



生物科学研究所

令和2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

昨年からの新型コロナウイルス感染の第四波が、襲ってきているさなかにこの序文を書いております。予想されていたこととはいえ、感染力が増大した変異株が発生し、岡山県にも「緊急事態宣言」が発令される事態となっています。このような厳しい状況のもと、救いはようやくワクチンの接種が開始されたことであります。このワクチンは、mRNAであり、早くから摂取が始まった国々では、感染率が低下し、マスクなしの生活が戻りつつあると聞いており、全くもって科学技術の進歩に感謝したいと思います。この mRNA ワクチン開発の中心人物のカタリン・カリコ博士の研究申請書は、当初ことごとく却下され、まったく研究費がつかなかったとのこと。それにもめげず研究を継続した博士の真摯な姿勢をリスペクトするとともに、当たり前ではありますが、事が起こってからでは、何事も遅いので、基礎基盤研究への先行投資の大切さを痛感しております。

さて、当研究所は、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、次期優良新品種の育成、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等の研究に取り組んでまいりました。平成9年度の研究年報から数えて、本年報は、第23号目となります。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、令和2年度（第5期五カ年研究計画4年目）の成果としては、白桃の新品種開発に有用な果実の肉質ならびに核の外れ易さに関する新たな知見、青枯病強度抵抗性を示すナス野生系統の発見、新規植物活力剤の開発と、その活力剤と、紫外線（UV-B）照射、天敵、AIセンサーによる病害発生予測を組み合わせた、イチゴ減農薬栽培における新技術の開発、ショウガ科植物月桃（ゲットウ）による抗植物ウイルス剤の開発、グルタチオン施用と近赤外ハイパースペクトルカメラによる種子選抜の組み合わせによる新たなスギ育苗技術の開発、県特産・黄ニラの機能性研究等で、新たな知見を得ています。これらの成果については、原著論文16報（内国際誌8報）、学会発表20件と社会に公表し、また、発明届3件、特許出願4件、実施許諾10件と知財化や社会への還元も積極的に進めてまいりました。これらの取り組みによって、共同研究14件と産官学連携も着実に進み、また、外部資金を獲得することができました。広報活動としては、コロナ禍と云うことで、今回初めてシンポジウムをオンライン開催し、県民の皆様への情報発信に努めております。

令和3年度は、研究所設立25周年にあたり、節目の年であるとともに、第6期五カ年研究計画策定の年にあたります。この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。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ので、今後とも関係各位の格段のご支援をお願い申し上げます。

令和3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 畑 中 唯 史

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5期5ヵ年研究計画【研究計画表】	5
主な行事	6
主な視察・来訪者	1 2

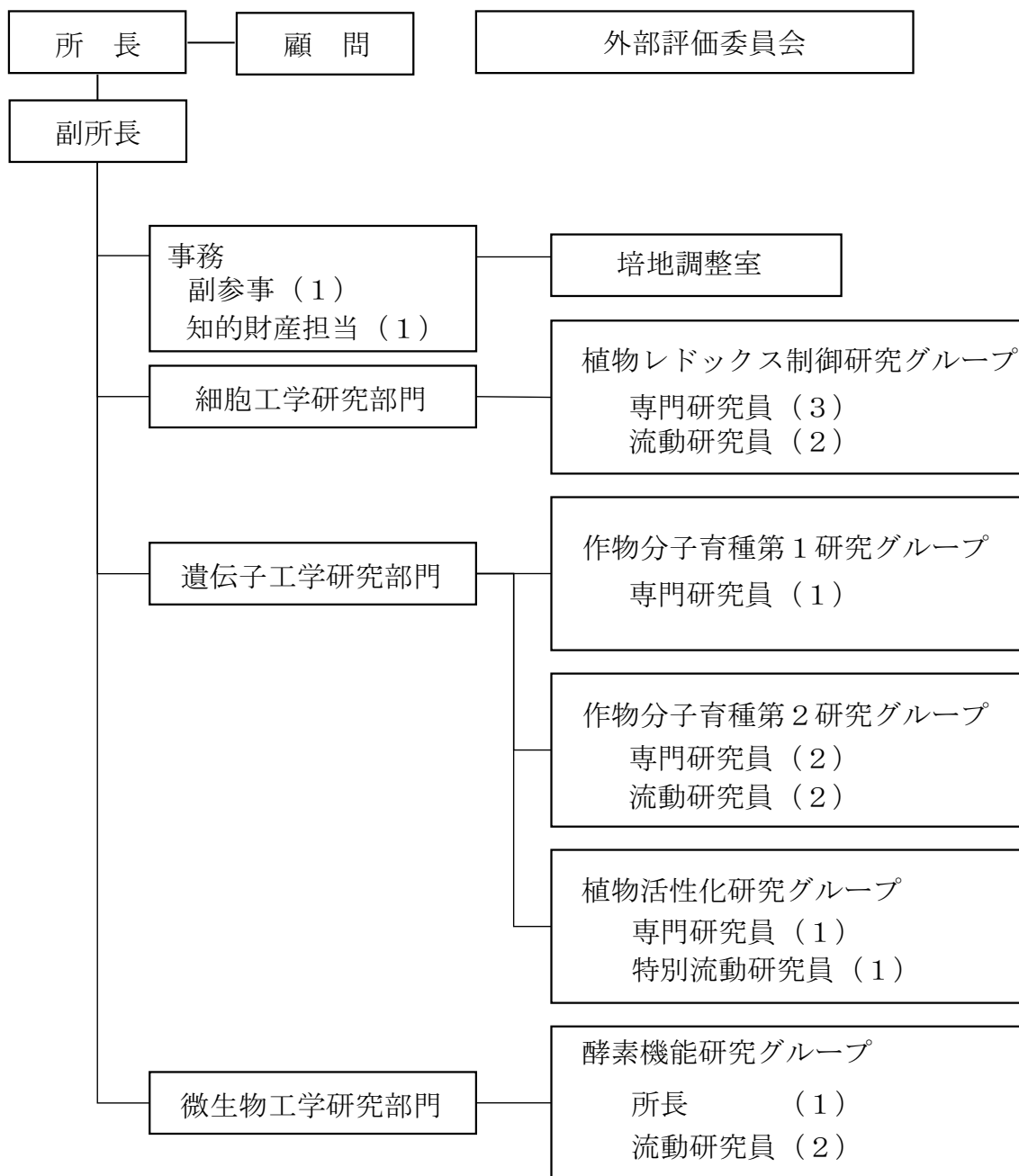
研究の概要

作物分子育種第1研究グループ	1 3
作物分子育種第2研究グループ	2 5
植物活性化研究グループ	3 9
植物レドックス制御研究グループ	6 1
酵素機能研究グループ	7 8

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
- 産学官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 (令和3年3月31日現在)



所長	1	知的財産担当職員 (非常勤)	1
事務職員	2	リサーチアソシエイト	1
専門研究員	7	実験・事務補助員等	10
顧問 (非常勤)	1		
特別・流動研究員 (非常勤)	7	計	30

生物科学研究所職員名簿 (令和3年3月31日現在)

職 名	氏 名	氏 名
所 長	畑 中	唯 史
副 所 長	赤 木	俊 文
副 参 事	松 本	憲 司
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	北 川 (原)	美由紀
流動研究員	野 田	壮一郎
流動研究員	望 月	智 史
流動研究員	深 松	陽 介
流動研究員	楊	靈 麗
流動研究員	森 本	隼 人
知財担当	上 田	文 明
顧 問	白 石	友 紀

外部評価委員会委員名簿

伊 東	秀 之	公立大学法人岡山県立大学保健福祉学部・学部長
大 森	茂	山陽薬品株式会社・代表取締役会長
神 崎	浩	国立大学法人岡山大学・教授
馬	建 鋒	国立大学法人岡山大学資源植物科学研究所・教授
安 田	和 弘	岡山県農業協同組合中央会・専務理事
矢 吹	香 月	岡山県消費生活センター・岡山県消費者教育コーディネーター

第5期5カ年研究計画

(平成29年度～令和3年度)

大課題名	中課題名	担当研究グループ
1 県下をはじめ世界の人々に貢献するグルタチオン農業の確立を目指した基礎基盤研究	<ul style="list-style-type: none"> グルタチオン施用による実利的なバイオマス増産技術の確立 グルタチオン施用による機能性成分を高めたブランド農産物の安定増産法の確立 微生物を活用したグルタチオン農業に関連する物質の効率的生産技術の開発 	植物レドックス制御研究グループ
2 植物が持つ潜在的能力の活用による新品種育成と最先端栽培技術の研究	<ul style="list-style-type: none"> 生産性向上のための連続光栽培法の研究および適合品種の育成 光周期的花成応答を利用した斉一的収穫のための栽培管理技術の研究 開花促進技術を利用した優良樹育成法の研究 	作物分子育種第1研究グループ
3 県産農作物の効率的育種技術の開発と新品種育成	<ul style="list-style-type: none"> ブランド力強化に向けた効率的モモ育種システムの開発研究 青枯病強度抵抗性ナス科作物の開発研究 	作物分子育種第2研究グループ
4 革新的植物活力向上技術の開発研究		植物活性化研究グループ
5 農産物の機能性探索研究	<ul style="list-style-type: none"> 県産農産物の機能性研究 快眠を導く機能性米飯の研究開発 農林水産加工用酵素の研究開発 	酵素機能研究グループ

主な行事

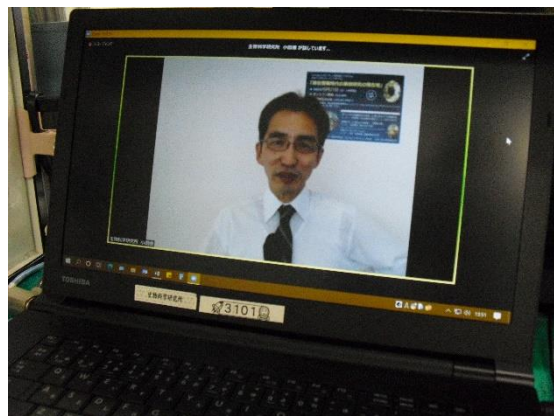
- 第20回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム
- 「遺伝情報時代の果樹研究の現在地」

日時：令和2年10月21日（水）13時～16時40分

Zoomによるオンライン開催

主催：岡山県農林水産総合センター生物科学研究所 および
おかやまバイオアクティブ研究会

参加：65名



おokayamaバイオアグテック研究会シンポジウム
RIBS/バイオサイエンスシンポジウム

「遺伝情報時代の果樹研究の現在地」

- ◆ 令和2年10月21日（水）13時開始
- ◆ オンライン開催（Zoom使用）
- ◆ 事前申込み必要（10月19日17時まで）

お申込み方法は、岡山県産業振興財団のホームページ（https://www.optic.or.jp/okayama-ssn/event_detail/index/2141.html）をご覧ください

参加
無料



講演

オリジナル品種育成を目指した岡山県のモモ育種研究
13：05～ 小田賢司（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所）

果樹のゲノム進化から紐解く「植物の性」

13：55～ 赤木剛士（岡山大学大学院）

学生プレゼンテーション

14：55～ 座長 大杉忠則（倉敷芸術科学大学）



主催：岡山県農林水産総合センター生物科学研究所・おokayamaバイオアグテック研究会・（公財）岡山県産業振興財団

令和2年8月12日 外部評価会議 (ピュアリティまきび)



令和2年9月2日 生物科学研究所における所長会議



令和2年10月7日 消防訓練 参加者18名





鳴坂専門研究員の提案が、部長表彰されました。

感謝状

農林水産総合センター 生物科学研究所

鳴坂 義弘 殿

あなたは農林水産部「職員提案」において
県行政の効果的な運営に寄与する提案
をされましたので本状を贈り感謝の意
を表します

提案内容

低労力、低コストかつ簡単に病害防除！
紫外線照射によるイチゴの減農薬栽培の推進

令和二年十月十三日

岡山県農林水産部長

榎尾 俊之



令和3年2月8日 プログレスレポート開催



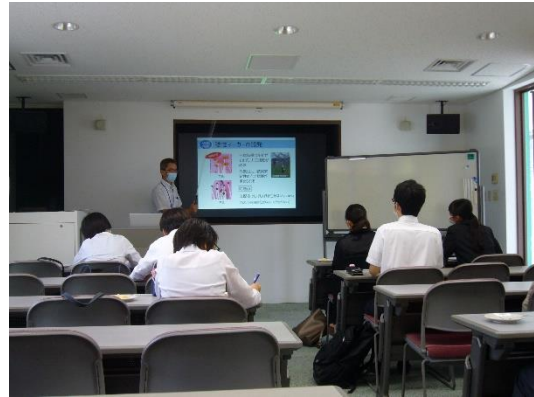
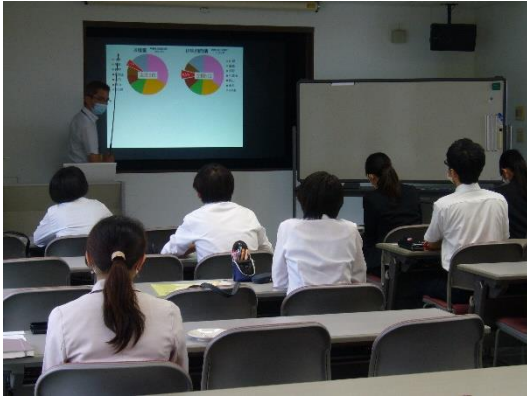
令和3年3月30日 赤木副所長、後藤専門研究員 歓送会



お世話になりました。

主な視察・来訪者

令和2年8月27日 インターンシップの学生7名とともに、高原県会議員来所



その他 民間企業、研究機関などからの視察・来訪者

59名

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)

大課題

植物が持つ潜在的能力の利活用による新品種育成と最先端栽培技術の研究

[概要]

植物は光や温度などの環境要因（外的要因）および植物ホルモン、栄養状態、成育年齢などの生理的要因（内的要因）が刺激となって花芽を形成する。この過程を「花成」と呼ぶ。花成は、茎頂から発生する器官が葉から花に転換する現象であり、栄養成長から生殖成長に転換するという成長相の転換を意味している。従って、花成という生理現象は、肉眼で花芽やつぼみが観察できるかなり前に起きている。

日長は季節に伴い正確に変化するので、植物は日長の変化に鋭敏に反応して花成を誘導する仕組みを備えており、これを日長応答的花成と呼ぶ。植物は日長応答の様式により、明期（光の当たる昼の時間）が暗期（夜の時間）より長いと花成が起きる長日植物と、逆に暗期が長いと花成が起きる短日植物とに分類されるが、日長応答性を示さない中性植物と呼ばれる植物も存在する。花成ホルモンとも呼ばれるフロリゲンは、日長に応答して葉で生成され、長距離シグナル伝達によって茎頂に届き、花成を誘導する植物ホルモンとして1930年代に定義されたものの、長年にわたりその分子を捉えることができなかった。近年、モデル植物のシロイヌナズナを用いた研究から、フロリゲンの分子的な実体はFT遺伝子がコードするタンパク質であることが明らかとなった。さらに、FTのホモログ遺伝子は多くの被子植物に保存されており、調べられた植物において花成に関与していることが明らかになり、FTおよびそのホモログタンパク質がフロリゲンの分子実体であることが広く認められるようになった。

トマトは日長に依存せず花成が起きる典型的な中性植物とされているが、トマトの近縁野生種の多くが短日植物であることが明らかとなり、人類が栽培化の過程で中性植物化した変異体を品種として固定したと考えられる。農作物の中性植物化は、季節に依らず花成が期待できる（四季咲き性）ことから、有用な農業形質として栽培化や品種改良の過程において積極的に取り入れられてきた形質である。しかし、需給バランスによる価格変動が激しい現代農業においては、人為的に花成制御を行い、価格の高い時期に農作物を出荷したいというニーズが生じている。四季咲き性作物の花成制御は、温度や肥料等の複合的な栽培管理技術によって行われてきたが、近年の地球環境変動に伴う温暖化により、従来の栽培技術のみで行うことが困難になりつつあり、またコストも高くなってきている。そこで、日長応答的花成を利用した花成制御を行うことができれば、非常に鋭敏で正確な花成誘導が可能であり、かつ季節による日長変化を利用すれば低コスト化も期待できる。日長制御による人為的花成制御が容易になったトマト品種は、収穫期の平準化をもたらし、生産者のニーズを満たすと共に、消費者へのメリットをもたらすことが期待される。

中課題

光周的花成応答を利用したトマト品種改良の研究

[背景と目的]

現在農作物として栽培されている植物の多くは、栽培化の過程で野生種（原種）の中から四季咲き性、多収性、早生性などの農業上の有用形質を持つものを人為的に選抜し、遺伝的に固定したもの（栽培品種）である。

トマトも例外ではなく、南米アンデス地方に起源を持ち、中南米で栽培されていた祖先種が 16 世紀にヨーロッパにもたらされた。その後、18 世紀に一般的な食用作物となるまで約 200 年に渡る品種改良が主にヨーロッパ南部で行われたとされている。その後も、栽培上および食用上有用な形質に関して人為的な選抜が行われた結果、現在みられる様な四季咲き性で大きな赤い果実をつけるトマト品種になった。日長感受性を示す（短日性や長日性）原種から、栽培化の過程で日長非感受性になった変異体が選択され、現在は中性植物（四季咲き性）であるとされている栽培植物は数多く知られている。

植物の日長応答的花成に関する研究は、国内外で 100 年以上の歴史がある。近年、モデル植物のシロイヌナズナを用いた研究により、花成経路の遺伝学的枠組みが明らかにされ、長年不明であった花成ホルモン（フロリゲン）の分子実体も明らかにされた。フロリゲンは、元々日長応答的花成を制御するホルモン様の長距離シグナル伝達物質として定義されたものであるが、*FT* 遺伝子のホモログは日長応答的花成を示さない中性植物にも保存されている。ここでいう中性植物は、栽培化によってもたらされた作物ばかりではない。このことからフロリゲンは、様々な花成応答経路に関与していると考えられるようになった。実際、*FT* 遺伝子は日長応答的花成経路だけではなく、温度ならびに植物ホルモンなどの生理的要因による花成経路の遺伝子群の働きにより発現制御されている。つまり *FT* 遺伝子は、様々な花成応答経路を集約し、その下流に位置する経路を制御する統合因子として働いている。従って、ある植物の花成制御機構を解明するためには、まずその植物が持つ *FT* ホモログ遺伝子の機能と発現とを解析することが第一歩となる。

我々はトマトの近縁野生種の多くは日長応答性を示す短日植物であることを明らかにした。従って、栽培トマトも潜在的には日長応答性を持っていると考えられるので、それを活用し、光周性を付与したトマト品種を育成するための研究を進めている。

[成果]

(1) トマトゲノム上に存在する *FT* 遺伝子群

トマトの全ゲノム解読と遺伝子アノテーションにより、トマトのゲノム上には、14 個の *FT* ホモログ遺伝子が存在することが予想された。これらの中から発現している遺伝子、即ち機能していると考えられる遺伝子を全てクローニングすることにした。

フロリゲン遺伝子 *FT* は、主として葉で発現していることから、トマトの成熟葉を材料とし、そこから RNA を抽出し cDNA を合成した。調製した cDNA を鋳型に、ゲノム情報に

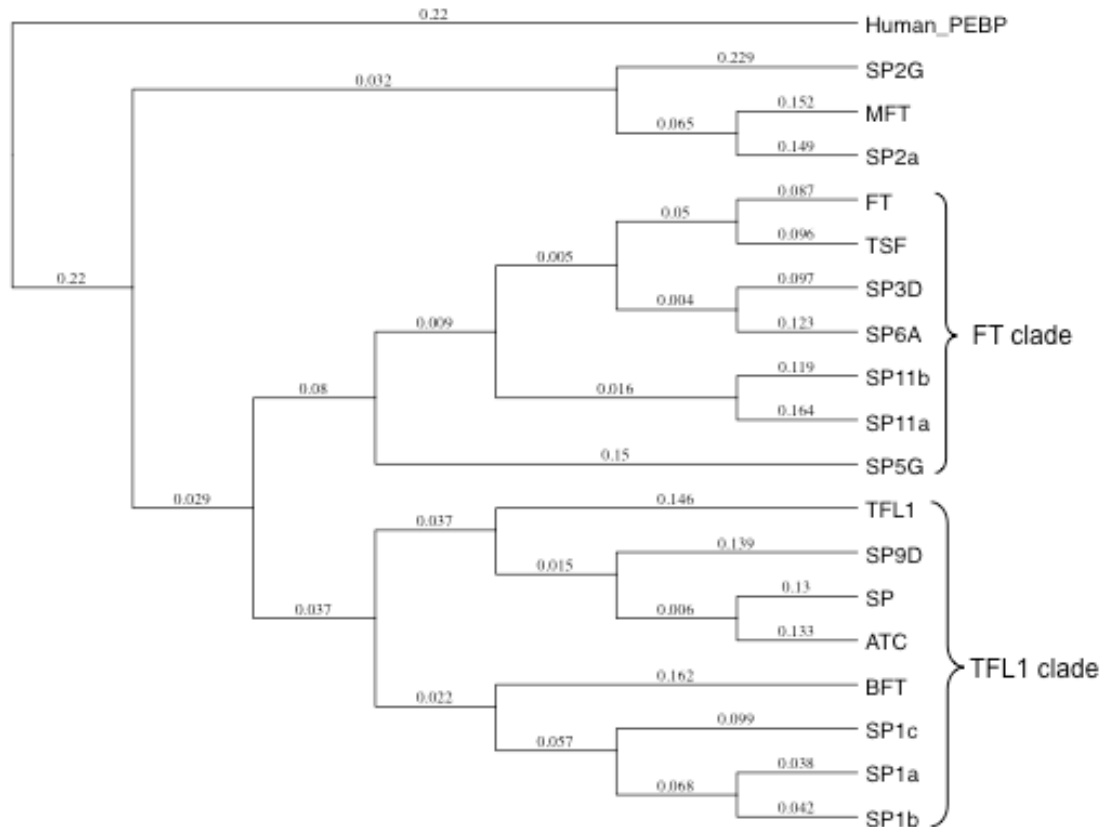


図 1. トマト FT ホモログ遺伝子の分子系統樹

各遺伝子のコード領域から予測されるアミノ酸配列を近隣結合法(Neighbor-Joining 法)により分子系統樹を作製した。SP__はトマトの遺伝子で、MFT、FT、TSF、BFT、ATC と TFL1 はシロイヌナズナの遺伝子である。Human_PEBP は root を計算するためのヒトのホモログ遺伝子。

基づいてプライマーを設計し、PCR 法により目的遺伝子の増幅を行った。その結果、12 個の FT ホモログ遺伝子のクローニングに成功した。残りの 2 個の遺伝子については、発現していないか、遺伝子アノテーションに誤りがある可能性が考えられる。クローニングに成功した 12 個の FT ホモログ遺伝子について、cDNA 全長の塩基配列を決定し、コードするアミノ酸配列に基づいた分子系統樹を作製した(図 1)。図に示す FT clade とは、フロリゲン FT に近いアミノ酸配列を持つタンパク質群である。また、TFL1 clade とは、アンチフロリゲンとよばれる TFL1 に近いアミノ酸配列を持つタンパク質群である。アンチフロリゲン TFL1 とは、FT と非常によく似たアミノ酸配列を持つが、花成を抑制する機能、つまりフロリゲンは逆の機能を持つタンパク質であることがシロイヌナズナでの研究により明らかになっている。従って、TFL1 clade のタンパク質は、その配列が FT と相同性を持っているにもかかわらず、花成に対しては抑制的に作用すると考えられる一群のタンパク質である。

表 1. トマト近縁野生種の日長応答性

<i>S. galapagense</i>	短日性
<i>S. pennellii</i>	短日性
<i>S. pimpinellifolium</i>	中性
<i>S. cheesmaniae</i>	短日性
<i>S. lycopersicum var. cerasiforme</i>	短日性
<i>S. peruvianum</i>	中性
<i>S. corneliomulleri</i>	中性
<i>S. neorickii</i>	短日性
<i>S. chilense</i>	中性
<i>S. huaylasense</i>	短日性
<i>S. arcanum</i>	中性
<i>S. chmielewskii</i>	中性
<i>S. chilense</i>	中性
<i>S. chmielewskii</i>	短日性
<i>S. habrochaites</i>	短日性

(2) トマト近縁野生種の日長応答性

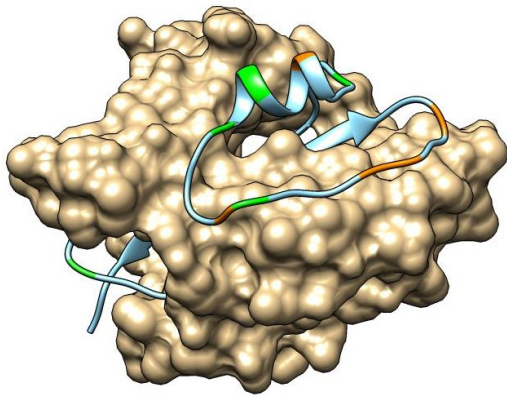
現存するトマトの栽培品種は、日長感受性を示さない中性植物であるとされている。実際に日本で栽培されている品種およびヨーロッパ系と呼ばれる品種について、十数種類を選んで調べたところ、全て中性植物であることが確認できた。次に、中南米の自生地から採集された現存するトマト近縁野生種の日長応答性を調べた。トマト遺伝資源ストックセンター (Tomato Genetics Resource Center, U. C. Davis) が所有している代表的なトマト近縁野生種について、日長応答性を調べた結果を表 1 に示す。表に示したように、トマト近縁野生種の過半数が短日性を示す結果となった。

(3) トマト *FT* ホモログの遺伝子構造

複数のトマト栽培品種からクローニンした *FT* ホモログの遺伝子と、表 1 のトマト近縁野生種からクローニングした *FT* ホモログの遺伝子との塩基配列とを比較した。その結果、トマト栽培品種間で塩基配列は全て一致したが、栽培品種と近縁野生種との間、および近縁野生種間には多くの一塩基多型 (SNP) が観察された。それらの中にはアミノ酸配列に影響を及ぼすものも存在した。

特に注目すべき発見は、*FT* clade に属する 2 つの遺伝子において、栽培品種から得られた遺伝子に、ナンセンス突然変異とフレームシフト突然変異とが見つかった。これらの変異は、タンパク質の機能に重大な影響を及ぼしていることを示唆する。一方、それらに対応する近縁野生種の遺伝子は完全長のタンパク質 (機能的なタンパク質) をコードしていた。これは、野生種で機能していたタンパク質が、栽培品種では機能が失われていることを示唆している (図 2)。

(A)



(B)

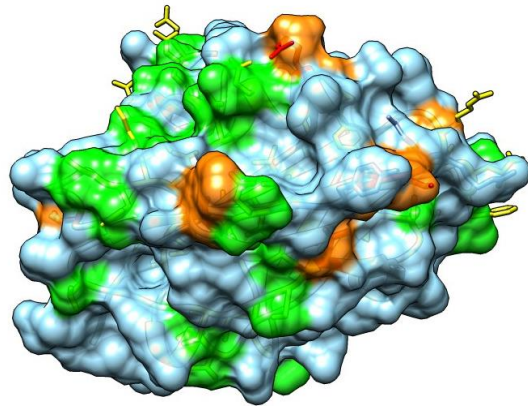


図2. トマト SP タンパク質の立体分子構造比較

(A)栽培トマトにおいて変異がある SP タンパク質タンパク質 (変異型、茶色のサーフェスモデル) と近縁野生種の SP タンパク質 (野生型、カラーのリボンモデル) の予想立体構造をスーパーインポーズしたもの。変異型では、分子表面に位置する領域が欠損していることがわかる。(B)近縁野生種の SP タンパク質 (野生型)。オレンジ色がタンパク質間相互作用に重要と考えられるアミノ残基を示す。

(4) トマト *FT* ホモログ遺伝子の組織特異的発現の解析

トマト *FT* ホモログ遺伝子の機能解析を進める前に各遺伝子の発現解析を行った。トマト *FT* ホモログ遺伝子には、*FT* clade と *TFL1* clade の両方の遺伝子群が存在しているが、これまでの研究から、フロリゲン遺伝子は葉で発現することが知られている。一方、*FT* ホモログ遺伝子の中でもアンチフロリゲンとして働く *TFL1* 遺伝子は、シロイヌナズナでは茎頂で発現している。また、これまでに調べられたトマトの *TFL1* ホモログ遺伝子は、茎頂で発現している遺伝子が多く、またそれらの遺伝子は直接的には花成に影響を与えないことが知られている。従って、葉で特異的に発現する遺伝子が花成制御に関与する遺伝子と考えることができる。

