

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 6 名

学術振興会特別研究員 4 名

大学院修士課程 11名

専攻 4 回生 5 名

A. 研究活動（2005.4～2006.3）

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の機能に関してもいまだ不明である。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) インテグリン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インテグリン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

植田和光編：ABC蛋白質（共著）．学会出版センター、2005

原著論文

Mitsushima, M., T. Sezaki, R. Akahane, K. Ueda, S. Suetsugu, T. Takenawa and N. Kioka: Protein kinase A-dependent increase in WAVE2 expression induced by the focal adhesion protein vinexin. *Genes Cells* 11; 281-292, 2006

Takahashi, K., Y. Kimura, N. Kioka, M. Matsuo and K. Ueda: Purification and ATPase Activity of Human ABCA1. *J Biol Chem*, 281; 10760-10768, 2006

Toda, Y., R. Aoki, Y. Ikeda, Y. Azuma, N. Kioka, M. Matsuo, M. Sakamoto, S. Mori, M. Fukumoto and K. Ueda: Detection of ABCA7-positive cells in salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *Pathol Int* 55; 639-643, 2005

Takahashi, H., M. Mitsushima, N. Okada, T. Ito, S. Aizawa, R. Akahane, T. Umemoto, K. Ueda

- and N. Kioka: Role of interaction with vinculin in recruitment of vinexins to focal adhesion. *Biochem Biophys Res Commun* 336; 239-246, 2005
- Ban, N., M. Sasaki, H. Sakai, K. Ueda and N. Inagaki: Cloning of ABCA17, a novel, rodent sperm-specific ATP-binding cassette (ABC) transporter that regulates intracellular lipid metabolism. *Biochem J* 389; 577-585, 2005
- Hayashi, M., S. Abe-Dohmae, M. Okazaki, K. Ueda and S. Yokoyama: Heterogeneity of High Density Lipoprotein Generated by ABCA1 and ABCA7. *J Lipid Res* 46; 1703-1711, 2005
- Arakawa, R., N. Tamehiro, T. Nishimaki-Mogami, K. Ueda and S. Yokoyama: Fenofibric acid, an active form of fenofibrate, increases apolipoprotein A-I-mediated high-density lipoprotein biogenesis by enhancing transcription of ATP-binding cassette transporter A1 gene in a liver X receptor-dependent manner. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25; 1193-1197, 2005
- 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
- Paternotte, N., J. Zhang, I. Vandenbroere, K. Backers, D. Blero, N. Kioka, J. M. Vanderwinden, I. Pirson and C. Erneux: SHIP2 interaction with the cytoskeletal protein Vinexin. *FEBS J* 272; 6052-6066, 2005

総 説

- 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
- Abe-Dohmae, S., Ueda, K. and Yokoyama, S: ABCA7, a molecule with unknown function, *FEBS Lett* 580; 1178-1182, 2006
- 植田和光、高橋 圭、小林 綾、松尾道憲：脂質を動かすABC蛋白質。蛋白質核酸酵素 51 ; 342-349、2006
- 植田和光、稲留弘乃、梅田真郷：膜脂質2重層を横切るフリップ・フロップ脂質輸送。実験医学 24 ; 905-911、2006
- 植田和光、吾妻佑哉、高橋 圭、松尾道憲：ABCタンパク質の輸送体および受容体としての生理的重要性。実験医学 24 ; 608-615、2006
- 植田和光、高橋 圭、小林 綾、松尾道憲：脂質輸送とABCタンパク質。実験医学 23 ; 842-846、2005
- 植田和光：ABC蛋白質——トランスポーター型、チャネル型、受容体型。Surgery Frontier 12 ; 55-57、2005
- 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：ABCタンパク質による脂質恒常性維持と生活習慣病。バイオサイエンスとインダストリー 63 ; 637-642、2005

b) 学会発表

第9回がん分子標的治療研究会総会：1件、座長
第58回日本細胞生物学会大会：2件
第78回日本生化学会：発表4件
第64回日本癌学会総会：発表3件
第28回日本分子生物学会年会：発表11件
第59回日本栄養食糧学会大会：シンポジウム
第82回日本生理学会大会：シンポジウム
2006年度日本農芸化学会大会：シンポジウム、発表12件
フォーラム富山「創薬」第17回研究会：招待講演
第12回日本臓器保存生物医学会総会：ワークショップ

A-3. 国内における学会活動など

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關与する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 インテグリン裏打ち蛋白質とがん細胞の接着・運動制御（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

松尾道憲：若手研究(B) コレステロール排出に關与するABCタンパク質の機能解析

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：1st FEBS Special Meeting on ABC Proteins（副組織委員長、講演）

植田和光：Gordon Research Conference, Molecular and Cellular Biology（研究発表）

植田和光：International Symposium on Biological Membrane Transport 2005（招待講演）

木岡紀幸：The 44th Symposium of Korean Society of Life Science（招待講演）

松尾道憲：1st FEBS Special Meeting on ABC Proteins（研究発表）

松尾道憲：Gordon Research Conference, Molecular and Cellular Biology of Lipids（研究発表）

松尾道憲：International Symposium on Life of Proteins（研究発表） 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 (2005. 4～2006. 3)

B－1. 学内活動

a) 開講授業科目

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 5 名

受託研究員 5 名

大学院修士課程 9 名

専攻 4 回生 5 名

A. 研究活動 (2005. 4～2006. 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発展させている。

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。その一つの手法として、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

植田充美、近藤昭彦：エコバイオエネルギーの最前線ムゼロエミッション型社会を目指して。シーエムシー。2005

原著論文

Shintani, Y., K. Hirako, M. Motokawa, T. Iwano, X. Zou, Y. Takano, M. Furuno, H. Minakuchi and M. Ueda: Development of miniaturized multichannel HPLC for high-throughput analysis. J Chromatog A, 1073; 17-23, 2005

Mima, J., M. Hayashida, T. Fujii, Y. Narita, R. Hayashi, M. Ueda and Y. Hata: Structure of the carboxypeptidase Y inhibitor IC in complex with the cognate proteinase reveals a novel mode of the proteinase-protein inhibitor interaction. J Mol Biol 346(5); 1323-1334, 2005

Fukuda, T., S. Shiraga, M. Kato, Y. Morita, E. Tamiya, T. Hori, S. Suye and M. Ueda: Construction of novel single cell screening system using a yeast cell chip for nano-sized modified-protein-displaying libraries. NanoBiotechnology 1; 105-111, 2005

Shiraga, S., M. Kawakami, M. Ishiguro and M. Ueda: Enhanced reactivity of Rhizopus oryzae lipase displayed on yeast cell surface in organic solvents: Potential as a whole cell biocatalyst in organic solvents. Appl Environ Microbiol 71(8); 4335-4338, 2005

Shiraga, S., M. Ishiguro, H. Fukami, M. Nakano and M. Ueda: Creation of Rhizopus oryzae lipase having a unique oxyanion hole by combinatorial mutagenesis in the lid domain. Appl Microbiol Biotechnol 68; 779-785, 2005

Kato, M., H. Maeda, M. Kawakami, S. Shiraga and M. Ueda: Construction of a selective cleavage system for a protein displayed on the cell surface of yeast. Appl Microbiol Biotechnol 69(4); 423-427, 2005

Nakamura, I., H. Yoneda, T. Maeda, A. Makino, M. Ohmae, J. Sugiyama, M. Ueda, S. Kobayashi and S. Kimura; Enzymatic polymerization behavior using cellulose-binding domain deficient endoglucanase II. Macromol Biosci 5(7); 623-628, 2005

Khaw, T. S., Y. Katakura, J. Koh, A. Kondo, M. Ueda and S. Shioya: Evaluation of performance

of different surface-engineered yeast strains for direct ethanol production from raw starch.
Appl Microbiol Biotechnol 70(5); 573-579, 2005

総 説

植田充美：バイオベンチャー起業物語．BIO INDUSTRY 連載1-12、2005

植田充美、近藤昭彦：ゼロエミッションとエコバイオエネルギー．エコバイオエネルギーの最前線ムゼロエミッション型社会を目指して（シーエムシー）、1-4、2005

植田充美、加藤倫子、黒田浩一：アーミング酵母によるバイオエタノール製造技術（プロトタイプ）．エコバイオエネルギーの最前線ムゼロエミッション型社会を目指して（シーエムシー）、35-40、2005

b) 学会発表

2005年日本生物工学会大会：4 件

第78回日本生化学会大会：2 件

第28回日本分子生物学会：1 件

2005年日本農芸化学会大会：6 件

Enzyme Engineering XVIII：2 件

Pacificchem：2 件

The 2nd International Meeting on Microsensors and Microsystems：1 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：特定領域研究「細胞内生体分子群の動態シグナルの解析」（代表）、経済産業省・地域新生コンソーシアム研究開発事業「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」

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2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）

B. 教育活動 (2005. 4～2006. 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）

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 (11月まで)

大学院博士後期課程 2名 研究生 2名

大学院修士課程 5名

専攻4回生 4名

A. 研究活動 (2005. 4～2006. 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*) をイネに導入すると、Trp の含量を顕著に増加させることができる。この *OAS1D* 遺伝子に加えて、さらにトリプトファン脱炭酸酵素 (TDC) 遺伝子をイネカルスに導入し、その代謝プロファイリングをおこなった。TDC 遺伝子の導入により、*OAS1D* で顕著に蓄積していたトリプトファンは大幅に減少し、非形質転換体でほとんど検出されなかったトリプタミンの含量が1,000倍以上に増大した。しかし、トリプタミン以外にも多数の成分が増加しており、主要な増加成分としてセロトニンを同定した。この結果から、イネにおけるトリプトファン由来二次代謝の制御にはトリプトファン脱炭酸酵素がきわめて重要な役割を果たしていることが明らかになった。

b) 脱皮ホルモンアゴニストの構造活性相関

サソリの脱皮ホルモン受容体の遺伝子クローニングを行った。サソリは、昆虫と同じ節足動物門に属するが、昆虫（大顎亜門）とは異なり、むしろクモやダニが属する鋏角亜門に属している。石垣島で採集したヤエヤマサソリから RNA を抽出し、cDNA に逆転したのち、昆虫の脱皮ホルモン受容体 (EcR および USP) の遺伝子から設計した degenerate primer を用いて、PCR によって DNA を増幅した。得られた cDNA の配列から、EcR と USP のアミノ酸配列を決定した。DNA 結合領域に関しては、昆虫や甲殻類とも高い相同性を示したが、リガンド結合領域に関しては、昆虫よりもダニの EcR、USP と高い相同性を有することが明らかになった。また、鱗翅目昆虫由来の SF-9細胞、鞘翅目昆虫由来の BCIRL-Lepd-SL1細胞において脱

皮ホルモンの活性を測定するためのレポータージーンアッセイ法を構築した。

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。バクテリア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、立体構造に制約を加えた直鎖および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、中央部分での折れ曲がり構造が活性発現に重要であることが明らかとなった。ii) ヤエヤマサソリ (*Liocheles australasiae*) 毒液から単離されたペプチドのジスルフィド架橋様式を明らかとすることを目的として、Fmoc 固相合成法を用いてこのペプチドを合成した。合成したペプチドを酵素消化し、得られた断片の分子量から、2つのジスルフィド結合を形成する Cys 残基の組み合わせを決定した。

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、第一相代謝反応によって生成する代謝物が顕著なエストロゲン受容体結合活性を示すが、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はいずれも抱合前の化合物に比べて、大幅に活性が低下する。第二相代謝物の構造と活性の関係をさらに詳細に検討するため、放射性同位体標識したエストラジオールを用いた受容体結合実験をおこなった。その結果、いずれの抱合体も1/20以下の活性を示した。

e) 殺菌性化合物 TF-991 の作用機構

リンゴ斑点落葉病などにすぐれた防除効果を示す TF-991 が病原菌の成分組成に及ぼす影響を検討した。薬剤を処理した菌体の抽出物を GC-MS で分析したところ、パルミチン酸など脂肪酸の顕著な蓄積が認められた。またグリセライドの増加も確認され、本化合物の作用点は脂質代謝に関連したものである可能性が考えられた。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

総説

Nakagawa, Y.: Nonsteroidal ecdysone agonists. Vitam Horm 73; 131-173, 2005

原著論文

Matsuda, F., T. Yamada, H. Miyazawa, H. Miyagawa and K. Wakasa: Characterization of tryptophan-overproducing potato transgenic for a mutant rice anthranilate synthase alpha-subunit gene (OASA1D). Planta 222; 535-545, 2005

