

プログラム

受賞講演

日時 9月12日(月) 午後 15:00-17:00

会場 S会場 (Uホール白鷺)

●学術賞

15:00 **A-1** カロテノイドの生合成遺伝子の同定とその合成生物学研究
三沢 典彦 (石川県立大学)

●奨励賞

15:30 **A-2** 植物香り成分の生合成分子機構の解明と代謝改変に関する研究
肥塚 崇男 (山口大学)

15:50 **A-3** 難培養植物の形質転換系及びゲノム編集系の開発
七里 吉彦 (森林研究・整備機構)

16:10 **A-4** 相同組換えやトランスポゾンを活用した新規植物ゲノム工学手法の開発
横井 彩子 (農研機構)

●学生奨励賞

16:30 **A-5** ジャガイモシストセンチュウに対する新規ふ化促進物質の同定とその生合成の解析
清水 宏祐 (神戸大学)

16:45 **A-6** ジャガイモ塊茎デンプンの代謝工学に向けた高効率ゲノム編集技術の開発
竹内 亜美 (東京理科大学)

●論文賞 (受賞講演はありません)

Plant Biotechnology 38(3):305-310

A multimodal metabolomics approach using imaging mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for spatially characterizing monoterpene indole alkaloids secreted from roots.
Ryo Nakabayashi*, Noriko Takeda-Kamiya, Yutaka Yamada, Tetsuya Mori, Mai Uzaki, Takashi Nirasawa, Kiminori Toyooka, Kazuki Saito (*責任著者)

Plant Biotechnology 38(3):345-353

Creation of a potato mutant lacking the starch branching enzyme gene *StSBE3* that was generated by genome editing using the CRISPR/dMac3-Cas9 system.
Ami Takeuchi, Mariko Ohnuma, Hiroshi Teramura, Kenji Asano, Takahiro Noda, Hiroaki Kusano, Koji Tamura, Hiroaki Shimada* (*責任著者)

シンポジウム 1

成功例から学ぶ組織培養・形質転換系を自ら構築するためのキーポイント

Key points for developing plant tissue culture and transformation protocols on your own

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12日（月） 午前 9:30-12:30

会場 S会場（Uホール白鷺）

概要 次世代シーケンス技術により植物のゲノム配列解析が容易になり，有用形質に関与する遺伝子を標的としたデザイン育種は，ゲノム編集技術の急速な発展によりすでに現実のものとなっている。そのような中，それらの基盤である組織培養・形質転換技術の重要性はますます高まっている。本シンポジウムでは，様々な植物の組織培養や形質転換の成功例を，論文からはみえにくいノウハウやコツを交えつつ紹介し，自ら系を構築するための一助となるような場にしたい。

- | | | |
|-------|-------------|--|
| 9:30 | | はじめに
七里 吉彦（森林研究・整備機構） |
| 9:40 | S1-1 | 非モデル植物ハエトリソウを形質転換する ～その条件検討と手法の構築～
須田 啓（埼玉大学） |
| 10:10 | S1-2 | 形質転換 / ゲノム編集ジャガイモ・トマト作出への新戦略
島田 浩章（東京理科大学） |
| 10:40 | S1-3 | ユーストマの組織培養・形質転換系の効率化：効率を左右するさまざまな要因について
大坪 憲弘（京都府立大学） |
| 11:10 | S1-4 | 植物組織培養成功のための条件設定のコツ
荻田 信二郎（県立広島大学） |
| 11:40 | | おわりに
安本 周平（大阪大学） |

シンポジウム 2

植物機能の活用・向上に向けた DX 最前線

DX for plant biotechnology

オーガナイザー：矢野 健太郎（明治大学）

日時 9月12日（月） 午前 9:30-12:30

会場 B会場（B3棟117号室）

概要 大規模かつ高品質なオミックス情報と文献情報を精密に解析することにより、植物・農作物の生産機能の向上に資する遺伝子や化合物を高効率に同定できる。本シンポジウムでは、農作物やモデル植物のフェノーム、ゲノム、トランスクリプトームなどの大規模オミックス情報と高信頼度知識情報を高効率にハンドリングする最先端 DX 手法について紹介し、植物の機能向上に向けた今後の研究の展開について議論する。

- | | | |
|-------|-------------|---|
| 9:30 | S2-1 | 植物の機能向上 DX のためのとりくみ紹介
中村 保一（国立遺伝学研究所） |
| 10:00 | S2-2 | AI テキストマイニングによる遺伝子の知識情報とオミックス情報の統合化
矢野 健太郎（明治大学） |
| 10:30 | S2-3 | イネ有用遺伝子情報のカタログ構築とその活用について
川原 善浩（農研機構） |
| 11:00 | S2-4 | AI を活用した植物フェノタイピング
郭 威（東京大学） |
| 11:30 | S2-5 | 六倍体サツマイモにおける線虫抵抗性遺伝子の同定と育種基盤技術の構築
門田 有希（岡山大学） |

シンポジウム 3

植物バイオテクノロジー×合成生物学

Plant biotechnology × synthetic biology

オーガナイザー：光田 展隆（産業技術総合研究所），村中 俊哉（大阪大学）

日時 9月13日（火） 午前 9:30-12:30

会場 S会場（Uホール白鷺）

概要 遺伝子工学や細胞操作技術の発展により，典型的な「遺伝子組換え生物」の概念を超えるような新しい性質を持った生物が作られ始めている。これまでは微生物での試みが中心であったが，いよいよ高等植物でもゲノムをデザインする時代に入りつつある。本シンポジウムではこのような「合成生物学」およびその考え方を植物バイオテクノロジー分野に取り入れようとしている研究に焦点をあて，最新の成果の共有と今後の展望を議論したい。

- | | | |
|-------|-------------|--|
| 9:30 | | はじめに
村中 俊哉（大阪大学） |
| 9:35 | S3-1 | 植物における合成生物学（基礎からビジネスまで）
早川 孝彦（株式会社三菱ケミカルリサーチ） |
| 10:00 | S3-2 | 薬用成分の大腸菌での生産
南 博道（石川県立大学） |
| 10:25 | S3-3 | 合成生物学を用いた植物プレニル化ポリフェノールの微生物生産
棟方 涼介（京都大学） |
| 10:50 | S3-4 | ゲノム構造からアルカロイド生産機構を探る
山崎 真巳（千葉大学） |
| 11:15 | S3-5 | 代謝経路の再構築による機能性植物の創生
平井 優美（理化学研究所） |
| 11:40 | S3-6 | 合成生物学的手法を用いた動植物融合細胞の作製
松永 幸大（東京大学） |
| 12:10 | S3-7 | 遺伝子操作による人工細胞壁の構築
光田 展隆（産業技術総合研究所） |
| 12:35 | | おわりに
光田 展隆（産業技術総合研究所） |

シンポジウム 4

植物フェノタイピングに向けたデジタルテクノロジー

Digital technology for plant phenotyping

オーガナイザー：稲田 のりこ (大阪公立大学), 内海 ゆづ子 (大阪公立大学)

日時 9月13日(火) 午後 14:00-17:00

会場 S会場 (Uホール白鷺)

概要 陸上植物は、細い枝や薄い葉がいくつも繰り返されるといった複雑な形状をしており、その複雑さ故に形状の計測や表現が困難であった。しかし近年、機械学習や画像認識技術を中心としたデジタルテクノロジーの発達により、植物形状の表現や計測技術が確立されつつある。本シンポジウムでは最新の植物形状の計測技術を紹介し、今後、これらの技術がどのように発展するかについて議論する。

- | | | |
|-------|-------------|--|
| 14:00 | S4-1 | 環境レジリエント作物の創出をめざした根系非破壊計測プラットフォームの開発
宇賀 優作 (農研機構) |
| 14:30 | S4-2 | さまざまな形態記述子によるモデルベース植物フェノタイピング
野下 浩司 (九州大学) |
| 15:00 | S4-3 | 画像認識技術を用いた植物形質計測
内海 ゆづ子 (大阪公立大学) |
| 15:30 | S4-4 | 植物概日時計の位相応答場技術
福田 弘和 (大阪公立大学) |
| 16:00 | S4-5 | 画像からの枝葉「構造」の復元
大倉 史生 (大阪大学) |

シンポジウム 5

藻類の多様性研究の持続的社會への貢献

Contribution of algal diversity research to a sustainable society

オーガナイザー：伊福 健太郎（京都大学），太田 大策（大阪公立大学）

日時 9月13日（火） 午後 14:00-17:00

会場 B会場（B3棟117号室）

概要 微細藻類は、生産性が高く、食料利用と競合しないことから、次世代のバイオ資源として期待・研究されてきた。そして、近年のゲノム解読や遺伝子組換え技術の進展により、多種多様な藻類の利用可能性が広がっている。本シンポジウムでは微細藻類による物質生産の社会実装に向けて、応用と基礎研究の両面から進捗を紹介する。

- | | | |
|-------|-------------|---|
| 14:00 | | はじめに
太田 大策（大阪公立大学） |
| 14:05 | S5-1 | カーボンニュートラル実現に向けた微細藻類産業利用の可能性：
ちとせグループの微細藻類の産業利用に向けた取り組み紹介
星野 孝仁（株式会社ちとせ研究所） |
| 14:35 | S5-2 | シアノバクテリアや微細藻類を利用した CO ₂ からの直接物質生産
蓮沼 誠久（神戸大学） |
| 15:05 | S5-3 | 遺伝子組換え微細藻類実用化のためのバイオセーフティー技術開発
ーリン代謝系の改変による生物学的封じ込めー
廣田 隆一（広島大学） |
| 15:35 | S5-4 | 硫酸酸性温泉に生息するイデユコゴメ類の産業利用に向けた開発
宮城島 進也（国立遺伝学研究所） |
| 16:05 | S5-5 | 有用物質生産に向けた実用藻類ツノケイソウの光合成機能の最適化
伊福 健太郎（京都大学） |
| 16:35 | | おわりに
伊福 健太郎（京都大学） |

ランチオンセミナー

ランチオンセミナー(1) 研究分野における男女共同参画の現状

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（代表者 柳川 由紀・千葉大学）

日時 9月12日（月） 12:50-13:40

会場 B会場（B3棟117号室）

概要 本学会は男女共同参画の推進に取り組んでおり、男女共同参画学協会連絡会にオブザーバー参加しています。本ランチオンセミナーでは、2021年度に行われた男女共同参画学協会連絡会主催の第5回大規模アンケート（第5回科学技術系専門職の男女共同参画実態調査）について、大規模アンケート解析ワーキンググループの代表者をお招きし、解析報告についてフレッシュな情報を発表していただくこととなりました。日本の研究分野における男女共同参画の在り方を考え、議論する場となれば幸いです。

12:50 **L-1** 第5回科学技術系専門職大規模アンケートの解析から見えてきたこと
須藤 雄気（男女共同参画学協会連絡会，岡山大学）

ランチオンセミナー(2) 日本初のゲノム編集作物の現状

オーガナイザー：小泉 望（大阪公立大学）

日時 9月13日（火） 12:50-13:40

会場 B会場（B3棟117号室）

概要 2020年国内初のゲノム編集トマトの届出が行われ、2021年秋にオンライン販売が開始されました。販売を開始するまでの活動や課題を振り返るとともに、今後の展望についてもご紹介頂きます。革新的技術であるゲノム編集技術を今後、幅広く社会で活用させるためのヒントになれば幸いです。

12:50 **L-2** ゲノム編集トマト販売から1年—これまでの課題と今後の展開について
住吉 美奈子（サナテックシード株式会社）

各セミナー当日の朝に大会受付にてランチオンセミナーチケット（お弁当引換券）を配布いたします。参加証をご提示の上、お受け取り下さい。なお、提供数に限りがございますことをご了承ください。

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝		有用物質生産
9:30	<p>1Aa-01</p> <p>ベンジルイソキノリンアルカロイド生合成系の遺伝子発現制御に関わる AP2/ERF 転写因子の機能解析</p> <p>Functional analysis of AP2/ERF transcription factors that regulate the expression of genes involved in benzyloquinoline alkaloid biosynthesis</p> <p>山田 泰之¹, 西田 昇平², 辰己 泰基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阪府大・院理)</p>		<p>1Ca-01 ENTRY</p> <p>ユーグレナのワックスエステル蓄積増強活性を持つ化合物の作用点の解明</p> <p>Elucidation of the point of action of chemical stimulators with wax ester accumulation enhancing activity in <i>Euglena gracilis</i></p> <p>佐藤 一裕, 小川 拓水, 岡澤 敦司, 太田 大策 (大阪公立大・院農学)</p>
9:42	<p>1Aa-02</p> <p>トリテルペノイドサポニン生合成酵素群のタンパク質間相互作用の解析</p> <p>Protein-protein interaction analyses of triterpenoid saponin biosynthetic enzymes</p> <p>Soo Yeon Chung¹, 和氣 駿之², 中山 亨², 村中 俊哉^{1,3}, 關 光^{1,3} (1阪大院・工・生物工学, 2東北大院・工, 3大阪大学先導的学際研究機構)</p>		<p>1Ca-02</p> <p>有用セラミド生産法の開発に向けたスフィンゴ糖脂質糖転移酵素欠損変異体の解析</p> <p>Analysis of a sphingolipid glycosyltransferase mutant for the production of useful ceramides</p> <p>鈴木 雄介¹, 宮城 敦子^{1,2}, 山口 雅利¹, 川合 真紀¹, 石川 寿樹¹ (1埼玉大・院・理工, 2山形大・農)</p>
9:54	<p>1Aa-03</p> <p>ゲノム編集による薬用植物甘草セルロース合成酵素類似タンパク質のサポニン生合成における機能の同定</p> <p>Disruption of a licorice cellulose synthase-derived glycosyltransferase gene demonstrates its <i>in planta</i> role in saponin biosynthesis</p> <p>阪西 真実¹, 藤原 健太郎¹, 高上馬 希重², 村中 俊哉^{1,3}, 關 光^{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>		<p>1Ca-03</p> <p>NAD を高蓄積した微細藻類の作出</p> <p>Development of high NAD accumulating microalgae</p> <p>石田 快¹, 小乾 彰紘¹, 中谷 正義², 篠原 結子¹, 上野 登輝夫², 宮城 敦子^{3,4}, 石川 寿樹⁴, 川合 真紀⁴ (1(株)ニテック・研究開発本部・生物工学研究所, 2(株)ニテック・研究開発本部, 3山形大学・農学部, 4埼玉大学大学院・理工学研究科)</p>
10:06	<p>1Aa-04 ENTRY</p> <p>エピジェネティック酵素阻害剤がカンゾウ培養ストロンにおけるグリチルリチン生合成遺伝子の発現におよぼす効果</p> <p>Effects of epigenetic inhibitors on the glycyrrhizin biosynthetic gene expression in tissue-cultured stolons of licorice</p> <p>藤原 健太郎¹, 高上馬 希重², 村中 俊哉^{1,3}, 關 光^{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>		<p>1Ca-04 ENTRY</p> <p>ゼニゴケにおけるビタミン D3 高生産を目指した代謝工学</p> <p>Bioproduction of vitamin D3 in transgenic <i>Marchantia polymorpha</i> through metabolic engineering</p> <p>那須 詩織¹, 畑田 珠希¹, 山岸 萌子¹, 秋山 遼太¹, 石崎 公庸², 村中 俊哉³, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹ (1神戸大・院農学, 2神戸大・院理学, 3大阪大・院工学)</p>
10:18	<p>1Aa-05 ENTRY</p> <p>ジャガイモの α-ソラニン生合成に関わるソラニダン還元酵素の解析</p> <p>Functional characterization of reductases involved in the final steps in α-solanine biosynthesis</p> <p>寺見 大輝¹, 野田 蒼空¹, 秋山 遼太¹, 渡辺 文太², 梅基 直行³, 齋藤 和季³, 村中 俊哉⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹ (1神戸大・院農, 2京都大・化研, 3理研CSRS, 4阪大院・工)</p>		<p>1Ca-05 ENTRY</p> <p>ゼニゴケにおけるトリテルペノイド生産系の構築</p> <p>Construction of a triterpenoid production system in <i>Marchantia polymorpha</i></p> <p>小林 祐介¹, 畑田 珠希¹, 石崎 公庸², 關 光³, 村中 俊哉³, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹ (1神戸大院・農, 2神戸大院・理, 3阪大院・工)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
バイオマス	生物間相互作用		
<p>1Da-01 ENTRY 細胞壁結合型フェルラ酸の形成を抑制したイネ <i>ALDH</i> 変異株のリグノセルロース構造解析 Lignocellulose Characterization of Rice <i>ALDH</i> Mutants Deficient in the Biosynthesis of Cell-wall-bound Ferulates 山本 千莉¹, 飛松 裕基¹, Pui Ying Lam¹, Osama A. Afifi¹, 木村 ゆり¹, 刑部 祐里子², 刑部 敬史³, Laura E. Bartley⁴, 梅澤 俊明^{1,5} (1京大・生存研, 2東工大・生命理工, 3徳島大・生物資源産業, 4ワシントン州立大, 5京大・生存基盤)</p> <p>1Da-02 ENTRY エノコログサ (<i>Setaria viridis</i>) のアラビノキシラン合成に関わるアラビノフラノース転移酵素の機能解析 Functional characterization of an arabinofuranosyl transferase involved in arabinoxylan biosynthesis in <i>Setaria viridis</i> 鈴木 聖治¹, 木塚 康彦^{1,2,3}, 石水 毅⁴, 鈴木 史朗^{1,3} (1岐阜大院 自然科学技術, 2岐阜大 糖鎖生命コア研究所, 3岐阜大 応用生物科学, 4立命館大 生命科学)</p> <p>1Da-03 ENTRY <i>Euglena gracilis</i> 細胞の沈降速度にエタノール添加が与える影響 Effect of ethanol addition on sedimentation rate of <i>Euglena gracilis</i> cells 高橋 優, 島本 航輔, 小山内 崇 (明大院・農・農化)</p>	<p>1Ea-01 ENTRY トマチンによるトマト根圏微生物叢の形成と根分泌モデル実験系の構築 Analysis of tomatine-mediated formation of tomato rhizosphere bacterial community and construction of a model experimental device for root secretion 高松 恭子¹, 豊福 美和子¹, 奥谷 芙季¹, 中安 大¹, 山崎 真一², 青木 裕一², 小林 優³, 伊福 健太郎³, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹ (1京都大・生存研, 2東北大・ToMMo, 3京都大・院農)</p> <p>1Ea-02 植物根から分泌されるサポニン類による根圏微生物叢形成の <i>in vitro</i> および <i>in silico</i> 解析 <i>In vitro</i> and <i>in silico</i> analysis of rhizosphere microbiota assembly mediated by saponins 山崎 真一¹, 中安 大², 青木 裕一¹, 矢崎 一史², 杉山 暁史² (1東北大・ToMMo, 2京都大・生存研)</p> <p>1Ea-03 トマト根由来スフィンゴビウム属細菌のサポニン分解酵素の機能解析 Characterization of saponin degradation enzymes in <i>Sphingobium</i> sp. from tomato roots 中安 大¹, 増田 幸子², 山崎 真一³, 青木 裕一³, 柴田 ありさ², 須田 互⁴, 白須 賢², 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹ (1京都大・生存研, 2理研・CSRS, 3東北大・ToMMo, 4理研・IMS)</p>		<p>9:30</p> <p>9:42</p> <p>9:54</p>
一次代謝			
<p>1Da-04 ENTRY 紅藻 <i>Cyanidioschyzon merolae</i> 由来クエン酸シンターゼの一個および二価の塩と代謝産物による影響 Effects of monovalent and divalent salts and metabolites on citrate synthase from red alga <i>Cyanidioschyzon merolae</i> 西井 麻貴, 小山内 崇 (明治大学大学院・農学研究科)</p> <p>1Da-05 シロイヌナズナにおける窒素欠乏時の代謝と花成制御に関与する転写因子の機能解析 Functional analysis of transcription factor involved in the regulation of metabolism and flowering under nitrogen deficiency in <i>Arabidopsis thaliana</i> 眞木 美帆¹, Giang Van Quoc², 久保 晃生², 佐藤 靖武², 高木 純平¹, 佐藤 長緒¹ (1北大院・理, 2北大院・生命)</p>	<p>1Ea-04 ENTRY ダイズ根から根圏へのイソフラボン分泌を促進するアポプラスト局在のβ-グルコシダーゼの解析 Analysis of an apoplastic β-glucosidase facilitating isoflavone secretion from soybean roots into the rhizosphere 松田 陽菜子¹, 山崎 由実¹, 森吉 英子¹, 中安 大¹, 山崎 真一², 青木 裕一², 高瀬 尚文³, 岡崎 伸^{4,5}, 永野 惇^{6,7}, 加賀 秋人⁸ (1京大・生存研, 2東北大・メディカル・メガバンク機構, 3京都先端科学大・バイオ環境, 4農工大・院農, 5農工大・院連合農, 6龍谷大・農, 7慶応大・先端生命科学研, 8農研機構)</p> <p>1Ea-05 ENTRY ヨモギの虫こぶ形成の共通基盤と多様性を理解する Common basis and diversity of different galls on <i>Artemisia</i> plants 竹内 さくら¹, 余座 万紀子², 前野 哲輝³, 武田 征士¹ (1京都府立大・院生命環境科学, 2京都府立大・院生命環境科学(卒業生), 3国立遺伝学研究所・細胞建築研究室)</p>		<p>10:06</p> <p>10:18</p>

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝		有用物質生産
10:30	<p>1Aa-06</p> <p>低ニコチンタバコ変異の分子基盤: 転写因子遺伝子の欠損と発現減弱 Natural and induced variations in transcriptional regulator genes result in low-nicotine phenotypes in tobacco 庄司 翼^{1,2}, 守山 弘基², Nicolas Sierro³, Ouadi Sonia³, Nikolai Ivanov³, 橋本 隆², 斉藤 和季^{1,4} (1理研・CSRS, 2NAIST・バイオ, 3Phillip Morris International, 4千葉大・植物分子研究センター)</p>		<p>1Ca-06</p> <p>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 mRNA 蓄積量を予測する機械学習モデルの構築 Machine learning model to predict mRNA accumulation from nucleotide sequence for efficient production of useful proteins 神谷 紘汰, 山崎 将太郎, 加藤 晃 (奈良先端大・バイオ)</p>
10:42	<p>1Aa-07</p> <p>イネ目におけるチロシン由来リグニン経路の獲得タイミングとその分子機構に関する研究 The evolutionary timing and molecular basis of emergence of bifunctional phenylalanine tyrosine ammonia-lyase in Poales lineage 木村(武田) ゆり, Bethany Moore, Jorge El-Azaz, Hiroshi Maeda (ウイスコンシン大学 植物学)</p>		<p>1Ca-07 ENTRY</p> <p>mRNA 配列の決定に関わる特徴解析と転写される配列の詳細な予測モデルの開発 Feature analysis of mRNA sequence determination and development of detailed prediction model of transcribed sequence 梅田 健人, 山崎 将太郎, 加藤 晃 (奈良先端大・バイオ)</p>
10:54	<p>1Aa-08</p> <p>シャクにおける yatein の環化に関与する 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase (As2-ODD) の機能解析 Functional analysis of <i>Anthriscus sylvestris</i> 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase (As2-ODD) involved in the cyclization of yatein 小林 慶亮¹, 山村 正臣¹, 小笠 栄一郎², 白石 慧³, 佐竹 炎³, 梅澤 俊明^{1,4} (1京大生存研, 2サントリーグローバルイノベーションセンター(株), 3(公財)サントリー生命科学財団, 4京大生存基盤)</p>		<p>1Ca-08</p> <p>3'UTR バリエーションに着目した翻訳効率の新規解析法開発 Development of a new analysis method for translation efficiency focusing on 3'UTR variants 高橋 秀斗, 山崎 将太郎, 西村 侑美, 加藤 晃 (奈良先端大・バイオ)</p>
11:06	<p>1Aa-09</p> <p>トマト毛状根を用いたジャガイモシストセンチュウ孵化促進物質合成の解析 Analysis of biosynthesis of potato cyst nematode hatching factor using tomato hairy roots 秋山 遼太¹, 清水 宏祐¹, 河野 結¹, 坂田 至², 串田 篤彦², 谷野 圭持³, 刑部 敬史⁴, 刑部 祐里子⁵, 渡辺 文太⁶, 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, 4徳島大・生物資源産業, 5東京工業大・生命理工, 6京大・化研)</p>		<p>1Ca-09</p> <p>コムギ胚芽無細胞翻訳系における翻訳エンハンサーの同定 Identification of translational enhancers in the wheat germ cell-free translation system 北田 早貴¹, 板谷 知健², 多田 裕昭², 南 賢尚², 川邊 陽文¹, 加藤 壮英¹, 山崎 将太郎¹, 加藤 晃¹ (1奈良先端大・バイオ, 2NUProtein(株))</p>
11:18	<p>1Aa-10 ENTRY</p> <p>マメ科エンジュの (+)-プテロカルパン型ファイトアレキシンの生合成機構の解析 Elucidation of (+)-pterocarpan phytoalexin biosynthesis in <i>Styphnolobium japonicum</i> 佐藤 優花¹, 内田 開¹, 鈴木 秀幸², 明石 智義¹ (1日本大・生物資源・応用生物, 2(公財)かずさDNA研究所)</p>		<p>1Ca-10 ENTRY</p> <p>ロングリードシーケンサーを用いた mRNA 安定性の詳細な評価と特徴解析 Detailed evaluation and characterization of mRNA stability using long read sequencing 似内 颯斗, 藤尾 瞳, 山崎 将太郎, 加藤 晃 (奈良先端大・バイオ)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
一次代謝	生物間相互作用		
<p>1Da-06 ENTRY</p> <p>植物細胞におけるステロールの生合成及び貯蔵部位の探索 Exploration of subcellular sites for the biosynthesis and storage of phytosterols 磯部 一樹¹, 藤井 友理¹, 島田 貴士², 西村 いくこ³, 太田 大策¹ (1大阪公大・院農, 2千葉大・院園芸, 3甲南大・理工)</p>	<p>1Ea-06 ENTRY</p> <p>ミドリサングの乳管細胞で高発現する新規な抗昆虫タンパク質の探索 Anti-insect activity of a protein highly expressed in laticifer of <i>Euphorbia tirucalli</i> 谷 尚樹¹, Eric Hyrmeya Savadogo¹, 秋野 順治¹, 吉田 英樹¹, 三浦 謙治², 平良 東紀³, 北島 佐紀人¹ (1京工繊大・応用生物, 2筑波大・生命環境, 3琉球大・農)</p>		10:30
<p>1Da-07 ENTRY</p> <p>タバコ一過発現系を用いたスフィンゴ脂質分解酵素遺伝子の探索 Screening of genes encoding a sphingolipid catabolic enzyme by transient expression in tobacco 真田 昇¹, Rumana Yesmin Hasi², 田中 保², 今井 博之³, 宮城 敦子^{1,4}, 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・食料科学, 3甲南大・理工, 4山形大・農)</p>	<p>1Ea-07</p> <p><i>Nicotiana benthamiana</i> 植物由来ホスホリパーゼ C4 は過敏反応を負に制御する Phosphatidylinositol-phospholipase C4 negatively regulates the hypersensitive response in <i>Nicotiana benthamiana</i> 木場 章範¹, 福井 諄子¹, 大西 浩平², 曳地 康史¹ (1高知大・農林, 2高知大・総研セ)</p>		10:42
<p>1Da-08</p> <p>シアノバクテリア <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803 のメチルグリオキサールシンターゼ (SII0036) の機能解析 Functional analysis of methylglyoxal synthase (SII0036) of the cyanobacteria <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803 艾克然木 卡得尔¹, 石川 優真², 山口 雅利¹, 石川 寿樹¹, 宮城 敦子^{1,3}, 川合 真紀¹ (1埼玉大学理工学研究科, 2ハインリッヒハイネ大学分子生理学研究所および植物科学の卓越性のクラスター(CEPLAS), 3山形大学農学部食料生命環境学科)</p>	<p>1Ea-08</p> <p>オクトリカプト培養苗のアコニチン類産生に対するトリカプト潜在ウイルスの影響 Effects of aconitum latent virus on aconitine alkaloids production by cultured plants of <i>Aconitum japonicum</i> 川上 寛子¹, 田代 史晶¹, 今 辰哉¹, 阿部 遥真¹, 岩井 一真¹, 太田 李紀¹, 河下 美都里², 櫻井 美希², 藤 晋一¹ (1秋田県立大・生物資源, 2ツムラ・生薬)</p>		10:54
<p>1Da-09</p> <p>油脂産生微細藻類ナンノクロロプシスのNAD(P)(H)合成経路の解析 Analysis of NAD(P)(H) synthesis pathway of oil-producing microalgae <i>Nannochloropsis</i> 林 英里香¹, 鈴木 耕陽¹, 宮城 敦子^{1,2}, 石川 寿樹¹, 山口 雅利¹, 川合 真紀¹ (1埼玉大・院理工, 2山形大・農)</p>	<p>1Ea-09</p> <p>イネに内生する放線菌エンドファイトのイネ生育促進効果 Characterization of promotion effects of an endophytic actinobacterium on the rice growth 鄭 貴美^{1,2}, 菅野 学^{1,2}, 大沼 万里子¹, 坂本 真吾^{1,2}, 玉木 秀幸^{1,2}, 光田 展隆^{1,2} (1産総研・生物プロセス, 2産総研・ゼロエミ)</p>		11:06
	<p>1Ea-10 ENTRY</p> <p>シソのトライコームへのシソ苗立枯病原菌の感染様式 Infection pattern on trichome of shiso by the damping-off pathogen <i>Pythium myriotylum</i> 川澄 留佳, 山口 夕, 東條 元昭 (大公大・院農学)</p>		11:18

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝		有用物質生産
11:30	<p>1Aa-11 Altered flavonoid profile and lignin structure in rice mutants deficient in chalcone synthase (CHS), chalcone isomerase (CHI) and chalcone isomerase-like (CHIL) Pui Ying Lam^{1,2}, Lanxiang Wang³, Andy Lui⁴, Toshiaki Umezawa^{2,5}, Yuki Tobimatsu², Clive Lo⁶ (1Grad. Sch. Eng. Sci., Akita Univ., 2RISH, Kyoto Univ., 3Chinese Academy of Sciences, 4Sch. Integrative Plant Sci., Cornell Univ., 5RURSS, Kyoto Univ., 6Sch. Biol. Sci., Univ. Hong Kong)</p>		<p>1Ca-11 暗所で発芽させたイネ実生の総可溶性タンパク質量を増加させる条件の探索 A search of conditions that enhance the amount of total soluble protein in etiolated rice seedlings 渡邊 明子¹, 竹島 幸乃^{1,2,3}, 叶内 愛莉^{2,4}, 高橋 柊里^{2,5}, 佐々木 華凜^{2,6}, 高橋 乃愛^{2,7}, 伊藤 幸博^{1,2} (1東北大・農, 2東北大・科学者の卵養成講座, 3秋田高, 4山形東高, 5花巻北, 6ルネサンス, 7酒田東)</p>
11:42	<p>1Aa-12 リンゴ根でのカラムナー遺伝子 MdDOX-Coの発現解析 The expression analysis of MdDOX-Co of columnar gene in apple roots 和田 雅人², 小森 貞男², 岡田 和馬¹, 阿部 和幸¹ (1農研機構・果樹茶研究部門, 2岩手大学・農学部)</p>		<p>1Ca-12 ENTRY 遺伝子組換えイネを用いた抗菌ペプチドの生産 Production of Antimicrobial Peptide Using Genetically Modified Rice 藤田 岳, 米山 裕, 伊藤 幸博 (東北大・院農学)</p>
11:54			<p>1Ca-13 カロテノイド合成酵素遺伝子の過剰発現によるカロテノイド組成の改変 Modification of carotenoid composition by over expression of carotenoid biosynthesis genes 有海 将司¹, 水野 晃希¹, 三浦 謙治³, 竹田 恵美² (1大阪府大・院理学, 2大阪公大・院理学, 3筑波大・生命環境)</p>
12:06			<p>1Ca-14 シソ機能性成分高含有化を目的とした遺伝子組換え体の作出と解析 Production and analysis of transgenic plants of perilla to increase the amount of functional ingredients 高橋 麻起子¹, 中山 牧子¹, 高野 翔¹, 大角 有里沙¹, 小川 瑛利子¹, 南谷 健司², 田坂 恭嗣³, 松村 健³, 後藤 一法¹ (1(株)アミノアップ, 2(公財)北海道科学技術総合振興センター, 3(国研)産業技術総合研究所)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
一次代謝	生物間相互作用		
			11:30
			11:42
			11:54
			12:06

