficiently accumulating transgene products", *Plant Cell Reports*, 28, 619–626 (2009)

2) その他

2003年

- 【1】 光合成最適化への光センサー，フォトリポピンファミリー、Phototropin family: Plant photoreceptors for efficient photosynthesis、河合（豊岡）博子,和田正三（東京都大 大学院理学研究科）、蛋白質 核酸 酵素 Vol.48 No.14 Page:1899-1907(2003)

- 【2】 高等植物の青色光受容機構の新展開、Blue-Light Receptors and their Signal Transduction Pathways in Higher Plants.、笠原賢洋,和田正三(東京農工大 遺伝子実験施設,東京都大 大学院理学研究科)、生物物理 Vol.43 No.4 Page:174-179(2003)

2005年

- 【3】 オルガネラダイナミクス 3. 葉緑体ダイナミクスと細胞機能 葉緑体の運動、Chloroplast movement、加川貴俊,和田正三(筑波大,基礎生物学研)、蛋白質 核酸 酵素 Vol.50 No.14 Page:1898(2005)
- 【4】 植物におけるRNAi研究-7 シダ植物・コケ植物におけるRNAiとDNAi、河合(豊岡)博子,和田正三(基礎生物学研)、化学と生物 Vol.43 No.9 Page:589-594(2005)
- 【5】 葉緑体光定位運動の意義と機構の解析 平成13-15年度、和田正三(東京都大)、葉緑体光定位運動の意義と機構の解析 平成13-15年度、No.13304061, Page:132P(2005)

2006年

- 【6】 キメラ光受容体ネオクロムは進化の過程で2回生じた、Chimera photoreceptor, neochrome, has arisen twice during plant evolution、和田正三(自然科学研究機構 基礎生物学研)、蛋白質 核酸 酵素 Vol.51 No.11 Page:1580-1589(2006)
- 【7】 遺伝子破壊および過剰発現システムを用いた機能未知遺伝子の機能解明. 市川裕章 *STAFF newsletter* Vol. 17 No. 5 Page: 7 (2006)

2007年

- 【8】 植物は感じて動く no. 2 葉緑体運動と気孔の開閉、和田正三(自然科学研究機構 基礎生物学研)、生物の科学 遺伝 Vol.61 No.2 Page:28-29(2007)
- 【9】 環境ストレス応答の分子機構 2. 光・栄養環境 光環境と光ストレスに対する葉緑体光定位運動による適応、末次憲之,和田正三(自然科学研究機構 基礎生物学研)、蛋白質 核酸 酵素 Vol.52 No.6 Page:587-593(2007)
- 【10】 シロイヌナズナにおける葉緑体光定位運動を制御するKACタンパク質の解析、末次憲之,山田岳,米倉恒,上田太郎,門田明雄,和田正三(岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研,首都大学東京 大学院,産業技術総合研) 日本植物学会大会研究発表記録 Vol.71st Page:139(2007)
- 【11】 ホウライシダ前葉体細胞における核光定位運動の解析、坪井秀憲,坪井秀憲,末次憲之,豊岡(河合)博子,和田正三(首都大学東京 大学院,岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研)、日本植物学会大会研究発表記録 Vol.71st Page:221(2007)

2008年

- 【12】 第2章 イネ組換え体作出関連技術の開発 (7) cDNA断片を介した遺伝子サイレンシングによる遺伝子機能の解析(EF2007)、和田正三(東京都大 大学院)、研究成果 第455集 Page:70-72(2008) 編集・発行 農林水産省農林水産技術会議事務局
- 【13】 第1章 組換え体を用いた有用遺伝子の大規模機能解明と関連技術の開発 (1) 組換え体を用いたイネ有用遺伝子のプロモーターおよび機能に関する解析 (EF1001)、市川裕章、中村英光、天野晃、古賀保徳、北本宏子、鈴木チセ、土岐精一、菊池尚氏志、佐々木卓治、田中宥司、廣近洋彦(農業生物資源研究所 他)、研究成果 第455集 「有用遺伝子活用のための植物(イネ)・ゲノム動物ゲノム研究 - 組換え体利用型 -」 Page: 8-14 (2008) 編集・発行 農林水産省農林水産技術会議事務局
- 【14】 第1章 組換え体を用いた有用遺伝子の大規模機能解明と関連技術の開発 (4) イネ完全長 cDNA 過剰発現 (FOX) イネ系統の大規模作出 および生育やストレス応答関連遺伝子の探索と機能の解明 (EF1004)、市川裕章、中村英光、羽方誠、天野晃、宮尾安藝雄、土岐精一、浅野敬幸、高橋章、上野修、高野誠、長村吉晃、廣近洋彦(農業生物資源研究所)、研究成果 第455集 「有用遺伝子活用のための植物(イネ)・ゲノム動物ゲノム研究 - 組換え体利用型 -」Page: 28-39 (2008) 編集・発行 農林水産省農林水産技術会議事務局
- 【15】 第1章 組換え体を用いた有用遺伝子の大規模機能解明と関連技術の開発 (5) イネフォックスハンティングを加速する技術開発と研究支援 (EF1005)、土岐精一(農業生物資源研究所)、研究成果 第455集 「有用遺伝子活用のための植物(イネ)・ゲノム動物ゲノム研究 - 組換え体利用型 -」 Page: 39-42 (2008) 編集・発行 農林水産省農林水産技術会議事務局
- 【16】 第2章 イネ組換え体作出関連技術の開発 (4) DNA 相同組換えによるイネ ALS 遺伝子ターゲッティング技術の開発 (EF2004)、土岐精一(農業生物資源研究所)、研究成果 第455集 「有用遺伝子活用のための植物(イネ)・ゲノム動物ゲノム研究 - 組換え体利用型 -」 Page: 65-68 (2008) 編集・発行 農林水産省農林水産技術会議事務局

## (2) 特許リスト

継続している特許出願について記載した。

発明の名称	トランスジェニック植物及びその作製方法		
発明者	清末知宏、和田正三		
出願人	科学技術振興事業団		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2000178931	JP2000178931	JP2001352851	-

発明の名称	イネのトランスポゾン遺伝子		
発明者	菊池一浩、平野博之、和田正三		
出願人	独立行政法人科学技術振興機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2001343002	WO2002JP11585	WO2003040363	-
	JP2006266688	JP2007050000	-
	US2004494944	US20050125854	-
	US2006319549	US20060112446	-
	US2006319523	US20060130174	-
	US2004494944	-	US7132587
	US2006504665	US20060277625	-
	EP2002780031	EP1452592	-
	EP1452592	EP1452592	-

発明の名称	C4 植物の光合成酵素を発現する C3 植物体		
発明者	松岡信、徳富光恵、土岐精一、モーリススノーベンクウ		
出願人	農林水産省農業生物資源研究所長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200179520	JP2001-79520	JP2001-299118	-

発明の名称	葉緑体光定位運動に係わる遺伝子、それを用いた核酸プローブ、及び葉緑体光定位運動欠損植物		
発明者	和田正三、加川貴俊、笠原賢洋、末次憲之、及川和聡		
出願人	タマティールエルオー株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200275275	JP2002222186	JP2003339386	-

発明の名称	カルス及び種子胚特異的発現活性を有するプロモーター		
発明者	市川裕章、田中宥司、中村英光、古賀保徳、菊池尚志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2003382698	JP2003382698	JP2005143338	-

発明の名称	花粉特異的発現活性を有するプロモーター		
発明者	市川裕章、田中宥司、中村英光、宮原研三、菊池尚志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2003416939	JP2003416939	JP2005168470	-

発明の名称	緑色組織特異的発現活性を有するプロモーター		
発明者	市川裕章、田中宥司、中村英光、土岐精一、佐々木卓治		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2003416951	JP2003416951	JP2005168471	-

発明の名称	葉特異的発現活性を有するプロモーター-PROMOTOR HAVING LEAF SPECIFIC EXPRESSION ACTIVITY		
発明者	市川裕章、田中宥司、中村英光、佐々木卓治、菊池尚志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2003416961	JP2003416961	JP2005168472	-

発明の名称	部位特異的組換え酵素遺伝子の一過的発現によるマーカー遺伝子の除去技術		
発明者	土岐精一、市川裕章、刑部敬史		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所 独立行政法人農業生物系特定産業技術研究機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200367173	JP200367173	JP2004275011	
	WO2004JP3069	WO2004081211	
	EP2004719080	EP1609859	
	US2005549260	US20060115885	-

発明の名称	UVDE 発現による相同組換え頻度の向上		
発明者	土岐精一、市川裕章、刑部敬史、安井明		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所、東北大学長、独立行政法人農業生物系特定産業技術研究機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200367262	JP200367262	JP2004275012	-

発明の名称	シュート維管束特異的発現プロモーター		
発明者	市川裕章、田中宥司、中村英光、佐々木卓治、菊池尚志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200433362	JP200433362	JP2005224112	-

発明の名称	維管束特異的発現プロモーター		
発明者	市川裕章、田中宥司、中村英光、佐々木卓治、菊池尚志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200433648	JP200433648	JP2005224118	-

発明の名称	構成的発現プロモーター		
発明者	市川裕章、田中宥司、中村英光、佐々木卓治、菊池尚志		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200433675	JP200433675	JP2005224120	-

発明の名称	アセト乳酸合成酵素遺伝子プロモーター		
発明者	土岐精一、市川裕章、中村英光、河合清、角康一郎、清水力		
出願人	クミアイ化学工業株式会社、独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200471462	JP200561036	JP2005287504	-
	US200575808	US20050241021	US7238864

発明の名称	単子葉植物の種子の形質転換法		
発明者	土岐精一		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200490639	JP2006511539	WO05/92082	-
	US2007594130	US20070256188	US7544858
	WO2005JP5592	WO2005092082	-
	EP2005721519	EP1728418	-

発明の名称	イネの根特異的プロモーターおよびその利用		
発明者	山口淳二、池田亮、園田裕、市川裕章、中村英光		
出願人	国立大学法人北海道大学、独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2005186436	JP2005186436	JP2007000107	-

発明の名称	植物の着粒数を増加させ、且つ植物を矮性化させる遺伝子		
発明者	田口文緒、土岐精一、田切明美、小野寺治子、原奈穂		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2005239128	JP2005239128	JP200749970	-

発明の名称	単子葉並びに双子葉植物に維管束特異的発現をもたらす D 型サイクリン遺伝子プロモーター		
発明者	市川裕章、中島麻里奈、中村英光、土岐精一、田切明美		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200570746	JP200570746	JP2006246837	-

発明の名称	単子葉並びに双子葉植物に維管束特異的発現をもたらす D 型サイクリン遺伝子プロモーター		
発明者	市川裕章、中島麻里奈、中村英光、土岐精一、田切明美		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP200570746	JP200570746	JP2006246837	-

発明の名称	作物の生育や花成の促進、種子肥大をもたらすイネ ZIM モチーフ遺伝子		
発明者	市川裕章、羽方誠、中村英光、市川尚奇、松井南		
出願人	独立行政法人農業生物資源研究所、独立行政法人理化学研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	特許番号
JP2007117272	JP2007117272	JP2008271805	-

(3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
蛋白質リン酸化酵素型光受容体の作用機作に関する共同研究	1998-2000	基盤研究(B)	文部科学省	研究代表者 和田正三	2000年度：2500千円 1999年度：2600千円 1998年度：3400千円	門田明雄、鐘ヶ江健
種子植物のフィトクロム作用の起源について	2000-2002	特別研究員奨励費	文部科学省	研究代表者 和田正三	2002年度：1000千円 2001年度：1200千円	Christensen Steen（東京都立大学外国人特別研究員）
葉緑体光定位運動の意義と機構の解析	2001-2003	基盤研究(A)	文部科学省	研究代表者 和田正三	2003年度：12090千円 2002年度：13390千円 2001年度：26780千円	研究分担者：鐘ヶ江健
植物の青色光受容体PHOTの光受容とその作用機作	2001-2005	特定領域研究(B)→特定領域研究	文部科学省	研究代表者 和田正三	2005年度：1500千円 2004年度：29500千円 2003年度：27200千円 2002年度：34400千円 2001年度：43500千円	研究分担者：清末 知宏、菊池 一浩、鐘ヶ江 健、島崎 研一郎、長谷 あきら、徳富 哲、飯野 盛利
組換え体を用いたイネ有用遺伝子のプロモーターおよび機能に関する解析	2002-2004	農水受託プロ「組換え体利用型」	農林水産省	研究代表者 市川裕章	-	-
DNA 相同組換えによるイネ ALS 遺伝子ターゲットング技術の開発	2002-2004	農水受託プロ「組換え体利用型」	農林水産省	研究代表者 土岐精一	-	クマイ化学工業株式会社と共同
葉緑体光定位運動による信号伝達と運動機構の解析	2004-2008	科学研究費補助金 基盤研究(S)	文部科学省	研究代表者 和田正三	平成16～20年度 計 8,020 万円	鐘ヶ江健
葉緑体光定位運動における phot2 の情報発現機構の解析	2005-2008	特定領域研究	文部科学省	研究代表者 和田正三	2008年度：18000千円 2007年度：18000千円 2006年度：18000千円 2005年度：31500千円	-
葉緑体光定位運動におけるシグナル伝達と運動機構の解析	2006	特別研究員奨励費	文部科学省	研究代表者 和田正三	2006年度：1200千円	SAM-GEUN KONG (サムーグエン コン)

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
クロマチン構造と細胞周期制御による高等植物の高効率・高精度遺伝子操作技術の開発	2006-2010	新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業	農業・食品産業技術総合研究機構	研究代表者 土岐精一	-	梅田正明、武田俊一
葉緑体光定位運動における新規アクチン構造の機能解析	2008-2009	科学研究費補助金 基盤研究(S)	文部科学省	研究代表者 和田正三	2009年度： 36400千円 2008年度： 62140千円	-

#### (4) 報道リスト

見出し	出典	概要
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞	平成10年度の生研機構の基礎研究推進事業に採択された「ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用」(研究代表者・東京都立大学・和田正三教授)の研究構想の紹介。他種の遺伝子を導入して品種改良をさらに効果的に行うには、特定の遺伝子を破壊する技術が必要である。本研究では、半数性の細胞で相同組み換えによる遺伝子破壊、相同組み換え現象が強化された植物の作出、相同組み換え植物の効率的選抜法の開発により栽培植物で応用可能な技術にまで発展させることを目標とする。
	1998/09/04 日本工業新聞	
東京都立大など、葉緑体光逃避反応の制御機構で知見、原因遺伝子特定	2001/03/16 中日新聞朝刊 京都新聞朝刊 熊本日日新聞 日刊工業新聞	強い光があたると植物の葉緑体が避けるように移動するが、これを制御する遺伝子を和田正三・東京都立大教授らが突き止め、3月16日発行の米科学誌サイエンスで発表した。同教授らゲノム解読が終了したシロイヌナズナを対象に研究した。まず、強い光でも葉緑体が移動しない突然変異体を探し出し、この変異体で、働いていない遺伝子を分析して、青い光を受けて信号を出す光センサー役の遺伝子とわかった。
	2001/03/19 化学工業日報	
	2001/03/22 毎日新聞 神戸新聞朝刊	
	2001/03/23 朝日新聞	
	2001/03/26 日本経済新聞朝刊	
	2001/12/06 日経産業新聞 日刊工業新聞 日本工業新聞	

見出し	出典	概要
技術立国を支える日本の基礎研究：01年度科学研究費補助金採択テーマより	2002/03/27 日本工業新聞	「植物の青色光受容体 PHOT の光受容体とその作用機構」(代表者=和田正三・東京都立大学教授)が2001年度科学研究費テーマに採択された。4年間研究費申請総額：4億6600万円。この研究は、光を植物がどのように利用するかを分子レベルで解明することで、青色光反応で光合成の効率化にとって重要な役割を果たす青色光受容体の PHOT について(1)光屈性(2)葉緑体光定位運動(3)気孔開閉の3つの現象が生じるメカニズムを検証する。これらの研究成果は、植物の生産性向上に直結し、農業生産やバイオテクノロジーなどへの応用の意義が大きい。
岡崎・基礎生物学研、葉緑体の光逃避運動をシロイヌナズナで実証	2002/12/19 日本経済新聞 日経産業新聞 朝日新聞 中部読売新聞 中日新聞朝刊 日刊工業新聞 日本農業新聞	基礎生物学研究所・和田正三客員教授(東京都立大学教授)らのグループは、強い光を浴びると葉緑体を別の場所に避難させる植物の「光逃避運動」が、植物の生命維持に不可欠な仕組みであることをシロイヌナズナの「光逃避運動」ができない変異体を用いて突き止めた。12月19日付の英科学誌ネイチャーに掲載される。植物の生存には葉緑体の逃避運動で光を調節し、活性酸素の発生を抑える必要があるという。光逃避運動を遺伝子レベルで制御できれば除草剤の代わりに外来種などを取り除けるようになるものとみられる。
	2002/12/24 佐賀新聞	
東大と都立大、イネからトランスポゾン発見—遺伝子単位で染色体間を移動	2003/01/09 化学工業日報 日刊工業新聞 日本工業新聞 日本農業新聞	東京大学・平野博之助教授、東京都立大学・和田正三教授、基礎生物学研究所・菊池一浩助手の研究チームは、イネのゲノムから新しいトランスポズンを発見した。トランスポゾンの因子がたんぱく質産生遺伝子内に組み込まれると、その産生機能を失う働きがある。アレルゲンフリー作出の品種改良技術や病害に強いイネ作出のための基礎研究への応用が考えられる。日本では、農業分野で実用化が遅れている遺伝子組み換え技術に対し、内在分子を利用する効率的な品種改良手法として産業利用への道が開けそうだ。この成果は1月9日付の英科学雑誌「ネイチャー」に掲載される。
都立大グループ「ネイチャー」に発表 シダ類の繁栄 赤い光がカギ 白亜紀末期に能力獲得	2003/01/16 日本経済新聞 日経産業新聞 朝日新聞 産経新聞 日刊工業新聞 日本工業新聞	東京都立大・和田正三教授らのグループはシダ類は赤い光を感知する能力を得て、暗い環境に適応していった可能性が高いと、英科学誌「ネイチャー」に発表した。同教授は1998年原始シダにはなくシダには存在し赤色を感知するフィトクロム(PHY)3蛋白質を発見した。シダ類が PHY3 を得て、他の植物が入り込めない環境でも光合成を行うようになったと考えられる。
	2003/01/20 東京読売新聞	
	2003/01/28 東京新聞朝刊 中日新聞夕刊	
基生研、東大／イネ新規トランスポゾンの転移活性確認、機能解明への応用期待	2003/01/20 日経バイオテク	基礎生物学研究所教授・和田正三氏、東京大学助教授平野博之氏のグループは、動植物で普遍的に存在するが転移能力がないと考えられていた MITE 型トランスポゾンが、転移活性を持つことを世界で初めてイネで確認した。本来イネが持っている転移性遺伝子であり圃場で栽培できる。大規模に栽培して大量の変異株の形質を評価することができるため、効率よく遺伝子の機能解明などを進められると期待されている。

見出し	出典	概要
都立大など、効率的なイネの相同組み換え手法確立—葯で改変遺伝子作製	2003/02/27 日刊工業新聞	東京都立大学・和田正三教授、基礎生物学研究所・飯田滋教授らは、イネの相同組み換えを効率的に引き起こす手法を確立した。葯の細胞を培養し、特定の遺伝子の機能を破壊する他の遺伝子を組み込むことにより高い確率で変異体を作る。一般に高等植物では相同組み換え確率は1/10万から1/100万と低いが、この方法では0.5%程度。未知の遺伝子の機能解明や新品種開発への応用が期待できそうだ。生物系特定産業技術研究推進機構のプロジェクト「基礎研究推進事業」の一環。
植物の科学、2氏が講演 きょう 東大阪の近大で /大阪	2003/03/29 朝日新聞	3/29 近畿大において開催された日本植物生理学会主催の市民講座「植物科学をもっと楽しもう」で、大阪大名誉教授・柴岡弘郎氏が「くきは何故細長いか?」、東京都立大教授・和田正三氏が「植物の眼—植物も周りを見ている」の題で講演する。
生物機能で産業創出：生研機構の 2002年度終了課題（4）	2003/04/02 日本工業新聞	平成10年度の生研機構の基礎研究推進事業に採択された「ホモログス・リコンビネーションによる標的遺伝子の破壊技術の開発と応用」（研究代表者・東京都立大学・和田正三教授）の研究成果の紹介。シダを材料として相同組み換えを介して破壊あるいは改変する手法、および標的遺伝子の機能発現を抑制する遺伝子サイレンシング技術、DNAi法を開発した。副次的な結果として、葉緑体光定位運動現象の光受容体の同定とその機能を明らかにした。
シダ植物の「光センサー」、藻類 にも 基礎生物学研究所の和田特 任教授ら発見	2005/09/16 朝日新聞	シダ植物にある青色と赤色の両方の光を感知できる受容体が、異なる進化を遂げた藻類にも存在することが明らかになった。この受容体を用いて薄暗い環境下で太陽光を感知し、効率的に光合成をしている。
シダ植物、気孔開口、葉緑素絡む —九大と基礎生物学研、メカニズ ム解明。	2006/08/16 日経産業新聞	九州大学・島崎研一郎教授らと基礎生物学研究所・和田正三・特任教授らの共同グループは、植物の葉の表面の「気孔」の開口に、シダ類では光合成色素である葉緑素が関与している可能性が高いことを突き止めた。植物の進化過程の解明などにつながる成果。
シダ、弱い光でも反応—首都大学 東京など、センサーの仕組み解明。	2006/11/15 日経産業新聞	首都大学東京・鐘ヶ江健助手、和田正三特任教授らは弱い光でも上手にキャッチできる詳しい仕組みを解明した。シダ植物はPHY3というたんぱく質を持っており、青、赤専用の受容体に加え、これが赤と青の両方の光に反応する「光センサー」として働くため、感度が高いことが分かった。シロイヌナズナにシダの遺伝子を組み込んで、光の感度を高めることもできた。薄暗い室内でもよく育つ植物などに応用できそうだ。

