

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年に設置された。その後2001年の組織改編によって食品生物科学専攻が分かれ、現在では大学院農学研究科の11研究分野に、2附置研究所の5分野（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研究分野で構成されている。

本専攻は、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、細胞生理学などの手法を用いて、生物の機能や生命現象を分子や細胞のレベルで解明することを目的にしようとする基礎研究に取り組んでいる。さらにその成果を、農業生産、有用物質生産、環境保全などにかかわる新しいバイオテクノロジーの開発に結びつけていくための教育と先導的な研究を行っている。

なお、生物機能化学講座生物機能制御化学分野担当の西岡孝明教授は2008年3月をもって停年退職した。

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		
准教授	木岡 紀幸		
助教	松尾 道憲		
助教	木村 泰久		
博士研究員	小段 篤史		
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	13名		
専攻4回生	5名		

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

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。我々はこれらの生体異物排出ポンプの3次元構造を明らかにすることによって、基質認識機構、輸送機構を解明することを目指して研究を行なっている。

c) 血糖調節に関する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タンパク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:トランスポーター研究に基づく医薬品開発. 創薬研究の最前線 (藤原研司他編). p.41-57、自然科学社、東京、2007

原著論文

Sano, O., A. Kobayashi, K. Nagao, K. Kumagai, N. Kioka, K. Hanada, K. Ueda and M. Matsuo. Sphingomyelin-dependence of cholesterol efflux mediated by ABCG1. J Lipid Res 48(11);

2377-2384, 2007

- Tachibana, S., M. Hirano, T. Hirata, M. Matsuo, I. Ikeda, K. Ueda and R. Sato. Cholesterol and Plant Sterol Efflux from Cultured Intestinal Epithelial Cells Is Mediated by ATP-Binding Cassette Transporters. *Biosci Biotechnol Biochem* 71(8); 1886-1895, 2007
- Morita, S.-y., A. Kobayashi, Y. Takanezawa, N. Kioka, T. Handa, H. Arai, M. Matsuo and K. Ueda. Bile Salt-Dependent Efflux of Cellular Phospholipids Mediated by ATP Binding Cassette Protein B4. *Hepatology* 46; 188-199, 2007
- Nagao, K., K. Takahashi, K. Hanada, N. Kioka, M. Matsuo and K. Ueda. Enhanced apoA-I-dependent cholesterol efflux by ABCA1 from sphingomyelin-deficient CHO cells. *J Biol Chem* 282; 14868-14874, 2007
- Mitsushima, M., K. Ueda and N. Kioka. Involvement of phosphatases in the anchorage-dependent regulation of ERK2 activation. *Exp Cell Res* 313; 1830-1838, 2007
- Kimura, Y., N. Kioka, H. Kato, M. Matsuo and K. Ueda. Modulation of drug-stimulated ATPase activity of human MDR1/P-glycoprotein by cholesterol. *Biochem J* 401; 597-605, 2007
- Momma, K., Y. Masuzawa, N. Nakai, M. Chujo, A. Murakami, N. Kioka, Y. Kiyama, T. Akita and M. Nagao. Direct interaction of Cucurbitacin E isolated from *Alsomitra macrocarpa* to actin filament. *Cytotechnology* 56; 33-39, 2008

総 説

- Kimura, Y., A. Kodan, M. Matsuo and K. Ueda. Cholesterol fill-in model mechanism for substrate recognition by ABC proteins. *J Bioenerg Biomembr* 39(5-6); 447-452, 2007
- Kimura, Y., S.-y. Morita, M. Matsuo and K. Ueda. Mechanism of multi-drug recognition by MDR1/ABCB1. *Cancer Sci* 98; 1303-1310, 2007
- 木村泰久、松尾道憲、植田和光：脂質恒常性に関与するABCタンパク質の基質認識機構。
最新医学 62(11);2461-2466、2007
- 木岡紀幸：ビンキュリン活性化を取り巻くタンパク質間相互作用。 *生体の科学* 58;430-431、
2007
- 松尾道憲、植田和光：コレステロールホメオスタシスにおけるABCA1とABCG1の機能。
Membrane 32 ; 240-246、2007

b) 学会発表

- 第 2 回 FEBS Special Meeting "ATP-Binding Cassette (ABC) Proteins: From Multidrug Resistance Genetic Diseases" : 招待講演 1 件、発表 6 件
- 2007 FASEB Summer Research Conferences : 招待講演
- 日本分子生物・日本生化学学会合同大会 : シンポジウム 1 件、発表 9 件
- 第 8 回創薬ビジョンシンポジウム : 招待講演
- 日本生物工学会シンポジウム : 招待講演
- 2008年度日本農芸化学会大会 : シンポジウム、発表 6 件
- 日本薬学会第128年会 : シンポジウム 1 件、発表 2 件
- 第65回日本癌学会 : 発表 1 件
- 第47回アメリカ細胞生物学会 年会 : 発表 2 件
- 日本膜学会第29回年会シンポジウム : 招待講演

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関与する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：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ピ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関与するABCタンパク質の機能解析

木村泰久：若手研究(B) 電子線単粒子解析によるスルフォニル尿素剤受容体の制御機構解明

木村泰久：経済産業省 健康安心プログラム 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発 ATP感受性カリウムチャネル制御機構解明に向けた基盤技術開発

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

植田和光：2nd FEBS Special Meeting on ABC Proteins（副組織委員長、招待講演）

植田和光：2007 FASEB Summer Research Conferences（招待講演）

木岡紀幸：第47回アメリカ細胞生物学会年会（発表）

松尾道憲：2nd FEBS Special Meeting on ABC Proteins（一般講演）

所属学会等（役割）

植田和光：米国がん学会会員

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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、木村）、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）

C. その他

松尾道憲：日本農芸化学会「2008年度農芸化学奨励賞」

2.3.2 研究分野：生体高分子化学

構成員：教授 植田 充美

助教 村井（加藤）倫子

助教 黒田 浩一

大学院博士後期課程 6名

受託研究員 1名

大学院修士課程 15名

研究生 1名

専攻4回生 5名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

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おり成り立っている。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（編集）：ナノバイオ辞典、テクノシステム、2007

植田充美（監修）：抗体医薬の最前線、シーエムシー出版、2007

原著論文

Fukuda, H., J. Mima, M. Nagayama, M. Kato and M. Ueda : Biochemical analysis of the yeast proteinase inhibitor (I^c) homolog I^c and its comparison with I^c. *Biosci Biotechnol Biochem* 71(2); 472-480, 2007

Kato, M., J. Fuchimoto, T. Tanino, A. Kondo, H. Fukuda and M. Ueda: Preparation of a whole-cell biocatalyst of mutated *Candida antarctica* lipase B (mCALB) by a yeast molecular display system and its practical properties. *Appl Microbiol Biotechnol* 75(3); 549-555, 2007

Shibasaki, S., A. Kawabata, J. Ishii, S. Yagi, T. Kadonosono, M. Kato, N. Fukuda, A. Kondo and M. Ueda: Construction of a novel synergistic system for production and recovery of secreted recombinant proteins by the cell surface engineering. *Appl Microbiol Biotechnol* 75(4); 821-828, 2007

Seong, T. K., Y. Katakura, K. Ninomiya, C. Moukamnerd, A. Kondo, M. Ueda and S. Shioya: Enhancement of ethanol production by promoting surface contact between starch granules and arming yeast in direct ethanol fermentation. *J Biosci Bioeng* 103(1); 95-97, 2007

Kadonosono, T., M. Kato and M. Ueda: Substrate specificity of rat brain neurolysin disclosed by molecular display system and putative substrates in rat tissues. *Appl Microbiol Biotechnol* 75(6); 1353-1360, 2007

Kadonosono, T., M. Kato and M. Ueda: Metallopeptidase, neurolysin, as a novel molecular tool for analysis of properties of cancer-producing matrix metalloproteinases-2 and-9. *Appl Microbiol Biotechnol* 75(6); 1285-1291, 2007

Fukuda, N., J. Ishii, S. Shibasaki, M. Ueda, H. Fukuda and A. Kondo: High-efficiency recovery of target cells using improved yeast display system for detection of protein-protein interactions. *Appl Microbiol Biotechnol* 76(1); 151-158, 2007

Sakakura, M., S. Kajiyama, M. Tsutsumi, J. Si, E. Fukusaki, Y. Tamaru, S. Akiyama, K. Miura, K. Hirao and M. Ueda: Femtosecond pulsed laser as a micro-scalpel for microdissection and isolation of specific sections from biological samples. *J J Appl Physics* 46(9A); 5859-5864, 2007

Fukuda, T., M. Kato-Murai, S. Suye and M. Ueda: Development of high-throughput screening system by single cell reaction using microchamber array chip. *J Biosci Bioeng* 104(3); 241-243, 2007

Fukuda, T., M. Kato-Murai, T. Kadonosono, H. Sahara, Y. Hata, S. Suye and M. Ueda: Enhancement of substrate recognition ability by combinatorial mutation of beta-glucosidase displayed on the yeast cell surface. *Appl Microbiol Biotechnol* 76(5); 1027-1033, 2007

Fukuda, T., D. Isogawa, M Takagi, M. Kato-Murai, H. Kimoto, H. Kusaoke, M. Ueda and S. Suye: Yeast cell surface expression of chitosanase from *Paenibacillus fukuinensis*. *Biosci*

Biotechnol Biochem 71(11); 2845-2847, 2007

Okochi, N., M. Kato-Murai, T. Kadonosono and M. Ueda : Design of a serine protease-like catalytic triad on an antibody light chain displayed on the yeast cell surface. Appl Microbiol Biotechnol 77(3); 597-603, 2007

総 説

湯元昇、植田充美：ナノバイオロジー&ナノバイオテクノロジー概論。ナノバイオ辞典、テクノシステム、3-9, 2007

植田充美：コンビナトリアル・バイオエンジニアリング。ナノバイオ辞典、テクノシステム、189-191, 2007

白神清三郎、植田充美：コンビナトリアル変異。ナノバイオ辞典、テクノシステム、192-193, 2007

森坂裕信、植田充美：ナノフローLC/MS。ナノバイオ辞典、テクノシステム、382-383, 2007

植田充美：SAP。ナノバイオ辞典、テクノシステム、213, 2007

植田充美：ベクター。ナノバイオ辞典、テクノシステム、512, 2007

植田充美：マイクロHPLCチップ。ナノバイオ辞典、テクノシステム、538, 2007

植田充美：モレキュラーツール。ナノバイオ辞典、テクノシステム、575, 2007

植田充美：ライブラリー。ナノバイオ辞典、テクノシステム、586, 2007

植田充美：細胞表層工学。ナノバイオ辞典、テクノシステム、211-212, 2007

植田充美：分子ディスプレイ。ナノバイオ辞典、テクノシステム、503, 2007

植田充美：アーミング細胞。ナノバイオ辞典、テクノシステム、27, 2007

加藤倫子、植田充美：分子ディスプレイを用いた網羅的タンパク質解析。バイオニクス 27 ; 31-35, 2007

植田充美：バイオエタノール生産の技術開発未来戦略。BIO INDUSTRY 24(4) ; 62-69, 2007

芝崎誠司、植田充美：試験管内抗体作製と回収システム。抗体医薬の最前線（シーエムシー出版）、46-55, 2007

門之園哲哉、村井（加藤）倫子、植田充美：抗体モデル機能タンパクの創出。抗体医薬の最前線、（シーエムシー出版）、56-65, 2007

黒田浩一、島田まり子、植田充美：細胞表層デザインによる金属の高効率回収バイオ技術。工業材料（日刊工業新聞社）55(8) ; 66-70, 2007

黒田浩一、植田充美：細胞表層工学による新しいモリブデン回収バイオ技術とその展開。貴金属・レアメタルのリサイクル技術集成（エヌ・ティー・エス）、305-313, 2007

植田充美、民谷栄一：ライフサーベイヤ構築をめざしたコンビバイオとナノバイオの融合の新しい展開。日本生物工学会誌 85(12) ; 527-528, 2007

b) 学会発表

2007年日本生物工学会大会：3件

国際生化学・分子生物学会：3件

2008年日本農芸化学会大会：14件

酵素工学研究会第57回講演会：1件

第7回日本蛋白質科学会年会：2件

第18回クロマトグラフィー科学会議：1件

日本薬学会第128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）

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、「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、日本農芸化学会関西支部副支部長

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」（班代表）、経済産業省・地域新生コンソーシアム研究開発事業「オミックス解析技術による新規代謝動態解析装置の開発」（代表）、科学技術振興機構・革新技術開発研究事業「麴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」（分担）、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」（代表）、農業・食品産業技術総合機構／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」（代表）、新エネルギー・産業技術総合開発機構「新エネルギー技術研究開発／バイオマスエネルギー高効率転換技術開発（先導技術開発）／微生物固体発酵による高効率なリグノセルロース完全利用システムの研究開発」（代表）

村井（加藤）倫子：若手研究(B)「分子内シャペロン（プロペプチド）によるタンパク質の機能発現自助作用の分子機構解析」（代表）、特定領域研究「分子提示法による snRNA 選択キャッチャーの構築と細胞内動態の定量への応用」（代表）

黒田浩一：若手研究(B)「染色体活性化ダイナミクスの制御によるストレス耐性細胞の分子育種」（代表）

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：コンビナトリアル・バイオエンジニアリング会議・大阪（組織委員長）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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）、専門外国書講読Ⅰ（植田）、専門外国書講読Ⅱ（植田）、応用生命科学入門Ⅲ（植田）、応用生命科学（植田）、生化学実験及び実験法（植田、村井（加藤）、黒田）

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、村井（加藤）、黒田）、生体高分子化学専攻実験（植田、村井（加藤）、黒田）

2.3.3 研究分野：生物調節化学

構成員：教授 宮川 恒

准教授 中川 好秋

助教 宮下 正弘

COE 研究員 1名 大学院博士後期課程 3名

大学院修士課程 5名 専攻4回生 4名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) 植物ホルモンオーキシンの代謝に関する化学

インドール-3-酢酸 (IAA) はオーキシンと総称される植物ホルモンの一種で、植物の生長調節において重要な役割を果たしている。IAAは植物体内でさまざまな化学変換を受けて不活性化されるが、その主要代謝経路は植物によってかなり異なることが示されている。本年度は、イネ科植物を対象とする比較研究の一環としてトウモロコシを材料に IAA の代謝プロファイルを作成することを目的とした。トウモロコシ幼苗中に含まれる各種代謝物を定量分析した結果、おもな代謝経路は IAA の 2 および 7 位の酸化と、それに続く 7 位のグルコシル化であり、イネで見られた主要な代謝物の含量は非常に少ない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

