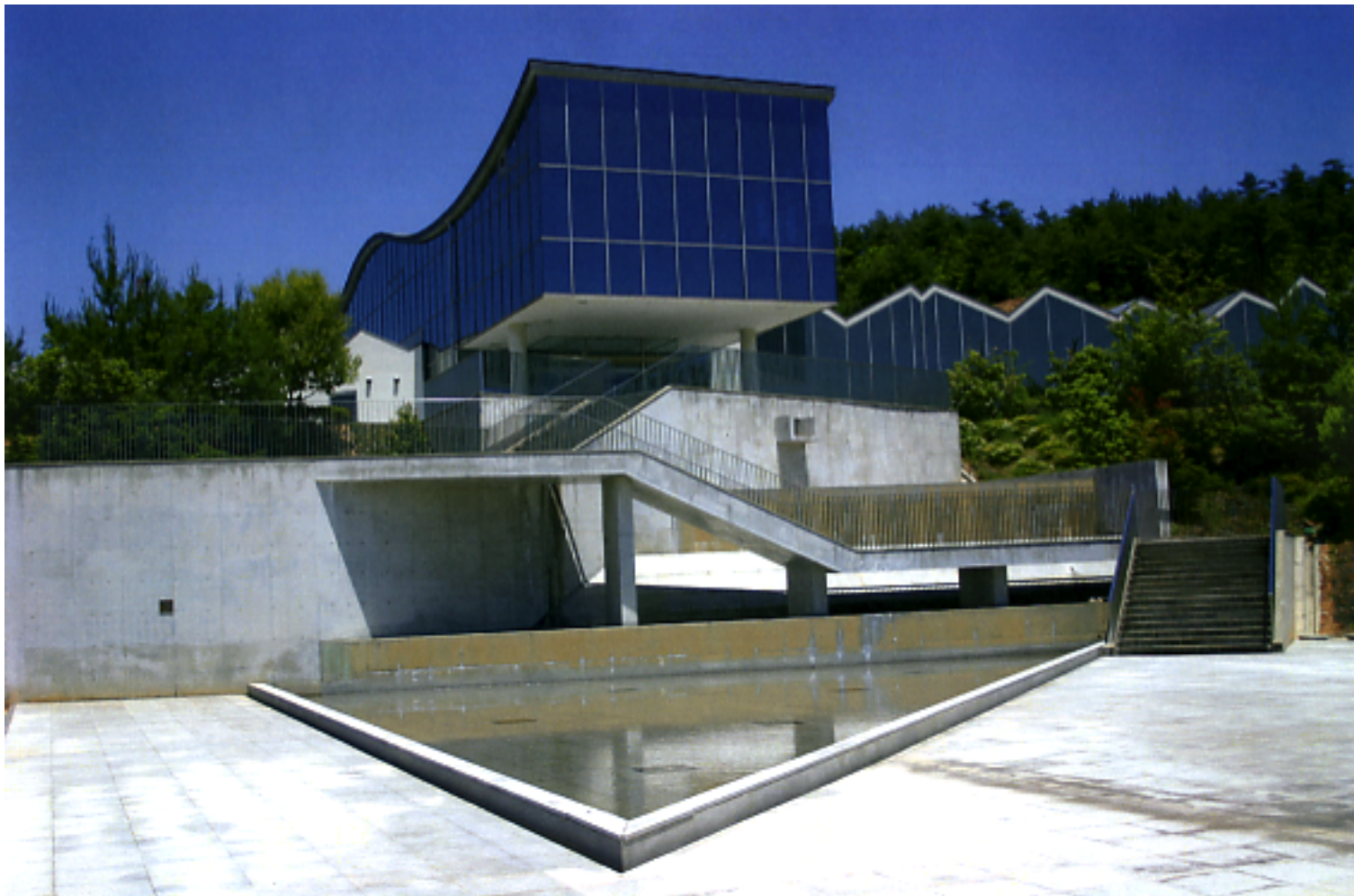




# 生物科学研究所

## 平成26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

人類の物質的な課題は、食料確保、疾病対策、環境保全、資源・エネルギーの確保であることは24年25年の年報で述べました。岡山県は、27年当初から、高病原性トリインフルエンザの洗礼を受けたことは記憶に新しいところです。幸い、各位の昼夜にわたる尽力で終息しましたが、口蹄疫ウイルスも含め重篤な疾病を引きおこす病原体は、現在でも周辺各国から容易に侵入できる状況に変わりはなく、引き続き警戒と対策は欠かせません。一方、27年になって、既に7つの台風が発生しています。近年頻発する異常気象による農業被害や人的被害を見るならば、速やかに中長期的な対策を進める必要があります。特に気にかかる異常気象は、「世界の穀物倉庫」といわれる米国における干魃です。米国では、2012年から続く干魃の結果、カリフォルニアやグレートプレーンズにおける農業生産が大きい打撃を受けています。米国からの農産物輸入は、一時よりも減少したとはいえ、現在でも日本の総輸入農産物の約3割（金額で約2兆円）を占め、中でも、コムギ、トウモロコシ、ダイズ、ソルガム、豚肉の輸入は群を抜いています。実は、干魃害（時には風水害）は、米国以外にも農産物輸出国である中国や南米、オーストラリアでも頻発しており、このまま異常気象が続くならば、価格の高騰に留まらず、輸入そのものが厳しくなることは論を待たない状況です。

それでは、このような食糧供給事情の中で、本県や日本は何をなすべきなのでしょう？日本の農林水産業の状況は大変厳しいといわれております。前述の異常気象に加え、以前より国土・耕地が狭小であることや担い手の不足、高齢化などが大きい問題として指摘されています。また、担い手のみならず県民・国民の健康問題も大変危惧すべき状況となってきました。このような状況を鑑みるならば、例えば、以下のような課題に真摯に取り組む必要があると思われます。それは、①異常気象に強い栽培システム・栽培品種の開発、②単位面積当たりの収量の飛躍的増加を目指した品種育成や栽培方法の確立、③機能性食品等健康増進に寄与する作物や資材の開発です。また、④本県のブランド果樹や作物の新品種開発も大いに期待されている課題です。

当研究所においても、平成24年から28年までの第4期5カ年計画を策定し、遺伝子工学、細胞工学、微生物工学の3部門において、生物資源や食料の増産、高品質化・ブランド化、環境にやさしい植物保護技術の開発、次期優良新品種の育成、微生物酵素による機能性素材の開発等の研究に取り組んでまいりました。個別の研究成果については、本編を参照して頂きたいのですが、平成26年度の成果としては、作物や樹木の生産性を向上させる新肥料、環境に優しい植物保護剤、ブランドモモの新品種開発に有用な分子マーカー、植物工場における連続光障害の防止技術の開発に成功し、また、生活習慣病の改善やストレス改善に有効なペプチドの創製に成功するなど、県民の皆様にご評価頂ける成果がではじめております。これらの成果については、原著論文等11報（内国際誌8）、学会68件（内国際会議5）公表し、また、発明届・特許出願

33 件、実施許諾 19 件と知財化や実用化も積極的に進めてまいりました。これらの取組みによって、共同研究 26 件と産官学連携も着実に進み、26 年度、1 億円を越える外部資金を獲得することができました。また、これらの成果は、県民室でのセミナー等機会がある毎に県民の皆様への公表に努め、「開かれた研究所」作りに心掛けてまいりました。研究所公開（8 月）、公開シンポジウム（11 月）なども引き続き実施し、中高生も含め、弊所の視察・訪問者は約 300 名、また、公開シンポジウムには、農業関係者や県内大学等から約 100 名の参加がありました。県農林水産総合センター主催の農業フェアなどにも積極的に参加して、弊所の研究を紹介しました。また、これらの取り組みに当たっては、マスコミの取材を受けるなど、広報活動にも前向きに取り組んでおります。

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、研究の両輪です。設立後 18 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おります。27 年度は、課題別中間評価年であり、また、第 5 次 5 カ年計画を作り上げなくてはならない年となっています。26 年度に行われた機関評価や 27 年度に実施される課題別中間評価を生かし、県民の皆様に一層支持される研究所を目指してまいります。

今後とも関係各位のご理解とご支援をお願い申し上げます。

平成 27 年 5 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名簿	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	9

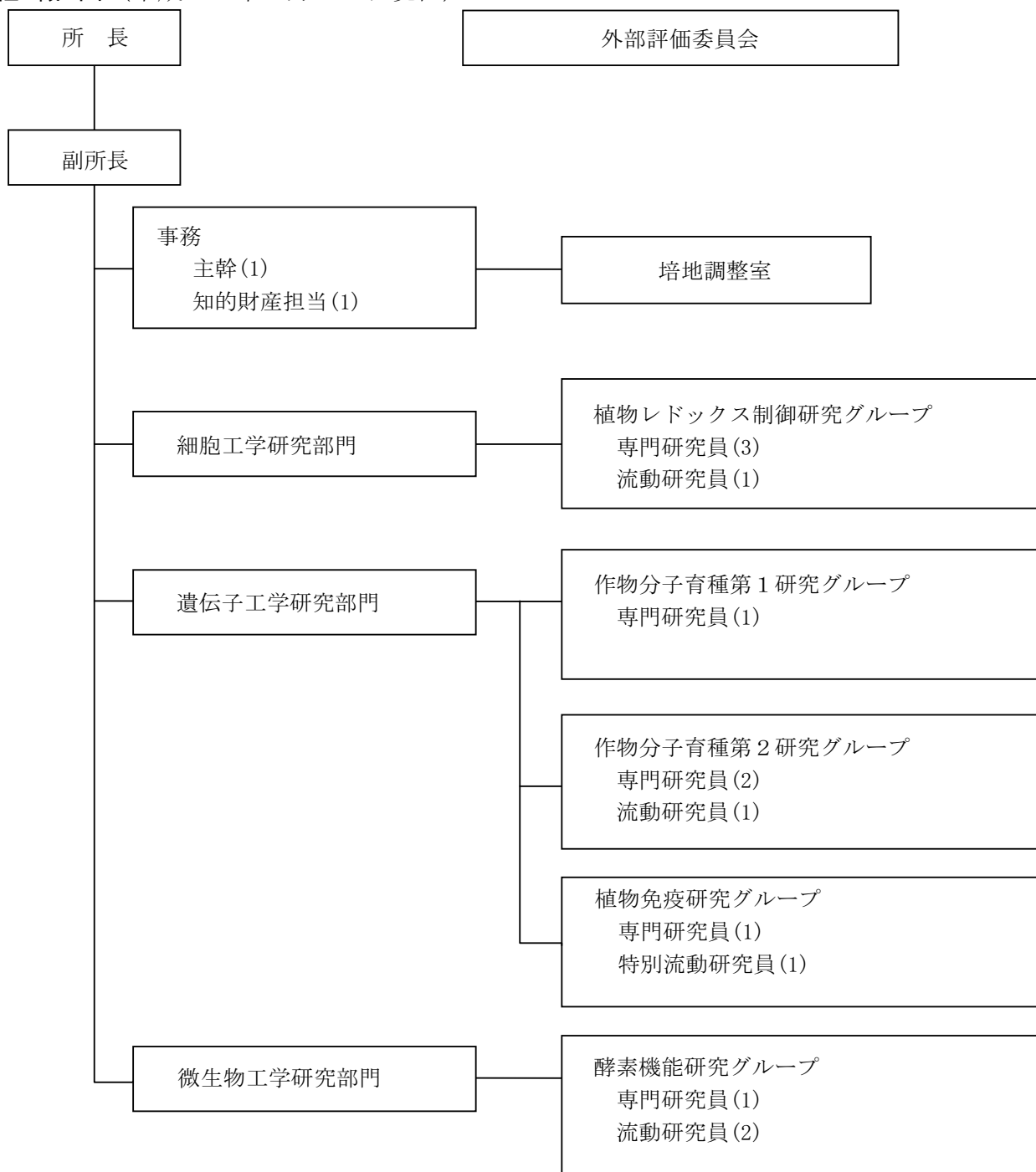
## 研究の概要

植物レドックス制御研究グループ	10
作物分子育種第1研究グループ	22
作物分子育種第2研究グループ	29
植物免疫研究グループ	39
酵素機能研究グループ	53

## 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 2 7 年 3 月 3 1 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	P D 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	1 4
(特別) 流動研究員 (非常勤)	5	計	3 8

## 生物科学研究所職員名簿（平成27年3月31日現在）

職名	氏名
所長	白石友紀
副所長	勝野将之
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	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	万堃
知的財産担当職員	吉田勝久

## 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
櫻木 理江	学校法人就実大学経営学部経営学科・講師
佐藤 洋子	おもてまち法律事務所・弁護士
福原 一義	税理士法人福原・嘉崎会計事務所福原一義公認会計士事務所・所長
馬 建鋒	国立大学法人岡山大学資源植物科学研究所・教授
山本 耕一郎	公立大学法人岡山県立大学保健福祉学部栄養学科・教授



大課題名	中課題名	担当研究グループ
<p>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、ユウカリ、キヤッサバ、スギ、ヒノキ、カラマツ、柑橘類、モモ、ブドウ、イネ、ムギなど)</p>	<p>中課題名</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 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</li> <li>・ 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</li> </ul>	<p>植物レドックス制御 研究グループ</p>
<p>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)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 高品質な果実を持つトマト新品種の育成</li> <li>・ 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</li> </ul>	<p>作物分子育種第1 研究グループ</p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 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</li> </ul>	<p>作物分子育種第2 研究グループ</p>
<p>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)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 環境負荷低減型の新規病害防除資材の創製</li> <li>・ 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</li> </ul>	<p>植物免疫 研究グループ</p>
<p>4 酵素によるバイオマス有効利用法の研究開発(放線菌)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ バイオマス由来機能性素材の研究開発</li> <li>・ バイオマス関連有用酵素の研究開発</li> </ul>	<p>酵素機能 研究グループ</p>

## 主な行事

### ● 第10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！～

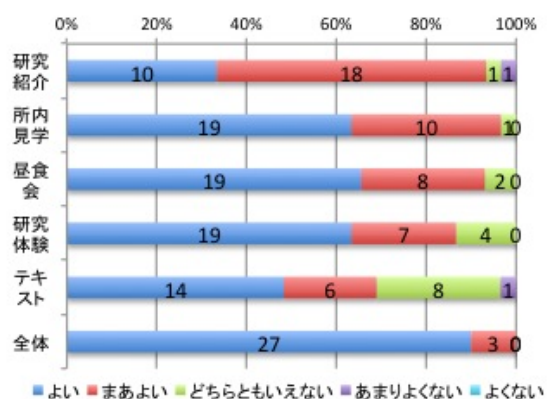
日時：平成26年8月1日（金）10時開催

場所：岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

### 実施の様子とアンケート結果



アンケート集計結果(中学生11名、高校生19名)



参加費無料 事前登録必要

中学生・  
高校生対象

岡山県農林水産総合センター

生物科学研究所

2014年度

# 研究所公開

2014.8.1 **金**  
10:00~16:00

バイオ研究の世界をのぞいてみよう！

## 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？

参加希望者は所属の学校(理科担当の先生)を通してお申し込み下さい。  
申し込みメ切 6月30日(月) 必着



お問い合わせ

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14回 RIBSシンポジウム 「進化する果樹育種」

日時：平成26年11月14日（金）13：30～17：00

場所：岡山国際交流センター 2階国際会議場

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所主催  
第14回RIBSバイオサイエンスシンポジウム  
「進化する果樹育種」

H26年11月14日（金）13時半～17時

岡山国際交流センター 2F国際会議場

一般県民、農家・農業関係者、学生等対象

参加費無料！  
事前登録不要！

最新の研究は、果樹の新品種育成を  
どのように変えようとしているのか

プログラム

- ▶ 13:30 はじめに
- ▶ 13:40 岡山県のモモ育種「岡山白桃」のシリーズ化をめざして  
日原誠介（岡山県農林水産総合センター農業研究所専門研究員）
- ▶ 14:00 白桃選抜マーカーの開発  
小田賢司（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所専門研究員）
- ▶ 14:30 ブドウ果皮色の遺伝機構の解明と育種への応用  
東暁史（農研機構果樹研究所主任研究員）
- ▶ 15:00 休憩・ポスター発表（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所研究紹介）
- ▶ 15:25 ニホンナシのゲノム育種—現状と今後の展開—  
山本俊哉（農研機構果樹研究所上席研究員）
- ▶ 15:55 果樹におけるゲノム変異と形質変異の関連解析と育種への応用  
林武司（農研機構中央農業総合研究センター上席研究員）
- ▶ 16:25 果樹類の世代促進技術  
吉川信幸（岩手大学農学部教授）
- ▶ 16:55 おわりに

ACCESS



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（RIBS Okayama） Tel 0866(56)9450, Fax 0866(56)9453, email seibutsu@bio-ribs.com

ポスター発表：

- 「クラミドモナス GSH1 過剰発現株が弱光下において示す非光化学消光（NPQ）について」  
西川正信 1、清川一矢 1、高部圭司 2,3、小川健一 1,3（1 岡山県農林水産総合センター生物科学研究所植物レドックス制御研究グループ、2 京都大学農学部、3 JST・CREST）
- 「環境にやさしい革新的病害防除技術の開発研究」  
鳴坂真理、鳴坂義弘（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所植物免疫研究グループ）
- 「トマトにおける連続光障害の生理学的特性」  
田村勝徳、後藤弘爾（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所作物分子育種 第1研究グループ）
- 「ナス科植物青枯病菌における宿主域拡大の分子機構」  
向原隆文、小田賢司（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所作物分子育種 第2研究グループ）
- 「スイトピーと黄色野生種のカロテノイド代謝遺伝子の比較解析」  
深松洋介 1、森本泰史 2、小田賢司 1（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所作物分子育種第2研究グループ 1、農業研究所花卉研究室 2）
- 「米ペプチドのジペプチジルペプチダーゼ-IV 阻害活性」  
畑中唯史（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所酵素機能研究グループ）
- 「放線菌フェルラ酸エステラーゼの機能解析」  
裏地美杉（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所酵素機能研究グループ）
- 「県オリジナル品種による「岡山白桃」のシリーズ化」  
日原誠介（岡山県農林水産総合センター農業研究所果樹研究室）

## 主な視察・来訪者

平成26年	5月29日	岡山県立津山高等学校	40名
	8月1日	研究所公開（中学生・高校生対象）	39名
	9月24日	寿大学（操南公民館）	102名
	10月15日	吉備高原学園高校	41名
	11月17日	ベトナムフエ大学院岡山大学研修生	18名
その他		民間企業、研究機関などからの視察・来訪者	51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
専門研究員	西川 正信
専門研究員	逸見 健司
流動研究員	清川 一矢
P D研究員	岩崎 (葉田野) 郁
P D研究員	田村 はるか
P D研究員	中川 昌人
P D研究員	野田 壮一郎
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	神原 里沙 (～平成 26 年 5 月)
リサーチアソシエイト	川内 由美 (平成 26 年 7 月～10 月)
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
実験補助員	櫻間 恭子
実験補助員	菅野 和孝

### 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 CO<sub>2</sub> 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、CO<sub>2</sub> 排出を抑制する技術や CO<sub>2</sub> 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、工業原料等の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。

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ためには、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。

