

2.3 応用生命科学専攻

応用生命科学専攻は、農芸化学専攻（1924年設置）、食品工学専攻（1967年設置）および農薬研究施設（1963年設置）を統合して1997年に設置され、2001年の改組によって応用生命科学専攻と食品生物科学専攻に分かれた。

現在の応用生命科学専攻は、大学院農学研究科の11研究分野に、2付置研究所（化学研究所の2分野および生存圏研究所の3分野）を加えた16研究分野からなる。

本専攻では、微生物、動物、植物を対象とし、物理化学、有機化学、生化学、分子生物学、細胞生理学などを基礎としたバイオサイエンスの基礎研究からバイオテクノロジーに関わる先導的な応用研究にわたる広い領域の研究・教育を展開している。

講座 応用生化学

2.3.1 研究分野：細胞生化学

構成員：教授	植田 和光		
助教授	木岡 紀幸		
助手	松尾 道憲		
大学院博士後期課程	7名	学術振興会特別研究員	6名
大学院修士課程	11名		
専攻4回生	5名		

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) ABCタンパク質の生理的役割と機能の多様性の分子メカニズム

ABCタンパク質は、分子内に12-17の膜貫通 α -ヘリックスとよく保存されたATP結合部位を2つ有する膜タンパク質ファミリーであり、ATP Binding Cassetteの頭文字をとって名付けられた。ABCタンパク質の異常はさまざまな病気と関係している。我々は、糖尿病、高脂血症、動脈硬化などの生活習慣病と密接に関係したABCタンパク質の生理的役割を明らかにするとともに、構造と機能の相関を明らかにすることによって、ABCタンパク質の機能の多様性の分子メカニズムを解明しようとしている。

b) 癌細胞の抗癌剤耐性に関与する生体異物排出ポンプの分子メカニズム

MDR1、MRP1、MRP2など生体異物排出ポンプは、様々な構造の脂溶性の生体異物をATP加水分解のエネルギーを用いて細胞内から排出し、私たちの体を守っている。しかし、これらのABCタンパク質が癌細胞で発現すると抗癌剤が効かなくなってしまう。我々はこれらの

分子メカニズムを明らかにし、より有効な阻害剤を開発することをめざしている。

c) 血糖調節に関与するATP感受性K⁺チャネルの分子メカニズム

血糖値の上昇に伴って膵β細胞内のATP濃度が上昇すると、膵β細胞からインスリンが分泌され血糖値は降下する。膵β細胞内のATP、ADP濃度の変化はATP感受性K⁺チャネルが感知している。ATP感受性K⁺チャネルはABCタンパク質であるSUR1サブユニットとチャネルポアサブユニットKir6.2が4分子ずつ集合した巨大分子である。我々はその巨大なタンパク質複合体を精製し、チャネル開閉制御の分子メカニズムを解明するとともに構造を明らかにすることによって、低血糖症、糖尿病の治療薬の開発に結びつけようとしている。

d) コレステロール恒常性維持の分子メカニズム

コレステロールの体内恒常性は代謝レベルだけでなく、小腸からの吸収、肝臓からそれぞれの組織へ輸送、組織から肝臓への逆輸送などが統合されたネットワークによって保たれている。しかし、いまだ脂質の輸送に関する知見は限られている。ABCA1は血中のHDLコレステロールが欠損するTangier病の原因遺伝子として同定され、コレステロールとリン脂質を細胞からアポ蛋白質へ受け渡す過程に関与していることが明らかになったが、その機能の詳細は不明である。また、ABCG5とABCG8の異常が植物ステロール排泄障害による先天性代謝異常症β-シトステロール血症の原因であることが明らかになったが、ABCG5/ABCG8の機能に関していまだ不明である。我々は、これらのコレステロールの恒常性維持に関与しているABCタンパク質の機能を解明し、生活習慣病の予防に役立てたいと考えている。

e) 接着斑裏打タンパク質による細胞運動、細胞増殖とがんの浸潤転移の制御

細胞接着は環境センサーとして機能し、正常細胞の生存や分化などの制御にかかわるだけでなく、細胞運動の制御を通じて創傷治癒や炎症といった現象にも関与する。私たちはこれまでに接着斑裏打蛋白質ビネキシンが細胞骨格、細胞接着の制御と増殖因子シグナル伝達の両方に関与することを明らかにしている。本研究ではビネキシンの機能解析を通じて細胞運動の仕組み、細胞外環境（足場の有無）の感知システムの解明を目指しており、抗がん剤、抗転移剤の開発に役立てたいと考えている。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

植田和光：バイオサイエンスの新戦略（共著）丸善株式会社、2004

植田和光編：ABC蛋白質（共著）学会出版センター、2005

原著論文

Abe-Dohmae, S., Y. Ikeda, M. Matsuo, M. Hayashi, K. Okuhira, K. Ueda and S. Yokoyama: Human ABCA7 supports apolipoprotein-mediated release of cellular cholesterol and phospholipid to generate high density lipoprotein. *J Biol Chem* 279; 604-611, 2004

Chen, H., D. M. Cohen, D. M. Choudhury, N. Kioka, and S. W. Craig: Spatial distribution and functional significance of activated vinculin in living cells. *J Cell Biol* 169; 459-470, 2005

Fujise, H., S. Sasawatari, T. Annoura, T. Ikeda, and K. Ueda: 3,3',4,4',5'-Pentachlorobiphenyl Inhibits Drug Efflux Through P-Glycoprotein in KB-3 Cells Expressing Mutant Human P-Glycoprotein. *J Biomed Biotechnol* 2004; 137-142, 2004

- Mitsushima, M., A. Suwa, T. Amachi, K. Ueda and N. Kioka: Extracellular Signal-regulated Kinase Activated by Epidermal Growth Factor and Cell Adhesion Interacts with and Phosphorylates Vinexin. *J Biol Chem* 279; 34570-34577, 2004
- Munehira, Y., T. Ohnishi, S. Kawamoto, A. Furuya, K. Shitara, M. Imamura, T. Yokota, S. Takeda, T. Amachi, M. Matsuo, et al.: Alpha1-syntrophin modulates turnover of ABCA1. *J Biol Chem* 279; 15091-15095, 2004
- Nagata, K., A. Yamamoto, N. Ban, A. R. Tanaka, M. Matsuo, N. Kioka, N. Inagaki and K. Ueda: Human ABCA3, a product of a responsible gene for abca3 for fatal surfactant deficiency in newborns, exhibits unique ATP hydrolysis activity and generates intracellular multilamellar vesicles. *Biochem Biophys Res Commun* 324; 262-268, 2004
- Suzuki, S., T. Nishimaki-Mogami, N. Tamehiro, K. Inoue, R. Arakawa, S. Abe-Dohmae, A. R. Tanaka, K. Ueda and S. Yokoyama: Verapamil increases the apolipoprotein-mediated release of cellular cholesterol by induction of ABCA1 expression via Liver X receptor-independent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24; 519-525, 2004

総 説

- 木村泰久、松尾道憲、植田和光：ABC トランスポーター研究の動向 — ABC 蛋白質の進化と多剤耐性 癌治療と宿主 17 ; 105-109、2005
- 小林 綾、木村泰久、松尾道憲、植田和光：創薬ターゲットとしてのABC タンパク質 日薬理誌 (Folia Pharmacol. Japan) 125 ; 185-193、2005
- 植田和光、稲垣暢也、酒井寿郎：序リポネットワーク 生化学 76 ; 501-502、2004
- 植田和光：脂質ホメオスタシスにかかわるABC タンパク質 生化学 76 ; 525-531、2004
- 高橋 圭、永田 紅、松尾道憲、植田和光：脂質輸送の分子メカニズム研究の黎明 化学 59 ; 72-73、2004
- 植田和光：創薬ターゲットとしてのABC 蛋白質 細胞 36 ; 172-174、2004
- 植田和光：ABC タンパク質とアルカロイド アルカロイド研究会会誌 29 ; 1-4、2004
- 植田和光：体内のコレステロールをコントロールする — 脂質トランスポートに關与するABC 蛋白質. 化学と生物 42 ; 6-8、2004
- Kimura, Y., M. Matsuo, K. Takahashi, T. Saeki, N. Kioka, T. Amachi and K. Ueda: ATP hydrolysis-dependent multidrug efflux transporter: MDR1/P-glycoprotein. *Curr Drug Metab* 5; 1-10, 2004
- Matsuo, M., Y. Kimura and K. Ueda: KATP channel interaction with adenine nucleotides. *J Mol Cell Cardiol* 38; 907-916, 2005
- Takahashi, K., Y. Kimura, K. Nagata, A. Yamamoto, M. Matsuo and K. Ueda: ABC proteins, key molecules for lipid homeostasis. *Medical Molecular Morphology* 38; 2-12, 2005

b) 学会発表

- 第8回がん分子標的治療研究会総会：1件、座長
- 第57回日本細胞生物学会大会：2件
- 第24回札幌がんセミナー：招待講演、発表1件
- 構造活性フォーラム2004：特別講演
- 第37回若手ペプチド研究会：招待講演

第77回日本生化学会：ワークショップ、発表3件
第63回日本癌学会総会：シンポジウム、発表1件
第27回日本分子生物学会年会：発表3件
2005年度日本農芸化学会大会：シンポジウム、発表12件

A-3. 国内における学会活動等

所属学会等（役割）

植田和光：日本農芸化学会（理事）、日本癌学会（評議員）、日本生化学会（評議員、企画委員）

科研費等受領状況

植田和光：学術創成研究費 新たな膜輸送機構の分子基盤
植田和光：基盤研究(B)(2) コレステロール体内恒常性に関するATP依存トランスポーターの分子基盤
植田和光：独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業 脂質トランスポーターの活性調節機構の解明と高機能性食品による調節
植田和光：厚生労働科学研究費 萌芽的先端医療技術推進研究事業 ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイス（分担）
植田和光：医薬品医療機器総合機構 基礎研究推進事業 HDL産生遺伝子の発現／転写翻訳後制御による動脈硬化予防治療技術の開発（分担）
木岡紀幸：特定領域研究(2) 細胞膜裏打ち蛋白質による足場依存的細胞増殖と浸潤の制御（代表）、基盤研究(B) 細胞接着斑裏打ち蛋白質ビネキシンの生理機能の解析、内藤記念科学振興財団 内藤記念科学奨励金 細胞接着斑裏打ち蛋白質による細胞運動制御メカニズムの解明
松尾道憲：若手研究(B) コレステロール排出に関するABCタンパク質の機能解析、特定領域研究(2) ABCGタンパク質複合体の品質管理機構

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

植田和光：The 2004 HDL Workshop ギリシャ（研究発表）
木岡紀幸：接着分子によるシグナル伝達に関するゴードン研究集会・米国（研究発表）
松尾道憲：韓国 仁済大学医科大学セミナー（招待講演）
韓国 啓明大学校医科大学 Symposium “Current topics on trends in molecular medicine”（招待講演）

所属学会等（役割）

植田和光：米国がん学会会員

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

学部：バイオテクノロジー、農学の新戦略（植田）、生化学I（植田）、分子細胞生物I

(植田、木岡) 分子生物学Ⅱ (植田、木岡) 分子生物学実験及び実験法 (木岡、松尾)、
卒業論文 (植田、木岡)

大学院：細胞生化学専攻演習 (植田、木岡)、細胞生化学専攻実験 (植田、木岡)

2.3.2 研究分野：生体高分子化学

構成員：教授 植田 充美

助手 加藤 倫子

三間 穰治

大学院博士後期課程 3名 受託研究員 1名

大学院修士課程 8名 研究生 1名

専攻4回生 4名

A. 研究活動 (2004.4~2005.3)

A-1. 研究概要

a) ライフサイエンスの明日を拓く ― 生命現象の基礎的解析と応用への分子アプローチ ―

生命現象は、自然科学における最も重要かつ魅力的研究課題の一つである。我々は、生命現象を化学分子の現象として捉え、分子のことばで説明しようとする分子生物化学の立場で基礎と応用を両輪にして研究を行っている。ヒトなどを含む真核生物が示す高次な様々な現象を対象に、生命の担い手である遺伝子とタンパク質とそれらを包み込む細胞における様々な生命情報の伝達とその相互作用の機構を網羅的に解明し、高等真核生物の高次生命現象の本質に迫ろうとしている。一方、得られた基礎的研究の成果をいち早く実用化し、人類の発展と福祉に役立つ応用研究にも展開している。

具体的には、タンパク質の分子構造と細胞の機能発現の動的相関の基礎解析を行う。また、ゲノム情報を活用して、細胞の潜在的機能の分子発掘と開拓 (細胞表層工学など) を行う。さらに、分子バイオテクノロジー (コンビナトリアル・バイオエンジニアリング、ナノ・バイオテクノロジーなど) の高度で先端的なバイオテクノロジーの研究により、生命現象を分子レベルで理解するとともに、応用から一步踏み込んだ実用へと研究を進展させている。

b) 高次生命現象の分子レベルの解析

ヒトをふくむ高等真核生物の生命現象の基になる生命情報の伝達システムは、きわめて多くの分子による複雑な物理的・化学的プロセスが絡み合って成り立っている。これらの解析に、ゲノム解明の進むいくつかのモデル真核生物細胞やタンパク質を用いて、従来の生化学的手法に加えて、新しい網羅的な解析手法を導入して分子レベルで解明しようとしている。

c) 生物機能の拡大 (生物機能の無限性)

生物のもつ機能を様々な分野で応用するため、生命現象の基礎的理解に基づいてゲノム情報を改変し、生物が元来潜在的にもっている能力を発掘して引き出したり、新しい機能を賦与したりする研究を展開している。その一つ的手法として、タンパク質のもつアドレス情報を活用した「細胞表層工学」を世界に先駆けて確立し、これまでになかった概念を導入した多くの新しい細胞を創成してきている。さらなる展開として、「コンビナトリアル・バイオエ

「エンジニアリング」というライフサイエンス研究にこれまでになかった新しい分野を樹立し、ナノ・テクノロジーなどの異分野との融合によるナノ・バイオテクノロジーの世界を創造し、ゲノム情報を超えた新しい機能性タンパク質や細胞などの創成に挑戦している。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

Ueda, M. and A. Kondo: Combinatorial Bioengineering - Development of Molecular Evolution. J Mol Catalys 28; 4-6, 2004

植田充美、家戸敬太郎：マリンバイオテクノロジー、栽培漁業へのバイオテクノロジー。BIO INDUSTRY vol. 2, 2004

植田充美：コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線。シーエムシー。2004

植田充美：バイオテクノロジーイノベーション。BIO INDUSTRY vol. 11, 12, 2004

原著論文

Fujita, Y., J. Ito, M. Ueda, H. Fukuda and A. Kondo: Synergistic saccharification and direct fermentation to ethanol of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain codisplaying three types of cellulolytic enzyme. Appl Environ Microbiol 70(2); 207-1212, 2004

Ito, J., Y. Fujita, M. Ueda, H. Fukuda and A. Kondo: Improvement of cellulose-degrading ability of a yeast strain displaying *Trichoderma reesei* endoglucanase II by recombination of cellulose-binding domains. Biotechnol Prog 20(3); 688-691, 2004

Kimura, Y., S. Shibasaki, K. Morisato, N. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, M. Matsuo, T. Amachi, M. Ueda and K. Ueda: Microanalysis for MDR1 ATPase by HPLC with a titanium dioxide column. Anal Biochem 326(2); 262-266, 2004

Kimura, H., T. Tanigawa, H. Morisaka, T. Ikegami, K. Hosoya, N. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, M. Ueda, K. Cabrera and N. Tanaka: Simple 2D-HPLC using a monolithic silica column for peptide separation. J Separation Sci 27(10-11); 897-904, 2004

Lin, Y., S. Shiraga, T. Tsumuraya, T. Matsumoto, A. Kondo, I. Fujii and M. Ueda: Comparison of two forms of catalytic antibody displayed on yeast-cell surface. J Mol Catalys 28(4-6); 241-246, 2004

Lin, Y., S. Shiraga, T. Tsumuraya, T. Matsumoto, A. Kondo, I. Fujii and M. Ueda: Isolation of novel catalytic antibody clones from combinatorial library displayed on yeast-cell surface. J Mol Catalys 28(4-6); 247-252, 2004

Mima, J., M. Hayashida, T. Fujii, Y. Hata, R. Hayashi and M. Ueda: Crystallization and preliminary crystallographic analysis of carboxypeptidase Y inhibitor I^C complexed with the cognate proteinase. Acta Crystallog 60(9); 1622-1624, 2004

Nagao, K., M. Yamashita and M. Ueda: Production of auto-proteolytically subunit-assembled 7-beta-(4-carboxybutanamido)cephalosporanic acid (GL-7ACA) acylase from *Pseudomonas* sp. C427 using a chitin-binding domain. Appl Microbiol Biotechnol 65; 407-413, 2004

Shiraga, S., M. Kawakami and M. Ueda: Construction of combinatorial library of the starch-

- binding domain of *Rhizopus oryzae* glucoamylase and screening of clones with enhanced activity by yeast display method. *J Mol Catalys* 28(4-6); 229-234, 2004
- Shigechi, H., Y. Fujita, J. Koh, M. Ueda, H. Fukuda and A. Kondo: Energy-saving direct ethanol production from low-temperature-cooked corn starch using a cell-surface engineered yeast strain co-displaying glucoamylase and alpha-amylase. *Biochem Eng J* 18; 149-153, 2004
- Shigechi, H., J. Koh, Y. Fujita, T. Matsumoto, Y. Bito, M. Ueda, E. Satoh, H. Fukuda and A. Kondo: Direct ethanol fermentation from non-cooked corn starch using a novel surface-engineered yeast strain co-displaying glucoamylase and α -amylase. *Appl Environ Microbiol* 70(8); 5037-5040, 2004
- Sugiyama, K., T. Niki, K. Inokuchi, Y. Teranishi, A. Tanaka and M. Ueda: Heterologous expression of metabotropic glutamate receptor subtype1 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol* 64(4); 531-536, 2004
- Ueda, M.: Combinatorial bioengineering - Development of molecular evolution. *J Mol Catalys* 28(4-6); 137, 2004
- Ueda, M.: Future direction of molecular display by yeast-cell surface engineering. *J Mol Catalys* 28(4-6); 139-144, 2004

総 説

- Fujita, Y., M. Ueda, H. Fukuda and A. Kondo: Construction of a cellulose-degrading yeast strain by co-displaying endoglucanase, cellobiohydrolase and β -glucosidase. *Proc Mie Bioforum* 764-772, 2004
- Katahira, S., Y. Fujita, M. Ueda, H. Fukuda and A. Kondo: Construction of yeast strain for xylan utilization through co-display of two types of xylanolytic enzyme on cell surface of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Mie Bioforum* 773-777, 2004
- Kondo, A., Y. Fujita, M. Ueda and H. Fukuda: Direct and efficient production of ethanol from cellulosic materials with a yeast strain displaying cellulolytic enzymes. *Proc Mie Bioforum* 755-763, 2004
- Kondo, A. and M. Ueda: Yeast cell surface display - Application of molecular display. *Appl Microbiol Biotechnol* 64(1); 28-40, 2004
- 植田充美：次世代コンビナトリアル・サイエンスの新世界. *化学工業* 55(1); 13-19, 2004
- 白神清三郎、植田充美：リパーゼの細胞表層ディスプレイとその展開、*科学と工業* 78(6); 310-315, 2004
- 植田充美：新機能タンパク質を自在に創るナノバイオテクノロジーのフロンティア：コンビナトリアル・バイオエンジニアリング. *未来材料* 4(6); 44-50, 2004
- 植田充美：コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの隆盛. *コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線* (シーエムシー) 3-6, 2004
- 加藤倫子、植田充美：タンパク分子クリエーション. *コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線* (シーエムシー)、95-101, 2004
- 白神清三郎、植田充美：タンパク質工学への新しい展開. *コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線* (シーエムシー) 102-109, 2004
- 黒田浩一、植田充美：環境浄化への新しい戦略. *コンビナトリアル・バイオエンジニアリ*

- ングの最前線 (シーエムシー) 110-119、2004
- 芝崎誠司、植田充美：表層蛍光シグナルを用いたバイオセンシングのコンビナトリアルな展開. コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線 (シーエムシー) 120-129、2004
- 植田充美：未来展望. コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線 (シーエムシー) 349-351、2004
- 福田剛士、白神清三郎、末信一郎、民谷栄一、植田充美：細胞チップの開発：細胞表層工学の発展に向けて. BIO INDUSTRY21(12) ; 34-37、2004

b) 学会発表

- 2004年日本生物工学会大会：6件
- 第77回日本生化学会大会：5件
- 第27回日本分子生物学会：5件
- 2004年日本農芸化学会大会：17件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

植田充美：「コンビナトリアル・バイオエンジニアリング研究会」代表、「JBA 新資源生物変換研究会」副会長、「日本生化学会」評議員、「日本生物工学会教育制度委員会」委員、「酵母研究会」運営委員、「J. Biochem.」誌編集委員、「Appl. Microbiol. Biotechnol.」誌編集委員、「J. Appl. Biochem. Biotechnol」誌編集委員、「NanoBiotechnology」誌編集委員、科学研究費委員会 (日本学術振興会) 専門委員、「近畿バイオインダストリー振興会議」理事

