

# 基礎研究推進事業 研究成果

(2006年度終了課題)



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

#### 表紙説明

アサガオは極めて敏感な短日植物で、1回の短日処理だけで花芽形成が誘導される。その花成ホルモンの実体の候補と考えられるPnFTL遺伝子は、短日処理の10時間目から葉で発現し始める。PnFTLの構造遺伝子配列を未熟胚由来細胞塊に遺伝子導入して強制的に発現させたところ、再分化後、直ちに花芽（つぼみ）を形成した。

（筑波大学遺伝子実験センター：小野 道之）

#### 裏表紙説明

小型のイルカ（スナメリ）に超小型記録装置をつけ、ソナーによる探索行動と水中での動きを時々刻々とらえた。本プロジェクトによって、野外におけるイルカのソナーの使い方が初めて明らかになり、新しい魚群探知技術への応用が期待される。

（水産総合研究センター水産工学研究所：赤松 友成）

# 基礎研究推進事業

研究成果（2006年度終了課題）

## 目 次

### 一 般 型

花芽分化誘導における光周性過程から統御過程への新規な遺伝子ネットワークの解明 (東京大学大学院理学系研究科/米田 好文).....	1
ゲノム情報の活用による生活習慣病予防機能を強化した食品素材の創出 (京都大学大学院農学研究科/吉川 正明).....	3
受精卵と核移植卵の相同性：クローン個体作出への応用 (近畿大学農学部/角田 幸雄).....	5
植物細胞の増殖と分化を制御する分子的ネットワーク (名古屋大学大学院理学研究科/町田 泰則).....	7
生殖細胞のインプリント機構の解明と単為発生動物の開発 (東京農業大学応用生物科学部/河野 友宏).....	9
生物毒素素材を利用した疾患モデル動物作製とその応用に関する先導的研究 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科/河野 憲二).....	11
耐病性植物育種の分子基盤研究 (独) 農業生物資源研究所/大橋 祐子).....	13
動物ウイルスによる宿主細胞制圧機構の解明 (東京大学医科学研究所/甲斐 知恵子).....	15
<b>若手研究者支援型</b>	
イルカ型ソナーをモデルとした次世代魚群探知技術の研究 (独) 水産総合研究センター水産工学研究所/赤松 友成).....	17
家禽と光周性と排卵・放卵周期の分子機構の解明 (名古屋大学大学院生命農学研究科/吉村 崇).....	19
健康長寿社会に向けた食品開発のための食品物性・感性科学的研究 (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所/神山 かおる).....	21
タンパク質分解制御因子による細胞伸長制御及び開花時期決定の分子制御メカニズムの解明とその応用 (香川大学総合生命科学実験センター/清末 知宏).....	23
ナノ加工技術を利用した膜タンパク質のナノバイオロジー (大阪大学産業科学研究所/野地 博行).....	25
生物機能の解明と活用のための糖鎖自動合成技術及び規則的な糖鎖ライブラリー合成技術の確立 (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所/今場 司朗).....	27
染色体断片群の導入によるコシヒカリの複数有用形質の同時改良 (独) 農業生物資源研究所/石丸 健).....	29

## ■研究課題名

# 花芽分化誘導における光周性過程から統御過程への新規な遺伝子ネットワークの解明

## ■研究の目的

ゲノム解析の進んでいるシロイヌナズナ、イネとともに花芽分化誘導研究の重要な材料のアサガオを用いて花芽分化誘導の分子機構を解明する。光による花芽分化誘導、花芽分化誘導タンパク質・シグナル統御遺伝子の機能解析を進め、その過程で得られた制御遺伝子群、シグナル伝達因子などを用いて、花芽分化誘導を制御する技術の開発を目指す。

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①シロイヌナズナ花芽分化誘導統御遺伝子ネットワークの解明  
(◎米田 好文／東京大学大学院理学系研究科)
- ②光シグナルによる花芽分化誘導調節の分子機構の解明  
(井澤 毅／独立行政法人農業生物資源研究所)
- ③短日植物アサガオと長日植物シロイヌナズナの光周性花成誘導と概日時計の分子基盤の解明：タンパク質リン酸化の役割に関する研究  
(小野 道之・溝口 剛／筑波大学大学院生命環境科学研究科)
- ④花芽分化誘導を制御する新規の制御因子と制御階層の解明  
(荒木 崇／京都大学大学院生命科学研究科)



米田 好文



井澤 毅



小野 直之



荒木 崇

## ■研究の内容及び主要成果

- ①シロイヌナズナ HD-GL2 型遺伝子 *PDF2* 過剰発現体では *PDF2* 遺伝子が *FT* より上流で機能することを示し、多数の早期開花突然変異体を単離・解析した。さらに *PDF2* と相互作用する遺伝子を同定した。
- ② *Hd1/Hd3a* の経路がイネの光周性花芽形成の主要経路のひとつで、転写制御がシロイヌナズナと異なっていることを見つけた。*Hd1* が機能しない遺伝背景でも光周性花芽形成を起すキーとなる遺伝子である *Ehd1* 遺伝子を単離した。
- ③絶対的短日植物アサガオから光周性花成誘導に関連する遺伝子を多数単離した。*PnFT* は非常に強い花成誘導能を持つことが分かった。シロイヌナズナでは、概日時計因子 *LHY* と *CCA1* は、明暗周期下において主に花成促進因子 *GI*、*CO*、*FT* の転写制御を介して花成制御に関わることを明らかにした。
- ④シロイヌナズナを用いた研究から、長距離花成刺激（花成ホルモン、フロリゲン）の実体が *FT* 遺伝子の産物（mRNA あるいはタンパク質）であることを提唱した。シロイヌナズナの優性の花成遅延変異体 *fwa* は、*FT* タンパク質の機能を阻害することで花成を遅らせることを明らかにした。

## ■見込まれる波及効果

永らく謎であった長距離花成刺激（花成ホルモン、フロリゲン）の実体をモデル植物シロイヌナズナで明らかにしたことで、花卉園芸植物、野菜、果樹などの開花制御への応用が期待できる。さらに、アサガオ、イネにおいても花成ホルモンに相当する遺伝子が示され、花成の調節機構が植物種毎に固有であることが示されたことは、花成時期の人為的な調節機構の開発の目標設定に対し、重要な知見を与える。

## ■主な発表論文

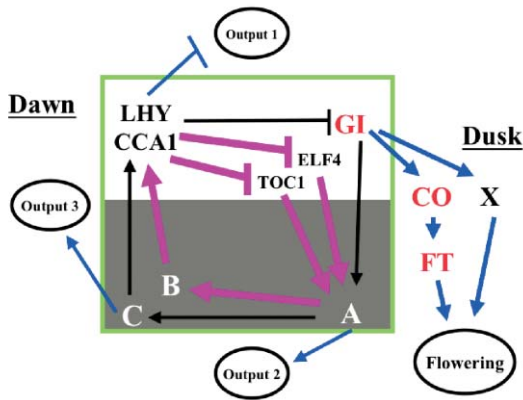
- Komeda Y.: Genetic regulation of time to flower in *Arabidopsis thaliana*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 521-535 (2004)
- Doi K., *et al.*: Ehd1, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls *FT*-like gene expression independently of *Hd1*. *Genes Dev.* 18: 926-936 (2004)
- Oguchi T., *et al.*: Genomic structure of a novel *Arabidopsis* clock-controlled gene, *AtC401*, which encodes a pentatricopeptide repeat protein. *Gene* 330: 29-37 (2004)
- Mizoguchi T., *et al.*: Distinct roles of *GIGANTEA* in promoting flowering and regulating circadian rhythms in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 17: 2255-2270 (2005)
- Abe M., *et al.*: FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science* 309: 1052-1056 (2005)



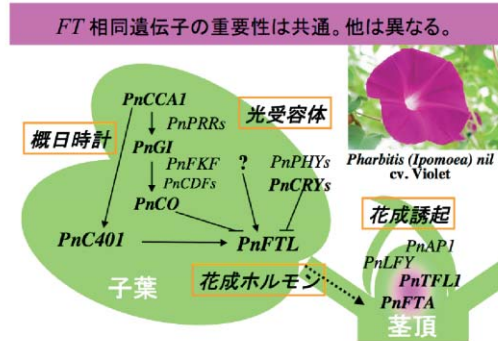
■研究のイメージ

## 光周性過程の解明

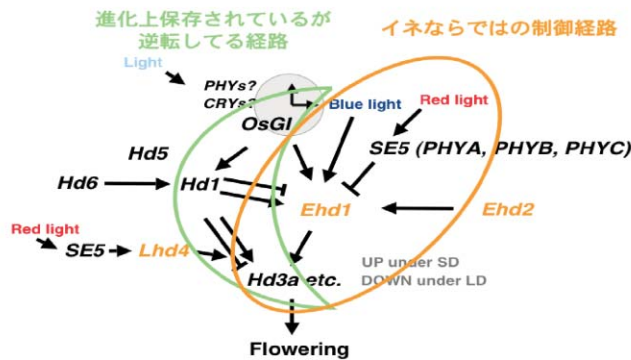
<シロイヌナズナ>



<アサガオ>



<イネ>

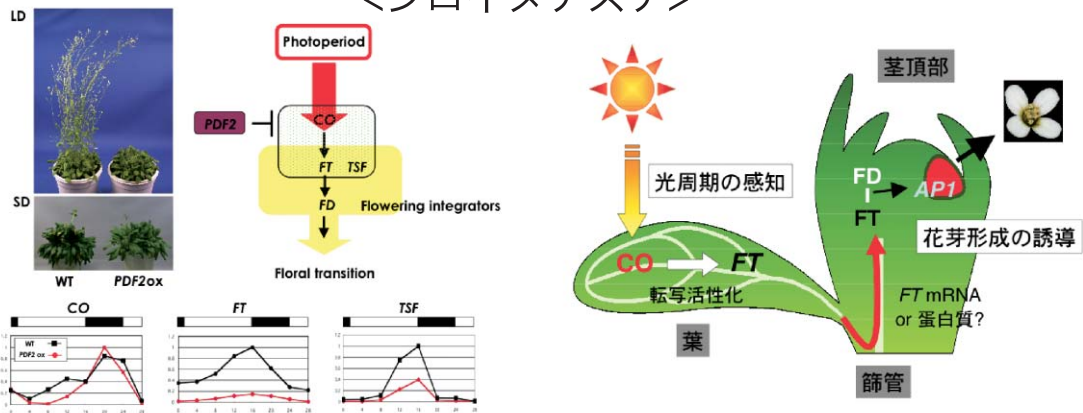


3種のモデル植物を用いて、光周性過程から統御過程に至る花芽分化誘導の遺伝的制御を解明し、花芽分化誘導の調節機構が植物種毎に固有であることを提唱した。



## 統御過程の解明

<シロイヌナズナ>



統御過程の解明では、PDF2遺伝子を介して花芽分化誘導経路を解析、FT, FD遺伝子の研究から導かれた光周性花成における長距離シグナル（フロリゲン）に関するモデルを提唱した。

## ■研究課題名

# ゲノム情報の活用による生活習慣病予防機能を強化した食品素材の創出

## ■研究の目的

食品タンパク質等これまで生理活性ペプチドの前駆体とは見なされていなかったタンパク質中に、神経系、循環系、免疫系等に作用する低分子ペプチド配列が潜在的に含まれている例を見出してきたが、このような生理活性ペプチドをより広範に探索し、経口投与で有効なものを各種生活習慣病予防機能を持つ食品成分として利用する。

次に、このようなペプチドをリード物質として構成アミノ酸残基を置換することにより、生理活性を強化する。こうして得られた高機能化ペプチドを高いタンパク質生産能を有する大豆子実で発現させることにより安価に生産し、生活習慣病予防機能を高めた食品または医薬品素材としての利用を図る。

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ① 食品タンパク質に含まれる生理活性ペプチドの探索と機能解析並びにそれに基づいた高機能化タンパク質の設計と安全性の確認  
(◎吉川 正明/京都大学大学院農学研究科)
- ② 高機能化タンパク質蓄積作物の開発  
(石本 政男/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)



吉川 正明



石本 政男

## ■研究の内容及び主要成果

- ① 乳、卵、肉、血液等に含まれる動物タンパク質および大豆、米、小麦、菜種、緑葉等に含まれる植物タンパク質中に潜在的に含まれている生理活性ペプチド配列を種々の方法により探索した結果、鎮痛または抗鎮痛、抗不安、記憶増強、摂食調節等の中枢作用および動脈弛緩、血圧低下、コレステロール低下、免疫系調節、抗脱毛、育毛促進等の末梢作用を示すペプチドが多数得られ、それらの多くが経口投与の際に有効であった。
- ② 卵白アルブミン消化物から単離した、動脈弛緩・血圧降下ペプチド Ovokinin (2-7) (RADHPF) を基に、作用が100倍強力なペプチド Novokinin (RPLKPW) を設計した。Novokinin はアンジオテンシン AT<sub>2</sub> レセプターを介して作用するという新しいタイプの血圧降下ペプチドであり、他に摂食抑制、抗肥満、血糖低下、育毛促進等興味深い作用を示した。本ペプチドを組込んだ大豆7Sタンパク質 ( $\beta$ -コングリシニン $\alpha'$ ) を発現する遺伝子改変大豆を自然発症高血圧ラットに0.5g/kgの用量で経口投与することにより、有意な血圧降下作用が認められた。同様の手法により、数種類の高機能化ペプチドおよび動物由来ペプチドの大豆種子での発現に成功した。

## ■見込まれる波及効果

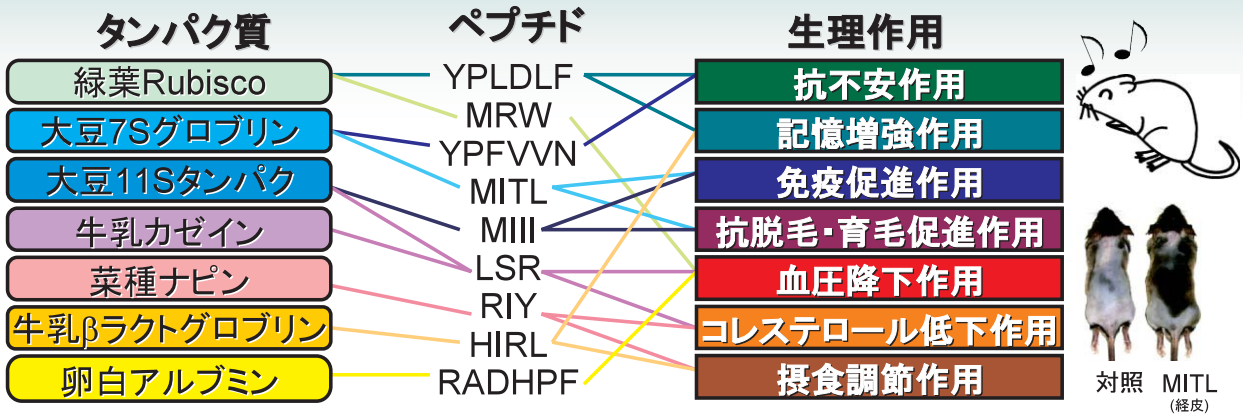
各種生活習慣病予防機能を有する食品素材の安価な生産、健康の維持・増進にとって理想的な食品タンパク質を合理的に設計・生産するシステムの確立、さらには生活習慣病の予防による医療費の軽減と健全な長寿社会の実現への貢献が期待される。

