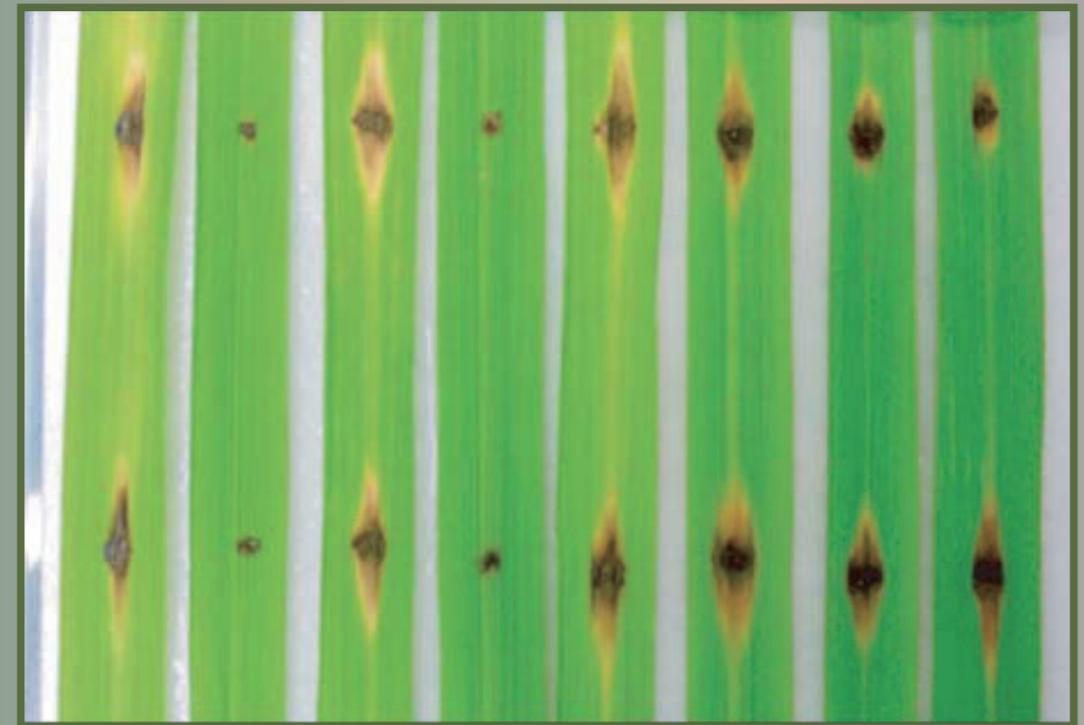
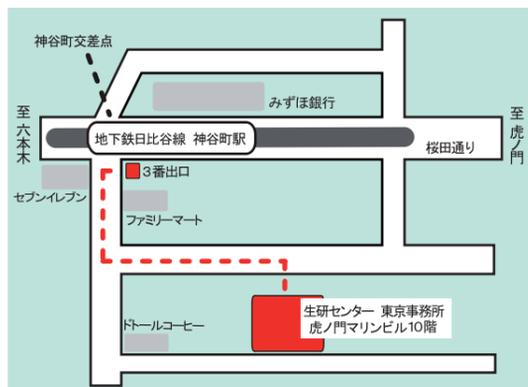


基礎研究推進事業 研究成果 (2009年度終了課題)

基礎研究推進事業 研究成果 (2009年度終了課題)



生物系特定産業技術研究支援センター 東京事務所



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

- お問い合わせ先
基礎研究課
〒105-0001
東京都港区虎ノ門3-18-19
虎ノ門マリビル10階
03-3459-6569
- 生研センターホームページ
<http://brain.naro.affrc.go.jp/tokyo/>

生物系特定産業技術研究支援センター

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

表紙写真説明

「イネにおける病原菌感染シグナルの受容・伝達機構の解明」(研究代表：山根久和)の研究成果の一部である、水稻(品種：日本晴)の葉にイネいもち病菌を接種して1週間後に現れた病徴の違いを示した。実験には、キチンエリシター受容体(CEBiP)とイネ白葉枯病抵抗性遺伝子(Xa21)間の各種融合タンパク質遺伝子(CRXa)を発現する組換え体のイネを用いた。イネ培養細胞においてキチンエリシターに対する受容体として機能することが確認されたCRXa1あるいはCRXa3を発現するイネ(左から2番目と4番目の葉)では、対照のイネ(左端)と比較して、いもち病の病斑形成が有意に抑制された。これらの結果から、いもち病菌の感染時にキチンエリシターが生成すること、および、これを細胞死誘導シグナルに変える遺伝的システムを持たせたイネでは、いもち病抵抗性が増大することがわかった。

(独立行政法人農業生物資源研究所 西澤洋子)

基礎研究推進事業

研究成果（2009 年度終了課題）

目 次

一 般 型

イネにおける病原菌感染シグナルの受容・伝達機構の解明 （東京大学生物生産工学研究センター／山根 久和）	1
イネ胚乳細胞のオルガネラ工学の開発と利用 （独立行政法人農業生物資源研究所／川越 靖）	3
環境保全型農業における生産性向上をめざした窒素利用効率を司る分子機構の解明 （東京大学大学院農学生命科学研究科／大杉 立）	5
極限環境生物が継承する生存戦略のオミクス解析に基づく耐酸性・耐高温植物の作出 （立教大学理学研究科／黒岩 常祥）	7
魚類における精子ベクター法の確立 （国立遺伝学研究所／酒井 則良）	9
麹菌における染色体工学の確立と高機能性麹菌の育種 （(財)野田産業科学研究所／小山 泰二）	11
酵素デザインを活用したミルクオリゴ糖の実用的生産技術の開発 （農研機構食品総合研究所／北岡 本光）	13
人工DNA結合タンパク質を用いたウイルス感染耐性植物の創出 （京都大学大学院工学研究科／世良 貴史）	15
油脂の口腔内化学受容および脳内情報処理機構解明による高嗜好低エネルギー油脂開発の基盤構築 （京都大学農学研究科／伏木 亨）	17
幼若ホルモンネットワーク遺伝子の解明と制御 （独立行政法人農業生物資源研究所／篠田 徹郎）	19
超微量安定同位体検出技術を応用した農水産物の新トレーサビリティ分析システムの開発 （首都大学東京大学院理工研究科／伊永 隆史）	21
若手研究者支援型	
アブラナ科作物ゲノムリソースおよびプラントアクティベーターを利用した新規病害防除法の開発 （岡山県生物科学総合研究所／鳴坂 義弘）	23
生殖免疫を基盤とした流産・不妊の予防法に関する研究 （山口大学農学部／度会 雅久）	25
臓器老化モデルマウスを用いた機能性食品物質の科学的評価 （東京都健康長寿医療センター／清水 孝彦）	27
脳機能モニタリングを活用した高度食味プロファイリングシステムの構築 （農研機構食品総合研究所／壇 一平太）	29
油糧酵母による国産バイオディーゼルの効率的生産技術の開発 （農研機構北海道農業研究センター／高桑 直也）	31

■研究課題名

イネにおける病原菌感染シグナルの受容・伝達機構の解明

■研究の目的

イネにおける病害抵抗性に関するシグナル伝達経路を解明するとともに、病原菌とイネとの感染初期における相互作用を解析し、得られた成果を病害防除技術開発に応用する。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ① エリシター受容体を介したシグナル伝達機構の解明
(渋谷直人、賀来華江／明治大学農学部)
- ② イネの病害抵抗性を制御する遺伝子ネットワークの解明
(◎山根久和、岡田憲典／東京大学生物生産工学研究センター)
- ③ イネいもち病感染初期過程におけるシグナル伝達機構の解明
(南 栄一、西澤洋子、秋本千春／独立行政法人農業生物資源研究所)



渋谷直人



山根久和



南 栄一

■研究の内容及び主要成果

- ① 植物病原菌由来の代表的な分子パターン (MAMPs) の一つであるキチンエリシターの受容体複合体構成因子として、イネから OsCERK1、CEBiP、CEBiP2、シロイヌナズナから CERK1 を同定することに成功した。
- ② イネの受容体様キナーゼである OsTHRK1 が、イネいもち病菌細胞壁のβグルカンに結合し、βグルカンエリシター受容体として防御応答に関与する可能性を示した。
- ③ イネにおけるエリシター誘導の基礎的抵抗性発現において、エリシター早期応答性の転写因子である OsWRKY53 が分子スイッチの一つとして機能することを明らかにするとともに、その過剰発現によりイネにイネいもち病抵抗性を付与することが可能なことを示した。
- ④ イネの代表的な病害抵抗性反応の一つであるジテルペン型ファイトアレキシンの生合成系の全容を遺伝子レベルで解明し、その発現制御に関わるマスター転写因子 OsTGAP1 を同定した。
- ⑤ イネにおけるキチンエリシターの受容により誘導される種々の防御応答関連遺伝子の発現が MAPK カスケード下流に位置することを見出した。
- ⑥ イネいもち病菌が有する初期感染補助因子として、分泌型カタラーゼ、2'-デオキシウリジンを同定した。
- ⑦ CEBiP を改変し、強力な抵抗性を誘導するキメラ受容体を発現するイネの作出に成功した。

■見込まれる波及効果

本研究で得られた成果は、遺伝子組換えによる病害耐性植物の育種や病害抵抗性賦活型農薬探索法の開発などに広く応用が可能で、新規かつ有効性が高い病害抗性付与技術の開発に大きく貢献できると考えられる。

■主な発表論文

- Kaku, H., *et al.*: Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a novel plasma membrane receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 11086-11091 (2006)
- Miya, A., *et al.*: CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 19613-19618 (2007)
- Shimura, K., *et al.*: Identification of a biosynthetic gene cluster in rice for momilactones. *J. Biol. Chem.* 282: 34013-34018 (2007)
- Okada, A., *et al.*: OsTGAP1, a bZIP transcription factor, coordinately regulates the inductive production of diterpenoid phytoalexins in rice. *J. Biol. Chem.* 284: 26510-26518 (2009)
- Kato, T., *et al.*: Differential responses of rice to inoculation with wild-type and nonpathogenic mutants of *Magnaporthe oryzae*. *Plant Mol. Biol.* 70: 617-625 (2009)

イネにおける病原菌由来の分子パターン (MAMPs) のシグナル伝達機構の解明とその応用

MAMPsのシグナル伝達機構



MAMPs
(キチン, βグルカン など)

MAMPs の受容

MAPKカスケードを含む
シグナル伝達

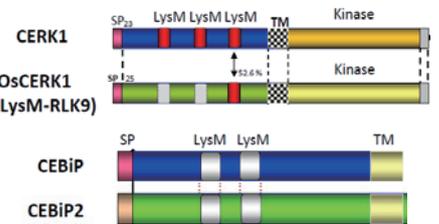
エリクター応答性転写因子群の
発現・活性化
(OsWRKY53, OsTGAP1など)

抵抗性反応

- 抗菌性タンパク質の発現
- ファイトアレキシンの生産など

MAMPs受容体の単離

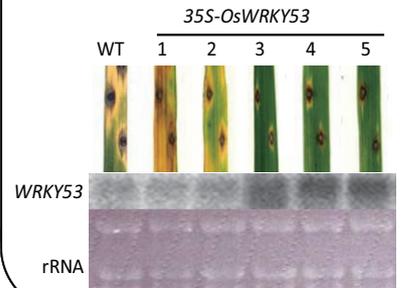
キチンエリクター受容体



βグルカンエリクター受容体様キナーゼ



OsWRKY53の過剰発現による 病害抵抗性の付与



いもち病菌感染補助因子の同定

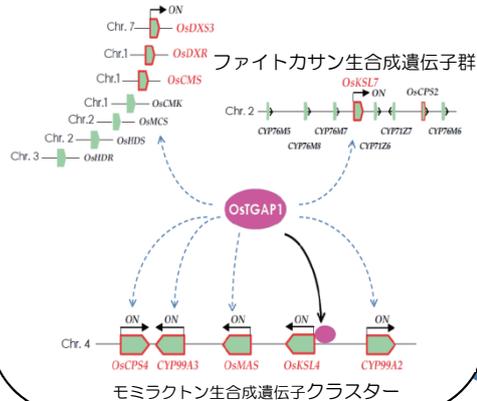
分泌型カタラーゼ

2'-デオキシウリジン

感染の促進

OsTGAP1によるジテルペン型 ファイトアレキシン生成の制御

メチルエリスリトールリン酸経路の遺伝子群

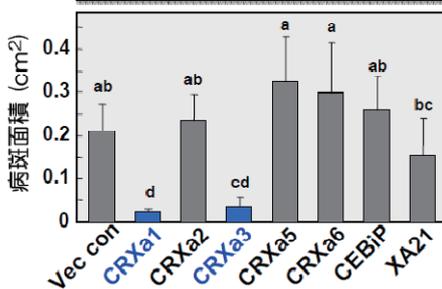
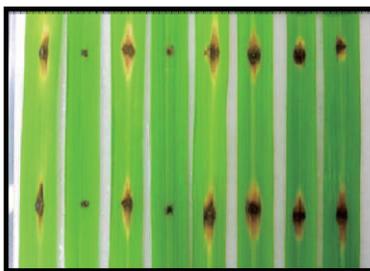


新規病害抵抗性の付与技術の開発

CEBiPの改変による強力な抵抗性を誘導する
キメラ受容体を発現するイネの作出

キメラ遺伝子を導入した日本晴のいもち病抵抗性

イネ白葉枯病抵抗性遺伝子産物 Xa21細胞内タンパク質リン酸化酵素領域、膜近傍自己リン酸化領域、Xa21またはCEBiP由来の膜貫通領域、およびCEBiP細胞外領域をすべてコードする遺伝子産物CRXa1、CRXa3のみがいもち病に強い抵抗性を与えている



■ 研究課題名

イネ胚乳細胞のオルガネラ工学の開発と利用

■ 研究の目的

イネ胚乳細胞の貯蔵オルガネラのタンパク質顆粒とアミロプラストの生成・発達の分子機構を解明し、その知見を応用して「オルガネラ工学」の手法を開発することを研究の目的とした。アミロプラスト分裂の制御法を確立するとともに、タンパク質顆粒の発達が阻害された変異体の米粉の利用法を開発することを目標にした。

■ 研究項目及び実施体制

- ①胚乳アミロプラストの分裂制御方法の開発
(◎川越 靖、ユン ミンスウ／独立行政法人農業生物資源研究所植物科学研究領域)
- ②胚乳タンパク質顆粒の生成・発達の分子機構の解明
(◎川越 靖、恩田 弥生／独立行政法人農業生物資源研究所植物科学研究領域)



川越 靖

■ 研究の内容及び主要成果

- ①アミロプラストは葉緑体と異なり、多分裂または出芽で増殖することを明らかにした。
- ②イネに特徴的な複粒型デンプンの合成は、アミロプラストの分裂様式と関連することを明らかにした。
- ③グルテリンのジスルフィド結合形成に Ero1 及び PDIL1;1 が関与することを明らかにした。
- ④PDIL1;1 の欠損変異体 *esp2* ではグルテリン前駆体が分子間ジスルフィド結合を形成し、*esp2* 米粉の製パン特性は野生型よりも優れていることを明らかにした。
- ⑤タンパク質のジスルフィド結合形成に伴って過酸化水素が発生することが明らかになり、活性酸素の発生と胚乳組織の細胞死との関連が示唆された。

■ 見込まれる波及効果

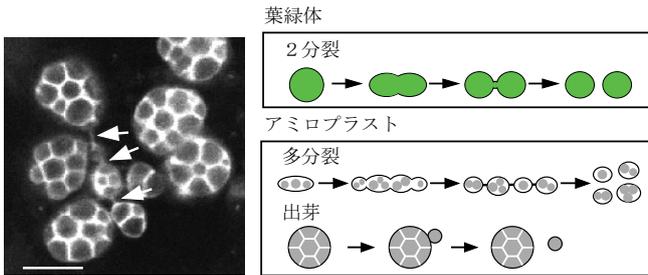
イネに特徴的な複粒型デンプン合成は、アミロプラストの特異的な分裂様式が直接の原因であることが明らかになった。デンプン粒を隔てる隔壁の形成に直接関与する遺伝子が今後の研究で同定されることが期待される。貯蔵タンパク質蓄積の分子機構の解明と利用に関しては、貯蔵タンパク質のジスルフィド結合形成を制御することで、米粉の物性を改善することが可能であることを明らかにした。PDIL1;1 の機能欠損変異体 (*esp2*) を利用した米粉開発では、タンパク質含量の高い品種や、超多収品種と組み合わせた実用品種の開発が期待される。また、貯蔵タンパク質の蓄積（ジスルフィド結合形成）と活性酸素の発生との関連が示唆されたことから、貯蔵タンパク質蓄積の制御によって、米の品質を改善する方法の開発が期待される。

■ 主な発表論文

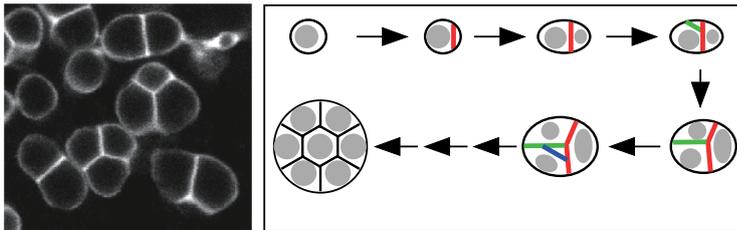
- Yun, M.-S. and Kawagoe, Y. : Amyloplast division progresses simultaneously at multiple sites in the endosperm of rice. *Plant Cell Physiol.*50 : 1617-1626 (2009)
- Kitajima, A., *et al.* : The rice α -amylase glycoprotein is targeted from the Golgi apparatus through the secretory pathway to the plastids. *Plant Cell* 21 : 2844-2858 (2009)
- Onda, Y., *et al.* : ER membrane-localized oxidoreductase Ero1 is required for disulfide bond formation in the rice endosperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106 : 14156-14161 (2009)

