

## (6) 統合バイオサイエンス部門

部門長 瀧川 雄一

### 1. 部門の目標・活動方針

統合バイオサイエンス部門は27名(専任1名、兼担26名)の教員から構成され、バイオサイエンス研究分野の独創的な研究を活発に行った(本年度の成果については各教員の活動報告の項を参照)。本部門では、生物と環境の相互の動態、生物多様性のシステムとその適応の統一性を探索し、生命系の成り立ち、その仕組みを理解するため、分子化学と細胞レベル、個体や個体間にまで多彩な生命原理を明らかにし、高次生命活動の多様性に迫る研究を行っている。具体的な標的としては、生体分子集団の構造や機能の空間的、時間的な発現のメカニズムや分子間相互作用、及びシグナル伝達や細胞間相互作用などの高次システムを分子レベルで研究し、生命を司る分子集団の構築原理やそれを担う分子素子の動作原理を解明しようとしている。特に、バイオサイエンスに関連する新しい原理の発見は、本学の重点研究分野の一つであるナノバイオ科学の形成につながり、更に極限画像研究分野と連携を強めている。このような分野横断型の研究は、今後静岡県を中心とした地域の豊かな生物資源と電子・光産業の融合による新規健康、創薬、安全、高機能性食品等の応用開発型研究プロジェクトの形成・実施を促進し、地域生物産業発展の中核となり、独創的な研究成果を世界に発信できる国際的なバイオ拠点を目指している。

### 2. 教員名と主なテーマ(◎は専任教員、○は兼任教員)

- ◎瀧川 雄一：植物病原細菌の分類同定および進化
- 丑丸 敬史：癌に関連した細胞周期制御機構の解明
- 河岸 洋和：キノコの化学・科学
- 木村 洋子：タンパク質の品質管理とストレス応答
- 塩尻 信義：肝臓の発生・分化・再生における細胞社会学
- 鈴木 雅一：脊椎動物の環境適応機構と内分泌現象
- 竹之内裕文：生命環境倫理学の構築——生、死、環境をめぐって
- 徳元 俊伸：卵成熟・受精の分子機構
- 轟 泰司：植物の機能を制御する小分子の創出
- 富田 因則：ゲノムワイド関連解析に基づく米麦の遺伝子単離と遺伝的改変
- 朴 龍洙：有用遺伝子の発現による生物機能の革新的利用
- 原 正和：植物における環境ストレスタンパク質
- 平井 浩文：白色腐朽菌を用いた木質バイオリファイナリー及びバイオレメディエーション
- 本橋 令子：プラスチド分化のメカニズムの解明
- 森田 達也：ルミナコイド(難消化性糖類)の栄養生理機能の解析
- 山崎 昌一：生体膜の生物物理学
- 山本 歩：ゲノム動態制御機構の解明
- 栗井 光一郎：光合成生物の脂質分子生理学
- 大西 利幸：植物化学・植物生化学
- 加藤 竜也：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

- 小谷 真也：微生物の産生する生理活性物質
- 茶山 和敏：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、母乳中免疫関連物質の機能性研究
- 新谷 政己：複合微生物系における可動性遺伝因子の動態解析
- 平田 久笑：植物病原微生物の感染における分子機構
- 村田 健臣：生理活性糖鎖分子の構造と機能に関する研究
- 雪田 聡：骨の形成と維持機構の解明を目指した研究
- 岡田 令子：環境と生体の分子調節機構

### 3. 超領域国際シンポジウム

超領域分野における国際的若手人材育成プログラムの一環として、静岡大学の研究と博士課程学生の教育を牽引している電子工学研究所、グリーン科学技術研究所および創造科学技術大学院の3部局が共同して開催する第4回国際シンポジウム2018 International Symposium toward the Future of Advanced Researches in Shizuoka University -Joint International Workshops on Advanced Nanovision Science / Advanced Green Science / Promotion of Global Young Researchers in Shizuoka University-が、平成30年3月6日に静岡大学浜松キャンパス共通講義棟で開催された。アジアの4ヶ国と日本国内の大学や機関から研究者9名と博士課程学生2名を招き、教職員学生を含む合計181名が参加した。インド国立薬科教育研究院(NIPER)のRaghuram Rao Akkinepally学長とタイ王国チェンマイ大学Dheerawan Boonyawan教授が基調講演を行い、その後2つの会場で、国内外の7名の招待講演者による発表の後、学内4名の研究者が講演を行った。さらに若手研究者・学生計49名がポスター発表を行って、日ごろの研究の成果を披露し、活発な討論が行われた。国内外の研究者と学生が研究分野の枠を自発的に超えて活発な研究交流と学生交流が促され、多くの意見交換が行われた。

これに先立つ平成29年12月8日(金)に「第11回超領域研究会」を静岡大学浜松キャンパスの佐鳴会館において開催した。今回の研究会では、重点研究3分野(光応用・イメージング、環境・エネルギーシステム、グリーンバイオ科学)の研究発表の他、平成30年4月に開設を予定している浜松医科大学との共同教育課程(博士課程)光医工学共同専攻の紹介が行われ、他大学、関係企業、本学の教職員・学生含め54名が参加した。バイオサイエンス分野でもグリーン研の原正和教授をはじめとした発表があり、活発な討論がなされた。

## 植物病原細菌の分類同定および進化

専任・教授 瀧川 雄一 (TAKIKAWA Yuichi)  
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 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: takikawa.yuichi@shizuoka.ac.jp  
homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/b/plantpath/contents.html>



### 【 研究室組織 】

教 員: 瀧川 雄一

博士課程: 2名

修士課程: M2 (2名)、M1 (2名)

学部学生: 3名

### 【 研究目標 】

ヒト、動物の病気と同様に、植物も病気になり、それによって食料生産や園芸、環境緑化などに重大な影響がある。我々は植物の病原体の中で特に細菌に焦点をあて、以下のような項目を目標として研究を行うとともに、最終的にはどのようにして個々の病原細菌が登場してきたのか、これからどのように進化するのかを解明することを目指している。

- (1) 新規に発生する植物細菌病の病原細菌の同定
- (2) 病原性遺伝子の解析とその進化の解明
- (3) 迅速な診断同定法の開発
- (4) 植物細菌病の生物防除とその基礎となる遺伝子の機能の解析

### 【 主な研究成果 】

#### (1) 新規植物細菌病の病原細菌の同定

コリアンダー (パクチー) の細菌病を日本で初めて見出し、コリアンダー斑点細菌病と命名するとともに病原体を *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola* と同定した。

#### (2) 病原性遺伝子の解析とその進化の解明

当研究室で発見した *Pantoea ananatis* 病原性菌株の特異的病原性関連遺伝子領域 PASVIL (*Pantoea ananatis* - specific virulent locus) について、同領域のほぼ全長を含む長大なクローンを作成することに成功し、それを非病原性株に導入することによって病原性が獲得されることをし、さらにそこに突然変異を導入することによって必要不可欠な遺伝子を特定することに成功した。

#### (3) 植物細菌病の生物防除とその基礎となる遺伝子の機能の解析

キウイフルーツかいよう病から分離されるかいよう病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* に類似した腐敗能を有する *Pseudomonas syringae* 群菌について系統解析を継続して行い、同グループには2つの主要な系統群が存在すること、それらを含めてかいよう病菌と同時に区別するためのマルチプレックス PCR 検定法を開発して、かいよう病診断防除へのより実用的な知見を得ることが出来た。

(4) バクテリオファージを使ったキャベツ黒腐病の防除について実用化試験を行い、非病原性 *Xanthomonas* 属菌との混用により効果が上がることを示すことができた。

#### 【 今後の展開 】

現在研究中のいくつかの新規細菌性病害についてさらに病原細菌の同定を行うとともに、過去に情報が不足していて分類学的な位置付けが不明確な植物病原細菌について遺伝子情報に基づいた同定を行う。*Patnoea ananatis* の PASVIL 領域を中心とした病原性関連遺伝子の解明を継続する。キウイフルーツから分離される *Pseudomonas syringae* 群細菌の同定と性状の解析を継続する。

#### 【 学術論文・著書 】

- 1) 澤田宏之・藤川貴史・北 宣裕・折原紀子・篠崎 毅・瀧川雄一 (2017) マタタビ類斑点細菌病 (新称) の原因菌である *Pseudomonas syringae* pv. *actinidifoliorum* の特徴. 日本植物病理学会報 83: 136-150.
- 2) Nagai, H., Miyake, N., Kato, S., Maekawa, D., Inoue, Y. and Takikawa, Y. (2017) Improved control of black rot of broccoli caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* using a bacteriophage and a nonpathogenic *Xanthomonas* sp. strain J. Gen. Plant Pathol. 83: 373-381.
- 3) 田中弘太・太田光輝・杉山知里・黒柳栄一・達 瑞枝・瀧川雄一 (2017) オリーブがんしゅ病の薬剤防除. 関東東山病害虫研究会報 64: 59-62

#### 【 国内学会発表件数 】

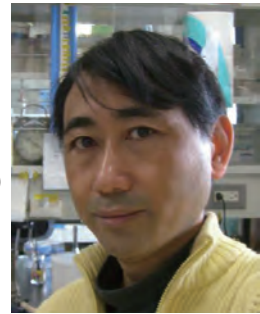
- ・ 日本植物病理学会など 6 件

#### 【 招待講演件数 】

- 1) インドネシア農学会招待講演

## 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: ushimaru.takashi@shizuoka.ac.jp  
homepage: <https://wpp.shizuoka.ac.jp/ushimaru-lab/>



### 【 研究室組織 】

教 員：丑丸 敬史

博士課程：D3 (2名)、D2 (1名)、D1 (1名)

修士課程：M2 (2名)、M1 (1名)

学 部 生：B4 (3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 Cdc14 を同定した。(Kondo et al. JMB 2018, in press)
- (2) ヌクレオファジーに必要な DNA と核小体の新規動体の発見と分子基盤の解析。(Mostofa et al. JCB 2018, in press)
- (3) 脂質合成系のオートファジーへの関与の分子基盤の解析。(Rahman et al. FEBS J, 2018, in press)
- (4) ミトコンドリア変性タンパク質ストレス応答に HSF が関与することを発見した。(Koike et al., Curr Genet 2018, in press)