Matsuda, F., H. Miyazawa, K. Wakasa and H. Miyagawa: Quantification of indole-3-acetic acid and amino acid conjugates in rice by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. Biosci Biotech and Biochem 69; 778-783, 2005

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. Naturforsch C 60; 83-90, 2005

Miyashita, M., T. Shimada, S. Nakagami, N. Kurihara, H. Miyagawa and M Akamatsu: Evaluation

of Estrogen Receptor Binding Affinity of DDT-Related Compounds and Their Metabolites. In Environmental Fate and Safety Management of Agrochemicals (J. Marshall Clark, Hideo Ohkawa, Eds.), ACS Symp Ser, 899; American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 159-166, 2005

Ogura, T., C. Minakuchi, Y. Nakagawa, G. Smagghe and H. Miyagawa: Molecular cloning, expression analysis and functional confirmation of ecdysone receptor and ultraspiracle from the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. FEBS J 272; 4114-4128, 2005

Wheelock, C. E., Y. Nakagawa, T. Harada, N. Oikawa, M. Akamatsu, G. Smagghe, D. Stefanou, K. Itatrou and L. Swevers: High throughput screening of ecdysone agonists using a reporter gene assay followed by 3-D QSAR analysis of the molting hormonal activity. Bioorg Med Chem 14; 1143-1159, 2006

Yamamoto, S., B. Watanabe, J. Otsuki, Y. Nakagawa, M. Akamatsu and H. Miyagawa: Synthesis of 26,27-Bisnorcastasterone Analogs and Analysis of Conformation-activity Relationship for Brassinolide-like Activity. Bioorg Med Chem 14; 1761-1770, 2006

紀要、報告書など

Miyashita, M., J. Otsuki, Y. Hanai, Y. Nakagawa and H. Miyagawa: Analysis of Peptide Components in the Venom of the Japanese Scorpion *Liocheles Australasiae*. In "Peptide Science 2005" (T. Wakamiya, Ed.); The Japanese Peptide Society, 185-186, 2006

b) 学会発表

日本農薬学会第31回大会：4件

日本農芸化学会大会2006年度大会：7件

日本農芸化学会関西支部大会：2件

植物化学調節学会第40回大会：1件

第33回構造活性相関シンポジウム：1件

第21回農薬デザイン研究会：1件

第42回ペプチド討論会：1件

第47回植物生理学会：1件

環太平洋国際化学会議2005：1件

第2回 COE 国際シンポジウム：5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）

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、ホームページ委員会委員、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および現地実行委員

中川好秋：第2回COE 昆虫科学国際シンポジウム（主催）、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（2005.4～2006.3）

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）

B－2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

宮川 恒：島根大学大学院資源科学研究科（情報分子工学特別講義）

中川好秋：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

中川好秋：環境保全センター（有機部会）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 授 授 森 直 樹
 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

A. 研究活動（2005.4～2006.3）

A-1. 研究概要

a) 昆虫が蓄積する植物由来の有毒物質

草食性昆虫の中には、有毒植物を寄主として、食餌に含まれる有毒成分を積極的に蓄積し、天敵に対する防御に利用しているものが知られる。ベニツチカメムシ *Parastrachia japonensis* はボロボロノキ *Schoeffia jasminodora* の果実のみを摂食する有毒のカメムシである。虫体及び被食部である種子の抽出成分を比較分析したところ、いずれも共役三重結合をもつトリグリセリドを大量に含むことが判明した。スペクトル分析及び化学分解等により、9,11-octadecadiynoic acid をはじめとする複数のアセチレン脂肪酸を同定した。化学合成により得た同トリグリセリドをマウスに投与したところ致死作用を認めた。このほか、鱗翅目昆虫における、アルカロイド関連物質の体内蓄積作用について追究し、その適応機構について考察した。

b) 植物に揮発成分放出を誘導する鱗翅目昆虫吐き出し液中エリシターの生合成

Volicitin [*N*-(17-hydroxylinolenoyl)-L-glutamine] は植物に揮発成分を放出させるエリシターとしてシロイチモジヨトウの吐き出し液中から同定されている。その生合成においては、幼虫腸管内の酵素により、グルタミンが選択的に基質として用いられている。ハスモンヨトウ *Spodoptera litura* の腸管組織を用い、脂肪酸部分の選択性を調べた。その結果、腸管内にはリノレン酸、リノール酸、パルミチン酸がほぼ同僚含まれているにもかかわらず、基質としてリノレン酸とリノール酸が用いられていることが判明した。Volicitin は幼虫にとって、不飽和脂肪酸の代謝に何らかの関わりがあると示唆された。

c) 鱗翅目ヤガ科昆虫幼虫における DIMBOA の解毒

DIMBOA (2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxiazin-3-one) はトウモロコシ *Zea mays* の主要な防御物質で、植食者に対する摂食阻害物質として知られている。その一方で、トウモロコシを食草とするアワヨトウ *Mythimna separate* も存在する。そこで、アワヨトウにおける DIMBOA 代謝機構に注目した。合成した DIMBOA を人工飼料に混ぜて与え、糞中から LCMS で DIMBOA-Glc, MBOA-Glc および HMBOA-Glc の三種の DIMBOA 代謝物を同定した。興味深いことに、アワヨトウの中腸組織を DIMBOA および UDP-Glc とインキュベートすると、in vitro におけるグルコシル化を確認できた。

A－2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

原著論文

- 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
- Takada, W., T. Sakata, S. Shimano, Y. Enami, N. Mori, R. Nishida, Y. Kuwahara: Scheloribatid mites as the source of pumiliotoxins in dendrobatid frogs. J Chem Ecol 31; 2405–2417, 2005
- Noge, K., M. Kato, T. Iguchi, N. Mori, R. Nishida, Y. Kuwahara: Biosynthesis of neral in *Carpoglyphus lactis* (Acari: Carpoglyphidae) and detection of its key enzyme, geraniol dehydrogenase, by electrophoresis. J Acalor Soc Jpn 14; 75–81, 2005
- Yoshinaga, N., K. Kato, C. Kageyama, K. Fujisaki, R. Nishida, N. Mori: Ultraweak photon emission from herbivory-injured maize plants. Naturwissenschaften 93; 38–41, 2006
- Ohta, N., N. Mori, Y. Kuwahara, R. Nishida: A hemiterpene glucoside as a probing deterrent of the bean aphid, *Megoura crassicauda*, from a non-host vetch, *Vicia hirsute*. Phytochemistry 67; 584–588, 2006
- Maruno, G., N. Mori, R. Nishida, Y. Kuwahara: Chemical ecology of astigmatid mites LXXXII. β -Acaridial as a female sex pheromone of the mold mite *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae). Jpn J Environ Zool 16; 167–173, 2006
- Sawada, Y., N. Yoshinaga, K. Fujisaki, R. Nishida, Y. Kuwahara, N. Mori: Absolute configuration of volicitin from regurgitant of lepidopteran caterpillars and biological activity of volicitin-related compounds. Biosci Biotech Biochim (accepted)

b) 学会発表

- 第49回大会日本応用動物昆虫学会：2件
- 2005年度日本農芸化学会大会：6件
- 第14回日本ダニ学会大会：1件
- The 21th Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology：1件
- The 5th Asia-pacific Congress of Entomology：7件
- The 2nd International Symposium of Entomological Science COE：8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）
- 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（副会長）、「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、ニューギニア、米国）

森 直樹：鱗羽目昆虫由来エリシター-volicitin の生合成（米国）、鱗羽目昆虫幼虫の唾液が誘導する植物生理活性（ドイツ）

B. 教育活動（2005.4～2006.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

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：神戸大学農学部（JICA 植物保護総合防除講義）

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 1 名

大学院博士後期課程 4 名

大学院修士課程 5 名

専攻 4 回生 4 名

A. 研究活動（2005.4～2006.3）

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生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：生態環境と農家の環境．栽培システム学（稲村達也編）．p.66-78、朝倉書店、東京、2005

原著論文

Matoh, T. and K. Ochiai: Distribution and partitioning of newly taken-up boron in sunflower. Plant Soil 278; 351-360, 2005

Kawachi, T., S. Aoyama, M. Yangyuoru, K. Unami, T. Matoh, D. Acquah and S. Quarshie: An irrigation tank for harvesting rainwater in semi-arid savannah areas — design and construction practices in Ghana/West Africa — . J Rainwater Catchment Syst 11; 17-24, 2005

b) 学会発表

日本植物生理学会2005年度大会及び第42回シンポジウム：2件

日本土壌肥料学会2005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：日本土壌肥料学会（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：土壌肥料学会（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) 熱帯における食料輸出による土壌環境劣化の評価（代表）、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）

間藤 徹：第3回国際ホウ素シンポジウム、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（2005.4～2006.3）

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：京都府立大学（植物栄養学1、2）、島根大学（農業環境論）

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 8 名
 学部 4 回生 4 名

A. 研究活動（2005.4～2006.3）

A-1. 研究概要

a) 立体選択的カルボニル還元酵素のX線結晶構造解析

赤色酵母 *S. salmonicolor* は、NADPH を補酵素として ethyl 4-chloro-3-oxobutanoate から (S) 体アルコールを立体選択的に生成するカルボニル還元酵素を生産する。大腸菌を宿主とする大量発現系から本酵素を均一に精製して、酵素単独および酵素-NADPH 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。本酵素は NADPH 結合ドメインと基質結合ドメインからなり、short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) superfamily に属していた。NADPH 結合ドメインは SDR ファミリーの酵素と非常に良く類似していたが、基質結合ドメインの構造はユニークであった。基質分子結合のモデリングを行った結果、NADPH が酵素に結合することによって誘導される疎水性チャンネルの形成が、立体選択的還元反応に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

b) *Rhodococcus rhodochrous* J1 株の制限修飾系の解析

R. rhodochrous J1 株はアクリルアミドなどの工業的生産に用いられており、産業上非常に有用な細菌である。本菌株が持つ制限修飾系を探索した結果、新規な制限酵素 RrhJ1I を見出した。認識切断特異性および諸性質を解析した結果、GCCGGC を認識して平滑末端を生じること、活性発現に 50mM NaCl を要求するという特徴を有することを明らかにした。さらに、制限修飾酵素遺伝子をクローニングして配列解析を行った結果、両遺伝子は HNH- エンドヌクレアーゼと推定される ORF を挟んで、クラスターを形成していることが明らかになった。大腸菌を宿主として組換え体を構築した結果、両酵素活性の発現が確認できた。

c) 酵母グルタチオンペルオキシダーゼホモログ Gpx2 の解析

われわれは *Saccharomyces cerevisiae* が 3 つのグルタチオンペルオキシダーゼホモログ遺伝子 (*GPX1*、*GPX2*、*GPX3*) を持つことを明らかにしている。それらのうちで、*GPX2* 遺伝子産物 (Gpx2) は哺乳類のリン脂質ヒドロペルオキシドグルタチオンペルオキシダーゼと最も高い相同性を示す。酵母細胞内における Gpx2 の酸化還元状態を検証した結果、グルタチオン還元酵素欠損株中では酸化的ストレス条件下でも Gpx2 は還元状態を維持していたのに対し、チオレドキシシン欠損株 (*trx1Δ trx2Δ*) やチオレドキシシン還元酵素欠損株では酸化型となった。Gpx2 の 4 つの Cys 残基への部位特異的変異導入により、Cys³⁷ と Cys⁸³ 間で分子内ジスルフィド結合が形成されることを明らかにした。また、精製 Gpx2 を用いた *in vitro* での解析から、Gpx2 はチオレドキシシンを電子供与体とする atypical 2-Cys ペルオキシレドキシシンであることを明らかにした。

d) 冷凍解凍段階における酵母のストレス応答機構

近年、焼き立てのフレッシュなパン製品に対するニーズの高まりから、冷凍生地製パン法の利用が広がっている。冷凍生地製パン法の利用に際しては、冷凍保存による酵母の死滅や発酵力の低下が問題となるため、酵母の冷凍耐性の改良が求められている。酵母の冷凍耐性については、トレハロースやグリセロールをはじめとする細胞内 cryoprotectant の効果や、冷却時のストレス応答機構がこれまでに報告されている。一方、解凍段階において酵母細胞が示す応答反応についてほとんど報告がなく、冷凍耐性におよぼす影響もよくわかっていない。凍結状態からの回復過程である解凍プロセスは、酵母細胞にとって劇的な環境変化であり、当然何らかの応答反応が引き起こされていると予想される。そこで我々は、解凍直後の細胞について、各種ストレス応答性転写因子の挙動と、その標的遺伝子の発現量について検討をおこなった。その結果、解凍直後においても一部の転写因子の活性化とヒートショックプロテイン遺伝子の転写量の増加が確認され、細胞内でストレス応答が誘導されていると考えられた。解凍後の細胞において誘導されるこのようなストレス応答が酵母の冷凍耐性に及ぼす生理的意義について検討している。