イネ胚乳細胞のオルガネラ工学の開発と利用

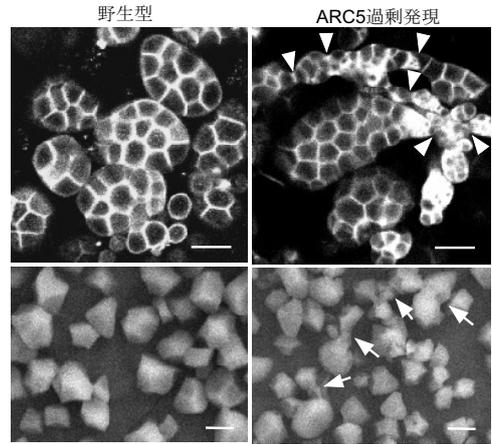
アミロプラスト工学 (デンプン)



分裂中のアミロプラスト
・アミロプラストは多分裂・出芽によって増殖。

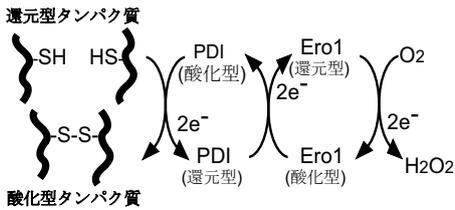


分裂初期のアミロプラスト (分裂中のシアノバクテリアに類似)
・デンプン粒の間に隔壁が形成される。
・隔壁形成とデンプン粒の合成が繰り返されて、イネに特徴的な複粒型デンプンが合成される。

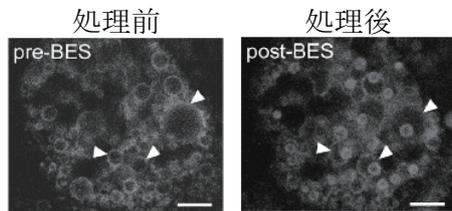


胚乳細胞のアミロプラストとデンプン粒の比較
・プラスチド分裂タンパク質ARC5の胚乳での過剰発現はアミロプラストの分裂を阻害する。
・分裂異常を示すアミロプラストのデンプン粒の形態・特性は野生型と異なる。

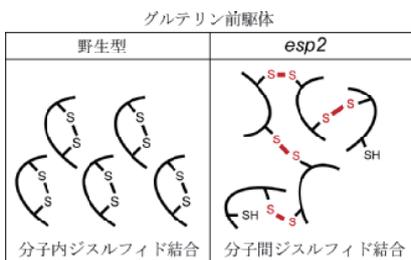
タンパク質顆粒工学 (貯蔵タンパク質)



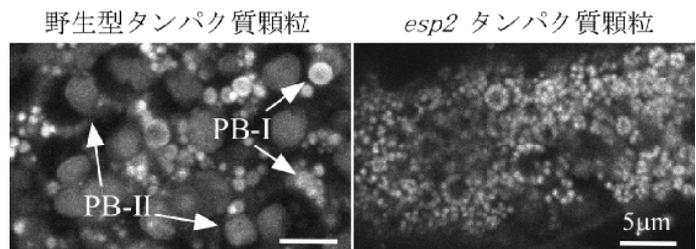
タンパク質ジスルフィド結合形成の電子伝達系
・ジスルフィド結合形成によって過酸化水素が発生。



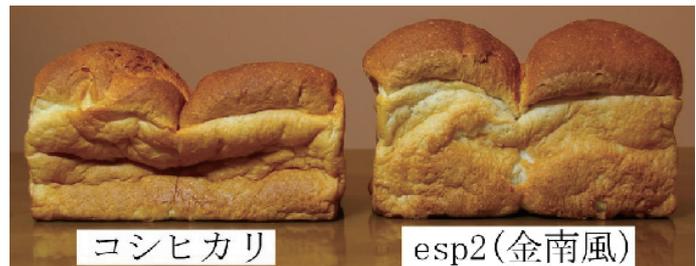
登熟種子の小胞体で過酸化水素が発生
・過酸化水素特異的ブロープ(BES-H₂O₂)による過酸化水素の検出



・PDIL1;1欠損変異体esp2では種子貯蔵タンパク質グルテリンが分子間ジスルフィド結合を形成して蓄積する。



・esp2 のタンパク質顆粒はPB-I とPB-IIの2種類の顆粒が形成されず小さな顆粒が凝集して形成される。



・esp2 の米粉はコシヒカリの米粉と比較して、生地作業性、伸展性、可塑性などが優れている。
・esp2 ではグルテリン前駆体が登熟中に分子間ジスルフィド結合によって高分子量複合体を形成する。タンパク質の特性の違いが米粉の物性を改善する要因と推察される。
・esp2 と超多収米との交配によって実用化品種の開発が期待される。

■研究課題名

環境保全型農業における生産性向上をめざした窒素利用効率を司る分子機構の解明

■研究の目的

窒素利用効率を高める効果のある遺伝子 (GDH,Dof1,CPKd) を導入したイネとバレイショについて、代謝物、光合成・転流機能、収量性などを高・低窒素条件で網羅的に解析する。また、効率的プロモーター解析手法等を駆使して高い窒素利用効率に関わる新たな調節因子の特定を行う。更に、量的遺伝子座 (QTL) 解析により、高い窒素利用効率に関わる有用遺伝子座を明らかにする。これらの解析により、低窒素条件での効率的な窒素利用と炭水化物生産における遺伝子・代謝ネットワークを解明するとともに、高い窒素利用効率作物開発のためのいくつかの改変ターゲットを明らかにする。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①高窒素利用効率関連遺伝子を導入したバレイショ及びイネの解析並びに代謝・遺伝子ネットワークの解明
(◎大杉 立／東京大学大学院農学生命科学研究科)
- ②窒素利用効率を司る制御因子の検索
(柳澤 修一／東京大学大学院農学生命科学研究科)
- ③窒素利用効率の遺伝解析
(根本 圭介／東京大学大学院農学生命科学研究科)



大杉 立



柳澤修一



根本圭介

■研究の内容及び主要成果

- ①窒素利用効率を高める可能性のある遺伝子 (GDH,Dof1,CPKd) を導入したイネとバレイショのうち、GDH イネおよびGDH バレイショはともに、乾物生産量、収量および窒素利用効率が向上した。GDH イネについては、隔離圃場でのGDHの収量向上効果を明らかにした。また、GDH イネでは15Nを用いた実験でGDHによってアンモニアが直接同化されていることを明らかにした。
- ②窒素応答に関わる転写因子をコードする二つの遺伝子 (MYB-NR1 と MYB-NR2) と C/N バランスを感知する遺伝子 (SSV1) を同定した。MYB-NR2 はトリプトファン合成酵素のαサブユニット遺伝子およびトリプトファン脱炭酸酵素遺伝子のプロモーターを転写因子として直接活性化できること、また、C/N バランス感知機構には、SSV1 を介したプロテアソームシステムによる特定タンパク質の分解が含まれることを明らかにした。
- ④ “熱研2号×伽耶” 組換え近交系の戻し交配集団を用い、バイオマスの向上を伴う窒素利用効率の QTL を4箇所と同定した。最も大きな作用力を示した第3染色体長腕末端部の QTL の原因遺伝子の候補として、フェレドキシン-NADP+還元酵素遺伝子を推定した。

■見込まれる波及効果

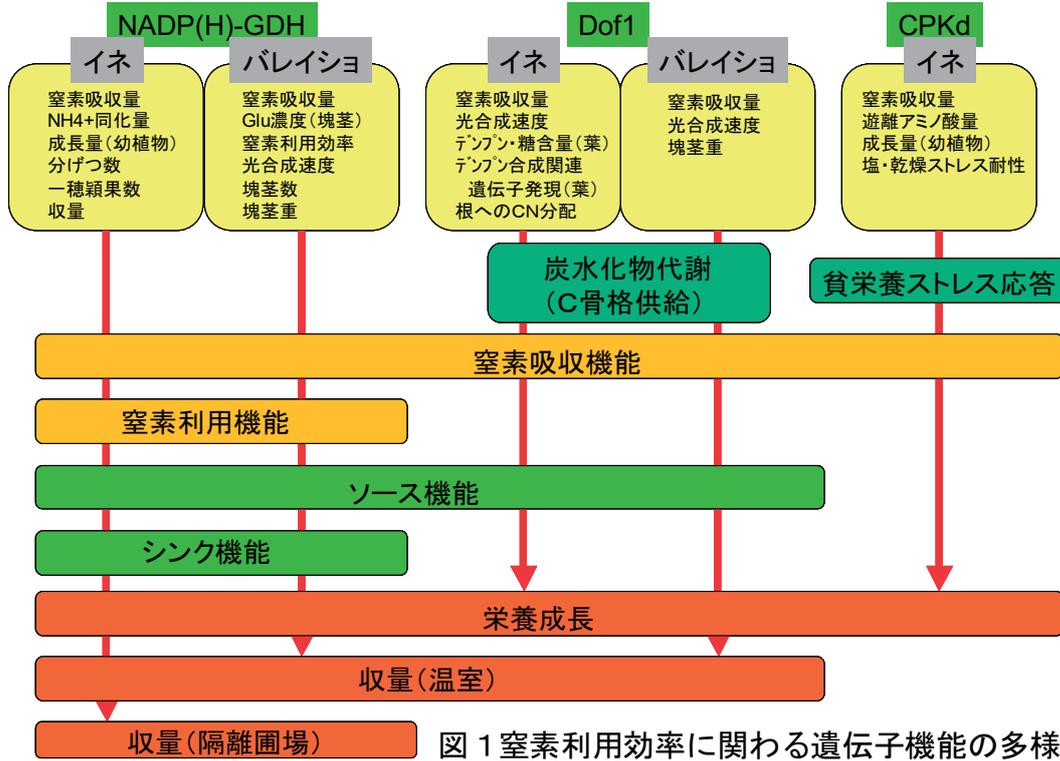
今後、収量・窒素利用効率などに効果を示すGDH遺伝子を実用化を目指した形でイネなどに導入し、飼料用や貧栄養条件での栽培に利用することでわが国および世界の作物生産の増大、わが国の自給率向上などに貢献できる。また、得られた新たな調節因子およびQTLは今後形質転換作物を通じた圃場レベルでの解析等を行うことで、将来の効率的窒素利用に資する作物開発に貢献できる。

■主な発表論文

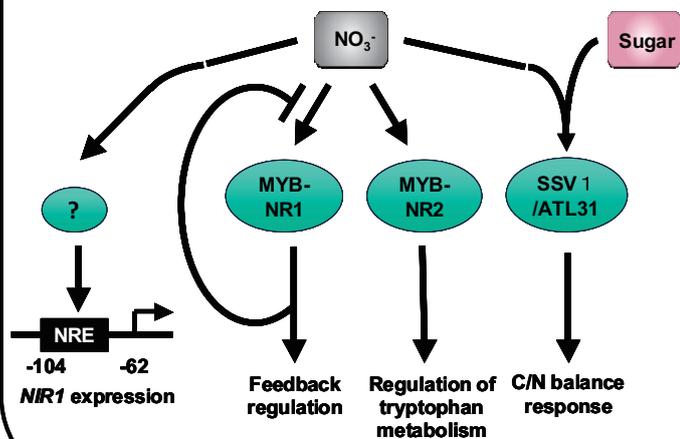
- Shigyo M., *et al.* : Evolutionary processes during the formation of the plant-specific Dof transcription factor family. *Plant Cell Physiol.* 48(1) : 179-185 (2007)
- Konishi M., Yanagisawa S.: Sequential activation of two Dof transcription factor gene promoters during vascular development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol. Biochem.* 45 : 623-629 (2007)
- Sonoda Y., *et al.* : Regulation of leaf organ size by the *Arabidopsis* RPT2a 19S proteasome subunit. *Plant J.* 60 : 68-78 (2009)
- Sato T., *et al.* : CNI1/ATL31, a RING-type ubiquitin ligase that functions in the carbon/nitrogen response for growth phase transition in *Arabidopsis* seedlings. *Plant J.* 60 : 852-864 (2009)
- Tsutsui T., *et al.* : DEAR1, a transcriptional repressor of DREB protein that mediates plant defense and freezing stress responses in *Arabidopsis*. *J. Plant Res.* 122 : 633-643 (2009)

環境保全型農業における生産性向上をめざした窒素利用効率を司る分子機構の解明

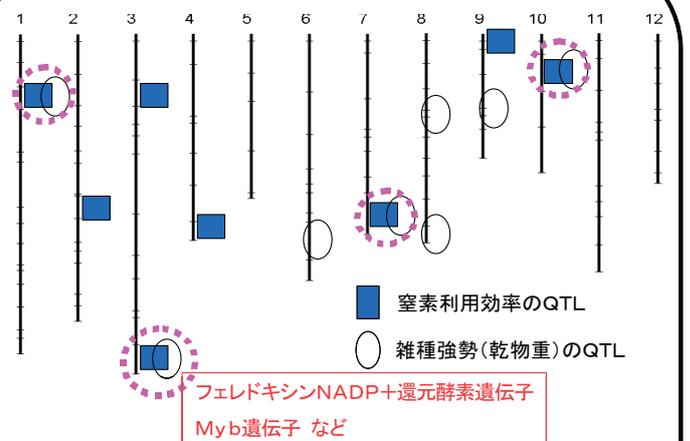
①高窒素利用効率関連遺伝子を導入したバレイシヨ及びイネの解析並びに代謝・遺伝子ネットワークの解明



②窒素利用効率を司る制御因子の検索



③窒素利用効率の遺伝解析



高い窒素利用効率を示す作物・品種の開発に貢献

■ 研究課題名

極限環境生物が継承する生存戦略のオミクス解析に基づく耐酸性・耐高温植物の作出

■ 研究の目的

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (シズン)は極限環境(強酸性、高温、高金属イオンなど)に棲息する。本研究の目的は、これらの特性を決める遺伝子を、ゲノム・ポストゲノム情報を基盤にした、比較ゲノム、EST 解析、模擬環境変動実験により決定し、それらを高等植物に導入し、酸性雨、温暖化、砂漠化など環境ストレスに適応力のある有用植物を作出することである。

■ 研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ① シズンの極限環境適応遺伝子の探索とその応用に関する基礎研究
(◎黒岩 常祥/立教大学理学研究科極限生命情報研究センター)
- ② 環境変動に耐性な有用植物の作出
(平野博之/東京大学大学院理学系研究科)



黒岩常祥



平野博之

■ 研究の内容及び主要成果

- ① シズンゲノムの塩基配列を真核生物としてはじめて 100%解読し、マイクロアレイによる全遺伝子のトランスクリプトーム解析、TOF MS-プロテオーム解析による指標物質の超高率同定に成功した。またシズンの遺伝子破壊技術を開発した。
- ② 上記の情報を利用して、比較ゲノム解析、EST 解析、更に擬似環境変動実験を行い、酸性耐性、高温耐性、高アルミニウムイオン耐性、塩・Ca 耐性に関わる 29 候補遺伝子を同定した。
- ③ これらの候補遺伝子を高等植物(ヒメツリガネゴケ、シロイヌナズナ、イネなど)に導入して形質転換を試み、耐酸性、耐高温など環境ストレスに対して耐性能力を獲得した高等植物を作出することに成功した。

■ 見込まれる波及効果

極限環境に棲息する生物の遺伝子の利用の道が開拓され、基礎科学のみならず次の様な多くの応用研究への利用が期待される。

○ 環境変動に対する適応能を持つ農作物の改良への貢献:

シズンの遺伝子を導入した植物は、酸・アルミニウムイオンに対して高い耐性を示した。このことから、酸性雨に強い植物の作出が可能であることが示された。また、遺伝子を導入して得られた高温耐性の植物や塩・Ca 耐性の植物は、高温での二酸化炭素固定能が高い植物や、温暖化や砂漠化に対応した植物の作出が可能であることを示し、環境適応能をもつ農作物の改良への貢献が期待される。

○ 環境修復への波及効果:

シズンの液胞は様々な金属イオン吸収能が高い事が明らかになったが今回これらの遺伝子を高等植物に導入し、金属イオン耐性能の付加に成功した。これは選択的に金属イオンを吸収できる植物の作出が可能であることを示しており、この植物の利用により土壌修復などへの利用が期待される。

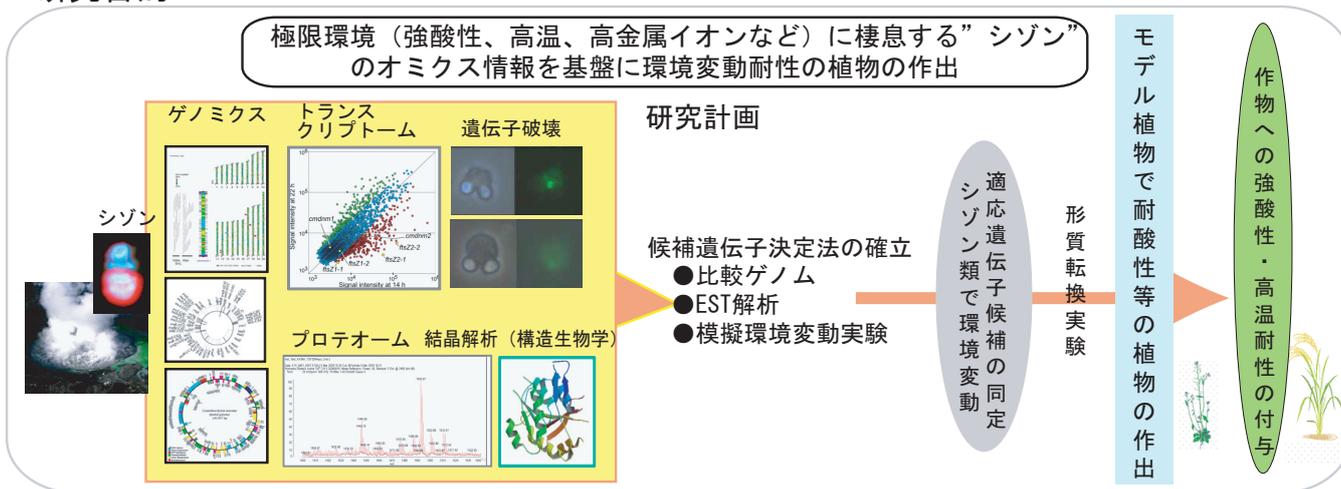
○ 生命科学、構造生物学への展開:

シズンのゲノム情報は、既農水省関連の植物の SALAD データベースとして採用され、農林水産業、飲食料品産業、醸造業など応用研究の基礎データとして利用されており、それらの分野への波及効果は大きい。またシズンは高温に棲息するためそのタンパク質が高温、安定であることを利用して、真核生物のタンパク質は高温で安定であることから、シズンとそのゲノム情報は、既に世界 50 箇所余りの先端的構造生物学の研究室で使用され、成果を挙げている。

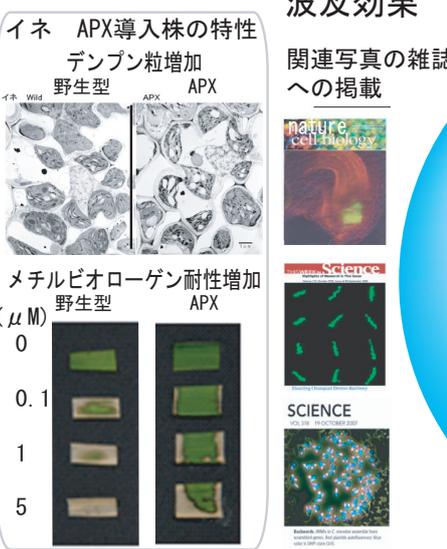
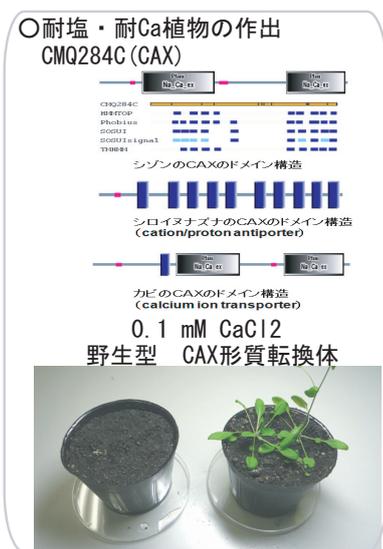
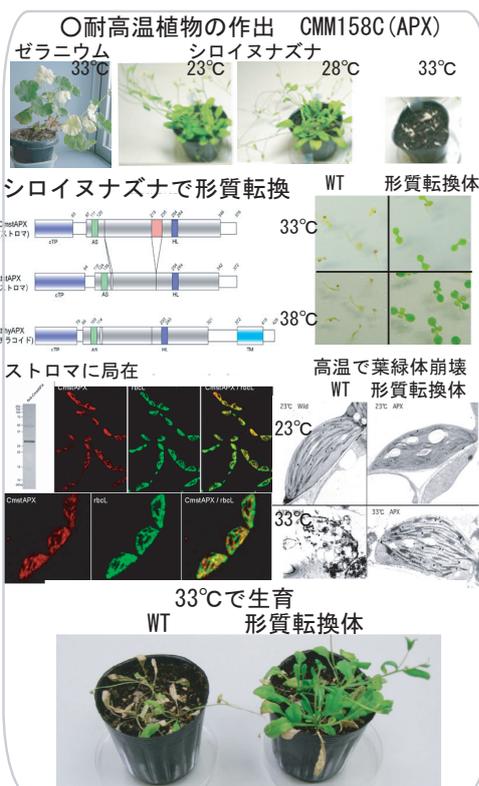
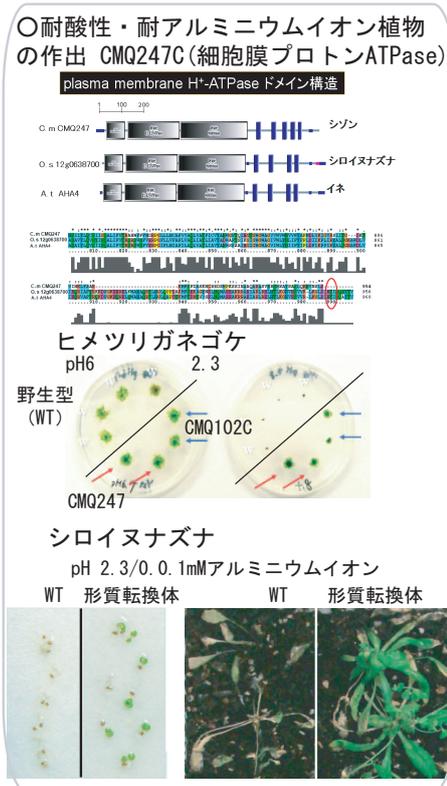
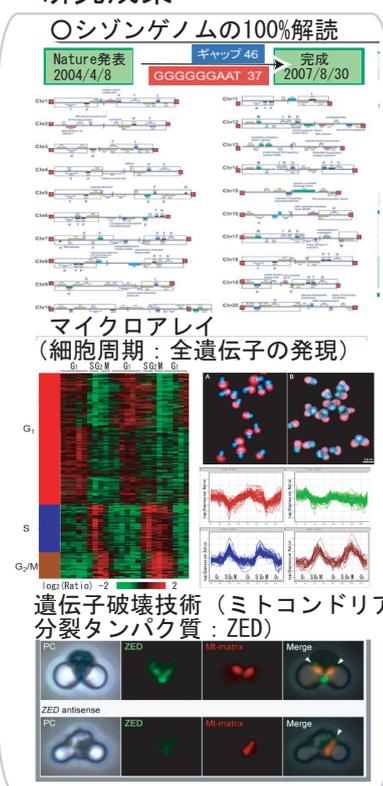
■ 主な発表論文

- Yoshida Y., *et al.*: Isolated chloroplast division machinery can actively constrict after stretching. *Science* 313, 1435-1438 (2006)
- Nozaki H., *et al.*: A 100%-complete sequence reveals unusually simple genomic features in the hot-spring red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *BMC Biol* 5, no28 (2007).
- Yagisawa H., *et al.*: Identification of novel proteins in isolated polyphosphate vacuoles in the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Plant J.* 60, 882-893 (2009).
- Yoshida Y., *et al.*: The bacterial ZapA-like protein ZED is required for mitochondrial division. *Curr. Biol.*19, 1491-1497 (2009)
- Hirooka S., *et al.*: Expression of *Cyanidioschyzon merolae* chloroplast stroma APX in *Arabidopsis thaliana* enhances tolerance to high temperature stress. *Plant Cell Rep.* 28, 1881-1893 (2009)

研究目的



研究成果



波及効果

◎ 環境変動（酸性雨、温暖化、砂漠化）に対する適応能を持つ農作物の作出が可能となった。

◎ シゾンのゲノム情報などは、既に農水省関連の植物のSALADデータベースとして採用され、農林水産業、食料品産業などに基礎データとして利用されている。また高温に棲息し100%ゲノム解読が完了したシゾン類はヒトに次いでタンパク質の構造解析のためのモデル生物として世界中で使用されるに至った。

■研究課題名

魚類における精子ベクター法の確立

■研究の目的

将来にわたり魚類を継続的に安定供給するためには、効率的な品種改良を可能にする精度の高い遺伝子組換え技術が不可欠である。本研究は魚類全般に広く適用できる高効率・高精度の遺伝子操作技術を開発することを目的に実施された。具体的には、系統の離れたゼブラフィッシュとメダカを用いて、培養系において精原幹細胞もしくは精原細胞に遺伝子改変操作を行ない、それらから形成された精子で卵を授精させることで遺伝子改変魚を作出する技術（精子ベクター法）を確立する。さらに、ゼブラフィッシュとメダカから魚類に共通する精子形成調節因子を単離・同定し、様々な魚類において雄生殖細胞培養系を樹立するための基盤を確立する。

■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①ゼブラフィッシュ培養精子による逆遺伝学技術の確立および精子形成調節因子の解明
（◎酒井 則良／国立遺伝学研究所系統生物研究センター）
- ②メダカ培養精子による逆遺伝学技術の確立および精子形成調節因子の解明
（山下 正兼／北海道大学大学院先端生命科学研究院）



酒井則良



山下正兼

■研究の内容及び主要成果

- ①精原幹細胞の培養法の確立と、解離した精巢細胞を再集合させて腹腔内に移植することで精子形成を誘起する方法を確立し、培養精原幹細胞からゼブラフィッシュ個体の作出に成功した。さらにアデノウイルスで精原細胞へ遺伝子導入できることを見出した。
- ②Sld5 抗体を用いてゼブラフィッシュ休止期精原幹細胞を同定するとともに、減数分裂異常を示すゼブラフィッシュの新規突然変異体を3系統単離した。
- ③メダカにおける顕微授精法（細胞質内精子注入法: ICSI）と精原細胞から精子までの培養系を確立し、薬剤耐性のセルトリ細胞株も樹立した。バキュロウイルスによって精原細胞へ遺伝子導入できることも見出した。
- ④20 種以上のメダカ蛋白質に対する抗体を作製し、減数分裂特異的染色体動態の包括的解析を行うとともに、ガン抑制遺伝子 p53 突然変異メダカの解析から精原細胞の増殖因子として白血病抑制因子（LIF）を同定した。

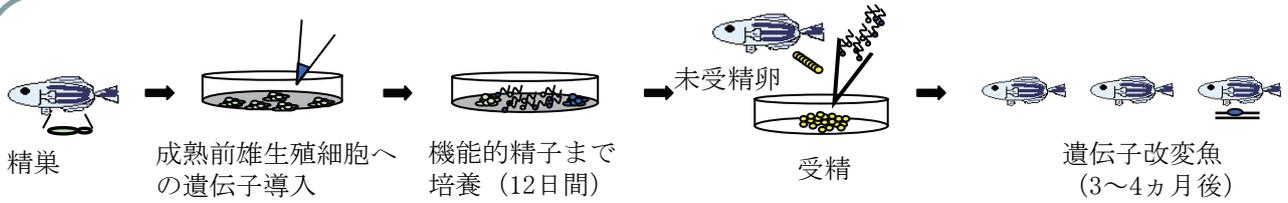
■見込まれる波及効果

系統の離れたゼブラフィッシュとメダカで精子ベクター法の確立に成功し、本法は汎用性のある遺伝子改変技術となりうることを証明できた。今後、他の魚種にも応用することで、魚類の標準的な遺伝子改変技術となろう。本技術はまた、標的遺伝子置換を可能にするもので、品種改良を格段に飛躍させる突破口となりうる。精原幹細胞培養系や顕微授精法の確立により、未成熟な個体や凍結幹細胞・凍結乾燥精子から次世代を得ることも可能となった。希少種や遺伝子導入魚など、多様な遺伝子資源の効率的保存の点でも水産業に多いに貢献すると考える。

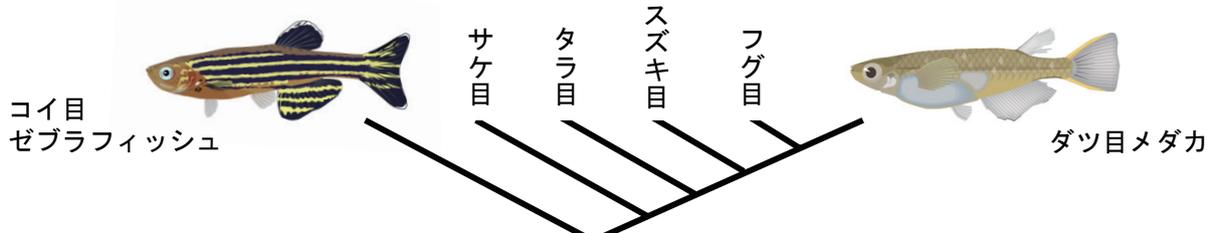
■主な発表論文

- Sakai N.: In vitro male germ cell cultures of zebrafish. *Methods* 39: 239-245 (2006).
- Iwai T., et al.: Structural components of the synaptonemal complex, SYCP1 and SYCP3, in the medaka fish *Oryzias latipes*. *Exp. Cell Res.* 312: 2528-2537 (2006).
- Sakai C., et al.: Chromosome elimination in the interspecific hybrid medaka between *Oryzias latipes* and *O. hubbsi*. *Chromosome Res.* 15: 697-709 (2007).
- Kawasaki T., et al.: Introduction of a foreign gene into zebrafish and medaka cells using adenoviral vectors. *Zebrafish* 6: 253-258 (2009).
- Otani S., et al.: Artificial fertilization by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in a teleost fish, the medaka *Oryzias latipes*. *Biol. Reprod.* 80: 175-183 (2009).
- Iwai T., et al.: Production of transgenic medaka fish carrying fluorescent nuclei and chromosomes. *Zool. Sci.*, 26: 9-16 (2009).

魚類における培養精子を用いた遺伝子改変技術（精子ベクター法）の確立



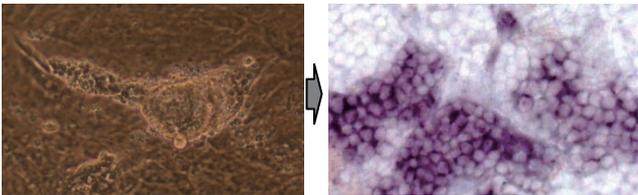
培養精子を用いた遺伝子導入法は従来法に比べ1世代早く遺伝子改変できるメリットを有する



系統の離れたゼブラフィッシュとメダカを用いて培養精子による遺伝子改変技術を確立

ゼブラフィッシュの成果

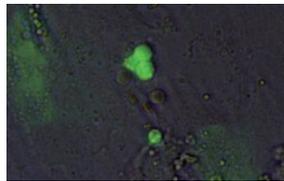
1. 培養した精原幹細胞から精巣細胞再集合—腹腔内移植によるゼブラフィッシュ個体の作出



- ・精原幹細胞の培養 (1ヵ月)
- ・再集合塊で精子形成
- ・魚類で初めて培養精原幹細胞から受精個体の作成に成功した (76%が培養精原幹細胞に由来)。

2. アデノウイルスによる精原細胞への遺伝子導入

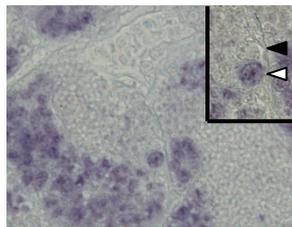
→ 1と2を組み合わせることで培養精原幹細胞を用いた標的遺伝子改変が可能となった。



3. Sld5による休止期精原幹細胞の同定および減数分裂異常新規突然変異体3系統の単離

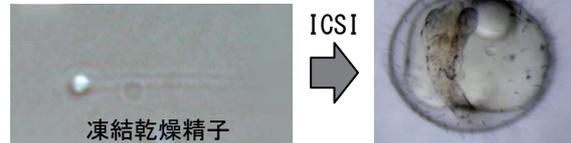
- ・休止期精原幹細胞はSld5陰性となる (右図、▶)。

→ 魚類に共通する精子形成調節因子の解明。



メダカの成果

1. 顕微授精法(ICSI)の確立と凍結乾燥精子からの個体作出



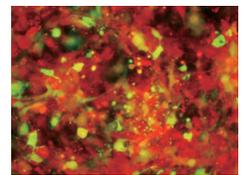
- ・3ヶ月間冷蔵(4℃)保存の凍結乾燥精子からメダカ個体が作出された。

→ 遺伝子改変精子による効率的受精と多様な遺伝子資源の網羅的簡易保存が可能となった。

2. 精原細胞からの精子形成系、薬剤耐性セルトリ細胞株、バキュロウイルスによる遺伝子導入の確立

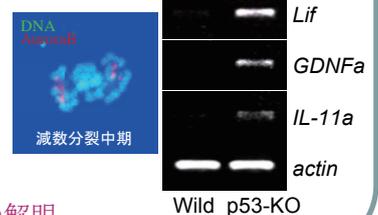
- ・バキュロウイルスで遺伝子導入した精原細胞(緑)と薬剤耐性セルトリ細胞(赤)を共培養。形成された精子で授精して遺伝子改変個体を得た。

→ 培養精子による遺伝子改変技術がメダカでも確立された。



3. 減数分裂特異的染色体動態の解析と精原細胞の増殖に関わる分子の同定

- ・雑種メダカの減数分裂異常に関わる分子(左)とp53欠損メダカの精原細胞増殖亢進に関わる分子を同定(右)。



→ 魚類に共通する精子形成調節因子の解明。

魚類において培養精原幹細胞あるいは培養精子を用いた標的遺伝子置換の基盤技術の確立

■ 研究課題名

麹菌における染色体工学の確立と高機能性麹菌の育種

■ 研究の目的

麹菌は、醤油・味噌・酒などの醸造産業のみならず、酵素、医薬品、化成品、食品等の産業においても重要な産業用微生物であり、2005年にゲノムは解読されたものの、未だに機能がわからない遺伝子が多数存在し、実用化に向けた技術開発は遅れている。本研究では、これまで育種が困難であった実用麹菌に遺伝子ターゲティングという新たな育種法を提供するだけでなく、染色体を自在に加工することを可能にし、麹菌の持つ潜在的な機能を明らかにしつつ、これまでの技術では得られなかった特性を備え、それぞれの産業に最適化したオーダーメイド麹菌を作製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 染色体加工技術を用いた転写因子の機能解析と高機能性麹菌の作製
(◎小山泰二／財団法人野田産業科学研究所)
- ② 比較ゲノミクスによる標的遺伝子領域の決定と解析
(町田雅之／独立行政法人産業技術総合研究所)