そこで、葉で特異的に発現する遺伝子について機能解析を進めるため、栽培トマトにおける *FT* ホモログ遺伝子の組織特異的発現を調べた(図 3)。図に示した遺伝子は、葉と茎頂の両方で発現がみられる例外的な遺伝子である。残り 11 遺伝子の内、5 遺伝子については主として葉で発現が観察され、別の 3 遺伝子については主に茎頂で発現がみられた。残る 3 遺伝子については、発現量がどの組織においても低く、かつ組織特異的な発現は観察されなかった。また、長日条件と短日条件とで遺伝子発現の違いを調べたところ、長日条件特異的な発現を示した遺伝子が 1 個、短日条件特異的な発現を示した遺伝子が 3 個あり、残りは日長条件特異性を示さなかった。

以上の遺伝子発現解析から、トマト *FT* ホモログ遺伝子の中に、日長に応答して葉で発現するという、典型的なフロリゲン遺伝子と同じ発現パターンを示すものが見つかった。一方、図 3 に示したように、葉と茎頂の両方で発現しているという、先例のない発現パターンを示す遺伝子も存在することが明らかとなった。

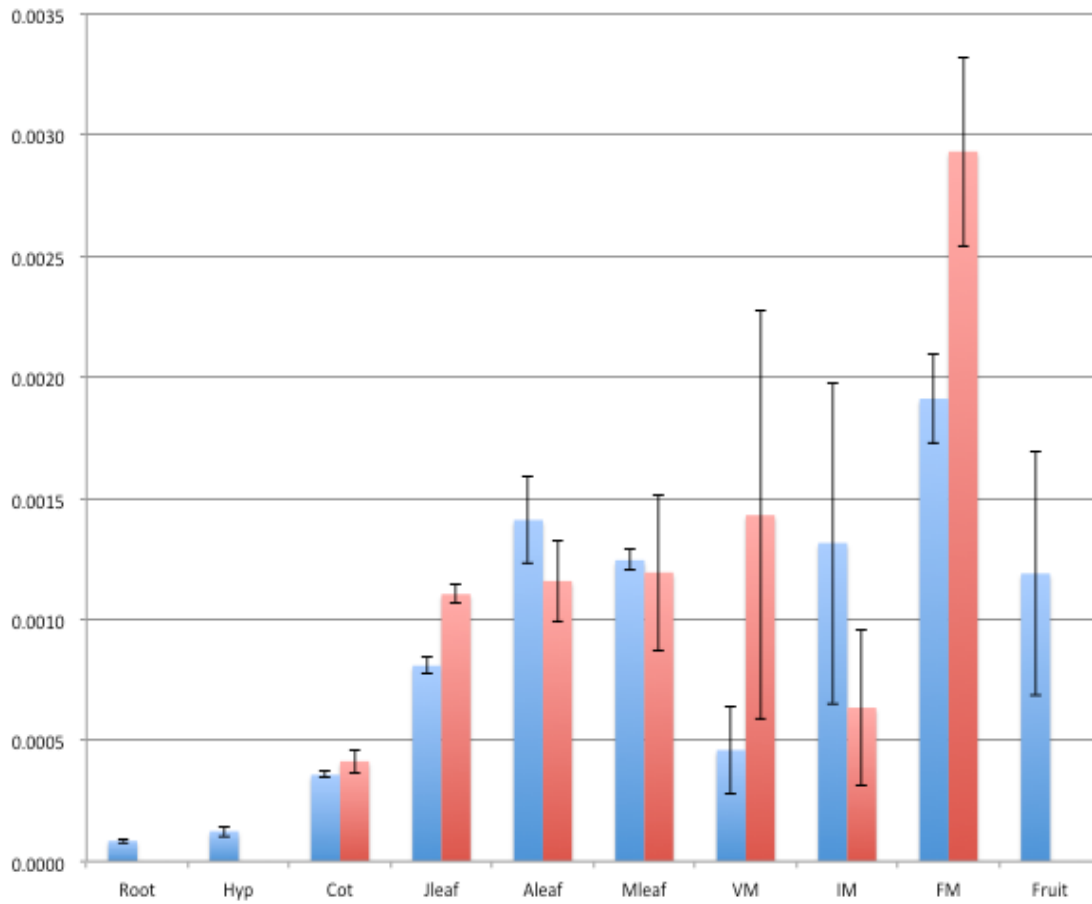


図3. トマト FT ホモログ遺伝子の組織特異的発現

蓄積している RNA 量を定量的逆転写リアルタイム PCR 法により測定した。縦軸はハウスキーピング遺伝子に対する相対的な発現量。青は長日条件、赤は短日条件での値。Root:根、Hyp:下胚軸、Cot:子葉、Jleaf:幼若葉、Aleaf:成熟葉、Mleaf:第一花房後の葉、VM:栄養茎頂メリステム、IM:花序茎頂メリステム、FM:花メリステム、Fruit:果実。

トマト *FT* ホモログ遺伝子は、12 個存在しており、遺伝子のファミリーメンバーの数が被子植物の中では多く、機能が多様化している可能性がある。つまり、これらの遺伝子メンバーの中にはフロリゲンから機能分化し、他の機能を持つようにリクルートされたものが存在すると考えられる。

(5) シロイヌナズナを用いたトマト *FT* ホモログ遺伝子の機能解析

遺伝子発現解析の結果、FT clade の遺伝子の大多数が葉特異的な発現を示し、TFL1 clade の遺伝子の多くが茎頂特異的な発現パターンを示した。

そこで、FT clade の遺伝子について、シロイヌナズナを用いた機能解析を行った。カリフラワーモザイクウイルスの 35S プロモーターを用いて、各々の遺伝子を構成的に発現させたシロイヌナズナの花成の表現型を調べた (図 4)。

まず、*SPc* と *SPe* 遺伝子について調べたところ、これらの遺伝子は花成に関する表現

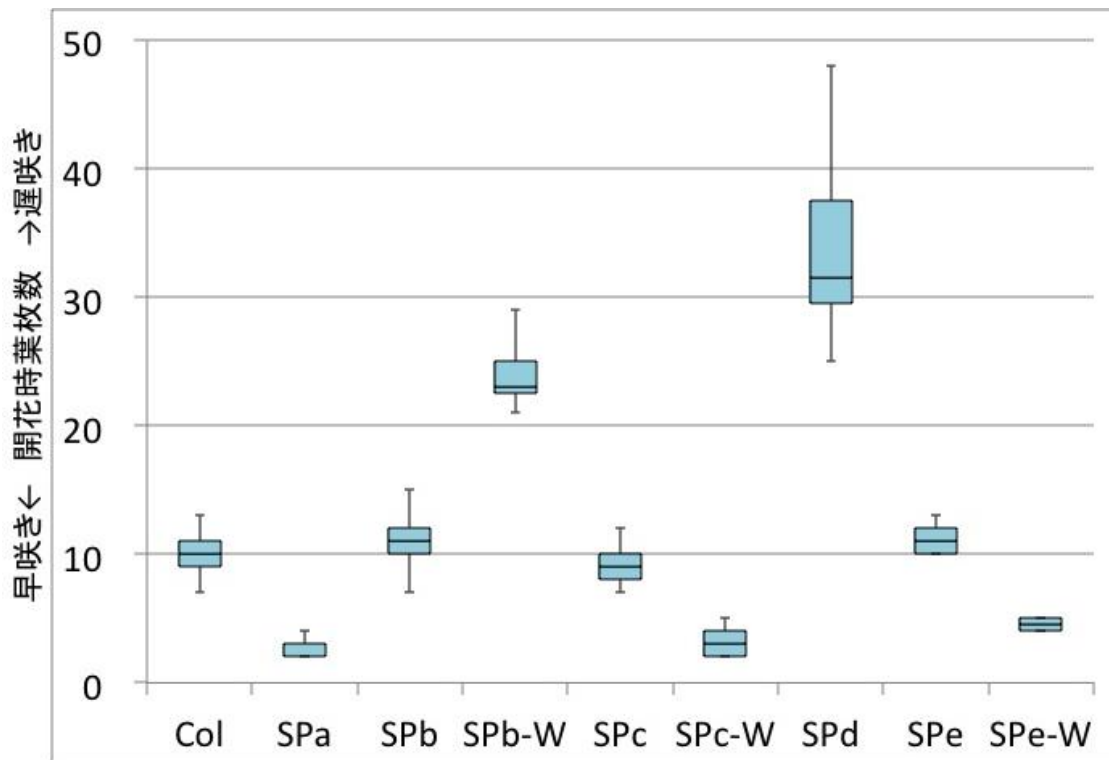


図4. 遺伝子導入シロイヌナズナを用いたトマト *FT* ホモログ遺伝子の機能解析

Col は遺伝子導入していない対照植物。SPa、SPb、SPc、SPd、SPe は、栽培トマト由来の遺伝子を、SPb-W、SPc-W、SPe-W は、近縁野生種由来の遺伝子を持つ遺伝子導入植物を示す。

型を示さなかった。これらの遺伝子は遺伝子構造から予想されたように、機能を失った変異遺伝子であることが明らかになった。そこで、これらの遺伝子の野生型遺伝子と考えられる近縁野生種由来の遺伝子 *SPc-W*、*SPe-W* を導入したところ、早咲きの表現型がみられ、フロリゲンとして働き得ることが示された。

次に、*SPd* 遺伝子について調べたところ、*SPd* は *FT* clade の遺伝子であるにもかかわらず、遅咲きの表現型を示した。さらに、SPb は、構造上では栽培種由来のタンパク質と近縁野生種由来のタンパク質とで、2 個のアミノ酸置換が起きているだけであるが、栽培種由来のタンパク質 SPb は機能を失っており、近縁野生種由来の SPb-W は遅咲きの表現型を示すことが明らかとなった。

(6) トマトを用いたトマト *FT* ホモログ遺伝子の機能解析

モデル系であるシロイヌナズナを用いて、他の植物種由来の遺伝子機能を評価する手法は、これまでの研究から十分に妥当性が認められている。一方、本研究で明らかになった事実は、これまでの *FT* ホモログ遺伝子に関する既成概念を覆すような重要なものであることから、トマトへの遺伝子導入は容易ではないものの、トマト *FT* ホモログ遺伝子の機能解析をトマトにおいても行うことが重要となった。

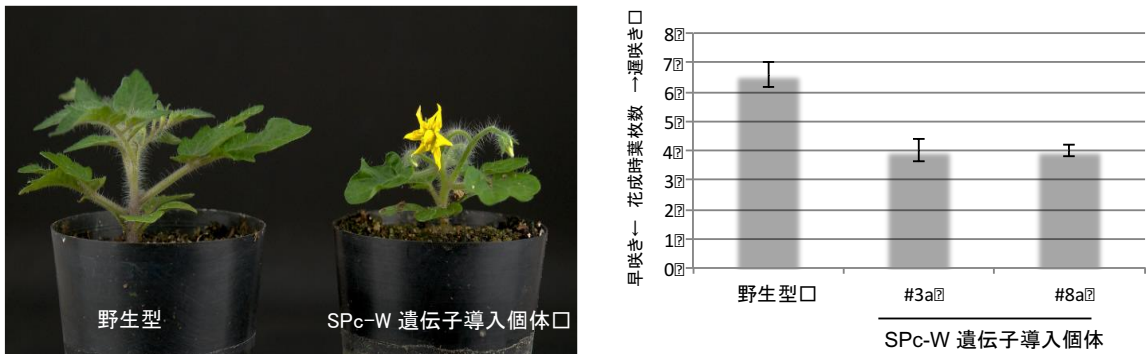


図 5. *SPc-W* 遺伝子導入トマトの機能解析

薬剤誘導性プロモーターをもつ *SPc-W* 遺伝子を導入したトマト。誘導条件下で早咲き表現型を示した。

35S プロモーター制御下で *SPc-W* 遺伝子を発現するように構築したプラスミドを導入したトマトは、非常に強く花成が促進されたため、次世代の種子が得られず、十分な解析が行えなかった。そこで、薬剤誘導性プロモーターを用いたプラスミドを再度構築して *SPc-W* を遺伝子導入した。その結果、アラビドプシスに導入した場合と同様に早咲きになることが示された (図 5)。

SPb-W および *SPd* 遺伝子を導入したトマトは、花成が強く抑制され、花が咲く個体を得ることが困難であった。この様に、トマトを用いた遺伝子機能解析は、かなり困難な物であったが、各遺伝子が持つ早咲きまたは遅咲きの機能は、アラビドプシスを用いた解析結果と概ね一致した。

(7) 染色体断片置換系統 (CSSL) を用いた解析と短日性トマトの作製

SPd 遺伝子を導入したトマトは、強い花成抑制のため花が咲かなかった。しかし、遺伝子導入前のトマトにも機能的な *SPd* 遺伝子 (内在遺伝子) が存在している。これは導入遺伝子が内在遺伝子より強力に働いたためと考えられる。つまり本来の遺伝子機能は、染色体の一部として核内に存在した時に発揮されるので、プロモーターを改変したりした遺伝子導入による機能解析には技術的限界が存在することが示唆された。

そこで、本来の野生型遺伝子、*SPb-W* または *SPc-W* を持つトマトの表現型を解析するには、それぞれの遺伝子を染色体の一部として核内に持つトマトを作製する必要がある。そのために染色体断片置換系統 (CSSL) 群を活用した。CSSL とは、栽培トマトと近縁野生種とを交配し、栽培トマトの染色体の一部分が近縁野生種の染色体に置換したトマト系統であり、置換した染色体の位置に応じて多くの系統が作出されている。これらの CSSL 群の中から、それぞれ *SPb* と *SPc* 遺伝子の染色体部位が置換した系統を遺伝子解析により選抜した。CSSL-*SPb* と名付けた系統は、栽培トマトの染色体背景で *SPb* 遺伝子を含む狭い染色体領域のみが近縁野生種の染色体に置換している系統である。つまり、ほぼ栽培トマトでありながら、染色体レベルで野生型の *SPb* 遺伝子を持つ系統である。同様に CSSL-*SPc* は、栽培トマトが染色体レベルで野生型の *SPc* 遺伝子を持つ系統である。

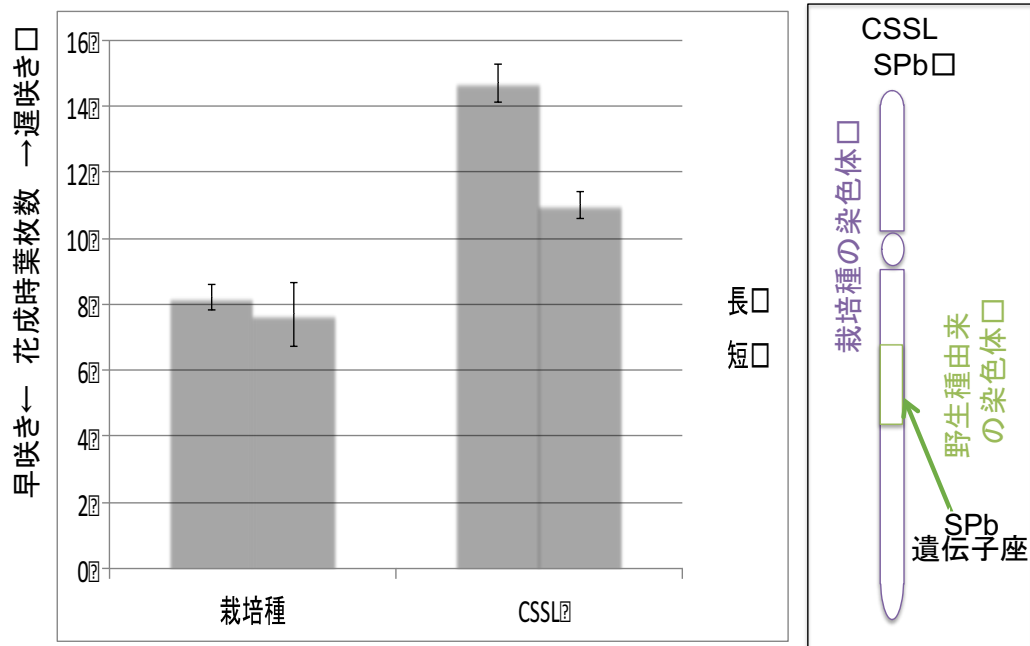


図 6. CSSL-SPb の花成の表現型と染色体構造

野生型遺伝子 SPb-W の染色体断片を持つ CSSL は、短日条件で花成が促進された。

CSSL-SPb および CSSL-SPc について、花成の表現型を調べた。CSSL-SPb は、*SPb-W* 遺伝子の機能や発現パターンから予想されたように、短日性トマトとしての表現型を示した (図 6)。一方、CSSL-SPc については、残念ながら栽培トマトとの表現型に差はみられなかった (図 7)。

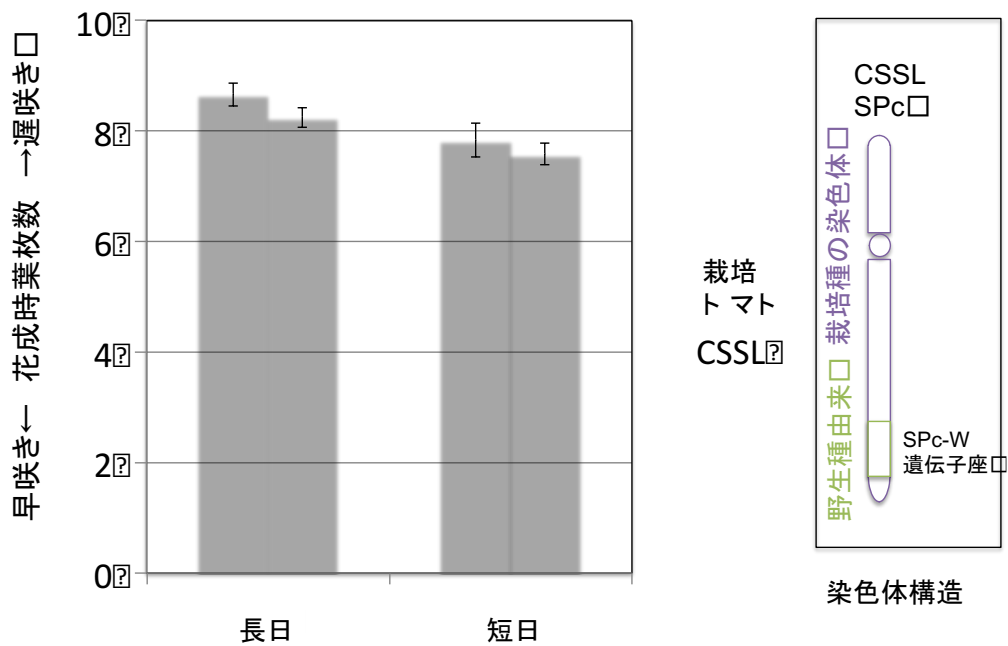


図 7. CSSL-SPc の花成の表現型と染色体構造

薬剤誘導性プロモーターをもつ *SPc-W* 遺伝子を導入したトマト。誘導条件下で早咲き表現型を示した。

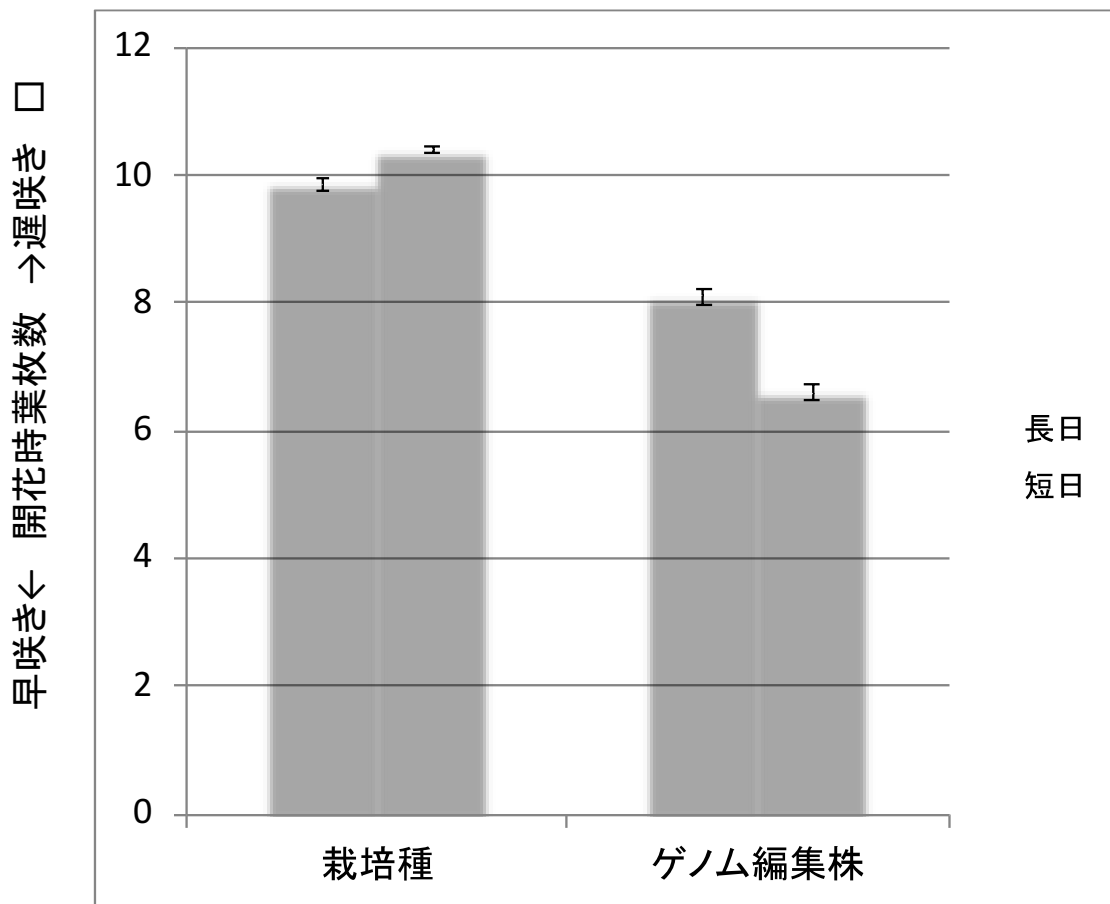


図8. ゲノム編集による *SPd* 遺伝子ノックアウト

SPd 遺伝子をノックアウトすることにより、理想的な短日性トマトの作出に成功した。

(8) ゲノム編集による理想的な短日性トマトの作製

CSSL-SPb により得られた短日性トマトは、短日条件により花成が促進されるというよりは、長日条件により花成が抑制されるという、短日性であった。作物としてのトマト生産には、短日条件により花成が促進されるタイプの短日性トマトが理想的である。そこで栽培トマトが野生型遺伝子として持っている、花成抑制遺伝子 *SPd* の機能をゲノム編集法により破壊（遺伝子ノックアウト）した。ノックアウト系統は、短日条件により花成が促進される、生産栽培にとって理想的な花成の表現型を示した（図8）。この系統は、今後トマトの品種改良にとって有望な育種母本となることが期待される。

まとめ

本研究では、トマトの持つ *FT* ホモログ遺伝子を全てクローニングし、その遺伝子構造を明らかにした。トマト近縁野生種由来の遺伝子との比較構造解析により、トマト栽培種の遺伝子に機能欠失をもたらす変異が生じていることが明らかとなった。また、シロイヌナズナとトマトを用いた遺伝子機能解析の結果、フロリゲンとして機能することが期待される *FT* clade に属する遺伝子であっても、花成を抑制するアンチフロリゲン

様の機能を持っていることが明らかとなった。

次に、栽培化によって失われた遺伝子機能を復活させるため、染色体断片置換システムを用いて研究を進めた。その結果、*SPb* 遺伝子の機能が染色体レベルで野生型になれば、栽培トマトも短日植物化することを見いだした。つまり *SPb* 遺伝子が、トマトの短日性を支配する鍵遺伝子である。また、ゲノム編集技術を用いることにより、生産栽培にとって理想的な特性を持つ短日性トマトの作製にも成功した。このシステムを用いた育種により、今後生産現場において有用な品種の開発が進むことが期待される。

令和2年度研究成果（報文、発表等）

1. 報文（総説・原著論文等）

TERMINAL FLOWER 1-FD complex target genes and competition with FLOWERING
LOCUS T

Yang Zhu, Samantha Klasfeld, Cheol Woong Jeong, Run Jin, Koji Goto, Nobutoshi Yamaguchi
& Doris Wagner

Nature Communications 11, Article number: 5118 (2020)

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）

花の形態形成にかかわる発生と遺伝

後藤 弘爾

公開講座「花は咲く -高校生物の教科書を彩る植物の世界-

第62回植物生理学会年会 2021年3月14-16日（松江；オンライン開催）

3. 知的財産権

なし

4. 共同研究・協力連携先

国立大学法人 岡山大学、京都大学

両備ホールディングス（株）

University of Pennsylvania, USA

5. 外部資金獲得状況

- ・公益(財)ウエスコ学術振興財団 研究費助成（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）

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	原 美由紀	
流動研究員	深松 陽介	
研究補助員	猪原 裕子	

大課題

県産農作物の効率的育種技術の開発と新品種育成

[概要]

県農業の振興には、消費者や生産者が求める高品質な農作物を作り、県産農作物のブランド力・競争力を向上させることが重要である。このため、栽培技術の向上とともに、優良オリジナル新品種の育成を進めていく必要がある。特に、新品種はブランドの要となることから、本県においては県主要農作物の新品種育成に積極的に取り組んでいるところである。品種育成の基本は、よい形質をもつ育種親を選んで交配し、より優れた形質を示す交配個体を選抜する交雑育種の手法で進められる。しかし、交雑育種法は優れた手法ではあるものの、育種目標に沿った望ましい品種を効率よく作出できないことも多く、現代の多様で変わりやすいニーズを十分に満たせていない。例えば、着果までに長い年月を要する果樹の育種や、病害抵抗性のような複雑な遺伝子系に支配された形質に関する育種は、従来の育種法が苦手とするところである。このため、多くの優良形質を合わせ持つ果樹新品種の効率的育成や、難防除性重要病害に対し強度に抵抗性を示す新品種の育成を目指すには、新しい技術の開発が望まれる。このような従来の育種課題を克服する新技術の開発が、県オリジナル優良品種の迅速な育成のための課題といえる。そこで、本研究グループでは、平成29年度からの第5期5カ年計画において、「ブランド力強化に向けた効率的モモ育種システムの開発研究」と「青枯病強度抵抗性ナス科作物の開発研究」の2つの研究課題に取り組んでいる。

中課題1

ブランド力強化に向けた効率的モモ育種システムの開発研究

[背景と目的]

モモの主要産地である岡山では、果皮が白く、果肉が柔らかくみずみずしい「岡山白桃」が県の代表的ブランド農作物の一つである。市場や消費者からの評価も高く、高値で取引される傾向にある。このような県産モモのブランド力をさらに強化するには、県独自のオリジナル品種の育成が有効である。本県では、明治時代後期からモモの品種改良のための交配に取り組み、これまでに「おかやま夢白桃」などの多くの優良品種を育

成してきた。岡山にはモモ育種の長い歴史と経験があるが、現在広く行われている交雑によるモモ育種は決して容易とは言えない。モモは着果するまで3年以上かかる上、成木は人の背丈を遥かに凌ぐ大きさにまで成長する。このような特性により、モモ育種には長い年月と広大な圃場が必要で、果実品質を正しく評価できるように栽培するには多くの労力と資金も必要となる。このため、大規模選抜を行うことは難しく、優良形質を有する個体を得るのが難しいという課題を抱えている。

これに対する対処法として、マーカー支援選抜の適用が期待される。マーカー選抜は、植物の成長段階に関わらず実施可能である。例えば、果実の形質に関する選抜を、着果する何年も前に実施できる。このため、定植前の幼苗の段階でマーカー選抜を行い、不良形質が予測される個体を排除し、残りの個体を定植するようになれば、栽培個体数を増やさずに大規模育種が可能となり、モモ育種が抱える課題を軽減、解消できる(図1)。複数のマーカーを組み合わせることで、小規模栽培では出現しにくい、複数遺伝子に規定された希少形質をもつ個体を効率的に見つけ出すことも可能である。