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝	発生分化・形態形成	遺伝子組換え・ゲノム編集
9:30	<p>2Aa-01</p> <p>機能性成分原材料としての利用に向けた青パパイヤ未利用部位の解析 Metabolome analysis of underutilized parts of unripe papaya for utilization as phytochemicals source 解良 康太¹, 平賀 靖英^{2,3}, 荒 武², 佐藤 菜央⁴, 秋元 奈弓², 杉山 健二郎⁴, 鈴木 秀幸^{2,3} (1東農大, 2(公財)かずさDNA研, 3(株)平田機工, 4工学院大)</p>	<p>2Ba-01 ENTRY</p> <p>葉器官の代謝リプログラミングに着目した細胞数と細胞サイズの協調を担う鍵代謝産物の同定 Metabolic reprogramming generates a key metabolite that coordinates cell number and size during leaf morphogenesis in <i>Arabidopsis</i> 多部田 弘光^{1,2,3}, 佐藤 心郎², 郡司 玄², 塚谷 裕一⁴, 平井 優美², フェルジャニ アリ³ (1東大・院・総合文化, 2理研CSRS, 3学芸大・院・生命科学, 4東大・院・理学)</p>	<p>2Ca-01</p> <p>CRISPR/Cas9 システムによる <i>DCL2/4</i> 遺伝子ノックアウト <i>Nicotiana benthamiana</i> の作出 CRISPR/Cas9-mediated knockout of the <i>DCL2</i> and <i>DCL4</i> genes in <i>Nicotiana benthamiana</i> 松尾 幸毅 (産総研・生物プロセス)</p>
9:42	<p>2Aa-02 ENTRY</p> <p>スイートピーの花色素合成に関わる補足遺伝子 P の調査 Investigation of complementary gene P related to synthesis of flower pigment in sweet pea 加藤 舞¹, 勝間田 やよい², 柳下 良美³, 中山 真義⁴, 宮原 平¹ (1千葉大・院園芸, 2神奈川県農技セ・生産技術, 3神奈川県農技セ・企画経営, 4農研機構・野菜花き研究部門)</p>	<p>2Ba-02</p> <p>葉の形成における TCP 転写因子の機能解析 A role of TCP transcription factors in leaf development 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}, 高木 優⁶ (1(公財)サントリー生命科学財団・生有研, 2産総研・生物プロセス, 3理研・環境資源科学, 4名大院・理, 5名大・トランスフォーマティブ生命分子, 6埼玉大院・理工)</p>	<p>2Ca-02</p> <p>花粉形成関連遺伝子を標的としたゲノム編集による無花粉スギ (<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don) の作出 Generation of pollen-free lines in Japanese cedar (<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don) by disruption of genes related to male strobilus development using CRISPR/Cas9 七里 吉彦¹, 小長谷 賢一¹, 上野 真義², 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>
9:54	<p>2Aa-03</p> <p><i>Rheum rhabarbarum</i> のフラボノイド・ステルベン配糖化酵素の機能解析 Characterization of flavonoid/stilbene glycosyltransferase genes from <i>Rheum rhabarbarum</i> 安田 彩乃, 浅井 恒志, 牧野 利明, 寺坂 和祥 (名市大・院薬)</p>	<p>2Ba-03 ENTRY</p> <p>シロイヌナズナの葉柄が長くなる変異体を用いた葉の形態形成解析 Molecular genetic analysis of mechanism of leaf formation in <i>Arabidopsis</i> by using petiole elongation mutant 萩原 美優¹, 東木 美桜¹, 八木橋 春和¹, 小松原 美乃¹, 吉田 安佑¹, 神谷 岳洋², 藤原 徹², 北本 武郎¹, 鈴木 健太¹, 榎本 裕介³ (1広尾学園高等学校, 2東大院・農, 3昭和学院高等学校)</p>	<p>2Ca-03</p> <p>塩基編集技術による <i>ALS</i> 遺伝子改変スギ (<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don) 個体系統の除草剤耐性能の解析 Analysis of generating tolerance to <i>ALS</i>-inhibiting herbicide in Japanese cedar (<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don) using base editing 川邊 陽文¹, 七里 吉彦¹, 小長谷 賢一¹, 上野 真義², 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>
10:06	<p>2Aa-04</p> <p>低シュウ酸含量ホウレンソウの分子育種に向けたターゲット遺伝子の探索 Identification of target genes reducing oxalate accumulation in Spinach using VIGS 市川 翔哉¹, 石橋 和太², 古庄 律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, 3東京農大・食農)</p>	<p>2Ba-04</p> <p>KODA (9-hydroxy-10-oxo-12(Z),15(Z)-octadecadienoic acid) による培養ポプラ植物の全身的活性化作用の特徴 Characteristics of the systemic activation of the juvenile growth of in vitro cultured <i>Populus alba</i> by KODA (9-hydroxy-10-oxo-12(Z),15(Z)-octadecadienoic acid) 横山 峰幸^{1,3}, 海田 るみ¹, 宮本 健助², 藤井 義晴¹ (1東京農工大・農, 2大阪公立大・国際基幹, 3東京工科大・応用生物)</p>	<p>2Ca-04</p> <p>イネ科モデル植物ミナトカモジグサにおけるゲノム編集システムの確立と環境ストレス応答遺伝子 <i>SnRK2</i> の機能解析 Functional analysis of the stress-responsive gene <i>SnRK2</i> in the grass <i>Brachypodium distachyon</i> using a genome editing tool 日渡 祐二^{1,2}, 鷹見 優², 中村 愉太², 高内 滯奈², 後藤 未羽¹ (1宮城大・院食産業学, 2宮城大・食産業学)</p>
10:18	<p>2Aa-05 ENTRY</p> <p>キンギョソウにおける <i>p</i>-クマル酸 3 位水酸化酵素の探索 Exploring <i>p</i>-coumaric acid 3-hydroxylase in snapdragon 垣生 大希, 斎藤 泰知, 和氣 駿之, 高橋 征司, 中山 亨 (東北大院・工)</p>	<p>2Ba-05</p> <p>局所的薬剤噴霧によるピコティー型ペチュニア花弁の模様形成変化の解析 The effects of local application of the effective chemicals on flower color patterning in "Picotee" type petunia 東 克己¹, 志賀 悠暉¹, 石井 達也¹, 太田 優介¹, 齋藤 雅也¹, 山口 華穂¹, 中山 正義² (1帝京科学大・生命環境・生命科学, 2農研機構野花研)</p>	<p>2Ca-05</p> <p>TALE ドメインによる DNA 配列認識を介したシロイヌナズナ核遺伝子の標的塩基置換 Targeted base editing in <i>Arabidopsis</i> nuclear genes via DNA recognition by TALE domain 細田 恵子¹, 中里 一星¹, 奥野 未来², 伊藤 武彦³, 高梨 秀樹¹, 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹ (1東大・院農, 2久留米大・医, 3東工大・院生命科学)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
細胞・組織培養	環境応答	新技術開発	
2Da-01 カラマツにおける植物体再生系と培養細胞の凍結保存法の確立 Establishment of plantlet regeneration system and cryopreservation method of cultured cells in Japanese larch 小長谷 賢一 ¹ , 三嶋 賢太郎 ² , 井城 泰一 ² , 福田 陽子 ² , 谷口 亨 ¹ (1森林機構・森林バイオ, 2森林機構・林木育種セ)	2Ea-01 狭波長 UV-LED により誘導される植物の UV-B 応答 UV-B response in plants induced by narrow-band UV-LED 鶴本 智大 ^{1,2} , 藤川 康夫 ² , 斧田 優志 ² , 上森 真広 ³ , 平松 和也 ³ , 谷本 秀夫 ³ , 太田 大策 ^{1,4} , 岡澤 敦司 ^{1,4} (1阪府大・院生命環境, 2日亜化学工業(株), 3大阪環農水研, 4大阪公大・院農)	2Fa-01 大気圧温度制御プラズマを用いた細胞への直接 Cas9/sgRNA 導入によるイネ及びタバコのゲノム編集 Genome editing through direct introduction of Cas9/sgRNA by a temperature controllable atmospheric-pressure plasma in rice and tobacco plants 柳川 由紀 ^{1,2} , 飯島 勇介 ³ , 末永 祐磨 ³ , 遠藤 真咲 ^{4,5,6} , 加藤 悦子 ^{4,7} , 土岐 精一 ^{4,5,6,8} , 沖野 晃俊 ³ , 光原 一朗 ⁴ (1千葉大・院園芸, 2理研・CSRS, 3東工大・未来研, 4農研機構, 5横浜市大院・生命ナノ, 6横浜市大・木原生研, 7東洋大・食環境科学, 8龍谷大学・農学部・植物生命)	9:30
2Da-02 熱ショックタンパク質誘導によるサトイモ茎頂のガラス化保存法の効率化 Efficiency of cryopreservation method using taro shoot apex by heat shock protein induction 篠村 菜月 ¹ , 矢作 蒼生 ¹ , 田中 大介 ^{2,4} , 小西 達夫 ³ , 本橋 令子 ^{1,5} (1静大・院農学, 2農研・遺伝資源, 3進化生物学研, 4筑波大・生命環境科学, 5静大・農学)	2Ea-02 シロイヌナズナ β-カロテンヒドロキシラーゼ遺伝子 <i>Chy1</i> によるキサントフィルサイクル色素合成の調節 Regulation of xanthophyll cycle pigment synthesis by <i>Arabidopsis</i> β-carotene hydroxylase gene <i>Chy1</i> 岡野 安佐子 ¹ , 竹田 恵美 ² (1大阪府大・院理学, 2大阪公大・院理学)	2Fa-02 大気圧温度制御プラズマによる植物細胞へのタンパク質導入機構の解析 Elucidation of mechanism for direct protein introduction into plant cells by a temperature controllable atmospheric-pressure plasma 柳川 由紀 ^{1,2} , 相澤 駿輝 ³ , 末永 祐磨 ³ , 飯島 勇介 ³ , 沖野 晃俊 ³ , 光原 一朗 ⁴ (1千葉大・院園芸, 2理研・CSRS, 3東工大未来研, 4農研機構)	9:42
2Da-03 リーフレタスのシュート再分化効率に関する形態学的マーカー Morphological marker to optimize for direct shoot regeneration in leaf lettuce 木村 光宏, 吉積 毅 (高崎健大・農学部)	2Ea-03 ENTRY 局部刺激で誘起する概日時計の位相特異点に関する数理モデル解析 Analysis of a Mathematical Model for Phase Singularity of Circadian Clock Induced by Local Stimuli 小田 彬人 ¹ , 福田 弘和 ^{1,2} (1大阪府大・機械, 2大阪公大・機械)	2Fa-03 ENTRY シロイヌナズナにおける DNA 脱メチル化編集技術開発の試み An attempt to develop DNA demethylation editing technology in <i>Arabidopsis thaliana</i> 平田 峻也 ¹ , 大河 優奈 ² , 町田 千代子 ³ , 高橋 広夫 ⁴ , 小林 括平 ¹ , 西村 泰介 ⁵ , 池田 陽子 ⁶ , 賀屋 秀隆 ¹ (1愛媛大・院・農, 2愛媛大・農, 3中部大・応用生物, 4金沢大・医薬保健, 5長岡技科大・生物機能工学, 6岡山大・植物研)	9:54
2Da-04 アイスプラント (<i>Mesembryanthemum crystallinum</i> L.) 根及び胚軸外植体由来の培養細胞からの地上部再分化の検討 Shoot regeneration from cultured hypocotyl and root explants in the common ice plant (<i>Mesembryanthemum crystallinum</i> L.) 大串 康太 ¹ , 有馬 友佳子 ² , 佐藤 稜真 ¹ , John C. Cushman ³ , 東江 栄 ⁴ (1九州大・院・生物資源環境科学府, 2香川大・院農学研究科, 3ネバダ大・リノ校, 4九州大・院農学)	2Ea-04 シロイヌナズナ塩馴化後浸透圧耐性獲得変異株の解析 Genetic analyses of <i>acquired osmo-tolerant 19 (aot19)</i> mutant of <i>Arabidopsis thaliana</i> 森 研人 ¹ , 田村 将士 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)	2Fa-04 生細胞における葉緑体外包膜の蛍光染色法の開発 Fluorescent Staining of the Chloroplast Outer Envelope Membrane in Living Plant Cells 市川 晋太郎, 児玉 豊 (宇都宮大・バイオセンター)	10:06
2Da-05 ENTRY ストリゴラクトン関連阻害剤とサイトカイニンの同時処理が不定芽形成に与える影響 Effect of simultaneous treatment of strigolactone-related inhibitors and cytokinin on adventitious shoot formation 岡崎 夏鈴, 下村 講一郎, 梅原 三貴久 (東洋大院・生命科学)	2Ea-05 シロイヌナズナ accession 間に見られる浸透圧耐性多様性メカニズムの解析 Dissecting of natural variation in osmotolerance among <i>Arabidopsis thaliana</i> accessions 村越 祐介 ¹ , 番場 康介 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)	2Fa-05 植物に適した光-電子相関顕微鏡法の開発: 蛍光タンパク質の検討 Development for correlative light and electron microscopy suitable for plants 豊岡 公德, 後藤 友美, 武田 紀子 (理研・CSRS)	10:18

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝	発生分化・形態形成	遺伝子組換え・ゲノム編集
10:30	<p>2Aa-06 ENTRY</p> <p>ペニバナ (<i>Carthamus tinctorius</i> L.)由来 UDP糖依存性グリコシルトランスフェラーゼホモログの酵素機能解析 Functional characterization of UDP-sugar-dependent glycosyltransferases in safflower (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) 門脇 芽以¹, 和氣 駿之¹, 藤田 直樹², 福田 敬志², 加藤 幹也², 根岸 尚志³, 内田 弘美³, 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>2Ba-06</p> <p>水ナスの多汁性を決定する遺伝子の同定に向けた遺伝解析 Genetic analysis to identify gene that determine the juiciness of Mizunasu (<i>Solanum melongena</i> L.) 瀬上 修平 (大阪環農水研)</p>	<p>2Ca-06 ENTRY</p> <p>標的塩基置換酵素 mitoTALECD を用いた, シロイヌナズナのミトコンドリアゲノムの精緻な改変 Pinpoint modification of mitochondrial genomes of <i>Arabidopsis thaliana</i> by mitoTALECD, the site-specific base-editing enzyme 中里 一星¹, 奥野 未来^{2,3}, 周 暢¹, 伊藤 武彦², 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹ (1東大院・農生, 2東工大・生命理工, 3久留米大・医)</p>
10:42	<p>2Aa-07 ENTRY</p> <p>出芽酵母を用いたフラボノイド生産に及ぼす Chalcone isomerase-like protein の影響 Effect of Chalcone isomerase-like protein on flavonoid production in yeast 佐野 友哉¹, 和氣 駿之¹, 藤田 直樹², 福田 敬志², 加藤 幹也², 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))</p>	<p>2Ba-07</p> <p>イネの <i>ELONGATION OF SILIQUES WITHOUT POLLINATION 1</i> と <i>2</i> は受精非依存的な子房発生を制御する Ovary development regulation without fertilization by expression of <i>Oryza sativa ELONGATION OF SILIQUES WITHOUT POLLINATION 1</i> and <i>2</i> 名川(宮脇) 香織¹, 大沼 万里子¹, 貴嶋 紗久¹, 白濱 里帆^{1,3}, 坂本 真吾¹, 池田 美穂², 高崎 寛則², 高木 優², 光田 展隆¹, 大島 良美¹ (1産総研・生物プロセス, 2埼玉大院・理工, 3長岡技科大・生物)</p>	<p>2Ca-07 ENTRY</p> <p>ミトコンドリアゲノム編集によるトマト細胞質雄性不稔性原因遺伝子の同定 Identification of tomato cytoplasmic male sterility-causative gene by mitochondrial genome editing 桑原 康介¹, 有村 慎一², 白澤 健太³, 有泉 亨⁴ (1筑波大・院理工情報生命, 2東大・院農生命, 3かずさDNA研究所, 4筑波大・生命環境系)</p>
10:54	<p>2Aa-08</p> <p>補酵素 A によるカルコン合成酵素の阻害機構 Inhibition mechanism of chalcone synthase by CoA-SH 和氣 駿之¹, 土井 大和¹, 宇野 海地¹, 山田 彩友美¹, 今泉 璃城², 高橋 征司¹, 山下 哲², 中山 亨¹ (1東北大院・工, 2金沢大院・自然科学)</p>	<p>2Ba-08 ENTRY</p> <p>変異型種子貯蔵タンパク質を発現するシロイヌナズナの作出と解析 Analysis of <i>Arabidopsis</i> expressing abnormal seed storage protein 成田 裕貴, 岡田 龍之介, 松盛 巧, 山田 黎, 岩田 雄二, 小泉 望 (大阪公立大・農学)</p>	<p>2Ca-08</p> <p>小型 Cas タンパク質 Cas12f によるイネの標的変異導入 Targeted mutagenesis by a miniature CRISPR/Cas12f in rice 助川 聖¹, 濡木 理², 土岐 精一^{1,3,4,5}, 雑賀 啓明¹ (1農研機構・生物研, 2東京大・理, 3龍谷大・農, 4横浜市大・木原生研, 5横浜市大・生命ナノ)</p>
11:06	<p>2Aa-09 ENTRY</p> <p>スイートクローバー (<i>Melilotus alba</i>) のクマリン合成に関与する β-グルコシダーゼの機能解析 Functional analysis of β-glucosidase involved in the coumarin biosynthesis in <i>Melilotus alba</i> 羽鳥 友稀¹, 佐藤 春果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>	<p>2Ba-09</p> <p>リンドウの休眠制御に関連する <i>FRUITFULL</i> ホモログの機能解析 Gentian <i>FRUITFULL</i> homolog represses untimely budbreak during ecodormancy 高橋 秀行¹, 西原 昌宏², 吉田 千春², 伊藤 紀美子³ (1東海大・農, 2岩手生工研, 3新潟大・農)</p>	<p>2Ca-09</p> <p>小型 RNA ガイドヌクレアーゼを CasΦ/Cas12j は植物において短いターゲット配列を切断する Compact RNA-guided nuclease CasΦ/Cas12j cleaves short target sequences in plants 長谷川 玲花, 中村 彰良, 菅野 茂夫 (産総研・生物プロセス)</p>
11:18	<p>2Aa-10 ENTRY</p> <p>ワサビの isosaponarin 合成に関与する配糖化酵素の解析 Characterization of glycosyltransferases involved in isosaponarin biosynthesis in <i>Eutrema japonicum</i> 庄司 のえみ¹, 秦野 真優¹, 前田 陽香², 田口 悟朗^{1,2} (1信州大院・総合理工, 2信州大・繊維・応生)</p>	<p>2Ba-10</p> <p>シロイヌナズナ傷害カルスからの組織再生の分子メカニズム Molecular mechanism of tissue regeneration from wound-induced callus 岩瀬 哲^{1,5}, 森中 初音¹, 竹林 有理佳¹, 鈴木 孝征², 石 東博^{3,5}, 杉本 慶子^{1,4} (1理研・環境資源科学, 2中部大・応用生物, 3ポツダム大 生化学・生物学研究所, 4東大・生物科学, 5JST さきがけ)</p>	<p>2Ca-10</p> <p>花粉のゲノム編集と RNP 導入 Genome editing of pollen and direct introduction of CRISPR/Cas9 RNP 皆川 吉¹, 田中 左恵子², 大島 崇彰¹, 水多 陽子³, 東山 哲也³, 江面 浩⁴, 間 和彦¹ (1(株)ニッポン・中研・イノベーション, 2(株)ファスマック・バイオ研究支援, 3名大・高等研・ITbM, 4筑波大・生命環境/つくば機能植物)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
細胞・組織培養	環境応答	新技術開発	
<p>2Da-06 ギョウジャニンニクの不定芽形成におけるオーキシンおよびサイトカイニンの影響 Effects of auxins and cytokinins on adventitious shoot formation of <i>Allium victorialis</i> 宮澤聖希¹, 谷井啓樹², 長野由麻², 下村 謙一郎¹, 梅原三貴久^{1,2} (1東洋大院・生命科学, 2東洋大・生命科学・応用生物)</p>	<p>2Ea-06 ENTRY シロイヌナズナ Wt-1 における塩馴化後浸透圧耐性欠損表現型の解析 Dissecting mechanisms of osmosensitive phenotype in <i>Arabidopsis thaliana</i> Wt-1 平野真大¹, 有賀裕剛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農研機構・遺伝資源)</p>	<p>2Fa-06 機能性ペプチドを利用した植物改変技術-スプレー法とペプチド修飾カーボンナノチューブによる核酸送達法- Methods for plant modification using functional peptides: nucleic acid delivery methods using foliar spraying and carbon nanotubes hybrids with functional peptides 小田原真樹¹, Chonprakun Thagun^{1,2}, Simon Law¹, 児玉豊^{1,3}, 沼田圭司^{1,2} (1理研・環境資源科学, 2京大・院工学, 3宇都宮大・バイオサイエンス)</p>	10:30
<p>2Da-07 組織培養においてカルス誘導に適した植物成長調節物質の条件を示す分子マーカーの開発 Development of a molecular marker indicating suitable conditions of plant growth regulators for callus induction 大谷真広¹, 室住陸人², 野中聡子³, 松倉千昭³, 中野優¹ (1新潟大学農学部, 2新潟大学大学院自然科学研究科, 3筑波大学生命環境系)</p>	<p>2Ea-07 塩馴化後浸透圧耐性欠損変異体 <i>aod5</i> の解析 Genetic analysis of an <i>Arabidopsis</i> <i>acquired osmotolerance defective5</i>, <i>aod5</i> mutant 小林晃也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)</p>	<p>2Fa-07 局所的遺伝子導入法を用いた, シロイヌナズナの1細胞ゲノム編集, および, ホルモンフリー不定芽・不定胚誘導 Simple <i>Agrobacterium</i>-mediated Infiltration Methods Can Be Used for Single-cell Genome Editing and Hormone-free Adventitious Bud / Somatic Embryo Formation in <i>Arabidopsis thaliana</i> 池田美穂¹, 中山潤², 佐藤舞², 石塚徹², 竹内洋輔², 山形翼² (1福井県大・生物資源, 2埼玉大・分生)</p>	10:42
<p>2Da-08 ジャガイモマイクロチューバーの形成技術の開発 Development of potato microtuber induction technology 和田誠人, 古川一, 和田光生 (大阪公立大・院農学)</p>	<p>2Ea-08 浸透圧耐性シロイヌナズナ accession から得られた塩馴化後浸透圧耐性欠損変異株 <i>aod10</i> の原因遺伝子探索 Genetic analyses of <i>acquired osmotolerance-defective 10</i> (<i>aod10</i>) mutant derived from an osmotolerant <i>Arabidopsis thaliana</i> accession 高橋弥子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・遺伝子資源, 3東京農大・ゲノムセンター)</p>	<p>2Fa-08 研究倫理教育におけるケーススタディの重要性 The importance of case studies in research ethics education 原田英美子 (滋賀県大・環境科学)</p>	10:54
<p>2Da-09 培養苗を利用したトウキ種苗生産システムの開発 Development of a bio-nursery system for <i>Angelica acutiloba</i> using tissue-cultured seedlings 山本和彦¹, 由井秀紀², 河野徳昭¹, 樋山肇³, 櫻井美希³, 近藤健児³, 田村隆幸⁴, 吉松嘉代¹ (1医薬健康研・薬植セ, 2長野県野菜花き試, 3株式会社ツムラ, 4富山県薬総研)</p>	<p>2Ea-09 太陽光と類似した波長域を有するLEDで栽培したミヤコグサおよびシロイヌナズナの特性 Characteristics of <i>Lotus japonicus</i> and <i>Arabidopsis</i> cultivated with LEDs having a wavelength range similar to that of sunlight 古川一¹, 松川詠梅², 飯田哲司², 雉鼻一郎² (1大阪公立大大学院農学研究科, 2(株)日本医化器械製作所)</p>	<p align="center">バイオインフォマティクス</p> <p>2Fa-09 ナノポアシーケンサー MinION による吉野川由来スジアオノリのゲノムシーケンシング Genome sequencing of edible green alga <i>Ulva prolifera</i> originated from Yoshinogawa river in Japan using Oxford Nanopore Technologies' MinION sequencer 田村啓太^{1,2}, 坊農秀雅^{1,2} (1広島大・院統合生命, 2広島大・ゲノム編集イノベーションセ)</p>	11:06
<p>2Da-10 ヒロハセネガのバイオナーサリーシステムの開発 Development of bio-nursery system in <i>Polygala senega</i> L.var.<i>latifolia</i> Torrey et Gray 吉松嘉代¹, 山本和彦¹, 河野徳昭¹, 熊谷健夫¹, 瀧野裕之¹, 北野康史², 高田泰生² (1医薬健康研薬植セ, 2日本粉末薬品)</p>	<p>2Ea-10 シロイヌナズナにおけるフェアリー化合物の生合成経路の探索と生理応答の解明 Elucidation of the biosynthetic pathway and physiological functions of fairy chemicals in <i>Arabidopsis thaliana</i> 小日向彩果¹, 谷口有希¹, 謝肖男², 竹内純¹, 崔宰薫¹, 轟泰司¹, 河岸洋和³, 本橋令子¹ (1静大・院農学, 2宇都宮大・農, 3静大・農学)</p>	<p>2Fa-10 ENTRY ゲノム及びトランスクリプトーム解析を用いたアイスプラントの好塩性機構を制御する翻訳・非翻訳領域の機能解明 Functional analysis of untranslated regions in the halophilism of the common ice plant using genomic and transcriptomics 佐藤稜真¹, 党健¹, 近藤侑梨¹, John C. Cushman², 東江栄³ (1九州大・院・生物資源環境科学府, 2ネバダ大・リノ校, 3九州大・院農学)</p>	11:18

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝	発生分化・形態形成	遺伝子組換え・ゲノム編集
11:30	<p>2Aa-11</p> <p>Bioconversion of phenolics and flavonoids to their glucosides using <i>E. coli</i> expressing tobacco-derived glucosyltransferases Nasanjargal Dorijugder, Goro Taguchi (Graduate School of Medicine, Science, and Technology, Shinshu University)</p>	<p>2Ba-11 ENTRY</p> <p>形態形成制御遺伝子を導入したタバコ組換え細胞の分化反応の解析 Analysis for differentiation of tobacco transgenic cells expressing the morphogenic regulators 佐藤 優加¹, 南川 舞³, Berbudi B. Pratama¹, 井川 智子^{1,2} (1千葉大・院園芸, 2千葉大・植物分子科学研究センター, 3千葉大・IAAR)</p>	<p>2Ca-11</p> <p>ゲノム編集ジャガイモ中の外来遺伝子検出法の検討 Examination of Detection of Foreign Nucleotides in Genome-edited Potato by <i>k</i>-mer Method 安本 周平^{1,2}, 坂井 寛章³, 吉田 均³, 梅基 直行⁴, 齊藤 和季⁴, 村中 俊哉^{1,2,4} (1阪大院・工, 2阪大・OTRI, 3農研機構, 4理研・CSRS)</p>
11:42		<p>2Ba-12</p> <p>シロイヌナズナにおける細胞壁クチクラ連続体構造の解析 Structure analysis of cell wall-cuticle continuum in <i>Arabidopsis</i> 大島 良美^{1,2}, 羽馬 哲也³, 谷口 創³, 瀧口 裕子¹, 坂本 真吾¹, 光田 展隆¹ (1産総研・生物プロセス, 2科学技術振興機構・さきがけ, 3東京大学大学院 総合文化研究科 先進科学研究機構)</p>	<p>2Ca-12 ENTRY</p> <p>GABA 高蓄積ゲノム編集トマトの塩ストレス条件下での栽培評価 Characterization of cultivation performance of a genome-edited high GABA tomato under salt stress conditions 鈴木 斗音¹, 松岡 瑞樹², 住吉 美奈子³, 高山 真理子^{3,4}, 江面 浩^{3,4} (1筑波大・生物資源, 2筑波大・つくば機能植物イノベーション研究センター, 3サナテックシード(株), 4筑波大・生命環境系)</p>
11:54			<p>2Ca-13</p> <p>ゲノム編集リンドウからのヌルセグリガント個体の作出と解析 Production and Analysis of Null Segregants from Genome-Edited Gentian Plants 西原 昌宏¹, 平瀬 亜紀子¹, 後藤 史奈¹, 吉田 千春¹, 高橋 重一¹, 根本 圭一郎¹, 阿部 陽¹, 小田島 雅², 中里 崇², 小澤 傑², 内藤 善美² (1岩手生工研セ, 2岩手農研セ)</p>
12:06			<p>2Ca-14</p> <p>ゲノム編集効率が高い標的配列を選ぶには?—シロイヌナズナ 網羅的変異解析で見えてきたこと— Factors affecting genome editing efficiency in plants 遠藤 真咲^{1,2,3,4}, 根岸 克弥^{1,5}, 孫 建強², 鐘ヶ江 弘美², 土岐 精一^{1,3,4,6} (1農研機構・生物研, 2農研機構・農情研, 3横浜市立大院・生命ナノ, 4横浜市立大・木原生研, 5農研機構・果茶研, 6龍谷大・農)</p>
12:18			<p>2Ca-15</p> <p>農業・食品分野でのゲノム編集に対する理解醸成と意識動向 Public understanding and awareness trend for the use of genome editing in the field of agriculture and food 高原 学¹, 中野 善公¹, 森山 力¹, 大田 方人¹, 赤羽 幾子¹, 西山 哲史², 藤井 毅³ (1農研機構 企画戦略本部 新技術対策課, 2株式会社リバナス, 3農林水産・食品産業技術振興協会)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
細胞・組織培養	環境応答	バイオインフォマティクス	
<p>2Da-11 イネカサの組織再編におけるオートファジーの役割 Critical roles of autophagy in the regulation of regeneration in rice callus 来須 孝光¹, 天白 恭鳳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)新潟大・自然科学系(農), (5)東京理科大・理工・応用生物)</p>	<p>2Ea-11 ゼニゴケに対する低温プラズマ照射の影響と初発反応の解析 Effects and initial responses of DBD plasma irradiation on <i>Marchantia polymorpha</i> 坪山 祥子¹, 奥村 賢直², 古閑 一憲^{2,3}, 白谷 正治², 朽津 和幸¹ (1)東京理科大・理工・応用生物科学, (2)九大・シス情, (3)自然科学研究機構)</p>	<p>2Fa-11 植物由来のメタボローム測定生データの再解析とメタボローム統合データベース MetaboBank の構築 Reanalysis of Metabolome Raw Data from Plants and Construction of MetaboBank, an Integrated Metabolome Database 長崎 英樹¹, 荒 武^{1,2}, 福島 敦史^{3,5}, 大澤 祥子¹, 高橋 みぎ子⁵, 藤澤 貴智⁴, 時松 敏明⁴, 児玉 悠一⁴, 福田 亜沙美⁴, 諏訪 和夫⁶, 小林 紀郎⁷, 櫻井 望⁴, 金谷 重彦⁸, 平川 英樹¹, 有田 正規^{4,5} (1)かずさDNA研・植物DNA解析グループ, (2)京大・生存圏研, (3)京都府大・生命環境, (4)遺伝研・DDBJ, (5)理研CSRS, (6)(株)リオレクト, (7)理研R-IH, (8)奈良先端大・情報科学領域)</p>	11:30
<p>2Da-12 シロイヌナズナ緑色培養細胞における葉緑体の機能 Functions of chloroplast in cultured green cells of <i>Arabidopsis</i> 小笠 功太郎¹, 竹田 恵美² (1)大阪府大・院理学, (2)大阪公大・院理学)</p>		その他	
		<p>2Fa-12 薬用植物ムラサキにおける2つのハーフサイズ ABCG 輸送体の解析 Characterization of two half-size ABCG transporter genes from a lipid-secreting medicinal plant <i>Lithospermum erythrorhizon</i> 市野 琢爾¹, 巽 奏¹, 棟方 有桂¹, 坪山 愛¹, 森吉 英子¹, 中安 大¹, 高梨 功次郎², 矢崎 一史¹ (1)京都市大・生存研, (2)信州大・理)</p>	11:42
		<p>2Fa-13 ENTRY ヒメツリガネゴケ由来のペルオキシダーゼ (Prx34) の大腸菌による生産と特徴づけ Production of a recombinant peroxidase derived from <i>Physcomitrium patens</i> and its characterization 伊藤 健司¹, 中 雄輝¹, 秋田 求² (1)近畿大院・生物工学, (2)近畿大・生物工学)</p>	11:54
		<p>2Fa-14 マーガレットとイワコマギクの属間雑種作出と雑種性の確認 Production and confirmation of intergeneric hybrid between <i>Argyranthemum frutescens</i> and <i>Anacyclus pyrethrum</i> 勝岡 弘幸 (静岡農林技研・伊豆農研セ)</p>	12:06
		<p>2Fa-15 ENTRY 台中 65 号の細胞質およびアフリカイネの核を持つ TG-CMS の原因遺伝子解析とその稔性回復様式の調査 Analysis of genes responsible for male sterility and a mode of fertility restoration in TG-CMS with the cytoplasm of Taichung 65 and the nucleus of African rice 武田 信哉¹, 市田 裕之², 阿部 知子², 有村 慎一³, 風間 智彦⁴, 陳 孫祿⁵, 金岡 義高⁵, 貴島 祐治⁵, 鳥山 欽哉¹ (1)東北大・院・農, (2)理研・仁科, (3)東大・院・農生命, (4)九大・院・農, (5)北大・院・農)</p>	12:18