小山泰二



町田雅之

■ 研究の内容及び主要成果

- ① 麹菌ゲノム解析から予想された転写制御因子約400個の遺伝子の破壊を試み、約300個の遺伝子破壊株を得た。
- ② 破壊株をスクリーニングし、分生子形成、マンナン資化性、ペニシリンやコウジ酸の合成などに関する転写制御因子を見出した。
- ③ 7番、8番染色体をそれぞれ20～25%欠失させた麹菌を作製し、これを宿主として遺伝子の高発現を試みた。
- ④ 近縁の種との synteny 解析によって、麹菌 *A. oryzae* のゲノム固有の non-syntenic 領域に存在する遺伝子が、固体培養で特異的に発現が誘導され、麹菌の伝統的産業での利用に寄与することを明らかにした。

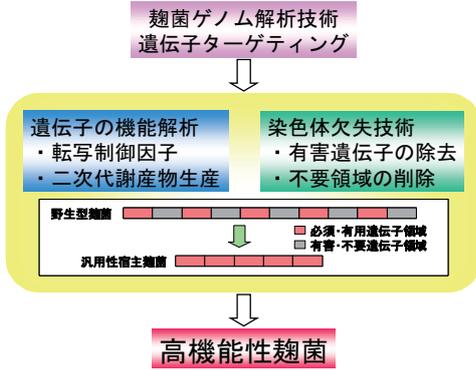
■ 見込まれる波及効果

本研究で開発した遺伝子ターゲティングとその応用である染色体加工技術は、これまで困難であった麹菌における遺伝子解析や分子育種を容易に行うことを可能にした。これにより、今後多くの遺伝子の機能が明らかにされ、これまでにない優れた性質を有する麹菌の育種が可能となり、醸造・食品産業やバイオ産業において、高い安全性と機能性に優れた高付加価値商品の開発、食品加工残渣の減量化などにつながる新技術の創出が期待される。また、麹菌に多く存在する二次代謝関連遺伝子の機能や発現制御機構に関する知見が多く得られ、有用な二次代謝産物のみを選択的に高生産し、純度高く得ることが可能になった。

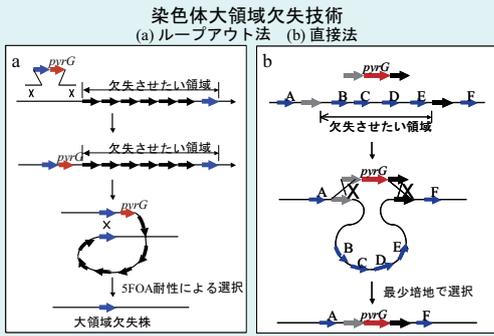
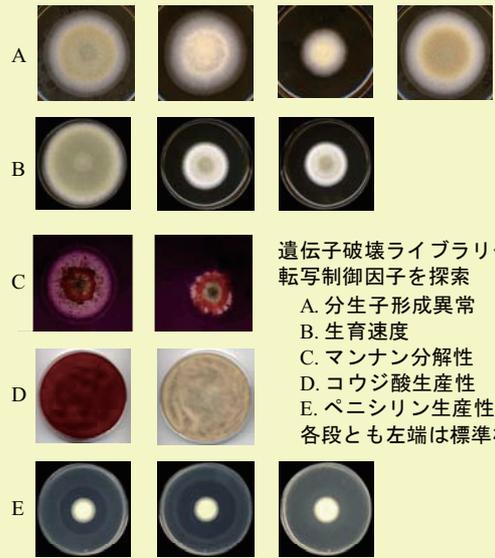
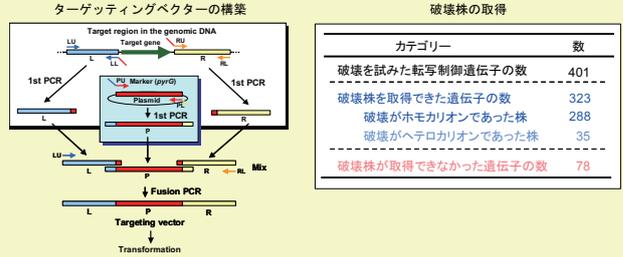
■ 主な発表論文

- Tamano K., *et al.*: Transcriptional regulation of genes on the NSB blocks of *Aspergillus oryzae* and its functional relationship to solid-state cultivation. *Fungal Genet. Biol.*, 45: 139-151 (2008)
- Tokuoka M., *et al.*: Identification of a novel polyketide synthase-nonribosomal peptide synthetase (PKS-NRPS) gene required for the biosynthesis of cyclopiazonic acid in *Aspergillus oryzae*. *Fungal Genet. Biol.*, 45: 1608-1615 (2008)
- Takahashi T., *et al.*: Generation of large chromosomal deletions in koji-molds *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus sojae* via a loop-out recombination. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74: 7684-93 (2008)
- Machida M., *et al.*: Genomics of industrial *Aspergilli* and comparison with toxigenic relatives. *Food Addit. Contam.* 25: 1147-1151 (2008)
- Jin, F. J., *et al.*: A trial of minimization of chromosome 7 in *Aspergillus oryzae* by multiple chromosomal deletions. *Mol. Genet. Genomic*, 283: 1-12 (2010)
- Ogawa, M., *et al.*: Genetic analysis of conidiation regulatory pathways in koji-mold *Aspergillus oryzae*. *Fungal. Genet. Biol.*, 47: 10-18 (2010)

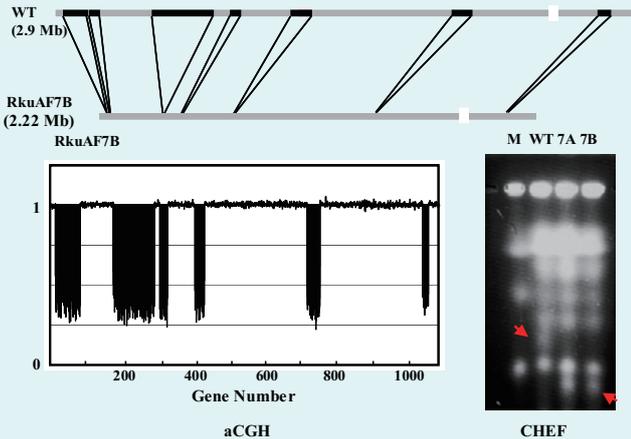
「麹菌における染色体工学の確立と高機能性麹菌の育種」



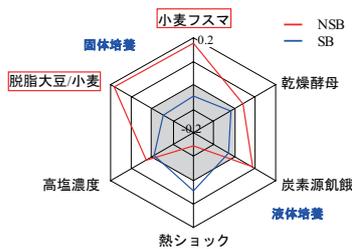
転写因子遺伝子破壊ライブラリー作製



7番染色体の最小化



有用な形態形成
有用酵素の生産性向上
二次代謝産物の生合成経路解明
二次代謝産物の生産性向上



SBとNSBに分けて計算した6つの培養条件での誘導比率の違い
(Averages of the logarithmic (log₂) expression ratios of the genes)



■ 研究課題名

酵素デザインを活用したミルクオリゴ糖の実用的生産技術の開発

■ 研究の目的

母乳に含まれるヒトミルクオリゴ糖は乳児の腸管内でのビフィズス菌増殖能を持つ。本研究課題では長年未解明であったビフィズス菌のヒトミルクオリゴ糖代謝経路を明らかにするとともに、関連オリゴ糖を食品素材として製造可能な技術を開発することを目的とした。

■ 研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①ホスホラーゼ工学によるミルクオリゴ糖製造技術の開発
(◎北岡 本光／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ミルクオリゴ糖代謝関連酵素の立体構造解析と改変酵素の分子設計
(伏信 進矢／東京大学大学院農学生命科学研究科)
- ③ミルクオリゴ糖を分解するビフィズス菌由来の酵素の探索と応用
(山本 憲二／京都大学大学院生命科学研究科)
(片山 高嶺／石川県立大学生物資源工学研究所)



北岡本光



伏信進矢



山本憲二



片山高嶺

■ 研究の内容及び主要成果

- ①ヒトミルクオリゴ糖のビフィズス菌増殖因子の本質と考えられる二糖ラク ト-N-ビオース I (LNB) の酵素法による製造技術を確認した。その他数種類のオリゴ糖の製造技術を開発した。
- ②ビフィズス菌のヒトミルクオリゴ糖代謝に関わる酵素群を同定し、菌体外でのヒトミルクオリゴ糖分解系路・ガラクト-N-ビオース (GNB) /LNB 結合タンパク (GL-BP) を含む GNB/LNB 特異的トランスポーター・菌体内 GNB/LNB 代謝経路からなるヒトミルクオリゴ糖代謝経路を解明した。
- ③ビフィズス菌のヒトミルクオリゴ糖代謝関連酵素およびヒトミルクオリゴ糖合成に有用な酵素の X 線結晶解析を行い、7種類の酵素の立体構造を明らかにした。

■ 見込まれる波及効果

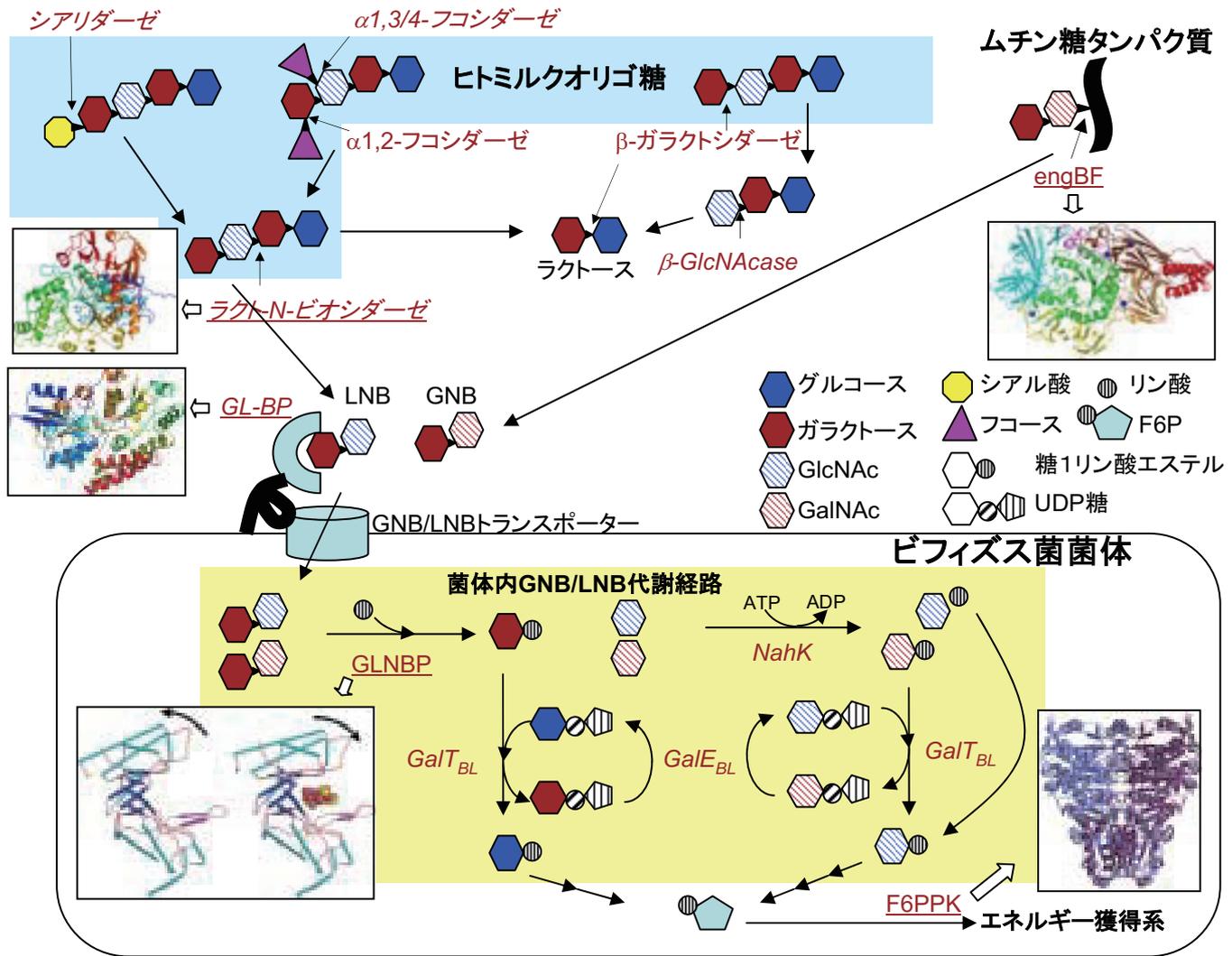
ビフィズス菌増殖因子と考えられる LNB のスケールアップ容易な製造方法の開発に成功し、今後の食品産業での利用が期待される。ビフィズス菌のヒトミルクオリゴ糖代謝経路を解明したことは、ビフィズス菌研究に新たな視点を与える成果となった。今後これらの成果を生かしてビフィズス菌の産業利用技術が大きく進展することが期待される。

■ 主な発表論文

- Nishimoto M. and Kitaoka M.: Practical preparation of lacto-*N*-biose I, the candidate of the bifidus factor in human milk. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **71**: 2101-2104 (2007)
- Nishimoto M. and Kitaoka M.: Identification of *N*-acetylhexosamine 1-kinase in the complete lacto-*N*-biose I/galacto-*N*-biose metabolic pathway in *Bifidobacterium longum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**: 6444-6449 (2007)
- Suzuki R., et al.: Structural and thermodynamic analyses of solute-binding protein from *Bifidobacterium longum* specific for core I disaccharide and lacto-*N*-biose I. *J. Biol. Chem.* **283**: 13165-13173 (2008)
- Wada J. et al.: *Bifidobacterium bifidum* lacto-*N*-biosidase, a critical enzyme for the degradation of human milk oligosaccharides with a type 1 structure. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**: 3996-4004 (2008)
- Hidaka M. et al.: The crystal structure of galacto-*N*-biose/lacto-*N*-biose I phosphorylase: a large deformation of a TIM-barrel scaffold. *J. Biol. Chem.* **284**: 7273-7283 (2009)

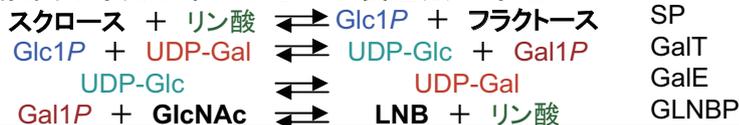
・ビフィズス菌ヒトミルクオリゴ糖代謝経路の解明

赤字: 関連酵素
斜字: 新規に解明した酵素
下線: 新規に解明した構造



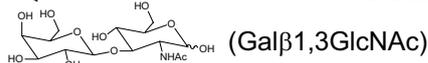
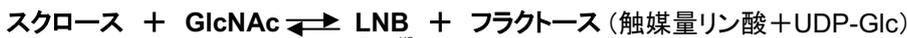
・ラクト-N-ビオースI(LNB)製造法の開発

四酵素同時反応系によるLNB製造法の原理

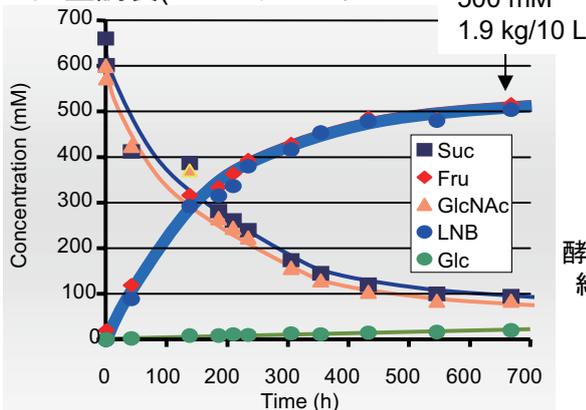


・両辺に現れる化合物はリサイクルされる

・酵素遺伝子はビフィズス菌に存在



LNB大量調製(10Lスケール)



結晶化による単離



酵母処理
結晶化

実用化への利点

一段階反応
クロマトグラフィー不要
リアクター化可能

LNBの今後の展開

食品素材への応用
人工乳の母乳化



■研究課題名

人工 DNA 結合タンパク質を用いたウイルス感染耐性植物の創出

■研究の目的

研究目的は、研究代表者が開発した独自技術「AZPテクノロジー」(AZPは、人工DNA結合タンパク質の略)を用いて、ウイルス感染耐性農作物を作製する技術を確認することである。このアプローチの新規性は、ウイルス複製タンパク質のウイルス複製起点への結合を、より強いDNA結合能を有するAZPで阻害することである。また、この手法ではウイルス複製の阻害を標的にしているため、耐性ウイルスの出現の可能性が極めて低い利点がある。この技術は、ウイルス感染に強い野菜・穀物の作製を可能にし、農作物の生産性向上が期待される。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①人工DNA結合タンパク質(AZP)によるウイルス複製タンパク質の複製起点への結合阻害能の評価
(◎世良貴史/京都大学大学院工学研究科)
- ②AZP形質転換トマトの作成及びウイルス感染耐性の評価
(◎世良貴史/京都大学大学院工学研究科)



世良貴史

■研究の内容及び主要成果

- ①トマト黄化葉巻ウイルス (TYLCV) の複製タンパク質 (Rep) の結合サイトを明らかにした。
- ②その結合サイトを完全に覆うAZPをデザインし、Repの千倍以上の結合能を有するAZPタンパク質の創出に成功した。
- ③TYLCVゲノムを1.5コピー有するバイナリーベクターを作製し、これで形質転換したアグロバクテリアを用いて、トマトにウイルス感染させる系を確立した。
- ④Repの結合を阻害するAZP遺伝子をトマトに組み込み、AZPを発現する形質転換トマトの作製に成功した。
- ⑤AZP形質転換トマトにTYLCVを感染させたところ、感染症状を示さず、また、PCRによりTYLCVゲノムは検出されず、TYLCV感染に対して免疫のあるトマトの作製に成功した。

