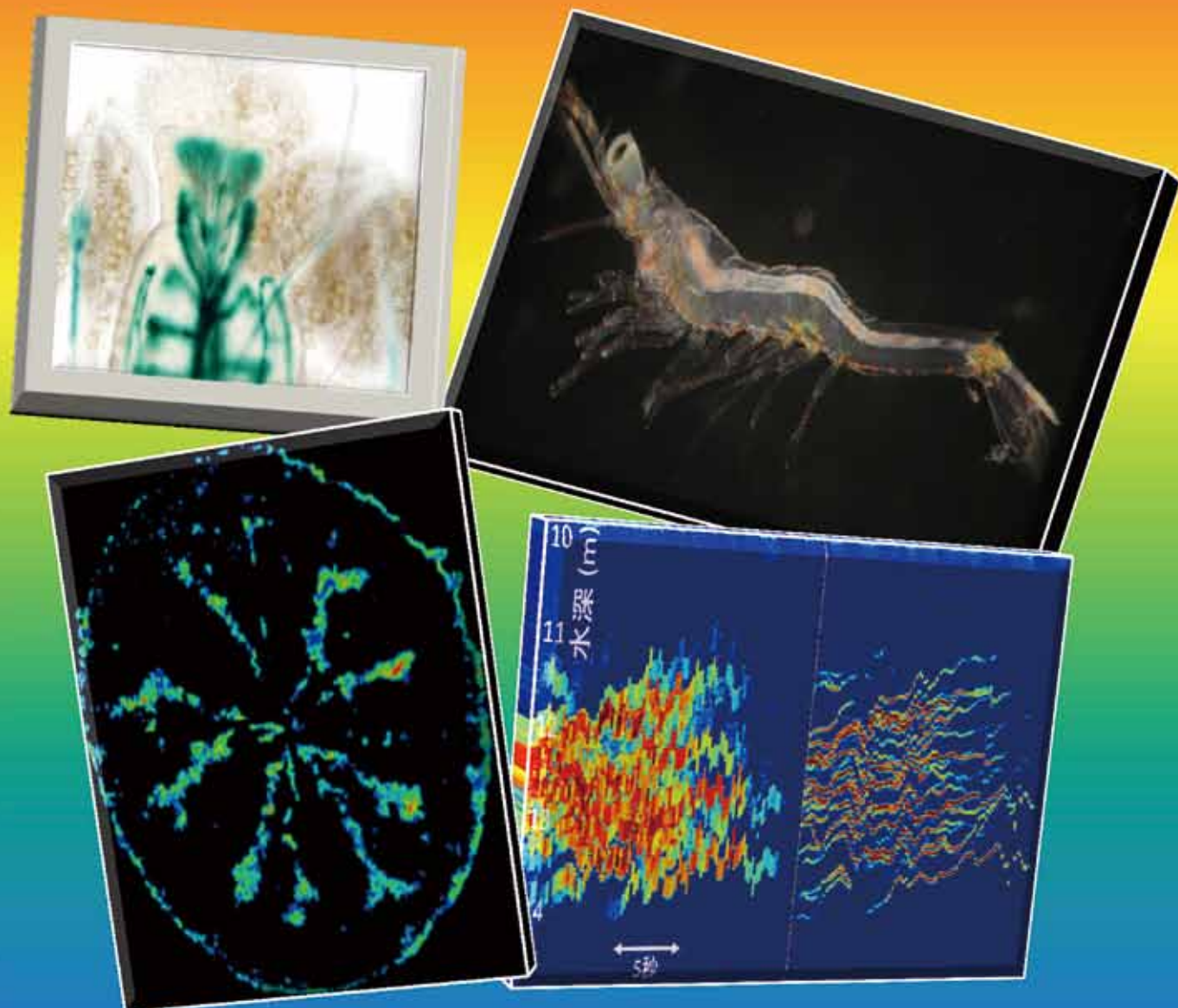


基礎的研究業務 研究成果集

(2011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

表紙写真説明

- 左上 高温下で花粉管の安定した伸長に働くCLEペプチドをコードするCLE-A遺伝子は、雌しべの花粉管が通る領域で発現する（青色部）。
新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業一般型
課題名：CLEペプチド類の作物への応用のための基礎研究
研究代表者：福田 裕穂（東京大学大学院理学系研究科）
- 右上 受精卵から孵化後、ポストラーバに達したバナメイエビ。ポストラーバへ変態後、約4ヶ月で商品サイズまで成長する。
イノベーション創出基礎的研究推進事業発展型研究一般枠
課題名：バナメイエビの人為催熟技術を利用した安定的な種苗生産の確立
研究代表者：マーシー・ニコル・ワイルダー（(独)国際農林水産業研究センター）
- 左下 質量顕微鏡を用いて解析されたブルーベリー中のポリフェノールの分布
イノベーション創出基礎的研究推進事業技術シーズ開発型若手研究者育成枠
課題名：高品質な農林水産物・食品創出のための質量顕微鏡技術基盤の構築
研究代表者：財満 信宏（近畿大学農学部）
- 右下 従来型魚群探知機（左）に比べイルカ型ソナー（右）ではカタクチイワシのような小さい魚でも一尾ずつ分離して数えることができる。
生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業異分野融合研究開発型
課題名：イルカ型対象判別ソナーの開発
技術コーディネーター：赤松 友成（(独)水産総合研究センター水産工学研究所）

基礎的研究業務研究成果集

(2011年度終了課題)

目 次

新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業【一般型】

(2007年度～2011年度)

- RNA篩管長距離輸送機構による接ぎ木園芸作物の新規品種改良技術の開発
(弘前大学農学生命科学部／原田 竹雄) 1
- 異種間生殖系列キメラを用いた魚類の配偶子誘導に関わる実証的研究
(北海道大学北方生物圏フィールド科学センター／山羽 悦郎) 3
- ウイルス増殖阻害薬剤開発に向けた基礎研究
(独)農業生物資源研究所／石川 雅之) 5
- 機能微生物ゲノミクスによる農耕地からの亜酸化窒素ガス低減化
(東京大学大学院農学生命科学研究科／妹尾 啓史) 7
- 食の安全を目指した作物のカドミウム低減の分子機構解明
(東京大学大学院農学生命科学研究科／西澤 直子) 9
- 食品の安全性評価用超高感度ナノセンサーの開発
(神戸大学 遺伝子実験センター／今石 浩正) 11
- 植物ウイルスの媒介昆虫・植物間応答機構の解明と制御技術の開発
(独)農研機構 中央農業総合研究センター／大村 敏博) 13
- 植物病原細菌の病原性糖タンパク質糖鎖の構造解析と病害防除への利用
(岡山大学大学院自然科学研究科／一瀬 勇規) 15
- 植物免疫シグナル分子を利用した高精度耐病性植物の創生
(近畿大学農学部／川崎 努) 17
- CLEペプチド類の作物への応用のための基盤研究
(東京大学大学院理学系研究科／福田 裕穂) 19
- 精原細胞移植を用いた代理親魚技法の構築：サバにマグロを生ませる
(東京海洋大学海洋科学部／吉崎 悟朗) 21
- 動物種を超えた繁殖制御を可能とするメタスチンの生理機能解析
(名古屋大学大学院生命農学研究科／前多 敬一郎) 23
- バイオエネルギー生産のためのシロアリ共生系高度利用技術の基盤的研究
(独)理化学研究所中央研究所／守屋 繁春) 25
- 有用物質・遺伝子・形質の探索と応用を目指した植物ケミカルバイオロジー研究
(東京大学大学院農学生命科学研究科／浅見 忠男) 27

新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業【若手研究者育成型】

(2007年度～2011年度)

マメ科植物の共生微生物受容システムと感染・根粒形成を支える遺伝子ネットワークの解析
((独) 農業生物資源研究所／今泉 (安楽) 温子) 29

生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業【異分野融合研究開発型】

(2007年度～2011年度)

イオンビームとゲノム情報を活用した効率的な花き突然変異育種法の開発
((独) 日本原子力研究開発機構／田中 淳) 31

異種染色体導入コムギが産生する新機能性物質の利用技術の開発
(横浜市立大学木原生物学研究所／荻原 保成) 33

イルカ型対象判別ソナーの開発
((独) 水産総合研究センター水産工学研究所／赤松 友成) 35

エイコサノイド生産スーパーゼニゴケ植物工場システムの開発
(石川県立大学生物資源工学研究所／大山 莞爾) 37

カイコバキュロウイルスによる犬フィラリア診断薬の開発及び感染防御抗体の解析
((独) 農業生物資源研究所／今西 重雄) 39

家畜受精卵生体外育成用マイクロバイオリアクターシステムの開発
(東京大学生産技術研究所／酒井 康行) 41

BSE等プリオン病の発症前診断を可能とするバイオチップの開発
((株) ハイベップ研究所／軒原 清史) 43

味覚修飾蛋白質ネオクリンとそのバリエーションの機能解析・用途開発
(東京大学大学院農学生命科学研究科／阿部 啓子) 45

天蚕由来のヤママリンをリード化合物とした細胞増殖制御剤の開発
(岩手大学農学部／鈴木 幸一) 47

イノベーション創出基礎的研究推進事業 技術シーズ開発型【若手研究者育成枠】

(2009年度～2011年度)

- 抗体活性ドメインを付加した新規絹タンパク質素材の開発
(独)農業生物資源研究所／佐藤充) 49
- 高品質な農林水産物・食品創出のための質量顕微鏡技術基盤の構築
(近畿大学農学部／財満信宏) 51
- 植物ミトコンドリア遺伝子発現の分子基盤解明と育種への応用
(九州大学高等研究院／中村崇裕) 53
- 食欲反応を匂いで制御する新技術の開発
(財)大阪バイオサイエンス研究所／小早川高) 55
- 精子幹細胞を用いた新しい家畜の遺伝子改変法の開発
(京都大学大学院医学研究科／高島 誠司) 57
- 中枢神経性糖代謝制御機構を用いた食品成分スクリーニング法開発
(金沢大学フロンティアサイエンス機構／井上啓) 59

イノベーション創出基礎的研究推進事業 発展型【一般枠】

(2009年度～2011年度)

シロアリの卵運搬本能を利用した擬似卵型駆除剤の実用化 (岡山大学／松浦 健二)	61
「ひとめぼれ」突然変異集団と RIL s を用いた連関解析実験系の確立と利用 ((財) 岩手生物工学研究センター／寺内 良平)	63
腸感染症管理用素材としてのチーズホエイの有効利用 (岐阜大学／金丸 義敬)	65
酸化ストレス耐性酵母の創製と革新的発酵生産システムの開発 (奈良先端科学技術大学院大学／高木 博史)	67
睡眠改善機能食品の開発 ((財) 大阪バイオサイエンス研究所／裏出 良博)	69
健康寿命伸長のための腸内ポリアミン濃度コントロール食品の開発 (協同乳業 (株) 研究所技術開発室／松本 光晴)	71
バナメイエビの人為催熟技術を利用した安定的な種苗生産の確立 ((独) 国際農林水産業研究センター／マーシー・ニコル・ワイルダー)	73
プロテオーム解析情報を基盤とした高品質和牛生産システムの開発 (近畿大学／松本 和也)	75

イノベーション創出基礎的研究推進事業 発展型【ベンチャー育成枠】

(2009年度～2011年度)

レクチン探索による食中毒菌の迅速多重検出技術の開発 ((株) グライエンス／矢部 宇一郎)	77
---	----

■ 研究課題名

RNA 篩管長距離輸送機構による接ぎ木園芸作物の新規品種改良技術の開発

■ 研究の目的

接ぎ木技術はリンゴやトマトなどで活用されており園芸作物特有の栽培法である。一方、植物の篩管を通して長距離輸送される特定 RNA 分子の機能性が明らかとなってきた。そこで、RNA 輸送機構を応用し目的の遺伝情報（RNA）をより的確に運搬・機能させることができるシステムを開発し、その系を付与した組換え台木に接ぎ木することによる、穂木の新規品種改良技術を創出する。本技術の特徴は、穂木には導入 DNA が存在しないため、花粉飛散による組換え遺伝子の漏出問題をクリアできることにある。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①篩管輸送 RNA 発現ベクターの構築
（◎原田竹雄、葛西厚史、津和本亮／弘前大学 農学生命科学部）
- ②篩管輸送 RNA システムによる品種改良の実用的研究
（◎原田竹雄、葛西厚史、津和本亮／弘前大学 農学生命科学部）



原田竹雄

■ 研究の内容・主要な成果

- ①リンゴ樹においても特定の mRNA が篩管長距離輸送されている事実を明らかにした。
- ②篩管輸送 RNA を輸送起点の伴細胞で産生するシステムを構築し、その輸送性を高めることができた。
- ③ mRNA の篩管長距離輸送ドメインを明らかにし、このドメインを融合することで、非輸送性 mRNA を篩管輸送することができた。
- ④遺伝子ノックダウン用 siRNA を用いた篩管輸送システムを導入した個体を穂木として接ぎ木することで、台木のターゲットとした内生遺伝子に転写後型ジーンサイレンシングを発動できた。
- ⑤転写型ジーンサイレンシングにおいても siRNA 篩管輸送で接ぎ木相手に発動できること、さらに側根では根端分裂組織（根生不定芽）もサイレンシングが発動され、新たな品種改良法が開発された。（図 1）
- ⑥ウイロイドの siRNA を篩管輸送する台木により、穂木におけるウイロイド増殖を抑制することができた。（図 2 左）
- ⑦ジベレリン応答抑制因子の変異遺伝子転写物を産生させるリンゴ台木品種マルバカイドウを作出し、新たな矮性台木を作出することができた。（図 2 右）
- ⑧以上、台木／穂木間両方向で、RNA 篩管長距離輸送機構による品種改良技術が開発できた。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

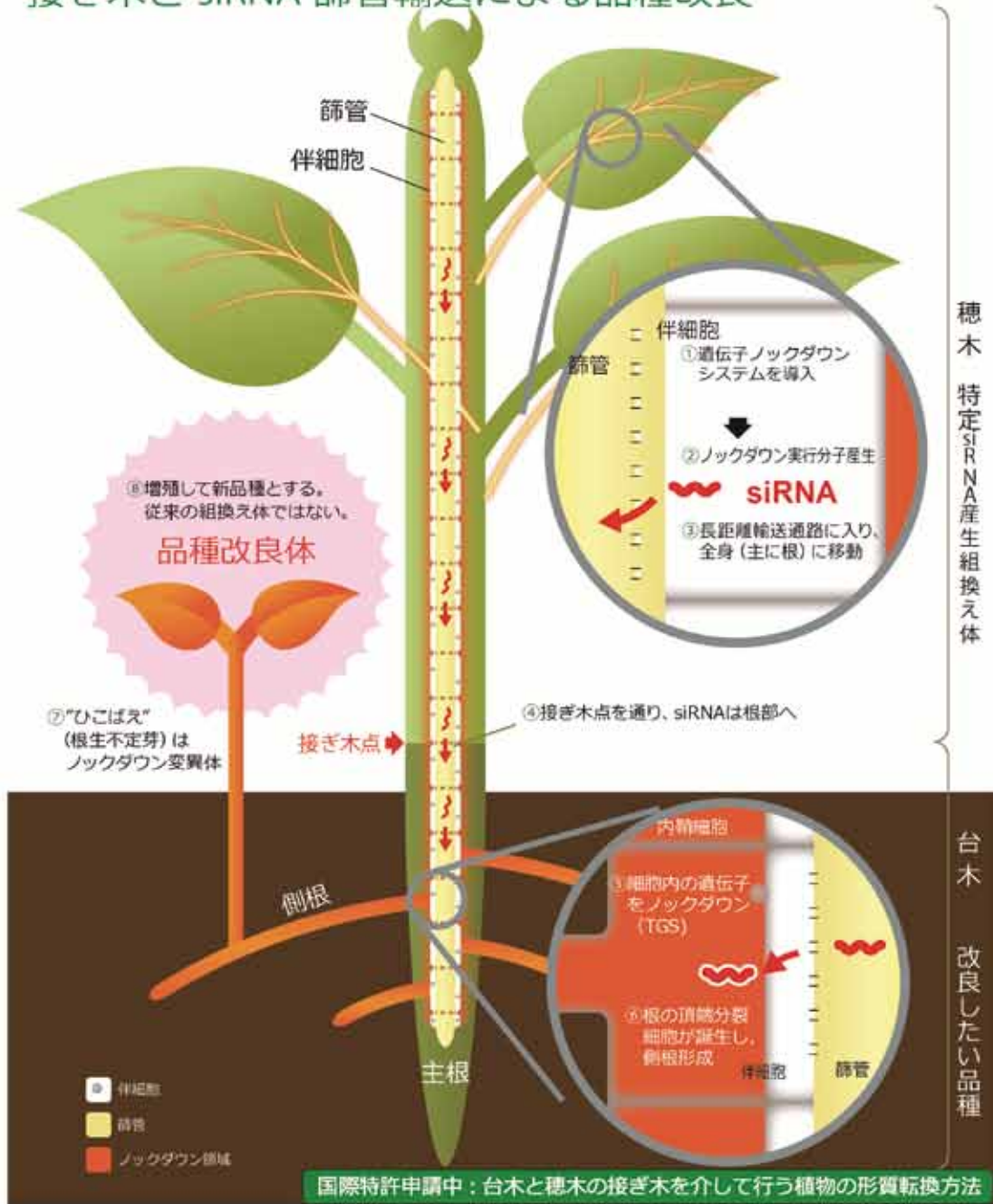
RNA 篩管輸送システムの組換え体による接ぎ木パートナーの品種改良法は、新規の形質転換法を創出することになる。特に、従来の品種改良には十年近くの年月を要する果樹では画期的な技術となる。さらに、siRNA 篩管輸送による接ぎ木パートナーのエピジェネティック変異発動個体は従来の組換え作物に該当しないことも極めて大きなメリットである。想定している用途、利用分野およびその市場としては、果樹、野菜、花木を取り扱う多くの種苗会社、およびこれらの育種を取り扱う公的試験研究機関である。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Wang A., et al.: Null mutation of the *MdACS3* gene, coding for a ripening-specific 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, leads to long shelf life in apple fruit. *Plant Physiol.*151: 391-399 (2009)
- ②Tsuwamoto R., Harada T.: Identification of a cis-regulatory element that acts in companion-cell-specific expression of *AtMT2B* promoter through the use of Brassica vasculature and gene-gun-mediated transient assay. *Plant and Cell Physiol.*51: 80-90 (2010)
- ③Kanehira A., et al.: Apple phloem cells contain some mRNAs transported over long distances. *Tree Genetics and Genomes* 5: 635-642 (2010)
- ④Kasai A., et al.: Graft-transmitted siRNA signal from root induces visual manifestation of endogenous post transcriptional gene silencing in the scion. *PLoS ONE* 6:e16895 (2011)
- ⑤Bai S., et al.: Mobile signal transported over a long distance induces systemic transcriptional gene silencing in a grafted partner. *J. Exp. Bot.* 62: 4561-4570 (2011)

■ 研究成果の具体的図表

図 1. 接ぎ木と siRNA 篩管輸送による品種改良



遺伝子ノックダウンは転写型サイレンシング。全行程は実験室内の培養システムで実行。

図 2. 篩管輸送 RNA システム導入個体



作出されたウイロイド病抵抗性タバコ。
遺伝子 PSTVd の siRNA 輸送で穂木が抵抗性となる。



作出された矮性マルバカイドウ。
遺伝子 *Atgai* mRNA 輸送で穂木が矮化する。

■ 研究課題名

異種間生殖系列キメラを用いた魚類の配偶子誘導に関する実証的研究

■ 研究の目的

本研究では、作物の生産に使われている「接ぎ木」、「花粉（葯）培養」、「胚珠培養」の技術を、生殖系列キメラを用いて養殖魚の種苗の生産に応用できるかどうかを実証しようとした。すなわち、①キンギョ等の淡水魚を使って、ウナギを含む様々な水産重要種の精子を作りだせるか、②異種を使った卵形成の限界が、種の遺伝的差によるか、種間にある繁殖特性の違いによるものか、③半数性、雑種のゲノム構成を持つ細胞から配偶子を作りだせるか、を検証した。



山羽悦郎

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①水産重要種での精子形成
（◎山羽悦郎／北海道大学北方生物圏フィールド科学センター、荒井克俊、足立伸次／北海道大学水産科学研究院）
- ②小型魚類を用いた配偶子形成
（◎山羽悦郎／北海道大学北方生物圏フィールド科学センター、荒井克俊／北海道大学水産科学研究院）
- ③倍数性を操作した始原生殖細胞からの配偶子形成
（◎山羽悦郎／北海道大学北方生物圏フィールド科学センター、荒井克俊／北海道大学水産科学研究院）

■ 研究の内容・主要な成果

- ①チョウザメ、ウナギ、コイ、シシャモ等 12 種類の水産重要種をドナーとして始原生殖細胞（PGC）を分離し、コイ目魚類に属するキンギョ、ゼブラフィッシュ、あるいはドジョウ宿主胚へ移植した。その結果、多くのドナー PGC は宿主生殖隆起へと移動したが、コイ目内の魚種を除いて精子へ分化する可能性は認められなかった。近縁種での精子形成は可能であるが、目を越える遠縁種での精子形成は困難と考えられた。（表 1）
- ②宿主としてのゼブラフィッシュの性は PGC の数によって決定されるという報告に対し、キンギョ、ドジョウでは、体細胞の性が生殖腺の性を決定することが明らかとなった。また、ドジョウの PGC、あるいはゼブラフィッシュの PGC をキンギョの胚へ移植した場合、卵形成が起こるものの周辺仁期で停止することが明らかとなった。（図 1）
- ③ドジョウ、キンギョ、ゼブラフィッシュ共に、半数性の PGC から機能的な精子が分化することが明らかとなり、動物においても植物の「花粉（葯）培養」に相当する育種が可能と考えられた。（図 2）

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①半数性の PGC からの精子形成が可能であることを明らかにした。もし、卵形成が可能であれば、生殖系列キメラを介して一代でホモクローンあるいはヘテロクローン系統が樹立できる。
- ②コイの精子をキンギョで作ることが出来たことから、コイ半数体 PGC を用いたコイの系統の樹立をキンギョで行うことが可能と考えられる。
- ③近縁種の宿主を用いて、水産重要種の新品種の育成が可能となる。
- ④上記を総合して、魚類において、PGC と生殖系列キメラを利用して、植物での「接ぎ木」、「花粉培養」に相当する育種が可能となると考えられ、植物育種と同等の発展が期待できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特願2010-026904(外国出願PCT/JP2011/052772)：生殖系列キメラを介して致死性魚類半数体に由来する生殖細胞から遺伝的に同一な配偶子を得る方法：国立大学法人北海道大学
- ②T. Fujimoto, et al. Developmental potential of embryonic cells in a nucleo-cytoplasmic hybrid formed using a goldfish haploid nucleus and loach egg cytoplasm. *Int. J. Dev. Biol.* 54 : 827-835 (2010)
- ③T. Fujimoto, et al. Sexual dimorphism of gonadal structure and gene expression in germ cell deficient loach, a teleost fish. *Proc. Ntl. Acad. Sci. USA* 107(40) : 17211-17216 (2010)
- ④T. Saito, et al. Inter-species transplantation and migration of primordial germ cells in cyprinid fish. *Int. J. Dev. Biol.* 54 : 1481-1486 (2010)
- ⑤T. Saito, T. et al. The mechanism for primordial germ-cell migration is conserved between Japanese eel and zebrafish. *PLoS ONE* 6(9) : e24460 (2011)
- ⑥Y. Kawakami, et al. Viability and motility of vitrified/thawed primordial germ cell isolated from common carp (*Cyprinus carpio*) somite embryos. *J. Anim. Sci.* Sep 16 (2011)

■ 研究成果の具体的図表

異種間生殖系列キメラを利用した魚類の配偶子誘導に関わる実証的研究

研究のねらい

栽培植物の育種技術

1. 接ぎ木
2. 花粉(葯)培養
3. 胚珠培養

動物で応用出来るか?

↓ 検証

異種間生殖系列キメラによる配偶子誘導

研究の進め方

- 1) 種を越えた精子形成にはどれ位の遺伝的な差が許容されるか
→ 水産重要魚種をドナーにした種間キメラ
- 2) 種を越えた卵形成の限界は種差か、宿主環境か
→ 宿主魚種の性決定解析と種間キメラ
- 3) 致死性個体の配偶子は、キメラによる *in vivo* 培養によって作り出せるのか
→ 倍数性を操作したPGCIによるキメラ

表1. 水産重要魚種をドナーにした種間キメラでの精子形成の解析結果

ドナー魚種	ドナー魚種の科	コイ目上の科	ホスト種	PGC 可塑性	キメラの誘導	PGCの維持	好性の判別
パールダニオ	ゼブラ魚	同属	ゼブラフィッシュ	○	○	○	○
キンギョ	コイ科	同科	ゼブラフィッシュ	○	○	○	○
コイ	コイ科	同科	ゼブラフィッシュ	△	○	×	—
コイ	コイ科	同科	ドジョウ	△	○	×	—
コイ	コイ科	同科	キンギョ	○	○	○	△
ドジョウ	コイ目	同目	ゼブラフィッシュ	○	○	○	○
ドジョウ	コイ目	同目	キンギョ	○	○	○	○
ワカサギ	サケ目	異目	キンギョ	○	○	×	—
キュウリウオ	サケ目	異目	キンギョ	○	○	×	—
シシャモ	サケ目	異目	キンギョ	○	○	×	—
ニシン	ニシン目	異目	ゼブラフィッシュ	○	×	×	—
ニシン	ニシン目	異目	キンギョ	○	×	—	—
ウナギ	ウナギ目	異目	ゼブラフィッシュ	○	○	×	×
マツカフ	カレイ目	異目	ゼブラフィッシュ	○	—	—	—
ホンガレイ	カレイ目	異目	—	△	—	—	—
チョウザメ	チョウザメ目	異系統	キンギョ	○	○	×	—

図1. 宿主魚種の性決定の解析と生殖系列キメラでの卵巣形成の確認

キンギョ対照 内在性PGCのノックダウン

ドジョウ、キンギョではPGCが無くても雌雄に分化することを、形態学的、組織学的、分子生物学的に確認

ゼブラフィッシュ、ドジョウのPGCを移植したキンギョ種間キメラで、ドナー由来の生殖細胞をもつ卵巣形成を確認した

ゼブラフィッシュ → キンギョ → ドジョウ

vasa遺伝子で確認 組織学的に確認 vasa遺伝子で確認

宿主の特性で卵巣が形成される

図2. 倍数性を操作したPGCIによるキメラ

手順

半数体PGC (キンギョ、ドジョウ、ゼブラフィッシュ)

宿主へ移植

生体内培養

配偶子形成の解析

倍数性 遺伝子解析 ドナー宿主の系統差による

完全ホモ接合体?

キンギョ半数体PGCからの精子形成

半数体のPGCを移植された三倍体

FCMによる検証

生精細胞(精子)

宿主に由来する配偶子 1.5n は認められない

半数体のPGCを移植された三倍体キメラに由来する精子のマイクロサテライトDNAマーカーによるクローン性検算

Donor ♀, Donor ♂, Host ♀, Host ♂, Chimera Egg, Chimera Sperm

ホモ型 (精子は遺伝的に均一)

ヘテロ型 (精子に遺伝的な多様性存在)

母親がヘテロの6アレルで全てホモ型 → **精子はクローン**

成果と今後の展望

- 1) 目内での近縁種間の生殖系列キメラでは精子形成が可能な場合があるが、遠縁種間では困難である。
- 2) 卵巣の形成は、宿主魚種の性分化に依存して、生殖系列キメラの性も決まる可能性がある。
- 3) 致死性の半数体個体からもPGCが得られ、生殖系列キメラを利用した生体内培養で配偶子が分化する。この配偶子はクローンである可能性が示唆された。

魚類において、PGCと生殖系列キメラを利用して、植物での「接ぎ木」、「花粉培養」に相当する育種が可能であり、植物育種と同様の発展が期待できる。

■ 研究課題名

ウイルス増殖阻害薬剤開発に向けた基礎研究

■ 研究の目的

ウイルスは宿主の代謝に依存して増殖するため、宿主に害を与えずにウイルス増殖を阻害することは難しく、有効な抗植物ウイルス薬剤は知られていない。本研究は、代表的な植物ウイルスであるトバモウイルス（トマトモザイクウイルスおよびタバコマイルドグリーンモザイクウイルス）を用い、ウイルス側因子-宿主因子間の相互作用を原子レベルで解明し、この相互作用を阻害する抗ウイルス薬剤の開発基盤を構築することを目的とした。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①トバモウイルス複製関連因子の分子間相互作用ネットワークおよび複製機構の解析
（◎石川雅之／独立行政法人農業生物資源研究所）
- ②トバモウイルス複製関連因子の三次元構造の解析
（加藤悦子／独立行政法人農業生物資源研究所）
- ③トバモウイルス複製関連因子間相互作用インターフェイスの同定
（◎石川雅之、加藤悦子／独立行政法人農業生物資源研究所）



石川雅之

■ 研究の内容・主要な成果

- ①トバモウイルスの増殖に必須な新規の宿主タンパク質 ARL8 を同定した。さらに、ARL8 がウイルスの複製酵素の活性化に重要な役割を果たすことを明らかにするとともに、ARL8 の立体構造を解明した。
- ②トマトモザイクウイルス（ToMV）に対する抵抗性遺伝子 *Tm-1* の産物がウイルスの複製タンパク質に結合してウイルスの機能を阻害することを明らかにした。**タバコマイルドグリーンモザイクウイルス（TMGMV）は、抵抗性遺伝子の有無にかかわらずトマトには感染できないが、その主たる原因が *Tm-1* の対立遺伝子にあることを明らかにした。**
- ③ToMV が持つヘリカーゼ領域は「スーパーファミリー1」に分類されるが、このファミリーに属するヘリカーゼ領域の立体構造は未解明であった。本研究によって、ToMV 複製タンパク質のヘリカーゼ領域の立体構造が世界で初めて明らかになった。さらに、ARL8, TOM1 および *Tm-1* が相互作用するヘリカーゼ領域上の部位を特定した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①立体構造情報に基づき、ウイルス複製タンパク質と宿主因子との相互作用の阻害によりウイルスの複製を阻害する物質の創製を目指す。
- ②多数の植物ウイルスに加え、動物ウイルス（SARS ウイルス、E 型肝炎ウイルスなど）にコードされるヘリカーゼも同じファミリーに分類されることから、本研究の成果からこれらのウイルス研究への応用が期待される。

■ 公表した主な特許・論文

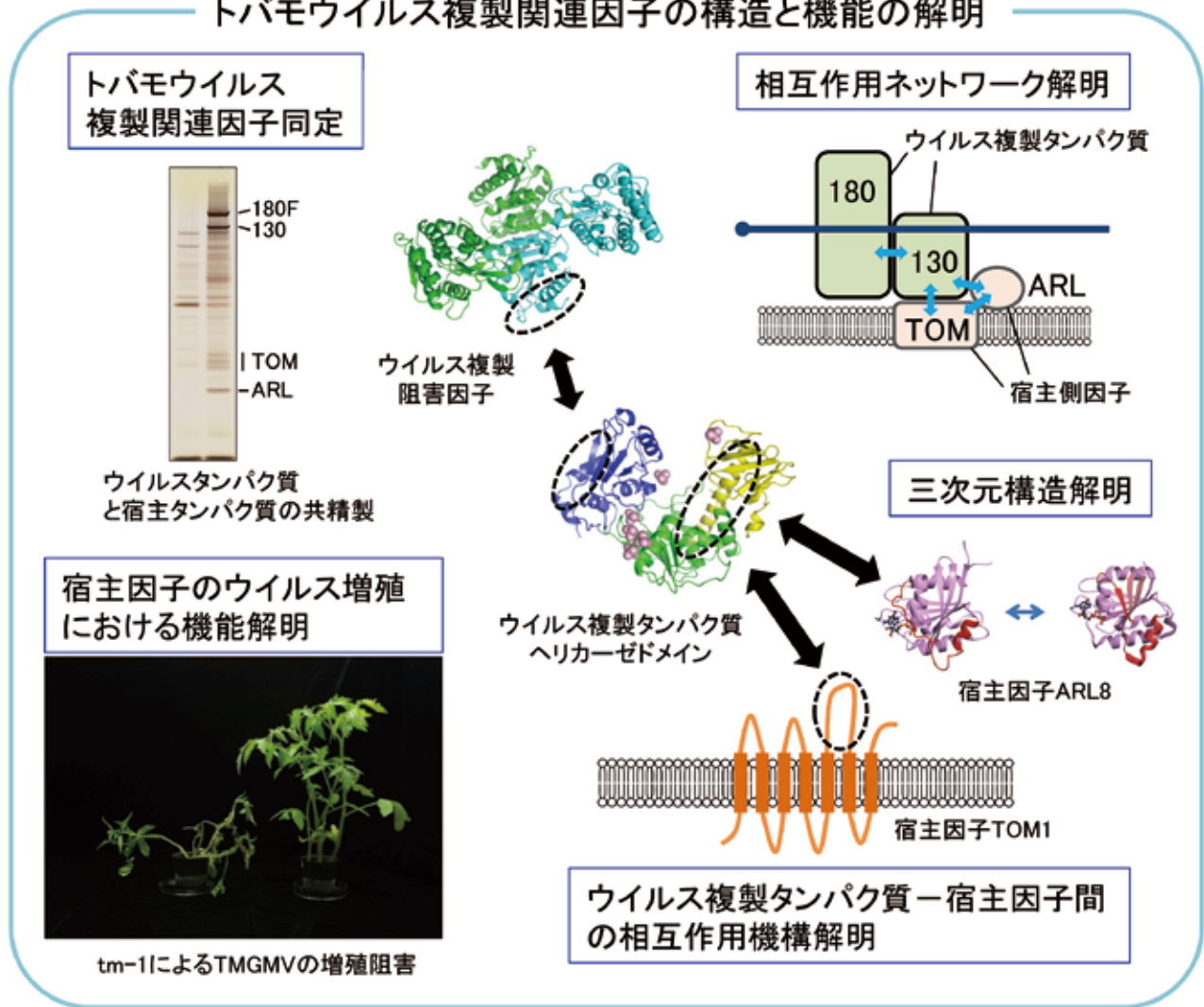
- ①Ishibashi K. et al. An inhibitory interaction between viral and cellular proteins underlies the resistance of tomato to non-adapted tobamoviruses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **85**: 8778-8783 (2009)
- ②Ishibashi K. et al. Gaining replicability in a nonhost by *Tobacco mild green mosaic virus* compromises its silencing suppression activity in a host. J. Virol. **85**: 1893-1895 (2011)
- ③Okamura H. et al. Interconversion of two GDP-bound conformations and their selection in an Arf-family small G protein. Structure **67**: 1649-1652 (2011)
- ④Nishikiori M. et al. A host small GTP-binding protein ARL8 plays crucial roles in tobamovirus RNA replication. PLoS Pathogens **7**: e1002409 (2011)

■ 研究成果の具体的図表

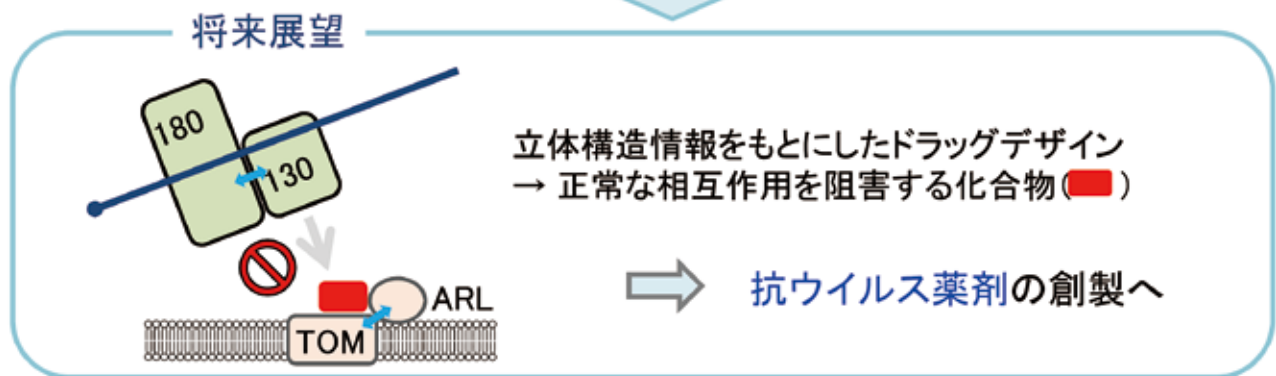
ウイルス増殖阻害薬剤開発に向けた基礎研究

背景: 抗植物ウイルス薬剤の欠如 → 多大な予防措置

トバモウイルス複製関連因子の構造と機能の解明



将来展望



■ 研究課題名

機能微生物ゲノミクスによる農耕地からの亜酸化窒素ガス低減化

■ 研究の目的

農耕地土壌、特に畑土壌からの温室効果ガス亜酸化窒素 (N_2O) の発生が問題となっている。本研究は、土壌中における N_2O 生成・除去微生物コミュニティの窒素変換機能を明らかにし、 N_2O 除去能力の高い土壌微生物を分離してゲノム情報等から性質を明らかにする。また、 N_2O 還元除去能が強化された根粒菌株を作出する。これらの微生物を利用して農耕地からの N_2O 発生量を低減化する技術を開発し、評価・検証することを目標とした。

■ 研究項目・実施体制 (◎は研究代表者)

- ①水田土壌微生物コミュニティの N_2O 除去機能の解明と低減化への利用
(◎妹尾啓史／東京大学大学院農学生命科学研究科)
- ②根圏微生物コミュニティの N_2O 発生メカニズムの解明とその低減化
(南澤 究／東北大学大学院生命科学研究科)
- ③ N_2O 発生の要因解析と微生物コミュニティによる N_2O 発生抑制技術の評価と実証
(早津雅仁／(独) 農業環境技術研究所)



妹尾啓史

■ 研究の内容・主要な成果

- ①水田土壌の N_2O 除去脱窒菌群を土壌 DNA 解析から明らかにし、新規手法により単離した。その中から N_2O 除去能の高い菌株を選抜して性質を明らかにし、畑土壌やペレット肥料に導入して N_2O 発生を低減化した。
- ② N_2O 還元活性の高いダイズ根粒菌を非組換え体として作成し、土壌生物コミュニティによる根粒根圏の N_2O 発生機構の研究成果に基づき、根粒根圏からの N_2O 発生が低減化できることを実験室レベルで示した。
- ③ N_2O 発生型・除去型土壌の環境条件と微生物コミュニティの関係を明らかにした。野外での高精度な N_2O モニタリング技術を確立し、 N_2O 還元活性の高いダイズ根粒菌の N_2O 削減効果を圃場レベルで実証した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