### 【 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) Md. Golam Mostofa, Muhammad Arifur Rahman, Naoki Koike, Akter MST Yeasmin, Nafisa Islam, Talukdar Muhammad Waliullah, Shun Hosoyamada, Mitsugu Shimobayashi, Takehiko Kobayashi,

- Michael N. Hall and Takashi Ushimaru\* (2018) CLIP–cohibin promotes autophagic degradation of nucleolar proteins after TORC1 inactivation in yeast **J. Cell Biol.** (in press)
- 2) Akihiro Kondo, Md. Golam Mostofa, Katsuya Miyake, Mashu Terasawa, Nafisa Islam, Akter MST Yeasmin, Talukdar Muhammad Waliullah, Tomotake Kanki, and Takashi Ushimaru\* (2018) Cdc14 phosphatase promotes TORC1-regulated autophagy in yeast. **J Mol Cell** (in press) (IF: 4.632)
- 3) Muhammad Arifur Rahman, Md. Golam Mostofa, and Takashi Ushimaru\* (2018) The Nem1/Spo7–Pah1/lipin axis is required for autophagy induction after TORC1 inactivation. **FEBS J** 2018 Mar 31. doi: 10.1111/febs.14448. [Epub ahead of print]
- 4) Naoki Koike, Yuuki Hatano and Takashi Ushimaru\* (2018) Heat shock transcriptional factor mediates mitochondrial unfolded protein response. **Curr Gent** 2018 Feb 8. doi: 10.1007/s00294-018-0809-9. PMID:29423676

【 国内学会発表件数 】

- 3 件

## キノコの化学・科学

兼担・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（農学部特任助教）  
研 究 員：山下 起三子（学術研究員）  
博士課程：Arif Yanuar Ridwan（創造科技院 D1）、Irine Yunhafita Malya（創造科技院 D1）  
修士課程：M2（7名）、M1（6名）  
学 部：B4（4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）のイネにおける代謝産物を得、構造を明らかにした（論文 No. 10）。

#### (2) キノコからの新規機能性物質の精製，構造決定

食用の野生キノコであるショウゲンジ (*Cortinarius caperatus*)、アカヤマドリ (*Leccinum extremiorientale*) などから生物活性物質を発見した（論文 No. 1, 2, 4, 6）。

#### (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 を効率的に合成する微生物を発見した（論文 No. 9）。

### 【 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) 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, 441-444 (2017)
- 2) 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.*, 81, 1224-1226 (2017).

- 3) Hirata, Y., Nakazaki, A., Kawagishi, H., and Nishikawa, T., Biomimetic synthesis and structural revision of chaxine B and its analogues, *Org. Lett.*, 19, 560–563.
- 4) Ito, A., Wu, J., Ozawa, N., Choi, J-H., Hirai, H., and Kawagishi, H., Plant growth regulators from the edible mushroom *Leccinum extremiorientale*, *Mycoscience*, 58, 383-386 (2017).
- 5) Ito, A., Choi, J-H., Wu, J., Tanaka, H., Hirai, H., and Kawagishi, H., Plant growth inhibitors from the culture broth of fairy ring-forming fungus *Lepista sordida*, *Mycoscience*, 58, 387-390 (2017).
- 6) Ridwan, Y. A., Wu, J., Choi, J-H., Hirai, H., and Kawagishi, H., Bioactive compounds from the edible mushroom *Cortinarius caperatus*, *Mycoscience*, 59(2), 172-175 (2018).
- 7) Harada, E., D'Alessandro-Gabazza, C. N., Toda, M., Morizono, T., Totoki, T., Yasuma, T., Nishihama, K., Kobayashi, T. Sumiya, Kawagishi, H., and Gabazza, E. C., The medicinal mushroom *Grifola Gargal* ameliorates Allergic bronchial asthma. *J. Med. Food*, 21, 136-145 (2018)..
- 8) Motati, D. R., Kobori, H., Mori, T., Wu, J. Kawagishi, H., and Watkins, E., Gram-scale, stereoselective synthesis and biological evaluation of (+)-armillariol C, *J. Nat. Prod.*, 80, 2561–2565 (2017).
- 9) Choi, J-H., Moriuchia, R., Sugiurac, H., Kawagishi, H, and Dohra, H. High-quality draft genome sequence of *Burkholderia contaminans* CH-1, a Gram-negative bacterium that metabolizes 2-azahypoxanthine, a plant growth-regulating compound, *Genome Announce.*, 5, e01148-17 (2017).
- 10) Choi, J-H., Wu, J., Sawada, A., Takemura, H., Yogosawa, K., Hirai, H., Kondo, M., Sugimoto, K., Asakawa, T., Inai, M., Kan, T., and Kawagishi, H., *N*-Glucosides of fairy chemicals, 2-azahypoxanthine and 2-aza-8-oxohypoxanthine, in rice, *Org. Lett.*, 20, 312–314 (2018).

他 3 編

【 解説・特集 】

- 1) 橋本貴美子, 河岸洋和, キノコの毒, *CLINICAL NEUROSCIENCE*, 35, 1427–1431 (2017)
- 2) 河岸洋和, フェアリー化合物は植物ホルモンか?, *植物の生長調節*, 52, 78–84 (2017)
- 3) 河岸洋和, きのが産生する生体機能性物質に関する研究, *きのこ学会誌*, 25, 122–128 (2018)

【 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 27 件

【 招待講演件数 】

・ 日本農芸化学会、日本薬学会など国内 5 件

【 新聞報道等 】

- 1) 中日新聞 (2017. 10. 12)
- 2) 化学工業日報 (2017. 5. 24)

【 受賞・表彰 】

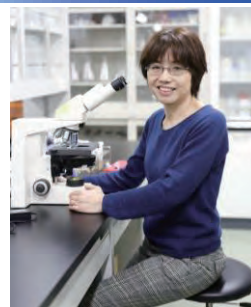
教員

- 1) 河岸洋和, 第 16 回グリーンサステイナブルケミストリー (GSC) 賞文部科学大臣賞 (公益社団法人新化学技術推進協会)「フェアリー化合物を用いた新規植物成長調節剤の創製」(2017. 7. 4)
- 2) 河岸洋和, 日本きのこ学会賞 (日本きのこ学会)「キノコが関わる機能性物質に関する研究」指導学生 (2017. 9. 8)
- 1) 伊藤彰将, 新規素材探索研究会第 16 回セミナー奨励賞 (2017. 6. 9)
- 2) 伊藤彰将, 日本きのこ学会第 21 回大会学生優秀発表賞 (2017. 9. 8)
- 3) 伊藤彰将, 平成 29 年度静岡大学グリーン科学技術研究所第 4 回シンポジウム修士課程 学生奨励特別賞 (2017. 11. 9)



## 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：M2 (2名)、M1 (2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を見出した。液胞構造の変化では、ESCRT の分子の変異株で液胞膜の陥入が起きず、また *ubi4* 変異株でも顕著な陥入構造が抑えられていた。これらの変異株では熱ストレスに対して脆弱になるので、液胞膜の陥入形成と熱耐性の関係が示唆された。また野生株においては陥入構造を電顕で解析すると、液胞内で数珠状につながった構造が観察された。

### 【 今後の展開 】

液胞構造の変化については、熱ストレス後の液胞膜の陥入を抑える分子を見出したので、これをさらに解析する。

### 【 学術論文・著書 】

- 1) Ishii A, Kawai M, Noda H, Kato H, Takeda K, Asakawa K, Ichikawa Y, Sasanami T, Tanaka K, and Kimura Y\*. Accelerated invagination of vacuoles as a stress response in chronically heat-stressed yeasts. *Scientific Reports*. 8: Article No. 2644, 2018

2) Pervin M, Unno K, Nakayama Y, Ikemoto H, Imai S, Iguchi K, Minami A, Kimura Y and Nakamura Y.  
Improvement in cognitive function with green soybean extract may be caused by increased neuritogenesis  
and BDNF expression. J. Food Processing and Technology. 8:1000695, 2017

【 国内学会発表件数 】

・ 5 件

## 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/~sbnshio/NS-Lab-J.html/>



### 【 研究室組織 】

教 員: 塩尻 信義

博士課程: D1 (2名)

修士課程: M2 (3名)、M1 (1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、細胞増殖因子、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 ペプチドのほかに各種細胞増殖因子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

アセトアミノフェンや 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine (DDC) 等の化学薬剤による肝障害後におこる再生において、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、いずれの再生系でもモザイク像はフラクタル次元をもち、これにより肝再生における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) Yagi, S. and \*Shiojiri, N. (2017) Identification of novel genetic markers for mouse yolk sacs by using microarray analyses. *Placenta*, 49, 68-71.

#### 【 国内学会発表件数 】

・ 肝細胞研究会、日本動物学会にて 5 件

## 生命環境倫理学の構築 ——生、死、環境をめぐる

兼担・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)

修士課程: M2 (1名)、M1 (2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 年度に刊行予定だった共編著(和書)と共著(洋書)が 2018 年度には刊行されるはずである。
- (2) 昨年度は科研費申請で落選してしまったので、次回はリベンジを図りたい。引き続き、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、バージョンアップして基盤研究(B)に応募したい。
- (3) 2018 年度中に単著を公刊すべく、執筆を進めている。

### 【 学術論文・著書 】

- 1) 竹之内裕文(共著)、北欧ケアの思想的基盤を掘り起こす、大阪出版社会、295 頁(担当:93-111 頁)、2018.2.16

### 【 国内学会発表件数・招待講演件数 】

- 1) 市民目線どのエンドオブライフケアの取り組み、日本エンドオブライフケア学会第 1 回学術集会「すべての人に質の高いエンドオブライフケアを」、一橋大学、2017. 9. 17
- 2) いのちに与る、生を受け継ぐ、仏教文化講座、築地本願寺、2018. 1. 27