■見込まれる波及効果

本手法は基本的にどのDNAウイルスにも適用可能で、ウイルス感染に対する完全な耐性をトマトだけでなく様々な農作物に付与でき、農作物の生産性を向上させることができる。また、全く新しいメカニズムでのウイルス感染に耐性のある野菜・穀物を創出でき、種苗産業の強化に繋がる。また、ウイルスを媒介する昆虫を駆除するために、(環境を汚染する)高価な農薬の散布や、防虫ネットを張る必要もなく、ただ種を蒔くだけなので、発展途上国の食糧問題の解決にも貢献できる可能性がある。

■主な発表論文

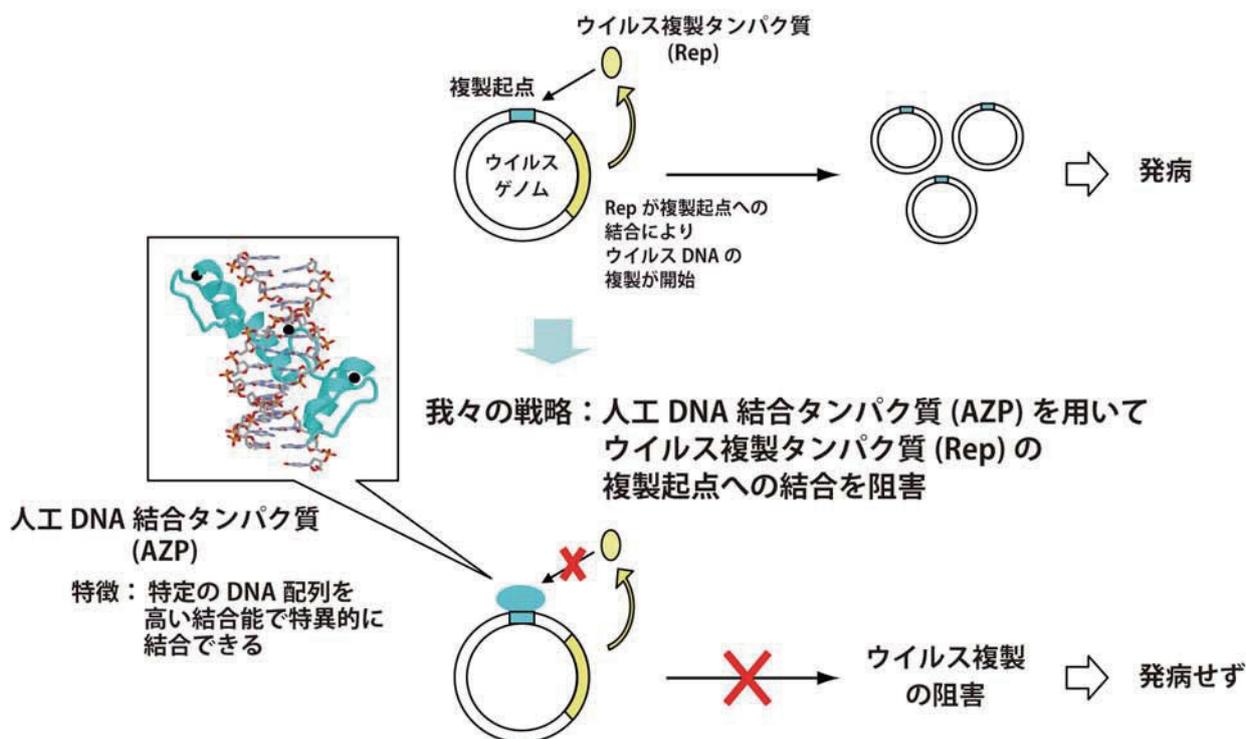
- Takenaka K., *et al.* : Inhibition of tomato yellow leaf curl virus replication by artificial zinc-finger proteins. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 51 : 429-430 (2007)
- Koshino-Kimura Y., *et al.* : Generation of plants resistant to tomato yellow leafcurl virus by using artificial zinc-finger proteins. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 52 : 189-190 (2008)
- Koshino-Kimura Y., *et al.* : Constructuon of plants resistant to TYLCV by using artificial zinc-finger proteins. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 53 : 281-282 (2009)

人工 DNA 結合タンパク質を用いたウイルス感染耐性植物の創出

現状：ウイルス感染に対する効果的な対処法が確立されていない

我々のアプローチ：ウイルス複製を阻害する農作物の開発

DNA ウイルスの複製メカニズム



AZP 遺伝子の植物への組み込み

得られた成果：TYLCV 感染に免疫を有する AZP 発現形質転換体の創出



植物 A：感染させていない、健康な野生型トマト

植物 B：感染させた野生型トマト

植物 C：AZP 形質転換トマト。植物 B と同じように感染させたが、発病せず、またウイルスも検出されず、耐性を示した。

■研究課題名

油脂の口腔内化学受容および脳内情報処理機構解明による高嗜好低エネルギー油脂開発の基盤構築

■研究の目的

健康な社会の食基盤である低カロリーで満足感のある油脂を開発する。油脂に対する高度な嗜好性ならびにその成立には口腔内での舌での化学受容と摂取後のエネルギーの両方が重要な要素であるという仮説のもとに、油の口腔内化学受容、内臓からのエネルギー情報、脳内での統合機序と報酬系を中心とした執着に至るメカニズムを解明し、低カロリーで高度な満足感を兼ね備える新規油脂関連食品開発の科学的基盤を構築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脂肪(油脂)分子の口腔内化学受容メカニズムの解明 (都築巧、江口愛/京都大学農学研究科)
- ②脂肪分子の内臓エネルギー情報の実体ならびに脳への伝達機構の解明
(◎伏木亨、松村成暢/京都大学農学研究科)
- ③脳内での各情報の統合機序ならびに高度な満足感発生機構の解明 (井上和生/京都大学農学研究科)
- ④脳内における脂肪応答ニューロンの探索 (井上和生、北林伸英/京都大学農学研究科)
- ⑤口腔内情報ならびに内臓エネルギー信号を利用した高嗜好性低カロリー油脂の試作ならびに評価
(◎伏木亨/京都大学農学研究科)



伏木 亨

■研究の内容及び主要成果

- ①油脂受容体候補 CD36, GPR120 を味蕾細胞に見出し、それらのリガンドアッセイ系を構築した。基本的な特異性が動物の摂取行動と一致した。また、新規な脂肪酸リガンドを見出した。
- ②油脂の摂取後に、そのエネルギー情報がどのように脳に伝達・認識されるかについて、動物の油脂に対する強化効果を指標にした動物行動学による解析を行った。油脂のエネルギー情報発現にはβ酸化が関与する系と、胃内に投与した糖質でも代替できる系があることを発見した。
- ③油脂を摂取させた実験動物の脳内報酬系刺激機構を解析した。βエンドルフィンによって駆動される系とドーパミン作動性神経に駆動される系の両方の活性が油脂の摂取によって増大することを明らかにした。
- ④報酬系に関わる中脳腹側被蓋野に油脂の摂取に特異的に応答するニューロンを発見した。
- ⑤上記各項目の成果を応用して、新規油脂の試作・評価を行った。微量の脂肪酸が食用油脂に匹敵する高い摂取意欲をもたらすことを動物実験で明らかにし、人間を用いた嗜好実験で確認した。

■見込まれる波及効果

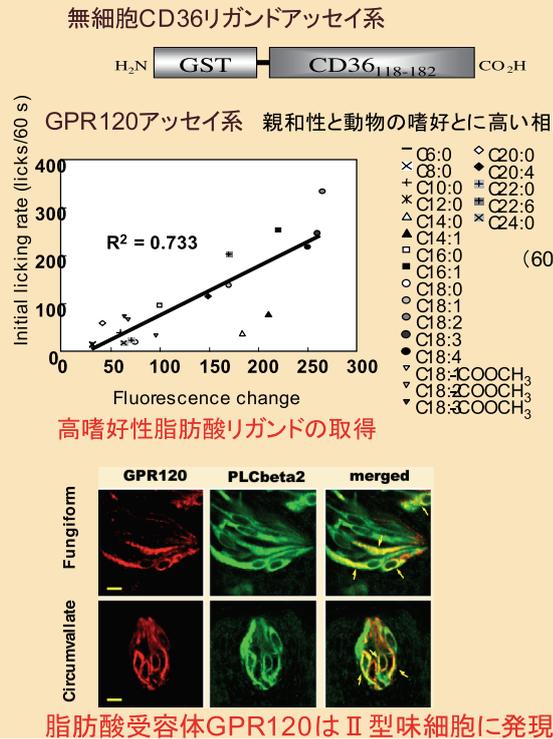
高度の味覚欲求と健康欲求の背反に直面している現代社会や食品産業にとって、高い嗜好性を維持した低カロリー油脂の基盤研究は、インパクトのある論理として食品開発に応用することが可能である。本研究では、エネルギーが無視できるほどの微量の脂肪酸が油脂に匹敵する口腔内刺激と嗜好性を有することを動物実験で発見し、人間でも嗜好性を確かめることができた。この成果は、多くの食品に応用可能な基礎的情報を与えるものである。また、高度な嗜好性の成立と持続に重要な油脂のエネルギー部分が糖質でも代替できることの実見は、高嗜好性の油脂代替物の概念を理論的に拡張するものであり低脂肪食品の開発への波及効果は大きい。また、油脂の高い嗜好性のメカニズムを解明することで油脂に関連する食品開発に与える多様な波及効果が見込まれる。

■主な発表論文

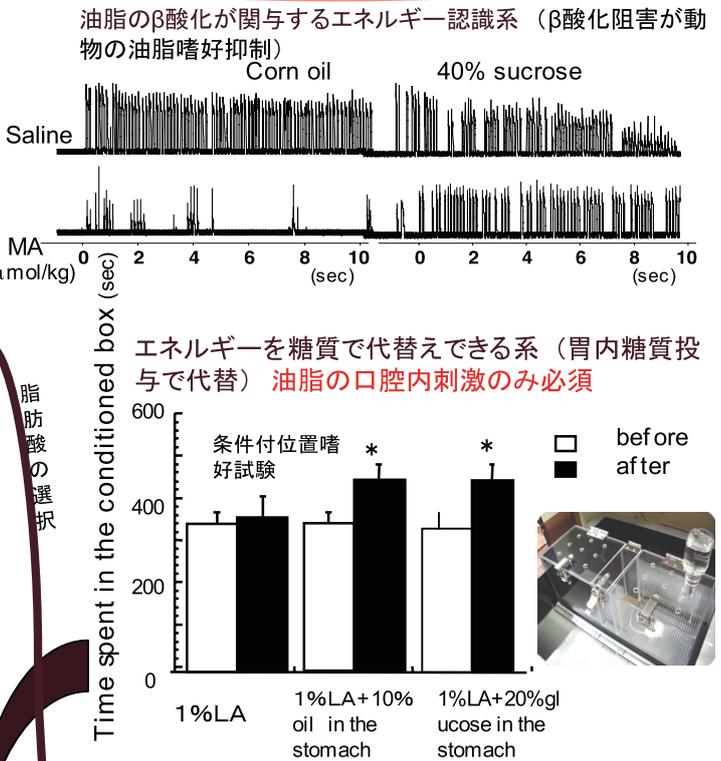
- Matsumura S., et al.: Colocalization of GPR120 with phospholipase-Cβ2 and α-gustducin in the taste bud cells in mice. *Neuroscience Letters* 450:186-190 (2009)
- Matsumura S., et al.: Mercaptoacetate inhibition of fatty acid β-oxidation attenuates the oral acceptance of fat in BALB/c mice. *American journal of physiology* 295: R82-R91 (2008)
- Matsumura S., et al.: GPR expression in the rat taste bud relating to fatty acid sensing. *Biomed Res.* 28(1), 49-55 (2007)
- Yoneda, T., et al.: The palatability of corn oil and linoleic acid to mice as measured by short-term two-bottle choice and licking tastes. *Physiology and Behavior*. 91: 304-309 (2007)
- Yoneda, T., et al.: Reinforcing effect for corn oil stimulus was in a concentration-dependent manner in operant task in mice. *Life Science*. 81: 1585-1592 (2007)

油脂の口腔内化学受容および脳内情報処理機構解明による高嗜好性低エネルギー油脂開発の基盤構築

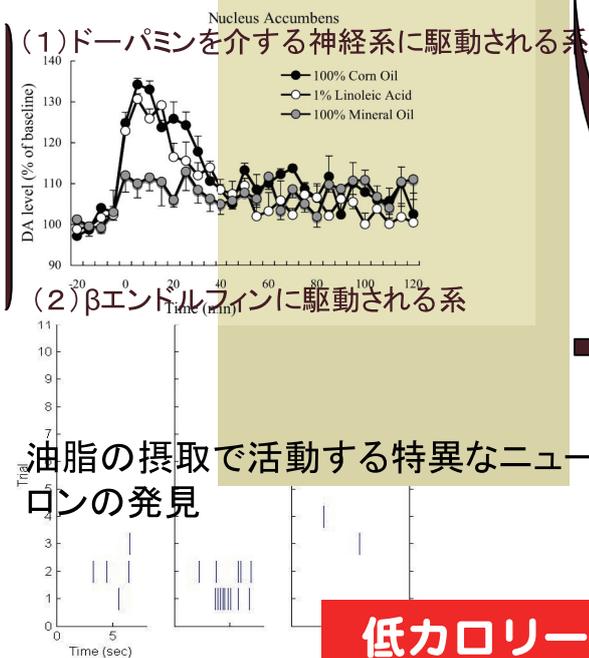
口腔内油脂化学受容メカニズム



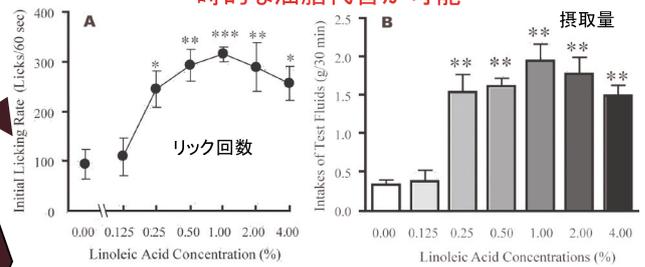
エネルギー情報の実体の解析



脳内機序の解明: 安全性へ向けて



脂肪酸の口腔内刺激は非常に強い: 一時的な油脂代替が可能



高嗜好性低エネルギー油脂の一つとして脂肪酸の口腔内刺激を利用

人間のパネルでも検証された(低カロリーカップ麺への添加)	オレイン酸無添加	オレイン酸添加
コクがある	3人	9人
もの足りない感じがしない	3	9
味にあつみや深みがある	2	10*
おいしい	3	9

* 2点嗜好試験法の検定表より5%有意

低カロリー—高嗜好性油脂の開発基盤構築

■研究課題名

幼若ホルモンネットワーク遺伝子の解明と制御

■研究の目的

幼若ホルモン(JH)は昆虫固有のホルモンで、変態・休眠・相変異など昆虫独特の生命現象の調節に関わっている。このため JH の生合成・分解・輸送から受容・作用発現に関わる一連の経路(JH ネットワークと称する)は安全な昆虫制御剤(IGR)開発の優れた標的として注目される。しかし、その分子の実体は未だに不明な点が多い。本課題では、カイコのゲノム情報・マイクロアレイ・形質転換という最先端の研究手法を用いることで、JH ネットワーク分子を遺伝子側から網羅的に同定してその機能を明らかにし、JH 濃度調節および JH 作用発現の分子機構を解明することを目的とする。本研究により、JH ネットワークの分子レベルでの理解が飛躍的に進み、新規の IGR 標的分子が多数得られ、JH ネットワークを標的とした新しい昆虫制御技術への道が拓ける。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①カイコゲノム情報に基づく JH ネットワーク遺伝子の解明
(◎篠田 徹郎/独立行政法人農業生物資源研究所)
- ②組織培養系による JH ネットワーク遺伝子解析
(比留間 潔/弘前大学農学生命科学部)



篠田徹郎



比留間 潔

■研究の内容及び主要成果

- ①カイコゲノム情報等を利用して、主要な JH 合成酵素遺伝子、JH 分解酵素遺伝子、JH 結合タンパク質遺伝子を網羅的に単離し、その発現動態を調べるとともにリコンビナントタンパク質を用いて酵素学的・生化学的機能を明らかにした。また、トランスジェニックカイコを用いて *in vivo* でそれらの機能を解析した。
- ②JH 生合成制御において JH 酸メチル基転移酵素(JHAMT)が律速酵素であることを明らかにし、その発現制御にエクジソンが関わることを見出した。また、JH 生合成に関わる sNPF など新規なペプチドおよびその受容体(GPCR)を同定し、側心体を介した JH 生合成制御機構を見出した。
- ③変態抑制に関わる JH のシグナルは、JH 受容体候補遺伝子 *Methoprene tolerant* (Met) を介して、JH 初期応答遺伝子 *Krüppel homolog 1* (Kr-h1) が誘導されることで伝達されることを明らかにした。また、Kr-h1 の上流に JH 応答配列(JHRE)を同定した。
- ④上記の JH ネットワーク遺伝子を利用して、JH 阻害剤、JH アゴニスト・アンタゴニストのスクリーニングシステムを複数開発した。

