

第40回

日本植物バイオテクノロジー学会(千葉)大会

要 旨 集

2023年9月10日(日)～13日(水)

千葉大学 西千葉キャンパス

プログラム

受賞講演

日時 9月12日(火) 午後 15:00-16:50

会場 K会場 (けやき会館 大ホール)

●学術賞 (50音順)

15:00 **A-1** 植物の小胞体ストレス応答の分子機構の解明と植物バイオテクノロジーの社会実装のための学術的貢献
小泉 望 (大阪公立大学)

15:30 **A-2** 薬用植物の統合オミクスによるアルカロイド生合成メカニズムの分子進化解明
山崎 真巳 (千葉大・院薬/Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ., 千葉大・植物分子科学研セ/PMSC., Chiba Univ.)

●奨励賞

16:00 **A-3** 無細胞翻訳系を基盤とした生化学的アプローチによる植物生理学・生態学的研究
根本 圭一郎 (岩手生工研セ)

●学生奨励賞 (50音順)

16:20 **A-4** シロイヌナズナのオルガネラゲノムの標的一塩基置換
中里 一星 (東大・院・農生)

16:35 **A-5** ダイズイソフラボンの根外への分泌と根圏での蓄積に関する研究
松田 陽菜子 (京大・生存研)

●論文賞 (受賞講演はありません)

Plant Biotechnology 39(2): 111-117

3-Phenyllactic acid is converted to phenylacetic acid and induces auxin-responsive root growth in Arabidopsis plants

Yuko Maki*, Hiroshi Soejima, Tamizi Sugiyama, Masaaki K. Watahiki, Takeo Sato, Junji Yamaguchi*

(*責任著者)

シンポジウム 1

オミックス情報 × AI による植物科学の新展開

New Developments in Plant Science Using Omics Big Data × AI

オーガナイザー：中村 保一（遺伝研）

日時 9月13日（水） 午前 9:30-12:00

会場 B会場（T17-212）

概要 AI技術の開発・普及により、これまでに蓄積してきた植物科学分野の多様な情報を統合的に解析し、新規知見を高速に取得することが可能となりつつある。本シンポジウムでは、それらの最先端研究事例や解析環境について紹介する。

- | | | |
|-------|-------------|--|
| 9:30 | S1-1 | ゲノム・遺伝情報へのAI協働研究から見る「新機能」の進化
赤木 剛士（岡山大・院環境生命自然科学, JST-PRESTO） |
| 10:10 | S1-2 | 植物科学と育種ビッグデータの融合による新たな情報解析
鐘ヶ江 弘美（農研機構 農情研） |
| 10:45 | S1-3 | IoT/AIが広げる次世代情報協働栽培の可能性
峰野 博史（静岡大学大学院情報学領域/グリーン科学技術研究所） |
| 11:20 | | 総合討論 |

シンポジウム 2

難培養植物におけるゲノム編集 ABC

The ABCs of Genome Editing in Recalcitrant Plants

オーガナイザー：七里 吉彦（森林研究・整備機構），安本 周平（大阪大学）

日時 9月13日（水） 午前 9:00-12:00

会場 C会場（T17-214）

概要 世界各地でゲノム編集技術を利用した作物の分子育種が精力的に進められている。本シンポジウムでは、作物ごとに異なるゲノム編集にまつわるノウハウやコツを紹介し、今後の研究展開について議論する場としたい。

9:00		はじめに 七里 吉彦（森林研究・整備機構）
9:05	S2-1	果樹のゲノム編集技術の確立に向けた課題 西谷 千佳子（農研機構）
9:28	S2-2	ユリにおける高効率形質転換系の開発とゲノム編集 野水 利和（新潟農総研アグリ・フーズバイオ研究部）
9:51	S2-3	野生イネ遺伝資源のゲノム編集 佐藤 豊（国立遺伝学研究所）
10:14	S2-4	ダイズゲノム編集を実装するための工夫 山田 哲也（北海道大学大学院農学研究院）
10:37		休憩
10:41	S2-5	形質転換が難しいタマネギのキーポイント 鴨井 享宏（ハウス食品 G 本社(株)）
11:04	S2-6	アブラナ科作物の核およびオルガネラ遺伝子の標的変異導入 肥塚 信也（玉川大農）
11:27	S2-7	体細胞胚形成を介したニンジンゲノム編集技術の確立 廣瀬 文昭（農研機構，日本たばこ産業）
11:50		おわりに 安本 周平（大阪大学）

シンポジウム 3

花き研究のこれから

The future of floricultural research

オーガナイザー：宮原 平（千葉大・院園芸学）

日時 9月13日（水） 午前 9:30-12:00

会場 D会場（T17-216）

概要 育種技術の発展により、近年の花きでは以前はイメージできなかったような色や形状の品種が手軽に観賞できるようになった。本シンポジウムでは、将来開発される可能性のある花きの新しい形質について、様々な研究技術を駆使して花き研究を行う若手研究者の最近の研究・育種例を紹介する。また、今後、研究者を志す学生のキャリアビジョンの参考となる場にしたい。

- | | | |
|-------|-------------|--|
| 9:30 | S3-1 | タンパク質間相互作用を介したフラボノイド生合成酵素の活性調節機構
和氣 駿之（東北大・院工） |
| 10:00 | S3-2 | アントシアニン液胞内凝集体形成による新規花色改変の可能性
出口 亜由美（千葉大・院園芸学） |
| 10:30 | S3-3 | 園芸植物コスモス（ <i>Cosmos bipinnatus</i> ）の花色に関与するフラボンの構造
上原 歩（玉川大・農） |
| 11:00 | S3-4 | GA および GA 合成阻害剤がペチュニアの花の複色模様形成に及ぼす影響
東 未来（日本大・生物資源科学部） |
| 11:30 | S3-5 | 民間企業の花の育種について
磯部 知里（(株)ミヨシ） |

シンポジウム 4

転写因子研究の新展開

Emerging Trends in Transcription Factor Research

オーガナイザー：庄司 翼（富山大・和漢研／理研 CSRS），岩瀬 哲（理研 CSRS）

日時 9月13日（水）午後 13:30-16:30

会場 B会場（T17-212）

概要 転写因子は植物の発生・代謝・ストレス応答を司る鍵因子として機能している。最近の研究動向とともに、シングルセル技術や人工転写因子などの今後注目すべき方法論についてもカバーする。

- | | | |
|-------|-------------|---|
| 13:30 | S4-1 | 二次代謝を制御する転写因子：代謝制御の万能因子はあるのか？
庄司 翼（富山大・和漢研，理研 CSRS） |
| 13:55 | S4-2 | 公共オミクスデータのメタ分析による転写因子の機能予測
福島 敦史（京都府大院・生命環境，理研 CSRS） |
| 14:20 | S4-3 | 非モデル生物のシングルセル解析から細胞リプログラミングの仕組みに迫る
森中 初音（理研 CSRS） |
| 14:45 | S4-4 | 植物の低温ストレスへの初期応答における転写制御機構
城所 聡（東工大・生命理工学院） |
| 15:10 | S4-5 | 窒素応答を担う転写制御ネットワークの解明と応用展開
柳澤 修一（東京大・院農学生命科学） |
| 15:50 | S4-6 | 人工転写因子を用いた遺伝子発現制御
世良 貴史（岡山大学 学術研究院ヘルスシステム統合科学学域） |

シンポジウム 5

植物ホストのモノ作り

Plant host manufacturing

オーガナイザー：矢崎 一史（京都大学生存圏研究所）

日時 9月13日（水） 午後 13:30-16:20

会場 C会場（T17-214）

概要 SDGs とバイオエコノミーが社会活動の中に大きな存在感を出してきている今、植物由来の有用物質には産業界も含めて熱い視線が注がれている。植物の生産する代謝産物は、臨床現場で利用される高付加価値の二次代謝産物から、バイオマスの主成分であるセルロースやリグニンといったポリマーなど多岐に及ぶ。さらに近年では、抗体やワクチンなど人の健康にコミットするタンパク質を、植物をホストとして生産する技術も実用化されている。本シンポジウムでは、植物をホストとしたものづくりを多面的に捉え、各界のリーダーから最新的话题をご提供いただき、本領域の将来展開を議論したい。

- | | | |
|-------|-------------|--|
| 13:30 | | はじめに
矢崎 一史（京都大学 生存圏研究所） |
| 13:40 | S5-1 | ヤマブドウ細胞培養によるレスベラトロール生産開発と応用
多葉田 誉（北海道三井化学(株)） |
| 14:05 | S5-2 | ゲノム編集技術を活用した植物組織培養による有用ステロイド／トリテルペノイドサポニンの生産
村中 俊哉（阪大・院工・生物学, 阪大・先導的学際研究機構） |
| 14:30 | S5-3 | ゼニゴケの実用化に向けて ー食用ゼニゴケと合成生物学プラットフォームー
水谷 正治（神戸大院・農） |
| 14:55 | S5-4 | トチュウより得られるバイオマスポリマー
中澤 慶久（徳島大・生物資源産業） |
| 15:20 | S5-5 | イネ培養細胞による組換えトランスフェリン生産プロセスの開発
小原 一郎（キリンホールディングス株式会社） |
| 15:45 | S5-6 | 植物バイオベンチャーのものづくり：再生医療分野製品の開発について
結城 雅之（株式会社 UniBio） |
| 16:10 | | おわりに
矢崎 一史（京都大学 生存圏研究所） |

シンポジウム 6

プラズマ農業の最前線

The frontier of plasma agriculture

オーガナイザー：柳川 由紀（千葉大学 / 理化学研究所），坪山 祥子（東京理科大学）

日時 9月13日（水） 午後 14:00-16:30

会場 D会場（T17-216）

概要 プラズマはエネルギーの高い粒子を含む電離気体であり、物質の第四の状態として知られている。近年、常温かつ常圧下で生成する大気圧低温プラズマを植物へ利用する「プラズマ農業」という新しい分野が注目されている。本シンポジウムでは、植物研究者に加え、プラズマ工学を専門とする研究者もお招きし、植物へのプラズマ利用について、最新の研究動向から将来的な利用可能性まで含めて議論したい。植物研究者とプラズマ工学研究者とが新たにタッグを組む機会になり、さらなる研究展開へとつながることを期待する。

14:00		はじめに 柳川 由紀（千葉大学 / 理化学研究所）
14:05	S6-1	プラズマ農業のための新しい大気圧プラズマ装置の開発 沖野 晃俊（東工大・未来研）
14:30	S6-2	種子へのプラズマ照射による発芽促進に関する研究動向 古閑 一憲（九大・シス情）
14:55	S6-3	ソルガム種子への大気圧プラズマ照射による効果 柳川 由紀（千葉大・院園芸，理研 CSRS）
15:15	S6-4	ゼニゴケを用いて植物へのプラズマ照射効果の分子機構解明を目指す 坪山 祥子（東京理科大・創域理工・生命生物学）
15:35	S6-5	水田での低温プラズマ処理が収穫にもたらず効果 石川 健治（名古屋大学）
16:00	S6-6	大気圧空気プラズマ合成活性窒素種による植物免疫誘導 金子 俊郎（東北大・院工学）
16:25		おわりに 坪山 祥子（東京理科大学）

ランチオンセミナー

ランチオンセミナー (1)

職場におけるメンタルヘルス～健全な産学官連携の発展に向けて～

オーガナイザー：日本植物バイオテクノロジー学会

男女共同参画・キャリア支援委員会（委員長 三浦 謙治, 筑波大学）

日時 9月11日（月） 午後 12:30-13:30

会場 D会場（T17-216）

概要 本学会はキャリア支援・男女共同参画の推進に取り組んでおります。その中で、日本人の6人に1人は孤独と言われており（OECD調べ、21か国中トップ）、教育、研究、職場環境においても精神的な支えというものが重要となってきています。若者の自殺、引きこもり、中高年のうつ、高齢者の認知症など、孤独社会がその起因と考えられる状況が増加しています。本ランチオンセミナーでは、精神対話士の鬼頭先生をお招きします。精神対話士は人の心に寄り添い、温かな対話を通して、「心を支える」日本初の心のケアの専門職です。精神対話士の培った対話の知恵をもとに孤独社会と職場のメンタルヘルスについてご講演をいただく予定です。前半は、孤独社会について概観し、後半では職場の人間関係を良好にする傾聴についてお話することで、ご来場の方の職場環境向上のヒントにつながれば幸甚です。また、本学会が推進しております産学官協力に際しても、その立場の違いから気をつけるべきことも含めて議論できればと思います。

12:30 **L-1** 孤独社会、「聴く」が支える職場のメンタルヘルス
鬼頭 靖（指導精神対話士、メンタルケア協会）

ランチオンセミナー (2)

遺伝子組換え作物の最前線

協賛、オーガナイザー：バイオテック情報普及会

日時 9月13日（水） 午後 12:30-13:30

会場 D会場（T17-216）

概要 私たちが食べている実用化された遺伝子組換え作物は、医薬品の薬事申請のように、安全性審査が行われていることはご存知ですか？日本の政府機関に設置された専門家からなる委員会より審査・承認を経て、初めて輸入が可能となります。本セミナーでは、バイオテック企業の遺伝子組換え作物の開発・普及状況やその安全性審査について、また、この4月から新しくなった遺伝子組換えの表示などを紹介します。あわせて、授業や講演に使える遺伝子組換え作物の資料や映画もご紹介します。本セミナーを担当するバイオテック情報普及会は、持続可能な農業の実現や食料の安定供給への貢献を念頭に、サイエンスベースで透明性ある許認可システムの構築を支援するための活動やバイオテクノロジーの重要性を伝える広報活動を行っています。

12:30 **L-2** 遺伝子組換え作物の最前線
熊谷 善敏, 赤城 文（バイオテック情報普及会）

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	ホルモン・シグナル伝達	環境応答
9:30	<p>1Aa-01</p> <p>活性酸素種による植物の細胞増殖・伸長・分化の制御 Regulation of cell proliferation, elongation and differentiation by reactive oxygen species in plants 朽津和幸, 山下優音, 坪山祥子, 橋本貴史, 橋本研志 (東京理科大・創域理工・生命生物学)</p>	<p>1Ba-01</p> <p>ホップの環境ストレス耐性を強化するアミノ酸の同定 Identification of amino acid enhancing tolerance to environmental stress in hop 平川健, 小原一朗 (キリンホールディングス(株)・キリン中央研)</p>
9:45	<p>1Aa-02 ENTRY</p> <p>シロイヌナズナにジャスモン酸とサリチル酸の蓄積を誘導する化合物の作用機序とその応用 Mode of action and possible application of a novel compound that induces accumulation of both jasmonic acid and salicylic acid in plants 小川瑞貴¹, 並木健太郎¹, 遠矢龍平¹, 小川聡太¹, 星野正剛¹, 粟野真妃¹, 上杉日奈保¹, 舟橋汰樹¹, 北畑信隆^{1,2}, 斉藤優歩¹, 中野正貴¹, 橋本研志¹, 倉持幸司¹, 安部洋³, 浅見忠男², 木村成介⁴, 朽津和幸¹ (1東京理科大・創域理工・生命生物学, 2東京大・農学生命科学, 3理研BRC, 4京都産業大)</p>	<p>1Ba-02</p> <p>オミックス解析による WRC イネ品種のアンモニウムイオン濃度変動環境に寄与する制御因子の探索 Elucidation of key factors responding to dynamic changes of ammonium concentration toward the selected WRC cultivar using omics approaches 草野都^{1,2,3}, 轡田圭又⁴, 西澤具子³, 小泉美希子³, 高野耕司³, 小林誠³, 七夕高也⁵, 福島敦史^{3,6}, 齊藤和季³ (1筑波大・生命環境系, 2つくば機能植物イノベーション研究センター, 3理研・CSRS, 4筑波大・理工情報生命学術院, 5かずさDNA研究所, 6京都府大・院生命環境)</p>
10:00	<p>1Aa-03 ENTRY</p> <p>ブドウ'デラウェア'の大粒系統における果粒発達と GA 応答性に関する研究 Study on Berry Development and GA Responsibility in The Large Berry Mutant of 'Delaware' Grapes 石川ひかる¹, 梶野康行², 渋谷知暉^{1,3} (1岩手大・院連合農学, 2島根県・農技セ, 3山形大・農学)</p>	<p>1Ba-03</p> <p>C₄種 <i>Flaveria bidentis</i> の葉緑体型 NAD キナーゼ (FbNADK2a, FbNADK2b) の発現と機能に関する研究 Study on expression and function of chloroplast NAD kinase (FbNADK2a, FbNADK2b) in C₄ species <i>Flaveria bidentis</i> 鈴木沙也加, 藤沼友莉果, 石川寿樹, 山口雅利, 川合真紀 (埼玉大・院理工)</p>
10:15	<p>1Aa-04 ENTRY</p> <p>トコンの不定芽形成においてストリゴラクトン関連阻害剤およびカイネチンの添加は <i>ENHANCED SHOOT REGENERATION</i> の発現を亢進する Strigolactone-related inhibitors and kinetin activated expression of <i>ENHANCED SHOOT REGENERATION</i> in adventitious shoot formation of ipecac 岡崎夏鈴¹, 伊藤晋作², 中村英光³, 浅見忠男³, 下村講一郎¹, 梅原三貴久¹ (1東洋大・院生命科学, 2農大・生命科学, 3東大・院農生)</p>	<p>1Ba-04</p> <p>リン酸トランスポーターの異所的発現がリン酸の吸収・利用効率に与える影響 Effects of ectopic expression of a phosphate transporter on phosphate absorption and utilization efficiency 多田雄一, 野池優希, 清水碧 (東京工科大・応用生物)</p>
10:30	<p>1Aa-05</p> <p>ミヤコグサの 8 アミノ酸ペプチド LjPep914L の根端に与える影響の解析 Analysis of the effect of LjPep914L, an 8-amino acid peptide of <i>Lotus japonicus</i>, on root tip morphology 楊建宇, 山口夕 (大府大・院生環)</p>	<p>1Ba-05</p> <p>南極地域に自生するオオハリガネゴケにおけるトランスクリプトーム解析 Transcriptome analysis of the common moss <i>Bryum pseudotriquetrum</i> grown under Antarctic field conditions 大谷真広¹, 北村春樹¹, 工藤栄^{2,3}, 伊村智^{2,3}, 中野優¹ (1新潟大・農, 2極地研, 3総研大・複合科学)</p>
10:45	<p>1Aa-06</p> <p>マイクロトム <i>DWARF14</i> 欠損変異体の特性およびストリゴラクトン産生量 Characteristics and strigolactone levels of Micro-Tom <i>DWARF14</i>-deficient mutants 梅原三貴久¹, 相場北斗¹, 長谷川翔子¹, 杉本貢一², 瀬戸義哉³, 野村崇人⁴, 江面浩² (1東洋大・院生命科学, 2筑波大・T-PIRC, 3明治大・農, 4宇都宮大・C-Bio)</p>	<p>1Ba-06</p> <p>栄養欠乏応答性のアブラナ科植物種間比較解析 Comparative analysis of nutrient deficiency responses in Brassica species 渡邊むつみ, 中山香奈, 西元峻太, 峠隆之 (奈良先端大・先端科学技術)</p>

C会場	D会場	時間
二次代謝	遺伝子組換え・ゲノム編集	
<p>1Ca-01 ENTRY 柑橘におけるクマリン代謝に関与する UbiA 型プレニル化酵素遺伝子群の解析 Characterization of UbiA-type prenyltransferases involved in citrus coumarin metabolism 松下 修平¹, 棟方 涼介^{1,2}, 赤木 剛士^{2,3}, 松川 哲也^{4,5}, Alain Hehn⁶, 矢崎 一史¹ (1京都大・生存研, 2JSTさきがけ, 3岡山大・環境生命, 4近大・附属農場, 5近大・生物理工, 6ローヌ大/INRAE)</p>	<p>1Da-01 ENTRY Functional Analysis of The Mutant Flavonoid 3',5'-hydroxylase Gene in Lisianthus (<i>Eustoma grandiflorum</i>) Using Transgenic Japanese Morning Glory (<i>Ipomoea nil</i>) Ton Phuc Huynh, Chihiro Motoyama, Hiroshi Oshima, Fumio Hashimoto, Keichi Shimizu (Grad. Sch. Agr., Univ. Kagoshima)</p>	9:30
<p>1Ca-02 ENTRY 水耕栽培および土壌栽培トマトを用いた高温ストレス条件下でのα-トマチン分泌の解析 Analysis of α-tomatine secretion under high temperature stress conditions using tomatoes in hydroponic culture and non-sterile soil 岩田 恵理子¹, 高松 恭子¹, 山崎 真一^{2,3}, 青木 裕一^{2,4}, 辻 祥子⁵, 小林 優⁵, 伊福 健太郎⁵, 永野 惇^{6,7}, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹ (1京都大・生存研, 2東北大・ToMMo, 3理研・BRC, 4東北大・院情報, 5京都大・院農, 6龍谷大・農, 7慶應大・IAB)</p>	<p>1Da-02 ENTRY Targeted A-to-G Base Editing in the Mitochondrial and Plastid genome of <i>Arabidopsis thaliana</i> with Monomeric programmable deaminases Chang Zhou¹, Mirai Okuno^{2,3}, Issei Nakazato¹, Yosiko Tamura¹, Reiko Masuda¹, Nobuhiro Tsutsumi¹, Shin-ichi Arimura¹ (1Grad. Agri., Uni. Tokyo, 2Sch. Sci. Tec., Tokyo Ins. Tec., 3Sch.Med., Uni. Kurume)</p>	9:45
<p>1Ca-03 ENTRY トマト根圏でトマチンにより増加するスフィンゴビウム属細菌が根の生長に与える影響の解析 Analysis of root growth induced by <i>Sphingobium</i> enriched in the tomato rhizosphere by α-tomatine 高松 恭子¹, 中安 大¹, 山崎 真一^{2,3}, 青木 裕一^{2,4}, 永野 惇^{5,6}, 小林 優⁷, 伊福 健太郎⁷, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹ (1京都大・生存研, 2東北大・ToMMo, 3理研・BRC, 4東北大・院情報, 5龍谷大・農, 6慶應大・IAB, 7京都大・院農)</p>	<p>1Da-03 ENTRY 高活性型の塩基置換酵素 ptpTALECD_v2 を用いた、シロイヌナズナの葉緑体ゲノムの標的塩基置換 Targeted base editing in the plastid genome of <i>Arabidopsis thaliana</i> by a highly active base editing enzyme ptpTALECD_v2 中里 一星¹, 奥野 未来², 伊藤 武彦³, 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹ (1東大・院・農生, 2久留米大・医, 3東工大・生命理工)</p>	10:00
<p>1Ca-04 植物培養細胞における新たな休眠二次代謝覚醒技術による新規生合成酵素の発見 Discovery of a novel biosynthetic enzyme through the unique strategy for activation of cryptic secondary metabolism in cultured plant cells 野村 泰治, 加藤 康夫 (富山県大・生物工/生医工研セ)</p>	<p>1Da-04 ENTRY ゲノム編集技術を用いたシロイヌナズナにおける <i>de novo</i> DNA メチル化編集技術の開発 Development of <i>de novo</i> DNA Methylation Editing Technology in <i>Arabidopsis thaliana</i> 平田 峻也¹, 池田 陽子², 西村 泰介³, 小林 括平¹, 賀屋 秀隆¹ (1愛媛大・院農, 2岡山大・植物研, 3長岡技科大・院工)</p>	10:15
<p>1Ca-05 ENTRY 薬用植物ムラサキのシコニン生合成を担う2つの4-coumaroyl-CoA ligase の同定と二次代謝における役割分担の解明 Identification of two 4-coumaroyl-CoA ligases involved in shikonin biosynthesis and clarification of role assignment in secondary metabolism of <i>Lithospermum erythrorhizon</i> 中西 浩平¹, 李 蒙¹, 市野 琢爾^{1,2}, 巽 奏¹, 刑部 敬史³, 渡辺 文太⁴, 下村 講一郎⁵, 矢崎 一史¹ (1京都大・生存研, 2神戸薬大, 3徳島大・生物資源, 4慈恵医大・化学研究室, 5東洋大・生命科学)</p>	<p>1Da-05 イネ <i>TEOSINTE BRANCHED1</i> (<i>OsTB1</i>) のインフレーション変異によるリン欠乏条件下での生産性向上 In-frame mutants for rice <i>TEOSINTE BRANCHED1</i> (<i>OsTB1</i>) give improved productivity under phosphorus-deficiency 石崎 琢磨¹, 植田 佳明², 高井 俊之², 圓山 恭之進³, 辻 泰弘² (1国際農研・熱帯島嶼研究拠点, 2国際農研・生産環境畜産, 3国際農研・生物資源利用)</p>	10:30
<p>1Ca-06 ENTRY ダイズイソフラボンの細胞外輸送を担う ABC 輸送体候補遺伝子の解析 Analysis of candidate ABC transporter genes mediating the cellular export of soybean isoflavones 松田 陽菜子¹, 棟方 涼介^{1,2}, 中安 大¹, 山崎 真一^{3,4}, 青木 裕一³, 永野 惇^{5,6}, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹ (1京大・生存研, 2JSTさきがけ, 3東北大・ToMMo, 4理研BRC, 5龍谷大・農, 6慶應大・IAB)</p>	<p>1Da-06 イネの稈、葉鞘での澱粉蓄積を抑制したゲノム編集系統の作出と特性解析 Production and Characterization of Genome Editing Lines that Suppress Starch Accumulation in Rice Culm and Leaf Sheath 小松 晃¹, 大武 美樹¹, 永田 真紀¹, 堤 浩一¹, 谷口 洋二郎¹, 近藤 始彦² (1農研機構・生物機能利用研究部門, 2名古屋大学 大学院生命農学研究科)</p>	10:45

一般口頭発表

時間	A会場	B会場	
	その他	環境応答	
11:00	<p>1Aa-07</p> <p>理化学研究所 CSRS のメタボローム解析及び植物ホルモン解析研究支援について Research support for metabolome and plant hormone analysis at RIKEN CSRS 森 哲哉, 小嶋 美紀子, 小林 誠, 佐々木 亮介, 佐藤 心郎, 竹林 裕美子, 山田 豊, 平井 優美 (理研CSRS)</p>		
11:15	<p>1Aa-08</p> <p>植物性プラスチック分解生成物のコマツナへの施用効果 Effect of the degradation product from bio-based polycarbonate on Komatsuna (<i>Brassica rapa</i>) 西田 瑞彦¹, 床並 佳季¹, 田島 亮介¹, 神谷 岳洋², 青木 大輔³ (1東北大院農, 2東大院農, 3千葉大院工)</p>		
11:30			
11:45			

C会場	D会場	時間
<p align="center">二次代謝</p>	<p align="center">遺伝子組換え・ゲノム編集</p>	
<p>1Ca-07 ENTRY</p> <p>ダイズにおいてソヤサポニン生合成を制御する転写因子の探索 Functional analysis of a putative regulator of soyasaponin biosynthesis in soybean 森田 遥絵¹, 北村 実紗子¹, 村中 俊哉^{1,2}, 關 光^{1,2} (1阪大院・工・生物学, 2大阪大学先導的学際研究機構)</p>	<p>1Da-07</p> <p>CRISPR/dMac3-Cas9 システムによるジャガイモ α-glucan water dikinase 1 遺伝子の変異体の作出とデンプン形質の解析 Peculiar starch traits of the mutants lacking the potato α-glucan water dikinase 1 gene created by targeted mutagenesis using CRISPR/dMac3-Cas9 system 島田 浩章¹, 大沼 万里子¹, 伊藤 広輔¹, 濱田 香凜¹, 竹内 亜美¹, 浅野 賢治², 野田 高弘², 渡辺 光³, 保倉 明子³, 寺村 浩¹ (1東京理科大・生命システム, 2農研機構・北海道農業研究センター, 3東京電機大・応用化学)</p>	<p>11:00</p>
<p>1Ca-08</p> <p>アラビドプシスの Fe2D ホモログの機能解析とそれらに協働する遺伝子の探索 Functional analysis of Fe2D homologs in Arabidopsis and search for genes that cooperate with them 橋本 茉侖¹, 横山 優花¹, 今村 大樹¹, 飯伏 純平¹, 村山 佳加¹, 椎名 隆², 石崎 陽子², 北島 佐紀人¹ (1京工織大応生, 2摂南大農)</p>	<p>1Da-08</p> <p>シロバナムシヨケギク (<i>Tanacetum cinerariifolium</i>) における効率的な遺伝子組換え技術の確立 Establishment of an efficiently genetic transformation system in <i>Tanacetum cinerariifolium</i> 篠山 治恵¹, 清水 美里¹, 細川 宗孝², 松田 一彦³ (1福井県大・創造農学, 2近畿大・農業生産, 3近畿大・応用生命)</p>	<p>11:15</p>
	<p>1Da-09</p> <p>ジェミニウイルスレプリコンを用いたリンゴのゲノム編集の試み Geminivirus-derived replicons used for CRISPR/Cas9 mediated genome editing in apple 根岸 克弥¹, 遠藤 真咲², 西谷 千佳子¹, 遠藤 朋子¹ (1農研機構・果茶研, 2農研機構・生物研)</p>	<p>11:30</p>
	<p>1Da-10</p> <p>ユリ花被の老化制御遺伝子の特定とゲノム編集による花被の老化を遅延したユリの作出 Identification of the gene that regulates tepal senescence in lilies and production of lily plants with delayed tepal senescence by genome editing technology 渋谷 健市¹, 佐藤 和人², 野水 利和², 奥原 宏明³, 近藤 正剛⁴, 小林 仁² (1農研機構・野菜花き研究部門, 2新潟農総研・アグリ・フーズバイオ研究部, 3新潟農総研・食品研究センター, 4新潟地域振興局巻農業振興部)</p>	<p>11:45</p>

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	遺伝子発現	英語セッション
14:00	<p>1Ap-01 ENTRY</p> <p>シソの成分変種特異的なアントシアニン蓄積を制御する転写調節因子の解明 Elucidation of transcription factors that control anthocyanin accumulation specific to perilla component varieties 古屋 百得¹, 杉山 龍介^{1,2}, 柿木 風花¹, 山崎 真巳^{1,3} (1千葉大院薬, 2JSTさががけ, 3千葉大PMSC)</p>	<p>1Bp-01 ENTRY</p> <p>Cross-species wide functional analysis of <i>MYB</i> transcriptional regulators in the phenylpropanoid pathway Maria Kenosis Emmanuelle Lachica, Shinichiro Komaki, Mutsumi Watanabe, Takayuki Tohge (Nara Institute of Science and Technology)</p>
14:15	<p>1Ap-02 ENTRY</p> <p>ペチュニア花冠のカロテノイド蓄積による鮮黄発色機構の遺伝解析 Genetic analysis of bright-yellow corolla caused by carotenoid accumulation in petunia 河邊 雄飛¹, 大同 原野², 坂口 公敏², 中塚 貴司¹ (1静岡大院・総科技研究科, 2株式会社ミヨシ)</p>	<p>1Bp-02 ENTRY</p> <p>Characterization of <i>Euterma japonicum</i> methylthioalkylmalate synthases and its properties on methionine-derived chain elongation reaction Dheeradhach Medhanavyn¹, Toshiya Muranaka^{1,2}, Shuhei Yasumoto^{1,2} (1Graduate School of Engineering, Osaka University, 2Institute for Open and Transdisciplinary Research Initiatives, Osaka University)</p>
14:30	<p>1Ap-03 ENTRY</p> <p>II型赤果肉リンゴ形質原因遺伝子 <i>MdMYB110a</i> の転写産物解析 Characterization of the Transcripts Derived from the <i>MdMYB110a</i> Gene Responsible for the Type II Red-Fleshed Trait in Apple 中村 月泉¹, 兒島 孝明^{1,2}, 山口 維尚³, 松本 省吾^{1,4}, 白武 勝裕¹, 太田 垣 駿吾^{1,2} (1名古屋大・院生命農学研究科, 2名城大農学部, 3長野県果樹試, 4中部大中部高等学術研究所)</p>	<p>1Bp-03 ENTRY</p> <p>Mechanisms For The Substrate Enantiomer Selectivity Of Pinoresinol/Lariciresinol Reductases From <i>Daphne Genkwa</i> Fernando Satoshi Tutihashi¹, Mitsuki Hirota¹, Keisuke Kobayashi¹, Masaomi Yamamura¹, Yuki Tobimatsu¹, Björn Hamberger², Toshiaki Umezawa¹ (1RISH, Kyoto University, 2BMB, Michigan State University)</p>
14:45	<p>1Ap-04</p> <p>キヌア FT ファミリー遺伝子の機能解析 Functional analysis of <i>FT-like</i> genes in quinoa 小賀田 拓也¹, 藤田 泰成^{1,2} (1国際農研・生物資源利用, 2筑波大・生命環境)</p>	<p>1Bp-04 ENTRY</p> <p>Involvement of <i>cnbA</i>, <i>mtf</i>, <i>mtc</i>, and <i>cnbB</i> Genes of <i>Pseudanabaena foetida</i> var. <i>intermedia</i> in 2-Methylisoborneol Synthesis Kaushalya Dayarathne¹, Toshiki Ishikawa¹, Satoru Watanabe², Aikeranmu Kadeer¹, Masatoshi Yamaguchi¹, Maki Kawai-Yamada¹ (1Grad. Sch. Sci. & Eng., Saitama Univ., 2Tokyo Univ. of Agriculture)</p>
15:00	<p>1Ap-05 ENTRY</p> <p>NtGRAS1 を応用した人工転写因子の創製 Development of artificial transcription factors using NtGRAS1 鈴木 爽馬, 山本 晃大, 阿部 修人, 小倉 里江子, 平塚 和之 (横浜国大・院環境情報)</p>	<p>1Bp-05</p> <p>Encoding <i>Rubisco</i> <i>Activase</i> back to plastids improves photosynthetic performance but reduces its plasticity to light Shamitha Rao Morey-Yagi¹, Yoichi Hashida³, Mieko Higuchi-Takeuchi², Yoko Horii², Masaki Odahara², Keiji Numata^{1,2} (1Laboratory of Biomaterial Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University, 2Biomacromolecules Research Team, RIKEN Center for Sustainable Resource Science, 3Faculty of Agriculture, Takasaki University of Health and Welfare)</p>
		バイオインフォマティクス
15:15	<p>1Ap-06 ENTRY</p> <p>二次細胞壁形成を制御する BLH6 と KNAT7 の二重変異体は道管形状異常を示す Simultaneous Mutation in <i>BLH6</i> and <i>KNAT7</i>, Regulating Secondary Cell Wall Formation, Exhibits Irregular Xylem Phenotype 関口 颯¹, 堺 剛平¹, 藤井 達也¹, 川越 優衣¹, 檜垣 匠², 渡邊 慧³, 坂本 真吾³, 宮城 敦子^{1,4}, 石川 寿樹¹, 川合 真紀¹, 光田 展隆³, 小竹 敬久¹, 山口 雅利¹ (1埼玉大・院・理工, 2熊本大・院・先端科学, 3産総研・生物プロセス, 4山形大・農)</p>	<p>1Bp-06 ENTRY</p> <p>トランスクリプトームデータのメタ分析を用いたシロイヌナズナの複合的な環境ストレスに応答する遺伝子群の同定 Identification of genes responsive to combined environmental stresses in <i>Arabidopsis thaliana</i> using meta-analysis of transcriptome data 福田 由介¹, 明田 夏輝², 福島 敦史^{1,3} (1京都府大・院生命環境科学/Grad. Sch. Life Env. Sci., Kyoto Pref Univ, 2京都府大・生命環境/Fac. Sch. Life Env. Sci., Kyoto Pref Univ, 3理研CSRS/RIKEN CSRS)</p>

C会場	D会場	時間
一次代謝	有用物質生産	
<p>1Cp-01 イネの正逆染色体部分置換システムを用いたシュウ酸代謝解析 Metabolomic analysis of oxalate accumulation using rice reciprocal chromosome segment substitution lines 宮城 敦子¹, 安達 俊輔², 大川 泰一郎², 川合 真紀³ (1山形大・農, ²東京農工大・院農, ³埼玉大・院理工)</p>	<p>1Dp-01 ENTRY 非翻訳領域の解析を通じた新たな翻訳効率化技術の検討 Investigation of new translation efficiency improvement technology through analysis of untranslated regions 吉田 万紀子, 高橋 秀斗, 山崎 将太郎, 加藤 晃 (奈良先端大・バイオ)</p>	14:00
二次代謝		
<p>1Cp-02 ENTRY 低シュウ酸含量ホウレンソウ変異株のスクリーニング Screening for low-oxalate-content spinach mutants 山中 温人¹, 市川 翔哉¹, 石橋 和太², 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (1農大・バイオ, ²農研機構)</p>	<p>1Dp-02 ENTRY 導入遺伝子における意図しないスプライシングのリスク予測モデルの開発 Development of a Risk Prediction Model for Undesigned Splicing in Transgenes 野平 直樹, 梅田 健人, 山崎 将太郎, 加藤 晃 (奈良先端大・バイオ)</p>	14:15
<p>1Cp-03 ENTRY 野生種トマトの葉で特異的に産生するポリフェノール化合物の蓄積機構の解析 Analysis of the mechanisms involved in polyphenolic compounds specifically produced in leaves of wild tomato species 西山 彩加, 小財 将哉, 渡邊 むつみ, 峠 隆之 (奈良先端大・先端科学技術)</p>	<p>1Dp-03 ENTRY 有用タンパク質生産の効率化を目的とした塩基配列から TSS 使用頻度を予測する CNN モデルの構築 CNN Model to Predict TSS Usage from Nucleotide Sequence for Efficient Production of Useful Proteins 橋爪 千佳, 齋藤 康平, 山崎 将太郎, 加藤 晃 (奈良先端大・バイオ)</p>	14:30
<p>1Cp-04 ENTRY オウレン培養細胞を用いたベンジルイソキノリンアルカロイドの安定同位体ラベル化 Stable isotope labelling of benzyloquinoline alkaloids using <i>Coptis japonica</i> cultured cells 河西 俊介¹, 高松 編花¹, 杉山 龍介^{1,2}, 山田 泰之^{2,3}, 山崎 真巳^{1,4} (1千葉大院薬, ²JSTさきがけ, ³神戸薬大, ⁴千葉大植物分子科学セ)</p>	<p>1Dp-04 ゲノム編集によるグリチルリチン高産生毛状根の作出 Glycyrrhizin high-producing hairy roots by genome editing 千代 直樹¹, 關 光^{1,3}, 金本 拓也¹, 上田 大志¹, 高上馬 希重², 村中 俊哉^{1,3} (1阪大院・工・生物工学, ²北海道医療大・薬, ³大阪大学先導的学際研究機構)</p>	14:45
<p>1Cp-05 ENTRY ネギ属植物およびカサネの含硫二次代謝物量に対するエリシター処理の影響の解析 Effects of Elicitor Treatments on the Amounts of Sulfur-Containing Secondary Metabolites in <i>Allium</i> Plants and Callus Tissues 村田 夏奈子¹, 木佐貫 あゆな¹, 浅野 孝², 斉藤 和季¹, 山崎 真巳¹, 吉本 尚子¹ (1千葉大院薬, ²岩手医大薬)</p>	<p>1Dp-05 ENTRY クコ由来カサネが産生する抗酸化物質の同定と高産生条件の解明 II Determination and production of antioxidant compounds by the callus culture of <i>Lycium chinense</i>, II 佐藤 春樹, 原 光二郎, 小峰 正史, 川上 寛子 (秋田県大院・生物資源)</p>	15:00
<p>1Cp-06 ヒガンバナ科伝統薬用植物 <i>Tulbaghia violacea</i> の機能性含硫成分マラスミンの生合成に関わる S-酸化酵素の同定 Identification of an S-Oxygenase for the Biosynthesis of Marasmin in a Traditional Medicinal Plant <i>Tulbaghia violacea</i> 吉本 尚子^{1,2}, 王 吉農¹, 鈴木 秀幸³, 中嶋 なな子⁴, 北島 満里子^{1,2}, 高山 廣光^{1,2}, 斉藤 和季^{1,2}, 山崎 真巳^{1,2} (1千葉大・院薬, ²千葉大・植物分子科学研セ, ³かずさDNA研, ⁴熊本大・院自然)</p>	<p>1Dp-06 ENTRY コムギ胚芽無細胞翻訳系において翻訳効率向上を目指した 5'UTR の機能解析 Functional analysis of 5'UTR to improve translation efficiency in wheat germ cell-free translation system 笹川 耕作, 加藤 晃, 加藤 壮英 (奈良先端大・バイオエンジニアリング)</p>	15:15

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	遺伝子発現	バイオインフォマティクス
15:30	<p>1Ap-07 ENTRY</p> <p>繊維細胞分化のマスター因子の発現を制御する転写因子 Transcription Factors Regulating a Key Regulator of Fiber Cell Differentiation 藤澤 りみり¹, 清水 悠裕¹, 坂本 真吾², 光田 展隆², 宮城 敦子^{1,3}, 石川 寿樹¹, 川合 真紀¹, 山口 雅利¹ (1埼玉大・院理工, 2産総研・生物プロセス, 3山形大・農)</p>	<p>1Bp-07</p> <p>PacBio HiFi リードによるアカシソのゲノム配列の解読 A highly contiguous genome assembly of red perilla (<i>Perilla frutescens</i>) using PacBio HiFi sequencing data 田村 啓太¹, 坂本 美佳², 谷澤 靖洋², 望月 孝子², 松下 修司³, 加藤 義啓⁴, 石川 武⁴, 奥原 啓輔⁵, 中村 保一², 坊農 秀雅^{1,6} (1広島大・ゲノム編集イノベーションセンター, 2遺伝研, 3広島県立総合技術研・農業技術セ, 4三島食品(株), 5プラチナバイオ(株), 6広島大・院統合生命)</p>
15:45	<p>1Ap-08</p> <p>多様な植物種における小胞体ストレス応答因子 bZIP60 オルソログの mRNA におけるリボソーム停滞と系統進化の関連 Phylogeny-linked Occurrence of Ribosome Stalling on the mRNAs of the Plant Unfolded Protein Response Factor <i>bZIP60</i> Orthologs in Divergent Plant Species 今道 朋哉¹, 楠本 奈央², 高松 世大², 本多 悠吾¹, 村岡 栞¹, 尾之内 均^{1,3}, 山下 由衣^{1,3}, 内藤 哲^{2,3} (1北海道大学 大学院農学院, 2北海道大学 大学院生命科学院, 3北海道大学 大学院農学研究院)</p>	<p style="text-align: center;">新技術開発</p> <p>1Bp-08 ENTRY</p> <p>ホモトランスグラフティングによるルシフェラーゼタンパク質の長距離移動 Long-distance transport of luciferase protein by homo-transgrafting 大久保 一実¹, 小川 拓水², 望月 知史², 太田 大策², 宮原 平¹, 児玉 浩明¹ (1千葉大・院園芸, 2大阪公立大・院農学)</p>
	発生分化・形態形成	
16:00	<p>1Ap-09</p> <p>葉の細胞伸長の制御における TCP 転写因子の役割 Roles of TCP genes in the regulation of cell expansion 小山 知嗣¹, 光田 展隆², 関 原明³, 高橋 宏二^{4,5}, 木下 俊則^{4,5}, 別所 歩武⁶, 國枝 正^{6,7}, 出村 拓^{6,7}, 高木 優⁸ (1(公財)サントリー生命科学財団, 2産総研・生物プロセス, 3理化学研究所・環境資源科学, 4名古屋大・理, 5名古屋大・トランスフォーマティブ生命分子, 6奈良先端大・バイオサイエンス, 7奈良先端大・デジタルグリーンイノベーション, 8埼玉大院・理工)</p>	<p>1Bp-09</p> <p>トランスグラフティングにおける遺伝子組換え台木から非遺伝子組換え穂木への導入遺伝子産物移行の解析 Transfer of transgene product from transgenic rootstock to non-transgenic scion in transgrafted plant lines 小川 拓水¹, 望月 知史¹, 加藤 奏¹, 明日香 晴絵¹, 宮原 平², 児玉 浩明², 太田 大策¹ (1大阪公大・院農学, 2千葉大・院園芸学)</p>
16:15		
16:30		

C会場	D会場	時間
二次代謝	有用物質生産	
<p>1Cp-07 ハナビシソウの組織特異的なベンジルイソキノリンアルカロイドの生産制御機構解明に向けた <i>EcAP2/ERF</i> 発現抑制形質転換体の作出と解析 Establishment and analysis of <i>EcAP2/ERF</i>-knockdown transformants to reveal the tissue-specific regulatory mechanisms of benzyloquinoline alkaloid biosynthesis in California poppy <u>山田 泰之</u>¹, <u>西田 昇平</u>², <u>山本 萌子</u>¹, <u>清水 真由</u>¹, <u>花枝 大喜</u>¹, <u>土反 伸和</u>¹, <u>佐藤 文彦</u>^{2,3} (1神戸薬大, 2京大院・生命科学, 3サントリー生命科学財団・生有研)</p>	<p>1Dp-07 ENTRY 熱帯熱マラリアワクチン高発現イネ種子の解析 Analysis of rice seeds with high expression of Malaria vaccine antigen <u>中野 大樹</u>¹, <u>加藤 洋香</u>¹, <u>藤本 菜緒</u>¹, <u>野澤 彰</u>³, <u>高島 英造</u>³, <u>曾我 郁弥</u>³, <u>森田 将之</u>³, <u>黒田 昌治</u>⁴, <u>森田 重人</u>^{1,2}, <u>澤崎 達也</u>³, <u>増村 威宏</u>^{1,2} (1京都府大院・生命環境, 2京都府農技セ・生資セ, 3愛媛大学・プロテオサイエンスセンター, 4農研機構)</p>	15:30
<p>1Cp-08 芳香族香気成分フェニルプロペンの多様性を担う位置特異的な O-メチル基転移酵素の解析と分子進化 Functional characterization and molecular evolution of regiospecific O-methyltransferases involved in the diversification of phenylpropene volatiles <u>肥塚 崇男</u>¹, <u>渡辺 文太</u>², <u>鈴木 史朗</u>³, <u>高梨 功次郎</u>⁴, <u>山田 泰之</u>⁵, <u>高坂 智之</u>¹, <u>小崎 紳一</u>¹ (1山口大院・創成科学, 2東京慈恵医大・化学, 3岐阜大・応用生物, 4信州大・理, 5神戸薬大)</p>	<p>1Dp-08 ENTRY 内在性タンパク質抑制技術を用いたワクチン抗原 (CTB) を発現するイネの作出と解析 Generation and analysis of rice plants expressing of vaccine antigen (CTB) using endogenous protein suppression technology <u>西條 晃芽</u>¹, <u>加藤 洋香</u>¹, <u>藤本 菜緒</u>¹, <u>黒田 昌治</u>³, <u>森田 重人</u>^{1,2}, <u>増村 威宏</u>^{1,2} (1京都府大院・生命環境, 2京都府農技セ・生資セ, 3農研機構)</p>	15:45
<p>1Cp-09 ジャガイモシストセンチュウ孵化促進物質ソラノエクレピン B 生合成遺伝子の解析 Analysis of biosynthetic genes for solanoelepin B, a hatching factor for potato cyst nematodes <u>秋山 遼太</u>¹, <u>清水 宏祐</u>¹, <u>串田 篤彦</u>², <u>谷野 圭持</u>³, <u>杉本 幸裕</u>¹, <u>水谷 正治</u>¹ (1神戸大・院農, 2農研機構・北農研, 3北大院・理)</p>	<p>1Dp-09 ENTRY 抗菌活性を併せ持つケモカイン CCL28 のイネを用いた生産 Production of CCL28, a chemokine with an antimicrobial activity, in transgenic rice <u>渡会 岳</u>, <u>小関 美里</u>, <u>下田 蒼</u>, <u>岩井 裕子</u>, <u>米山 裕</u>, <u>伊藤 幸博</u> (東北大学農学研究科)</p>	16:00
	<p>1Dp-10 イネを用いたシュルツェマダニ由来の抗菌ペプチド persulcatusin の生産と抗菌活性の検出 Generation of transgenic rice calli that produce a tick-derived antimicrobial peptide persulcatusin and detection of its antimicrobial activity <u>藤田 岳</u>, <u>下田 蒼</u>, <u>米山 裕</u>, <u>伊藤 幸博</u> (東北大・農)</p>	16:15
	<p>1Dp-11 トマト毛状根代謝工学による活性型ビタミン D3 生合成 Bioproduction of active vitamin D3 in transgenic tomato hairy roots through metabolic engineering <u>水田 珠希</u>¹, <u>山岸 萌子</u>¹, <u>中川 真太郎</u>¹, <u>秋山 遼太</u>¹, <u>村中 俊哉</u>², <u>杉本 幸裕</u>¹, <u>水谷 正治</u>¹ (1神戸大・院農学, 2大阪大・院工学)</p>	16:30

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	細胞・組織培養	環境応答
9:30	<p>2Aa-01 ENTRY</p> <p>寄生植物コシオガマの再分化系確立に向けた条件検討 Investigation of shoot regeneration condition for <i>Phtheirospermum japonicum</i> 柏瀬 友咲, 吉田 聡子 (奈良先端大・バイオサイエンス)</p>	<p>2Ba-01 ENTRY</p> <p>シロイヌナズナ野生系統の Lch-0 は, SALT 遺伝子の欠損により耐塩性を獲得する Mutation in SALT gene improves salt tolerance of <i>Arabidopsis thaliana</i> 梶野 拓磨¹, 内山 佳織¹, 有賀 裕剛², 長谷 純宏³, 堀江 智明⁴, 四井 かずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (1東京農大・バイオ, 2農研・遺伝資源研究センター, 3量研高崎量子応用研究所・放射線生物応用研究部, 4信州大・応生)</p>
9:45	<p>2Aa-02 ENTRY</p> <p>ブドウ'シャインマスカット'における不定胚形成に効果的な培養条件の検討 Investigation of effective culture condition for the somatic embryogenesis in 'Shine Muscat' grape 水落 俊良¹, 吉村 優希², 江角 智也³ (1島根大院・自然科学, 2島根大・生物資源科学, 3島根大・学術研究院)</p>	<p>2Ba-02 ENTRY</p> <p>シロイヌナズナ野生系統間に見られる浸透圧耐性多様性機構の解析 Genetic Analyses of natural variation in osmotolerance among <i>Arabidopsis thaliana</i> accessions 村越 祐介¹, 番場 康介¹, 平野 貴大¹, 有賀 裕剛², 田中 啓介³, 四井 かずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (1東京農大・バイオ, 2農研機構・遺伝資源, 3東京農大・ゲノムセンター)</p>
10:00	<p>2Aa-03 ENTRY</p> <p>ハナミズキのカルス培養における培地成分の検討 Effects of medium components on callus culture in <i>Cornus florida</i> 清水 弥央¹, 大岡 久子² (1群馬高専・環境工学専攻, 2群馬高専・物質工学科)</p>	<p>2Ba-03 ENTRY</p> <p>シロイヌナズナの様々な非生物ストレス耐性に寄与する AOD12 遺伝子の機能解析 Functional analysis of AOD12 gene contributing to various abiotic stress tolerances in <i>Arabidopsis</i> 小林 晃也¹, 金盛 一起¹, 日出間 純², 田中 啓介³, 四井 かずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (1東京農大・バイオ, 2東北大学・大学院生命科学研究科, 3東京農大・ゲノムセンター)</p>
10:15	<p>2Aa-04 ENTRY</p> <p>アイスプラントの地上部再分化に関わる要因解析 Factors Regulating Shoot Regeneration in the Common Ice Plant 神田 れんげ¹, 大串 康太¹, 佐藤 稜真¹, 東江 栄² (1九州大・院・生物資源環境科学府, 2九州大・院・農学研究院)</p>	<p>2Ba-04 ENTRY</p> <p>シロイヌナズナの短期高温ストレス耐性に関する解析 Analysis of short-term heat stress tolerance in <i>Arabidopsis</i> 柳原 美来, 植木 真生, 四井 かずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭 (東京農大・バイオ)</p>
10:30	<p>2Aa-05</p> <p>袋型培養槽でのダイズ成熟不定胚の誘導-3 Production of mature somatic embryos of soybean in culture-bag bioreactors-3 間宮 幹士, 久野 香 (キリンホールディングス(株))</p>	<p>2Ba-05</p> <p>演題取り下げ</p>
10:45	<p>2Aa-06</p> <p>植物ホルモンを添加しない組織培養での分化誘導系の構築と利用 Construction and application of the differentiation regulation system in tissue culture without the use of hormonal treatment 井川 智子^{1,2}, 佐藤 優加¹, 小山 翔平¹, Berbudi Bintang Pratama¹, 菱田 蒼¹, 小林 天音³, 是久 紫郎¹, 井上 翔太¹ (1千葉大・院園芸, 2千葉大・植物分子科学センター, 3千葉大・園芸)</p>	<p>2Ba-06 ENTRY</p> <p>シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 <i>sloh1</i> の原因遺伝子同定 Analyses of sensitive to long term heat1 (<i>sloh1</i>) mutant of <i>Arabidopsis thaliana</i> 山口 凌¹, 田中 啓介², 四井 かずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (1東京農大・バイオ, 2東京農大・ゲノムセンター)</p>

C会場	D会場	時間
二次代謝	遺伝子組換え・ゲノム編集	
<p>2Ca-01 ENTRY</p> <p>シコニン・アルカニン誘導体生合成に関わるアシル基転移酵素の機能比較 Comparison of the acyltransferases involved in the biosynthesis of shikonin/alkannin derivatives 押切 春佳¹, 李 豪², 山本 浩文³, 矢崎 一史², 高梨 功次郎¹ (1信州大・院総合医理工, 2京大・生存研, 3東洋大・生命科学)</p>	<p>2Da-01 ENTRY</p> <p>ピーナツアレルゲンタンパク質のペプシン消化性と残存エピトープの検出 Pepsin digestibility and detection of residual epitopes of peanut allergenic proteins 寺島 瑞歩¹, 宮原 平¹, 西内 巧², 児玉 浩明¹ (1千葉大学, 2金沢大学)</p>	9:30
<p>2Ca-02 ENTRY</p> <p>紫キャベツにおけるアントシアニンアシル化酵素遺伝子の探索 Search for the gene encoding anthocyanin acyltransferase in red cabbage 本田 佳留奈¹, 西崎 雄三², 佐々木 伸大^{1,3} (1大府大・院生環応生, 2国立医薬品食品衛生研究所, 3大公大・農・応生)</p>	<p>2Da-02 ENTRY</p> <p>魚病防除用ウイルス様粒子(VLP)ワクチンを大量発現する葉緑体形質転換レタス Transplastomic lettuce overexpressing a virus-like particle (VLP)-based vaccine for fish disease control 平山 美羽¹, 原川 翔伍², 川上 秀昌², 中平 洋一³ (1茨大・院農学, 2愛媛水研セ, 3茨大・農学)</p>	9:45
<p>2Ca-03 ENTRY</p> <p>特異な N 末端配列を有するサポジラ (<i>Manilkara zapota</i>) 由来 trans-1,4-ポリイソプレレン合成酵素 MztPT2 の酵素機能解析 Enzymatic characterization of a trans-prenyltransferase from <i>Manilkara zapota</i> MztPT2 with a unique N-terminal extension 井澤 大輔¹, 三輪 幸祐¹, 廣森 美樹¹, 青木 裕一², 和氣 駿之¹, 小島 幸治¹, 山口 晴彦⁴, 宮城 ゆき乃⁴, 山下 哲³, 戸澤 謙⁵, 中山 亨¹, 高橋 征司¹ (1東北大・院工, 2東北大・東北メディカルメガバンク, 3金沢大・院自然科学, 4住友ゴム工業(株), 5埼玉大・院理工)</p>	<p>2Da-03 ENTRY</p> <p>ニンジンを用いた食中毒に対する食べるワクチンの開発 Development of edible vaccine against food poisoning using carrot 高田 一成¹, 小野 公代², 織田 伽羅¹, 平井 唯子¹, 浅賀 正充², 内海 大知², 細見 晃司², 國澤 純², 保富 康宏², 小野 道之¹ (1筑波大・T-PIRC遺伝子, 2医薬健栄研)</p>	10:00
<p>2Ca-04 ENTRY</p> <p>ペニバナ (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) 由来フラボノイド 6 位水酸化酵素の機能解析 Functional analyses of flavonoid 6-hydroxylase from safflower (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) 佐野 友哉¹, 和氣 駿之¹, 沼野 井一輝¹, 藤田 直樹², 蝦名 宏佑², 福田 敬志², 加藤 幹也², 根岸 尚志³, 内田 弘美², 青木 裕一⁴, 高橋 征司¹, 中山 亨¹ (1東北大・院工, 2東洋インキSCホールディングス(株), 3トーヨーケム(株), 4東北大学東北メディカル・メガバンク機構)</p>	<p>2Da-04</p> <p>ゲノム編集による魅力的な展示スタイルのアサガオ CRISPRed double mutants in Morning glory for attractive flowering display 小野 公代¹, 山内 花菜¹, 山下 遼¹, 土岐 精一^{2,3}, 遠藤 真咲², 小野 道之¹ (1筑波大・T-PIRC遺伝子, 2農研機構・生物研, 3龍谷大・農)</p>	10:15
<p>2Ca-05</p> <p>シヤクにおけるデオキシポドフィロトキシン合成酵素の機能解析 Functional analysis of Anthriscus sylvestris deoxypodophyllotoxin synthase (AsDPS) 小林 慶亮¹, 山村 正臣^{1,2}, 三上文三¹, 白石 慧³, 佐竹 炎³, 小埜 栄一郎⁴, 梅澤 俊明^{1,5} (1京大生存研, 2徳大院社, 3(公財)サントリー生命科学財団, 4サントリーグローバルイノベーションセンター(株), 5京大生存基盤)</p>	<p>2Da-05</p> <p>T7 RNA polymerase-deaminase 融合タンパク質を用いた標的遺伝子変異創生システムの構築 in planta mutagenesis using T7 RNA polymerase-deaminase fusion proteins 遠藤 真咲¹, 横井 彩子¹, 雑賀 啓明¹, 土岐 精一^{1,2,3,4} (1農研機構・生物研, 2龍谷大・農, 3横浜市立大院・生命ナノ, 4横浜市立大・木原生研)</p>	10:30
<p>2Ca-06</p> <p>モミジバダイオウからの植物二次代謝糖転移酵素の単離とアントラキノン配糖化活性 Isolation and Characterization of Plant Secondary Product Glycosyltransferases from <i>Rheum palmatum</i> 吉野 蒼生, 牧野 利明, 寺坂 和祥 (名市大・院薬)</p>	<p>2Da-06</p> <p>Type I-D CRISPR-Cas, TiD の改良と様々な生物でのゲノム編集技術開発 Improvement and development of TiD genome editing technology in various organisms 刑部 祐里子¹, 和田 直樹², 城所 聡¹, 河岡 明義¹, 刑部 敬史² (1東工大・生命理工, 2徳島大・生物資源)</p>	10:45

一般口頭発表表

時間	A会場	B会場
	バイオマス	環境応答
11:00	<p>2Aa-07</p> <p>高速型ミオシン XI-2 導入カメリナの特設網室における種子バイオマス収量の評価</p> <p>Evaluation of seed biomass yield of transgenic camelina harboring with high-speed chimeric myosin XI-2 in the special netted-house cultivation</p> <p>高野 俊介¹, 中鉢 友彰¹, 富永 基樹², 伊藤 光二³, 小口 太一^{4,5} (1筑波大・院・生物資源科学学位プログラム, 2早稲田大・教育・総合科学学術院, 3千葉大・院・理, 4筑波大・生命環境系, 5筑波大・T-PIRC)</p>	<p>2Ba-07 ENTRY</p> <p>硫黄欠乏応答遺伝子の植物種間比較機能解析</p> <p>Functional analysis of sulfur deficiency responsive genes in plants</p> <p>家田 愛菜, 峠 隆之, 渡邊 むつみ (奈良先端大・先端科学技術)</p>
11:15		<p>2Ba-08 ENTRY</p> <p>温帯性イネ科ミナトカモジグサにおける環境ストレス応答遺伝子 <i>SnRK2.2</i> と <i>SnRK2.9</i> の機能解析</p> <p>Functional analysis of the stress-responsive genes <i>SnRK2.2</i> and <i>SnRK2.9</i> in the temperate grass <i>Brachypodium distachyon</i></p> <p>鷹見 優¹, 中村 愉太², 高内 滯奈², 後藤 未羽¹, 日渡 祐二^{1,2} (1宮城大・院・食産業, 2宮城大・食産業)</p>

C会場	D会場	時間
二次代謝	遺伝子組換え・ゲノム編集	
<p>2Ca-07 キヌアの苦味サポニン合成酵素遺伝子の探索 Research on biosynthesis of bitter saponins in <i>Chenopodium quinoa</i> 鈴木隼人¹, 菅野茂夫¹, Jutapat Romsuk¹, 福島エリオデット² (1産総研 生物プロセス, 2レヒオナル アマソニカ イキアム大学)</p>	<p>2Da-07 遺伝子移行機構を利用したミトコンドリア形質転換へ向けて A pilot study for mitochondrial transformation by utilizing gene transfer from chloroplasts to mitochondria 小田原真樹¹, 森真愛¹, 沼田圭司^{1,2} (1理研CSRS, 2京大・院工学)</p> <p>2Da-08 農業・食品分野におけるゲノム編集技術の国民理解醸成に向けた活動の現状 Current status of activities for promoting public understanding of genome editing technology in the fields of agriculture and food 高原学¹, 中野善公^{1,2}, 森山力^{1,3}, 大田方人¹, 赤羽幾子¹, 西山哲史⁴, 立花智子⁴, 中嶋香織⁴, 藤井毅⁵ (1農研機構 企画戦略本部 新技術対策課, 2農研機構 野花研, 3福島国際研究教育機構, 4(株)リバナス, 5JATAFF)</p>	<p>11:00</p> <p>11:15</p>

奇数 11:30-12:30 偶数 12:30-13:30

P-01

植物スフィンゴ脂質の糖鎖を切断するホスホリパーゼの解析
Analysis of Phospholipases that Cleave Glycans on Plant
Sphingolipids

近藤 雄大¹, Rumana Yesmin Hasi², 田中 保², 今井 博
之³, 山口 雅利¹, 川合 真紀¹, 石川 寿樹¹ (1埼玉大・院理
工, 2徳島大・院社会産業理工, 3甲南大・理工)

P-02

パラゴムノキの天然ゴム生合成酵素複合体を構成する新規
タンパク質の探索

Exploration of Novel proteins Constituting a Natural Rubber
Biosynthetic Enzyme Complex from the Para rubber tree

三上 智世¹, Nadia Nur Shazana Binti Abu Talib Khan¹,
小島 幸治¹, 山口 晴彦², 廣森 美樹¹, 和氣 駿之¹, 宮城
ゆき乃², 山下 哲³, 戸澤 譲⁴, 中山 亨¹, 高橋 征司¹ (1東
北大・院工, 2住友ゴム工業(株), 3金沢大・院自然科学,
4埼玉大・院理工)

P-03

演題取り下げ

P-04

窒素欠乏がルピナスのキノリチジンアルカロイド含有量へ
与える影響

The effect of nitrogen deficiency on quinolizidine alkaloid content
in Lupinus

原 なつ美¹, 杉山 龍介^{1,2}, 山崎 真巳^{1,3} (1千葉大院薬,
2JSTさきがけ, 3千葉大植物分子科学セ)

P-05

シロイヌナズナ *nai1* 変異体で蓄積する非グルコシノレー
ト化合物の解析

Analysis of non-glucosinolate compounds that accumulate in
Arabidopsis *nai1* mutants

柿木 風香¹, 杉山 龍介^{1,2}, 山崎 真巳^{1,3} (1千葉大院薬,
2JSTさきがけ, 3千葉大植物分子科学セ)

P-06

エリシテーションにより高発現したゴマ培養細胞中ラムノ
シル化酵素の解析

Rhamnosylation in cell culture of *Sesamum indicum* L. expressed
by elicitor

藤 佑志郎^{1,2}, 松藤 寛², 平井 優美¹ (1理研・CSRS, 2日
大・生資科)

P-07

ニチニチソウ種子発芽過程におけるアルカロイド代謝開始
過程の解析

Cooperation of cell differentiation and induction of
monoterpenoid indole alkaloid metabolism during seed
germination of *Catharanthus roseus*

鵜崎 真妃¹, 森 哲哉¹, 佐藤 繭子¹, 若崎 真由美¹, 山本
浩太郎², 村上 明男³, 豊岡 公德¹, 三村 徹郎^{3,4}, 平井 優
美^{1,5} (1理研CSRS, 2横浜市大・理, 3神戸大・院・理, 4京都
先端科学大・バイオ環境, 5名古屋大・院・生命農)

P-08

コーヒー由来テルペン類配糖化酵素の基質選択性に係る領
域の探索

Investigation into the substrate selectivity of terpenoid
glycosyltransferase from coffee

佐々木 香織¹, 井田 美帆¹, 水野 幸一² (1秋田県大・院生
物資源, 2秋田県大・生物資源)

P-09

コーヒー由来テルペン類二配糖化酵素遺伝子単離のための
活性測定法の検討

Consideration of the assay methods for the terpenoids glycoside-
specific glycosyltransferases and isolation for those genes from
coffee

井田 美帆¹, 川上 寛子², 水野 幸一² (1秋田県大・院・生
物資源, 2秋田県大・生物資源)

P-10

品種の異なるスイセンにおける毒性成分の比較解析

Comparative analysis of alkaloid contents on commercial
Narcissus cultivars

解良 康太, 草刈 蓮, 細谷 嵩登, 高田 さくら, 飯嶋 益
巳, 中山 勉 (東農大・応用生物科学)

P-11

ゼニゴケのマルカンチン生合成経路前半の解明

Functional analysis of enzymes involved in the marchantin
biosynthesis pathway in *Marchantia polymorpha*

小林 悠華¹, 木村 渚¹, 肥塚 崇男², 野村 泰治³, 加藤 康
夫³, 久保 浩義¹, 高梨 功次郎¹ (1信州大院・総合理工学,
2山口大院・創成科学, 3富山県大・工)

奇数 11:30-12:30 偶数 12:30-13:30

P-12

ムラサキのシコニン生合成中間体を基質とする short-chain dehydrogenase/reductase の機能解析

Characterization of a short-chain dehydrogenase/reductase in *Lithospermum erythrorhizon*松田 悠希¹, 吉岡 奈津子², 渡辺 文太³, 市野 琢爾^{4,5}, 山本 浩文⁶, 矢崎 一史⁵, 高梨 功次郎^{1,2} (1信州大学大学院 総合理工学研究科, 2信州大学 理学部, 3東京慈恵会医科大学 医学部, 4神戸薬科大学 薬学部, 5京都大学 生存圏研究所, 6東洋大学 生命科学部)**P-13**

ゼニゴケのフラボノイド糖転移酵素の機能解析

Functional analysis of flavonoid glycosyltransferases in *Marchantia polymorpha*佐伯 結衣¹, 徳江 創太郎¹, 渡辺 文太², 太田 哲¹, 久保 浩義¹, 高梨 功次郎¹ (1信州大院・総合理工学, 2東京慈恵会医科大・医)**P-14**