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝		遺伝子組換え・ゲノム編集
14:00	<p>2Ap-01</p> <p>サクラソウ属特異的なフラボノイド生合成の解明 Elucidation of <i>Primula</i>-specific flavonoid biosynthesis 内田 開^{1,2}, 明石 智義², 平井 優美¹ (理研 CSRS, ²日大・生物資源・応用生物)</p>		<p>2Cp-01 ENTRY</p> <p>熱帯熱マラリアワクチン抗原高発現イネの解析 Analysis of Malaria vaccine antigen high level expression rice 加藤 洋香¹, 藤本 菜緒¹, 中野 大樹¹, 野澤 彰³, 高島 英造³, 曾我 郁弥³, 黒田 昌治⁴, 森田 重人^{1,2}, 澤崎 達也³, 増村 威宏^{1,2} (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>
14:12	<p>2Ap-02</p> <p>Important roles of PGDH-mediated serine synthesis in thallus growth, male gametogenesis and metabolism in <i>Marchantia polymorpha</i> Mengyao Wang¹, Hiromitsu Tabeta^{1,3,5}, Kinuka Ohtaka^{1,6}, Ayuko Kuwahara¹, Kiminori Toyooka¹, Mayuko Sato¹, Mayumi Wakazaki¹, Hiromichi Akashi¹, Takayuki Kohchi⁴, Ryuichi Nishihama^{4,8}, Keisuke Yoshida⁷, Ali Ferjani⁵, Masami Yokota Hirai^{1,2} (Yokohama Inst., Riken, ²Grad. Bio. Sci., Univ. Nagoya, ³Grad. Arts. Sci., Univ. Tokyo, ⁴Grad. Bio., Univ. Kyoto, ⁵Grad. Bio., Univ. Tokyo Gakugei, ⁶Grad. Chem. Bio., Univ. Japan Women's, ⁷Lab. Chem. Life Sci., Inst. Tokyo Tech, ⁸Fac. Sci. Tech., Sci. Univ. of Tokyo)</p>		<p>2Cp-02</p> <p>β-カロテンを果実に蓄積させた遺伝子組換えナス Genetic engineering of eggplant accumulating β-carotene in fruit 三柴 啓一郎¹, 西田 佳永², 井上 直人², 藤原 知也², 寺西 俊滋², 岩田 雄二², 山本 涼平¹, 竹田 恵美³, 小泉 望² (龍谷大・農学, ²大阪公大・院農学, ³大阪公大・院理学)</p>
14:24	<p>2Ap-03 ENTRY</p> <p>ダイズ栽培における土壌中の揮発性有機化合物の時系列変動 Time-series variation of volatile organic compounds in soil under soybean cultivation 朽方 ひかり¹, 福島 直登², 市橋 泰範³, 草野 都⁴ (筑波大・院生物資源科学, ²福島大・食農学類, ³理研・BRC, ⁴筑波大・生命環境系)</p>		<p>2Cp-03 ENTRY</p> <p>老化誘導プロモーターとセルラーゼを用いた高糖化性イネの開発 Enhanced saccharification of rice straw by senescence-induced expression of cellulase 三浦 佳乃, 高畑 開理, 市川 晋, 古川 佳代子, 伊藤 幸博 (東北大・院農)</p>
14:36	<p>2Ap-04</p> <p>エリシテーションにより高発現したゴマ培養細胞中アシル化酵素の解析 Acyltransferase in cell culture of <i>Sesamum indicum</i> L. expressed by elicitor 藤 佑志郎^{1,2}, 松藤 寛³, 明石 智義⁴, 平井 優美¹ (理研 CSRS, ²日大・生資科, ³日大・食生, ⁴日大・応生)</p>		<p>2Cp-04</p> <p>Switching Localization of an Arsenite Transporter PvACR3;1 Using N-Terminal Region of a Boric Acid Channel AtNIP5;1 Abhijit Arun Daspute¹, Daichi Wasa², Keita Muro¹, Junpei Takano¹ (Osaka Metropolitan University, ²Osaka Prefecture University)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
<p align="center">英語セッション</p>	<p align="center">環境応答</p>	<p align="center">ホルモン・シグナル伝達</p>	
<p>2Dp-01 ENTRY <i>Nicotiana benthamiana</i> as a production platform for bioactive triterpenoid maslinic acid Jutapat Romsuk¹, Shuhei Yasumoto^{1,2}, Ery Odette Fukushima^{1,3}, Kenji Miura⁴, Toshiya Muranaka^{1,2}, Hikaru Seki^{1,2} (¹Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., ²OTRI, Osaka Univ., ³Universidad Regional Amazónica IKIAM, ⁴Fac. Life and Envi., Univ. Tsukuba)</p>	<p>2Ep-01 マイクロ流路デバイスを用いた miRNA の検出による植物の栄養ストレス診断法の開発 Detection of miRNAs using microfluidic devices for nutrient stress diagnosis in plants 川勝 弥一, 野田口 理孝 (名古屋大 生物機能開発利用研究センター)</p>	<p>2Fp-01 ENTRY トマトの着果制御におけるジャスモン酸の役割 The role of jasmonic acid in the regulation of fruit set in tomatoes 野村 悠華子¹, 陸宇², 原田 圭一郎³, 矢野 亮一⁴, 小嶋 美紀子⁵, 竹林 裕美子⁵, 榎原 均⁶, 江面 浩^{2,7}, 有泉 亨^{2,7} (¹筑波大院・生命地球科学, ²筑波大・生命環境, ³筑波大院・生命環境科学, ⁴農研機構・分析研, ⁵理研・CSRS, ⁶名大院・生命農, ⁷筑波大・T-PIRC)</p>	<p>14:00</p>
<p>2Dp-02 ENTRY Characterization of <i>Eutrema japonicum</i> methylthioalkylmalate synthases on their roles in methionine-derived glucosinolate biosynthesis Dheeradach Medhanavyn, Toshiya Muranaka, Shuhei Yasumoto (Graduate School of Engineering, Osaka University)</p>	<p>2Ep-02 ENTRY 乾燥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)</p>	<p>2Fp-02 ミヤコグサの 8 アミノ酸ペプチド LjPep914L による根端境界細胞の脱離阻害 Eight-amino acid peptide, LjPep914L, inhibited the release of root border-like cells in <i>Lotus japonicus</i> 楊 建宇, 山口 夕 (大工大・院農)</p>	<p>14:12</p>
<p>2Dp-03 ENTRY Distinct alterations of lignin biosynthesis in genome-edited rice mutants deficient in two 4-COUMARATE:COENZYME A LIGASE genes Osama Ahmed Afifi^{1,2}, Yuki Tobimatsu¹, Pui Ying Lam³, Andri Fadillah Martin⁴, Takuji Miyamoto⁵, Yuriko Osakabe⁶, Keishi Osakabe⁷, Toshiaki Umezawa^{1,8} (¹Research Institute for Sustainable Humanosphere (RISH), Kyoto University, Japan, ²Faculty of Science, Al-Azhar University, Egypt, ³Graduate School of Engineering Science, Akita University, Japan, ⁴Research Center for Genetic Engineering, National Research and Innovation Agency (BRIN), Indonesia, ⁵Sakeology Center, Niigata University, Japan, ⁶School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, Japan, ⁷Faculty of Bioscience and Bioindustry, Tokushima University, Japan, ⁸Research Unit for Realization of Sustainable Society (RURSS), Kyoto University, Japan)</p>	<p>2Ep-03 KLU/CYP78A5 はクチクラワックス合成に関与し、様々な非生物学的ストレス耐性を向上させる KLU/CYP78A5, a cytochrome P450 monooxygenase identified via FOX hunting, contributes to cuticle biosynthesis and improves various abiotic stress tolerances 梶野 拓磨¹, 山口 将弘¹, 大島 良美², 中村 彰良², 成島 純平³, 矢口 行雄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産総研・生物プロセス, ³医食衛研・生化, ⁴東京農大・農生研)</p>	<p>2Fp-03 ENTRY Micro-Tom のストリゴラクトン受容体遺伝子 DWARF14 欠損変異体の特性評価 Characterization of dwarf14 Mutants Defect in a Strigolactone Receptor of Micro-Tom 相場 北斗¹, 杉本 貢一², 篠崎 良仁², 瀬戸 義哉³, 野村 崇人⁴, 江面 浩², 梅原 三貴久¹ (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>14:24</p>
<p>2Dp-04 ENTRY Measurement of ROS activity by luminol-based assay in <i>Nicotiana benthamiana</i>, <i>Arabidopsis thaliana</i>, and <i>Brassica rapa</i> subsp. <i>rapa</i> Lalita Jantean¹, Kentaro Okada¹, Ken-ichi Kurotani¹, Michitaka Notaguchi^{1,2,3} (¹Bioscience and Biotechnology Center, Univ. Nagoya, ²Grad. Sch. Bioagricultural Sciences, Univ Nagoya, ³Institute of Transformative Bio-Molecules, Univ. Nagoya)</p>	<p>2Ep-04 ENTRY 南極産ハリギボウシゴケからの DREB ホモログ遺伝子の単離および発現解析 Isolation and expression analysis of a dehydration responsive element binding (DREB) transcription factor gene from the Antarctic moss <i>Grimmia lawiana</i> 北村 春樹¹, 工藤 栄^{2,3}, 伊村 智^{2,3}, 中野 優⁴, 大谷 真広⁴ (¹新潟大・院自然科学, ²極地研, ³総研大・複合科学, ⁴新潟大・農学)</p>	<p>2Fp-04 ENTRY GCaMP3 を用いたシロイヌナズナの匂い受容シグナル情報伝達系の解析 Elucidation of Odorant Sensing Mechanism in <i>Arabidopsis</i> Using GCaMP3 Calcium Indicator 坂本 龍哉¹, 水谷 正治¹, 杉本 幸裕¹, 豊田 正嗣², 山内 靖雄¹ (¹神戸大・院農, ²埼玉大・院理工)</p>	<p>14:36</p>

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝		遺伝子組換え・ゲノム編集
14:48	<p>2Ap-05</p> <p>落花生におけるポリフェノール代謝経路の解析 Analysis of polyphenol metabolism in <i>Arachis hypogaea</i> 早川 修平¹, Chaiwat Aneklaphakij^{1,2}, 渡邊 むつみ¹, 峠 隆之¹ (1奈良先端大・先端科学, 2Mahidol大・薬学)</p>		<p>2Cp-05</p> <p>持続可能な農業のための省肥料植物の開発に向けたカリウムトランスポーターとリン酸トランスポーターの強化 Enhancement of potassium transporters and phosphate transporters to develop fertilizer-saving plants for sustainable agriculture 多田 雄一¹, 牧野 空², 野池 優希¹ (1東京工科大・応用生物, 2東京工科大・院・バイオニクス)</p>
15:00	<p>2Ap-06</p> <p>イチイ培養細胞と酵母を使ったタキサン化合物生合成系の開発 Engineering of bioconversion system of taxane compounds in yeast and yew cell culture 草野 博彰¹, 南洋², 加藤 嘉博², 金沢 香織¹, 李 豪¹, 飛松 裕基¹, 杉山 暁史¹, 多葉田 誉², 矢崎 一史¹ (1京大・生存研, 2北海道三井化学・ライフサイエンスセンター)</p>		<p>2Cp-06</p> <p><i>OsERA1</i> 遺伝子改変イネの乾燥ストレス応答の解析 Mutation of <i>OsERA1</i> gene affects drought stress response in rice 小賀田 拓也¹, 石崎 琢磨², 藤田 美紀³, 藤田 泰成^{1,4} (1国際農研・生物資源利用, 2国際農研・熱帯・島嶼研究拠点, 3理研・CSRS, 4筑波大・生命環境)</p>
15:12	<p>2Ap-07 ENTRY</p> <p>植物のフェノール基質プレニル化酵素の部位特異性を担うアミノ酸領域の解析 Analysis of an amino acid region responsible for the regio-specificity of plant aromatic prenyltransferases 韓 俊文¹, 棟方 涼介¹, 高橋 宏暢², 肥塚 崇男³, Alain Hehn⁴, 矢崎 一史¹ (1京大・生存研, 2徳島文理大・薬, 3山口大院・創成科学, 4仏 ロレーヌ大/INRA)</p>		<p>2Cp-07 ENTRY</p> <p>特定網室試験による <i>AtGolS2</i> 組換えポプラ及び <i>AtSRK2C</i> 組換えポプラの乾燥ストレス耐性特性の評価 Trait evaluation of drought tolerance of <i>AtGolS2</i>- or <i>AtSRK2C</i>-transgenic poplars by the semi-confined screen house trial 鹿倉 悠平¹, 大谷 美沙都^{2,3}, 出村 拓², 菊池 彰^{4,5}, 渡邊 和男^{4,5}, 小口 太一^{4,5} (1筑波大・院・理工情報生命学術院, 2奈良先端大・先端科学技術, 3東京大・院・新領域, 4筑波大・生命環境系, 5筑波大・T-PIRC)</p>
15:24	<p>2Ap-08 ENTRY</p> <p>ムラサキのシコニン生合成に関わる2つの4-coumaroyl-CoA ligaseの機能特性 The functional characteristic of two 4-coumaroyl-CoA ligase involved in shikonin biosynthesis in <i>Lithospermum erythrorhizon</i> 中西 浩平¹, 李 豪¹, 市野 琢爾¹, 巽 奏¹, 刑部 敬史², 渡辺 文太³, 下村 講一郎⁴, 矢崎 一史¹ (1京都大学 生存圏研究所, 2徳島大学 生物資源産業学部, 3東京慈恵会医科大学 医学部, 4東洋大学 生命科学研究科)</p>		<p>2Cp-08</p> <p>形質転換植物細胞における翻訳レベルのアンバーコードン抑制を介したポリシストロニックな tRNA-gRNA のプロセッシングのモニタリング Translational amber codon suppression to monitor processing of polycistronic tRNA-gRNA in transformed plant cells 赤間 一仁^{1,2}, Mohammad Moniruzzaman², 湯川 泰³ (1島根大・生資, 2島根大院・自然科学, 3名市大院・システム自然科学)</p>
15:36	<p>2Ap-09 ENTRY</p> <p>マスティックノキ (<i>Pistacia lentiscus</i>) 由来の色素体局在性長鎖型 cis-プレニルトランスフェラーゼの機能解析 Identification and functional characterization of a plastidial long-chain cis-prenyltransferase from <i>Pistacia lentiscus</i> 田中 海斗¹, 廣森 美樹¹, 和氣 駿之¹, 青木 裕一², 山下 哲³, 戸澤 讓⁴, 山口 晴彦⁵, 宮城 ゆき乃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गाバンク, 3金沢大・院・自然科学, 4埼玉大・院・理工, 5住友ゴム工業(株))</p>		<p>2Cp-09</p> <p>ペプチドを用いた葉緑体ゲノムへの選択的遺伝子導入法の開発 Selective Gene Transduction into the Chloroplast Genome by Peptide-based Method 堀井 陽子¹, 小田原 真樹¹, 伊丹 順¹, 根岸 由紀¹, 沼田 圭司^{1,2} (1理研・和光, 2京都大・院工学研究科)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
英語セッション	環境応答	遺伝子発現	
<p>2Dp-05 ENTRY Histone chaperone NAP1 proteins are involved in nitrogen deficiency response in <i>Arabidopsis thaliana</i> Linnan Jie¹, Miho Sanagi², Yongming Luo², Junji Yamaguchi², Junpei Takagi², Takeo Sato² (1Graduate School of Life Science, Hokkaido University, 2Faculty of Science, Hokkaido University)</p>	<p>2Ep-05 シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 <i>sloh1</i> の解析 Genetic analyses of <i>sensitive to long-term heat 1</i> (<i>sloh1</i>) mutant of <i>Arabidopsis thaliana</i> 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)</p>	<p>2Fp-05 KNOX 転写因子 KNAT7 の欠損変異体における道管形状異常の原因解明 Analysis of an irregular xylem mutant lacking transcription factors involved in secondary cell wall formation 関口 颯¹, 堺 剛平¹, 藤井 達也¹, 川越 優衣¹, 檜垣 匠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熊本大・院・先端科学, 3山形大・農)</p>	14:48
<p>2Dp-06 Elucidation of drought tolerance displayed by the expression of glycine-rich repeat regions of spider silk in tobacco Shamitha Rao Morey-Yagi¹, Yoichi Hashida³, Masanori Okamoto⁴, 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, 4Center for Bioscience Research and Education, Utsunomiya University)</p>	<p>2Ep-06 シロイヌナズナ長期高温応答における転写後制御 Post-transcriptional regulation in long-term heat response of <i>Arabidopsis</i> 遠藤 直弥, 月本 亮, 磯野 一帆, 四井 いずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭 (東京農大・バイオ)</p>	<p>2Fp-06 繊維細胞分化のマスター因子の発現制御機構解析 Regulatory mechanism of expression of a key regulator for 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>	15:00
<p>2Dp-07 ENTRY Up-regulation of cell division and vascular development-related genes of host plants is not caused by the mechanisms similar to tissue reunion in the parasitic interface Jihwan Park, Koh Aoki (Grad. Sch. Agric., Osaka Metro. Univ)</p>	<p>2Ep-07 腐植酸処理した植物における病害防御応答機構の解明 Caracterization of disease defense response mechanisms under humic acid treatment in plants 本田 一馬¹, 鳴坂 義弘², 鳴坂 真理² (1テンカ(株), 2岡山県農林水産総合センター生物科学研究所)</p>	<p>2Fp-07 センブリの開花に関わる遺伝子の探索 (2) Exploration of Flowering Regulator Genes in <i>Swertia japonica</i> Makino (2) 河野 徳昭¹, 平川 英樹², 山本 和彦¹, 熊谷 健夫¹, 瀧野 裕之¹, 川原 信夫^{1,3}, 由井 秀紀⁴, 金子 倫久⁵, 高田 泰生⁵ (1医薬健康研・薬植セ, 2かずさDNA研, 3高知県立牧野植物園, 4長野県野菜花き試, 5日本粉末薬品)</p>	15:12
<p>2Dp-08 ENTRY Targeted base editing in the mitochondria genome of <i>Arabidopsis thaliana</i> Chang Zhou¹, Issei Nakazato¹, Yoshiko Tamura¹, Nobuhiro Tsutsumi¹, Mizuki Takenaka², Shin-ichi Arimura¹ (1Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo, 2Graduate School of Science, Kyoto University)</p>	<p>2Ep-08 ENTRY FTIR 計量化学と化学的分画によるコムギの高温応答プロファイリング Profiling of high temperature response in wheat by FTIR chemometrics and chemical fractionation 竹田 佳生¹, Salma Osman^{2,3}, 只野 翔大², 深内 百合子¹, 山崎 裕司⁴, Abu Sefyan Saad³, Izzat Tahir³, 辻本 壽⁴, 明石 欣也^{1,2,4} (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>	<p>2Fp-08 塩生植物アッケソウの Cd 吸収トランスポーター遺伝子のクローニング Cloning of a putative Cd transporter gene from a halophyte <i>Salicornia europaea</i> 渡辺 英彦, 小栗 秀, 坂本 光 (東京農大・生物産業学)</p>	15:24
<p>2Dp-09 Construction of a novel inducible gene expression system towards developing a synthetic regulatory circuit in the plant Jekson Robertlee, Shinya Hagihara (Molecular Bioregulation Research Team, RIKEN CSRS)</p>	<p>2Ep-09 ENTRY デハイドリン K セグメント配列による乳酸脱水素酵素凍結保護活性メカニズム A mechanism of lactate dehydrogenase cryoprotective activity by K-segment sequence of dehydrin 大須田 穂波¹, 吉原 有紗³, 原 正和^{1,2,3,4} (1静岡大院・農, 2静岡大創造院, 3静岡大・農, 4静岡大グリーン科技研)</p>	<p>2Fp-09 ENTRY 小胞体ストレス応答によって転写因子 bZIP60 に生じる ORF2 の機能解析 Functional analysis of bZIP60 ORF2 translated under the ER stress response 溝口 裕之, 辻 雄貴, 坂上 友祐, 舟引 萌香, 若田 雄二, 小泉 望 (大阪公立大学 農学研究科)</p>	15:36

一般講演 [口頭発表]

時間	A会場	B会場	C会場
	二次代謝		遺伝子組換え・ゲノム編集
15:48	<p>2Ap-10</p> <p>ワスレナグサの花に蓄積するピロリジジナルカロイドの評価およびその生合成に関与する Homospermidine synthase の解析 Pyrrolizidine alkaloids are biosynthesized and accumulated in flowers of <i>Myosotis scorpioides</i> 高野 恭平¹, 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)</p>		<p>2Cp-10</p> <p>DNA-金ナノ粒子結晶への Cas9-RNP の封入とパーティクルガンへの応用 Encapsulation of Cas9-RNP into DNA-functionalized colloidal crystals and their application to biolistic bombardment 鈴木 隼人¹, 横森 真麻², 中村 彰良¹, 田川 美穂², 菅野 茂夫¹ (1産総研・生物プロセス, 2名大・未来研)</p>
16:00			<p>2Cp-11</p> <p>ウイスキー超音波法を用いた CRISPR/Cas9 RNP 導入によるゲノム編集イネの作出 Genome editing in rice by direct delivery of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein using the sonication-assisted whisker method 中村 彰良¹, 矢野 翼², 光田 展隆¹, 古林 真衣子¹, 伊藤 誠一郎³, 菅野 茂夫¹, 寺川 輝彦² (1産総研・生物プロセス, 2(株)インプラントイノベーションズ, 3凸版印刷(株))</p>
16:12			<p>2Cp-12 ENTRY</p> <p>トランスグラフィティングにおける台木から穂木へのルシフェラーゼタンパク質の移動 Movement of luciferase protein from rootstock to scion in transgrafted plants 大久保 一実¹, 梅山 幸子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>
16:24			<p>2Cp-13 ENTRY</p> <p>遺伝子改変台木と非遺伝子改変穂木間の生体成分輸送に起因する食品安全性評価点の解明 Food safety studies on the fruits from non-GM tomato scion grafted onto GM tobacco rootstock 加藤 奏¹, 杉岡 優美², 明日香 晴絵², 小川 拓水³, 望月 知史³, 宮原 平⁴, 児玉 浩明⁴, 太田 大策³ (1大阪府立大学大学院生命環境科学研究科, 2大阪府立大学生命環境科学域, 3大阪公立大学大学院農学研究科, 4千葉大学大学院園芸学研究院)</p>
16:36			<p>2Cp-14 ENTRY</p> <p>バラの遺伝子拡散を検出するための交配調査方法の確立 Establishment of a Crossing Survey Method for Detecting Gene Flow of Roses 浅越 優奈¹, 中村 典子², 武田 征士¹ (1京都府立大・院生命環境, 2サントリーグローバルイノベーションセンター(株))</p>
16:48			<p>2Cp-15 ENTRY</p> <p>隔離ほ場試験データに基づくシミュレーションモデルによる <i>des9</i> 遺伝子組換えユーカリの潜在的植林可能域の予測 Prediction of potential plantation areas of <i>des9</i> transgenic <i>Eucalyptus</i> by simulation model based on the confined field trial data 中鉢 友彰¹, 森田 和樹², 林 奈々美², 宍戸 敦子³, 菊池 彰^{4,5}, 渡邊 和男^{4,5}, 小口 太一^{4,5} (1筑波大・院・理工情報生命学術院, 2筑波大・院・生命環境科学研究科, 3筑波大・生物学類, 4筑波大・生命環境系, 5筑波大・T-PIRC)</p>

D会場	E会場	F会場	時間
英語セッション	環境応答	遺伝子発現	
	<p>2Ep-10 ENTRY シロイヌナズナデハイドリンによるリポソーム凍結保護作用に関する研究 A study on a liposome cryoprotection by a dehydrin from <i>Arabidopsis thaliana</i> 木村 友紀¹, 清水 広介², 間賀田 泰寛², 朴 龍洙^{1,3,4,5}, 原 正和^{1,3,4,5} (1静岡大院・農, 2浜松医大光先端医学教育研セ, 3静岡大創造院, 4静岡大・農, 5静岡大グリーン科技研)</p> <p>2Ep-11 シロイヌナズナにおけるγ-グルタミルトランスフェラーゼとフィトケラチン合成酵素によるグルタチオン及びグルタチオン-生体異物抱合体の代謝解析 Characterization of γ-glutamyltransferase and phytochelatin synthase mediated catabolism of glutathione and glutathione S-conjugates in <i>Arabidopsis thaliana</i> 井上 遼太, 中村 直人, 高瀬 尚文, 關谷 次郎, Rafael Prieto (京都先端科学大学, バイオサイエンス学科)</p>	<p>2Fp-10 ENTRY Tadukan に由来する細胞質雄性不稔性イネの稔性回復候補遺伝子 The candidate genes for fertility restoration in Tadukan-type cytoplasmic male sterile rice 高塚 歩¹, 風間 智彦², 市田 裕之³, 阿部 知子³, 鳥山 欽哉¹ (1東北大・院・農, 2九州大・院・農, 3理研・仁科加速器科学研究センター)</p> <p>2Fp-11 トマトのリポカリンタンパク質の環境応答 Environmental response of lipocalin proteins in tomato 富安 美玖¹, Wahyudi Anung², 深沢 知加子², 本橋 令子^{1,2,3} (1静岡大・院農学, 2静岡大・創造科学技術研究院, 3静岡大・農学)</p> <p>2Fp-12 トマト果実白色変異体 <i>ghost white</i> の表現型解析 Phenotypic analysis of tomato fruit white mutant <i>ghost white</i> 牧田 菜加¹, 中村 克之¹, 謝 肖男², 深沢 知加子¹, 本橋 令子¹ (1静岡大・院農学, 2宇都宮大・農)</p>	<p>15:48</p> <p>16:00</p> <p>16:12</p> <p>16:24</p> <p>16:36</p> <p>16:48</p>

A-1

学術賞

カロテノイドの生合成遺伝子の同定とその合成生物学研究

Identification of biosynthesis genes of carotenoids and their synthetic biology research

三沢 典彦

石川県大・生資研

カロテノイドは、すべての光合成生物や一部の非光合成微生物により生合成される。光合成生物では本色素は、光合成に必須な集光の機能を担うほか、過剰な光による光酸化から生体を守っている。今日では、カロテノイド生合成経路は、高等植物において遺伝子のレベルで十分に解明されているが、筆者が本研究を始めた1988年当時、カロテノイドの生合成を担う酵素や遺伝子は一つとして同定されていなかった。この理由は、カロテノイド生合成酵素は生物資源から抽出すると容易に失活するので、酵素の精製、及び精製タンパク質の情報に基づく遺伝子のクローニングが困難であったためである。筆者は、そのような遺伝子を解析するには、できるだけ単純な材料を用いた方が良いと考え、細菌に注目した。すなわち、*Erwinia* 属細菌（後に *Pantoea* 属と再分類）のカロテノイド生合成遺伝子群が大腸菌で発現して大腸菌が黄色くなることに着目して、本遺伝子群を単離し、塩基配列を決定して6個のORFを割り出し、これらORFの種々の組合せを大腸菌に導入して機能発現させた。そして、各種大腸菌に生産された色素を構造決定することにより、各ORFがコードするタンパク質の触媒機能を解明した。その結果、1992年までに、Phytoene, Lycopene, β -Carotene, Zeaxanthinといった植物と共通のカロテノイドを、ファルネシルピリン酸 (FPP) から作るのに必要な生合成酵素遺伝子 (*crtE*, *crtB*, *crtI*, *crtY*, *crtZ*, *crtX*と命名) を世界で初めて同定することができた。さらに、筆者らが開発した、各種カロテノイド基質を合成する組換え大腸菌は、機能が未知のカロテノイド生合成候補遺伝子の機能解析の強力なツールとなり、以降のカロテノイド生合成研究の急速な進展に大きく貢献した。筆者らも、高等植物、緑藻、細菌等由来の種々のカロテノイド生合成遺伝子の同定を行った。この中には、Astaxanthinの生合成の鍵となるケト基導入酵素遺伝子 (*crtW*, *BKT*と命名) の同定が含まれている。

有用カロテノイド生産のための高等植物の合成生物学研究では、筆者らは1994年までに、Rubiscoのトランジットペプチド配列と結合させた *Pantoea* 属細菌の Phytoene desaturase (*crtI*) 遺伝子をタバコ染色体に導入し、機能発現させた。本研究は、植物における外来遺伝子を利用した色素の代謝工学の最初の報告となった。なお、本遺伝子カセットは、 β -Carotene 強化米 (Golden Rice) の作出には必須である。我々はその後、カロテノイド合成の鍵となる7個の外来遺伝子をナタネ (キャノーラ) の染色体に導入することにより、野生株の30倍のカロテノイド (α -Carotene, Astaxanthin等) を種子に蓄積させた。我々はさらに、レタス、アマ、トマトなど農作物を宿主とするカロテノイドの合成生物学研究を実施した。カロテノイドの微生物における生産研究では、筆者らは、出芽酵母やトルラ酵母 (*Candida utilis*) に、Lycopene や β -Carotene (後者ではさらに Astaxanthin) を初めて生産させたという先駆的研究の実施のみでなく、大腸菌の合成生物学では、植物成分 Lutein や Violaxanthin の効率生産に成功している。

A-2

奨励賞

植物香気成分の生合成分子機構の解明と代謝改変に関する研究

Elucidation and modification of molecular mechanisms underlying the biosynthesis of plant volatiles

肥塚 崇男

山口大・院創成科学

植物は、生育環境に適応する生存戦略として、進化の過程で多様な香気成分を作り出す能力を獲得してきた。植物が生成する香気成分は、受粉媒介者や植食者の天敵を誘引するシグナル物質として、また、植食者に対する拡散性の化学防衛物質として機能する。本発表では、発表者がこれまでに携わってきた香気成分の生合成研究と植物内在性基質に着目した代謝工学研究について紹介する。

1. 脂肪酸に由来する香気成分の生合成研究

膜脂質から酸化反応により生成される脂肪族化合物は、動物細胞では炎症や免疫を制御し、植物では生体防御応答や生育制御を駆動する脂質メディエーターとして機能する。その中でも、炭素数6の短鎖アルデヒドは、「みどりの香り」と呼ばれ、シトクロム P450 (CYP74) ファミリーの脂肪酸ヒドロペルオキシドリアーゼ (HPL) による開裂反応により生合成される。みどりの香りを生成する鍵酵素である CYP74 ファミリーについて *in silico* によるゲノム解析や酵素化学的解析、ゲノム編集を行ったところ、車軸藻類のクレブソルミディウムや苔類ゼニゴケで HPL ホモログが見つかるものの、短鎖アルデヒド生成活性はなく、OPDA 生合成に関わる CYP74 であることが明らかとなった[1, 2]。これらの結果から、植物は進化の過程で最初に植物ホルモンを介した食害防御機構を獲得し、陸上進出した後、蘚類以降に、揮発性のシグナル分子として短鎖アルデヒドを作り出すために CYP74 ファミリーの酵素機能、代謝系を進化させたことが示唆された。

2. 芳香族香気成分の生合成研究

香気成分を含めた特化代謝産物の多様性は、代謝物産生の鍵となる生合成酵素の特異な触媒反応によって制御されており、植物が織りなす緻密な代謝ネットワークをより正確に理解するには酵素の機能同定が不可欠である。発表者らは、放射性同位体を用いたハイスループットな酵素活性測定法を用いて、様々な植物から芳香族香気成分の構造多様性や揮発性、貯蔵・蓄積に関わる転移酵素を多数同定することに成功した。さらに、化合物種を問わず多様な基質に対する酵素活性評価ができるという本測定法の特徴を活かして香気成分だけでなく、抗酸化物質のスチルペノイドや植物ホルモンに対するメチル基転移酵素の発見にも成功した[3]。これら生合成酵素が基質構造の違いを厳密に識別することで各植物種の香気組成を決定していることが示唆された。一方で、代謝経路の分岐点に着目した代謝フロースイッチングにより色素成分から香気成分へと代謝フラックスを改変した形質転換タバコの作出に成功した[4]。本研究の代謝工学デザインは、香気成分に限らず非揮発性の機能性芳香族化合物の生産プラットフォームとしての応用が期待できる。

[引用文献]

1. Koeduka et al. (in press) *Plant Biotechnology*
2. Koeduka et al. (2015) *Planta*, 242; 1175-1186.
3. Koeduka et al. (2020) *Plant Biotechnology*, 37; 389-392.
4. Koeduka et al. (2021) *Metabolic Engineering Communications*, 13; e001800.