## 5. (佐藤英明) 受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発

### (1) 論文リスト

#### 1) 原著論文

2003年

- 【1】 Aono N., Naganuma T., Abe Y., Hara K., Sasada H., Sato E., Yoshida H. “Successful production of blastocysts following ultrarapid vitrification with step-wise equilibration of germinal vesicle-stage mouse oocytes” ,*Journal of Reproduction and Development*, 49, 501–506 (2003)
- 【2】 Shimizu T., Iijima K., Sasada H., Sato E. “Messenger ribonucleic acid expressions of hepatocyte growth factor, angiopoietins and their receptors during follicular development in gilts” ,*Journal of Reproduction and Development*, 49, 203–211 (2003)
- 【3】 Shimizu T., Kawahara M., Abe Y., Yokoo M., Sasada H., Sato E. “Follicular microvasculature and angiogenic factors in the ovaries of domestic animals” ,*Journal of Reproduction and Development*, 49, 181–192 (2003)
- 【4】 Shimizu T., Jiang J.-Y., Iijima K., Miyabayashi K., Ogawa Y., Sasada H., Sato E. “Induction of follicular development by direct single injection of vascular endothelial growth factor gene fragments into the ovary of miniature gilts” ,*Biology of Reproduction*, 69, 1388–1393 (2003)
- 【5】 Somfai T., Kikuchi K., Onishi A., Iwamoto M., Fuchimoto D.-I., Papp A.B., Sato E., Nagai T. “Meiotic arrest maintained by cAMP during the initiation of maturation enhances meiotic potential and developmental competence and reduces polyspermy of IVM/IVF porcine oocytes” ,*Zygote*, 11, 199–206 (2003)
- 【6】 Tienthai P., Kimura N., Heldin P., Sato E., Rodriguez-Martinez H. “Expression of hyaluronan synthase-3 in porcine oviducal epithelium during oestrus” ,*Reproduction, Fertility and Development*, 15, 99–105 (2003)
- 【7】 Sato S., Yoshimizu T., Sato E., Matsui Y. “Erasure of methylation imprinting of *Igf2r* during mouse primordial germ-cell development” ,*Molecular Reproduction and Development*, 65, 41–50 (2003)
- 【8】 Kohsaka T., Hamano K., Sasada H., Watanabe S., Ogine T., Suzuki E., Nishida S., Takahara H., Sato E. “Seminal immunoreactive relaxin in domestic animals and its relationship to sperm motility as a possible index for predicting the fertilizing ability of sires” ,*International Journal of Andrology*, 26, 1–6 (2003)
- 【9】 Jiang J.Y., Macchiarelli G., Tsang B.K., Sato E. “Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles” ,*Reproduction*, 125, 211–223 (2003)

- 【10】 Tienthai P., Yokoo M., Kimura N., Heldin P., Sato E., Rodriguez-Martinez H. “Immunohistochemical localization and expression of the hyaluronan receptor CD44 in the epithelium of the pig oviduct during oestrus”, *Reproduction*, 125, 119–132 (2003)

2004 年

- 【11】 Mizutani E., Jiang J.-Y., Mizuno S., Tomioka I., Shinozawa T., Kobayashi J., Sasada H., Sato E. “Determination of optimal conditions for parthenogenetic activation and subsequent development of rat oocytes in vitro” ,*Journal of Reproduction and Development*, 50, 139–146 (2004)
- 【12】 Umezu M., Kagabu S., Jiang J.Y., Niimura S., Sato E. “Developmental hormonal profiles in rdw rats with congenital hypothyroidism accompanying increased testicular size and infertility in adulthood”,*Journal of Reproduction and Development*, 50, 675–684 (2004)
- 【13】 Kobayashi J., Oguro H., Uchida H., Kohsaka T., Sasada H., Sato E. “Assessment of the separation of X- and Y-bearing spermatozoa by fractionation on the discontinuous Percoll gradients using rapid fluorescence in situ hybridization” ,*Journal of Reproduction and Development*, 58, 463–469 (2004)
- 【14】 Shimizu T., Miyahayashi Y., Yokoo M., Hoshino Y., Sasada H., Sato E. “Molecular cloning of porcine growth differentiation factor 9 (GDF-9) cDNA and its role in early folliculogenesis: Direct ovarian injection of GDF-9 gene fragments promotes early folliculogenesis” ,*Reproduction*, 128, 537–543 (2004)
- 【15】 Shimizu T., Yokoo M., Miyake Y., Sasada H., Sato E. “Differential expression of bone morphogenetic protein 4-6 (BMP-4, -5, and -6) and growth differentiation factor-9 (GDF-9) during ovarian development in neonatal pigs” ,*Domestic Animal Endocrinology*, 27, 397–405 (2004)
- 【16】 Yambe T., Sekine K., Shiraishi Y., Watanabe M., Shibata M.-I., Yamaguchi T., Quintian W., Duan X., Liu H.J., Yoshizawa M., Tanaka A., Matsuki H., Sato F., Haga Y.-I., Esashi M., Tabayashi K., Mitamura Y., Sasada H., Sato E., Saijo Y., Nitta S.-I. “Addition of rhythm to non-pulsatile circulation” ,*Biomedicine and Pharmacotherapy*, S145-9 (2004)
- 【17】 Yoshida T., Tomioka I., Nagahara T., Holyst T., Sawada M., Hayes P., Gama V., Okuno M., Chen Y., Abe Y., Kanouchi T., Sasada H., Wang D., Yokota T., Sato E., Matsuyama S. “Bax-inhibiting peptide derived from mouse and rat Ku70” ,*Biochemical and Biophysical Research Communications*, 321, 961–966 (2004)
- 【18】 Hoshino Y., Yokoo M., Yoshida N., Sasada H., Matsumoto H., Sato E.

“Phosphatidylinositol 3-kinase and Akt participate in the fsh-induced meiotic maturation of mouse oocytes”, *Molecular Reproduction and Development*, 69, 77–86 (2004)

- 【19】 Somfai T., Kikuchi K., Onishi A., Iwamoto M., Fuchimoto D.-I., Papp A.B., Sato E., Nagai T. “Relationship between the morphological changes of somatic compartment and the kinetics of nuclear and cytoplasmic maturation of oocytes during in vitro maturation of porcine follicular oocytes” , *Molecular Reproduction and Development*, 68, 484–491 (2004)
- 【20】 Yokoo M., Sato E. “Cumulus-oocyte complex interactions during oocyte maturation” , *International Review of Cytology*, 235, 251–291 (2004)
- 【21】 Shinozawa T., Mizutani E., Tomioka I., Kawahara M., Sasada H., Matsumoto H., Sato E. “Differential effect of recipient cytoplasm for microtubule organization and preimplantation development in rat reconstituted embryos with two-cell embryonic cell nuclear transfer” , *Molecular Reproduction and Development*, 68, 313–318 (2004)
- 【22】 Kobayashi J., Nagayama H., Uchida H., Oikawa T., Numabe T., Takada N., Sasada H., Sato E. “Selection of sexed bovine embryos using rapid fluorescence in situ hybridisation” , *Veterinary Record*, 154, 789–791 (2004)
- 【23】 Jiang J.-Y., Shimizu T., Sasada H., Tsang B.K., Sato E. “Increased ovarian follicular angiogenesis and dynamic changes of follicular vascular plexuses induced by equine chorionic gonadotropin in the gilt” , *Cell and Tissue Research*, 316, 349–357 (2004)
- 【24】 Matsumoto H., Daikoku T., Wang H., Sato E., Dey S.K. “Differential expression of ezrin/radixin/moesin(ERM) and ERM-associated adhesion molecules in the blastocyst and uterus suggests their functions during implantation”, *Biology of Reproduction*, 78, 729–736 (2004)

2005 年
--------

- 【25】 Somfai T., Kikuchi K., Medvedev S., Onishi A., Iwamoto M., Fuchimoto D.-I., Ozawa M., Noguchi J., Kaneko H., Ohnuma K., Sato E., Nagai T. “Development to the blastocyst stage of immature pig oocytes arrested before the metaphase-II stage and fertilized in vitro” , *Animal Reproduction Science*, 90, 307–328 (2005)
- 【26】 Shimizu T., Sato E. “Manipulation of ovarian follicle development by injecting vascular endothelial growth factor (VEGF) gene.”, *Reproductive biology*, 5, 257–268 (2005)
- 【27】 Aono N., Abe Y., Hara K., Sasada H., Sato E., Yoshida H. “Production of live offspring from mouse germinal vesicle-stage oocytes vitrified by a modified

- stepwise method, SWEID”, *Fertility and Sterility*, 84, 1078–1082 (2005)
- 【28】 Kawahara M., Wakai T., Yamanaka K.-I., Kobayashi J., Sugimura S., Shimizu T., Matsumoto H., Kim J.-H., Sasada H., Sato E. “Caffeine promotes premature chromosome condensation formation and in vitro development in porcine reconstructed embryos via a high level of maturation promoting factor activity during nuclear transfer” ,*Reproduction*, 130, 351–357 (2005)
- 【29】 Mizutani E., Ohta H., Kishigami S., Van Thuan N., Hikichi T., Wakayama S., Sato E., Wakayama T. “Generation of progeny from embryonic stem cells by microinsemination of male germ cells from chimeric mice” ,*Genesis*, 43, 34–42 (2005)
- 【30】 Yamamoto R., Isobe T., Eguchi T., Tang W.-R., Kiyokawa N., Amemiya H., Fujimoto J., Sato E., Takagaki Y., Yasue H. “Porcine TCR CD3zeta-chain and eta-chain” ,*Molecular Immunology*, 42, 1485–1493 (2005)
- 【31】 Bergqvist A.-S., Yokoo M., Heldin P., Frenidin J., Sato E., Rodriguez-Martinez H. “Hyaluronan and its binding proteins in the epithelium and intraluminal fluid of the bovine oviduct” ,*Zygote*, 13, 207–218 (2005)
- 【32】 Bergqvist A.-S., Yokoo M., Bage R., Sato E., Rodriguez-Martinez H. “Detection of the hyaluronan receptor CD44 in the bovine oviductal epithelium” ,*Journal of Reproduction and Development*, 51, 445–453 (2005)
- 【33】 Sato E., Yokoo M. “Morphological and biochemical dynamics of porcine cumulus-oocyte complexes: Role of cumulus expansion in oocyte maturation” ,*Italian Journal of Anatomy and Embryology*, 110, 205–217 (2005)
- 【34】 Yamamoto R., Uenishi H., Hatsuse H., Sato E., Awata T., Yasue H., Takagaki Y. “Ja-segment usage and the CDR3 diversity of porcine TCRA-chains cDNA clones from the PBL of a five-month-old pig and the thymus of a one-month-old pig” ,*Molecular Immunology*, 42, 1375–1383 (2005)
- 【35】 Miyabayashi K., Shimizu T., Kawauchi C., Sasada H., Sato E. “Changes of mRNA expression of vascular endothelial growth factor, angiopoietins and their receptors during the periovulatory period in eCG/hCG-treated immature female rats” ,*Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 303, 590–597 (2005)
- 【36】 Hoshino Y., Yamanaka K.-I., Tomioka I., Fukunaga N., Abbasi M., Sato E. “Molecular basis of meiotic maturation and apoptosis of oocytes, sperm-oocyte interactions and early cleavage of embryos in mice, role of phosphatidylinositol 3-kinase, Mos, Fas-Fas ligand, integrin  $\alpha 6$  and MAP kinase” ,*Yakhteh*, 7, – (2005)
- 【37】 Abe Y., Hara K., Matsumoto H., Kobayashi J., Sasada H., Ekwall H.,

- Rodriguez-Martinez H., Sato E. “Feasibility of a nylon-mesh holder for vitrification of bovine germinal vesicle oocytes in subsequent production of viable blastocysts” ,*Biology of Reproduction*, 72, 1416–1420 (2005)
- 【38】 Tanemura K., Ogura A., Cheong C., Gotoh H., Matsumoto K., Sato E., Hayashi Y., Lee H.-W., Kondo T. “Dynamic rearrangement of telomeres during spermatogenesis in mice” ,*Developmental Biology*, 281, 196–207 (2005)
- 【39】 Yamamoto R., Uenishi H., Hatsuse H., Sato E., Awata T., Yasue H., Takagaki Y. “TRAV gene usage in pig T-cell receptor alpha cDNA” ,*Immunogenetics*, 57, 219–225 (2005)
- 【40】 Hara K., Abe Y., Kumada N., Aono N., Kobayashi J., Matsumoto H., Sasada H., Sato E. “Extrusion and removal of lipid from the cytoplasm of porcine oocytes at the germinal vesicle stage: Centrifugation under hypertonic conditions influences vitrification” ,*Cryobiology*, 50, 216–222 (2005)
- 【41】 Bergqvist A.-S., Killian G., Erikson D., Hoshino Y., Bage R., Sato E., Rodriguez-Martinez H. “Detection of Fas ligand in the bovine oviduct” ,*Animal Reproduction Science*, 86, 71–88 (2005)
- 【42】 Iijima K., Jiang J.-Y., Shimizu T., Sasada H., Sato E. “Acceleration of follicular development by administration of vascular endothelial growth factor in cycling female rats” ,*Journal of Reproduction and Development*, 51, 161–168 (2005)

2006 年
--------

- 【43】 Iijima K., Tawara Y., Shimizu T., Yogo K., Sasada H., Sato E. “Involvement of vascular endothelial growth factor in the formation of the thecal layer and vasculature during follicular development in the ovaries of neonatal female rats” ,*Animal Science Journal*, 77, 574–581 (2006)
- 【44】 Mizutani E., Ohta H., Kishigami S., Thuan N.V., Hikichi T., Wakayama S., Kosaka M., Sato E., Wakayama T. “Developmental ability of cloned embryos from neural stem cells” ,*Reproduction*, 132, 849–857 (2006)
- 【45】 Shinozawa T., Sugawara A., Matsumoto A., Han Y.-J., Tomioka I., Inai K., Sasada H., Kobayashi E., Matsumoto H., Sato E. “Development of rat tetraploid and chimeric embryos aggregated with diploid cells” ,*Zygote*, 14, 287–297 (2006)
- 【46】 Yogo K., Ogawa T., Akiyama M., Ishida-Kitagawa N., Sasada H., Sato E., Takeya T. “PKA is implicated in the phosphorylation of Cx43 induced by stimulation with FSH in rat granulosa cells” ,*Journal of Reproduction and Development*, 52, 321–328 (2006)
- 【47】 Inoue F., Matsuda J., Ohkoshi K., Furusawa T., Takahashi S., Sasada H., Sato E.,

- Tokunaga T. “Differences in gene expression patterns between somatic cell nuclear transfer embryos constructed with either rabbit granulosa cells or their derivatives” ,*Animal Reproduction Science*, 93, 76–87 (2006)
- 【48】 Macchiarelli G., Jiang J.-Y., Nottola S.A., Sato E. “Morphological patterns of angiogenesis in ovarian follicle capillary networks. A scanning electron microscopy study of corrosion cast” ,*Microscopy Research and Technique*, 69, 459–468 (2006)
- 【49】 Sato E., Kimura N., Yokoo M., Miyake Y., Ikeda J.-E. “Morphodynamics of ovarian follicles during oogenesis in mice” ,*Microscopy Research and Technique*, 69, 427–435 (2006)
- 【50】 Matsumoto H., Sato E. “Uterine angiogenesis during implantation and decidualization in mice” ,*Reproductive Medicine and Biology*, 5, 81–86 (2006)
- 【51】 Shimizu T., Akiyama H., Abe Y., Sasada H., Sato E., Miyamoto A., Uchida T. “Expression of Pin1, a peptidyl-prolyl isomerase, in the ovaries of eCG/hCG-treated immature female mice.” ,*The Journal of reproduction and development*, 52, 287–291 (2006)
- 【52】 Miyake Y., Matsumoto H., Yokoo M., Miyazawa K., Kimura N., Tunjung W.A.S., Shimizu T., Sasada H., Aso H., Yamaguchi T., Sato E. “Expression and glycosylation with polylactosamine of CD44 antigen on macrophages during follicular atresia in pig ovaries” ,*Biology of Reproduction*, 74, 501–510 (2006)
- 【53】 Yamamoto R., Uenishi H., Yasue H., Takagaki Y., Sato E. “The genomic structure and a novel alternatively spliced form of porcine pT alpha chain” ,*Molecular Immunology*, 44, 591–597 (2006)

2007 年
--------

- 【54】 Yamashiro H., Han Y.-J., Sugawara A., Tomioka I., Hoshino Y., Sato E. “Freezability of rat epididymal sperm induced by raffinose in modified Krebs-Ringer bicarbonate (mKRB) based extender solution” ,*Cryobiology*, 55, 285–294 (2007)
- 【55】 Shimizu T., Iijima K., Miyabayashi K., Ogawa Y., Miyazaki H., Sasada H., Sato E. “Effect of direct ovarian injection of vascular endothelial growth factor gene fragments on follicular development in immature female rats” ,*Reproduction*, 134, 677–682 (2007)
- 【56】 Yamashiro H., Narita K., Sugimura S., Han Y.-J., Sugawara A., Morohaku K., Nakazato F., Konno T., Yoshida M., Sato E. “Trehalose enhanced the freezability of Poodle dog sperm collected by an artificial vagina (AV)” ,*Animal Reproduction Science*, 102, 165–171 (2007)

- 【57】 Tomioka I., Mizutani E., Yoshida T., Sugawara A., Inai K., Sasada H., Sato E. “Spindle formation and microtubule organization during first division in reconstructed rat embryos produced by somatic cell nuclear transfer” ,*Journal of Reproduction and Development*, 53, 835–842 (2007)
- 【58】 Yamanaka K.-I., Sugimura S., Wakai T., Shoji T., Kobayashi J., Sasada H., Sato E. “Effect of activation treatments on actin filament distribution and in vitro development of miniature pig somatic cell nuclear transfer embryos” ,*Journal of Reproduction and Development*, 53, 791–800 (2007)
- 【59】 Yamanaka K.-I., Aono N., Yoshida H., Sato E. “Cryopreservation and in vitro maturation of germinal vesicle stage oocytes of animals for application in assisted reproductive technology” ,*Reproductive Medicine and Biology*, 6, 61–68 (2007)
- 【60】 Ushizawa K., Takahashi T., Hosoe M., Kizaki K., Abe Y., Sasada H., Sato E., Hashizume K. “Gene expression profiles of novel caprine placental prolactin-related proteins similar to bovine placental prolactin-related proteins” ,*BMC Developmental Biology*, 7, 1–13 (2007)
- 【61】 Yokoo M., Shimizu T., Kimura N., Tunjung W.A.S., Matsumoto H., Abe H., Sasada H., Rodriguez-Martinez H., Sato E. “Role of the hyaluronan receptor CD44 during porcine oocyte maturation”,*Journal of Reproduction and Development*, 53, 263–270 (2007)

