



生物科学研究所

平成25年度研究年報



岡山県農林水産総合センター 生物科学研究所

Research Institute for Biological Sciences, Okayama

序

人類が解決すべき課題は、食料、水・エネルギー資源、疾病、環境であり、これらは相互に深く関連している。従って、いずれが疎かになっても、人類の未来は無い。振り返れば、人類は、これらの課題を巡り、極めて深刻な紛争を繰り返してきた。21世紀も14年経過した現在においても、これらの課題は厳然と人類の前に立ちはだかつており、中には深刻さを増した課題もある。21世紀は食料と水の世紀と云われるが、例えば、近年の異常気象の頻発、また投機筋に起因する国際穀物価格の高騰は、当面の生活のみならず将来に影を落としている。

ご承知のように、食料生産は大量の水に支えられている。1杯のコーヒーに140L、1kgのトウモロコシには900L、1kgの牛肉には16,000Lと云う具合であり、日本は年間640億トンもの水を輸入していることになる。一昨年米国で干魃が発生し、一時トウモロコシなどの価格が高騰したことは記憶に新しい。このような異常気象は世界各地で頻発しており、食料や水を巡る国際紛争も世界に拡大しつつある。日本では、TPP加盟が国論を二分しているが、他国や国際市場あるいはファンドが、県民や国民の食や水に責任を持つかという点をよく考えておく必要がある。

では、このような人類の課題の解決に、20世紀長足に進歩したバイオテクノロジーは貢献できるであろうか？答えはYesである。現在、3,000種を越す生物種のゲノム情報が明らかとなり、基礎研究をベースに、食料・生物資源の生産、環境保全、疾病克服などに向けたイノベーションが加速度的に進展している。当研究所においても、遺伝子工学、細胞工学、微生物工学の3部門において、バイオテクノロジーを駆使して、生物資源や食料の増産、高品質化・ブランド化、環境耐性作物等の新品種の育成、微生物酵素による機能性素材の開発等の研究が進展しており、これを通して産学官連携も着実に発展している。

平成22年4月、岡山県生物科学総合研究所は、岡山県農林水産総合センター生物科学研究所として改組され、平成24年から(28年まで)は第4期5カ年計画がスタートした。この中で、「県下はもとより国内外の産業振興に役立つ技術開発研究を産学官連携して、中長期的展望に立って推進し、その研究成果を県内外に向けて発信すること、そして、研究のユニークさを堅持し、国際貢献にも寄与する」と述べられている。キーワードは「生物生産の革新的技術開発」であり、県民また人類に貢献できることは疑いない。具体的な課題としては、

- 1) 植物バイオマス生産性向上技術およびその管理技術の開発
- 2) 環境に優しい革新的病害防除技術の開発研究
- 3) 分子マーカーを用いた革新的育種技術の開発と新品種の育成
- 4) 酵素によるバイオマス有効利用法の研究開発

に取り組んでいる。個別の研究成果については後述するが、第4期2年目にあたる平成25年度は、攻めの農業や農産物のブランド化等に資する成果がでており、論文発表16報（内国際誌13）、学会発表54件（内国際会議16）を公表・公開し、さらに、発明届・特許出願8件、実施許諾19件、共同研究26件、獲得外部資金8,350万円と、研究成果の知財化、実用化、また、産学官連携が着実に前進している。これらの成果は、機会がある毎に公表に努めており、「開かれた研究所」作りに心掛けている。25年度には、研究所公開や公開シンポジウムなどを引き続き実施し、中高生も含め、弊所の視察・訪問者は170名を越えた。また、公開シンポジウムには、60名以上の県内国内の著名な研究者、大学院生の参加があった。県やセンター主催の農業フェアなどにも参加して、弊所の研究を紹介した。これらの取り組みに当たっては、率先してマスコミの取材を受けるなど、広報活動にも積極的に取り組んでいるところである。

弊所にあつては、基礎基盤研究（真理・メカニズムの探究）と応用研究（社会への貢献）は両輪である。設立後17年間蓄積してきた基礎・基盤研究の成果を、スピード感を持って実用化して県民の財産とし、地域産業の発展に資するため、所員一同日々懸命に努力しているところである。関係各位の一層のご理解とご支援を賜りたい。

平成26年4月

岡山県農林水産総合センター
生物科学研究所
所長 白石友紀

目 次

研究所の概要

研究方針	1
組織図	2
職員名簿	3
外部評価委員会委員	4
第4期5ヵ年研究基本計画【研究計画表】	5
主な行事	6
主な視察・来訪者	10

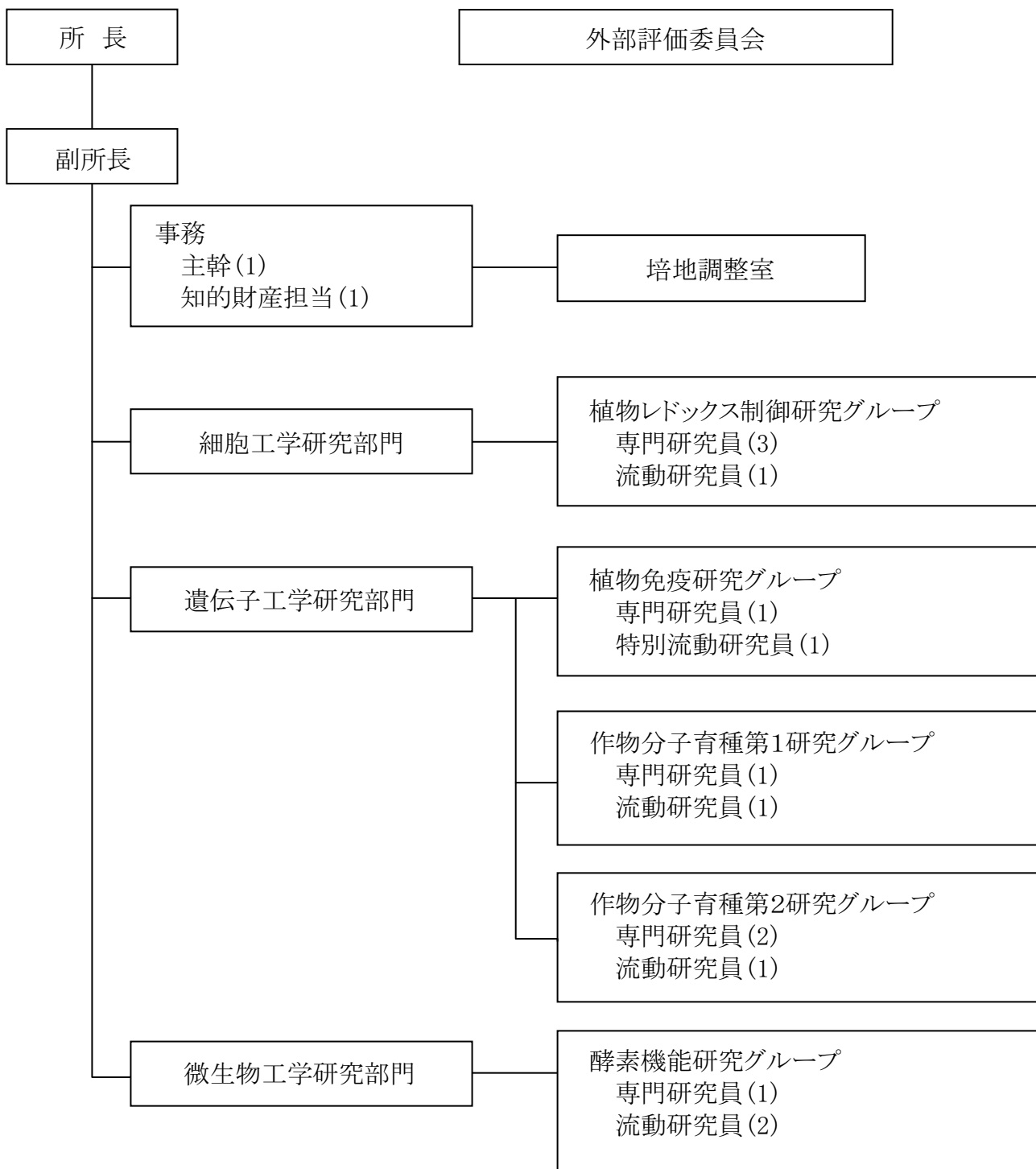
研究の概要

植物レドックス制御研究グループ	12
植物免疫研究グループ	24
作物分子育種第1研究グループ	38
作物分子育種第2研究グループ	46
酵素機能研究グループ	54

研究方針

- ・ バイオテクノロジー新技術の開発に資する基礎・基盤研究及び環境保全への貢献
- ・ バイオテクノロジーに関する技術交流・情報の提供
- ・ 農産物の岡山県ブランド化に寄与するバイオテクノロジー新技術の開発
- ・ 産官学連携による地域貢献及び国際貢献
- ・ 知的財産権取得の推進及び技術移転による科学技術への貢献

組織図（平成26年3月31日現在）



所長(非常勤)	1	知的財産担当職員(非常勤)	1
事務職員	2	PD研究員・リサーチアソシエイト	7
専門研究員	8	実験・事務補助員等	14
(特別)流動研究員(非常勤)	6	計	39

生物科学研究所職員名簿（平成26年3月31日現在）

職 名	氏 名	
所 長	白 石	友 紀
副 所 長	多 田	修
主 幹	名 越	要 介
専門研究員	畑 中	唯 史
専門研究員	後 藤	弘 爾
専門研究員	西 川	正 信
専門研究員	小 田	賢 司
専門研究員	小 川	健 一
専門研究員	向 原	隆 文
専門研究員	鳴 坂	義 弘
専門研究員	逸 見	健 司
特別流動研究員	鳴 坂	真 理
流動研究員	川 上	賀代子
流動研究員	深 松	陽 介
流動研究員	裏 地	美 杉
流動研究員	清 川	一 矢
流動研究員	田 村	勝 徳
知的財産担当職員	吉 田	勝 久

（平成26年 3月31日退職）

外部評価委員会委員名簿

神 崎 浩	国立大学法人岡山大学大学院環境生命科学研究科・教授
佐 藤 文 彦	国立大学法人京都大学大学院生命科学研究科・教授
柴 田 大 輔	公益財団法人かずさDNA研究所・産業基盤開発研究部・部長
馬 健 鋒	国立大学法人岡山大学資源植物科学研究所・教授
町 田 千代子	学校法人中部大学応用生物学部応用生物化学科・教授

第4期5ヵ年研究基本計画：生物生産の革新的技術開発（平成24年度～28年度）

	大課題名	中課題名	担当研究グループ
植 物 科 学 系	1 植物バイオマス生産向上技術及びその管理技術の開発 (藻類、ダイズ、ユーカリ、キャッサバ、スギ、ヒノキ、カラマツ、柑橘類、モモ、ブドウ、イネ、ムギなど)	<ul style="list-style-type: none"> 植物を活用した有用物質の生物生産プラットフォームの構築 植物バイオマスの安定的高生産に資する生産管理技術の開発 	植物レドックス制御研究グループ
	2 分子マーカーを用いた革新的育種技術の開発と新品種の育成(ミニトマト、ナス、ピーマン、ブドウ、モモなど)	<ul style="list-style-type: none"> 高品質な果実を持つトマト新品種の育成 有用な農業形質の探索とそれを評価する育種技術の開発 	作物分子育種第1研究グループ
		<ul style="list-style-type: none"> 県主要作物の優良品種選抜を可能とする分子マーカーの研究開発と新品種の育成 	作物分子育種第2研究グループ
微 生 物 科 学 系	3 環境にやさしい革新的病害防除技術の開発研究 (イチゴ、アブラナ科作物、ナス科作物、ダイズなど)	<ul style="list-style-type: none"> 環境負荷低減型の新規病害防除資材の創製 病害ストレス耐性農作物創製の新技术開発とその基盤研究 	植物免疫研究グループ
	4 酵素によるバイオマス有効利用法の研究開発(放線菌)	<ul style="list-style-type: none"> バイオマス由来機能性素材の研究開発 バイオマス関連有用酵素の研究開発 	酵素機能研究グループ

主な行事

- 第9回 中学生・高校生を対象とした研究所公開 ～バイオ研究の世界をのぞいてみよう！～
日時：平成25年8月1日（木）10時開催
場所：岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

「研究紹介」



「所内見学」



「研究員と一緒に昼食会」



「研究体験コース」



バイオ研究の
世界をのぞいてみよう!



岡山県農林水産総合センター
生物科学研究所

2013年度

研究所公開

中学生・高校生対象

2013.8.1 木
10:00~16:00



内容

- 研究紹介
- 所内見学
- 研究員と一緒に昼食会
- 研究体験

3つのコースに分かれて行きます

- ▶▶▶ 遺伝子とのふれあい
- ▶▶▶ 酵素のヒミツ
- ▶▶▶ 植物のストレス解消法って?

所属の学校を通して7月1日(月)正午(必着)までに
FAXにてお申し込み下さい。

参加費
無料
事前登録
必要



お問い合わせ先

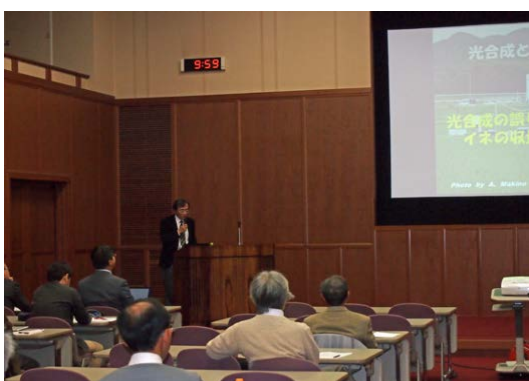
岡山県農林水産総合センター生物科学研究所
〒716-1241 岡山県加賀郡吉備中央町吉川7549-1 (吉備高原都市内)

TEL.0866-56-9450
FAX.0866-56-9453

● 第13回 RIBSシンポジウム 「光と水、空気、土からはじまるエネルギー生産」

日時：平成25年11月15日（金）9：45～16：30

場所：岡山国際交流センター 2階国際会議場



第13回 RIBSバイオサイエンスシンポジウム & 日本光合成学会公開講座

「光と水、空気、土からはじまるエネルギー生産」

一般の方、専門外の方の聴講を歓迎します！

※ 参加費無料、参加申込み不要

(定員120名を超えた場合、入場をお断りする場合があります)

プログラム

- 9:45 はじめに
白石 友紀 (RIBS 所長)
シンポジウムの趣旨
小川 健一 (RIBS)
- 9:55 光合成と作物の生産性
牧野 周 (東北大学)
- 10:30 光合成の仕組みと光合成で作られる物質のはなし
座長 久堀 徹 (東京工業大学)
- 10:35 光をキャッチー藻類から陸上植物までの光捕捉装置の進化
田中 歩 (北海道大学)
- 11:10 水から酸素を生み出す仕組み
沈 建仁 (岡山大学)
- 11:45 巧妙な電子回路
鹿内 利治 (京都大学)
- 12:20 <昼 食>
座長 小川 健一
- 13:20 CO₂を取り込む葉の換気口＝孔のはなし
嶋田 知生 (京都大学)
- 13:55 目で見える光合成産物の動き:イメージング解析の話
藤巻 秀 (日本原子力研究開発機構)
- 14:30 <ブレイク>
- 14:35 生産力アップのための光合成研究とイノベーション
座長 坂本 亘 (岡山大学)
- 14:40 UVストレスとうまく付き合う植物の仕組みを利用する
日出間 純 (東北大学)
- 15:15 土地生産性の限界を打ち破るにはー グルタチオン農業へのチャレンジ
小川 健一
- 15:50 「微細藻類ハイオリファイナリー」の構築に向けた取り組み
近藤 昭彦 (神戸大学)
- 16:25 おわりに
田中 歩 (日本光合成学会 会長)

平成25年11月15日(金)

9:45 - 16:30

場所 岡山国際交流センター
2階国際会議場

(JR岡山駅西口、徒歩5分)

〒700-0026

岡山市北区奉還町2-2-1

TEL: 086-256-2905

アクセスマップ:

<http://www.oiief.or.jp/oiicenter/access.html>



ココです



主催: 岡山県農林水産総合センター生物科学研究所 (RIBS)

共催: 日本光合成学会

協賛: 科学技術振興機構 (JST) CREST

後援: おかやまバイオアクティブ研究会

【問合せ先】

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

TEL: 0866-56-9450, FAX: 0866-56-9453

E-mail: seibutsu@pref.okayama.lg.jp

主な視察・来訪者

平成25年	5月30日	岡山県立津山高等学校	生徒40名、 引率教諭4名	計44名
	7月19日	岡山地域切り花研究会研修会	13名	
	7月24日	岡山県立倉敷南高等学校	生徒15名、 引率教諭1名	計16名
	8月1日	研究所公開（中学生・高校生対象）	生徒22名 教諭等8名	計30名
	12月13日	おかやまバイオアクティブ研究会	18名	
平成26年	2月19日	吉備高原学園高等学校	生徒21名、 引率教諭2名	計23名
その他		民間企業、研究機関などからの視察・来訪者	26名	

植物レドックス制御研究グループ

専門研究員	小川 健一 (グループ長)
専門研究員	西川 正信 (サブグループ長)
専門研究員	逸見 健司
流動研究員	清川 一矢
PD研究員	岩崎 (葉田野) 郁
PD研究員	田村 はるか (平成 25 年 5 月～)
リサーチアソシエイト	小倉 美智子
リサーチアソシエイト	濃野 絢
リサーチアソシエイト	神原 里沙
実験補助員	藤森 茂
実験補助員	狩野 真一
実験補助員	平田 章代 (平成 25 年 5 月～)
実験補助員	櫻間 恭子 (平成 25 年 5 月～)
実験補助員	菅野 和孝 (平成 25 年 5 月～)

大課題

植物バイオマス生産向上技術及びその管理技術の開発

中課題

植物を活用した有用物質の生物生産プラットフォームの構築
植物バイオマスの安定的高生産に資する生産管理技術の開発

[背景と目的]

気候変動に関する政府間パネル (英語: Intergovernmental Panel on Climate Change、略称: IPCC) でも、近年の温暖化には大気 CO₂ 濃度の上昇が関係する可能性が極めて高いことが結論付けられており、CO₂ 排出を抑制する技術や CO₂ 固定を促進する技術の開発が急務である。また、急激な人口増加による食糧不足の不安も年々増しているなかで、化石原料枯渇を懸念したバイオマス材料開発競争も激化している。そうした背景のもと、バイオマス増産や作物の増産がますます重要な社会的課題となってきた。