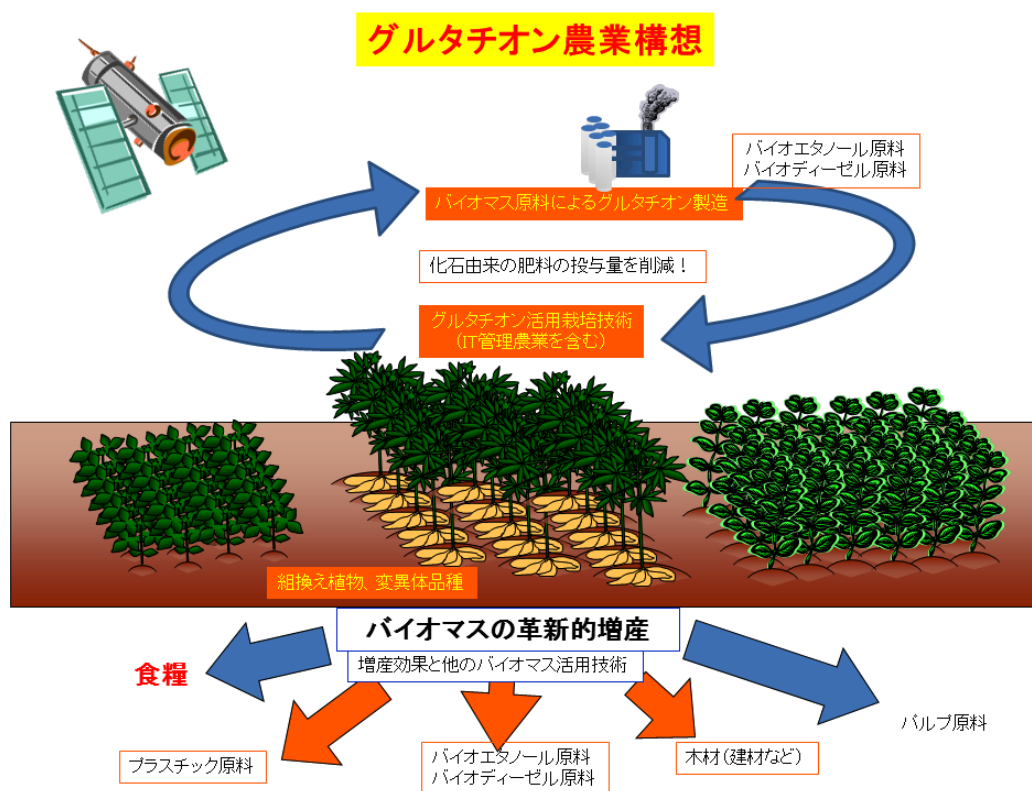


図1 グルタチオン農業構想。

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。それ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、従来の化成肥料の投与を削減し、化石燃料の消費抑制に資する。
- 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

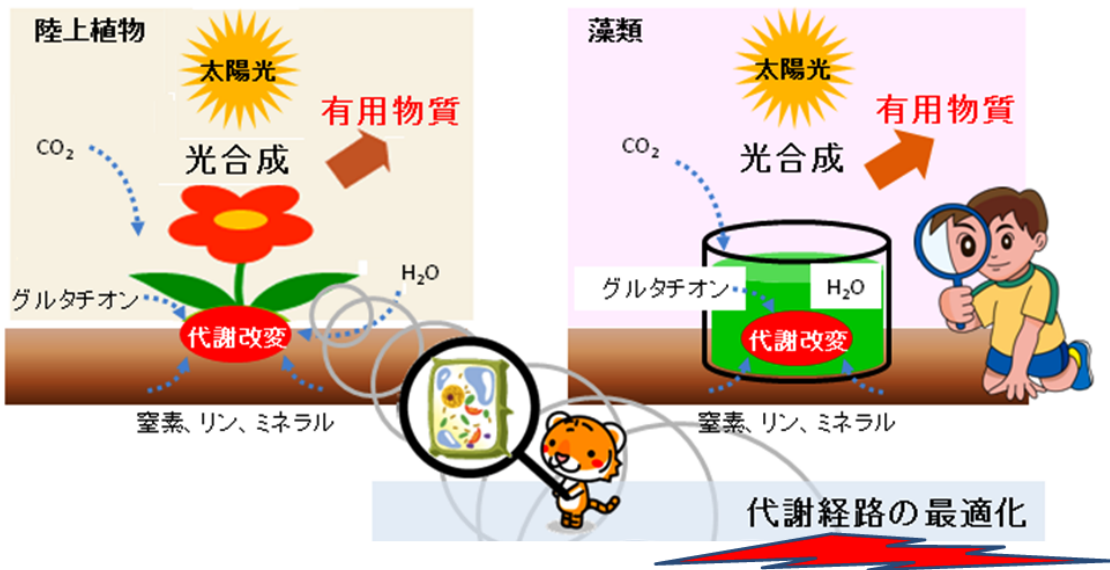


図2 中課題「植物を活用した有用物質の生物生産プラットフォームの構築」の研究開発のイメージ

## 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

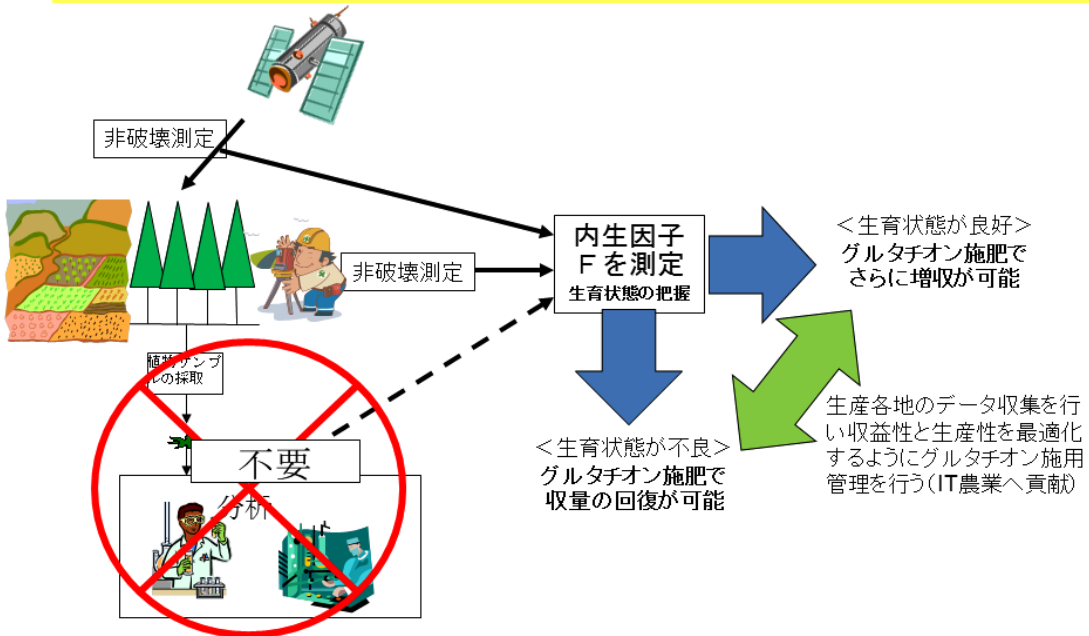


図3 中課題「植物バイオマスの安定的高生産に資する生産管理技術の開発」の研究開発のイメージ



## [成果と今後の方針]

・シロイヌナズナを用いた面積あたりの収量性を評価する実験系を用いて、グルタチオンの投与によるバイオマス、種子量の増収に関するメカニズムの研究に取り組んでいるが、グルタチオン結合タンパク質の中からその収量性に関係する候補を特定した。次年度以降、グルタチオン施用で引き起こされる光合成活性の向上、代謝の変化との見解について詳細に解析する予定である。

・グルタチオン結合タンパク質のグルタチオンによる機能制御について構造的知見を得るため、対象としているタンパク質の取得と結晶化を試みてきたが、その結晶が得られ始めた(図4)。継続して、グルタチオン結合によるタンパク質の機能制御における役割を分子構造の変化から明らかにしたい。

・また、グルタチオンの結合が予測されるタンパク質の遺伝子のなかから、面積あたりの収量性を向上させる別の遺伝子を見出した。分子進化系統樹上の保存性を評価するため、イネへの導入や、他の植物のホモログ遺伝子の機能同等性について試験をする。

・グルタチオンによる増収効果を引き起こす機構を解明するため、グルタチオン生合成能を高めた植物体を用いて、それによって引き起こされる形質の変化(光合成能力の向上等)を抑える変異を見出した。原因遺伝子とメカニズムの関係について、シロイヌナズナを用いた逆遺伝学的解析などを駆使して、解明を進める。

・シロイヌナズナLAI遺伝子を導入したヤマナラシに引き起こされるバイオマスの増加がシロイヌナズナと同等であることが明らかになってきたが、その形質変化を抑制する遺伝子を特定した。本遺伝子の役割について考察し、そのメカニズムの普遍性について考察する。

・ダイズのフィールド試験で、グルタチオン散布による光合成活性の上昇について再現性を確認したが、解析の結果、短期的な光合成の活性の向上がどのくらいの時間(日単位)継続されるかという点を明らかにできなかつたため、来年度は、データ取得日程を長くして反復実験を行う。

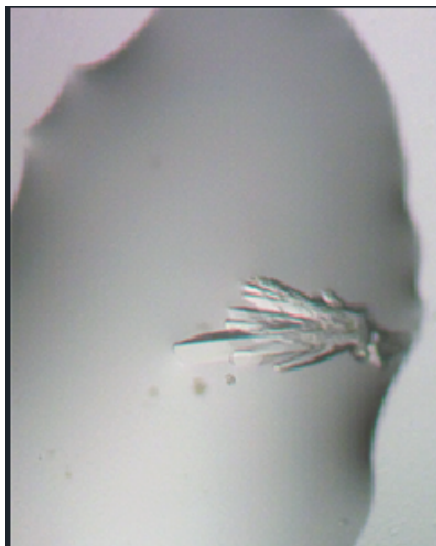


図4 グルタチオン結合タンパク質の結晶。

3.5Åの分解能で解析済み。今後、分解能を上げて、グルタチオンの結合状態との関係について解析を進める

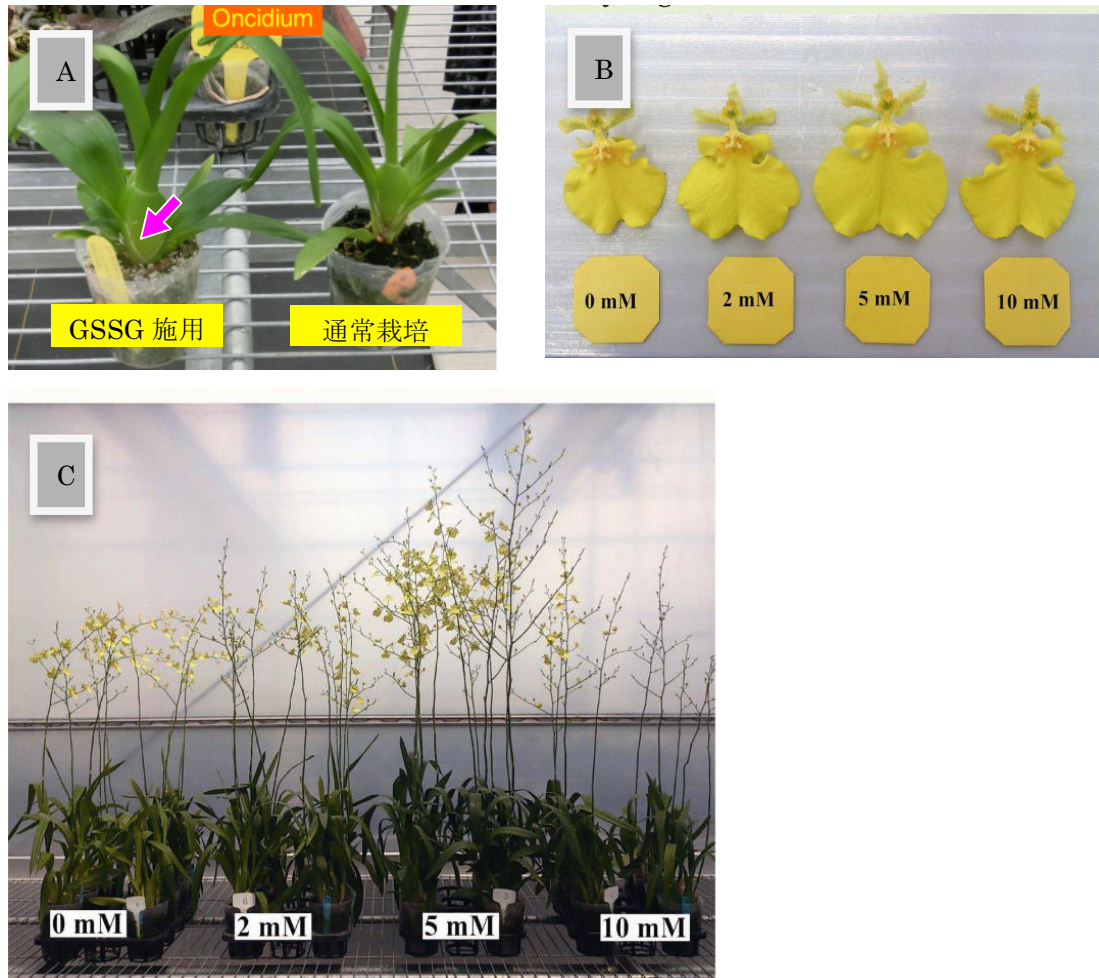


図5 グルタチオンを与えて栽培したオンシジウム

A シュードバルブ（矢印）の肥大が確認される。

B 開花した花のサイズに影響が見られた（最適な濃度が存在する）。

C 花茎長、分枝数も増加し（最適な濃度が存在する）、切り花品質の向上が認められる。

・グルタチオンの施用によってサトウキビのバイオマス増産効果だけでなく、糖度向上による歩留まりの大幅な改善が期待できる。これを背景に、サトウキビ農業の収益性の大幅改善を目指す農水省の実証プロジェクトに採択された。石垣島での実証試験を補てんするため、JIRCAS圃場や岡山での試験も行う。次年度はそれらの結果を総合して評価を行う。石垣島での台風被害に備え、増収と糖度向上を十分期待させる生理・生化学データの収集にも努め、C3植物とC4植物のグルタチオンに対する特性の比較を行いたい。

・台湾の花卉中心とは、グルタチオンの花卉栽培への応用、特にランへの適用について予備試験を行ってきたが、有望な結果（図5）が得られたため、1月から正式な共同研究としてスタートした。4月には台湾側から研究者が来日し、次年度の計画の詳細を詰める予定である。

・豪州とブラジルで実施してきたユーカリへのグルタチオン施用試験で一定の結果を得た（図6、図7）。施用時期として、成長量が十分確保できる状態であるところに施用するのが効果的であると

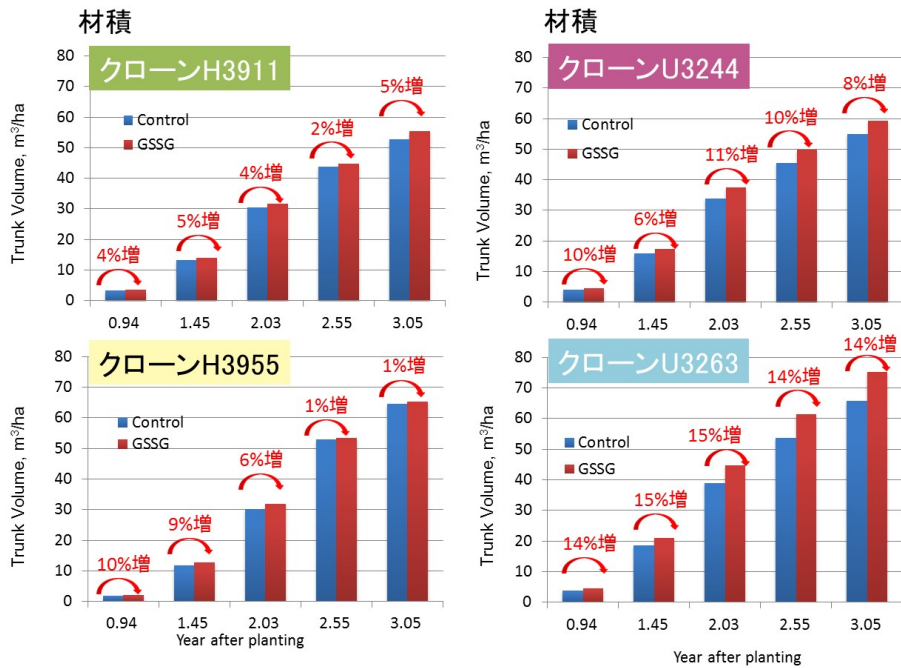


図6 グルタチオンを与えたユーカリの生育（ブラジル）

1.8 ha に 2048 本植栽したユーカリ 4 クローンに対して、酸化型グルタチオンは、1%粒状製剤として、植栽後 6 ヶ月目 (Year 0.5) に 44.4 Kg/ha と 11 ヶ月目 (Year 0.94) に 55.5 Kg/ha 与えた。

施用時にすでに生育量が高かったクローンほど効果が高い結果となった。

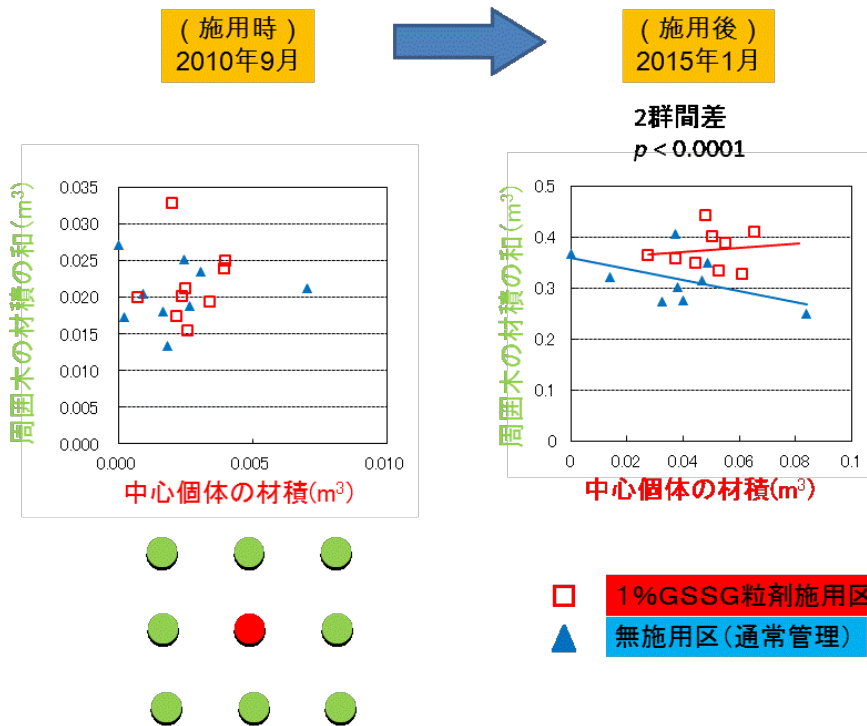


図7 グルタチオンを与えたユーカリの生育（豪州）

中心個体とそれの周囲の個体の材積との関係

植栽直後にグルタチオン粒剤を与えた場合、効果が継続しなかったが、2年目以降に施用した区では、効果が認められ、継続した。中心個体の材積に対する周囲の材積との関係から、面積当たりの生産性が向上したことがわかる。

・グルタチオン技術による藻類のバイオマス増産技術を加速させる特許出願を行ったが、生産される超微小澱粉などの用途についても検討し、実用化のための製造プロセス開発に入る。

・グルタチオンによる増収効果が株式会社カネカ等の試験でも明らかになり、27年度に販売が開始される旨のプレス発表がなされた。県内外、国内外の技術普及への取り組み加速するため、各県の試験場や、大学、企業、公的機関の協力を仰ぎながら、連携した実証試験を継続する。

## 平成 26 年度の活動

### 1. 報文(総説・原著論文等)

Sugimoto H, Kondo S, Tanaka T, Imamura C, Muramoto N, Hattori E, Ogawa K, Mitsukawa N, Ohto C, Overexpression of a novel Arabidopsis PP2C isoform, AtPP2CF1, enhances plant biomass production by increasing inflorescence stem growth. *J Exp Bot* 65:5385-5400, 2014 (DOI: 10.1093/jxb/eru297).