A-2. 研究業績

a) 成果刊行

著書

喜多恵子：Ⅷ. 微生物の利用. 1. アルコール、アセトン、ブタノール、2. 有機酸. 応用微生物学 第2版 (清水 昌、堀之内末治 編). p.317-325、文永堂出版、東京、2006

総説

井沢真吾、竹村玲子、井上善晴：mRNA 核外輸送段階におけるストレス応答～清酒醸造過程における酵母の特異なエタノール応答～. 化学と生物 43(5) ; 278-280、2005

井沢真吾：酵母とエタノールストレス. 日本醸造協会誌 100(5) ; 305-309、2005

原著論文

Kamitori, S., A. Iguchi, A. Ohtaki, M. Yamada and K. Kita: X-ray structures of NADPH-dependent carbonyl reductase from *Sporobolomyces salmonicolor* provide insight into stereoselective reductions of carbonyl compounds. J Mol Biol 352(3); 551-558, 2005

Izawa, S., R. Takemura, Y. Miki and Y. Inoue: Characterization of the export of bulk poly (A)⁺ mRNA in *Saccharomyces cerevisiae* during wine-making process. Appl Environ Microbiol 71(4); 2179-2182, 2005

Izawa, S., R. Takemura, K. Ikeda, Y. Fukuda, Y. Wakai and Y. Inoue: Characterization of Rat8-localization and mRNA export in *Saccharomyces cerevisiae* during Japanese sake brewing. Appl Microbiol Biotechnol 69(1); 86-91, 2005

Takatsume, Y., S. Izawa and Y. Inoue: Unique regulation of glyoxalase I activity during osmotic stress response in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*: neither the mRNA nor protein level of glyoxalase I increases under conditions that enhance its activity. Arch Microbiol 183(3); 224-227, 2005

Maeta, K., K. Mori, Y. Takatsume, S. Izawa and Y. Inoue: Diagnosis of cell death induced by

- methylglyoxal, a metabolite derived from glycolysis, in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Microbiol Lett. 243(1); 87-92, 2005
- Takatsume, Y., K. Maeta, S. Izawa and Y. Inoue: Enrichment of yeast thioredoxin by green tea extract through activation of Yap1 transcription factor in *Saccharomyces cerevisiae*. J Agric Food Chem 53(2); 332-337, 2005
- Maeta, K., S. Izawa and Y. Inoue: Methylglyoxal, a metabolite derived from glycolysis, functions as a signal initiator of the high osmolarity glycerol-mitogen-activated protein kinase cascade and calcineurin/Crz1-mediated pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. J Biol Chem 280(1); 253-260, 2005
- Zuin, A., A. P. Vivancos, M. Sansó, Y. Takatsume, J. Ayté, Y. Inoue and E. Hidalgo: The glycolytic metabolite methylglyoxal activates Pap1 and Sty1 stress responses in *Schizosaccharomyces pombe*. J Biol Chem 280(44); 36708-36713, 2005
- Tanaka, T., S. Izawa and Y. Inoue: *GPX2*, encoding a phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase homologue, codes for an atypical 2-Cys peroxiredoxin in *Saccharomyces cerevisiae*. J Biol Chem 280(51); 42078-42087, 2005
- Bi, W., Y. Inai, N. Shiraishi, K. Maeta, Y. Takatsume, Y. Inoue and M. Nishikimi: Cytosolic proteins as principal copper buffer in an early response to copper by yeast cells. J Clin Biochem Nutr 36(1); 19-27, 2005

特 許

特願2006-057283 「RrhJII制限・修飾酵素及びその遺伝子」、発明者：喜多恵子、湯 不二夫、渡辺文昭、特許権者：喜多恵子、湯 不二夫、渡辺文昭、2006年3月3日出願

b) 学会発表

第78回日本生化学会大会：2件
 第27回日本分子生物学会：4件
 酵母遺伝学フォーラム第38回研究報告会：3件
 平成17年度日本生物工学会大会：1件
 2006年度日本農芸化学会大会：6件
 22th International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology：3件
 The 3rd Meeting of International Redox Network：2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

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）
 井上善晴：基盤研究(B) メタボリックシグナリング：解糖系代謝中間体によるシグナル伝達の意義とメカニズム（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（代表）

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13回日独酵素テクノロジーワークショップ ドイツ（発表）
井上善晴：第22回国際酵母遺伝学分子生物学会議 スロバキア（参加）
井沢真吾：第22回国際酵母遺伝学分子生物学会議 スロバキア（発表）
井上善晴：第3回国際レドックスネットワーク会議 京都（組織委員）

B. 教育活動（2005.4～2006.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用生命科学（喜多）、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）、応用微生物学Ⅳ（井上）
大学院：エネルギー変換細胞学専攻演習（喜多、井上、井沢）、エネルギー変換細胞学専攻実験（喜多、井上、井沢）

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	6 名	産学官連携研究員	2 名
大学院修士課程	20名	受託研究員	1 名
専攻 4 回生	4 名	研究生	2 名

A. 研究活動（2005.4～2006.3）

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: Screening for Unique Microbial Reactions Useful for Industrial Applications. Handbook of Industrial Biocatalysis, ed. by Ching T. Hou, pp.2-1~2-21, Taylor & Francis, Boca Raton, 2005

原著論文

Abe, T., E. Sakuradani, T. Asano, H. Kanamaru, Y. Ioka and S. Shimizu: Identification of mutation sites on $\Delta 6$ desaturase genes from *Mortierella alpina* 1S-4 mutants. Biosci Biotechnol Biochem 69 (5); 1021-1025, 2005

Abe, T., E. Sakuradani, T. Asano, H. Kanamaru and S. Shimizu: Functional characterization of $\Delta 9$ and $\omega 9$ desaturase genes in *Mortierella alpina* 1S-4 and its derivative mutants. Appl Microbiol Biotechnol 17; 1-9, 2005

Abe, T., E. Sakuradani, T. Ueda and S. Shimizu: Identification of mutation sites on $\Delta 5$ desaturase genes from *Mortierella alpina* 1S-4 mutants. J Biosci Bioeng 99 (3); 296-299, 2005

Honda, K., H. Tsuboi, T. Minetoki, H. Nose, K. Sakamoto, M. Kataoka and S. Shimizu: Expression of the *Fusarium oxysporum* lactonase gene in *Aspergillus oryzae* — molecular properties of the recombinant enzyme and its application — . Appl Microbiol Biotechnol 66 (5); 520-526, 2005

Kumura, N., M. Izumi, S. Nakajima, S. Shimizu, H.-S. Kim, Y. Wataya and N. Baba: Synthesis and biological activity of fatty acid derivatives of quinine. Biosci Biotechnol Biochem 69 (11); 2250-2253, 2005

Li, Q. S., J. Ogawa, R. D. Schmid and S. Shimizu: Indole hydroxylation by bacterial cytochrome P450 BM-3 and modulation of activity by cumene hydroperoxide. Biosci Biotechnol Biochem 69 (2); 293-300, 2005

Sakamoto, K., K. Honda, K. Wada, S. Kita, K. Tsuzaki, H. Nose, M. Kataoka and S. Shimizu: Practical resolution system for DL-pantoyl lactone using the lactonase from *Fusarium oxysporum*. J Biotechnol 118 (1); 99-106, 2005

Sakuradani, E., T. Abe, K. Iguchi and S. Shimizu: A novel fungal 3-desaturase with wide substrate specificity from arachidonic acid-producing *Mortierella alpina* 1S-4. Appl Microbiol Biotechnol 66 (6); 648-54, 2005

Sakuradani, E., S. Takeno, T. Abe and S. Shimizu: Chapter 2. Arachidonic acid-producing *Mortierella alpina*: creation of mutants and molecular breeding. Single Cell Oils, eds. by Z. Cohen, C. Ratledge, AOCS Press, Champaign, Illinois, pp. 21-35, 2005

Sulistyaningdyah, W. T., J. Ogawa, Q. -S. Li, C. Maeda, Y. Yano, R. D. Schmid and S. Shimizu: Hydroxylation activity of P450 BM-3 mutant F87V towards aromatic compounds and its application to the synthesis of hydroquinone derivatives from phenolic compounds. Appl Microbiol Biotechnol 67 (4); 556-562, 2005

Takeno, S., E. Sakuradani, A. Tomi, M. Inohara-Ochiai, H. Kawashima, T. Ashikari and S.

- Shimizu: Improvement of the fatty acid composition of an oil-producing filamentous fungus, *Mortierella alpina* 1S-4, through RNA Interference with 12-Desaturase Gene Expression. Appl Environ Microbiol 71 (9); 5124-5128, 2005
- Takeno, S., E. Sakuradani, S. Murata, M. Inohara-Ochiai, H. Kawashima, T. Ashikari and S. Shimizu: Molecular evidence that the rate-limiting step for the biosynthesis of arachidonic acid in *Mortierella alpina* is at the level of an elongase. Lipids 40 (1); 25-30, 2005
- Takeno, S., E. Sakuradani, A. Tomi, M. I.-Ochiai, H. Kawashima, S. Shimizu: Transformation of oil-producing fungus, *Mortierella alpina* 1S-4, using Zeocin, and application to arachidonic acid production. J Biosci Bioeng 100 (6); 617-622, 2005

総 説

- Ishige, T., K. Honda and S. Shimizu: Whole organism biocatalysis. Curr Opin Chem Biol 9 (2); 174-180, 2005
- Ogawa, J, S. Kishino, A. Ando, S. Sugimoto, K. Mihara and S. Shimizu: Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. J Biosci Bioeng 100 (4); 355-364, 2005
- 小川 順、櫻谷英治、清水 昌：特集 バイオテクニクス (Biotechnics and -mix) 研究部会の最前線研究 機能性脂質の微生物生産. 生物工学会誌、83 (7) ; 339-341、2005
- 清水 昌：総説「ビタミン・バイオフィクターの新展開：健康と食」セサミンとの遭遇. ビタミン、79 (1) ; 13-21、2005
- 竹野誠記、櫻谷英治、清水 昌：油脂をつくる微生物の探索と育種 —— 最近の進歩 —— . 学術月報、58 (10) ; 29-33、2005

報告書等

- 清水 昌：学生時代に垣間見たビタミンB研究委員会の印象. ビタミンB研究委員会第400回記念 B委員会のあゆみ、ビタミンB研究委員会、社団法人ビタミン協会、京都、61 ; 2005

b) 学会発表

- 日本農芸化学会2005年度大会：26件
- 酵素工学会第53回講演会：1件
- ビタミンB研究委員会第400回研究協議会：1件
- 日本農芸化学会平成17年度関西支部大会：1件
- 酵素工学会第54回講演会：2件
- 平成17年度日本生物工学会大会：9件
- ビタミンB研究委員会第402回研究協議会：1件
- 第31回日本応用酵素協会研究発表会：1件
- 第4回脂質工学会研究部会講演会：5件
- 第9回生体触媒化学シンポジウム：2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・関西支部支部長)、日本生物工学会 (評議員)、日本生化学会 (評議員)、日本ビタミン学会 (評議員)、酵素工学会 (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：酵素工学会（幹事）、日本農芸化学会（関西支部会計）、日本ビタミン学会（「ビタミン誌」トピックス委員）、日本生物工学会（IT駆動型微生物学研究部会幹事）
小川 順：日本生物工学会（脂質工学会研究部会幹事）
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 Single Cell Oil の新展開 機能性脂肪酸から構造脂質・機能性脂質へ（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）、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）、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 ユニークな機能性構造脂質の微生物生産プロセスの開発（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

