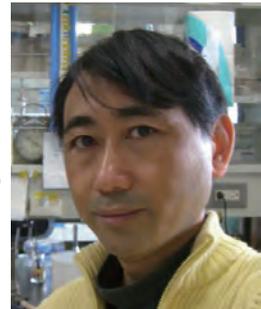


癌に関連した細胞周期制御機構の解明

兼任・教授 丑丸 敬史 (USHIMARU Takashi)
バイオサイエンス専攻 (主担当: 理学部 生物科学科及び
大学院総合科学技術研究科理学専攻 生物科学コース)
専門分野: 細胞生物学、分子生物学
e-mail address: sbtushi@ipc.shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/~sbtushi/>



【 研究室組織 】

教 員 : 丑丸 敬史

博士課程 : D3 (1名)、D2 (2名)

修士課程 : M2 (2名)、M1 (1名)

学 部 生 : B4 (4名)

【 研究目標 】

我々は、モデル生物である出芽酵母を用いて細胞増殖およびストレス耐性の分子制御機構を解析している。現在、力を注いでいる分野を列挙する。

- (1) TOR (target of rapamycin) による細胞周期制御
- (2) オートファジーの分子機構の解析
- (3) 細胞分裂期における染色体の均等分配を保證する機構の解析
- (4) DNA 修復機構の解析

【 主な研究成果 】

- (1) オートファジー誘導に必要な脱リン酸化酵素PP2Aを同定した。(Akter et al. PLOS ONE, 2016)
- (2) オートファジーによるリボソーム分解 (リボファジー) の分子基盤を解析した。(Waliullah et al. Biosci. Biotechnol. Biochem, 2017)
- (3) 分裂後期進行時にセキュリン/セパララーゼの更なる制御が必要なことを明らかにした。(Hatano et al. Cell Signal, 2016)
- (4) 姉妹染色分体分離に関わるセパララーゼEsp1の新しい変異株を多数取得し解析した。(Shimizu et al. Biosci. Biotechnol. Biochem, 2015)
- (5) オートファジー誘導に必要な脱リン酸化酵素Cdc14を同定した。(Kondo et al. 投稿準備中)
- (6) リボソームを分解に必要な因子を同定した。(Waliullah et al. 第38回分子生物学会で発表、投稿中)

【 今後の展開 】

我々は、細胞がもつ様々なストレス応答機構を理解し、それがヒトの病気 (肥満、アルツハイマー病等) とどのようにリンクするかを理解を目指しており、その基盤である基礎生物学的研究を更に発展させる。

【 学術論文・著書 】

- 1) Talukdar Muhammad Waliullah, Akter MST Yeasmin, Atsuki Kaneko, Naoki Koike, Mashu Terasawa, Takaya Totsuka and Takashi Ushimaru* (2017) Rim15 and Sch9 kinases are involved in induction of autophagic degradation of ribosomes in budding yeast. **Biosci Biotechnol Biochem.** 2017 81(2):307-310. PMID: 27659307.
- 2) Akter MST Yeasmin, Talukdar Muhammad Waliullah, Akihiro Kondo, Atsuki Kaneko, Naoki Koike and Takashi Ushimaru* (2016) Orchestrated action of PP2A antagonizes Atg13 phosphorylation and promotes autophagy after the inactivation of TORC1. **PLOS ONE.** 11(12):e0166636. PMID: 27973551
- 3) Yuhki Hatano, Koike Naoki, Asuka Suzuki, and Takashi Ushimaru* (2016) Positive feedback promotes mitotic exit via the APC/C-Cdh1-separase-Cdc14 axis in budding yeast. **Cell Signal.** 2016 28(10):1545-1554. PMID: 27418100
- 4) Yoshihito Shimizu, Masayoshi Nagai, Akter MST Yeasmin, Naoki Koike, Muhammad Waliullah Talukdar and Takashi Ushimaru* (2016) Elucidation of novel budding yeast separase mutants. **Biosci Biotechnol Biochem.** 473-8. PMID: 26523765

【 国内学会発表件数 】

- ・ 8 件

キノコの化学・科学

兼任・教授 河岸 洋和 (KAWAGISHI Hirokazu)
バイオサイエンス専攻 (主担当：グリーン科学技術研究所
グリーンケミストリー研究部門)
(副担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)
専門分野：天然物化学、生物有機化学、生化学
e-mail address: kawagishi.hirokazu@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/biochem/index.html>
<http://www.agr.shizuoka.ac.jp/abc/mfchem/index.html>



【 研究室組織 】

教 員：河岸 洋和、崔 宰薫（総合科技研助教）、呉 静（グリーン研特任助教）
研 究 員：山下 起三子（学術研究員）
博士課程：邱 偉涛（創造科技院 D3）、松崎 信生（創造科技院 D3）
修士課程：M2（3名）、M1（7名）
学 部 生：B4（7名）

【 研究目標 】

我々は、キノコの産生する2次代謝産物（低分子）、蛋白質、遺伝子に関する天然物化学的、生化学的研究を行い、基礎から応用に至る幅広い展開を行っている。当面の研究目標を以下に列記する。

- (1) キノコと他の生物（特に植物、動物）との共生・共存の分子機構解明とその応用
- (2) キノコの2次代謝産物の生体内での役割の解明とそれを利用したキノコ成長調節剤の開発
- (3) キノコの生物活性物質の単離・精製、構造決定、作用機構解明とその機能性を利用した食品・医薬への展開

【 主な研究成果 】

(1) フェアリー化合物の生合成経路の解明

フェアリーリングを惹起する化合物（フェアリー化合物）のコムラサキシメジにおける生合成経路の一部を解明した（論文 No. 7）。

(2) キノコからの新規機能性物質の精製、構造決定

中国に自生するキノコ *Russula vinosa* とキシメジから植物生長制御活性を持つ化合物を、人工栽培した冬虫夏草から癌細胞の生育を阻害する物質を発見した（論文 No. 4, 9, 10）。

(3) フェアリー化合物の効率的な生産方法の開発

フェアリー化合物の一つ AOH の微生物による効率的な生産方法を開発した（論文 No. 5）。

【 今後の展開 】

我々は上記のようにキノコから様々な物質を発見してきた。今後も基礎研究を主軸に、機能性食品、医薬、植物成長促進剤の開発も試みたい。また、これら特異な2次代謝産物がキノコ中ではどのような役割をしているのかを明らかにしていきたい。

【 学術論文・著書 】

- 1) Harada, E., Morizono, T., Sumiya, T., and Kawagishi, H., Effect of the medicinal mushroom, *Grifola gargal* (Agaricomycetes), on bone turnover markers and serum lipids in middle-aged and elderly Japanese women, *Int. J. Med. Mushr.*, 18(1), 1–7 (2016)
- 2) Yamamoto, T., Tsunematsu, Y., Hara, K., Suzuki, T., Kawagishi, H., Noguchi, H., Hashimoto, H., Tang, Y., Hotta, K., and Watanabe, K., Oxidative trans-to-cis isomerization of olefin in polyketide biosynthesis, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 55, 6207–6210 (2016).
- 3) Hirayama, Y., Yamagishi, K., Suzuki, T., Kawagishi, H., Kita, M., and Kigoshi, H., Analysis of the Aplyronine A-induced protein–protein interaction between actin and tubulin by surface plasmon resonance, *Bioorg. Med. Chem.*, 24, 2809–2814 (2016). doi:10.1016/j.bmc.2016.04.049

- 4) Choi, J-H., Kikuchi, A., Pumkaeo, P., Hirai, H., Tokuyama, S., and Kawagishi, H., Bioconversion of AHX to AOH by resting cells of *Burkholderia contaminans* CH-1, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 80, 2045-2050 (2016).
- 5) Matsuzaki, N., Wu, J., Kawaide, M., Choi, J-H, Hirai, H., and Kawagishi, H., Plant growth regulatory compounds from the mushroom *Russula vinosa*, *Mycoscience*, 57, 404-407 (2016)
- 6) Nakamura, H., Takada, K., Matsunaga, S., Kawagishi, H., Okada, S., Effects of 2-azahypoxanthine on extracellular terpene accumulations by the green microalga *Botryococcus braunii*, race B, *Algal Res.*, 20, 267-275 (2016).
- 7) Suzuki, T., Yamamoto, N., Cho, Δ-H., Takano, T., Sasaki, Y., Terashima, Y., Ito, A., Dohra, H., Hirai, H., Nakamura, Y., Yano, K., and Kawagishi, H., The biosynthetic pathway of 2-azahypoxanthine in fairy-ring forming fungus., *Sci. Rep.*, 6, 39087(2016).
- 8) Mori, T., Wang, J., Tanaka, Y., Nagai, K., Kawagishi, H. and Hirai, H., Bioremediation of the neonicotinoid insecticide clothianidin by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* J. *Hazard. Mater.* 321, 586-590 (2017)
- 9) Qiu, W., Kobori, H., Wu, J., Choi-H., Hira, H., and Kawagishi, H., Plant growth regulators from the fruiting bodies of *Tricholoma flavovirens*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 81(3), 441-444 (2017) ・
- 10) Qiu, W., Wu, J., Choi-H., Hira, H., Nishida, H., and Kawagishi, H., Cytotoxic compounds against cancer cells from *Bombyx mori* inoculated with *Cordyceps militaris*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, in press.

他 8 編

【 解説・特集等 】

- 1) 河岸洋和, フェアリー化合物を追って—新たな植物成長促進物質の発見と応用への期待, *化学*, 71(6),12-15 (2016)

【 特許等 】

- 1) 特許第 5915982 号, 名称: イミダゾール誘導体, 出願人: 静岡大学, 発明者: 河岸洋和, 崔 宰熏, 登録日: 2016. 4. 15
- 2) 特許第 6054199 号, 名称: コレステロール吸収阻害剤, 出願人: 株式会社ファンケル, 静岡大学, 発明者: 千場智尋, 櫻田剛史, 魚津伸夫, 河岸洋和, 登録日: 2016. 12. 9
- 3) 中国特許第 103649092, 名称: Imidazole Derivative, 出願人: BASF SE, 発明者: 河岸洋和, 崔 宰熏, 登録日: 2016. 8. 17

【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本農芸化学会、天然有機化合物討論会など 17 件

【 招待講演件数 】

- ・ 北海道大学大学院薬学研究院講演会など国内 2 件

【 新聞報道等 】

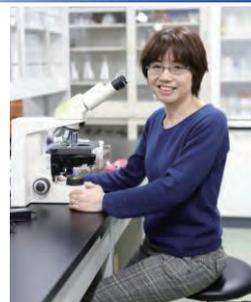
- 1) 産経新聞 (2016. 9. 19)
- 2) TBS テレビ (全国放送) (2016. 9. 19)
- 3) SBS テレビ (2016. 12. 12)
- 4) 静岡第一テレビ (2017. 2. 27)
- 5) 静岡朝日放送 (2017. 3. 7)

【 受賞・表彰 】

- 1) 河岸洋和, 平成 28 年度日本農学賞 (日本農学会 (50 の農学系学協会の集合体)) (2016. 4. 5) 「キノコの産生する 2 次代謝産物に関する天然物化学的研究」
- 2) 河岸洋和, 第 53 回読売農学賞 (読売新聞社) (2016. 4. 5) 「キノコの産生する 2 次代謝産物に関する天然物化学的研究」

タンパク質の品質管理とストレス応答

兼任・教授 木村 洋子 (KIMURA Yoko)
バイオサイエンス専攻 (主担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)
専門分野： 細胞生物学、分子生物学
e-mail address: kimura.yoko@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://kimurapqchs.agr.shizuoka.ac.jp/>



【 研究室組織 】

教 員：木村 洋子

修士課程：M1 (4名)

学部4年：3名

【 研究目標 】

タンパク質はあらゆる生命現象に関わる重要な分子であり、タンパク質が正常に機能するために、細胞内ではタンパク質の品質を管理するシステムが働いている。本研究室ではタンパク質の品質管理とストレス応答の関係を出芽酵母を用いて明らかにすることを目標としている。当面の研究目標を以下に列記する。

- (1) 持続的熱ストレス応答の解析
- (2) ユビキチンのホメオスタシスとストレス応答
- (3) ユビキチン関連シャペロン VCP/Cdc48 の機能解析

【 主な研究成果 】

出芽酵母をモデルにして、限界温度を持続的に長時間与えた熱ストレスに対する生体の耐性メカニズムを解明している。このストレスに対しては、野生株では比較的高い生存率を示すが、ポリユビキチンの変異株 *ubi4* では感受性を示す。現在までに、持続的熱ストレス後に液胞構造のドラスティックな変化や核構造の変化を見出した。また、このストレス後には、孢子形成を行わない一倍体酵母においても、孢子壁形成に必要な多くの遺伝子の発現誘導が起きることも見出した。

【 今後の展開 】

液胞構造の変化については、持続的熱ストレス後に、液胞の中に数珠つなぎになっている陥入構造を見出した。これらがどのように形成されるかを各種変異株、及び種々の GFP 融合タンパク質を発現させて解析する。

【 国際会議発表件数 】

- 1) 14th International Congress on Yeasts

【 国内学会発表件数 】

- 1) 第 39 回日本分子生物学会

肝臓の発生・分化・再生における細胞社会学

兼任・教授 塩尻 信義 (SHIOJIRI Nobuyoshi)
バイオサイエンス専攻 (主担当: 理学部 生物科学科及び
大学院総合科学技術研究科理学専攻 生物科学コース)
専門分野: 発生生物学、再生医工学
e-mail address: shiojiri.nobuyoshi@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/~sbnsbio/NS-Lab-J.html/>



【 研究室組織 】

教 員: 塩尻 信義

博士課程: D3 (1名)

修士課程: M2 (3名)、M1 (2名)

【 研究目標 】

我々は、肝臓の発生・分化・再生過程における細胞社会の構築メカニズムを明らかにするとともに、そのメカニズムの再生医療への応用について研究を進めている。特に、肝臓の発生・分化・再生に異常を来したモデルマウスを用いたり、発生過程における肝幹細胞を単離精製し、細胞交代型人工肝臓モデルの開発や細胞移植治療などへの応用を考えている。当面の研究目標を以下に列記する。

- (1) 肝幹細胞である肝芽細胞の増殖・分化メカニズムの解明と人工組織化
- (2) 胎生期肝臓を構成する各細胞種間の相互作用の分子基盤の解明
- (3) 遺伝子欠失マウスを用いた胆管上皮細胞分化の分子メカニズムの解明
- (4) 肝再生における HGF などの働きの解明
- (5) 幹細胞からの肝臓誘導

【 主な研究成果 】

(1) 肝幹細胞である肝芽細胞の増殖・分化メカニズムの解明

マウス肝臓発生過程で、門脈周囲に位置した肝芽細胞は間充織の誘導を受け、胆管上皮細胞に分化する。このメカニズムとして、間充織で発現する Jag1 や細胞外マトリックスが重要とされている。これを検証するために、胎生期肝臓細胞の3次元培養系において、細胞外マトリックスや Jag1 ペプチドを培地に添加しその効果を調べた。結果、これらの添加により肝芽細胞において胆管マーカーの発現が上昇したが、完全な胆管上皮細胞に分化誘導することはできなかった。門脈間充織にはさらなる胆管誘導因子が存在する可能性がある。

(2) 肝再生における肝細胞の増殖パターンの解明

部分肝切除による肝臓再生系において、肝細胞が娘細胞をどのように配置するか、モザイクマウスを用いて数理科学的に解析した。再生後のモザイクパターンをフラクタル解析したところ、モザイク像はフラクタル次元をもち、娘細胞の配置はランダムにおこり、解剖学的な構造とは無関係であることが明らかとなった。

【 今後の展開 】

我々は上記のように、肝臓の発生・分化・再生における細胞社会学の全貌の解明をめざしており、これを人工組織の作出に応用したいと考えている。当面の課題は、肝芽細胞やそれ以外の非実質細胞の単離精製法の確立や、それぞれの細胞のインビトロ増幅や分化・成熟化を制御できる細胞外環境設計である。特に、増殖・分化・組織形成能力の著しい胎生期肝臓の細胞から、成体肝臓の機能レベルまで成熟化させた肝臓組織を構築することが将来的な目標である。また、肝臓変異マウスを利用し、肝臓の発生・分化・再生の分子メカニズムを解明、この成果を肝芽細胞の人工組織化に応用していきたい。主たる専門は発生生物学であるが、医学、工学を融合した学際研究にも挑戦したい。

【 学術論文・著書 】

1) #Fukuda, T., #Fukuchi, T., Yagi, S. and Shiojiri, N. (2016) Immunohistochemical analyses of cell cycle progression and gene expression of biliary epithelial cells during liver regeneration after partial hepatectomy of the mouse. *Exp. Anim.*, 65, 135-146. #Equally contributed.