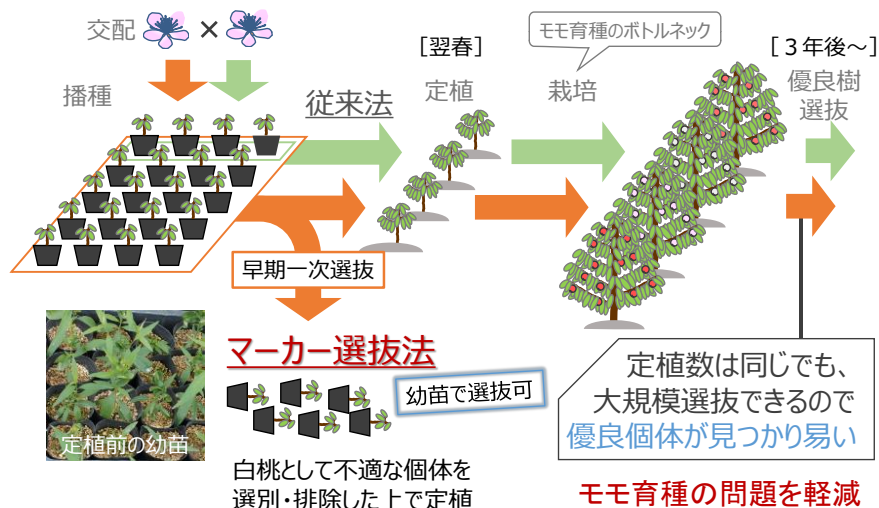


図1. DNA マーカーを利用したモモ育成の効率化

しかし、現実には、マーカー支援選抜のモモ育種への適用は遅れている。これは、育種目標に合致した高精度で簡便なマーカーの整備が遅れているためである。このような現状を打破し、岡山県のモモ育種を効率化するため、第4期五カ年計画において、農業研究所と共同で果皮色・果肉色・稔性の形質を識別する分子マーカーを開発してきた。第5期五カ年計画ではこの方針を引き継ぎさらに発展させることを目指し、マーカー支援選抜を利用したモモ新品種育成のより一層の効率化・加速化の実現に取り組んでいる。

[今年度の成果]

今後の県オリジナル品種に求められる複数の形質について解析およびマーカー開発に取り組んでおり、今年度は、モモ果実の肉質ならびに核の外れ易さに関する解析及びマーカー開発について詳細に報告する。

県産モモは成熟に伴って果肉が柔らかくなるものが主体であるが、このようなタイプ

の肉質は溶質と呼ばれる。モモは一般にクライマクテリック型果実と呼ばれ、収穫期にはエチレン生産量が急激に増加し、エチレンの増加が主に細胞壁の分解を介して果実の軟化が促されるとされる。一方、品種の中には成熟しても果肉が軟化しにくいものがある。おどろき、まなみは収穫後も高い果肉硬度を保ち、これらの肉質は硬肉と呼ばれる。硬肉の果実は収穫期のエチレン合成がほとんど見られないという特性がある。また、明星や錦、名月も果肉が軟化しにくく、生食よりも主に缶詰モモとして利用される。これらの肉質は不溶質と呼ばれ、その原因は4番染色体のM遺伝子座に座する。

モモの果実には種子を覆う硬い核が存在する(一般には、核をタネと呼ぶことも多い)が、現在目にするモモは核が果肉から離れにくい粘核と呼ばれるものが大部分である。一方、品種によっては核が果肉から外れやすい離核と呼ばれるものも存在する。離核は4番染色体のM遺伝子座と重なるF遺伝子座に支配されており、両者は合わせてFM遺伝子座と呼ばれている。肉質は食感や輸送性に関わる重要な形質で、核の外れ易さは食べ易さや加工のし易さと関わる形質である。そこで、主要な県産モモの溶質・粘核形質の遺伝的背景について詳細な解析を行った。

Guら(2016)は、溶質/不溶質および離核/粘核の形質は、FM遺伝子座に座する細胞壁分解酵素(polygalacturonase)遺伝子*PpendoPGM*および*PpendoPGF*の有無により

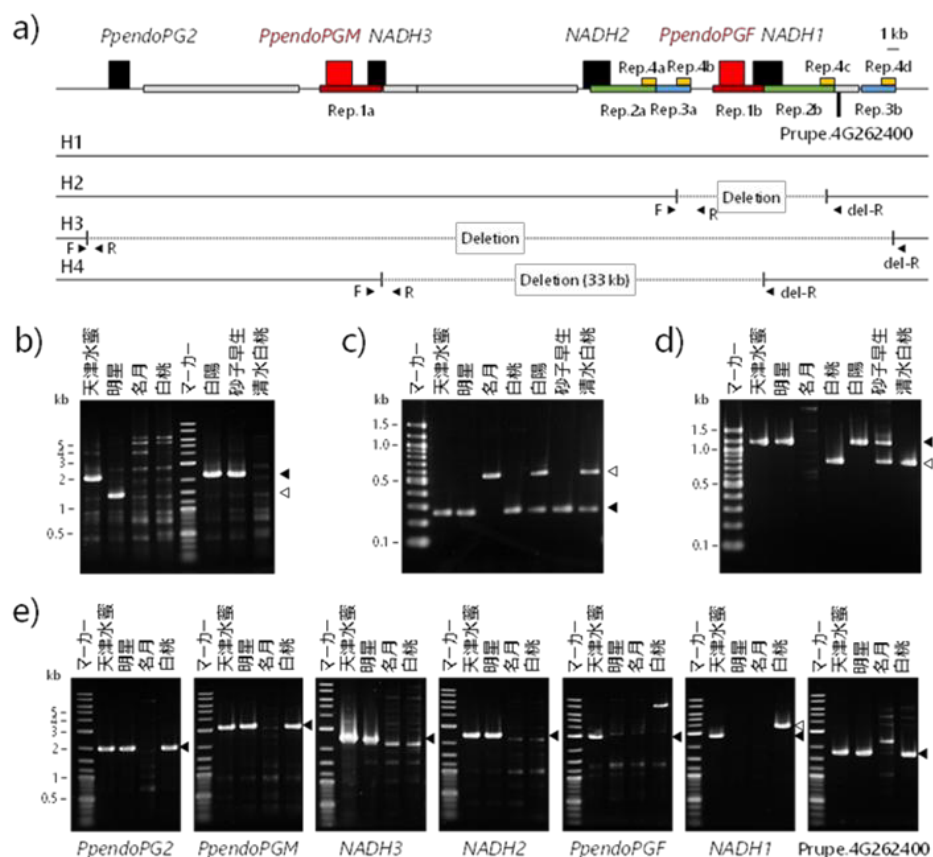


図2. モモ FM 遺伝子座近傍のゲノム構造と欠失変異の位置 (a)、FM 遺伝子座の H2 変異 (b)、H3 変異 (c)、H4 変異 (d) を検出するマーカー、および、日本品種を用いた FM 遺伝子座近傍遺伝子のゲノム PCR (e)

規定されることを明らかにした。すなわち、モモには3つのハプロタイプ H1、H2、H3 が存在し、それぞれ H1 は両方の遺伝子を持つが、H2 は約 12.8kb の欠失により *PpendoPGF* を失っており、H3 は約 70.5kb の大きな欠失により *PpendoPGM* と *PpendoPGF* の両方を失っている (図 2a)。そして、各品種はどのハプロタイプを持つかによって形質が決まることを示した。そこで、H2 欠失変異および H3 欠失変異を検出するマーカーを作成し、農業研究所ジーンバンクの品種について調査した (図 2bc)。その結果、天津水蜜は H1、明星は H2、名月は H3 のハプロタイプをホモに有すると考えられた。一方、主要な栽培品種のもとになったと考えられる白桃は溶質で粘核の形質を有するが、マーカー解析では H1~3 のいずれにも合致しないことが明らかになった。そこで、*FM* 遺伝子座近傍にコードされる 7 つの遺伝子を gPCR により調べたところ、*NADH3*、*NADH2*、*PpendoPGF* の 3 つが増幅せず、H2 や H3 とは異なるコピー数変異であると考えられ (図 2e)、これを H4 ハプロタイプとした。

Gu ら (2016) は、*FM* 遺伝子座近傍に 3 組の繰り返し配列を見出しており、Harr-plot 解析においてもこれら 3 組の繰り返し配列 (Repeat 1、2、3) が検出される (図 3a)。加えて、Repeat 2 および Repeat 3 の末端付近も繰り返し関係になっており (Repeat 4)、Repeat 4 は計 4 回の繰り返しである。これらの繰り返し配列と遺伝子の位置関係を図 2a に示す。H2 変異は Repeat 4b と Repeat 4c の間の欠失変異と考えられ、図 2e の結果と合わせると、H4 変異は Repeat 1a と Repeat 1b の間の欠失と推察される。そこで、Repeat 1 近傍の構造を比較したところ、Repeat 1b は Repeat 1a に比べ右側に 2 つの欠失変異を有

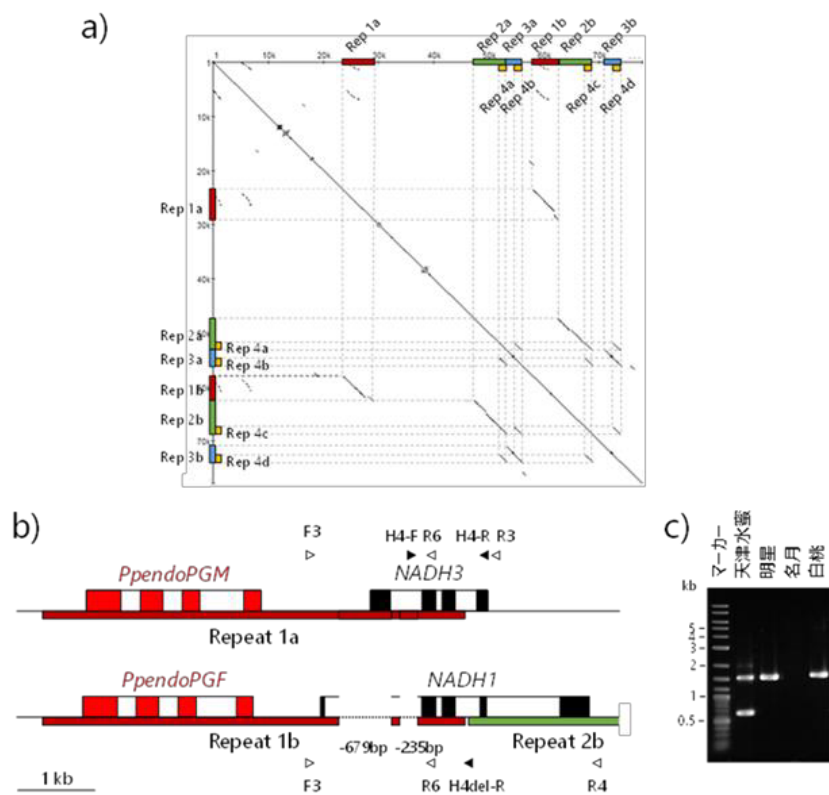


図 3. モモ *FM* 遺伝子座近傍の Harr-plot 解析 (a)、Repeat 1 の構造比較 (b)、および、‘白桃’の Repeat 1 内の In/Del 変異の調査 (c)

していた (図 3b)。この変異の有無を F3 および R6 プライマーを用いた gPCR により調べたところ、白桃はこの欠失変異を持たないことが明らかとなった (図 3c)。すなわち、*NADH3* は 3'側を欠く一方、*NADH1* は 5'側を欠く (図 2e で白桃から *NADH1* のシグナルが検出されたが、5'側プライマーを *NADH3* と共通のものを用いたため、*NADH3* と *NADH1* のキメラ遺伝子が検出されたと考えられる。この推察はシグナルサイズが約 0.9kb 増加していることと合致する)。以上のことから、H4 ハプロタイプでは Repeat 1 の右寄り付近で *PpendoPGF* を含む約 33kb の領域が欠失していると考えられる。

H1、H2、H4 ハプロタイプがもつ Repeat 構造から、各ハプロタイプが生まれた進化的関係が類推される。図 4a に示すように、もとは各 Repeat は 1 コピーずつ存在し、最初に Repeat 4 の重複が起こることで H4 ハプロタイプが生じたと考えられる。さらに、Repeat 1 から Repeat 3 の領域が重複し、続いて、Repeat 1a と Repeat 2a の間の巨大な挿入・*Prupe4G262400* を含む Repeat 2a から Repeat 3a 領域の欠失・Repeat 1b 内の 2 つの欠失の 3 つのイベントが起こり、H1 ハプロタイプが生まれた。そして、最後に Repeat 4b と Repeat 4c の間で欠失が起こり、H2 ハプロタイプができたと考えられる。すなわち、進化の過程で離核形質を獲得するイベントが起こり、その後離核形質を欠失するイベントが起こったと推定される。このような H1、H2、H4 ハプロタイプの進化的関係は、各ハプロタイプにコードされる *PpendoPGM* と *PpendoPGF* 遺伝子のアミノ酸配列をもとにした進化系統樹からも支持される (図 4b)。

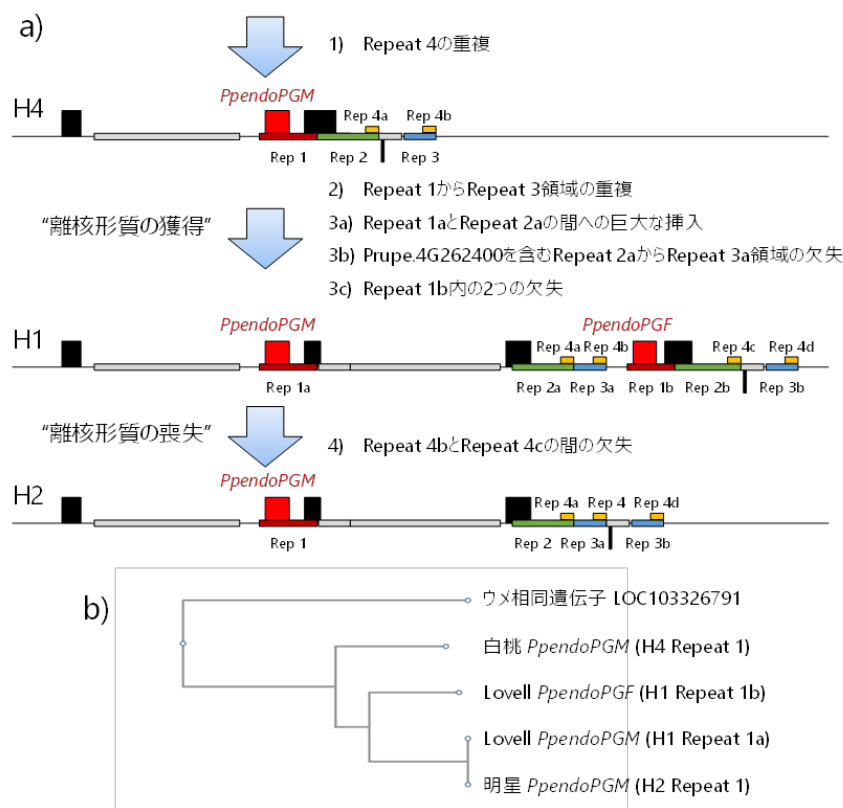


図 4. モモ *FM* 遺伝子座のリピート構造から推定したゲノム変異の進化的関係 (a)、および、*PpendoPGM* と *PpendoPGF* 遺伝子の分子系統樹 (b)

本研究により明らかとなった H4 変異の構造をもとに、H4 変異を検出する PCR マーカーを開発した。Repeat 1b の欠失領域に当たる部分に Repeat 1a 特異的なプライマー H4-F を設計し、Repeat 1a および Repeat 1b の外側にそれぞれに特異的なプライマー H4-R および H4del-R を設計した (図 3b)。これらのプライマーで PCR を行うことにより、H4 変異を簡便に検出できるようになった (図 2d)。作成した H2、H3、H4 変異検出マーカーは、図 2cd の白陽、砂子早生、清水白桃に示されるように、ヘテロの変異も検出することができる。マーカーを用いて *FM* 遺伝子座の構造を明らかにした農業研究所ジーンバンクの品種の一部を表 1 に載せる。現在の栽培品種の大部分は H4 変異をホモに持っており、栽培品種が溶質で粘核の形質を有する原因は主に H4 変異である。H1/H3、H1/H4、H3/H4 のヘテロ型品種も見出された一方、H2 変異をもつ品種は少ない。

表 1. マーカーにより推定された日本栽培品種の *FM* 遺伝子座の構造

遺伝型	品種	<i>PpendoPGM</i>	<i>PpendoPGF</i>
H1 ホモ	天津水蜜、おはつもも	+	+
H2 ホモ	明星、錦	+	-
H3 ホモ	名月、寿蜜太郎	-	-
H4 ホモ	白桃、白鳳、川中島白桃、浅間白桃、おかやま夢白桃、岡山 PEH7 号、岡山 PEH8 号など	+	-
H1/H3 ヘテロ	白陽、中山金桃	+/-	+/-
H1/H4 ヘテロ	砂子早生、さきがけはくとう、大久保	+	+/-
H3/H4 ヘテロ	清水白桃、おどろき	+/-	-

溶質および離核の形質が遺伝的に不溶質および粘核よりも顕性である。明らかとなった *FM* 遺伝子座の構造と形質の関係を調べたところ、*PpendoPGF* をホモ (天津水蜜など) またはヘテロ (白陽、砂子早生など) にもつ品種はいずれも核が外れ易く、マーカー解析と形質は一致した。他方、*PpendoPGM* については、欠損する H3 ホモの品種 (名月) は不溶質の形質を示し、ホモまたはヘテロに有する多くの品種は概ね果肉が軟化したものの、厳密に見ると、マーカー解析と形質が一致しない品種もある。おどろきは *PpendoPGM* をヘテロにもつが、果肉硬度は高く保たれる。ただし、これは上述したように硬肉品種で、オーキシン合成酵素がある *PpYUC11* の上流域におけるトランスポゾン様配列の挿入変異が硬肉形質の原因と考えられている (Tatsuki et al, 2018)。明星、錦は主に缶詰用の品種で果肉が軟化しにくい、*PpendoPGM* をホモに有している。H2 ハプロタイプの *PpendoPGM* には未同定の変異があるか、これらの品種は果肉軟化を妨げる別の遺伝子変異をもつ可能性があり、マーカー精度を上げるには今後のさらなる解析が必要である。なお、本研究と同様の結果は、Nakano ら (2020) が行ったゲノム解析の研究からも得られている。

(参考文献) Gu et al (2016) J. Exp. Bot. 67: 1993–2005, Tatsuki et al (2018) Plant J. 96, 815–827, Nakano et al (2020) Front. Plant Sci. 11:554158

中課題 2

青枯病強度抵抗性ナス科作物の開発研究

[背景と目的]

本課題では、ナス科作物の最重要病害「青枯病」に強い新品種を作することを目的に研究を行っている。生産者からは、果実品質や収量に優れ、青枯病に強い新品種が求められているが、これら形質はいずれも複数遺伝子支配のため、育種選抜が困難である。青枯病抵抗性作物を効率よく選抜するには、抵抗性遺伝子の解明が必須と考えられる。一般的に、青枯病抵抗性植物は青枯病菌が感染時に植物に注入するタンパク質性の病原因子（エフェクター）を認識して強力な抵抗反応を誘導する（図5）。我々は、抵抗性植物に認識される青枯病菌の非病原力（Avr）エフェクター及びナス科作物が持つ抵抗性（R）タンパク質（R）の同定を行っている（図6）。

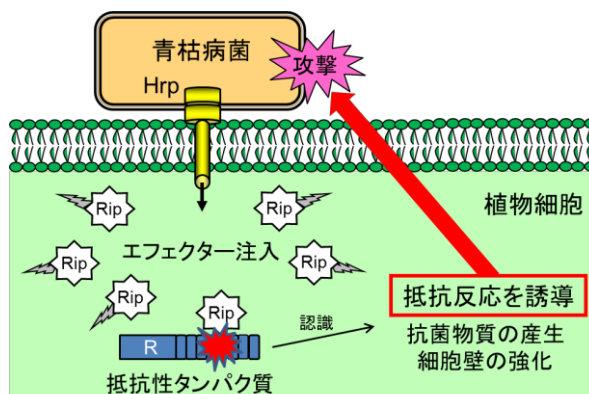


図5. 植物の青枯病菌認識。青枯病菌は植物感染時にIII型分泌装置（Hrp）から宿主細胞にエフェクターを注入する。抵抗性（R）タンパク質は特定のエフェクターを認識して病害抵抗反応を誘導し、病原菌の植物内増殖を抑制する。

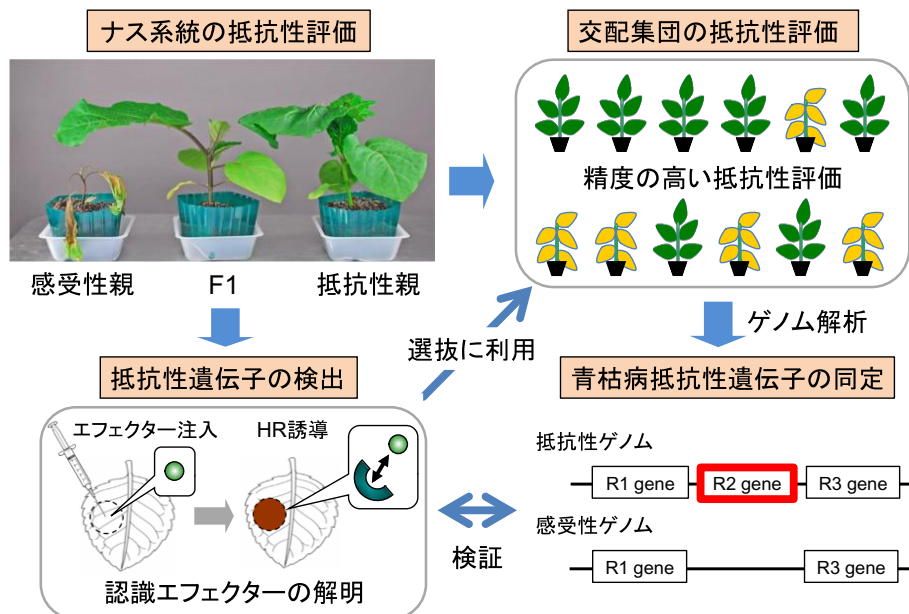


図6. Avr エフェクターを利用した青枯病抵抗性遺伝子の同定

[今年度の成果]

① ナス野生系統 No. 98 が持つ青枯病抵抗性遺伝子の性格付け

昨年度、抵抗性台木を通り抜けて穂木を発病させる青枯病菌 *sequevar 15* に強い抵抗性を示すナス野生系統 No. 98 を見出した。No. 98 系統が持つ強度抵抗性は特定の Avr エフェクター認識に起因することから、本系統は当該 Avr エフェクターを認識する抵抗性 (*R*) 遺伝子を持つと考えられる。これまで、いくつかのナス近縁野生種 (*Solanum torvum* 及び *Solanum integrifolium*) で Avr エフェクターを認識する *R* 遺伝子の存在が報告されているが、*S. torvum* はナス (*Solanum melongena*) との交配が不可能であり、*S. integrifolium* も雑種後代を取得するのが極めて難しい。一方、No. 98 系統は青枯病抵抗性の *R* 遺伝子を持つ初めてのナス系統であり、既存ナス品種に *R* 遺伝子を導入できる交配親としての利用価値が非常に大きいと考えられる。実際に、No. 98 系統を青枯病感受性のナス系統と交配したところ、ごく容易に交配後代 (F1) が取得できることが明らかとなった。F1 雑種個体は、姿形や軸のアントシアニン蓄積については両親の中間の表現型を示したが、青枯病抵抗性に関しては No. 98 系統と同程度の強い抵抗性を示した (図 7)。このことから、No. 98 系統が持つ青枯病抵抗性は優性遺伝子に支配されることが確認され、一般的な *R* 遺伝子の表現型と矛盾しない。現在、F2 後代集団の作出を進めており、今後、それら植物の青枯病抵抗性解析とゲノム解析から *R* 遺伝子の同定を進める予定である。

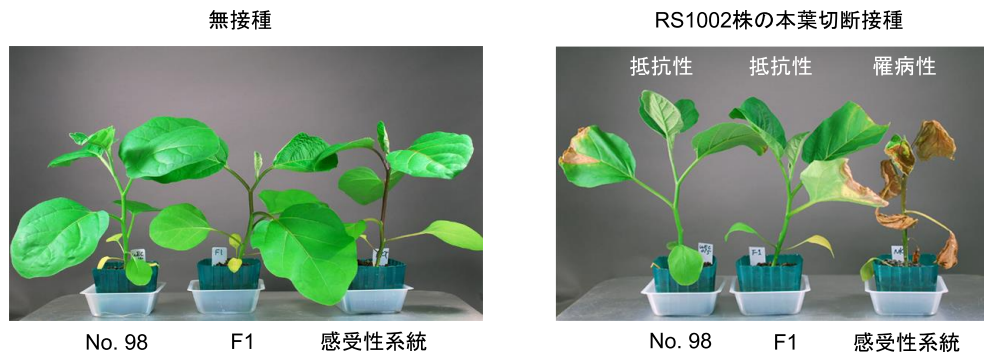


図 7. No. 98 系統と青枯病感受性系統の F1 雑種個体が持つ青枯病抵抗性の評価。植物の本葉を青枯病菌に浸漬したハサミで切断して接種。写真は接種 7 日後。

② ナスが認識する *phyloptype IV* 青枯病菌 Avr 遺伝子の同定

ナス (*Solanum melongena*) は国内産地で問題となっている *phyloptype IV* の青枯病菌に強度抵抗性を示すことが知られている。我々は *phyloptype IV* 青枯病菌に対する過敏感反応 (HR) を失ったナス系統を複数見出しており、HR 誘導系統と非誘導系統の交配後代の解析から *phyloptype IV* 青枯病菌を認識する *R* 遺伝子の同定を進めている。これまでの研究から、Hrp タイプ III 分泌系を欠損した *phyloptype IV* 青枯病菌の $\Delta hrpB$ 変異株や $\Delta hrpY$ 変異株はナス HR 誘導活性を完全に消失することが明らかとなっている (平成 30 年度年報)。このことから、ナスは *phyloptype IV* 青枯病菌の何らかのエフェクターを認

識して HR を誘導していると推察された。そこで今年度、*phylotype IV* 青枯病菌 PW1001 株を材料にナスに認識される Avr エフェクターの探索を行った。まず最初に、PW1001 株は約 70 種類のエフェクターを個々に部分欠損させ、約 70 の遺伝子破壊株シリーズを作出した。これらをナス本葉に接種し、HR 誘導活性を調べたが、約 70 種類のエフェクター変異株の中に HR 誘導が消失する株は存在しなかった。このことから、(1) PW1001 株には未知エフェクターが存在する、(2) 部分欠損でも Avr 活性を保持しているエフェクターが存在する、(3) 2 つ以上の Avr エフェクターが存在する、等の可能性が考えられた。

従来法では Avr エフェクターの同定は難しいと考えられたため、PW1001 株のゲノム DNA 断片をナス青枯病菌 (ナス HR 非誘導) に導入し、HR 誘導活性の付与を指標に *avr* 遺伝子を探索することとした。青枯病菌では薬剤選択が無い植物内でプラスミドが容易に脱落するため、他の植物病原細菌で一般的なコスミドベクターを用いた *avr* 遺伝子スクリーニングを適用することができない。この問題を打破するため、コスミド SuperCos1 に接合伝達オリジン (*oriT*) を挿入し、ゲノム導入コスミド SuperCosT を新規に作出した (図 8)。SuperCosT に PW1001 ゲノム DNA 断片 (平均で約 38 kb) を組み込み、まず最初に、接合伝達能を持つ大腸菌 S17-1 株を宿主としてコスミドライブラリーを作出した。続いて、接合を介して各コスミドをナス青枯病菌 RS1085*株に導入した。RS1085*株はナス青枯病菌 RS1002 由来菌株であるが、 $\Delta epsP$ 変異を持っているため細胞外多糖類 (EPS) を産生せず、非流動性のコロニーを形成する。このため、一枚のプレート上で多数のコロニーを取り扱うことができる。また、RS1085*株のゲノム中には SuperCosT の配列の一部 (約 3.5 kb) があらかじめ組み込まれており、接合後にカナマイシンで選択すると、青枯病菌内で自律的複製ができない SuperCosT がゲノム中の相同配列に一回交差で組み込まれたコスミド導入株をある程度の頻度で得ることができる。一旦、ゲノムに組み込まれたコスミドは薬剤選抜が無い条件でも青枯病菌から脱落することは無く、これにより植物でコスミド導入株の表現系を安定に評価することが可能となった。