### 【 科学研究費の採択状況(平成 29 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)

【 その他 】

- 1) 平成 29 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講師(東部地区:2017. 9. 1、中部地区 2017. 10. 13、西部地区 : 2018. 2. 9)
- 2) 日本生産性本部キャリアコンサルタント養成講座キャリアクロス会での講演「対話を通して生と死を探求する」(2017. 7. 25)
- 3) 東京農業大学公開講座「生命の終わりとはなんだろう?~ヒトらしく生きるために必要なこと~」、講師「死をどのように受け止めますか?」、東京農業大学 (2017. 6. 24)
- 4) 静岡大学農学部・公開シンポジウム「農と食をつなぐ—農学の新たなチャレンジ」、講演「農と食をつなぐ—農学コミュニティデザインという挑戦」、静岡大学 (2017. 8. 8)
- 5) 哲学カフェ主宰 (4 月、6 月、8 月、10 月、12 月、2 月)、哲学カフェ世話人研修会講師 (2017. 7. 17)
- 6) 死生学カフェ主宰 (5 月、7 月、9 月 11 月、1 月、3 月)、死生学カフェ研修会講師 (2017. 8. 11)
- 7) 市民たちの選挙カフェ主宰 (2017. 10. 9)
- 8) 平成 29 年度静岡県専任教員養成講習会、「倫理学」講師 (2017. 6. 19、2017. 7. 24、2017. 7. 31、2017. 8. 3、2017. 8. 17)
- 9) 対話療法士養成講座講師、さわ研究所、(2017. 9. 3、2018. 2. 28)
- 10) 「「死」から「生」を学ぶ対話カフェ」講師、北部生涯学習センター、(2017. 11. 25、2017. 12. 2、2017. 12. 9)

## 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: ワンラダ・クラングヌラック (創造科技院 D3、環境リーダー)、王 軍 (創造科技院 D3、私費)、宮寄 岳大 (創造科技院 D3、学振 DC1)、ムハマド モスタフィズール・ラハマン (創造科技院 D1、私費)、アブデュール・ナシエル (創造科技院 D1、私費)

修士課程: M2 (2名)、M1 (4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ー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 】

#### (2) 脊椎動物の排卵誘導機構に関する研究

我々は卵成熟・排卵誘導機構の研究材料としてキンギョも長年用いてきたが、実験に用いるキンギョの卵巣の発達状態を確認しにくいことが問題であった。約 5 年間の選抜により本年、透明金魚系統の樹立に至った。この成果を学術論文として公表し (学術論文 1)、その成果は多くの報道を受けた。

#### (6) マウステラトーマ原因遺伝子の究明

我々はこれまでに新規マウステラトーマ原因遺伝子候補領域が 18 番染色体上にあることを明らかにし、実験的テラトーマ遺伝子 *ett1* 領域と命名した。本年度、マウスゲノム領域全体を調べ、さらに 3 番と 7 番染色体にも原因遺伝子が存在することを見つけ、それぞれ *ett2*、*ett3* 領域と命名した (学術論文 3)。さらに *ett1* 領域に含まれる原因遺伝子候補の遺伝子ノックアウト、ノックインマウスの作出に成功したので今後、原因遺伝子として証明されることが期待される。

#### (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

我々はこれまでにモーリシャス国の浅海性のサンゴ礁海水中にステロイド膜受容体反応性の天然ホルモン活性物質が存在することを確認している。そこで、この活性物質の同定を目指

した研究を進めているが、本年度、最初の学術論文を公表した（学術論文2）。今後、活性物質の精製、構造決定が期待される。

#### 【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選択法としてゲノム支援の採択を受け、RNA-seqによる新たな排卵誘導遺伝子候補についても研究を開始している。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。透明金魚系統についてもさらなる透明化を進める。

#### 【学術論文・著書】

- 1) Jun Wang, Wanlada Klangnurak, Abdullah A. Naser, Toshinobu Tokumoto (2017) Generation of transparent goldfish. *AAAC Bioflux*, 10(3), 615-621. June
- 2) Toshinobu Tokumoto, Shinya Kodani, Takehiro Miyazaki, Yoshimi Suzuki, Beatriz Casareto, Theeshan Bahorun, and Ranjeet Bhagooli (2017) Detecting membrane progesterin receptor (mPR)-interacting compounds from coral seawater in Mauritius. *WIOMA (Western Indian Ocean Journal of Marine Science). Special Issue 1/2017*, 77-84. July
- 3) Takehiro Miyazaki, Manami Fukui, Emi Inagaki, Kenji Miki, Shuji Takabayashi, Hideki Katoh, Yukio Ohira, Motoko Noguchi, Toshinobu Tokumoto (2018) Identification of two additional genomic loci responsible for experimentally induced testicular teratoma 2 and 3 (*ett2* and *ett3*). *Zoological Science* in press.

#### 【解説・特集等】

- 1) 「体内の生殖器官が観察できる透明な金魚の作出に成功！」徳元俊伸 *academist Journal* (2017.7.24)

#### 【国際会議発表件数】

- 1) Toshinobu Tokumoto Coral reefs stay on new frontiers of natural compounds. in Workshop 「State and conservation of our coral reefs」 3 March, 2018 Ebene, Mauritius

#### 【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

#### 【招待講演件数】

- ・1件

#### 【新聞報道等】

- 1) マイナビニュース (2017. 7. 10) 静岡大、透明な金魚の作出に成功-臓器を観察可能
- 2) 日本経済新聞 (2017. 7. 15) 「静岡大、透明な金魚開発 発達など研究しやすく」
- 3) 中日新聞 (2017. 11. 7) 金魚透明化に成功 静岡大理学部・徳元教授ら
- 4) 静岡朝日テレビ (2017. 9. 6)
- 5) 静岡放送 (SBS) (2017. 10. 3)
- 6) 静岡第一テレビ (2018. 1. 16)

#### 【受賞・表彰】

- 1) 林栄一賞 (宮崎岳大 静岡実験動物研究会)



## 植物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](mailto: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：三村 尚毅 (創造科技学院 D2)

修士課程：M2 (3名)、M1 (3名)

### 【 研究目標 】

植物ホルモンの生合成・受容シグナル伝達・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・受容シグナル伝達・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) 植物ホルモン受容体アンタゴニストの創出と応用
- (2) 花成を制御する化合物の創出
- (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) アブシシン酸受容体アンタゴニストを活用した新規アブシシン酸シグナル伝達機構の解明

既存のアブシシン酸受容体 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。しかし、PANMe は環境条件もしくは植物種によっては ABA と同様の機能をもつことがわかった。そこで現在、PANMe を ABA ミミックとして受容する新規アブシシン酸受容体の探索を行っている。

#### (2) 花成を制御する化合物の創出

花成ホルモン(FT)の作用機構に着目し、FT の機能を正または負に制御する低分子化合物を、FT の X 線結晶構造に基づいて設計した。現在、合成を行っている。

### 【 今後の展開 】

引き続き、植物ホルモンの生合成・受容シグナル伝達・代謝不活性化に関わるタンパク質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) Jia, H.; Wang, S.; Lin, H.; Ampa, K.; Todoroki, Y.; Kondo, S.: Effects of abscisic acid agonist or antagonist applications on aroma volatiles and anthocyanin biosynthesis in grape berries, *J. Hort. Sci. Biotechnol.* in press.
- 2) 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**, *36*, 643-650.

【 特許等 】

- 1) US patent “Abscinazole” Todoroki, Y.; Kubojiri, Y. US9820487, Nov 21, 2017

【 国内学会発表件数 】

- ・ 4 件（植物化学調節学会）

## 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：Jian Xu (学術研究員)、Jaewook Lee、Ankan Dutta Chowdury (JSPS 外国人特別研究員)  
博士課程：Hamizah Suhaimi (創造科技学院 D2)、Robert Minkner (創造科技学院 D1)、Fahmida Nasrin (創造科技学院 D1)、Suparmin Ahmad (創造科技学院 D1)  
修士課程：M2 (4名)、M1 (4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ワクチンとしての応用を進める。また、分子ビーコンプローブや局在表面プラズモン共鳴現象による新規ウイルス検出系を開発する。

- (1) カイコを用いた高免疫誘導方ナノマテリアル「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) ナノ物質複合体によるウイルスの検出システムの開発

分子ビーコンを設計し Deng ウイルスやジカウイルスの検出に応用し、精度良く検出できた (J. Mater. Chem. B, 5, 3047–3058, 2017; Biosens. Bioelectron., 94, 513–522, 2017)。局在表面プラズモン共鳴現象を基盤としてインフルエンザウイルス、ノロウイルス粒子の検出に成功した (Biosens. Bioelectron., 89, 998–1005, 2017)。グレフェンハイブリッドな材料を用いることでプラズモン現象を電気的信号へに変換に成功し、ノロウイルス様粒子の検出を行った (ACS Applied Materials & Interfaces, 9, 27298–27304, 2017)。何れ、バイオセンサー関係の最も高い IF の雑誌に掲載した。

#### (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

カイコから糖タンパク質を発現する場合、昆虫型の糖鎖になり、医薬品として使用できない。そこで種々の遺伝子をカイコに導入してヒト型糖鎖の合成に挑戦した。Glycosyltransferase を発現することでカイコから発現した糖鎖はガラクトースの付加が可能であることを確認した (Sci. Rep., 7: 1409, 2017)。この結果は、カイコタンパク質の糖鎖のヒト化の重要な手かかりになる可能性を示した。

#### (3) カイコを用いた高免疫誘導方ナノマテリアル「ウイルス様粒子」の創成

ウイルス様粒子 (VLP) 上に各種抗原タンパク質 (牛のネオスポラ症のワクチン候補) を提示して精製を行った。現在動物実験を進めている。

### 【 今後の展開 】

上記の研究 (1) では、ウイルス検出のオンサイトかへの応用、研究 (2) については、クロマトカラムによる精製、(3) については動物実験の結果を参考にし、動物ワクチン設計を行う。

### 【 学術論文・著書 】

- 1) Takatsugu Miyazaki, Masaaki Ishizaki, Hideo Dohra, Sungjo Park, Andre Terzic, Tatsuya Kato, Tetsuya Kohsaka and Enoch Y. Park, Insulin-like peptide 3 expressed in the silkworm possesses intrinsic disulfide bonds and full biological activity, Sci. Rep., 7: 17339 (2017). DOI:10.1038/s41598-017-17707-1 (IF=4.259).