2008 年
--------

- 【62】 Sugimura S., Narita K., Yamashiro H., Sugawara A., Nishimori K., Konno T., Yoshida M., Sato E. “Noninvasive measurement of fecal progesterone concentration in toy poodles by time resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA)” ,*American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 43, 43–46 (2008)
- 【63】 Wakai T., Sugimura S., Yamanaka K.-I., Kawahara M., Sasada H., Tanaka H., Ando A., Kobayashi E., Sato E. “Production of viable cloned miniature pig embryos using oocytes derived from domestic pig ovaries” ,*Cloning and Stem Cells*, 10, 249–261 (2008)
- 【64】 Shimizu T., Iijima K., Ogawa Y., Miyazaki H., Sasada H., Sato E. “Gene injections of vascular endothelial growth factor and growth differentiation factor-9 stimulate ovarian follicular development in immature female rats” ,*Fertility and Sterility*, 89, 1563–1570 (2008)
- 【65】 Sugimura S., Kawahara M., Wakai T., Yamanaka K.-I., Sasada H., Sato E. “Effect of cytochalasins B and D on the developmental competence of somatic

- cell nuclear transfer embryos in miniature pigs” ,*Zygote*, 16, 153–159 (2008)
- 【66】 Hoshino Y., Sato E. “Protein kinase B (PKB/Akt) is required for the completion of meiosis in mouse oocytes” ,*Developmental Biology*, 314, 215–223 (2008)
- 【67】 Wakai T., Tanaka H., Yamanaka K.-i., Sugimura S., Sasada H., Kawahara M., Kobayashi E., Sato E. “Induction of estrus in pubertal miniature gilts” ,*Animal Reproduction Science*, 103, 193–198 (2008)
- 【68】 Tomioka,I., Honma,Y., Sasada,H., Sato,E. “In vitro induction of potential primordial germ cells from mouse embryonic stem cells by culture with undifferentiated gonadal cells” ,*Journal of mammalian ova research*, 25, 37–43 (2008)
- 【69】 Jiang,J.Y., Miyabayashi,K., Nottola,S.A., Umezu,M., Cecconi,S., Sato,E., Macchiarelli,G. “Thyroxine treatment stimulated ovarian follicular angiogenesis in immature hypothyroid rat.” ,*Histology and Histopathology*, 23, 1387–1398 (2008)
- 【70】 Yokoo,M., Kimura,N., Abe,H., Sato,E. “Influence of hyaluronan accumulation during cumulus expansion on in vitro porcine oocyte maturation.”,*Zygote*, 16, 309–314 (2008)

2009年
-------

- 【71】 Miyake,Y., Sakurai,M., Tanaka,S., Tunjung, W.A.S., Yokoo,M.,Matsumoto,H., Aso,H., Yamaguchi,T., Sato,E. “Expression of hyaluronan synthase 1 and distribution of hyaluronan during follicular atresia in pig ovaries.”,*Biology of Reproduction*, 80, 249–257 (2009)

## 2) その他

2003年
-------

- 【1】 ブタ COCG 培養における FSH のか粒層細胞の apoptosis 抑制について、永原貴子、横尾正樹、松本浩道、佐々田比呂志、佐藤英明（東北大学大学院農学研究科）、東北畜産学会報 Vol.53 No.2 Page:41(2003)
- 【2】 体細胞の再プログラム化における streptolysin O 処理および電気穿孔法の有効性、遠藤信幸、小菌井真人、本間悠司、松本浩道、佐々田比呂志、佐藤英明（東北大学大学院農学研究科）、東北畜産学会報 Vol.53 No.2 Page:47(2003)
- 【3】 血管増殖促進因子を用いる新しい排卵誘発法、清水隆、佐藤英明（東北大学大学院農学研究科）、化学と生物 VOL.41 NO.4 PAGE:225-231(2003)
- 【4】 受精能獲得処理に伴うウシY精子の出現頻度の解析：受精能獲得処理法の影響、小林仁、外館暁子、高坂哲也、佐々田比呂志、佐藤英明（宮城県農短大、静岡大農、東北大学大学院農学研究科）、東北畜産学会報 Vol.53 No.2 Page:40(2003)

- 【5】 家畜における卵胞閉鎖抑制・発育促進技術の開発と卵成熟誘起機構の解明、佐藤英明,清水隆,横尾正樹(東北大学大学院農学研究科)、ブレインテクノニュース No.97 Page:20-26(2003)
- 【6】 ナイロンメッシュを用いるウシ未成熟卵母細胞の大量ガラス化保存法、Vitrification of Large Quantities of Immature Bovine Oocytes Using Nylon Mesh、松本浩道,佐藤英明(東北大学大学院農学研究科)、食肉に関する助成研究調査成果報告書 Vol.21 Page:35-38(2003)
- 【7】 ブタ卵胞閉鎖過程における CD44 発現の解析、三宅裕子,横尾正樹,松本浩道,佐々田比呂志,佐藤英明(東北大学大学院農学研究科)、東北畜産学会報 Vol.53 No.2 Page:47(2003)

2004 年
--------

- 【8】 ラット卵胞発育過程における卵胞膜形成と血管構築の解析、田原由希子,飯島康仁,清水隆,佐々田比呂志,佐藤英明(東北大学大学院,東北大学加齢医研) 東北畜産学会報 Vol.54 No.2 Page:36(2004)
- 【9】 生殖発生工学の基礎 卵成熟機構、横尾正樹,清水隆,野呂拓也,佐藤英明(東北大学大学院農学研究科,東北大学加齢医研 病態臓器構築研究分野)、産婦人科の世界 Vol.56 No.9 Page:987-994(2004)
- 【10】 不凍タンパク質によるウシ未成熟卵子のガラス化保存法の改良、阿部靖之,佐藤英明(東北大学大学院農学研究科)、食肉に関する助成研究調査成果報告書 Vol.22 Page:21-24(2004)

2005 年
--------

- 【11】 凍結希釈液へのラクトフェリン添加がウシ精子の運動性および受胎率に及ぼす影響、小林仁,鈴木丈自,内田宏,高田直和,小峯健一,黒石智誠,佐々田比呂志,佐藤英明(宮城県農短大,宮城畜試,東北大学大学院 歯,東北大学大学院)、東北畜産学会報 Vol.55 No.2 Page:30(2005)
- 【12】 ラット胚盤胞期胚における Leukemia inhibitory factor receptor(LIFR)と Glycoprotein 130(gp130)発現の解析、韓榮俊,松本浩道,佐々田比呂志,佐藤英明(東北大学大学院)、東北畜産学会報 Vol.55 No.2 Page:29(2005)
- 【13】 生命圏倫理学：“農”の視点に立って 安全性,資源保全,動物の権利及びヒトの生命倫理からみる現代の家畜生産とアニマルテクノロジー、佐藤英明(東北大学大学院農学研究科)、生物科学 Vol.56 No.3 Page:155-163(2005)
- 【14】 ラット ES 細胞樹立の試み—フィーダー細胞の検討と初期胚における Oct-4 発現解析—、松本阿佐子,松本浩道,佐々田比呂志,佐藤英明(東北大学大学院)、東北畜産学会報 Vol.55 No.2 Page:27(2005)
- 【15】 凍結保護物質への段階的暴露処理によるウシ未成熟卵子のガラス化保存法の改良、

2006年

- 【16】 東北大学 21 世紀 COE におけるナノテク再生人工臓器開発プロジェクト 再生ナノテク人工食道・人工心筋・人工括約筋、山家智之,堀義生,白石泰之,関根一光,井口篤志,田林こう一,芳賀洋一,江刺正喜,吉沢誠,田中明,松木英敏,佐藤文博,川野聡恭,LUO Yun,比嘉昌,高木敏行,早瀬敏幸,円山重直,WANG Quintian,DHUANG Kyokuto,仁田新一,井街宏,佐々田比呂志,佐藤英明,佐藤正明,岡本英治,久保豊,大坂元久,梅津光生,本間大,前田剛(東北大学加齢医研,北海道東海大 工,東京女医大 第二病院,日本医大 老人病研,早稲田大学大学院理工学研究科,トキ・コーポレーション研究開発部)、炎症・再生 Vol.26 No.1 Page:35-39(2006)
- 【17】 ヒストンのアセチル化修飾によるミニブタ体細胞クローン胚の発生能の向上、山中賢一,杉村智史,佐々田比呂志,佐藤英明(東北大学大学院)、東北畜産学会報 Vol.56 No.2 Page:31(2006)
- 【18】 マウス胚盤胞期胚および着床期子宮における AZ-1 の発現動態、櫻井優広,松本浩道,向井邦晃,佐々田比呂志,吉澤緑,佐藤英明(東北大学大学院農学研究科,宇都宮大学農,慶応大学 医) 日本はい移植学雑誌 Vol.29 No.1 Page:62(2006)
- 【19】 家畜及び希少野生動物の未成熟卵子の凍結保存技術の開発、佐藤英明,松本浩道,阿部靖之(東北大学大学院農学研究科)、岩谷直治記念財団研究報告書 Vol.29 Page:46-47(2006)
- 【20】 ミニブタ体細胞クローン個体作出成功に関わる要因解析、杉村智史,山中賢一,若井拓哉,佐藤英明(東北大学大学院農学研究科)、日本はい移植学雑誌 Vol.29 No.1 Page:10-13(2006)

2007年

- 【21】 畜産学をめぐる最近の話題 (1) 畜産学へ向かう心とフロンティア精神、佐藤英明(東北大学大学院農学研究科)、畜産技術 No.621 Page:18-21(2007)
- 【22】 近年のラット発生工学の進歩、富岡郁夫,松本阿佐子,清水隆,佐藤英明(東北大学大学院農学研究科,帯広畜産大学大学院畜産学研究科)、東北畜産学会報 Vol.56 No.3 Page:19-25(2007)
- 【23】 医療目的の遺伝子改変家畜開発の到達点と今後、若井拓哉,佐藤英明(東北大学)、畜産の研究 Vol.61 No.4 Page:437-441(2007)
- 【24】 畜産学をめぐる最近の話題 (2) 卵子研究の伝統と新しい技術、佐藤英明(東北大学大学院農学研究科)、畜産技術 No.622 Page:19-23(2007)
- 【25】 畜産学をめぐる最近の話題 (3) ES 細胞の蹉跌と再挑戦、佐藤英明(東北大学大学院農学研究科)、畜産技術 No.623 Page:41-45(2007)

- 【26】 畜産学をめぐる最近の話題（４）新しい家畜と研究推進の司令塔、佐藤英明（東北大 大学院農学研究科）、畜産技術 No.624 Page:19-23( 2007 )
- 【27】 畜産学をめぐる最近の話題（５）畜産技術の研究モデルと新しい職業、佐藤英明（東北大 大学院農学研究科）、畜産技術 No.625 Page:22-27( 2007 )
- 【28】 畜産学をめぐる最近の話題（７）野生動物と畜産技術の「多面的機能」、佐藤英明（東北大 大学院農学研究科）、畜産技術 No.627 Page:24-29( 2007 )
- 【29】 家畜及び希少野生動物の未成熟卵子の凍結保存技術の開発、佐藤英明,若井拓哉,星野由美（東北大 大学院農学研究科）、岩谷直治記念財団研究報告書 Vol.30 Page:1-2( 2007 )
- 【30】 畜産学をめぐる最近の話題（６）わが国の家畜繁殖学の立脚点と役割、佐藤英明（東北大 大学院農学研究科）、畜産技術 No.626 Page:43-47( 2007 )
- 【31】 ES 細胞と生殖医療—テラーメイド ES 細胞の樹立と生殖細胞の分化、佐藤英明,星野由美（東北大 大学院農学研究科）、週刊医学のあゆみ Vol.223 No.1 Page:123-128( 2007 )
- 【32】 畜産学をめぐる最近の話題（８）犬研究の魅力と倫理、佐藤英明（東北大 大学院農学研究科）、畜産技術 No.628 Page:21-25( 2007 )
- 【33】 畜産学をめぐる最近の話題(10)家畜の歴史と「アニマルサイエンス」、佐藤英明（東北大 大学院農学研究科）、畜産技術 No.630 Page:22-28( 2007 )

2008 年
--------

- 【34】 呼吸量を指標としたブタ体外受精胚の品質評価と胚発生能について、横尾正樹,杉村智史,佐藤英明,阿部宏之（東北大 先進医工学研究機構,東北大 大学院農学研究科）、東日本家畜受精卵移植技術研究会大会資料 Vol.23rd Page:22-23( 2008 )
- 【35】 繁殖分野における研究の展開、佐藤英明（東北大 大学院農学研究科）、畜産草地研究所研究資料 No.8 Page:45-51( 2008 )
- 【36】 ブタ COCG 培養系における EGF のアポトーシス抑制作用、門脇茜,TUNJUNG Woro Anindito Sri,星野由美,佐藤英明（東北大 大学院農学研究科）、東北畜産学会報 Vol.58 No.2 Page:40( 2008 )

## (2) 特許リスト

継続している特許出願の該当なし

### (3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
生殖細胞系列の完全連続培養を可能にする生殖細胞分化促進因子の同定	1998-2000	基盤研究 (A)	日本学術振興会	研究者：佐藤英明	2000年度：5100千円 1999年度：6500千円 1998年度：24000千円	梅津元昭、松本浩道
異種臓器移植ドナーとしての遺伝子改変ブタ作出技術の開発	1998-2000	基盤研究 (B)	日本学術振興会	研究者：佐藤英明	2000年度：2700千円 1999年度：2900千円 1998年度：7000千円	柏崎直巳、松本浩道
体細胞クローン技術による遺伝子改変ブタ作出技術の開発	2000-2000	基盤研究 (C)	日本学術振興会	研究者：佐藤英明	3400千円	丹羽皓二、梅津元昭、舘鄰
卵子の細胞分化・死滅調節系の解明による次世代型動物発生工学技術の基盤形成	2004	基盤研究 (S)	日本学術振興会	研究者：佐藤英明	2008年度：20020千円 2007年度：19890千円 2006年度：19890千円 2005年度：19890千円 2004年度：24830千円	-
自然排卵数の20倍以上の排卵を可能とするGDF-9・VEGF遺伝子導入法の開発	2005-2006	萌芽研究	日本学術振興会	研究者：佐藤英明	2006年度：1300千円 2005年度：2100千円	梅津元昭
増殖・分化機構の解明による動物細胞機能制御技術の開発	2005-2007	-	独立行政法人 農業生物資源研究所	-	-	-
Akt 及び Oct4 の機能発現調節系の重複検索による体細胞初期化因子の同定	2007-2008	萌芽研究	日本学術振興会	研究者：佐藤英明	2008年度：1600千円 2007年度：1800千円	-

(4) 報道リスト

見出し	出典	概要
臓器移植用クローン動物、国内でも研究盛んに―拒絶反応抑える、来年初めにも誕生。	1998/07/25 日本経済新聞	クローン動物作製技術で人間への臓器移植に適した動物をつくりあげる研究が国内で盛んになってきた。名古屋大学は東北大学と共同でクローン豚を、東京女子医科大学は全農中央研究所と共同で牛の育成の研究に着手、来年初めにも臓器移植に向けた動物を誕生させようとしている。
牛の未成熟卵子 人工培養に挑む、東北大とペプチド研	1998/08/04 河北新報	東北大・佐藤英明教授らは「機能性ペプチド研究所」と共に従来大量に死滅させていた牛の卵子を受精可能な状態まで成長させる新しい技術の開発に取り組む。「生物系特定産業技術研究推進機構」から平成10年度で約6000万円、5年間で約3億円の助成を受ける見通し。
生研機構、新産業技術創出事業 家畜改良が進展	1998/08/12 日刊工業新聞	1998年度「生研機構基礎研究推進事業」に採択された「受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発（研究代表者：東北大・佐藤英明教授）の研究概要の紹介。優良雌家畜を使って家畜の改良を図るには、卵巣の多くの卵子を受精可能にする技術が必要で、新しい発想に基づき、排卵誘発法や超未成熟卵子の体外培養法を開発する。(1) 卵子の死滅予防法と血管増殖因子を用いる新しい排卵誘発法の開発(佐藤英明氏)(2) 超未成熟卵子の凍結保存法と体外培養胚の作出(機能性ペプチド研究所・星宏良氏)
	1998/08/28 日本工業新聞	
体細胞クローン牛、東北で2例目、宮城でも誕生	1999/02/10 河北新報	1/27 宮城県畜産試験場で、東北では福島に次ぎ2例目となる体細胞クローン牛が誕生。全国有数の畜産県の同県ではクローン技術開発を急いできたが、自治体間の開発競争が激化する一方、消費者の不安の声も上がる。佐藤英明教授は「体外での細胞移植の際に病原菌の有無等、安全管理の徹底が前提だが、さまざまな応用が期待できる、ふん尿の少ない牛の選抜を進めれば、環境への負荷が少ない畜産が可能になる。」という。
東北大、牛の未受精卵、大量に凍結保存―効率高めた新手法。	1999/05/07 日経産業新聞	佐藤英明教授らの開発した牛の未受精卵を大量に凍結保存できる新手法について紹介。未受精卵を保存液とともにナイロン製の細かい網の上にまき、これを液体窒素に入れて急速凍結させる。従来法に比べ処理効率は数十から数百倍。特別な冷凍装置なども不要。体外受精による家畜の生産や研究、遺伝資源の保存に有効とみて実用化を急ぐ。ただ生存率が数%と低いことから、保存液の成分などの改良を進める。
おいしい肉をつくる(下) 和牛、乳牛を代理母に(イノベーション市場発)	1999/06/03 日経産業新聞	おいしい肉をつくるための研究開発の現状を紹介。「受精卵移植」では、凍結未受精卵の生存率向上(畜試)、佐藤英明教授らの未受精卵の瞬時の凍結処理、その他飼料中のビタミンAの調節等が紹介されている。
クローン研究討議、仙台で日本繁殖生物学会	1999/09/28 河北新報	第92回日本繁殖生物学会(会長・佐藤英明東北大学院農学研究科教授)が9/27,28,29 仙台市で開催され、同教授らが開発した、牛の受精卵の性別を、従来より精度良く、短時間で判定する技術「迅速FISH法」について報告した。
臓器生産へクローン豚/英国製薬会社が初成功/人間に移植可能	2000/04/17 河北新報	2000年3月英製薬会社「PPLセラピューティクス」が臓器生産に適する豚でクローン豚作製に世界で初めて成功。日本では東北大・佐藤英明教授が豚の胚由来の培養細胞の遺伝子を操作、その細胞をもとにしたクローン胚を、体外で着床直前の段階まで育てるのに成功し代理母役の豚に移植したが、まだ妊娠はしていない。
	2000/04/18 神戸新聞	

見出し	出典	概要
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(5)	2003/04/09 日本工業新聞	2002年度「生研機構基礎研究推進事業」成果発表会で課題「受精可能な家畜卵子の大量生産技術の開発（研究代表者：東北大・佐藤英明教授）の研究成果を紹介。卵胞の発育・成熟を促進する各種の因子を解明し、それ等を用いて排卵誘発法、超未成熟卵子の体外培養法、開発超未成熟卵子の凍結保存法等、受精可能な家畜卵子の大量生産技術を開発した。
イヌの遺伝子解明へ／仙台の専門学校／2006年4月、研究所開設／特殊犬	2003/12/14 河北新報朝刊	12/13 仙台市で開催された「日本動物専門学院シンポジウム」で「日本動物専門学院」が、イヌ科動物の遺伝子研究を専門とする研究所を2006年4月に開設する計画を進めている。東北大等の研究機関と連携し、東北大・佐藤英明教授ら専門家が加わり、「ゲノム」「ジーンバンク」「ニューテクノロジー」の3分野で研究を進める。
岩谷直治記念財団、清水氏（神鋼）に記念賞一助成金は18人に	2004/01/07 日刊工業新聞	岩谷直治記念財団は第30回「岩谷直治記念賞」「岩谷科学技術研究助成金」の受賞・受領者を決定した。贈呈式は3/8で、東北大・佐藤英明教授は研究助成金を授与された。
東北の本棚／「畜産」分かりやすく／東北大教授・佐藤英明さん／新技術から	2004/01/26 河北新報朝刊	東北大・佐藤英明教授著「アニマルテクノロジー」の紹介。自分の体験を交えながら家畜の生産技術について、分かりやすく解説。その応用技術は、家畜の生産のみならず、医薬品やヒトへの移植可能な臓器の生産、不妊治療、希少動物の保護にも影響を与えている。
新刊図書 卵細胞の不思議、体系的にまとめ／朝倉書店	2004/12/14 日本農業新聞	東北大学・佐藤英明教授著「哺乳類の卵細胞」（朝倉書店）の紹介。応用動物化学／バイオサイエンスシリーズの1つで、卵子の発見から今後の卵細胞の研究課題まで、体系的にまとめている。受精してから細胞分裂を繰り返す、生物ができていく卵細胞の不思議にスポットを当てた。畜産で盛んな受精卵移植や研究が進むクローン技術とも関係する。
畜産技術の現状と未来	2004 全酪新報	—
済州黒毛和牛繁殖喜んで助力する	2004 ハンナラ日報（韓国）	—
家畜を増殖させるために人間はどのような技術を応用してきたか	2004 中央公論	—
今を読み解く	2004 日本経済新聞	—
「畜産」わかりやすく	2004 河北新聞	—
「いい大学」先生で選ぶ、理系文系100選	2004 朝日新聞 weekly AERA	—
第42回読売農学賞の授賞式	2005/04/06 東京読売新聞	4/5に農学研究で優れた業績を上げた8人に対する読売農学賞の授賞式が東京で行なわれた。東北大学・佐藤英