本研究グループでは、そうした社会要請に対応できる技術革新を目指して、これまでの成果をもとに研究・開発を進めている。具体的には、肝臓のサプリメントとして販売されるグルタチオンが植物体内では、植物の生育の調節に様々な形でかかわることを見出し、特に光合成能力を調節していることを見出したことは、非常に重要な基盤となっている。その発見をもとに、図 1 のような「グルタチオン農業構想」を掲げ、グルタチオン製造会社をはじめとして、国内外の産学官組織と連携して、その実現を目指している。グルタチオン農業構想では、グルタチオンによって増産されるバイオマスを食糧だ

けでなく、工業原料等へ利用することを想定しているが、中課題のひとつは、その原料を効果的に増産させるための基盤づくりである（図2）。

一般に植物の生産性は、その年の気象要因に大きく左右されるが、その生産性と相関の高い内生因子Fを当グループでは見出している。この内生因子は、グルタチオン投与によって得られる効果の大きさとも相関している。一方、グルタチオンを投与するには、適期の選択が重要である。適切な生育時期や品種を選択すれば、バイオマス（農産物を含む）増産を現在よりも効果的に行うことができることが予想される。もうひとつの中課題では、その時期を特定し、グルタチオンの投与効果を最大化するために、内生因子Fをモニターするための装置開発に取り組むための基盤整備が目的である（図3）。

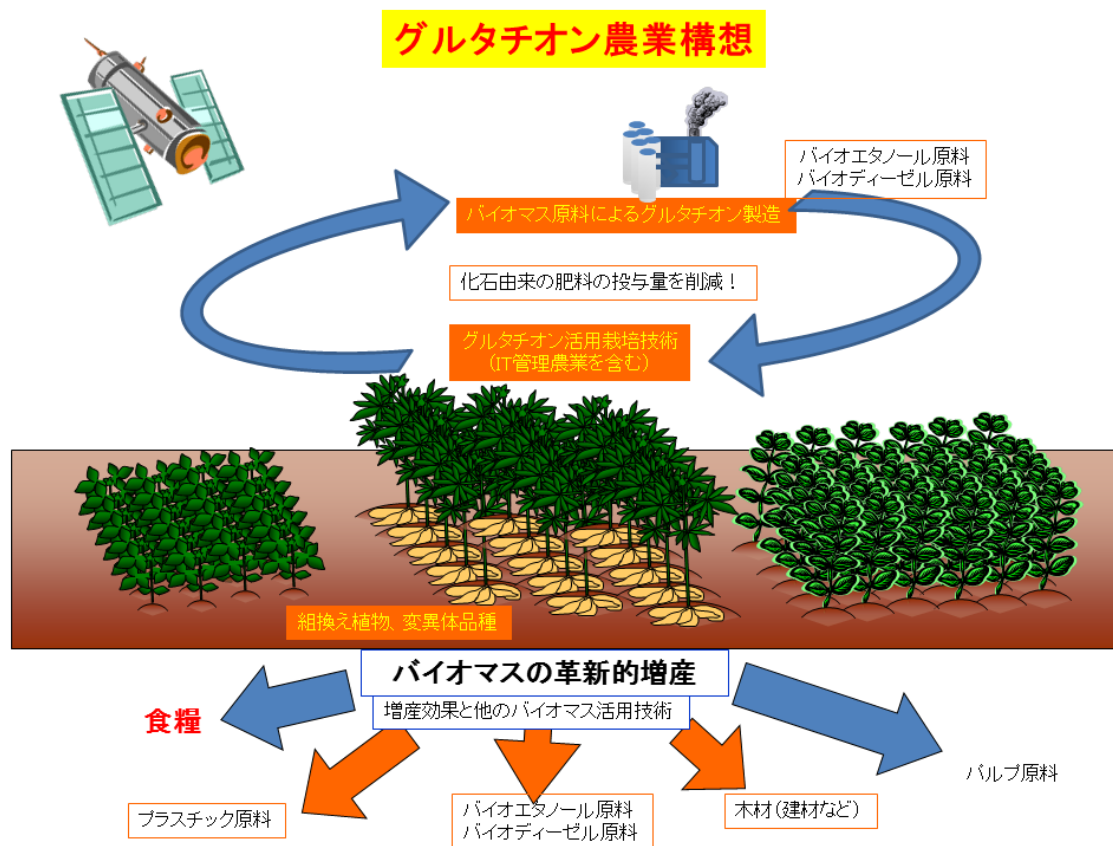


図1. グルタチオン農業構想 当グループが現在提唱しているグルタチオンを利用した農業についての概念図である。その工程は次の行程で成り立つ。

- ①バイオマス原料を使った循環的工程によって製造される酸化型グルタチオンを植物に施用するステップが組み込まれている。
- ②酸化型グルタチオン施用によって少しでも従来化成肥料を削減させ化石燃料の消費抑制に資する効果を持つ。
- ③増収は「緑の革命」の効果と遜色のない25%以上を達成している。
- ④酸化型グルタチオン施用の効果を高める品種開発や管理技術が組み込まれている。
- ⑤循環的経路については、藻類やイモ類、サトウキビなどを原料にした発酵生産が含まれる。
- ⑥増収したバイオマスをさまざまな工業原料に利用する工程や歩留りを高める技術が導入されている。

植物を活用した有用物質の生物生産プラットフォームの構築

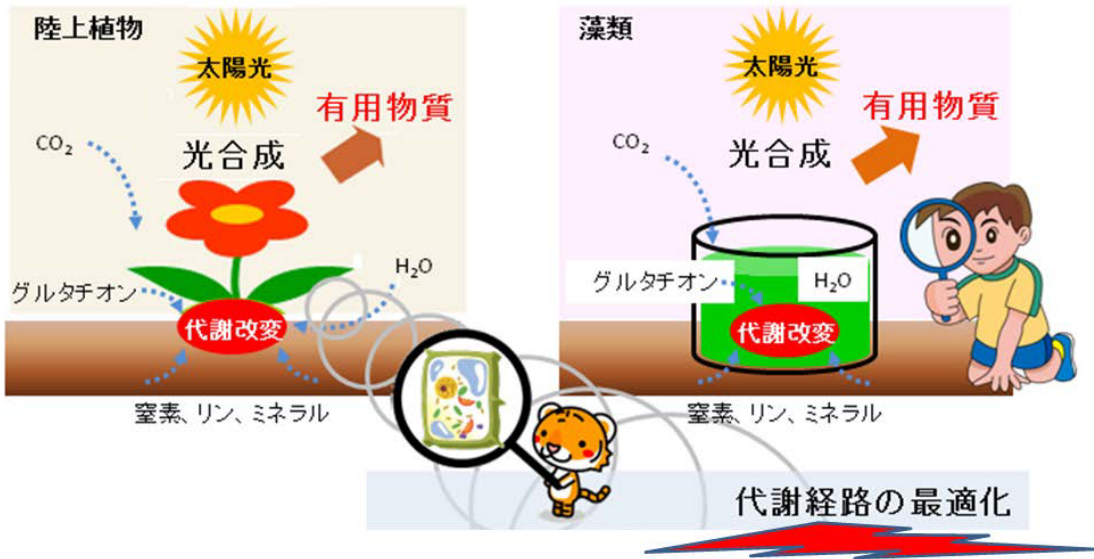


図 2. 中課題「植物を活用した有用物質の生物生産プラットフォームの構築」の研究開発のイメージ

植物バイオマスの安定的高生産に資する生産管理技術の開発

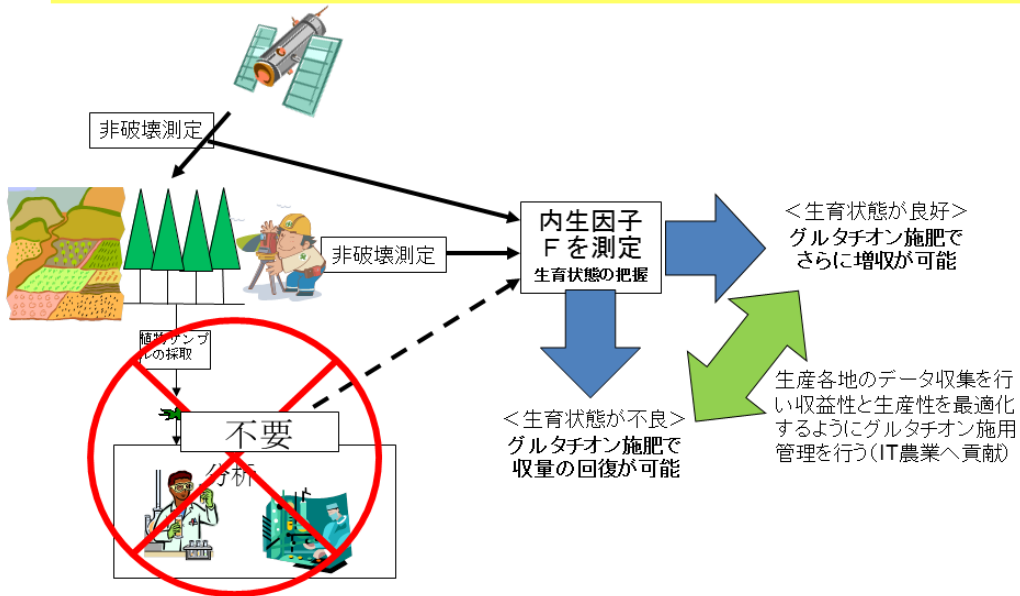
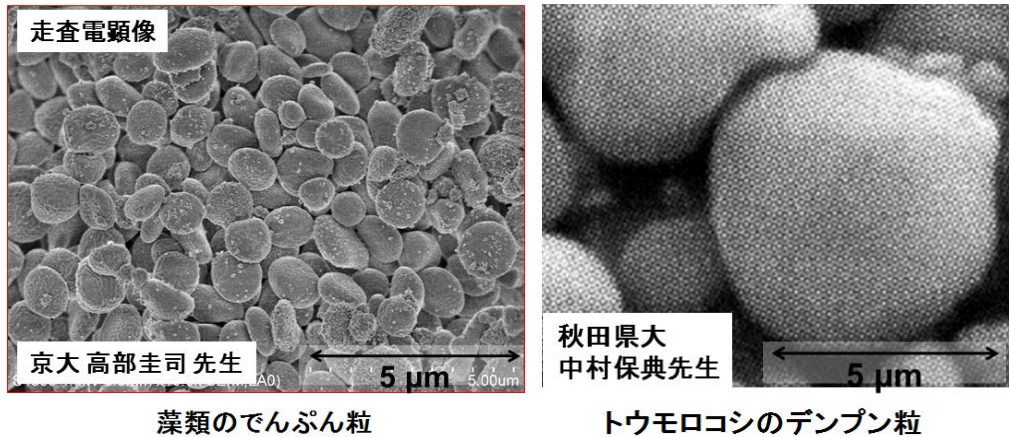


図 3. 中課題「植物バイオマスの安定的高生産に資する生産管理技術の開発」の研究開発のイメージ

[成果と今後の方針]

・特徴的な光合成産物である超微粒子デンプンの高生産（図 4）に関する新規知見を得ており、特許出願検討中であり、工業化のための開発を開始した。増産のためのメカニズム解明に取り組むとともに、用途開発のための試作生産を行う。

A



B

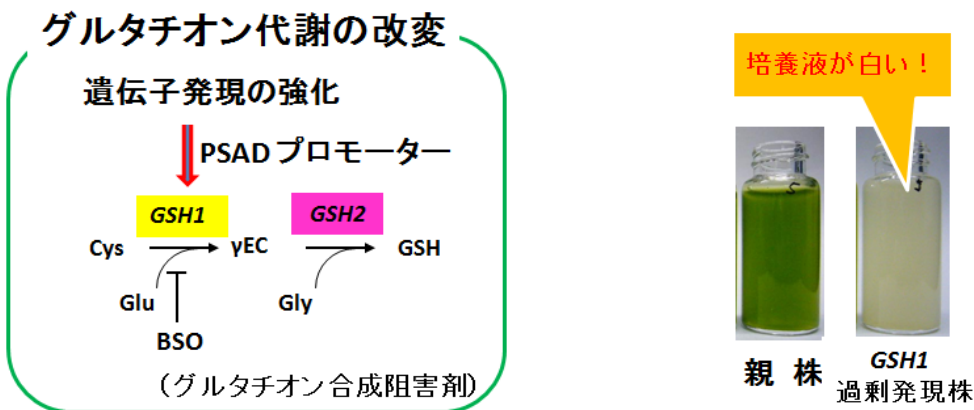


図 4. *GSH1* 発現による微小デンプン生産 (A)超微粒子デンプンの電子顕微鏡像。通常のとウモロコシのデンプン（右）に比べて、粒子が非常に微小である。このデンプンは、グルタチオン合成のカギ酵素遺伝子 *GSH1* を藻類に導入することで生産される（特許出願済）。(B) *GSH1* を導入した藻類は、親株がデンプン生産を抑制する条件（栄養が十分な状態）でもデンプンを過剰に生産し、細胞外へ放出する。その結果、培養液は白濁する。

・グルタチオン投与のジャガイモ等での増収効果について安定的な結果が複数の国で得られた。今後は、試験地を増やし、複数年の確認試験を行うとともに、県特産物の増収や品質向上のための技術普及に活用する。また、グルタチオン農業構想の実現のために、光合成代謝の異なる C4 植物（とウモロコシやサトウキビなど）、C3 植物（イネや

ダイズなど)、CAM 植物（コチョウランなど）を比較する研究を行う。

・森林への効果については、作物よりも見かけの差が出るまでに時間を要したが、確実に面積あたりのバイオマス生産性が上がることが示された（図 5）。最終効果（収穫時収量および品質等）の予測について精度を高めるため、どの程度の効果が認められるか今後も追跡調査を行う。

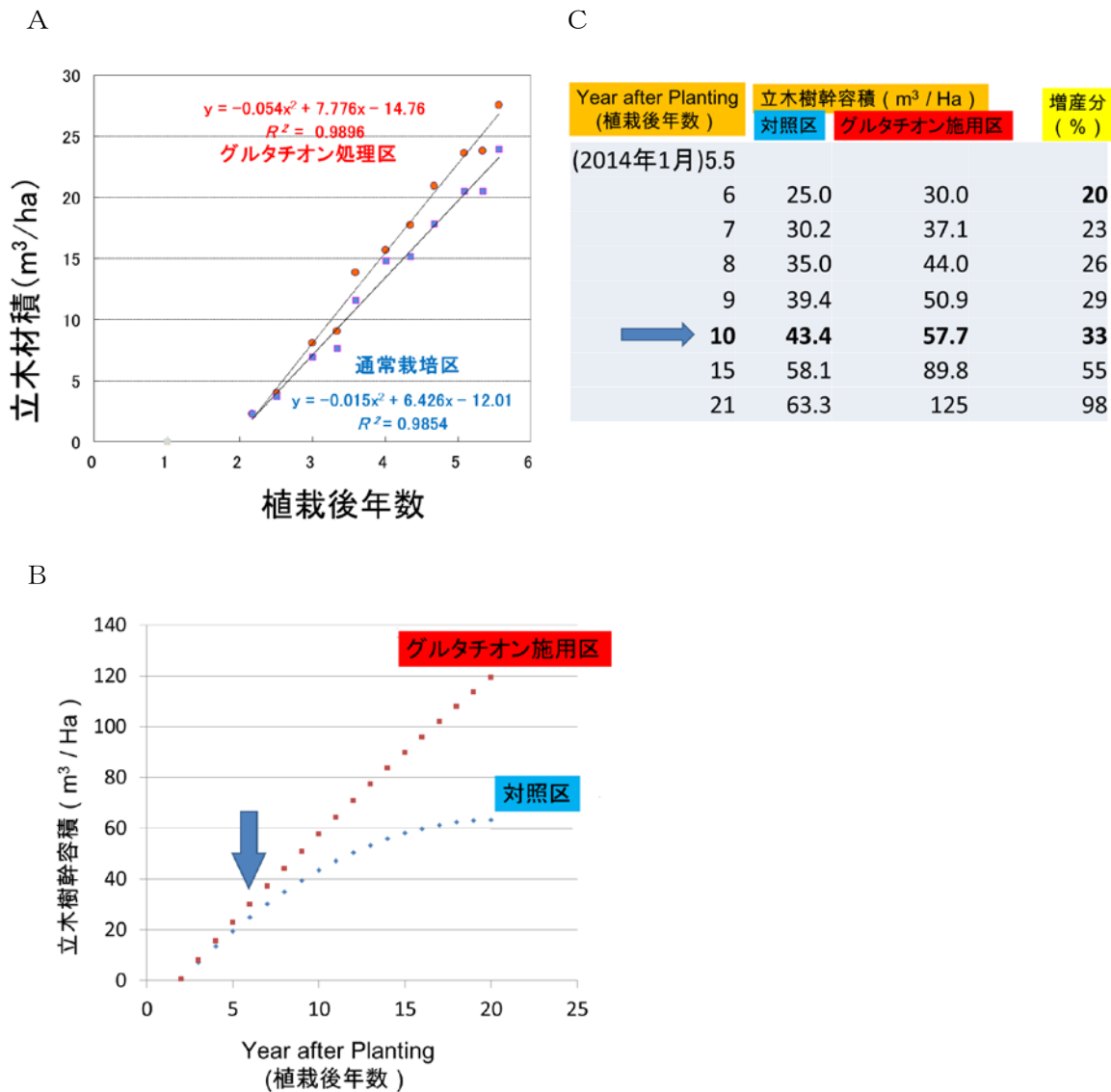


図5 ユーカリにおけるグルタチオンの施用効果の見積

豪州試験地での継続的生育調査によって得た近似成長曲線によって、今後の生育を予測し、最大の効果を推定した。近似曲線から外れる時期があることが判明した。今後の生育調査は、その時期を外して継続する。(A) 実際のデータから作成した近似曲線と相関係数 (R) との関係。(B) 近似曲線による推定成長曲線。

矢印は標準伐期を示す。(C) 推定成長量の推移。矢印は6年目を示す。

・内生因子 F がシロイヌナズナやグイマツと同様に、作物でも生育とともに変動し、モニター可能であることが明らかになった。内生因子 F の非破壊的モニタリング装置の開発に必要なスペクトル解析等を関係機関と連携して、随時実施する。

・放射性同位元素標識した CO₂ の投与実験によって、グルタチオンは、光合成による CO₂ 固定能力の増強だけでなく、転流も促進することが明らかになった。グルタチオンが結合するタンパク質をコードする遺伝子群の中で転流を促進できる遺伝子を見出した。他の遺伝子とともに、転流増幅効果との関係についても研究したい。また、育種への応用も図りたい。

・グルタチオン関連代謝の改変による表現型の効果的なスクリーニングシステムが構築されつつある (図 6)。そのシステムを活用して、グルタチオン投与効果と関連する遺伝子群を共発現解析等の結果を踏まえて絞り込み、分子マーカーとしての利用の有効性について検討したい。