- 2) Jaewook Lee, Masahiro Morita, Kenshin Takemura and Enoch Y. Park, A multi-functional gold/iron-oxide nanoparticle-CNT hybrid nanomaterial as virus DNA sensing platform, *Biosens. Bioelectron.*, 102, 425–431 (2018). doi.org/10.1016/j.bios.2017.11.05 (IF=7.780).
- 3) Sungjo Park, D. Kent Arrell, Santiago Reyes Ramirez, Enoch Y. Park, and Andre Terzic, Conventional and unconventional secretory proteins expressed with silkworm bombyxin signal peptide display functional fidelity, *Sci. Rep.*, 7: 14499 (2017). DOI:10.1038/s41598-017-14833-8 (IF=4.259).
- 4) Jaewook Lee, Kenshin Takemura, Chika Nozaki Kato, Tetsuro Suzuki, Enoch Y. Park, Binary nanoparticle-graphene hybrid structure-based highly sensitive biosensing platform for norovirus-like particle detection, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9, 27298–27304 (2017). DOI: 10.1021/acsami.7b07012 (IF=7.504)
- 5) Tatsuya Kato, Natsumi Kako, Kotaro Kikuta, Takatsugu Miyazaki, Sachiko Kondo, Hirokazu Yagi, Koichi Kato and Enoch Y. Park, N-Glycan Modification of a Recombinant Protein via Coexpression of Human Glycosyltransferases in Silkworm Pupae, *Sci. Rep.*, 7: 1409 (2017). DOI:10.1038/s41598-017-01630-6 (IF=5.228)
- 6) Oluwasesan Adegoke, Enoch Y. Park, Bright luminescent optically engineered core/alloyed shell quantum dots: An ultrasensitive signal transducer for dengue virus RNA via localized surface plasmon resonance-induced hairpin hybridization, *Journal of Mater. Chem. B*, 5, 3047–3058 (2017). DOI: 10.1039/C7TB00388A (IF 4.872)
- 7) Oluwasesan Adegoke, Masahiro Morita, Tatsuya Kato, Masahito Ito, Tetsuro Suzuki, Enoch Y. Park, Localized surface plasmon resonance-mediated fluorescence signals in plasmonic nanoparticle-quantum dot hybrids for ultrasensitive Zika virus RNA detection via hairpin hybridization assays, *Biosens. Bioelectron.*, 94, 513–522 (2017). doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.046 (IF 7.476)
- 8) Syed Rahin Ahmed, Jeonghyo Kim, Tran Van Tan, Tetsuro Suzuki, Jaebeom Lee, and Enoch Y. Park, In situ self-assembly of gold nanoparticles on hydrophilic and hydrophobic substrates for virus-sensing, *Sci. Rep.*, 7:44495 (2017). doi:10.1038/srep44495 (IF=5.228)
- 9) Kenshin Takemura, Oluwasesan Adegoke, Naoto Takahashi, Tatsuya Kato, Tian-Cheng Li, Noritoshi Kitamoto, Tomoyuki Tanaka, Tetsuro Suzuki, and Enoch Y. Park, Versatility of a localized surface plasmon resonance-based gold nanoparticle-alloyed quantum dot nanobiosensor for immunofluorescence detection of viruses, *Biosens. Bioelectron.*, 89, 998–1005 (2017). doi.org/10.1016/j.bios.2016.10.045 (IF 7.476).
- 10) Syed Rahin Ahmed, Kenshin Takemura, Tian-Cheng Li, Noritoshi Kitamoto, Tomoyuki Tanaka, Tetsuro Suzuki, and Enoch Y. Park, Size-controlled preparation of peroxidase-like graphene-gold nanoparticle hybrids for the visible detection of norovirus-like particles, *Biosens. Bioelectron.*, 87, 558–565 (2017). doi.org/10.1016/j.bios.2016.08.101 (IF 7.476).

他 9 編

【 特許等 】

・ 登録 1 件

【 国際会議発表件数 】

・ 2 8 件

【 国内学会発表件数 】

・ 2 1 件

【 招待講演件数 】

・ 4 件

【 新聞報道等 】

・ 1 件

【 受賞・表彰 】

・ 3 件

【 主催・共催シンポジウム 】

1) グリーン科学技術研究所セミナー (2017. 7) [役割] 責任者 [開催場所] 農学総合棟 504 号室  
他 3 件

## 植物における環境ストレスタンパク質

兼任・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  
博士課程：D1 (1名)  
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

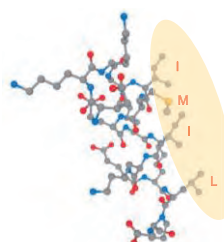
### 【 主な研究成果 】

#### (1) 植物の低温ストレスタンパク質の機能研究

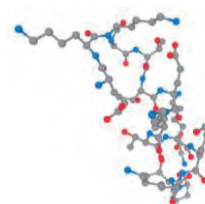
植物は、過酷な環境に耐えるため、LEA タンパク質と呼ばれる一連のタンパク質を合成します。LEA タンパク質は、最近では、植物のみならず、極限環境で生存するセンチュウやカムムシなどにも見いだされ、生物のストレス耐性を担う重要なタンパク質と目されています。しかし、LEA タンパク質の機能は推測の域を出ておらず、科学的データの蓄積が必要です。私たちは、LEA タンパク質の中でも、植物に普遍的に存在し、発現量が多いデハイドリンの機能研究を進めてきました。

本グループでは、デハイドリンが、低温感受性モデル酵素（ここでは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。当研究室では、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 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。シロイヌナズナに含まれる 10 個のデハイドリン遺伝子の K-segment に加え、様々な植物由来の 200 以上のデハイドリン配列から割出した典型的な K-segment を用意しました。それらは、配列にバリエーションがあるにもかかわらず、乳酸脱水素酵素の凍結失活保護作用活性に有意差はなく、ある決まった配列の法則性が、活性発現に関与していることが示唆されました。そこで、K-segment の 15 アミノ酸残基を様々なに変更したところ、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変更すると活性が低下し、2 つ以上を変更すると活性が完全に消失することが判明しました。そこでこれら 4 個の疎水性アミノ酸のみを位置と共に温存し、それ以外の 11 アミノ酸を全てグリシン置換しても、十分な活性を有することから、この 4 個の疎水性アミノ酸の存在が発現に重要であることが判明しました。

一般的に、分子シャペロンである熱ショックタンパク質は、熱変性タンパク質と相互作用しながら保護活性を示すことが知られています。しかし、私たちの低温実験では、K-segment は乳酸脱水素酵素と相互作用することはありません。恐らく、タンパク質の低温障害と K-segment による緩和には、独特なプロセスがあると思われます。



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)

## (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、様々なクラス熱ショックタンパク質（small HSP、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に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何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。インビトロ実験により、サンギナリンがHSP90のゲルダナマイシン結合部位においてゲルダナマイシンと競合する可能性が示唆されました。つまり、サンギナリンはゲルダナマイシンと作用点を共有している可能性が示唆されました。以上、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, Takumi Matsubara, Ikuo Takahashi, Hiroki Murano (2018) Isobutyl isothiocyanate is a potent heat tolerance enhancer for *Arabidopsis*. *Environmental Control in Biology*, in press.
- 2) Masakazu Hara, Naoya Yamauchi, Yoshiki Sumita (2017) Monoterpenes induce the heat shock response in *Arabidopsis*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, in press.
- 3) Markus Nachbar, Mona Mozafari, Friederike Krull, Kai-Jorrit Maul, Lutz Preu, Masakazu Hara, Hermann Wätzig (2017) Metal ion - dehydrin interactions investigated by affinity capillary electrophoresis and computer models. *Journal of Plant Physiology*, 216:219-228.
- 4) Hiroki Murano, Takumi Matsubara, Ikuo Takahashi, Masakazu Hara (2017) A purine-type heat shock protein 90 inhibitor promotes the heat shock response in *Arabidopsis*. *Plant Biotechnology Reports* 11: 107-113.
- 5) 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

### 【 特許等 】

- ・ 2件

### 【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本農芸化学会など 計4件

### 【 招待講演件数 】

- ・ 静岡大学超領域研究推進本部第11回超領域研究会ほか2件

## 白色腐朽菌を用いた木質バイオリファイナリー 及び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 (5名)、M1 (3名)

学 部 生：7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) 高活性リグニン分解菌の Mn トランスポーターについて

Nramp ファミリーの Mn 高親和性トランスポーター SMF の白色腐朽菌におけるその発現及び機能に関しては未知であった。本研究では、高活性リグニン分解菌 *Phanerochaete sordida* YK-624 cDNA ライブラリーからの *smf2* ホモログである *Psmnt* を見出し、その過剰発現株を用いて機能を調査した。*Psmnt* の過剰発現により、細胞内への Mn 取り込みおよび Mn 依存性酵素である MnP の活性が有意に増加した。また、MnP 活性の改善は Mn 濃度が低いほど顕著であった。これらの結果から、*Psmnt* は低 Mn 濃度条件下で顕著な Mn 取り込み活性を示す高親和性の Mn トランスポーターであり、その機能により低 Mn 濃度条件下での Mn 依存性酵素の発現を制御していることが示唆された (FEMS Microbiol. Lett., in press)。

#### (2) 好気的水素産生白色腐朽菌の水素産生メカニズムの解析

木質バイオマスを原料に、好気的に水素を産生可能な白色腐朽菌 *Trametes versicolor* K-41 株の水素産生経路の解析を行った。CaCO<sub>3</sub> 添加によってシュウ酸産生量を増加させた際の水素産生及びシュウ酸代謝系への影響を調査したところ、水素産生量が有意に増加すると共にシュウ酸デカルボキシラーゼ (OXDC) 及びギ酸デヒドロゲナーゼ (FDH) 活性も向上していた。また、ギ酸デヒドロゲナーゼ遺伝子及びヒドロゲナーゼ遺伝子発現量の増加も確認された。以上の結果から、K-41 株の水素産生において、シュウ酸代謝系が関与することが示唆された。また、CaCO<sub>3</sub> 添加時に菌体内に顕著なギ酸蓄積が認められたと同時に、OXDC と比較して FDH 比活性が極めて低かったことから、FDH が水素産生の律速となっている可能性が示された。

### 【 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) T. Mori, Y. Nagai, H. Kawagishi, H. Hirai (2018) Functional characterization of the manganese transporter *smf2* homologue gene, *Psmnt*, of *Phanerochaete sordida* YK-624 via homologous overexpression, *FEMS Microbiol. Lett.*, in press.
- 2) J-H. Choi, J. Wu, A. Sawada, S. Takeda, H. Takemura, K. Yogosawa, H. Hirai, M. Kondo, K. Sugimoto, T. Asakawa, M. Inai, T. Kan, H. Kawagishi (2018) *N*-Glucosides of Fairy Chemicals, 2-Azahypoxanthine and 2-Aza-8-oxohypoxanthine, in Rice, *Organic Letters*, 20, 312-314.
- 3) Y. A. Ridwan, J. Wu, J-H. Choi, H. Hirai, H. Kawagishi (2018) Bioactive compounds from the edible mushroom *Cortinarius caperatus*, *Mycoscience*, 59, 172-175.
- 4) A. Itoh, J. Wu, N. Ozawa, J-H. Choi, H. Hirai, H. Kawagishi (2017) Plant growth regulators from the edible mushroom *Leccinum extremiorientale*, *Mycoscience*, 58, 383-386.
- 5) A. Itoh, J-H. Choi, J. Wu, T. Tanaka, H. Hirai, H. Kawagishi (2017) Plant growth inhibitors from the culture broth of fairy ring-forming fungus *Lepista sordida*, *Mycoscience*, 58, 387-390.
- 6) 平井浩文 他 (2017) *きのこの生理機能と応用開発の展望*、S&T 出版、126～135 頁、ISBN 978-4-907002-66-4.