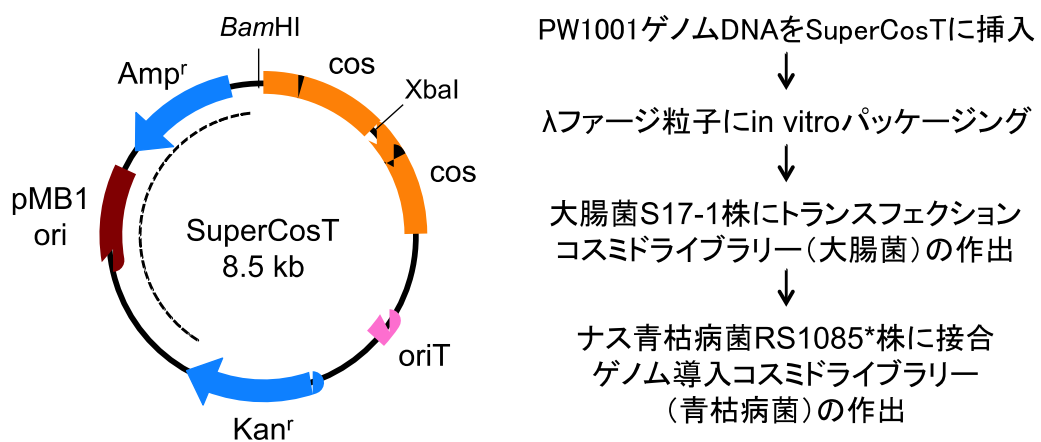


図 8. ゲノム導入コスミド SuperCosT を利用したコスミドライブラリーの作出

本研究では、最終的に約 1,400 のコスミド導入青枯病菌株を作出した。この数は PW1001 株の全ゲノム領域をカバーするに十分な数である。これらのコスミド導入菌株をナス本葉に注入して HR 誘導活性を調べたところ、本来はナスに HR を誘導しない RS1085*株が HR 誘導活性を示すようになったコスミド導入株が得られた (図 9A)。最終的に、ナス HR 誘導活性を示す 15 のコスミド導入菌株が得られ、これら菌株が持つコスミド (HR-1~HR-15) の解析から、全ての HR 誘導コスミドに共通する 10.8 kb の領域が見出された (図 9B)。内部にコードされる ORF の相同性検索からこの領域内にタイプ III エフェクターをコードする *hopBF1* 遺伝子が見出された。

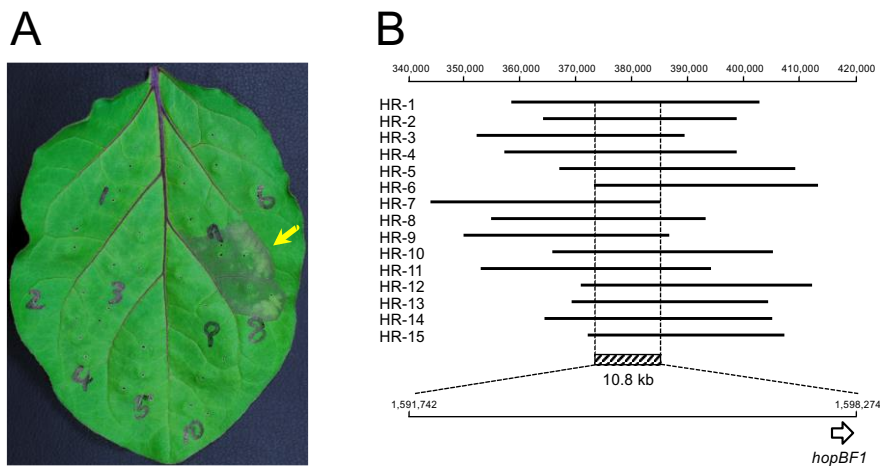


図 9. ナスに HR を誘導する PW1001 遺伝子の同定。(A) ナスに HR を誘導するコスミド導入菌株の単離。写真は接種 24 時間後。(B) HR 誘導コスミドが持つ PW1001 ゲノム領域。

ナス青枯病菌 RS1002 株に *hopBF1* を導入すると、ナスに対する HR 誘導活性が付与された (図 10A)。また同時に、*hopBF1* 導入株ではナスに対する病原性が完全に消失した (図 10B)。この結果から、PW1001 株の *hopBF1* はナスに認識され、強い抵抗反応を誘導する Avr 因子であることが証明された。

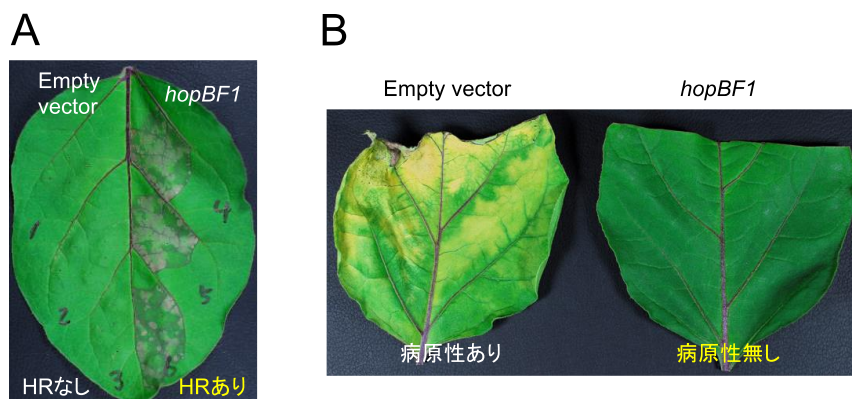


図 10. *hopBF1* を導入したナス青枯病菌 RS1002 株の表現型。(A) ナスに対する HR 誘導活性。写真は接種 24 時間後。(B) ナスに対する病原性。植物の本葉を青枯病菌に浸漬したハサミで切断して接種。写真は接種 7 日後。

PW1001 の $\Delta hopBF1$ 変異株では、ナスに対する HR 誘導活性が完全に消失した (図 11A)。この結果から、PW1001 株の *hopBF1* はナスに可視的な HR を誘導する主要 Avr 因子であることが証明された。また、 $\Delta hopBF1$ 変異株ではナスにごく弱い病原性を示すようになることが観察された (図 11B)。 $\Delta hopBF1$ 変異株がナスを完全に発病させることができないことから、ナスは HopBF1 以外の未知のエフェクターを更に認識していることが強く示唆される。我々のこれまでの研究から、タバコは RipB を主要 Avr 因子として強く認識する以外に、RipP1 及び RipAA をマイナーな Avr 因子として弱く認識し、結果として強力な青枯病抵抗性を発揮していることが明らかになっている。ナスも phylotype IV 青枯病菌の複数のエフェクターを認識して強度抵抗性を発揮している可能性が高い。

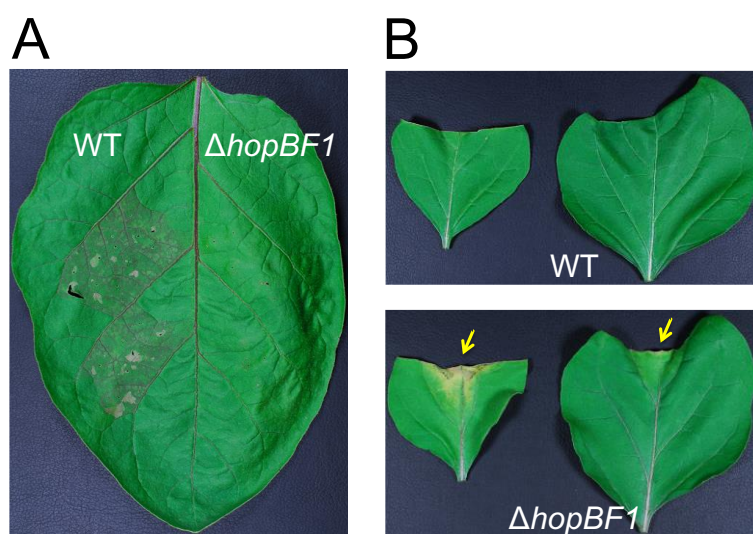


図 11. *hopBF1* を導入したナス青枯病菌 RS1002 株の表現型。(A) ナスに対する HR 誘導活性。写真は接種 24 時間後。(B) ナスに対する病原性。植物の本葉を青枯病菌に浸漬したハサミで切断して接種。写真は接種 7 日後。

本年度の研究から、抵抗性植物が認識する Avr エフェクターを効率よく同定する新手法が青枯病菌において確立された。本手法を用いることで、青枯病菌 Avr 因子の同定が大きく進むと考えられる。これにより、Avr 因子の情報をもとに対となる R 遺伝子の同定が容易になり、各種作物に抵抗性遺伝子を集積できるようになると期待される。本研究でも HopBF1 を認識する R 遺伝子の同定を進めており、その成果を phylotype IV 青枯病菌に対する抵抗性育種に利用したいと考えている。

令和 2 年度研究成果（報文、発表等）

1. 報文（総説・原著論文等）

Masahito Nakano, Yuki Ichinose and Takafumi Mukaihara

Ralstonia solanacearum type III effector RipAC targets SGT1 to suppress effector-triggered immunity.

Plant and Cell Physiology 61:2067–2076 (2020)

概要：青枯病菌のタイプ III エフェクター RipAC はタンパク質中央領域にロイシンリッチリピートを持つ特徴的な病原因子である。本論文では、RipAC が植物のエフェクター誘導免疫（ETI）を強力に抑制する活性を持つことを見出した。RipAC の ETI 抑制活性には LRR が必須であった。酵母ツーハイブリッドシステムを用いた解析から、RipAC は植物の ETI に必須な SGT1 タンパク質と相互作用すること及びこの相互作用には LRR が必須なことを見出した。RipAC は SGT1 を標的として植物免疫を抑制し、病原菌増殖を可能にすると考えられる。

Kamrun Nahar, Takafumi Mukaihara, Fumiko Taguchi, Hidenori Matsui, Mikihiro Yamamoto, Kazuhiro Toyoda, Yoshiteru Noutoshi, Tomonori Shiraishi and Yuki Ichinose

HopH1 effectors of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and pv. *syringae* B728a induce HR cell death in nonhost eggplant *Solanum torvum*.

Journal of General Plant Pathology 87:24-29 (2021)

概要：*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 及び *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* B728a が持つ HopH1 エフェクターは青枯病菌の Zn 依存性プロテアーゼエフェクター Rip36 のホモログである。Rip36 はナス近縁種トルバム・ビガーに過敏感細胞死を誘導することを報告しているが、本論文では 2 種の *Pseudomonas syringae* が持つ HopH1 をトルバム・ビガーに HR を誘導しない *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 1448A に導入するとトルバム・ビガーに対する HR 誘導活性が付与されることを示し、HopH1 ファミリーで HR 誘導活性が保存されていることを明らかにした。

Yushi Katsuyama, Mizuho Doi, Sachi Shioya, Sanae Hane, Momoko Yoshioka, Shuichi Date, Chika Miyahara, Tomomichi Ogawa, Ryo Takada, Hanako Okumura, Rie Ikusawa, Sakihito Kitajima, Kenji Oda, Kenji Sato, Yoshikazu Tanaka, Takahiro Tezuka, and Masanobu Mino

The role of chaperone complex HSP90-SGT1-RAR1 as the associated machinery for hybrid inviability between *Nicotiana glauca* Domin and *N. tabacum* L.

Gene 776:15 (2021)

概要：種間雑種の致死性に関わる因子を明らかにするため、*Nicotiana* 属内の種間雑種

(*N. gosseii* x *N. tabacum*) の 2 つの培養細胞系統について解析した。また、*N. tabacum* の葉での *N. gosseii* の *SGT1* および *RAR1* の一過的発現が細胞死を引き起こすことを見出した。*Nicotiana* 属の雑種致死にはシャペロン複合体の因子が関与すると考えられる。

Satoru Maeda, Naoki Yokotani, Kenji Oda, and Masaki Mori

Enhanced resistance to fungal and bacterial diseases in tomato and Arabidopsis expressing BSR2 from rice

Plant Cell Reporter 39:1493–1503 (2020)

概要：広宿主範囲の病原菌に抵抗性を付与する遺伝子は限られたものしか報告されていない。本研究では、イネの *BSR2* 遺伝子を発現させたシロイヌナズナやトマトが真菌の *B. cinerea* や *R. solani*、細菌の *P. syringae* や *R. pseudosolanacearum* に対し幅広い病害耐性を示し、*BSR2* の過剰発現が複数の病害から作物を守る効果的な戦略となることを明らかにした。

福田文夫、玉木由佳、河井崇、牛島幸一郎、平野健、小田賢司、原美由紀、深松陽介、森永邦久、中野龍平

極晩生モモにおける果実肥大および成熟様相 (Characterization of Fruit Enlargement and Ripening in Extremely Late Maturing Peach)

園芸学研究 20 巻 1 号 p. 65-71 (2021)

概要：岡山県で 11 月に収穫されるモモ‘冬桃がたり’の果実肥大や成熟様相を晩生品種‘あきぞら’と比較し、その特性を調査した。果肉発育の第 2 期に入る時期までは大差なかったが、‘冬桃がたり’では第 3 期に転換する時期が遅く、果実成長速度も遅かった。種子の胚の発達に大きな差は見られなかった。

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)

Laili, N., Mukaihara, T., Matsui, H., Yamamoto, M., Noutoshi, Y., Toyoda, K., and Ichinose, Y.

Role of trehalose synthesis in *Ralstonia solyganii* PW1001 to induce hypersensitive response on eggplant (*Solanum melongena* cv. Senryo-nigou).

令和 3 年度日本植物病理学会大会、令和 3 年 3 月 17 日~19 日 (オンライン)

小田賢司

オリジナル品種育成を目指した岡山県のモモ育種研究

おかやまバイオアクティブ研究会第 57 回シンポジウム・第 20 回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム

令和 2 年 10 月 21 日 (オンライン)

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、京都大学、近畿大学、農研機構野菜花き研究部門、岩手生物工学研究センター

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)
- 外部知見活用型・産学官連携研究事業 (代表 小田賢司)
- 外部知見活用型・産学官連携研究事業 (代表 向原隆文)
- ウェスコ学術振興財団研究活動費助成 (代表 原美由紀)

6. その他

岡山県立大学連携大学院 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)

Journal of General Plant Pathology, Associate Editor (向原隆文)

日本植物病理学会報 原著編集委員 (向原隆文)

おかやまバイオアクティブ研究会 企画委員 (小田賢司)

植物活性化研究グループ

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
研究補助員	今井 由理子
研究補助員	難波 千鶴
研究補助員	二枝 翔子

大課題

革新的植物活力向上技術の開発研究

[概要]

2050年には地球人口が97億人(2019年6月推計)に達すると予想されており、食糧の安定供給は最も重要な問題の一つである。近年の地球規模での気候変動が原因と考えられる高温、干ばつの頻発化及び、病害虫の発生は、農業生産の不安定化リスクを高める要因となっている。特に、作物の生産において、病害虫の問題は最重要要素であり、病害虫の防除において農薬は大きな役割を担っている。しかし、多くの剤への薬剤耐性菌が発生し、十分な防除効果を有する殺菌性農薬は限られている。また、細菌病やウイルス病に対する有効な農薬の不足、マイナー作物においては登録農薬が無いなどの解決すべき課題が少なくない。また、世界人口の増加にともなう食糧の不足、地球環境変動に対応した農業技術の開発、化学合成農薬・肥料の使用に伴う環境負荷など、“持続可能な開発目標(SDGs; Sustainable Development Goals)”の観点においても、農法の大きな転換期に来ていることがうかがえる。一方、消費者のニーズとしては、有機無農薬あるいは減農薬栽培の要望は強い。岡山県における病害防除も、化学合成された殺菌性の農薬に大きく依存している。このような状況から、新たな発想による病害防除技術の普及や資材の開発が求められている。当研究グループでは、環境保全型農業に適した病害防除剤の開発、減農薬栽培に向けた防除技術の構築及び病害抵抗性作物の育種により、岡山県の農産物のブランド化、特に、イチゴの減農薬栽培の技術開発をめざした。

令和2年度は、当研究グループが中心となって運営する農林水産省「知」の集積と活用場「植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム」のネットワークを最大限に活用して積極的に外部競争的資金を獲得し、基礎基盤研究として、「抵抗性誘導資材の開発とその作用機作の解明、植物の抵抗性誘導機構の解明、学術論文の発表」など、研究成果の応用に向けて、「特許出願、特許実施許諾、研究成果の講演、企業との連携」など、成果の実用化に向けて、「開発技術の農業現場への導入に向けた実証試験・普及」を行った。

[背景と目的]

農業は食糧を供給する役割だけではなく、国土保全、自然環境の保全などの様々な役

割を有しており、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との調和のもとに、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、晴れの国おかやま生き生きプランに掲げる「おかやま有機無農薬農産物」栽培の拡大に向けた環境保全型農林水産業の推進、県産農産物のブランディング及び、利益率の向上が求められている。

日本の農業総産出額(耕種)は約6兆円(平成29年度、農林水産省HPより)である。科学的な試算では病虫害により36%減収したと推定されるので、本来の生産可能額は約9.4兆円と見積もられる(図1)。減収の要因のうち、

1/3の1.1兆円の損失は病害が原因である。このように病害は作物の安定生産を阻害する最大の要因であり、また、食料循環効率の低減の原因になっている。化学肥料だけでは植物の生産性を劇的に向上させることは困難であり、現在の育種技術では解決までに多くの時間を要する。また、従来の技術で病害を完全に克服しようとするれば、より大量の殺菌性農薬の圃場への投入を必要とする。しかしながら、農薬の安全性に関する科学的な議論を超えて、消費者の意向が重視される傾向にあり、安心安全で、環境にやさしい価値観を満たすことが要求されている。

このように病害防除は県産農産物の安定的生産や食糧増産にとって最も重要であるにも関わらず、農薬に対する耐性菌の発生、気候変動による新規病害の発生など、対処すべき課題は多い。

近年、ヒトの免疫と同様に、植物も類似した免疫機構を有することが明らかになってきており、植物自身が備えている病気に対する“抵抗力”を強化することで病気にかかりにくくなり、病害防除による生産量損失の抑制と、従来の農薬の使用量を大幅に削減することが期待されている。これにより、環境への負荷を軽減しつつ、植物を通じた循環型社会の構築が期待できる。

この植物自身が持つ防御システムを活性化して病害を防除する環境低負荷型の病害

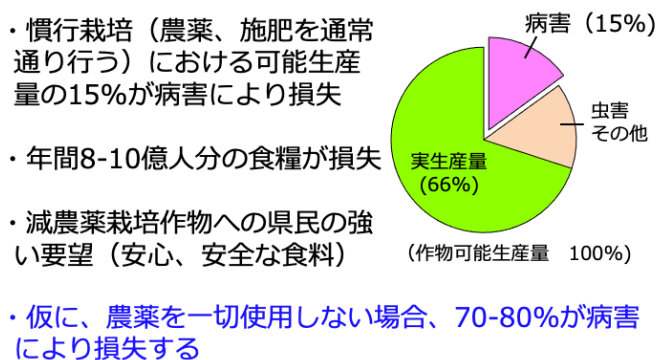


図1. 病虫害による経済的な損失

防除法として、植物の活力を高める資材であるバイオスティミュラント（生物刺激剤、植物活力剤）、植物の免疫力を誘導する資材であるプラントアクチベーター（抵抗性誘導剤）、抵抗性誘導資材・技術（紫外線照射など）の開発及び、病害抵抗性作物の育種を試みる。前者のバイオスティミュラント及びプラントアクチベーターは、それ自身には殺菌作用はなく、環境への影響は小さいと考えられる。また、バイオスティミュラントによる生育促進効果及び、プラントアクチベーターによる病害防除の結果として農産物の生産性の向上が期待できる。本研究により、県内外企業から資材の提供を受け、これを当研究グループ独自の方法により検定、評価することで資源の高付加価値化を図り県の産業振興に貢献する。さらに、ビッグデータや最新の育種技術を活用して、病害抵抗性育種を試み、得られた知見を県の知財とする。

以上により、岡山県を発信源とした環境保全型植物保護技術及び食糧増産技術の向上に寄与し、我が国の農業に貢献することをめざした。特に岡山県では、“くだもの王国おかやま”を多彩で個性豊かに発展させるため、モモ、ブドウに加えて、イチゴの生産を拡大し、首都圏や海外への市場開拓を進め、岡山県を代表する高品質くだもの

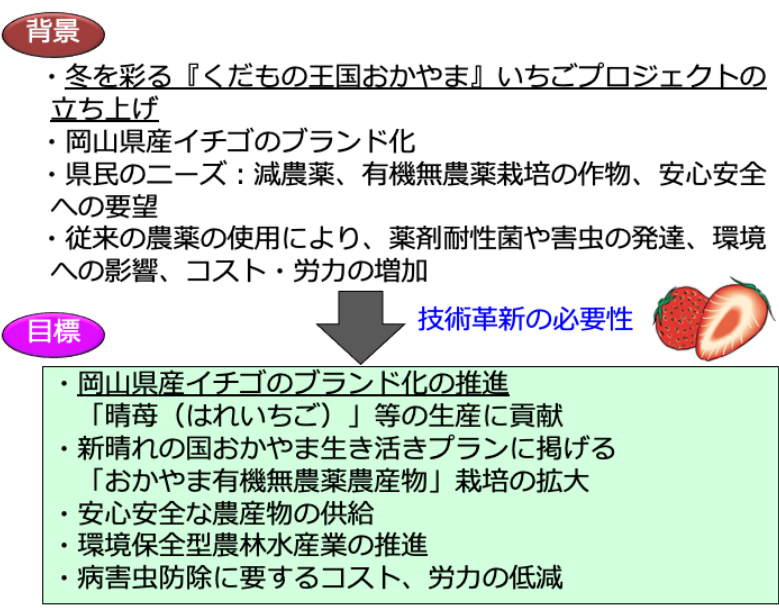


図2. 背景と目標

ブランド化を推進している。本課題の成果により、減農薬または無農薬栽培を促進し高付加価値化によるブランド農作物の生産に貢献する（図2）。

[今年度の成果]

世界的な気候変動により、これまでとは異なる病虫害の発生による病虫害被害の拡大が予測されており、発生の変動に対応した対策が求められている。また、病虫害の蔓延は、県境を越えて拡大し、我が国の農業に甚大な被害を与える恐れがある。そのため、県単独ではなく、都道府県及び国が連携し、病虫害防除対策に取り組む必要がある。当研究グループは、農林水産省「知」の集積と活用における「植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム」を運営し、オールジャパン体制で、本課題に取り組んでいる。

(1) 「知」の集積と活用 の場 植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム及びコンソーシアムの活動

農林水産省は、農林水産・食品分野に異分野の知識や技術を導入し、革新的な技術シーズを生み出すとともに、それらの技術シーズを事業化・商品化へと導き、国産農林水産物のバリューチェーンの形成に結びつける新たな産学連携研究の仕組み―「知」の集積と活用 の場―の構築に取り組んでいる（「知」の集積と活用 の場 URL の説明文を引用。<https://www.knowledge.maff.go.jp>）

生物科学研究所を管理運営機関とし、鳴坂が代表プロデューサーとして「植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム」を立ち上げて以下の事業を行っている。

- (1) 植物の能力を活性化する技術及び活性化した農作物創製の新技术開発
- (2) 農産物生産を向上する新技术開発
- (3) バイオサイクルによる環境負荷低減型の食料生産システムの開発研究
- (4) 上記開発技術の商品化・事業化のための研究戦略、研究計画の策定
- (5) 上記開発技術の商品化・事業化に関連する知財情報の調査及び知財戦略の策定
- (6) 研究成果等の情報発信及び新たなプラットフォーム会員の勧誘
- (7) その他「知」の集積と活用 の場産学官連携協議会の活動への協力等

これまでに本プラットフォームを起点とした研究コンソーシアム（バイオスティミュラントコンソーシアム、月桃コンソーシアム、植物免疫プライミングコンソーシアム、サトイモ疫病防除技術開発コンソーシアム、ゲノム編集コンソーシアム及び、作物刺激制御技術開発コンソーシアム）が立ち上がっており、国のグラントを獲得するなどして精力的に活動している。本プラットフォームへの参加については当研究グループまでお問い合わせ頂きたい。

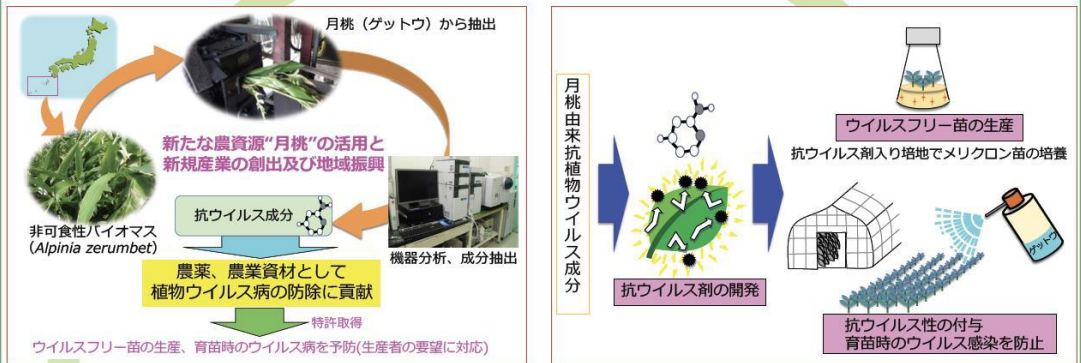
以下に、プラットフォームと当研究グループが研究参加しているコンソーシアムの概要とデータを記述する（図 3-5）。

植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォームの紹介

- プラットフォームの目的** 植物の能力を活性化する技術及び活性化した農作物創製の新技術を開発することを目的とする。
- 現時点で保有している技術** 植物の病気に対する抵抗力（免疫力）を活性化する資材の評価・選抜法
ゲノム編集による植物の形質の効率的改変技術
- コンソーシアムの紹介**

月桃（ゲットウ）コンソーシアム*

抗ウイルス剤の開発



シヨウガ科植物の月桃（ゲットウ）から抗植物ウイルス及び、抗動物ウイルス成分を発見(特許出願中)

サトイモ疫病防除技術開発
コンソーシアム

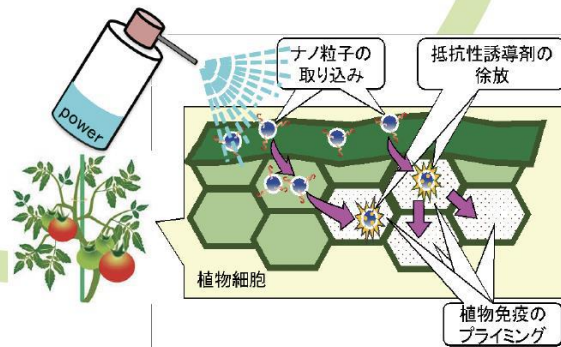
ゲノム育種、新規防除剤の開発



サトイモ疫病の激発により、産地の荒廃が深刻化している。疫病抵抗性サトイモの育種及び、疫病の新規防除剤の開発をめざす。

植物免疫プライミング
コンソーシアム*

ナノテクノロジーの活用



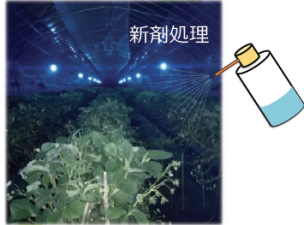
生分解性ナノ粒子に内包した農薬（病虫害抵抗性誘導剤）を葉面に散布することで、植物に潜在的な免疫機能を付与する植物免疫プライミング技術の開発を進めている。

*印は、農研機構生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の支援を受けて実施した。

図 3A. 植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォームの紹介

バイオスティミュラント コンソーシアム*

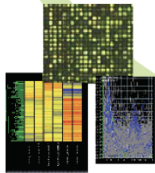
新規病害虫防除資材・農薬
バイオスティミュラントの開発



植物の免疫力を向上し、かつ生育を促進する資材を開発する。
(新規資材の特許取得)

作物刺激制御技術開発 コンソーシアム

ディープフェノーム解析



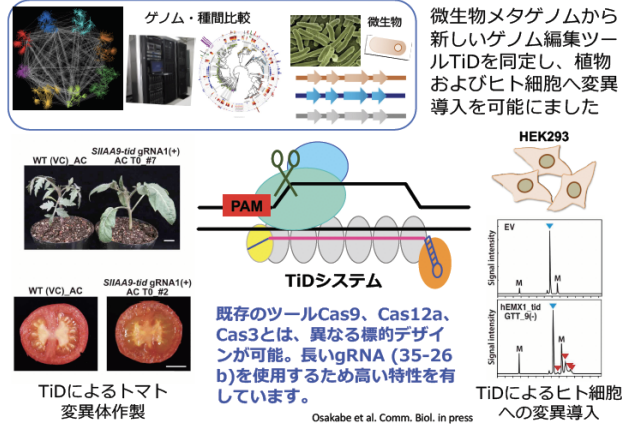
多階層の生物システムと関連づけた作用機序の解明

*印は、農研機構生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の支援を受けて実施した。

ゲノム編集 コンソーシアム

ゲノム編集技術の活用

—新規ゲノム編集ツールTiDシステム— 徳島大(刑部G)の研究紹介



植物細胞への
新規ゲノム編集ツール導入法の開発

不足している技術、求めている技術

植物の病害抵抗性の向上と生育促進とのトレードオフを打破する技術及び、素材

開発する商品・事業及び今後の展開

- ・植物活性化剤 (バイオスティミュラント) について実用化をめざす。
- ・3~5年後にゲノム編集による植物の形質の改変技術の実用化をめざす。
- ・新規抗植物ウイルス剤の社会実装をめざす。
- ・将来的には、植物の能力を活性化する技術及び活性化した農作物創製の新技術を実用化する。



現在の構成員

代表プロデューサー： 鳴坂 義弘 (岡山県農林水産総合センター)
副プロデューサー： 刑部 祐里子 (徳島大学)

管理運営機関： 岡山県農林水産総合センター

参画機関： 岡山県農林水産総合センター、徳島大学生物資源産業学部、三洋化成工業株式会社、琉球大学農学部、株式会社 ECOMAP、日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター、京都大学大学院農学研究科、R&Dグリットファブ、片倉コープアグリ株式会社 筑波総合研究所、静岡大学農学部、愛媛大学大学院農学研究科、鹿児島県農業開発総合センター、理化学研究所環境資源科学研究センター、農業・食品産業技術総合研究機構、サンアグロ株式会社、岡山大学農学部、石原産業株式会社、名古屋大学、岡山県立大学保健福祉学部栄養学科、請福酒造有限公司、株式会社萩原農場生産研究所、国立大学法人東京大学大学院農学生命科学研究科、株式会社インプラントイノベーションズ、国立大学法人岡山大学資源植物科学研究所、アクプラント株式会社 (2021年3月12日現在)

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

図 3B. 植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォームの紹介

新たな農資源ゲットウを利用した新規抗植物ウイルス剤の創製 月桃コンソーシアム (植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム)

研究の目的

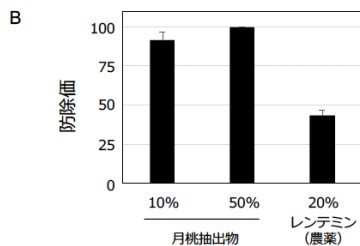
植物ウイルス病の被害は世界で6兆円と見積もられているが特効薬となる農薬は存在せず、媒介生物の防除、弱毒ウイルス及び耕種防除によりウイルス病被害を軽減させているのが実情であり、革新的防除法の開発が切望されている。本コンソーシアムでは非可食性植物由来の安全安心かつ高性能な抗植物ウイルス剤を開発し、育苗及び圃場栽培における作物のウイルス感染を防止する技術を開発及び実用化する。



研究内容

① 月桃(ゲットウ)とは?