清水 昌：第96回米国油化学会年会・アメリカ（招待講演）、BIOTRANS 2005シンポジウム・オランダ（招待講演）、工業及び環境バイオテクノロジーに関する日本-EU サミット・横浜（招待講演）、第13回日本ドイツ酵素工学ワークショップ・ドイツ（組織委員、招待講演）、第18回国際酵素工学会議・韓国（組織委員、招待講演）、生体触媒及びバイオテクノロジーに関する国際シンポジウム・台湾（招待講演）、BioThailand 2005・タイ（招待講演）
片岡道彦：BIOTRANS 2005シンポジウム・オランダ（研究発表）、第18回国際酵素工学会議・韓国（研究発表）、ビタミン・補酵素・バイオフィクターに関する国際合同会議・淡路島（研究発表）、工業バイオテクノロジーとバイオエネルギーに関する環太平洋サミット・アメリカ（招待講演）
小川 順：第96回米国油化学会年会・アメリカ（招待講演）、BIOTRANS 2005シンポジウム・オランダ（研究発表）、第13回日本ドイツ酵素工学ワークショップ・ドイツ（招待講演）、第18回国際酵素工学会議・韓国（研究発表）、生体触媒及びバイオテクノロジーに関する国際シンポジウム・台湾（招待講演）

櫻谷英治：第96回米国油化学会年会・アメリカ（研究発表）、第7回バイオテクノロジー北東アジアシンポジウム・韓国（招待講演）

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）

B. 教育活動（2005.4～2006.3）

B－1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用微生物学Ⅱ（清水・片岡・小川・櫻谷）、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）、バイオテクノロジー農学の新戦略（清水）

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

b) 公開セミナー開講

京都大学オープンキャンパス・キャンパスツアー（片岡・小川・櫻谷）、岡山県立一宮高等学校・ミニレクチャー研究室見学（片岡）、京都府立北稜高等学校・研究室見学（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）

片岡道彦：滋賀県立大学（微生物利用学）、マヒドン大学（第2回ユネスコバイオテクノロジー国際大学院研修講座）

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 1名（中国）、修士課程学生 1名（中国）

2.3.8 研究分野：制御発酵学

構 成 員：教 授 阪井 康能 (2005. 10. -)

助 手 由里本博也

大学院博士後期課程 6 名

大学院修士課程 11名

専攻 4 回生 4 名

研究生 1 名

A. 研究活動 (2005. 4～2006. 3)

A-1. 研究概要

a) 有用タンパク質生産のための分子細胞生物学

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) 細胞内酸化ストレス観察技術の開発

酸化ストレスとその原因物質は、生体分子に損傷を与え、癌化や老化その他様々な障害・疾患を引き起こすが、このような現象を深く理解するためには、酸化ストレス原因物質の細胞への影響や細胞内酸化ストレスの動態を、定量的かつ時空的にモニタリングすることが必要である。細胞内酸化ストレス(酸化還元ポテンシャル)を非侵襲的にリアルタイムで可視化できる蛍光分子プローブを開発し、酵母細胞や動物細胞をモデルにして細胞内での局所的な酸化ストレス動態のモニタリング技術の開発を行っている。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

阪井康能：異種タンパク質生産におけるタンパク質分解系とその回避への戦略．生物学ハンドブック（日本生物工学会編）．p.136-138、コロナ社、東京、2005

原著論文

- Ano, Y., T. Hattori, M. Oku, H. Mukaiyama, M. Baba, Y. Ohsumi, N. Kato and Y. Sakai: A sorting nexin PpAtg24 regulates vacuolar membrane dynamics during pexophagy via binding to phosphatidylinositol-3-phosphate. *Mol Biol Cell* 16; 446-457, 2005
- Orita, I., H. Yurimoto, R. Hirai, Y. Kawarabayasi, Y. Sakai and N. Kato: The archaeon *Pyrococcus horikoshii* possesses a bifunctional enzyme for formaldehyde fixation via the ribulose monophosphate pathway. *J Bacteriol* 187; 3636-3642, 2005
- Yurimoto, H., R. Hirai, N. Matsuno, H. Yasueda, N. Kato and Y. Sakai: HxlR, a member of the DUF24 protein family, is a DNA-binding protein that acts as a positive regulator of the formaldehyde-inducible *hxlAB* operon in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* 57; 511-519, 2005
- Limtong, S., N. Srisuk, W. Yongmanitchai, H. Yurimoto, T. Nakase and N. Kato: *Pichia thermomethanolica* sp. nov., a new thermotolerant methylotrophic yeast isolated in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol* 55; 2225-2229, 2005
- Shinoda, Y., J. Akagi, Y. Uchihashi, A. Hiraishi, H. Yukawa, H. Yurimoto, Y. Sakai and N. Kato: Anaerobic degradation of aromatic compounds by *Magnetospirillum* strains: isolation and degradation genes. *Biosci Biotechnol Biochem* 69; 1483-1491, 2005
- Ano, Y., T. Hattori, N. Kato and Y. Sakai: Intracellular ATP correlates with mode of pexophagy in *Pichia pastoris*. *Biosci Biotechnol Biochem* 69; 1527-1533, 2005
- Goenrich, M., R. K. Thauer, H. Yurimoto and N. Kato: Formaldehyde activating enzyme (Fae) and hexulose-6-phosphate synthase (Hps) in *Methanosarcina barkeri*: a possible function in ribose-5-phosphate biosynthesis. *Arch Microbiol* 184; 41-48, 2005
- Kajikawa, M., K. T. Yamato, H. Fukuzawa, Y. Sakai, H. Uchida and K. Ohyama: Cloning and characterization of a cDNA encoding beta-amyrin synthase from petroleum plant *Euphorbia tirucalli* L. *Phytochemistry* 66; 1759-1766, 2005
- Kotani, T., H. Yurimoto, N. Kato and Y. Sakai: Purification and characterization of three NAD⁺-dependent secondary alcohol dehydrogenases from propane-utilizing bacterium *Gordonia* sp. strain TY-5. *応用微生物学研究* 3; 135-148, 2005

総説

- Yurimoto, H., N. Kato and Y. Sakai: Assimilation, dissimilation, and detoxification of formaldehyde, a central metabolic intermediate of methylotrophic metabolism. *Chem Rec* 5; 367-375, 2005
- Dunn Jr., W. A., J. M. Cregg, J. A. K. W. Kiel, I. J. van der Klei, M. Oku, Y. Sakai, A. A. Sibirny, O. A. Stasyk and M. Veenhuis: Pexophagy: The Selective Autophagy of Peroxisomes. *Autophagy* 1; 75-83, 2005
- 阪井康能：未来型資源の利用を目指すC1微生物の理解．バイオサイエンスとインダストリ

ー 63(10) ; 643-645、2005

由里本博也、加藤暢夫、阪井康能：酵母、細菌、アーキアのC1化合物代謝. バイオサイエンスとインダストリー 63(12); 773-776、2005

報告書等

由里本博也：2005年度日本農芸化学会大会見聞記. バイオサイエンスとインダストリー 63(6); 398、2005

b) 学会発表

日本農芸化学会大会2006年度大会：13件

平成17年度日本生物工学会大会：2件

第28回日本分子生物学会年会：2件

第58回日本細胞生物学会大会：2件

第38回酵母遺伝学フォーラム：4件

日本 Archaea 研究会第18回講演会：1件

日本農芸化学会関西支部例会第442回講演会：2件

「タンパク質の一生」国際会議：2件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

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）、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）

由里本博也：日本生物工学会（バイオメディア委員）

科研費等受領状況

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合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、特定領域研究 ペルオキシソームタンパク質：その新生と分解の決定機構

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、野田産研研究助成 微生物におけるホルムアルデヒド対策の分子機構の解明とその利用

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

阪井康能：ゴードン会議「ストレス環境下のオートファジー」、米国（招待講演）

由里本博也：第7回北東アジアバイオテクノロジーシンポジウム、韓国（招待講演）

国際共同研究、海外学術調査等

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）

外国人研究者の受入れ

招へい外国人学者 2名（ドイツルール大学・教授、タイカセサート大学・助教授）

B. 教育活動 (2005.4～2006.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用微生物学 I (阪井)、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 (阪井)、制御発酵学専攻演習 (阪井)、制御発酵学専攻実験 (阪井)

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

阪井康能：(独)中小企業基盤整備機構 平成17年度京都地域プラットフォーム事業 産学連携プライベートセミナー「バイオパワーによる環境問題解決」(講演)、(独)科学技術振興機構「生物生産研究」俯瞰ワークショップ (講演)

B-3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

阪井康能：ドイツマールブルグ大学 (講演)、米国ワシントン大学 (講演)

C. その他

阪井康能：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 (～2005.9.)、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 加納 健司

助教授 角谷 忠昭

助 手 辻村 清也

学振特別研究員 P D 2 名

大学院修士課程 5 名

研究員 3 名

大学院博士後期課程 3 名

専攻 4 回生 4 名

外国人共同研究者 2 名

A. 研究活動 (2005. 4～2006. 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

キノン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

Tsujimura, S., S. Kojima, K. Kano, T. Ikeda, M. Sato, H. Sanada and H. Omura: Novel FAD-dependent Glucose Dehydrogenase for a Dioxygen-insensitive Glucose Biosensor. Biosci Biotechnol Biochem 70 (3); 654-659, 2006

- Fujieda, N., N. Tsuse, A. Satoh, T. Ikeda and K. Kano: Production of Completely Flavinylated Histamine Dehydrogenase, Unique Covalently Bound Flavin and Iron-sulfur Cluster Containing Enzyme, of *Nocardioides simplex* in *Escherichia coli* and its Properties. *Biosci Biotechnol Biochem* 69 (12); 2459-2462, 2005
- Ogata, H., S. Hirota, A. Nakahara, H. Komori, N. Shibata, T. Kato, K. Kano and Y. Higuchi: Activation Process of [NiFe] Hydrogenase Elucidated by High Resolution X-ray Analyses: Conversion of the Ready to Unready State. *Structure* 13 (11); 1635-1642, 2005
- Nanjo, S., K. Ishii, T. Ueki, S. Imabayashi, M. Watanabe and K. Kano: Electron Transfer Reactions of Glucose Oxidase at Au(111) Electrodes Modified with Phenothiazine Derivatives. *Anal Chem* 77 (13); 4142-4147, 2005
- Tsujimura, S., A. Kuriyama, N. Fujieda, K. Kano and T. Ikeda: Mediated Spectroelectrochemical Titration of Proteins for Redox Potential Measurements by a Separator-less One-compartment Bulk Electrolysis Method. *Anal Biochem* 337 (2); 325-331, 2005
- Tsujimura, S., K. Kano and T. Ikeda: Bilirubin Oxidase in Multiple Layer Catalyzes Four-electron Reduction of Dioxygen to Water Without Redox Mediators. *J Electroanal Chem* 576 (1); 113-125, 2005

総 説

- 辻村清也、加納健司：電池革新が拓く次世代電源事情．エス・ティー・エス；p.17-26、2006
- 辻村清也、加納健司、池田篤治：光合成呼吸電池の可能性．“エコバイオエネルギーの最前線”（植田充美、近藤昭彦編）、第7章エコ未来型電池ーバイオ電池．シーエムシー出版；316-324、2005
- 辻村清也、加納健司、池田篤治：バイオ電池の最新動向．“エコバイオエネルギーの最前線”（植田充美、近藤昭彦編）、第7章エコ未来型電池 — バイオ電池．シーエムシー出版；308-315、2005
- 辻村清也、加納健司、池田篤治：光合成呼吸電池の可能性．月刊エコインダストリー 10(4)；12-18、2005
- 辻村清也、加納健司、池田篤治：バイオ電池の最新動向 月刊エコインダストリー 10(4)；5-11、2005
- 大堺利行、加納健司：サイクリックボルタンメトリー(2) — 準可逆波、非可逆波．*Electrochemistry* 73(4)；310-313、2005
- 加納健司、大堺利行：サイクリックボルタンメトリー(1) — 可逆波．*Electrochemistry* 73(3)；220-224、2005
- 辻村清也、加納健司：生体物質の電気分析化学．*ぶんせき* 2005(5)；269-270
- 加納健司、市村彰男、谷口 功、相樂隆正、水谷文雄、青木幸一、山本雅博、前田耕治：第50回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会報告．*Rev Polarogr* 51(1)；48-52、2005

b) 学会発表

- 日本農芸化学会関西支部例会：1 件
- 日本農芸化学会2006年度大会：5 件

日本化学会第86春季年会：1件
第20回生体機能関連化学シンポジウム：2件
第9回生体触媒化学シンポジウム：2件
電気化学会第72回大会：3件
2005年電気化学秋季大会：3件
日本分析化学会第54年会：2件
第51回ポーラログラフ学会および電気分析化学討論会：3件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

