

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、応用微生物学講座発酵生理及び醸造学分野担当の清水昌教授は2009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
永田 紅

大学院博士後期課程 6名
大学院修士課程 12名
専攻4回生 5名

学術振興会特別研究員 2名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

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: **ABC蛋白質の20年** トランスポーター科学最前線（辻 彰編）. p.265-284、廣川書店、京都、2008

原著論文

Azuma, Y., M. Takada, H-W. Shin, N. Kioka, K. Nakayama and K.Ueda: The retroendocytosis pathway of ABCA1/apoA-I contributes to HDL formation. *Genes Cells* 14; 191-204, 2009

Hirata, T., M. Okabe, A. Kobayashi, K. Ueda and M. Matsuo: Molecular mechanisms of subcellular localization of ABCG5 and ABCG8. *Biosci Biotechnol Biochem* 73; 619-626, 2009

Hozoji, M., Y. Munehira, Y. Ikeda, M. Makishima, M. Matsuo, N. Kioka and K. Ueda: Direct interaction of nuclear receptor LXR β with ABCA1 modulates cholesterol efflux. *J Biol Chem* 283; 30057-30063, 2008

Tanaka, AR., F. Kano, A. Yamamoto, K. Ueda and M. Murata: Formation of cholesterol-enriched structures by aberrant intracellular accumulation of ATP-binding cassette transporter A1. *Genes Cells* 13; 889-904, 2008

Tanaka, AR., F. Kano, K. Ueda and M. Murata: The ABCA1 Q597R mutant undergoes trafficking from the ER upon ER stress. *Biochem Biophys Res Commun* 369(4); 1174-1178, 2008

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

植田和光：脂質恒常性に関わるABCタンパク質の分子機能 生物工学会誌 86(10) ; 473-475, 2008

b) 学会発表

第8回日本蛋白質科学会 ワークショップ 組織委員 発表1件
第40回日本動脈硬化学会 シンポジウム 招待講演
日本分子生物・日本生化学会合同大会：シンポジウム1件、発表9件
2008年度日本農芸化学会大会：シンポジウム、発表6件
第67回日本癌学会：発表1件
第60回細胞生物学会：発表2件
第55回マトリックス研究会：発表1件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

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

科研費等受領状況

植田和光：基盤研究(S) 脂質輸送に關与するABC蛋白質の生理的基質と機能の解明
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：基盤研究(B) 環境センサーと環境コントローラーとしての接着領域裏打ちタン
パク質の生理機能の解析
木岡紀幸：財団法人三島海雲記念財団学術研究奨励金 クローン病原因候補遺伝子1p-
dlg/Dlg5の機能解析と機能促進食品成分の探索
松尾道憲：特定領域研究 脂質トランスポーターと細胞膜環境の相互制御（代表）
松尾道憲：京都大学若手研究者ステップアップ研究費 ABCGタンパク質による脂質排出の
分子基盤
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：米国分子生物生化学会シンポジウム（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）

所属学会等（役割）

植田和光：米国がん学会会員

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

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）

B - 3 . 国際的教育活動

海外での講義、講演

松尾道憲：アルバータ大学医学研究所（講演）

2.3.2 研究分野：生体高分子化学

構 成 員：教 授 植田 充美

准教授 黒田 浩一（2009.1.1～、助教2008.12.31まで）

助 教 森坂 裕信（2009.1.1～）

大学院博士後期課程 7 名

専攻4回生 5 名

大学院修士課程 16名

受託研究員 2 名

A . 研究活動（2008.4～2009.3）

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、応用から一歩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(編集、分担執筆): 21世紀の農学. 京都大学学術出版会、京都市、2008

植田充美 (監修): 微生物によるものづくりー化学法に代わるホワイトバイオテクノロジーの全てー. シーエムシー出版、東京都、2008

原著論文

Fukuda, T., M. Kato, K. Kuroda, M. Ueda and S. Suye: Improvement in enzymatic desizing of starched cotton cloth using yeast codisplaying glucoamylase and cellulose-binding domain. Appl Microbiol Biotechnol 77(6); 1225-1232, 2008

Kaya, M., J. Ito, A. Kotaka, K. Matsumura, H. Bando, H. Sahara, C. Ogino, S. Shibasaki, K. Kuroda, M. Ueda, A. Kondo, and Y. Hata: Isoflavone aglycones production from isoflavone glycosides by display of beta-glucosidase from *Aspergillus oryzae* on yeast cell surface. Appl Microbiol Biotechnol 79(1); 51-60, 2008

Kotaka, A., H. Bando, M. Kaya, M. Kato, K. Kuroda, H. Sahara, Y. Hata, A. Kondo and M. Ueda: Direct ethanol production from barley beta-glucan by sake yeast displaying *Aspergillus oryzae* beta-glucosidase and endoglucanase. J Biosci Bioeng 105(6); 622-627, 2008

Kadonosono, T., M. Kato and M. Ueda: Alteration of substrate specificity of rat neurolysin from matrix metalloproteinase-2/9-type to -3-type specificity by comprehensive mutation. Protein Eng Des Sel 21(8); 507-513, 2008

Matsui, K., S. Teranishi, S. Kamon, K. Kuroda and M. Ueda: Discovery of a modified transcription factor endowing yeasts with organic-solvent tolerance and reconstruction of an organic-solvent-tolerant yeast. Appl Environ Microbiol 74(13); 4222-4225, 2008

Kotaka, A., H. Sahara, Y. Hata, Y. Abe, A. Kondo, M. Kato, K. Kuroda and M. Ueda: Efficient and direct fermentation of starch to ethanol by sake yeast strains displaying fungal glucoamylases. Biosci Biotechnol Biochem 72(5); 1376-1379, 2008

Shibasaki, S., J. Okada, Y. Nakayama, T. Yoshida and M. Ueda: Isolation of bacteria which produce yeast cell wall-lytic enzymes and their characterization. Biocontrol Science 13(3); 91-96, 2008

Kuroda, K., S. Hirakawa, M. Suzuki, K. Shinji, K. Ogasa, T. Uraji, T. Amachi and M. Ueda:

Growth acceleration of plants and mushroom by erythritol (dedicated to Dr. Kazuya Yoshida).
Plant Biotechnol 25; 489-492, 2008

Tang, Y. Q., S. Y. Han, H. Zheng, L. We, M. Ueda, X. N. Wang and Y. Ling: Construction of cell surface-engineered yeasts displaying antigen to detect antibodies by immunofluorescence and yeast-ELISA. Appl Microbiol Biotechnol 79(6); 1019-1026, 2008

Shibasaki, S., K. Sakata, J. Ishii, A. Kondo and M. Ueda: Development of a yeast protein fragment complementation assay (PCA) system using dihydrofolate reductase (DHFR) with specific additives. Appl Microbiol Biotechnol 80(4); 735-743, 2008

Kato, M. and M. Ueda: Novel application of yeast molecular display system to analysis of protein functions. J Biol Macromolec 8(1); 3-10. 2008

総 説

植田充美：細胞内情報伝達のデジタル定量解析システムの構築に向けて—ホスホプロテオミクス—. 科研費特定領域ライフサーベイヤ ニュースレター ; 4, 3-4, 2008

黒田浩一、三浦夏子、植田充美：バイオマスデザインに向けた植物育種の新発想. BIO INDUSTRY ; 25(4), 20-24, 2008

植田充美、加藤倫子、黒田浩一：微生物育種の未来開拓-細胞分子育種に変革をもたらす細胞表層工学の開拓-. 21世紀の農学（京都大学学術出版会）; 275-314, 2008

植田充美、民谷栄一：コンビバイオとナノバイオのコラボによる新しい世界の開拓—バイオテクノロジーの未来のかたち—. 日本生物工学会誌 ; 86(6), 267, 2008

門之園哲哉、植田充美：次世代医療へ向けたタンパク質デザインの展開. 日本生物工学会誌 ; 86(6), 277-279, 2008

黒田浩一、三浦夏子；金属イオン吸着・回収に向けた細胞表層デザインと吸着分子の創製. 日本生物工学会誌 ; 86(6), 280-282, 2008

植田充美：アーミング技術による生体触媒創製の新しい展開—ホワイトバイオテクノロジーのイノベーション. 微生物によるものづくり(シーエムシー) ; 32-42, 2008

稲葉千晶、植田充美：バイオマスからの乳酸エステル合成. 微生物によるものづくり(シーエムシー) ; 281-287, 2008

松井健、黒田浩一：有機溶媒耐性を賦与した酵母を用いたエステル合成. 微生物によるものづくり(シーエムシー) ; 275-280, 2008

中西昭仁、黒田浩一：バイオリファイナリーによるリグニンの有用物質への変換. 微生物によるものづくり(シーエムシー) ; 288-294, 2008

黒田浩一：レアメタルや貴金属を吸着・回収するバイオアドソorbent. 微生物によるものづくり(シーエムシー) ; 324-332, 2008

黒田浩一、進士和典、鈴木雅之、植田充美：糖アルコール・エリスリトールによる植物の生育促進作用. Food & Food Ingredients Journal of Japan ; 213(8), 708-711, 2008

植田充美、黒田浩一：アーミング技術による細胞表層デザインの展開—環境浄化からレアメタル・レアアース資源の選択回収へ—. 日本生物工学会誌 ; 86(12), 617-619, 2008

b) 学会発表

2008年日本生物工学会大会：4件

国際生化学・分子生物学会：5件

2009年日本農芸化学会大会：10件

International HPLC Conference 2008 in Kyoto：1件

第21回バイオメディカル分析科学シンポジウム：1件

International Congress on Biocatalysis：2件

コンビナトリアル・バイオエンジニアリング国際会議：5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、「日本農芸化学会」評議員、「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・地域イノベーション創出研究開発事業「麴糖化技術の革新による新規天然食品原料の開発／麴、醸造成分分析技術の開発」（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）

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）、科学技術振興機構・シーズ発掘試験A（発掘型）「酵母の有機溶媒耐性賦与のメカニズム解明と生体触媒開発への応用」（代表）、新エネルギー・産業技術総合開発機構「加速度的先導技術／バイオフェュエルチャレンジ／セルロースエタノール高効率製造のための環境調和型統合プロセス開発」（分担）

A - 4 . 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

植田充美：コンビナトリアル・バイオエンジニアリング国際会議・ソウル（組織副委員長）、バイオマスワークショップ・神戸（組織副委員長）

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

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（植田）、生化学実験及び実験法（植田、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、黒田、森坂）、生体高分子化学専攻実験（植田、黒田、森坂）

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
 博士研究員 市来 弥生, 小倉 岳彦

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 3 名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

A - 1．研究概要

a) 脱皮ホルモンアゴニストの構造活性相関

節足動物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。昆虫の脱皮ホルモンはほとんどが20-ヒドロキシエクダイソン(20E)であるが、ある種の昆虫や甲殻類ではポナステロンやマキシステロン、エクダイソンが脱皮を調節していると報告されている。サソリも、脱皮を繰り返して成長するが、その脱皮メカニズムのみならず、脱皮ホルモンの存在も明らかにされていない。本年度は、LC/MS/MSを用いて、2令直前のヤエヤマサソリにおいて脱皮ホルモンを探索したところ、20Eを検出することができた。一方、ポナステロンやマキシステロン、エクダイソンは検出されなかった。また、ヤエヤマサソリの脱皮ホルモン受容体に対する20Eの結合親和性を測定したところ、昆虫の脱皮ホルモン受容体に対する親和性と同程度であることが分かった。また、サソリの脱皮周期を調べたが、1令期間（約1週間）以外は、非常にばらつきが大きかった。

b) 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。我々はこれまでにタバコ細胞の防御応答を指標にして、ランダムライブラリーから新規防御誘導ペプチドを見出している。本研究ではさらに、その作用機構に関する知見を得るために植物の種々の防御応答について調べた。その結果、このペプチドはタバコに対し顕著なファイトアレキシン生産を誘導するが、過敏感細胞死は引き起こさないことが明らかとなった。

ii) ヤエヤマサソリ (*Liocheles australasiae*) 毒液から新たな殺虫性ペプチドLaIT2を単離・精製した。このペプチドのN末端アミノ酸配列をエドマン分解法によって決定した後、その配列をもとにcDNAクローニングを行って全配列を決定した。その結果、このペプチドは59残基からなり、3つのジスルフィド結合を含んでいることが分かった。データベース検索の結果、この毒素は β KTxファミリーに属するサソリ毒液由来ペプチドとの類似性を示した。また、このファミリーに属する殺虫活性ペプチドの報告はこれまでになく、本毒素が初めて

のものである。

c) 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) はオーキシンの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、その代謝経路は植物によってかなり異なる。本年度は、イネにおける代謝物を詳細に分析し、indole-3-carboxylic acidおよびhydroxyindole-3-carboxylic acidのグルコース抱合体、IAAの2および3位が酸化されたDiOxIAAとそのアスパラギン酸およびグルタミン酸抱合体を主要代謝物として同定した。

A - 2 . 研究業績 (国内, 国外を含む)

a) 成果刊行

総 説

Fujita, T. and Y. Nakagawa: SAR and QSAR Analyses of substituted dibenzoylhydrazines for their mode of Action as ecdysone agonists. In *Endocrine Disruption Modeling* (Devillers, J., ed.), Taylor & Francis Group , Boca Raton, FL, pp359-379, 2009

Nakagawa, Y., R. E. Hormann and G. Smagghe: SAR and QSAR studies for in vivo and in vitro activities of ecdysone agonists. In *Ecdysones: Structures and Functions* (Smagghe, G., ed.), Springer, pp. 475-509, 2009.