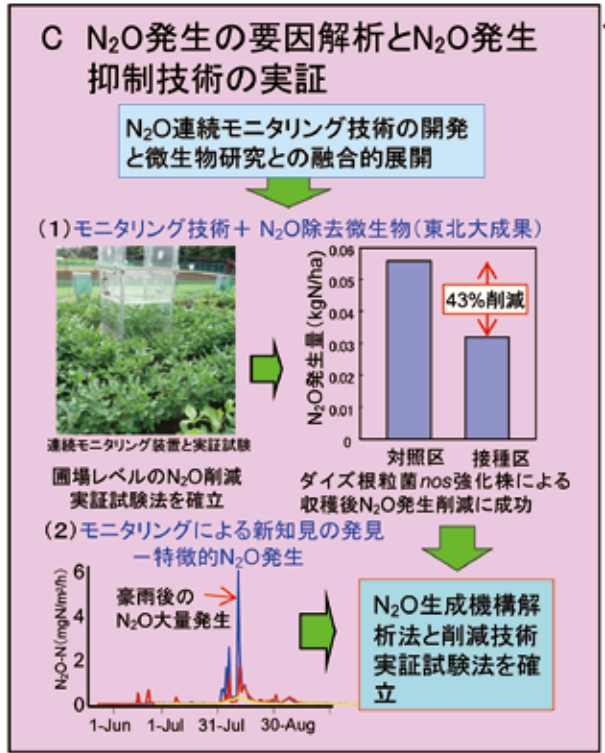
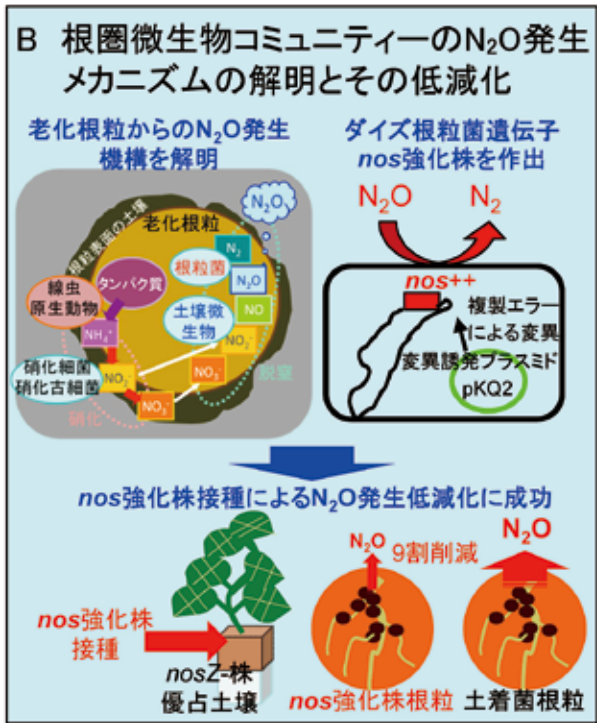
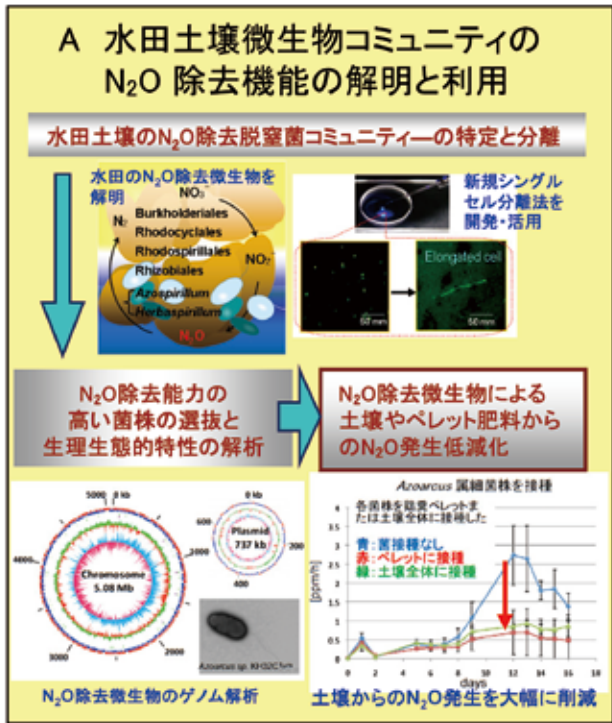
- ①本研究で開発した新規な微生物分離法とこれにより取得した N_2O 除去微生物を用いて、農耕地土壌から発生する N_2O を低減化できる実用的な微生物資材や微生物入り肥料を開発することができる。
- ②本研究で作出した N_2O 除去能が強化された根粒菌株と N_2O モニタリング技術を用いて、ダイズ根圏からの N_2O 発生を低減化する根粒菌資材およびその利用技術を開発することができる。
- ③これらは N_2O による地球温暖化とオゾン層破壊という地球環境問題の解決に大きく貢献し、 N_2O 削減農業技術として新たな農業ビジネスチャンスを生み出す。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Ishii, S., *et al.*, Identification and isolation of active N_2O reducers in rice paddy soil. ISME J., 5, 1936-1945 (2011)
- ②Itakura, M., *et al.* Generation of *Bradyrhizobium japonicum* mutants with increased N_2O reductase activity by selection after introduction of a mutated *dnaA* gene. Appl. Environ. Microbiol. 74. 7258-7264 (2008)
- ③Hirayama, *et al.* Nitrate-dependent N_2O emission from intact soybean nodules via denitrification by *Bradyrhizobium japonicum* bacteroids. Appl. Environ. Microbiol. 77. 8787-8790 (2011)
- ④Akiyama, H., *et al.*, Evaluation of Effectiveness of Enhanced-Efficiency Fertilizers as Mitigation Options for N_2O and NO Emissions from Agricultural Soils: Meta-Analysis. Global Change Biology, 16, 1837-1846 (2009)

■ 研究成果の具体的図表

機能微生物ゲノミクスによる 農耕地からの亜酸化窒素ガス低減化



展開と波及効果

農耕地土壌から発生する N₂O を低減化できる微生物資材・微生物入り肥料の開発

ダイズ根圏からの N₂O 発生を低減化できる根粒菌資材と利用技術の開発

N₂O による地球温暖化とオゾン層破壊の解決に貢献し、N₂O 削減農業技術として新たなビジネスチャンス



■ 研究課題名

食の安全を目指した作物のカドミウム低減の分子機構解明

■ 研究の目的

カドミウム (Cd) はヒトに対する毒性が高い有害金属です。特に日本人の場合、主食であるコメからのカドミウム摂取が、カドミウム摂取量の半分を占めます。カドミウムの吸収、移行、蓄積に関与する遺伝子群を同定し、それらを制御することによって、可食部にカドミウムを蓄積しない「低カドミウム作物の開発」を目指します。最終的には、「低カドミウム作物の開発」により「食の安全」を確保し「健康な暮らし」を支えることに貢献することを目指します。

■ 研究項目・実施体制 (◎は研究代表者)

- ①作物におけるカドミウムの吸収と蓄積の分子機構 (◎西澤 直子、中西 啓仁/東京大学大学院農学生命科学研究科)
- ②作物のカドミウム輸送機構の生理的解析 (荒尾 知人、石川 覚/ (独) 農業環境技術研究所)
- ③ナス属のカドミウム吸収特性に関する遺伝子発現解析基盤の構築 (福岡 浩之、山口 博隆、森川クラウジオ健治/ (独) 農業・食品産業技術総合研究機構野菜茶業研究所) 西澤直子



■ 研究の内容・主要な成果

- ①汚染土壌で栽培してもコメ中にほとんどカドミウムを含まない低カドミウムコシヒカリの開発に成功した。
- ②トルバム・ビガー (ナス用台木) の *StoNRAMP1* 遺伝子を高発現させてナスの地上部へのカドミウム移行を抑制できた。これを台木に用いることにより、穂木のナス果実のカドミウム濃度をほぼゼロにすることができた。
- ③ナス、トルバム・ビガーの遺伝子情報データベースを構築し、ナス、トルバム・ビガーのマイクロアレイも作成した。
- ④カドミウムの吸収や移行に関わる新たな遺伝子を多数同定した。

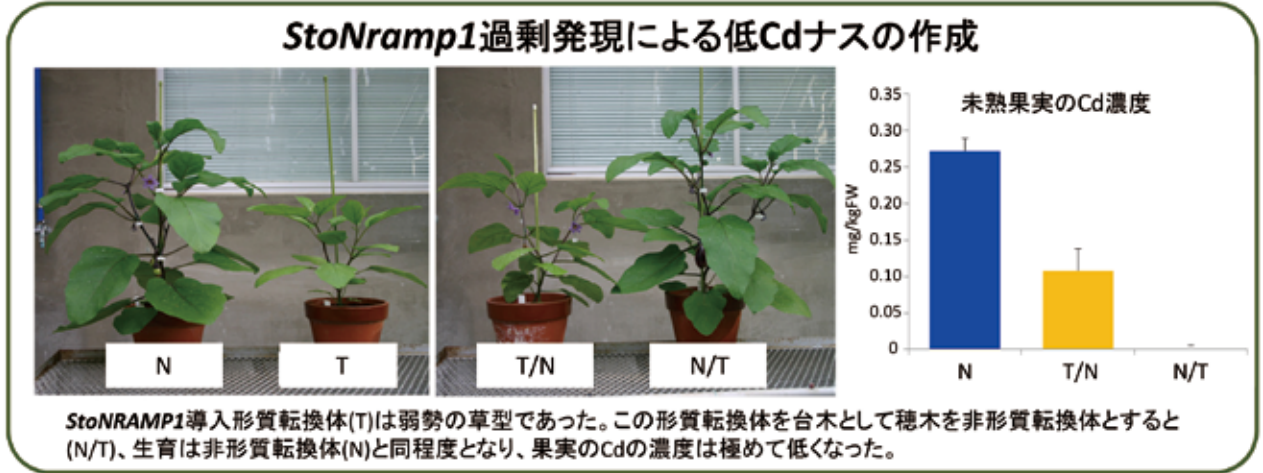
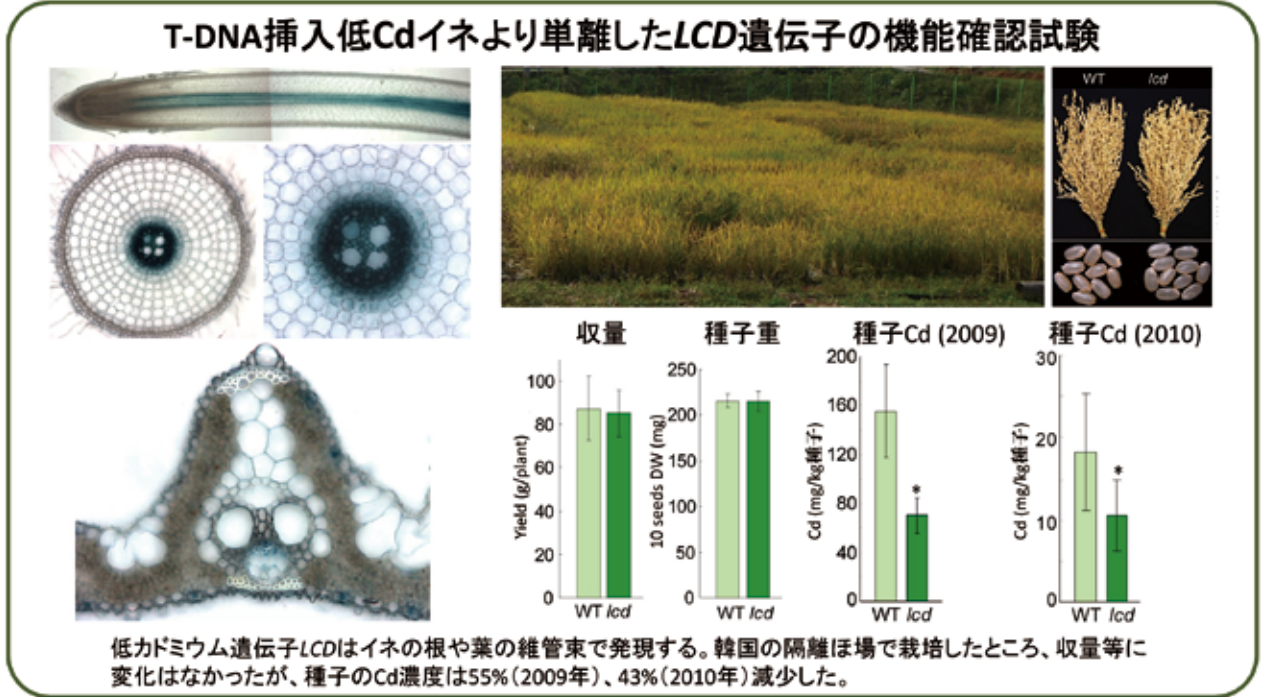
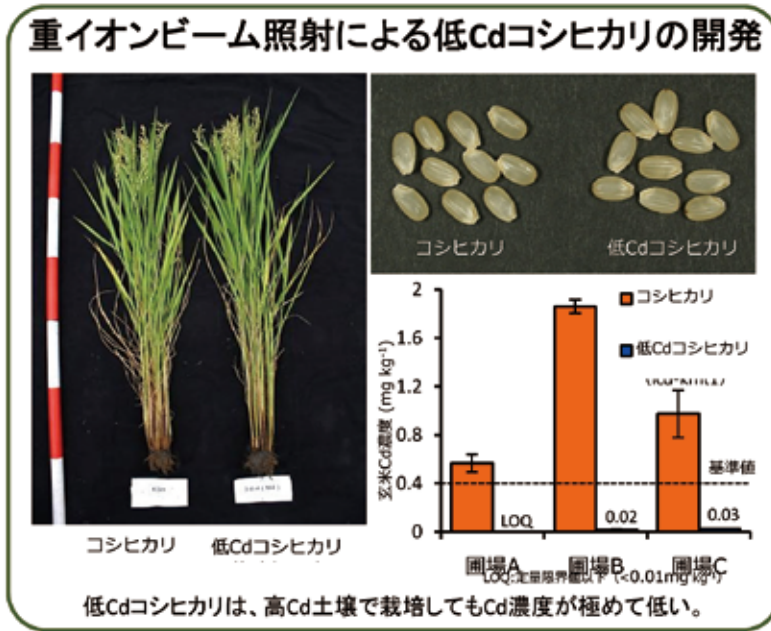
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①開発した低カドミウムコシヒカリ (*lcd-kmt1*) は、低カドミウムという以外は従来のコシヒカリと食味や収量等に差はない。また重イオンビーム照射により得られた突然変異体であり、直ちに従来のコシヒカリと同一の条件で野外栽培可能である。このマーカーも開発したことから、*lcd-kmt1* を各地域のブランド品種と交配することによって新たな低カドミウムイネを開発することも可能である。わらのカドミウム濃度も低いいため、飼料用のイネ品種の開発も期待できる。*lcd-kmt1* を導入すれば、湛水管理によってイネのカドミウム吸収抑制をはかる必要がないので、出穂期前後の落水が可能となり機械収穫作業が容易となるほか、湛水管理によって増加するコメ中ヒ素の低減、温室効果ガスであるメタンの発生削減が期待できる。
- ② *StoNRAMP1* 導入ナスを台木として用いることにより、ナス以外の作物での低カドミウム化も期待できる。
- ③ナスとトルバム・ビガーの遺伝子データベースは、ナス科植物における新たな遺伝子単離に広く利用される。
- ④ここで得られた遺伝子は、低カドミウム作物の作成のためばかりでなく、ファイトレメディエーション用の高カドミウム植物の作成にも利用可能である。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Nakanishi, N., Nishizawa, NK. et al. Low cadmium (LCD), a novel gene related to cadmium tolerance and accumulation in rice. *Journal of Experimental Botany*, 62, 5727-5734, 2011.
- ②Nakanishi, N., Nishizawa, NK. et al. The OsNRAMP1 iron transporter is involved in Cd accumulation in rice. *Journal of Experimental Botany*, 62, 4843-4850. 2011.
- ③Ishikawa, S., Arao, T. et al. Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. *Journal of Experimental Botany*, 60, 2677-2688, 2009.
- ④Fukuoka, H., Yamaguchi, H. et al. Accumulation, functional annotation, and comparative analysis of expressed sequence tags in eggplant (*Solanum melongena* L.), the third pole of the genus *Solanum* species after tomato and potato. *Gene*, 450, 76-84, 2010.
- ⑤特願2011-242041：カドミウム吸収制御遺伝子、タンパク質及びカドミウム吸収抑制イネ：東京大学、農業環境技術研究所

■ 研究成果の具体的図表



■ 研究課題名

食品の安全性評価用超高感度ナノセンサーの開発

■ 研究の目的

食品中の化学物質などが原因で生じるヒトに対する食品の安全性懸念が高まりつつある。現在、多様な食品関連化合物を代謝することにより、これらを毒性代謝物に変換（代謝活性化）する際の主酵素として多様な分子種から成るシトクロム P450 が知られている。そこで本研究では、ヒト P450 を持つナノセンサーを作製し、食品成分に対する P450 の異なる反応性をデータベース化し、食品中の化合物に対する安全性評価へと利用することを目的とした。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①食品の安全性評価用 P450 酵素の調製
（◎今石 浩正／国立大学法人神戸大学 遺伝子実験センター）
- ②食品の安全性評価用ナノチップの作製と P450 活性測定
（小島 正巳／独立行政法人産業総合技術研究所）
- ③ P450 大量発現微生物株を用いた安全性評価用化合物の調製
（有澤 章／日本マイクロバイオファーマ株式会社）



今石浩正

■ 研究の内容・主要な成果

- ①食品代謝に関わる 23 種のヒト P450 分子種の遺伝子クローニングを行い、本組換え大腸菌を用いて各分子種による食品関連化合物の毒性発現機構を明らかにした。
- ②アガロースゲルと酸素センサーを積層化した P450 酸素センサーを用いることにより、P450 酸素センサーの検出感度を従来比約 10 倍（ V_{max} ：3.0 min⁻¹）に上昇させることに成功した。
- ③カビ毒の添加・回収実験により、実食品に対しても本 P450 酸素センサーが利用可能であることを初めて明らかにした。
- ④ P450 酸素センサーから得られた P450 反応パターンを重回帰分析することにより、食品中の毒性化合物の毒性と反応パターンの相関関係を見出すことに成功し、毒性化合物の検出に成功した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①食品流通・食品加工現場における既知の食品関連危険化合物の迅速検出への利用。
- ②食品及び食品関連化合物類の食べあわせにより生じる健康被害の予測と予防への応用。
- ③農林水産物の流通業者や加工業者など、食品毒性評価に携わる多くの事業者による未知の食品危険化合物の一次スクリーニング試験等への応用。

■ 公表した主な特許・論文

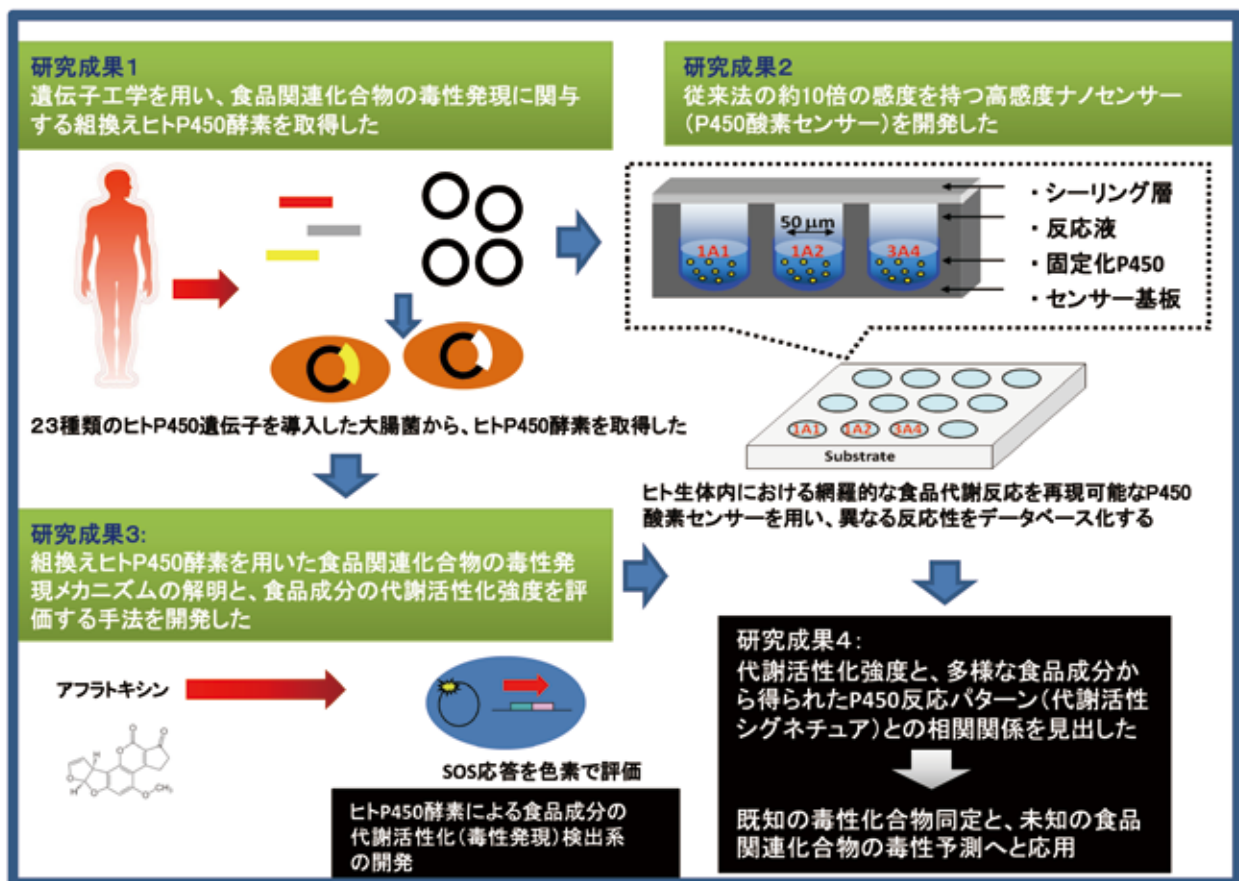
- ①Goto,T.,et al.:The effects of single nucleotide polymorphisms in CYP2A13 on metabolism of 5-methoxypsoralen. Drug Metab. Dispos.38: 2110-2116 (2010)
- ②Chang,G.,et al.:Vertically integrated human P450 and oxygen sensing film for the assays of P450 metabolic activities.Anal. Chem. 83:2956-2963 (2011)
- ③Morigaki,K.,et al.:Photo-regulation of cytochrome P450 activity by using caged compound. Anal. Chem. 84:155-160 (2012)
- ④出願番号：PCT/J2010/064567、発明の名称：固定化チトクロムP450と酸素センサーを有する積層基盤、出願人：神戸大学、産業総合技術研究所

■ 研究成果の具体的図表

食品の安全生評価用超高感度 ナノセンサーの開発



食品添加物やカビ毒の代謝的活性化を行う食品関連化合物代謝活性化酵素 (P450酵素) に着目し、食品中の化合物により生じた毒性を、迅速に評価する新規ナノセンサー開発を行った



波及効果:
既知の食品危険化合物の迅速検出や、食べあわせにより生じる健康被害の予測と予防への利用、また、将来的には、未知の食品危険化合物の一次安全性スクリーニング試験への利用など、食品安全性評価業務全般に対して幅広く応用出来る可能性が示された

■ 研究課題名

植物ウイルスの媒介昆虫・植物間応答機構の解明と制御技術の開発

■ 研究の目的

昆虫により媒介される植物ウイルスについて、昆虫・植物両感染細胞内でのウイルス分子の動態追跡、昆虫側のウイルス媒介に関与する因子の同定、植物側の病徴発現遺伝子及び新規病害抵抗性遺伝子の同定を行い、ウイルスと宿主細胞因子群のせめぎ合いのダイナミズムを体系的に解明し、植物への耐病性導入戦略を構築する。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①植物ウイルスの感染・複製機構の解明及び抵抗性組換え植物の開発
（◎大村敏博 / 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
中央農業総合研究センター）
- ②マイクロアレイ法を用いたウイルス応答反応の解析と育種への応用
（菊池尚志 / 独立行政法人農業生物資源研究所）



大村敏博

■ 研究の内容・主要な成果

- ①イネ萎縮ウイルス（RDV）の12種タンパク質の複製過程における機能と役割を解析し、ウイルス複製に重要な役割を果たすタンパク質遺伝子をRNA干渉の標的として強度抵抗性イネを作出するための方法論を確立した。
- ②イネ縞葉枯ウイルス（RSV）の7種タンパク質各々の機能を抑制する形質転換イネを作出、抵抗性誘導に効果的な標的ウイルス機能の同一ウイルスグループ内での共通性を明らかにし、新たな耐病性導入戦略を構築した。
- ③イネの防御系遺伝子がウイルス共通的に応答し、抵抗性イネ作出に共通の標的となる可能性が示唆された。
- ④イネツングロ球状ウイルス（RTSV）の抵抗性関与遺伝子を同定、RNA干渉法による抵抗性イネ作出法を開発した。
- ⑤これら手法によってアジアに発生する主要6種イネウイルスに対する強度抵抗性イネを作出した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

農業現場での効果的利用に視点を据えた原子・遺伝子・分子レベルから生物の表現型解析に至る多様な基礎研究に立脚し、新たな耐病性導入戦略を構築する本研究手法は、世界のウイルス病制御手法の開発に新たな視点と方法論を提供するものである。特に、ウイルスの複製過程において重要な役割を果たすウイルス遺伝子をRNA干渉の標的とする手法は、作物に殆ど負荷を与えず、草型は原品種と差異がなく、抵抗性は5世代以上遺伝し、かつ複数のウイルス制御が可能であるなど極めて良好な結果を得ており、国際的にも広く利用されるものと考えられる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Shimizu T., et al. Silencing by RNAi of the gene for Pns12, a viroplasm matrix proteins of *Rice dwarf virus*, results in strong resistance of transgenic rice plants to the virus. *Plant Biotechnol. J.* 7: 24-32 (2009)
- ②Lee J.-H., et al. Single nucleotide polymorphisms in a gene for translation initiation factor (eIF4G) of rice (*Oryza sativa*) associated with resistance to *Rice tungro spherical virus*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23: 29-38 (2010)
- ③Wei T., et al. Three-dimensional analysis of the association of viral particles with mitochondria during the replication of *Rice gall dwarf virus*. *J. Mol. Biol.* 410: 436-446 (2011)
- ④Satoh K., et al. Relationship between symptoms and gene expression induced by the infection of three strains of *Rice dwarf virus*. *PLoS One* 6: e18094 (2011)
- ⑤Shimizu T., et al. Targeting specific genes for RNA interference is crucial to the development of strong resistance to *Rice stripe virus*. *Plant Biotechnol. J.* 9: 503-512 (2011)








■ 研究成果の具体的図表

植物ウイルスの媒介昆虫・植物間応答機構の解明と制御技術の開発

宿主植物及び媒介昆虫-ウイルス間の発病・媒介機構等の体系的理解による防除法の開発が急務

アジア地域で発生する9種イネウイルス

これら全てのイネウイルスは媒介昆虫によって伝搬される

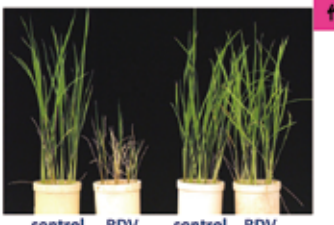
dsRNA (ds:2本鎖)		<i>Phytoreovirus</i>	<i>Rice dwarf virus</i> (RDV)
			<i>Rice gall dwarf virus</i> (RGDV)
		<i>Fijivirus</i>	<i>Rice black streaked dwarf virus</i> (RBSDV)
		<i>Oryzavirus</i>	<i>Rice ragged stunt virus</i> (RRSV)
-ssRNA (ss:1本鎖)		<i>Nucleorhabdovirus</i>	<i>Rice transitory yellowing virus</i> (RTYV)
		<i>Tenuivirus</i>	<i>Rice stripe virus</i> (RSV)
			<i>Rice grassy stunt virus</i> (RGSV)
+ssRNA		<i>Waikavirus</i>	<i>Rice tungro spherical virus</i> (RTSV)
dsDNA		<i>Tungrovirus</i>	<i>Rice tungro bacilliform virus</i> (RTBV)



dsRNAウイルス抵抗性導入戦略

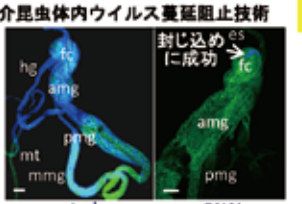
感染に関する宿主遺伝子の探索及びその遺伝子破壊イネが示す抵抗性

構築 作出



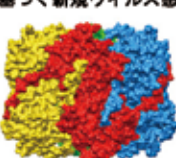
媒介昆虫体内ウイルス蔓延阻止技術

構築 作出



ウイルス複製工場の三次元構造解析に基づく新規ウイルス感染阻止技術

構築




新規製薬標的候補
機能欠損タンパク質
発現による競合阻害

viroplasm matrix protein

ウイルス複製工場の分子解剖結果から考案したRNA干渉イネの完全抵抗性

構築 作出



-ssRNAウイルス抵抗性導入戦略

RNA干渉標的のウイルス遺伝子の選抜

構築

標的遺伝子によって抵抗性程度異なる



感染にキーとなる遺伝子に対するRNA干渉イネの完全抵抗性

構築 作出



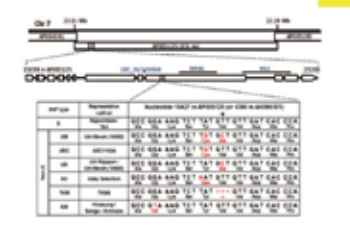
ツングロウイルス抵抗性導入戦略

RTBV抵抗性遺伝子のマッピング

構築

RTSV抵抗性遺伝子の同定・単離

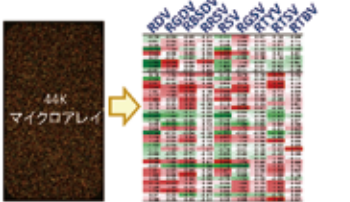
構築



新規防御関連遺伝子を用いた戦略

構築


44Kマイクロアレイシステムによるウイルス感染に伴う病徴発現遺伝子及び防御関連遺伝子を選抜



複合ウイルス抵抗性導入戦略





2種ウイルスに対する完全複合抵抗性

構築 作出



同一昆虫媒介性複数ウイルスに応用可能

媒介昆虫 ウイルス

-  *Rice black streaked dwarf virus* (RBSDV)
-  *Rice stripe virus* (RSV)
-  *Rice ragged stunt virus* (RRSV)
-  *Rice grassy stunt virus* (RGSV)

期待される農業分野への貢献と波及効果

- ウイルス病制御手法に新たな視点と方法論を提供
- 抵抗性導入戦略を各種栽培品種へ応用することにより安定的な食料生産に貢献

■ 研究課題名

植物病原細菌の病原性糖タンパク質糖鎖の構造解析と病害防除への利用

■ 研究の目的

植物病原細菌の運動能・病原性に必要な糖タンパク質、フラジェリンとピリンについて糖鎖構造を解明し、病原性や抵抗性誘導能との関係を解析するとともに、糖鎖の生合成経路を解明し、病原性発現に必要なタンパク質・遺伝子を同定する。これら病原性の理解により、病原性発現を抑制する静菌剤の開発に繋がる知見を得ることを目的とする。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①植物病原細菌の糖鎖変異株の作出と機能の解明
（◎一瀬勇規／岡山大学大学院自然科学研究科）
- ②植物病原細菌の病原性糖鎖構造の解明
（吉田 充／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）



一瀬勇規

■ 研究の内容・主要な成果

- ①植物病原細菌のフラジェリン糖鎖修飾は一般的現象であることを明らかにし、タバコ野火病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) やダイズ斑点細菌病菌 (*P. syringae* pv. *glycinea*) などフラジェリン糖鎖の構造、合成経路、糖鎖修飾に必要な全遺伝子を同定した。また、フラジェリン糖鎖修飾は鞭毛の安定性・運動能に重要であり、菌体密度感知機構の活性化を介して病原性関連遺伝子の発現を誘導することを明らかにした。
- ②タイプ4線毛を構成するピリンはバイオフィルムの形成に必要で、特定の菌株においては糖鎖修飾され、固体表面における運動能に機能し、*hrp* など病原性関連遺伝子の発現誘導に必要であることを見出した。
- ③ケミカルライブラリーから鞭毛運動能を抑制し、発病抑制効果を有する3種の化合物を選抜した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

植物病原細菌の鞭毛や線毛を構成する主要タンパク質の糖鎖修飾は、鞭毛や線毛の安定性を高め、運動能・病原性に必要であることを明らかにし、糖鎖修飾や運動能の制御が病原性の制御になり得ることが判明した。運動能を抑制し、病原性制御効果も有する化合物を見出したので、今後、環境低負荷型病害防除剤としての開発が期待される。また、動物病原細菌においてもフラジェリン糖鎖が病原性に必要だという報告があるので、家畜・ペット、水産業などにおける細菌病の制御やヒトの医薬開発にも応用が期待される。

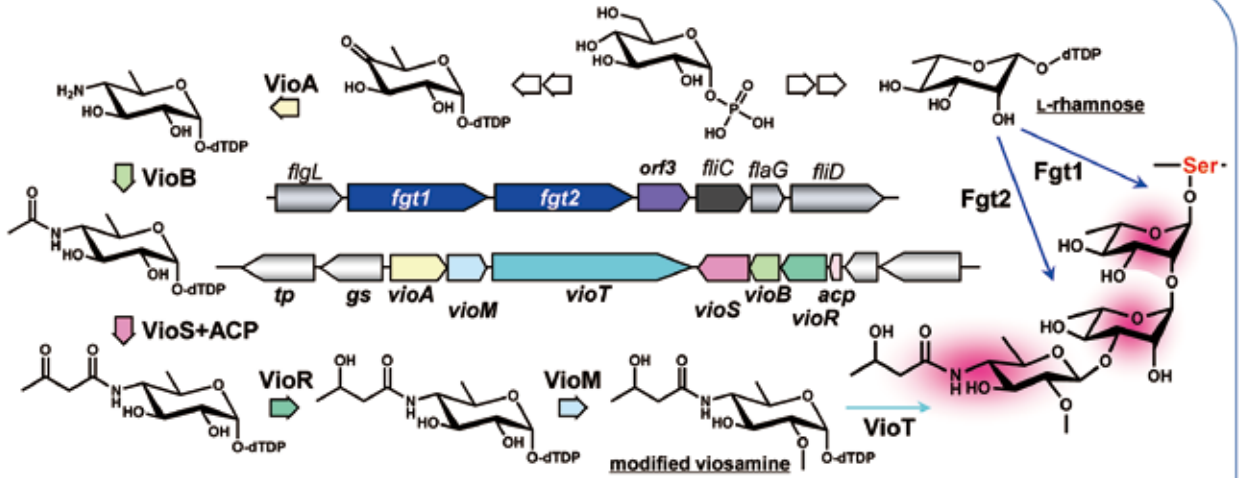
■ 公表した主な特許・論文

- ①Taguchi, F. et al., Effects of glycosylation on swimming ability and flagellar polymorphic transformation of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605. *J. Bacteriol.* 190: 764-768 (2008)
- ②Konishi, T. et al., Structural characterization of an O-linked tetrasaccharide from *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* flagellin. *Carbohydrate Research* 344: 2250-2254 (2009)
- ③Nguyen, L.C. et al., Genetic analysis of genes involved in synthesis of modified 4-amino-4,6-dideoxyglucose in flagellin of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Mol. Gen. Genomics* 282: 595-605 (2009)
- ④Taguchi, F. et al., Glycosylation of flagellin from *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605 contributes to evasion of host tobacco plant surveillance system. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 74: 11-17 (2009)
- ⑤Taguchi, F. et al., Defects in flagellin glycosylation affect the virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605. *Microbiology* 156: 72-80 (2010)

■ 研究成果の具体的図表

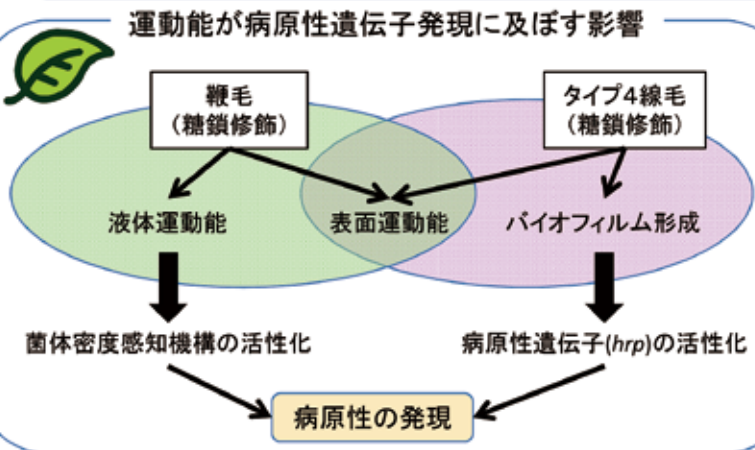
植物病原細菌の病原性糖タンパク質糖鎖の構造解析と病害防除への利用

鞭毛タンパク質フラジェリンの糖鎖修飾機構と構造の解明

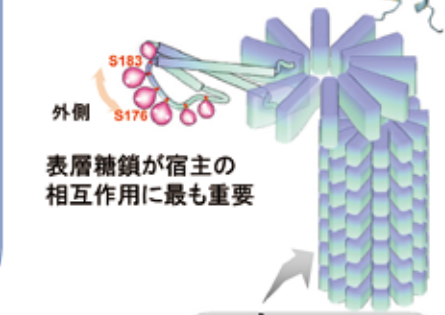


フラジェリン糖鎖修飾に必要な全遺伝子を同定

フラジェリンの糖鎖修飾は細菌で一般的な事象であることを証明した。糖鎖修飾を阻害すると鞭毛の安定性が低下し、運動能・病原性が抑制される。



フラジェリン糖鎖は鞭毛表層に位置する

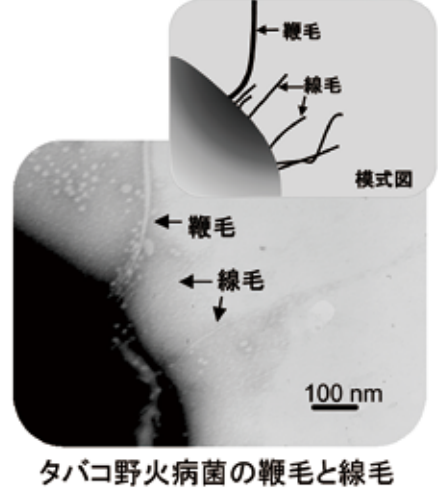


表層糖鎖が宿主の相互作用に最も重要

運動能・病原性阻害効果を有する化合物の発見

<病原性の抑制効果>

<固体表面における運動能の抑制効果>



新しい植物病原性制御剤の開発

■ 研究課題名

植物免疫シグナル分子を利用した高精度耐病性植物の創生

■ 研究の目的

本研究課題では、植物免疫シグナルネットワークの上流に位置する植物免疫因子を用いることにより、効率的に複数の防御反応を協調的に誘導するシステムを構築する。複合的な耐病性反応の付与により、病原体の新規なレースの発生を抑えることが可能になる。さらに、植物が共通にもつ耐病性の分子機構の解明により、食用作物だけではなく、新エネルギー資源として期待されているバイオマス植物の開発のための耐病性技術を提案する。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①病原体侵入認識と低分子量 G タンパク質シグナルの解明と応用
（◎川崎 努／近畿大学農学部）
- ②植物免疫におけるタンパク質リン酸化機構の解明と応用
（吉岡博文／名古屋大学大学院生命農学研究科）
- ③耐病性植物の検定と評価
（林 長生／（独）農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究センター 耐病性作物研究開発ユニット）



