

# 基礎研究推進事業 研究成果

(2007年度終了課題)

基礎研究推進事業 研究成果 (2007年度終了課題)



生物系特定産業技術研究支援センター

## 生物系特定産業技術研究支援センター 東京事務所



お問い合わせ先

基礎研究課

住 所 〒105-0001  
東京都港区虎ノ門3丁目18番19号  
虎ノ門マリンビル10階

電 話 03-3459-6569

FAX 03-3459-6594

生研センターホームページ・アドレス

URL <http://brain.naro.affrc.go.jp/tokyo/>

東京メトロ日比谷線 神谷町 徒歩2分  
神谷町駅 霞ヶ関寄り出口3番を出て、左へ10m  
左折後50m右手。虎ノ門マリンビル10階

#### 表紙説明（亥年から子年へ）

##### 凍結保存した核移植胚からのクローンブタの作出（左上）

大型実験動物としての有用性に優れたクローンブタ生産の効率化をめざし、凍結保存（ガラス化）した核移植胚からのクローンブタ生産を実現した。再生医療の有望な選択肢として期待される幹細胞移植治療の評価モデルの構築や糖尿病等の病態モデルブタの開発は、クローンブタ胚の凍結保存の成功によってさらに前進するであろう。（明治大学農学部生命科学科：長嶋比呂志）

##### Daruma（中央下）

新規摂食調節物質研究過程で、著しく肥満になる「突然変異性自然発症肥満マウス」を発見し、Darumaと命名した。この肥満マウスは常染色体劣性遺伝を示す新規の突然変異で、4～5週齢から内臓脂肪の著しい蓄積を起こして肥満に移行する。

Darumaは摂食亢進、運動量低下、血圧増加、高脂血症、レプチン抵抗性、高血糖、インスリン抵抗性の糖尿病など、メタボリックシンドロームの特徴を示す。

今後、肥満防止の食品や医療研究開発に有用と期待される。（宮崎大学農学部：村上昇）

##### オスとメスのマウスのフェロモンコミュニケーション（右上）

香りを感じる嗅覚のメカニズムを解明する研究過程で、マウスは涙腺など顔周辺の分泌腺から性特異的なペプチド性のフェロモン物質を分泌し、これが異性の鋤鼻器官に伝搬され性シグナルとして認識されて、直接接触による嗅覚系を介したフェロモンコミュニケーションを行うことを明らかにした。この成果は、今後、食生活を豊かにする香りの評価や開発、衛生環境のための齧歯類や昆虫の個体制御、バイセンサーの開発などに資するものと期待される。

（東京大学大学院新領域創成科学研究科：東原和成）

# 基礎研究推進事業

研究成果（2007年度終了課題）

## 目次

### 一般型

SPMダイレクトゲノム解析法の開発 （農研機構 食品総合研究所／杉山 滋）……………	1
クローンブタを用いた幹細胞移植治療の評価モデルの確立 （明治大学農学部／長嶋 比呂志）……………	3
植物細胞壁糖鎖の機能解明とその制御 （筑波大学大学院生命環境科学研究科／佐藤 忍）……………	5
新規摂食調節物質グレリンとニューロメジンの基礎的、応用的研究 （宮崎大学農学部／村上 昇）……………	7
レギュレーター脂質の機能解析と高機能性食品創製への基盤研究 （東京大学大学院農学生命科学研究科／佐藤 隆一郎）……………	9

### 若手研究者支援型

香りセンサーとしての嗅覚受容体の分子認識機構の解明 （東京大学大学院新領域創成科学研究科／東原 和成）……………	11
果樹等における花成制御技術の開発 （農研機構 果樹研究所／古藤田 信博）……………	13
筋衛星細胞を筋細胞・脂肪細胞へ分化させる運命決定因子の同定 （東京大学大学院農学生命科学研究科／山内 啓太郎）……………	15
原虫病に対する非侵襲性迅速診断装置の開発 （帯広畜産大学原虫病研究センター／井上 昇）……………	17
高温・乾燥等の環境ストレスによる不稔誘発機構の解明とその制御 （農研機構 作物研究所／川岸 万紀子）……………	19
植物の生長を統御する根の水分屈性と水獲得戦略の解明 （東北大学大学院生命科学研究科／宮沢 豊）……………	21
天然環境毒素による重要穀類の汚染低減化にむけた技術創成 （独）理化学研究所中央研究所／木村 真）……………	23

■研究課題名

SPMダイレクトゲノム解析法の開発

■研究の目的

農林水産上重要な生物種の遺伝子資源の迅速な獲得及び利用を促進するため、目的とする有用遺伝子等が座乗したゲノム領域を必要最小限の規模で迅速に解析可能なSPM（走査型プローブ顕微鏡）技術に基づいた新規ゲノム解析技術を確立する。

■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①走査型プローブ顕微鏡（SPM）による遺伝子のナノ検出と操作  
（◎大谷 敏郎（平成15～18年度）、◎杉山 滋（平成19年度）／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）
- ②染色体ナノフラグメント解析システムの構築  
（山本 公子／独立行政法人農業生物資源研究所）



■研究の内容及び主要成果

- ①原子間力顕微鏡（AFM）を用いて、目的生物種（カイコ）の染色体を幅200～300nm（200kb程度のゲノム長に相当）のナノ断片として、再現性良く切断・回収する技術を確立した。また、一個の染色体の一部または全てを複数の断片に分割して回収することも可能とした。
- ②走査型近接場光学原子間力顕微鏡（SNOM/AFM）とFISH（fluorescence *in situ* hybridization）を組み合わせることにより、複数のBAC（bacterial artificial chromosome）クローンの染色体上へのマッピング及び物理地図の作成、さらには通常の光学顕微鏡では判別困難な近接クローンの分離に成功した。
- ③切断回収した染色体ナノ断片に含まれるゲノムDNAを鋳型とする極微量DNA増幅技術の開発を進め、ナノ断片由来DNAの部分増幅を可能とした。さらに、得られた塩基配列情報に基づいたBACクローンスクリーニングにより、切断位置に相当する約400kbのDNA（BACクローン）を得ることも成功した。また、シーケンスコンティグのギャップフィル、従来法では不可能な狙った位置への連鎖地図マーカーの創成等の成果を得た。
- ④本手法におけるBACスクリーニングやプライマー設計を支援するための専用Webベースツールを作成し、実用に向けた展開も進めた。

■見込まれる波及効果

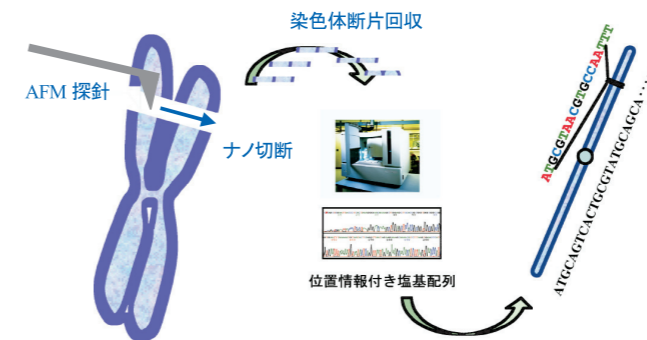
本技術では、ゲノム上の位置が特定された塩基配列が得られ、全ゲノム解析を必要とせずに目的とする領域（重要遺伝子座乗領域等）の局所的ゲノム情報が取得できる。したがって、本技術を応用すれば、ゲノム上の任意の領域のDNAを取得して短時間でその塩基配列読解や部分物理地図作成を行ったり、従来法では不可能であった狙った位置への連鎖マーカー創成による有用遺伝子単離の迅速化を図ることが可能になり、農林水産上重要な生物種の遺伝子資源の迅速な獲得や品種改良への貢献が期待できる。

■主な発表論文

Narukawa J., *et al.*: Imaging of silkworm meiotic chromosome by atomic force microscopy. *Scanning* 29: 123-127 (2007)  
 Sugiyama S., *et al.*: Application of Scanning Probe Microscopy to Genetic Analysis. *Jpn. J. Appl. Phys.* 45: 2305-2309 (2006)  
 Tsukamoto K., *et al.*: Atomic force microscopic study for dissection and recovery of chromosome fragments. *Jpn. J. Appl. Phys.* 45: 2337-2341 (2006)  
 Suetsugu Y., *et al.*: The Scanning Probe Microscope as a Novel Genomic Analysis Tool. *Nanobiotechnology* 1: 269-378 (2006)  
 Tsukamoto K., *et al.*: Dissection and High-yield Recovery of Nanometer-Scale Chromosome Fragments Using an Atomic-Force Microscope. *Nanotechnology* 17: 1391-1396 (2006)

■研究成果の概要

ゲノムを見て、切って、読んで解析する新技術の開発



ゲノム上の特定位置を走査型プローブ顕微鏡（SPM）を用いて切断回収し、得られたナノサイズの断片を鋳型としてDNA増幅を行い、染色体上の位置が既知の塩基配列情報を得て、必要最小限の規模で迅速に対象領域の解析が可能なシステムティックな新規ゲノム解析手法を確立する

要素技術の開発

図1 染色体切断回収の模式図

図2 5つの断片の連続切断回収

図3 染色体の全領域を切断回収

図4 染色体断片からのDNA増幅

図5 近接BACクローンの分離検出(左)及び複数BACクローンの直接マッピング(右)

図6 SPMに最適化した試料調製法の開発

図7 専用Webベース解析支援ツールの作成

応用展開

図8 切断回収断片から得られた塩基配列情報を利用した任意の位置への連鎖マーカーの創成(連鎖地図の末端を延長した例)

図9 切断回収部位及びその周辺のBACクローン特定(切断位置周辺の約400kbの領域に相当するBACを決定した)

■研究課題名

クローンブタを用いた幹細胞移植治療の評価モデルの確立

■研究の目的

組織幹細胞を用いた細胞移植医療は、次世代の再生医療として期待されているが、その臨床応用を実現するためには、有効性や安全性を確実に評価し得る大型動物のモデル系の確立が必須である。本研究では、ヒトへの類似性が高いブタを用いて、幹細胞移植治療評価に利用できる大型動物モデル系の構築を目的とする。具体的には、「自家幹細胞移植」のモデルとなり得る体細胞クローンブタを作出し、さらに遺伝子改変あるいは薬剤誘導による病態モデルブタを開発して、それらの動物と独自に樹立したブタ組織幹細胞を組み合わせることで、幹細胞移植治療の前臨床的評価に資する独創的動物モデルを確立する。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①唾液腺由来幹細胞からのクローンブタの作出並びに病態モデルブタの開発  
(◎長嶋 比呂志/明治大学農学部生命科学科)
- ②ブタ内胚葉系幹細胞の供給と肝・膵臓障害モデルの細胞移植治療  
(遠藤 文夫/熊本大学大学院医学薬学研究部)
- ③薬剤誘導による糖尿病モデルブタの作出と幹細胞自家移植モデルの構築  
(高橋 昌志/九州沖縄農業研究センター暖地温暖化チーム)