### 【 解説・特集等 】

- 1) 平井浩文 (2018) 白色腐朽菌を用いたネオニコチノイド系殺虫剤の分解・無毒化、アグリバイオ、2、53-55.

### 【 国際会議発表件数 】

- 1) J. Wang, Y. Tanaka, T. Mori, H. Kawagishi, H. Hirai: Degradation of neonicotinoid insecticides by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624, The 14th International Symposium on Persistent Toxic Substances, 2017, Nagoya (Japan).

### 【 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 29 件

### 【 受賞・表彰 】

- 1) 高橋沙綾、シーズ&ニーズビジネスマッチング研究発表会奨励賞 (2017. 9) 「白色腐朽菌による次世代エネルギー水素産生に関する研究」



## プラスチド分化のメカニズムの解明

兼担・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) ウイラック チャカ  
タヤポン (創造科技院・バイオサイエンス D1)

修士課程：M2 (5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) サトイモの疫病防除と遺伝資源保存法開発と系統整備

### 【 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：浜松ホトニクスのコンソシウム形成)。葉緑体の翻訳因子の共同研究実施。

#### (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体を筑波大学の特定網室に移動栽培し、種子収集を試みている (形質転換植物デザイン研究拠点、共同利用・共同研究)。

#### (4) フェア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) サトイモの疫病蔓延防除

産地で猛威を振るうサトイモ疫病防除、DNA マーカー等の育種基盤整備計画により、科研費基盤 B 採択。多くの研究機関と連携し研究拡大中。

### 【 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サトイモ遺伝資源保存や病害の問題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) Fujino N, Tenma N, Waki T, Ito K, Komatsuzaki Y, Sugiyama K, Yamazaki T, Yoshida S, Hatayama M, Yamashita S, Tanaka Y, Motohashi R, Denessiouk K, Takahashi S, Nakayama T. Physical interactions among flavonoid enzymes in snapdragon and torenia reveal the diversity in the flavonoid metabolon organization of different plant species. *Plant J.* (2018) 94(2):372-392.

**【 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 7 件

## 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: morita.tatsuya@shizuoka.ac.jp  
home page: [http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/laboratory/morita\\_t/index.htm](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（3名）、M1（1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
- (3) AOAC 公定法による食物繊維定量値の検証を目的とした難消化性デキストリン類の消化管内動態に関する研究

### 【 主な研究成果 】

#### AOAC 公定法による食物繊維定量値の検証を目的とした難消化性デキストリン類の消化管内動態に関する研究

本研究では、構成糖をグルコースとする人工合成食物繊維（難消化性デキストリン類、DRDDs）の消化管内動態を詳細に検討することで、長年、食物繊維の公式定量法として世界的に用いられてきた AOAC 公定法の妥当性を検証し、以下の知見を得たものである。

- (1) DRDDs として難消化性デキストリン (RM)、ポリデキストロース (PD) および難消化性グルカン (RG) を用い、これらを外科的に回腸末端と直腸を吻合した手術ラットに摂取させ *in vivo* 小腸消化抵抗性を測定したところ、66% (RM)、61% (PD) および 67% (RG) の値を示した。一方、AOAC 公定法による DRDDs の食物繊維定量値（小腸消化抵抗性に相当）は 92% (RM)、80% (PD) および 82% (RG) であり、手術ラットでの *in vivo* 小腸消化抵抗性と大きく乖離した。
- (2) 豚膵由来の  $\alpha$ -アミラーゼとラット小腸粘膜から調製した刷子縁膜小胞を用いた人工消化試験により、DRDDs の *in vitro* 小腸消化抵抗性を測定したところ、70% (RM)、67% (PD) および 69% (RG) を示し、これらの値は手術ラットでの *in vivo* 小腸消化抵抗性と近似していた。AOAC 公定法では、澱粉の分解を目的に耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼと細菌由来アミログルコシダーゼを使用するが、このアミログルコシダーゼが小腸膜消化を反映していないことは明らかである。
- (3) 正常ラットを用いて DRDDs の糞便排泄率（全消化管消化抵抗性）を測定したところ、13% (RM)、33% (PD) および 29% (RG) であった。これらに加え、(1) で得られた DRDDs の小腸消

化抵抗値から、DRDDs の消化管内動態を推定した。これに基づき、DRDDs の小腸消化と大腸発酵に由来するカロリーを合算すると 2.4 kcal/g (RM) および 2.1 kcal/g (PD, RG) となった。本邦では DRDDs のカロリーは 1 kcal/g と表示されている。

(4) Cr-EDTA の糞中累積排泄率から、DRDDs はラットにおいて排便促進効果を示さないと判定されたが、この結果は (1) ~ (3) で明らかにした DRDDs の消化管内動態と矛盾するものではなかった。

以上、本研究は、現行の AOAC 公定法が膜消化の概念を欠いており、この重大な欠点が DRDDs の食物繊維定量値を過剰見積もりする一方、カロリー値を過小評価していることを明らかにしたもので、その公衆栄養上の意義は大きいと考えている。

#### 【 学術論文・著書 】

- 1) Genda T, Sasaki Y, Kondo T, Hino S, Nishimura N, Tsukahara T, Sonoyama K, Morita T: Fructo-oligosaccharide-Induced Transient Increases in Cecal Immunoglobulin A Concentrations in Rats Are Associated with Mucosal Inflammation in Response to Increased Gut Permeability, *J. Nutr*, 147:1900–1908 (2017)
- 2) 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*, 147:330–336 (2017)

#### 【 国際会議発表件数 】

- ・ 3 件

#### 【 国内学会発表件数 】

- ・ 16 件

#### 【 招待講演件数 】

- ・ 国内 2 件

#### 【 受賞・表彰 】

- 1) 源田知美 (学生優秀発表賞) 「水溶性酢酸化セルロースを用いた遠位結腸への短鎖脂肪酸送達システムの確立とその生理的効果の探索」第 63 回日本栄養食糧学会 (岡山県立大学, 岡山) 2017. 5. 21

## 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 LEVADNYI (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)、Md. Moniruzzaman (学術研究員)、Sabrina Sharmin (学術研究員)

博士課程：(8名) Sabrina Sharmin (創造 D3-学術研究員)、Farliza Parvez (創造 D3)、Moynul Hasan (創造 D2-D3)、Md. Mizanur Rahman Moghal (創造 D1-D2)、Md. Mamun Or Rashid (創造 D1)、Madhabi Lata Shuma (創造 D1)、Samiron Kumar Saha (創造 D1)、Farzana Hossain (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( $L_{\alpha}$ 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) 抗菌ペプチド・マガニン2(mag)のポア形成の研究

抗菌ペプチド・magの脂質膜中のポア(小さい孔)形成のメカニズムを解明するために、外側の単分子膜と内側の単分子膜が非対称な脂質組成を持つGUVとmagの相互作用を単一GUV法により研究した。まず、内側の単分子膜だけがlysoPCを持つ非対称なDOPG/DOPC-GUVを構築する方法を新たに開発し、内側の単分子膜のパッキングが外側の単分子膜より大きいことを実験的に示した。その非対称なパッキングを持つGUV中のmagのポア形成の速度定数 $k_p$ は、lysoPCの濃

度が高くなるにつれて（非対称性が增大するにつれて）、減少した。一方、magのポア形成の定量的な理論モデルを構築し、それが $k_p$ の膜表面濃度依存性の実験結果を定量的に説明することができることを示した。また、この理論モデルは、 $k_p$ のlysoPC濃度依存性も定量的に説明することができた。さらに、上記の非対称の脂質組成のGUVを用いて、脂質分子の2枚の単分子膜間の移動を定量的に測定する方法を開発した。(Langmuir, 34, 3349-3362, 2018)。

## (2) 抗菌ペプチド・ラクtoferricin B (4-9) (LfcinB (4-9)) の膜透過の研究

抗菌ペプチド・LfcinB (4-9) の抗菌活性のメカニズムを解明するために、LfcinB (4-9) と GUV や大腸菌との相互作用を研究した。LfcinB (4-9) が大腸菌と相互作用したときに、SYTOX Green の大腸菌細胞質への侵入は検出されなかった。また GUV との相互作用において、ポア形成が観測されなかった。これらのことは、LfcinB (4-9) が大腸菌の細胞膜にダメージを与えないことを示している。一方、LfcinB (4-9) 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 AF647 の漏れを誘起せずにリサミンローダミン B レッド (Rh) をラベルした LfcinB (4-9) (Rh-LfcinB (4-9)) は GUV 内腔に侵入した。また、カルセインを細胞質に含ませた大腸菌との相互作用では、カルセインの漏れを起こさずに Rh-LfcinB (4-9) は大腸菌の細胞質に侵入した。LfcinB (4-9) や Rh-LfcinB (4-9) が DNA に結合することが蛍光分光法からわかった。以上の結果から LfcinB (4-9) や Rh-LfcinB (4-9) の抗菌活性は細胞膜の破壊ではなく、膜を透過して細胞質内の DNA 等に結合することによると考えられる。(Biochemistry, 56, 4419-4431, 2017)。