加納健司：日本分析化学会（代議員、近畿支部幹事）、日本農芸化学会（評議員、関西支部評議員、2006年度大会実行委員）、電気化学会（評議員、関西支部常任幹事、中長期計画検討委員会委員、有機電気化学研究会幹事）、日本ポーラログラフ学会（会計理事・評議員、編集参与）、Journal of Biochemistry（編集参与）

辻村清也：日本ポーラログラフ学会（評議員）

科研費等受領状況

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）

加納健司：The 56th International Society of Electrochemistry, Busan, Korea, September（招待講演）、The 8th Asian Conference of Analytical Chemistry, Taipei, Taiwan, October（招待講演、研究発表）、The 2nd International Symposium of Environmental Biotechnologies on Bioremediation, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan, October（基調講演）、Analytical Biochemistry（編集参与）、Journal of Electroanalytical Chemistry（編集参与）

辻村清也：The 56th International Society of Electrochemistry, Busan, Korea, September（研究発表）

外国人研究者の受入れ

共同研究者：2名（台湾、中国）

B. 教育活動（2005.4～2006.3）

B-1. 学内活動

開講授業科目

学部：生物物理化学Ⅰ（加納）、生物物理化学Ⅱ（加納）、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（加納、角谷、辻村）、農学の新戦略（加納他）、応用生命科学入門（加納他）

大学院：生体機能物理化学（加納）、生体機能物理化学演習（加納、角谷、辻村）、生体機能物理化学専攻実験（加納、角谷、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）、神戸大学
大学院理学研究科（生物電気化学）、熊本大学工学部（基礎電気化学）

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 4 名 専攻 4 回生 4 名

A. 研究活動（2005.4～2006.3）

A-1. 研究概要

a) 動物および植物の嗅覚受容体の探索

野外では昆虫の生育密度が低く、草木によって視覚が遮られるので、同種のオスとメスが偶然出会う確率は極めて低い。そこで、昆虫のオスは同種のメスが放出する性フェロモンを手がかりとしてメスを探索し、交尾にいたる。異なる種間での雑種混合を避けるために性フェロモンは種特異的な化合物であり、それを受容する嗅覚受容体もその種の性フェロモンに特化していると推定される。性フェロモンとその受容体は種分化と密接に関係して多様化し、共に進化してきたと考えられるが、分子生物学的機構は全く不明である。これまでに性フェロモンは500以上の昆虫種について同定されているが、性フェロモン受容体の研究は遅れていた。2004年度にわれわれは、カイコガの性フェロモン（bombykol と bombykal）の受容体遺伝子を世界で始めてクローニングすることに成功した。今年度は、その受容体遺伝子のDNA塩基配列を利用して、分類学的に遠縁にあたる鱗翅目昆虫5種について性フェロモン受容体候補の遺伝子をクローニングすることに成功した。現在、それらの遺伝子をアフリカツメガエルの卵細胞で発現させて各昆虫種の性フェロモンにだけ特異的に応答するかどうか、電気生理学的に実証しているところである。

b) 代謝物質の網羅的化学分析法の開発

細胞内にある代謝物質を測定するメタボローム解析のために特化した化学分析法を開発している。エネルギー代謝系の代謝中間体物質の細胞内量の測定を中心におこなっている。枯草菌や大腸菌をさまざまな条件下で培養したり、酵素遺伝子の変異株についてメタボローム解析をおこなうことによって、ゲノム情報と環境との相互作用が代謝活動を介しておこなわれていることを実証している。これによって、これまでの代謝とは全く異なる生物学的意義を代謝に付与することができた。

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の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。シロイヌナズナとイネにおいて、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., M. Murai, N. Ichimaru, A. Kenmochi, T. Yoshida, A. Kubo, Y. Kimura, A. Moroda, H. Makabe, T. Nishioka and H. Miyoshi: Dynamic function of the alkyl spacer of acetogenins in their inhibitory action with mitochondrial complex I (NADH-ubiquinone oxidoreductase). *Biochemistry* 44; 14898-14906, 2005
- Adachi, K., H. Endo, T. Watanabe, T. Nishioka and T. Hirata: Hemocyanin in the exoskeleton of crustaceans: enzymatic properties and immunolocalization. *Pigment Cell Res* 18; 136-143, 2005
- Adachi, K., K. Wakamatsu, S. Ito, N. Miyamoto, T. Kokubo, T. Nishioka and T. Hirata: An oxygen transporter hemocyanin can act on the late pathway of melanin synthesis. *Pigment Cell Res* 19; 214-219, 2005
- Fujita, D., N. Ichimaru, M. Abe, M. Murai, T. Hamada, T. Nishioka and H. Miyoshi: Synthesis of non-THF analogs of acetogenin toward simplified mimics. *Tetrahedron Lett* 46; 5775-5779, 2005

- 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 delta.lac-acetogenins: a novel type of inhibitor of bovine heart mitochondrial complex I. *Biochemistry* 44; 816-825, 2005
- Ishii, N., T. Soga, T. Nishioka and M. Tomita: Metabolome analysis and metabolic simulation. *Metabolomics* 1; 29-37, 2005
- Kang, S., K. Kang, G. C. Chung, D. Choi, A. Ishihara, D. -S. Lee and K. Back: Functional analysis of the amine substrate specificity domain of pepper tyramine and serotonin *N*-hydroxycinnamoyltransferases. *Plant Physiol* 140; 704-715, 2006
- 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
- Makabe, H., M. Higuchi, H. Konno, M. Murai and H. Miyoshi: Synthesis of (4R, 15R, 16R, 21S)- and (4R, 15S, 16S, 21S)-rollicosin. *Tetrahedron Lett* 46; 4671-4675, 2005
- Matsumoto, Y., M. Murai, D. Fujita, K. Sakamoto, H. Miyoshi, M. Yoshida and T. Mogi: Mass spectrometric analysis of the ubiquinol-binding site in cytochrome bd from *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 281; 1905-1912, 2006
- Nomura T., A. Ishihara, R. C. Yanagita, T. R. Endo and H. Iwamura: Three gemones differentially contribute to the biosynthesis of benzoxazinones in hexaploid wheat. *Proc Natl Acad Sci USA* 102; 16490-16495, 2005
- Shiomi, K., H. Ui, H. Suzuki, H. Hatano, T. Nagamitsu, D. Takano, H. Miyadera, T. Yamashita, K. Kita, H. Miyoshi, A. Harder, H. Tomoda and S. Omura: A gamma-lactone form nafuredin, nafuredin-gamma, also inhibits helminth complex I. *J Antibiotics* 58; 50-55, 2005

総 説

- 櫻井健志、仲川喬雄、東原和成、西岡孝明：物質同定から半世紀 ついに見つけたカイコガ性フェロモン受容体遺伝子。絹王国日本が一番乗り。細胞工学 24 ; 150-151、2005
- 仲川喬雄、櫻井健志、西岡孝明、東原和成：昆虫における高感度・高選択性の性フェロモン受容機構の解明。実験医学 23 ; 1210-1212、2005
- Nishioka, T., K. Matsuda and Y. Fujita: Combined analysis of metabolome and transcriptome: catabolism in *Bacillus subtilis*, in “Metabolomics. The Frontier of Systems Biology” by Tomita, T. and Nishioka, T. (Eds), Springer-Verlag, Tokyo; pp. 127-140, 2005
- Nishioka, T.: Metabolomics and Medical Sciences, in “Metabolomics. The Frontier of Systems Biology” by T. Tomita and T. Nishioka (Eds), Springer-Verlag, Tokyo; pp. 233-243, 2005
- 仲川喬雄、櫻井健志、西岡孝明、東原和成：昆虫における性フェロモン受容のメカニズム。蛋白質・核酸・酵素 50 ; 1563-1570、2005
- 西岡孝明、曾我朋義：CE-MSを用いたメタボローム解析。臨床検査 49 ; 1015-1020、2005
- 西岡孝明、寺部 茂、曾我朋義、松田敬子、藤田泰太郎：メタボローム——ゲノム情報と環境の相互作用システム。蛋白質・核酸・酵素 50 ; 2198-2203、2005

書 籍

Tomita, M. and T. Nishioka (Eds), "Metabolomics. The Frontier of Systems Biology", Springer-Verlag, Tokyo; pp. 256, 2005

b) 学会発表

第25回キャピラリー電気泳動シンポジウム：1件（招待講演）

第28回日本分子生物学会年会：1件（ワークショップのオーガナイザー）

第47回日本植物生理学会年会：1件

第50回日本応用動物昆虫学会大会：1件

第78回日本蚕糸学会大会：1件（招待講演）

日本農芸化学会2005年度大会：7件（シンポジウムオーガナイザー：1件）

日本生化学会第77回大会：1件

日本農薬学会第30回記念大会：2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3回シンポジウム：2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4回シンポジウム：1件

A-3. 国内における学会活動等など

所属学会等（役割）

三芳秀人：日本農薬学会（評議員、学会誌常任編集委員）

科研費等受領状況

西岡孝明：特定領域研究（領域略称名「応用ゲノム」）公募研究、「枯草菌代謝制御ネットワークの物質生産系への有効活用」（公募研究班、分担）．特定領域研究（領域略称名「生命システム情報」）「メタボローム解析のための計測技術開発とそれを用いた代謝経路推定」（公募研究班、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）．NEDO「細胞モデリング技術の開発」（分担）．

三芳秀人：基盤研究(B) 機能性アセトゲニンの有機合成を基盤とする呼吸鎖酵素複合体-Iの研究（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）、科学研究費基盤研究(C) 病原菌の感染した植物における二次代謝産物の行方（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：27th Annual Meeting of the Association for Chemoreception Sciences,（研究発表）
62nd Annual Meeting of the Korean Society of Biochemistry and Molecular Biology（招待講演）．The First Annual Meeting of the Metabolomics Society（招待講演）

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徴解析（韓国）

B. 教育活動（2005.4～2006.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用生命科学入門Ⅰ（西岡）、生物有機化学Ⅱ（西岡、三芳）、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) 応用生命科学科長

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）

2.3.11 研究分野：応用構造生物学

構 成 員：助教授 相原 茂夫

助 手 高橋 延行

助 手 水谷 公彦

大学院修士課程 2 名

専攻 4 回生 3 名

A. 研究活動（2005.4～2006.3）

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

原著論文

Nomura K., N. Takahashi, M. Hirose, S. Nakamura and F. Yagi: Overall carbohydrate-binding properties of *Castanea crenata* agglutinin (CCA). Carbohydrate Research 340(12); 2004-2009, 2005

Takahashi N., M. Onda, K. Hayashi, M. Yamasaki, T. Mita, and M. Hirose: Thermostability of refolded ovalbumin and S-ovalbumin. Biosci Biotechnol Biochem 69(5); 922-931, 2005.

Takahashi N., K. Terakado, G. Nakamura, C. Soekmadji, T. Masuoka, M. Yamasaki and M. Hirose: Dynamic mechanism for the serpin loop insertion. J Mol Biol 348(2); 409-418, 2005.