■研究の内容及び主要成果

- ①インスリンあるいはアルブミン産生細胞に分化可能な、ブタ唾液腺由来内胚葉系幹細胞を樹立した。
- ②前駆脂肪細胞、唾液腺幹細胞から効率的にクローンブタを作出することに成功した。
- ③体細胞クローニングの反復により、第4世代クローンブタを生産することに成功した。
- ④ヒト変異型hepatocyte nuclear factor1 $\alpha$  遺伝子を導入した、糖尿病モデル・トランスジェニック・クローンブタの作出に成功した。
- ⑤薬剤(ストレプトゾトシン)誘導によりI型糖尿病モデルブタを作出し得るプロトコルを確立した。
- ⑥全身性に赤色蛍光蛋白を発現するトランスジェニック・クローンブタの作出に成功した。

■見込まれる波及効果

ブタの大型実験動物としての利用は、世界的な潮流であり、我が国においても、基礎医学研究の成果を臨床に「橋渡し」する研究の重要性が認識されている。このようなニーズに対し、トランスジェニックブタ、クローンブタを利用するシステムは、オーダーメイドによる新しい高付加価値大型実験動物の供給を可能にする。

■主な発表論文

Okumura K., et al. : Salivary gland progenitor cells induced by duct ligation differentiate into hepatic and pancreatic lineages. *Hepatology* 38: 104-113 (2003)

Tomii R., et al. : Production of cloned pigs by nuclear transfer of preadipocytes established from adult mature adipocytes. *Cloning and Stem Cells* 7: 279-288 (2005)

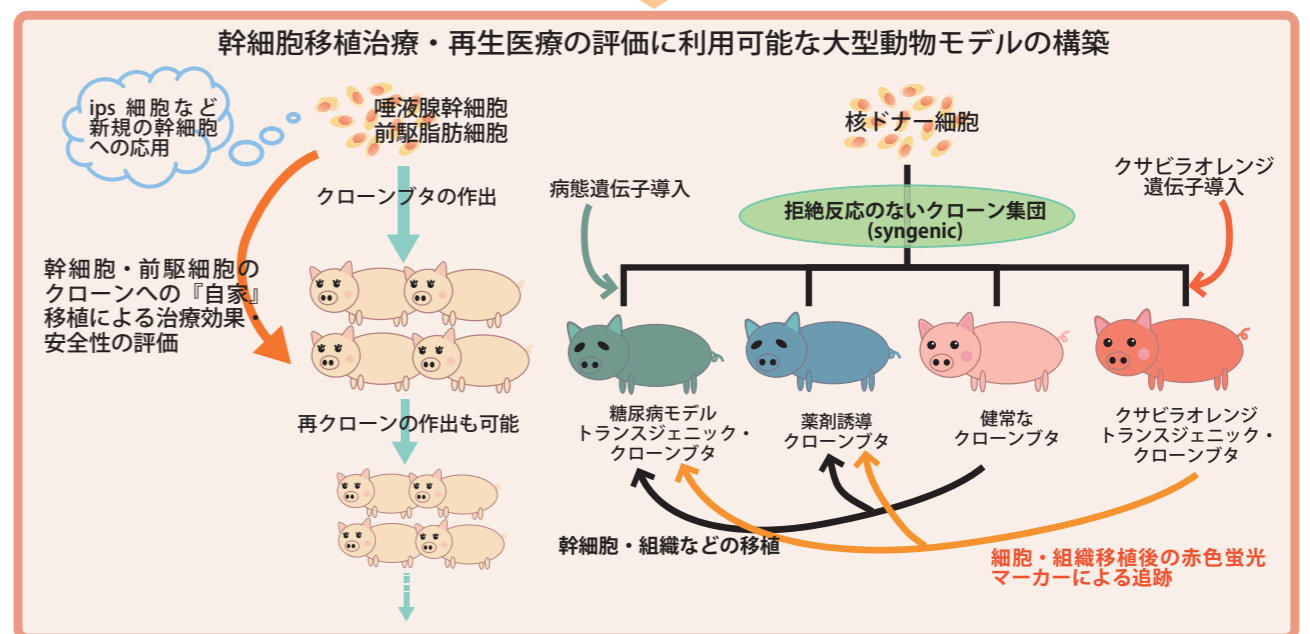
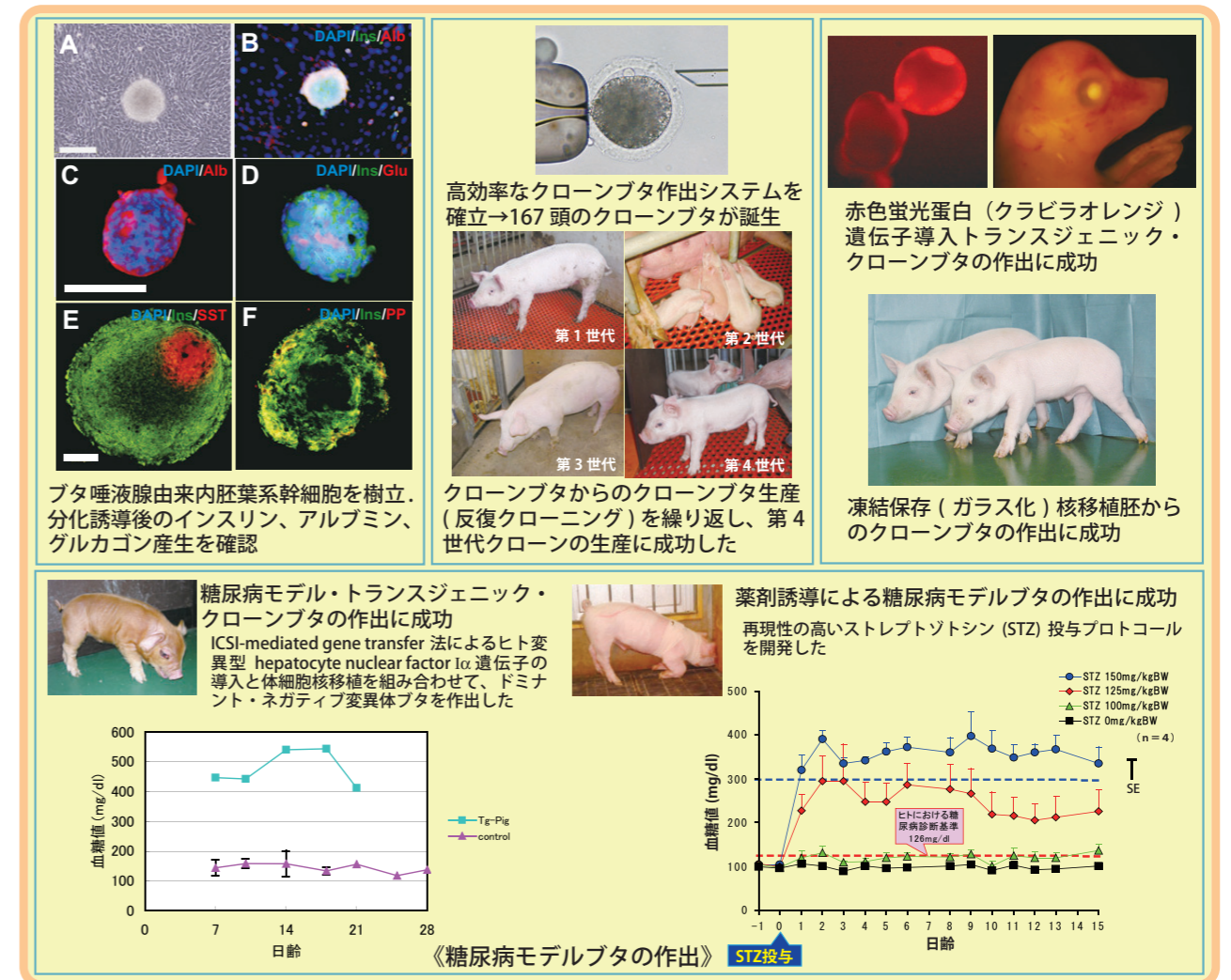
Kurome M., et al. : Production of transgenic-clone pigs by the combination of ICSI-mediated gene transfer with somatic cell nuclear transfer. *Transgenic Research* 15: 229-240 (2006)

Matsumoto S., et al. : Isolation of tissue progenitor cells from duct-ligated salivary gland of swine. *Cloning and Stem Cells* 9: 176-190 (2007)

Murakami H., et al. : Digestive enzyme activities of pancreas and intestinal digesta in streptozotocin-induced diabetic piglets. *Animal Science Journal* 78: 55-60 (2007)

■研究成果の概要

クローンブタを用いた幹細胞移植治療の評価モデルの確立  
—大型実験動物としてのブタの利用の新展開—



■研究課題名

植物細胞壁糖鎖の機能解明とその制御

■研究の目的

細胞壁糖鎖を特異的に分解する酵素を発見させたシロイヌナズナ及びポプラの形質転換体や細胞壁糖鎖の生合成酵素を欠損した半数体タバコ変異体の解析、並びに細胞壁糖鎖合成に関わる酵素・タンパク質の解析を行うことにより、植物の成長や発生現象及びバイオマスとしての細胞壁の特性に深く関わるヘミセルロースやペクチン等の細胞壁マトリックス糖鎖の機能と生合成機構を解明し、その知見をもとに、作物や林木の形質を遺伝子組換え技術を用いて改変し、有用品種作出の基盤を形成することを目的とする。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①植物細胞の成長制御機構の解明 (林 隆久・馬場 啓一/京都大学生存圏研究所)
- ②植物細胞の成長制御機構の解明 (◎佐藤 忍・岩井 宏暁/筑波大学大学院生命環境科学研究科)
- ③細胞壁マトリックス糖鎖の構造と生合成機構の解明 (石井 忠/森林総合研究所バイオマス化学領域)



■研究の内容及び主要成果

- ①セルラーゼ、キシログルカナーゼ、キシラナーゼ、ガラクタナーゼ、ポリガラクトナーゼを過剰発現するポプラとシロイヌナズナを作出し、それらの成長や形態に関わる形質を明らかにした。特にキシログルカナーゼ過剰発現ポプラは成長が早く、材の比重が高く、優れた形質を示す一方、引張あて材による姿勢制御能が著しく低かった。あて材細胞壁G層にキシログルカン転移酵素活性がみられ、キシログルカンが応力発生に重要なことが示唆された。
- ②ペクチン-ホウ素架橋に関わるペクチン合成関連遺伝子NpGUT1(ペクチングルクロン酸転移酵素)の発現が、メリステム組織の細胞質分裂、生殖組織の発達及び受精に必須であることを明らかにした。また、細胞壁タンパク質LRR-EXTENSINが、細胞形態の維持に重要であることを明らかにした。
- ③細胞壁糖鎖に含まれるアラビノフラノースは、UDP-アラビノピラノースからではなくUDP-アラビノフラノースから合成されることを明らかにした。また、イネの幼葉鞘からUDP-アラビノピラノースをUDP-アラビノフラノースに変換するUDP-アラビノピラノースムターゼを単離・同定した。

■見込まれる波及効果

キシログルカナーゼを発現する遺伝子組換えポプラの野外試験が進行中で(産業利用目的の野外試験は我が国初)、組換え樹木の産業利用が期待される。また、ペクチン合成遺伝子を用いた不稔形質導入法が開発され、新しい育種技術として期待される。アラビノフラノース合成に関わる遺伝子が初めて同定され、茎や葉などが易分解性であるイネの作出などへの応用が期待される。

■主な発表論文

Park Y.W., et al.: Enhancement of growth and cellulose accumulation by overexpression of xyloglucanase in poplar. *FEBS Letters* 564: 183-187 (2004)

Hayashi T., et al.: Cellulose metabolism in plants. *International Review of Cytology* 247: 1-34 (2005)