ワサビの isosaponarin 生合成に関するアシルグルコース依存型配糖化酵素 WjAGT2 の機能解析

Analysis of an acyl-glucose dependent glucosyltransferase WjAGT2 involved in isosaponarin biosynthesis in *Eutrema japonicum*西部 あぐる¹, 庄司 のえみ¹, 田口 悟朗^{1,2} (1信州大院・総合理工, 2信州大・繊維・応生)**P-15**

ソバのルチン生合成に関与する配糖化酵素の同定と機能解析

Identification and functional characterization of a glucosyltransferase involved in rutin biosynthesis in *Fagopyrum esculentum*市川 尚哉¹, 福嶋 織百¹, 田口 悟朗^{1,2} (1信州大院・総合理工, 2信州大・繊維)**P-16**

ゼニゴケのビスビベンジル生合成経路に関与するシトクロム P450 の探索

Screening of cytochrome P450s involved in the bisbibenzyl biosynthesis in *Marchantia polymorpha*

木村 渚, 久米 永純, 久保 浩義, 高梨 功次郎 (信州大院 総合理工学研究科)

P-17

ゼニゴケにおける新規 aureusidin 生合成経路の探索

A novel aureusidin biosynthetic pathway in *Marchantia polymorpha*

眞辺 美咲, 大塚 峻, 久保 浩義, 高梨 功次郎 (信大院・総合理工学)

P-18

ムラサキのシコニン分泌に関与する ATP-結合カセットタンパク質の解析

Analysis of ATP-binding cassette proteins involved in Shikonin secretion of *Lithospermum erythrorhizon*近藤 菜友¹, 坪山 愛¹, 市野 琢爾^{1,2}, 李 豪¹, 巽 奏¹, 松田 陽菜子¹, 刑部 敬史³, 下村 講一郎⁴, 棟方 涼介^{1,5}, 矢崎 一史¹ (1京都大・生存研, 2神戸薬科大, 3徳島大・生物資源, 4東洋大・生命科学, 5JSTさきがけ)**P-19**

植物フェノール基質プレニル化酵素の部位特異性の普遍性に関わる生化学的解析

Biochemical analysis regarding the ubiquity in the regio-specificity of plant aromatic prenyltransferases

韓 俊文¹, 棟方 涼介^{1,2}, 高橋 宏暢³, 肥塚 崇男⁴, Alain Hehn⁵, 矢崎 一史¹ (1京大・生存研, 2JST PRESTO, 3徳島文理大・薬, 4山口大院・創成科学, 5仏 ロレーヌ大/INRA)**P-20**

肺炎球菌の抗原タンパク質 EF-Tu を産生するタバコ形質転換体の作出および形質調査

Production and characterization of transgenic tobacco plants producing the antigenic protein EF-Tu of *Streptococcus pneumoniae*菌部 一貴¹, 岩村 衣花², 土門 久哲³, 寺尾 豊³, 中野 優², 大谷 真広² (1新潟大・院自然研, 2新潟大・農学, 3新潟大・院医歯学総合研)**P-21**

5つのアイソザイムを持つ真核紅藻由来乳酸脱水素酵素の速度論的解析

Kinetic analysis of lactate dehydrogenase from eukaryotic red alga with five isozymes

山本 眞以¹, 小山内 崇² (1明治大・院農芸化学, 2明治大・農芸化学)

奇数 11:30-12:30 偶数 12:30-13:30

P-22

グルコース添加条件での *Euglena gracilis* の細胞サイズ
Cell size of *Euglena gracilis* under glucose-added conditions

榎本 美波¹, 小山内 崇² (1明治大・院農芸化学, 2明治大・農芸化学)

P-23

エゴマ由来抗酸化物質の同定と高産生条件の解明 II
Determination and production of antioxidant compounds from the squeezed seeds and calli of *Perilla frutescens* (L.) Britton var. *frutescens*, II

川上 寛子¹, 真崎 舞雪¹, 菅原 輝美¹, 原 光二郎¹, 小峰 正史¹, 加藤 咲子², 小松 博依², 若泉 裕明² (1秋田県大・生物資源, 2東商事株式会社)

P-24

センブリカルのセコイリドイド生産に光条件が及ぼす影響の解明 II
The effects of light conditions on secoiridoids production of the callus of *Swertia japonica*, II

松本 紘汰, 原 光二郎, 小峰 正史, 川上 寛子 (秋田県大院・生物資源)

P-25

シロイヌナズナの Ca²⁺/CaM 依存性 NAD キナーゼの機能解析
Functional Analysis Of Ca²⁺/CaM-dependent NAD Kinases In *Arabidopsis Thaliana*

坂口 浩朗, 石川 寿樹, 山口 雅利, 川合 真紀 (埼玉大・院・理工)

P-26

C₄ 種 *Flaveria bidentis* のサイトゾル局在性 NAD キナーゼ (NADK1) の解析
Analysis of Cytosolic NAD Kinase (NADK1) in C₄ Species, *Flaveria bidentis*

藤沼 友莉果, 鈴木 沙也加, 石川 寿樹, 山口 雅利, 川合 真紀 (埼玉大・院理工)

P-27

イネ品種 Tadukan に由来する細胞質雄性不稔性イネの形態観察およびトランスクリプトーム解析
Morphological observation and transcriptomic analysis of the cytoplasmic male sterile rice derived from Tadukan

高塚 歩¹, 風間 智彦², 鳥山 欽哉¹ (1東北大・院・農, 2九州大・院・農)

P-28

タバコおよびペチュニアにおける ABC 輸送体 ABCD1 の発現解析

Expression analysis of ABCD1 transporter in tobacco and petunia
土反 伸和¹, 増田 峻也¹, 西谷 詩織², 稲垣 明子¹, 中原 洋子¹, 山田 泰之¹, 肥塚 崇男² (1神戸薬大・医薬細胞, 2山口大院・創成科学)

P-29

病害防御応答に関与する葉緑体タンパク質の機能解析
Functional analysis of pathogen resistance factors related to chloroplast proteins

中島 萌美路¹, 星野 孝太¹, 松永 遥平², 本橋 令子^{1,2} (1静岡大・農学, 2静岡大・院農学)

P-30

シロイヌナズナにおけるフェアリー化合物による乾燥ストレス耐性付与と生育促進のメカニズムの解明
Understanding the mechanism of drought stress tolerance and growth stimulation by fairy chemicals in *Arabidopsis thaliana*

小日向 彩果¹, 谷口 有希¹, 廣瀬 万裕², 謝 肖男³, 竹内 純¹, 崔 宰熏¹, 轟 泰司¹, 河岸 洋和², 本橋 令子¹ (1静大・院農学, 2静大・農学, 3宇都宮大・農)

P-31

シロイヌナズナの葉緑体リボソーム因子の機能解明
Understanding the function of ribosomal factors in the chloroplast of *Arabidopsis thaliana*

本橋 令子^{1,2}, 山下 美徳², 村松 藍², 山地 巧途¹ (1静大・院農学, 2静大・農学)

P-32

側根におけるダイズ(イソフラボン生合成関連)遺伝子の時期特異的発現について
Stage-specific isoflavones synthesis genes expression profile in lateral root of soybean

濱崎 英史¹, 栗原 志夫¹, 栗山 朋子¹, 蒔田 由布子², 河内 正治¹, 見城 貴志³, 小島 克洋³, 穴井 豊昭⁴, 竹山 春子⁵, 松井 南¹ (1理研 CSRS, 2前橋工科大学, 3(株)朝日アグリ, 4九州大学, 5早稲田大学)

奇数 11:30-12:30 偶数 12:30-13:30

P-33

マルチプラットフォーム-ワイドターゲットメタボロミクスによる葉面積制御に資する機能性代謝産物群の探索
Elucidation of functional metabolites involved in leaf size control by multi-platform widely-targeted metabolomics

多部田 弘光^{1,2}, 古賀 皓之³, 佐藤 心郎¹, 塚谷 裕一³,
フェルジャニ アリ², 平井 優美^{1,4} (1理研CSRS, 2東京学芸大・教育, 3東京大学・院・理学, 4名大・院・生命農学)

P-34

ストレス誘導性のミツバ不定胚発生における組織および遺伝子発現の解析

Histological analysis of the stress-inducible somatic embryogenesis in Japanese honeysuckle (*Cryptotaenia japonica*)

高橋 沙奈, 加藤 麦都, 塩田 肇 (横浜市立大学・生命ナノシステム科学研究科)

P-35

脱分化・再分化に関与するシロイヌナズナ一番染色体に座乗するエピ変異の同定

Identification of an epi-allele on chromosome1 involved in dedifferentiation and redifferentiation in *Arabidopsis*

河合 顕真¹, 前地 弘基¹, 平沢 巽¹, 若林 莊太郎¹, 太田 英恵¹, 佐瀬 英俊², 永野 惇^{3,4}, 武田 真⁵, 西村 泰介¹
(1長岡技術科学大学・院・工, 2沖縄科学技術大学院大学, 3龍谷大学・農, 4慶應大学・先端生命科学研究所, 5名古屋大学・院・生命農学)

P-36

葉の形態変化を引き起こすシロイヌナズナの1番染色体上のエピ変異の同定の試み

Identification of an epi-allele on chromosome1 involved in leaf morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*

藤田 紘未, 黒澤 和, 和田 瑞希, 牛澤 美樹, 星野 愛海,
西村 泰介 (長岡技術科学大学・院・工)

P-37

花卉が屈曲するアサガオ変異体「台咲(だいざき)」の原因遺伝子の同定と機能解析

Identification and functional analysis of the causal gene for the petal-folding mutant in morning glory

山田 康志¹, 星野 敦^{2,3}, 仁田坂 英二⁴, 武田 征士¹ (1京都府立大学大学院, 2基礎生物学研究所, 3総合研究大学院大学, 4九州大学)

P-38

シロイヌナズナ LATE FLOWERING 転写因子の機能解析
Functional Studies of the Transcription Factor LATE FLOWERING in *Arabidopsis*

中野 仁美¹, 河合 真紀^{1,2}, 荒井 萌伽^{1,2}, 藤原 すみれ^{1,2}
(1産総研・生物プロセス, 2筑波大・生物)

P-39

抗オーキシン活性を示す化合物 AAs の性質

Characterization of novel Anti-Auxin compounds AAs

眞木 祐子¹, 副島 洋¹, 佐藤 長緒², 綿引 雅昭², 谷野 主持², 山口 淳二² (1雪印種苗(株), 2北大院・理)

P-40

光環境がダイズ水耕栽培における根粒形成に及ぼす影響
Effect of light environment on root nodule formation in hydroponic cultivation of soybean

宮脇 克行^{1,2,3}, 鈴木 祐樹², 山田 朔実³, 中井 綾³ (1徳島大BIRC, 2徳島大・生物資源産業界学, 3徳島大・院創成科学)

P-41

ヒメツリガネゴケのペルオキシダーゼ(Prx34)の分泌
Secretion of peroxidase (Prx34) from *Physcomitrium patens*

中 雄輝¹, 伊藤 健司¹, 林 由惟², 秋田 求² (1近大・院生物理工, 2近大・生物理工)

P-42

病原菌耐性を示すシロイヌナズナのエピジェネティック組換え自殖系統

An Epigenetic Recombinant Inbred Line with Pathogen Resistance in *Arabidopsis thaliana*

太田 稔基¹, 伊佐 猛¹, 星野 愛海¹, 石賀 康博², 西村 泰介¹ (1長岡技術科学大・院・工, 2筑波大・生命環境係)

P-43

乾燥ストレス耐性機構における転写因子 SGR5 の機能解析
Analysis of the transcription factor SGR5 that functions in the drought resistance mechanism

荒井 萌伽^{1,2}, 木越 景子¹, 河合 真紀^{1,2}, 中野 仁美¹, 光田 展隆¹, 藤原 すみれ^{1,2} (1産総研・生物プロセス, 2筑波大・院生物)

奇数 11:30-12:30 偶数 12:30-13:30

P-44

植物の光合成活性向上を目指した転写因子の探索と成長への影響

Screening for the transcription factors with enhanced photosynthetic activity

鄭貴美¹, 高橋俊一², 高木優³, 光田展隆¹ (1産総研・生物プロセス/ゼロエミ, ²琉球大・熱帯生物圏, ³埼玉大学大学院・理工学)

P-45

中赤外分光法による植物メタボロミクス — コムギ高温ストレス応答への適用

Plant metabolomics using mid-infrared spectroscopy — Application to heat stress response in wheat

竹田佳生¹, O. M. Osman Salma^{2,3}, 只野翔大², 山崎友渡¹, I. Saad Abu Sefyan³, S. A. Tahir Izzat³, 山崎裕司⁴, 辻本壽⁴, 明石欣也^{1,2} (1鳥取大院・持続性社会, ²鳥取大院・連農, ³スーダン農業研究機構, ⁴鳥取大・乾地研)

P-46

Screening Effective Fungicides to Overcome Leaf Fall Disease in Indonesia Rubber Plantations

Wen Dee Ong (RIKEN CSRS)

P-47

スフィンゴ脂質不飽和結合を欠損するシロイヌナズナ変異体は低温障害の表現型を示す

Arabidopsis thaliana Mutants Deficient in Sphingolipid Unsaturated Bonds Exhibit a Low Temperature Injury Phenotype

北岡雅隆, 山口雅利, 川合真紀, 石川寿樹 (埼玉大・院理工)

P-48

チャ(茶樹)におけるボンバードメント法を用いたゲノム編集のための不定胚培養

Somatic embryo culture for genome editing using by particle-bombardment in tea plant (*Camellia sinensis*)

稲葉佑弥¹, 平田洲五¹, 青島千恵理¹, 瀬川大樹¹, 山下寛人³, 一家崇志³, 古川一実² (1沼津高専 専攻科, ²沼津高専 物質工学科, ³静岡大学 農学部)

P-49

虫こぶ形成植物ヌルデ (*Rhus chinensis*) の組織培養条件および形質転換系の確立に向けて

Towards establishment of tissue culture and transformation system for the insect gall-forming plant *Rhus chinensis*

塗木彩花¹, 藤井祐都², 大坪憲弘² (1京都府大・生命環境, ²京都府大・院生命環境)

P-50

表皮細胞形態の制御による花卉質感を改変したユーストマ (*Eustoma grandiflorum*) の作出

Production of *Eustoma* (*Eustoma grandiflorum*) with novel petal texture by controlling petal epidermal cell morphology

石田怜子¹, 谷上愛海¹, 池田有理子¹, 矢野翼², 新保由紀子¹, 大坪真樹¹, 足立浩崇³, 大沼紀子³, 藤田和義⁴, 坂口公敏³, 河西崇³, 寺川輝彦², 武田征士¹, 大坪憲弘¹ (1京都府立大・院・生命環境, ²インプラントイノベーションズ, ³ミヨシ, ⁴三好アグリテック)

P-51

高濃度硫酸銅添加による *Eustoma grandiflorum* の形質転換系の効率化と液体培養実生を用いた簡便な形質転換手法の開発

Improvement of transformation system of *Eustoma grandiflorum* by addition of high concentration of copper sulphate and development of a simple transformation method using liquid culture seedlings

大坪憲弘¹, 片岡千佳¹, 新保由紀子¹, 大坪真樹¹, 足立浩崇², 大沼紀子², 藤田和義³, 河西崇², 坂口公敏² (1京都府立大・院生命環境, ²ミヨシ, ³三好アグリテック)

P-52

ピーマンの細胞培養条件の検討

Culture conditions of *Capsicum annuum*

伊藤稜亮, 高見澤桃子, 一色正之 (横浜市立大・木原生物学研究所)

奇数 11:30-12:30 偶数 12:30-13:30

P-53

人工栽培環境におけるヒロハセネガ培養苗の栽培条件の検討と品質評価

Study of cultivation conditions under a controlled environment and quality evaluation for tissue cultured seedlings of *Polygala senega* L.var.*latifolia* Torrey et Gray

山本 和彦¹, 北添 達樹², 白畑 辰弥², 丸山 卓郎³, 北野 康史⁴, 金子 倫久⁴, 高田 泰生⁴, 河野 徳昭¹, 小林 義典², 吉松 嘉代¹ (1)医薬健康研薬植セ, (2)北里大薬, (3)国立衛研, (4)日本粉末薬品)

P-54

和紙原料植物トコロアオイ培養系の開発

Development of tissue culture system for Tororo-aoi, a material for Japanese traditional paper "washi"

大関 澄花¹, 嶋田 千香², 小越 咲子², 風間 裕介¹, 池田 美穂¹ (1)福井県立大学生物資源学部, (2)福井工業高等専門学校電子情報工学科)

P-55

アグロインフィルトレーション法によるタデアイ (*Polygonum tinctorium*) の形質転換法の検討

Examination of the transformation method of indigo plant (*Polygonum tinctorium*) by agroinfiltration

山田 朔実¹, 中井 綾¹, 井上 慎太郎², 南 善子³, 宮脇 克行^{1,2} (1)徳島大・院生物資源学, (2)徳島大・BIRC, (3)岡山理科大・生命科学)

P-56

新規カルス誘導化合物の活性評価

Activity of Novel Callus-inducing Compounds

藤野 宏太郎, 小川 拓水, 園田 素啓, 太田 大策, 岡澤 敦司 (大阪公大・院農)

P-57

イネカルスのオートファジーによる炎症シグナル調節機構の解明

Critical roles of autophagy in the regulation of inflammatory signals in rice callus

来須 孝光¹, 榎本 光大¹, 小島 崇義¹, 玉木 敬悟¹, 木村 成介², 中野 正貴³, 西内 巧³, 花俣 繁⁴, 朽津 和幸⁵ (1)公立諏訪東京理科大・工, (2)京都産業大・生命科学, (3)金沢大・研究基盤支援, (4)神奈川大・理, (5)東京理科大・創域理工・生命生物科学)

P-58

An efficient plant cell and tissue culture protocols of avocado (*Persea americana* Mill.) seed cotyledons

Bienvenu Kwizera, Shinjiro Ogita, Hiroyuki Kohmura (Prefectural University of Hiroshima (Graduate School of Comprehensive Scientific Research))

P-59

シナマオウの大量増殖に向けた無菌培養および発根個体の作出

Sterile culture and generation of rooting individuals for mass propagation of *Ephedra sinica*

矢野 翼¹, 樋山 肇², 櫻井 美希², 高野 成央¹, 寺川 輝彦¹ (1)株式会社インプラントイノベーションズ, (2)株式会社ツムラ)

P-60

トチュウ化石中に局在するトランス型ポリイソプレンに関する研究

Study on trans polyisoprene localized in fossilized *Eucommia ulmoides*

武市 誠¹, 川瀬 凜¹, 山城 考¹, 中澤 慶久¹, 伊藤 謙², 沢田 健³, 塚腰 実⁴ (1)徳島大・院創成科学生物資源学, (2)大阪大・総合学術博物館, (3)北大・院理学研究, (4)大阪市立自然史博物館)

P-61

フェルロイルアラビノキシラン側鎖構造の形成に関与する酵素の機能解析

Functional characterization of enzymes involved in the formation of feruloyl arabinoxylan side-chain structures

鈴木 聖治¹, 木村 琢人², 坂本 真吾³, 木塚 康彦^{1,2,4}, 光田 展隆³, 石水 毅⁵, 鈴木 史朗^{1,2} (1)岐阜大・院連農, (2)岐阜大・応用生物, (3)産総研 生物プロセス, (4)東海機構 iGCORE, (5)立命館大・生命)

P-62

逆転写を利用した精密ゲノム編集技術 Prime Editing によるイネおよびトマト内在性遺伝子の改変

Precise gene editing in rice and tomato via Prime Editing

横井 彩子¹, 飯田 恵子¹, 森 明子¹, 土岐 精一^{1,2,3,4} (1)農研機構・生物研, (2)横浜市大・生命ナノ, (3)横浜市大・木原生研, (4)龍谷大学・農学部)

奇数 11:30-12:30 偶数 12:30-13:30

P-63

‘プリンセチア’(*Euphorbia pulcherrima* x *Euphorbia cornastra*)に高頻度で生じる T-DNA 切断現象の配列および種特異性の解析

Sequence and species-specificity analysis of high-frequency T-DNA cleavage in ‘Princettia’ (*Euphorbia pulcherrima* x *Euphorbia cornastra*)

伊藤 皓矢¹, 小岸 玲子¹, 進藤 沙弥香¹, 志茂 里菜¹, 新保 由紀子¹, 大坪 真樹¹, 松井 啓祐², 鈴木 賢一², 友松 康一², 大坪 憲弘¹ (1京都府大・院生命環境, 2サントリーフラワーズ(株)・開発部)

P-64

ペプチド法による葉緑体形質転換の高効率化に向けた条件検討

Examination of conditions for highly efficient chloroplast transformation using peptide

堀井 陽子¹, 小田原 真樹¹, 宮本 昂明¹, 沼田 圭司^{1,2} (1理研CSRS, 2京大・院工学)

P-65

フラグメント解析とナノポアシーケンサーによるゲノム編集無花粉スギの遺伝子改変パターンの解析

Analysis of gene modification patterns in gene-edited pollen-free lines in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) using fragment analysis and the Nanopore DNA sequencing

七里 吉彦¹, 佐藤 良介¹, 高田 直樹¹, 上野 真義², 小長 谷 賢一¹, 遠藤 真咲³, 谷口 亨¹ (1森林機構・森林バイオ, 2森林機構・森林総研, 3農研機構・生物機能部門)

P-66

ホトトギス‘東雲’(*Tricyrtis* sp.)における花被の斑点形成に関与すると予想される R2R3-MYB 遺伝子の機能解析

Functional analysis of the R2R3-MYB gene expected to be involved in tepal spot formation in *Tricyrtis* sp.

小野 樹りあ¹, 大谷 真広², 中野 優² (1新潟大・院自然研, 2新潟大・農)

P-67

シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)を用いた LEAFY(LFY)および TERMINAL FLOWER 1(TFL1)遺伝子のゲノム編集のための適切な sgRNA の設計

Design of proper sgRNA sequences for genome editing of LEAFY (LFY) and TERMINAL FLOWER 1 (TFL1) genes using *Arabidopsis thaliana*

高梨 壮大¹, 大谷 真広², 中野 優² (1新潟大・院自然研, 2新潟大・農)

P-68

ptpTALEN を用いたシロイヌナズナ葉緑体ゲノム DNA の標的二本鎖切断

ptpTALEN-mediated double-strand break in chloroplast genome of *Arabidopsis thaliana*

末藤 巳旺, 中里 一星, 堤 伸浩, 高梨 秀樹, 有村 慎一 (東大院・農学生命科学)

P-69

花卉園芸植物ストックにおける遺伝子組換えおよびゲノム編集個体の作出

Production of transgenic and genome-editing plants in garden stock

棚原 祥貴¹, 刑部 祐里子², 刑部 敬史³, 中塚 貴司¹ (1静岡大院・総合科学技術研究所, 2東京工業大・生命理工学院, 3徳島大・生物資源産業学部)

P-70

ゲノム編集で作出した *TaQsd1* 三重変異を持つコムギの実験環境と野外栽培での形質評価

Traits Evaluation of *TaQsd1* Triple Mutant, Which Were Generated by Genome Editing, in Experimental Conditions and Field Cultivation

加星 光子¹, 安倍 史高¹, 山地 奈美², 蝶野 真喜子¹, 久野 裕², 佐藤 和広² (1農研機構・作物研, 2岡山大学・植物研)

P-71

葉片再分化系を利用した重イオンビーム照射による突然変異リンドウの作出

Induction of mutation via regeneration from leaves irradiated with ion beams in gentian

西原 昌宏¹, 後藤 史奈¹, 根本 圭一郎¹, 平瀬 亜紀子¹, 渡辺 藍子¹, 吉田 千春¹, 阿部 陽¹, 下川 卓志², 小澤 傑³, 内藤 善美³ (1岩手生工研セ, 2量医研, 3岩手農研セ)

P-72

システムック RNA サイレンシングにおける遺伝子量効果 Dosage effects of the transgene on the systemic RNA silencing

塩澤 涼子¹, 中村 夏音², 安藤 杏里彩², 宮原 平¹, 児玉 浩明¹ (1千葉大・院園芸, 2千葉大・園芸)

奇数 11:30-12:30 偶数 12:30-13:30

P-73

乳酸菌由来代謝物による湛水イネ種子の発芽後成長促進効果の解析

Analysis of growth promotion effect of lactic acid bacteria-derived metabolic compounds on rice seedlings under flooding

久保 晃生¹, 佐久間 行生¹, 眞木 祐子², 小鏑 亮介², 佐久間 太², 眞木 美帆^{3,4}, 山口 淳二⁴, 高木 純平⁴, 佐藤 長緒⁴ (1北大院・生命, 2雪印種苗(株), 3北大・創成, 4北大院・理)

P-74

DNA 相同組み換えレポーター遺伝子を持つ植物培養細胞を用いた帰還困難区域におけるバイオモニタリング実施
Implementation of biomonitoring in difficult-to-return areas using cultured plant cells introducing DNA homologous recombinant reporter genes

高橋 真哉¹, 玉置 雅紀² (1筑波大・生命環境, 2国環研・生物)

P-75

トマトモザイクウイルスの移行タンパク質はトマトの茎での組換えタンパク質の一過性発現を促進する

Tomato mosaic virus movement protein enhances the transient expression of recombinant protein in the stem of the tomato plant, *Solanum lycopersicum*

小林 美咲¹, Martina Bianca Fuhrmann-Aoyagi¹, 宇土 秋良¹, 三浦 謙治^{1,2} (1筑波大・院生命地球科学, 2つくば機能植物イノベーション研究センター)

P-76

ホオノキのネオリグナン生合成遺伝子の探索

Exploration of Neolignan Biosynthesis Genes in Hohoki

横坂 永遠¹, Megha Rai^{1,2}, 山崎 真巳^{1,2} (1千葉大・院薬, 2千葉大植物分子科学センター)

P-77

シロイヌナズナのヒストン共分布パターンに基づいた未知遺伝子の機能予測

Functional Prediction of Unknown Genes Based on Histone Co-distribution Patterns in *Arabidopsis thaliana*

川口 晃平¹, 大林 俊太², 福島 敦史^{1,3} (1京都府大・院生命環境, 2京都府大・生命環境, 3理研CSRS)

P-78

NBRP トマト個別変異体リソースの栄養生長時期における大規模表現型解析

Phenotypic characterization of tomato vegetative growth on individual mutant resources from National Bioresource Project-Tomato

杉本 貢一, 藤森 陽子, 有泉 亨, 江面 浩 (筑波大・T-PIRC)

P-79

ホトトギス'東雲'由来四倍体系統と台湾ホトトギス'秋月'間における胚珠培養による三倍体雑種の作出

Production of triploid hybrids between a tetraploid variant of *Tricyrtis* sp. 'Shinonome' and *T. formosana* 'Akizuki' by ovule culture

野村 奈央¹, 田子 慶太郎², 新井 美南子², 大谷 真広², 中野 優² (1新潟大・院自然研, 2新潟大・農)

P-80

Truncation of calmodulin-binding domain in rice GAD4 leads to accumulation of GABA and confers abiotic stress tolerance in rice seedlings

Nadia Akter, Kazuhito Akama (Graduate School of Natural Science and Technology, Shimane University)

P-81

Functional analysis of CaMBD-truncated OsGAD1 and OsGAD3 by genome editing in rice (*Oryza sativa* L.) for the multi-stress response

Ummey Kulsum, Kazuhito Akama (Graduate School of Natural Science and Technology, Shimane University, Japan.)

A-1

学術賞

植物の小胞体ストレス応答の分子機構の解明と植物バイオテクノロジーの社会実装のための学術的貢献

Elucidation of the molecular mechanisms of endoplasmic reticulum stress response in plants and academic contributions to the social implementation of plant biotechnology

小泉 望

大阪公立大学

小胞体ストレス応答とは小胞体内腔でのタンパク質のフォールディング異常に対処するためにシャペロンなどの遺伝子が誘導される現象である。シロイヌナズナから植物の小胞体センサー IRE1 を同定し、IRE1 がその RNase 活性による細胞質スプライシングを介してシャペロン誘導に関わる転写因子 bZIP60 を活性化することを明らかとした。細胞質スプライシングの結果、通常は小胞体膜に局在している bZIP60 が膜貫通ドメインを消失し、核へと移行する。酵母、哺乳動物でも細胞質スプライシングが転写因子の活性化に関わるが、活性化のメカニズムは植物では大きく異なる。IRE1 は RNase 活性により小胞体で合成されるタンパク質の mRNA を広範囲に渡って分解することも明らかとした。この RNA 分解は小胞体ストレス下での小胞体へのタンパク質の流入を減少させるために働いていると考えられる。小胞体ストレス応答を惹起する薬剤として使われるツニカマイシンの標的酵素である GlcNAc-1-P-transferase (GPT) を過剰発現させるとシロイヌナズナはツニカマイシンに対して耐性を示した。続いて GPT をツニカマイシンと組み合わせることで植物遺伝子由来の選抜マーカーとして使えることを示したが社会実装には至らなかった。背景の一つに遺伝子組換え技術の社会実装に否定的な風潮が見られたことから、遺伝子組換え技術を中心に植物バイオテクノロジーの理解増進を目的とした複数のコンテンツを作成、頒布した。また、遺伝子組換えにより果実の β カロテン含量を高めたナスを作出し、植物バイオテクノロジーの有用性を示した。

A-2

学術賞

薬用植物の統合オミクスによるアルカロイド生合成メカニズムの分子進化解明

Integrative omics approaches for understanding of molecular evolution of plant alkaloid biosynthesis

山崎 真巳^{1,2}¹千葉大・院薬/Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ., ²千葉大・植物分子科学研セ/PMSC., Chiba Univ.

人類は、植物二次代謝産物の化学多様性とその生理活性の多様性を医薬品資源として利用してきた。これらの二次代謝の多様性（＝複雑性）を理解するためには2000年以降に発展した統合オミクス科学がたいへん有効であった。

まず二次代謝の異なる成分変種を研究材料とした。アントニン生産の異なる成分変種アカジソとアオジソを用いてアカジソ特異的に発現する遺伝子を単離して新規触媒酵素ならびに転写調節因子を同定した [Yamazaki, et al., *J. Biol. Chem.* (1999), Saito, et al., *Plant J.* (1999), Yamazaki, et al., *Phytochemistry* (2003), *FEBS J.* (2008)] これは後にモデル植物シロイヌナズナのアントシアニン過剰生産株 *pap1-D* の統合オミクス解析 [Tohge, et al., *Plant J.* (2005)] につながる。

次にアミノ酸リジンからキノリチジンアルカロイド (QA) 生合成への代謝分岐点を研究した。QA 生産種ホソバルピナスの、QA 生産品種“ビター品種”に特異的にするオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) ホモログ遺伝子を単離し、この酵素がオルニチンとリジンを脱炭酸する二機能性酵素 (L/ODC) であることを明らかにした [Bunsupa, et al., *Plant Cell* (2012)]。さらに QA 生産種の酵素間で保存される 344 番目の Phe/Tyr は、酵素の二機能性を決定づけ、正の選択圧を受けて分子進化したことが推定された [Bunsupa, et al., *Plant Physiology* (2016)]。シロイヌナズナに L/ODC 遺伝子を導入発現させるとリジン由来の単純アルカロイドが生産された [Shimizu Y, et al., *Plant J.* (2019)]。

ところで、アルカロイド生産植物はどのようにして自身の毒に耐えるのか。強い細胞毒カンプトテシンを生産する植物種では標的タンパク質のトポイソメラーゼ I のカンプトテシン結合に関わるアミノ酸残基に共通の変異がみられ、カンプトテシン生合成と自己耐性機構は平行進化し複数の種の間で収斂進化したことが明らかになった [Sirikantaramas, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (2008)]。

カンプトテシン生産種のうち、チャボイナモリ (アカネ科) について統合オミクス解析を展開した [Yamazaki M, et al., *Plant Cell Physiol.* (2013)]。さらに、染色体レベルのゲノム情報を得、これを基盤とした高精度の統合オミクス解析、遺伝子クラスター解析ならびに比較ゲノム解析から生合成遺伝子を推定した [Rai A, et al., *Nature Commun.* (2021)]。この他に約 40 種の薬用植物についても *de novo* トランスクリプトーム解析を行い、有用物質生産に関与する遺伝子を推定した [Rai A, et al., *Plant Cell Rep.*, (2016), *J. Nat. Med.*, (2017)]。

以上のように、薬用資源植物について二次代謝の分子機構解明と分子進化の推定を行ってきた。これらの知見は、将来、植物代謝工学、合成生物学などに応用展開されることにより植物バイオテクノロジー分野の学術的発展に大きく貢献すると期待される。

本研究は、故村越勇先生ならびに齊藤和季先生のご指導を受けて始めたものであり、多くの方々との共同研究によって成果を得たものです。ここに心より感謝いたします。

A-3

奨励賞

無細胞翻訳系を基盤とした生化学的アプローチによる植物生理学・生態学的研究

Biochemical approach based on a cell-free translation system for plant physiology and ecology research

根本 圭一郎

岩手生工研セ

生命現象を理解するためにはタンパク質の機能を明らかにすることが重要である。しかしながら、タンパク質の特性は千差万別であり、しばしば不安定であるために解析が困難である。私はこれまでに、高効率な *in vitro* タンパク質合成システム「コムギ胚芽無細胞翻訳系」の特性を活かし、主に植物の多様な生理現象の制御に関わるリン酸化シグナル伝達機構に関する研究を展開してきた。

プロテインキナーゼによって触媒されるタンパク質のリン酸化は、タンパク質機能の調整や細胞全体のシグナル伝達において主要な役割を果たす翻訳後修飾の1つである。リン酸化は、主にセリン、スレオニン、チロシン残基で生じ、特に、後生動物において、チロシンリン酸化は多様な生命現象の制御に重要な役割を果たしていると考えられている。植物はヒトの2倍以上のプロテインキナーゼ遺伝子を有していることから、リン酸化シグナルを高度に発達させてきたと考えられている。しかしながら、それらの機能はほとんど明らかになっていない。そこで、我々は植物におけるリン酸化シグナルの理解を深めるために、コムギ無細胞系を基盤とした技術を活用して、750種を超える大規模植物プロテインキナーゼライブラリーの構築、網羅的な生化学的機能解析技術などを確立してきた。そして、これらの解析技術を用い、これまで実体が不明であった植物チロシンリン酸化プロテインキナーゼを見出すことに成功し、さらに、チロシンリン酸化の生物学的意義の一端を明らかにした。また、最近では、リンドウをモデルにし、花の開花運動というダイナミックな形態的变化が細胞膜上に存在する水チャネル・アクアポリンによる水移動によって制御されていること、さらに、その機能が新規カルシウム依存型プロテインキナーゼによるリン酸化によって調節されていることなどを明らかにした。本成果は、およそ30年間不明であった植物アクアポリンのリン酸化による活性化機構を明らかにしたものであり、花の運動に限らず、植物の水利用の仕組み理解するための重要な知見になることが期待できる。

植物ホルモン・アブシジン酸 (ABA) は環境ストレス耐性や果実成熟などに関わるリン酸化シグナルを駆動するためのトリガー分子である。近年、モデル植物シロイヌナズナなどの ABA 受容体を標的とした化合物探索により、様々な ABA 受容体アゴニスト化合物が同定され、環境ストレス耐性を誘導する新たな植物成長調整剤の可能性が見出されている。しかしながら、植物体や酵母などを用いた生細胞系スクリーニングは、多検体処理に不向きであること、膜透過性などの化合物の物性に影響されるなどの問題点がある。そこで、我々は、コムギ無細胞タンパク質合成系を基盤とした高感度 ABA 受容体機能解析技術を独自開発し、多種多様な植物種の ABA 受容体を同一評価系で解析可能なハイスループットな薬剤探索技術基盤を構築した。現在、本方法論を実用的な農作物へ適用した応用研究なども展開している。

本研究を進めるにあたり、ご指導賜りました多くの共同研究者の皆様には厚く御礼申し上げます。

A-4

学生奨励賞

シロイヌナズナのオルガネラゲノムの標的一塩基置換

Targeted base editing in the organellar genomes of *Arabidopsis thaliana*

中里 一星

東大・院・農生

植物細胞は、核の他に葉緑体とミトコンドリアにも遺伝情報（オルガネラゲノム）を持つ。光合成やエネルギー生産に関わる遺伝子を有するオルガネラゲノムの改変により作物の収量が向上し得るため、植物オルガネラゲノムの改変手法の発展は基礎研究と作物育種にとって重要である。葉緑体ゲノム改変の中心技術である遺伝子導入法（葉緑体形質転換法）は、目的タンパク質を高蓄積させられる等の利点があるが、モデル植物シロイヌナズナやイネを含む多くの植物種への適用が難しく、また作出された個体が遺伝子組換え生物（GMO）となり実用上の障壁がある等の難点もある。一方、陸上植物のミトコンドリアゲノムは、人工制限酵素 TALEN（mitoTALEN）による標的配列の切断が可能であった。この方法は、遺伝子破壊ができるという利点があるが、ゲノム構造の変化を伴うという難点もある。発表者らはゲノム編集技術を応用し、葉緑体またはミトコンドリアに局在する標的一塩基置換酵素 ptpTALECD と mitoTALECD を用いて、上記の難点を避けつつシロイヌナズナのオルガネラゲノムの改変を試みた。

ptpTALECD 発現カセットを核ゲノムに有する T₁ 世代 82 個体中、標的配列の C:G が全葉緑体ゲノムで完全置換したと見られる 35 個体が得られた。これら 35 個体中 17 個体の葉緑体ゲノム配列を解読したところ、10 個体で標的塩基がアリル頻度 100%で置換された一方で、アリル頻度 10%以上の off-target 変異は 2 個体を除き検出されず、正確な標的一塩基置換の達成が確認された。置換型の塩基は T₂ 世代に安定遺伝し、その中には核ゲノムに外来遺伝子を持たない可能性の高い個体も含まれた（外来遺伝子を持たない個体は日本では GMO として扱われない）。以上より、ptpTALECD を用いて、細胞内の全葉緑体ゲノムで標的 C:G のみが T:A に置換されたシロイヌナズナ植物体を作成できることが示された。

発表者らは最近、高活性型の塩基置換部位を持つ ptpTALECD_v2（以後 v2）を作製した。v2 は ptpTALECD（以後 v1）よりも塩基置換頻度が高く、v1 が置換しにくい G や C の 3'側の C を比較的容易に置換できるため、葉緑体ゲノムのより多くの C:G を置換できると期待される。

mitoTALECD 発現カセットを核ゲノムに有する T₁ 世代 78 個体中、標的塩基が全ミトコンドリアゲノムで完全置換したと見られる 33 個体が得られた。置換型の塩基は T₂ 世代に安定遺伝し、その中には核ゲノムに外来遺伝子を持たない可能性の高い個体も含まれた。標的塩基が細胞内の全ミトコンドリアゲノムで完全置換された T₂ 世代 4 系統 8 個体のミトコンドリアゲノム配列を解読したところ、アリル頻度 5%以上の off-target 変異は 2 個体を除き検出されず、mitoTALEN 法で見られたようなゲノム構造の変化はどの個体でも検出されなかった。以上より、mitoTALECD を用いて精緻なミトコンドリアゲノム改変を達成できたことが明らかとなった。

本手法の適用は核の形質転換が可能な植物種に限られるが、葉緑体形質転換法と比べて広範な植物種の葉緑体ゲノムを改変できること、植物オルガネラゲノムの基礎研究の高速化に寄与すること、そしてオルガネラゲノムを利用した作物育種の基盤技術になることが期待される。

A-5

学生奨励賞

ダイズイソフラボンの根外への分泌と根圏での蓄積に関する研究

Study on isoflavone secretion from soybean roots and its accumulation in the rhizosphere

松田 陽菜子

京大・生存研

イソフラボンはダイズ (*Glycine max*) 等のマメ科植物に多く含まれる植物特化代謝物である。ダイズが生産する主要なイソフラボンであるダイゼインは、ファイトアレキシンであるグリセオリンの前駆体であり、また窒素固定細菌である根粒菌と共生関係を構築するシグナルであることが35年以上前から知られてきた。さらに近年、ダイゼインがダイズ根圏細菌叢形成に関与する主要な化合物であることも示唆された。以上から、イソフラボンはダイズが生物的・非生物的ストレスから身を守るために重要な化合物であるとみなされている。しかし、そもそもダイズが根圏へイソフラボンをどのように分泌しているかは十分に明らかにされていない。そこで本研究では、ダイズ根圏へのイソフラボン分泌機構の解明を目的とし、その分泌量の変動パターンを調べるとともに、分泌関連酵素の探索と機能解析を行った。

初めに、本研究ではダイゼイン分泌の日周性を調べるために、無菌水耕栽培で育てたダイズの葉、根、水耕液を6時間毎に48時間にわたりサンプリングし、葉と根はRNA-seqとイソフラボン定量、水耕液はイソフラボン定量に供した。RNA-seqの結果、イソフラボン生合成遺伝子群の根での発現量は、昼12時頃に最も高くなり、夜0時頃に最も低くなることを発見した。さらに、根のダイゼイン含量は、生合成遺伝子群の発現量のピークから約6時間遅れた日周変動パターンを示すことを明らかにした。意外なことに、根のダイゼイン含量が日周変動するのに対し、水耕液のダイゼイン含量には日周性が認められなかった。この結果は、根外へのダイゼイン分泌が単純拡散ではなく能動的に制御されていることを示したものである。分泌関連酵素として、イソフラボン生合成遺伝子と相補的な日周発現パターンを示した isoflavone conjugate-hydrolyzing β -glucosidase (ICHG) に着目し、後述の解析を行った。

ダイズ根圏において、イソフラボンは主に非配糖体であるダイゼインとして蓄積する。アポプラスト局在のICHGは根外へのダイゼイン分泌に関与すると予想されてきたが、未証明であった。そこで本研究では、ダイズ変異体ライブラリーから得たICHG活性が完全に欠損した変異体を用いて、逆遺伝学的に機能解析を行った。ダイズ根のアポプラスト画分を解析した結果、*ichg* 変異体においてダイゼイン量が減少、その配糖体量が増加しており、ICHGが根アポプラストにおいて配糖体を脱配糖化し、ダイゼインを生成することが実験的に初めて示された。さらに、圃場栽培の *ichg* 変異体の根と根圏土壌の解析を行ったところ、根・根圏土壌の双方でダイゼイン量が減少していた一方で、その配糖体量には増加が認められなかった。ダイゼインを多く含有する根圏土壌ではイソフラボン類の総含量の減少が認められた。以上の結果から、ICHGは根外へのイソフラボン分泌に関与し、根圏でのイソフラボン蓄積量を増加させることが示された。これはアポプラスト局在の β -グルコシダーゼが植物特化代謝物の根外分泌に関与することを初めて示したものであり、また、実際の作物の栽培環境である圃場での実験で示した点に価値がある。

S1-1

ゲノム・遺伝情報への AI 協働研究から見る「新機能」の進化

Spot on the "neo-functionalization", from collaboration with "AI" on genomic/genetic information

赤木 剛士^{1,2}

¹岡山大・院環境生命自然科学, ²JST-PRESTO

ヒトによる判断には、画一的要素を判定材料としない多重解を許容する基準や、熟練者にのみ判断可能な「雰囲気」のような基準が多く存在している。これらの判断は長年の統合的観察による揺らぎ・曖昧性を考慮した「経験知」とも言われるものを必要とするが、近年の技術進展により深層学習技術 (AI 技術) によってその人工的再現が可能となっている。ここでは、従来の「画像」への AI 適用を拡張し、本来は熟練者など存在しない「ゲノム・RNA・タンパク質配列」に AI 技術を応用することで、その予測・診断を行うとともに、「説明可能な AI (X-AI)」と呼ばれる AI の判断根拠を明らかにする技術を活用し、生物学的な解釈・解析と結び付けた研究を紹介する。

本発表では、植物に独自のゲノム進化動態を紹介したうえで、その特性に基づいた二つのアプリケーションを紹介する。まず、植物の発現制御に関わる cis 進化について、果実の時空間的 transcriptome データを融合活用した深層学習による発現予測モデル化とその鍵因子の同定から見えてきた、系統特異的な果実成熟応答メカニズムの獲得と、エチレンを画一的なトリガーとした果実成熟という共通現象の収斂進化性について説明する。次に、ゲノムワイドな適応進化圧パターン変化の検出とタンパク立体構造予測 AI を融合することで見えてくる、植物が重複進化で獲得した遺伝子群の trans 新機能のスクリーニングについて紹介を行う。

S1-2

植物科学と育種ビッグデータの融合による新たな情報解析

New bioinformatics analysis by integration of plant science and breeding big data

鐘ヶ江 弘美¹, 松下 景², 林 武司¹, 米丸 淳一¹

¹農研機構 農情研, ²農研機構 作物研

これまでに蓄積されてきた各種作物におけるフェノミクスデータ・ゲノミクスデータ・系譜情報などの膨大な育種ビッグデータを活用した育種学や植物科学の新たな進展が期待されている。本発表では、農研機構で整備している育種ビッグデータ基盤を紹介し、育種データと植物科学の知見の融合場面を概観していく。

育種ビッグデータ基盤のハブとして開発された系譜情報データベース「Pedigree Finder」では、系譜情報とゲノミクスデータの統合的な解析ツールを提供しており、品種間の血縁度を考慮した交配組み合わせの選択の効率化や植物分子生物学的な観点から親から子へと受け継がれる「遺伝的因子」を解明することが可能となる。

従来の育種では、交配と選抜により新しい品種を育成する過程で有望個体を的確に見出すために、育種家の長年の経験や知識が必要とされていた。これらのいわば職人技を補完・代用する AI 技術の開発を目指して、育種ビッグデータに含まれる膨大なゲノミクスデータとフェノミクスデータをもとに予測モデルを作成し、ゲノミクスデータから個体の特性を AI により予測する技術である「ゲノム選抜 AI」を開発した。これにより、苗の段階で得たゲノミクスデータからその個体の特性を予測して、有望な個体の効率的な選抜が可能となる。

以上のように、育種現場で収集される様々な育種データと植物科学分野の多様な情報を AI 技術により統合的に解析することで、育種の効率化と加速化が実現しつつある。温暖化等の気候変動に頑健な作物の育種を加速化し、植物の環境応答機構の包括的な理解のためにも、AI 技術を活用した育種関連情報と植物科学分野の情報連携をさらに強化していく必要がある。

S1-3

IoT/AI が広げる次世代情報協働栽培の可能性

Possibilities for next-generation information-linked cultivation with IoT/AI

峰野 博史

静岡大学大学院情報学領域/グリーン科学技術研究所

IoT や AI によって、長年の経験と勘に基づいて習得した栽培ノウハウを次の世代へ効率的に伝承できるだけでなく、新たな革新的農作物栽培手法の研究開発への応用が注目されている。本講演では、IoT/AI 技術を用いた次世代情報協働栽培の可能性について述べる。これまで経験や勘、度胸に頼ってきた栽培を、仮説や検証、データに裏付けた適応型情報協働栽培へと進化させる。まだ一部の植物や生育状態のみではあるが、施設園芸栽培だけでなく露地栽培に対しても、非破壊・非侵襲で導入容易な植物フェノタイピング技術を研究開発した。現実的な量と質のマルチモーダルデータで、熟練農家(いわゆる篤農家)の持つ暗黙知である「匠の技」をさらに洗練させ、革新的な情報協働栽培の創出を目指し展開中のプロジェクトについて紹介する。

例えば、ワインブドウの小さな花の検出と数量記録に関して、既存技術で 75%程だったカウンティング性能を 90%まで向上させることに成功した。また、収量予測に向けてマルチオブジェクトトラッキング技術や、フォトグラメトリを用いたワインブドウ房の重量および体積推定技術の研究開発も進めた。ドメイン知識に基づくアテンション機構の開発に関して、学習データの収集しづらい属人的なタスクと言えるメロンの等級判定に対し、Activation Map や深層距離学習を用いて、等級判定に有用な特徴部位の可視化や、レーダーチャート形式での等級類似度を提示可能なメロン等級判定技術を開発した。素人でも等級判定時にどの部位に着目すべきか分かりやすくなり、評価の結果、約 82%の精度で熟練生産者と同等の等級判定が可能であることを確認した。

S2-1

果樹のゲノム編集技術の確立に向けた課題

Genome Editing Technology for Fruit Trees

西谷 千佳子

農研機構

ゲノム編集技術は、任意の標的配列に変異を入れられるため、農業分野においても期待される。果樹でも、2016年のリンゴでの成功を皮切りに、ブドウ、カンキツなど多様な種での成功例が報告されているが、形質転換を経た手法が主流である。形質転換でゲノム編集酵素をコードする外来遺伝子を導入して変異誘発した場合、意図しない変異を防ぐためにも外来遺伝子を除去することが望ましいと考えられる。しかし、次世代での外来遺伝子除去を行うと、ゲノムがヘテロな果樹では、元の品種とは異なるものとなる。そもそも、果樹では形質転換が困難な種・品種も多い。また、果樹の場合は次世代を得るために時間がかかる。そこで、果樹においても非組み換え型ゲノム編集技術の開発が課題である。また、当世代でのモザイク性解除はゲノムがヘテロな作目に共通の課題である。

近年、様々な生物で、非組換え型ゲノム編集技術の開発が進んでいる。リンゴやブドウでは、プロトプラストへのPEG法によるゲノム編集酵素の導入で変異誘発の成功例があるが、個体獲得には至っていない。プロトプラストで成功すれば、モザイク性の問題は回避できると考えられるが、プロトプラストからの再分化は極めて難しい。一方、果樹では枝変わり(芽条変異=茎頂分裂組織に突然変異が起こり、元とは異なる形質のシュートが現れる現象)が活用されている。そこで、私たちは、パーティクルガン処理による、茎頂へのゲノム編集酵素の導入を試行している。本講演では、難培養植物のゲノム編集における課題点について情報交換できれば幸いである。

S2-2

ユリにおける高効率形質転換系の開発とゲノム編集

Development of high-efficiency transformation system and genome editing in lilies

野水利和¹、佐藤 和人¹、渋谷 健市²

¹新潟農総研アグリ・フーズバイオ研究部、²農研機構野菜花き研究部門

ユリは形質転換が難しい植物とされているが、新潟県ではこれまでに効率的なユリの形質転換法の開発を進めてきた。近年はCRISPR/Cas9システムを用いたユリのゲノム編集に取り組み、標的遺伝子への変異の導入に成功している。本シンポジウムでは、我々がこれまでに見出したユリの形質転換効率を高めた方法と、ユリにおけるゲノム編集の実施例について紹介する。

ユリの形質転換には、若いつぼみの花糸から誘導したカルスを使用した。しかし、アグロバクテリウムと共存培養するだけでは感染した細胞数は少なく、形質転換体はほとんど得られなかった。遺伝子導入方法を検討した結果、カルス表面に紙ヤスリで傷を付けてからアグロバクテリウムと共存培養することで感染する細胞数が多くなり、形質転換効率が大きく向上することが明らかになった(Hoshi et al., 2004)。さらに、カルスに傷をつける操作の前に、カルス増殖と不定芽再生を同時に誘導する培地での短期間培養により高効率な形質転換が可能となった(近藤ら, 2017)。

開発した形質転換系を用いて、ユリ花被の老化制御遺伝子を標的とした、CRISPR/Cas9システムによるゲノム編集を実施した。導入するコンストラクトのプロモーターの組合せなどを検討した結果、比較的高い効率で標的遺伝子に変異が導入されたユリ植物体を得られた。

本研究の一部は、農林水産省委託プロジェクト研究「国産花きの国際競争力強化のための技術開発」及び戦略的プロジェクト研究推進事業「ゲノム編集技術を活用した農作物品種・育種素材の開発」により実施した。

S2-3

野生イネ遺伝資源のゲノム編集

Genome edition using wild *Oryza* species

佐藤 豊

国立遺伝学研究所

私たちの研究グループは、「持続的な食糧生産を可能にする野生植物の新奇食糧資源化」というプロジェクトに取り組んでいる。このプロジェクトの目的は、野生植物がもつストレス頑健性を活かした新奇食糧資源の創成により、急速な環境変化で従来の作物生産が困難になった地域での持続的農業を可能にすることである。このプロジェクトは、強度のストレス耐性を持つ野生イネ属遺伝資源を用い、農作物が備える特徴をゲノム編集により付与し、従来の作物育種では達成できていないレベルの各種ストレスにも耐えるストレス耐性を備える新奇作物を作り出すことを目指している。具体的には、国立遺伝学研究所が保有する野生イネ遺伝資源を活用し、シュートや未熟胚の培養により栽培に必要な形質をゲノム編集により付与し、環境変化に耐えうる新たな作物の開発を目指す。この過程で、野生イネの難培養性が大きな問題となっている。このシンポジウムでは、我々がどのような戦略で野生イネが持つ実験的な難しさを乗り越えようとしているのかを紹介する。

S2-4

ダイズのゲノム編集を実装するための工夫

Scheme for the implementation of genome editing in soybean

山田 哲也

北海道大学大学院農学研究院

ゲノム編集は標的とする遺伝子を特異的に改変できる方法として基礎研究に加え新品種育成など分子育種のツールとしても期待されている。また、後者においてゲノム編集を実装するためには実験系統だけでなく、様々な遺伝的背景を対象に実施できることが必須となる。ダイズにはゲノム編集を可能にする2種類の形質転換プラットフォームが存在する。1つは発芽直後の種子もしくは実生における子葉節にアグロバクテリウムを感染させ、そこから外来遺伝子が導入された不定芽を誘導させる方法である。もう1つは未熟種子から誘導した不定胚にパーティクルボンバードメントを介して外来遺伝子を導入し、そこから植物体を再生させる方法である。それぞれの方法において特異的な利点はあるものの、形質転換およびゲノム編集を成功させるためには少なくともそれぞれのプラットフォームに適した培養特性を有するダイズの品種や系統を選択・供試する必要がある。言い換えるとゲノム編集を実装できるダイズの品種や系統は限られるということになる。そこで、本講演では培養特性を中心にそれぞれの形質転換プラットフォームに適するダイズの品種や系統を見分けるポイントを解説する。また、両形質転換プラットフォームを利用して特定の遺伝子を対象としたCRISPR/Cas9システムを用いたゲノム編集個体の作出実施例を基にそれぞれの方法を介したゲノム編集個体の作出における特徴についてもご紹介する。さらに、上述の培養特性にとらわれることなくダイズのゲノム編集が実施できる新たな方法の確立についてもご紹介する。

S2-5

形質転換が難しいタマネギのキーポイント

Key points of onion (*Allium cepa* L.), a crop recalcitrant to transformation

鴨井 享宏

ハウス食品G本社(株)

目標形質を有するタマネギ変異体を作成するにあたり、形質転換効率向上と変異導入率向上の2つの課題に直面した。タマネギの形質転換系は、未熟胚を材料としてアグロバクテリウムを介して導入する方法が報告されていた。シロイヌナズナやイネのようなモデル植物と比較すると形質転換効率は極めて低く、材料とする未熟胚が1年の内、限られた時期にしか得られない、また天候不順により未熟胚の品質が低下して安定的に実験を進められないといった問題があった。そこで、私達は周年実験が可能なカルスを材料としたタマネギ形質転換系を構築し利用することにした。カルスの系でも形質転換効率は低かったが、ベクターのプロモーターや感染方法を検討することにより向上させることに成功した。しかしながら、タマネギ形質転換体が得られるようになっても、変異導入率が低いという新たな問題が生じた。そこで、私達は標的DNA配列、人工酵素などの検討を重ねた。その結果、2つ目の課題も解決することができた。本発表では、これらの課題を解決すべく対応したポイントについて、上手くいったこともいかなかったことも含めて具体的にお話ししたい。

S2-6

アブラナ科作物の核およびオルガネラ遺伝子の標的変異導入

Genome editing of nuclear and organelle genome in *Brassicaceae* crops

肥塚 信也

玉川大農

アブラナ科作物には、ダイコン、キャベツ、ブロッコリー、ハクサイなど国内の主要野菜として重要なものが多く、その品種改良には、雑種強勢、種間交雑、F₁採種系の確立などの様々な育種学の成果が利用されてきた。また、ゲノムの構造が明らかとなり、その栽培化の起源などの理解が進むとともに、DNAマーカーを利用した分子育種が活発に進んでいる。今後の温暖化等による栽培様式や消費者の食嗜好等の多様化に対応するには、これらの分子育種技術を活かして耐病性、高品質性などの新たな形質を導入することは重要である。核ゲノムへの標的変異導入法としてのゲノム編集技術は、アブラナ科作物でも Clustered regularly interspaced short palindromic repeats / CRISPR associated proteins 9 (CRISPR-Cas9) を中心に様々な例が報告されている。一方、プラスチドとミトコンドリアのゲノムについては、どちらも突然変異導入やゲノム編集技術が確立されていないため、その潜在能力の理解も実用化も遅れていると言わざるを得ない。しかし、最近 transcription activator-like effector nuclease をミトコンドリアに局在させることで、ミトコンドリアゲノムの編集(標的遺伝子破壊)に成功、さらに TALE にシチジンデアミナーゼを融合し、ミトコンドリアや葉緑体に局在させることで、オルガネラゲノムの編集(標的塩基置換)にも成功している。本発表では、これまでのアブラナ科作物の核とオルガネラ遺伝子の遺伝・育種学的知見を概説し、私たちのグループでのゲノム編集技術を用いた核とオルガネラ遺伝子への変異導入例を紹介する。

S2-7

体細胞胚形成を介したニンジンゲノム編集技術の確立

Carrot Genome Editing System via Somatic Embryogenesis

廣瀬 文昭^{1,2}

¹農研機構, ²日本たばこ産業

ニンジンは、安価で高栄養価の黄緑色野菜として身近な存在である。典型的な西洋系品種の根はβ-カロテンの高蓄積によってオレンジ色を呈し、東洋系の金時ニンジンの根はリコペンの高蓄積によって赤色になることが知られている。

ニンジンは細胞および組織培養のモデル植物として古くからの研究対象である。ニンジンの培養細胞は、体細胞胚形成（あるいは不定胚形成, somatic embryogenesis）を介して植物体を再分化する特徴がある。体細胞胚形成では、単一（もしくはごく少数）の細胞からシュートと根が同時に形成される。このことは、通常の器官形成を経て再分化した植物にしばしば見られるキメラ性が、体細胞胚形成を経て再分化したニンジンの形質転換個体やゲノム編集個体では抑制されることを示唆している。

ニンジンでは、アグロバクテリウムを介した形質転換や体細胞胚形成を経由した形質転換植物体再生のさまざまな事例が1980年代以降に発表されているが、本研究を開始した時点ではニンジンのゲノム編集技術は確立されていなかった。

本発表では、CRISPR/Cas9によるニンジン遺伝子の標的変異導入法を紹介するとともに、それらを達成する上で直面した問題点（品種、ターゲット遺伝子、後代種子の獲得等）やその解決方法を共有したい。

S3-1

タンパク質間相互作用を介したフラボノイド生合成酵素の活性調節機構

A regulatory mechanism of flavonoid biosynthetic enzyme activity via protein-protein interaction

和氣 駿之

東北大・院工

フラボノイドは陸上植物が普遍的に生産する植物特化代謝産物であり、紫外線防御物質や花の色素成分などとして植物の生存戦略に重要な役割を果たしている。フラボノイドの生合成は、ER局在型のシトクロム P450 を核とした代謝酵素複合体（メタボロン）により効率化されていることが想定されている。このメタボロン形成により、連続する2つの酵素間の直接的な基質の受け渡し（基質チャネリング）が可能となり、これにより代謝が効率的に進行すると考えられる。我々はこれまで、アサガオ (*Ipomoea nil*) の花色の突然変異に関わることが報告されたカルコン異性化酵素類似タンパク質 (CHIL) が、フラボノイド生合成の初発酵素であるカルコン合成酵素 (CHS) およびシトクロム P450 と相互作用することを明らかにした。さらに、CHIL は、CHS と相互作用することで CHS の生成物特異性のあいまいさを矯正し、フラボノイド生合成に必須なカルコンを優先的に生成するように作用すること、この CHIL の機能はコケ植物から被子植物に至るすべての陸上植物に保存されていることを見出した。本発表では、フラボノイドメタボロンに重要な役割を果たす CHIL に着目し、CHIL がどのように CHS の活性を制御するのか、最近得られた知見を基に議論する。

S3-2

アントシアニン液胞内凝集体形成による新規花色改変の可能性

Potential to generate novel flower colors by the formation of anthocyanic vacuolar inclusions

出口 亜由美

千葉大・院園芸学

植物の花や果実、種子などに蓄積する赤色色素アントシアニンは、一般的に液胞内液に溶解し、均一的な着色を示す。しかし、まれに液胞内で凝集体 (Anthocyanic vacuolar inclusions: AVIs) を形成し不均一に着色、すなわち、液胞内に濃い赤色部分と薄い赤色部分ができることがある。花卉において AVIs が形成されると、くすみがかかった色やキラキラと光沢をもつ特徴的な花色を示すことが報告されている。そのため、様々な花卉品目で AVIs を形成させることができれば、蓄積アントシアニンの種類や量を改変すること以上に、目新しい花色を開発できる可能性がある。しかしながら、報告されている AVI 構成アントシアニンの種類や特徴、AVIs そのものの性質、形成の条件などに共通項が少なく、AVIs の形成機構は多くの謎に包まれている。

本講演では、演者が発見したダリアおよびニチニチソウでの AVIs 形成に関して、形成による花色の変化や形成条件を調査した結果を発表する。花卉に AVIs を形成すると、ダリアはくすみがかかったアンティーク調の深紅色を、ニチニチソウは黒色に近い色を呈す。両種の AVIs 構成アントシアニンは異なるものであったが、それぞれ特定のアントシアニンを高濃度 (高割合) で蓄積することが AVIs 形成の共通条件として示された。本講演ではさらに、過去の報告や演者らが他品目で見つけた AVIs も紹介し、AVIs 形成による花色改変の可能性を議論したいと考える。

S3-3

園芸植物コスモス (*Cosmos bipinnatus*) の花色に関与するフラボンの構造

Chemical Structure of the Flavone as Co-pigment in *Cosmos bipinnatus* Flowers

上原 歩

玉川大・農

秋を代表する草花の一つとして知られるコスモス (*Cosmos bipinnatus*: キク科) は、公園や、花壇、プランターなどで広く栽培されている。その花色は野生種のピンクに加え、クリムソン (深紅色)、ホワイト、イエローなど、複数存在している。本種の花色については、玉川大学をはじめとして、いくつかの研究機関で遺伝学的、分子生物学的な手法を用いて研究が進められている。これまでに、4つの遺伝子により制御され、10花色 (色素型は16種類) に分けられることや、これらの遺伝子が生合成経路のどこに関与するのかが報告されている。近年は、これらの遺伝子についての塩基配列やアレルの構造が明らかにされつつある。また、色素学分野についても古くから研究がされており、アントシアニンを含めた12種類の色素および色素関連化合物が報告されている。

本シンポジウムでは、コスモスの花色に関わるこれまでの研究と、発表者らが決定した色素関連化合物であるフラボンについて紹介する。フラボンは無色の化合物であるが、アントシアニンとの共在下で花色の青色化に関与する補助色素として働くことが知られている。この機構は本種の赤色系統の花色多様性にも関与している。このフラボンは Apigenin 7-O-glucoside と考えられてきたが、HPLCを用いた分析において、相当するピークが検出されなかった。そこで、花卉粗抽出液より主要フラボンを分離・精製し、加水分解物の標品との比較、および、UV-Vis, LC-MS, NMRの各種スペクトル解析をおこなったところ、Apigenin 7-O- β -glucuronide であることが明らかとなった。

S3-4

GA および GA 合成阻害剤がペチュニアの花の複色模様形成に及ぼす影響

The effect of GAs and GA synthesis inhibitors on flower coloration patterns in *Petunia*

東 未来, 舘 葉月, 百瀬 博文, 村松 嘉幸, 窪田 聡, 腰岡 政二

日本大・生物資源科学部

ペチュニアはコンパクトな草姿にするために矮化剤が用いられることがある。しかし、矮化剤はジベレリン (GA) の生合成阻害剤であり、茎伸長の抑制以外にも影響を及ぼす場合がある。本研究では、花卉の外縁部が白色のピコティ型や、花卉の中心から放射状に着色するスター型の複色模様品種のペチュニアに、GAを処理すると花卉のほぼ全てが着色し、GA生合成阻害剤の一種であるダミノジッド (SADH) を処理すると、花卉のほぼ全てが白色になることを明らかにした。このSADH処理による白色部位の増加は、GA生合成阻害によって活性型GAが減少したことが要因であると考えられる。一方で、GAを不活性化する代謝を阻害するプロヘキサジオンカルシウム (Pro-Ca) 処理を行なった場合には、GA処理と同様にほぼ全てが着色した。これらのことから、ペチュニアの複色模様形成において、GAは着色部位の制御に関与している可能性が考えられた。ペチュニアの複色模様の形成には *CHS* 遺伝子の転写後抑制 (PTGS) が影響していることが報告されている。そこで *CHS* の siRNA の発現量を無処理区の赤色部位、白色部位、GA処理区、SADH処理区と比較した結果、GA処理区の赤色部位では無処理区の赤色部位と同様に siRNA の発現がほとんど見られなかった。一方で、SADH処理区の白色部位は無処理区の白色部位と同様に、siRNA の発現が確認された。以上のことから、活性型GAは *CHS* の PTGS を抑制することで複色模様の赤色部位を増加させる可能性が示唆された。本研究は JSPS 科研費 19K15835 の助成を受けたものである。

S3-5

民間企業の花の育種について

The Introduction of Flower Breeding in a Private Company

磯部 知里

(株)ミヨシ

弊社は、花卉および野菜の種苗メーカーであり、新しい品種を育成し、それらの種苗を生産・販売している。顧客は国内だけでなく、海外にも広がっており、国内外で弊社育成品種が生産され、流通し、そして消費者の手に渡っている。すなわち、生産者の生計を担っていると言っても過言ではない。主として扱っている品目には、花ではユーストマ、アスター、デルフィニウム、スターチス等、そして野菜ではイチゴやサツマイモがあり、それぞれの品種開発を行っている。

ここ数年で、遺伝子組み換え技術やゲノム編集技術の向上により、従来の育種法（交配育種）と比較して、目的とする形質が短期間で得られるようになってきた。しかし、実際の現場では、従来の育種法による品種開発が主流であり、ブリーダーは自身の経験論による育種を行っているのが現状である。弊社はそれに加え、胚珠培養技術を用いることで、単なる交配育種からでは得られなかった後代を得て、商品化することができている。

本シンポジウムでは、民間企業の育種の現状について説明し、実際の育種事例を、デルフィニウムを例に挙げて紹介する。

S4-1

二次代謝を制御する転写因子:代謝制御の万能因子はあるのか？

Transcription Factors Regulating Specialized Metabolism: Quest for the versatile factors

庄司 翼^{1,2}

¹富山大・和漢研, ²理研CSRS

植物は生物活性を有するアルカロイドやテルペノイドなどの化学構造的に多様な二次代謝産物を生産・蓄積します。厳しい自然環境において植物がよりよく生育・繁殖するために天然化合物は重要な役割を果たします。人類は古来より医薬、色素、香料、工業原料などとして植物由来成分を利用してきました。多種多様な植物代謝産物の生産を制御するとされる転写因子は多数報告されてきましたが、全ての因子が機能的に重要であるのかは甚だ疑問です。厳しい目で精査していかねばいけません。

植物独自の ETHYLENE RESPONSE FACTOR (ERF) ファミリーに属する転写因子が、複数の植物系統で、ニコチンやステロイドグリコアルカロイドなどの毒性天然物や、アルテミシニン、ビンブラスチンなどの医薬などの多くの代謝産物の生合成を制御します。これらの ERF 遺伝子は、相同遺伝子とともにゲノムにおいて遺伝子クラスターを構成し、植物の防御シグナルであるジャスモン酸 (JA) によって誘導されます。ERF 転写因子の機能、遺伝子構成、分子進化、代謝工学への応用などに関する進展を解説します。また、ナス科園芸植物ベチュニアにおいて PhERF1 は、クラスターを構成する多数の新規代謝遺伝子を転写活性化し、ステロイド化合物の生産を誘導することがわかりました。この例は、代謝経路などが未知の場合であっても、進化的に保存された転写因子を用いることで代謝改変できる可能性を示しています。

S4-2

公共オミクスデータのメタ分析による転写因子の機能予測

Functional prediction of transcription factors using omics data meta-analysis

福島 敦史^{1,2}

¹京都府大院・生命環境, ²理研CSRS

劣悪環境下で植物は多数の環境耐性遺伝子群を働かせ適応している。ストレス耐性作物の作出に向けた遺伝子制御ネットワークの解明、特にこれら耐性遺伝子群の発現調節に関わる新規転写因子を同定するには、さらなるデータマイニング手法の開発と情報整備とが重要である。また、これまでに蓄積された公共データを利活用し、新たな知識発見につなげる機運も高まっている。我々はモデル植物シロイヌナズナの公共エピゲノムデータおよびトランスクリプトームデータをメタ分析し、遺伝子機能ネットワークの再構築による機能予測手法を開発している。本発表では、よく使われる解析手法として、differentially expressed genes (DEGs) の同定にくわえて、co-differentially expressed (co-DE) genes の同定、遺伝子共発現 (gene co-expression)、ディファレンシャル共発現アプローチについて概説する。次に、公共データベースから収集した異なる環境ストレスデータセット各々で得られた DEGs および co-DE 情報を統合したメタ分析によるストレス応答遺伝子群のアトラス開発を紹介する。さらに転写制御に関連するヒストンマークの ChIP-Seq データを利活用する遺伝子機能予測法の開発について述べる。大規模に収集・公開されているエピゲノム・トランスクリプトームデータの活用法として、統合的なネットワーク解析が機能未知遺伝子に関する検証可能な仮説を立てるための有効な手段の一つとなる。

S4-3

非モデル生物のシングルセル解析から細胞リプログラミングの仕組みに迫る

Single-cell analysis of a non-model organism to reveal the molecular mechanisms of cell fate reprogramming

森中 初音¹, 石 東博^{1,2}, 河村 彩子¹, 鈴木 孝征³, 岩瀬 哲¹, 東山 哲也⁴, 杉山 宗隆⁴, 杉本 慶子^{1,4}

¹理研CSRS, ²ポツダム大学・生化学・生物学研究所, ³中部大・応用生物・応用生物化学, ⁴東京大・院・理・生物科学

植物細胞の一部は高い分化の可塑性をもち、高度に分化した後にも発生運命がリプログラミングされ、分化全能性・多能性を発揮する。例えばトレニア (*Torenia fournieri*) では、茎断片をサイトカニン含有培地で培養すると高度に特殊化した表皮細胞がリプログラミングされて多能性をもつ幹細胞となり、不定芽に発達する。この過程におけるトレニア茎外植片の表皮は分裂する細胞とそうでない細胞などの不均一な細胞集団によって構成されている。本研究ではこの不均一性に注目し、様々な細胞集団に特異的な遺伝子発現プロファイルから分化細胞のリプログラミングのメカニズムに迫ることを目的としてこの組織培養系における single-nucleus RNA-seq (snRNA-seq) 解析を行なった。

培養前と培養後1日の表皮とその直下の組織を対象に行なった snRNA-seq 解析では、リプログラミング前の表皮細胞のほか、培養後特異的に出現するリプログラミングされつつある細胞とリプログラミングされた細胞の集団を特定し、それぞれに特異的な発現プロファイルが得られた。興味深いことに、リプログラミングされつつある細胞で特異的に高い発現を示す遺伝子群のなかには、細胞運命の変化を伴う他の発生過程を制御する転写因子なども含まれていた。

これらのことから、本研究により単離された遺伝子群には、分化細胞のリプログラミングに特化したものだけでなく、細胞運命が変化する際に広く重要な役割を果たしているものも含まれている可能性があると考えられる。今後これらの遺伝子の機能解析を進め、植物細胞の運命制御のメカニズムに迫りたい。

S4-4

植物の低温ストレスへの初期応答における転写制御機構

Molecular mechanisms of transcriptional regulation in plant cold stress responses

城所 聡

東工大・生命理工学院

植物は低温、高温、塩、乾燥といった環境ストレスに晒されると、ストレス耐性の向上に機能する多数の遺伝子の発現を誘導することでストレスを耐え抜くレジリエンス機構を持つ。高等植物の低温ストレスに対する馴化や耐性獲得においては DREB1/CBF 転写因子がマスタースイッチとして機能する。DREB1 遺伝子を高発現させた植物体では低温や凍結への耐性に加えて乾燥や高塩濃度といった様々な環境ストレスに対しての耐性が向上することから、DREB1 は環境ストレス耐性作物開発のための非常に有用なツールである。しかし、DREB1 を恒常的に発現する植物は通常生育時に生育遅延を示すというデメリットも持つことから、ストレス耐性作物への利用に向けては DREB1 の発現制御が重要な課題となっている。DREB1 遺伝子は低温ストレスに応答して急速に発現が誘導される。そこで、シロイヌナズナの DREB1 プロモーター内における転写制御機構の解析を行った結果、低温ストレス初期の遺伝子発現誘導において機能する2つのシグナル経路を明らかにしてきた。一方の経路ではカルモジュリン結合ドメインを持つ CAMTA 転写因子が急速な気温低下に反応して DREB1 の発現を誘導する。またもう一方の経路では、概日時計の中心振動体を構成する転写因子である CCA1 および LHY と、これらの相同タンパク質である RVE4 および RVE8 が日中の低温ストレスに反応した様々な翻訳後制御を受けることによって、DREB1 を含む多くの遺伝子発現の誘導を制御することを明らかにした。

S4-5

窒素応答を担う転写制御ネットワークの解明と応用展開

Transcriptional regulatory networks governing nitrogen response and its application

柳澤 修一

東京大・院農学生命科学

土壌中の硝酸イオンは植物にとって主たる窒素源であるが、植物に取り込まれた硝酸イオンはシグナル伝達物質としても機能する。硝酸シグナル伝達は窒素同化経路の活性化のみならず、植物において様々な成長制御プロセスに関わっていると考えられてきた。最近、硝酸応答型の遺伝子発現のマスター転写因子として働く NLP 転写因子が硝酸イオンと直接結合して、硝酸センサーとして機能することがわかり、硝酸シグナル伝達の仕組みの大枠が確定した¹。また、NLP 転写因子が直接的に発現を促進している遺伝子の機能解析により、硝酸シグナル伝達の新たな役割がわかってきている。例えば、硝酸シグナルは *de novo* の NADH 合成を促進し TCA 回路の維持に寄与することや葉緑体内のプロテアーゼ活性を促進することで光合成活性の維持に貢献していることがわかってきた^{2,3}。これらの最新の知見を基に、植物の硝酸シグナル伝達の仕組みと役割について議論する。併せて、関連する転写因子を用いた窒素同化の強化についても紹介する。(1) *Science*, 377: 1419–1425, 2022. (2) *Commun. Biol.*, 5: 432, 2022. (3) *Curr. Biol.*, 32: 5344–5353, 2022.