川崎 努

■ 研究の内容・主要な成果

- ①病原菌エフェクターを利用して、病原菌認識から抵抗性発現に至る過程で働く新規な植物免疫因子を発見し、病原菌認識受容体から信号が伝達される仕組みを解明した。
- ②低分子量 G タンパク質 Rac の活性化因子を応用することで、耐病性誘導システムを構築することに成功した。
- ③植物免疫シグナルである ROS や NO が、MAP キナーゼによって制御されるメカニズムを明らかにした。
- ④ WRKY 型転写因子が MAP キナーゼによってリン酸化される仕組みを解明し、耐病性誘導システムを構築することに成功した。

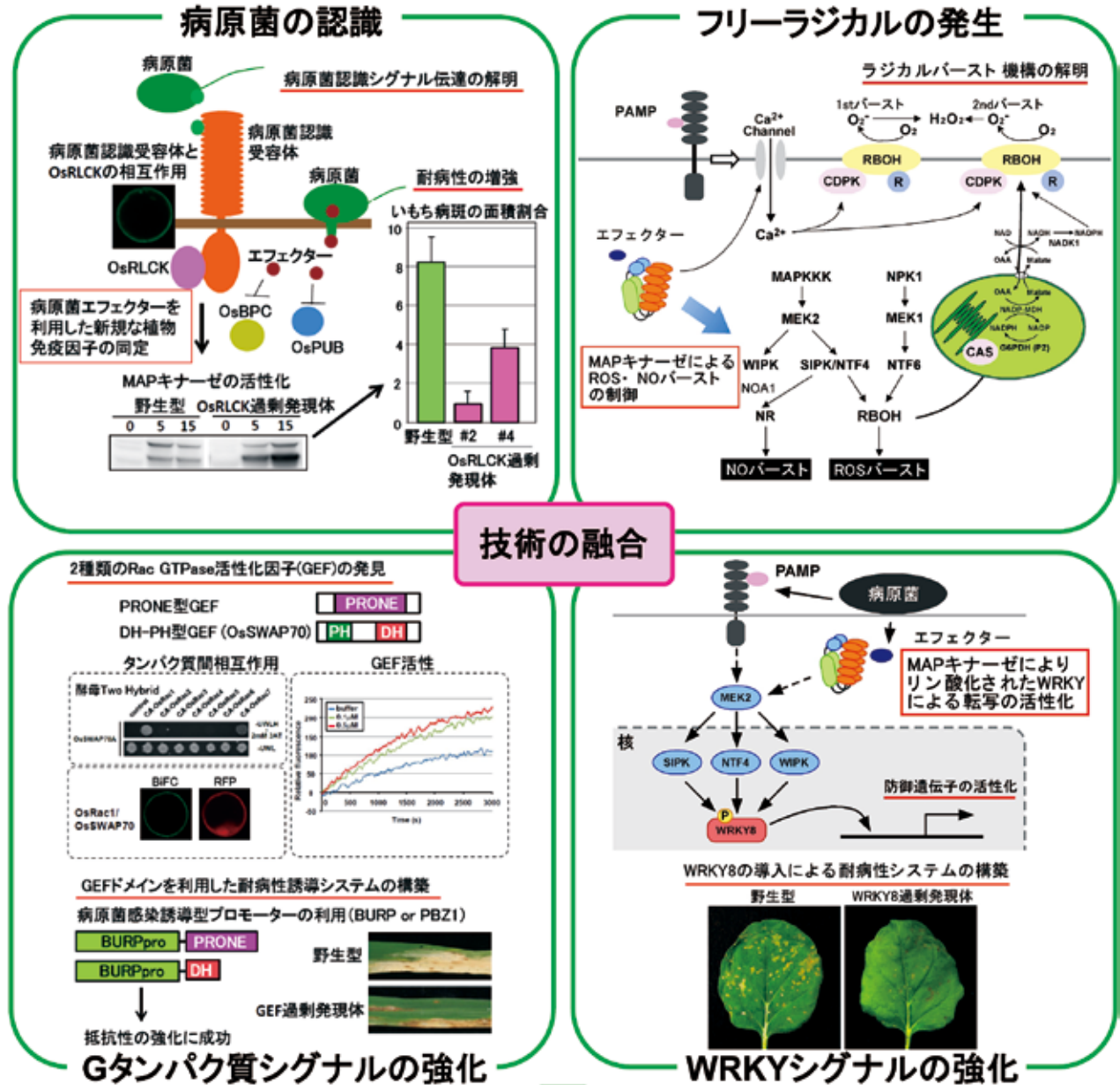
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

植物免疫因子の活性化を利用して、植物自身が進化させてきた複合的な抵抗性反応を効率よく誘導するシステムを構築した。また、この技術を利用することで、病原体の種類や病原体の進化に左右されずに持続的な抵抗性を発揮する植物を創生することができ、食用作物やバイオマス植物の安定生産に大きく貢献できる。さらに、新たに解明した耐病性誘導システムの活用によって、植物免疫因子を活性化する環境低負荷型農薬の開発も可能となる。

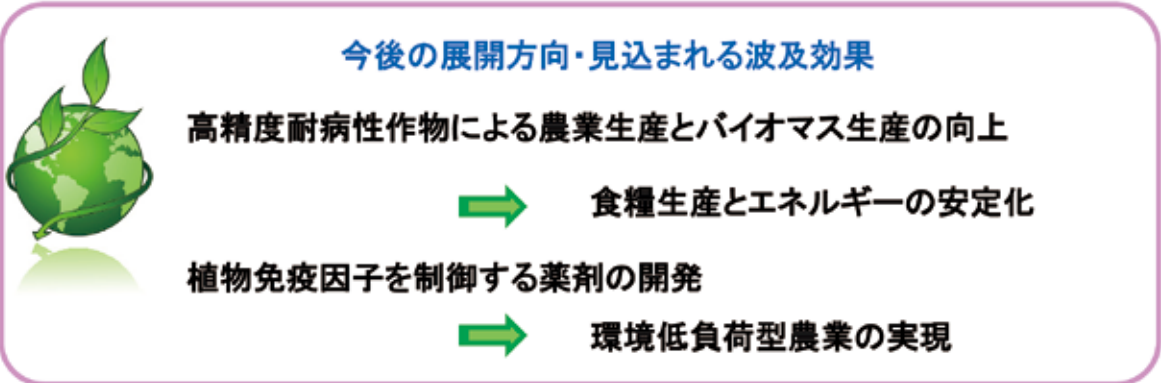
■ 公表した主な特許・論文

- ①Yamaguchi K. et al.: SWAP70 functions as a Rac/Rop guanine nucleotide exchange factor in rice. Plant J (in press)
- ②Kawano Y. et al.: Activation of a Rac GTPase by the NLR family disease resistance protein Pit plays a critical role in rice innate immunity. Cell Host Microbe 7: 362-375 (2010)
- ③Chen L. et al.: Hop/Sti1 and HSP90 are involved in maturation and transport of a PAMP receptor in rice innate immunity. Cell Host Microbe 7: 185-196 (2010)
- ④Ishihara N. et al.: Phosphorylation of the *Nicotiana benthamiana* WRKY8 transcription factor by MAPK functions in the defense response. Plant Cell 23: 1153-1170 (2011)
- ⑤Asai S. et al.: MAPK signaling regulates nitric oxide and NADPH oxidase-dependent oxidative bursts in *Nicotiana benthamiana*. Plant Cell 20: 1390-1406 (2008)

■ 研究成果の具体的図表



持続可能な病害抑制システムの構築



■ 研究課題名

CLE ペプチド類の作物への応用のための基盤研究

■ 研究の目的

新規ペプチド性ホルモンである CLE ペプチドは、植物界に広く存在し、多様な、しかし、これまでの植物ホルモンとは異なる働きをしていることが予想された。そこで、本研究では、この新規 CLE ペプチド類の網羅的な機能解析とその働きの根本原理の解明を行う。さらに、これらの結果に基づき、ペプチドの改変、ペプチド受容体の改変を行うことで作物の機能性向上の基盤を整えることを目的とする。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ① CLE ペプチドの茎頂・維管束・根・根粒における機能解析
（◎福田裕穂、澤進一郎、伊藤恭子、平野博之、川口正代司／東京大学大学院理学系研究科）
- ② CLE ペプチドの化学生物学的研究
（坂神洋次、松林嘉克／名古屋大学大学院生命農学研究科）
- ③ CLE ペプチドによる根の生長制御と窒素代謝の相互作用
（高橋秀樹／理化学研究所植物科学研究センター）



福田裕穂

■ 研究の内容・主要な成果

- ① 多様な実験系を開発し、植物の成長に関わる CLE ペプチドの多様な機能を見いだすとともに、そのシグナル伝達系を明らかにした。これらの中で、高温により花粉管中に誘導され、種子の結実を向上させる CLE ペプチドのシグナル系を発見したことによって、高温による稔性低下を抑える技術開発の基盤が得られた。
- ② CLE ペプチドの構造解析から CLE ペプチドの新規糖鎖付加構造を発見し、これが活性型であることを証明するとともに、CLV1, TDR, SKM1, SKM2 などの CLE ペプチド受容体を同定した。さらに、この受容体の機能優性抑制型がペプチドシグナル経路を抑制することを解明し、受容体の改変によって農業技術に応用する道を拓いた。
- ③ 改変型 CLE ペプチドの生理活性を、新たに開発した生物検定系を用いて評価し、ペプチドの構造と生理活性との相関を明らかにするとともに、新規のアゴニスト（作動物質）であるペプトイド 12 を創製した。この技術開発により、CLE ペプチドの作物成長調節剤等の農薬としての応用に向けた基盤が得られた。
- ④ 窒素シグナルによる根の成長制御に特定の CLE ペプチドシグナル系が中心的な役割を果たしていることを明らかにし、このシグナル系の改変による根の成長制御への道を拓いた。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

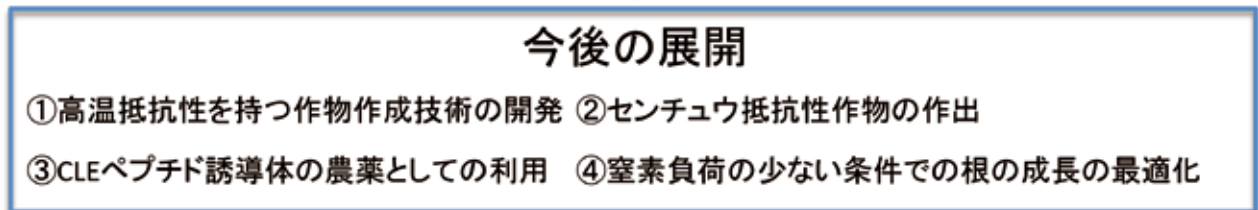
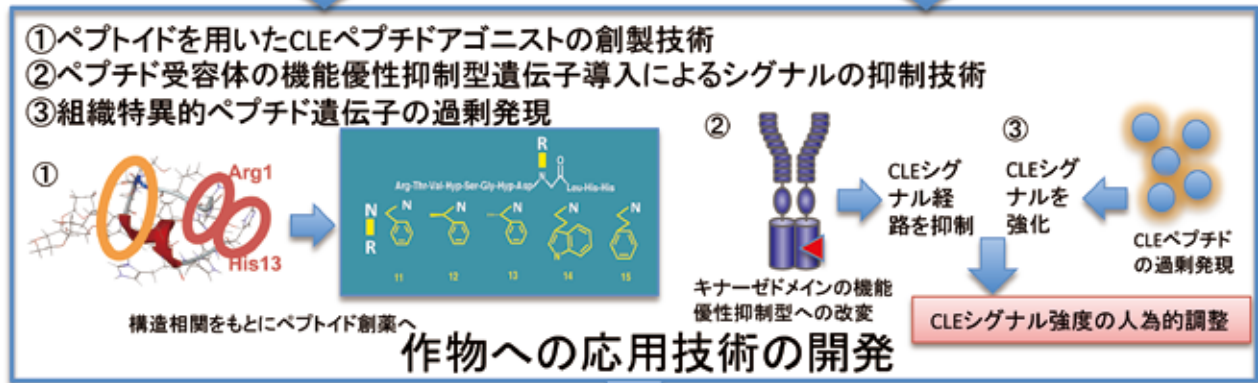
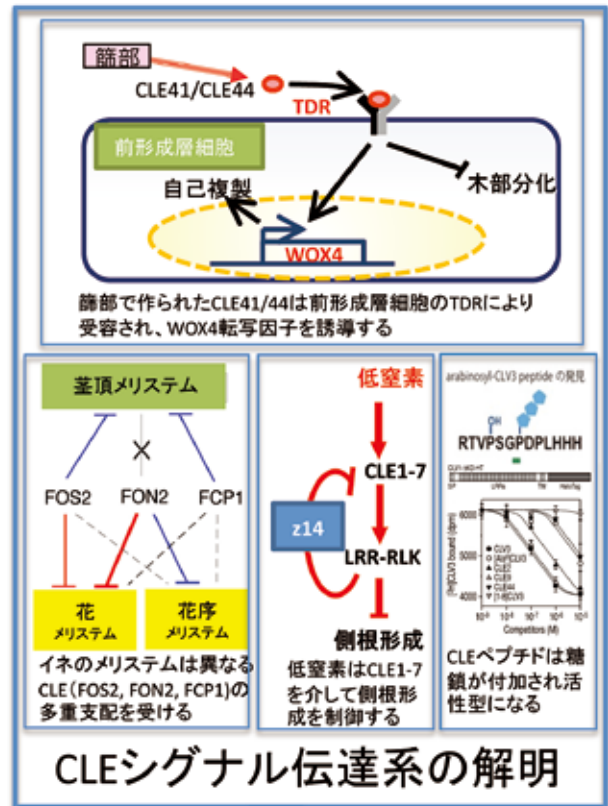
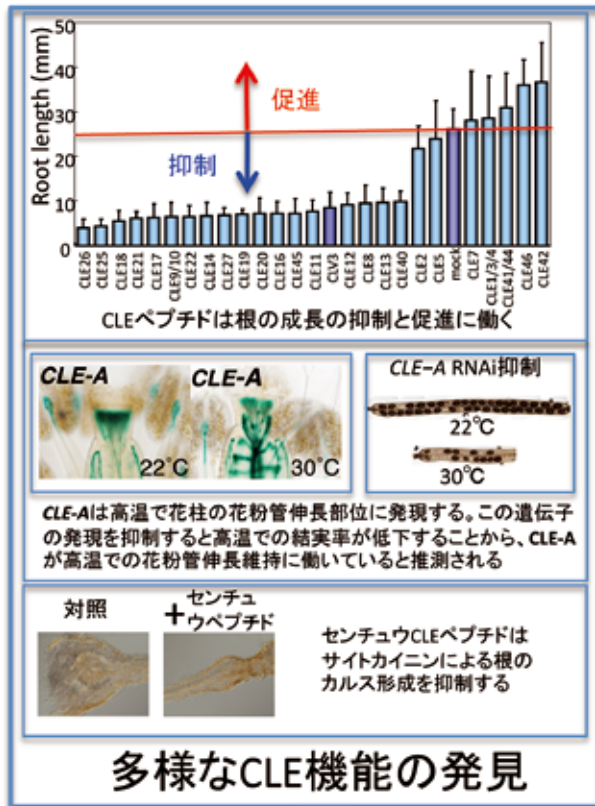
- ① 高温に抵抗性を持つ作物作成技術の開発が可能になった。
- ② センチュウ CLE ペプチドに対する受容体の改変によるセンチュウ抵抗性作物の作出が期待される。
- ③ CLE ペプチド誘導体のさらなる改変により、農薬としての展開が期待される。
- ④ CLE ペプチドシグナル改変により、窒素負荷の少ない条件下での根の成長の最適化技術に利用可能である。

■ 公表した主な特許・論文

- ① Hirakawa, Y. et al.: Non-cell-autonomous control of vascular stem cell fates by a CLE peptide/receptor system. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105: 15208-15213 (2008)
- ② Ogawa, M. et al.: Arabidopsis CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain. Science, 319: 294 (2008)
- ③ Ohyama, K. et al.: A glycopeptide regulating stem cell fate in *Arabidopsis thaliana*. Nature Chem. Biol., 5: 578-580 (2009)
- ④ Hirakawa, Y. et al.: TDF peptide signaling regulates vascular stem cell proliferation via the *wox4* homeobox gene in Arabidopsis. Plant Cell, 22: 2618-2629 (2010)

■ 研究成果の具体的図表

CLEペプチド類の作物への応用のための基盤研究



■ 研究課題名

精原細胞移植を用いた代理親魚技法の構築：サバにマグロを生ませる

■ 研究の目的

マグロの配偶子を、短期間で成熟する小型の代理親魚に生産させる技術の構築を目指す。そのため、研究代表者らが開発した精原細胞の移植によりヤマメにニジマスを生ませる技法を、マグロ生産に応用する技術の開発にチャレンジする。さらに、シャーレの中で増殖させたマグロ精原細胞を、内在性生殖細胞を除去したサバ等の宿主に移植することで、シャーレ内の細胞に由来するマグロの卵・精子を生産する代理親魚の生産を目指す。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①海産魚における生殖細胞移植系の構築
（竹内裕、◎吉崎悟朗／東京海洋大学海洋科学部）
- ②海産魚精原細胞の *in vitro* 培養系の構築
（◎吉崎悟朗、竹内裕／東京海洋大学海洋科学部）
- ③内在性生殖細胞を欠如した宿主魚の大量生産
（◎吉崎悟朗、竹内裕／東京海洋大学海洋科学部）



吉崎悟朗

■ 研究の内容・主要な成果

- ①クロマグロの精原細胞をフローサイトメーター（FCM；細胞分取装置）、あるいは培養皿底面への接着性を利用して濃縮する技法を開発した。
- ②クロマグロの精原細胞をスマ等の亜熱帯性サバ科魚類へと移植することで、移植細胞が宿主生殖腺へ着生し、長期間にわたり生存、さらには減数分裂を開始することを見出した。
- ③精巣から酵素処理により単離した精原細胞を *in vitro* で短期間培養することで、宿主への移植効率が飛躍的に高まることを見出した。
- ④ニジマスを用いた Cre/loxP（DNA の部位特異的組換え）システムを構築し、生殖細胞で特異的に毒素を生産させ、これらの細胞を除去する系の基盤作りを行った。
- ⑤クロマグロの生殖細胞マーカー、減数分裂マーカーを単離、さらには抗体を作成し、宿主生殖腺内でクロマグロ由来の生殖細胞を探索し、その成熟状況を同定する方法を開発した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①本課題で作出したスマを継続飼育することで、クロマグロ配偶子の生産が期待できる。これが実現すれば、クロマグロ受精卵の供給が大幅に簡略化可能である。
- ②本課題で開発した海産魚仔魚への精原細胞移植技術を応用することで、多くの水産上有用種の受精卵供給を、飼育が容易な代理親魚に託すことが可能になる。実際にすでにアジ科魚類やフグ科魚類へ本技法は応用され、移植細胞に由来する配偶子を代理親魚が生産するに至っている。

■ 公表した主な特許・論文

- ①K. Kise, et al. Flow-cytometric isolation and enrichment of teleost type-A spermatogonia based on light-scattering properties. *Biol. Reprod.* in press.
- ②G.. Yoshizaki, et al. Sexual plasticity of ovarian germ cells in rainbow trout. *Development* 137: 1227-1230 (2010)
- ③R. Yazawa, et al. Chub mackerel gonads support colonization, survival, and proliferation of intraperitoneally transplanted xenogenic germ cells. *Biol. Reprod.* 82: 896-904 (2010)
- ④K. Nagasawa, et al. cDNA cloning and expression analysis of vasa-like gene in pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Fish. Sci.* 75:71-79 (2009)
- ⑤Y. Takeuchi, et al. Development of spermatogonial cell transplantation in Nibe croaker, *Nibea mitsukurii*(Perciformes, Sciaenidae). *Biol. Reprod.* 81:1055-1063 (2009)

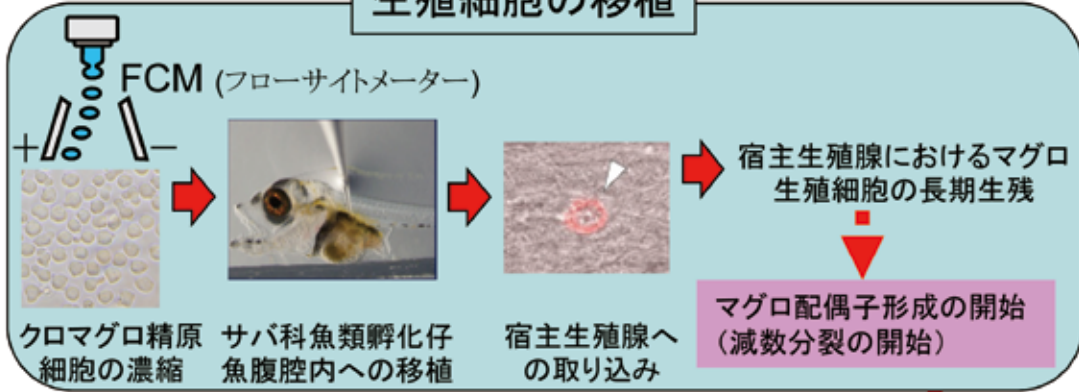
■ 研究成果の具体的図表

精原細胞移植を用いた代理親魚技法の構築：サバにマグロを生ませる

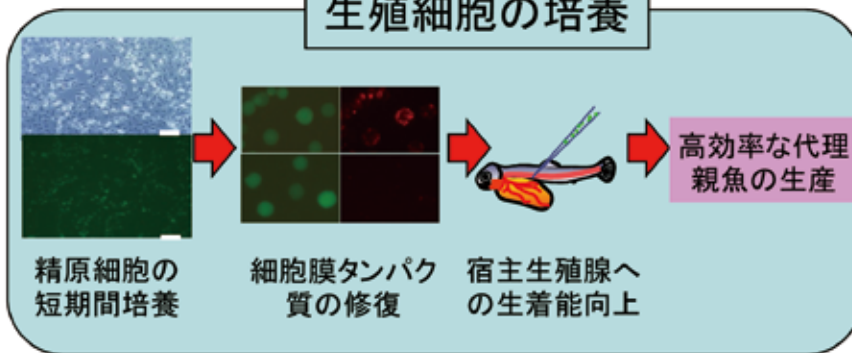
研究目的

- ① クロマグロの生殖細胞を移植することで、代理の親魚にクロマグロの配偶子を生産させる技術の構築
- ② 移植用のクロマグロ生殖細胞を培養皿の中で増やす技術の開発
- ③ 個体内で遺伝子を組み換える技法を開発し、これを利用することで自らの配偶子を作らない宿主を作出する

生殖細胞の移植



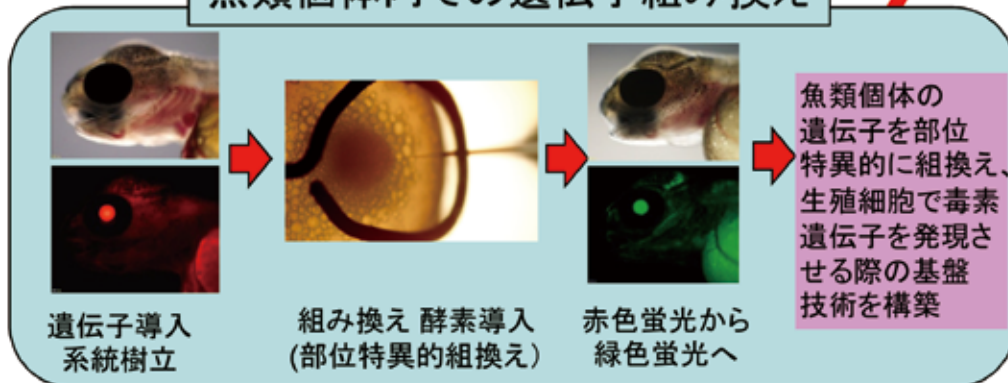
生殖細胞の培養



展望

培養皿で増やしたマグロ細胞を生殖細胞欠損サバ宿主へ移植
 ↓
 サバからマグロの生産へ

魚類個体内での遺伝子組み換え



■ 研究課題名

動物種を超えた繁殖制御を可能とするメタスチンの生理機能解析

■ 研究の目的

メタスチン（キスペプチン）は、性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）の分泌を直接刺激し、動物の繁殖を第一義的に制御する神経ペプチドであると考えられる。本研究は、メタスチンの繁殖における生理作用とその種を超えたメカニズムをマウス、ラット、ヤギ、メダカなど多様なモデルを用いて明らかにすることを目的とする。本研究の究極の目標は、種を超えた強力な繁殖機能刺激剤としてメタスチンとその誘導体等を応用し、効率的に家畜や食用魚を生産し、畜産業や水産業の発展等に資することである。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①げっ歯類モデルを用いたメタスチンの作用解明とウシの繁殖機能制御法開発
（◎前多 敬一郎／国立大学法人名古屋大学農学国際教育協力研究センター・大学院生命農学研究科）
- ②ヤギを用いたメタスチンの作用メカニズムの解明
（岡村 裕昭／独立行政法人農業生物資源研究所）
- ③硬骨魚類脳内メタスチン神経系による GnRH ニューロン調節のメカニズム
（岡良隆／国立大学法人東京大学大学院理学系研究科）



前多敬一郎

■ 研究の内容・主要な成果

- ①視床下部前方（前腹側室周囲核／視索前野）のメタスチンニューロン群が、GnRH サージ中枢として、排卵を制御することを発見した。
- ②視床下部後方（弓状核）のメタスチンニューロン、すなわちキスペプチン／ニューロキニン B/ダイノルフィン（KNDy）ニューロンが、GnRH パルス中枢として卵胞発育を制御することを提唱した。
- ③魚類にはメタスチン遺伝子として kiss1 および kiss2 の 2 種が存在する事を発見し、魚種によって kiss1/kiss2 神経系の生殖調節機能が異なることを発見した。
- ④生殖の中枢メカニズムの完全解明のためのツールとして、各種遺伝子改変動物の作製に成功した。

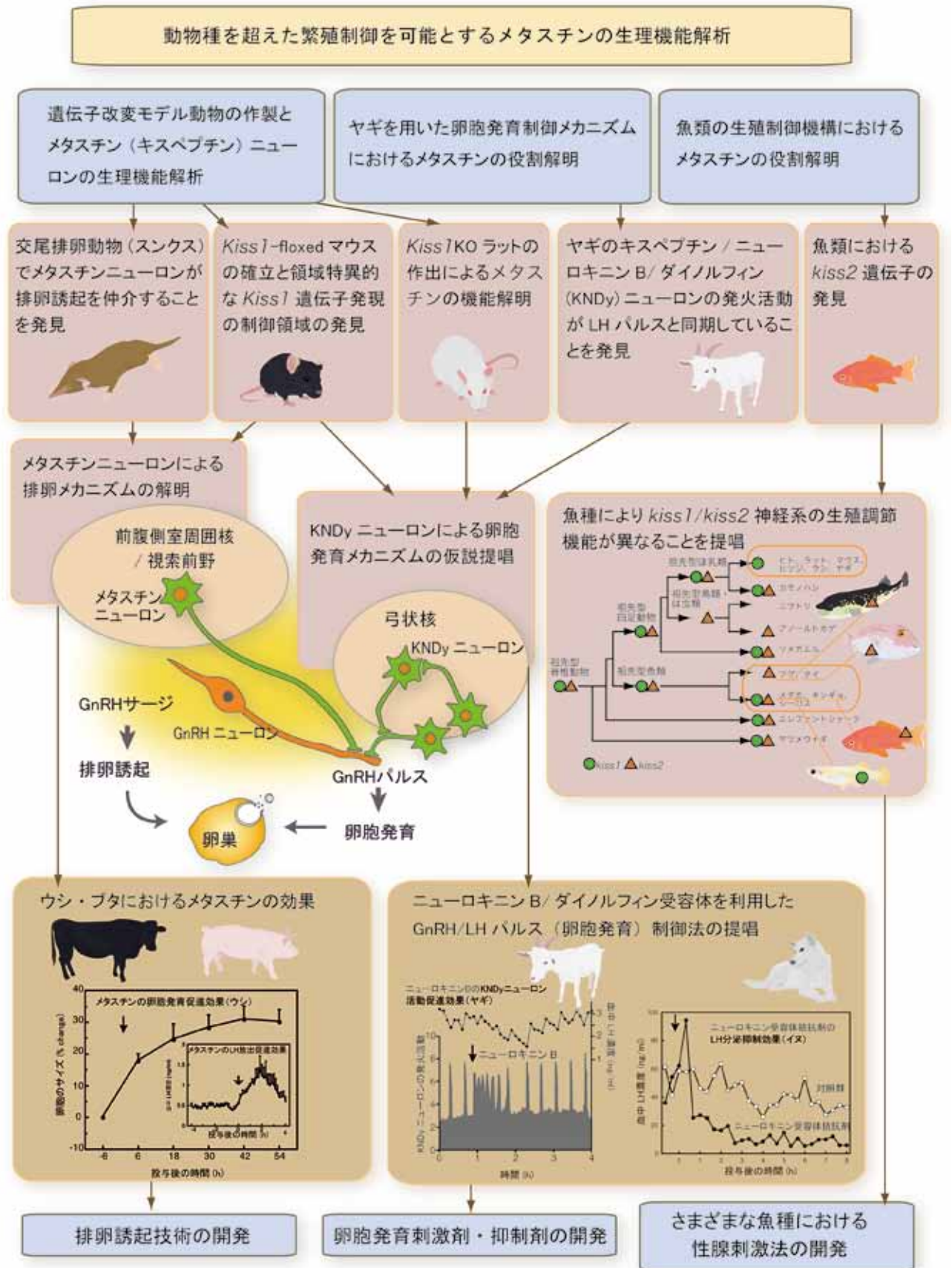
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

本研究成果により、新たな排卵誘起技術や卵胞発育刺激剤（家畜に応用）あるいは性腺機能抑制剤（有害野生動物に応用）の開発が可能となった。さらに、2種類のメタスチンを使い分けることにより、さまざまな魚種における性腺刺激法の実現が可能となった。加えて、本研究で作製した各種遺伝子改変動物を用いて生殖の中枢メカニズムの完全解明が可能となった。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Mitani et al.: Hypothalamic kiss1 but not kiss2 neurons are involved in estrogen feedback in medaka (*Oryzias latipes*). *Endocrinology* 151: 1751-1759 (2010)
- ②Wakabayashi et al.: Neurokinin B and dynorphin A in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *J. Neuroscience* 30: 3124-3132 (2010)
- ③Maeda et al.: Neurobiological mechanisms underlying GnRH pulse generation by the hypothalamus. *Brain Research* 1364: 103-115 (2010)
- ④Inoue et al.: Kisspeptin neurons mediate reflex ovulation in the musk shrew (*Suncus murinus*). *PNAS* 108: 17527-17532 (2011)

■ 研究成果の具体的図表



■ 研究課題名

バイオエネルギー生産のためのシロアリ共生系高度利用技術の基盤的研究

■ 研究の目的

非可食性バイオマスを生物学的な過程のみを用いてほぼ完全に分解利用しているシロアリをターゲットとしたバイオマス利用技術開発を目指した。シロアリの中腸と後腸という2つの独立糖化システムを包括的に解明し、さらに高度なタンパク質発現法を援用することにより、その人工再構成のための資源を得る。それによって、非可食性バイオマスを実用的バイオエタノール供給源とするための技術基盤を構築する。

■ 研究項目・実施体制 (◎は研究代表者)

- ①木質資源利用に必要な遺伝子資源の包括的な開発
(理化学研究所 守屋 繁春◎)
- ②酵素遺伝子の高度組換え発現と有用物質生産エージェントの確立
(東京大学 有岡 学)
- ③シロアリ消化系をモデルとした木質バイオマス総合利用システムの確立
(農業生物資源研究所 渡辺 裕文・琉球大学 徳田 岳)



守屋繁春

■ 研究の内容・主要な成果

- ①シロアリ共生原生生物のシングルセルゲノム解析パイプラインを構築した (図1)
- ②シロアリ中腸の囲食膜構造とそこでの酵素配置に基づく連続反応機構を解明した (図2)
- ③従来型の酵素に比べ10倍以上の高比活性をもつセルラーゼ等をシロアリおよびその共生系から得た (図3)
- ④従来型酵素の活性を倍増させる糖化促進因子を獲得した
- ⑤シロアリ由来高機能タンパク質の麹菌での発現・利用基盤の構築を行った

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①シングルセルゲノム解析パイプラインにより環境有用遺伝子資源獲得・応用の大幅な促進が期待される
- ②新たな原理に基づく高効率糖化リアクターの設計への展開が可能となった
- ③糖化システムのタンパク質を本研究の成果物で置き換えることで糖化効率を大幅アップの可能性
- ④リグニンが存在する実バイオマスでの生化学糖化プロセス構築への展開が今後見込まれる
- ⑤日本独自の麹菌による固相培養を応用した、将来的な小規模分散型糖化プロセスへの可能性が拓かれた

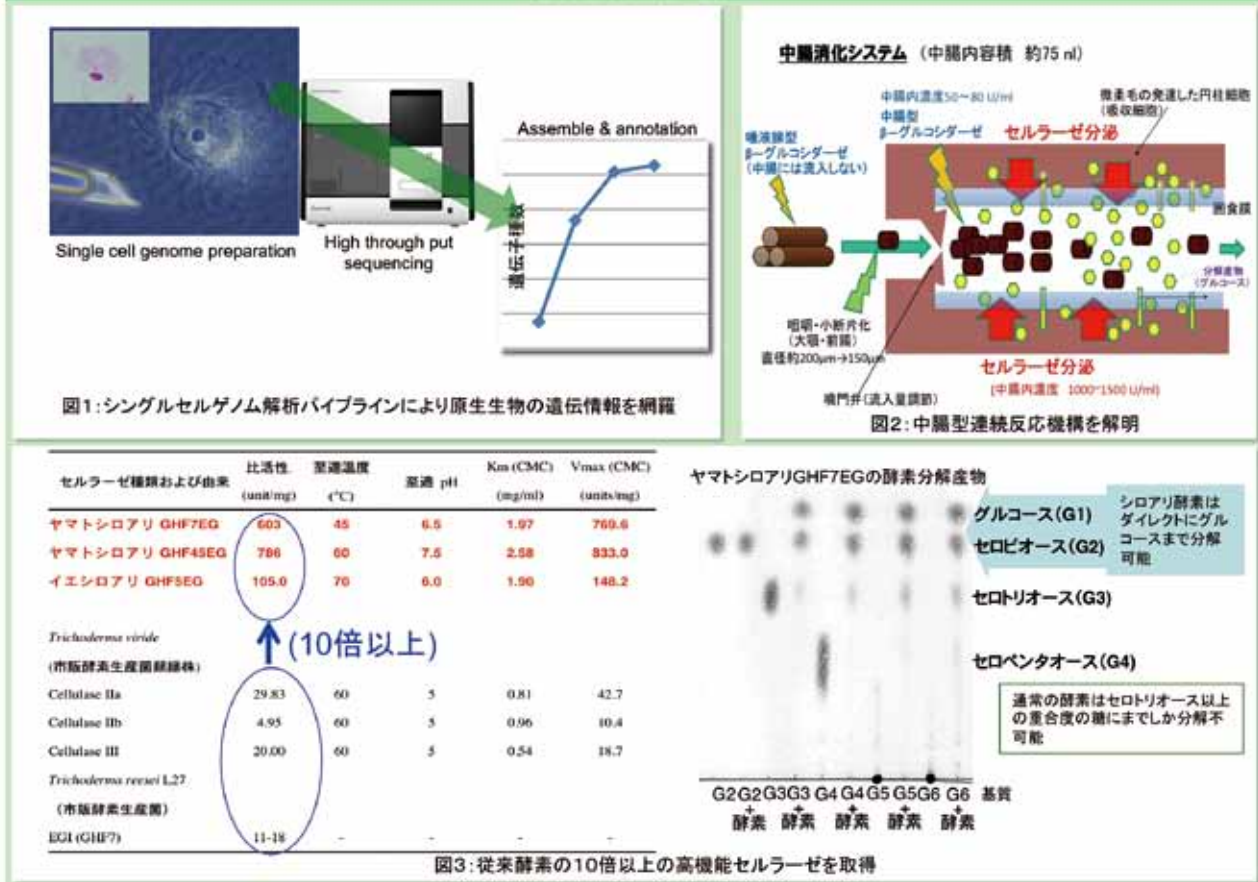
■ 公表した主な特許・論文

- ①Y. Hongoh: Toward the functional analysis of uncultivable, symbiotic microorganisms in the termite gut: *Cell. Mol. Life Sci.*, 68: 1311-1325 (2011)
- ②G. Tokuda et al.: Cellulolytic environment in the midgut of the wood-feeding higher termite *Nasutitermes takasagoensis*: *J. Insect Physiol.*, 58: 147-154 (2012)
- ③N. Todaka et al.: Heterologous expression and characterization of an endoglucanase from a symbiotic protist of the lower termite, *Reticulitermes speratus*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 160: 1168-1178 (2010)
- ④C.A. Uchima et al.: Heterologous expression and characterization of a glucose-stimulated β -glucosidase from the termite *Neotermes koshunensis* in *Aspergillus oryzae*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 89: 1761-1771 (2011)
- ⑤J. Yoon et al.: Disruption of ten protease genes in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* highly improves production of heterologous proteins: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 89: 747-759 (2011)