【 国際会議発表件数 】

・ 2 件

【 国内学会発表件数 】

・ 肝細胞研究会、日本動物学会等 6 件

脊椎動物の環境適応機構と内分泌現象

兼任・教授 鈴木 雅一 (SUZUKI Masakazu)
バイオサイエンス専攻 (主担当：理学部 生物科学科及び
大学院総合科学技術研究科理学専攻 生物科学コース)
専門分野： 生理学、内分泌学
e-mail address: sbmsuzu@ipc.shizuoka.ac.jp



【 研究室組織 】

教 員：鈴木 雅一
博士課程：坂本 丞 (創造科技院 D3)
修士課程：M1 (1名)

【 研究目標 】

脊椎動物全般に及ぶ基本的な生命現象、および動物の多様性と関連した固有の生命現象を解明し、得られた成果を、動物の多様性の保全や医療への応用に役立てる。当面の研究目標を以下に列記する。

- (1) 両生類の環境適応機構および多様性をもたらす原理の解明
- (2) ホルモン遺伝子の特異的発現機構の解明
- (3) 内分泌器官の形成機構の解明と内分泌細胞の分化誘導系の確立
- (4) 新規機能分子の同定と応用

【 主な研究成果 】

(1) 甲状腺の遺伝子発現に重要な転写因子の解明

魚類のニジマスを用いて、転写因子 Nkx2-1 を同定し、鰓後腺で発現していることを示した。さらに、ルシフェラーゼアッセイにより、ニジマス Nkx2-1 がニジマス・カルシトニン遺伝子上流からの転写を促進することを示した。また、ゲルシフトアッセイにより、Nkx2-1 がニジマス・カルシトニン遺伝子上流に位置する2つのエンハンサーに直接結合することを確認した。本結果とこれまでの成果を総合することにより、「脊椎動物の誕生後、当初は Nkx2-4 が甲状腺濾胞上皮細胞で甲状腺ホルモンの合成に関与し、Nkx2-1 が鰓後腺でカルシトニンの合成に関与していたが、哺乳類では Nkx2-1 が双方のホルモン合成に関与するように移行した」という進化の道筋が考察された。

(2) HRM (高解像度融解温度曲線解析) 法を利用したジェノタイピング法の開発

TILLING 法により得られたクラスタリン・ヘテロ変異体メダカを交配して、ホモ変異体メダカを作出する過程で、変異体を選別する際に有効な HRM (高解像度融解温度曲線解析) 法を改良し、ホモ変異体も簡便に選別できる手法を開発した。本成果は、クラスタリンの機能解析ならびに変異体の選別一般に大きく貢献するものと考えられる。

(3) カエルツボカビ症に関する病理・生理学的研究

樹上生種のイエアメガエルはカエルツボカビに感受性が高く、個体数の減少が懸念されている。本種の皮膚に発現するホルモン応答性 AQP6/a2S に対して特異抗体の作製に成功した。本

抗体を使用することにより、カエルツボカビ症の病理組織学的解析において、AQP6/a2S の局在の攪乱についても調べるが可能となった。

【 今後の展開 】

(1) カルシトニン遺伝子の発現機構

カルシトニン遺伝子が特定の内分泌細胞だけで著しく活性化される転写調節機構については不明な点が多い。ニジマスの転写因子に関する解析を契機にして、脊椎動物に共通する本機構の核心的な分子機構を明らかにしていきたいと考えている。

(2) 両生類の環境適応におけるアクアポリンの役割

両生類は現在、世界的に生息数の急激な減少が懸念されており、カエルツボカビも大きな脅威である。カエルツボカビがアクアポリンの発現に及ぼす影響を解析するのが、今後の重要な課題のひとつである。また、極限的な乾燥環境に対する両生類の順応機構をアクアポリンの観点から解析することにより、砂漠化の生物に与える影響について明らかにしていきたいと考えている。

【 解説・特集等 】

- 1) 鈴木 雅一, (2016) ホルモンから見た生命現象と進化シリーズ, 第5巻, ホメオスタシスと適応—恒一, 第7章 皮膚. 裳華房, 106~121頁
- 2) 鈴木 雅一, (2016) 動物の事典, 9.5.5 甲状腺, 朝倉書店 (印刷中) .
- 3) 鈴木 雅一, (2016) 動物の事典, 9.5.6 副甲状腺・鰓後腺・甲状腺傍濾胞細胞, 朝倉書店 (印刷中)
- 4) 鈴木 雅一, (2016) 動物の百科事典7, 動物の生理と神経系 ⑦-5 水チャネル, 丸善出版 (印刷中)

【 国際会議発表件数 】

- 1) Experimental Biology 2016 (米国 San Diego)

【 国内学会発表件数 】

- ・平成28年度日本動物学会中部支部大会 3件
 - ・第41回日本比較内分泌学会大会 (神奈川) 2件
 - ・第3回「水シグナリングの分子動態から病態へ」研究会 (福井) 1件
- 計6件

【 招待講演件数 】

- 1) 第3回「水シグナリングの分子動態から病態へ」研究会 (福井)
- 2) 第41回日本比較内分泌学会大会 (神奈川)

【 受賞・表彰 】

- 1) 平成28年度 Zoological Science Award (2016.11) 日本動物学会 (共著)

生命環境倫理学の構築 ——生、死、環境をめぐる

兼担 (サブコア)・教授 竹之内 裕文 (TAKENOUCHI Hirobumi)
バイオサイエンス専攻 (主担当: 農学部 生物資源科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 共生バイオサイエンスコース)
専門分野: 哲学、倫理学、死生学
e-mail address: takenouchi.hirobumi@shizuoka.ac.jp



【 研究室組織 】

教 員: 竹之内 裕文、藤本 穰彦

博士課程: 齊藤 美恵 (創造科技院 D3、社会人)、松尾 和光 (創造科技院 D3、社会人)、松原 英治 (創造科技院 D2)

修士課程: M2 (1名)、M1 (3名)

【 研究目標 】

死生学、生命倫理学、環境倫理学の諸課題について、これら既成学問分野の枠組みを踏み越え、生命 (人間) と環境 (自然) の相互形成作用を見すえつつ、「生命環境倫理学」という統合的な視座から研究を進めている。それを通して哲学・倫理学の基礎研究に資するのみならず、医療・福祉現場における諸課題や農・食の営みなど、人間と環境 (土地) のかかわりをめぐる広範な諸問題について、哲学・倫理学の立場から具体的な提言を供することを目指している。

【 今後の展開 】

(1) 2017 年度は 2018 年 3 月に Wellcome Trust (英国) 研究助成 (Senior Investigator Award) による共同研究 “Interventions at the end of life - social, comparative and historical analysis to promote global improvement” (研究代表者 David Clark, Professor of University of Glasgow) International Advisory Group の会議が開催される予定である。これに参加するため渡英する機会を活かして、英国のホスピスを視察するとともに、欧州の国際学会で研究発表をしたい。

(2) 今年度で科学研究費・基盤研究 (C) の研究期間が満了するので、well-being 概念を糸口に、社会福祉学、教育学、心理学、看護学、農学、開発学分野の国内外の研究者と連携し、基盤研究 (B) に応募する予定である。

【 学術論文・著書 】

1) 竹之内裕文 (編著): 喪失とともに生きる—対話する死生学、ポラーノ出版、308頁 (執筆担当: 7-16頁、282-303頁)、2016.4.27

【 国内学会発表件数・招待講演件数 】

1) 岡部健先生が遺したものの「解放空間」としてのタナトロジー研究会——死すべきものの連帯をもとめて、日本死の臨床研究会、第40回研究会・震災関連特別企画、札幌コンベンションセンタ

一、2016. 10. 9

- 2) バイエル薬品研修会 (Better Life Initiative 2016) 講師、ハービスPLAZA、2016. 12. 21
- 3) 静岡いのちの電話講演会講師、静岡市葵生涯学習センター (アイセル21)、2017. 1. 22

【 科学研究費の採択状況 (平成 28 年度)】

- 1) 基盤研究 (C) 平成 27-29 年度、臨床現場との対話に基づくホスピス・緩和ケアの哲学の構築、研究代表者、研究経費：117 万円 (27 年度)、182 万円 (28 年度)、182 万円 (29 年度)
- 2) 基盤研究 (B) 平成 26-28 年度、持続可能な食農システムをめざす倫理的行動規範の構築：住民参加型アプローチの可能性、研究分担者、研究経費：286 万円 (26 年度)、169 万円 (27 年度) 195 万円 (28 年度)

【 その他 】

- 1) 死生学カフェ (5 月、7 月、9 月 11 月、1 月、3 月) と哲学カフェ (4 月、6 月、8 月、10 月、12 月、2 月) を主宰した。
- 2) 平成 28 年度在宅ターミナル看護支援事業 在宅ターミナルケア研修の講師 (中部地区、西部地区) を務めた。
- 3) Welcome Trust (英国) の研究助成による国際研究 (グラスゴー大学) の International Advisory Board のメンバーとして、国際会議に招待参加した。(2016. 9. 6-8)
- 4) 牧之原やまばと学園ケアセンター野ばら職員研修会で講師を務めた。(2016. 9. 24)
- 5) 東京農業大学公開講座で講師を務めた。(2016. 11. 12)

卵成熟・受精の分子機構

兼任・教授 徳元 俊伸 (TOKUMOTO Toshinobu)
バイオサイエンス専攻 (主担当: 理学部 生物科学科及び
大学院総合科学技術研究科理学専攻 生物科学コース)
専門分野: 生殖生物学
e-mail address: tokumoto.toshinobu@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.shizuoka.ac.jp/~bio/staffs/tokumoto.html>



【 研究室組織 】

教 員 : 徳元 俊伸

博士課程 : シミ・ラニ・ロイ (創造科技院 D3、私費)、ワンラダ・クラングヌラック (創造科技院 D2、環境リーダー)、王 軍 (創造科技院 D2、私費)、宮寄 岳大 (創造科技院 D2、学振 DC1)

修士課程 : M2 (3名)、M1 (2名)

【 研究目標 】

我々は、魚類、両生類などを材料に卵成熟・排卵の分子機構の解明を目的として研究を行っている。最近では卵成熟誘起ホルモン受容体として同定されたステロイド膜受容体の構造、機能の解明を中心課題としている。また、独自に開発した産卵誘導法により排卵誘発に関わる遺伝子の同定を目指している。一方、魚類生殖に与える内分泌かく乱物質 (環境ホルモン) の影響評価のテーマも継続して進めている。当面の研究目標を以下に列記する。

- (1) ノンゲノミック反応を伝達する新規ステロイド膜受容体の構造と機能に関する研究
- (2) 脊椎動物の排卵誘導機構に関する研究
- (3) 内分泌かく乱物質の卵成熟誘起、阻害作用に関する研究
- (4) プロゲステロン様作用物質の評価技術の開発
- (5) 魚類の性転換のしくみ—未分化生殖幹細胞の分離、同定
- (6) マウステラトーマ原因遺伝子の究明
- (7) サンゴ礁海水中に存在するステロイド膜受容体反応性物質の同定

【 主な研究成果 】

(1) ノンゲノミック反応を伝達する新規ステロイド膜受容体の構造と機能に関する研究

ステロイド膜受容体遺伝子に変異をもつノックアウトメダカを逆遺伝学的手法による分離を進め、受容体遺伝子群 3 種類について各 3~4 系統を分離した。今年度は 3 重変異の系統の作出に成功したが、それでも特に以上は見られなかった。さらに 4 重変異系統の作出を開始した。

一方、メダカのステロイド膜受容体タンパク質についてはこれまでに報告がなされていないため、第一歩として mPR α タンパク質について培養細胞による発現を行い、ステロイド結合特性や卵成熟における機能について解析を進めた。培養細胞への遺伝子導入については新たに蛍光タンパク質との Dual expression の系を導入し、mPR α 発現細胞のクローン化に成功した。また、Vivo-morpholino という新たなアンチセンスオリゴを用いて生体内で mPR α をノックダ

ウンし、mPR α が卵成熟誘起ホルモンの受容体としてはたらいっていることをより明確に示すことに成功した（学術論文1）。

（2）脊椎動物の排卵誘導機構に関する研究

我々はゼブラフィッシュ生体を用いた簡便な化学物質のアッセイ法を確立している（特許4501002, 4528973）。この方法はゼブラフィッシュの産卵誘発法としても利用でき、DESやテストステロンを用いることで卵成熟のみを誘導することが可能である。これらを組み合わせることで排卵誘導の際に発現上昇する遺伝子群を捉えることが可能になった。我々はこの実験系を用いることで排卵誘導経路の解明を目指している。本年度、マイクロアレイ法により排卵誘導遺伝子候補のリストアップに成功し、論文として発表した（学術論文2）。

【 今後の展開 】

長期間を有しているステロイド膜受容体の遺伝子変異動物を用いた機能証明についてメダカ4重変異系統による証明と平行し、新たにCRISPR/Cas9法による遺伝子編集も進め機能の証明を目指す。

排卵誘導遺伝子候補の論文として公表できた。今後はRNA-seqにより新たに加わった排卵誘導遺伝子候補についても論文としての公表を目指す。また、これらの候補遺伝子群についてCRISPR/Cas9法による遺伝子編集により機能の証明を目指す。一方、我々は卵巣発光性透明化ゼブラフィッシュシステムを用いた実験で内分泌かく乱物質の次世代影響についても確証的なデータを得ている。内分泌かく乱物質の影響が魚類の子世代、孫世代にわたって伝わっていくという懸念すべき結果である。人類も同様の悪影響を受けている可能性があり、情報提供のため早期の公表を目指したい。

【 学術論文・著書 】

- 1) Shimi Rani Roy, Jun Wang, Mikiko Nakashima, Toshinobu Tokumoto (2017) Characterization of membrane progesterin receptor α (mPR α) of the medaka and role in the induction of oocyte maturation. **Biomedical Research**, 38(1), 79-87. February
- 2) Wanlada Klangnurak, Toshinobu Tokumoto (2017) Fine selection of up-regulated genes during ovulation by *in vivo* induction of oocyte maturation and ovulation in zebrafish. **Zoological Letters** 3,2. DOI 10.11186/s40851-017-0065-8 February