A-3

奨励賞

難培養植物の形質転換系及びゲノム編集系の開発

Development of transformation and genome editing systems for recalcitrant plants

七里 吉彦

森林機構・森林バイオ

1984年にアグロバクテリウムを利用した植物の形質転換技術が発表されて以来、本技術は基礎研究と共に育種に利用されてきた。1996年から本格的な商業栽培が始まった遺伝子組換え作物は、現在我々の生活に不可欠なものとなっている。さらに、革新的なゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 システムの登場により、植物形質転換技術の重要性はこれまで以上に高まっている。しかし、形質転換が困難な植物種は未だに数多い。本発表では、これまで取り組んできた社会的に重要な植物での形質転換技術、およびゲノム編集技術の開発について紹介する。

1. カボチャ (*Cucurbita moschata*)・キュウリ (*Cucumis sativus*)

カボチャやキュウリは、土壌に混在する残留性有機汚染物質 (POPs) を土壌から特異的に吸収する性質があり、POPs 分解遺伝子を導入することでオンサイトでの POPs 吸収・分解植物の創出が可能となる。そこで、カボチャとキュウリについて効率よい形質転換系を構築した。キーポイントとなったのは、アグロバクテリウムとの共存培養時に過剰な菌増殖を防ぐ「ろ紙培地」の利用と、感染時にアグロバクテリウムを組織深部の細胞にまで送達するための「致傷処理」および「減圧処理」であった。カボチャについては POPs 分解遺伝子を導入した形質転換毛状根を作出し、POPs の一種である γ -ヘキサクロロシクロヘキサンの迅速分解にも成功した。また、改良したキュウリ形質転換系は病害抵抗性キュウリの作出に貢献した。

2. ジャトロファ (*Jatropha curcas*)

ジャトロファは熱帯・亜熱帯地方に分布するトウダイグサ科の落葉性低木である。種子から高品質の油脂が採取できるため、バイオ燃料植物としての利用が期待されている。上記ろ紙培地と感染時の減圧処理により、最大 23% の割合で形質転換系を作出することに成功した。

3. スギ (*Cryptomeria japonica*)

スギは主要な造林樹種のひとつであり、日本の国土全体の 12% をスギが占めている。一方で、その花粉が原因の花粉症が大きな問題となっており、その対策として無花粉スギ系統の開発・普及が強く求められている。そこで、CRISPR/Cas9 システムによるスギのゲノム編集を試みた。CRISPR/Cas9 遺伝子発現ベクターの改良により、針葉樹において世界初のゲノム編集に成功し、林木における新しい育種技術の応用への道を切り拓いた。

本研究の実施にあたり、多くの方々からご指導やご支援を賜りました。この場を借りて感謝申し上げます。また、本奨励賞にご推薦いただきました東洋大学 田部井豊先生に厚く御礼申し上げます。

1. Nanasato et al. (2011) *Plant Cell Rep*, **30**, 1455-1464
2. Narusaka et al. (2013) *PLOS ONE*, **8**, e55954
3. Nanasato et al. (2015) *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*, **51**, 399-406
4. Nanasato et al. (2016) *Plant Cell Rep*, **35**, 1963-1974
5. Konagaya et al. (2020) *Plant Biotechnol*, **37**, 147-156
6. Nanasato et al. (2021) *Sci Rep*, **11**, 16186

A-4

奨励賞

相同組換えやトランスポゾンを活用した新規植物ゲノム工学手法の開発

Development of novel plant genome engineering using homologous recombination and transposon

横井 彩子

農研機構・生物機能利用研究部門

ゲノム編集技術は、標的遺伝子をピンポイントに改変できる技術であり、基礎研究はもとより農作物の品種改良を加速させる重要なツールとなりつつある。実際、CRISPR/Cas9などの人工制限酵素を用いた標的変異（ノックアウト）技術は様々な作物の育種に取り入れられ、2021年にはこの技術で作出されたトマトの販売が始まった。しかし、難形質転換植物や栄養繁殖性植物への適用には、人工制限酵素のデリバリー法の確立など課題が残されている。一方、相同組換えを介した精密ゲノム編集技術である標的組換え（ジーンターゲットティング、GT）は効率が低く、未だチャレンジングな技術である。そこで本研究では、人工制限酵素発現カセットの新規デリバリー法と汎用的なGT系の確立を目的として以下の研究に取り組んできた。

piggyBac トランスポゾンを利用した人工制限酵素発現カセットの一時的導入系の開発

前述のとおり、標的変異技術は既に様々な作物種に適用されつつあるが、実用化に向けては人工制限酵素を外来DNAで導入しない、あるいは、導入した後に綺麗に取り除くことが重要である。しかし、栄養繁殖性植物の場合、一旦ゲノムに導入した外来DNAを遺伝的に分離することは難しい。そこで本研究では、フットプリントを残さずに転移する昆虫由来の*piggyBac* トランスポゾンを利用し、外来DNAの一時的導入系を開発した。この実験系の開発により、形質転換当代で人工制限酵素発現カセットをゲノムに出し入れすることが可能となった。

ポジティブ・ネガティブ選抜を利用したGTと*piggyBac* トランスポゾンによるマーカー除去を組み合わせた精密改変技術の確立

高等植物では、相同組換え頻度が低いいためGT効率が非常に低いのが問題点である。従って、レアなGT細胞を効率良く濃縮するポジティブ・ネガティブ選抜法が確立されてきた。この選抜法を利用したGT系はイネでは再現性が高いが、ポジティブ選抜マーカーが標的遺伝子座に挿入されるため、目的の変異のみを標的遺伝子座に残したい場合は、マーカー遺伝子を痕跡無く除去する必要がある。そこで*piggyBac* トランスポゾンによるマーカー除去に適用した、ポジティブ・ネガティブ選抜を利用したGTと*piggyBac* トランスポゾンの転移によるマーカー除去を組み合わせ、イネにおいては内在性遺伝子を狙い通りに改変することに成功した。また、より広範な植物種への展開を目指して、新規ポジティブ・ネガティブ選抜系やCRISPR/Cas9による標的遺伝子切断を誘導するGT系も開発した。

今後も様々なアプローチから研究を重ね、GTを含めた精密ゲノム編集技術を広範な作物種に適用できるように効率化を図り、基礎研究だけでなく作物の品種開発にも貢献したい。

本研究を進めるにあたり、ご指導賜りました先生方、ご協力いただいた共同研究者の皆様、ご助言をくださった研究所の皆様、支援して下さった研究室のスタッフの皆様、全ての方々に厚く御礼申し上げます。

A-5

学生奨励賞

ジャガイモシストセンチュウに対する新規ふ化促進物質の同定とその生合成の解析

Identification of a novel hatching factor for potato cyst nematode and investigation of its biosynthesis

清水 宏祐^{1,2}¹神大・院農, ²現:(株) エス・ディー・エス バイオテック

ジャガイモシストセンチュウ (PCN) は、ナス科作物のジャガイモ (*Solanum tuberosum*) やトマト (*S. lycopersicum*) の根に特異的に寄生し、作物の大幅な減収を引き起こす害虫である。PCN 雌成虫は自身の体内に産卵し数百の卵を抱えたシスト (硬い殻) を形成する。シスト内の卵は、宿主不在時には土壌にて 10 年以上休眠を維持する。PCN 混入土壌に宿主が作付けられると、卵は宿主根滲出液中のふ化促進物質に特異的に反応してふ化する。これまでに、ジャガイモ水耕液から solanoeclepin A (SEA) がふ化促進物質として唯一単離されている。一方、ナス科植物の代表的な特化代謝産物であるステロイドグリコアルカロイド (SGA) も弱いふ化促進活性を有することが報告されている。しかし分析化学的に SEA を検出した報告例はなく、根滲出液中における主要なふ化促進物質の正体は不明なままであり、生合成も解析されていなかった。本研究では、根滲出液中のふ化促進物質を分析化学的に明らかにし、ふ化促進物質の生合成に関する解析を開始することを目的とした。

1. SGA が示す PCN 卵に対するふ化促進活性

ジャガイモ・トマト毛状根培養液中における SGA のふ化促進物質としての寄与を調べた。無菌培養した毛状根培養液を PCN 卵に対するふ化試験に供した結果、高いふ化促進活性が確認され、ふ化促進物質は確かに植物が生合成する化合物であることが明らかとなった。次に毛状根培養液中の SGA を定量した。SEA 標品を用いたふ化試験と定量値を比較すると、培養液中 SGA はふ化促進物質としては影響しないことが示唆された^{*}。

2. 新規 PCN ふ化促進物質の同定

毛状根培養液は強いふ化促進活性を示すが、SEA は検出されなかったことから、SEA とは異なる新規ふ化促進物質の存在が示唆された。そこで、新規ふ化促進物質の同定を試みた。毛状根の大規模培養は困難なため、ジャガイモ水耕液を出発材料に用いた。ふ化促進活性を指標に分画精製した結果、活性画分 Fr-1 および Fr-2 を得た。Fr-1 からは SEA が検出された一方、Fr-2 では新規ふ化促進物質の存在が明らかとなった。NMR により構造解析を行い、新規ふ化促進物質を solanoeclepin B (SEB) と命名した。さらにトマト毛状根培養液では、SEA は検出されないが SEB は検出されたことから、主要なふ化促進物質は SEB であることが示唆された。

3. トマトにおける SEB 生合成遺伝子の同定

SEB は高度に酸化されたトリテルペノイドであることから、その生合成には酸素添加酵素が関与すると予想した。そこで根特異的に発現する酸素添加酵素に着目して候補生合成遺伝子を選抜した。各候補遺伝子の遺伝子破壊組換え毛状根を作出したところ、ふ化促進活性が顕著に低下する組換え毛状根を獲得した。さらにこれら毛状根培養液では SEB が消失していた。以上より、標的とした候補遺伝子をふ化促進物質生合成遺伝子として同定した。

本研究を進めるにあたり、ご指導して下さった諸先生方とご支援を賜りました共同研究者の皆様様に厚く御礼申し上げます。

※関連文献

Shimizu et al. (2020) *Plant Biotechnology* 37(3), 319-325

A-6

学生奨励賞

ジャガイモ塊茎デンプンの代謝工学に向けた高効率ゲノム編集技術の開発

Establishment of the efficient genome editing system for metabolic engineering of the potato tuber starch

竹内 亜美^{1,2}¹東京理科大・生命システム, ²現: 東大・新領域

ジャガイモ (*Solanum tuberosum*) は穀物生産量が世界第 4 位の主要作物であり、塊茎のデンプンは食用から工業用まで広く利用されている。ジャガイモ塊茎の貯蔵デンプンはアミロースとアミロペクチンから構成され、その含有バランスにより形質が変化する。塊茎の品質の改良は育種の大きな課題の 1 つであり、新たなデンプン形質を持つジャガイモは新たな需要を生み出すものと期待される。しかし、栽培種のジャガイモは 4 倍体ゲノムをもち、栄養生殖性が強いため、交配育種法で新たな品種を作出することは容易でない。ゲノム編集技術は任意の遺伝子の変異を誘導することができる。これまでに、翻訳エンハンサー dMac3 を利用した改良型ゲノム編集ツール (CRISPR/dMac3-Cas9) が開発されており、これによりイネおよびジャガイモの変異体が得られている。本研究では、新たなジャガイモ変異体の作出とその評価、および変異体の交配技術の改良を行った。

CRISPR/dMac3-Cas9 システムを用いて、ジャガイモ塊茎の貯蔵デンプン生合成に関わるデンプン顆粒結合型デンプン合成酵素 GBSS とデンプン枝付け酵素 SBE3 の遺伝子、デンプンのリン酸化に関わる glucan-water-dikinase 遺伝子のゲノム編集を行い、多数の変異体が得られた。これらの変異体は 4 つの遺伝子アレルの全てに変異が生じた 4 アレル変異体であった。変異体の表現型を観察したところ、これらの塊茎はこれまでにない新規な形質をもつデンプンを有することが分かった。高頻度で標的遺伝子の変異体が得られたことから、このシステムはジャガイモのゲノム編集に有用なツールであることが明らかとなった。この技術は、多倍数体ゲノムを有する植物への応用が可能であり、代謝工学に基づく新たな品種開発に寄与することが期待される。

ゲノム編集により得られた変異体には、CRISPR/Cas9 遺伝子などの外来遺伝子が残存することが多い。また、再分化の過程で、複数の変異体細胞が入り交じったキメラ個体が生じる場合がある。変異体を交配することにより、人工ヌクレアーゼ遺伝子が分離・脱落したヌルセグリガントが得られる。また、キメラ性もなくなり、形質が安定した変異体系統を確立することができる。そこで、変異体同士の交配によって後代植物を獲得し、外来遺伝子が消失したヌルセグリガント個体の取得を試みた。ジャガイモは栄養生殖性が強いため、交配によって後代種子を得ることは困難であった。そこで、塊茎を作らないトマトを台木に変異体ジャガイモを接ぎ木し、これを用いて交配を行ったところ、高効率で結実し、多数の種子が得られた。gbss 変異体交配により得られた後代植物からヌルセグリガント変異体が得られた。この技術はジャガイモのゲノム編集育種のみならず、従来育種の促進に貢献することが期待される。

研究を遂行するにあたり終始懇切なご指導を賜りました東京理科大学の島田浩章教授およびご支援を賜りました多くの共同研究者の方々に厚く御礼申し上げます。

S1-1

非モデル植物ハエトリソウを形質転換する ～その条件検討と手法の構築～

Construction of a new transformation method in a non-model plant Venus flytrap (*Dionaea muscipula*)

須田 啓

埼玉大・院理工学

食虫植物の一種であるハエトリソウ (*Dionaea muscipula*) は葉身上にある感覚毛と呼ばれる毛状突起で接触刺激を受容し、二度の連続した接触刺激に応じて葉身全体が閉じ合わさるように運動して獲物を捕らえる。ハエトリソウにおける接触刺激の受容機構や運動機構はチャールズ・ダーウィンも含め 100 年以上の間研究されてきたものの、ハエトリソウでは形質転換技術が確立されてこなかったことから逆遺伝学的なアプローチでの研究が困難であった。そのため既往研究の多くは生理学的な手法で解析されており、ハエトリソウの捕虫機構に関わる遺伝子群や獲物を捕らえる際の時空間的な分子動態などの大半は未解明である。近年私たちはアグロバクテリウムを用いたハエトリソウの形質転換技術の確立に取り組み、外植片へのアグロバクテリウムの感染効率、感染させた外植片の生存率、外植片からのシュート形成効率について条件検討を重ねた結果ハエトリソウの形質転換体の作出に成功し、形質転換体を用いたハエトリソウのカルシウムイオン動態のイメージングに成功した。本発表では非モデル植物であるハエトリソウで新たに形質転換技術を確立するにあたり、どのように条件検討を実施することで形質転換の成功に至ったか、成功に至った要因のみならずその過程も含めて紹介することで、様々な植物に応用しうるような非モデル植物における形質転換技術のキーポイントについて議論したい。

S1-2

形質転換/ゲノム編集ジャガイモ・トマト作出への新戦略

New strategy to the transformation and genome editing of potato and tomato

島田 浩章^{1,2}

¹東京理科大・生命システム, ²阪大工・生物工

植物のゲノム編集には、効率的な形質転換法、強力なゲノム編集ツールの開発、得られた変異体に残存する不要な因子の除去が求められる。ここではジャガイモ・トマトのゲノム編集に向けた技術開発例を紹介する。

①形質転換法の改良。ジャガイモは品種間で遺伝的な多様性が大きいので、品種ごとに形質転換方法の検討が必要であった。「さやか」の無菌植物より調製した茎切片にアグロバクテリウムを感染させることにより安定的に形質転換体が得られるようになった。一方、容易に種子が得られるトマトは、蕾にアグロバクテリウムを塗布することで形質転換体が得られることがわかった。

②強力なゲノム編集ツール。翻訳エンハンサー dMac3 は遺伝子の 5'非翻訳領域に挿入することで下流のタンパク質の生産量を高める。これを Cas9 遺伝子の 5'に挿入した CRISPR/dMac3-Cas9 システムを開発した。これと 3つのガイド RNA を同時に利用することで変異体作出効率を飛躍的に高めることが可能になった。この結果、ジャガイモの *GBSS* 変異体、*SBE3* 変異体、*GWD1* 変異体が得られた。いずれも 4 倍体ゲノムに由来するすべてのアリルに変異が生じた機能欠損変異体であった。

③変異体に残存する CRISPR/dMac3-Cas9 は交配を行うことで分離し、これが脱落したヌルセグリガント個体が得られる。また、キメラ性やオフターゲット変異を除外することが可能である。ジャガイモは栄養生殖性が強く、交配育種が困難であった。トマトを台木にした接ぎ木個体を作成し、これを利用することで効率的に後代種子を得ることができた。これによりヌルセグリガント変異体を得られた。

S1-3

ユーストマの組織培養・形質転換系の効率化：効率を左右するさまざまな要因について

Development of efficient tissue culture and transformation system of Eustoma: Various factors affecting efficiency

大坪 憲弘

京都府立大・院生命環境

ユーストマ (*Eustoma grandiflorum*, トルコギキョウ) は 1935 年頃に日本に導入された北米原産の花きで、国内では現在約 500 品種が栽培されている。切り花では産出額 4 位、北海道から沖縄まで国内全域で栽培され周年供給が可能であるほか、用途も幅広い。組織培養による大量増殖やプロトプラストからの植物体再生など、*in vitro* 培養系の効率化に関する報告はいくつかあるものの、適用可能な品種は限られており、より増殖効率と汎用性の高い手法が求められている。われわれは、ミヨシおよびインプラントイノベーションズとの共同研究により、ユーストマ市場で安定して人気のあるユーストマ F1 品種の親系統を材料に、組織培養・形質転換条件の検討およびそれらを新たな系統に適用する際の至適化手順の検討を進めている。培地組成やゲル化剤の検討、供試材料・組織と育成方法、形質転換時の前培養日数と感染時間の調整、選抜培養での抗生物質濃度の至適化などに取り組み、複数の品種・系統について短期間で効率良く形質転換体を取得する条件を確立した。新品種作出と実用化を前提とした組織培養・形質転換系を構築するにあたっては、時間・労力・コストを低く抑えた汎用性の高い手法の確立と、新たな系統への適用手順の明確化が重要なポイントとなる。本講演では、手持ちの材料についていかに早く実用的な形質転換条件を見出し、それをどう短期間で効率化していくのか、どの要素が最も大きく効率を左右し、どうすれば多数の品種に展開可能となるのかについて、ユーストマにおける形質転換条件の至適化を例にお話したい。

S1-4

植物組織培養成功のための条件設定のコツ

Simple and useful tips for the success in plant tissue cultures

荻田 信二郎

県立広島大・生物資源

植物組織培養とは、成長に不可欠な栄養源や植物ホルモン等を人工的に調合した養液で植物の細胞や組織の一部を無菌的に育て、維持する技術の総称である。今日の研究や開発で用いられる主な植物組織培養技術は、カルス培養、懸濁培養、プロトプラスト培養など細胞培養系と、器官形成（不定芽・不定根など）、不定胚形成、茎頂培養など器官培養系に大別でき、目的や用途に合わせてこれらを効率よく確立することが肝要である。そのための第一歩として対象植物に関する培養事例を検索することになるが、多くの人は培地の種類や植物ホルモンの種類と濃度といった条件の最適化に着目しがちである。これら条件の最適化はもちろん大切であるが、その他にも培養系の効率化を左右する要因がある。例えば、培地の無機塩類濃度や糖の種類と濃度によって、培養する細胞や器官のイメージが一変する場合がある。例えば炭素源として一般的なスクロース（3%）を含有した培地では細胞の増殖が促進される傾向があり、場合によっては再分化の効率が低くなる場合、糖をマルトースやラクトース、トレハロースに変更することによって格段に再分化の効率が上がるケースがある。また、培地固化剤として用いる寒天やゲランガムの種類と濃度を調節することや、培養に用いる容器として試験管、カルチャーボックスあるいはシャーレを使い分けることで増殖や再分化の効率が予想以上にシビアに変化することがある。これらは一見単純とも思える操作であるが培養環境の最適化にも通じ、応用できる植物種も多い。本講演では、これら諸因子について具体的事例と共に紹介したい。

S2-1

植物の機能向上 DX のためのとりくみ紹介

DX for direct breeding to improve plant species

中村 保一¹, 坂本 美佳¹, 田村 啓太², 坊農 秀雅²

¹国立遺伝学研究所, ²広島大学

私達は、JST 共創の場形成支援プログラム (COI-NEXT) の共創分野に採択された Bio-Digital Transformation (バイオ DX) 産学共創拠点である広島大学のプロジェクトに参画している。このプログラムではコンソーシアムに参加する多くの大学、研究機関、企業とともにバイオ DX による産学連携研究の一員となり「ゲノム編集研究を加速するデータベース構築」をテーマとして、種々の植物でのゲノム編集による産業応用に役立つ統合的なデータベースの構築を実施している。本公演ではこの事例を中心に、動植物機能向上のためのバイオ DX 基盤構築について紹介する。

S2-2

AI テキストマイニングによる遺伝子の知識情報とオミックス情報の統合化

Integration of knowledge-based information of genes and omics data with the AI-text mining approach

矢野 健太郎

明治大・農・バイオインフォマティクス

ウェット実験技術のハイスループット化に伴い、ゲノム解読や遺伝子発現制御機構などの解明が進展している。ここで、実験手法のハイスループット化はより大規模な情報を短時間で取得可能とした一方で、取得データを解析するバイオインフォマティクス技術の精度は向上していない。たとえば、形質の関連遺伝子の同定を目的として計算機処理を行うと、多数の候補遺伝子が出力され、偽陽性も多く含まれる。候補遺伝子リストを得た次のステップでは、候補遺伝子が形質関連遺伝子であることを検証するウェット実験が求められる。しかし、どの候補遺伝子が偽陽性であるかが分からないため、いずれの候補遺伝子から検証実験を行うことが最も効率的であるかを判断できない。

形質に関わる遺伝子やその生物学的機能を解明する上で、文献調査から得られる既知の遺伝子機能情報（知識情報）の活用が効果的な手段となる。バイオインフォマティクス解析から提示される多数の候補遺伝子に遺伝子機能の知識情報を付与することで、遺伝子探索と機能解明を高効率化・高速化できる。しかし、候補遺伝子は多数のため、研究者の手による文献調査は困難である。計算機が文献調査を行う AI テキストマイニング技術により、多数の学術文献から各遺伝子の記述（知識情報）を抜粋し、研究者が容易に理解できるテキスト形式に変換・出力できる。また、高品質なオミックスビッグデータを集積・照合することにより、遺伝子探索が加速化される。そこで、本演題では、知識情報と高品質オミックスビッグデータを活用した解析法や知識ベース PODC の開発について紹介する。

本研究は明治大学高額ソフトウェアの支援を受けて実施しています。

S2-3

イネ有用遺伝子情報のカタログ構築とその活用について

Construction of the agronomically important rice gene catalog and prospects

川原 善浩

農研機構・高度分析研究センター

イネゲノム解読以降、超並列シーケンサーやゲノム編集を始めとした様々な技術革新によって、イネの遺伝子研究が加速し、様々な遺伝子の機能が明らかになってきた。しかしながら、品種育成においては一部の遺伝子を対象にした DNA マーカー選抜が行われているものの、ゲノムや遺伝子情報を活用して育成されたイネ品種はまだ少ない。現在、我々はゲノムや遺伝子情報をフル活用した効率の良い育種を実現するための情報基盤作りに取り組んでいる。その一つとして、15年以上に渡ってイネのリファレンスゲノムや遺伝子アノテーション情報を提供し続けている「RAP-DB (<https://rapdb.dna.affrc.go.jp>)」の開発が挙げられる。本発表では、RAP-DB から高精度な最新のイネ遺伝子情報を提供するための取り組みと共に、ここ数年で新たに追加されたオミクス情報などを紹介する。また、近年の取り組みとして、様々な農業形質に関わる遺伝子情報を整理した有用遺伝子カタログの構築についても紹介する。有用遺伝子カタログでは、様々な品種がもつ自然変異や、既報の様々な変異体系統がもつ対立遺伝子（アリル）の情報が、関連形質への影響と共に閲覧可能となっている。今後、これらの情報基盤を活用することで、狙った形質をもつ品種を育成するための交配、選抜の立案や、特定の形質を改変するためのゲノム編集のターゲット探索等、効率の良いデザイン育種に繋がることを期待している。

S2-4

AI を活用した植物フェノタイピング

Using AI for high throughput plant phenotyping

郭 威

東京大学大学院農学生命科学研究科

気候変動が懸念される中、世界各地で大干ばつによる大幅な減収や、高温・異常低温・日照不足等による生育不良などが世界各地で恒常的に発生している。そのような中、限られた土地や水資源のもと、食料を安定的に増産し確保するには、革新的な育種開発と栽培技術の高度化（スマート農業）が必須である。そのためには、作物のゲノム解析と表現型解析を平行して加速化することや、作物生育状況の的確な把握が必要となる。この数年の高速シーケンサの発達によるゲノム解析を革新的な高速化は、大量の遺伝情報を生成し、さまざまな植物ゲノム配列情報が解明されてきた。しかし、表現型解析については、多くの場合、破壊的で人力に依存し、研究開発のボトルネックとなっている。

そして近年、圃場におけるセンサネットワーク、ロボット、ドローン等を用いた時空間データの収集技術が迅速に発展してきた。得られた膨大なデータ、特に画像データを AI アルゴリズムによって多様な環境（光、風、雨など）や複雑な個体群の影響があっても、安定的に植物体の生長速度・形状変化・生育状況などなどの判定ができる植物フェノタイピングが必要となってきた。

本講演では、筆者が長年経験してきた画像と AI による高速・高精度植物フェノタイピング技術の開発について紹介する。

S2-5

六倍体サツマイモにおける線虫抵抗性遺伝子の同定と育種基盤技術の構築

Identification of nematode resistance gene and development of breeding technology in the hexaploid sweetpotato

門田 有希

岡山大・院環境生命科学

本講演では、代表的な高次倍数性作物種であるサツマイモを例に、有害線虫（サツマイモネコブセンチュウ）抵抗性に関する遺伝解析とマーカー開発の現状について紹介する。わたしたちは抵抗性品種と感受性品種の F₁ 集団を使った遺伝解析（QTL 解析, GWAS）により候補領域を絞り込み（Sasai *et al.*, 2019, Obata *et al.*, 2022）、さらに Iso-seq や RNA-seq などのトランスクリプトーム解析も行うことで、抵抗性を制御する候補遺伝子を発見した。そこで、その原因変異を特定すべく、候補遺伝子の遺伝子内部ならびにプロモーター領域の配列を詳細に解析した。抵抗性品種と感受性品種で配列を比較した結果、エクソン領域の欠失、あるいはプロモーター領域の *cis* 配列の有無が抵抗性に寄与している可能性が示唆された。現在トマトならびにサツマイモを用いて候補遺伝子を導入した形質転換体を作成し、機能解析を進めている。また同定された QTL の情報を活用し、育種に有効な選抜 DNA マーカーの開発も進めている。サツマイモネコブセンチュウには複数のレースが存在し、地域によって優占レースが異なる。わたしたちは、日本の主要なサツマイモ産地である九州・沖縄地方や関東で発生が報告されている複数のレースを対象に遺伝解析を行い、抵抗性遺伝子座を同定した。興味深いことに、複数レースに対する抵抗性はごく少数の QTL の組み合わせで発揮されていることが示唆された。現在複数レースに対する抵抗性個体をまとめて選抜可能なマルチプレックスマーカーの開発を進めている。本講演では抵抗性メカニズムの解明に向けたゲノム解析から分子遺伝学的な遺伝子機能解析、さらには育種基盤の構築に向けた研究について紹介する。

S3-1

植物における合成生物学（基礎からビジネスまで）

Synthetic Biology in Plant (from basic research to business)

早川 孝彦

三菱ケミカルリサーチ/Mitsubishi Chemical Research

1980年代の始めにタバコの形質転換が成功して以来、遺伝子組換えにより形質を改変した植物が多数作出され、研究目的だけでなく、1990年代には生産に直結した遺伝子組換え作物が社会実装されるに至った。2019年現在、世界各国の約1.9億haの圃場でトウモロコシやダイズ、ワタ、ナタネ等の遺伝子組換え作物が生産されている。その多くは、除草剤耐性や害虫抵抗性などの形質を持つ作物で、マーカー遺伝子を除けば単一遺伝子導入によるものが多い。

2000年代初頭、生物の持つ自然なネットワークに工学的な原理を適用して、新しい機能や生命自体を設計・構築する合成生物学が提唱され、微生物を中心に研究・応用開発が進んだ。

近年、植物においても合成生物学的手法を用いた構成的アプローチによる物質生産、栄養成分の増強、バイオセンサー、ストレス耐性などの応用開発が進められている。植物の生産する二次代謝産物は、医薬品をはじめとして、スパイス、染料、香料等のさまざまな形態で利用されている。近年の包括的な遺伝子解析により、さまざまな植物の代謝経路の詳細が明らかになりつつあり、これらの発見に基づいて、合成生物学的方法を用いた微生物による植物の二次代謝産物生産も多く試みられるようになってきている。

本講演では、Guptaら(2021)がSynthetic Biology in Plants, a Boon for Coming Decadesの中で示した分類（栄養的価値の増加、合成代謝工学、バイオセンサー、ストレス耐性植物）を切り口として、植物に関連する合成生物学について基礎から特許を含めたビジネスまでを俯瞰する。多様な植物バイオテクノロジー研究の方向性、実用化に伴う社会的受容等を考える一助としたい。

S3-2

薬用成分の大腸菌での生産

Production of medicinal ingredients in *Escherichia coli*

中川 明, 南 博道

石川県大・資源研

植物は様々な有用化合物を産生、蓄積する。その中でも、二次代謝産物は生理機能が多種多様で、我々の身の回りで幅広く利用されており、また新規高機能品のシーズとしても有効である。しかし、植物における含有量は少なく、その多くは安価に製品化されていない。そのため、微生物を用いた発酵生産に注目が集まっているが、二次代謝産物の生産には外来遺伝子を10~30種類導入する必要があり、これまで蓄積された生産プロセスのデータや技術が全く適応されない可能性が高く、経験則に頼った方法では生産システムを構築することは難しい。近年の合成生物学の技術により、二次代謝産物の生合成経路を微生物に導入し、発酵法により短期間、安価に生産することが可能となっている。テルペノイドの一種で、抗マラリア薬アルテミシニンの前駆体の酵母による実用生産がよく知られているが、最近では大麻成分（カンナビノイド）の生産が、欧米の様々なバイオベンチャーによって試みられている。

モルヒネなどのアルカロイドに対しても、微生物を宿主とした発酵生産システムが確立されている。実際に、オピオイド系鎮痛剤の原料であるテバインに対して、グルコースからの酵母及び大腸菌による生産がそれぞれ報告された。一次代謝産物が対象の従来の微生物発酵と異なり、合成生物学と情報解析技術により、多段階の生合成経路を導入した普遍的な生産システムが確立されることで、様々な植物由来希少成分の微生物発酵生産が実用化されるものと考えられる。本シンポジウムでは、我々のアルカロイドの微生物発酵生産の取り組み、および海外での最新の研究や事業化の事例を紹介する。

S3-3

合成生物学を用いた植物プレニル化ポリフェノールの微生物生産

Microbial production of plant prenylated polyphenols using synthetic biology

棟方 涼介

京大・生存研

植物が生産するプレニル化ポリフェノール類は約 1,000 種類に及び、抗腫瘍活性や抗酸化活性など人の健康に資する生理活性を示す化合物も多い。これらの生理活性の発現にはプレニル側鎖の存在が重要となり、プレニル基転移という鍵反応を担うのが UbiA 型プレニル化酵素 (UbiA PT) ファミリーである。酵素機能を見ても UbiA PT は一般に高い基質特異性、プレニル化部位特異性 (生成物特異性) を示すことから、本酵素は有用物質の効率的生産に有力なツールとなると期待されている。しかしながら、UbiA PT ファミリーについては、未だ多くの遺伝子が機能未知であること、さらに膜貫通タンパクのために構造生物学的知見が極めて乏しいことが、代謝工学への応用への障壁となっていた。

この現状を打破すべく、演者はこれまでに様々な植物種からの新規 UbiA PT の遺伝子同定、また代謝工学的利用に向けた研究に取り組んできた。本発表ではアルテピリン C をターゲットとした研究例を紹介する。この化合物はキク科植物が持ち、養蜂製品プロポリスの機能性成分でもある他、近年では抗肥満作用といった現代病予防に貢献しうる機能も報告されている。演者はこの有用成分の生合成を担う新規 UbiA PT の遺伝子を発見し、アルテピリン C 酵母生産系を構築した。一方で、現在は UbiA PT の反応特異性の触媒メカニズム解明に向けた研究を進めている。セリ科植物由来の UbiA PT を用いた生成物特異性を司るアミノ酸残基の探索と、それを基にした酵素エンジニアリングについても最近得られた知見についても発表する。

S3-4

ゲノム構造からアルカロイド生産機構を探る

Elucidation and application of alkaloid biosynthesis based on genomic information

山崎 真巳^{1,2}

¹千葉大・院薬, ²千葉大・植物分子科学研究セ

植物アルカロイドは、著しい生理・生物活性を有するものが多く、古くから医薬品資源として注目されてきた。また昆虫や動物などの植食者はアルカロイドを含む植物を忌避するなど、アルカロイド生産は生産植物の生存戦略としても重要である。アルカロイドの多くはアミノ酸を前駆体として生合成されるが、これらはアミノ酸代謝からアルカロイド生合成経路が分子進化し多様化した結果であると考えられる。本シンポジウムでは、代謝酵素に起こった 1 アミノ酸の点変異によるアミノ酸代謝からアルカロイド生産への代謝分岐と代謝拡張と致死性アルカロイド生産のための自己耐性獲得ならびにゲノム構造からのアルカロイド生合成関連遺伝子の予測の可能性について議論したい。

S3-5

代謝経路の再構築による機能性植物の創生

Creation of functional plants by reconstructing metabolic pathways

平井 優美^{1,2}

¹理研CSRS, ²名大・生命農学

本シンポジウムの開催趣旨にもあるように、合成生物学は「これまでは微生物での試みが中心であったが、いよいよ高等植物でもゲノムをデザインする時代に入りつつある」。すなわち、遺伝子資源の宝庫としての植物の有用性のみならず、二酸化炭素を直接に利用して、複雑な化学構造をもつ代謝物を合成・蓄積できる細胞と組織を持つ生物としての植物の有用性に、再び光が当たるようになってきている。

植物は、与えられた環境において成長と環境適応のバランスを取りながら生きている。つまり、限られたリソースをバイオマス生産と環境適応反応にバランスよく配分しているといえる。バイオものづくりや気候変動下での食料生産に資する機能性植物の創生のためには、このバランスの原理やメカニズムを理解することが必要であり、ゲノムスケールの代謝モデル構築はその有効な手段となる。

本講演では、植物の代謝モデル構築をはじめ、機能性植物創出のための代謝経路の再構築に向けた演者らの取り組みについて紹介したい。

S3-6

合成生物学的手法を用いた動植物融合細胞の作製

Generation of animal and plant fusion cells using synthetic biological techniques

松永 幸大

東大・院・新領域・先端生命

長鎖 DNA 合成やゲノム設計を中心とした合成生物学の勃興によって、新しい機能を持つ細胞が短時間に設計および作成できるようになった。細胞に新機能を付与する場合、ベクターや人工染色体を活用した DNA 導入が主流であるが、メガベース単位の DNA を細胞に導入することは今でも時間と労力がかかる。そこで我々は、細胞融合法に注目して、メガベース単位の DNA、もしくはゲノムごと、異なる種の細胞にゲノムを移植する技術の開発を進めている。このゲノム移植による新しい細胞の創出は、大量の遺伝子群が移植されるために、新しい細胞機能の獲得を可能にするプラットホームに成り得ると考えている。実際、細胞融合は、遺伝子のマッピングやモノクローナル抗体産生、農作物の新品種作出など、医学や農学など多岐に渡る分野で活用されてきた。しかし、今までの細胞融合は、近縁種間のみでの細胞融合によるゲノム移植が主流であり、系統的に界を超えた生物種間の細胞融合によるゲノム移植事例報告は、わずか数件である。今回、我々は藻類と動物培養細胞の細胞融合によるゲノム移植に成功し、藻類の大部分のゲノムを持つ動植物ハイブリッド細胞・プランマル (planimal) 細胞 (plant+animal の造語) の構築に成功した。今後、planimal 細胞を実用化させるためには、移植した藻類ゲノムが動物細胞内で発現する方法の開発や、植物独自のオルガネラである葉緑体を導入する必要がある。臨床研究への高い利便性と実用性を持つ動物培養細胞に、有用脂質や有機化合物の生産が可能とする植物独自の代謝経路を付与することで、農業や医療への幅広い貢献を期待している。

S3-7

遺伝子操作による人工細胞壁の構築

Artificial cell wall synthesis by gene manipulation

江面 健太郎¹, 中田 未友希¹, 坂本 真吾^{1,2}, 金子 康子³, 吉田 光毅⁴, 光田 展隆^{1,2}

¹産総研・生物プロセス, ²産総研・ゼロエミセンター, ³埼玉大・教育, ⁴大成建設

植物の細胞壁は、強度の必要な組織に肥厚する二次細胞壁と、全ての細胞に形成され可塑性の高い一次細胞壁とに大別される。二次細胞壁は主にリグニンとセルロース、ヘミセルロースから成り、植物の乾燥重量の過半を占める。その形成はNST転写因子群によって制御されており、シロイヌナズナ *nst1 nst3* 二重変異体は繊維細胞において二次細胞壁を失い、器だけあって中身が空っぽであるような植物になっている。我々は植物の細胞壁を合成生物学的にゼロから組み直すシステムの実現を目指し、同変異体の繊維細胞に、様々な転写因子、遺伝子を発現させる取り組みを続けてきた。その中で、GroupIIIId/e ERF 転写因子を同変異体の繊維細胞に発現させることにより、一次細胞壁に類似した組成の細胞壁を二次壁様に人工的に肥厚させることに成功した。一次細胞壁にはリグニンがないので、リグニンの制御に関与することが知られている MYB 転写因子を発現させてリグニンを追加沈着させることにも成功した。この植物の細胞壁、茎の強度はシロイヌナズナ *nst1 nst3* 二重変異体に、GroupIIIId/e ERF 転写因子を発現させただけの植物に比べて明らかに強くなっていた。しかし、このとき沈着したリグニンは、モイレ染色の結果では、道管に似た染まり方をし、G リグニンリッチであることが示唆された。そこでさらにリグニンの S/G 比を制御するような遺伝子を追加発現させたところ、S/G 比を変化させ、少なくとも切片観察上はあたかも野生株のような細胞壁を有する繊維細胞を作らせることができた。今後、さらに細かい制御を加えていくことにより、ニーズに応じたテーラーメイド人工細胞壁を植物に作られるようになることが期待される。

S4-1

環境レジリエント作物の創出をめざした根系非破壊計測プラットフォームの開発

Development of a non-destructive phenotyping platform of root system for the breeding of climate-resilient crops