見出し	出典	概要
第42回読売農学賞 受賞者決まる＝特集	2005/04/04 東京読売新聞	明教授は「家畜卵子の選択的形成、成熟及び死滅の制御機構の解明に関する先駆的研究」においてウシやブタの卵巣から採取した卵子を体外で培養し、成熟させる方法を世界で初めて開発し、放っておけば死滅する大量の家畜卵子を資源として活用する道を開いた。また卵巣中で卵子のごく一部だけが発育し排卵する仕組みの解明や卵胞刺激ホルモン抑制物質も発見した。
安全な繁殖探る－静岡で生物学会開幕、あす市民向けシンポジウム	2005/09/15 静岡新聞 朝刊	9/14 から静岡市で開催された日本繁殖生物学会の合同シンポジウム「クリーン、グリーン、エシカル（倫理的）な家畜繁殖システム」には、東北大教授で日本繁殖生物学会の佐藤英明理事長らをはじめ日豪等の研究者が参加し、畜産物の信頼が失われる中で土地利用型畜産、動物福祉など安全で倫理的な繁殖研究の方向や最新の畜産研究について講演や発表があった。
済州黒韓牛はブランド化の可能性十分	2006 ハン ラ日報	－

## 6. (橋爪一善) バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究

### (1) 論文リスト

#### 1) 原著論文

2003年

- 【1】 Yamauchi N., Yamada O., Takahashi T., Imai K., Sato T., Ito T., Hashizume K. “A three-dimensional cell culture model for bovine endometrium: Regeneration of a multicellular spheroid using ascorbate”, *Placenta*, 24, 258–269 (2003)
- 【2】 Imai K., Khandoker M.A.M.Y., Yonai M., Takahashi T., Sato T., Ito A., Hasegawa Y., Hashizume K. “Matrix metalloproteinases-2 and -9 activities in bovine follicular fluid of different-sized follicles: Relationship to intra-follicular inhibin and steroid concentrations”, *Domestic Animal Endocrinology*, 24, 171–183 (2003)
- 【3】 Yamauchi N., Kizaki K., Yamada O., Takahashi T., Herath C.B., Hashizume K. “Expression of integrin subunits depend on bovine endometrial stromal cells cultured in vitro”, *Connective Tissue*, 35, 1–7 (2003)
- 【4】 Hirata M., Sato T., Tsumagari M., Shimada A., Nakano H., Hashizume K., Ito A. “Differential regulation of the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases by cytokines and growth factors in bovine endometrial stromal cells and trophoblast cell line BT-1 in vitro”, *Biology of Reproduction*, 68, 1276–1281 (2003)
- 【5】 Ishiwata H., Katsuma S., Kizaki K., Patel O.V., Nakano H., Takahashi T., Imai K., Hirasawa A., Shiojima S., Ikawa H., Suzuki Y., Tsujimoto G., Izaike Y., Todoroki J., Hashizume K. “Characterization of gene expression profiles in early bovine pregnancy using a custom cDNA microarray”, *Molecular Reproduction and Development*, 65, 9–18 (2003)
- 【6】 Hirata M., Sato T., Tsumagari M., Hashizume K., Ito A. “Discoordinate regulation of expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases-3 in bovine endometrial stromal cells on type-I collagen gel”, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26, 1013–1017 (2003)
- 【7】 Nakano H., Shimada A., Imai K., Takahashi T., Hashizume K. “ATP-evoked increase in intracellular calcium via the P2Y receptor in proliferating bovine trophoblast cells”, *Cell and Tissue Research*, 313, 227–236 (2003)
- 【8】 Kremenskoy M., Kremenska Y., Ohgane J., Hattori N., Tanaka S., Hashizume K., Shiota K. “Genome-wide analysis of DNA methylation status of CpG islands in embryoid bodies, teratomas, and fetuses”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 311, 884–890 (2003)
- 【9】 Hashizume K., Takahashi T., Shimizu M., Todoroki J., Shimada A., Hirata M.,

Sato T., Ito A. “Matrix-metalloproteinases-2 and -9 production in bovine endometrial cell culture”, *Journal of Reproduction and Development*, 49, 45–53 (2003)

- 【10】 Yamauchi N., Takezawa T., Kizaki K., Herath C.B., Hashizume K. “Proliferative potential of endometrial stromal cells, and endometrial and placental expression of cyclin in the bovine”, *Journal of Reproduction and Development*, 49, 553–560 (2003)

2004 年
--------

- 【11】 Herath C.B., Shiojima S., Ishiwata H., Katsuma S., Kadowaki T., Ushizawa K., Imai K., Takahashi T., Hirasawa A., Tsujimoto G., Hashizume K. “Pregnancy-associated changes in genome-wide gene expression profiles in the liver of cow throughout pregnancy”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313, 666–680 (2004)
- 【12】 Patel O.V., Yamada O., Kizaki K., Takahashi T., Imai K., Hashizume K. “Quantitative Analysis Throughout Pregnancy of Placentomal and Interplacentomal Expression of Pregnancy-Associated Glycoproteins-1 and -9 in the Cow”, *Molecular Reproduction and Development*, 67, 257–263 (2004)
- 【13】 Takahashi T., Hamanaka S., Imai K., Hashizume K. “A direct Time-Resolved Fluoroimmunoassay (TR-FIA) for measuring plasma estradiol-17 $\beta$  concentrations in cattle”, *Journal of Veterinary Medical Science*, 66, 225–229 (2004)
- 【14】 Patel O.V., Yamada O., Kizaki K., Takahashi T., Imai K., Takahashi S., Izaike Y., Schuler L.A., Takezawa T., Hashizume K. “Expression of Trophoblast Cell-Specific Pregnancy-Related Genes in Somatic Cell-Cloned Bovine Pregnancies”, *Biology of Reproduction*, 70, 1114–1120 (2004)
- 【15】 Patel O.V., Yamada O., Kizaki K., Todoroki J., Takahashi T., Imai K., Schuler L.A., Hashizume K. “Temporospatial expression of placental lactogen and prolactin-related protein-1 genes in the bovine placenta and uterus during pregnancy”, *Molecular Reproduction and Development*, 69, 146–152 (2004)
- 【16】 Patel O.V., Takahashi T., Imai K., Hashizume K. “Generation and purification of recombinant bovine pregnancy associated glycoprotein”, *Veterinary Journal*, 168, 328–335 (2004)
- 【17】 Ushizawa K., Herath C.B., Kaneyama K., Shiojima S., Hirasawa A., Takahashi T., Imai K., Ochiai K., Tokunaga T., Tsunoda Y., Tsujimoto G., Hashizume K. “cDNA microarray analysis of bovine embryo gene expression profiles during the pre-implantation period”, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2, 77 (2004)

- 【18】 Patel O.V., Takahashi T., Imai K., Hashizume K. “Characterization of native and recombinant bovine pregnancy-associated glycoproteins”, *Research in Veterinary Science*, 77, 203–210 (2004)
- 【19】 Takahashi T., Imai K., Hashizume K. “Generation and characterization of anti-leptin antisera against synthetic peptides and recombinant protein”, *Journal of Reproduction and Development*, 50, 717–724 (2004)

2005 年
--------

- 【20】 Ushizawa K., Kaneyama K., Takahashi T., Tokunaga T., Tsunoda Y., Hashizume K. “Cloning and expression of a new member of prolactin-related protein in bovine placenta: Bovine prolactin-related protein-VII”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 326, 435–441 (2005)
- 【21】 Ushizawa K., Takahashi T., Kaneyama K., Tokunaga T., Tsunoda Y., Hashizume K. “Gene expression profiles of bovine trophoblastic cell line (BT-1) analyzed by a custom cDNA microarray”, *Journal of Reproduction and Development*, 51, 211–220 (2005)
- 【22】 Nakano H., Shimada A., Imai K., Takahashi T., Hashizume K. “The cytoplasmic expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in bovine trophoblasts during binucleate cell differentiation”, *Placenta*, 26, 393–401 (2005)
- 【23】 Kizaki K., Okada M., Ito R., Yoshioka K., Hashizume K., Mutoh K.-I., Hara Y. “Induction of heparanase gene expression in ventricular myocardium of rats with isoproterenol-induced cardiac hypertrophy”, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28, 2331–2334 (2005)
- 【24】 Ushizawa K., Takahashi T., Hosoe M., Kaneyama K., Hashizume K. “Cloning and expression of two new prolactin-related proteins, prolactin-related protein-VIII and -IX, in bovine placenta”, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3, 68 (2005)

2006 年
--------

- 【25】 Ushizawa K., Takahashi T., Kaneyama K., Hosoe M., Hashizume K. “Cloning of the bovine antiapoptotic regulator, BCL2-related protein A1, and its expression in trophoblastic binucleate cells of bovine placenta”, *Biology of Reproduction*, 74, 344–351 (2006)
- 【26】 Ushizawa K., Hashizume K. “Biology of the prolactin family in bovine placenta. II. Bovine prolactin-related proteins: Their expression, structure and proposed roles”, *Animal Science Journal*, 77, 18–27 (2006)
- 【27】 Hashizume K., Shimada A., Nakano H., Takahashi T. “Bovine trophoblast cell

culture systems: a technique to culture bovine trophoblast cells without feeder cells.”, *Methods in molecular medicine.*, 121, 179–188 (2006)

- [28]** Oishi M., Gohma H., Hashizume K., Taniguchi Y., Yasue H., Takahashi S., Yamada T., Sasaki Y. “Early embryonic death-associated changes in genome-wide gene expression profiles in the fetal placenta of the cow carrying somatic nuclear-derived cloned embryo”, *Molecular Reproduction and Development*, 73, 404–409 (2006)
- [29]** Herath C.B., Ishiwata H., Shiojima S., Kadowaki T., Katsuma S., Ushizawa K., Imai K., Takahashi T., Hirasawa A., Takahashi S., Izaike Y., Tsujimoto G., Hashizume K. “Developmental aberrations of liver gene expression in bovine fetuses derived from somatic cell nuclear transplantation”, *Cloning and Stem Cells*, 8, 79–95 (2006)

2007 年
--------

- [30]** Hashizume K., Ushizawa K., Patel O.V., Kizaki K., Imai K., Yamada O., Nakano H., Takahashi T. “Gene expression and maintenance of pregnancy in bovine: Roles of trophoblastic binucleate cell-specific molecules”, *Reproduction, Fertility and Development*, 19, 79–90 (2007)
- [31]** Hashizume K. “Analysis of uteroplacental-specific molecules and their functions during implantation and placentation in the bovine”, *Journal of Reproduction and Development*, 53, 1–11 (2007)
- [32]** Ushizawa K., Takahashi T., Hosoe M., Kizaki K., Abe Y., Sasada H., Sato E., Hashizume K. “Gene expression profiles of novel caprine placental prolactin-related proteins similar to bovine placental prolactin-related proteins”, *BMC Developmental Biology*, 7, 16 (2007)
- [33]** Ushizawa K., Takahashi T., Hosoe M., Ishiwata H., Kaneyama K., Kizaki K., Hashizume K. “Global gene expression analysis and regulation of the principal genes expressed in bovine placenta in relation to the transcription factor AP-2 family”, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 5, 17 (2007)
- [34]** Ushizawa K., Takahashi T., Hosoe M., Ohkoshi K., Hashizume K. “Expression and characterization of novel ovine orthologs of bovine placental prolactin-related proteins”, *BMC Molecular Biology*, 8, 95 (2007)
- [35]** Kohsaka T., Singh U.P., Yogo K., Sasada H., Taya K., Hashizume K. “Expression and cellular pattern of relaxin mRNA in porcine corpora lutea during pregnancy”, *Cell and Tissue Research*, 330, 303–312 (2007)
- [36]** Kato Y., Li X., Amarnath D., Ushizawa K., Hashizume K., Tokunaga T., Taniguchi M., Tsunoda Y. “Comparative gene expression analysis of bovine

nuclear-transferred embryos with different developmental potential by cDNA microarray and real-time PCR to determine genes that might reflect calf normality”, *Cloning and Stem Cells*, 9, 495–511 (2007)

2008年

- 【37】 Takahashi T., Yamada O., Soares M.J., Hashizume K. “Bovine prolactin-related protein-I is anchored to the extracellular matrix through interactions with type IV collagen”, *Journal of Endocrinology*, 196, 225–234 (2008)
- 【38】 Bolmberg L.A., Hashizume K., Viebahn C. “Blastocyst elongation, trophoblastic differentiation, and embryonic pattern formation”, *Reproduction*, 135, 181–195 (2008)

2) その他

2003年

- 【1】 ウシ子宮内膜組織様構造体の構築法とその機能、橋爪一善,今井敬,高橋透,山内伸彦,山田治,石渡広子,金野俊洋,中野春男,嶋田新 (農業生物資源研)、農業生物資源研究所主要な研究成果 Vol.2002 Page:20-21(2003)
- 【2】 胎盤モデルを生体外で作製する試み、橋爪一善,岡野彰,伊東晃,原鉄晃 (農業生物資源研,農業技術研究機構 畜産草地研,東京薬大 薬 第一生化学研究室,広島大 医産科婦人科) 日本はい移植学雑誌 Vol.25 No.1 Page:1-6(2003)
- 【3】 ウシ栄養膜由来細胞株(BT-1)の樹立、高橋透,今井敬,中野春男,嶋田新,橋爪一善 (農業生物資源研)、農業生物資源研究所主要な研究成果、Vol.2002, Page:18-19(2003)

2004年

- 【4】 ウシ着床機構の調節、橋爪一善 (岩手大 農 獣医学科 基礎獣医学 獣医生理学) 東日本家畜受精卵移植技術研究会大会資料 Vol.19th Page:6-7(2004)
- 【5】 ウシ栄養膜細胞株BT-1の遺伝子発現解析、牛沢浩一,中野春男,金山佳奈子,徳永智之,角田幸雄,高橋透,橋爪一善 (農業生物資源研,近畿大 農,岩手大 農)、*J Reprod Dev* Vol.50 No.Supplement Page:J123(2004)
- 【6】 動物組織の切片を機能性培養担体として活用した新しい細胞培養法、竹沢俊明,竹之内敬人,今井敬,高橋透,橋爪一善 (農業生物資源研)、農業生物資源研究所主要な研究成果 Vol.2003 Page:14-15(2004)
- 【7】 イヌの遺伝性乳ガン原因遺伝子 *Brca2* の構造と機能、落合和彦,森松正美,吉川泰永,宇賀聡,首藤文栄,橋爪一善 (岩手大 農)、*獣医生化学* Vol.41 No.2 Page:51-59(2004)

2005年

- 【8】 子宮・胎盤特異的 cDNA マイクロアレイによるウシ妊娠子宮，胎盤の領域および時期特異的発現遺伝子の解析、食肉に関する助成研究調査成果報告書 Vol.23 Page:18-24(2005)
- 【9】 ちつ内留置型プロジェステロン製剤(CIDR)を用いた黒毛和種牛の発情同期化、辻井弘忠,土屋こず江,大山雅,境久雄,山本静二,浜野光市,橋爪一善(信州大 農,上伊那上農高,岩手大 農)、北信越畜産学会報 No.90 Page:15-23(2005)

2006年

- 【10】 子宮・胎盤特異的 cDNA マイクロアレイによるウシ妊娠子宮，胎盤の領域および時期特異的発現遺伝子の解析、橋爪一善,木崎景一郎,高橋透(岩手大 農,農業生物資源研)、食肉に関する助成研究調査成果報告書 Vol.24 Page:12-18(2006)

(2) 特許リスト

継続している特許出願について記載した。

発明の名称	生物の組織を薄切した切片からなる動物細胞の培養担体と、この担体を用いる動物細胞の培養方法および移植方法		
発明者	竹澤俊明、今井敬、高橋透、橋爪一善		
出願人	農林水産省畜産試験場長、竹澤俊明		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP200098401	JP2001101961	JP2001340076	—
	US2002980246	US20020164796	—
	WO2001JP2859	WO2001072953	—
	EP2001917781	EP1188821	EP1188821

発明の名称	動物の受精卵の共培養担体及びこの担体を用いる動物の受精卵の培養方法		
発明者	竹澤俊明、今井敬、高橋透、橋爪一善		
出願人	生物系特定産業技術研究推進機構、独立行政法人農業技術研究機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2000347924	JP2000347924	JP2002142753	—
	US2001775648	US20020058339	—
	US200538253	US20050164159	—

発明の名称	METHOD OF CONSTRUCTING THREE-DIMENSIONAL CELL CLUSTERS FROM CULTURED CELLS		
発明者	橋爪一善、高橋透、山内信彦		
出願人	JAPAN as represented by DIRECTOR-GERERAL OF NATIONAL INSTITUTE OF ANIMAL INDUSTRY, MINISTRY OF AGRICULTURE, FORESTRY AND FISHERIES   BIO-ORIENTED TECHNOLOGY RESEARCH ADVANCEMENT INSTITUTION		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
WO2000JP9158A	WO2000JP9158	WO2001081550	—

### (3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
生殖系列細胞の再生と再構築のための基礎的研究 ②牛の胎盤オルガノイド構築のための基礎的研究	1998-2002	重点研究支援研究課題	(独) 農業生物資源研究所	統括責任者： 在家義明 研究代表者： 橋爪一善	-	今井敬、高橋透
ウシ生殖系列細胞の分化と機能解析	2001-2005	-	交付金	-	-	高橋透、今井敬、中野春男、嶋田新、橋爪一善
子宮・胎盤特異的cDNA マイクロアレイによるウシ妊娠子宮、胎盤の領域および時期特異的発現遺伝子の解析	2004-2005	家畜増殖先端技術部門	伊藤記念財団	代表研究者： 橋爪一善	-	-
ウシ肝 cDNA マイクロアレイの評価と妊娠ウシ肝の特異発現遺伝子の検索	2004-2005	日本学術振興会	萌芽研究	代表研究者： 橋爪一善	2005年度： 1400千円 2004年度： 1900千円	木崎景一郎、高坂哲也
ウシ子宮・胎盤細胞外マトリックスを用いた子宮内膜様構造体の再構築と機能解析	2005-2007	日本学術振興会	基盤研究(B)	代表研究者： 橋爪一善	2007年度： 3510千円 2006年度： 3100千円 2005年度： 9200千円	-
増殖・分化機構の解明による動物細胞機能制御技術の開発	2005-2007	委託研究事業	農業生物資源研究所	-	-	-
DNA チップによるウシの超早期妊娠診断法の開発	2007-2008	日本学術振興会	萌芽研究	代表研究者： 橋爪一善	2008年度： 1300千円 2007年度： 1100千円	-
ウシ栄養膜幹細胞系の確立	2008年度	日本学術振興会	基盤研究(B)	研究代表者： 橋爪一善	2008年度： 9230千円	-