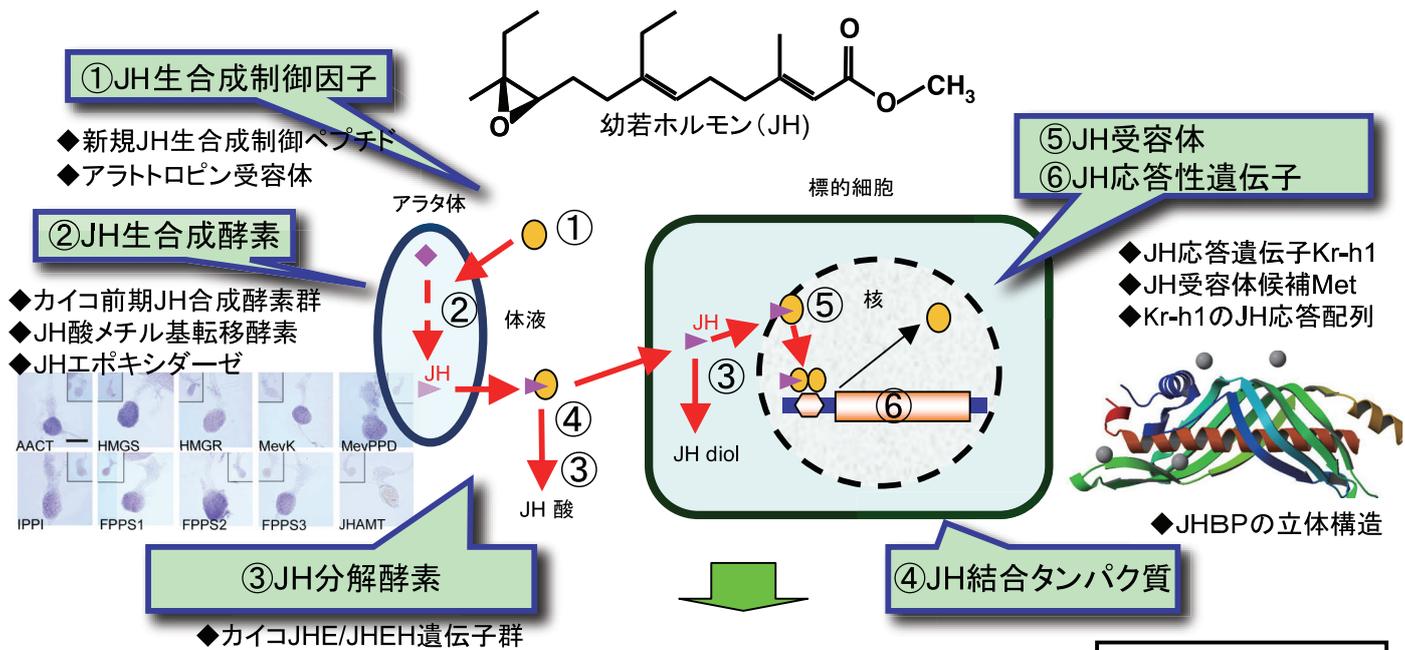
■見込まれる波及効果

本研究で開発したスクリーニングシステムを利用することで、特定の害虫にのみ選択的に作用し、人畜や天敵昆虫等には悪影響の少ない、新規な環境調和型殺虫剤が開発されるものと期待される。

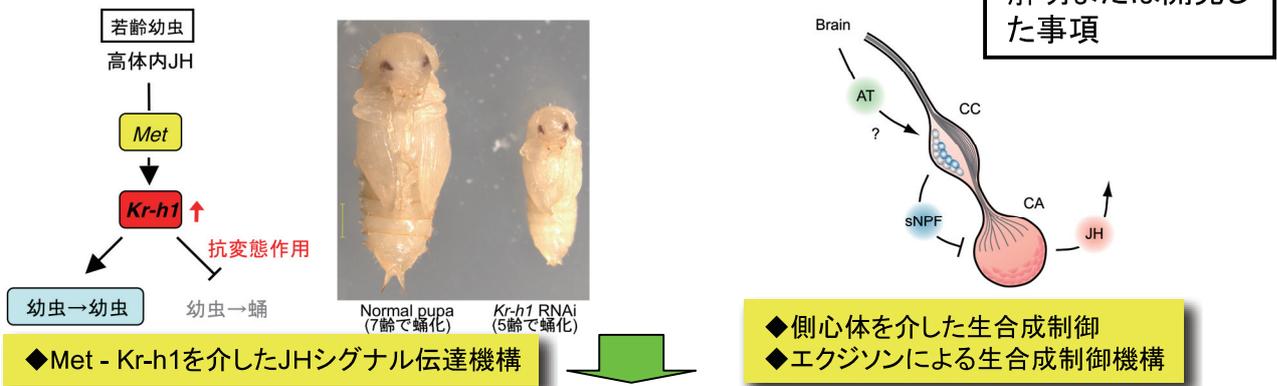
■主な発表論文

- Truman J., et al. : Juvenile hormone is required to couple imaginal disc formation with nutrition in insects. *Science*. 312 : 1385-1388 (2006)
- Kinjoh T., et al. : Control of juvenile hormone biosynthesis in *Bombyx mori*: cloning of the enzymes in the mevalonate pathway and assessment of their developmental expression in the corpora allata. *Insect Biochem Mol Biol*. 37 : 808-818 (2007)
- Yamanaka N., et al. : Neuropeptide receptor transcriptome reveals unidentified neuroendocrine pathways. *PLoS ONE* 3 : e3048 (2008)
- Muramatsu D., et al. : The role of 20-hydroxyecdysone and juvenile hormone in pupal commitment of the epidermis of the silkworm, *Bombyx mori*. *Mech Dev*. 125 : 411-420 (2008)
- Minakuchi C., et al. : *Krüppel homolog 1*, an early juvenile hormone-response gene downstream of *Methoprene-tolerant*, mediates its anti-metamorphic action in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Dev Biol*. 325 : 341-350 (2009)

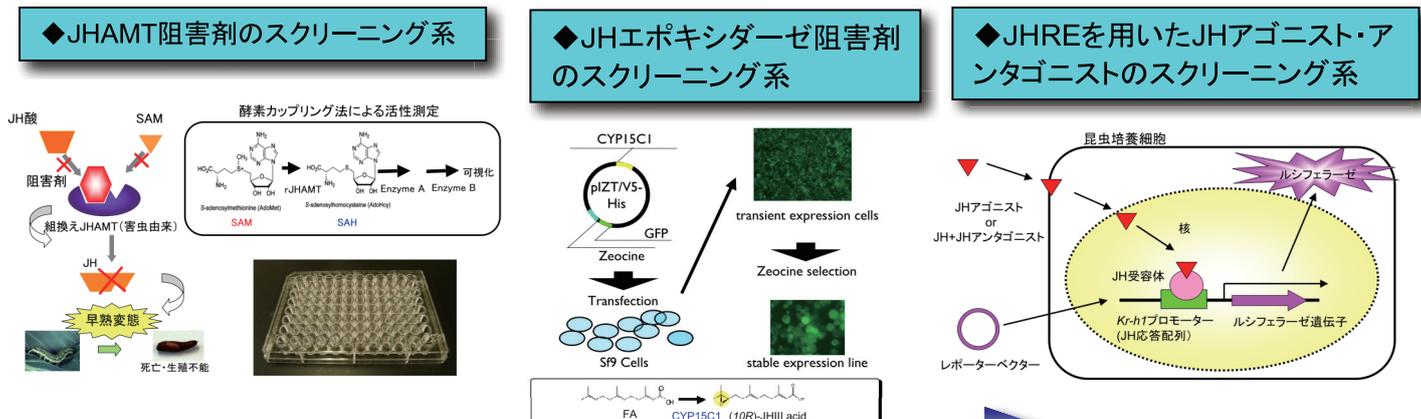
JH ネットワーク遺伝子の同定と機能解明 抗JH剤開発のターゲット



JH 生合成・作用の分子機構解明



スクリーニングシステムの開発



新規環境調和型殺虫剤の開発へ

■研究課題名

超微量安定同位体検出技術を応用した農水産物の新トレーサビリティ分析システムの開発

■研究の目的

農水産物の安定同位体比は、産地・肥料・生育地域を普遍的に反映するため異なる値を示すことから、生物固有の化学指紋となる。本研究では、この特徴を食品の産地特定へ応用することを目指した、農水産物の有機物の天然レベル安定同位体比バリエーションによる産地特定技術と、特定有機分子（アミノ酸・脂肪酸）の安定同位体比を人工的にわずかにコントロールする分子タグ技術による新トレーサビリティシステムを開発する。

■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①多元素の安定同位体比分析を用いた天然レベル安定同位体比マッピング
（◎伊永隆史，中下留美子，鈴木彌生子，武蔵正明，清水千明／首都大学東京大学院理工学研究科）
- ②有機分子の安定同位体比コントロール法の確立
（◎伊永隆史，赤松史一，一宮孝博，山本真由／首都大学東京大学院理工学研究科）



伊永隆史

■研究の内容及び主要成果

- ①多元素の安定同位体比分析を用いた天然レベル安定同位体比マッピング
農水産物・食品等に生育環境情報として化学指紋のように残る安定同位体比を、軽元素4元素($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, D/H) についてさまざまな組み合わせで二次元マッピングやマルチダイアグラム表示により、国内で2000試料収集したコメ、牛肉、ウナギ等農水産物の産地判別情報を視覚化・差別化できることを初めて見出した。
- ②有機分子の安定同位体比コントロール法の確立
食品中の特定有機分子の安定同位体比を人工的に僅かにコントロールするターゲットとしては、アミノ酸（特にグルタミン酸、フェニルアラニン）が有力な候補であることを実証した。さらに農水産物の産地識別化を目的として超微量に標識する研究は報告例がなく、農水産物の安心安全な流通管理の新技术として革新的といえる。

■見込まれる波及効果

多元素安定同位体比解析により農水産物バルク試料の産地判別技術を確立したことは食品の産地偽装防止に役立つ。産地は消費者が食品を購入する判断基準の1つであり、科学的根拠に基づいた不正を起こせない産地表示の開発は国民の食の安心安全を守る役割となることから、安定同位体比が産地判別技術の決め手になると考えられる。

■主な発表論文

- Suzuki, Y., et al.: Geographical origin of polished rice based on multiple element and stable isotope analyses. *Food Chemistry*, 109: 470-475 (2008)
- Nakashita, R., et al.: Stable carbon, nitrogen, and oxygen isotope analysis as a potential tool for verifying geographical origin of beef. *Analytica Chimica Acta*, 618: 148-152 (2008)
- Yamamoto, M., et al.: Application of chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry for studying nutrition and biosynthesis in plants. *Chemistry Letters*, 38: 696-697 (2009)
- 中下留美子他: 生元素安定同位体比解析による養殖ウナギの産地判別の可能性. 日本食品科学工学会誌, 56: 495-497 (2009)

超微量安定同位体検出技術を応用した農水産物の新トレーサビリティ分析システムの開発

現在の産地判別
無機元素: 土壌の組成のみ
DNA: 品種判別に限定

+

多元素安定同位体比
土壌 + 水・気象
生育環境

この考え方に基づき...

天然レベル安定同位体比バリエーション
 DNAや指紋と同様に生物固有の値を示し、同一生物でも産地・肥種・生育地域・環境を普遍的に反映し、数%程度異なる値を示す。また、元素によって反映する要因が異なる。

安定同位体の天然平均存在率

水素	H: 99.9844%	窒素	¹⁴ N: 99.64 %
	D: 0.0156%		¹⁵ N: 0.36 %
炭素	¹² C: 98.89 %	酸素	¹⁶ O: 99.759%
	¹³ C: 1.11 %		¹⁷ O: 0.037%
			¹⁸ O: 0.204%

同位体比	主なる要因	情報
13C/12C	C3植物かC4植物か	餌・肥種
15N/14N	栄養段階・農法	
18O/16O	蒸発・濃縮・雨水	地理的情報
D/H		

上記を踏まえ...

コメの産地判別事例

POINT!!
 国産・豪州産・米国産コメの炭素・酸素安定同位体比を測定した結果、産地別に違いが見られた。

牛肉の産地判別事例

POINT!!
 国産・豪州産・米国産牛肉の炭素・酸素安定同位体比を測定した結果、産地別に違いが見られた。

ウナギの産地判別事例

POINT!!
 国産・中国産・台湾産ウナギの炭素・窒素安定同位体比を測定した結果、産地別に違いが見られた。

“産地判別法”

分子レベル安定同位体 (分子全体, 分子内一部分, 分子外)

安定同位体 (DNA, 微量元素)

“食物連鎖”

最上位概念: 人間 (魚介類)

上位概念: 動物

中位概念: 植物

下位概念: 土壌・地球

新技術・新分野創出のための基礎研究を推進し...

農水産物の産地判別技術の確立・有機農法の鑑別・ブランドの保護

■研究課題名

アブラナ科作物ゲノムリソースおよびプラントアクティベーターを利用した新規病害防除法の開発

■研究の目的

プラントアクティベーター（病害抵抗性誘導物質）は植物が持つ内在性の防御システムを活性化して病害を防除する化合物であり、生態系自体への直接の影響は少なく環境に対する負荷を大幅に軽減することが期待できる。本課題ではアブラナ科作物の代表であるハクサイを対象として、プラントアクティベーターを中心とした環境負荷低減型の病害防除技術を確立するための基盤整備を行う。本課題により、プラントアクティベーターの新規開発と利用に道を拓き、環境負荷低減型かつ循環・持続型農業の推進に貢献することを目指す。

■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①新規プラントアクティベーターの検索および評価と病害応答診断アレイの開発
（◎鳴坂 義弘／岡山県生物科学総合研究所）
- ②病害応答診断技術開発のためのハクサイゲノムリソースとデータベースの整備
（安部 洋／独立行政法人 理化学研究所 バイオリソースセンター）
- ③ハクサイゲノムリソースを利用した土壌病害応答診断技術の開発
（島山 勝徳／独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所）



鳴坂義弘



安部 洋



島山勝徳

■研究の内容及び主要成果

- ①大規模スクリーニングにより 138 個の新規プラントアクティベーター候補化合物を取得し、根こぶ病、黄化病、炭疽病及び黒斑細菌病などに対して防除効果を有する化合物を得た。
- ②ハクサイ完全長 cDNA ライブラリー及びハクサイ根 EST ライブラリーなどからユニークな 10,000 クローンを得、これらを用いてハクサイマイクロアレイを構築した。さらに、ハクサイゲノム情報を中心とした統合的データベース ABRANA (Arabidopsis and Brassica Network Access) を開発した。
- ③アブラナ科野菜類炭疽病菌、青枯病菌、トマト斑葉細菌病菌に対するシロイヌナズナ抵抗性遺伝子 (*RPS4* と *RRS1*) を同定し、デュアル抵抗性遺伝子モデルの発見に至った。

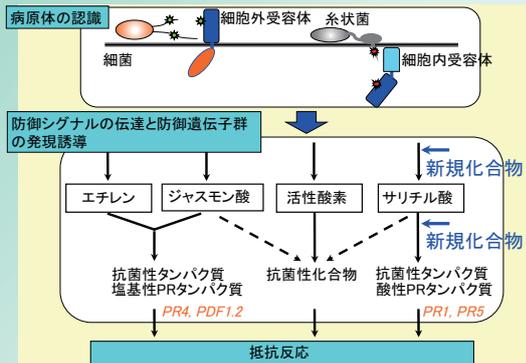
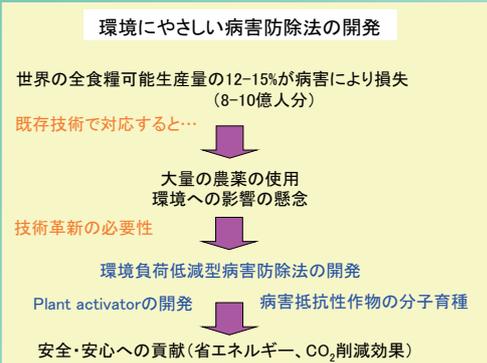
■見込まれる波及効果

本研究で得られた新規化合物群はプラントアクティベーターを開発するための重要な知見（新規骨格）を提供する。これら化合物をドラッグデザインし、アブラナ科作物の病害防除に適応するプラントアクティベーターが開発できれば、日本の知財を豊かにし、かつ、環境負荷低減型の農業を推進できる。また、本研究により、ハクサイのゲノムリソース、DNA データベース、マイクロアレイを整備した。これらを用いることで、農薬の効果の診断・評価、育種母本の評価の効率化が達成され、新品種の開発、農薬の創薬の速度を高め、開発に要するリスクや経費を抑制することができる。

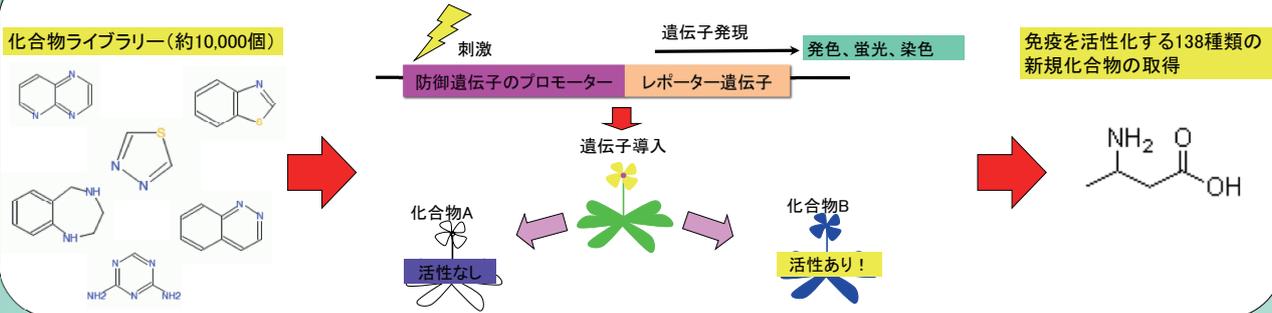
■主な発表論文

- Narusaka Y., *et al.* : High-throughput screening for plant defense activators using a β -glucuronidase-reporter gene assay in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology* 26 : 345-349 (2009)
- Abe H., *et al.* : Jasmonate-dependent plant defense restricts thrips performance and preference. *BMC Plant Biology* 9 : 97, 1-12 (2009)
- Narusaka M., *et al.* : *RRS1* and *RPS4* provide a dual *Resistance*-gene system against fungal and bacterial pathogens. *The Plant Journal* 60 : 218-226 (2009)
- Birker D., *et al.* : A locus conferring resistance to *Colletotrichum higginsianum* is shared by four geographically distinct *Arabidopsis* accessions. *The Plant Journal* 60 : 602-613 (2009)
- Hatakeyama K. *et al.* : Mapping of quantitative trait loci for high level of self-incompatibility in *Brassica rapa* L. *Genome*, accepted