宇賀 優作

農研機構・作物研

近年、地球規模の環境変動により世界中の農地で干ばつなどの被害が起こっている。このように不安定な環境下で持続的な食料生産を行ううえで、環境ストレスに頑健な作物（環境レジリエント作物）の開発が求められる。不良環境で作物を安定生産するには地上部（茎葉）だけでなく地下部（根系）の改良が重要である。しかし、根系は土中にあり計測や選抜が困難なため、遺伝的改良は進んでいない。我々は土中の根系を選抜しないで改良するため、根系に関与する遺伝子を単離・同定してきた。これら遺伝子を効率的に利用するうえで、対象環境に適応した根系形態をデザインする必要がある。そこで、我々は根系のデザインに必要なオミクス情報を取得するため、根系の3次元非破壊計測プラットフォームを開発してきた。地上部を非破壊計測する技術は世界中で近年大きく発展してきた。一方、根は土中にあるため、形態・生理機能を計測する技術開発は発展途上である。従来の計測方法は、根を土中から取り出し破壊計測する必要がある。そのため、土中で3次元に発達する根系の「形」情報が失われる。また、破壊計測は同じ個体での根の経時的な変化を計測不可能にする。そこで、我々はX線CTを応用し、ポットに植えた植物の地下部をCT撮影し、CT画像から根系を3次元再構築し計測する技術を開発した。これまでもX線CTによる根の可視化の試みはあったが、上記の工程に数時間かかり、多検体の調査は困難であった。我々の技術はすべての工程を数十分で終わらせることができ、根系の迅速・簡便な可視化が実現した。現在、我々は本技術を用いて環境ストレスに適応した根系モデルの構築を進めている。

S4-2

さまざまな形態記述子によるモデルベース植物フェノタイピング

Model-based plant phenotyping theories and techniques using morphometric descriptors

野下 浩司^{1,2}

¹九州大・院理、²九州大・植物フロンティア

植物の「かたち」は受光態勢、耐倒伏性、ガス交換効率、種内・種間の空間を巡る競争、病害耐性など多様な機能に寄与する重要な形質である。ゲノムシーケンシング技術やインフォマティクスの発展、ゲノムデータの蓄積に伴い、植物フェノタイピングのための理論・技術のニーズや重要性は高まっているが、計測データと表現型値のギャップ、定量性の低さ、「かたち」を表現するモデルの不足によるスループットの低さなどが、その発展を阻む要因となっている。

本講演では、植物の「かたち」に関連した形質の定量化・量的形質化に利用可能な形態記述子について紹介する。特に、単一ユニット（例えば、葉や種子などの器官）の形状に適用できる汎用的な手法である幾何学的形態測定学、植物に多く見られる不特定多数の要素からなる階層構造に利用されつつある位相的データ解析、特定の解剖学的構造を捉える理論形態モデル、などに触れる。これらの形態記述子を用いることで、限られたデータセットからでも口バスタな定量化が可能になるなど、モデルベース植物フェノタイピングの利点を実感できるだろう。さらに、モデルベース計測とモデル精緻化のシステムにより形態モデルの不足とフェノタイピングにおけるスケールアウトの難しさを解決する将来の可能性についても議論したい。

S4-3

画像認識技術を用いた植物形質計測

Plant trait measurement using image recognition technology

内海 ゆづ子

阪公大・院情報学

近年の画像や depth センサの高性能化や、深層学習に代表される画像認識技術の発達により、植物の形質特徴を画像から非破壊的に計測することができるようになってきた。画像認識を用いて植物の形質情報を収集することで、人手では収集できない形状の情報を収集できたり、これまでよりも効率良く、大量にデータの分析が可能となる。そのため、画像認識技術は、植物形態に関する新たな知見の獲得や、農業の支援など、植物に関わる多くの分野の発展に寄与できる可能性がある。本発表では、画像認識技術の植物への適用の例として、花画像の解析や、ブドウの房に関わる画像処理の事例を交えつつ、どのような技術により、どのような情報が抽出可能かを説明する。また、植物計測での画像認識技術の限界についても言及し、その問題の1つのデータ不足に対する取り組みも紹介する。

S4-4

植物概日時計の位相応答場技術

Phase response field technology for plant circadian clock

福田 弘和

大阪公大・院・工

植物の環境応答や成長、花成、そして恒常性を調節する概日時計を、植物工場における栽培環境の最適化や生育安定化に応用する研究が求められている。しかしながら、従来のオミクス解析による時計遺伝子の発現ネットワーク解析や網羅的な生理代謝解析だけでは、概日時計の制御に関わる知見を得ることは難しく、応用研究が進んでなかった。そこで本研究では、時計細胞集団の時空間ダイナミクスを結合振動子モデルにより数理的に解明することにより、成長点での概日時計の特異性や成長との関連性を解き明かし、さらには概日時計の応答関数を高精度に同定する手法を開発することで、植物工場における概日時計の複雑な挙動を解析・制御できるプラットフォームの開発を目指してきた。

このような応用研究において重要な基礎課題としては、「非自然かつ不均一な複合環境サイクル下における概日時計の応答」の解明が挙げられる。植物工場の栽培環境は、光サイクルや温度サイクルの位相関係が自然界と異なっていたり、空間的に環境条件が不均一であったりすることが多い。このような状況の下で、概日時計がどのように振る舞うかを正確に予測する技術は、環境条件の最適化や生育の安定化に繋がる重要な技術とされる。そこで本発表では、「非自然かつ不均一な複合環境サイクル」が構成する「位相応答場」を説明し、その理論と実用技術としての可能性を議論する。

S4-5

画像からの枝葉「構造」の復元

Reconstructing plant shoot structure from images

大倉 史生

阪大・院情報科学

植物の育種・栽培において、各個体の日々の生育過程をモニタリング（フェノタイピング）することは、非常に有益でありかつ重要である。例えば、適切な剪定のためには、将来の生育を予測し、さらに各葉への光の当たり方等を考慮し適切な枝を落とす必要がある。しかし、生育状況を適切に取得・管理することは非常に難しく、栽培従事者の経験知によるところが大きい。新規参入者の大きな障壁となっている。植物の生育状態・生理状態・環境応答はその形状や構造に顕著に現れる一方、葉一枚・枝一本のレベルで植物形状・構造を簡単に測定することはこれまで困難であった。コンピュータが植物の生育状態等を適切に把握するためには、植物の「構造」情報（どこに枝があり、どこに何枚葉がついているかなど）を取得することが必須である。

これまで、複数の方向から撮影された画像群から物体の三次元形状を再現する、三次元復元と呼ばれる技術が広く研究されてきた。しかし、植物のように、遮蔽や類似した見た目の部位を多く持つ物体については、正確な復元が困難であった。本講演では、深層学習および三次元復元技術を応用し、植物を複数方向から撮影した画像から、葉などに隠れた部分も含む植物の三次元構造を、それぞれ一本の枝、一枚の葉に至るまで復元する技術の確立に向けた取り組みを紹介する。本技術は、三次元空間中のどの部分で枝が分かれ、どこにどのような形の葉があるかを緻密に再現することを目的としている。これにより、枝一本レベルで作物のフェノタイピングを行うことや、ロボットによる作物の剪定・収穫など、未来の育種・栽培技術への応用が期待される。

S5-1

カーボンニュートラル実現に向けた微細藻類産業利用の可能性：ちとせグループの微細藻類の産業利用に向けた取り組み紹介

Progress in commercialization of microalgae: introduction to “microalgae towards sustainable and resilient industry”

星野 孝仁¹, 黄 湘婷¹, 青柳 裕之^{1,2}, 青木 慎一^{1,2}, 野村 純平^{1,2}, 松崎 巧実^{1,2}, 遠藤 政城¹,
Jose Romel. F. Malapascua¹

¹株式会社ちとせ研究所, ²一般社団法人 日本微細藻類技術協会

戦後、人口増加に伴う食糧・エネルギー・環境問題等への有効な対処方法として、既存の農業による一次生産の増産に加えて、微細藻類の培養および産業利用が盛んに検討されてきた。陸上植物の栽培と比較して、微細藻類の培養は、

- ・有用バイオマスの生産性が高い、
- ・必要とする淡水の量が少ない、および
- ・農耕に適した土壌を必要としない、

等の大きな優位性が論じられている。そのため、微細藻類培養は、効率的な一次生産であるばかりでなく、既存の農業と競合することなく一次生産量を増加させる方法の一つとして、その応用が期待されている。しかし、主要穀物で見られる規模の微細藻類の生産・産業利用には至っていない。微細藻類の産業利用が拡大しない理由として、

①大規模生産の欠如

②多様な用途の欠如

の2点が、その主たるものとして挙げられる。①や②の要因として、体系的な研究開発基盤や開発方針の欠如、特定の藻類種や培養方式の不適切な利用、未確立な産業構造やサプライチェーン、および①や②そのものが挙げられる。また、今日ほど、環境持続性の重要性が正しく認知されず、環境持続性の経済的価値が適切に評価されない社会情勢であったことも、①や②の要因として特記されるべきである。

以前にも増して環境持続性がより求められる昨今、こうした課題を克服し、微細藻類が有する効率的な一次生産能、環境持続性、産業利用への汎用性を正確に評価、認知した上で、その産業利用を促進することの意義は大きい。こうした背景を踏まえ、MATSURI プロジェクトを始めとした、微細藻類産業の確立に向けたちとせグループの取り組みを紹介する。

S5-2

シアノバクテリアや微細藻類を利用した CO₂ からの直接物質生産

Direct material production from CO₂ using cyanobacteria and microalgae

蓮沼 誠久^{1,2}

¹神戸大・先端バイオ, ²神戸大・科技イノベ

バイオエコノミーの社会への浸透を背景に、化石資源の代替としてのバイオマスの利活用と、CO₂を炭素資源として回収して燃料や化学品などに再利用するカーボンリサイクルが推進されている。近年のバイオ×デジタル技術を基盤とした革新的な技術開発の進展が後押しとなって、バイオプロセスでプラスチック、繊維、ゴム、溶剤、塗料、洗剤、液体燃料等を生産する多様な研究開発が盛んに行われている。将来的には、植物系バイオマスを原料とした微生物発酵プロセスと、光合成生物を利用してCO₂から直接燃料や化学品を生産するバイオプロセスを組合せたバイオものづくりのベストミックスが実現するであろう。特にここ最近、ラン藻や微細藻類が汎用化学品や機能性素材の生産宿主として大きく注目を浴びている。しかしながら、現状では未だ実用性が乏しく、こうした微生物の代謝改変によって生産性を向上するには、まず、光合成代謝制御メカニズムの知見収集が必須である。そこで演者らは、キャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析装置等を用いて水溶性一次代謝物を網羅的に定量するメタボローム解析技術と、安定同位体炭素 (¹³C) や安定同位体窒素 (¹⁵N) による in vivo 標識を組合せた「動的メタボロミクス」技術を開発してきた。これにより、多様な微生物における代謝物の蓄積量と動的変動の俯瞰的理解が進みはじめた。ラン藻や微細藻類では、光合成速度に影響を与える環境要因(光強度、CO₂濃度等)の代謝への影響が分かりはじめた。本講演では新たに分かった代謝制御機構の紹介と、解析で得られた知見に基づく代謝改変で物質生産への応用に成功した例を紹介する。

S5-3

遺伝子組換え微細藻類実用化のためのバイオセーフティ技術開発 —リン代謝系の改変による生物学的封じ込め—

Development of biosafety measure for the practical application of genetically engineered microalgae: the biological containment strategy by using a synthetic phosphorus metabolic pathway

廣田 隆一

広島大・統合生命

微細藻類の商業規模での培養は、コストの観点からオープンポンドのような屋外培養槽での大量培養が望まれる。しかし、遺伝子組換え藻類の屋外開放系での培養はカルタヘナ法による第一種使用に該当し、使用承認を得ることが困難であるため国内では利用実績はまだ無い。生物学的封じ込めは、宿主細胞が限定された環境のみで生育するような性質を遺伝的に付与し、培養系外への拡散リスクに備える方法論である。この概念は遺伝子工学技術が生まれた 1970 年代から存在したが、効果が弱いことから実用的な利用には不向きであった。近年、遺伝子工学や合成生物学の発展を背景に、組換え体の安全性を高めるための生物学的封じ込めが再び注目されるようになってきている。我々は、バクテリアの還元型リン化合物の代謝機能を利用し、リンの代謝経路を改変することによって組換え微生物の生育を完全に亜リン酸 (HPO_3^{2-}) に依存する性質を作り出すことに成功した。亜リン酸は安価に得られる一方で、環境中には有効な濃度で存在しないため、本手法は強固かつ実用的なバイオセーフティ技術として利用できる可能性がある。本シンポジウムでは、演者らが行っている生物学的封じ込め研究の現状と、遺伝子組換え微細藻類の第一種使用をめぐる課題について議論させて頂きたい。

S5-4

硫酸酸性温泉に生息するイデユコゴメ類の産業利用に向けた開発

Development of sulfuric hot spring algae Cyanidiales for industrial use

宮城島 進也

遺伝研

硫酸酸性温泉 (30-55°C, pH 0.5-3.0) において優占増殖する単細胞紅藻イデユコゴメ類 (綱) は、酸性環境で増殖するため、非滅菌の単独培養において他生物のコンタミネーションが起りにくい。さらに、本綱に属するガルテリアは光合成独立栄養増殖能に加えて従属栄養増殖能を有し、超高密度 (100 g 乾燥藻体/L) まで増殖する。

最近我々は、イデユコゴメ綱に属するシアニジウムおよびガルテリアが、これまでに機能性食品として製品化されている他の微細藻類に比べて高濃度のタンパク質及び非常に高濃度のビタミン類を含有することを明らかにした。さらに、シアニジウムおよびガルテリアにおいて、遺伝的改変を施すことなく細胞壁を持たない株 (内容物抽出が容易) を誘導することに成功し、セルフクリーニングによる遺伝的改変法を世界に先駆けて開発した。

本発表では、上記の内容と我々の現在進めているイデユコゴメ綱の産業利用に向けた開発内容について紹介する予定である。

S5-5

有用物質生産に向けた実用藻類ツノケイソウの光合成機能の最適化

Optimization of photosynthetic function of practical algae, *Chaetoceros gracialis*, for production of useful substances

伊福 健太郎¹, 内山 郁夫², 菓子野 康浩³

¹京大・院農, ²基生研・ゲノム情報, ³兵庫県大・院生命理学

低炭素化社会の実現に向けて、光合成を行う微細藻類はバイオ燃料などの化成品原料の次世代資源として重要である。一方、既存の野生種では環境適応能や生産性に限界がある。我々は、漁業資源でもある実用藻類ツノケイソウ (*Chaetoceros gracilis*) に着目し、ゲノム解析、形質転換、屋外大量培養設備などの独自の研究基盤を整備してきた。本研究では、ツノケイソウの光エネルギー変換効率をゲノム編集技術により最適化し、その増殖と物質生産能を最大化することを目指している。

ツノケイソウ (*Chaetoceros gracilis*) の遺伝子情報は、ドラフトゲノムデータベース (**ChaetoBase ver.1**) として一般に公開した。さらに RNA-seq データ、Iso-Seq などの次世代シーケンサ (NGS) データを精査し、ツノケイソウの集光性色素タンパク質 (LHC または FCP) 遺伝子の全構成が 46 遺伝子からなることを明らかにした。詳細な分子系統解析から、それら LHC (FCP) を新たに 6 グループ (Lhcf, Lhcq, Lhcr, Lhcz, Lhcx, Lhcr9 ホモログ) に分類し直し、紅色系統二次共生藻類における集光性色素タンパク質の獲得と喪失の過程を考察した。そして上記の遺伝子情報を用いて、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析で得られたツノケイソウの光化学系-LHC (FCP) 超複合体の立体構造に含まれる反応中心サブユニット、および、LHC (FCP) 分子種の配置を明らかにできた。新しく得た珪藻の光化学系のクライオ電子顕微鏡構造を参考に、ツノケイソウの光環境応答・適応において重要な機能が示唆される LHC (FCP) を精査し、ゲノム編集による変異体作成を進めており、得られた変異体の光合成・増殖特性を紹介する。

L-1

第5回科学技術系専門職大規模アンケートの解析から見えてきたこと

Report on the 4th large-scale survey of actual conditions of gender equality in scientific and technological professions

須藤 雄気^{1,2}

¹男女共同参画学協会連絡会, ²岡山大・院医歯薬

(一社)男女共同参画学協会連絡会は、2002年10月7日に理系の学協会の男女共同参画担当者により設立されて以来、20年目の節目を迎えました。この間、加盟学協会は増え続け、110を越える学協会が加盟する一大組織となりました。2021年11月からは、(一社)日本生物物理学会が第20期運営委員会として、幹事学会を担当しています。

本連絡会は、科学技術系専門職の分野における男女共同参画について、「技術者・研究者のコミュニティのおかれている現状を把握し、課題を抽出して提言をまとめること」を目的に、概ね四年ごとに大規模アンケート調査を実施しています。定期的な調査研究により継続的な動向をとらえ、男女共同参画に関連する法律や施策など、時代の動きに即応した意識調査を行うことで、政府事業の効果を検証し、新たな政策提言につなげることを意図しています。

実際に、これまでの大規模アンケートの結果は、その後、数年にわたり要望書へのエビデンスとして活用され、また文部科学省、内閣府男女共同参画局の様々な報告書のベースのデータともなっています。具体的には、前回(第四回)までのアンケート結果をもとにした要望活動は、第5次男女共同参画基本計画(令和2年12月)、第6期科学・技術イノベーション基本計画(令和3年3月)に大きな影響を与えました。今回(第五回)の大規模アンケートの解析では、これまでの調査を上回る19,000件超の回答数をもとに、女性研究者・技術者が置かれている現状がどのようなものであり、どのように変化してきているのかを、男性研究者・技術者の現状とともに解析しました。これをもとに、科学者・技術者がおかれている現状を考察します。

L-2

ゲノム編集トマト販売から1年—これまでの課題と今後の展開について

The sale of genome-edited tomatoes: challenges and future development

住吉 美奈子

サナテックシード(株)

サナテックシード株式会社は、2020年末に国内初の事例としてゲノム編集トマトの届出を提出しました。届出完了後、すぐに販売することはせず、家庭菜園用の苗をモニターに配布することにいたしました。家庭菜園愛好家は生産者であり消費者でもあるので、両方の立場から意見を聞くことができると考え、彼らに配布することにしました。配布プロジェクトの反響は大きく、5,000名以上の応募があり、2020年春に4,000名のモニターに配布することができました。モニターには、苗だけでなく、栽培をサポートするSNSツールも提供しました。このSNSにはオープンチャット機能があり、モニター同士でコミュニケーションをとることができました。多いときには毎日1,000件以上のSNSのやり取りがあり、話題はゲノム編集や栽培方法からレシピまで多岐にわたりました。

セミナーでは、これらやり取りの具体的な事例やモニターへのアンケート調査結果を振り返り、ゲノム編集食品が社会でどのように受け入れられているのか、また今後の展望についてもご紹介します。革新的技術であるゲノム編集技術を、今後より幅広く社会で活用させるためのヒントになればと思います。

1Aa-01

ベンジルイソキノリンアルカロイド生合成系の遺伝子発現制御に関わる AP2/ERF 転写因子の機能解析

Functional analysis of AP2/ERF transcription factors that regulate the expression of genes involved in benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis

山田 泰之¹, 西田 昇平², 辰己 泰基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阪府大・院理

重要な医薬品原料にもなるベンジルイソキノリンアルカロイド (BIA) は、主要な生合成酵素が明らかにされ、さらに、遺伝子発現制御に関わる WRKY や、BIA 産生植物に特徴的な bHLH などの転写因子も単離・報告されている。しかし、これらの転写因子以外にも、BIA 生合成系の遺伝子発現調節に関わる制御因子が存在する可能性が示唆されていた。我々は、キンポウゲ科オウレンの BIA 生合成酵素遺伝子のプロモーター解析から、AP2/ERF 転写因子 (以下、ERF) が関与する可能性を見出し、RNA-seq 解析などから複数の ERF を選抜した。本研究では、選抜した ERF が実際に BIA 生合成酵素遺伝子群の発現を制御しているか、さらには、前述の WRKY や bHLH とどのような制御ネットワークを形成しているかを明らかにすることを目的に、一過的発現系や形質転換体を用いた機能解析を行った。

オウレンから単離した ERF の BIA 生合成系の遺伝子発現への影響を調べるために、プロトプラストを用いた一過的発現抑制や過剰発現を行った。その結果、生合成酵素遺伝子や bHLH, WRKY などの発現が、ERF の一過的発現抑制により減少し、逆に過剰発現では増加していた。また、ERF と生合成酵素遺伝子プロモーターとの結合性を EMSA やルシフェラーゼレポーターアッセイにより解析した結果、ERF の標的である GCC-box に似た配列に結合する可能性が示唆された。さらに、ケシ科ハナビシソウに異種発現させた形質転換培養細胞を作出し、遺伝子発現解析を行った結果、様々な BIA 生合成酵素や一部の転写因子遺伝子の発現上昇を認めた。現在、細胞や培地の BIA 分析を進めており、これらの結果と合わせて ERF による BIA 生合成系の遺伝子発現制御機構について考察したい。

1Aa-02

トリテルペノイドサポニン生合成酵素群のタンパク質間相互作用の解析

Protein-protein interaction analyses of triterpenoid saponin biosynthetic enzymes

Soo Yeon Chung¹, 和氣 駿之², 中山 亨², 村中 俊哉^{1,3}, 關 光^{1,3}

¹阪大院・工・生物学, ²東北大院・工, ³大阪大学先導的学際研究機構

トリテルペノイド配糖体 (サポニン) は植物に広く存在する二次代謝産物の一群であり、非糖部の構造に加えて結合した糖鎖の数や組成によって構造が多様化する。これまでに、サポニンを含むさまざまな植物二次代謝産物の配糖化反応は UDP 糖依存型糖転移酵素 (UGT) によって触媒され、付加する糖の位置や種類によって異なる UGT が関与することが知られていた。しかし、近年演者らはセルロース合成酵素類似群 (Csl) から機能的に分化したと考えられる新規糖転移酵素 CSyGT (Cellulose synthase derived glycosyltransferase) がオレアナン型トリテルペノイドの 3 位にグルクロン酸を特異的に転移することを明らかにした。さらに、CSyGT は細胞質に局在すると示唆されている植物 UGT とは対照的に、小胞体膜に局在する膜貫通型タンパク質であることを見出した。オレアナン系サポニンの生合成においてトリテルペン骨格を形成する β -アミリン合成酵素およびその酸化反応を触媒するシトクロム P450 (CYP) もまた小胞体膜に局在することから、これら生合成酵素群が複合体 (メタボロン) を形成している可能性がある。本研究では、サポニン生合成におけるメタボロンの存在を検証することを目的として、CSyGT と他の生合成酵素との相互作用を split-ubiquitin を介した yeast two-hybrid 法を用いて解析した。その結果、CSyGT と β -アミリン合成酵素が直接相互作用することが明らかになった。一方、CSyGT と各種 CYP との相互作用は見られなかったことから、メタボロン形成には触媒的役割は持たないものの構造的役割を担う別途のタンパク質を要する可能性が示唆された。

1Aa-03

ゲノム編集による薬用植物甘草セルロース合成酵素類似タンパク質のサポニン生合成における機能の同定

Disruption of a licorice cellulose synthase-derived glycosyltransferase gene demonstrates its *in planta* role in saponin biosynthesis

阪西 真実¹, 藤原 健太郎¹, 高上馬 希重², 村中 俊哉^{1,3}, 關 光^{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

マメ科の薬用植物カンゾウ（甘草）は、甘味成分グリチルリチンの他にマメ科植物に共通するソヤサポニンを主要なトリテルペン配糖体（サポニン）として産生する。これらの生合成に関わるシトクロム P450 モノオキシゲナーゼおよび糖転移酵素のほとんどがすでに同定されている。私たちは近年、長らく不明であったグリチルリチンおよびソヤサポニンの非糖部分（サポゲニン）の3位水酸基にグルクロン酸を転移する糖転移酵素がいわゆる UGT（Family 1 GT）ではなく、セルロース合成酵素類似タンパク質（Cellulose synthase-like）に属する酵素であることをサポゲニン生産酵母を用いた実験で明らかにし CSyGT（Cellulose synthase-derived glycosyltransferase）と命名した（Chung et al., 2020）。しかしながら、カンゾウ CSyGT の *in planta* での機能は不明であった。そこで本研究では、ゲノム編集により CSyGT を破壊したウラルカンゾウ毛状根を作出しサポニン分析をおこなった。その結果、CSyGT 破壊毛状根ではソヤサポニン I およびその前駆物質であるソヤサポゲノール B モノグルクロニドがいずれも消失することが判明した。このことから、*in planta* でのカンゾウ CSyGT のサポニン生合成への関与が証明された。興味深いことに、CSyGT 破壊毛状根ではサポゲニンであるソヤサポゲノール B の生合成に関わる CYP72A566 (β -amyirin C-22 hydroxylase) の働きが抑制されることが判明した。CSyGT 破壊によるサポゲニン生合成抑制のメカニズムについても考察する。

1Aa-04

エピジェネティック酵素阻害剤がカンゾウ培養ストロンにおけるグリチルリチン生合成遺伝子の発現におよぼす効果

Effects of epigenetic inhibitors on the glycyrrhizin biosynthetic gene expression in tissue-cultured stolons of licorice

藤原 健太郎¹, 高上馬 希重², 村中 俊哉^{1,3}, 關 光^{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

グリチルリチンはマメ科の薬用植物カンゾウ（甘草）の根やストロンに蓄積するトリテルペノイドサポニンであり、医薬品や甘味料の原料として用いられる。毛状根培養など組織培養によるグリチルリチン生産が試みられてきたが実用化には至っていない。私たちはこれまでに、カンゾウの「ストロン培養系」を確立している（Kojoma et al., 2010）。組織培養ストロンは暗黒下、液体培地中で旺盛に増殖し、また、固形培地に移植し光条件下に置くと容易に植物個体が得られるためマイクロプロパゲーションにおける優位性を有する。しかしながら、培養ストロンではグリチルリチン生合成経路に特異的なシトクロム P450 酸化酵素遺伝子である CYP88D6 の発現が土壌栽培根と比べて顕著に低く、グリチルリチンの蓄積量も土壌栽培根の 1/1000 程度であることが判明している（Tamura et al., 2017）。そのため、土壌栽培根において CYP88D6 の発現を活性化する転写因子の探索を進めてきたが現在のところ未同定である。そこで本研究では、カンゾウ培養組織において DNA メチル化あるいはヒストンタンパク質の修飾を介したエピジェネティック制御による CYP88D6 の発現抑制機構が存在するとの仮説を立て、培養ストロンへのエピジェネティック酵素阻害剤の添加による CYP88D6 の発現変動を調べた。その結果、DNA メチル基転移酵素阻害剤の添加により、CYP88D6 の発現量に有意な増加が見られた。このことから、培養組織における CYP88D6 の発現抑制に DNA メチル化が関与することが示唆された。現在、より詳細な検討のために、カルス、培養ストロン、土壌栽培根での比較メチローム解析を行っている。

1Aa-05

ジャガイモの α -ソラニン生合成に関わるソラニダン還元酵素の解析

Functional characterization of reductases involved in the final steps in α -solanine biosynthesis

寺見 大輝¹, 野田 蒼空¹, 秋山 遼太¹, 渡辺 文太², 梅基 直行³, 斎藤 和季³, 村中 俊哉⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農, ²京都大・化研, ³理研CSRS, ⁴大阪大院・工

α -ソラニンはジャガイモの緑化した塊茎の皮や新芽等に蓄積する化合物であり、微生物、昆虫、哺乳類など生物に対して幅広く毒性を示し、植物の防御応答において重要な役割を果たしている。また、ヒトに対しては、低濃度ではえぐみなど不快な味の原因になり、多量に摂取すると中毒症状を引き起こす。そのため、 α -ソラニンの蓄積を抑制することはジャガイモの育種における最大の目的の1つとなっている。現在、 α -ソラニンの生合成経路および生合成遺伝子はその大部分が解明されており、昨年、ソラニダン骨格形成に関わるジオキシゲナーゼ DPS を同定した (Akiyama et al., 2021)。本発表では、DPS により生成したソラニダン骨格を還元して α -ソラニンへ変換する最終段階を触媒するソラニダン還元酵素の機能解析を行った。

先行研究より、既知のソラニン生合成遺伝子との共発現解析によって生合成最終段階の還元反応に関わる2つのイミン還元酵素遺伝子である *IMR30* と *IMR40* を選抜した。両遺伝子の組換え酵素を作成し *in vitro* 酵素反応を行った結果、*IMR30* と *IMR40* は DPS 生成物を α -ソラニンへ変換する2段階の異なる還元反応に関わることが示唆された。そこで本研究では、*IMR30* と *IMR40* の酵素機能を明らかにするために、組換え酵素を用いて反応生成物を大量に単離精製し、NMR により構造決定を行った。さらに、CRISPR/Cas9 システムを用いて各 *IMR* 遺伝子をゲノム編集技術により遺伝子破壊した毛状根を作成した結果、 α -ソラニン内生量は顕著に減少し、新規ピークおよび DPS 生成物の蓄積を確認した。

1Aa-06

低ニコチンタバコ変異の分子基盤：転写因子遺伝子の欠損と発現減弱

Natural and induced variations in transcriptional regulator genes result in low-nicotine phenotypes in tobacco

庄司 翼^{1,2}, 守山 弘基², Nicolas Sierro³, Ouadi Sonia³, Nikolai Ivanov³, 橋本 隆², 斎藤 和季^{1,4}

¹理研・CSRS, ²NAIST・バイオ, ³Phillip Morris International, ⁴千葉大・植物分子研究センター

嗜好品作物であるタバコ (*Nicotiana tabacum*) は、毒性アルカロイドであるニコチンを生合成・蓄積する。ニコチン生合成遺伝子は互いに相同な ETHYLENE RESPONSE FACTOR (ERF) 転写因子 *ERF199* と *ERF189* によって統括的に転写制御されている。ニコチン蓄積量を主に支配する *NIC1* と *NIC2* 遺伝子座は、タバコゲノムにおいてそれぞれ *ERF199* と *ERF189* 遺伝子に対応している。

本研究において、米農務省の所蔵するタバコ種子コレクションより低ニコチン形質を示す系統を取得し、既知の *nic1-1* と *nic2-1* アレルに加えて、これら取得系統に存在する新たな *nic1* と *nic2* アレルの塩基配列を決定した。さらに、異なる *nic* 変異アレルがニコチン量と生合成関連遺伝子の発現量に与える影響を比較した。特に、遠位ゲノム領域の欠損が *ERF199* の発現を減弱させることで、ニコチン蓄積の穏やかな低下をもたらすことを、ゲノム編集技術を活用することで示した。本研究を通じて、ニコチン生合成の制御に関する洞察を得るとともに、低ニコチンタバコを育種するために有用な遺伝資源を新たに取得することができた。

1Aa-07

イネ目におけるチロシン由来リグニン経路の獲得タイミングとその分子機構に関する研究

The evolutionary timing and molecular basis of emergence of bifunctional phenylalanine tyrosine ammonia-lyase in Poales lineage

木村(武田) ゆり, Bethany Moore, Jorge El-Azaz, Hiroshi Maeda

ウイスコンシン大学 植物学

維管束植物においてリグニンはフェニルアラニンを前駆体に生合成され、その初発段階を触媒する PAL 酵素は、フェニルアラニンに対して高い活性 (PAL 活性) を示す。一方で、イネ科植物は PAL 活性に加えてチロシンに対する TAL 活性も示す PTAL 酵素を有しており、チロシン由来の経路によってもリグニンの合成が可能である。本研究では、PTAL 酵素獲得の進化のタイミングとその分子機構解明を目指した。まず、ごく近年入手可能になったコアイネ科植物の姉妹種にあたるジョインピレア、ストレプトカエタ、エクデイオコレアのゲノム配列情報を利用し、PTAL オースログ配列を取得した。それらにつき組換え酵素を調製し速度論解析を行った結果、PTAL 酵素はジョインピレアとイネ科植物の共通祖先において獲得されたことが明らかとなった。先行研究より、TAL 活性の出現に重要な残基として His140 が提案されている。しかし、ジョインピレア PAL 酵素への His140 残基導入は TAL 活性を僅かに増加させたものの、その程度はジョインピレア PTAL 酵素に比べはるかに弱かった。そこで、系統樹に基づく酵素機能解析、配列比較、及び部位特異的変異導入を行ったところ、PAL から PTAL への変換に関与する新規残基 Ile112 の同定に成功した。実際に、His140 と Ile112 の両残基をジョインピレアと系統的に遠く離れたシロイヌナズナの PAL 酵素に導入すると、それら変異酵素は PTAL 活性を示した。本研究は、イネ科特異的と考えられていたチロシン由来リグニン経路がイネ科植物進化の以前に獲得されたことを明らかにし、植物におけるリグニン及びその他フェニルプロパノイド化合物の生産に向けた新規経路導入の有用なゲノム編集ターゲットを提供する。

1Aa-08

シヤクにおける yatein の環化に関与する 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase (As2-ODD) の機能解析

Functional analysis of *Anthriscus sylvestris* 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase (As2-ODD) involved in the cyclization of yatein

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

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

リグナンはフェニルプロパン単量体が C8 位同士で結合した二量体化合物の総称である。リグナンの一種である podophyllotoxin (PPT) は抗腫瘍性活性を有し、抗がん剤であるエトポシドの原料として用いられている。

当研究グループではモデル植物としてシヤク (*Anthriscus sylvestris*) を用い PPT 生合成経路の研究を行ってきた。近年、発表者らは同生合成経路上の yatein から deoxypodophyllotoxin (DP) への環化を触媒する *A. sylvestris* 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase (As2-ODD) 遺伝子を同定した。しかしながら、As2-ODD が基質である yatein の(+), (-)体のどちらか一方あるいは両方を触媒するのか、また他のリグナン基質についても酵素活性を示すのか検証されていない。本研究では、As2-ODD の基質のエナンチオマーに関する選択性及び基質特異性を検証し、As2-ODD のさらなる機能解析を行うことを目的とした。

基質のエナンチオマーに関する選択性の検証では、(+)-yatein 及び(-)-yatein を As2-ODD とそれぞれ反応させ、得られた酵素反応生成物を GC-MS 分析に供し、DP の生成の有無を確認した。活性が確認された基質のエナンチオマーについては速度論解析を行った。基質特異性の検証については、同生合成経路上の他のリグナン基質を用い、酵素活性測定を行なった。

As2-ODD は(-)-yatein を(-)-DP へ変換することが明らかとなり、速度論解析の結果、 K_m 12.56 μM , k_{cat} 0.06 min^{-1} , k_{cat} / K_m $4.78 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ であった。また、反応に用いた他のリグナン基質に対しては、いずれも As2-ODD の酵素活性が検出されなかった。以上のことより As2-ODD は(-)-yatein を基質として選択し、(-)-DP へ変換することが明らかとなった。