昆虫の脱皮はステロイド性の脱皮ホルモンによって制御されている。植物からさまざまなエクダイソンの類縁化合物が単離同定されていて、その中でポナステロンは最も活性の高い化合物として知られている。今回は、ポナステロンの側鎖構造を固定し、ステロイド骨格を変化させた化合物を合成し、ショウジョウバエの培養細胞 (Kc 細胞) を用いて、受容体への結合活性を測定した。ステロイド骨格の A 環 B 環に -OH や =O のような官能基を導入すると、受容体への結合活性が上昇した。また、*N*-ベンゾイルテトラヒドロキノリン類縁体やオキサゾリン誘導体の合成も行い、鱗翅目および鞘翅目昆虫の脱皮ホルモン受容体に対する結合活性を測定した。

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。新たなエリシターを見出すことを目的として、コンビナトリアル化学の手法を用いて作製した 6 残基ペプチドのランダムライブラリーから、タバコ培養細胞に対する作用を指標として活性ペプチドを選抜した。その結果、新規活性ペプチド YGIHTH を得ることができた。さらに、このペプチドの構造活性相関研究を行った結果、N 末端の 4 残基が活性発現に必須であることが分かった。

ii) マダラサソリ (*Isometrus maculatus*) 毒液から殺虫性ペプチドを単離・精製した。このペプチドおよび酵素消化によって得られた C 末端フラグメントを、エドマン分解による配列解析に供した結果、56 残基よりなるアミノ酸配列を決定した。このペプチドは抗菌性ペプチドとして報告されているサソリ毒ペプチドと配列相同性を示したことから、抗菌活性を有していることが予想された。そこで活性測定を行った結果、このペプチドは抗菌活性も示すことが分かった。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

総説

- 中川好秋：脱皮ホルモン類縁体. ホルモンハンドブック新訂 eBook 版、日本比較内分泌学会編、南江堂、III-B-7-b、2007
- 中川好秋：昆虫成育制御剤の構造活性相関および作用機構に関する研究. 日本農薬学会誌 32 : 143-150、2007
- 中川好秋、宮川恒：新しい殺虫剤. 21世紀の農学第3巻「植物を守る」、京都大学学術出版会、p.123-150、2008.

原著論文

- Dubouzet, J. G., A. Ishihara, F. Matsuda, H. Miyagawa, H. Iwata and K. Wakasa: Integrated metabolomic and transcriptomic analyses of high-tryptophan rice expressing a mutant anthranilate synthase alpha subunit, *J Exp Bot* 58; 3309-3321, 2007
- Ishihara, A., F. Matsuda, H. Miyagawa and K. Wakasa: Metabolomics for metabolically manipulated plants: effects of tryptophan overproduction, *Metabolomics* 3; 319-334, 2007
- Kai, K., S. Nakamura, K. Wakasa and H. Miyagawa: Facile preparation of deuterium-labeled standards of indole-3-acetic acid (IAA) and its metabolites to quantitatively analyze the disposition of exogenous IAA in *Arabidopsis thaliana*, *Biosci Biotechnol Biochem* 71; 1946-1954, 2007
- Kai, K., K. Wakasa and H. Miyagawa: Metabolism of indole-3-acetic acid in rice: Identification and characterization of *N*- β -D-glucopyranosyl indole-3-acetic acid and its conjugates, *Phytochemistry*. 68; 2512-2522, 2007
- Kai, K., J. Horita, K. Wakasa and H. Miyagawa: Three oxidative metabolites of indole-3-acetic acid from *Arabidopsis thaliana*, *Phytochemistry* 68; 1651-1663, 2007
- Matsuda, F., K. Wakasa and H. Miyagawa: Metabolic flux analysis in plants using dynamic labeling technique: Application to tryptophan biosynthesis in cultured rice cells, *Phytochemistry* 68; 2290-2301, 2007
- Matsushita, N., M. Miyashita, A. Sakai, Y. Nakagawa and H. Miyagawa: Purification and characterization of a novel short-chain insecticidal toxin with two disulfide bridges from the venom of the scorpion *Liocheles australasiae*. *Toxicon* 50; 861-867, 2007
- Minakuchi, C., T. Ogura, H. Miyagawa and Y. Nakagawa.: Effects of the structures of ecdysone receptor (EcR) and ultraspiracle (USP) on the ligand-binding activity of the EcR/USP heterodimer. *J Pest Sci* 32; 379-384, 2007
- Miyashita, M., J. Otsuki, Y. Hanai, Y. Nakagawa and H. Miyagawa: Characterization of peptide components in the venom of the scorpion *Liocheles australasiae* (Hemiscorpiidae). *Toxicon* 50; 428-437, 2007
- Nakagawa, Y., A. Sakai, F. Magata, T. Ogura, M. Miyashita and H. Miyagawa: Molecular cloning of the ecdysone receptor and the retinoid X receptor from the scorpion *Liocheles australasiae*. *FEBS J* 274; 6191-6203, 2007
- Tamaki, H., A. Shimada, Y. Ito, M. Ohya, J. Takase, M. Miyashita, M. Miyagawa, H. Nozaki, R.

Nakayama and H. Kumagai: LPT1 encodes a membrane-bound *O*-acyltransferase involved in the acylation of lysophospholipids in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, J Biol Chem 282, 34288-34298; 2007

紀要、報告書など

Nakagawa, Y.: Structure-activity relationship and mode of action study of insect growth regulators. J Pestic Sci 32; 135-136, 2007

Miyagawa, H., and I. Ueyama: Summary of Scientific Programs in 11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, in Pesticide Chemistry, Ohkawa, H., Miyagawa, H., and Lee, P. W., Eds., Wiley-VCH, Weinheim, p.459-478, 2007

b) 学会発表

日本農薬学会第33回大会：9件

日本農芸化学会大会2007年度大会：6件

日本農芸化学会関西・中部支部合同大会：1件

日本農芸化学会関西支部例会：3件

第44回ペプチド討論会：2件

第55回質量分析総合討論会：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）、第33回日本農薬学会大会組織委員

中川好秋：日本薬学会構造活性相関部会（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、財務委員）、日本農芸化学会（英文誌編集委員）、日本農芸化学会関西支部（庶務幹事）、第33回日本農薬学会大会組織委員

宮下正弘：日本質量分析学会（講習会企画委員長）、第33回日本農薬学会大会組織委員

科研費等受領状況

宮川 恒：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：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、アメリカ）

B. 教育活動 (2007.4~2008.3)

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：九州大学大学院生物資源環境科学府（生物調節化学特論）、福岡工業大学大学院工学研究科（機能材料工学特別講義）、大阪府立大学生命環境科学部（分子設計論）

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

2.3.4 研究分野：化学生態学

構成員：教授	西田 律夫
准教授	森 直樹
助教	小野 肇
博士研究員	勝又 綾子
	吉永 直子
大学院博士後期課程	2名
大学院修士課程	10名
専攻4回生	3名

A. 研究活動 (2007.4~2008.3)

A-1. 研究概要

a) 害虫アブラムシ類の吸汁刺激因子の解明

マメ科植物に寄生する害虫アブラムシ類について寄主認識に関わる植物化学因子を追究した。その結果、ソラマメ *Vicia faba* よりマメアブラムシ *Aphis craccivora* の口針挿入刺激物質として2種のフラボノール配糖体、kaempferol 7-O- α -rhamnopyranoside、およびkaempferol 3-O-(6"-acetyl- β -glucopyranoside)-7-O- α -rhamnopyranosideを明らかにした。同アブラムシは類縁のフラボノール配糖体である quercetin 3-O- β -glucopyranoside-7-O- α -rhamnopyranoside や quercetin 7-O- α -rhamnopyranoside には口針挿入を行う頻度が低いことから、kaempferol と quercetin の違い、すなわち3'位の水酸基の有無を正確に区別していることが明らかとなった。

b) 植物に抵抗性を誘導する volicitin のコオロギおよびショウジョウバエからの同定

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鱗翅目幼虫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。13種の鱗翅目以外の昆虫にわたり、volicitin 類縁体の存在を調べた。その結果、直翅目のタイワンエンマコオロギ、エンマコオロギおよび双翅目キイロショウジョウバエの幼虫から、主要成分として *N*-linolenoyl-L-glutamic acid および *N*-linoleoyl-L-glutamic acid を LC-IT-TOF MS で同定した。その他の微量成分として、上記二成分の水酸化物と、グルタミン縮合物も検出された。Volicitin 関連化合物は当初予想されたよりも一般的な化合物であり、広い昆虫種で何らかの生理的な役割を果たしていることと示唆された。

c) ショウジョウバエにおける昆虫ホルモンによる脱皮変態のタイミング決定機構の解明

昆虫の脱皮変態は数種類のホルモンの複合的な作用によって制御されている。そのうちステロイドホルモンである20-hydroxyecdysone (20E) は必要とされる時期に神経ペプチドであるPTTHの刺激により生合成されて脱皮変態を引き起こす。分子遺伝学的手法を駆使できるショウジョウバエを材料に用いて、脱皮変態のタイミングの決定の機構について解析を行った。その結果、従来考えられていたような体のサイズが蛹化を決定するのではなく、PTTHによる20E生産制御によって蛹化のタイミングが決定されることが明らかとなった。また、脱皮変態の際に、20E生合成経路初期段階で機能する生合成酵素の発現がPTTHによって遺伝子発現調節を受けて、20Eの生産が制御されていることを明らかにした。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

西田律夫（分担執筆）. 昆虫と植物 — 攻防と共存の歴史. 生物資源から考える21世紀の農学（第3巻）植物を守る（佐久間正幸編） p.83-122、京都大学学術出版会、京都、2007

原著論文

Tan, K.H. and R. Nishida: Zingerone in floral synomone of *Bulbophyllum baileyi* (Orchidaceae) attracts *Bactrocera* fruit fly during pollination. *Biochem Syst Ecol* 35; 334-341, 2007

Wee, Suk Ling, K.H. Tan and R. Nishida: Pharmacophagy of methyl eugenol by males enhances sexual selection of *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae). *J Chem Ecol* 33; 1272-1282, 2007

Yoshinaga, N., T. Aboshi, C. Ishikawa, M. Fukui, M. Shimoda, R. Nishida, C. G. Lait, J. H. Tumlinson and N. Mori: Fatty acid amides, previously identified in caterpillars, found in the cricket *Teleogryllus taiwanemma* and fruit fly *Drosophila melanogaster* larvae. *J Chem Ecol* 33; 1376-1381, 2007

Kuwahara, Y., N. Mori and T. Tanabe: Detection of a neotropical frog alkaloid spiropyrrrolizidine 236 from a Japanese polyzoniid millipede *Kiusiozonuim okai* as a major defense component together with polyzonimine and nitropolyzonamine. *Jpn J Entomol Zool* 18; 91-95, 2007

Noge, K., M. Kato, N. Mori, M. Kataoka, C. Tanaka, Y. Yamasue, R. Nishida and Y. Kuwahara: Geraniol dehydrogenase, the key enzyme in biosynthesis of the alarm pheromone, from the

astigmatid mite *Carpoglyphus lactis* (Acari: Carpoglyphidae). FEBS J 275; 2807–2817, 2008
McBrayer, Z., H. Ono, M.J. Shimell, J.P. Parvy, R.B. Beckstead, J.T. Warren, C.S. Thummel, C. Dauphin-Villemant, L.I. Gilbert and M.B. O'Connor: Prothoracicotropic hormone regulates developmental timing and body size in *Drosophila*. Dev Cell 13; 857–871, 2007

総 説

吉永直子、森 直樹：植物に抵抗性を誘導する鱗翅目幼虫エリシター volicitin. 化学と生物
45 ; 411–418、2007

b) 学会発表

The 23rd ISCE Annual Meeting, Yena, Germany : 2 件

The 4th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology, Tsukuba, Japan : 11件

2007年日本環境動物昆虫学会年次大会 : 1 件

第52回日本応用動物昆虫学会大会 : 1 件

2008年日本農芸化学大会 : 4 件

The 8th Japanese Drosophila Research Conference, Awaji, Japan : 1 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：日本応用動物昆虫学会 (編集委員)、日本環境動物昆虫学会 (編集幹事)、日本
ダニ学会 (評議員、編集委員)

科研費等受領状況

西田律夫：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」、基盤研究
(B)(2) 昆虫—植物間共進化過程の分子化学生態学的解析 (代表)

森 直樹：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」、基盤研究
(C)(2) 植物の防衛反応を活性化する昆虫の唾液成分—その生合成と機能解析— (代
表)、基盤研究(C)(2) 植物の化学防御に対する害虫の対抗適応に関する分子基盤的研究
(分担)

小野 肇：若手研究 (スタートアップ) ショウジョウバエにおけるホルモンの複合作用に
よる発生プログラムの制御機構の解明 (代表)

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議会 (会長)、第4回アジア—太平洋地域化
学生態学会議 (実行副委員長)、「Biochemical Systematics and Ecology」 (Editorial
advisory board)、「Chemoecology」 (Editorial advisory board)、「Applied Entomology and
Zoology」 (Editorial 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、タイ、ニューギ
ニア、米国)

森 直樹：鱗翅目昆虫由来エリシター volicitin の生合成 (米国)、鱗翅目昆虫幼虫の唾液が

誘導する植物生理活性 (ニュージーランド)

B. 教育活動 (2007.4~2008.3)

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)、有機構造解析学 (西田)、有機反応機構論Ⅰ (森)、有機化学実験 (森・小野)

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

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

西田律夫：筑波大学生命環境学研究科 (農林生物学特別講義)

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	間藤 徹		
准教授	小林 優		
教務補佐員	1名	研究生	2名
大学院博士後期課程	3名		
大学院修士課程	3名		
専攻4回生	4名		

A. 研究活動 (2007.4~2008.3)

A-1. 研究概要

a) 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uronan 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。

b) 窒素肥料

イネの窒素肥料への応答性の品種間差を検討し、窒素肥料を低減できる品種の開発を進める。

c) 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：窒素サイクルと食料生産. 21世紀の農学 第1巻（山末祐二編）. p.131-152、京都大学出版会、京都、2007

原著論文

松田 晃、山崎恭子、間藤 徹：化学分析と小ポット栽培試験による家畜排泄物堆肥の窒素肥効の評価. 日本土壤肥料学雑誌 78 ; 479-485、2007

松田 晃、大野佳織、長久保有之、間藤 徹：食品工業汚泥堆肥に含まれる窒素の形態による利用率の違い—重窒素標識堆肥とイタリアンライグラスを用いた検討—. 日本土壤肥料学雑誌 78 ; 317-321、2007