中川好秋：昆虫脱皮の分子メカニズムー 新たな害虫防除手法を探る。「昆虫科学が拓く未来」藤崎憲二, 西田律夫, 佐久間正幸編), 京都大学出版会, pp. 271-298, 2009

宮下正弘, 中川好秋；日本に生息するサソリの持つ毒素の研究。昆虫科学が拓く未来」藤崎憲二, 西田律夫, 佐久間正幸編), 京都大学出版会, pp. 304-306, 2009

原著論文

Arai, H., B. Watanabe, Y. Nakagawa and H. Miyagawa: Synthesis of ponasterone A derivatives with various steroid skeleton moieties and evaluation of their binding to the ecdysone receptor of Kc cells. *Steroids* 73; 1452-1464, 2008

Harada, T., Y. Nakagawa, R. W. Wadkins, P. M. Potter and C. W. Wheelock: Comparison of benzil and trifluoromethyl ketone (TFK)-mediated carboxyesterase inhibition using classical and 3D-quantitative structure-activity relationship analysis. *Bioorg Med Chem* 17; 149-164, 2009

Hormann, R. E., G. Smagghe and Y. Nakagawa: Multidimensional quantitative structure-activity relationships of diacylhydrazine toxicity in *Spodoptera exigua*, *Chilo suppressalis*, and *Leptinotarsa decemlineata*. *QSAR Comb Sci* 27; 1098-1112, 2008

Ichimaru, N., M. Murai, N. Kakutani, J. Kako, A. Ishihara, Y. Nakagawa, T. Nishioka, T. Yagi and H. Miyoshi: Synthesis and characterization of new piperazine-type inhibitors for mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex I). *Biochemistry* 47; 10816-10826, 2008

Ishihara, A., Y. Hashimoto, C. Tanaka, J. G. Dubouzet, T. Nakao, F. Matsuda, T. Nishioka, H. Miyagawa and K. Wakasa: The tryptophan pathway is involved in the defense responses of rice against pathogenic infection via serotonin production. *Plant J* 54; 481-495, 2008

- Ishihara, A., Y. Hashimoto, H. Miyagawa and K. Wakasa: Induction of serotonin accumulation by feeding of rice striped stem borer in rice leaves. *Plant Signaling & Behavior* 3; 714-716, 2008
- Mizuno, T, Miyashita M, Miyagawa H: Cellular internalization of arginine-rich peptides into tobacco suspension cells: a structure-activity relationship study. *J Pept Sci* 15; 259-263, 2009
- Morita, D., K. Katoh, T. Harada, Y. Nakagawa, I. Matsunaga, T. Miura, A. Adachi, T. Igarashi and M. Sugita: Trans-species activation of human T cells by rhesus macaque CD1b molecules. *Biochem Biophys Res Commun* 377; 889-893, 2008
- Mosallanejad, H., T. Soin, L. Swevers, K. Iatrou, Y. Nakagawa and G. Smagghe: Non-steroidal ecdysteroid agonist chromafenozide: Gene induction activity, cell proliferation inhibition and larvicidal toxicity. *Pestic Biochem Physiol* 92: 70-76, 2008
- Yamada, T., F. Matsuda, K. Kasai, S. Fukuoka, K. Kitamura, Y. Tozawa, H. Miyagawa, K. Wakasa: Mutation of a Rice Gene Encoding a Phenylalanine Biosynthetic Enzyme Results in Accumulation of Phenylalanine and Tryptophan. *Plant Cell* 20; 1316-1329, 2008

b) 学会発表

- 日本農薬学会第34回大会：7件
- 日本農芸化学会大会2009年度大会[福岡]：4件
- 日本農芸化学会関西支部大会：1件
- 日本農芸化学会関西支部例会：3件
- 第56回質量分析総合討論会：1件
- 第22回内藤コンファレンス：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）
- 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）,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）
- 宮下正弘：日本質量分析学会（講習会企画委員長,学会誌編集委員）

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」, 内藤記念特定助成金「植物の防御反応を誘導するペプチドの探索」

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 (2008.4 ~ 2009.3)

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 (宮川, 中川), 有機反応機構論 (中川), 有機化学実験 (中川, 宮下 (分担)), 食品安全学 (宮川 (分担))

大学院 : 生物調節化学専攻演習 (宮川, 中川, 宮下), 生物調節化学専攻実験 (宮川, 中川, 宮下), 生物調節化学 (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 : 大阪府立大学生命環境科学部 (分子設計論), 福井県立大学生物資源学部 (農薬化学)

中川好秋 : 京都府立大学生命環境学部 (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
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	5名

A . 研究活動 (2008.4 ~ 2009.3)

A - 1 . 研究概要

a) 果樹害虫ミバエ誘引物質の解明

ナスミバエ *Bactrocera latifrons* は, ナス科果実の害虫であり, 与那国島では本種の根絶事業が進行している. ナスミバエが好んで寄主とするナス品種の果肉成分は雄成虫に対して強い摂食行動を誘起することから化学分析し, 新規誘引因子 3-hydroxy- α -ionone を同定した. 関連物質である 3-oxo- α -ionone, 3-oxo- α -ionol などの合成標品を用いて, ナスミバエ成虫に対する誘引/摂食刺激活性を検定する一方, 摂食後の雄成虫が, 直腸腺へ取り込む過程を追跡した. その結果, (1) これらの化合物が, 雄成虫に対する強い誘引力と摂食刺激活性を示すこと, (2) 同物質群を摂食した雄は 3-oxo- α -ionol を主要成分として直腸フェロモン腺に速やかに

蓄積する能力があることを見出し、その生態学的意義について追究した。一連の雄特異的誘引物質は揮発性が低いものの個体群モニターに利用できる可能性が示唆された。

b) 植物に抵抗性を誘導する **volicitin** の鱗翅目幼虫における生理作用

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。しかしながら、自分の生存に不利に働く **volicitin** 類を何故幼虫が生合成するかについては、ほとんど研究されてこなかった。そこで、本研究では、¹⁴Cラベルでラベル化したグルタミン、グルタミン酸およびリノレン酸を用い、その生合成の詳細を検討した。その結果、**volicitin** は幼虫体内で窒素代謝の中心的役割を担うグルタミンのリザーバーとして働くことを見出した。

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

昆虫の脱皮ホルモンとして、20-hydroxyecdysone (20E) が特徴づけられている。一方で、前駆体のecdysone (E) については、生理作用はほとんど明らかにされていないため、その生理機能を解析した。ショウジョウバエでは特定の組織や器官に、任意の遺伝子を強制的に発現させる方法が確立されている。これより、ホルモン分泌器官において、Eを20Eへと変換する酵素を発現させることによって、分泌される分子種を人為的に制御する系を確立した。このような方法を用いて、Eは正常なタイミングで脱皮や変態を遂げるのに必要であることを明らかにした。これより、Eは20Eとは異なる作用機構のもとで発育のタイミングの決定因子として機能すると考えられる。

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) 昆虫と植物の共存 花の香りを介した相互の適応戦略. 昆虫科学が拓く未来 (藤崎憲治・西田律夫・佐久間正幸編) p.191-220、京都大学学術出版会、京都、2009

勝又綾子・西田律夫 (分担執筆) 2009. 昆虫の化学センサー. 昆虫科学が拓く未来 (藤崎憲治・西田律夫・佐久間正幸編) p.321 -341、京都大学学術出版会、京都、2009

森直樹・吉永直子・網干貴子: 昆虫・植物間の攻防と植物免疫システムの“界面”、昆虫が拓く未来科学 (藤崎憲治・西田律夫・佐久間正幸編) p. 165-189、京都大学学術出版会、京都、2009

森直樹・桑原保正: ダニのアルカロイドとヤドクガエル、昆虫が拓く未来科学 (藤崎憲治・西田律夫・佐久間正幸編)、p. 248-251、京都大学学術出版会、京都、2009

森直樹・桑原保正: ダニアレルギー最前線、昆虫が拓く未来科学 (藤崎憲治・西田律夫・佐久間正幸 編)、p. 468-471、京都大学学術出版会、京都、2009

原著論文

Ishida, T., H. Enomoto and R. Nishida: New attractants for males of the solanaceous fruit fly *Bactrocera latifrons*. J Chem Ecol 34; 1532-1535, 2008

Shelly, T. E., J. Edu, E. Pahio, S.L. Wee and R. Nishida: Re-examining the relationship between sexual maturation and age of response to methyl eugenol in males of the oriental fruit fly.

Entomol Exp Appl 128; 380-388, 2008

Tsuchihara, K., T. Wazawa, Y. Ishii, T. Yanagida, R. Nishida, X.G. Zhen, M. Ishiguro, K. Yoshihara, O. Hisatomi and F. Tokunaga: Characterization of chemoreceptive protein binding to an oviposition stimulant using a fluorescent micro-binding assay in a butterfly. FEBS Letters 583; 345-349, 2008

Nishida, R., H. Enomoto, T.E. Shelly and T. Ishida: Sequestration of 3-oxygenated α -ionone derivatives in the male rectal gland of the solanaceous fruit fly, *Bactrocera latifrons*. Entomol Exp Appl 131; 85-92, 2009

Wada-Katsumata, A., M. Ozaki, F. Yokohari, M. Nishikawa and R. Nishida: Behavioral and electrophysiological study on the sexually biased synergism between oligosaccharides and phospholipids in gustatory perception of nuptial secretion by the German cockroach. J Insect Physiol; accepted, 2009

Yoshinaga, N., T. Aboshi, H. Abe, R. Nishida, H. T. Alborn, J. H. Tumlinson and N. Mori: Active role of fatty acid amino acid conjugates in nitrogen metabolism in *Spodoptera litura* larvae. Proc Natl Acad Sci USA; 105, 18058-18063, 2008

Sasai, T., Y. Hirano, S. Maeda, I. Matsunaga, A. Otsuka, D. Morita, R. Nishida, H. Nakayama, Y. Kuwahara, M. Sugita and N. Mori: Introduction of allergic contact dermatitis by astigmatid mite-derived monoterpene, α -acaridial. Biochem Biophys Res Commun; 375, 336-340, 2008

Matsunaga, I., T. Komori, A. Ochi, N. Mori and M. Suigita: Identification of antibody responses to the serotype-nonspecific molecular species of glycopeptidolipids in *Mycobacterium avium* infection. Biochem Biophys Res Commun; 377, 165-169, 2008

特許

特願 2008-128415号「ミバエの誘引・摂食刺激剤及び誘引体」、発明者：西田律夫、榎本弘、石田龍顕、出願人：国立大学法人京都大学、出願日 2008年5月15日

b) 学会発表

The 25th ISCE Annual Meeting, University Park, USA : 4件

2007年日本環境動物昆虫学会年次大会 : 1件

第53回日本応用動物昆虫学会大会 : 3件 西田／小野／酒井

2008年日本農芸化学大会 : 3件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

西田律夫：日本応用動物昆虫学会（評議員）、日本農芸化学会関西支部（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）、「Biochemical Systematics and Ecology」（Editorial advisory board）、「Chemoecology」（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、タイ、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（2008.4～2009.3）

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：京都教育大学教育学部（天然物化学）

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
助 教 落合久美子
大学院博士後期課程 3 名
大学院修士課程 4 名
専攻 4 回生 4 名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

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¹⁰B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分担す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 作物生産の未来を拓く（山末祐二編）p.131-152、京都大学学術出版会、京都 2008

原著論文

Ochiai, K., S. Uemura, A. Shimizu, Y. Okumoto and T. Matoh: Boron toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). I. Quantitative trait locus (QTL) analysis of tolerance to boron toxicity. Theor Appl Genet 117; 125-133, 2008

Koshiba, T., M. Kobayashi, and T. Matoh: Boron nutrition of tobacco BY-2 cells. V. Oxidative damage is the major cause of cell death induced by boron deprivation. Plant Cell Physiol 50; 26-36, 2009

総 説

間藤 徹：農学改め食料生産科学. 化学と生物 47 ; 77、2009

b) 学会発表

日本植物生理学会2009年度大会：2件

日本土壌肥料学会2008年度大会：5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：日本土壌肥料学会（評議員、第4部門部門長、欧文誌編集実行委員、2009年度京都大会実行委員長）

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：基盤研究(C) ホウ素欠乏応答の分子機構解明（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

国際共同研究、海外学術調査等

間藤 徹：国際学術研究 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（2008.4～2009.3）

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（小林、間藤）、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）

B - 3 . 国際的教育活動

留学生・外国人研修員の受入れ

留学生：修士課程学生 1名（タイ王国）、博士後期課程学生 2名（中華人民共和国、タイ王国）

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

小林 優：オープンキャンパス委員

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
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（2008.4～2009.3）