## ■主な発表論文

- Tsuruki T., *et al.*: A soy-derived immunostimulating peptide inhibits etoposide induced alopecia in neonatal rats. *J. Invest. Dermatology* 122 : 848-850 (2003)
- Onishi K., *et al.*: Optimal designing of  $\beta$ -conglycinin to genetically incorporate RPLKPW, a potent anti-hypertensive peptide. *Peptides* 25 : 37-43 (2004)
- Marczak E.D., *et al.*: Arg-Ile-Tyr (RIY) derived from rapeseed protein decreases food intake and gastric emptying after oral administration in mice. *Peptides* 27 : 2065-2068 (2006)
- Kamauchi S., *et al.*: Gene expression in response to endoplasmic reticulum stress in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS J.* 272: 3461-3476 (2005)
- Kita Y., *et al.*: Genetic improvement of the somatic embryogenesis and regeneration in soybean and transformation of the improved breeding lines. *Plant Cell Reports* in press (2007)

■研究のイメージ

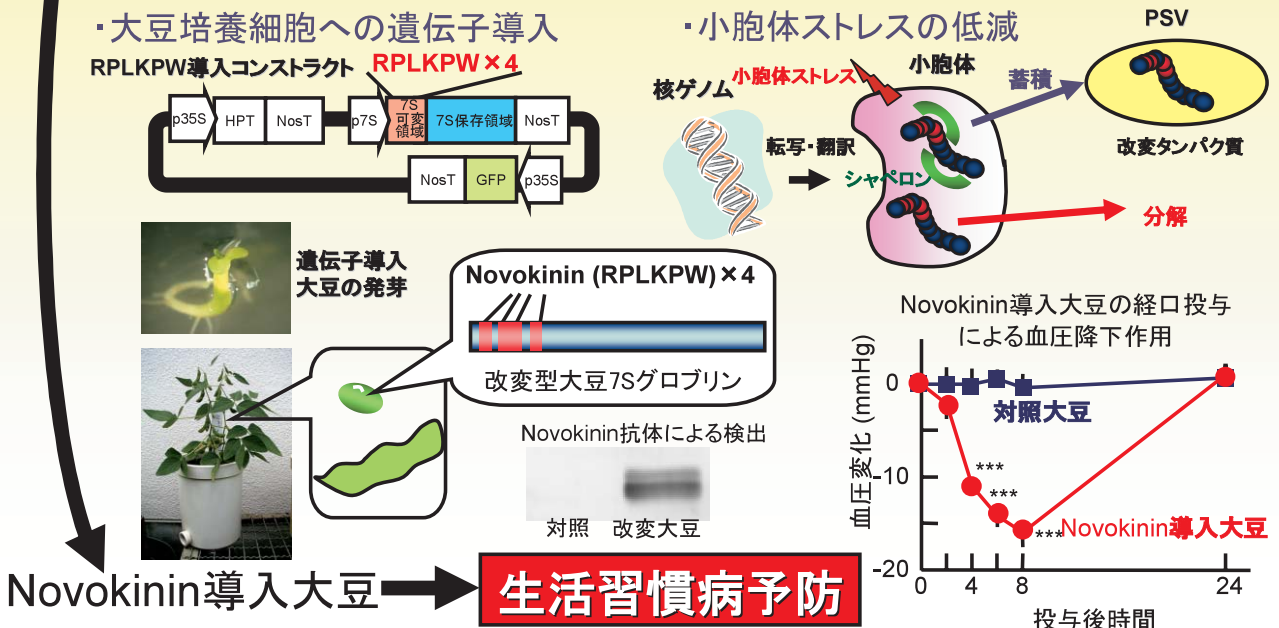
### タンパク質中に潜在する生理活性ペプチド配列の探索



### アミノ酸残基の置換によるペプチドの高機能化



### 大豆種子での高機能化ペプチドの生産



## ■研究課題名

### 受精卵と核移植卵の相同性；クローン個体作出への応用

## ■研究の目的

多くの動物種で体細胞クローン個体が作出されているが、現状ではその作出割合は低く、また高頻度で発育異常等が認められている。そのため、社会はクローン家畜の生産物を食料としたり、医療へ応用することに不安を示している。そこで本研究では、移植核の初期化に関わる因子を同定するとともに、核移植卵と受精卵の違いを分子レベルで明らかにすることにより、正常な個体への発生能の高い核移植卵を作出し、選別する技術を開発する。

また、主としてES細胞について、マーカーによる分画と各集団の特性解析から、キメラやクローン個体の作出に適した細胞を選別・評価する技術を確立する。

## ■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①受精卵と相同な能力を持つ核移植卵の作出、選別に関する基礎的研究  
（◎角田 幸雄／近畿大学農学部）
- ②未分化細胞等の分化・発生能の評価技術の開発  
（徳永 智之／独立行政法人農業生物資源研究所）



角田 幸雄



徳永 智之

## ■研究の内容及び主要成果

- ①ウシ未受精卵細胞質内に核の初期化誘導能に関連する蛋白質（TCTP）を見出し、活性化ペプチドを用いて正常な個体への発生能の高い体細胞クローン胚の作出技術を開発した。また、得られる個体の正常性に差異がある体細胞核移植胚の間における遺伝子発現状況の相異を網羅的に調べ、正常性に関連する可能性の高い遺伝子マーカーを同定し、それを用いた体細胞クローン胚の選別技術を提示した。
- ②細胞表面抗原（PECAM-1及びSSEA-1）に対する標識抗体を用いたFACS解析により、マウスES細胞に亜集団が存在することを明らかにし、キメラ形成能の高い細胞集団を濃縮／選別する技術を開発した。また、マイクロアレイ等を用いた網羅的な遺伝子発現解析により、ES細胞の分化能や胚の発生能に関連する新しい遺伝子マーカーを同定した。

## ■見込まれる波及効果

体細胞クローン個体に見られる異常等が低下することによって、消費者や生産者に安心感を与え、体細胞核移植技術が有用家畜の育種・改良・増殖法として使用できるようになれば、我が国の畜産業に大きな波及効果を及ぼす。また、正常な個体への発生能の高い体細胞核移植技術は、伴侶・介護動物の作出、絶滅危惧種の救済、さらには異種臓器移植用動物の作出、有用医薬品の生産、再生医療などの幅広い分野の発展に貢献しうる。

## ■主な発表論文

- Tani T., *et al.*: Reprogramming of bovine somatic cell nuclei is not directly regulated by maturation promoting factor or mitogen-activated protein kinase activity. *Biol. Reprod.* 69: 1890-1894 (2003)
- Kato Y., *et al.*: Nuclear transfer of adult bone marrow mesenchymal stem cells: developmental totipotency of tissue-specific stem cells from an adult mammal. *Biol. Reprod.* 70: 415-418 (2004)
- Li X., *et al.*: Comparative analysis of development-related gene expression in mouse preimplantation embryos with different developmental potential. *Mol. Reprod. Dev.* 72: 152-160 (2005)
- Furusawa T., *et al.*: Embryonic stem cells expressing both Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1 and Stage-Specific Embryonic Antigen-1 differentiate predominantly into epiblast cells in a chimeric embryo. *Biol. Reprod.* 70: 1452-1457 (2004)
- Furusawa T., *et al.*: Gene expression profiling of mouse embryonic stem cell. *Biol. Reprod.* 75: 555-561 (2006)

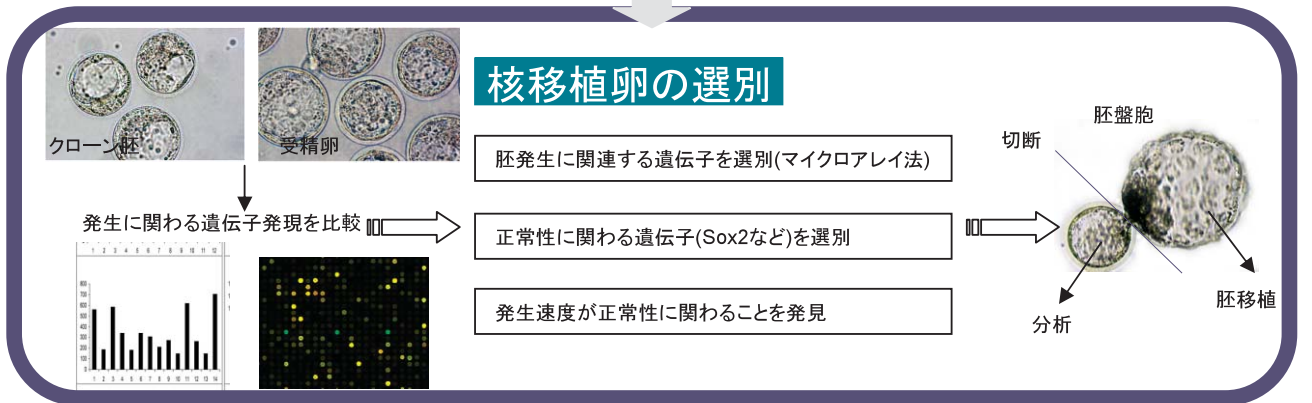
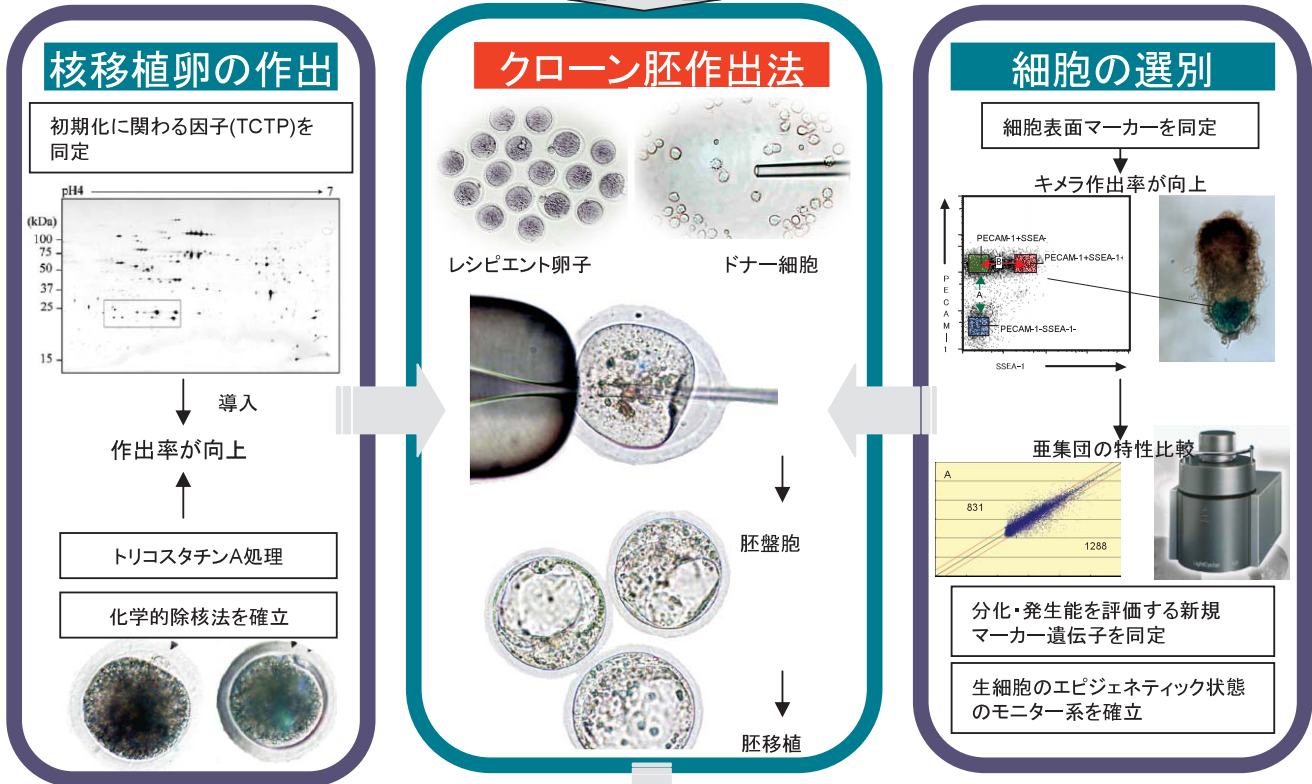


■研究のイメージ

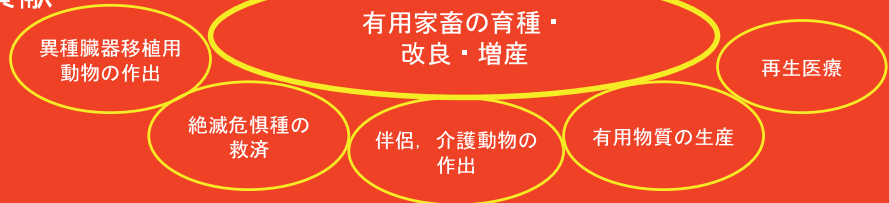


体細胞クローン動物

◎成功率が低い！ ◎形態形成異常が多い！



社会に貢献



## ■研究課題名

### 植物細胞の増殖と分化を制御する分子的ネットワーク

## ■研究の目的

植物の細胞質分裂の過程は、動物細胞では見られない細胞板形成という植物特異的なプロセスを有する。

このプロセスを人為的に制御することは作物生産分野において新たな基盤技術となると考えられるが、その分子メカニズムについてはほとんど明らかにされていない。本研究では、ゲノム解析の進んでいるシロイヌナズナ、生化学的実験に適したタバコの培養細胞を用いて、植物の細胞質分裂に関わる制御因子の同定と機能解析を行い、植物の細胞質分裂機構の全容を明らかにすることを目的とする。また、その成果から、植物体の成長や分化の仕組みをより深く理解するとともに、新たな分子育種法確立の可能性を探ることを目指す。

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ① NACK/NPK1 複合体による細胞質分裂の制御に関する研究  
(◎町田 泰則/名古屋大学大学院理学研究科)
- ②腫瘍形成遺伝子 6b による細胞増殖の誘導機構の研究  
(上野 宜久、◎町田 泰則/名古屋大学大学院理学研究科)