月桃 (*Alpinia zerumbet*) は、ショウガ科ハナミョウガ属の多年草で、沖縄など亜熱帯から熱帯アジアに自生している未利用バイオマス資源である。沖縄及び鹿児島での調査により、沖縄シマ月桃、タイリン(屯鹿)月桃(北大東島、宮古島)、奄美シマ月桃、月桃近縁種のクマタケラン、アオノクマタケラン及びこれらの交雑種が存在することが明らかになった。



② 月桃抽出物の植物ウイルスの防除効果

ベンサミアーナタバコ(ナス科植物)に月桃抽出物またはレンデミンを処理した3日後にトマトモザイクウイルス(ToMV)を感染させた。接種3日後に検定した。

- A: ToMV感染によるGFP病斑(緑色蛍光がウイルス感染部位)
- B: ToMVに対する防除率(月桃抽出物は抗ウイルス活性が高い)

開発する商品・事業及び今後の展開

抗植物ウイルス剤の実用化: 10年以内に農薬の登録をめざす。抗植物ウイルス剤により、育苗及び圃場栽培におけるウイルスフリー化が達成され、農産物の収量が増加する(経済効果800億円)。
抗植物ウイルス剤の新規市場形成: 有効な農薬が存在しないため、抗植物ウイルス剤の新規市場が形成される(国内50~100億円)。
抗動物ウイルス剤の実用化: 鳥インフルエンザウイルス、豚コレラウイルスの予防剤の開発が期待される。また、インフルエンザウイルス感染を予防する消毒剤(医薬部外品)が実用化される。

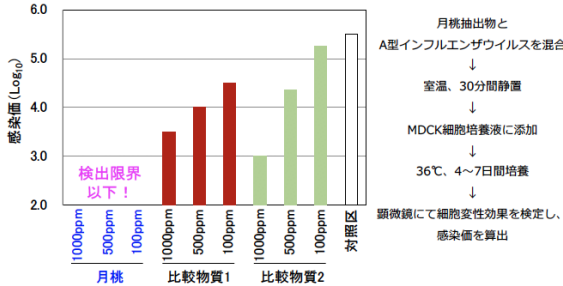
月桃抽出液の植物ウイルスに対する防除効果

属	トバモウイルス	ポテックスウイルス	カルウウイルス	ポテウイルス	クモウイルス
種	トマトモザイクウイルス(ToMV)	ジャガイモXウイルス(PVX)	ジャガイモEMウイルス(PVM)	タバコエッチウイルス(TEV)	キュウリモザイクウイルス(CMV)
ゲノム	RdRp, MP, CP	RdRp, CP	RdRp, CP	RdRp, CP	RdRp, MP, CP
防除効果	+	+	+	+	+

十 ウイルス低減効果あり

③ 月桃抽出物は、複数の属の植物ウイルスに防除効果を示した

→ 実用作物(トマト、キュウリ、ハクサイなど)においても、月桃の有効性を実証した。



④ 月桃抽出物の抗インフルエンザウイルス効果

→ 月桃抽出物は、A型インフルエンザウイルスに対して、実用レベルである99.9%以上の不活化効果を示した!

参画機関

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所(代表機関)
国立大学法人琉球大学、農研機構九州沖縄農業研究センター、石原産業株式会社

本研究は、農研機構生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業(課題番号29005AB)」の支援を受けて実施しました。

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 (鳴坂、畑中)

図4. 月桃コンソーシアムの紹介

「ナノ粒子を用いた農業送達システムによる革新的植物免疫プライミング技術の開発」

植物免疫プライミングコンソーシアム

(植物の活性化による革新的農作物生産技術研究開発プラットフォーム)

研究の目的

殺菌性農薬に対する薬剤耐性菌が発生し、十分な防除効果が得られない場合がある。本研究では、ナノ粒子を活用して植物の免疫を持続的にプライミング状態(病原菌を克服するための準備段階)にして薬害を抑えつつ、病害抵抗性を高める技術を開発する。

計画概要

■背景: 薬剤耐性菌の発生リスクが低く、植物が生来備えている免疫に働きかける抵抗性誘導剤の開発が期待されているが、野菜類では生育阻害(薬害)が生じることが問題である。

■研究内容と実施体制



目指す姿



参画機関

国立大学法人東海大学機構名古屋大学(代表機関)、岡山県農林水産総合センター生物科学研究所、三洋化成工業株式会社

本課題は、農研機構生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の支援を受けて実施した。

図 5. 植物免疫プライミングコンソーシアムの紹介

(2) 植物の免疫力を向上し、かつ、生育を促進する新規植物活力剤の開発研究

病害防除は農産物の安定生産に必要であるが、農薬耐性菌の発生が問題化しており、植物自体の免疫システムを利用した防除法の開発が期待されている。これまでに植物の免疫力を向上する抵抗性誘導剤(プラントアクチベーター)の開発が試みられてきたが、植物の免疫力を常時過剰に向上させることは、植物の生育障害を引き起こす。この現象は植物体内のエネルギーにおける栄養生長と防御応答のトレードオフにより説明されており(図6)、植物の免疫力の向上による病害防除技術の開発を困難にする原因になっている。

そこで、私たちは上記トレードオフを打破する新規農業資材の開発を試みた。肥料の構成要素を中心に成分を検討した結果、新規“植物活力剤”の開発に成功した。本剤を処理した植物は防御応答遺伝子の発現が上昇し、免疫力

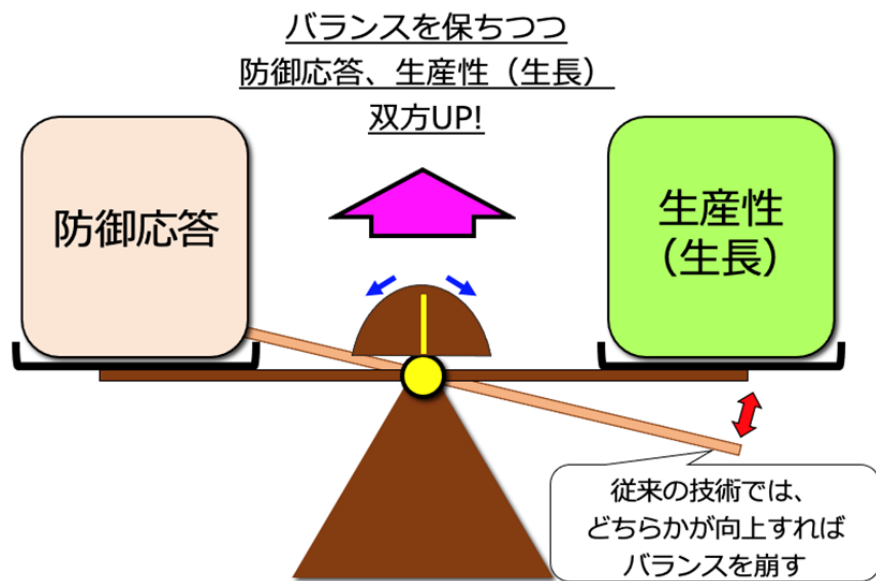


図6. 栄養生長と病害防御応答のトレードオフの関係の模式図

が向上していた。そこで、代表的かつ強力な抵抗性誘導剤であるアシベンズラル S メチル (ASM、BTH) と新規植物活力剤の効果を比較した。最初に、両薬剤をトマト(品種: レジナ)に処理し、マイクロアレイにより遺伝子発現プロファイルの網羅的な解析を行った。その結果、新規植物活力剤はASMの遺伝子発現プロファイルと高い相関を示し、その処理により植物の免疫力を大きく向上することが示唆された(表1)。次いで、両薬剤をトマト及びキュウリに葉面散布し、処理3日後に病原菌を接種した。その結果、新規植物活力剤を処理した作物は、ASMと同等以上の感染抑制効果を示した(図7)。また、ASMを処理したトマト及びキュウリは防除効果に比例して生育が阻害されたのに対して、驚くべきことに、新規植物活力剤の処理では生育阻害は認められなかった。また、本剤を処理したキュウリ、ナス及びイチゴは、対照区に比べて生育促進効果及び収穫物の増収効果が認められた。本剤は従来の農薬・肥料には無い植物の免疫力の活性化と生育促進を両立できる農業資材として、その作用機作の解明と、早期の社会実装が期待される。

表 1. 新規植物活力剤を処理したトマトにおけるマイクロアレイ解析

		植物活力剤			アシベンゾラルSメチル		
		5h	10h	24h	5h	10h	24h
植物活力剤	5h		0.74 ^{a)}	0.29	0.87	0.79	0.36
	10h	0.74		0.47	0.82	0.95	0.50
	24h	0.29	0.47		0.52	0.46	0.71

新規植物活力剤またはアシベンゾラル S メチルを処理して 5～24 時間後のトマトから RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行った。新規植物活力剤の処理により発現誘導された遺伝子群について、各処理間の相関解析を行った。

^{a)}相関係数 r : (相関が弱い) $-1 \leq r \leq 1$ (相関が強い)

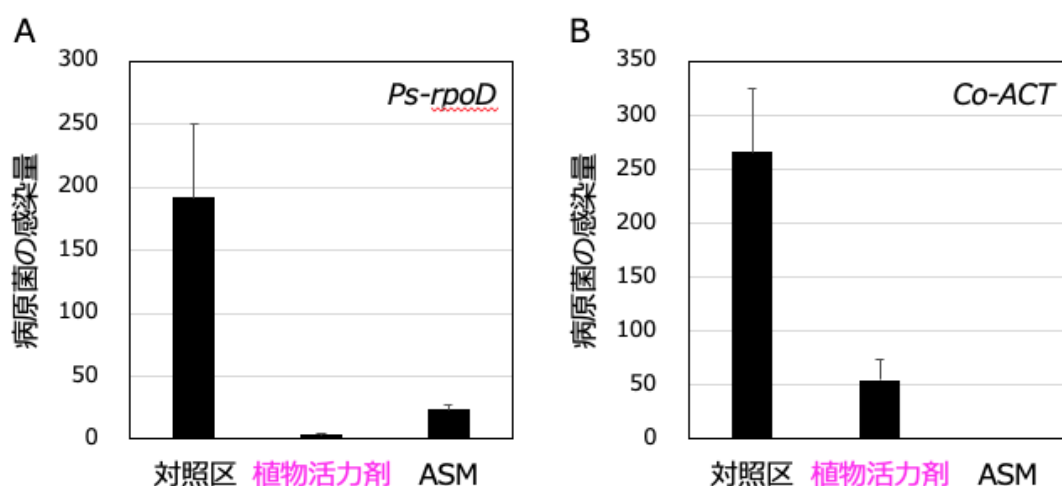


図 7. 新規植物活力剤処理による病害防除効果

A. トマト (品種: レジナ) に新規植物活力剤またはアシベンゾラル S メチル(ASM)を処理して 3 日後に斑葉細菌病菌(*Pseudomonas syringae*)を接種して 3 日後の病原菌の感染量。病原菌の *rpoD* 遺伝子(*Ps-rpoD*)の発現量を定量した。

B. キュウリ (品種: 新北星) に新規植物活力剤または ASM を処理して 3 日後にキュウリ炭疽病菌(*Colletotrichum orbiculare*)を接種して 7 日後の病原菌の感染量。病原菌の *actin* 遺伝子(*Ch-ACT*)の発現量を定量した。

(3) イチゴ減農薬栽培に向けた新技術開発

本研究グループは、“くだもの王国おかやま”いちごプロジェクトに貢献するため、総合的病害虫管理に基づいて、総合的かつ生態系に配慮した安心・安全なイチゴの病害虫防除技術の開発を試みた。イチゴは難防除な重要病害虫 (炭疽病、うどんこ病、萎黄病、灰色かび病、ハダニなど) が多く、年間 50 回以上の農薬散布を行っている。本研究により、農家が病害虫防除に要するコスト及び労力を削減し、かつ、消費者のニーズが高い減農薬・無農薬で、ブランド化をめざす栽培技術の確立をめざした。

昨年度に引き続き、イチゴ減農薬栽培に向けた新技術の実証試験を行った。導入技術として、紫外線(UV-B)照射、天敵、植物活力剤、AIセンサーによる病害発生予測技術の導入を試みた。(図 8-9)。令和 2 年度はこれらの技術を併用することで、殺菌性及び殺虫性の化学合成農薬の使用を半減することに成功した。導入技術の詳細は令和元年度研究年報に記述したので参照されたい。

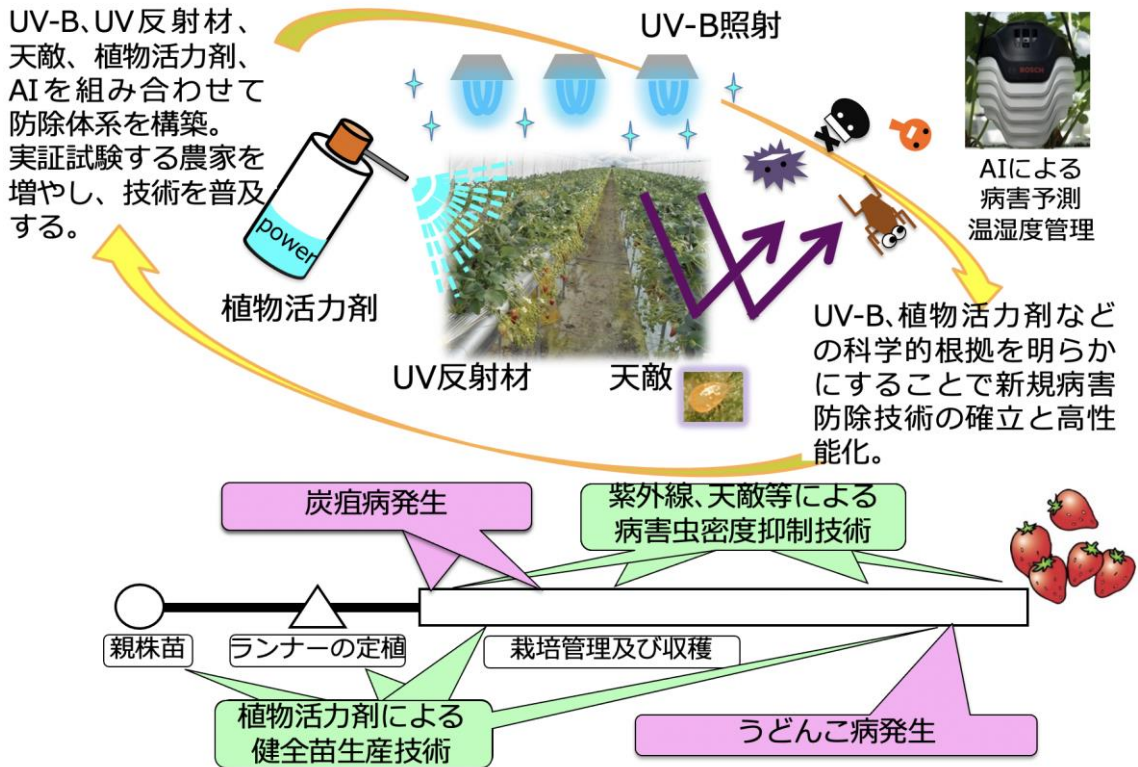


図 8. 化学合成農薬に依存しない病害虫管理技術の開発と岡山県産イチゴの減農薬栽培の推進

生科研ガラス室(おいベリー、女峰)



吉備中央町農園 (ビニールハウス) (章姫)



県南農園 (ビニールハウス) (よつぼし)



図 9. UV-B、植物活力剤、天敵、AI 病害予測を組み合わせたイチゴの栽培試験

① 紫外線 (UV-B) 照射技術

UV-B 照射によるイチゴうどんこ病の防除の作用機作は、UV-B 照射によるイチゴの誘導抵抗性とイチゴうどんこ病菌に対する殺菌効果によることを前年度に報告した。本年度は引き続き、イチゴ栽培圃場での UV-B 照射によるうどんこ病の防除効果について実証試験した。岡山県加賀郡吉備中央町、岡山県南部の農家及び農業大学の協力を得て、高設栽培のイチゴに植物病害抑制用ランプ（パナソニック ライティングデバイス株式会社、UV-B 電球形蛍光灯反射傘セット）を用いて UV-B 照射（電球口金下部～畝面までの距離 1.3m、奥行方向光源ピッチ 6m、列間 3m）を毎日 3 時間（23 時～2 時）行った（図 10）。その結果、ほとんど農薬散布を行うことなくうどんこ病の発生を抑制できた。

以上の通り、UV-B 照射の導入により、殺菌性農薬の使用を減じ、農薬のコストと散布に要する労働力を減ずることが期待される。現在、当研究グループは、岡山県のイチゴ栽培農家の方々のご協力得て、イチゴ栽培施設への UV-B 照射技術の導入を進めている。イチゴの品種、栽培地域の気候、栽培施設の形状により、UV-B 照射技術の導入が難しいこともあるので、岡山県に最適な技術とするために多くの実証試験を行う必要がある。UV-B 照射技術の導入についてのご相談は随時受け付けているので、当研究グループまで遠慮なく連絡して頂きたい。

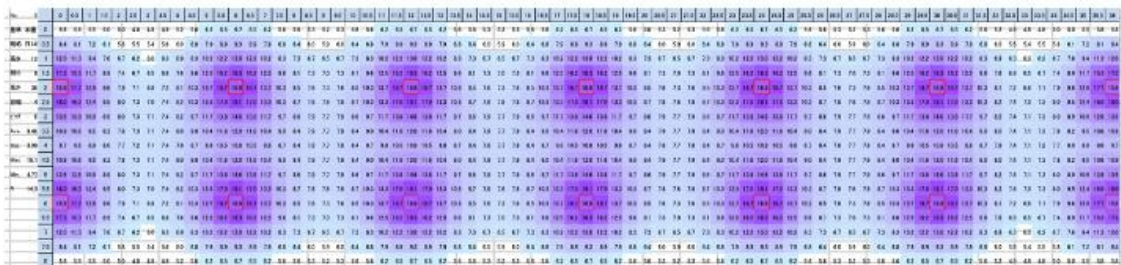


図 10. イチゴ栽培ハウスにおける UV-B 電球の配置と UV 照度のシミュレーション
紫色の濃淡＝紫外線強度（協力：パナソニック ライティングデバイス株式会社）

② 天敵

前年度に UV-B 照射と天敵の導入により、ハダニを防除できることを報告した。当研究グループは、UV-B 照射と天敵（カブリダニ：ミヤコカブリダニ、チリカブリダニ）の併用によるイチゴうどんこ病及びハダニの防除試験を実施した。吉備中央町において実証試験を行っており、ハダニの発生初期にタイミング良くミヤコカブリダニを投入し、継続的にカブリダニ（ミヤコカブリダニまたはチリカブリダニ）を投入することで、ハダニの増殖を抑制できた。

③ 植物活力剤（バイオスティミュラント）

近年、新たな発想による農業資材として、農薬、肥料に次ぐ、第三の農業資材候補であるバイオスティミュラント（生物刺激剤、植物活力剤）が注目されている。ただし、現在の日本では、バイオスティミュラントに対する法規が整備されておらず、相当する

カテゴリーは農薬、肥料しかない。本稿のバイオスティミュラントに関する報告は学術的な立場からの情報提供で、紹介する資材については国の法令に基づいて使用されるようお願いしたい。

当研究グループは、バイオスティミュラントコンソーシアムを設立し（図 3）、微量元素、有機成分、食品添加物などの安全な資材を混ぜ合わせて、植物の活力を高めて、病気にかかりにくい、環境にやさしい農業資材として植物活力剤を開発した。イチゴに植物活力剤をあらかじめ散布してから炭疽病菌を接種した結果、無処理区への接種では病気が蔓延したが、植物活力剤を散布したイチゴは病気にかかりにくく健全なままであった。また、その時の菌の感染行動を顕微鏡観察した結果、植物活力剤を処理したイチゴ葉においては、炭疽病菌が細胞内に侵入できていなかった。さらに、植物活力剤には、イチゴの根の活着や、根の伸長を高める効果及び、収量の向上効果が認められた（図 11）。以上の結果をもとに、植物活力剤の実用化をめざした研究を進めている。植物活力剤の学術的な解析については鳴坂らの報文（植物防疫 11 月号, Vol. 73, 684-688, 2019、アグリバイオ, Vol. 4(14), 56-58, 2020)を参照して頂きたい。

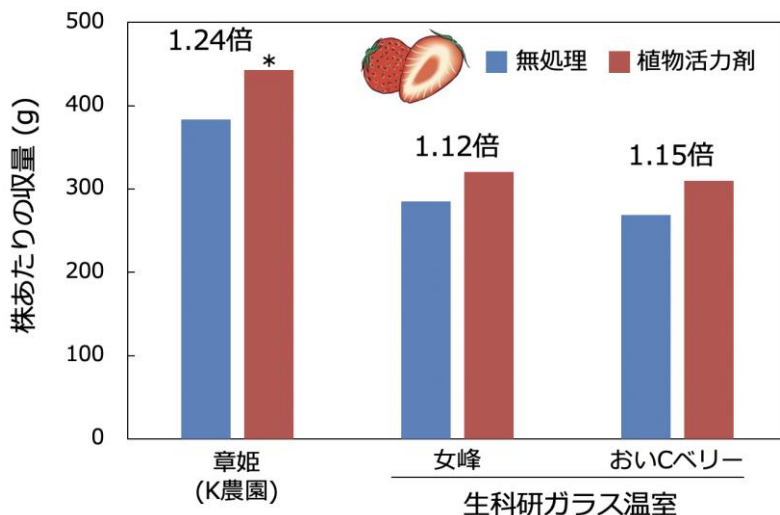


図 11. 植物活力剤によるイチゴの収量の向上効果
定植後のイチゴに 3 週間おきに植物活力剤を散布した。調査株は K 農園各 50 株、女峰各 24 株、おいCベリー各 18 株を用いた。
*印は無処理区に対して有意差あり
(Tukey-Kramer 多重比較検定、 $p < 0.05$)

④ AI センサーによる病害発生予測技術

当研究グループは、イノベーション創出強化研究推進事業「施設園芸の主要病害発生予測 AI による総合的病害予測・防除支援ソフトウェア開発」(研究代表機関 秋田県立大学)に参画し、イチゴうどんこ病及び炭疽病に関する施設園芸向け総合的病害予測・防除支援システムの実用化に向けた研究を行った。病害予測

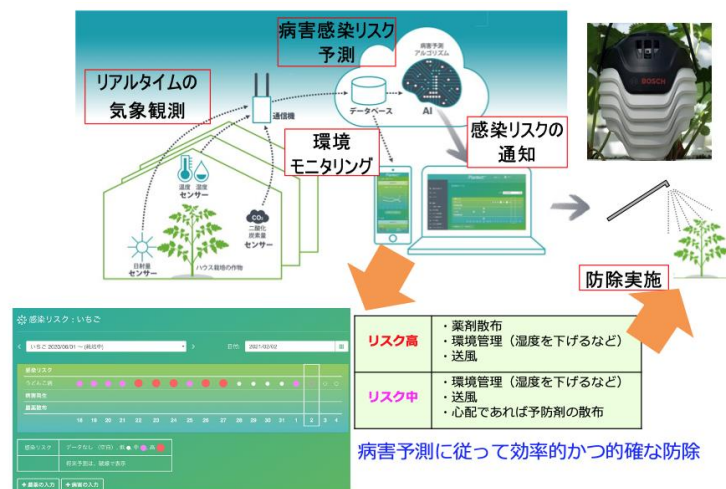


図 12. AI 病害予測による効率的な病害防除技術の開発

AI(Artificial Intelligence)による病害虫の発生予測技術により病原菌に対して予防的な対応が可能となる(図12)。病害の発生を事前に予測することで、病害の低減、農薬散布回数の軽減、農薬コストの削減につながるとともに、農産物の高付加価値化による農家所得の向上が期待される。本事業により、イチゴについては、うどんこ病と炭疽病の予測システムが実用化された。

(4) ショウガ科植物の月桃を利用した抗植物ウイルスの防除技術の開発研究

植物ウイルス病の感染による日本の作物生産被害額は年間1000億円以上と見積もられているが、有効な農薬は存在せず、その防除技術の開発は急務である。私たちは、前述した月桃コンソーシアムを設立し、月桃を用いた抗ウイルス剤の開発研究を推進している(図4)。私たちは、国内では主に南西諸島に自生するショウガ科ハナミョウガ属の多年草である非可食性植物の月桃(ゲットウ, *Alpinia zerumbet*)及びその近縁種の抽出精製物に強力な抗植物ウイルス効果があることを発見した。興味深いことに、本月桃抽出精製物の抗植物ウイルス効果は非特異的であり、広範囲のウイルス属(トバモウイルス属、ポテックスウイルス属、カルラウイルス属、ククモウイルス属、ポティウイルス属)に対して顕著な防除効果を示した(図4)。また、本精製物を処理することで病原細菌(*Pseudomonas syringae*)及び病原糸状菌(*Colletotrichum higginsianum*)の植物への感染を抑制できた。さらに、本精製物は植物ウイルスのみならず、動物ウイルス(A型インフルエンザウイルス)に対しても高い防除効果を示した(図4)。

今後、月桃の成分を利用した植物ウイルス防除剤の開発が期待される。さらに現在、動物ウイルスに対する防除剤及び消毒剤の開発に向けた研究を遂行している。

(5) プラントアクチベーター及びバイオスティミュラント候補剤の簡便かつ迅速な選抜法の提供

前年度から引き続きプラントアクチベーター及びバイオスティミュラント候補剤を簡便かつ迅速に選抜する方法を提供し(平成27年度年報参照)、岡山県などの企業、農業従事者などに広報活動を行った(図13)。本技術提供は非常に好評であり、岡山県内企業からも多くの依頼を頂いている。本法により、企業が持っている資材、これまで利用