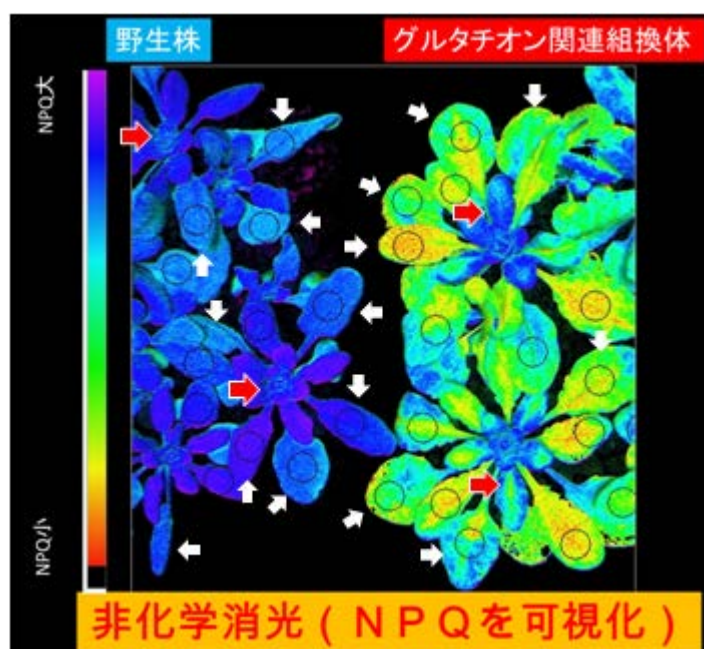


図 6. *GSH1* 遺伝子導入による光利用効率の変化を可視化 非化学消光 (Non-photochemical quenching; NPQ) を *GSH1* 導入シロイヌナズナ (グルタチオン合成能力を高めた遺伝子組換え植物) とその親株 (野生株) で比較した。図はクロロフィル蛍光を利用し、光エネルギーから光合成電子伝達に利用するエネルギーへの転換率が低下し、熱への放散量が増大すると NPQ が増大することを利用して、NPQ の形成の差を 2 次元で比較したものである。*GSH1* 導入株は野生型に比べ、明らかに光利用効率が高いことが分かる。特にソース葉と呼ばれる、光合成産物の転流 (光合成産物を他の器官へと送り出す働き) が盛んな葉において、差が大きい。

(図は植物体を上部から撮像したもので、植物体の中心部にある葉がシンク葉 (赤矢印)、周辺部にある葉がソース葉 (白矢印) である。)

平成 25 年度の活動

1. 報文(総説・原著論文等)

小川健一

グルタチオンによる澱粉バイオマスの増産

化学と生物 51: 554-559(2013)

概要: グルタチオン農業構想の概略を説明し、我々の技術を用いることでの世界のデンプン増産の可能性や新規な性質のデンプンを用いた新規な開発領域の可能性について述べたもの。

小川健一.

グルタチオンで光合成能力 150%

現代農業 10 月号:294-299 (2013)

概要: グルタチオンを農業で利用できるメリットとそのメカニズムを解説。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表(*Pはポスター発表、*招は招待講演、英文大会名は国際学会)

Ogawa, K. (*招)

Glutathione in plant growth and development: Beyond antioxidant function

Mahidol Univ.、2013 年 5 月 2 日(バンコク)

小川健一

新規CO₂固定促進機構の活用による植物および藻類のバイオマス生産性の飛躍的向上—グルタチオン農業の実現へ向けて—

第 53 回澱粉研究懇談会 (SRT)、2013 年 6 月 7 日 (伊東市)

Ogawa, K. (*招)

Glutathione in plant growth and development: Beyond antioxidant function

Technical Seminar in the Acharya N G Ranga Agricultural Univ.、2013 年 6 月 18 日 (ハイデラバード)

Ogawa, K. (*招)

Development of New CO₂-Fixation-Promoting Technology for Increasing Bio-Material Production

The Scientific and Technological Cooperation Events between Vietnam and Japan—the
40th Anniversary of Vietnam-Japan Diplomatic Relations、2013年6月19日(ハノイ)

逸見健司 (*招)

グルタチオン農業～グルタチオン肥料の開発とその普及～

岡山地域切り花研究会研修会、2013年7月19日(吉備中央町)

Ogawa, K., Hatano-Iwasaki, A., Hayashi, K., Awano, T., Okubo, Y., Hayakawa, T., Takabe, K.,
and Kawaoka, A. (*P)

Glutathione feeding promotes photosynthetic electron transfer rate and biomass
productivity in Blue Gum (*Eucalyptus globulus*)

The 16th International Congress on Photosynthesis Research、2013年8月11-16日(セ
ントルイス)

小川健一 (*招)

農林業における新たな生産体系：グルタチオン農業—新たな緑の革命に向けて—
カネカ講演会、2013年9月5日(高砂市)

近藤聡、杉本広樹、田中倫子、村本伸彦、服部悦子、小川健一、光川典宏、大音徳
バイオマス増産を示すプロテインホスファターゼ2C過剰発現シロイヌナズナの
器官・組織レベルの表現型解析
第31回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム、2013年9月11日(札幌
市)

Ogawa, K. (*招展示)

Glutathione, A New Agricultural Fertilizer for Enhancing Plant Productivity

TECHINNOVAT10N 2013 Snapshot、2013年9月24日(シンガポール)

Ogawa, K. (*招)

New Concept for Agriculture and Forestry: Glutathione Agriculture - Toward New Green
Revolution

JSPS アジア研究教育拠点事業「東アジア植物遺伝資源シンポジウム」、2013年9
月25日(岡山市)

Ogawa, K. (*招)

New Concept for Agriculture and Forestry: Glutathione Agriculture - Toward New Green
Revolution

Special Lecture at 中興大学、2013年9月26日(台中)

Ogawa, K. (*招)

Glutathione: A New Agricultural Fertilizer for Enhancing Plant Productivity

The Technical Seminar at the Taipei International Invention Show & Technomart (INST)、
2013年9月27日(台北)

Ogawa, K. (*招展示)

Glutathione: A New Agricultural Fertilizer for Enhancing Plant Productivity

Taipei International Invention Show & Technomart (INST)、2013年9月26-29日(台北)

小川健一(*招)

ボジトロンイメージングにより作物の生産性限界を探る
高崎研50周年記念講演会、2013年10月11日(高崎市)

Ogawa, K. (*招)

New Concept for Agriculture and Forestry: Glutathione Agriculture - Toward New Green
Revolution

Lecture at the Thai Tapioca Developmental Institute (TTDI)、2013年10月17日(バン
コク)

Ogawa, K.

Enhancement of photosynthesis and biomass productivity by oxidized glutathione

The 6th Asia-Oceania Conference on Photobiology (AOCP)、2013年11月10-13日(シ
ドニー)

小川健一(オーガナイザー)

土地生産性の限界を打ち破るには—グルタチオン農業へのチャレンジ—
第13回RIBSバイオサイエンスシンポジウム&日本光合成学会公開講座「光と
水、空気、土からはじまるエネルギー生産」、2013年11月15日(岡山市)

小川健一(*P)

CO₂固定の新規促進機構を活用したバイオマテリアルの増産技術開発

CREST「二酸化炭素の排出抑制に資する革新技術の創出」領域シンポジウム、
2014年1月31日(品川)

小川健一(*招)

CO₂固定の新規促進機構を活用したバイオマテリアルの増産技術開発

セミナー(北海道大学低温科学研究所)、2014年3月3日(札幌市)

鈴木沙季、高部圭司、松永悦子、河岡明義、岩崎（葉田野）郁、小川健一
GSH1 を過剰発現させた交雑ヤマナラシのバイオマス生産能の評価
第 64 回日本木材学会大会、2014 年 3 月 15 日（松山市）

西根祥太、高部圭司、松永悦子、河岡明義、岩崎（葉田野）郁、小川健一
2C 型プロテインホスファターゼ遺伝子およびフルクトース 1,6-ビスリン酸アルドラーゼ遺伝子を過剰発現させたポプラの形質変化
第 64 回日本木材学会大会、2014 年 3 月 15 日（松山市）

杉本広樹、近藤聡、田中倫子、今村千絵、村本伸彦、服部悦子、田中秀典、北川律子、小川健一、光川典宏、大音徳（*P）
AtPP2CF1 の過剰発現は花茎の成長促進により植物バイオマスの増産につながる
第 55 回日本植物生理学会年会、2014 年 3 月 18–20 日（富山市）

田村はるか、岩崎（葉田野）郁、小川健一（*P）
グルタチオン結合性アルドラーゼの精製および機能解析
第 55 回日本植物生理学会年会、2014 年 3 月 18–20 日（富山市）

大野隆史、高部圭司、岩崎(葉田野)郁、逸見健司、小川健一（*P）
グルタチオン処理シロイヌナズナにおいて誘導される糖飢餓シグナルの効果
第 55 回日本植物生理学会年会、2014 年 3 月 18–20 日（富山市）

小川健一（*招）
グルタチオン施用の炭素固定・転流促進効果の PETIS による定量的解析、シンポジウム「ライブイメージング：RI が教えてくれる植物の元素動態」
第 55 回日本植物生理学会年会、2014 年 3 月 18–20 日（富山市）

Urata, N., Negishi, N., Kojima, M., Sakakibara, H., Ogawa, K., and Kawaoka, A.（*P）
Effect of oxidative glutathione on adventitious root formation in *Eucalyptus globulus*
第 55 回日本植物生理学会年会、2014 年 3 月 18–20 日（富山市）

3. 知的財産権

職務発明 2 件

特許出願国内 1 件 特願 2013-541792

国外 1 件 PCT/JP2013/061399

特許登録 10 件

特許第 5250807 号、特許第 5344621 号、特許第 5403628 号、特許第 5452022 号、
AU patent No. 2010222106 (オーストラリア特許)、AU patent No. 2010329035 (オーストラリア特許)、CA patent No. 2652482 (カナダ特許)、US patent No. 8524978 (米国特許)、CN patent No. ZL200880002259.2 (中国特許)、US patent No. 8524978 (米国特許)

4. 共同研究・協力連携先

岡山県農林水産総合センター内

畜産研究所、森林研究所、農業研究所、農業大学校、普及連携部

県外

岡山大学、北海道大学、酪農学園大学、秋田県立大学、東北大学、千葉大学、東京大学、東京工業大学、京都大学、京都府立大学、奈良先端科学技術大学院大学、大阪大学、神戸大学、香川大学、基礎生物学研究所、東京農業大学、慶応義塾大学、Mahidol 大学 (タイ)、Kasetsart 大学 (タイ)、中興大学 (台湾)、宇宙航空研究開発機構、日本原子力機構高崎量子応用研究所、タイ王国農務省ラヨングフィールドクロープセンター (タイ)、Agricultural Genetics Institute (ベトナム)、Vietnam Cassava Association (ベトナム)、Thai Tapioka Developmental Institute (タイ)、Taiwan Agricultural Research Institute (台湾)、北海道、兵庫県、福岡県などの地方公共団体研究機関、トヨタ自動車株式会社、日本製紙株式会社、日揮株式会社、株式会社カネカ、岡山大麦テクノロジー株式会社、松谷化学工業株式会社、大塚アグリテクノ株式会社、株式会社興人、日本電子株式会社、興農 (台湾)、AMCEL 社 (ブラジル)、Bunbury Treefarm Project 社 (オーストラリア) 等の民間企業

5. 外部資金獲得状況

- ・ (独) 科学技術振興機構 CREST (代表 小川健一)
- ・ その他 民間 3 件 (代表 小川健一)

6. 受賞、報道等

第53回澱粉研究懇談会（SRT）SRT賞、小川健一、2013年6月7日

JST news 2013年8月号 明日へのトビラ“植物の光合成能力を増強する「グルタチオン」”

7. その他

岡山県立大学連携大学院 教授（客員、兼任）（小川健一）

岡山県立大学連携大学院 准教授（客員、兼任）（西川正信）

岡山県立大学連携大学院 准教授（客員、兼任）（逸見健司）

植物免疫研究グループ

専門研究員	鳴坂 義弘 (グループ長)
特別流動研究員	鳴坂 真理
リサーチアソシエイト	黒崎 由希子
リサーチアソシエイト	宮下 翔子
実験補助員	片山 恭代
実験補助員	渡邊 千愛 (平成 26 年 5 月～)
実験補助員	宮本 雅美 (平成 26 年 5 月～)

大課題

環境にやさしい革新的病害防除技術の開発研究

近年、環境にやさしい農業が推進されている。これまでに岡山県をはじめ、多くの県では行政機関が主導した「環境にやさしい農業」が実践され、岡山県では「おかやま有機無農薬農産物」「特別栽培農産物」「エコファーマー」の認証制度による積極的な取り組みがなされている。「環境にやさしい農業」とは、農業のもつ物質循環機能を活かし、生産性の向上を図りつつ、土づくりなどを通じて化学肥料、農薬の使用などによる環境への負荷の軽減に配慮した持続可能な農業のことである（各県の HP より要約）。最近では、消費者の安心・安全な農産物志向や、環境保全への意識の高まりから、環境への負荷が少ない自然生態系に調和した農業生産が求められている。また同時に、岡山県産農産物の品質や付加価値などでプレミアムを高めることによるブランド化及び、利益率の向上が求められている。

一方で、農作物は常に病原菌や害虫などの攻撃にさらされており、仮に病害に対する保護を実施せずに栽培を行うと収穫高は 20% 以下となると予想されている。作物の病害防除技術が進歩した現在においても、病害と虫害により世界の食料生産のそれぞれ約 15% に相当する作物が失われて

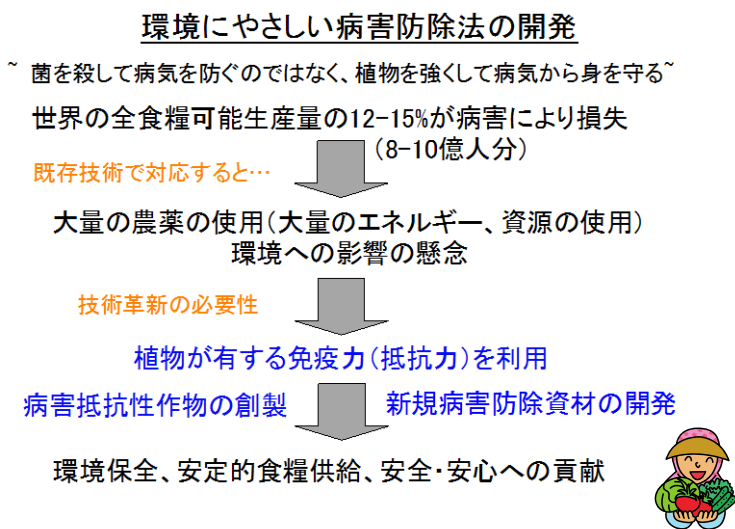


図 1. 環境にやさしい革新的病害防除技術の開発研究

おり、これは実に8～10億人分の食料に相当する。現在、食料不足のために栄養不良（飢餓）状態にある人口は約8億人といわれており、病虫害による被害の根絶は喫緊の課題である（図1）。

現在の世界の人口は約70億人に達したと推計されており、2050年には90億人を突破すると予測されている。また、過去30年間において世界の耕地面積はほとんど増加していないことから、現状の限られた農地において収穫量を飛躍的に上げる技術の開発が求められている。

当研究グループでは、作物の病気及びその防除法について研究し、環境にやさしい革新的病害防除技術の開発として「環境にやさしい新規病害防除資材の開発」「病害抵抗性作物の創製」を達成し、減農薬栽培を実践することで慣行栽培との差別化を図り、岡山県産農産物のブランド化に貢献するとともに、消費者へ安心・安全な農産物の提供をめざす。

中課題1

環境負荷低減型の新規病害防除資材の創製

[背景と目的]

現在、作物の病虫害の防除は殺菌性および殺虫性の化学合成農薬に大きく依存している。これらの農薬は多くの安全性試験を経て十分に生物や環境への配慮がなされたものではあるが、国民の環境への意識の高まりから、これら殺菌性および殺虫性の農薬に依らない代替資材や新しい病害防除技術の普及が求められている。一方で、科学的根拠のない資材や、天然物由来は安全であるという間違ったイメージだけで人体や環境に危険な資材を使用している例が散見される。当研究グループでは環境保全型農業の推進に適した病害防除剤の開発をめざしている。

近年、殺菌性の農薬や病害抵抗性作物の育種による病害防除法に加えて、植物自身が持つ免疫力を利用した環境負荷低減型の病害防除剤であるプラントアクティベーター（plant defense activator、病害抵抗性誘導物質）が注目されている。プラントアクティベーターの特徴として、これまでのような殺菌的な作用を必要としない、対象病害の範囲が広い、耐性菌が出現しにくい、効果の持続時間が長いことため散布回数（使用量）が削減されることが知られており、従来の農薬に比



図2. 環境にやさしい新規病害防除法のイメージ

べて非標的生物や環境に与える影響は小さく、環境にやさしい次世代型農薬として開発が試みられている（図2）。

これまでに主にイネの病害を対象としてプロベナゾール（商品名オリゼメート）、BTH（商品名バイオン）、チアジニル（商品名ブイゲット）およびイソチアニル（商品名スタウト）などが開発された。特に、オリゼメートは使用から30年以上を経た今日においても耐性菌の出現は報告されていない。また、以上の剤はイネ以外の作物への適用登録は少ないことから、畑作物に高い効果を有するプラントアクティベーターの開発が求められている。本課題では私たちが独自に開発したプラントアクティベーター候補剤の簡単、迅速な選抜法（図3）を用いて低分子化合物ライブラリーをスクリーニングして得た候補化合物から、抵抗性誘導活性の高い低分子化合物を選抜し、環境にやさしい病害防除資材の開発に資する。また、企業とともに病害防除や生産量促進効果が期待される環境にやさしい農業資材の開発を試みた。研究成果は県民の食の安全・安心に貢献するのみならず、減農薬による岡山県産農産物の高付加価値化や環境保全にも役立つことが期待される。