町田 泰則

## ■研究の内容及び主要成果

- ① NACK / NPK 複合体より開始される細胞質分裂の制御に関与する MAPK カスケードの主要な制御因子を同定し、その分子的特性を明らかにした。
- ②生化学的解析と網羅的なプロテオーム解析により、このカスケードの下流因子を複数同定した。この中で微小管結合タンパク質 MAP65 については、MAPK によるリン酸化が MAP65 の機能制御において重要な役割を果たすことを明らかにし、MAP キナーゼカスケードと細胞質分裂を結ぶ分子メカニズムの一端を示すことができた。
- ③ NPK1 は NACK1 と直接結合することにより活性化するが、この結合は CDK によるリン酸化により制御されていることが明らかとなった。
- ④腫瘍形成因子 6b タンパク質の細胞内局在や試験管内での機能を明らかにし、細胞増殖にクロマチン構造の制御を介した機構が存在する可能性を示した。

## ■見込まれる波及効果

植物の細胞質分裂を制御するカスケードの全体像を明らかにしたことは、分子育種などの分野で新しい展開をするための基礎的知見となる。今後、特異的な細胞で、同定したカスケードの因子のバランスのとれた制御ができる技術が開発されれば、農業における生産性の向上や優良形質の維持を図る上で大きな貢献が期待できる。

## ■主な発表論文

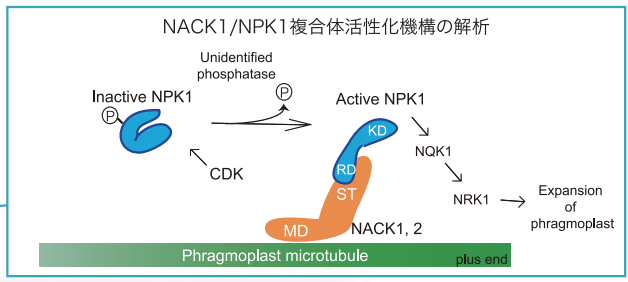
- Soyano T, *et al.*: NQK1/NtMEK1 is a MAPKK that acts in the NPK1 MAPKKK-mediated MAPK cascade and is required for plant cytokinesis. *Genes Dev.* 17: 1055-1067 (2003)
- Araki S, *et al.*: Mitotic cyclins stimulate the activity of c-Myb-like factors for transactivation of G2/M phase-specific genes of tobacco. *J. Biol. Chem.* 279: 32979-32988 (2004)
- Tanaka H, *et al.*: The *AtNACK1/HINKEL* and *STUD/TETRASPORE/AtNACK2* genes, which encode functionally redundant kinesins, are essential for cytokinesis in *Arabidopsis*. *Genes to Cells* 9: 1199-1211 (2004)
- Sasabe M., *et al.*: Phosphorylation of NtMAP65-1 by a MAP kinase down-regulates its activity of microtubule bundling and stimulates progression of cytokinesis of tobacco cells. *Genes Dev.* 20: 1004-1014 (2006)
- Sasabe M., Machida Y.: MAP65: a bridge linking a MAP kinase to microtubule turnover. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9: 563-570 (2006)
- Terakura S. *et al.*: Oncogene 6b from *Agrobacterium tumefaciens* induces abaxial cell division at late stages of leaf development and modifies vascular development in petioles. *Plant Cell Physiol.* 47: 664-672 (2006)

■ 研究のイメージ

### 植物の細胞質分裂

<背景及び目的>  
植物の細胞質分裂に特異的な過程である細胞板形成に関わる NACK1/NPK1 MAPKKK 複合体の発見。

1. この過程に関わるカスケードの因子の同定
2. カスケードの下流因子の同定と機能解析による細胞質分裂の分子メカニズムの解明
3. 細胞分裂M期における細胞質分裂開始メカニズムの解明
4. 優良形質を保持した植物育種



### 植物の細胞質分裂に関わるNACK-PQR経路

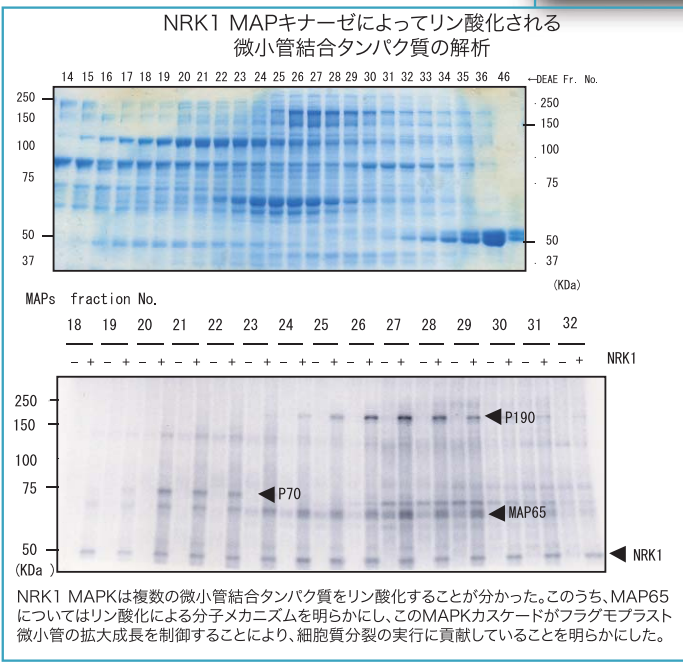
	Tobacco	Arabidopsis
KLPs	NACK1, 2    Binding	AtNACK1, 2    Binding ?
MAPKKK	NPK1	ANP1, 2, 3
MAPKK	NQK1	ANQ1/AtMKK6
MAPK	NRK1	ANR1/AtMPK4
	MAP65-1 P70, P190	GAPDH, PBP1 etc.

細胞質分裂  
(フラグモプラストの拡大成長, 細胞板の形成)

\* 赤字は本研究において明らかとなった因子

シロイヌナズナを用いた細胞質分裂に関わるMAPカスケードに関わる主要因子の同定

ゲム解析の終了したシロイヌナズナを用いて遺伝学的な解析を行い、このカスケードのほぼ全ての因子を同定し、機能を明らかにした。



### 腫瘍形成遺伝子6bによる植物の新規な細胞増殖機構の解析

T-DNA of TI plasmid  
← tms1 tms2 → gene 6b →

アグロバクテリウムの腫瘍形成因子6bタンパク質はヒストンシヤペロンの活性を持っていることが分かった。植物細胞の増殖にとっては、クロマチン構造の制御が重要であることが示された。

### 学問的成果

- ・生物の根源的な現象である細胞分裂の機構に関する基礎的知見の獲得
- ・新規な学説の提唱

### 将来の社会的成果

細胞分裂を制御するカスケードの全因子と標的因子を明らかにしたことにより、個体における細胞分裂の制御法の開発が期待される。

- ・新規分子育種法の開発
- ・農作物における優良形質の維持



## ■研究課題名

### 生殖細胞のインプリント機構の解明と単為発生動物の開発

## ■研究の目的

哺乳類の正常な個体発生には卵子および精子ゲノムの寄与が不可欠で、単為発生は父母アレル特異的遺伝子発現を制御するゲノムインプリンティング機構により完全に妨げられている。本研究では、生殖細胞形成過程におけるゲノムインプリンティング機構を解析し、発生工学技術および遺伝子改変技術を駆使し生殖細胞のインプリント情報を改変した卵子を再構築する技術を開発する。これにより、哺乳類では全く不可能と考えられていた雌ゲノムのみから構成される個体発生を可能とし、新たな哺乳動物生産システムの構築を目指す。



河野 友宏



尾畑 やよい

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①単為発生胚の核移植による再構築と発生解析  
(◎河野 友宏、尾畑やよい／東京農業大学応用生物科学部)
- ②雌核発生胚における遺伝子発現プロファイルの網羅的解析  
(小川 英彦、山本 祐司／東京農業大学応用生物科学部)



小川 英彦



山本 祐司

## ■研究の内容及び主要成果

- ①マウス7番染色体遠位部に位置する父性インプリント調節領域を欠損させたノックアウトマウスの新生仔非成長期卵母細胞ゲノムおよび野生型排卵卵子ゲノムを持つ二母性胚を核移植により構築し、妊娠満期にまで発生させることに成功し、世界ではじめて受精を介さず母性ゲノムから構成される二母性マウスを誕生させた。
- ②さらに、7番染色体に加え12番染色体遠位部に位置する父性インプリント調節領域も欠損させた二重欠損マウス新生仔非成長期卵母細胞ゲノムおよび野生型排卵卵子ゲノムを持つ二母性胚を核移植により構築し、再現性高く二母性マウスを生産するシステムを構築した。
- ③雌生殖細胞形成過程における各インプリント遺伝子制御領域におけるDNAメチル化過程が、卵母細胞の成長時期により遺伝子毎に独立的に制御されていることを明らかにした。
- ④各遺伝子型の二母性マウス胎子における網羅的遺伝子発現解析から、父性メチル化インプリント遺伝子 *Igf2* および *Dlk1* が個体発生および胎盤形成において相補的に関与していることを明らかにした。
- ⑤これらの成果は、個体発生に不可欠な雌雄生殖細胞ゲノムの機能制御にゲノムインプリンティング機構が決定的な役割を果たしていることを証明した。

## ■見込まれる波及効果

哺乳動物における生殖細胞の機能の理解が深まるばかりでなく、全くあたらしい個体生産システムが構築され、動物増殖、生殖細胞操作、生殖医療、遺伝子保存など、多方面にインパクトを与える。具体的には、優良家畜の生殖巣内に潜在する生殖細胞の利用が可能となる。また、雌雄生殖細胞の人為的生産に道を開き、家畜優良雌個体ゲノムの次世代への伝達効率が飛躍的に増大する。さらに再生医療・移植医療分野への貢献も期待される。

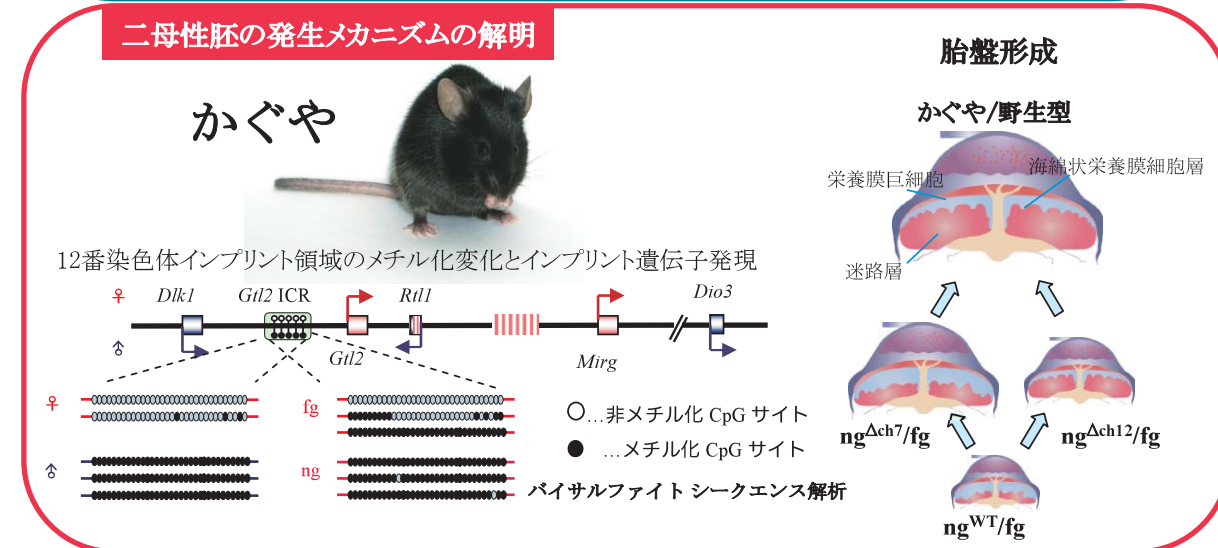
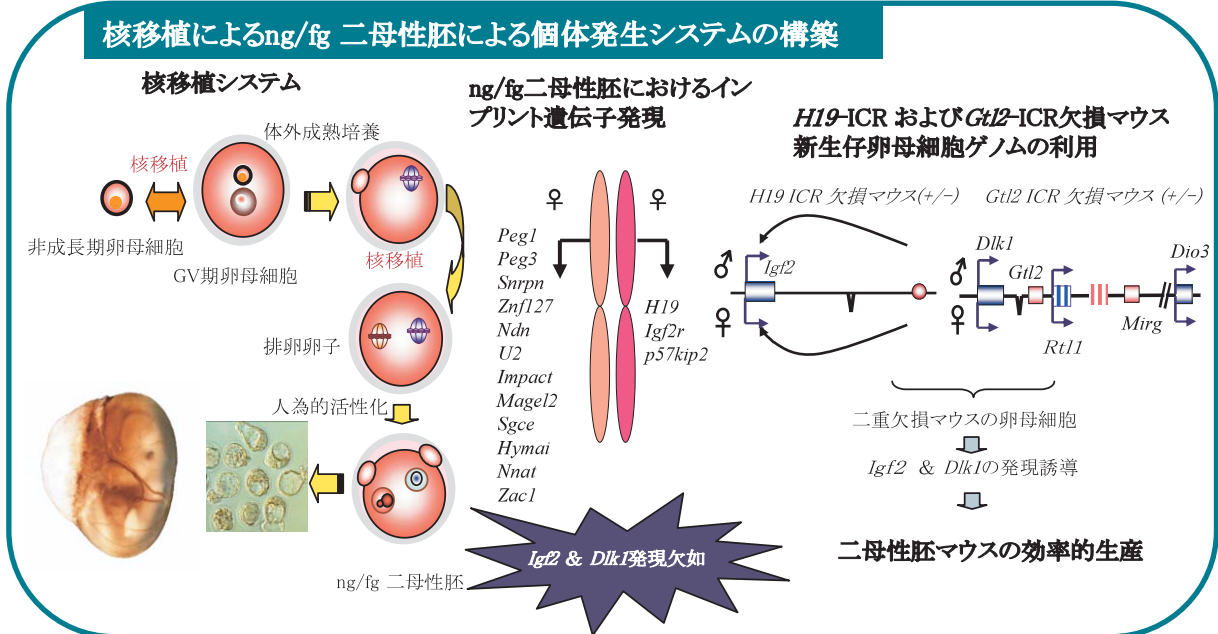
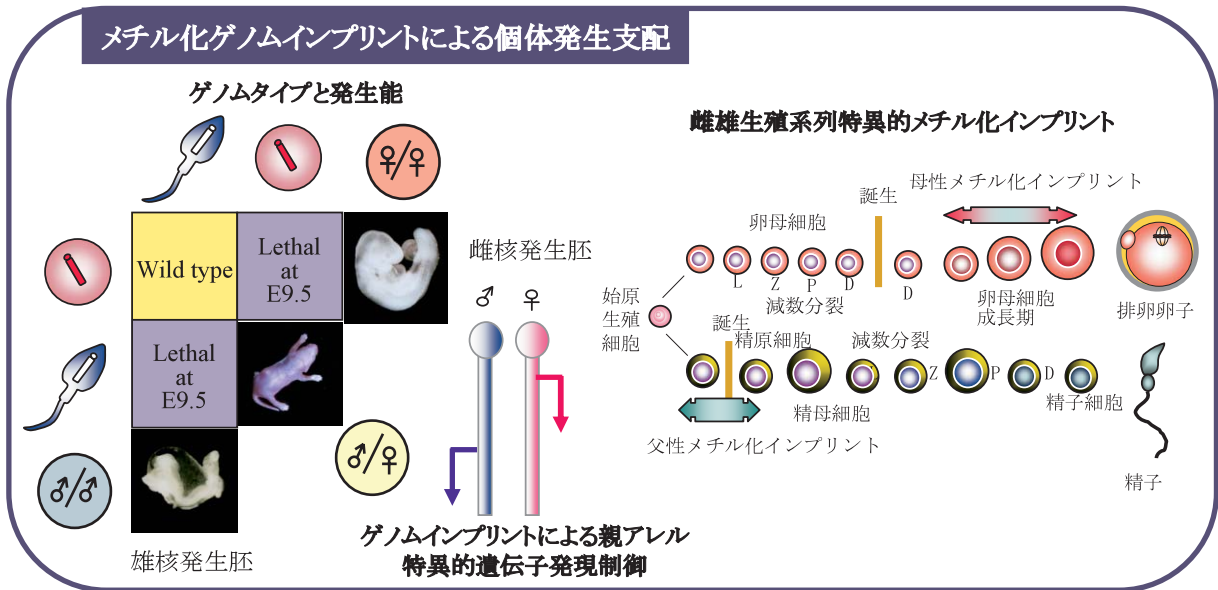
## ■主な発表論文