岡山県内外の企業などに技術を提供し、資材を評価します！
(初期費用は無料で実施します)

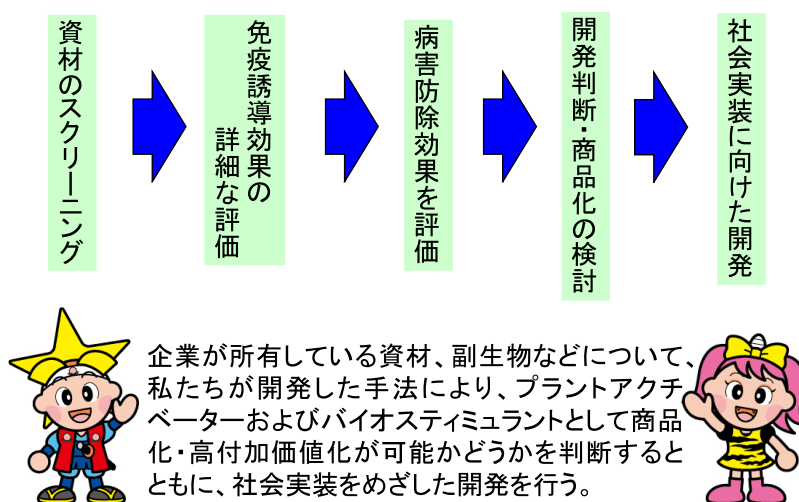


図13. 新規農業資材の簡単、迅速な選抜法の提供

されていない資材、食品製造過程で産出される副生物などを高付加価値化、資源化できる可能性がある。令和2年度も、県内外から多くの依頼があり、提供された資材について評価を行った。本事業は企業の方々から高評価を得ており、共同研究に進んだ事例も多い。現在も継続して依頼を受け付けているので、興味のある方は当研究グループまでお問い合わせ頂きたい。

(6) 生物刺激制御研究会の設立

近年、農薬、肥料に次ぐ第三の農業資材候補といわれるバイオスティミュラントが注目を浴びている。私たちは、バイオスティミュラントについて学術的に研究、情報交換及び、議論する場を提供するため、令和3年1月に「生物刺激制御研究会」を立ち上げた。バイオスティミュラントの定義は様々であるが、生物刺激制御研究会ではバイオスティミュラントを「植物の活力を高め、植物に本来備わっている力を利用することで、様々なストレスを緩和させて健全な植物の成長をサポートする物質」と定義した。具体的には、植物が本来備えている免疫力を高める作用や生育を促進する作用を持つ資材がそれに当たる。

本会についての詳細は以下のHPを参照されたい。

<https://sites.google.com/view/bio-stimulant-research/>ホーム

生物刺激制御研究会の趣旨

課題

地球規模の気候変動（高温・干ばつなど）、病虫害及び、生育不良等に対応した農業生産活動の実現

対応策

気候変動による農業生産の不安定化リスクを低減し、収益性を高める技術として、バイオスティミュラント(BS)が注目されている。

BSの課題

「BS資材の作用機序の解明とその効果を評価するための科学的指標の確立」

- ・作用機序が分子レベルで解明されているBS資材はほとんどない。
- ・作物種や栽培環境に応じた処方最適化
- ・BS製品の規格化・標準化の遅れ。「BS資材モニタリング指標」の確立
- ・植物の防御力を常時過剰に向上させると生育障害（防御応答と生長間のトレードオフ）を引き起こす。

実用化

作物の栽培安定化、新規BS資材の開発及び、BS処方の自動化への実用化展開
農業DX（デジタルトランスフォーメーション）への貢献

(7) 今後の展望

地球規模の気候変動は、高温、干ばつ及び、病害の頻発化といった農業と食料安全保障に対する負の影響を一層深刻にしている。特に、病害虫の防除の問題は食糧の安定的な供給における最重要課題である。本研究グループの研究成果により、病害防除における新技術の開発及び新規抗植物ウイルス剤が実用化されれば、農作物の生産性が向上し、食料の安定的な生産に貢献できる。また、病害虫による農産物生産の被害を防ぐことで、数百億円規模の経済的損失が回避できることにより、農業名目 GDP の上昇に寄与する。岡山県の農業においても、植物が本来備えている病気に対する抵抗力を高めて病気を防ぐ技術を主とした防除体系を開発し、新規病害虫防除体系によるイチゴの減農薬・無農薬栽培を推進することで、「くだもの王国おかやま」いちごプロジェクトに貢献する。

令和 3 年度は、次期五ヶ年計画（令和 4 年度開始）の策定に向けて、これまでの研究計画に追加し気候変動に対応するための新技術開発に取り組む予定である。

令和2年度研究成果（報文、発表等）

1. 報文（総説・原著論文等）

Hatanaka, T., Narusaka, M., Uraji, M., Yamaji, Y., Narusaka, Y.

Identification of an anti-plant-virus molecule in *Alpinia zerumbet*

Bioresources and Bioprocessing, 8, Article number: 17 (2021)

概要： 植物ウイルス病の被害は国内で年間 1000 億円以上と試算されているが、有効な抗植物ウイルス剤は存在せず、革新的な防除法の開発が切望されている。私たちは、熱帯から亜熱帯アジアに分布し、日本では主に琉球諸島に自生するショウガ科ハナミョウガ属の多年草である非可食性植物の月桃（ゲットウ, *Alpinia zerumbet*）の抽出精製物に強力な抗植物ウイルス効果があることを発見し、活性成分をプロアントシアニジンと同定した。

鳴坂真理, 鳴坂義弘

デュアル抵抗性タンパク質システムによる革新的作物保護技術の開発

アグリバイオ, Vol. 4(8), 55-57 (2020)

概要： 病害による作物生産量の損失は甚大であり、植物が本来備えている病気に対する抵抗力を活用した病害防除技術の開発が求められている。植物は病気から身を守るため、病原体が放出する分泌タンパク質（AVR エフェクター）を抵抗性タンパク質により直接的または間接的に認識して病原体の存在を感知し、病原体に対する抵抗力を発揮している。私たちは、“2つの異なる抵抗性タンパク質による病原体の認識機構（デュアル抵抗性タンパク質システム）”を発見し、これを用いた病害抵抗性作物の分子育種技術の構築に成功した。

鳴坂真理, 谷口伸治, 藤澤英司, 野口勝憲, 鳴坂義弘

植物の免疫力を向上し、かつ、生育を促進する新規植物活力剤の開発研究

アグリバイオ, Vol. 4(14), 56-58 (2020)

概要： 私たちは、免疫力の活性化と生育促進を両立できる農業資材の開発を試みている。しかしながら、植物の免疫力の活性化と生育促進とはトレードオフの関係にあり、既存の技術では両者を共存させることは困難である。私たちはトレードオフを打破する新規植物活力剤を開発した。

吉岡博文, 吉岡美樹, 鳴坂真理, 鳴坂義弘, 大高剛史, 上田真澄

ナノ粒子による植物免疫システムの誘導と病害防除戦略

アグリバイオ, Vol. 5(3), 75-79 (2021)

概要： 農業生産性を向上するために農薬は重要な役割を担っている。しかし、有効な

殺菌性農薬の連続使用により、多くの剤への薬剤耐性菌が発生し、十分な防除効果を有する殺菌性農薬は限られている。植物の免疫力を向上することで病害を防ぐ植物免疫誘導剤は、耐性菌の発生が極めて低いと考えられており、次世代の病害防除剤として期待されている。一方、その免疫誘導の強度に比例して薬害を生じるという問題を抱えている。本稿では、ナノ粒子を活用して植物の免疫応答を持続的にプライミング状態にし、薬害を抑えつつ病害抵抗性を高める技術の開発について紹介した。

鳴坂義弘

農作物のウイルス被害を月桃のエキスで防ぐ

In AROMA JOURNAL issue 13

AEAJ, 公益社団法人 日本アロマ環境協会 発行, No.96 Summer (2020)

概要: 琉球諸島に自生するショウガ科ハナミョウガ属の多年草である非可食性植物の月桃 (ゲットウ, *Alpinia zerumbet*) の抽出精製物に強力な抗植物ウイルス効果があることを発見した。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表 (英文大会名は国際学会)

鳴坂義弘、畑中唯史、山次康幸、鳴坂真理

ショウガ科植物の月桃を利用した抗植物ウイルスの防除技術の開発研究

令和2年度日本植物病理学会関西支部会、2020年11月7日-8日 (島根県松江市、オンライン開催)

鳴坂真理、高野義孝、谷口伸治、藤澤英司、野口勝憲、吉岡美樹、吉岡博文、鳴坂義弘
新規植物活力剤バイオスティミュラントの開発研究

令和2年度日本植物病理学会関西支部会、2020年11月7日-8日 (島根県松江市、オンライン開催)

鳴坂義弘

環境にやさしい革新的病害防除法の開発

植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム (研究開発プラットフォーム出展)

「知」の集積と活用 の場 産学官連携協議会 令和2年度ポスターセッション オンライン、2020年11月19日-25日 (オンライン開催)

鳴坂義弘、畑中唯史

月桃コンソーシアム (研究コンソーシアム出展)

「知」の集積と活用 の場 産学官連携協議会 令和2年度ポスターセッション オンライン

ライン、2020年11月19日-25日（オンライン開催）

上田真澄、鳴坂義弘、吉岡博文

植物免疫プライミングコンソーシアム（研究コンソーシアム出展）

「知」の集積と活用の中 産学官連携協議会 令和2年度ポスターセッション オンライン、2020年11月19日-25日（オンライン開催）

呑田佐知、鳴坂真理、鳴坂義弘、畑中唯史、富高保弘、関根健太郎

非可食性植物ゲットウの植物ウイルス病害防除への利用可能性の検証

九州病害虫研究会 第100回研究発表会（2021年研究発表会、春季大会）、2021年2月4日（熊本市）

鳴坂義弘

本研究会設立の趣旨について～バイオスティミュラントの現状と問題点～

第1回生物刺激制御研究会、2021年3月3日（オンライン開催）

鳴坂義弘、鳴坂真理

植物の免疫力を向上し、かつ、生育を促進する新規バイオスティミュラントの開発研究

第1回生物刺激制御研究会、2021年3月3日（オンライン開催）

吉岡美樹、田中達己、尾中海南、荒川花子、別役重之、多田安臣、鳴坂真理、鳴坂義弘、上田真澄、大高剛史、安達広明、吉岡博文

サリチル酸とジャスモン酸シグナルの拮抗作用を反映するバイオセンサーの構築

令和3年度 日本植物病理学会大会、2021年3月17日-19日（三重県津市、オンライン開催）

3. 知的財産権

特許出願3件、特許査定1件、発明届け2件、特許実施許諾3件

4. 共同研究・協力連携先

農研機構、京都大学、東京大学、名古屋大学、岡山大学、琉球大学、鳥取大学、理化学研究所環境資源科学研究センター、理化学研究所バイオリソースセンター、秋田県立大学、徳島大学、岡山県農林水産総合センター農業研究所・畜産研究所・水産研究所・農業大学校、都道府県の研究機関（鹿児島県農業開発総合センター、栃木県農業試験場、

兵庫県立農林水産技術総合センター、静岡県農林技術研究所など)、「知」の集積と活用
の場 植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォームのメン
バー、「知」の集積と活用 の場 病害虫防除研究開発プラットフォームのメンバー、そ
の他民間企業 8 件など

5. 外部資金獲得状況

- ・ 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強化研究推進事業 (基
礎研究ステージ) (中課題分担 鳴坂義弘)
- ・ 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強化研究推進事業 (応
用研究ステージ) (小課題分担 鳴坂義弘)
- ・ 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強化研究推進事業 (開
発研究ステージ) 1 (中課題分担 鳴坂義弘)
- ・ 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強化研究推進事業 (開
発研究ステージ) 2 (中課題分担 鳴坂義弘)
- ・ 科学研究費補助金・基盤 C 一般 (代表 鳴坂真理)
- ・ 科学研究費補助金・基盤 C 一般 (代表 鳴坂義弘)
- ・ 外部知見活用型・産学官連携研究事業 (代表 鳴坂義弘)
- ・ 財団法人ウエスコ学術振興財団 研究活動費助成事業 (代表 鳴坂真理)
- ・ その他 民間 3 件 (代表 鳴坂義弘)

6. 新聞、テレビ報道

・ ショウガ科植物の月桃 (ゲットウ) から新たに植物ウイルス防除物質を発見しました
令和 2 年 4 月 30 日 日本農業新聞

・ 「ナノ粒子を用いた農薬送達システムによる革新的植物免疫プライミング技術の開発」
が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強化研究推進事業 (基礎研
究ステージ) に採択

令和 2 年 11 月 11 日 化学工業日報

令和 2 年 12 月 3 日 日本農業新聞

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）

「知」の集積と活用場 植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム 代表プロデューサー（鳴坂義弘）

生物刺激制御研究会 代表世話人（鳴坂義弘）、世話人（鳴坂真理）

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	野田 壮一郎
流動研究員	望月 智史
リサーチアソシエイト	小倉 美智子
研究補助員	狩野 真一
研究補助員	平田 章代 (～令和 2 年 12 月)
研究補助員	菅野 和孝 (～令和 2 年 12 月)

大課題

**県下をはじめ世界の人々に貢献するグルタチオン農業の確立を目指した基礎
基盤研究**

[概要]

県の意識調査によると、県民の多くが地球温暖化対策や産業の活性化、研究開発の促進等による新産業の創出に対して重要性を感じる一方、現在の状況に満足する人は一握りである。また、それらの問題について、県民の過半数は行政が中心となり対策すべきと回答している。

本課題は、「地球環境問題・食糧問題」の解決だけでなく、県産農産品のブランド化により農業・林業を活性化するための技術革新や、これに付随する設備等の開発により岡山独自の新産業創出につながる可能性もあり、中期的にも長期的にも重要な取り組みと考える。

これまでに取り組んできた「グルタチオン農業」(図1)の技術は、県民や社会のニーズに応えるべく目指したものであったが、その普及・実用化が端緒に付いた今、これを確固とするために今後の5ヵ年に取り組むべき課題を洗い直した。その結果、技術基盤の強化を早期に図ることが最優先であると考え、以下の3つの中課題を設定する。なお、これらは相互に密接に関連するものである。括弧内に、主な担当者を示すが、各専門研究員は主に担当する課題以外の課題にも参画し、相互に補完し合いながら実施する体制をとる。

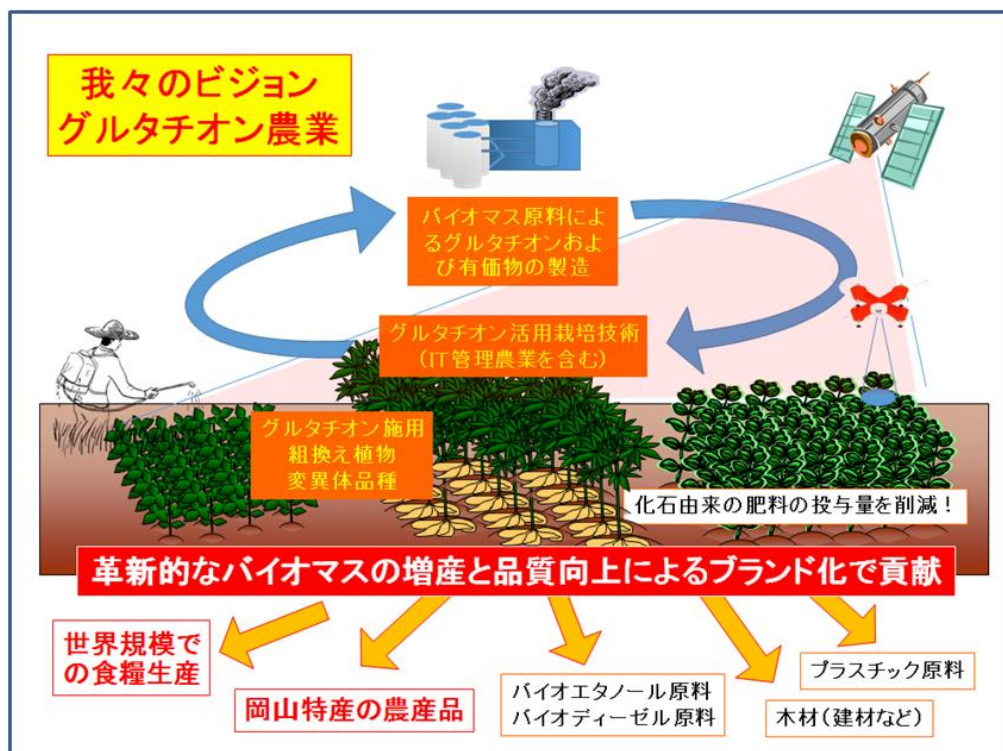


図1. 大課題「県下をはじめ世界の人々に貢献するグルタチオン農業の確立を目指した基礎基盤研究」の概念図

中課題 1

グルタチオン施用による実利的なバイオマス増産技術の確立

[背景と目的]

地球温暖化や化石資源枯渇の社会的懸念から、近年では、バイオマスの利活用に注目が集まっている。食糧をはじめ原料や燃料にバイオマスを変換する技術に関する研究は多くの研究者によって取り組まれ、新技術および古典的技術を含めて、様々な方法が開発されてきた。昨今、岡山県においても農林産業におけるバイオマス生産性の向上とその活用が、環境やエネルギー問題と関連して大きな関心が寄せられている。一方、そのバイオマスの増産に関する研究で成功を収めている例は、世界的に限られている。植物生産の例で言えば、古典的な農林業管理以外には、緑の革命以降の大きな革新的な増産技術は世界的に開発・提供されておらず、第2の緑の革命というべき、革新的バイオマス生産技術の提供は、県下の農産業の発展をはじめとして社会全般においても急務な課題である。

これまでに、クラミドモナス、ユーカリ、キャッサバ等において、グルタチオンによる収穫量やバイオマス生産性の向上が可能であることを示し、新たなバイオマス材料の提供の可能性も含めた成果が得られた。その効果には、「緑の革命」効果を高める施肥窒素吸収促進という効果も含まれる。県内でもシクラメン等では、農家での実感のある結果も得られている。次期5か年では、企業によるグルタチオンの供給体制が整う事に

合わせ、本格的実用化に向けた実用化支援に十分配慮した活動（県内外、図2）を行うとともに、グルタチオンを用いた農林生産技術を一般化させ、さらに生産性を高めるための知見を得るため、グルタチオン施用効果の変異体を単離し、グルタチオンの施用効果発現のメカニズムの解明を進める。そのことにより、将来のグルタチオン施用のための品種や技術の最適化に利用できる遺伝資源（分子マーカーとしての利用も含む）を提供したい。これまでの成果を徹底的に活用する。



図2. 中課題1「グルタチオン施用による実利的なバイオマス増産技術の確立」の概念図

A 農産物の小課題；B 林業系の小課題

【今年度の成果】

小課題A、Bに関しては、農林水産省の研究ネットワーク事業の研究ネットワーク「グルタチオン農業の実現を目指す技術開発ネットワーク」内で実施しているが、ここでは、スギ苗木の成長に及ぼすグルタチオン施用条件について解析した例を記載する。なお、本年度は特許出願を予定する成果が得られたが、詳細は出願内容が公開されてから報告する。

スギ（中々条）1年生苗の出荷可能条件の設定

【背景】一般的に山に植栽する苗木は複数年かけて育成されるが、植栽される苗木のサイズは一定の規格が求められる。一方、伐採は需要との関係で決まるため複数年に渡り計画できるものではなく、苗木生産計画と連動でき難い状況にある。短期に山に植栽するための苗木を育成する方法が確立できれば、伐採による苗木需要に応じた生産を行いやすくなり、残苗や管理・施設費が減るため、苗木生産費用も低減させることができる。

【目的】グルタチオン含有肥料を用いて苗木の育成の短期化と得苗率の向上を図るための条件を設定する。

【方法】

昨年度までの研究結果から有効性が示唆された催芽時の過酸化水素処理、プラグ苗作製時の加温とグルタチオン施用の効果を確認するとともに、コンテナ育成時のグルタチオン施用量とマルチキャビティコンテナの容量について検討を行った。育成条件は後述した山行きコンテナ苗の育成条件に記載した。また、播種する種子には、九州大学において近赤外ハイパースペクトルカメラで撮影した画像を基に種子の品質（Seed Quality Index）を算出し、SQI値でグレード分けした種子を供試した。

発芽・催芽

エクセルソイル 200 穴（みのる産業）にスギの種子を 1 粒ずつセルに播種し、パーライトで覆土後、水または過酸化水素（10 mM）で上面灌水を行い、吸水させた。吸水を行ったエクセルソイルは、催芽保湿ラック（タオルで覆い、さらにその周りを不織布で覆ったスチールラック）で催芽を行った。タオルは、50℃程度のお湯で適宜湿らせ、内部を相対湿度 100%に保持した。ラックを設置した場所は、明期 15 時間（ $200 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、28℃）／9 時間暗期（20℃）の培養庫内でラック内部の光量は明期には $20 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ となっていた。

プラグ苗育成

発芽が確認され始めたころ、培養庫内の培養棚にエクセルトレイを移動し、育成を継続した。発芽から 1 カ月程度経過した頃から、ハイポネックスプロプロフェッショナル（20-20-20）5,000 倍液、グルタチオン水和剤 W2 製剤を 625 倍の混合養液また

はハイポネックスプロプロフェッショナル1,000倍の単独養液を毎週(セル当たり10 mL、コンテナ移植まで計6回)与えた。

コンテナ育苗

培養土はココピートオールド10Lに対してハイコントロール(700日タイプ)を200g混合し、150ccまたは300ccマルチキャビティコンテナ(スリットあり)に充填した。キャビティ容量の約1.5倍量の土壌を充填した。プラグ苗を移植する際には、プラグの大きさよりもやや大きい穴をあけ、プラグ苗を移植した。グルタチオン施用する場合には、プラグ苗を穴に移植する前に酸化型グルタチオン1%(w/w)含有の粒剤をキャビティ当たり0.75g入れてから移植した。移植後約1カ月後(新芽の動きが盛んになったころ)から、ハイポネックスプロプロフェッショナル(20-20-20)2,000倍液、グルタチオン水和剤W2製剤を250倍の混合養液(コンテナW2施用)またはハイポネックスプロプロフェッショナル400倍液を毎週(計12回)与えた。コンテナでのW2施用量を比較する際には、ハイポネックスプロプロフェッショナル(20-20-20)500倍、グルタチオン水和剤W2製剤1000倍の混合養液を与える区を追加比較とした。

【結果と考察】

SQIによって種子品質をグレード分けし、グレードごとに播種し、プラグ苗を作成した。そのプラグ苗を、5月にコンテナに移植し、11月初めまで生育させた時の最終的な苗のサイズについて図3のパネルAに示した。各種処理をしない場合、種子のグレードが低下(AからCの順にグレードが低下)すると最終的な苗長も基部直径も低下した。この低下程度は300ccコンテナでは緩和されていた。また、発芽処理によっても種子品質グレードの低下による生育抑制は緩和されていた。150ccコンテナを用いた場合、グルタチオン施用量が多い場合(250倍W2)、対照区よりも生育が抑制されたが、グレードによる低下は顕著には認められなかった。一方で、300ccコンテナを用いて生育させた場合には、グルタチオン施用量に応じた生育促進が認められ、種子のグレードによる生育低下も有意には認められなかった。全体として発芽処理(10mM過酸化水素吸水処理)を行った場合は発芽処理なしに比べて統計的に有意に生育が良好であった。パネルBには各種処理の効果の程度を分散分析による効果量 η^2 で示した。種子グレードが高いAでは発芽処理およびコンテナW2処理の効果が高く、Bではコンテナ容量の効果の方が高いという結果となった。

形状比はSQIとの相関が見いだされず、効果量としても苗長や基部径に比べて小さい値を示した。発芽から植替えがない場合には、種子の品質グレード別に生育管理することで、苗木サイズのばらつきを小さくできることが期待される。一方、移植の際のプラグ苗サイズに注目した場合(図3. パネルC)、品質グレードが高いAの種子を用いたプラグ苗では移植時のプラグ苗サイズが、期末のコンテナ苗サイズに大きく影響していることが分かった。品質グレードが低下した場合もプラグ苗サイズの効果は

無視できない程度に他の効果を上回っていた。しばしば、根系発達程度が山行き苗規格として問題となっているが、根鉢形成程度は基部径と相関しており、その基部径に対するプラグ苗サイズの直接的な効果は品質グレードが低いと著しく低下していた。つまり、品質グレードが低い種子では、過酸化水素による発芽処理をはじめ、グルタチオン施用やコンテナ容量の適正化などによる管理が必要となることが示唆される。

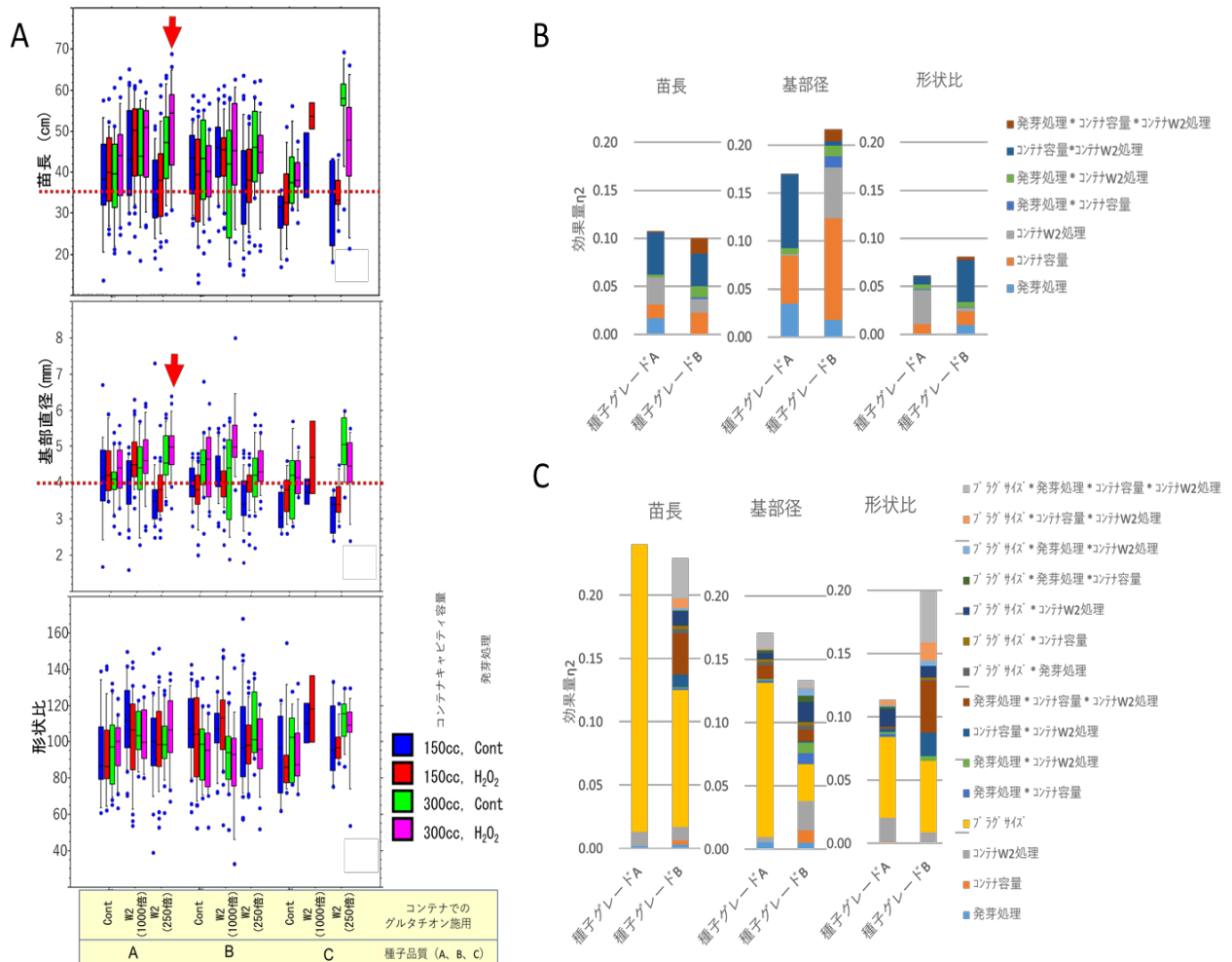


図 3. 種子品質 (SQI) と各種処理のスギコンテナ苗の生育への影響

A 5月にプラグ苗を移植し、11月初めまでコンテナ生育させたスギ苗の個体サイズを示す。種子品質 SQI 値に基づく種子グレード (A, B, C) 別にコンテナでのグルタチオン施用量を変えた場合を集計している。発芽処理とコンテナのキャビティ容量との関係は凡例にした。矢印は最も良いと判断された条件の生育データである。グレード C については 1000 倍の W2 を与える区を設けていない。