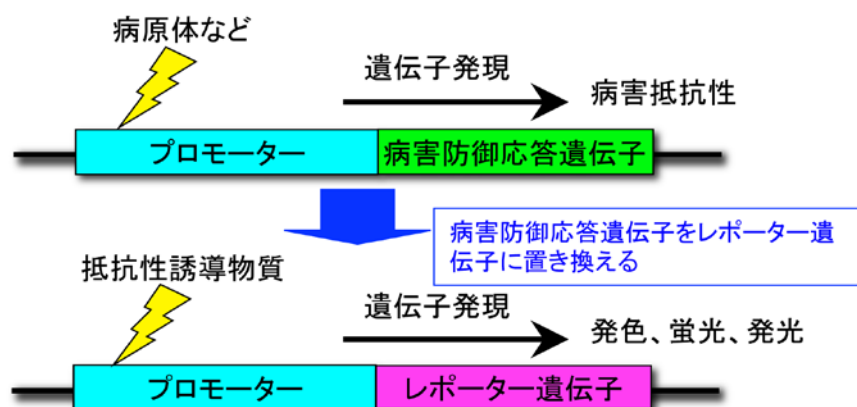


図3. プラントアクティベーター候補剤の選抜法開発の概念図

[成果と今後の方針]

(1) 新規プラントアクティベーターの開発研究

プラントアクティベーターは環境にやさしい農薬として注目されているが、素材の選抜が困難なため、従来の農薬に比べて開発が遅れている。私たちは植物の免疫機構を利用したプラントアクティベーター候補剤の簡単、迅速な薬剤の選抜技術の開発に成功した（図3）。私たちはこの技術を利用してプラントアクティベーターの開発を試みた。

国からの研究助成金（独立行政法人 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、独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業 [若手研究者支援型]、JSPS 科研費（24580071））を得、関連企業と連携して、これまでに2万種以上の化合物を評価した結果、植物の免疫力を向上し、かつ、細菌病及び糸状菌病を抑制す

る新規化合物を得ることができた。今後は、企業とともに病害抵抗性誘導に必須な化学構造を明らかにし、プラントアクティベーターに最適化した創薬を試みる。

(2) 環境にやさしい病害防除資材の研究・評価

食品生産過程で生まれる副生物を有効に活用することで廃棄量を減らし、環境への負荷を減らすことができる。さらに、副生物を高付加価値化することで資源の再利用を促進し、環境保全に貢献する。本課題では、副生物を活用した農業資材の評価を行った。

(i) AJIFOL®

味の素株式会社は、うま味調味料の生産過程で生成される副生物である発酵液を利用して、これに微量元素等を添加した葉面散布剤（肥料）「アジフォルアミノガード」（*注釈1）を開発し、昨年度に販売を開始した（図4A）。私たちのこれまでの研究において、植物にAJIFOL®を散布することにより斑葉細菌病、炭疽病及びうどんこ病に対する防除効果が認められた。また、AJIFOL®を処理したシロイヌナズナの遺伝子発現解析の結果から、有名な病害防御応答関連遺伝子であるPR-1、キチナーゼ、グルカナーゼの発現上昇が認められた。AJIFOL®自体には顕著な抗菌活性は認められないことから、AJIFOL®の散布により、植物に病害抵抗性を発現誘導することで病害を防除したと考えることができる。さらに、AJIFOL®の散布による病害抵抗性誘導効果は、アミノ酸発酵に関わる菌体由来成分と添加している微量元素との相乗効果であることを明らかにした。病害防御応答関連遺伝子の発現プロファイルの解析から、本剤による病害防除効果には長期的な持続性がないため、1週間から10日間の間隔で定期的に散布する必要がある。また、AJIFOL®を植物に散布することで生育促進効果が認められた。以上により、本剤を葉面散布することで、病害防除効果と生育促進効果が期待でき、農薬散布回数の低減効果が期待できることが明らかになった。

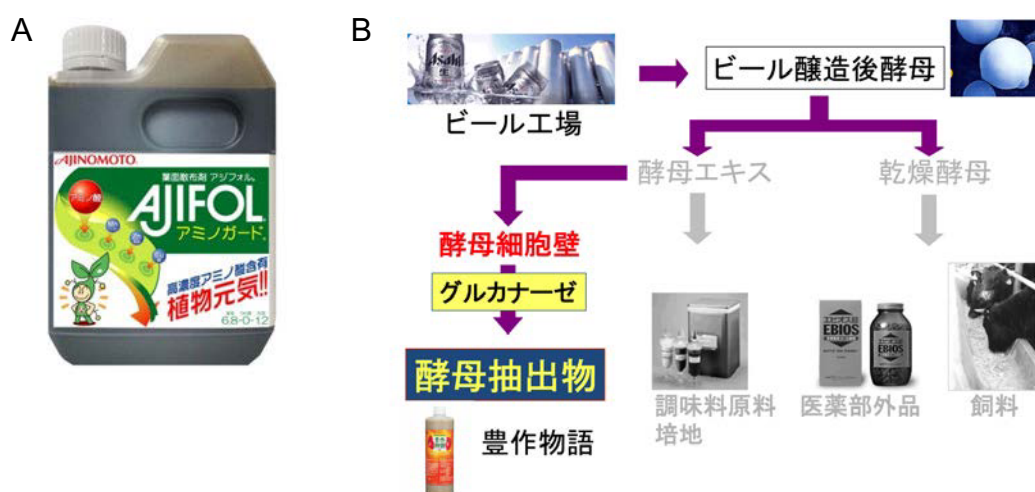


図4. 副生物を活用した農業資材 (A)アジフォルアミノガード（味の素HPより）、
(B)ビール醸造後酵母の用途（アサヒグループホールディングス株式会社提供）

(ii) 豊作物語

ビール醸造後の酵母は医薬部外品、調味料原料、飼料などに再利用されているが、酵母細胞壁は有効に利用されていなかった。アサヒフードアンドヘルスケア株式会社は、ビール酵母の新たな高付加価値用途商品として、ビール酵母抽出成分である酵母細胞壁を原料として開発した植物活性資材を販売している（図 4B）。一般に、酵母細胞壁由来の物質がエリシター（植物に抵抗性を誘導する物質）として作用し、植物体の病害虫に対する防御応答を誘導することが知られている。そこで、アサヒグループホールディングス株式会社との共同研究により、ビール酵母の細胞壁を原材料とした肥料「豊作物語（苺）」（*注釈 1）による植物の免疫機能の向上効果について試験した。豊作物語をシロイヌナズナに葉面散布し継時的に病害防御応答遺伝子の発現を解析した結果、有名な病害防御応答関連遺伝子である *PR-1*、*PDF1.2*、キチナーゼ、グルカナーゼの発現上昇が認められた。また、豊作物語をアブラナ科植物に葉面散布し、2 日後に病原菌を接種して病害防除効果を評価した結果、本剤を処理したアブラナ科植物は重要病害である黒斑細菌病に対して耐性を示した。さらに、アブラナ科野菜類炭疽病に対しても若干の病害抑制効果が認められた。今後、本剤の作用機作について詳細に試験する予定である。

以上の通り、食品にも用いられる天然由来の素材を原料とした資材を病害防除に利用することで、殺菌性の農薬の使用量を減じることが期待される。

*注釈 1…本剤は農薬登録されていないため、病害防除を目的とした販売及び使用はできません。

(3) 作物の生育を促進する堆肥腐植土ミラクルソイルの検討

茶飲料の副生物である茶殻の堆肥を主成分とし、ゼオライトの添加を特徴とするミラクルソイル（東海エバークリーン株式会社）は、牛糞堆肥などの代わりに使用することで、農作物の収量が劇的に増加するとの報告がある。そこで本資材について岡山県で生産されている葉菜類の生育について評価した。一般の堆肥と同様、ミラクルソイルまたはバーク堆肥を培養土にそれぞれの区の窒素量が同量になるように混合しハクサイを播種した。播種 2 週間後の幼苗の生育を比較した結果、ミラクルソイルを加えた培養土で栽培したハクサイ幼苗はバーク堆肥と比べて 3 倍の生重量を示した（図 5）。様々な作物で試験した結果、ミラクルソイルは葉菜類の生育を劇的に促進し、収量を向上することが明らかとなった。また、予備的な農家への委託栽培試験においても、良好な結果が得られた。

以上により、ミラクルソイルは県産農産物の収量を増加する良いツールとなることが期待される。また、牛、鶏などの糞を含まず、無臭の細粒土であることから、家庭菜園においても取り扱いが容易である。ミラクルソイルを使用することで、作物が健全に育

ち、病害が減少するとの報告もあることから、今後は病害防除の観点からも試験を実施する。

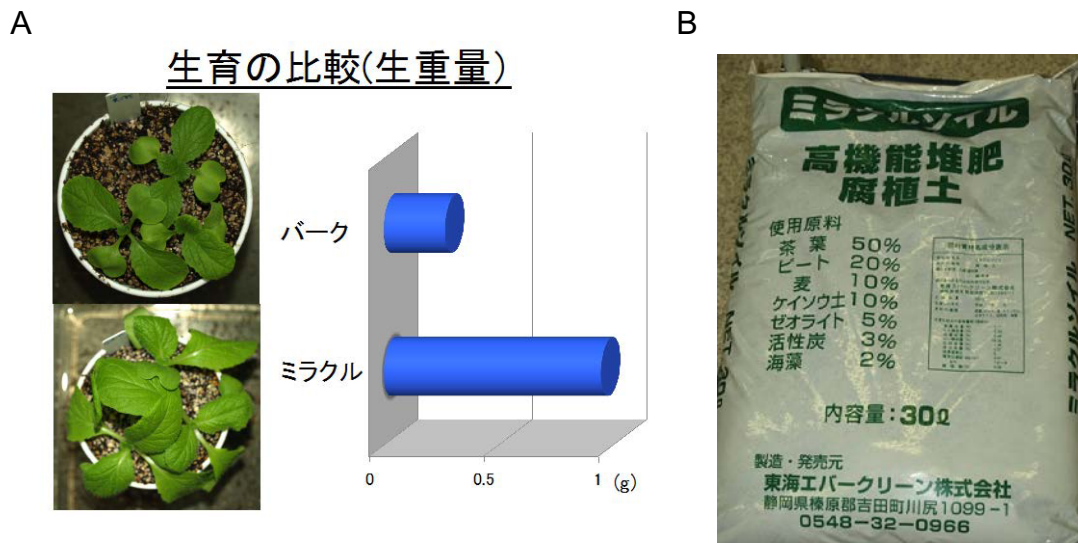


図5. ミラクルソイルによる生育促進効果 (A)ミラクルソイルまたはバーク堆肥を混合した培養土にハクサイを播種して2週間後の幼苗 (上: バーク堆肥、下: ミラクルソイル) とその生重量、(B)ミラクルソイル

中課題2

病害ストレス耐性農作物創製の新技術開発とその基盤研究

[背景と目的]

モデル実験植物ではゲノム情報やリソースの整備が進み、基礎研究で大きな成果をあげてきた。また、農作物や病原体の全ゲノム解析が進み、ゲノム情報を利用した病害抵抗性作物の育種や農薬のゲノム創薬が進んでいる。このような中、モデル実験植物で得られた有用な知見を作物へ応用展開することが切望されている (図 6)。また、ポストゲノム時代における育種技術の開発には、モデル実験植物で得られた最先端の解析技術を農作物に適用することが重要である。そこで本課題では、

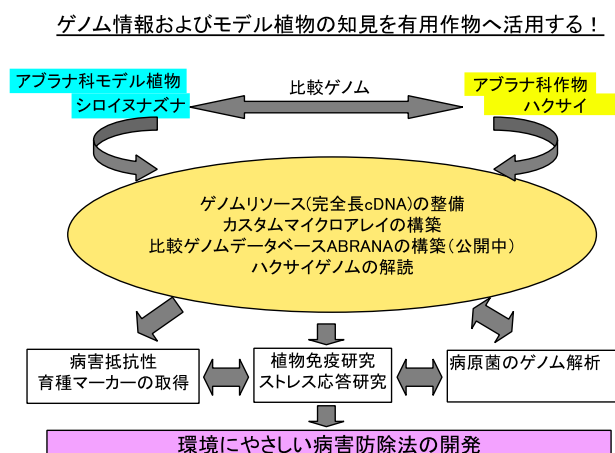


図6. ゲノム情報を利用した研究戦略

ゲノム情報を利用し植物の防御応答機構を明らかにすることで、病害ストレス耐性農作物創製の新技術の開発をめざす。特に本グループが世界に先駆けて発見した“デュアル抵抗性蛋白質システム”の機能を解明し、耐病性作物の分子育種の技術開発に資することで省エネルギー、省力・低コスト化、環境負荷低減に対応し、県の農業振興に貢献する。

【成果と今後の方針】

植物は糸状菌（カビ）、細菌及びウイルスなどの病原体の攻撃から身を守るためのいろいろな仕組みを備えている。植物は、病原体の感染について、受容体（抵抗性蛋白質）を介して認識し、様々な抵抗反応を誘導する。動物では少ない遺伝子を組み合わせることで多様な病原体を認識して防御応答（免疫）しているが、植物においては、1つの病原体に対して1つの抵抗性遺伝子（抵抗性蛋白質）が対応していると考えられてきた。しかし、植物の抵抗性遺伝子は、世界で最も研究が進んでいるモデル実験植物シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)のゲノム上には150個、イネにおいても400~600個しか存在しない。このため、わずかな抵抗性遺伝子で、地球上に存在する数十万の病原微生物にどのように対応しているのかの説明が困難であった。私たちはこの問題を解決することで、病気に強い作物を効率よく創製する技術を開発するために研究を行っている。

糸状菌を病原とする炭疽病は世界中で600種以上の植物に発生し、甚大な被害を引き起こす重要病害である（図7）。炭疽病菌は、穀類、野菜、果樹、花卉などの葉、茎、果実に発生し、激しい場合は枯死にいたる。日本ではイチゴ炭疽病菌とウリ類炭疽病菌による被害が大きく、防除対策が急務となっている。

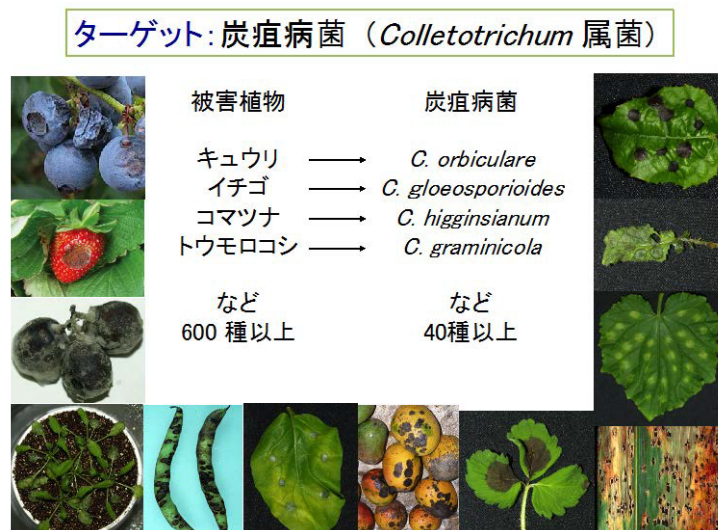


図7. 世界中で猛威をふるう炭疽病 炭疽病は、糸状菌の一種の炭疽病菌が原因で、葉、茎、果実などに、灰褐色から黒褐色で、ややくぼんだ円形などの病斑を生じる。

私たちはアブラナ科植物に感染する病原糸状菌（カビ）である炭疽病菌(*Colletotrichum higginsianum*)に着目し研究を開始した。その結果、炭疽病菌がシロイヌナズナのゲノム配列が決定された生態型（*注釈2）Columbiaに感染することを明らかにした。さらに、100種類以上のシロイヌナズナの生態型について詳細な解析を行った結果、炭疽病菌に対する抵抗性誘導のためには、これまでの常識に反して、ゲノム上で隣接して存在する2つの抵抗性遺伝子 *RPS4* と *RRS1* の両方が必要であることが明らかとなった。興味深いことに *RPS4* はトマト斑葉細菌病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) に対する抵抗性遺伝子として既に同定されていた。一方で、その隣に存在する *RRS1* 遺伝子はナス科をはじめ200種以上の植物に感染する青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) に対する抵抗性遺伝子として同定されていた。このように、全く異なる病原体の抵抗性遺伝子として同定された2つの遺伝子が、炭疽病菌に対する抵抗性遺伝子として機能することは驚くべき発見であった。私たちは、これらの病原細菌に対しても *RPS4* と *RRS1* 遺伝子の両方が必要であることを明らかにして、2つの抵抗性遺伝子が異なる3種の病原体の認識に関わっていることを世界ではじめて証明し、この植物が病原体を認識する仕組みを“デュアル抵抗性蛋白質システム”と名付けた（図8）。私たちは本システムがさらに多くの病原体の認識に関わっていると考えている。

デュアル抵抗性蛋白質システムの発見

- ・ 革新的発見:2種の抵抗性蛋白質によって3種の病原体を認識
- ・ 国際特許成立、国内特許成立

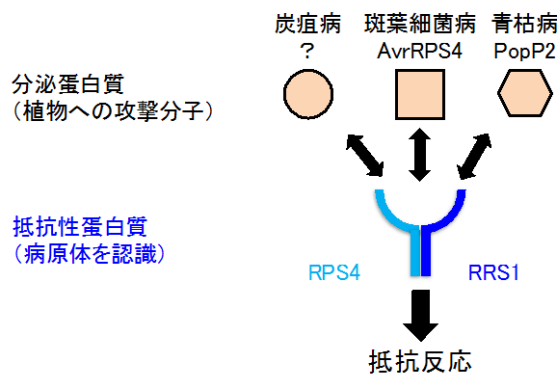


図8. デュアル抵抗性蛋白質システム 病原菌は感染時に分泌蛋白質を分泌して植物を攻撃する。これに対して植物は抵抗性蛋白質によりこれを認識して抵抗反応を起動して対抗する。

病害抵抗性育種では、抵抗性遺伝子を発見し、作物に導入することが伝統的に行われてきた。多くの抵抗性遺伝子産物は進化系統上離れた植物に単独で導入しても機能しない。生物分類は大きい方から目→科→属→種の順となっている。科が異なれば相当な遠縁であり、抵抗性遺伝子が機能しないとされていた。そのため、①現在までに発見された抵抗性遺伝子は植物の科 (family) を超えて機能しない②作物への抵抗性遺伝子の単独の導入により矮化または抵抗性の機能不全を生じ病害抵抗性作物の分子育種に利用できないことが問題であり、モデル植物で得た知見を実用植物へ応用することが困難で

あった。そこで私たちは、アブラナ科のシロイヌナズナ由来の2つの抵抗性遺伝子 (*RPS4* と *RRS1*) を、アブラナ科 (ナタネ、コマツナ)、ナス科 (トマト、タバコ) およびウリ科 (キュウリ) 作物に同時に導入した結果、これら形質転換体は正常に生育し、かつ、複数の病害 (アブラナ科野菜類炭疽病、ウリ類炭疽病、トマト斑葉細菌病、青枯病) に抵抗性を示すことを明らかにした (図9)。これに対して、それぞれ単独での抵抗性遺伝子の導入では抵抗性を付与できなかった。これはシロイヌナズナ由来のデュアル抵抗性遺伝子を作物へ導入し、病害抵抗性作物を創製できた世界初の事例である。