概要：グルタチオンの効果を高める L A I 遺伝子(AtPP2CF1)について、特許で出願したバイオマス増産の効果について考察したもの

Suzui N, Kawachi N, Ishii S, Hatano-Iwasaki A, Ogawa K, Fujimaki S. Evaluation of velocity of  $^{11}\text{C}$ -photoassimilate flow using positron-emitting tracer imaging system", JAEA-Review 2014-050 JAEA Takasaki Annual Report 2013 2014-040: 105, 2015.

概要： $^{11}\text{C}$  標識した  $\text{CO}_2$  を投与し植物体で固定された炭素の移動速度を定量的に測定する方法の確立に関するもの。グルタチオンを投与した植物体についても解析に利用している。

### 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、\*招は招待講演、英文大会名は国際学会)

Ken'ichi Ogawa

「Glutathione, a new agricultural fertilizer for enhancing plant productivity」  
KMP, April 28, 2014 (Udon-Thani, Thailand)

小川健一 (\*招)

「活性酸素の功と罪」－基礎研究の実用化までの道のり－  
日本光合成学会シンポジウム、2014年5月31日(奈良市)

西川正信(\*P)

「グルタチオン技術を利用した微細藻類による微小デンブンの生産」  
第19回岡山リサーチパーク研究・展示発表会、2014年9月3日(岡山)

小川健一(\*招)

「岡山から日本の農業、そして世界の農業を変える！」

岡山県主催ランチタイムセミナー、2014年9月5日(岡山市)

小川健一 (\*招)

「グルタチオンで地域農業・発酵産業の新時代へ！」

第66回日本生物工学会シンポジウム「糖が地域から湧き出たら、発酵の出番！ 地域糖質プラットフォームと生物工学の新たなケミストリー構築へ」、2014年9月11日(札幌)

小川健一 (\*招)

「植物の生育状態から収量性を予測・管理する」

サイエンスアゴラ、2014年11月7日(東京)

西川正信、清川一矢、高部圭司、小川健一(\*P)

「クラミドモナス GSH1 過剰発現株が弱光下において示す非光化学消光(NPQ)について」

第14回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム、2014年11月14日(岡山)

Szu Lun Lai, Ken'ichi Ogawa, Syoichi Ichihashi, Wei Ting Tsai (\*P)

「Effects of glutathione on the growth and flowering of *Oncidium*」

The Annual Symposium of Taiwan Horticulture Society, January 29, 2015 (Taipei, Taiwan)

Ken'ichi Ogawa (オーガナイザー)

「New conception proposal, “Glutathione Agriculture”」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Aya Hatano-Iwasaki, Kenji Henmi, Ken'ichi Ogawa (\*P)

「Effects of glutathione feeding on photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Aya Hatano-Iwasaki, Kazunori Hayashi, Tatsuya Awano, Keiji Takabe, Akiyoshi Kawaoka, Ken'ichi Ogawa (\*P)

「Effects of oxidized glutathione feeding on photosynthesis and biomass production in *Eucalyptus globulus*」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Kenji Henmi, Tetsuya Yamada, Aya Hatano-Iwasaki, Ken'ichi Ogawa (\*P)

「Effects of glutathione on the yield in soybean」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Nobuyuki Okuda, Yuki Sato, Kanami Daikoku, Mohammed Strage Yesuf, Ken'ichi Ogawa (\*P)

「Effects of glutathione blended fertilizer on the growth and development of asparagus」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Szu Lun Lai, Ken'ichi Ogawa, Syoichi Ichihashi, Wei Ting Tsai (\*P)

「Effects of glutathione on the growth and flowering of *Oncidium*」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Masanobu Nishikawa, Kazuya Kiyokawa, Ken'ichi Ogawa (\*P)

「Efficient production of fine starch granules using *Chlamydomonas* cells with genetically modified glutathione metabolism」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Naoki Kawachi, Nobuo Suzui, Satomi Ishii, Yong Gen Yin, Aya Hatano Iwasaki, Ken'ichi Ogawa, Shu Fujimaki (\*P)

「Live-imaging of carbon fixation and translocation in an intact plant: Quantitative analysis of effects of glutathione treatment」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Saki Suzuki, Aya Hatano-Iwasaki, Ken'ichi Ogawa, Etsuko Matsunaga, Akiyoshi Kawaoka, Keiji Takabe (\*P)

「Analysis of photosynthetic characteristics and biomass productivity of *Populus sieboldii* x *P. grandidentata* with overexpression of *AtGSH1* gene」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

Aya Hatano-Iwasaki, Kenji Henmi, Michiko Ogura, Ken'ichi Ogawa (\*P)

「【Exhibition】 Glutathione-fed plants」

Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”, February 14, 2015 (Tokyo, Japan)

逸見健司、岩崎(葉田野)郁、小川健一(\*P)

「植物の生産力を飛躍的にあげる新技術開発～グルタチオン農業の実力～」  
平成 26 年度県立研究機関協議会研究交流発表会、2015 年 2 月 18 日(総社市)

岩崎(葉田野)郁、林和典、栗野達也、高部圭司、河岡明義、小川健一(\*P)

「ユーカリ光合成に対する酸化型グルタチオンの効果」  
日本植物生理学会第 56 回年会、2015 年 3 月 16 日(東京)

逸見健司、中川昌人、長尾伸一郎、秋山俊彦、小川健一(\*P)

「デントコーンの生育ステージによるグルタチオンの収量に対する効果」  
日本植物生理学会第 56 回年会、2015 年 3 月 16 日(東京)

浦田信明、根岸直希、小嶋美紀子、榊原均、小川健一、河岡明義(\*P)

「Physiological analysis of GSSG for promotion of adventitious root formation」  
日本植物生理学会第 56 回年会、2015 年 3 月 16 日(東京)

大野隆史、越久由美子、高部圭司、小川健一(\*P)

「グルタチオン施用により最も発現増加する遺伝子の細胞壁形成への関与」  
日本植物生理学会第 56 回年会、2015 年 3 月 16 日(東京)

早川 正、栗野達也、高部圭司、小川健一

「傾斜ストレスおよび酸化型グルタチオンを与えたユーカリにおける光合成能の変化と成長解析」  
第65回日本木材学会大会、2015 年 3 月 18 日(東京)

西根祥太、高部圭司、松永悦子、河岡明義、田村はるか、岩崎(葉田野)郁、小川健一

「AtFBA1、AtFBA3、AtPP2C を過剰発現させたポプラの形態的、生化学的特性評価」  
第65回日本木材学会大会、2015 年 3 月 18 日(東京)

### 3. 知的財産権

職務発明 3 件

特許出願 14 件

国内 4 件

特願 2014-111577、特願 2014-157155、特願 2013-549197、特願 2013-541792

国外 10 件

14/354477 (米国)、10-2014-7019054 (韓国)、201280061106.1 (中国)、14/355768 (米国)、201280052993.6 (中国)、12845098.8 (欧州)、2012333621 (オーストラリア)、2014118883 (ロシア)、14/609830 (米国)、14/600984 (米国)

特許登録 8 件

特許第 8822758 号、特許第 5586792 号、8927286 (米国)、2011297126 (オーストラリア)、2687249 (カナダ)、2675696 (カナダ)、1-2009-501140 (フィリピン)、2103212 (欧州)

#### 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

大学関係

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、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)

県外機関等

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、国際農林水産業研究センター (J I R C A S)、タイ王国農務省ラヨングフィールドクropp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、山形県、兵庫県、徳島県、福岡県、宮崎県、沖縄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、興農 (台湾)、A M C E L 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)
- ・ 農林水産省 農林水産業の革新的技術緊急展開事業 (産学の英知を結集した革新的技術体系の確立) (代表 小川健一)
- ・ (独) 日本学術振興会 科学研究費補助金 (基盤 C) (分担 中川昌人)
- ・ その他 民間 2 件 (代表 小川健一)



## 6. 受賞、報道等

- ・小川健一（平成 26 年度日本植物調節剤研究協会<日植調> 功労賞）
- ・新聞各紙等 平成 27 年 2 月 18 日（酸化型グルタチオン農業資材の販売決定について）

## 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）

- ・「図解でよくわかる土・肥料のきほん」（一般財団法人日本土壌協会 監修、2014 年 8 月 11 日発売、誠文堂新光社）における紹介記事： 未来を拓く「新発想肥料」
- ・岡山県立井原高等学校のポスター発表「植物の塩害について」の監修  
平成26年度「集まれ！科学への挑戦者ポスターコンテスト」（主催：科学トライアングル岡山（岡山大学、岡山県他））、平成27年1月25日、岡山大学
- ・岡山県立倉敷南高等学校「キャリア I」社会人講義（逸見健司）  
「バイオ研究員の社会貢献～生物科学研究所の実践～」、平成 27 年 2 月 10 日、岡山県立倉敷南高等学校
- ・科学技術振興機構 CREST 小川チームシンポジウム「Tree and Crop Technology for Improving Quality and Productivity of Food and Biomaterials: Toward Achieving Another Green Revolution, “Glutathione Agriculture”（食糧とバイオ材料の品質・生産性の向上を図る樹木・作物技術：新たな緑の革命、「グルタチオン農業」の実現に向けて）」を主催（協賛：科学技術振興機構 CREST、岡山県）、平成 27 年 2 月 14 日、東京大学
- ・卒業論文研究への技術指導（西川正信）  
「出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いた遺伝教材に関する研究」（広島大学教育学部第 2 類科学文化教育系自然系コース）
- ・サイエンスアゴラでの発表と展示（小川健一）  
「植物の生育状態から収量性を予測・管理する」  
サイエンスアゴラ、2014 年 11 月 7 日（東京）
- ・県庁県民室でのセミナー（小川健一）  
「岡山から日本の農業、そして世界の農業を変える！」  
岡山県主催ランチタイムセミナー、2014 年 9 月 5 日（岡山市）

# 作物分子育種第 1 研究グループ

専門研究員	後藤 弘爾
流動研究員	田村 勝徳 (H26 年 12 月まで)
研究補助員	広畑 かおり (H26 年 5 月より)

## 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

分子マーカーを利用した育種技術（マーカー支援育種）とは、消費者の反発が大きい遺伝子組換え技術を用いることなく、伝統的な育種技術と迅速な DNA 解析技術を組み合わせた技術である。近年の DNA 情報解析システムの長足の進歩によって、農作物のゲノム情報が次々に明らかにされ、マーカー支援育種がますます身近に利用されるようになってきている。

当研究グループにおいても、2012 年に全ゲノムの詳細情報が公開されたトマトを用いて、完全人工光型植物工場でも生産可能な高品質トマト新品種の開発（中課題 1）を進めている。また、トマトは県産野菜の中でも生産高が大きい重要野菜であるが、消費者ニーズの変化、生産担い手の高齢化等に伴って、高品質且つ多収性を示す新品種の開発や栽培管理・収穫作業を軽労化する品種、栽培技術が求められている。そこで、これらの問題に対応可能な有用農業形質を探索した（中課題 2）。その結果、花成を斉一化させることにより栽培管理や収穫作業の軽労化が期待される光周期応答花成を示すトマトの開発を進めている。

さらに、人工光型植物工場で容易に実現可能な連続光栽培は、通常の明暗栽培に比べて植物の成長を大幅に促進させ、生産量を増大させる効果がある。しかしながら、現在の栽培トマトは、連続光下では生理障害を生じ、うまく育たないという問題がある。中課題 2 において、連続光下で栽培しても生理障害の起きないトマト品種およびトマト近縁野生種を発見した。これらを利用し、連続光栽培により生産量の増大が見込める新品種の開発をめざして、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実成

#### [背景と目的]

高度な施設園芸の一つとして位置づけられている植物工場は、次世代の農業生産を担うものとして期待されている。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があり、どちらのタイプの植物工場も普及拡大に向かっている。太陽光併用型は様々なレベルのものが運用されており、従来型のハウス栽培の延長線上にあるものも多く、どこからが植物工場であるといった明確な線引きはないが、一般的には温度管理が可能で養液栽培されているものをさす。太陽光併用型植物工場でのトマト生産は、オランダでの成功を受けて高品質、多収、コストダウンをめざした試みが国内各地で進められている。

一方、完全人工光型植物工場では、蛍光灯や LED 等の人工光のみを利用し、空調設備により気温

を制御、養液による多段栽培が行われる。そのため、立地を選ばず市街地周辺の廃校や休眠倉庫などを利用したりするものもある。完全人工光型植物工場には、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。従って、気象条件に左右されず安定的に生産できるほか、農薬ゼロの安全安心の農作物の生産が可能で、環境負荷を減らすことができる等のメリットがある。さらに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も構築できる。しかしながら、完全人工光型植物工場では、生産品目が限られているといったデメリットが存在するのも事実である。そこで、我々の研究グループでは、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。

### [成果と今後の方針]

多段栽培を行う完全人工光型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を進めている。ミニトマトは大玉トマトに比べて結果が確実で、果実成熟期間短いなどの生産利点が多い。また消費者ニーズも高く、通年安定供給が求められる野菜である。

まず、多収性を示す矮性ミニトマトと高品質ミニトマト（非矮性）とを交配し、完全人工光型植物工場での生産に適した形質で選抜を行った（図 1）。具体的には、交配第 2 世代 300 系統以上について、早咲き、矮性、弱光耐容性、着果数、果実重量、果実糖度（Brix）、果実酸性度（pH）を評価した。評価値はスコア化し、総合スコアの高いものから 9 系統を選抜した。さらに自殖後代を育て F4 世代において、成熟果実を用いた食味試験を行った（図 2）。食味試験は、農林水産総合センター農業研究所との共同研究によって、味認識装置 TS-5000Z を用いて行った。本機は、広域選択性と官能に近い特性を持つため、人間による食味試験に近い結果を、より客観的なデータとして得られるとされている。味覚センサーによって評価される味は、標準的に下記の 9 味であるが、本分析においては、甘味については Brix 値を採用した。

記：味認識装置によって測定できる 9 種類の味の概要

酸味=酢酸・クエン酸・酒石酸などが呈する味。

苦味雑味=苦味物質由来。但し低濃度ではコク味。

渋み刺激=渋み物質由来。低濃度ではキレ味。

旨味=グルタミン酸ナトリウムやイノシン酸ナトリウムなどが呈する味。

塩味=食塩のような無機塩類が呈する味。有機酸にも応答。味の濃さ。

甘味=Brix 値を採用。

苦味=食品が口の中に残す長く続く苦味。カフェイン、フムロン類、苦味アミノ酸。

渋味=タンニンやカテキンによる残り続ける渋味。

旨味コク=アミノ酸や核酸、その他有機物質が残しているまるやかな味わい。

良食味を示すとされている高品質ミニトマト（親系統 A）を基準に、もう一方の交配親である矮性ミニトマト（親系統 B）、F4 世代 3 系統（254、1152、692）の測定結果をレーダーチャートにしたものを図 2 に示した。

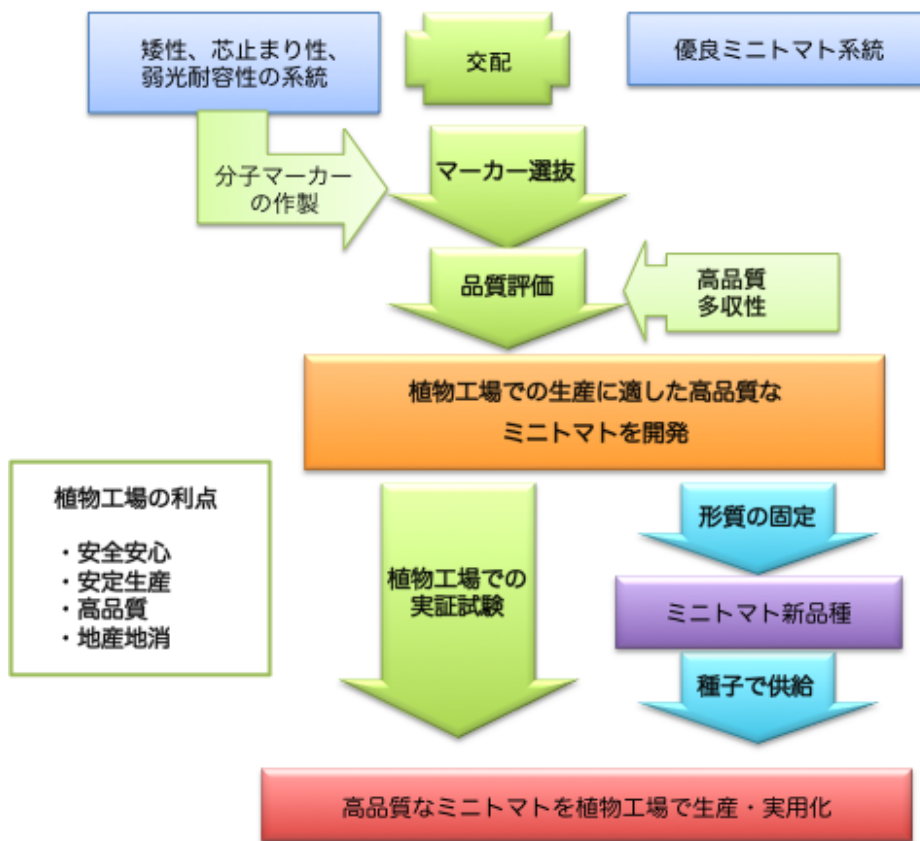


図1. マーカー支援育種による矮性ミニトマトの新品種開発のフロー図

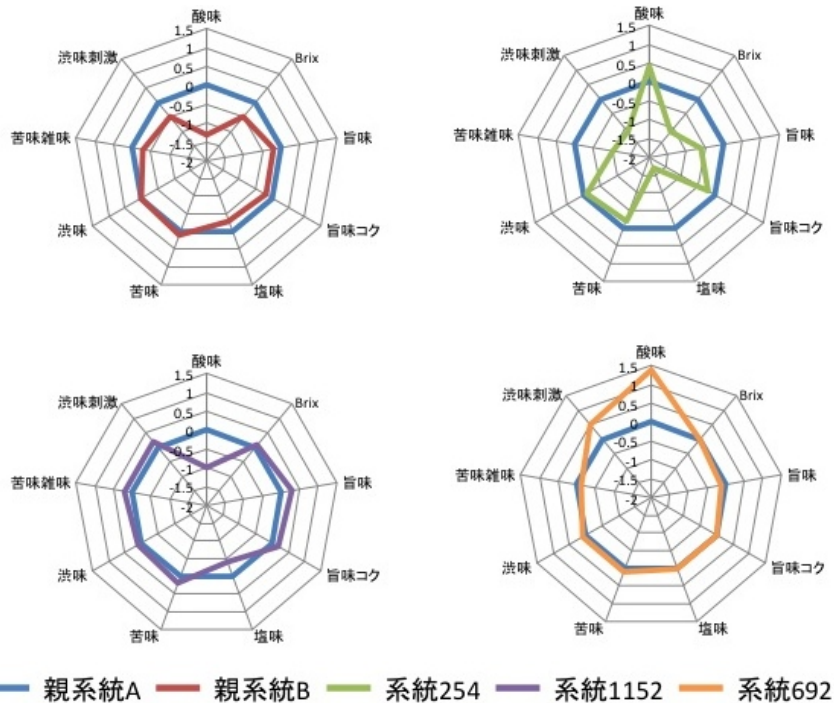


図2. 味認識装置によって測定したトマトの味のレーダーチャート  
親系統 A (青線) を各項目の基準値 (0.0) として相対値表示した。

測定結果は、人間による食味試験と大きくかけ離れてはおらず、妥当な値が得られていると考えられる。しかし、これらの値は必ずしも遺伝的な形質のみを反映したものでは無く、項目によっては栽培条件によって大きく変動するものもある。以上を考慮した上で、1152 と 692 の 2 系統について、さらに育成し育種開発することとした。