総説

間藤 徹：堆肥 vs 化学肥料. 化学と生物 45 ; 426-429、2007

落合久美子：作物のホウ素過剰耐性のメカニズム. 化学と生物 45 ; 449-450、2007

間藤 徹：メタン発酵消化液の肥料化への取り組み. 環境技術 36 ; 633-638、2007

b) 学会発表

日本植物生理学会2007年度大会：2件

日本土壤肥料学会2007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）

間藤 徹：日本土壤肥料学会（代議員、第4部門部門長、欧文誌編集実行委員）、日本植物生理学会

小林 優：日本植物生理学会（会計幹事）

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(B)(2) ホウ素過剰耐性イネの分子育種（代表）、農水省イネゲノム重要形質プロジェクト、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

小林 優：若手研究(B) ホウ素欠乏応答の分子機構（代表）、特定領域研究「植物の養分吸収と循環系」植物の養分吸収における細胞壁の意義（公募班員・代表）

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4回国際ホウ素シンポジウム、サンフランシスコ（組織委員）

小林 優：Gordon Research Conference on Plant Cell Wall, Biddeford, Maine USA（研究発表）

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（2007.4～2008.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：植物栄養学（間藤）、植物生化学（間藤、小林）、生化学Ⅱ（間藤）、植物生化学実験（小林）、植物環境ストレス学（間藤）

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

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

間藤 徹：京都府立大学（植物栄養学1、2）

C. その他

間藤 徹：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、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
准教授	井上 善晴
助教	井沢 真吾
博士研究員	永尾 潤一
大学院博士後期課程	2名
大学院修士課程	3名
学部4回生	3名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) 制限酵素の構造・機能解析

大腸菌 TH38株の制限酵素 EcoT38I について、認識特異性が弛緩する現象を新たに見出して諸性質の解析を行うとともに、タンパク質単独と DNA 複合体について結晶化条件の検討を行った。タンパク質単独の結晶が得られ、2Åの分解能でデータを収集し位相を決定した。重原子置換体についても解析を行い、同型置換法により位相の決定を試みた。また、部位特異的変異導入によって認識特異性を改変した制限酵素 EcoO109I 変異酵素について、構造機能相関を明らかにするため、DNA 複合体の結晶化条件の検討を行った。得られた複数の結晶について予備的な X 線解析を行い、位相の決定を試みた。

b) 緑茶カテキンによる活性酸素ストレス

エピガロカテキンガレートを始めとする緑茶カテキン類は一般に、抗酸化成分として知られている。しかしながら我々は、出芽酵母ならびに分裂酵母を用いた実験系から、カテキン類が酸化的ストレスを引き起こすことを明らかにした。すなわち、カテキン処理によって酸化的ストレス応答性転写因子である Yap1 や Pap1、ならびに Msn2 が活性化して核に局在した。その核局在は、カタラーゼを同時に添加することによって抑制された。また、Yap1 の核局在をコントロールするシステイン残基の種々の置換体を用いた解析から、カテキン類は過酸化水素によるストレス応答と同様の Yap1 の活性化を引き起こすことを示すとともに、カテキン類が弱アルカリ性条件下で実際に過酸化水素を発生させることを明らかにした。

c) 大豆ペプチドの利用による食品有用微生物の品質改善とその分子機構の解析

大豆ペプチドによる生活習慣病の予防や抗疲労効果、活性酸素種の除去や中性脂肪レベルの低減など、ヒトの健康改善を目的とした哺乳動物での研究は目覚ましい進展を遂げてきた。しかし、哺乳動物以外の生物に対する大豆ペプチドの有効利用に関しては非常に限られた報告しかないのが現状である。本研究では、発酵食品の製造に利用される食品有用微生物の品質や培養効率が、大豆ペプチドによって改善されるのか検証し、大豆ペプチドの新たな利用法を模索した。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や、製パン作業の効率化を求める声に応じて、製パン業界では成型冷凍生地から焼成する方法、冷凍パン生地製法（frozen-dough technology）の導入が進んでいる。しかし、冷凍保存による酵母の死滅や発酵力の低下に起因するボリュームの低下およびフレーバーの変化が問題になっており、冷解凍ストレスに強いパン酵母の開発が求められている。これまでに、冷凍耐性に寄与

する細胞内クリオプロテクタントとして、トレハロースやグリセロール、プロリンなどの関与が報告されている。また、遺伝子工学的な手法によりこれらの細胞内レベルを上昇させ、冷凍耐性を上昇させる取り組みについても複数の研究報告が出されている。しかし消費者の抵抗感が依然として高いことから、遺伝子組み換え技術を用いずに、大豆ペプチドを用いた培養によって酵母の冷凍耐性を向上させる方法を本研究では検討した。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

原著論文

- Maeta, K., W. Nomura, Y. Takatsume, S. Izawa and Y. Inoue: Green tea polyphenols function as prooxidants to activate oxidative stress-responsive transcription factors in yeasts. *Appl Environ Microbiol* 73(2); 572-580, 2007
- Inoue, Y., W. Nomura, Y. Takeuchi, T. Ohdate, S. Tamasu, A. Kitaoka, Y. Kiyokawa, H. Masutani, K. Murata, Y. Wakai, S. Izawa and J. Yodoi: Efficient extraction of thioredoxin from *Saccharomyces cerevisiae* with ethanol. *Appl Environ Microbiol* 73(5); 1672-1675, 2007
- Izawa, Y., K. Ikeda, N. Takahashi and Y. Inoue: Improvement of tolerance to freeze-thaw stress of baker's yeast by cultivation with soy peptides. *Appl Microbiol Biotechnol* 75(3); 533-537, 2007
- Takeuchi, Y., W. Nomura, T. Ohdate, S. Tamasu, H. Masutani, K. Murata, S. Izawa, J. Yodoi and Y. Inoue: Release of thioredoxin from *Saccharomyces cerevisiae* with environmental stimuli: solubilization of thioredoxin with ethanol. *Appl Microbiol Biotechnol* 75(6); 1393-1399, 2007
- Izawa, S., T. Kita, K. Ikeda, T. Miki and Y. Inoue: Formation of the cytoplasmic P-bodies in *sake* yeast during Japanese *sake* brewing and wine making. *Biosci Biotechnol Biochem* 71(11); 2800-2807, 2007
- Izawa, S. K. Ikeda, T. Ohdate and Y. Inoue: Msn2p/Msn4p-activation is essential for the recovery from freezing stress in yeast. *Biochem Biophys Res Commun* 352(3); 750-755, 2007
- Takatsume, Y., S. Izawa and Y. Inoue: Modulation of Spc1 stress-activated protein kinase activity by methylglyoxal through inhibition of protein phosphatase in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Biochem Biophys Res Commun* 363(4); 942-947, 2007

b) 学会発表

- 第9回RNA学会年会：1件
- 第40回日本発生生物学会／第59回日本細胞生物学会合同大会：1件
- 酵母遺伝学フォーラム第40回研究報告会：6件
- 平成19年度日本生物工学会大会：4件
- 2008年度日本農芸化学会大会：5件
- 第17回日本メイラード学会学術集会：2件
- BMB2007第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会：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（全国評議員、関西支部評議員）

井上善晴：酵母研究会運営委員、日本生物工学会（関西支部委員）

科研費等受領状況

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14回日本—ドイツ酵素テクノロジーワークショップ（招待講演）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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

C. その他

井上善晴：日本学術振興会レドックス生命科学第170委員会委員

井沢真吾：Editorial board member of *Applied Microbiology and Biotechnology*.

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		
	准教授	片岡 道彦	
	助教	小川 順	
	助教	櫻谷 英治	
	博士研究員	島田 良美	
		浦野 信行	
	大学院博士後期課程	1名	研修員 2名
	大学院修士課程	19名	外国人共同研究者 1名
	専攻4回生	5名	教務補佐員 1名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

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

磯部公安、岩崎 晃、川野 茂、八十原良彦、長谷川淳三、片岡道彦、小川 順、清水 昌：第3章 位置選択的酵素酸化、立体選択的酵素還元反応の探索。バイオテクノロジーシリーズ 微生物機能を活用した革新的生産技術の最前線—ミニマムゲノムファクトリーとシステムバイオロジー—（清水 昌、大竹久夫、藤尾達郎、穴澤秀治編）。p.138-153、シーエムシー出版、東京、2007

清水 昌：産業プロセスのバイオ化を目指して。バイオプロセスハンドブック。p.695-701、エヌ・ティー・エス出版、東京、2007

清水 昌：序論—物質生産プロセスのバイオ化をめざして—。バイオテクノロジーシリーズ 微生物機能を活用した革新的生産技術の最前線—ミニマムゲノムファクトリーとシステムバイオロジー—（清水 昌、大竹久夫、藤尾達郎、穴澤秀治編）。p.1-8、シーエムシー出版、東京、2007

原著論文

Isobe, K., A. Kato, J. Ogawa, M. Kataoka, A. Iwasaki, J. Hasegawa and S. Shimizu: Characterization of alcohol oxidase from *Aspergillus ochraceus* AIU 031. J Gen Appl Microbio. 53; 177-183, 2007

Isobe, K., A. Kato, Y. Sasaki, S. Suzuki, M. Kataoka, J. Ogawa, A. Iwasaki, J. Hasegawa and S.

- Shimizu: Purification and characterization of a novel alcohol oxidase from *Paenibacillus* sp. AIU 311. J Biosci Bioeng 104(2); 124-128, 2007
- Ogawa, J., H. Yamanaka, J. Mano, Y. Doi, N. Horinouchi, T. Kodera, N. Nio, S.V. Smirnov, N.N. Samsonova, Y.I. Kozlov and S. Shimizu: Synthesis of 4-hydroxyisoleucine by the aldolase-transaminase coupling reaction and basic characterization of the aldolase from *Arthrobacter simplex* AKU 626. Biosci Biotechnol Biochem 71(7); 1607-1615, 2007
- Shibata, N., Y. Tamimoto, T. Hanamura, R. Yamamoto, M. Ueda, Y. Ueda, N. Mizuno, H. Ogata, H. Komori, Y. Shomura, M. Kataoka, S. Shimizu, J. Kondo, H. Yamamoto, A. Kikuchi and Y. Higuchi: Crystallization and preliminary X-ray crystallographic studies of the axin DIX domain. Acta Cryst F63; 529-531, 2007
- Smirnov, S.V., N.N. Samsonova, A.E. Novikova, N.G. Matrosov, N.Y. Rushkevich, T. Kodera, J. Ogawa, H. Yamanaka and S. Shimizu. A novel strategy for enzymatic synthesis of 4-hydroxyisoleucine: identification of an enzyme possessing HMKP (4-hydroxy-3-methyl-2-ketopentanoate) aldolase activity. FEMS Microbiol Lett 273(1); 70-77, 2007
- Ukitsu, H., T. Kuromori, K. Toyooka, Y. Goto, K. Matsuoka, E. Sakuradani, S. Shimizu, A. Kamiya, Y. Imura, M. Yuguchi, T. Wada, T. Hirayama and K. Shinozaki: Cytological and biochemical analysis of *COF1*, an *Arabidopsis* mutant of an ABC transporter gene. Plant Cell Physiol 8(11); 1524-1533, 2007
- Yamamoto, M., C. Zhu, L. Yi, Z. Rong, Y. Miura, M. Izumi, S. Nakajima, K. Tanamoto, S. Shimizu and N. Baba: Synthesis of lipid derivatives of pyrrole polyamide and their biological activity. Biosci Biotechnol Biochem 71(4); 1078-1082, 2007
- Zhang, S., E. Sakuradani and S. Shimizu: Identification of a sterol $\Delta 7$ reductase gene involved in desmosterol biosynthesis in *Mortierella alpina* 1S-4. Appl Environ Microbiol 73(6); 1736-1741, 2007
- Zhang, S., E. Sakuradani, K. Ito and S. Shimizu: Identification of a novel bifunctional $\Delta 12/\Delta 15$ fatty acid desaturase from a basidiomycete, *Coprinus cinereus* TD#822-2. FEBS Lett 81(2); 315-319, 2007

総 説

- 浅野泰久、清水 昌：特集「生体触媒の進化分子工学と高度利用」特集によせて。生物工学 85(9)；393、2007
- 清水 昌：連載「微生物の産業利用 ―はたらく有用微生物」第3回 微生物工場 ―微生物による“もの”づくり―。Microbiol Cult Coll 23(1)；23-28, 2007
- 片岡道彦：不斉水素添加触媒として注目される「旧黄色酵素 (Old Yellow Enzyme)」。ビタミン 81(12)；631-633、2007
- Kataoka, M., K. Honda, K. Sakamoto and S. Shimizu: Microbial enzymes involved in lactone compound metabolism and their biotechnological applications. Appl Microbiol Biotechnol 75(2);257-266、2007
- 片岡道彦、浦野信行、清水 昌：キラルテクノロジーにおける進化分子工学的手法の利用。生物工学 85(9)；400-402、2007

b) 学会発表

日本農芸化学会2007年度大会：21件

第98回米国油化学会年会：2件

おかやまバイオアクティブ研究会第28回シンポジウム：1件

第4回先端融合研究シンポジウム：1件

BioTrans 2007：2件

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」第9回ミニシンポジウム「産業を創出する応用微生物学(8)」：1件

2007年度米国産業微生物学会年会：2件

第1回崇城大学応用微生物研究所公開セミナー：1件

平成19年度日本生物工学会大会：6件

第13回ヨーロッパバイオテクノロジー国際会議：1件

第2回共役リノール酸に関する国際会議：2件

第14回日本ドイツ酵素工学ワークショップ：2件

日本農芸化学会平成19年度関西・中部支部合同大会：2件

長瀬科学技術振興財団「豊かな社会を創造する科学技術シンポジウム」：1件

京都・ウェルネス産業創出研究会健康ビジネスシーズ発掘セミナー：1件

第7回糸状菌分子生物学コンファレンス：2件

2007年度日本乳酸菌学会秋期セミナー：1件

第33回日本応用酵素協会研究発表会：1件

第2回高麗大学・京都大学ジョイント・微生物学およびバイオテクノロジーシンポジウム：2件

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2007：1件

日本農芸化学会関西支部第453回講演会：1件

平成19年度ターゲットタンパク研究プログラムシンポジウム「ターゲットタンパク研究プログラムから見える未来」：1件

ビタミンB研究委員会シンポジウム（平成19年度）：1件

第6回脂質工学研究部会講演会：3件

第16回農芸化学Frontiers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）

清水 昌：日本農芸化学会（理事・副会長）、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）、酵素工学研究会（委員）、日本バイオインダストリー協会（理事・副会長・編集委員）、応用微生物学研究協議会（理事）、発酵と代謝研究会（会長）