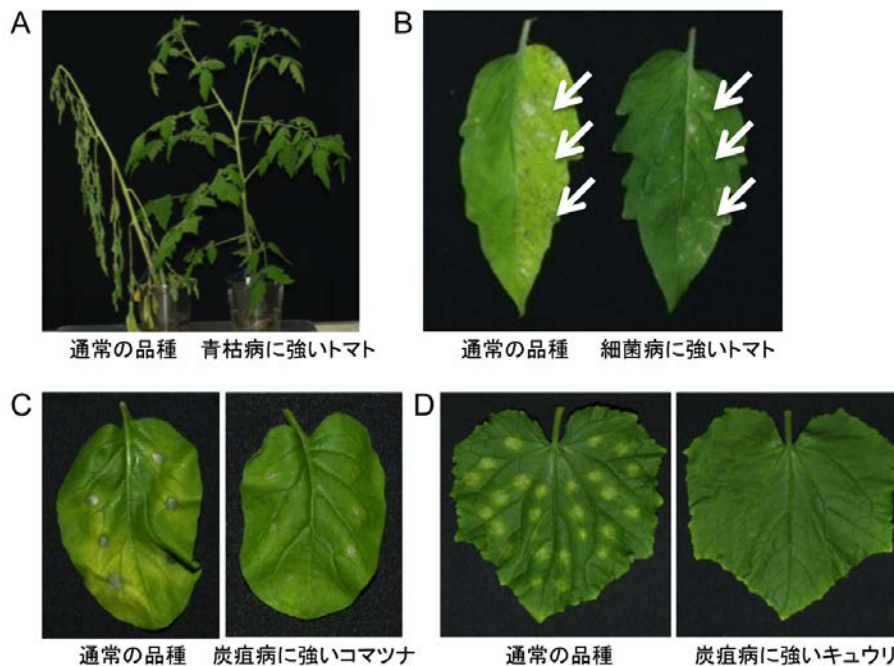


図9. 2つの遺伝子を導入して異なる3種の病原菌に抵抗性の作物の開発に成功 シロイヌナズナ由来の2つの遺伝子 (蛋白質) を同時に導入した作物はいずれの病原菌に対しても抵抗性を示した。(A)青枯病菌を接種したトマトにおける接種15日後の病徴、(B)斑葉細菌病菌を接種したトマトにおける接種7日後の病徴:矢印は菌を接種した部位、(C)アブラナ科野菜類炭疽病菌を接種したコマツナにおける接種6日後の病徴、(D)ウリ類炭疽病菌を接種したキュウリにおける接種6日後の病徴

このようなゲノム上で隣接したデュアル抵抗性遺伝子セットはシロイヌナズナゲノム上に少なくとも9セット存在し、これら遺伝子セットも同様な機能を有することが期待される。また、イネにおいてもイネいもち病に対する抵抗性遺伝子として同定された *Pik* 遺伝子ファミリーに属する *Pik/Pikm* 遺伝子はそれぞれ2つの抵抗性遺伝子から構成されイネゲノム上において隣接して存在している。さらに、イネいもち病に対する抵抗性の誘導には、両方の遺伝子を必要とすることが明らかにされている。以上は、植物の病原体の認識の仕組みにおけるデュアル抵抗性蛋白質システムの普遍性を示唆しており、様々な植物種でデュアル抵抗性蛋白質システムを発見し、有用作物に導入することで、病害抵抗性作物の創製が可能となる。

今回発見した植物が病原体を認識する仕組みになぜ2つの抵抗性蛋白質が必要なのだろうか？この問いに対する一つの回答として、2つの抵抗性蛋白質が抵抗性発現の仕組みの“アクセル”と“ブレーキ”であると例えると理解できる。アクセルだけでは暴走し、ブレーキだけでは前に進めない。2つが揃うことで正常に抵抗反応をコントロールしていると考えている。今後の育種では、ゲノム情報などをもとに2つの抵抗性遺伝子を導入することを考慮する必要がある。

また、デュアル抵抗性蛋白質システムの発見により、育種の方法論が大きく変わることが考えられる。これまでの耐病性品種の育種は、病原菌に対する抵抗性を持つ品種の中から優性の抵抗性遺伝子を1つ見つけて、それを作物に導入するという方法が主流であった。しかし、デュアル抵抗性蛋白質システムの発見によって、これまで育種に利用できなかった病害の感受性品種 A（抵抗性遺伝子 A を保有）と品種 B（抵抗性遺伝子 B を保有）を交雑し、後代（子孫；抵抗性遺伝子 A と B を保有）でデュアル抵抗性蛋白質システムを構築させることで複数の病害に耐性を持つ品種の育種が期待できる。今後は、モデル実験植物の情報や作物のゲノム解析により明らかとなったデュアル抵抗性遺伝子を指標として、有用遺伝子を集積するマーカー育種により、病害抵抗性作物が開発されることが期待できる。

本研究は、独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センターの実施する「イノベーション創出基礎的研究推進事業」の委託研究課題「病原系状菌の分泌戦略を標的とする作物保護技術の基盤開発」及び JSPS 科研費（25450523）により実施した。

*注釈 2…生態型とは、同種の生物で、異なる条件の土地に長く生育し、それぞれの環境条件に適応して分化した形質が遺伝的に固定されてできた型。野菜などの品種に相当する。

平成 25 年度の活動

1. 報文（総説・原著論文等）

Narusaka M., Kubo Y., Hatakeyama K., Imamura J., Ezura H., Nanasato Y., Tabei Y., Takano Y., Shirasu K., and Narusaka Y.

Breaking restricted taxonomic functionality by dual resistance genes.

Plant Signal. Behav., 8: e24244, <http://dx.doi.org/10.4161/psb.24244> (2013)

概要:モデル実験植物シロイヌナズナ由来のデュアル抵抗性遺伝子が異なる植物種(アブラナ科作物、ナス科作物、ウリ科作物)において機能することを立証し、植物病理学の課題である restricted taxonomic functionality を克服した。また、シロイヌナズナ由来の2つの抵抗性遺伝子が複数の植物種で機能したことから、共通のメカニズムにより植物の免疫が機能している

ことが示唆された。

Hiruma K., Fukunaga S., Bednarek P., Pislewska-Bednarek M., Watanabe S., Narusaka Y., Shirasu K., and Takano Y.

Glutathione and tryptophan metabolism are required for *Arabidopsis* immunity during the hypersensitive response to hemibiotrophs.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 110: 9589-9594 (2013)

概要: グルタチオン生合成酵素である GSH1 が、クワ炭疽病菌に対するシロイヌナズナの非宿主抵抗性に必要であることを明らかにした。GSH1 に変異を有する *pad2* 変異体では接種部位において見られる細胞死が顕著に弱まっていることが明らかとなった。この結果より、GSH1 依存的なグルタチオン合成が、侵入阻止型抵抗性に加えて、侵入後抵抗性に伴う細胞死に必要であることを明らかにした。

Narusaka Y., Shinya T., Narusaka M., Motoyama N., Shimada H., Murakami K., and Shibuya N.

Presence of LYM2 dependent but CERK1 independent disease resistance in *Arabidopsis*.

Plant Signal. Behav., 8: e25345 (2013)

概要: シロイヌナズナ変異体を用いた解析から、シロイヌナズナの CEBiP ホモログ LYM2 はキチンの認識に関わる防御応答には関与しないが、病原糸状菌 *Alternaria brassicicola* に対する抵抗性には関与していることを初めて明らかにした。これはシロイヌナズナにおける新しい防御応答機構の解明に繋がる発見である。

Hirayama T., Matsuura T., Ushiyama S., Narusaka M., Kurihara Y., Yasuda M., Ohtani M., Seki M., Demura T., Nakashita H., Narusaka Y., and Hayashi S.

A poly(A)-specific ribonuclease directly regulates the poly(A) status of mitochondrial mRNA in *Arabidopsis*.

Nat. Commun., 4: Article number: 2247, doi:10.1038/ncomms3247 (2013)

概要: シロイヌナズナにおいて poly(A) 特異的 RNA 分解酵素 AHG2 と poly(A) 付加酵素 AGS1 が協調して、ミトコンドリア mRNA の poly(A) 鎖を直接制御し、ミトコンドリア遺伝子発現を調節していることを明らかにした。

鳴坂義弘

二つのタンパク質の同時導入による「科」の壁を越えた病害抵抗性の付与
ニューカントリー、vol.60, 11 月号, No.716, 38-39 (2013)

概要: デュアル抵抗性蛋白質システムの発見から応用に至る一連の成果を解説した。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表（*Pはポスター発表、*招は招待講演、英文大会名は国際学会）

鳴坂義弘（*招）

植物免疫システムを利用した病害防除の挑戦

東京大学 植物病理学研究室セミナー、2013年6月20日（東京）

新屋友規、山口公志、出崎能丈、成澤知子、前田佳菜子、小林佳弘、鈴木丸陽、谷本匠、竹田潤、船間亮汰、山田健太、鳴坂真理、鳴坂義弘、賀来華江、川崎努、渋谷直人
キチンシグナリングに關与する受容体様細胞質キナーゼ AtRLCK1 の機能解析
平成25年度植物感染生理談話会、2013年8月19-21日（小松）

新屋友規、山口公志、出崎能丈、成澤知子、前田佳菜子、小林佳弘、鈴木丸陽、谷本匠、竹田潤、船間亮汰、山田健太、鳴坂真理、鳴坂義弘、賀来華江、川崎努、渋谷直人
MAMPs シグナリングにおける受容体様細胞質キナーゼ AtRLCK1 の機能解析
平成25年度日本植物病理学会関西西部会、2013年9月26-27日（岡山）

鳴坂義弘、Pamela Gan、白須賢、高野義孝、鳴坂真理

炭疽病菌のゲノム解析により取得したエフェクター分子の網羅的解析

第36回日本分子生物学会年会、2013年12月3-6日（神戸）

鳴坂真理、白須賢、久保康之、白石友紀、畠山勝徳、平井正良、河本晃一、江面浩、七里吉彦、田部井豊、高野義孝、鳴坂義弘

新説デュアル抵抗性蛋白質システムの作用機作の解明

第36回日本分子生物学会年会、2013年12月3-6日（神戸）

鳴坂義弘、南太一、浜崎隆史、高崎智子、川村公人、鳴坂真理

ビール類酵母抽出物による病害抵抗性誘導機構の解明

第55回日本植物生理学会年会、2014年3月18-20日（富山）

鳴坂真理、白須賢、豊田和弘、白石友紀、鳴坂義弘

デュアル抵抗性蛋白質システムにおけるタンパク質間相互作用の解析

第55回日本植物生理学会年会、2014年3月18-20日（富山）

山口公志、山田健太、白川友美、船間亮汰、石川和也、鳴坂真理、鳴坂義弘、市村和也、深溝慶、渋谷直人、川崎努

AtRLCK1 は MAPKKKa を介してキチンに応答した MAP キナーゼの活性化を制御する

第 55 回日本植物生理学会年会、2014 年 3 月 18-20 日（富山）

Pamela Gan, Nanako Nakata, Takeshi Suzuki, Trinh Xuan Hoat, Mari Narusaka, Yoshihiro

Narusaka, Yoshitaka Takano, and Ken Shirasu

Comparative genomics of multiple *Colletotrichum* isolates causing strawberry and cassava anthracnose.

12th European Conference on FUNGAL GENETICS (ECFG12), 2014.3.23-27 (Spain)

3. 知的財産権

特許登録： 特許第 5246910 号、特許第 5311539 号、EP 登録（特許番号 2356899（英、独、仏））、審査請求 1 件

4. 共同研究・協力連携先

岡山県農林水産総合センター農業研究所、独立行政法人理化学研究所環境資源科学研究センター、京都大学、京都府立大学、岡山大学、筑波大学、理化学研究所バイオリソースセンター、横浜国立大学、野菜茶業研究所、農業生物資源研究所、玉川大学、明治大学、中山大學（中国）等の公的機関、その他民間企業 4 件

（内、共同研究契約 9 件、委託研究契約 1 件）

5. 外部資金獲得状況

- ・（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO) 21 年度採択産業技術研究助成事業（代表 鳴坂義弘）
- ・科学研究費補助金・基盤 C（代表 鳴坂義弘）
- ・（独）農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター イノベーション創出基礎的研究推進事業（技術シーズ開発型研究）（中課題代表 鳴坂義弘）
- ・科学研究費補助金・基盤 C（代表 鳴坂真理）
- ・その他 民間 2 件（代表 鳴坂義弘）

6. 新聞報道

- ・「病原性カビの侵入を許してしまった植物の奥の手とは？」
平成 25 年 5 月 21 日 京都新聞
- ・「病原性カビ侵入後どうする？-植物に秘策あり-」
平成 25 年 6 月 7 日 科学新聞

7. その他

岡山県立大学連携大学院 教授（客員、兼任）（鳴坂義弘）

東京大学大学院農学生命科学研究科生産・環境生物学専攻 非常勤講師（鳴坂義弘）

作物分子育種第1研究グループ

専門研究員	後藤 弘爾 (グループ長)
流動研究員	田村 勝徳
研究補助員	鈴木 史子

大課題

分子マーカーを用いた革新的育種技術の開発と新品種の育成

[背景と目的]

農業を取り巻く環境は年々厳しくなっており、特に環太平洋パートナーシップ (TPP) 締結に向け、より生産効率の高い儲かる農業への転換が求められている。一方で競争力のあるブランド農作物の強化と共に、食糧安全保障のためには食糧自給率の確保が重要である。また、日本ほど多種多様で高品質な食材、食品が消費されている国は他にない。従って、生産者はより生産効率が高く、付加価値の高い作物を作るというニーズがあり、消費者には安全安心で、多様な高品質農作物が提供されることが必要である。以上のようなことから、これからの農業にとって必要なことは、生産者、消費者共にメリットをもたらす作物新品種の迅速な開発であるということができる。

このような背景から、当研究グループでは分子育種や独自技術の開発によって、より早く、より効率よく新品種の開発が可能になるよう研究に取り組んでいる。多くの作物の中で、最も生産高の多い野菜であるトマトを対象とし、栽培環境が人工的に制御されているため、技術移転が比較的容易な植物工場を生産現場とした研究を進めている。

植物工場は最も高度な施設園芸の形態であり、次世代の農業生産を担うものとして期待されている。また、国レベルでも農林水産省や経済産業省が普及拡大の施策を講じている。植物工場には、大きく分けて太陽光併用型と完全人工光型 (図1) とがあり、県内では完全人工光型植物工場が稼働しており、今後も普及拡大の傾向にある。

完全人工光型植物工場には、次のようなメリットがある。

- ・作物の生育環境をすべてにわたって人為的にコントロール可能であるので、気象条件に左右されない安定的な生産が可能。また、農薬ゼロの安全安心の農作物の生産が可能で、環境への負荷も減らすことができる。
- ・これまで勘や経験に頼っていた栽培技術を科学的に解析し、再現性よく最適な栽培条件を構築できる。
- ・売れる作物を売れるタイミングで生産するマーケットインの農業が可能。
- ・廃校や休眠倉庫など新たな立地を活用して農業生産ができ、フードマイレージの削減に寄与。
- ・周年生産、作業環境の快適化により、新たな就農や雇用創出が見込める。



図 1. 植物工場の種類 (両備グループやさい蔵 HP、<http://www.yasai-gura.com/>より引用)

一方、完全人工光型植物工場には、生産コストが高い、生産品目が限られている、といったデメリットも存在する。そこで、我々の研究グループでは、生産効率を上げることによってコスト削減をめざすと共に、葉菜類に偏っている生産品目に加え、果菜類であるトマトを生産可能にすることで、生産品目の拡大をめざした研究を進めている。

中課題 1「高品質な果実を持つトマト新品種の育成」では、完全人工光型植物工場での生産に適したトマト新品種の育種開発を進めている。中課題 2「優良な農業形質の探索とその有用性を評価する育種技術の開発」では、これからのトマト新品種に付与すべき有用形質を探索し、それが遺伝的形質であるかどうかを見極めると共に、分子マーカーの作製による育種への応用や遺伝子クローニングをめざしている。また、科学的な観点からより有効な育種目標を立てるため、有用な農業形質がどのようなメカニズムによってもたらされるのかを明らかにすることも目的としている。

中課題 1

高品質な果実を持つトマト新品種の育成

[成果と今後の方針]

完全人工光型植物工場では、多段栽培を行うため矮性のトマトが適している。従って、果実も必然的にミニトマトの方が好ましい。ミニトマトは結果が確実で、果実成熟期間が比較的短いなどの利点が多い。以上のことから、植物工場での生産に適した矮性ミニトマトの新品種開発に取り組んでいる。

完全人工光型植物工場での生産に適したミニトマトには、図 2 に示したような形質が求められる。これらの形質の中には、遺伝学的な解析が難しいもの（遺伝的な形質でないなど）や、多くの遺伝子座が関与しているためその集積が困難なものもある。そこで我々は、早咲き、矮性、弱光で育つ（弱光耐容性）という形質が遺伝的に固定された



図 2. 完全人工光型植物工場での生産に適したミニトマトに求められる形質

品種と、おいしいという評価の高いミニトマト品種とを交配し、F₂ 世代を 312 系統得た。まず、1 次スクリーニングとして、分子マーカー等を利用して、早咲き、矮性、弱光耐容性を示すものを選抜した。次いで、着果数、および果実の重量、糖度 (BRIX)、酸性度 (pH) を測定し評価した。評価値はスコア化し、総合スコアの高いものから 9 系統を選び、現在共同研究先の植物工場において、栽培管理および生産コストの実証試験を進めている。

現在得られている植物個体は、交配第 2 世代 (F₂) であり、遺伝的に固定されていない形質については、種子で次世代を得た場合、表現型が分離する可能性がある。F₂ を生産用母本として利用する場合は、挿し木法によって個体数を増やして対応することが可能であるが、形質の固定された種子を作製することにも利便性がある。そこで、最優良系統については、自殖ならびに戻し交配によって、形質の遺伝的固定を進めている。

中課題 2

有用な農業形質の探索とそれを評価する育種技術の開発

[成果と今後の方針]

① 光周期応答的花成を利用した一斉開花性トマトの育種

現在の栽培トマトは日長に依らず花成が起きる中性植物である。一方、トマトの近縁野生種は日長が 12 時間より短いと花成が起きる短日植物である。この事を利用して遺伝学的解析を進めた結果、トマトの日長応答性を制御している鍵遺伝子の同定に成功した (論文投稿中)。