【 国際会議発表件数 】

- 1) **Approaches for detailed analysis of membrane progesterin receptor (mPR) protein and for physiological roles of mPR** Md. B. Hossain, M. Nakashima, Md. R. Rana, J. Wang and T. Tokumoto 8th International Symposium of Fish Endocrinology June28-July2 2016 Gothenburg Sweden

【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本動物学会 3件
- ・ 日本比較内分泌学会 1件

タンパク質の機能を制御する小分子の創出

兼任・教授 轟 泰司 (TODOROKI Yasushi)
バイオサイエンス専攻 (主担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)
専門分野： 生物有機化学
e-mail address: todoroki.yasushi@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/abc/npchem/index.html>
<http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/npchem/index.html>



【 研究室組織 】

教 員：轟 泰司

博士課程：中谷 昌央 (創造科技院 D3、社会人)、三村 尚毅 (創造科技院 D1)

修士課程：M2 (3名)、M1 (3名)

【 研究目標 】

植物ホルモンの生合成・受容・代謝不活性化のメカニズムを有機化学のレベルで解明することを目標として、生合成・受容・代謝不活性化を化学的に制御できる以下の分子の開発とその応用について研究している。

- (1) 植物 P450 アイソフォーム選択的アゾール系阻害剤
- (2) 植物ホルモン受容体アンタゴニストの創出
- (3) その他、植物ホルモン研究のための様々な化学ツール開発

【 主な研究成果 】

(1) アブシジン酸受容体アンタゴニストの創出

アブシジン酸受容体 PYL の結晶構造を基盤とした分子設計により、PYL を選択的に阻害する化合物 PANMe の創出に成功した。この物質はアブシジン酸の作用を一時的に打ち消すことができるため、発芽促進剤としての応用が期待される。本化合物は「アブシジン酸誘導体」として PCT 出願後に JST 外国特許出願支援 (指定国移行) に応募し採択されたため、アメリカ合衆国、中国ならびにヨーロッパへの移行手続きを行った。

(2) アブシジン酸代謝不活性化酵素の特異的阻害アブシナゾールの応用研究

植物の乾燥耐性を司る植物ホルモン・アブシジン酸の代謝不活性化酵素 CYP707A を特異的に強く阻害するアブシナゾール E2B の改良を行い、新規化合物としてアブシナゾール E3M を創出し、国際誌 (Scientific Reports) に報告した。また、これを用いた植物乾燥耐性付与技術の実用化研究が進行中であり、本化合物は「アブシナゾール」として PCT 出願後に JST 外国特許出願支援 (指定国移行) に応募し採択されたため、アメリカ合衆国、中国ならびにヨーロッパへの移行手続きを行った。

【 今後の展開 】

引き続き、植物ホルモンの生合成・代謝に関わる酵素に対する選択的な阻害剤の開発および応用展開を行っていきたい。我々の開発した阻害剤は、植物の特定の機能を可逆的にノックダウンする化学ツールとして様々な植物科学研究に有用であるだけでなく、植物調節剤として実用化さ

れる可能性も大いに秘めていることを、今後さらに示していきたい。

【 学術論文・著書 】

- 1) Takeuchi, J.; Okamoto, M.; Ryosuke, M.; Kanno, Y.; Ohnishi, T.; Seo, M.; Todoroki, Y.: Abscinazole-E3M, a practical inhibitor of abscisic acid 8'-hydroxylase for use in drought tolerance improvement, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 37060.
- 2) Nakatani, M.; Ito, M.; Yoshimura, T.; Miyazaki, M.; Ueno, R.; Kawasaki, H.; Takahashi, S.; Todoroki, Y.: Synthesis and herbicidal activity of 3-[[hetero]aryl]methanesulfonyl-4,5-dihydro-1,2-oxazole derivative; Discovery of the novel pre-emergence herbicide pyroxasulfone, *J. Pestic. Sci.* **2016**, *41*, 133-144.
- 3) Sales, L.; Ohara, H.; Ohkawa, K.; Saito, T.; Todoroki, Y.; Srilaong, V.; Kondo, S.: Salt tolerance in apple seedlings is affected by an inhibitor of ABA 8'-hydroxylase CYP707A, *J. Plant Growth Regul.* **2017**, in press.

【 特許等 】

- 1) 轟 泰司, 久保尻由貴 : 「アブシナゾール」, PCT/JOP2015/076335 (米国出願番号 15/514096, 中国出願番号 201580051283.5, 欧州出願番号 15845442.1)
- 2) 轟 泰司, 三村尚毅 : 「アブシジン酸誘導体」, PCT/JP2015/076336 (米国出願番号 15/513765, 中国出願番号 201580051292.4, 欧州出願番号 15843429.0)

【 国際会議発表件数 】

- ・ 2 件 (22nd International Conference on Plant Growth Substances)

【 国内学会発表件数 】

- ・ 6 件 (植物化学調節学会、日本農芸化学会)

【 新聞報道等 】

- 1) 静岡新聞「植物の乾燥耐性向上へ 化合物生成に成功 静岡大教授ら」(2016.11.23)

【 受賞・表彰 】

- 1) 植物化学調節学会第 51 回大会 優秀発表賞 (2016.10) 三村尚毅「ABA 受容体 PYL の強力なアンタゴニスト PANMe の生物活性とその構造基盤」

有用遺伝子の発現による生物機能の革新的利用

兼任・教授 朴 龍洙 (PARK Enoch Y.)
バイオサイエンス専攻 (主担当：グリーン科学技術研究所
グリーンケミストリー研究部門)
専門分野： 分子生物学、遺伝子発現
e-mail address: park.enoch@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/biotech/park/>



【 研究室組織 】

教 員：朴 龍洙、加藤 竜也、宮崎 剛亜
研 究 員：Syed Rahin Ahmed (学術研究員)、Oluwasesan Adegoke (JSPS 外国人特別研究員)
博士課程：内山 博文 (創造科技院 D3)、Hamizah Suhaimi (創造科技院 D1)
修士課程：M2 (6名)、M1 (7名)

【 研究目標 】

ヒト由来のタンパク質について生物機能を有する形で効率的に発現できる研究を進めている。また、カイコバイオテクノロジーを応用して発現したウイルス様粒子を薬物送達系としての応用を進める。また、分子ビーコンプローブによる新規ウイルス検出系を開発する。

- (1) カイコを用いた高機能性ナノマテリアル「ウイルス様粒子」の創成
- (2) バクミド発現系を用いた高分子量タンパク質の効率的発現・精製及び機能解析
- (3) ナノ物質複合体によるウイルスの検出システムの開発

【 主な研究成果 】

(1) 分子ビーコンプローブによるウイルスの検出

前年度種々の新規量子ドットを設計し、光学的性質を調べ、今年度は様々なウイルスの検出に応用した(ノロウイルス: Biosens. Bioelectron., 86, 135–142 (2016); インフルエンザウイルス: J. Mater. Chem. B, 4, 1489–1498 (2016), Biosens. Bioelectron., 80, 483–490 (2016))。1ml 溶液に中の数十コピー程度のウイルスを検出することができ、バイオセンサー関係の最も高い IF の雑誌に掲載できた。

(2) バクミド発現系を用いた高分子量タンパク質の効率的発現・精製及び機能解析

カイコのバキュロウイルスは動物細胞への遺伝子導入ができない。しかし、AcMNPV の GP64 遺伝子を入れ換えることで、動物細胞への遺伝子導入に成功した (Biosens. Bioelectron., 80, 483–490 (2016))。この結果は、カイコ細胞から発現したバキュロウイルスを哺乳類細胞へ遺伝子導入ができる可能性を示した。

(3) 金ナノ粒子の革新的利用

陽電荷を示す金ナノ粒子を作製して、金ナノ粒子の触媒活性を生み出し、ウイルス検出に用いたところ、ウイルスの存在を肉眼で確認することができた (Biotechnol. Bioeng., 113(10), 2298–2303 (2016))。これによってウイルスのオンサイト検出が可能となった。

【 今後の展開 】

上記の研究 (1) と (3) では、ウイルス検出のオンサイト化への応用、研究 (2) については、動物細胞への遺伝子導入を進める。

【 学術論文・著書 】

- 1) Oluwasesan Adegoke and Enoch Y. Park, Gold Nanoparticle-Quantum Dot Fluorescent Nanohybrid: Application for Localized Surface Plasmon Resonance-induced Molecular Beacon Ultrasensitive DNA Detection, *Nanoscale Res. Lett.*, 11:523 (2016). DOI: 10.1186/s11671-016-1748-3 (IF=2.584).
- 2) Tatsuya Kato, Saki Sugioka, Kohei Itagaki, and Enoch Y. Park, Gene transduction in mammalian cells using *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus assisted by glycoprotein 64 of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus, *Sci. Rep.*, 6: 32283 (2016). doi:10.1038/srep32283 (IF5.578)
- 3) Oluwasesan Adegoke, Min-Woong Seo, Tatsuya Kato, Shoji Kawahito, Enoch Y. Park, An ultrasensitive alloyed SiO₂-encapsulated CdZnSeS quantum dot-molecular beacon nanobiosensor for norovirus RNA, *Biosens. Bioelectron.*, 86, 135–142 (2016). doi.org/10.1016/j.bios.2016.06.027 (IF7.476)
- 4) Oluwasesan Adegoke, Enoch Y. Park, Size-confined fixed-composition and composition-dependent engineered band gap alloying induces different internal structures in L-cysteine-capped alloyed quaternary CdZnTeS quantum dots, *Sci. Rep.*, 6: 27288 (2016). doi:10.1038/srep27288 (IF5.578)
- 5) Syed Rahin Ahmed, Junghyo Kim, Tetsuro Suzuki, Jaebeom Lee, and Enoch Y. Park, Detection of influenza virus using peroxidase-mimic of gold nanoparticles, *Biotechnol. Bioeng.*, 113(10), 2298–2303 (2016). (IF=4.243) DOI 10.1002/bit.25982
- 6) Syed Rahin Ahmed, Jeonghyo Kim, Tetsuro Suzuki, Jaebeom Lee, and Enoch Y. Park, Enhanced catalytic activity of gold nanoparticle-carbon nanotube hybrids for influenza virus detection, *Biosens. Bioelectron.*, 85, 503–508 (2016). doi:10.1016/j.bios.2016.05.050 (IF=6.409)
- 7) Oluwasesan Adegoke, Min-Woong Seo, Tatsuya Kato, Shoji Kawahito, Enoch Y. Park, Gradient band gap engineered alloyed quaternary/ternary CdZnSeS/ZnSeS quantum dots: An ultrasensitive fluorescence reporter in a conjugated molecular beacon system for the biosensing of influenza virus RNA, *J. Mater. Chem. B*, 4, 1489–1498 (2016). DOI: 10.1039/C5TB02449H (IF=4.725).
- 8) Oluwasesan Adegoke, Tatsuya Kato, Enoch Y. Park, An ultrasensitive alloyed near-infrared quaternary quantum dot-molecular beacon nanodiagnostic bioprobe for influenza virus RNA, *Biosens. Bioelectron.*, 80, 483–490 (2016). DOI:10.1016/j.bios.2016.02.020 (IF=6.409)
- 9) Susanne Katharina Schwechheimer, Enoch Y. Park, José Luis Revuelta, Judith Becker, Christoph Wittmann, *Biotechnology of riboflavin*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100(5),2107–2119, (2016). DOI 10.1007/s00253-015-7256-z (IF=3.337).
- 10) Makoto Ogata, Yasushi Chuma, Yoshinori Yasumoto, Takashi Onoda, Myco Umemura, Taichi Usui, Enoch Y. Park, Synthesis of tetravalent LacNAc-glycoclusters as high-affinity cross-linker against *Erythrina cristagalli* agglutinin, *Bioorg. Med. Chem.*, 24, 1–11, (2016). <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2015.11.026> (IF=2.793)

他 7 編

【 特許等 】

- ・ 出願 1 件、登録 1 件

【 国際会議発表件数 】

- ・ 3 件

【 国内学会発表件数 】

- ・ 18 件

【 招待講演件数 】

- ・ 3 件

【 主催・共催シンポジウム 】

- ・ 第 68 回日本生物工学会大会 (2016.9) [役割] 責任者 [開催場所] 富山国際会議場 [備考] 実行運営委員としてシンポジウムを担当した。

植物における環境ストレスタンパク質

兼担・教授 原 正和 (HARA Masakazu)
 バイオサイエンス専攻 (主担当：グリーン科学技術研究所
 グリーンバイオ研究部門)
 専門分野： 植物生理学
 e-mail address: hara.masakazu@shizuoka.ac.jp
 homepage: http://www.agr.shizuoka.ac.jp/abc/envplant/index.html



【 研究室組織 】

教 員：原 正和
 修士課程：M2 (1名)、M1 (1名)

【 研究目標 】

本グループにおける最終的な目標は、植物特有の機能を物質レベルで理解し、その機能を有効利用するための学術情報を蓄積し、社会に発信することにあります。具体的には、次の2つの課題を設定し、研究に取り組んでいます。

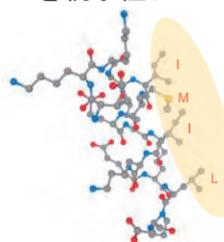
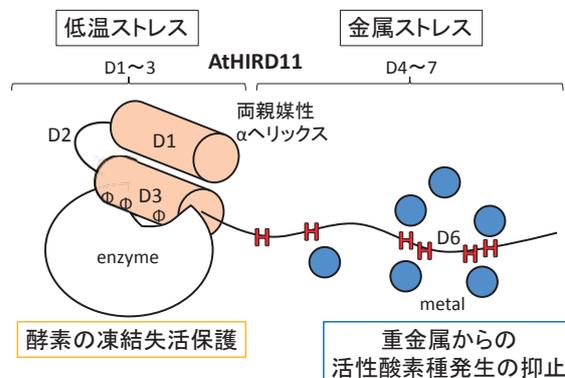
- (1) 植物の低温ストレスタンパク質の機能研究
- (2) 植物の熱耐性を高める資材の研究開発

【 主な研究成果 】

(1) 植物の低温ストレスタンパク質の機能研究

植物は、過酷な環境に耐えるため、LEA タンパク質と呼ばれる一連のタンパク質を合成します。LEA タンパク質は、最近では、植物のみならず、極限環境で生存するセンチュウやクマムシなどにも見いだされ、生物のストレス耐性の根幹を担う重要なタンパク質と目されています。しかし、LEA タンパク質の機能は推測の域を出ておらず、科学的データの蓄積が必要です。私たちは、LEA タンパク質の中でも、植物に普遍的に存在し、発現量が多いデハイドリンの機能を研究を進めてきました。

本グループでは、デハイドリンが、低温失活酵素（ここでは低温に弱い酵素で知られる乳酸脱水素酵素を使用）の保護作用が強いことに着目し、この活性が、デハイドリンの極限環境、特に低温における細胞保護作用に関与していると考えました。すでに、デハイドリンの低温失活酵素保護作用を示す活性領域がN末端付近にある事を示し、その一部が、デハイドリンの保存配列であるK-segmentであることを見出していました。そこで、K-segment において、低温保護作用を発揮するために必要なアミノ酸配列特性を調査しました。K-segment の 15 アミノ酸残基を様々な法則性で改変したところ、K-segment に 4 個存在する疎水性アミノ酸のうち、1つを親水性アミノ酸のトレオニンに改変すると活性が低下し、2つ以上を改変すると活性が完全に消失することが判明しました。ペプチド立体モデルを作成すると、オリジナルの K-segment、4つの疎水性アミノ酸を全て親水性アミノ酸に変えた改変 K-segment の両方とも、緩やかなヘリックス構造をとると予想されましたが、オリジナルの K-segment では、4つの疎水性アミノ酸がヘリックスの一方に配列する予測となりました。いずれのペプチドも、希薄バッファー中では、特定の二次構造をとらない無秩序な状態でしたが、界面活性剤を加えると、オリジナルの K-segment のみ、ヘリックス構造へ変化することが示唆されました。