科研費等受領状況

植田充美：基盤研究(B)(2) 「コンビナトリアルなタンパク質ライブラリーの作製と超高速マイクロスクリーニング」(代表)、萌芽研究「細胞情報伝達リン酸化タンパク質の超高速選択分離可能なナノバイオHPLCの開発」(代表)、農林水産省 ― 先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「魚病感染防御抗原を表層提示した酵母を用いた経口ワクチンの開発」、経済産業省・NEDO「バイオマスエネルギー高効率転換技術開発：セルロース系バイオマスを原料とする新規なエタノール発酵技術により燃料用エタノールを製造する技術の開発」、経済産業省・NEDO「ゲノム情報に基づいた未知微生物遺伝資源ライブラリーの構築」、生研・生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業「ハイスループット技術を利用した醸造微生物機能の向上」、経済産業省・地域新生コンソーシアム研究開発事業「バイオマスからのポリL,D-乳酸原料の省エネ型製造技術の開発」及び「コンビバイオによるプロテオーム創薬システムの開発」「ポストゲノム解析を簡便にする生体試料精密分画キットの開発」、科学技術振興機構・革新技術開発研究事業「麹ゲノム情報導入スーパー酵母によるバイオエタノール高生産技術の研究」、科学技術振興機構・重点地域研究開発推進事業「フォトンクラフト技術を利用した生体適応型分子メスの開発」

加藤倫子：若手研究(B) 高圧力下での生体膜ダイナミクスの研究

三間穰治：日本応用酵素協会研究助成「多機能性プロテアーゼインヒビターによる液胞タ

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

植田充美：第1回コンビナトリアル・バイオエンジニアリング国際会議・大阪（組織委員長）

外国人研究者の受入れ

招聘外国人学者 1名（タイ国シリパコーン大学・講師）

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：一般生体高分子化学（植田）、生体高分子構造論（植田）、応用生命科学入門Ⅲ（植田）、生化学実験及び実験法（植田、加藤、三間）

大学院：生体高分子化学（植田）、生体高分子化学専攻演習（植田、加藤、三間）、生体高分子化学専攻実験（植田、加藤、三間）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

植田充美：大阪大学工学部（化学プロセス工学特論）、東京大学大学院農学生命科学研究科（生命工学フロンティアⅠ）、東京農工大学工学教育部（ゲノム情報利用工学特論）

公開講座等

植田充美：西宮市ライフサイエンスセミナー（市民セミナー）（開設副委員長）、阪神シニアカレッジ（老人大学）（講師）

C. その他

植田充美：三菱化学・生命科学研究所（客員研究員）、バイオ・エナジー株（技術顧問）、NPO 超微細化学システム技術研究協会（NPO FINE）（発足委員）

2.3.3 研究分野：生物調節化学

構成員：教授	宮川 恒	
助教授	中川 好秋	
助手	宮下 正弘	
学術振興会特別研究員	1名	COE博士研究員1名（1月から）
大学院博士後期課程	2名	
大学院修士課程	7名	
専攻4回生	4名	

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) 植物2次代謝の化学

トリプトファン (Trp) に対するフィードバック阻害感受性が低下したイネのアントラニル酸合成酵素をコードする遺伝子 (*OAS1D*) が遺伝子組み換えの技術により取得されている。この遺伝子を植物で発現させると Trp の含量を顕著に増加させることができる。Trp は植物ホルモンインドール-3-酢酸 (IAA) の前駆体と考えられている。そこで *OAS1D* を導入したイネを用いて IAA 含量を測定し、Trp 生合成活性化の影響を調べた。測定には LC-MS/MS 分析装置を用いた。Trp の含量が著しく増加したイネでは有意な IAA の増加が認められ、このホルモンの含量が前駆体アミノ酸含量と相関していることが判明した。しかし植物ホルモンの増加にもかかわらず形質転換体の形態および生長のようすには、顕著な変化は見られなかった。何らかの形で、ホルモンが本来作用する部位から隔離されているものと考えられる。また IAA の増加に伴って、その代謝分解も活性化されると予想し、いくつかの IAA 代謝物を定量した。アラニンと結合した抱合体は増加していたが、グルタミン酸あるいはアスパラギン酸抱合体は増加しておらず、IAA 増加の影響を受ける代謝反応と受けない反応のあることがわかった。

b) 脱皮ホルモンアゴニストの構造活性相関

昆虫の脱皮ホルモンである 20-hydroxyecdysone (20E) はその受容体である ecdysone receptor (EcR) と ultraspiracle (USP) のヘテロダイマーに結合し、その複合体が遺伝子に作用する。本年度は鞘翅目昆虫であるコロラドハムシの脱皮ホルモン受容体 EcR および USP の遺伝子クローニングを行った。さらにコロラドハムシの EcR, USP をウサギ網状赤血球ライセートを用いて *in vitro* で発現し、様々な脱皮ホルモンアゴニストの受容体に対する結合活性を測定した。ステロイド系のアゴニストについては他の昆虫目の脱皮ホルモン受容体に対する結合活性と同程度であったが、非ステロイド系のアゴニストであるジベンゾイルヒドラジン類の活性は、鱗翅目の脱皮ホルモン受容体に対する結合活性に比べるとかなり低いことがわかった。

c) 生理活性ペプチドの化学

- i) 植物は、病原体に対する防御システムを有しており、病原体由来の物質（エリシター）を認識して一連の防御反応を開始する。細菌由来のフラジェリン関連ペプチドも様々な防御反応を引き起こすことが知られている。このペプチドの活性発現に必要な構造、

特に立体構造についての知見を得ることを目的として、直鎖フラジェリン関連ペプチド類縁体および、立体構造に制約を加えた環状フラジェリン関連ペプチド類縁体を合成し、その構造とタバコに対するエリシター活性の関係について調べた。その結果、N末端とC末端を架橋した環状体が高活性を保持したことから、活性発現には、N末端領域の配列とC末端領域の配列が空間的に非常に近い位置に、適切に配置されることで受容体に認識され、活性を発現していることが明らかとなった。ii) 石垣島にて採集したヤエヤマサソリ *Liocheles australasiae* を実験室で継代飼育できる条件を確立した。尾節にある毒腺から毒液を採取し、毒液に含まれる生理活性ペプチドをHPLCを用いて単離精製した。その分子量を質量分析計を用いて決定し、さらにそのアミノ酸配列を決定した

d) 内分泌かく乱物質の化学

塩素系殺虫剤であるメトキシクロルは、その代謝物が顕著なエストロゲン受容体結合活性を示すことが知られている。しかしながら、これらの代謝物はいずれも、第一相代謝反応によって生成する化合物であり、その後の第二相代謝反応によって生成するグルクロン酸抱合体ならびに硫酸抱合体についての活性については明らかにされていない。そこで、これらの抱合体を合成し、エストロゲン受容体結合活性を測定したところ、これらの抱合体はいずれも抱合前の化合物に比べて、大幅に活性が低下した。このことから、メトキシクロルは生体内で第一相代謝反応を受け、エストロゲン受容体結合活性を示すようになるが、その後の第二相代謝反応により再びその活性は消失することが明らかとなった。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

原著論文

- Matsuda, F., K. Morino, R. Ano, M. Kuzawa, K. Wakasa and H. Miyagawa: Metabolic flux analysis of the phenylpropanoid pathway in elicitor-treated potato tuber tissue. *Plant Cell Physiol* 46; 454-446, 2005
- Matsuda, F., K. Morino, H. Miyazawa, M. Miyashita and H. Miyagawa: Determination of Potato Glycoalkaloids using High-pressure Liquid Chromatography-Electrospray Ionization/Mass Spectrometry. *Phytochem Anal* 15; 121-124, 2004
- Minakuchi, C., Y. Nakagawa, Y. Soya and H. Miyagawa: Preparation of functional ecdysteroid receptor proteins (EcR and USP) using a wheat germ cell-free protein synthesis system. *J Pestic Sci* 29; 189-194, 2004
- Minakuchi, C., Y. Nakagawa, M. Kamimura and H. Miyagawa: Measurement of receptor-binding activity of non-steroidal ecdysone agonists using in vitro expressed receptor proteins (EcR/USP complex) of *Chilo suppressalis* and *Drosophila melanogaster* In "New Discoveries in Agrochemicals." (J. Marshall Clark, Hideo Ohkawa, Eds.). ACS Symp Ser, 892; American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 191-200, 2005
- Miyashita, M.; T. Shimada, H. Miyagawa and M. Akamatsu: Surface plasmon resonance-based immunoassay for 17 β -estradiol and its application to the measurement of estrogen receptor-binding activity. *Anal Bioanal Chem* 381; 667-73, 2005
- Miyashita, M.; T. Shimada, S. Nakagami, N. Kurihara, H. Miyagawa and Akamatsu, M:

- Enantioselective recognition of mono-demethylated methoxychlor metabolites by the estrogen receptor. *Chemosphere* 54; 1273-1276, 2004
- Morino, K., F. Matsuda, H. Miyazawa, A. Sukegawa, H. Miyagawa and K. Wakasa: Metabolic profiling of tryptophan-overproducing rice calli that express a feedback-insensitive a subunit of anthranilate synthase. *Plant Cell Physiol* 46; 514-521, 2005
- Nakagawa, Y., K. Takahashi, H. Kishikawa, T. Ogura, C. Minakuchi and H. Miyagawa: Classical and three-dimensional QSAR for the inhibition of [³H]ponasterone A binding by diacylhydrazine-type ecdysone agonists to insect Sf-9 cells. *Bioorg Med Chem* 13; 1333-1340, 2005
- Nishiwaki, H., K. Sato, Y. Nakagawa, M. Miyashita, and H. Miyagawa: Metabolism of imidacloprid in houseflies. *J Pestic Sci* 29; 110-116, 2004
- Ogura, T., Y. Nakagawa, C. Minakuchi and H. Miyagawa: QSAR for binding affinity of substituted dibenzoylhydrazines to intact Sf-9 cells. *J Pestic Sci* 30; 1-6, 2005
- Okazaki, Y., T. Isobe, Y. Iwata, T. Matsukawa, F. Matsuda, H. Miyagawa, A. Ishihara, T. Nishioka and H. Iwamura: Metabolism of avenanthramide phytoalexins in oats. *Plant J* 39; 560-572, 2004
- Swevers, L., L. Kravariti, S. Ciolfi, M. Xenou-Kokoletsi, N. Ragoussis, G. Smagghe, Y. Nakagawa, B. Mazomenos and I. Kostas: A cell-based high-throughput screening system for detecting ecdysteroid agonists and antagonists in plant extracts and libraries of synthetic compounds. *FASEB J* 18; 134-136, 2004
- Watanabe, B., S. Yamamoto, K. Sasaki, Y. Nakagawa, and H. Miyagawa: A simple synthesis of 6-deoxoteasterone and its 20-epimer. *Tetrahedron Lett* 45; 2767-2769, 2004
- Watanabe, B., Y. Nakagawa, T. Ogura and H. Miyagawa: Stereoselective synthesis of (22*R*)- and (22*S*)-castasterone/ponasterone A hybrid compounds and evaluation of their molting hormone activity. *Steroids* 69; 483-493, 2004
- Uesusuki, S., B. Watanabe, S. Yamamoto, J. Otsuki, Y. Nakagawa and H. Miyagawa: Synthesis of brassinosteroids of varying acyl side chains and evaluation of their brassinolide-like activity. *Biosci Biotech Biochem* 68; 1097-1105, 2004

報告書など

- 中川好秋：シンポジウム「第20回農薬デザイン研究会」、日本農薬学会誌、第30巻2号、p. 174、2004年
- 中川好秋：祝40周年 — Hansch-Fujita 法. 日本農薬学会誌、第30巻1号、p. 53、2005年

b) 学会発表

- 日本農薬学会第30回大会：4件
- 日本農芸化学会大会2005年度大会：10件
- 日本農芸化学会関西支部大会：1件
- 日本農芸化学会関西支部学会創立80周年記念シンポジウム：1件
- 昆虫ワークショップ：2件
- 第1回COE国際シンポジウム：4件
- 第20回農薬デザイン研究会：1件

第41回ペプチド討論会：1件

第46回植物生理学会：2件

第55回日本木材学会 ― 循環型バイオマス資源生産への学術的基盤：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

宮川 恒：日本農薬学会（常任評議員、常任編集委員）、日本農芸化学会（関西支部評議員）、日本地衣学会（評議員）

中川好秋：構造活性相関部会（常任幹事、会計）、日本農薬学会（評議員、常任編集委員、農薬デザイン研究会委員）

科研費等受領状況

宮川 恒：科学技術振興機構戦略的基礎研究（CREST）「トリプトファン生合成系における一次・二次代謝の制御と利用」（若狭代表・分担）、21世紀COEプログラム「昆虫科学が拓く未来型食料環境学の創生」（事業推進担当者）

中川好秋：21世紀COEプログラム「昆虫科学が拓く未来型食料環境学の創生」（事業推進担当者）

宮下正弘：科学技術振興機構戦略的基礎研究（CREST）「高感度質量分析計の開発と内分泌かく乱物質の分析」（交久瀬代表・分担）、若手研究(B)「植物の防御反応を誘導するペプチドのコンビナトリアル化学の手法による探索」

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

宮川 恒：2006年IUPAC国際農薬化学会議組織委員

中川好秋：第1回COE昆虫科学国際シンポジウム（主催および講演）、2006年IUPAC国際農薬化学会議現地実行委員

国際共同研究、海外学術調査等

中川好秋：脱皮ホルモンアゴニストの構造活性相関研究（ベルギー、ギリシャ）

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：有機構造解析学（宮川（分担））、生物有機化学Ⅰ（宮川、中川）、有機反応機構論Ⅱ（中川）、有機化学実験（中川、宮下（分担））、食品安全学Ⅱ（宮川（分担））

大学院：生物調節化学専攻演習（宮川、中川、宮下）、生物調節化学専攻実験（宮川、中川、宮下）、生物調節化学研究論（宮川、中川）

B-1. 学外における教育活動

宮川 恒：鳥取大学農学部（生産環境化学特論Ⅱ）

中川好秋：高知大学農学部（応用生物化学Ⅰ）、京都府立大学農学部（有機工業化学）

C. その他

宮川 恒：農学研究科放射線取扱主任者、京都大学放射性同位元素等管理委員会委員、京都大学RIセンター運営委員

2.3.4 研究分野：化学生態学

構成員：教授 西田 律夫
助教授 森 直樹 (2004, 10. 1-)
大学院博士後期課程 3名
大学院修士課程 7名
専攻4回生 4名

A. 研究活動 (2004. 4~2005. 3)

A-1. 研究概要

a) アブラムシ類の吸汁行動制御因子

アブラムシ類は植物の篩管部より養分を摂取する吸汁性昆虫であり、農作物に多大な被害を与える害虫種も多い。アブラムシ類の摂食行動は、寄主植物への口針挿入 (probing) と、それに続く吸汁 (sucking) 行動の二段階から成り立っており、probing 行動の解発には植物種に特異的な二次代謝物質、sucking 行動には篩管の一次代謝物質が重要な役割を果たしている。ヒゲナガアブラムシ (Macrosiphini) 族の probing 刺激物質としてフラボノイド配糖体の関与が認められたので、イバラヒゲナガアブラムシ、ニワトコヒゲナガアブラムシなどにおける食草フラボノイド組成を調べ、寄主特異性との関連について考察した。一方、ソラマメヒゲナガアブラムシが寄生しないスズメノエンドウ (非寄主植物) に probing 阻害物質の存在を認め、スペクトル分析などの結果、新規ヘミテルペン配糖体 (*E*)-2-methyl-2-butene-1,4-diol 4-*O*- β -D-glucopyranoside を同定した。

b) 鱗翅目昆虫における味覚受容の電気生理学的解析

鱗翅目昆虫の多くは幼虫時代に特定の植物群を寄主として利用しているが、幼虫は口器味覚感覚子により食草の特異的成分を的確に感じている。微小電極を用いたチップレコーディング法により、アゲハチョウ科幼虫 (アゲハおよびホソオチョウ) の摂食刺激因子・摂食阻害因子に対する味覚刺激応答を測定し、種特異的な寄主認識の神経生理学的基盤について考察した。

c) 植物に生物微弱発光を誘導する鱗翅目昆虫吐き出し液中のエリシター

植食者の食害や病原菌の感染によって、植物は様々な抵抗反応を行う。その一環として、オオタバコガに食害されたトウモロコシがバイオフィトンと呼ばれる生物微弱発光を発生する現象を認めた。この微弱発酵は、トウモロコシ葉片人工的に傷を付け、そこにオオタバコガ吐き出し液を塗布することで再現された。この結果は、植食者の吐き出し液中がトウモロコシの細胞に直接的に作用し、発光を誘導することを意味する。生物微弱発光の発光メカニズムとその生物学的意義についての考察を行った。

d) ダニ類の化学生態学

イチゴヤドクガエル等の矢毒ガエルは種々のアルカロイドを分泌するが、その起源はエサとなる節足動物と考えられている。現在まで、アリ・ヤスデ・テントウムシがアルカロイドの起源として知られているが、新たに陰気門亜目ダニ類アヅマオトヒメダニ *Scheloribates azumaensis* やその同属種から矢毒ガエルの毒として知られているアルカロイド pumiliotoxin 251D、pumiliotoxin 237A、precocinelline 193C およびその類縁体を同定した。その他にも、deoxypumiliotoxin 193H や 1-ethyl-4-pentenynylquinolizidine の存在が GCMS の解裂パターンより示唆された。興味深いことに、これらアルカロイドは成虫にのみ検出され、若虫には検出されなかった。オトヒメダニ類成虫がこれらアルカロイドを生合成している可能性が示唆された。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

原著論文

- Mizoguchi, A., K. Murakami, N. Shimizu, N. Mori, R. Nishida and Y. Kuwahara: S-isorobinal as the female sex pheromone from an alarm pheromone-emitting mite, *Rhizoglyphus setosus*. *Experimental and Applied Acarology* 36; 107-117, 2005
- Morita, A., N. Mori, R. Nishida, N. Hirai and Y. Kuwahara: Neral (the alarm pheromone) biosynthesis *via* the mevalonate pathway, evidenced by D-glucose-1-¹³C feeding in *Carpoglyphus lactis* ¹³C incorporation into other opisthonotal gland exudates. *J Pestic Sci* 29; 27-32, 2004
- Nishimura, K., N. Mori, K. Okabe and Y. Kuwahara: Chemical ecology of astigmatid mites LXXVI identification of α -acaridial as the female sex pheromone of *Schwiebea similis* (Acari: Acaridae). *Jpn J Environ Entomol Zool* 15(2); 107-117, 2004
- Noge, K., N. Mori, C. Tanaka, R. Nishida, M. Tsuda and Y. Kuwahara: Identification of astigmatid mites using the second internal transcribed spacer (ITS2) region and its application for phylogenetic study. *Experimental and Applied Acarology* 35; 29-46, 2005
- Oikawa, A., A. Ishihara, C. Tanaka, N. Mori, M. Tsuda and H. Iwamura: Accumulation of HDMBOA-Glc is induced by biotic stresses prior to the release of MBOA in maize leaves. *Phytochemistry* 65; 2995-3001, 2004
- Ono, H., Y. Kuwahara and R. Nishida: Hydroxybenzoic acid derivatives in a non-host rutaceous plant, *Orixa japonica*, deter both oviposition and larval feeding in a Rutaceae-feeding swallowtail butterfly, *Papilio xuthus* L. *J Chem Ecol* 30; 287-301, 2004
- Shelly, T. E., and R. Nishida: Larval and adult feeding on methyl eugenol and the mating success of male oriental fruit flies, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *Entomol Exp Appl* 112; 155-158, 2004
- Shimizu, N., K. Noge, N. Mori, R. Nishida and Y. Kuwahara: Chemical ecology of astigmatid mites LXXIII. Neral as an alarm pheromone of the acarid mite, *Oulenzia* sp. (Astigmata: Winterschmidtiiidae). *J Acarol Soc Jpn* 13; 57-64, 2004
- Tan, K. H. and R. Nishida: Synomone or kairomone? - *Bulbophyllum apertum* flower releases

raspberry ketone to attract Bactrocera fruit flies. J Chem Ecol, 31; 509–519, 2005

Yoshinaga, N., N. Morigaki, F. Matsuda, R. Nishida and N. Mori: In vitro biosynthesis of volicitin in Spodoptera litura. Insect Biochemistry and Molecular Biology 35; 175–184, 2005

総 説

Nishida, R.: Chemosensory basis of host recognition in butterflies – multi-component system of oviposition stimulants and deterrents. In T. Yamamoto, T. Fushiki, H. Kaba and Y. Ninomiya eds. Chemical Senses Supplement 30. Oxford University Press, Oxford, UK. i293–i294, 2005

b) 学会発表

第48回大会日本応用動物昆虫学会：4件

2004年度日本農芸化学会大会：5件

第13回日本ダニ学会大会：3件

第12回環境動物昆虫学会大会：1件

The 14th International Symposium on Olfaction and Taste：1件

International Symposium on Chemical Sense and Insect Behavior：1件

The 1st International Symposium of Entomological Science COE：7件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

西田律夫：日本応用動物昆虫学会（評議員、編集委員）

森 直樹：日本環境動物昆虫学会（編集幹事）

科研費等受領状況

西田律夫：基盤研究(B)(2) ゴキブリ類の家屋害虫化要因の化学的解析と行動制御（代表）、基盤研究(B)(2) 東南アジアにおける蘭とミバエ類の送粉共生系の化学生態学的解析（代表）、萌芽研究 チョウの翅に集積した薬理成分の探索（代表）、21世紀COEプログラム「昆虫科学が拓く未来型食料環境学の創生」