- Kono T., *et al.*: Birth of parthenogenetic mice that can develop to adult. *Nature* 428:860-863 (2004).
- Niwa *et al.*: Nuclei of oocytes derived from mouse parthenogenetic embryos are competent to support development to term. *Biol Reprod.* 71: 1560-1567 (2004).
- Hiura H. *et al.*: Oocyte growth-dependent progression of maternal imprinting in mice. *Genes Cells* 11: 353-361 (2006)
- Kawahara M *et al.*: Complementary roles of genes regulated by two paternally imprinted regions on chromosome 7 and 12 in placentation of mouse parthenotes. *Hum Mol Genet.* 15:2869-2879 (2006).
- Ogawa H. *et al.*: Disruption of parental-specific expression of imprinted genes in uniparental fetuses. *FEBS letter* 580: 5377-5384 (2006).



■研究のイメージ

ゲノム修飾の人為的改変による個体生産



## ■研究課題名

## 生物毒素素材を利用した疾患モデル動物作製とその応用に関する先導的研究

## ■研究の目的

マウスの特定の組織や細胞群を任意の時期に定量的に障害を与えることができる次世代「標的細胞ノックアウト法」を開発することを目的とする。さらに本法を利用し、肝炎や糖尿病などのヒト疾患モデルマウスを計画的に樹立し移植再生医療への基礎研究を行う。また新規毒素素材としてコリシンの動物細胞への利用を目的とした基礎研究を行う。

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①毒素レセプターを利用した標的細胞ノックアウト法の開発と応用  
(◎河野 憲二/奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)
- ②標的細胞ノックアウト法による疾患モデルマウスの作製とその遺伝解析  
(米川 博通/東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所)
- ③細胞毒性リボヌクレアーゼを利用した動物細胞機能解析の基礎研究  
(正木 春彦/東京大学大学院農学生命科学研究科)



河野 憲二



米川 博通



正木 春彦

## ■研究の内容及び主要成果

- ①ジフテリア毒素 (DT) 受容体の改良、DT 免疫寛容マウスの作製等を行い第 2 世代 TRECK 法 (標的細胞ノックアウト法) を確立した。
- ② TRECK 法を用いて糖尿病モデル、肝炎モデルマウスを樹立するとともに、免疫不全マウス (SCID) 系統でも同様の疾患モデルマウスの樹立に成功、ヒト細胞を用いた移植再生研究への道を開いた。
- ③ TRECK-Tg マウスを利用した幹細胞探索システムを開発した。
- ④新しい生物毒素素材として、細菌由来のコリシン E5、D について解析し、哺乳動物細胞や動物個体でも有効に働くことを明らかにした。

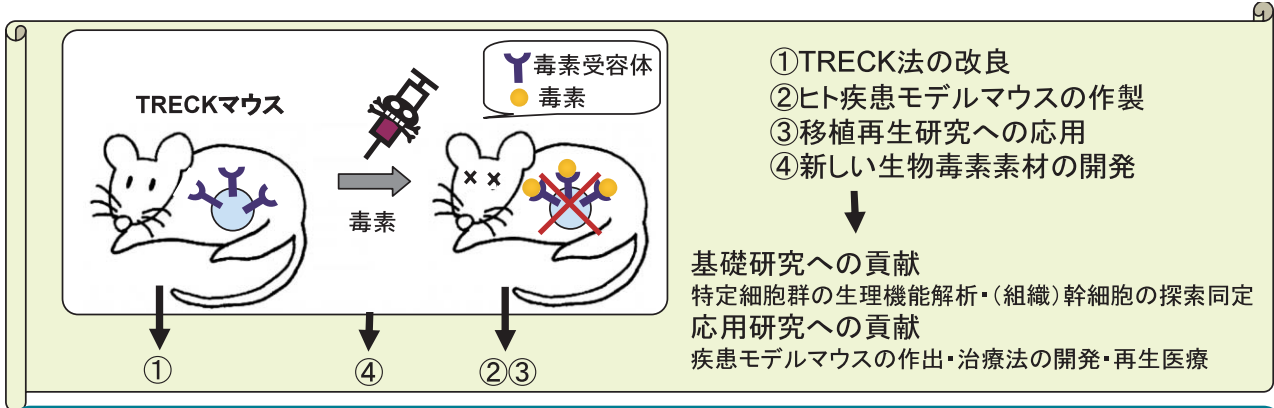
## ■見込まれる波及効果

糖尿病、肝炎などのモデルマウスが開発され、実験動物産業へ多大な貢献が期待される。さらに糖尿病モデルマウスは膵島β細胞の再生研究に有用で、今後糖尿病治療や治療薬の開発に、また肝炎モデルマウスは肝再生の基礎研究や肝幹細胞の単離同定、さらにはヒト肝細胞をもつマウスへの開発にも繋がり、医薬食品産業への有効利用が期待できる。また TRECK 法を用いた様々な疾患モデルマウスが新たに作製されることが予想され、今後、製薬、医療、食品などの様々な応用分野に貢献することが期待される。

## ■主な発表論文

- Furukawa N., *et al.*: A diphtheria toxin receptor deficient in EGF-like biological activity. *J. Biochem.* 140: 831-841 (2006)
- Sekine, M., *et al.*: The cis-regulatory element Gs15 is indispensable for proximal straight tubule cell-specific transcription of core 2  $\beta$ -1,6-N-acetylglucosaminyltransferase in the mouse kidney. *J. Biol. Chem.* 281(2): 1008-1015 (2006).
- Ogawa, T., *et al.*: Sequence-specific recognition of colicin E5, a tRNA-targeting ribonuclease. *Nucl. Acids Res.* 34: 6065-6073 (2006).
- Yajima, S., *et al.*: Structural basis for sequence-dependent recognition of colicin E5 tRNase by mimicking the mRNA-tRNA interaction. *Nucl. Acids Res.* 34, (21), 6074-6082, (2006).
- Mukai, K., *et al.*: Basophils play a critical role in the development of IgE-mediated chronic allergic inflammation independently of T cells and mast cells. *Immunity* 23: 191-202 (2005).
- Kiso, S., *et al.*: Liver regeneration in heparin-binding EGF-like growth factor transgenic mice after partial hepatectomy. *Gastroenterology* 124: 701-707 (2003)

■研究のイメージ



①第2世代TRECK法の確立

◆毒素受容体(hHB-EGF)の改良に成功

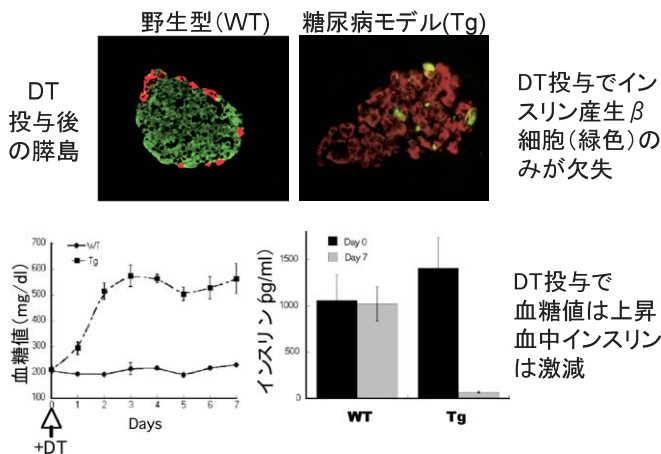
- 増殖因子活性失活型変異: (I117V/L148V or I117A/L148V)
- プロテアーゼ耐性型形質の導入: (L148V)

◆DT免疫寛容マウスの作製に成功

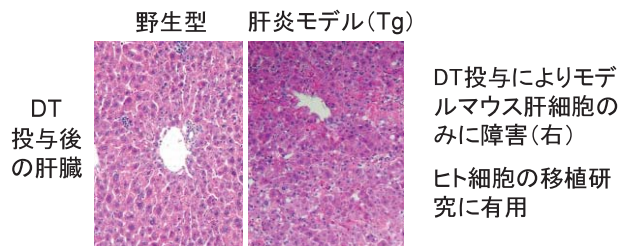
- 完全無毒化DT毒素の同定: (K/51E/E148K)
- 無毒化DTによるDT免疫寛容マウスの作製

②新しいヒト疾患モデルマウスを樹立

◆新しい糖尿病モデルマウスを樹立(特許申請中)



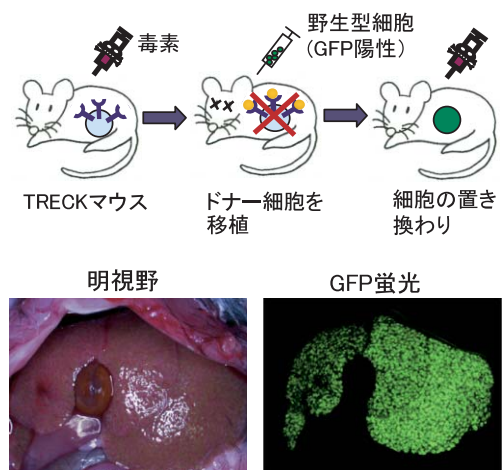
◆肝炎モデルマウス(SCIDマウスでの作製に成功)



◆無毛マウスの作製

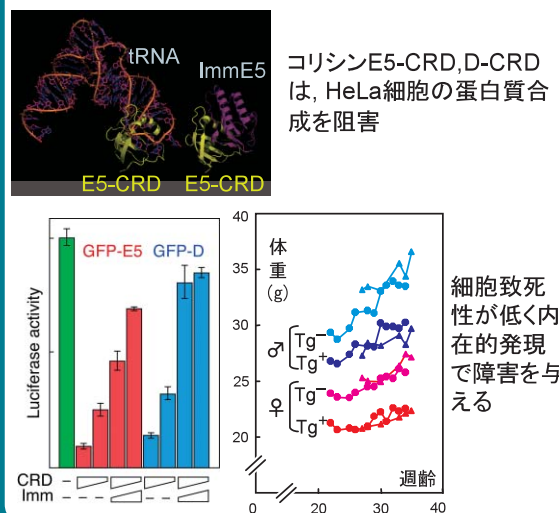


③新しい移植再生システムを確立



肝炎モデルマウスにドナー細胞(野生型肝細胞・GFP陽性)を移植。DT投与によりドナー由来の肝細胞(緑色)に置き換え可能。幹細胞の探索・同定に有用な系。

④新しい生物毒素素材の開発



## ■研究課題名

### 耐病性植物育種の分子基盤研究

## ■研究の目的

植物の耐病性機構をタバコとイネを用いて解析する。感染細胞が自殺して病原体を封じ込めるという植物特有の過敏感細胞死とこれに伴うシグナル物質生産や全身誘導抵抗性に関して、そのシグナル伝達経路を中心に解析し、耐病性植物育種に役立つ。

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①過敏感細胞死の機構解析  
(光原 一郎、◎大橋 祐子/独立行政法人農業生物資源研究所)
- ②病傷害シグナル物質と情報伝達機構の解析  
(瀬尾 茂美、◎大橋 祐子/独立行政法人農業生物資源研究所)
- ③病害抵抗性機構の解析  
(◎大橋 祐子、加来 久敏/独立行政法人農業生物資源研究所)



大橋 祐子

## ■研究の内容及び主要成果

- ①病原体感染により活性化されるタバコのタンパク質リン酸化酵素 MAPK (WIPK や SIPK) が、ジャスモン酸やエチレンの蓄積促進とサリチル酸の蓄積抑制を介して、殺生菌であるタバコ腰折病菌や舞病菌に対する耐病性獲得に重要な役割を果たすことを示した。別タイプの MAPK (MPK4) がジャスモン酸シグナル伝達を制御することでサリチル酸の蓄積を抑制すること、WIPK や SIPK が過敏感細胞死の実行にも必須であることを示すとともに、これら MAPK の上流や下流で働く低分子化合物やタンパク質因子を同定し、主要な耐病性シグナル伝達系を明らかにした。
- ②いもち病菌を接種した抵抗性イネ品種では、過敏感細胞死に伴いエチレンが放出されるが、その共生成物である青酸がいもち病抵抗性に重要であることを明らかにした。過敏感細胞死に伴いその発現が特異的に上昇するエチレン合成酵素遺伝子を特定し、この発現を抑制させたイネ、または感染誘導のプロモーターの支配下で過剰発現させたイネを作成した。前者ではいもち病抵抗性が崩壊し、後者ではいもち病抵抗性が増強された。
- ③イネの耐病性研究は大変遅れているが、耐病性関連のマーカー遺伝子が未同定なこともその一因である。タバコやシロイヌナズナで明らかになった耐病性関連遺伝子群のイネ相同遺伝子を検索し、いもち病・白葉枯病感染、サリチル酸・ジャスモン酸・エチレン処理、加傷処理後のこれらの発現特性を解析し、マーカー遺伝子としての特徴付けを行った。これらの結果から、イネでは、サリチル酸やジャスモン酸のシグナル伝達系がタバコとは異なっていることが示唆された。

## ■見込まれる波及効果

ここで得られた知見や遺伝子等は、植物が本来持っている抵抗性を改変・増強させ、低農薬で育つ植物育種に役立つ。また、植物成分由来の農薬創製に有用である。これらは、安全性、経済性、環境保全の面から、消費者からも生産者からも歓迎されることが期待される。