オリジナル
K-segment
(高活性)



疎水性アミノ酸改変
K-segment
(活性なし)

こうしたことを考え合わせると、K-segment は、何らかの疎水性環境におかれると、両親媒性ヘリックスを形成すると考えられ、この構造変化が、酵素の凍結失活を防いでいると推察されます。酵素は、凍結により、内部の疎水性領域が露出して互いに凝集することで変性が進行すると考えられています。デハイドリンの K-segment は、自らの疎水性部位を使い、この疎水領域の露出を防いでいるのではないかと考えられます。

(2) 植物の耐熱性を高める資材の研究開発

当研究室では、温暖化に起因する農業問題を克服する技術として、植物耐熱性向上剤の開発を行っています。すでに、研究成果の一部は実用化され、2014 年から地域の企業によって商品化されています（サーモザイム®及びサーモテック®）。この物質は、ケシ科の植物が生産するアルカロイドで、サンギナリンといいます。サンギナリンを植物に投与することにより、様々なクラスの熱ショックタンパク質（smallHSP、HSP70、HSP90）が生成します。熱ショックタンパク質は、細胞のストレスを緩和するタンパク質であり、植物で熱ショックタンパク質が発現すると、熱耐性が高まることが知られています。サンギナリンをシロイヌナズナに与えると、1 時間以内にこれらのタンパク質が生成しはじめ、2 日経っても蓄積された状態を維持しました。このように、本アルカロイドは、植物体内で熱ショックタンパク質の含量を持続的に高め、ストレス下での細胞の保護に役立っているものと考えられます。興味深いことに、サンギナリンの構造がごくわずか変化した別のアルカロイドでは、この作用が大きく低下します。どうも、アルカロイドであればどれでもよいというわけではないようです。サンギナリンは、コムギのシャペロン活性（変性しつつある蛋白質を修復する活性）を効果的に阻害します。この反応は、シロイヌナズナの熱ショック応答誘導活性を示すポジティブコントロールのゲルダナマイシンでも起こりましたが、熱ショック応答を誘導しないアルカロイドでは起きませんでした。植物体内では、シャペロンが熱ショック応答のセンサーになっている可能性があり、それを効果的に刺激することで、熱ショック蛋白質の発現が高まり、最終的に熱耐性が高まる可能性が示唆されます。われわれは、サンギナリンがこのメカニズムで熱耐性を高めているのではないかと考えており、さらに調査を進めています。

【 今後の展開 】

植物におけるストレスや成長に関するタンパク質、二次代謝産物の研究を発展させ、新しいバイオ素材の創出につなげたい。

【 学術論文・著書 】

- 1) Masakazu Hara, Takuya Endo, Keita Kamiya, Ayuko Kameyama (2017) The role of hydrophobic amino acids of K-segments in the cryoprotection of lactate dehydrogenase by dehydrins. *Journal of Plant Physiology* 210: 18–23
- 2) Erina Matsuoka, Takumi Matsubara, Ikuo Takahashi, Hiroki Murano, Masakazu Hara (2016) The isoquinoline alkaloid sanguinarine which inhibits chaperone activity enhances the production of heat shock proteins in Arabidopsis. *Plant Biotechnology* 33: 409-413
- 3) Masakazu Hara, Shuhei Monna, Takae Murata, Taiyo Nakano, Shono Amano, Markus Nachbar, Hermann Wätzig (2016) The Arabidopsis KS-type dehydrin recovers lactate dehydrogenase activity inhibited by copper with the contribution of His residues. *Plant Science* 245: 135–14

【 解説・特集等 】

- 1) 原 正和 (2016) 「ナノバイオ・テクノロジー」静岡学術出版 静岡大学ナノバイオ科学研究分野編 第1章 植物が作るひらひらしたタンパク質 p.12-28
- 2) 原 正和 (2016) 生物工学会誌 - 94 巻 1 号 p23 バイオメディア 高次構造を持たない無秩序な植物タンパク質

【 特許等 】

- 1) 原 正和ほか（発明者）「植物ストレス耐性誘導剤、未熟粒形成を防止する方法、及び暑熱緩和生育方法」特願2016-188659

【 国内学会発表件数 】

・日本農芸化学会など 計7件

【 招待講演件数 】

・第21回 静岡健康・長寿学術フォーラムなど 計2件

木質バイオリファイナリー用担子菌の分子育種 及び白色腐朽菌によるバイオレメディエーション

兼任・教授 平井 浩文 (HIRAI Hirofumi)

バイオサイエンス専攻 (主担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)

専門分野： 環境生化学、森林生化学、微生物工学

e-mail address: hirai.hirofumi@shizuoka.ac.jp

homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/biochem/index.html>



【 研究室組織 】

教 員：平井 浩文、森 智夫 (助教)

修士課程：M2 (3名)、M1 (5名)

学 部 生：6名

【 研究目標 】

担子菌によるワンステップ木質バイオリファイナリー技術を確立すべく、セルロース糖化の妨げとなるリグニン分解能の改善、及び各種発酵能 (エタノール、乳酸、水素、キシリトール) 付加に関する分子育種を進めている。また白色腐朽菌による難分解性環境汚染物質の分解機構についても解析を行っている。

【 主な研究成果 】

(1) 乳酸産生能を有する白色腐朽菌株の分子育種

生分解性プラスチックポリ乳酸の原料である乳酸を木質バイオマスから産生すべく、高活性リグニン分解菌 *Phanerochaete sordida* YK-624 株におけるピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子をノックダウンしつつ、乳酸産生の鍵酵素である乳酸デヒドロゲナーゼ遺伝子を高発現する株を作出した。その結果、乳酸産生能の付与に成功し、本菌を用いることで、実際にブナ木粉からの乳酸産生が認められた。(J. Biotechnol., 239, 83-89 (2016))

(2) 高エタノール産生白色腐朽菌のエタノール発酵メカニズムの解析

高エタノール産生白色腐朽菌 *Phlebia* sp. MG-60 株のエタノール発酵メカニズムを解析すべく RNA-Seq 解析を行った。その結果、グルコースの取り込み、解糖系、エタノール合成すべての関連遺伝子が高発現していることが判明し、エタノール産生能が低い菌と比較した結果、ピルビン酸キナーゼがエタノール発酵における律速段階の酵素であることが判明した。(BMC Genomics, 17, 616 (2016))

(3) 白色腐朽菌を用いたイミダクロプリドの分解・無毒化

高活性リグニン分解菌 *P. sordida* YK-624 株を用いて、蜂群崩壊症候群の原因物質であり、人間の神経系統に悪影響を及ぼすネオニコチノイド殺虫剤の一種であるイミダクロプリド (IMI) の分解を試みたところ、窒素制限培地において顕著な分解が認められ、代謝産物として *N*-(2-chlorothiazol-5-yl-methyl)-*N'*-methylurea (TZMU) を同定した。また本分解反応にはシトクロム P450 が関与していることも見出した。さらに、TZMU はマウス神経芽細胞に対して無毒であることを実証した。(J. Hazard. Mater., 321, 586-590 (2017))

【 今後の展開 】

一部の白色腐朽菌において、好氣的条件下、木質バイオマスを原料として水素産生能が認められた。つまり、白色腐朽菌はこれまでの概念とは異なる発酵能を有している可能性が示唆されたため、今後は白色腐朽菌を用いた新たな木質バイオリファイナリー技術の構築に向けて、その発

酵メカニズムの解明等を含め、検討を進めていく。また、白色腐朽菌－細菌共生下におけるネオニコチノイド殺虫剤完全分解系の構築も行う。

【 学術論文・著書 】

- 1) W. Qiu, J. Wu, J-H. Choi, H. Hirai, H. Nishida, H. Kawagishi (2017) Cytotoxic compounds against cancer cells from *Bombyx mori* inoculated with *Cordyceps militaris*, Biosci. Biotechnol. Biochem. in press.
- 2) W. Qiu, H. Kobori, J. Wu, J-H. Choi, H. Hirai, H. Nishida, H. Kawagishi (2017) Plant growth regulators from the fruiting bodies of *Tricholoma flavovirens*, Biosci. Biotechnol. Biochem., 81, 441-444.
- 3) T. Mori, J. Wang, Y. Tanaka, K. Nagai, H. Kawagishi, H. Hirai (2017) Bioremediation of the neonicotinoid insecticide clothianidin by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida*, Journal of Hazardous Materials, 321, 586-590.
- 4) T. Suzuki, N. Yamamoto, J-H. Choi, T. Takano, Y. Sasaki, Y. Terashima, A. Itoh, H. Dohra, H. Hirai, Y. Nakamura, K. Yano, H. Kawagishi (2016) The biosynthetic pathway of 2-azahypoxanthine in fairy-ring forming fungus. Sci. Rep., 19, 39087.
- 5) T. Mori, H. Kako, T. Sumiya, H. Kawagishi, H. Hirai (2016) Direct lactic acid production from beech wood by transgenic white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624, Journal of Biotechnology, 239, 83-89
- 6) N. Matsuzaki, J. Wu, M. Kawaide, J-H. Choi, H. Hirai, H. Kawagishi (2016) Plant growth regulatory compounds from the mushroom *Russula vinosa*, Mycoscience, 57, 404-407.
- 7) T. Mori, G. Koyama, H. kawagishi, H. Hirai (2016) Effects of homologous expression of 1,4-benzoquinone reductase and homogentisate 1,2-dioxygenase genes on wood decay in hyper-lignin-degrading fungus *Phanerochaete sordida* YK-624, Current Microbiology, 73, 512-518.
- 8) J-H. Choi, A. Kikuchi, H. Hirai, S. Tokuyama, H. Kawagishi (2016) Bioconversion of AHX to AOH by resting cells of *Burkholderia contaminans* CH-1, Biosci. Biotechnol. Biochem., 80, 2045-2050.
- 9) J. Wang, T. Suzuki, H. Dohra, S. Takigami, H. Kako, A. Soga, I. Kamei, T. Mori, H. Kawagishi, H. Hirai (2016) Analysis of ethanol fermentation mechanism of ethanol producing white-rot fungus *Phlebia* sp. MG-60 by RNA-seq, BMC Genomics, 17, 616.
- 10) 平井浩文 他 (2016) バイオマス由来の高機能材料 ～セルロース、ヘミセルロース、セルロースナノファイバー、リグニン、キチン・キトサン、炭素系材料～、(株) NTS、155-162 頁、ISBN 978-4-86043-469-4.

【 国内学会発表件数 】

・日本木材学会、日本農芸化学会、日本生物工学会、リグニン討論会など 3 1 件

【 招待講演件数 】

- 1) 日本きのこ学会第 20 回大会 公開シンポジウム (2016. 9)

【 受賞・表彰 】

- 1) 平井浩文、第 57 回 日本木材学会賞 (2017. 2) 「高活性リグニン分解菌によるリグニン分解とその応用に関する研究」
- 2) 笠井綾子、シーズ&ニーズビジネスマッチング研究発表会奨励賞 (2016. 9) 「木材腐朽菌によるブタノール産生について」

プラスチド分化のメカニズムの解明

兼任・教授 本橋 令子 (MOTOHASHI Reiko)
(主担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 共生バイオサイエンスコース)
専門分野：植物分子遺伝学、植物生理学
e-mail address: motohashi.reiko@shizuoka.ac.jp



【 研究室組織 】

教 員：本橋 令子

博士課程：アヌーン ワユディ (創造科技院・バイオサイエンス D3、国費)

修士課程：M2 (6名)、M1 (1名)

【 研究目標 】

我々はプラスチドの分化・発達に関与するタンパク質の機能解明を目的としている。

- (1) シロイヌナズナの葉緑体タンパク質の機能解明
- (2) トマト果実を用いた葉緑体からクロモプラストへの分化機能解明
- (3) バイオディーゼルオイル増産のためのジャトロファの種子大型
- (4) フェアリー化合物が植物細胞に与える影響について
- (5) サトイモの疫病蔓延防除

【 主な研究成果 】

(1) シロイヌナズナの葉緑体タンパク質の機能解明

葉緑体タンパク質破壊株を用いて、新規光合成活性測定法を開発中である(産学連携研究)。

植物体大型化因子の解明のメカニズムについて報告した(Plant Cell Rep. 36(2):243-254 (2017))。

(2) 果実を用いた葉緑体からクロモプラストへの分化機能解明

クロモプラスト分化に関与するタンパク質の機能解析結果の論文投稿準備中。

(3) ディーゼルオイル増産のためのジャトロファの種子大型

ジャトロファの遺伝子組換えの方法、及び種子大型のための遺伝子導入について論文が公開された。*The Jatropha Genome. Springer (2017)*

(4) リー化合物が植物細胞に与える影響について

現在、イネ及びシロイヌナズナにおけるフェアリー化合物の影響について、トランスクリプトーム解析データを中心とした論文を執筆中。

(5) モの疫病蔓延防除

猛威を振るう疫病防除のために、産学官連携研究を推進中である。DNA マーカー等の育種基盤整備をしている。

【 今後の展開 】

我々は上記のようにプラスチドの機能解明を中心に研究を進めている。今後はさらに、企業と共同し、新規光合成活性測定装置を用いた植物のストレス評価法の開発やジャトロファの種子巨

大化など出口を意識した研究にも意欲的に取り組んでいく予定である。

【 学術論文・著書 】

- 1) Makabe S, Motohashi R, Nakamura I. : Growth increase of Arabidopsis by forced expression of rice 45S rRNA gene. Plant Cell Rep. 36(2):243-254 (2017)
- 2) Waki T, Yoo D, Fujino N, Mameda R, Denessiouk K, Yamashita S, Motohashi R, Akashi T, Aoki T, Ayabe S, Takahashi S, Nakayama T. Identification of protein-protein interactions of isoflavonoid biosynthetic enzymes with 2-hydroxyisoflavanone synthase in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). Biochem Biophys Res Commun. 15;469(3):546-551 (2016)
- 3) Enoki H, Funato A, Nabetani Y, Takahashi S, Ichikawa T, Matsui M, Motohashi R.: Using an improved method of Agrobacterium-mediated transformation to attempt to make larger seeds to increase oil production. The *Jatropha* Genome. Editors: **Tsuchimoto**, Suguru (Ed.) Springer ISBN 978-3-319-49653-5 (2017)

【 国際会議発表件数 】

- ・ 6 件

【 国内学会発表件数 】

- ・ 植物生理学会など 12 件

【 受賞・表彰 】

- 1) 種子大型化遺伝子の導入による油脂高生産性 *Jatropha curcas* L.の開発 Wiluk Chacuttayapong 第 18 回静岡ライフサイエンスシンポジウム (ポスター賞)
- 2) Analysis Function of Lipocalins in Tomato (*Solanum lycopersicum*) using Virus Induced Gene Silencing System Dinni Aryani JSOL (ポスター賞)

ルミナコイド（難消化性糖類）の栄養生理機能の解析

兼任・教授 森田 達也 (MORITA Tatsuya)
バイオサイエンス専攻 (主担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)
専門分野： 食品栄養学
e-mail address: atmorit@ipc.shizuoka.ac.jp
homepage: http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/laboratory/morita_t/index.htm