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、タンパク質単独と DNA 複合体の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、SPRING-8 BL38B1を用いて分解能1.95 までの回折データを収集し、SAD法により構造決定を行った。非対称単位中に1分子の酵素が存在しており、超遠心およびゲルろ過による解析結果とは異なっていた。本酵素はN末端側とC末端側の2つのドメインから構成されており、N末端側は古細菌由来Cdc6オーソログの推定DNA結合ドメイン、C末端側は制限酵素FokIの触媒ドメインの立体構造と類似性が認められた。

b) メチルグリオキサールによる翻訳開始因子eIF2 α のリン酸化

翻訳効率はさまざまな環境ストレスによって変化する。真核生物における翻訳開始は、40SリボソームサブユニットがGTP結合型翻訳開始因子eIF2と会合し、さらにメチオニンがチャージしたinitiator methionyl-tRNAと結合してプレニシエーター43S複合体を形成する。本複合体はmRNAをリクルートし、60S複合体となり翻訳が開始される。一方、eIF2の α サブユニットのSer51は種々の環境ストレスによりリン酸化され、翻訳開始の効率に影響を与える。わ

れわれは解糖系中間体産物メチルグリオキサルがeIF2 α のリン酸化を引き起こし、翻訳の開始効率を低下させることを明らかにした。さらに、メチルグリオキサルに対する適応機構においてbZIP転写因子Gcn4が重要な働きを持つことを明らかにした。

c) mRNAの3' プロセッシングにおける熱ショックストレスとエタノールストレスの影響

酵母をストレス条件下に置くと、*HSP*遺伝子などのmRNAの選択的な核外輸送が行われる。これはストレス環境への効率的な適応機構の一つであると考えられる。熱ショックストレスでもエタノールストレスでも選択的なmRNAの核外輸送が認められるが、それらが同じ機構によるのか、独立した機構によるのかはまだよく分かっていない。われわれは、エタノールストレス条件下では*HSP*遺伝子のmRNAレベルは上昇するものの、それらはhyperadenylationを受けて核内に留まることを見いだした。エタノールを除去するとhyperadenylationは解除され、mRNAの核外輸送が行われ、HSPタンパク質レベルも上昇した。熱ショックストレスではそれら*HSP*遺伝子のmRNAはhyperadenylationを受けずに核外輸送されるので、エタノールストレスでは熱ショックとは異なる機構で3' プロセッシングが行われることが示唆された。

A - 2 . 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

原著論文

Nomura, W., K. Maeta, K. Kita, S. Izawa and Y. Inoue: Role of Gcn4 for adaptation to methylglyoxal in *Saccharomyces cerevisiae*: methylglyoxal attenuates protein synthesis through phosphorylation of eIF2 α . *Biochem Biophys Res Commun* 376(4); 738-742, 2008

Izawa, S., T. Kita, K. Ikeda and Y. Inoue: Heat shock and ethanol stress provoke distinctly different responses in 3'-processing and nuclear export of HSP mRNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem J* 414(1); 111-119, 2008.

b) 学会発表

酵母遺伝学フォーラム第41回研究報告会：5件

平成20年度日本生物工学会大会：1件

2009年度日本農芸化学学会大会：6件

第18回日本メイラード学会学術集会：1件

BMB2008第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会：3件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

喜多恵子：日本農芸化学会 (全国評議員、関西支部評議員) 日本生物工学会 (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11回日本－スイス酵素バイオテクノロジーミーティング（招待講演）

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

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（喜多、井上）、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：日本学術振興会レッドクス生命科学第170委員会委員

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 (～2008.9)		
助教	櫻谷 英治		
協力教員	小川 順 (微生物科学寄附研究部門・特定教授、2008.10～)		
	安藤 晃規 (微生物科学寄附研究部門・特定助教、2008.11～)		
博士研究員	島田 良美		
	浦野 信行		
大学院博士後期課程	1 名	受託研究員	1 名
大学院修士課程	18名	研修員	1 名
専攻 4 回生	5 名	招へい外国人学者	1 名
研究生	3 名	教務補佐員	2 名

A．研究活動 (2008.4～2009.3)

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。

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。

e) 全学寄附研究部門・微生物科学寄附研究部門との共同研究

微生物機能の探索研究を支援すべく様々な微生物の収集を行うとともに、微生物における物質代謝の詳細な解析を基盤に、有用物質生産のためのバイオプロセス、エネルギー生産、環境浄化、機能性食品生産、プロバイオティクス開発などに有用な微生物機能・微生物酵素の開発を行っている。例えば、*Bacillus*属細菌に見いだした新たな脂肪族アミノ酸代謝経路とその経路上にて機能する新規ジオキシゲナーゼを用いた水酸化脂肪族アミノ酸生産技術の開発を行い、抗糖尿病活性・抗肥満活性が期待される4-ヒドロキシイソロイシンの効率生産を実現した。また、嫌気性細菌における脂肪酸飽和化経路について、関与する酵素群を特定するとともに複雑な反応経路の実態をはじめて明らかにした。また、本酵素系にて機能する脂肪酸異性化酵素を活用した機能性脂質・共役脂肪酸の生産技術を確立した。一方、乳酸菌における核酸代謝の解析に基づき、乳酸菌プロバイオティクスによるプリン体腸管吸収抑制を介する高尿酸血症予防の可能性を見いだした。さらには、バイオ電池モジュールとしての微生物ラッカーゼの探索・機能開発研究、油脂生産性糸状菌における油脂の分泌生産に関する研究に取り組んでいる。

A - 2 . 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著 書

- Kataoka, M. and S. Shimizu: Chapter 19. Screening of novel microbial enzymes and their application to chiral compound production. *Biocatalysis and Bioenergy* (eds. Hou, C.T. and J.-R. Shaw), 355-373, John Wiley & Sons., 2008
- Ogawa, J., N. Horinouchi and S. Shimizu: Multi-step enzyme catalysis. *Biotransformations and chemoenzymatic synthesis* (ed. Garcia-Junceda, E.), pp.199-211, Wiley-VCH, Weinheim, 2008
- 清水 昌：微生物機能の開発 序文. 生物資源から考える21世紀の農学 第6巻（植田充美編）、pp. xi-xxii、京都大学学術出版会、京都、2008
- 清水 昌：微生物機能の開発 第5章 微生物工場 -くらしに役立つ微生物の話-. 生物資源から考える21世紀の農学 第6巻（植田充美編）、pp. 125-145、京都大学学術出版会、京都、2008
- 清水 昌：3.2 理論、方法論. 微生物の事典（渡邊 信他編）、pp. 138-140、朝倉書店、東京、2008
- 清水 昌：3.3 応用(2) 有機合成品・中間体（a. アクリルアミド、b. D-パントラクトン）. 微生物の事典（渡邊 信他編）、pp. 151-154、朝倉書店、東京、2008
- 清水 昌：3.4 代謝工学（1）有用油脂. 微生物の事典（渡邊 信他編）、pp. 158-160、朝倉書店、東京、2008
- 清水 昌：4.1.1.29 Sulfinoalanine decarboxylase 他. 酵素ハンドブック第3版（八木達彦他編）pp. 761、763、765-766、769-770、772-774、777-779、802-803、朝倉書店、東京、2008
- 小川 順：お口の恋人“酵素”. 未来をつくるバイオ -酒づくりから再生医療まで60話-（日本生物工学会編）pp. 110-111、2008
- 小川 順、岸野重信、櫻谷英治、清水 昌：高度不飽和脂肪酸・共役脂肪酸含有油脂の微生物生産. バイオテクノロジーシリーズ 微生物によるものづくり -化学法に代わるホワイトバイオテクノロジーのすべて-（植田充美監修）pp. 85-91、シーエムシー出版、東京、2008
- 小川 順、岸野重信、櫻谷英治、横関健三、清水 昌：微生物機能を活用した食品機能の創出. 栄養学研究の最前線（日本栄養食糧学会監修）. pp. 151-165、建帛社、2008

原著論文

- von Canstein, H., J. Ogawa, S. Shimizu and J.R. Lloyd: Secretion of flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer. *Appl Environ Microbiol* 74; 615-623, 2008
- Fernandez, A., J. Ogawa, S. Penaud, S. Boudebouze, D. Ehrlich, M. van de Guchte and E. Maguin: Rerouting of pyruvate metabolism during acid adaptation in *Lactobacillus bulgaricus*. *Proteomics* 8; 3154-3163, 2008
- Isobe, K., K. Ishikura and S. Shimizu: Identification and characterization of enzyme catalyzing conversion of N(alpha)-benzyloxycarbonyl-L-aminoadipic-delta-semialdehyde to N(alpha)-benzyloxycarbonyl L-aminoadipic acid in *Aspergillus niger* AKU3302. *J Biosci Bioeng* 106; 409-411, 2008
- Isobe, K., A. Kato, Y. Sasaki, M. Kataoka, A. Iwasaki, J. Hasegawa and S. Shimizu: Superoxide

- dismutase exhibit oxidase activity on aldehyde alcohols similar to alcohol oxidase from *Paenibacillus* sp. AIU311. J Biosci Bioeng 105; 666-670, 2008
- Kataoka, M., T. Ishige, N. Urano, Y. Nakamura, E. Sakuradani, S. Fukui, S. Kita, K. Sakamoto and S. Shimizu: Cloning and expression of the L-1-amino-2-propanol dehydrogenase gene from *Rhodococcus erythropolis*, and its application to double chiral compound production. Appl Microbiol Biotechnol 80; 597-604, 2008
- Muramatsu, M., C. Ohto, S. Obata, E. Sakuradani and S. Shimizu: Accumulation of prenol alcohols by terpenoid biosynthesis inhibitors in various microorganisms. Appl Microbiol Biotechnol 80; 589-595, 2008
- Muramatsu, M., C. Ohto, S. Obata, E. Sakuradani and S. Shimizu: Various oils and detergents enhance the microbial production of farnesol and related prenol alcohols. J Biosci Bioeng 106; 263-267, 2008
- 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
- Sakuradani, E., S. Murata, H. Kanamaru and S. Shimizu: Functional analysis of a fatty acid elongase from arachidonic acid-producing *Mortierella alpina* 1S-4. Appl Microbiol Biotechnol 81; 497-503, 2008
- Sasaki, Y., K. Isobe, M. Kataoka, J. Ogawa, A. Iwasaki, J. Hasegawa and S. Shimizu: Purification and characterization of a new aldehyde oxidase from *Pseudomonas* sp. AIU 362. J Biosci Bioeng, 106; 297-302, 2008
- Thiwhong, R., M. Kataoka, A. Iwasaki, H. Watanabe, J. Hasegawa, K. Isobe and S. Shimizu: Aldehyde oxidase carrying an unusual subunit structure from *Pseudomonas* sp. MX-058. Microbial Biotechnol 1; 395-402, 2008
- Wada, M., K. Okabe, M. Kataoka, S. Shimizu, A. Yokota and H. Takagi: Distribution of L-azetidine-2-carboxylate *N*-acetyltransferase in yeast. Biosci Biotechnol Biochem 72; 582-586, 2008

総 説

- 岸野重信、清水 昌：乳酸菌のさらなる可能性. 温故知新 45 ; 24-39, 2008
- 岸野重信、小川 順、横関健三、清水 昌：乳酸菌による共役脂肪酸生産. バイオサイエンスとインダストリー 66 ; 54-59, 2008
- 小川 順、秋 庸裕、永尾寿浩：特集「機能性脂質生産の新たなターゲットを探る」-特集によせて. 生物工学誌 86 ; 469, 2008
- 小川 順、岸野重信、清水 昌：新春特集 微生物機能による反応と物質生産 序論-ユニークな微生物機能の探索・開発と物質生産への利用. 月刊 ファインケミカル 37 ; 5-7, 2008
- 清水 昌：新春特集 微生物機能による反応と物質生産 酵素法による共役脂肪酸の合成. 月刊 ファインケミカル 37;18-27, 2008
- 清水 昌：特集 バイオベンチャーに挑む 特集にあたって. BIOINDUSTRY 25 ; 5-6, 2008
- 清水 昌：シリーズ アミノ酸発酵50年, これからの50年に向けて -1 まえがき. バイオサ