Iwai H., et al.: The gene responsible for borate cross-linking of pectin RG-II is required for plant reproductive tissue development and fertilization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 16592-16597 (2006)

Konishi T., et al.: Identification of the mung bean arabinofuranosyltransferase that transfers arabinofuranosyl residues onto (1, 5)-linked- $\alpha$ -L-arabino-oligosaccharides. *Plant Physiology* 141: 1098-1105 (2006)

Konishi T., et al.: A plant mutase that interconverts UDP-arabinopyranose and UDP-arabinofuranose. *Glycobiology* 17: 345-354 (2007)

■研究成果の概要

細胞壁糖鎖の構成

研究成果の概要

**細胞の成長と形づくり**

- ・糖鎖分解酵素遺伝子の導入
- ↓
- 細胞壁マトリックス糖鎖の機能解析
- ↓
- 成長制御 材質改善

**細胞の接着**

- ・細胞接着変異体の作出
- ・糖鎖合成酵素の解析
- ↓
- 細胞壁マトリックス糖鎖の機能解析
- ↓
- 稔性制御 器官脱離制御 保存性向上

有用品種作出の基盤形成

**糖鎖分解酵素遺伝子の導入 (シロイヌナズナ・ポプラ)**

植物の成長・形態制御のモデリング

- 成長
- 形態
- 物性
- 形態制御
- ストレス応答 (プロチオミクス)

**UDP-アラビノースムターゼの機能**

アラビノフラノースを含む細胞壁成分  
(双子葉)ペクチン、アラビノガラクトタンパク質、エクステンシン  
(単子葉)アラビノキシラン、など

・アラビノース転移のドナー合成に必須

**キシログルカナーゼ導入ポプラの形質**

成長促進  
材比重上昇

形質転換体

野生株

姿勢制御能低下  
あて材機能低下

**国内初の産業利用目的の野外試験**

キシログルカナーゼ導入ポプラ

林木育種センター(3,240 m<sup>2</sup>)

**マンガメ ゴルジ体の糖転移活性**

・アラビノフラノースが複数転移  
・アラビナン鎖の伸長  
→ペクチン側鎖の合成

**ペクチン-グルクロン酸転移酵素遺伝子の発現と機能**

細胞壁におけるNpGUT1の存在  
↓  
ホウ素を介したペクチン架橋の形成・維持

花粉の発生・発芽・花粉管伸長  
花柱の伝達組織の形成

・受精に関わる組織の形成  
・花粉管の伸長・誘導に必須  
→新たな不稔形質導入法の開発に必須

分裂組織の  
・細胞接着性・情報伝達性の維持  
・正常な細胞質分裂に必須

**細胞壁タンパク質LRR-EXTENSINの働き**

細胞外の細胞壁と相互作用

細胞内の細胞骨格と相互作用?

・細胞内外の連絡を通して細胞形態の維持に関与

■研究課題名

新規摂食調節物質グレリンとニューロメジンUの基礎的、応用的研究

■研究の目的

近年逆薬理学的手法によってオーファン受容体の内因性リガンドが相次いで発見されている。このような内因性リガンドは将来的に創薬や食品産業に直結する可能性が高く、また家畜などの生産への応用も期待される。さらに新規リガンドの生理機能を探索することで、種々の生理機能の解明に繋がる可能性も高い。そこで本研究では、我々が関与したグレリンとニューロメジンUという摂食調節に相対的支配を有する新規ペプチドを用いて、摂食制御機構や摂食と肥満の関係を明らかにする。また、これらのペプチドの新たな生理作用の解明や新規ペプチドの探索を行う。さらに、これらの基礎研究で得た成果を家畜や伴侶動物への応用研究に発展させる。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①新規摂食調節ペプチドの生理作用解明と効率的な食肉生産や伴侶動物の過食症、拒食症への応用 (◎村上 昇/宮崎大学農学部)
- ②新規摂食調節ペプチドによる生体機能調節機構の解明 (児島 将康/久留米大学分子生命科学研究所)



■研究の内容及び主要成果

- ①グレリン及びニューロメジンUの摂食促進・抑制機構の研究を通して、摂食の中枢性及び末梢性制御機構を明らかにした。
- ②オーファン受容体FM3/FM4の内因性リガンドとして新規ペプチド、ニューロメジンSを発見すると同時に、そのペプチドの生体時計調節作用、摂食抑制作用及び抗利尿作用を明らかにした。また、新たにデスアシルグレリンの受容体の存在を示した。
- ③ニューロメジンU、グレリン及びニューロメジンSのノックアウトマウスを作成し、それらのホルモン欠如が生体に及ぼす影響を明らかにした。また、新規な自然発症肥満マウス「Daruma」を発見し、肥満発症機序の一部を解明した。
- ④新規生理作用として、グレリンの皮膚、脊髄、及び骨細胞増殖促進作用やニューロメジンUのストレスや痛覚応答への関与を発見した。
- ⑤犬、猫、ヤギのグレリンの構造を決定し、それらの動物への臨床や産業応用への可能性を示した。

■見込まれる波及効果

生理活性物質の新たな生理作用の発見や新規生理活性物質の発見は創薬研究を推進し、伴侶動物や産業動物の臨床応用にも多大な貢献をもたらすと期待できる。特に摂食や肥満に関する新たな生理活性物質の発見や機構の解明は産業動物の生産に密接に関係して来ると思われる。さらに、作成した遺伝子改変動物や新たに発見した肥満発症動物は関連分野の研究に大きく寄与すると期待される。

■主な発表論文

Hanada R., et al.: Neuromedin U has a novel anorexigenic effect independent of the leptin-signaling pathway. *Nature Medicine* 10: 1067-1073 (2004)

Mori K., et al.: Identification of neuromedin S and its possible role in the mammalian circadian oscillator system. *EMBO J.* 24: 325-335 (2005)

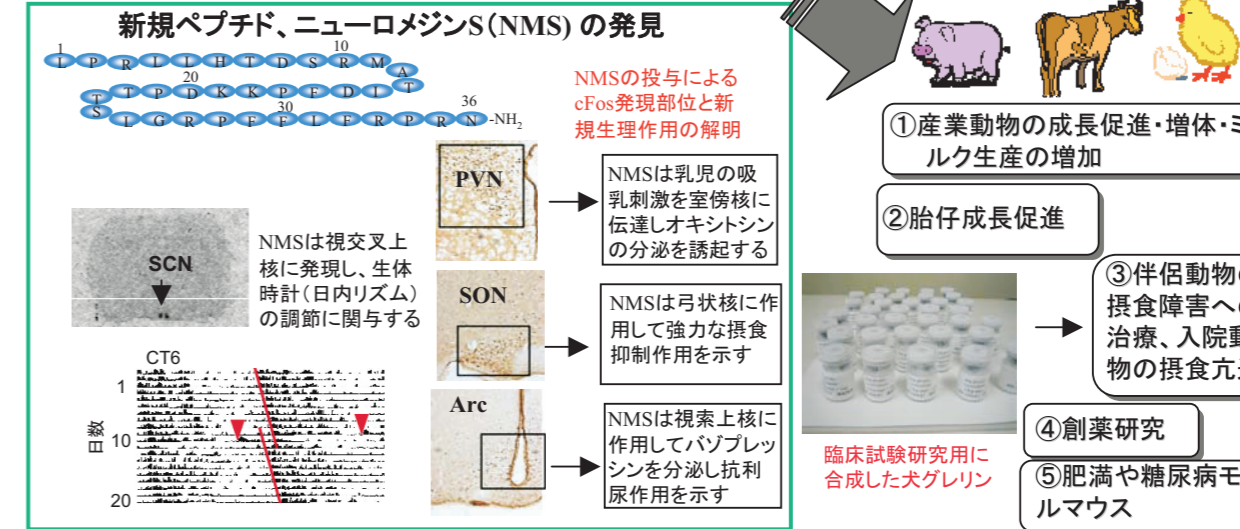
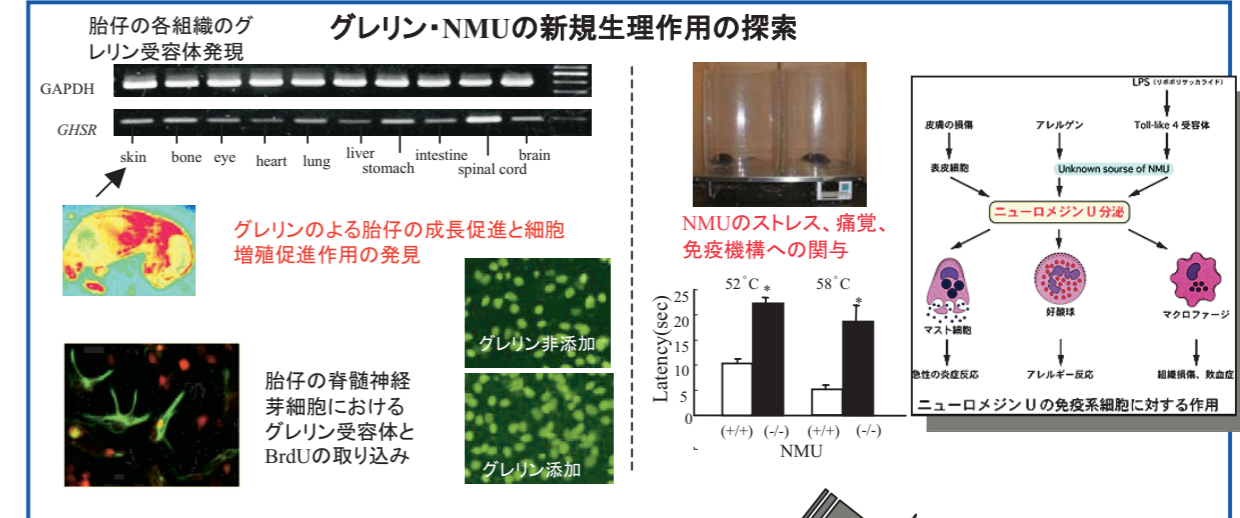
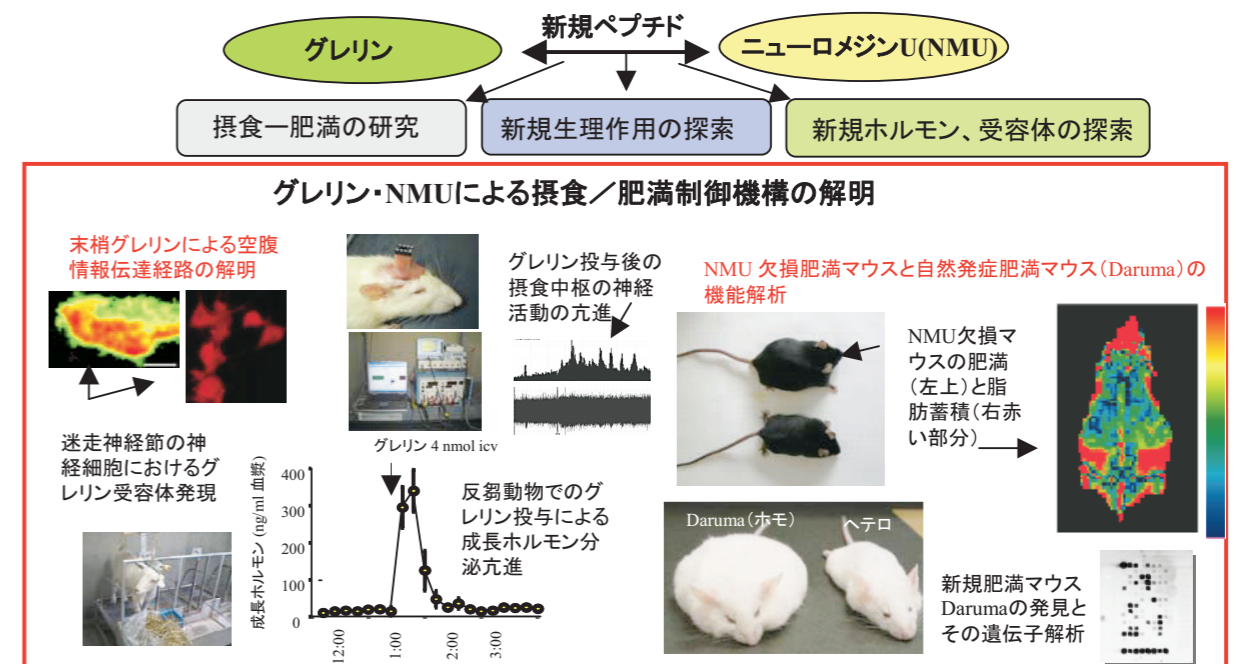
Ida T., et al.: Neuromedin S is a novel anorexigenic hormone. *Endocrinology* 146: 4217-4223 (2005)