S4-6

人工転写因子を用いた遺伝子発現制御

Gene Expression Control Using Artificial Transcription Factors

世良 貴史

岡山大学 学術研究院ヘルスシステム統合科学学域

植物分野でのバイオテクノロジーへの応用に限らず、標的遺伝子の発現制御の手法として、人工転写因子が開発されてきた。この人工転写因子は、アンチセンス RNA や RNA 干渉法とは異なり、対象遺伝子発現の抑制だけでなく、活性化も可能である。そこで、本講演では、当該技術にあまりなじみのない研究者の方々にも、ツールとしての人工転写因子を分かりやすく紹介する。

S5-1

ヤマブドウ細胞培養によるレスベラトロール生産開発と応用

Development and application of a resveratrol production process using *Vitis coignetiae* cell suspension cultures

多葉田 誉

北海道三井化学(株)

レスベラトロール (RSV) はブドウ果皮や赤ワイン等に含まれるポリフェノールであり、NAD⁺依存性タンパク質脱アセチル化酵素 SIRT1 を活性化させる化合物として注目を集めてきた。SIRT1 の活性化により、ヒストン H3, p53, PGC-1 α , NF- κ B など様々な標的タンパク質が脱アセチル化され、細胞死抑制、酸化ストレス低減、抗炎症などの活性を示すことが報告されている。多くの場合、RSV はサプリメントなどの機能性食品や機能性化粧品に RSV 含有エキスとして配合されているが、RSV は起源植物中には微量しか含まれておらず、また純度を高めるためにはクロロフィル、アントシアニン等の色素類や RSV 重合体の分離が必要となり、原料製品の品質安定性と製造コストの点で課題があった。我々は機能性化粧品原料としての実用化を第一の目標として設定し、ヤマブドウ細胞培養を用いた RSV 効率生産法を開発した。ヤマブドウ培養細胞 VcT1 株は 7 日間で 20 倍以上に増殖し、その後生産培地への切り替えで RSV 生産性は 3000mg/L に達した。シクロデキストリン包接体として取得した粉体は無色～薄い褐色を呈し、HPLC-PDA 分析結果からは起源植物に含まれるアントシアニン色素のピークは確認されず、RSV 生産誘導 6 時間後の細胞より調製した mRNA による qPCR 解析においても RSV の選択的生産を支持する結果が得られた。培養技術を用いることで、無着色の高純度 RSV 含有エキスを精製工程なしに製造することが可能となった。発表では、実用化する製品分野により製品コンセプトが変わることや RSV 生産プロセスの応用展開についても触れてみたい。

S5-2

ゲノム編集技術を活用した植物組織培養による有用ステロイド/トリテルペノイドサポニンの生産

Production of useful steroid/triterpenoid saponins by plant tissue culture using genome editing technology

村中 俊哉^{1,2}

¹阪大・院工・生物工学, ²阪大・先導的学際研究機構

植物は、多種多様な特化代謝物を産生する。なかでもステロイドあるいはトリテルペノイドに複数の糖が結合した化学構造が複雑な生理活性物質であるサポニンは、サポニンには、不快味や食中毒の原因になるものがある一方、機能性食品素材、医薬品原料等となる有用なものが多数ある。これら有用サポニンの多くは、化学合成が困難であり、自生植物から抽出・精製することで生産されている。そのため、品質のばらつき、価格の不安定化、資源植物の枯渇化、砂漠化を含む環境破壊などの問題があり、有用サポニン生産のための新たな生産技術の開発が求められてきた。微生物培養により、もともと植物に含まれる有用生理活性物質を生産する研究開発がなされ、企業化されている例も近年でききたが、それらはいずれもサポニンと比べ単純な構造の化合物で、サポニンの微生物での高含量生産はいまだなされていない。私たちは、代謝スイッチングにより不要サポニン生合成経路を、有用サポニン生合成経路にリダイレクトするための技術基盤を確立した。さらに、ステロイドサポニンが主として植物の茎葉部に、また、トリテルペノイドサポニンが主として種子の胚軸に蓄積することを見出した。そのため、高度に機能分化した植物組織培養系を利用すれば、目的とするサポニンを高濃度に蓄積できるのではないかと考えた。

本シンポジウムでは、これらのサポニンを例にして、ゲノム編集技術を活用した植物組織培養を用いた生産系の開発、さらには、このような植物特化代謝産物の植物組織培養生産の将来展望について述べたい。

S5-3

ゼニゴケの実用化に向けて ー食用ゼニゴケと合成生物学プラットフォームー

Toward the practical application of *Marchantia polymorpha*: Development of edible *Marchantia* and synthetic biology platform

水谷 正治¹, 小山 竜平¹, 梶川 昌孝², 竹村 美保³, 石崎 公庸⁴

¹神戸大院・農, ²近畿大・生物理工学部, ³石川県大・生物資源工学研, ⁴神戸大院・理

ゼニゴケは陸上基部植物のモデル系として注目され、1) 全ゲノム解読済、2) アグロバクテリウムによる迅速簡便な核ゲノム形質転換系+4つの選抜マーカー、3) ゲノム編集および多重遺伝子発現系の確立など、様々な分子生物学研究基盤が急速に整備されてきた。ゼニゴケは、形質転換体を取得するまでのプロセスが「アグロバクテリウム感染～カルス～配偶体～無性芽クローン」(約1ヶ月)と短いため、ゲノム改変のステップが短期間で実施可能である。また、葉状体は酵母のように半数体であるため形質転換世代(T1)が純系であり、1細胞に由来する無性芽クローン個体による短期間の交配により遺伝子組換えの重層化も迅速に実施できる。さらに、ゼニゴケは、無性芽増殖による旺盛な増殖能力(300倍/月)という特性を持ち、平面的に成長するため光質や光量を高精度にコントロールした植物工場での栽培に適しており、CO₂吸収による高効率カーボンリサイクルを実現する植物種である。これらの基盤研究技術のほとんどは日本の研究者が開発した技術であり、知財取得の制約が少なくブルーオーシャンである。また、ゼニゴケ由来成分である長鎖多価不飽和脂肪酸(LCPUFA)は動脈硬化予防や血流改善作用等があることが報告されており、既存農作物には含まれないLCPUFAを産生するゼニゴケには‘有価野菜’として新しい市場ニーズを開拓する可能性がある。本発表では、ゼニゴケの実用化・産業化に向けて、‘食用ゼニゴケ’および‘ゼニゴケ合成生物学プラットフォームの開発’に関する研究例を紹介する。

S5-4

トチュウより得られるバイオマスポリマー

Biomass polymer obtained from *Eucommia ulmoides*

中澤 慶久

徳島大・生物資源産業

トチュウ(*Eucommia ulmoides* Oliver)は、木本性の喬木であり、その樹高は25m以上に達する巨樹となる。学名には「Eu=良質の」「commia=ゴム質の」「ulmoides=ニレに似た」という意味があり、全草に存在するトランス型1,4ポリイソブレン(TPI)という結晶性のバイオマスポリマーを示している。英名はHardy rubber treeと呼ばれる。

トチュウバイオマスからのTPI生産については、1911年に東京の外国樹標本園にて栽培を開始した(現存)。この種子が全国に広がり100年を超える巨樹となっている。更に、1920年代になると逓信省が通信ケーブルの素材研究を実施した研究論文が存在する。しかし、時局は有事となりトチュウからのTPI量産化には及ばず色褪せたと推察される。

2010年、日立造船はトチュウの持続可能なバイオマス(種子)を用いたTPIの商用生産に着手する。トチュウ由来のTPIが有意な点は、①種子バイオマスの利用による持続可能かつ安定供給出来る。②TPIの純度は99%以上で夾雑物の存在がない。③TPIの分子量は100~300万という立体規則性を有する直鎖状の超高分子である(合成TPIの分子量は25万)。④ゼロエミッション素材である。という点であった。事業化に於いてもこの4点が差別化のポイントとなり、市場価値を持つと判断された。

現在、同社の開発は中断されている。トチュウTPの生産は中国政府が中心となり研究開発が精力的に取り組んでいる。すでに、TPIの生産性が高い品種の育成やバイオマス供給体制が整いプランテーションの面積は約4万km²という規模に達している。これは九州地方の面積に匹敵する。本公演では、トチュウより得られるバイオマスポリマーの最新動向を紹介する。

S5-5

イネ培養細胞による組換えトランスフェリン生産プロセスの開発

Development of recombinant transferrin production process in rice cell suspension culture at pilot scale

小原 一郎

キリンホールディングス株式会社

我々の研究グループでは、植物を生産ホストにした有用物質生産に取り組んでいる。今回は、ヒトトランスフェリンをモデルとして、植物での組換え有用タンパク質生産の可能性を検討した結果を報告する。

トランスフェリンは、血清中に含有される可溶性糖タンパク質で、血液中の鉄イオン輸送を担っており、産業的には動物培養細胞の無血清培地の必須成分として使用されている。トランスフェリンは分子内に 19 個ものジスルフィド結合を持ったためか、バクテリアでの組換えタンパク質生産は困難とされ、現状では主に血清由来の製品が用いられているが、特に再生医療の培地構成成分としては、安全性の観点から組換えタンパク質への代替が期待されている。

そこで、植物をホストとした有用組換えタンパク質のモデルとしてトランスフェリンを選定した。植物をホストとするメリットとして、生産ホストの安全性の観点から、植物がヒトと共通の感染症を持たないこと、エンドトキシンを生産しないこと等の利点が考えられた。加えて、真核生物であることからトランスフェリンのような複雑な構造のタンパク質を正しくフォールディングし、可溶性タンパク質として生産できる可能性も期待された。

実際に遺伝子組換えイネ培養細胞を作製し検証した結果、組換えヒトトランスフェリンは可溶性の糖タンパク質として生産可能であった。また、生産したイネ由来組換えトランスフェリンは、ヒト血清由来と同様にヒト iPS 細胞の未分化維持培養に利用可能であることを確認した。本シンポジウムでは、より厳しい規制対応を目指した生産技術開発の可能性についても議論したい。

S5-6

植物バイオベンチャーのものづくり：再生医療分野製品の開発について

Manufacture by a Plant Biotechnology Venture Company: R&D of Regenerative Medicine Products

結城 雅之

株式会社UniBio

我が国では医薬品、とりわけバイオ医薬品の輸入超過が騒がれて久しい。バイオ医薬品の一部である細胞増殖因子は、再生医療分野製品として応用されているが、輸入依存の構造は同じである。近年の新型コロナウイルスの蔓延で、我が国のワクチン輸入依存体質による医薬品物流における危機管理体制の脆弱性が露呈した。そのような状況の中、UniBio では再生医療分野製品とワクチンの開発といった、戦略物資の国産化に取り組んでいる。

UniBio のタンパク質生産技術は「植物一過性発現」である。播種後、4~5 週のベンサムアナタバコ (*Nicotiana benthamiana*) 野生株に、任意のターゲットタンパク質の遺伝子をアグロバクテリウムを介して導入する。その後 1~2 週間かけ、植物体内にタンパク質を発現させた後、感染葉を収穫し、そこからタンパク質を抽出・精製する技術である。

本技術は哺乳類細胞や、昆虫での発現と異なり人畜共通感染症が存在しない基本的安全性、医薬品製造施設とは異なり、その十分の一ほどの植物工場レベルでの初期設備投資と部分負荷運転によるスケールビリティを利用した製造原価低減、そして接種後 1~2 週間でタンパク質を回収できる効率的な生産性という特徴がある。

本講演では、UniBio の現在の取り組みである、植物による医療用コラーゲンの開発について紹介する。コラーゲンは、創傷被覆や美容整形インプラント、再生医療においては足場材料として多様な用途があるが、植物で発現させるためには数々の課題があり、その解決へのプロセスについて報告する。

S6-1

プラズマ農業のための新しい大気圧プラズマ装置の開発

Development of new atmospheric plasmas for plasma agriculture applications

沖野 晃俊¹, 相澤 駿輝¹, 大澤 泰樹¹, 八井田 朱音¹, 柳川 由紀²

¹東工大・未来研, ²千葉大/理研

プラズマ中では様々な活性種が生成されるため、物質表面の改質、エッチング、コーティング、物質分解、物質合成などに広く使用されている。大気圧低温プラズマでは室温に近い低温なプラズマが生成できるため、金属や半導体やセラミックスだけではなく、熱に弱い生体皮膚や植物等への適用も可能である。しかし、処理効果の向上を考えて高密度のプラズマを生成するとプラズマの温度も上昇するため、特に熱に弱い植物には熱損傷を与えてしまうことになる。そこで我々のグループでは、大気圧プラズマの温度を制御できる温度制御プラズマを金属の3Dプラズマ装置を開発している。この装置では、プラズマ発生装置の金属筐体を介して低温の流体でプラズマ生成ガスの温度を下げおき、必要に応じてガスをヒーターで加熱する事でプラズマのガス温度を調整する。熱容量の大きいチラーを用いてガスを冷却しておき、制御性のよいヒーターで電氣的に加熱する事で、高速かつ安定性の高い温度制御を実現している。この他にも、平面を一度にプラズマ処理できるシャワーヘッド型の大気圧低温プラズマなど、プラズマ農業に向けたプラズマ装置開発の現状と、その応用例について紹介する。

S6-2

種子へのプラズマ照射による発芽促進に関する研究動向

Recent progress of study on germination enhancement by plasma irradiation to seeds

古閑 一憲

九大・シス情

植物応答誘導の新しい方法として、植物への低温プラズマ照射が注目を集めている[1]。低温プラズマでは電氣的エネルギーを化学的エネルギーに変換し、空気などのガスから、 O_3 や H_2O_2 , NO_2^- , NO_3^- , OH などの活性酸素窒素種を生成し、高濃度（高フラックス）で対象に与えることが可能である。プラズマの特長は、長寿命の活性酸素窒素種の投与のみならず、寿命の短い活性種や電場、UVなどの照射による重畳効果が期待できるところにある。

筆者は、種子へのプラズマ照射による発芽・成長・収穫特性の改善などを明らかにしている[2]。近年、研究スコープが、プラズマ照射に対する表現型の変化の確認から、機序解明に向けた検討へと移りつつある。筆者らは、近年プラズマ照射に対する植物応答の分子生物学的な検討を行った。高温障害を持つイネ種子へのプラズマ照射により発芽特性が回復し、これが、発芽関連遺伝子のDNAプロモーター領域のメチル化の変動が原因であることを明らかにした[3]。その他に、活性酸素窒素種の種子内輸送について、プラズマ照射による種子内 NO_3^- 量の極微量計測に成功している[4]。本講演では、これらの種子へのプラズマ照射に関する最近の成果について説明する。

[1] P. Attri, et al, *Processes* 2020, **8**, 1002. [2] S.Kitazaki et al, *Jpn J. Appl. Phys.* 2012, **51**, 01AE01. [3] C. Suriyasac et al., *ACS Agric. Sci. Technol.* 2021, **1**, 5–10. [4] T. Okumura et al., *Sci. Rep.* 2022, **12**, 12525.

S6-3

ソルガム種子への大気圧プラズマ照射による効果

Effect of an atmospheric-pressure plasma irradiation on the seeds of *Sorghum bicolor*

柳川 由紀^{1,2}, 蒔田 由布子^{2,3}, 奥村 賢直⁴, 藤田 美紀², 栗山 朋子², 河内 正治², 松井 南², 古閑 一憲⁴

¹千葉大・院園芸, ²理研CSRS, ³前橋工大・工, ⁴九大・シス情報

ソルガムはバイオエタノール原料として注目されている植物であり、ソルガムの生育促進及び収量アップが期待されている。近年、シロイヌナズナやイネの種子に大気圧プラズマを照射すると発芽や生育が促進されることが知られてきた。そこで、私たちは大気圧プラズマをソルガム種子に照射して生育促進が起こるか、さらにそのメカニズムを明らかにすべく研究を行った。なお、ソルガム品種は MOROKOSHI Sorghum transcription database (<http://sorghum.riken.jp/>) 作成で使用した BTx623 を用いた。大気圧プラズマは空気をガス種として誘導体バリア放電で生成させた。

まず初めに、生育促進の有無を調べるため、大気圧プラズマ照射あるいはガス照射（ネガティブコントロール）したソルガム種子を発芽させたのち、全自動植物表現型解析システム「RIPPS: RIKEN Integrated Plant Phenotyping System」を用いて1個体ずつの形態をモニタリングした。結果としては、種子にプラズマ照射したソルガムではネガティブコントロールと比較して葉面積が大きくなっており、生育が促進していると示唆された。さらに、プラズマ照射による種子内での遺伝子発現の変化を調べるため、吸水1日目の種子を用いてRNA-seq解析を行い、多くの遺伝子変動することを明らかにした。

本発表ではソルガムの生育促進に関わる最新の成果を報告する。

S6-4

ゼニゴケを用いて植物へのプラズマ照射効果の分子機構解明を目指す

Elucidating molecular mechanisms for the effects of plasma irradiation on plants using *Marchantia polymorpha*

坪山 祥子¹, 奥村 賢直², 古閑 一憲², 白谷 正治², 朽津 和幸¹

¹東京理科大・創域理工・生命生物科学, ²九大・シス情

近年、植物種子へのプラズマ照射による発芽・成長促進効果が報告されている。大気中でプラズマを発生させると、様々な活性酸素窒素種が生成されるため、その作用機序には、活性種の関与も想定されているが、分子機構はほとんど不明である。プラズマ農業応用の最適化や実用化には、基盤となる分子レベルの知見は必須である。

我々は、モデル生物ゼニゴケを用いて、プラズマ照射の影響を解析する実験系を構築した。スケーラブル誘電体バリア放電プラズマ源を用いて、ゼニゴケ無性芽にプラズマ照射したところ、種子と同等の照射条件では、成長抑制や細胞死が引き起こされた。しかし、プラズマ源への印加電圧を徐々に下げると、無性芽の成長が促進されるポイントがあることを見出した。プラズマ照射により、ゼニゴケ無性芽の成長促進と抑制を、高再現性をもって制御できることが明らかとなった。プラズマ照射による成長の促進に関与する因子の同定を目指して、遺伝学的・細胞生物学的解析も進めている。

また、プラズマ照射により植物細胞に誘導される初発反応を解析するために、顕微鏡下でのプラズマ照射が可能な小型のペン型プラズマ源を新たに開発・導入した。蛍光イメージング解析の結果、プラズマ照射直後に、植物細胞内に活性酸素種が導入され、細胞質のH₂O₂濃度が上昇すると共に、Ca²⁺チャンネルを介した細胞質Ca²⁺濃度の一過的な上昇が誘導されることが明らかとなった。

ゼニゴケは、プラズマ照射に対する植物の初期（秒～分単位）から長期的（日～週単位）な応答の分子機構を解析する上で、優れたモデルと期待される。プラズマ照射による植物の応答に関与する因子の同定が期待される。

S6-5

水田での低温プラズマ処理が収獲にもたらす効果

Plasma treatments in rice paddy fields: Impacts on yield and quality

石川 健治, 橋爪 博司, 北野 英己, 田中 宏昌, 堀 勝

名古屋大学

ガスを放電させて発生するプラズマの農業応用を推進している。特に食品の長期保管や植物の成長促進には興味深い成果が得られてきており、プラズマ農業応用の研究対象として、植物体や種子（植物免疫）、水や養液（代謝）、土壌や微生物クラスタ（環境応答）が注目されている [1]。本講演では、実フィールドである水田でのプラズマ処理の効果について報告する [2,3]。イネ苗（*Oryza sativa* L., cv.あいちのかおり [2] 山田錦 [3]）の水田への定植後、定期的にプラズマ処理を施した。一つの方法では、非熱プラズマ（60-Hz 9 kV 印加 Ar 大気圧下放電）をイネの成長点に直接照射を繰り返した。もう一つの方法では、プラズマを照射した養液（PAL）をイネの根元の土壌に浸透させて、間接照射の効果によって、養分吸収する根に刺激を与えた。収獲後評価の結果より、照射時間の長短によらず収獲量が 15% 増加した。照射時間に依存的に、しらた米などの玄米品質への影響がみられた。PAL 処理では、主稈の生育や登熟を促進する一方、収獲量は減収する傾向であった。現在、効率的に結果を得られる栽培手法の確立を目指すと共に、他の品種での有効性を評価している。

謝辞（敬称略） 三田薫, 水野寛子, 阿部明子; 松本省吾, 榊原均, 前島正義, 水野正明, 仲田麻奈, 江原宏, 伊藤昌文, ヤップリン; 湯浅元気, 東野理江, 広末庸治, 仁川進, 齋藤邦彰に感謝申し上げます。本研究の一部は科研費 JP19H05462 により実施された。

[1] M. Ito, et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* 60, 010503 (2021).

[2] H. Hashizume, et al., *Plasma Process. Polym.*, 18, 2000181 (2021).

[3] H. Hashizume et al., *Free Rad. Res.*, (2023). in press.

S6-6

大気圧空気プラズマ合成活性窒素種による植物免疫誘導

Plant Immunity Induction by Reactive Nitrogen Species Synthesized by Atmospheric Pressure Air Plasma

金子 俊郎¹, 高島 圭介¹, 佐々木 渉太¹, 安藤 杉尋², 高橋 英樹², 東谷 篤志³

¹東北大・院工学, ²東北大・院農学, ³東北大・院生命科学

大気圧空気プラズマは、無尽蔵な資源である空気から、様々な活性種を電氣的にその場合成することが可能であり、持続可能な分散型アプリケーションとして機能することから、近年大きな注目を集めている。空気プラズマが生成する活性種は、ガス温度に大きく左右されることが知られており、一般にはオゾンや窒素酸化物（一酸化窒素、二酸化窒素）が大部分を占める活性種組成になる。筆者らは、ガス温度を独立に調節した 2 つのプラズマ反応器を組み合わせて、五酸化二窒素という反応性の高い活性窒素種の選択合成に成功した [1]。

本研究では、特に農業への応用に着目し、五酸化二窒素を植物に対して照射する実験を行った。実験は、Ca²⁺センサータンパク質を導入したシロイヌナズナにプラズマ合成五酸化二窒素を照射することで、照射前後の Ca²⁺ 応答を可視化し、その後の遺伝子発現をリアルタイム PCR で測定した。また、照射から 1 日後に病原体の接種試験を実施し、その病原体に対する抵抗性を測定した。その結果、五酸化二窒素照射から 10 秒以内に照射葉の細胞質内 Ca²⁺ 濃度が上昇し、照射 24 時間後に植物防御遺伝子の有意な発現が観測され、さらに病原体接種後の感染・増殖が有意に抑制され、五酸化二窒素の植物免疫活性効果が示された [2]。

[1] S. Sasaki, K. Takashima, and T. Kaneko: *Ind. Eng. Chem. Res.* **60** (2021) 798.

[2] D. Tsukidate, K. Takashima, S. Sasaki, S. Miyashita, T. Kaneko, H. Takahashi, and S. Ando: *PLOS ONE*, **17** (2022) e0269863.

L-1

孤独社会、「聴く」が支える職場のメンタルヘルス

鬼頭 靖

指導精神対話士，メンタルケア協会

本学会はキャリア支援・男女共同参画の推進に取り組んでおります。その中で、日本人の6人に1人は孤独と言われており（OECD 調べ，21 か国中トップ），教育，研究，職場環境においても精神的な支えというものが重要となってきています。若者の自殺，引きこもり，中高年のうつ，高齢者の認知症など，孤独社会がその起因と考えられる状況が増加しています。

本ランチオンセミナーでは，精神対話士の鬼頭先生をお招きします。精神対話士は人の心に寄り添い，温かな対話を通して、「心を支える」日本初の心のケアの専門職です。精神対話士の培った対話の知恵をもとに孤独社会と職場のメンタルヘルスについてご講演をいただく予定です。前半は，孤独社会について概観し，後半では職場の人間関係を良好にする傾聴についてお話することで，ご来場の方の職場環境向上のヒントにつながれば幸いです。また，本学会が推進しております産学官協力の際しても，その立場の違いから気をつけるべきことも含めて議論できればと思います。

L-2

遺伝子組換え作物の最前線

熊谷 善敏，赤城 文

バイオテック情報普及会

私たちが食べている実用化された遺伝子組換え作物は，医薬品の薬事申請のように，安全性審査が行われていることはご存知ですか？日本の政府機関に設置された専門家からなる委員会より審査・承認を経て，初めて輸入が可能となります。本セミナーでは，バイオテック企業の遺伝子組換え作物の開発・普及状況やその安全性審査について，また，この4月から新しくなった遺伝子組換えの表示などを紹介します。あわせて，授業や講演に使える遺伝子組換え作物の資料や映画もご紹介します。

本セミナーを担当するバイオテック情報普及会は，持続可能な農業の実現や食料の安定供給への貢献を念頭に，サイエンススペースで透明性ある許認可システムの構築を支援するための活動やバイオテクノロジーの重要性を伝える広報活動を行っています。

1Aa-01

活性酸素種による植物の細胞増殖・伸長・分化の制御

Regulation of cell proliferation, elongation and differentiation by reactive oxygen species in plants

朽津 和幸, 山下 優音, 坪山 祥子, 橋本 貴史, 橋本 研志

東京理科大・創域理工・生命生物学

光合成や呼吸等の過程で、強い酸化力により毒性を示す活性酸素種（ROS）が副次的に産生されるため、植物は、多様な ROS 消去機構を備えている一方で、NADPH oxidase (Nox)/Rboh 等の酵素により積極的に ROS を生成し、シグナル分子や生化学反応の基質として利用する。細胞膜上に存在する ROS 生成酵素 Rboh の活性は厳密に制御されており、Ca²⁺の結合と種々のプロテインキナーゼによる特定のアミノ酸のリン酸化により相乗的に活性化される。欠損変異体の解析等から、Rboh による細胞壁空間への ROS 生成が、Ca²⁺を介した制御系と共にシグナルネットワークを形成し、成長・発生・生殖、細胞の分裂・極性を持った伸長・分化・プログラム細胞死、細胞壁の制御、長距離のシグナル伝達等、植物の高次機能の基盤となる情報統御系の根幹で重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。その生物が持つ全ての Nox を欠損させた最初の例と思われる、苔類ゼニゴケが持つ 2 種の Nox/Rboh を共に欠損させた二重変異体 MprbohA/B^{ko} をゲノム編集により作出したところ、細胞分裂・分化の著しい異常による細胞塊様の表現型を示した。各種変異体の解析結果に基づいて、細胞増殖・伸長・分化の制御における積極的に生成された ROS の役割や、そのメカニズムについて議論する。さらにこうした知見に基づいて、プラズマに代表される種々の工学的技術を用いて植物に ROS などの活性種を与えることにより、植物の成長を制御する可能性¹について議論する。

¹ 坪山祥子ら ゼニゴケを用いて植物へのプラズマ照射効果の分子機構解明を目指す 本大会シンポジウム プラズマ農業の最前線

1Aa-02

シロイヌナズナにジャスモン酸とサリチル酸の蓄積を誘導する化合物の作用機序とその応用

Mode of action and possible application of a novel compound that induces accumulation of both jasmonic acid and salicylic acid in plants

小川 瑞貴¹, 並木 健太郎¹, 遠矢 龍平¹, 小川 聡太¹, 星野 正剛¹, 栗野 眞妃¹, 上杉 日奈保¹, 舟橋 汰樹¹, 北畑 信隆^{1,2}, 斉藤 優歩¹, 中野 正貴¹, 橋本 研志¹, 倉持 幸司¹, 安部 洋³, 浅見 忠男², 木村 成介⁴, 朽津 和幸¹

¹東京理科大・創域理工・生命生物学, ²東京大・農学生命科学, ³理研BRC, ⁴京都産業大

タバコ培養細胞 BY-2 の感染シグナル誘導性活性酸素種（ROS）生成を指標としたハイスループットスクリーニング系を構築し、化合物ライブラリーから新規植物免疫活性化剤候補化合物を選抜する中で、シロイヌナズナに処理するとジャスモン酸（JA）の内生量を増加させるという、新規の生理活性を示す化合物を見出した。幼植物体に処理すると、濃度依存的に JA の蓄積を誘導した。加えて、plant defensin 1.2 を含む JA 経路の下流遺伝子や JA の生合成・代謝系関連遺伝子の発現を亢進した。一般にサリチル酸（SA）経路と JA 経路は相互に抑制的に機能すると考えられているが、JA 蓄積にやや遅れて SA の蓄積が起きること、幼植物体を用いた時系列トランスクリプトーム解析の結果、JA 経路関連遺伝子・SA 経路関連遺伝子やフェニルプロパノイド経路等の遺伝子の発現が誘導されることが明らかになった。シロイヌナズナの成熟個体に処理すると、JA 経路関連遺伝子の発現が誘導され、害虫アザミウマや灰色カビ病菌に対する抵抗性が強化された。構造類似体を合成し、構造活性相関の解析や標的因子の探索を進めている。また広範な病原体及び病害虫に対する抵抗性や、代謝産物に対する影響の解析を進めている。化合物の植物に対する作用機序や応用の可能性について議論したい。

1Aa-03

ブドウ‘デラウェア’の大粒系統における果粒発達と GA 応答性に関する研究

Study on Berry Development and GA Responsibility in The Large Berry Mutant of ‘Delaware’ Grapes

石川 ひかる¹, 梶野 康行², 渋谷 知暉^{1,3}

¹岩手大・院連合農学, ²島根県・農技セ, ³山形大・農学

ブドウ‘デラウェア’の大粒系統（以下、LBM）は、ブドウ‘デラウェア’（*V. vinifera* × (*V. labrusca* × *V. aestivalis*）：以下、通常デラウェア）の枝変わり系統である。ブドウの無核化栽培では、果粒の無核化・肥大化のためジベレリン（GA）の花/果房浸漬処理を行うが、LBM は 1 回処理でも慣行の 2 回処理した通常デラウェアと同等の果実サイズとなる（梶野, 2019）ことが報告されている。LBM が有する大粒化の特性は GA₃ 処理に起因していると考えられたため、本研究では LBM における果粒発達と GA 応答関連遺伝子の発現について調査した。

GA₃ 処理を行わず有核栽培したところ、系統間で果粒サイズに顕著な差はみられなかった。このことから、LBM の大粒化は GA₃ 処理に起因していることが示唆された。果粒発達初期における無核化果粒の組織観察を行なったところ、発達初期における LBM の果粒の細胞数は通常デラウェアよりも多かった。GA₃ 処理適期における花蕾および果粒における GA 応答関連遺伝子の発現量を調べたところ、LBM では通常デラウェアに比べて GA 受容体 *GID1* をコードする遺伝子である *VvGID1* の発現が高かった。このことから、LBM の大粒化は GA 応答性が向上したことにより生じたと考えられた。開花後 10 日（DAFB10）および 12 日（DAFB12）における果粒を用いて RNA-seq によるトランスクリプトーム解析を行い、LBM の大粒化の原因遺伝子の探索を行った。各時点における発現変動遺伝子（DEG）を抽出したところ、両時点に共通する DEG は 89 遺伝子であった。このうち、転写因子であり果粒発達や果粒サイズに関与する OFP をコードする遺伝子が LBM における大粒化の原因遺伝子の候補として考えられた。

1Aa-04

トコンの不定芽形成においてストリゴラクトン関連阻害剤およびカイネチンの添加は *ENHANCED SHOOT REGENERATION* の発現を亢進する

Strigolactone-related inhibitors and kinetin activated expression of *ENHANCED SHOOT REGENERATION* in adventitious shoot formation of ipecac

岡崎 夏鈴¹, 伊藤 晋作², 中村 英光³, 浅見 忠男³, 下村 講一郎¹, 梅原 三貴久¹

¹東洋大・院生命科学, ²東農大・生命科学, ³東大・院農生

多くの植物種において植物組織から不定芽を誘導するには、オーキシンやサイトカイニン（CK）を培地に添加する必要がある。しかし、薬用植物トコン（*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson）では、切断した節間を植物ホルモン無添加の培地に置床するだけで簡単に不定芽を誘導できる。そのため、処理した薬剤が不定芽形成に与える影響を直接評価できる。我々はこれまでに、ストリゴラクトン（SL）生合成阻害剤（TIS108）および SL アンタゴニスト（KK094）が内生 CK 量を増加させることでトコン節間切片からの不定芽形成を促進することを明らかにし、SL 関連阻害剤が新規の不定芽形成促進剤として使用できる可能性を見出した。本研究では、SL 関連阻害剤と合成 CK のカイネチンがトコンの不定芽形成初期に与える影響を調べるため、SL 関連阻害剤またはカイネチンを処理した節間切片における CK 生合成および代謝関連遺伝子、メリステム形成関連遺伝子の発現を定量的リアルタイム PCR で解析した。その結果、TIS108 の処理では *ISOPENTENYLTRANSFERASE3* と *ENHANCER OF SHOOT REGENERATION2* (*ESR2*) の発現は亢進したが、*CUP-SHAPED COTYLEDON2* (*CUC2*) の発現は抑制された。KK094 の処理では *LONELY GUY7* (*LOG7*)、*ESR2*、*PLETHORA2* (*PLT2*) の発現が亢進した。カイネチンの処理では *LOG7*、*ESR2* の発現が亢進したが、*PLT2* および *CUC2* の発現は抑制された。カイネチンと SL 関連阻害剤の混合による処理では、カイネチンとほぼ同様の遺伝子の発現と抑制が認められた。いずれの処理区においても共通して *ESR2* の発現亢進が認められたことから、トコンの不定芽形成では *ESR2* が重要な役割を持つことが示唆された。

1Aa-05

ミヤコグサの 8 アミノ酸ペプチド LjPep914L の根端に与える影響の解析

Analysis of the effect of LjPep914L, an 8-amino acid peptide of *Lotus japonicus*, on root tip morphology

楊 建宇, 山口 夕

大府大・院生環

ダイズ由来の 8 アミノ酸ペプチド GmPep914 は、前駆体タンパク質 GmproPep914 の C 末端から切り出されて作用し、キチナーゼをはじめとする防御関連遺伝子の発現を誘導する。前駆体遺伝子は、地下部において特に強く発現しており、地上部ではメチルジャスモン酸などのストレス応答関連ホルモンによって発現が誘導されることが知られている。これらのことから、GmPep914 は防御応答に関連していると推測されているが、その具体的な作用機構については明らかとなっていない。GmPep914 のホモログは多くのマメ科植物で保存されており、我々は Pep914 の機能解析を進めるためにマメ科のモデル植物であるミヤコグサを材料に研究を進めている。ミヤコグサの Pep914 様ペプチド (LjPep914L) は、根に与えると、根の先端部から異常な細胞の集団化と変色が観察され、生理活性ペプチドであることが確認できた。西洋ミヤコグサ由来のスーパーロッドを用いた実験により、根への作用は 1nM 以下という低濃度でも引き起こされることが分かった。また、LjPep914L をアルファルファとシロツメクサに与えた際にも観察され、根における Pep914L の応答がマメ科植物で保存されていることが示された。根端の形態にはペクチンの分布が大きく関わっていることが知られているため、現在ペクチンに対する抗体 JIM5 と JIM7 を用いた観察を行っている。加えて、LjPep914L と防御応答との関連を調べるために、メチルジャスモン酸処理などによる前駆体遺伝子の発現パターンについても解析を進めている。

1Aa-06

マイクロトム DWARF14 欠損変異体の特性およびストリゴラクトン産生量

Characteristics and strigolactone levels of Micro-Tom DWARF14-deficient mutants

梅原 三貴久¹, 相場 北斗¹, 長谷川 翔子¹, 杉本 貢一², 瀬戸 義哉³, 野村 崇人⁴, 江面 浩²

¹東洋大・院生命科学, ²筑波大・T-PIRC, ³明治大・農, ⁴宇都宮大・C-Bio

ストリゴラクトン (SL) は、植物の地上部や根のかたちを調節する植物ホルモンの一つである。先行研究において、我々はマイクロトムの SL 生合成欠損変異体 (*slccd8*, *slmax1*, および *sllbo*) を得たが、SL シグナル伝達変異体については未着手であった。活性型の SL は、 α/β フォールド加水分解酵素スーパーファミリーメンバーの DWARF14 (D14) タンパク質によって受容される。我々は D14 欠損変異体ではフィードバック制御がはたらき、活性型 SL を蓄積すると予想した。そこで、ゲノム編集によりマイクロトムで *sld14* 変異体 2 系統を作出した。*sld14* の枝分かれの数は野生型 (WT) の約 2 倍で、SL 合成アナログの GR24 処理に対して非感受性を示した。*sld14* 変異体の根毛は WT よりも長く、高密度であった。*sld14* の果実の結実率および酸度は WT よりも低かった。WT および *sld14* の根滲出液および根に含まれるオロバンコールおよびソラナコールは、リン酸塩が十分な条件下 (+P) で検出限界以下だった。リン酸欠乏条件下 (-P) では、オロバンコールおよびソラナコールの量は著しく増加したが、WT と *sld14* で有意な差は認められなかった。遺伝子発現解析により、-P の根では、SL 生合成遺伝子の *SICCD7*, *SICCD8*, *SIMAX1*, および *SICYP722C* の発現が +P に比べて増加していたが、*sld14* におけるこれらの mRNA 量は WT とほぼ同等であった。この結果は SL 定量の結果と一致する。しかし、-P における *sld14* の根滲出液は、WT よりもオロバンキのより高い発芽を誘導し、総 SL 量が *sld14* で高いことから、*sld14* ではオロバンコールやソラナコールなどの既知の典型的 SL とは異なる、他の SL を蓄積していることを示唆している。

1Aa-07

理化学研究所 CSRS のメタボローム解析及び植物ホルモン解析研究支援について

Research support for metabolome and plant hormone analysis at RIKEN CSRS

森 哲哉, 小嶋 美紀子, 小林 誠, 佐々木 亮介, 佐藤 心郎, 竹林 裕美子, 山田 豊, 平井 優美

理研CSRS

理化学研究所環境資源科学研究センター (CSRS) では、多様な高性能質量分析計と高度な解析技術を活用し、メタボローム解析と植物ホルモン解析を支援しており、これまで多くの研究成果に貢献している。現在、生物種は主に植物を対象としており、一次代謝物、二次（特化）代謝物、イオン性化合物、脂質、植物ホルモンの各代謝物群を検出可能な複数の質量分析計から、依頼者は研究目的に沿って選択して分析を依頼することが可能である (<http://prime.psc.riken.jp/support/index.html>)。この研究支援は依頼者と分析担当者との共同研究であり、互いに協力して行っていくことが不可欠である。各機器の担当者は依頼者へ適切な実験計画、サンプル調製、データ解析、内容の共有を行っていただくよう求めている。担当者が特に注意深く適切な遂行をお願いしているのがサンプリングからサンプル発送までのサンプル調製である。なぜなら、その後のサンプル抽出、分析及び解析に多大な影響を与える重要なプロセスの一つであるからである。しかし依頼者が適切に対応していないことがあり、研究に支障をきたす原因となっている。そこで我々はサンプル調製についての専用ウェブサイトを作成した (<https://masspec-phytohormone.riken.jp/sample/>)。このサイトでは、受け入れ可能なサンプルの条件、そのための準備の方法をフローチャート形式で説明しており、依頼者には必ず確認してもらうようお願いしている。本発表では、依頼者が特化代謝物のノンターゲット分析を依頼した場合を想定し、実験計画、実験、サンプル調製、質量分析、解析を経て論文発表などの公表に至るまでの一連の流れについて留意点を交えて紹介する。

1Aa-08

植物性プラスチック分解生成物のコマツナへの施用効果

Effect of the degradation product from bio-based polycarbonate on Komatsuna (*Brassica rapa*)

西田 瑞彦¹, 床並 佳季¹, 田島 亮介¹, 神谷 岳洋², 青木 大輔³

¹東北大院農, ²東大院農, ³千葉大院工

植物性プラスチック（ポリイソソルビドカーボネート、PIC）をアンモニア水で処理し、植物由来原料（イソソルビド）と尿素に分解する技術が開発された (Abe et al., 2021)。これにより、この植物性プラスチックの分解によって生成した尿素を作物の肥料とし、イソソルビドを再びプラスチックに利用する資源循環システムの構築が期待される。また、分解生成物をそのまま作物へ施用することも想定される。本分解生成物が土壌に施用され、作物が栽培された事例はない。そこで、本分解生成物を土壌に施用し、コマツナのポット栽培試験を実施した。

植物由来のイソソルビドを原料とするプラスチック（PIC）をアンモニア水で加熱処理をして分解し、生成物（尿素とイソソルビド）を得た。栽培試験の処理区はその①分解生成物区、②尿素（試薬）区、③尿素とイソソルビド（いずれも試薬）の混合区とした。それぞれ 0.5 g N/pot 相当を土壌に施用し、1/5000 a のポットでコマツナを栽培した。収穫時に草丈、葉色、新鮮重等を調査し、その試料を乾燥し分析を実施した。

分解生成物区のコマツナは、尿素区および尿素+イソソルビド混合区と同様に生育し、収穫期の草丈、葉数、葉色値は全ての処理区で同程度であった。コマツナの新鮮重は分解生成物区でやや大きかったが、処理区間で有意差は認められなかった。窒素吸収量も処理によらず同程度で、処理区間で有意差は認められなかった。これらのことから、植物性プラスチック（PIC）をアンモニア水で処理した分解生成物に含まれる尿素が、コマツナへの窒素源として有効であることが示された。

Abe T. et al. 2021. Green Chem., 23, 9030-9037.

1Ba-01

ホップの環境ストレス耐性を強化するアミノ酸の同定

Identification of amino acid enhancing tolerance to environmental stress in hop

平川 健, 小原 一朗

キリンホールディングス(株)・キリン中央研

ホップはアサ科に属する雌雄異株の多年生のつる性植物であり、ビール醸造の必須原料として使用されている。ホップの雌花は毬花と呼ばれ、毬花のルプリン腺毛に含まれる多様な二次代謝産物がビールに香りや苦み、さらには殺菌作用や泡もちをもたらす。植物としてのホップは冷涼な気候を好むため、世界的な地球温暖化の進行に伴う収量の減少や品質の低下といった問題が懸念されている。この問題を解決し、品質のよいビール醸造を続けるために、ホップの環境ストレス耐性を強化するための技術が必要とされている。

本研究ではキリンが有する植物大量増殖技術の分子メカニズムに着目し、その解析を通じてホップの環境ストレス耐性を強化する新規アミノ酸を同定した。植物大量増殖技術の一つであるブレンダー PPR 法はブレンダー破砕物から植物苗の元となる幼芽を大量増殖するユニークな手法である。このブレンダー破砕物から幼芽が形成される過程に対して、トランスクリプトーム解析およびメタボローム解析の統合解析を行った結果、ホップを含む複数の植物種で高温および酸化ストレス耐性を強化するアミノ酸を同定した。本発表ではブレンダー PPR 法の分子メカニズム解析に基づくアミノ酸の同定から、アミノ酸の環境ストレス耐性強化の作用メカニズムまで幅広く議論をしたい。

1Ba-02

オミックス解析による WRC イネ品種のアンモニウムイオン濃度変動環境に寄与する制御因子の探索

Elucidation of key factors responding to dynamic changes of ammonium concentration toward the selected WRC cultivar using omics approaches

草野 都^{1,2,3}, 轡田 圭又⁴, 西澤 具子³, 小泉 美希子³, 高野 耕司³, 小林 誠³, 七夕 高也⁵, 福島 敦史^{3,6}, 齊藤 和季³

¹筑波大・生命環境系, ²つくば機能植物イノベーション研究センター, ³理研・CSRS, ⁴筑波大・理工情報生命学術院, ⁵かずさDNA研究所, ⁶京都府大・院生命環境

稲作を行う上で多施肥による窒素肥料の流出は、水田下流域での水質汚染の原因となる。環境負荷の少ない穀物の生産体系が必要とされている中、低窒素環境下での植物生長に関わる応答機構を明らかにすることは喫緊の課題である。世界中に数万品種存在するイネが生育する栽培環境は多様であることから、与えられた環境で適応した窒素応答は異なることが予測される。このことから、遺伝資源を有効活用したアプローチが有効と考えられる。本研究では、世界イネコアコレクション (WRC) 69 品種に対し、新規地上部生長速度評価システムを用いたスクリーニングを行った。その結果、外的なアンモニウムイオン濃度変化に対して強い生長応答を示す品種を選抜した。本品種に着目し、根における RNA シークエンス解析およびガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS) を用いた非ターゲット代謝物解析を行った。RNA シークエンス解析データを用いた Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway 解析を行ったところ、アンモニウムイオン欠乏環境下ではバリン・ロイシン分解経路において発現レベルでの制御が起こっていることが示唆された。GC-MS によるメタボローム解析から、選抜した品種においてアンモニウムイオン濃度欠乏環境および低アンモニウムイオン濃度環境ではアンモニウムイオン十分な環境に比べ、アンモニウム濃度変化に対して代謝物蓄積量は顕著な変化を示さないことが明らかとなった。以上のことから、選抜した品種はアンモニウム濃度変化に非感受性を示し、低窒素条件下においても生長を維持できる可能性を見いだした。

1Ba-03

C₄種 *Flaveria bidentis* の葉緑体型 NAD キナーゼ (FbNADK2a, FbNADK2b) の発現と機能に関する研究

Study on expression and function of chloroplast NAD kinase (FbNADK2a, FbNADK2b) in C₄ species *Flaveria bidentis*

鈴木 沙也加, 藤沼 友莉果, 石川 寿樹, 山口 雅利, 川合 真紀

埼玉大・院理工

C₄型光合成では、維管束鞘細胞に存在する Rubisco 近傍の CO₂ 分圧を高く保つことで、乾燥や高温といった環境ストレス下においても光呼吸による光合成効率の低下を抑えられ、高い光合成能を発揮できると考えられている。キク科の *Flaveria* 属植物は C₃ 種、C₃-C₄ 中間種、C₄ 様種、C₄ 種といった幅広い光合成タイプが存在することから、C₃ 種から C₄ 種への光合成の進化を研究するためのモデル植物として用いられている。トランスクリプトーム解析により、C₄ 種 *Flaveria* で発現量が上昇する遺伝子群が調べられ、その中に NAD キナーゼ (NADK) をコードする遺伝子が含まれていた。NADK は NAD⁺ をリン酸化し NADP⁺ を生合成する酵素であり、葉緑体型の NADK2 は光合成電子伝達鎖に電子受容体 NADP⁺ を供給する役割を持つ。C₃ 種 *F. pringlei* と C₄ 種 *F. bidentis*, *F. trinervia* の葉において NAD(P)(H) 定量を行ったところ、NAD(P)(H) プールサイズが C₄ 種 *Flaveria* で大きいことが分かった。そこで本研究では、C₄ 型光合成を行う種における NADK2 の役割を明らかにするため、C₄ 種 *F. bidentis* の 2 つの葉緑体型 NADK (FbNADK2a, FbNADK2b) に着目して研究を行った。C₃ 種 *F. pringlei* と C₄ 種 *F. bidentis*, *F. trinervia* の葉における NADK2 の発現を比較した結果、C₄ 種で NADK2a の発現が上昇していた。また、5 種類の *Flaveria* 属植物の NADK2 のアミノ酸配列を比較した結果、C₄ 種 *Flaveria* の NADK2a に特徴的なアミノ酸配列が見出され、C₄ 種確立の過程で、発現量や酵素の機能に変化が起きた可能性が考えられた。

1Ba-04

リン酸トランスポーターの異所的発現がリン酸の吸収・利用効率に与える影響

Effects of ectopic expression of a phosphate transporter on phosphate absorption and utilization efficiency

多田 雄一, 野池 優希, 清水 碧

東京工科大・応用生物

リン酸は植物による吸収・利用効率が低く、肥料原料のリン鉱石の枯渇が予想されることから、植物のカリウムやリン酸の吸収・利用効率を高めることは重要である。

これまで、各種植物のリン酸トランスポーター遺伝子の過剰発現によってリン酸の吸収・利用効率を高める試みが行われたが、ほとんど効果はなかった。我々は、コムギのリン酸トランスポーター TaPT2 を根の表皮特異的な AKT1 プロモーターで発現させた組換えシロイヌナズナでは、構成的に発現させた場合には見られない成長促進がみられることを報告した。これらの組換え体では無機リン酸と全リン含量は WT と差はないが、吸収されたリン酸が効率的に成長促進に利用されていることが示唆された。

今回は、維管束特異的に発現する AtHKT1;1, SKOR プロモーターで TaPT2 を発現させたところ、リン酸が十分な条件と低リン酸条件の両方で組換えシロイヌナズナの成長が WT と比較して促進された。さらに、低リン酸条件では根の表皮で発現させた場合には見られなかったシュートの無機リン酸含量の増加を確認した。特に、SKOR プロモーターの組換え体は低リン酸条件での導管のリン酸濃度が WT と比較して有意に高かった。これらのことから、リン酸トランスポーターを根維管束特異的に発現させることで低リン酸条件でのリン酸の輸送・利用効率を改善できる可能性が示された。今後はリン酸の根からシュートへの輸送に主要な役割を果たしている PHO1 や、過剰なリン酸を液胞に隔離する VPT1 などの発現をこれらの組換え体で解析することで、リン酸トランスポーターの異所的発現がリン酸の輸送、貯蔵、恒常性に与える影響を調べる予定である。

1Ba-05

南極地域に自生するオオハリガネゴケにおけるトランスクリプトーム解析

Transcriptome analysis of the common moss *Bryum pseudotriquetrum* grown under Antarctic field conditions

大谷 真広¹, 北村 春樹¹, 工藤 栄^{2,3}, 伊村 智^{2,3}, 中野 優¹

¹新潟大・農, ²極地研, ³総研大・複合科学

極限環境である南極地域には、数種のコケ植物が自生している。これらのコケ植物は、南極地域特有の低温、乾燥、塩および紫外線等の複合的な環境ストレスに対して強い耐性を有していると考えられるが、その分子メカニズムについてはほとんど研究されていない。本研究では、南極地域を含む全世界に分布するオオハリガネゴケ (*Bryum pseudotriquetrum*) を研究対象として、南極昭和基地周辺の露岩域において採取直後に固定したサンプルと、実験室内の穏やかな条件下 (15°C, 長日条件下) で人工栽培したサンプルの茎葉体を用いてトランスクリプトーム解析を行った。de novo アセンブリーにより合計 88,205 コンティグが得られ、それらのうち 1,377 および 435 遺伝子の発現量が南極環境下でそれぞれ有意に上昇および低下していた。発現量が上昇した遺伝子群には、多くの脂質代謝および油滴形成に関連する遺伝子が含まれていた。脂肪酸分析の結果、南極で採取された茎葉体では人工栽培のものと比較して非常に多くの脂肪酸が蓄積され、また不飽和脂肪酸の割合が高くなっていた。脂質の蓄積や組成の変化は、植物における主要なストレス耐性機構であることが知られている。一方、発現量が低下した遺伝子群には多くの光合成関連遺伝子が含まれており、特に集光アンテナを構成するタンパク質遺伝子の発現が一様に低下していた。これは、極域夏季特有の白夜による強い紫外線暴露への抵抗と考えられる。以上より、南極地域に自生するオオハリガネゴケにおいては、厳しい環境下で生育するために脂質代謝や光エネルギー受容機構の調整が重要であることが示唆された。

1Ba-06

栄養欠乏応答性のアブラナ科植物種間比較解析

Comparative analysis of nutrient deficiency responses in Brassica species

渡邊 むつみ, 中山 香奈, 西元 峻太, 峠 隆之

奈良先端大・先端科学技術

植物の栄養欠乏応答メカニズムの解明は作物の生産向上に重要である。栄養欠乏応答の包括的理解を目指し、モデル植物を用いたオミクス解析は多数行われているが、作物種を用いた種間比較レベルでのオミクス解析の研究例は少なく、応用展開は難しい。そこで、本研究ではメタボロミクス解析を基盤に、アブラナ科植物に保存されているもしくは種特異的な栄養欠乏代謝応答の解明研究を計画した。アブラナ科モデル植物及び作物種を材料にして、植物の主要栄養元素である窒素、リン、硫黄の経時的欠乏実験を実施し、表現型解析、遺伝子発現解析、代謝物分析を行った。表現型解析では、湿重量やクロロフィル含量測定を行い、栄養欠乏応答評価の一つとした。さらに経時的応答を詳細に解析するために、アブラナ科植物で共通して用いることのできる栄養欠乏応答マーカー遺伝子を特定した。また、代謝物分析では、経時的代謝物変動の捕捉を生合成経路上で行い、一次代謝及び二次代謝の関連性を総合的に解析した。本発表では、これらの結果について議論する。本研究で得られたデータは今後、植物栄養状態の診断、植物種ごとの最適な施肥/追肥の種類/時期の決定などにも活用できると考えている。

1Ca-01

柑橘におけるクマリン代謝に関与する UbiA 型プレニル化酵素遺伝子群の解析

Characterization of UbiA-type prenyltransferases involved in citrus coumarin metabolism

松下 修平¹, 棟方 涼介^{1,2}, 赤木 剛士^{2,3}, 松川 哲也^{4,5}, Alain Hehn⁶, 矢崎 一史¹

¹京都大・生存研, ²JSTさきがけ, ³岡山大・環境生命, ⁴近大・附属農場, ⁵近大・生物理工, ⁶ローレーヌ大/INRAE

柑橘類は食品や香料原料として重要な植物系統である。機能性成分も種々報告されており、クマリン類の一つであるオーラプテンは、臨床試験で認知機能維持効果が認められている。一方で、フラノクマリン類は光毒性や薬物動態攪乱など、産業利用において望ましくない作用を示す。このため、いずれの化合物も柑橘育種上のターゲットとなっている。生合成において、両成分はウンベリフェロンを共通前駆体とし、位置特異性の異なる2つのプレニル化反応により分岐するものの、この分岐点に位置する酵素遺伝子は従来未知であった。そこで本研究では、UbiA型プレニル化酵素ファミリーの解析を通じて、ミカン科クマリン生合成の鍵となる酵素遺伝子を同定することを目的とした。本発表ではオーラプテン及びフラノクマリン類ともに高蓄積するグレープフルーツを主な実験材料とした。トランスクリプトームやゲノムを用いた *in silico* スクリーニングを行い、候補遺伝子を見出した。次に、これらの酵素機能解析を行った。また、ミカン科における本酵素ファミリーの分子進化の解析も進めている。

1Ca-02

水耕栽培および土壌栽培トマトを用いた高温ストレス条件下での α -トマチン分泌の解析

Analysis of α -tomatine secretion under high temperature stress conditions using tomatoes in hydroponic culture and non-sterile soil

岩田 恵理子¹, 高松 恭子¹, 山崎 真一^{2,3}, 青木 裕一^{2,4}, 辻 祥子⁵, 小林 優⁵, 伊福 健太郎⁵, 永野 惇^{6,7}, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹

¹京都大・生存研, ²東北大・ToMMo, ³理研・BRC, ⁴東北大・院情報, ⁵京都大・院農, ⁶龍谷大・農, ⁷慶應大・IAB

植物の根から影響を受ける土壌領域を根圏と呼び、根圏微生物叢は植物の生育に影響を与える。根から分泌される二次代謝産物は、植物種に特有の根圏微生物叢の形成に関与する。これらの根圏の二次代謝産物は、各種ストレス条件下で質的・量的に変化し、ストレス条件下で形成される根圏微生物叢は植物のストレス耐性に関与することも示唆されている。ステロイドグリコアルカロイドである α -トマチンは、トマト根から分泌され、根圏にスフィンゴビウム属細菌を増加させ、トマトの根圏微生物叢を形成する働きを有する。 α -トマチンの分泌量は生育初期に高いことが報告されているが、その分泌量がストレス条件下でどのように変化するかは明らかにされていない。そこで本研究では、高温ストレス下での α -トマチン分泌量の変化とそれに伴う根圏微生物叢形成への影響を調べるため、水耕栽培トマトと圃場土を用いた土壌栽培トマトに高温ストレスを与える実験を行った。水耕栽培トマトでは7週齢の個体を高温(40°C)または室温(25°C)で24時間処理し、 α -トマチン分泌量と根内の α -トマチン含有量を分析した。土壌栽培トマトでは6週齢の個体を用い、高温条件下では40°C 6時間/25°C 18時間の高温ストレスを一週間与え、根圏土壌の α -トマチン蓄積量を分析した。コントロールは6週齢の個体を25°Cで一週間生育させたものを用い、実験区と比較した。また、水耕栽培トマトを用いて葉と根から抽出したRNAを用いRNA-seq解析を行った。現在、高温条件下におけるトマトの遺伝子発現の変化と α -トマチン分泌、根圏微生物叢の関連について解析中である。

1Ca-03

トマト根圏でトマチンにより増加するスフィンゴビウム属細菌が根の生長に与える影響の解析

Analysis of root growth induced by *Sphingobium* enriched in the tomato rhizosphere by α -tomatine

高松 恭子¹, 中安 大¹, 山崎 真一^{2,3}, 青木 裕一^{2,4}, 永野 惇^{5,6}, 小林 優⁷, 伊福 健太郎⁷, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹

¹京都大・生存研, ²東北大・ToMMo, ³理研・BRC, ⁴東北大・院情報, ⁵龍谷大・農, ⁶慶應大・IAB, ⁷京都大・院農

植物が根から根圏へと分泌する代謝産物は、植物微生物相互作用において重要な役割を果たす。近年、特に二次代謝産物が根圏微生物叢の形成に関与することが明らかになった。根圏微生物は、植物の生育やストレス耐性などに影響することが報告されている。先行研究で、トマト (*Solanum lycopersicum*) は、ステロイドグリコアルカロイドである α -トマチンを根から分泌し、スフィンゴモナス科スフィンゴビウム属細菌を根圏で増加させることを明らかにした。トマト根圏におけるスフィンゴビウム属細菌の増加は、3種の異なる圃場土を用いた栽培実験や、公共データの菌叢解析においても広く認められた。

本研究では、 α -トマチンを介したスフィンゴビウム属細菌とトマトの相互作用を解析することを目的とした。トマト根圏から単離した α -トマチンを資化する RC1 株を用いてトマト生育への菌からの影響を評価した。寒天培地にトマトを播種して生育させたところ、RC1 株を接種したトマトでは根の生育に影響が生じた。また、より実際の栽培環境に近い条件で解析するために、 γ 線滅菌土壌で無菌的に栽培したトマトに RC1 株を接種して、RC1 株がトマト生育に与える影響を解析するとともに、葉と根の組織サンプルを用いた RNA-seq による遺伝子発現解析を行った。GO エンリッチメント解析を行い、接種条件下で発現が上昇した遺伝子を今後の詳細な解析対象とした。さらに、RC1 株の α -トマチンの分解に関する酵素遺伝子を欠損した変異菌株を作出した。現在、遺伝子破壊株を用いて α -トマチン代謝能力が、スフィンゴビウム属細菌とトマトの相互作用に与える影響を解析している。

1Ca-04

植物培養細胞における新たな休眠二次代謝覚醒技術による新規生合成酵素の発見

Discovery of a novel biosynthetic enzyme through the unique strategy for activation of cryptic secondary metabolism in cultured plant cells

野村 泰治, 加藤 康夫

富山県大・生物工/生医工研セ

植物培養細胞においては、元の植物体でみられていた二次代謝が休眠する現象が頻繁に起こる。この現象は、植物培養細胞を利用した物質生産の実用化を妨げる最大の要因の一つである。最近我々は、エピジェネティック修飾剤 (EM 剤) の投与が植物培養細胞における休眠二次代謝の覚醒に有効であることを世界で初めて実証した。タケの一種、ホウライチク Bm 細胞に、EM 剤としてヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の一種である suberoyl bis-hydroxamic acid (SBHA) を投与したところ、顕著な二次代謝誘導がみられた。単離・構造解析の結果、それらは希少クロロゲン酸類である 3-O-*p*-クマロイルキナ酸および 3-O-フェルロイルキナ酸であることが分かった。それらの生合成酵素が未同定であったことから、ヒドロキシ桂皮酸-CoA とキナ酸 3 位水酸基の縮合によるエステル形成反応を触媒するアシル基転移酵素 (BmHQT1) を、SBHA 投与細胞からの酵素精製を経て新たに同定した。BmHQT1 遺伝子の発現レベルは、SBHA 投与によって約 10 倍に上昇しており、抗アセチル化ヒストン H3 抗体を用いた ChIP-qPCR 解析の結果、SBHA 投与による同遺伝子の転写レベルの上昇は、特にエキソン領域におけるヒストンアセチル化レベルの上昇によるものであることが確認された。これは、EM 剤の投与が植物培養細胞のエピジェネティックな変化をもたらし、休眠二次代謝を覚醒に導く一連の流れを示した世界初の例である。

参考文献) Nomura et al. (2021) Appl. Biochem. Biotechnol. 193: 3496-3511, Nomura et al. (2022) Plant J. 112: 1266-1280.