片岡道彦：酵素工学研究会（幹事）、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（脂質工学研究部会代表幹事）、日本農芸化学会（産学官若手交流会「さんわか」メンバー）

科研費等受領状況

- 清水 昌：基盤研究(A) 微生物機能の多面的活用による新規機能性脂質の創製（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）、ターゲットタンパク研究プログラム キラル化合物の産業生産に有用な酵素の触媒反応機構の解明と高機能化（代表）
- 片岡道彦：基盤研究(B) 窒素含有キラル化合物不斉合成のための微生物生産プロセスの開発（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」（事業推進担当者）
- 小川 順：特定領域研究 非侵襲的細胞脂質解析を目指した生体触媒モジュールの開発（代表）、新エネルギー・産業技術総合開発機構受託研究「固体高分子形燃料電池実用化戦略的技術開発／次世代燃料電池技術開発」（分担）、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(A) 油糧微生物の分子育種と微生物の特異な脂質代謝機能を活用した有用物質生産（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：2007年度米国産業微生物学会年会・アメリカ（招待講演）、第13回ヨーロッパバイオテクノロジー国際会議・スペイン（招待講演）、第14回日本ドイツ酵素工学ワークショップ・金沢（組織委員）
- 片岡道彦：BioTrans2007・スペイン（研究発表）
- 小川 順：第98回米国油化学会年会・カナダ（招待講演）、BioTrans2007・スペイン（研究発表）、2007年度米国産業微生物学会年会・アメリカ（研究発表）、第2回共役リノール酸国際会議・イタリア（研究発表）、第14回日本ドイツ酵素工学ワークショップ・金沢（招待講演）、第2回高麗大学・京都大学ジョイント・微生物学およびバイオテクノロジーシンポジウム・韓国（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2007（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：Journal of Bioscience and Bioengineering（編集委員）、Recent Patents on 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）、文部科学省・海外先進研究実践支援（ドイツ）
- 小川 順：耐熱性微生物資源の開発と利用（タイ）

B. 教育活動 (2007.4~2008.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用生命科学入門Ⅱ（清水）、応用微生物学Ⅲ（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）、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

21世紀COEセミナー（企画）18件

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）

公開講座等

21世紀COE第9回ミニシンポジウム「産業を創出する応用微生物学(8)」(岡山)、21世紀
COE第10回ミニシンポジウム「産業を創出する応用微生物学(9)」(京都)

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

研修生：ユネスコバイオテクノロジー国際大学院研修講座研修生 1名（インドネシア）

海外での講義、講演

片岡道彦：ミュンスター大学（ドイツ）、シュツットガルト大学（ドイツ）、グライフスバ
ルト大学（ドイツ）、ロンザ中央研究所（スイス）、スイス連邦工科大学（スイス）、ア
ーヘン工科大学（ドイツ）、ドルトムント大学（ドイツ）

小川 順：国立農業研究所（フランス）

2.3.8 研究分野：制御発酵学

構成員：教授	阪井 康能
准教授	由里本博也
博士研究員	山下 俊一（2007.6～）
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 (2007.4~2008.3)

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：ペルオキシソーム．酵母のすべて（大隅良典・下田親編）、p.83-86；シュプリンガー・ジャパン、東京、2007

由里本博也、阪井康能：異種タンパク質生産．酵母のすべて（大隅良典・下田親編）、p.315-319；シュプリンガー・ジャパン、東京、2007

原著論文

Yamashita, S., M. Oku and Y. Sakai.: Functions of PI4P and sterol glucoside necessary for the synthesis of a nascent membrane structure during pexophagy. *Autophagy* 3; 35-37, 2007

Kotani, T., H. Yurimoto, N. Kato and Y. Sakai: A novel acetone metabolism in a propane-utilizing

bacterium *Gordonia* sp. strain TY-5. J Bacteriol 189; 886-893, 2007
Sasano, Y., H. Yurimoto and Y. Sakai: Gene-tagging mutagenesis in the methylotrophic yeast *Candida boidinii*. J Biosci Bioeng 104; 86-89, 2007
Orita, I., N. Sakamoto, N. Kato, H. Yurimoto and Y. Sakai: Bifunctional enzyme fusion of 3-hexulose-6-phosphate synthase and 6-phospho-3-hexuloisomerase. Appl Microbiol Biotechnol 76; 439-445, 2007

総 説

由里本博也、阪井康能：未来型資源の利用を目指すC1微生物。化学工業 58(1)；21-26、2007

b) 学会発表

日本農芸化学会大会2008年度大会：11件
第40回酵母遺伝学フォーラム：5件
第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会：5件
第59回日本生物工学会大会：4件
植物微生物研究会第17回研究交流会：2件
第40回日本発酵生物学会・第59回日本細胞生物学会合同大会：1件
第7回日本タンパク質科学会年会：1件
日本農芸化学会関西支部中部支部合同大会：1件
第86回生存圏シンポジウム：1件
AISTシンポジウム「酵母の糖鎖生物学とその応用」：1件
日本農芸化学会関西支部第449回講演会：1件
酵母研究会第66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）

阪井康能：日本農芸化学会（英文誌編集委員、広報委員、関西支部評議員）、酵母遺伝学フォーラム（運営委員）、酵母研究会（庶務）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）、日本細胞生物学会（評議員）

由里本博也：バイオインダストリー協会（トピックス委員）、酵母研究会（運営委員）

科研費等受領状況

阪井康能：特定領域研究 オートファジーによる選択的細胞内分解のメカニズム（代表）、特定領域研究 オルガネラとAtg分子の動態解析によるペキソファジー高次機能発現制御機構の解明（代表）、基盤研究(B) 温暖化ガス削減をめざしたC1微生物の生存戦略と細胞機能の解明（代表）、科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業（CREST）オルガネラーホメオスタシスと代謝調節・高次細胞機能制御（分担）、旭硝子財団平成19年度自然科学系研究助成 天然ガスなどのC1化合物の資源化を目的とした微生物機能の分子細胞生物学的理解と応用（代表）

由里本博也：若手研究(B) 微生物のC1化合物代謝の分子基盤と遺伝子発現制御機構の解明（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

阪井康能：キーストンシンポジウム「健康と疾病におけるオートファジー」米国（招待講演）
ゴードン会議「ストレス、発生、疾病におけるオートファジー」米国（研究発表）

由里本博也：耐熱性微生物資源の開発と利用に関するJSPS-NRCT最終合同セミナー タイ（招待講演）

山下俊一：ゴードン会議「ストレス、発生、疾病におけるオートファジー」米国（研究発表）

所属学会等（役割）

阪井康能：Biosci Biotechnol Biochem（編集委員）、Autophagy（編集委員）

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 1名（米国ミシガン大学・教授）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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（由里本）、応用微生物学実験（由里本）、
応用生命科学入門Ⅱ（阪井）、応用生命科学演習Ⅰ、Ⅱ（阪井、由里本）、ポケット・ゼミ（阪井、由里本）

大学院：制御発酵学研究論（阪井、由里本）、制御発酵学専攻演習（阪井、由里本）、制御発酵学専攻実験（阪井、由里本）

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

阪井康能：三省堂サイエンスカフェ in 京都（講師）

由里本博也：日本生物工学会関西支部バイオサイエンスセミナー バイオカフェ&ラボ 2007（講師）

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1名（ペルー）、研究生1名（ベトナム）

C. その他

阪井康能：(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、CO₂固定化・有効利用技術検討委員、(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

由里本博也：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

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

准 教 授 白井 理

助 教 辻村 清也

博士研究員 王 永福

山東 良子

大学院博士後期課程 1名

大学院修士課程 10名

専攻4回生 4名

研究員 2名

A. 研究活動 (2007.4~2008.3)

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

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）。マルチ銅オキシダーゼの部位特変異と機能解析。酵素と各種電極材の相互作用の解明。

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

マルチ銅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（メディエータ型および直接電子移動型によるバイオエレクトロカタリシス）。糖関連脱水素酵素を触媒とする糖類の生物電気化学還元（メディエータ型および直接電子移動型によるバイオエレクトロカタリシス）。クエン酸回路を利用した多電子酸化反応系の検討。新規メディエータ固定化電極の作製と評価。構造規制炭素電極での酵素電子移動の基礎検討。酵素および微生物を用いた生物燃料電池の開発。

c) バイオセンシングシステムの構築

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) 生体膜を介した電荷移動反応についての電気化学解析法の開発と基礎特性の解明

疎水性イオン及びイオノフォア添加時の平面脂質二分子膜を介したイオン透過についての電気化学的解明。平面脂質二分子膜を用いたイオンチャネルの機能解析（共存イオンの影響、促進剤及び阻害剤の作用機構）。リポソームを用いたイオン透過機構の解明。放射性元素を利用した透過イオン確認実験。疎水性弱酸による脱共役機構の解釈。酵素等を利用した電子伝達系とイオン透過の共役機構の解明。生体における重金属イオンの取込・排出機構の検討。電気化学的視点による神経伝達機構の再構築。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著 書

池田篤治、加納健司：アンペロメトリー．実験化学講座（改訂5版、20-1 “分析化学”）、日

- 本化学会編、第5章 電気化学分析、第2節、p.179-209、丸善、東京、2007
- 池田篤治、巽 広輔、片野 肇、加納健司：基本事項 ボルタンメトリーの原理、アンペロメトリーの実際 酵素電気化学：バイオエレクトロカタリススの実際。バイオ電気化学の実際—バイオセンサ・バイオ電池の実用展開—（池田篤治監修）。第1章～第4章、p.1-54、シーエムシー出版、2007
- 辻村清也、加納健司：直接電子移動型バイオ電池。バイオ電気化学の実際—バイオセンサ・バイオ電池の実用展開—（池田篤治監修）。第18章、p.290-302、シーエムシー出版、2007

原著論文

- Kamitaka, Y., S. Tsujimura, K. Kataoka, T. Sakurai, T. Ikeda and K. Kano: Effects of Axial Ligand Mutation of the Type I Copper Site in Bilirubin Oxidase on Direct Electron Transfer-type Bioelectrocatalytic Reduction of Dioxygen. *J Electroanal Chem* 601(1/2); 119-124, 2007
- Murakami, Y., N. Yoshimoto, N. Fujieda, K. Ohkubo, K. Kano, S. Fukuzumi and I. Itoh: Model Studies of 6,7-Indolequinone Cofactors of Quinohemoprotein Amine Dehydrogenases. *J Org Chem* 72(9); 3369-3380, 2007
- Kamitaka, Y., S. Tsujimura, N. Setoyama, T. Kajino and K. Kano: Fructose/Dioxygen Biofuel Cell based on Direct Electron Transfer-type Bioelectrocatalysis. *Phys Chem Chem Phys* 9(15); 1793-1801, 2007
- Kamitaka, Y., S. Tsujimura and K. Kano: High Current Density Bio-electrolysis of D-Fructose at Fructose Dehydrogenase-adsorbed and Ketjen Black-modified Electrodes without a Mediator. *Chem Lett* 36(2); 218-219, 2007
- Miura, Y., S. Tsujimura, Y. Kamitaka, S. Kurose, K. Kataoka, T. Sakurai and K. Kano: Bioelectrocatalytic Reduction of O₂ Catalyzed by CueO from *Escherichia coli* Adsorbed on a Highly Oriented Pyrolytic Graphite Electrode. *Chem Lett* 36(1); 132-133, 2007
- Ozaki, S., O. Shirai, S. Kihara and K. Kano: Voltammetric Study on the Mechanism of Ion Transfer Caused by Weak Acids in the Bilayer Lipid Membrane. *Electrochem Commun* 9(9); 2266-2270, 2007
- Tsujimura, S., Y. Kamitaka and K. Kano: Diffusion-controlled Oxygen Reduction on Multi-copper Oxidase-adsorbed Carbon Aerogel Electrodes without Mediator. *Fuel Cells* 7(6); 463-469, 2007
- Tsujimura, S., T. Abo, Y. Ano, K. Matsushita and K. Kano: Electrochemistry of D-Gluconate 2-Dehydrogenase from *Gluconobacter frateurii* on Indium Tin Oxide Electrode Surface. *Chem Lett* 36(9); 1164-1165, 2007
- Wang, Y.-F., S. Tsujimura, S.-S. Cheng and K. Kano: Self-excreted Mediator from *Escherichia coli* K-12 for Electron Transfer to Carbon Electrodes. *Appl Microbiol Biotechnol* 76(6); 1439-1446, 2007
- Kataoka, K., H. Komori, Y. Ueki, Y. Konno, Y. Kamitaka, S. Kurose, S. Tsujimura, S. Higuchi, K. Kano, D. Seo and T. Sakurai: Structure and Function of the Engineered Multicopper Oxidase CueO from *Escherichia coli* - Deletion of the Methionine-Rich Helical Region Covering the Substrate Binding Site. *J Mol Biol* 373(1); 141-152, 2007

- Uehara, A., O. Shirai, T. Nagai, T. Fujii and H. Yamana: Spectroelectrochemistry and electrochemistry of Europium Ion in Alkali Chloride Melts. *Zeit Natur* 62a; 191-196, 2007
- 石井章夫、辻村清也、加納健司：酵素・メディアータ積層修飾電極における触媒定常電流の膜厚依存性. *分析化学* 56(6);419-424、2007
- 白井 理：疎水性イオンおよびイオノフォア添加時の脂質二分子膜を介したイオン透過ポルタンメトリー. *分析化学* 56(7);547-560、2007
- 大西 純、加納健司、白井 理：ノナクチンによる脂質二分子膜を介した促進イオン透過の電気化学的研究. *分析化学* 56(11);965-971、2007
- Shirai, O., T. Nagai, A. Uehara and H. Yamana: Electrochemical properties of the Ag⁺|Ag and other reference electrodes in the LiCl-KCl eutectic melts. *J Alloys Comp* 456(1/2); 498-502, 2008
- Uehara, A., M. Kasuno, T. Okugaki, Y. Kitatsuji, O. Shirai, Z. Yoshida and S. Kihara: *J Electroanal Chem* 604; 115-124, 2007
- Tsujimura, S., Y. Miura and K. Kano: CueO-immobilized Porous Carbon Electrode Exhibiting Improved Performance of Electrochemical Reduction of Dioxygen to Water. *Electrochimica Acta* 53(18); 5716-5720, 2008
- Tsutsumi, M., N. Fujieda, S. Tsujimura, O. Shirai and K. Kano: Thermodynamic Redox Properties Governing Half-reduction Characteristics of Histamine Dehydrogenase from *Nocardioides simplex*. *Biosci Biotechnol Biochem* 72(3); 786-796, 2008
- Tsujimura, S., A. Ishii, T. Abo and K. Kano: Mediated Bioelectrocatalytic Reaction Using Monolayered Redox Polymer on a Glassy Carbon Electrode Surface and Effect of the Ionic Strength on the Catalytic Current. *J Electroanal Chem* 614(1/2); 67-72, 2008