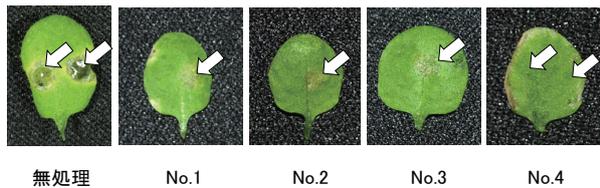
アブラナ科作物ゲノムリソースおよびプラントアクティベーターを利用した新規病害防除法の開発



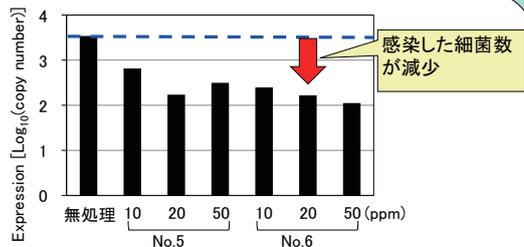
化合物の大規模スクリーニング



プラントアクティベーター候補剤の評価



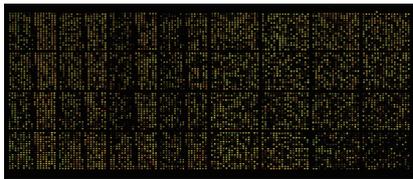
新規化合物(No.1~4)を前処理することで、その後の炭疽病菌の感染を抑制した。



新規化合物(No.5~6)の前処理により、黒斑細菌病の感染を抑制した。

ハクサイゲノムリソースの整備

7Kハクサイマイクロアレイの構築



ハクサイ-シロイヌナズナ間比較ゲノム解析用データベースの構築

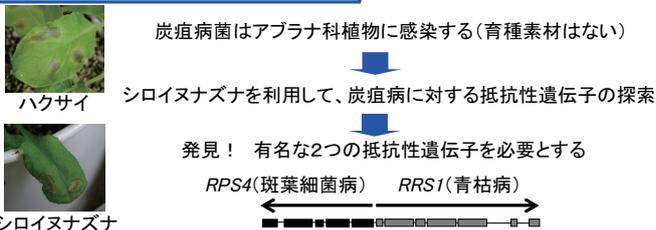
Arabidopsis-Brassica Network Access

ABRANA

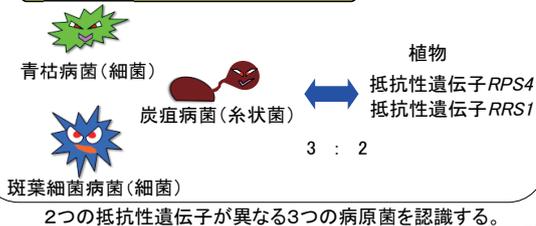
作物の病害応答性診断等に有効なデータベース構築を目指して……

シロイヌナズナ遺伝子とハクサイクローンとの対応付け
対応付けしたシロイヌナズナとハクサイ遺伝子の発現比較
病害抵抗性系統や罹病性系統での発現情報
→ 発現情報を利用したハクサイ病害応答の診断
プラントアクティベーター候補化合物の評価

病害抵抗性作物の分子育種



デュアル抵抗性遺伝子モデルの発見



■ 研究課題名

生殖免疫を基盤とした流産・不妊の予防法に関する研究

■ 研究の目的

感染症は繁殖障害を引き起こす大きな原因となっており、畜産物の安定的供給の実現のために流産・不妊を引き起こす感染症への対策が必要である。胎盤感染するブルセラ菌は胎盤中の栄養膜巨細胞(trophoblast giant cell: TGC)へ特異的に感染し、流産を引き起こす。TGC の持つ免疫応答機能は胎盤の形成および妊娠の維持に関与し、ブルセラ菌は TGC が持つ本来の機能を巧みに利用して感染を成立させていると推察される。本研究では、宿主細胞と菌の相互作用を分子レベルで解析し、その成果を基盤とした流産の防止法を確立する。

■ 研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①TGC および Hsc70 の機能解析 (◎度会雅久/山口大学農学部獣医公衆衛生学教室)
- ②ブルセラ属菌の病原因子の解析 (◎度会雅久/山口大学農学部獣医公衆衛生学教室)
- ③感染防御法の構築 (◎度会雅久/山口大学農学部獣医公衆衛生学教室)



度会雅久

■ 研究の内容及び主要成果

- ①TGC および Hsc70 の機能解析
ブルセラ菌は Hsc70 を介して TGC へ特異的に感染する。菌の TGC への感染を阻害するモノクローナル抗体は Hsc70 の C 末端領域に存在する EEVD 配列を認識することが明らかとなった。
- ②ブルセラ属菌の病原因子の解析
Hsc70 の EEVD 配列は TPR ドメインを認識して蛋白質と結合する。ブルセラ菌は TPR ドメインを含む蛋白質を 3 つ保有し、これらが Hsc70 と結合することが示された。この TPR ドメイン蛋白質は菌の TGC への感染を阻害する機能を有することが明らかになった。
- ③感染防御法の構築
EEVD 配列に対する抗体および TPR ドメイン蛋白質を妊娠マウスに投与した場合、ブルセラ菌感染による流産を防止できることが明らかとなった。

■ 見込まれる波及効果

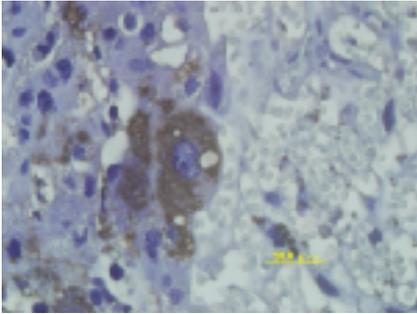
本研究によって見出された菌の感染を阻害する因子は、複数の流産起因菌に共通して作用することから、種々の病原体感染による流産・不妊の防止に広く役立つ可能性がある。今後、本研究で確立された感染モデル系を用いた研究をさらに推進することにより、家畜における流産・不妊の防止法が確立されるものと期待される。また、ブルセラ症は韓国において問題となっており、本研究は国際貢献としても意義あるものであると言える。

■ 主な発表論文

- Watanabe, K., *et al.*: Regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted (RANTES) contributes to abortion caused by *Brucella abortus* infection in pregnant mice. *J. Vet. Med. Sci.* 70: 681-686 (2008).
- Tachibana, M., *et al.*: Expression of heme oxygenase-1 is associated with abortion caused by *Brucella abortus* infection in pregnant mice. *Microb. Pathog.* 45: 105-109 (2008).
- Watanabe, K., *et al.*: Heat shock cognate protein 70 contributes to *Brucella* invasion into trophoblast giant cells that cause infectious abortion. *BMC Microbiol.* 8: 212 (2008).
- Watanabe, K., *et al.*: Participation of ezrin in bacterial uptake by trophoblast giant cells. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7: 95 (2009).
- Watanabe, K., *et al.*: EEVD motif of heat shock cognate protein 70 contributes to bacterial uptake by trophoblast giant cells. *J. Biomed. Sci.* 16: 113 (2009).

感染症による流産のメカニズムの解明

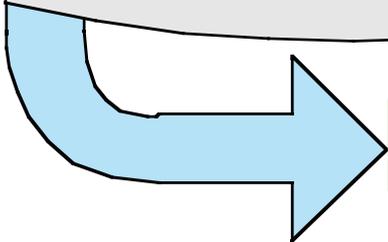
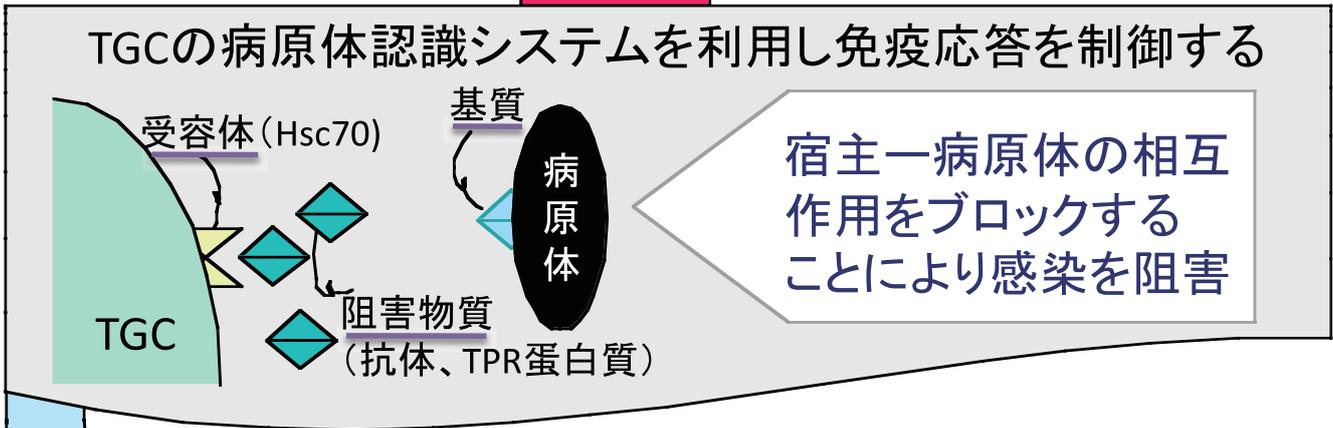
ブルセラ菌は胎盤中の
栄養膜巨細胞(TGC)に
特異的に感染する



免疫
応答



Th1/Th2免疫のバランス
が崩壊し流産が起こる



Th1/Th2免疫バランスを維持したまま
病原体の胎盤感染を阻止

本研究により見出された物質
により、菌感染による流産を
防止することができる。

■研究課題名

臓器老化モデルマウスを用いた機能性食品物質の科学的評価

■研究の目的

機能性食品物質の予防食材としての作用を科学的根拠に基づいて実証をするために、臓器老化モデルマウスに対する抗老化作用を指標に個体レベルで機能性食品物質を科学的に評価する。ミトコンドリア酸化ストレスまたは細胞質酸化ストレスを軽減する機能性食材を Mn-SOD と CuZn-SOD の2つの抗酸化酵素の臓器特異的ノックアウトマウスを用いたアッセイ系で 100 種類の機能性食品物質からスクリーニングする。

■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①臓器特異的 Mn-SOD 欠損マウスを用いた機能性食品物質の運動機能改善試験
(◎清水孝彦／地方独立行政法人 東京都健康長寿医療センター)
- ②CuZn-SOD 欠損マウスを用いた機能性食品物質の病態改善試験
(◎清水孝彦／地方独立行政法人 東京都健康長寿医療センター)
- ③抗老化作用を持つ機能性食品物質の作用メカニズムの解明
(◎清水孝彦／地方独立行政法人 東京都健康長寿医療センター)



清水孝彦

■研究の内容及び主要成果

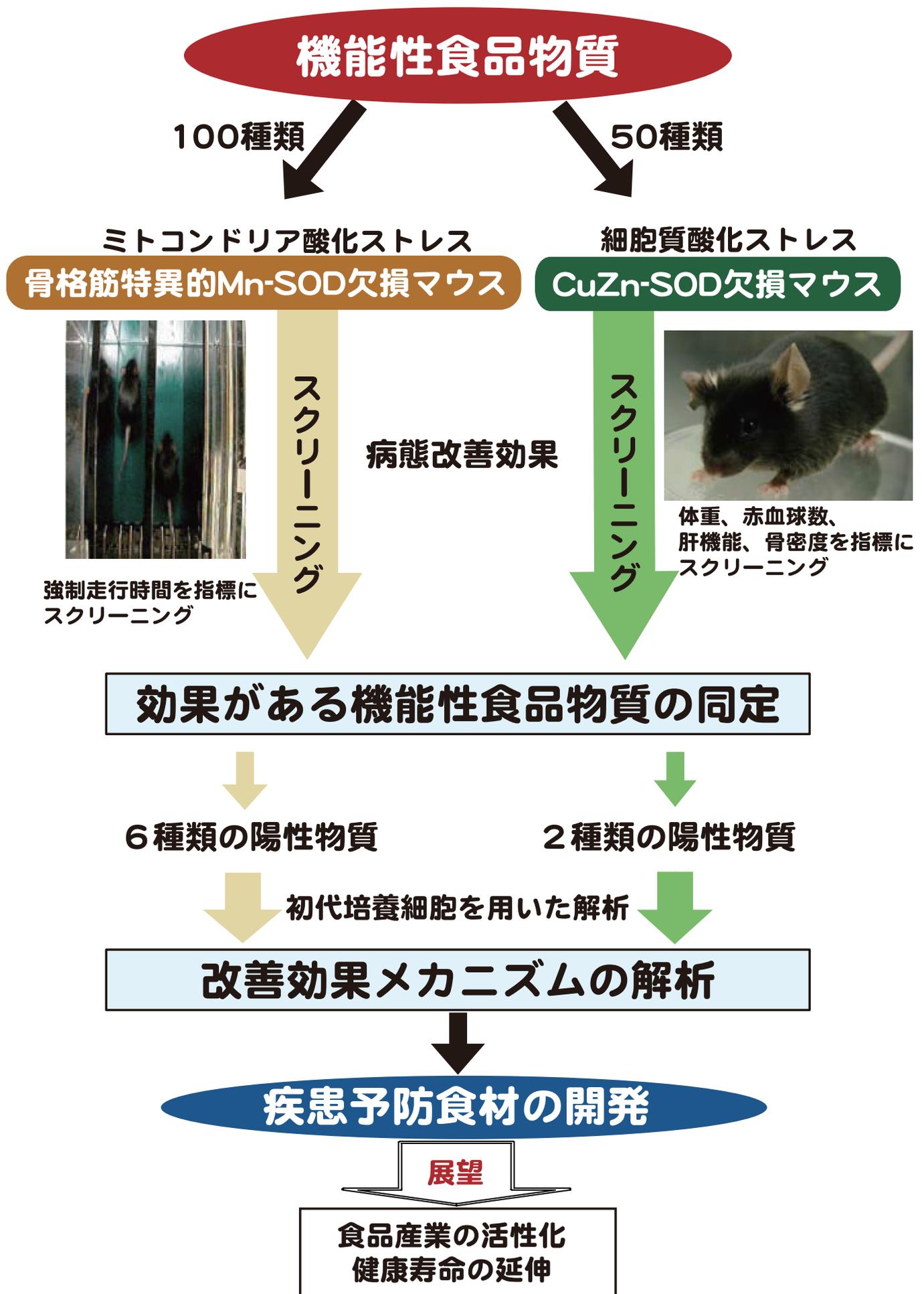
- ①骨格筋特異的 Mn-SOD 欠損マウスの強制運動能力を指標にして、機能性食品物質の運動機能改善作用を *in vivo* レベルで評価し、100 種類のスクリーニングを完了した。6 種類の陽性物質を同定した。
- ②CuZn-SOD 欠損マウスの赤血球数、肝機能、骨密度を指標にして、機能性食品物質の病態改善作用を *in vivo* レベルで評価し、50 種類のスクリーニングを行った。その結果、17 種類の陽性候補物質を同定し、追試験を進めた結果、2 種類の陽性物質を同定した。
- ③骨格筋特異的 Mn-SOD 欠損マウスが骨格筋中 ATP の枯渇により強制運動能力が抑制されることを明らかにした。①の陽性物質は筋中 ATP 量を増加させる可能性が示唆された。さらに CuZn-SOD 欠損マウスが低代謝型骨量減少、コラーゲン減少を伴う皮膚萎縮、および黄体形成不全に伴うプロゲステロン分泌低下による低受胎性を示すことを明らかにした。また、②で同定したビタミン C は骨量減少と皮膚萎縮の表現型を有意に改善した。その改善メカニズムは細胞質活性酸素の発生を顕著に抑制する作用であった。

■見込まれる波及効果

本研究の特徴は、細胞質またはミトコンドリアに特定した機能性食品物質の作用点が判明し、機能性食品物質の病態改善効果を *in vivo* で実証出来ることである。本研究の成果は、作用メカニズムの一端が明らかになるために、機能性食品研究へ有用な *in vivo* データを提供できる。また個体レベルでの病態改善作用を持つ機能性食品物質の同定から、疾患予防食材として認知されることで、機能性食品産業がさらに活性化し、経済的貢献も期待できる。

■主な発表論文

- Kuwahara, H., *et al.*: Oxidative stress in skeletal muscle causes severe disturbance of exercise activity without muscle atrophy. *Free Rad. Biol. Med.* in press
- Shimizu, T., *et al.*: Model mice for tissue-specific deletion of the manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) gene. *Geriatr. Gerontol. Int.* in press
- Shimijo, Y., *et al.*: Effect of rosmarinic acid in motor dysfunction and lifespan in a mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurosci. Res.* 88: 896-904 (2010)
- Kawakami, S., *et al.*: Antioxidant, EUK-8, prevents murine dilated cardiomyopathy. *Cir. J.* 73: 2125-2134 (2009)
- Murakami, K., *et al.*: Skin atrophy in cytoplasmic SOD-deficient mice and its complete recovery using a vitamin C derivative. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 382: 457-461 (2009)



■ 研究課題名

脳機能モニタリングを活用した高度食味プロファイリングシステムの構築

■ 研究の目的

高品質食品・農産物の開発には、官能評価などヒトの感覚に基づいた食味プロファイリングが必須となる。しかし、高度な技術力を持つ食味プロファイラーの養成には長い時間と費用がかかる。そこで、脳機能イメージング法や認知科学的な計測手法を用いて、食味プロファイリングという高度な能力の背景に潜む、感覚・認知処理過程の重要構成要素を抽出する。これらの構成要素について、食味プロファイリングにおける基本的役割を解明し、食味プロファイリングの脳・神経科学的な基盤を確立する。その成果を踏まえ、食味プロファイリングという作業に必要な脳機能を高めるためにはどのようなトレーニングが有用であるかを明らかにし、実用上の観点から優れた食味プロファイラーを効率的に養成するためのシステムを提案する。