イエンスとインダストリー 66 ; 426, 2008

報告書等

小川 順：-留学報告- フランス国立農業研究所での乳酸菌研究体験談．日本乳酸菌学会誌 19 ; 46-50, 2008

清水 昌：微生物工場：ユニークな微生物機能の探索・開発と産業利用．中部大学生物機能開発研究所紀要 8 ; 13-32, 2008

清水 昌：世界トップクラスの微生物バイオプロセス．Community Information 地域情報 関西電力 No. 224 ; 5-6, 2008

b) 学会発表

日本農芸化学会2008年度大会：18件

藪田セミナー「環境微生物利用の新展開」：1件

第36回酵母シンポジウム：1件

第99回米国油化学会年会：2件

第9回国際シトクロムP450シンポジウム：1件

日本ビタミン学会第60回大会：1件

生体触媒に関するゴードン会議：1件

2008年度米国産業微生物学会年会：1件

ターゲットタンパク研究プログラム第2回研究交流会：1件

平成20年度日本生物工学会大会：4件

平成20年度日本生物工学会大会シンポジウム：1件

biocat 2008：3件

食品酵素化学研究会第8回学術講演会：1件

日本農芸化学会平成20年度関西支部大会シンポジウム：1件

日本農芸化学会平成20年度関西支部大会：3件

第4回酵素科学とバイオテクノロジーに関する日本オランダ共同セミナー：1件

第13回国際バイオテクノロジーシンポジウム：1件

第11回スイス・日本バイオテクノロジー及びバイオプロセス会議：2件

BioTrends2008-SusChemEng国際会議：1件

酵素工学会30周年記念シンポジウム：4件

2008年国際生体触媒・生物工学シンポジウム：1件

第34回日本応用酵素協会研究発表会：1件

平成20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2」：1件

日本農芸化学会関西支部第458回講演会：2件

第7回脂質工学研究部会講演会：3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）
片岡道彦：酵素工学会（幹事）、日本ビタミン学会（「ビタミン誌」トピックス等担当委員）、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）、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) バイオ還元システムを基盤とする有用物質生産プロセスの開発（代表）、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（分担）
小川 順：基盤研究(B) 微生物における還元的脂肪酸・有機酸変換機能の探索と開発（代表）、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）
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：第36回酵母シンポジウム・スロバキア（招待講演）、第13回国際バイオテクノロジーシンポジウム・中国（招待講演）、第11回スイス・日本バイオテクノロジー及びバイオプロセス会議・スイス（組織委員・招待講演）
片岡道彦：生体触媒に関するゴードン会議・アメリカ（招待講演）、biocat2008・ドイツ（研究発表）、第4回酵素科学とバイオテクノロジーに関する日本オランダ共同セミナー（招待講演）、BioTrends2008 SusChemEng国際会議・ドイツ（招待講演）
小川 順：第99回米国油化学会年会・アメリカ（招待講演）、第9回国際シトクロムP450シンポジウム・フランス（研究発表）、2008年度米国産業微生物学会年会・アメリカ（招待講演）、biocat2008・ドイツ（研究発表）、第11回スイス・日本バイオテクノロジー及びバイオプロセス会議・スイス（招待講演）、2008年国際生体触媒・生物工学シンポジウム・台湾（招待講演）
櫻谷英治：第99回米国油化学会年会・アメリカ（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）

小川 順：Applied Microbiology and Biotechnology（編集委員）

国際共同研究、海外学術調査等

清水 昌：シトクロムP450のバイオテクノロジーに関する共同研究（ドイツ・シュツツガルト大学）

片岡道彦：旧黄色酵素の生物化学工学的利用に関する共同研究（ドイツ・ドルトムント工科大学）

小川 順：シトクロムP450のバイオテクノロジーに関する共同研究（ドイツ・シュツツガルト大学）、乳酸菌の脂質代謝に関する共同研究（フランス・国立農業研究所）、ラッカーゼの機能開発に関する共同研究（フランス・マルセイユ第三大学）

外国人研究者の受入れ

招へい外国人学者 1名（フィリピン大学ヴィサヤス校水産学部・准教授）

B．教育活動（2008.4～2009.3）

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

b）公開セミナー開講

京都大学オープンキャンパス・ミニレクチャー（片岡）、新たに会社を築くということ．（藤田朋宏、ネオ・モルガン研究所 代表取締役COO）、理系の学生に興味を持ってほしいこと．（藤田朋宏、ネオ・モルガン研究所 代表取締役COO）、Supramolecular Chemistry of Cyclodextrin in Enzyme Technology.（Reynaldo Villalonga Santana、キューバマタンザス大学農学部生物工学研究センター・教授）、新しい酵素機能の開拓と産業利用に関する研究．（浅野泰久、富山県立大学工学部生物工学科 教授）、生体触媒のフロンティアへ -協和発酵バイオ-．（橋本信一、協和発酵バイオ生産技術研究所 所長他）

B - 2．国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

外国人研修員等：研修員 1名（韓国）、研究生 1名（中国）

海外での講義、講演

清水 昌：スロバキア工科大学（スロバキア）

小川 順：フランス国立農業研究所（フランス）

C．その他

清水 昌：平成20年度科学技術分野の文部科学大臣表彰・科学技術賞開発部門、第33回井

上春成賞
片岡道彦：平成20年度科学技術分野の文部科学大臣表彰・科学技術賞開発部門

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
 助 教 奥 公秀（2008.7～、博士研究員～2008.6）
 博士研究員 山下 俊一（～2008.4）
 大学院博士後期課程 5 名
 大学院修士課程 16名
 専攻 4 回生 4 名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

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

熊谷英彦、加藤暢夫、村田幸作、阪井康能（編著）：遺伝子から見た応用微生物学；朝倉書店、東京、2008

由里本博也、阪井康能：微生物のしくみ、生物資源から考える21世紀の農学 第6巻 微生物機能の開発（植田充美編）、p.3-27；京都大学学術出版会、京都、2008

由里本博也、阪井康能：微生物による組換えタンパク質生産．タンパク質の事典（猪飼篤、伏見譲、卜部格、上野川修一、中村春木、浜窪隆雄編）、p.726-728；朝倉書店、東京、2008

原著論文

Limtong, S., N. Srisuk, W. Yongmanitchai, H. Yurimoto and T. Nakase: *Ogataea chonburiensis* sp. nov. and *Ogataea nakhonphanomensis* sp. nov., two thermotolerant, methylotrophic yeast species isolated in Thailand and the transfer of *Pichia siamensis* and *Pichia thermomethanolica* to the genus *Ogataea*. Int J Syst Evol Microbiol 58; 302-307, 2008

Sasano, Y., H. Yurimoto, M. Yanaka and Y. Sakai: Trm1p, a Zn(II)₂Cys₆-type transcription factor, is a master regulator of methanol-specific gene activation in the methylotrophic yeast *Candida boidinii*. Eukaryot Cell 7; 527-536, 2008

Egawa, K., H. Shibata, S. Yamashita, H. Yurimoto, Y. Sakai and H. Kato: Overexpression and purification of rat peroxisomal membrane protein 22, PMP22, in *Pichia pastoris*. Protein Expr Purif 64; 47-54, 2009

総説

阪井康能：オルガネラ・ダイナミクスとオートファジー．実験医学 26(2)；284－288、2008

由里本博也、折田和泉、阪井康能：アーキアにおけるホルムアルデヒド固定酵素群の生理機能．バイオサイエンスとインダストリー 66(8)；447-449、2008

Oku M. and Y. Sakai: Pexphagy in *Pichia pastoris*. Methods Enzymol 451; 217-228, 2008

b）学会発表

日本農芸化学会大会2009年度大会：13件

第41回酵母遺伝学フォーラム：5件

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会：4件

第60回日本生物工学会大会：2件

第8回日本タンパク質化学会年会：1件

日本農芸化学会関西支部大会：2件

日本農芸化学会関西支部第458回講演会：2件

第18回酵母合同シンポジウム：1件

第9回酵素応用シンポジウム：1件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

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）、日本農芸化学会（代議員）

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）、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）、地球環境産業技術研究機構 プログラム方式二酸化炭素固定化・有効利用技術開発 平成20年度先端的研究 温室効果ガス回収型C1微生物コンソーシアムによる *in situ* バイオマス利用の基盤技術開発（代表）

A - 4 . 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

阪井康能：ゴードン会議「微生物のC1化合物代謝の分子基盤」米国（招待講演）、第12回酵母に関する国際会議 ウクライナ（招待講演）

由里本博也：ゴードン会議「微生物のC1化合物代謝の分子基盤」米国（招待講演）、微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築に関するJSPSアジア研究教育拠点事業第1回合同セミナー タイ（招待講演）

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：日本学術振興会アジア研究教育拠点事業 微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築（タイ、ベトナム、ラオス）

由里本博也：日本学術振興会アジア研究教育拠点事業 微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築（タイ、ベトナム、ラオス）

外国人研究者の受入れ

招へい外国人学者 1名（米国ワシントン大学・教授）

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

B - 1 . 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用生命科学入門Ⅰ（阪井）、応用生命科学入門Ⅱ（阪井）、応用微生物学Ⅰ（阪井）、応用微生物学Ⅳ（由里本）、生化学Ⅰ（由里本）応用微生物学実験（由里本、奥）、応用生命科学演習Ⅰ、Ⅱ（阪井、由里本、奥）

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

B - 2 . 学外における教育活動

学外非常勤講師

阪井康能：奈良女子大学大学院（生命科学特論）、奈良先端科学技術大学院大学（微生物バイオテクノロジー特論）、福島県立医科大学（医学部特別講義）

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1名（中国）、修士課程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、京都市医・工・ライフサイエンス連携プロジェクト検討委員会委員

由里本博也：第9回酵素応用シンポジウム研究奨励賞

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 Stefano Freguia

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 5 名

研究員 1 名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

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

酢酸菌由来フルクトース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、電極反応特性、活性部位サブユニット単独発現など）。マルチ銅オキシダーゼの部位特変異と機能解析。新規マルチ銅オキシダーゼの機能解析。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。構造および表面化学特性規制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

直接電子移動型酵素電極反応を利用したマイクロ電解クーロメトリの多面的展開。血糖センサの改良に向けたメディエータおよび測定系の開発。

d) ポリフェノールの抗酸化能について

カテキンの自動酸化とフェントン反応が関与する食品劣化機構モデルの提案に関する研究。

e) 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

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）。グルコースの膜透過とイオン透過の相互作用の解明。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。膜修飾電極上でのメディエータおよび酵素による電子移動の基礎検討。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

- 辻村清也、加納健司：バイオ電池．産業酵素の応用技術と最新動向．p. 246-256、シーエムシー出版、東京、2009
- 辻村清也、加納健司：バイオ燃料電池．電気化学測定/解析 テクニック&事例集—電池/キャパシタ/めっき/腐食/センサー．p. 391-400、情報機構、東京、2009
- 池田篤治、辻村清也：バイオ燃料電池．小型燃料電池の最新技術（神谷信行、梅田 実 監修）．p. 209-219、シーエムシー出版、東京、2008

原著論文

- Kurose, S., K. Kataoka, N. Shinohara, Y. Miura, M. Tsutsumi, S. Tsujimura, K. Kano and T. Sakurai.: Modification of Spectroscopic Properties and Catalytic Activity of *Escherichia coli* CueO by Mutations of Methionine 510, the Axial Ligand to the Type I Cu. Bull Chem Soc Jpn 82; 504-508, 2009
- Fujieda, N., M. Mori, T. Ikeda and K. Kano: Silent Form of Quinohemoprotein Amine Dehydrogenase from *Paracoccus denitrificans*. Biosci Biotechnol Biochem 73; 524-529, 2009
- Kubota, S., S. Ozaki, J. Onishi, K. Kano and O. Shirai: Selectivity on Ion Transport across Bilayer Lipid Membranes in the Presence of Gramicidin A. Anal Sci 25; 189-193, 2009
- Miura, Y., S. Tsujimura, K. Kurose, Y. Kamitaka, K. Kataoka, T. Sakurai and K. Kano: Direct Electrochemistry of CueO and Its Mutants at Residues to and near Type I Cu for Oxygen-Reducing Biocathode. Fuel Cells 9; 70-78, 2009
- Sakai, H., T. Nakagawa, A. Sato, T. Tomita, Y. Tokita, T. Hatazawa, T. Ikeda, S. Tsujimura and K. Kano: A High-power Glucose/oxygen Biofuel Cell Operating under Quiescent Conditions. Energy Environ Sci 2; 133-138, 2009
- Tsutsumi, M., S. Tsujimura, O. Shirai and K. Kano: Direct electrochemistry of histamine dehydrogenase from *Nocardioides simplex*. J Electroanal Chem 625; 144-148, 2009
- Ozaki, S., S. Aoki, T. Hibi, K. Kano and O. Shirai: Reconstitution of the Voltage-gated K⁺ Channel KAT1 in Planar Lipid Bilayers. Electrochem Commun 10; 1509-1512, 2008
- Fukuda, J., S. Tsujimura and K. Kano: Coulometric Bioelectrocatalytic Reactions Based on NAD-dependent Dehydrogenases in Tricarboxylic Acid Cycle. Electrochimica Acta 54; 328-333, 2008
- Hibi, T., S. Aoki, K. Oda, S. Munemasa, S. Ozaki, O. Shirai, Y. Murata and N. Uozumi: Purification of the functional plant membrane channel KAT1. Biochem Biophys Res Commun 374; 465-469, 2008
- Yamada, R., N. Fujieda, M. Tsutsumi, S. Tsujimura, O. Shirai and K. Kano: Bioelectrochemical Determination at Histamine Dehydrogenase-based Electrodes. Electrochemistry 76; 600-602, 2008
- Sasakura, K., S. Kubota, J. Onishi, S. Ozaki, K. Kano and O. Shirai: Ion Transport across a Bilayer Lipid Membrane in the Presence of a Hydrophobic Ion. Electrochemistry 76; 597-599, 2008
- Tsujimura, S., T. Abo, K. Matsushita, Y. Ano and K. Kano: Direct Electron Transfer Reaction of D-Gluconate 2-Dehydrogenase Adsorbed on Bare and Thiol-modified Gold Electrodes.