#### (4) 報道リスト

見出し	出典	概要
生研機構、新産業技術創出事業 受胎率向上技術発展へ	1998/08/12 日刊工業新聞	平成 10 年度生研機構、新産業技術創出事業採択テーマ「バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究」(研究代表者：農林水産省畜産試験場・橋爪一善氏)の研究構想を紹介。本研究では、早・流産原因解明で優良牛増産を目的とし、(1)牛の子宮および胎盤由来の培養細胞を組織工学的手法により胎盤様器官(オルガノイド)に再構築(2)着床・受胎に必要な情報伝達物質の解明、その関連遺伝子のオルガノイド導入により、生体外での受精胚子の発生、分化、着床機構の解明(3)オルガノイドの生体移植による受胎率改善技術の開発—を研究の柱とする。
	1998/09/02 日本工業新聞	
ウシ栄養膜由来細胞株(BT-1)の樹立	2002 農林水産研究 情報総合案内	ウシの着床および胎盤研究の <i>in vitro</i> モデルとして、ウシ胚盤胞の栄養膜細胞に由来する BT-1 細胞株を樹立した。本細胞株は培養下で 150 代以上の継代が可能で、胎盤性プロラクチンファミリー分子やインターフェロン $\alpha$ を発現しているという点で胎盤のトロフォブラスト細胞の機能を良く反映しており、 <i>in vitro</i> のモデル系として有用である。
生物機能で産業創出：生研機構の 2002 年度終了課題(6)	2003/04/16 日本工業新聞	平成 10 年度生研機構、新産業技術創出事業採択テーマ「バイオ胎盤の組織工学的構築に関する基盤的研究」(研究代表者：農林水産省畜産試験場・橋爪一善氏)の研究成果を紹介。成果として、継代可能な子宮、胎盤および栄養膜細胞系を確立した。また、アスコルビン酸を用いて子宮内膜様構造体の作製方法も確立した。受精胚と共培養可能な細胞を含む培養担体を作製し、着床様現象を再現した。子宮胎盤由来細胞と栄養膜細胞系からなる細胞構造体によるウシの発情周期調節が可能となった。
動物組織の切片を機能性培養担体として活用した新しい細胞培養法	2003 農林水産研究 情報総合案内	生体組織の複雑な構造とその構成成分を保持している動物組織の切片を動物細胞の培養担体に応用することで、細胞の接着、増殖、分化などの挙動を制御できる新しい培養法を開発した。細胞と切片の組み合わせ方を工夫することで、細胞の分化誘導や無血清培養、有用生理活性物質の探索や生産、細胞特性の解析、遺伝子機能の予測、および組織再生等の応用研究に利用できる。

## 7. (松野隆一、安達修二) 高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究

### (1) 論文リスト

#### 1) 原著論文

2003年

- 【1】 Urakami M., Ano R., Kimura Y., Shima M., Matsuno R., Ueno T., Akamatsu M. “Relationship between structure and permeability of tryptophan derivatives across human intestinal epithelial (Caco-2) cells”, *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 58, 135–142 (2003)
- 【2】 Kobayashi T., Adachi S., Matsuno R. “Lipase-catalyzed condensation of p-methoxyphenethyl alcohol and carboxylic acids with different steric and electrical properties in acetonitrile”, *Biotechnology Letters*, 25, 3–7 (2003)
- 【3】 Zhang X., Kobayashi T., Watanabe Y., Fujii T., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R. “Lipase-catalyzed synthesis of monolauroyl maltose through condensation of maltose and lauric acid”, *Food Science and Technology Research*, 9, 110–113 (2003)
- 【4】 Zhang X., Adachi S., Watanabe Y., Kobayashi T., Matsuno R. “Prediction of the equilibrium conversion for the synthesis of acyl hexose through lipase-catalyzed condensation in water-miscible solvent in the presence of molecular sieve”, *Biotechnology Progress*, 19, 293–297 (2003)
- 【5】 Piao J., Kobayashi T., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R. “Synthesis of mono- and dioleoyl erythritols through immobilized-lipase-catalyzed condensation of erythritol and oleic acid in acetone”, *Biochemical Engineering Journal*, 14, 79–84 (2003)
- 【6】 Adachi S., Imaoka H., Hasegawa Y., Matsuno R. “Preparation of a water-in-oil-in-water (W/O/W) type microcapsules by a single-droplet-drying method and change in encapsulation efficiency of a hydrophilic substance during storage”, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 67, 1376–1381 (2003)
- 【7】 Minemoto Y., Adachi S., Shimada Y., Nagao T., Iwata T., Yamauchi-Sato Y., Yamamoto T., Kometani T., Matsuno R. “Oxidation kinetics for cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 isomers of CLA”, *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 675–678 (2003)
- 【8】 Watanabe Y., Kuwabara K., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R. “Production of saturated Acyl L-ascorbate by immobilized lipase using a continuous stirred tank reactor”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4628–4632 (2003)
- 【9】 Kuwabara K., Watanabe Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R. “Emulsifier properties of saturated acyl L-ascorbates for preparation of O/W emulsions”,

*Food Chemistry*, 82, 191–194 (2003)

- 【10】 Fang X., Watanabe Y., Adachi S., Matsumura Y., Mori T., Maeda H., Nakamura A., Matsuno R. “Microencapsulation of linoleic acid with low- and high-molecular-weight components of soluble soybean polysaccharide and its oxidation process”, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 67, 1864–1869 (2003)
- 【11】 Kuwabara K., Watanabe Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R. “Continuous Production of Acyl L-Ascorbates Using a Packed-Bed Reactor with Immobilized Lipase”, *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 895–899 (2003)
- 【12】 Ishido E., Minemoto Y., Adachi S., Matsuno R. “Heterogeneity during autoxidation of linoleic acid encapsulated with a polysaccharide”, *Journal of Food Engineering*, 59, 237–243 (2003)
- 【13】 Kobayashi T., Furutani W., Adachi S., Matsuno R. “Equilibrium constant for the lipase-catalyzed synthesis of fatty acid butyl ester in various organic solvents”, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 24-25, 61–66 (2003)
- 【14】 Kuwabara K., Watanabe Y., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R. “Synthesis of 6-O-unsaturated acyl L-ascorbates by immobilized lipase in acetone in the presence of molecular sieve”, *Biochemical Engineering Journal*, 16, 17–22 (2003)
- 【15】 Kimura Y., Kanatani H., Shima M., Adachi S., Matsuno R. “Anti-oxidant activity of acyl ascorbates in intestinal epithelial cells”, *Biotechnology Letters*, 25, 1723–1727 (2003)
- 【16】 Kobayashi T., Adachi S., Matsuno R. “Kinetic analysis of the immobilized-lipase-catalyzed synthesis of octanoyl octyl glucoside in acetonitrile”, *Biochemical Engineering Journal*, 16, 323–328 (2003)

2004 年
--------

- 【17】 Shima M., Kobayashi Y., Fujii T., Tanaka M., Kimura Y., Adachi S., Matsuno R. “Preparation of fine W/O/W emulsion through membrane filtration of coarse W/O/W emulsion and disappearance of the inclusion of outer phase solution”, *Food Hydrocolloids*, 18, 61–70 (2004)
- 【18】 Ano R., Kimura Y., Shima M., Matsuno R., Ueno T., Akamatsu M. “Relationships between structure and high-throughput screening permeability of peptide derivatives and related compounds with artificial membranes: Application to prediction of Caco-2 cell permeability”, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 12, 257–264 (2004)

- 【19】 Ano R., Kimura Y., Urakami M., Shima M., Matsuno R., Ueno T., Akamatsu M. “Relationship between structure and permeability of dipeptide derivatives containing tryptophan and related compounds across human intestinal epithelial (Caco-2) cells”, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 12, 249–255 (2004)
- 【20】 Shima M., Tanaka M., Kimura Y., Adachi S., Matsuno R. “Hydrolysis of the oil phase of a W/O/W emulsion by pancreatic lipase”, *Journal of Controlled Release*, 94, 53–61 (2004)
- 【21】 Piao J., Kobayashi T., Adachi S., Nakanishi K., Matsuno R. “Continuous synthesis of lauroyl or oleoyl erythritol by a packed-bed reactor with an immobilized lipase”, *Process Biochemistry*, 39, 681–686 (2004)
- 【22】 Watanabe Y., Fang X., Adachi S., Fukami H., Matsuno R. “Oxidation of 6-O-arachidonoyl L-ascorbate microencapsulated with a polysaccharide by spray-drying”, *LWT - Food Science and Technology*, 37, 395–400 (2004)
- 【23】 Shima M., Kobayashi Y., Kimura Y., Adachi S., Matsuno R. “Effect of the hydrophilic surfactants on the preparation and encapsulation efficiency in course and fine W/O/W type emulsions”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 238, 83–90 (2004)
- 【24】 Adachi S., Imaoka H., Ashida H., Maeda H., Matsuno R. “Preparation of microcapsules of W/O/W emulsions containing a polysaccharide in the outer aqueous phase by spray-drying”, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 225–231 (2004)
- 【25】 Khuwijitjaru P., Kimura Y., Matsuno R., Adachi S. “Solubility of oleic and linoleic acids in subcritical water”, *Food Science and Technology Research*, 10, 261–263 (2004)
- 【26】 Khuwijitjaru P., Kimura Y., Matsuno R., Adachi S. “Preparation of finely dispersed O/W emulsion from fatty acid solubilized in subcritical water”, *Journal of Colloid and Interface Science*, 278, 192–197 (2004)
- 【27】 Piao J., Adachi S. “Enzymatic preparation of fatty acid esters of sugars alcohols by condensation in acetone using a packed-bed reactor with immobilized *Candida antarctica* lipase”, *Biocatalysis and Biotransformation*, 22, 269–274 (2004)
- 【28】 Adachi S., Matsumura Y. “Suppression of lipid oxidation by its interaction with a food polymer”, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 51, 221–228 (2004)
- 【29】 Kobayashi T., Adachi S. “Reaction equilibrium for lipase-catalyzed condensation in organic solvent systems”, *Biotechnology Letters*, 26, 1461–1468 (2004)

2005 年

- 【30】 Kuwabara K., Watanabe Y., Adachi S., Matsuno R. “Stability of saturated acyl L-ascorbates in aqueous solution”, *Journal of Food Science*, 70, E7–E11 (2005)
- 【31】 Shima M., Tanaka M., Kimura Y., Adachi S., Matsuno R. “Enhancement in transport of a hydrophilic marker through intestinal epithelial cell (Caco-2) monolayer by W/O/W multiple emulsion containing C8TG”, *Food Hydrocolloids*, 19, 321–328 (2005)
- 【32】 Zhang X., Adachi S., Watanabe Y., Matsuno R. “Lipase-catalyzed synthesis of O-lauroyl L-serinamide and O-lauroyl L-threoninamide”, *Food Research International*, 38, 297–300 (2005)
- 【33】 Watanabe Y., Ishido E., Fang X., Adachi S., Matsuno R. “Oxidation kinetics of linoleic acid in the presence of saturated acyl L-ascorbate”, *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82, 389–392 (2005)
- 【34】 Chen J., Kimura Y., Adachi S. “Continuous synthesis of 6-O-linoleoyl hexose using a packed-bed reactor system with immobilized lipase”, *Biochemical Engineering Journal*, 22, 145–149 (2005)
- 【35】 Adachi S., Kobayashi T. “Synthesis of esters by immobilized-lipase-catalyzed condensation reaction of sugars and fatty acids in water-miscible organic solvent”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99, 87–94 (2005)
- 【36】 Fang X., Shima M., Adachi S. “Effects of drying conditions on the oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic by spray-drying”, *Food Science and Technology Research*, 11, 380–384 (2005)
- 【37】 Chen J., Kimura Y., Adachi S. “Synthesis of linoleoyl disaccharides through lipase-catalyzed condensation and their surface activities”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100, 274–279 (2005)

2006 年

- 【38】 Koreishi M., Zhang D., Imanaka H., Imamura K., Adachi S., Matsuno R., Nakanishi K. “A novel acylase from *Streptomyces mobaraensis* that efficiently catalyzes hydrolysis/synthesis of capsaicins as well as N-acyl-L-amino acids and N-acyl-peptides”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 72–78 (2006)
- 【39】 Shima M., Tanaka M., Fujii T., Egawa K., Kimura Y., Adachi S., Matsuno R. “Oral administration of insulin included in fine W/O/W emulsions to rats”, *Food Hydrocolloids*, 20, 523–531 (2006)
- 【40】 Minemoto Y., Kometani T., Piao J., Adachi S. “Oxidation of oleoyl residue of its esters with ethylene glycol, glycerol and erythritol”, *LWT - Food Science and*

*Technology*, 39, 1–5 (2006)

- 【41】 Piao J., Kawahara-Aoyama Y., Inoue T., Adachi S. “Bacteriostatic activities of monoacyl sugar alcohols against thermophilic sporeformers”, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70, 263–265 (2006)
- 【42】 Zhou J., Tao G., Liu Q., Li H., Zhang X., Adachi S. “Equilibrium yields of mono- and di-lauroyl mannoses through lipase-catalyzed condensation in acetone in the presence of molecular sieves”, *Biotechnology Letters*, 28, 395–400 (2006)
- 【43】 Fang X., Shima M., Kadota M., Tsuno T., Adachi S. “Suppressive effect of alkyl ferulate on the oxidation of linoleic acid”, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70, 457–461 (2006)
- 【44】 Fang X., Kikuchi S., Shima M., Kadota M., Tsuno T., Adachi S. “Suppressive effect of alkyl ferulate on the oxidation of microencapsulated linoleic acid”, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 97–102 (2006)
- 【45】 Piao J., Kishi S., Adachi S. “Surface tensions of aqueous solutions of 1-O-monoacyl sugar alcohols”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 277, 15–19 (2006)
- 【46】 Yoshida Y., Kimura Y., Adachi S. “Thermal inactivation of immobilized lipase in 1-alcohols”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 102, 66–68 (2006)
- 【47】 Chen J., Kimura Y., Adachi S. “Oxidation of linoleoyl residue of its trehalose ester in an aqueous solution”, *Food Science and Technology Research*, 12, 163–166 (2006)
- 【48】 Piao J., Adachi S. “Stability of O/W emulsions prepared using various monoacyl sugar alcohols as an emulsifier”, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 211–216 (2006)
- 【49】 Yoshida Y., Kimura Y., Kadota M., Tsuno T., Adachi S. “Continuous synthesis of alkyl ferulate by immobilized *Candida antarctica* lipase at high temperature”, *Biotechnology Letters*, 28, 1471–1474 (2006)
- 【50】 Kikuchi S., Fang X., Shima M., Katano K., Fukami H., Adachi S. “Oxidation of arachidonoyl glycerols encapsulated with saccharides”, *Food Science and Technology Research*, 12, 247–251 (2006)
- 【51】 Shima M., Morita Y., Yamashita M., Adachi S. “Protection of *Lactobacillus acidophilus* from the low pH of a model gastric juice by incorporation in a W/O/W emulsion”, *Food Hydrocolloids*, 20, 1164–1169 (2006)

2007 年
--------

- 【52】 Shima M., Matsuo T., Adachi S. “Effects of inner-phase components of water-in-oil-in-water emulsion on low-pH tolerance of *Lactobacillus acidophilus*

incorporated into inner-water phase”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 103, 278–281 (2007)

- 【53】 Sakuramoto Y., Shima M., Adachi S. “Autoxidation of mono-, di-, and trilinoleoyl glycerols at different concentrations”, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71, 803–806 (2007)
- 【54】 Chen J., Kimura Y., Adachi S. “Surface activities of monoacyl trehaloses in aqueous solution”, *LWT - Food Science and Technology*, 40, 412–417 (2007)
- 【55】 Piao J., Takase K., Adachi S. “Enzymatic synthesis of myristoyl disaccharides and their surface activity”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1743–1747 (2007)
- 【56】 Katagi S., Kimura Y., Adachi S. “Continuous preparation of O/W nano-emulsion by the treatment of a coarse emulsion under subcritical water conditions”, *LWT - Food Science and Technology*, 40, 1376–1380 (2007)

2008 年
--------

- 【57】 Iwamoto N., Shima M., Adachi S. “Synthesis of xylitoyl fatty acid monoesters by immobilized lipase in subcritical acetone”, *Biochemical Engineering Journal*, 38, 16–21 (2008)
- 【58】 Nakazawa R., Shima M., Adachi S. “Effect of oil-droplet size on the oxidation of microencapsulated methyl linoleate”, *Journal of Oleo Science*, 57, 225–232 (2008)
- 【59】 Watanabe Y., Sawahara Y., Nosaka H., Yamanaka K., Adachi S. “Enzymatic synthesis of conjugated linoleoyl ascorbate in acetone”, *Biochemical Engineering Journal*, 40, 368–372 (2008)
- 【60】 Matsuo T., Kobayashi T., Kimura Y., Hosoda A., Taniguchi H., Adachi S. “Continuous synthesis of glyceryl ferulate using immobilized *Candida antarctica* lipase”, *Journal of Oleo Science*, 57, 375–380 (2008)
- 【61】 Kobayashi T., Matsuo T., Kimura Y., Adachi S. “Thermal stability of immobilized lipase from *Candida antarctica* in glycerols with various water contents at elevated temperatures”, *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1–4 (2008)
- 【62】 Imai H., Maeda T., Shima M., Adachi S. “Oxidation of methyl linoleate in oil-in-water micro- and nanoemulsion systems”, *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 809–815 (2008)
- 【63】 Matsuo T., Kobayashi T., Kimura Y., Tsuchiyama M., Oh T., Sakamoto T., Adachi S. “Synthesis of glyceryl ferulate by immobilized ferulic acid esterase”, *Biotechnology Letters*, 30, 2151–2156 (2008)

2009年

【64】 Shima M., Matsuo T., Yamashita M., Adachi S. “Protection of *Lactobacillus acidophilus* from bile salts in a model intestinal juice by incorporation into the inner-water phase of a W/O/W emulsion”, *Food Hydrocolloids*, 23, 281–285 (2009)

2) その他

(2) 特許リスト

発明の名称	エマルションの作製方法及びエマルション		
発明者	安達修二, 中嶋光敏		
出願人	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2003414858	JP2003414858	JP2005170883	JP4136896

(3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
食品の構造と機能の相関関係の解析とその食品加工への応用	1996-1998	日本学術振興会科学研究費補助金	基盤研究(A)	研究代表者：松野 隆一	1998年度：7000千円 1997年度：6800千円 1996年度：6700千円	藤尾雄策、林力丸、西成 勝好、渡辺尚彦、中西一弘
疑似血流とリンパ流を具備した疎水性物質用腸管吸収モデルの構築	2000-2002	日本学術振興会科学研究費補助金	基盤研究(B)	研究代表者：松野 隆一	2002年度：1900千円 2001年度：2600千円 2000年度：11000千円	木村幸敬、島元啓
亜臨界水に対する脂質の溶解度と新規食品加工技術の創造	2001-2002	日本学術振興会科学研究費補助金	萌芽研究	研究代表者：松野 隆一	2002年度：600千円 2001年度：1600千円	安達修二、島元啓
亜臨界条件下における水・有機溶媒混合液を用いた食品素材物質の合成の可能性	2003-2004	日本学術振興会科学研究費補助金	萌芽研究	研究代表者：安達 修二	2004年度：1200千円 2003年度：2600千円	木村幸敬
ナノ粒子化は脂質の酸化を遅延させる？	2006-2007	日本学術振興会科学研究費補助金	萌芽研究	研究代表者：安達 修二	2007年度：900千円 2006年度：2500千円	-

(4) 報道リスト

見出し	出典	概要
生研機構、新産業技術創出事業	1998/08/24 日本工業新聞	生研機構は、1998年度の「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」実施課題の1つに「高機能性脂質食品素材の開発に関する基盤的研究」(代表者：京都大学・松野隆一氏)を採択した。本研究では、(1)生理的機能を有する各種の脂肪酸と糖、タンパク質、ビタミンなどの生理活性物質との酵素合成法の開発(2)人体内で生理機能物質を効率的に吸収、輸送させるための脂質エマルションの粉末化技術の確立(3)異なった水分条件下での脂質と高分子間の相互作用の分子レベルでの解析などを行い、高機能性脂質食品素材開発のための技術的基盤を確立する。
【21世紀の食卓】教科書に載っていないバイオ第一部(6)不飽和脂肪酸	2001/09/07 産経新聞	イワシやサンマ、マグロなど青い背の魚は不飽和脂肪酸のエイコサペンタエン酸(EPA)とドコサヘキサエン酸(DHA)が多く含まれ酸化されやすく、保存には向かない。京都大学農学研究科・松野隆一教授、安達修二助教授らは、不飽和脂肪酸を粉末にして長期的に酸化を抑える研究を続け、液状の脂質とでんぷん質などの水溶液を乳化し、約200度の熱風で急速に乾燥し粉末化し二カ月から半年ぐらい酸化を防ぐことに成功。粉末化による酸化抑制メカニズムの解明を進めると共に飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸をバランスよく摂取できる機能性食品素材の開発も進める。
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題	2003/04/23 日本工業新聞	脂質をベースとした高機能性食品素材を創出するための生体触媒工学、食品製造工学に関する技術的基盤を確立し、その分子論(食品化学)的背景を解明。具体的には、主要な食品素材物質であるアミノ酸、ペプチド、タンパク質、アスコルビン酸、糖類およびバニルアミンに脂肪酸を酵素的に付加する方法を確立した。◆新規酵素を発見 N-アシルアミノ酸、N-アシルペプチド、カプサイシンなど多様な物質のアミド結合の選択的かつ効率的な加水分解反応を触媒する新規な酵素を発見し、その特性を明らかにした。
社会的整備が必要 遺伝子組換えフォーラム／京都市	2003/08/22 日本農業新聞	近畿地域農林水産・食品バイオテクノロジー等先端技術研究推進会議は京都市で二十一日、近畿市民フォーラム
◇研究項目と研究代表者 ＝(1)熱力学的障壁を克服した機能性食品素材物質の酵素合成(岡山大学工学部・中西一弘氏)	2003/02/07 京都新聞	京都府内の国公立大は2月6日までに、3月末で定年退官予定の教員を発表した。 農学研究科・松野隆一教授
学術の森(205)石川県立大学(4)生産科学科	2006/02/17	●食品科学科・食品製造工学、松野隆一教授 食品成分の分離理論