【研究室組織】

教 員：森田 達也
博士課程：2名
修士課程：M2（1名）、M1（3名）

【研究目標】

食物繊維をはじめとする難消化性糖類の栄養生理機能に関する基礎研究、これらの食品素材を生かした機能性食品の開発などの応用研究について、以下の課題に取り組んでいる。

- (1) 難消化性オリゴ糖の大腸 IgA およびムチン分泌促進作用機序の解析
- (2) L 細胞を標的とした大腸 SCFA 送達システムの構築

【主な研究成果】

フラクトオリゴ糖摂取時の盲腸 IgA 分泌応答と粘膜炎症との関連性について

【目的】 フラクトオリゴ糖 (FOS) 摂取初期 (~1wk) に認められるラット盲腸 IgA 濃度の上昇には、盲腸粘膜での IgA 形質細胞数の増加や pIgR 発現量の上昇に加え、腸管透過性 (尿中 Cr-EDTA 排泄、腸間膜リンパ節への細菌透過) の亢進や盲腸粘膜ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性の上昇を伴う。つまり、FOS の IgA 分泌促進作用は軽度な粘膜炎症に対する生理的応答であると考えられる。本研究は、FOS 摂取初期に観察される粘膜炎症の機序解析を目的とした。

【方法】 実験には 6 週齢のラットを用いた。AIN-76 組成に準じた対照飼料と、これに FOS を 6% 添加した飼料を設けラットを 7~10 日間飼育した。

実験 1: 盲腸粘膜を採取し、各種サイトカインおよび密着結合 (TJ) 関連遺伝子発現量と、TJ 関連タンパク質量を測定 (western blot.) した。盲腸内容物は、IgA の測定後、等倍量の生理食塩液を加え遠心分離し (20,000 × g)、上清 (自由水画分) を得た。この自由水画分を trans well 上で単培養した Caco-2 細胞に添加し、膜透過性の変動 (TEER) を観察した。また同画分の pH、胆汁酸および有機酸の測定を行った。

実験 2: ラットに体重 100 g 当たり 5 mg の BrdU を投与 (i. p.) し、投与 1、6 および 24 時間後に解剖を行い、盲腸組織切片を調製した。BrdU 抗体染色を行い、盲腸上皮細胞の分裂指数 (投与 1 時間後) および代謝回転速度 (投与 6 と 24 時間後の移動度の差異) を算出した。

実験 3: ラットに 50 mg の Cr-EDTA を投与 (p. o.) し、投与後 72 時間まで糞便の回収を行った。糞便 Cr 排泄率から腸内容物移動速度を推定した。

実験 4: 盲腸内容物を含む盲腸組織切片 (凍結後カルノア固定) を調製し、アルシアンブルー (AB) 染色および FISH-Muc2 抗体染色により、上皮組織と内容物を隔てるムチン層の状態観察を行った。

【結果・考察】

実験 1: 従来の報告と同様に、対照飼料への FOS 添加は、盲腸内 IgA 濃度を 20 倍、盲腸粘膜 pIgR および *IFN-γ* 発現量をそれぞれ 1.8 倍、1.9 倍有意に高めた。FOS 群では *IL-17*、*TNF-α*、*TGF-β* 発現量の上昇も認められ、そのサイトカインプロファイルは軽度な炎症像を呈していた (図 1)。一方、FOS の摂取は、*ZO-1*、*Claudin-3* 発現量および *ZO-1* タンパク質量を有意に増加させており、TJ 自体の異常は認められなかった。FOS 群の盲腸内容物自由水画分は、乳酸およびコハク酸の濃度が高く pH は 5.9 を示していたが、総胆汁酸濃度は対照の 1/6 程度であった。同画分を添加した Caco-2 細胞の TEER は対照と FOS 群で差がなかった。

実験 2: FOS の摂取は、盲腸上皮のクリプト長および総細胞数を 1.5 倍有意に伸長および増加させた。また FOS 群では、盲腸上皮細胞の分裂指数および代謝回転速度が対照の 2 倍有意に亢進した。

実験 3: 対照群の糞中 50% Cr 排泄時間 (31 時間) に比べ、FOS 摂取はこれを 62 時間にまで有意に遅延させた。

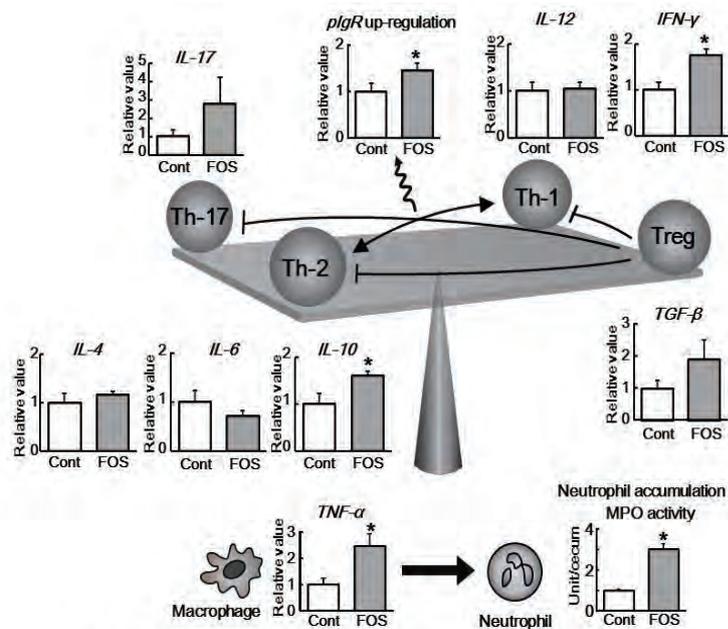


図1. フラクトオリゴ糖摂取1週間目のラット盲腸粘膜サイトカインプロファイル

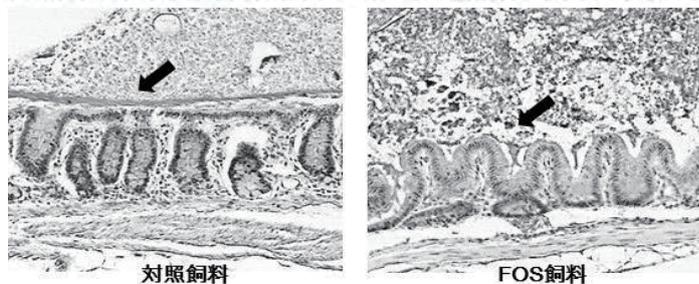


図2. フラクトオリゴ糖摂取1週間目におけるラット盲腸組織のアルシアンブルー染色画像 (カルノア固定)

実験 4: 盲腸組織切片 (カルノア固定) の AB 染色および FISH-Muc2 抗体染色において、対照群では上皮細胞を覆う層状のムチン層が確認出来たのに対し、FOS 群ではこのムチン層を確認することが出来なかった (図 2)。

FOS 摂取による盲腸 IgA 分泌促進作用発現時の盲腸粘膜サイトカインプロファイルは、pIgR の up-regulate に関する *IFN-γ* および *IL-17* 遺伝子発現量を上昇させると同時に、軽度な炎症像を呈していた。この FOS 摂取初期に認められる粘膜炎症を、盲腸粘膜の TJ 関連遺伝子発現量およびタンパク質量の変動や、盲腸内容物自由水面積が Caco-2 細胞のバリア機能に及ぼす影響の違いから説明することは出来なかった。一方、

先の報告において腸管透過性の亢進および盲腸粘膜 MPO 活性の上昇が認められた FOS 摂取 7 日目では、盲腸上皮細胞と盲腸内容物とを隔てる明確なムチン層が消失していることが明らかになった。このムチン層の崩壊や盲腸内容物の滞留時間の延長、盲腸上皮の代謝回転速度の亢進が上皮組織と細菌の接触頻度を高め、粘膜炎症を惹起していると推測された。

【 学術論文・著書 】

- 1) Firmansyah A, Chongviriyaphan N, Dillon DH, Khan NC, Morita T, Tontisirin K, Tuyen LD, Wang W, Bindels J, Deurenberg P, Ong S, Hautvast J, Meyer D, Vaughan EE. Fructans in the first 1000 days of life and beyond, and for pregnancy. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2016; 25(4):652-675.
- 2) Belobrajdic DP, Hino S, Kondo T, Jobling SA, Morell MK, Topping DL, Morita T, Bird AR. High wholegrain barley β -glucan lowers food intake but does not alter small intestinal macronutrient digestibility in ileorectostomised rats. *Int J Food Sci Nutr*. 2016; 67(6):678-85.
- 3) Kondo T, Handa K, Genda T, Hino S, Hamaguchi N, Morita T. Digestion-resistant dextrin derivatives are moderately digested in the small intestine and contribute more to energy production than predicted from large-bowel fermentation in rats. *J Nutr*. 2017 Jan 18. doi: 10.3945/jn.
- 4) 源田知美, 森田達也. イヌリン型フルクトランの免疫応答と大腸生理. *応用糖質科学* 2016; 6(4); 212-218.

【 国内学会発表件数 】

・ 11 件

【 受賞・表彰 】

- 1) 近藤位旨 (優秀発表賞) 「難消化性デキストリン類の糞便性状および腸内容物移動速度におよぼす効果」第 21 回日本食物繊維学会 (静岡大学)、2016. 11. 27
- 2) 近藤位旨 (優秀発表賞) 「難消化性デキストリンは 1 kcal/g か？」第 71 回日本栄養食糧学会中部支部会 (岐阜大学)、2016. 11. 19
- 3) 源田知美 (優秀ポスター賞) 「フラクトオリゴ糖の摂取初期に観察されるラット盲腸 IgA 分泌促進作用には腸管透過性の上昇と粘膜炎症を伴う」第 12 回日本食品免疫学会 (東京大学、本郷)、2016. 11. 10

生体膜の生物物理学

兼任・教授 山崎 昌一 (YAMAZAKI Masahito)
バイオサイエンス専攻 (主担当：電子工学研究所
ナノマテリアル研究部門)
(副担当：理学部 物理学科及び
大学院総合科学技術研究科理学専攻 物理学コース)
専門分野：生体膜や脂質膜の構造・機能とそれらのイメージング、膜蛋白質、
抗菌ペプチド・細胞透過ペプチド、巨大リポソーム、キュービック相
e-mail address: yamazaki.masahito@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/~spmyama>



【 研究室組織 】

教 員：山崎 昌一

研 究 員：(4名) Victor LEVADNYY (創造科技院・客員教授、ロシア科学アカデミー・理論薬理学センター)、Shu Jie Li (創造科技院・客員教授、南開大学(中国)・物理学専攻・教授)、Chiranjib Ghatak (学術研究員)、Zahidul Md. Islam (学術研究員)

博士課程：(6名) Shibly Sayed ALAM (創造 D3)、Md. Moniruzzaman (創造 D3)、Sabrina Sharmin (創造 D2-D3)、Farliza Parvez (創造 D2-D3)、Moynul Hasan (創造 D1-D2)、Mizanur Moghal (創造 D1)

【 研究目標 】

生体膜は、脂質、膜蛋白質、細胞骨格(繊維状蛋白質)から構成される柔らかな超分子集合体である。この生体膜の構造・物性・機能を研究し、それらの複雑系を支配する物理法則を解明することが研究目的である。また、分子集団の空間的・時間的な自己秩序形成のメカニズムとそのシステムの解明のための研究も目標にしている。さらに、発見された新しい原理に基づいて、人工細胞や人工生体膜の創製を行う研究も行っている。ナノバイオサイエンス。

- (1) 生体膜の構造や機能を研究するための新しいイメージング方法を開発し、今まで検出できなかった物理量の直接的な測定により、生体膜の機能のメカニズムを明らかにする。
- (2) 我々が世界に先駆けて開発した単一巨大リポソーム法(単一GUV法)の方法論の発展と、それを用いた生体膜と外来分子との相互作用、および生体膜のダイナミクスや機能の研究。特に、抗菌ペプチドや蛋白質毒素による生体膜中のポア形成、および細胞透過ペプチドの機能のメカニズムの解明。
- (3) 生体膜のキュービック(Q_{II})相(膜が3次元的につながり、立方晶を形成する相)の構造安定性、 Q_{II} 相と2分子膜液晶相(L_{α} 相)の間の相転移や構造転移の研究。特に我々が世界で最初に発見した静電相互作用により誘起される相転移・構造転移の解明。
- (4) 人工細胞の構築とそれを用いた細胞機能やバイオ分子ネットワークの研究。

【 主な研究成果 】

(1) 細胞透過ペプチドの膜透過の研究

細胞透過ペプチドのオリゴアルギニン(R_9)の膜透過性やその素過程を、我々が開発した方法(小さなGUVを含むGUVと細胞透過ペプチドの相互作用を単一GUV法で調べる方法; *Biochemistry*, 53, 386, 2014)を用いて共焦点レーザー顕微鏡により研究した。DOPG/DOPC膜のGUVとの相互作用では、水溶性の蛍光プローブであるAlexa Fluor 647(AF647)の漏れを誘起せずにカルボキシフルオレセイン(CF)をラベルした R_9 (CF- R_9)はGUV内腔に侵入した。CF- R_9 によるGUV膜の蛍光強度の時間変化の解析から、CF- R_9 の膜への結合速度や脱離速度を求めた。

一方、DOPG/DOPC 膜に比べて力学的に弱い膜である DLPG/DTPC (2/8) 膜の場合も DOPG/DOPC 膜の場合とほぼ同じ結果を得たが、6 分後の GUV 内腔への侵入確率は DLPG/DTPC (2/8) 膜が DOPG/DOPC (2/8) 膜よりも大きく、GUV 内腔への侵入速度が大きいことがわかった。さらに、DLPG/DTPC (4/6) 膜の場合は、CF-R₉ は AF647 の漏れを誘起するポア（小さな孔）を膜内に形成し、そのポアを介して CF-R₉ は GUV 内腔へ侵入した。以上の結果から R₉ の膜透過性のメカニズムの仮説を提案した (*Biochemistry*, 55, 4154-4165, 2016)。

次に、細胞透過ペプチドのトランスポーター 10 (TP10) の膜透過性に対する脂質膜の力学的性質の効果を上記と同様の方法を用いて研究した。まず、マイクロピペットで GUV に種々の張力を与えた状況下で、CF-TP10 と GUV の相互作用を調べた。GUV 膜の張力が増加するにつれて、CF-TP10 の GUV 内腔への侵入速度は増大した。また、膜に高濃度のコレステロールが存在する場合は CF-TP10 の GUV 内腔への侵入は起こらないことを見出し、それは CF-TP10 の GUV の外側の単分子膜から内側の単分子膜への移動が抑制された結果であることがわかった。一方、高濃度の CF-TP10 は AF647 の漏れを誘起するポアを膜内に形成し、そのポアを介して GUV 内腔へ侵入した。以上の結果から TP10 の膜透過のメカニズムを提案した (*Langmuir*, 33, 2433-2443, 2017)。

(2) 張力による荷電脂質膜中のポア形成の研究

張力による荷電した脂質膜中のポア形成の活性化エネルギーを初めて測定することに成功した。また、その活性化エネルギーを含む式を用いて、ポア形成の速度定数の張力依存性の実験結果を良く説明することができた (*Phys. Chem. Chem. Phys.*, 18, 13487-13495, 2016)。

(3) 低い浸透圧が誘起する脂質膜中の張力の大きさの直接的評価

浸透圧がかかった DOPC 膜の GUV の張力によるポア形成の速度定数を我々が開発した方法 (*Langmuir*, 29, 3848, 2013) により測定し、その速度定数が浸透圧にどのように依存するかを調べた。その解析により、浸透圧が誘起する脂質膜の張力を実験的に求めることに初めて成功し、構築した理論からもとまる値と実験誤差範囲内で一致することを見出した。さらに浸透圧による脂質膜のポア形成の速度の張力依存性を求めることに初めて成功した (*Biophys. J.*, 111, 2190-2201, 2016)。

【 学術論文・著書 】

- 1) M. A. S. Karal, V. Levadny, and M. Yamazaki, Analysis of Constant Tension-Induced Rupture of Lipid Membranes Using Activation Energy, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 18, 13487-13495, 2016
- 2) S. Sharmin, M. Z. Islam, M.A. S. Karal, S. U. A. Shibly, H. Dohra, and M. Yamazaki, Effects of lipid composition on the entry of cell-penetrating peptide oligoarginine into single vesicles *Biochemistry*, 55, 4154-4165, 2016.
- 3) S. U. A. Shibly, C. Ghatak, M. A. S. Karal, M. Moniruzzaman, and M. Yamazaki, Experimental estimation of membrane tension induced by osmotic pressure, *Biophys. J.*, 111, 2190-2201, 2016.
- 4) M. Z. Islam, S. Sharmin, V. Levadny, S. U. A. Shibly, and M. Yamazaki, Effects of mechanical properties of lipid bilayers on the entry of cell-penetrating peptides into single vesicles, *Langmuir*, 33, 2433-2443, 2017.