- Electrochemistry 76; 549-551, 2008
- Wang, Y.-F., S. Tsujimura and K. Kano: Amperometric Detection of Acetate Based on Mediated Bioelectrocatalysis using *Escherichia coli* Cells Cultivated with Acetate. Electrochemistry 76; 631-633, 2008
- Ishibashi, K., S. Tsujimura and K. Kano: Pentacyanoferrate and Bilirubin Oxidase-bound Polymer for Oxygen Reduction Bio-cathode. Electrochemistry 76; 594-596, 2008
- Ozaki, S., K. Kano and O. Shirai: Electrochemical Elucidation on the Mechanism of Uncoupling Caused by Hydrophobic Weak Acids. Phys Chem Chem Phys 10; 4449-4455, 2008
- 寒川恒俊、辻村清也、加納健司：交流インピーダンス法による酵素機能電極の解析. 分析化学 57; 625-630, 2008
- Wang, Y.-F., M. Masuda, S. Tsujimura and K. Kano: Electrochemical regulation of the end-product profile in *Propionibacterium freudenreichii* ET-3 with an endogenous mediator. Biotechnol Bioeng 101; 579-586, 2008
- 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; 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; 786-796, 2008
- 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; 498-502, 2008
- Tsujimura, S., A. Ishii, T. Abo, T., 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; 67-72, 2008

総 説

- 辻村清也、加納健司：バイオ電池のための酵素触媒機能電極. Electrochemistry 76 ; 900-909, 2008

b) 学会発表

- 日本農芸化学会関西支部第450回講演会：1 件
- 日本農芸化学会2009年度大会：3 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
- 電気化学会第76回大会：1 0 件
- 国際酢酸菌学会：1 件
- 第21回生物無機化学夏季セミナー：1 件
- 第95回分析技術研究会：1 件
- バイオ関連化学合同シンポジウム：2 件
- 食品科学工学会関西支部主催市民フォーラム：1 件
- 日本分析化学会第57年会：3 件
- 第54回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会：5 件

第11回日本水環境学会シンポジウム：2件

炭素材料学会2月セミナー：1件

日本生物工学学会2008年大会：1件

アメリカ電気化学会第213回大会：2件

アメリカ電気化学会第214回大会：8件

第6回アジア電気化学国際会議：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：電気化学会（関西支部支部長、中長期計画実施委員、生物工学研究会幹事、有機電気化学研究会幹事、各賞選考委員会委員、電気化学Q&A編集委員）、日本農芸化学会（理事、全国評議員、関西支部評議員）、日本分析化学会（代議員、近畿支部幹事）、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（近畿支部幹事）、電気化学会（関西支部事務局）、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

加納健司：日本学術振興会基盤研究(B)、NEDO

白井 理：特定領域研究植物孔辺細胞に局在する電位依存性 K⁺ チャネルの構造と機能（日弁代表・白井分担）

辻村清也：財団法人クリタ水・環境科学振興財団 平成20年度研究助成（萌芽的研究）

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：1名（イタリア）

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

B - 1 . 学内活動

開講授業科目

学部：応用生命科学入門Ⅰ（加納他）、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）

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：九州大学先導物質化学研究所（錯体化学）

加納健司：大阪府立大学工学部（応用化学）

C. その他

加納健司：Hot Article Award（日本分析化学会誌 Anal. Sci.）

白井 理：Hot Article Award（日本分析化学会誌 Anal. Sci.）

辻村清也：第9回酵素応用シンポジウム 研究奨励賞

2.3.10 研究分野：生物機能制御化学

構 成 員：教 授 三 芳 秀 人

助 教 石 原 亨

大学院博士後期課程 1名（日本学術振興会特別研究員）

大学院修士課程 9名

専攻4回生 4名

A. 研究活動（2008.4～2009.3）

A - 1. 研究概要

a) 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。

b) 光親和性標識プローブのデザイン合成と呼吸鎖酵素における標的タンパク質の解析

光親和性標識法は、生理活性分子と標的タンパク質との相互作用を解析するための有力な化学的アプローチである。各種呼吸鎖酵素の基質となるユビキノンや、複合体-I の特異的阻害剤を鋳型とした光親和性標識プローブをデザイン合成し、各種呼吸鎖酵素における基質や阻害剤の反応部位を明らかにすることを目指している。

c) 合成カルジオリピンライブラリーの構築

カルジオリピン類はミトコンドリア膜に局在するリン脂質であり、各種呼吸鎖酵素の活性の制御や、アポトーシス初期段階におけるシトクロム *c* のミトコンドリア外への放出に深く関与すると考えられている。私たちはカルジオリピンを、ミトコンドリア内での生命現象を解明するツールとして着目し、生化学的に応用可能な合成カルジオリピンライブラリーを構築することを目指している。

d) 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

原著論文

- Abe, M., A.Kubo, S. Yamamoto, Y. Hatoh, M. Murai, Y. Hattori, H. Makabe, T. Nishioka and H. Miyoshi: Dynamic Function of the Spacer Region of Acetogenins in the Inhibition of Bovine Mitochondrial NADH-Ubiquinone Oxidoreductase (Complex I). *Biochemistry* 47; 6260-6266, 2008
- Ichimaru, N., M. Murai, N. Kakutani, J. Kako, A. Ishihara, Y. Nakagawa, T. Nishioka, T. Yagi and H. Miyoshi: Synthesis and characterization of new piperazine-type inhibitors for mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex I). *Biochemistry* 47; 10816-10826, 2008
- Murai, M., K. Sekiguchi T. Nishioka and H. Miyoshi: Characterization of the inhibitor binding site of mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase by photoaffinity labeling using a quinazoline-type inhibitor. *Biochemistry* 48; 688-698, 2009
- Ly, D., K. Kang, J.-Y. Choi, A. Ishihara, K. Back and S.-G. Lee: HPLC analysis of serotonin, tryptamine, tyramine, and the hydroxycinnamic acid amides of serotonin and tyramine in food vegetables. *J Med Food* 11; 385-389, 2008
- Ishihara, A., Y. Hashimoto, C. Tanaka, J. G. Dubouzet, T. Nakao, F. Matsuda, T. Nishioka, H. Miyagawa and K. Wakasa: The tryptophan pathway is involved in the defense responses of rice against pathogenic infection via serotonin production. *Plant J* 54; 481-495, 2008
- Ishihara, A., Y. Hashimoto, H. Miyagawa and K. Wakasa: Induction of serotonin accumulation by feeding of rice striped stem borer in rice leaves. *Plant Signal Behav* 3; 714-716, 2008

b) 学会発表

- 日本農芸化学会2008年度大会：3件
日本農薬学会第34回大会：4件
植物化学調節学会：1件
第34回日本生体エネルギー研究会：1件
第15回ヨーロッパ生体エネルギー研究会：1件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

三芳秀人：日本農薬学会（評議員、学会誌編集委員）

科研費等受領状況

三芳秀人：基盤研究(B) 阻害剤分子プローブの創製に基づくミトコンドリア複合体-Iの膜ドメイン機能の解明.

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）

石原 亨：植物における生体アミンの機能に関する研究（韓国）

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

B - 1 . 学内活動

a) 開講授業科目

学部：応用生命科学入門 IV（三芳）、生物有機化学 II（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（三芳）、生物機能制御化学専攻演習（三芳）、生物機能制御化学専攻実験（三芳）

B - 2 . 学外における教育活動

学外非常勤講師

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 4 名

専攻4回生 3 名

A . 研究活動（2008.4～2009.3）

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、トランスグルタミナーゼ、プロテイングルタミナーゼ、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ー・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、サブアトミック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。トランスグルタミナーゼとプロテイングルタミナーゼについては、アポ型と成熟型の立体構造を解明し、変異体を用いてその触媒機構の解明を行っている。

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

- Yoon HJ., SJ. Lee, B. Mikami, HJ. HJ. Park, J. Yoo and SW. Suh: Crystal structure of UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase from *Haemophilus influenzae* in complex with UDP-N-acetylglucosamine and fosfomycin. *Proteins* 71 (2); 1032-1037, 2008
- Itoh T., B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of YihS in complex with D-mannose: structural annotation of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica yihS*-encoded proteins to an aldose-ketose isomerase. *J Mol Biol* 377 (5); 1443-1459, 2008
- Fukuda T., N. Maruyama, MR. Salleh, B. Mikami, S. Utsumi: Characterization and crystallography of recombinant 7S globulins of Adzuki bean and structure-function relationships with 7S globulins of various crops. *J Agric Food Chem* 56 (11); 4145-4153, 2008
- Ogura K., M. Yamasaki, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Substrate recognition by family 7 alginate lyase from *Sphingomonas* sp. A1. *J Mol Biol* 380 (2); 373-385, 2008
- Tsuruta H., B. Mikami, C. Yamamoto and H. Yamagata: The role of group bulkiness in the catalytic activity of psychrophile cold-active protein tyrosine phosphatase. *FEBS J* 275 (17); 4317-4328, 2008
- Yoon HJ., MJ. Ku, B. Mikami and SW. Suh: Structure of 3-deoxy-manno-octulosonate cytidyltransferase from *Haemophilus influenzae* complexed with the substrate 3-deoxy-manno-octulosonate in the beta-configuration. *Acta Crystallogr D* 64 (Pt 12); 1292-1294, 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
- Sakurama H., T. Takita, B. Mikami, T. Itoh, K. Yasukawa and K. Inouye: Two crystal structures of lysyl-tRNA synthetase from *Bacillus stearothermophilus* in complex with lysyladenylate-like compounds: insights into the irreversible formation of the enzyme-bound adenylate of L-lysine hydroxamate. *J Biochem* 145 (5); 555-563, 2009
- Hashimoto W., A. Ochiai, K. Momma, T. Itoh, B. Mikami, Y. Maruyama and K. Murata: Crystal structure of the glycosidase family 73 peptidoglycan hydrolase FlgJ. *Biochem Biophys Res Commun* 381 (1); 16-21, 2009

報告書等

- Mikami, B., YN. Kang, A. Tanabe and S. Utsumi: X-ray crystallographic analysis of beta-amylase/maltose complex -Titration of two loop conformations by maltose-. SPring-8 User Experiment Report 2008A1252, 2008
- Mikami, B., T. Fukuda, C. Fukuda, K. Park. N. and S. Utsumi: Crystal structure analysis of pea prolegumin. SPring-8 User Experiment Report 2008A1263, 2008
- Itoh, T., A. Ochiai, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Structural Insights into the Reaction mechanism of Coenzyme-Independent Mannose Isomerase. SPring-8 User Experiment Report 2008A1119, 2008

Kita, K., J. Nagao and B. Mikami: X-Ray crystallographic analysis of a type II restriction endonuclease, R.EcoT38I, from *Escherichia coli* TH38. SPring-8 User Experiment Report 2008A1219, 2008

Takahashi, N., B. Mikami and T. Oe: Molecular mechanism of the structural change of egg white proteins. SPring-8 User Experiment Report 2008A1266, 2008

Ochiai, A., T. Itoh, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Structural biology of polysaccharides-degrading enzymes: X-ray crystallographic analysis of bacterial peptidoglycan hydrolase. SPring-8 User Experiment Report 2008A1322, 2008

Mikami, B., A. Tanabe and S. Utsumi: X-ray crystallographic analysis of mutant beta-amylase/maltose complex-Titration of two loop conformations of D101N and D101E by maltose-. SPring-8 User Experiment Report 2008B1522, 2008

Mikami, B., K. Park, N. Maruyama, A. Shutov and S. Utsumi: X-Ray crystallographic analysis of cleaved phaseolin. SPring-8 User Experiment Report 2008B1574, 2008

Mizutani, K., M. Toyoda and B. Mikami: Structural Biology of Transport of Metal Ions in Living Body: X-ray Crystallographic Analyses of Transferrin and Transferrin-receptor as a Fundamental Research for Drug-delivery. SPring-8 User Experiment Report 2008B1023, 2008

Takahashi, N., B. Mikami, K. Mizutani and M. Toyoda: Molecular mechanism of the structural transition of egg white proteins. SPring-8 User Experiment Report 2008B1297, 2008

Masuda, T., B. Mikami, F. Goto and T. Yoshihara: X-Ray crystallographic analysis of soybean ferritin. SPring-8 User Experiment Report 2008B6828, 2008

Itoh, T., Ogura, Y. Nakamichi, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal Structure of Alginate-Binding Protein (AlgQ1) in Complex with Unsaturated Mannuronic Acid Trisaccharide. SPring-8 User Experiment Report 2008A1191, 2008

Hashimoto, W., A. Ochiai, T. Itoh, Y. Ogura, B. Mikami, Y. Maruyama and K. Murata: X-ray Crystal Structure of *Sphingomonas* sp. A1 Peptidoglycan Hydrolase Categorized to Family GH-73. SPring-8 User Experiment Report 2008A1112, 2008

b) 学会発表

日本農芸化学会2009年度大会 (13 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：文部科学省 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：生研機構基礎研究推進事業 イノベーション創出基礎的研究推進事業 (三上分