## 8. (佐藤智典) 細胞に作らせる糖鎖ライブラリーと機能性糖鎖高分子

### (1) 論文リスト

#### 1) 原著論文

2004年

- 【1】 Kasuya M.C.Z., Cusi R., Ishihara O., Miyagawa A., Hashimoto K., Sato T., Hatanaka K. “Fluorous-tagged compound: A viable scaffold to prime oligosaccharide synthesis by cellular enzymes”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 316, 599–604 (2004)
- 【2】 Sato T., Fujita S., Kasuya M.C.Z., Hatanaka K., Yamagata T. “Display of azido glycoside on a sensor chip”, *Chemistry Letters*, 33, 580–581 (2004)

2005年

- 【3】 Kasuya M.C.Z., Ito A., Cusi R., Sato T., Hatanaka K. “Cellular uptake and saccharide chain elongation of “fluoro- amphiphilic” glycosides”, *Chemistry Letters*, 34, 856–857 (2005)
- 【4】 Murozuka Y., Kasuya M.C.Z., Kobayashi M., Watanabe Y., Sato T., Hatanaka K. “Efficient sialylation on azidododecyl lactosides by using B16 melanoma cells”, *Chemistry and Biodiversity*, 2, 1063–1078 (2005)
- 【5】 Serizawa T., Sawada T., Matsuno H., Matsubara T., Sato T. “A peptide motif recognizing a polymer stereoregularity”, *Journal of the American Chemical Society*, 127, 13780–13781 (2005)
- 【6】 Kasuya M.C.Z., Ikeda M., Hashimoto K., Sato T., Hatanaka K. “Effect of anomeric linkage on the sialylation of glycosides by cells”, *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 24, 705–715 (2005)
- 【7】 Hashimoto, Z. Yang, Y. Koya, T. Sato “Chitosan”, *Non-viral Gene Therapy: Gene Design and Delivery*, 63–74 (2005)

2006年

- 【8】 Hashimoto M., Morimoto M., Saimoto H., Shigemasa Y., Sato T. “Lactosylated chitosan for DNA delivery into hepatocytes: The effect of lactosylation on the physicochemical properties and intracellular trafficking of pDNA/chitosan complexes”, *Bioconjugate Chemistry*, 17, 309–316 (2006)
- 【9】 Ito T., Iida-Tanaka N., Niidome T., Kawano T., Kubo K., Yoshikawa K., Sato T., Yang Z., Koyama Y. “Hyaluronic acid and its derivative as a multi-functional gene expression enhancer: Protection from non-specific interactions, adhesion to targeted cells, and transcriptional activation”, *Journal of Controlled Release*, 112,

382–388 (2006)

- 【10】 Hashimoto M., Morimoto M., Saimoto H., Shigemasa Y., Yanagie H., Eriguchi M., Sato T. “Gene transfer by DNA/mannosylated chitosan complexes into mouse peritoneal macrophages”, *Biotechnology Letters*, 28, 815–821 (2006)
- 【11】 Wang L., Takaku S., Wang P., Hu D., Hyuga S., Sato T., Yamagata S., Yamagata T. “Ganglioside GD1a regulation of caveolin-1 and Stim1 expression in mouse FBJ cells: Augmented expression of caveolin-1 and Stim1 in cells with increased GD1a content”, *Glycoconjugate Journal*, 23, 303–315 (2006)
- 【12】 Hu D., Tan X., Sato T., Yamagata S., Yamagata T. “Apparent suppression of MMP-9 activity by GD1a as determined by gelatin zymography”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 349, 426–431 (2006)
- 【13】 Yang Z.-H., Koyama Y., Sato T. “Characterization and cell transfection of pDNA/chitosan nanoparticles coated with hyaluronic acid”, *Polymer Preprints, Japan*, 55, 1860– (2006)
- 【14】 Tsuchiya Y., Ishii T., Okahata Y., Sato T. “Characterization of protamine as a transfection accelerator for gene delivery”, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 21, 519–537 (2006)
- 【15】 Sato T. “\*Construction of an oligosaccharide library by cultured cells for use in glyco-biotechnology, Nanotechnology in carbohydrate Chemistry”, *Transworld Research Network*, 167–173 (2006)

2007 年
--------

- 【16】 Sato T., Hatanaka K., Hashimoto H., Yamagata T. “Syntheses of oligosaccharides using cell function”, *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 19, 1–17 (2007)
- 【17】 Matsubara T., Iijima K., Nakamura M., Taki T., Okahata Y., Sato T. “Specific binding of GM1-binding peptides to high-density GM1 in lipid membranes”, *Langmuir*, 23, 708–714 (2007)
- 【18】 Zhu X., Sato T. “The distinction of underivatized monosaccharides using electrospray ionization ion trap mass spectrometry”, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 21, 191–198 (2007)
- 【19】 Matsubara T., Sato T. “Identification of oligosaccharide-recognition molecules by phage-display technology”, *Trends in Glycoscience and Glyco-technology*, 19, 133–145 (2007)
- 【20】 Wang P., Wu P., Zhang J., Sato T., Yamagata S., Yamagata T. “Positive regulation of tumor necrosis factor- $\alpha$  by ganglioside GM3 through Akt in mouse melanoma B16 cells”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 356, 438–

443 (2007)

- [21]** Hu D., Man Z., Wang P., Tan X., Wang X., Takaku S., Hyuga S., Sato T., Yao X., Yamagata S., Yamagata T. “Ganglioside GD1a negatively regulates matrix metalloproteinase-9 expression in mouse FBJ cell lines at the transcriptional level”, *Connective Tissue Research*, 48, 198–205 (2007)
- [22]** Iijima K., Matsubara T., Sato T. “Selective precipitation of salts on the surface of a gel state phosphatidylcholine membrane”, *Chemistry Letters*, 36, 860–861 (2007)
- [23]** Fujitani N., Shimizu H., Matsubara T., Ohta T., Komata Y., Miura N., Sato T., Nishimura S.-I. “Structural transition of a 15 amino acid residue peptide induced by GM1”, *Carbohydrate Research*, 342, 1895–1903 (2007)
- [24]** Wang P., Yang X., Wu P., Zhang J., Sato T., Yamagata S., Yamagata T. “GM3 signals regulating TNF-alpha expression are mediated by rictor and Arhgdib in mouse melanoma B16 cells”, *Oncology*, 73, 430–438 (2007)

2008 年

- [25]** Hashimoto M., Koyama Y., Sato T. “In vitro gene delivery by pDNA/chitosan complexes coated with anionic PEG derivatives that have a sugar side chain”, *Chemistry Letters*, 37, 266–267 (2008)
- [26]** Sato T., Takashiba M., Hayashi R., Zhu X., Yamagata T. “Glycosylation of dodecyl 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranoside and dodecyl beta-D-galactopyranosyl-(1->4)-2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranoside as saccharide primers in cells.”, *Carbohydrate Research*, 343, 831–838 (2008)
- [27]** Wang L., Wang Y., Sato T., Yamagata S., Yamagata T. “Ganglioside GD1 $\alpha$  suppresses TNF $\alpha$  expression via Pkn1 at the transcriptional level in mouse osteosarcoma-derived FBJ cells.”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 371, 230–235 (2008)
- [28]** Matsubara T., Iida M., Tsumuraya T., Fujii I., Sato T. “Selection of a carbohydrate-binding domain with a helix-loop-helix structure”, *Biochemistry*, 47, 6745–6751 (2008)
- [29]** Yamamoto N., Matsubara T., Sato T., Yanagisawa K. “Age-dependent high-density clustering of GM1 ganglioside at presynaptic neuritic terminals promotes amyloid beta-protein fibrillogenesis”, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1778, 2717–2726 (2008)
- [30]** T. Sato “Sugar chain synthesis by the use of cell function, T. Sato, Experimental Glycoscience Glycochemistry”, *Experimental Glycoscience Glycochemistry*, 166–168 (2008)

2) その他

2003年

- 【1】 佐藤 智典、遺伝子治療に利用される生体材料、未来材料、3, 16-24 (2003)
- 【2】 佐藤 智典、山形 達也 細胞による糖鎖ライブラリーの作製、蛋白質核酸酵素増刊、共立出版、vol. 48, pp 1213-1219 (2003)
- 【3】 佐藤 智典、グライコーム：糖質メタボローム、炎症と免疫、vol. 11, pp665-671 (2003)
- 【4】 Yagi Y, Mizuno M, Inazu T, Sato T Glycosylation of carbohydrate-amino acid type primer in cells、生化学 Vol.75 No.8 Page:1045( 2003 )
- 【5】 Goto M, Hachimura S, Ametani A, Sato T, Kumagai Y, Habu S, Totsuka M, Ishikawa H, Kaminogawa S、抗原の摂食は $\alpha\beta$  T細胞受容体トランスジェニックマウスにおける上皮内 CD4<sup>+</sup> T細胞の頻度および抗原特異的増殖能力を増加させる、Biosci Biotechnol Biochem Vol.67 No.6 Page:1223-1229( 2003 )

2004年

- 【6】 Sato T, Fujita S, Kasuya M, C Z, Hatanaka K, Yamagata T、センサーチップ上でのアジドグリコシドのディスプレイ、Chem Lett Vol.33 No.5 Page:580-581( 2004 )
- 【7】 佐藤 智典、グライコミクスを目指した糖鎖工学、化学と工業、57, 491-494(2004)
- 【8】 佐藤 智典、細胞に作らせる糖鎖ライブラリーとグライコミクスへの展開、日本農芸化学会誌、78, 480-482 (2004)

2005年

- 【9】 Kasuya Maria Carmelita Z., Ito Ayaka, Cusi Reuben, Sato Toshinori, Hatanaka Kenichi、フルオロ-両親媒性” グリコシドの細胞取り込みと糖鎖の伸張、Chem Lett Vol.34 No.6 Page:856-857 (J-STAGE)( 2005 )
- 【10】 佐藤 智典、動物細胞を利用した糖鎖合成、「糖鎖化学の最先端技術」シーエムシー出版、13-20(2005)
- 【11】 松原 輝彦、佐藤 智典、糖鎖工学 「図解 高分子新素材のすべて」、工業調査会、110-113(2005)
- 【12】 松原 輝彦、佐藤 智典、展開単分子膜を利用したオリゴ糖鎖結合性ペプチドの分子設計戦略、高分子加工、54、26-29(2005)
- 【13】 佐藤 智典、動物細胞を利用した糖鎖ライブラリーの合成と糖鎖マイクロアレイの開発、バイオインダストリー、Nov. 46-53(2005)
- 【14】 佐藤 智典、動物細胞の機能を利用した糖鎖合成、未来を拓く糖鎖科学、金芳堂、98-100 (2005)

2006年

- 【15】 Hu Dan, Tan Xuan, Sato Toshinori, Yamagata Sadako, Yamagata Tatsuya、ゼラチンザイモグラフィーにより決定した GD1a による MMP-9 活性の明らかな抑制、*Biochem Biophys Res Commun* Vol.349 No.1 Page:426-431( 2006 )
- 【16】 Iijima Kazutoshi, Matsubara Teruhiko, Sato Toshiori、ガングリオシド GM3 含有膜ミクロドメインの原子間力顕微鏡観察、*生物物理* Vol.46 No.Supplement 2 Page:S364( 2006 )
- 【17】 Briones Annabelle, Sato Toshinori 遺伝子デリバリーのための pDNA-PEI カラギーナン複合体の評価、*生化学* No.抄録 CD Page:A14208(4P-C-261)( 2006 )
- 【18】 佐藤 智典、糖鎖生命工学：細胞機能を利用したオリゴ糖鎖の合成、*野口研究所時報*、49,21-29(2006)

2007年

- 【19】 Zhu Xingyu, Sato Toshinori、エレクトロスプレイイオン化-イオントラップ質量分析法による非誘導体化単糖類の識別、*Rapid Commun Mass Spectrom* Vol.21 No.2 Page:191-198( 2007 )
- 【20】 Matsubara Teruhiko, Sato Toshinori、ファージ提示技術によるオリゴ糖鎖を認識する分子の同定、*Trends Glycoscience Glycotechnology* Vol.19 No.107 Page:133-145( 2007 )
- 【21】 佐藤 智典、グライコチップ (糖鎖アレイ)、ナノバイオ計測の実際、*講談社サイエンスティフィク*、pp42-51 (2007)
- 【22】 佐藤 智典、糖鎖からペプチドへ、ペプチド学会ニュースレター、No65, 1-3(2007)
- 【23】 松原 輝彦、佐藤 智典、C45. ファージディスプレイ法、分子間相互作用解析ハンドブック (実験医学別冊)、羊土社、 pp16-22 (2007)

2008年

- 【24】 Hashimoto Mayu, Koyama Yoshiyuki, Sato Toshinori、糖側鎖を持つアニオン性 PEG 誘導体により被覆した pDNA/キトサン複合体による *in vitro* 遺伝子デリバリー、*Chem Lett* Vol.37 No.3 Page:266-267 (J-STAGE) ( 2008 )

(2) 特許リスト

継続している特許出願について記載した。

発明の名称	ヘマグルチニン結合活性及びシアリダーゼ活性に対する阻害剤、及び、これを用いてウイルス又は微生物の感染を治療及び/又は予防する方法		
発明者	岡畑恵雄、佐藤智典、大平豊		
出願人	ダイキン工業株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP922398	JP922398	JP11209281	—

発明の名称	遺伝子導入用キャリアー、該キャリアーと遺伝子との複合体及び細胞への遺伝子導入方法		
発明者	佐藤智典、岡畑恵雄、勝見亮介		
出願人	焼津水産化学工業株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP33689398	JP33689398	JP2000157270	—

発明の名称	糖脂質に結合するペプチドの選別方法		
発明者	佐藤智典、岡畑恵雄、石川大、荻野晃一、瀧孝雄		
出願人	大塚製薬株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP76999	JP2000000460	JP2000253900	—

発明の名称	インフルエンザウイルス・ヘマグルチニン結合性ペプチド		
発明者	佐藤智典、石川大、田中理紀、荻野晃一、瀧孝雄		
出願人	大塚製薬株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP9196299	JP0001867	WO2000059932	—
		AU200033289	—
	EP00911385	EP1167382	—
	CA2365575	CA2365575	—

発明の名称	DNAの蛍光標識プローブ、蛍光標識プラスミド		
発明者	佐藤智典、岡畑恵雄		
出願人	東京工業大学長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2000100898	JP2000100898	JP2001289851	JP3425623
	FR0104491	FR2807432	FR2807432
	US81421801		US6608213

発明の名称	インフルエンザウイルス・ヘマグルチニン結合性ペプチド		
発明者	佐藤智典、石川大、田中理紀、荻野晃一、瀧孝雄		
出願人	学校法人慶應義塾、大塚製薬株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2001089457	JP2001089457	JP2002284798	—

発明の名称	医用高分子及びその用途		
発明者	佐藤智典、小山義之、山岡哲二		
出願人	学校法人慶應義塾		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2001362482	JP2002343256	JP2003231748	JP3493608
	JP0212420	WO2003046047	—
	EP02785959	EP1439199	—
	US85959804	US2005036973	—
	US46913603	US2004097659	—
	AU2002354070	AU2002354070	—

発明の名称	オリゴ糖鎖の生産方法		
発明者	佐藤智典、佐野恵海子		
出願人	学校法人慶應義塾、東レ株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2001103737	JP0203310	WO2002081723	—
	EP02708770	EP1384786	—

発明の名称	オリゴ糖鎖の生産方法		
発明者	佐藤智典、近藤哲司		
出願人	学校法人慶應義塾、東レ株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2002083787	JP2002083787	JP2003274989	—

発明の名称	オリゴ糖鎖の生産方法		
発明者	佐藤智典、近藤哲司		
出願人	学校法人慶應義塾、東レ株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2002083865	JP2002083865	JP2003274990	—

発明の名称	オリゴ糖鎖の生産方法		
発明者	佐藤智典、近藤哲司		
出願人	学校法人慶應義塾、東レ株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2002083905	JP2002083905	JP2003274993	—

発明の名称	新規擬似糖質、並びに新規擬似糖質を含む糖鎖合成用プライマーおよびグリコシダーゼ阻害剤		
発明者	小川誠一郎、青山弘、佐藤智典		
出願人	北興化学工業株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2002223000	JP2002223000	JP200459536	—

発明の名称	新規糖鎖プライマー		
発明者	佐藤智典		
出願人	有限会社グライコメディクス		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2003354295	JP2003354295	JP2005117918	—
	US92521004	US2005090655	—
	CA2542604	CA2542604	—
	IB2004004456	WO2005099338	—

発明の名称	核酸導入用キャリアー		
発明者	小山義之、伊藤智子、新留琢郎、佐藤智典、桑原愛		
出願人	日本油脂株式会社		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2003400000	JP2004176085	JP2005176830	—

発明の名称	インフルエンザウイルス感染抑制剤		
発明者	佐藤智典		
出願人	株式会社グライコメディクス		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2004003031	JP2004003031	WO2005084694	—
	EP04718765	EP1728515	—
		CN1938041	—
	EP04718765	EP1728515	—
	CA2559067	CA2559067	—

発明の名称	ヘマグルチニン結合ペプチド、インフルエンザウイルス感染阻害剤、リポソーム、インフルエンザ治療薬、インフルエンザ予防薬		
発明者	佐藤智典、松原輝彦		
出願人	株式会社グライコメディクス		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2004289074	JP2004289074	JP2006101709	—

発明の名称	インフルエンザウイルス感染阻害方法		
発明者	佐藤智典、松原輝彦		
出願人	株式会社グライコメディクス		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2005344531	JP2005344531	JP2007145777	—

発明の名称	オリゴ糖鎖合成方法		
発明者	佐藤智典、盛山優子、福田恵温、山本重人		
出願人	株式会社グライコメディクス、株式会社林原生物化学研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2006078584	JP2007067423	JP2007282630	—

### (3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
システム生物学者育成プログラム	2001-2005	科学技術振興調整費	文部科学省	研究代表者：岡 浩太郎	-	-
システム生物学による生命機能の理解と制御	2002-2006	21世紀COEプログラム 平成14年度採択拠点事業	慶應義塾大学 21世紀COEプログラム	研究代表者：柳川 弘志	-	細胞機能利用による網羅的糖鎖合成
細胞を用いた糖鎖合成と高機能高分子化	2003	科学研究費:基盤研究(B)(2)	日本学術振興会	畑中研一	-	糖鎖プライマーによる糖鎖合成を担当
分子進化ファージライブラリー法を用いた感染阻害剤の開発	2005-2008	科学研究費:基盤研究(B)(2)	日本学術振興会	研究代表者：佐藤智典	1340万円	-
インフルエンザの感染を阻害する糖鎖ミミックペプチドの開発	2005-2007	大学発事業創出実用化研究開発費助成金	NEDO (株)グライコム デイクス	研究代表者：佐藤智典	9000万円	-
細胞機能を利用したO-結合型糖鎖の合成を可能にする糖鎖プライマーの開発	2005-2006	萌芽研究	日本学術振興会	研究代表者：佐藤智典	330万円	-
糖鎖認識を利用した新たな遺伝子デリバリーシステムの構築と機能解析	2006	財団法人 武田科学振興財団	一般研究奨励	研究代表者：佐藤智典	200万円	-
糖鎖プライマー法を利用した白血病等の発現糖鎖パネル化と発現糖鎖プローブの開発による診断・治療への応用	2006-2009	厚生科研費	厚生労働省	研究代表者：藤本純一郎 国立成育医療センター研究所、副所長	-	糖鎖プライマー法を用いた糖鎖パネルの作成を担当
糖鎖機能活用技術開発	2006-2010	受託研究	NEDO	研究代表者：畑中研一	-	糖鎖機能を用いた糖鎖生産方法の改良と糖鎖機能の解析手法の開発を担当
ヒアルロン酸で被覆したキトサン微粒子へのタンパク質のカプセル化と機能評価	2006	コスメトロジー研究振興財団	-	研究代表者：佐藤智典	50万円	-
インフルエンザ感染阻害ペプチドの活性向上を目指した分子設計	2008	シーズ発掘試験	JST	研究代表者：佐藤智典	200万円	-
農水産資源である天然多糖を用いた新機能 DDS 材料の開発	2008-2009	地域イノベーション創出研究開発事業	関東経済産業局	研究代表者：野口 良平	-	多糖を用いた遺伝子のデリバリーシステムの開発を担当