Moriyama M., et al.: The neuropeptide neuromedin U promotes inflammation by direct activation of mast cells. *J. Exp. Med.* 202: 217-224 (2005)

Nakahara K., et al.: Maternal ghrelin plays an important role in fetal development during pregnancy. *Endocrinology* 147: 1333-1342 (2006)

■研究成果の概要

新規ペプチドの生理作用の解明と新たなホルモン探索



## ■研究課題名

## レギュレーター脂質の機能解析と高機能性食品創製への基礎研究

## ■研究の目的

高齢社会を迎えた日本において、生活習慣病の増加は避けることのできない状況にあり、食品の機能を効率的に活用してこれを抑制することは緊急性を要しており、社会的要請度も高い。生活習慣病の発症に関わる多くの機能タンパク質（トランスポーター、転写因子、ホルモン受容体等）は、生体内のレギュレーター脂質により活性制御を受けている。これらの分子連関を統合的な研究体制のもと解明する。さらに食品成分の中にレギュレーター脂質活性を見出し、これらを高機能性食品として活用する試みにより、新技術・新分野創出を目指す。

## ■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①転写因子、核内受容体による脂質代謝制御機構の解明とレギュレーター脂質による調節  
(◎佐藤 隆一郎/東京大学大学院農学生命科学研究科)
- ②脂質トランスポーターの活性調節機構の解明と高機能性食品による調節  
(植田 和光/京都大学大学院農学研究科)
- ③核内受容体を利用した骨増強食品素材評価系の構築に関する研究  
(加藤 茂明/東京大学分子細胞生物学研究所)



## ■研究の内容及び主要成果

- ①コレステロール代謝を制御する転写因子SREBPと核内受容体とのタンパク質-タンパク質相互作用を介したクロストークについて新たな知見を得た。さらに、核内受容体活性を介して脂質代謝改善効果を発揮する分子メカニズムを明らかにした上で、受容体リガンド活性を有するレギュレーター脂質を食品成分から探索する評価系を駆使し、新たな機能を有するフラボノイドを複数見出した。
- ②ABCA1とABCG1の機能を明らかにし、食物性脂質メディエーターによる調節の基盤を築いた。特に、ABCA1を世界で始めて精製し、生化学的に解析することに成功した。さらにABCA1の新規な翻訳後活性調節機構を発見した。ABCG1のコレステロール輸送機構も明らかにした。
- ③女性ホルモン欠乏は、重篤な骨減少を引き起こすことから、女性ホルモン受容体の骨組織での機能をノックアウトマウスを作製することで探り、女性ホルモン受容体（ER $\alpha$ ）が破骨細胞で機能し、細胞死を誘導することで、女性ホルモンの骨防御作用を発揮することを見出した。また、骨形成を担う骨芽細胞の分化に核内受容体PPAR $\gamma$ の機能抑制が生理的に重要であることを分子レベルで証明した。

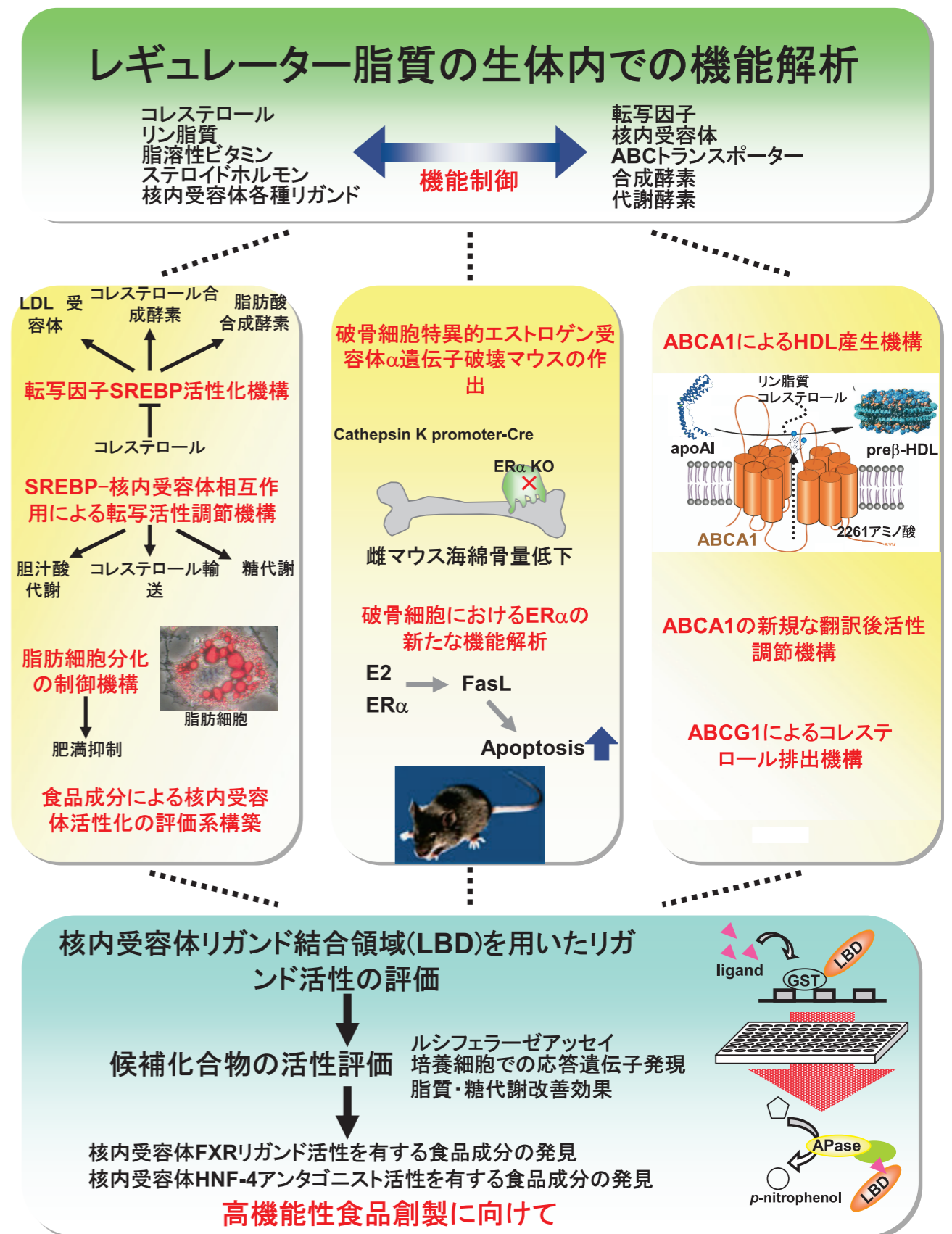
## ■見込まれる波及効果

食品成分からレギュレーター脂質を見出し、その機能を明らかにしたことにより、高機能性食品創製の可能性を提示することに成功した。さらに、同様な試みを介して異なる効果を有する食品創製を目指すことにより、新分野創出の波及効果が期待される。

## ■主な発表論文

- Kanayama T., *et al.*: Interaction between Sterol Regulatory Element-binding Proteins and Liver Receptor Homolog-1 Reciprocally Suppresses Their Transcriptional Activities. *J. Biol. Chem.* 282: 10290-10298(2007)
- Nakahara M., *et al.*: Ileal bile acid-binding protein functionally associated with the farnesoid x receptor or ileal bile acid transporter regulates bile acid activity in the small intestine. *J. Biol. Chem.* 280: 42283-42289(2005)
- Nagao K., *et al.*: Enhanced apoA-I-dependent cholesterol efflux by ABCA1 from sphingomyelin-deficient CHO cells. *J. Biol. Chem.* 282:14868-14874 (2007)
- Takahashi K., *et al.*: Purification and ATPase Activity of Human ABCA1. *J. Biol. Chem.* 281: 10760-10768 (2006)
- Nakamura T., *et al.*: Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor  $\alpha$  and induction of Fas ligand in osteoclasts. *Cell* 130: 811-823 (2007)
- Takada I., *et al.*: A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical Wnt signaling suppresses PPAR- $\gamma$  transactivation. *Nat. Cell Biol.* 9: 1273-1285 (2007)

## ■研究成果の概要





■研究課題名

香りセンサーとしての嗅覚受容体の分子認識機構の解明

■研究の目的

全遺伝子の数%も占める多重遺伝子ファミリーを形成する嗅覚受容体は、数十万種類といった多種多様な匂いや香りを認識する化学感覚センサーである。本研究では、嗅覚受容体の香り認識機構を分子レベルで明らかにし、生活空間にある混合臭を感知するメカニズムを、末梢神経から脳レベルまで多角的に解析する。対象生物はマウスと昆虫とし、生物種の違いによる嗅覚受容体のセンサー機構の違い、また匂いとフェロモンのセンサーの比較によって、外界からの機能性情報因子の分子認識メカニズムの全貌を明らかにする。本研究のアウトプットは、よりよい生活空間の構築と人間のQOL向上のための嗅覚機能利用法の開拓であり、農林水産・食品産業の高度化にも資するものである。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①嗅覚受容体の構造と機能の解明
  - ②嗅覚受容体から高次脳への匂い信号伝達機構の解明
  - ③フェロモン受容体の機能および情報伝達機構の解明
- (◎東原 和成／東京大学大学院新領域創成科学研究科)



東原 和成

■研究の内容及び主要成果

- ①哺乳類の嗅覚受容体の匂い特異性を解析できる高効率の機能アッセイ法を確立した。匂いが受容体に認識される部位の構造環境を明らかにした。匂いが受容体を活性化だけでなく阻害することを見出した。嗅覚受容体がGタンパク質を活性化し脱感作するのに重要な部位を同定した。
- ②昆虫の嗅覚受容体は、脊椎動物の嗅覚受容体と全く異なり、ヘテロマー複合体を形成して、それ自体がイオントロピック型のリガンド作動性チャネルであることを見出した。嗅覚受容体ファミリーの中からカイコ蛾の性フェロモン受容体の同定及び機能解析に成功した。
- ③香りの情報処理に関し、マウスにおいて、嗅神経細胞で電気信号に変換された匂い信号が、嗅覚一次中枢である嗅球においてパターン形成される過程を、神経回路レベル、細胞生理学レベルで可視化した。
- ④マウスのフェロモン受容体について、その第二の嗅覚システムである鋤鼻器官において認識される物質が、涙に分泌されていることを見出し、その活性ペプチド物質を同定した。それを特異的に認識するフェロモン受容体を同定した。