今後はさらに自殖後代を栽培し、形質の安定性および均一性を確保し、品種登録を行う計画である。

## 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

#### [背景と目的]

これまでに実施した「有用な農業形質の探索」によって、トマトに①光周期応答花成を付与すること、②連続光障害を軽減できる栽培技術や品種を開発すること、に研究の焦点を絞り取り組んでいる。また、これらの成果を利活用した育種開発に向けて、科学的な観点から実現可能性や有効性を判断するため、これらの有用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。

#### [成果と今後の方針]

##### ①光周期応答花成を利用したトマト花成の斉一化

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。これによりトマトは季節によらず栽培、収穫することが可能となっている。しかし、冬春トマトの第 1 花房の着花節位は本葉 6-8 葉の位置であるのに対し、夏秋トマトの着花節位が 10-12 葉の位置になることが、栽培現場で大きな問題となっている。これは夏秋トマトの花成が遅れるため、一般的には高温障害の一つと考えられている。

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となどから、現在の栽培トマトは栽培化の過程で短日性を失ったものが選抜されたと考えられる。そこで我々は、夏秋トマトは長日条件に栽培されていることから、栽培トマトに痕跡として残る短日性遺伝子の働きによって、夏秋トマトの着花節位が遅れるのではないかと仮説を立てた。昨年度までに明らかにしたトマト短日性遺伝子の構造を、桃太郎系統 2 品種、サカタ交配系統 2 品種について調べた結果、他の栽培品種系統に比べて変異は見つからなかった。栽培品種の短日性遺伝子は、完全に機能を失っているわけではないので、夏秋トマトの花成遅延にどの程度影響を及ぼしているかについては、今後の課題として検討する。

トマト近縁野生種との染色体部分置換系統群のスクリーニングによって、短日性を示す系統（光周期付与トマト）を得ることができた。この系統を用いれば、日長条件によって花成誘導が可能である（図 3）。中性植物のトマトは、栄養条件、温度、光質・光強度などの環境要因と植物ホルモン、加齢状況などの内生要因が複合的に作用することで花成の時期が決定されていると考えられる。これらは要素が多く、制御も複雑なため、栽培現場では花成をうまくコントロールできていないことが、夏秋トマトの花成遅延の原因と考えられる。これに比べて、光周期応答花成は非常に鋭敏な反

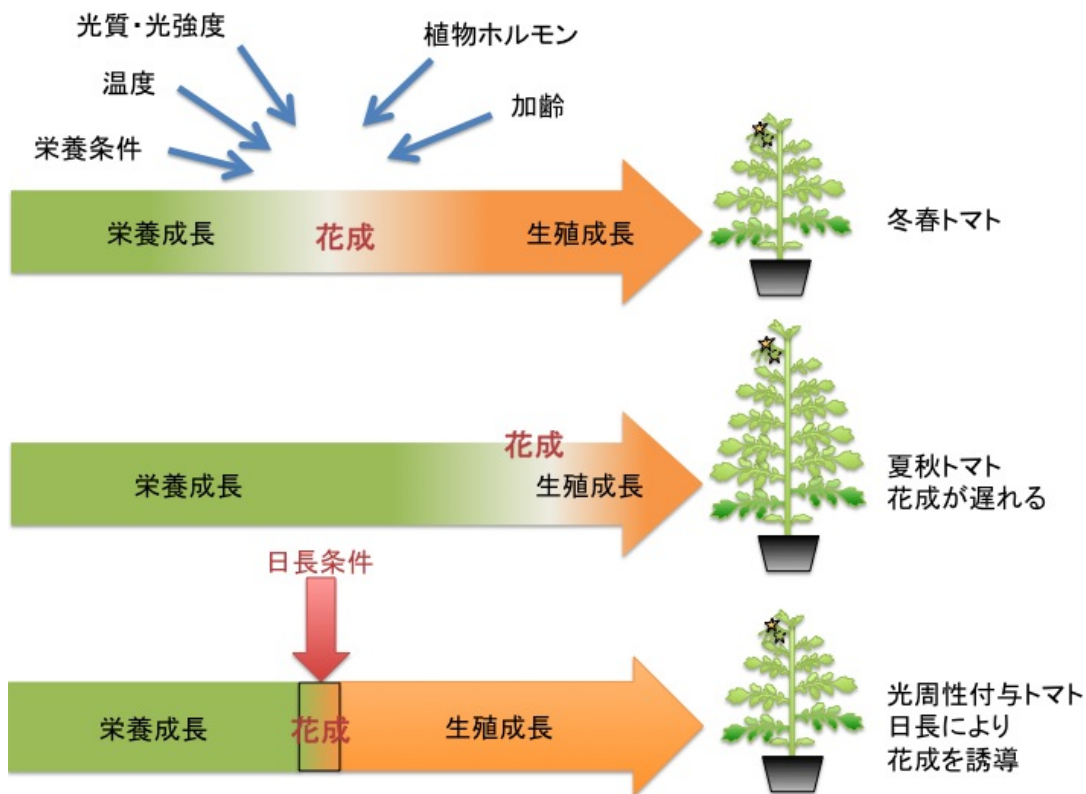


図3. 冬春トマト、夏秋トマト、光周性付与トマト、それぞれにおける花成の模式図

応で、短期間の誘導条件に暴露することで、花成が決定される。光周性付与トマトは、短日条件によって花成が誘導されるので、適切な短日処理によって、トマトの開花時期をコントロールすることができるようになる。トマトの開花時期をコントロールし、斉一的に結実、収穫することができれば、トマトの栽培管理において大幅な軽労化が実現する。

実験室レベルでは、適切な長日・短日処理によって、7-13枚の範囲で任意の節位に着花させることに成功した。今後、この光周性付与トマトが栽培現場で実用化可能かどうかの実証試験を行う計画である。

#### 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

植物を1日24時間連続した光照射下（連続光下）で生育させることは、単位時間あたりの光量の上限が定まっている完全人工光型植物工場等において、植物が必要とする光量（光エネルギー総量）を充足させる場合などに有効である。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り、生産コストの引き下げに有効な場合がある。

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。我々はこれまでにトマトの連続光障害を軽減させる栽培技術を開発することに成功しており（特願 2014-46986）、植物工場での実証試験を進めている。

また、連続光障害に耐容性を示すトマト品種を見いだしたことから、分子遺伝学的解析によって、原因遺伝子を特定し、連続光障害耐性品種の開発を進めたいと考えている。

## 平成 26 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)

後藤弘爾・田村勝徳(\*P)

中性植物トマトにおけるフロリゲンホモログ遺伝子 SP6A の機能解析  
第 37 回日本分子生物学会年会 11 月 25-27 日(横浜市)

田村勝徳・後藤弘爾 (\*P)

トマトにおける連続光障害の生理学的特性

第 14 回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム「進化する果樹育種」平成 26 年 11 月 14 日(金)  
(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

後藤弘爾・田村勝徳

チューベリゲンホモログ遺伝子のトマトにおける機能

第56回日本植物生理学会年会、2015年3月17-18日(東京)

### 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、国立大学法人 岡山大学、両備ホールディングス、(株) 日本医科器械製作所、オミクス利用による新世代栽培技術開発コンソーシアム

## 5. 外部資金獲得状況

- ・戦略的イノベーション創造プログラム（次世代農林水産業創造技術・農業のスマート化を実現する革新的な生産システム）（分担 後藤弘爾）
- ・平成 26 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）
- ・外部知見活用型・産学官連携研究事業（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）

TBS テレビ「ホワイト・ラボ」取材協力（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  
専門研究員 向原 隆文  
流動研究員 深松 陽介

## 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

## 中課題

県主要農作物の優良品種選抜を可能とする分子マーカーの開発研究

### [背景と目的]

ブドウや、モモ、ナスといった岡山県の主要農作物は、高品質でブランド農産物として全国から高い評価を受けている。これらの農作物のブランド力をさらに向上させるには、栽培管理技術の改善とともに、消費者ニーズに即した次世代品種の開発が欠かせない。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。また、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も、従来法では強力な抵抗性を持つ優良品種を開発することは難し

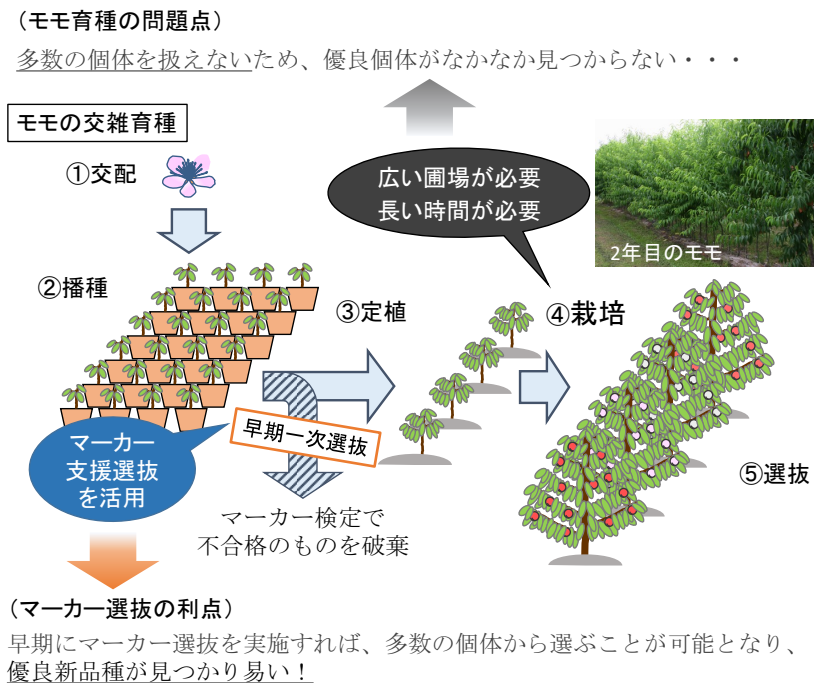


図1. モモの交雑育種の問題とマーカー選抜活用の利点

マーカー選抜法は幼苗で果実形質の判定を可能とするため、栽培の手間を増やさずにモモの大規模選抜ができる。

い。これに対し、近年開発されたマーカー育種選抜は、幼苗を含む広い生育段階で適用可能、栽培条件に左右されない、ヘテロ型も検出でき優秀な育種親を同定可能、複数の有用遺伝子を集積させやすいなどの優れた特徴を持ち、上記のような問題を抱える現在の育種を迅速化・効率化するのに極めて有効と期待されている。例えば、岡山ではモモの栽培が盛んであるが、「岡山白桃」のブランドで知られる果皮色の薄い白桃の優良新品種を育成するため、岡山県農林水産総合センター農業研究所で交雑育種が行われている、しかし、実を付けるまでに3年以上の長い年月がかかることや、人の背丈を超えるほど植物体が大きくなるため、大規模選抜が行えないことがモモ育種の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、手間のかかる定植以降の作業を増やさずに多数の個体から選抜することが可能になる。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。この手法を導入するには、育種目標に沿ったDNAマーカーを揃えることが必須である。

本研究課題は、県の重要作物であるモモおよびナスを主な研究対象に、実用的なマーカー育種選抜法を開発することを目的としている。特に、モモでは白桃の育種目標に合致するマーカーの開発を、ナスでは重要病害である青枯病に耐性をもつ台木品種の新しい選抜法を開発を目指している。

## [成果と今後の方針]

### 「モモ育種選抜マーカーの開発」

モモに関する研究では、「岡山白桃」の新品種育成に際して望まれる形質の中で、果皮色、果肉色、花粉稔性に着目し、選抜マーカーの開発を進めている。これらの形質は、「岡山白桃」のシリーズ化を目指して育種に取り組んでいる共同研究先の岡山県農林水産総合センター農業研究所からの要望に沿ったものである。

#### 1) 果皮色



#### 2) 果肉色



#### 3) 花粉稔性



### 果皮色マーカーの開発

果皮色は、消費者の購買意欲に関わる重要形質である。一般に、モモの果皮はアントシアニンが蓄積して赤く着色するが、全く赤くならない品種や、着色が弱い品種も少なからず存在する(図2)。岡山県では、果皮着色が少なく淡い色の白桃を生産するため、袋掛けによる生産技術が進んでいるが、新品種育成にあたっては「清水白桃」のような本来着色しにくい品種の開発が望まれる。しかし、交雑育種では、着色が弱い品種同士を交配させても、赤く着色する個体や、全く着色しない個体が生まれてしまい、育種効率が低下することから、果皮着色を判定するマーカーの開発が望まれていた。平成24年度以降、よく着色する品種(白鳳)と全く着色しない品種(華清水)の比較

図2. 研究対象とする「岡山白桃」の育種形質

解析を行い、着色しない品種はアントシアニン合成系が誘導されないこと、その原因はゲノムに多数存在する MYB 転写因子の一つ *MYB10.1* の誘導性欠失による可能性を明らかにした。白鳳と華清水の *MYB10.1* には多数の違いが見られる (図 3A) が、既存品種の *MYB10.1* の遺伝子型と果皮色の関係を調べたところ、非常に良い相関を示し、着色品種型と非着色品種型をヘテロに持つ個体は育種目標に合致した着色の弱い形質を示した。このことは、*MYB10.1* の遺伝子型をあらかじめ調べることで果皮色を予測できる可能性を示唆している。

そこで、岡山県農林水産総合センター農業研究所で栽培されている多数の交配樹を対象に、果皮色をどの程度予測できるか検証実験を行った。本年度に初めて着果する交配樹について、着果前にゲノムを抽出して *MYB10.1* の遺伝子型を調べ、その後成熟した果実の果皮色形質を観察して、その相関を解析した (図 3B)。果皮色は環境要因の影響を受けやすく、判定が難しいが、*MYB10.1* の遺伝子型と果皮色には概して関連があることが示された。着色品種型と非着色品種型をヘテロに持つ個体は9割以上が少着色から微着色の個体であり、特に2/3が清水白桃と同程度の着色程度であった。このことは、ヘテロ型の個体を選抜することで育種目標とする着色の薄い個体を高頻度で得ることができることを示している。但し、今回の結果は *MYB10.1* が果皮色を決める最も主要な因子であることを示唆しているものの、着色型をホモに持つ個体にも着色が薄い個体が多数含まれており、弱いながらも果皮色に影響する遺伝子が他に存在する可能性があると考えられる。

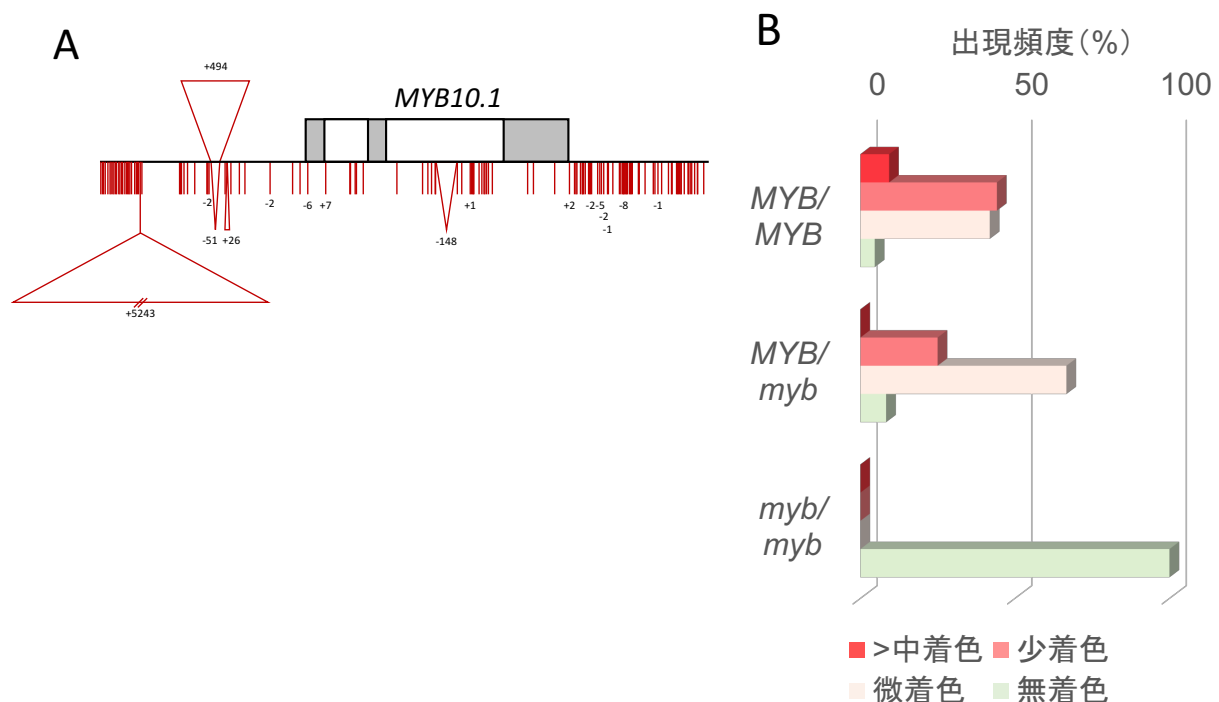


図 3. 交配樹を用いたマーカーの精度検定

A. 華清水 *MYB10.1* の変異部位。B. *MYB10.1* の遺伝子型と果皮色の相関。ヘテロ型のものは2/3以上が清水白桃と同程度 (微着色) の果皮色を示した。

## 果肉色マーカーの開発

モモは、果肉の白い白肉種と黄色い黄肉種がある。日本では白肉が生食用として好まれる傾向にあり、「岡山白桃」を含む大多数の栽培品種は白肉種である。しかし、交雑育種において白肉種同士を交配しても、しばしば黄肉の個体が生まれてしまい、育種効率を低下させる要因となっていた。そこで、果肉色を予測するマーカーを開発するため、平成 25 年度から白肉種（白鳳）と黄肉種（山手清水、ゴールドンピーチ）の比較解析に取り組んだ。その結果、カロテノイド分解酵素 *CCD4* が果肉色を決める遺伝子である可能性が示された。*CCD4* には正常型他、機能を失ったと考えられる二つの対立遺伝子が存在する（図 4A）。50 の既存品種を調べたところ、正常型の *CCD4* を持つ品種は白肉種であり、持たない品種は黄肉種に分類された。そこで、*CCD4* の遺伝子型を調べることで、本年度に初めて着果する交配樹の果肉色を予測してみたところ、白肉/黄肉を 100%の精度で予測することができた。このことは、*CCD4* が極めて優れた果肉色識別マーカーになることを示している。

*CCD4* はモモ以外にも多様な植物の色に関わると推察される。実際、岡山が全国第 3 位の栽培面積を誇るスイートピーは花弁が黄色の品種がないが、野生近縁種である *Lathyrus belinensis* や *L. chloranthus* の花弁はカロテノイドを蓄積し、黄色を示す。この違いに *CCD4* が関わる可能性を示すデータを得た。現在、実験を詰めているところであり、詳細は来年度以降に示したい。