森 直樹：基盤研究(C)(2) 動物及び植物に生理活性を示す節足動物由来の有機化合物（代表）、21世紀COEプログラム「昆虫科学が拓く未来型食料環境学の創生」

A-4. 国際交流・海外活動

所属学会等（役割）

西田律夫：アジア-太平洋地域化学生態学協会（幹事）、「Biochemical Systematics and Ecology」(Editorial advisory board), 「Chemoecology」(Editorial advisory board), 「Applied Entomology and Zoology」(Editorial board), 「Journal of Chemical Ecology」(Editorial advisory board)

国際共同研究、海外学術調査等

西田律夫：ミバエ類の誘引物質に関する化学生態学的研究（マレーシア、ラオス、米国）

B. 教育活動 (2004. 4~2005. 3)

B-1. 学内活動

a) 開設授業科目

学部：生物有機化学Ⅲ (西田・森)、有機反応機構論Ⅰ (西田・森)、有機構造解析学 (西田)、生物有機化学実験及び実験法 (森)

大学院：化学生態学特論 (西田)、化学生態学専攻実験 (西田・森)、化学生態学演習 (西田・森)

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

西田律夫：京都教育大学教育学部 (天然物化学)、大阪府立大学農学部 (先端科学特殊講義)、三重大学生物資源学部 (陸圏生物生産学特論)、神戸大学農学部 (JICA 植物保護総合防除講義)、亜熱帯総合研究所 (草の根技術協力研修講義)

講座 分子細胞科学

2.3.5 研究分野：植物栄養学

構成員：教授 關谷 次郎

助教授 間藤 徹

助手 小林 優

助手 小泉 幸男

教務補佐員 1名 研究生 2名

大学院博士後期課程 2名

大学院修士課程 3名

専攻4回生 4名

A. 研究活動 (2004. 4~2005. 3)

A-1. 研究概要

a) 高等植物のグルタチオン類の生合成・異化・機能

グルタチオン (GSH) は植物中で最も多量に存在する低分子チオール化合物でさまざまな役割を担っている。また植物ではGSH以外に、ホモグルタチオン (hGSH、マメ科) やヒドロキシメチルグルタチオン (hmGSH、イネ科) などの類縁体が存在し、多様性を示している。本研究では、高等植物でのGSHの多様性、生合成、異化などについて明らかにすることを目的としている。

hGSHについては、ダイズhGSH生合成酵素をタバコに形質転換し、この形質転換植物を用いてhGSH生合成やGSH (hGSH) 抱合体形成などについて解析を行った。イネ科の大部分の

植物には GSH 以外に GSH 類縁体としてヒドロキシメチルグルタチオン (hmGSH) が存在する。すでにイネから hmGSH 合成酵素を精製しその性質の一端を明らかにしたが、さらに本酵素の候補 cDNA を入手し、組換え hmGSH 合成酵素の調製やその生合成の特徴などについて検討を進めている。

GSH の異化は γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) とジペプチダーゼ (DP) によって異化されるが、すでに可溶性および細胞壁結合性 GGT を 4 種類を単一に精製し、その性質を明らかにしてきた。可溶性 GGT の局在性は不明であったが、その大部分が液胞に局在することを明らかにした。またこの可溶性 GGT が GSH 抱合体の分解代謝にも関連していることを示した。

b) 高等植物細胞壁における無機元素の生理作用

植物の栄養元素であるホウ素とカルシウムは細胞壁に存在し機能している。これまでに我々はホウ酸がペクチン質多糖ラムノガラクトツロナン II 領域に特異的に結合して 1 : 2 ホウ酸-シスジオール結合を形成し、2 本のペクチン質多糖鎖を架橋していること、さらにこの架橋はカルシウムイオンで補強されていることを明らかにした。ホウ素が欠乏した植物では細胞壁ペクチンが架橋されず細胞壁が膨潤する。培養液からホウ素を欠除すると 10 分以内に特定の遺伝子群が発現すること、細胞壁の変化が速やかに細胞に知覚されることを示し、細胞壁の完全性と細胞の活性の関連について検討を進めている。また作物生産におけるホウ素の肥料としての機能についても検討を進め、上位葉の水溶性ホウ素濃度で作物のホウ素栄養状態が診断できる可能性を示した。現在、ホウ素の吸収と体内移動を安定同位体 ^{10}B を用いて検討している。さらにイネのホウ素過剰障害に対する耐性遺伝子を耐性品種、感受性品種の QTL 解析から同定しようとしている。

c) 塩害

イネの塩害について検討を進め、土壌の過剰ナトリウム塩がイネの根、地上部に拡散によって侵入することを示した。

d) 環境保全型農業

環境と耕作者、消費者の三者に最も負荷が少ない環境保全型農業を行うために肥料学が担うべき役割について検討を進めている。特に市販堆肥の肥料としての品質を、化学分析、微生物バイオアッセイ、作物の栽培試験成績に基づいて総合的に評価する方法の開発を進め、有機性廃棄物の利用による化学肥料投入量の削減を実現するための基礎研究を行っている。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

著書

間藤 徹 : アポプラストと植物栄養 3. アポプラストにおけるカルシウムの機能 日本
土壌肥料学会誌、75 ; 381-386、2004

Kobayashi M and T Matoh: Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. In Tobacco BY-2
Cells, Biotechnology in Agriculture and Forestry vol., 53, Eds. T Nagata, S Hasegawa and D
Inze, Springer 2004

原著論文

落合久美子、岩田良子、間藤 徹 : 市販ホウレンソウ、コマツナの硝酸態窒素含有率と全

- 窒素、カリウム含有率との関係. 日本土壤肥料学会誌 75 ; 693-695
- Kobayashi, M., T. Mutoh and T. Matoh: Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. IV. Genes induced under low boron supply. J Exp Bot 55; 1441-1443, 2004
- Ochiai K and T Matoh: Alleviation of salinity damage to rice plants by the use of polyethylene glycols (PEGs) through reduction of Na⁺ transport to shoots. Soil Sci Plant Nutr 50; 129-133, 2004
- Nakano, Y., S. Okawa, T. Yamauchi, Y. Koizumi and J. Sekiya: Occurrence of two forms of γ -glutamyltransferases in radish plant. Plant Biotechnol 21; 243-246, 2004
- Patcharaporn P, C Chitbuntanorn, N Chinoim, P Kangyawongha and T Matoh: Phosphorus accumulation in soils and nitrate contamination in underground water under export-oriented asparagus farming in Nong Ngu Lauem village, Nakhon Pathom province, Thailand. Soil Sci Plant Nutr 50, 385-393, 2004
- Phimsirikul P and T. Matoh: Effect of polyolefin-coated EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid)-K₂SO₄ on the growth of Italian ryegrass and red clover in sandy soil. Soil Sci Plant Nutr 50; 135-140, 2004

b) 学会発表

- 日本植物生理学会2004年度大会及び第41回シンポジウム : 2件
- 日本農芸化学会2003年度大会 : 3件
- 日本植物細胞分子生物学会大会シンポジウム : 2件
- 日本土壤肥料学会2004年度大会 : 4件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

- 關谷次郎 : 日本土壤肥料学会 (評議員)、日本植物細胞分子生物学会 (評議員)、日本油化学会 (Journal of Ole Science 副編集長・部門編集長、学会賞選考委員会委員)
- 間藤 徹 : 土壤肥料学会 (代議員、第4部門副部門長、欧文誌編集実行委員)

科研費等受領状況

- 間藤 徹 : 基盤研究(B)(2) 植物の細胞壁で機能する無機元素 (代表)、基盤研究(A)(1) ガーナ小規模ため池ダム灌漑計画 (分担)、基盤研究(A)(1) インドシナ半島大陸部畑作の環境負荷の評価 (分担)、農水省イネゲノム重要形質プロジェクト、近畿農政局畜産環境基本調査、京都市有機農業振興普及調査、有機質肥料の肥効判定方法の確立

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等 (役割)

- 關谷次郎 : 第6回植物硫黄代謝国際会議 (実行委員)
- 間藤 徹 : 第3回国際ハウ素シンポジウム、武漢 (組織委員)

国際共同研究、海外学術調査等

- 間藤 徹 : 国際学術研究 チャオプラヤ川デルタの農業開発 (タイ国カセサート大学非常勤研究員)、アジア-熱帯モンスーン地域における地域生態史モデルの構築 (総合地球環境学研究所共同研究員)

B. 教育活動 (2004. 4~2005. 3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用生命科学入門Ⅱ（關谷）、生化学Ⅱ（關谷）、植物生化学（關谷）、植物栄養学（間藤）、植物生化学実験（間藤、小林、小泉）、植物環境ストレス学（間藤）

大学院：植物生化学特論（關谷、間藤）、植物栄養学演習（關谷、間藤、小林、小泉）、植物栄養学専攻実験（關谷、間藤、小林、小泉）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

關谷次郎：滋賀県立大学環境科学部（植物生化学）

間藤 徹：京都工芸繊維大学繊維学部（植物栄養学）、京都府立大学（植物栄養学1、2）、

C. その他

關谷次郎：日本食品化学研究振興財団理事、FFI ジャーナル編集委員、近畿地域農林水産・食品バイオテクノロジー等先端技術研究推進会議理事

間藤 徹：環境保全型農業推進技術協力委員、京都市ダイオキシン類調査委員、京有機の会技術相談員

2.3.6 研究分野：エネルギー変換細胞学

構成員：教授 喜多 恵子
助教授 井上 善晴
助手 井沢 真吾
大学院博士後期課程 3名
大学院修士課程 5名
学部4回生 2名

A. 研究活動 (2004. 4~2005. 3)

A-1. 研究概要

a) 制限修飾系蛋白質の構造機能相関の解析

大腸菌 H709c 株の生産するⅡ型制限酵素 EcoO109I の大量発現系から酵素を均一に精製して、酵素単独および DNA-酵素複合体の X 線結晶構造解析を行い、立体構造を明らかにした。2つの構造を比較した結果、触媒ドメインは DNA を捕捉するように大きく構造を変化させることが明らかになった。活性部位の近傍には 1 分子の金属イオンと 2 分子の H₂O が存在し、Lys-126 によって活性化された H₂O がリン原子を求核攻撃することによって加水分解反応が進行することが示唆された。触媒部位を形成するアミノ酸残基を置換した変異酵素は、予想どおり活性が消失した。EcoO109I は、DNA 切断機構と触媒ドメインのフォールディングトポロジーの類似性から EcoRI と同一ファミリーに属するものの、塩基配列認識機構は全く異なっ

おり、EcoRI ファミリーの新奇なサブクラスを形成すると考えられる。

b) チオレドキシン含有機能性食品の創製をめざした緑茶抽出物による酵母チオレドキシンの誘導生産

チオレドキシン (TRX) はあらゆる生物において見いだされ、チオール-ジスルフィドオキシドレダクターゼとして抗酸化酵素活性を示す。一方、TRX は抗炎症作用を持つことから胃粘膜の保護効果が認められ、さらに抗アレルギー作用をもつことなどから、TRX 含有機能性食品の開発も検討されている。パン酵母は食品微生物として広く使用されていることから、TRX 高含有酵母は、そういった機能性食品の創製に資することが期待される。酵母は3種類のTRX遺伝子をもつが、そのうち *TRX2* 遺伝子の発現は転写因子 Yap1により制御されている。Yap1は酸化的ストレスにより核に局在し、標的遺伝子の転写を活性化させる。TRX 含有機能性食品の開発を意図した酵母における TRX 生産において、過酸化水素などの過酸化物の添加は食品製造において制限が多い。今回、食品添加物として使用が認められている市販緑茶抽出物が Yap1を活性化することを見だし、緑茶抽出物を用いた酵母 TRX の効率的誘導生産条件を確立した。

c) mRNA 核外輸送段階におけるストレス応答機構

酵母をはじめとする真核生物では、核内で合成された mRNA が細胞質側に核外輸送される事によってはじめて翻訳される。近年、mRNA の核外輸送段階もストレスによる制御を受け、遺伝子の転写パターンだけでなく、核外輸送される mRNA の種類も変化することがあきらかにされた。出芽酵母の場合、ヒートショックストレスによって Hsp70 をコードする *SSA4* 遺伝子の mRNA 量が増加し積極的に核外輸送されるのに対し、大部分の mRNA の輸送は抑制され核内に蓄積してしまう。このようなストレス条件下における mRNA の選択的核外輸送の分子制御機構について、ワインや清酒などの酒類醸造過程を含めたアルコールストレスやヒートショックストレスを中心に解析を進めている。

A-2. 研究業績

a) 成果刊行

原著論文

Hashimoto, H., T. Shimizu, T. Imasaki, M. Kato, N. Shichijo, K. Kita and M. Sato: Crystal structures of type II restriction endonuclease EcoO109I and its complex with cognate DNA. *J Biol Chem* 280(7); 5605-5610, 2005

Imasaki, T., H. Hashimoto, T. Shimizu, M. Kato, J. Tsuda, K. Kita and M. Sato: Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analyses of EcoO109I and its complex with DNA. *Acta Cryst D* 60(6); 1165-1166, 2004

Izawa, S., N. Kuroki and Y. Inoue: Nuclear thioredoxin peroxidase Dot5 in *Saccharomyces cerevisiae*: roles in oxidative stress response and disruption of telomeric silencing. *Appl Microbiol Biotechnol* 64(1); 120-124, 2004

Izawa, S. and Y. Inoue: A screening system for antioxidants using thioredoxin-deficient yeast: discovery of thermostable antioxidant activity from *Agaricus blazei* Murill. *Appl Microbiol Biotechnol* 64(4); 537-542, 2004

Izawa, S., M. Sato, K. Yokoigawa and Y. Inoue: Intracellular glycerol influences resistance to

- freeze stress in *Saccharomyces cerevisiae*: analysis of a quadruple mutant in glycerol dehydrogenase genes and glycerol-enriched cells. *Appl Microbiol Biotechnol* 66(1); 108-114, 2004
- Izawa, S., K. Ikeda, K. Maeta and Y. Inoue: Deficiency in the glycerol channel Fps1p confers increased freeze tolerance to yeast cells: application of the *fps1Δ* mutant to frozen dough technology. *Appl Microbiol Biotechnol* 66(3); 303-305, 2004
- Izawa, S., R. Takemura and Y. Inoue: Gle2p is essential to induce adaptation of the export of bulk poly (A)⁺ mRNA to heat shock in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 279(34); 35469-35478, 2004
- Kataoka, M., A.-R.G. Delacruz-Hidalgo, M.A. Akond, E. Sakuradani, K. Kita and S. Shimizu: Gene cloning and overexpression of two conjugated polyketone reductases, novel aldo-keto reductase family enzymes, of *Candida parapsilosis*. *Appl Microbiol Biotechnol* 64(3); 359-366, 2004
- Maeta, K., S. Izawa, S. Okazaki, S. Kuge and Y. Inoue: Activity of the Yap1 transcription factor in *Saccharomyces cerevisiae* is modulated by methylglyoxal, a metabolite derived from glycolysis. *Mol Cell Biol* 24(19); 8753-8764, 2004
- Takemura, R., Y. Inoue and S. Izawa: Stress response in the yeast mRNA export factor: reversible change in the localization of Rat8p is caused by ethanol stress but not heat shock. *J Cell Sci* 117(18); 4189-4197, 2004
- Takatsume, Y., S. Izawa and Y. Inoue: Identification of thermostable glyoxalase I from *Schizosaccharomyces pombe*. *Arch Microbiol* 181(5); 371-377, 2004
- Tsuzi, D., K. Maeta, Y. Takatsume, S. Izawa and Y. Inoue: Regulation of the yeast phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase *GPX2* by oxidative stress is mediated by Yap1 and Skn7. *FEBS Lett* 565(1-3); 148-154, 2004
- Tsuzi, D., K. Maeta, Y. Takatsume, S. Izawa and Y. Inoue: Distinct regulatory mechanism of yeast *GPX2* encoding phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase by oxidative stress and a calcineurin/Crz1-mediated Ca²⁺ signaling pathway. *FEBS Lett* 569(1-3); 301-306, 2004

b) 学会発表

- 第77回日本生化学会大会：1件
 第26回日本分子生物学会：4件
 酵母遺伝学フォーラム第37回研究報告会：2件
 平成16年度日本生物工学会大会：2件
 2005年度日本農芸化学会大会：4件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

- 喜多恵子：日本農芸化学会 (関西支部評議員)、日本生物工学会 (英文誌編集委員)
 井上善晴：酵母研究会運営委員

学術会議研連（役割）

喜多恵子：日本学術会議発酵学農産物利用学研究連絡委員会（委員）

科研費等受領状況

喜多恵子：基盤研究(B)(2) エンドヌクレアーゼの標的DNA認識に関する構造生物学的解析と基質特異性改変（代表）

井沢真吾：若手研究(B)(2) レドックス調整因子チオレドキシンのアルコール発酵における機能と輸送機構の解析

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

喜多恵子：第5回制限修飾系に関するNEBミーティング 英国（参加）

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用微生物学Ⅱ（喜多）、応用生命科学入門Ⅲ（喜多）、生化学実験（喜多、井上、井沢）

大学院：エネルギー変換細胞学（喜多）、エネルギー変換細胞学専攻演習（喜多、井上）、エネルギー変換細胞学専攻実験（喜多、井上）

講座 応用微生物学

2.3.7 研究分野：発酵生理及び醸造学

構成員：教授 清水 昌
助教授 片岡 道彦
助手 小川 順
助手 櫻谷 英治

大学院博士後期課程	9名	産学官連携研究員	1名
大学院修士課程	20名	COE研究員	1名
専攻4回生	5名	外国人共同研究者	1名

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) 微生物による有用油脂類生産の代謝工学

アラキドン酸、エイコサペンタエン酸（EPA）などの高度不飽和脂肪酸を、医薬品や機能性食品として利用する動きが最近活発化しているが、これまでその豊富な供給源は知られていなかった。そこで、微生物界にその供給源を求め探索した結果、農学部キャンパスの土か

ら分離した *Mortierella* 属カビが、アラキドン酸を著量生産することを見出した。さらに、培養条件の制御や変異株の育種および代謝工学的手法や分子生物学的手法を駆使して、ジホモγ-リノレン酸やEPA、ミード酸など様々な高度不飽和脂肪酸の選択的な生産も達成した。これらは50,000リットル培養装置で実用レベルの生産実験を行っている。また、高度不飽和脂肪酸生合成に関与する酵素および遺伝子の解析、ならびに *Mortierella* 属カビの新規形質転換系の開発にも取り組んでいる。さらに、新たな機能性油脂の生産を目指し、様々な微生物の油脂変換能力を検討した結果、乳酸菌に新規機能性脂肪酸である共役脂肪酸を生産する能力を見だし、共役リノール酸生産を軸とした開発を進めている。

b) 微生物によるキラル化合物の生産法の開発と分子生物学的解析

微生物酵素のもつ極めて優れた特徴のひとつである立体選択性を利用した、有用光学活性化合物（アミノ酸・ビタミン類等）生産法の開発を行っている。例として、酸化還元酵素によるカルボニル基の不斉還元反応を用いる、様々なキラルビルディングブロックの生産に成功している。これは、2000年より実用に供されている。また、ラクトン環を立体選択的に加水分解する酵素をカビに発見し、この酵素反応によるパントテン酸の合成中間原料であるパントラクトンの光学分割法を開発し、1999年より工業生産（年間2,000トン）に導入されている。さらに、これらの反応を触媒する酵素についても精製・単離を行い、立体選択的反応機構等の酵素化学的研究・タンパク質化学的研究も行っている。

c) 微生物由来の新規酵素の探索・機能解析および応用

核酸関連化合物の微生物代謝の解明とそれに関わる酵素の機能解析および応用を行っている。例えば、核酸塩基分解酵素ジヒドロピリミジナーゼの5-置換ヒダントイン類に対する立体選択性を利用したD-アミノ酸生産プロセスの開発、グルコースとアセトアルデヒドを出発原料とする2'-デオキシリボヌクレオシド合成法の開発、クレアチニン代謝系酵素を利用した腎機能評価のための臨床診断用酵素の開発などを行っている。また、様々な特徴を有するペルオキシダーゼ、ラッカーゼなどのオキシダーゼ類を微生物界に広く検索するとともに、その用途開発を行っている。例えば、キノコ（ヒトヨタケ）由来のペルオキシダーゼの洗剤用酵素としての開発、臨床診断用酵素としての開発、ラッカーゼの環境浄化用酵素としての開発、染色・脱色用酵素としての開発などを行っている。

d) 微生物によるニトリル化合物の代謝研究とその応用

ニトリル化合物の微生物による分解代謝の解明およびニトリル分解酵素と有機化学合成とを組み合わせた新しい有用物質生産プロセス（ハイブリッドプロセス）の開発を目的として、ニトリルを直接カルボン酸とアンモニアに加水分解する酵素「ニトリラーゼ」と、ニトリルを水和してアミドへ変換する酵素「ニトリルヒドラターゼ」についてタンパク質・遺伝子レベルから検討している。本研究の応用面での成果の一部として、細菌 *Rhodococcus rhodochrous* J1 のニトリルヒドラターゼを用いたアクリロニトリルからアクリルアミドの工業生産（年間3万トン）が1991年より稼働している。これは、酵素法による大量生産型化成品生産の初めての例として、また、環境調和型のグリーンケミストリーの成功例として世界的な注目を集めている。また、同じ反応により1998年より3-シアノピリジンからのニコチンアミドの工業生産も行われている。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

Ogawa, J. and S. Shimizu: Enzymes. Bioprocesses and Biotechnology for Functional Foods and Nutraceuticals (ed. by J.-R. Neese, J. Bruce German). p.197-205, Marcel Dekker, New York-Basel, 2004