【 国際会議発表件数 】

- ・ 61th Annual Meeting of American Biophysical Society, New Orleans, USA (2017.2.11-15) など 14 件

【 国内学会発表件数 】

- ・ 生物物理学会など 8 件

ゲノム動態制御機構の解明

兼任・教授 山本 歩 (YAMAMOTO Ayumu)
バイオサイエンス専攻 (主担当：理学部 化学科及び
大学院総合科学技術研究科理学専攻 化学コース)
専門分野： 分子細胞生物学、生化学
e-mail address: yamamoto.ayumu@shizuoka.ac.jp
homepage:
http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/~sayamam/yamamoto_japanese_index.html



【 研究室組織 】

教 員：山本 歩

修士課程：M2 (1名)、M1 (2名)

【 研究目標 】

我々の研究室では生物の遺伝情報がどのように正確に子孫に受け継がれていくのか、そしてどのように正確に維持されているか、その機構を分子レベル明らかにすることを目標としている。特に遺伝情報をコードする染色体の動態および構造制御に着目し、この染色体の構造が我々人間に近い、単細胞生物である分裂酵母をモデル生物として用い、以下の3点について研究を行っている。

- (1) 減数分裂における相同染色体の核内配置機構
- (2) 減数分裂における染色体分配機構
- (3) エネルギー代謝を介した染色体制御機構

【 主な研究成果 】

(1) 減数分裂期におけるテロメアによるセントロメアの制御

これまで減数分裂におけるテロメア集合がテロメア結合蛋白質である Taz1 を介して減数分裂期のセントロメアの中心体からの脱離を促進することを見だし、さらにこの制御に微小管が関与することを見いだした。そして、これらが減数分裂における紡錘体形成に重要な働きを果たすことを示した (PLoS Genetics.12: e1006304 (2016))。

(2) 減数分裂における動原体の制御機構

減数分裂において姉妹染色分体の動原体が融合すると考えられているが、この融合を分裂酵母で解析する実験系を構築した (第 49 回酵母遺伝学フォーラム研究報告会・第 39 回日本分子生物学会年会、市川ら；第 18 回静岡ライフサイエンスシンポジウム、南部ら)。

(3) 減数分裂におけるキアズマの機能解析

減数分裂第一分裂において、相同染色体同士の物理的結合を維持するキアズマは、姉妹染色分体の紡錘体の両極と結合したときにその結合を修正し、同一極との結合を促進する働きがあることを示した (第 49 回酵母遺伝学フォーラム研究報告会・第 39 回日本分子生物学会年会、西ら)。

(4) エネルギー代謝を介した染色体制御機構

これまで定常期という休止期において染色体が凝縮し、核全体が小さくなることを見いだした。さらにこのとき、栄養飢餓状態で長期に生存することを見いだした (第 49 回酵母遺伝学

フォーラム研究報告会・第39回日本分子生物学会年会、平岡ら)。

【 今後の展開 】

構築した動原体の融合解析手法を用いて、融合に必要な因子を同定し、融合制御機構を明らかにするとともに、キアズマの染色体分配における機能をさらに詳細に解析し、減数分裂期の染色体分配制御機構の解明をめざす。また、エネルギー代謝と染色体制御機構の解析をさらに進め、休止期における生物の生存戦略機構を分子レベルで明らかにすることをめざしたい。

【 学術論文・著書 】

1) Katsumata, K., Hirayasu, A., Miyoshi, J., Nishi, E., Ichikawa, K., Tateho, K., Wakuda, A., Matsuhara, H., and Yamamoto, A. (2016) A Taz1- and microtubule-dependent regulatory relationship between telomere and centromere positions in bouquet formation secures proper meiotic divisions. PLoS Genet.12: e1006304.

【 国内学会発表件数 】

・酵母遺伝学フォーラム研究報告会、日本分子生物学会年会など7件

光合成生物の脂質分子生理学

兼任・准教授 粟井 光一郎 (AWAI Koichiro)
(主担当：理学部 生物科学科及び
大学院総合科学技術研究科理学専攻 生物科学コース)
専門分野： 植物生理学、脂質生化学
e-mail address: awai.koichiro@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/~dkawai/>
<http://www.grl.shizuoka.ac.jp/~dkawai/>



【 研究室組織 】

教 員：粟井 光一郎
研 究 員：松本 玉恵 (研究補佐員)
修士課程：M2 (3名)、M1 (3名)

【 研究目標 】

我々は、光合成生物が光合成反応を行う場であるチラコイド膜を構成する膜脂質の生合成やその酵素をコードする遺伝子の解析を通して、膜脂質の生理機能、進化に関する研究を行っている。また、光合成生物を利用した、有用物質生産に関する研究も進めている。

【 主な研究成果 】

(1) 代表的シアノバクテリアゲノムデータベースの整備

Synechocystis sp. PCC 6803 は、1996 年にかずさ DNA 研究所によって生物で 4 番目に全ゲノムが解析された代表的シアノバクテリアである。ゲノム解読と同時にゲノムデータベースも CyanoBase として整備され、これまで 20 年間、数多くの研究者によって利用されてきた。データも随時アップデートされたが、暫定的なものが多く、公開後 20 年もの間に様々な遺伝子の機能が明らかとなってきたことから、根本的なアップデートの必要があった。そこで、シアノバクテリアの実験系研究者でコンソーシアムを立ち上げ、文献情報に基づいた未知遺伝子の機能情報の登録を手作業で行った。このコンソーシアムを代表として推進し、情報系研究者との摺り合わせ、論文執筆を行い、2 年以上をかけてようやくその成果を発表することができた。

(Fujisawa et al (2017) Nucleic Acids Res)

(2) シアノバクテリアを利用したエネルギー生産

2016 年 3 月に終了した JST 戦略的創造研究推進事業「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」さきがけ研究において、シアノバクテリアを用いた研究を推進していた研究者による研究成果をまとめ、解説記事を投稿した。(日原ら (2017) 化学と生物)

(3) ユーグレナの膜脂質組成解析

光合成を行う藻類の一種ユーグレナは、ジェット燃料への利用が容易なワックスエステルを多量に蓄積する性質を持つ。しかし、ワックスエステルの原料となる脂肪酸の利用が競合する膜脂質に関する研究は進展していなかった。そこで、ユーグレナの膜脂質解析を網羅的に行い、ワックスエステル蓄積増強へのメカニズムの解明を目指した。

【 今後の展開 】

上記のように、膜脂質関連では基礎研究から得た知見を応用研究へと展開する取り組みを進めており、これをより発展させる。また、研究室の主要テーマの一つであるチラコイド膜脂質の機能解析に関して、より詳細な解析を行い、ガラクト脂質合成経路の分布、進化の解明につなげていきたい。

【 学術論文・著書 】

1) Fujisawa T, Narikawa R, Maeda SI, Watanabe S, Kanasaki Y, Kobayashi K, Nomata J, Hanaoka M, Watanabe M, Ehira S, Suzuki E, Awai K and Nakamura Y. (2017) CyanoBase: a large-scale update on its 20th anniversary. *Nucleic Acids Res.* 45: D551-D554.

【 解説・特集等 】

1) 日原由香子, 朝山宗彦, 蘆田弘樹, 天尾豊, 新井宗仁, 栗井光一郎, 得平茂樹, 小山内崇, 鞆達也, 成川礼, 蓮沼誠久, 増川一 (2017) 多彩な戦略で挑むシアノバクテリア由来の燃料生産 持続可能な第三世代バイオ燃料生産の最前線 *化学と生物* 55: 88-97.

【 国際会議発表件数 】

・ 22nd International Symposium on Plant Lipids (ISPL2016), Göttingen Germany, 2016.7.3-8 2件

【 国内学会発表件数 】

・ 第29回植物脂質シンポジウムなど8件

【 受賞・表彰 】

- 1) 柴田栞里 (B4) 第18回静岡ライフサイエンスシンポジウム ポスター賞第1位 (2017.3) 「第三世代バイオ燃料生産藻類ユーグレナの膜脂質組成解析」
- 2) Egi Tritya Apdila (M2) 静岡大学三部局共催国際シンポジウム ポスター賞 (2017.2) 「Physiological Analysis of Difference on Galactolipids Synthetic Pathway among Photosynthetic Organisms」

植物のストレス防御物質の生合成研究

兼任・准教授 大西 利幸 (OHNISHI Toshiyuki)
(主担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)
専門分野：植物化学、植物生化学
e-mail address: dtonish@ipc.shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/abc/npchem/index.html>



【研究室組織】

教 員：大西 利幸
修士課程：M2（3名）、M1（3名）
学部4年：3名

【研究目標】

環境ストレス（植食性昆虫、病原菌、温度、乾燥など）に対する植物の化学防御物質の作用機構の理解、またその分子基盤に基づいた生体機能分子を「化学」的視点から究明することに挑戦している。

【主な研究成果】

(1) 針葉樹の防御機構におけるジテルペン樹脂酸生合成酵素の役割の解明

針葉樹は温帯から寒帯の広大な地域に 500 種類以上が生育している。樹齢が数百年、数千年にも及ぶことがある針葉樹は様々なストレスから身を守るために複雑な防御機構を備えている。針葉樹が傷害を受けたときに分泌するオレオレジン（モノテルペン、ジテルペン、セスキテルペンから構成される樹脂の総称）には、昆虫や病原菌に対する忌避成分や殺菌成分を有する化合物が多数含まれている。特に不揮発性のジテルペン樹脂酸は、傷口を防ぐ作用や昆虫を取り込む作用が知られており、針葉樹の重要な防御物質である。針葉樹（特にトウヒ属、マツ属）のゲノミクス、プロテオミクス解析の結果、シトクロム P450 酵素（P450）およびテルペン環化酵素（TPS）がジテルペン樹脂酸の生合成に重要な役割を担っていることが報告されている。我々はジテルペン樹脂酸生合成に関与する P450 酵素に注目し、ジテルペン樹脂酸生合成酵素が「いつ」「どこで」「どのように」発現し、「どの程度」針葉樹の防御機構に対する寄与を探求している。

(2) チャの化学防御機構に関与するモノテルペン水酸化酵素の探索と機能同定

“東方美人茶”は昆虫に被害されたチャ葉を用いて製造される高級烏龍茶であり、その最大の特徴は花様や蜜香と呼ばれる香気を放つことである。現在までその蜜香の原因物質が 2,6-dimethylocta-3,7-diene-2,6-diol (diol) や 3,7-dimethylocta-1,5,7-trien-3-ol (hotrienol) であることが報告されている。diol、hotrienol 共に 3*S* 配置を有することから、チャに多く含まれるモノテルペンの一つである linalool (3*S* 配置) から生合成されると推定されている。しかし、hotrienol や diol がどのように生合成されるのかは全く未解明のままである。特に被害葉に多く含まれるジオールは蜜香として茶の品質を決定する化合物としてだけ

でなく、チャの化学防御機構に関与していると考えられているに関わらず、その生合成遺伝子・酵素は同定されていない。そこで本研究は、昆虫（ヨコバイ）に食害されたチャが発散する“蜜香”香気の生成メカニズムを「化合物⇄酵素⇄遺伝子」の三位一体の研究アプローチにより解明することにより、香気成分がチャの防御機構にどのような役割を担っているかを究明する。

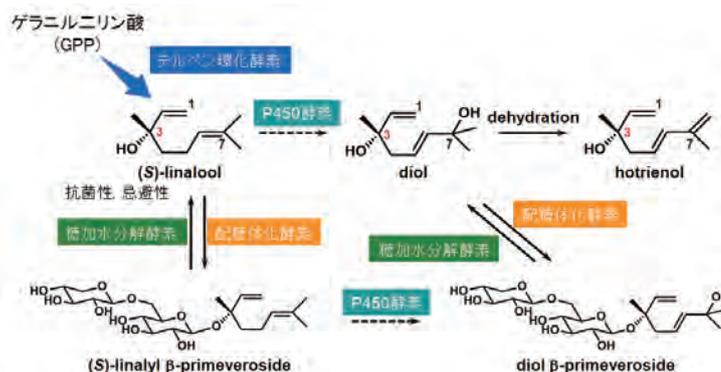


図. 加害されたチャ葉が発散する揮発性成分

【今後の展開】

化学的視点から植物の生存戦略＝生命現象を物質レベルで解き明かすことを目的とし、得られた遺伝子、酵素、化合物のアウトプット情報を基にして、医薬品や有用資源化合物である二次代謝産物の代謝工学研究に発展させることで植物資源の保全および環境保護に貢献することを目指す。

【学術論文・著書】

- 1) Yokota T, Ohnishi T, Shibata K, Asahina M, Nomura T, Fujita T, Ishizaki K, Kohchi T. Occurrence of brassinosteroids in non-flowering land plants, liverwort, moss, lycophyte and fern. *Phytochemistry*, 136, 46-55 (2017)
- 2) Takeuchi J, Okamoto M, Mega R, Kanno Y, Ohnishi T, Seo M, Todoroki Y. Abscinazole-E3M, a practical inhibitor of abscisic acid 8'-hydroxylase for improving drought tolerance. *Sci Rep.*, 6, 37060 (2016)
- 3) Hirata H, Ohnishi T, Watanabe N. Biosynthesis of floral scent 2-phenylethanol in rose flowers. *Biosci Biotechnol Biochem.* 80, 1865-1873 (2016)

【国際会議発表件数】

- 1) “Arabidopsis CHIBI2 involved in Brassinosteroid catabolism” Ohnishi T., Muramatsu, K., Sahara, M., Watanabe, B., Asahina, M., Yokota, T., Mizutani M. 13th International Symposium on P450 Biodiversity & Biotechnology, Vancouver, Canada, July 2016

【国内学会発表件数】

- ・日本植物生理学会、日本植物生理学会、植物化学調節学会など 12 件

【招待講演件数】

- 1) 「香り」が寄与する植物の化学防御システム—チャの香り成分を貯蔵するための二つの配糖化酵素. 大西 利幸, 平成 28 年東海地区化学教育討論会, 静岡, 2016. 10