■見込まれる波及効果

本研究で得られた、香りやフェロモンなどの受容機構の基礎学術知見及び開発した実験手法や技術は、1) 食生活を豊かにして「よりよく食べる」ために、飲食品産業、醸造業等における食品の香りの評価や開発、2) 安心・安全に「よりよく暮らす」ためのバイオセンサーの開発、3) 衛生環境を維持して「よりよく生きる」ための昆虫や齧歯類の個体数制御、4) 嗅覚に関する正確な知識の提供により様々な悪臭問題の軽減、等の場面で応用が期待される。

■主な発表論文

Kimoto H., *et al.*: Sex- and strain-specific expression and vomeronasal activity of mouse ESP family peptides. *Current Biology* 17: 1879-1884 (2007)

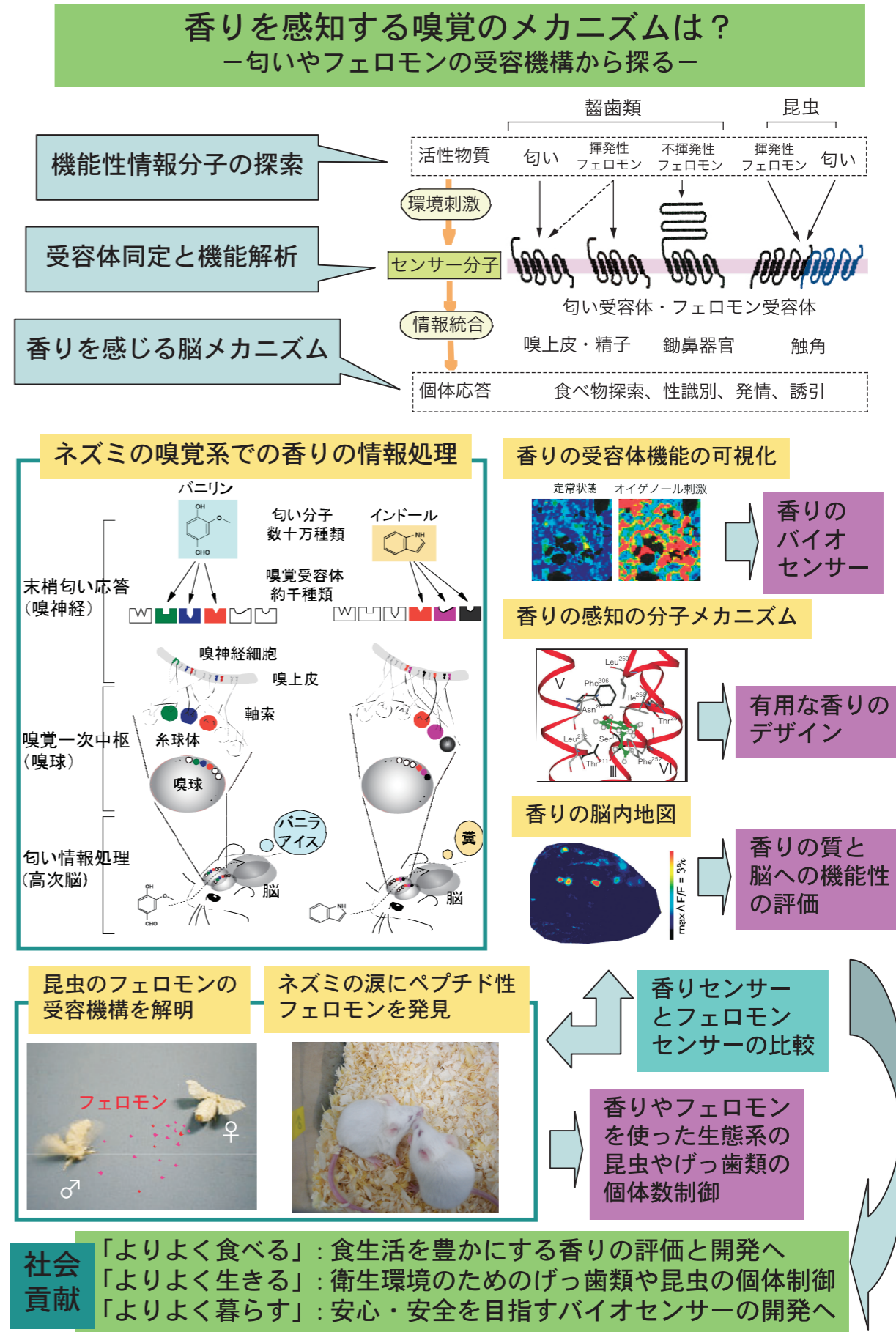
Oka Y., *et al.*: Odorant receptor map in the mouse olfactory bulb: in vivo sensitivity and specificity of receptor-defined glomeruli. *Neuron* 52: 857-869 (2006)

Kimoto H., *et al.*: Sex-specific peptides released from exocrine glands stimulate vomeronasal sensory neurons in mice. *Nature* 437: 898-901 (2005)

Nakagawa T., *et al.*: Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors. *Science* 307: 1638-1642 (2005)

Katada S., *et al.*: Structural basis for a broad but selective ligand spectrum of a mouse olfactory receptor: mapping the odorant binding site. *J. Neurosci.* 25: 1806-1815 (2005)

■研究成果の概要



■研究課題名

果樹等における花成制御技術の開発

■研究目的

果樹は5~10年、スギ、マツ、ポプラ等の木本植物に至っては20年以上にわたる幼若期間が存在し、その間は開花結実がおこらない。このような長期の幼若期間は木本植物の効率的な育種や遺伝解析の妨げとなっている。そこで本研究課題においては、果樹等木本植物の花芽形成機構を解明するとともに世代促進技術の開発、遺伝子機能解析系の開発を行う。花成促進技術は果樹等木本植物の育種年限短縮を可能にする。また、近年果樹やポプラ等の木本植物において大量の遺伝子情報が蓄積されており、遺伝子機能の早期解析系を開発することで花芽・果実関連遺伝子などの機能解析が飛躍的に早期化・効率化され、ポストゲノムの進展に結びつくことが期待できる。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①果樹における世代促進技術及び遺伝子機能解析系の開発  
(◎古藤田 信博 / (独)農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所)
- ②セイヨウナシにおける生殖器官発現性遺伝子の早期評価系の開発  
(高品 善 / 山形県農業総合研究センター)
- ③遺伝子組換え技術を利用したポプラの花成制御技術の開発  
(伊ヶ崎 知弘 / (独)森林総合研究所)



古藤田 信博



高品 善



伊ヶ崎 知弘

■研究の内容及び主要成果

- ①リンゴ、カンキツ、ポプラの花成制御遺伝子 (TFL1/FT相同遺伝子) を利用して、開花・結実に通常5~20年以上必要な果樹等木本植物を最短1年以下で開花・結実させることに成功した。また、果樹の実用品種について花成制御技術を確立した。
- ②リンゴMdTFL1遺伝子、カンキツCiFT遺伝子を用いて作出した早期開花性果樹の後代実生は、播種後最短1年以下で開花した。これらの遺伝子は、果樹の幼若性や花成誘導に関わっており、世代促進にも利用できることを明らかにした。
- ③果樹等木本植物を早期に開花・結実させることにより果実等の生殖器官における遺伝子の機能解析を加速化・効率化することを可能にする遺伝子機能解析系を開発した。これにより、果実等における遺伝子機能解析を従来法と比較して飛躍的に短時間で行うことが可能となった。

■見込まれる波及効果

果実形質などと連鎖する育種に有用なDNAマーカーの開発を加速化させることが可能となり、果樹等木本植物の新品種育成に貢献することが期待される。また、遺伝子機能解析系の利用により、果実の健康機能性成分や味覚に関わる物質の生合成過程および肉質などの果実品質に関わる遺伝子機能の解明を推進することが可能となり、今後、農林業・食品産業などの広い範囲での応用が期待される。

■主な発表論文

Igasaki T., et al.: The *FLOWERING LOCUS T/TERMINAL FLOWER 1* family in Lombardy poplar. *Plant Cell Physiol.* in press

Nishikawa F., et al.: Increased *CiFT* abundance in the stem correlates with floral induction by low temperature in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *J. Exp. Bot.* 58: 3915-3927 (2007)

Mimida N., et al.: Constitutive expression of two apple (*Malus × domestica* Borkh.) homolog genes of *LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN1* affects flowering time and whole-plant growth in transgenic *Arabidopsis*. *Molecular Genetics and Genomics* 273: 295-305 (2007)

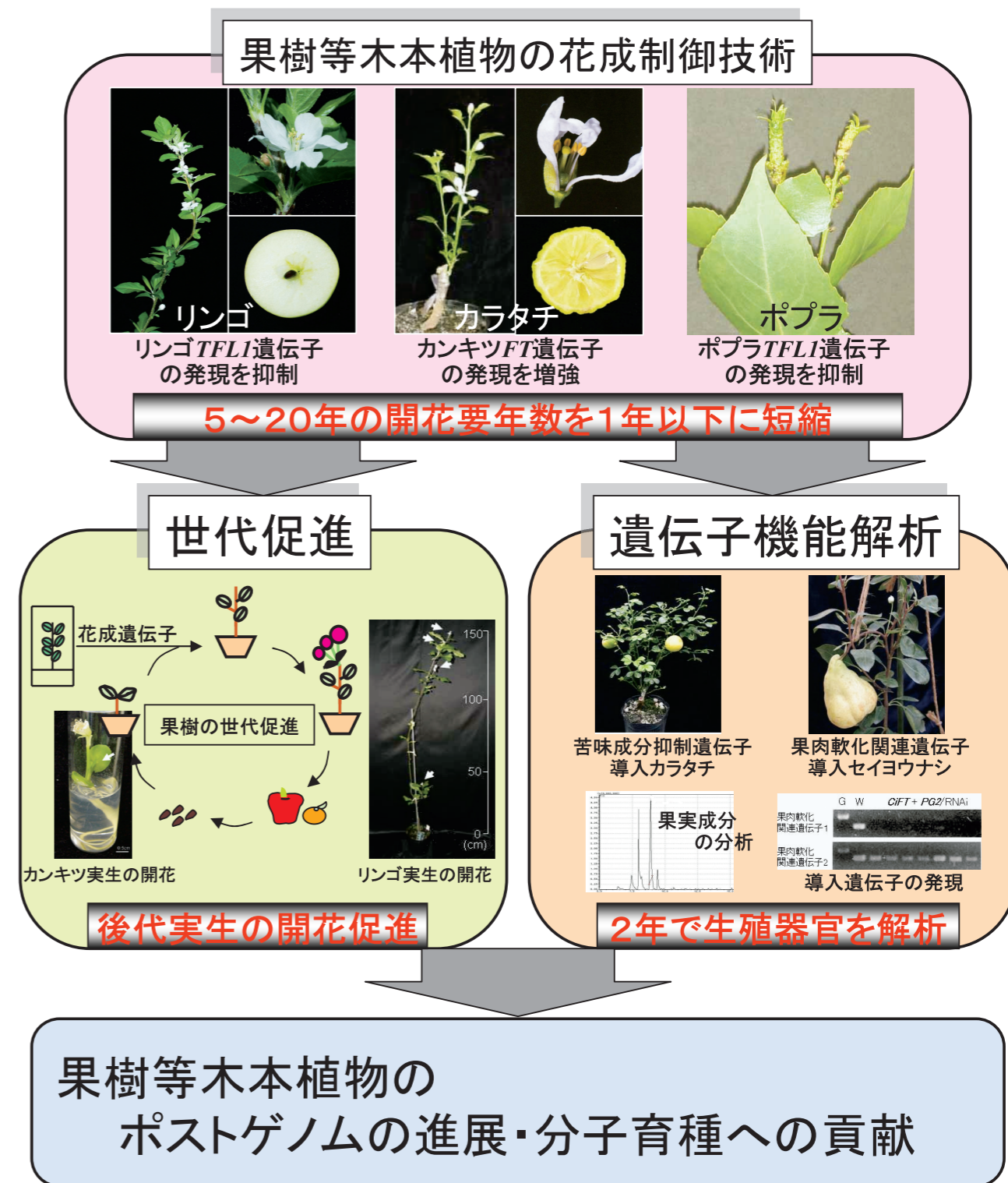
Kotoda N., et al.: Antisense expression of *MdTFL1*, a *TFL1*-like gene of apple, reduces the juvenile phase in apple. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 131(1): 74-81 (2006)