清水 昌：第VI部生物工場へのアプローチ（第11章）微生物工場——暮らしに役立つ微生物の話。京大人気講義シリーズバイオサイエンスの新戦略（京都大学農学部編）。p. 146-160、丸善、2004

原著論文

Ando, A., J. Ogawa, S. Kishino and S. Shimizu: Conjugated linoleic acid production from castor oil by *Lactobacillus plantarum* JCM 1551. *Enzyme Microb Technol* 35 (1); 40-45, 2004

Kataoka, M., A.-R. Delacruz-Hidalgo, M.A. Akond, E. Sakuradani, K. Kita and S. Shimizu: Gene cloning and overexpression of two conjugated polyketone reductases, novel aldo-keto reductase family enzymes, of *Candida parapsilosis*. *Appl Microbiol Biotechnol* 64 (3); 359-366, 2004

Kataoka, M., A. Kotaka, R. Thiwthong, M. Wada, S. Nakamori and S. Shimizu: Cloning and overexpression of the old yellow enzyme gene of *Candida macedoniensis*, and its application to the production of a chiral compound. *J Biotechnol* 114 (1-2); 1-9, 2004

Kajikawa, M., K.T. Yamato, Y. Kohzu, M. Nojiri, E. Sakuradani, S. Shimizu, Y. Sakai, H. Fukuzawa and K. Ohyama: Isolation and characterization of $\Delta 6$ -desaturase, an ELO-like enzyme and $\Delta 5$ -desaturase from the liverwort *Marchantia polymorpha* and production of arachidonic and eicosapentaenoic acids in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Plant Mol Biol* 54 (3); 335-352, 2004

Ogawa, J., W.T. Sulistyaningdyah, Q.-S. Li, H. Tanaka, S.-X. Xie, K. Kano, T. Ikeda and S. Shimizu: Two extracellular proteins with alkaline peroxidase activity, a novel cytochrome *c* and a catalase-peroxidase, from *Bacillus* sp. No.13. *Biochim Biophys Acta* 1699 (1-2); 65-75, 2004

Sakuradani, E., Y. Hirano, N. Kamada, M. Nojiri, J. Ogawa and S. Shimizu: Improvement of arachidonic acid production by mutants with lower n-3 desaturation activity derived from *Mortierella alpina* 1S-4. *Appl Microbiol Biotechnol* 66 (3); 243-248, 2004

Sulistyaningdyah, W.T., J. Ogawa, H. Tanaka, C. Maeda and S. Shimizu: Characterization of alkaliphilic laccase activity in the culture supernatant of *Myrothecium verrucaria* 24G-4 in comparison with bilirubin oxidase. *FEMS Microbiol Lett* 230 (2); 209-214, 2004

Sulistyaningdyah, W.T., J. Ogawa, Q.S. Li, R. Shinkyo, T. Sakaki, K. Inouye, R.D. Schmid and S. Shimizu: Metabolism of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins by cytochrome P450 BM-3 and its mutant. *Biotechnol Lett* 26 (24); 1857-1860, 2004

Takeo, S., E. Sakuradani, S. Murata, M. Inohara-Ochiai, H. Kawashima, T. Ashikari and S. Shimizu: Cloning and sequencing of the *ura3* and *ura5* genes, and isolation and characterization of uracil auxotrophs of the fungus *Mortierella alpina* 1S-4. *Biosci Biotechnol*

Biochem 68 (2); 277-285, 2004

Takeo, S., E. Sakuradani, S. Murata, M. Inohara-Ochiai, H. Kawashima, T. Ashikari and S. Shimizu: Establishment of an overall transformation system for an oil-producing filamentous fungus, *Mortierella alpina* 1S-4. Appl Microbiol Biotechnol 65 (4); 419-425, 2004

総 説

Delacruz-Hidalgo, A.-R. G., M. Kataoka and S. Shimizu: Biochemical and applied studies of microbial oxidoreductases. 応用微生物学研究 2(1); 39-46, 2004

小川 順: 核酸および脂質の代謝に関する新規微生物反応の探索と開発. 農化誌 78(9); 830-835, 2004

小川 順, 岸野重信, 安藤晃規, 杉本 聡, 清水 昌: 微生物による共役脂肪酸生産. 生物工学 82(7); 285-287, 2004

小川 順, 清水 昌: 機能性食品・栄養補助食品としての酵素利用と醸造微生物. 日本醸造協会誌 99(12); 832-849, 2004

小川 順, 堀之内伸行, 清水 昌: 2'-デオキシリボヌクレオシドの微生物生産. バイオサイエンスとインダストリー 62(6); 389-390, 2004

清水 昌: 有用物質生産のための微生物プロセスの開発に関する基盤的研究. 農化誌 78(1); 4-13, 2004

清水 昌: 油糧微生物の探索・開発・育種と機能性脂質生産への応用. バイオサイエンスとインダストリー 62(1); 11-16, 2004

竹野誠記, 櫻谷英治, 清水 昌: 油糧微生物 *Mortierella alpina* 1S-4における宿主——ベクター系の開発とその応用. 応用微生物学研究 2(2); 82-87, 2004

報告書等

小川 順: お口の恋人“酵素”. 生物工学 82(2); 70, 2004

櫻谷英治: 多彩な高度不飽和脂肪酸生合成経路. 生物工学 82(6); 264, 2004

b) 学会発表

日本農芸化学会2004年度大会: 27件

日本ビタミン学会第56回大会: 1件

京都大学のアグリバイオ技術を核とした第4回産学連携研究会: 1件

平成17年度日本生物工学会大会: 12件

日本農芸化学会平成16年度関西支部大会: 3件

第6回CLA懇話会: 1件

酵素工学研究会第52回講演会: 6件

公開シンポジウム「21世紀型バイオプロセスへの挑戦」: 1件

第30回日本応用酵素協会研究発表会: 1件

日本農芸化学会関西支部第437回講演会: 1件

第3回脂質工学研究部会講演会: 4件

平成16年度日本生物工学会技術セミナー「バイオニクス」: 1件

日本農芸化学会関西支部第438回講演会: 1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

清水 昌：日本農芸化学会（理事）、日本生物工学会（評議員）、日本生化学会（評議員・近畿支部支部長）、日本ビタミン学会（評議員）、酵素工学研究会（委員）、日本バイオインダストリー協会（評議員・編集委員）、応用微生物学研究協議会（理事）

片岡道彦：酵素工学研究会（幹事）、日本生化学会（近畿支部庶務）、日本ビタミン学会（「ビタミン誌」トピックス委員）

小川 順：日本生物工学会（脂質工学研究部会幹事）

櫻谷英治：日本生物工学会（生物工学会若手会委員）

科研費等受領状況

清水 昌：基盤研究(S) 汎用型不斉還元酵素モジュールの開発とキラルアルコール生産システムへの応用（代表）、萌芽的研究 糸状菌が大量分泌する脂肪球の膜構成分子の解析と応用（代表）、新エネルギー・産業技術総合開発機構受託研究 生物機能を活用した産業プロセス革新基盤技術開発（代表）、21世紀「COE」プログラム「微生物機能の戦略的活用による生産基盤拠点」（拠点リーダー）

片岡道彦：基盤研究(B)(2) 新規な酵素法による2つのキラル中心を持つ化合物の立体選択的生産（代表）、21世紀「COE」プログラム「微生物機能の戦略的活用による生産基盤拠点」（事業推進担当者）

小川 順：若手研究(A) アネロバイオテクノロジーの開拓 ― 嫌気下での特異な微生物反応による有用物質生産 ―（代表）、萌芽的研究 生体微量元素セリウム（Ce）による生物機能制御の検証（代表）、新エネルギー・産業技術総合開発機構産業技術研究助成事業 遺伝子技術の基幹素材デオキシリボヌクレオシドの効率的微生物生産（代表）、21世紀「COE」プログラム「微生物機能の戦略的活用による生産基盤拠点」（事業推進担当者）

櫻谷英治：若手研究(B) 高度不飽和脂肪酸蓄積性糸状菌の遺伝子組み換え技術の確立と生産への応用（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

清水 昌：第95回米国油化学会年会・アメリカ（招待講演）、第2回生体触媒に関する国際会議 biocat2004・ドイツ（招待講演）、第9回日本スイスバイオテクノロジー会議・スイス（組織委員、招待講演）、日本フィンランド微生物バイオテクノロジー会議・京都（招待講演）、日本農芸化学会創立80周年記念シンポジウム・東京（招待講演）

片岡道彦：第2回生体触媒に関する国際会議 biocat2004・ドイツ（研究発表）、第8回中日韓酵素工学会議・中国（研究発表）、第4回 JSPS-NRCT 合同セミナー・山口（研究発表）

小川 順：第95回米国油化学会年会・アメリカ（招待講演）、第9回日本スイスバイオテクノロジー会議・スイス（参加）、第5回国際代謝工学会議・アメリカ（研究発表）

櫻谷英治：第95回米国油化学会年会・アメリカ（研究発表）

所属学会等（役割）

清水 昌：アメリカ油化学会（バイオテクノロジー部会委員）、Journal of American Oil Chemists' Society（編集委員）、Journal of Molecular Catalyst B: Enzymatic（編集委員）

片岡道彦：Applied Microbiology and Biotechnology（編集委員）

国際共同研究、海外学術調査等

清水 昌：耐熱性微生物資源の開発と利用（タイ）

片岡道彦：耐熱性微生物資源の開発と利用（タイ）

小川 順：耐熱性微生物資源の開発と利用（タイ）

外国人研究者の受入れ

外国人共同研究者 1名（ドイツ）

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用微生物学Ⅱ（清水）、応用微生物学Ⅳ（清水・片岡）、応用微生物学実験及び実験法（片岡・小川・櫻谷）、フードサイエンス（清水）、バイオテクノロジー農学の戦略（清水）

大学院：発酵生理及び醸造学特論（清水）、発酵生理及び醸造学専攻演習（清水・片岡）、発酵生理及び醸造学専攻実験（清水・片岡）

b) 公開セミナー開講

京都大学オープンキャンパス・ミニレクチャー（片岡）、西宮市立西宮高等学校「特設科学講座」見学会（片岡）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

清水 昌：滋賀県立大学（微生物利用学）、大阪大学（第32回ユネスコ微生物学国際大学院研修講座）

片岡道彦：滋賀県立大学（微生物利用学）

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

留学生：博士後期課程学生 3名（中国、タイ、インドネシア）、学部4回生 1名（中国）

C. その他

片岡道彦：酵素工学研究会「平成16年度酵素工学奨励賞」受賞

小川 順：日本農芸化学会「2004年度農芸化学奨励賞」受賞

2.3.8 研究分野：制御発酵学

構 成 員：教 授 加藤 暢夫
助教授 阪井 康能
助 手 由里本博也

教務補佐員	1名	産学官連携研究員	1名
COE研究員	1名	大学院博士後期課程	5名
大学院修士課程	12名	専攻4回生	4名
研究生	1名		

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) 新規培養原料の導入

天然ガス由来のメタノールを利用する微生物メチロトローフによる「C1発酵」の領域を開拓・発展させ、その生体触媒およびタンパク質合成系としての有用性を明らかにしてきた。特にメタノール資化性酵母を用いる異種遺伝子発現系を開発して、酵素などのタンパク質あるいは中間代謝物を合成するための新しい生体触媒システムを確立した。この異種遺伝子発現系は、動物・植物など他の高等生物由来の有用タンパク質の生産系として高い関心を集めている。さらに、本酵母に特徴的な細胞内小器官であるペルオキシソームについて、酵素や遺伝子の分析による機能解析、及びタンパク集積や分解過程の分子メカニズムについての研究を行っている。

b) 新規代謝機能の開発

メタノール資化性酵母の持つ遺伝子発現系とあわせて、その代謝機能を活用すべく、酵母のメタノール代謝に関与する遺伝子をクローニングして、その代謝および遺伝子発現調節機構を分子レベルで明らかにしつつある。メタノール資化性細菌がもつホルムアルデヒド固定酵素遺伝子群について、非メチロトローフ細菌やアーケアにおいてもその存在を確認し、酵素・遺伝子両面からの解析によりその生理的意義の解明や代謝機能の応用利用に関する研究を行っている。さらにメタン、メタノールの他に長鎖および短鎖のアルカンに生育する微生物を未来型天然資源として取り上げ、生化学的側面、分子生物学的側面、細胞内構造的側面の3つの観点から、微生物が持っている細胞機能を遺伝子レベルで解明し、活性型有用タンパク質の生産などの応用研究へと発展させる。

c) 有害物質除去技術

石油による土壌や海洋汚染で問題となる長鎖炭化水素（石油ワックス）を分解する生物を見だし、分解特性を明らかにし、その酵素的基盤を明らかにしつつある。また、芳香族化合物を脱窒条件下で分解する微生物を見だし、遺伝子レベルでその特徴を解析している。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著 書

阪井康能、由里本博也：メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* のゲノム解析、ゲノミクス・

プロテオミクスの新展開 (今中忠行監修)、p.215-220、エヌ・ティー・エス、東京、2004

原著論文

- Kajikawa, M., K. T. Yamato, Y. Kohzu, M. Nojiri, E. Sakuradani, S. Shimizu, Y. Sakai, H. Fukuzawa and K. Ohyama: Isolation and characterization of delta(6)-desaturase, an ELO-like enzyme and delta(5)-desaturase from the liverwort *Marchantia polymorpha* and production of arachidonic and eicosapentaenoic acids in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Plant Mol Biol* 54: 335-352, 2004
- Limtong, S., N. Srisuk, W. Yongmanitchai, H. Kawasaki, H. Yurimoto, T. Nakase and N. Kato: Three new thermotolerant methylotrophic yeasts, *Candida krabiensis* sp. nov., *Candida sithepensis* sp. nov., and *Pichia siamensis* sp. nov., isolated in Thailand. *J Gen Appl Microbiol* 50: 119-127, 2004
- Mukaiyama, H., M. Baba, M. Osumi, S. Aoyagi, N. Kato, Y. Ohsumi and Y. Sakai: Modification of a ubiquitin-like protein Paz2 conducted micropexophagy through formation of a novel membrane structure. *Mol Biol Cell* 15: 58-70, 2004
- Nakagawa, T., T. Ito, S. Fujimura, M. Chikui, T. Mizumura, T. Miyaji, H. Yurimoto, N. Kato, Y. Sakai and N. Tomizuka: Molecular characterization of glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase gene *FLDI* from methylotrophic yeast *Pichia methanolica*. *Yeast* 21: 445-453, 2004
- Sakai, Y., H. Takahashi, Y. Wakasa, T. Kotani, H. Yurimoto, N. Miyachi, P. P. Van Veldhoven and N. Kato: Role of α -methylacyl coenzyme A racemase in the degradation of methyl-branched alkanes by *Mycobacterium* sp. strain P101. *J Bacteriol* 186: 7214-7220, 2004
- Shinoda, Y., Y. Sakai, H. Uenishi, Y. Uchihashi, A. Hiraishi, H. Yukawa, H. Yurimoto and N. Kato: Aerobic and anaerobic toluene degradation by a newly isolated denitrifying bacterium, *Thauera* sp. strain DNT-1. *Appl Environ Microbiol* 70: 1385-1392, 2004
- Yurimoto, H., M. Yamane, Y. Kikuchi, H. Matsui, N. Kato and Y. Sakai: The pro-peptide of *Streptomyces mobaraensis* transglutaminase functions in *cis* and in *trans* to mediate efficient secretion of active enzyme from methylotrophic yeasts. *Biosci Biotechnol Biochem* 68: 2058-2069, 2004
- Yurimoto, H., B. Lee, F. Yasuda, Y. Sakai and N. Kato: Alcohol dehydrogenases that catalyse methyl formate synthesis participate in formaldehyde detoxification in the methylotrophic yeast *Candida boidinii*. *Yeast* 21: 341-350, 2004
- 米田俊浩、玉井幸夫、近藤恵二、由里本博也、加藤暢夫、阪井康能：ギ酸誘導性遺伝子発現機構の解明とメタノール資化性酵母異種タンパク質生産系の確立、応用微生物学研究 2(2) ; 90-96、2004

総説

- 加藤暢夫、石毛たける、阪井康能：ノルマルパラフィンからのワックス生産。科学と工業 78(6) ; 302-309、2004
- 加藤暢夫：微生物の新規な代謝機能の解明とその応用に関する研究。日本農芸化学会誌 78(6) ; 548-555、2004

阪井康能：メタノール資化性酵母遺伝子発現系を用いた有用酵素生産の最適化．生物工学会誌 82(11)；540-547、2003

由里本博也：酵母といえば……Non-Conventional Yeast の時代の到来か．生物工学会誌 83(1)；31、2005

篠田吉史、阪井康能、加藤暢夫：脱窒性細菌による芳香族化合物の嫌気分解 — 微生物代謝の新たなフロンティア — ．用水と排水 47(3)；182-189、2005

b) 学会発表

日本農芸化学会大会2005年度大会：11件

平成16年度日本生物工学会大会：7件

第77回日本生化学会大会：2件

第27回日本分子生物学会年会：1件

第37回酵母遺伝学フォーラム：5件

日本 Archaea 研究会第17回講演会：1件

日本農芸化学会2004年度関西支部大会：1件

第3回21世紀 COE ミニシンポジウム：1件

第7回水環境制御研究センターシンポジウム：1件

公開シンポジウム「蛋白質分解：新たなる展開をめざして」：1件

第5回酵素応用シンポジウム：1件

第16回酵母合同シンポジウム：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

加藤暢夫：日本農芸化学会（評議員）、日本生物工学会（監事）

阪井康能：日本農芸化学会（関西支部評議員）日本生物工学会（学会強化委員、編集委員）、酵母遺伝学フォーラム（運営委員）、バイオインダストリー協会新資源生物変換研究会（常任幹事）

科研費等受領状況

加藤暢夫：基盤研究(B)(2) 原核微生物におけるC1化合物固定酵素反応の分子基盤とその応用、萌芽研究 細菌によるワックスエステル合成のための代謝工学、(財)地球環境産業技術研究機構受託研究 CO₂取り込み機能を有する新規微生物（酵素）の探索、(財)地球環境産業技術研究機構受託研究 芳香環分解メカニズム解析

阪井康能：基盤研究(S) 未来型天然資源を利用する微生物の分子細胞生物学的総理解と応用機能開発、特定領域研究 新生膜形成の時空制御とリン脂質結合ドメインの生理生化学機能、東洋紡績(株)共同研究 細胞内操作技術を検証系とした機能性タンパク質プローブの開発と応用

由里本博也：若手研究(B) 酵母のメタノール誘導性遺伝子発現に関わる転写因子の取得と情報伝達経路の解明、発酵と代謝研究奨励金 微生物のC1化合物代謝系遺伝子の発現制御機構の解明とその応用

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

加藤暢夫：ゴードン会議「微生物のC1化合物代謝の分子基盤」、米国（招待講演）、第95回アメリカ油化学会年会、米国（招待講演）、第4回耐熱性微生物資源の開発と利用に関するJSPS-NRCT合同セミナー、福岡（招待講演）、第9回バイオテクノロジーとバイオプロセスの展開に関する日本-スイス合同セミナー、スイス（招待講演）

阪井康能：ゴードン会議「微生物のC1化合物代謝の分子基盤」、米国（招待講演）、第44回アメリカ細胞生物学会年会、米国（招待講演）、韓国微生物学会国際会議、韓国（招待講演）

由里本博也：ゴードン会議「微生物のC1化合物代謝の分子基盤」、米国（研究発表）

国際共同研究・海外学術調査等

加藤暢夫：耐熱性微生物資源の開発と利用（タイ）

阪井康能：耐熱性微生物資源の開発と利用（タイ）

由里本博也：耐熱性微生物資源の開発と利用（タイ）

国際的学術雑誌の編集等（役割）

加藤暢夫：「Biodegradation」（編集委員）

外国人研究者の受入れ

招へい外国人学者 8名（ドイツマックスプランク研究所・教授、ドイツフライブルグ大学・助教授、ドイツマールブルグ大学・助教授、米国オレゴン州立大学・教授、米国ロバート・ウッド・ジョンソン医科大学教授、米国ワシントン大学・教授、韓国高麗大学・教授、中国科学院・助教授）

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用微生物学Ⅰ（加藤）、応用微生物学Ⅳ（阪井）、応用微生物学実験及び実験法（阪井、由里本）

大学院：制御発酵研究論（加藤）、制御発酵学専攻演習（加藤、阪井）、制御発酵学専攻実験（加藤、阪井）

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

阪井康能：京都大学国際融合創造センター主催「フリーディスカッション産学連携」（講演）、カール・ツァイス顕微鏡イメージングセミナー（講演）

B-3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

阪井康能：Korean Research Institute of Bioscience and Biotechnology（講演）

C. その他

由里本博也、加藤暢夫、阪井康能：2004年度日本農芸化学会 B.B.B. 論文賞

阪井康能：天野エンザイム(株)第5回酵素応用シンポジウム研究奨励賞、自然科学研究機構基礎生物学研究所（細胞生物学研究系細胞増殖（客員）研究部門）助教授併任、京都大学農学研究科（遺伝子 RI 実験施設）放射線取扱副主任、(財)地球環境産業技術研究機構研究所技術評価分科会委員、(財)国際環境技術移転研究センター技術開発促進事業評価委員会委員