B 各種処理の最終的な苗サイズに対する効果を分散分析による効果量 η^2 で示した。発芽から一貫した効果を評価したものである。パネル A の各種効果に対する効果量を相互作用も含めて積み上げグラフにした。

C コンテナに移植する際のプラグサイズに注目して分散分析を実施し、プラグサイズと各種処理の効果を最終的な苗サイズに対する効果量 η^2 で示した。

次にグレードAとBの種子を用いた場合、各種処理管理によって、得苗率がどのように変化するかを検討した（図4）。品質グレード間で比較するとグレードAでは規格内の苗木（オレンジ色）の割合が高いことがわかる。その中でも発芽処理をして300 cc コンテナでW2 施用育成したものの歩留りが高かった。プラグ苗サイズで4 cm以上を用いた場合、得苗率は100%であった。

以上を踏まえると、現状での最善の育成法は、プラグ苗のサイズ別の植替えのない場合、品質グレードの高いAの種子を使い、発芽処理を行い、プラグ育成時に加温（前年に報告）を行って、300 cc コンテナで育成する方法であり、その際にグルタチオン含有のW2 製剤を250倍で施用する条件がよいと判断された。プラグ苗サイズを4 cm以上で移植し、コンテナ育成した場合には高い得苗率が期待できる。

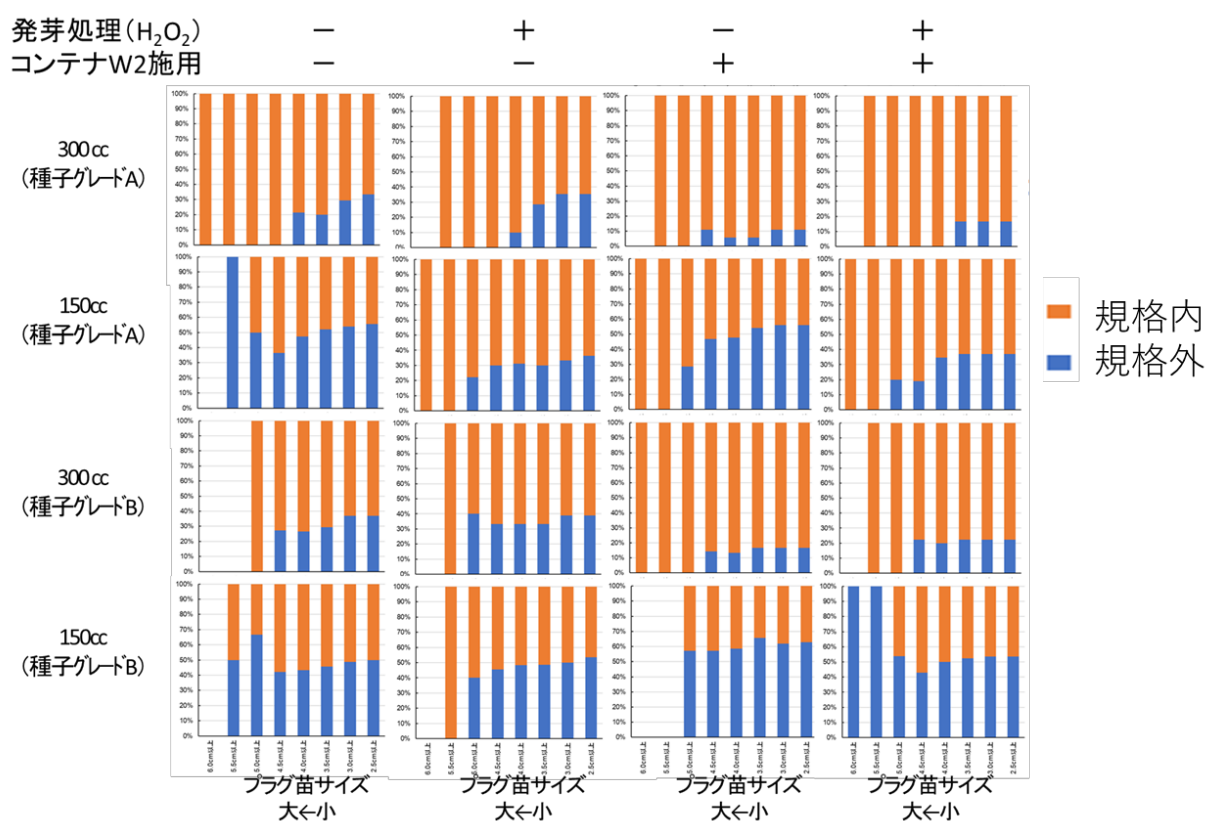


図4. 山行スギ苗の得苗率と移植するプラグ苗サイズとの関係

発芽からのいくつかの処理の履歴と得苗率の関係をコンテナに移植する際のプラグサイズ別に集計した。苗長35 cm以上、基部径4 mm以上とした規格に対して規格内がオレンジ色、規格外が青で示されている。縦軸に得苗率、横軸にコンテナサイズ（左から6.0 cm以上、5.5 cm以上、5.0 cm以上、4.5 cm以上、4.0 cm以上、3.5 cm以上、3.0 cm以上、2.5 cm以上の順）。同一の行方向には、同一のコンテナキャビティ容量（300 ccまたは150 cc）と同一種子グレード（AまたはB）について集計しており、列方向には同一の発芽処理（あり<+>、なし<->）と同一のコンテナW2 施用（あり<+>、なし<->）が集計されている。

なお、今回の結果は生育環境が相対照度 60%の環境で育成したときの結果である。相対照度が 100%で育成したヒノキでは、150 cc コンテナで W2 施用量が多い条件でも成長量の低下が認められず、相対照度 60%で成長量の低下が認められた。そのことを踏まえると、今回のスギ試験で、150 cc コンテナで W2 施用量が多い場合に認められた成長量の低下は光量を高くすることにより、軽減または解除される可能性が考えられた。150 cc コンテナでは密植状態となっていたが、グルタチオン施用により光合成能力だけでなく、呼吸量も増加することから、光合成による純生産量（光合成による同化量から呼吸量を除いた量）を確保するという観点からは、管理上十分な光確保が重要であることも付記する。

なお、本報告内容は、農林水産省 戦略的プロジェクト研究推進事業「成長に優れた苗木を活用した施業モデルの開発」において実施されたものである。

中課題 2

グルタチオン施用による機能性成分を高めたブランド農産物の安定増産法の確立

[背景と目的]

グルタチオンを用いる生産技術によって、農作物の収量性が向上すると同時に、必須アミノ酸など栄養成分や機能性成分の蓄積が認められ、品質の向上も期待できる。本技術により得られる付加価値は、農作物のブランド化に貢献し、生産者の収益性と生産意欲を高めるであろう。同時に消費者の購買意欲を喚起するであろう。本課題では、「高付加価値の食品としての農産物を消費者(または販売者)へ向かって情報発信すること」を志向し、これに資する基礎および応用研究に取り組む。食品表示法の改訂により、機能性成分をPRしやすくなった社会環境を本課題の追い風としたい(図5)。なお、この課題は、中課題1の中で機能性成分高含有化に特化した課題である。

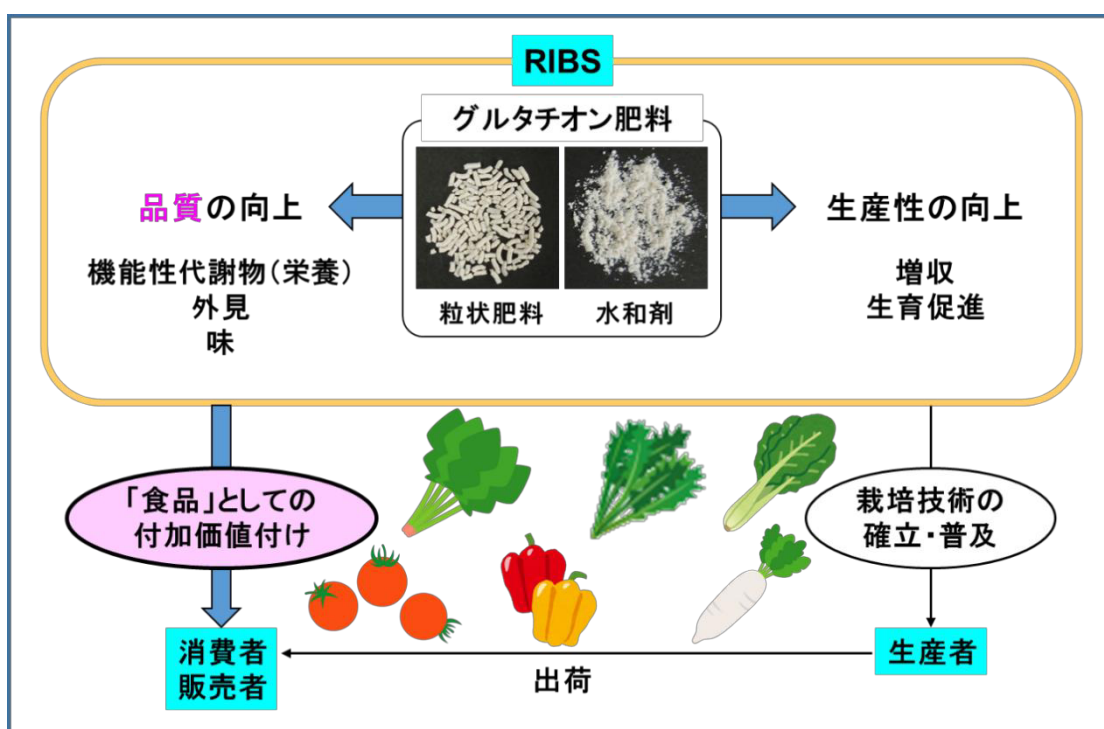


図5. 中課題2「グルタチオン施用による機能性成分を高めたブランド農産物の安定増産法の確立」の概念図

[今年度の成果]

これまでに、シュンギクを対象として、酸化型グルタチオン(GSSG)の施用量や時期を変えた条件を設定し、地上部生重量の向上と同時に、総遊離アミノ酸、クロロフィルおよびカロテノイドの含量も向上する施用条件を見出した(平成29年度、平成30年度年報)。昨年度は、グルタチオンの食味「えぐみ」に対する効果を評価(推定)した。えぐみの強度との間に正の相関が認められるカリウム含量は、同じくグルタチオン

施用したシュンギクにおいて、無施用のものに比べて低かったことから、えぐみの改善効果が予想された（令和元年度年報）。

今年度も食味に対する効果として、これまでに測定した遊離アミノ酸含量から甘味アミノ酸に由来する甘味度を評価（推定）した。また、硝酸塩は、摂取量が過剰となると、人体に対する有害性が指摘されている。FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合は、1995年に硝酸塩の一日許容摂取量を設定した(1)。人体への有害性リスクを回避するためには、摂取する硝酸塩を低減することが好ましいと考えられる。そこで、グルタチオン施用したシュンギクの硝酸イオン含量を調べ、その効果を評価した。

以下に具体的な実験方法と結果を示す。

【方法】

シュンギクの栽培

シュンギクは中薬品種「中薬シュンギク」（サカタのタネ、横浜）を用いた。小型人工気象機 CF-305（トミー精工、練馬）内で、明期 14 時間/20℃、暗期 10 時間/15℃のサイクルで栽培した。所定の時期に、2 mM または 4 mM の G S S G 原体の水溶液を 1 株あたり 25 ml の割合で底面灌水により与えた（表 1）。播種後 9 週間で地上部を収穫した。なお、播種後 4 週間目の生育ステージは、5-6 葉期に相当した。

硝酸イオンの定量

収穫後のすべての葉を液体窒素で凍結させ、-80℃の冷凍庫にて保管した。液体窒素を用いて冷却した乳鉢の中で、凍結した状態の葉を乳棒で粉砕した。粉砕した葉の一部を蒸留水に懸濁し、80℃で 15 分間加熱した。懸濁液を遠心（20,400x g、室温、10 分間）した後の上清を定量に供した。コンパクト硝酸イオンメーター LUQUA twin (HORIBA、京都) を用いて、抽出液に含まれる硝酸イオンを定量した。

甘味アミノ酸含量からショ糖当量への換算

甘味アミノ酸含量の測定値を引用文献の換算式に基づいてショ糖当量に換算し、甘味アミノ酸に由来する甘味度を推定した。

甘味アミノ酸（グリシンおよびアラニン）含量は、これまでに分析した測定値を用いた（平成 30 年度年報）。生重量あたりの含量（nmol/g FW）から容量あたりの含量 x（mg/100 ml）への換算には、日本食品成分表に記載の水分含量（水分 91.8 g/可食部 100 g）を用いた(2)。ショ糖当量 y（mg/100 ml）への換算は、引用文献 3 の換算式（グリシン： $y = -0.044x^2 + 1.0154x$ 、アラニン： $y = -0.1424x^2 + 1.672x$ ）に基づいて算出した。

【結果】

硝酸イオン含量 (図6) いずれの施用条件においても、通常栽培に比べて硝酸イオン含量は低かった。その含量は同程度であり、施用時の生育ステージによる違いは認められなかった。

表1. 酸化型グルタチオンの施用条件

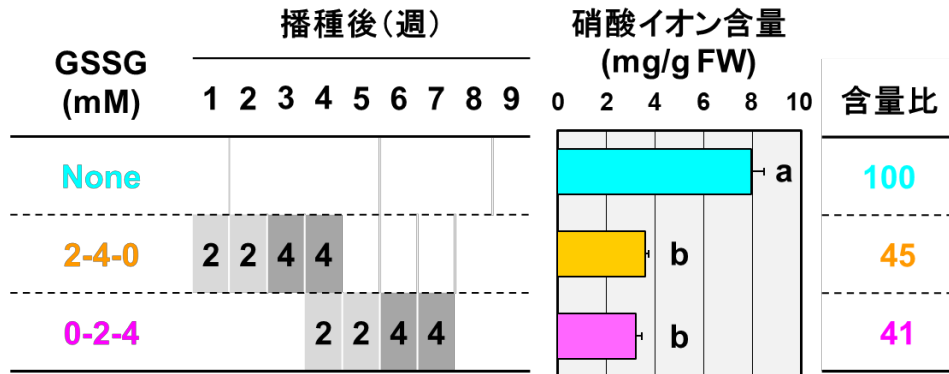


図6. 硝酸イオン含量

甘味アミノ酸に由来する甘味度の推定 (図7、表2) 甘味アミノ酸のうち、グリシン含量は、いずれの施用条件においても、通常栽培と同程度であった。一方、アラニン含量は、栽培期間の前半施用 (2-4-0) において1.3倍程度 (10%の有意水準)、後半施用 (0-2-4) において1.7倍程度 (1%の有意水準) であり、蓄積が認められた (図7A、表2)。

これらの測定値から算出されたショ糖当量は、ほぼアラニン含量を反映して、前半施用において1.3倍程度 (10%の有意水準)、後半施用において1.7倍程度 (1%の有意水準) であった (図7B、表2)。

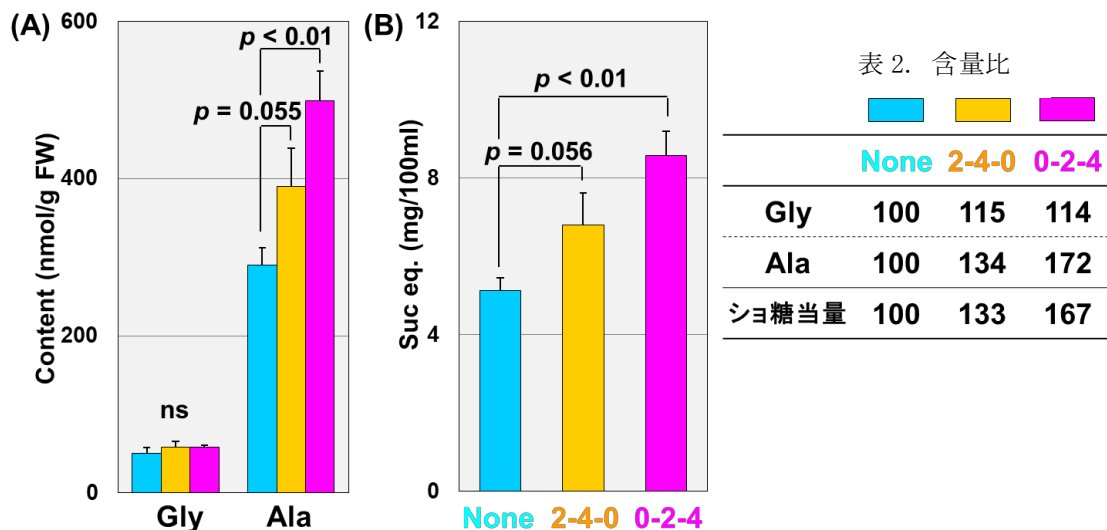


図7. 葉中の甘味アミノ酸含量からの甘味度の推定

(A) 甘味アミノ酸含量 (B) ショ糖当量

【考察】

今年度は、昨年度に引き続き、酸化型グルタチオン施用したシュンギクを摂取した場合の影響について評価（推定）した。施用により硝酸イオン含量が低下したことから、硝酸塩の過剰摂取による人体への有害性リスクの低減が図られると考えられる。味に関しても、遊離アミノ酸由来の甘味度は高いと推定された。昨年度のカリウム含量の測定から、「えぐみ」に対する低減効果が推定されたが、これに伴って、甘味をより感じやすくなっているかもしれない。

施用によって、遊離アミノ酸やクロロフィルなどの含量に加えて、カリウムや硝酸イオンといった、無機物の含量も調節されることが示された。いずれの場合も、食味の改善や有害性リスクの低減が期待され、野菜の機能性を高めるグルタチオン施用の優位性を示す結果と考えられる。

【謝辞】

遊離アミノ酸含量とショ糖当量との関係性に関して情報提供いただいたことについて、ノートルダム清心女子大学・小林謙一教授に謝意を表します。

【引用】

- 1 農林水産省のホームページ
https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/syosanen/index.html
- 2 日本食品成分表（七訂）. 医歯薬出版編.
- 3 Yamaguchi S, Yoshikawa T, Ikeda S and Ninomiya T. (1970) Studies on the taste of some sweet substances. Part I. Measurement of the relative sweetness. *Agr. Biol. Chem.* **34**: 181-186.

中課題 3

微生物を活用したグルタチオン農業に関連する物質の効率的生産技術の開発

[背景と目的]

グルタチオン農林業の普及は緒に就いたところであるが、今後の課題として、グルタチオン施用によって改善される農林業生産と、これらに供するグルタチオン自体の生産をカップリングした、環境負荷の小さいサイクルを構築していく必要がある。現状では、グルタチオンは農耕地等から離れた工場において、微生物による発酵技術により生産されている。その微生物を養う栄養源は廃糖蜜などの光合成産物に由来する。よって、太陽エネルギーの活用という観点から、この持続可能なサイクルはある程度完成していると言えなくもない。しかし、グルタチオンを生産現場から利用現場へ輸送する際の化石燃料への依存は大きく、この問題に取り組むことにより、環境への負荷を軽減できる余地がある。農耕地等の隣地で農産物の一部あるいは農業廃棄物をもとにオンサイトなグルタチオンの発酵生産を行うという、集約されたサイクルが完成すれば、グルタチオン農林業が県下はもちろんのこと、世界規模でそれぞれの地域に根ざすことは確かであるように考えられる（図8）。加えて、同じサイクルからグルタチオン以外の有価物が生まれれば、サイクル全体の経済的な安定化にも寄与できると考えられる。本課題では、そのためのシステムづくりに好適なグルタチオンの発酵生産を担う微生物を創生する。

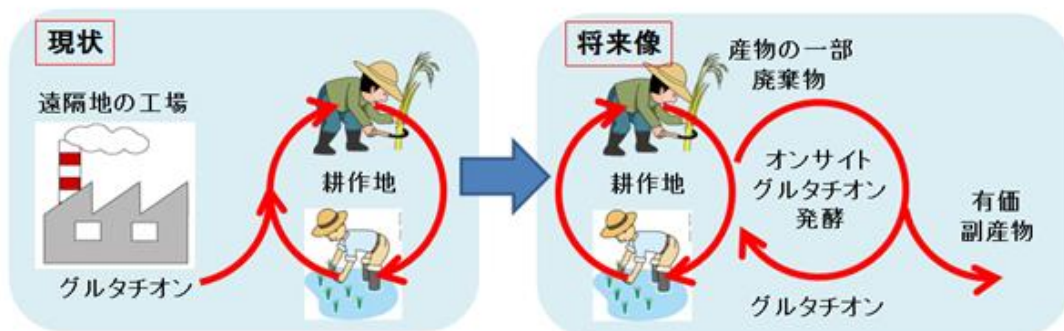


図8. 中課題3「微生物を活用したグルタチオン農業に関連する物質の効率的生産技術の開発」の概念図

[今年度の成果]

大腸菌を研究材料に、グルタチオンの生産性を改善する目的で、グルタチオンの構成部品であるL-システインをより安価な硫黄源（原料）から合成する代謝系路を詳しく調べた。

L-システインは細胞にとって有害である。細胞内におけるL-システインの濃度は、排出・分解・他の化合物への転換等と合わせて、その合成が厳密に調節されることによって、低く維持されている。L-システイン合成の調節は、グルタチオン合成の部品を供給するステップにおける改善のターゲットであると考えられる。生物は、一般に、同一の

生成物へ向かう複数の経路を備える場合、ATPの消費や還元力の消費が少ない、よりエネルギー的に有利な経路を優先させる調節機構を有する。例えば、硫黄のオキシ酸からL-システインを合成する場合、チオ硫酸塩が硫酸塩に優先して利用される (Nakatani *et al.* 2012 *Microbial Cell Factories* 11:62)。一方、アルカンスルホン酸塩と硫酸塩を比べると、硫酸塩の方が硫黄源として優先的に使われる (Bykowski *et al.* 2002 *Molecular Microbiology* 43:1347-1358)。しかし、後者の場合、微視的には、エネルギー的に有利か否かという単純な説明は当てはまらない。全体像は明らかでないものの、硫黄代謝には、窒素代謝など、他の代謝系との調和をはかる機構が存在する。今年度の取り組みでは、複数の大腸菌多重変異株を使ったり、培地組成を工夫したりした実験を通じて、アルカンスルホン酸塩に由来する硫黄の資化において、亜硫酸イオンを遊離させる酵素 (SsuD) の遺伝子発現について調べた。詳細は執筆中の原著論文に譲るが、従来、論じられてきたアデニル硫酸がコファクターとなる調節とは別の調節の存在を明らかにした。新たな手法の一つとして、この調節への人為的な介入は、硫黄代謝だけでなく、他の代謝系をも含めたチューニングを通じて、グルタチオン合成のパフォーマンス向上に資するようと思われる。アルキル基の鎖長や置換基の構造が雑多なスルホン酸の混合物が、例えば、工業プロセスの副産物として安価に供給されれば、これらを硫黄源とし、農産物・同副産物を炭素源・エネルギー源に使ったグルタチオン生産が検討の俎上に載る可能性を示した。

令和2年度研究成果（報文、発表等）

1. 報文（総説・原著論文等）

茂木靖和、渡邊仁志、小川健一

グルタチオン施肥が秋出荷に向けたヒノキコンテナ苗生産へ及ぼす影響.

中部森林技術交流発表集 (2020)

概要：1 コンテナ当たり 0.4L の 600 ppm グルタチオン溶液をヒノキコンテナ苗の育成時に3回施用して、秋出荷時における苗のサイズ、得苗率、地上部と地下部の重量に及ぼす影響を検討した。グルタチオン散布区の方が葉と根径2mm未満の根の重量が重く、TR率が低い傾向がみられた。グルタチオン施用の影響は、苗サイズに現れる前に葉や根の重量が増加すること、その際に葉より根の方を優先させることと考えられた。

田村明、今博計、来田和人、黒丸亮、田中功二、蓬田英俊、中村博一、西川浩己、清水香代、小川健一、雉子谷佳男、出口隆、本間弘達、福田陽子、玉城聡、井城泰一、栗田学、生方正俊、三嶋賢太郎、松下通也、高橋誠

カラマツ種苗の安定供給のための技術開発.