1Ca-05

薬用植物ムラサキのシコニン生合成を担う 2 つの 4-coumaroyl-CoA ligase の同定と二次代謝における役割分担の解明

Identification of two 4-coumaroyl-CoA ligases involved in shikonin biosynthesis and clarification of role assignment in secondary metabolism of *Lithospermum erythrorhizon*

中西 浩平¹, 李 豪¹, 市野 琢爾^{1,2}, 巽 奏¹, 刑部 敬史³, 渡辺 文太⁴, 下村 講一郎⁵, 矢崎 一史¹

¹京都大・生存研, ²神戸薬大, ³徳島大・生物資源, ⁴慈恵医大・化学研究室, ⁵東洋大・生命科学

ムラサキ科の薬用草本ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) は、根特異的に赤色の二次代謝産物であるシコニンを生産する。シコニンは多様な薬理活性を示すことから、ムラサキの根を乾燥させた「紫根」は生薬や染料として古くから利用されてきた。一方でムラサキは、乱獲や気候変動の影響を受け年々その個体数を減少させており、現在我が国の絶滅危惧種に指定されている。そこでシコニンの安定供給を目的として、1980年代にムラサキ培養細胞を利用した工業生産系が確立された。シコニンは、フェニルプロパノイド経路由来の *p*-hydroxybenzoic acid とメバロン酸経路由来の geranyl diphosphate を重要前駆体として生合成されるが、生合成遺伝子については *in vivo* での関与を示した例は乏しくその全容は明らかになっていない。フェニルプロパノイド経路の重要酵素である 4-coumaroyl-CoA ligase (4CL) についても同様に、その関与は示唆されているものの *in vivo* 解析による報告はない。加えて、4CL はリグニンやフラボノイドをはじめとした多様な代謝に関わる酵素であることから、ゲノム上に複数のパラログとして保存されており、ムラサキゲノム上に少なくとも 8 つのパラログとして存在するため遺伝子レベルでの関与解明が必要である。そこで本研究では、まずシコニン生産における 4CL の重要性を示すべく、4CL 特異的阻害剤を用いた *in vivo* 解析を行なった。その後、ムラサキに複数保存されている 4CL パラログのうち、シコニン生合成を担うパラログを明らかにすべく、分子系統解析と細胞内局在解析、およびゲノム編集技術により作出したムラサキ毛状根の解析を行なった。

1Ca-06

ダイズイソフラボンの細胞外輸送を担う ABC 輸送体候補遺伝子の解析

Analysis of candidate ABC transporter genes mediating the cellular export of soybean isoflavones

松田 陽菜子¹, 棟方 涼介^{1,2}, 中安 大¹, 山崎 真一^{3,4}, 青木 裕一³, 永野 惇^{5,6}, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹

¹京大・生存研, ²JST さきがけ, ³東北大・ToMMo, ⁴理研BRC, ⁵龍谷大・農, ⁶慶應大・IAB

根圏とは植物からの影響を受ける根近傍の土壌領域である。ダイズは根から根圏にイソフラボンを分泌し、イソフラボンは根圏に生息する根粒菌の *nod* 遺伝子を誘導することで、ダイズと根粒菌の共生を開始する。さらに、ダイズ根圏細菌叢形成への関与が示唆されるなど、根圏におけるイソフラボンの複数の機能が知られている。ダイズ根圏へのイソフラボン分泌については、根アポプラストに局在する isoflavone conjugate-hydrolyzing β -glucosidase (ICHG) が、根圏のイソフラボン量を増加させることが先行研究で示された。ICHG がイソフラボン分泌に関与することが明らかになった一方で、野生型個体と *ichg* 変異体における根圏細菌叢や根粒形成能の違いが認められなかったため、根圏へのイソフラボン分泌には複数の経路があることが示唆された。ダイズ根から調製したマイクロソームを用いた生化学的輸送解析により、細胞膜局在性の ATP-Binding Cassette (ABC) 輸送体がイソフラボン排出を担うことが示されているが、遺伝子は未同定である。そこで、本研究ではダイズイソフラボンの細胞外輸送を担う ABC 輸送体遺伝子の同定を目的とした。まず、RNA-seq により、日周期および窒素施肥量の異なる条件でイソフラボン生合成関連遺伝子と正に相関して発現する ABC 遺伝子を探索した。さらに、アミノ酸配列を用いた系統解析を行い、イソフラボン輸送体の候補遺伝子を絞り込んだ。現在、タバコ Bright Yellow-2 細胞および出芽酵母を発現ホストとし、候補遺伝子の機能解析を行っている。

1Ca-07

ダイズにおいてソヤサポニン生合成を制御する転写因子の探索

Functional analysis of a putative regulator of soyasaponin biosynthesis in soybean

森田 遥絵¹, 北村 実紗子¹, 村中 俊哉^{1,2}, 關 光^{1,2}

¹阪大院・工・生物工学, ²大阪大学先導的学際研究機構

ソヤサポニンはダイズをはじめマメ科植物が共通して産生する植物特化代謝産物である。ソヤサポニンはトリテルペンであるβ-アミリンが酸化や配糖化などの修飾を受けて生成する。ダイズのソヤサポニン生合成酵素（シトロクム P450 モノオキシゲナーゼや糖転移酵素など）のほとんどがすでに同定されているが、サポニンの生合成制御機構については未だ知見が少ない。そこで本研究では、ダイズにおいてソヤサポニン生合成遺伝子の発現を制御する転写因子の同定を目指した。

私たちは先に、マメ科の薬用植物カンゾウ（甘草）においてソヤサポニン生合成を活性化する basic helix-loop-helix 型転写因子 GubHLH3 を同定した（Tamura et al., 2018）。そこで、GubHLH3 に対するアミノ酸配列同一性が高い2種を候補転写因子として選抜した。これらがソヤサポニン生合成を活性化するかを調べるため、それぞれを過剰発現する組換えダイズ毛状根を作出し、ソヤサポニン生合成遺伝子の発現量への影響を解析した。その結果、2種の候補のうちの1種を過剰発現するダイズ毛状根においてβ-アミリン合成酵素およびその酸化修飾酵素（CYP93E1 等）の遺伝子の発現量が空ベクターを導入したコントロールラインと比較して約6~42倍に増加した。さらに、LC-MSでサポニン量を解析した結果、本転写因子を過剰発現するダイズ毛状根ではコントロールラインと比較してソヤサポニン I および II の蓄積量がそれぞれ約7倍および約40倍に増加した。以上の結果より、本転写因子がダイズにおいてソヤサポニン生合成を活性化する転写因子であることが示唆された。

1Ca-08

アラビドプシスの Fe2D ホモログの機能解析とそれらに協働する遺伝子の探索

Functional analysis of Fe2D homologs in Arabidopsis and search for genes that cooperate with them

橋本 菜侑¹, 横山 優花¹, 今村 大樹¹, 飯伏 純平¹, 村山 佳加¹, 椎名 隆², 石崎 陽子², 北島 佐紀人¹

¹京工織大応生, ²摂南大農

塗料としておなじみの漆の原料は、ウルシノキ（*Toxicodendron vernicifluum*）の樹液である。漆は、漆に含まれる酵素ラッカーゼによる主成分ウルシオールラジカル化とそれに続く重合を経て固化するとされる。我々はウルシノキ樹液中にフェリチン2ドメインを持つタンパク質（Fe2D）を見出し、これがラッカーゼの触媒反応を制御する可能性を示した。一方、樹液を作らないアラビドプシスにも2つのFe2Dホモログが存在したので、本研究ではアラビドプシスのFe2Dホモログの機能解析と、それらに協働する遺伝子の探索を試みた。

アラビドプシスのFe2DホモログのPromoter::GUSシステムを作成した。2つのホモログのうちの一方は実生の胚軸の維管束と子葉で、もう一方は実生のトライコームや根の維管束で発現した。CRISPR/Cas9により作成した二重変異体のRNA-seq解析を行ったところ、いくつかの遺伝子の発現減少が見られた。それらのうち機能不明の1つの遺伝子に注目し、DFM1（downregulated by Fe2D mutation 1）と名付けた。アラビドプシスにはDFM1に類似の遺伝子DFM1L（DFM1-like）も存在した。DFM1 promoter::DFM1-GUS および DFM1L promoter::DFM1L-GUS の発現はFe2Dホモログの発現部位と類似していた。これらの遺伝子の変異体を作成したのでそれらの解析結果も報告したい。

1Da-01

Functional Analysis of The Mutant Flavonoid 3',5'-hydroxylase Gene in Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) Using Transgenic Japanese Morning Glory (*Ipomoea nil*)

Ton Phuc Huynh, Chihiro Motoyama, Hiroshi Oshima, Fumio Hashimoto, Keichi Shimizu

Grad. Sch. Agr., Univ. Kagoshima

Anthocyanins are plant pigments and are classified as delphinidin (Dp), cyanidin (Cy), and pelargonidin glycosides according to the number of hydroxyl groups in the B ring of anthocyanidins (the aglycone form). Dp accumulation in petal cells results in blue or purple flowers. The enzyme responsible for Dp biosynthesis is flavonoid 3',5'-hydroxylase (F3'5'H). In lisianthus, F3'5'H derived from the Dp major strain and that derived from the Cy major strain have different amino acid sequences. The amino acid sequence responsible for this difference in pigment composition in lisianthus F3'5'H is unknown. Therefore, we constructed several F3'5'H genes of lisianthus with mutations in the amino acid sequence, introduced these genes into Japanese morning glory, and then observed changes in the flower color. Japanese morning glory is genetically transformable, such as in petunias and tobacco, and is a valuable tool for studying gene function. The results revealed that the difference between the Dp and Cy major lisianthus lines was owing to the substitution of the 484th amino acid. Further studies on the relationship between nucleotide sequence and petal coloration will enable the development of DNA markers for the efficient breeding of lisianthus.

1Da-02

Targeted A-to-G Base Editing in the Mitochondrial and Plastid genome of *Arabidopsis thaliana* with Monomeric programmable deaminases

Chang Zhou¹, Mirai Okuno^{2,3}, Issei Nakazato¹, Yosiko Tamura¹, Reiko Masuda¹, Nobuhiro Tsutsumi¹, Shin-ichi Arimura¹

¹Grad. Agri., Uni. Tokyo, ²Sch. Sci. Tec., Tokyo Ins. Tec., ³Sch.Med., Uni. Kurume

In plants, plastid and mitochondria are two organelles that essential, yet partially independent, functional component of the cell, and precise base editing in both plastid and mitochondrial genomes without DNA cleavage would benefit their gene functional analysis as well as crop breeding. Unlike the widely used CRISPR/Cas9-based base editors in the nucleus of plants, targeted base editing in organellar genomes relies on dimeric TALE-based deaminases because gRNA delivery into organelles is currently impossible. However, targeted A-to-G base editing in plant mitochondrial genomes as well as monomeric TALE-based deaminase in plant organelles have not been reported yet. Here we show that inheritable targeted A-to-G base editing in *ATP6-2* in plant mitochondrial and *16S rRNA* in plastid genome of *Arabidopsis thaliana* was induced by monomeric TALE-based adenine deaminase, which had the highest editing efficiency of 27% at the 8th T with nearly no off-target effect. After inducing A-to-G conversion in *ATP6-2* and *16S rRNA_1137T*, we then successfully induced A-to-G conversion in two other sites of *16S rRNA*, 1131T and 1139A, by placing the target site at the 8th T through shifting the TALE arrays. Phenotypic analysis showed only the A-to-G conversion at 1139A conferred significant spectinomycin resistance to the plants.

1Da-03

高活性型の塩基置換酵素 ptpTALECD_v2 を用いた、シロイヌナズナの葉緑体ゲノムの標的塩基置換

Targeted base editing in the plastid genome of *Arabidopsis thaliana* by a highly active base editing enzyme ptpTALECD_v2

中里 一星¹, 奥野 未来², 伊藤 武彦³, 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹

¹東大・院・農生, ²久留米大・医, ³東工大・生命理工

光合成関連遺伝子を多数有する葉緑体ゲノムの改変技術の開発は、基礎研究と作物育種に寄与し得る。著者らは最近、葉緑体に局在する標的塩基置換酵素 ptpTALECD (plastid-targeted platinum TALE Cytidine Deaminase) を用いて、細胞あたり最大数千コピー存在する葉緑体ゲノムの全てで、標的の C:G 対を T:A 対に置換したシロイヌナズナ植物体の作出に成功した。しかし、標的によっては置換されなかったものが存在し、また、TC_↓や AC_↓ (TやAの3'側のC) が置換された一方で、GC_↓や CC_↓ が置換可能かどうかは不明だった。本研究では、高活性型の塩基置換ドメインを持つ葉緑体局在標的塩基置換酵素 (ptpTALECD_v2) を作製し、ptpTALECD と ptpTALECD_v2 のシロイヌナズナ葉緑体ゲノムにおける塩基置換効率を比較すると共に、これらの酵素が GC_↓ や CC_↓ を置換できるかどうかを検証した。その結果、ptpTALECD と ptpTALECD_v2 が共に TC_↓, AC_↓, GC_↓, CC_↓ を一細胞に多数個存在する葉緑体ゲノムの全てで置換できることや、ptpTALECD と比べて ptpTALECD_v2 の方が塩基置換頻度が高い一方で、標的近傍の変異 (bystander error) やオフターゲット変異の導入頻度も高いことが明らかとなった。しかしながら、ptpTALECD の場合と同様に、ptpTALECD_v2 を用いて標的塩基のみが置換された個体を作成可能であることを示唆する結果も得られた。以上より、ptpTALECD で標的 C:G 対を置換可能な場合は ptpTALECD を用い、そうでない場合は ptpTALECD_v2 を用いることで、望んだ塩基置換のみを有する個体を作成できる可能性が高まると考えられる。

1Da-04

ゲノム編集技術を用いたシロイヌナズナにおける *de novo* DNA メチル化編集技術の開発

Development of *de novo* DNA Methylation Editing Technology in *Arabidopsis thaliana*

平田 峻也¹, 池田 陽子², 西村 泰介³, 小林 括平¹, 賀屋 秀隆¹

¹愛媛大・院農, ²岡山大・植物研, ³長岡技科大・院工

ゲノム編集技術を用いた *de novo* DNA メチル化編集技術を開発することを目的とする。Spiroplasma sp.MQ1 株由来の CG 特異的メチル化酵素の変異型 mSssI 遺伝子と nSpCas9 (D10A) 遺伝子を融合したものと、FWA 遺伝子のプロモーターを標的とする sgRNA をシロイヌナズナ fwa101-D 変異体において共発現させた。野生型 (Col) では、FWA 遺伝子のプロモーター領域は高度にメチル化されており、FWA 遺伝子の発現が抑制されている。これに対して、fwa101-D 変異体では同領域は低メチル化になっており、FWA 遺伝子が異所的に発現している。共発現させた fwa101-D 変異体での FWA 遺伝子のプロモーター領域についてバイサルファイト解析をおこなったところ、DNA メチル化レベルの上昇が確認された。一方、標的が異なる sgRNA では同領域での DNA メチル化の上昇は見られなかった。今後は、FWA 以外の遺伝子を標的とする sgRNA を用い、このシステムの汎用性について検証する。

1Da-05

イネ *TEOSINTE BRANCHED1 (OsTB1)* のインフレーム変異によるリン欠乏条件下での生産性向上

In-frame mutants for rice *TEOSINTE BRANCHED1 (OsTB1)* give improved productivity under phosphorus-deficiency

石崎 琢磨¹, 植田 佳明², 高井 俊之², 圓山 恭之進³, 辻本 泰弘²

¹国際農研・熱帯島嶼研究拠点, ²国際農研・生産環境畜産, ³国際農研・生物資源利用

イネの生産性において分けつは重要な形質である。私たちは分けつ抑制因子であるイネ *TEOSINTE BRANCHED1 (OsTB1)* への変異導入が分けつおよび生産性に及ぼす効果を調べた。CRISPR を用いて X265 (マダガスカルの主要水稻品種) 背景の *OsTB1* フレームシフト変異体 (1 塩基挿入) およびインフレーム変異体 (30 塩基欠損) を作出した。栄養素に富む培養土でポット栽培したところ、フレームシフト変異体の分けつ数は著しく増加し、成熟期における穂数は野生型の 3.5 倍であった。インフレーム変異体の分けつ数の増加程度は小さく、成熟期における穂数は野生型の 1.4 倍であった。このことは、*OsTB1* はフレームシフト変異により機能喪失、インフレーム変異により機能弱化したことを意味する。同条件において、いずれの変異体も個体当たり粒数は増加したが、登熟歩合および千粒重は低下し、個体当たり収量は増加しなかった。一方、リン欠乏土壌でポット栽培した場合、いずれの変異体においても穂数および個体当たり粒数の増加、千粒重の低下が認められたが、インフレーム変異体の登熟歩合は野生型と同程度であり、個体当たり稔実数は増加した。その結果、同条件におけるインフレーム変異体の個体当たり収量は野生型よりも有意に高かった。以上のことから、*OsTB1* インフレーム変異によるマイルドな穂数増加はリン欠乏環境での生産性向上に有効であると考えられる。本研究は地球規模課題対応国際科学技術協プログラム (SATREPS) 「肥沃度センシング技術と養分欠乏耐性系統の開発を統合したアフリカ稲作における養分利用率の飛躍的向上」の一環として実施した。

1Da-06

イネの稈、葉鞘での澱粉蓄積を抑制したゲノム編集系統の作出と特性解析

Production and Characterization of Genome Editing Lines that Suppress Starch Accumulation in Rice Culm and Leaf Sheath

小松 晃¹, 大武 美樹¹, 永田 真紀¹, 堤 浩一¹, 谷口 洋二郎¹, 近藤 始彦²

¹農研機構・生物機能利用研究部門, ²名古屋大学 大学院生命農学研究所

イネは、栄養生長期に一旦、稈、葉鞘に蓄積させた澱粉を、出穂後に分解して穂へ転流することで登熟に充てているとされているが、蓄積させた澱粉を登熟期に使い切らずに再蓄積を開始してしまう事象が知られている。本研究では、稈、葉鞘に澱粉を蓄積させずに、転流糖の状態での蓄積させることで、穂への転流を円滑にし、登熟歩合の向上に寄与できるかを確認する目的で、澱粉生合成遺伝子、または澱粉生合成系遺伝子に対する転写因子をターゲットにゲノム編集によるノックアウト (KO) 系統を作出し、その特性を調査した。

ゲノム編集のターゲット遺伝子として、澱粉生合成の最初期の酵素である ADP-glucose pyrophosphorylase large subunit 遺伝子 1 (*AGPL1*), small subunit 遺伝子 (*AGPS1*), および栄養器官における澱粉合成系遺伝子発現を正に制御する転写因子 CO_2 -responsive CCT protein 遺伝子 (*CRCT*) をターゲットにガイド RNA を設計した。原品種には多収品種「モミロマン」「夢あおば」、国内最多収品種の一つである「北陸 193 号」を用いた。アグロバクテリウム法により Cas9 およびガイド RNA を含む発現ベクターを導入し、得られた幼植物体からの DNA を用いて CAPS 解析による変異挿入の有無を確認した。塩基配列解析から変異挿入パターンが同定された個体は、次世代 (T_1) において発現ベクターが分離除去され、且つ変異が固定されている系統を選抜し、その後代を供試系統とした。

これらの系統を用いて出穂期、登熟期の稈、葉鞘、葉身における非構造性炭水化物 (NSC) 含量および形態特性の調査を行った結果、稈、葉鞘において有意に澱粉含量が低下し、転流糖であるショ糖含量が有意に増加していることが認められた。

1Da-07

CRISPR/dMac3-Cas9 システムによるジャガイモ α -glucan water dikinase 1 遺伝子の変異体の作出とデンプン形質の解析

Peculiar starch traits of the mutants lacking the potato α -glucan water dikinase 1 gene created by targeted mutagenesis using CRISPR/dMac3-Cas9 system

島田 浩章¹, 大沼 万里子¹, 伊藤 広輔¹, 濱田 香凜¹, 竹内 亜美¹, 浅野 賢治², 野田 高弘², 渡辺 光³, 保倉 明子³, 寺村 浩¹

¹東京理科大・生命システム, ²農研機構・北海道農業研究センター, ³東京電機大・応用化学

デンプン中のグルコース鎖はリン酸化されて構造的に安定化されている。また、デンプンに含まれるリン酸塩基は水分保持の役割を果たしている。 α -glucan water dikinase 1 (GWD1) はデンプン中のグルコース鎖のリン酸化に関与している。この研究では、CRISPR/dMac3-Cas9 システムを使用してジャガイモ GWD1 遺伝子の変異体を作成した。GWD1 欠損変異体は、成長遅延と塊茎形成の遅延が認められた。このことから GWD1 はジャガイモの塊茎形成に影響を与える因子であることが示唆された。この変異デンプンは野生型デンプンと異なる特徴的な形質を示した。変異体の塊茎デンプンでは、リン含有量の有意な減少が検出された。アミロース含有量は野生型より高い値を示した。糊化温度やデンプンのピーク粘度は野生型よりも低かった。これらの観察結果から、GWD1 が欠損することでデンプン形質に大きな変化が生じることが明らかとなった。塊茎を加熱した後、冷凍庫で凍結保存し、その後の解凍による塊茎からの離水を調べたところ、GWD1 変異体は野生型に比べて離水する量が有意に少ないことが分かった。これらの結果は、GWD1 遺伝子が塊茎デンプンの質的特性に大きな影響を与える因子であることを示している。

1Da-08

シロバナムシヨケギク (*Tanacetum cinerariifolium*) における効率的な遺伝子組換え技術の確立

Establishment of an efficiently genetic transformation system in *Tanacetum cinerariifolium*

篠山 治恵¹, 清水 美里¹, 細川 宗孝², 松田 一彦³

¹福井県大・創造農学, ²近畿大・農業生産, ³近畿大・応用生命

シロバナムシヨケギク (*Tanacetum cinerariifolium*) は、病原菌を媒介する蚊などに有効な天然殺虫剤：ピレトリンを生産するキク科ヨモギギク属植物である。ピレトリンは胚珠で合成され、日本での開花は5月のみであることから、天然ピレトリンの生産量は限られている。そこで、ピレトリンの生産量を増加させるため、弱い自殖性を持つシロバナムシヨケギク系統を材料として用い、カルスを経由した再分化技術と遺伝子組換え技術の確立を試みた。無菌植物体の葉身（展開後1週間程度）から約3mm角の切片を作成し、NAA 1 mg/L と BAP 2 mg/L を添加した 1/2MS 培地上でカルスを誘導した。BAP 0.5 mg/L と GA₃ 0.2 mg/L を含む 1/2MS 培地にカルスを移植して不定芽を再分化させ、さらに IBA 1 mg/L と BAP 0.5 mg/L を含む 1/2MS 培地に移植して茎を伸長させた。伸長した茎を植物ホルモンフリーの 1/2MS 培地に移植して発根させることで、カルス経由の再分化技術を確立した。遺伝子組換えにあたり、シロバナムシヨケギクで最も遺伝子発現が高かったマンノピン合成酵素遺伝子由来双方向性プロモーターに *gusA* 遺伝子を構築したバイナリーベクター pBIK201iGs を作成し、*Rhizobium radiobactor* EHA105 株を介してシロバナムシヨケギクの葉片に形質転換した。抗生物質 G418 を 10~20 mg/L の濃度で形質転換カルスの選抜を行い、確立された再分化技術を用いて植物体を再分化させた。GUS アッセイや DNA 検定を行ったところ、*gusA* 遺伝子を全身で高発現する形質転換体が確認された。この技術はピレトリンの生合成機構の解明を可能にするとともに、ピレトリン生合成量を増加させたシロバナムシヨケギク遺伝子組換え体の作出に有用であると考えられる。

1Da-09

ジェミニウイルスレプリコンを用いたリンゴのゲノム編集の試み

Geminivirus-derived replicons used for CRISPR/Cas9 mediated genome editing in apple

根岸 克弥¹, 遠藤 真咲², 西谷 千佳子¹, 遠藤 朋子¹

¹農研機構・果茶研, ²農研機構・生物研

ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 は育種を加速する技術として、交配育種に長期間を必要とする果樹での活用が期待されている。リンゴでは、形質転換法を介したゲノム編集が既に報告されているが、導入された外来 DNA を交配により除去する際に、自家不和合性、世代期間、ヘテロ接合性等が障壁となるため、遺伝子組換えが不要なゲノム編集技術の開発が求められている。しかし、DNA ベクターや Cas9-gRNA 複合体の一過的な導入手法では、ゲノム編集効率の低さや変異個体の選抜が困難という課題がある。

本研究では、ゲノム中に外来 DNA を挿入しないゲノム編集の効率化を目的として、ジェミニウイルスの環状化 DNA (レプリコン) 複製機構に注目した DNA ベクターの構築と効果の検証をおこなった。双子葉植物に広く感染するジェミニウイルスである、*Bean yellow dwarf virus (BeYDV)* に由来する配列を含む DNA ベクターを構築した。はじめに、環状化した際に蛍光タンパク質が発現するレポーター系を作出して、シロイヌナズナのプロトプラストとリンゴの葉片で、植物細胞内で目的の配列が環状化すること、および環状化した DNA 配列が複製することを確認した。続いて、作成した DNA ベクターに Cas9 や gRNA を搭載して、植物細胞内で同様に DNA の複製が起こるか、また標的への変異導入効率を調べた。現在は、従来の DNA ベクターや Cas9-gRNA 複合体と、新規に開発した DNA ベクターを用いた際のゲノム編集効率を比較して、リンゴのゲノム編集におけるジェミニウイルス配列の有効性を検証している。本発表では、これらの成果について報告する。

1Da-10

ユリ花被の老化制御遺伝子の特定とゲノム編集による花被の老化を遅延したユリの作出

Identification of the gene that regulates tepal senescence in lilies and production of lily plants with delayed tepal senescence by genome editing technology

渋谷 健市¹, 佐藤 和人², 野水利和², 奥原 宏明³, 近藤 正剛⁴, 小林 仁²

¹農研機構・野菜花き研究部門, ²新潟農総研・アグリ・フーズバイオ研究部, ³新潟農総研・食品研究センター, ⁴新潟地域振興局巻農業振興部

花卉の老化制御には NAC 転写因子が関与していることが知られている。我々はユリ（オリエンタルハイブリッド）において花被の老化時に発現量が上昇する NAC 転写因子遺伝子を 5 種単離し、RNAi による発現抑制形質転換体を作成した。その結果、5 種の NAC 転写因子遺伝子のうち *LhNAP* の発現を抑制した形質転換体では、野生型と比べて花被の老化の進行が遅延し、小花の持ち日数が 1.5 倍以上に延長した。*LhNAP* 発現抑制体の花被では、システインプロテアーゼ遺伝子などの老化関連遺伝子の発現が抑制されていた。これらのことから、*LhNAP* はユリ花被の老化を制御していることが明らかになった。次に、*LhNAP* を標的としたゲノム編集を試みた。ゲノム編集には CRISPR/Cas9 システムを用い、ゲノム編集用ベクターをアグロバクテリウム法によりユリに導入した。その結果、*LhNAP* の標的配列に変異が導入された形質転換系統を複数得た。変異が導入されたユリ植物体では、小花で花被の老化が遅延していることを確認した。現在、得られた変異体の形質を詳細に解析中である。

本研究の一部は、農林水産省委託プロジェクト研究「国産花きの国際競争力強化のための技術開発」及び戦略的プロジェクト研究推進事業「ゲノム編集技術を活用した農作物品種・育種素材の開発」により実施した。

1Ap-01

シソの成分変種特異的なアントシアニン蓄積を制御する転写調節因子の解明

Elucidation of transcription factors that control anthocyanin accumulation specific to perilla component varieties

古屋 百得¹, 杉山 龍介^{1,2}, 柿木 風花¹, 山崎 真巳^{1,3}

¹千葉大院薬, ²JSTさきがけ, ³千葉大PMSC

シソ (*Perilla frutescens* var. *crispa*) の成分品種 (アカジソとアオジソ) におけるアントシアニン生合成制御には, 他の植物と同様に bHLH, MYB および WD40 の 3 種の転写調節因子からなる MYB/bHLH/WD40 (MBW) 複合体の関与が推定される。これまでに, アカジソ特異的に高発現する bHLH 因子として *MYC-F3G1* が, MYB 因子として *MYB-C05* が同定されている。またアカジソ・アオジソで同程度発現している *MYC-RP* は過剰発現させた形質転換植物におけるアントシアニン生合成を増加させることが示されている。本研究では, 転写調節因子の遺伝子配列, 発現様式, ならびにプロモーター領域への結合解析により成分変種特異的なアントシアニン生合成の発現制御について調べた。

まず, シソゲノム配列における *MYC-F3G1*, *MYC-RP*, *MYB-C05* の遺伝子座を調べたところ, いずれも複二倍体ゲノム中に 2 コピーずつあることが分かった。複数系統のアカジソとアオジソについて *MYC-F3G1* 発現量を調べたところ, 両コピー由来の mRNA が同程度見られ, 一方でプロモーター領域の配列にはアカジソ特異的な異常は認められなかった。続いて, 酵母 One-Hybrid 実験から *MYC-F3G1* プロモーター領域と *MYC-RP* の結合が示され, さらに *MYB-C05* を共発現すると LacZ レポーターの発現強度が増大した。ナス科では JAF13 (*MYC-RP* ホモログ) と AN1 (*MYC-F3G1* ホモログ) がそれぞれ MBW 複合体を形成し 2 段階でアントシアニン生合成を活性化することから, シソでも同様の転写制御システムが保存されていることが示唆された。以上の結果と *MYC-RP* が恒常的に発現している事実から, アカジソにおけるアントシアニン高生産の根本要因は *MYB-C05* の発現上昇にあることが推測された。

1Ap-02

ペチュニア花冠のカロテノイド蓄積による鮮黄発色機構の遺伝解析

Genetic analysis of bright-yellow corolla caused by carotenoid accumulation in petunia

河邊 雄飛¹, 大同 原野², 坂口 公敏², 中塚 貴司¹

¹静岡大院・総科技研究科, ²株式会社ミヨシ

ペチュニアは, アントシアニン蓄積による赤, 青, 紫など多様な花色の品種が存在する。一方, 淡黄色品種は, カロテノイド蓄積によって発色している。カロテノイドの高蓄積は, 鮮黄花色を可能とするが, その分子メカニズムは明らかになっていない。本研究では, 鮮黄花品種 'Yes!イエロー' を用いて花冠におけるカロテノイド高蓄積メカニズムの解明を試みた。'Yes!イエロー' の花冠にはカロテノイド色素が蓄積しており, ルテインと β -カロテンが主要成分であった。'Yes!イエロー' は, 淡黄色品種と比較してカロテノイド組成には差異がなく, 総カロテノイド蓄積量の増加によって鮮黄色化が引き起こされていた。カロテノイド生合成酵素遺伝子の発現解析では, 'Yes!イエロー' の花冠裂片における *GGPS1*, *PSY1*, *ZDS*, *LCYB*, *PDS*, *CHYB1*, *CHYB/CYP97A* の発現量が, 葉よりも有意に高かった。これらの遺伝子発現の増加がカロテノイド高蓄積を誘導していると推定した。カロテノイド高蓄積の遺伝様式を明らかにするために, 'Yes!イエロー' の自殖および白花系統 'ミッチェル' との正逆交雑を行った。自殖後代では, 親品種と同様に鮮黄花色をもつ個体が得られた。一方, F₁ では, 淡黄色個体は存在したが, 親品種と同等の鮮黄花色を有する個体は出現しなかった。このことから, カロテノイド蓄積は優性形質であり, その蓄積量の制御には量的遺伝子座が関与していると推定した。今後は, カロテノイド蓄積関連遺伝子座の同定に向けて遺伝解析を行っていく予定である。

1Ap-03

II型赤果肉リンゴ形質原因遺伝子 *MdMYB110a* の転写産物解析

Characterization of the Transcripts Derived from the *MdMYB110a* Gene Responsible for the Type II Red-Fleshed Trait in Apple

中村 月泉¹, 兒島 孝明^{1,2}, 山口 維尚³, 松本 省吾^{1,4}, 白武 勝裕¹, 太田垣 駿吾^{1,2}

¹名古屋大・院生命農学研究所, ²名城大農学部, ³長野県果樹試, ⁴中部大中部高等学術研究所

MdMYB110a 遺伝子はアントシアニンの生合成を誘導する転写因子をコードし、果肉が赤色を呈する II 型赤果肉リンゴでのみ果肉特異的に発現する。本研究では *MdMYB110a* 遺伝子が II 型赤果肉リンゴの果肉で特異的に発現する分子機構の解明を目的とし、*MdMYB110a* 転写産物の特徴付けを実施した。

まず果肉着色期の II 型赤果肉リンゴの果肉 RNA を鋳型にナノポアシーケンサーを用いた PCR-cDNA シーケンスを実施した結果、リンゴ参照ゲノム GDDH13 に収録される *MdMYB110a* 遺伝子予測領域よりも上流方向にマッピングされたリードが複数検出された。さらに、果肉着色期の II 型赤果肉リンゴの果肉 RNA を用いて *MdMYB110a* を標的とした 5'-RACE を行なった結果、参照ゲノムに収録される *MdMYB110a* 遺伝子の転写産物長とほぼ一致する約 800 bp の増幅産物に加え、5'-UTR 方向に延伸した約 3,300 bp の増幅産物が得られた。*MdMYB110a* は自家不和合性を司る S 遺伝子座と連鎖することから、II 型赤果肉リンゴのゲノム中には果肉着色を促す *MdMYB110a* アリルと白果肉リンゴ由来のアントシアニン非蓄積型 *MdMYB110a* アリルがヘテロで存在する。そこで *MdMYB110a* の第 3 エキソン内に存在する両アリル間の SNP をもとの RT-PCR 産物の CAPS 解析を実施した結果、5'-RACE により同定された 2 種類の転写産物はどちらも果肉着色を促すアリルから転写されている可能性が強く示唆された。今後、II 型赤果肉リンゴ由来のアリルから果肉特異的に長さの異なる mRNA が転写される機構を明らかにするためには、リンゴ参照ゲノムから予測される *MdMYB110a* プロモーター領域よりも上流の領域でプロモーター活性を検証する必要があると考えられた。

1Ap-04

キヌア FT ファミリー遺伝子の機能解析

Functional analysis of *FT-like* genes in quinoa

小賀田 拓也¹, 藤田 泰成^{1,2}

¹国際農研・生物資源利用, ²筑波大・生命環境

擬穀類の一つであるキヌア (*Chenopodium quinoa*) は、優れた栄養特性をもつスーパーフードとして認知され、近年世界的に需要が高まっている。また、耐乾性や耐塩性といった高い環境適応力をもつことから、今後の栽培地域の拡大と食料安全保障への貢献が期待されている植物の一つである。私たちはこれまでにキヌアの代表株のゲノム配列を解読し、また、ウイルスベクターを用いたキヌア遺伝子の機能解析系を確立してきた。南米原産のキヌアは、アンデス高地に沿って低緯度地域から高緯度地域へと栽培地を拡大してきた短日植物であるが、遺伝子型によって異なる光周期下で開花することが示されている。一方、キヌアの開花制御に関わる因子や制御機構はほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、ウイルスベクターを用いた遺伝子機能解析系を用いて、キヌアの開花制御に関わる重要因子の同定を試みた。シロイヌナズナの開花制御因子 FT の配列を用いた相同性検索により、キヌアのゲノム中より複数の FT 様遺伝子の配列を特定した。このうち RT-PCR 法により増幅された遺伝子配列を用いて、ウイルス誘導型ジーンサイレンシング (VIGS) およびウイルス介在性遺伝子過剰発現 (VOX) 用のベクターを作製し、接種源となる組換えウイルスを調製した。これらの組換えウイルスをキヌア幼苗に接種して開花日数の変化を記録した結果、一部の FT 相同遺伝子は、VOX ウイルス接種個体では開花日が早まり、一方 VIGS ウイルス接種個体では開花が遅延することが分かった。これらの FT 様遺伝子は花芽形成期の葉において高発現が誘導されていたことから、キヌアの開花を正に制御する因子として機能していることが考えられた。

1Ap-05

NtGRAS1 を応用した人工転写因子の創製

Development of artificial transcription factors using NtGRAS1

鈴木 爽馬, 山本 晃大, 阿部 修人, 小倉 里江子, 平塚 和之

横浜国大・院環境情報

内在性遺伝子の転写を選択的に制御するツールとして、CRISPR/dCas9 を利用した人工転写因子がある。ヌクレアーゼ活性を失活させた dCas9 に融合させた転写活性化ドメインは、標的配列に相補的に結合する sgRNA を介して標的遺伝子上流にリクルートされ、転写を活性化する。我々は LISCL グループに属する GRAS タンパク質の N 末端領域が強力な活性化ドメインとして機能し、dCas9 融合タンパク質として発現させると標的遺伝子の転写が強く活性化されることを見出している。

本研究では標的遺伝子のより高い転写活性化を目指して、LISCL のタバコオーソログである NtGRAS1 を含む複数の転写活性化ドメインを連結した人工転写因子の創製に取り組んだ。VP64-p65-Rta (VPR) は 3 つのドメインを連結した既報の人工転写因子で、標的遺伝子の転写をドメイン単体より強力に活性化することが知られている。そこで VPR の各ドメインを NtGRAS1 と置き換え dCas9 に融合し、発光レポーター法で評価した。その結果、BY-2 細胞を用いた一過的発現系において、VPR の Rta を NtGRAS1 と置換した VP64-p65-NtGRAS1 (VPN) は VPR や他の VPR 置換体と比較し、有意に高い転写活性化をもたらした。さらに、シロイヌナズナ幼苗に形質転換アグロバクテリウムを感染させた一過的発現系においても同様に、VPN は VPR を上回る転写活性化能を示した。以上より、標的遺伝子の高発現を目的とした人工転写因子の高性能化に NtGRAS1 が寄与できることが示された。

1Ap-06

二次細胞壁形成を制御する BLH6 と KNAT7 の二重変異体は道管形状異常を示す

Simultaneous Mutation in *BLH6* and *KNAT7*, Regulating Secondary Cell Wall Formation, Exhibits Irregular Xylem Phenotype

関口 颯¹, 堺 剛平¹, 藤井 達也¹, 川越 優衣¹, 檜垣 匠², 渡邊 慧³, 坂本 真吾³, 宮城 敦子^{1,4}, 石川 寿樹¹, 川合 真紀¹, 光田 展隆³, 小竹 敬久¹, 山口 雅利¹

¹埼玉大・院・理工, ²熊本大・院・先端科学, ³産総研・生物プロセス, ⁴山形大・農

植物の木部組織である繊維細胞や道管要素は、植物体の支持や通道に耐えうる強度を獲得するために、二次細胞壁を形成する。二次細胞壁の各構成要素は、様々な産業用途への利活用が期待されている。クラス I KNOX 転写因子である KNAT7 と BELL 転写因子である BLH6 は複合体を形成し、二次細胞壁構成に関わる様々な遺伝子発現を制御する。*blh6knat7* 二重変異体は、野生型と比較して繊維細胞の二次細胞壁が肥厚する一方で、道管は歪んだ形状 (irregular xylem: irx) を示す。繊維細胞の二次細胞壁の肥厚は、*REV* 遺伝子の高発現が原因であると報告されている。私たちは、irx の原因を突き止めるため *IRX10* に着目した。*IRX10* は二次細胞壁の主要な構成要素の一つであるキシランの主鎖を合成する酵素をコードしており、*blh6knat7* 二重変異体において発現量が著しく低下していた。irx の原因が *IRX10* の発現低下である可能性を検証するため、*blh6knat7* 二重変異体背景で道管特異的に *IRX10* を発現させた形質転換体を作出した。道管形状を画像解析で評価した結果、形質転換体系統では、*blh6knat7* 二重変異体で見られた irx が有意に回復することが明らかとなった。これらの結果は、*blh6knat7* 二重変異体における irx の原因はキシラン合成の低下であることを示唆している。現在、花茎の細胞壁画分の糖組成について解析を進めており、これらの結果についても報告したい。

1Ap-07

繊維細胞分化のマスター因子の発現を制御する転写因子

Transcription Factors Regulating a Key Regulator of Fiber Cell Differentiation

藤澤 りみり¹, 清水 悠裕¹, 坂本 真吾², 光田 展隆², 宮城 敦子^{1,3}, 石川 寿樹¹, 川合 真紀¹, 山口 雅利¹

¹埼玉大・院理工, ²産総研・生物プロセス, ³山形大・農

維管束木部を構成する繊維細胞や道管要素では、通常の細胞壁の内側に肥厚した二次細胞壁が形成される。二次細胞壁は、力学的強度の獲得といった植物の成長に重要な役割を持つ一方で、木質バイオマス利活用の主要なターゲットとしても注目されている。シロイヌナズナでは、繊維細胞分化のマスター因子として NAC ドメイン転写因子である NST1 と NST3 が同定されている。我々は、二次細胞壁形成の制御機構を解明する目的で、NST3 の発現制御に着目して研究を行っている。これまでに、変異体の表現型が回復するかを指標として解析を行い、翻訳開始点の上流約 2 kbp から 1 kbp の領域が NST3 の発現制御に重要であることを明らかにした。また、この絞り込んだ領域に結合する転写因子を探索したところ、これまで NST ファミリーの発現を制御することが報告されていない転写因子を複数単離した。現在これらの転写因子について、NST3 プロモーターのどの領域に結合するか、一過的発現解析により絞り込みを行っている。また、NST3 の発現を制御する既知の転写因子群との関係についても解析を行っている。さらに、プロモーター GUS 系統を用いた発現部位解析や、過剰発現体や機能欠損体の作出も進めており、これらの結果についても報告したい。

1Ap-08

多様な植物種における小胞体ストレス応答因子 bZIP60 オルソログの mRNA におけるリボソーム停滞と系統進化の関連

Phylogeny-linked Occurrence of Ribosome Stalling on the mRNAs of the Plant Unfolded Protein Response Factor bZIP60 Orthologs in Divergent Plant Species

今道 朋哉¹, 楠本 奈央², 高松 世大², 本多 悠吾¹, 村岡 栞¹, 尾之内 均^{1,3}, 山下 由衣^{1,3}, 内藤 哲^{2,3}

¹北海道大学 大学院農学院, ²北海道大学 大学院生命科学院, ³北海道大学 大学院農学研究院

bZIP60, XBP1, および HAC1 mRNA は、それぞれ植物、動物、および酵母における小胞体ストレス応答を媒介する転写因子をコードする。ただし、この状態では不活性である。小胞体ストレスに際して、これら mRNA は、小胞体上で細胞質スプライシングを受けて、活性型の転写因子をコードする mRNA となる。これら mRNA において細胞質スプライシングは保存されているが、mRNA が小胞体に輸送される機構は XBP1 と HAC1 で全く異なる: HAC1 mRNA の小胞体輸送は翻訳前に起こり、XBP1 では、bZIP 領域下流の疎水性ペプチドがリボソームから出てきたところでリボソームが停滞することで、リボソーム・新生ペプチド・mRNA の複合体が小胞体に局在することが重要である。一方、植物オルソログでは、bZIP 領域下流に疎水性の領域があるものの、リボソーム停滞の報告はない。そこで、植物の bZIP60 オルソログ mRNA でリボソームの停滞が起こるのか、コムギ胚芽抽出液の無細胞翻訳系で調べた。その結果、シロイヌナズナ、イネ、およびヒメツリガネゴケのオルソログでは翻訳伸長過程で、イヌカタヒバ（小葉植物）のオルソログでは翻訳終結段階で、それぞれリボソーム停滞を起こした。リボソームの停滞位置は、いずれの場合も、疎水性の領域がリボソームから出てきた直後の位置に相当した。リボソーム停滞の様式は異なるものの、リボソーム停滞が、これら植物オルソログの小胞体輸送に関与している可能性が高い。これらとは異なり、ゼニゴケ、クレブソルミジウム（陸上植物基部）、および緑藻のオルソログではリボソームの停滞は検出されなかった。リボソーム停滞の進化的多様性と植物における小胞体輸送への寄与を考察する。

1Ap-09

葉の細胞伸長の制御における TCP 転写因子の役割

Roles of TCP genes in the regulation of cell expansion

小山 知嗣¹, 光田 展隆², 関 原明³, 高橋 宏二^{4,5}, 木下 俊則^{4,5}, 別所 歩武⁶, 國枝 正^{6,7}, 出村 拓^{6,7}, 高木 優⁸

¹(公財)サントリー生命科学財団, ²産総研・生物プロセス, ³理化学研究所・環境資源科学, ⁴名古屋大院・理, ⁵名古屋大・トランスフォーマティブ生命分子, ⁶奈良先端大・バイオサイエンス, ⁷奈良先端大・デジタルグリーンイノベーション, ⁸埼玉大院・理工

マイクロ RNA とその標的となる転写因子遺伝子は、植物の形態形成に重要である。miR319 とその標的である TEOSINTE BRANCHED1, CYCLOIDEA, PCF (TCP) 転写因子は、シロイヌナズナおよび他の双子葉植物の葉の形態を制御する。私達は以前、TCP 遺伝子を阻害するとシロイヌナズナの葉が複雑化するが、逆に TCP 遺伝子を過剰発現すると葉が単純化することを発見している。また、miR319 遺伝子と TCP 遺伝子が葉の鋸歯の形成制御因子の上流で機能していることも見出している。このような葉の形成における miR319 および TCP 遺伝子の重要性にもかかわらず、miR319 および TCP 遺伝子の作用機序は解明されていない。

本研究では、TCP 転写因子が葉の形成における細胞伸長を促進することを報告する。光学顕微鏡分析により、TCP3 遺伝子過剰発現体では WT よりもサイズの大きな細胞が観察されたが、逆に tcp 六重変異体ではサイズの小さな細胞が観察された。また、遺伝子発現およびクロマチン免疫沈降解析を行ったところ、TCP3 が細胞伸長の制御遺伝子を標的としていることが明らかとなった。さらに、プロモーターレポーター解析を行ったところ、TCP3 および TCP3 標的遺伝子によるシグナルが子葉と葉で認められ、その領域は重なっていた。TCP3 標的遺伝子プロモーターの TCP 結合サイトに変異を導入したところ、そのプロモーター活性が抑制されることが明らかとなった。これらの解析結果をもとにして、TCP 転写因子が細胞伸長を制御するメカニズムを議論する。

1Bp-01

Cross-species wide functional analysis of MYB transcriptional regulators in the phenylpropanoid pathway

Maria Kenosis Emmanuelle Lachica, Shinichiro Komaki, Mutsumi Watanabe, Takayuki Tohge

Nara Institute of Science and Technology

Phenylpropanoids are ubiquitous in land plants due to their key roles as structural components of cell walls, protectants against high light and UV-B irradiation, defense against pathogens and herbivores, and mediators of plant-pollinator/seed disperser interactions. Despite their diversity in chemical structure and physiological function, polyphenols are derived from a limited set of basic structures from the shikimate pathway, and are further modified by enzymatic genes that are regulated by transcription factors. Transcriptional regulators have been heavily characterized in the lignin, hydroxycinnamate, and flavonol biosynthetic pathways of model species, such as *Arabidopsis thaliana*, and include MYBs, bHLHs, and WD repeats. However, studies on the conservation and diversification of these genes involved in transcriptional regulation in other plants, such as in crop species, remain lacking. This study focuses on the cross-species wide comparative genomics analysis of MYB genes in *A. thaliana* and economically important crop species *S. lycopersicum* and *C. arabica*. The functional characterization of MYB orthologues of known regulators via transgenic experiments in *Arabidopsis* can expand current knowledge on the functional diversification of MYBs and elucidate as to how polyphenols are produced and their biosynthetic pathways are regulated across different plant species.

1Bp-02

Characterization of *Eutrema japonicum* methylthioalkylmalate synthases and its properties on methionine-derived chain elongation reaction

Dheeradhach Medhanavyn¹, Toshiya Muranaka^{1,2}, Shuhei Yasumoto^{1,2}

¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Institute for Open and Transdisciplinary Research Initiatives, Osaka University

6-Methylsulfanylnhexyl isothiocyanate (6-MSITC), a glucosinolate derivative with a 6-carbon chain, is one of the compounds that accumulate in wasabi and has been reported to possess various health benefits. The biosynthesis of glucosinolates derived from methionine involves a crucial step mediated by key enzymes known as methylthioalkylmalate synthases (MAMs), which are responsible for the production of glucosinolates with different chain lengths.

In this study, we focused on characterizing two methylthioalkylmalate synthases, MAM1 and MAM3, from *Eutrema japonicum*, commonly known as Japanese wasabi. EjMAMs were expressed using *E. coli* system as a host and purified before subsequently subjected to *in vitro* enzymatic assays. The kinetic properties, optimal pH, and cofactor preferences of EjMAMs were investigated in comparison to reported MAMs. Surprisingly, EjMAM3, classified as a metallolyase family enzyme, retained 20% of its maximum activity even in the absence of divalent metal cofactors or under high concentrations of EDTA. The structural homology of EjMAM3 was generated using AlphaFold2, and key residues involved in catalytic activity were explored through *in silico* analysis and mutagenesis studies.

1Bp-03

Mechanisms For The Substrate Enantiomer Selectivity Of Pinoresinol/Lariciresinol Reductases From *Daphne Genkwa*

Fernando Satoshi Tutihashi¹, Mitsuki Hirota¹, Keisuke Kobayashi¹, Masaomi Yamamura¹, Yuki Tobimatsu¹, Björn Hamberger², Toshiaki Umezawa¹

¹RISH, Kyoto University, ²BMB, Michigan State University

Lignans are phenylpropanoid dimers in which the monomers are linked by central carbon atoms of their propyl side chains. The unique stereochemical mechanisms of lignan biosynthetic reactions have been a long-standing interest. Pinoresinol/lariciresinol reductases (PLRs) are enzymes involved in the production of lignans farthest upstream in the biosynthetic pathway, reducing pinoresinol (PR) to lariciresinol (LR) and then LR to secoisolariciresinol (SIR). Interestingly, PLRs exhibit different selectivity for substrate enantiomers, resulting in different enantiomeric compositions of PR, LR, and SIR in plants. A recent study from our laboratory demonstrated that the PLRs from *Daphne genkwa* (Thymelaeaceae) present selectivity for LR enantiomer. While both enantiomers of PR are reduced, only (-)-LR is converted to (+)-SIR, which can explain the accumulation of optically pure (+)-matairesinol (MR) found in plants of the Thymelaeaceae family. To investigate this mechanism of substrate enantiomer selectivity of DgPLRs, in this study, mutations were induced in amino acid residues located in the active site of the enzymes through site-directed mutagenesis. The obtained mutants gained the function to reduce (+)-LR to (-)-SIR. This result indicated that the mutated amino acid residue may be crucial to determine the substrate selectivity in *D. genkwa* and possibly in Thymelaeaceae plants.

1Bp-04

Involvement of *cnbA*, *mtf*, *mtc*, and *cnbB* Genes of *Pseudanabaena foetida* var. *intermedia* in 2-Methylisoborneol Synthesis

Kaushalya Dayarathne¹, Toshiki Ishikawa¹, Satoru Watanabe², Aikeranmu Kadeer¹, Masatoshi Yamaguchi¹, Maki Kawai-Yamada¹

¹Grad. Sch. Sci. & Eng., Saitama Univ., ²Tokyo Univ. of Agriculture

Odiferous microbial metabolites cause taste and odor problems in drinking water, making the contaminated water unpleasant for human consumption. 2-methylisoborneol (2-MIB) is one of the significant volatile odiferous cyanobacterial metabolites in freshwater reservoirs worldwide. Even though 2-MIB contamination is a substantial challenge in water purification, little is known about the underlying molecular mechanisms of its synthesis in cyanobacteria. Currently, the suggested 2-MIB biosynthesis pathway consists of two main steps: methylation of geranyl diphosphate into 2-methyl geranyl diphosphate by geranyl diphosphate methyl transferase (GPPMT) and cyclization of 2-methyl geranyl diphosphate into 2-MIB by monoterpene cyclase (MIBS). 2-MIB-producing cyanobacteria encode GPPMT and MIBS enzymes by two adjacent genes, and those two genes are located between two homologous cyclic nucleotide-binding protein genes, *cnbA*, and *cnbB*. In the present study, 2-MIB related *cnbA*, *mtf*, *mtc*, and *cnbB* gene cluster was identified in 2-MIB producing filamentous freshwater cyanobacteria, *Pseudanabaena foetida* var. *intermedia*. RT-PCR results revealed that *mtf* and *mtc* genes are expressed as a single unit while *cnbA* and *cnbB* genes are expressed independently in *P. foetida* var. *intermedia*. The importance of each gene for 2-MIB synthesis was investigated using heterologous gene expression systems.

1Bp-05

Encoding *Rubisco Activase* back to plastids improves photosynthetic performance but reduces its plasticity to light

Shamitha Rao Morey-Yagi¹, Yoichi Hashida³, Mieko Higuchi-Takeuchi², Yoko Horii², Masaki Odahara², Keiji Numata^{1,2}

¹Laboratory of Biomaterial Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University, ²Biomacromolecules Research Team, RIKEN Center for Sustainable Resource Science, ³Faculty of Agriculture, Takasaki University of Health and Welfare

Rubisco activase (RCA), a nucleus-encoded chloroplast protein, regulates photosynthesis by mediating light-dependent activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco). We used plastid-encoded NtRCA1 (*RCA_{pla}*) overexpression lines, with higher RCA, to study photosynthesis and growth in a temperature-controlled greenhouse under natural light. *RCA_{pla}* showed improved CO₂ assimilation rate and biomass. However, the high biomass phenotype was not observed during the winter cultivation, when the light quality deteriorated. To evaluate the light acclimation defects in *RCA_{pla}*, we conducted a light adaptation test which revealed the lack of phenotypic and physiological plasticity of *RCA_{pla}* to light. Transcriptome analyses of *RCA_{pla}* grown in two different light conditions revealed a lack of light-dependent changes in the expression of genes encoding photoreceptors, tetrapyrrole metabolism, cell communication, and nuclear-encoded photosynthesis genes indicating retrograde signaling abnormalities due to plastid-encoding of RCA. Our study demonstrates the proof-of-concept of the evolutionary significance of plastid-to-nucleus transfer of photosynthetic genes in the development of phenotypic plasticity via retrograde signaling.

1Bp-06

トランスクリプトームデータのメタ分析を用いたシロイヌナズナの複合的な環境ストレスに 応答する遺伝子群の同定

Identification of genes responsive to combined environmental stresses in *Arabidopsis thaliana* using meta-analysis of transcriptome data

福田 由介¹, 明田 夏輝², 福島 敦史^{1,3}

¹京都府大・院生命環境科学/Grad. Sch. Life Env. Sci., Kyoto Pref Univ, ²京都府大・生命環境/Fac. Sch. Life Env. Sci., Kyoto Pref Univ, ³理研 CSRS/RIKEN CSRS

高温や乾燥などの特定の環境ストレスに対する植物の応答機構について、これまで多くの関連遺伝子が同定されてきた。しかし、異なる環境ストレスの組み合わせが植物に与える影響は単独より複雑であることが分かっており、個々だけでなく複数の環境ストレスによる遺伝子の発現変動を捉えることは植物の応答機構についての更なる理解に役立つ。本研究では、様々な組み合わせの環境ストレスに対して発現変動する遺伝子群から機能未知遺伝子を同定することを目的とした。モデル植物シロイヌナズナを対象とし、公共データベースから5種類の環境ストレス（乾燥、高温、低温、塩、強光）に関するマイクロアレイおよびRNA-Seq データを集めた。これらの公共トランスクリプトームデータのメタ分析により、環境ストレスごとに遺伝子の発現変動パターンをスコアとして算出した。1つ以上の環境ストレスで特徴的な発現変動パターンを示した遺伝子群を抽出し、それらと5種類の環境ストレスからなるスコア行列（ストレス応答遺伝子群アトラス）を階層クラスタリングに供した。代表的な10個のクラスタを抽出し、それぞれ Gene Ontology エンリッチメント解析を行った。結果として、単一の環境ストレスあるいは複数の環境ストレスに対して特徴的な発現変動パターンを示すクラスタに分類できた。また、単一の環境ストレスに特徴的なクラスタには、その環境ストレスへの応答に関連する遺伝子がより有意に多く含まれていた。今後は重み付き遺伝子共発現ネットワーク解析 (WGCNA) を用いて、クラスタの適切な分類およびネットワークの構築を行うことにより機能未知遺伝子の更なる探索を促す。

1Bp-07

PacBio HiFi リードによるアカシソのゲノム配列の解読

A highly contiguous genome assembly of red perilla (*Perilla frutescens*) using PacBio HiFi sequencing data

田村 啓太¹, 坂本 美佳², 谷澤 靖洋², 望月 孝子², 松下 修司³, 加藤 義啓⁴, 石川 武⁴, 奥原 啓輔⁵, 中村 保一², 坊農 秀雅^{1,6}

¹広島大・ゲノム編集イノベーションセ, ²遺伝研, ³広島県立総合技術研・農業技術セ, ⁴三島食品(株), ⁵プラチナバイオ(株), ⁶広島大・院統合生命

シソ (*Perilla frutescens*) はペリラルデヒドやロスマリン酸をはじめとする生理活性物質を多く含むことが知られている植物で、アカシソの葉は生薬「蘇葉」として漢方薬に用いられるほか、食品原料としても多用される。ゲノム編集技術を活用することで生理活性成分増強に向けた代謝工学が技術的に可能であるが、適切なゲノム編集ターゲットの選定のためには、高品質な参照ゲノム配列を構築することが必要である。本研究では、三島食品株式会社により育種されたアカシソ品種「豊香3号」について、PacBio ロングリードシーケンサー Sequel IIe を用いて取得した HiFi リードからゲノムアセンブリを行った。HiFi リードで得られた contig の N50 の値は 41.5 Mb と染色体レベルに近いレベルとなり、別途取得した Omni-C リードおよび先行研究のアオジソのゲノムアセンブリとの比較も用いて、20本の疑似染色体配列を構築した。アセンブリ全長は 1.26 Gb、配列数 71、scaffold の N50 の値は 63.3 Mb となり、アセンブリ全長の 99.2% が 20本の疑似染色体上に集約された。このうち7本は1本の contig から構成され、残りの疑似染色体も5本以内の contig から構成されたことから、非常に連続性の高いゲノムアセンブリを得ることができた。遺伝子領域のアノテーションには、同じく Sequel IIe で取得した Iso-Seq 解析、Illumina シークエンサーで取得した RNA-Seq 解析、および BRAKER2 を使用した遺伝子領域予測の結果を統合して、86,258 の遺伝子領域を同定した。このうちタンパク質をコードすると予測される 76,825 遺伝子のうち、72,983 について機能アノテーションを付与した。本研究は DNA Research 誌に掲載された (doi: 10.1093/dnares/dsac044)。

1Bp-08

ホモトランスグラフティングによるルシフェラーゼタンパク質の長距離移動

Long-distance transport of luciferase protein by homo-transgrafting

大久保 一実¹, 小川 拓水², 望月 知史², 太田 大策², 宮原 平¹, 児玉 浩明¹

¹千葉大・院園芸, ²大阪公立大・院農学

トランスグラフティングとは、同種の遺伝子組換え植物体と非遺伝子組換え植物体間でなされる接ぎ木技術である。トランスグラフティングでは、穂木に非遺伝子組換え植物体を用いた場合、穂木で得られる成果物には導入遺伝子が含まれないため、現行の食品衛生法では、この接ぎ木個体の穂木から得られた成果物は非遺伝子組換え食品となる可能性が高く、新しい育種技術として注目されている。しかし、台木で作られた導入遺伝子産物が穂木へ移動している可能性が考えられるため、外来遺伝子の翻訳産物がアレルギーを誘発したり、毒性を示したりする可能性がある。そのため、台木で作られた導入遺伝子産物が、穂木のどこに、どのくらい移動するのかに関する知見の蓄積が必要である。そこで、レポーターとしてルシフェラーゼタンパク質を産生するタバコ台木を用いたホモトランスグラフティングにおいて、台木から穂木へのタンパク質の移行について調べた。その結果、ルシフェラーゼタンパク質が台木から穂木へと移行することが示され、第39回日本植物バイオテクノロジー学会で報告した。

今回は、穂木から台木への移行を確認する為、ルシフェラーゼタンパク質を産生する穂木を用いたトランスグラフティングにより調べた。その結果、台木から穂木よりも、穂木から台木のほうが、ルシフェラーゼタンパク質が移行する傾向がみられた。また、移行に当たって、原形質連絡を拡大し、師部輸送を活性化するキュウリモザイクウイルスの Movement protein を植物体に導入した場合に、ルシフェラーゼタンパク質の移行がどのような影響を受けるのか検討したので報告する。

1Bp-09

トランスグラフティングにおける遺伝子組換え台木から非遺伝子組換え穂木への導入遺伝子産物移行の解析

Transfer of transgene product from transgenic rootstock to non-transgenic scion in transgrafted plant lines

小川 拓水¹, 望月 知史¹, 加藤 奏¹, 明日香 晴絵¹, 宮原 平², 児玉 浩明², 太田 大策¹

¹大阪公大・院農学, ²千葉大・院園芸学

トランスグラフティングは、遺伝子組換え (GM) 植物と非 GM 作物の可食部から成る接ぎ木体 (トランスグラフト) を作成する技術である。トランスグラフトは非 GM 部位に導入遺伝子を持たないため、GM 作物に対する規制の対象外となる可能性がある。以前、我々はルシフェラーゼ (LUC) を発現する GM タバコ台木と非 GM タバコ穂木から成る接ぎ木体の非 GM 穂木で LUC 活性が検出されたことを報告した (大久保ら, 第 39 回日本植物バイオテクノロジー学会大会)。この結果は、トランスグラフト作物の GM 部位から非 GM 部位に、導入遺伝子産物 (組換えタンパク質) が移行する可能性を示している。この事実が普遍的ならば、トランスグラフト作物の安全性を評価するための新たな科学的エビデンスが必要となると考えられる。本研究では、組換えタンパク質移行が LUC 特異的なのか、導入遺伝子の転写産物が移行するのか、移行は同種植物 (タバコ) の台木・穂木でのみ起こるのかを検証するため、緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現する GM タバコまたは GM トマトを台木、非 GM トマトを穂木とするトランスグラフトを作出し、台木から穂木への GFP 移行の有無を解析した。マルチオミクス解析では、非 GM トマト果実に食品安全性の問題は無いこと、導入遺伝子由来する核酸も存在しないことがわかった。一方、GFP は台木から非 GM 穂木に移行すること、移行部位に一定の法則は無く、移行性に個体差があることがわかった。以上の結果は、トランスグラフト作物の GM 部位から非 GM 部位への組換えタンパク質移行は起こりうる事を前提として、安全性の評価を進めるための新たなスキームが必要であることを示している。

1Cp-01

イネの正逆染色体部分置換系統を用いたシュウ酸代謝解析

Metabolomic analysis of oxalate accumulation using rice reciprocal chromosome segment substitution lines

宮城 敦子¹, 安達 俊輔², 大川 泰一郎², 川合 真紀³

¹山形大・農, ²東京農工大・院農, ³埼玉大・院理工

シュウ酸は多くの植物の地上部に含まれる一方で、動物にとってシュウ酸はミネラル不足や腎結石を引き起こす劇物である。そのため、作物の品質改良の一環としてシュウ酸含有量の低減が農業上の課題となっている。しかしながら、シュウ酸蓄積機構については不明な点が多く、植物のシュウ酸含有量に影響を及ぼす遺伝子（座）の特定には至っていない。これまでに、当研究室ではイネの葉のシュウ酸含有量が品種間で著しく異なること、ジャポニカ型品種の葉ではインディカ型品種のものに比べてシュウ酸をより蓄積する傾向があることを明らかにした。そこで、本研究では葉にシュウ酸を蓄積するコシヒカリ（ジャポニカ型）とシュウ酸含有量の少ないタカナリ（インディカ型）の正逆染色体部分置換系統（80 CSSLs）についてメタボローム解析を行うことにより、シュウ酸含有量に影響を及ぼす染色体領域を探索するとともにシュウ酸蓄積に影響を及ぼす経路の推定を試みた。野外で育成した出穂期の止葉におけるシュウ酸含有量を CE-QQQ-MS で測定し、親品種と正逆染色体部分置換系統との比較を行ったところ、第 9 染色体および第 11 染色体後腕にシュウ酸蓄積に影響を及ぼす領域を見出した。さらに、シュウ酸の周辺代謝物の解析を行ったところ、第 9 染色体後腕ではアスコルビン酸の、第 11 染色体ではクエン酸の含有量にも影響を及ぼすことが示された。本発表では他の一次代謝物の解析結果についても併せて報告のうえ、シュウ酸蓄積と他の代謝物含有量との関連について議論する。