Endo T., et al.: Ectopic expression of an *FT* homolog from Citrus confers an early flowering phenotype on trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) *Transgenic Res.*, 14(5): 703-712 (2005)

Matsuda N., et al.: Development of *Agrobacterium*-mediated transformation of pear (*Pyrus communis* L.) with leaf section and axillary shoot meristem explants. *Plant Cell Reports*, 24(1): 45-50 (2005)

■研究成果の概要

「桃栗3年柿8年」の壁に挑戦する



## ■研究課題名

## 筋衛星細胞を筋細胞・脂肪細胞へ分化させる運命決定因子の同定

## ■研究の目的

骨格筋内に存在する筋衛星細胞は筋細胞や脂肪細胞へと分化することが可能な多能性幹細胞である。従って、その分化運命決定に関与する因子を同定できれば、その発現や産生の制御による肉用家畜経済形質の改変という新たな技術開発に繋がる。本研究では筋衛星細胞の分化運命を決定する細胞外因子や細胞内因子を同定することを目指すとともに、得られた研究成果を肉用家畜へ応用することを念頭に、そのモデルであるシバヤギ筋衛星細胞の性質についても検討することを目的とする。

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- 筋衛星細胞の運命決定に関与する細胞外因子の探索  
(◎山内 啓太郎/東京大学大学院農学生命科学研究科)
- 筋衛星細胞の運命決定に関与する細胞内因子の探索  
(伯野 史彦/東京大学大学院農学生命科学研究科)
- 機能解析による筋衛星細胞運命決定機構の決定  
(◎山内 啓太郎/東京大学大学院農学生命科学研究科)



山内 啓太郎 伯野 史彦

## ■研究の内容及び主要成果

- 筋衛星細胞の脂肪分化能が骨格筋により異なることを見出すとともに、その筋細胞、脂肪細胞それぞれへの分化運命決定には周囲に存在する筋線維の種類や状態、さらには筋衛星細胞間の情報伝達が大きく影響することを明らかにした。
- IGFシグナル強度を反映するFoxo1の細胞内局在を観察することにより筋衛星細胞が筋細胞、脂肪細胞のどちらに分化運命決定されるかをモニターする系の確立に成功した。また、IGFシグナルの強度を調節するような多数の新規細胞内因子 (IRS 結合タンパク質) の同定に成功した。
- 筋分化能・脂肪分化能の両方を保持したラット筋衛星細胞のクローン化に成功した。
- シバヤギ筋衛星細胞の培養系を樹立するとともに、それが筋細胞、脂肪細胞それぞれに分化可能であることを示した。

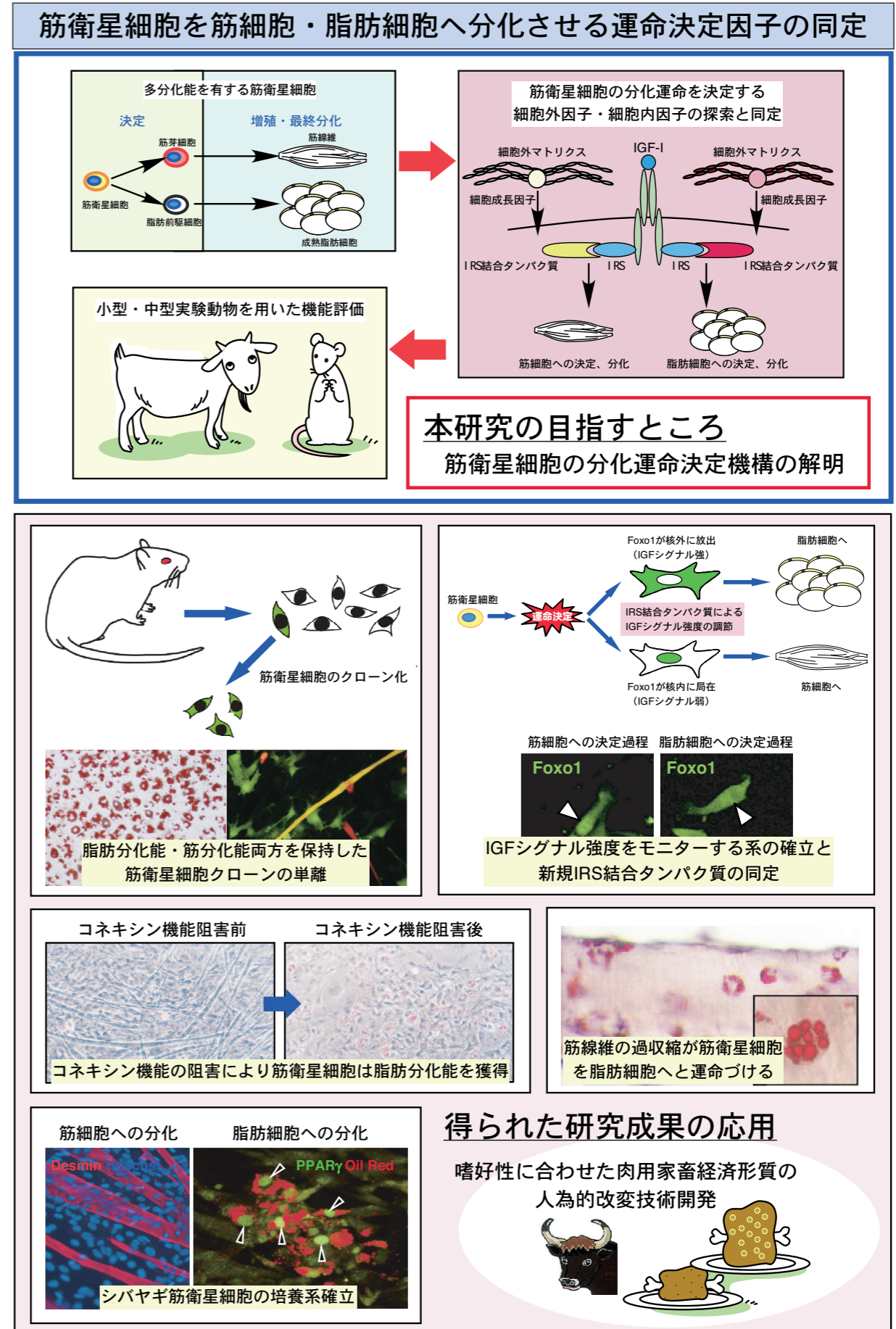
## ■見込まれる波及効果

本研究により得られた成果は、骨格筋幹細胞の分化制御による肉用家畜の経済形質改変という画期的な技術開発へと繋がる可能性をもつ。すなわち、低脂肪で赤身を主とした肉や脂肪交雑に富む霜降り肉など、消費者の嗜好性に合わせた食肉生産が可能となる。

## ■主な発表論文

- Yada E., *et al.*: Adipogenic potential of satellite cells from distinct skeletal muscle origins in the rat. *J. Vet. Med. Sci.* 68: 479-486 (2006)
- Yamanouchi K., *et al.*: Increased adipogenicity of cells from regenerating skeletal muscle. *Exp. Cell Res.* 312: 2701-2711 (2006)
- Yamanouchi K., *et al.*: Myogenic and adipogenic properties of goat skeletal muscle stem cells. *J. Reprod. Dev.* 53: 51-58 (2006)
- Yamanouchi K., *et al.*: Both PPAR $\gamma$  and C/EBP $\alpha$  are sufficient to induce transdifferentiation of goat fetal myoblasts to adipocytes. *J. Reprod. Dev.* 53: 563-572 (2007)
- Yamanouchi K., *et al.*: 18  $\alpha$ -glycyrrhetic acid induces phenotypic changes of skeletal muscle cells to enter adipogenesis. *Cell. Physiol. Biochem.* 20: 781-790 (2007)
- Hakuno F., *et al.*: 53BP 2 S, interacting with insulin receptor substrates, modulates insulin signaling. *J. Biol. Chem.* 282: 37747-37758 (2007)

## ■研究成果の概要



■研究課題名

原虫病に対する非侵襲性迅速診断装置の開発

■研究の目的

本研究ではカーボンナノチューブ（Carbon Nanotubes：CNT）の電気特性変化を利用した超高感度検出技術と、固体表面修飾技術並びにバイオテクノロジーの融合により、低コストで迅速・高感度に原虫病関連分子を検出する診断装置、特に家畜のトリパノソーマ病関連分子を非侵襲条件下で簡便に検出可能な診断装置を開発することを目的とする。

■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①原虫用組換え抗原の精製とCNT-バイオセンサーの実用評価  
（◎井上 昇／国立大学法人帯広畜産大学原虫病研究センター）
- ②原虫検出用CNTバイオセンサーの作製と性能評価  
（末岡 和久／北海道大学情報科学研究科）



井上 昇 末岡 和久

■研究の内容及び主要成果

- ①トリパノソーマ症診断マーカーとなり得る分子を探索する過程で、原虫抗原由来ペプチドの網羅的エピトープマッピング並びに感染特異的サイトカイン応答の精査により、野外診断用マーカーとしてはペプチド抗原よりも完全長組換え抗原が適していること、感染初期のTGFベータレベルが感染抵抗性と関連していることを明らかにした。
- ②分子間相互作用によって惹起されるCNTの電気特性変化を検出可能な卓上型CNTバイオセンサーユニットと検出ソフトを独自に開発し、これらを用いて高感度かつ簡便な抗原抗体反応の検出を可能にした。

■見込まれる波及効果

本研究で開発したCNTバイオセンサーは従来のELISA法に比し、数千～数万倍高感度であり、検出回路の単純化と最適化によって、携帯型検出装置の開発も可能となる。装置は原虫検出のみならず、ウイルス、バクテリア、環境ホルモン、食品添加物など様々な標的分子の検出に応用が可能であり、これによってもたらされる家畜衛生および公衆衛生上のメリットは非常に大きい。