以上のように、選抜 DNA マーカーの開発を目指して、これまでモモの果皮色と果肉色に関する遺伝子解析に取り組んできた。得られた研究成果を実際の育種現場で活用することが重要であることから、農業研究所で平成 26 年度に交配・播種し実生にまで生育した 173 の個体についてマーカー判定を行った。非着色品種型の *MYB10.1* をホモに持つ個体および機能欠損型の *CCD4* をホモに持つ個体は、それぞれ果皮が非着色および果肉が黄色になると予想され、白桃に明らかに不適と推察されるため、解析結果を定植前に農業研究所に連絡し、育種の効率化に役立ててもらったこととした。

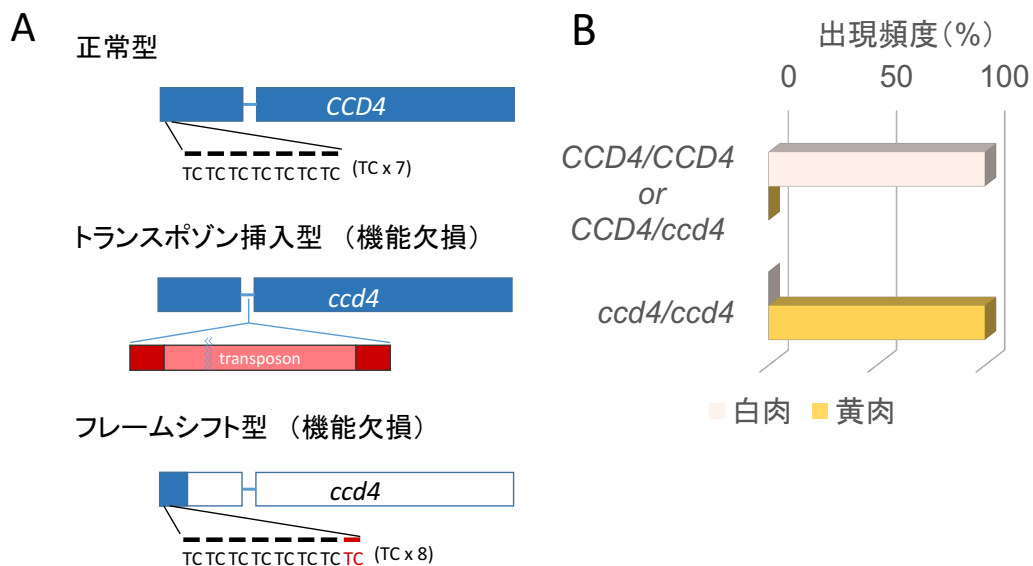


図 4. モモに見られる *CCD4* 遺伝子の構造と果肉形質の予測

A. *CCD4* 遺伝子の正常型と 2 つの機能欠損型アレル。B. 交配樹における *CCD4* の遺伝子型と果肉色の相関。変異の有無を指標にすることで果肉色を 100%予測できた。

## 稔性識別マーカーの開発

この他、稔性識別マーカーを開発するため、花粉稔性遺伝子 ( $P_s$ ) が座乗している第 6 連鎖群上腕近辺の高密度 SSR マーカーを作製した。これを活用して 35 品種の染色体構造と稔性形質を比較し、 $P_s$  の遺伝子座を絞り込んだ。平成 27 年度は、不稔品種 (白桃) のゲノム解析や花粉での遺伝子発現を調べ、さらに解析を進める予定である。

## 「ナス青枯病抵抗性マーカーの開発」

ナスに関する研究では、難防除性病害の「青枯病」に強い新品種の作出を目的に、青枯病抵抗性育種母本の解析を行っている。ナス科作物の青枯病抵抗性は複数遺伝子に支配されており、現状では交配育種による抵抗性集積が困難である。この問題を打破するため、これまで広く利用されて来たナス台木品種を材料に青枯病抵抗性の実体解明に取り組んできた。昨年度の研究から、ナス台木が青枯病菌の病原因子であるタイプ III エフェクターを特異的に認識して強い病害抵抗反応を誘導すること、認識するエフェクターの違いから病害抵抗性の特性を理解できることが明らかとなった (図 5)。

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示す良い指標となるため、エフェクターを抵抗性品種の選抜に利用するエフェクター支援選抜 (effector-assisted selection) の有効性が近年様々な作物で指摘されている。我々は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蓄積を有しており、今年度から青枯病抵抗性育種母本として期待が高いナス野生種やトウガラシ野生種、トマト青枯病抵抗性系統の抵抗性解析に軸足を移した。具体的には県独自品種の作出に向けた新規育種マーカーの開発や青枯病抵抗性遺伝子の同定を目的に、これら抵抗性系統が認識する青枯病菌エフェクターをそれぞれ特定し、エフェクター支援選抜の基盤整備を進めている (図 6)。現在、いくつかの抵抗性系統で認識する Avr エフェクターが同定されつつあるが、知的財産権取得の関連で詳細については次年度以降の年報で述べさせていただきたい。

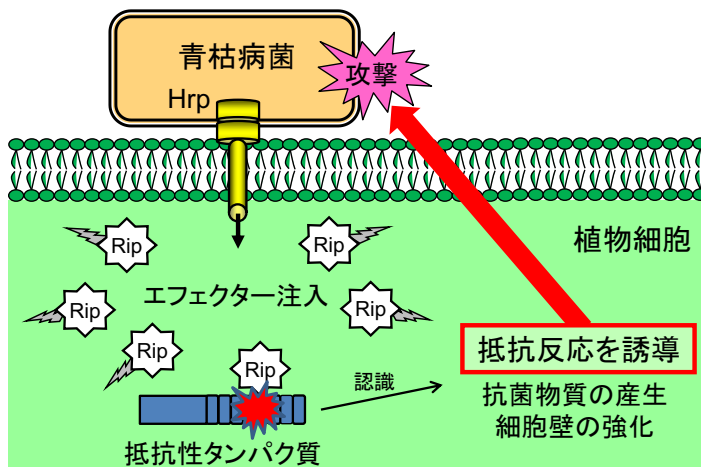


図 5. ナス台木の青枯病抵抗性

青枯病菌は植物に感染するとタイプ III 分泌装置 (Hrp) から病原性エフェクター (Rip) を宿主細胞内に注入する。青枯病抵抗性台木は抵抗性 (R) タンパク質でエフェクターを認識し、強い病害抵抗反応を誘導する。R タンパク質の種類により、認識するエフェクターは異なる。

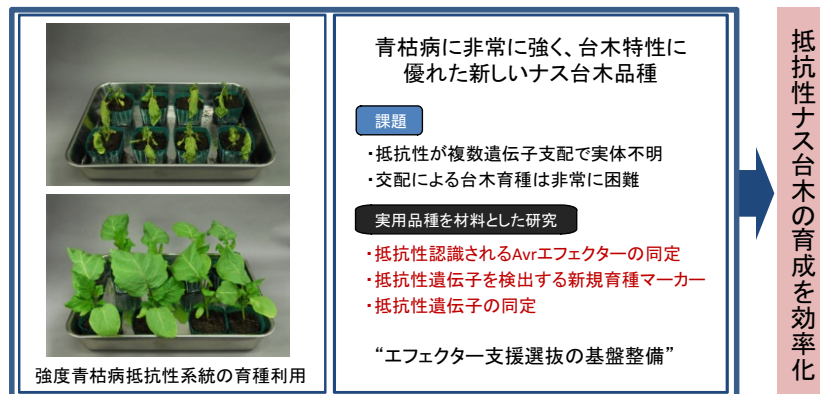


図 6. ナス台木育種の問題点とエフェクターを活用した新たな育種技術の開発

一般的に、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、病原菌はエフェクターをはじめとする病原因子でこれを抑制する。我々は青枯病菌が植物感染時に約 70 種類ものエフェクター（Rip と命名）を宿主細胞に注入していることを明らかにしており、新規な耐病性育種法の開発を目的に重要なエフェクターの機能解析も並行して行っている。その過程で、病原菌エフェクターの制御法開発につながる可能性がある新知見を得たので以下に紹介する。

本年度の研究から、青枯病菌の Rip55 エフェクターが宿主細胞内で  $\gamma$ -グルタミルシクロトランスフェラーゼとして働き、植物の病害抵抗反応に必須なトリペプチド、グルタチオン（GSH）を特異的に分解することを見いだした。Rip55 の GSH 分解活性は既知の  $\gamma$ -グルタミルシクロトランスフェラーゼと比較して数十倍も高く、酵母細胞内で発現させた場合には細胞内 GSH を枯渇させて細胞増殖を停止させるほど強力であった（図 7A）。興味深いことに、大腸菌で発現させた Rip55 組換えタンパク質は GSH 分解活性を示さず不活性型であったが、植物や酵母由来の細胞抽出液を加えると活性型となり、強い GSH 分解活性を発揮した（図 7A）。Rip55 の GSH 分解活性が宿主因子により特異的に活性化されることが考えられたため、Rip55 を活性化する植物因子を探索したところ、チオレドキシシンが同定された。Rip55 は植物の細胞質に豊富に存在する h 型チオレドキシシンで強く活性化されたが、青枯病菌が持つ細菌型チオレドキシシンでは全く活性化されなかった（図 7B）。

このことから、病原菌の化学的生体防御で重要な役割を果たす GSH を自身の細胞内では壊さないように、Rip55 のグルタチオン分解活性が厳密に制御されていること、宿主細胞内に豊富に存在する植物チオレドキシシンを活性化因子として利用することで Rip55 が宿主細胞内の GSH を選択的に分解できることが明らかとなった（図 8）。

これまで、宿主と病原菌に共通な細胞成分を標的とするエフェクターでは病原菌自身の生育に支障が無いように活性が厳密に制御されているだろうと推測されていたが、本研究から、実際にそれを担う宿主因子の一つが植物チオレドキシシンであることが明らかとなった。病原菌のエフェクター遺伝子は細菌間で頻繁に水平移動しており、この「チオレドキシシンスイッチ」は青枯病菌のみならず他の植物病原細菌のエフェクターにも備わっている可能性が高い。本スイッチを不活性化する方法を開発することで病原菌が感染に利用する複数のエフェクターを同時に不活性化し、植物を病害から保護できる可能性が考えられる。

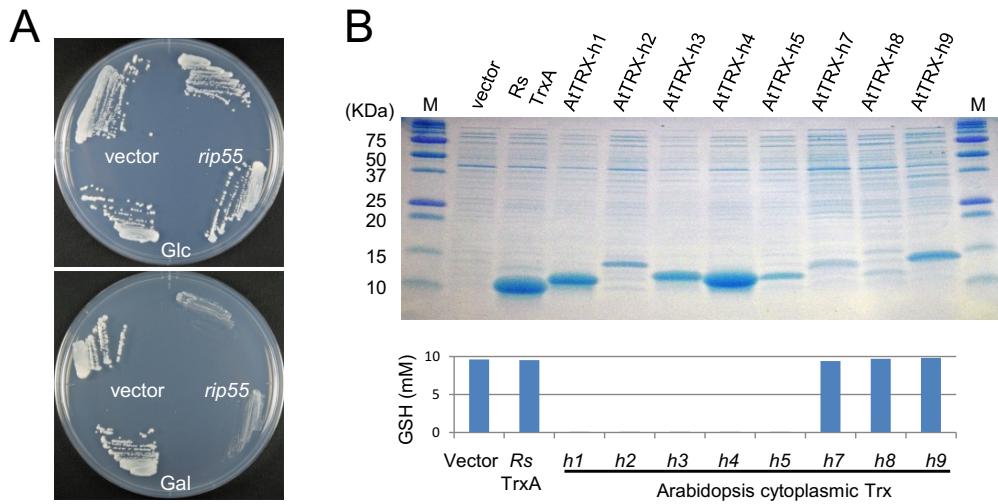


図 7. 青枯病菌のグルタチオン (GSH) 分解エフェクターRip55

A. Rip55 を発現する出芽酵母の表現型。Rip55 の発現誘導培地 (Gal) では酵母の細胞増殖が著しく阻害される。B. 大腸菌で作出した Rip55 組換えタンパク質の GSH 分解活性。各種チオレドキシ存在下での基質 (10mM GSH) 分解を示す。Rip55 の GSH 分解活性は青枯病菌由来の細菌型チオレドキシ (RsTrxA) では活性化されないが、植物の細胞質型チオレドキシ (AtTRX-h) のうち細胞質中に豊富に存在する AtTRX-h1~AtTRX-h5 により強く活性化される。

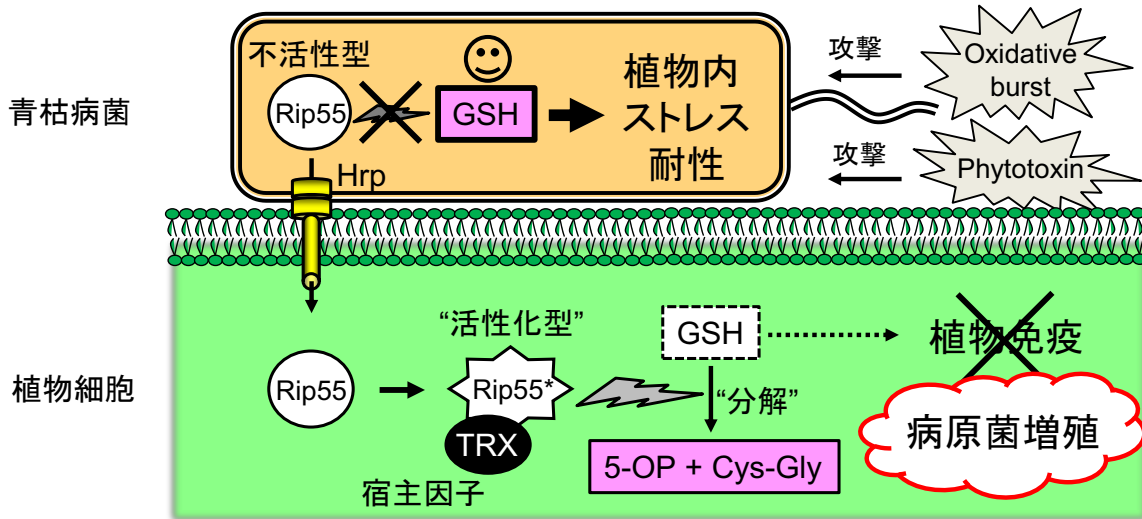


図 8. 植物チオレドキシによる GSH 分解エフェクター (Rip55) の宿主特異的な活性化

青枯病菌は植物に感染すると Hrp から Rip55 を宿主細胞内に注入する。Rip55 は植物チオレドキシとの相互作用で活性化され、宿主細胞内の GSH を分解する。植物の病原菌に対する自然免疫応答は GSH の枯渇により阻害され、その結果、病原菌の増殖が可能となる。Rip55 は細菌チオレドキシでは全く活性化されないため、病原菌自身の細胞内では不活性型で維持されて GSH を分解しない。このため、病原菌は植物体内で受ける酸化ストレスや抗菌物質による攻撃に GSH を利用して対抗できる。

これまで、宿主と病原菌に共通な細胞成分を標的とするエフェクターでは病原菌自身の生育に支障が無いように活性が厳密に制御されているだろうと推測されていたが、本研究から、実際にそれを担う宿主因子の一つが植物チオレドキシシンであることが明らかとなった。病原菌のエフェクター遺伝子は細菌間で頻繁に水平移動しており、この「チオレドキシシンスイッチ」は青枯病菌のみならず他の植物病原細菌のエフェクターにも備わっている可能性が高い。本スイッチを不活性化する手法を開発することで病原菌が感染に利用する複数のエフェクターを同時に不活性化し、植物を病害から保護できる可能性が考えられる。

今後は、ナス科作物で有望視されている青枯病抵抗性育種母本の解析を進め、抵抗性植物が認識する Avr エフェクターを利用して抵抗性遺伝子を検出する育種マーカーを各母本で整備したい。また、ゲノム情報の解析が進んだ植物種については、抵抗性遺伝子領域の絞り込みを行い、抵抗性遺伝子の同定まで行いたい。目的の青枯病抵抗性遺伝子と対をなす Avr エフェクターの情報は、目的遺伝子を特定する際に非常に強力なツールになると期待される。これら新規な育種マーカー及びエフェクター活性化スイッチの不活性化手法の開発を通じて、青枯病に耐性を持つ実用品種を効果的に選抜する新手法を開発したいと考えている。

## 平成 26 年度の活動

### 1. 報文(総説・原著論文等)

Nahar, K., Matsumoto, I., Taguchi, F., Inagaki, Y., Yamamoto, M., Toyoda, K., Shiraiishi, 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エフェクターを非病原力因子 (Avr) として認識し、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。

小田賢司「白桃選抜マーカーの開発」果実日本、第 70 巻第 2 号 29-32 頁 (2015)、日本園芸農業協同組合連合会

概要：白桃を選抜するために開発した果皮色識別マーカーと果肉色識別マーカーの紹介。

一瀬勇規、田口富美子、向原隆文「*Pseudomonas syringae* の病原性と病原力因子」日植病報、第 80 巻 特集号 97-103 頁(2014)

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



守谷知恵、小田賢司、坪井誠二「低酸素ストレスに対するイネの初期応答遺伝子群の解析」就実大学薬学雑誌 第1巻 51-56頁 (2014)

概要：イネの実生に低酸素ストレスを与え、マイクロアレイにより発現が変わる遺伝子を網羅的に解析した。

## 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 (\*招)

白桃選抜マーカーの開発

平成26年度落葉果樹研究会、平成27年2月4日(つくば)

小田賢司

白桃選抜マーカーの開発

第14回RIBSバイオサイエンスシンポジウム、平成26年11月14日(岡山)

小田賢司、田村隆行、日原誠介

モモの果皮着色に関わるMYB転写因子

日本農芸化学会2015年度大会、平成27年3月28日(岡山)

小田賢司 (\*P)

白桃の育種選抜マーカーの開発

平成26年度県立研究機関協議会研究交流発表会、平成27年2月18日、岡山

向原隆文 (\*招)

青枯病菌における宿主域拡大の分子機構

第26回植物細菌病談話会、平成26年10月9-10日(岡山)

向原隆文、畑中唯史、小田賢司

宿主細胞内グルタチオンを標的とする青枯病菌III型エフェクターの同定

平成26年度日本植物病理学会大会、平成26年6月2-4日(北海道)

向原隆文、小田賢司 (\*P)

ナス科植物青枯病菌における宿主域拡大の分子機構

第14回RIBSバイオサイエンスシンポジウム、平成26年11月14日(岡山)

向原隆文、畑中唯史、小田賢司

真核細胞チオレドキシンの青枯病菌グルタチオン分解酵素エフェクターの活性化

平成27年度日本植物病理学会大会、平成27年3月28-31日(東京)

深松陽介、森本泰史、小田賢司（\*P）

スイートピーと黄色野生種のカロテノイド代謝遺伝子の比較解析

第 14 回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム、平成 26 年 11 月 14 日（岡山）

前田哲、Joseph G. Dubouzet、近藤陽一、小田賢司、松井南、廣近洋彦、森昌樹

イネ FOX シロイヌナズナ系統を用いた *R.solani* 抵抗性遺伝子 *OsPSR1* の同定

日本育種学会秋季大会（第 126 回講演会）、平成 26 年 9 月 27 日（宮崎）

Satoru Maeda, Joseph G. Dubouzet, Youichi Kondou, Takanari Ichikawa, Kenji Oda, Minami Matsui, Hirohiko Hirochika, Masaki Mori

Identification of a Novel Gene Conferring Resistance to *Rhizoctonia solani* in Arabidopsis and Rice by FOX-hunting

XVI International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions、平成 26 年 7 月 6–10 日、ギリシャ