Mizutani, K., B. Mikami, S. Aibara and M. Hirose: Structure of aluminium-bound ovotransferrin at 2.15 Angstroms resolution, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 61; 1636-1642, 2005.

b) 学会発表

日本農芸化学会2005年度大会（1件）

第78回日本生化学会大会（2件）

第22回宇宙利用シンポジウム（3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）

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）

相原茂夫：第2回回折構造生物国際会議2007年組織委員会（実行委員）

B. 教育活動（2005.4～2006.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：生物理化学実験（相原・高橋・水谷）

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

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

相原茂夫：武庫川女子大学生活環境学部食物栄養学科（生化学）

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（2005.4～2006.3）

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

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。そこで、X線結晶構造解析により基質結合部位を分子レベルで観察し、ジグリコシダーゼの二糖認識機構の解明を目指し、 β -プリメベロシダーゼを昆虫細胞発現系により大量発現した。基質アナログである β -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結果、単結晶を得ることに成功し、2.0 Å の分解能で構造解析することができた。本酵素とトウモロコシ由来 β -グルコシダーゼ (1E1F) の構造を比較すると活性残基とグルコース認識残基の構造は完全に一致したのに対し、アグリコン部を認識する残基の構造に違いが見られた。現在、 β -プリメベロシルアミジンとの共結晶化を進めている。

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。また、阻害剤の pH 依存性から、本阻害剤はグリコシダーゼの酸-塩基触媒残基と電荷的に相互作用していることが判明し、この性質を利用して、pH 変化によって酵素の吸着・脱着を制御できるグリコシダーゼの画期的なアフィニティークロマト吸着体として応用することに成功した。

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用いて、脱離基の電子的性質と酵素阻害活性の関係を詳細に調べたところ (Broensted plot)、大腸菌およびヒトの 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。また、リン酸ジエステル型の機構依存型 GGT 阻害剤を開発し、一連の誘導体を合成して阻害実験を行ったところ、ヒト GGT には明確な基質特異性があり、適当な官能基を適切な位置に導入したリン酸エステルがきわめて強い阻害活性を示す一方、大腸菌の GGT は明確な基質特異性を示さず、脱離基の電子的性質に依存して一様に阻害される事実を見だし、阻害剤の構造改変を通じて、ヒトおよび大腸菌の GGT の活性中心マッピングを行うことに成功した。

d) *Pseudomonas* 属由来リパーゼの進化分子工学

Pseudomonas 属由来のリパーゼについて、アミドを加水分解する活性を向上させる進化分子工学実験を行った。Error-prone PCR によりランダム変異を導入する方法と、CAST-P プログラムを用いて計算したリパーゼ活性中心において基質結合に関わるアミノ酸残基 22 残基を選んで saturation mutagenesis を行う方法を組み合わせることにより変異リパーゼのライブラリーを取得し、オレイン酸のナフチルアミドに対する加水分解活性の向上を指標にスクリーニングを行った。その結果、4 世代にわたるランダム変異により 5 カ所の変異を重ね、かつ、基質結合に関わる特定のアミノ酸残基の saturation mutagenesis を行うことにより、アミ

ド加水分解の分子活性が、野生型より20倍以上も向上した変異体を取得することに成功した。速度論的パラメーターを測定することによりアミド加水分解活性の向上がどのような要因によるのかを詳細に検討している。

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。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・代謝系には多数のシトクロム P450 酸素添加酵素 (P450) が関与している。これら P450 の酵素化学的解析の結果、これまで提唱されている経路とは異なる新規 BR 生合成経路を見出すことができた。また、植物の主要なステロールであるスチグマステロールはシトステロールの側鎖 C-22 位不飽和化により生合成されるが、この反応を触媒する酵素遺伝子は今まで不明であった。今回、C-22 不飽和化 P450 として CYP710A を同定することに成功した。

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 (β -glucoside of scopoletin) 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。これらの遺伝子の機能解析を進めた結果、scopoletin 生合成経路における、メチル化および酸化を触媒する酵素・遺伝子であることがわかった。また UGT71C1 (At2g29750) が scopoletin 配糖化酵素であると同定した。

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の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-dimethylocta-3,7-diene-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、非常に多くのストレス応答遺伝子が発現していることを明らかにした。

A-2. 研究業績

a) 成果刊行

原著論文

Ueno, K., H. Yoneyama, S. Saito, M. Mizutani, K. Sakata, N. Hirai and S. Todoroki: A Lead Compound for the Development of ABA 8'-hydroxylase Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 15; 5226-5229, 2005

- Kinoshita, T., J. -Y. Cho, M. Mizutani, B. Shimizu, H. -T. Tsai, Y. -L. Chen and K. Sakata: Gene Expression Profiling during the Fermentation Process of “Oriental Beauty”, Proc 2005 Inter Symp on Innovation in Tea Sci and Sustainable Development in Tea Industry, Nov. 11–15, Hangzhou China; p. 541–545, 2005
- Sakata, K., M. Mizutani, Y. -O. Ahn and B. Shimizu: Floral Aroma of Oolong Tea are Results of Stress-Responded Reactions in Tea Leaves during the Tea Proocessing, Proc 2005 Inter Symp on Innovation in Tea Sci and Sustainable Development in Tea Industry, Nov. 11–15, Hangzhou China; p. 607–617, 2005
- Cho, J. -Y., M. Mizutani, B. Shimizu, T. Kinoshita, M. Ogura, K. Tokoro, M. -L. Lin, K. Sakata: Chemical Profiling of Aroma and Charbohydrates during the Fermentaion Process of Formosa Oolong Tea “Oriental Beauty”. Proc 2005 Inter Symp on Innovation in Tea Sci and Sustainable Development in Tea Industry, Nov. 11–15, Hangzhou China; p. 928–932, 2005
- Nakanishi, T., T. Nakatsu, M. Matusoka, K. Sakata and H. Kato: Crystal Structures of pyruvate phosphate dikinase from maize revbale an alternative conformation in the swiveling-domain mortion, *Biochemistry* 44; 1136–1144, 2005
- Tsuruhami, K., S. Mori, K. Sakata, S. Amarume, S. Saruwatari, T. Murata and T. Usui: Efficient synthesis of beta-primeverosidase as aroma precursors by transglycosylation of beta-diglycosidase *Penicillium multicolor*. *J Carbohydr Chem* 24; 849–863, 2005
- Sawai, Y., J. -H. Moon, K. Sakata and N. Watanabe: Effects of structure on radical-scavenging abilities and antioxidative activities of tea polyphenols: NMR Analytical approach using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals. *J Agric Food Chem* 53(9); 3598–3604, 2005
- Kato, M., Y. Uno, J. Hiratake, K. Sakata: β -Glucopyranoimidazolines as intermediate analogue inhibitors of family 20 β -N-acetylglucosaminidases, *Bioorg Med Chem* 13; 1563–1571, 2005
- Ueno, K., Y. Araki, N. Hirai, S. Saito, M. Mizutani, K. Sakata and Y. Todoroki: Differences between the structural requirements for ABA 80-hydroxylase inhibition and for ABA activity, *Bioorg Med Cehm* 13(10); 3359–3370, 2005
- Shimizu, B., F. Saito, H. Miyagawa, K. Watanabe, T. Ueno, K. Sakata, K. Ogawa: Phytotoxic components produced by pathogenic *Fusarium* against morning glory. *Z Naturforsch* 60c; 862–866, 2005
- Kitahata, N., S. Saito, Y. Miyazawa, T. Umezawa, Y. Shimada, Y. K. Min, M. Mizutani, N. Hirai, K. Shinozaki, S. Yoshida and T. Asami: Chemical regulation of abscisic acid catabolism in plants by cytochrome P450 inhibitors, *Bioorg Med Chem.* 13, 4491–4498, 2005
- Fujita, K., F. Oura, N. Nagamine, T. Katayama, J. Hiratake, H. Kumaga, K. Sakata and K. Yamamoto: Identification and molecular cloning of a novel glycoside hydrolase family of core 1 type *O*-glycan-specific endo- α -N-acetylgalactosaminidase from *Bifidobacterium longum*. *J Biol Chem* 280; 37415–37422, 2005
- Tsuruhami, K., S. Mori, S. Amarume, S. Saruwatari, T. Murata, J. Hirakake, K. Sakata and T. Usui: Isolation and Characterization of a beta-Primeverosidase-Like Enzyme from *Penicillium multicolor*. *Biosci Biotechnol Biochem* 70; 691–698, 2006
- Kai, K., B. Shimizu, M. Mizutani, K. Watanabe and K. Sakata: Accumulation of coumarins in

Arabidopsis thaliana. Phytochemistry 67; 379–386, 2006

Sakamoto, T., Y. Morinaka, T. Ohnishi, H. Sunohara, S. Fujioka, M. Ueguchi-Tanaka, M. Mizutani, S. Takatsuto, S. Yoshida, H. Tanaka, H. Kitano and M. Matsuoka, Erect leaf caused by brassinosteroid deficiency increases biomass production and grain yield in rice, Nat Biotechnol 24; 105–109, 2006

Fujita, S., T. Ohnishi, B. Watanabe, T. Yokota, S. Takatsuto, S. Fujioka, S. Yoshida, K. Sakata and M. Mizutani: *Arabidopsis* CYP90B1 catalyzes the early C-22 hydroxylation of C₂₇, C₂₈, and C₂₉ sterols. Plant J 45; 765–774, 2006

Nakatsu, T., S. Ichiyama, J. Hiratake, A. Saldanha, N. Kobayashi, K. Sakata and H. Kato: Structural basis for spectral difference in luciferase bioluminescence. Nature 440; 372–376, 2006

総 説

坂田完三：たかがお茶、されどお茶：烏龍茶の香りに魅せられて。茶の世界 8 ; 11–14、2005

Hiratake, J.: Enzyme Inhibitors as Chemical Tools to Study Enzyme Catalysis: Rational Design, Synthesis, and Applications. The Chemical Record 5; 209–228, 2005

水谷正治、斎藤茂樹：シトクロム P450 阻害剤による植物の乾燥ストレス耐性の向上 — ジベレリン生合成阻害剤はアブシジン酸代謝阻害剤である？！ — . 化学と生物 43 ; 628–630、2005

水谷正治：シトクロム P450 の多様性と植物の化学進化、植物の生長調節 40(1) ; 67–82、2005

水谷正治、坂田完三：チャ葉のジグリコシダーゼによる香気生成と食品への応用、バイオサイエンスとインダストリー 64(3) ; 145–150、2006

木下朋美、坂田完三：東方美人茶の香りの秘密。香料 229 ; 113–120、2006

b) 学会発表

Anglo-German-Japanese Biochemistry Meeting : 1 件

日本応用糖質科学会2005年度大会 : 2 件

日本農芸化学会2005年度 関西・中四国・西日本支部合同大会 : 2 件

Enzyme Engineering XVIII : 1 件

第40回植物化学調節学会大会 : 4 件

2005 International Symposium on Innovation in Tea Science and Sustainable Development in Tea Industry : 3 件

34th Tocklai Conference — Strategies for Quality — : 1 件

第28回日本分子生物学会年会 : 1 件

2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies : 2 件

日本農芸化学会2006年度大会 : 14 件

第47回日本植物生理学会年会 : 6 件

第50回日本応用動物昆虫学会大会 : 1 件

理化学研究所 植物科学研究センターセミナー : 1 件

21世紀 COE「京都大学化学連携研究教育拠点」ケミカルバイオロジー・ミニシンポジ

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）

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）、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）

平竹 潤：基盤研究(B)(2) β -グリコシルアミジン誘導体をツールとす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）、萌芽研究 インドール酢酸（IAA）複合体の生合成・分解を化学的にノックアウトする（平竹代表・水谷分担）

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）

坂田完三：34th Tocklai Conference ― Strategies for Quality ―, Assam (India), Nov. 28-30, 2005（招待講演）

坂田完三：日韓基礎科学合同委員会専門委員会（5.23-24、2005）

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（2005.4～2006.3）

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：分子生体触媒化学専攻演習（平竹、坂田、水谷、清水）、分子生体触媒化学専攻実験（平竹、坂田、水谷、清水）

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海洋生物化学専攻（集中講義）

坂田完三：岐阜大学大学院農学研究科生物資源利用学専攻（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

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（2005. 6. 4 および 7.16）

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 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

A. 研究活動（2005. 4～2006. 3）

A－1. 研究概要

a) 低温菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 を宿主としたタンパク質生産系の構築

低温でタンパク質を生産するシステムは、熱安定性の低いタンパク質や、常温での酵素活性が宿主に毒性を示すタンパク質の生産に有用と考えられる。われわれは、南極海水から分離した低温菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 を宿主とした、新しいタンパク質生産系を構築した。アルキルヒドロペルオキシドレダクターゼ AhpC のホモログをコードする遺伝子上流領域が、*S. livingstonensis* Ac10 において強いプロモーター活性を示すことを見だし、このプロモーターを用いて、好冷菌 *Desulfotalea psychrophila* 由来の熱安定性の低いタンパク質を高生産することに成功した。

b) セレノシステインリアーゼの細胞における機能：セレンタンパク質生合成

セレノシステインリアーゼ（SCL）はL-セレノシステインに特異的に作用し、L-アラニンとセレンを生成するPLP依存性酵素である。HeLa細胞を用いたRNAi実験から、SCLはセレンタンパク質である細胞質グルタチオンペルオキシダーゼおよびチオレドキシンレダクターゼの生合成に関与することが明らかとなった。さらに、SCLレベルの低下は細胞生育障害を引き起こし、この障害はセレノメチオニン、セレノシステイン、亜セレン酸、FBSを培地に添加しても防ぐことはできなかった。これらの結果は、新たなセレンタンパク質生合成経路の存在を示唆している。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