森林遺伝育種10: 54-58 (2021)

概要：革新的技術・緊急展開事業の地域戦略プロジェクト（生物系特定産業技術研究支援センター）により実施したプロジェクト「カラマツ種苗を安定供給するための技術開発」の成果について報告したものである。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表（英文大会名は国際学会）

井城泰一、小川健一、今博計

元肥とグルタチオンを用いたスギさし木増殖の検討

森林遺伝育種学会第9回大会、2020年11月6日（Web開催）

山下直子、飛田博順、奥田史郎、小笠真由美、松田修、小川健一

スギ母樹へのグルタチオン施用が種子の品質に与える影響

第132回日本森林学会大会、2021年3月19日～23日（Web開催）

成田あゆ、今博計、小川健一

クリーンラーチ(グイマツ雑種F₁)コンテナ育苗におけるグルタチオン施用例

第132回日本森林学会大会、2021年3月19日～23日（Web開催）

3. 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、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、東京農業大学、京都大学、大阪大学、神戸大学、香川大学、九州大学、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（JAXA）、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（JIRCAS）、森林研究・整備森林総合研究所、森林研究・整備森林総合研究所鱗木育種センター、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、青森県、岩手県、秋田県、山形県、群馬県、富山県、長野県、山梨県、岐阜県、大阪府、兵庫県、高知県、徳島県、福岡県、宮崎県、熊本県、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、住友林業株式会社、株式会社カネカ、ENEOS 株式会社、ENEOS テクノマテリアル株式会社、Jリーフ株式会社、三井物産アグロビジネス株式会社、九州計測器株式会社、三菱商事ライフサイエンス株式会社、昭和電工株式会社、株式会社システムズ・エンジニアリング、IHI、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、グルタチオン農業の実現を目指す技術開発ネットワーク（農林水産省事業、拠点として40以上の団体・機関と連携）

4. 外部資金獲得状況

- ・農林水産省 戦略的プロジェクト研究推進事業
「成長に優れた苗木を活用した施業モデルの開発」（実行課題責任者 小川健一）
- ・民間2件（代表 小川健一）

5. その他

「グルタチオン農業の実現を目指す技術開発ネットワーク」の拠点として活動

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）

酵素機能研究グループ

所長	畑中 唯史（グループ長）
流動研究員	楊 靈麗
流動研究員	森本 隼人（令和2年 4月～令和3年3月）
実験補助員	山本 昭恵（令和2年 5月～）

大課題

農産物の機能性探索研究

[概要]

新晴れの国おかやま生き生きプランには、重要施策として、「マーケティングの強化とブランディングの推進」、推進施策として、「6次産業化と農商工連携の推進」が掲げられている。また、平成27年度から、食品の新たな機能性表示制度が始まり、健康の維持・増進に役立つ機能性食品に向けた関心が高まっている。

当研究グループでは、平成30年度から「黄ニラ非可食部の有効利用」の課題で、共同研究先（就実大学・薬学部および鳥取大学・農学部）とともに、研究を行ってきており、岡山県の特産野菜である「黄ニラ」の機能性研究に重点を置き、県農林水産業への貢献を目指している。

中課題3に掲げる「農林水産物加工用酵素の研究開発」では、国内で最も需要の高い食品加工用酵素「トランスグルタミナーゼ」を取り上げ、高活性酵素を取得するべく課題に取り組んでいる。

中課題1

県産農産物の機能性研究

[背景と目的]

当グループでは、平成30年度から研究を行っている外部知見活用型研究課題「黄ニラ非可食部の有効利用」の研究過程で、就実大学・薬学部・坪井教授研究室との共同研究において、活性酸素種のひとつであるスーパーオキシドアニオン (O_2^-) 消去活性について、県特産果実・野菜の中で、黄ニラは最も高い消去活性を示し（平成29年度研究年報）、鳥取大学・農学部・有馬教授研究室との共同研究においても、黄ニラ抽出物が、複数の化合物の作用で、歯周病菌の生育を抑えることを明らかにしている（平成30年度研究年報）。

これらの結果を踏まえ、黄ニラ大使の植田氏が経営されている(株)アーチファームから、黄ニラ品種（ワンダーグリーンベルト）の非可食部を譲り受け、これを材料に、就実大学・薬学部（抗酸化作用＝グルタチオン上昇作用）、鳥取大学・農学部（抗歯周病菌作用）と共同研究を行い、機能性分子の探索を行っている。

[今年度の成果]

就実大学との共同研究で、黄ニラの酸化ストレスによる細胞傷害抑制作用とそのメカニズム解析として抗酸化酵素群の発現とその発現制御に関わる Keap1/Nrf2 経路に及ぼす影響について検討した。

【方法】黄ニラをフードプロセッサーで細断後、50%エタノールで抽出し、凍結乾燥して黄ニラ抽出物を調製した。ヒト肝臓ガン由来HepG2細胞を48時間培養後、各試料を添加して24時間後に細胞を回収し、抗酸化酵素のタンパク発現量については、ウェスタンブロッティング法により測定した。

【結果】黄ニラ抽出物を添加することにより HepG2 細胞内グルタチオン量は濃度依存的に上昇した。また、黄ニラ抽出物をあらかじめ細胞に添加することで、過酸化水素による細胞傷害の抑制がみられた。次に、抗酸化酵素である heme oxygenase-1 (HO-1) の発現量を調べたところ、8 時間以降に発現の誘導が見られた。HO-1 の発現制御に関わる転写因子である Nrf2 のタンパク発現を調べた結果、3 時間以降に核内で発現上昇が見られた (図 1)。

以上の結果から、黄ニラは Keap1/Nrf2 経路を活性化し、抗酸化酵素群を誘導することにより、酸化ストレスによる細胞傷害の抑制効果を示すことが示唆された (図 2)。

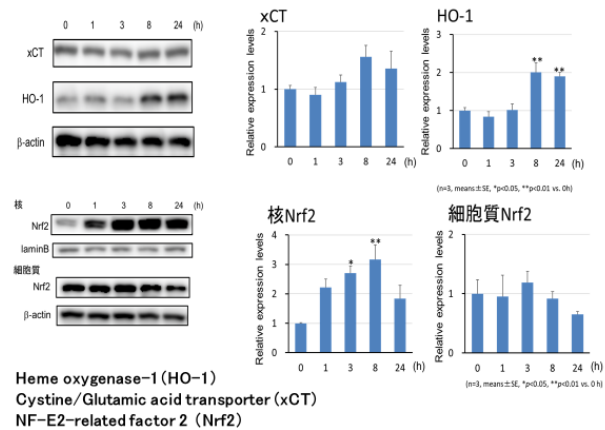


図 1. 抗酸化及びグルタチオン生成に関するタンパク質の発現解析

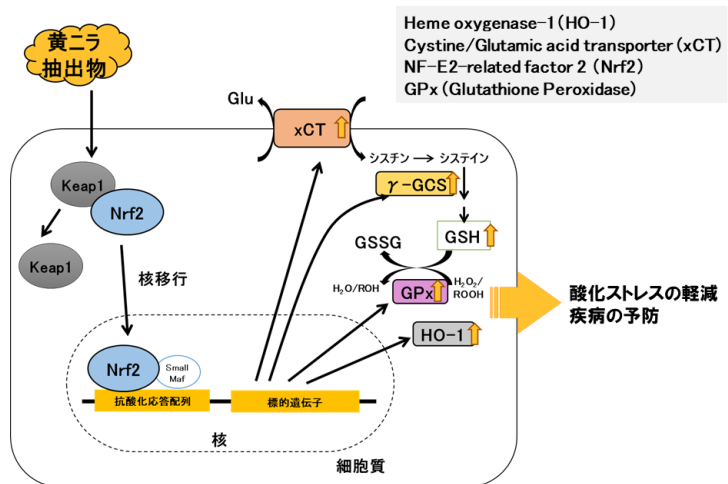


図 2. 黄ニラ抽出物の抗酸化メカニズムの解明

中課題 2

快眠を導く機能性米飯の研究開発

[背景と目的]

本中課題では、米に新たな機能性＝快眠誘導を付与し、米の消費拡大につながる簡易調理米飯の開発を目指している。これまでに、市販米ペプチド (オリザ油化(株)製・OP-60) から、睡眠ホルモン合成酵素 (NAT) 活性化因子として、VVTFGPSGLTTEVK (from

Elongation factor 1- α) および YQQQFQQFLPEGQSQSQK (from Glutelin type-B4) の 2 種のペプチドを同定し、今年度権利化した(「NAT 活性化剤」特許第 681145 号)。NAT は、分子内 SS 結合が形成されているとオフであり、細胞内に存在する還元型グルタチオンによってそれが開裂され、活性型に導かれる。上記 2 種のペプチドのうち、特に後者 (YQQQFQQFLPEGQSQSQK) については、細胞内還元型グルタチオン、NAT 活性ともに増強することをこれまでに確認している (C. Moritani *et al.*, *J. Funct. Foods* 41: 148-154 (2018))。快眠誘導に加え、OP-60 が細胞内グルタチオン量上昇作用や抗酸化酵素の発現誘導作用を示すこと、その作用には酸化ストレス応答に関わる転写因子 nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) が関与することを明らかにしている。

[今年度の成果]

今年度は市販の白米ペプチド (OP60、オリザ油化製) の抗酸化作用を更に明らかにするため、酸化ストレスによる細胞傷害に対する OP60 の抑制効果ならびに OP60 の作用に対する Nrf2 ノックダウンの影響について検討した。

【方法】 HepG2 細胞を OP60 で 24 時間処理後、H₂O₂ あるいはアセトアミノフェンで処理を行い、乳酸脱水素酵素の細胞外漏出を測定することで細胞傷害率を求めた。さらに、Nrf2 を siRNA でノックダウンし、OP60 のグルタチオン上昇作用、 γ -glutamylcysteine synthetase (γ -GCS)、heme oxygenase-1 (HO-1) の発現誘導に対する影響を検討した。

【結果】 H₂O₂ あるいはアセトアミノフェンによる細胞傷害は、OP60 の濃度依存的に抑制された (令和元年度研究年報)。また、Nrf2 ノックダウン

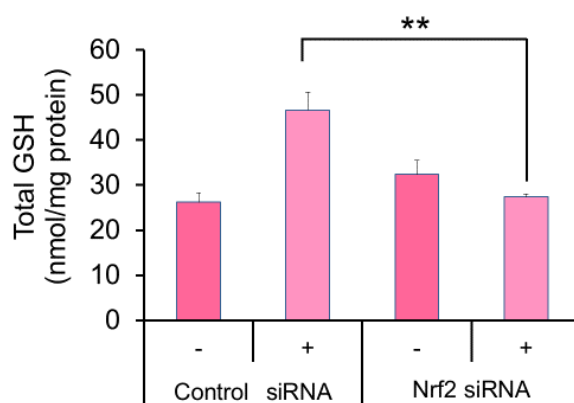


図 3. OP60 の作用に対する Nrf2 ノックダウンの影響 (1) 総グルタチオン量について (** : 有意差あり)

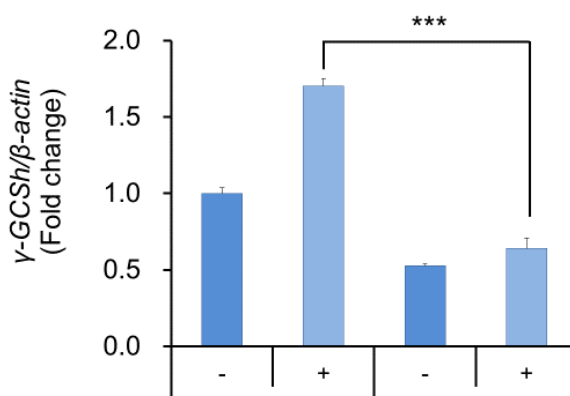


図 4. OP60 の作用に対する Nrf2 ノックダウンの影響 (2) γ -GCS mRNA 量について (***) : 有意差あり)

細胞において OP60 によるグルタチオン上昇作用は見られなくなった (図 3)。さらに、 γ -GCS や HO-1 の発現誘導も抑制された (図 4、図 5)。以上の結果から、OP60 は Nrf2 の活性化を介し酸化ストレスによる細胞傷害に対する抑制作用を発揮することが示唆された。

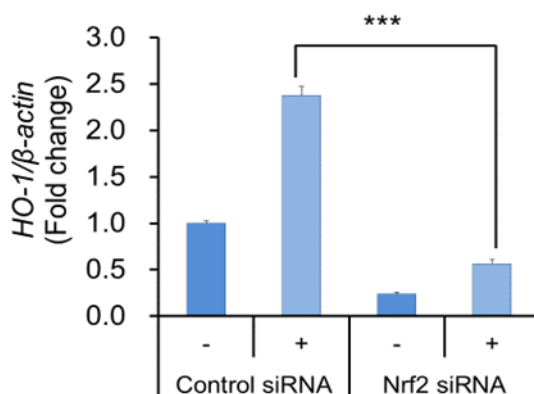


図 5. OP60 の作用に対する Nrf2 ノックダウンの影響 (3)
HO-1 mRNA 量について (***) : 有意差あり)

中課題 3

農林水産物加工用酵素の研究開発

[背景と目的]

当研究グループではこれまでに、当グループが見出した *S. cinnamomus* TH-2 株が、大量に金属プロテアーゼ (SCMP) を分泌することを見出した (T. Hatanaka *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.* 434: 289-298 (2005))。本 SCMP プロモーターを用いた発現系は、特許登録 (特許第 4586149 号「プロモーター及びその活性化方法」) され、酵素メーカーにおいて、既に放線菌由来キチナーゼ・グルカナーゼの商業生産に応用されている。これら酵素は、セルフクロニングおよびナチュラルオカレンス (組み換え体と同等の遺伝子構成をもつ生細胞が自然界に存在する) の概念にあてはまり、食品添加物として使用できるグレードである。従来からの有用酵素の探索では、土壌からの有用菌株のスクリーニングが主たる方法であった。そこで本研究では、我々が開発した放線菌発現系を利用して、国内で最も需要の高い酵素製剤である、食品の食感改善に役立つ酵素トランスグルタミナーゼ (TGase) の探索を行うものである。

昨年度までに、市販酵素である *S. mobaraensis* 由来 TGase (SMTG) と我々がゲノム解析を行って見出した *S. cinnamoneus* 由来 TGase (SCTG) との遺伝子間で、キメラ酵素を作成し、親酵素・キメラ酵素との性状比較を行った。その結果、C 末端部分

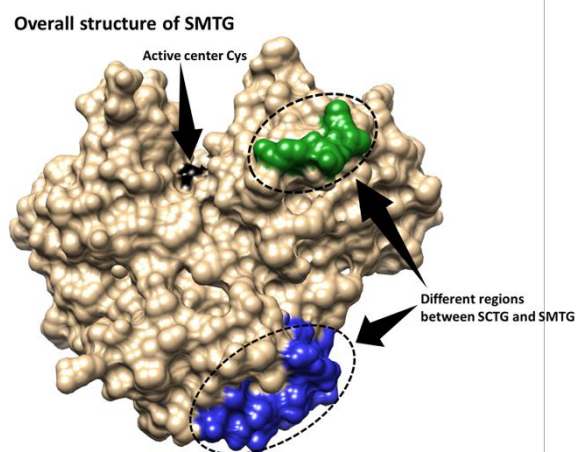


図 6. SMTG の立体構造上を示す SCTG と大きく異なる部位

にアシルドナーを認識する部位が含まれることを明らかにした(平成30年度研究年報)。また、アシルドナーとして、 β -カゼイン由来のペプチド2種(VLPVPQKおよびAVPYPQR)を同定し、論文発表した(S. Tokai *et al.*, *Biosci. Biotech. Biochem.* 84(3): 575-582 (2020))。放線菌由来 TGase における上記アシルドナーの認識部位候補として、図6に示す緑と青で示すフレキシブルループのうち、緑のループの重要性が示唆された(令和元年度研究年報)。次いで、NBRC から市販されている *S. cinnamoneus* 由来 TGase の緑のループ部分の配列情報を得るため、遺伝子の保存されている配列をプライマーとし、PCRにより、TGase 内部配列約 1kbp を増幅し、シーケンスした。得られた配列と、公表されているものも含め、11種の配列情報を比較したところ、示すように、SCTG のもつ配列は、最も多い7種であった(表1)。しかしながら、SMTG タイプのものは、他には存在しなかった(令和元年度研究年報)。

表1. アシルドナー認識部位の比較

アミノ酸番号	
208	212
RSSSA	: SMTG
QRGSS	: SCTG 他 計7種
QRGPS	: 計2種
QRSPS	: 1種

[今年度の成果]

今年度は、表1に示す緑のループに QRSPS の配列をもつ *S. cinnamoneus* 由来 TGase (SCTG2) に着目し、その比活性を SMTG および SCTG と比較し、性能を評価した。

【方法】当該菌株よりゲノム DNA を調整し、各種制限酵素で切断のち、セルフライゲーションを行った。その後、インバース PCR をかけたところ、制限酵素 (*Bam*HI) 消化サンプルから、約 3kbp の増幅断片を得た。内部配列をプライマーとして、SCTG2 全長遺伝子配列を得た。これを SCMP プロモーター下流に挿入し、放線菌 (*S. lividans* 1326 株) を宿主に分泌発現させた。5 日培養後集菌し、培養上清を透析後、陰イオン交換体にかき、通過画分を精製酵素とした。精製酵素について、アシルドナーとして Z-Gln-Gly を、アシルアクセプターとしてヒドロキシルアミンを用いる TGase 公定法によりタンパク質あたりの比活性を比較した。

【結果】SCTG2 の 1 次配列を、SCTG および SMTG と比較したところ、SCTG2 vs. SCTG = 86% (identity)、SCTG2 vs. SMTG = 73% (identity) となった。比活性を比べたところ(図7)、SCTG2 (赤いカラム) は、SCTG (青いカラム) の約 2 倍の比活性を示したものの、SCTG2 の比活性は、SMTG (黒いカラム)

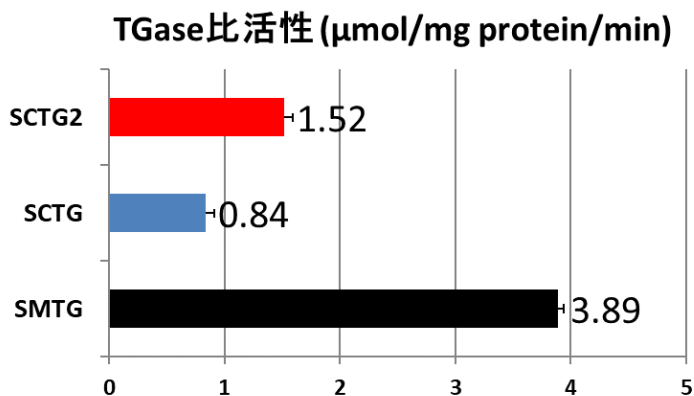


図7. TGase の比活性比較

の約4割にとどまり、高活性とは言いがたい結果となった。

この結果から、遺伝子源の変更だけでは、SMTGの高活性を凌駕することは、困難と考え、発現量を増強することにより、SCTG2の低い比活性を補う方策を練ることとした。前述のSCMPプロモーターは、全長424bpであるが、必須領域は、3'側63塩基対であり、これを用いた場合、大幅に分泌発現量が増加することを見出している（平成27年度研究年報）。

また、放線菌の分泌タンパク質は、SecとTatの二つを経由することが知られているが、それらの多くはSec分泌系によって放出され、我々が研究してきた酵素群もすべてこの系によって菌体外に分泌される。そこで、この世界最短の放線菌用発現プロモーター2個を搭載したベクターを構築し（図8）、酵素遺伝子とともに、Sec系に関わる分泌発現増強候補因子の共発現による分泌発現量への影響を検討することとした。1遺伝子で、分泌量を増強する候補遺伝子として、図9に黒枠で示す4遺伝子を候補として、各々を挿入したベクターを構築した。これらを用いた検討を、次年度から行う予定である。

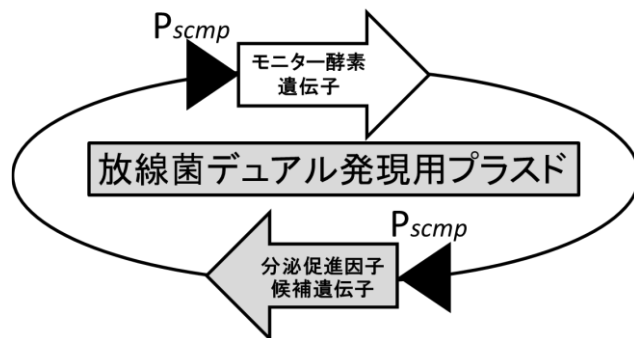
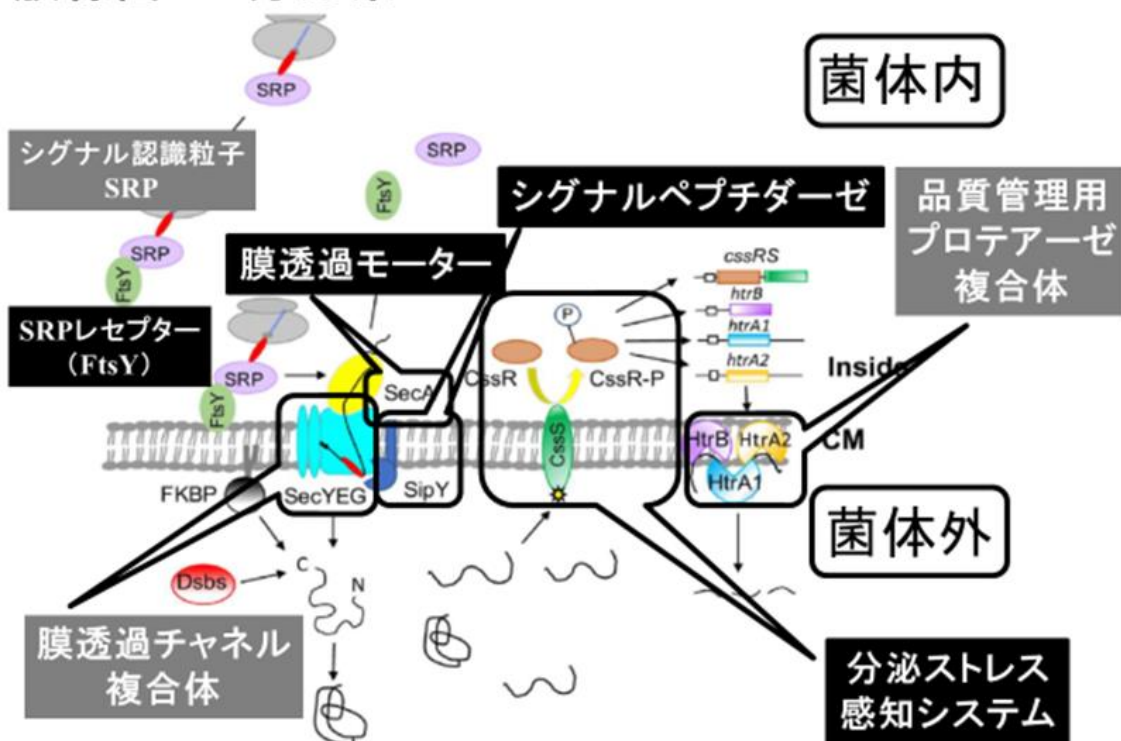


図8. プロモーターを2個搭載したベクター模式図

放線菌Sec分泌系



S. Gullón and R. Mellado, *Antibiotics* (2018) 7 7020033を改変

図9. 放線菌 Sec 系分泌に関わる因子

令和 2 年度研究成果（報文、発表等）

1. 報文（総説・原著論文等）

畑中唯史

コメ由来ペプチドが睡眠ホルモン合成酵素を増強！多くの日本人が悩む睡眠障害改善を目指す

日本の身士不二 2020 年 4 月（オンライン雑誌）

概要：市販米ペプチドから、脳内に存在する睡眠ホルモン合成の律速酵素であるセロトニン-N-アセチルトランスフェラーゼ（NAT）を活性化するペプチドを 2 種同定した。そのひとつは、細胞内のグルタチオン量を増強する効果も併せもち、NAT 分子内に存在する SS 結合を開裂することによって、当該酵素を活性化することが推測された。これによって、米ペプチドによる快眠を導く機能性食材の可能性が示唆された（就実大学・薬学部・坪井教授研究室、(株)サタケ、オリザ油化(株)との共同研究）。

Wan, K., Uraji, M., Yang, L., Nakahigashi, R., and Hatanaka, T.

Novel activity of *Streptomyces* aminopeptidase P

Bioresour. Bioprocess. 7(20) : (2020)

概要：市販酵素 XPO DUET（ナガセケムテックス社製・放線菌由来 M24 アミノペプチダーゼ）について、ウシ由来カゼインのトリプシン・キモトリプシン消化物のアレルゲンペプチド（VLPVPQK および FFVAPFPEVFGK）に対する分解能を、イオントラップ型 LC-MS を用いて評価した。その結果、XPO DUET は、VLPVPQK は、分解できなかったものの、FFVAPFPEVFGK とそれから派生する VAPFPEVFGK, PEVFGK に対して、N 末端からアミノ酸を遊離できることを示した。さらに、FFF に対する分解能もあることを証明した。従来 M24 ファミリーに属するアミノペプチダーゼは、亜鉛を活性中心にもち、Xaa-Pro ペプチド特異的に作用し、N 末端からアミノ酸を遊離させる活性をもつと報告されてきたが、今回のアレルゲンペプチド等を用いた解析によって、これまで知られていなかった幅広い基質特異性をもつことが示唆された。（ナガセケムテックス(株)との共同研究）

Kawakami, K., Moritani, C., Hatanaka, T., Suzaki, E., and Tsuboi, S.

Hepatoprotective activity of yellow Chinese chive against acetaminophen-induced acute liver injury via Nrf2 signaling pathway

J. Nutr. Sci. Vitaminol. 66 357-363 (2020)

概要：平成 30 年から行っている外部知見活用型・産学官連携研究事業「黄ニラ非可食部の有効利用」の研究において、明らかにされた内容である。解熱鎮痛剤であるアセトアミノフェン（APAP）は、一部が親電子化合物である N-acetyl-*p*-benzoquinone

imine (NAPQI) へと代謝され、さらにグルタチオン抱合うけて尿中へと排泄される。しかし、過剰に摂取すると肝臓中のグルタチオンが枯渇し、NAPQI が肝細胞のタンパク質と共有結合することで酸化ストレスを引き起こし、肝障害を誘導することが分かっている。マウスを用いて黄ニラ抽出物の APAP 誘導肝障害抑制作用について検討したところ、あらかじめ黄ニラ抽出物を経口投与しておくことで、抽出物の濃度依存的に、APAP による肝障害は抑えられた。このことから、細胞を用いた実験と同様に、動物を用いた実験においても、黄ニラには、生体内のグルタチオンを増強し得る因子が含まれることを明らかにした論文である (就実大学・薬学部・坪井教授研究室との共同研究)。

Moritani, C., Kawakami, K., Shimoda, H., Hatanaka, T., Suzaki, E. and Tsuboi, S.

Protective effects of rice peptide Oryza Peptide-P60 against oxidative injury through activation of Nrf2 signaling pathway *in vitro* and *in vivo*

ACS Omega 5(22) 13096-13107 (2020)

概要：これまでに、市販の白米ペプチド (OP60、オリザ油化(株)製) が細胞内グルタチオン量上昇作用や抗酸化酵素の発現誘導作用を示すこと、その作用には酸化ストレス応答に関わる転写因子 nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) が関与することを明らかにしてきた。そこで、OP60 の抗酸化作用を更に明らかにするため、酸化ストレスによる細胞傷害に対する OP60 の抑制効果ならびに OP60 の作用に対する Nrf2 ノックダウンの影響について検討した。HepG2 細胞を OP60 で処理後、H₂O₂あるいはアセトアミノフェンで処理を行い、乳酸脱水素酵素の細胞外漏出を測定することで細胞傷害率を求めた。また、Nrf2 を siRNA でノックダウンし、OP60 のグルタチオン上昇作用、 γ -glutamylcysteine synthetase (γ -GCS), heme oxygenase-1 (HO-1) の発現誘導に対する影響を検討した。その結果、細胞傷害は、OP60 の濃度依存的に抑制され、細胞傷害誘導過程においてみられる GSH/GSSG 比の低下は、OP60 処理により有意に抑制された。Nrf2 ノックダウン細胞において OP60 によるグルタチオン上昇作用は見られなくなり、 γ -GCS や HO-1 の発現誘導も抑制された。以上の結果から、OP60 は、Nrf2 の活性化を介し酸化ストレスによる細胞傷害に対する抑制作用を発揮することが示唆された (就実大学・薬学部・坪井教授研究室との共同研究)。

Hatanaka, T., Narusaka, M., Uraji, M., Yamaji, Y., and Narusaka, Y.

Identification of an anti-plant-virus molecule in *Alpinia zerumbet*

Bioresour. Bioprocess. 8:17 (2021)

概要：生研支援センター・イノベーション創出強化研究推進事業 (基礎研究ステージ) の研究課題「新たな農資源ゲットウを利用した植物ウイルス防除剤の実用化研究」の成果である。月桃 (ゲットウ) は、ショウガ科ハナミョウガ属の植物で、沖縄等、南洋の島々に自生する雑草である。GFP 挿入トマトモザイクウイルスを用いて、この月桃の搾汁液の抗植物ウイルス活性分子は、エピカテキンが重合してできたプロ

アントシアニンであることを、初めて報告した論文である（生物科学研究所・植物活性化研究グループ、東京大学大学院農学生命科学研究科・山次教授研究室との共同研究）。

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、英文タイトルは国際学会）

川上賀代子、守谷智恵、畑中唯史、坪井誠二

「黄ニラ抽出物の細胞傷害抑制作用」

第74回日本栄養・食糧学会大会

新型コロナウイルス感染症のため開催されず、要旨集のみ発行。

川上賀代子、守谷智恵、植田輝義、畑中唯史、坪井誠二

「黄ニラ抽出物による睡眠ホルモン合成酵素の活性化」

第93回日本生化学会大会（オンライン開催）（2020年9月14日－9月16日）

守谷智恵、川上賀代子、戸羽 世、平本和義、畑中唯史、坪井誠二

「米タンパク加水分解物のグルタチオン上昇作用における Keap1-Nrf2 経路の関与」

第93回日本生化学会大会（オンライン開催）（2020年9月14日－9月16日）

川上賀代子、守谷智恵、畑中唯史、坪井誠二

「米タンパク質加水分解物中の抗酸化ペプチドの同定」

第73回日本酸化ストレス学会

新型コロナウイルス感染症のため開催されず、要旨集のみ発行。

鳴坂義弘、畑中唯史、山次康幸、鳴坂真理

「ショウガ科植物の月桃を利用した抗植物ウイルスの防除技術の開発研究」

平成2年度日本植物病理学会関西支部（オンライン開催）（2020年11月7日－11月8日）

藤井勇樹、熊谷祐也、岸村栄毅、畑中唯史

「放線菌 *Streptomyces thermogriseus* エンド型キシラナーゼを用いた紅藻ダルスβ (1-3/1-4) キシロオリゴ糖調製法の開発」

日本農芸化学会北海道支部／日本栄養・食糧学会北海道支部合同学術講演会（2020年12月12日－12月13日）（オンライン開催）

藤井勇樹、熊谷祐也、岸村栄毅、畑中唯史

「紅藻ダルス由来 β -(1→3)/ β -(1→4)-キシロオリゴ糖調製法の開発およびエンド型キシラナーゼの基質特異性」

応用糖質科学会・北海道支部会（オンライン開催）（2021年1月28日）（*P）

3. 特許・発明

- ・発明届 2件
- ・特許出願 1件
- ・特許登録 1件

4. 共同研究・協力連携先

ナガセケムテックス株式会社、石原産業株式会社、農研機構・九州沖縄農業研究センター、琉球大学・農学部、就実大学・薬学部、鳥取大学・農学部、岡山県畜産研究所

5. 外部資金獲得状況

- ・イノベーション創出強化研究推進事業・応用研究ステージ（代表 畑中唯史）
- ・外部知見活用型・産学官連携研究事業（代表 畑中唯史）
- ・ウエスコ学術振興財団・研究助成（代表 楊靈麗）

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）

おかやまバイオアクティブ研究会 役員（畑中唯史）

発行日 令和3年7月31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.lg.jp/soshiki/203/>

※無断転載複製を禁ず