1Aa-09

トマト毛状根を用いたジャガイモシストセンチュウ孵化促進物質生合成の解析

Analysis of biosynthesis of potato cyst nematode hatching factor using tomato hairy roots

秋山 遼太¹, 清水 宏祐¹, 河野 結¹, 坂田 至², 串田 篤彦², 谷野 圭持³, 刑部 敬史⁴, 刑部 祐里子⁵, 渡辺 文太⁶, 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, ⁴徳島大・生物資源産業, ⁵東京工業大・生命理工, ⁶京大・化研

ジャガイモシストセンチュウ (Potato Cyst Nematode: PCN) はジャガイモやトマトに寄生して大幅な減収を引き起こすため、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とよばれる包囊(硬い殻)段階を持つことを特徴とする。低温や化学物質に耐性を示すシストの中でPCN卵は10年以上休眠状態の維持が可能である。さらに、シスト内卵は寄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て効率的に寄生を達成する。そのためシストセンチュウの効率的な防除には孵化促進物質に対する理解が不可欠である。これまでに、ジャガイモ水耕栽培液から高活性なHFとして solanoeclepine A (SEA) が構造決定され、SEAがHFの活性本体であると考えられていた。近年、我々の研究グループではジャガイモ水耕栽培液中にSEAとは異なる高活性なHFが存在することを見出し、SEAと類似した構造を有する新規HFである solanoeclepin B (SEB) を単離同定した。さらに、形質転換が容易であり、培養特性に優れるトマト毛状根において、SEAは検出されなかったがSEBを生産することを明らかにした。本発表では、トマト毛状根を用いたHF生合成系の解析について報告する。

1Aa-10

マメ科エンジュの(+)-プテロカルパン型ファイトアレキシンの生合成機構の解析

Elucidation of (+)-pterocarpan phytoalexin biosynthesis in *Styphnolobium japonicum*

佐藤 優花¹, 内田 開¹, 鈴木 秀幸², 明石 智義¹

¹日本大・生物資源・応用生物, ²(公財)かずさDNA研究所

マメ科植物の多くは、外的ストレスに応答してプテロカルパン骨格を持つファイトアレキシンを生合成する。プテロカルパンは自然界では、(+)-型、(-)-型の2種の立体異性体が存在し、一般的なマメ科植物は(-)-型のみ生成する。一方、エンジュ (*Styphnolobium japonicum*) やエンドウマメ (*Pisum sativum*) など一部のマメ科では、(+)-型プテロカルパンを蓄積することが知られている。(+)型は、(-)型と比べて高い抗菌活性を持つといわれ、その生合成機構を明らかにすれば、将来高耐病性の植物の分子育種に役立つと期待される。既に(-)型プテロカルパンの生合成酵素遺伝子は全て同定されているが、(+)-型の生合成機構や関与する酵素は明らかではない。そこで本研究では、エンジュにおける(+)-型プテロカルパンの生合成について解析を行った。

プテロカルパンの生合成において、キラリティがもたらされるのはイソフラボン生成以降と推測される。ストレス処理したエンジュの幼植物体のRNA-seq解析を行い、(-)型プテロカルパン生合成酵素のオルソログの検索を行った。候補遺伝子を取得し、大腸菌で発現させた酵素タンパク質をin vitroアッセイし、触媒機構を解析した。その結果、イソフラボンの還元段階で(+)-型のキラリティがもたらされることが初めて明らかになった。またその後の生合成酵素も、従来知られている酵素とは異なる基質の立体選択性を示し、(+)-型プテロカルパンの生合成経路と関与する酵素遺伝子の全容が明らかになった。

1Aa-11

Altered flavonoid profile and lignin structure in rice mutants deficient in chalcone synthase (CHS), chalcone isomerase (CHI) and chalcone isomerase-like (CHIL)

Pui Ying Lam^{1,2}, Lanxiang Wang³, Andy Lui⁴, Toshiaki Umezawa^{2,5}, Yuki Tobimatsu², Clive Lo⁶

¹Grad. Sch. Eng. Sci., Akita Univ., ²RISH, Kyoto Univ., ³Chinese Academy of Sciences, ⁴Sch. Integrative Plant Sci., Cornell Univ., ⁵RURSS, Kyoto Univ., ⁶Sch. Biol. Sci., Univ. Hong Kong

Lignin, a heterogeneous phenolic polymer in plant cell walls, is not only essential for plant growth and development, but also impacts biorefinery applications. In grasses, lignin is featured by the unique incorporation of flavonoid triclin. However, how triclin affects lignin structure and biomass utility remains largely unclear. Here, we generated rice mutants deficient in early flavonoid biosynthetic genes, chalcone synthase (*CHS*), chalcone isomerase (*CHI*) and *CHI*-like (*CHIL*) genes through CRISPR/Cas9 mediated mutagenesis, and analysed their flavonoid and lignin profiles as well as biomass digestibility. All mutants are largely depleted in most soluble flavonoids in vegetative tissues compared with wild-type controls. In-depth 2D NMR analysis of the mutant cell walls further suggested a complete or large depletion of triclin-lignin. Lignin content and composition were altered differentially in these mutants, but cell wall digestibility remained unchanged. Together with previous works on different grass triclin mutants, our data suggest an elusive relationship between flavonolignin content and biomass utilization properties. Further in-depth analysis of the grass triclin mutants will be helpful for elucidating the underlying mechanism that governs these differential changes and developing bioengineering strategies to optimize grass biomass for different biorefinery applications.

1Aa-12

リンゴ根でのカラムナー遺伝子 MdDOX-Co の発現解析

The expression analysis of MdDOX-Co of columnar gene in apple roots

和田 雅人², 小森 貞男², 岡田 和馬¹, 阿部 和幸¹

¹農研機構・果樹茶研究部門, ²岩手大学・農学部

リンゴ栽培品種‘Wijcik’は、‘McIntosh’の枝変わり種で、節間が短く、短果枝が増加し、側枝の数は減少し、直立する特徴（カラムナー性）を示す。この原因遺伝子 *Columnar* (Co) を同定した。この遺伝子は、2 オキシグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼファミリーに属しており、MdDOX-Co と名付けた。MdDOX-Co 遺伝子を過剰発現させたタバコおよびリンゴ組換え体は、節間が短く、背丈が低く、葉が小さく、葉色が濃くなる傾向を示した。これら組換え体の表現形は、ジベレリンを外生的に与えることで回復した。また、組換え体内の活性型ジベレリンは減少していた。さらに、枝変わり品種‘Wijcik’もジベレリン投与で、形態の回復が見られた。MdDOX-Co 遺伝子産物の酵素活性は、活性型ジベレリンやその前駆体を代謝し、量を低下させることが分かった。以上の結果から、リンゴカラムナー樹では異所的に MdDOX-Co が発現し（地上部）、活性型ジベレリンの低下によりカラムナー性が現れていると示唆された。一方、正常樹では、MdDOX-Co は根だけで発現している。現在、リンゴ根における MdDOX-Co の役割は不明である。リンゴ種子および培養シュートでは MdDOX-Co は発現していない。MdDOX-Co は、種子の発芽時、幼根でのみ発現し、子葉や胚軸では見られない。また、培養シュートからの不定根にも発現する。さらに MdDOX-Co ゲノム上流 2.0kb を GUS レポーター遺伝子に連結した組換えリンゴの不定根は、コルメラ始原細胞とコルメラ細胞と考えられる組織で GUS 染色が観察された。

1Ca-01

ユーグレナのワックスエステル蓄積増強活性を持つ化合物の作用点の解明

Elucidation of the point of action of chemical stimulators with wax ester accumulation enhancing activity in *Euglena gracilis*

佐藤 一裕, 小川 拓水, 岡澤 敦司, 太田 大策

大阪公立大・院農学

微細藻類は光合成により二酸化炭素を有機物に固定し、そこから多様な有用物質を生合成する能力を持つ。優れた物質生産能を備えた数種の微細藻類は、食品、サプリメント、化粧品などの原料として利用されており、近年では、バイオディーゼル製造やバイオプラスチック製造のための生物資源として注目を集めている。微細藻類ユーグレナは、嫌気環境下で、バイオディーゼル燃料の原料として利用可能なワックスエステルを生合成する。ユーグレナは、好気環境下では光合成を行い、細胞内に大量の貯蔵多糖を蓄積する。嫌気環境下では、この貯蔵多糖が主要炭素源となり、還元的 TCA 回路の活性化による ATP 産生とワックスエステル蓄積が誘導される。このエネルギー転換は、呼吸鎖電子伝達系の構成変動を伴う。好氣的電子伝達系では多くの真核生物と同様に、ユビキノンが電子伝達体として機能する。嫌氣的電子伝達系では、酸化還元電位の低いロドキノンが主成分であり、NADH-フマル酸還元系の構成成分として機能する。我々は、芳香族化合物ライブラリーのスクリーニングにより、キノン骨格を有する複数の低分子化合物がワックスエステル合成の増強活性を有することを発見した (Ogawa *et al.* 2022)。これらの化合物の作用機構の解明は、ユーグレナの嫌氣的代謝機能を利用した物質生産性を高める新規要素技術の開発に結びつく可能性がある。本研究では、これらの化合物が、ミトコンドリア呼吸鎖電子伝達系や光合成電子伝達系に作用するという作業仮説を立てた。そこで、ユーグレナ細胞及び単離オルガネラを供試し、活性化化合物が呼吸活性および光合成活性に与える影響を解析した。

1Ca-02

有用セラミド生産法の開発に向けたスフィンゴ糖脂質糖転移酵素欠損変異体の解析

Analysis of a sphingolipid glycosyltransferase mutant for the production of useful ceramides

鈴木 雄介¹, 宮城 敦子^{1,2}, 山口 雅利¹, 川合 真紀¹, 石川 寿樹¹

¹埼玉大・院・理工, ²山形大・農

植物は、グルコシルセラミド (GlcCer) とグリコシルイノシトールホスホセラミド (GIPC) の 2 種類のスフィンゴ糖脂質をもつ。このうち GlcCer は、スキンケア化粧品や健康食品の有効成分として広く利用されている。一方、GIPC は GlcCer よりも存在量が多く、さらにそのセラミド構造はヒト肌のセラミド構造と類似していることから、次世代のセラミド供給源として注目を集めているものの、その利用法は確立されていない。そこで本研究では、GIPC の利用を妨げる糖鎖部分の生合成系を抑制することにより、利用可能な遊離セラミドとして植物に蓄積させることを目標として、GIPC の末端糖残基を欠損するシロイヌナズナ *gmt1* 変異体を用いて研究を行った。

gmt1 変異体の植物体は生育が強く抑制され、早期に枯死する表現型を示す。しかしながら、*gmt1* の組織片をカルス誘導培地に置いたところ、野生型に比べ増殖阻害は見られず、根ではむしろカルス形成が促進されることが分かった。しかし、増殖した *gmt1* カルスはシュート再生能を持たなかった。このことから、完全な GIPC 糖鎖は細胞の増殖に必ずしも不可欠ではなく、必須性は細胞タイプによって異なることが示唆された。スフィンゴ糖脂質分析の結果、*gmt1* カルスでは正常な糖鎖をもつ GIPC が大きく減少し、糖残基の 1 つ少ない基質分子が蓄積していた。以上の結果から、カルス培養は GIPC 糖鎖の欠損による生育不全や致死性を回避し、未成熟なセラミド分子の生産に利用できる可能性を有することが示唆された。

1Ca-03

NAD を高蓄積した微細藻類の作出

Development of high NAD accumulating microalgae

石田 快¹, 小乾 彰紘¹, 中谷 正義², 篠原 結子¹, 上野 登輝夫², 宮城 敦子^{3,4}, 石川 寿樹⁴, 川合 真紀⁴

¹(株)ニテック・研究開発本部・生物工学研究所, ²(株)ニテック・研究開発本部, ³山形大学・農学部, ⁴埼玉大学大学院・理工学研究科

Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) は、酸化還元反応を触媒する補酵素としてエネルギー代謝に関わる他、DNA 損傷応答や遺伝子発現制御等の細胞内機能に関わる重要な生体分子である。近年、動物体内の NAD 量は加齢とともに減少し、これが老化に伴う生体機能低下の原因の一つと考えられている。こうした中で、Nicotinamide mononucleotide (NMN) などの NAD の材料になる栄養素の摂取が、抗老化作用を示すことが動物実験などから示されている。そこで、NAD を補給できる高齢化社会のヘルスケア素材とすべく、食利用もされており、持続可能性のある生物資源として注目されている微細藻類に NAD を高蓄積する手法の検討を行った。微細藻類として、*Chlorella vulgaris* NIES-2170, *Euglena gracilis* NIES-48, *Cyanidioschyzon merolae* NIES-3377, シアノバクテリアである *Synechocystis* sp. PCC6803 を用い、NAD 前駆物質としてニコチン酸、ニコチンアミド、キノリン酸をそれぞれ培地に加えて培養した。その結果、*Synechocystis* sp. PCC6803 以外の株では NAD 量が大きく増加した。この際、微細藻類の種類によって NAD 前駆物質の効果が異なっていた。さらに NAD の蓄積量を増加させるため、*Chlorella vulgaris* NIES-2170 の突然変異育種を試みた。3-アセチルピリジン、6-チオグアニン、タンニン酸にそれぞれ耐性を示す変異株を取得した結果、親株と比較して NAD 量が約 20%増加した変異株が得られた。以上の結果、NAD を高蓄積した複数種類の微細藻類を作出できた。

1Ca-04

ゼニゴケにおけるビタミン D3 高生産を目指した代謝工学

Bioproduction of vitamin D3 in transgenic *Marchantia polymorpha* through metabolic engineering

那須 詩織¹, 畑田 珠希¹, 山岸 萌子¹, 秋山 遼太¹, 石崎 公庸², 村中 俊哉³, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農学, ²神戸大・院理学, ³大阪大・院工学

活性型ビタミン D3 (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、苔類ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) 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。ゼニゴケは全ゲノム情報が解読済みで、アグロバクテリウムによる迅速かつ高効率な形質転換系が確立されており、物質生産に適した植物体として期待されている。

活性型 VD3 を生産するためには、その前駆物質である 7-デヒドロコレステロール (7-DHC) をゼニゴケ体内に高蓄積させる必要がある。ゼニゴケ野生株 Tak-1 のステロール類を解析した結果、植物ステロールに比べてコレステロール量は非常に少なく、コレステロール生合成能は非常に低いことが確認された。そこで、コレステロール生合成系の増強を目指し、ラット由来のステロール 24 位還元酵素遺伝子 (*RatDHCR24*) をゼニゴケ用にコドン最適化した遺伝子を過剰発現させた。その結果、コレステロール生成量は野生株と比較して顕著に増加した。一方、ゲノム編集によりステロール 7 位還元酵素 (*DWF5*) を破壊した *Mpdwf5a-ko* 株では、 $\Delta 7$ 型ステロールの蓄積が認められた。そこで、*Mpdwf5a-ko* 株で *RatDHCR24* を過剰発現させることによりゼニゴケ体内に 7-DHC を蓄積させ、UV 照射により 7-DHC から VD3 へ変換させることでゼニゴケにおける VD3 の高生産を目指している。さらに、*CYP2R1*, *CYP27B1* 過剰発現による VD3 の 1 位および 25 位水酸化により、ゼニゴケにおける活性型 VD3 の高生産が期待される。

1Ca-05

ゼニゴケにおけるトリテルペノイド生産系の構築

Construction of a triterpenoid production system in *Marchantia polymorpha*

小林 祐介¹, 畑田 珠希¹, 石崎 公庸², 關 光³, 村中 俊哉³, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大院・農, ²神戸大院・理, ³大阪大院・工

植物トリテルペンには、医薬品や機能性食品として利用される化合物が多数存在している。「三大機能性トリテルペン」とも呼ばれるオレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸は、抗ガン作用、抗炎症作用、抗酸化作用などの生理活性を有する。また、マメ科カンゾウ属の根に蓄積するグリチルリチンは、肝機能補強や抗炎症作用を持つ。しかし天然では一部の植物でしか産生されず、有機合成化学による生産が困難な植物トリテルペンも多い。このような天然物を効率的に生産するため、遺伝子改変した植物体内で天然化合物を生産させる研究が行われている。しかし、高等植物を利用した従来の植物工学では形質転換体の作出と評価に年単位の時間がかかり、様々な代謝改変を重層的に付与して複雑な植物代謝系の改変を実装することが困難である。ゼニゴケは、高効率な形質転換系が確立されていることや成長が旺盛なことから、植物代謝工学において優位性が高い。本研究ではゼニゴケの特性を生かし、生産が困難な植物トリテルペンを簡便に高生産することを目的としている。初めに、生合成経路が解明されており、医薬品や甘味料原料として世界的に需要の高いグリチルリチンをゼニゴケで生産する植物代謝工学に取り組んだ。グリチルリチンを生産するには、合計5つの生合成遺伝子(*bAS*, *CYP88D6*, *CYP72A63*, *GuCSyGT*, *UGT73P12*)を重層的にゼニゴケに導入する必要がある。そこで最初に、カンゾウ由来のβ-アミリン合成酵素である *GubAS* をゼニゴケに導入した結果、β-アミリンの蓄積を確認することができた。現在、生成したβ-アミリンをグリチルリチンへ代謝変換する4つの遺伝子を過剰発現する形質転換を進めている。

1Ca-06

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 mRNA 蓄積量を予測する機械学習モデルの構築

Machine learning model to predict mRNA accumulation from nucleotide sequence for efficient production of useful proteins

神谷 紘汰, 山崎 将太郎, 加藤 晃

奈良先端大・バイオ

近年、植物に有用遺伝子を導入することで、医療用ワクチン等の有用タンパク質を大量生産する試みが盛んに行われている。これらの分野の更なる発展に向けて、目的となる有用タンパク質の生産性を向上させることが重要である。そのような試みの一つとして、翻訳の効率化などを目的とした CDS 配列のコドン最適化が挙げられる。しかし、コドン最適化は必ずしも効果的であるとは限らないのが現状である。そのため、より効果的なコドン最適化システムが求められている。近年の研究から、CDS 配列は mRNA の蓄積量にも大きく影響していることが明らかとなり、当研究室でもコドン改変によって mRNA の蓄積量が劇的に向上する例を発見している。そこで我々は、コドン改変による mRNA の蓄積量の向上に着目した新たな最適化システムの構築を進めている。本システムの構築にあたり、CDS 配列と mRNA の蓄積量の関係性を解明し、*in silico* にて CDS 配列から mRNA の蓄積量を予測可能にすることが必要不可欠である。そこで本研究では、ロングリードシーケンサーにて取得した正確性の高い mRNA の塩基配列および蓄積量のデータを使用して予測モデルを作製した。その結果、CDS 配列は mRNA の蓄積量に大きな影響を与えていることが改めて確認できた。加えて、構築した予測モデルによる予測値と、実際の mRNA の蓄積量の間で確かな相関が認められ、植物へ導入する有用遺伝子の mRNA の蓄積量を事前に予測することが可能となる。加えて、本予測モデルに基づいてコドンを改良することで、タンパク質生産を効率化するシステムの開発も期待できる。

1Ca-07

mRNA 配列の決定に関わる特徴解析と転写される配列の詳細な予測モデルの開発

Feature analysis of mRNA sequence determination and development of detailed prediction model of transcribed sequence

梅田 健人, 山崎 将太郎, 加藤 晃

奈良先端大・バイオ

近年、有用遺伝子を植物に導入し、有用物質を生産する系が注目を集めている。導入した遺伝子をより高発現させるために、転写効率や、mRNA 安定性、翻訳効率の向上を目的として、プロモーターや、ターミネーター、5'UTR、CDS、3'UTR に様々な改良が行われている。改良の効果を十分に発揮させるために重要なのは、転写開始点やスプライシングパターン、ポリ A 付加部位の制御である。例えば、転写開始点はコアプロモーターにより決定されるが、内在性遺伝子の多くは、主要な転写開始点以外にもコアプロモーターに類似した配列に由来する転写開始点を複数有している。これは、導入した遺伝子でも同様であり、発現効率化のために改良された 5'UTR 配列が、一定確率で意図しない形で転写されることを意味している。有用物質生産の効率化には、意図した位置以外での転写開始点の出現を回避することが重要であり、各転写開始点を正確に予測できるツールが必要となる。しかし、既存のツールでは、低頻度でしか出現しない弱い転写開始点の予測は不可能であった。そこで、本研究では、ロングリードシーケンサーを用いた完全長 cDNA-seq で得られたデータを使用することで、低頻度でしか出現しない弱い転写開始点やスプライシングパターン、ポリ A 付加部位のデータも含めた解析を行い、それぞれの位置と出現頻度に影響する配列の特徴を明らかにした。さらに、機械学習を用いて、位置と出現頻度が予測できるモデルの構築も行った。構築した予測モデルは、想定外の転写開始点の出現を回避するツール開発に必要な不可欠なものである。

1Ca-08

3'UTR バリエントに着目した翻訳効率の新規解析法開発

Development of a new analysis method for translation efficiency focusing on 3'UTR variants

高橋 秀斗, 山崎 将太郎, 西村 侑美, 加藤 晃

奈良先端大・バイオ

近年、植物体で有用タンパク質などの生産が行われており、一部製品は実用化されている。今後は、生産能力の向上によるコストの削減が必須であり、その有効な手段の 1 つが翻訳の効率化である。当研究室ではこれまでに、効率的な翻訳が可能な 5'非翻訳領域 (5'UTR) を複数取得している。一方で、翻訳効率の制御には 3'非翻訳領域 (3'UTR) も重要であることが複数の研究から示されている。加えて多くの遺伝子は、ポリ A 付加部位の違いに起因した長さや配列が異なる 3'UTR バリエントとして転写されており、バリエント間で翻訳効率が異なることが報告されている。そのために真に高い翻訳効率を実現するためには、詳細かつ膨大な 3'UTR バリエント単位の翻訳効率のランキングを作成する必要がある。しかし既存方法ではそのような解析は不可能であった。

そこで本研究では、ポリソーム解析法と Nanopore シーケンサーによる完全長 cDNA-seq 法を組み合わせた新規の解析法を開発し、その手法を用いてシロイヌナズナ培養細胞におけるバリエントごとのポリソームローディングをゲノムワイドに解析した。これらの解析によってポリ A 付加部位に依存する 3'UTR の長さや配列の違いによって、翻訳効率が異なっていることが明らかになった。また、それらの比較によって 3'UTR 上に存在する翻訳効率向上に寄与する可能性が高い配列を取得することができた。本解析によって得られた有用配列を 3'UTR 上に組み込むことによって有用タンパク質生産の向上に寄与することができ、更なる産業化の促進が期待できる。

1Ca-09

コムギ胚芽無細胞翻訳系における翻訳エンハンサーの同定

Identification of translational enhancers in the wheat germ cell-free translation system

北田 早貴¹, 板谷 知健², 多田 裕昭², 南 賢尚², 川邊 陽文¹, 加藤 壮英¹, 山崎 将太郎¹, 加藤 晃¹

¹奈良先端大・バイオ, ²NUProtein(株)

無細胞翻訳系は、形質転換体の作製を経ず、mRNA から細胞毒性を持つものも含めて、試験管内の細胞溶解物中でタンパク質を合成できる。しかし、形質転換体を用いた場合と比較して、タンパク質合成量が劣るという問題がある。mRNA の 5'UTR 配列が翻訳の効率に強く影響するため、本研究では、コムギ胚芽無細胞翻訳系において、高い翻訳効率を示す mRNA を実験的に選抜し、タンパク質の高発現に繋がる有用な翻訳エンハンサー配列となる 5'UTR を同定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多種多様な全 mRNA から、de-capping により cap 構造を持たない mRNA を準備し、コムギ胚芽無細胞翻訳系で翻訳を行った。反応液より、活発に翻訳される polysome 画分と全画分の mRNA をそれぞれ精製し、Cap Analysis of Gene Expression(CAGE)解析により転写開始点の異なるものを区別して、それぞれの画分に存在する mRNA 量を測定し、翻訳効率を算出した。続いて、ランキング上位の 12 個の 5'UTR 配列を翻訳エンハンサー候補とした。T7 promoter に 5'UTR を連結し、GFP タンパク質を発現させるアッセイ系を構築し、GFP 蛍光で定量比較を行うことでそれらの候補エンハンサーごとの翻訳能力を相対評価した。その結果、既存のエンハンサー配列と比較して、いずれの候補も高い翻訳効率を示し、最大のもので 2.8 倍も効率が上昇する 5'UTR 配列もあった。得られた 5'UTR を新たに翻訳エンハンサーとして利用することで、コムギ胚芽無細胞翻訳系における組換えタンパク質の更なる高生産が実現できると考える。

1Ca-10

ロングリードシーケンサーを用いた mRNA 安定性の詳細な評価と特徴解析

Detailed evaluation and characterization of mRNA stability using long read sequencing

似内 颯斗, 藤尾 瞳, 山崎 将太郎, 加藤 晃

奈良先端・バイオ

有用タンパク質の生産宿主として植物が注目されており、より目的タンパク質を高生産させるためには、遺伝子発現機構を理解し、設計図である DNA の塩基配列を改良する必要がある。遺伝子発現制御に関わり、最終的なタンパク質の蓄積量を決定する上で重要な要素の一つに mRNA の安定性があり、その制御には、非翻訳領域 (UTR) の配列が特に重要であると考えられている。近年では、次世代シーケンサーを用いた mRNA 安定性に関する大規模解析がなされ、安定性に影響を与える UTR 配列の特徴解析と改良が可能になると期待されている。一方で遺伝子は、転写開始点やポリ A 付加部位の違いによって、UTR 長が異なる多様なバリエーション mRNA として転写されており、バリエーション間でその安定性が異なる。しかし、従来のショートリードシーケンサーでは、バリエーションを区別することが困難であり、UTR 上の制御要因を解析するための重要な情報が欠落していた。そこで本研究では、mRNA の全長の解読が可能なロングリードシーケンサーを用いることで、この問題を解決するとともに、機械学習の手法によって、安定性に関わる UTR 上の制御要因を解析した。従来の遺伝子単位での解析では、得られるデータ数は約 1 万程度だったが、本研究で得たバリエーション単位での詳細なデータ数は 10 万以上であった。さらに、安定性の制御に関わると考えられる複数の UTR 上の特徴を明らかにした。これはより大規模なデータに裏付けされた信頼性の高い結果であり、本研究によって得られた mRNA 安定性に関わる UTR 上の重要な制御要因の知見は、配列改変による mRNA の安定性向上に直接的に繋がるものである。

1Ca-11

暗所で発芽させたイネ実生の総可溶性タンパク質量を増加させる条件の探索

A search of conditions that enhance the amount of total soluble protein in etiolated rice seedlings

渡邊 明子¹, 竹島 幸乃^{1,2,3}, 叶内 愛莉^{2,4}, 高橋 柊里^{2,5}, 佐々木 華凜^{2,6}, 高橋 乃愛^{2,7}, 伊藤 幸博^{1,2}

¹東北大・農, ²東北大・科学者の卵養成講座, ³秋田高, ⁴山形東高, ⁵花巻北, ⁶ルネサンス, ⁷酒田東

植物での有用タンパク質生産は、動物や細菌より低コストかつ安全であるなど多くの利点がある。植物を用いて有用タンパク質を生産する場合、遺伝子組換え体の規制と生産管理の点から植物工場での栽培が必要となるが、植物工場は照明とそれに伴う空調に多大な電気コストがかかり、植物を用いる利点である低コストさを十分に活かさない。本研究では、暗所におけるイネ実生のタンパク質生産量を増大させる条件を見出し、将来的には安価かつ安全なタンパク質医薬品生産に応用することを目的とする。

28°Cで4~14日間、水のみ与えて発芽させたイネの総可溶性タンパク質量は、12日目に最も多く、明暗ではほぼ同量であった。MS培地とショ糖を添加したところ、水のみ与えた場合の倍量となり、明所での7割ほどであった。温度の影響を調べたところ、低温では生育が遅くタンパク質を蓄積するのに日数がかかり、高温ではタンパク質量が少なくなった。密植すると個体あたりのタンパク質量は減少するが、単位面積あたりでは増加した。種子の大きさが異なる品種のタンパク質量を調べたところ、水のみを与えて発芽、生育させた場合はタンパク質量に大きな違いは見られなかったが、MS培地を添加すると種子の大きさに比例してタンパク質量が増加した。

以上の結果、暗所では種子の大きい品種を密に植え、MS培地とショ糖を添加して発芽させ、28°Cで12日間栽培した場合が最も総可溶性タンパク質量が多くなることがわかった。

この研究は、キャノン財団、高橋産業経済研究財団、JST グローバルサイエンスキャンパス、三菱みらい育成財団の支援を受けて行われた。

1Ca-12

遺伝子組換えイネを用いた抗菌ペプチドの生産

Production of Antimicrobial Peptide Using Genetically Modified Rice

藤田 岳, 米山 裕, 伊藤 幸博

東北大・院農学

分子農業とはワクチンや抗体、薬効成分になりうる有用タンパクをコードする遺伝子を植物に導入し、有用タンパクを生産する技術である。主原料が二酸化炭素と水で、エネルギー源が光であるため生産コストが低く、動物に感染する病原体を持たないという利点が存在する。本研究では、遺伝子工学的操作が容易なイネを抗菌ペプチド生産の宿主として選択した。抗菌ペプチドは抗生物質と異なり、細菌の細胞膜の損傷をもたらすため、耐性菌が出現しにくいというメリットを持つ。

まず、導入遺伝子を作製した。N末端から順に、ヒスタグ、カルモジュリン (CaM)、タバコエッチウィルス TEV プロテアーゼ認識配列 (TEV)、昆虫由来抗菌ペプチド (AMP) を融合したタンパク質 (H-CaM-TEV-AMP) をコードする遺伝子をイネで恒常的に高発現する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。

得られたカルス 16 系統においてゲノム PCR を行った結果、全ての系統で遺伝子導入が確認された。導入確認系統において RT-PCR を行った結果、葉身、カルス共に全系統で RNA レベルでの発現が見られた。そのうち 8 系統において、抗ヒスタグ抗体及び抗 CaM 抗体を用いてウエスタンブロットティングを行った結果、予想される 23kDa の位置にバンドが検出された。以上の結果から、導入した H-CaM-TEV-AMP は RNA 及びタンパク質レベルで発現していることが分かった。今後は、TEV プロテアーゼで切断後の AMP の抗菌活性を調べるとともに、CaM を融合せずに AMP を生産できるかを調査していきたい。

1Ca-13

カロテノイド合成酵素遺伝子の過剰発現によるカロテノイド組成の改変

Modification of carotenoid composition by over expression of carotenoid biosynthesis genes

有海 将司¹, 水野 晃希¹, 三浦 謙治³, 竹田 恵美²

¹大阪府大・院理学, ²大阪公大・院理学, ³筑波大・生命環境

葉緑体色素であるカロテノイドは抗酸化作用をもつとともに、過剰光ストレスの緩和に寄与している。緑葉に最も多量に蓄積するカロテノイドであるルテインは、白内障や加齢黄斑変性症の予防効果があるとされることから機能性成分としても有用である。シロイヌナズナではリコペンからのルテイン生合成に関わる酵素（遺伝子）として、リコペンβシクラーゼ（*LcyB*）、リコペンεシクラーゼ（*LcyE*）、*CYP97A3(LUT5)*、*CYP97C1(LUT1)*が同定されている。昨年度の本学会では、ルテイン蓄積量増加に最も重要な酵素を特定するため、一過的高発現ベクターであるpBYR2HSプラスミドに*LcyB*、*LcyE*、*Lut5*、*Lut1*をそれぞれ組み込み、各遺伝子を単独あるいは複数組み合わせ、ベンザミアナタバコでアグロインフィルトレーション法により一過的過剰発現させた。その結果、*LcyE*と*Lut5*を同時に過剰発現させた葉ではクロロフィルあたりのルテイン含量が20%以上増加することを見出した。

本研究では、ルテイン含量の更なる増加のため、カロテノイド総量を調節すると考えられているフィトエンシンターゼ（*PSY*）、*PSY*と相互作用するとされるタンパク質*ORANGE*を単独、あるいは*LcyE*と*Lut5*に組み合わせベンザミアナタバコで一過的過剰発現させた。その結果、*PSY*、*ORANGE*は単独でも、*LcyE*と*Lut5*に組み合わせても、ルテイン含量の増加はみられなかった。現在は、培養時の光強度や培養日数の見直し、植物細胞死抑制作用をもつアスコルビン酸噴霧等を試みて、ルテイン含量の更なる増加を目指している。さらに、実用作物を用いて、アグロインフィルトレーション法によるカロテノイド合成酵素遺伝子の一過的過剰発現実験を行っている。

1Ca-14

シソ機能性成分高含有化を目的とした遺伝子組換え体の作出と解析

Production and analysis of transgenic plants of perilla to increase the amount of functional ingredients

高橋 麻起子¹, 中山 牧子¹, 高野 翔¹, 大角 有里沙¹, 小川 瑛利子¹, 南谷 健司², 田坂 恭嗣³, 松村 健³, 後藤 一法¹

¹(株)アミノアップ, ²(公財)北海道科学技術総合振興センター, ³(国研)産業技術総合研究所

近年、植物が含有する機能性成分をより効率的、安定的に生産するための技術開発が注目されている。シソにはロスマリン酸やフラボノイド類などの抗炎症作用やアレルギー緩和作用を有する機能性成分が含まれていることが知られている。これらの機能性成分を高含有化することを目的とし、機能性成分の生合成に関与する遺伝子の組換え体を作成し、生合成を制御することを試みた。

始めにシソ（白エゴマ、*Perilla frutescens* var. *japonica*）の組織培養系を検討し、次いでマーカー遺伝子としてβ-glucuronidase（*GUS*）遺伝子の導入を試みた結果、薬剤耐性より選抜した不定芽のうち、約70%で*GUS*活性が確認された。次に、シソ機能性成分の生合成に関わる2種の遺伝子それぞれの過剰発現体、およびそれらとは異なる遺伝子の発現抑制体の作出を試みた。得られた再分化個体のうちゲノムDNAを用いたPCR法により目的遺伝子の導入が確認された個体を完全人工光型植物工場において水耕栽培し、葉における目的遺伝子のmRNA量をリアルタイムPCRより解析した結果、野生型と比較して過剰発現体では、それぞれ約3~8倍と約2~22倍、発現抑制体では約1/4倍に有意に発現が変動した個体を得られた。これらの個体について機能性成分含有量を測定した結果、複数成分において、野生型と比較し有意に増加している個体を得られ、遺伝子組換えにより生合成が制御されていることが示唆された。