1Cp-02

低シュウ酸含量ホウレンソウ変異株のスクリーニング

Screening for low-oxalate-content spinach mutants

山中 温人¹, 市川 翔哉¹, 石橋 和夫², 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹

¹農大・バイオ, ²農研機構

ホウレンソウはビタミンやミネラルなどの栄養価が高い野菜として食されているが、シュウ酸を多量に蓄積しており、えぐみや腎結石の要因となることから、低シュウ酸化が望まれる。先行研究においてホウレンソウへの Virus Induced Gene Silencing (VIGS) を用いたホウレンソウにおけるシュウ酸含量の低減に影響する遺伝子の探索を行ったところ、*Reducing Oxalate Content* (ROC) 遺伝子の同定に成功した。しかしながらホウレンソウの形質転換は確立されておらず、ROC 遺伝子のゲノム編集を行った形質転換植物の獲得に至っていない。そこで本研究では、EMS 処理による突然変異誘発により ROC 遺伝子変異株及び、低シュウ酸含量ホウレンソウ変異株の作出を試みた。ROC 遺伝子変異株のスクリーニングでは、EMS 処理を行った M1 世代において ROC 遺伝子のエキソン領域を PCR で増幅し、その DNA 断片に T7 Endonuclease I 処理をすることで、ROC 遺伝子への変異を検出している。ホウレンソウは一般的に雄株と雌株による他家受粉の生殖様式であり、変異のホモ固定化が困難であるが、雌株のみを栽培することで低確率で出現する雌性間性株によるホモ化を行った。また、低シュウ酸変異株のスクリーニングにおいて多検体数のシュウ酸含量を効率的に測定するため、ホウレンソウ本葉から調整したシュウ酸抽出液に塩化カルシウムを加えることで、シュウ酸カルシウムの結晶として吸光度からシュウ酸含量の測定を行う簡易的なシュウ酸測定法を確立した。

1Cp-03

野生種トマトの葉で特異的に産生するポリフェノール化合物の蓄積機構の解析

Analysis of the mechanisms involved in polyphenolic compounds specifically produced in leaves of wild tomato species

西山 彩加, 小財 将哉, 渡邊 むつみ, 峠 隆之

奈良先端大・先端科学技術

トマト (*Solanum spp.*) はストレス防御物質などの様々な二次 (特化) 代謝物を産生する。栽培種トマト (*S. lycopersicum*) は、栽培化の歴史の中で二次代謝物の産生能や物質の化学構造多様性が低下したことにより、ストレスに対する抵抗性が低くなったことが知られている。近年、野生種の高い二次代謝物産生能を栽培種へ付加する代謝分子育種を目指した研究が盛んに行われており、野生種トマトが産生する二次代謝物に関わる遺伝子群の特定が重要視されている。これまで栽培種と野生種の比較解析や代謝物量的遺伝子座 (mQTL) 解析が行われており、果実の研究では、フラボノイド類、カロテノイド類およびグリコアルカロイド類の産生量に関わる重要な遺伝子座が特定されている。一方、葉の解析では、トライコームに蓄積する忌虫作用を示すアシル糖やフラボノイド類などの産生能の違いは特定されているが、葉肉部の代謝に関しては不明な点が多い。そこで本研究では、野生トマトを活用して、栽培種トマトのストレス抵抗性強化を目的とした代謝分子育種を目指し、栽培種と野生種の葉の二次代謝物の産生能の違いを解析する研究を計画した。その結果、特定の野生種 (*S. pennellii*) の葉で、特定のポリフェノール化合物が特異的に蓄積していることがわかった。また、*S. lycopersicum* と *S. pennellii* の染色体置換系統群 (ILs) を用いた mQTL 解析によって、この化合物の蓄積に関与する遺伝子領域を特定することに成功した。本発表では、これらの解析結果と候補遺伝子の推定、および蓄積機構について議論する。

1Cp-04

オウレン培養細胞を用いたベンジルイソキノリンアルカロイドの安定同位体ラベル化

Stable isotope labelling of benzyloisoquinoline alkaloids using *Coptis japonica* cultured cells

河西 俊介¹, 高松 編花¹, 杉山 龍介^{1,2}, 山田 泰之^{2,3}, 山崎 真巳^{1,4}

¹千葉大院薬, ²JSTさきがけ, ³神戸薬大, ⁴千葉大植物分子科学セ

オウレン (*Coptis japonica*) は日本各地の山林に自生するキンポウゲ科の日本固有種であり、その根茎は生薬の黄連として利用される。オウレンの根茎には berberine をはじめとしたベンジルイソキノリンアルカロイド (BIA) が多量に含まれており、乾燥重量の 5-10%にも達する。BIA はその抗菌作用により感染防御に関わるとされているが、多量の一次代謝リソースを割いて多量の BIA を生産する生物学的意義は不明である。当研究室では、BIA は不可逆的な代謝の終着点ではなく生合成と分解を繰り返しているという仮説の元、オウレン培養細胞をモデルに、安定同位体のフロー解析から炭素や窒素等のリソース循環の検証を進めている。本研究では、全窒素源を安定同位体 N で置換した培地によりオウレン細胞中の BIA を ¹⁵N ラベル化する培養方法の確立と、一連の BIA を短工程で精製可能な抽出・分画プロトコルの最適化を行った。

LS 培地に含まれる主要な窒素源である NH₄NO₃ と KNO₃ をそれぞれ ¹⁵N 試薬に置換した改変 LS 培地を作製し、生重量約 0.4 g の細胞を培地 20 mL で 3 週間振盪培養した。細胞を新鮮な培地 80 mL に移して更に 3 週間培養し、フラスコ当たり生重量約 5 g の細胞を回収した。培養 3 週間・6 週間時点での BIA 中の ¹⁵N 置換率はそれぞれ約 50%, 90%であった。並行して、非ラベル条件で培養した細胞の凍結乾燥物を用いて BIA の単離・精製法の検討を行った。メタノール抽出物を ODS 固相抽出に付し夾雑物を除去後、COSMOSIL-πNAP カラムで分取 HPLC を行うことで、ODS カラムでは分離困難な類縁体を含む 6 種類の BIA を高純度で一度に精製する事に成功した。現在、代謝フロー解析に用いる ¹⁵N ラベル化 BIA の精製を進めている。

1Cp-05

ネギ属植物およびカルスの含硫二次代謝物量に対するエリシター処理の影響の解析

Effects of Elicitor Treatments on the Amounts of Sulfur-Containing Secondary Metabolites in *Allium* Plants and Callus Tissues

村田 夏奈子¹, 木佐貫 あゆな¹, 浅野 孝², 斉藤 和季¹, 山崎 真巳¹, 吉本 尚子¹

¹千葉大院薬, ²岩手医大薬

ネギ属植物が生合成するメチイン, アリイン, イソアリイン等のシステインスルホキシド誘導体群 (CSOs) は, ネギ属植物自身にとっては外敵に対する防御物質であり, ヒトにとっては発癌抑制や循環器系疾患改善に役立つ含硫二次代謝物である。我々はこれまでに, 代表的なネギ属植物であるタマネギ, ネギ, ニラからカルスを誘導し, これらの植物種の植物体とカルスでは CSOs の含有量と含有率が大きく異なることを明らかにしている。

本研究では, 二次代謝物生産のエリシターとして知られるメチルジャスモン酸 (MeJA) やサリチル酸 (SA) による処理が, タマネギ, ネギ, ニラの植物体やカルスの CSOs 含有量に及ぼす影響を解析した。播種後 5 週間培養した植物体と継代後 7 週間培養したカルスを MeJA や SA を含む培地で 1 週間培養し, CSOs 含有量を LC-MS を用いて解析した。

植物体を用いた実験の結果, MeJA 処理により, タマネギ植物体ではアリインとイソアリインの含有量が増加し, ネギ植物体ではイソアリイン含有量が増加する一方でメチインとアリインの含有量は低下することが示された。また, SA 処理により, タマネギ植物体とニラ植物体ではアリイン含有量が増加し, ネギ植物体ではイソアリイン含有量が増加することが示された。カルスを用いた実験の結果, MeJA 処理によりタマネギカルスとニラカルスにおけるイソアリイン含有量が増加することが示された。

以上の結果から, ネギ属植物における CSOs の生合成や分解の効率には MeJA や SA を介した制御を受けるが, その制御様式は細胞の分化の有無や植物種の違いにより異なると考えられた。

1Cp-06

ヒガンバナ科伝統薬用植物 *Tulbaghia violacea* の機能性含硫成分マラスミンの生合成に関わる S-酸化酵素の同定

Identification of an S-Oxygenase for the Biosynthesis of Marasmin in a Traditional Medicinal Plant *Tulbaghia violacea*

吉本 尚子^{1,2}, 王 吉晨¹, 鈴木 秀幸³, 中嶋 なな子⁴, 北島 満里子^{1,2}, 高山 廣光^{1,2}, 斉藤 和季^{1,2}, 山崎 真巳^{1,2}

¹千葉大・院薬, ²千葉大・植物分子科学研セ, ³かずさDNA研, ⁴熊本大・院自然

マラスミン[S-(methylthiomethyl)cysteine-4-oxide]はヒガンバナ科の伝統薬用植物 *Tulbaghia violacea* が含有する主要な機能性含硫成分である。 *T. violacea* 体内において, マラスミンはシステインから生合成された中間体 S-(methylthiomethyl)cysteine が S-酸化を受けて生合成されると推測される。本研究では, マラスミン生合成における S-酸化反応を触媒する酵素を同定し, その機能を解析した。

T. violacea の RNA-seq 解析により得られた約 5 万 8 千個のコンティグから, 植物の S-酸化型フラビン含有モノオキシゲナーゼと高い配列相同性を示すコンティグを探索し, その塩基配列情報に基づいて対応する遺伝子 TvMAS1 の cDNA をクローニングした。 *In vitro* 酵素反応系において TvMAS1 の酵母組換えタンパク質は, S-(methylthiomethyl)cysteine の 4 位と 6 位に位置する 2 つの硫黄原子のうち, 4 位の硫黄原子を特異的に酸化してマラスミンに変換した。また, *T. violacea* の根, バルブ, 葉の白色部, 葉の緑色部の全てにおいて, マラスミンと S-(methylthiomethyl)cysteine, さらに TvMAS1 mRNA が検出された。以上の結果から, TvMAS1 は *T. violacea* の多くの組織においてマラスミン生合成の最終段階を担う S-酸化酵素であることが示唆された。

1Cp-07

ハナビシソウの組織特異的なベンジルイソキノリンアルカロイドの生産制御機構解明に向けた *EcAP2/ERF* 発現抑制形質転換体の作出と解析

Establishment and analysis of *EcAP2/ERF*-knockdown transformants to reveal the tissue-specific regulatory mechanisms of benzyloquinoline alkaloid biosynthesis in California poppy

山田 泰之¹, 西田 昇平², 山本 萌子¹, 清水 真由¹, 花枝 大喜¹, 土反 伸和¹, 佐藤 文彦^{2,3}

¹神戸薬大, ²京大院・生命科学, ³サントリー生命科学財団・生有研

多様なベンジルイソキノリンアルカロイド (BIA) を産生するケシ科ハナビシソウは、近年ゲノム配列も公開された BIA 生合成研究の新たなモデル植物の 1 つである。その特徴の 1 つに、地上部と地下部で異なるタイプの BIA を産生・蓄積している点が上げられる。これまで、ハナビシソウの地下部に蓄積する BIA の生合成酵素や転写制御因子が単離・同定されてきたのに対し、ハナビシソウの地上部特異的な BIA に関する知見は非常に乏しい。本研究では、ハナビシソウ植物体の組織レベルでの BIA 生産制御機構の解明を目的に、複数の RNA-seq データから選抜した AP2/ERF ファミリー転写因子を中心に、発現抑制株の作出と網羅的遺伝子発現解析や代謝物分析を行った。

MeJA 応答性や一過的発現解析により選抜した 5 種類のハナビシソウ AP2/ERF の RNAi ベクターを作出し、アグロバクテリウム LBA4404 株を介してハナビシソウに形質転換した。得られたカルスから再分化個体を取得し、鉢植えに移して約 1 ヶ月生育させた個体を、地下部 (根) および地上部 (葉身、葉柄) に分けて回収した。回収した各組織からアルカロイドや RNA を抽出し、それぞれ UPLC-MS 分析や RNA-seq 解析に供した。

安定形質転換体が複数個体得られた *EcAP2/ERF* 発現抑制ラインの代謝物分析の結果、根で高蓄積する sanguinarine などの BIA 蓄積量に目立った変化は見られなかった。一方、地上部で高蓄積する escholtzine などの BIA 蓄積量は、一部の発現抑制株で減少傾向が認められた。現在、遺伝子発現解析結果と合わせたトランスオミクス解析、および過剰発現株の取得と解析を進めており、それらの結果を合わせて *EcAP2/ERF* による組織特異的な BIA 生合成制御機構について考察したい。

1Cp-08

芳香族香気成分フェニルプロペンの多様性を担う位置特異的な O-メチル基転移酵素の解析と分子進化

Functional characterization and molecular evolution of regiospecific O-methyltransferases involved in the diversification of phenylpropene volatiles

肥塚 崇男¹, 渡辺 文太², 鈴木 史朗³, 高梨 功次郎⁴, 山田 泰之⁵, 高坂 智之¹, 小崎 紳一¹

¹山口大院・創成科学, ²東京慈恵医大・化学, ³岐阜大・応用生物, ⁴信州大・理, ⁵神戸薬大

C6-C3 構造を基本骨格とするフェニルプロペン類は、ハーブやスパイスなどの特徴的な芳香族香気成分であり、プロペン側鎖 (C3) の化学構造に加えて、ベンゼン環 (C6) の官能基の種類やその位置により構造多様性が見られる。その生合成に関わる鍵酵素の一つが O-メチル基転移酵素 (OMT) であり、フェニルプロペン類がメチル化されると、揮発性や香気特性が変わることが知られている。フェニルプロペンを基質とする OMT は、基質認識やベンゼン環パラ位のメチル化に対して高い特異性を示すが、その反応制御機構については未だ不明な点が多い。

本研究では、フェニルプロペン類の生合成においてオルト位水酸基のメチル化反応を担う OMT 遺伝子の同定を目的とし、セリ科、コショウ科、ウマノスズクサ科、モクレン科、ミカン科などの様々な植物種からオルト位がメチル化されたフェニルプロペン類の代謝物分析を行った。さらに、セリ科植物のデイルにおいては、異なる生育段階の詳細な代謝物変動解析、RNA-seq 解析を行うことでフェニルプロペンのオルト位を選択的にメチル化する酵素遺伝子 (*AgOMT1*) を見出すことに成功した。次に、パラ位水酸基を特異的にメチル化するセリ科アニス由来の *PaAIMT* と *AgOMT1* の間で、ドメイン置換や点変異導入による生化学的解析を行った。その結果、フェニルプロペンのメチル化の位置特異性に大きく関与するアミノ酸残基が見出された。また、本発表では、植物が進化の過程でどのようにフェニルプロペン生合成に関わる位置特異的 OMT の機能を進化させてきたのかについても議論したい。

1Cp-09

ジャガイモシストセンチュウ孵化促進物質ソラノエクレピン B 生合成遺伝子の解析

Analysis of biosynthetic genes for solanoelepin B, a hatching factor for potato cyst nematodes

秋山 遼太¹, 清水 宏祐¹, 串田 篤彦², 谷野 圭持³, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農, ²農研機構・北農研, ³北大院・理

ジャガイモシストセンチュウ (PCN) はジャガイモやトマトに寄生し, 世界の農業に甚大な被害を及ぼす重大害虫である。PCN はその名の通り生活環の中にシスト (硬い殻) という段階を持つことを特徴とする。低温や農薬などに耐性を示すシストの中で PCN の卵は 10 年以上休眠の維持が可能である。また, シスト内卵は宿主植物の根から分泌される「孵化促進物質」(Hatching Factor: HF) に特異的に反応して孵化し・寄生を達成する。そのため HF は PCN 防除の鍵となる分子である。近年, 我々の研究グループでは, ジャガイモ水耕栽培液から新規 HF であるソラノエクレピン B (SEB) を単離構造決定した。また, トマト毛状根培養液からも SEB が検出できることを見出し, トマト毛状根を用いて 5 つの SEB 生合成遺伝子を同定した。以上について第 39 回日本植物バイオテクノロジー学会にて報告した。本発表では, SEB 生合成遺伝子の発現解析と新たな SEB 生合成遺伝子の同定について報告する。トマト毛状根に様々な植物ホルモンの処理を行った結果, 幾つかの処理において SEB 生合成遺伝子の発現の変動が確認された。また, トマト植物体を種々の栄養条件で水耕栽培を行った結果, SEB 生合成遺伝子の発現が増加する条件を見いだした。次に, それぞれの条件の遺伝子発現解析をもとに, 既知の SEB 生合成遺伝子と同様の発現パターンを示す遺伝子を SEB 生合成候補遺伝子として選抜した。それぞれの遺伝子のノックアウト毛状根を作成し, 解析を行った結果, 新たに 2 つの遺伝子を SEB 生合成遺伝子として同定した。遺伝子共発現解析によるさらなる生合成遺伝子の同定が期待される。

1Dp-01

非翻訳領域の解析を通じた新たな翻訳効率化技術の検討

Investigation of new translation efficiency improvement technology through analysis of untranslated regions

古田 万紀子, 高橋 秀斗, 山崎 将太郎, 加藤 晃

奈良先端大・バイオ

近年, 遺伝子組換え技術が進み, 遺伝子改変植物を用いてタンパク質医薬品などの有用タンパク質を生産する技術が研究されている。この技術において, タンパク質の発現を効率化し発現量を増加させることは重要な課題となっている。この発現量には, 様々な遺伝子制御機構の効率が関わっているが, 特に影響が大きい要素の一つが mRNA の翻訳である。実際に, 翻訳効率の決定に重要な 5'非翻訳領域 (5'UTR) を改変することによって, その発現量を 100 倍以上に向上させることに成功した例なども報告されている。一方で, もう一つの非翻訳領域である 3'UTR については, その翻訳効率への影響はあまり評価されてこなかった。そこで本研究では, mRNA の翻訳効率の詳細解析が可能な Polysome / Full-length cDNA-seq 法を開発し, 3'UTR を詳細に解析することで, 3'UTR を介して翻訳効率をより向上させるために効果的な手法を検討することを目的とした。まず, シロイヌナズナ培養細胞の全 mRNA について, その翻訳効率を新たに開発した手法によって詳細に評価した。続いて, 得られた詳細データに基づいて, レポーター遺伝子を用いた一過性発現実験と, 機械学習を用いたデータ解析を行い, 特に 3'UTR に着目して翻訳効率への影響を評価した。その結果, 3'UTR 配列も翻訳効率に大きな影響を与えていること, そして 5'UTR と 3'UTR 配列の間には相互作用があり, UTR の組合せによって翻訳効率が変わることが明らかとなった。本研究の結果は, 有用な 3'UTR 配列の使用によって, 翻訳の効率化や, 既存の有用 5'UTR 配列の能力強化が可能であることを示唆している。

1Dp-02

導入遺伝子における意図しないスプライシングのリスク予測モデルの開発

Development of a Risk Prediction Model for Undesigned Splicing in Transgenes

野平 直樹, 梅田 健人, 山崎 将太郎, 加藤 晃

奈良先端大・バイオ

基礎研究やバイオ医薬品などの有用なタンパク質の生産において、導入遺伝子を適切かつ大量に発現させる技術は必要不可欠である。特に、異種のタンパク質を発現させる際に重要となるのが、コドン使用頻度を適切に改変する CDS の最適化である。この際の注意点が、スプライスサイトが偶然出現してしまうことであり、CDS 配列最適化ではスプライスサイトが出現しないような制限が加えられていることが一般的である。このような制限には、スプライスサイトを予測する必要があるが、一般的な予測ツールでは、一部の mRNA だけがスプライシングを受けるような、弱いスプライスサイトの出現は完全には予測できない。実際に、我々は CDS 最適化の結果、転写された mRNA の約半数がスプライシングを受ける例を見つけており、そのスプライスサイトは、複数の既存ツールのどれでも予測することができなかった。このように意図した位置以外でスプライスサイトが出現すると、目的のタンパク質とは異なるタンパク質をコードする mRNA が転写されることで、生産効率が低下してしまう。そこで、本研究では導入遺伝子における意図しないスプライシングのリスクを、より正確に予測できる機械学習モデルの開発を行った。スプライシングサイトの大規模データを学習させた結果、前述した既存の複数のツールでは予測できなかった CDS 最適化後の弱いスプライスサイトの予測も可能な機械学習モデルの開発に成功した。開発したモデルは、有用タンパク質の高生産を目的として CDS 配列を最適化した際に、意図しないスプライシングを回避するために必要不可欠なものである。

1Dp-03

有用タンパク質生産の効率化を目的とした塩基配列から TSS 使用頻度を予測する CNN モデルの構築

CNN Model to Predict TSS Usage from Nucleotide Sequence for Efficient Production of Useful Proteins

橋爪 千佳, 斎藤 康平, 山崎 将太郎, 加藤 晃

奈良先端大・バイオ

近年、遺伝子組換え植物を用いた有用タンパク質の生産が注目されている。実用化に向けては、タンパク質生産効率の向上、つまり導入遺伝子の高発現化が重要である。現在利用されている高発現化システムでは、高発現プロモーターの下流に翻訳エンハンサーを組み込むことが一般的である。このシステムをより効率的に利用するために重要なのが、転写開始点の制御である。転写開始点はコアプロモーターによって制御されており、内在性遺伝子の多くは複数の転写開始点を有している。これは導入遺伝子でも同様であり、意図しない位置からの転写により、翻訳エンハンサーの能力を持たない mRNA が転写されてしまう。一方、ごく一部の遺伝子は 1 点に収束した転写開始点を有しており、この特性を再現することで翻訳エンハンサーの能力を持つ mRNA のみを転写することが可能になる。実際に、当研究室ではスクリーニングにより有用なコアプロモーター配列を見出しており、遺伝子発現効率の向上に成功している。一方で、未だに想定外の位置からの転写も生じており、改良の余地を多く残しているのが現状である。しかし、従来のスクリーニング法には内在性遺伝子の配列しか評価できないという問題点があり、試験できる配列の組合せや数に限界がある。そこで、本研究では、転写開始点に関する大規模データと機械学習を用いて、転写開始点の使用頻度を予測する CNN モデルの構築を行った。構築した転写開始点予測モデルは、翻訳エンハンサーを利用する場合に転写開始点がどの程度収束しているかを予測するために使用でき、有用タンパク質生産の効率化に必要不可欠である。

1Dp-04

ゲノム編集によるグリチルリチン高産生毛状根の作出

Glycyrrhizin high-producing hairy roots by genome editing

千代 直樹¹, 關 光^{1,3}, 金本 拓也¹, 上田 大志¹, 高上馬 希重², 村中 俊哉^{1,3}

¹阪大院・工・生物工学, ²北海道医療大・薬, ³大阪大学先導的学際研究機構

グリチルリチンは、薬用植物カンゾウ（甘草）の根に含まれるトリテルペノイドサポニン的一种であり、抗炎症作用等の薬理作用や独特の甘みをもつ特徴から、漢方薬や化粧品、甘味料など多様な用途で利用されている。グリチルリチンの供給は、野生甘草に依存しているが、近年、需要増に伴い乱獲による環境破壊が進み、資源の枯渇が危惧されている。サポニンを効率よく産生させる手法として毛状根などの組織培養法が知られている。たとえば、オタネニンジンでは、毛状根でニンジンサポニンが高効率に産生される。ところが、甘草の毛状根では極めて低含量のグリチルリチンしか産生されない。本研究では、持続可能なグリチルリチンの供給法確立を目指し、甘草毛状根培養によるグリチルリチンの生産を試みた。CRISPR/Cas9 システムを用いて、甘草のトリテルペノイド代謝経路においてグリチルリチンの生合成経路と競合する①ソヤサポニン経路の生合成遺伝子 2 種類、②ソヤサポニン、オレアノール酸およびベツリン酸経路の生合成遺伝子 4 種類を破壊した、二重ノックアウト、四重ノックアウト毛状根をそれぞれ作出した。目的の毛状根の選抜は、ライセートを用いた ELISA 法によるグリチルリチン定量およびシーケンス解析により実施し、選抜した毛状根の代謝物を LC-MS を用いて分析した。その結果、ゲノム編集を施していない毛状根からはグリチルリチンが検出されなかった。一方、二重および四重ノックアウト毛状根からは、ゲノム編集により遮断した生合成経路のトリテルペノイドは検出されず、グリチルリチンの蓄積が認められた。一連の結果より、毛状根培養によりグリチルリチンの生産が可能であることが示された。

1Dp-05

クコ由来カルスが産生する抗酸化物質の同定と高産生条件の解明 II

Determination and production of antioxidant compounds by the callus culture of *Lycium chinense*, II

佐藤 春樹, 原 光二郎, 小峰 正史, 川上 寛子

秋田県大院・生物資源

クコ (*Lycium chinense*) の果実 (枸杞子) と根皮 (地骨皮) は免疫増強、血糖低下などの薬効を有し、生薬原料として利用される。薬理活性成分には抗酸化活性を有するベタイン、クコアミン類、クロロゲン酸類が知られる。クコ植物体が産生する成分は多く報告されているが、カルスが産生する成分の報告は非常に少ない。本研究ではクコ由来カルスが産生する抗酸化物質を同定し、抗酸化物質を高産生可能な培養条件を確立することを目的とした。

まず、植物ホルモンはオーキシン類に IBA, NAA, 2,4-D, サイトカイニン類に BA, KIN, TDZ を組み合わせて 9 試験区、基本培地は 3 試験区 (Murashige Skoog (MS), Gamborg B5 (B5), Lloyd McCown's Woody Plant (WP) 基本培地) を組み合わせて合計 27 試験区の培地にクコの茎を植え付け、カルスを誘導した。カルスのメタノール抽出物を Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) 法により抗酸化活性を評価し、LC-ESI-MS で分析した。

その結果、基本培地に B5 培地を用いた条件で高いカルス誘導率を示した。一方、WP 培地ではカルス誘導率は劣るものの、高い抗酸化活性を示した。活性を示した抽出物を LC-ESI-MS で分析したところ、既知抗酸化物質のクロロゲン酸 (3-O-カフェオイルキナ酸) を含むことがわかった。各試験区で得られたカルス由来抽出物の抗酸化活性とクロロゲン酸含有量には正の相関が確認された。本研究ではクコ由来カルスが抗酸化活性を有するクロロゲン酸を産生することを初めて明らかにした。

1Dp-06

コムギ胚芽無細胞翻訳系において翻訳効率向上を目指した 5'UTR の機能解析

Functional analysis of 5'UTR to improve translation efficiency in wheat germ cell-free translation system

笹川 耕作, 加藤 晃, 加藤 壮英

奈良先端大・バイオエンジニアリング

無細胞翻訳系は、形質転換体を使用することなく、細胞毒性を持つタンパク質や細胞内プロテアーゼによる急速な分解を受けるなどの難解なタンパク質の生産を可能とする。しかし、生細胞を用いた場合と比較して、タンパク質生産量が劣るという欠点が存在する。mRNA の 5'UTR 配列が翻訳の効率に強く影響を与えるとされており、当研究室では、翻訳に最適な 5'UTR の配列の探索を行ってきた。本研究では、コムギ胚芽無細胞系における 5'UTR 長と翻訳効率の相関を明らかにすることを目的とした。コムギ胚芽と同じ単子葉植物であるイネ由来の、当研究室で作製された、翻訳効率を向上させる 3 種類の 5'UTR を対象とした。T7 promoter, 各 5'UTR (全長), Firefly Luciferase を有するコンストラクションを作製し、それを鋳型に 3'末端側欠失した 4 種類の異なる長さの 5'UTR を有する転写の鋳型 DNA 断片を作製した (全長型, 3/4 欠損型, 2/4 欠損型, 1/4 欠損型)。in vitro 転写にて mRNA を作製し、さらにコムギ胚芽の無細胞翻訳系を行い mRNA 量を揃えて Firefly Luciferase を翻訳した。作製された各鋳型から発現された Firefly Luciferase の活性を全長型の 5'UTR を基準に翻訳効率の評価を行った。その結果、5'UTR の欠失によって翻訳効率が減少する傾向があった。また、3 種類の 5'UTR 長は、57, 34, 129 bp とそれぞれ異なっている為、最長の 5'UTR を再度欠失すると、3 種の 5'UTR において 27 bp 付近の長さで翻訳量の向上する効果を示した。また、哺乳類および植物細胞においては、AUG 開始コドン周辺の配列は、翻訳開始ステップに強く寄与していることが知られているが、本研究においてその寄与は確認できなかった。

1Dp-07

熱帯熱マラリアワクチン高発現イネ種子の解析

Analysis of rice seeds with high expression of Malaria vaccine antigen

中野 大樹¹, 加藤 洋香¹, 藤本 菜緒¹, 野澤 彰³, 高島 英造³, 曾我 郁弥³, 森田 将之³, 黒田 昌治⁴, 森田 重人^{1,2}, 澤崎 達也³, 増村 威宏^{1,2}

¹京都府大院・生命環境, ²京都府農技セ・生資セ, ³愛媛大学・プロテオサイエンスセンター, ⁴農研機構

ワクチン接種は感染症予防に非常に有効であるが、従来型のワクチン製剤の多くは動物細胞を用いて生産されており、培養設備を必要とし、使用時まで低温に保つ必要があるなどの理由で製造コストが高くなるという欠点があった。そこで、製造コストの削減やヒトのウイルスフリーの観点から形質転換植物を用いたワクチンの開発が関心を集めており、なかでもタンパク質顆粒 (PB) に外来タンパク質を貯蔵させることで常温での長期保存に適したイネ種子での生産に注目した。先行研究で種子中にコレラ菌ワクチン抗原 (CTB) を蓄積するイネの開発に成功した。イネで生産した CTB は、免疫原性を保ったまま腸管上皮組織に到達し粘膜免疫を誘導した。

本研究では、世界中で大きな被害を出しているのにも関わらず有効なワクチンが開発されていない熱帯熱マラリアを対象とした。ワクチン抗原としては、マラリア原虫が赤血球に感染する際に用いる GPI-anchored micronemal antigen (GAMA5) を用いた。本研究の目的はイネ種子で GAMA5 を高発現させ、その発現量や局在性、機能について解析することである。GAMA5 をコードする遺伝子と内在性タンパク質の蓄積を抑制する RNAi カセットを含む発現プラスミドを構築し、アグロバクテリウム法を用いてイネを形質転換した。昨年度の大会で発表した形質転換イネを育成し T₂ 種子を得た。この T₂ 種子を顕微鏡観察したところ GAMA5 がデンプン粒の隙間に蓄積していることが確認できた。現在、イネ種子内における GAMA5 のオルガネラレベルの局在部位の調査、T₂ 世代でのホモ系統の選抜と導入遺伝子のコピー数や生産性の調査を行っている。今後はワクチン抗原の機能に関する研究を進めていく予定である。

1Dp-08

内在性タンパク質抑制技術を用いたワクチン抗原 (CTB) を発現するイネの作出と解析

Generation and analysis of rice plants expressing of vaccine antigen (CTB) using endogenous protein suppression technology

西條 晃芽¹, 加藤 洋香¹, 藤本 菜緒¹, 黒田 昌治³, 森田 重人^{1,2}, 増村 威宏^{1,2}

¹京都府大院・生命環境, ²京都府農技セ・生資セ, ³農研機構

新型コロナウイルスが流行し、対する防御手段として「注射型ワクチン」に注目が集まった。注射型ワクチンは動物や培養細胞で生産され、低温保存が必要なためコストがかかり、誘導可能な抗体は IgG のみという課題がある。そこで検討されているのが「経口ワクチン」である。植物によるワクチン生産は従来法より安価で、経口摂取の特徴として IgG と IgA の 2 種類を獲得できる利点がある。イネ種子を用いると抗原をプロテインボディ (PB) に蓄積し長期的に保存できるため、経口ワクチンのプラットフォームとして優位性がある。先行研究ではイネ種子の内在性タンパク質であるグルテリン A と 13kDa プロラミンを抑制し、PB-Ⅰ内にコレラ毒素 B サブユニット (CTB) を発現させ、その米粉末を用いてヒトでの第Ⅰ相臨床試験で IgG と IgA の誘導が確認された。

本研究ではイネを用いた経口ワクチン抗原の高発現を目的とした。内在性タンパク質を更に強く抑制するため、グルテリン B 欠損変異体 (LGC-1) を宿主に用い、全プロラミンを RNAi で抑制し、CTB の高発現を目指した。アグロバクテリウム法で形質転換したイネから、ゲノミック PCR により CTB が導入された系統 (T0 個体) を選抜した。T1 種子を収穫後、SDS-PAGE およびウエスタンブロットングによって CTB の発現量を確認したが、CTB は検出されなかった。種子胚乳を蛍光顕微鏡観察すると、PB が変形し数が減少していた。全プロラミンを抑制したことで PB-Ⅰが形成されにくくなったと推定された。現在、後代の形質転換イネを育成しており、種子が得られたら胚乳中の転写および翻訳産物の解析を行う予定である。

1Dp-09

抗菌活性を併せ持つケモカイン CCL28 のイネを用いた生産

Production of CCL28, a chemokine with an antimicrobial activity, in transgenic rice

渡会 岳, 小関 美里, 下田 蒼, 岩井 裕子, 米山 裕, 伊藤 幸博

東北大学農学研究科

ウシ乳房炎は年間約 800 億円の損害を出す酪農業界の喫緊の課題である。乳房炎の起因菌の 1 つである黄色ブドウ球菌は薬剤耐性化やバイオフィルムの形成により通常の抗菌薬が効かず、既存の手法では治療が困難という問題がある。本研究で注目したケモカイン CCL28 は、黄色ブドウ球菌に対して殺菌効果が認められているが、高価であるという理由で実用化に至っていない。そのため CCL28 を安価に大量生産する手法の開発が必要である。

本研究ではイネを使用し、ウシ由来の CCL28 をコードする遺伝子を導入することで CCL28 の生産を試みた。有用物質を発現する遺伝子を植物に導入し生産させる植物分子農業には、動物や細菌による物質生産と比較してコストが低い点、ヒトや動物に感染する病原菌を保有しにくい点などのメリットがある。またイネは、食品としての安全が担保されている、遺伝子工学的操作が容易であるといった利点がある。

これまでにユビキチンプロモーターを用いて CCL28 を発現する遺伝子を導入したイネを作出した。具体的には、CCL28 の N 末端にヒスタグを付加した ΔCCL28 系統とシグナル配列およびヒスタグを付加した spCCL28 系統を作出した。自殖後代の種子からカルスを誘導し、RT-PCR および抗ヒスタグ抗体あるいは抗 CCL28 抗体を用いたウエスタンブロットで CCL28 の発現を調べた結果、RNA レベルおよびタンパク質レベルでの発現が検出された。今後は、振盪培養細胞での生産と培養上清への分泌を試みるとともに、イネで生産した CCL28 が黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を示すかどうか明らかにしていく予定である。

1Dp-10

イネを用いたシュルツェマダニ由来の抗菌ペプチド persulcatusin の生産と抗菌活性の検出

Generation of transgenic rice calli that produce a tick-derived antimicrobial peptide persulcatusin and detection of its antimicrobial activity

藤田 岳, 下田 蒼, 米山 裕, 伊藤 幸博

東北大・農

抗生物質の大量使用により耐性菌が蔓延し、公衆衛生上の脅威となっている。国内で消費される抗生物質の半量は家畜生産のために使用されており、その削減が求められている。抗菌タンパク質・抗菌ペプチドはその代替薬として期待されているが、家畜への使用には生産コストの削減が欠かせない。植物での生産は、動物細胞や微生物での生産に比べ低コストで生産することが可能である。そこでイネを用いてシュルツェマダニ由来の抗菌ペプチド persulcatusin (IP) の生産を試みた。

一般に、抗菌ペプチドの植物への影響はないと考えられているが、IP は他の抗菌ペプチドに比べ高い抗菌活性を示すため、抗菌活性を抑制する手法も用いて生産した。具体的には、カルモジュリンとの融合タンパク質として生産し、融合部位には TEV プロテアーゼ認識配列を挿入した (CaM-TEV-IP)。IP および CaM-TEV-IP をコードする配列をユビキチンプロモーターの下流に連結し、イネカルスに導入した。導入遺伝子の発現を RT-PCR およびウェスタンブロットで調べたところ、導入遺伝子の発現が検出された。そこで、CaM-TEV-IP 導入カルスからのタンパク質抽出液を用いて抗菌活性を調べた。その結果、黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性が認められた。さらにタンパク質抽出液を TEV プロテアーゼで処理したところ、より強い抗菌活性が検出された。遺伝子導入していないカルスからのタンパク質抽出液では抗菌活性は検出されなかった。また、遺伝子導入カルスから個体を再分化させ自殖により採種したが、その過程で IP のイネへの影響は観察されなかった。

1Dp-11

トマト毛状根代謝工学による活性型ビタミン D3 生合成

Bioproduction of active vitamin D3 in transgenic tomato hairy roots through metabolic engineering

水田 珠希¹, 山岸 萌子¹, 中川 真太郎¹, 秋山 遼太¹, 村中 俊哉², 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農学, ²大阪大・院工学

人間は皮膚に紫外線 (UV-B) が照射されることで 7-デヒドロコレステロール (7-DHC) からビタミン D3 (VD3) を生合成しており、VD3 は肝臓で CYP2R1 による 25 位水酸化、腎臓で CYP27B1 により 1 位水酸化を受けて活性型 VD3 となる。活性型 VD3 は、血中のリン・カルシウム濃度を一定に保つ役割を担い、骨粗鬆症等の治療薬の有効成分として用いられるが、化学合成された活性型 VD3 は非常に高価である。本研究では、トマトを用いた代謝工学により活性型 VD3 を安価に生産することを目的とした。先行研究において、2つのステロール 7 位還元酵素遺伝子 *SI7-DR1* および *SI7-DR2* を破壊したトマト毛状根 (*SI7dr-dko* HR) で 7-DHC の蓄積が認められ、*SI7dr-dko* HR に UV-B を照射することで VD3 が生産された。しかし *SI7-DR1* / *SI7-DR2* 二重破壊トマト植物体 (*SI7dr-dko* plant) は 1 個体しか得られず、強い矮性と不稔を示した。そこで、*SI7dr-dko* plant をカルス化および再分化することで *SI7dr-dko* plant を量産し、ヒト由来 CYP2R1 および CYP27B1 過剰発現毛状根 (*SI7dr-dko/CYP2R1-ox/CYP27B-ox* HR) の作出に使用した。得られた *SI7dr-dko/CYP2R1-ox/CYP27B-ox* HR は UV-B 照射後、CYP2R1 および CYP27B1 による水酸化反応に最適な温度条件および培養時間で培養すると、活性型 VD3 の蓄積が認められた。

2Aa-01

寄生植物コシオガマの再分化系確立に向けた条件検討

Investigation of shoot regeneration condition for *Phtheirospermum japonicum*

柏瀬 友咲, 吉田 聡子

奈良先端大・バイオサイエンス

寄生植物は、吸器と呼ばれる特殊な器官を用いて、他の植物に寄生して水分や栄養を奪って生育する。特に、ハマウツボ科寄生植物はアフリカやヨーロッパなどの農地で繁茂し、農作物の収量を著しく減少させる。しかし、農作物への寄生を阻害・抑制する効果的な手段はなく、詳細な寄生メカニズムの解明が望まれる。そのため、我々は、ハマウツボ科寄生モデル植物として、コシオガマ (*Phtheirospermum japonicum*) を用いた、寄生メカニズムの解明に取り組んでいる。

コシオガマでは、*Agrobacterium rhizogenes* による毛状根形質転換法が確立された。しかしながら、毛状根の細胞が均一に形質転換されないキメラ根が出現することや、形質転換遺伝子を保持する次世代が獲得できないことなどが問題点として挙げられる。そのため、形質転換遺伝子を保持する植物体が得られる、安定的で高効率な形質転換法の開発が求められる。古典的な形質転換法の一つとして、再分化系を介した *Agrobacterium tumefaciens* による形質転換法が知られている。本研究では、形質転換法確立に向けた、コシオガマの再分化系の構築を目的とした。まず、植物片として用いる部位、植物ホルモンの種類および濃度、培養環境、カルス誘導期間、培地に添加する糖の種類などを検討し、カルス誘導系を確立した。しかし、その系によって得られたカルスから、シュートは再生しなかった。そこで、多能性獲得遺伝子およびシュート誘導関連遺伝子の発現解析を行い、シュート誘導能を持つカルスの培養条件を絞りこんだ。現在は、シュート形成に直接関与する遺伝子の発現をマーカーとして、得られた培養条件を基に、シュート再生条件の検討を行っている。

2Aa-02

ブドウ‘シャインマスカット’における不定胚形成に効果的な培養条件の検討

Investigation of effective culture condition for the somatic embryogenesis in ‘Shine Muscat’ grape

水落 俊良¹, 吉村 優希², 江角 智也³

¹島根大院・自然科学, ²島根大・生物資源科学, ³島根大・学術研究院

【緒言】ブドウのゲノム編集では、胚珠や花糸などから誘導したエンブリオジェニックカルス (EC) を用いる手法が主流である。しかし、ゲノム編集の成功率は低く、多くのゲノム編集個体を得るには、多数の不定胚を再分化させる必要がある。本研究では、‘シャインマスカット’の胚珠由来の EC を用い、多数の不定胚を誘導する手法について検討した。

【材料及び方法】**実験Ⅰ**：‘シャインマスカット’の花蕾から誘導したカルス (7~9 mm) を一般的な EC の特徴とされる固い「塊状カルス」とふわふわとした毛状組織に覆われた「毛状カルス」に選別し、それぞれ 28 個ずつ胚発生培地 (1/2MS、ホルモンフリー、5%ショ糖、2%寒天) に置床した。3 か月間、26°C、暗所で培養し、胚形成率を調査した。不定胚と不定胚採取後の EC を再生培地 (1/2MS、5 μM ゼアチン、3%ショ糖、2%寒天) に移植し、3 か月間、26°C、明期 16 時間で培養後、植物体への再生率を調査した。**実験Ⅱ**：塊状カルスの EC を次の 3 条件の組み合わせで培養し不定胚形成数を調査した。条件：①カルス形状 (そのまま/粉碎小片化)、②寒天濃度 (0.85%/2%)、③胚発生培地形状 (平面状/クラッシュ状)。

【結果及び考察】**実験Ⅰ**：胚形成率は毛状カルスの 65%に対して塊状カルスが 93.3%と高かった。10 mm 以上の不定胚の再生率は塊状カルスと毛状カルスで有意な違いはなかった。**実験Ⅱ**：クラッシュ状の培地で多数の不定胚形成が観察された。10 mm 以上の不定胚数は寒天 2%のクラッシュ状培地を用い、小片化したカルスを培養した処理区で最も高くなった。硬めの培地を用いてカルス小片と培地の接点を増やすことが効率的な不定胚誘導に有効であることが示された。

2Aa-03

ハナミズキのカルス培養における培地成分の検討

Effects of medium components on callus culture in *Cornus florida*

清水 弥央¹, 大岡 久子²

¹群馬高専・環境工学専攻, ²群馬高専・物質工学科

植物は分化全能性を持つという特性から、植物体の細胞や組織から脱分化して未分化細胞塊であるカルスを形成し、再分化することで同じ植物体を再生することができる。樹木は一般的にカルス化-再分化が困難である一方、地球上で最も多く存在するバイオマスである。そのため樹木のカルス化-再分化培養系の確立は、品種改良のみならず、基礎研究から応用研究に貢献し、半永久的な資源としての利用や確保へ繋がるため重要であると考えられる。本研究室では、樹木であるハナミズキ(学名:*Cornus florida*)の葉、葉芽、茎からのカルス誘導に成功しているが、カルスが褐変し、生育が悪くなるという問題点があった。そこで本研究では基本培地の成分に注目し、無機塩類の種類と濃度がカルス培養に及ぼす影響について調査した。さらに有機物質の添加によるカルスの褐変と増殖について調査し、高い増殖能及び再分化能を持つカルスの培養条件を明らかにすることを目的とした。

培養培地の窒素成分の濃度を変えてカルス培養を行った結果、窒素成分を 1/2 倍及び 1/10 倍にしたムラシゲ・スクーグ培地(以下 MS 培地)と Woody Plant Medium(以下 WPM)においてカルスからピンク色の斑点が発生しやすくなり、褐変が抑制されることが明らかとなった。さらに窒素成分を 1/2 倍にした MS 培地においては、再分化能の指標となるグリーンスポットカルスの形成が確認できた。リン成分を過剰にした WPM と、有機物質を添加した窒素成分が 1/2 倍である MS 培地がカルスの成長を促進させることが判明した。本研究において、高い増殖能及び再分化能をもつ可能性があるカルスの培養条件を明らかにした。

2Aa-04

アイスプラントの地上部再分化に関わる要因解析

Factors Regulating Shoot Regeneration in the Common Ice Plant

神田 れんげ¹, 大串 康太¹, 佐藤 稜真¹, 東江 栄²

¹九州大・院・生物資源環境科学府, ²九州大・院・農学研究院

【背景】アイスプラントは、ストレス耐性および光合成型変換機構を解明するモデル植物である。しかし、実用的な遺伝子組換え法はまだ確立されていない。外植体からの地上部の再分化が困難であることが一因である。本研究では、アイスプラントの遺伝子組換え法を確立するために、胚軸由来外植体から地上部を再分化する培養条件を検討した。また、再分化が困難な要因を明らかにするために、シロイヌナズナで報告されている地上部再分化関連遺伝子をアイスプラントから単離し、発現解析や他種とのモチーフの比較から地上部再分化を制御する転写因子を同定し転写制御機構を考察した。

【結果と考察】外植体、ホルモン、カルス誘導期間、活性炭等を検討し、播種後 3 週目の胚軸を、1 mg/L NAA を含む CIM で 5 日間、0.1 mg/L NAA 及び 1 mg/L TDZ を含む SIM で 2 週間培養することで、地上部を再分化させることができた。再分化率は 4%であった。シロイヌナズナで報告されている再分化関連遺伝子の相同遺伝子を 23 種単離した。そのうち、茎頂分裂組織形成に関わる *CUC2*, *STM*, および *WUS* は、幼苗の生長点には発現していたが、胚軸由来のカルスでは発現していなかった。アイスプラントの *STM* (*LET6*) プロモーター領域を他種植物 6 種と比較した。他種にはあった *NAC68* (*CUC2* 転写因子ファミリー) が結合するシス配列が、アイスプラントの *LET6* には存在しなかった。*CUC2* は *STM* の発現を活性化させ、茎頂分裂組織の形成を促進する。アイスプラントにおいて *CUC2* による *STM* の発現誘導が弱いことが、外植体からの地上再分化が困難な一因であると考えられた。

2Aa-05

袋型培養槽でのダイズ成熟不定胚の誘導－3

Production of mature somatic embryos of soybean in culture-bag bioreactors-3

間宮 幹土, 久野 香

キリンホールディングス(株)

我々は、以前に本学会で袋型培養槽を用いて大量かつ均一なダイズの成熟不定胚誘導に成功したことを報告した(間宮ら, 2017, 2018)。その際に用いた材料は、不定胚誘導の報告例の多い米国品種「Jack」であった。今回、日本品種でも袋型培養槽を用いて成熟不定胚を大量に作る事ができたので報告する。

平賀ら(2007)の報告で、日本品種の不定胚誘導能を比較しており、その中から不定胚誘導能が高いと考えられる、「ユウヅル」と「ゆめゆたか」を材料として用いた。培地及び培養条件は、「ダイズの形質転換プロトコル」(高木ら, 形質転換プロトコル【植物編】, 2012)及び演者らがこれまでに発表したものである。温室で栽培した個体から得られた未熟種子子葉から誘導した球状胚を総容量 100~500 mL の三角フラスコで維持・増殖した後に、総容量 8 L の袋型培養槽に 5 L の成熟不定胚誘導用培地を分注して植え付けた。その結果、品種「ユウヅル」で 3 週間後に袋型培養槽で大量かつ均一な成熟不定胚を回収することができた。

2Aa-06

植物ホルモンを添加しない組織培養での分化誘導系の構築と利用

Construction and application of the differentiation regulation system in tissue culture without the use of hormonal treatment

井川 智子^{1,2}, 佐藤 優加¹, 小山 翔平¹, Berbudi Bintang Pratama¹, 菱田 蒼¹, 小林 天音³, 是久 紫郎¹, 井上 翔太¹

¹千葉大・院園芸, ²千葉大・植物分子科学センター, ³千葉大・園芸

植物の分化全能性は 1950 年代に証明され、これは培養培地への植物ホルモン添加によって達成された。それから約 70 年経った現在でも、植物細胞の人工的な分化制御は外生ホルモン処理による誘導法が主流である。遺伝子導入やゲノム編集といったバイオテクノロジーによってゲノムを改変した細胞から植物体を創り出すためには、対象の植物種ごとに細胞から個体を分化させる系を構築することも必要である。

近年、植物の胚発生や形態形成を制御する遺伝子 (Developmental Regulator; DR) がいくつか機能同定されており、DR の過剰発現による体細胞組織からの分化誘導技術も報告されてきている。当研究室でもシロイヌナズナ由来の 2 種類の DR について、ある制御下で発現させる遺伝子発現カセットを構築し、タバコ葉片細胞へ導入した結果、ホルモンフリー培地での培養中にタバコ組換え細胞からの自発的な脱分化・再分化反応が観察された。この分化反応の背景となる内生ホルモンの変化と遺伝子発現を解析した。また、この分化誘導系他植物種での効果の検証や、新たな発現制御法の構築を試みている。本大会ではこれまでに得られた成果と、現在の研究の進捗内容について紹介する。

2Aa-07

高速型ミオシン XI-2 導入カメリナの特設網室における種子バイオマス収量の評価

Evaluation of seed biomass yield of transgenic camelina harboring with high-speed chimeric myosin XI-2 in the special netted-house cultivation

高野 俊介¹, 中鉢 友彰¹, 富永 基樹², 伊藤 光二³, 小口 太一^{4,5}

¹筑波大・院・生物資源科学学位プログラム, ²早稲田大・教育・総合科学学術院, ³千葉大・院・理, ⁴筑波大・生命環境系, ⁵筑波大・T-PIRC

植物細胞の原形質流動は、オルガネラに結合したミオシン XI がアクチン繊維上を一定方向に移動することにより生じ、ミオシン XI の N 末のモータードメインが原形質流動速度を規定している。また、シロイヌナズナ由来のミオシン XI-2 のモータードメインのみを生物界最速であるシャジクモミオシンのモータードメインに置換した高速型ミオシン XI-2 を導入したシロイヌナズナでは、原形質流動速度の高速化、及び植物サイズの大型化がみられた。そこで、欧州や中央アジアを原産とするアブラナ科の油糧作物であるカメリナ (*Camelina sativa* L.) に本高速型ミオシン XI-2 を導入した組換えカメリナが先行研究で作出し、実験室内での栽培試験により、種子収量が増加することを報告している。本研究では、実験室よりも実用栽培条件に近い特設網室で栽培栽培し、高速型ミオシン XI-2 導入組換えカメリナの種子収量を評価した。栽培時期及び施肥方法を変えた 2 回の特設網室での栽培試験の結果、高速型ミオシン XI-2 導入組換えカメリナ 1 系統において、対照非組換え体よりも個体あたりの総種子重量が大きいことを確認した。種子収量が増加した組換え系統の 100 粒重は対照非組換え体との間で有意な違いがなく、また、個体あたりの短角果数は対照よりもむしろ少なかった。一方、短角果あたりの種子数は、対照非組換え体の 1.47~1.56 倍に有意に増加した。これらの結果から、原形質流動速度は植物のシンク能の決定に関与している可能性が示唆された。現在、種子の栄養成分分析を進めており、その結果も併せて報告する。

2Ba-01

シロイヌナズナ野生系統の Lch-0 は、*SALT* 遺伝子の欠損により耐塩性を獲得する

Mutation in *SALT* gene improves salt tolerance of *Arabidopsis thaliana*

梶野 拓磨¹, 内山 佳織¹, 有賀 裕剛², 長谷 純宏³, 堀江 智明⁴, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹

¹東京農大・バイオ, ²農研・遺伝資源研究センター, ³量研高崎量子応用研究所・放射線生物応用研究部, ⁴信州大・応生

モデル植物であるシロイヌナズナは世界中に 2000 を超える野生系統が存在し、様々な表現型に多様性が見られる。先行研究により、シロイヌナズナ野生系統、280 系統の耐塩性を評価したところ、耐塩性にも大きな多様性が見られた。Genome-wide association study (GWAS) により、その耐塩性評価と相関を示す SNPs の検出を試みたものの、原因遺伝子座の特定には至らず、耐塩性には複数遺伝子座の関与が示唆された。そこで、その中でも特に高い耐塩性を示す Lch-0 に着目し、耐塩性メカニズムの解析を行った。実験系統である Col-0 はシロイヌナズナ野生系統間において塩高感受性の表現型を示す系統である一方、Lch-0 は海水と同程度の塩濃度にも耐性を示し、その耐性はシロイヌナズナ近縁の塩生植物である *Eutrema salsugineum* と同程度という驚くべき耐性を示した。また Lch-0 の浸透圧耐性はシロイヌナズナ野生系統間においてそれほど高くない程度である一方、LiCl には高い耐性を示したことから、Lch-0 は特にイオンストレスに対して高い耐性を示すことが明らかとなった。さらには、塩ストレス下において、Lch-0 は Col-0 と比較して地上部の Na⁺含量が低く抑えられていたことから、Lch-0 の耐塩性は Na の取り込み抑制が一因であることが示唆された。Col-0 と Lch-0 の F2 および Lch-0 を Col-0 に 5 回掛け戻した (BC5F3) Near Isogenic Line (NILs) を用いた遺伝学的解析により、Lch-0 の耐塩性を決める *SALT* 遺伝子座を 64kb に絞り込むことに成功した。当該領域においてゲノムシーケンスを実施したところ、Lch-0 では *SALT* 遺伝子に数百 bp の塩基挿入が生じ、遺伝子としての機能を欠損することで耐塩性を獲得していることが示唆された。

2Ba-02

シロイヌナズナ野生系統間に見られる浸透圧耐性多様性機構の解析

Genetic Analyses of natural variation in osmotolerance among *Arabidopsis thaliana* accessions

村越 祐介¹, 番場 康介¹, 平野 貴大¹, 有賀 裕剛², 田中 啓介³, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹

¹東京農大・バイオ, ²農研機構・遺伝資源, ³東京農大・ゲノムセンター

モデル植物であるシロイヌナズナは、世界中に広く分布している。我々は、塩馴化後浸透圧耐性がシロイヌナズナに広く存在することを見出し、この塩馴化後浸透圧耐性の多様性を決定する遺伝子として、ACQOS 遺伝子を同定した。シロイヌナズナの ACQOS 遺伝子座は 5 つのハプログループに大別できるが、ACQOS 遺伝子をもつ野生系統のみが塩馴化後浸透圧耐性を示さないことがわかった。一方、他のハプロタイプに分類される系統間においては、浸透圧ストレス耐性に多様性が見られたことから、ACQOS 遺伝子以外にもシロイヌナズナ野生系統間の浸透圧耐性の多様性に寄与する遺伝子座が存在すると示唆された。そこで本研究では、シロイヌナズナ系統間の浸透圧耐性制御機構の解明を目的に、ACQOS 遺伝子を持たない数百のシロイヌナズナ野生系統を用いて塩馴化を介さない浸透圧ストレス耐性を評価した。その結果、これらのシロイヌナズナ野生系統間にも耐塩性の大きな多様性が認められた。そこで、ACQOS を持たないにもかかわらず、ACQOS を有する Col-0 と同程度の浸透圧高感受性を示す Tsu-0 と、逆に高い浸透圧耐性を示した Kos-2 に着目し、二系統間の浸透圧耐性の違いに寄与する遺伝子座の同定を試みた。その結果、Tsu-0 の浸透圧高感受性と連鎖する Osmo-sensitive (OSMOS) 遺伝子座 200kbp 内、6 遺伝子に絞りに絞込むことに成功した。現在、この 6 の候補遺伝子について、浸透圧耐性との関係を調べている。

2Ba-03

シロイヌナズナの様々な非生物ストレス耐性に寄与する AOD12 遺伝子の機能解析

Functional analysis of AOD12 gene contributing to various abiotic stress tolerances in *Arabidopsis*

小林 晃也¹, 金盛 一起¹, 日出間 純², 田中 啓介³, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹

¹東京農大・バイオ, ²東北大学・大学院生命科学研究所, ³東京農大・ゲノムセンター

先行研究により、耐塩性を示すシロイヌナズナ accession は、生育に影響を及ぼさない程度の塩ストレスを一定期間経ることで、高い浸透圧に耐性を示す、「塩馴化後浸透圧耐性」に優れていることが明らかとなった。これまでにこの耐性の有無に寄与する遺伝子の同定に成功したが、そのメカニズムは不明である。この耐性メカニズムに寄与する遺伝子の同定を目的に、塩馴化後浸透圧耐性 accession である Bu-5 の種子に変異処理を施し、塩馴化後浸透圧耐性欠損変異株 *aquired osmotolerance defective12* (*aod12*) を獲得した。様々な非生物ストレス耐性評価を行ったところ、*aod12* は野生株と比較して、塩馴化後浸透圧ストレスのみならず、塩や高温ストレスにも感受性を示した。*aod12* の原因遺伝子を同定するために、遺伝子マッピングとゲノムシーケンスを行った結果、マッピング領域内にアミノ酸の非同義置換を伴う変異を 1 遺伝子だけに検出した。そこで野生株の当該遺伝子領域をクローニングし、*aod12* に導入したところ、塩馴化後浸透圧耐性が回復したことから、当該遺伝子が原因遺伝子、AOD12 であることが示唆された。当該遺伝子は「転写」と「DNA 修復」の 2 つの機能に関わることが報告されている。*aod12* における浸透圧応答マーカー遺伝子の発現量を確認したところ、野生株と優位な差は認められなかったことから、浸透圧応答に関わる遺伝子の転写には影響しないことが示唆された。一方、DNA 損傷剤を処理したところ、*aod12* は野生株と比べて高感受性を示したことから、*aod12* は DNA 修復機能が欠損していることが示唆された。以上より、*aod12* は DNA 修復機能欠損により、浸透圧・塩・高温ストレス耐性を損なうと考えられた。

2Ba-04

シロイヌナズナの短期高温ストレス耐性に関する解析

Analysis of short-term heat stress tolerance in Arabidopsis

柳原 美来, 植木 真生, 四井 いずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭

東京農大・バイオ

先行研究において、約 100 のシロイヌナズナ野生系統を短期高温耐性試験 (42°C, 50 分) に供したところ、その耐性には大きな多様性が観察され、Ty-0 など高い短期高温耐性を示す系統が存在する一方、実験系統の Col-0 はこれらの中で高感受性を示すことが明らかとなった。短期高温ストレス応答においては、HsfA1s を起点とするドラスティックな転写制御が知られており、HsfA1 を含む一部の転写因子過剰発現体が短期高温耐性を向上させることが知られているものの、Ty-0 などの野生系統が耐性を示すメカニズムや、短期高温耐性を向上させる因子についての知見は限られている。そこでシロイヌナズナの短期高温耐性メカニズムの解明を目的に、Ty-0 と Col-0 間における短期高温耐性の違いを生み出す遺伝子座の絞り込み、さらに Col-0 種子に EMS 処理による突然変異を誘導し、その M2 種子を用いて短期高温耐性獲得変異株、*s-heat tolerant (sheat)* 変異株のスクリーニングを行った。*sheat* 変異株については、これまでに *sheat1, 2, 3* の単離に成功した。これらの *sheat* 変異株について長期的な高温ストレスに対する耐性を調べたところ、いずれも野生株と比較して同程度であった。さらに、塩、浸透圧ストレスに対する耐性試験に供したところ、いずれも野生株と比較して有意な差は認められなかったことから、短期高温耐性が特異的に欠損した変異株であることが示唆された。現在、これらの原因遺伝子を特定するための遺伝学的解析を進めている。

2Ba-05

演題取り下げ

2Ba-06

シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh1* の原因遺伝子同定

Analyses of *sensitive to long term heat1* (*sloh1*) mutant of *Arabidopsis thaliana*

山口 凌¹, 田中 啓介², 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹

¹東京農大・バイオ, ²東京農大・ゲノムセンター

植物が被る高温ストレスには、短期的な高温ストレスを受ける場合と長期的な高温ストレスを受ける場合が考えられる。先行研究において、シロイヌナズナ 98 accession を用いて短期、および長期高温ストレスに対する耐性評価を行なった結果、短期高温ストレスに耐性を示す accession が必ずしも長期高温ストレスに耐性を示さないことが確認された。このことから、短期高温と長期高温に対する耐性機構が異なることが示唆された。そこで、未だ不明な点が多い長期高温耐性メカニズムの解明を目的とし、シロイヌナズナ accession 間で比較的耐性を示した Col-0 種子に EMS による突然変異処理を行い、長期高温感受性変異株 *sensitive to long-term heat* (*sloh*) を獲得してきた。これまでの解析により、いくつかの *sloh* 変異株の原因遺伝子が明らかとなり、長期高温ストレス下において、正確なスプライシング維持、ミトコンドリアの機能維持、ER ストレスの亢進抑制が重要であることが明らかとなってきた。*sloh1* においては、様々な非生物ストレス耐性を調べたところ、短期高温、酸化ストレス耐性については野生株と同程度であったものの、浸透圧、塩ストレスに対しては野生株と比較して高感受性を示した。*sloh1* の原因遺伝子を同定するため、Col-0 と同程度の長期高温耐性を示す Da(1)-12 と *sloh1* との交雑により得られた F2 個体を用いて遺伝子マッピングを行なった。その結果、第三染色体下腕部に低い組換え価が得られ、この領域内のゲノムシーケンスの結果から *sloh1* の原因遺伝子の候補を見出した。

2Ba-07

硫黄欠乏応答遺伝子の植物種間比較機能解析

Functional analysis of sulfur deficiency responsive genes in plants

家田 愛菜, 峠 隆之, 渡邊 むつみ

奈良先端大・先端科学技術

植物において、硫黄はアミノ酸のシステインやメチオニン、グルタチオンおよび含硫二次代謝物などの重要な代謝物の産生に必要な元素である。近年、土壌中の硫黄濃度低下による作物の生育障害や品質低下が問題となっており、植物代謝の硫黄欠乏適応機構の解明が重要視されている。モデル植物シロイヌナズナの研究において、硫黄欠乏応答遺伝子のひとつである *AtSDI* (*Sulfur Deficiency-Induced*) がコードする SDI タンパク質は、含硫二次代謝物グルコシノレート (GSL) 生合成のリプレッサーとして機能することが明らかとなった。一方で、GSL を産生しない作物種でも *AtSDI* オルソログ遺伝子が硫黄欠乏応答することが報告されているが、これらの *SDI* オルソログ遺伝子の機能は明らかとなっていない。そこで本研究は、ダイズ、トマト、イネなどの作物種における *SDI* オルソログ遺伝子の機能解明を目的とし、植物体内での機能比較および比較ゲノム配列解析を行い、植物種間における *SDI* 遺伝子群の機能保存性および機能分化の研究を計画した。実験は、それぞれの作物種について、硫黄欠乏下での表現型解析、遺伝子発現応答解析、代謝物変動解析を実施した。その結果、全ての植物種において *SDI* オルソログ遺伝子の発現上昇が観察されたことに加え、各植物で異なる代謝物の変動が確認された。また、シロイヌナズナを用いた *SDI* オルソログ遺伝子の過剰発現体では特定の代謝物変動が観察された。本発表では、硫黄欠乏時の *SDI* オルソログ遺伝子の発現上昇と代謝物変動の結果および、それぞれ作物種の *SDI* オルソログ遺伝子の機能について議論する。

2Ba-08

温帯性イネ科ミナトカモジグサにおける環境ストレス応答遺伝子 *SnRK2.2* と *SnRK2.9* の機能解析

Functional analysis of the stress-responsive genes *SnRK2.2* and *SnRK2.9* in the temperate grass *Brachypodium distachyon*

鷹見 優¹, 中村 愉太², 高内 滯奈², 後藤 未羽¹, 日渡 祐二^{1,2}

¹宮城大・院・食産業, ²宮城大・食産業

植物に固有なキナーゼである SNF1-related protein kinase2 遺伝子 (*SnRK2*) は、環境ストレス応答のシグナル伝達経路において中心的な役割を持つ。*SnRK2* は、3つの subclass (I, II, III) に分類され、subclass I は ABA 非依存的、subclass III は ABA 依存的に機能するため、個々の *SnRK2* は特異的なシグナル伝達を介して様々な環境ストレスに応答している。温帯性イネ科穀類のモデル植物ミナトカモジグサは 10 個の *SnRK2* を持つが、それぞれの *SnRK2* がどのような環境ストレス応答に関与するかは不明である。そこで、私達はミナトカモジグサの環境ストレス応答を理解するために、*SnRK2* の機能を網羅的に明らかにすることを試みている。今回は、低温ストレスに対する *SnRK2* の役割を明らかにするために、subclass II の *SnRK2.2*、subclass III の *SnRK2.9* のゲノム編集個体を作成し、低温時の表現型を解析した。

CRISPR9/Cas9 法によって、コード領域に欠失変異あるいは挿入変異をホモ接合性として持つ *SnRK2.2* 機能欠失個体と *SnRK2.9* 機能欠失個体が作出された。これらの個体について、10°C の低温環境下で育成し表現型を解析したところ、野生型に比べて生育が遅延することがわかった。この結果から、*SnRK2.2*、*SnRK2.9* のどちらも低温環境下での植物の成長を制御していると考えられる。これらの機能欠失個体について、ABA を投与した個体の表現型解析を行っており、その結果も併せて報告する。

2Ca-01

シコニン・アルカニン誘導体生合成に関わるアシル基転移酵素の機能比較

Comparison of the acyltransferases involved in the biosynthesis of shikonin/alkannin derivatives

押切 春佳¹, 李 豪², 山本 浩文³, 矢崎 一史², 高梨 功次郎¹

¹信州大・院総合医理工, ²京大・生存研, ³東洋大・生命科学

一部のムラサキ科植物は、根において高生理活性物質のシコニンおよびその鏡像異性体のアルカニンを生産する。シコニンおよびアルカニンは多様な短鎖分岐鎖アシル基を有する脂肪酸エステルとして検出され、これら誘導体の組成は植物種間で異なる。我々はこれまでにムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) において、シコニンおよびアルカニン特異的なアシル基転移酵素である LeSAT1 および LeAAT1 の機能を明らかにした¹⁾。本研究では、ムラサキ科植物におけるシコニン・アルカニン誘導体の多様性創出に、シコニン・アルカニンアシル基転移酵素の機能多様化が寄与していると推測し、機能比較を行った。

ムラサキ科植物 6 種から得た LeSAT1 および LeAAT1 のホモログ計 23 分子種の機能解析を行った。これらのうち 15 分子種がシコニンもしくはアルカニンのいずれかに特異的なアシル基転移活性を有し、アシル基供与体特異性および細胞内局在の違いから 2 タイプの SAT (SAT1 と SAT2) と、同じく 2 タイプの AAT (AAT1 と AAT2) がそれぞれ存在することを明らかにした。これらの酵素機能は植物種間でタイプごとに保存されており、シコニン・アルカニンのアシル誘導体の組成の違いとの関連は認められなかった。以上のことから、①4 タイプのアシル基転移酵素が機能分担してシコニン・アルカニン誘導体生合成に寄与しているが、②シコニン・アルカニン誘導体組成の種間差にはアシル基転移酵素に加えて別の要因が関与していることがそれぞれ示唆された。