総 説

- 白井 理：電位依存性カリウムイオンチャネルの機能発現機構. *ぶんせき* 7; 405-406, 2007
- 辻村清也：酸化還元酵素を電極触媒に利用する糖—酸素燃料電池など、新規エネルギー変換デバイスに期待. *化学と生物*45(1) ; 7-9、2007
- 辻村清也、加納健司：生体機能を利用する次世代型エネルギー変換装置. *化学工業* 58(1) ; 33-38、2007

b) 学会発表

- 日本農芸化学会2007年度関西中部支部大会：2件
- 日本農芸化学会関西支部第450回講演会・ミニシンポジウム：1件
- 日本農芸化学会2008年度大会：6件
- 日本化学会第22回生体機能関連化学シンポジウム：2件
- 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会：1件
- 2007年電気化学秋季大会：4件
- 電気化学会第75回大会：7件
- 第37回電気化学講習会：1件
- 第1回化学センサー・バイオセンサーおよび計測技術合同ワークショップ：1件
- 電気化学会九州支部 トークショー・イン九州2007：1件

第57回錯体化学討論会：1件
日本生体エネルギー研究会 第33回討論会：1件
日本分析化学会第56年会：6件
第53回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会：3件
近畿化学協会 近化電池セミナー：1件
バイオ電池研究会：1件
高分子同友会 D地球環境及び他産業に関する最新の科学技術・市場を勉強する会：1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（理事、全国評議員、関西支部評議員）、電気化学会（理事、中長期計画実施委員会委員、生物工学会幹事、有機電気化学研究会幹事、各賞専攻委員会委員）、日本ポーラログラフ学会（理事、評議員、編集参与）、Journal of Biochemistry（編集参与）

白井 理：日本分析化学会（近畿支部会計幹事）、日本ポーラログラフ学会（会計理事・評議員）

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

日本学術振興会基盤研究(B)（加納）、NEDO（加納、辻村）

A-4. 国際交流・海外活動

所属学会等（役割）

加納健司：Analytical Biochemistry（編集委員）、Journal of Electroanalytical Chemistry（編集参与）

外国人研究者の受入れ

共同研究者：2名（台湾）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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（白井）、分析化学実験および実験法（白井、辻村）、生物物理化学実験および実験法（白井、辻村）、農学の新戦略（加納他）、応用生命科学（加納他）、少人数ゼミ（加納）、農学概論Ⅱ（加納他）

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

B-2. 学外活動

学外非常勤講師

加納健司：東京工業大学理工学部（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		
	准教授	三芳	秀人		
	助教	石原	亨		
	博士研究員	安部	真人		
	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（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) 昆虫の性フェロモン受容体に関する研究

ガ類のオスは同種のメスが放出する性フェロモンだけに誘引される。エリサン、アワヨトウ、ウリノメイガ、コナガからクローニングした性フェロモン受容体遺伝子をアフリカツメガエル卵細胞で発現させて、そのリガンドを同定した。遺伝子を発現させた卵細胞は、その遺伝子が単離されたガ種の性フェロモン成分のうちただ1つだけに応答した。リガンドに対する dose-response 曲線は、どの受容体でもほぼ同じであった。これまでに同定したカイコガの性フェロモン受容体と併せて、配列解析をおこなった結果、ガ類の性フェロモン受容体は、種に分化するより以前に1つの祖先型のオス特異的に発現する嗅覚受容体から進化していた、ことを明らかにした。

b) 代謝物質の網羅的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。2007年度は、従来の阻害剤とは結合部位を異にする全く新規な阻害剤（ Δ lac-アセトゲニン類）を合成開発することができた。これにより、 Δ lac-アセトゲニン類の詳細な作用機構を通して複合体-Iの機能に関する新しい知見が得られることが期待できる。

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

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

植物は病原菌の感染に対して幾重にも張り巡らされた防御機構を備えている。その一つが二次代謝産物の利用である。植物は病原菌の感染を感知すると素早く特定の二次代謝を活性化させて、病原菌に対して毒性をもつ化合物を蓄積する。イネ科作物と、シロイヌナズナにおいて、こういった二次代謝産物の生合成の解明を目指している。

一方で、私たちは、植物が二次代謝産物をさらに代謝することも防御応答として意義をもつことを見いだしてきた。例えば、イネは感染に応答してセロトニンを蓄積するが、この化合物は代謝されて細胞壁に結合していく。その結果、細胞壁が分解酵素に対して耐性に変化することがわかった。このように、蓄積する化合物の「来し方行く末」を知ることが植物のもつ精緻な防御機構の解明につながると考えている。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

西岡孝明：メタボローム—細胞の化学分析がゲノムと環境の相互作用を明らかにする。ゲノムは何をどのように決めているのか？ 生命システムの理解へ向けて（文部科学省科学研究費特定領域研究「ゲノム」4領域編）。p.43-55、クバプロ、東京、2007

原著論文

Dubouzet, J. G., A. Ishihara, F. Matsuda, H. Miyagawa, H. Iwata, K. Wakasa: Integrated metabolomic and transcriptomic analyses of high-tryptophan rice expressing a mutant anthranilate synthase alpha subunit. *J Exp Bot* 58; 3309-3321, 2007

Hattori, Y., H. Konno, M. Abe, H. Miyoshi, T. Goto and H. Makabe: Synthesis, determination of the absolute configuration of tonkinelin, and inhibitory action with bovine heart mitochondrial complex I. *Bioorg Med Chem* 15; 3026-3031, 2007

Heinzle, E., F. Matsuda, H. Miyagawa, K. Wakasa, and T. Nishioka: Estimation of metabolic fluxes, expression levels and metabolite dynamics of a secondary metabolic pathway in potato using label pulse feeding experiments combined with kinetic network modeling and simulation. *Plant J* 50; 176-187, 2007

Horiuchi, J., A. Muroi, J. Takabayashi and T. Nishioka: Exposing Arabidopsis seedlings to borneol and bornyl acetate affects root growth: Specificity due to the chemical and optical structures of the compounds. *J Plant Interactions* 2; 101-104, 2007

Ichimaru, N., N. Yoshinaga, T. Nishioka, and H. Miyoshi: Effect of stereochemistry of Δ l-acetogenins on the inhibition of mitochondrial complex I (NADH-ubiquinone oxidoreductase). *Tetrahedron* 63; 1127-1139, 2007

Ishii, N., K. Nakahigashi, T. Baba, M. Robert, T. Soga, A. Kanai, T. Hirasawa, M. Naba, K. Kenta Hirai, A. Hoque, P. Y. Ho, Y. Kakazu, K. Sugawara, S. Igarashi, S. Harada, T.

- Masuda, N. Sugiyama, T. Togashi, M. Hasegawa, Y. Takai, K. Yugi, K. Arakawa, N. Iwata, Y. Toya, Y. Nakayama, T. Nishioka, K. Shimizu, H. Mori, and M. Tomita: Multiple high-throughput analyses monitor the response of *E. coli* to perturbations. *Science* 316; 593–597, 2007
- Matsumoto, J., K. Sakamoto, N. Shinjo, Y. Kido, N. Yamamoto, K. Yagi, H. Miyoshi, N. Nonaka, K. Katakura, K. Kita and Y. Oku: Anaerobic NADH-fumarate reductase system is predominant in the respiratory chain of *Echinococcus multilocularis*, providing a novel target for the chemotherapy of alveolar echinococcosis. *Antimicrob Agents Chemother* 52, 164–170, 2007
- Murai, M., A. Ishihara, T. Nishioka, T. Yagi and H. Miyoshi: The ND1 subunit constructs the inhibitor binding domain in bovine heart mitochondrial complex I. *Biochemistry* 46; 6409–6416, 2007
- Nomura, T., A. Ishihara, H. Iwamura, and T. R. Endo: Molecular characterization of benzoxazinone-deficient mutation in A-genome diploid wheat. *Phytochemistry* 68; 1008–1016, 2007
- Nomura, T., A. Ishizuka, K. Kishida, A. K. M. R. Islam, T. R. Endo, H. Iwamura, and A. Ishihara: Chromosome arm location of the genes for the biosynthesis of hordatines in barley. *Gene Genet Syst* 82; 455–464, 2007
- Okazaki, Y., A. Ishizuka, A. Ishihara, T. Nishioka, H. Iwamura: New dimeric compounds of avenanthramide phytoalexin in oats. *J Org Chem* 72; 3830–3839, 2007
- Tebayashi S., Y. Horibata, E. Mikagi, T. Kashiwagi, D. B. Mekuria, A. Dekebo, A. Ishihara, C. Kim: Induction of resistance against leafminer, *Liriomyza trifolii*, by jasmonic acid, in sweet pepper. *Biosci Biotechnol Biochem* 71; 1521–1526, 2007
- Yamashita, T., E. Nakamaru-Ogiso, H. Miyoshi, A. Matsuno-Yagi, and T. Yagi: Roles of bound quinone in the single subunit NADH-quinone oxidoreductase (Ndi1) from *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 282; 6012–6020, 2007
- Yang, K., J. Zhang, A. S. Vakkasoglu, R. Hielscher, J. P. Osborne, J. James Hemp, H. Miyoshi, P. Hellwig, and R. B. Gennis: Glutamate 107 in subunit I of the cytochrome *bd* quinol oxidase from *Escherichia coli* is protonated and is near the heme *d*/heme *b*₅₉₅ binuclear center. *Biochemistry* 46; 3270–3278, 2007
- Yoshida, T., M. Murai, M. Abe, N. Ichimaru, T. Harada, T. Nishioka and H. Miyoshi: Crucial structural factors and mode of action of polyene amides as inhibitors for mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex I). *Biochemistry* 46; 10365–10372, 2007

総 説

光野秀文、櫻井健志、西岡孝明：昆虫の匂い受容体に関する研究。杉山産業化学研究所年報 平成18年度; 33–51, 2007

Ishihara, A., F. Matsuda, H. Miyagawa, K. Wakasa: Metabolomics for metabolically manipulated plants: effects of tryptophan overproduction. *Metabolomics* 3; 319–334, 2007

b) 学会発表

第55回質量分析総合討論会・ワークショップ：1件

第2回メタボロームシンポジウム：1件

化学と生物学を統合する情報学に関するシンポジウム（日本化学会情報化学部会、CBI共催）：1件

第51回日本応用動物昆虫学会大会：1件

日本農芸化学会2007年度大会：5件

日本生体エネルギー研究会第33回討論会：1件

日本農薬学会第32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）

西岡孝明：日本農芸化学会（全国評議員）、日本化学会（情報化学部会幹事）

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：基盤研究(B) 植物の2次代謝誘導に対する1次代謝物質のマネジメントに関するグローバル解析（代表）、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」（計画研究班、分担）。

三芳秀人：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）。

石原 亨：基盤研究(B) 植物の2次代謝誘導に対する1次代謝物質のマネジメントに関するグローバル解析（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

国際共同研究、海外学術調査等

三芳秀人：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）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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-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（バイオインフォマティクス特論、質量分析）、奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科（ゲノム情報学）、東京大学新領域

創成科学研究科、富山大学和漢医薬学総合研究所（客員教授）
石原 亨：同志社女子大学、生活科学部（物質の科学）

2.3.11 研究分野：応用構造生物学

構成員：教授 三上 文三
准教授 相原 茂夫
助教 高橋 延行
助教 水谷 公彦
大学院博士課程 1名
大学院修士課程 2名
専攻4回生 3名
研究生 1名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) タンパク質・酵素の立体構造の決定に関する研究

タンパク質（卵白タンパク質、種子タンパク質、レクチン、免疫関連タンパク質など）や酵素（アミラーゼ、プルラーゼ、多糖リアーゼなど）の立体構造をX線結晶構造解析法によって決定している。オボトランスフェリン等については水素原子の位置を明らかにするため、高分解能X線回折と中性子線回折を行っている。

b) X線結晶構造解析を用いたタンパク質の機能解析とタンパク質工学

β -アミラーゼやプルラーゼはデンプンからマルトースやグルコースの工業的製造に用いられている酵素であり、これらの酵素の機能をその立体構造に基づいてタンパク質工学により改変することを試みている。具体的には β -アミラーゼについては至適pHの変更と生成物特異性の変更を行っている。ダイズ起源の β -アミラーゼの至適pHは酸性側にあるのに対して微生物起源の β -アミラーゼの至適pHは中性付近にある。両者の構造を詳細に検討した結果、触媒残基周辺の少数の残基が相違し、これらのアミノ酸残基の相互変換により、両 β -アミラーゼの至適pHを相互に変換することに成功した。また、活性部位周辺の可動ループ上の残基のアミノ酸置換により生成物特異性を変更できることを明らかにしている。また、プルラーゼについては活性部位周辺のループのアミノ酸置換体を作製して基質特異性の変更を試みている。一方、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。そこで立体構造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、serine proteinase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、loop挿入速度を顕著に増強した変異体の取得にも成功している。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

するトランスポータ・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、ドメインが開き、鉄イオンを放出する。そこで鉄イオンの結合と放出の詳細な機構を知るために、サブアトム分解能でオボトランスフェリンのX線結晶構造解析を行い、水素原子を含めたモデルの精密化により、鉄結合部位周辺の構造の詳細について検討している。