本研究は、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の助成事業「植物による高機能生産技術開発」の一環で実施した。

1Da-01

細胞壁結合型フェルラ酸の形成を抑制したイネ *ALDH* 変異株のリグノセルロース構造解析

Lignocellulose Characterization of Rice *ALDH* Mutants Deficient in the Biosynthesis of Cell-wall-bound Ferulates

山本 千莉¹, 飛松 裕基¹, Pui Ying Lam¹, Osama A. Afifi¹, 木村 ゆり¹, 刑部 祐里子², 刑部 敬史³, Laura E. Bartley⁴, 梅澤 俊明^{1,5}

¹京大・生存研, ²東工大・生命理工, ³徳島大・生物資源産業, ⁴ワシントン州立大, ⁵京大・生存基盤

単子葉類イネ科植物は、高いバイオマス生産性を示す大型イネ科植物など、リグノセルロース供給源として重要な植物グループの一つである。持続型社会の構築に向けて、植物分子育種技術等によりイネ科リグノセルロースの生産性や利用特性の向上を図るためには、未だ不明な点の多いイネ科細胞壁の構造と形成機構の理解を深めることが重要である。イネ科植物の大きな特徴として、様々な組織においてフェルラ酸誘導体が多く蓄積することが知られている。特に木化組織の細胞壁では、フェルラ酸はヘミセルロース-リグニン複合体（フェルラ酸架橋構造）の形成に寄与し、細胞壁の機能やリグノセルロースの利用特性に大きく影響すると考えられている。これまでに、フェルラ酸合成に関与すると考えられるアルデヒドデヒドロゲナーゼ (*ALDH*) 遺伝子をゲノム編集によって破壊したイネ *ALDH* 変異株において、細胞壁結合型フェルラ酸量が野生株と比較して有意に減少していることを報告した。本研究では、イネ *ALDH* 変異株の細胞壁の性状をさらに詳しく明かにするため、各種化学分析及び 2D HSQC NMR を用いた細胞壁の化学構造解析を行った。その結果、イネ *ALDH* 変異株の細胞壁において、細胞壁結合型フェルラ酸の減少と共にヘミセルロース及びリグニンも顕著な構造変化を受けていることが分かった。現在、GPC を用いた細胞壁成分の分子量分布解析などを進めている。

1Da-02

エノコログサ (*Setaria viridis*) のアラビノキシラン生合成に関わるアラビノフラノース転移酵素の機能解析

Functional characterization of an arabinofuranosyl transferase involved in arabinoxylan biosynthesis in *Setaria viridis*

鈴木 聖治¹, 木塚 康彦^{1,2,3}, 石水 毅⁴, 鈴木 史朗^{1,3}

¹岐阜大院 自然科学技術, ²岐阜大 糖鎖生命コア研究所, ³岐阜大 応用生物科学, ⁴立命館大 生命科学

アラビノキシランは、バイオマス原料植物として有望な大型イネ科草本の主要なヘミセルロースである。側鎖のアラビノフラノース (Araf) 残基には、しばしばフェルラ酸が結合しており、さらにフェルラ酸を介してキシランやリグニンと結合していることから、イネ科リグノセルロース超分子構造の鍵構造となっている。この Araf 付加は、キシランアラビノフラノース転移酵素 (以下 XAT) によって触媒され、これまでにイネを中心としていくつかの XAT 酵素群の酵素機能が明らかにされ、数種類の XAT がキシラン主鎖への 3-O-アラビノフラノシル化を触媒することが示されている。しかし、大型イネ科植物におけるキシラン生合成改変によるイネ科リグノセルロースの利用性向上には、より適したモデル植物を用いた機能解析が必要である。そこで、本研究では、ソルガムなどの C₄ 光合成を行う大型イネ科植物のモデルとして、ライフサイクルが短く実験室の弱光下で栽培可能なエノコログサ (*Setaria viridis*) を材料に用い、エノコログサ XAT の機能解析を目的とした。

エノコログサゲノム情報を基に、イネの OsXAT2 と相同性の高い SvXAT2 の cDNA をクローニングした。続いて、FreeStyle293-F 細胞を用いたタンパク質発現システムにて、GFP 融合タンパク質として SvXAT2 を発現させたところ、GFP による蛍光を示し、SDS-PAGE の結果より、培養上清に発現が確認された。現在、精製した GFP-SvXAT2 を UDP-アラビノフラノースおよびキシロオリゴ糖と反応させ、生化学的機能解析を行っており、得られた解析結果を報告する。

1Da-03

Euglena gracilis 細胞の沈降速度にエタノール添加が与える影響

Effect of ethanol addition on sedimentation rate of *Euglena gracilis* cells

高橋 優, 島本 航輔, 小山内 崇

明大院・農・農化

【目的】 *Euglena gracilis* (以下ユーグレナ) は、貯蔵多糖パラミロンやアミノ酸など、様々な物質を合成・蓄積する微細藻類である。この有用性から産業化が進められているが、産業化の推進には、細胞生産の向上とともに低コストかつ効率的な回収が求められる。そこで、本研究では、ユーグレナ細胞の沈降速度を上げ、細胞回収の効率化に貢献することを目的とした。

【方法】 使用菌株は、*Euglena gracilis* NIES-48 で、合成培地である CM 培地を使用し、培養を行った。培養条件は、1 L の CM 培地のみを用いたコントロール条件と、0.5, 1, 2%となるように終濃度を調整した複数のエタノール条件である。25°C のインキュベーター内で、1% (v/v) の CO₂ (in air) を培地にバブリングし、8 日間培養を行った。また、光条件は 12 時間明条件 / 12 時間暗条件となるように設定した。

【結果・考察】 細胞の沈降速度は、0.5%, 1% エタノール条件で最も速く、次に 2%エタノール条件、コントロール条件が一番遅くなった。この原因を明らかにするため、細胞サイズを調べると、0.5%, 1% エタノール条件でコントロール条件と比較し、細胞が大きくなることが分かった。また、1 細胞あたりの乾燥重量は、1%エタノール条件で重くなった。細胞の形態を光学顕微鏡で観察すると、コントロール条件では長細い形の細胞が多く、エタノール条件では球形に近い細胞が多く見られた。また、コントロール条件の培養液内のみで、生物対流が見られた。結果から、エタノールを添加したユーグレナの培養では、細胞の沈降速度が向上することが分かった。その原因は、細胞の大きさ、重量、形態、運動性の複数の要素の組み合わせである可能性が示唆された。

1Da-04

紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* 由来クエン酸シンターゼの一価および二価の塩と代謝産物による影響

Effects of monovalent and divalent salts and metabolites on citrate synthase from red alga *Cyanidioschyzon merolae*

西井 麻貴, 小山内 崇

明治大学大学院・農学研究科

光合成を行う微細藻類が持続可能な物質生産に向け、注目されている。中でもモデル生物の紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* は、物質生産に関する研究が盛んな一方、代謝経路を構成する酵素の特性はあまり解明されていない。トリカルボン酸 (TCA) 回路はエネルギー生産に重要な代謝経路であり、クエン酸シンターゼ (CS) が担うオキサロ酢酸とアセチル CoA をクエン酸と CoA に変換する反応は TCA 回路全体の反応速度に大きく影響する。CS は真核生物やグラム陽性菌に存在するタイプ I と、グラム陰性菌に存在するタイプ II に分類され、生化学的特性が異なる。微細藻類の中でも光合成を行う細菌のシネコシスティスは、CS の生化学解析が行われており、他の細菌の CS にはない MgCl₂, CaCl₂, ADP により阻害される独自の性質を持つと報告されている。そこで、生化学解析が行われていない *C. merolae* 由来クエン酸シンターゼ (以降 CmCS) に注目し、塩と代謝産物による影響を調べた。

CmCS を組換えタンパク質として大腸菌から精製し、CmCS 活性は 412 nm の吸光度変化から測定した。

CmCS 活性が最大となった 48°C, pH 7.8 の条件下で、基質濃度は K_m 値に固定し、様々な塩や代謝産物の存在下で CmCS 活性を測定した。結果、100 mM NaCl と KCl 存在下で CmCS 活性はそれぞれ 18%と 19%に減少した。また、100 mM MgCl₂ と CaCl₂ 存在下で CmCS 活性はほとんどなかった。植物由来の CS は塩に対する感受性が高いことが報告されており、CmCS においても同様の結果となった。さらに、タイプ I の CS で阻害剤と知られている 1 mM ATP と ADP 存在下で CmCS 活性はそれぞれ 50%と 72%に減少した。ATP が過剰に存在する際には、TCA 回路の働きを制御していると考えられる。

1Da-05

シロイヌナズナにおける窒素欠乏時の代謝と花成制御に関与する転写因子の機能解析

Functional analysis of transcription factor involved in the regulation of metabolism and flowering under nitrogen deficiency in *Arabidopsis thaliana*

眞木 美帆¹, Giang Van Quoc², 久保 晃生², 佐藤 靖武², 高木 純平¹, 佐藤 長緒¹

¹北大院・理, ²北大院・生命

窒素は植物の基幹代謝の根幹を担う重要な栄養素であり、土壌中の窒素量は植物の成長に多大な影響を与える。窒素欠乏時には、植物は根からの窒素吸収や同化、転流といった細胞レベル・個体レベルでの代謝調節によって成長の最適化を行う。また窒素欠乏は、花成といった成長相転換の誘導を促進することが知られている。しかし、このような窒素量に応じた代謝と発生を協調的に制御する分子機構は理解されていない。我々はこれまでに、シロイヌナズナを用いた解析から、窒素応答性花成制御において転写因子 FBH4 が重要な機能をもつことを発見している。また、FBH4 が窒素欠乏時の代謝制御に関与する可能性を見出している。現在、窒素欠乏時の代謝に関与する遺伝子発現の変動や FBH4 の機能に関して詳細な解析を行っており、本発表ではその結果も併せて議論する。

1Da-06

植物細胞におけるステロールの生合成及び貯蔵部位の探索

Exploration of subcellular sites for the biosynthesis and storage of phytosterols

磯部 一樹¹, 藤井 友理¹, 島田 貴士², 西村 いくこ³, 太田 大策¹

¹大阪公大・院農, ²千葉大・院園芸, ³甲南大・理工

植物ステロールは、側鎖 C-24 位のメチル化レベルの違いによって、C-24 メチルステロール（カンペステロール）と C-24 エチルステロール（β-シトステロールとスチグマステロール）に大別される。C-24 位のメチル化反応を触媒する S-アデノシルメチオン依存性ステロールメチル基転移酵素には、ステロールメチルトランスフェラーゼ 1 (SMT1) とステロールメチルトランスフェラーゼ 2 (SMT2) の 2 種類がある。SMT1 はステロール生合成経路の上流で、シクロアルテノールを 24-メチレンシクロアルテノールに変換する。この反応の 5 ステップ下流で、SMT2 は C24-エチルステロール生合成経路の分岐反応を触媒する。我々はこれまでに、シロイヌナズナの根において SMT1 及び SMT2 を mGFP との融合タンパク質として発現させ、これら SMT が ER と未知の小胞構造 (SMT-vesicles) に局在することを発見した。中性脂質とステロールエステルは Lipid Droplets (LDs) に貯蔵される。 *Nicotiana benthamiana* の葉において一過性に発現させると、これらの SMT 融合タンパク質が網目状の ER 構造と一致して存在すること、さらに、ER 上に顆粒状の集積部位が存在することが観察された。SEIPIN や Oleosin などの LD 関連タンパク質との共局在観察を元に、SMT-vesicles と LD の間の脂質貯蔵機能に関する関連を考察する。

1Da-07

タバコ一過発現系を用いたスフィンゴ脂質分解酵素遺伝子の探索

Screening of genes encoding a sphingolipid catabolic enzyme by transient expression in tobacco

真田 昇¹, Rumana Yesmin Hasi², 田中 保², 今井 博之³, 宮城 敦子^{1,4}, 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・食料科学, ³甲南大・理工, ⁴山形大・農

グリコシルイノシトールホスホセラミド (GIPC) は、セラミド疎水骨格にリン酸イノシトールと糖鎖が結合したスフィンゴ脂質であり、植物に最も多く含まれるセラミド誘導体である。最近、GIPCのリン酸イノシトール間を切断してファイトセラミド 1-リン酸 (PC1P) を生成する GIPC-PLD 酵素活性が植物に存在することが発見された。動物のスフィンゴ脂質分解系はアポトーシス誘導などの重要な機能に与ることが知られているが、植物において GIPC 分解が担う役割はほとんどわかっていない。本研究では、植物 GIPC の分解機構とその生物学的意義を明らかにするため、GIPC-PLD 遺伝子の同定を目的に実験を行った。はじめに、LC-MS/MS を用いた PC1P の高感度定量法を確立し、シロイヌナズナに内在する GIPC と未同定酵素の反応によって PC1P が生成することを確認した。一方、ベンサミアナタバコでは同様の反応条件下で PC1P は生成されず、GIPC-PLD 活性をもたないと考えられた。そこで、アグロバクテリウムインフィルトレーション法によりベンサミアナタバコにシロイヌナズナの候補遺伝子を一過的に発現させ、PC1P の生成を指標に GIPC-PLD を探索する手法を考案した。この方法を用いて、これまでに GIPC-PLD 活性を示す酵素遺伝子をいくつか発見しており、本発表ではそれらの解析結果を報告する。

1Da-08

シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 のメチルグリオキサールシンターゼ (SII0036) の機能解析

Functional analysis of methylglyoxal synthase (SII0036) of the cyanobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803

艾克然木 卡得尔¹, 石川 優真², 山口 雅利¹, 石川 寿樹¹, 宮城 敦子^{1,3}, 川合 真紀¹

¹埼玉大学理工学研究科, ²ハインリッヒハイネ大学分子生理学研究所および植物科学の卓越性のクラスター(CEPLAS), ³山形大学農学部食料生命環境学科

メチルグリオキサール (MG) は、反応性が高いアルデヒドの一つで解糖系の副産物として酵素的又は非酵素的に合成される。酵素的経路ではメチルグリオキサールシンターゼ (MGS) がジヒドロキシアセトンリン酸を基質としてメチルグリオキサールを合成する。シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の遺伝子 *sII0036* は N 末端側に MGS モチーフ、C 末端側に NAD キナーゼ (NADK) モチーフを合わせ持つタンパク質をコードする。アミノ酸配列比較の結果、MGS は原核生物のみに存在し、その中でシアノバクテリアのみが MGS モチーフと NADK モチーフを合わせて持つ特徴を有することが示された。そこで、本研究では SII0036 のシアノバクテリアにおける生理機能を明らかにすることを目的として、*sII0036* 欠損株 ($\Delta 0036$) を作出し、増殖解析を行った。その結果、 $\Delta 0036$ は独立栄養条件下では野生株と増殖度は同等であるのに対して、グルコースを培地に含む混合栄養条件下では野生株より早い増殖を示した。一方、グルコースの代わりにマンニトールやソルビトールを含む培地では、野生株と $\Delta 0036$ は同等の増殖度を示した。また、SII0036 の NADK モチーフ内部には NAD 結合部位は保存されているが、ATP 結合部位が保存されなかった。さらに混合栄養条件下で $\Delta 0036$ の MG 含量が低下していたことから、*sII0036* は細胞内の栄養状態に反応して MG を合成し、グルコース存在下でシアノバクテリアの増殖を抑える役割を持つ可能性が示された。

1Da-09

油脂産生微細藻類ナンノクロロプシスの NAD(P)(H)合成経路の解析

Analysis of NAD(P)(H) synthesis pathway of oil-producing microalgae *Nannochloropsis*

林 英里香¹, 鈴木 耕陽¹, 宮城 敦子^{1,2}, 石川 寿樹¹, 山口 雅利¹, 川合 真紀¹

¹埼玉大・院理工, ²山形大・農

微細藻類ナンノクロロプシス (*Nannochloropsis*) はトリアシルグリセロール (TAG) を大量に合成できることから、バイオマス燃料生産生物として有望な種の一つである。TAG は、光合成で固定された炭素に由来する脂肪酸から合成される。脂肪酸合成には大量の還元力が必要である。NAD(P)(H)は様々な生体内酸化還元反応に関与する電子運搬体であり、ニコチンアミドモノヌクレオチドアデニル転写酵素 (NMNAT) および NAD⁺ 合成酵素 (NADS) により NAD⁺として合成される。NAD kinase (NADK) によりリン酸化された NADP⁺は光合成電子伝達系やペントースリン酸経路で NADPH へと還元される。NADPH は光合成や物質合成などの同化反応で使用されて NADP⁺へと酸化されるが、再還元されて NADPH へと戻る。本研究ではナンノクロロプシスの TAG 増産を最終的な目的として、NAD(P)(H)合成経路に着目し NADS, NMNAT, NADK, G6PDH の酵素活性および遺伝子発現解析を行った。 *N. oceanica* で TAG が蓄積する窒素欠乏条件において NAD(P)(H)の定量を行った結果、NAD(P)(H) 総量は窒素欠乏前期に増加し、後期には 0 時間後と同程度にまで減少した。また NMNAT, NADS, NADK, G6PDH の活性を調べた結果、いずれも窒素欠乏後期で高い活性を示したことから、NAD(P)(H)合成経路も TAG 合成経路の活性化と連動して変化していることが示された。

1Ea-01

トマチンによるトマト根圏微生物叢の形成と根分泌モデル実験系の構築

Analysis of tomatine-mediated formation of tomato rhizosphere bacterial community and construction of a model experimental device for root secretion

高松 恭子¹, 豊福 美和子¹, 奥谷 芙季¹, 中安 大¹, 山崎 真一², 青木 裕一², 小林 優³, 伊福 健太郎³, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹

¹京都大・生存研, ²東北大・ToMMo, ³京都大・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。トマト (*Solanum lycopersicum*) は、主要な二次代謝産物である α-トマチンを根から分泌し、スフィンゴモナス科のスフィンゴビウム属細菌を根圏で増加させる。この現象が普遍的であるかを調べるため、3つの異なる圃場土を微生物源として添加した土壌でトマトを3週間栽培した。それらの菌叢を解析したところ、すべての圃場土で根のスフィンゴビウム属細菌の増加が確認された。

時空間的に複雑に変動する根圏環境を精密に捉えるため、圃場やポット栽培での解析に加えて、根圏のモデル装置を使用した解析が求められている。そこで、根圏分泌モデル実験系として、ムライトセラミックチューブと豊浦砂を用いた実験装置を開発し、トマトの α-トマチンによる根圏微生物叢の形成の再現を試みた。本装置に 5%の圃場土と γ 線滅菌した豊浦砂を混合して充填し、中央に入れた疑似根のムライトセラミックチューブから ARE (artificial root exudate)、または ARE に α-トマチンを加えた溶液を土壌中に滲出させた。溶液を 14 日間添加した後、コルクボーラーを用いて中心から 5 mm 間隔で土壌をサンプリングした。土壌のトマチン量や菌叢を解析したところ、疑似根の近傍においてトマチン量の増加に伴い微生物量も増加した。さらに、トマトの根圏土壌と同様にスフィンゴビウム属細菌の相対存在量が、疑似根の周辺で増加した。以上より、本装置は根圏での代謝物を介した相互作用の解析に有用であることが示された。

1Ea-02

植物根から分泌されるサポニン類による根圏微生物叢形成の *in vitro* および *in silico* 解析

In vitro and *in silico* analysis of rhizosphere microbiota assembly mediated by saponins

山崎 真一¹, 中安 大², 青木 裕一¹, 矢崎 一史², 杉山 暁史²

¹東北大・ToMMo, ²京都大・生存研

植物の根から分泌される多様な代謝物は根圏での植物微生物相互作用に重要な役割を担う。近年、多様な構造の植物特化代謝産物（二次代謝産物）が根圏微生物叢の形成に関与することが報告されている。私たちのグループでは、ダイズ (*Glycine max*) やトマト (*Solanum lycopersicum*) の根分泌物に着目し、ダイズ根から分泌されるサポニンであるソヤサポニンや、トマト根から分泌されるサポニンである α -トマチンが根圏細菌叢を変化させることを明らかにした。これらのサポニンを試験管内の土壌に添加したところ、ともにスフィンゴモナス科の微生物を増加させたが、属レベルではソヤサポニンはノボスフィンゴビウム属、 α -トマチンはスフィンゴビウム属を増加させた。サポニン類の骨格構造と増加する微生物の関係を詳細に解析するために、種々のサポニン類の標品を試験管内の土壌に添加して培養した後、増加する微生物を 16S rRNA アンプリコン解析により調べた。さらに、サポニン類を根に蓄積する植物の根圏微生物叢について、公共データベース NCBI Sequence Read Archive に登録されている配列データを利用して統合的に再解析することにより、根に蓄積するサポニン類の化学構造と根圏に増加する微生物の関係を分析した。これら *in vitro* および *in silico* の解析により、根から分泌されるサポニン類の構造が根圏で増加するスフィンゴモナス科の属に影響を与えることが示唆された。

1Ea-03

トマト根由来スフィンゴビウム属細菌のサポニン分解酵素の機能解析

Characterization of saponin degradation enzymes in *Sphingobium* sp. from tomato roots

中安 大¹, 増田 幸子², 山崎 真一³, 青木 裕一³, 柴田 ありさ², 須田 互⁴, 白須 賢², 矢崎 一史¹, 杉山 暁史¹

¹京都大・生存研, ²理研・CSRS, ³東北大・ToMMo, ⁴理研・IMS

植物は根から周辺の土壌領域（根圏）に代謝物を分泌することで、根圏に生息する微生物と相互作用する。根分泌物は根圏において微生物の栄養源やシグナルとして機能し、根から離れた土壌とは異なる微生物の集団（微生物叢）を形成する。根圏微生物叢は植物の健全な生育にとって重要であり、植物特化代謝物（二次代謝産物）がその形成に関与することが報告されている。発表者らは天然の界面活性物質であるサポニンによる根圏細菌叢形成について研究を行っている。これまでに、ダイズ (*Glycine max*) とトマト (*Solanum lycopersicum*) がそれぞれ、ソヤサポニンとトマチンを分泌し、根圏細菌叢を変化させ、スフィンゴモナス科のノボスフィンゴビウム属、スフィンゴビウム属をそれぞれ増加させることを明らかにした。また、トマト根から単離したスフィンゴビウム属 RC1 株はトマチンを分解したが、ソヤサポニンを分解しなかった。RC1 株がトマト根圏で増殖するうえで、トマチン分解能が重要な役割を担っていると仮説を立て、RC1 株のトマチン分解酵素遺伝子の探索を行った。RC1 株の全ゲノム配列を決定し、アミノ酸相同性を基に候補遺伝子を選抜した。大腸菌組換えタンパク質を用いて酵素活性測定を行った結果、トマチンの糖加水分解とアグリコンであるトマチジンの脱水素を触媒する酵素を複数同定した。続いて、公共データを活用してスフィンゴビウム属のパングenom解析を行った結果、同定した酵素は RC1 株を含む特定の株のみに存在することを見出した。以上より、スフィンゴビウム属の一部がトマトと共存するために、トマチン分解能を獲得したことが示唆された。

1Ea-04

ダイズ根から根圏へのイソフラボン分泌を促進するアポプラスト局在の β -グルコシダーゼの解析

Analysis of an apoplastic β -glucosidase facilitating isoflavone secretion from soybean roots into the rhizosphere

松田 陽菜子¹, 山崎 由実¹, 森吉 英子¹, 中安 大¹, 山崎 真一², 青木 裕一², 高瀬 尚文³, 岡崎 伸^{4,5}, 永野 惇^{6,7}, 加賀 秋人⁸

¹京大・生存研, ²東北大・メディカル・メガバンク機構, ³京大先端科学大・バイオ環境, ⁴農工大・院農, ⁵農工大・院連合農, ⁶龍谷大・農, ⁷慶応大・先端生命科学研, ⁸農研機構

ダイズが根から分泌するイソフラボンは、根粒菌との共生シグナルやダイズ根圏微生物叢を調節する因子として機能することが知られるが、その分泌機構は十分に明らかにされていない。イソフラボンはダイズ根内では主に配糖体として、根圏土壌では主にアグリコンとして蓄積する。ダイズ根のアポプラストには、イソフラボン配糖体をアグリコンへと加水分解する β -グルコシダーゼ (Isoflavone conjugate-hydrolyzing β -glucosidase, ICHG) が局在することから、本酵素がイソフラボン分泌に関与する可能性が示唆されてきた。本研究では、ICHG のイソフラボン分泌における役割を明らかにするために、ダイズの EMS 変異体ライブラリーから ICHG 活性を欠損した 2 種類の独立した変異体を得た。戻し交雑と自殖により得られたホモ接合型の *ichg* 変異体と ICHG 野生型 (WT) を用いて、RNA-seq、イソフラボン定量解析、16S rRNA アンプリコン解析、根粒形成能の評価に供した。根全体、根アポプラスト、および根圏土壌のイソフラボンアグリコン含量は *ichg* 変異体で有意に減少した。イソフラボン配糖体は、根アポプラストでの有意な増加が認められたが、根圏土壌では差異が認められなかった。根圏土壌中の主要なイソフラボンの総量は *ichg* 変異体で有意に減少した。以上から、ICHG による脱糖化反応がダイズ根圏へのイソフラボン分泌を促進することが示唆された。*ichg* 変異体の根と根圏土壌中のアグリコン量は減少したが、根・根圏細菌叢および根粒形成能には *ichg* 変異体と WT で差が認められなかった。現在は、イソフラボン分泌量が増加する窒素欠乏条件下でのイソフラボン分泌および生物間相互作用における ICHG の役割を解析中である。

1Ea-05

ヨモギの虫こぶ形成の共通基盤と多様性を理解する

Common basis and diversity of different galls on *Artemisia* plants

竹内 さくら¹, 余座 万紀子², 前野 哲輝³, 武田 征士¹

¹京都府立大・院生命環境科学, ²京都府立大・院生命環境科学(卒業生), ³国立遺伝学研究所・細胞建築研究室

昆虫が植物に寄生して形成させる虫こぶは、寄生昆虫にとって食・住を賄うものであり、宿主植物や寄生昆虫の種類によって形態は多様性に富む。虫こぶは、寄生生物が宿主植物の遺伝子を操作することで形成される特殊な植物組織である。このことから、虫こぶの形成メカニズムを解明することで、新たな植物改変技術を開発することを目指している。先行研究から、虫こぶでは、葉のような「ソース（生産）器官」から養分を蓄積する「シンク（蓄積）器官」への転換が起こっていることが分かってきた。本研究では、同じ宿主植物（ヨモギ）に作られる 5 種類の多様な形態の虫こぶを材料に、虫こぶ形成における共通基盤と、形態の多様性を生み出すメカニズムを明らかにする。マイクロ CT を用いた構造解析から、虫こぶ内には宿主植物から繋がる維管束ネットワークが構築されていることが分かった。RNA-seq を用いたトランスクリプトーム解析から、ヨモギに作られる 5 種類すべての虫こぶ組織において、1,321 個の遺伝子の発現量がコントロール組織に比べて高発現していた。そのうち、転写因子は 13 個であり、その中で特に花器形成に関わる AGAMOUS (AG) に注目した。AG は花のクラス C ホメオティック遺伝子であり、雄しべと雌しべのアイデンティティ決定に関与していることが知られている。このことは、通常植物で行われる「葉の環境知覚→開花因子発現と茎頂への輸送→花芽形成遺伝子の発現→花器形成遺伝子の発現」の大部分が、虫こぶではスキップされ、葉や茎でいきなり花器形成遺伝子を発現させていることが示唆される。この遺伝子発現制御機構を明らかにすることで、新しい植物組織改変の技術が開発できると考えられる。

1Ea-06

ミドリサンゴの乳管細胞で高発現する新規な抗昆虫タンパク質の探索

Anti-insect activity of a protein highly expressed in laticifer of *Euphorbia tirucalli*

谷 尚樹¹, Eric Hyrmeya Savadogo¹, 秋野 順治¹, 吉田 英樹¹, 三浦 謙治², 平良 東紀³, 北島 佐紀人¹

¹京工織大・応用生物, ²筑波大・生命環境, ³琉球大・農

植物の乳管細胞の細胞質成分(乳液)には抗生物ストレス防御に関わる代謝物やタンパク質が大量に蓄積されている。我々は以前、ミドリサンゴ (*Euphorbia tirucalli*, トウダイグサ科) の乳液中に、レクチン、キチナーゼ、ペルオキシダーゼなどの抗生物ストレス防御に関わるタンパク質が多く存在することを報告した (Kitajima et.al 2016)。また、RNA レベルでは多数の機能未知タンパク質遺伝子が高発現しており、これらのうち ATS3 (Embryo-specific protein 3) については抗昆虫機能を報告した (Savadogo et.al 2021)。また、種子のオイルボディの構成因子として知られるカレオシンのホモログ (EtCLO) 遺伝子も高発現していたので、本研究ではこの EtCLO が抗昆虫機能を有するかを検証した。

EtCLO の cDNA を一過的タンパク質大量発現系「つくばシステム」ベクター (pBYR2HS) に組み込み、アグロインフィルトレーション法によってベンサムアナタバコ (*Nicotiana benthamiana*) で一過的に発現させた。タンパク質の発現は抗体を用いて確認した。EtCLO が一過的に発現した葉を、農業害虫ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*, チョウ目ヤガ科) の 1 齢幼虫に給餌し、6 日間の飼育後に体重を測定した。その結果、コントロール区に比べて EtCLO 給餌区において幼虫の有意な成長遅延が確認され、これにより EtCLO が抗昆虫機能を有することが示唆された。他の植物のカレオシンホモログの一部でも同様の結果が観察されたことから、この抗昆虫機能は植物種を超えて保存されたカレオシンの機能であると考えられた。

1Ea-07

Nicotiana benthamiana 植物由来ホスホリパーゼ C4 は過敏感反応を負に制御する

Phosphatidylinositol-phospholipase C4 negatively regulates the hypersensitive response in *Nicotiana benthamiana*

木場 章範¹, 福井 諄子¹, 大西 浩平², 曳地 康史¹

¹高知大・農林, ²高知大・総研セ

植物は病原体の認識後、細胞内情報伝達経路を介して免疫応答を調節する。これまでに、*Nicotiana benthamiana* (Nb) と青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* (Rs) を用いた解析から、リン脂質代謝酵素の一つであるホスホリパーゼ C (PLC) が、植物の免疫応答の調節に関与することを見出してきた。Nb のゲノムには 7 種の PLC が存在する。これら 7 種の NbPLC のうち NbPLC2 は、基礎的な抵抗性の誘導に関与する。一方、NbPLC1 は過敏感反応 (HR) を抑制する役割を持つ。このように、NbPLC のファミリーごとに免疫制御における役割が異なるため、全ての NbPLC の機能を解析する必要がある。そこで、本研究では、NbPLC4 の Rs に対する免疫応答のうち、HR 制御における役割を解析した。Nb のゲノム中に NbPLC4 は 2 コピー存在した (*NbPLC4-1* と *NbPLC4-2*)。ウイルス誘導性ジーンサイレンシング法 (VIGS 法) を用いて、*NbPLC4-1* と *NbPLC4-2* の発現をそれぞれ抑制した VIGS 植物を作製した。Nb に HR を誘導する Rs8107 株を接種し、菌数測定、細胞死の測定、細胞死のマーカー *hin1* の発現量を解析した。コントロール植物と比較して両 VIGS 植物では、菌数の有意な減少、細胞死の有意な促進、*hin1* の有意な発現上昇が認められた。これらの結果から、NbPLC4-1 と NbPLC4-2 は HR を抑制していることが示唆された。さらに、両 VIGS 植物とも、Rs8107 接種による活性酸素種 (ROS) の生産が劇的に増加し、ジャスモン酸 (JA)、サリチル酸 (SA) のマーカー遺伝子である *PR-1*, *PR-4* の発現上昇が認められた。以上の結果から、NbPLC4-1 と NbPLC4-2 は、協調的に働くことで、JA, SA, ROS 経路に作用し、HR を負に調節していることが示唆された。

1Ea-08

オクトリカプト培養苗のアコニチン類産生に対するトリカプト潜在ウイルスの影響

Effects of aconitum latent virus on aconitine alkaloids production by cultured plants of *Aconitum japonicum*

川上 寛子¹, 田代 史晶¹, 今 辰哉¹, 阿部 遥貴¹, 岩井 一真¹, 太田 李紀¹, 河下 美都里², 櫻井 美希², 藤 晋一¹

¹秋田県立大・生物資源, ²ツムラ・生薬

オクトリカプト (*Aconitum japonicum*) は強心、鎮痛などの薬効を有する重要な生薬原料である。アコニチンやメサコニチン、ハイパコニチンなどのアコニチン類を主成分として含有する。我々は国内で栽培される本植物体の多くにウイルスが感染することを確認しているが、成長や成分産生への影響はわかっていない。そこで、本研究ではウイルスフリー苗を確立し、ウイルスがオクトリカプトの成分産生に与える影響を明らかにすることを目的とした。

オクトリカプト葉原基を材料に用いて培養苗を誘導した後、葉から RNA を抽出し、RT-PCR で Aconitum latent virus (トリカプト潜在ウイルス, AcLV), Potyvirus (PV) 属, Cucumovirus (CV) 属に特異的な配列を増幅させ、電気泳動によってバンドを確認した。その後、ウイルスフリー (VF) 苗とウイルス感染苗を 1 ヶ月間培養し、アコニチン類含有量を比較した。さらに、AcLV の転写 RNA をウイルスフリー苗に接種した後 1 ヶ月間培養し、培養苗の地上部と地下部に分け、アコニチン類含有量を接種区と対照区で比較した。

培養苗のウイルス検定の結果、VF 苗の他に AcLV が感染する苗が得られ、葉の奇形や黄化、葉脈えその病徴を確認した。AcLV 感染苗では僅かに地上部のアコニチン含有量が増加する傾向が見られた。さらに、VF 苗に対して AcLV の転写 RNA を接種したところ、接種苗全体でアコニチン類が増加した。本研究で初めて AcLV 感染によりアコニチン類生産が促進される可能性を見出した。

1Ea-09

イネに内生する放線菌エンドファイトのイネ生育促進効果

Characterization of promotion effects of an endophytic actinobacterium on the rice growth

鄭 貴美^{1,2}, 菅野 学^{1,2}, 大沼 万里子¹, 坂本 真吾^{1,2}, 玉木 秀幸^{1,2}, 光田 展隆^{1,2}

¹産総研・生物プロセス, ²産総研・ゼロエミ

植物の生活環は共生する微生物によって様々な影響を受けていると考えられるが、植物・微生物相互作用の実態は未だ不明な点が多い。植物共生微生物のうち植物内部に存在する内生菌 (エンドファイト) の一部は植物の成長促進作用を有することが報告されている。本研究では、イネの内生菌として単離された放線菌をイネの発芽初期の段階から土の中で共培養させることで、イネの成長に与える影響を調べた。その結果、放線菌のイネの地上部と根における定着を確認するとともに、バイオマス増産効果を有することが明らかとなった。現在、この放線菌株の共存に伴うイネの遺伝子発現変動解析を進めており、これらの結果に基づき、本株の作用機構を明らかにしてゆく予定である。

1Ea-10

シソのトライコームへのシソ苗立枯病原菌の感染様式

Infection pattern on trichome of shiso by the damping-off pathogen *Pythium myriotylum*

川澄 留佳, 山口 夕, 東條 元昭

大公大・院農学

背景・目的: シソ (*Perilla frutescens* var. *crispa*) に経済的な被害をもたらす新病害であるシソ苗立枯病を最近報告した (Kawasumi *et al.* 2022). この研究の過程でシソ苗立枯病菌の *Pythium myriotylum* がシソの苗の茎部分のトライコームに感染する様子が観察された. 一般的にトライコームは毛状に突出した特殊な構造であり, 植物が病害虫や物理的・化学的に不適な環境に対抗するための構造と考えられている. *Pythium* 属菌やその近縁属が植物のトライコームに感染することはこれまでいくつかの報告があるが (Chérif *et al.* 1992, Kim 2019), 感染様式の詳細は不明である. シソは毛状のトライコームとは別に球状の分泌トライコームを持っている. シソの香り成分であり抗糸状菌活性を示すペリルアルデヒドなどの2次代謝産物が分泌トライコームに蓄積されることが分かっている (小田ら 1982, Hallahan 2000). そこでこの研究では, シソのトライコームに対する *P. myriotylum* の感染様式を明らかにするために, ペリルアルデヒドの含量が異なる16系統のシソを用いてトライコームへの感染様式の比較を行っている.