原著論文

- Abe, K., I. Ebata, T. Kazuoka, H. Mihara, T. Kurihara and N. Esaki: Protein Interaction between Selenophosphate Synthetase and IscS. *Biomed Res Trace Elem* 16; 325-327, 2005
- Goto, M., H. Muramatsu, H. Mihara, T. Kurihara, N. Esaki, R. Omi, I. Miyahara and K. Hirotsu: Crystal Structures of $\bullet$ 1-Piperidine-2-carboxylate/ $\bullet$ 1-Pyrroline-2-carboxylate Reductase Belonging to a New Family of NAD(P)H-dependent Oxidoreductases. *J Biol Chem* 280; 40875-40884, 2005
- Kurata, A., T. Kurihara, H. Kamachi and N. Esaki: 2-Haloacrylate reductase: A novel enzyme of the medium-chain dehydrogenase/reductase superfamily that catalyzes the reduction of a carbon-carbon double bond of unsaturated organohalogen compounds. *J Biol Chem* 280; 20286-20291, 2005
- Kurokawa, S., H. Mihara, T. Kurihara and N. Esaki: Protein Interaction between Selenophosphate Synthetase and IscS. *Biomed Res Trace Elem* 16; 325-327, 2005
- 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, M. Goto, I. Miyahara, K. Hirotsu, T. Kurihara and N. Esaki: A New Family of NAD(P)H-Dependent Oxidoreductases Distinct from Conventional Rossmann-Fold Proteins. *J Biosci Bioeng* 99; 541-547, 2005
- Yamamoto, H., K. Mitsuhashi, N. Kimoto, Y. Kobayashi and N. Esaki: Robust NADH-regenerator: improved α -haloketone-resistant formate dehydrogenase. *Appl Microbiol Biotechnol* 67; 33-39, 2005
- Yoshimune, K., Andrey Galkin, Ljudmila Kulakova, T. Yoshimura and N. Esaki: Cold-active DnaK of an Antarctic psychrotroph *Shewanella* sp. Ac10 supporting the growth of *dnaK*-null mutant of *Escherichia coli* at cold temperatures. *Extremophiles* 9; 145-150, 2005
- Takakura, T., T. Ito, S. Yagi, Y. Notsu, T. Takakura, T. Nakamura, K. Inagaki, N. Esaki, R. M. Hoffman and A. Takimoto: High-level expression and bulk crystallization of recombinant L-methionine γ -lyase, an anticancer agent. *Appl Microbiol Biotechnol* 70; 183-192, 2006
- Yow, G. Y., T. Uo, T. Yoshimura and N. Esaki: Physiological role of D-amino acid-N-acetyltransferase of *Saccharomyces cerevisiae*: detoxification of D-amino acids. *Arch Microbiol* 185; 39-46, 2006

総説

栗原達夫：低温でタンパク質をつくる新技術. *化学と生物* 44 ; 4-6、2006

b) 学会発表

- 第57回日本ビタミン学会大会：1件
第16回日本微量元素学会：2件
日本生化学会大会第78回大会：14件
日本生物工学会2005年大会：1件

国際極限環境微生物学会：3件

Pacificchem2005：3件

日本農芸化学会2006年大会：6件

International Conference on Alpine and Polar Microbiology：3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、国際交流委員）、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）、日本生化学会（近畿支部評議員、幹事）

科研費等受領状況

江崎信芳：基盤研究(B)「哺乳動物における必須微量元素セレンの動態とセレンタンパク質合成の分子基盤」（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：基盤研究(B)「有機フッ素化合物の微生物酵素変換：精密反応機構解析と物質生産・環境浄化への応用」（代表）、基盤研究(B)「極地に棲息する新規低温菌の探索と有用酵素の開発」（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：国際極限環境微生物学会（講演）

江崎信芳：Pacificchem2005（講演）

江崎信芳：International Conference on Alpine and Polar Microbiology（講演）

栗原達夫：Pacificchem2005（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（2005.4～2006.3）

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）、分子微生物科学（江崎、栗原）

B－2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

江崎信芳：大阪府立大学理学部（生物科学科）、京都教育大学教育学部（応用生物化学）

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：1名（中国）

外国人研修員等：外国人共同研究者 2名（マレーシア、タイ）

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

大学院博士後期課程 3名

大学院修士課程 7名〈1〉 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（2005.4～2006.3）

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) ユビキノン代謝工学。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ン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

矢崎一史：植物の ABC 蛋白質. ABC 蛋白質 (植田和光 編). p. 45-78、学術出版センター、2005

Sudarmonowati, E. and T. Hayashi: Tree biotechnology in Indonesia, *In* Sustainable Development and utilization of tropical forest resources (ed. by Y. Imamura, T. Umezawa and T. Hata), pp. 113-122, Universe Printing, Kyoto, Japan, 2006

Hayashi, T.: Tissue culture and molecular breeding of tropical trees, *In* Sustainable Development and utilization of tropical forest resources (ed. by Y. Imamura, T. Umezawa and T. Hata), pp.

189-190, Universe Printing, Kyoto, Japan, 2006

Hayashi, T., T. Konishi, Y. Ohmiya and T. Nakai: Is cellulose synthesis enhanced by expression of sucrose synthase in poplar?, *In* Abiotic stress Tolerance in Plants (ed. by A.K. Rai and T. Takabe), pp. 187-193, Springer, Tokyo, Japan, 2006

原著論文

Otani, M., N. Shitan, K. Sakai, E. Martinoia, F. Sato and K. Yazaki: Characterization of vacuolar transport of the endogenous alkaloid berberine in *Coptis japonica*. *Plant Physiol* 138 (4); 1939-1946, 2005.

Sasaki, K., K. Ohara and K. Yazaki: Gene expression and characterization of isoprene synthase from *Populus alba*. *FEBS Lett* 579 (11); 2514-2518, 2005.

Shitan, N., F. Kiuchi, F. Sato, K. Yazaki, and K. Yoshimatsu: Establishment of *Rhizobium*-mediated transformation of *Coptis japonica* and molecular analyses of transgenic plants. *Plant Biotech* 22 (2); 113-118, 2005.

Terasaka, K., J. J. Blakeslee, B. Titapiwatanakun, W. A. Peer, A. Bandyopadhyay, S. N. Makam, O. R., E. L. Lee, A. S. Murphy, F. Sato and K. Yazaki: PGP4, an ATP-binding cassette P-glycoprotein, catalyzes auxin transport in *Arabidopsis thaliana* roots. *Plant Cell* 17 (11); 2922-2939, 2005.

Hayashi, T.: Callose Syndromes, <http://www.glycoforum.gr.jp/science/word/glycobiology/PS-A03E.html>, 2005

Sudarmonowati, E., S. Hartati, R. Hartati, Y. W. Park, T. Hayashi: Expression of cellulase gene in *Paraserianthes falcataria*, *In* Towards Ecology and Economy Harmonization of Tropical Forest Resources, ed. W. Dwianto, pp. 388-394, Bali, Indonesia, 2005

Hartati, S., Y. W. Park, E. Sudarmonowati, T. Hayashi: *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of *Acacia mangium* bearing xyloglucanase gene, *In* Towards Ecology and Economy Harmonization of Tropical Forest Resources, ed. W. Dwianto, pp. 395-399, Bali, Indonesia, 2005

総説

矢崎一史：植物の形態とABC蛋白質．化学と生物 43(5)；288-295、2005

Yazaki, K.: Transporters of secondary metabolites. *Curr Opin Plant Biol* 8 (3); 301-307, 2005.

林 隆久、馬場啓一：糖鎖分解酵素の過剰発現によるセルロースとキシログルカンの機能解明、植物生長調節 40；167-174、2005

Hayashi, T., K. Yoshida, Y. W. Park, T. Konishi and K. Baba: Cellulose metabolism in plants, *International Review of Cytology*, 247; 1-34, 2005

特許

「酵母カドミウムファクター1をコードする遺伝子(Ycf1)又はその改変遺伝子で形質転換された植物、及び、該植物を用いたカドミウム汚染土壌の浄化方法」、発明者：堀内健一、矢崎一史、特許権者：堀内健一、矢崎一史、平成17年1月28日出願

「植物を用いた有機物質汚染環境の浄化方法」、発明者：堀内健一、矢崎一史、廣岡孝志、特許権者：堀内健一、矢崎一史、廣岡孝志、平成17年3月23日出願

「ユーカリ・モノテルペン合成酵素遺伝子」、発明者：矢野伸一、矢崎一史、特許権者：矢

野伸一、矢崎一史、平成17年 8 月10日出願

「重金属耐性植物細胞又は植物、及び、その作成方法」、発明者：堀内健一、矢崎一史、土反伸和、特許権者：堀内健一、矢崎一史、土反伸和、平成17年 9 月27日出願

b) 学会発表

日本植物生理学会2004年度年会：11件

日本農芸化学会2004年度大会：5 件

第23回日本植物分子生物学会：9 件

第28回日本分子生物学会年会：1 件

日本植物学会2005年度大会：2 件

セルロース学会：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（評議員、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）、生体キノン研究会（幹事）

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）、農林水産省生物多様性影響評価検討会（委員）

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）、特定領域研究(2) **ABC**タンパク質を介したインドール系代謝産物の蓄積に関する液胞の機能分化（矢崎 代表）、株式会社ニッタ Phytoremediation に関する研究（受託研究）、H15年生存圏ミッション1 植物由来揮発性有機物質の生理的意義と大気化学へのインパクト（矢崎 代表）、H15年度生存圏ミッション1 植物由来揮発性有機物質の生理的意義と大気化学へのインパクト（矢崎代表）、H15年度生存圏萌芽ミッション マイクロ波照射による植物遺伝子の発現変動に関わる分子生物学的解析（矢崎 代表）

林 隆久：基盤研究(B) ポプラあて材形成におけるキシログルカンエンドトランスグルコシラーゼ反応の解析（林 代表）、(独)森林総合研究所（受託研究）バイオデザイン細胞壁関連酵素の分子機構（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）、H16年度生存圏萌芽ミッション 組換えポプラの網室における成長解析と安全評価試験（林 代表）

黒田宏之：基盤研究(B)(2) 抵抗性アカマツから材線虫病抵抗性遺伝子群を特定する（黒田代表）、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）

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：3rd Japanese-German Joint Symposium — New Deployment of Post Genome Research in Plant — Kanazawa（オーガナイザー）、17th International Symposium on Sustainable Humanosphere, Uji,（オーガナイザー）、Pacifichem 2005（平成17年12月、ホノルル 米国、招待講演）、6th International Wood Science Symposium（平成17年8月、バリ、インドネシア）、日独共同シンポジウム（平成17年9月、金沢、シンポジスト）、第17回国際生存圏シンポジウム（平成17年9月、宇治、シンポジスト）、ABC 2006（平成18年3月、インスブルック オーストリア、スピーカー）

林 隆久：第7回 Northeastern Asian Symposium（慶州、韓国、11月7日～10日、招待講演）

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）、可溶性グルカンの研究（スペイン、レオン大学）

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）

外国人大学院博士課程院生 1 名（スペイン）

B. 教育活動（2005.4～2006.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：ウッドバイオマス（林、畑、川井）

大学院：植物遺伝子統御学（矢崎）、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

学外学位審査

林 隆久：九州大学農学研究院森林資源科学部門 瀬山智子氏の学位審査（平成18年2月3日）

学外非常勤講師

矢崎一史：富山医科薬科大学 応用天然物化学（平成17年4月 大学院特論）、神戸薬科大学 薬化学（平成17年9月 大学院特論）、神戸薬科大学 天然物化学講義（学部）（平成17年12月7日）

林 隆久：名古屋大学大学院農学研究科 樹木細胞壁工学（平成17年12月12～13日）九州大学農学研究院森林資源科学部門 特別講義（平成17年6月15日）

公開講座等

矢崎一史：日本薬学会北陸支部講演（平成17年4月26日、富山、招待講演）、名古屋大学生物機能開発利用研究センター 特別セミナー（平成17年8月、名古屋）、神戸薬科大学 研究セミナー（平成17年9月、神戸、講師）、タカラバイオ株式会社 招待講演（平成17年、10月、講師）、天然薬物の応用と開発シンポジウム（平成17年、11月、東京）、萌芽ミッションシンポジウム（平成18年3月、宇治、講師）

林 隆久：第2回生存圏研究所公開講座（平成17年10月22日、宇治、招待講演）、植物研究者ネットワークシンポジウム「樹木の形質転換」、（平成17年10月14日、東京、招待講演）