### 【 学術論文・著書 】

- 1) M. Z. Islam, S. Sharmin, M. Moniruzzaman, and M. Yamazaki, Elementary Processes for the Entry of Cell-Penetrating Peptides into Lipid Bilayer Vesicles and Bacterial Cells, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102, 3879-3892, 2018.
- 2) M. Hasan, M. A. S. Karal, V. Levadnyy, and M. Yamazaki, Mechanism of initial stage of pore formation induced by antimicrobial peptide magainin 2, *Langmuir*, 34, 3349-3362, 2018.
- 3) M. M. R. Moghal, M. Z. Islam, S. Sharmin, V. Levadnyy, M. Moniruzzaman, and M. Yamazaki, Continuous detection of entry of cell-penetrating peptide transportan 10 into single vesicles, *Chem. Phys. Lipids*, 212, 120-129, 2018.
- 4) T. Oka, M. Hasan, M. Z. Islam, M. Moniruzzaman, and M. Yamazaki, Low-pH-Induced Lamellar to Bicontinuous Primitive Cubic Phase Transition in Dioleoylphosphatidylserine/Monoolein, *Langmuir*, 33, 12487-12496, 2017.
- 5) M. Moniruzzaman, M. Z. Islam, S. Sharmin, H. Dohra, and M. Yamazaki, Entry of a Six-Residue Antimicrobial Peptide Derived from Lactoferricin B into Single Vesicles and *Escherichia coli* Cells without Damaging their Membranes, *Biochemistry*, 56, 4419-4431, 2017.

### 【 国際会議発表件数 】

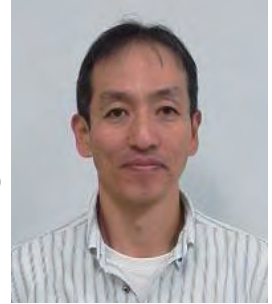
- ・ 19th International Biophysics (IUPAB) Congress, Edinburgh, UK (16-20 July, 2017) など 8 件

### 【 国内学会発表件数 】

- ・ 生物物理学会など 7 件

## ゲノム動態制御機構の解明

兼担・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



### 【 研究室組織 】

教 員 : 山本 歩

修士課程 : M2 (2名)、M1 (1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減数分裂期のセントロメアの中心体からの脱離を促進し、この制御が紡錘体形成に重要な働きを果たすことを見出しているが、さらにこの制御が減数分裂期における核の融合に重要な働きを有することを見出した (Current Genet.63: 1037-1052 (2017))。

#### (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を分裂酵母で解析する実験系を構築し、これを用いて動原体の融合には減数分裂型コヒーシン分子およびDNA複製制御因子であるMrc1分子に夜セントロメアコアの結合が必要であることを見出した (国際会議「SMC proteins: Chromosomal Organizers from Bacteria to Human」、山本ら、第69回日本細胞生物学会大会、第50回酵母遺伝学フォーラム研究報告会・第40回日本分子生物学会年会、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を解消し同一極との結合を促進する働きがあるが、これは染色体の紡錘体極間の往復運動に依存する可能性を見出した (第9回国際分裂酵母会議、山本ら; 第50回酵母遺伝学フォーラム研究報告会・第40回日本分子生物学会年会、西ら; 第35回染色体ワークショップ/第16回核ダイナミクス研究会、山本ら; 第19回静岡ライフサイエンス

シンポジウム、脇谷ら)。

#### (4) エネルギー代謝を介した染色体制御機構

これまで分裂酵母を用い、定常期という休止期において染色体が凝縮し核が小さくなることを見だし、さらに栄養飢餓状態で長期に生存することを見だしているが、この状態への移行に細胞周期の主制御因子であるサイクリン依存性キナーゼが関与することを見出した(第50回酵母遺伝学フォーラム研究報告会・第40回日本分子生物学会年会、平岡ら、第19回静岡ライフサイエンスシンポジウム、清田ら)。

#### 【今後の展開】

融合に必要な因子を体細胞分裂で発現し、動原体の融合が起こるかを検証し、融合制御機構を明らかにする。また、キアズマを介した染色体の往復運動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、休止期におけるサイクリン依存性キナーゼの働きをより詳細に調べ、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す。

#### 【学術論文・著書】

- 1) Position matters: multiple functions of LINC-dependent chromosome positioning during meiosis. (2017) Kazuhiro Katsumata, Eriko Nishi, Sadia Afrin, Kaoru Narusawa, and Ayumu Yamamoto. *Curr. Genet.* 63: 1037-1052.
- 2) Organic dye adsorption by amphiphilic tris-urea supramolecular hydrogel. (2017) Juri Takeshita, Yuki Hasegawa, Kazushige Yanai, Ayumu Yamamoto, Ayumi Ishii, aMiki Hasegawa, and Masamichi Yamanaka. *Chem. Asian J.* 12: 2029-2032.

#### 【国際会議発表件数】

・ 2件

#### 【国内学会発表件数】

・ 日本細胞生物学会大会、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9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: <https://wvp.shizuoka.ac.jp/plant-lipid/>



### 【 研究室組織 】

教 員：粟井 光一郎

博士課程：D1 (1名)

修士課程：M2 (2名)、M1 (4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) 光合成生物糖脂質合成経路の系統学的解析

植物の糖脂質合成では、その基質となるジアシルグリセロールの合成経路が2つあり、葉緑体で合成されるものを原核型経路、小胞体を経由して合成されるものを真核型経路と呼んでいる。葉緑体の原核型経路で合成される糖脂質は、グリセロールの *sn*-2 位に炭素数 16 の脂肪酸を持ち、この分子構造が葉緑体と共通祖先をもつと考えられている原核光合成生物のシアノバクテリアの糖脂質と共通していることが経路の名の由来となっていた。しかし、実際のジアシルグリセロール合成経路は、葉緑体とシアノバクテリアで全く異なり、用いられる酵素も、さらに基質も異なることが明らかとなっていた。本研究ではそのような違いを系統学的に解析することで、進化上全く異なることを明確にし、葉緑体の糖脂質合成経路を原核型経路と呼ぶのではなく、色素体型経路と呼ぶことを提唱した。(Sato and Awai (2017) *Genome Biol Evol*)

#### (2) チラコイド膜糖脂質

光合成膜であるチラコイド膜は、ガラクトースを1分子もしくは2分子持つ糖脂質、モノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG) およびジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG) がおよそ8割を占めるが、なぜチラコイド膜に糖脂質、特にガラクト脂質が多く含まれているのか明らかではなかった。本論文では、これまでに MGDG や DGDG とは異なる糖脂質をチラコイド膜に蓄積させた場合にどのようなことが起こるのか、またどのような脂質であればガラクト脂質の機能を代替できるのかについてまとめ、今後の解析の方向性を示した。(Apdila and Awai (2017) *Genes Genet Syst*)

#### (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、まずユーグレナの膜脂質解析手法を確立した。その方法を用いて膜脂質組成を網羅的に解析し、ユーグレナが培養条件によって細胞内構造（オルガネラ）の発達を変化させること、またそれに伴って脂質組成の変化が起こることを明らかにした。(Shibata et al (2018) Front Plant Sci)

#### 【 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) **Shibata S, Arimura SI, Ishikawa T and Awai K** (2018) Alterations of membrane lipid content correlated with chloroplasts and mitochondria development in *Euglena gracilis*. Front Plant Sci. **9**: 370.
- 2) **Sato N and Awai K** (2017) “Prokaryotic pathway” is not prokaryotic: Non-cyanobacterial origin of the chloroplast lipid biosynthetic pathway revealed by comprehensive phylogenomic analysis. Genome Biol Evol. **9**: 3162-3178.
- 3) **Apdila ET and Awai K** (2017) Configuration of the sugar head of glycolipids in thylakoid membranes. Genes Genet. Syst. **92**: 235-242.

#### 【 国際会議発表件数 】

- ・ 7th Asian Symposium on Plant Lipids (ASPL2017), Taiwan, 2017.11.29-12.2 など 7 件

#### 【 国内学会発表件数 】

- ・ 第 59 回日本植物生理学会など 7 件

#### 【 招待講演件数 】

- ・ Ma Chung International Conference on Chromatography, Indonesia, 2017.10.9-11 など 4 件

## 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

兼任・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 (国際連携推進機構)

研 究 員: JaeWook Lee (JSPS 海外特別研究員)、Ankan Dutta Chowdhury (JSPS 海外特別研究員)、Jian Xu (博士研究員)

博士課程: Hamizah Suhaimi (創科技院 D2、私費)、Robert Minkner (創科技院 D2、私費)、Suparmin Ahmad (創科技院 D1、私費)、Fahmida Nasrin (創科技院 D1、私費)

修士課程: M2 (5名)、M1 (6名)

学 部 生: B4 (7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

カイコ-BmNPV バクミド発現形を用いて、ヒト  $\beta$ -1,2-N-acetylglucosaminyltransferase II やブタ Insulin-like peptide 3 (INSL3) を発現させて、組換えタンパク質の特徴を決定した (J. Biosci. Bioeng. 印刷中; Sci Rep. 7(1) 17339, 2017)。特に INSL3 については、分子内に複数のジスルフィド結合を有することが知られており、カイコから精製した組換え体もブタ由来のものと同様のジスルフィド結合を有していることが明らかとなった。

#### (2) (3) BmNPV ディスプレイ法の応用

前年度に構築した哺乳動物細胞に外来遺伝子を導入可能な BmNPV を使用して、ウシに感染する原虫 *Neospora caninum* 由来抗原タンパク質遺伝子を哺乳動物細胞に導入可能な組換え BmNPV を構築した。この組換え BmNPV をマウスに注射することで、抗原タンパク質に対する抗体産生が認められた (J. Biosci. Bioeng. 124(6) 606-610, 2017)。

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

*C. militaris* は静置培養ではコルジセピンを生産するが、振とう培養では生産しない。静置培養と振とう培養での *C. militaris* の遺伝子発現の違いを確認するために、RNA-seq 解析を行った。静置培養に特異的に発現している遺伝子を決定し、静置培養でのコルジセピン生産の解析を行った (PLoS One 12(11) e0187052, 2017)。