この研究によって得られた成果および材料を利活用すれば、容易に短日性栽培トマトの育種が可能である。日長応答性のトマトは、施設園芸等において一斉開花させることが可能で、低コスト、軽労化に貢献するものとして期待されている。

② 連続光障害を低減する栽培法の確立および連続光障害克服に向けた遺伝学的研究

完全人工光型植物工場におけるトマト生産を困難にしている理由の一つは、人工光ではトマトが必要とする光量（光エネルギー総量）を充足していないことが上げられる。人工光源の単位時間あたりの光量の上限は、太陽光には遠く及ばない。従って、光エネルギー総量を上げるためには、光照射時間を延ばすことが必要で、それを最大限にしたものが、1日24時間連続して光照射をする連続光栽培である。

また、連続光栽培は通常の明暗栽培に比べて、植物の成長を促進させ、生産量を増大させる効果がある。図3に示すように、トマトを用いた実験では、連続光栽培によって栄養期の成長量が明暗栽培に比べ、約2倍に増え、花成時期も5-7日早まることが確かめられた。明暗栽培では16時間照明を用いているので、連続光では照明にかかるランニングコストは、 $24h/16h=1.5$ 倍増加するが、生産量が約2倍になるので、生産コストの引き下げに効果がある。

しかしながら、現在生産に利用されている栽培トマトの殆どの品種は、連続光栽培すると、様々な生理障害（連続光障害という）を発生し、極端な場合は枯死してしまうことが明らかとなった（図4）。そこでさらに研究を進めた結果、トマトなどの連続光障害を軽減させるのに有効な栽培技術を開発することに成功し（図4c）、特許出願を行った（特願2014-46986）。

今後、連続光障害を軽減させる栽培技術の最適化（低コスト化、高効率化）を行い、植物工場での実証試験を経て、実用化を進める計画である。また、この技術が科学的原理に基づいていることを示すためにも、連続光障害の発生のメカニズムを明らかにしていく必要がある。さらには、図3に示したように、連続光障害を発生しないトマト品種が存在することから、連続光障害耐性のトマト生產品種を育種することが可能であると考えられる。「品種に勝る技術無し」といわれるように、最終的にはその様な連続光障害耐性品種の開発をめざしていくべきだと考えている。

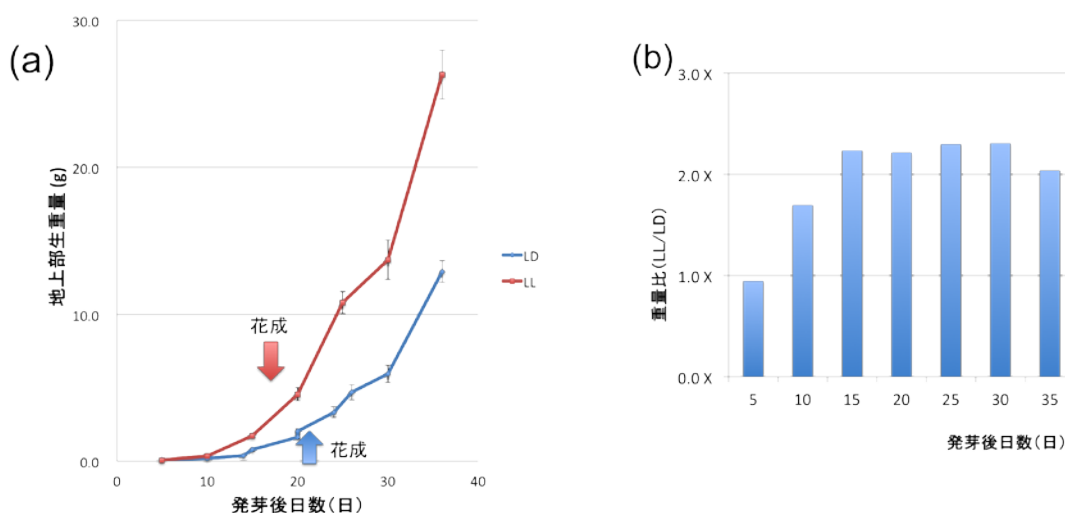


図 3. 連続光障害耐性トマトを用いて連続光栽培の効果調べた実験結果 (a)連続光栽培（赤）は明暗栽培（青）に比べ成長量が増加し花成も早くなる。(b) 新鮮重で見ると連続光栽培(LL)は、明暗栽培（LD）2倍以上になる。

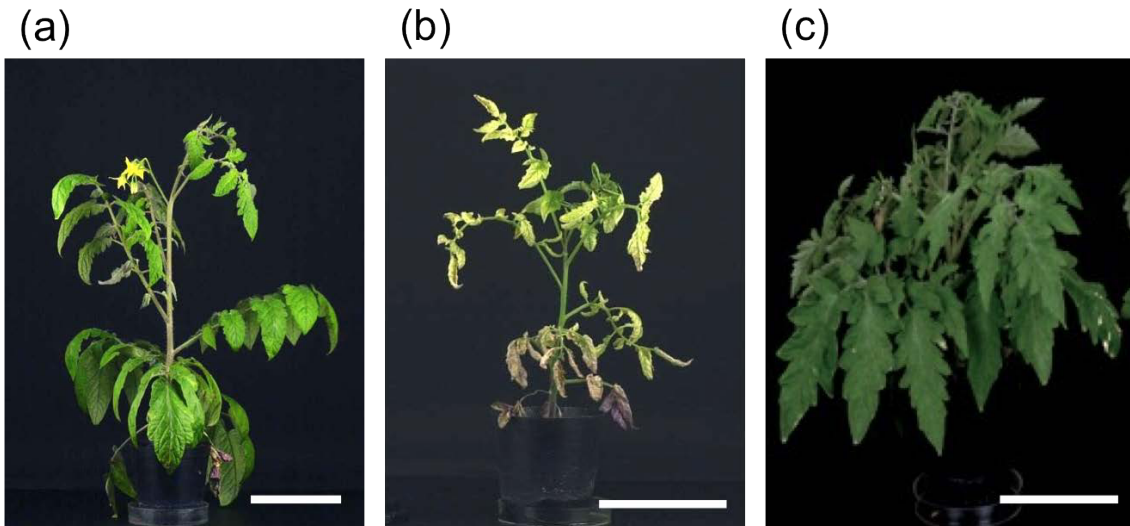


図 4. 栽培トマトの連続光障害とその低減 同じ品種のトマトを(a)明暗栽培した正常な植物、(b)連続光栽培により障害を生じた植物、(c) 連続光下で連続光障害を軽減させる技術によって栽培した植物。(b)に比べて障害が軽減されている。スケールは 10cm。

平成 25 年度の活動

1. 報文(総説・原著論文等)

なし

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表(*Pはポスター発表、*招は招待講演、英文大会名は国際学会)

Goto, K.

Searching for the key genes that switch short-day flowering habit of tomato wild relatives to day-neutral flowering habit of cultivated tomato.

Flower Development Workshop、2013 年 6 月 8-12 日 (Presqu'île de Giens, France)

後藤 弘爾 (*招)

トマト果実形成に関する転写因子発現制御ネットワークの解析

平成 24 年度形質転換植物デザイン研究拠点成果報告会(2013 年 4 月 4-5 日、筑波)

後藤 弘爾 (*招)

「植物工場における果菜類の生産性を向上させる栽培技術の開発」

平成 25 年度 第 2 回 植物工場研究交流会 -人工光型植物工場の最新動向- 主催:

公益財団法人ちゅうごく産業創造センター（2013年10月24日、広島）

後藤 弘爾（*招）

「植物工場における果菜類の生産性を向上させる栽培技術の開発」

次世代施設園芸中国四国地域セミナー（2013年11月11日 中国四国農政局、岡山）

後藤弘爾、田村勝徳、高見常明、坂本亘（*P）

植物の連続光ストレスに対する応答機構の遺伝学的解明

平成25年度 岡山大学資源植物科学研究所共同研究成果発表会（2014年3月7日）

後藤 弘爾、田村 勝徳（*P）

トマトを用いた連続光障害の分子遺伝学的解析

第55回日本植物生理学会年会（2014年3月18-20日、富山）

安藤 英伍、井上 晋一郎、後藤 弘爾、木下 俊則

光周性経路による気孔開口調節と TERMINAL FLOWER2 の関与

第55回日本植物生理学会年会（2014年3月18-20日、富山）

3. 知的財産権

特許出願： 特願 2014-46986

4. 共同研究・協力連携先

岡山大学、名古屋大学、両備ホールディングス

5. 外部資金獲得状況

- ・(独) 科学技術振興機構 研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラムA-STEP
フュージビリティスタディステージ 探索タイプ （代表 後藤弘爾）
- ・平成25年度岡山大学資源植物科学研究所拠点共同研究（代表 後藤弘爾）

6. その他

岡山県立大学連携大学院 教授（客員、兼任）（後藤弘爾）

日本ナス科コンソーシアム（運営委員）（後藤弘爾）

作物分子育種第2研究グループ

専門研究員 小田 賢司 (グループ長)
専門研究員 向原 隆文 (サブグループ長)
流動研究員 深松 陽介

大課題

分子マーカを用いた革新的育種技術の開発と新品種の育成

中課題

県主要作物の優良品種選抜を可能とする分子マーカの開発研究

[背景と目的]

岡山県では、全国から高い評価を受けているブドウ、モモ、ナスなどの主要農作物の品質をさらに向上させ、ブランド力を高めることを目指している。農作物の高品質化には、栽培管理技術の改善とともに、次世代の優良新品種を開発・育成することが重要である。しかしながら、実をつけるまでに長い年月や広大な圃場、多大な管理労力を必要とする果樹の育種や、複数の遺伝子に支配された複雑な形質である病害抵抗性に関する育種では、形質に着目した従来の育種選抜法では効率的な品種開発は容易ではない。これに対し、DNA マーカのような、幼苗にも適用可能でかつ、複数の有用遺伝子を集積させやすい分子マーカによる新しい選抜法は、育種の迅速化・効率化に極めて有効と期待されている。

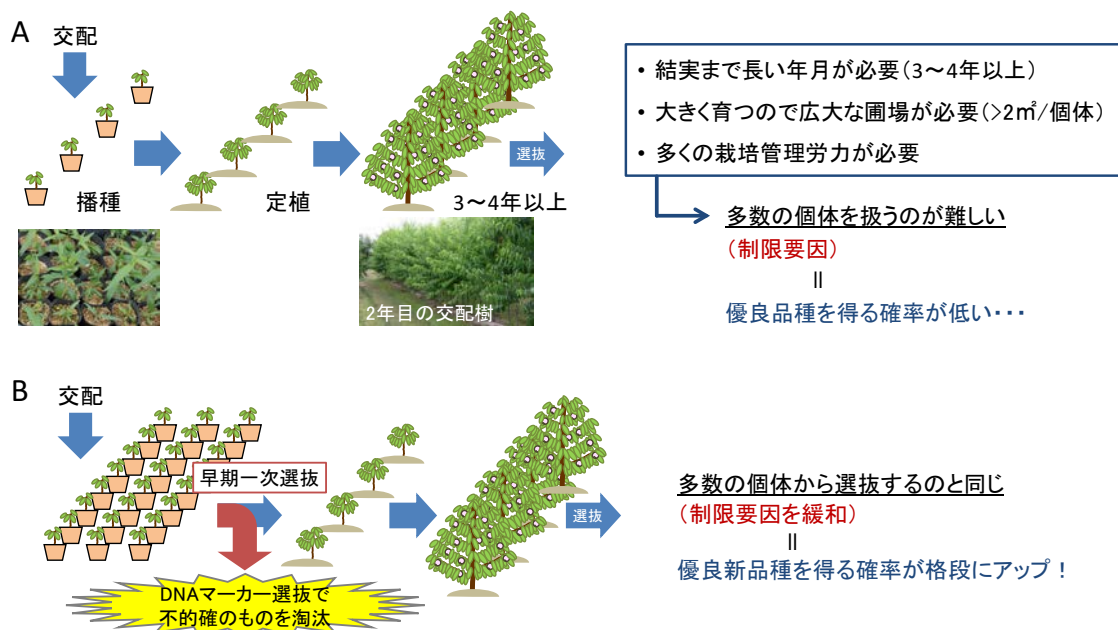


図1. モモの交雑育種での DNA マーカの利点 (A) 通常のモモ育種、(B) DNA マーカを用いたモモ育種の例

「岡山白桃」のブランド力強化を目指しているモモの育種の場合、栽培年月の長さや植物体の大きさから、多数の個体を扱えないことが大きな制限要因になっている(図1)。これに対し、幼苗段階でDNA マーカーによる早期選抜を導入すれば、不適格な個体を定植前に淘汰することができ、定植以降の育種作業が同じでも、結果として、多数の個体から選抜したことになる。これは、新品種育成の制限要因を緩和できたことを意味しており、優良新品種を得る確率の上昇が期待される。

そこで、本研究では、県の最重要作物である果樹やナスを主な研究対象に、これらの農作物が抱える本県での課題・要望・潜在的脅威に対し優れた特性を示す個体を選抜できる、実用的なマーカー育種選抜法を開発することを目指している。

[成果と今後の方針]

果樹の課題では、モモを中心に解析を行っている。育種目標となるモモの形質はいくつかあるが、白桃の特徴に関わる薄い果皮色と白い果肉色、および、栽培の大きな問題となっている花粉稔性に着目し、マーカー開発を進めている(図2)。



図2. 本研究で目指しているモモの形質識別マーカー

本年度は、特に果肉色のマーカー開発に取り組んだ。モモの果肉が黄色を示すのはカロテノイドという天然色素に因る。これまでの遺伝学的な研究により、モモの果肉色は白色が黄色に対して優性であり、第1連鎖群の一つの遺伝子座(Y)により支配されることが明らかとなっている。また、一部のジャガイモや菊が黄色を呈するのはカロテノイド代謝酵素 *CCD4* の変異に因ること、モモの黄肉種でも *CCD4* の遺伝子発現が低下していることが報告されている。そこで、*CCD4* のゲノム上の位置を調べたところ、Y 遺伝子座と一致し、*CCD4* が果肉色を直接支配している可能性が示唆された。農業研究所で栽培されている37の既存品種(白肉種30種、黄肉種7種)について、*CCD4* 遺伝子を解析したところ、白肉種である白鳳は正常型 *CCD4* を有する一方、黄肉種である山手清水はレトロトランスポゾンが挿入された変異型 *CCD4* を有することが明らかとなっ

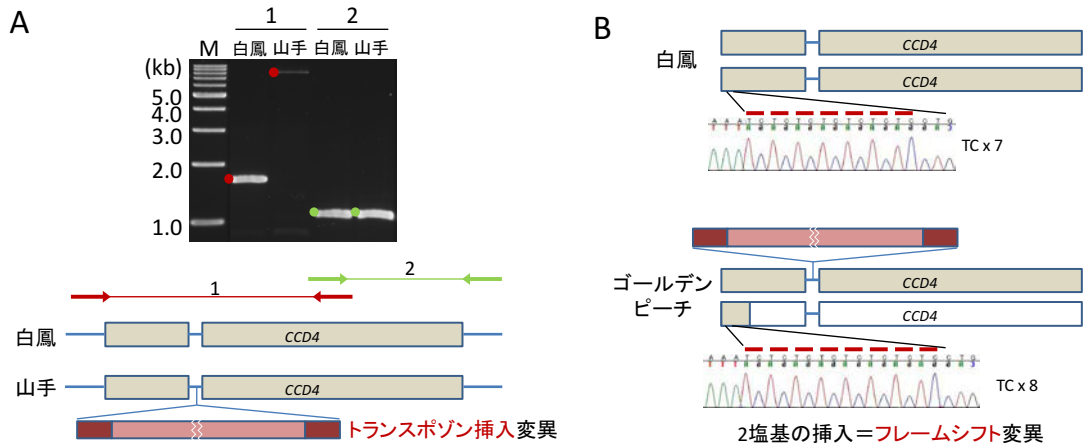


図 3. モモ CCD4に見出された変異 (A) 山手清水のトランスポゾン挿入変異、(B) ゴールデンピーチの 2 種類の変異

た (図 3A)。他の 5 種の黄肉種は、山手清水と同様、トランスポゾン挿入型の変異 CCD4 のみを有していた。残りの黄肉種であるゴールデンピーチの CCD4 には、トランスポゾン挿入変異に加え、N 末付近のマイクロサテライト領域で TC の繰り返し数が 7 から 8 に増えることによるフレームシフト変異が見出された (図 3B)。これにより、ゴールデンピーチは正常型 CCD4 を有していないと判断された。一方、白肉種は全て、少なくとも一つの正常型 CCD4 を有していた。以上のように、日本栽培品種には CCD4 にトランスポゾン挿入変異とフレームシフト挿入変異の 2 つの変異型が存在しており、さらに、変異の有無と果肉色に関係性が認められた。

CCD4 の変異の有無と果肉色の関連を詳しく調べるため、農業研究所が栽培している 181 の交配樹について解析した。その結果、正常型の CCD4 を持つ個体は必ず白肉となり、変異型の CCD4 のみを持つ個体は必ず黄肉となって、モモの果肉色は CCD4 の変異の有無と完全に一致した (図 4)。このことは、DNA を解析することにより果肉色を正

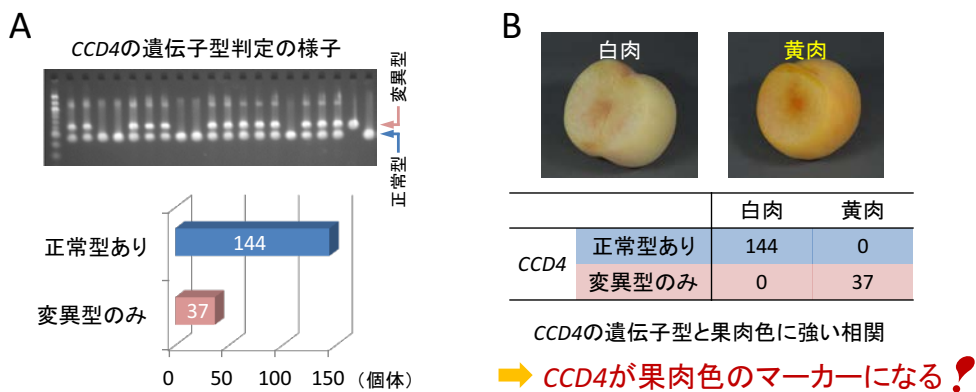


図 4. 交配樹 181 個体の CCD4 変異による分類と果肉色との関連 (A) CCD4 変異の判定、(B) 果肉形質の判定

確に予測できることを示唆している。

実際に *CCD4* 変異がマーカーになるかを検証する目的で、本年度初めて結実する交配樹 50 個体に対し、*CCD4* マーカーによる果肉色の予想を試みた。マーカーによる分類では、50 個体の内 43 個体が正常型 *CCD4* を持ち白肉と予想され、残りの 7 個体の変異型 *CCD4* のみを持ち黄肉と予想された。結実した果実の表現形を調べたところ、いずれの個体の果肉色も予想と完全に一致した。このことは、*CCD4* が優れた果肉色マーカーとして利用可能であることを示している。