1. Oshikiri et al., Plant Physiology (2020) 184: 753-761.

2Ca-02

紫キャベツにおけるアントシアニンアシル化酵素遺伝子の探索

Search for the gene encoding anthocyanin acyltransferase in red cabbage

本田 佳留奈¹, 西崎 雄三², 佐々木 伸大^{1,3}

¹大府大・院生環応生, ²国立医薬品食品衛生研究所, ³大公大・農・応生

紫キャベツ (*Brassica oleracea* var. *capitata*) のアントシアニンは安定性が高く、食品添加物用天然色素としてよく利用されている。紫キャベツの主要色素はシアニン-3-ジグルコシド-5-グルコシド (Cy3dG5G) に1つまたは2つの芳香族有機酸が結合したアシル化アントシアニンで構成されており、これら芳香族有機酸が安定性に寄与していると考えられている。本研究室では紫キャベツのアントシアニンの生合成経路の解明研究を行っており、これまでにシアニンからCy3dG5Gまでのグルコース修飾反応を明らかにした。本発表ではその後の反応であるCy3dG5Gへのアシル基転移反応を触媒する酵素をコードする遺伝子の探索を行った。アントシアニンアシル転移酵素 (AAT) 候補遺伝子を獲得するために、紫キャベツと緑のキャベツの葉からRNAを抽出し、RNA-seq解析を行った。獲得した約13万のcontig配列について、相同性検索や発現量解析を行った。AATについては、アシル基供与体にacyl-CoAを用いるBAHD型とacyl-glucoseを用いるserine carboxypeptidase-like (SCPL)型の2種類の酵素が知られている。そこで、RNA-seqデータを用いてアノテーション情報からAAT相同遺伝子の検索を行った。さらに紫キャベツで特異的に発現している配列に注目したところ、BAHD型は1種類、SCPL型は11種類のcontigが候補遺伝子として獲得された。現在、アシル基の受容体となるCy3dG5Gを紫キャベツ葉から抽出・精製を行っており、今後どのような酵素がアントシアニンのアシル基転移反応に関与しているか解明していく予定である。

2Ca-03

特異なN末端配列を有するサボジラ (*Manilkara zapota*) 由来 *trans*-1,4-ポリイソプレン合成酵素 MztPT2 の酵素機能解析

Enzymatic characterization of a *trans*-prenyltransferase from *Manilkara zapota* MztPT2 with a unique N-terminal extension

井澤 大輔¹, 三輪 幸祐¹, 廣森 美樹¹, 青木 裕一², 和氣 駿之¹, 小島 幸治¹, 山口 晴彦⁴, 宮城 ゆき乃⁴, 山下 哲³, 戸澤 譲⁵, 中山 亨¹, 高橋 征司¹

¹東北大・院工, ²東北大・東北メディカルメガバンク, ³金沢大・院自然科学, ⁴住友ゴム工業(株), ⁵埼玉大・院理工

自然界には構造の異なる二種類のイソプレノイドポリマーが存在する。cis-1,4-ポリイソプレン (cis-PI) を主骨格とするものは一般に天然ゴムと呼ばれるのに対し、trans-1,4-ポリイソプレノン (trans-PI) を主骨格とするものは弾性を示さず、硬質な熱可塑性樹脂として工業利用されている。trans-PIの生合成機構は不明な点が多いが、その基本骨格から、trans型プレニルトランスフェラーゼ (tPT) の一種により生合成されると考えられていた。しかし、その実証には至っていなかった。近年我々は、サボジラ (*Manilkara zapota*) 由来のtPT (MztPT2) が分子量10⁴を中心としたポリイソプレノイドの合成活性を有することを明らかにした。この酵素のN末端には、既知のtPTには無い約160アミノ酸からなる付加配列が存在する。本発表では、この付加配列の機能的意義の解明を行った。

MztPT2の構造モデルから、N末端領域は複数の両親媒性ヘリックスを含むことが示唆された。ベンサミアナタバコを利用した細胞内局在性解析の結果、このN末端配列はMztPT2の小胞体局在に寄与することが示された。酵素機能への影響を解明するために、全長配列及びN末端側欠失シリーズをHis6タグ融合型として大腸菌で異種発現させたところ、全長では発現レベルが極めて低いのにに対し、N末端34残基欠失で不溶性タンパク質としてわずかに発現するようになった。さらにN末端を欠失させることで発現レベルや酵素の可溶性が向上した。精製可能であった各種N末端欠失酵素について、速度論解析と反応生成物の鎖長分布の比較解析を行い、特異なN末端領域の酵素活性への影響を考察した。

2Ca-04

ベニバナ (*Carthamus tinctorius* L.) 由来フラボノイド 6 位水酸化酵素の機能解析

Functional analyses of flavonoid 6-hydroxylase from safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

佐野 友哉¹, 和氣 駿之¹, 沼野井 一輝¹, 藤田 直樹², 蝦名 宏佑², 福田 敬志², 加藤 幹也², 根岸 尚志³, 内田 弘美², 青木 裕一⁴, 高橋 征司¹, 中山 亨¹

¹東北大・院工, ²東洋インキSCホールディングス(株), ³トーヨーケム(株), ⁴東北大学東北メディカル・メガバンク機構

キノカルコン C-配糖体類 (QCGs) はベニバナ (*Carthamus tinctorius* L.) 花卉に特異的に蓄積するフラボノイド化合物であり, 黄色・紅色色素などとして古くから利用されてきた。しかし, その生合成経路は未だほとんど明らかにされていない。QCGs に特徴的な構造の一つとして A 環の 4 位水酸基が挙げられる。この位置は一般的なフラボノイドの 6 位と相同な位置であることから, QCGs の生合成にはフラボノイド 6 位水酸化酵素 (F6H) の寄与が想定されている。近年, キク科特異的な CYP706X サブファミリーに属するシトクロム P450 が Apigenin の 6 位を水酸化することが報告され, その中でベニバナの CtCYP706X も同定された (X. Liu, *et al*, *Nat. Commun.*, 2018)。本研究では, QCGs 生合成経路の解明を目的として CtCYP706X の詳細な酵素機能解析を行った。CtCYP706X とダイズ (*Glycine max*) 由来シトクロム P450 還元酵素を酵母発現用ベクターにそれぞれクローニングし, 出芽酵母で異種発現させた。各酵母のマイクロソーム画分を調製し, NADPH を電子供与体として各種フラボノイドを反応させ, 生成物を HPLC および LC-MS で分析した。その結果, CtCYP706X はフラボンの他にフラバノン, (ジヒドロ) フラボノールに対しても活性を示した。本発表では, CtCYP706X の局在解析や発現量解析の結果も踏まえ, QCGs 生合成における CtCYP706X の役割を議論する。

2Ca-05

シャクにおけるデオキシポドフィロトキシン合成酵素の機能解析

Functional analysis of *Anthriscus sylvestris* deoxypodophyllotoxin synthase (AsDPS)

小林 慶亮¹, 山村 正臣^{1,2}, 三上文三¹, 白石 慧³, 佐竹 炎³, 小埜 栄一郎⁴, 梅澤 俊明^{1,5}

¹京大生存研, ²徳大院社, ³(公財)サントリー生命科学財団, ⁴サントリーグローバルイノベーションセンター(株), ⁵京大生存基盤

リグナン的一种であるポドフィロトキシンは抗がん剤の原料として用いられている。近年, 発表者らはシャク (*Anthriscus sylvestris*) から同化合物の前駆体であるヤテインをデオキシポドフィロトキシンへと触媒するデオキシポドフィロトキシン合成酵素 (AsDPS) 遺伝子を同定し, さらに AsDPS が(-)-ヤテインに対してのみ酵素活性を有することを報告した。一方, 同反応を触媒するヒマラヤハッカクレン (*Podophyllum hexandrum*) の DPS (PhDPS) は基質の両エナンチオマーに対し酵素活性を有することが報告されている。しかし, これら基質のエナンチオマーに対する選択性の違いを生む機構については解明されていない。

Alpha-Fold2 を用い作出した AsDPS の分子モデルと PhDPS の結晶構造 (PDB code 7E38) との比較により, 基質のエナンチオマーの認識に寄与する可能性のあるアミノ酸残基 Tyr305 を見出した。見出した Y305 を PhDPS の対応するアミノ酸残基 Leu に置換した AsDPS_Y305L を調製し, 酵素活性測定を行った。予想に反し, AsDPS_Y305L は基質のいずれのエナンチオマーに対しても酵素活性を示さなかった。次に Y305 の芳香環及びフェノール性ヒドロキシ基の影響を検証するため, AsDPS_Y305F 及び AsDPS_Y305A を調製した。酵素反応の結果, AsDPS_Y305F のみ AsDPS と同等の触媒効率を有することが示された。以上の結果から AsDPS と PhDPS とは活性部位の構造が僅かに異なり, AsDPS の Tyr305 の芳香環が DPS 活性に重要であることが示唆された。

2Ca-06

モミジバダイオウからの植物二次代謝糖転移酵素の単離とアントラキノン配糖化活性

Isolation and Characterization of Plant Secondary Product Glycosyltransferases from *Rheum palmatum*

吉野 蒼生, 牧野 利明, 寺坂 和祥

名市大・院薬

モミジバダイオウ (*Rheum palmatum*) には、様々なアントラキノン類が含まれており、それらは瀉下薬としての有効成分として知られている。植物においてアントラキノン類はアグリコンとしてだけでなく配糖体としても存在しているが、その生合成を担う特異的な糖転移酵素はこれまで明らかになっていなかった。本研究では、モミジバダイオウから植物二次代謝糖転移酵素の網羅的な探索を行い、アントラキノン配糖化活性に着目して機能解析を行った。

最初にモミジバダイオウの葉と地下部（根茎および根）を用いて RNA-seq 解析を行った。そのデータから以前に単離していた植物二次代謝糖転移酵素とは異なる新たな分子種を見出し、11 分子種 (RpUGT4-14) の全長 cDNA を単離した。続いて、大腸菌発現系を利用して組換え酵素として発現させ、得られた粗酵素液を用いて、アントラキノンおよびスチルベン、フラボノイドを基質として、配糖化活性を解析した。その結果、RpUGT13 と RpUGT14 が emodin に対して顕著な配糖化活性を示し、RpUGT13 は emodin-6-glucoside を、RpUGT14 は emodin-1-glucoside を生成した。そこで、これらのうち、RpUGT14 について組換え酵素の精製を行い、基質特異性を検討した。その結果、RpUGT14 はアントラキノン類を幅広く配糖化し、特に rhein に対して高い配糖化活性を示し、rhein-8-glucoside を生成した。さらに、RpUGT14 の植物体における遺伝子発現とアントラキノン配糖体の蓄積を解析した結果、RpUGT14 は地下部での発現が高く、アントラキノン配糖体は地下部において多く蓄積していた。これらの結果から、RpUGT14 はモミジバダイオウのアントラキノン配糖体生合成に関与している可能性が示唆された。

2Ca-07

キヌアの苦味サポニン合成酵素遺伝子の探索

Research on biosynthesis of bitter saponins in *Chenopodium quinoa*

鈴木 隼人¹, 菅野 茂夫¹, Jutapat Romsuk¹, 福島 エリオデット²

¹産総研 生物プロセス, ²レヒオナル アマソニカ イキアム大学

近年スーパーフードとして普及したヒユ科擬似穀物キヌアは乾燥地域や土壌塩濃度の高い不良環境でも栽培可能な食糧資源として注目されている。一方で可食部である種子に、植物体の防御に関与し強い苦味を呈する植物特化代謝物サポニンを蓄積するため、苦味サポニン非生産品種の開発が望まれる。ヒユ科のキヌア、ハウレンソウ、ビートが共通して生産する微生物や昆虫に対する防御に関わるサポニンのアグリコンは、 β -アミリン骨格の C23 位と C28 位が酸化されている。キヌアの苦味サポニンのアグリコンは更に C30 位が酸化されているが、その生合成酵素は不明であった。発表者らはキヌア Kd 品種の組織別 RNA-seq 解析を実施し、サポニンを蓄積する組織と蓄積しない組織との間で発現変動遺伝子を抽出した。サポニン高蓄積組織で有意に高発現する酸化酵素遺伝子をクローニングし、タバコ過発現系での機能解析を実施した結果、C30 位が酸化されたと思われる中間代謝物の検出に成功した。加えて、現在研究を進めているアグロバクテリウムを介した形質転換やジェミニウイルスレプリコンベクターを利用した遺伝子高発現など、キヌア苦味サポニン合成酵素遺伝子を in planta で制御するための試みについてもお話ししたい。

2Da-01

ピーナツアレルゲンタンパク質のペプシン消化性と残存エピトープの検出

Pepsin digestibility and detection of residual epitopes of peanut allergenic proteins

寺島 瑞歩¹, 宮原 平¹, 西内 巧², 児玉 浩明¹

¹千葉大学, ²金沢大学

現在、遺伝子組換え作物におけるアレルギー誘発性のリスク評価では人工胃腸液処理試験（以下、消化性テスト）が課されている。代表的なアレルゲンタンパク質であるピーナツの Ara h1 などが消化抵抗性を示すことから、消化性テストは腸管免疫機構への暴露量のリスク評価に用いられている。しかし、非アレルゲンタンパク質でも消化抵抗性を示す例があることや果実由来アレルゲンタンパク質では消化抵抗性が低い例があることから、組換えタンパク質のアレルギー誘発の可能性の評価における消化性テストの妥当性・必要性について議論されている。また、現在、消化性テストとして実施されている SDS-PAGE による残存ペプチド断片の検出ではアレルギー誘発性を示す原因となるエピトープ配列が残っているかどうかは不明である。

本研究ではアレルギー誘発性を有する主要作物の可食部に含まれるタンパク質について消化抵抗性を網羅的に調べ、数値化し、代表的なアレルゲンタンパク質について消化抵抗性を相互に比較できるデータベースを作成することを目標としている。今回、消化抵抗性の評価方法を確立するために、ピーナツアレルゲンタンパク質についてペプシンによる消化状態を SDS-PAGE およびエピトープ配列の残存に着目した LC-MS/MS を用いたショットガンプロテオーム解析を実施した結果について報告する。

2Da-02

魚病防除用ウイルス様粒子（VLP）ワクチンを大量発現する葉緑体形質転換レタス

Transplastomic lettuce overexpressing a virus-like particle (VLP)-based vaccine for fish disease control

平山 美羽¹, 原川 翔伍², 川上 秀昌², 中平 洋一³

¹茨大・院農学, ²愛媛水研セ, ³茨大・農学

養殖業の持続的な発展に欠かせない要素の1つとして魚病防除が挙げられる。近年、ワクチンが魚病対策の中心になりつつあるが、水産用ワクチンの多くは病原体をホルマリン等で処理した“不活化ワクチン”であり、投与法は魚1尾ずつに接種する“注射法”である。しかし、注射型ワクチンには、1) 接種に労力・時間がかかる、2) 魚の卸値に対してワクチンが高価、3) (仔稚魚期の) 小さな魚には接種できない等の課題がある。我々は、葉緑体工学（葉緑体形質転換）を用いて、病原体由来の抗原タンパク質を大量発現する可食性植物を作出し、当該植物の乾燥粉末（または、タンパク質粗抽出液）を餌に混ぜて投与することで高い免疫原性を発揮する「水産用経口ワクチン植物」の開発を進めている。

本研究では、世界規模での蔓延が課題となっている“ウイルス性神経壊死症”を対象に、原因ウイルス（RGNNV）由来のウイルス外殻タンパク質（RGNNV-CP）を発現する葉緑体形質転換レタスを作出した。その結果、レタス緑葉において、RGNNV-CP が（緑葉内で最も豊富に存在する）RbcL と同等のレベルで高発現していることが分かった。緑葉から調製したタンパク質粗抽出液をショ糖密度勾配遠心に供したところ、RGNNV-CP が自己組織化して“ウイルス様粒子（VLP）”を形成している可能性が示唆された。さらに、上記のタンパク質粗抽出液を対象魚（マハタ）に接種したところ、高いウイルス防除効果が認められた。今後は、植物乾燥粉末（または、タンパク質粗抽出液）を餌に混ぜて経口投与した際の免疫原性を確認する予定である。

2Da-03

ニンジンを用いた食中毒に対する食べるワクチンの開発

Development of edible vaccine against food poisoning using carrot

高田 一成¹, 小野 公代², 織田 伽羅¹, 平井 唯子¹, 浅賀 正充², 内海 大知², 細見 晃司², 國澤 純², 保富 康宏², 小野 道之¹

¹筑波大・T-PIRC遺伝子, ²医薬健栄研

近年、低コストで大規模生産が可能であり、動物病原菌の汚染の恐れがないことから、植物を用いた医薬タンパク質の生産の研究が盛んである。植物を用いた食べるワクチンは、注射型のワクチンと比べて簡便な摂取が可能であり、粘膜性免疫と共に全身性免疫も誘導できることなどから期待されている。本研究では、食中毒の原因となる3種の病原体の毒素タンパク質について開発された三価ワクチンのニンジン (*Daucus carota*) による発現を試みた。コレラ菌 (*Vibrio cholerae*) のコレラ毒素 B サブユニット (CTB)、腸管出血性大腸菌 (Shiga toxin-producing *E. coli*) の2型ベロ毒素の B サブユニット (VT2B) 及び、ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) の Enterotoxin の C 末端側 (C-CPE) は毒性を有しないが毒性の発現のために必須である。これらをフレキシブルリンカーを介して接続した融合タンパク質 (三価ワクチン) 遺伝子をアグロバクテリウム植物形質転換用ベクターの CaMV35S プロモーターの下流に組み込んだ。ニンジンへの形質転換は、播種後7日目の胚軸を合成オーキシンの一種である2,4-Dを含むMS培地 (EI培地) で2ヶ月間培養して得られた胚性カルスに対し、アグロバクテリウムを感染させ、2ヶ月後までEI培地、その後はホルモンフリーのMS培地で培養することで個体再生を行い、感染5ヶ月後より順化させて行った。形質転換細胞の選抜はカナマイシン耐性と緑色蛍光タンパク質の発現を指標とした。感染10ヶ月の葉からタンパク質を抽出し、ウエスタンブロッティングにより約40 kDaの目的タンパク質の発現を検出した。今後は、収量の高い系統の選抜と動物の摂食試験等を行う。

2Da-04

ゲノム編集による魅力的な展示スタイルのアサガオ

CRISPRed double mutants in Morning glory for attractive flowering display

小野 公代¹, 山内 花菜¹, 山下 遼¹, 土岐 精一^{2,3}, 遠藤 真咲², 小野 道之¹

¹筑波大・T-PIRC遺伝子, ²農研機構・生物研, ³龍谷大・農

ゲノム編集技術の発展により、標的遺伝子を選んで変異させることが可能になった。アサガオ (*Ipomoea nil*) を用いて我々は、アントシアニン合成酵素遺伝子の欠損による白花化、カロテノイド開裂酵素の欠損による黄色化、萎花のプログラム細胞死のスイッチ転写因子の欠損による二日咲化、光周性形質の変異体等を作製してきた。本発表では、新しい展示スタイルの二重変異体の作出を目指した。伝統的な品種を用いた、枝垂二日咲と、超矮性の作出について報告する。枝垂二日咲には、重力屈性の変異体 (*weeping2*) の原因遺伝子となる転写因子 (SHORT-ROOT1) の変異による枝垂性と、花弁のプログラム細胞死のスイッチとなる転写因子 (EPHEMERAL1) のゲノム編集による二日咲性を組み合わせた。アサガオの花弁は薄いため、二日咲きにすると二日目には花形が崩れる傾向にある。そこで下向きに開花させることで初日と二日目の違いを目立たなくすることを狙った。超矮性としては、ジベレリン合成の変異体キダチの原因遺伝子 (*dwarf*) を同定し、この変異と、渦性 (*contracted*) の原因遺伝子であるブラシノステロイド合成酵素遺伝子の変異を組み合わせた。ゲノム編集は、CRISPR/Cas9 酵素遺伝子と gRNA を搭載したオールインワンベクターの T-DNA をアグロバクテリウムを用いて未熟胚由来の胚性細胞に導入することで行った。その結果、枝垂二日咲では、伝統的な展示方法には無かった藤棚様に仕立てることにより、24時間、多人数で鑑賞できる品種群になった。超矮性では、極端な矮小化に成功した。枝垂二日咲では自殖採種による後代から T-DNA を持たない系統を得て、外来 DNA が残存しないこと等を NGS 解析により解析した。

2Da-05

T7 RNA polymerase-deaminase 融合タンパク質を用いた標的遺伝子変異創生システムの構築

in planta mutagenesis using T7 RNA polymerase-deaminase fusion proteins

遠藤 真咲¹, 横井 彩子¹, 雑賀 啓明¹, 土岐 精一^{1,2,3,4}

¹農研機構・生物研, ²龍谷大・農, ³横浜市立大院・生命ナノ, ⁴横浜市立大・木原生研

CRISPR/Cas9 システムにおいては、複数の gRNA を同時に発現させることにより、複数箇所を同時に編集することが可能である。しかし、ゲノム編集が生じる位置は PAM 配列の近傍に限定され、また標的配列によって変異の入りやすさは大きく異なるため、変異が生じる位置にはバイアスが生じる。我々は、植物の内在標的遺伝子をランダムに改変する *in planta* 変異創生システムの構築を目指し、T7 RNA polymerase と deaminase の融合タンパク質を発現させるゲノム編集実験を開始した。T7 RNA polymerase は大腸菌由来の RNA polymerase であり、T7 promoter 配列の下流を転写する。Prime editing により、変異を導入したい遺伝子の近傍に T7 promoter 配列 18 塩基をノックインしたイネを作出したのち、このイネに対して、T7 RNA polymerase と cytidine deaminase または adenosine deaminase の融合タンパク質発現コンストラクトを形質転換した。本発表では、上記の新規変異創出実験の結果を報告する。

2Da-06

Type I-D CRISPR-Cas, TiD の改良と様々な生物でのゲノム編集技術開発

Improvement and development of TiD genome editing technology in various organisms

刑部 祐里子¹, 和田 直樹², 城所 聡¹, 河岡 明義¹, 刑部 敬史²

¹東工大・生命理工, ²徳島大・生物資源

我々は、これまで、機能同定が進んでいなかった Type I-D CRISPR-Cas (TiD) を用い、新たなゲノム編集技術を構築した (Osakabe et al., 2020 Comm. Biol.; Osakabe et al., 2021 Nuc. Acid. Res.; 特許 JP7017259B2)。TiD は 5 つの Cas タンパク質 (Cas3d, 5d, 6d, 7d, 10d) によって構成され、Cas10d が DNA 切断を担うこと、また、Cas3d が Cas10d とともにヘリカーゼ機能を担うことを示した。また、TiD は GTT, GTC, GTA を PAM として認識し、35-36 塩基長の gRNA 標的配列への変異導入活性を有する。このことは、20 bp 程度の Cas9 などの既存技術よりも、非常に高い特異性を持つことを示している。全ゲノムに対するオフターゲット候補配列数の解析より、全ゲノムレベルで大きく低下すること、標的によってはオフターゲット配列は見出されないことを示した。ヒトあるいはトマトゲノム上の遺伝子に対して、それぞれの内在性の遺伝子を標的とした gRNA 標的配列をもつ TiD を用いてゲノム編集活性を解析した結果、いずれの生物ゲノムに対しても、TiD は小さな挿入・欠失に加え、数十 kb 程度の長鎖欠失を誘導することを示した。以上の結果は、TiD が既存の技術とは異なるユニークなゲノム編集活性をもっていることを示しており、オフターゲット変異のリスクを大きく抑制できる技術として期待できる。我々は最近、非常に高い活性を持つ改変型 TiD-X の構築に成功した。TiD-X を植物をはじめ、様々な生物の遺伝子機能改変に活用するため、多様な標的への最適化、種々のエフェクターツールなどの開発、簡便なノックアウト体あるいは系統単離法や長鎖欠失の応用実証を行っており、高効率 TiD-X ゲノム編集プラットフォーム構築を進めている。

2Da-07

遺伝子移行機構を利用したミトコンドリア形質転換へ向けて

A pilot study for mitochondrial transformation by utilizing gene transfer from chloroplasts to mitochondria

小田原 真樹¹, 森 真愛¹, 沼田 圭司^{1,2}

¹理研CSRS, ²京大・院工学

被子植物のミトコンドリアゲノムには葉緑体 DNA の挿入が頻繁に観察される。これは葉緑体からミトコンドリアへの遺伝子移行機構の存在を示唆するが、その機構は未だ明らかにされていない。本研究では、タバコ葉緑体ゲノムに挿入した遺伝子のミトコンドリアゲノムへの移行を検証することにより、葉緑体からミトコンドリアへの遺伝子移行が現在進行中であるか明らかにすると同時に、この移行機構を利用したミトコンドリアの形質転換を試みた。sulfadiazine はミトコンドリアに内在する葉酸合成に関わる dihydropteroate synthase (DHPS) の阻害剤であり、sulfadiazine 耐性のバクテリア由来 DHPS である *sul* マーカー遺伝子と組み合わせることによるミトコンドリア形質転換の選抜系として提案されている (Tabatabaei et al., 2019)。*sul* を葉緑体ゲノムに導入し、さらに葉緑体に移行した *sul* がミトコンドリアゲノムの特定の箇所に挿入されるようにミトコンドリアゲノムの相同配列 (1 kb 程度) を *sul* の両端に配置した株を構築した。構築した株の *sul* 発現量は 45°C の熱処理によって上昇することが明らかになり、壊れた葉緑体から漏れ出た DNA がミトコンドリアに取り込まれたと考えられる。この株を用いた sulfadiazine 選抜条件下で、わずかに sulfadiazine 耐性を示すシュートが複数得られた。PCR-RFLP とディープシーケンシングによる解析を行った結果、これらの株のミトコンドリアゲノムには約 0.03% と低い割合ながら葉緑体由来の *sul* が挿入されていた。これらの結果から、葉緑体からミトコンドリアへの遺伝子移行を利用したミトコンドリア形質転換に関して考察する。

2Da-08

農業・食品分野におけるゲノム編集技術の国民理解醸成に向けた活動の現状

Current status of activities for promoting public understanding of genome editing technology in the fields of agriculture and food

高原 学¹, 中野 善公^{1,2}, 森山 力^{1,3}, 大田 方人¹, 赤羽 幾子¹, 西山 哲史⁴, 立花 智子⁴, 中嶋 香織⁴, 藤井 毅⁵

¹農研機構 企画戦略本部 新技術対策課, ²農研機構 野花研, ³福島国際研究教育機構, ⁴(株)リバネス, ⁵JATAFF

農業・食品分野におけるゲノム編集技術の利用について、わが国では 2020 年～2021 年にかけて、GABA 高蓄積トマト・肉厚マダイ・高成長トラフグが農林水産省と厚生労働省への情報提供/届出を経て上市された。さらに研究利用としても、天然毒素を低減したバレイショ・フロリゲン遺伝子を改変したイネ・穂発芽耐性コムギ・開花期や概日時計を改変したイネの文部科学省への情報提供がこれまでに行われ、野外栽培試験が行われている。ゲノム編集技術を利用した農作物や食品の開発は着実に進められているが、これらが社会に受け入れられ、定着していくためには、消費者をはじめとする様々なステークホルダーの理解が欠かせない。

我々は、農業・食品分野におけるゲノム編集の理解醸成に向けて、情報発信ウェブサイト「バイオステーション」(<https://bio-sta.jp/>) を 2019 年に開設し、正確で分かりやすい情報に努めてきた。バイオステーションの利用者は着実に増加し、2021 年には月間ユーザー数が 2 万人を突破し、その後も月間約 1～2 万人で推移している。また、小～中学生向けコンテンツ「バイオキッズ」を新設するなど、サイトの更新に努めてきた。さらに教育面では、青少年層の科学リテラシー向上を目指し、ゲノム編集をテーマとした中学・高校で利用される教育プログラム (教材等) を新たに開発し、実践を進めてきた。これらの最近の動向と今後の見通しについて報告する。

なお、本発表の一部は、内閣府 戦略的イノベーション創造プログラム (SIP) 「スマートバイオ産業・農業基盤技術」によって実施された。

P-01

植物スフィンゴ脂質の糖鎖を切断するホスホリパーゼの解析

Analysis of Phospholipases that Cleave Glycans on Plant Sphingolipids

近藤 雄大¹, Rumana Yesmin Hasi², 田中 保², 今井 博之³, 山口 雅利¹, 川合 真紀¹, 石川 寿樹¹

¹埼玉大・院理工, ²徳島大・院社会産業理工, ³甲南大・理工

スフィンゴ脂質はセラミド疎水骨格に糖やリン酸から成る親水部が付加された複合脂質であり、真核生物の細胞膜に広く存在する。Glycosylinositolphosphoceramide (GIPC) は植物に最も多く含まれるスフィンゴ脂質クラスであり、リン酸イノシトールと数残基の糖が付加された親水部をもつ。最近、GIPC のリン酸-イノシトール間を切断するホスホリパーゼ D (GIPC-PLD) として、ダイコンの Nonspecific phospholipase C3 (NPC3) が同定された。しかし、NPC はグリセロリン脂質のリン酸-疎水部間を切断するホスホリパーゼ C (PLC) として知られており、GIPC-PLD 活性をもつことは全く知られていなかった。そこで本研究では、ダイコンと同じアブラナ科のシロイヌナズナに存在する 6 つの NPC ファミリーが GIPC 分解活性をもつのか、またその切断位置を同定することを目的とした。大腸菌で発現させた組換え NPC を GIPC に作用させて生じる分解産物を解析した結果、6 つの NPC のうち、NPC3、NPC4、NPC5 は、GIPC を分解し、ファイトセラミド-1-リン酸 (PC1P) を生じる GIPC-PLD 活性をもつことが分かった。これらの NPC の植物体内での特性を検証するため、T-DNA 挿入変異体の葉における GIPC の分解活性を解析した結果、*npc3* では PC1P の生成量が野生型より有意に減少していたが、*npc4* では逆に大きく増加していた。各 NPC 遺伝子の発現レベルを解析したところ、シロイヌナズナの葉では NPC3 の発現量が最も高いこと、また *npc4* では野生型に比べて NPC3 が過剰に発現しており、これが GIPC-PLD 活性の増加の原因と考えられた。以上の結果から NPC3、NPC4、NPC5 は GIPC-PLD 活性をもち、シロイヌナズナやダイコンでは NPC3 が GIPC 分解活性の主体を担っていると考えられた。

P-02

パラゴムノキの天然ゴム生合成酵素複合体を構成する新規タンパク質の探索

Exploration of Novel proteins Constituting a Natural Rubber Biosynthetic Enzyme Complex from the Para rubber tree

三上 智世¹, Nadia Nur Shazana Binti Abu Talib Khan¹, 小島 幸治¹, 山口 晴彦², 廣森 美樹¹, 和氣 駿之¹, 宮城 ゆき乃², 山下 哲³, 戸澤 譲⁴, 中山 亨¹, 高橋 征司¹

¹東北大・院工, ²住友ゴム工業(株), ³金沢大・院自然科学, ⁴埼玉大・院理工

パラゴムノキの天然ゴム (NR) はタイヤ等のゴム製品に必須な天然材料であり、遺伝子工学的手法等による大量生産が期待されているが、そのためには NR 生合成機構の解明が必要となる。NR 生合成はラテックス内のゴム粒子 (RP) 上で進行している。これまでに、*cis*-1,4-ポリイソプレン骨格の生合成に寄与する *cis* 型プレニルトランスフェラーゼ (HRT1) が同定されている。また、HRT1 は RP 膜上で他の 2 種のタンパク質と複合体を形成することも示されている。しかし、これら同定済みのタンパク質を NR 非生産植物や出芽酵母で異種発現させても NR が合成されないことから、NR 合成には別のタンパク質が必要であると考えられている。そこで本研究では、NR 生合成酵素複合体の全容解明を目指し、HRT1 と相互作用しうる RP 膜タンパク質の単離を行った。

一般的に、膜タンパク質単離のためには界面活性剤による可溶化処理を行うが、この手法では膜脂質およびタンパク質群の相互作用状態を維持したまま単離することは困難である。そのため、近年報告された両親媒性コポリマー (DIBMA, DIBMA glycerol) による RP 膜の可溶化手法を検討した。結果として、HRT1 を含む膜脂質-タンパク質複合体をナノディスクとして可溶化することに成功した。さらに、ゲル濾過クロマトグラフィーや免疫沈降等によって HRT1 含有ナノディスクを回収し、LC-MS/MS 解析により HRT1 含有ナノディスクに特徴的に見出されるタンパク質を同定した。本発表では、それらの候補タンパク質と HRT1 間の相互作用と NR 合成活性への寄与についても報告する。

P-03

演題取り下げ

P-04

窒素欠乏がルピナスのキノリチジンアルカロイド含有量へ与える影響

The effect of nitrogen deficiency on quinolizidine alkaloid content in Lupinus

原 なつ美¹, 杉山 龍介^{1,2}, 山崎 真巳^{1,3}

¹千葉大院薬, ²STさきがけ, ³千葉大植物分子科学セ

キノリチジンアルカロイド (QA) は、マメ科やスイレン科の植物に含まれ、神経毒性を示すものもあるアルカロイドの一群である。ルピナス属植物では果実や種子に乾燥重量の5%に上るQAが高蓄積されるが発芽後数日で減少することから、特に発芽初期において蓄積されたQAが利用される可能性が示唆されているが、詳細なメカニズムはわかっていない。そこで本研究では、ホソバルピナス (*Lupinus angustifolius*) とキバナルピナス (*L. luteus*) を用い、QAが植物内で分解およびリサイクルされる代謝経路を検証するための実験系を構築した。

実験を単純化するためにカルスを用いた。MS寒天培地で無菌的に二週間栽培した植物体から上胚軸を切り出し、複数の植物ホルモン条件でカルス誘導を行った。1μg/mL 1-NAA, 2μg/mL BAPを含む培地にて最も良好な生長を示した。次にこの条件下において、窒素源の制限がカルスの生育に与える影響を調べた。アンモニア態・硝酸態窒素の含有量を通常のMS培地の0, 20, 40, 60, 80, 100%に制限した改変MS培地でカルスを4週間培養したところ、40~100%では良好な生長が確認された。並行して、カルス中のQA含有量を定量評価するため、トリプル四重極型LC-MS/MSによるターゲット分析の条件最適化を行った。さらに、QAのルピニンあるいはスバルテインを添加したMS培地でカルスを培養した後に分析したところ、培地中のQAがカルスに取り込まれていることが確認された。現在、カルス中のQAが培地中の窒素濃度に応じて変動するか、調べている。

P-05

シロイヌナズナ *nai1* 変異体で蓄積する非グルコシノレート化合物の解析

Analysis of non-glucosinolate compounds that accumulate in *Arabidopsis nai1* mutants

柿木 風香¹, 杉山 龍介^{1,2}, 山崎 真巳^{1,3}

¹千葉大院薬, ²JSTさきがけ, ³千葉大植物分子科学セ

シロイヌナズナをはじめとするアブラナ科の植物には、傷病応答によって誘導される小胞体由来の構造体 ER body が存在する。ER body では PYK10 をはじめとした複数の β -グルコシダーゼが特異的に蓄積しており、含硫黄配糖体であるグルコシノレートがそれらの基質となると考えられている。ところで、これまでに ER body が形成されない *nai1* 変異体の根のメタボローム解析により、野生株と比べて有意に蓄積量が増加する低分子化合物が見いだされている。この化合物は MS/MS フラグメント解析からグルコシノレートではない配糖体と推定されたが構造決定には至っていない。そこで本研究では、根における ER body に蓄積する β -グルコシダーゼのもう一つの基質と考えられる新規配糖体化合物の単離・構造決定のための培養系の構築を行った。

先行研究において、ステンレスメッシュを入れたプラボット内で無菌的に巡回培養することで1ポットあたり約2.5 gFWの根が得られる自作の水耕栽培装置を用いていたが、器具洗浄や無菌操作の煩雑さから、根サンプルを目標量の数百g得るには改善が必要であった。そこで、容器を広口のプラボットに変更して培地量やポット当たりの個体数を最適化し、従来法と同程度の収量で操作性を向上させた改良法を開発した。同法により回収した *nai1* 変異体と野生株の根抽出物を LC-MS で分析し、 m/z 427 の目的物ピークが *nai1* 変異体で高蓄積していることが確認された。現在、化合物の精製に向け、改良法による根サンプルのスケールアップと少量サンプルを用いた単離・精製法の予備検討を行っており、本発表ではそれらの結果も併せて報告する。

P-06

エリシテーションにより高発現したゴマ培養細胞中ラムノシル化酵素の解析

Rhamnosylation in cell culture of *Sesamum indicum* L. expressed by elicitor

藤 佑志郎^{1,2}, 松藤 寛², 平井 優美¹

¹理研・CSRS, ²日大・生資科

ゴマ (*Sesamum indicum* L.) の葉は、フェニルエタノイド配糖体 (PhGs) であるアクテオシドを生育段階で 12.9% も蓄積する。PhGs は、 C_6-C_2 ユニットのグルコシドを基本骨格とし、アクテオシドはヒドロキシチロソール、グルコース、カフェ酸、ラムノースで構成されている。PhGs の生産性向上のために生合成への関心が高まっているが、その経路は未だ解明されていない。このような中、我々はゴマ培養細胞系を確立し、ジャスモン酸メチル (MeJA) 処理した培養細胞のトランスクリプトーム解析を行い、アクテオシドの骨格形成に重要なグルコシル化とアシル化を担う酵素遺伝子を明らかにした。一方で、アクテオシドの生合成にはラムノシル化も関わっていることから本研究ではラムノシル化酵素のクローニングと機能解析を行った。

まず、MeJA 処理した培養細胞のトランスクリプトーム解析から MeJA により高発現した高次配糖体化酵素と思われる候補遺伝子を選抜した。これら候補遺伝子については、大腸菌異種発現酵素を用いた *in vitro* アッセイにより、ラムノシル化活性をスクリーニングした。これら酵素の機能解析の結果について報告する。

P-07

ニチニチソウ種子発芽過程におけるアルカロイド代謝開始過程の解析

Cooperation of cell differentiation and induction of monoterpene indole alkaloid metabolism during seed germination of *Catharanthus roseus*

鵜崎 真妃¹, 森 哲哉¹, 佐藤 繭子¹, 若崎 真由美¹, 山本 浩太郎², 村上 明男³, 豊岡 公德¹, 三村 徹郎^{3,4}, 平井 優美^{1,5}

¹理研CSRS, ²横浜市大・理, ³神戸大・院・理, ⁴京都先端科学大・バイオ環境, ⁵名古屋大・院・生命農

薬用植物であるニチニチソウは 130 種類以上のアルカロイドを特化代謝産物として合成し、その一部が抗がん剤等の薬として使用されることから、生合成経路が非常によく研究されている。ニチニチソウのアルカロイド生合成は一つの細胞では完結せず、IPAP 細胞と呼ばれる維管束に隣接する葉肉細胞、表皮細胞、異形細胞・乳管細胞と呼ばれる特殊に分化した細胞の 3 種類の細胞の連携で行われる。我々は各細胞が分担する特異的な代謝能をいつどのように獲得するのかに興味をもち、形態的な分化は概ね完了しながらほとんどの代謝が停止している状態である種子胚が、発芽に伴い徐々に代謝を再開する過程に着目した。種子発芽過程におけるアルカロイド生合成の開始過程を追跡した結果を報告する。

種子胚の電子顕微鏡観察の結果、成熟前の種子胚において乳管細胞が既に分化していることが明らかになった。この乳管細胞は休眠後の発芽に伴い顕著に伸長し、同時に細胞微細構造も大きく変化した。特に、乳管細胞中の液胞の形態や形成過程、オイルボディのサイズや含有物は周辺の他の細胞とは大きく異なった。次に、種子の吸水・発芽過程における時系列メタボローム、及びトランスクリプトーム解析を行ったところ、IPAP 細胞及び異形細胞・乳管細胞で行われるアルカロイド代謝の開始のタイミングは、表皮細胞で行われるアルカロイド代謝より大きく遅れることが明らかになった。これらの結果から、ニチニチソウのアルカロイド代謝は関与する 3 種類の細胞ごとに異なるタイミングで制御を受け、その制御は発芽に伴う各細胞の何らかの状態変化と関係している可能性があることが示唆された。

P-08

コーヒー由来テルペン類配糖化酵素の基質選択性に係る領域の探索

Investigation into the substrate selectivity of terpenoid glycosyltransferase from coffee

佐々木 香織¹, 井田 美帆¹, 水野 幸一²

¹秋田県大・院生物資源, ²秋田県大・生物資源

【背景・目的】 コーヒーの重要な芳香成分のひとつに揮発性のテルペン類がある。植物中では通常、UDP-glucose glycosyltransferase (UGT) が触媒する糖転移反応により、糖が付加された配糖体として蓄積している。そこで、植物体内における芳香成分配糖化に関する知見を蓄積することで、付加価値の高い香り豊かなコーヒーの開発に役立てられると期待している。当研究室ではこれまで、*Coffea arabica* を材料として、リナロールとその他いくつかのテルペン類を配糖化する UGT 群の単離に成功している。しかし、活性試験の結果、これらの基質選択性は様々であり、生成されるテルペン配糖体の割合も異なっていた。そこでキメラ酵素を作製し、その機能特徴づけるアミノ酸配列を見出すことを目指した。

【方法・結果】 相同性は互いに 76% であるが、リナロールに対して明瞭な活性を示す CaUGT4 とそれを基質としない CaUGT20 を一次構造上で比較・分割し、組み合わせを変えて 6 種類のキメラタンパク質 (Chi1_1-6) を構築した。これらについて組換え型酵素を生産し、リナロールと UDP-¹⁴C-Glc を反応させ、TLC にて活性を調べた。その結果、Chi_1 および Chi_3 はリナロールを含む 4 種のテルペン類を配糖化した。Chi_2 はリナロールには活性を示さなかったものの、2 種のテルペン類を配糖化した。Chi_1-3 は共通して N 末端側に CaUGT4 の配列を持つ。一方、N 末端側に CaUGT20 の配列を持つ Chi_4-6 は活性試験に用いたどのテルペン類に対しても活性を示さなくなった。各タンパク質の推定立体構造を比較すると、N 末端ドメインの一部の構造に違いがあり、活性の違いに関与する可能性が見出された。今後はより詳細な解析を進める予定である。

P-09

コーヒー由来テルペン類二配糖化酵素遺伝子単離のための活性測定法の検討

Consideration of the assay methods for the terpenoids glycoside-specific glycosyltransferases and isolation for those genes from coffee

井田 美帆¹, 川上 寛子², 水野 幸一²

¹秋田県大・院・生物資源, ²秋田県大・生物資源

コーヒー豆の優劣を決める重要なファクターの一つである特有の芳香の主成分として、テルペン類が挙げられる。テルペン類は通常植物中では配糖体として蓄積している。また、これらテルペン類は揮発性であるため、植物体内での生合成後は速やかに大気中へ放出されるが、一部は配糖化を受け、二糖配糖体として蓄積している。この配糖化を UGT (UDP-glucose glycosyltransferase : UGT) および GGT (Glycoside-specific glycosyltransferase : GGT) が触媒するとの報告がある。本研究ではこれまで、コーヒーの主要テルペン類の一つであるリナロールの配糖化に関わる酵素遺伝子の単離同定および機能解析に取り組んできた。その結果、*Coffea* 属におけるリナロール配糖化酵素 (CaUGT4) を初めて見出した。本研究では次に、リナロールの“二”配糖化に関わる酵素遺伝子の単離と機能解析を目指している。*C. arabica* に含まれるリナロール配糖体はリナリルグルコアラピノースまたはリナリルグルコアピオースであり、その二糖部分は、アラピノースまたはアピオースである。そこで、アピオース配糖体を得るために、二段階合成系をミミックし、GGT の活性測定法を構築した。一段階目は、シロイヌナズナ由来 UDP-アピオース/UDP-キシロース合成酵素 (AtAXS1) を用いて UDP-アピオースを合成し、二段階目は、得られた UDP-アピオースと CaUGT4 を用いて合成したリナリル-[¹⁴C]-グルコースを基質として、候補 GGT を反応させ、二配糖体の検出を試みている。

P-10

品種の異なるスイセンにおける毒性成分の比較解析

Comparative analysis of alkaloid contents on commercial Narcissus cultivars

解良 康太, 草刈 蓮, 細谷 嵩登, 高田 さくら, 飯嶋 益巳, 中山 勉

東農大・応用生物科学

【目的】

ヒガンバナ科の園芸植物であるスイセンは、葉や球根にリコリン、タゼチン、ガラタミンといったアルカロイドを含む有毒植物であり、日本国内で毎年のように誤食による食中毒事故が発生している。食中毒防止のためには、事故発生前の段階でスイセンの混入を検出することが重要である。英国王立園芸協会には一万種を超えるスイセンの園芸品種が登録されているが、品種の違いによるリスク評価について、知見が不足している。本研究では、街中の園芸店などで取り扱いのあるような代表的な品種について成分を比較分析した結果を報告する。

【方法】

市販の 11 品種の球根を凍結乾燥し、ミルサーにて微細粉末化した。80%メタノールによる成分抽出を行い、LC/MS による分析を行った。

【結果】

精密質量及び保持時間について標準物質と比較することで成分同定を行った。リコリンは分析した全ての品種で検出されたが、ガラタミンとタゼチンは検出できない品種もあった。また、リコリンについても品種により含有量が大きく異なっていた。このことから、品種によって毒性の主原因となるアルカロイドの組成が大きく異なっており、品種に依らない判定基準を策定することが重要であることが示された。

P-11

ゼニゴケのマルカンチン生合成経路前半の解明

Functional analysis of enzymes involved in the marchantin biosynthesis pathway in *Marchantia polymorpha*

小林 悠華¹, 木村 渚¹, 肥塚 崇男², 野村 泰治³, 加藤 康夫³, 久保 浩義¹, 高梨 功次郎¹

¹信州大院・総合理工学, ²山口大院・創成科学, ³富山県大・工

【背景】タイ類のゼニゴケは維管束植物とは少し異なるフェニルプロパノイド経路を有しており、環状ビスビベンジル構造を有するマルカンチンを特異的に生産する。先行研究 (Friederich et al., 1999) のトレーサー実験により、マルカンチン経路の中間体である dihydro-*p*-coumaroyl-CoA は、*p*-coumaric acid が還元された dihydro-*p*-coumaric acid から生成されると推測されたが、該当する酵素は未だ植物において同定されていない。本研究では、dihydro-*p*-coumaroyl-CoA の生合成に関与する酵素を同定することで、ゼニゴケのマルカンチン生合成経路の前半を解明することを目的とした。

【方法】フェニルプロパノイド経路前半の酵素を大腸菌発現系を用いて発現した。His-tag により精製し、得られた精製タンパク質を用いて酵素アッセイを行った。

【結果・考察】酵素反応物を HPLC で解析したところ、*p*-coumaric acid および dihydro-*p*-coumaric acid を基質とする 4-coumarate CoA ligase (4CL) を 2 分子種同定した。さらに、*p*-coumaroyl-CoA から dihydro-*p*-coumaroyl-CoA への変換活性を有する還元酵素を 1 分子種同定した。この酵素が *p*-coumaric acid から dihydro-*p*-coumaric acid への変換活性を示さなかったことから、ゼニゴケにおける dihydro-*p*-coumaroyl-CoA の生合成は、4CL によって *p*-coumaric acid が *p*-coumaroyl-CoA に変換された後、還元されることで生成されることが推測された。

P-12

ムラサキのシコニン生合成中間体を基質とする short-chain dehydrogenase/reductase の機能解析

Characterization of a short-chain dehydrogenase/reductase in *Lithospermum erythrorhizon*

松田 悠希¹, 吉岡 奈津子², 渡辺 文太³, 市野 琢爾^{4,5}, 山本 浩文⁶, 矢崎 一史⁵, 高梨 功次郎^{1,2}

¹信州大学大学院 総合理工学研究科, ²信州大学 理学部, ³東京慈恵会医科大学 医学部, ⁴神戸薬科大学 薬学部, ⁵京都大学 生存圏研究所, ⁶東洋大学 生命科学部

多年生の薬用植物ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) は、根において赤いナフトキノ系化合物であるシコニンを生産する。シコニンは様々な薬理活性を持つが故に、ムラサキの乾燥した根は「紫根」と呼ばれ生薬として古来より利用されてきた。近年の研究から、このムラサキの根におけるシコニンの生合成経路が徐々に明らかにされつつある。しかし、(Z)-3"-hydroxy-geranylhydroquinone ((Z)-3"-OH-GHQ) からデオキシシコニンまでの経路については、ナフトキノ骨格の形成や水酸基の導入を含む多段階反応であることが予想されるものの、未解明のままである。本研究では、(Z)-3"-OH-GHQ を基質として認識する、short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) スーパーファミリーに属する酸化還元酵素 (LeSDR1) を解析対象とした。LeSDR1 を大腸菌に異種発現させて、(Z)-3"-OH-GHQ を基質として酵素活性を測定したところ、補酵素依存的に(E)-3"-oxo-GHQ および(E)-3"-OH-GHQ の生成が確認された。これら(E)体の生成物からはナフトキノ骨格形成が難しいと考えられるため、LeSDR1 のシコニン生合成経路への関与の有無は不明のままであるが、本発表では LeSDR1 の基質特異性や細胞内局在について紹介する。

P-13

ゼニゴケのフラボノイド糖転移酵素の機能解析

Functional analysis of flavonoid glycosyltransferases in *Marchantia polymorpha*

佐伯 結衣¹, 徳江 創太郎¹, 渡辺 文太², 太田 哲¹, 久保 浩義¹, 高梨 功次郎¹

¹信州大院・総合理工学, ²東京慈恵会医科大・医

【目的】ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) は陸上植物の進化研究のモデルとして世界中で研究されている。コケ植物は高等植物とは独立にフラボノイド生合成経路を獲得したため、その生合成酵素や生成物が高等植物とは少し異なる。フラボノイド配糖体もそのようなもののひとつであり、コケ植物はグルクロン酸、高等植物はグルコースをそれぞれ主に付加している。本研究ではゼニゴケ糖転移酵素の中から、フラボノイドを高蓄積する MpMyb14 過剰発現株で発現が上昇していた 2 分子種について機能解析を行い、フラボノイド生合成経路への関与を調べることを目的とした。

【方法】対象とした 2 分子種の糖転移活性を調べるために大腸菌を用いて組換えタンパク質を調製し、UDP-グルクロン酸もしくは UDP-グルコースを糖供与体として、様々なフラボノイドを糖受容体として酵素アッセイを行った。その反応物を HPLC または LC-MS に供した。

【結果および考察】アッセイした 2 分子種ともに主にフラボンに対して UDP-グルクロン酸転移活性を有していた。反応産物がゼニゴケ植物体に蓄積していたことから、両酵素ともゼニゴケ植物体内でグルクロン酸転移酵素として機能していると推測された。

P-14

ワサビの isosaponarin 生合成に関するアシルグルコース依存型配糖化酵素 WjAGT2 の機能解析

Analysis of an acyl-glucose dependent glucosyltransferase WjAGT2 involved in isosaponarin biosynthesis in *Eutrema japonicum*

西部 あぐる¹, 庄司 のえみ¹, 田口 悟朗^{1,2}

¹信州大院・総合理工, ²信州大・繊維・応生

ワサビ (*Eutrema japonicum*) は葉にフラボン配糖体である isosaponarin を蓄積する。その生合成は、apigenin の 6 位が C-配糖化され、続いて 4'位が O-配糖化されると考えられる。我々はこれまでに、1 段階目の配糖化を担う C-配糖化酵素 WjGT1 を同定した¹⁾。さらに、2 段階目の O-配糖化酵素反応はシナポイルグルコースを糖供与体とするアシルグルコース依存型配糖化酵素 WjAGT2 によって進行することが示唆された²⁾。WjAGT2 は、*in vitro* では isovitexin の 4'位のほか apigenin の 7 位に対しても配糖化活性を示した。そこで本研究では WjGT1 および WjAGT2 を発現させたタバコ BY-2 細胞を作出し、apigenin を投与してその代謝物を解析した。その結果、isosaponarin が生成したことから、WjAGT2 は植物細胞内で isosaponarin 合成酵素として機能することが示唆された。一方、WjAGT2 のみを発現させたタバコ細胞に apigenin を投与した場合、apigenin 7-O-配糖体の蓄積量は増加しなかった。以上から、WjGT1 と WjAGT2 の細胞内局在性は異なっており、apigenin は細胞質内で isovitexin に変換された後、液胞に輸送されて配糖化を受け isosaponarin となることが示唆された。現在、WjAGT2 の細胞内局在性調査を行っており、その結果と併せて報告したい。

¹⁾ Mashima et al (2019) PCP **60** 2733, ²⁾ 庄司ら (2022) 第 39 回日本植物バイオテクノロジー学会 (堺) 大会講演要旨集

P-15

ソバのルチン生合成に関与する配糖化酵素の同定と機能解析

Identification and functional characterization of a glucosyltransferase involved in rutin biosynthesis in *Fagopyrum esculentum*

市川 尚哉¹, 福嶋 織百¹, 田口 悟朗^{1,2}

¹信州大院・総合理工, ²信州大・繊維

ソバ (*Fagopyrum esculentum*) は quercetin の 3 位に rutinose が結合した rutin を葉や花などに蓄積する。rutin は抗酸化作用や血流促進作用などその機能性が注目されている化合物である。我々は、これまでに 2 段階目のラムノシル化を担う FeF3G6"RhaT を同定した¹⁾。一方、ソバにおいて 1 段階目の 3-O-配糖化を担う酵素 (F3GT) は未だ同定されていない。そこで本研究では、ソバにおける F3GT の同定を行った。ソバの葉から抽出した粗酵素を 8 段階のステップで精製し、さらにペプチダーゼ処理して LC-MS/MS 解析を行った。得られたペプチド配列を用い、データベースに対して BLASTX 検索し、候補遺伝子として FeGT3 と FeGT14 を獲得した。大腸菌で異種宿主発現させた酵素の活性調査を行った結果、FeGT14 は quercetin の 3 位をグルコシル化する活性を示したほか、フラボノールやアントシアニジンの 3 位の水酸基に対して活性を示したが、FeGT3 はその 1/1000 程度の活性であった。反応速度論的解析の結果、FeGT14 は quercetin に対して K_m が $1.9 \mu\text{M}$ 、 k_{cat} が 27.2 s^{-1} であり、報告されている他の F3GT (UGT77, UGT78) と比べて高い反応性を示した。RT-PCR 解析では FeGT14 が FeF3G6"RhaT と同様の遺伝子発現パターンを示した一方、FeGT3 の発現パターンは大きく異なっていた。以上から FeGT14 がルチン生合成に関与する F3GT であることが強く示唆された。

1) Koja et al. (2018) Biosci. Biotechnol. Biochem. **82**: 1790-1802.

P-16

ゼニゴケのビスビベンジル生合成経路に関与するシトクロム P450 の探索

Screening of cytochrome P450s involved in the bisbibenzyl biosynthesis in *Marchantia polymorpha*

木村 渚, 久米 永純, 久保 浩義, 高梨 功次郎

信州大院 総合理工学研究科

【背景】ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) を代表とするコケ植物タイ類は、特有のフェニルプロパノイド誘導体であるビスビベンジルを生産する。ビスビベンジルの生合成は、シトクロム P450 が触媒するビベンジル 2 分子の酸化的カップリングによって行われることが推測されているものの、その遺伝子は未だ同定されていない。そこで本研究では、ゼニゴケのビスビベンジル生合成に関与するシトクロム P450 を同定することを目的とした。ゼニゴケにおけるビスビベンジルの蓄積は、R2R3 転写因子である MpMYB2 の過剰発現によって増大するため、MpMYB2 過剰発現株において発現が誘導される 9 分子種のシトクロム P450 を解析対象とした。

【結果・考察】候補とした 9 分子種の MpP450 について、出芽酵母に発現させビベンジルを基質とした酵素アッセイを行ったところ、1 分子種がビベンジル二量体の形成を触媒することが推測された。しかしながら、この推定ビベンジル二量体はゼニゴケから検出されていないため、ビスビベンジル生合成経路の中間体であると考え、引き続き生合成酵素の探索を行っている。

P-17

ゼニゴケにおける新規 aureusidin 生合成経路の探索

A novel aureusidin biosynthetic pathway in *Marchantia polymorpha*

眞辺 美咲, 大塚 峻, 久保 浩義, 高梨 功次郎

信大院・総合理工学

Aureusidin を含むオーロンはいくつかの維管束植物において生合成されるフラボノイドの一種であり、オーロンが蓄積した花卉は明るい黄色を呈する。Aureusidin はゼニゴケなどのコケ植物においても生合成されることが知られており、最近、我々はゼニゴケにおいて、naringenin chalcone を基質として aureusidin を合成する酵素 (MpAS1) を同定した [1]。一方で、ゼニゴケにおける aureusidin 生合成経路は複数存在することが示唆されており、MpAS1 が関与しない経路も存在すると考えられた [2]。そこで本研究では、新規 aureusidin 生合成経路の探索を目的とし、MYB14 転写因子を過剰発現させてフラボノイド生合成経路を活性化させたゼニゴケから粗酵素を抽出して様々なフラボノイドを基質としたアッセイを行った。その結果、naringenin chalcone を含む複数の chalcone を基質とした際にそれぞれ aureusidin の生成が確認できたことから、ゼニゴケにおいて複数の chalcone を出発物質とする aureusidin 生合成経路が存在することが示唆された。本発表では、この生合成経路に関与する酵素、およびゼニゴケ生体内での実際について議論する。

[1] Furudate H, Manabe M *et al.*, PCP, in press. DOI:10.1093/pcp/pcad024.

[2] Berland H *et al.*, PNAS (2019) 116, 20232-20239.