### 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

- ・外部知見活用型・産学官連携研究事業（代表 小田賢司）
- ・科学研究費補助金・基盤 C（代表 向原隆文）
- ・戦略的イノベーション創造プログラム（次世代農林水産業創造技術）（分担 向原隆文）

### 6. その他（社会貢献）

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）

日本農芸化学会 2015 年度大会実行委員（小田賢司）

第 26 回植物細菌病談話会開催世話人（向原隆文）

## 植物免疫研究グループ

専門研究員	鳴坂 義弘
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	宮本 雅美
実験補助員	二枝 翔子（平成 26 年 9 月～）
実験補助員	渡邊 千愛（～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、地球規模での気象変動による農業への影響が危惧されている中で、環境に配慮した持続可能な農業が推進されている。岡山県では、「環境にやさしい農業(環境保全型農業)」とは、技術的観点から『有機物の土壌還元などによる土づくりと合理的作付体系を基礎として、化学肥料、農薬などの効率的利用により、これら資材への依存を減らすことなどを通じて環境保全と生産性向上などの調和のもとに、幅広く実践が可能な農業』と定義づけている。また、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。

岡山県では安心安全で付加価値の高い農産物を生産するため、国に先駆けて有機無農薬農産物の認証制度をスタートさせ、有機物の土壌還元などによる土づくりと合理的作付体系などを基礎として、農薬、化学肥料を使用しない有機無農薬農業の推進に取り組んでいる。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および、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。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、作物の病気およ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している。また、研究成果について、県

民にわかりやすく伝えるための研修の実施、マスメディアを通じた広報活動、関連学術分野の発展のために学術論文の公表および学界発表を行っている。さらに、企業と連携して研究成果の社会実装をめざしている。

## 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え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（表 1）。

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便かつ迅速な選抜法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（図 1）。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。

表 1 殺菌剤とプラントアクティベーターの特性の比較

病害防除剤(殺菌剤)		プラント アクティベーター
ターゲット	病原菌 (殺菌性、生育阻害)	植物自身の 防御システム
効果の持続性	短い	長い
対象病害	限定的	広範囲
環境への影響	?	小さい
耐性菌の出現性	高い	無い

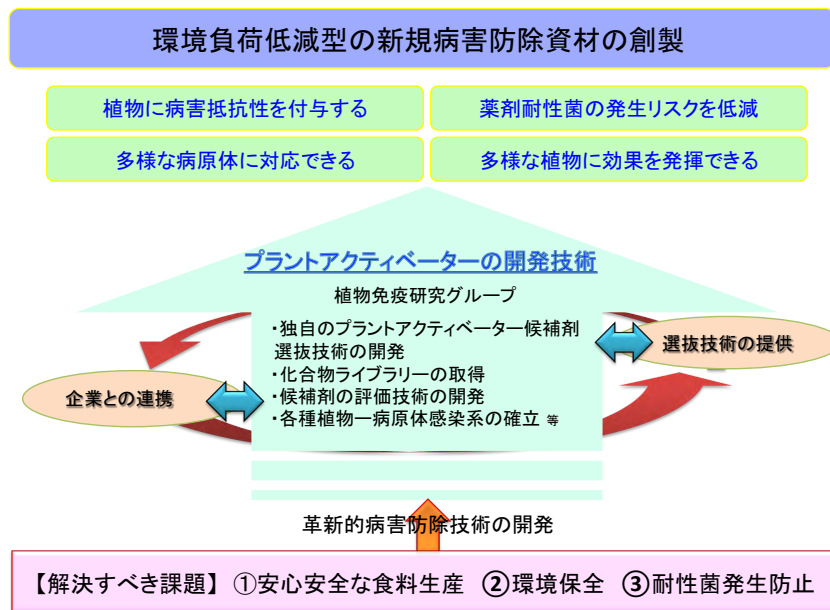


図 1. 環境にやさしい新規病害防除資材の開発の概略図

### [成果と今後の方針]

#### (i) プラントアクティベーター候補剤の簡便かつ迅速な選抜法の開発と提供

プラントアクティベーターは従来の農薬に比べて開発が難しく、これまで効率的かつ効果的な資材の選抜方法がなかったが、植物の有名な防御応答遺伝子 *PR-1* および *PDF1.2* の発現を免疫力向上の指標として簡便かつ迅速に選抜する方法を新たに確立した。このことにより、ハイスループットスクリーニング法を活用し、多数の種類化合物（資材）についてもプラントアクティベーター候補として有望な資材を評価することが可能となった。また、企業などからの資材の提供を受け（例えば、農薬会社などが所有する化合物や食品製造過程で産出される副生物「もろみ、しいたけ、マッシュルームなどの菌床、焼酎粕」など）、利用されていない資材についてプラントアクティベーター候補としての評価を行い、商品の開発に結びつけることが可能である。

本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。本成果は産学官連携やオープンイノベーションをめざしてイノベーションジャパン 2014 で発表するとともに報道発表を行った（図 2）。

#### (ii) 作物において抵抗性誘導効果を評価するためのマーカー遺伝子の取得

プラントアクティベーターの効果を評価するため、作物の“免疫力”を測定するマーカーの開発を試みた。

重要病害であるアブラナ科野菜類炭疽病菌が感染するアブラナ科作物のハクサイにおけるマーカー遺伝子を探索し、サリチル酸防御シグナル伝達経路上に位置するマーカー遺伝子 *BrPR-1* を得た。

重要病害であるウリ類炭疽病菌が感染するウリ科作物のキュウリにおけるマーカー遺伝子を探索し、防御シグナル伝達経路上に位置するマーカー遺伝子 *CsPR-1*、*CspCS1*、*CsCup1*、*CsCHI* を得た。



図2. プラントアクティベーター候補剤の簡単、迅速な選抜法に関する報道  
(平成26年9月21日の山陽新聞朝刊から引用)

重要病害であるイチゴ炭疽病菌が感染するバラ科作物のイチゴにおけるマーカー遺伝子を探索し、複数の防御シグナル伝達経路上に位置するマーカー遺伝子 *FaGLN2*、*FaTLP* を得た。

### (iii) 化合物群の選抜・評価による高い抵抗性誘導能を有する候補剤の取得と作物における炭疽病防除効果の評価

独自に開発したプラントアクティベーターのスクリーニングシステムにより、植物の免疫力を高める化合物をスクリーニングした。一次スクリーニングで取得した約 50 の化合物について、アブラナ科のモデル実験植物のシロイヌナズナに感染するアブラナ科野菜類炭疽病菌の感染を防除する化合物を選抜し、数種の候補化合物を得た。これらの化合物で処理したシロイヌナズナでは防御応答のマーカー遺伝子の発現が強く誘導され、免疫力の向上が認められた。このうち、構造展開が可能な新規低分子化合物 A-1 を候補剤とした。

研究成果の早期の社会実装をめざすため、本化合物の作物における炭疽病の防除効果を評価した。まず、プラントアクティベーター候補化合物 A-1 を処理したアブラナ科作物のハクサイにおけるアブラナ科野菜類炭疽病の防除効果を評価した結果、10ppm から抑制効果が認められ、100ppm ではほぼ完全に感染を抑制した (図3)。

次いで、イチゴに甚大な被害をもたらすイチゴ炭疽病に対する防除効果を検討した。A-1 で処理したイチゴにおけるイチゴ炭疽病の防除効果を評価した結果、化合物 A-1 処理区は、対照区に対し有意に炭疽病の発病を抑制した (図3)。

以上により、候補化合物 A-1 は異なる科の作物において異なる種の炭疽病を効果的に防除できることが明らかになった。現在、本プラントアクティベーター候補化合物について農薬登録に向けた詳細な解析を行っている。

**新規プラントアクティベーター候補化合物の処理により  
重要病害の炭疽病の防除に成功！**



図3. プラントアクティベーター候補剤の病害防除効果

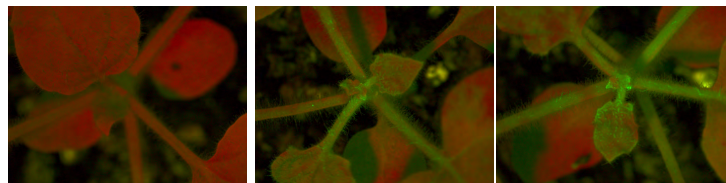
(iv) 難防除病害の植物ウイルス病を防除するプラントアクティベーターの開発研究

植物ウイルス病による世界的な作物生産損失額は5兆円を超えると予想されている。しかしながら、植物ウイルスに効果的な化学農薬は存在しない。このような状況を打破するために、多種多様なウイルスに対する革新的な防除技術を開発する必要がある。本課題では、植物の免疫力を向上することで植物ウイルス病を防除するプラントアクティベーターの開発を試みた。

**TMV:GFP接種によるウイルスの感染**



**ToMV:GFP接種によるウイルスの感染**



無接種

\* 感染部位がGFPにより緑色の蛍光を発している。

図4. プラントアクティベーター候補剤の病害防除効果

タバコモザイクウイルス(TMV)またはトマトモザイクウイルス(ToMV)が感染すると蛍光蛋白質(GFP)が光るような仕組みを構築した (TMV:東京大学提供、ToMV:農業生物資源研究所提供)。上記写真の緑色に光っている部位にウイルスが感染している。

連携企業において独自の技術および企業方針によって構築した化合物ライブラリーを当研究グループが独自の技術により選抜し、抵抗性誘導活性を持つ新規骨格の化合物候補を得た。本候補化合物について、ナス科作物における重要な植物 RNA ウイルス病であるタバコモザイクウイルス(TMV)およびトマトモザイクウイルス(ToMV)に対する評価を行った。その結果、候補化合物 AI は有意にウイルスの増殖を抑制した。また、生物由来の資材が植物の病害（糸状菌、細菌、ウイルス病）を防除するとの知見を得た。現在、以上の資材について早期の社会実装をめざした開発を行っている（図 4）。

#### （v）酵母細胞壁を利用した病害防除技術の開発

酵母およびその抽出物は発酵食品（パン、ビール、酒、ワイン、醤油、味噌など）、調味料や医薬品の原料、化粧品、家畜の飼料などあらゆる分野で使用されているが、酵母の細胞壁はこれまで有効に活用されていなかった。植物は、病原菌の細胞壁由来の物質を認識することで、種々の病害虫に対する抵抗反応を誘導することが知られている。当研究グループは病原菌の細胞壁と酵母の細胞壁が類似していることに着目し、植物に酵母細胞壁を散布したところ、植物が病原菌の攻撃を受けたと「勘違い」して免疫力が増強され、病気に罹りにくくなることを発見した。研究では、モデル実験植物シロイヌナズナにアブラナ科植物に感染する重要病害の黒斑細菌病菌を接種したところ、酵母細胞壁を散布したものは健全であったが、散布していないものは葉に褐色斑点の発生や黄変するなどの病徴が出た。同様にアブラナ科作物においても同様の結果が得られた。現在、酵母の細胞壁を利用した病害防除剤の実現に向けた研究開発を進めている。

\* 注釈 1 …現時点では、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および使用はできません。

\* 注釈 2 …本成果は平成27年4月12日の山陽新聞朝刊に掲載および平成27年4月20日の山陽放送イブニングニュースで報道されました。

#### （vi）今後の展望

現在、作物の病害防除は殺菌性の化学合成農薬に大きく依存しているが、国民の環境保全意識の高まりから環境低負荷型の病害防除技術の開発が求められている。一方で、近年、病原体の薬剤耐性の発達が深刻化しており、この状況を放置すれば使用できる薬剤の枯渇が懸念されている。農薬の開発には 10 年以上の年月と数十億円以上の経費を要する。しかし、近年開発される農薬は環境や対象外生物に影響が低く選択的に作用するものが多く、対象生物の変異による耐性菌発生のリスクが高くなる傾向にある。そのため、新剤の開発から数年足らずで耐性菌が発生し、市場から撤退することになる。このようなことから、新剤の開発には多大なコストと、リスクを生じ、これが販売価格に上乗せされている。この問題を解決するため、耐性菌の発生リスクが極めて低いプラントアクティベーターと既存の病害防除剤を組み合わせることで耐性菌発生のリスクを回避し、作物を多重に感染防御する技術を開発し社会実装する。



## 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製が進んでいる。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5）。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、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。

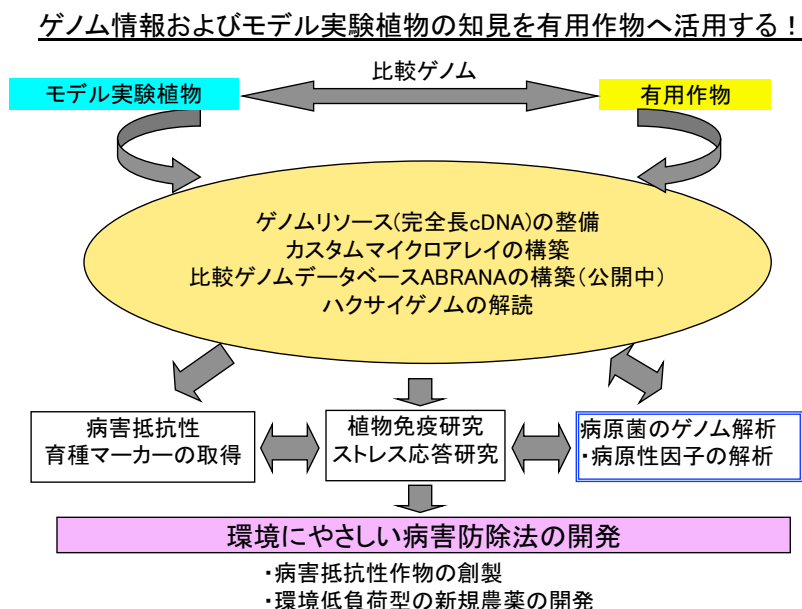


図5. ゲノム情報を利用した研究戦略

#### [成果と今後の方針]

##### (i) デュアル抵抗性遺伝子システムへの移植による耐病性作物の分子育種

植物の病原体に対する抵抗反応は、Flor氏が唱えた遺伝子対遺伝子説により、植物の抵抗性(R)遺伝子と、対応する病原体の非病原性(Avr)遺伝子の1対1の組み合わせによって決定されると考えられている。しかし、植物のゲノム上には約150から数百程度の抵抗性遺伝子しか存在せず、地球上に存在する10万種以上の多様な微生物に対する抵抗性はどのようなメカニズムによって発揮されているのかは不明であった（図6）。

私たちは、シロイヌナズナのゲノム上で隣接する異なる2つのR遺伝子(RPS4とRRS1)がセットで、

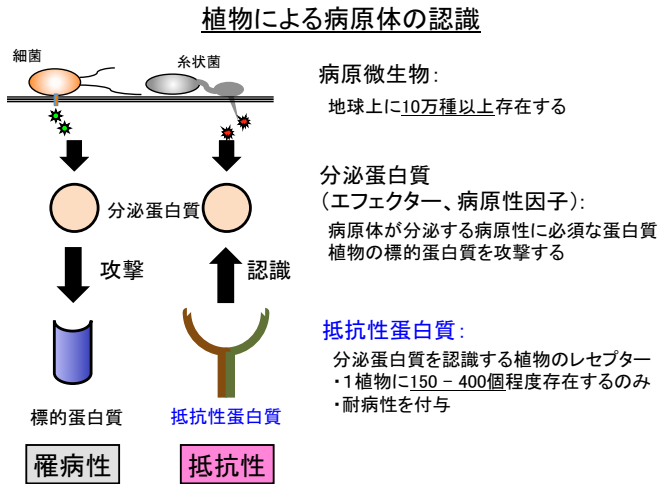


図 6. 植物による病原体の認識機構の概略図

異なる4種の病原体(アブラナ科野菜類炭疽病菌 *Colletotrichum higginsianum*、ウリ類炭疽病菌 *Colletotrichum orbiculare*、トマト斑葉細菌病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 expressing *avrRps4*、青枯病菌 *Ralstonia solanacearum*)の攻撃を認識して抵抗反応を起動することを世界に先駆けて発見し、植物による病原体の認識と応答反応における新説“デュアル抵抗性(R)蛋白質システム”を提唱した(図7)。本研究により、植物の免疫系も動物と同様に少ない遺伝子を組み合わせることにより多様な病原体を認識して防御系を発動していることを分子レ

ベルで明らかにした。

本課題では、デュアル抵抗性遺伝子を複数の作物(キュウリ、トマト、タバコ、イネ、イチゴなど)へ導入し形質転換体を作成した。その結果、これら形質転換体が炭疽病、青枯病または細菌病に抵抗性を示すことを明らかにし、複数の病害に対する抵抗性作物の創出に成功した。これはシロイヌナズナ由来のデュアルR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。特に本年度はデュアル抵抗性遺伝子を導入したコマツナが重要病害の青枯病に抵抗性になることを発見し報道発表(図8)した。さらに、これら形質転換体において本形質(病害抵抗性)が次世代においても安定的に維持されることを明らかにした。

**デュアル抵抗性蛋白質システムを用いた分子育種に成功!**

- 革新的発見:2種の抵抗性蛋白質によって4種の病原体を認識
- 国際特許成立、国内特許成立

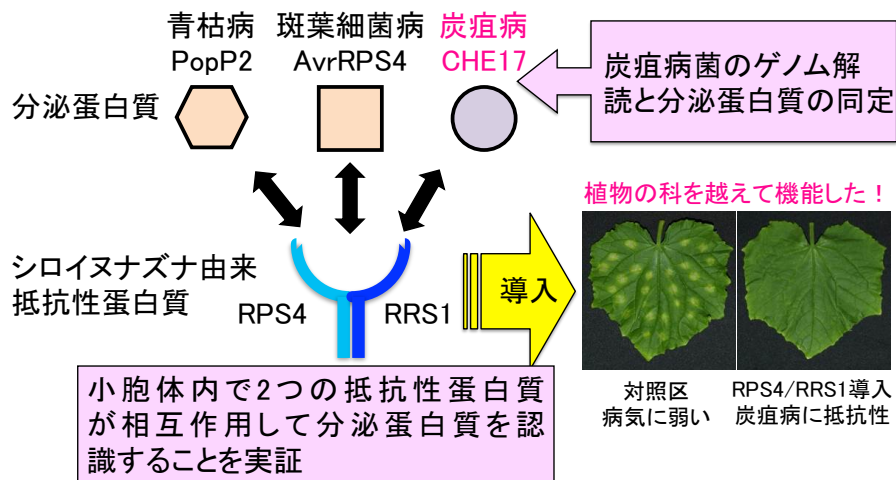


図 7. デュアル抵抗性蛋白質システムの発見とこれを利用した病害抵抗性作物の創製



図 8. デュアル抵抗性遺伝子を導入した青枯病耐性作物に関する報道 (平成 26 年 6 月 10 日の産経新聞朝刊から引用)

これまでに *R* 遺伝子を利用した分子育種が試みられてきたが、(1)現在までに発見された *R* 遺伝子は植物の科(family)を超えて機能しない(2)作物への *R* 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。本研究において、モデル実験植物シロイヌナズナ由来のデュアル抵抗性蛋白質システムが農作物（コマツナ、ナタネ、トマト、タバコ、キュウリ）においても機能することが明らかになったことより、ゲノムが解読された植物におけるデュアル抵抗性遺伝子の検索と、これを用いた新規病害抵抗性作物の育種法の開発、耐病性育種のための遺伝子資源の確保に大いに貢献できる。既に複数の植物種（イネ、タバコ、ハクサイなど）においてもデュアル *R* 遺伝子セットが発見されており、モデル植物において蓄積された植物免疫の知見が様々な植物において応用されることが期待できる。デュアル抵抗性作物は欧州などで権利化しており、世界的な開発が期待できる。