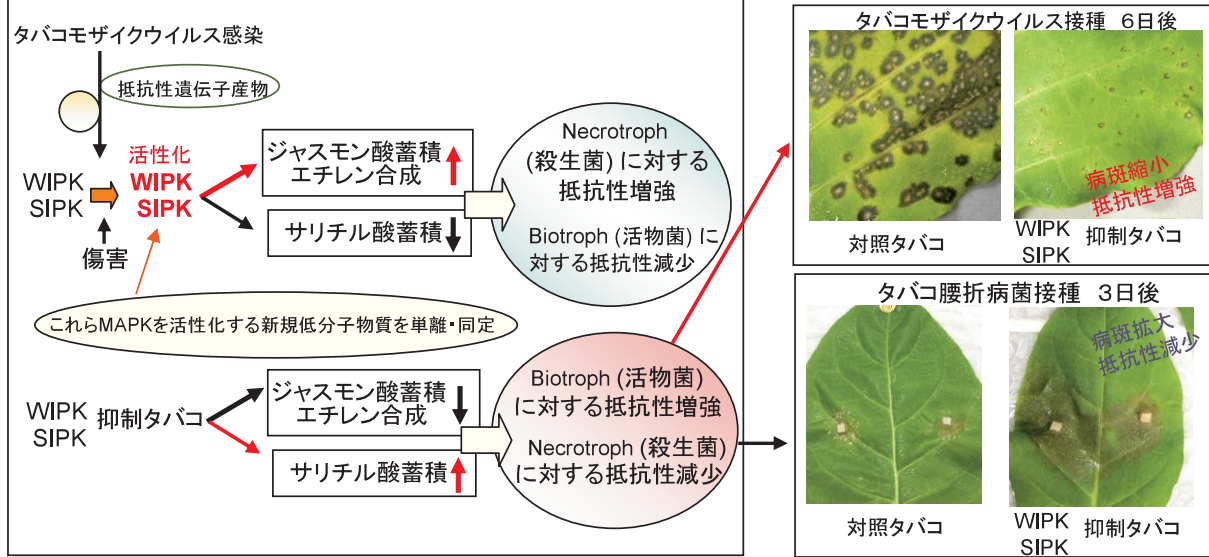
## ■主な発表論文

- Seo, S. *et al.*: A diterpene as an endogenous signal for the activation of defense responses to infection with tobacco mosaic virus and wounding in tobacco. *Plant Cell* 15: 863-873 (2003).
- Yamakawa, H., *et al.*: Plant mitogen-activated protein phosphatase interacts with calmodulins. *J. Biol. Chem.* 279: 928-936 (2004).
- Katou, S., *et al.*: Catalytic activation of the plant MAPK phosphatase NtMKP1 by its physiological substrate salicylic acid-induced protein kinase but not by calmodulins. *J. Biol. Chem.* 280: 39569-39581 (2005).
- Iwai, T., *et al.*: Contribution of ethylene biosynthesis for resistance to blast fungus infection in young rice plants. *Plant Physiol.* 142: 1202-1215(2006)
- Takabatake, R. *et al.*: Involvement of wound-induced receptor-like protein kinase in wound signal transduction in tobacco plants. *Plant. J.* 47: 249-257(2006)



■ 研究のイメージ

耐病性に果たすタンパク質リン酸化酵素MAPKの役割を解明



耐病性に果たすエチレン合成の役割を解明



イネの耐病性マーカー遺伝子の特定と耐病性情報伝達機構の解析

イネの耐病性マーカー遺伝子候補を130種(45種のPR遺伝子を含む)を選び、その発現特性解析を行った。これらの結果からイネの耐病性情報伝達経路は、タバコとは異なることが示唆された。今後、イネにおける耐病性機構の解析研究に、これらの情報は非常に有用である。

環境にやさしい耐病性植物の作出  
植物成分由来の農薬の創製

## ■研究課題名

## 動物ウイルスによる宿主細胞の制圧機構の解明

## ■研究の目的

病原性動物ウイルスは、宿主動物に感染して多様な病態を起こさせる。感染後病原性発現に至るためには、まずウイルスが宿主細胞内に侵入し、増殖、粒子形成を行なうことが必須であり、その間、宿主細胞因子とウイルス側因子との様々なせめぎあいが行われる。本研究では、モービリウイルスをモデルとして、ウイルスと細胞側因子との相互作用を網羅的かつ包括的に解析することによって病原性発現に必須の因子を探索し、全体像の解明にアプローチ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ウイルス感染後の宿主細胞因子転写動態の包括的解析
  - ②ウイルスによる shut off 現象の機構解析
  - ③ウイルス複製機序の解析
  - ④病原性発現機構の解析
  - ⑤レセプター同定とモデルマウスの確立
- (◎甲斐 知恵子/東京大学医科学研究所)



甲斐 知恵子

## ■研究の内容及び主要成果

- ①麻疹ウイルス (MV) 感染宿主細胞の遺伝子発現動態をマイクロアレイにより解析した結果、細胞種によって全く異なる反応を示すことを見だし、変化する遺伝子群を同定した。
- ②感染後、細胞蛋白の合成を抑制して自身のウイルス蛋白のみを合成する shut-off 現象は、翻訳開始因子 eIF2  $\alpha$  および eIF3 サブユニット p40 の機能抑制であることを見いだした。eIF3-p40 は他のウイルスにない新たな機序の発見である。また、ウイルス mRNA の選択的翻訳機序も明らかにした。
- ③ウイルス複製過程で核の内外に輸送される N 蛋白について、核移行シグナル及び核外輸送シグナルを同定した。この N 蛋白の核内外への運搬が典型的な核外輸送経路ではないことが明らかになったことから、新規輸送経路の存在を示唆した。
- ④病原性発現機序に関わるウイルス蛋白について、確立した reverse genetics 系と動物実験モデルを用いて解析し、種を越えた病原性発現には、転写・複製に関与する P 蛋白が重要な役割を担うことを初めて発見した。
- ⑤モービリウイルスは、既知の 2 種のレセプター蛋白の存在しない細胞にも感染するが、この機序として、細胞外マトリックスプロテオグリカンのヘパラン硫酸が結合因子あるいはコレセプターとして機能している事を新たに発見した。

## ■見込まれる波及効果

モービリウイルスは、多くのエマージングウイルス感染症の原因となるモノネガウイルス目に属し、優れた研究モデル対象である。本ウイルスにより解明された病原性発現に関与するウイルス蛋白の知見は、迅速な弱毒化ワクチン開発に有用である。また、ウイルスと相互作用する宿主因子の解明は、宿主因子を標的とした新規治療法の開発に道を開くと期待される。

## ■主な発表論文

- Yoneda M., *et al.*: Rinderpest virus H protein: role in determining host range in rabbits. *J Gen Virol.* 83, 1457-63, 2002
- Yoneda, M., *et al.*: Rinderpest virus phosphoprotein gene is major determinant of species-specific pathogenicity. *J. Virol.*, 78 6676-6681, 2004
- Sato, H., *et al.*: Morbillivirus nucleoprotein possesses a novel nuclear localization signal and a CRM1-independent nuclear export signal. *Virology* 352, 121-130, 2006.
- Fujita, K., *et al.*: Host range and receptor utilization of canine distemper virus analyzed by recombinant viruses: involvement heparin-like molecule in CDV infection. *Virology*, 2005 Oct18;[Epub ahead of print] In press.
- Kobune, F., *et al.*: A novel monolayer cell line derived from human umbilical cord blood cells shows high sensitivity to measles virus. *J. Gen. Virol.* 2007. In press.

■研究のイメージ

# ウイルスと宿主の”せめぎ合い”を明らかにする！

目的

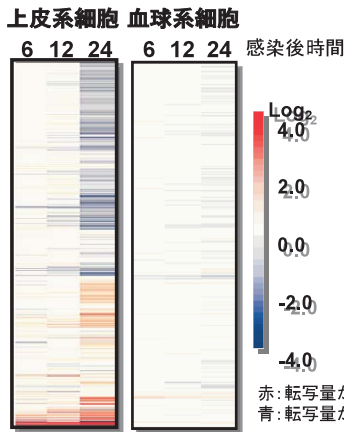
ウイルスが宿主細胞に感染してから病原性発現に至るまでに起こる、ウイルスと細胞側因子との相互作用を網羅的かつ包括的に解析

ウイルスの宿主細胞内への侵入

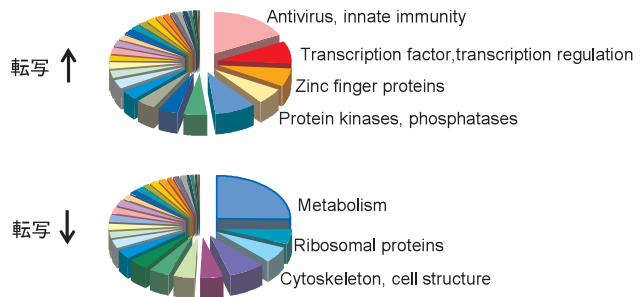
↓  
増殖、粒子形成



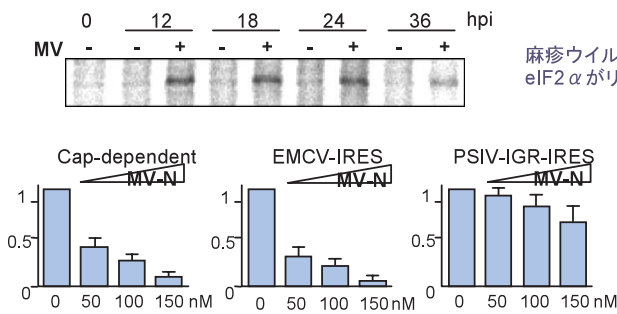
麻疹ウイルス感染後の細胞内因子の転写動態 (マイクロアレイ解析)



麻疹ウイルス感染後に、上皮系細胞において発現に変化が見られた遺伝子群

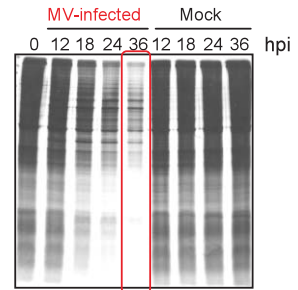


麻疹ウイルス感染によるshut off



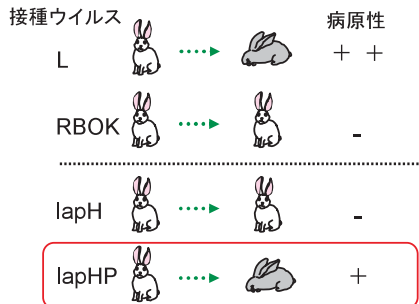
麻疹ウイルス感染により eIF2α がリン酸化される

麻疹ウイルスNタンパクは 翻訳阻害を引き起こす



ウイルス感染後、細胞のタンパク発現が著しく抑制される (Shut off)

ウサギ感染モデルを用いた牛痘ウイルスの病原性解析



動物種を超えた病原性発現には、ウイルスのPタンパクが強く関与する

本研究成果から期待される効果

ウイルスと宿主因子の相互作用の基礎的理解 → 宿主因子を標的とした新たな創薬、治療法の開発

病原性に関わるウイルス側因子の理解 → 迅速な人工弱毒化ワクチンの開発

## ■研究課題名

## イルカ型ソナーをモデルとした次世代魚群探知技術の研究

## ■研究の目的

イルカのように、目標とする魚を素早かつ的確に認知し判別することができる次世代型魚群探知技術を開発することを目標とする。我が国水産業の安定的な発展を図るためには、多様な魚種に恵まれた沿岸漁業資源の適正な管理・利用が重要であるが、現状では魚種ごとの資源量を的確に把握できる技術がない。

そこで本研究では、イルカの持つ優れたソナー能力をモデルとし、魚を効率的に探索し、判別するための技術を開発することを目指す。

## ■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①イルカ型ソナーの生物学的モデルの構築  
（◎赤松 友成／独立行政法人水産総合研究センター水産工学研究所）
- ②イルカ型ソナーの工学的検証  
（◎赤松 友成／独立行政法人水産総合研究センター水産工学研究所）



赤松 友成

## ■研究の内容及び主要成果

- ①イルカの生物ソナーの仕組みについて、従来型の魚群探知機とは異なる3つの特徴を明らかにした。（ア. 極短パルス音による数 cm 単位での分解能。イ. 広範囲探索と反射音の排除の同時実現のためのパルス間隔とビーム幅の調節。ウ. オートフォーカスカメラのような時間軸上での受信制御）
- ②上記の特徴を有するイルカソナーシミュレータを構築し、高度な空間分解能を海洋で実証した。
- ③魚種毎に異なった反射波を得るとともに、その内部構造を推定する計算アルゴリズムを構築した。
- ④副次的成果として、希少水生動物の観測を各国で展開し魚類の群れ行動計測にも応用可能であることを実証した。

## ■見込まれる波及効果

- ①多くの魚種を擁するアジア水域で魚種別の資源管理を可能にし、海洋食糧資源の持続的な利用に貢献する。
- ②これまで音響探査が困難であった海底や河川などでの魚群を探査できる。
- ③水中セキュリティや人命救助など、海中対象物判別に応用が期待される。
- ④希少水生動物の新しい無人モニタリング手法が開発され、水圏生物多様性の保全に資する。

## ■主な発表論文

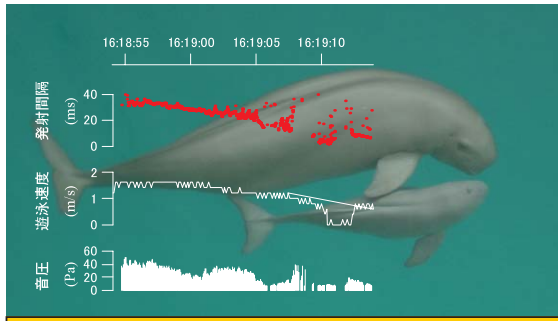
- Li S., *et al.*: Sonar gain control in echolocating finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) in an open water. *J. Acoust. Soc. Am.* 120: 1803-1806 (2006)
- Wang K., *et al.*: Estimated detection distance of a baiji's (Chinese river dolphin, *Lipotes vexillifer*) whistles using a passive acoustic survey method. *J. Acoust. Soc. Am.* 120: 1361-1365 (2006)
- Akamatsu T., *et al.*: Biosonar behaviour of free-ranging porpoises. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 272: 797-801 (2005)
- Akamatsu T., *et al.*: New stereo acoustic data logger for tagging on free-ranging dolphins and porpoises. *Marine Technology Society Journal.* 39: 3-9 (2005)
- Akamatsu T., *et al.*: Off-axis sonar beam pattern of free-ranging finless porpoises measured by a stereo pulse event data logger. *J. Acoust. Soc. Am.* 117(5), 3325-3330 (2005)
- Wang K., *et al.*: A passive acoustical monitoring method applied to observation and group size estimation of finless porpoises. *J. Acoust. Soc. Am.* 118: 1180-1185 (2005)