■ 研究成果の具体的図表



具体的成果の例



■ 研究課題名

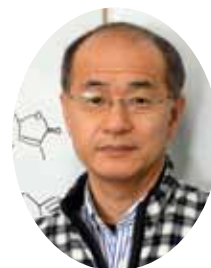
有用物質・遺伝子・形質の探索と応用を目指した植物ケミカルバイオロジー研究

■ 研究の目的

植物ホルモン機能制御剤を創製し遺伝子変異の代替として遺伝学に応用することにより、通常は困難が伴う多重変異体と同等の変異体探索とその原因遺伝子解明を行い、いままで見逃されていた穀物栽培上有用な形質を与える新しい機能性遺伝子を明らかにする。また、遺伝子の有用性（収量増加性、病虫害抵抗性）についてイネを用いて検証を行う。同時に、創製した機能制御剤を新しい概念・利用法を有する新規植物生長調節剤への開発可能性を高める。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①植物ホルモン機能制御剤の創製と遺伝学への応用
（研究分担者：◎浅見 忠男、中嶋正敏／東京大学大学院農学生命科学研究科）
- ②ブラシノステロイド(BR)情報伝達機構のケミカルジェネティクス研究とイネへの応用研究
（中野雄司、藤岡昭三、瀬戸秀春／理化学研究所・基幹研究所・生体膜研究室）
- ③植物ホルモン関連新規遺伝子のイネにおける機能解明と有用性の検討
（研究分担者：森 昌樹／農業生物資源研究所・耐病性作物研究開発ユニット）



浅見忠男

■ 研究の内容・主要な成果

- ①植物ホルモン機能制御剤（ストリゴラクトン(SL)生合成阻害剤、SL ミミック、ジベレリン (GA) 受容体阻害剤、GA ミミック）を創製するとともに、植物ホルモン機能性制御剤に対して非感受性の変異体を単離しその原因遺伝子を同定した。
- ②シロイヌナズナ BR 情報伝達変異体の原因遺伝子（8種のBIL）の単離、BR 情報伝達機能の解明およびシロイヌナズナ bil 遺伝子群のイネにおける有用形質を確認した。
- ③イネ BR 関連6 遺伝子の機能を解析するとともに、BR シグナル制御によるイネ種子の大粒化及び100 粒重の増大、また、ストリゴラクトン生合成阻害剤のイネにおける有用性を実証した。

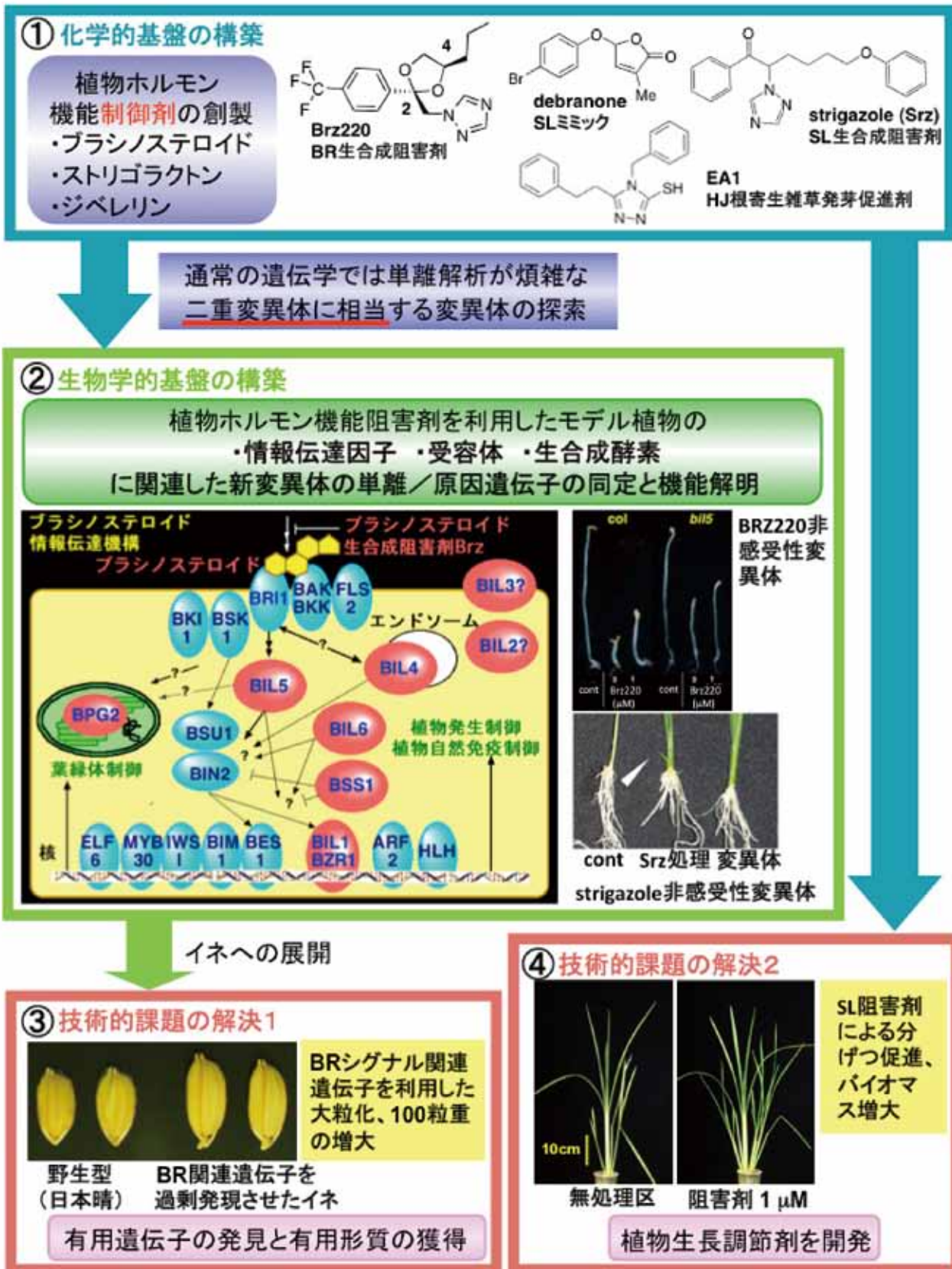
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

創製した植物ホルモン機能制御剤そのもの、そして化合物の利用により得られる遺伝子を単独もしくは化合物と協調的に用いること、新たに得られつつある BIL 遺伝子群を複数種形質転換したイネの作出、他の作物へも形質転換を行うことにより、植物生産力を高める新しい技術の開発が可能となる。また本研究で用いた、BR シグナル制御による大粒化技術は、今後、種々の穀物に利用できる可能性を有する。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Ito, S. et al.: Effects of triazole derivatives on strigolactone levels and growth retardation in rice. PLoS ONE, 6: e21723 (2011)
- ②Komatsu, T. et al.: The chloroplast protein BPG2 functions in brassinosteroid-mediated post-transcriptional accumulation of chloroplast rRNA. Plant J. 61(3): 409-422 (2010)
- ③Tanaka, A. et al.: *BRASSINOSTEROID UPREGULATED1*, encoding a Helix-Loop-Helix Protein, is a novel gene involved in brassinosteroid signaling and controls bending of the lamina joint in rice. Plant Physiology 151: 669-680 (2009)
- ④特願2010-004082: 「ストリゴラクトン生合成阻害剤」浅見忠男、伊藤晋作、北畑信隆、森昌樹
- ⑤特開2010-81839: 「過剰発現で種子を大きくする遺伝子」森昌樹、菊池尚志

■ 研究成果の具体的図表



■ 研究課題名

マメ科植物の共生微生物受容システムと感染・根粒形成を支える遺伝子ネットワークの解析

■ 研究の目的

高等植物の根には、根粒菌による根粒窒素固定、及び、アーバスキュラー菌根菌による菌根共生系が見いだされる。2種の共生菌の感染は、宿主植物の共通シグナル伝達経路による「感染受容化」を前提として成立する。本研究では、「感染受容化」を制御する共通シグナル伝達経路の分子メカニズムの解析により、根粒共生系及び菌根共生系の感染成立過程を制御する遺伝子ネットワークを解明する。さらに「根粒器官形成」および根粒菌の感染経路となる「感染糸形成」の制御機構の解析により、根粒共生系を支える分子メカニズムの解明を目指す。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ① 「感染糸形成」の前提となる「感染受容化」システムの解析
（◎今泉（安楽）温子、下田宜司／独立行政法人 農業生物資源研究所）
- ② CCaMK/CYCLOPS 相互作用により発現する機能の生化学的・分子生物学的解析
（◎今泉（安楽）温子、下田宜司／独立行政法人 農業生物資源研究所）



今泉（安楽）温子

■ 研究の内容・主要な成果

- ① 根粒共生系においては、「共通シグナル伝達経路（CSP）」と「根粒共生特異的経路」の合流が、根粒菌感染成立において必須であることを証明し、「2経路合流モデル」として提唱した。
- ② 根粒・菌根共生を制御する共通シグナル伝達経路遺伝子群が、マメ科植物と、非マメ科菌根植物間で機能的に保存されていることを明らかにした。
- ③ 感染受容化の過程における CCaMK の活性化モデルを提唱した。CCaMK の活性化過程において、根粒菌感染と菌根菌感染は、CCaMK への CaM 結合の有無により規定されることを明らかにした。

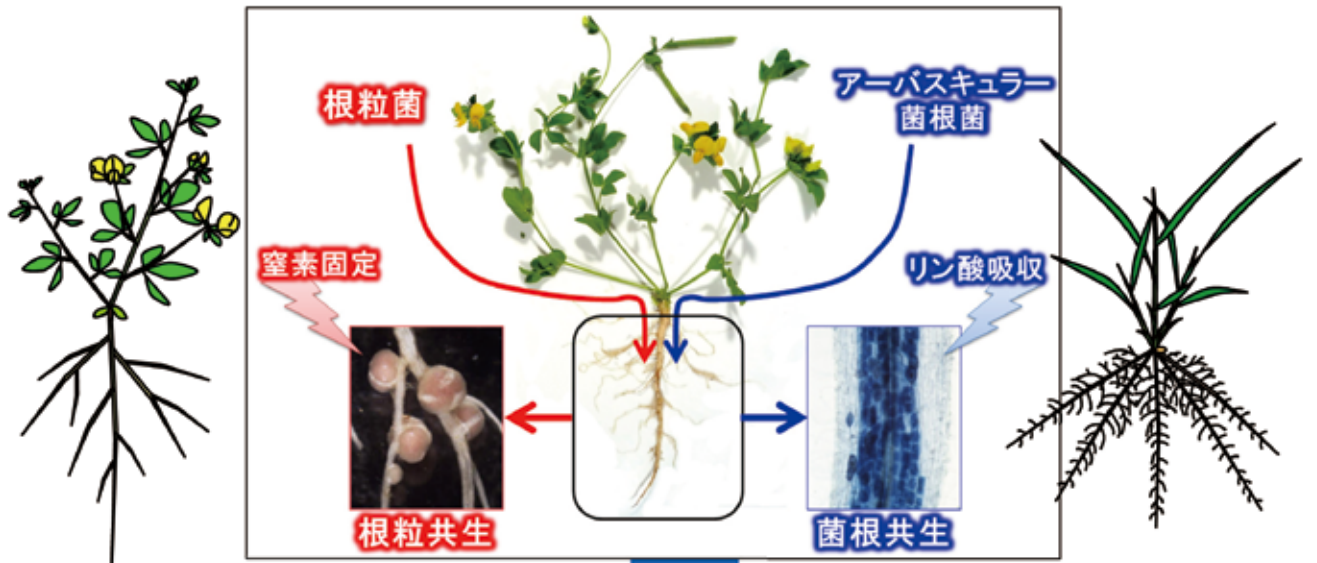
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ① 非マメ科菌根植物への根粒共生能付与においては、CSP と合流する根粒共生特異的経路の導入が必須であり、本研究課題の目標である『宿主植物の人為的制御及び改変による高等植物・微生物共生系の戦略的活用を目指す「共生遺伝子工学」の創設』において、「根粒共生特異的経路」の解明が重要であるという、新たな研究の方向性を示した。
- ② 非マメ科菌根植物への根粒共生能付与の過程で、CSP をその分子基盤として利用できることを明らかにした。

■ 公表した主な特許・論文

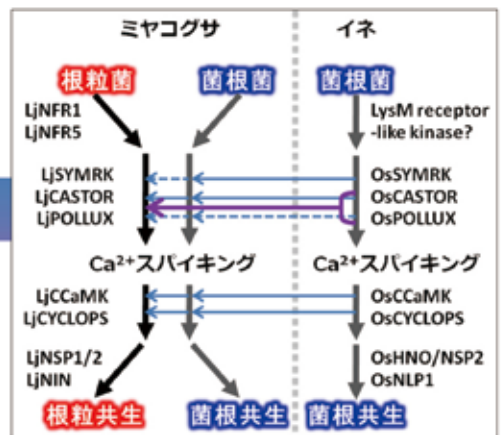
- ① Banba M et al. (2008) Divergence of evolutionary ways among common sym genes: CASTOR and CCaMK show functional conservation between two symbiosis systems and constitute the root of a common signaling pathway. *Plant and Cell Physiology* 49; 1659-1671.
- ② Gutjahr C, Banba M et al. (2008) Arbuscular mycorrhiza-specific signaling in rice transcends the common symbiosis signaling pathway. *The Plant Cell* 20; 2989-3005.
- ③ Yano K et al. (2008) CYCLOPS, a mediator of symbiotic intracellular accommodation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105; 20540-20545.
- ④ Hayashi T et al. (2010) A dominant function of CCaMK in intracellular accommodation of bacterial and fungal endosymbionts. *The Plant Journal* 63; 141-154.
- ⑤ Shimoda Y et al. (2012) Rhizobial and fungal symbioses show different requirements for calmodulin binding to calcium calmodulin-dependent protein kinase in *Lotus japonicus*. *The Plant Cell* (in press)

■ 研究成果の具体的図表

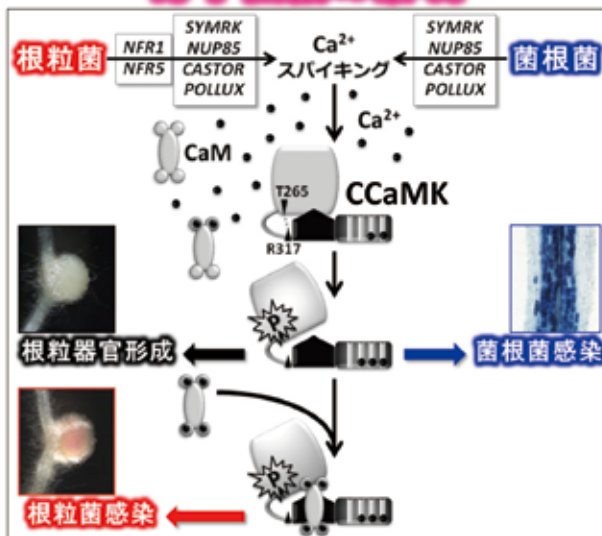


共生菌の「感染受容化」を制御する
遺伝的・分子的基盤の解明

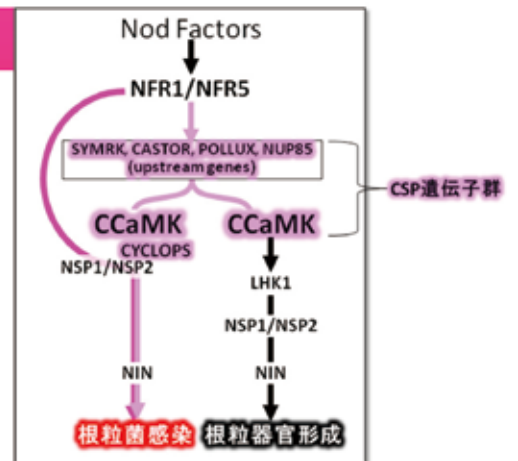
根粒菌の「感染受容化」から
根粒形成に至る
分子機構の解明



②非マメ科菌根植物への根粒共生系導入基盤となる
共通シグナル伝達経路の解明



③共生制御中枢因子CCaMKの活性化モデル
根粒菌感染成立を規定する
CCaMKへのCaM結合の解明



①根粒菌感染における
根粒共生特異的経路の必須性解明

非マメ科植物への新たな共生系導入に基づく
高収率・非施肥依存型農業への技術的貢献

■ 研究課題名

イオンビームとゲノム情報を活用した効率的な花き突然変異育種法の開発

■ 研究の目的

在来品種やその突然変異体の遺伝子や色素などのゲノム情報を収集分析することで潜在的にもっている変異花色のバリエーションを推測し、高頻度でワンポイント改良が可能なイオンビーム照射技術を駆使することで、狙い通りの突然変異品種を得ることができるわが国独自の革新的な育種技術を開発し、輝くカーネーションや新花色のシクラメンなど、夢の花色品種を創る。

■ 研究項目・実施体制（◎は技術コーディネーター）

- ①イオンビームによる効率的変異誘発技術と選抜マーカーの開発
（◎田中 淳／日本原子力研究開発機構）
- ②効率的な花き突然変異育種法の開発による画期的園芸新品種の育成
（岡村 正愛／キリンホールディングス株式会社フロンティア技術研究所）
- ③イオンビームと選抜マーカーによる芳香シクラメンのシリーズ化
（石坂 宏／埼玉県農林総合研究センター園芸研究所）
- ④カーネーションにおける輝く色調に関わるマーカー遺伝子の探索
（小関 良宏／東京農工大学）
- ⑤イオンビーム変異体のアントシアニン色素の分析
（中山 真義／農業・食品産業技術総合研究機構花き研究所）



田中淳

■ 研究の内容・主要な成果

- ①イオンビームを用いて、花色変異体を特異的に誘発する手法と段階的に目的の花色変異体を獲得する手法を開発した。シクラメンの花色発現に関わる遺伝子を同定し、花色変異候補株の選抜効率について評価した。花色変異体の解析等から得た花色：遺伝子：色素の3者の関連についての知見を花色変異マップとして取りまとめた。
- ②ゲノム情報とイオンビーム照射を活用し、諸特性に優れ、かつ従来になかった輝き色調をもつさまざまなカーネーション品種を育成するとともに、半匍匐で明るい赤と匍匐性で安定した純白のペチュニア品種候補を育成した。
- ③イオンビーム照射と組織培養を組み合わせた突然変異育種法を開発し、シクラメン属初のデルフィニジン系色素を持つ赤紫色、また鮮やかなサーモンピンク、黄色、白色等の新花色の芳香シクラメン品種候補を育成した。
- ④カーネーションの花の色彩に関わる2つの遺伝子の酵素活性検出に世界に先駆けて成功するとともに、花色の濃淡に関わる遺伝子を同定し、これら3つの遺伝子が花色変異の遺伝子マーカーとして有用であることを示した。
- ⑤非マリル化アントシアニンをもつカーネーション系統4種を見出し、色素の凝集性と色調の関係を明らかにした。シクラメン属植物で初めてとなるデルフィニジン系色素を同定した。また、コピグメントの検出法を開発した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①直接的には、本研究で得られた数々の新品種候補から、輝くカーネーションや新花色の芳香性シクラメンが、シリーズとなって品種化、実用販売され、大きな経済効果をもたらすことが期待される。
- ②開発したイオンビームとゲノム情報を活用した効率的な花き突然変異育種法は、花きだけでなく、果樹や蔬菜の機能的食品、穀物の環境耐性や成分育種、また環境修復・浄化に役立つ植物等に应用することが期待される。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特願2009-184030：新規糖転移酵素、新規糖転移酵素遺伝子および新規糖供与体化合物：東京農工大学
- ②特願2010-152796：花色変異体植物の作出方法：日本原子力研究開発機構、キリンホールディングス
- ③Hase, Y., Okamura, M. et al. Efficient induction of flower-color mutants by ion beam irradiation in petunia seedlings treated with high sucrose concentration. *Plant Biotechnology*, 27, 99-103(2010).
- ④Matsuba, Y., Sasaki, N. et al. A novel glucosylation reaction on anthocyanins catalyzed by acyl-glucose dependent glucosyltransferase in the petals of carnation and delphinium. *Plant Cell*, 22, 3374-3389 (2010).
- ⑤Akita, Y., Kitamura, S. et al. Isolation and characterization of the fragrant cyclamen O-methyltransferase involved in flower coloration. *Planta*, 234, 1127-1136 (2011).

■ 研究成果の具体的図表



■ 研究課題名

異種染色体導入コムギが産生する新機能性物質の利用技術の開発

■ 研究の目的

コムギとオオムギの遠縁なゲノム間の相乗効果により新規な物質の産生が期待されることから、オオムギ染色体を導入したコムギを用いて加工適性の優れたコムギにオオムギの高機能性物質産生能力を付与する利用技術の開発を目指す。本研究では、オオムギ染色体導入によりコムギに与えられる影響を明らかにし、代謝物を精密測定する。さらには、コムギの新規機能性物質を探索することで、その利用法を開発することを目的とする。

■ 研究項目・実施体制（◎は技術コーディネーター）

- ①オオムギ染色体導入コムギの機能ゲノム科学（◎荻原保成／横浜市立大学）
- ②オオムギ染色体導入コムギの細胞構成成分の精密計測（松井 南／理化学研究所）
- ③オオムギ染色体導入コムギのプロテオーム解析と材料調製（池田達也／農研機構近畿中国四国農業研究センター）
- ④オオムギ染色体導入コムギの製粉特性の検定及び機能性成分の評価（間 和彦／日本製粉（株））
- ⑤オオムギ染色体導入コムギの抽出物および分画物の機能性評価（山口宏二／（株）ファンケル）
- ⑥オオムギ染色体導入コムギの抽出物の生理学的効果の検定（金 武祥／（株）ファーマフーズ）



荻原保成

■ 研究の内容・主要な成果

- ①オオムギ染色体導入系統の小麦粉の性質について、オオムギ 1HS 染色体導入系統では生地物性が強化され、5H 染色体導入系統ではスーパーソフト化することが明らかになった。
- ②オオムギ 3H 導入系統の実生で機能性ステロール含量が増加することが判明した。
- ③オオムギ 3H 導入系統のふすまの酵素分解物に血流改善効果、肉体疲労緩和効果を見出した。
- ④ムギ類でステロール、GABA、フラボノイド類の生合成経路を明らかにし、増量に関わる遺伝子を明らかにした。
- ⑤コムギ種子中にシアル酸化合物が存在することを見出した。
- ⑥コムギ種子抽出物に、神経突起伸長促進、坐骨神経再生促進、神経細胞の酸化障害抑制、脳障害抑制作用があることを新規に発見した。特に、前2者の活性成分がアデノシンであることをつきとめた。
- ⑦工業的に機能性物質を抽出する方法を確立し、抽出物が皮膚角化細胞の増殖を促進することを見出した。

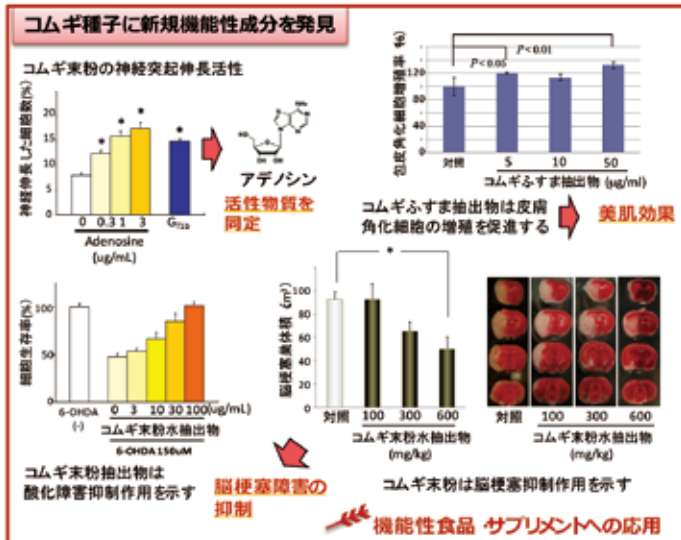
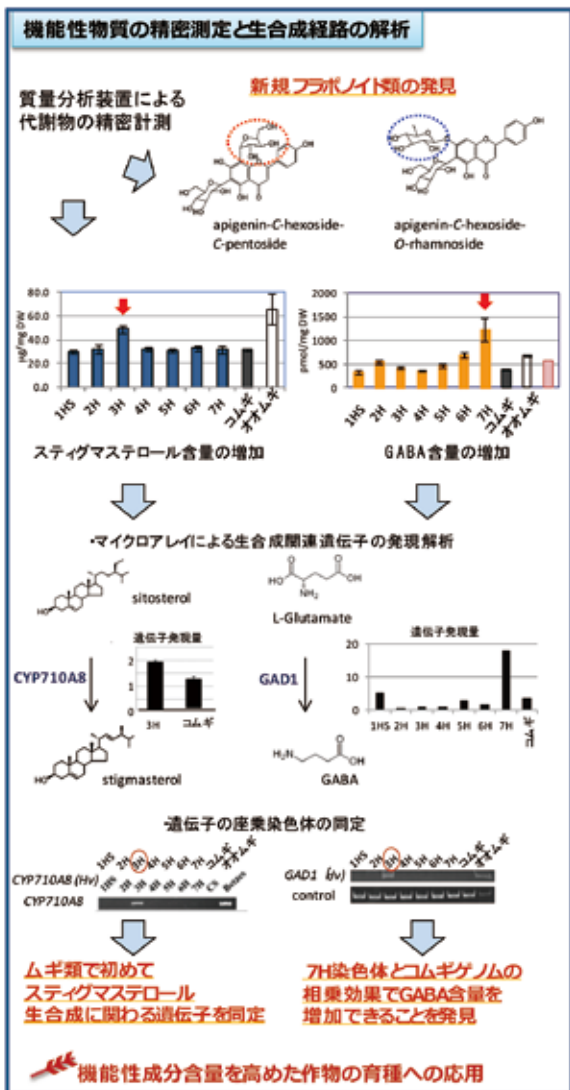
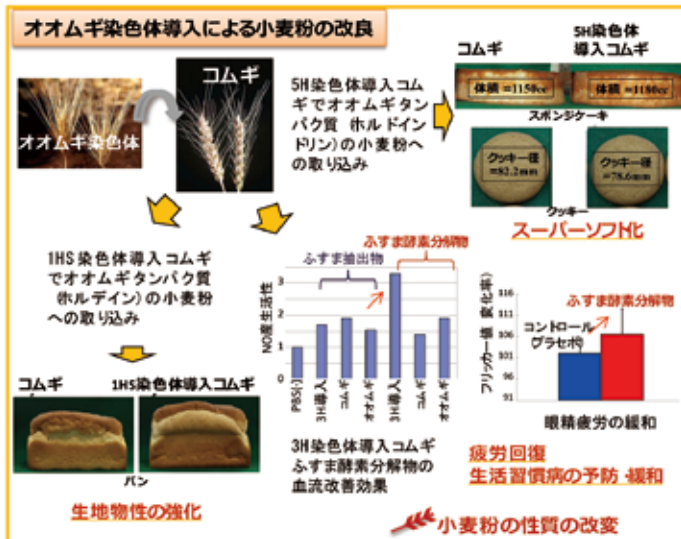
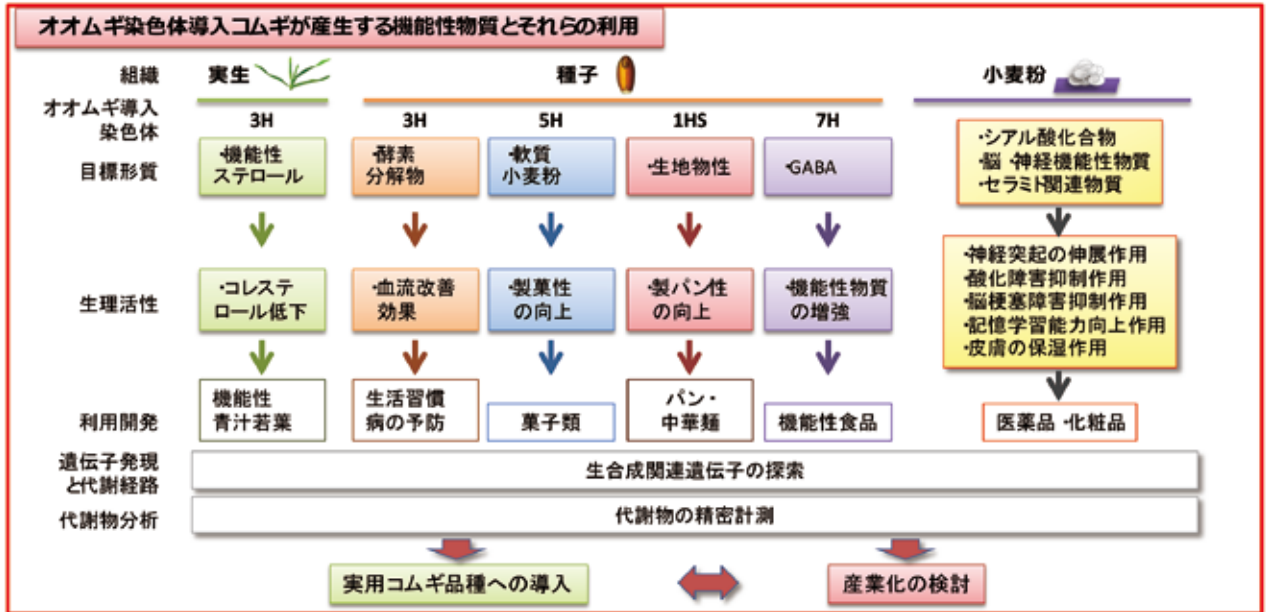
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①生地物性が強化された国内産パン用コムギ、超ソフト化された国内産菓子類用コムギの育成が期待できる。
- ②関連遺伝子をマーカーにして、機能性物質増強コムギの効率的な交配育種が可能になる。
- ③小麦粉を原材料にして、生活習慣病改善、肉体疲労緩和、神経機能改善・脳障害抑制作用のあるサプリメントの開発が期待できる。
- ④小麦ふすまを原材料にして、美肌効果が見込める化粧品の開発が期待できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特願2009-86352 「スティグマステロール含量改変植物およびその利用」横浜市立大学、（独）理化学研究所
- ②特開2011-57642 「神経突起伸長促進剤」（独）農研機構、（株）ファンケル
- ③Tang JW et al. A new insight into application for barley chromosome addition lines of common wheat: achievement of stigmastanol accumulation. *Plant Physiol.* 157: 1555-1567 (2011).
- ④Matsuda F et al. MS/MS spectral tag (MS2T)-based annotation of non-targeted profile of plant secondary metabolites. *Plant J.* 57:555-577 (2009)
- ⑤Yanaka M et al. Chromosome 5H of *Hordeum* species involved in reduction in grain hardness in wheat genetic background. *Theor. Appl. Genet.* 123:1013-1018 (2011)

■ 研究成果の具体的図表



■ 研究課題名

イルカ型対象判別ソナーの開発

■ 研究の目的

イルカのように、音で海中の魚を素早く的確に見分ける技術を手に入れたい。本研究では、対象判別能力を持つイルカ型広帯域ソナーの実証機を開発することを目的とする。最終年度には、生物生産量の高い大陸棚の水深 200m までを探索可能で、8cm 以下の空間分解能をもち、イルカのように目標とする魚を素早く的確に認知し判別することができる次世代型広帯域対象判別ソナーのプロトタイプを開発する。

■ 研究項目・実施体制（◎は技術コーディネーター）

- ①イルカ型対象判別ソナーの現場実証研究／◎赤松友成／（独）水産総合研究センター水産工学研究所
- ②イルカ型対象判別ソナーの機器開発／西森 靖／古野電気株式会社
- ③イルカ型対象判別ソナーによる構造推定アルゴリズム開発／松尾行雄／東北学院大学



赤松友成

■ 研究の内容・主要な成果

- ①イルカ型対象判別ソナーシステムのプロトタイプが完成した（送受信装置のサイズ：380mm × 371mm × 80mm、音源音圧：225dB、ノート PC で制御、ソフトは更新可能）。
- ②新規開発したイルカ型ソナーを使って、カタクチイワシが一尾ずつ確認できることを実証した。この技術は資源量の計測のみならず、個体反射音から種を判別することにも活かされた。
- ③アジ・サバ・タイの判別では、研究室での精密測定で 78% 以上の正答率を獲得した。従来の単周波魚群探知機とは全く異なる広帯域送受信機能を生かし、魚を音で叩いたときの音色が種類によって異なることが示された。
- ④魚群探知機では難しい海底付近に生息する水産有用種の鳴音計測の結果、鳴音で種判別や資源量調査が可能であることがわかった。
- ⑤魚種判別機能を組み込んだプロトタイプを調査船 2 隻、漁船 2 隻に船舶装備した。海洋での実証実験の準備が整ったため、今後現場からの大量のデータ取得が期待される。

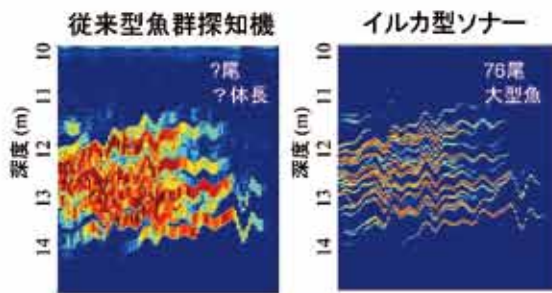
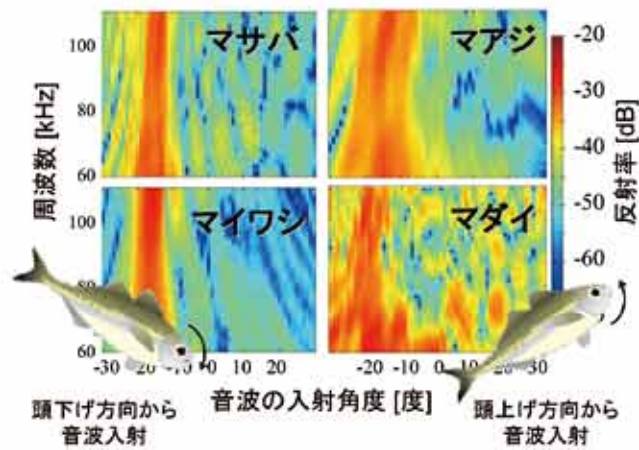
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①獲る前に資源の質がわかる技術として、選択的漁獲による適切な資源管理に役立てるだけでなく、採算のとれる資源のみを漁獲することで漁家経営の安定に資することが期待される。
- ②海洋生物多様性の保全や再生のための高効率な海洋生態系の把握技術に利用できる。モデルを用いた海洋生物の変動予測等、他分野との連携により海洋生態系の定量的な理解と予測に資することが期待される。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Imaizumi, T. et al., Measurement of target strength spectrum of fish using sonar signals of dolphin, J. Acoust. Soc. Am. 124, 3440-3449 (2008).
- ②Matsuo, I. et al., Analysis of the temporal structure of fish echoes using the dolphin broadband sonar signal, J. Acoust. Soc. Am. 126, 444-450 (2009).
- ③Akamatsu, T. et al., Scanning sonar of rolling porpoises during prey capture dives, J. Exp. Biol. 213, 146-152 (2010).
- ④Akamatsu, T., Underwater Bioacoustics, in Bulletproof Feathers: How Science Uses Nature's Secrets to Design Cutting-edge Technology, p.67-87, Robert Allen ed., University of Chicago Press, 192pp. (2010).
- ⑤Matsuo I., Evaluation of the echolocation model for range estimation of multiple closely spaced objects, J. Acoust. Soc. Am. 130, 1030-1037 (2011).