(ii) デュアル抵抗性蛋白質によるエフェクター認識および抵抗性誘導機構の解明

デュアル抵抗性蛋白質システムを構成する2つの抵抗性蛋白質 *RPS4* と *RRS1* が抵抗性発現に重要であることを明らかにした。また、本蛋白質の検出系を開発し、その成果を受けてデュアル抵抗性蛋白質が共にミクロソーム画分に局在することを明らかにした。さらに、これら蛋白質が病原菌が分泌する蛋白質（*Avr* エフェクター）を認識していることを明らかにした。また、*RRS1* を構成するモチーフ(\*3)のうち、*P-loop* モチーフは抵抗性発現に重要であり、*Leucine zipper* および *WRKY* モチーフがデュアル抵抗性蛋白質システムにおける抵抗性発現を制御していることを明らかにした。

次いで、世界的な重要病害である炭疽病の防除を目的として、炭疽病菌の収集とゲノム解析を行った。調理・加工用トマトなどに感染しているトマト炭疽病菌を単離するとともに、ダイコン炭疽

病菌 3 種、シソ炭疽病菌 2 種、ブドウ晩腐病菌 2 種を得、共同研究によりゲノム解読と分類に成功した。さらに、ウリ類炭疽病菌およびアブラナ科野菜類炭疽病菌のゲノム情報を利用してアブラナ科炭疽病菌の分泌蛋白質（病原性因子）の網羅的な取得をめざし、300 種以上の分泌蛋白質の取得に成功した。現在、これら分泌蛋白質の機能解析を行っている。

\* 注釈 3…モチーフとは各種の蛋白質のアミノ酸配列中に認められる小さい構造部分であり、機能を持った存在である。

### (iii) 今後の展望

作物の病害防除は殺菌性の化学合成農薬に大きく依存しているが、国民の環境保全意識の高まりから環境低負荷型の病害防除技術の開発が求められている。一方で、病原菌の薬剤耐性の発達が深刻化しており、この状況を放置すれば使用できる薬剤の枯渇が懸念されることから、特定の防除技術だけに頼らず、病害の発生状況に応じて、様々な防除法を組み合わせた総合的な病害防除技術を確立する必要がある。私たちが発見した“デュアル抵抗性蛋白質システム”による「迅速」かつ「安定的」な病害抵抗性作物の分子育種技術の実用化は、省農薬化および作物増産を同時に推し進めることが期待できる。

また、*Colletotrichum*属菌による病害は600種以上知られており、特にイチゴ炭疽病（国内の被害額35～160億円/年）、トウモロコシ炭疽病（トウモロコシ全生産量の約6%の減収要因、米国の被害額1200億円/年）、ウリ類炭疽病、アブラナ科野菜類炭疽病の防除は世界的に重要な課題である。デュアル抵抗性蛋白質システムの作物への導入より炭疽病菌の防除が期待できることから、本成果は、*Colletotrichum*属菌を含む病原糸状菌の制御に対して、大きなインパクトをあたえ、その甚大な被害の低減につながることを期待でき、かつ、病害抵抗性作物のゲノム育種技術の確立に大きく貢献する。

近年、様々な植物のゲノムが解読され、各植物のゲノムに存在する推定デュアル抵抗性遺伝子の存在が明らかになりつつある。これらデュアル抵抗性遺伝子を収集し、遺伝子組み換えに依らない伝統的な育種の遺伝子マーカーとする。また同時に、海外の隔離圃場を利用して、デュアル抵抗性遺伝子を導入した作物の実証試験を行い、開発途上地域の農作物などの生産性向上・安定生産のための耐病性品種の開発および病害防除技術の開発に寄与する。さらには、NBT（New Plant Breeding Techniques）を用いたデュアル抵抗性遺伝子の改変による病害抵抗性付与技術の開発も想定される。

## 平成 26 年度の活動

### 2. 報文（総説・原著論文など）

Shinya, T., Yamaguchi, K., Desaki, Y., Yamada, K., Narisawa, T., Kobayashi, Y., Maeda, K., Suzuki, M., Tanimoto, T., Takeda, J., Nakashima, M., Funama, R., Narusaka, M., Narusaka, Y., Kaku, H., Kawasaki, T., and Shibuya, N.  
Selective regulation of the chitin-induced defense response by the *Arabidopsis* receptor-like cytoplasmic kinase PBL27.  
*Plant J.*, 79: 56-66 (2014)

**概要**：植物の微生物認識において、代表的な真菌由来の MAMP であるキチンは、パターン認識受容体である CERK1 を介して認識され細胞内にシグナルが変換される。その際、キチンにより活性化された CERK1 がどのように下流のシグナル伝達系を活性化するかは大きな課題のひとつである。本論文ではシロイヌナズナ PBL27 に着目して機能解析を行った結果、PBL27 はキチン受容体 CERK1 と相互作用すると同時に、CERK1 によりリン酸化されることが示唆された。

Narusaka, M., Hatakeyama, K., Shirasu, K., and Narusaka, Y.

*Arabidopsis* dual resistance proteins, both RPS4 and RRS1, are required for resistance to bacterial wilt in transgenic *Brassica* crops.

*Plant Signal. Behav.*, 9: e29130 (2014)

**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のアブラナ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異なる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。

Narusaka, M., Minami, T., Iwabuchi, C., Hamasaki, T., Takasaki, S., Kawamura, K., and Narusaka, Y.

Yeast cell wall extract induces disease resistance against bacterial and fungal pathogens in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica* crop.

*PLoS One*, 10: e0115864 (2015)

**概要**：酵母およびその抽出物は発酵食品、調味料や医薬品の原料、化粧品、家畜の飼料などあらゆる分野で使用されているが、酵母の細胞壁はこれまで有効に活用されていなかった。植物は、病原菌の細胞壁由来の物質を認識することで、種々の病害虫に対する抵抗反応を誘導することが知られている。本論文では病原菌の細胞壁と酵母の細胞壁が類似していることに着目し、植物に酵母細胞壁を散布したところ、植物が病原菌の攻撃を受けたと「勘違い」して、免疫力が増強され、病気に罹りにくくなることを発見した。

## 2. 学会・シンポジウム・講演会などでの発表

鳴坂義弘、白須賢、高野義孝、白石友紀、久保康之、鳴坂真理

デュアル抵抗性蛋白質システムにおける蛋白質間相互作用の解析 1

平成 26 年度日本植物病理学会大会、2014 年 6 月 2-4 日（札幌）

鳴坂真理、白須賢、豊田和弘、白石友紀、高野義孝、鳴坂義弘

デュアル抵抗性蛋白質システムにおける蛋白質間相互作用の解析 2

平成 26 年度日本植物病理学会大会、2014 年 6 月 2-4 日（札幌）

Pamela Gan、池田恭子、鳴坂真理、鳴坂義弘、入枝泰樹、久保康之、高野義孝、白須 賢  
炭疽病菌 *gloeosporioides* コンプレックスの比較ゲノム解析  
平成 26 年度日本植物病理学会大会、2014 年 6 月 2-4 日（札幌）

Tomonori Shinya, Koji Yamaguchi, Yoshitake Desaki, Kenta Yamada, Tomoko Narisawa, Yoshihiro  
Kobayashi, Kanako Maeda, Maruya Suzuki, Takumi Tanimoto, Jun Takeda, Masato Nakashima, Ryota  
Funama, Mari Narusaka, Yoshihiro Narusaka, Hanae Kaku, Tsutomu Kawasaki, and Naoto Shibuya  
Selective regulation of chitin-induced defense response by the *Arabidopsis* receptor-like cytoplasmic  
kinase PBL27  
XVI IS-MPMI 2014, 6-10 JULY (ギリシャ)

Pamela Gan, Nanako Nakata, Takeshi Suzuki, Trinh Xuan Hoat, Mari Narusaka, Yoshihiro Narusaka,  
Yoshitaka Takano, and Ken Shirasu  
Comparative genomics of multiple *Colletotricum* isolates from the *gloeosporioides* species complex  
XVI IS-MPMI 2014, 6-10 JULY (ギリシャ)

鳴坂義弘

資源化のお手伝い！植物免疫力を調べます  
イノベーションジャパン2014、2014年9月11-12日（東京）

鳴坂義弘、南太一、浜崎隆史、高崎智子、北川隆徳、安原貴臣、鳴坂真理  
植物に病害抵抗性を誘導するビール類酵母抽出物の作用機作の解明  
平成26年度日本植物病理学会関西部会、2014年9月27-28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RPS4およびRRS1をコアとする蛋白質複合体の機能解析  
平成26年度日本植物病理学会関西部会、2014年9月27-28日（富山）

山口公志、山田健太、白川友美、石川和也、鳴坂真理、鳴坂義弘、市村和也、深溝慶、川崎努  
MAPKKKa はキチンに応答した MAP キナーゼの活性化を制御する  
平成26年度日本植物病理学会関西部会、2014年9月27-28日（富山）

鳴坂真理、鳴坂義弘

環境にやさしい革新的病害防除技術の開発研究  
第 14 回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム「進化する果樹育種」平成 26 年 11 月 14 日（金）  
（岡山）

鳴坂義弘

環境負荷低減型の新規病害防除資材の創製

平成26年度県立研究機関協議会研究交流発表会、2015年2月18日（総社）

鳴坂真理、鳴坂義弘

環境にやさしい革新的病害防除技術の開発研究

平成26年度県立研究機関協議会研究交流発表会、2015年2月18日（総社）

鳴坂義弘、白須賢、高野義孝、山田哲也、久保康之、鳴坂真理

デュアル抵抗性蛋白質システムは植物の科の壁を越えて機能する

第56回日本植物生理学会年会、2015年3月17-18日（東京）

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を構成する RPS4 および RRS1 の機能解析

第56回日本植物生理学会年会、2015年3月17-18日（東京）

高橋昌平、中島正登、八島航平、須藤健吉、小泉春樹、三浦駿希、紀藤圭治、鳴坂真理、鳴坂義弘、  
出崎能丈、賀来華江、渋谷直人

CERK1 と相互作用因子する E3 ユビキチンリガーゼの機能解析

第56回日本植物生理学会年会、2015年3月17-18日（東京）

Pamela Gan、鳴坂真理、熊倉直祐、津島綾子、中田菜々子、久保康之、高野義孝、鳴坂義弘、白須  
賢

炭疽病菌の比較ゲノム解析とその利用

平成27年度日本植物病理学会大会、2015年3月29-31日（東京）

中前彩加、原田 賢、坂口 歩、鳴坂真理、鳴坂義弘、高野義孝、Pamela Gan、白須 賢、久保康  
之

アブラナ科炭疽病菌エフェクター候補遺伝子過剰発現系によるウリ類炭疽病菌のメタロプロテ  
アーゼ遺伝子 *CoMET1* の同定と病原性への関与

平成27年度日本植物病理学会大会、2015年3月29-31日（東京）

### 3. 知的財産権

特許登録： 特許第 5516993 号、特許登録 ZL200980138376.6(CN)

#### 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、東京大学、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、農業生物資源研究所、明治大学、中山大學（中国）などの公的機関、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

- ・ 科学研究費補助金・基盤C（代表 鳴坂義弘）
- ・ 農林水産省 農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「シーズ創出ステージ」（中課題代表 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 戦略的イノベーション創造プログラム（次世代農林水産業創造技術）（サブユニットリーダー 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「革新的技術創造促進事業」（異分野融合共同研究）「理学・工学との連携による革新的ウイルス対策技術の開発」（補完研究機関代表 鳴坂義弘）
- ・ 科学研究費補助金・基盤C（代表 鳴坂真理）
- ・ 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)（代表 鳴坂真理）
- ・ その他 民間2件（代表 鳴坂義弘）

#### 6. 新聞報道

- ・ 「世界初 耐性植物を開発 青枯れ病に対抗、コストも減」  
平成26年6月10日 産経新聞
- ・ 「作物の免疫力高める薬剤 効率的な開発可能に 新手法を確立」  
平成26年9月21日 山陽新聞

#### 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）

岡山大学農学部特別教育研究員（兼任）（鳴坂真理）

岡山県立津山高等学校の研修（担当）



# 酵素機能研究グループ

専門研究員	畑中 唯史
流動研究員	裏地 美杉
流動研究員	万 堃

## 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]

食品には、栄養機能、感覚機能のほか、体調調節機能があり、これらはそれぞれ、1次機能、2次機能、3次機能と呼ばれている。このうち3次機能については、我が国において提唱されたものであり、世界に先駆けて機能性食品の概念が日本で誕生した。現在、日本で食品の機能性表示を行うことができるのは、栄養補助食品と特定保健用食品であるが、平成27年度の春から、食品の新たな機能性表示制度が施行されている。その制度は、国ではなく企業等の責任において科学的根拠のもとに機能性を表示できるものである。

このような背景のもと、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機能性食材としての高付加価値化に取り組んでいる。今年度は、米由来ペプチド・コラーゲンペプチドの抗酸化効果・生活習慣病予防効果について検討した。抗酸化力は、一般的によく用いられている H-ORAC (hydrophilic oxygen radical absorbance capacity) 法、スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 様活性評価、および細胞内グルタチオンへの影響を、生活習慣病予防効果については、 $\alpha$ -グルコシダーゼ (AGH、消化されたデンプンから、グルコースを生成する酵素) およびジペプチジルペプチダーゼ IV (DPP-4、インシュリンの分泌を促すペプチドホルモンを血中で分解し効力を失わせる酵素)、アンギオテンシン I 変換酵素 (ACE、高血圧を招く酵素)、キサンチンオキシダーゼ (XO、痛風の原因物質・尿酸を生成する酵素) の阻害効果によって評価した。

#### [成果と今後の方針]

昨年度、米ぬかペプチドの有用性について記載したが、製造コスト等の面で問題があることも併記した。今年度は、安全・安心・安価な、白米ペプチド、酒粕ペプチド、コラーゲンペプチドについて、米ぬかペプチドと比較検討した。

表1に、示すように、今回用いたいずれのサンプルも、AGH, ACE, XO の阻害効果は認められず、高血圧・痛風予防効果は期待できないことが判明した。糖尿病予防については、白米ペプチドが、米ぬかペプチドと同様に、DPP-4 に対して高い阻害効果を示し、また、抗酸化力も米ぬかペプチドと同等であり、生活習慣病（特に糖尿病）予防食材として期待できる結果となった。残念ながら、

表 1. 米由来ペプチド・コラーゲンペプチドの抗酸化効果・生活習慣病予防効

サンプル	H-ORAC ( $\mu\text{mol TE/g}$ )*	SOD 様活性 ( $\text{IC}_{50} \text{ mg/ml}$ )**	AGH ( $\text{IC}_{50} \text{ mg/ml}$ )**	DPP-4 ( $\text{IC}_{50} \text{ mg/ml}$ )**	ACE ( $\text{IC}_{50} \text{ mg/ml}$ )**	XO ( $\text{IC}_{50} \text{ mg/ml}$ )**
白米ペプチド	525.8 $\pm$ 78.3	0.65 $\pm$ 0.08	阻害せず	1.45 $\pm$ 0.13	70.3 $\pm$ 7.3	阻害せず
米ぬかペプチド	670.7 $\pm$ 17.3	0.14 $\pm$ 0.01	阻害せず	1.28 $\pm$ 0.18	160.3 $\pm$ 27.8	阻害せず
酒粕ペプチド	137.2 $\pm$ 21.1	0.78 $\pm$ 0.16	阻害せず	27.55 $\pm$ 5.76	1652.6 $\pm$ 330.5	阻害せず
コラーゲンペプチド	74.4 $\pm$ 9.8	1.44 $\pm$ 0.19	阻害せず	1.78 $\pm$ 0.28	394.4 $\pm$ 36.2	阻害せず

白米・米ぬか・酒粕は、タンパク質を市販のカビ由来酵素で消化してペプチドを調整した。コラーゲンは、豚皮由来のものを、放線菌由来コラゲナーゼで消化し、ペプチドを調整した。

\*トロロックス換算で、値が大きいほど抗酸化力が大きいことを示す。

\*\*50%阻害効果を示し、値が小さいほど阻害力が大きいことを示す。

酒粕ペプチドは、いずれの項目においても、著しい効果を認めず、調査項目に限れば、酒粕は機能性食材原料として、不適であることが判明した。

白米ペプチドが、米ぬかペプチドと同様な機能性を有することにより、共同研究先の就実大学・薬学部の協力のもと、白米ペプチドについて、細胞内グルタチオンへの影響を検討した。グルタチオンは、生体内（特に肝臓）で最も多く存在する抗酸化物質であり、健康や美容の維持に有用とされているが、医薬品であり、日本においてはサプリメント等として販売はできない。図 1 示すように、白米ペプチドは、濃度依存的にヒト肝臓癌由来細胞 (HepG2) 内還元型グルタチオン (GSH) を増強する結果を得た。

酸化ストレスは、糖尿病・動脈硬化・神経変性疾患をはじめ様々な疾病の発症や、悪化に関わると考えられており、生体内の抗酸化物質であるグルタチオンを増強できる作用は、それら疾病の予防に有効であることから、白米ペプチドは、機能性食材として有望である。

グルタチオン増強の作用機序は、現在その詳細は明らかではないが、細胞が酸化ストレスにさらされると、ストレス応答遺伝子の発現誘導することで、生体防御に努める。このストレス応答型の

遺伝子転写制御は、Keap1-Nrf2 システムが担っている。共同研究先の就実大学・薬学部では、白米ペプチドを与えた HepG2 細胞による遺伝子発現解析で、Keap1-Nrf2 システムで動くヘムオキシゲナーゼ-1 遺伝子発現の上昇が認められ、白米ペプチドは、Nrf2 制御系を誘導する可能性が示唆されている。さらに、生体内の GSH を増強することにより、睡眠ホルモン合成酵素を活性化する機構が、就実大学・坪井教授らによって提唱されており、白米ペプチドの快眠誘導機能について、今後検討を行う予定である。

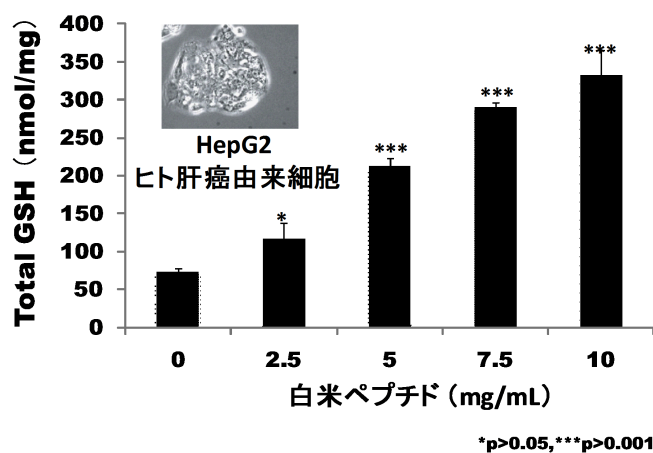


図 1. 白米ペプチドの細胞内グルタチオンに与える影響

## 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]

我々は、前期5カ年の研究途上で、長瀬産業㈱と共同して、放線菌の金属プロテアーゼ (SCMP) の強力プロモーター (SCMP プロモーター) を見出し、*Streptomyces lividans* 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㈱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。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、現在市販されている食品用酵素は、微生物の培養物であり、それに含まれる酵素の混合比率は、人為的に変えることができない。上記の当グループの技術は、単一の酵素を、安価・高純度で製造できることから、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。