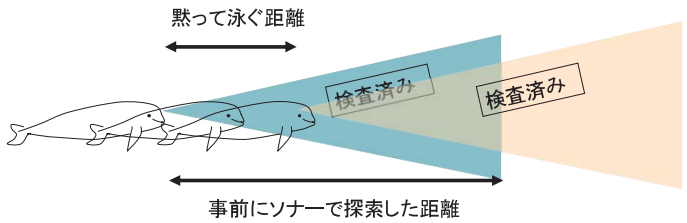
■研究のイメージ

# 目標 イルカのように、素早く的確に魚を判別することができる次世代型魚群探知技術を開発

## イルカに学んだソナー技術

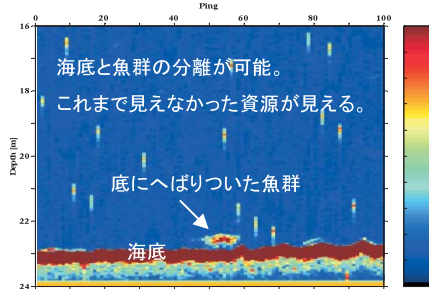
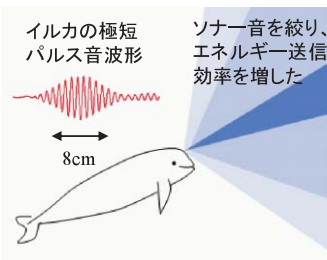


イルカのソナーは自動焦点カメラ  
近距離探索モードでは、近づく対象に焦点を合わせる(赤)

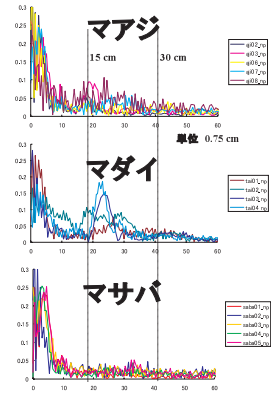


イルカは注意深い  
遠距離探索モードでは、効率よく前方を検査

## イルカソナーシミュレータの構築



高度な空間分解能を確認  
千葉県館山湾での魚群観測例



魚の種類を見分ける  
反射波形解析による魚種毎の違い

## 副次的成果



希少水生動物の観測  
本研究で開発されたA-tagが各国で希少な動物の探索に貢献



イルカの混獲防止  
イルカの注意力を調べた。ヨーロッパ北部海域では本種の刺し網への混獲が大きな問題となっており、EU全体での対策が求められている。

## 成果の応用

魚種ごとの資源管理

水中セキュリティ

希少水生動物保全

環境と漁業の共存

海洋食糧資源の持続的な利用

水圏生物多様性の保全



## ■研究課題名

### 家禽の光周性と排卵・放卵周期の分子機構の解明

## ■研究の目的

温帯に生息する多くの生物の繁殖は明期の長さ（日長）によって制御されており、この性質を光周性と呼ぶ。また家禽は約25-27時間周期で卵を産む。これらの二つの現象は約24時間のリズムを刻む概日時計によって制御されていることが古くから知られていたが、概日時計の実体が不明であったため、その制御機構は謎に包まれていた。本研究では時計遺伝子の発見を突破口として、これら二つの現象を制御する分子機構を解明し、家禽の生産性の向上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光周性の分子機構の解明
- ②排卵・放卵周期の制御機構の解明
- ③遺伝子導入ウズラの作成

（◎吉村 崇／名古屋大学大学院生命農学研究科）



吉村 崇

## ■研究の内容及び主要成果

- ①光周性の中枢が存在する視床下部内側基底部（MBH）において光周性を制御する鍵遺伝子（Dio2, Dio3）を同定した。その結果、光周性の制御にはMBHにおける甲状腺ホルモンの局所的な活性化が重要であることを明らかにした。さらにDNAチップを用いた網羅的解析により、季節性の繁殖、摂食、体重変化、換羽（毛）などを制御する遺伝子を約200個同定した。
- ②家禽の卵巣に時計が存在することを明らかにし、この時計が卵巣のプロゲステロンのサージ状合成のタイミングを決定することで家禽の排卵・放卵リズムが制御されていることを明らかにした。
- ③鳥類においてはコンディショナルな遺伝子発現制御を達成するトランスジェニック技術が確立されていなかったが、レンチウイルスベクターを用いてウズラ成体脳への局所的遺伝子導入法を確立した。

## ■見込まれる波及効果

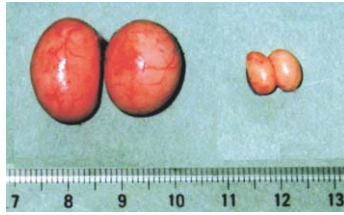
光周性および排卵・放卵周期の制御機構の解明は家禽、家畜の生産性の向上に直結している。本研究では二つの現象を制御する鍵遺伝子の同定に成功しており、今後生産性の向上に貢献することが期待できる。

## ■主な発表論文

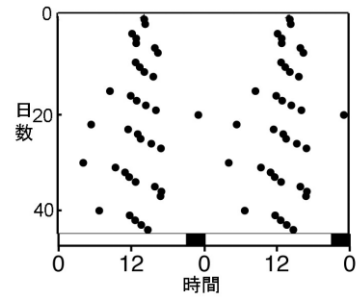
- Yoshimura T. *et al.*: Light-induced hormone conversion of T<sub>4</sub> to T<sub>3</sub> regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature* 426: 178-181 (2003)
- Watanabe M. *et al.*: Photoperiodic regulation of type 2 deiodinase gene in Djungarian hamster; Possible homologies between avian and mammalian photoperiodic regulation of reproduction. *Endocrinology* 145: 1546-1549 (2004)
- Yasuo S. *et al.*: The reciprocal switching of two thyroid hormone-activating and ?inactivating enzyme genes is involved in the photoperiodic gonadal response of Japanese quail. *Endocrinology* 146: 2551-2554 (2005)
- Yasuo S. *et al.*: Long-day suppressed expression of type 2 deiodinase gene in the mediobasal hypothalamus of the Saanen goat, a short-day breeder: Implication for seasonal window of thyroid hormone action on reproductive neuroendocrine axis. *Endocrinology* 147 : 432-440 (2006)
- Nakao N. *et al.*: Possible involvement of organic anion transporting polypeptide 1c1 in the photoperiodic response gonads in birds. *Endocrinology* 147: 1067-1073 (2006)

■研究のイメージ

★ ウズラは長日条件で繁殖する季節繁殖動物であり、長日条件では25~27時間周期で産卵するが、産卵は明期の限られた時間帯にのみ行われる。



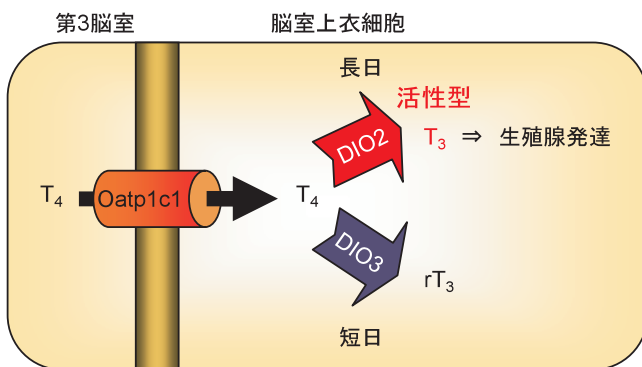
ウズラの精巢  
左) 長日条件、右) 短日条件



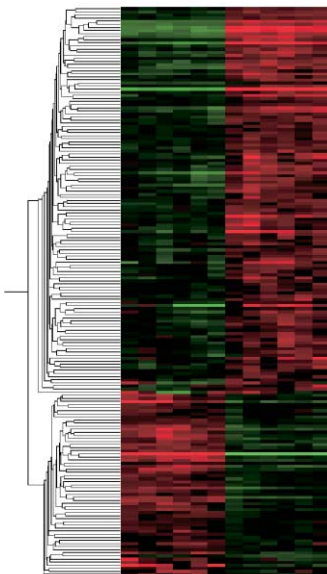
家禽の産卵リズム

目的

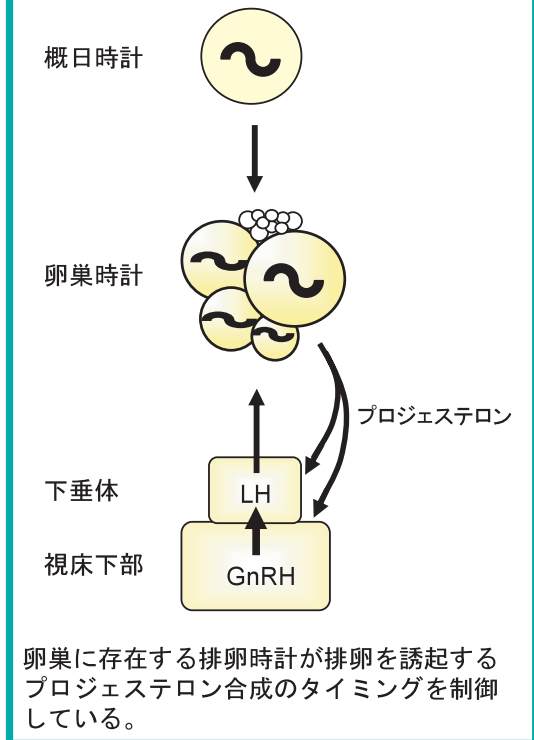
★ 日長を感知し、繁殖活動を開始するメカニズムと産卵のタイミングを決定するメカニズムを解明し、家禽の生産性の向上を目指す。



視床下部内側基底部における甲状腺ホルモンの局所的活性化が光周性制御の鍵を握っている。



繁殖以外にも摂食量、体重変化、換羽(毛)などの光周性を制御する遺伝子を約200個同定した。



卵巢に存在する排卵時計が排卵を誘起するプロジェステロン合成のタイミングを制御している。

遺伝子導入ウズラの作成

レンチウイルスを用いた時期および部位特異的遺伝子発現制御システムの確立

## ■研究課題名

### 健康長寿社会に向けた食品開発のための食品物性・感性科学的研究

## ■研究の目的

高齢化が進む中、青壮年とは異なる高齢者向け食品のニーズが高まっている。高齢者は、歯の喪失等により咀嚼能力が低下し、食べられる食品の物性に制約がある。本研究では、高齢者に安心して提供できる食品のために、食べやすさ等の感性的性質を咀嚼圧や脳機能測定等の生理的手法により明らかにし、高齢者の感性に合致した食品物性を提示することを目標とした。具体的には、咀嚼圧センサ等の咀嚼計測技術や、機能的近赤外分光法（fNIRS）による脳活動測定を利用して、食品の食べやすさを体系的に数値化する。さらに一般的な食品物性測定機器により、食べやすさを反映する物性分析法を見出す。これらの生理学・感性科学・物理学的手法を組み合わせることにより、世界に先駆けて、食品物性とそれを食べる人間の感性との関係を解明し、新しい食科学の創造を目指す。

## ■研究項目及び実施体制（◎は研究代表者）

- ①咀嚼圧計測等による食品感性の解析
- ②摂食中の脳活動の解析
- ③感性を反映した食品のレオロジー特性の解明

（◎神山 かおる／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）



神山 かおる

## ■研究の内容及び主要成果

- ①高齢者向け食品の摂食圧を測定できるシートセンサを開発した。このシートセンサの利用により、食品の力学特性の不均一さを可視化、定量化することに成功し、咀嚼パターンが食品の力学特性や食べ方に依って変化することを見いだした。
- ②若年者と健常高齢者の咀嚼の特徴を筋電図計測などにより明らかにし、高齢者向けとされていた粥状食品や細かく刻んだ食品の咀嚼量が必ずしも減少していないことを、栄養学や心理学の手法を取り入れて実証した。
- ③高齢者に負担の少ないfNIRS測定法を開発し、食品のフレーバーを官能評価する際の脳活動をfNIRSで解析し、官能評価中における記憶の関与を脳機能イメージングから示した。
- ④日本語テクスチャー表現を収集、整理し、445語を得た。この中から高齢者のテクスチャー語彙152語を用いて、食品の官能評価を行い、食べにくさを数値化した。さらに、一般的な試験機により、食べにくさの主要因となる付着性や噛み切りにくさ等の感性的性質を表現できる測定法を見いだした。

## ■見込まれる波及効果

咀嚼計測を伴う官能評価により、食べにくさに関するパラメータを得ることができ、これとよく対応する機器測定パラメータが明らかになったことから、高齢者向け食品開発を支援できる。

官能評価パネルの脳内認知処理特性を脳計測により示すことができる。食品特性だけでなく、ヒトの摂食プロセスも食感覚を変えるため、食べ方も考慮すべきという、食育の推進においても有用な情報を提供する。

## ■主な発表論文

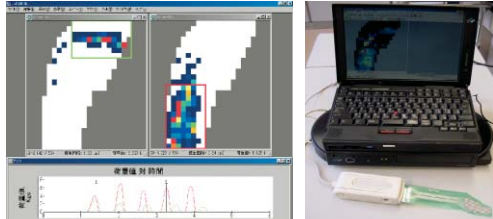
- Dan H. and Kohyama K.: Interactive relationship between the mechanical properties of food and the human response during the first bite. *Archs Oral Biol.* in press
- Kohyama K., et al.: Mastication efforts on block and finely cut foods studied by electromyography. *Food Qual. Prefer.* 18: 313-320(2007)
- Okamoto M., et al.: Prefrontal activity during taste encoding: An fNIRS study. *NeuroImage* 31: 796-806(2006)
- Kohyama K., et al.: Direct measurement of lip pressure when ingesting semi-liquid food. *J. Texture Studies* 35: 554-569(2004)



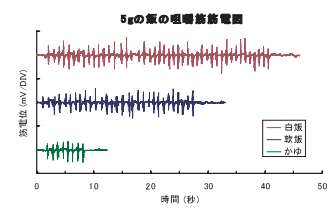
■研究のイメージ

咀嚼のメカニズムと感性の解明

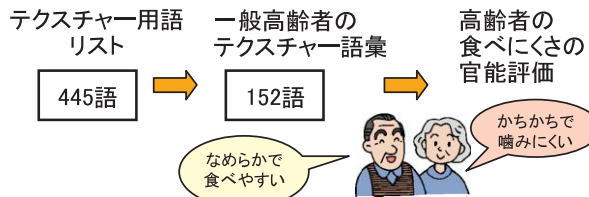
咀嚼用多点シートセンサの開発



咀嚼パターンの解析

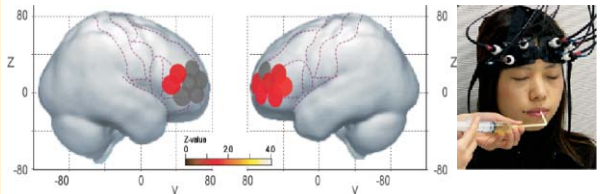


官能評価によるテクスチャー用語の体系化



摂食中の脳機能と心理の解明

fNIRSによる脳活動測定



味を覚えるときや、深く味わうときに前頭葉が活動  
高次の脳処理が“味わうこと”に関与することを解明



心理学実験による食品知覚の解明



物性から感性まで  
新しい食科学を創造

高齢社会の食問題  
食育

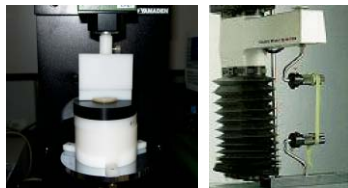
咀嚼性や食感覚を反映した食品レオロジー測定法

動的粘弾性測定



食べやすさとは?