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

- Shimada, N., B. Mikami, S. Watanabe and K. Makino: Preliminary crystallographic analysis of L-2-keto-3-deoxyarabonate dehydratase, an enzyme involved in an alternative bacterial pathway of L-arabinose metabolism. *Acta Crystallograph F* 63 (Pt 5); 393-395, 2007
- Terasaki, S., Y. Tanaka, T. Nagakura, T. Hayashi, S. Shibayama, K. Muroi, T. Okazaki, D. Garboczi, B. Mikami, T. Honjo and N. Minato: Specific and high-affinity binding of tetramerized PD-L1 extracellular domain to PD-1-expressing cells: possible application to enhance T cell function. *Int Immunol* 19(7); 881-890, 2007
- Cui, Z., Y. Maruyama, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of glycoside hydrolase family 78 alpha-L-Rhamnosidase from *Bacillus* sp. GL1. *J Mol Biol* 374(2); 384-398, 2007
- Ochiai, A., T. Itoh, Y. Maruyama, A. Kawamata, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: A novel structural fold in polysaccharide lyases: *Bacillus subtilis* family 11 rhamnogalacturonan lyase YesW with an eight-bladed beta-propeller. *J Biol Chem* 282(51); 37134-37145, 2007
- Hashimoto, W., T. Itoh, Y. Maruyama, B. Mikami and K. Murata: Hydration of vinyl ether groups by unsaturated glycoside hydrolases and their role in bacterial pathogenesis. *Int Microbiol* 10(4); 233-243, 2007
- Maruyama, Y., M. Momma, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of a novel bacterial cell-surface flagellin binding to a polysaccharide. *Biochemistry* 47(5) 1393-1402, 2008
- Yoshikane, Y., N. Yokochi, M. Yamasaki, K. Mizutani, K. Ohnishi, B. Mikami, H. Hayashi and T. Yagi: Crystal structure of pyridoxamine-pyruvate aminotransferase from *Mesorhizobium loti* MAFF303099. *J Biol Chem* 283(2); 1120-1127, 2008
- Murata, K., S. Kawai, B. Mikami and W. Hashimoto: Superchannel of bacteria: biological significance and new horizons. *Biosci Biotechnol Biochem* 72(2) 265-277, 2008

Lin, D.Y., Y. Tanaka, M. Iwasaki, A.G. Gittis, H.P. Su, B. Mikami, T. Okazaki, T. Honjo, N. Minato and D.N. Garboczi: The PD-1/PD-L1 complex resembles the antigen-binding Fv domains of antibodies and T cell receptors. Proc Natl Acad Sci USA 105(8); 3011-3016 2008
Aibara, S., K. Mizutani, A. Suzuki, H. Horiuchi, K. Hashimoto and T. Yamane: Comparison of Molecular Packing between two kinds of hen egg-white lysozyme orthorhombic crystals. J Jpn Soc Microgravity Appl 25(2); 82-88 2008

報告書等

Mikami, B., A. Tanabe, T. Itoh and M. Yamasaki, T: X-ray crystallographic analysis of V99N beta-amylase/maltose complex. SPring-8 User Experiment Report 2007A1437, 2007
Mikami, B., T. Fukuda, T. Itoh, K. Park. N. Maruyama and S. Utsumi: X-Ray Crystallographic Analysis of Pea Proglobulin. SPring-8 User Experiment Report 2007A1439, 2007
Mikami B., S. Takehara, M. Yamasaki, N. Takahashi and M. Onda: X-Ray crystallographic analysis of neuroserpin SPring-8 User Experiment Report 2007A1685, 2007
Mikami, B., T. Saito, A. Tanabe, M. Adachi and S. Utsumi: X-ray crystallographic analysis of G97A beta-amylase: The role of a flexible loop in the active site. SPring-8 User Experiment Report 2007B1418, 2007
Mikami, B., T. Fukuda, T. Itoh, K. Park. N. Maruyama and S. Utsumi: X-Ray crystallographic analysis of rapeseed procruciferin. SPring-8 User Experiment Report 2007B1490, 2007

b) 学会発表

日本農芸化学会2008年度大会：8件
第80回日本生化学会大会：2件
日本生物工学会2007年度大会：1件
日本農芸化学会関西支部第454回例会：2件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

三上文三：日本応用糖質学会（編集委員）

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

三上文三：ターゲットタンパクプロジェクト（三上分担、橋本サブ機関代表）

三上文三：基盤研究(B) 食糧関連酵素・タンパク質のループ工学

高橋延行：基盤研究(C) アミロイド形成抑制の分子論的基盤：オボアルブミン重合体における分子間 β 構造の役割（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

三上文三：有用酵素の高次構造（韓国、ソウル大学）

水谷公彦：膜タンパク質のX線結晶構造解析（英国、インペリアルカレッジ）

B. 教育活動 (2007.4~2008.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部: 生物化学実験 (三上・相原・高橋・水谷)、生体触媒化学 (三上)

大学院: 応用構造生物学専攻演習 (三上・相原・高橋・水谷)、応用構造生物学専攻実験 (三上・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

三上文三: 神戸大学農学部 (高分子機能化学)

三上文三: 京都府立大学農学部 (タンパク質工学)

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)

C. その他

三上文三: 宇治地区学術情報通信整備運営委員

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: 准教授 平竹 潤
 助教 水谷 正治
 助教 清水 文一
 博士研究員 韓 立友
 大学院博士後期課程 2名
 大学院修士課程 10名

A. 研究活動 (2007.4~2008.3)

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

植物由来 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 β -グルコシダーゼと高い相同性を示す。そこで、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、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、1.8Å の分解能で X 線結晶構造解析により基質結合部位を分子レベルで明らかにした。また、 β -プリメベロシルアミジンとの共結晶化を行ない、その構造解析にも成功した。

b) γ -グルタミルトランスペ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ペプチダーゼ (GGT) はグルタチオン代謝の鍵酵素である。GGTの反応機構をもとに、活性中心 Thr 残基と反応して酵素を不可逆的に失活させるリン酸ジエステル型の遷移状態アナログ阻害剤の合成展開と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一義的に依存して阻害される事実を見出した。遷移状態アナログ阻害剤を用いた、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より、ヒト GGT が基質グルタチオンを特異的に認識する鍵残基を持ち、特殊な基質認識機構をもつことを明らかにした。

c) *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を行った。ランダム変異および saturation mutagenesis 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 世代にわたり 5 カ所の変異を重ね、アミド加水分解の分子活性が、野生型より 20 倍以上向上した変異体を取得することに成功した。変異体の速度論的解析により、四面体形中間体からアシル酵素中間体に至る過程の脱離基アミンのプロトン化 (一般酸触媒) が向上していることが、アミド加水分解活性の向上につながったことが判明した。

d) 植物ホルモン活性化・不活性化機構の分子基盤

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、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ブラシノステロイド生合成経路を見出した。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。

e) 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する二次代謝産物だが、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。シロイヌナズナの根組織にスコポリン (スコポレチン配糖体) が大量に蓄積していることを見だし、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スコポリン内生量を測定したところ、いくつかの遺伝子の欠損株で蓄積量の著しい減少がみられた。これらの遺伝子の機能解析を進めた結果、スコポレチン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) がスコポレチン配糖化酵素であると同定した。

A-2. 研究業績

a) 成果刊行

原著論文

Han, L., J. Hiratake, A. Kamiyama and K. Sakata: Design, synthesis and evaluation of γ -phosphono diester analogues of glutamate as highly potent inhibitors and active site probes

- of γ -glutamyl transpeptidase. *Biochemistry* 46; 1432-1447, 2007
- Nakagawa, Y., A. Hasegawa, J. Hiratake and K. Sakata: Engineering of *Pseudomonas aeruginosa* lipase by directed evolution for enhanced amidase activity: Mechanistic implication for amide hydrolysis by serine hydrolases. *Protein Engineering, Design and Selection* 20; 339-346, 2007
- Shimomura, H., H. Etoh, M. Mizutani, N. Hirai and Y. Todoroki: Effect of the minor ABA metabolite 7'-hydroxy-ABA on Arabidopsis ABA 8'-hydroxylase CYP707A3. *Bioorg Med Chem Lett* 17; 4977-4981, 2007
- Ueno, K., H. Yoneyama, M., Mizutani N. Hirai and Y. Todoroki.: Asymmetrical ligand binding by abscisic acid 8'-hydroxylase. *Bioorg Med Chem* 15; 6311-6322, 2007
- Ahn, Y.O, H. Saino, M. Mizutani, B. Shimizu and K. Sakata: Vicianin hydrolase is a novel cyanogenic β -glycosidase specific to β -vicianoside (6-O- α -L-arabinopyranosyl- β -D-glucopyranoside) in seeds of *Vicia angustifolia*. *Plant Cell Physiol* 48; 938-947, 2007
- Cho, J-Y, M. Mizutani, B. Shimizu, T. Kinoshita, M. Ogura, K. Tokoro, M-Li. Lin and K. Sakata: Gene expression profiling and chemical profiling during the manufacturing process of Taiwan oolong tea "Oriental Beauty". *Biosci Biotechnol Biochem* 71; 1476-1486, 2007

総 説

- 水谷正治：シトクロムP450の分子進化と植物の化学的多様性の獲得. 蛋白質・核酸・酵素 52 ; 1454-1464、2007
- 水谷正治：アブシジン酸および植物ステロイドの代謝系に関わるシトクロムP450の酵素化学的研究. 植物の生長調節42 ; 260-268、2007

b) 学会発表

- 日本農芸化学会2008年度大会：10件
- 第49回日本植物生理学会年会：6件
- 日本ケミカルバイオロジー研究会 第2回年会：1件
- ケイアイ研究所講演会：1件
- クミアイ化学生物科学研究所セミナー：1件
- 19th International Conference on Plant Growth Substances：3件
- 第25回 日本植物細胞分子生物学会：1件
- 2nd International Symposium on Diffraction Structural Biology 2007：1件
- 日本農芸化学会 2007年度 関西・中部支部合同大会：1件
- 第59回 日本生物工学会大会 シンポジウム：1件
- Gordon Research Conference：1件
- 京都大学農学研究科シンポジウム：1件
- 植物化学調節学会 第42回大会：3件
- 静岡大学農学部セミナーおよび講演会：2件
- 第28回富山大学和漢医薬学総合研究所特別セミナー：1件
- 園芸学会 平成20年度春季大会：1件
- 日本育種学会第113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)

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) 海外学術調査 ダージリン高級紅茶の香気生成の秘密解明と新しい紅茶製造への利用に向けた調査研究 (坂田代表・水谷、清水分担)

平竹 潤：基盤研究(B) グルタチオン代謝と酸化ストレスを制御する薬剤の開発とケミカルバイオロジー (平竹代表・水谷、清水分担)

水谷正治：基盤研究(C)(2) 植物由来オキシゲナーゼの酵素ライブラリーの構築と機能解明 (水谷代表)

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等 (役割)

平竹 潤：急性リンパ性白血病化学療法をめざしたアスパラギン合成酵素阻害剤の設計と合成 (アメリカ)

B. 教育活動 (2007.4~2008.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：全学向け少人数セミナー (ポケットゼミ) (平竹)

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

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

平竹 潤：静岡大学大学院農学研究科応用生物化学専攻 (特別講義)

公開講座等

平竹 潤：文部科学省 スーパーサイエンス・ハイスクール事業 (SSH)、滋賀県立膳所高等学校 大学研究室実習 (2007. 6. 14)、文部科学省 スーパーサイエンス・ハイスクール事業 (SSH)、京都府立洛北高等学校 実験講義 (2007. 10. 11)、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化学実験講義 (2007. 11. 10 および 11. 24)、京都府立洛北高等学校附属中学校 洛北サイエンス 特別講義 (2007. 11. 13)

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
	准教授	栗原	達夫
	助教	三原	久明
	博士研究員	吉田	雅博
		阿部	勝正
		川本	純
	大学院博士後期課程		7名
	大学院修士課程		12名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) 低温菌の細胞膜における高度不飽和脂肪酸の機能解析

南極海水由来の低温菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 は低温環境下、細胞膜リン脂質の成分として長鎖高度不飽和脂肪酸である *cis*-5,8,11,14,17-エイコサペンタエン酸 (EPA) を生産する。EPA 合成遺伝子の破壊によって得られた EPA 欠損変異株は低温感受性を示した。本菌の低温適応において、EPA 以外の脂肪酸が EPA の機能を代替しうるか、種々の合成リン脂質を用いて検討した。*sn*-1 位にオレイン酸を含有し、*sn*-2 位に炭素鎖長が20で二重結合の数が0～5の脂肪酸、あるいは *cis*-4,7,10,13,16,19-ドコサヘキサエン酸 (DHA) を含むホスファチジルエタノールアミン (PE) を培地に添加し、EPA 欠損変異株を6°Cで培養した。培養後の菌体のリン脂質を質量分析で解析した結果、PEのアシル鎖成分として添加した脂肪酸が種々のホスファチジルグリセロールにも見いだされ、添加したリン脂質が細胞への取り込み後、リモデリングを受けていることが示された。添加したリン脂質の *sn*-2 位アシル鎖の二重結合数が減少するに従って生育速度は低下し、菌体はフィラメント状になった。EPA 欠損変異株は、EPA または DHA を含むリン脂質を添加した場合のみ、野生株と同様の生育特性を示した。DHA 含有リン脂質を添加した場合は、DHA の約半分が EPA に変換されていることが見いだされた。以上の結果から、本菌の低温適応において、EPA が他の脂肪酸では完全に代替できない重要な機能を担っていることが示唆された。

b) セレノシステイルtRNA^{Sec} 生合成機構の解明

硫黄の同族元素であるセレンは哺乳類を含む多くの生物の必須微量元素であり、タンパク質のセレノシステイン残基として種々の生理機能を発揮する。セレノシステイン残基はセレノシステイルtRNA^{Sec} が関与する翻訳系にてポリペプチド鎖に挿入される。アーキアのセレノシステイルtRNA^{Sec} 生合成においては、*O*-ホスホセリルtRNA^{Sec} キナーゼ (MJPSTK) によるセリル tRNA^{Sec} からの *O*-ホスホセリル tRNA^{Sec} 合成過程が必須であると考えられていた。しかし、メタン生成好熱性アーキア *Methanocaldococcus jannaschii* 由来の SelD、MJPSTK、セレノシステイン合成酵素 (MJSecS) の *in vitro* 解析を行った結果、MJPSTK と SelD 依存的な経路と MJSecS と SelD 依存的な経路の二つの独立した経路によりセレノシステイル tRNA^{Sec} が生成されることを見いだした。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