担、村田代表)

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

国際学会研究集会等 (役割)

三上文三：第21回国際結晶学会 (一般)、2008年8月 大阪

高橋延行：第5回セルピン国際シンポジウム、2008年7月 ベルギー

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 (2008.4 ~ 2009.3)

B - 1 . 学内活動

a) 開講授業科目

学部：生物理化学実験 (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)

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

大学院修士課程 6 名

研究生 1 名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

A－1．研究概要

a) 反応機構依存的阻害剤による γ -グルタミルトランスぺプチダーゼの構造活性相関

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を行い、酵素阻害活性を指標に構造活性相関を行ったところ、ヒト GGT には天然の基質であるグルタチオンに対する明確な基質特異性と Cys-Gly 部分の α 位に対する高い立体特異性があり、グルタチオン類似の基質構造をもった阻害剤によって強く阻害されることがわかった。一方、大腸菌の GGT はグルタチオン類似の構造をよりは、むしろ、芳香族アミノ酸を導入した阻害剤に対して強い感受性があった。また、ヒト GGT の変異実験を行い、K562 がグルタチオンの C 末端カルボキシ基を認識している鍵残基であることを証明した。

b) アシル活性化酵素の中間体アナログ阻害剤の設計と合成

アシル活性化酵素は、カルボン酸をアデニル化することによって活性化し、チオールエステル (CoA エステル) やアミドを生成する巨大な酵素ファミリーであり、シロイヌナズナでは、機能未知の酵素を含め、63 種類の遺伝子が見出されている。なかでも、オーキシンの不活性化に関わる GH3 および、植物二次代謝産物生合成の鍵酵素である 4-coumaroyl ligase (4-CL) について、反応中間体アナログとなる N-アシルスルファミド類を合成したところ、カルボキシ基の基質特異性に応じた強い阻害活性が観測された。特に、4-CL の基質特異性は高く、*p*-coumaroyl 基を含む N-アシルスルファミド類により IC_{50} 値にして $0.3 \mu M$ の阻害活性がみられたのに対し、GH3 は非常に広範なアシル基を持った N-アシルスルファミド類により広く阻害されることが判明した。

c) 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。

d) 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

- Wada K., Hiratake J., Irie M., Okada T., Yamada C., Kumagai H., Suzuki H. and Fukuyama K.: Crystal Structures of *Escherichia coli* gamma-Glutamyltranspeptidase in Complex with Azaserine and Acivicin: Novel Mechanistic Implication for Inhibition by Glutamine Antagonists. J Mol Biol 380; 361-372, 2008
- Saino H., Mizutani M., Hiratake J. and Sakata K.: Expression and Biochemical Characterization of beta-Primeverosidase and Application of beta-Primeverosylamidine to Affinity Purification. Biosci Biotech Biochem 72; 376-383, 2008
- Seki H., Ohyama K., Sawai S., Mizutani M., Ohnishi T., Sudo, H., Akashi T., Aoki T., Saito K. and Muranaka T.: Licorice & beta-amyrin 11-oxidase, a cytochrome P450 with a key role in the biosynthesis of the triterpene sweetener glycyrrhizin. Proc Natl Acad Sci USA 105; 14204-14209, 2008
- Kai K., Mizutani M., Kawamura N., Yamamoto R., Tamai M., Yamaguchi H., Sakata K. and Shimizu B.: Scopoletin is biosynthesized via ortho-hydroxylation of feruloyl-CoA by an 2-oxoglutarate dependent dioxygenase in *Arabidopsis thaliana*. Plant J 55; 989-999, 2008
- Shimizu B., Kai K., Tamai M., Yamaguchi H., Mizutani M. and Sakata K.: Biosynthetic origin of the 1-oxygen of umbelliferone in the root tissue of sweet potato. Zeitschrift fuer Naturforschung 63c; 687-690, 2008
- Daiyasu H., Saino H., Tomoto H., Mizutani M., Sakata K. and Toh H.: Computational and Experimental Analyses of Furcatin Hydrolase for Substrate Specificity Studies of Disaccharide-specific Glycosidases. J Biochem 144; 467-475, 2008
- Nakatsubo T., Kitamura Y., Sakakibara N., Mizutani M., Hattori T., Sakurai N., Shibata D., Suzuki S. and Umezawa T.: At5g54160 gene encodes *Arabidopsis thaliana* 5-hydroxyconiferaldehyde O-methyltransferase. J. Wood Sci. 54; 312-317, 2008
- Nakatsubo T., Mizutani M., Suzuki S., Hattori T. and Umezawa T.: Characterization of *Arabidopsis thaliana* Pinoresinol reductase, a new type of enzyme involved in lignan biosynthesis. J Biol Chem 283; 15550-15557, 2008
- Todoroki Y., Kobayashi K., Yoneyama H., Hiramatsu S., Jin M.-H., Watanabe B., Mizutani M. and

Hirai N.: Structure-activity relationship of uniconazole, a potent inhibitor of ABA 8'-hydroxylase, with a focus on hydrophilic functional groups and conformation. Bioorg Med Chem 16; 3141-3152, 2008

Sekimata K., Ohnishi T., Mizutani M., Todoroki Y., Han S.-Y., Uzawa J., Fujioka S., Yoneyama K., Takeuchi Y., Takatsuto S., Sakata K., Yoshida S. and Asami T.: Brz220 interacts with DWF4, a cytochrome P450 monooxygenase in brassinosteroid biosynthesis, and exerts biological activity. Biosci Biotechnol Biochem 72; 7-12, 2008

総 説

平竹 潤: ホタルルシフェラーゼの化学発光色と構造 ―アシル-AMP 中間体アナログの化学的意義―. 生物工学会誌 86; 174-176, 2008

平竹 潤: gamma-Glutamyl transpeptidase (GGT) の新規阻害剤 ―GGT の生理的意義をさぐる新たな化学ツール―. 和光純薬時報 76 (No. 3); 2-6, 2008

清水文一, 甲斐光輔, 水谷正治: 桂皮酸オルト位水酸化酵素の同定とクマリン生合成経路. 化学と生物 46; 518-520, 2008

b) 学会発表

日本農芸化学会2009年度大会: 8 件

日本植物細胞分子生物学会: 2 件

日本生薬学会: 2 件

日本農芸化学会関西支部大会: 1 件

植物化学調節学会第43回大会: 7 件

第50回日本植物生理学会年会: 3 件

東京農業大学先端研究シンポジウム: 1 件

第13回農薬相模セミナー: 1 件

第3回バイオ関連化学合同シンポジウム: 1 件

日本応用糖質科学会 平成20年度大会(第57回): 1 件

第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会 合同大会 (BMB2008): 1 件

日本農芸化学会関西支部 第458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 (水谷代表 (引き継ぎ)、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：第2回 Magic Bullets 世界大会（エールリッヒII） 2件、ドイツ、ニュルンベルグ（招待講演）； ナノバイオシンポジウム2009—植物二次代謝産物：生合成、生理学、ケミカルバイオロジー、認識、遺伝子操作—、静岡大学（招待講演）

水谷正治：第9回 シトクロームP450の多様性およびバイオテクノロジーに関する国際シンポジウム、フランス、ニース（招待講演）； 第7回 日本—アメリカ天然物生合成セミナー “酵素学、構造生物学、創薬”、アメリカ、サンディエゴ（一般講演）； 北アメリカ植物化学会年会、アメリカ、ワシントン州立大学（一般講演）

B．教育活動（2008.4～2009.3）

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

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） 京都府立洛北高等学校 研究室実習（2008. 8. 4-8）； 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（2008. 11. 1 および 11. 29）、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（2008. 11. 6）

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
	大学院博士後期課程	6 名
	大学院修士課程	8 名
	研究生	2 名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

A - 1．研究概要

a) 低温菌の細胞分裂におけるエイコサペンタエン酸の生理機能

南極海水由来の低温菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 は低温環境下で、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、低温での細胞分裂が正常に進行しないこと

がわかった。電子顕微鏡観察から、EPA 欠損変異株では通常のグラム陰性細菌には見られない細胞内多重膜構造が発達していたことから、EPA の欠損は細胞分裂における細胞膜形成に関わるタンパク質の機能に影響していることが示唆された。細胞膜脂質のトランスポーターである FtsEX は、グラム陰性菌の細胞分裂において細胞分裂サイトとの相互作用が報告されており、ATP 結合ドメインである FtsE と膜貫通ドメインである FtsX で構成される ABC トランスポーターのホモログである。FtsE は野生株では細胞膜に局在するのに対して、EPA 欠損株では細胞質画分に存在することがわかった。EPA 含有リン脂質の添加によって、EPA 欠損株での細胞膜への局在性が回復することから、FtsE の局在性には EPA が必要であることが示唆された。FtsEX を発現するベクターを EPA 欠損株に導入したとき、EPA 欠損株の低温での生育速度が回復していることがわかった。以上の結果から、EPA は低温での細胞分裂に関わる ABC トランスポーターの機能発現に寄与していることが示唆された。

b) 2-クロロアクリル酸への水付加反応を触媒する新規フラビン酵素

有機ハロゲン化合物の変換反応を触媒する酵素は物質生産・環境浄化への応用といった観点から注目される。我々は不飽和脂肪族有機ハロゲン化合物からの脱ハロゲン反応を触媒する新しい酵素を見いだした。土壌細菌 *Pseudomonas* sp. YL が 2-クロロアクリル酸 (2-CAA) を炭素源として生育する際に誘導生産するタンパク質 (CAA67) を同定し、その遺伝子を解析した。本遺伝子が 547 アミノ酸残基からなるタンパク質 (*M*_r 59,301) をコードし、また、種々のフラビン酵素と相同性をもつことを見いだした。組換え大腸菌を用いて CAA67 を高生産し、精製して諸性質を検討した。その結果、嫌気条件下で FAD と還元剤 (NAD(P)H または亜ジチオン酸ナトリウム) を添加した場合に、2-CAA のピルビン酸への変換を触媒することが見いだされた。このことから、本酵素反応には還元型 FAD が要求されると考えられるが、反応系に添加した還元剤の消費量は塩化物イオンの生成量よりはるかに少なかったことから、反応の過程で還元型 FAD が再生されるものと考えられた。H₂¹⁸O 存在下の反応では ¹⁸O が生成物に取り込まれ、CAA67 が水の付加反応を触媒することが示された。2-CAA の炭素-炭素二重結合に水が付加することで 2-クロロ-2-ヒドロキシプロピオン酸が生じ、ここから塩化物イオンが脱離することでピルビン酸が生成するものと考えられた。CAA67 は 2-ブロモアクリル酸にも作用したが、アクリル酸やメタクリル酸は基質にならなかったため、本酵素を 2-ハロアクリル酸ヒドラターゼと名付けた。本酵素は還元型 FAD 依存的に基質への水付加反応を触媒する点でユニークな酵素である。

A - 2 . 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

著書

Kurihara, T., and N. Esaki: Proteomic studies of psychrophilic microorganisms. *Psychrophiles: From biodiversity to biotechnology* 333-343, 2008

Yasuda, M. H., M. Ueda, K. Okano, H. Mihara, and N. Esaki: Enzymatic synthesis of unnatural amino acids. *Asymmetric synthesis and application of α-amino acids* 357-373, 2009