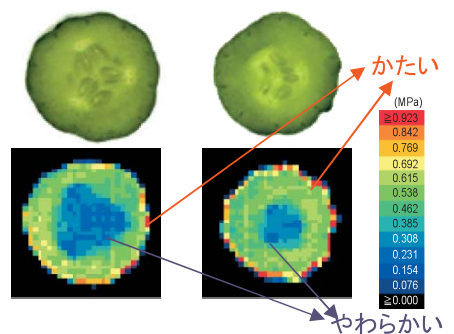
圧縮・引っ張り測定



どうやって評価する?

食べやすくなるには?

多点シートセンサによる  
圧縮時の力学特性分布



食べにくさには硬さよりも、付着性や噛み切りにくさが関与  
食品破壊後の物性、極大変形時の応力が重要

## ■研究課題名

### タンパク質分解制御因子による細胞伸長制御及び開花時期決定の分子制御メカニズムの解明とその応用

## ■研究の目的

植物細胞内で行なわれている選択的なタンパク質分解は、植物ホルモンのシグナル伝達、花器官の形態形成、概日時計の制御といった多くの現象に深く関わっていることが明らかとなってきている。

本研究では、モデル実験植物シロイヌナズナで我々が見出した LOV ドメインを有するタンパク質分解制御因子 (LKP) による細胞伸長制御と花芽形成時期決定の分子制御メカニズムを解明し、それらの制御に関わる因子を利用した分子育種への応用の可能性を探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多機能性タンパク質分解制御因子と制御関連因子の同定と機能解析
  - ②多機能性タンパク質分解制御因子及び制御関連因子の遺伝子改変・操作による農作物・園芸作物での有用性評価
- (◎清末 知宏/香川大学総合生命科学実験センター)



清末 知宏

## ■研究の内容及び主要成果

- ① LKP2 が SCF 複合体を形成することを示すとともに、LKP2 の各機能ドメインが植物体に与える効果を明らかにした。
- ② LKP2 相互作用因子を多数同定するとともに、LKP ファミリータンパク質が相互作用因子に依存して細胞内分布を変えることや、相互作用因子のいくつかが開花時期を制御し得ることを明らかにした。
- ③ LKP2 や相互作用因子遺伝子を遺伝子組換えに用いることにより、農作物や園芸作物の塊茎形成や花芽形成時期、草丈の制御に成功した。

## ■見込まれる波及効果

本研究により、LKP ファミリー及び LKP 相互作用因子遺伝子は、バイオテクノロジーを用いた作物の収量増加、花芽形成時期制御などに多面的に利用できる可能性が示された (特許出願: 国際 1 件、国内 2 件)。

## ■主な発表論文

- Takase T., *et al.*: Over-expression of the chimeric gene of the floral regulator *CONSTANS* and the EAR motif repressor causes late flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep.* (in press)
- Geekiyanaige S., *et al.*: Anthocyanin production by over-expression of a grape transcription factor gene *VlmybA2* in transgenic tobacco and *Arabidopsis*. *Plant Biotech. Rep.* (in press)
- Geekiyanaige S., *et al.*: The combined effect of photoperiod, light intensity and GA<sub>3</sub> on adventitious shoot regeneration from cotyledons of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Plant Biotech.* 23: 431-435 (2006)
- Fukamatsu Y., *et al.*: Identification of LOV kelch protein 2 (LKP2)-interacting factors that can recruit LKP2 to nuclear bodies. *Plant Cell Physiol.* 46: 1340-1349 (2005)
- Yasuhara M., *et al.*: Identification of ASK and clock-associated proteins as molecular partners of LKP2 (LOV kelch protein 2) in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 55: 2015-2027 (2004)





## ■研究課題名

### ナノ加工技術を利用した膜タンパク質のナノバイロロジー

## ■研究の目的

本研究の目的は、膜タンパク質に任意の膜電位を与え、その動く様子を1分子単位で観察し、機能を明らかにすることにある。これまで、脂質二重膜の扱いの難しさから、このような観察を行うような系はなかったが、ナノ・マイクロ加工技術を利用して、脂質二重膜に再構成された膜タンパク質に対し安定に膜電位を与え、容易に1分子観察できる系を構築し、さらに開発された技術を応用して、生体分子とナノ・マイクロ加工技術を統合した新規な計測系の開発を目指す。

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①膜タンパク質の調製とその1分子観察  
(◎野地 博行/大阪大学産業科学研究所)
- ②マイクロ加工によるナノデバイスの作製  
(藤井 輝夫/東京大学生産技術研究所)  
(竹内 昌治/東京大学生産技術研究所)



野地 博行



藤井 輝夫



竹内 昌治

## ■研究の内容及び主要成果

- ①膜タンパク質の1分子計測とダイナミクスを計測するためのシステム開発を行った。そのシステムを用いて、F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATP合成酵素の膜電位応答や小胞輸送系における膜小胞形成過程の観察、トランスポーターの1分子観察を行った。さらに、竹内グループが開発したマイクロチャンバー内にF<sub>1</sub>モーターを閉じこめ、その1分子回転観察中に強制的にATP合成を行わせ、ATP合成反応と回転の関係を明らかにした。また、このデバイスを用いて、酵素反応の1分子イメージングにも成功した。
- ②マイクロ・ナノ加工技術を応用して、1分子計測用のマイクロチャンバーの開発、F<sub>0</sub>モーターの回転観察用膜アレイの開発及び膜タンパク質チップへの展開、それらを支えるためのタンパク質パターンニング技術などの要素技術を開発した。工学応用展開としては、多チャンネル化に成功し膜タンパク質チップとしての可能性を示すことができた。
- ③1分子計測のプラットフォームとなるようなマイクロチップ開発を研究の目的とし、ナノメートルサイズの電極構造(ナノ電極)にタンパク質分子を固定化する技術を開発した。また、固定化した分子に対する薬物供給を実現するため、8チャンネルのマイクロポンプを開発するとともにマイクロ流路内で多層流を制御し、任意の層流を任意の位置に送液することで薬物送達を実現する薬物送達マイクロ流体デバイスを開発した。

## ■見込まれる波及効果

本研究から得られた成果は学術的な意義に加え、食品医療分野において微量かつ迅速な検査デバイスやバイオセンサーとしての応用や、極限環境下での実験デバイスとしての応用が考えられる。

## ■主な発表論文

- Rondelez Y., *et al.*: Highly coupled ATP synthesis by F<sub>1</sub>-ATPase single molecules. *Nature* 433: 773-777 (2005)
- Rondelez Y., *et al.*: Microfabricated arrays of femtoliter chambers allow single molecule enzymology. *Nature Biotech.* 23: 361-365(2005)
- Lee SW., *et al.*: Chemical delivery microsystem for single-molecule analysis using multilaminar continuous flow. *Enzyme and Microbial Technology.* 39: 519-525(2006)
- Suzuki H., *et al.*: Highly reproducible Method for Planar Lipid Bilayer Reconstituted using a Micro Fluidic Chip. *Langmuir.* 22: 1937-1942(2006)
- Suzuki H., *et al.*: Planar lipid bilayer reconstitution with a micro-fluidic system. *Lab on a Chip.* 4: 502-505(2004)



■ 研究のイメージ

ナノ加工技術を利用した膜タンパクのナノバイオロジー

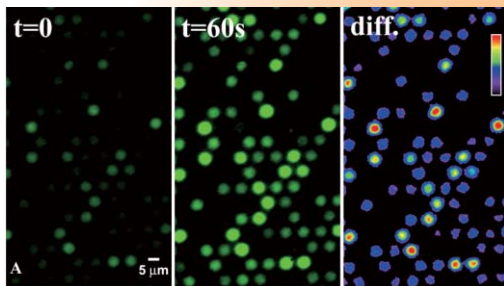
膜タンパク質 1 分子計測系の開発とその観察

F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP 合成酵素の 1 分子観察システムの開発

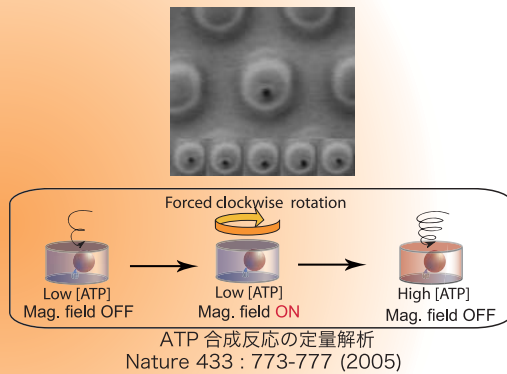
輸送小胞形成過程の可視化

外部磁場による F<sub>1</sub> モーターの操作

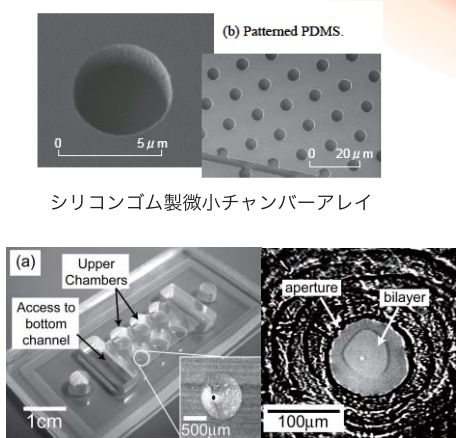
生体分子とマイクロ加工技術の融合による新規計測システム



1 分子酵素活性の可視化  
Nature Biotech. 23 : 361-365(2005)



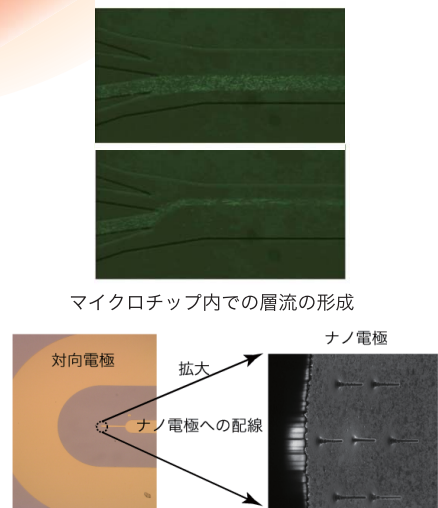
ナノ電極の作製及び評価



シリコンゴム製微小チャンバーアレイ

脂質平面膜チップ

マイクロ生化学チップの作製及び評価



ナノタワーを利用した電極構造

## ■研究課題名

### 生物機能の解明と活用のための糖鎖自動合成技術及び規則的な糖鎖ライブラリー合成技術の確立

## ■研究の目的

生物機能の解明と活用のために、遺伝子・タンパク質に次ぐ第三の鎖としての糖鎖の機能を詳細に解明する必要がある。しかしながらその複雑な構造ゆえに、現在のところ標品となる糖鎖を入手することすら非常に困難である。そこで独自に開発した「だるま落とし保護法」という全く新しいコンセプトによる糖鎖合成手法を用い、糖鎖自動合成技術及び規則的な糖鎖ライブラリー合成技術を確立し、多種多様な糖鎖を容易に供給できるようにし、農業、食品産業のみならず生命現象を取り扱う様々な産業分野の飛躍的發展に寄与する。

## ■研究項目及び実施体制 (◎は研究代表者)

- ①糖鎖自動合成技術の確立
- ②規則的な糖鎖ライブラリー合成技術の確立

(◎今場 司朗／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)



今場 司朗

## ■研究の内容及び主要成果

- ①市販の有機合成ロボットを用い、分岐を有する糖鎖の位置選択的な自動合成に成功し、複雑な糖鎖でも自動合成を可能にする技術の基礎を築いた。
- ②隣り合った水酸基にそれぞれ「だるま落とし保護基」を導入した際、一方を除去する時に、他方のだるま落とし保護基が遊離した水酸基に転移するという問題を解決するとともに、ガラクトースを $\alpha$ 選択的に結合させる条件を確立し、3糖からなる糖鎖の規則的なライブラリー合成に成功した。これにより、様々な糖鎖を一度に合成可能なライブラリー合成技術の基礎を築いた。

## ■見込まれる波及効果

農業、食品産業のみならず生命現象を取り扱うすべての分野で糖鎖の機能が脚光を集めている中、本研究の成果により、今までその複雑な構造ゆえに研究対象としての敷居が高かった糖鎖を、より身近にすることが出来、生命機能の解明の飛躍的な進展をもたらす起爆剤としての効果が見込まれる。この技術を用いれば、誰もがスイッチ一つで望みの糖鎖を得ることが可能になる糖鎖自動合成機が製造可能になるとともに、規則的な糖鎖ライブラリーの精密合成の成功により、ウイルスや、病原菌、毒素などを検知し、また、病気の診断に用いる糖鎖アレイの開発が可能になると期待されている。

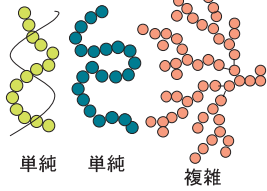
## ■主な発表論文

- Komba S., *et al.*: A new colorimetric test for detection of hydroxyl groups in solid-phase synthesis. *Tetrahedron Lett.* accepted
- Komba S., *et al.*: A new method of carbohydrate synthesis in both solution and solid phases using a special hydroxy protecting group. *Eur. J. Org. Chem.* 24: 5313-5329 (2005)
- 今場司朗: 糖鎖合成の新たな展開 糖鎖自動合成と糖鎖ライブラリー合成を可能にする新たな水酸基の保護基の開発. 化学と生物 44 (9): 637-639 (2006)