P-18

ムラサキのシコニン分泌に関与する ATP-結合カセットタンパク質の解析

Analysis of ATP-binding cassette proteins involved in Shikonin secretion of *Lithospermum erythrorhizon*

近藤 菜友¹, 坪山 愛¹, 市野 琢爾^{1,2}, 李 豪¹, 巽 奏¹, 松田 陽菜子¹, 刑部 敬史³, 下村 講一郎⁴, 棟方 涼介^{1,5}, 矢崎 一史¹

¹京都大・生存研, ²神戸薬科大, ³徳島大・生物資源, ⁴東洋大・生命科学, ⁵JSTさきがけ

ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) は、日本、韓国、中国に自生するムラサキ科の多年生草本である。ムラサキ根部を乾燥させたものは「紫根」と呼ばれ、万葉の時代から生薬や染料として利用されてきた。その代表的な二次代謝産物であるシコニンは、ナフトキノンの脂溶性赤色色素で、抗菌作用、抗腫瘍作用など様々な生理活性を有する。シコニンの生合成は、1970年代にムラサキ培養細胞におけるシコニン生産系が確立されたことで研究が進み、複数の化学的、物理的なシコニン生産制御因子が明らかにされた。シコニンはまた、細胞外へ大量に分泌され蓄積する特徴を持つ。本化合物は可視性であること、生産が顕著な誘導系であることから、ムラサキを用いた実験系は、植物二次代謝の好適なモデル系であると考えている。

ATP-結合カセット (ABC) タンパク質は、植物において最大の膜輸送体ファミリーであり、植物の発生制御や環境応答で重要な役割を果たしている。さらに本タンパク質は、植物二次代謝産物などの輸送にも関与すると考えられているが、これまでに報告された例は乏しい。そこで本研究では、ムラサキのシコニン輸送に関与する ABC タンパク質の同定を目指した。ムラサキでは少なくとも 118 個の ABC タンパク質が発現していることが推定されているが (Li *et al.*, 2022)、シコニン生産制御の特徴を指標にその中からシコニンの分泌に関与すると考えられるメンバーを探索した結果、シコニン生産時に顕著な発現上昇を示す候補遺伝子が見出された。そこで、細胞内局在解析、発現抑制により得られた表現型の解析、および ABC タンパク質の阻害剤を用いた *in vivo* 解析から、シコニン輸送への関与解明に迫った。

P-19

植物フェノール基質プレニル化酵素の部位特異性の普遍性に関わる生化学的解析

Biochemical analysis regarding the ubiquity in the regio-specificity of plant aromatic prenyltransferases

韓 俊文¹, 棟方 涼介^{1,2}, 高橋 宏暢³, 肥塚 崇男⁴, Alain Hehn⁵, 矢崎 一史¹

¹京大・生存研, ²JST PRESTO, ³徳島文理大・薬, ⁴山口大院・創成科学, ⁵仏 ロレーヌ大/INRA

植物において膜結合型プレニル化酵素 (PT) はフェノール類にプレニル基を転移させる反応を触媒し、転移されたプレニル側鎖は生理活性の発現の鍵となる。個々の植物 PT は基質認識やプレニル化部位に対して高い特異性を示しているが、それを司る触媒メカニズムは不明であった。これまでに、我々はセリ科由来の PT ペアを材料としてキメラ酵素を用いた生化学的解析を行い、部位特異性の制御に関与するアミノ酸領域を特定した。本発表では、この領域の機能について、セリ科 PT と分子進化上独立に獲得されたと考えられる PT に対して調べることで、植物の膜結合型 PT ファミリーにおける当該領域の部位特異性制御能の普遍性を精査した。そこで、メギ科のイカリソウ属植物 (*Epimedium*) を選定した。この系統は強壮効果がある薬用植物として知られており、主要な有効成分であるイカリインを含めて、プレニル化フラボノイドが複数種存在する。*Epimedium* 属植物からプレニル化部位特異性のみが異なるフラボノイド基質 PT ペアを取得し、当該アミノ酸領域の変異酵素の生化学的解析を行なうことで、部位特異性の変化を調べた。

P-20

肺炎球菌の抗原タンパク質 EF-Tu を産生するタバコ形質転換体の作出および形質調査

Production and characterization of transgenic tobacco plants producing the antigenic protein EF-Tu of *Streptococcus pneumoniae*

菌部 一貴¹, 岩村 衣花², 土門 久哲³, 寺尾 豊³, 中野 優², 大谷 真広²

¹新潟大・院自然研, ²新潟大・農学, ³新潟大・院医歯学総合研

肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) が引き起こす呼吸器感染症は、ワクチン接種率の低い発展途上国においては特に重大な問題となっている。そのため、医療設備が整っていない地域でも普及可能なワクチン生産技術の開発が求められている。本研究では、植物を利用した肺炎球菌ワクチンの生産について検討するため、肺炎球菌由来 Elongation factor Tu (SpEF-Tu) タンパク質を発現する形質転換タバコを作出し、タンパク質分析および生育・形態調査を行なった。アグロバクテリウム法により、これまでに 6 系統の形質転換体が得られている。それらの葉から抽出した粗タンパク質についてウェスタンブロッティング分析を行ったところ、複数の形質転換系統において SpEF-Tu タンパク質が検出された。それらの分子量が肺炎球菌から抽出されたものの分子量と一致したことから、形質転換体において完全なサイズの SpEF-Tu タンパク質が生産されていると推察された。形質転換体の葉において SpEF-Tu 遺伝子の発現解析を行ったところ、遺伝子の発現量とタンパク質の蓄積量には明らかな相関はみられなかった。開花期における形質転換体の生育・形態調査を行ったところ、ベクターコントロールと形質転換体の間に大きな違いはみられなかった。この結果は、タバコの生育・形態が SpEF-Tu 遺伝子の発現による影響を受けないことを示している。本研究により、SpEF-Tu タンパク質が形質転換植物によるワクチン生産の対象として適していることが示唆された。今後は、形質転換体由来 SpEF-Tu タンパク質のワクチンとしての効果を確認するため、マウスを用いた接種試験を行う予定である。

P-21

5つのアイソザイムを持つ真核紅藻由来乳酸脱水素酵素の速度論的解析

Kinetic analysis of lactate dehydrogenase from eukaryotic red alga with five isozymes

山本 眞以¹, 小山内 崇²

¹明治大・院農芸化学, ²明治大・農芸化学

近年、化石燃料の枯渇により植物から作られるプラスチックが注目されている。中でもポリ乳酸は生分解性も持ち、酵母や乳酸菌などの従属栄養微生物を用いた乳酸生産法が研究されている。これらの生物は、炭素源としてトウモロコシなどを利用しているため、食糧との競合が問題になる。一方、光合成を行う微細藻類は、大気中の二酸化炭素を炭素源として有用物質を生産でき、食糧利用と競合しない。中でも *Cyanidioschyzon merolae* (以下シゾン) は、植物と同様の酸素発生型光合成を行う単細胞紅藻で pH 2.5, 40°C のような高温・強酸性の過酷な環境が至適生育温度であるため、コンタミネーションしにくく屋外での大量培養が可能であると考えられる。

シゾンは、真核藻類では最小ゲノムを有するが、乳酸脱水素酵素遺伝子を 5 つ有することがわかった。5 つのアミノ酸配列の比較を行った結果、ほぼ同一のアミノ酸を有することがわかった。よって以前細胞質での発現が確認された *CmLDH1* の生化学解析を行った。大腸菌コンピテントセルに *CmLDH1* の発現ベクターを導入し、アフィニティークロマトグラフィーにより精製を行った。1 mL 反応液中にバッファー、ピルビン酸ナトリウム、NADH、*CmLDH1* を加え、分光光度計で活性測定を行った。基質飽和曲線を引き、カイネティックパラメーターを算出した。

活性測定の結果、*CmLDH1* の至適温度は 58°C、至適 pH は pH 4.5 であることがわかった。pH 4.5 において、ピルビン酸を基質とした際の k_{cat}/K_m は $2500 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、NADH を基質にした際の k_{cat}/K_m は $29000 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ だった。 k_{cat}/K_m 値を他の生物と比較すると、*CmLDH1* の触媒効率は最も高かった。今後はエフェクターを添加し、活性測定を行う。

P-22

グルコース添加条件での *Euglena gracilis* の細胞サイズ

Cell size of *Euglena gracilis* under glucose-added conditions

槇本 美波¹, 小山内 崇²

¹明治大・院農芸化学, ²明治大・農芸化学

Euglena gracilis (以下ユーグレナ) は、ミドリムシという名でも知られる微細藻類である。幅は約 10 μm 、長さは約 50 μm ほどで、独立栄養に加えて従属栄養でも生育することができる生物である。ユーグレナは、アミノ酸などの様々な有用物質や、パラミロンと呼ばれる独自の貯蔵多糖を生成することが知られている。パラミロンは、インスリン分泌促進作用や免疫調節機能などといった生理機能があるとされ、医薬品などへの利用が期待されるほか、ナノファイバーの原料にもなる物質である。ユーグレナは、グルコースを添加した光混合栄養条件において、光独立栄養条件よりも多くのパラミロンを蓄積するが、2%濃度以上のグルコース添加条件では増殖阻害が起こることが判明している。そこで本研究では、高濃度グルコース条件における増殖阻害の原因を明らかにすることを目的とした。

Euglena gracilis NIES-48 を使用し、1% (v/v) の二酸化炭素を含む空気をバブリングしながら 2 週間培養した。CM 培地に、終濃度が 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600 mM の 8 条件となるようにグルコースをそれぞれ添加し、25°C で培養を行った。分光光度計で濁度 (OD₇₃₀)、粒度分布測定装置で細胞径を測定した。

その結果、グルコース終濃度 100 mM を境として増殖が増加傾向から減少傾向に転換することがわかった。また、高糖濃度条件では浸透圧がかかり、細胞内の水分が抜け、細胞サイズは小さくなると一般的に考えられるが、グルコース終濃度 0 mM 条件と 300 mM 条件で細胞径に有意な差が見られないことがわかった。このことから、高濃度グルコース条件での増殖阻害は、浸透圧以外の要因が関係している可能性が示唆された。

P-23

エゴマ由来抗酸化物質の同定と高産生条件の解明 II

Determination and production of antioxidant compounds from the squeezed seeds and calli of *Perilla frutescens* (L.) Britton var. *frutescens*, II

川上 寛子¹, 真崎 舞雪¹, 菅原 輝美¹, 原 光二郎¹, 小峰 正史¹, 加藤 咲子², 小松 博依², 若泉 裕明²

¹秋田県大・生物資源, ²東商事株式会社

エゴマはシソ科シソ属の一年草であり、抗酸化物質を豊富に含む。種子を圧搾して得るエゴマ油は健康食品として広く市販されているが、搾滓は大量に廃棄されている。本研究ではエゴマ由来抽出物の活性を見出し、資源として活用することを目指し、搾滓に含まれる抗酸化物質の同定と、組織培養手法による抗酸化物質の効率的生産を目的とした。

材料には秋田県内 4 圃場で栽培したエゴマ種子及び搾滓、葉を用いた。まず、オーキシン類とサイトカイニン類、基本培地を組み合わせ合わせた合計 27 個の培地にエゴマ葉を植付け、カルス誘導した。次に、Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) 法によりエゴマ種子、搾滓、葉由来カルスのメタノール抽出物の抗酸化活性を評価し、HPLC-PDA 及び LC-ESI-MS で活性物質を同定した。さらに、Methyl jasmonate (MeJA) または Salicylic acid (SA) を添加した培地にカルスを植え付け、培養 2 週後の活性物質の含有量を比較した。

その結果、搾滓抽出物は Rosmarinic acid (RA) の他 Apigenin や Luteolin などの既知抗酸化物質を多く含み、種子よりも強い抗酸化活性を示した。また、10 μ M IBA と KIN を含む MS 及び B5 培地の条件では安定的にカルスが増殖し、RA を産生した。さらに MeJA を添加したカルスでは RA が有意に増加した一方、SA 添加区では減少した。MeJA 添加によって RA 生産量が増加することは他のシソ科植物由来カルスでは多く報告されているが、本植物では初めて確認された。本研究ではエゴマ種子搾滓や葉由来培養物が抗酸化物質を有する資源として有用であることを示した。

P-24

センブリカルスのセコイリドイド生産に光条件が及ぼす影響の解明 II

The effects of light conditions on secoiridoids production of the callus of *Swertia japonica*, II

松本 紘汰, 原 光二郎, 小峰 正史, 川上 寛子

秋田県大院・生物資源

センブリ (*Swertia japonica*) は日本固有の民間薬として知られる有用植物である。センブリの有用成分を大量生産することを目的として、これまで、センブリ不定根が主成分であるセコイリドイドのスウェルチアマリン (SW) やゲンチオピクロシド (GE)、キサントン配糖体を産生することを明らかにしてきた。しかし、カルスでは効率的にセコイリドイドを産生可能な培養条件は明らかになっていない。本研究では光条件がカルスのセコイリドイド生産へ及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

まず 100 μ M NAA, 10 μ M KIN, 3% ショ糖を含む Lloyd McCown's Woody Plant 寒天培地にセンブリカルスを植え付け、RGB 比を 2:3:1 (白色光), 1:0:0, 3:0:1, 1:0:1, 1:0:3, 0:0:1 に調整した光を照射した 6 試験区で、25°C の人工気象機内で 4 週間培養した。その後、カルスを凍結乾燥した後にメタノールで抽出し、LC-ESI-MS で SW 及び GE 含有量を定量した。その結果、SW 及び GE 含有量は、白色光照射区で最も多く、赤色光の割合が増えるにつれて減少した。

次に、白色光照射区で光強度を 0 から 25.1 W/m² の範囲でカルスを培養し、4 週間培養後の SW 及び GE 含有量を比較した結果、18.1 W/m² 区までの範囲では光強度が強くなるほど SW 及び GE 含有量が増加した。

さらに、セコイリドイドの生合成関連遺伝子の発現量を測定した結果、0 W/m² 区と比較すると、SW と GE を産生する 11.0, 18.1 W/m² 区でセコロガニン合成酵素と予想される遺伝子の発現が顕著に増加した。以上より、光条件を制御することによってセンブリカルスでセコイリドイド類を産生可能であることを初めて示した。

P-25

シロイヌナズナの $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 依存性 NAD キナーゼの機能解析

Functional Analysis Of $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -dependent NAD Kinases In *Arabidopsis Thaliana*

坂口 浩朗, 石川 寿樹, 山口 雅利, 川合 真紀

埼玉大・院・理工

ピリジンヌクレオチド (NAD(P)(H)) は、様々な生体内代謝に関与している酸化還元物質である。NAD(H)は主に呼吸等の異化反応に使用されるのに対し、NADP(H)は光合成や脂質合成等の同化反応に使用されることから、NAD(P)(H)の量やバランスの制御は植物の生育に非常に重要である。リン酸化比のバランス制御に関わる酵素として、NAD(H)をリン酸化してNADP(H)を合成する酵素が、NAD キナーゼ (NADK) である。シロイヌナズナには細胞内局在の異なる3つのアイソフォーム (NADK1-3) が知られていたが、近年、NADK1-3 とは相同性を示さない $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 依存性の NADK (NADKc; *At1g04280*) が新たに報告された。シロイヌナズナの遺伝子データベースには、長さの異なる複数の NADKc 転写産物が登録されており、1つの遺伝子から細胞内局在の異なる NADKc タンパク質がつくられる可能性が考えられた。そこで我々は、NADKc の発現様式を明らかにし、その生理的機能を解明することを目的として研究を行った。完全長 cDNA を用いた解析により、*At1g04280* には複数の転写開始点が存在し、そこから4種類の異なる翻訳産物 (NADKc.1-4) が推定された。また、GFP を用いた細胞内局在解析とリコンビナントタンパク質を用いた生化学的解析から、NADKc.1-4 は異なる細胞内局在と酵素特性を有することが示された。

P-26

C₄ 種 *Flaveria bidentis* のサイトゾル局在性 NAD キナーゼ (NADK1) の解析

Analysis of Cytosolic NAD Kinase (NADK1) in C₄ Species, *Flaveria bidentis*

藤沼 友莉果, 鈴木 沙也加, 石川 寿樹, 山口 雅利, 川合 真紀

埼玉大・院理工

C₄ 光合成を行う植物は CO₂ 濃縮機構を発達させたことで強光や乾燥、高温などの環境ストレス下においても光呼吸を抑え、高い光合成能を発揮できると考えられている。キク科 *Flaveria* 属植物は同属内に幅広い光合成タイプが存在するため、C₄ 光合成進化のモデル植物として研究されている。*Flaveria* 属植物のトランスクリプトーム解析から C₄ 種 *F. bidentis* で発現量が上昇する遺伝子群が示され、そこに NAD キナーゼ (NADK) をコードすると考えられる遺伝子が含まれていた。NADK は NAD(H)をリン酸化し、NADP(H)を生合成する酵素である。NAD(P)(H)は生体内の酸化還元反応の電子運搬体として働き、光合成・呼吸などの代謝反応や酸化ストレス応答などに関与する。RNAseq データ解析の結果、C₄ 種 *F. bidentis* には *NADK1a* と *NADK1b*, *NADK2a* と *NADK2b*, *NADK3* の計5つの NADK が存在し、*NADK2a* の発現量が C₄ 種でのみ上昇していた。また、興味深いことに、C₄ 種 *F. bidentis* は NADK1 を2つ持つのに対し、他の光合成型の *Flaveria* 属植物種では NADK1 は1つであると報告されており、*NADK1b* が C₄ 種に特異的であると考えられた。C₄ 種において遺伝子重複と新機能獲得は C₄ 進化に寄与する主要な要因として認識されている。そこで本研究では、C₄ 種 *F. bidentis* の2つの NADK1 に着目し、C₄ 植物における役割を明らかにすることを目的に研究を行った。まず C₃ 種と C₄ 種の総 NAD(P)(H)量を比較した結果、C₄ 種は C₃ 種の1.5倍多く、NAD(P)(H)プールサイズが増大していることが示された。RT-PCR による発現解析から、*NADK1a* は葉、茎、根で同程度発現しているのに対し、*NADK1b* は葉で強い発現を示したことから、*NADK1b* が C₄ 光合成にも関与している可能性が示された。

P-27

イネ品種 Tadukan に由来する細胞質雄性不稔性イネの形態観察およびトランスクリプトーム解析

Morphological observation and transcriptomic analysis of the cytoplasmic male sterile rice derived from Tadukan

高塚 歩¹, 風間 智彦², 鳥山 欽哉¹

¹東北大・院・農, ²九州大・院・農

細胞質雄性不稔性 (Cytoplasmic male sterility; CMS) の植物では、ミトコンドリア CMS 原因遺伝子の発現により葯や花粉の発育異常が生じることで不稔になる。一方で、核に稔性回復遺伝子が存在する回復系統では CMS 遺伝子の発現が抑制され花粉や葯が正常に発育するようになる。イネ品種 Tadukan に台中 65 号 (T65) を交雑して育成された CMS 系統 (TAA) は葯が裂開せず種子が実らないが、回復系統 TAR では葯が裂開して結実する。これまでに我々は、ミトコンドリア遺伝子 *orf312* をノックアウトした TAA (*orf312*-KO) は葯が裂開して種子が実ることから、*orf312* が Tadukan 型 CMS の原因遺伝子であることを明らかにした (Takatsuka et al., 2022)。本研究では、この *orf312* が葯の裂開を阻害するメカニズム解明の手がかりを得ることを目的に、葯と花粉の形態観察およびトランスクリプトーム解析を行った。

初めに、葯と花粉の形態を TAA と T65, TAR, *orf312*-KO との間で比較した。TAA の花粉の形態は T65 などと変わらず正常であることが明らかになった。TAA の葯の表皮構造には異常が見られなかったが、内部組織の細胞間にはプログラム細胞死で形成されるはずの間隙が観察されなかった。続いて各系統の葯から RNA を抽出して RNA-seq を行った。TAA と T65, TAR, *orf312*-KO 各系統 3 系統間の比較で検出された DEGs を用いて GO 解析を行うと、ミトコンドリアと呼吸鎖複合体 I, II の要素がヒットした。これらの結果から、Tadukan 型 CMS の分子メカニズムとして、ORF312 がミトコンドリア呼吸鎖複合体の機能を阻害することで活性酸素種の蓄積制御に異常が生じて、葯組織でプログラム細胞死が起こらないため葯が裂開しないという仮説が考えられた。

P-28

タバコおよびペチュニアにおける ABC 輸送体 ABCD1 の発現解析

Expression analysis of ABCD1 transporter in tobacco and petunia

土反 伸和¹, 増田 峻也¹, 西谷 詩織², 稲垣 明子¹, 中原 洋子¹, 山田 泰之¹, 肥塚 崇男²

¹神戸薬大・医薬細胞, ²山口大院・創成科学

【目的】植物は様々な中心代謝産物、さらに特化代謝産物を生産している。これら代謝産物の中にはペルオキシソームを介して生産されるものも多く、ペルオキシソーム膜における輸送は代謝生産に重要な役割を果たす。これまでにシロイヌナズナの変異体解析からペルオキシソームへの輸送に ABC 輸送体 ABCD1 が関与することが示されているが、その輸送能や、他植物における ABCD1 の発現や機能はほとんどわかっていない。本研究では、タバコやペチュニアにおける ABCD1 遺伝子の発現を解析するとともに、出芽酵母形質転換体やタバコ発現抑制体の作出を試みた。

【結果・考察】タバコ培養細胞 BY-2 に、植物ホルモンであるメチルジャスモン酸を処理したところ、*NtABCD1* 遺伝子の発現が 2.5 倍程度上昇した。また、タバコ植物体での組織発現を検討したところ、全組織で発現しており、萼において高い発現傾向を示した。ペチュニア植物体においても全組織で発現し、葉や花弁において比較的高い発現が観察された。植物 ABCD1 の輸送機能解析を目的に、シロイヌナズナの *AtABCD1* とタバコの *NtABCD1* の出芽酵母発現用ベクターを作成した。それらベクターを出芽酵母に形質転換し、コロニー PCR によって目的遺伝子の導入を確認した。さらに、ABCD1 抗体を用いたウェスタンブロットを行ったところ、それぞれ目的の ABCD1 を発現していることを確認した。また、タバコでの機能解析を目的に、RNAi による発現抑制体の作出を試みた。リアルタイム PCR により、いくつかのラインにおいて ABCD1 遺伝子の発現が抑制されていることを明らかとした。現在、これら出芽酵母やタバコ形質転換体を用いて、植物 ABCD1 のさらなる解析を進めている。

P-29

病害防御応答に関与する葉緑体タンパク質の機能解析

Functional analysis of pathogen resistance factors related to chloroplast proteins

中島 萌美路¹, 星野 孝太¹, 松永 遥平², 本橋 令子^{1,2}

¹静岡大・農学, ²静岡大・院農学

葉緑体と病害応答が関係していることは30年ほど前から知られ、植物の病害応答の最初の段階であるPAMP (pathogen-associated molecular pattern) シグナルが葉緑体に伝達されCa²⁺シグナルを生じること、このCa²⁺シグナルの発生には葉緑体チラコイド膜タンパク質(CAS)が関与し、一重項酸素などのROSシグナルを誘導して防御応答遺伝子群の発現を誘導していることが明らかになっている。葉緑体の新たな機能の探索と解明を目的とし、植物が細菌エリシターのflg22を感知すると成長と防御のトレードオフにより成長阻害を受けることを指標に、シロイヌナズナの核ゲノムコード葉緑体タンパク質であると予測された遺伝子破壊株のうち、flg22による成長阻害の影響が大きかった株を感受性株、影響の小さかった株を非感受性株として単離した。葉緑体はサリチル酸(SA)生合成を通じて病害抵抗性に寄与することが分かっているので、各変異体のSA関連遺伝子の発現を観察した。SA生合成に関わる遺伝子としてコリスミ酸をイソコリスミ酸に変換するICS1、次いでイソコリスミ酸をイソコリスミ酸-9-グルタミン酸に変換するPBS3の発現を調べたところ、どの変異体においても野生型と比較して有意な差は見られなかった。一方、SA経路のマスター制御因子であるNPR1とSA経路のマーカージンとして知られるPR1の発現は、すべての変異体において野生型よりも大きく減少していた。このことから、いずれの変異体もSA下流応答経路に何らかの異常が生じていることが示唆された。

P-30

シロイヌナズナにおけるフェアリー化合物による乾燥ストレス耐性付与と生育促進のメカニズムの解明

Understanding the mechanism of drought stress tolerance and growth stimulation by fairy chemicals in *Arabidopsis thaliana*

小日向 彩果¹, 谷口 有希¹, 廣瀬 万裕², 謝 肖男³, 竹内 純¹, 崔 宰熏¹, 轟 泰司¹, 河岸 洋和², 本橋 令子¹

¹静岡大・院農学, ²静岡大・農学, ³宇都宮大・農

フェアリーリングは芝を環状に繁茂、あるいは生育抑制させる現象を指す。この現象を引き起こす糸状菌の1種であるコムラサキシメジよりAHXとICAが、AHXの植物体内での代謝産物としてAOHが発見され、これらをフェアリー化合物(fairy chemicals, FCs)と総称する。FCsは環境ストレス耐性付与効果が観察されており、AOH処理でABAの蓄積が観察されたことから、その一部の効果はABAが関与していると示唆された。また、AOH処理によりシロイヌナズナは根の伸長抑制、気孔開口の阻害を示すので、ABA阻害剤であるPANMeを用い、AOHと共処理時の根の伸長と気孔開口の観察を行った。FCsとPANMe共処理では根の伸長抑制が回復したが、完全に回復する処理区は見られなかった。この結果からFCs処理による根の伸長抑制にABAが関与することが示唆されたが、他にも原因があると考えられた。

また、FCsは様々な植物体に対して生長調節物質としての活性を示す。FCsの効果は植物体や各FCsの処理濃度によって異なる結果を示し、成長促進や大型化、成長抑制など様々な効果が観察されている。FCsの生合成遺伝子の一つではないかと予測されているAPT1のシロイヌナズナでの遺伝子破壊株では葉の大型化が観察され、葉の表皮細胞サイズが増加していた。さらにFCs内生量を測定したところ、野生型と比較して顕著に増加していた。そこで、FCsの外的処理による表現型観察を行った結果、シロイヌナズナにおけるFCsの効果で植物体が大型化することが分かった。

P-31

シロイヌナズナの葉緑体リボソーム因子の機能解明

Understanding the function of ribosomal factors in the chloroplast of *Arabidopsis thaliana*

本橋 令子^{1,2}, 山下 美徳², 村松 藍², 山地 巧途¹

¹静大・院農学, ²静大・農学

大腸菌において、*RbfA* はリボソームの 30S サブユニットにおける assembly cofactor であり、*RbfA* は *RimM* を相補し、*Era* は *RbfA* を相補することが知られている。シロイヌナズナの葉緑体は大腸菌と同じ 70S リボソームを保有し、上記のリボソーム因子のホモログ遺伝子として、*APG4* (*AtRbfA*)、*AtRimM*、*AtEra* が核ゲノムにコードされている。*APG4* の機能として、16SrRNA、23S-4.5SrRNA 間のプロセシングに関与していることがわかっている。これらのホモログ遺伝子において大腸菌と同様に相補関係が見られるのかを *APG4*、*AtRimM*、*AtEra* の遺伝子破壊株にそれぞれの遺伝子を過剰発現させて調査を行った。その結果、*atrimM-1* への *APG4* の過剰発現、*apg4-1* への *AtEra* の過剰発現において、16SrRNA、23S-4.5SrRNA 間のプロセシング異常が改善され、葉面積が大きくなり、SPAD 値（クロロフィル量）が上昇した。これらの結果から、シロイヌナズナの rRNA のプロセシングにおいて、大腸菌と同様の相補関係が成り立っていることが示唆された。また、*apg4-2:AtRimMOX* では表現型が回復されず、16SrRNA、23S-4.5SrRNA 間のプロセシング異常が改善されなかったため、*AtRimM* は *APG4* を相補しないと思われた。

P-32

側根におけるダイズ（イソフラボン生合成関連）遺伝子の時期特異的発現について

Stage-specific isoflavones synthesis genes expression profile in lateral root of soybean

濱崎 英史¹, 栗原 志夫¹, 栗山 朋子¹, 蒔田 由布子², 河内 正治¹, 見城 貴志³, 小島 克洋³, 穴井 豊昭⁴, 竹山 春子⁵, 松井 南¹

¹理研 CSRS, ²前橋工科大学, ³(株)朝日アグリア, ⁴九州大学, ⁵早稲田大学

ダイズのイソフラボンは根から分泌され、共生窒素固定を行う根粒菌を誘引するシグナル分子として機能すると考えられている。そのため、イソフラボンはダイズ植物体の生長—根圏微生物叢との相互作用に重要な役割を果たしていることが示唆される。しかし、ダイズ植物体の生長過程における根におけるイソフラボン合成の時期や土壤環境によるイソフラボン合成の影響は不明な部分が多い。

そこで本研究では、制御栽培環境下と圃場で生育したダイズの根におけるイソフラボン合成関連遺伝子発現についての時系列解析を試みた。制御栽培環境下では水田、畑、還元土壌を用いて生育したダイズ・フクユタカ（5葉期・開花期・種子最大肥大期）よりサンプリングした根から全 RNA を調製して解析を行った。その結果 5葉期においてイソフラボン関連遺伝子の時期特異的な発現を観察した。またイソフラボン合成に関わる遺伝子ファミリーで発現時期が異なることが示唆された。同じ圃場で同一作物（または同じ科の作物）を続けて育てることで、作物は生育不良・収量の低下が起こる事象（連作障害）が知られている。圃場では、前作物の異なる土壤条件における差異について調べた。また、複数のイソフラボン生合成変異体を用いたイソフラボン生合成の代謝経路に与える影響について調べた。現在は、異なる土壤で生育したダイズのイソフラボン蓄積量の差異について検討を行っている。

本研究は、内閣府ムーンショット型農林水産研究開発事業（管理法人：生研支援センター）によって実施された。

P-33

マルチプラットフォーム-ワイドターゲットメタボロミクスによる葉面積制御に資する機能性代謝産物群の探索

Elucidation of functional metabolites involved in leaf size control by multi-platform widely-targeted metabolomics

多部田 弘光^{1,2}, 古賀 皓之³, 佐藤 心郎¹, 塚谷 裕一³, フェルジャニ アリ², 平井 優美^{1,4}

¹理研CSRS, ²東京学芸大・教育, ³東京大学・院・理学, ⁴名大・院・生命農学

細胞の数と細胞のサイズにより決定される葉の面積は、光合成効率を介して作物の生産性にも直接影響を与えている。有限成長の器官である葉の面積はほぼ一定に保たれているが、変異などによって細胞分裂能が低下すると、葉肉細胞の顕著な肥大によって葉の面積が補われる現象「補償作用」が起こる。補償作用は、未解明のままである「器官形成における細胞の数とサイズの協調性制御」を解明する鍵として注目されてきた。我々は、補償作用を示す *fugu5* 変異体の解析により、発芽時の代謝異常が分裂能の低下をもたらすこと、また、代謝異常自体がシグナルとなりオーキシン量を一過的に増強させることで補償的細胞肥大 (Compensated Cell Enlargement; 以下 CCE) が生じることを明らかにした。以上のことから、葉面積の協調は代謝ネットワークの制御下にあると考えられる。

そこで葉面積制御機構の解明を目的に、本研究ではメタボロミクスによる上述の代謝ネットワークの解明を目指した。BL-SOM によるクラスタリングの結果、上記のオーキシン量の増減と類似した変動パターンを示す代謝物の同定に成功し、HAF8 と名付けた。次に、HAF8 を添加したところ、*fugu5* の CCE は濃度依存的に促進されたため、HAF8 は CCE を制御する鍵代謝産物であると結論づけた。さらに、HAF8 に焦点を置いた相関ネットワーク解析を行ったところ、アブラナ科特有の特化代謝産物であるインドールグルコシノレート (iGSL) が同調的に増減することを見出した。また、トランスクリプトーム解析では、iGSL の分解とその下流で働くオーキシン変換酵素群の発現が上昇していることから、iGSL は、葉面積制御に資するオーキシンの供給源である可能性が示唆された。

P-34

ストレス誘導性のミツバ不定胚発生における組織および遺伝子発現の解析

Histological analysis of the stress-inducibile somatic embryogenesis in Japanese honewort (*Cryptotaenia japonica*)

高橋 沙奈, 加藤 麦都, 塩田 肇

横浜市立大学・生命ナノシステム科学研究科

セリ科植物の一種であるミツバ (*Cryptotaenia japonica*) では、実生の茎頂部を 0.7 M ショ糖を含む MS 培地で 3 週間または 6 週間培養 (高浸透圧ストレス処理) し、その後通常の MS 培地に移して 5 週間以上培養 (ストレス解放) すると不定胚が形成される。さらに、不定胚を形成した茎頂部から不定胚を除き、MS 液体培地で振とう培養すると、長期間不定胚が形成され続ける。これらのことから、ミツバでは高浸透圧ストレスによって不定胚形成能力が獲得され、その能力を維持する機構が存在すると思われる。本研究では、ストレス誘導性の不定胚が発生する過程での組織・細胞の変化と遺伝子の発現に着目した。まず、ストレス処理とストレス解放を経て不定胚が形成される過程の茎頂部組織片を固定し、パラフィンに包埋した。10 μm の薄切片を作製してヘマトキシリン、サフラニン、ファストグリーンによる三重染色を行って、顕微鏡で観察した。その結果、ストレス解放後に主に表皮細胞で細胞分裂が活発化し、不定胚が形成されることが明らかになった。続いて RNA-seq を行ったところ、不定胚を形成した組織片では *WUSCHEL-RELATED HOMEBOX2* (*CjWOX2*) と *FUSCA3* (*CjFUS3*) が発現上昇していた。さらに、*in situ* hybridization によって、*CjWOX2* の発現が不定胚に発生する細胞の近傍だけでなく、不定胚に接していない領域でも検出された。これらの結果から、*CjWOX2* は不定胚形成能力を維持する機構に関与していると考えられた。

P-35

脱分化・再分化に関与するシロイヌナズナ一番染色体に座乗するエピ変異の同定

Identification of an epi-allele on chromosome1 involved in dedifferentiation and redifferentiation in *Arabidopsis*

河合 顕真¹, 前地 弘基¹, 平沢 巽¹, 若林 荘太郎¹, 太田 英恵¹, 佐瀬 英俊², 永野 惇^{3,4}, 武田 真⁵, 西村 泰介¹

¹長岡技術科学大学・院・工, ²沖縄科学技術大学院大学, ³龍谷大学・農, ⁴慶應大学・先端生命科学研究所, ⁵名古屋大学・院・生命農学

DNA 上の化学修飾である DNA メチル化は、しばしば遺伝子発現を制御することが知られている。この DNA メチル化は、動物において脱分化・再分化過程に関与することが知られているが、植物ではこのような関与についてはほとんど知られていない。しかし、ゲノム上の DNA メチル化が著しく減少しているシロイヌナズナ維持型メチル化酵素の変異体 *met1* では、植物ホルモンによって誘導される脱分化・再分化過程に異常を示す。このことから、DNA メチル化がこれらの過程に関与すると考えられるが、どの遺伝子座のメチル化パターンの変化が、これらの異常を引き起こしているのかほとんど明らかでない。

私たちは、脱分化・再分化過程に関与するメチル化パターンの変化、つまりエピ変異の同定を目的に、野生型と *met1* 変異体を交配し、数世代継代することで得られた、ゲノム上の各部位において DNA メチル化パターンがそれぞれ異なるエピジェネティック組換え自殖系統群の中から、再分化効率が上昇する A471 系統を単離した。加えて、A471 系統由来のカルスは、野生型では緑化しない条件下で緑化するという表現型を示す。連鎖解析により、これらの表現型を示す原因遺伝子座が、少なくとも 1, 3, 5 番染色体上に座乗する可能性が示唆された。さらに RNA-seq と BS-seq 解析から、1 番染色体上の原因遺伝子座領域に、DNA メチル化が減少し発現が上昇する遺伝子を見出した。この遺伝子の野生型背景での強制発現体の表現型観察の結果、A471 系統に似た表現型を示したことから、この遺伝子が A471 系統の表現型を引き起こす原因遺伝子の 1 つだと考えられた。現在、この原因遺伝子候補の A471 系統背景での機能抑制変異体の作出を行っている。

P-36

葉の形態変化を引き起こすシロイヌナズナの 1 番染色体上のエピ変異の同定の試み

Identification of an epi-allele on chromosome1 involved in leaf morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*

藤田 紘未, 黒澤 和, 和田 瑞希, 牛澤 美樹, 星野 愛海, 西村 泰介

長岡技術科学大学・院・工

DNA メチル化はエピジェネティック修飾の 1 つで、遺伝子の可塑的な発現制御に関与することが知られている。また植物の葉では、周囲の環境変化に応じて形態を変化させる可塑性がみられることが知られており、エピジェネティック制御との関連が予想されているが、DNA メチル化の関与は不明である。そこで私たちは、葉の形態変化に関与する DNA メチル化パターンの変化（エピ変異）の探索をシロイヌナズナで試みている。

エピ変異の探索にはゲノムの塩基配列は野生型とほぼ同一であるがゲノム上の領域によって DNA メチル化パターンがそれぞれ異なる系統群であるエピジェネティック組換え自殖系統群 (epiRILs) を利用した。この epiRILs から葉が上向きに屈曲する表現型（下偏成長）を示す 2 系統 (epiRIL10 系統, epiRIL16 系統) を単離した。これら 2 系統では特定の遺伝子座における DNA メチル化の変化が下偏成長を引き起こされたと期待される。遺伝解析より、これら 2 系統の示す表現型は優性であり、epiRIL16 系統では少なくとも 3 遺伝子座が関与して、そのうちの 1 つが 1 番染色体に座乗することが示唆された。さらに推定領域内の遺伝子における発現と DNA メチル化パターンの解析を行なったところ、メチル化が減少して発現が上昇している 3 遺伝子が原因遺伝子候補として挙げられた。そこで現在、これらの原因遺伝子候補を標的とした epiRIL16 系統背景の機能欠失変異体及び野生型背景の強制発現体を作成し、それぞれ表現型が失われるか、また表現型が現れるかについて観察を行うことで原因遺伝子の同定を試みている。また epiRIL10 系統の連鎖解析から、原因遺伝子座の座乗する領域の推定を進めているためその結果も報告する。

P-37

花卉が屈曲するアサガオ変異体「台咲（だいざき）」の原因遺伝子の同定と機能解析

Identification and functional analysis of the causal gene for the petal-folding mutant in morning glory

山田 康志¹, 星野 敦^{2,3}, 仁田坂 英二⁴, 武田 征士¹

¹京都府立大学大学院, ²基礎生物学研究所, ³総合研究大学院大学, ⁴九州大学

アサガオ (*Ipomoea nil*) は日本で古くから親しまれている園芸植物である。奈良時代に種子を薬として用いるために中国より渡来し、その後鑑賞目的で栽培されるようになり、江戸時代から様々な形質を持つ変化アサガオが作出された。変化アサガオのひとつである「台咲（だいざき）」は、花卉（花冠）が2回折れ曲がることで、花の中央に「台」と呼ばれる筒状構造が作られる。花卉の屈曲は、花卉とがく片の表面にある分泌腺毛の発生異常によるものであり、狭い蕾内部においてスムーズに花冠が伸長するためには、表面の分泌腺毛が重要であることが示唆された。本研究では「台咲」の原因遺伝子の同定を進めた。DNA マーカーを用いたマッピング及び複数の台咲系統の全ゲノム解析の結果から、原因候補遺伝子が *WOX* 遺伝子ファミリーのひとつであることが示唆された。この原因候補遺伝子について、発現・機能解析を進めている。花卉屈曲はシロイヌナズナの突然変異体でも見られ、さらにトレニアなどの閉鎖的な蕾を持つ花では、花卉やがく片表面に分泌腺毛を持つことが確認されていることから、蕾中のスムーズな花卉伸長制御は、植物に共通であることが示唆されている。本研究成果により、「花卉をまっすぐ伸長させる」という、花にとって重要なメカニズムの解明に加えて、他の植物種への応用が可能になれば全く新しい形質を持つ花き植物の作出が可能になる事が期待される。

P-38

シロイヌナズナ LATE FLOWERING 転写因子の機能解析

Functional Studies of the Transcription Factor LATE FLOWERING in Arabidopsis

中野 仁美¹, 河合 真紀^{1,2}, 荒井 萌伽^{1,2}, 藤原 すみれ^{1,2}

¹産総研・生物プロセス, ²筑波大・生物

植物の栄養成長期から生殖成長期への転換は生存戦略に直結するため、花芽形成は植物の一生において最も重要なポイントの一つである。そのため、生育する環境や内生のシグナルに応じて精緻に制御を受けている。さらに、農作物の生産性向上やバイオマス増産といった産業上重要な課題と密接に関わっている。そこで我々は、花成制御のさらなる理解のために、シロイヌナズナの LATE FLOWERING (LATE) 転写因子の機能解析を行うことにした。LATE は C 末端側に EAR と呼ばれる典型的な転写抑制ドメインを持ち、過剰発現させると花成制御因子の発現を抑制することが示されていたが (Weingartner et al. Plant J 2011)、転写因子としての機能は不明であった。そこで本研究では、まず LATE タンパク質の転写調節能について調査した。一過的レポーター解析により、LATE タンパク質は転写抑制活性を持つことが示唆された。また、酵母ツーハイブリッド解析により、LATE は転写抑制複合体を形成することが知られている転写コリプレッサー TOPLESS (TPL) と EAR を介して結合する可能性が示された。以上解析より、LATE は TPL とともに転写抑制複合体を形成して下流遺伝子の発現を抑制制御する可能性が示唆された。さらに、LATE 機能欠損による花成への影響を調査するため、ゲノム編集により LATE 変異体を作製しその表現型を観察した。変異体は早咲き形質を示すと予想したが、得られた変異体では花成制御因子の遺伝子発現は変化せず野生型と同程度の花成を示した。以上より、LATE と機能冗長な因子の存在が示唆された。

P-39

抗オーキシン活性を示す化合物 AAs の性質

Characterization of novel Anti-Auxin compounds AAs

眞木 祐子¹, 副島 洋¹, 佐藤 長緒², 綿引 雅昭², 谷野 圭持², 山口 淳二²

¹雪印種苗(株), ²北大院・理

オーキシンは植物の生長、発根、細胞分裂などをつかさどる植物ホルモンであり、その生理作用は多岐にわたる。すなわちその拮抗阻害剤であるアンチオーキシンも広い活性をもち、農業上有用とされる。

我々は、アズキ不定根発生促進アッセイを用い、インドール酢酸併用条件において不定根形成が抑制される化合物の探索を行った。その結果、明確に不定根形成抑制活性を示す化合物を見出した。その構造をもとに類縁体を合成し、活性必須構造を定義しこれらを AAs とした。

AAs No.1 は、シロイヌナズナにおいてインドール酢酸による主根伸長阻害、側根密度上昇の表現型を抑制することも明らかになった。

本化合物群の応用面での活用可能性を含め議論したい。

P-40

光環境がダイズ水耕栽培における根粒形成に及ぼす影響

Effect of light environment on root nodule formation in hydroponic cultivation of soybean

宮脇 克行^{1,2,3}, 鈴木 祐樹², 山田 朔実³, 中井 綾³

¹徳島大BIRC, ²徳島大・生物資源産業学, ³徳島大・院創成科学

ダイズは根からイソフラボンなどを土壤中に分泌することにより、根圏にて根粒菌との共生関係を構築すると考えられているが、水耕栽培における共生関係についての研究はあまり報告されていない。本研究は、光条件の違いが水耕栽培における根粒形成に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。ダイズ種子に根粒菌を接種し、光量を合わせた4種類の光条件（蛍光灯：コントロール、660 nm-LED、450 nm-LED、660 nm + 450 nm-LED 混合）にて約1ヶ月間栽培し、形成される根粒や養液に含まれる総イソフラボン量などの比較を試みた。コントロールと比較すると、660 nm-LED 単独照射区において形成された根粒数および重量は減少していることがわかった。また、450 nm-LED 単独照射区においても、形成された根粒数は減少しているが、1個あたりの根粒重量は有意に増加していることがわかった。一方、660 nm + 450 nm-LED 混合照射区における根粒数はコントロールと有意な差がみられないが、根粒の総重量および根粒1個あたりの重量が有意に増加していることがわかった。次に、栽培養液に含まれる総イソフラボン量の比較解析を行うために、根粒菌を接種したダイズ苗を窒素フリー養液にて約2週間栽培した後の養液から総イソフラボン抽出を行った結果、養液中にはダイゼインが最も多く含まれており、660 nm + 450 nm-LED 混合照射区の栽培養液におけるダイゼイン濃度が最も高いことがわかった。以上の結果から、ダイズの水耕栽培において、660nm と 450nm-LED の両方の使用は根粒形成を促進させる効果があると考えられ、根粒形成の促進は根からのイソフラボン分泌量の増加に関係している可能性が考えられた。

P-41

ヒメツリガネゴケのペルオキシダーゼ (Prx34) の分泌

Secretion of peroxidase (Prx34) from *Physcomitrium patens*

中 雄輝¹, 伊藤 健司¹, 林 由惟², 秋田 求²

¹近大・院生物理工, ²近大・生物理工

ペルオキシダーゼは、代謝、防御や成長などに関与している重要な酵素である。また、ペルオキシダーゼは広い基質特異性をもつことなどから、研究や臨床、工業分野などに幅広く利用されている酵素である。私達はモデル植物であるヒメツリガネゴケ (*Physcomitrium patens*) からクラスIIIペルオキシダーゼである Prx34 を見出した。Prx34 はヒメツリガネゴケ原系体をキトサン処理すると培地中に放出され、またヒメツリガネゴケのカビに対する抵抗性に重要な役割を担うことが報告されている (Lehtonen et al. 2009)。大腸菌に異種発現させた Prx34 が興味深い性質を有することを、私達は昨年度本学会で報告した。しかし、ヒメツリガネゴケにキトサン処理を行った時に、Prx34 が培地中に放出される機構などは未だ明らかになっていない。大腸菌 (Rosetta 株) に生産させ、精製した組換え Prx34 をキトサンやグルコサミンと反応させると、ROS が生成される (2022 年度生化学会大会, 伊藤)。ヒメツリガネゴケにおいて、Prx34 はキトサン処理を行うことで茎葉体でも培地中に分泌されるが、いっぽう、グルコサミン処理をしても、Prx34 は培地中に放出されなかった。したがって、ROS 生成自体は Prx34 の放出に関係していないと考えられた。Prx34 の N 末端には、シグナルペプチド様の配列が存在する。シロイヌナズナ培養細胞や培養根に Prx34 の全長を導入し、発現させると分泌生産された。したがって、Prx34 は、大腸菌とシロイヌナズナの両者で機能するシグナルを有することが明らかになった。

P-42

病原菌耐性を示すシロイヌナズナのエピジェネティック組換え自殖系統

An Epigenetic Recombinant Inbred Line with Pathogen Resistance in *Arabidopsis thaliana*

太田 稔基¹, 伊佐 猛¹, 星野 愛海¹, 石賀 康博², 西村 泰介¹

¹長岡技術科学大・院・工, ²筑波大・生命環境係

植物では、病原菌の二次感染への抵抗性が高くなるプライミングが知られている。プライミングには細胞記憶で作用するエピジェネティック制御が関与すると予想されているが、その分子メカニズムはほとんど明らかになっていない。一方、植物において病原菌の感染によって DNA メチル化の減少が引き起こされること¹、ゲノム上の DNA メチル化が著しく減少したシロイヌナズナ *met1* 突然変異体が病原菌への高い抵抗性を示すこと²が知られていることから、DNA メチル化によるエピジェネティック制御がプライミングに関与している可能性が考えられる。

私たちは、どの遺伝子座における DNA メチル化の変化が病原菌抵抗性を引き起こすかを明らかにするため、*met1* 突然変異体と新規 DNA メチル化活性が抑制された *drm2* 突然変異体を交配することで作出された、ゲノム上の各部位において DNA メチル化パターンがそれぞれ異なるエピジェネティック組換え自殖系統群 (epiRILs) から病原菌抵抗性を示す系統の選抜を試みた。その結果、*Pseudomonas syringae* の感染に高い抵抗性を示す MH011 系統を単離することに成功した。MH011 系統の示す病原菌抵抗性は安定して次世代に遺伝し、戻し交配後の F1 世代も病原菌抵抗性を示したことから優性の形質であることが示唆された。また RNA-seq による発現量解析の結果、MH011 系統において感染前後の免疫関連遺伝子の発現変動が野生型と異なっていることが明らかになった。このような遺伝子の中に病原菌抵抗性を引き起こす原因遺伝子が含まれると予想される。

1 Yu, et al. 2013. PNAS 110(6)2389-2394.

2 Downen, et al. 2012. PNAS 109(32)E2183-2191.

P-43

乾燥ストレス耐性機構における転写因子 SGR5 の機能解析

Analysis of the transcription factor SGR5 that functions in the drought resistance mechanism

荒井 萌伽^{1,2}, 木越 景子¹, 河合 真紀^{1,2}, 中野 仁美¹, 光田 展隆¹, 藤原 すみれ^{1,2}

¹産総研・生物プロセス, ²筑波大・院生物

温暖化等の地球規模の気候変動は農地環境の悪化を進め、農作物や資源植物の安定供給を脅かし始めている。そのため気候変動に適応した環境レジリエントな植物の開発に向けた植物の環境ストレス耐性機構の解明が求められている。我々は植物転写因子、特に転写抑制因子に着目し、転写抑制因子に VP16 転写活性化ドメインを付加して過剰発現させたシロイヌナズナ形質転換体を網羅的に作製し、環境ストレス耐性機構に関わる新規転写因子の単離と機能解明を目的とした各種スクリーニングと解析を進めている。各種環境ストレス処理下での耐性系統のスクリーニングの結果、SHOOT GRAVITROPISM 5 (SGR5)-VP16 過剰発現体を乾燥ストレス耐性系統として見出した。SGR5 過剰発現体は SGR5-VP16 過剰発現体よりも強い乾燥耐性を示し、SGR5 機能欠損株は乾燥感受性を示した。SGR5 のプロモーター活性は葉では主脈などに加え孔辺細胞においても観察された。SGR5-VP16 過剰発現体では明条件下で気孔開度の低下が観察され、また単位面積当たりの孔辺細胞数においてもコントロールと比較して減少が見られた。これらの結果から SGR5 が気孔の開閉や形成の制御へ関与する可能性が示唆された。現在、RNA sequencing 解析などにより、SGR5 が制御する遺伝子や経路の同定を進めている。本発表では、これらの解析結果をもとに、乾燥ストレス耐性機構における SGR5 の機能を考察する。

P-44

植物の光合成活性向上を目指した転写因子の探索と成長への影響

Screening for the transcription factors with enhanced photosynthetic activity

鄭 貴美¹, 高橋 俊一², 高木 優³, 光田 展隆¹

¹産総研・生物プロセス/ゼロエミ, ²琉球大・熱帯生物圏, ³埼玉大学大学院・理工学

光合成は、大気中の二酸化炭素を取り込んで炭水化物に変換し、植物のバイオマス成長に重要な役割を果たすだけでなく、環境への二酸化炭素の低減にも貢献するため、植物や人間にとって重要なプロセスである。これまで、植物の光合成活性に関与するいくつかの転写因子が報告されているが、それらの発見は主に光合成活性への間接的な影響（光応答や葉緑体の発達など）に基づいていた。一方、本研究では、シロイヌナズナの約 1000 種類の転写因子について、それらのキメラリプレッサ型を発現させた形質転換体を用いて、直接的な光合成活性を指標とした転写因子の同定を目指した。具体的には、葉の単位面積当たりに生成される酸素量を測定した。その結果、光合成活性が野生型と比較して高い候補株を選抜することができた。興味深いことに、光合成活性が顕著に高い植物では、バイオマスが小さくなる傾向が見られた。これは、高い光合成活性が常に植物の成長にプラスの影響を与えるわけではないことを示唆する。この発表では、これまでのスクリーニング結果の概要と共に、光合成と植物の成長の負の関係に潜む潜在的なメカニズムについて議論する。

P-45

中赤外分光法による植物メタボロミクス — コムギ高温ストレス応答への適用

Plant metabolomics using mid-infrared spectroscopy — Application to heat stress response in wheat

竹田 佳生¹, O. M. Osman Salma^{2,3}, 只野 翔大², 山崎 友渡¹, I. Saad Abu Sefyan³, S. A. Tahir Izzat³, 山崎 裕司⁴, 辻本 壽⁴, 明石 欣也^{1,2}

¹鳥取大院・持続性社会, ²鳥取大院・連農, ³スーダン農業研究機構, ⁴鳥取大・乾地研

[目的] 地球温暖化に伴う気温上昇により、厳しい高温環境でも安定して生産できるコムギ品種の育成が求められている。そこで本研究では、圃場での分析が比較的容易であり、高分子の分析が可能である Fourier transform infrared (FTIR) 分光法をケモメトリクス手法と組み合わせることで、コムギにおける高温ストレス分子応答の学術的理解を深めることを目的とした。

[方法] コムギ農林 61 号系統を人工気象器内で日中温度 22°C の条件で栽培し、第 3 葉展開時に日中温度 42°C の高温ストレスに 6 日間暴露した。コムギ葉を粉碎し KBr 錠剤法により FTIR スペクトルデータを取得し、多変量解析に供した。細胞壁成分は各溶媒で段階的に分画し、それらの単糖組成はガスクロマトグラフィーにより分析した。

[結果] コムギ葉の FTIR スペクトルを主成分分析に供したところ、ストレス条件とコントロール条件のスペクトルは部分的に重複したクラスターを形成し、ストレス条件に特異的なスペクトルは確認されなかった。そこでコムギ葉粉碎物を 80% エタノールにより抽出し、さらに 80% エタノール不溶性画分を 4 種の水溶液で段階的に抽出した。その後取得した FTIR データを用いて機械学習の 1 種である線形判別分析を行ったところ、細胞壁ペクチンが主成分とされる 50 mM 酢酸ナトリウム (pH=5) 可溶性画分において、900-1200 cm⁻¹ の指紋領域のスペクトル形状に視覚的にも明瞭な差異が認められた。そこで同画分における単糖組成分析を行った結果、ペクチンを構成する単糖組成が熱ストレス下において対象葉と顕著に異なることが見いだされ、高温ストレスに対するコムギ葉の応答は細胞壁の化学組成の変化を伴うことが示唆された。

P-46

Screening Effective Fungicides to Overcome Leaf Fall Disease in Indonesia Rubber Plantations

Wen Dee Ong

RIKEN CSRS

Natural rubber from *Hevea brasiliensis* is an unreplaceable raw material used for industrial and automotive tire production. In recent years, rubber plantations worldwide have been hit hard by leaf fall disease caused by *Pestalotiopsis* sp., fungus that not only attacks leaves but also fruits of some crops. The attack of *Pestalotiopsis* sp. on rubber leaves resulted in a drastic decline in rubber production of between 15 to 35%. Thus, we aim to screen for fungicides that could combat early foliage fall by *Pestalotiopsis* sp. for rubber field application. Laboratory screening of a subset of Japanese pesticides found Quinondo and Topsin significantly inhibit the growth of three *Pestalotiopsis* strains. Moreover, both chemicals showed inhibitory activity to *Colletotrichum* sp. suggesting its superiority compared to other chemicals for use as fungicides to protect crops against pathogens. Next, we will evaluate the effectiveness of both chemicals in controlling the development of infection by *Pestalotiopsis* strains identified from rubber plantations in Indonesia. In terms of good field trial results from greenhouse testing, these fungicides will be applied on rubber plantations to help farmers to obtain modest latex harvest from rubber trees.

P-47

スフィンゴ脂質不飽和結合を欠損するシロイヌナズナ変異体は低温障害の表現型を示す

Arabidopsis thaliana Mutants Deficient in Sphingolipid Unsaturated Bonds Exhibit a Low Temperature Injury Phenotype

北岡 雅隆, 山口 雅利, 川合 真紀, 石川 寿樹

埼玉大・院理工

スフィンゴ脂質は、長鎖塩基 (long chain base; LCB) のアミノ基に脂肪酸がアミド結合したセラミドが分子骨格となり、そこに様々な親水性頭部が結合した複合脂質である。ナノドメインの構成要素として主に細胞膜に存在し、ストレス応答に寄与している。シロイヌナズナでは、セラミドの LCBA8 位と脂肪酸 n-9 位に不飽和結合を持つことが特徴であり、それぞれ SLD1 (sphingoid LCB Δ8 desaturase) および ADS2 (acyl-lipid desaturase 2) が不飽和化を担っている。先行研究において、これらを欠損した *sld1 ads2* 二重変異体は、野生型および各単独変異体と比べ、低温馴化後の凍結耐性が著しく低下することが明らかになった。しかし、代表的な低温馴化応答である適合溶質の蓄積は正常であるなど、凍結耐性低下の原因は不明であった。本研究では、セラミド不飽和結合の欠損が低温耐性を低下させる原因を明らかにすることを目的として、シロイヌナズナ *sld1 ads2* の非凍結温度における低温耐性を解析した。野生型植物は低温処理中に生育が停止したが、通常生育温度に戻すと速やかに生育を再開した。一方、*sld1 ads2* は低温処理中には野生型との差異は見られなかったが、通常生育温度に戻すと葉が黄化し、生育が強く抑制された。この表現型は、低温処理期間を長くするとより顕著になり、また、幼植物体ではさらに重篤な障害が生じることがわかった。このことから、*sld1 ads2* は凍結に達しない温度域で低温障害を受けることが明らかとなり、このことが凍結耐性の低下の要因になっていることが考えられた。

P-48

チャ (茶樹) におけるボンバードメント法を用いたゲノム編集のための不定胚培養

Somatic embryo culture for genome editing using by particle-bombardment in tea plant (*Camellia sinensis*)

稲葉 佑弥¹, 平田 洲五¹, 青島 千恵理¹, 瀬川 大樹¹, 山下 寛人³, 一家 崇志³, 古川 一実²

¹沼津高専 専攻科, ²沼津高専 物質工学科, ³静岡大学 農学部

チャ (茶樹: *Camellia sinensis*) はカフェインやカテキン類など機能性成分を生産する嗜好飲料の原料で、成分改変や永続的栽培に適した形質のための育種が求められている。チャの開花・交配後の種子形成までに1年を要し、得られる種子数も少ない上にヘテロ接合性であるため、育種の効率化を目指して本研究ではゲノム編集法について条件検討を行っている。現状で使用できる培養物は不定胚培養系であり、カテキン類などの抗菌成分によりアグロ法が見込めないことと、表面単細胞からの二次胚形成が可能であることからボンバードメント法によるゲノム編集法の適用を試みている。ベクターを打ち込んだ不定胚からの確実な二次胚誘導のための培養条件及び要因の調査と、パーティクルガンを適応する最適な不定胚条件を検討した。チャの不定胚は 2 mg L^{-1} IBA および 4 mg L^{-1} BA を含む MS 培地で培養した後にホルモンフリー培地に移すことで二次胚誘導が生じる。チャの不定胚モデルとしてインド紅茶系統 'Tingamira normal' の不定胚を用いて経時的なトランスクリプトーム解析を行った結果、ホルモンフリーに移植して10日以内に二次胚形成のトリガーがあることが示唆された。また、ボンバードメント処理 (金粒子 $\phi 1.0 \mu\text{m}$, 1100psi, 真空度 27in Hg VAC) の後に培地の上になる紙を敷いた培養条件で、0.2% gellan gum 単独よりも多くの二次胚を形成することができた。さらに、細胞分裂と関わるホルモンフリーへの移植とボンバードメント処理のタイミングについて調査を行った。

P-49

虫こぶ形成植物ヌルデ (*Rhus chinensis*) の組織培養条件および形質転換系の確立に向けて

Towards establishment of tissue culture and transformation system for the insect gall-forming plant *Rhus chinensis*

塗木 彩花¹, 藤井 祐都², 大坪 憲弘²

¹京都府大・生命環境, ²京都府大・院生命環境

虫こぶを形成する寄生昆虫が寄主植物の形態や生理的機構を自在に操る能力は、新たな植物改変技術として活用できる可能性がある。我々は、ヌルデ (*Rhus chinensis*) を宿主とするヌルデシロアブラムシ (*Schlechtendalia chinensis*) の虫体抽出液が植物の成長や組織分化に与える影響を研究してきた。しかし、その評価にはヌルデ以外の非宿主植物を用いており、本来の寄主-宿主の関係を見だせていない。本研究では、ヌルデを虫こぶ研究のモデル植物とすることを目的として、組織培養系の確立、及びアグロバクテリウム法による形質転換系の確立を試みた。種子を滅菌後、MS培地上に播種して育成した2カ月齢のヌルデから葉、茎、葉柄、根の切片をそれぞれ切り出し、実験材料として供試した。0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L BA と 0, 0.1, 0.5, 1.0 mg/L NAA をそれぞれ組み合わせたMS培地でのカルス誘導とその後の組織分化を調査した。葉片では置床後10日目には無添加区以外のすべての組み合わせでカルス形成が認められた。なかでも1.0 mg/L BA, 0.5 mg/L NAA 及び1.0 mg/L BA, 0.1 mg/L NAA 添加区でカルスの増殖が著しく、緑色でその後の不定芽や不定根の誘導が最も顕著に観察された。次に、ヌルデの葉切片、茎、葉柄、根の切片にCpYGFPを高発現するベクターを導入したアグロバクテリウムEHA105株を接種した。共存培養5日後の葉片でYGFP蛍光を観察した結果、25.6%の葉片で蛍光スポットが確認された。これらの葉片当たりのスポット数は平均8.4であり、多いもので60スポットであった。今後、上記で調査したホルモン条件を参考にハイグロマイシンを含む選抜培地で形質転換不定芽を誘導・選抜し、植物体を得る予定である。

P-50

表皮細胞形態の制御による花弁質感を改変したユーストマ (*Eustoma grandiflorum*) の作出

Production of *Eustoma grandiflorum* with novel petal texture by controlling petal epidermal cell morphology

石田 怜子¹, 谷上 愛海¹, 池田 有理子¹, 矢野 翼², 新保 由紀子¹, 大坪 真樹¹, 足立 浩崇³, 大沼 紀子³, 藤田 和義⁴, 坂口 公敏³, 河西 崇³, 寺川 輝彦², 武田 征士¹, 大坪 憲弘¹

¹京都府立大・院・生命環境, ²インプラントイノベーションズ, ³ミヨシ, ⁴三好アグリテック

花弁質感とは「マット」「ピロード」などの言葉で表される花弁表面の特性のことを表す。四方らの報告では転写因子機能抑制技法であるCRES-T法を用いてシロイヌナズナ由来の*AtbZIP44* および *AtKNAT2* のキメラリプレッサーを共導入したトレニア (*Torenia fournieri*) で花弁表皮細胞の形態と花弁質感の変化が観察された (Shikata et al. 2011)。そこでわれわれは、市場規模が大きく多様な品種が存在するユーストマにこれらのキメラリプレッサーを導入し、花弁質感を改変した花きの作出を目指している。ユーストマから単離した *EgbZIP44* および *EgKNAT2* のキメラリプレッサーを個別に導入したトレニアでは、いずれも花弁表皮細胞の形態と質感の変化が観察された (谷上 2022)。

質感の変化がわかりやすく現れると期待されるユーストマ濃色系統‘ナイチンゲール’、‘ナイチンゲールナイト’の各親系統について、形質転換系統の作出を目標としてアグロバクテリウムを用いた形質転換の条件検討を行った。谷上が‘ハピネスブルー 2 型’で行った条件検討を基本に、前培養期間 5, 10, 15, 20 日、菌液への浸漬時間 10 分または 30 分で形質転換効率を比較した。その結果、‘ナイチンゲールナイト’種子親系統では、感染後 14 日目の蛍光スポットが観察された葉片の割合が前培養期間 5 日、浸漬時間 30 分処理区では 47% と最も高くなった。他の系統についても同様に最適化を進めている。

先行する‘ハピネスブルー 2 型’各親系統については、ユーストマ由来の *EgbZIP44* および *EgKNAT2* のキメラリプレッサーをそれぞれ導入した約 50 系統について順次開花を進めており、これらの開花後の花弁表皮細胞の形態と質感の調査についても一部報告したい。

P-51

高濃度硫酸銅添加による *Eustoma grandiflorum* の形質転換系の効率化と液体培養実生を用いた簡便な形質転換手法の開発

Improvement of transformation system of *Eustoma grandiflorum* by addition of high concentration of copper sulphate and development of a simple transformation method using liquid culture seedlings

大坪 憲弘¹, 片岡 千佳¹, 新保 由紀子¹, 大坪 真樹¹, 足立 浩崇², 大沼 紀子², 藤田 和義³, 河西 崇², 坂口 公敏²

¹京都府立大・院生命環境, ²ミヨシ, ³三好アグリテック

ユーストマにはモデル品種がなく、また培養条件や形質転換の効率が低いほか品種間差も大きいことから、遺伝子組換えやゲノム編集による実用性の高い花きの作出にあたってはさまざまな品種に広く適用できる効率的な組織培養・形質転換系を整備する必要がある。そこで我々は市販 F1 品種‘ボレロホワイト’および‘ハピネスホワイト’の種子親系統を材料に、ユーストマの組織培養系およびアグロバクテリウム法による形質転換条件の大幅な見直しと液体培養実生を用いたより簡便な形質転換手法の開発を行った。葉片を用いた‘ボレロホワイト’種子親系統の形質転換では、前培養 5-10 日間、感染時のアグロバクテリウム菌液濃度 OD600=0.8、共存培養 7 日間、選抜時のハイグロマイシン濃度 30 mg/L で形質転換効率が最大 40% 超となった。共存培地および選抜培地にスクロースとゼランガムの混合培地を用い、MS 培地を基本に 0.5~1.0 mg/L BA, 0.1 mg/L NAA, 5-10 μM の硫酸銅を添加することで、カルス誘導とそれに続く不定芽の分化を大幅に促進させた。実生を用いた形質転換では液体培養による実生育成の短期化と実生全体を用いる感染手法により、形質転換体取得までの期間が大幅に短縮された。培地への硫酸銅添加は実生法でも同様に効果的であり、葉片への感染では効率の低かった‘ハピネスホワイト’種子親系統でも同等の効率で形質転換体を得られた。

P-52

ピーマンの細胞培養条件の検討

Culture conditions of *Capsicum annuum*

伊藤 稜亮, 高見澤 桃子, 一色 正之

横浜市立大・木原生物学研究所

トウガラシ属植物のうち、*Capsicum annuum* は世界で最も広く栽培されており、日本でも鷹の爪、ピーマン、ししとうなど日常的に食べられている野菜である。しかし、トウガラシ属植物は難形質転換植物としても知られている。当研究室では、*C. annuum* の形質転換法開発を目標として、ピーマンの子葉からカルスを誘導し、再分化させるという過程について実験検討している。

まずは、遺伝的背景が培養の成否に影響するであろうということから、日本で栽培されている純系のピーマンやトウガラシについて、トマトの形質転換プロトコルを参考に細胞培養を行ってみた。その結果、伊勢ピーマンのカルスから多芽体を形成することができたため、以降の実験には伊勢ピーマンを使用することにした。

本研究では、トマトのプロトコルをピーマンに最適化するように改変を行った。まずは、カルス培養時の光条件の検討を行った。これまでは 16 時間明条件で培養を行っていたが、24 時間暗条件に変更した。その結果、子葉切片におけるカルス形成効率には影響しなかったが、カルスの色や細胞接着の状況など見た目にかかなりの相違が現れた。また、ゲル化剤として、ゼランガムのみから、ゼランガムとアガロースの混合物への変更を行った。ゼランガムとアガロースを混合したゲル化剤を使用し、24 時間暗条件で培養したところ、カルスから多芽体を効率よく再生することができた。この多芽体からシュート誘導を行うため、オーキシン阻害剤を使用した条件検討を行っているが、現在のところ成功していない。

P-53

人工栽培環境におけるヒロハセネガ培養苗の栽培条件の検討と品質評価

Study of cultivation conditions under a controlled environment and quality evaluation for tissue cultured seedlings of *Polygala senega* L.var.*latifolia* Torrey et Gray

山本 和彦¹, 北添 達樹², 白畑 辰弥², 丸山 卓郎³, 北野 康史⁴, 金子 倫久⁴, 高田 泰生⁴, 河野 徳昭¹, 小林 義典², 吉松 嘉代¹

¹医薬健康研薬植セ, ²北里大薬, ³国立衛研, ⁴日本粉末薬品

ヒロハセネガはヒメハギ科の多年草で、根を乾燥させたものが生薬「セネガ」として、去痰薬等に利用される。セネガは安定した需要があるものの、栽培農家の高齢化や気候変動の影響などから、今後の安定供給が危惧されている。我々は、ヒロハセネガの国内栽培拡大を目的として、組織培養苗を利用したヒロハセネガの種苗生産システムの開発を進めており、今回、人工栽培環境におけるヒロハセネガ培養苗の栽培条件及び収穫物の品質について検討した結果を報告する。

ヒロハセネガ種子より誘導した培養苗を用いて、閉鎖温室又はグロースキャビネットにおける栽培条件を検討した。温度条件について、25°C一定と25°C-15°Cの変温条件で比較した結果、25°C一定で栽培した場合に、高い収量が得られた。25°C栽培品について、総サポニン量を測定し、市場品と同程度であることを確認した。また、¹H-NMR スペクトル及びLC/MS データの主成分分析の結果、25°C栽培品と25°C-15°C栽培品では、成分に大きな違いは認められなかった。20°C一定の閉鎖温室で養液条件を検討した結果、室温20°Cでは全体的に生存率が低く、1/2濃度の大量A処方では18%、1/2濃度の大量SA処方では40%であった。生育状態は、1/2濃度の大量SA処方を施用したものが比較的良好であった。さらに、不織布ポットを用いた栽培方法を検討した結果、重量が高く、形状も圃場栽培品に近いセネガの栽培に成功した。収穫したセネガについて、日本薬局方への適合を確認した結果、灰分以外の項目については、局方規格を満たした。

【謝辞】本研究はAMED 課題JP18ak0101104の支援を受けた。

P-54

和紙原料植物トコロアオイ培養系の開発

Development of tissue culture system for Tororo-aoi, a material for Japanese traditional paper "washi"

大関 澄花¹, 嶋田 千香², 小越 咲子², 風間 裕介¹, 池田 美穂¹

¹福井県立大学生物資源学部, ²福井工業高等専門学校電子情報工学科

トコロアオイは、アオイ科トコロアオイ属の植物であり、根に含まれる多糖質は日本の文化財である手漉和紙に必須な粘剤「ネリ」の原料となる。「ネリ」となるトコロアオイは関東地域の農家が限定的に栽培しており、農家の高齢化などにより、将来のネリ供給が危ぶまれている。そこで我々は伝統的な和紙抄造技術伝承に貢献すべくトコロアオイの組織培養系の開発を試みた。

本研究では、まず、トコロアオイとその類縁のハナオクラの組織培養を試みた。ハナオクラはトコロアオイの別名とされるが、「ネリ」としての特性は異なっており、越前和紙にはトコロアオイが用いられる。無菌播種を試みた結果、ハナオクラ種子はMS培地上で発芽・生長したが、トコロアオイは同条件では発芽率が低く、発芽しても生長しなかった。そこで、トコロアオイについては、野外栽培中の腋芽を滅菌し、培養に用いたところ、ホルモンフリーのMS培地上で腋芽の生長と、バラバラと崩れる接着性の弱いカルスの形成が見られた。これらのことから、トコロアオイとハナオクラは培養特性も異なることが示唆された。トコロアオイについて、外殖片から芽を単離し、ホルモンフリー培地に移植したところ、カルス化しつつも発根が確認された。そこで、腋芽を利用したクローン増殖を行い、節間の長さなどが異なるラインを複数得た。

「ネリ」原料となる根を効率よく生産するために、トコロアオイから毛状根の誘導を試みた。無菌トコロアオイ葉柄、および、葉身の外殖片に対して、*Agrobacterium rhizogenes* MAFF03-1724株、もしくは、A4株を感染させたところ、一部のラインにおいて毛状根形成が見られた。

P-55

アグロインフィルトレーション法によるタデアイ (*Polygonum tinctorium*) の形質転換法の検討

Examination of the transformation method of indigo plant (*Polygonum tinctorium*) by agroinfiltration

山田 朔実¹, 中井 綾¹, 井上 慎太郎², 南 善子³, 宮脇 克行^{1,2}

¹徳島大・院生物資源学, ²徳島大・BIRC, ³岡山理科大・生命科学

タデアイ (*Polygonum tinctorium*) は、工芸作物の1つであり、古くから天然藍染めの原料として利用されているほか、抗酸化や抗菌など様々な機能が報告されている。形質転換体の作出によりそれらの機能性成分の大量生産が可能となると考えられる。これまでにタデアイにおける組織培養法を検討したところ、子葉または胚軸を用いることにより高頻度でカルスを獲得することができるが、リーフディスク法ではまだ形質転換カルスを獲得することができていない。そこで我々は、アグロインフィルトレーション法の検討及び導入した葉片を用いた組織培養による形質転換体作出の検討を行った。遺伝子導入用ベクターとして GFP をレポーターとして持つ pBI 系発現ベクターを用いて、培養苗の本葉を対象としたアグロインフィルトレーション法を用いた遺伝子導入効率を解析した。その結果、ほとんどの葉において GFP 蛍光が観察され、特に、上位の若い葉が効率よく GFP 蛍光が観察されることがわかった。さらに、その GFP 陽性葉片をオーキシン含有 MS 培地にて培養した場合、約 10 日後に 75% の効率で GFP 陽性カルスが形成されることがわかった。今回、アグロインフィルトレーション法を用いることにより、高頻度でタデアイの形質転換カルスを作製することに成功した。現在、カルスからの形質転換体を作出するための検討を進めており、その進捗についても報告する。

P-56

新規カルス誘導化合物の活性評価

Activity of Novel Callus-inducing Compounds

藤野 宏太郎, 小川 拓水, 園田 素啓, 太田 大策, 岡澤 敦司

大阪公大・院農

カルスは適切な濃度のオーキシンとサイトカイニンを含むカルス誘導培地 (CIM) を用いることで、植物組織から人工的に誘導することができる。しかし、オーキシンとサイトカイニンを用いたカルス誘導では、植物種ごとに最適な植物ホルモン濃度条件を検討しなければならない。一方、当研究グループで新規に発見されたカルス誘導化合物は単体でカルス誘導活性を持つ。

本研究では、この新規カルス誘導化合物のカルス誘導活性を評価した。その結果、新規カルス誘導化合物は既知のカルス誘導化合物より低い濃度で活性を示した。また、モデル植物 *Arabidopsis thaliana* に加え、マメ科やイネ科植物においてもカルスを誘導したことから、本新規カルス誘導化合物を広範囲の植物種に利用できる可能性が示された。

新規カルス誘導化合物と CIM のカルス誘導機構の差異を調べるため、*DR5::GUS A. thaliana* 形質転換体を用いたオーキシン応答の観察を行った結果、CIM と新規カルス誘導化合物で誘導されたカルスではオーキシン応答が異なることが明らかになった。

P-57

イネカルのオートファジーによる炎症シグナル調節機構の解明

Critical roles of autophagy in the regulation of inflammatory signals in rice callus

来須 孝光¹, 榎本 光大¹, 小島 崇義¹, 玉木 敬悟¹, 木村 成介², 中野 正貴³, 西内 巧³, 花俣 繁⁴, 朽津 和幸⁵

¹公立諏訪東京理科大・工, ²京都産業大・生命科学, ³金沢大・研究基盤支援, ⁴神奈川大・理, ⁵東京理科大・創域理工・生命生物科学

イネにおいて細胞内のリサイクルシステムの1つであるオートファジーの欠損が、花粉成熟過程における花粉壁異常、タペート細胞におけるプログラム細胞死、そして種子登熟課程の胚乳異常等の形質に影響を及ぼすだけでなく、リン脂質成分に量的・質的異常を生じさせることが判明している。我々は最近、イネのオートファジー欠損変異株 *Osatg7-1* を用いて種子胚由来のカルス誘導を観察したところ、形成過程は正常であるが再分化能が早期に消失し、カルスの顕著な褐変化、そして再分化幼苗も極めて脆弱であることが明らかになった。そこで、カルスの活性酸素種 (ROS) 蓄積を、NBT や DAB 染色を用いて解析したところ、*Osatg7-1* はコントロールに比べて明らかな ROS 蓄積が観察され、遺伝子発現解析からも酸化ストレスマーカーや ROS 消去関連酵素遺伝子群の発現変動が見られ、酸化ストレス適応へのオートファジーの関与が示唆された。一方、メタボロミクス解析から、*Osatg7-1* において多くの脂質関連代謝産物が蓄積するとともに、細胞膜のリン脂質を原料とし、動物においては炎症シグナル物質として作用するプロスタグランジン (PG) 等のアラキドン酸関連物質も高蓄積していた。本発表では、抗炎症薬を用いたカルス再分化能への影響についても報告するとともに、イネの組織分化制御におけるオートファジーの意義とストレス適応ネットワーク、炎症シグナルとオルガネラ品質との関連について議論する。