■ 研究成果の具体的図表



従来型に比べ、圧倒的な高解像

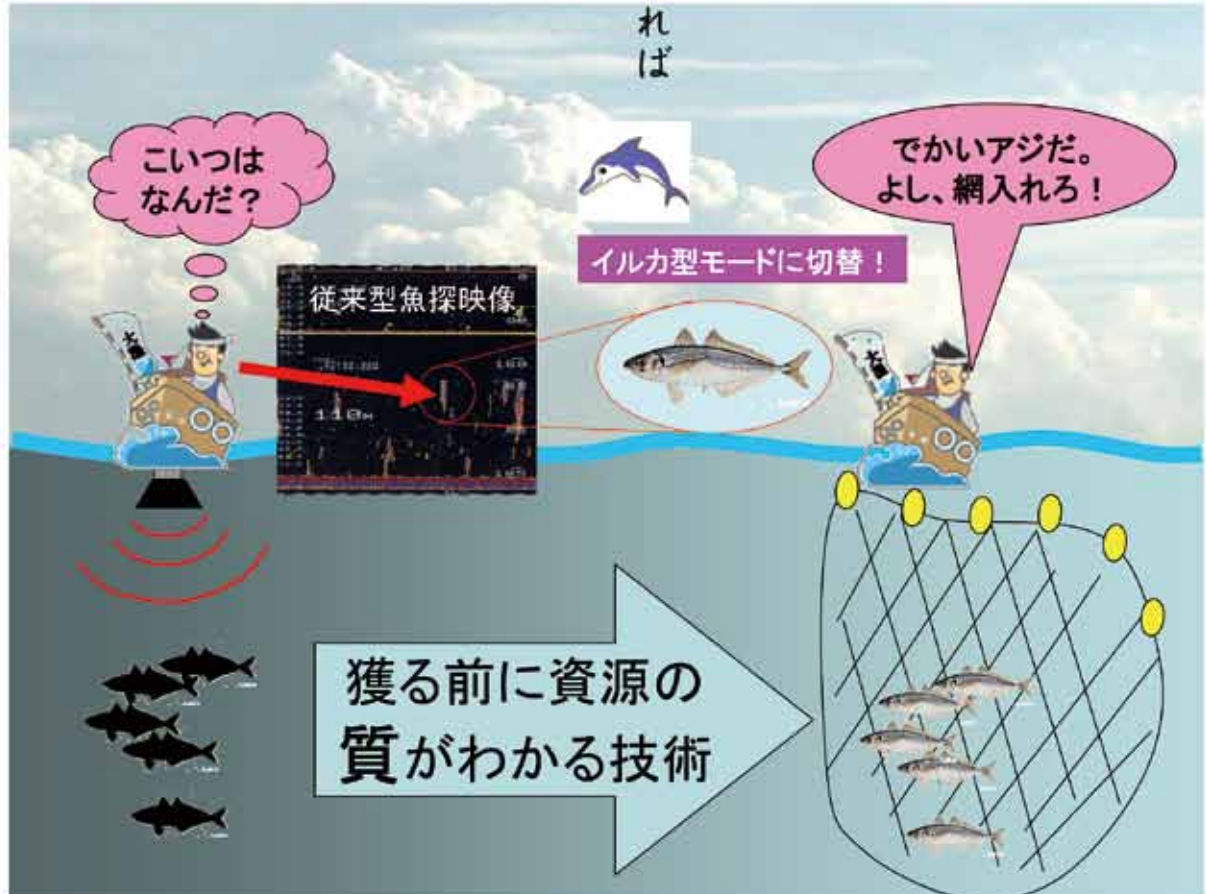


A3 サイズのプロトタイプ完成



まき網船に装備しました

魚の種類と大きさがわかる魚探を船につければ



■ 研究課題名

エイコサノイド生産スーパーゼニゴケ植物工場システムの開発

■ 研究の目的

プロスタグランジンをはじめとしたエイコサノイドは、動物の重要な生理活性物質で、医薬品や研究用試薬として高い需要がある。現在、エイコサノイドは化学合成によって合成されており、非常に高価である。そこで本研究課題では、生物を用いた安定かつ安価なエイコサノイド生産システムを開発することを目的とする。そのために、エイコサノイドを生産する遺伝子組換えゼニゴケ（スーパーゼニゴケ）を作出する。さらに、このスーパーゼニゴケを効率的に栽培し、エイコサノイドを抽出するためのゼニゴケ植物工場システムの開発を目的とする。

■ 研究項目・実施体制（◎は技術コーディネーター）

- ①スーパーゼニゴケの作出（◎大山莞爾／石川県立大学）
- ②ゼニゴケ連続栽培法の開発（徳本修一／株式会社総合園芸）
- ③ゼニゴケ閉鎖型植物工場の開発（沖村幸夫／北陸電力株式会社）
- ④ゼニゴケより搾汁・総油脂の抽出法の開発（増井 芽／株式会社アクトリー）
- ⑤ゼニゴケ総油脂中の LCPUFA、エイコサノイドの分析、油脂成分の分画法と製品化の開発（松平直久／小太郎漢方製薬株式会社）



大山莞爾

■ 研究の内容・主要な成果

- ①スーパーゼニゴケの作出…オゴノリのシクロオキシゲナーゼ遺伝子をゼニゴケに導入することにより、エイコサノイドの1種であるプロスタグランジンを合成する植物「スーパーゼニゴケ」を世界で初めて作出した。さらに、in vitro 反応系の開発によって、薬剤に供する量のプロスタグランジンの生産に成功した。
- ②ゼニゴケ連続栽培法の開発…年間を通して**安定的に**効率よくスーパーゼニゴケを栽培するために、栽培マットを開発し、**散水量の少ない**散水方法を開発した。
- ③ゼニゴケ閉鎖型植物工場の開発…移動式多段縦型栽培装置を開発するとともに、効率的な光照射法ならびに収穫法を開発した。そして、②の成果と合わせて、閉鎖型植物工場システムを開発した。
- ④ゼニゴケより搾汁・総油脂の抽出法の開発…ゼニゴケから効率的に搾汁し、総油脂を抽出する方法を開発した。また、ゼニゴケ抽出残渣を処理する方法を開発した。
- ⑤ゼニゴケ総油脂中のエイコサノイドの分画法と製品化の開発…ゼニゴケからエイコサノイドを簡便に分離・分析する方法、ならびに製品（カプセル錠）化する方法を開発した。

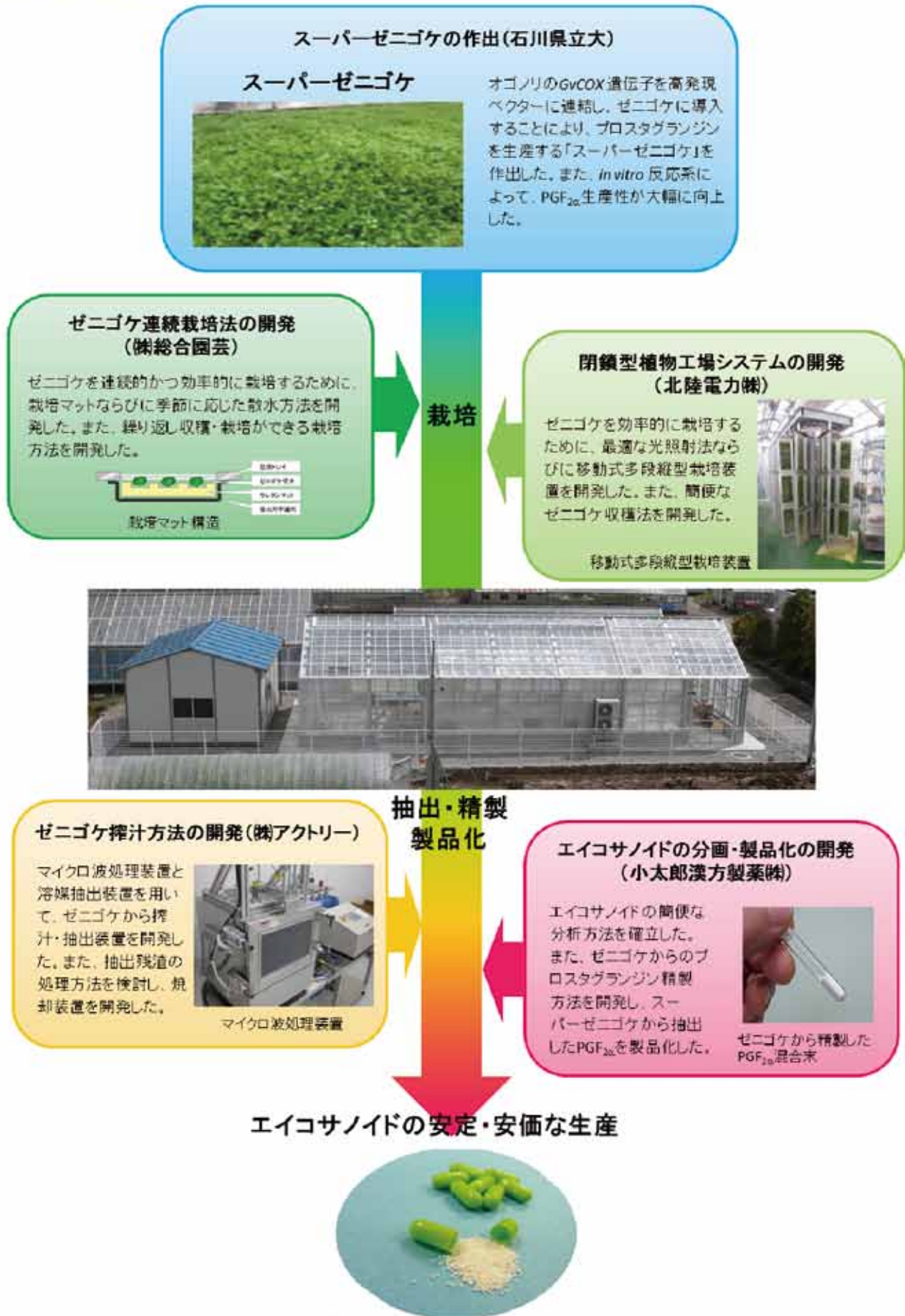
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①植物によるプロスタグランジン生産が可能となったことで、より環境に優しく低コストのエイコサノイド生産システムが構築できる。それにより、プロスタグランジンを用いた医薬研究の発展に大きく寄与できる。
- ②開発したゼニゴケ栽培システムは、スーパーゼニゴケはじめ様々な植物に応用でき、植物工場の可能性を大きく広げることができる。
- ③開発したゼニゴケからのエイコサノイド抽出・製品化技術は、様々な化合物に応用でき、植物工場による付加価値の高い有用物質生産に貢献できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特願2011-40304：オゴノリ由来のシクロオキシゲナーゼの遺伝子及び該遺伝子を利用するプロスタグランジン類生産方法：石川県立大学
- ②特願2011-168547：植物用栽培床及び植物栽培方法：北陸電力株式会社
- ③特願2009-201107：蘚苔類からの油脂類抽出方法：株式会社アクトリー
- ④H. Kanamoto, M. Takemura et al. Identification of a cyclooxygenase gene from the red alga Gracilaria vermiculophylla and bioconversion of arachidonic acid to PGF_{2α} in engineered E. coli. Appl. Microbiol. Biotechnol., 91, 1121-1129, 2011
- ⑤S. Nagaya, M. Takemura et al. Endogenous promoter, 5' -UTR and transcriptional terminator enhance transient gene expression in a liverwort Marchantia polymorpha L. Plant Biotechnol., 28, 493-496, 2011

■ 研究成果の具体的図表



■ 研究課題名

カイコバキュロウイルスによる犬フィラリア診断薬の開発及び感染防御抗体の解析

■ 研究の目的

イヌフィラリア虫は脱皮ごとに抗原が異なるため、従来の方法では、的確な診断薬の作製は難しい。そこで遺伝子工学的手法を用いて、有望な抗原遺伝子を網羅的に探索し、新たなカイコ培養細胞・バキュロウイルス発現系を構築して、この抗原に基づく単クローン抗体から新たな診断薬の開発を目指す。本研究により、イヌフィラリア虫の遺伝子構成が解明されるとともに、我が国ではじめて単クローン抗体診断薬の開発技術が確立される。

■ 研究項目・実施体制 (◎は技術コーディネーター)

- ①カイコ培養細胞系の性状維持管理と増殖・感染条件の解明
(◎今西重雄 / 独立行政法人 農業生物資源研究所)
- ②犬フィラリアの遺伝子ライブラリー作製と抗原遺伝子の解析
(中垣和英 / 学校法人 日本獣医生命科学大学)
- ③犬フィラリア関連遺伝子組換えバキュロウイルスの作出と発現確認
(馬嶋 景 / 株式会社バキュロテクノロジーズ)
- ④バキュロウイルス発現系によるフィラリア関連分子発現と分子構造機能解析
(武内恒成 / 国立大学法人 新潟大学)
- ⑤犬フィラリア関連遺伝子産物の大量発現、精製、抗体作製、キット構築
(吉田芳哉 / 株式会社シマ研究所)
- ⑥犬フィラリアの感染確認および感染防御検討とキット評価
(野上貞雄 / 学校法人 日本大学)



今西重雄

■ 研究の内容・主要な成果

- ①新規に開発した無血清・無タンパク質培養液 (SH-Ke117) で安定培養ができるカイコ胚由来培養細胞株を作出した。本細胞株と新たに開発した高密度培養装置、並びに絹フィブリン多孔質樹脂またはその組換えフィブリン多孔質樹脂を組み合わせて、組換えタンパク質の発現に優れたシステムを構築した。
- ②イヌフィラリア幼虫由来の cDNA ライブラリーを作製した。
- ③cDNA を網羅的に培養細胞に発現させて、目的遺伝子の探索ができるシステムを構築した。
- ④細胞膜に発現した標的抗原と機能抗体とを同定できるハイスループットシステムを構築した。
- ⑤イヌフィラリア症の診断に有効な単クローン抗体を見出し、ELISA 検出系で実用性の確証を得た。

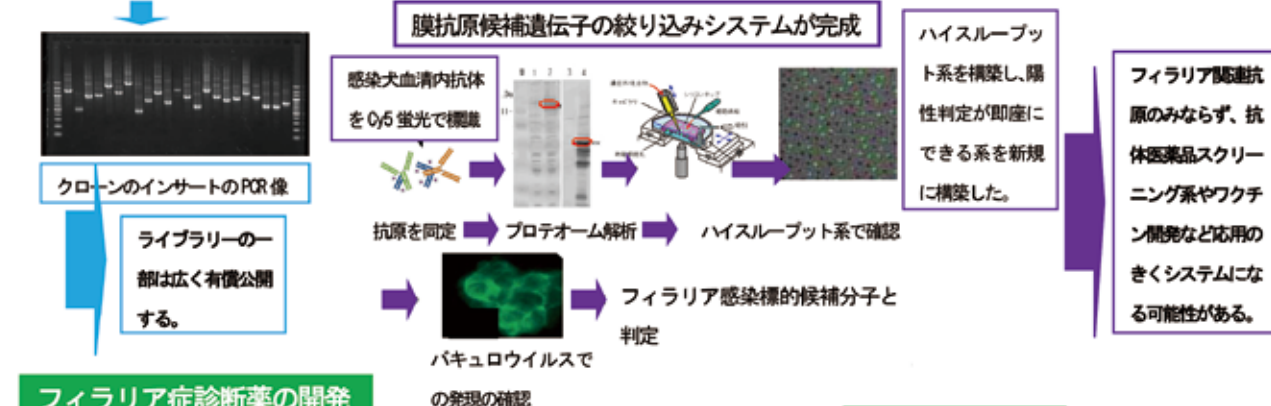
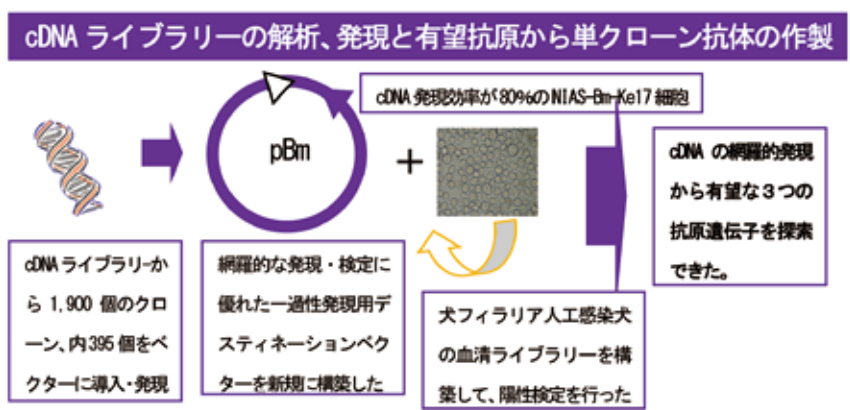
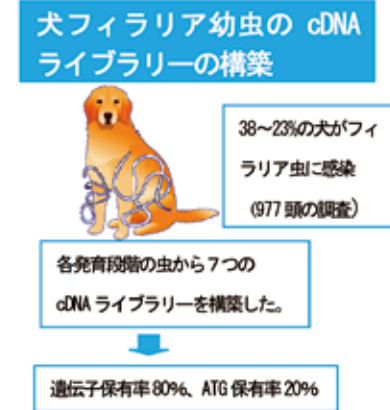
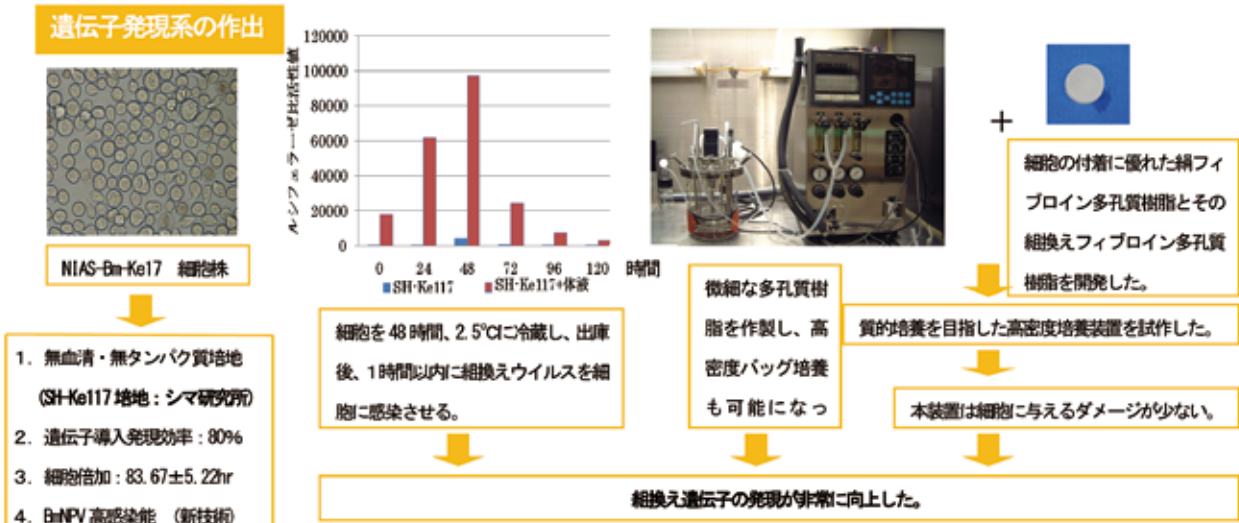
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ① cDNA ライブラリーの網羅的発現系の利用により、有用遺伝子の探索とこれに次ぐ有用タンパク質の大量生産のバイオ事業の創出が可能になると期待される。
- ②新たな開発にめどが見ついたイヌフィラリア抗原検出キットは従来品に比べより精度の高い製品を安価に市場に供給できる可能性がある。

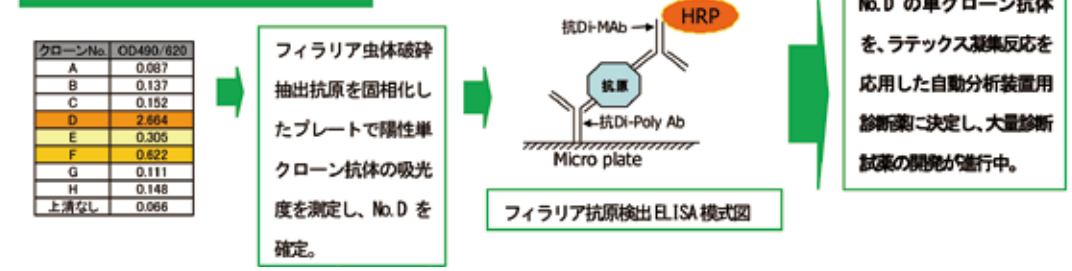
■ 公表した主な特許・論文

- ①特願2009-200187、特願2009-193674：無血清培養ができるカイコ培養細胞株の作出およびその利用。農業生物資源研究所、シマ研究所、新潟大学
- ②Horiuchi, M. et al. Structural basis for the antiproliferative activity of the Tob-hCaf1 complex. *J. Biol. Chem.* 284: (19),13244-13255 (2009)
- ③Nozumi, M. et al. Identification of functional marker proteins in the mammalian growth cone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 17211-17216 (2009)
- ④関根ら. 培養バッグを用いた簡便かつ効率的な単クローン抗体の生産. *生物工学会誌*. 第87巻 第9号 437-441. 2009
- ⑤Imanishi, S. et al. Serum-free culture of an embryonic cell line from *Bombyx mori* and reinforcement of susceptibility of a recombinant BmNPV by cooling. *In Vitro. Cell. Dev. Biol.-Animal*. On line. (2012)

■ 研究成果の具体的図表



フィラリア症診断薬の開発



■ 研究課題名

家畜受精卵生体外育成用マイクロバイオリアクターシステムの開発

■ 研究の目的

マイクロ流体デバイス技術を活用することで、品質のよい受精卵を個別に回収できるような全く新たな受精卵育成リアクターシステムを開発することを目的とする。最終的には、現状のウシ体外受精卵の受胎率 40-50% を 60% 程度まで向上させると共に、1,000 個の受精卵に対応可能なシステムプロトタイプの開発を行う。

■ 研究項目・実施体制 (◎は技術コーディネーター)

- ① 受精卵育成に適した基礎マイクロバイオリアクター開発
(◎酒井康行／東京大学生産技術研究所)
- ② マイクロバイオリアクターを用いたウシ受精卵の培養と受胎試験
(今井敬／家畜改良センター)
- ③ マイクロバイオリアクター量産化と大量処理用システムの開発
(土屋勝則／大日本印刷株式会社)



酒井康行

■ 研究の内容・主要な成果

- ① 50 個受精卵対応の自動播種回収リアクター開発と良好なマウス・ウシ受精卵の発生・受胎
- ② 個別管理が可能な簡易型リアクター (well-of-well 型) の開発・受精卵発生での性能確認・量産化・販売
- ③ 形態変化と呼吸活性に基づいた高受胎率 (75%) を示す受精卵の選別
- ④ 長期不受胎牛の適切な処理に基づく体外受精卵による受胎
- ⑤ 1000 個受精卵対応の自動播種回収リアクターシステムの開発とウシ受精卵の良好な発生

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

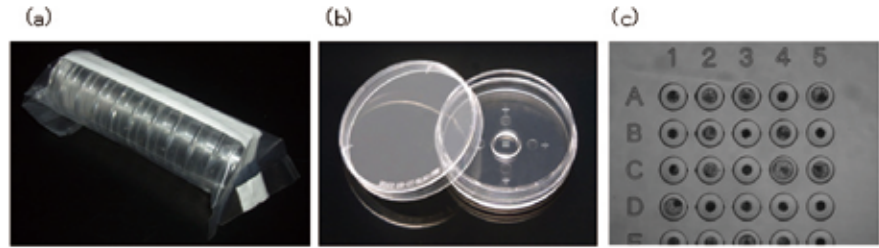
- ① 開発したリアクターおよび選別技術による高品質受精卵の生産を通じた和牛生産
- ② in vivo 環境をより良く模倣するリアクターを用いたヒト生殖医療や学術研究への利用

■ 公表した主な特許・論文

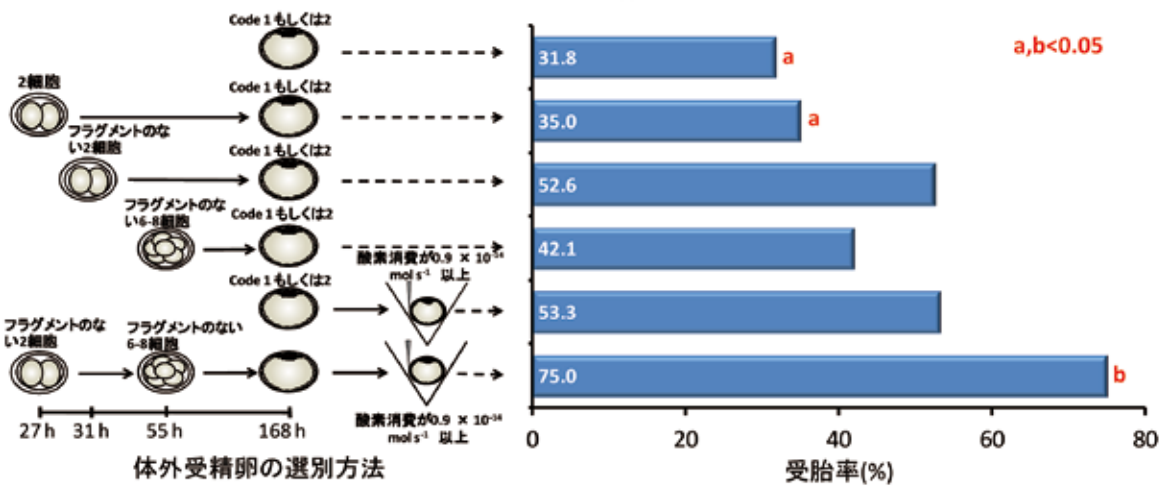
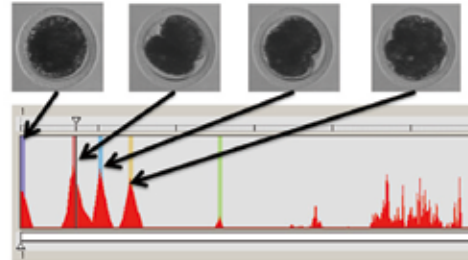
- ① 木村啓志ら: ダイナミックマイクロアレイを用いた受精卵操作の自動化の試み: 電気学会論文誌 E, 129(8): 245-251 (2009).
- ② H. Kimura et al.: On-chip individual embryo coculture with microporous membrane-supported endometrial cells: IEEE Trans. NanoBiosci., 8(4):318-324 (2010).
- ③ S. Sugimura et al.: Time-lapse cinematography compatible polystyrene-based microwell culture system: a novel tool for tracking the development of individual embryos: Biology of Reproduction, 83(6): 970-978 (2010).
- ④ T. Somfai et al.: Relationship between the length of cell cycles, cleavage pattern and developmental competence in bovine embryos generated by in vitro fertilization or parthenogenesis: The Journal of Reproduction and Development, 56(2): 200-207 (2010).
- ⑤ 特許出願, 2010/0221768, 米国, Cell Culture Dish, 大日本印刷.
- ⑥ 特許出願, 2010/0195877, Embryo quality evaluation assistance system, embryo quality evaluation assistance apparatus and embryo quality evaluation assistance method, 大日本印刷.

■ 研究成果の具体的図表

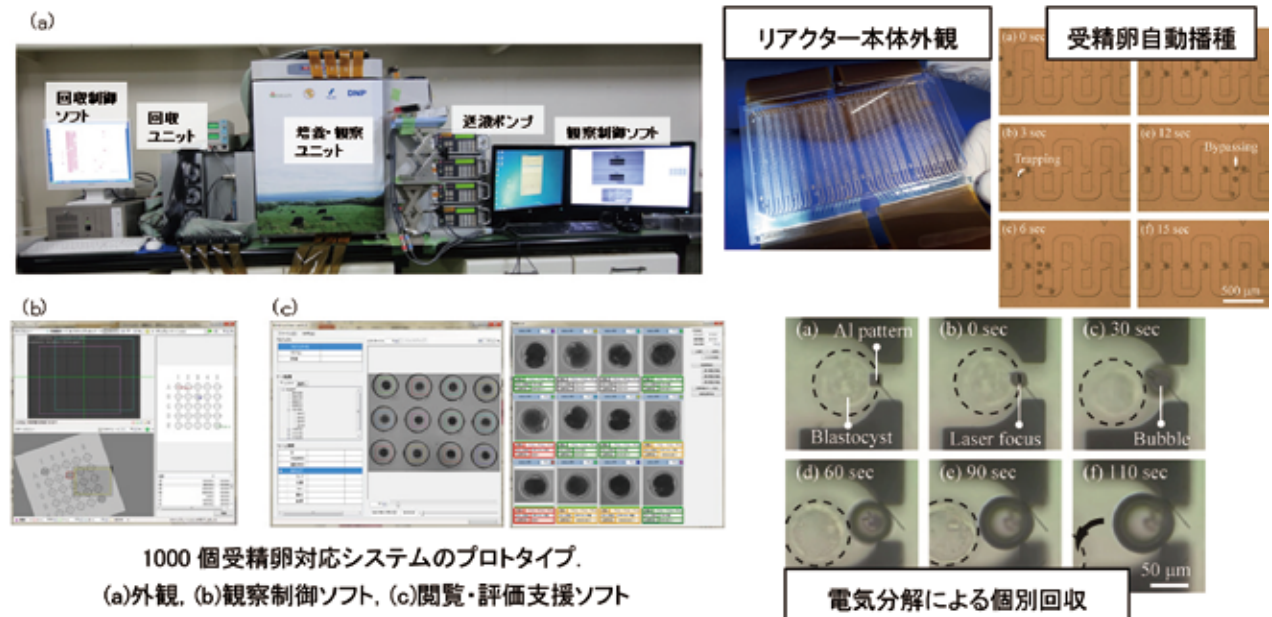
“ID culture”として販売された簡易型マイクロリアクター。
(a)細胞形態、(b)外観、(c)受精卵配置時の顕微鏡写真。



リアルタイム観察画像を利用して、卵割タイミングを自動検出するソフトウェアを開発。受精卵内部の割球の位置や形状の変化量(活性部位置)の時間変化の大きな時刻を卵割タイミングとして認識。



①第一卵割が27時間以内、②31時間後にフラグメントの無い2細胞、③55時間後にフラグメントの無い6-8細胞、④168時間後の酸素消費が $0.9 \times 10^{-14} \text{ mol s}^{-1}$ 以上、という4つの指標により、受胎率75%以上のウシ受精卵の選別が可能に。



■ 研究課題名

BSE 等プリオン病の発症前診断を可能とするバイオチップの開発

■ 研究の目的

本研究は、タンパク質の構造を読み取る素子（デザインペプチド）をアレイ化した次世代型バイオチップを開発し、BSE 等プリオン病の発症前診断を可能とする診断技術の開発を目指す。現在、BSE 発症前診断の手法はなく、その予防の手段も知られていない。より簡便、短時間、低コストの検出法が望まれているため、本研究ではプロテインフィンガープリント法に基づくデータマイニングによる診断技術の基礎を確立する。

■ 研究項目・実施体制（◎は技術コーディネーター）

- ①微量プリオン検定用ペプチドのデザイン、アレイ化と検出法の研究
（◎軒原清史／株式会社ハイベップ研究所）
- ②ペプチドアレイによるプリオン検出系評価の研究
（毛利資郎／（独）農研機構 動物衛生研究所 プリオン病研究センター）
- ③牛脳由来のプリオン病関連ペプチドの探索とライブラリー構築
（安原義、2009 年度から矢嶋俊介／東京農業大学）



軒原清史

■ 研究の内容・主要な成果

- ①アレイ用ペプチド誘導体（ペプチドライブラリー）のデザインと高効率合成を達成した。
- ②チップ基板材料としてアモルファスカーボンおよびその誘導体化のための表面処理技術を確立した。
- ③蛍光検出による簡易型迅速検出デバイスを開発した。
- ④アッセイ系を確立し、アレイ候補ペプチドを選出した。
- ⑤ペプチド固相化チップによるマウススクレイピーの検出を達成した。
- ⑥牛脳成分ライブラリーとタンパク質の構造変換モデル系を構築した。

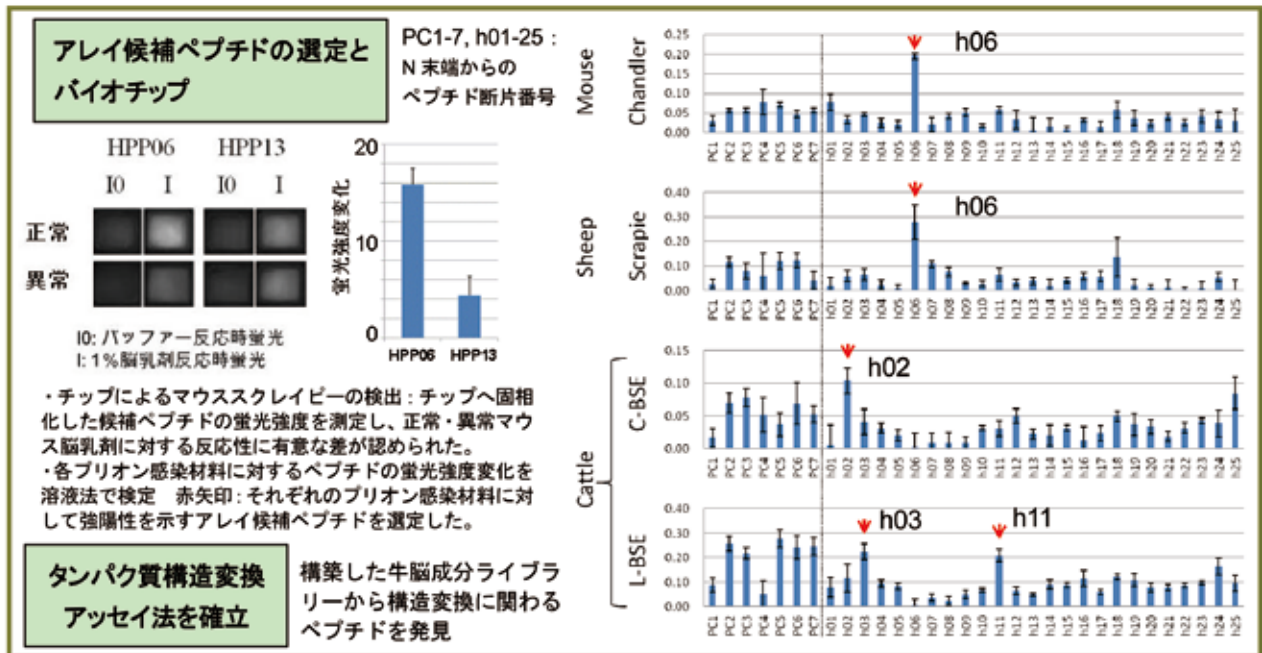
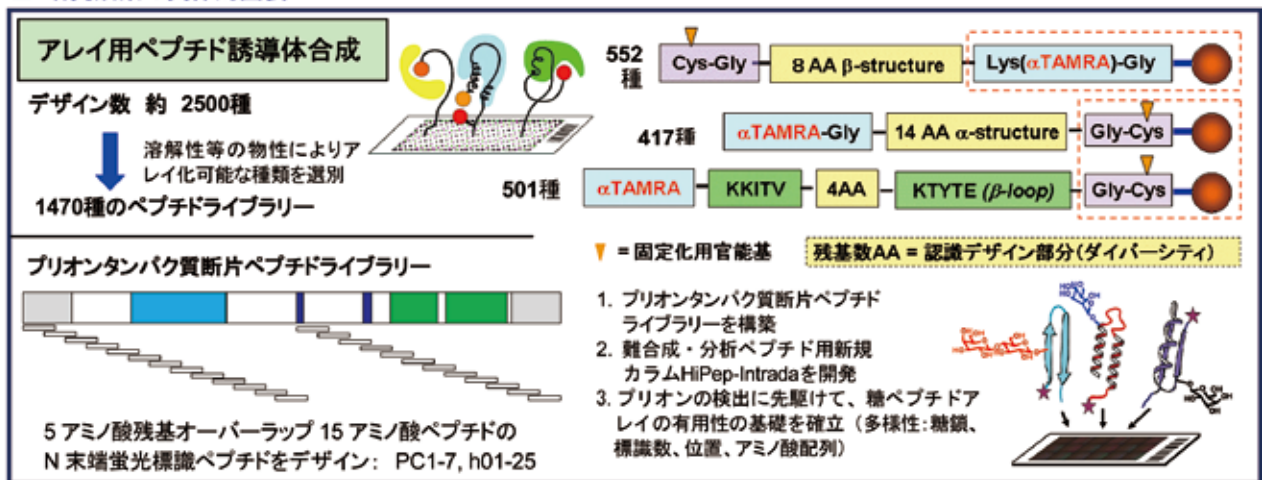
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①当該コンセプトによって、世界に類を見ない次世代型バイオチップとその検出装置が供給される。
- ②新規バイオチップ、簡便な検出装置、判定のためのデータベース・解析ソフトウェアからなるシステムが稼動すれば BSE の短時間検出が可能となり、汚染防止にも多大な貢献ができる。
- ③商品としてはバイオチップ（消耗品）、ならびに検出用デバイスであり、ともにデータベースの確立につれて、研究用から実際の検査用へとその用途は拡大されるため、事業は確実に成長する。
- ④微量検出によって早期発見に繋げることは、感染拡大の防御にもなる。
- ⑤将来的に各種疾患タンパク質の検出市場へ応用範囲を拡大することで、健康保険財政の改善が期待できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特許公開2011-95085：プリオンの測定方法
- ②実用新案第3155296号：蛍光検出器
- ③実用新案第3166814号：蛍光検出器
- ④Nokihara, K., et al. Fingerprint-detection of Sugar-Binding Proteins Generated by Labeled Structured Glycopeptides Arrays, Bull. Chem. Soc. Jpn. 83: 799-801 (2010)
- ⑤Kasai, K., et al. Novel assay with fluorescence-labeled PrP peptides for differentiating L-type atypical and classical BSEs, and scrapie, FEBS Letters (2012), in press

■ 研究成果の具体的図表



■ 研究課題名

味覚修飾蛋白質ネオクリンとそのバリエーションの機能解析・用途開発

■ 研究の目的

酸味を甘味に変換する活性を持つ味覚修飾蛋白質ネオクリンの、食用途への開発を目指す。基礎から応用までの研究を通じて、より大きな命題である食味改善の一般論を提唱し、これを基盤として産業貢献することを最終的な目的とする。研究終了時まで、ネオクリンのもつ味覚修飾活性を、客観的味覚評価システムを用いて解析し、さらに味覚修飾活性の異なるバリエーション（変異体）について構造科学的知見をベースに創出していく。

■ 研究項目・実施体制（◎は技術コーディネーター）

- ①ネオクリンとそのバリエーションの構造・機能相関解析と大量発現生産
（◎阿部啓子／東京大学）
- ②G蛋白質共役型ヒト甘味受容体とネオクリンの複合体の構造解析
（石黒正路／新潟薬科大学）
- ③酸味受容体発現細胞系を用いた食味の計測とネオクリンバリエーションの用途開発
（伊藤公一／株式会社ミツカングループ本社・中央研究所）
- ④ヒト型味覚受容体発現細胞系を用いた食味の設計と計測・用途開発
（松尾伸二／日清食品ホールディングス株式会社・食品総合研究所）
- ⑤ネオクリン遺伝子導入によるカンキツの食味改変
（遠藤朋子／（独）農研機構 果樹研究所）



阿部啓子

■ 研究の内容・主要な成果

- ①ネオクリンのヒスチジン5残基を対象にバリエーション（変異体）の設計を行い、ネオクリンとは異なる活性を持つバリエーションを新たに作出することができた。
- ②ヒト味覚受容体を導入したHEK細胞系により、ネオクリンやバリエーションのpH依存的な細胞応答を評価した。
- ③細胞評価系でネオクリンと甘味受容体との結合領域を特定し、さらに分光学的手法によりpH依存的なネオクリンの構造変化を検出した。
- ④麹菌を用いた発現系により、ネオクリンバリエーションを発現生産することができた。またモデル植物を用いて、ネオクリンを果実に発現させることができた。