講座 生物機能化学

2.3.9 研究分野：生体機能化学

構成員：教授 池田 篤治

助教授 角谷 忠昭

助教授 加納 健司

助手 辻村 清也

学振特別研究員 P D 1名 大学院博士後期課程 2名

大学院修士課程 8名 専攻4回生 4名

研究員 3名 外国人共同研究者 2名

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) 電子移動反応、酸化還元反応に関わる生物現象の細胞レベル、分子レベルでの研究

キノコファクタが関与する酸化還元触媒反応機構についての多面的研究（合成、酵素電気化学反応触媒への展開など）。脱窒菌における新規キノン含有酸化還元酵素、アミン脱水素酵素、放線菌のヒスタミン脱水素酵素の構造と機能（遺伝子クローニング、活性中心構造、熱力学特性、速度論的特性など）。バイオエレクトロカタリシス反応の理論。無隔膜バルク電解に基づく分光電気化学法の基礎。構造規制電極での酵素電子移動の基礎検討。

b) 生体エネルギー変換システムの解明とバイオ電池への応用

ビリルビンオキシダーゼを触媒とする酸素の水への生物電気化学還元（シアノ錯体のメデイエータ能と静電トラップ固定酵素修飾電極、直接電子移動によるバイオエレクトロカタリシス）。大腸菌エネルギー変換系酵素の電気化学触媒としての機能特性解析。酢酸菌触媒によるアルコールの生物電気化学酸化と電気化学水素製造への利用。ジアホラーゼ-ナフトキノン類縁体修飾電極による NADH の拡散律速電解酸化。キノプロテインを利用するバイオアノード系の改良。

c) バイオセンシングシステムの構築

過酸化水素マイクロセンサ開発の基礎とコレステロールセンサへの展開。マイクロ電解クー

- ロメトリの多面的展開。ヒスタミンセンサの開発。
- d) 生体膜間反応過程の生物物理学的解析法の開発
膜タンパクの機能解析のための基盤上に支持された平面脂質二分子膜。高分子基盤上に形成された脂質単分子膜・二分子膜の検出・確認法の開発。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

原著論文

- Fujieda, N., A. Satoh, N. Tsuse, K. Kano and T. Ikeda: 6-S-Cysteinylyl Flavin Mononucleotide-containing Histamine Dehydrogenase from *Nocardioides simplex*: Molecular Cloning, Sequencing, Over-expression and Characterization of Redox Centers of Enzyme. *Biochemistry* 43 (33); 10800-10808, 2004
- Hayashi, Y., T. Shimasaki, H. Takasu, K. Kano and T. Ikeda: Cholesterol Sensors Composed of Multienzyme Systems and Its Application to Flow-type Sensor. *Chem. Sens. (Supplement B)*; 66-67, 2004
- Kojima, S., S. Tsujimura, K. Kano, T. Ikeda, M. Sato, H. Sanada, H. Omura and S. Shimizu: Fundamental Study for an Oxygen-insensitive Amperometric Glucose Sensor Using a Novel Glucose Dehydrogenase. *Chem Sens (Supplement B)*; 768-769, 2004
- Kuriyama, A., M. Arasaki, N. Fujieda, S. Tsujimura, K. Kano and T. Ikeda: Separator-less One-compartment Bulk Electrolysis with a Small Auxiliary Electrode and Its Application to Spectroelectrochemistry. *Electrochemistry* 72 (7); 484-486, 2004
- Kondo, K., E. Kondo, H. Maki, K. Yasumoto, K. Takagi, K. Kano and T. Ikeda: Purification and Characterization of Aromatic Amine Dehydrogenase from *Alcaligenes xylooxidans*. *Biosci Biotech Biochem* 68 (9); 1921-1928, 2004
- Ogawa, J., W. T. Sulistyanyingdyah, Q.-A. Li, H. Tanaka, S.-X. Xie, K. Kano, T. Ikeda, S. Shimizu: Two Extracellular Proteins with Alkaline Peroxidase Activity, A Novel Cytochrome c and a Catalase-peroxidase, from *Bacillus* sp. No. 13. *Biochim Biophys Acta* 1699 (1/2); 65-75, 2004
- Sakaguchi, S., K. Kano and T. Ikeda: Effect of pH on the Hydrogenase Activity of *Desulfovibrio vulgaris*. *Electroanalysis* 16 (13/14); 1166-1171, 2004
- Tsujimura, S. K. Kano and T. Ikeda: Kinetic Study of Direct Electron Transfer between Enzyme and Carbon Electrodes. *Chem Sens (Supplement B)*; 770-771, 2004
- Tsujimura, S., T. Nakagawa, K. Kano and Ikeda T.: Kinetic Study of Direct Bioelectrocatalysis of Dioxygen Reduction with Bilirubin Oxidase at Carbon Electrodes. *Electrochemistry* 72 (6); 437-439, 2004

総説

- 辻村清也、加納健司、池田篤治：バイオ電池　しくみと応用。バイオサイエンスとインダストリー 62(3) ; 175-178、2004
- 辻村清也、加納健司、池田篤治：バイオ電池の実用化が開く新しい可能性。Material Stage 3(12) ; 60-65、2004

辻村清也、加納健司、池田篤治：バイオ電池のしくみ．ケミカルエンジニアリング、49(9)；717-722、2004

Ikeda, T.: A Novel Electrochemical Approach to the Characterization of Oxidoreductase Reactions. The Chemical Record, 4, 192-203, 2004

b) 学会発表

日本農芸化学会2004年度大会：6件

第65回分析化学討論会：1件

日本分析化学会第54年会：4件

日本農芸化学会関西支部大会：2件

第77回日本生化学会大会：3件

第50回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会：9件

日本農芸化学会関西支部第433回講演会：1件

電気化学会第73回大会：3件

日本農芸化学会2005年度大会：6件

日本膜学会第27回年会：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

池田篤治：日本ポーラログラフ学会（監事）、日本農芸化学会（評議員）、日本分析化学会（近畿支部監事）

加納健司：日本分析化学会（代議員、JIS委員会委員、近畿支部会計幹事）、日本農芸化学会（関西支部庶務幹事）、電気化学会（評議員、各賞選考委員会委員、関西支部常任幹事）、日本ポーラログラフ学会（会計理事・討論会理事）、Journal of Biochemistry（編集参与）

科研費等受領状況

基盤研究(B)(2)（池田代表、加納分担）、基盤研究(B)(2)（加納）、若手研究(B)（辻村）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

池田篤治：The 8th Word Congress on Biosensors, Granada, Spain, March（招待講演）、International Society of Electrochemistry - 55th Annual Meeting, Thessaloniki, Greece, September（研究発表）

加納健司：The 8th Word Congress on Biosensors, Granada, Spain, March（研究発表）、Post Symposium of International Conference for Analytical Surface Chemistry, Tsukuba, July（招待講演）、International Society of Electrochemistry - 55th Annual Meeting, Thessaloniki, Greece, September（研究発表）
Analytical Biochemistry（編集参与）

辻村清也：The 10th International Meeting on Chemical Sensors, Tsukuba, July（研究発表）、206th Meeting of The Electrochemical Society, Hawaii, U.S.A. December（研究発表）

外国人研究者の受入れ

共同研究者：1名（台湾、中国）

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

開講授業科目

学部：生物化学Ⅰ（池田）、生物化学Ⅱ（池田）、応用生命科学入門Ⅰ（池田）、農学の新戦略（分担：池田）、分析化学（加納）、分析化学実験および実験法（加納、辻村）、物理化学実験および実験法（角谷、加納、辻村）

大学院：生体機能物理化学（池田）、生体機能物理化学演習（池田、角谷、加納、辻村）、生体機能物理化学専攻実験（池田、角谷、加納、辻村）

B-2. 学外活動

学外非常勤講師

加納健司：京都工芸繊維大学工芸学部（生物電気化学）、滋賀医科大学（化学）

公開講座等

池田篤治：第31回 ニューセラミックスセミナー、広島市産業振興センター先端科学技術研究所セミナー、高分子エレクトロニクス研究会、

加納健司：情報機構セミナー、電気化学会関西支部第34回電気化学講習会

C. その他

受賞歴

加納健司：平成16年度 電気化学会学術賞受賞

2.3.10 研究分野：生物機能制御化学

構成員：教授 西岡 孝明

助教授 三芳 秀人

助手 石原 亨

CREST 派遣研究員 1名 大学院博士後期課程 2名

大学院修士課程 7名 専攻4回生 3名

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) 動物および植物の嗅覚受容体の探索

匂いを受容する嗅覚受容体はある特定の匂いに対して特異的に受容するよりはむしろ、いくつもの異なる匂いも受容していることが哺乳類の嗅覚研究で明らかにされつつある。したがって、匂いと嗅覚受容体との関係はきわめてあいまいであって研究が難しい。それに対して、カイコ蛾オスは低密度で生息するメスを探し出し近縁種との交雑を防ぐために、超高感

度かつ高い選択性でメスが放出する性フェロモン (bombykol) を認識している。カイコ蛾ゲノムから嗅覚受容体候補遺伝子を探し、オスの触角でだけ発現しているものを2つ単離し、in situ hybridizationによってフェロモン結合蛋白質を発現している細胞に囲まれた神経細胞でだけ発現していることを確認した。それぞれ bombykol および bombykal 受容体であると推定された。

b) 代謝物質の網羅的化学分析法の開発

細胞内に存在する代謝物質を網羅的かつハイスループットに測定するメタボローム解析をおこなう化学分析法を開発している。定量的な測定が困難であったイオン性代謝物質を対象として、キャピラリー電気泳動法と質量分析を組み合わせた CE/MS の開発をおこなった。これまでに主要代謝物質をほぼ網羅する626代謝物質の定量を実現した。この方法を用いて枯草菌、大腸菌、イネのメタボローム解析をおこなった。その結果、環境変動や分化、isozyme の変異によって代謝物質のプロファイルが特異的かつ高感度で変動することがわかった。DNA microarray や proteomics と組み合わせることによって、functional genomics をはじめ systems biology や代謝工学に有用なツールとなることが期待される。

c) ミトコンドリア複合体-Iの機能解明を志向した生物有機化学的研究

プロトン輸送性NADH-ユビキノン酸化還元酵素(複合体-I)はミトコンドリア呼吸鎖の初発酵素であり、NADHから放出される2電子によってユビキノンを還元し、これと共役して4個のプロトンをポンプする。哺乳類ミトコンドリアの複合体-Iは46個の異なるサブユニットから構成される巨大な酵素複合体であるために、呼吸鎖酵素中で最も研究の進展が遅れている酵素である。我々は、生理活性プローブ分子の有機合成を基盤とする視点から複合体-I研究を進展させることを目指している。具体的には、複合体-Iの最強の阻害剤である天然物アセトゲニンにさまざまな機能性を組み込んだプローブ分子をデザイン・有機合成し、これを駆使して詳細な作用機構研究を展開している。

d) 回虫ミトコンドリア呼吸鎖系の低酸素適応機能の解明を志向した生物有機化学的研究

回虫は酸素濃度が激変するライフサイクルに適応するために、哺乳類には見られない独特のミトコンドリア呼吸系を備えており、それらのいくつかは化学療法剤の優れた作用ターゲットとなることが期待できる。特に回虫は、酸化還元電位が大きく異なるユビキノンとロドキノンを呼吸基質として使い分けることができ、両キノンの生合成経路の関係については興味を持たれるところである。我々は、ロドキノンの生合成経路や呼吸鎖酵素との反応機構を有機化学的アプローチによって解明しようとしている。

e) 植物二次代謝の機能と制御に関する生物有機化学的研究

コムギ、トウモロコシ、ライムギなどのイネ科植物は耐病虫害因子ベンゾキサジノン類を発芽直後の実生に蓄積する。一方、同じイネ科植物であるエンバクはファイトアレキシンとしてアベナンスラミド類を蓄積する。これらのイネ科植物の生体防御に関わる物質の生合成機構および機能発現機構について生物有機化学的手法と生化学的な手法を用いて解析している。

アントラニル酸代謝は必須アミノ酸であるトリプトファンの供給に関わるだけでなく、種々の二次代謝への基質の供給系でもある。シロイヌナズナにおいて、アントラニル酸代謝系に変異をもつミュータントや形質転換体での代謝変動を調べ、アントラニル酸代謝系の制御機構を明らかにしようとしている。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

原著論文

- Abe, M., A. Kenmochi, N. Ichimaru, T. Hamada, T. Nishioka and H. Miyoshi: Essential structural features of acetogenins: role of hydroxy groups adjacent to the bis-THF rings. *Bioorg Med Chem Lett*, 14; 779-782, 2004
- Elias, M. D., S. Nakamura, C. T. Migita, H. Miyoshi, H. Toyama, K. Matsushita, O. Adachi and M. Yamada: Occurrence of a bound ubiquinone and its function in *Escherichia coli* membrane-bound quinoprotein glucose dehydrogenase. *J Biol Chem*, 279; 3078-3083, 2004
- Hamada, T., N. Ichimaru, M. Abe, D. Fujita, A. Kenmochi, T. Nishioka, K. Zwicker, U. Brandt and H. Miyoshi: Synthesis and inhibitory action of novel acetogenin mimics with bovine heart mitochondrial complex I. *Biochemistry* 43; 3651-3658, 2004
- Ichimaru, N., M. Murai, M. Abe, T. Hamada, Y. Yamada, S. Makino, T. Nishioka, H. Makabe, A. Makino, T. Kobayashi and H. Miyoshi: Synthesis and inhibition mechanism of Δ lac-acetogenins: a novel type of inhibitor of bovine heart mitochondrial complex I. *Biochemistry* 44, 816-825, 2005
- Itoh, A., Y. Ohashi, T. Soga, H. Mori, T. Nishioka and M. Tomita: Application of capillary electrophoresis-mass spectrometry to synthetic *in vitro* glycolysis studies. *Electrophoresis* 25, 1996-2002 2004
- Jang, S.-M., A. Ishihara and K. Back: Production of coumaroylserotonin and feruloylserotonin in transgenic rice expressing pepper hydroxycinnamoyl-CoA: serotonin *N*-(hydroxycinnamoyl)transferase. *Plant Physiol* 135, 346-356, 2004
- Jia, L., B.-F. Liu, S. Terabe and T. Nishioka Two-dimensional separation method for analysis of *Bacillus subtilis* metabolites via hyphenation of micro-liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Anal Chem* 76, 1419-1428 2004
- Kao, M.-C., S. D. Bernardo, E. Nakamaru-Ogiso, H. Miyoshi, A. Matsuno-Yagi and T. Yagi: Characterization of the membrane domain subunit NuoJ (ND6) of the NADH-Quinone oxidoreductase from *Escherichia coli* by chromosomal manipulation. *Biochemistry* 44, 3562-3571, 2005
- Konno, H., N. Hiura, H. Makabe, M. Abe and H. Miyoshi: Synthesis and mitochondrial complex I inhibition of dihydroxy-cohibin A, non-THF annonaceous acetogenin analogue. *Bioorg Med Chem Lett*, 14; 629-632, 2004
- Makabe, H., Y. Hattori, Y. Kimura, H. Konno, M. Abe, H. Miyoshi, A. Tanaka and T. Oritani: Total synthesis of cis-solamin and its inhibitory action with bovine heart mitochondrial complex I. *Tetrahedron*, 60; 10651-10657, 2004
- Makabe, H., A. Miyawaki, R. Takahashi, Y. Hattori, H. Konno, M. Abe and H. Miyoshi: Synthesis of two possible diastereomers of reticulatin-1. *Tetrahedron Lett*, 45; 973-977, 2004
- Oikawa, A., A. Ishihara, C. Tanaka, N. Mori, M. Tsuda and H. Iwamura: Accumulation of the activated benzoxazinone glucoside (HDMBOA-Glc) is induced by biotic stresses prior to the release of a benzoxazolinon (MBOA) in maize leaves. *Phytochemistry* 65, 2995-3001, 2004

- Okazaki, Y., A. Ishihara, T. Nishioka and H. Iwamura: Identification of a dehydrodimer of avenanthramide B in elicited oat leaves. *Tetrahedron* 60, 4765-477, 2004
- Okazaki, Y., T. Isobe, Y. Iwata, T. Matsukawa, F. Matsuda, H. Miyagawa, A. Ishihara, T. Nishioka and H. Iwamura: Metabolism of avenanthramide phytoalexins in oats. *Plant J* 39, 560-572, 2004
- Ozawa, R., K. Shijiri, M. W. Sabelis, G. Arimura, T. Nishioka and J. Takabayashi: Corn plants treated with jasmonic acid attract more specialist parasitoids, thereby increasing parasitization of the common armyworm. *J Chem Ecol* 30, 1797-1808 2004
- Ritter, M., H. Palsdottir, M. Abe, W. Mäntele, C. Hunte, H. Miyoshi and P. Hellwig: Direct evidence for the interaction of stigmatellin with a protonated acidic group in the bc₁ complex from *S. cerevisiae* as monitored by FTIR difference spectroscopy and ¹³C specific labeling. *Biochemistry* 43, 8439-8446, 2004
- Sakurai, T., T. Nakagawa, H. Mitsuno, H. Mori, Y. Endo, S. Tanoue, T. Yasukochi, K. Touhara and T. Nishioka: Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*. *Proc Nat Acad Sci USA* 101, 16653-16658 2004
- Sato, S., T. Soga, T. Nishioka and M. Tomita: Simultaneous determination of the main metabolites in rice leaves using capillary electrophoresis mass spectrometry and capillary electrophoresis diode array detection. *Plant J* 40, 151-163 2004
- Soga, T., Y. Kakazu, M. Robert, M. Tomita and T. Nishioka: Qualitative and quantitative analysis of amino acids by capillary electrophoresis electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Electrophoresis* 25, 1964-1972 2004
- Yamashita, T., T. Ino, H. Miyoshi, K. Sakamoto, A. Osanai, E. Nakamaru-Ogiso and K. Kita: Rhodoquinone reaction site of mitochondrial complex I in parasitic helminth, *Ascaris suum*. *Biochim Biophys Acta (Bioenergetics)*, 1608; 97-103, 2004
- Yang, Q., H. X. Trinh, S. Imai, A. Ishihara, L. Zhang, H. Nakayashiki, Y. Tosa and S. Mayama: Analysis of the involvement of hydroxyanthranilate hydroxycinnamoyltransferase and caffeoyl-CoA 3-O-methyltransferase in phytoalexin biosynthesis in oat. *Mol Plant-Microbe Interact* 44, 81-89 2004

特許

発明者：矢部尚人、若狭 暁、石原 亨、土屋瑞穂、特願2004-310232、Igs 合成に関与する遺伝子、および、IGS を高レベルに蓄積する変異植物。2004年10月25日出願

総説

西岡孝明：ゲノムから生命を描き出す、(「バイオサイエンスの新戦略」京都大学農学部編、丸善)、161-178、2004

西岡孝明：メタボローム解析 分析法の開発から応用まで、バイオサイエンスとインダストリー 62 ; 229-233、2004

b) 学会発表

日本農芸化学会2005年度大会：9件

日本生化学会第77回大会：1件

第15回東海北陸質量分析合同談話会：1件(招待講演)

第27回日本分子生物学会：2件（ワークショップオーガナイザ：1件）
日本農薬学会第30回記念大会：1件
独立行政法人科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業（CREST）研究領域「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム：4件
日本バイオインダストリー協会、技術・情報部会主催“メタボローム解析のバイオサイエンスにおける位置づけと応用”：1件
ゲノム創薬フォーラム第12回談話会 — ファルマコインフォマティクス — ：1件（招待講演）
理研シンポジウム「第5回分析・解析技術と化学の最先端」：1件
昆虫化学物質受容研究会：1件
第6回システムバイオロジー研究会：1件
日本農芸化学会2005年度大会シンポジウム：1件

A-3. 国内における学会活動等

所属学会等（役割）

西岡孝明：日本バイオインフォマティクス学会（評議員）

三芳秀人：日本農薬学会（評議員、学会誌常任編集委員）

科研費受領状況

西岡孝明：特定領域研究「ゲノム生物学」(2) 代謝中間産物の細胞内動態の網羅的解析法の開発（計画研究班、代表）。基盤研究(A)(2) 植物間ケミカルコミュニケーションの分子生態学的基盤（分担）。科学技術振興事業団、CREST、植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構（分担）。農林水産省、イネゲノムシミュレータの開発プロジェクト委託研究、植物細胞シミュレーションのためのハイスループットな細胞内代謝物質計測システムの開発（代表）。NEDO「細胞モデリング技術の開発」（分担）。

三芳秀人：基盤研究(B)(2) 線虫の寿命に関わる呼吸鎖酵素の反応機構解明を志向した機能性分子プローブの合成開発（代表）。萌芽研究 呼吸鎖酵素のピンポイント電子移動観測を実現する導電性阻害剤修飾電極の開発（代表）。基盤研究(S) 低酸素適応における寄生虫ミトコンドリア特異的呼吸鎖酵素群の生理機能（分担）

石原 亨：科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業 トリプトファン生合成系における一次・二次代謝の制御と利用（分担）、科学研究費若手研究(B) イネ科植物におけるヒドロキシ桂皮酸アミドの関与する生体防御機構の解明（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

西岡孝明：2nd International E.Coli Alliance Conference on Systems Biology Project Gemini, Banff, Alberta, Canada（研究発表）。ISOT/JASTS 2004, Kyoto, Japan（研究発表：2件）。5th International Conference on Systems Biology, Heidelberg, Germany（研究発表：2件）。5th Asia-Pacific International Symposium on Microscale Separations and Analysis, South Korea（招待講演）。Genome Informatics Workshop 2004, Yokohama, Japan（研究発表）。The Pacific Symposium on Biocomputing (PSB) PSB2005, Hawaii, U.S.A.（研究発表）。