効率的組換えタンパク質生産を可能にする カイコバイオテクノロジー

兼担・准教授 加藤 竜也 (KATO Tatsuya)
バイオサイエンス専攻 (主担当: 農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)
専門分野: 生物工学
e-mail address: kato.tatsuya@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/biotech/>



【 研究室組織 】

教 員 : 朴 龍洙 (グリーン科学技術研究所教授)、加藤 竜也、宮崎 剛亜 (グリーン科学技術研究所助教)、Vipin Kumar Deo (グローバル改革推進機構助教)

研 究 員 : JaeWook Lee (JSPS 海外特別研究員)

博士課程 : Hamizah Suhaimi (創科技院 D1、私費)、Robert Minkner (創科技院 D1、私費)

修士課程 : M2 (8名)、M1 (5名)

学 部 生 : B4 (8名)

【 研究目標 】

組換えタンパク質発現法は現在までに様々な系が確立されているが、昆虫を用いた発現法は昆虫のタンパク質生産能力から、組換えタンパク質の大量生産を可能にする発現法として期待されている。カイコを用いて、効率的にかつ大量に組換えタンパク質を生産し、さらに生産した組換えタンパク質をライフサイエンス全般の様々な分野に応用することを目指している。

- (1) カイコを用いた効率的な組換えタンパク質生産
- (2) カイコ-BmNPV バクミド発現系の改良
- (3) BmNPV ディスプレイ法の応用
- (4) カイコに感染する *Cordyceps militaris* に関する研究

【 主な研究成果 】

(1) カイコを用いた効率的な組換えタンパク質生産

機能性タンパク質を表面に提示させたラウス肉腫ウイルス様粒子をカイコ幼虫体液中で構築し、その機能を確認した (J. Pharm. Sci. 105(5) 1614-1622 2016)。また、キトサンを用いて BmNPV バクミド DNA をカイコ幼虫に注射することで、市販のトランスフェクション試薬同様に組換えタンパク質をカイコで発現させることが可能になった (Biotechnol. Lett. 38(9) 1449-1457 2016)。

(2) BmNPV ディスプレイ法の応用

AcMNPV のエンベロープタンパク質である AcGP64 を BmNPV に提示させることで、BmNPV を用いて哺乳動物細胞に外来遺伝子を導入させることが可能になった (Sci. Rep. 6 32283 2016)。

(3) カイコに感染する *Cordyceps militaris* に関する研究

C. militaris の分生子から単一のコロニーを単離することで、Cordycepin 生産株を単離することができた (Biotechnol. Bioproc. Eng. 21(5) 595-600 2016)。

【 今後の展開 】

現在までに様々な組換えタンパク質生産法は確立されてきている。その中でも、現在研究を行っているカイコを用いた組換えタンパク質生産法は、カイコの持つ高タンパク質生産能は突出しており、またカイコの飼育のしやすさから、組換えタンパク質の大量生産に非常に向いていると考えられる。しかし、現在までに広く利用されているとはいえ、より簡便に利用していくためには更なる改良が必要とされる。これらのカイコを利用した組換えタンパク質生産法の課題を解決していくとともに、生産した組換えタンパク質やウイルス様粒子、バキュロウイルス粒子を様々な分野に応用していくことを考えている。

【 学術論文・著書 】

- 1) Takemura K, Adegoke O, Takahashi N, Kato T, Li TC, Kitamoto N, Tanaka T, Suzuki T, Park EY “Versatility of a localized surface plasmon resonance-based gold nanoparticle-alloyed quantum dot nanobiosensor for immunofluorescence detection of viruses.” *Biosens Bioelectron.* 89(2) 998-1005 (2017).
- 2) Sari N, Suparmin A, Kato T, Park EY “Improved cordycepin production in a liquid surface culture of *Cordyceps militaris* isolated from wild strain” *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 21(5) 595-600 (2016)
- 3) Kato T, Sugioka S, Itagaki K, Park EY “Gene transduction in mammalian cells using *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus assisted by glycoprotein 64 of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus.” *Sci. Rep.* 6 32283 (2016)
- 4) Kato T, Arai S, Ichikawa H, Park EY “Versatility of chitosan/BmNPV bacmid DNA nanocomplex as transfection reagent of recombinant protein expression in silkworm larvae.” *Biotechnol. Lett.* 38(9) 1449-1457 (2016)
- 5) Deo VK, Kato T, Park EY “Virus-like particles displaying recombinant short-chain fragment region and interleukin 2 for targeting colon cancer tumors and attracting macrophages.” *J. Pharm. Sci.* 105(5) 1614-1622 (2016)
- 6) Adegoke O, Seo MW, Kato T, Kawahito S, Park EY “An ultrasensitive SiO₂-encapsidated alloyed CdZnSeS quantum dot-molecular beacon nanobiosensor for norovirus.” *Biosens. Bioelectron.* 86 135-142 (2016)
- 7) Adegoke O, Kato T, Park EY “An ultrasensitive alloyed near-infrared quaternary quantum dot-molecular beacon nanodiagnostic bioprobe for influenza virus RNA.” *Biosens. Bioelectron.* 80 483-490 (2016)

【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本生物工学会、日本農芸化学会など 13 件

微生物の産生する生理活性物質

兼任・准教授 小谷 真也 (KODANI Shinya)

(主担当：農学部 応用生命科学科及び

大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)

専門分野：天然物有機化学、応用微生物学

e-mail address: kodani.shinya@shizuoka.ac.jp

homepage: <http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/~askodan/>



【 研究室組織 】

教 員：小谷 真也

修士課程：M2 (2名)、M1 (3名)

学 部 生：B4 (3名)

【 研究目標 】

微生物は、抗生物質などの有用な物質を生産する能力を持っている。新しい生理活性物質の発見と、その生産制御システムに関して研究を行い、発酵産業に役立てたい。

- (1) ゲノム情報を用いた有用物質の発見
- (2) 抗菌物質等の有用物質の単離および化学構造の決定
- (3) 遺伝子変異導入による生産向上株の育種

【 主な研究成果 】

(1) 新規ラッソペプチド sphaericin の発見

製品技術基盤機構等のカルチャーコレクションから分譲を受けた細菌類および、新たに土壌から単離した微生物を有機溶媒で抽出し、スクリーニングを行った。その結果、希少放線菌 *Planomonospora sphaerica* の新規ラッソペプチド sphaericin を見いだした。そこで、大量培養、溶媒分画を行い、最終的に高速液体クロマトグラフィーを用いて活性物質の単離に成功した。NMR および MS スペクトルによる化学分析を行い、化学構造を決定した。また、*P. sphaerica* の全ゲノム情報を得るために DNA シーケンスを行った。得られたゲノム情報から sphaericin 生合成遺伝子の特定に成功した。

【 今後の展開 】

まだまだ、未発見の生理活性物質は天然に多く存在する。特に、次世代シーケンサーの発達によってゲノム情報が蓄積しつつある。今後、ゲノムマイニングを行い、顕著な抗菌活性を有する物質の発見を行いたい。また、同時に、有用物質の生産量を目的に、大腸菌を用いた異宿主発現を行い、有用物質生産を行っていきたい。

【 学術論文・著書 】

- 1) S. Sugai, M. Ohnishi-Kameyama, S. Kodani* (*corresponding author), "Isolation and identification of a new lasso peptide cattlecin from *Streptomyces cattleya* based on genome mining", **Applied Biological**

Chemistry, in print, 2017 査読有

- 2) T. Shiroyama, C. E. Beatriz, Y. Suzuki, S. Kodani* (*corresponding author), “Isolation of antagonistic bacteria associated with the stony coral *Montipora digitata* in Okinawa, Japan”, **Galaxea, Journal of Coral Reef Studies**, in print, 2017 査読有
- 3) S. Kodani*, Y. Inoue, M. Suzuki, H. Dohra, T. Suzuki, H. Hemmi, M. Ohnishi-Kameyama (*corresponding author), “Sphaericin, a new lasso peptide from a rare actinomycete *Planomonospora sphaerica*”, **European Journal of Organic Chemistry**, 8: 1177–1183, 2017 査読有
- 4) N. Takasaka, I. Kaweewan, M. Ohnishi-Kameyama, S. Kodani* (*corresponding author), “Isolation of a new antibacterial peptide actinokineosin from *Actinokineospora spheciospongiae*”, **Letters in Applied Microbiology**, 64 (2), 150-157, 2017 査読有
- 5) I. Kaweewan, M. Ohnishi-Kameyama, S. Kodani* (*corresponding author), “Isolation of new lasso peptide achromosin from *Streptomyces achromogenes* subsp. *achromogenes*”, **Journal of Antibiotics**, 70 (2), 208-211, 2017 査読有
- 6) H. Dohra, Y. Inoue, T. Suzuki, S. Kodani* (*corresponding author), “Draft Genome Sequence of *Planomonospora sphaerica* JCM9374”, **Genome Announcements**, 4 (4), e00779-16, 2016 査読有
- 7) S. Kodani*, H. Komaki, S. Ishimura, H. Hemmi, M. Ohnishi-Kameyama (*corresponding author), “Isolation and structure determination of new lantibiotic cinnamycin B from *Actinomadura atramentaria* based on genome-mining”, **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, 43 (8):1159-65, 2016
- 8) S. Sugai, H. Komaki, H. Hemmi, S. Kodani* (*corresponding author), “Isolation and structural determination of a new antibacterial compound demethyl-L-681,217 from *Streptomyces cattleya*”, **Journal of Antibiotics**, 69 (11), 839-842, 2016 査読有

【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本生物工学会、日本放線菌学会など 計 7 件

母乳中免疫関連物質の機能性研究、食品成分による メタボリックシンドローム発症抑制作用に関する研究

兼任・准教授 茶山 和敏 (SAYAMA Kazutoshi)
バイオサイエンス専攻 (主担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)
専門分野： 動物生理科学
e-mail address: sayama.kazutoshi@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/abc/sayama/index.html>



【 研究室組織 】

教 員：茶山 和敏

博士課程：D3 (1名)、D2 (1名)

修士課程：M1 (4名)

【 研究目標 】

哺乳動物の乳汁(ミルク)中の免疫情報伝達物質、特にケモカインの新生児の成長への関与、および、疾病モデルマウスを用いた種々の疾病に対する食品成分の機能性について、応用を目指した基礎研究を進めています。

現在行っている実際の研究内容は以下の通りです。

1. 哺乳類の母乳中免疫成分の機能性に関する研究

マウスを用いて、母乳中の免疫関連成分、特にケモカインの同定および定量を行うとともに、人工乳にケモカインを添加して、新生児の成長に対する効果を検討しています。

2. 種々の食品成分が持つ生体に対する様々な効果の解明に関する研究

- (1) メタボリックシンドローム(肥満、動脈硬化症等)に対する食品成分の効果
- (2) 自己免疫症発症に対する食品成分の効果

【 主な研究成果 】

(1) マウス乳汁中におけるケモカインの存在

マウス乳汁中に数種のケモカインが存在し、成長及び免疫機能の促進作用を有することを明らかにしている。

(2) メタボリックシンドローム(肥満、動脈硬化症等)に対する食品成分の効果

緑茶カテキンの主要成分である EGCG とカフェインの組み合わせが肥満および動脈硬化症を顕著に抑制することを明らかにした。その他、レスベラトロール誘導体が脂肪蓄積抑制作用を、アスタキサンチンが動脈硬化症抑制作用を有することを報告している。

(3) 自己免疫症発症に対する食品成分の効果

ブラジル産プロポリスやアスタキサンチンが自己免疫病の発症および悪性進展を抑制することを明らかにしている。

【 今後の展開 】

我々は上記のように、乳汁中ケモカインによる新生児成長及び免疫機能の促進機構、食品成分

によるメタボリックシンドローム発症予防及び治療を目指している。当面の今後の研究展開としては、これまでに得られた結果のより詳細な検討や発症抑制作用のメカニズムの解明などを進めていく予定である。

【 国内学会発表件数 】

・ 日本栄養食糧学会、日本フードファクター学会、日本乳腺泌乳研究会、茶学術研究会など6件

【 招待講演件数 】

- 1) 浜松工業会交流会
- 2) 静岡市生涯学習センター

【 受賞・表彰 】

- 1) 静岡大学産学連携奨励賞優秀賞受賞
- 2) 日本栄養食糧学会のトピックス演題に選出され、研究内容がプレスリリース
- 3) 2016. 7. 18 の日本経済新聞朝刊に、研究内容が掲載

複合微生物系における可動性遺伝因子の動態解析

兼任・准教授 新谷 政己 (SHINTANI Masaki)
バイオサイエンス専攻 (主担当：工学部 化学バイオ工学科及び
大学院総合科学技術研究科工学専攻 化学バイオ工学コース)
専門分野： 環境微生物学、分子遺伝学
e-mail address: shintani.masaki@shizuoka.ac.jp
homepage: <http://cheme.eng.shizuoka.ac.jp/~shintanilab/>
<http://researchmap.jp/shintani-masaki/?lang=english>



【 研究室組織 】

教 員：新谷 政己
博士課程：福田 洸平 (創造科技院 D2)
修士課程：M2 (4名)、M1 (4名)
学 部 生：4名

【 研究目標 】

作物を育てる農地の土壌、下水処理場、生ごみの堆肥化、廃棄物利用としてのメタン発酵など、我々の生活に密着した様々な場面で複数種の微生物が複合的に機能する複合微生物系が活躍している。こうした機能を担う微生物の多くは人為的な培養が難しく、その機能解析は困難である。プラスミドをはじめとする可動性遺伝因子は、このように培養の難しい微生物に、外部からアプローチするための有用なツールとなりうる。そこで当研究室では、現状では難しいとされる、複合環境微生物集団の機能解析・増強を目指し、①複合微生物系からの新たな微生物の分離培養を試みるとともに、②既知・新規の可動性遺伝因子が、複合微生物系内でどのような微生物間を行き来するのか、その動態解析を行っている。

- (1) 濾過法を利用した自然界からの新奇微生物の分離と培養
- (2) プラスミドが宿主に及ぼす影響の比較と違いを引き起こす原因因子の特定
- (3) 環境からのプラスミドの収集と解析
- (4) 微好気・嫌気条件下におけるプラスミドの接合伝達性の調査

【 主な研究成果 】

(1) 濾過法を利用した自然界からの新奇微生物の分離と培養

孔径 0.22 μm のメンブレンフィルターを通過可能な微生物を、浜松市の汽水湖 (佐鳴湖) から 145 株単離した。そのうち約 20 株は、これまでに培養されたことのない、新属・新種細菌であることが示唆され、特に 5 株については、新属・新種としての記載を提案するために、性状分析を行った。また、5 株については全ゲノム配列も解読しており (一部発表済み、Muraguchi et al., 2016)、2 株については新たなプラスミドを有することも判明した。

(2) プラスミドが宿主に及ぼす影響の比較と違いを引き起こす原因因子の特定

これまでプラスミドをもつことで、宿主が受ける様々な影響について調べてきた (総説 Shintani, 2017)。 *Pseudomonas* 属細菌の染色体上のプロファージ領域の存在が、プラスミドと宿主の関係に重要であることが示唆された。

(3) 環境からのプラスミドの収集と解析

本研究室で運転の安定化に成功し、菌叢解析を行った高速液体メタン発酵槽由来のグラニューール (Applied Microbiology and Biotechnology 誌) や、土壌サンプルより、新たなプラスミ

ドの収集を行い、プラスミドの塩基配列を決定した。

(4) 微好気・嫌気条件下におけるプラスミドの接合伝達性の調査

プラスミドの伝播には、細胞外小胞 (Membrane Vesicle) も寄与することが示された (Tashiro et al., 2017)。また、プラスミドは微好気・嫌気条件下でも伝達することを実験的に示した。

【 今後の展開 】

我々は上記のように、好気・微好気・嫌気条件下に生息する様々な複合微生物系におけるプラスミドを中心とした可動性遺伝因子の動態解析を行っている。また、これまでに獲得した新奇微生物について新属・新種提案に向けての詳細な性状分析を引き続き行っている。

【 学術論文・著書 】

- 1) Tashiro Y*, Hasegawa Y, Shintani M, Takaki K, Ohkuma M, Kimbara K, Futamata H. (2017) Interaction of bacterial membrane vesicles with specific species and their potential for delivery to target cells. *Frontiers in Microbiology* 8:571. doi: 10.3389/fmicb.2017.00571
- 2) Shintani, M[†]. (2017) The behavior of mobile genetic elements (MGEs) in different environments. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, in press. doi:10.1080/09168451.2016.1270743.
- 3) Muraguchi Y, Kushimoto K, Ohtsubo Y, Suzuki T, Dohra H, Kimbara K, Shintani M*. (2016) Complete genome sequence of *Algoriphagus* sp. strain M8-2, isolated from a brackish lake. *Genome Announcement* 4(3) pii: e00347-16.
- 4) Shintani M, Kimbara K*. (2016). Genomic features and genome-wide analyses of dioxin-like compound-degraders. In “Manual of Environmental Microbiology, 4th edition” (eds. Yates M, Nakatsu C, Miller R, Pillai S), ASM press, p 5.1.1-1-5.1.1-10. doi: 10.1128/9781555818821.ch5.1.1

【 解説・特集等 】

- 1) 新谷政己* (2017) 「耐性菌と耐性獲得機構」, 『食と微生物の辞典』朝倉書店, 北本勝ひこら編, 4-28.
- 2) 新谷政己* (2016) 「シングルセル解析に基づく環境中におけるプラスミドの宿主域の解明」, バイオサイエンスとインダストリー 74 (3) 212-216, 2016.