原著論文

- Fujita, M., H. Mihara, S. Goto, N. Esaki and M. Kanehisa: Mining prokaryotic genomes for unknown amino acids: a stop-codon-based approach. *BMC Bioinformatics* 8; 1-11, 2007
- Kawamoto, J., T. Kurihara, M. Kitagawa, I. Kato and N. Esaki: Proteomic studies of an Antarctic cold-adapted bacterium, *Shewanella livingstonensis* Ac10, for global identification of cold-inducible proteins. *Extremophiles* 11; 819-826, 2007
- Omi, R., K. Jitsumori, T. Yamauchi, S. Ichiyama, T. Kurihara, N. Esaki, N. Kamiya, K. Hirotsu and I. Miyahara: Expression, purification and preliminary X-ray characterization of DL-2-haloacid dehalogenase from *Methylobacterium* sp. CPA1. *Acta Crystallograph Sect F Struct Biol Cryst Commun* 63; 586-589, 2007
- Miyake, R., J. Kawamoto, Y.-L. Wei, M. Kitagawa, I. Kato, T. Kurihara and N. Esaki: Construction of a low-temperature protein expression system using a cold-adapted bacterium, *Shewanella* sp. strain Ac10, as the host. *Appl Environ Microbiol* 73; 4849-4856, 2007
- Yoshida, M., T. Oikawa, H. Obata, K. Abe, H. Mihara and N. Esaki: Biochemical and genetic analysis of the γ -resorcyate (2,6-dihydroxybenzoate) catabolic pathway in *Rhizobium* sp. strain MTP-10005: Identification and functional analysis of its gene cluster. *J Bacteriol* 189; 1573-1581, 2007
- Yamanishi, Y., H. Mihara, M. Osaki, H. Muramatsu, N. Esaki, T. Sato, Y. Hizukuri, S. Goto and M. Kanehisa: Prediction of missing enzyme genes in a bacterial metabolic network - reconstruction of the lysine-degradation pathway of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEBS J* 274; 2262-2273, 2007
- Saito, M., K. Nishimura, Y. Hasegawa, T. Shinohara, S. Wakabayashi, T. Kurihara, M. Ishizuka and Y. Nagata: Alanine racemase from *Helicobacter pylori* NCTC 11637: Purification, characterization and gene cloning. *Life Sci* 80; 788-794, 2007
- Saito, M., K. Nishimura, S. Wakabayashi, T. Kurihara and Y. Nagata: Purification of branched-chain amino acid aminotransferase from *Helicobacter pylori* NCTC 11637. *Amino Acids* 33; 445-449, 2007
- Takahata, M., T. Tamura, K. Abe, H. Mihara, S. Kurokawa, Y. Yamamoto, R. Nakano, N. Esaki and K. Inagaki: Selenite assimilation into formate dehydrogenase H depends on thioredoxin reductase in *Escherichia coli*. *J Biochem* 143; 467-473, 2008

総説

- Kurihara, T. and N. Esaki: Bacterial hydrolytic dehalogenases and related enzymes: Occurrences, reaction mechanisms, and applications. *Chem Rec* 8; 67-74, 2008
- Kurihara, T. and N. Esaki: Proteomic studies of psychrophilic microorganisms. *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology* 333-343, 2008
- 三原久明、江崎信芳：シュードモナスのリジン分解経路におけるミッシング酵素の同定と解析。 *ビタミン* 81 ; 595-600、2007

三原久明、江崎信芳：セレンタンパク質. 金属 77 ; 262-268、2007

b) 学会発表

第59回日本ビタミン学会大会：2件

第18回日本微量元素学会：4件

第59回日本生物工学会大会：1件

日本農芸化学会2008年大会：6件

第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会：6件

極限環境微生物学会第8回年会：3件

International Symposium on Metallomics 2007：1件

International Conference on Biotechnology Engineering (ICBioE '07)：1件

The 41st IUPAC World Chemistry Congress：1件

TRACE ELEMENTS in DIET, NUTRITION, & HEALTH: Essentiality and Toxicity：2件

Gordon Research Conference: Molecular and Cellular Biology of Lipids：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、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)「ユニークなセレン代謝能を持つ生物の学術調査・探索と環境浄化への応用（代表）、基盤研究(B)「セレンの特異的の化学変換システムとタンパク質への共翻訳的挿入装置の構造機能解析」（代表）

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)「低温物質生産システムの開発を目指した新規低温適応微生物の探索」（代表）

三原久明：若手研究B「必須微量元素セレン特異的原子認識機構とセレンタンパク質生合成装置の解明」（代表）、科学技術振興機構シーズ発掘試験「新規リジン α -オキシターゼの開発とL-ピペコリン酸生産への応用」（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

江崎信芳：International Conference on Biotechnology Engineering (ICBioE '07)（講演）、The 41st IUPAC World Chemistry Congress（講演）、TRACE ELEMENTS in DIET, NUTRITION, & HEALTH: Essentiality and Toxicity（講演）

栗原達夫：Gordon Research Conference: Molecular and Cellular Biology of Lipids（講演）

三原久明：TRACE ELEMENTS in DIET, NUTRITION, & HEALTH: Essentiality and Toxicity（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）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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、三原）、分子微生物科学専攻実験（江崎、栗原、三原）、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）

栗原達夫：長浜バイオ大学バイオサイエンス学科（生体反応工学）

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：2名（中国、韓国）

外国人研修員等：招へい外国人学者 1名（韓国）

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
准教授 林 隆久
講師 黒田 宏之
特任助教 土反 伸和
博士研究員 増野（中西） 亜実
加来 友美
海田 るみ

Philip J. Linley

大学院博士後期課程 4名

研究生 2名

大学院修士課程 5名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

本分野では、樹木を含む様々な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、多様な生物の遺伝子をツールとして用い、新規な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、主にフェノール系並び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植物の分子育種を目指している。1) フラボノイドなど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行っている。2) 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。3) 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。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) 植物における輸送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ABCB-サブファミリーとABCA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、シロイヌナズナをモデルとして、オーキシシン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。3) MATEタイプの輸送体が関与する植物の二次代謝産物の輸送機能と高次機能に関する解析を行っている。

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) シロイヌナズナにイソプレン合成酵素遺伝子を導入し、植物のメタボリック・エンジニアリングによるイソプレン放出の生理的意義の解明を行っている。3) ABCトランスポータ遺伝子、あるいは他の重金属耐性遺伝子を用い、カドミウム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。また逆に汚染土壌にあってもカドミウムを吸収しない植物の作成を試みている。

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、病原抵抗性と関連した二次代謝生合成に関与する遺伝子群、水ストレスなど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

Yazaki, K. and K. Yamamoto: Shikonin production by *Lithospermum erythrorhizon* cell cultures: biosynthesis, regulation, and bioprocess development. Molecular Plant Cell-Based Bioprocessing (Ed. Wei Zhang), Springer-Verlag, in press.

Shitan, N. and K. Yazaki: Chapter 12. Membrane transport of plant secondary metabolites. In: Plant Membrane and Vacuolar Transporters (Ed. Pawan K. Jaiwal, Rana P. Singh, Om Parkash Dhankher), CAB International, Oxfordshire, UK, p.283-300, 2008

原著論文

Takanashi, K., N. Shitan, A. Sugiyama, Y. Kamimoto, M. Hamamoto, T. Iwaki, K. Takegawa and K. Yazaki: Galactinol synthase gene of *Coptis japonica* involved in berberine tolerance. Biosci Biotech Biochem 72(2); 398-405, 2008

Sugiyama, A., N. Shitan, and K. Yazaki: Involvement of a soybean ATP-binding cassette-type transporter in the secretion of genistein, a signal flavonoid in legume-*Rhizobium* symbiosis. Plant Physiol 144(4); 2000-2008, 2007

Sasaki, K., T. Saito, M. Lämsä, K-M. Oksman-Caldentey, M. Suzuki, K. Ohyama, T. Muranaka, K. Ohara and K. Yazaki, K.: Plants utilize isoprene emission as a thermotolerance mechanism. Plant Cell Physiol 48(9); 1254-1262, 2007

Watanabe, T., N. Shitan, T. Umezawa, K. Yazaki, M. Shimada and T. Hattori: Involvement of FpTRP26, a thioredoxin-related protein, in oxalic acid-resistance of the brown-rot fungus *Fomitopsis palustris*. FEBS Lett 581(9); 1788-1792, 2007.

Alonso-Simon, A., P. Garcia-Angulo, AE. Encina, JM. Alvarez, JL. Acebes and T. Hayashi: Increase in XET activity in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cells habituated to dichlobenil. Planta 226; 765-771, 2007

Nishikubo, N., T. Awano, A. Banasiak, V. Bourquin, F. Ibatullin, R. Funada, H. Brumer, TT Teeri, T. Hayashi, B. Sundberg and EJ Mellerowicz: Xyloglucan *Endo*-transglycosylase (XET) Functions in Gelatinous Layers of Tension Wood Fibers in Poplar—A Glimpse into the Mechanism of the Balancing Act of Trees. Plant Cell Physiol 48; 843-855, 2007

Urbanowicz, BR., AB. Bennett, E. del Campillo, C. Catalá, T. Hayashi, B. Henrissat, H. Höfte, SJ. McQueen-Mason, SE. Patterson, O. Shoseyov, TT. Teeri and JKC. Rose: Structural organization and a standardized nomenclature for plant endo-1,4-β-glucanases (cellulases) of glycosyl hydrolase family 9. Plant Physiol 144; 1693-1696, 2007

Hayashi, T., YW. Park, A. Isogai and T. Nomura: Cross-linking of plant cell walls with dehydrated fructose by smoke-heat treatment. J Wood Sci 54; 90-93, 2008

総 説

Yazaki, K., A. Sugiyama, M. Morita, and N. Shitan: Secondary transport as an efficient membrane transport mechanism for plant secondary metabolites. Phytochem Review, in press

Sugiyama, A., N. Shitan and K. Yazaki: Signaling from soybean roots to rhizobium, an ATP-binding cassette-type transporter mediates genistein secretion. Plant Signaling & Behavior 3(1); 38-40, 2008

矢崎一史：植物の個体維持機構とABCタンパク質. 実験医学 62(11) ; 2447-2453、2007

矢崎一史、紙本宜久：植物ABCタンパク質とオーキシン輸送. 植物の生長調節 42(1);45-53、2007

林 隆久：産業利用をめざした遺伝子組換えポプラの野外試験がはじまる. 科学技術動向. 月報、2007

林 隆久：民族の問題. サステナ. 2 ; 46-47、2007

林 隆久：遺伝子組換えポプラ. サステナ. 3 ; 42-43、2007

林 隆久：セルラーゼ. サステナ. 4 ; 36-37、2007

林 隆久：自由研究. サステナ. 5 ; 34-35、2007

林 隆久：知の融合のかたち. サステナ. 6 ; 40-41、2007

黒田宏之：マツ枯れを巡る生物学. 生存圏研究(3) ; 1-9、2008

特 許

「膜結合性プレニルトランスフェラーゼ」、発明者：矢崎一史、特許権者：国立大学法人京都大学、ニッタ株式会社、平成19年4月15日出願

林 隆久、馬場啓一：糖化用植物および植物由来原料の調製方法、特願2008-077110、2007

b) 学会発表

第49回日本植物生理学会年会：5件

日本木材学会2007年度大会：3件

日本農芸化学会2007年度大会：5件

第25回日本植物分子生物学会：10件

日本薬学会第128年会：1件

日本生薬学会第54年会：2件

日本森林学会大会：2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 (庶務幹事、編集実行委員)、日本農芸化学会 (関西支部評議員)、生体キノン研究会 (幹事)、経済産業省植物プロジェクト研究開発委員会 (委員)、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)、農林水産省生物多様性影響評価検討会 (委員)

黒田宏之：日本木材学会（サブコーディネータ）

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) 緑葉液胞のMATE型トランスポータのアルカロイド輸送能とシンク機能分化（矢崎 代表）、萌芽研究(2) プロテアーゼインヒビターBBI遺伝子によるカドミウム非吸収型作物の創出（矢崎 代表）、経済産業省植物プロジェクト（受託研究）プレニルトランスフェラーゼ遺伝子を利用した植物代謝工学技術の開発（矢崎 代表）、キリンホールディングス（受託研究）ホップ毬花成分の分子遺伝学的研究（矢崎 代表）、H19年生存圏ミッション1 イソプレネン合成遺伝子によるプラントマス増大に関する基礎的研究と応用基盤（矢崎 代表）生存基盤科学研究ユニット萌芽研究 植物揮発性成分を媒体とした植物・昆虫相互作用の分子機構とその応用研究展開（矢崎 代表）、H18年度生存圏萌芽ミッション 遺伝子組み換え植物を用いた「緑のかおり」情報ネットワークの解析（矢崎 分担）、生存基盤科学研究ユニット萌芽研究 無機栄養素吸収における機能単位としての根毛の形態形成および機能分化（矢崎 分担）

林 隆久：基盤研究(A) 産業利用を目的とした遺伝子組換えポプラの野外試験（林 代表）、基盤研究(B) 遺伝子組換え樹木：野外試験の海外調査（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）、生存基盤科学研究ユニット萌芽研究（森をとりもどすために―破壊からの再生シナリオ、代表）、科学研究費基盤研究(B) 海外学術調査（巨大化する熱帯低気圧による大気・水災害外力の上限値評価に関する研究 [広島大学国際協力研究科 山下隆男]、分担）

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）

土反伸和：第19回加藤記念研究助成 奨励研究助成 プレニル化芳香族輸送蓄積機構の解明と大量生産への基盤構築（土反 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：PSE Congress, Plants for human health in the post genome era（ヘルシンキ、招待講演）、Japan-Korea Joint Seminar, Plant metabolism: from biosynthesis to signal transduction（インチョン、韓国、招待講演）、SBS-RISH Workshop（ペナン、マレーシア、招待講演）、2nd FEBS Special Meeting, ABC 2008（インスブルック、オーストリア、招待講演）

林 隆久：Xyloglucan creates tensile stress in the secondary wall. XI Cell Wall Meeting（コペンハーゲン、デンマーク）

国際共同研究、海外学術調査等

矢崎一史：植物ABC蛋白質の輸送機能の生化学的解析（フランス、CEAカダラッシュ）、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ABCタンパク質によるオーキシン輸送機構（スイス、チューリッヒ大学）、タバ

コのMATE型トランスポータとアルカロイド輸送（ベルギー、ゲント大学）、イソプレ
ン放出植物の大型化に伴う細胞生物学的統計評価の研究（フィンランド、VTT研究所）、
ゲラニルジリン酸合成酵素の研究（フランス、レイパスツール大学）

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（編集実行委員）、Plant Biotechnology（編集委員）

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 1名（イギリス）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：全学共通科目「生存圏の科学」（塩谷、津田、矢崎）、KSI講義「生存圏診断統御科学
論」（塩谷、橋口、堀之内、矢崎、本田、梅澤、杉山）

大学院：植物遺伝子統御学（矢崎）、森林圏遺伝子統御学専攻実験（矢崎、林、黒田）、森
林圏遺伝子統御学専攻演習（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 天然物化学講義（学部）、和漢医薬学総合研究所特別セミナー