ナスの課題では、難防除性病害の「青枯病」に強い新品種の作出を目的に、研究を進めている (図 5)。ナスの食用品種は青枯病に大変弱く、抵抗性のナス近縁野生種を台木として用いる接木栽培が盛んに行われている。しかしながら、青枯病菌の宿主域は変異しやすく、同一台木の連続使用で台木を発病させる青枯病菌が出現する。生産者からは低温伸張性や果実収量に優れ、強い青枯病抵抗性を持つ台木品種の育成が求められているが、病害抵抗性が複数遺伝子に支配されているため現状では交配育種が難しく、台木育成が進んでいない。この問題を打破するため、新規な抵抗性マーカーの開発を進めている。

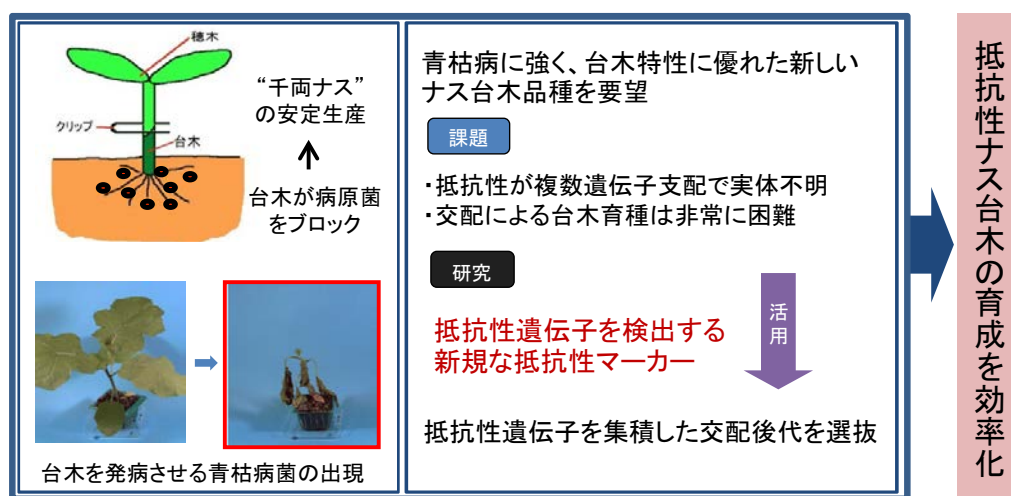


図 5. ナス生産における台木利用と新規な青枯病抵抗性マーカー開発の必要性

本年度は、ナス科作物の複雑な青枯病抵抗性の実体を明らかにすることを目的に、これまで広く利用されてきたナス台木「ヒラナス」の抵抗性解析を行った。一般的な植物と病原菌の相互作用において、感染の成立は両者のパワーバランスによって決定される。植物は病原菌由来の分子パターン (PAMP) や非病原力 (Avr) エフェクターを感知して抵抗反応を誘導し、病原菌は III 型エフェクターをはじめとする病原因子で抵抗反応を抑制する。我々は青枯病菌 RS1000 株が植物感染時に約 70 種類のエフェクター (Rip と命名) を宿主細胞内に注入していることを世界で初めて明らかにしている (Mukaihara *et al.*, *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23: 251-262, 2010)。ヒラナスは RS1000 株に抵抗性を示すことから、ヒラナスはこれら 70 種類のエフェクターのどれかを認識して病害抵抗反応を

発揮していると考えられた。そこで、ヒラナスに *rip* 変異株をそれぞれ茎切断接種し、病原力が亢進した菌株を見い出すことで、ヒラナスに認識を受ける Avr エフェクターを探索した。その結果、*rip36* 変異株がヒラナスで効果的に増殖し、ヒラナスを発病させることを見い出した (図 6)。これは、ヒラナスが青枯病菌の Rip36 エフェクターを主要 Avr として認識し、病害抵抗反応を誘導することを示している。

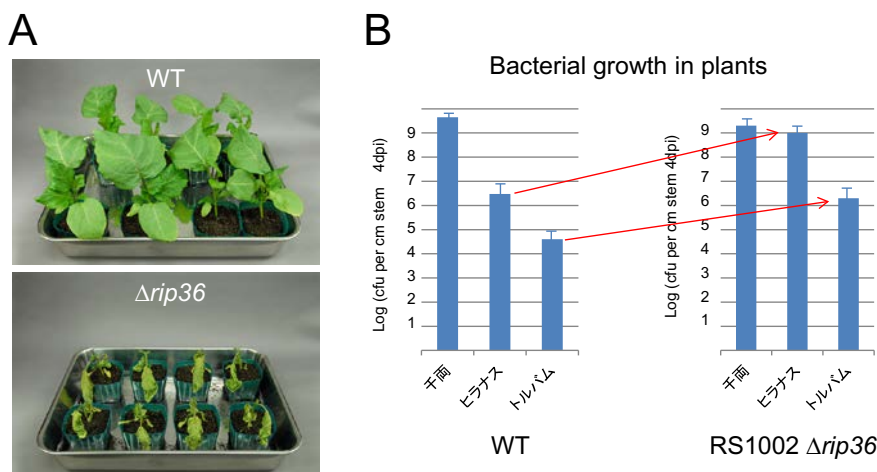


図 6. ヒラナスは青枯病菌の Rip36 エフェクターを認識して抵抗反応を誘導する (A) 野生型 (WT) および *rip36* 変異株 ($\Delta rip36$) を接種したヒラナスの病徴。写真は接種後 6 日目の様子。(B) ナスおよびナス台木品種における青枯病菌の増殖

興味深いことに、*rip36* 変異株はヒラナスの後に導入されたナス台木「トルバム・ビガー (トレロ)」に対してもある程度増殖可能となっていた (図 6B)。これは、トルバム・ビガーの青枯病抵抗性の一部が Rip36 認識であることを示しており、Rip36 を認識する抵抗性遺伝子がナス属野生種に広く分布することを示唆する。我が国のナス栽培においては、トルバム・ビガーが台木として導入された後、これを発病させる青枯病菌変異株がごく短期間で出現した経緯がある。これはヒラナスとトルバム・ビガーの抵抗性が一部重複しており、ヒラナスの抵抗性が新菌株により打破された際にトルバム・ビガーの抵抗性の一部も無効化されたことに起因すると思われる。台木選定の際に、各台木の抵抗性特性を事前に知っておくことの重要性が本研究からも示された。

rip 変異株を用いた接種実験から、*rip36* 変異株ほど顕著ではないがヒラナスにある程度の病原性を示すようになる *rip* 変異株 (*rip23*, *rip61*, *rip65*) も見いだされた (図 7A)。これらエフェクターはヒラナスにマイナー Avr として認識されていると推察される。*rip36* 変異とこれら *rip* 変異を組み合わせるとヒラナスに対する発病度が亢進することから、これらマイナー Avr の認識はヒラナスが強い青枯病抵抗性を発揮するために重要と考えられる (図 7B)。結論として、エフェクター変異株を利用することでヒラナスの複雑な青枯病抵抗性を病原菌側から詳細に解析できることが示され、ナス科作物の青枯病抵抗性の実体が重層化したエフェクター認識によるものであることが初めて明らかとなった。

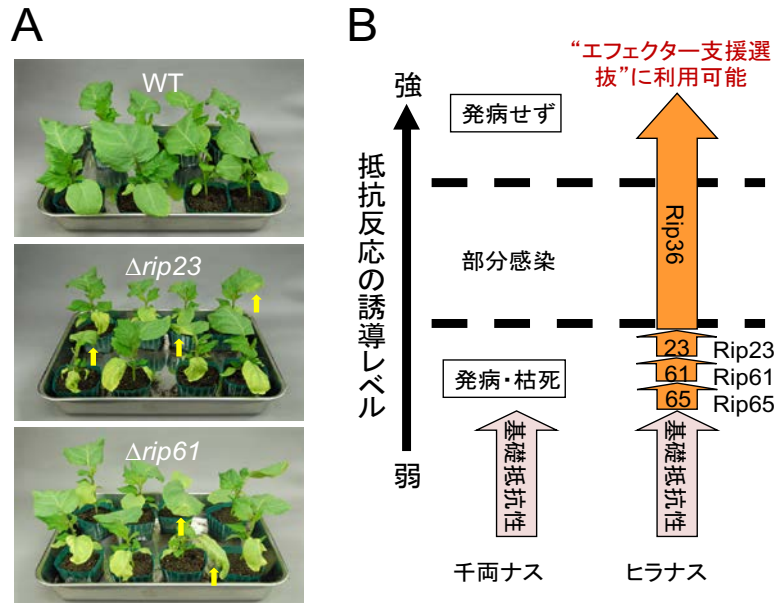


図 7. ヒラナスの青枯病抵抗性 (A) 野生型 (WT)、*rip23* 変異株 ($\Delta rip23$) および *rip61* 変異株 ($\Delta rip61$) を接種したヒラナスの病徴。写真は接種後 6 日目の様子。(B) 千両ナスおよびヒラナスが有する青枯病抵抗性の模式図

植物の病原菌エフェクターに対する応答反応は、抵抗性遺伝子の存在を感度よく検出する抵抗性育種マーカーとして利用できると考えられる。エフェクターを育種マーカーとして抵抗性品種の選抜に利用する技術は、近年、エフェクター支援選抜 (effector-assisted selection) として期待が高い。我々は、これまでの研究蓄積から、代表的なナス科作物においてエフェクター支援選抜を効果的に展開できるだけの研究材料を有している。今後は、強度青枯病抵抗性を有する育種母本として期待されながら、遺伝様式の複雑さから育種利用が進んでいないナス野生種やトウガラシ野生種を解析し、県独自品種の作出に向けた実用的育種マーカーの開発を進める予定である。

平成 25 年度の活動

1. 報文(総説・原著論文等)

Fukamatsu, Y., Tamura, T., Hihara, S., and Oda K.

Mutations in the *CCD4* Carotenoid Cleavage Dioxygenase Gene of Yellow-Flesh Peaches. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 77:2514-2516 (2013)

概要：日本で栽培されているモモ黄肉種は、カロテノイド代謝酵素 *CCD4* にトランスポゾン挿入変異またフレームシフト変異をもつことを明らかにした。

Ichinose, Y., Taguchi, F., and Mukaihara, T.

Pathogenicity and virulence factors of *Pseudomonas syringae*.

J. Gen. Plant Pathol., 79: 285-296 (2013)

概要：植物病原細菌*Pseudomonas syringae*の感染性および病原性に関する総説。

Nahar, K., Matsumoto, I., Taguchi, F., Inagaki, Y., Yamamoto, M., Toyoda, K., Shiraishi, T.,
Ichinose, Y., and Mukaihara T.

Ralstonia solanacearum type III secretion system effector Rip36 induces a hypersensitive response in the nonhost wild eggplant *Solanum torvum*.

Mol. Plant Pathol., 15: 297-303 (2014)

概要：ナス台木品種トルバム・ビガーは、青枯病菌が感染時に注入するRip36エフェクターを特異的に認識し、過敏感反応（HR）を伴う強い病害抵抗反応を誘導していることを明らかにした。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表（*Pはポスター発表、*招は招待講演、英文大会名は国際学会）

小田賢司、深松陽介、田村隆行、日原誠介（*P）

「白桃選抜マーカーの開発」

平成 25 年度果樹バイオテク研究会、2013 年 10 月 24 日（福山）

小田賢司

「白桃選抜マーカーの開発」

第 5 回おかやまバイオアクティブ研究会、2013 年 12 月 13 日（岡山）

深松陽介、田村隆行、日原誠介、小田賢司

「モモ黄肉種に存在するカロテノイド代謝酵素 *CCD4* の変異」

日本農芸化学会 2014 年度大会、2014 年 3 月 28 日（川崎）

向原隆文（*招）

「青枯病菌の Hrp タイプ III 分泌系を介した植物感染機構」

第 33 回岡山植物病理セミナー、2013 年 5 月 18 日（岡山）

Nahar, K., Taguchi, F., Yamamoto, M., Inagaki, Y., Toyoda, K., Shiraishi, T., Ichinose, Y., and Mukaihara, T.（*P）

Type III secretion system effectors Rip36 of *Ralstonia solanacearum* and HopH1 of *Pseudomonas syringae* induce hypersensitive response in nonhost *Solanum torvum*.

平成 25 年度日本植物病理学会関西部会、2013 年 9 月 26–27 日（岡山）

Maeda, S., Sugano, S., Yokotani, N., Hayashi, N., Goto, S., Jiang, C.-J., Oda, K., Hirochika, H., Takatsuji H., and Mori, M.

Broad-spectrum disease resistance of *BSRI* overexpression rice and application to crop improvement.

11th International Symposium on Rice Functional Genomics、2013 年 11 月 20–23 日（ニューデリー）

前田哲、J. G. Dubouzet、近藤陽一、市川尚齊、小田賢司、松井南、廣近洋彦、森昌樹
イネ FOX ナズナ系統を用いた *R. solani* 抵抗性遺伝子の単離
第 55 回植物生理学会、2014 年 3 月 18–20 日（富山）

3. 知的財産権

なし

4. 共同研究・協力連携先

岡山県農林水産総合センター農業研究所、岡山大学

5. 外部資金獲得状況

- ・科学研究費補助金・基盤 C （代表 小田賢司）
- ・科学研究費補助金・基盤 C （代表 向原隆文）
- ・科学研究費補助金・挑戦的萌芽 （分担 向原隆文）

6. その他

岡山県立大学連携大学院 准教授（客員、兼任）（小田賢司）

岡山県立大学連携大学院 准教授（客員、兼任）（向原隆文）

酵素機能研究グループ

専門研究員
流動研究員
流動研究員

畑中 唯史 (グループ長)
川上 賀代子
裏地 美杉

大課題

酵素によるバイオマス有効利用法の研究開発

中課題 1

バイオマス由来機能性素材の研究開発

[背景と目的]

当グループでは、農産物などから生ずる未利用バイオマスの高付加価値化に取り組んでいる。今年度は、日本人の主食である米由来ペプチドの機能性について、共同研究先の就実大学と協力して研究を行った。

現代人は、最近の科学技術の高度化・複雑化に加えて社会情勢のめまぐるしい変化により、生活習慣が不規則になることが多い。2006年に行われた日本大学の内山らの試算では、睡眠不足や不眠症による日本の経済損失は、年間3兆5千億円にものぼるとされ、その多くが寝不足による生産性の低下が原因である。不規則な生活様式を強いられることで、睡眠異常等の概日リズム障害や、その要因の1つとして考えられる睡眠ホルモンであるメラトニン分泌リズムの異常が問題となっている。メラトニンは、トリプトファンを出発原料とし、セロトニン N-アセチルトランスフェラーゼ (NAT) を律速酵素として、脳内で合成されるホルモンである。つまり、この睡眠ホルモンは、陽のあたる昼間では、NATによって合成されず、夜になってはじめて作

り出され、リズムを刻む物質である。NATは、昼間はオフ、夜に活性がオンになる酵素であるが、そのメカニズムのひとつが、細胞内トリペプチドであるグルタチオンによるレドックス制御機構である(図1)。

本課題では、NATの活性を米由来成分により上昇させ、快眠を導く機能性食品の開発を目指している。

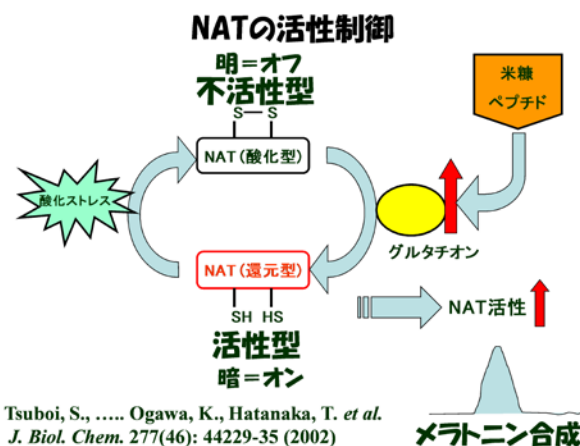


図1. NAT活性のレドックス制御機構

[成果と今後の方針]

本年度は、大豆ペプチドやコラーゲンペプチドと比較して、米糠ペプチドによってヒト由来細胞内のグルタチオン量が有意に増加し（図 2A）、NAT 発現動物細胞内の NAT 活性も同じく上昇すること（図 2B）を見出し、特許出願（特願 2014-41618）を行った。