【 国際会議発表件数 】

・ 2 件

【 国内学会発表件数 】

・ 日本農芸化学会、日本生物工学会、日本微生物生態学会等 14 件

【 招待講演件数 】

・ ドイツ・ブラウンシュバイク JKI、タイ王国 チュラロンコン大学・日本農芸化学会中部支部例会等 4 件

【 受賞・表彰 】

- 1) 新谷政己 第 15 回日本農学進歩賞「環境細菌間における可動性遺伝因子の挙動に関する研究」(2016. 11. 25)
- 2) 片岡大亮, レー・ティー・タントウー, 金原和秀, 新谷政己 環境バイオテクノロジー学会 2016 年度大会 優秀ポスター賞「プラスミドが宿主に及ぼす「負荷」を軽減する原因因子の同定」(2016. 6. 13-14)

植物病原微生物の感染における分子機構

兼任・准教授 平田 久笑 (HIRATA Hisae)
バイオサイエンス専攻 (主担当：農学部 生物資源科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 共生バイオサイエンスコース)
専門分野： 植物病理学
e-mail address: hirata.hisae@shizuoka.ac.jp
homepage: http://www.agr.shizuoka.ac.jp/bs/plant_pathology/index.html



【 研究室組織 】

教 員：平田 久笑

博士過程：D2 (1名)

修士課程：M1 (1名)

学 部 生：4名

【 研究目標 】

植物に病気を引き起こす微生物と、それらの宿主となる植物種との相互作用に着目し、発病と病原性制御のメカニズムについて分子レベルでの解明を試みる。静岡県特産のカンキツとワサビの病気を研究のモデル材料として、新規病害防除法の開発に向けた基盤的知見を得ることを目標とする。

- (1) カンキツかいよう病とウイルス病の重複感染による病原性制御の機構
- (2) 病原細菌のフラジェリンにより誘導される植物の防御応答のメカニズム
- (3) ワサビ軟腐病菌のバクテリオファージのゲノム解読と生物防除への利用の検討

【 主な研究成果 】

(1) カンキツかいよう病とウイルス病の重複感染による病徴発現と病原性制御の機構

カンキツかいよう病菌は、宿主植物(カンキツ)の細胞肥大と細胞分裂を促進し、組織の隆起とコルク化をもたらす。またカンキツでは他に、リンゴステムグルーピングウイルスや温州萎縮ウイルスなどのウイルス感染による、樹勢や果実の収量低下が問題となっている。自然界では、細菌病とウイルス病の重複感染が発生していると考えられるが、その影響については知見が少ない。本研究では、カンキツ植物への人為的なウイルスと細菌の接種系を構築し、それらを重複感染させた場合に、かいよう病菌の増殖と病斑形成が促進されることを見出した。さらに重複感染時に誘導される植物の防御応答を調べた結果、単独感染時に比べて防御応答関連遺伝子の発現量が低下しており、すなわち病原体の増殖と病徴発現が進行しやすい状態にあることを明らかにした。微生物としての構造も植物への感染様式も全く異なる細菌とウイルスの病原性制御において、相互作用する宿主内分子環境があることが示唆された。

(2) 病原細菌のフラジェリンにより誘導される植物の防御応答のメカニズム

病原細菌のべん毛構成タンパク質(フラジェリン)を植物の培養細胞に処理すると、植物の防御応答と考えられる細胞死や生育阻害が誘導される。蔬菜類軟腐病菌の2種フラジェリンを用いて比較解析した結果、タバコやシロイヌナズナの培養細胞において細胞死誘導型と非誘導型に分かれること、また葉緑体を有する植物細胞と有しない植物細胞では細胞死のプロセスが

異なることを明らかにした。光合成関連の遺伝子発現変動を調べた結果、植物の防御応答における葉緑体の関与が示唆された。

(3) ワサビ軟腐病菌のバクテリオファージのゲノム解読と生物防除への利用の検討

静岡県内で発生するワサビ軟腐病菌と、それを溶菌するバクテリオファージを単離した。これら複数のファージの全ゲノム解読を行った結果、いずれも未記載の新種であることが示された。宿主が異なる系統学的な近縁種と同様な遺伝子構成の特徴を保ちながらも、他の軟腐病菌ファージとは高い共通性も認められ、分類上のユニークなグループを形成する可能性を見出した。さらにファージの特性を調べた結果、他の植物病原細菌のファージと同様な pH 耐性域を有する一方、温度に関しては高温域で耐性が低いことがわかり、冷涼なワサビ田の環境に由来する性質であることが推測された。ファージの特性を知ることは、ファージを利用した軟腐病菌の生物防除法を開発するための基盤知見になると考え、今後も検証を重ねる予定である。

【 今後の展開 】

植物の病気は、病原微生物の種類により様々であるが、植物が有する基本的な防御応答（自己防衛）のシステムは共通性が高いと考えられる。細菌とウイルス（バクテリオファージ）の両方をターゲットとする病原体の感染機構と宿主側の防御機構について分子レベルで理解を深め、新しい病害防除対策と技術の開発に貢献したい。

【 学術論文・著書 】

- 1) Hirata H, Kashihara M, Horiike T, Suzuki T, Dohra H, Netsu O, Tsuyumu S. Genome sequence of *Pectobacterium carotovorum* phage PPWS1, isolated from Japanese horseradish [*Eutrema japonicum* (Miq.) Koidz] showing soft-rot symptoms. *Genome Announc.* 2016, 4(2); e01625-15.
- 2) Tomomitsu T, Kitazawa Y, Netsu O, Nijo T, Koinuma H, Iwabuchi N, Okano Y, Hirata H, Maejima K, Yamaji Y, Namba S. First report of bacterial black spot on calanthe (*Calanthe* spp.) caused by *Burkholderia andropogonis* in Japan. *J Gen Plant Pathol* 2016, 82;220-223.

【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本植物病理学会など 3 件

生理活性糖鎖分子の構造と機能に関する研究

兼任・准教授 村田 健臣 (MURATA Takeomi)
バイオサイエンス専攻 (主担当：農学部 応用生命科学科及び
大学院総合科学技術研究科農学専攻 応用生物化学コース)
専門分野： 糖鎖工学、糖鎖生物学
e-mail address: actmura@ipc.shizuoka.ac.jp



【 研究室組織 】

教 員：村田 健臣

【 研究目標 】

高齢化社会により革新的な疾患治療法の開発が期待されている。生体内の糖鎖は、がん、自己免疫疾患、ウイルス感染などの様々な疾患の亢進に関与していることが明らかになっている。我々は、これまでに生理活性が期待されるさまざまな糖鎖の効率的な酵素・化学合成法を確立してきた。研究では、構造の明確なオリゴ糖鎖をタンパク質などに導入した人工複合糖質の構築を行い、医療・生命科学等の分野で応用展開が可能な生体機能分子を構築する。

【 主な研究成果 】

(1) がん転移機構を解明するため糖質クラスターの開発と転移メカニズムの解明

がん転移にかかわる P-セレクトインとがん細胞の相互作用を拮抗的に阻害する硫酸化糖質クラスターの構築を行った。その成果として、グルタミン酸ペプチドをコア分子とした硫酸化糖質クラスターの合成法を確立した。さらに、P-セレクトインとの親和性を確認した。また、ポリグルタミン酸をコア分子とした硫酸化糖質クラスターは、がん細胞とP-セレクトイン間の相互作用を拮抗的に阻害することを明らかとした。今後は、グルタミン酸ペプチドを利用した硫酸化糖質クラスターの動物試験レベルでのがん転移阻害能を検証するため、マウスがん転移モデルを用いた研究展開に結びつける。

(2) 海洋微生物由来の $\alpha 2, 3/6$ シアル酸転移酵素の基質特異性の解析

免疫やがん転移にかかわるセレクトインは、糖鎖結合タンパク質でシアル酸及び硫酸化糖に親和性を有していることが分かっている。従って、シアル酸含有硫酸化糖鎖の合成は、免疫やがん転移の制御にかかわる分子として有効であると考えられる。しかしながら、化学的手法でシアル酸含有硫酸化糖鎖の合成は困難である。そこで、硫酸化糖を受容体脂質としてシアル酸を転移することが可能な酵素を探索したところ、海洋微生物が発現する $\alpha 2, 3/6$ シアル酸転移酵素が硫酸化糖に転移することが明らかとなった。今後は動力学的解析を行うとともに、セレクトインに親和性をもつ糖質クラスターの構築を行う。

【 今後の展開 】

今後は、①がん細胞の転移に関わるセレクトインの糖鎖特異性の解明と転移抑制剤の開発、②免疫能の制御における糖鎖結合タンパク質であるシグレックの受容体糖鎖の解明や免疫制御能をもつ糖鎖分子の構築等の研究テーマにチャレンジしていきたい。その研究成果は、生命現象に関わ

る糖鎖認識タンパク質の機能解明や、糖鎖分子が関わる疾患に対する新しい医薬素材の開発などに貢献できると考えられる。

環境と生体の分子調節機構

兼任・講師 岡田 令子 (OKADA Reiko)
(主担当：理学部 生物科学科及び
大学院総合科学技術研究科理学専攻 生物科学コース)
専門分野： 動物生理学、生化学
e-mail address: okada.reiko@shizuoka.ac.jp



【 研究室組織 】

教 員：岡田 令子

修士課程：M1（3名）

【 研究目標 】

動物の生息環境と生体調節機構との関係について、主に神経・内分泌的な機構に着目し研究を行っている。また、脊椎動物が水中棲から陸上棲、変温動物から恒温動物へと進化してきた過程で、生体調節機構がどのように変化し、それが進化とどのように関わっているかを明らかにしたいと考えている。現在取り組んでいる研究テーマは以下の通りである。

- (1) 外部環境変化に対する間脳視床下部—脳下垂体—副腎/甲状腺系による調節とその進化
- (2) 両生類の極限環境順応機構の解明
- (3) 温度変化に対応する脳内物質の同定とその作用機序の解明

【 主な研究成果 】

(1) 間脳視床下部—脳下垂体—甲状腺/副腎系に関与する視床下部因子の進化

これまでに、両生類において下垂体からの甲状腺刺激ホルモンの分泌を調節する主要な視床下部因子は、哺乳類における副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) であることを報告した。CRH は、その名が示す通り哺乳類においては主要な副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の放出因子であるが、両生類下垂体からの ACTH に対する放出活性は比較的低いこと、両生類では CRF ではなくアルギニンヴァソトシンが ACTH の放出を調節していることを明らかにした。(Gen. Comp. Endocrinol. 237 (2016))

(2) 極限環境下での両生類の生体内恒常性維持機構

冬眠中のニホンアマガエルは凍結に対する抵抗性を有し、その耐凍結機能には、水やグリセロールを透過させる膜タンパク質であるアクアポリン (AQP9) が関わっていることがわかっている。ニホンアマガエルの凍結耐性には、これらの他にグリセロールおよびその輸送体が関わっていることを明らかにした。

【 今後の展開 】

現在主として両生類を研究材料として用いている。それは、両生類が初めて陸上に上がった脊椎動物であり、また、その一生の中でオタマジャクシから成体へと変態し全身の器官がダイナミックに変化するために、脊椎動物の進化を解明する為に適した研究材料であるからである。上述

の視床下部—下垂体—甲状腺系および視床下部—下垂体—副腎系などに関わるホルモンの構造、機能を比較することで、脊椎動物が水棲から陸棲、変温動物から恒温動物へと進化してきた過程の一端を解明したい。また、両生類の脳に存在する神経ペプチドの含量は哺乳類に比べ10倍以上多いことが知られており、機能未知の物質が多数存在することがわかっている。両生類の脳を材料として新規生理活性物質の発見に繋がる可能性も考えられる。両生類から新規生理活性物質が得られれば、哺乳類等の他の脊椎動物においても作用するのか、作用するとしたら両生類と同様のはたらきなのか否かなどを調べ、脊椎動物の生体調節機構の進化の解明を進めていきたいと考えている。現在、上述の機能未知のペプチドについて、脳での局在および生理作用の解析を進めている。また、生理学・生化学・分子生物学などの研究手法を用い、学内外の研究者との共同研究を進めていきたい。

【 学術論文・著書 】

- 1) **Okada, R.**^{*}, Yamamoto, K., Hasunuma, I., Asahina, J., Kikuyama, S., 2016. Arginine vasotocin is the major adrenocorticotrophic hormone-releasing factor in the bullfrog *Rana catesbeiana*. Gen. Comp. Endocrinol. 237, 121–130.
- 2) **岡田令子**、鈴木賢一 2016. 両生類の変態：分子から個体レベルの制御. 生物科学（日本生物科学者協会編集）、農文協. 67, 146–153.
- 3) **岡田令子** 2016. 両生類における下垂体ホルモン放出因子の役割の特異性とその意義. 比較内分泌学, 日本比較内分泌学会, 42, 60–61.

【 国際会議発表件数 】

- 1) Joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology and 87th meeting of Zoological Society of Japan

【 国内学会発表件数 】

- 1) 日本動物学会中部支部大会

【 招待講演件数 】

- 1) 第2回次世代両生類研究会

【 受賞・表彰 】

- 1) Hirota, A., Takiya, Y., Sakamoto, J., Shiojiri, N., Suzuki, M., Tanaka, S., Okada, R. 平成28年度 Zoological Science Award（藤井賞）. Molecular cloning of cDNA encoding an aquaglyceroporin, AQP-h9, in the Japanese tree frog, *Hyla japonica*: possible roles of AQP-h9 as a glycerol transporter in freeze tolerance. Zool Sci, 32, 296–306. 2015.