■主な発表論文

Namangala B., *et al.* : Effects of exogenous transforming growth factor-beta on *Trypanosoma congolense* infection in mice. *Infection and Immunity* 75 : 1878-1885 (2007)

Namangala B., *et al.* : Evidence for the immunostimulatory effects of low-dose orally-delivered human interferon alpha in cattle. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 26 : 675-681 (2006)

Oka H. and Sueoka K. : Spin-polarized scanning tunneling microscopy and spectroscopy study of c(2x2) reconstructed Cr(001) thin film surfaces. *Journal of Applied Physics* 99 : 08D302 (2006)

Thekisoe O. M. M., *et al.* : Evaluation of loop-mediated isothermal amplification (LAMP), PCR and parasitological tests for detection of *Trypanosoma evansi* in experimentally infected pigs. *Veterinary Parasitology* 130 : 327-330 (2005)

Takeda S., *et al.* : Application of carbon nanotubes for detecting anti-hemagglutinins based on antigen-antibody interaction. *Biosensors and Bioelectronics* 21 : 201-205 (2005)

■研究成果の概要

簡易分子間相互作用検出装置の開発と原虫病診断への応用

熱帯原虫病診断法の現状

実用されている熱帯原虫病診断技術

- ・顕微鏡検査
- ・ラテックス凝集反応

現行診断法の長所と短所

- ・安価で簡便
- ・感度が低く、正確性も劣る

改善すべき点

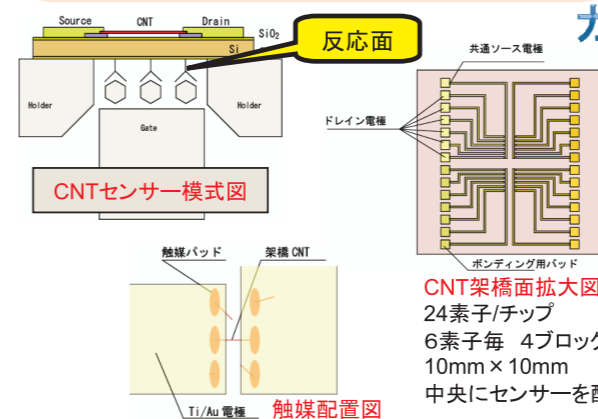
- ・感度、正確性の向上と安価、簡便の両立



血中に寄生する  
アフリカ  
トリパノソーマ

ELISA, PCRなどの先端的診断技術はコストや操作の煩雑性からフィールドではほとんど利用されていない。

先端的簡易診断法の実用化が急務！



カーボンナノチューブバイオセンサー

カーボンナノチューブ(CNT)バイオセンサーとは

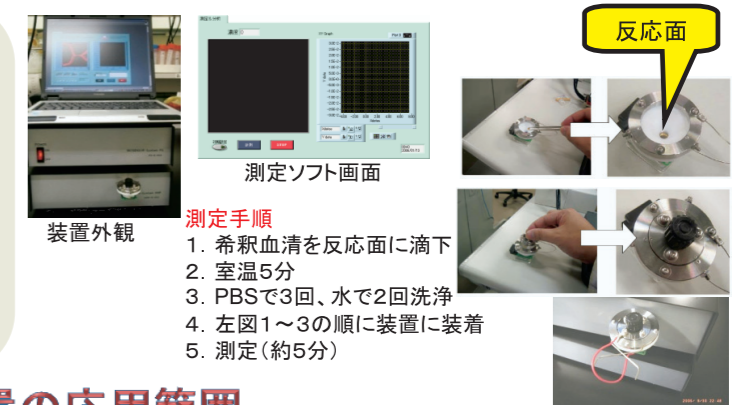
1. 基板上に平行にエッチングした二本の微小金属電極間をCNTで接続し、リガンド分子に特異結合するキャプチャー分子を電極面の反対側に固着させたもの。
2. ソース・ドレイン電極間に一定の電圧をかけながらCNTに流れる電流の変化を測定することにより分子間相互作用を高感度検出可能。
3. センサーに固着化するキャプチャー分子としては蛋白質・ペプチド・糖鎖・核酸などのあらゆる生体高分子が利用可能。したがってCNTバイオセンサーの実用化は疾病診断技術にとどまらず環境・公衆衛生、医学、食品衛生など物質検出を行う広範囲の産業分野に有益である。

プロジェクトの成果

簡易分子間相互作用検出装置の開発と診断装置への応用

成果の概要

1. CNTの架橋率を触媒等の見直しにより90%程度まで向上し、CNTセンサーの安定供給が可能となった。
2. 検出装置の基本回路と、測定ソフトを開発した。
3. CNTセンサーに組換え原虫抗原を固着化し抗原抗体反応を検出することに成功した。



装置の応用範囲

食品産業	環境・農畜産業	獣医・医療
<ul style="list-style-type: none"> <li>・アレルギー物質検出</li> <li>・残留農薬検出</li> <li>・細菌毒素等検出</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・環境ホルモン検出</li> <li>・水質検査</li> <li>・微生物汚染検出</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・血液検査</li> <li>・ストレス検査</li> <li>・各種疾病診断</li> </ul>

■研究課題名

高温・乾燥等の環境ストレスによる不稔誘発機構の解明とその制御

■研究の目的

イネをはじめとする農作物が良好に結実するためには、一定の気候条件が必要である。結実に直結する生殖過程は環境条件に敏感であり、不良条件下では不稔が引き起こされる。本研究では、高温ストレスによる稔性低下のしくみを解析することにより、それに対する防御手段を探ることを目的とする。具体的には、正常な生殖反応に働く遺伝子の機能を明らかにするとともに、環境条件によって発現量が大きく増減する生殖特異的遺伝子を同定し、その遺伝子が生殖反応にどのように寄与しているのかを明らかにすることによって、ストレスを受けても稔性を保つイネの開発へとつながる手がかりを得る。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①生殖器官特異的遺伝子の過剰発現・ノックダウン解析
  - ②環境条件による生殖器官特異的遺伝子の発現変動の解析
- (◎川岸 万紀子／独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所)



川岸 万紀子

■研究の内容及び主要成果

- ①イネの薬特異的に発現する新規遺伝子をおよそ40種類選定し、過剰発現あるいは発現抑制による影響を解析することによって、生殖反応における遺伝子機能を考察した。特に重要な遺伝子として、薬特異的転写因子遺伝子とワックス合成関連遺伝子が同定され、これらの遺伝子の機能が失われると不稔になることが示された。
- ②花粉の観察や交配実験の結果などから、柱頭に付着する花粉の数が著しく少ないことが、小孢子期の高温ストレスによる不稔の原因であると考えられた。マイクロアレイ解析により、高温処理開始後2日目のmRNAレベルが低下する一群の遺伝子を同定し、これらの遺伝子が主にタペート組織に発現していることを明らかにした。以上のことから、高温によって一群の薬特異的遺伝子の発現制御が阻害を受け、タペートの機能が一部損なわれて、花粉と柱頭との相互作用能が低下するというモデルが立てられた。

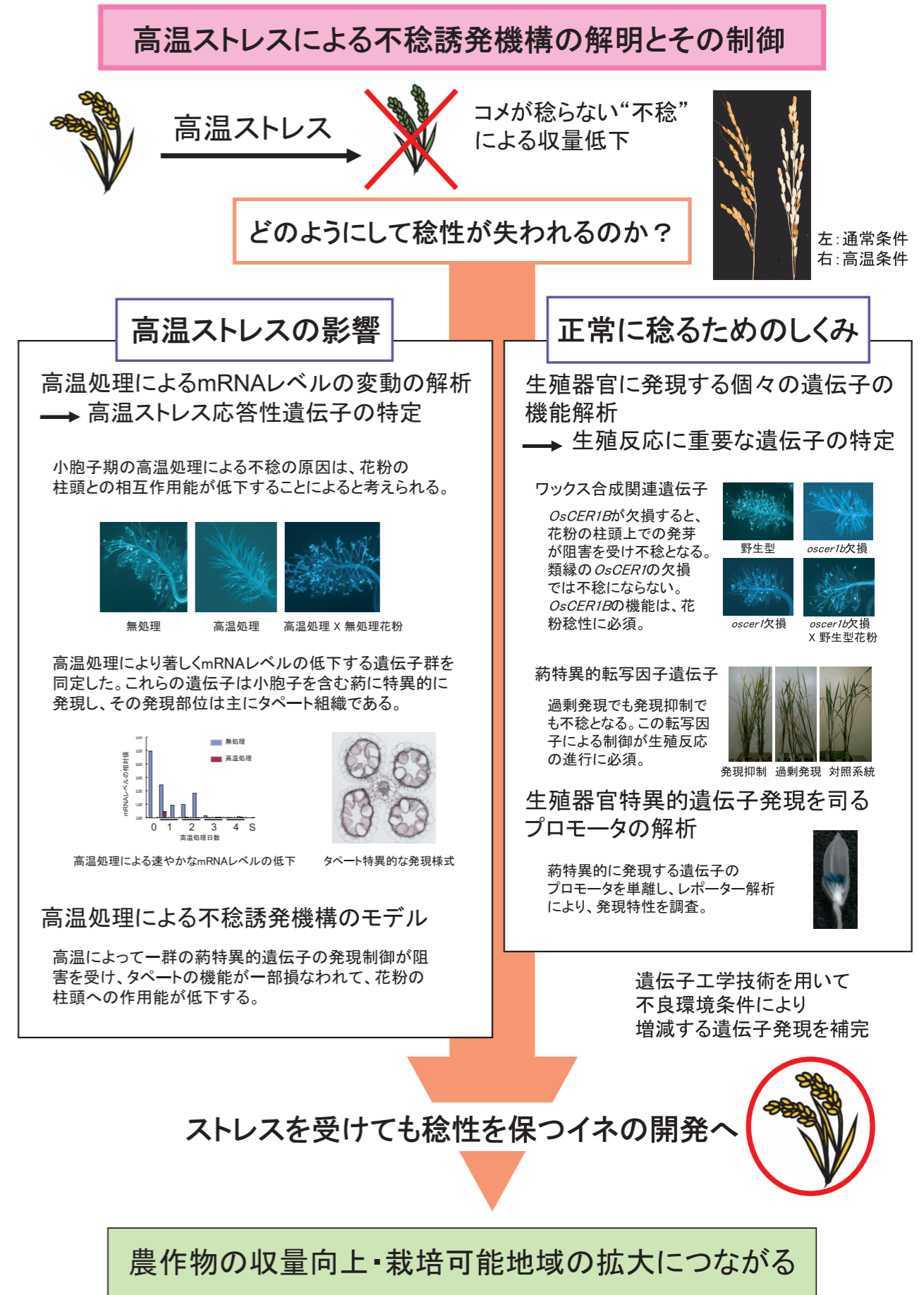
■見込まれる波及効果

本研究の成果により、薬特異的遺伝子の高温ストレスに対する応答性が明らかとなったので、生殖制御に重要な遺伝子の発現を補完することにより、ストレスによる不稔性を軽減できる可能性がある。また、イネ以外の作物への応用も可能であり、それぞれの作物について、適応できる気象条件がひろがることによって、現在の産地ではない地域での栽培も期待できる。