■研究のイメージ

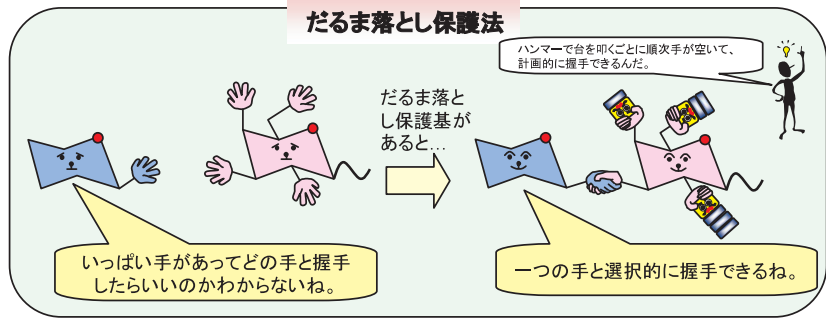
重要な3つの鎖

核酸 蛋白質 糖鎖



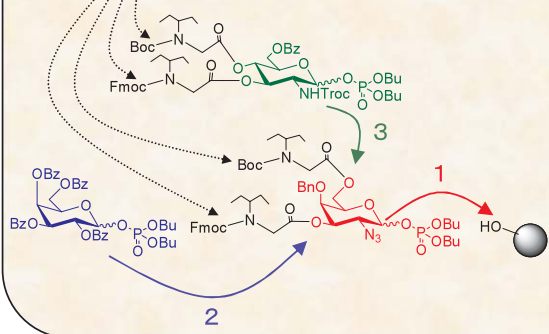
単純 単純 複雑

複雑な糖鎖を単純な操作のくり返して合成可能な新規手法



糖鎖自動合成

だるま落とし保護基

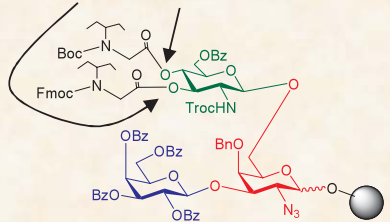


自動合成ロボット



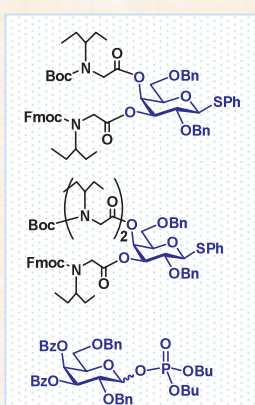
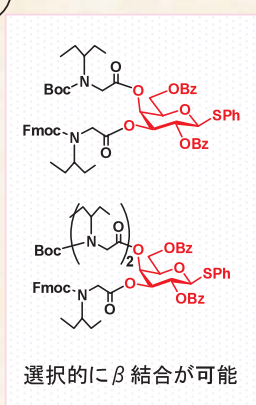
自動合成

更に、各々の水酸基にそれぞれ選択的に別の糖を入れる事が出来る



PSGL-1のコア3糖

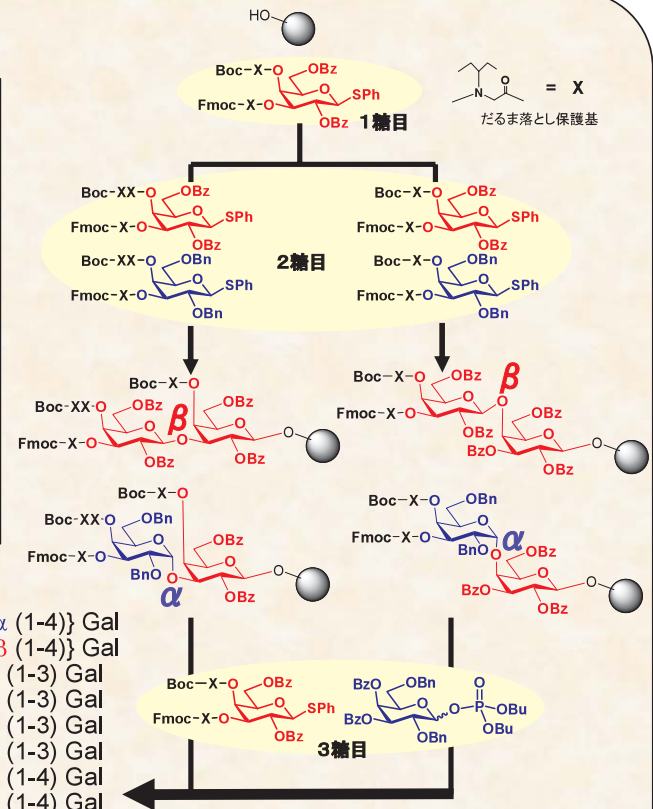
規則的な糖鎖ライブラリー合成



ライブラリーを作るための単糖パーツ

- |                                |                                 |
|--------------------------------|---------------------------------|
| 1. Galβ (1-3) {Galβ (1-4)} Gal | 11. Galβ (1-3) {Galα (1-4)} Gal |
| 2. Galβ (1-3) Galβ (1-3) Gal   | 12. Galα (1-3) {Galβ (1-4)} Gal |
| 3. Galβ (1-4) Galβ (1-3) Gal   | 13. Galα (1-3) Galβ (1-3) Gal   |
| 4. Galβ (1-3) Galβ (1-4) Gal   | 14. Galβ (1-3) Galα (1-3) Gal   |
| 5. Galβ (1-4) Galβ (1-4) Gal   | 15. Galα (1-4) Galβ (1-3) Gal   |
| 6. Galα (1-3) {Galα (1-4)} Gal | 16. Galβ (1-4) Galα (1-3) Gal   |
| 7. Galα (1-3) Galα (1-3) Gal   | 17. Galα (1-3) Galβ (1-4) Gal   |
| 8. Galα (1-4) Galα (1-3) Gal   | 18. Galβ (1-3) Galα (1-4) Gal   |
| 9. Galα (1-3) Galα (1-4) Gal   | 19. Galα (1-4) Galβ (1-4) Gal   |
| 10. Galα (1-4) Galα (1-4) Gal  | 20. Galβ (1-4) Galα (1-4) Gal   |

順列組み合わせで可能な20種類の規則的な3糖ライブラリー



## ■研究課題名

## 染色体断片群の導入によるコシヒカリの複数有用形質の同時改良

## ■研究の目的

我が国を中心とする国際イネゲノム配列解読コンソーシアム（IRGSP）によりイネの全塩基配列が解読された。本研究においては、イネゲノム研究で得られた成果を、コシヒカリを超える新品種の作出に繋げるための基礎情報の獲得並びにツールの確立を行うとともに、コシヒカリの複数有用形質の同時改変をモデルとしてその有用性を実証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コシヒカリの特性強化に関する研究
- ②収量特性、ストレス耐性及び良食味を決定する機構の解析  
（◎石丸 健／独立行政法人農業生物資源研究所）



石丸 健

## ■研究の内容及び主要成果

- ①収量特性（千粒重（*tgw6*）、登熟歩合（くず米減少率の減少 *rg5*）、粒数）、ストレス耐性（耐倒伏性 *prl5*）、米品質（低タンパク質、低アレルゲン、ねばり）に関与する遺伝子座（QTLs）を特定した。コシヒカリの育種において最も重要なターゲットである耐倒伏性と登熟歩合に関わる *prl5* と *rg5* の生理機能を明らかにし、染色体領域を 1.0cM 以下に矮小化した。
- ②高額な SNPs チップと同等の性能を持ち、多ローカスのアレルを簡便かつ短時間で判別できる一塩基多型（SNPs）アレイを低コストで作出する方法を確立した。
- ③ SNPs アレイを用いて *prl5* と *rg5* を導入することで、コシヒカリの耐倒伏性と登熟歩合を同時に改良することが可能であることを明らかにした。食味、出穂等の形質はコシヒカリと同等で、耐倒伏性と登熟歩合が向上したコシヒカリ準同質系統（S2N）の選抜に成功した。

## ■見込まれる波及効果

本研究で得られた QTLs の基礎情報並びに開発したツールは新品種の作出に利用できる。また、確立した SNPs アレイの作出方法は、イネのみならず他の作物及び動物の DNA マーカー選抜育種や品種識別等の様々な農業分野での利用が期待される。

## ■主な発表論文

- Ishimaru K., *et al.*: Identification and physiological analyses of a locus for rice yield potential across the genetic background. *J. Exp. Bot.* 56: 2745-2753 (2005)
- Ishimaru K., *et al.*: Leaf contents differ depending on the position in a rice leaf sheath during sink-source transition. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 855-860 (2004)
- Ishimaru K. and Kashiwagi T.: Identification of a locus for asynchronous heading in rice, *Oryza sativa L.* *Euphytica* 139: 141-145 (2006)
- Kashiwagi T., *et al.*: Locus *prl5* improves lodging resistance of rice by delaying senescence and increasing carbohydrate reaccumulation. *Plant Physiol. Biochem.* 44: 152-157 (2006)
- Kashiwagi T. *et al.*: Factors responsible for decreasing sturdiness of the lower part in lodging of rice (*Oryza sativa L.*). *Plant Prod. Sci.* 8: 166-172 (2005)



■研究のイメージ

### ① 多様な有用QTLを特定

**インディカライズ・カサラスが持つ複数有用QTLs**

収量特性・・・登熟歩合(くず米率、*rg5*)、1穂粒数、千粒重

ストレス耐性・・・耐倒伏性(*prl5*)、台風に対する耐性、

コメ品質・・・低タンパク質、低アレルゲン、高Mg/K比(コメの粘り)

### ② SNPsアレイの作出法を確立

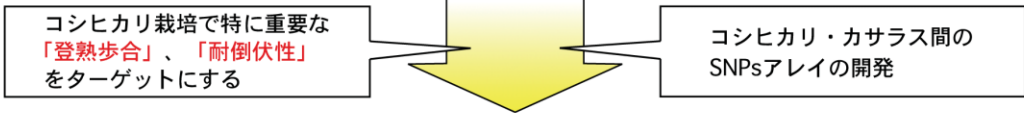
主なジェノタイピング方法とその特徴

方法	簡便性	汎用性	ヘテロ判定	スピード	多ローカス	コスト
Direct Sequence		○				
RFLP		○	○			○
CAPS	○	○	○			○
SSR		○	○			○
TaqMan			○	○		
SNPsチップ			○	○	○	
<b>SNPsアレイ</b>	○	○			○	○*

\*既存のSNPsチップの100分の1のコスト

**SNPsアレイの利点**

- ・短時間、低コストでジェノタイピングが可能
- ・全染色体を網羅できる
- ・特別な機器が不要
- ・操作が簡便



### 染色体置換系統(CSSLs)の利用

登熟歩合(*rg5*)、倒伏抵抗性(*prl5*)

*rg5*と*prl5*を有するS2系統 (コシヒカリに比べ複数の劣悪形質を有する)

コシヒカリを戻し交雑したBC1F2 4,000個体

### 複数回のジェノタイピングとフェノタイピング

SNPsアレイを用いた詳細なジェノタイピング

多様な形質のフェノタイピング

様々な染色体領域を持つBC1F2

SNPsマーカー

- 有用形質遺伝子座
- 不要な染色体断片
- 劣悪形質遺伝子座

不要な領域、劣悪形質の除去、必要な領域

**QTL領域の矮小化**

- ・*rg5*、*prl5*の領域矮小化 (0.5cM以下)
- ・*rg5*、*prl5*の生理学的解析
- ・不要領域の特定



*rg5*と*prl5*を持つコシヒカリ準同質系統の作出

- ・登熟歩合が向上 (くず米の割合が3分の1に)
- ・耐倒伏性が向上

〔食味、出穂等の他の重要な形質はコシヒカリと同じ〕

3年間で複数の有用形質を改良した

## 「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」について

農林水産業、飲食料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、地球規模での人口問題、食料問題、環境問題の解決等に資するため、将来の産業技術のシーズとなる基礎的な試験研究を提案公募により実施しています。

**対象研究分野**／生物系特定産業に関する基礎研究であって、新技術・新分野の創出に資するもの。具体的な分野は以下のとおり。

- ①生物機能解明・生産力向上分野
- ②高機能・高品質食品分野
- ③生物系素材分野
- ④生物機能利用による環境改善分野
- ⑤工学・環境学的手法による生物機能向上分野
- ⑥共通基盤に関する研究分野（このほか、①～⑤に該当しないもの）

**応募資格**／大学、国公立試験研究機関、独立行政法人、民間の研究機関等、生物系の産業技術に関する基礎研究を実施する能力のある機関に所属している研究者又はそのグループ。

**研究応募枠**／「一般型」については、応募者の年齢制限無し。

「若手研究者支援型」については、応募者の年齢を39歳以下に制限。

**研究期間と研究費の規模**／（研究費には間接経費を含む）

○一般型 研究期間：3～5年間

研究費：1課題あたり原則2千万円～8千万円程度／年

（国際活動の実施を希望し、かつ、妥当であると生研センターが認めた場合は、研究費の上限が1億円程度となります。）

○若手研究者支援型

研究期間：3年間

研究費：

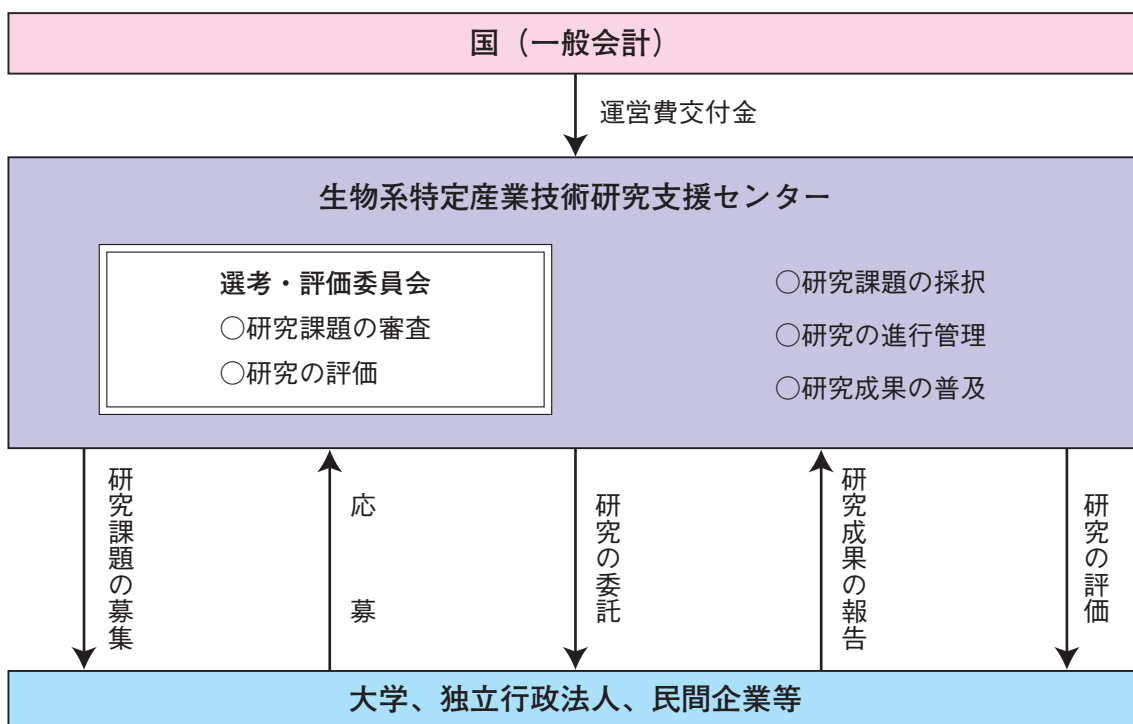
・参画機関数1～3の場合：1課題あたり原則2千万円～4千万円程度／年

・参画機関数4以上の場合：1課題あたり原則2千万円～8千万円程度／年

**研究実施形態**／生研センターからの委託研究

**研究成果の帰属**／生研センターが認めた場合は受託機関に帰属。それ以外は共有。

### ■事業の仕組み



## 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 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。虎ノ門マリビル10階

### 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/>