#### 【 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) Miyazaki T, **Kato T**, Park EY. “Heterologous expression, purification and characterization of human  $\beta$ -1,2-*N*-acetylglucosaminyltransferase II using a silkworm-based *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus bacmid expression system.” J. Biosci. Bioeng. 印刷中
- 2) Uchiyama H, Iwai A, Dohra H, Ohnishi T, **Kato T**, Park EY. “The effects of gene disruption of Kre6-like proteins on the phenotype of  $\beta$ -glucan-producing *Aureobasidium pullulans*.” Appl. Microbiol. Biotechnol. 印刷中
- 3) Miyazaki T, Ishizaki M, Dohra H, Park S, Terzic A, **Kato T**, Kohsaka T, Park EY. “Insulin-like peptide 3 expressed in the silkworm possesses intrinsic disulfide bonds and full biological activity.” Sci Rep. 7(1) 17339 (2017)
- 4) **Kato T**, Kikuta K, Kanematsu A, Kondo S, Yagi H, Kato K, Park EY “Alteration of a recombinant protein N-glycan structure in silkworms by partial suppression of *N*-acetylglucosaminidase gene expression.” Biotechnol. Lett. 39(9) 1299-1308 (2017)
- 5) **Kato T**, Itagaki K, Yoshimoto M, Hiramatsu R, Suhaimi H, Kohsaka T, Park EY. “Transduction of a *Neospora caninum* antigen gene into mammalian cells using a modified *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus for antibody production.” J. Biosci. Bioeng. 124(6) 606-610 (2017)
- 6) Suparmin A, **Kato T**, Dohra H, Park EY. “Insight into cordycepin biosynthesis of *Cordyceps militaris*: Comparison between a liquid surface culture and a submerged culture through transcriptomic analysis.” PLoS One 12(11) e0187052 (2017)

#### 【 国内学会発表件数 】

・ 日本生物工学会、日本農芸化学会で 1 2 件

#### 【 招待講演件数 】

- 1) 2017 年度日本生物工学会中部支部例会 “改良型カイコ核多角体病ウイルスの構築と応用”

## 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)  
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: 天然物有機化学、応用微生物学  
e-mail address: kodani.shinya@shizuoka.ac.jp  
homepage: <http://www.agr.shizuoka.ac.jp/abc/kodani/index.html>



### 【 研究室組織 】

教 員 : 小谷 真也  
博士課程 : D1 (1名)  
修士課程 : M2 (2名)、M1 (3名)  
学 部 生 : B4 (3名)  
JSPS 外国人特別研究員 : 1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) 新規抗菌ペプチド curacomycin 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、放線菌 *Streptomyces curacoi* の新規抗菌ペプチド curacomycin 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、ゲノム情報から curacomycin 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きたい。

### 【 学術論文・著書 】

- 1) I. Kawewan, H. Komaki, H. Hemmi, S. Kodani (\*責任著者), "Isolation and structure determination of a new thiopeptide globimycin from *Streptomyces globisporus* subspecies *globisporus* based on genome

- mining”, **Tetrahedron letters**, 59 (4), 409-414, 2018 査読有
- 2) H. Dohra, Y. Miyake, S. Kodani\*(**\*責任著者**), “Draft genome sequence of *Streptomyces olivochromogenes* NBRC 3561, bioactive peptide-producing actinobacterium”, **Genome Announcements**, 5 (39), e01048-17, 2017 査読有
  - 3) I. Kaweewan, H. Komaki, H. Hemmi, S. Kodani\*(**\*責任著者**), “Isolation and structure determination of new antibacterial peptide curacomycin based on genome mining”, **Asian Journal of Organic Chemistry**, 6 (12), 1838–1844, 2017 査読有
  - 4) M. Kuroha, H. Hemmi, M. Ohnishi-Kameyama, S. Kodani\*(**\*責任著者**), “Isolation and structure determination of new lasso peptide subterisin from *Sphingomonas subterranean*”, **Tetrahedron letters**, 58 (35), 3429-3432, 2017 査読有
  - 5) S. Sugai, M. Ohnishi-Kameyama, S. Kodani\*(**\*責任著者**), “Isolation of new lasso peptide cattlecin from *Streptomyces cattleya* based on genome mining”, **Applied Biological Chemistry**, 60 (2), 163–167, 2017 査読有
  - 6) T. Shiroyama, C. E. Beatriz, Y. Suzuki, S. Kodani\*(**\*責任著者**), “Isolation of antagonistic bacteria associated with the stony coral *Montipora digitata* in Okinawa, Japan”, **Galaxea, Journal of Coral Reef Studies**, 19 (1), 7-13, 2017 査読有
  - 7) S. Kodani\*, Y. Inoue, M. Suzuki, H. Dohra, T. Suzuki, H. Hemmi, and M. Ohnishi-Kameyama, “Sphaericin, a new lasso peptide from a rare actinomycete *Planomonospora sphaerica*”, **European Journal of Organic Chemistry**, 2017 (8), 1151–1237, 2017 査読有
  - 8) N. Takasaka, I. Kaweewan, M. Ohnishi-Kameyama, S. Kodani\*(**\*責任著者**), “Isolation of new antibacterial peptide actinokineosin from *Actinokineospora spheciospongiae*”, **Letters in Applied Microbiology**, 64 (2), 150-157, 2017 査読有
  - 9) I. Kaweewan, M. Ohnishi-Kameyama, S. Kodani\*(**\*責任著者**), “Isolation of a new antibacterial peptide achromosin from *Streptomyces achromogenes* subsp. *achromogenes*”, **Journal of Antibiotics**, 70 (2), 208-211, 2017 査読有

【 解説・特集等 】

- 1) 小谷真也 (単著), “ラッソペプチド: “投げ輪” 構造を持つペプチド抗生物質”, **B&I バイオサイエンスとインダストリー**, 78 (2), 130-131, 2018 査読無

【 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 12 件

## 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、母乳中免疫関連物質の機能性研究

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 (2名)、D1 (2名)

修士課程：M1 (5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。また、ケモカインのノックアウトマウスを作製して、そのケモカインの生理学的機能性を検討するとともに、新生仔における役割を解析しています。

#### 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) 母乳中ケモカインの存在とその役割の解明

マウス母乳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摂食を顕著に抑制することを明らかにした。その他、マグロエラスチンが血糖値上昇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12件

【 招待講演件数 】

1) 茶学術研究会シンポジウム



## 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: [https://www.researchgate.net/profile/Masaki\\_Shintani](https://www.researchgate.net/profile/Masaki_Shintani)  
<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 D3)  
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  $\mu\text{m}$  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た (Maejima et al., 2018)。そのうち 5 株については、新属・新種として提案する予定である。

#### (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

*Pseudomonas* 属細菌の染色体上に存在する複数プロフェージ領域と、プラスミドとが互いに影響を及ぼし合って、宿主の生き残りやすさを変化させ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

土壌や嫌気排水処理槽、および牛糞サンプルより、新たな接合伝達プラスミドの収集を行い、6 本のプラスミドの塩基配列を決定した。このうち 5 本はこれまでに見つかったことのない新たなプラスミドであった。

#### (4) 異なる条件下におけるプラスミドの接合伝達性の調査

水の流れのある環境下では、流れの速さやプラスミドの種類によって接合伝達頻度が変化する

ることを示した (Nakazawa et al., 2017)。また、プラスミドの伝達性はカルシウムやマグネシウムイオンの存在下で、促進されることが多いが、この現象に、外膜タンパク質が関与していることが示された (Sakuda et al., 2018)。現在は、酸素濃度の異なる条件下におけるプラスミドの接合伝達頻度の違いについて調べている。

#### 【 今後の展開 】

様々な環境中から獲得した新たな接合伝達性のプラスミドについて、その基本機能（複製・維持・接合伝達能）の分子レベルの解析を行うと共に、異なる環境条件下における伝播性の違いや宿主域の違いについて比較する。こうした情報は、複合微生物系内でのプラスミドの挙動を理解し、その人為的な制御に向けた重要な知見を与えると期待される。

#### 【 学術論文・著書 】

- 1) Maejima Y, Kushimoto K, Muraguchi Y, Fukuda K, Miura T, Yamazoe A, Kimbara K, **Shintani M**\*. *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* are major phyla of filterable bacteria passing through 0.22 μm pore size membrane filter, in Lake Sanaru, Hamamatsu, Japan. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, in press
- 2) Wanapaisan P, Laothamteep N, Vejarano F, Chakraborty J, **Shintani M**, Muangchinda C, Morita T, Suzuki-Minakuchi C, Inoue K, Nojiri H\*, Pinyakong O\* Synergistic degradation of pyrene by five culturable bacteria in a mangrove sediment-derived bacterial consortium. *Journal of Hazardous Materials*, 342, 561-570, 2018 (国際共同論文)
- 3) Masuda S, Suzuki Y, Fujitani Y, Mitsui R, Nakagawa T, **Shintani M**, Tani A. Lanthanide-dependent regulation of methylotrophy in *Methylobacterium aquaticum* strain 22A. *mSphere*, 20183(1). pii: e00462-17, 2018.
- 4) Sakuda A, Suzuki-Minakuchi C, Matsui K, Takahashi Y, Okada K, Yamane H, **Shintani M**\*, Nojiri H\* Divalent cations increase the conjugation efficiency of the incompatibility P-7 group plasmid pCAR1 among different *Pseudomonas* hosts. *Microbiology*, 164, 20-27 (2018)
- 5) Nakazawa S, Haramiishi A, Fukuda K, Kanayama Y, Watanabe T, Yuki M, Ohkuma M, Takeda K, Kimbara K, **Shintani M**\* Different transferability of incompatibility (Inc) P-7 plasmid pCAR1 and IncP-1 plasmid pBP136 in stirring liquid conditions. *PLoS ONE*, 12, e0186248 (2017)

#### 【 解説・特集等 】

- 1) **新谷政己**\* 「『プラスミドパラドックス』～プラスミドはなぜ『生き残って』いる?～」, 生物工学会誌, 日本生物工学会, 第96巻1号, p.25, (2018)
- 2) **新谷政己**\* 「Q98. 土壌細菌や昆虫体内の腸内細菌の解析とソーティングについて教えてください」, 実験医学別冊『ラボ必携 フローサイトメトリーQ&A』, 羊土社, 戸村道夫 編 (2017)