三芳秀人：13th European Bioenergetics Conference（研究発表）。

国際共同研究、海外学術調査等

三芳秀人：¹³C-labeled-stigmatellin と FT-IR 分光法を用いた cytochrome bc₁ complex の動態研究（ドイツ）、光親和性標識法を用いたミトコンドリア複合体-I の膜ドメインサブユニットの解析（アメリカ）、¹³C-labeled-ubiquinone と EPR 分光法を用いた cytochrome bo 酵素のユビキノン結合部位の解析（ドイツ）

石原 亨：Hydroxycinnamoyl-CoA: tyramine hydroxycinnamoyltransferase 遺伝子導入イネの特徵解析（韓国）

B. 教育活動（2004. 4～2005. 3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：生物有機化学Ⅱ（西岡、三芳）、有機構造解析学（西岡）、バイオテクノロジー——農学の戦略——（西岡）、応用生命科学入門Ⅳ（三芳）、生物有機化学実験および実験法（三芳、石原）

大学院：生理活性機能化学（西岡）、生物機能制御化学専攻演習（西岡、三芳）、生物機能制御化学専攻実験（西岡、三芳）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

西岡孝明：慶應義塾大学・政策・メディア研究科教授（非常勤）

公開講座等

西岡孝明：「細胞をまるごと化学分析：世界のトップをいく鶴岡の技術」市民のための生命科学入門講座（鶴岡市主催）、鶴岡タウンキャンパスホール、鶴岡市（2004年11月9日）

C. その他

西岡孝明：京大大学生態学研究センター協力研究員

2.3.11 研究分野：応用構造生物学

構成員：教授 廣瀬 正明
 助教授 相原 茂夫
 助手 高橋 延行
 助手 水谷 公彦
大学院博士後期課程 1名
大学院修士課程 3名
専攻4回生 2名

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) オボアルブミンへのセルピン機能の付与に関する研究

卵白タンパク質の主成分であるオボアルブミンは、脊椎動物にあって生理的に重要な役割を果たす serine proteinase inhibitor（セルピン）と祖先を共通にするが、阻害機能をもたない。そこでロジカルな設計に基づく変異を加え、オボアルブミンに阻害活性を付与するための研究を行っている。その結果、オボアルブミンの arginine 残基（339番目）を threonine に置換した変異体 R339T では、この部位がヒンジとして働き serine proteinase (elastase) による P1-P1' サイトの切断後、阻害活性の発現に不可欠のステップである loop 挿入による大きな立体構造変化を起こすことを結晶構造解析により初めて証明した。また、さらなる部位特異的変異設計により、loop 挿入速度を顕著に増強した変異体の取得に成功し、オボアルブミンへの活性 serpin 相当の阻害活性の付与の達成に近づいた。

b) 卵白トランスフェリンの X 線結晶構造解析による鉄イオンの放出機構

トランスフェリンは血中で鉄イオンを強固に結合したのち、標的細胞に運搬するトランスポート・タンパク質である。標的細胞表面では特異的レセプターと結合し、細胞内に取り込まれた後、アニオン存在下に鉄イオンを放出する。そこでアニオンによる鉄イオン放出の構造機構を知るために、X 線結晶構造解析によりトランスフェリン上のアニオンの結合サイトを調べた。その結果、アニオンを結合するアミノ酸側鎖は鉄イオン結合リガンドと一部オーバーラップすることを見出した。このような結晶構造から見たアニオンと鉄イオンの競合結合による放出機構が実際の動的な反応に一致するかを検討するため、鉄イオン解離の速度論的解析を行った。その結果、鉄イオン解離の経時変化は 2 相性を示し、その速度パラメータの詳細は、上記の競合結合による構造機構と良く一致した。

c) 微小重力環境を利用したタンパク質結晶成長

宇宙で調製したタンパク質の単結晶の構造解析結果に基づいてタンパク質結晶成長に対する微小重力の有効性と結晶成長メカニズムに関する研究を行った。宇宙の微小重力場では X 線結晶学的に良質のタンパク質単結晶が得られるが、結晶成長のメカニズムは地上と同様に進行することを指摘した。しかし、地上に比較して溶液の揺らぎが小さく、タンパク質分子の輸送が拡散律速になることが微小重力場で良質の単結晶を成長させる要因となっていると説明した。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

相原茂夫：タンパク質の結晶化（編著）、京都大学学術出版会、2005

原著論文

Aibara, S., N. Ogawa, and M. Hirose: Microstructures of bread dough and the effects of shortening on frozen dough. *Biosci Biotech Biochem* 69; 397-402, 2005

Okamoto I., K. Mizutani, M. Hirose: Iron-binding process in the amino- and carboxyl-terminal lobes of ovotransferrin: quantitative studies utilizing single Fe³⁺-binding mutants. *Biochemistry* 43; 11118-11125, 2004

b) 学会発表

日本農芸化学会2004年度大会（2件）

日本農芸化学会2004年度関西支部大会（1件）

日本結晶学会年会（1件）

第77回日本生化学会大会（2件）

第10回国際結晶成長学会（1件）

A-3. 国内における学会活動など

学術会議研連（役割）

相原茂夫：日本学術振興会第169委員会（庶務幹事）

科研費等受領状況

高橋延行：基盤研究(C)(2) セルピンにおけるループ挿入中間状態の解析：アミロイド形成抑制へのアプローチ（代表）

水谷公彦：若手研究(B) トランスフェリンによるアルミニウムイオン結合の構造機構（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際共同研究、海外学術調査等

相原茂夫：タンパク質の結晶成長に関する宇宙実験（ロシア）

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

学部：入門応用生命科学Ⅲ（廣瀬）、生体触媒化学（廣瀬）、生物物理化学実験（相原・高橋・水谷）

大学院：応用構造生物学専攻演習（廣瀬、相原）、応用構造生物学専攻実験（廣瀬、相原）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

廣瀬正明：京都府立大学大学院農学研究科（タンパク質工学）

相原茂夫：武庫川女子大学短期大学食物学科（生化学）

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

留学生：修士課程学生 1名（中国）

生体機能化学研究部門（化学研究所）

2.3.12 研究分野：分子生体触媒化学

構成員：教授 坂田 完三

助教授 平竹 潤

助手 水谷 正治

助手 清水 文一

大学院博士後期課程 7名

特別研究員 2名

大学院修士課程 10名

研究生 2名

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) 植物界におけるジグリコシダーゼの基質認識機構の解明と進化系統樹解析

烏龍茶や紅茶の花様の香気の生成に重要な働きをしている β -プリメベロシダーゼは二糖配糖体特異的加水分解酵素（ジグリコシダーゼ）であるにもかかわらず、進化系統樹ではfamily 1グリコシダーゼの中の β -グルコシダーゼと高い相同性を示す。これまでに、植物界に存在するジグリコシダーゼとしてムシカリ (*Viburnum furcatum*) の葉に多量に含まれる二糖配糖体 (β -acuminoside) を加水分解するジグリコシダーゼ (furcatin hydrolase) に続き、カラスのエンドウの未熟果に含まれるジグリコシダーゼ (vicianin hydrolase) のクローニングにも成功している。そこでジグリコシダーゼの二糖認識機構をX線結晶構造解析により解明することを目的として、 β -プリメベロシダーゼの昆虫細胞発現系による大量発現/精製と結晶化を行った。組換え酵素はプリメベロシルアミジンをリガンドとしたアフィニティカラムにより精製した。組換え酵素のN型糖鎖修飾が結晶化に悪影響を及ぼしたため、糖鎖をマンノシダーゼ処理等による除去することにより、構造解析に適した単結晶を得ることに成功した。

b) グリコシルアミジン誘導体の合成展開とグリコシダーゼ研究への応用

グリコシダーゼの基質特異性に応じて選択的に酵素を阻害するグリコシダーゼ阻害剤、グリコシルアミジン誘導体の合成展開と応用を進めた。グリコン部、およびアグリコン部分にさまざまな構造をもつアミジン誘導体を合成し、その阻害活性を調べた結果、グリコン部のみならずアグリコン部の基質特異性を反映した選択的な阻害活性が見られるとともに、family 20 N-アセチルグルコサミニダーゼの触媒機構に対応して、オキサゾリン中間体のアナログとなるグリコシルアミジン誘導体の設計と合成を行ったところ、本酵素に選択的な非常に強い阻害剤を得ることに成功した。このように、グリコシルアミジン誘導体は、酵素の基質特異

性および反応機構に応じた「テーラーメイド」な阻害剤であることが確認された。この性質は、グリコシダーゼのアフィニティー吸着体としてきわめて優れた性質を示し、未知のグリコシダーゼでも、基質特異性を唯一の指標としてアフィニティー精製できる研究ツールとして応用できることがわかった。この性質を利用して、二糖配糖体特異的グリコシダーゼファミリーのアフィニティー精製に成功を収めつつある。また、グリコシルアミジン誘導体の植物に対する生理活性を調べ、特定のグリコン部をもつグリコシルアミジンが、シロイヌナズナの芽生えに対して形態変化を引き起こすことを見いだした。

c) γ -グルタミルトランスぺプチダーゼの反応機構依存的阻害剤の設計と合成

γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT) はグルタチオン代謝の鍵となる重要な酵素である。GGTの活性中心 Thr 残基と反応し、酵素を不可逆的に失活させるアフィニティーラベル化剤として、一連の *p*-置換モノフェニルリン酸エステルを合成し、*E. coli* およびヒトの GGT を不可逆的に阻害する活性をもつことを明らかにした。これら一連の阻害剤を用いて、脱離基 (*p*-置換フェノール) の電子的性質が酵素の失活速度に対しておよぼす影響を詳細に調べたところ (Broensted plot)、*E. coli* およびヒトの GGT で、阻害剤と酵素との反応の遷移状態が大きく異なっていることを見だし、阻害剤に対する挙動から、両酵素の反応機構および構造の違いをさぐることに成功した。ヒト GGT に対して強い阻害活性をもつ新たなリン酸エステル系阻害剤の開発を手がけている。

d) *Pseudomonas* 属由来リパーゼの進化分子工学

有機合成の触媒としてすぐれた性質を示す *Pseudomonas* 属由来のリパーゼについて、遺伝子のランダム変異とスクリーニングをもとにした進化分子工学的手法を適用し、アミドを加水分解する活性をもつ変異リパーゼを得た。Error-prone PCRによりランダム変異を導入したリパーゼ遺伝子を *Ps. aeruginosa* により発現させ、発色性基質を用いたプレート上でのコロニーアッセイと、蛍光基質を用いた溶液アッセイを組み合わせ、アミドを加水分解する活性の高いリパーゼを取得し、そのアミノ酸配列を調べた。変異は、活性中心から離れた、タンパク質の表面近くの Ca^{2+} 結合サイト近傍に集中していることが判明した。一方、蛍光性ホスホン酸エステルを用いたアフィニティーラベルにより、微量の活性リパーゼのモル数を高感度に直接定量する方法を用いて、得られた変異リパーゼのアミドおよびエステル加水分解の分子活性を直接求めたところ、変異の箇所に対応して両活性が変化していることがわかった。

e) 植物ホルモン活性化・不活性化機構の分子基盤

植物ホルモンは発芽から枯死までの植物生活環を制御する重要な生理活性物質であり、その生合成/代謝酵素を解明することは、その生理作用を理解する上で非常に重要である。アブシジン酸 (ABA) は種子の登熟や休眠、気孔開閉、環境ストレス応答などに関わる植物ホルモンである。ABAは酸素添加酵素である CYP707A ファミリーに分類されるシトクロム P450 によって 8'位が水酸化され、さらにファゼイン酸へと異性化されて不活性化される。CYP707A 活性を阻害する化合物をアゾール系 P450 阻害剤から探索した結果、矮化剤として知られる Uniconazole-P が非常に強い阻害活性を示すことを見いだした。Uniconazole-P を処理した植物体では ABA が蓄積し乾燥ストレスに対して耐性を示したことから、CYP707A の阻害剤は新規の植物成長調節剤として有望であることを明らかにした。次に、ブラシノステロイド (BR) は細胞伸張、光形態形成などに関わる植物ステロイドホルモンであるが、その生合成・代謝系には多数の P450 が関与している。これら P450 の酵素化学的解析の結果、BR の生

合成・代謝ともにこれまで提唱されている経路とは異なる新規経路を見出すことができた。

f) クマリン生合成遺伝子の探索

クマリン類縁体は植物界に広く存在しているが、その生理的役割や生合成に関する詳細は明らかではない。当研究室でモデル植物であるシロイヌナズナ植物体に含まれるクマリン類縁体の探索を行ったところ、根組織に scopolin (α β -glucoside of scopoletin glucopyranoside) が蓄積していることを見いだした。またフェニルプロパノイド経路上の遺伝子欠損株の根組織における scopolin 内生量を測定したところ、いくつかの遺伝子の欠損株で著しい蓄積量の減少がみられた。

g) 台湾高級烏龍茶（東方美人）の香気生成の分子基盤の解明

東方美人茶はチャノミドリヒメヨコバイ (*Jacobiasca formosana*、通称ウンカ) に吸汁されたチャ葉から作られる香り豊かな烏龍茶である。この高級烏龍茶の製法の秘密の解明を目指し、天然物化学と酵素・遺伝子の両面から研究を進めた。ウンカ被害有りと無しチャ葉からそれぞれ烏龍茶を製造し、製造工程の各段階においてサンプリングを行い、官能検査と香気分析を行った。ウンカ加害葉から作られた茶は遙かに香気の豊かなものであることを確認した。また、この茶の香気特性も明らかにし、hotrienol および関連化合物の 2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol はウンカ加害により生成していることが明らかとなった。さらに、ウンカ加害および製造工程で誘導される遺伝子を Megasort 法によるディファレンシャルスクリーニングにより網羅的に取得した。非常に多くの遺伝子の発現が変動していることが明らかになり、その中にはストレス応答遺伝子が多数同定された。

A-2. 研究業績

a) 成果刊行

著書

坂田完三：烏龍茶の香りに魅せられて — 香気生成酵素の生物学的役割を解明する、化学、**59**(8) ; 18-23、2004

郭雯飛、呂毅、駱少君、坂田完三：黒茶 — 微生物発酵を取り入れた茶、日食工誌、**51**(7) ; 323-331、2004

水谷正治、安榮玉、坂田完三：植物の二糖配糖体特異的グリコシダーゼ — 基質との共進化は生体防御の策だった？、化学と生物、**42**(12) ; 774-776、2004

水谷正治、坂田完三：C. 配糖体や少糖に作用する酵素 β -プリメベロシダーゼ (EC 3.2.2.149)、入江昌親・鶴大典・新田康則・芳本忠編：「廣川タンパク質化学 第4巻 酵素 4.3 ヒドロラーゼ [II]」、廣川書店、pp. 232-240、2004

郭 雯飛、呂毅、駱少君、坂田完三：「微生物発酵茶 中国黒茶のすべて」、幸書房、2004

原著論文

Ahn Y-O, M. Mizutani, H. Saino and K. Sakata: Furcatin Hydrolase from *Viburnum furcatum* Blume Is a Novel Disaccharide-specific Acuminosidase in Glycosyl Hydrolase Family 1. *J Biol Chem* **279**(22); 23405-23414, 2004

Amarume, S, T. Murata, T. Tsuruhami, S. Mori, J. Hiratake, K. Sakata and T. Usui: Characterization and utilization of a β -primeverosidase-like endo- β -glycosidase from *Penicillium multicolor*. *Glycobiology* **14**; 1082-1082, 2004

- Cho J-Y., B. Shimizu, T. Kinoshita, M. Mizutani, K-R. Chen, C-L. Chen and K. Sakata: Chemical Profiling in the Manufacturing Process of “Oriental Beauty”, 2004 International Conference on O-Cha (tea) Culture and Science, (Shizuoka, Nov. 4-6) p. 260-262, 2005
- Fujii, R., Y. Nakagawa, J. Hiratake, A. Sogabe and K. Sakata: Directed evolution of *Pseudomonas aeruginosa* lipase for improved amide-hydrolyzing activity. Protein Engineering, Design and Selection 18; 93-101, 2005
- Hayashi, S., K. Yagi, T. Ishikawa, M. Kawasaki, T. Asai, J. Picone, C. Turnbull, J. Hiratake, K. Sakata, M. Takada, K. Ogawa and N. Watanabe: Emission of 2-Phenylethanol from its β -D-Glucopyranoside and the Biogenesis of these Compounds from [$^2\text{H}_8$] L-Phenylalanine in Rose Flowers, Tetrahedron 60; 7005-7013, 2004
- Hibi T., H. Nii, T. Nakatsu, A. Kimura, H. Kato, J. Hiratake and J. Oda: Crystal structure of gamma-glutamylcysteine synthetase: Insights into the mechanism of catalysis by a key enzyme for glutathione homeostasis. Proc Natl Acad Sci USA 101; 15052-15057, 2004
- Katayama, T, A. Sakuma, T. Kimura, Y. Makimura, J. Hiratake, K. Sakata, T. Yamanoi, H. Kumagai, and K. Yamamoto: Molecular Cloning and Characterization of *Bifidobacterium bifidum* 1,2- α -L-Fucosidase (AfcA), a Novel Inverting Glycosidase (Glycoside Hydrolase Family 95). J Bacteriol 186(15); 4885-4893, 2004
- Kato, M., T. Uno, J. Hiratake and K. Sakata: β -Glucopyranoimidazolines as intermediate analogue inhibitors of family 20 β -N-acetylglucosaminidases. Bioorg & Med Chem 13; 1563-1571, 2005
- Kinoshita T, J-Y. Cho, M. Mizutani, B. Shimizu, H-T. Tsai, Y-L. Chen, M-L.Lin and K. Sakata: Gene Expression Profiling in the Manufacturing Process of “Oriental Beauty”, Proceedings of 2004 International Conference on O-Cha (tea) Culture and Science, p. 161-164, 2005
- Nakanishi T, Y. Ohki, J. Oda, M. Matsuoka, K. Sakata and H. Kato: Purification, Crystallization and Preliminary X-Ray Diffraction Studies on Pyruvate Phosphate Dikinase from Maize. Acta Cryst D60, 193-194, 2004
- Ohta, D. and M. Mizutani: Redundancy or flexibility: Molecular diversity of the electron transfer components for P450 monooxygenases in higher plants. Frontiers in Bioscience 9; 1587-1597, 2004
- Ogura, M, I. Terada, F. Shirai, K. Tokoro, K-R. Chen, C-L. Chen, M-L. Lin, B. Shimizu, T. Kinoshita and K. Sakata: Tracing Aroma Characteristics Changes during Porecessing of the Famous Formosa Oolong Tea “Oriental Beauty”, Proceedings of 2004 International Conference on O-Cha (tea) Culture and Science, p. 240-242, 2005
- Saito, S, N. Hirai, C. Matsumoto, H. Ohigashi, D. Ohta, K. Sakata and M. Mizutani: Arabidopsis *CYP707As* Encode (+)-Abscisic Acid 8'-Hydroxylase, a Key Enzyme in the Oxidative Catabolism of Abscisic Acid. Plant Physiology 134; 1439-1449, 2004
- Sakata, K., M. Mizutani and Guo W. Ma S-J: Improvement of Flavour Quality of CTC Black Tea by Glycosidases in Tea Leaves. Internat. J Tea Sci 3(3&4); 167-173, 2004
- Shimizu, B, H. Miyagawa, T. Ueno, K. Sakata, K. Watanabe and K. Ogawa: Morning glory systemically accumulates scopoletin and scopolin after interaction with *Fusarium oxysporum*.