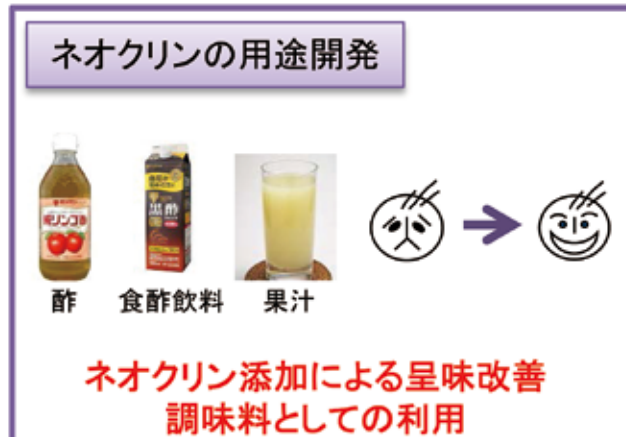
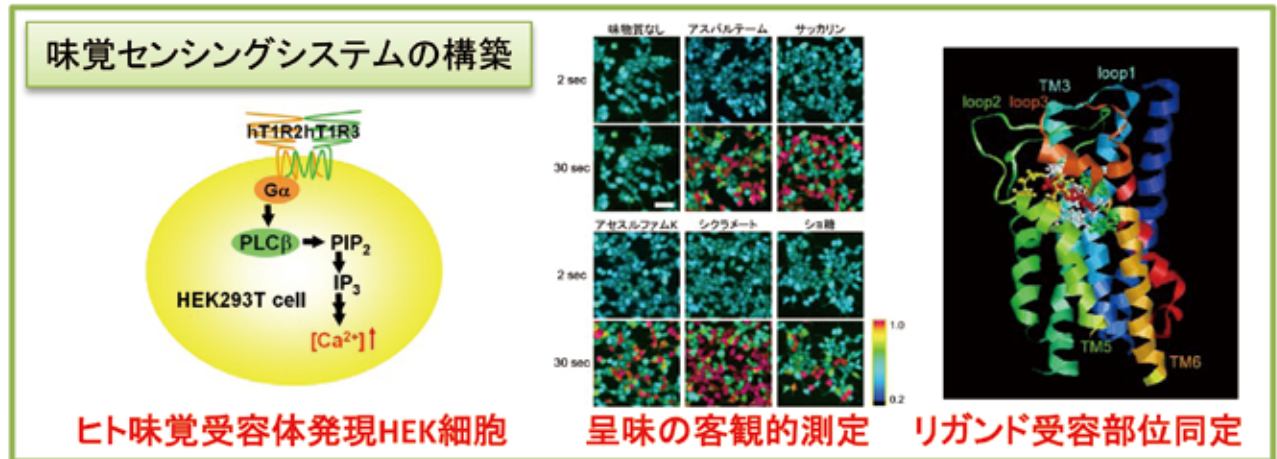
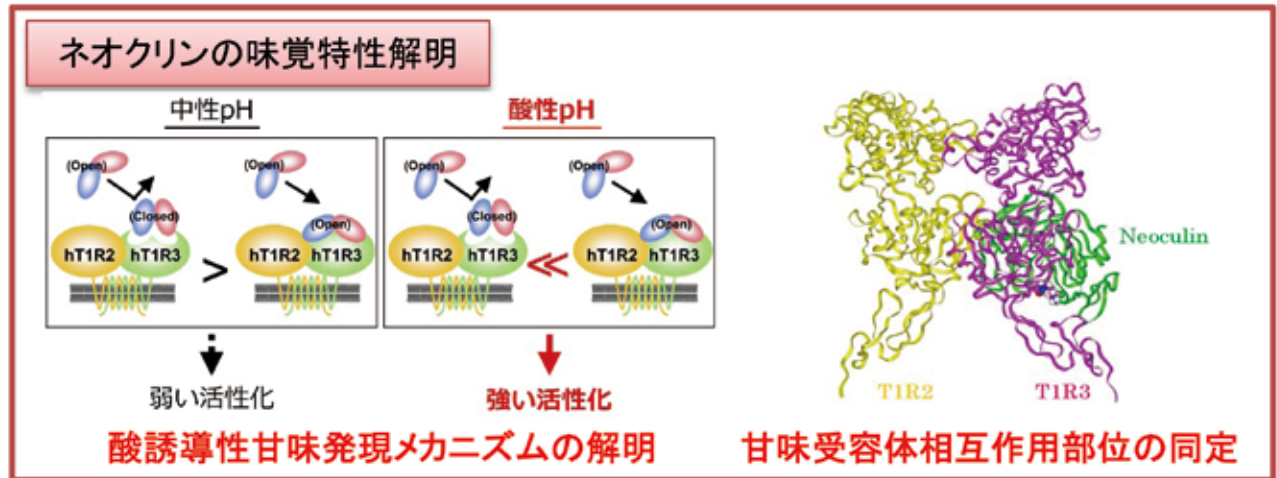
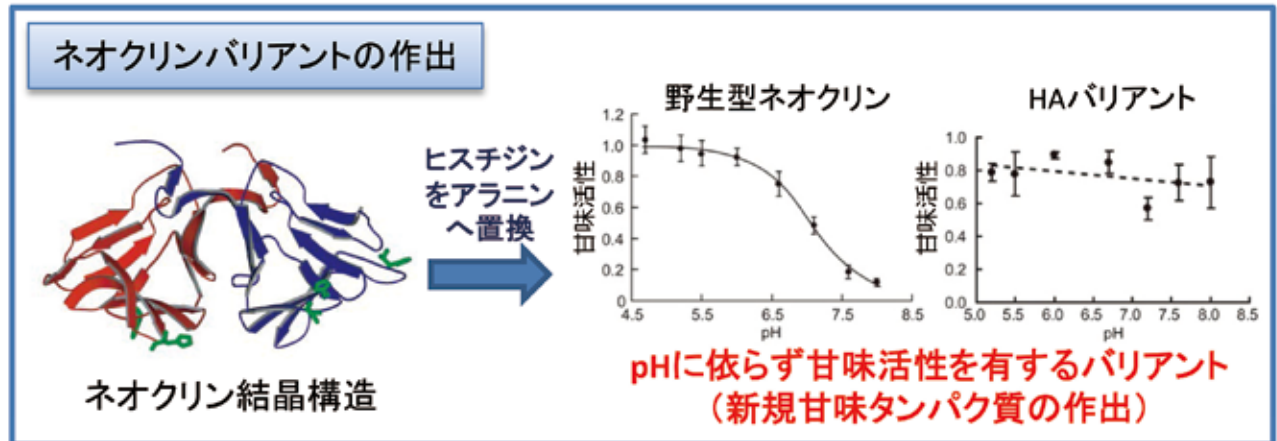
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①ネオクリンの酸によって誘導される甘味を利用することで、通常では酸味が強すぎるのが問題になる飲料の味質改善や、ノンカロリーの甘味飲料・デザート食品へ展開しうる。
- ②ヒトの味覚を代替する計測系により食品の“味の設計”が可能となり、将来、受容体発現細胞系を用いた味覚センサーの開発へとつながっていく。
- ③これまで官能検査でしか判断できなかった微妙な味が、どのような生体機序から生じるのかについて、味覚分子論的に説明することが可能となる。

■ 公表した主な特許・論文

- ① Nakajima, K., et al. Acid-induced sweetness of neoculin is ascribed to its pH-dependent agonistic-antagonistic interaction with human sweet taste receptor. *FASEB J.* 22: 2323-2330 (2008)
- ② Shimizu-Ibuka, A., et al. Biochemical and genomic analysis of neoculin compared to monocot mannose-binding lectins. *J. Agric. Food Chem.* 56: 5338-5344 (2008)
- ③ Imada, T., et al. Amiloride reduces the sweet taste intensity by inhibiting the human sweet taste receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 397: 220-225 (2010)
- ④ Sakurai, T., et al. Characterization of the β -D-glucopyranoside binding site of the human bitter taste receptor hTAS2R16. *J. Biol. Chem.* 285: 28373-28378 (2010)
- ⑤ Nakajima, K., et al. Identification and modulation of the key amino acid residue responsible for the pH sensitivity of neoculin, a taste-modifying protein. *PLoS One* 6: e19448 (2011)
- ⑥ Nakajima, K., et al. Non-acidic compounds induce the intense sweet taste of neoculin, a taste-modifying protein. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75: 1600-1602 (2011)

■ 研究成果の具体的図表



研究課題名

天蚕由来のヤママリンをリード化合物とした細胞増殖制御剤の開発

■ 研究の目的

日本原産の天蚕（ヤママユ）より同定したヤママリリン（5個のアミノ酸から構成されC末端がアミド化されている新規ペプチド）の誘導体（強力ヤママリリン）が、ラット肝がん細胞の増殖を可逆的に抑制し、カイコで休眠卵を誘導する機能を持つということを発見した。これを基盤にして、ヤママリリンを分子改変し、得られるさらに強力な「超ヤママリリン」の機能と立体構造を解明し、安全性を重視した難防除害虫成長制御剤の素材開発ならびに細胞増殖制御剤を開発する。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①ヤママリリン誘導体による細胞増殖制御と昆虫休眠化の機構解明（◎鈴木幸一／国立大学法人岩手大学農学部）
- ②ヤママリリンの各種誘導体の分子設計と合成（今井邦雄／国立大学法人三重大学大学院生物資源研究科）
- ③ヤママリリン誘導体の立体構造と相互作用解析による高機能物質のデザイン
（河野敬一／国立大学法人北海道大学大学院理学研究院）
- ④難防除害虫の個体および細胞を用いたヤママリリン誘導体の成長制御効果システムの確立
（立石 剣／独立行政法人農業生物資源研究所）
- ⑤ヤママリリンに対する抗体作出と細胞増殖制御剤の開発（江幡順良／積水メディカル（株））



鈴木幸一

■ 研究の内容・主要な成果

- ①天蚕由来のヤママリリンは噴門弁様組織から合成分泌される新規末梢ホルモンであることを発見した。
- ②ヤママリリンによるミトコンドリアNADH呼吸と核小体構造タンパク質Fibrillarin作用を阻害するメカニズムを解明した。
- ③ヤママリリンより細胞増殖抑制活性と休眠誘導活性の高い超ヤママリリン物質の合成に成功した。
- ④ヤママリリンのC末端（-RG-NH₂）が活性に重要で、細胞膜透過性と高活性化を付与することを明らかにした。
- ⑤昆虫培養細胞株（Ms11）を用いた昆虫細胞増殖阻害活性物質の簡易検定法を開発した。
- ⑥ヤママリリン特異的C末端認識抗体の作出に成功し、超ヤママリリン物質の大量製造法を確立した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①ヤママリリンによる細胞増殖抑制の分子機構の解明は、ペプチドセラピー開発に貢献する。
- ②ヤママリリン類縁ペプチド誘導体は、研究用試薬、細胞保存剤、臓器保存剤、新発想の農薬の開発に資する。
- ③昆虫細胞増殖阻害活性物質の簡易検定法に用いたMs11細胞株は、農業生物資源ジーンバンク事業により、国内の研究機関への配布を行うことから、今後農薬の研究開発に寄与する。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Yang P, *et al.* : A novel cytochrome P450 gene (*CY4G25*) of the silkworm *Antheraea yamamai*. Cloning and expression pattern in pharate first instar larvae in relation to diapause: *Journal of Insect Physiology* (IF 2.019), 54(3): 636-643 (2008)
- ②Kamiya M, *et al.* : Structure-activity relationship of a novel pentapeptide with cancer cell growth-inhibitory activity: *Journal of Peptide Science* (IF 1.654), 16(5): 242-248 (2010)
- ③Sato Y, *et al.* : A palmitoyl conjugate of insect pentapeptide Yamamarin arrests cell proliferation and respiration: *Peptides* (IF 2.565), 31(5): 827-833 (2010)
- ④Sakakura A, *et al.* : Isolation, structural elucidation and synthesis of a novel antioxidative pseudo-di-peptide, Hanasanagin, and its biogenetic precursor from the *Isaria japonica* mushroom: *Tetrahedron* (IF 2.897), 65(34): 6822-6827 (2009)
- ⑤Kouno T, *et al.* : The structure of a novel insect peptide explains its Ca²⁺ channel blocking and antifungal activities: *Biochemistry* (IF 3.633), 46(48): 13733-13741 (2007)

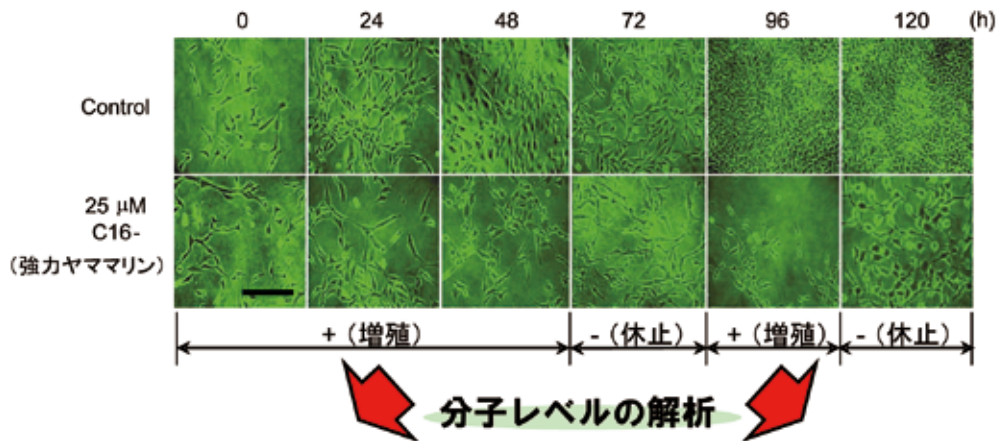
■ 研究成果の具体的図表

目的の1. 昆虫休眠機構の解明

① ヤママリンの合成分泌器官は休眠中の天蚕前幼虫体における噴門弁様組織である(a, b)。

ヤママリンの構造

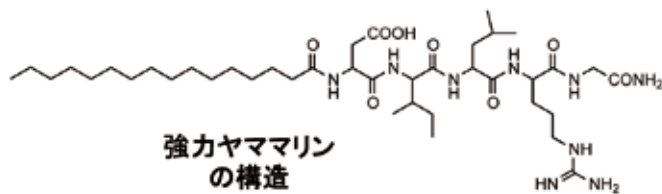
休眠機構を分子レベルで明らかにするために、ショウジョウバエ胚子由来のS2細胞における **増殖** → **休止** → **増殖** → **休止** の可逆的反応系に着目した。



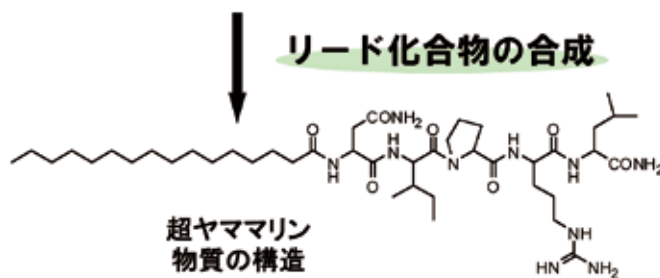
② ヤママリンはミトコンドリアNADH呼吸を阻害する。

③ ヤママリンは核小体構造タンパク質 Fibrillarin 作用を阻害する。

目的の2. 細胞増殖制御剤および昆虫成長制御剤の開発



④ 強力ヤママリンをリード化合物として、昆虫成長制御剤ならびに細胞増殖制御剤の開発を目指した超ヤママリン物質を合成した。



■ 研究課題名

抗体活性ドメインを付加した新規絹タンパク質素材の開発

■ 研究の目的

抗体のもつ極めて強い特異的結合活性は、タンパク質機能解析や疾病診断・創薬など幅広い産業利用が期待される一方で、製造コストの高さが課題となっており、低コスト化に向けて全く新しい観点からの技術革新が必要となっている。そこで我々は、組換えカイコ技術を利用して、絹タンパク質に直接抗体分子を融合・発現させ、抗体がもつ特異的な結合活性を有する新しいバイオ担体“アフィニティー・シルク”の基盤技術を確立する。このことにより、抗体活性を有する新素材を安価に大量に生産することが可能となる。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①アフィニティー・シルクのデザインと機能解析
（◎佐藤 充／独立行政法人農業生物資源研究所 動物生体防御研究ユニット）
- ②組換えカイコ作出とシルク担体加工技術の開発
（小島 桂／独立行政法人農業生物資源研究所 新機能素材研究開発ユニット）



佐藤 充

■ 研究の内容・主要な成果

当研究で作出した遺伝子組換えカイコにより、マクロファージ等の免疫細胞で発現しているシグナル伝達分子 WASP に対する一本鎖抗体と融合した絹タンパク質の生産に成功した。その絹タンパク質は抗原-抗体反応により特異的にマクロファージ細胞抽出液中の WASP を検出することが可能であることを示し、抗体が持つ特異的な結合活性を有する新しいバイオ担体“アフィニティー・シルク”であることを証明した。具体的な研究成果は次の通りである。

- ①マクロファージ等の免疫細胞で発現しているシグナル伝達分子 WASP に対する一本鎖抗体 (anti-WASP-scFv) とフィブロイン鎖の融合タンパク質を発現する組換えカイコを作出した (図1)。
- ②同組換えカイコが産生した繭から得られたシルクパウダーとマウスマクロファージ細胞抽出液の *in vitro* 結合試験で、抗原タンパク質である WASP を特異的に免疫沈降することが出来た (図2)。
- ③さらに抗体活性を持つシルクフィルムの構築にも成功した (図3)。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

遺伝子組換えカイコ技術を用いて、絹タンパク質に直接一本鎖抗体を融合・発現させ、抗体が持つ特異的な結合活性を付加した新しいバイオ担体（アフィニティー・シルク）構築の基盤技術を確立した。このアフィニティー・シルク技術を利用して、研究用試薬や診断キット等を従来よりも安価に製造することができ、機能性シルク素材を利用した新しい産業の発展に大きく貢献すると期待できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特願 2011-113813：一本鎖抗体の製造方法：独立行政法人農業生物資源研究所
- ②小島桂、村上麻理亜他：臭化リチウム水溶液の pH 制御による繭層全タンパク質溶解法．日本シルク学会誌．(2012) (in press)
- ③小島桂、荒谷恵梨子他：透析過程におけるシルクフィブロインのゲル化の制御．日本シルク学会誌．(2012) (in press)

■ 研究成果の具体的図表

抗体活性ドメインを付加した新規絹タンパク質素材の開発

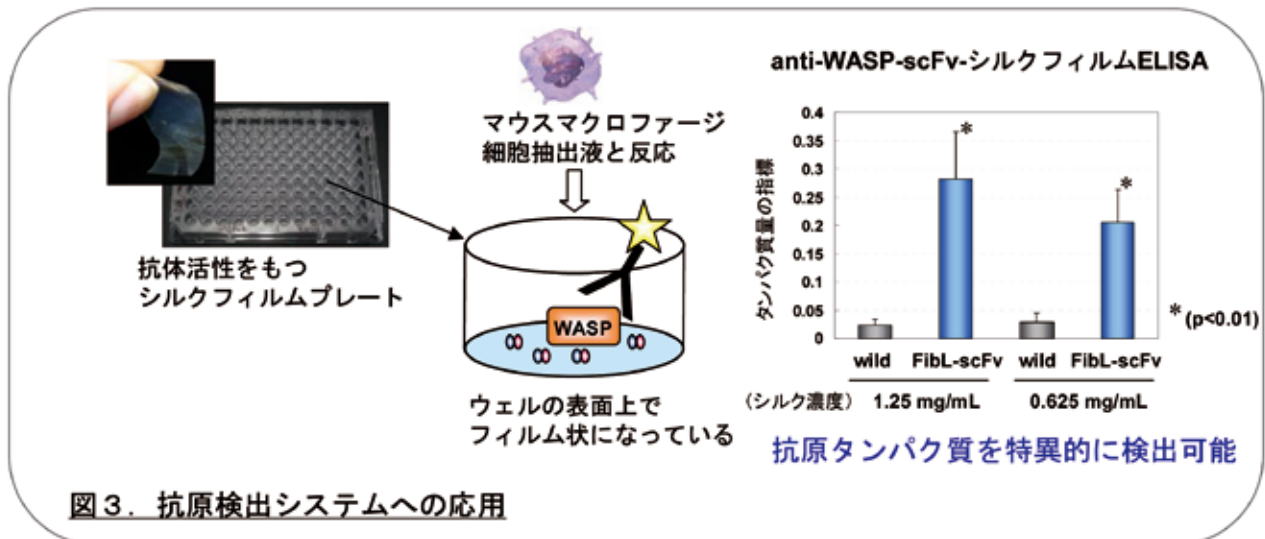
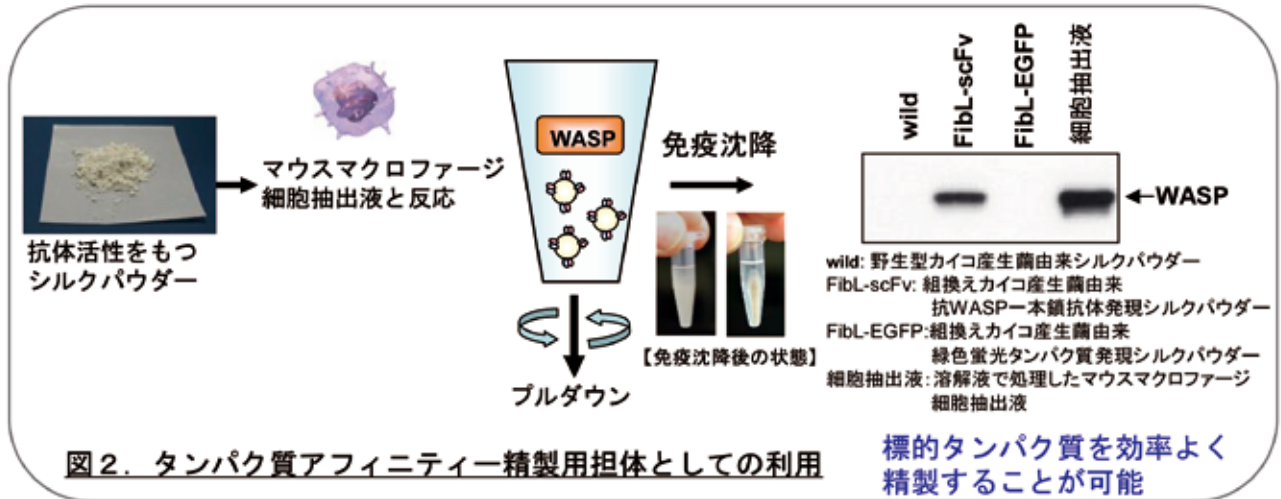
図1. 新規絹タンパク質を発現する遺伝子組換えカイコの作出



一本鎖抗体が融合されたタンパク質

新しいバイオ担体「アフィニティーシルク」

抗体活性を損なわずに様々な形状のシルク担体に加工処理する基盤技術の確立



アフィニティー・シルクを利用した低コスト試薬・検査キットの開発に大きく貢献

■ 研究課題名

高品質な農林水産物・食品創出のための質量顕微鏡技術基盤の構築

■ 研究の目的

質量顕微鏡法は試料表面を二次元に質量分析することによって、試料表面に存在する分子の分布を可視化することのできる手法である。本手法は、既存技術では不可能であった生体分子の局在解析を可能にした手法であり、幅広い応用が期待されるが、農林水産学分野への応用を目的とした研究は行われていない。本研究は、高品質な農林水産物・食品創出のための質量顕微鏡法の基礎的な技術基盤を構築することを目的とする。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ① 農林水産物及びヒト病理組織の質量顕微鏡による分析基盤の構築
（◎財満 信宏／近畿大学農学部）
- ② 農林水産物及びヒト病理組織の質量顕微鏡による解析
（◎財満 信宏／近畿大学農学部）



財満信宏

■ 研究の内容・主要な成果

- ① 質量顕微鏡によるコメの解析法を確立し、 α トコフェロール、 γ オリザノール、フィチン酸、ホスファチジルコリンなどの局在を可視化することに成功した。その他、32種類の農林水産物（ナス、ウズラ卵黄、牛肉、クルマエビ、マグロ等）について分析基盤を構築し、機能性食品成分（ポリフェノール類）、リン脂質、中性脂質、スフィンゴ脂質、糖、タンパク質、ペプチド、アミノ酸などの特徴的な局在を見出した。
- ② 14種類のヒト及び動物組織について分析基盤を構築した。特に、動脈硬化、動脈瘤、静脈瘤などの疾患組織においては、コレステロールエステル、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、トリアシルグリセロールなどの脂質を分子種レベルで可視化することによって、新たな代謝異常を見出した。
- ③ 経口投与した食品成分の体内動態の可視化に成功した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ① 農林水産物中の微小領域のメタボローム可視化手法として利用できる。これによって得られる知見は、改良品種や産地ブランドの創出などをはじめとした生物系特定産業に貢献できる重要な情報になると考えられる。
- ② 機能性食品創出のための新しい手法として利用できる。従来までの手法では、摂取した食品成分が、「どのような形で」、「どこに」分布し、代謝にどのような影響を与えるのかを可視化することはできなかった。本手法により、機能性食品の体内動態に関する情報が提供可能となる。

■ 公表した主な特許・論文

- ① Yoshimura, Y. et al. Different localization patterns of anthocyanin species in the pericarp of black rice revealed by imaging mass spectrometry. Plos One. In press.
- ② Zaima, N. et al. Imaging mass spectrometry-based histopathologic examination of atherosclerotic lesions. Atherosclerosis. 217:427-432, 2011.
- ③ Zaima, N. et al. Principal component analysis of matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric data to assess the authenticity of beef. Anal. Bioanal. Chem. 400:1865-1871, 2011.
- ④ Zaima, N. et al. Selective analysis of lipids by thin-layer chromatography blot matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry. J. Oleo Sci. 60:93-98, 2011.
- ⑤ Zaima, N. et al. Application of imaging mass spectrometry for analysis of rice *Oryza sativa*. Rapid Commun. Mass Spectrom. 24:2723-2729, 2010.
- ⑥ Zaima, N. et al. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Imaging Mass Spectrometry. (Review) Int. J. Mol. Sci. 11:5040-5055, 2010.

■ 研究成果の具体的図表

見えないものを見るための技術基盤の構築

農林水産物解析のための基盤の構築

ポリフェノール (ブルーベリー) 中性脂肪 (牛肉) 糖 (ナス) アミノ酸 (牛肉)

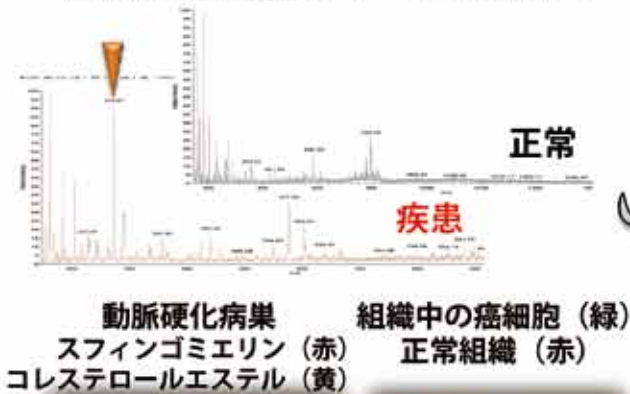
農林水産物中の成分可視化

ビタミン (米) リン脂質 (米) イソフラボン (大豆)

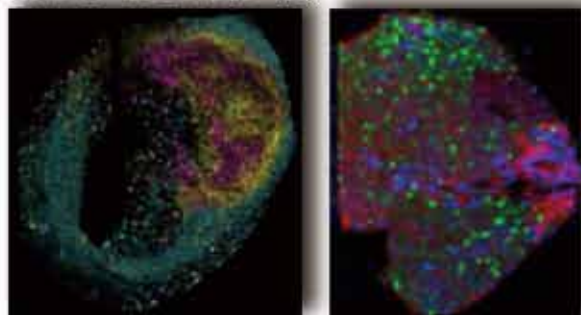
展望 産地ブランド・改良品種の創出

ヒト・動物組織解析のための基盤

疾患のメタボローム可視化



食品成分の動態解析



未投与群 投与群

※青：組織 (腎臓)
 緑：投与された食品成分

展望 新たな機能性食品の創出

■ 研究課題名

植物ミトコンドリア遺伝子発現の分子基盤解明と育種への応用

■ 研究の目的

植物ミトコンドリアはエネルギー生産、代謝、ストレス緩和、細胞質雄性不稔性など様々な植物の高次生命現象や農林業の重要な形質を支えているが、その遺伝子の発現機構はほとんど明らかにされていない。本研究では、ミトコンドリア遺伝子発現の既知制御因子である PPR 蛋白質を改変・利用することで、ミトコンドリア遺伝子発現の人為的な調節技術の創出を目指した。また、ミトコンドリア遺伝子発現の鍵段階である翻訳機構を解析し、未知の制御配列および因子を同定する。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ① PPR タンパク質を用いたミトコンドリア遺伝子発現改変技術の開発
（◎中村崇裕／九州大学高等研究院）
- ② 植物ミトコンドリア翻訳システムの解明
（風間智彦／東北大学大学院 農学研究科）



中村崇裕

■ 研究の内容・主要な成果

- ① 陸上植物のゲノム中に数多くコードされている PPR タンパク質は、どのようにしてターゲットとする RNA を認識し、結合するのかを明らかにした。
- ② PPR タンパク質を構成する PPR モチーフと結合するターゲット RNA 配列との対応関係の解析より、PPR モチーフの RNA 認識コード（PPR コード）を明らかにした。
- ③ イネミトコンドリアのリボソームに結合している RNA の末端を解析することで、翻訳制御配列が遺伝子ごとに異なっていることを明らかにした。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

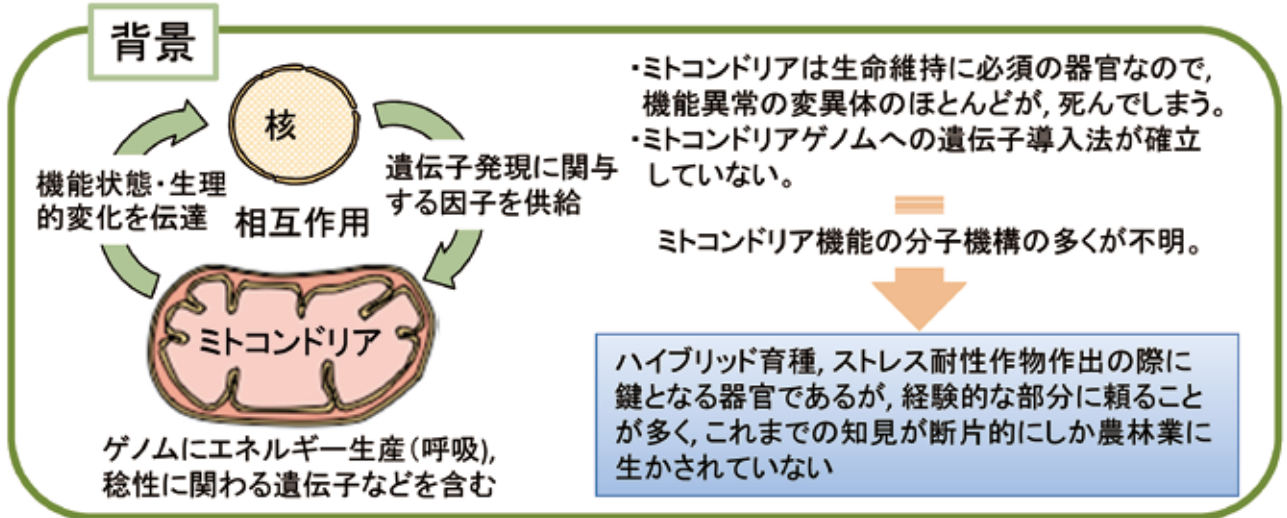
PPR コードを明らかにしたことにより、人工 PPR タンパク質を介した RNA の制御、結合 RNA 配列の予測が可能となる。特に、直接的な遺伝子導入法の確立していない植物ミトコンドリアの改変に非常に有益なツールとなることが考えられる。植物分野だけでなく、医薬分野も含めて多岐にわたる実用化が期待される。

■ 公表した主な特許・論文

- ① Kusumi, K., et al. A plastid protein NUS1 is essential for build-up of the genetic system for early chloroplast development under cold stress condition. *The Plant Journal*, vol. 68, 1039-1050 (2011)
- ② Kobayashi, K., et al. Identification and characterization of the RNA binding surface of the pentatricopeptide repeat protein. *Nucleic Acids Research*, published on line (2012)
- ③ 特願2011-231346 PPRモチーフを利用したRNA結合性蛋白質の設計方法及びその利用。国立大学法人九州大学（中村・八木・小林）

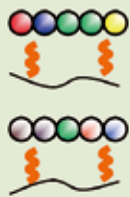
■ 研究成果の具体的図表

植物ミトコンドリア遺伝子発現の分子基盤解明と育種への応用



・PPR蛋白質を用いた遺伝子発現改変技術

PPRモチーフとRNAの組み合わせを解析

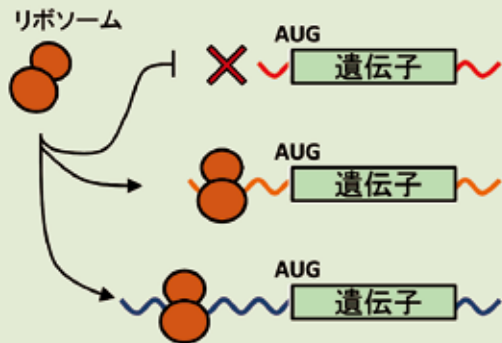


PPRモチーフ vs 核酸対応表の解明

● ... A	○ ... A/G
● ... U	○ ... U/C
● ... G	○ ... G
● ... C	○ ... C

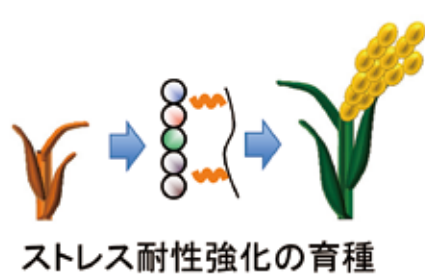
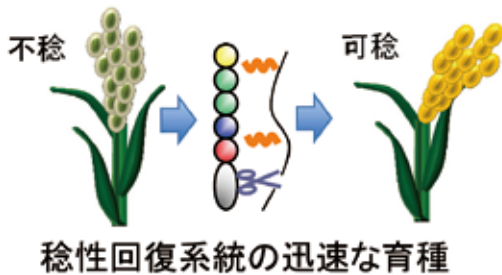
モチーフの組み合わせを変化させることで標的RNAの選択・予測が可能になった。

・植物ミトコンドリア翻訳機構の分子基盤



RNAの末端形状の違いで翻訳効率が異なることを発見。

人工PPR蛋白質デザイン + 翻訳機構の基礎的知見



■ 研究課題名

食欲反応を匂いで制御する新技術の開発

■ 研究の目的

空腹の時に食べ物のおいしそうな匂いを感じて食欲を刺激されたことなどの、匂いと食欲との結びつきを経験することは誰にでもできる。しかし、匂い分子の情報を脳の食欲中枢が処理するメカニズムは解明されていない。また、どのような匂い分子を用いることで食欲を効率的に制御できるのかも不明である。本研究では、匂い分子と食欲とを結びつける嗅覚受容体や嗅覚神経回路に関する研究を行い、嗅覚神経回路の機能に基づいて食欲や体重を制御する新技術や、食品への嗜好性を制御する香料を理論的に予測する新技術の開発を目指す。

■ 研究項目・実施体制 (◎は研究代表者)

- ①食欲反応を制御する神経メカニズムの研究
(◎小早川高／大阪バイオサイエンス研究所)
- ②食欲反応を制御する匂い分子と嗅覚受容体
(小早川令子／大阪バイオサイエンス研究所)



小早川 高

■ 研究の内容・主要な成果

- ①高脂肪食品に含まれる匂い分子が背側嗅覚神経回路を活性化することで嗜好性が先天的に制御されることを解明し、嗜好性を上昇させる匂い分子の開発に成功した。
- ②背側嗅覚神経回路の活性によって、エネルギー消費量や脂肪蓄積量が制御されることを解明し、匂い分子を用いて脂肪量や体重をコントロールする技術の理論基盤を構築した。
- ③嗅球イメージングを用いた機能性香料探索技術を開発した。本技術を用いて、極めて高い摂食行動の抑制活性を持つ匂い分子の開発に成功し、匂いに対する慣れが起こらない革新的な食害防止技術のシーズとして活用 (図 1.4)。
- ④嗅細胞からの食欲抑制ペプチドホルモン分泌を促す匂い分子のスクリーニング技術を開発した (図 2)。
- ⑤嗜好性や食欲の制御に関与する匂い分子に特異的に応答する嗅覚受容体を同定した。嗅覚受容体遺伝子の活性に基づく食欲制御技術の開発基盤を構築した (図 3)。
- ⑥匂い情報を脳へ伝達する嗅覚神経回路の働きにより、食品をどのような風味に感じるのかと加え、脂肪の蓄積量や体重までもが制御されることが明らかになった。本成果により、匂い分子を用いて食品の嗜好性や食欲本能を制御する技術の理論基盤が構築された。

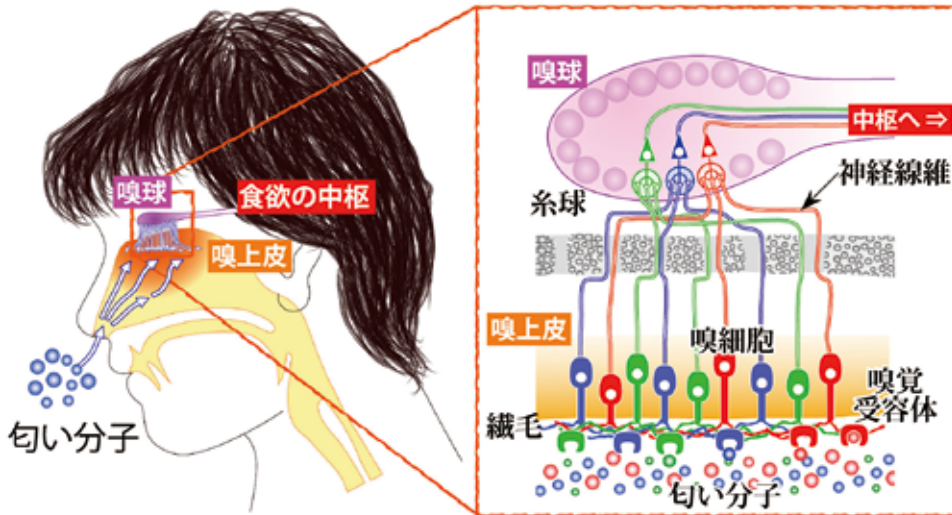
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

食品や飲料に香料は広く用いられるが、香料がヒトや動物に与える生理活性を予測することは困難である。本研究により、嗅覚神経回路のイメージング法や匂い分子と嗅覚受容体との結合スクリーニング法によって、経験や勘に依存しない理論的な香料開発の道が開かれた。本研究の成果に基づき、高脂肪食の過剰摂取による肥満から野生動物による食害に至るまで、現代社会が直面する様々な食欲に関係する問題を解決するイノベーションが加速される。

■ 公表した主な特許・論文

- ①小早川 高、小早川 令子：「嗅覚の分子機構」Clinical Neuroscience 28 (2010)
- ②小早川 高：「匂いに対する先天的な恐怖反応を制御する嗅覚神経回路の発見」生化学 83 (2011)
- ③小早川 高、小早川 令子：「嗅覚系による情動や行動の制御メカニズム」Annual Review 神経 2011(2011)
- ④特願 2010-172671：動物忌避剤：小早川高・小早川令子
- ⑤特願 2012-011682：CARTpt mRNA 発現細胞標識動物およびそれを用いたスクリーニング方法：
小早川高・小早川令子

■ 研究成果の具体的図表



本研究の対象となる嗅覚神経回路の説明

匂い分子は鼻腔の奥まった位置にある嗅上皮に到達する。嗅上皮には匂い分子を感知する嗅細胞が存在している。嗅細胞の先端部は繊毛と呼ばれ、匂い分子センサーとして機能する嗅覚受容体が存在している。