#### 【 国際会議発表件数 】

- ・ 1件

#### 【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本農芸化学会, 日本生物工学会, 日本ゲノム微生物学会, 環境微生物系学会合同大会等 20件

#### 【 招待講演件数 】

- ・ 6th International Symposium on Biosorption and Biodegradation/Bioremediation・奈良先端科学技術大学院大学セミナー 2件

## 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](http://www.agr.shizuoka.ac.jp/bs/plant_pathology/index.html)



### 【 研究室組織 】

教 員：平田 久笑

修士課程：M2 (1名)、M1 (2名)

学 部 生：3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
- (4) フェアリー化合物による病害抑制効果の探索と検証

### 【 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。

### (4) フェアリー化合物による病害抑制効果の探索と検証

コムラサキシメジより分離同定されたフェアリーリング現象の原因物質（2-アザヒポキサンチン）は、植物の成長活性を促すこと、またストレス耐性を付与することが知られている（崔宰熏, 河岸洋和, 2011, 化学と生物: 49, 299）。このようなフェアリー化合物を用いて微生物感染による病害抑制の効果があるかを探索し、その作用を検証した結果、細菌病の伸展を抑制する効果があることを見出した。

#### 【 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) Haque M M, Oliver M M H, Nahar K, Alam M Z, Hirata H, Tsuyumu S. CytR Homolog of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Controls Air-Liquid Biofilm Formation by Regulating Multiple Genes Involved in Cellulose Production, c-di-GMP Signaling, Motility, and Type III Secretion System in Response to Nutritional and Environmental Signals. *Front Microbiol.* 2017, 8: 972.

#### 【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本植物病理学会など 4 件

## 骨の形成と維持機構の解明を目指した研究

兼担・准教授 雪田 聡 (YUKITA Akira)  
(主担当：教育学部 理科教育講座 生物学及び  
大学院教育学研究科学校教育研究専攻 理科教育専修)  
専門分野：細胞生物学、分子生物学、組織学  
e-mail address: yukita.akira@shizuoka.ac.jp



### 【 研究室組織 】

教 員：雪田 聡

修士課程：1名

学 部 生：10名

### 【 研究目標 】

#### (1) 骨芽細胞分化機序の解明

骨を形成する骨芽細胞は間葉系幹細胞から分化し、前駆細胞を経て活性型となり、さらに骨表面に残って休止する Bone lining cell や骨基質に埋め込まれて骨細胞となる。さらに、骨吸収時には Bone lining cell や骨細胞が骨形成さらには骨吸収に関与することが示唆されている。このように多段階で複雑な分化段階を有する骨芽細胞系列は骨形成性タンパク質 (Bone Morphogenetic Protein, 以下 BMP) や Wnt などの分泌タンパク質にシグナルによって制御されている。本研究室では、BMP や Wnt シグナル伝達を細胞内にて制御する SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) 化修飾や BMP 受容体に結合してシグナル伝達を制御することが報告されている FKBP タンパク質に着目し、骨芽細胞分化の制御機構を分子レベルで解明することを研究目標としている。

#### (2) 骨組織の進化的変遷についての考察

脊椎動物が海から陸へと生活環境を変化させるにつれ、骨の機能や組織的特徴も変化してきた。例えば陸上で産卵する有羊膜類は、骨髄中に海綿骨を発達させその形成と吸収が体内のミネラル濃度の調節に役割を担っている一方で、両生類の長管骨では海綿骨の発達は未熟で破骨細胞もほぼ観察されず、体内ミネラルの調節は別の器官が重要である。そこで本研究室では、アフリカツメガエルをモデル生物としてマウスと比較すること、および、複数種の無尾目から骨組織を採取して組織学的に比較検討することにより、脊椎動物の進化に伴って骨組織がどのように変化したのか、特に海綿骨の発達と骨形成と骨吸収のカップリング現象に着目して考察したいと考えている。

### 【 主な研究成果と今後の展開 】

#### (1) SUMO 化修飾が骨芽細胞分化において担う役割の解明

マウス筋芽細胞由来 C2C12 細胞において、SUMO 化修飾を阻害すると BMP 応答能が促進し、BMP 添加による骨芽細胞分化が増強されることを明らかにしてきた1)。さらに、骨芽細胞分化に必須の転写因子である Osterix が SUMO 化修飾の標的タンパク質であることも示した2)。現在、Osterix の SUMO 化修飾が骨芽細胞分化に与える影響について、培養細胞レベルで詳細に明らか

にすべく研究を行っている。

## (2) FKBP タンパク質が骨芽細胞分化において担う役割の解明

これまでに当研究室ではある種の FKBP タンパク質がデキサメタゾン添加による骨シアロタンパク質遺伝子などの発現上昇を抑制することを明らかにした（未発表データ）。現在、FKBP タンパク質が骨形成に与える影響を明らかにするため、FKBP 遺伝子欠損および過剰発現させた骨芽細胞様培養細胞を作製してその骨形成能を検討することを計画している。

## (3) 両生類における骨カップリング現象について

アフリカツメガエルの長管骨を組織学的に観察すると、ほ乳類であるマウスと比較して、骨髄内の細胞が疎である、成長板軟骨の配列が認められない、海綿骨の発達が未熟である、海綿骨表面に破骨細胞がほぼ観察されない、といった相違点が認められる。一方で、皮質骨表面には骨芽細胞が認められ、骨基質中には骨細管で連絡した骨細胞が存在する。ほ乳類においては骨芽細胞および破骨細胞が互いに相互作用して骨形成と骨吸収を制御しており、骨カップリング現象と呼ばれる。アフリカツメガエルなどの両生類では骨芽細胞はほ乳類同様に骨を形成する一方で破骨細胞を骨表面に呼び寄せて骨吸収を開始させる機構が欠落している可能性が考えられる。そこで現在、アフリカツメガエル長管骨由来の骨芽細胞様培養細胞株の樹立を目指している。これまでに、ほ乳類と同様に適切な条件下でアルカリホスファターゼ活性と石灰化能を有した培養細胞株を得ている。今後はこの細胞株を用い、ほ乳類すでにカップリング現象に関与することが明らかになっている遺伝子群の発現を検討することで、カップリング現象を獲得するために重要な遺伝子が存在するか明らかにしたいと考えている。

### 参考文献

- 1) Ubc9 negatively regulates BMP-mediated osteoblastic differentiation in cultured cells. *Bone*. (2012) 50. pp.1092-1099. A. Yukita, A. Hosoya, Y. Ito, T. Katagiri, M. Asashima, H. Nakamura.
- 2) Localization of SUMOylation factors and Osterix in odontoblast lineage cells during dentin formation and regeneration. *Histochemistry and Cell Biology*. (2013) 140. pp.201-211. A. Hosoya, A. Yukita, T. Ninomiya, T. Hiraga, K. Yoshida, N. Yoshida, E. Kasahara, H. Nakamura.

### 【国内学会発表件数】

- 1) バクテリアセルロースのリシン修飾による細胞足場材料. 第 24 回セルロース学会. (2017. 7) 佐野隆之、三ツ井涼、市川恵理、雪田聡、八木達彦、澤渡千枝
- 2) アフリカツメガエル由来骨芽細胞様細胞の樹立と性状解析. 第 88 回日本動物学会. (2017. 9) 雪田聡、高橋拓実、岩本莉奈
- 3) ケモカイン CCL25 投与が乳幼児期マウス骨形成に与える影響. 第 59 回歯科基礎医学会学術大会・総会. (2017. 9) 雪田聡、二宮禎、細矢明宏、中村浩彰
- 4) 強皮症モデル培養細胞の作成に向けた線維芽細胞に対するブレオマイシンの直接的な影響の検討. 第 40 回日本分子生物学会年会. (2017. 12) 岩本莉奈、高橋拓実、雪田聡

### 【受賞・表彰】

- 1) 第 19 回ライフサイエンスシンポジウム・ポスター賞 (岩本莉奈)

## 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

### 【 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中で生体調節機構の変化が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) 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すること、本種の凍結耐性にはグリセロールおよびその受容体であるアクアポリン9が関与していることがわかっている。本年度は、アマガエルの凍結耐性にはグリセロールに加えグルコースおよびグルコース輸送体(2および4)が関わっていることを明らかにし、季節変化や凍結刺激および凍結後の解凍によるこれらの因子の合成や発現変動について明らかにした。

#### (2) 脳下垂体ホルモンであるプロラクチン(PRL)の発現様式

PRLは脊椎動物全般がもつ多機能ホルモンであり、両生類においては変態の調節、皮膚粘液の分泌調節、生殖行動の促進などに関わっていることが知られる。最近、PRL遺伝子には四肢動物型(1A)と魚類型(1B)の2タイプが存在すること、唯一両生類のみがゲノム中に両タイプの遺伝子を有することが明らかになった。本年度、ウシガエルにおいて両タイプのmRNAが実際に発現していることを初めて示し、それぞれの生物活性について考察を行った。

### 【 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、その一生の中で水生のオタマジャクシから陸生の成体へと変態することから、脊椎動物の進化を解明する為に重要な研究材料であるからである。また、両生類自体は変温(外温)動物であるが、恒温(内温)動物が有する特徴を一部備えていることがわかっている。

変態の調節に関わる甲状腺ホルモン（視床下部－下垂体－甲状腺系）、副腎ホルモン（視床下部－下垂体－副腎系）、および PRL や、哺乳類において外部温度のセンシングや体温調節に関わることがわかっている因子の構造、機能、作用機序を比較することで、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、両生類を材料とし新規神経ペプチド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) Imamichi, Y., Sekiguchi, T., Kitano, T., Kajitani, T., **Okada, R.**, Inaoka, Y., Miyamoto, K., Uwada, J., Takahashi, S., Nemoto, T., Mano, A., Khan, M.R.I., Islam, M.T., Yuhki, K., Kashiwagi, H., Ushikubi, F., Suzuki, N., Taniguchi, T., Yazawa, T.\*, 2017. Diethylstilbestrol administration inhibits theca cell androgen and granulosa cell estrogen production in immature rat ovary. *Scientific Reports* 7, 8374. doi:10.1038/s41598-017-08780-7

#### 【 国内学会発表件数 】

- ・ 日本動物学会など 3 件（内招待講演 1 件）