我々は、SCMP プロモーターによる放線菌用発現ベクター (pTONA5a) を構築し、SCMP プロモーター下流に、放線菌由来酵素遺伝子を挿入し、*S. lividans* を宿主に用いて酵素の発現を試みた。その結果、発現は培養後期に盛んになり、2次代謝が盛んになる培養後期に、SCMP プロモーターは作動することが示唆されている。また、TH-2 株は上記のユニークな発現系のみならず、有用な酵素発現も示すことから、全ゲノム解析に取り組み、その約 90% については既に解析済みである。本酵素発現方法は、発現までの培養時間が長いと云う弱点を有しており、改善策として、SCMP プロモーターの活性化因子を利用することを計画している。そこで、SCMP プロモーターの作動にかかわる因子を抽出する目的で、(独)放射線医学総合研究所で開発された網羅的発現解析手法：HiCEP (High coverage expression profiling) 法等による発現解析を行った。

また、本年度は、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 cinnamonus* TH-2 株)のゲノム配列から、ペプチダーゼに着目し諸性質の検討を行った。

#### [成果と今後の方針]

*S. cinnamonus* TH-2 株の生育に対する炭素源の影響を検討したところ (図 2 (A))、グルコースでのみ顕著にプロテアーゼ活性 (=SCMP) が分泌されることが判明した。*S. cinnamonus* TH-2 株は、グルコース炭素源の場合、培養 24 時間では、*scmp* 遺伝子は発現しないものの、36 時間で顕著に発現を認め、グリセロール炭素源では、発現しないことも確認している (図 2 (B))。すでに我々は、次世代シーケンサーにより、*S. cinnamonus* TH-2 株のゲノム配列の約 90% を明らかにしており、国立遺伝研究所の MiGAP により、アノテーションも付加済みである。*S. cinnamonus* TH-2 株を、グルコースあるいはグリセロールを炭素源とし、培養 24 あるいは 36 時間で、菌体から RNA を調整し、HiCEP 法 (図 3) に供したところ、これら 4 種の培養条件で確認できた発現産物のうち、全体の 3.1% に相当する 457 ピークが、グルコース炭素源、24 時間でのみ強く発現することを確認している。

これら HiCEP サンプルからライブラリーを作成し、次世代シーケンサー (Ion PGM) にか、遺

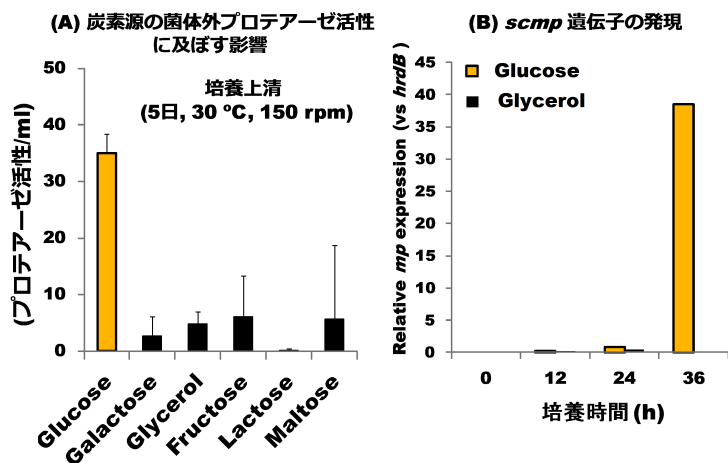


図2. 炭素源の *S. cinnamonus* TH-2 株に与える影響

- (A) 炭素源の菌体外プロテアーゼ活性に与える影響
- (B) グルコースおよびグリセロールの *scmp* 遺伝子発現に与える影響

伝子配列データベースを作成し、HiCEPの結果と照合したところ、グルコース炭素源、24時間でのみ強く発現を認める36種の遺伝子を同定することができた(表2)。

これらについては、リアルタイムPCRによる確認、RNA-seqによる解析、発現宿主である *S. lividans* における同様な解析、さらに SCMP プロモーターに特異的に結合するタンパク質の探索などを行い、SCMP プロモーターの作動にかかわる因子を特定し、我々の放線菌によるタンパク質発現系を進化させたいと考えている。

現在市販されている食品用タンパク質分解酵素は、タンパク質加水分解エキス製造に際し、苦味を呈し、旨味成分の遊離率が低いと云う弱点がある。これを補うことができるのが、エキソ型ペプチダーゼである。そこで、アミノ末端およびカルボキシ末端に作用する酵素に着目し検討した。

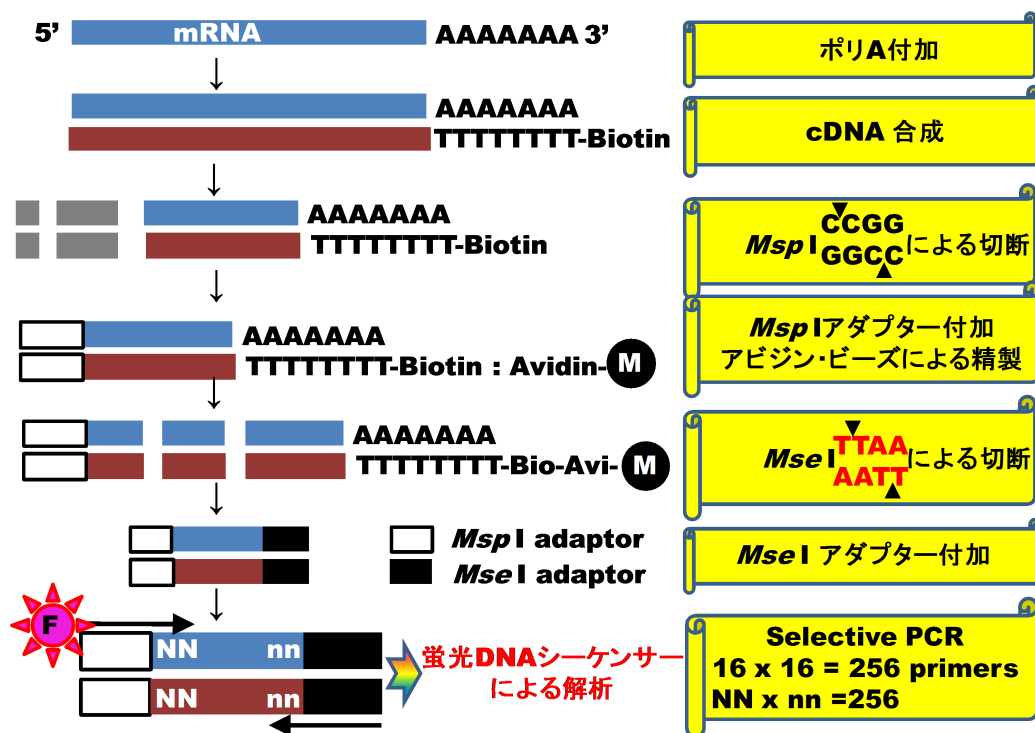


図3. HiCEP法の概要

表 2. HiCEP 法で見出された遺伝子群

No.	Annotation	G24/G36	G24/Y24	G24/Y36
1	DNA-binding protein	5.9	6.8	7.5
2	beta-ketoacyl synthase	2.9	3.0	2.3
3	UDP-glucose/GDP-mannose dehydrogenase	4.4	2.4	2.3
4	cold shock protein	5.8	3.7	3.4
		42.8	∞	∞
5	SSHG 01125	5.2	6.0	12.8
6	chaperonin GroEL	5.2	6.0	12.8
7	ribonuclease, PSP-type translation initiation inhibiton protein	11.4	2.5	3.1
8	rpoD (hrd B)	5.3	∞	5.1
9	Lux R-family transcriptona; regulator	3.4	8.1	3.9
10	sig E	4.1	5.1	4.9
11	sucC	7.7	5.9	7.5
12	ketol-acid reductoisomerase	3.3	5.8	7.0
13	FK-506 binding protein peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	4.7	8.3	3.4
14	methylated-DNA-protein cystein methyltransferase	3.4	4.2	4.2
15	2-oxoacid dehydrogenase subunit E1	4.3	3.6	12.3
16	mmcS	4.8	∞	17.4
17	anti-sigma factor	4.8	3.8	3.0
18	acetyl-CoA acetyltransferase	∞	∞	∞
19	lipoprotein	8.9	3.1	∞
20	KKY 2414	3.5	3.3	4.9
21	asparagine synthase	4.8	7.5	7.8
22	Sros 9238	4.6	15.2	5.4
23	SCLAV 2350	4.6	15.2	5.4
24	STRUCAR8	4.8	∞	3.2
25	GOALK 087	2.3	3.1	3.8
26	hydrolase	12.5	7.8	10.0
27	argF	5.6	4.3	8.1
28	acyl-peptide hydrolase	2.1	2.2	3.4
29	mitR	7.5	8.4	7.2
		∞	∞	3.2
30	integration host factor	2.1	4.1	5.7
		2.6	2.0	1.8
31	tellurium resistance protein	3.7	12.1	2.7
32	cysS	6.0	3.6	4.1
33	ATP synthase F1, beta subuunit	3.1	4.1	3.1
34	LuxR family transcriptional regulator	∞	∞	∞
35	CarD family transcriptional regulator	4.2	3.9	3.2
36	purH	3.9	2.6	2.7

Annotation は、国立遺伝研究所の MiGAP により付けられたもので、G24, G36 は、グルコース炭素源で培養 24 時間、36 時間を示し、Y24, Y36 は、グリセロールの場合である。G24 を各々のピーク高さで除した値を示しており、大きなものほど、グルコース 24 時間で特異的に発現していることを示す。∞は、G36, Y24, Y36 では、発現を認めなかったものを示す。

*S. cinnamomus* TH-2 株の遺伝子で、国立遺伝研究所の MiGAP により、アミノペプチダーゼおよびカルボキシペプチダーゼとアノテーションが付与され、分泌シグナル予測ソフト SignalP によって、分泌すると予想されたものを発現対象に選抜した。アミノペプチダーゼについては、すでに TH-2 株から活性スクリーニングにより、M28 ファミリーに属するものを同定済み (Arima *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **317**(2), 531-538(2004) ) であるので、M1 ファミリーに属するものを 3 種、カ

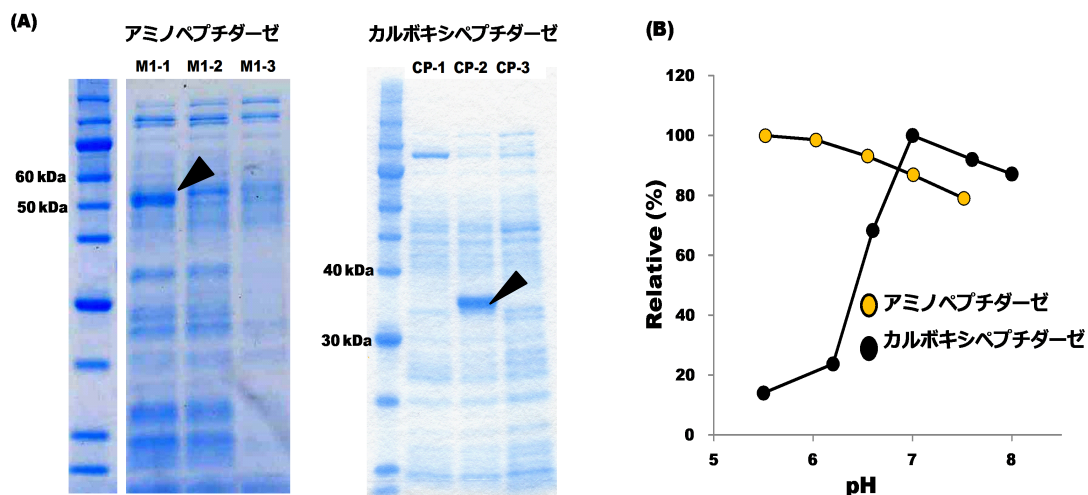


図 4. アミノペプチダーゼおよびカルボキシペプチダーゼの発現

(A) 培養上清の SDS-PAGE

(B) アミノペプチダーゼ M1-1 とカルボキシペプチダーゼ CP-2 の至適 pH

カルボキシペプチダーゼについては 3 種を選んだ。これら遺伝子を、SCMP プロモーターによる発現ベクター (pTONA5a, Hatanaka *et al.*, *Protein Expr. Purif.* 62:244-248(2008)) に挿入し、*S. lividans* を宿主として発現させた。培養 3 日の培養上清を電気泳動したところ、アミノペプチダーゼ (M1-1) およびカルボキシペプチダーゼ (CP-2) 各々 1 種に顕著な発現を確認し (図 4 (A))、この 2 種について諸性質を検討した。

放線菌由来の酵素は、至適 pH は弱アルカリ性の場合が多いが、本アミノペプチダーゼについては 5.5 と弱酸性を示し、ユニークな性質をもっていた (図 4 (B))。市販酵素は、カビ由来のものが多く、それらの至適 pH は、弱酸性であり、アミノペプチダーゼ M1-1 は、カビ由来酵素との組み合わせに好適である。また、カルボキシペプチダーゼ CP-2 は、カゼインペプチドの加水分解において、アラニン、バリン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシンなどの疎水性アミノ酸をよく遊離させた (図 5)。特にフェニルアラニン、チロシンを多く含むペプチドは、苦味を呈すると云われており、カルボキシペプチダーゼ CP-2 は、苦味除去に役立つ可能性が示唆された。

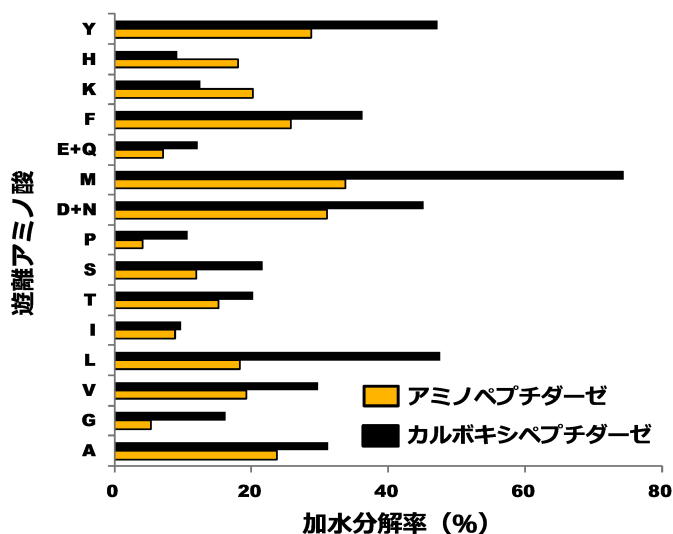


図 5. アミノペプチダーゼ M1-1 およびカルボキシペプチダーゼ CP-2 によるカゼインペプチドからの遊離アミノ酸

塩酸で加水分解したものを 100% として換算。本法では、アルギニン、システイン、トリプトファンは、検出できず、グルタミン、アスパラギンは、グルタミン酸、アスパラギン酸として換算。

今後は、これらアミノペプチダーゼおよびカルボキシペプチダーゼと、市販酵素を組み合わせ、食味センサーによる旨味、苦味への影響を検討する予定である。また、SCMPプロモーターでは、発現が認められなかった酵素遺伝子については、共同研究先のナガセケムテックス㈱と協力し、他のプロモーターによる発現を試み、発現に成功したものについて、諸性質の検討を行う予定である。

## 平成 26 年度の活動

### 1. 報文（総説・原著論文等）

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

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

*J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **29**(6): 823-828 (2014)

**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ペプチド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、放線菌で作成した放線菌由来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。

Kawakami, K., Li, P., Uraji, M., Hatanaka, T., and Itoh, H.

Inhibitory effect of pomegranate extracts on recombinant human altase-glucoamylase.

*J. Food Sci.* **79**(9): 1848-1853 (2014)

**概要：**ザクロ抽出物に含まれる $\alpha$ -グルコシダーゼ（消化されたデンプンから、グルコースを生成する酵素）阻害物質を同定した論文である。作用機序は異なるが、この成分も、上記の論文と同様に、Ⅱ型糖尿病予防に有効である（岡山大学・薬学部との共同研究）。

Uraji, M., Arima, J., Inoue, Y., Harazono, K., and Hatanaka, T.

Application of two newly identified and characterized feruloyl esterases from *Streptomyces* sp. in the enzymatic production of ferulic acid from agricultural biomass.

*PLoS One* 2014 Aug 5; **9**(8): e104584 (2014)

**概要：**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注目される有用物質である。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）を探索するために、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㈱と開発した、放線菌用発現ベクター（pTONA5a）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種に活性を認め、その性状解析を行った論文である（ナガセケムテックス株式会社との共同研究）。

## 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）

裏地美杉、田村はるか、溝端栄一、小川健一、井上豪、畑中唯史（\*P）

「放線菌フェルラ酸エステラーゼの機能解析」

日本生物工学会 2014 年度大会、2014 年 9 月 9-9 月 11 日（札幌）

熊谷祐也、裏地美杉、奥山正行幸、木村淳夫、畑中唯史（\*P）

「放線菌マンナナーゼが示す分岐オリゴ糖に対する基質認識の分子機構」

日本生物工学会 2014 年度大会、2014 年 9 月 9-9 月 11 日（札幌）

畑中唯史、裏地美杉、井上良計、藤田明子、川上晃司（\*P）

「米ペプチドのジペプチジルペプチダーゼ-IV 阻害活性」

日本生物工学会 2014 年度大会、2014 年 9 月 9-9 月 11 日（札幌）

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

「米由来ペプチドの抗酸化作用について」

第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 15 日-10 月 18 日（京都）

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

「米ぬか由来ペプチドのグルタチオン上昇作用と細胞保護効果について」

第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 15 日-10 月 18 日（京都）

川上賀代子、守谷智恵、戸羽光世、平本和義、裏地美杉、井上良計、藤田明子、川上晃司、畑中唯史、坪井誠二（\*P）

「酒粕由来ペプチドの抗酸化活性について」

第 53 回日本薬学会中国四国支部学術大会、2014 年 10 月 8 日-11 月 9 日（広島）

裏地美杉、湯野川春信、砂山美里、荒木良子、万クン、畑中唯史

「網羅的発現解析手法（HiCEP 法）の原核生物への応用」

日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 26 日-3 月 29 日（岡山）

湯野川春信、砂山美里、荒木良子、裏地美杉、畑中唯史

「HiCEP 法と次世代シーケンサーによる遺伝子発現データベースの構築」

日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 26 日-3 月 29 日（岡山）



坪井誠二、守谷智恵、川上賀代子、井上良計、藤田明子、川上晃司、畑中唯史（\*P）  
「米由来ペプチドの抗酸化作用と細胞障害抑制効果」  
日本薬学会第135年会、2015年3月25日－3月28日（神戸）

守谷智恵、川上賀代子、井上良計、藤田明子、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機序の解析」  
日本薬学会第135年会、2015年3月25日－3月28日（神戸）

Uraji, M., Tamura, H., Mizohata, H., Wan, K., Ogawa, K., Inoue, and T., Hatanaka, T.（\*P）  
Comparison of feruloyl esterases from *Streptomyces* sp.  
Active Enzyme Molecule 2014. 2014年12月17日－12月19日（富山）

### 3. 特許・発明

職務発明： 2件（アミノペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼ）

### 4. 外部資金獲得状況

- ・科学研究費補助金・基盤C（代表 畑中唯史）
- ・事業化を加速する産学連携支援事業調査費（代表 畑中唯史）

### 5. 共同研究・協力連携先

ナガセケムテックス株式会社、株式会社サタケ、株式会社ニッピ、オリザ油化株式会社、小川香料株式会社、就実大学・薬学部、岡山大学・薬学部、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

### 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）  
日本農芸化学会 中四国支部参与（畑中唯史）

発行日 平成27年6月15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