栗原達夫、三原久明、江崎信芳: 細胞がセレンをタンパク質に取り込む機構の解析とその応用。環境・資源保全のためのメタルバイオテクノロジー ; 2009

原著論文

- Kurata, A., M. Fujita, A. M. Mowafy, H. Kamachi, T. Kurihara and N. Esaki: Production of (S)-2-chloropropionate by asymmetric reduction of 2-chloroacrylate with 2-haloacrylate reductase coupled with glucose dehydrogenase. *J Biosci Bioeng* 105; 429-431, 2008
- Zhang, W., H. Mihara, T. Kurihara and N. Esaki: Investigation of the roles of cysteine desulfurases in the molybdopterin synthesis in *Escherichia coli*. *Trace Nutri. Res.* 25; 152-157, 2008
- Zhang, W., H. Mihara, T. Kurihara and N. Esaki: Role of cysteine desulfurase IscS in the biosynthesis of molybdopterin. *Vitamins (Japan)* 82; 645-650, 2008
- Sato, S., T. Kurihara, J. Kawamoto, M. Hosokawa, S. B. Sato and N. Esaki: Cold adaptation of eicosapentaenoic acid-less mutant of *Shewanella livingstonensis* Ac10 involving uptake and remodeling of synthetic phospholipids containing various polyunsaturated fatty acids. *Extremophiles* 12; 753-761, 2008
- Mihara, H., R. Hidese, M. Yamane, T. Kurihara and N. Esaki: The *iscS* gene deficiency affects the expression of pyrimidine metabolism genes. *Biochem Biophys Res Commun* 372; 407-411, 2008
- Kudou, D., S. Misaki, M. Yamashita, T. Tamura, N. Esaki and K. Inagaki: The role of cysteine 116 in the active site of the antitumor enzyme L-methionine γ -lyase from *Pseudomonas putida*. *Biosci Biotechnol Biochem* 72; 1722-1730, 2008
- Abe, K., H. Mihara, Y. Nishijima, S. Kurokawa and N. Esaki: Functional analysis of two homologous mouse selenophosphate synthetases. *Biomed Res Trace Elem* 19; 76-79, 2008
- Abe, K., H. Mihara, R. Tobe and N. Esaki: Characterization of human selenocysteine synthase involved in selenoprotein biosynthesis. *Biomed Res Trace Elem* 19; 80-83, 2008
- Kurokawa, S., H. Mihara, I. Yokoyama, M. Mochizuki, J. Yodoi, T. Tamura, T. Kurihara and N. Esaki: Thioredoxin reductase 1 is important for selenoprotein biosynthesis in HeLa cells. *Biomed Res Trace Elem* 19; 84-87, 2008
- Kawamoto, J., T. Kurihara, K. Yamamoto, M. Nagayasu, Y. Tani, H. Mihara, M. Hosokawa, T. Baba, S. B. Sato and N. Esaki: Eicosapentaenoic acid plays a beneficial role in membrane organization and cell division of a cold-adapted bacterium, *Shewanella livingstonensis* Ac10. *J Bacteriol* 191; 632-640, 2009
- Yamauchi, T., M. Goto, H.-Y. Wu, T. Uo, T. Yoshimura, H. Mihara, T. Kurihara, I. Miyahara, K. Hirotsu and N. Esaki: Serine racemase with catalytically active lysinoalanyl residue. *J Biochem* 145; 421-424, 2009
- Omori, T., H. Mihara, T. Kurihara, and N. Esaki: Occurrence of phosphatidyl-D-serine in the rat cerebrum. *Biochem Biophys Res Commun* 382; 415-418, 2009
- Nakamura, T., A. Yamaguchi, H. Kondo, H. Watanabe, T. Kurihara, N. Esaki, S. Hirono and S. Tanaka: Roles of K151 and D180 in L-2-haloacid dehalogenase from *pseudomonas sp.* YL: Analysis by molecular dynamics and ab initio fragment molecular orbital calculations. *J Comput Chem* 2009
- Jitsumori, K., R. Omi, T. Kurihara, H. Mihara, I. Miyahara, K. Hirotsu and N. Esaki: X-ray crystallographic and mutational studies of fluoroacetate dehalogenase from *Burkholderia sp.* FA1. *J Bacteriol* 191; 2630-2637, 2009

Tobe, R., H. Mihara, T. Kurihara and N. Esaki: Identification of proteins interacting with selenocysteine lyase. Biosci Biotechnol Biochem 73; 1230-1232, 2009

総説

Kurihara, T. and N. Esaki: Bacterial Hydrolytic Dehalogenases and related enzymes: Occurrences, reaction mechanisms, and applications. Chem Rec 8; 67-74, 2008

Esaki, N., and H. Mihara: Function and biosynthesis of selenoproteins. Biomed Res Trace Elem 19; 308-316, 2008

栗原達夫：新規不斉還元酵素によるキラル有機ハロゲン化合物の生産．バイオサイエンスとインダストリー67；161-163，2009

b) 学会発表

第60回日本ビタミン学会大会：1件

第19回日本微量元素学会：3件

第25回日本微量栄養素学会：1件

第60回日本生物工学会大会：1件

日本農芸化学会2009年大会：5件

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会：7件

極限環境微生物学会第9回年会：1件

第1回メタロミクス研究フォーラム：1件

第2回セレン研究会：4件

iBIO2008：1件

The 3rd International Conference on Polar and Alpine Microbiology：1件

第4回日本-フィンランド二国間会議：1件

第10回マリンバイオテクノロジー学会大会：1件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

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、生化学教育委員会）

科研費等受領状況

江崎信芳：基盤研究(B)「セレンの特異的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)「好冷微生物の低温環境適応を可能にする分子基盤の解明」（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）

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：The 3rd International Conference on Polar and Alpine Microbiologys（講演）

栗原達夫：iBIO2008（講演）

日本-フィンランド二国間会議（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（2008.4～2009.3）

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）

B - 2．学外における教育活動

学外非常勤講師

江崎信芳：名古屋大学大学院生命農学研究科（酵素機能解明への科学的アプローチ）

栗原達夫：奈良女子大学理学部（生体機能化学）、奈良女子大学大学院人間文化研究科（核酸機能論、立教大学全学共通カリキュラム（生命はどこまで過酷な環境に耐えられるか）、北海道大学大学院農学研究院（応用生命機能学）、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：修士課程学生 1名（韓国）、博士課程学生 2名（中国、エジプト）

外国人研修員等：招へい外国人学者 1名（韓国）、研究生 3名（中国、インド）

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 原田 英美子
杉山 暁史
海田 るみ
池谷 仁里

Retno Kusumaningtyas

大学院博士後期課程	3 名	研究生	1 名
大学院修士課程	3 名		

A．研究活動（2008.4～2009.3）

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・細胞生物学的研究とその応用

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。特に芳香族のプレニル化遺伝子を広く手がけ、ナフトキノンのシコニンや Coenzyme Qの生合成などを研究している。最近のトピックは、30年以上未解明だったフラボノイドのプレニル化酵素遺伝子の発見で、この分野の研究を広げている。これら有用遺伝子を用い、遺伝子工学的手法により植物機能改変を行っている。具体的にはイソプレレン合成酵素遺伝子を用いた高温耐性植物を作成、モノテルペン合成酵素を用いた樹木の香りのエンジニアリングを行っている。

b) 植物における輸送タンパク質の分子生物学とその応用

植物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。植物 ABC タンパク質、特に ABCB-サブファミリーと ABCG サブファミリー・メンバーの輸送機能、特にシロイヌナズナをもちいてオーキシンの膜輸送と、マメ科植物の根粒形成に関係する輸送体に関して解析を行っている。最近のトピックとして、タバコのニコチンをモデルに、アルカロイドの液胞膜輸送体（MATE型）の研究を展開している。さらにその応用として、

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。

c) 植物細胞壁とセルロースの分子育種に関する研究

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。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) 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

矢崎一史 : カロテノイド 他. 植物ゲノム科学辞典 (駒嶺 他編). 朝倉書店、東京、2009
林 隆久 編集: 森をとりもどすために、海青社、大津、滋賀、2008

原著論文

- Sasaki, K., Mito, K., Ohara, K., Yamamoto, H., Yazaki, K.: Cloning and characterization of naringenin 8-prenyltransferase, a flavonoid-specific prenyltransferase of *Sophora flavescens*. Plant Physiol 146 (3); 1075-1084, 2008
- Satomi Y, Ohara K, Yazaki K, Ito M, Honda G, Nishino H.: Production of the monoterpene limonene and modulation of apoptosis-related proteins in NIH3T3 cells by introduction of the limonene synthase gene isolated from the plant *Schizonepeta tenuifolia*. Biotechnol Appl Biochem 52 (Pt3); 185-190, 2009
- Tsubasa Shoji, T., Inai, K., Yazaki, Y., Sato, Y., Takase, H., Shitan, N., Yazaki, K., Goto, Y., Toyooka, K., Matsuoka, K., Hashimoto, T.: MATE-type transporters Implicated in vacuolar sequestration of nicotine in tobacco roots. Plant Physiol 149 (2); 708-718, 2009
- Akashi, T., Sasaki, K., Aoki, T., Ayabe, S., and Yazaki, K.: Molecular cloning and characterization of a cDNA for pterocarpan 4-dimethylallyltransferase catalyzing the key prenylation step in the biosynthesis of glyceollin, a soybean phytoalexin. Plant Physiol 149 (2); 683-693, 2009
- Kamimoto, Y., Hamamoto, M., Shitan, N., Yazaki, K.; Unusual expression of an Arabidopsis ATP-binding cassette transporter ABCC11. Plant Biotechnol 26 (2); 261-265, 2009
- Morita, M., Shitan, N., Sawada, K., Van Montagu, M., Inzé, D., Rischer, H., Goossens, A., Oksman-Caldentey, K-M., Moriyama, Y., Yazaki, K.: Vacuolar transport of nicotine is mediated by a novel multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporter in

- Nicotiana tabacum. Proc Natl Acad Sci USA 106 (7); 2447-2452, 2009
- Sasaki, K., Tsurumaru, Y., Yazaki, K.: Prenylation of flavonoids by the biotransformation of yeast expressing plant membrane-bound prenyltransferase SfN8DT-1. Biosci Biotech Biochem 73 (3); 759-761, 2009
- T Hayashi, 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
- T Taniguchi, Y Ohmiya, M, Kurita, M Tsubomura, T Kondo, YW Park, K Baba, T Hayashi: Biosafety assessment of transgenic poplars overexpressing xyloglucanase (AaXEG2) prior to field trials. J Wood Sci 54; 408-413, 2008
- R Kaida, T Hayashi, TS Kaneko: Purple acid phosphatase in the walls of tobacco cells. Phytochem 69; 2546-2551, 2008
- T Takabe T, A Uchida A, F Shinagawa, Y Terada, H Kajita, Y Tanaka, T Takabe, T Hayashi, T Kawai, T Takabe: Overexpression of DnaK from a halotolerant cyanobacterium *Aphanethece halophytica* enhances growth rate as well as abiotic stress tolerance of poplar plants. Plant Growth Reg 56; 265-273, 2008
- S Hartati, E Sudarmonowati E, YW Park YW, T Kaku, R Kaida, K Baba, T Hayashi: Overexpression of poplar cellulase accelerates growth and disturbs the closing movements of leaves in sengon. Plant Physiol 147; 552-561, 2008
- H Ikegaya, T Hayashi, T Kaku, K Twata, S Sonobe, T Shimmen: Presence of xyloglucan-like polysaccharide in Spirogyra and possible involvement in cell-cell attachment. Phycological Res 56; 216-222 (2008)
- T Hayashi, R Kaida, T Kaku, K Baba: Enhancement of saccharification by overexpression of various endoglycanase in poplar. J Brasil Sci 55; 145-149, 2008
- K Ozaki, A Uchida, T Takabe, F Shinagawa, Y Tanaka, T Takabe, T Hayashi, T Hattori, AK. Raid, T Takabe: Enrichment of sugar content in melon fruits by hydrogen peroxide treatment, J Plant Physiol 166; 569-578, 2009
- EJ Mellerowicz, P Immerzeel, T Hayashi, Xyloglucan: The molecular muscle of trees. Annals Bot 102; 659-665, 2008

総 説

- Verrier, P. J., Bird, D., Burla, B., Dassa, E., Forestier, C., Geisler, M., Klein, M., Kolukisaoglu, Ü., Lee, Y-S/, Martinoia, E., Murphy, A., Rea, P. A., Samuels, L., Schulz, B., Spalding, E. J., Yazaki, K., and Theodoulou, F. L.: Plant ABC proteins- unified nomenclature and updated inventory. Trends in Plant Sci 13 (4); 151-159, 2008
- Yazaki, K., Sugiyama, A., Morita, M., Shitan, N.: Secondary transport as an efficient membrane transport mechanism for plant secondary metabolites. Phytochem Rev 7; 513-524, 2008
- 佐々木佳菜子、鶴丸優介、矢崎一史:植物ポリフェノールの高機能化を司るプレニル化酵素. バイオサイエンスとインダストリー 66(9); 509-513, 2008
- 佐々木佳菜子、矢崎一史:フラボノイドを高機能化する植物プレニル化酵素遺伝子の発見. Bio Industry 25 (10); 58-65, 2008
- 杉山暁史、土反伸和、葛山智久、矢崎一史:プレニル化ポリフェノール生産植物の開発. バイオサ

イエンスとインダストリー 26 (1) ; 41-48, 2009

林 隆久、加来友美、海田るみ、馬場啓一：植物でセルラーゼを過剰発現させる．Cellulose Communication 15; 148-152, 2008

特 許

特願2008-190159「プレニルトランスフェラーゼ」、発明者：矢崎一史、出願人：京都大学・アピ株式会社、登録日：2008年7月23日出願

b) 学会発表

日本農芸化学会2009年度大会：3件

第50回日本植物生理学会年会：2件

第26回日本植物細胞分子生物学会大阪大会：6件

日本生薬学会第55回年会：3件

ミヤコグサ・ダイズシンポジウム：1件

第3回トランスポーター研究会：1件

第5回サプリメント研究会：1件

第7回生体キノン研究会：1件

Biogenic Trace Gas Workshop in Japan：1件

生物生産工学研究センターシンポジウム：1件

第59回 日本木材学会大会：1件

第120回日本森林学会：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：日本植物生理学会（庶務幹事、編集実行委員）、日本植物細胞分子生物学会（幹事、編集委員）、日本農芸化学会（関西支部評議員）、経済産業省植物プロジェクト研究開発委員会（委員）、生体キノン研究会（幹事）、バイオインダストリー協会（編集委員）