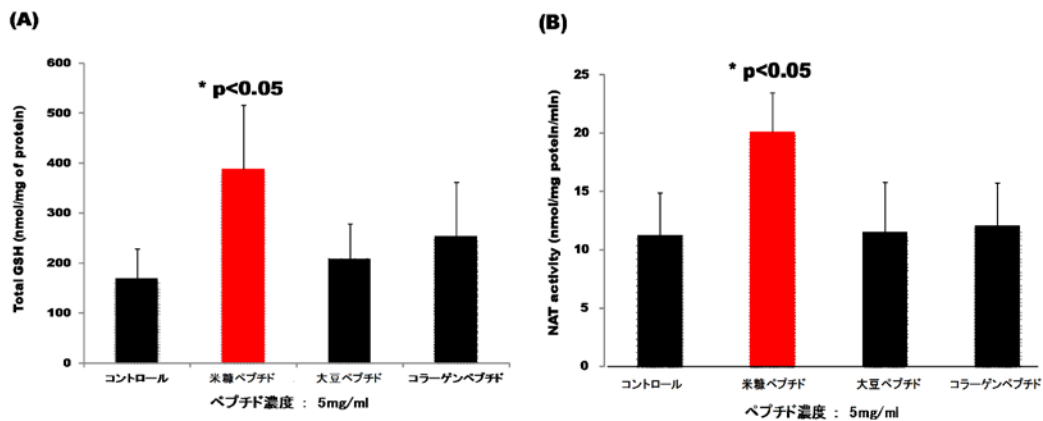


図 2. 米糠ペプチドの細胞内グルタチオンおよび NAT に与える影響 (A) 細胞内グルタチオン (B) NAT 活性

さらに、マウスを使った動物試験で、あらかじめ白米ペプチドを投与しておくこと、肝障害誘発薬剤による肝機能障害を抑えることも見出している（図 3）。

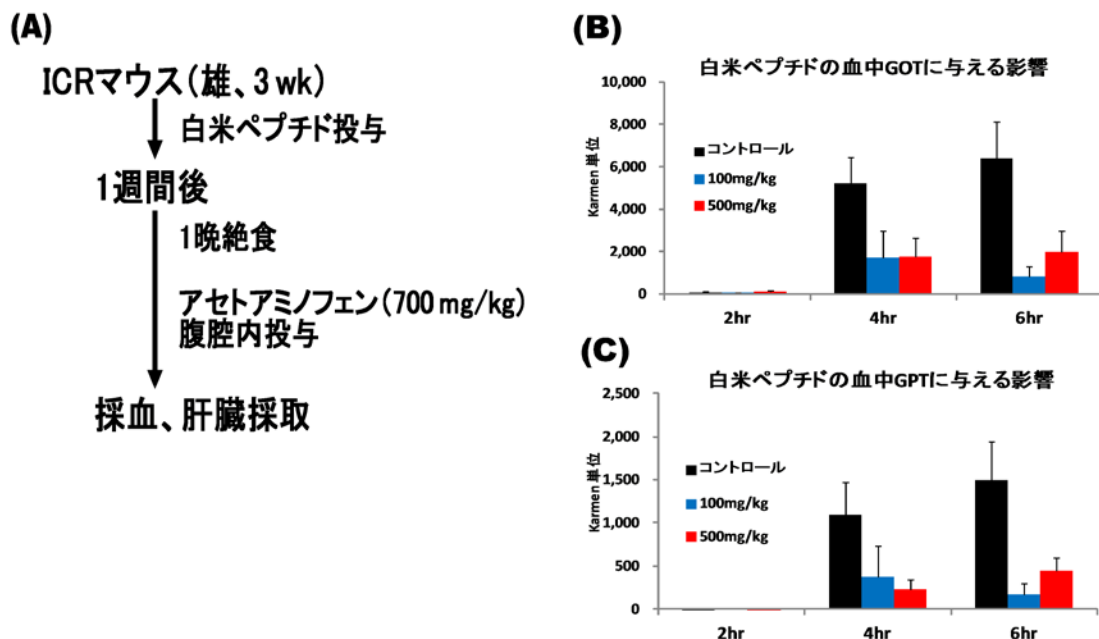


図 3. マウスを用いた白米ペプチドの肝機能に与える影響 (A) 実験プロトコール (B) 血中 GOT 値。横軸はアセトアミノフェン投与後の時間を示す。黒いカラムは、白米ペプチド投与なし、青は、100mg/kg 投与、赤は 500mg/kg 投与群を示す。(C) 血中 GPT 値。横軸はアセトアミノフェン投与後の時間を示す。カラムは、(B) と同様である。

ここまで示したように、米由来ペプチドは、有用な機能をもつことを明らかにしてきたが、製造コスト等の面で問題があることも判明してきた。そこで来年度は、安全・安心・安価な材料からペプチドを作成し、その細胞内グルタチオン量や NAT に対する影響はもちろんのこと、生活習慣病に関わる原因酵素の阻害活性等についても、検討を加える予定である。また、共同研究先の就実大学では、米由来ペプチドの細胞内グルタチオン増強メカニズムについても、検討を加える予定である。

中課題 2

バイオマス関連有用酵素の研究開発

[背景と目的]

前述してきた中課題 1 では、すべて市販されている食品用酵素を用いた研究である。従来型の市販酵素は、微生物の培養物を濃縮したもので、様々な酵素の混合物であり、その混合比率は、微生物任せで人為的にコントロールできない。放線菌 (*Streptomyces lividans* 1326 株) 由来のプラスミド pIJ101 から派生するプラスミドは、ヒトに対して有害でないことが知られており、遺伝子構成の設計によりナチュラルオカレンスとなりうる。



図 4. 我々の特許技術によって製品化された酵素

ここで云うナチュラルオカレンスとは、組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると判断されたものとされる。この概念で作成した生産株を利用することにより、既存添加物として使用でき、幅広い用途が期待できる各種酵素製剤が製造可能となる。我々は、前期 5 カ年の研究途上で、長瀬産業(株)と共同

して、放線菌を宿主とした酵素生産技術を開発し、特許出願（「プロモーター及びその活性化方法」、特許第 4586149 号）した。この技術を用いて、ナガセケムテックス(株)により、キチナーゼついでグルカナーゼの生産が、平成 23 年度より開始されている（図 4）。これら酵素は、パンの製造やカップ麺の調味料製造に役立つ酵素である。タンパク質や多糖などのバイオマスの分解は、複数の酵素が必要となり、その材料によって、必要な酵素の種類・量比も異なるが、当グループの技術によって、単一の酵素を、安価・高純度で製造し、材料にあわせた酵素混合レシピを自由自在にデザインできる。

本年度は、イネ科植物細胞壁に豊富に含まれるフェルラ酸を切り出す酵素であるフェルラ酸エステラーゼ (FAE) に着目し、放線菌由来遺伝子から探索するとともに、新奇酵素探索の目的で、前述した特許の鍵となるプロモーター遺伝子を有する当グループ取得オリジナル菌 (*Streptomyces cinnamoneus* TH-2 株) のゲノムを、次世代シーケンサー（平成 24 年度特別電源備品）により解読した。

[成果と今後の方針]

フェルラ酸は、植物細胞壁でヘミセルロースとリグニンを架橋する役目をもつ。また、香料バニリンの原料であるとともに、近年ではアルツハイマー病予防効果についても着目される有用物質である。放線菌ストレプトマイセス属由来で、エステラーゼモチーフ (GxSxG) をもつ遺伝子約 100 種を、以前我々が、東京大学・尾仲特任教授および長瀬産業(株)と開発した、放線菌用発現ベクター (pTONA5a, Hatanaka *et al.*, Protein Expr. Purif. **62**:244-248(2008)) に挿入し、*Streptomyces lividans* を宿主に発現させた。タンパク発現が認められた 43 種について、フェルラ酸エチルの加水分解活性を指標に、FAE 活性をスクリーニングしたところ、2 種 (R18 および R43) に活性を認めた (図 5)。

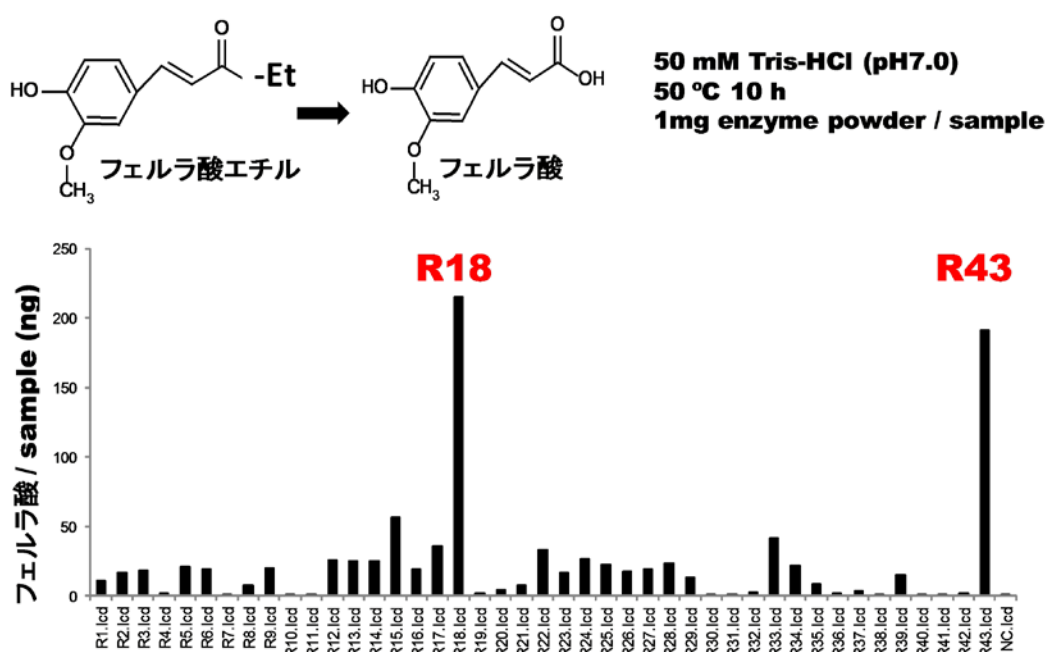


図 5. 放線菌由来 FAE の探索 グラフの上部に、反応条件を示す。遊離したフェルラ酸は、逆相カラムによる HPLC 分析により定量し、その値を縦軸にプロットしている。

R18, R43 の 2 種の酵素を用いて、3 種のイネ科植物バイオマス (トウモロコシ皮、脱脂米糠、小麦フスマ) から、フェルラ酸の抽出を試みた (次項、図 6)。植物細胞壁から、酵素によりフェルラ酸を取り出すには、FAE が鍵酵素ではあるが、その他にヘミセルロース骨格を切断するキシラナーゼとフェルラ酸と結合している糖を切るアラビノフラノシダーゼも必要である (図 6A)。R18, R43 単独と、キシラナーゼ+アラビノフラノシダーゼと組み合わせて作用させた場合の結果を示す (図 6B)。

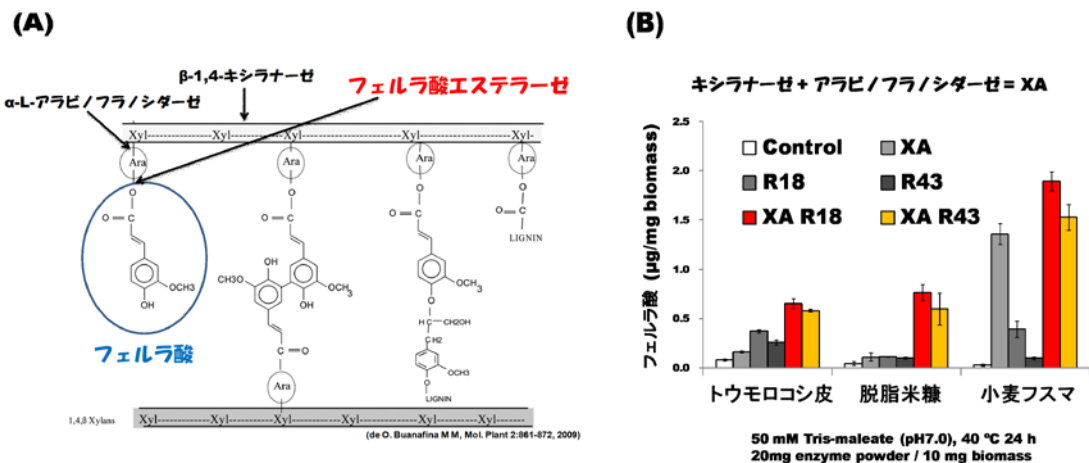


図 6. 植物細胞ヘミセルロースの構造と酵素によるフェルラ酸抽出 (A) フェルラ酸抽出に関わる 3 種の酵素とその作用点を示す。(B) 植物バイオマス (トウモロコシ皮、脱脂米糠、小麦フスマ) を材料に、酵素無し (コントロール)、キシランナーゼ+アラビノフラノシダーゼの組み合わせ (XA)、R18, R43 単独の場合と、各々と XA の組み合わせを作用させた場合で、グラフ下部に、反応条件を示している。また、グラフ立軸には、遊離フェルラ酸量をプロットしている。

コントロール (酵素なし) と比較して、いずれのバイオマスでも、R18, R43 単独で、フェルラ酸の遊離を認め、両者は FAE 活性をもつことを明らかにした。放線菌由来 FAE の遺伝子同定は、最初の例であり、現在論文投稿中である。また、キシランナーゼ+アラビノフラノシダーゼとの組み合わせで、最も高い相乗効果を示したのは、脱脂米糠を材料にした場合であった (図 6B)。一般的に米のヘミセルロースは、他の植物と比較して、側鎖の修飾率が高く、酵素による分解は、難しいとされており、我々の結果とも矛盾しない。今後は、R18, R43 のホモログを探索し、より高活性な FAE の取得を試みるとともに、両酵素の構造解析にも着手し、活性と構造の関わりについても検討する予定である。

また、*Streptomyces cinnamoneus* TH-2 株のゲノム解析では、約 6.3Mbp の配列を得ており、この結果は、同種のゲノムサイズから、約 90% のボリュームに相当すると推測される。TH-2 株は、GC 含量が 70% 以上と高く、ゲノムの完全長を得ることは困難であるため、今後は、得られた配列から、主にペプチダーゼを中心として、有用酵素の探索に役立てる予定である。

平成 25 年度の活動

1. 報文（総説・原著論文等）

Arima, J., Isoda, Y., Hatanaka, T., and Mori, N.

Recombinant production and characterization of an *N*-acyl-D-amino acid amidohydrolase from *Streptomyces* sp. 64E6.

World J. Microbiol. Biotechnol. 29: 899-906 (2013)

概要：放線菌が産生する酵素、*N*-acyl-D-amino acid amidohydrolase は、医薬品中間体製造に役立つ酵素であるが、この諸性質と、我々が開発した放線菌用発現システムで強発現させることに成功したことを記載した論文である。共同研究先の鳥取大学・農学部での研究。

Shiota, H., Kanzaki, H., Hatanaka, T., and Nitoda, T.

The β -N-Acetylhexosaminidase inhibitor TMG-chitotriomycin distinguishes GH family 20 enzymes with different substrate specificities.

Carbohydr. Res. 375: 29-34 (2013)

概要：放線菌が産生する化合物、TMG-chitotriomycin は、農薬の候補となる化合物であり、その標的分子であるキチナーゼに対する特異性を記載した論文である。共同研究先の岡山大学・農学部での研究。

Kumagai, Y., Kawakami, K., Uraji, M., and Hatanaka, T.

Effect of binding of bivalent ion to the calcium-binding site responsible for the thermal stability of actinomycete mannanase.

J. Mol. Catal. B Enzym. 94: 63-68 (2013)

概要：放線菌由来が産生する酵素、mannanaseは、バイオマス分解に役立つ酵素であるが、このカルシウムの結合部位と熱安定性について、Isothermal titration calorimetry (ITC、マイクロカロリメーター) により評価し、明らかにした論文である。

Uraji, M., Kimura, M., Inoue, Y., Kawakami, K., Kumagai, Y., Harazono, K. and Hatanaka, T.

Enzymatic production of ferulic acid from defatted rice bran by combination of bacterial enzymes.

Appl. Biochem. Biotechnol. 171(5): 1085-1093 (2013)

概要：フェルラ酸は、イネ科植物の細胞壁に豊富に含まれ、香料（バニリン）原料、酸化作用、抗アルツハイマー作用などを有する化合物である。本論文は、麴カビ由来酵素と、放線菌由来酵素を組み合わせ、イネ科植物の細胞壁から、フェルラ酸を抽出させる方法について記載している。

Hatanaka, T., Kawakami, K., and Uraji, M.

Inhibitory effect of collagen-derived tripeptides on dipeptidylpeptidase-IV activity.

J. Enz. Inhib. Med. Chem. In press

概要：Ⅱ型糖尿病予備群は約1620万人にのぼるとされ、毎年数百万人の勢いで増加している。血糖値の上昇を抑え、インシュリンの分泌を促すホルモンであるインクレチンは、血中に存在する酵素ジペプチジルペプチダーゼⅣ（DPP-4）によって分解され、その能力を失う。本論文は、コラーゲンを、放線菌が産生する酵素コラゲナーゼで分解し、得られたペプチドのDPP-4阻害活性について記載している。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表

(*P はポスター発表、英文大会名は国際学会)

松本幸子、森ひとみ、川上賀代子、畑中唯史、戸塚護、波多野力、伊東秀之

「天然色素のマウスパイエル板細胞による IgA 産生亢進作用」

日本栄養・食糧学会第 67 回大会、2013 年 5 月 24 日－5 月 26 日（名古屋）

畑中唯史、川上賀代子、裏地美杉 (*P)

「コラゲナーゼ処理によるコラーゲン中のジペプチジルペプチダーゼⅣ阻害活性の増強」

日本生物工学会 2013 年度大会、2013 年 9 月 18－9 月 20 日（広島）

守谷智恵、畑中唯史、川上賀代子、裏地美杉、坪井誠二 (*P)

「発酵乳ホエー中の細胞内グルタチオン上昇物質の探索について－その 2－」

第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日－9 月 13 日（横浜）

坪井誠二、梶谷桂子、守谷智恵、片岡亜実子、川上賀代子、裏地美杉、戸羽光世、平本和義、畑中唯史

「発酵乳ホエー中の細胞内グルタチオン上昇物質の探索について－その 3－」

第 52 会日本薬学会・中国四国支部学術大会、2013 年 10 月 26 日－10 月 27 日（松山）

守谷智恵、川上賀代子、裏地美杉、井上良計、川上晃司、畑中唯史、坪井誠二 (*P)

「米ぬか由来ペプチドの抗酸化作用について」

日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 27 日－3 月 30 日（熊本）

坪井誠二、守谷智恵、川上賀代子、裏地美杉、戸羽光世、平本和義、畑中唯史 (*P)

「発酵乳ホエー中の細胞内グルタチオン量および serotonin N-acetyltransferase 活

性上昇作用をもつ物質の探索」

日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 27 日－3 月 30 日（熊本）

裏地美杉、原園幸一、川上 賀代子、畑中唯史

「放線菌由来フェルラ酸エステラーゼの探索」

日本農芸化学会 2014 年度大会、2014 年 3 月 27 日－3 月 30 日（川崎）

Kawakami, K., Mori, H., Uraji, M., Kimura, M., Hatanaka, T., and Ito, H. (*P)

Effect of brown rice extract on immune response in OVA-immunized mice

The International Society for Nutraceuticals and Functional Foods (ISNFF)

2013 年 11 月 5 日－11 月 9 日（タイペイ）

3. 知的財産権

特許出願： 出願特許 1 件（特願 2014-41618）

4. 共同研究・協力連携先

株式会社サタケ、株式会社フィットファーマ、株式会社ニッピ、モリマシナリー株式会社、
免疫分析研究センター株式会社、就実大学・薬学部、岡山大学・農学部、鳥取大学・農
学部、岡山県農林水産総合センター農業研究所

5. 外部資金獲得状況

- ・財団法人旗影会研究助成 H25 年度（代表 畑中唯史）
- ・H25 年度 飯島記念科学振興財団 学術研究助成研究助成（分担 畑中唯史）
- ・科学研究費補助金・若手 B（代表 川上賀代子）

6. その他

岡山県立大学連携大学院 教授（客員、兼任）（畑中唯史）

発行日 平成26年5月30日

発行者 岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

連絡先 〒716-1241
岡山県加賀郡吉備中央町吉川7549-1
TEL 0866-56-9450
FAX 0866-56-9453
ホームページアドレス
<http://www.pref.okayama.jp/soshiki/203/>

※無断転載複製を禁ず