#### (4) 報道リスト

見出し	出典	概要
経営ひと言／慶応義塾大学・佐藤智典教授「次は応用」	2003/03/17 日刊工業新聞	慶応義塾大学・佐藤智典教授は多種類の糖鎖の合成、収集を目指す研究を始めてから1年、ライブラリー化の可能性が見え、また既に基板上に多数の糖鎖を固定化する技術を開発済みで、今後は糖鎖に結合するたんぱく質の機能などを解析する糖鎖チップの開発への意欲を表明した。
慶応大、糖鎖を基板上に固定、検査・診断チップに応用へ。	2003/03/24 日経産業新聞	慶応義塾大学・佐藤智典教授らは、がんの発生や老化などで重要な役割を果たす糖鎖を基板上に固定する技術を開発した。細胞内の合成経路を利用して単糖から目的の糖鎖を作る手法の開発も進めており、将来的には自前で設計・合成した糖鎖を使ってチップを作る技術を完成させたいとしている。糖鎖が特定のたんぱく質とくっつく性質を利用する検査・診断用「糖鎖チップ」の開発につながる成果としている。
慶大、基板上に糖鎖を固定する手法確立－糖鎖チップ開発に前進	2003/02/25 日刊工業新聞	慶応義塾大学・佐藤智典教授らは基板表面につけた官能基と糖鎖の端につけた官能基を新たに合成した化合物でつなげ糖鎖を基板上に固定化する手法を確立した。糖を認識するたんぱく質が基板上の糖鎖と結合することも実証しており、特定の糖鎖に結合するたんぱく質の特定やその機能を網羅的に調べる糖鎖チップの開発につながると期待される。
慶応大／糖鎖プライマーで細胞の糖鎖合成モニターに成功	2003/03/31 日経バイオテク	3/18から3/21早稲田大学で開催された日本化学会で発表された慶応義塾大学・佐藤智典教授らの、糖鎖プライマーを用いた細胞内の糖鎖合成経路のモニター手法についての解説。糖鎖プライマーは培養細胞によりさまざまな糖を合成するが、生成する糖の違いから逆に細胞の分化（がん化）を知ることが出来る。この技術は、将来的にガンなどの診断に利用できる可能性がある。また糖鎖チップ用の糖鎖固定化技術の発表も行なった。
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(8)	2003/04/30 日本工業新聞	生研機構の2002年度終了課題「糖鎖ライブラリーの作製と糖鎖高分子の開発」での慶大・佐藤智典教授の研究内容の紹介記事。細胞をオリゴ糖鎖の工場として利用し、糖鎖ライブラリーを構築、得られた糖鎖の機能解析、優れた機能を有した糖鎖を素材とした機能性糖鎖高分子を作製、糖鎖を自由に供給し新たな産業の創出を目指した。成果として細胞を用いて各種の糖鎖を合成する「糖鎖プライマー法」を提唱し、マイクロキャリア法による細胞の大量培養し、生成物の大部分が単離可能であることを示した。
非ウイルスベクター実用化へ研究活性化	2003/06/24 日刊工業新聞	慶応大学・佐藤智典教授らは天然由来のキトサンを利用して非ウイルスベクターを開発している。キトサンを2万程度に小型化し、100個程度の糖鎖を結合させて水への溶解性を上げて細胞に取り込ませる。
慶大、細胞内合成糖鎖を基板に高密度固定化－プライマーを利用	2004/03/05 日刊工業新聞	慶応大学・佐藤智典教授らは細胞内で合成した多数の糖鎖を基板上で高密度に張り付ける手法を開発した。糖鎖はがんや糖尿病等さまざまな病気のシグナルとして機能し糖鎖チップの開発が期待される。現在70種類程度の糖鎖が細胞を使って合成されるが、更に多くの種類の糖鎖を作製して糖鎖チップの作製を目指す。
グライコメディクス、慶応大／糖鎖ミミックペプチドでウイルス感染阻止	2004/12/20 日経バイオテク	慶大・佐藤智典教授の研究成果から起業したベンチャー・グライコメディクスの紹介記事。糖鎖プライマー法で既存法よりはるかに低コストで細胞に種々の糖鎖を生産させる技術を開発、糖鎖の技術を活用してインフルエンザ、B型肝炎、C型肝炎などの感染症の治療薬を標的とする一方、糖鎖のライブラリー化やチップ化等研究を支援する製品やサービスの販売も計画している。

見出し	出典	概要
慶大教授ら、糖鎖でウイルス感染抑制、創薬支援など事業化。	2005/02/15 日経産業新聞	慶応義塾大学・佐藤智典教授らはベンチャーキャピタルのバイオテック・ヘルスケア・パートナーズの支援を受けグライコメディクス設立し糖鎖の技術を使った創薬支援事業を始める。「糖鎖ライブラリー」の作成や提供、糖鎖機能を探索するためのスクリーニング技術を事業化し、将来的にはライブラリーとスクリーニング技術を活用した抗ウイルス治療及び予防薬開発も手がける。
慶応大教授佐藤智典氏—糖鎖工学使った創薬で起業（大学VB人知を生かす）	2005/03/10 日経産業新聞	慶応大学の佐藤智典教授の紹介記事。糖鎖工学や薬物送達システム（DDS）の専門家。多糖を利用した制がん剤のDDS研究、最近ではインフルエンザウイルスが細胞内侵入を防ぐ新規抗インフルエンザ物質の研究に従事。「糖鎖プライマー」動物細胞に与えて各種の糖鎖製造法を開発し、「糖鎖ライブラリー」や「糖鎖チップ」の開発で日本の糖鎖研究の最前線を走る。
特集1—糖鎖はこう使う！—進化した糖鎖の基盤技術 鍵は糖鎖ライブラリー	2005/05/15 日経バイオビジネス	糖鎖研究に関する解説記事。糖鎖ライブラリーや分析技術等の研究基盤の重要性、ライブラリー作製のための酵素合成法や分析技術及びそれらの受託企業、世界の研究動向等に関する解説。グライコメディクスは佐藤智典教授が開発した、培養細胞を使って糖鎖を生産する技術「糖鎖プライマー法」をコアテクノロジーとして、糖鎖ライブラリーの提供や、医薬品の開発を目指す企業として紹介されている。
DDSへの期待—Road to Practical Applications 第21回 日本DDS学会総会	2005/07/11 Medical AcademyN	第21回日本DDS学会総会が7/22,23、長崎県佐世保市・ハウステンボスJR全日空ホテルで開催され慶応大学の佐藤智典教授はワークショップ「ターゲティング・遺伝子デリバリー」の司会を北海道大学大学院・原島秀吉教授と共に務めた。
	2005/07/20 薬事日報	
慶応大学、グライコメディクス—ウイルスと薬結合（点検大学発VB）	2006/12/19 日経産業新聞	グライコメディクスは慶応大学の佐藤智典教授の「糖鎖プライマー法」技術をもとに2004年設立された。インフルエンザの抗ウイルス剤の研究が昨年秋からNEDOのマッチングファンドに採択され加速している。薬剤は糖鎖とペプチドとを結合させたもので、ウイルスの細胞内への侵入を防ぐ。マウスの実験で同剤による延命効果を確認した。
インフルエンザ気道でブロック、慶大、細胞に感染させぬ薬開発。	2007/10/08 日本経済新聞	慶応義塾大学の佐藤智典教授は、同大発ベンチャーのグライコメディクスと共同で、新しい仕組みで作用する抗インフルエンザウイルス薬を開発。ウイルスの糖鎖認識部分に「ペプチド」という物質を結合させ体内の細胞内に侵入するのを防ぐ。従来の抗インフル剤「タミフル」などはウイルスの細胞の出口を止め、ウイルスの増殖を抑える。動物で安全性などを調べた後、来年にも臨床試験に入る計画。
グライコメディクス年内にインフルエンザ感染阻害剤のIND申請	2008/06/16 日経産業新聞 化学工業日報	研究開発型創薬ベンチャーのグライコメディクスは慶応大理工学部 の佐藤智典教授が開発した「糖鎖構造を擬態したペプチド合成法」 によって探索・開発された新規化合物でインフルエンザ感染阻害剤 「GM04-001」の感染動物モデルでの薬効試験を年内に実施し、今 年度末ごろには国内外でのIND（新薬臨床試験開始届）申請を行う と発表した。
	2008/06/18 日刊薬業 薬事日報	

## 9. (松本直幸) 病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療

### (1) 論文リスト

2003年

- [1] Suzuki K., Sasaki A., Kanematsu S., Matsumoto N., Yoshida K. “Transmissibility of viral double-stranded RNA between strains of the violet root rot fungus *Helicobasidium mompa* and the potential for viral dsRNA infection to this fungus using monokaryotic strains”, *Mycoscience*, 44, 139–147 (2003)
- [2] Ikeda K.-I., Nakamura H., Matsumoto N. “Mycelial incompatibility operative in pairings between single basidiospore isolates of *Helicobasidium mompa*”, *Mycological Research*, 107, 847–853 (2003)
- [3] Nomura K., Osaki H., Iwanami T., Matsumoto N., Ohtsu Y. “Cloning and characterization of a totivirus double-stranded RNA from the plant pathogenic fungus, *Helicobasidium mompa* Tanaka”, *Virus Genes*, 26, 219–226 (2003)
- [4] Wei C.Z., Osaki H., Iwanami T., Matsumoto N., Ohtsu Y. “Molecular characterization of dsRNA segments 2 and 5 and electron microscopy of a novel reovirus from a hypovirulent isolate, W370, of the plant pathogen *Rosellinia necatrix*”, *Journal of General Virology*, 84, 2431–2437 (2003)

2004年

- [5] Wei C.Z., Osaki H., Iwanami T., Matsumoto N., Ohtsu Y. “Complete nucleotide sequences of genome segments 1 and 3 of *Rosellinia anti-rot virus* in the family Reoviridae”, *Archives of Virology*, 149, 773–777 (2004)
- [6] Ikeda K.-I., Nakamura H., Matsumoto N. “Erratum: Hypovirulent strain of the violet root rot fungus *Helicobasidium mompa* (Journal of General Plant Pathology (2003) 69 (385-390))”, *Journal of General Plant Pathology*, 70, 143 (2004)
- [7] Ikeda K.-I., Nakamura H., Arakawa M., Matsumoto N. “Diversity and vertical transmission of double-stranded RNA elements in root rot pathogens of trees, *Helicobasidium mompa* and *Rosellinia necatrix*”, *Mycological Research*, 108, 626–634 (2004)
- [8] Nakamura H., Ikeda K.-I., Arakawa M., Akahira T., Matsumoto N. “A comparative study of the violet root rot fungi, *Helicobasidium brebissonii* and *H. mompa*, from Japan”, *Mycological Research*, 108, 641–648 (2004)
- [9] Osaki H., Nomura K., Matsumoto N., Ohtsu Y. “Characterization of double-stranded RNA elements in the violet root rot fungus *Helicobasidium mompa*”, *Mycological Research*, 108, 635–640 (2004)

- 【10】 Kanematsu S., Arakawa M., Oikawa Y., Onoue M., Osaki H., Nakamura H., Ikeda K., Kuga-Uetake Y., Nitta H., Sasaki A., Suzaki K., Yoshida K., Matsumoto N. “A reovirus causes hypovirulence of *Rosellinia necatrix*”, *Phytopathology*, 94, 561–568 (2004)
- 【11】 Matsumoto N. “Population biology of individualistic plant pathogenic fungi and its application to disease control”, *Journal of General Plant Pathology*, 70, 382–384 (2004)

2005 年

- 【12】 Ikeda K.-I., Nakamura H., Arakawa M., Toshiyuki Koiwa, Matsumoto N. “Dynamics of double-stranded RNA segments in a *Helicobasidium mompa* clone from a tulip tree plantation”, *FEMS Microbiology Ecology*, 51, 293–301 (2005)
- 【13】 Osaki H., Nakamura H., Nomura K., Matsumoto N., Yoshida K. “Nucleotide sequence of a mitochondrial RNA virus from the plant pathogenic fungus, *Helicobasidium mompa* Tanaka”, *Virus Research*, 107, 39–46 (2005)
- 【14】 Suzaki K., Ikeda K.-I., Sasaki A., Kanematsu S., Matsumoto N., Yoshida K. “Horizontal transmission and host-virulence attenuation of totivirus in violet root rot fungus *Helicobasidium mompa*”, *Journal of General Plant Pathology*, 71, 161–168 (2005)
- 【15】 Ikeda K.-I., Nakamura H., Matsumoto N. “Comparison between *Rosellinia necatrix* isolates from soil and diseased roots in terms of hypovirulence”, *FEMS Microbiology Ecology*, 54, 307–315 (2005)

2006 年

- 【16】 Fukuhara T., Koga R., Aoki N., Yuki C., Yamamoto N., Oyama N., Udagawa T., Horiuchi H., Miyazaki S., Higashi Y., Takeshita M., Ikeda K., Arakawa M., Matsumoto N., Moriyama H. “The wide distribution of endornaviruses, large double-stranded RNA replicons with plasmid-like properties”, *Archives of Virology*, 151, 995–1002 (2006)
- 【17】 Osaki H., Nakamura H., Sasaki A., Matsumoto N., Yoshida K. “An endornavirus from a hypovirulent strain of the violet root rot fungus, *Helicobasidium mompa*”, *Virus Research*, 118, 143–149 (2006)

2008 年

- 【18】 Matsumoto N. “Mycovirus vs. fungal individualism”, *PSJ Plant Virus Dis. Rept.*, 9, 19–24 (2008)

2) その他

- 【1】 真菌ウイルス対真菌の個人主義、MATSUMOTO Naoyuki、植物ウイルス病研究会レポート No.9 Page:19-25(2008)

(2) 特許リスト

継続している特許出願について記載した。

発明の名称	土壌の病害抑止性の評価方法		
発明者	松本直幸、横山和成		
出願人	農林水産省農業環境技術研究所長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP1998334040	JP1998334040	JP2000157258	—

発明の名称	病原性が低い紫紋羽病菌菌株分離株 V-70 およびそれを含む紫紋羽病防除剤		
発明者	松本直幸、岡部郁子、植竹ゆかり、須崎浩一、吉田幸二		
出願人	農林水産省農業環境技術研究所長、生物系特定産業技術研究推進機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP1999260062	JP1999260062	JP2001078752	JP3231744

発明の名称	ベクターモノカリオンを用いた紫紋羽病菌に対する新規な dsRNA 導入法		
発明者	須崎浩一、吉田幸二、兼松聡子、大崎秀樹、松本直幸、佐々木厚子、宮西征揮、植竹ゆかり、中村仁		
出願人	独立行政法人農業技術研究機構、生物系特定産業技術研究推進機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2000266083	JP2000266083	JP2002065279	JP3692395

発明の名称	病原性低下因子を含む白紋羽病菌分離株 W370		
発明者	松本直幸、岡部郁子、荒川征夫、中村仁、植竹ゆかり		
出願人	独立行政法人農業環境技術研究所、生物系特定産業技術研究推進機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2001016569	JP200116569	JP2002218968	JP3594905

(3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額	備考
病原菌を病気にする果樹類紋羽病生物防除法の開発	2003-2005	平成15年度先端技術を活用した農林水産研究高度化事業	農林水産省地域研究課	研究代表者：吉田幸二	-	-
温水処理と微生物資材を併用した果樹類白紋羽病の治療法	2006-2008	平成19年度先端技術を活用した農林水産研究高度化事業	農林水産省地域研究課	研究代表者：中村仁	-	-
果樹の紋羽病等難防除病害抑制のための要素技術の開発	2006-2007	-	交付金	-	-	佐々木厚子、兼松聡子、中村仁、島根孝典、吉田幸二

#### (4) 報道リスト

見出し	出典	概要
生研機構、98年度の新規課題を決定。高機能性脂質食品素材など9件	1998/08/12 日刊工業新聞	平成10年度生研機構の産業創出事業の採択テーマ「病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療」(研究代表者: 農業環境技術研究所・松本直幸氏)の研究構想の紹介。果樹類の土壌伝染性病害である紋羽病の防除を病原性低下因子(dsRNA)に感染させた弱病原性菌を接触させ、野生株にdsRNAを感染させ病気を治療する遺伝子治療を計画。治療効果の高いdsRNAの探索・評価、強病原性株への効率的なdsRNA導入法を開発、広範囲な細胞質に和合性を有する接種源(ユニバーサルイノキュラム)を作成を行なう。本治療法の効果は半永久的、他の生物に拡散することはなく、しかも経済効果大。
	1998/09/03 日本工業新聞	
生物機能で産業創出: 生研機構の2002年度終了課題(9)	2003/05/14 日本工業新聞	平成10年度生研機構の産業創出事業の採択テーマ「病原性低下因子利用による果樹類紋羽病の遺伝子治療」(研究代表者: 農業環境技術研究所・松本直幸氏)の研究成果の紹介。果樹類紋羽(もんば)病の防除を菌類・ウイルスに由来する病原性低下因子(dsRNA)を利用、dsRNAに感染させた培養菌(ユニバーサルイノキュラム)を野生株にdsRNAを感染させることで病気を治療しようとするものである。本研究では、(1)治療効果の高いdsRNAの探索・評価(2)野生株への効率的なdsRNA導入法(3)病原性低下因子の機能解明(4)ユニバーサルイノキュラム作成を目標とした。研究では病原力の低下した菌株を作出し、精製ウイルスやcDNAをプロトプラストを介して任意の菌にdsRNAを導入する系を確立した。現在ユニバーサルイノキュラム作出を推進中。
果樹の紋羽病防除に新手 効果は半永久的/農業環境技術研究所	2003/01/29 日本農業新聞	1月28日農業環境技術研究所・松本直幸微生物生態ユニット研究リーダーは果樹研究会病害研究会で、果樹類の難防除病害である紋羽病に、“遺伝子治療”を導入する可能性について講演した。病原菌の活動を弱める遺伝子を使って発病樹の治療する方法で生研機構の研究課題。実現すれば効果は半永久的。まだ基礎研究の段階で、今後現場での効果を実証していく考え。
白紋羽病菌の病原力を低下させる菌類レオウイルス	2007/12/11 農林水産技術会議ホームページ	弱い病原力の白紋羽病菌 W370 株から分離したレオウイルスは、白紋羽病菌の強病原力株に感染させると、感染菌株の病原力を低下させる。
果樹類白紋羽病菌への純化菌類ウイルス人工接種系の確立	2008/12/22 農林水産技術会議ホームページ	果樹類の白紋羽病菌に含まれている菌類ウイルスの純化粒子は、白紋羽病菌をプロトプラストにして人工接種することにより感染させることができる。
紋羽病菌に見出された菌類ウイルス由来の病原力低下因子の発見	2008/04/08 農林水産技術会議ホームページ	紫紋羽病菌および白紋羽病菌は、菌類ウイルスに由来する病原力低下因子(dsRNA)を持っている。病原力低下因子を含んだ菌株は病原力が低下しているため、果樹類紋羽病生物防除への利用ができる。