■主な発表論文

- Park J.-I., *et al.* : Molecular characterization of two anther-specific genes encoding putative RNA-binding proteins, AtRBP45s, in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Genet. Syst.* 81 : 355-359 (2006)
- Oshino T., *et al.* : Premature progression of anther early developmental programs accompanied by comprehensive alterations in transcription during high-temperature injury in barley plants. *Mol. Genet. Genomics* 278 : 31-42 (2007)

■研究成果の概要



■研究課題名

植物の生長を統御する根の水分屈性と水獲得戦略の解明

■研究の目的

植物における養水分の主要な吸収器官である根は、相対的に水分含量の高い空間へと伸長する水分屈性能を有する。本研究は、水分屈性の発現機構を解明するとともに、得られた知見を利用して根の伸長制御と養水分の効率的供給を可能にする新たな技術開発に資することを目的とする。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①水分屈性異常突然変異体の単離と解析
  - ②多種の植物での水分屈性現象の抽出と解析
- (◎宮沢 豊/東北大学大学院生命科学研究所)



宮沢 豊

■研究の内容及び主要成果

- ①シロイヌナズナ水分屈性異常突然変異体の単離と解析から、2つの水分屈性制御遺伝子MIZU-KUSSEI (MIZ=水屈性) 1, 2の同定に世界で初めて成功した。特にMIZ1は陸上植物特異的な機能ドメイン (MIZドメインと命名) を有しており、植物の進化における陸地環境への適応に寄与した可能性が示された。
- ②水分屈性能を高める目的でMIZ1遺伝子を改変したシロイヌナズナ形質転換体を作成し、水分屈性能が高まることを実証した。
- ③シロイヌナズナ、キュウリを用いた比較解析により、水分屈性には植物ホルモンであるオーキシンの作用が必須であることの普遍性を立証し、キュウリにおいて水分屈性発現に伴うオーキシン動態を制御する分子CsPIN 5を見いだした。

■見込まれる波及効果

本研究により同定された水分屈性制御遺伝子を基盤として植物の根の水分屈性能を強化することができるようになれば、乾燥環境における植物生産に有用な分子育種が可能になり、ストレス耐性品種の作出や水分環境制御に関する現状水準の限界を超える新たな技術に発展しうる。

■主な発表論文

Kobayashi A., *et al.* : A gene essential for hydrotropism in roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 4724-4729 (2007)

Kaneyasu T., *et al.* : Auxin response, but not its polar transport, plays a role in hydrotropism of *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 58: 1143-1150 (2007)

Miyazawa Y., Takahashi H. : How do Arabidopsis roots differentiate hydrotropism from gravitropism? *Plant Signal. Behav.* 2: 388-389 (2007)

■研究成果の概要

根が水を求めて曲がる仕組みの解明とその利用

植物は環境刺激にตอบสนองして屈性を発現し、生重量の80-90%を占める水に対しては、水分含量の高い空間へ屈曲伸長する**水分屈性**を発現する

水分屈性実験系

野生型の根は4時間以内にも高水分屈性が発現

水分屈性欠損突然変異体

水分

水分勾配

水分屈性異常突然変異体の単離と解析  
多種の植物での水分屈性現象の抽出と解析

世界初の水分屈性制御遺伝子 MIZU-KUSSEI1,2:(MIZ1, 2)の同定

改変MIZ1遺伝子導入による水分屈性能強化

キュウリ水分屈性時に機能するオーキシン輸送分子の同定

抗CsPIN5抗体による染色像

水分屈性時にはCsPIN5シグナル(黄緑色)が高水分側に偏在するようになる

Hydrotropic curvature (degrees)

Time (h)	野生型 (degrees)	改変MIZ1導入個体 (degrees)
0	0	0
24	~15	~35
48	~20	~75
72	~20	~90

屈性能向上

植物の水獲得戦略の解明とその利用技術の開発

乾燥耐性作物・品種の開発

灌漑農業での効率的な水分供給

乾燥地での生産安定と耕作地の拡大

■研究課題名

天然環境毒素による重要穀類の汚染低減化にむけた技術創成

■研究の目的

赤かび病菌は重要穀類の収量に大きな打撃を与えるのみならず、ヒトや家畜に有害な天然環境毒素（トリコテセン及びゼアラレノン）を生産して可食部を汚染し、農業にとって二重の脅威をもたらす。特に、みかけ上は健全粒でも毒素混入が認められる場合があり、食の安全と信頼性を確保する上で大きな問題となっている。

本研究では、トリコテセン系毒素の生合成や制御機構を分子レベルで解析してキーとなる経路酵素や情報伝達因子を同定し、より消費者に受け入れやすい特異的毒素産生抑制剤を開発するためのシーズを提供する。また、ゼアラレノン毒素を解毒することのできる世界初の組換え穀類を作出し、組換え技術によるカビ毒汚染リスクの低減化を実証する。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①トリコテセン系毒素生合成・制御機構の解析
- ②ゼアラレノン分解遺伝子 *zhd101* を導入したトウモロコシによるゼアラレノンの解毒 (◎木村 真/独立行政法人理化学研究所)



木村 真

■研究の内容及び主要成果

- ①トリコテセン系毒素生合成において、*Tri4* がコードするP450モノオキシゲナーゼが、トリコテセン基本骨格形成に必須の4つの分子状酸素導入ステップ全ての進行に関わることを明らかにした。次に、TRI4活性を測定する系を構築し、フラボノイド系化合物が酵素活性を阻害することを示した。また、*Tri* 生合成遺伝子の発現をGFP蛍光によってリアルタイムにモニターする系を開発し、毒素を生産しない培地組成でも気中菌糸の部分では*Tri* 遺伝子が発現して毒素を生産すること、僅か1-2%の食塩を添加することで毒素の生産が抑えられること、浸透圧情報伝達系の構成因子が毒素産生にも関与していることを明らかにした。
- ②ゼアラレノン分解遺伝子 *zhd101* を導入したトウモロコシの種子に高濃度のゼアラレノン溶液を浸漬処理したところ、解毒酵素反応を進めるには好ましくない低水分活性かつ低温条件下でも、十分に毒素汚染を低減化できることが示された。また、収穫後の穀粒に赤かび病菌を接種しても毒素は蓄積しないことが示された。

■見込まれる波及効果

本研究で得られた知見は、食の安全を脅かす赤かび病に対する毒素産生抑制剤の開発や新規農薬の開発を支援できる。また、カビ毒混入リスクの低減化を実証したことで、組換え作物が食の安全に役立つ事例として、その普及活動に貢献できる。

■主な発表論文

Kimura M., et al. : Molecular and genetic studies of *Fusarium* trichothecene biosynthesis: pathways, genes, and evolution. (Review) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71 : 2105-2123 (2007)

Takahashi-Ando N., et al. : A screening system for inhibitors of trichothecene biosynthesis: hydroxylation of trichodiene as a target. *Biotechnol. Lett.* (in press)

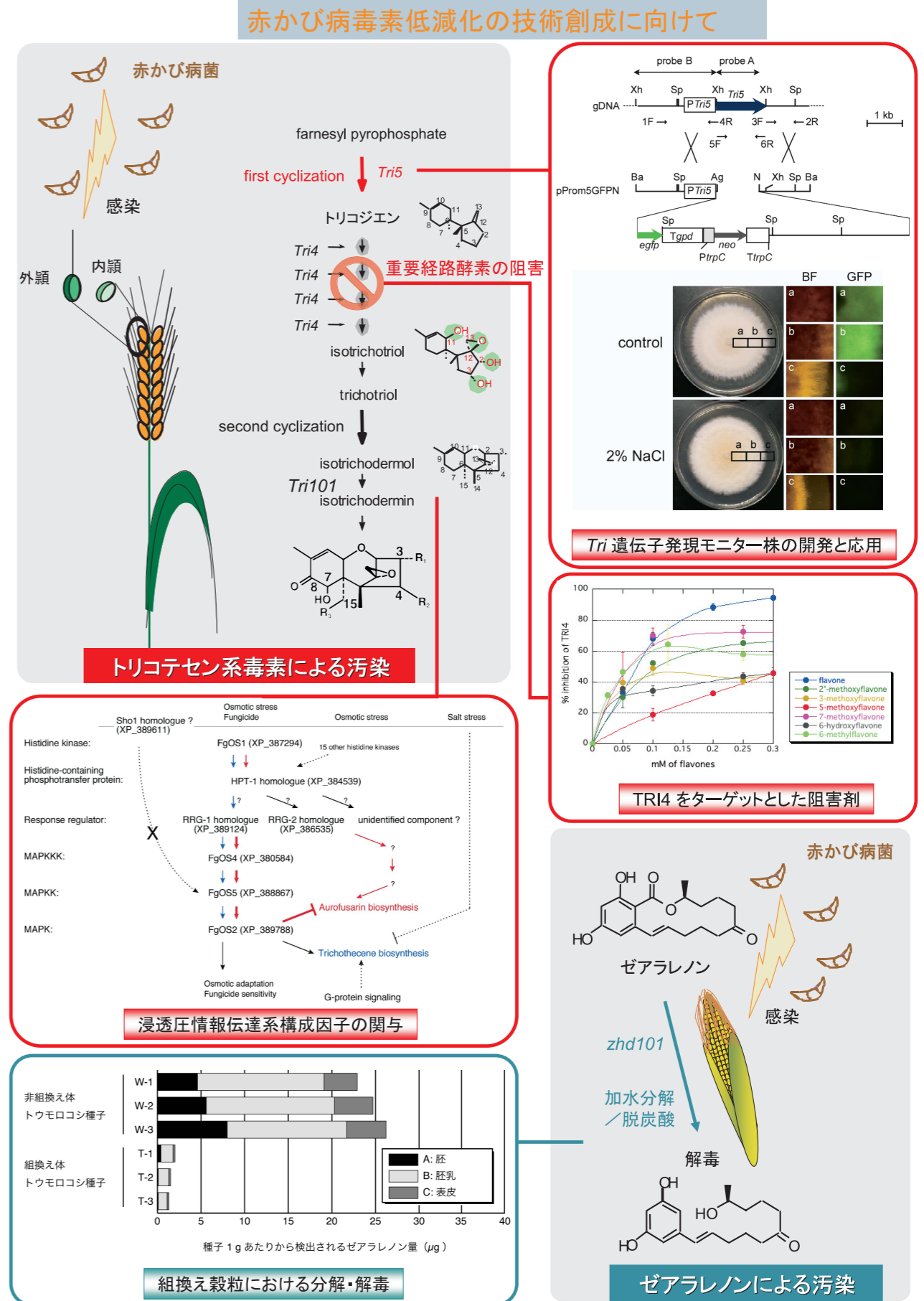
Ochiai N., et al. : Involvement of the osmosensor histidine kinase and osmotic stress-activated protein kinases in the regulation of secondary metabolism in *Fusarium graminearum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 363 : 639-644 (2007)

Ochiai N., et al. : Genetically engineered *Fusarium* as a tool to evaluate the effects of environmental factors on initiation of trichothecene biosynthesis. *FEMS Microbiol. Lett.* 275 : 53-61 (2007)

Tokai T., et al. : *Fusarium Tri4* encodes a key multifunctional cytochrome P450 monooxygenase for four consecutive oxygenation steps in trichothecene biosynthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 353 : 412-417 (2007)

Igawa T., et al. : Reduced contamination by the *Fusarium* mycotoxin zearalenone in maize kernels through genetic modification with a detoxification gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 1622-1629 (2007)

■研究成果の概要



【若手研究者支援型】