匂い分子の情報は神経線維を伝わって脳の嗅球の表面に存在する糸球へと伝達される。脳は糸球の活性化パターンを読み取って匂い情報の意味を判断する。

図1 食欲本能を抑制する匂い分子



図2 嗅細胞からの CART 分泌

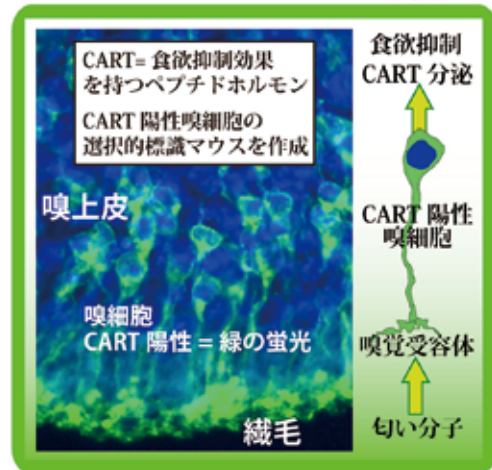


図3 食欲や嗜好性を制御する嗅覚受容体

1000種類の嗅覚受容体をテスト

匂い受容体	食欲抑制			嗜好性増加	
	F50	F56	F29	Acetoin	2-hepta
902	ON	off	off	off	off
215	ON	off	off	off	off
439	ON	ON	off	off	off
296	ON	ON	off	off	off
367	ON	ON	off	off	off
77	ON	ON	off	off	off
177	ON	ON	off	off	ON
122	ON	ON	off	off	ON
221	ON	ON	off	off	ON
143	ON	ON	off	off	ON
119	ON	ON	off	off	ON
212	ON	ON	off	off	ON
225	ON	ON	off	ON	ON
126	ON	ON	off	ON	ON
238	ON	ON	ON	ON	ON
178	ON	ON	ON	ON	ON
136	ON	ON	ON	ON	ON
287	ON	ON	ON	ON	ON
123	ON	ON	ON	ON	ON
282	ON	ON	ON	ON	ON
249	ON	ON	ON	ON	ON
282	ON	ON	ON	ON	ON
268	ON	ON	ON	ON	ON
178	ON	ON	ON	ON	ON
123	ON	ON	ON	ON	ON
139	ON	ON	ON	ON	ON
103	ON	ON	ON	ON	ON
449	ON	ON	ON	ON	ON
351	ON	ON	ON	ON	ON

食欲抑制香料開発

匂い分子 ⇄ 嗅覚受容体 ⇄ 生理応答 (嗜好性・食欲)

機能性香料を予測開発する理論

嗜好性上昇香料開発

図4 食欲を制御する嗅覚神経回路



4つの技術で新たな食欲制御法の開発を推進

■ 研究課題名

精子幹細胞を用いた新しい家畜の遺伝子改変法の開発

■ 研究の目的

動物の遺伝子改変は卵子・初期胚を用いた技術が中心となっていて行われているが、家畜への実用化には限界がある。精子幹細胞は卵子と異なり、生後の精巣から採取が容易であり試験管内で増やせること、また安定性が高いことから、優良な経済形質をもった家畜を遺伝的に改良することができる。本研究では、マウスで確立した精子幹細胞に基づく遺伝子改変個体作成法をラット・ウサギ・ブタなど他の種に展開し、家畜の品種改良に使える技術へと発展させることを目的としている。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①ラットでの精子幹細胞培養技術及び遺伝子破壊技術の確立
（篠原美都（京都大学大学院 医学研究科））
- ◎ウサギ・ブタの精子幹細胞の培養と移植技術の確立
（◎高島誠司（京都大学大学院 医学研究科））



高島誠司

■ 研究の内容・主要な成果

- ①ラット精子幹細胞の安定した長期培養系を確立し、長期培養精子幹細胞から子孫を作製することに成功した。
- ②ラット精子幹細胞において、遺伝子トラップ法及び相同組換え法による標的遺伝子破壊に成功した。
- ③この遺伝子トラップ法により遺伝子破壊した細胞を、精巣に移植し交配させることで、遺伝子破壊ラットの作製に成功した。
- ④ウサギ・ブタ精子幹細胞の樹立・長期培養法に向けた新規無血清培養法、精子幹細胞の増殖を促進するフィーダー細胞、精子幹細胞の高純度濃縮法を開発した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

本研究で遺伝子破壊ラットを作製するために確立した精子幹細胞の培養・凍結保存・遺伝子改変等の諸技術を家畜に応用することで以下の効果が見込まれる。

- ①家畜の品種改良に応用し優良家畜系統・希少動物の半永久的保存および子孫の大量生産ができる。
- ②実験動物に応用し現行（マウス）より大型でよりヒトに近い動物（ミニブタ・サル）での疾患モデル・ヒト化動物作製への貢献が期待できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Kanatsu-Shinohara M., et al. Serum- and feeder-free culture of mouse germline stem cells. Biol. Reprod. 84(1), 97-105(2011)
- ②Shinohara T., et al. Unstable side population phenotype of mouse spermatogonial stem cells in vitro. J. Reprod. Dev. 57(2), 288-295(2011)
- ③Kanatsu-Shinohara M, et al. Homologous recombination in rat germline stem cells. Biol Reprod. 85(1), 208-217(2011)
- ④Kanatsu-Shinohara M, et al. Dynamic changes in EPCAM expression during spermatogonial stem cell differentiation in the mouse testis. PLoS One. 6(8), e23663(2011)

■ 研究成果の具体的図表

精子幹細胞を用いた新しい家畜の遺伝子改変法の開発

ラットでの精子幹細胞培養技術及び遺伝子破壊技術の確立

精子幹細胞長期培養 → 遺伝子破壊 → 精巣内移植による精子形成 → 遺伝子破壊された精子 → 遺伝子破壊精子に由来する子孫同士の交配 → 遺伝子破壊ラット

1. ラット精子幹細胞培養法の開発

GDNF, FGF-2, FGF-9の存在下、桑実状のコロニーを形成し、三年以上に渡る対数増殖を達成した。

2. 遺伝子トラップ法/相同組換え法での遺伝子破壊ラット作製

野生型Ocln遺伝子
exon3
Ocln遺伝子 KOベクター
Neo^r
相同組換え
ノックアウトOcln遺伝子

Ocln KO精子幹細胞を移植した精巣(緑色蛍光は移植精子幹細胞由来の精子)

個体作製に使用可能なOcln KO精子幹細胞由来の円形精子細胞(矢印)

精子幹細胞における遺伝子相同組換えによるラットOcln遺伝子破壊

ラット精子幹細胞による遺伝子破壊動物作製基盤技術を確立

ウサギ・ブタの精子幹細胞の培養と移植技術の確立

ブタ

ウサギ

ブタ・ウサギの精子幹細胞はラットで開発した手法では樹立が困難。体細胞の増殖が激しく、精子幹細胞が淘汰されてしまった

体細胞の増殖・混入を回避し、精子幹細胞の増殖を促進する培養法・幹細胞純化法の確立

1. 精子幹細胞の新規無血清培養法の開発

精子幹細胞の無血清長期培養法をマウスで確立。血清糖タンパクFetuinの添加により三ヶ月以上の対数増殖を達成した。

2. 精子幹細胞の増殖を誘導する支持細胞の開発

精子幹細胞の増殖を促すフィーダー細胞としてC166血管内皮細胞を見いだした。

これまで不可能であったCS7BL6マウスからも精子幹細胞を樹立することができた。

3. 精子幹細胞の濃縮法の開発

『インテグリンα₆』『CD9』の二種類の精子幹細胞マーカーの発現をウサギの精巣細胞で解析、ウサギ精子幹細胞がインテグリンα₆^{hi} CD9^{lo}のポピュレーションに濃縮されていることを見いだした。

ラットで確立した手法を改善し、ウサギ・ブタでの精子幹細胞培養技術の開発

精子幹細胞技術の家畜等への応用

- ・家畜の品種改良 : 優良家畜系統・希少動物の保存および子孫の生産
- ・新規実験動物開発 : 疾患モデル動物・ヒト化動物の作製

■ 研究課題名

中枢神経性糖代謝制御機構を用いた食品成分スクリーニング法開発

■ 研究の目的

本研究は、糖代謝改善により糖尿病を予防する機能性食品成分の探索法の開発を目標としている。個体の糖代謝バランスは脳により調節され、特に肝臓は脳による制御を強く受ける。近年では、脳による肝臓糖代謝調節機構の活性測定は容易になされるようになってきた。そこで、本研究課題では、糖代謝改善食材候補である鶏肉抽出物からの実際の抗糖尿病作用性食品成分スクリーニングを通して、脳による肝臓糖代謝調節メカニズム自体を指標とした食品成分探索法を実証・確立・効率化することを目的としている。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①中枢神経作用による鶏肉抽出物からの糖代謝調節成分のスクリーニング
（◎井上 啓／金沢大学フロンティアサイエンス機構）
- ②スクリーニングのハイスループット化を目的としたモニターマウスの作成実証
（堀家慎一／金沢大学フロンティアサイエンス機構）



井上 啓

■ 研究の内容・主要な成果

- ①アミノ酸・蛋白質食材である鶏肉抽出物が、肝臓の糖代謝改善作用をもつことを解明した。
- ②アミノ酸・蛋白質食材である鶏肉抽出物からのスクリーニングにより、脳による肝糖代謝改善作用成分としてヒスチジンおよびヒスチジン含有ジペプチドを同定し、スクリーニング法の有用性を実証した。
- ③肥満・インスリン抵抗性状態で、ヒスチジン作用により肝糖代謝改善作用を阻害する要因が発生することを解明した。
- ④ヒスチジン作用による肝臓糖代謝改善作用の新規メカニズムを解明した。
- ⑤肝糖代謝を簡便に測定するモニターマウスを作出した。
- ⑥以上により、糖代謝メカニズムを用いた抗糖尿病食品成分スクリーニング法を確立した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①糖代謝調節メカニズムに基づく機能的バイオマーカーを用いた抗糖尿病食品成分スクリーニング法の確立は明確なメカニズムを有した抗糖尿病機能性食品の開発につながる。
- ②ヒスチジンは食肉中ではカルノシン、魚肉中にはアンセリンとしても含まれており、有効成分としての有用性が高い。ヒスチジン・ヒスチジン含有ジペプチドの効果的な摂取法の開発により国民健康に寄与するといえる。

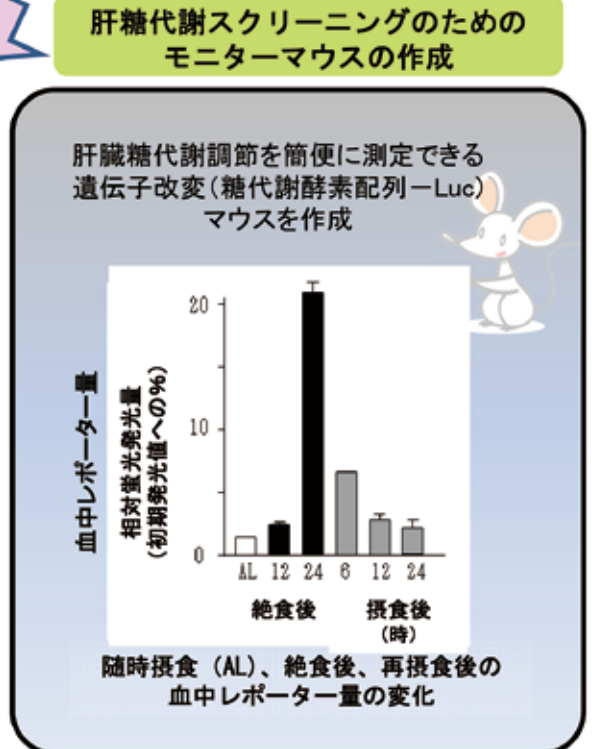
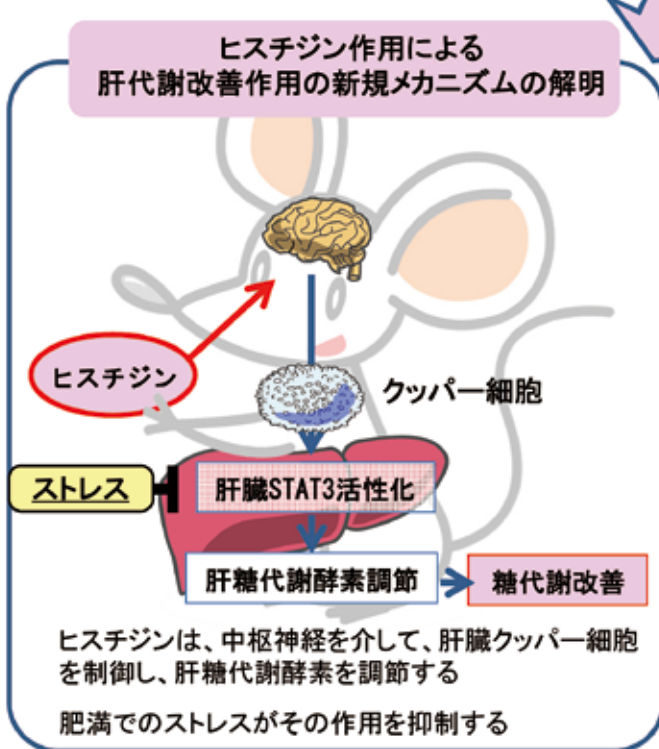
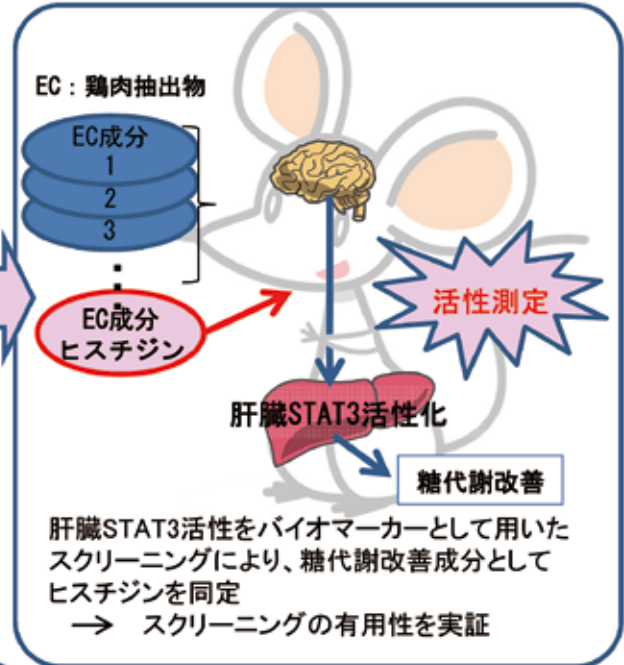
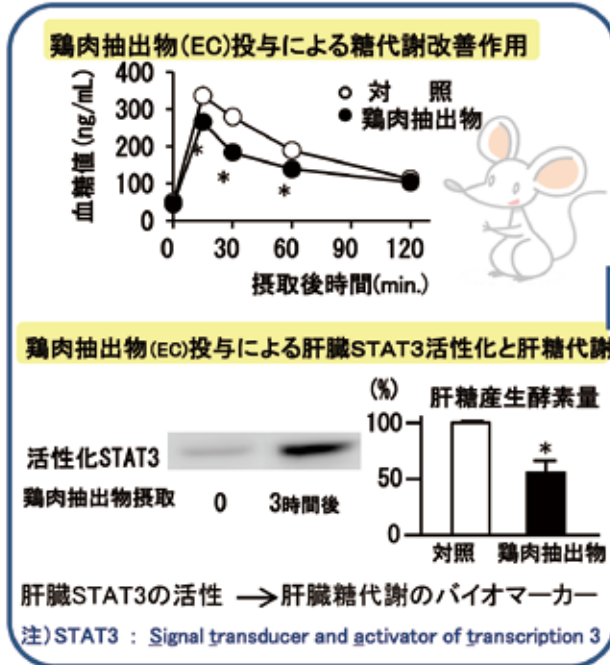
■ 公表した主な特許・論文

- ①Inoue H. Regulation of glucose metabolism by central insulin action. Biomedical Reviews. In press.
- ②Kimura K, Yamada T, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Inhibits STAT3-dependent Suppression of Hepatic Gluconeogenesis via Dephosphorylation and Deacetylation. Diabetes. 61: 61-73(2012)
- ③Koyanagi M, Asahara S, et al. Ablation of TSC2 Enhances Insulin Secretion by Increasing the Number of Mitochondria through Activation of mTORC1. PLoS One. 6:e23238(2011).
- ④井上啓 中枢神経インスリン作用による肝糖産生制御機構 実験医学 29 : 131-136 (2011)

■ 研究成果の具体的図表

中枢神経作用による糖代謝制御機構を利用した機能性食品のスクリーニング法の開発

中枢神経作用による鶏肉抽出物 (EC) からの糖代謝調節成分のスクリーニング



糖代謝調節メカニズムを有した抗糖尿病機能性食品の開発
 ヒスチジン・ヒスチジン含有ジペプチドの摂取による国民健康への寄与

■ 研究課題名

シロアリの卵運搬本能を利用した擬似卵型駆除剤の実用化

■ 研究の目的

シロアリは被害の甚大さと予防、駆除の困難さの点から見て、人類にとって最も厄介な害虫の一つである。シロアリの働き蟻は女王の産んだ卵を認識し、それを育室に運搬して毎日舐めて世話する。本研究は、擬似卵に含ませた殺虫剤をシロアリ自ら巣の中核に運搬させて巣全体を壊滅する技術を確認し、高い運搬活性と殺虫活性をもつ擬似卵型駆除剤の実用化を目指す。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①シロアリの卵認識および卵運搬メカニズムの解析
（◎松浦健二／国立大学法人岡山大学）
- ②擬似卵型駆除剤の基材開発
（釜口良誠／森下仁丹株式会社）
- ③殺虫成分のスクリーニングおよび擬似卵型駆除剤の製剤
（野口裕志／住化エンビロサイエンス株式会社）
- ④家庭用および業務用シロアリ駆除剤としての商品化開発
（山口正永／アース製薬株式会社）



松浦健二

■ 研究の内容・主要な成果

- ①擬似卵基材の巣外から巣内への運搬率90%を実現する高活性の人工フェロモンを5種類開発し、有機溶媒DMFを用いることで擬似卵の完全油系化に成功し、長期間安定してフェロモンの効果を維持することが可能になった。
- ②殺虫活性物質EYG-010を分散内包させた皮膜崩壊型ゼラチン製擬似卵カプセル製剤を開発し、巣外から巣内への運搬を検証する大型ケース実験において、高い運搬率と駆除率が確認できた。
- ③防水・防湿機構を備えた家庭用ステーションの基本形態が完成し、実地評価で有効性を確認した。
- ④インジェクション法によるフィールド試験では多数の擬似卵がシロアリ巣の中核部実卵塊中で発見され、シロアリによる擬似卵の中核部運搬と複数のコロニーの駆除に成功した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①擬似卵駆除剤の巣へのインジェクト法により、既存のシロアリ駆除業者にとっても使いやすく、効果的な技術が確立できる。
- ②擬似卵導入デバイスを用いることで、シロアリ自ら殺虫剤を巣の中核まで運搬させることができる、今までにない一般家庭向けの効果的なシロアリ駆除剤を実現できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Matsuura, K. et al.: Identification of a pheromone regulating caste differentiation in termites. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107: 12963-12968 (2010)
- ②シロアリの卵の揮発性コーリングフェロモンおよび女王フェロモンを利用した駆除技術: 特願2009-259938: 国立大学法人岡山大学
- ③害虫駆除剤: 特願2011-250494: 国立大学法人岡山大学、森下仁丹(株)
- ④Himuro, C. et al.: Queen-specific volatile in a higher termite *Nasutitermes takasagoensis* (Isoptera: Termitidae). Journal of Insect Physiology, 57: 962-965 (2011).

■ 研究成果の具体的図表

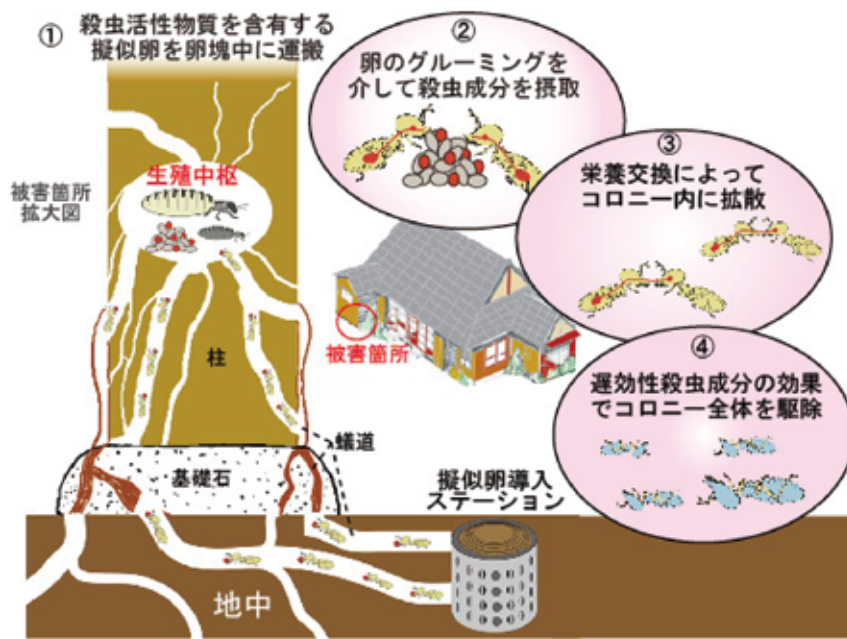


図1 擬似卵型駆除剤によるシロアリ駆除技術のスキーム

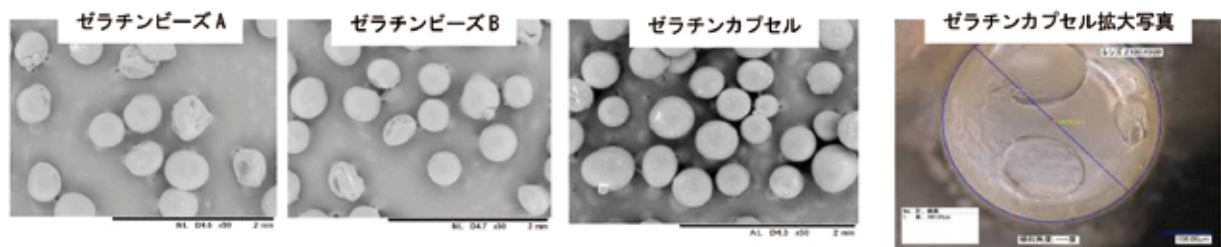


図2 ゼラチンビーズ型とゼラチンカプセル型の擬似卵駆除剤の電子顕微鏡写真

左からゼラチンビーズ A (運搬率 0%)、ゼラチンビーズ B (運搬率 38%)、ゼラチンカプセル (運搬率：80%) およびゼラチンカプセルの拡大写真。ただし、運搬率とは、与えた擬似卵当たり、シロアリが巣内に運搬したものの割合。ゼラチンビーズで真球率の低いものは運搬されず、カプセル型は形状が良好で運搬率が高い。



図3 シロアリの巣中枢部の実卵塊中で発見されたインジェクション法により巣外近辺に投入された擬似卵カプセル

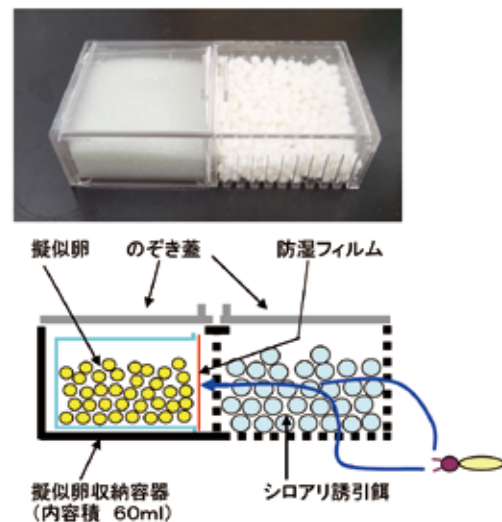


図4 完成した一般家庭用途ステーション

■ 研究課題名

「ひとめぼれ」突然変異集団と RILs を用いた連関解析実験系の確立と利用

■ 研究の目的

岩手県において現在までに確立された「ひとめぼれ」突然変異系統群 12,000 系統および「ひとめぼれ」を共通親として 25 系統のイネと交配して得られた大規模組換え近交系 (RILs) 3,127 系統を材料として、次世代シーケンサーによる全ゲノム解読と統計解析により、重要遺伝子領域を多数同定し、東北日本に適した水稻品種母本を作出する。

■ 研究項目・実施体制 (◎は研究代表者)

- ①次世代シーケンサーを用いた連関解析によるイネ重要遺伝子領域の特定
(◎寺内良平／(財)岩手生物工学研究センター)
- ②大規模突然変異集団および RILs の連関解析アルゴリズムの開発および実証
(印南秀樹／国立大学法人総合研究大学院大学)
- ③系統群の形質評価および多様なイネ中間母本の迅速なマーカー育種
(阿部陽／岩手県農業研究センター)



寺内良平

■ 研究の内容・主要な成果

- ①東北地方主力品種「ひとめぼれ」EMS 突然変異系統 12,000 系統を作出した。
- ②「ひとめぼれ」を共通親として 25 系統の多様なイネ系統と交配して得られた計 3,127 系統の大規模組換え近交系統 (RILs) F4 および F6 世代を育成して形質調査を実施した。
- ③突然変異系統と次世代シーケンサーを用いた迅速遺伝子同定技術「MutMap 法」を開発した (図 1)。
- ④次世代シーケンサーを用いた量的遺伝子座 (QTL) 迅速同定技術「QTL - seq 法」を開発した (図 2)。
- ⑤ RILs 3,127 系統について、1,500 個の SNP マーカーで genotyping、形質との連関解析を開始した (図 3)。
- ⑥ 30 系統のイネゲノム解読により、栽培化に伴う人為選択を受けた遺伝子領域を 10 個同定した。
- ⑦開発した技術により、育種上重要な形質 (半矮性、耐冷性、雄性不稔、いもち病抵抗性、アミロース含有率、初期伸長性など) を支配する遺伝子領域を計 23 個同定した。
- ⑧同定された重要遺伝子領域を保有する有用な中間母本を 8 系統育成した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①「ひとめぼれ」変異系統および組換え近交系統を維持し、重要遺伝子領域同定に活用する。
- ②上記①の材料に「MutMap 法」および「QTL - seq 法」を活用して水稻有用遺伝子を大規模に単離同定する。
- ③上記②によって同定された有用遺伝子を利用してマーカー選抜法により、新品種母本を育成する。
- ④東北および日本の水稻育種の迅速化がはかれる結果、必要に応じた多様な水稻品種育成が可能となる。
- ⑤本研究で確立された技術を他の作物に適用することにより、作物育種全般が加速化される。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Terauchi, R., Yoshida, K. Towards population genomics of effector-effector target interactions. *New Phytologist* 187:929-939. (2010).
- ②Okuyama, Y., Kanzaki, H. et al. A multi-faceted genomics approach allows the isolation of rice *Pia*-blast resistance gene consisting of two adjacent NBS-LRR protein genes. *The Plant Journal* 66 : 467-479. (2011).
- ③Abe, A., Kosugi, S. et al. Genome sequencing reveals agronomically-important loci in rice using MutMap. *Nature Biotechnology* DOI:10.1038/nbt.2095. (2012).

■ 研究成果の具体的図表

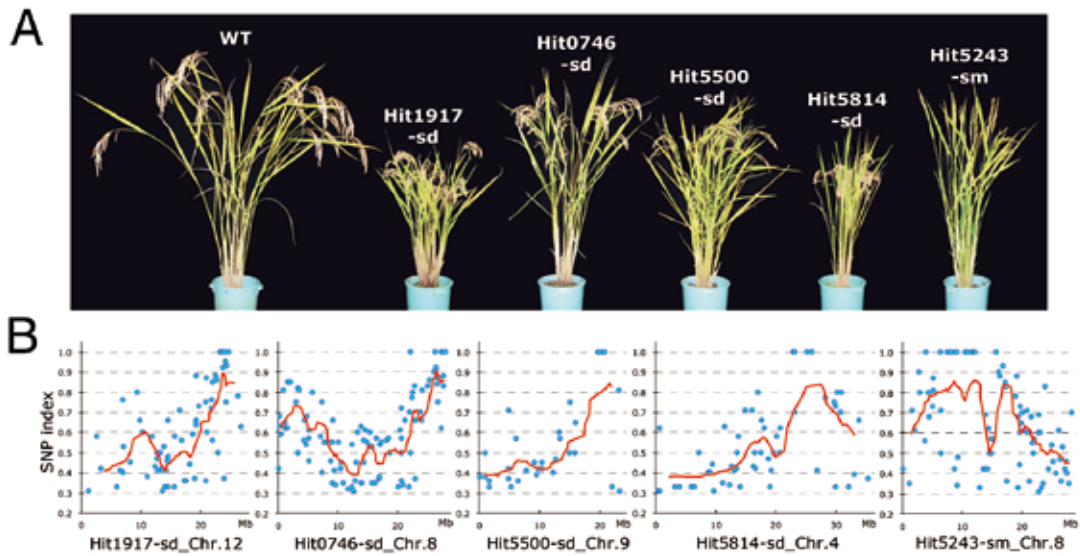


図 1. MutMap 法で同定された 5 つの突然変異体の原因遺伝子領域。A: ひとめぼれ親品種 (WT) および突然変異体の草型。Hit5243-sm (雄性不稔) 以外は、全て半矮性を示す。B: MutMap 法で見いだされた原因遺伝子領域。SNP-index が 1 を示す SNP がクラスターになって存在する領域が原因遺伝子領域と考えられる。【 MutMap 法: 突然変異体と原品種との交雑 F2 集団の内、変異型を示す 20 個体のバルク DNA を全ゲノムシーケンスし、原品種の基準配列と整列比較する。特定のゲノム領域を覆う多数のリード配列中、SNP を含むリードの頻度を SNP-index と定義し、ゲノム全体の SNP について SNP-index を求める。ゲノム位置と SNP-index の関係を示すグラフを描くことにより、SNP-index=1 となる原因遺伝子領域を特定する。】

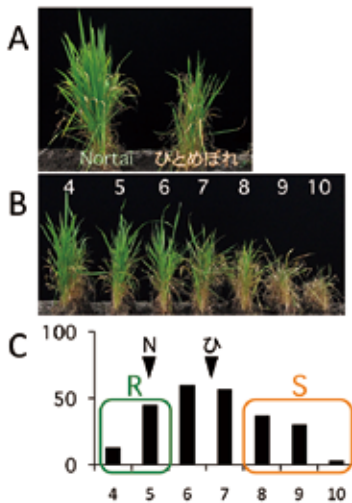


図 2. QTL-seq 法によるいもち病圃場抵抗性 QTL の同定。

A: 品種「Nortai」と「ひとめぼれ」のいもち病圃場抵抗性の差。B: 「Nortai」x「ひとめぼれ」の RILs における圃場抵抗性の分離 (4 抵抗性強 ↔ 10 抵抗性弱)。C: RILs における圃場抵抗性のクラスと頻度分布。バルクした系統 R: 抵抗性バルク, S: 感受性バルク。D: 抵抗性バルク DNA および感受性バルク DNA を全ゲノムシーケンスし、「ひとめぼれ」基準配列と比較して得られた SNP-index のプロット。【 QTL-seq 法: 異なる品種間の交配による RILs または F2 分離集団の表現型を評価し、その形質値が分離の両極端を示す系統 (個体) をそれぞれ複数 (>20) 選抜し、そのバルク DNA をシーケンスする。片親のゲノム配列を基準配列として比較し、各バルク DNA のゲノム全体にわたる SNP-index を求め、ゲノム位置と SNP-index の関係を示すグラフを描くことにより、表現型の差を決定している QTL 位置を特定する。】

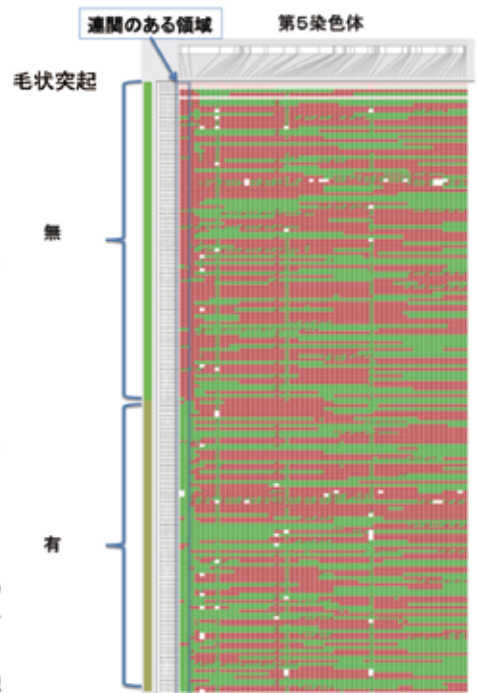


図 3. RILs の葉身の毛状突起の表現型と遺伝子型の連鎖。葉身の毛状突起の無いインド稲 2 品種とひとめぼれの交配後代の RILs における毛の有無と第 5 染色体のひとめぼれゲノム (赤色) およびインド稲ゲノム (緑色) の連鎖

■ 研究課題名

腸感染症管理用素材としてのチーズホエイの有効利用

■ 研究の目的

我々が新規に有効性の知見を得たウイルス感染阻害作用および下痢症状軽減化に有効なタンパク質がチーズ製造時の副産物（チーズホエイ）中に含まれていることに注目し、ウイルス感染が原因で起こるヒトおよび家畜の下痢症を予防・軽減するための管理用素材・補助食材の実用化に挑む。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①抗ウイルス性乳タンパク質濃縮ホエイの活性評価と作用メカニズムの解明
（◎金丸義敬／国立大学法人岐阜大学）
- ②抗ウイルス性乳タンパク質濃縮ホエイ製造方法の確立と前ヒト臨床試験（仔ザル試験）の実施
（金子哲夫／株式会社 明治）
- ③仔ウシへの投与によるチーズホエイの腸感染症予防、軽減化の有効性評価（ホルスタイン種）
（増子孝則／明治飼糧株式会社）
- ④仔ウシへの投与によるチーズホエイの腸感染症予防、軽減化の有効性評価（黒毛和種）
（岡田真人／独立行政法人家畜改良センター）



金丸義敬

■ 研究の内容・主要な成果

- ①大型膜試験装置による検討からチーズホエイに含まれる抗ウイルス性乳タンパク質を濃縮し腸感染症管理用素材としてホエイ濃縮物を工業スケールで実用化するための基本条件（濃縮、殺菌、噴霧条件）を確立した。
- ②ホエイ濃縮物の仔ウシへの投与による増体および腸内菌叢改善効果が示唆された。
- ③ホエイ濃縮物のヒトロタウイルス株に対する効果確認によりヒト試験実施への足がかりとなるデータを得た。
- ④抗ウイルス性乳タンパク質（ラクトフォリン、 α -ラクトアルブミン）の活性メカニズムを解明した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①工業スケールで抗ウイルス性乳タンパク質を濃縮する技術的なハードルをクリアすることができた。これにより国内ナチュラルチーズ増産に伴い発生が増加しているチーズホエイタンパク質の有効利用に貢献する。
- ②ホエイ濃縮物の抗ヒトウイルス活性は耐熱性を有することから製造時に高温で殺菌処理を行う乳児用調製粉乳や高齢者向け流動食に腸感染症管理活性を付与する食品原料としてホエイ濃縮物の活用が期待される。
- ③ホエイ濃縮物の仔ウシへの給与による増体ならびに腸内細菌叢の改善効果が示唆されたことから、免疫機能が未発達な哺乳初期や初乳からの移行抗体が低下する哺乳後期の動物用飼料にホエイ濃縮物を利用できる。
- ④ラクトフォリンはウイルス側への中和作用だけでなく、宿主細胞への相互作用により感染を防ぐことが示唆された。さらにラクトフォリンは活性を保持したまま腸管へ到達することを見出した。ロタウイルスだけでなく腸管細胞を標的とする他の多様な感染症予防にもつながる可能性がある。

■ 公表した主な特許・論文

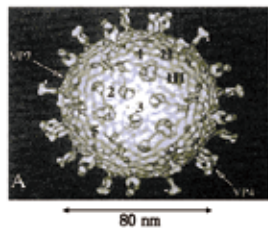
- ①INAGAKI M., et al. The Multiplicity of N-Glycan Structures of Bovine Milk 18 kDa Lactophorin (Milk GlyCAM-1). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74: 447-450 (2010)
- ②INAGAKI M., et al. The Bovine Lactophorin C-Terminal Fragment and PAS6/7 Were Both Potent in the Inhibition of Human Rotavirus Replication in Cultured Epithelial Cells and the Prevention of Experimental Gastroenteritis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74: 1386-1390 (2010)
- ③XIJIER, et al. An Assay for Detecting Neutralization of Rotavirus Infection by Quantitative Determination of VP6 Protein Fluorescence Intensity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75: 2059-2062 (2011)
- ④INAGAKI M., et al. Production and Functional Properties of Dairy Products Containing Lactophorin and Lactadherin., In " Food Additive" , ed. Yehia El-Samragy, InTech, Rijeka, Croatia, in press (2011)
- ⑤XIJIER, et al. Comparison of Efficacy of the Alpha-lactalbumin from Equine, Bovine, and Human Milk on Cell Growth for Intestinal IEC-6 Cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* in press (2012)

■ 研究成果の具体的図表

背景：国産チーズ増産とチーズホエイの活用問題

研究目的：腸感染症管理用素材としてのチーズホエイの有効利用

小児・幼動物下痢症の最大原因であるロタウイルス感染症の制御



ロタウイルスの微細構造

- ▶ 全世界で年間60万人の小児がロタウイルス下痢症で死亡している
- ▶ 先進国では死亡例は少ないものの、国内における感染数は年間80万人と推定
- ▶ ロタウイルスは家畜でも下痢の主因であり、仔牛や仔豚で深刻な経済損失につながる

(研究の内容・主要な成果)

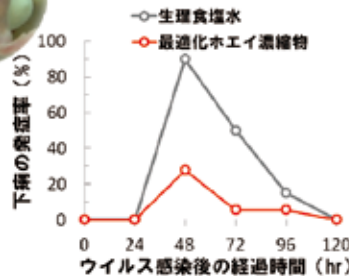
株式会社明治：ホエイ濃縮

岐阜大学：抗ウイルス活性 & メカニズム検討

家畜改良センター 明治飼糧(株)：仔ウシ試験



実用化基本条件を確立 (濃縮、殺菌、噴霧)



増体効果 腸内細菌叢改善

・ヒトロタウイルス株に対する効果確認

・抗ウイルス性乳タンパク質のメカニズム解明 (ラクトフォリン、 α -ラクトアルブミン)

研究成果：ホエイ濃縮物の工業的実用化条件の確立、抗ウイルス活性確認および作用メカニズム解明に成功

今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ・チーズホエイタンパク質の有効利用が加速
- ・科学的根拠に基づく家畜飼料原料および食品素材の提供
- ・ロタウイルスだけでなく腸管細胞を標的とする他の多様な感染症予防素材の確立