Z. Naturforschung 60c, 83-90, 2005

Sawai, Y., Y. Yamaguchi, Y. Mizukami, K. Sakata and N. Watanabe: Comparison of Radical-Scavenging Abilities and Influence of Conjugated Double Bond on Antioxidative Activities of Tea Polyphenols, 2004 International Conference on O-Cha (tea) Culture and Science, (Shizuoka, Nov. 4-6) p. 256-257, 2005

b) 学会発表

7th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology : 3件

18th International Conference on Plant Growth Substances : 4件

第27回日本分子生物学会 : 1件

2004 International Conference on O-Cha (tea) Culture and Science : 4件

第46回天然有機化合物討論会 : 1件

日本農芸化学会関西支部創立70周年記念大会 : 4件

日本応用糖質科学会平成16年度大会 : 2件

German-Japan Seminar on Molecular Regulation of Plant Secondary Metabolism : 1件

第30回糖質科学懇話会 : 1件

The 1st International Forum of Pu-erh Tea, Kunming : 1件

酵素分子デザイン研究会 : 1件

第1回専門分野別教育開発セミナー : 1件

京都大学化学研究所 第104回研究発表会 : 3件

プロテイン・クロストークサロン'05 — インフォマティクス、フォールディング、実験室進化 — : 1件

第46回日本植物生理学会年会 : 8件

日本農芸化学会2005年度大会 : 13件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

坂田完三 : 日本農芸化学会 (評議員)、植物化学調節学会 (編集委員)、植物化学調節学会 (学会賞選考委員)、日本農芸化学会関西支部 (評議員)、京都府茶業会議所茶学術研究課題選考委員会 (委員)

平竹 潤 : 日本農芸化学会関西支部 (評議員)

科研費等受領状況

坂田完三 : 基盤研究(B)(2) ジグリコシダーゼの触媒機構の解明から植物β-グルコシダーゼの分子進化をたどる (坂田代表・平竹、水谷、清水分担)、基盤研究(B)(2) ウンカ食害を利用した台湾高級烏龍茶製法の秘密解明への調査研究 (坂田代表・水谷、清水分担)、萌芽研究 6-位に修飾を受けたグルコシドを認識する加水分解酵素の反応機構と擬似糖 (坂田代表・平竹、清水分担)、特別研究員奨励費 ウンカ食害による台湾烏龍茶の香気生成向上の分子基盤 (坂田代表・趙正容分担)、農林水産省アグリビジネス創出技術開発事業受託研究 : 植物香気前駆体を中心としたオリゴ糖配糖体および誘導体の効率的酵素合成技術の開発 (分担)

平竹 潤 : 基盤研究(B)(2) β-グリコシルアミジン誘導体をつくる植物グリコシダ

- ーゼの生物有機化学的研究—植物の生長、分化、形態形成に關与する未知のグリコシダーゼの網羅的同定— (平竹代表・水谷、清水分担)、文部科学省21世紀COE京都大学化学連携研究教育拠点 ミニプロジェクト (平竹代表・水谷、清水分担)
- 水谷正治：若手研究(B) 植物テルペノイド生合成酵素のオペロン様遺伝子クラスターの解明 (水谷代表)
- 大西利幸：特別研究員奨励費 シトクロムP450酵素が制御するブラシノステロイド代謝機構の解明 (大西代表)

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等 (役割)

- 坂田完三：The 1st International Forum of Pu-erh Tea, Kunming (China), Nov. 24-26, 2004 (招待講演)
- 坂田完三：韓国国立順天大学校生物資源研究センター外国人研究教授

B. 教育活動 (2004. 4~2005. 3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

- 学部：少人数セミナー (ポケットゼミ) (平竹、坂田)
- 大学院：分子生体触媒化学特論 (平竹、坂田)、分子生体触媒化学専攻演習 (平竹、坂田)、分子生体触媒化学専攻実験 (平竹、坂田)

b) その他

- 平竹 潤：研究ツールとしてのグリコシダーゼ阻害剤の設計と応用、21COE 生体関連物質化学領域融合連携講義 (京都、2月7日)

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

- 坂田完三：福井県立大学大学院生物資源科学研究科生物資源学部 (集中講義)
- 平竹 潤：京都教育大学教育学部 (有機化学)

公開講座等

- 坂田完三：烏龍茶の香りに魅せられて、お茶料理研究会、大妻女子大学、2004.7.10
- 坂田完三：たかがお茶、されどお茶：茶の香気生成の分子基盤研究から始まったグリコシダーゼ研究の新展開、有機化学研究会 (白鷺セミナー) 第40回講演会、2004.1.20、大阪府立大学学術交流会館
- 平竹 潤：文部科学省サイエンス・パートナーシップ・プログラム (SPP)、京都府立桃山高等学校における実験講義 (2004. 7.11, 16)

B-3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

- 坂田完三：Molecular basis of aroma formation during tea manufacturing, Nanjing Agricultural University, Nanjing, China, 2004.11.10

水谷正治 : Characterization of Cytochromes P450 Involved in ABA Catabolism, Florigene Ltd, Melbourne, Australia, 2004. 9. 27

水谷正治 : Molecular Basis of Floral Aroma Formation in Oolong Tea, Florigene Ltd, Melbourne, Australia, 2004. 9. 27

留学生、外国人研修員等の受入れ

留学生 : 博士後期課程学生 1名 (中華人民共和国)

外国人特別研究員 (日本学術振興会) : 1名 (大韓民国)

2.3.13 研究分野 : 分子微生物科学 (化学研究所)

構成員 : 教授 江崎 信芳

助教授 栗原 達夫

助手 三原 久明

大学院博士後期課程 6名

大学院修士課程 15名

研究生 1名

A. 研究活動 (2004.4~2005.3)

A-1. 研究概要

a) フルオロ酢酸デハロゲナーゼの反応機構

フルオロ酢酸デハロゲナーゼはフルオロ酢酸の加水分解的脱フッ素反応を触媒する。脂肪族有機フッ素化合物の強固な炭素-フッ素結合を切断する点でユニークである。*Burkholderia* sp. FA1由来の本酵素について、触媒中心の Asp104、His271 や、活性部位近傍に存在する Arg105、His149、Arg108、Tyr147、Phe34、Tyr212、Phe272、His103 を Ala に改変すると、フルオロ酢酸とクロロ酢酸のいずれに対する活性も消失した。一方、Trp150 を Ala に改変した酵素では、クロロ酢酸に対する活性は野生型酵素の71%残存したにもかかわらず、フルオロ酢酸に対する活性は完全に消失した。Trp150はフッ化物イオンの脱離に必須の役割を果たすことが示された。

b) tRNAの塩基修飾反応機構

tRNAのアンチコドンの第一番目の修飾塩基、5-メチルアミノメチル-2-チオウリジンは、アミノアシル化およびリボソーム上での翻訳効率化にとって重要である。システインデスルフラナーゼは硫黄を含む生体分子 (鉄硫黄クラスター、チアミンなど) の生合成において重要な役割を担っている。システインデスルフラナーゼと協同的に働いて tRNA^{Lys} のアンチコドンの1番目のウリジンを硫黄によって修飾し、2-チオウリジンを生成する酵素 MnmA を単離し、反応機構解析を行った。本酵素反応が ATP の加水分解により進行すること、2つのシステイン残基が反応に必須であることなどを明らかにした。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

原著論文

- Ashida, H., A. Galkin, L. Kulakova, Y. Sawa, N. Nakajima, and N. Esaki: Conversion of cofactor specificities of alanine dehydrogenases by site-directed mutagenesis. *J Mol Catal B: Enzym* 30; 173-176, 2004
- Igarashi, M., N. Maruoka, S. Kato, H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: Characterization of Slr0077 of *Synechocystis* sp. PCC6803, a homolog of chloroplastic cysteine desulfurase of higher plants. *Trace Nutrients Research* 21; 51-58, 2004
- Ishihara, K., H. Yamaguchi, T. Omori, T. Uemura, N. Nakajima, and N. Esaki: A Novel Zinc-containing alpha-Keto Ester Reductase from Actinomycete: An Approach Based on Protein Chemistry and Bioinformatics. *Biosci Biotechnol Biochem* 68; 2120-2127, 2004
- Kurata, A., T. Kurihara, H. Kamachi, and N. Esaki: Asymmetric reduction of 2-chloroacrylic acid to (*S*)-2-chloropropionic acid by a novel reductase from *Burkholderia* sp. WS. *Tetrahedron: Asymmetry* 15; 2837-2839, 2004
- Kurokawa, S., H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: Expression analysis of mammalian selenocysteine lyase. *Biomed Res Trace Elem* 15; 278-280, 2004
- Mihara, H., H. Muramatsu, R. Kakutani, M. Yasuda, M. Ueda, T. Kurihara, and N. Esaki: *N*-Methyl-L-amino acid dehydrogenase from *Pseudomonas putida*, a novel member of unusual NAD(P)-dependent oxidoreductase superfamily., *FEBS Journal* 272; 1117-1123, 2005
- Muramatsu, H., H. Mihara, R. Kakutani, M. Yasuda, M. Ueda, T. Kurihara, and N. Esaki: Enzymatic synthesis of *N*-methyl-L-phenylalanine by a novel enzyme, *N*-methyl-L-amino acid dehydrogenase, from *Pseudomonas putida*. *Tetrahedron: Asymmetry* 15; 2841-2843, 2004
- Muramatsu, H., H. Mihara, R. Kakutani, M. Yasuda, M. Ueda, T. Kurihara, and N. Esaki: The Putative Malate/Lactate Dehydrogenase from *Pseudomonas putida* is a NADPH-dependent Δ^1 -Piperidine-2-carboxylate/ Δ^1 -Pyrroline-2-carboxylate Reductase Involved in the Catabolism of D-Lysine and D-Proline. *J Biol Chem* 280; 5329-5335, 2004
- Yamamoto, H., K. Mitsuhashi, N. Kimoto, A. Matsuyama, N. Esaki, and Y. Kobayashi: A Novel NADH-Dependent Carbonyl Reductase from *Kluyveromyces aestuarii* and Comparison of NADH-Regeneration System for the Synthesis of Ethyl (*S*)-4-Chloro-3-hydroxybutanoate. *Biosci Biotechnol Biochem* 68; 2004
- Yoshimune, K., N. Esaki, and M. Moriguchi: Site-directed mutagenesis alters DnaK-dependent folding process. *Biochem Biophys Res Commun* 326; 74-78, 2005
- Yoshimune, K., A. Galkin, L. Kulakova, T. Yoshimura, and N. Esaki: DnaK from *Vibrio proteolyticus*: Complementation of a *dnaK*-null mutant of *Escherichia coli* and the role of its ATPase domain. *J Biosci Bioeng* 99; 136-142, 2005
- Yow, G.Y., T. Uo, T. Yoshimura, and N. Esaki: D-Amino acid-*N*-acetyltransferase of *Saccharomyces cerevisiae*: a close homologue of histone acetyltransferase Hpa2p acting exclusively on free D-amino acids. *Arch Microbiol* 182; 396 - 403, 2004

総 説

栗原達夫：有機ハロゲン化合物の微生物酵素変換：精密反応解析による新しい分子論展開と応用．日本農芸化学会誌 78；938-943、2004

栗原達夫、江崎信芳：有機ハロゲン化合物の酵素的分解機構．環境保全 19；72-80、2004

老川典夫、栗原達夫、江崎信芳：好冷微生物の生産する好冷性酵素の開発と高生産系の構築．日本応用酵素協会誌 39；25-32、2004

特 許

光学活性環状アミノ酸の製造方法、江崎信芳、三原久明、原 磨理、上田 誠、三菱化学株式会社、特願2004-245379、2004年8月25日

b) 学会発表

第21回日本微量栄養素研究会：1件

第15回日本微量元素学会：1件

日本生化学会第77回大会：5件

日本農芸化学会2005年度大会：9件

第27回日本分子生物学会年会：1件

酵素工学研究会第52回講演会：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

江崎信芳：日本生化学会（評議員、学術集会企画委員）、日本微量栄養素研究会（理事）、日本農芸化学会（評議員）、日本生物工学会（評議員）、日本ビタミン学会（評議員）、日本微量元素学会（評議員）、IUPAC Biotechnology Subcommittee（委員）、

栗原達夫：日本生物工学会（和文誌編集委員）

科研費等受領状況

江崎信芳：基盤研究(B)(2)「必須微量元素セレンウムの活性化とポリペプチド鎖への共翻訳的挿入機構の解明」（代表）、基盤研究(B)(2)「新規好冷微生物の探索と有用遺伝子資源の開発」（代表）、学術創成研究費「新しい研究ネットワークによる電子相関係の研究」、タンパク3000プロジェクト「他の特殊環境生物由来タンパク質の大量調製」

栗原達夫：若手研究A「有機フッ素化合物のバイオコンバージョン」（代表）、萌芽研究「封入体形成を抑制する低温タンパク質生産システムの開発」（代表）

三原久明：若手研究B「tRNAのアンチコドンゆらぎ塩基への硫黄・セレン挿入機構」（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

江崎信芳：日本フィンランドシンポジウム（講演）

江崎信芳：4th European-Japanese Bioorganic Conference（講演）

国際的学術雑誌の編集等

江崎信芳：The International Society for Extremophiles（編集委員）

栗原達夫：Applied Microbiology and Biotechnology（編集委員）

B. 教育活動 (2004. 4~2005. 3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

大学院：分子微生物科学専攻演習（江崎、栗原）、分子微生物科学専攻実験（江崎、栗原）

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

外国人研修員等：外国人共同研究者 1名（韓国）、研究生 1名（中国）

生存圏診断統御講座（生存圏研究所）

2.3.14 研究分野：森林圏遺伝子統御

構成員：教授 矢崎 一史

助教授 林 隆久

講師 黒田 宏之 (2004.8-)

大学院博士後期課程 1名〈1〉 研修員 1名

大学院修士課程 4名〈2〉 博士研究員 6名

〈 〉 生命科学研究科より研究指導委託 外数

A. 研究活動 (2004. 4~2005. 3)

A-1. 研究概要

本分野では、樹木はじめとする高等植物由来の有用遺伝子をクローニングし、その遺伝子発現制御機構や遺伝子産物の機能を研究している。また、様々な生物の遺伝子をツールとして用い、新規な木本植物資源の分子育種、植物を用いた環境浄化技術開発に向けた基礎研究を行っている。本分野において現在行われている主な研究は次のとおりである。

a) 植物二次代謝に関する分子・細胞生物学的研究

特徴的な二次代謝産物を生合成する遺伝子群、主にイソプレノイド系化合物の生合成酵素遺伝子の探索と、発現解析、並びにそれを用いた有用樹木の分子育種を目指している。1) ムラサキ科植物に特異的なナフトキノ系赤色素シコニンの生合成に関わる生化学的、分子生物学的解明を行っている。2) 光によって発現制御を受ける代謝遺伝子、特に暗黒下で特異的に発現誘導される代謝・生産系に着目し、代謝酵素系の暗黒誘導、及び遺伝子発現の光抑制メカニズムの解明に取り組んでいる。3) 芳香族を基質としてプレニル基を転移させる酵素プレニルトランスフェラーゼの構造と機能の解析を行い、その基質特異性、細胞内局在性、および生産物多様性の分子機能の解明を試みている。4) ユビキノ代謝工学。ユビキノンの呼吸鎖電子伝達以外の生理機能に着目し、本生体キノンの生産向上を目指した代謝工学を、酵母および植物をホストとして行い、特に植物ではユビキノ高蓄積による抗酸化

ストレスなど環境ストレスに対する耐性向上の機能を解明する。

b) 植物における ABC タンパク質の分子生物学

モデル植物のシロイヌナズナはそのゲノム中に約130種類のATP-結合カセット (ABC) タンパク質を有している。これらの内いくつかに関しては、生体異物を輸送するポンプ活性が知られる。1) 植物ABCタンパク質、特にMDR-サブファミリーとABCA1サブファミリー・メンバーの輸送機能の解明と植物における生理学的役割の解明に取り組んでいる。特に、オーキシンなど植物ホルモンの輸送に関して解析を行っている。2) ベルベリン生産性のオウレン及びアキカラマツ培養細胞を用いて、アルカロイド輸送に関する生化学的、分子生物学的解明を行っている。

c) 植物細胞壁とセルロースの分子育種に関する研究

1) 植物細胞壁のゆるみに関する研究。成長する樹木細胞壁において、エンド-1,4-β-グルカナーゼ及びキシログルカンエンドトランスグリコシラーゼ (XET) の機能を解明する。2) セルロースの分子育種に関する研究。高等植物におけるセルロース生合成の分子機構を解明するとともに、成長が早くかつセルロース密度の高い樹木の創出を行う。

d) 代謝工学及び輸送工学を用いた植物機能の改変と環境修復

様々な生物種の有用な形質を持つ遺伝子を利用し、遺伝子工学的手法により植物機能の解析を行うとともにその応用開発を行っている。1) 芳香族基質プレニルトランスフェラーゼのメンバーを、酵母や大腸菌あるいは高等植物など様々な生物種から取得し、それを用いた有用物質生産や薬用植物の分子育種を行なっている。2) タバコ・ムラサキ毛状根にリモネン合成酵素遺伝子を導入し、植物モノテルペノイドのメタボリック・エンジニアリング等を行っている。3) MRP-タイプのABCトランスポータ遺伝子を用い、カドミウムや砒素を高蓄積する植物を作成し、土壌中からの有害重金属を吸収することで環境浄化に資するファイトリメディエーション技術の確立を試みている。

e) 樹木遺伝子群の分子生物学と環境診断

二次代謝や心材形成などの木本植物に固有の現象に関与するcDNAの単離と、その翻訳産物の構造・機能を解明する。また、草本植物にはない木に特徴的な遺伝子とは何かを樹木等の遺伝子群の解明を通じて明らかにする。単離遺伝子の蛋白工学的利用や、単離遺伝子群による森林圏の環境診断を目指して、ポリケチド生合成に関与する遺伝子群、水やイオン輸送に関与する遺伝子群を対象としている。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

著書

Kazufumi Yazaki: Chapter 43 Natural Products and Metabolites. The Handbook on Plant Biotechnology (Edited by Christou, P. and Klee, H). p. 811-857, John Wiley & Sons, London, 2004

原著論文

Hayashi, T., Y.W. Park, T. Takeda, S. Nakamura and Y. Ohmiya (2004) Involvement of cellulose in cellulose biosynthesis. *In* Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization, ed. K. Ohmiya, pp. 869-873, Uni Publishers, Tokyo.

- Konishi, T., Y. Ohmiya and T. Hayashi: Evidence that sucrose loaded into the phloem of a poplar leaf is used directly by sucrose synthase associated with various β -glucan synthases in the stem, *Plant Physiology* 134, 1146-1152, 2004
- Kuroda, H., K. Yazaki and M. Shiotani (2004), Molecular diagnosis of forest trees, the case studies on pine trees. *In* Sustainable Production and Effective Utilization of Tropical Forest Resources, eds. T Umezawa et al., p. 390, JSPS, Kyoto.
- Ohara, K., Y. Kokado, H. Yamamoto, F. Sato and K. Yazaki: Engineering of ubiquinone biosynthesis using the yeast *coq2* gene confers oxidative stress tolerance in transgenic tobacco. *Plant J* 40 (5), 734-743, 2004
- Okada, K., K. Ohara, K. Yazaki, K., Nozaki, N., Uchida, M., Kawamukai, H. Nojiri and H. Yamane: The *AtPPT1* gene encoding 4-hydroxybenzoate polyprenyl diphosphate transferase in ubiquinone biosynthesis is required for embryo development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol* 55 (4), 567-577, 2004
- Park, Y.W., K. Baba, Y. Furuta, I. Iida, K. Sameshima, M. Arai and T. Hayashi: Enhancement of growth and cellulose accumulation by overexpression of xyloglucanase in poplar, *FEBS Lett* 564, 183-187, 2004
- Sasaki, K., K. Ohara and K. Yazaki: Molecular cloning and characterization of isoprene synthase from *Populus alba*. *In* Sustainable Production and Effective Utilization of Tropical Forest Resources, eds. T Umezawa et al., p. 390, JSPS, Kyoto.
- Sudarmonowati, E., S. Hartati, R. Hartati, Y. W. Park and T. Hayashi (2004) Production of transgenic *Acacia mangium* expressing cellulase gene to enhance growth. *In* Sustainable Production and Effective Utilization of Tropical Forest Resources, eds. T Umezawa et al., pp. 270-275, JSPS, Kyoto.

特 許

- T. Nomura and T. Hayashi: Method for producing palm wood material, FPO4-001-MY (Patent in Malaysia) (2004).