公開講座等

矢崎一史：第16回ドリコールおよびイソプレノイド研究会（宇治、オーガナイザー）、第86
回 生存圏シンポジウム、持続可能な生存圏の開拓と診断に向けた制御環境の利用
（DASH設置に向けたシンポジウム）（宇治、オーガナイザー）

黒田宏之：第79回 生存圏シンポジウム「樹木の健康を診断する」（宇治、オーガナイザ
ー）

B-3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

矢崎一史：講演、Phytochemical Society of Europe（ヘルシンキ、フィンランド、講演）、日
韓二国間セミナー（ヒュンダイ、韓国、講演）、マレーシア理科大学生物学部（ペナ
ン、マレーシア、講演）、第2回FEBS Meeting（インスブルック、オーストリア）

林 隆久：Tropical trees in Southeast Asia — A reformation scenario from deforestation, Plant
Science and Genetics seminar, the Hebrew University of Jerusalem（レホボ、イスラエル）

C. その他

土反伸和：第二回トランスポーター研究会 ベストポスター賞

2.3.15 研究分野：森林代謝機能化学

構成員：教 授 梅澤 俊明
助 教 服部 武文
博士研究員 山本 直樹
大学院博士後期課程 3名 大学院修士課程 3名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) 木質形成統御機構の解明

木質は、再生可能バイオマス資源の主体であり、今後化石資源に代わりわれわれが依存度を高めていくことは間違いなく重要な資源である。したがって、その生合成統御機構の解明は、木質資源の持続的生産と有効利用に対する重要な基盤となる。

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、とりわけ紙パルプおよび化学原料並びにバイオ燃料生産に適する樹木や稲わらなどのリグノセルロースバイオマスの分子育種という観点から興味もたれている。そこで、当研究室では、遺伝子共発現ネットワーク解析や代謝物網羅解析を用い、リグニンやその他の細胞壁成分の生合成を統御する因子（転写因子など）の同定と機能解析を行なっている。

b) 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、抗腫瘍成分の生合成機構解明と、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。

c) 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。また、ノルリグナン合成酵素は、生物有機化学的にも特異的な反応機構を示す。そこで現在、心材成分の生合成機構の解明と酵素反応機構解明の両観点から、ノルリグナンの生合成について検討している。

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、森林植物の代謝統御機構解析を行い、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、バイオエタノールの生産に適

した樹木やイネ科植物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

Umezawa, T.: Lignan and Norlignan Biosynthesis and Biotechnology, In “Biotechnology and Sustainable Agriculture 2006 and Beyond” (Eds. Z. Xu, J. Li, Y. Xue, W. Yand), Springer, p.341-343, 2007

原著論文

Suzuki, S., M. Yamamura, T. Hattori, T. Nakatsubo and T. Umezawa: The subunit composition of hinokirsinol synthase controls geometrical selectivity in norlignan formation. Proc Natl Acad Sci USA 104; 21008-21013, 2007

Watanabe, T., N. Shitan, T. Umezawa, K. Yazaki, M. Shimada and T. Hattori: Involvement of FpTRP26, a thioredoxin-related protein, in oxalic acid-resistance of the brown-rot fungus *Fomitopsis palustris*. FEBS Lett 581; 1788-1792, 2007

Kuroda, K., T. Ahitani, K. Fujita and T. Hattori: Thermal behavior of β -1 subunits in lignin: pyrolysis of 1,2-diarylpropane-1,3-diol-type lignin model compounds. J Agric Food Chem 55; 2770-2778, 2007

Noguchi, A., Y. Fukui, A. Iuchi-Okada, S. Kakutani, H. Satake, T. Iwashita, M. Nakao, T. Umezawa and E. Ono: Sequential glucosylation of a furofuran lignan, (+)-sesaminol, by *Sesamum indicum* UGT71A9 and UGT94D1 glucosyltransferases, Plant J 54; 415-427, 2008

総説

服部武文：木材腐朽菌と外生菌根菌の炭素代謝機構の差異. Lichenology 6; 150-151, 2007

Suzuki, S. and T. Umezawa: Biosynthesis of lignans and norlignans. J Wood Science 53; 273-284, 2007

Suzuki, S. and T. Umezawa: Recent advances of tree biotechnology in *Acacia mangium* (Fabaceae), Seizonken Kenkyu 3; 41-42, 2007

Umezawa, T. and S. Suzuki: Chemical components of *Acacia mangium* and *Acacia auriculiformis*, Seizonken Kenkyu 3; 43-47, 2007

Umezawa, T., S. Wada, M. Yamamura, N. Sakakibara, T. Nakatubo, S. Suzuki, T. Hattori and M. Koda: Protocols for lignin analysis for Forest Biomass Analytical System of RISH, Kyoto University, Seizonken Kenkyu 3; 73-75, 2007

b) 学会発表

- 第57回日本木材学会大会（広島）：3件
- 第58回日本木材学会大会（つくば）：2件
- 第25回日本植物細胞分子生物学会（千葉）：1件
- 第52回リグニン討論会（宇都宮）：1件
- 第2回トランスポーター研究会（東京）：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、国際交流委員会委員、抽出成分と木材利用研究会幹事）

服部武文：日本木材学会（編集委員）

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）、萌芽：木質形成を統御する因子の特定（代表）、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」、新エネルギー・産業技術総合開発機構受託研究／バイオマスエネルギー高効率転換技術開発（先導技術研究開発）「イネ細胞壁の改変による高効率糖化に向けた先導的技術の研究開発」（代表）、平成19年度生存基盤科学研究ユニット萌芽研究「熱帯早生樹の分子育種に対する研究基盤構築」（代表）

服部武文：基盤研究(C)：菌根菌による難水溶性リン酸塩の可溶化に関わる分子機構の解明（代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

梅澤俊明：The 10th ICBPPI, Madison, USA (Oral presentation, Program Committee Member), PSNA 2007, St. Louis, USA (Oral presentation), JSPS- Sweden (SU)/Japan (NAIST) Colloquium on Frontiers of Plant Biotechnology, Stockholm, Sweden (Invited lecture), Royal Institute of Technology Seminar, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden (Invited lecture), The First Kyoto University-LIPI Southeast Asian Forum: Sustainable Humanosphere in Indonesia, Jakarta, Indonesia (Invited lecture), Tree Biotechnology of Tropical *Acacia* - The 92nd RISH Symposium, Towards Establishment of Sustainable Humanosphere, Cibinong, Indonesia (Invited lecture), The 11th International Congress of Biotechnology in the Pulp and Paper Industry (program committee).

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）、アカシアマンギウムの子育種に関する調査（ペルサハーノンコシナル、マレーシア）、アカシアマンギウムの子育種に関する調査（ムシフタンペルサダ、インドネシア）、アカシアマンギウムのバイオテクノロジーに関する共同研究（インドネシア科学院）、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)、循環型社会の構築に向けた熱帯森林資源の持続的生産・利用に関する共同研究(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 4名 (Research Center for Biology, Research and Development Unit for Biomaterial, LIPI)

B. 教育活動 (2007.4~2008.3)

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)、生存圏診断統御科学論(梅澤)

学部: 生存圏の科学—循環型資源・材料開発(梅澤)、きのこ学入門ゼミナール(服部)、きのこ学(服部)

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

梅澤俊明: 地球温暖化軽減に貢献する組換え樹木の開発勉強会(平成19年7月17日、つくば、講師)、第1回 学際交流ワークショップ—バイオエタノール生産拠点としての東南アジア人工林展望—(平成19年7月31日、宇治、講師)、第81回生存圏シンポジウム 全国・国際共同利用合同シンポジウム(平成19年12月6日、宇治、講師)、第90回生存圏シンポジウム 未来を開く樹木バイオテクノロジー(平成20年2月18日、横浜、オーガナイザー、講師)、バイオマス研究会—草本系バイオマスの収集・保管・前処理を中心にして—(平成20年3月12日、講師)、2008年日本農芸化学会大会シンポジウム、未来型バイオリファイナーの新展開(平成20年3月29日、座長、講師)

服部武文: 2007年度春期生物劣化研究会「昆虫・微生物の環境適応を考える」(平成19年4月6日、宇治、講師)、日本地衣学会第6回大会公開シンポジウム「生物の共生関係の多様性」(平成19年7月7日、大阪、講師)

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
准 教 授 本田 与一
助 教 渡邊 崇人
博士研究員 大橋 康典
親泊 政二三
佐藤 伸
Rudianto Amirta
劉 健
Pradeep Verma

大学院博士後期課程 3名 研究員 2名
大学院修士課程 8名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

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、メタン、有用ケミカルス、家畜飼料等に変換する。このため、選択的白色腐朽菌、ソルボリシス、粉碎法など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) 白色腐朽菌の分子生物学的解析

白色腐朽性担子菌が分泌する菌体外リグニン分解酵素遺伝子の発現制御機構の解明、組換え体による高発現、酵素の反応機構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。また、新規形質転換系やジーンターゲティング系の構築を行う。

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。リグニンの分解能や選択性が向上した担子菌株や、より高い阻害物質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：微生物機能を利用したバイオマス前処理技術開発．バイオリファイナリー技術

の工業最前線 — 自動車用バイオ燃料の技術開発 —、シーエムシー出版、東京、
p.207-222、2008

渡辺隆司：微生物機能を利用したバイオマス前処理技術開発．セルロース利用技術の最先
端、シーエムシー出版、東京、p.334-349、2008

総 説

渡辺隆司：選択的白色腐朽菌によるバイオマス変換と脂質関連ラジカル制御因子．木材保
存 33(3);102-116、2007

渡辺隆司：シリーズ：大学・官公庁研究機関の研究室紹介（60）京都大学生存圏研究所
バイオマス変換分野．紙パ技協誌 61(8)；2007

Fackler, K., C. Grading, M. Schmutzer, C. Tavzes, I. Burgert, M. Schwanninger, B.
Hiterstoissr, T. Watanabe and K. Messner: Molecular mechanisms of biotechnological wood
modification with selective white-rot fungi. Food Technol Biotechnol 45(3); 269-276, 2007

渡邊崇人、渡辺隆司：熱帯バイオマス資源のバイオリファイナリー．生存圏研究 3;65-71、
2007

原著論文

Sakai S., Y. Tsuchida, S. Okano, O. Ichihashi, H. Kawaguchi, T. Watanabe, M. Inui and H.
Yukawa: Effect of lignocellulose-derived inhibitors on growth of and ethanol production by
growth-arrested *Corynebacterium glutamicum*^R. Appl Environ Microbiol 73; 2349-2353,
2007

Kohzu, A., T. Miyajima, T. Tateishi, T. Watanabe, M. Takahashi and E. Wada: Dynamics of ¹⁵N
natural abundance in wood decomposing fungi and their ecophysiological implications,
Isotopes in Environmental and Health Studies. 43; 83-94, 2007

特 許

公開

特許公開2007-104937号「薬剤耐性遺伝子の利用」、発明者：甲 真理、仲亀誠司、塚本
晃、杉浦 純、渡邊隆司、本田与一、王子製紙株式会社、公開日：2007年4月26日

特許公開2006-240125号「リグノセルロース系植物材料の糖化方法」、発明者：渡辺隆司、
小峰法子、椎葉 究、日清製粉株式会社、国立大学法人京都大学、公開日：2007年4
月19日

b) 学会発表

日本農芸化学会2008年度大会：1件

平成19年度日本生物工学会大会：1件

平成19年度日本エネルギー学会大会：1件

第57回日本木材学会大会：4件

第58回日本木材学会大会：5件

第52回リグニン討論会：1件

日本きのこ学会第11回大会：2件

第3回バイオマス科学会議：2件

The 10th International Congress on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry:
presentations:4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：日本きのこ学会（評議員）、日本農芸化学会（支部評議員）、日本木材学会（研究強化・企画委員会委員）、紙パルプ技術協会（科学委員）、

本田与一：日本木材学会（機関幹事）、日本きのこ学会（評議員、会則検討委員）

科研費等受領状況

渡辺隆司：基盤研究(B)、白色腐朽菌が産生する疎水性分子代謝制御因子の構造機能・生合成系解析（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)、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）、生存基盤科学研究ユニット萌芽研究、バイオマス変換プラットフォームの構築を目指した高効率糖化発酵プロセスの開発（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(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」、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菌が産生する脂質関連代謝物の生合成経路の解明（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：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：第9回紙パルプ産業におけるバイオテクノロジーに関する国際会議、マディソン、(プログラム委員、座長、研究発表)、The first Kyoto University—LIPI South East Asian Forum: Sustainable Humanosphere in Indonesia（座長、講演）、Research Institute for

Sustainable Humanosphere (Kyoto University) –School of Biological Sciences (Universiti Sains Malaysia) Seminar (講演)、University of Indonesia–Special Seminar (講演)、LIPI Biotechnology Center –Workshop (講演)、G-COE 国際シンポジウム、In Search of Sustainable Humanosphere in Asia and Africa: The First International Conference (コメントーター)

本田与一：第10回紙パルプ産業におけるバイオテクノロジーに関する国際会議、マディソン、(参加)

国際共同研究・海外学術調査等

渡辺隆司：グローバルCOEプログラム(バイオマス変換の調査研究)(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(2007.4~2008.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

全学共通科目：生存圏の科学：太陽エネルギー変換利用(渡辺、本田)、少人数ゼミ「きのこ学入門ゼミナール」(本田)

学部：きのこ学(本田)

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)、生存圏診断統御科学論(本田)

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

渡辺隆司：東京大学

公開講座等

渡辺隆司：庄原バイオマスフォーラム2007(講演)、日本材料学会、第30回材料講習会(講演)、岩手生物工学研究センター(講演)、第4回持続的生存圏のためのエネルギー循環シンポジウムーバイオマス変換と宇宙太陽発電(講演)、NTSセミナー(講演)、2007年度日本菌学会西日本支部大会(講演)、G-COE第2回パラダイム研究会(講演)、第1回 学際交流ワークショップーバイオエタノール生産拠点としての東南アジア人工林展望ー(講演)

本田与一：第4回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バイオマス変換と宇宙太陽発電(講演)

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

研修員：日本学術振興会PD 3名(インドネシア、中国、インド)

C. その他

渡辺隆司：資源エネルギー庁(バイオ燃料技術革新協議会エタノールWG委員)、(財)バイ

オインダストリー協会（評議員、研究開発委員会委員、分科会委員）、独立行政法人
新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO 技術委員）、(財)有機質資源再生センタ
ー（客員研究員）

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