P-58

An efficient plant cell and tissue culture protocols of avocado (*Persea americana* Mill.) seed cotyledons

Bienvenu Kwizera, Shinjiro Ogita, Hiroyuki Kohmura

Prefectural University of Hiroshima (Graduate School of Comprehensive Scientific Research)

This research was focused on improving the plant cell and tissue culture protocols for efficient propagation of *in vitro* seedling and induction of prominent cell line from different portions of avocado seed cotyledons. A total of 20 avocado fruits trimmed to remove avocado seeds. Then each seed systematically divided into 2 cotyledons where each cotyledon cut into 4 small portions of 3-5 mm thickness (B, M1, M2 and T). All the portions were transferred to the following MS media, seedling propagation medium; MS-free or callus induction medium supplemented with 10 μ M of 2,4-D and 3 μ M BA. 3% (w/v) sucrose and 0.3% (w/v) gellan gum were added to the media. All the cultures were incubated for 4 weeks in dark condition at 25°C. Considering the type of MS supplemented with 10 μ M of 2,4-D and 3 μ M BA which is best for all type of responses B portions have potential to induce callus after 7 days where M1 portions have potential to induce callus and shoot after 7 days, then the response decreases after 28 days as the shoot grow into plantlets, M2 and T portions have potential to induce callus after 14 days; the MS-free has potential to the development of shoot and root where 57.8% of M1 explants on MS-free grown into shoot plantlets and 36.8% of M1 explants on MS supplemented with 10 μ M of 2,4-D and 3 μ M BA grown into shoot plantlets. * **B**: Base; **M1**: Middle 1; **M2**: Middle 2 and **T**: Top

P-59

シナマオウの大量増殖に向けた無菌培養および発根個体の作出

Sterile culture and generation of rooting individuals for mass propagation of *Ephedra sinica*

矢野 翼¹, 樋山 肇², 櫻井 美希², 高野 成央¹, 寺川 輝彦¹

¹株式会社インプラントイノベーションズ, ²株式会社ツムラ

シナマオウ (*Ephedra sinica*) は、中国東北部からモンゴル等の原野や乾燥地に生育する裸子植物の多年生常緑小低木であり、乾燥した地上茎は生薬「麻黄」として用いられている。麻黄の主な薬効成分としてエフェドリンアルカロイドが挙げられ、葛根湯や小青竜湯、麻黄湯等の漢方製剤に配合される。シナマオウを栽培する上でエフェドリンアルカロイド含量のばらつきが課題であり、個体選抜による有効性を示してきたものの (Hiyama *et al.* 2021)、選抜後の大量増殖技術については未だ確立されていない。本研究では、シナマオウ大量増殖技術確立を目的とし、圃場栽培シナマオウ株から無菌培養系を経由した苗生産系の取り組みについて報告する。秋季から冬季 (10月～翌年1月) の休眠中のシナマオウ地上茎から、各節に見られるロケット型成長点を無菌的に採取し、培養培地で無菌培養を行った。DKW/Juglans 基本培地、ビタミン、IBA 0.1 mg/L の添加によりシュート増殖が促進された。また、培養温度を 20°C とすることで増殖シュートのガラス化が抑えられた。生育シュートは、川砂とパーミキュライトの 1:1 混合土を詰めたチューブに移植し、発根誘導および順化を行った。チューブは、半透明コンテナ内で高湿度条件にて培養を開始し、2~3 週間かけて湿度を約 50% まで低下させると発根し、順化も可能であった。無菌化したシュートの増殖は圃場栽培の植物体と比較して旺盛であることから、発根条件の最適化を行い、発根効率を更に高めることで、苗生産効率が向上することが期待できる。今後もシナマオウ種苗の大量生産に貢献する技術開発を進める。

P-60

トチュウ化石中に局在するトランス型ポリイソプレンに関する研究

Study on trans polyisoprene localized in fossilized *Eucommia ulmoides*

武市 誠¹, 川瀬 凜¹, 山城 考¹, 中澤 慶久¹, 伊藤 謙², 沢田 健³, 塚腰 実⁴

¹徳島大・院創成科学生物資源学, ²大阪大・総合学術博物館, ³北大・院理学研究, ⁴大阪市立自然史博物館

1. はじめに

トチュウ (*Eucommia ulmoides*) は、全草を引き裂くと白色糸状の TPI (*trans*-1,4-polyisoprene) が目視観察される。欧米、アジアからは、地質年代の第三期である鮮新世のトチュウ化石が発見されており、この化石からも TPI とみられる物質が確認されている。この TPI が数百万年以上の時間の経過から、化石として変成された性状であるか、変成を受けていないポリマーとして現存しているのか解明されていなかった。

2. 目的

本研究では、トチュウの化石中に局在する TPI (FoEu-TPI) について、現存するトチュウの TPI (Eu-TPI) と、SEM 観察と顕微 FTIR による比較検証により、TPI の物質としての性状変化や化学的変成の変化を解明することを目的とした実験科学的な解明に取り組んだ。

3. 実験および結果

SEM 観察により、Eu-TPI と FoEu-TPI において、Eu-TPI と FoEu-TPI の形態学的性状に相違は見られなかった。顕微 FTIR 解析では、化学的組成に相違はなく変性を受けていないと結論付けた。以上の実験結果より、Eu-TPI と FoEu-TPI の両者に、形態的性状および化学的組成の変化はなく、700 万年を経た植物化石であっても、植物が産生した TPI は環境条件が整っていれば変成しなかった。

4. 考察

トチュウの TPI は、植物が作り出した天然プラスチックである。この天然プラスチックは、今回のサンプルでは 700 万年を経過しても化学的修飾や変性を受けていないことが化学的に証明された。昨今、プラスチック製品のマイクロプラスチック問題が環境汚染の話題となっている。トチュウ化石中の TPI は長期の視点でプラスチックを考察する最良の研究材料と考察する。

P-61

フェルロイルアラビノキシラン側鎖構造の形成に関与する酵素の機能解析

Functional characterization of enzymes involved in the formation of feruloyl arabinoxylan side-chain structures

鈴木 聖治¹, 木村 琢人², 坂本 真吾³, 木塚 康彦^{1,2,4}, 光田 展隆³, 石水 毅⁵, 鈴木 史朗^{1,2}

¹岐阜大・院連農, ²岐阜大・応用生物, ³産総研 生物プロセス, ⁴東海機構 iGCORE, ⁵立命館大・生命

イネ科植物の主要なヘミセルロースは、フェルロイルアラビノキシラン (FAX) と呼ばれ、キシラン主鎖にアラビノース-フェルラ酸 (Ara-FA) という特徴的な側鎖が付加しており、イネ科植物バイオマスリファイナリーおよびイネ科穀類の機能性食物繊維という両面から注目されている。FAX 生合成において、XAT (Xylan ArabinosylTransferase) や BAHD-AT (BAHD-AcylTransferase) が、それぞれ Ara および FA 転移を担うとされる。これらの酵素は、イネ科植物のイネ (*Oryza sativa*) やエノコログサ (*Setaria viridis*) を中心に遺伝子レベルで同定されているものの、タンパク質レベルでは未解明な点が多い。そこで、本研究では、イネおよびエノコログサを用いて、①側鎖形成に関与するホモログ酵素間の酵素学的な機能の違い、および②BAHD-AT の細胞内局在性を明らかにすることを目的とした。

【実験①】イネ XAT (OsXAT2) およびそのエノコログサオソログ (SvXAT2) の His タグ付き組換えタンパク質を Free Style HEK293 細胞の培養液上清に発現させた。固定化金属アフィニティークロマトグラフィー (IMAC) 精製により精製組換えタンパク質を得て、現在、これらの組換えタンパク質のキャラクタリゼーションを行っている。

【実験②】N 末蛍光タンパク質タグ付きイネ BAHD-AT (OsAT9) をイネ幼苗から調製したプロトプラストで発現させ、蛍光顕微鏡観察を行った。今後、C 末蛍光タンパク質タグ付きイネ BAHD-AT (OsAT9) を同様に発現させるとともに、OsAT9 のエノコログサオソログである SvBAHD01 を発現させ、細胞内局在を調べる予定である。

P-62

逆転写を利用した精密ゲノム編集技術 Prime Editing によるイネおよびトマト内在性遺伝子の改変

Precise gene editing in rice and tomato via Prime Editing

横井 彩子¹, 飯田 恵子¹, 森 明子¹, 土岐 精一^{1,2,3,4}

¹農研機構・生物研, ²横浜市大・生命ナノ, ³横浜市大・木原生研, ⁴龍谷大学・農学部

Prime Editing (PE) は、ニッカーゼ型の Cas9 とウイルス由来の逆転写酵素を融合したタンパク質と、single guide RNA の末端に逆転写酵素の鋳型を付加した Prime editing gRNA (pegRNA) を細胞内で発現させることで標的部位に任意の改変を導入できる技術である。2019 年に本技術が報告されて以降、様々な手法により主に動物細胞において高効率化が進められてきた。本発表では、これまでに報告されている高効率化の手法の中で、イネの内在性遺伝子の改変において効果が見られた方法について紹介する。

開発初期に確立された PE (PE3 と呼ばれる) は、1 分子の pegRNA を利用して逆転写により片側の DNA 鎖に変異を導入し、その反対の DNA 鎖にはニックのみを生じさせる方法であった。PE3 ではイネ内在性遺伝子への塩基置換導入効率は非常に低く、改良が必要であった。そこで、2 分子の pegRNA を利用して両方の DNA 鎖に同時に変異を導入することで、変異導入効率は 15 倍程度向上した。さらに、2 分子の pegRNA の末端に RNA の分解を阻害する配列を付加した改良型 pegRNA の利用で、変異導入効率は PE3 の 50 倍程度向上した。2 分子の改良型 pegRNA を用いる PE により、1 遺伝子座への塩基置換導入のみならず、複数の遺伝子座への塩基置換の同時導入や数十塩基の挿入などの複雑な改変も可能となった。また、発現系の改良により、PE によるトマトの内在性遺伝子の改変にも成功したので合わせて紹介する。

P-63

‘プリンセチア’ (*Euphorbia pulcherrima* x *Euphorbia coranstra*) に高頻度で生じる T-DNA 切断現象の配列および種特異性の解析

Sequence and species-specificity analysis of high-frequency T-DNA cleavage in 'Princettia' (*Euphorbia pulcherrima* x *Euphorbia coranstra*)

伊藤 皓矢¹, 小岸 玲子¹, 進藤 沙弥香¹, 志茂 里菜¹, 新保 由紀子¹, 大坪 真樹¹, 松井 啓祐², 鈴木 賢一², 友松 康一², 大坪 憲弘¹

¹京都府大・院生命環境, ²サントリーフラワーズ(株)・開発部

アグロバクテリウム法を用いた形質転換では、2つのボーダー配列 (RB, LB) に挟まれた目的の遺伝子を含む T-DNA 領域が植物ゲノムに組込まれることで遺伝子導入が遂行される。当研究室では‘プリンセチア’を材料に効率的な形質転換系を確立したが、T-DNA 領域が導入途中で切断され目的遺伝子が植物ゲノムに組込まれないという現象が高頻度で起こることが確認された。この現象は‘プリンセチア’の花粉親である *Euphorbia coranstra* でも多く確認されており種特異的なものだと考えられるが、配列特異的に切断が生じるかどうかを含め原因の詳細は明らかになっていない。そこで本研究では切断頻度と箇所の調査により切断の配列特異性を解析した。2種類の目的遺伝子がそれぞれ導入された計 57 の組換え系統を用いて T-DNA 領域の導入確認を行った結果、RB 側の選抜マーカー遺伝子を保持している 56 系統のうち 17 系統で LB 側の目的遺伝子が導入されていないことが確認された。T-DNA 領域の LB 側付近が一部欠失した系統も含めると 56 系統中 33 系統と、半分以上の系統で T-DNA 領域の切断が起こっていた。これらの切断箇所は特定の部位に集中している傾向があり、配列特異的に切断が起こっている可能性が示された。また、シーケンス解析の結果複数の個体で切断部位以降も不自然に一致する 40 bp ほどの配列が確認された。T-DNA 領域の配列を精査したところ、切断の頻度を高める可能性のある特異な逆位反復配列の存在を見出すことが出来た。このことから、切断には植物側とベクター側の複数の要因が関わっている可能性が示された。

P-64

ペプチド法による葉緑体形質転換の高効率化に向けた条件検討

Examination of conditions for highly efficient chloroplast transformation using peptide

堀井 陽子¹, 小田原 真樹¹, 宮本 昂明¹, 沼田 圭司^{1,2}

¹理研CSRS, ²京大・院工学

近年、植物などを利用した効率的な物質生産システムの構築が期待されており、物質やエネルギーの生産場である葉緑体やミトコンドリアなどのオルガネラゲノムの改変が重要であると考えられる。筆者らはこれまでに、ポリカチオン配列にオルガネラ移行配列を付加した融合ペプチドをキャリア分子として利用することで、植物オルガネラへ選択的に遺伝子を導入することに成功している。このペプチド法は非常に簡便かつ迅速な手法であり、特殊な装置を必要としない。植物の形質転換に一般的に用いられているアグロバクテリウム法やパーティクルガン法は、核・葉緑体・ミトコンドリアゲノムへの非選択的遺伝子導入であるのに対し、この手法では、標的とするオルガネラゲノムに対して選択的に DNA を挿入することが可能である。また、他種多様な植物種への汎用性が高いという利点もある。

これまでの研究において筆者らは、タバコ、イネ、ケナフを実験材料として用い、ペプチド法を用いた葉緑体形質転換を進めてきた。抗生物質による選抜培養を経て得られた再分化個体のいくつかは、ジェノタイピング PCR やサザンブロット解析により、遺伝子導入後数ヶ月および次世代 (T1) においても葉緑体ゲノムが組換えられた遺伝子を保持していることが確認できた。これらの結果は、ペプチド法による遺伝子導入によって安定的な葉緑体形質転換を成功させたことを示唆している。しかし、これまでに得られた葉緑体形質転換個体はヘテロプラスミックであり、形質転換効率が低いという問題点がある。本研究では、新しい融合ペプチドの開発や、植物組織の前処理など、ペプチド法の形質転換効率を向上させるための方法を検討した。

P-65

フラグメント解析とナノポアシーケンサーによるゲノム編集無花粉スギの遺伝子改変パターンの解析

Analysis of gene modification patterns in gene-edited pollen-free lines in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) using fragment analysis and the Nanopore DNA sequencing

七里 吉彦¹, 佐藤 良介¹, 高田 直樹¹, 上野 真義², 小長谷 賢一¹, 遠藤 真咲³, 谷口 亨¹

¹森林機構・森林バイオ, ²森林機構・森林総研, ³農研機構・生物機能部門

スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) は、日本において古くから建材や生活用具の材料などに利用されてきた主要造林樹種である一方で、スギ花粉による花粉症が社会問題となっており、無花粉スギ系統の開発・普及が急務となっている。我々はこれまでに、ゲノム編集による無花粉スギ等の花粉症対策品種の作出に成功している。具体的には、雄花で特異的に発現する花粉形成関連遺伝子を CRISPR/Cas9 システムによりノックアウトすることで、スギの無花粉化を実現している。これまで、ゲノム編集系統の選抜にはフラグメント解析を用いてきた。この方法では、標的領域を挟む形で設計したプライマーを用いて増幅した、200~500 bp の PCR 断片長をキャピラリーシーケンサーで解析することで、1塩基レベルで欠失や挿入を検知できる。フラグメント解析は短時間に多検体の解析が可能であり、再現性も高いため、ゲノム編集系統の解析に非常に有用である。しかし、フラグメント解析の結果と個体の表現型が一致しない例が見受けられ、原因を探るためロングリードの解析が可能なナノポアシーケンサー（英国・オクスフォード・ナノポアテクノロジーズ社）で標的遺伝子のゲノム領域全体を解析したところ、標的領域を中心に数 kb という大きな欠失が生じていることが判明した。フラグメント解析とナノポアシーケンスを併用することで、ゲノム編集系統のより正確な解析が可能となっており、本発表ではその具体例について報告したい。

P-66

ホトトギス‘東雲’ (*Tricyrtis* sp.) における花被の斑点形成に関与すると予想される R2R3-MYB 遺伝子の機能解析

Functional analysis of the R2R3-MYB gene expected to be involved in tepal spot formation in *Tricyrtis* sp.

小野 樹りあ¹, 大谷 真広², 中野 優²

¹新潟大・院自然研, ²新潟大・農

ユリ科ホトトギス属植物 (*Tricyrtis* spp.) の花被には、アントシアニン類の蓄積による赤紫色の斑点が無秩序に生じる。我々は、この斑点形成に関する分子メカニズムの解明を最終目的として、フラボノイド生合成関連遺伝子の網羅的な単離および解析を行っている。これまでに、ホトトギス‘東雲’ (*Tricyrtis* sp.) から、フラボノイド生合成酵素遺伝子や、それらの転写因子である R2R3-MYB の遺伝子 (*TrMYB1* および *TrMYB2*) を単離している。本研究では、主に花被の斑点形成に関与すると予想される *TrMYB2* の機能解析を目的として、*TrMYB2* を過剰発現するタバコ (*Nicotiana tabacum*) の形質転換を行なった。得られた 5 系統の形質転換体のうちの 4 系統の葉において、ベクターコントロールと比較して明らかな色素蓄積が観察された。葉のアントシアニン定量分析を行ったところ、色素蓄積のみられた 4 系統のうちの 2 系統において、ベクターコントロールと比較してアントシアニン含量の有意な増加がみられた。これらの結果から、*TrMYB2* が R2R3-MYB 遺伝子としての機能を有することが示された。現在、形質転換体におけるフラボノイド生合成関連遺伝子の発現解析を行なっている。また、ゲノム編集による *TrMYB2* の機能解析も、同時並行で行なっている。

P-67

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いた LEAFY (LFY) および TERMINAL FLOWER 1 (TFL1) 遺伝子のゲノム編集のための適切な sgRNA の設計

Design of proper sgRNA sequences for genome editing of *LEAFY* (LFY) and *TERMINAL FLOWER 1* (TFL1) genes using *Arabidopsis thaliana*

高梨 壮大¹, 大谷 真広², 中野 優²

¹新潟大・院自然研, ²新潟大・農

LEAFY (LFY) および TERMINAL FLOWER 1 (TFL1) はともに植物特異的な転写因子であり、LFY が未分化の分裂組織を花芽へと転換させる一方で、TFL1 は花芽への転換を抑制する。花序形態の決定にはこれら 2 つの転写因子の発現パターンの関与が指摘されている。我々は、ホトトギス属植物における花序形態の決定に関する分子メカニズムの解明を目的として、LFY および TFL1 に着目した研究を行っている。本研究では、ゲノム編集によるホトトギス属植物の LFY および TFL1 ホモログ遺伝子の機能解析を行うために、まずシロイヌナズナを材料に用いて適切な sgRNA の設計を検討した。さまざまな植物種の LFY または TFL1 ホモログ遺伝子のエキソン間で高い保存性を示す領域をターゲットとして sgRNA を設計し、それらを含むコンストラクトをシロイヌナズナに導入した。形質転換体については DNA シークエンシングを行い、LFY または TFL1 遺伝子のターゲット配列内に変異が生じていることを確認した。変異が確認された形質転換体はそれぞれの遺伝子の突然変異体とほぼ同様の表現型を示していた。また、それぞれの遺伝子の発現が検出不可能なレベルにまで低下していた。これらの結果から、今回設計した sgRNA がゲノム編集による LFY および TFL1 遺伝子のノックアウトに適していることが明らかになった。現在、本研究の結果をもとにして、ゲノム編集によるホトトギス属植物における LFY および TFL1 ホモログ遺伝子のノックアウトを検討している。

P-68

ptpTALEN を用いたシロイヌナズナ葉緑体ゲノム DNA の標的二本鎖切断

ptpTALEN-mediated double-strand break in chloroplast genome of *Arabidopsis thaliana*

末藤 巳旺, 中里 一星, 堤 伸浩, 高梨 秀樹, 有村 慎一

東大院・農学生命科学

一般に葉緑体ゲノムは一对の逆向き反復配列である IR (Inverted Repeat) と LSC (Large Single Copy), SSC (Small Single Copy) の 4 つの領域に分けられるが、葉緑体ゲノムがこの構造を取る意義はこれまで明らかになっていない。本研究ではこの意義を探るべく LSC, SSC と IR との境界の二箇所と同時に標的二本鎖切断を起こし IR を片方除去することを試みた。シロイヌナズナの葉緑体ゲノム DNA において標的二本鎖切断を引き起こすべく、タンパク質のみで構成されるゲノム編集酵素 TALEN に葉緑体トランジットペプチドを付加した plastid-targeted platinum TALEN (ptpTALEN) を発現するベクターを構築し、シロイヌナズナの核に形質転換した。本研究では LSC と IR の境界に一箇所、SSC と IR の境界に二箇所の切断候補標的を設定して、まずはそれぞれについて形質転換体を作成した。その結果 SSC と IR の境界の 1 箇所を標的切断するベクターを導入した T₁ 植物のみで 14 個体のうち 11 個体で、標的とした部位での二本鎖切断に成功した。SSC と IR の境界にまたがる 217bp を増幅する PCR を行ったところ、バンドが確認されなかったことから細胞中の全ての葉緑体ゲノムで標的配列に二本鎖切断が起こりその修復によりゲノム構造が大きく変化したことが示唆された。シロイヌナズナの葉緑体ゲノムは細胞あたり数百コピーが存在し、形質転換も未だ困難（特殊な株や変異体を用いるなど）であり、本研究のゲノム編集による標的 DNA 二本鎖切断の成功は、意外なことに我々が調べた限り初めての例のようである。現在、二本鎖切断の修復により変化したと考えられる葉緑体ゲノムの構造を NGS を用いて解析し決定を試みている。

P-69

花卉園芸植物ストックにおける遺伝子組換えおよびゲノム編集個体の作出

Production of transgenic and genome-editing plants in garden stock

棚原 祥貴¹, 刑部 祐里子², 刑部 敬史³, 中塚 貴司¹

¹静岡大院・総合科学技術研究科, ²東京工業大・生命理工学院, ³徳島大・生物資源産業学部

ストック (*Matthiola incana* (L.) R.Br) は、冬から春を彩る主要な花卉品目の一つである。遺伝子組換えおよびゲノム編集植物の作出は、新規形質の付与に有効な手段である。AGAMOUS (AG) とアントシアニン生合成活性化因子 MYB1 をそれぞれ CaMV35S プロモーターにドライブし、*Agrobacterium* 媒介形質転換法で葉片に接種した。ハイグロマイシン添加培地で耐性シュートが形成し、PCR により 7 系統で外来遺伝子の導入が確認された (形質転換効率 1.2%)。これら AG-MYB1 系統のうち 4 系統では、葉がアントシアニン蓄積により紫色に着色し、MYB1 の高い発現が検出された。このことから、MYB1 はビジブルセレクションマーカーとして利用可能であることが示された。また、MYB1 の過剰発現系統では同時に導入した AG の転写量も高かった。AG-MYB1 No. 4 系統は野生型と比較して細胞サイズが減少し、花冠が縮小した。このことから、*ag* 八重咲き個体は AG 過剰発現により相補しても一重咲きに変換しないことが明らかになった。

次に、ストックにおいて CRISPR/Cas9 によるゲノム編集の作出を試みた。SUPERMAN (SUP) をターゲット遺伝子に設定し、guide RNA を 2 箇所設計した。ターゲット 1 に対する形質転換体が 2 系統得られ、そのうち No. 1 系統で標的配列に 70 bp 欠失が生じており、ストックでもゲノム編集が可能であることが示された。これらの系統以外にも抗生物質耐性シュートが複数得られてきており、引き続きゲノム変異の確認と表現型の評価を行う予定である。

P-70

ゲノム編集で作出した *TaQsd1* 三重変異を持つコムギの実験環境と野外栽培での形質評価

Traits Evaluation of *TaQsd1* Triple Mutant, Which Were Generated by Genome Editing, in Experimental Conditions and Field Cultivation

加星 光子¹, 安倍 史高¹, 山地 奈美², 蝶野 真喜子¹, 久野 裕², 佐藤 和広²

¹農研機構・作物研, ²岡山大学・作物研

高次倍数性の植物では、1 つの遺伝子変異が表現型の変化として現れることが少なく、形質改変を難しくしてきた。ゲノム編集は標的とする配列が重複していても同時に変異を導入でき、高次倍数性作物の変異体作成を迅速にした。また、ゲノム編集の実施時に導入した核酸がゲノムに残存していないことを示せば、遺伝子組換え体よりも簡便な手続きで野外栽培試験が可能であり、実際の栽培環境に近い条件で形質を評価することができる。

種子休眠性はコムギ生産で問題となる穂発芽耐性と密接に関わる形質であり、遺伝的要素に加えて環境により様々な影響を受ける。*Qsd1* 遺伝子はオオムギの種子休眠性を制御する主要 QTL として見出されたが、そのコムギオルソログの種子休眠性への関与は知られていなかった。我々はこれまでに、コムギの *TaQsd1* 遺伝子に対してゲノム編集を実施し、三重変異体にする事で初めて種子休眠性が改変されることを実験環境において示してきた。この *TaQsd1* の変異アリルが実際の栽培環境で有効であるか評価するため、ゲノム編集作物の野外栽培試験に必要な文部科学省への手続きを行い、変異アリルを国内の栽培に適した品種に交配により導入した。これらの系統を用いて 2021 年からつくば市と倉敷市において野外栽培を開始し、複数年の種子休眠性の解析を進めている。野外栽培で収穫した種子での種子休眠性の変化は系統、栽培地で差が見られており、特に登熟期の気温、降水量、登熟日数が *TaQsd1* の種子休眠性への効果に影響を及ぼすと推測された。*TaQsd1* の変異が野外栽培においても種子休眠性の改変に効果があることが見えつつあることから、現在、生育についての調査を進めている。

P-71

葉片再分化系を利用した重イオンビーム照射による突然変異リンドウの作出

Induction of mutation via regeneration from leaves irradiated with ion beams in gentian

西原 昌宏¹, 後藤 史奈¹, 根本 圭一郎¹, 平瀬 亜紀子¹, 渡辺 藍子¹, 吉田 千春¹, 阿部 陽¹, 下川 卓志², 小澤 傑³, 内藤 善美³

¹岩手生工研セ, ²量医研, ³岩手農研セ

我々はリンドウの突然変異育種手法の開発に取り組んでいる。これまでに重イオンビームを照射した培養個体から節培養による増殖を行い、花色変異系統の作出に成功している。本研究では、さらに効率的な手法の確立を目的として、葉片からの再分化系を利用した突然変異手法の検討を行った。

重イオンビームの照射は Heavy Ion Medical Accelerator in Chiba (HIMAC) により実施した。岩手県リンドウ品種アルピレオの培養個体へ、C 290 MONOΦ10 (BF=0, LET 計算値: 13 keV/μm) 5, 8, 10, 12, 15, 20 Gy, Ne 400 MONOΦ10 (BF=0, LET 計算値: 31 keV/μm) 3, 5, 6, 7, 8, 9, 12 Gy となるように照射し、葉切片からの再分化 (カルス形成率) に及ぼす影響を評価した。その結果、C 及び Ne イオンビーム 5-10 Gy まではカルス形成率に大きな影響は認められなかったが、12 Gy 以上の照射によってカルス形成率が顕著に抑制された。再分化個体を馴化し、温室で栽培した結果、約 100 個体の開花した個体のうち、雄蕊が花弁化した八重咲き形質を示す個体が 2 系統得られた (Ne 9Gy と Ne 12Gy 区で各 1 系統)。生き残った 1 系統 (Ne 9Gy No.34) について越冬後、温室で栽培を継続したところ、八重咲き形質は維持されており、さらに花サイズが元品種と比較して約 1.4 倍大きいことが示された。本系統のゲノム DNA を単離し、PCR による解析を行った結果、八重咲きの原因遺伝子である AG1 の 1 アリルの増幅が認められなかった。これらの結果より、重イオンビームを照射した葉片の再分化によりリンドウ突然変異系統の作出が可能であることが示された。現在、本突然変異系統を増殖し、NGS による変異領域の解析や交配等の実験を進めている。

P-72

システミック RNA サイレンシングにおける遺伝子量効果

Dosage effects of the transgene on the systemic RNA silencing

塩澤 涼子¹, 中村 夏音², 安藤 杏里彩², 宮原 平¹, 児玉 浩明¹

¹千葉大・院園芸, ²千葉大・園芸

植物における抵抗性メカニズムの主要な一つが RNA サイレンシングである。RNA サイレンシングとは small RNA (sRNA) と呼ばれる 21~24bp の短い塩基配列が標的となる mRNA の遺伝子配列を認識、結合し、次いで分解をガイドすることで、標的遺伝子の発現が抑制される現象である。RNA サイレンシングには、逆位反復配列部分から生成される長鎖二本鎖 RNA がプロセシングされて生じる sRNA が働く IR-PTGS、および過剰発現を目的とした遺伝子の導入によって生じる転写後ジーンサイレンシングである S-PTGS がある。IR-PTGS や S-PTGS の基本的なメカニズムの解明は進んだが、IR-PTGS および S-PTGS を誘発する遺伝子座の遺伝子量効果と標的遺伝子の発現抑制度合いに差が観察され、その原因となるメカニズムは未だ明らかにされていない。

接ぎ木は、異なる二つの植物体をつなぎ合わせて一つの植物体として成長させる技術である。接ぎ木体では、台木、穂木間で師管を介し、接合部を越えて物質の輸送が行われることが知られており、sRNA も師管を通して台木から穂木へ、または穂木から台木へと双方向に移動することが報告されている。本研究では、台木由来の sRNA が穂木へと移動することで RNA サイレンシングが植物全体に広がるシステミック RNA サイレンシングという現象における、台木での IR-PTGS および S-PTGS を誘発する遺伝子座の遺伝子量効果について調べたので報告する。

P-73

乳酸菌由来代謝物による湛水イネ種子の発芽後成長促進効果の解析

Analysis of growth promotion effect of lactic acid bacteria-derived metabolic compounds on rice seedlings under flooding

久保 晃生¹, 佐久間 行生¹, 眞木 祐子², 小鏑 亮介², 佐久間 太², 眞木 美帆^{3,4}, 山口 淳二⁴, 高木 純平⁴, 佐藤 長緒⁴

¹北大院・生命, ²雪印種苗(株), ³北大・創成, ⁴北大院・理

種子発芽および発芽後成長は、適度な水分や温度、十分な酸素によって促進される。一方で、イネは水中のような低酸素条件下においても発芽し、成長する能力を有することが知られている。湛水条件においてイネ種子は、初めに子葉鞘を伸長させ、これが水上に出ると胚に酸素を供給できるようになり、胚における好気代謝が活発になることで成長が促進される。しかし、湛水における嫌気代謝では十分なエネルギーを得ることができず、多くの場合、深刻な発芽不良を引き起こす。農業現場においてはこれまでに、過酸化カルシウムや鉄粉を用いた種子コーティング技術の活用によって、イネ種子の土壌への定着率と発芽後の生育に改善が見られる一方で、その効果は限定的である。そこで我々は、生物由来の植物活力増進剤に着目し、乳酸菌由来の代謝物による湛水イネ種子の発芽後成長促進について解析している。我々の最近の研究から、乳酸菌由来の代謝物を含む抽出液を用いて催芽処理を施したイネ種子において、湛水条件で子葉鞘伸長および根の伸長が促進されることを発見した。また、乳酸菌抽出液中に含まれるいくつかの代謝物について、湛水条件で子葉鞘伸長および根の伸長が促進された。本発表では、こうした乳酸菌由来代謝物によるイネの発芽後成長促進効果および湛水下における嫌気代謝への影響について報告し、作用機序について議論する。

P-74

DNA 相同組み換えレポーター遺伝子を持つ植物培養細胞を用いた帰還困難区域におけるバイオモニタリング実施

Implementation of biomonitoring in difficult-to-return areas using cultured plant cells introducing DNA homologous recombinant reporter genes

高橋 真哉¹, 玉置 雅紀²

¹筑波大・生命環境, ²国環研・生物

福島第一原発事故に伴って放出された、放射性物質による土壌汚染が問題となっている。土壌汚染により発生する低線量放射線が野生生物に与える影響はほとんど明らかにされていない。本研究では、変異型 β -グルクロニダーゼ (*GUS*) レポーター遺伝子を含むシロイヌナズナカルスに対して低線量放射線を曝露し、相同組み換え活性による正常型 *GUS* 遺伝子への変異復帰活性を可視的に検出することで、DNA 損傷生成を測定可能とするモニタリングシステムの開発を行い、現場土壌における低線量放射線影響評価を行うことを目的としている。

以前の報告で、変異型 *GUS* 遺伝子 (*GU-US* 遺伝子) を持つシロイヌナズナ植物体よりカルスを作成し、福島県内で採取した汚染土壌を線源とした実験室内での放射線曝露により *GUS* スポット数が直線的に上昇することが明らかにしている。今回野外における影響評価の結果、および低~超高線量下の広いレンジで放射線曝露したカルスの全ゲノム配列の比較について報告する。

GU-US 遺伝子を持つカルスを寒天培地プレート上に移植し、アッセイプレートを作成した。その後、福島県内の積算線量が高い3箇所にカルスを移植したプレートを埋設し、30日間静置培養して曝露後 *GUS* 染色をおこない、*GUS* スポット数の数を数えることで、相同組換え頻度の検出を行った。その結果、比較的高線量下の環境まで曝露した放射線量の増加に応じて *GUS* スポット数が直線的に上昇することが明らかになった。また、高線量2地点に埋設したカルスから抽出したゲノム DNA の全ゲノムシーケンスを行った結果、対象区に埋設したカルスのゲノム DNA と比べて変異誘発率の有意な増加は確認できなかった。

P-75

トマトモザイクウイルスの移行タンパク質はトマトの茎での組換えタンパク質の一過性発現を促進する

Tomato mosaic virus movement protein enhances the transient expression of recombinant protein in the stem of the tomato plant, *Solanum lycopersicum*

小林 美咲¹, Martina Bianca Fuhrmann-Aoyagi¹, 宇土 秋良¹, 三浦 謙治^{1,2}

¹筑波大・院生命地球科学, ²つくば機能植物イノベーション研究センター

植物ウイルスの移行タンパク質は、細胞間移行に関与し、感染細胞からその周辺細胞へ感染を広げるのに大きな役割を果たしている。本研究では、一過性発現系ベクターとトマトモザイクウイルスの移行タンパク質を組み合わせることで、植物の茎組織における組換えタンパク質の一過性発現領域が拡大することを実証した。緑色蛍光タンパク質（GFP）をアグロインフィльтраーションによりトマトの茎組織に一過性に発現させた。一過性に発現した GFP は実体蛍光顕微鏡を用いた観察により発光を確認し、さらに GFP 抗体を用いたイムノプロット解析により検出した。定量的な解析の結果、移行タンパク質が導入されたベクターと共に GFP を発現させた場合、空ベクターとの併用時と比較して、感染部位から離れた茎組織で 2 倍以上の GFP タンパク質発現が確認された。この結果は植物ウイルスの移行タンパク質と一過性発現系の組み合わせが、植物細胞における目的遺伝子やタンパク質の一過性発現に有効なツールであることを示している。

P-76

ホオノキのネオリグナン生合成遺伝子の探索

Exploration of Neolignan Biosynthesis Genes in Hohoki

横坂 永遠¹, Megha Rai^{1,2}, 山崎 真巳^{1,2}

¹千葉大・院薬, ²千葉大植物分子科学センター

Magnolia obovate (ホオノキ) はモクレン科に属する落葉高木で、その樹皮を乾燥させたものを厚朴と呼び、漢方薬に利用されており、鎮痛、鎮咳、利尿、健胃作用をもつ。主な薬効成分はネオリグナンのマグノロールやホオノキオールなどであるが、その生合成経路及び代謝酵素をコードする遺伝子の同定はなされていない。本研究ではホオノキ由来ネオリグナンの生合成遺伝子解明を目的とし、千葉大学亥鼻キャンパス薬草園で栽培されているホオノキから樹皮、花芽、成熟した葉、若葉、茎、雌蕊、中心柱の 7 組織を採取し、ノンターゲットメタボロミクスとトランスクリプトーム解析の統合解析を行った。

高発現かつアノテーションを持つトランスクリプトーム及び MS/MS で検出された代謝産物に対して R を用いて WGCNA (Weighted Gene Correlation Network Analysis) によるクラスター解析を行い、それぞれ 13 個のトランスクリプトームモジュールと 5 個のメタボロームモジュールを検出した。

さらにこれらのモジュール同士を相関的に統合することによって、薬効成分を示すマグノロールやホオノキオールを含むメタボロームモジュールと有意に関連があるトランスクリプトームモジュールを特定した。ネオリグナン類の生合成を担う遺伝子を特定するためにこのモジュール内の laccase 及び dirigent protein (DIRs) に着目した系統解析を行った。その結果、ホオノキ内のネオリグナン合成に重要な酸化反応及び二量化反応の触媒に関与していると考えられる 2 つの laccase 遺伝子及び 3 つの DIRs 遺伝子が同定された。

得られた遺伝子候補について、酵素機能の確認を目的とし組み換え酵素の作成を進めている

P-77

シロイヌナズナのヒストン共分布パターンに基づいた未知遺伝子の機能予測

Functional Prediction of Unknown Genes Based on Histone Co-distribution Patterns in *Arabidopsis thaliana*

川口 晃平¹, 大林 俊太², 福島 敦史^{1,3}

¹京都府大・院生命環境, ²京都府大・生命環境, ³理研CSRS

DNA のメチル化やヒストンの化学的修飾といったエピゲノム情報は遺伝子の発現とゲノムの構成を決定づける重要な役割を担っており、これらの分布に基づいた遺伝子機能の予測・クラスタリングなどが活発に行われている。近年、エピゲノムの協調的な作用によって遺伝子の発現が調節されることが分かってきており、個々だけでなく複数の分布パターンによるシステムティックな解析がさらなる遺伝子の機能予測および未知遺伝子の同定につながると期待される。本研究ではモデル生物であるシロイヌナズナを材料に、ヒストン共分布パターンによる新たな遺伝子群の分類法の確立と、それらの遺伝子群に含まれる未知遺伝子の機能を予測することを目的とした。この新規解析手法のベンチマークテストとして、転写制御に関連する代表的な4種類のヒストンマーク (H2A.Z, H3K4me3, H3K27me3, H3K36me3) の ChIP-Seq 公共データを再解析し、全遺伝子のヒストン共分布パターンクラスタリングを行った。その結果、特徴的な共分布パターンを示す複数のクラスタに分類することができ、さらに、各クラスタに含まれる遺伝子リストについて遺伝子オントロジー (GO) エンリッチメント解析を行ったところ、遺伝子機能の類似した GO タームに濃縮していることが確認された。これらのクラスタには多くの機能未知遺伝子が含まれており、同遺伝子群に含まれる遺伝子と類似した機能を有するのではないかと示唆される。今後はヒストン共分布プロファイルの拡張と遺伝子発現ネットワークとの紐付けにより、遺伝子機能予測の精度のさらなる向上と解析方法の体系化を目指す。

P-78

NBRP トマト個別変異体リソースの栄養生長時期における大規模表現型解析

Phenotypic characterization of tomato vegetative growth on individual mutant resources from National Bioresource Project-Tomato

杉本 貢一, 藤森 陽子, 有泉 亨, 江面 浩

筑波大・T-PIRC

トマトは世界中で最も多くされている果菜類のひとつであり、農業形質の改良は人類の食糧生産および食事情を改善する上で欠くことのできない課題の一つである。我々ナショナルバイオリソースプロジェクト・トマト (NBRP-Tomato) ではナス科作物の基礎研究を推進するために、実験室での栽培特性に優れたトマト「マイクロトム」をモデル品種として定め、基礎研究に欠くことのできない変異体リソース等の整備を行っている。本発表では NBRP-Tomato で整備している大規模変異体プールから単離された個別変異体について、栄養生長段階での表現型を大規模に解析した結果を紹介する。

NBRP-Tomato が提供する変異体データベース TOMATOMA (<https://tomatoma.nbrp.jp/>) から提供されている 2708 系統の個別変異体の中から葉色や葉形態に関するおおよそ 750 系統の変異体を再播種し、栽培および表現型観察を行った。その結果約 700 系統の発芽に成功し、約 95% の植物で表現型を観察する事が出来た。本栽培では葉色の変異体を多く含むためすべての系統のクロロフィル含量を測定したところ、最も少ない系統では 0.46 nmol/disc ($\phi = 8\text{mm}$)、最も多い系統では 45.08 nmol/disc であった。マイクロトム野生型はそれぞれ 11.91-23.10 nmol/disc および 2.25-3.08 の範囲であった。

本研究結果から、我々の変異体集団を用いることで様々な変異体を単離できることが実証された。今後これら変異体を利用したユーザーから新しいトマト品種が作出されることが期待される。

P-79

ホトトギス‘東雲’由来四倍体系統と台湾ホトトギス‘秋月’間における胚珠培養による三倍体雑種の作出

Production of triploid hybrids between a tetraploid variant of *Tricyrtis* sp. ‘Shinonome’ and *T. formosana* ‘Akizuki’ by ovule culture

野村 奈央¹, 田子 慶太郎², 新井 美南子², 大谷 真広², 中野 優²

¹新潟大・院自然研, ²新潟大・農

ユリ科ホトトギス属植物 (*Tricyrtis* spp.) は、東アジアに分布する多年草であり、19種が確認されている。我々は、これらの植物における園芸形質の拡大を目的として、様々な組み合わせで交雑を行い、胚珠培養により多くの雑种植物体を作成してきた。本研究では、ソマクローナル変異により得られたホトトギス (*Tricyrtis* sp.) ‘東雲’四倍体系統と台湾ホトトギス (*T. formosana*) ‘秋月’間で交雑を行い、胚珠培養による三倍体雑種の作出を試みた。2019年に正逆交雑を行った結果、‘東雲’由来四倍体系統×台湾ホトトギス‘秋月’の組み合わせでのみ肥大子房が得られ、最終的に21系統(東/秋-1~21)の胚珠培養由来個体が得られた。現在までに開花に至った18系統について、ISSR分析による雑種判定、フローサイトメトリー (FCM) 分析による倍数性調査、および根端細胞の染色体観察を行なったところ、全ての胚珠培養由来系統が三倍体雑種であることが明らかとなった。三倍体雑種の花の形態は両親とは明らかに異なっており、一部の系統では魅力的な新奇性がみられた。また、三倍体雑種の花粉稔性は0~40%であり、両親と比較して低かった。今後はこれまでに開花していない系統について形質調査を行うとともに、三倍体雑種のゲノム構成の調査や、他の組み合わせによる三倍体雑種の作出等も行う予定である。

P-80

Truncation of calmodulin-binding domain in rice GAD4 leads to accumulation of GABA and confers abiotic stress tolerance in rice seedlings

Nadia Akter, Kazuhito Akama

Graduate School of Natural Science and Technology, Shimane University

GABA (Gamma-aminobutyric acid) is a non-protein amino acid widely known as major inhibitory neurotransmitter. It is synthesized from glutamate via the enzyme glutamate decarboxylase (GAD). GAD is ubiquitous in all organisms, but only plant GAD has ability to bind Ca^{2+} /calmodulin (CaM). This binding suppresses the auto-inhibition of Ca^{2+} /calmodulin binding domain (CaMBD) when the active site of GAD is unfolded causing stimulated GAD activity. *OsGAD4* is one of the five *GAD* genes in rice genome. It was confirmed that *OsGAD4* has ability to bind to Ca^{2+} /CaM. Moreover, it exhibits strong expression against stress conditions among the five *OsGAD* genes. In this study, CRISPR/Cas9-mediated genome editing was performed to trim the coding region of CaMBD from the *OsGAD4* gene, to remove its autoinhibitory function. DNA sequence analysis of the genome edited plants revealed the truncation of CaMBD (216 bp). Genome edited line (#14-1) produced 11.26 mg GABA/100g grain, which is almost 9-fold in comparison to wild type. Abiotic stresses like salinity, flood and drought enhanced GABA accumulation of vegetative tissues in #14-1 which reached up to 4.3, 3.3 and 2.2-fold, respectively, compared to wild type under the same treatment. Stress tolerance of *OsGAD4* genome edited lines was evidenced by the higher survival rate indicating the gene may induce tolerance against abiotic stresses in rice.

P-81

Functional analysis of CaMBD-truncated OsGAD1 and OsGAD3 by genome editing in rice (*Oryza sativa* L.) for the multi-stress response

Ummey Kulsum, Kazuhito Akama

Graduate School of Natural Science and Technology, Shimane University, Japan.

Rice (*Oryza sativa* L.) is vital for global food security. However, abiotic stresses often hinder production, emphasizing stress-tolerant crop development for sustainable agriculture. GABA, which acts as a stress regulator and signal molecule, is synthesized by the glutamate decarboxylase (GAD) enzyme. In addition, truncation of autoinhibitory CaMBD of OsGAD increases GABA accumulation. Our study aims to unravel the stress response of *OsGAD1* and *OsGAD3*, which are highly expressed among the five OsGAD isoforms in rice. In our study, C-terminal truncated *OsGAD1* and *OsGAD3* rice lines were produced by CRISPR/Cas9 genome editing technology and a hybrid line resulting from their crossing was also used. Seedlings exposed to abiotic stresses (drought, low temperature, salinity, and flood) exhibited significantly higher GABA accumulation in *OsGAD1*, *OsGAD3*, and hybrid rice lines compared to the control plants, which may promote stress tolerance. qRT-PCR analysis revealed upregulated expression of *OsGAD1* and *OsGAD3* genes in WT, genome-edited lines, and hybrid line, suggesting their involvement in elevated GABA accumulation. Thus, these findings advance our understanding of GABA-mediated stress responses and highlight the potential of *OsGAD1* and *OsGAD3* genes for developing stress-tolerant rice varieties.

Keywords: Glutamate decarboxylase (GAD), GABA, abiotic stress, *Oryza sativa* L.

あ		池田有理子	P-50	う		大塚 峻	P-17
		池田 陽子	1Da-04			大坪 憲弘	P-49
相澤 駿輝	S6-1	伊佐 猛	P-42	植木 真生	2Ba-04		P-50
相場 北斗	1Aa-06	井澤 大輔	2Ca-03	上杉日奈保	1Aa-02		P-51
青木 大輔	1Aa-08	石賀 康博	P-42	上田 大志	1Dp-04		P-63
青木 裕一	1Ca-02	石川 健治	S6-5	植田 佳明	1Da-05	大坪 真樹	P-50
	1Ca-03	石川 武	1Bp-07	上野 真義	P-65		P-51
	1Ca-06	石川 寿樹	1Ba-03	上原 歩	S3-3		P-63
	2Ca-03		1Ap-06	鵜崎 真妃	P-07	大沼 紀子	P-50
	2Ca-04		1Ap-07	牛澤 美樹	P-36		P-51
青島千恵理	P-48		P-01	内田 弘美	2Ca-04	大沼万里子	1Da-07
赤木 剛士	S1-1		P-25	内山 佳織	2Ba-01	大林 俊太	P-77
	1Ca-01		P-26	内海 大知	2Da-03	岡崎 夏鈴	1Aa-04
明石 欣也	P-45		P-47	宇土 秋良	P-75	岡澤 敦司	P-56
赤羽 幾子	2Da-08	石川ひかる	1Aa-03	梅澤 俊明	2Ca-05	小賀田拓也	1Ap-04
東江 栄	2Aa-04	石崎 公庸	S5-3	梅田 健人	1Dp-02	小川 聡太	1Aa-02
秋田 求	P-41	石崎 琢磨	1Da-05	梅原三貴久	1Aa-04	小川 拓水	1Bp-08
秋山 遼太	1Cp-09	石崎 陽子	1Ca-08		1Aa-06		1Bp-09
	1Dp-11	石田 怜子	P-50				P-56
明田 夏輝	1Bp-06	石橋 和大	1Cp-02	え		小川 瑞貴	1Aa-02
浅賀 正充	2Da-03	石水 毅	P-61	江角 智也	2Aa-02	沖野 晃俊	S6-1
浅野 賢治	1Da-07	磯部 知里	S3-5	江面 浩	1Aa-06	小口 太一	2Aa-07
浅野 孝	1Cp-05	井田 美帆	P-08		P-78	奥野 未来	1Da-03
浅見 忠男	1Aa-02		P-09	榎本 光大	P-57	奥原 啓輔	1Bp-07
	1Aa-04	市川 翔哉	1Cp-02	蝦名 宏佑	2Ca-04	奥原 宏明	1Da-10
明日香晴絵	1Bp-09	市川 尚哉	P-15	遠藤 朋子	1Da-09	奥村 賢直	S6-3
東 未来	S3-4	市野 琢爾	1Ca-05	遠藤 真咲	1Da-09	小倉里江子	1Ap-05
安達 俊輔	1Cp-01		P-12		2Da-04	小越 咲子	P-54
足立 浩崇	P-50		P-18		2Da-05	刑部 敬史	1Ca-05
	P-51	一家 崇志	P-48		P-65		2Da-06
穴井 豊昭	P-32	一色 正之	P-52	お			P-18
阿部 陽	P-71	伊藤 謙	P-60			刑部祐里子	2Da-06
阿部 修人	1Ap-05	伊藤 健司	P-41	王 吉晨	1Cp-06		P-69
安部 洋	1Aa-02	伊藤 光二	2Aa-07	大岡 久子	2Aa-03	小崎 紳一	1Cp-08
安倍 史高	P-70	伊藤 広輔	1Da-07	大川泰一郎	1Cp-01	小山内 崇	P-21
新井美南子	P-79	伊藤 皓矢	P-63	大串 康太	2Aa-04		P-22
荒井 萌伽	P-38	伊藤 晋作	1Aa-04	大久保一実	1Bp-08	小澤 傑	P-71
	P-43	伊藤 武彦	1Da-03	大澤 泰樹	S6-1	押切 春佳	2Ca-01
有泉 亨	P-78	伊藤 幸博	1Dp-09	大関 澄花	P-54	小田原真樹	2Da-07
有賀 裕剛	2Ba-01		1Dp-10	太田 哲	P-13		P-64
	2Ba-02	伊藤 稜亮	P-52	太田 大策	1Bp-08	小埜栄一郎	2Ca-05
有村 慎一	1Da-03	稲垣 明子	P-28		1Bp-09	小野 公代	2Da-03
	P-68	稲葉 佑弥	P-48		P-56		2Da-04
栗野 眞妃	1Aa-02	井上 翔太	2Aa-06	太田 稔基	P-42	小野樹りあ	P-66
安藤杏里彩	P-72	井上慎太郎	P-55	太田 英惠	P-35	小野 道之	2Da-03
安藤 杉尋	S6-6	伊福健太郎	1Ca-02	大田 方人	2Da-08	尾之内 均	1Ap-08
			1Ca-03	太田垣駿吾	1Ap-03	小原 一朗	S5-5
		今井 博之	P-01	大武 美樹	1Da-06		1Ba-01
		今道 朋哉	1Ap-08	大谷 真広	1Ba-05		P-20
		今村 大樹	1Ca-08		P-20	織田 伽羅	2Da-03
飯嶋 益巳	P-10	伊村 智	1Ba-05		P-66		
飯田 恵子	P-62	岩井 裕子	1Dp-09		P-67		
飯伏 純平	1Ca-08	岩瀬 哲	S4-3		P-79		
家田 愛菜	2Ba-07	岩田恵理子	1Ca-02				
井川 智子	2Aa-06	岩村 衣花	P-20				
池田 美穂	P-54						

	か	川口 晃平	P-77	栗山 朋子	S6-3	小林 美咲	P-75
		川越 優衣	1Ap-06		P-32	小林 悠華	P-11
柿木 風花	1Ap-01	川瀬 凜	P-60	来須 孝光	P-57	小林 義典	P-53
	P-05	河野 徳昭	P-53	黒澤 和	P-36	小日向彩果	P-30
河西 俊介	1Cp-04	河村 彩子	S4-3	黒田 昌治	1Dp-07	小松 晃	1Da-06
河西 崇	P-50	韓 俊文	P-19		1Dp-08	小松 博依	P-23
	P-51	神田れんげ	2Aa-04			小峰 正史	1Dp-05
風間 智彦	P-27			け			P-23
風間 裕介	P-54						P-24
梶川 昌孝	S5-3			解良 康太	P-10	小山 翔平	2Aa-06
梶野 拓磨	2Ba-01	木越 景子	P-43	見城 貴志	P-32	小山 知嗣	1Ap-09
柏瀬 友咲	2Aa-01	木佐貫あゆな	1Cp-05			小山 竜平	S5-3
片岡 千佳	P-51	北岡 雅隆	P-47			小鐘 亮介	P-73
加藤 幹也	2Ca-04	北島佐紀人	1Ca-08			是久 紫郎	2Aa-06
加藤 奏	1Bp-09	北島満里子	1Cp-06	小泉 望	A-1	近藤 菜友	P-18
加藤 晃	1Dp-01	北添 達樹	P-53	小泉美希子	1Ba-02	近藤 正剛	1Da-10
	1Dp-02	北野 英己	S6-5	肥塚 信也	S2-6	近藤 始彦	1Da-06
	1Dp-03	北野 康史	P-53	高坂 智之	1Cp-08	近藤 雄大	P-01
	1Dp-06	北畑 信隆	1Aa-02	高上馬希重	1Dp-04		
加藤 咲子	P-23	北村 春樹	1Ba-05	河邊 雄飛	1Ap-02		
加藤 壮英	1Dp-06	北村実紗子	1Ca-07	肥塚 崇男	1Cp-08		
加藤 洋香	1Dp-07	木塚 康彦	P-61			雑賀 啓明	2Da-05
	1Dp-08	城所 聡	S4-4			西條 晃芽	1Dp-08
			2Da-06			齊藤 和季	1Ba-02
加藤 麦都	P-34			古閑 一憲	S6-2		1Cp-05
加藤 康夫	1Ca-04	木下 俊則	1Ap-09		S6-3		1Cp-06
	P-11	木村 成介	1Aa-02		S6-4	斎藤 康平	1Dp-03
			P-57		S6-3	斉藤 優歩	1Aa-02
加藤 義啓	1Bp-07	木村 琢人	P-61	古賀 皓之	P-33	佐伯 結衣	P-13
金本 拓也	1Dp-04	木村 渚	P-11	小岸 玲子	P-63	堺 剛平	1Ap-06
金盛 一起	2Ba-03		P-16	小財 将哉	1Cp-03	坂口 公敏	1Ap-02
鐘ヶ江弘美	S1-2			腰岡 政二	S3-4		
金子 俊郎	S6-6			小島 克洋	P-32		P-50
金子 倫久	P-53			小島 幸治	2Ca-03		P-51
加星 光子	P-70				P-02	坂口 浩朗	P-25
神谷 岳洋	1Aa-08	草刈 蓮	P-10			坂田 洋一	1Cp-02
鴨井 享宏	S2-5	草野 都	1Ba-02	兒島 孝明	1Ap-03		2Ba-01
賀屋 秀隆	1Da-04	串田 篤彦	1Cp-09	小島 崇義	P-57		2Ba-02
河合 顕真	P-35	楠本 奈央	1Ap-08	小嶋美紀子	1Aa-07		2Ba-03
川合 真紀	1Ba-03	朽津 和幸	S6-4	小関 美里	1Dp-09		2Ba-04
	1Ap-06		1Aa-01	小竹 敬久	1Ap-06		2Ba-06
	1Ap-07		1Aa-02	児玉 浩明	1Bp-08		2Ba-06
	1Cp-01		P-57		1Bp-09	坂本 真吾	1Ap-06
	P-01	轡田 圭又	1Ba-02		2Da-01		1Ap-07
	P-25	工藤 栄	1Ba-05		P-72		P-61
	P-26	國枝 正	1Ap-09	後藤 史奈	P-71	坂本 美佳	1Bp-07
	P-38	國澤 純	2Da-03	後藤 未羽	2Ba-08	佐久間 太	P-73
	P-47	久野 香	2Aa-05	小長谷賢一	P-65	佐久間行生	P-73
河内 正治	S6-3	久保 晃生	P-73	小林 天音	2Aa-06	櫻井 美希	P-59
	P-32	久保 浩義	P-11	小林 括平	1Da-04	笹川 耕作	1Dp-06
河岡 明義	2Da-06		P-13	小林 慶亮	2Ca-05	佐々木亮介	1Aa-07
川上 秀昌	2Da-02		P-16	小林 晃也	2Ba-03	佐々木香織	P-08
川上 寛子	1Dp-05		P-17	小林 仁	1Da-10	佐々木涉太	S6-6
	P-09	窪田 聡	S3-4	小林 誠	1Aa-07	佐々木伸大	2Ca-02
	P-23	久米 永純	P-16		1Ba-02	佐瀬 英俊	P-35
	P-24	倉持 幸司	1Aa-02	小林 優	1Ca-02	佐竹 炎	2Ca-05
河岸 洋和	P-30	栗原 志夫	P-32		1Ca-03	佐藤 和人	S2-2

佐藤 和広	1Da-10		す	高島 英造	1Dp-07		2Ba-06
佐藤 長緒	P-70			高島 圭介	S6-6	田島 亮介	1Aa-08
	P-39	末藤 巳旺	P-68	高田 一成	2Da-03	多田 雄一	1Ba-04
	P-73	菅野 茂夫	2Ca-07	高田 さくら	P-10	只野 翔大	P-45
佐藤 春樹	1Dp-05	菅原 輝美	P-23	高田 直樹	P-65	館 葉月	S3-4
佐藤 文彦	1Cp-07	杉本 慶子	S4-3	高田 泰生	P-53	立花 智子	2Da-08
佐藤 繭子	P-07	杉本 貢一	1Aa-06	高塚 歩	P-27	巽 奏	1Ca-05
佐藤 心郎	1Aa-07		P-78	高梨功次郎	1Cp-08		P-18
	P-33	杉本 幸裕	1Cp-09		2Ca-01	田中 啓介	2Ba-02
佐藤 優加	2Aa-06		1Dp-11		P-11		2Ba-03
佐藤 豊	S2-3	杉山 暁史	1Ca-02		P-12		2Ba-06
佐藤 良介	P-65		1Ca-03		P-13	田中 保	P-01
佐藤 稜真	2Aa-04		1Ca-06		P-16	田中 宏昌	S6-5
眞木 美帆	P-73	杉山 宗隆	S4-3		P-17	七夕 高也	1Ba-02
佐野 友哉	2Ca-04	杉山 龍介	1Ap-01	高梨 壮大	P-67	棚原 祥貴	P-69
澤崎 達也	1Dp-07		1Cp-04	高梨 秀樹	P-68	谷上 愛海	P-50
沢田 健	P-60		P-04	高野 耕司	1Ba-02	谷口 亨	P-65
			P-05	高野 俊介	2Aa-07	谷口 有希	P-30
		鈴木 賢一	P-63	高野 成央	P-59	谷口洋二郎	1Da-06
		鈴木沙也加	1Ba-03	高橋 宏二	1Ap-09	谷澤 靖洋	1Bp-07
			P-26	高橋 沙奈	P-34	谷野 圭持	1Cp-09
椎名 隆	1Ca-08	鈴木 史朗	1Cp-08	高橋 秀斗	1Dp-01		P-39
塩澤 涼子	P-72		P-61	高橋 俊一	P-44	多葉田 誉	S5-1
塩田 肇	P-34		P-61	高橋 真哉	P-74	多部田弘光	P-33
土反 伸和	1Cp-07	鈴木 聖治	P-61	高橋 征司	2Ca-03	玉置 雅紀	P-74
	P-28	鈴木 爽馬	1Ap-05		P-02	玉木 敬悟	P-57
篠山 治恵	1Da-08	鈴木 孝征	S4-3		2Ca-04	田村 啓太	1Bp-07
渋谷 健市	S2-2	鈴木 隼人	2Ca-07	高橋 征司	2Ca-04		
	1Da-10	鈴木 秀幸	1Cp-06	高橋 英樹	S6-6		
	1Aa-03	鈴木 祐樹	P-40	高橋 宏暢	P-19		
渋谷 知暉	P-54			高原 学	2Da-08		
嶋田 千香	1Da-07		せ	高松 編花	1Cp-04	崔 宰熏	P-30
島田 浩章	1Ba-04			高松 恭子	1Ca-02	中鉢 友彰	2Aa-07
清水 碧	1Cp-09	瀬川 大樹	P-48		1Ca-03	蝶野真喜子	P-70
清水 宏祐	1Cp-07	關 光	1Ca-07	高松 世大	1Ap-08	鄭 貴美	P-44
清水 真由	2Aa-03		1Dp-04	鷹見 優	2Ba-08	千代 直樹	1Dp-04
清水 弥央	1Da-08	関 原明	1Ap-09	高見澤桃子	P-52		
清水 美里	1Ap-07	関口 颯	1Ap-06	高山 廣光	1Cp-06		
清水 悠裕	P-63	瀬戸 義哉	1Aa-06	田口 悟朗	P-14		
志茂 里菜	P-71	世良 貴史	S4-6		P-15	塚腰 実	P-60
下川 卓志	1Dp-09			武市 誠	P-60	塚谷 裕一	P-33
下田 蒼	1Dp-10		そ	竹内 亜美	1Da-07	辻 祥子	1Ca-02
	1Aa-04			竹内 純	P-30	辻本 壽	P-45
	1Ca-05	副島 洋	P-39	武田 真	P-35	辻本 泰弘	1Da-05
	P-18	曾我 郁弥	1Dp-07	武田 征士	P-37	堤 浩一	1Da-06
謝 肖男	P-30	園田 素啓	P-56		P-50	堤 伸浩	1Da-03
庄司 翼	S4-1	菌部 一貴	P-20	竹田 佳生	P-45		P-68
庄司のえみ	P-14			竹林裕美子	1Aa-07	坪山 愛	P-18
白石 慧	2Ca-05		た	竹村 美保	S5-3	坪山 祥子	S6-4
白武 勝裕	1Ap-03			竹山 春子	P-32		1Aa-01
白谷 正治	S6-4	大同 原野	1Ap-02	田子慶太郎	P-79		
白畑 辰弥	P-53	高井 俊之	1Da-05	太治 輝昭	1Cp-02		
進藤沙弥香	P-63	高内 滯奈	2Ba-08		2Ba-01		
新保由紀子	P-50	高木 純平	P-73		2Ba-02	出口亜由美	S3-2
	P-51	高木 優	1Ap-09		2Ba-03	出村 拓	1Ap-09
	P-63		P-44		2Ba-04	寺尾 豊	P-20

吉松 嘉代	P-53	Hamberger, Björn	1Bp-03	Yasumoto, Shuhei	1Bp-02
吉村 優希	2Aa-02	Hashida, Yoichi	1Bp-05	Zhou, Chang	1Da-02
吉本 尚子	1Cp-05	Hashimoto, Fumio	1Da-01		
	1Cp-06	Hasi, Rumana Yesmin	P-01		
四井いずみ	1Cp-02	Hehn, Alain	1Ca-01		
	2Ba-01		P-19		
	2Ba-02	Higuchi-Takeuchi, Mieko			
	2Ba-03		1Bp-05		
	2Ba-04	Hirota, Mitsuki	1Bp-03		
	2Ba-06	Horii, Yoko	1Bp-05		
米丸 淳一	S1-2	Huynh, Ton Phuc	1Da-01		
米山 裕	1Dp-09	Ishikawa, Toshiki	1Bp-04		
	1Dp-10	Izzat, S. A. Tahir	P-45		
		Kadeer, Aikeranmu	1Bp-04		
		Kawai-Yamada, Maki	1Bp-04		
		Kobayashi, Keisuke	1Bp-03		
李 豪	1Ca-05	Kohmura, Hiroyuki	P-58		
	2Ca-01	Komaki, Shinichiro	1Bp-01		
	P-18	Kulsum, Ummey	P-81		
		Kwizera, Bienvenu	P-58		
		Lachica, Maria Kenosis			
		Emmanuelle	1Bp-01		
若泉 裕明	P-23	Masuda, Reiko	1Da-02		
若崎真由美	P-07	Medhanavyn, Dheeradhach			
若林荘太郎	P-35		1Bp-02		
和氣 駿之	S3-1	Morey-Yagi, Shamitha Rao			
	2Ca-03		1Bp-05		
	2Ca-04	Motoyama, Chihiro	1Da-01		
	P-02	Muranaka, Toshiya	1Bp-02		
和田 直樹	2Da-06	Nakazato, Issei	1Da-02		
和田 瑞希	P-36	Numata, Keiji	1Bp-05		
渡辺 藍子	P-71	Nur Shazana Binti Abu Talib			
渡辺 光	1Da-07	Khan, Nadia	P-02		
渡邊 慧	1Ap-06	Odahara, Masaki	1Bp-05		
渡辺 文太	1Ca-05	Ogita, Shinjiro	P-58		
	1Cp-08	Okuno, Mirai	1Da-02		
	P-12	Ong, Wen Dee	P-46		
	P-13	Oshima, Hiroshi	1Da-01		
渡邊むつみ	1Ba-06	Pratama, Berbudi Bintang			
	1Cp-03		2Aa-06		
	2Ba-07	Rai, Megha	P-76		
綿引 雅昭	P-39	Romsuk, Jutapat	2Ca-07		
渡会 岳	1Dp-09	Salma, O. M. Osman	P-45		
		Shimizu, Keichi	1Da-01		
		Tamura, Yosiko	1Da-02		
		Tobimatsu, Yuki	1Bp-03		
		Tohge, Takayuki	1Bp-01		
Abu Sefyan, I. Saad	P-45	Tsutsumi, Nobuhiro	1Da-02		
Akama, Kazuhito	P-80	Tutihashi, Fernando Satoshi			
	P-81		1Bp-03		
Akter, Nadia	P-80	Umezawa, Toshiaki	1Bp-03		
Arimura, Shin-ichi	1Da-02	Watanabe, Mutsumi	1Bp-01		
Dayarathne, Kaushalya		Watanabe, Satoru	1Bp-04		
	1Bp-04	Yamaguchi, Masatoshi	1Bp-04		
Fuhrmann-Aoyagi, Martina		Yamamura, Masaomi	1Bp-03		
Bianca	P-75				

A-Z

第40回日本植物バイオテクノロジー学会(千葉)大会 講演要旨集

発行日：2023年9月4日

発行者：第40回日本植物バイオテクノロジー学会(千葉)大会 実行委員会

〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町1-7-22

理化学研究所・環境資源科学研究センター

印刷：中西印刷株式会社