## 10. (大谷敏郎、杉山滋) ナノ FISH 法の開発

### (1) 論文リスト

#### 1) 原著論文

2003 年

- [1] Muramatsu H., Kim J.M., Sugiyama S., Ohtani T. “Simultaneous multicolor fluorescence imaging by scanning near-field optical/atomic force microscopy”, *Review of Scientific Instruments*, 74, 100–103 (2003)
- [2] Shichiri M., Fukushi D., Sugiyama S., Yoshino T., Ohtani T. “Analysis by atomic force microscopy of morphological changes in barley chromosomes during FISH treatment”, *Chromosome Research*, 11, 65–71 (2003)
- [3] Liu X.Q., Sugiyama S., Xu Q.Y., Kobori T., Hagiwara S., Ohtani T. “Atomic force microscopy study of chromosome surface structure changed by protein extraction”, *Ultramicroscopy*, 94, 217–223 (2003)
- [4] Sugiyama S., Yoshino T., Kanahara H., Kobori T., Ohtani T. “Atomic force microscopic imaging of 30 nm chromatin fiber from partially relaxed plant chromosomes”, *Scanning*, 25, 132–136 (2003)
- [5] Nakao H., Gad M., Sugiyama S., Otobe K., Ohtani T. “Transfer-printing of highly aligned DNA nanowires”, *Journal of the American Chemical Society*, 125, 7162–7163 (2003)
- [6] Yoshino T., Sugiyama S., Hagiwara S., Fukushi D., Shichiri M., Nakao H., Kim J.-M., Hirose T., Muramatsu H., Ohtani T. “Nano-scale imaging of chromosomes and DNA by scanning near-field optical/atomic force microscopy”, *Ultramicroscopy*, 97, 81–87 (2003)
- [7] Fukushi D., Shichiri M., Sugiyama S., Yoshino T., Hagiwara S., Ohtani T. “Scanning near-field optical/atomic force microscopy detection of fluorescence in situ hybridization signals beyond the optical limit”, *Experimental Cell Research*, 289, 237–244 (2003)
- [8] Nakao H., Shiigi H., Yamamoto Y., Tokonami S., Nagaoka T., Sugiyama S., Ohtani T. “Highly Ordered Assemblies of Au Nanoparticles Organized on DNA”, *Nano Letters*, 3, 1391–1394 (2003)
- [9] Hagiwara S., Hageshita S., Seki K., Saito T., Shiga T., Ohtani T. “Ultra-weak photon emission from roasted sesame oil at different roasting temperatures and different qualities”, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 50, 303–309 (2003)
- [10] Kobori T., Yoshino T., Sugiyama S., Ohtani T. “Hierarchical chromatin structure of *Schizosaccharomyces pombe* revealed by atomic force microscopy”, *Current Microbiology*, 47, 404–407 (2003)

- 【11】 Sasou M., Sugiyama S., Yoshino T., Ohtani T. “Molecular flat mica surface silanized with methyltrimethoxysilane for fixing and straightening DNA”, *Langmuir*, 19, 9845–9849 (2003)
- 【12】 Gad M., Sugiyama S., Ohtani T. “Method for Patterning Stretched DNA Molecules on Mica Surfaces by Soft Lithography”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 21, 387–393 (2003)

2004 年
--------

- 【13】 Sugiyama S., Yoshino T., Kanahara H., Shichiri M., Fukushi D., Ohtani T. “Effects of acetic acid treatment on plant chromosome structures analyzed by atomic force microscopy”, *Analytical Biochemistry*, 324, 39–44 (2004)
- 【14】 Kim J.M., Ohtani T., Muramatsu H. “25 nm resolution single molecular fluorescence imaging by scanning near-field optical/atomic force microscopy”, *Surface Science*, 549, 273–280 (2004)
- 【15】 Matsui K., Kiryu Y., Komatsuda T., Kurauchi N., Ohtani T., Tetsuka T. “Identification of AFLP makers linked to non-seed shattering locus (sht1) in buckwheat and conversion to STS markers for marker-assisted selection”, *Genome*, 47, 469–474 (2004)
- 【16】 Kim J., Hirose T., Sugiyama S., Ohtani T., Muramatsu H. “Visualizing a hybridized PNA probe on a DMA molecule with near-field optical microscopy”, *Nano Letters*, 4, 2091–2097 (2004)

2005 年
--------

- 【17】 Elmesiry G.E., Okai S., Hokabe S., Minoshima S., Sugiyama S., Yoshino T., Ohtani T., Shimizu N., Kato M. “Isolation and characterization of simple repeat sequences from the yellow fin sea bream *Acanthopagrus latus* (Sparidae)”, *Molecular Biology Reports*, 32, 117–126 (2005)
- 【18】 Nakao H., Hayashi H., Iwata F., Karasawa H., Hirano K., Sugiyama S., Ohtani T. “Fabricating and aligning -conjugated polymer-functionalized DNA nanowires: Atomic force microscopic and scanning near-field optical microscopic studies”, *Langmuir*, 21, 7945–7950 (2005)
- 【19】 Suetsugu Y., Tsukamoto K., Shichiri M., Yoshino T., Sugiyama S., Kuwazaki S., Takahashi H., Narukawa J., Ohtani T., Yamamoto K. “The scanning probe microscope as a novel genomic analysis tool”, *Nanobiotechnology*, 1, 369–378 (2005)
- 【20】 Ohtani T., Sugiyama S. “Imaging and manipulation of biomaterials in nano-meter scale by scanning probe microscopy”, *Polymer Preprints, Japan*, 54, 5083–

## 2006 年

- 【21】 Kobori T., Kodama M., Hizume K., Yoshimura S.H., Ohtani T., Takeyasu K. “Comparative structural biology of the genome: Nano-scale imaging of single nucleus from different kingdoms reveals the common physicochemical property of chromatin with a 40 nm structural unit”, *Journal of Electron Microscopy*, 55, 31–40 (2006)
- 【22】 Tsukamoto K., Kuwazaki S., Yamamoto K., Ohtani T., Sugiyama S. “Dissection and high-yield recovery of nanometre-scale chromosome fragments using an atomic-force microscope”, *Nanotechnology*, 17, 1391–1396 (2006)
- 【23】 Tsukamoto K., Kuwazaki S., Yamamoto K., Shichiri M., Yoshino T., Ohtani T., Sugiyama S. “Nanometer-scale dissection of chromosomes by atomic force microscopy combined with heat-denaturing treatment”, *Japanese Journal of Applied Physics, Part 1: Regular Papers and Short Notes and Review Papers*, 45, 2337–2340 (2006)
- 【24】 Sugiyama S., Yoshino T., Tsukamoto K., Sasou M., Kuwazaki S., Takahashi H., Suetsugu Y., Narukawa J., Yamamoto K., Ohtani T. “Application of scanning probe microscopy to genetic analysis”, *Japanese Journal of Applied Physics, Part 1: Regular Papers and Short Notes and Review Papers*, 45, 2305–2309 (2006)
- 【25】 Ayoub A., Ohtani T., Sugiyama S. “Atomic force microscopy investigation of disorder process on rice starch granule surface”, *Starch/Staerke*, 58, 475–479 (2006)

## 2007 年

- 【26】 Kobori T., Iwamoto S., Takeyasu K., Ohtani T. “Chromatin dynamics of unfolding and refolding controlled by the nucleosome repeat length and the linker and core histones”, *Biopolymers*, 85, 295–307 (2007)
- 【27】 Narukawa J., Yamamoto K., Ohtani T., Sugiyama S. “Imaging of silkworm meiotic chromosome by atomic force microscopy”, *Scanning*, 29, 123–127 (2007)

## 2008 年

- 【28】 Wakayama J., Sekiguchi H., Akanuma S., Ohtani T., Sugiyama S. “Methods for reducing nonspecific interaction in antibody-antigen assay via atomic force microscopy”, *Analytical Biochemistry*, 380, 51–58 (2008)

## 2009 年

- 【29】 Kobori, S., Matsumoto, A., Sugiyama, S. “pH-Dependent interaction between sodium caseinate and xanthan gum”, *Carbohydrate Polymers*, 75, 719–723 (2009)

2) その他

2003年

- 【1】 原子間力顕微鏡によるゲノムのナノ計測、大谷敏郎、化学と生物 Vol.41 No.2 Page:129-135(2003)
- 【2】 食品や生体試料のナノレベルでの画像計測、大谷敏郎、つくば科学写真研究会会報 Vol.13 No.2 Page:2-6(2003)
- 【3】 生物分野でのナノテクノロジー 2 原子間力顕微鏡を用いた食品・生体のナノ計測原子間力顕微鏡(AFM)を用いた食品・バイオのナノ計測、大谷敏郎、味噌の科学と技術 Vol.51 No.5 Page:148-155(2003)、大谷敏郎、食品と開発 Vol.38 No.2 Page:11-14(2003)
- 【4】 光プローブ顕微鏡による DNA・染色体のナノ FISH法の開発、大谷敏郎、萩原昌司、小堀俊郎、食品研究成果情報 No.15 Page:30-31(2003)
- 【5】 走査プローブ顕微鏡の生物学への寄与 SNOM/AFM の生物試料への応用、吉野智之、大谷敏郎、電子顕微鏡 Vol.38 No.2 Page:94-97(2003)
- 【6】 液体清澄化技術—産業用水処理—施設園芸用水の膜処理技術、大谷敏郎、用水と廃水 Vol.45 No.7 Page:647-653(2003)

2004年

- 【7】 ナノ・マイクロテクノロジーと食品 生体と食品のナノ計測—走査型プローブ顕微鏡による解析手法、杉山滋、吉野智之、大谷敏郎、食品工業 Vol.47 No.14 Page:45-54(2004)
- 【8】 DNA 伸張固定制御とバイオ分子デバイスへの展開、中尾秀信、大谷敏郎 未来材料 Vol.4 No.10 Page:14-21(2004)
- 【9】 目で見えるバイオ 光プローブ顕微鏡で DNA の特定部位を見る、吉野智之、大谷敏郎、バイオサイエンスとインダストリー Vol.62 No.12 Page:791-792(2004)

2005年

- 【10】 走査プローブ顕微鏡応用によるゲノム解析支援技術の開発、杉山滋、大谷敏郎、食品総合研究所研究ニュース No.12 Page:2-3(2005)
- 【11】 走査型プローブ顕微鏡による生体と食品のナノレベル計測、大谷敏郎、杉山滋、食糧その科学と技術 No.43 Page:17-31(2005)
- 【12】 原子間力顕微鏡(AFM)による染色体の切断および回収、塚本和己、桑崎誠剛、山本公子、七里元晴、吉野智之、大谷敏郎、杉山滋、表面科学 Vol.26 No.7 Page:404-409(2005)

- 【13】 染色体微細構造上における特定遺伝子可視化、金城康人,小山元子,宮崎則幸,七里元晴,吉野智之,大谷敏郎、東京都立産業技術研究所研究報告 No.8 Page:35-38(2005)

2006年

- 【14】 原子間力顕微鏡による抗体抗原反応測定のための新しい方法 若山純一,赤沼哲史,関口博史,大谷敏郎,杉山滋、ブレインテクノニュース、No.113 Page:26-31(2006)
- 【15】 原子間力顕微鏡を応用した新規な抗原抗体反応測定システムの構築、杉山滋,若山純一,小堀俊郎,大谷敏郎、食品研究成果情報 No.18 Page:30-31(2006)
- 【16】 X Y Z系微弱発光法における計測条件と解析方法の検討、齋藤高弘,高橋大輔,はぎ原昌司,大谷敏郎,志賀徹、生態工学 Vol.18 No.3 Page:125-130(2006)

2007年

- 【17】 -知っておきたい新計測法-8)光を検出・利用した走査型顕微鏡(SNOM など) 走査型近接場光学顕微鏡による高分解能 FISH 法、山内武志,吉野智之,桑崎誠剛,末次克行,山本公子,大谷敏郎,杉山滋、表面科学 Vol.28 No.9 Page:536-538(2007)
- 【18】 走査プローブ顕微鏡技術のゲノム解析及びタンパク質相互作用解析への応用、杉山滋,塚本和己,桑崎誠剛,若山純一,高橋宏和,末次克行,生川潤子,山本公子,大谷敏郎、生化学 No.抄録 CD Page:3P-1197(2007)
- 【19】 二色同時計測-走査型近接場光学原子間力顕微鏡による BAC クローン高分解能マッピング、山内武志,桑崎誠剛,末次克行,山本公子,大谷敏郎,杉山滋、生化学 No.抄録 CD Page:3P-1200(2007)
- 【20】 原子間力顕微鏡による染色体切断回収領域の増大化およびコンタミネーション DNA 削減の検討、塚本和己,高橋宏和,桑崎誠剛,山本公子,大谷敏郎,杉山滋、生化学 No.抄録 CD Page:3P-1198(2007)
- 【21】 SPMダイレクトゲノム解析法のための Web ベース配列解析支援ツールの開発、末次克行,高橋宏和,生川潤子,桑崎誠剛,塚本和己,三田和英,大谷敏郎,杉山滋,山本公子、生化学 No.抄録 CD Page:3P-1199(2007)
- 【22】 近接マーカー評価のためのカイコファイバーFISH 法の開発 桑崎誠剛,山内武志,三田和英,大谷敏郎,杉山滋,山本公子、生化学 No.抄録 CD Page:3P-1201(2007)

2008年

- 【23】 食品の安全性及び機能性に関する総合研究—機能性—第1編 健全な食生活による生活習慣病予防のための研究開発、大谷敏郎,杉山滋,小堀俊郎,吉野智之、農林水産省農林水産技術会議事務局研究成果 No.446 Page:253-257(2008)
- 【24】 食品技術とナノテクノロジー (シリーズ:ナノテクノロジー (その1))、中嶋光敏,大谷敏郎、食品と技術 No.443 Page:1-11(2008)
- 【26】 若山純一、杉山滋、食品ナノバイオテクノロジー、食品技術総合事典(朝倉書店)

- 【27】 杉山滋、若山純一、ナノバイオテクノロジーの応用による食品計測、食品と技術  
No.444 Page: 7-16 (2008)

2009年
-------

- 【28】 塚本和己、高橋宏和、大谷敏郎、杉山滋、走査型プローブ顕微鏡による染色体の物理地図構築技術、平成20年度食品試験研究成果情報、Page: 30-31 (2009)
- 【29】 若山純一、杉山滋、走査型プローブ顕微鏡によるアレルギー検出技術の開発、食糧、47 (2009)

## (2) 特許リスト

継続している特許出願について記載した。

発明の名称	遺伝子解析方法及び装置		
発明者	大谷敏郎、萩原昌司、乙部和紀、廣瀬玉紀、村松宏、山本典孝		
出願人	セイコーインスツルメンツ株式会社、農林水産省食品総合研究所長		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP34751399	JP34751399	JP2001165840	-

発明の名称	DNA計測用基板の作製方法		
発明者	乙部和紀、中尾秀信、大谷敏郎、林英樹		
出願人	独立行政法人農業技術研究機構、独立行政法人食品総合研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2001225410	JP2001225410	JP2003043036	JP3548803

発明の名称	DNAの伸長固定方法		
発明者	大谷敏郎、杉山滋、吉野智之		
出願人	独立行政法人食品総合研究所、生物系特定産業技術研究推進機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2002289848	JP 2002289848	JP2004121096	JP3749887

発明の名称	DNAを伸長、固定する方法		
発明者	大谷敏郎、杉山滋、吉野智之、佐宗めぐみ		
出願人	独立行政法人食品総合研究所、生物系特定産業技術研究推進機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2002289855	JP2002289855	JP2004125601	JP3683246

発明の名称	平滑性を損なわない基板および基板表面の改質方法		
発明者	大谷敏郎、佐宗めぐみ、杉山滋		
出願人	独立行政法人食品総合研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2003291198	JP2003291198	JP200560759	JP3997303

発明の名称	ゲノム塩基配列を解読する方法及び装置並びにゲノム物理地図を作成する方法及び装置		
発明者	大谷敏郎、山本公子、杉山滋		
出願人	独立行政法人食品総合研究所、独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2003341475	JP 2003341475	JP2005102613	-

発明の名称	ゲノム物理地図作成法及び作成装置		
発明者	大谷敏郎、山本公子、杉山滋		
出願人	独立行政法人食品総合研究所、独立行政法人農業生物資源研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2003341476	JP 2003341476	JP2005102614	-

発明の名称	染色体の微小領域を回収する方法		
発明者	杉山滋、塚本和己、大谷敏郎		
出願人	独立行政法人食品総合研究所		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2004319230	JP 2004319230	JP2006129717	-

発明の名称	抗原抗体反応の検出方法及び抗原抗体反応検出用キット		
発明者	杉山滋、若山純一、関口博史、佐宗めぐみ、大谷敏郎		
出願人	独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構		
優先権主張番号	出願番号	公開番号	成立番号
JP2005336594	JP 2005336594	JP2007139681	-

### (3) グラントリスト

採択課題名	期間	研究資金名	種別	役職	金額
SPM ダイレクトゲノム解析法の開発	2003-2007	新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業	生物系特定産業技術研究支援センター	研究代表者：大谷敏郎（農林水産省食品総合研究所）	441,000千円
物性・生体情報ナノマッピングシステム（機能性ナノプローブ）	2003-2007	基盤技術研究促進事業	NEDO	研究代表者：大谷敏郎、杉山滋	-
染色体の構造と機能解明のためのナノデバイスに関する総合研究「新しいナノテクノロジーの染色体解析への展開」	2000-2005	科学振興調整費総合研究	文部科学省	研究担当者：大谷敏郎	-
食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発	2007-2011	農林水産技術会議	農林水産省	研究代表者：杉山滋	-

### (4) 報道リスト

見出し	出典	概要
食総研、主婦や学生向けに講演会を開催、科学技術週間で	1998/04/07 化学工業日報	農林水産省・食品総合研究所（食総研）では、4月15日主婦や学生を対象に「私が考える食品の形と働き」をテーマに講演会を開催する。この中で計測研究室・大谷敏郎氏は「知らなかった“微”の世界」と題する講演を行なう。
生研機構、99年度「新技術・新分野創出の基礎研究推進事業」の新規課題を決定	1999/08/02 化学工業日報 日刊工業新聞	平成11年度生研機構の「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」に採択された「ナノ FISH 法の開発⑤」（代表者：食品総合研究所・大谷敏郎氏）の研究計画の紹介。従来の FISH 法の光学的限界を克服し、特定の DNA 配列のゲノム上における位置を高感度かつ直接的に同定する手法「ナノ FISH 法」の確立を目指す。ゲノム上で複数遺伝子の位置関係の同時計測を可能とし、DNA 配列のわずかな変異の迅速検出が可能となる。またゲノム解析の最大の問題である DNA 断片からの遺伝子地区の再構成に要する時間が大幅に短縮されるとともに、個体レベルでの遺伝的変異も見つけ出すことが容易となる。
	1999/09/20 化学工業日報	
	1999/11/11 日本工業新聞	
計測・加工技術と食品で講演会、9月21日に都内、食品総研	2001/08/10 日本農業新聞	食品総合研究所は9月21日平成13年度公開講演会を開催する。今回のテーマは「最先端の計測・加工技術で食品のかくれた姿、良さを探る」。この中で食品工学部計測工学研究室長・大谷敏郎氏は「ナノテクで見る・測るゲノムと食品」と題する講演を行なう。
	2001/08/13 日本食糧新聞	
生物機能で産業創出：生研機構の2002年度終了課題(10)ナノ F I S H 法の開発	2003/05/21 日本工業新聞	平成11年度生研機構の「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」に採択された「ナノ FISH 法の開発⑤」（代表者：食品総合研究所・大谷敏郎氏）の研究結果の紹介。従来の FISH 法では、光学顕微鏡レベルを超えた測定は不可能であり、本研究は、光学限界を超えた高分解能で高感度かつ効率的に遺伝子の位置情報を計測する新たな方法・ナノ FISH 法の開発を行なった。その結果 DNA 全体の形状像および蛍光像の同時取得、および一本鎖 DNA と二本鎖 DNA の明確な区別に成功。また DNA 上の特定塩基配列を標識した蛍光色素の位置を初めて計測すること、および標識された蛍光色素一分子を約 13nm の空間分解能で検出することにも成功した。

見出し	出典	概要
農生機構、新技術創出事業で新規採択課題を決定－食品総合研など7件	2003/10/20 日刊工業新聞	生研機構は、「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」の2003年度新規採択課題7件を決定した。この中の1つに、「SPMダイレクトゲノム解析法の開発」（大谷敏郎食品総合研究所計測工学研究室長）がある。また「生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業」4件を選んだ。
食総研－生物研、ゲノム解析新手法開発へ、SPM技術とナノテク融合	2003/11/27 化学工業日報	食総研・大谷敏郎食品工学部計測工学研究室長と生物研・主任研究官は共同でSPM（走査型プローブ顕微鏡）手法を応用し、ダイレクトにゲノムを解析するナノテクノロジーの開発に乗り出した。染色体をナノサイズに切断、塩基配列を解読する新しい解析法を確立・実用化を目指すもので、とくに従来法では困難だった特殊領域の解析まで可能にする。カイクゲノムを対象に短期間に解析できる、世界で通用する日本発の技術を開発する考え。
講演会：「バイオの世界」 テーマにー17日、広大 庄原キャンパス / 広島	2006/11/10 毎日新聞	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・大谷敏郎・食品総合研究所企画管理部業務推進室長は11月17日、県立広島大学庄原キャンパスで学術講演会「見えない世界を見て触る ナノテクノロジーで探るバイオの世界」を開く。