科研費等受領状況

矢崎一史：特定領域研究 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）、特定領域研究 根の側生器官発生に関わる ATP 結合カセット蛋白質の情報分子輸送とメリステム制御（矢崎 代表）、特定領域研究 共生窒素固定に関わる ABC トランスポーター L j P D R の輸送機能と根粒形成の制御（矢崎 代表） 萌芽研究 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）、天藤製薬株式会社（共同研究）薬用資源植物ムラサキの分子遺伝学に関する研究（矢崎 代表）、H20年生存圏ミッション1 イソプレン放出植物の耐熱性機構と持続可能農業のための分子育種（矢崎 代表）、H20年度生存圏萌芽ミッション 熱帯樹木のプレニル化フラボノイド分泌に関わる組織学的解析とミツバチの利用形態（矢崎 代表）、揮発性テルペンが媒介する生態系生物間情報ネットワーク（有村代表・矢崎分担）、樹木の遺伝

的多様性が節足動物群集と生態系機能に果たす役割の解明（大串代表・矢崎分担）

林 隆久：科学研究費基盤研究（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）、科学研究費基盤研究（B）遺伝子組換え樹木：野外試験の海外調査（林代表）、基盤研究（B）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（山下代表、林分担）G-COE生存基盤持続型の発展を目指す地域研究拠点（松本代表、林分担）、NEDO先導研究 糖化され易い熱帯早生樹の研究開発（林代表）、NEDOバイオマスエネルギー先導技術開発「総合調査研究」（林分担）、生存基盤科学研究ユニットサイト研究 湖水及び流水圏におけるバイオマス評価と利用（林代表）、H20年アカシアプロジェクト アカシアの育種（林代表）、H20年生存圏ミッション1 森林が雨を降らせるメカニズム（林代表）

黒田宏之：（生存基盤科学研究ユニット・サイト型研究）アカマツ林の健全性評価（黒田代表）

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：7th-Japan-US Seminar, Biosynthesis of Natural Products サンディエゴ（招待講演）、Plant Metabolism 2008 バンプ（招待講演）、2nd World Conference on Magic Bullets, (EHRlich II) ニュルンベルク（招待講演）、99th RISH Symposium “1st VTT-RISH Joint Symposium Sustainable Utility of Wood Biomass ” 宇治（座長）、EHRlich II 2nd World Conference on Magic Bullets ニュルンベルク（座長）

林 隆久：International Symposium on Clean Energy for the World, Ethanol Biodiesel and Natural Gas, Ubatuba, Brasil（招待講演）、Workshop on Riau biosphere reserve, Pekanbaru, Indonesia（基調講演）、Nissan International Tree Biology, 東京（招待講演）

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）、シロイヌナズナPGPによる水分ストレス耐性に関する研究（アメリカ、パーデュー大学）、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 型トランスポーターとアルカロイド輸送（ベルギー、ゲント大学）、イソプレネ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）

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

招へい外国人学者 2 名（VTTフィンランド・教授）、招へい外国人共同研究者1名（ブラジル・講師）

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

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：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：静岡県立大学大学院生活健康科学研究科（食品栄養科学特別演習I）、横浜市立大学国際総合科学部（総合講義B 生命科学のフロンティア）

B - 3 . 国際的教育活動

海外での講義、講演

矢崎一史：ウルム大学分子植物学教室（講演）

林 隆久：サンパウロ大学生物学科（講演）、Joint BioEnergy Institute, USA（講演）

C . その他

黒田宏之：第59回 日本木材学会大会優秀ポスター賞

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

村上 真也

Rahman md. Mahabubur

Azad Mustafa Abul Kalam

大学院博士後期課程

2 名

大学院修士課程

1 名

A . 研究活動（2008.4～2009.3）

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い重要な資源である。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をもたれている。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

原著論文

Watanabe, T., T. Fujiwara, T. Umezawa, M. Shimada and T. Hattori: Cloning of a cDNA encoding a NAD-dependent formate dehydrogenase involved in oxalic acid metabolism from the white-rot fungus *Ceriporiopsis subvermispora* and its gene expression analysis. FEMS Microbiol Lett 279; 64-70, 2008

Nakatsubo, T., Y. Kitamura, N. Sakakibara, M. Mizutani, T. Hattori, N. Sakurai, D. Shibata, S. Suzuki and T. Umezawa: At5g54160 gene encodes *Arabidopsis thaliana* 5-hydroxyconiferaldehyde O-methyltransferase. J Wood Science 54; 312-317, 2008

- Nakatsubo, T., L. Li, T. Hattori, S. Lu, N. Sakakibara, V.L. Chiang, M. Shimada, S. Suzuki and T. Umezawa: Roles of 5-hydroxyconiferaldehyde and caffeoyl-CoA *O*-methyltransferases in monolignol biosynthesis in *Carthamus tinctorius*. Cellulose Chemistry and Technology 51; 511-520, 2007 (printed in 2008)
- Nakatsubo, T., M. Mizutani, S. Suzuki, T. Hattori and T. Umezawa: Characterization of *Arabidopsis thaliana* Pinorensin Reductase that is a new type enzyme related in lignan biosynthesis. J Biol Chem; 15550-15557, 2008
- Hattori, T., K. Okawa, M. Fujimura, M. Mizoguchi, T. Watanabe, T. Tokimatsu, H. Inui, K. Baba, S. Suzuki, T. Umezawa and M. Shimada: Subcellular localization of the oxalic acid-producing enzyme, cytochrome *c* dependent glyoxylate dehydrogenase, in brown-rot fungus *Fomitopsis palustris*. Cellulose Chemistry and Technology 51; 545-553, 2007 (printed in 2008)
- 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：きのこの代謝のひみつとその環境浄化への応用． 生存圏研究，第4号；1-9 2008

Umezawa, T., S. Suzuki and D. Shibata: Tree biotechnology of tropical *Acacia*. Plant Biotechnology 25; 309-313, 2008

梅澤俊明、鈴木史朗：リグニンの改変技術．バイオインダストリー 25；50-60，2008

鈴木史朗、山村正臣、梅澤俊明：ヒノキレジノール合成酵素 46；592-594，2008

b) 学会発表

第59回日本木材学会大会（松本）：2件

第26回日本植物細胞分子生物学会（大阪）：2件

第53回リグニン討論会（東京）：1件

第50回日本植物生理学会年会（名古屋）：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、プログラム委員会委員、プログラム部門コーディネーター）

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)：代謝ネットワーク制御に基づくバイオ燃料化に適した木質の分子育種（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）、新農業展開ゲノムプロジェクト（バイオマス・飼料作物の開発）（独立行政法人農業生物資源研究所）「イネリグニン合成パスウェイの改変」、平成20年度生

存基盤科学研究ユニット萌芽研究「システム生物学的アプローチによるアオモリヒバの解析」(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：1st International Conference on Plant Secondary Metabolism, Kunming, China (Invited lecture), Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology Seminar, Shanghai, China (Invited lecture), North Carolina State University Seminar, Raleigh, USA (Invited lecture), Ferulate 08, Minneapolis/St.Paul, USA (Oral presentation), 2008 Phytochemical Society of North America Annual Meeting, Pullman, USA (Oral presentation), 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 2名（Rajshahi University, Bangladeshi）

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

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：薮田セミナー（日本農芸化学会） バイオマスデザインとリファイナリー—競合から共存へ—（平成20年5月9日、神戸、講師）、王子製紙（株）セミナー（平成20年5月16日、亀山、講師）、第26回日本植物細胞分子生物学会（平成20年9月2日、大阪、講師）、モノづくりフェア2008 自動車産業におけるバイオ燃料の将来は？～食料と競合しない植物資源からのバイオマスエネルギー開発最前線～（平成20年10月24日、福岡、講師）、第112回生存圏シンポジウム 「メタボロミクスに基づく人類の生存基盤構築」（平成21年3月18日、京都、オーガナイザー、座長、講師）

服部武文：第112回生存圏シンポジウム 「メタボロミクスに基づく人類の生存基盤構築」

(平成21年3月18日、京都、座長)

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
吉岡 康一
井口 一成
高田 理恵
月原 多佳久
劉 健
Pradeep Verma
大学院博士後期課程 3 名 研究員 3名
大学院修士課程 9 名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

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、粉砕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ット系系の構築を行う。

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

坪田潤、渡辺隆司：木質等難分解性バイオマスのメタン発酵、第二世代バイオ燃料の開発と応用展開、シーエムシー出版、209-219、2009

総 説

渡辺隆司：白色腐朽菌によるバイオマス変換、日本菌学会西日本支部会報, 17, 3-18, 2008

原著論文

Nishimura, H., S. Tsuda, H. Shimizu, Y. Ohashi, T. Watanabe, Y. Honda and T. Watanabe: *De novo* synthesis of (*Z*)- and (*E*)-7-hexadecenylitaconic acids by a selective lignin-degrading fungus, *Ceriporiopsis subvermispota*, Phytochemistry 69, 2593-2602, 2008

Tsukihara, T., Y. Honda, R. Sakai, T. Watanabe and T. Watanabe: Mechanism for oxidation of high-molecular-weight substrates by a fungal versatile peroxidase, MnP2. Appl Environ Microbiol 74; 2873-2881, 2008

特 許

公開

特許公開 2 0 0 8 - 2 3 7 1 6 4 号「リグニンを含むバイオマスからメタンガスを生産する方法」発明者：坪田 潤、上垣内 天崇、渡邊 隆司、矢野 健太、大阪ガス株式会社、
公開日：2008年10月9日

b) 学会発表

日本農芸化学会2009年度大会：8件

平成20年度日本生物工学会大会：1件

平成20年度日本エネルギー学会大会：1件

第59回日本木材学会大会：8件

第53回リグニン討論会：1件

日本きのこ学会第12回大会：2件

第4回バイオマス科学会議：2件

The 5th meeting of East Asia for Collaboration on Edible Fungi: presentation:1件

Genetics and Cell Biology of Basidiomycetes Conference VII: presentation:1件

Mie Bioforum 2008 Biotechnology of Lignocellulose Degradation, Biomass Utilization and Biorefinery:2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）、挑戦的萌芽研究、担子菌バイオメカノケミカル反応を用いた木材からのバイオ燃料の生産（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」木質バイオマスからの高効率バイオエタノール生産システムの研究開発（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」酵素糖化・効率的発酵に資する基盤研究（分担）、(財)地球環境産業技術研究機構（RITE）「プログラム方式二酸化炭素固定化・有効利用技術開発：先端的研究」バイオエタノール生産のための選択的白色腐朽菌リグニン分解系の解析と強化（代表）、経済産業省「地域イノベーション創出研究開発事業」木質バイオマスからの新規エタノール低環境負荷前処理技術の開発（分担）、平成20年度秋田県「大型共同研究可能性調査検討委託事業」リグノセルロースの酵素糖化前処理法の調査研究（代表）

本田与一：基盤研究(B)、熱帯大規模人工林における木材劣化生物の多様性評価と持続的管理の提案（分担）、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（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」木質バイオマスからの高効率バイオエタノール生産システムの研究開発（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：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（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」木質バイオマスからの高効率バイオエタノール生産システムの研究開発（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：三重バイオフィォーラム 2008 リグノセルロースの分解、バイオマス利用、バイオリファイナリーのバイオテクノロジー（講演）、第99回生存圏シンポジウム VTT-RISHジョイントシンポジウム-木質バイオマスの持続的利用（講演）、ASEAN COST+3: 持続的環境のための新エネルギーフォーラム、プレシンポジウム：第6回エコエネルギー、材料科学とエンジニアリングのシンポジウム (EMSES) (実行委員、講演)、第二回 G-COE国際会議、アジアおよびアフリカにおける持続的生存圏の探求：地球規模での変革力としての生命圏（座長）、第2回バイオエネルギーとバイオプロセス技術に関する国際会議、中国科学院（研究発表）

本田与一：第7回担子菌の遺伝学および細胞生物学に関する国際会議、ケーブジラルドゥー

(講演)、第5回東アジア食用菌類に関する共同研究会議、福岡(座長、講演)
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 2名

B. 教育活動(2008.4～2009.3)

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(渡辺、本田)、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)、KSI生存圏診断統御科学論(本田)

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

渡辺隆司：第74回化学工学会(講演)、日本応用糖質科学会近畿支部大会(講演)、BioJapan2008(講演)、日本農芸化学会関西支部大会シンポジウム(講演)、第60回日本生物工学大会シンポジウム(講演)、第3回木質科学シンポジウム“バイオ燃料生産ならびにバイオリファイナリー技術革新に向けて”(講演)、JST科学技術未来戦略ワークショップ「陸上微小生物を活用したバイオ燃料生産基盤技術」(講演)

本田与一：岩手生物工学研究センター公開セミナー(講演)、タカラバイオ株式会社社内セミナー(講演)

B-3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

渡辺隆司：Murwarman University(講演)、University of 7 August 1945(インドネシア)(講演)

留学生、外国人研修員の受入れ

研修員：日本学術振興会PD 2名(中国、インド)

C. その他

渡辺隆司：(財)バイオインダストリー協会(評議員)、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)、NPO 法人 近畿アグリハイテク(技術参与、バイオマス部会長)

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、京都大学理工農学分野拠点発明評価委員会委員

渡邊崇人：京都大学放射線障害予防小委員会委員，放射線・エックス線取扱者の再教育訓練講師