■ 研究課題名

酸化ストレス耐性酵母の創製と革新的発酵生産システムの開発

■ 研究の目的

酵母は発酵生産環境において酸化ストレスに曝されるため、有用機能が制限され発酵生産力に限界がある。また、発酵生産プロセスの進歩に伴い、酵母には強い酸化ストレス耐性が必要である。本研究では、独自に見出した酸化ストレス耐性機構に基づき、①酸化ストレス耐性機構の高機能化と高度利用、②産業酵母（パン酵母、酒類酵母、バイオエタノール酵母）の酸化ストレス耐性向上技術の構築を行ない、革新的な発酵生産システムを開発する。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①酵母の酸化ストレス耐性機構の解明と高機能化
（◎高木 博史／国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学）
- ②酸化ストレス耐性パン酵母の作製と発酵特性の解析
（島 純／国立大学法人京都大学）
- ③酸化ストレス耐性酒類酵母の作製と発酵特性の解析
（尾形智夫／アサヒビール株式会社）
- ④酸化ストレス耐性バイオエタノール酵母の作製と発酵特性の解析
（下飯 仁／独立行政法人酒類総合研究所）



高木博史

■ 研究の内容・主要な成果

- ①実験室酵母で見出した酸化ストレス耐性機構を解析し、プロリン・NO代謝系酵素（Prol, Mpr1）、ストレス関連転写因子（Msn2, Pog1）などの機能強化により、産業酵母の酸化ストレス耐性が向上した（図1）。
- ②上記の酸化ストレス耐性産業酵母の特性を評価し、実用ストレス条件での発酵生産能への効果を実証した。特にパン酵母では、製パンストレス条件（冷凍、乾燥、高シヨ糖）での生地発酵力が大幅に向上した（図2）。
- ③液胞プロトンポンプ関連遺伝子（VMA41, VMA45, DBF2など）の過剰発現により、パン酵母ではエタノール耐性が向上し、ビール酵母では高濃度醸造でのエタノール生産速度と発酵後の酵母生存率が増加した（図3）。
- ④清酒酵母の高発酵性の原因遺伝子変異を同定し、バイオエタノール酵母に導入したところ、ストレス応答関連遺伝子（RIM15, MSN2）の破壊によって廃糖蜜培地でのエタノール生産速度と生成濃度が増加した（図4）。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①今回作製した「セルフクロニング型酵母」について、菌株のさらなる改良、製パン・醸造仕込み・発酵試験のスケールアップを実施し、最適な発酵生産プロセスの検討に取り組み、実用化に向けた研究を展開する。
- ②有用物質の生産性向上をめざす微生物を対象に、ストレス耐性を付与するための育種技術として応用できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特願2011-57852: エタノールの製造方法: 独立行政法人酒類総合研究所
- ②特願2011-274519: 冷凍ストレス耐性を有する酵母: 国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学
- ③Sasano, Y., Takahashi, S., et al.: Antioxidant N-acetyltransferase Mpr1/2 of industrial baker's yeast enhances fermentation ability after air-drying stress in bread dough: Int. J. Food Microbiol., 138: 181-185 (2010)
- ④Watanabe, D., et al.: Enhancement of the initial rate of ethanol fermentation due to dysfunction of yeast stress response components Msn2p and/or Msn4p: Appl. Environ. Microbiol., 77: 934-941 (2011)
- ⑤Sasano, Y., Haitani, Y., et al.: Proline accumulation in baker's yeast enhances high-sucrose stress tolerance and fermentation ability in sweet dough: Int. J. Food Microbiol., 152: 40-43 (2012)

■ 研究成果の具体的図表

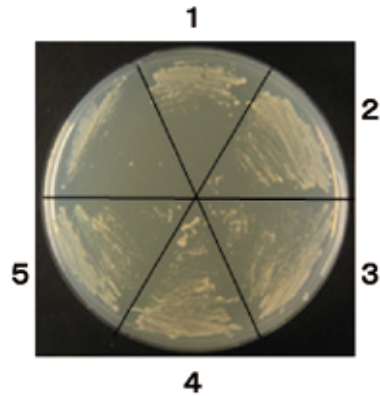


図1 酸化ストレス耐性が向上した産業酵母 (例として、パン酵母を示す)

1 mM 過酸化水素を含有する寒天培地に塗布した。

- 1: パン酵母野生株二倍体
- 2: PRO1-I150T (プロリン蓄積株)
- 3: PRO1-I150T/ Δ Anth1 (プロリン・トレハロース同時蓄積株)
- 4: PRO1-I150T/MPR1-F65L (プロリン・NO合成系強化株)
- 5: MSN2-OP (MSN2過剰発現株)

野生株(1)と比較して、作製した菌株(2~5)は酸化ストレス条件でも良好に生育している。

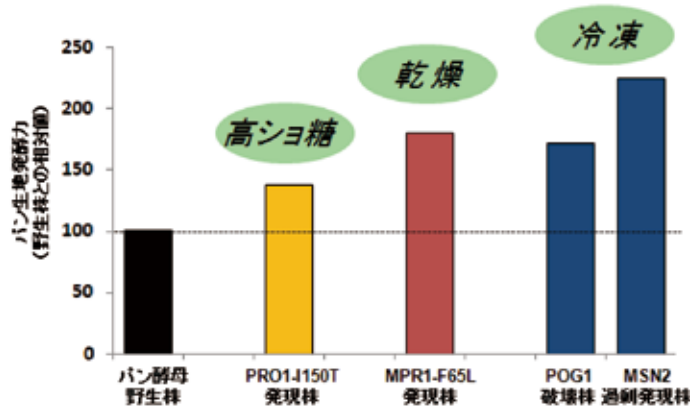
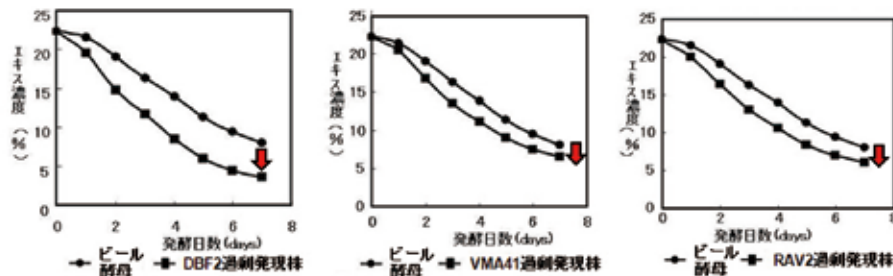


図2 酸化ストレス耐性パン酵母が示す製パンストレス条件における生地発酵力の向上

- 高シヨ糖: 約30% (対小麦粉比)のシヨ糖を含む高糖生地での発酵力
- 乾燥: 高温乾燥90分処理後のパン生地発酵力
- 冷凍: 冷凍(-20°C)3週間後のパン生地発酵力



液胞プロトンポンプ関連遺伝子の過剰発現によるエキス消費速度(エタノール生産速度)の向上

図3 液胞プロトンポンプ関連遺伝子の過剰発現によるビール酵母のエタノール生産速度の向上

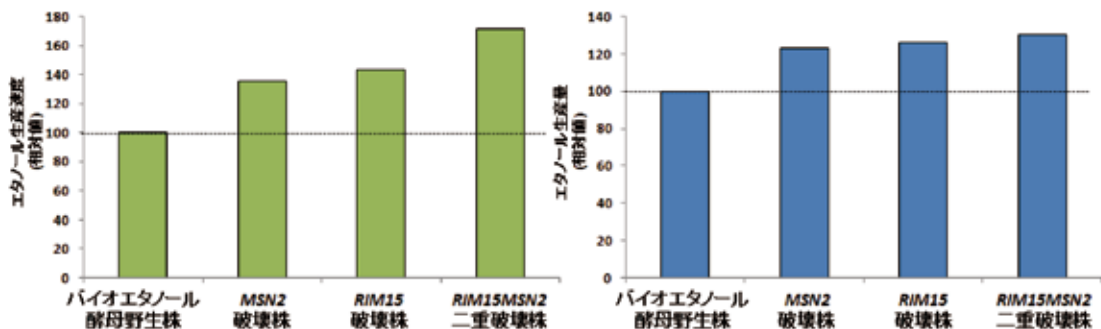


図4 ストレス応答関連遺伝子の破壊によるバイオエタノール生産性の向上

バイオエタノール生産酵母において、ストレス応答関連遺伝子(MSN2, RIM15)を破壊することにより、エタノールの生産速度と生成量がともに向上した。

以上のように、酸化ストレス耐性機構の高機能化・産業酵母の酸化ストレス耐性向上技術の構築を行った。今後は、革新的発酵生産システムの実用化研究を展開する。

■ 研究課題名

睡眠改善機能食品の開発

■ 研究の目的

日本では不眠人口の増加と睡眠不足に伴う産業事故等が社会問題になっている。安全で効果の確かな「睡眠改善機能食品」の開発には、成分と作用メカニズムの科学的証明が不可欠である。生研センター「基礎研究推進事業」（平成16年度）の助成により、実験動物の行動量と脳波に基づく睡眠改善機能食品の評価技術を確認し、鎮静や睡眠覚醒効果のある115種の素材を見つけた。本研究は、科学的根拠に基づいた安心安全な睡眠改善機能食品の開発と製品化を目的とする。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①睡眠改善機能をもつ候補素材の作用メカニズムの解明
（◎裏出良博／財団法人大阪バイオサイエンス研究所）
睡眠改善機能食品の原材料確保と大量抽出法の確立 *（再委託）（曲 衛敏／復旦大学）
- ②睡眠改善機能食品の製品化
（栗木 隆／江崎グリコ株式会社）



裏出良博

■ 研究の内容・主要な成果

- ①睡眠覚醒調節素材としてオルニチン、カカオエキス、サフラン、イチヨウ葉エキス、ビール酵母抽出RNA、烏霊参を選び、ヒトでの有効用量を決定し安全性を確認して、クロシン、サフラノール、ホノキオール、マグノロール、ペオニフロリン、オルニチン、GABA などについて有効成分と作用機構を決定した。
- ②オルニチンを第一選択素材として、血流改善効果を持つ糖転移ヘスペリジンと混合した睡眠改善サプリメントを試作し、ヒトに対する睡眠改善効果を確認した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①睡眠覚醒調節食材の開発研究は、国内外の食品企業の関心呼び、研究代表者等との多くの新たな共同研究が始まった。商品開発の最も進んだ企業は、既に睡眠・覚醒調節飲料の販売モニター試験を開始した。
- ②今後も続々と科学的根拠に基づいた睡眠改善機能食品の開発と製品化が予定され、食品産業の活性化に貢献すると考えられる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①公開番号：特願2008-2995989、発明の名称：睡眠改善剤および鎮静剤ならびにそれらの使用、出願人：（財）大阪バイオサイエンス研究所
- ②Qu WM, Urade Y, and et al: Essential role of dopamine D2 receptor in the maintenance of wakefulness, but not in homeostatic regulation of sleep, in mice. : J Neurosci, 30(12): 4382-4389 (2010)
- ③Huang ZL, Urade Y and et al: The role of adenosine in the regulation of sleep. : HYPERLINK "javascript:AL_get(this,%20'jour'%20Curr%20Top%20Med%20Chem.);" \o "Current topics in medicinal chemistry." Curr Top Med Chem, 11(8):1047-57(2011)
- ④Lazarus M, Urade Y, and et al: Arousal effect of caffeine depends on adenosine A2A receptors in the shell of the nucleus accumbens.: J Neurosci, 31(27):10067-10075 (2011)
- ⑤Masaki M, Urade Y, and et al: Crocin promotes non-rapid eye movement sleep in mice. : Mol Nutr Food Res, in press (2011)

■ 研究成果の具体的図表

睡眠改善機能食品の開発

背景：睡眠不足人口の増加とそれに伴う産業事故などによる経済損失
科学的根拠に基づいた安全で効果の確かな睡眠改善機能食品を求める声

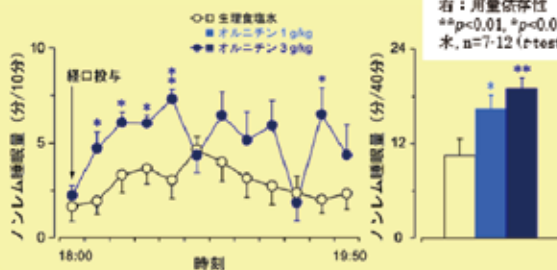
自然な睡眠や覚醒を誘う食品素材の発見

- オルニチン(特願2006-204427)
- カカオエキス
- サフラン
- イチョウ葉エキス
- ビール酵母抽出RNA(特願2008-230843)
- 烏霊参(ザイラリア)



機能性成分の同定と作用メカニズムの解明 ((財)大阪バイオサイエンス研究所)

- クロシン、サフラノール、ホノキオール、マグノロール、ペオニフロリン、オルニチン、GABAが睡眠改善機能成分であることを同定
- 脳波記録、薬理学、遺伝子操作マウス、免疫化学等の手段を用いて睡眠作用とメカニズムを解明



オルニチンの睡眠促進作用
 左：経時変化
 右：用量依存性
 **p<0.01, *p<0.05 vs. 水, n=7-12 (t-test).

原材料の確保と大量抽出法の確立 (復旦大学)

- 素材(高品質サフランやイチョウ葉エキス、烏霊参など)の大量確保と大量抽出方法を確立

薬膳素材・漢方・ハーブ等



睡眠改善機能食品の製品化 (江崎グリコ株式会社)

- オルニチンにαGヘスペリジンを配合した睡眠改善サプリメントの試作
- 安全性とヒトに対する睡眠改善効果を官能評価で確認
- 製品力調査と販売計画を立案

	効果		成分同定	官能評価	加工適性	供給安定性
	動物	ヒト				
オルニチン	○	-	○	○	○	○
カカオエキス	○	-	-	○	○	○
サフラン	○	-	○	-	-	-
イチョウ葉エキス	○	-	○	×	○	○
ビール酵母抽出RNA	×	-	○	×	○	○

- 睡眠改善機能食品ニーズの増加
- 食品産業の活性化
- 快適な睡眠・生産性の向上・経済活性化

国内外の食品
 企業との新たな
 共同研究へ

■ 研究課題名

健康寿命伸長のための腸内ポリアミン濃度コントロール食品の開発

■ 研究の目的

「腸内ポリアミン（PA）濃度を適正レベルに引き上げれば、腸管バリア機能の維持や炎症性サイトカイン抑制作用で老年病の主要因である慢性炎症を抑制し、健康寿命の伸長が得られる」という仮説に則り、科学的根拠のある健康寿命伸長食品の開発を目指した。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①腸内ポリアミン濃度コントロール食品の開発と高齢マウスを用いた評価
（◎松本光晴／協同乳業株式会社研究所技術開発室）
- ②腸内菌叢とポリアミンの関連性の研究
（辨野義己／（独立行政法人理化学研究所イノベーション推進センター辨野特別研究室）
- ③大腸菌をモデル生物としたポリアミン輸送及び代謝調節機構の解明と制御
（鈴木秀之／国立大学法人京都工芸繊維大学工学科学研究科）



松本 光晴

■ 研究の内容・主要な成果

- ①ピフィズス菌 LKM512 投与にて寿命伸長効果が得られたマウス試料を解析し、仮説がほぼ正しいことを確認
- ②腸内 PA 濃度制御物質は、腸内の主要 PA であるプトレッシン（Put）を指標とし、アルギニン（Arg）に決定
- ③マウスで Arg & LKM512 の大規模経口投与試験を実施し、寿命伸長と空間学習・記憶力が維持・向上を確認
- ④大腸菌を用いて新規の Put インポーター（2種）とエクスポーター候補（3種）を発見し、Put 分解系（Puu 代謝系）のメカニズムを解明
- ⑤ Arg をシームレスカプセルで封入し、LKM512 との混合したヨーグルトおよびスティック状試作品の完成
- ⑥大腸内では PA は適正レベル以上に高くないこと、大腸癌モデルマウス実験で、Arg & LKM512 の発癌性に関する安全性を確認

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①「健康寿命伸長」に貢献できる食品事業が創出できる。
- ②国民の老年期の QOL を向上できる。
- ③ヒト試験のための準備は整ったため、医療機関と共同で実施を目指す。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特願2010-252638 腸内ポリアミン増強剤. 協同乳業株式会社
- ②Kurihara S. *et al.* A putrescine-inducible pathway comprising P_{uu}E-YneI in which γ -aminobutyrate is degraded into succinate in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.*192:4582-4591 (2010).
- ③Kurihara S. *et al.* A novel putrescine importer required for type 1 pili-driven surface motility induced by extracellular putrescine in *Escherichia coli* K-12. *J. Biol. Chem.*286:10185-10192 (2011).
- ④Matsumoto M. *et al.* Longevity in mice is promoted by probiotic-induced suppression of colonic senescence dependent on upregulation of gut bacterial polyamine production. *PLoS One* 6:e23652 (2011).
- ⑤Mitsuharu M. *et al.* Impact of intestinal microbiota on intestinal luminal metabolome. *Scientific Reports* 2: 233; DOI:10.1038/srep00233 (2012)

■ 研究成果の具体的図表

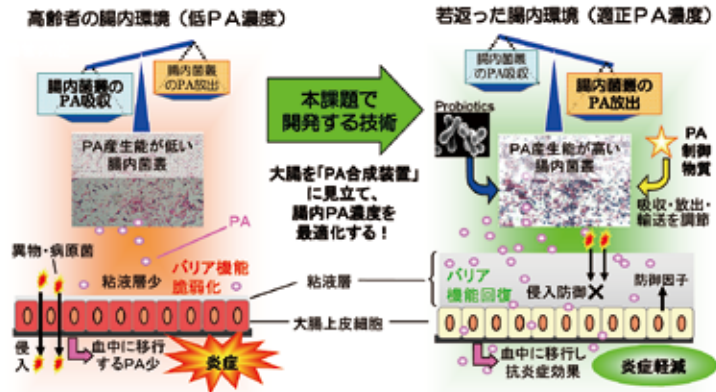
本研究のねらい

腸内ポリアミン(PA)濃度を適正レベルに引き上げることにより慢性炎症を抑える

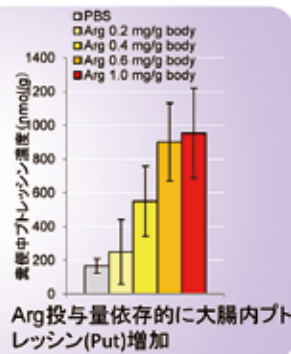
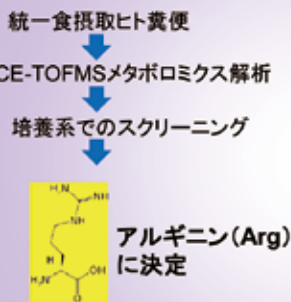
→健康寿命の伸長

【アプローチ法】

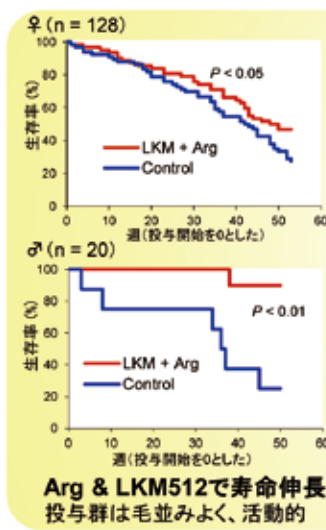
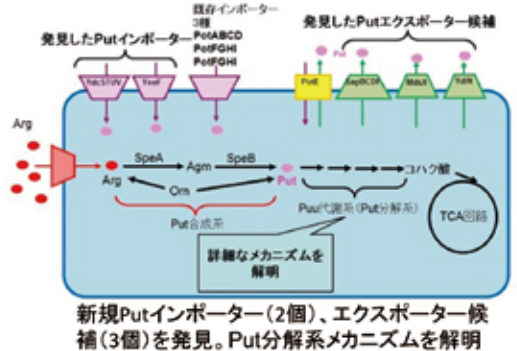
腸内PA濃度制御物質を探索し、既に腸内PA増加作用が確認されているLKM512菌株と共同で効果を発揮する食品を作り、マウスにて効果を確認する。



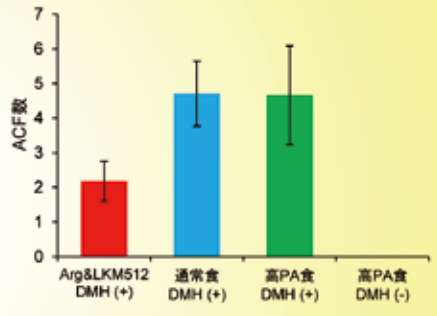
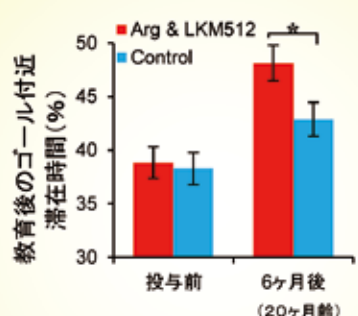
腸内PA制御物質の探索



PA代謝経路の解明



経口投与試験



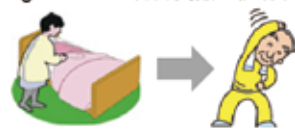
提案食品



シームレスカプセルで封入したArgとLKM512混合食品の試作例

波及効果

- ①「健康寿命伸長」に貢献できる食品事業が創出できる。
- ②国民の老年期およびその家族のQOLの向上。
- ③ヒト試験を医療機関と共同での実施を目指す。



■ 研究課題名

バナメイエビの人為催熟技術を利用した安定的な種苗生産の確立

■ 研究の目的

5年間の前事業の成果として新潟県妙高市にある屋内型エビ生産システムを採用した施設では、薬品を一切使用しない安全・安心なエビが商業生産されている。しかし、稚エビの供給を海外からの輸入に頼っているため、システムの普及・展開の妨げとなっていることから、稚エビの国産化技術の確立を目的として研究を実施した。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①生殖機構の解明によるバナメイ親エビの人為催熟技術の開発
（◎マーシー・ニコル・ワイルダー／独立行政法人 国際農林水産業研究センター）」
- ②閉鎖循環式種苗生産システムの開発
（野原 節雄／株式会社アイ・エム・ティー）
- ③種苗の大量生産技術の開発
（本多 数充／マリンテック株式会社）



マーシー・ニコル・ワイルダー

■ 研究の内容・主要な成果

- ①バナメイエビの成熟に関係する血中における卵黄タンパク質（Vg）量及びその産生を制御する卵黄形成抑制ホルモン（VIH）血中量の測定法を確立し、その生体内における動態を明らかにした（図1）。
- ②卵巣培養系の実験では、VIH抗体がVIHの活性を阻害することが確認され、抗体による催熟の可能性が示唆された（図2）。
- ③年間2～4億尾の種苗が生産可能な稚エビセンターの設計が完了し（図3）、それに伴い将来のバナメイ国産化のイメージを確立し（図4）、閉鎖循環式種苗生産システム実用化に必要な技術データを獲得した。
- ④半循環濾過方式で養成したバナメイエビより自然交尾で雌一尾あたり平均12万粒の受精卵、6万尾の孵化幼生（ノープリウス）を連続的に採取し、種苗生産が産卵から幼生の育成まで可能であることを確認した。
- ⑤自然交尾で得られたノープリウスを、無菌培養した珪藻「キートセロス・カルシトランス」を主とした給餌で飼育し、高歩留まりでPL（ポストラバ）が得られた（図5）。これにより、種苗生産技術を確立した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①VgやVIHの生体内動態が明らかになったことにより、今後、この知見を活かした人為催熟技術が開発されると期待される。これが実現すれば、持続的なエビ生産が可能となり、世界的な食料安定供給に大きく貢献する。
- ②国内で種苗生産が可能となったことで、稚エビ生産から全て一貫したバナメイの国内生産が実現する。これにより稚エビ輸入に関する各種リスクが軽減され、安定したバナメイエビの生産が可能となる。
- ③完全循環濾過設備によるバナメイ種苗生産施設と、屋内型エビ生産システム（I S P S）の連動による、日本国内における無投薬S P Fバナメイエビ完全養殖システムの構築が可能となる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①奥津ら：「閉鎖循環式養殖システムで飼養したバナメイエビと他のエビ類における筋肉中遊離アミノ酸含量の比較」。水産技術、3:37-41 (2010)
- ②Wilder et al.: Reproductive mechanisms in Crustacea focusing on selected prawn species: Vitellogenin structure, processing and synthetic control. Aqua-BioScience Monographs, 3:73-110 (2010)
- ③松田ら：「バナメイエビの桿体視物質の組成と最大吸収波長及び若齢期と亜成体期の視物質量について」。日本水産学会誌、77:682-684 (2011)

■ 研究成果の具体的図表

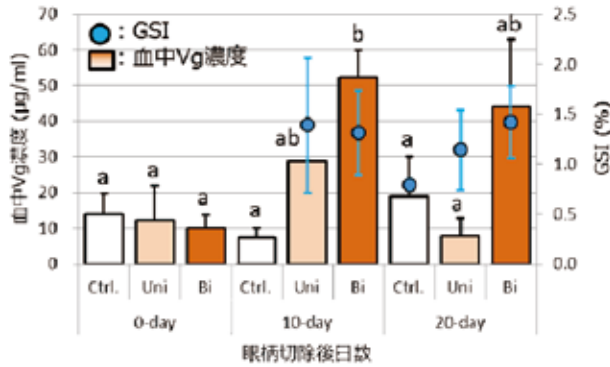


図1. パナメイエビの血中Vg濃度とGSIの変動 (n=4-10)。

パナメイエビでは眼柄切除により、成熟して産卵に至るレベルの血中Vg濃度及びGSIに達することが判明した。

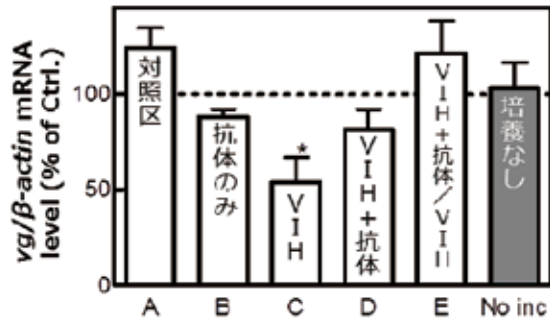


図2. VIH抗体によるVIH活性の中和

VIH+抗体区でvg発現量が対照区と有意差がなく、VIH抗体はVIH活性阻害効果を持つことが示唆された。

左の図1の略号等の説明：棒グラフ（血中Vg濃度）、GSI（生殖腺体重比）、バー（標準誤差）、Ctrl.（眼柄切除なし）、Uni.（片側眼柄切除）、Bi.（両側眼柄切除）。

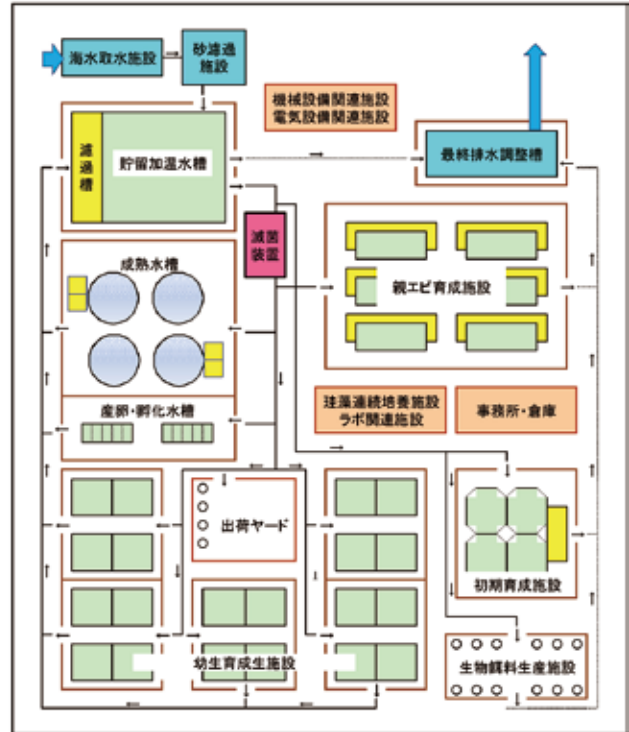


図3. 稚エビセンターモデルプラン

年間2-4億尾の稚エビと9,600尾の親エビの生産が可能となる。

国内の稚エビセンター ⇒ 国内大規模生産施設 ⇒ 問屋を通じ全国販売 ⇒ 日本国民への安全な食材提供

⇒ 消費地立地型小規模生産施設 ⇒ 都市住民への安全な食材提供

⇒ 観光地立地型小規模生産施設 ⇒ 観光地の活性化

図4. 将来のパナメイ国産化のイメージ

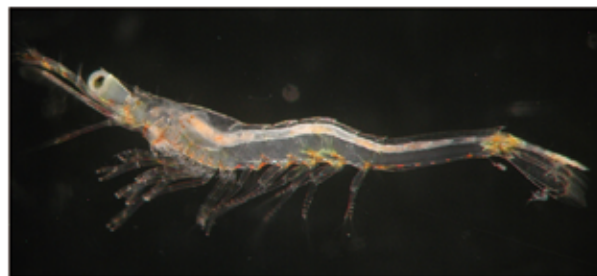


図5. パナメイのポストラバ (PL) 受精卵から孵化した後、PLに至るまでノープリウス、ゾエア、ミスという3段階の幼生期を約10日間かけて変態する。

■ 研究課題名

プロテオーム解析情報を基盤とした高品質和牛生産システムの開発

■ 研究の目的

肥育農家は、肉質の向上と枝肉重量の確保により生産性を高めて収益性を上げることが望んでいる。しかしながら、肥育時に優良な肉質と増体に関する遺伝的能力を把握し、肥育期間中にその能力の発揮度を診断する管理指標は確立されておらず、安定的な肥育牛生産の課題となっている。そこで、本研究では、肥育牛の網羅的プロテオーム解析情報を獲得し、その情報より肥育牛の枝肉形質の遺伝的能力を推定する SNP マーカーと肥育期間中に枝肉形質を診断する肥育バイオマーカーを開発し、新しい管理指標を確立する。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①黒毛和種の優良経済形質バイオマーカータンパク質の機能解明とモニタリング評価システムの開発
（◎松本和也／学校法人近畿大学）
- ②黒毛和種の優良経済形質バイオマーカータンパク質の分子ネットワークの解明
（中川 優／国立大学法人和歌山大学）
- ③黒毛和種の優良経済形質バイオマーカータンパク質の遺伝子情報に基づく SNP マーカーの確立
（小林栄治／独立行政法人家畜改良センター）
- ④黒毛和種の優良経済形質バイオマーカータンパク質の肥育試験における実証評価
（小林直彦／岐阜県畜産研究所）



松本 和也

■ 研究の内容・主要な成果

- ①脂肪組織・筋肉組織・血清の網羅的プロテオーム解析により、枝肉形質を予測する新規バイオマーカータンパク質総計 100 個（重複を除く）を同定し、それぞれ特許出願（計 3 件）した。
- ②バイオマーカータンパク質の遺伝子情報に基づく SNP マーカーの開発から、肥育素牛の遺伝的能力の推定が可能となった。
- ③肥育バイオマーカーの開発とそのモニタリング評価システムの確立により、肥育期間中に肥育牛の枝肉形質の診断が可能となった。
- ④ SNP マーカーと肥育バイオマーカーを対象としたデータマイニングアルゴリズムを開発し、各種マーカーの組み合わせと診断時期の特定が可能となった。
- ⑤牛の判別用キットを試作した。

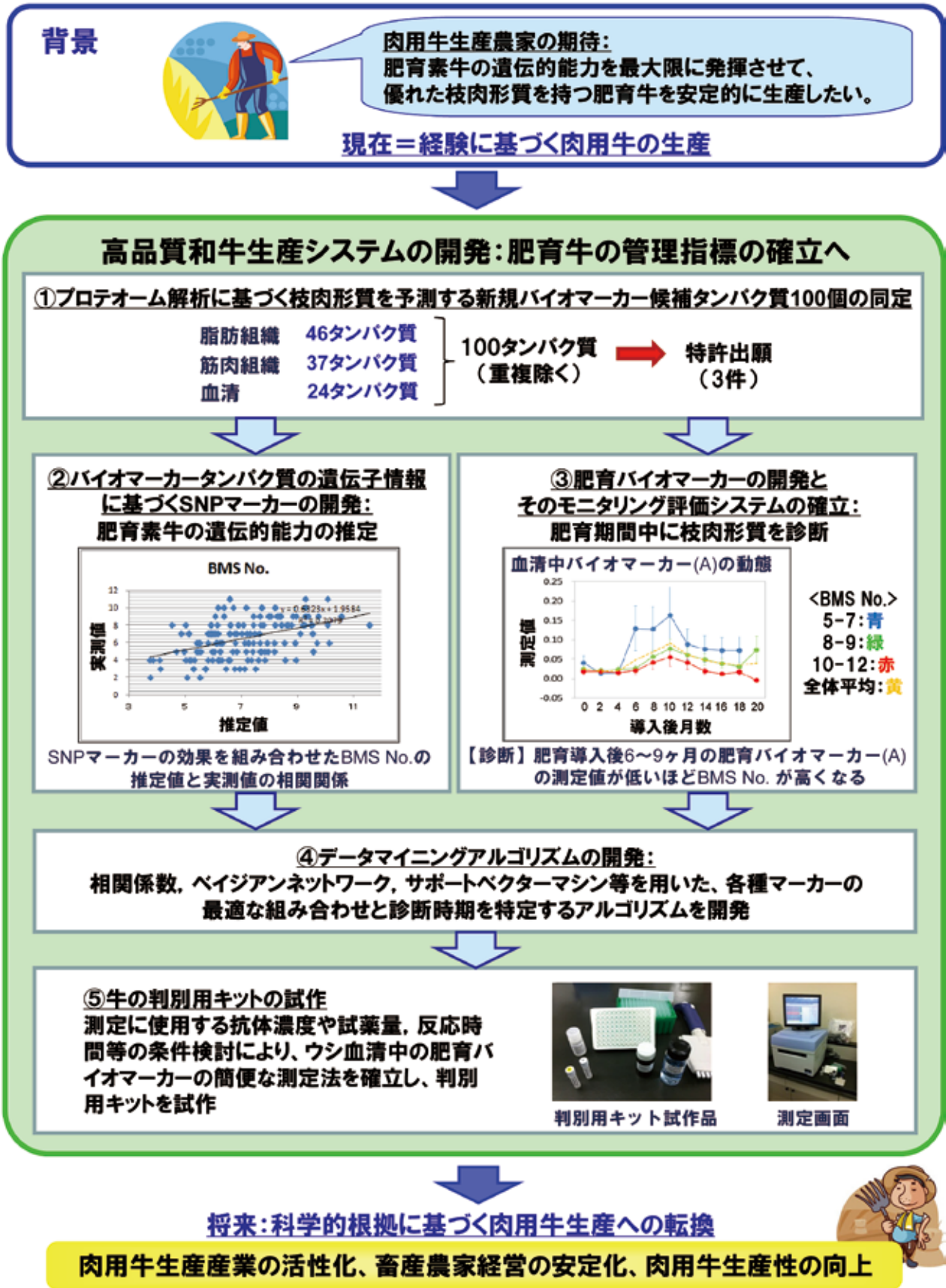
■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ① SNP マーカー検出キットと肥育バイオマーカーモニタリングキットを開発し、総合的肥育牛管理診断キットを確立する。
- ②総合的肥育管理診断キットの普及による科学的根拠に基づく肥育牛の管理方法の実用化を促す。
- ③この実用化を通じて、肉用牛生産業の活性化と肉用牛農家経営の安定化が期待できる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①牛の判別方法、判別された牛及び牛の判別用キット：特願 2011 - 162289：学校法人近畿大学
- ②牛の判別方法、判別された牛及び牛の判別用キット：特願 2011 - 263214：学校法人近畿大学
- ③牛の判別方法、判別された牛及び牛の判別用キット：特願 2012 - 8036：学校法人近畿大学、独立行政法人家畜改良センター

■ 研究成果の具体的図表



■ 研究課題名

レクチン探索による食中毒菌の迅速多重検出技術の開発

■ 研究の目的

細菌を含む細胞の表面は糖鎖で覆われており、細胞の種類によりその糖鎖組成・構造が異なる事が知られている。これら糖鎖を迅速に分析する事ができれば、従来の手法と比べてより簡便に食中毒菌を検出・同定する事ができる。そこで、本研究では糖鎖結合特異性の高い海藻レクチンを含む多種のレクチンライブラリーを構築し、食中毒菌に結合するレクチンをスクリーニングし、表面糖鎖解析が菌の同定に有効である事を明らかにして食中毒菌の迅速検出技術を開発する。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①組換えレクチンの作製および食中毒菌を判別出来るレクチンの選別、特異性の解析
（◎矢部宇一郎／株式会社グライエンス）
- ②農林水産物からのレクチン探索（堀 貫治／国立大学法人広島大学）



矢部宇一郎

■ 研究の内容・主要な成果

- ①海藻レクチン 21 種類とペプチジルグリカン性凝集素 3 種類、および新規藻類レクチン遺伝子 32 種類の単離に成功した。
- ②単離された藻類レクチン遺伝子を主体として 30 種類の組換えレクチンを作製した。
- ③新規組換えレクチン、天然レクチンを合わせた 139 種類のレクチンからブドウ球菌、黄色ブドウ球菌に結合するレクチンのスクリーニングを行い、対数増殖期の細菌において黄色ブドウ球菌と他のブドウ球菌を有意に判別可能なレクチン数種が見出された。
- ④ブドウ球菌属細菌とその他の細菌（大腸菌等）もレクチンによって判別することが出来た。
- ⑤黄色ブドウ球菌を識別可能なレクチンは牛乳中においても他のブドウ球菌と判別することが出来た。
- ⑥黄色ブドウ球菌を識別可能な藻類レクチンにつき糖鎖結合特異性を明らかにし、黄色ブドウ球菌表面に発現する糖鎖構造を推定した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①食中毒菌分別可能なレクチン等を用いて、食中毒菌に特異的に発現する表面糖鎖構造を明らかにする。
- ②有用レクチンの組換え体化による測定試薬原料の安定供給を行う。
- ③レクチンプロファイリングシステムを応用した細菌（食中毒菌）の分離同定技術により食品製造現場における品質管理機器を提供する。
- ④食中毒菌を有意に判別可能なレクチンを用いたイムノクロマトを開発することにより、公共機関（学校、保育園、介護施設など）で調理される食事の事前検査が可能な試薬を提供する。

■ 公表した主な特許・論文

- ①特許出願2011-77076：ブドウ球菌属内の菌種を判別する方法：株式会社グライエンス、国立大学法人広島大学
- ②Danar Praseptianga, *et al.*: Purification, Characterization, and cDNA Cloning of a Novel Lectin from the Green Alga, *Codium barbatum*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, in press (2012)

■ 研究成果の具体的図表



基礎的研究業務研究成果集（2011年度終了課題）

2012年3月12日発行

発行者 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

印刷者 株式会社白樺写真工芸



生物系特定産業技術研究支援センター

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



大宮駅西口6・7番乗場より、東武バス「三進自動車」または「シティハイツ三橋」行き乗車約10分、自衛隊入口で下車徒歩5分。

〒331-8537 埼玉県さいたま市北区日進町1-40-2 基礎技術研究館3階

基礎的研究課 TEL:048-669-9190 FAX:048-666-9267