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、VTT バイオテクノロジー（2005年5月、エスポー、フィンランド）、特別講演、VTT バイオテクノロジー癌研究センター（2005年6月、トゥルク、フィンランド）、特別セミナー、ヘルシンキ大学（2005年6月、ヘルシンキ、フィンランド）、特別セミナー、ゲント大学（2005年6月、ゲント、ベルギー）、特別セミナー、ライプニッツ研究所（2006年3月、ハレ、ドイツ）、特別セミナー、カダラッシュ研究所（2006年3月、カダラッシュ、フランス）

林 隆久：特別講演、ヘブライ大学（2006年3月、レホバ、イスラエル）

黒田宏之：特別講義、LIPI インドネシア科学院（2006年3月、セルポン、インドネシア）

2.3.15 研究分野：木質制御生化学

構成員：教授 梅澤 俊明

助手 服部 武文

大学院博士後期課程

2名

大学院修士課程 6名

A. 研究活動（2005.4～2006.3）

A-1. 研究概要

a) 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。

b) 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。

c) 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。

d) 資源循環型社会に適合する木質を産生する樹木の分子育種に関する研究

人類が生存を続けるには、森林環境保全を前提とした持続的木質生産利用システムの構築が緊急の課題である。当研究室では、森林植物の代謝機能解析を行い、そこで得られる知見をもとに、耐久性を高め、防腐処理が不要となる樹木や、有用工業原料の生産を増強した樹木の分子育種を行っている。

e) 木材腐朽菌外生菌根菌の有機酸代謝統御機構の解明

森林における白色、褐色腐朽菌を含む木材腐朽菌による倒木の分解は、腐植生成の初発段階であり、持続的な森林生態系の維持に重要な役割を果たしている。一方、樹木共生菌である外生菌根菌は土壌中のリンを宿主樹木に供給し、リン欠乏を防止することにより樹木の生育に必須の働きをしている。両菌から分泌されるシュウ酸はこれらの森林担子菌の作用において、必要不可欠かつ様々な役割を果たしている。本研究では、木材腐朽菌、外生菌根菌のシュウ酸代謝を含む有機酸代謝の統御機構を網羅的に解明し、これら担子菌類の森林における役割を分子レベルで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

著書

梅澤俊明：木材成分リグナンが生命の起源を解く！. 木のびつくり話100. p.64-65、講談社、2005

原著論文

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

Li, L., X. Cheng, S. Lu, T. Nakatsubo, T. Umezawa and V.L. Chiang: Clarification of cinnamoyl Co-enzyme A reductase catalysis in monolignol biosynthesis of aspen. *Plant Cell Physiology* 46; 1073-1082, 2005

Tokimatsu, T., N. Sakurai, H. Suzuki, H. Ohta, K. Nishitani, T. Koyama, T. Umezawa, N. Misawa, K. Saito and D. Shibata: Kappa-View: A web-based analysis tool for integration of transcript and metabolite data on plant metabolic pathway maps. *Plant Physiology* 138; 1289-1300, 2005

Watanabe, T., T. Hattori, S. Tengku and M. Shimada: Purification and characterization of NAD-dependent formate dehydrogenase from the white-rot fungus *Ceriporiopsis subvermispora* and a possible role of the enzyme in oxalate metabolism. *Enzyme and Microbial Technology* 37; 68-75, 2005

Kawasaki, T., H. Koita, T. Nakatsubo, K. Hasegawa, K. Wakabayashi, H. Takahashi, K. Umemura, T. Umezawa and K. Shimamoto: Cinnamoyl-CoA reductase, a key enzyme in lignin biosynthesis, is a novel effector of small GTPase Rac in defense signaling in rice. *Proc. Acad. Natl. Sci. USA* 103; 230-235, 2006

総説

梅澤俊明：リグナン、リグニンおよびノルリグナンの生合成. *化学と生物* ; 461-467、2005

Imamura, Y. and T. Umezawa: Sustainable Development and Utilization of Tropical Forest Resources — Outline of JSPS-LIPI Core University Program in the Field of Wood Science —. *Sustainable Development and Utilization of Tropical Forest Resources* (edited by Y. Imamura, T. Umezawa and T. Hata), pp. 1-9, RISH, Kyoto University, Japan, 2006

Umezawa, T.: Biotechnology of Tropical Fast-growing Trees. *Sustainable Development and Utilization of Tropical Forest Resources* (edited by Y. Imamura, T. Umezawa and T. Hata), pp. 108-112, RISH, Kyoto University, Japan, 2006

Munir, E., T. Hattori and M. Shimada: Role of oxalate biosynthesis in growth of copper tolerant wood-rotting and pathogenic fungi. *Sustainable Development and Utilization of Tropical Forest Resources* (edited by Y. Imamura, T. Umezawa and T. Hata), pp. 108-112, RISH, Kyoto University, Japan, 2006

b) 学会発表

第55回日本木材学会大会（京都）：5件

第23回日本植物細胞分子生物学会（京都）：3件

第50回リグニン討論会（名古屋）：1件
日米合同菌学会大会2005（ハワイ）：1件
IUFRO tree Biotechnology 2005（南アフリカ）：3件
International Symposium on Wood Science and Technology 2005（横浜）：4件
8th Annual Meeting of Indonesian Wood Research Society（インドネシア）：1件
6th International Wood Science Symposium（インドネシア）：5件
International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005（ハワイ）：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

梅澤俊明：国際木材科学アカデミー（フェロー）、日本木材学会（将来構想検討委員会委員、日本木材学会賞・奨励賞選考委員会委員、抽出成分と木材利用研究会幹事）
服部武文：日米菌学会大会（会計幹事）

科研費等受領状況

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：(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」、ホクト生物科学振興財団研究奨励金「木材腐朽菌オオウズラタケのシュウ酸輸送体の特定とその機能解析」

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：第20回生存圏シンポジウム東南アジアにおける生存科学に関する国際共同研究の構築——熱帯人工林の環境貢献とその持続的生産・利用を目指して——（オーガナイザ、特別講演）、6th International Wood Science Symposium（オーガナイザ）

国際共同研究、海外学術調査等

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：アカシアマンギウムの子種に関する調査（ペルサハーンコシナール、マレーシア）
梅澤俊明：アカシアマンギウムの子種に関する調査（ムシフタンペルサダ、インドネシア）
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）
服部武文：生物肥料効果が期待される難水溶性リン酸塩の可溶化能力が高い菌類の選抜（北スマトラ大学、インドネシア）
服部武文：アカシアマンギウムの子腐菌に関する調査（ムシフタンペルサダ、インドネシア）

ア)

外国人研究者の受入れ

外国人共同研究者 3名 (The University of North Sumatra, Lecturer, Research and Development Unit for Biomaterial, LIPI)

B. 教育活動 (2005. 4～2006. 3)

B－1. 学内活動

a) 開講授業科目

大学院：森林代謝機能化学（梅澤）、森林代謝機能化学専攻実験（梅澤、服部）、森林代謝機能化学専攻演習（梅澤、服部）

学部：きのこ学入門ゼミナール（服部）

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 5名 博士研究員 2名

大学院修士課程 11名

A. 研究活動 (2005. 4～2006. 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
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・発酵前処理等に応用する。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

渡辺隆司：選択的白色腐朽菌による木質バイオマスの糖化・発酵前処理．エコバイオエネルギーの最前線 ― ゼロエミッション型社会を目指して ― ．シーエムシー出版、68-78、2005

原著論文

Amirta R., T. Tanabe, T. Watanabe, Y. Honda, M. Kuwahara and T. Watanabe: Methane fermentation of Japanese cedar wood pretreated with a white rot fungus, *Ceriporiopsis subvermispota*. J Biotechnol 123; 71-77, 2005

Rahmawati, N., Y. Ohashi, T. Watanabe, Y. Honda and T. Watanabe: Ceriporic acid B, an extracellular metabolite of *Ceriporiopsis subvermispota* suppresses the depolymerization of cellulose by the Fenton reaction. Biomacromolecules 6; 2851-2856, 2005

Rahmawati, N., Y. Ohashi, Y. Honda, M. Kuwahara, K. Fackler, K. Messner and T. Watanabe: Pulp bleaching by hydrogen peroxide activated with copper 2,2'-dipyridylamine and 4-aminopyridine complexes. Chem Eng J 112; 167-171, 2005

Punnapayak H., M. Kuhirun and T. Watanabe: Liquid-state prebleaching of paper pulp with white rot fungi, J Natl Res Council Thailand 37; 25-35, 2005

Kohzu, A., T. Miyajima, T. Tateishi, T. Watanabe, M. Takahashi and E. Wada: Dynamics of ^{13}C natural abundance in wood decomposing fungi and their ecophysiological implications. Soil Biol Biochem 37; 1598-1607, 2005

特許

公開

特許公開2005-232347号「リグニン分解酵素によって分解処理された酵素分解ゴムを含有するゴム組成物およびその製造方法、ならびにこれを用いた空気入りタイヤ」、発明者：八木則子、村岡清繁、岸本浩通、渡辺隆司、佐藤 伸、住友ゴム工業株式会社、公開日：2005年9月2日

特許公開2005-312406号「白色腐朽菌を利用した針葉樹材を原料とする発酵飼料及びその製造方法」、発明者：渡辺隆司、佐々木義之、岡野寛治、公開日：2005年11月10日

特許公開2005-160330号「微生物等による難分解物質分解能力の評価方法と応用」発明者：白井伸明、岡田俊樹、松本 正、渡辺隆司、滋賀県、京都大学、公開日：2005年6月23日

b) 学会発表

日本農芸化学会2006年度大会：9件

平成17年度日本生物工学会大会：3件

平成17年度日本エネルギー学会大会：2件

日本きのこ学会第9回大会：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

渡辺隆司：日本農芸化学会（支部評議員）、日本きのこ学会（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）、日本菌学会（幹事）

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、活性酸素ヒドロキシラジカル産生抑制鉄キレーターを利用した木材防腐剤の開発（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）、基盤研究(B)(1)、木質バイオマスの生成・分解・機能に対する計算化学解析（分担）（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）「バイオマスエネルギー高効率転換技術開発/バイオマスエネルギー先導技術研究開発」選択的白色腐朽菌——マイクロ波ソルボリシスによる木材酵素糖化前処理法の研究開発（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（代表）

本田与一：基盤研究(A)、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)、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)、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）、（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）「バイオマスエネルギー高効率転換技術開発/バイオマスエネルギー先導技術研究開発」選択的白色腐朽菌——マイクロ波ソルボリシスによる木材酵素糖化前処理法の研究開発（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」、タンパク質複合体機能を利用した革新的セルロース糖化法によるCO₂固定化有効利用のための基盤技術開発（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）、基盤研究(B)、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）、（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）「バイオマスエネルギー高効率転換技術開発/バイオマスエネルギー先導技術研究開発」選択的白色腐朽菌——マイクロ波ソルボリシスによる木材酵素糖化前処理法の研究開発（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（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：International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2005)、ホノルル（招待講演）、NEDO White Bio Workshop、川崎（招待講演）、The 6th International Symposium, The 21st Century COE program, Nagaoka Univ. of Technol., “Global Renaissance by Green Energy Revolution”、長岡（招待講演）6th International Wood Science Symposium (IWSS)、バリ、（研究発表）International Symposium on Wood Science and Technology (IAWPS2005)、横浜、（研究発表）

本田与一：The Mycological Society of America/The Mycological Society of Japan Joint Meeting 2005 (Presentation)、ヒロ（研究発表）

渡邊崇人：6th International Wood Science Symposium (IWSS)、バリ（研究発表）、International Symposium on Wood Science and Technology (IAWPS2005)、横浜（研究発表）

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）

渡邊崇人：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 4名

B. 教育活動（2005.4～2006.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

全学共通科目：きのこ学入門ゼミナール（本田、渡邊）

大学院：木質バイオマス変換化学専攻演習（渡辺、本田、渡邊）、木質バイオマス変換化学専攻実験（渡辺、本田、渡邊）

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

渡辺隆司：京都大学森林科学公開講座、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ー宇宙太陽発電とバイオマス変換、ST/GSC ロードマップ討論会、第11回バイオ産業研究会

B－3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

渡辺隆司：NOVOZYMES、Davis（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 1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）「プログラム方式二酸化炭素固定化・有効利用技術開発」研究推進委員会委員