■ 研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ① 高度食味プロファイリングにおける脳内感覚処理の研究
(小早川達／独立行政法人産業技術総合研究所 人間福祉医工学研究部門)
- ② 食味に関する高次脳機能研究と高度食味プロファイリングシステムの構築
(◎檀一平太／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 食認知科学ユニット)



小早川 達



檀 一平太

■ 研究の内容及び主要成果

- ① MEG (脳磁計測) による感覚処理の脳機能解析によって、味の強さが生まれるのは、従来考えられていた一次味覚野でなく、より高次の脳機能ネットワークの働きによることが明らかになった。
- ② fNIRS (機能的近赤外分光分析法) による高次脳機能解析によって、食味の記憶時の脳活動パターンが、エキスパートの能力を反映していることが分かった。
- ③ 高度に訓練された官能評価専門パネルの能力は、食味濃度の判別における確度と真度というパラメーターに反映される。
- ④ 食味の認知処理特性から判断すれば、食味プロファイリングの能力を向上させるためには、フィードバックトレーニングが効果的である。

■ 見込まれる波及効果

本研究は、食味プロファイリングという作業において、これまでブラックボックスとして扱われていたヒトというバイオセンサーの仕組みを客観的に描写し、そして、センサーを構成する重要パーツに関するトレーニング法の原理を提唱した。これまで、エキスパートの食味プロファイリング能力は特定の評価に特有と考えられていたが、本研究は、その汎用性を示唆した。すなわち、特定の食品会社などに散在していた官能評価専門パネル等の「人財」を異なる分野の食品・農水産物開発などに広く活用することが有益である。本成果の活用によって、様々な食品・農水産物の評価に関わる食味プロファイラーの効率的育成が可能となり、汎用的な能力を有するエキスパート集団の増大によって、我が国の農水産物・食品開発能力が向上することが期待される。

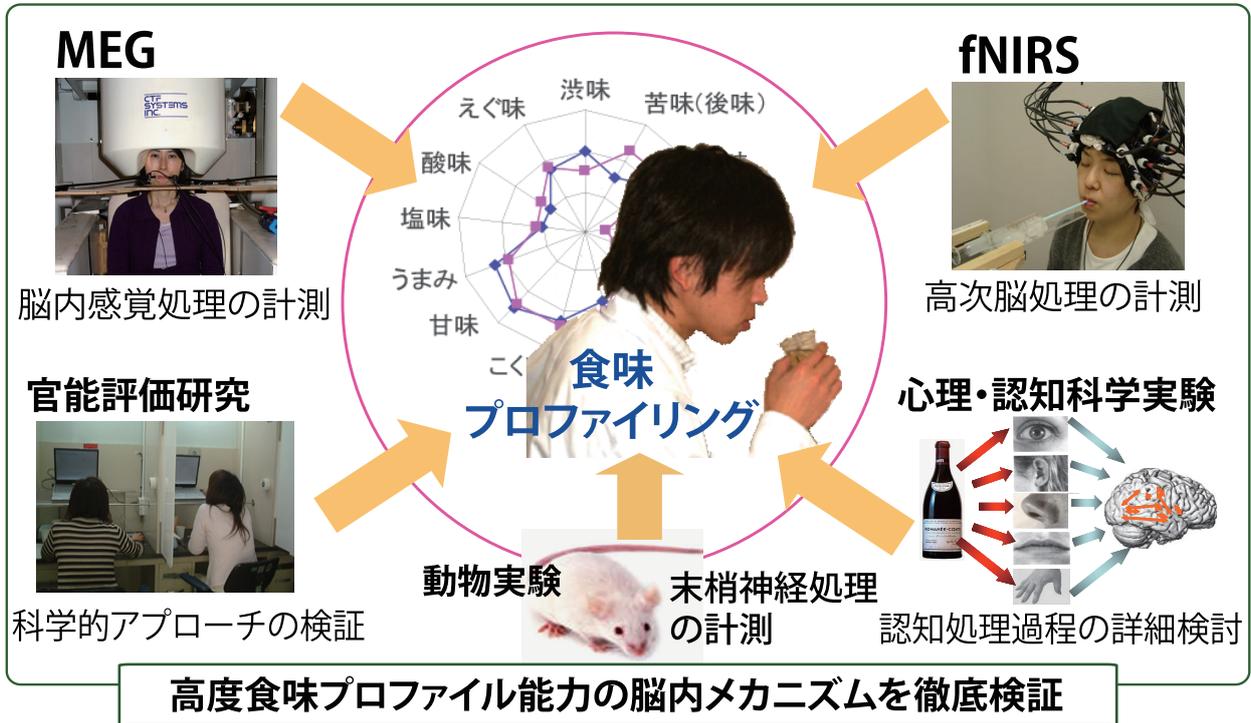
■ 主な発表論文

- Okamoto M., *et al.* : Structural atlas-based spatial registration for functional near-infrared spectroscopy enabling inter-study data integration. *Neuroscience Letters* 451 : 129-133 (2009)
- Okamoto M., *et al.* : Influences of food-name labels on perceived tastes. *Chemical Senses* 34 : 187-194 (2009)
- Okamoto M., *et al.* : Structural atlas-based spatial registration for functional near-infrared spectroscopy enabling inter-study data integration. *Clinical Neurophysiology* 120 : 1320-1328 (2009)
- Kmura Y., *et al.* : Consumer valuation of packaged foods. Interactive effects of amount and accessibility of information. *Appetite* 51 : 628-634 (2008)
- Kobayakawa T., *et al.* : Representation of salty taste stimulus concentrations in the primary gustatory area in humans. *Chemosensory Perception* 16 : 227-234 (2008).

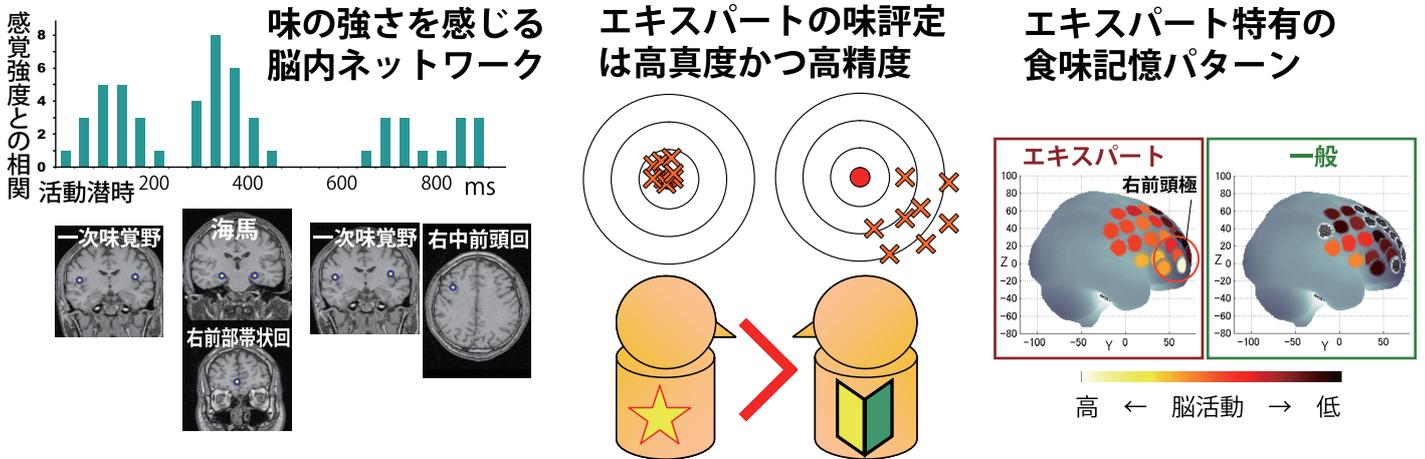
高品質食品の開発を支えているのは高度な食味プロファイリング能力

食品評価にヒトの感覚は必要

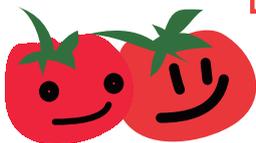
- しかし、食味プロファイラーの育成維持には時間とコストがかかる
- 経験則による訓練は非効率で限界がある
- 脳科学・認知科学的エビデンスに基づく訓練法による問題解決



食味プロファイリングの重要要素の脳内メカニズムの基本原則を説明



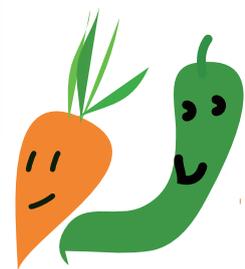
脳・認知科学的エビデンスに基づく食味プロファイリング能力トレーニングの基盤創出



食品農水産業への普及

国民を対象とした食育

**わが国の高品質食品開発能力向上
食文化立国の礎を構築**



■研究課題名

油糧酵母による国産バイオディーゼルの効率的生産技術の開発

■研究の目的

バイオディーゼル（脂肪酸メチルエステル，FAME）原料の廃食油は安定確保が困難で、且つ様々な植物由来の油脂が混在しているため、一定品質を保つには煩雑な工程を要する。そのため、FAME の更なる普及拡大を図るには、生産量のみならず高品質化が技術的課題として挙げられている。

本研究では、国内で大量発生する副産物バイオマスを主原料として、酵母による効率的な FAME の生産条件を解明することで、輸送燃料として利用可能な FAME の新規生産技術の基盤を築く。

■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①脂肪酸メチルエステル生産能の解析
 - ②副産物バイオマスを原料とした効率的な脂肪酸メチルエステル生産条件の解明
 - ③試作バイオディーゼルの特性解析
- （◎高桑直也／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）



高桑直也

■研究の内容及び主要成果

- ①細胞内にトリグリセリドとリパーゼを蓄積する酵母 *Cryptococcus curvatus* TYC-19 を生乳から分離し、その諸性質の解析から、当該菌株は製糖副産物であるビート糖蜜、チーズ製造副産物であるホエーを増殖炭素源として利用できることを見出した。
- ②当該培養菌体にメタノールのみを加えることによって、細胞外に漏出したトリグリセリドとリパーゼが 1 ステップで反応する特性を利用し、FAME への変換効率を 90%以上とする効率的な培養・抽出条件を解明した。
- ③当該菌株および食用酵母 *Kluyveromyces lactis* 由来の FAME の燃料性状は、我が国のバイオディーゼル規格の重要項目に適合することを明らかにした。また、FAME の製造副産物には希少価値の高い機能性糖脂質が含まれていることを見出した。

■見込まれる波及効果

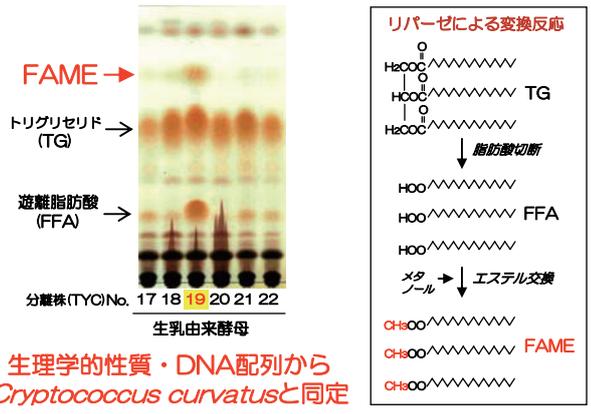
糖蜜など食料と競合しない副産物バイオマスに新しい付加価値が創出される。当該技術をモデルとして、各地域で発生するバイオマスを原料とすることで、エネルギー自給率の更なる向上に寄与する。また、肌の保湿効果を有するセラミドも同時に回収可能なことから、化粧品および健康食品産業にも波及効果が生まれる。

■主な発表論文

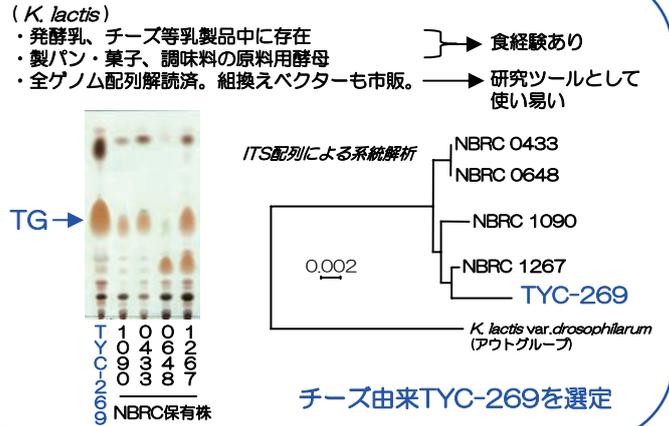
- 高桑直也：酵母によるバイオディーゼル燃料の生産. ニューカントリー 55：22-23 (2008)
- Takakuwa N., et al. : Significance of the *KILAC1* gene in glucosylceramide production by *Kluyveromyces lactis*. *FEMS Yeast Res.* 8：839-845 (2008)
- Sugai M., et al. : Characterization of sterol lipids in *Kluyveromyces lactis* strain M-16 accumulating a high amount of steryl glucoside. *J. Oleo Sci.* 58：91-96 (2009)
- Takakuwa N. and Saito K. : Conversion of beet molasses and cheese whey into fatty acid methyl esters by the yeast *Cryptococcus curvatus*. *J. Oleo Sci.*, in press

油糧酵母による国産バイオディーゼルの効率的生産技術の開発

1ステップ抽出でFAME生産が可能な酵母の探索



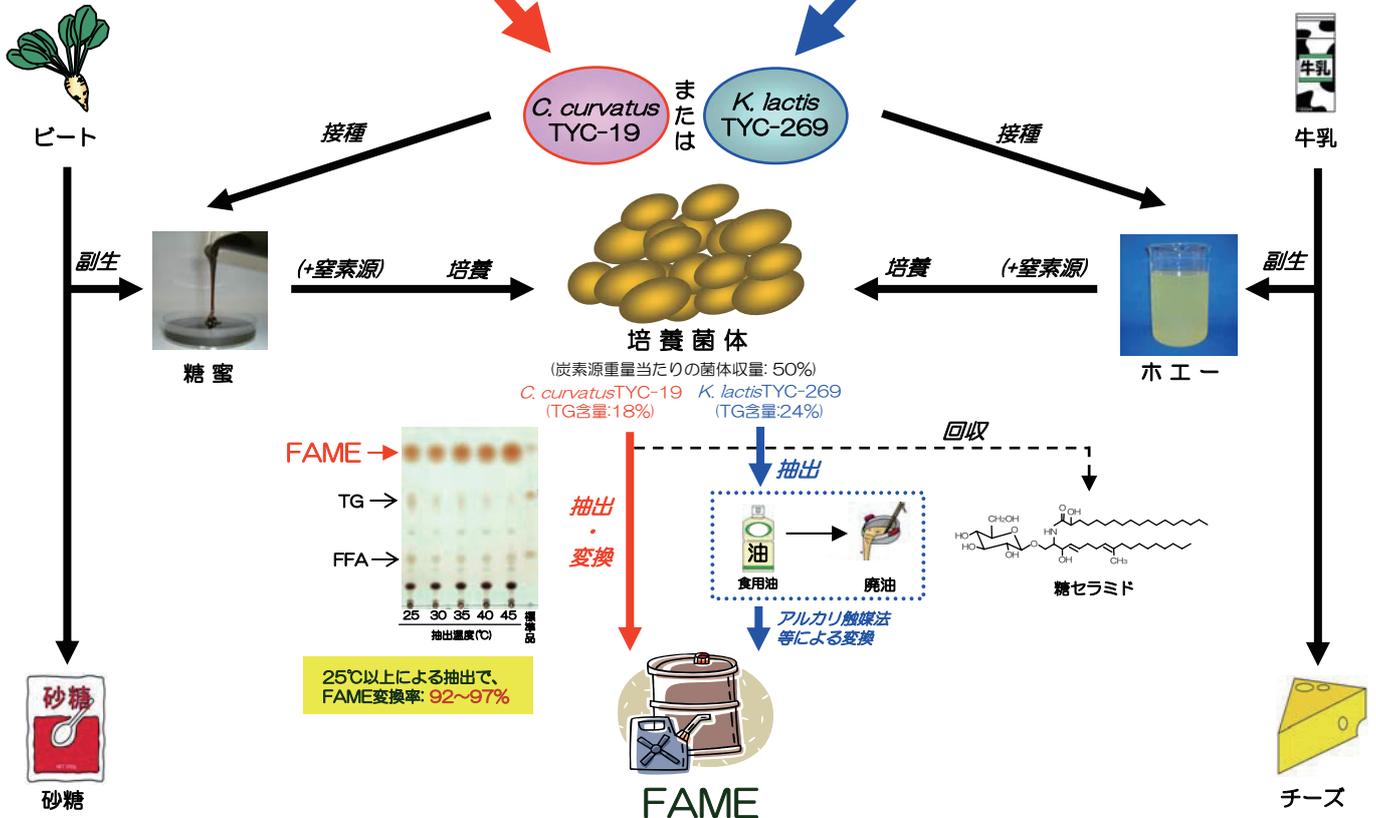
食用酵母 *K. lactis* におけるTG高蓄積株の選抜



バイオマス由来炭素源の資化性

分離酵母	バイオマス由来炭素源の資化性					現行FAME製造副産物
	ビート糖蜜等	ホエー	セルロース系バイオマス糖化液			
	スクロース	ラクトース	グルコース	キシロース	セロピオース	グリセロール
<i>C. curvatus</i> TYC-19	+	+	+	+	+	+
<i>K. lactis</i> TYC-269	+	+	+	+	+	+

幅広いバイオマスが培養源として利用可能



油糧酵母から得られたFAMEの特性

燃料性状	低温流動性指標		熱的・化学的安定性指標		着火性指標	危険性・揮発性指標
	飽和脂肪酸含量 (%)	動粘度 (mm ² /s)	リノレン酸含量 (%)	ヨウ素価	セタン価	引火点 (°C)
規格	≤15	3.50-5.00	≤12	≤120	≥51	≥120
<i>C. curvatus</i> TYC-19	14	4.29	5	105	51	162
<i>K. lactis</i> TYC-269	11	4.04	2	103	51	164

重要項目
に全て
適合