総 説

- 小原一朗、矢崎一史：芳香族基質プレニルトランスフェラーゼと有用物質生産、バイオサイエンスとインダストリー、**62**(7)；441-444、2004
- 土反伸和、矢崎一史：植物ABCタンパク質スーパーファミリーの多様性、生化学、**76**；1221-1224、2004
- 土反伸和、佐藤文彦、矢崎一史：抗菌性アルカロイドの植物細胞内への集積機構、バイオサイエンスとインダストリー、**62**(4)；34-35、2004
- 矢崎一史：植物におけるイソプレノイドの代謝工学、APAST、**14**(5)；100-105、2004

b) 学会発表

- 日本植物生理学会2004年度年会：7件
- 日本農芸化学会2004年度大会：3件
- 第22回日本植物分子生物学会：3件
- 第27回日本分子生物学会年会：2件
- 日本生薬学会第51年会：1件

第54回日本木材学会大会：7件
セルラーゼ研究会：2件
セルロース学会：1件
日本応用糖質科学会記念講演会：1件
第116回日本森林学会大会：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

矢崎一史：日本植物細胞分子生物学会（幹事、編集委員）、日本植物生理学会（評議員、編集委員）、日本農芸化学会（関西支部評議員）、バイオサイエンスとインダストリー（編集委員）

林 隆久：日本糖質学会（評議員）、文部省科学技術動向研究センター（専門調査員）

科研費等受領状況

矢崎一史：基盤研究(B)(2) 芳香族基質プレニルトランスフェラーゼの分子解剖と構造生物学的解析（矢崎 代表）、特定領域研究(2) MDRタイプABCトランスポーターによるオーキシン極性輸送の分子機構（矢崎 代表）、萌芽研究 ABCトランスポーターを用いた植物輸送エンジニアリングによる環境浄化技術の開発（矢崎 代表）、未来開拓学術研究推進事業 二次代謝産物の生合成制御と細胞内輸送（矢崎 代表） 住友環境研究助成 イソプレネ代謝工学による温室効果ガス対策樹木の創出（矢崎 代表）、上原記念生命科学研究助成 アルカロイド輸送性ABCトランスポーターCjmdr1の分子解剖（矢崎 代表）、株式会社ニッタ Phytoremediationに関する研究（受託研究）、H15年度生存圏萌芽ミッション 分子レベルでの樹木個体群の計測・診断のための基盤構築（分担）

林 隆久：萌芽研究 セルラーゼの起源（林代表）、(独)森林総合研究所（受託研究）バイオデザイン（林代表）、JICA受託研究 植物グルカナーゼの研究（林代表）、民間（RITE）との共同研究 樹木におけるセルロース生合成（林代表）、生物系特定産業技術研究推進機構（受託研究）植物細胞の形態制御機構の解明（林代表）

黒田宏之：森林総合研究所（受託研究）里山における生態系の機能の再生・向上技術の開発（分担）、H16年度生存圏萌芽ミッション 森林圏における環境計測・地球再生のための遺伝子単離法の開発（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

矢崎一史：German-Japan Seminar on Molecular Regulation of Plant Secondary Metabolism（かずさ、9月、招待講演）、Plant Membrane Biology (Montpellier、7月、ポスター)、The 5th International Wood Science Symposium、(京都、9月、ポスター)

林 隆久：第10回 Cell Wall Meeting（ソレント、イタリア、8月～9月、スピーカー）、第5回 International Wood Science Symposium（京都、9月、スピーカー）、米国化学会（サンジェゴ、米国、3月、スピーカー）

黒田宏之：The 5th International Wood Science Symposium、(京都、9月、研究発表)

国際共同研究、海外学術調査等

矢崎一史：植物におけるオーキシンの極性輸送に関わる ABC 蛋白質（アメリカ、パーデュー大学）、シロイヌナズナの ABC タンパク質の生理機能に関する研究（アメリカ、Syngenta 社）、植物 ABC 蛋白質の輸送機能の生化学的解析（フランス、カダラッシュ研究所）、植物細胞におけるアルカロイド輸送体遺伝子の機能と応用（オランダ、ライデン大学）、植物単離液胞におけるアルカロイド輸送機構（スイス、チューリッヒ大学）

林 隆久：マンギウムにおけるキシログルカナーゼ及びセルラーゼの構成発現（インドネシア、バイオテクノロジーセンター）、ユーカリにおけるキシログルカナーゼ及びセルラーゼの構成発現（イスラエル、CBD テクノロジー）、セルロース生合成阻害剤 CGA に関する共同研究（スイス、シンジェンタ研究所）、膜結合型セルラーゼに関する研究（フランス、INRA）

国際的学術雑誌の編集等（役割）

矢崎一史：Plant Cell Physiology（編集委員）、Plant Biotechnology（編集委員）、J. Wood Sci.（編集委員会）

林 隆久：Cellulose（編集委員）

外国人研究者の受入れ

外国人博士研究者 2名（韓国及びブラジル）

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：ウッドバイオマス（矢崎、杉山、吉村）、全学ポケットゼミ（黒田）

大学院：樹木遺伝子発現学専攻実験（矢崎、林、黒田）、樹木遺伝子発現学専攻演習（矢崎、林、黒田）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

矢崎一史：神戸薬科大学 生薬学講義（学部）（平成17年1月12日）

黒田宏之：九州大学農学研究院森林資源科学部門（特別講義）

公開講座等

矢崎一史：第1回生存圏研究所公開講演（平成16年10月2日、宇治、招待講演）、平成16年京都大学公開講座「森と木から見える世界」、（平成16年10月、京都、講師）、矢崎一史：理化学研究所 植物科学研究センター特別セミナー（平成16年11月、横浜）、第41回植物化学シンポジウム（平成16年11月、京都、招待講演）、57回日本材料学会木質材料部門委員会講演会（平成17年、1月、講師）、生存圏学際新領域の開拓に向けた「萌芽ミッションシンポジウム」（平成17年3月、宇治、講師）

黒田宏之：黒田宏之：第1回生存圏セミナー（2004年10月、宇治、講演）、第5回生存圏研究所に向けたシンポジウム「森林圏と大気圏を通してみる地球環境」（2003年12月、宇治、講演）

B-3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

矢崎一史：特別講演、ウルム大学（2004年7月、ウルム、ドイツ）

林 隆久：特別講演、ローマ大学（2004年9月、ローマ、イタリア）、特別講演、INRA（2005年2月、ベルサイユ、フランス）、特別講演、リヨン大学（2005年2月、リヨン、フランス）、特別講演、プトラマレーシア大学（2005年2月、クアラルンプール、マレーシア）

2.3.15 研究分野：木質制御生化学

構成員：教授 島田 幹夫

助教授 梅澤 俊明

助手 服部 武文

大学院博士後期課程 5名 大学院修士課程 4名

受託研究員 1名

A. 研究活動（2004.4～2005.3）

A-1. 研究概要

a) 微生物きのこの子実体形成とグリオキシル酸回路に関する酵素的遺伝子生化学的機構の解明

食用菌でもある木材腐朽担子菌類はシュウ酸を生合成しエネルギーを獲得し、木材細胞壁の分解に活用している。従って、森林植物や木質資源を保護するためには、シュウ酸の生合成とその代謝調節機構を遺伝子レベルで解明することが重要である。白色腐朽菌と褐色腐朽菌の両方からオキザロアセターゼとグリオキシル酸酸化酵素が発見され、後者の酵素は新規なシトクロム依存型グリオキシル酸脱水素酵素であることが証明された。最近、シュウ酸の生合成とTCAサイクル並びにグリオキシル酸回路はこの子実体形成と関係あることが判明した。酵素化学的研究を行なうとともに、cDNAクローニングと生理機能解明の研究を展開している。

b) 樹木の成長を助ける共生担子菌類の有機酸生合成調節機構の解明

森林生態学において共生菌類は「生物肥料」として樹木の成長を助けていると言われているが、その共生作用機構については未解明である。そこで、共生担子菌（きのこ）類が生産するシュウ酸などのジカルボン酸はリン酸栄養供給系として機能している点に着目して、その生化学的調節機構を解明しようとしている。

c) 森林植物によるリグナン類の生合成機構の解明

樹木の心材や薬用植物などからは、種々のリグナンが単離されている。リグナンの多くは、種々の生理活性を持ち、また心材成分として単離されているものもある。また、リグナンの生合成は、エナンチオ選択的な過程を含むとされているが、この立体的な制御機構を含めてリグナンの生合成機構については未解明の部分が多い。そこで現在、反応の立体化学的性質の解明と、心材成分の生合成機構の解明という観点から、ジベンジルブチロラクトン型リグ

ナンの生合成について検討している。

d) 森林植物によるノルリグナン類の生合成機構の解明

スギ、ヒノキなどの重要な商品樹木の心材色は、ノルリグナンに起因することが知られている。しかし、その生合成機構は全く未解明である。この生合成機構の解明は、心材色の制御など応用的観点から重要であるのみならず、樹木独自の代謝である心材形成の機構解明という観点からも重要である。そこで現在、心材成分の生合成機構の解明という観点から、ノルリグナンの生合成について検討している。

e) リグニン生合成機構の解明

リグニンは、木質細胞壁の主要構成成分であり、その生合成機構は、紙パルプおよび化学原料並びにエネルギー源に適する樹木の分子育種という観点から興味をもたれている。リグニン生合成の代謝工学に必要な知見を得るため、当研究室では、種々の植物におけるリグニン生合成機構の相違について、代謝物網羅解析を用い検討している。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

服部武文、岩瀬剛二、島田幹夫：微生物の分泌する有機酸による森林活性化と重金属捕集、バイオサイエンスとインダストリー. 63 ; 27-30、2005

梅澤俊明、抽出成分に関する研究の現状と展望、木材学会誌. 51 ; 48-49、2005

原著論文

Muta, Y. S. Ohyama, T. Umezawa, M. Shimada and K. Inouye : Inhibitory effects of lignans on the activity of human matrix metalloproteinase (Matrilysin). J Agri Food Chem 52; 5888-5894, 2004

Okunishi, T., N. Sakakibara, S. Suzuki, T. Umezawa and M. Shimada: Stereochemistry of matairesinol formation by of *Daphne* secoisolariciresinol dehydrogenase. J Wood Sci 50; 77-81, 2004

Okunishi, T., T. Umezawa and M. Shimada: Semi-micro chiral HPLC analysis of lignans. J Wood Sci 50; 93-96, 2004

Suzuki, S., M. Yamamura, M. Shimada and T. Umezawa: A heartwood norlignan, (*E*)-hinokiresinol, is formed from 4-coumaryl 4-coumarate by a *Cryptomeria japonica* enzyme preparation. Chem Commun 2838-2839, 2004

Tokunaga, N., N. Sakakibara, T. Umezawa, Y. Ito, H. Fukuda and Y. Sato: Involvement of extracellular dilignols in lignification during tracheary element differentiation of isolated *Zinnia* mesophyll cells. Plant Cell Physiology 46; 224-232, 2005

b) 学会発表

第54回日本木材学会大会（札幌）：6件

第49回リグニン討論会（筑波）：1件

第5回国際木質科学シンポジウム（京都）：6件

第9回紙パルプ産業のバイオテクノロジーに関する国際会議（南アフリカ）：1件

4th Regional Coordination of Wood Science (RCCWS) International Symposium（ロシア）：1件

第55回日本木材学会大会（京都）：5件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

島田幹夫：日本菌学会（理事）、日本農芸化学会（関西支部評議員）、日本生化学会（関西支部評議員）、応用きのこ学会（評議員）、国際木材科学アカデミー（フェロー）

梅澤俊明：国際木材科学アカデミー（フェロー）

服部武文：日本菌学会（会計幹事）

科研費等受領状況

島田幹夫：基盤研究(C) 銅耐性褐色腐朽菌のシュウ酸生合成系鍵酵素のcDNAクローニングと細胞内局在（代表）；基盤研究(C) 外生菌根菌の孢子発芽時と菌根形成初期段階における脂質代謝調節機構の解明（分担）

梅澤俊明：基盤研究(B)(2)：心材成分生合成の分子機構解明に関する基礎研究（代表）、基盤研究(B)(2)：タケの遺伝子発現機構（分担）、新エネルギー・産業技術総合開発機構受託研究「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」

服部武文：基盤研究(C) 外生菌根菌の孢子発芽時と菌根形成初期段階における脂質代謝調節機構の解明（代表）、基盤研究(C) 銅耐性褐色腐朽菌のシュウ酸生合成系鍵酵素のcDNAクローニングと細胞内局在（分担）、(株)環境総合テクノス生物環境研究所共同研究「菌根菌バイオレメディエーション技術の開発研究」

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

梅澤俊明：The Fifth International Wood Science Symposium (Keynote)

国際共同研究、海外学術調査等

島田幹夫：森林共生菌根菌の遺伝子解析（福建省林業科学研究院、中国）

梅澤俊明：フェニルプロパノイド生合成における分子生物学に関する共同研究（ノースカロライナ州立大学、アメリカ）

梅澤俊明：抗腫瘍性リグナンの生合成に関する共同研究（デュッセルドルフ大学、ドイツ）

梅澤俊明：循環型社会の構築に向けた熱帯森林資源の持続的生産・利用に関する俯瞰的研究（インドネシア科学院、インドネシア）

外国人研究者の受入れ

外国人共同研究者 7名（Research and Development Unit for Biomaterial, LIPI, Director; Universiti Putra Malaysia, Lecturer; Research and Development Center for Forest Products Technology, LIPI, Researcher; Winaya Mukti University, Lecturer; Kookmin Univ., Full time lecturer; Korea National Agricultural College, Professor; The University of North Sumatra, Lecturer）

B. 教育活動 (2004. 4~2005. 3)

B-1. 学内活動

大学院：木質制御生化学（島田、梅澤）、木質制御生化学専攻実験（島田、梅澤）、木質制御生化学専攻演習（島田、梅澤）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

島田幹夫：岐阜大学大学院（生物資源開発学特別講義Ⅱ）、香川大学大学院（生物資源食料化学特別講義Ⅰ）

梅澤俊明：Universiti Putra Malaysia（特別講演）、North Carolina State University（特別講演）、かずさDNA研究所（特別講演）、静岡大学大学院（木質科学特別講義Ⅰ）、東京大学大学院（樹木生化学）、京都府大大学院（木質バイオマステ論）、榎植物工学研究所（植物工学研究所セミナー）

2.3.16 研究分野：木質バイオマス変換化学（生存圏研究所）

構成員：教授 渡邊 隆司

助教授 本田 与一

助手 渡邊 崇人

大学院博士後期課程 6名 博士研究員 1名

大学院修士課程 10名

A. 研究活動 (2004. 4~2005. 3)

A-1. 研究概要

a) 微生物・酵素反応による木質バイオマスのエネルギー・機能性物質への変換

木質バイオマス及びその構成成分を微生物やその生産する酵素を用いて、エタノール、有用ケミカルス、機能性オリゴ糖、家畜飼料、生理活性物質等に変換する。このため、選択的的白色腐朽菌を利用した木材前処理プロセス、発酵阻害物質の酵素的分解法、アルコール発酵性微生物の発酵阻害物質に対する応答制御等を研究する。

b) 白色腐朽菌のリグニン分解酵素の分子生物学的解析

ペルオキシダーゼやラッカーゼといった白色腐朽性担子菌の菌体外リグニン分解酵素群を精製し、遺伝子をクローニングして、その構造解析をおこなうとともに、これら遺伝子の発現制御機構の解明、組換え体による発現、酵素の構造機能相関解析やポリマー分解における応用についての研究を行う。

c) 木質バイオマス変換における効率のよい生体触媒の開発

効率のよい木質バイオマスの変換を目指し、遺伝子工学的手法を用いて、リグニン分解性担子菌や酵母、細菌を含む微生物の分子育種を行う。例えば、リグニンの分解能や選択性が向上した担子菌株や、より高い阻害物耐性を持つアルコール生産性微生物の単離を行う。

d) 選択的白色腐朽菌のフリーラジカル反応の制御機構の解明と応用

リグニン分解性担子菌の細胞壁非浸食型リグニン分解機構を解析し、ラジカル反応を制御する代謝物の機能を明らかにする。また、鍵代謝物の生合成酵素の発現を遺伝子工学的に制御することによって、選択的白色腐朽菌の機能を強化する。また、生物模倣ラジカル反応や菌体外酸化能を強化した形質転換体を、環境汚染物質の分解や木質バイオマスの糖化・発酵前処理等に应用する。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

渡辺隆司：Watanabe, T., Y. Ohashi, N. Rahmawati, R. Amirta, T. Watanabe, Y. Honda and M. Kuwahara: Control of the generation of active oxygen species for selective lignin biodegradation by *Ceriporiopsis subvermispora*. in “Biotechnology of lignocellulose degradation and biomass utilization”, ed. by K. Ohmiya et al., Uni Publishers, Tokyo, 697-704, 2004

渡辺隆司：植物細胞壁の精密リファイニングー生体触媒による分子変換技術、木質系有機資源の新展開、シーエムシー出版、68-79, 2005

本田与一：キノコのバイオテクノロジー（キノコの利用、キノコのゲノム研究）、キノコ学への誘い、大賀祥治編、海青社、133-147, 2004

原著論文

Kamitsuji, H., Y. Honda, T. Watanabe and M. Kuwahara: Production and induction of manganese peroxidase isozymes in a white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. Appl Microbiol Biotechnol 65; 287-294, 2004

Kamitsuji, H., Y. Honda, T. Watanabe, and M. Kuwahara: Mn²⁺ is indispensable for the production of active MnP2 by *Pleurotus ostreatus*. Biochem Biophys Res Commun 327; 871-876, 2005

Kamitsuji, H., T. Watanabe, Y. Honda and M. Kuwahara: Direct oxidation of polymeric substrates by multifunctional manganese peroxidase isozyme from *Pleurotus ostreatus* without redox mediators. Biochem J 386; 387-393, 2005

Okano, K., M. Kitagawa, Y. Sasaki, and T. Watanabe: Conversion of Japanese red cedar (*Cryptomeria japonica*) into feed for ruminants by white-rot basidiomycetes. Animal Feed Sci and Technol 120; 235-243, 2005

Widyorini, R., J. Xu, T. Watanabe and S. Kawai: Chemical changes of steam-pressed kenaf core binderless particleboards. J Wood Sci 51; 26-32, 2005

特許

公開

特許公開2005-68313「ポリウレタン分解方法」発明者：木邑敏章、渡辺隆司、京都大学、トヨタ自動車株式会社、公開日：2005年3月17日

特許公開2005-48098「ポリウレタン分解方法」発明者：木邑敏章、渡辺隆司、京都大学、トヨタ自動車株式会社、公開日：2005年2月24日

特許公開2004-339438「ポリウレタン分解方法」発明者：木邑敏章、渡辺隆司、京都大学、トヨタ自動車株式会社、公開日：2004年12月2日

特許公開2005-41969「樹脂用酸化防止剤」発明者：磯部 泰充、影山 裕史、渡辺隆司、京都大学、トヨタ自動車株式会社、公開日：2005年2月17日

特許公開2004-99738「木材腐朽菌による加硫ゴム組成物の分解処理方法」発明者：八木則子、村岡清繁、岸本浩通、佐藤伸、渡辺隆司、住友ゴム工業株式会社、公開日：2004年4月2日

総 説

渡辺隆司：白色腐朽菌の生物機能を利用した木質バイオマスリファイナリー、温古知新、41；1-6、2004

b) 学会発表

日本木材学会第54回大会：3件

日本木材学会第55回大会：4件

第12回日本エネルギー学会：1件

高分子分析討論会：1件

高分子学会：1件

セルラーゼ研究会：2件

日本きのこ学会：1件

日本生物工学会大会：1件

第49回リグニン討論会：3件

日本農芸化学会2005年度大会：3件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

渡辺隆司：日本農芸化学会（関西支部評議員）、紙パルプ技術協会（科学委員）、日本生物工学会（研究部会委員）

本田与一：日本木材学会（編集委員、機関幹事）、日本きのこ学会（評議員）

科研費等受領状況

渡辺隆司：基盤研究(B)(2)、耐熱性白色腐朽菌ラッカーゼの高発現システムを組み入れた木材のエタノールへの変換（代表）、萌芽研究、担子菌代謝物を用いるセルロース分解反応の抑制——パルプ漂白の新戦略（代表）、基盤研究(A)(2)、木材劣化生物を用いた保存処理木材のバイオプロセッシングと新規エネルギーの創成（分担）、基盤研究(B)(1)、グリーンテクノロジーを用いた木質系廃棄物の総合的有効利用法の開発（分担）、(財)地球環境産業技術研究機構（RITE）「プログラム方式二酸化炭素固定化・有効利用技術開発：先端的研究」、バイオエタノール生産のための選択的白色腐朽菌リグニン分解系の解析と強化（代表）

本田与一：基盤研究(A)(2)、木材劣化生物を用いた保存処理木材のバイオプロセッシングと新規エネルギーの創成（分担）、基盤研究(B)(2)、耐熱性白色腐朽菌ラッカーゼの高発現システムを組み入れた木材のエタノールへの変換（分担）、基盤研究(C)(2)、バイオマスの変換プロセスに適した木材糖化効率を高める白色腐朽菌の分子育種（代表）、基

盤研究(C)(2)、バイオマスの変換プロセスに適した木材糖化効率を高める白色腐朽菌の分子育種（代表）、(財)地球環境産業技術研究機構（RITE）「プログラム方式二酸化炭素固定化・有効利用技術開発：先端的研究」、バイオエタノール生産のための選択的白色腐朽菌リグニン分解系の解析と強化（分担）

渡邊崇人：若手研究(B)、選択的リグニン分解に関与する脂質関連酵素遺伝子の解析（代表）、(財)地球環境産業技術研究機構（RITE）「プログラム方式二酸化炭素固定化・有効利用技術開発：先端的研究」、バイオエタノール生産のための選択的白色腐朽菌リグニン分解系の解析と強化（分担）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

渡辺隆司：229th American Chemical Society National Meeting、サン・ディエゴ（招待講演）、RITE International Symposium on Biorefinery、京都（招待講演）、The IV Asia-Pacific Mycological Congress、チェンマイ（招待講演）、5th International Wood Science Symposium、京都（運営委員、座長）、9th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry、ダーバン（研究発表）、7th Biennial Symposium on International Society of Environmental Biotechnology、シカゴ（研究発表）、The 4th JSPS-NRCT Joint Seminar on Development of Thermotolerant Microbial Resources and Their Applications、福岡（研究発表）、The 2nd International Symposium on Sustainable Energy System、京都（研究発表）

本田与一：5th International Wood Science Symposium、京都（運営委員、座長）

国際共同研究・海外学術調査等

渡辺隆司：日本学術振興会拠点校プログラム（微生物の生物化学的研究）熱帯産リグニン分解性担子菌の生物工学的応用に関する調査研究（タイ）、日本学術振興会拠点校プログラム（木質科学）未利用植物資源からのセルロース系材料とバイオマスケミカルの生産（インドネシア）

本田与一：日本学術振興会拠点校プログラム（微生物の生物化学的研究）熱帯産リグニン分解性担子菌の生物工学的応用に関する調査研究（タイ）、日本学術振興会拠点校プログラム（木質科学）未利用植物資源からのセルロース系材料とバイオマスケミカルの生産（インドネシア）

外国人研究者の受入れ

外国人共同研究者 3名

B. 教育活動（2004.4～2005.3）

B-1. 学内活動

大学院：木質バイオマス変換化学（渡辺、本田）

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

渡辺隆司：持続的生存圏創成のためのエネルギー循環シンポジウム「宇宙太陽発電とバイオマス変換」（講演）、木竹材用途拡大研究会講演会（招待講演）

B-3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

渡辺隆司：レンバン大学特別講演

留学生、外国人研修員の受入れ

留学生：博士課程学生 2名（インドネシア）

C. その他

渡辺隆司：(財)有機質資源再生センター（評議員）、(財)地球環境産業技術研究機構（RITE）技術評価分科会委員

本田与一：(財)地球環境産業技術研究機構（RITE）技術評価分科会委員、(財)地球環境産業技術研究機構（RITE）「プログラム方式二酸化炭素固定化・有効利用技術開発」基盤技術研究推進委員会委員