方法・結果: 分泌トライコームはシソの葉の裏に多く存在する. そこで寒天培地を用いて28°Cで1週間培養した *P. myriotylum* の寒天片をシソの葉の裏に静置した. しかし病徴は確認できず, 分泌トライコームへの感染も確認できなかった. 播種後4週間のシソの葉を用いたため, 植物側の抵抗性が十分であり本病原菌が感染できなかった可能性が考えられる. 今後, 葉裏への有傷接種あるいは幼苗期の接種を行い, トライコームへの感染を指標として16系統のシソの病害抵抗性を検証していきたい.

2Aa-01

機能性成分原材料としての利用に向けた青パパイヤ未利用部位の解析

Metabolome analysis of underutilized parts of unripe papaya for utilization as phytochemicals source

解良 康太¹, 平賀 靖英^{2,3}, 荒 武², 佐藤 菜央⁴, 秋元 奈弓², 杉山 健二郎⁴, 鈴木 秀幸^{2,3}

¹東農大, ²(公財)かずさDNA研, ³(株)平田機工, ⁴工学院大

【目的】

一般に, フルーツとして知られているパパイヤであるが, 東南アジアを中心として未成熟果実 (青パパイヤ) を野菜として食べる文化も存在する. 青パパイヤ果実にはほとんど苦みがないが, 果皮は非常に苦いため, 大半が廃棄されている. また, 日本国内では, 関東や東北地方など温帯地域でも青パパイヤの露地栽培がおこなわれているが, 露地栽培では越冬が困難であるため, 毎年, 葉や茎 (幹に見える部分) などが多く廃棄されている. これら, 通常廃棄される未利用部位を有効利用するために, 網羅的成分解析 (メタボローム解析) によって機能性成分の探索を行った結果について報告する.

【方法】

市販の青パパイヤと完熟パパイヤの果皮と果実から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. ベンジルグルコシノレートは, 青パパイヤの乾燥粉末から50%メタノールで抽出後, HPLCにて定量した.

【結果】

メタボローム解析から, 機能性成分であるカルパインの誘導体が青パパイヤの果皮に多く存在することが明らかになった. また, 成熟過程でカルパイン誘導体が減少していた. このことから, カルパイン誘導体の原材料としては, 完熟パパイヤの果皮よりも青パパイヤ果皮の方が優れていることが示唆された. マカ植物の機能性成分として知られるベンジルグルコシノレートについて測定したところ, パパイヤの茎に, マカ植物と同等以上の量が含まれていることが示唆された. このことから, サプリメントなどの機能性マカ成分の国産原材料としてパパイヤの茎が利用可能である可能性が示された.

2Aa-02

スイートピーの花色素合成に関わる補足遺伝子 P の調査

Investigation of complementary gene P related to synthesis of flower pigment in sweet pea

加藤 舞¹, 勝間田 やよい², 柳下 良美³, 中山 真義⁴, 宮原 平¹

¹千葉大・院園芸, ²神奈川県農技セ・生産技術, ³神奈川県農技セ・企画経営, ⁴農研機構・野菜花き研究部門

スイートピー (*Lathyrus odoratus*) の花では遺伝子 P と遺伝子 C の両方が顕性の際にアントシアニンの合成が促進され、花弁が有色になり、どちらか一方が潜性ホモであれば花弁は白色になる。両遺伝子は補足遺伝子と呼ばれ、スイートピーのアントシアニン合成に関与することが示されているが、遺伝子配列および機能は未だ同定されていない。そこで本研究ではスイートピーの補足遺伝子である遺伝子 P の同定を目的とした。これまでの育種から、遺伝子型が既知である品種、ダイアナ (有色)、ダイアナホワイト (白色)、イースターパレード (白色)、スプラッシュブルー (有色・刷毛目模様) を実験に使用した。各品種の旗弁に含まれるフラボノイドを解析したところ、有色品種ではフラボノールとアントシアニンが検出されたが pp 潜性ホモ品種 (pp 品種) ではフラボノールのみが検出された。このため、pp 品種ではフラボノールまでの合成経路は正常に機能していると考えられた。また、旗弁のトランスクリプトームデータから、遺伝子 P および遺伝子 C が顕性である有色品種と、pp 品種の群間比較より発現変動遺伝子 (DEGs) を調査した。その結果、DEGs としてアントシアニン合成酵素遺伝子の CHS, DFR, ANS, GST と転写調節因子である MYB, bHLH が挙げられた。DFR, ANS, GST はアントシアニン合成後期段階の酵素遺伝子であり、MYB や bHLH により発現が制御されることが知られている。これらの遺伝子は pp 品種で顕著に発現が抑制されることから、補足遺伝子 P はアントシアニン合成の後期段階に関わる遺伝子であると考えられた。

2Aa-03

Rheum rhabarbarum のフラボノイド・スチルベン配糖化酵素の機能解析

Characterization of flavonoid/stilbene glycosyltransferase genes from *Rheum rhabarbarum*

安田 彩乃, 浅井 恒志, 牧野 利明, 寺坂 和祥

名市大・院薬

Rheum rhabarbarum は、*Rheum* 属植物の食用栽培種で、生薬ダイオウの基原植物 *R. palmatum* の近縁種である。*R. rhabarbarum* には、アントラキノンやフラボノイド、スチルベンなどの様々な二次代謝産物配糖体が含まれている。これまでに、これらの配糖体生合成を担う植物二次代謝糖転移酵素を明らかにするため、*R. rhabarbarum* 由来の配糖化酵素の単離を行い、アントラキノン類に対する配糖化活性を報告してきた。本研究では、それらの詳細な機能解析を行い、*R. rhabarbarum* での役割を明らかにすることとした。

R. rhabarbarum から単離した二次代謝糖転移酵素遺伝子 (UGT71U12 と UGT95D5) を、大腸菌で発現させ、精製酵素を得た。得られた酵素の配糖化活性を解析した結果、UGT71U12 は、特に quercetin に対して高い活性を示し、quercetin の 3 位に高い特異性を示した。一方、UGT95D5 はフラボノイド類およびスチルベン類に対して幅広く高い活性を示した。次に、qRT-PCR 法により植物体における遺伝子発現について解析したところ、UGT71U12 は葉柄および葉において発現が高く、UGT95D5 は実生以外で発現が高かった。さらに、植物体における二次代謝産物配糖体の蓄積を解析した結果、quercetin の 3 位配糖体は葉や葉柄において高く蓄積しており、rhaponticin をはじめとするスチルベン類の配糖体は根および根茎に多く蓄積されていた。これらの結果から、*R. rhabarbarum* 植物体において、UGT71U12 が quercetin の 3 位配糖体の生合成に関わっていることが推定された。一方、UGT95D5 は植物体の様々な組織でスチルベン類やフラボノイド類の配糖化に関与していると考えられた。

2Aa-04

低シュウ酸含量ホウレンソウの分子育種に向けたターゲット遺伝子の探索

Identification of target genes reducing oxalate accumulation in Spinach using VIGS

市川 翔哉¹, 石橋 和太², 古庄 律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, ³東京農大・食農

ホウレンソウはビタミン類を多く含むなど、栄養価の高い野菜であり、世界中で食されている野菜である。一方、ホウレンソウは大部分の作物と比較してシュウ酸含量が高く、尿中のシュウ酸を増加させて腎結石形成に寄与する可能性がある食品として知られており、その低シュウ酸化が望まれている。そこで本研究では低シュウ酸含量ホウレンソウの分子育種を目的とし、ウイルス誘導ジーンサイレンシング (VIGS) 法によるターゲット遺伝子の探索、および形質転換系の検討を行った。ターゲット遺伝子の探索については、シロイヌナズナなどのモデル植物において報告のあるシュウ酸生成関連遺伝子のホウレンソウホモログを対象とした。VIGSを試みた結果、各ターゲット遺伝子において複数系統の発現抑制に成功した。シュウ酸含量を測定したところ、1つの遺伝子においてシュウ酸含量の低下が複数系統で認められた。複数のホウレンソウ品種で同様の効果が得られるか検討したところ、供試した3品種において当該遺伝子のVIGSによるシュウ酸含量の低下が認められた。以上の結果から、当該遺伝子がホウレンソウの低シュウ酸化に向けたターゲット遺伝子になり得ることが示唆された。形質転換系については、種子滅菌・カルス誘導・再分化・発根・アグロバクテリウムについて、それぞれ検討を行った。現在、カルス誘導から再分化による個体再生まで至ったものの、形質転換系は未確立であり、検討中である。

2Aa-05

キンギョソウにおける *p*-クマル酸 3 位水酸化酵素の探索

Exploring *p*-coumaric acid 3-hydroxylase in snapdragon

垣生 大希, 斎藤 泰知, 和氣 駿之, 高橋 征司, 中山 亨

東北大院・工

キンギョソウ (*Antirrhinum majus*) 花卉の黄色呈色は、フラボノイドであるオーロンの蓄積に起因している。一般的に、多くのフラボノイドはテトラヒドロキシカルコン (THC) から誘導されるが、オーロン合成の主要前駆体はペンタヒドロキシカルコン (PHC) であることが想定されている。キンギョソウのPHCはカフェオイル CoA を開始基質とした chalcone synthase の作用により *de novo* 合成されると考えられ、カフェオイル CoA の供給経路の解明が求められてきたが、その経路には不明な点が多く存在する。最年、*p*-クマル酸からカフェオイル CoA の前駆体であるカフェ酸を生成する 4-coumarate 3-hydroxylase (C3H) がいくつかの植物種から同定された。そこで本研究ではカフェオイル CoA 供給経路の解明を目的とし、キンギョソウにおける C3H の探索を行った。まず、キンギョソウのゲノムデータベースより既知の C3H とアミノ酸配列相同性が高い2つの遺伝子を選抜した。これらをクローニングしたのち、大腸菌組換え酵素を調製して活性測定を行ったが、C3H 活性は検出されなかった。キンギョソウ花卉の粗酵素溶液からはアスコルビン酸依存的な C3H 活性が検出できたことから、この活性を指標に酵素精製により目的の酵素の同定を試みた。約 200 g の花卉から粗酵素溶液を調製し、各種クロマトグラフィーにより酵素精製を行った。最終精製画分の SDS-PAGE から、主要なタンパク質バンドを切り出し LC-MS/MS 解析により複数の C3H 候補遺伝子を見出した。現在、これらの候補遺伝子の大腸菌異種発現の検討および活性測定を行っている。

2Aa-06

ベニバナ (*Carthamus tinctorius* L.) 由来 UDP 糖依存性グリコシルトランスフェラーゼホモログの酵素機能解析

Functional characterization of UDP-sugar-dependent glycosyltransferases in safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

門脇 芽以¹, 和氣 駿之¹, 藤田 直樹², 福田 敬志², 加藤 幹也², 根岸 尚志³, 内田 弘美³, 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

ベニバナ (*Carthamus tinctorius* L.) は黄色・紅色色素や食用油の原料として古くから栽培されてきたキク科ベニバナ属の植物である。多様なフラボノイド配糖体を蓄積することが知られており、その花弁には Hydroxysafflor yellow A および Safflor yellow B を代表とするベニバナ特異的なキノカルコン骨格を有する C 配糖体、また、フラボノールの 3-glucoside や 3,6-diglucoside 3-rutinoside などの O 配糖体が高蓄積している。一方、葉においてはフラボンおよびフラボノールの 7-glucoside および 7-malonylglycoside といった O 配糖体が高蓄積している。本研究ではこれらフラボノイド配糖体の生合成に寄与する UDP 糖依存性グリコシルトランスフェラーゼ UGT の網羅的な探索を行ったベニバナ花弁および葉から total RNA を抽出して RNA-seq を行い、遺伝子カタログおよび遺伝子発現プロファイル、系統解析をもとにベニバナ花弁で高発現している 5 つの UGT 候補遺伝子 *UGT1*~*5* を選抜した。これら候補遺伝子を His-tag 融合タンパク質として大腸菌菌体内に異種発現させニッケルアフィニティークロマトグラフィーにより精製した。糖供与体として UDP-グルコースを、糖受容体として各種フラボノイドを用いて反応させ、反応生成物を LC-MS で分析した。その結果、*UGT3* はフラボノールである Kaempferol および Quercetin に特異的な活性を示し、3-O-glucoside を生成することが明らかになった一方 *UGT1,2,4* は糖受容体特異性が低く *UGT2* は一糖配糖体だけでなく多糖配糖体化を触媒することが明らかになった。

2Aa-07

出芽酵母を用いたフラボノイド生産に及ぼす Chalcone isomerase-like protein の影響

Effect of Chalcone isomerase-like protein on flavonoid production in yeast

佐野 友哉¹, 和氣 駿之¹, 藤田 直樹², 福田 敬志², 加藤 幹也², 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)

フラボノイド生合成は、代謝酵素群のタンパク質間相互作用を介した解離・会合による効率化が提唱されている。これまでに我々は Chalcone isomerase-like protein (CHIL) がフラボノイド生合成の初発酵素である Chalcone synthase (CHS) と相互作用することを見出し、*in vitro* アッセイにおいて、CHIL は CHS が触媒する反応の副生成物 (*p*-coumaroyltriacetic acid lactone, CTAL) の生成を抑制し、主生成物である 2',4,4',6'-tetrahydroxychalcone (THC) の生成量を増加させることを明らかにした。CHIL の欠損または抑制はフラボノイド蓄積量を大きく減少させることも報告されており、CHIL は CHS の活性制御を介してフラボノイド生合成に重要な役割を果たすことが明らかになってきた。しかし、微生物によるフラボノイド生産に与える CHIL の影響はほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) によるフラボノイド生産に与える CHIL の影響を解析した。始めに Tyrosine から THC を生産する酵母株の構築を行った。*Herpetosiphon aurantiacus* 由来の Tyrosine ammonia-lyase (HaTAL) およびダイズ (*Glycine max*) またはベニバナ (*Carthamus tinctorius*) 由来の 4-Coumarate-coenzyme A ligase (4CL)、CHS をまとめて挿入した酵母発現用ベクターと、追加で CHIL を挿入したベクターをそれぞれ作製し、出芽酵母 BY4741 株を形質転換した。HPLC および LC-MS により代謝物解析を行ったところ、形質転換した酵母の培養液から THC および CTAL を検出した。CHIL 導入株では、CTAL に対する THC の生成比率が大きく増加し、CHIL は酵母を用いたフラボノイド生産の効率化に寄与することが示唆された。

2Aa-08

補酵素 A によるカルコン合成酵素の阻害機構

Inhibition mechanism of chalcone synthase by CoA-SH

和氣 駿之¹, 土井 大和¹, 宇野 海地¹, 山田 彩友美¹, 今泉 璃城², 高橋 征司¹, 山下 哲², 中山 亨¹

¹東北大院・工, ²金沢大院・自然科学

フラボノイドは陸上植物に普遍的に蓄積する植物特化代謝産物であり、その生合成の初発物質であるカルコンは、III型ポリケチド合成酵素 (PKS) に分類されるカルコン合成酵素 (CHS) により合成される。CHS は開始基質である *p*-クマロイル CoA に伸長基質であるマロニル CoA の C₂ 単位を 3 回縮合してテトラケチド中間体を形成した後、クライゼン縮合による閉環反応を触媒することにより 1 分子のテトラヒドロキシカルコン (THC) と 3 分子の二酸化炭素、4 分子の補酵素 A (CoA-SH) を生成する。また、組換え酵素を用いた *in vitro* 反応においては、主生成物である THC とともにテトラケチド中間体の閉環様式の異なる副生成物 (*p*-クマロイルトリ酢酸ラクトン, CTAL) も多量に生成する。これまでに我々は、CHS との相互作用タンパク質であるカルコン異性化酵素類似タンパク質 (CHIL) が CHS 反応における CTAL 生成を抑制し THC の生成量を増強することを明らかにした。本研究では、CHIL の作用機序を解明することを目的として、CHS 反応において多量に遊離し CHS の阻害剤としても報告されている CoA-SH に着目して、CoA-SH による CHS 反応の阻害様式を解析した。大腸菌組換え CHS を用いた *in vitro* アッセイ系に CoA-SH を添加して反応生成物を HPLC により定量した。その結果、CoA-SH は THC の生成を阻害する一方、CTAL の生成は阻害しないことが示され、CoA-SH はテトラケチド中間体のクライゼン縮合を特異的に阻害することが示唆された。本発表では、CHS の X 線結晶構造解析から、CoA 結合に重要なアミノ酸残基をアラニンに変異させた CHS 変異体に対する CoA-SH および CHIL の影響についても報告し、CHS 反応における CoA-SH 阻害機構に関して議論する。

2Aa-09

スイートクローバー (*Melilotus alba*) のクマリン生合成に関与する β-グルコシダーゼの機能解析

Functional analysis of β-glucosidase involved in the coumarin biosynthesis in *Melilotus alba*

羽鳥 友稀¹, 佐藤 春果¹, 田口 悟朗^{1,2}

¹信州大院・総合理工, ²信州大・繊維・応生

スイートクローバー (*Melilotus Alba*) はマメ科の 1~2 年草植物であり、葉に大量のクマリンが蓄積し、特有の香気成分を発することから、古くから牧草や香料、医薬品として利用されてきた。スイートクローバーでは、クマリン、*o*-クマル酸グルコシド (*o*-CAG) を経て、β-グルコシダーゼ (BGL) による加水分解を受けることで生合成されると考えられているが、この生合成に関与する BGL はまだ同定されていない。これまでに我々は、BGL 候補遺伝子 (MaBGL1-3) を獲得したが、異種宿主発現に成功せず機能解析には至っていなかった。また、葉から部分精製した酵素の LC-MS/MS 解析により、BGL1 がクマリン生合成に関与することが示唆されている。そこで、本研究では BGL の基質となる *cis-o*-CAG をスイートクローバー植物体から単離し、植物体から部分精製した酵素、および大腸菌で異種宿主発現させた酵素を用いて、BGL の機能解析を試みた。

スイートクローバーの葉のメタノール抽出画分から精製を行い、*cis-o*-CAG を単離した。葉から部分精製した酵素は、特に *cis-o*-CAG に対して高い活性を示し、クマリンを生成した。さらに、N 末端に存在するシグナル配列を除去した BGL1 を作成したところ、β-グルコシダーゼ活性を示した。特に、*cis-o*-CAG に対して高い特異性を示したことから、BGL1 はクマリン生合成に寄与することが強く示唆された。さらに、基質特異性や pH 依存性、温度依存性などの諸性質の調査を行った結果について報告する。

2Aa-10

ワサビの isosaponarin 生合成に関与する配糖化酵素の解析

Characterization of glucosyltransferases involved in isosaponarin biosynthesis in *Eutrema japonicum*

庄司 のえみ¹, 秦野 真優¹, 前田 陽香², 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*) は葉などにフラボン配糖体である isosaponarin を蓄積する。isosaponarin はコラーゲン生産促進作用や毛乳頭刺激作用が報告され、その機能が注目されている。その生合成は、apigenin の 6 位が C-配糖化されて isovitexin が生成し、さらにその 4' 位が O-配糖化されて isosaponarin が生成すると考えられる。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、その反応性を解析した。¹ 一方、2 段階目の O-配糖化反応はアシルグルコース依存型配糖化酵素 (AGT) により進行することが示唆されたが、候補遺伝子の大腸菌による異種宿主発現がうまくいかず、どれが目的の AGT であるか不明であった。² 本研究ではこの AGT の探索を進めた。ワサビの葉から部分精製した酵素を LC-MS/MS 解析したところ、WjAGT2 と一致する配列が確認された。そこでベンサムアタバコ発現系を用い、AGT 候補遺伝子の異種宿主発現を試みたところ、WjAGT2 が sinapoyl glucose を糖供与体として、isovitexin の 4' 位を配糖化する活性を示した。一方、他の候補は AGT 活性を示さず、WjAGT2 がワサビの isosaponarin 生合成を担う AGT であることが示唆された。この酵素の基質特異性などの性質を調査したので報告する。

¹Mashima et al. (2019) Plant Cell Physiol 60 2733. ²秦野, 田口 (2017) 日本植物細胞分子生物学会 (さいたま) 大会講演要旨集 p.138

2Aa-11

Bioconversion of phenolics and flavonoids to their glucosides using *E. coli* expressing tobacco-derived glucosyltransferases

Nasanjargal Dorjjugder, Goro Taguchi

Graduate School of Medicine, Science, and Technology, Shinshu University

Glycosylation is one of the most important reactions to enhance the solubility of secondary metabolites; furthermore, it increases stability and alters bioactivity. In this study, we attempted to produce mono- and di-glucosides of flavonoid and phenolic compound using *Escherichia coli* expressing tobacco-derived glucosyltransferases. Ec-NtGT2 system (*E. coli* expressing flavonoid 7-O-glucosyltransferase, NtGT2) converted flavonoids into their 7-O-glucosides in 1 h with conversion rates of 67–98%, and the production yield increased by sequential administration. Ec-NtGT3 system (*E. coli* expressing phenolic glucosyltransferase, NtGT3) converted flavonols and phenolic compounds into flavonol 3-O-glucosides and phenolic glucosides, respectively with conversion rates of 75–96%. *E. coli* expressing NtGT3 and NtGGT2 (phenolic glucoside 1,6-glucosyltransferase) converted phenolic compounds into their gentiobiosides with conversion rates of 35–56%. Similarly, *E. coli* cells with NtGT2 and NtGGT2 converted flavonoids into their di-glucosides (a high possibility is 7-O-gentiobiosides) with conversion rates of 14–31%. The mono-glucosides of flavonoid and phenolic compound were efficiently produced using *E. coli* systems; moreover, some gentiobiosides were attempted to produce in similar ways.

2Ba-01

葉器官の代謝リプログラミングに着目した細胞数と細胞サイズの協調を担う鍵代謝産物の同定

Metabolic reprogramming generates a key metabolite that coordinates cell number and size during leaf morphogenesis in *Arabidopsis*

多部田 弘光^{1,2,3}, 佐藤 心郎², 郡司 玄², 塚谷 裕一⁴, 平井 優美², フェルジャニ アリ³

¹東大・院・総合文化, ²理研CSRS, ³学芸大・院・生命科学, ⁴東大・院・理学

葉面積は、細胞分裂により増殖する細胞の数と、細胞伸長により決定する細胞の大きさに左右される。有限成長器官である葉の面積は一定に保たれており、それを象徴するように細胞分裂能の低下を葉肉細胞の顕著な肥大によって補う現象「補償作用」が知られている。この現象は、依然未解明である「器官形成における細胞の数と大きさの協調性制御」を解明する鍵として注目されている。近年、補償作用を示す *fugu5* 変異体を解析に用いたことで、発芽時の代謝異常が分裂能低下をもたらし、非活性型オーキシンが代謝変換され活性オーキシン量が増加することで補償的細胞肥大 (CCE) が生じると明らかになった。*fugu5* における細胞数の減少と CCE はどちらも代謝制御を介して引き起こされるため、葉面積の協調は代謝ネットワークの制御下にあると示唆されている。

そこで本研究では葉面積制御機構の解明を目的に、上述の代謝ネットワークのメタボロミクスによる解明を目指した。自己組織化マップ法の1つである BL-SOM によるクラスタリングの結果、*fugu5* の子葉では、播種後4日目一旦代謝攪乱が生じるが、6日目には野生型と同様の代謝状態となり、8日目以降再び特徴的な代謝プロファイルへと遷移することが判明した。興味深いことに、これらの特徴的な代謝リプログラミングは、*fugu5* の補償作用が回復する条件下 (シヨ糖添加や *fugu5 ICL_{pro}:IPP1* 系統) では起こらない。また、代謝リプログラミングに着目した相関ネットワーク解析により、*fugu5* の CCE と関連の強い代謝産物や代謝経路候補を見出した。次に、これら候補代謝産物の外部投与が細胞サイズへ与える影響を検証することで、CCE を促進する鍵代謝産物の特定に成功した。

2Ba-02

葉の形成における TCP 転写因子の機能解析

A role of TCP transcription factors in leaf development

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}, 高木 優⁶

¹(公財)サントリー生命科学財団・生有研, ²産総研・生物プロセス, ³理研・環境資源科学, ⁴名大院・理, ⁵名大・トランスフォーマティブ生命分子, ⁶埼玉大院・理工

葉は光合成やガス交換などの生理機能を担う器官である。これらの生理機能を効率良く発揮するために、葉は多様な形態を形成する。どのような形態の葉でも、幹細胞から葉原基が形成されることは共通である。葉原基から葉が形成される過程で、適切な形態を形成するためのメカニズムが働く。葉の形成において、細胞分裂は葉の細胞数を増やすので、既に、細胞分裂の機構と制御も明らかで、その破綻による葉の形態異常も数多く報告されている。一方で、細胞伸長は葉のサイズを拡大するとともに、最終的な葉の形態を形作るが、葉の細胞伸長を実行する分子基盤は、依然として不明のままである。

本研究では、発表者が独自に確立した葉の形態の複雑さを示すシロイヌナズナ *tcp* 変異体を植物材料として、TCP 転写因子を起点とする葉の発生メカニズムを明らかにする。予備的な解析から、TCP ファミリーのモデルである *TCP3* 遺伝子過剰発現植物では細胞の伸長が促進されたが、逆に *tcp* 変異体では著しく抑制されたので、TCP 転写因子が細胞伸長を制御することにより、葉を形成すると考えている。さらに、葉の形態を形成する TCP 転写因子の機能解析を行ったところ、TCP 転写因子の下流遺伝子の解析から、細胞伸長を促進する情報伝達経路を認めている。これらの解析をもとに、TCP 転写因子による葉の形成基盤を議論する。

2Ba-03

シロイヌナズナの葉柄が長くなる変異体を用いた葉の形態形成解析

Molecular genetic analysis of mechanism of leaf formation in *Arabidopsis* by using petiole elongation mutant

萩原 美優¹, 東木 美桜¹, 八木橋 春和¹, 小松原 美乃¹, 吉田 安佑¹, 神谷 岳洋², 藤原 徹², 北本 武郎¹, 鈴木 健太¹, 榎本 裕介³

¹広尾学園高等学校, ²東大院・農, ³昭和学院高等学校

植物は様々な遺伝子が相互作用し、葉の形態形成を行う。植物の葉が他の植物の葉の陰に隠れた時、SAS（避陰反応）により葉柄伸長が引き起こされる。SASは植物の幼少期から成熟期への移行に関わる miR156 や SPLs 遺伝子によって促進される。短日条件下で *CaD428* 変異体は野生型 Col と比べて葉柄の長さが有意に長い。また、*CaD428* は花芽形成遅延の表現型をもち、共同研究者によって、その原因遺伝子は *EFM* (*EARLY FLOWERING MYB PROTEIN, AT2G03500*) であることが示唆されている。本研究の目的は、*CaD428* の短日条件下での葉柄伸長の原因遺伝子を特定し、葉の形態形成機構の解明につなげることである。

マップベースクローニングの結果、*CaD428* における葉柄伸長の原因遺伝子も花芽形成遅延の原因と同じ *EFM* である可能性が高いと示唆された。また葉の形態形成関連遺伝子である *PIF4* と *SPL10* について、*CaD428* では Col よりも発現量が増えていた。発現量解析の結果を踏まえ、*EFM* の過剰発現による負のフィードバックで *ELF3* の発現が低下、そして *PIF4* の発現が上昇し、miR156 の発現が減少して *SPLs* の発現が上昇することにより、*CaD428* で葉柄伸長が促進されると考えている。また、青色光と赤色光条件下での実験により、青色光を除くことでより顕著に表現型の差が見えたため、上記とは別の経路で葉柄伸長が抑制されていると考えた。長日条件でも同様に、短日条件よりも青色光に曝されている時間が長いため、葉柄伸長が促進されないと考えた。

2Ba-04

KODA (9-hydroxy-10-oxo-12(Z),15(Z)-octadecadienoic acid) による培養ポプラ植物の全身的活性化作用の特徴

Characteristics of the systemic activation of the juvenile growth of in vitro cultured *Populus alba* by KODA (9-hydroxy-10-oxo-12(Z),15(Z)-octadecadienoic acid)

横山 峰幸^{1,3}, 海田 るみ¹, 宮本 健助², 藤井 義晴¹

¹東京農工大・農, ²大阪公立大・国際基幹, ³東京工科大・応用生物

オキシリピンの一種である KODA (9-hydroxy-10-oxo-12(Z),15(Z)-octadecadienoic acid) は花芽形成や発根促進作用の他、新梢発生や休眠打破の促進など幅広い作用が報告されている。今回、ポプラ幼植物体の無菌培養系を用いて KODA のポプラ生育への影響を詳しく調べた。各培養個体について二本のシュートを発生させ、これら二つのシュート先端（約 4 cm）を同時に切り取り、それぞれ 10 μ M の KODA 水溶液、あるいは対照として水に 3 分間浸漬した後、MS 寒天培地に移植し、16 時間照明下 25°C で 1 ヶ月間培養した。その結果、KODA 処理を行ったポプラの一次根の成長（生重量、本数、太さ）がコントロールに比較し、顕著に促進された。一方、一次根から分岐した二次根についてははっきりした作用は認められなかった。地上部の茎葉についても生重量は大きく増加し、葉の面積も顕著に拡大した。茎の各節間の長さを測定したところ、KODA は伸長帯のみを促進していた。葉枚数（＝節間数）は変わらなかったため茎の全体長への影響はわずかであった。以上の結果は、KODA は未熟な組織に作用して主に細胞の拡大に寄与していると解釈できる。葉身の拡大促進効果は今回用いた植物体の葉が幼葉であったためと思われる。

2Ba-05

局所的薬剤噴霧によるピコティー型ペチュニア花卉の模様形成変化の解析

The effects of local application of the effective chemicals on flower color patterning in “Picotee” type petunia

東 克己¹, 志賀 悠暉¹, 石井 達也¹, 太田 優介¹, 齋藤 雅也¹, 山口 華穂¹, 中山 正義²

¹帝京科学大・生命環境・生命科学, ²農研機構野花研

ペチュニア (*Petunia hybrida*) のピコティーと呼ばれる覆輪を生じる品種の模様形成は、花卉外縁部における RNA 干渉により、アントシアニン生合成経路の鍵酵素、カルコン縮合酵素 (chalcone synthase, CHS) の活性が抑制されて起こる。殺ダニ剤であるフルアクリピリムをピコティータイプのペチュニアに噴霧すると、覆輪が消失することが見出されている。また、ジベレリンが同様に覆輪を消失させ、一方でジベレリン生合成阻害剤は拡大させることが示されている。しかし、これらの薬剤噴霧の作用機序の違いについては不明であった。そこで本研究では、薬剤処理による覆輪形成の変化をより詳細に解明するため、個別の花芽に対する局所的な薬剤噴霧を試みた。その結果、局所的な薬剤噴霧によっても、覆輪の消失が見られた。覆輪の変化は不安定で、完全に消失する場合も、着色部が滲むように広がる場合もあった。着色部の滲みは開花後に変化する場合も見られた。さらに、時期の異なる花芽に局所的噴霧を行なったところ、フルアクリピリムは径が 2.5~3.5 mm の花芽に噴霧した際に着色部の滲みも含めて効果が最も高くなるのに対し、ジベレリンおよびジベレリン生合成阻害剤の作用は、1 mm 以下の花芽で 60~100%の花芽に作用し、その後急速に影響を与えなくなることが示された。これらの結果は、フルアクリピリムとジベレリンレベルによる覆輪形成への作用のメカニズムが異なっていることを示唆している。局所的な薬剤投与の植物体全体への拡がりかたの傾向も含めて、これらの薬剤処理の作用メカニズムについて考察する。

2Ba-06

水ナスの多汁性を決定する遺伝子の同定に向けた遺伝解析

Genetic analysis to identify gene that determine the juiciness of Mizunasu (*Solanum melongena* L.)

瀬上 修平

大阪環農水研

大阪府の代表的な特産野菜である水ナスは、果実を手で絞ると水が滴り落ちるほど多汁で、果皮が柔らかいことを特徴としている。これらの性質により、水ナスはナス品種の中では珍しく生食が可能となっており、漬物は絶品とされている。これまでに、水ナスの果実特性（主に多汁性）を遺伝学的に明らかにすべく、標準的な果実特性を持つナス品種と水ナスの交配後代 F₂ を用いて、遺伝解析を行った。その結果、第 9 染色体上に多汁性を決定する遺伝子座を見出した。この遺伝子座は、果肉と果皮の硬さ、果実比重にも関与しており、水ナスの果実性質にとって重要な遺伝子座であると考えられた。今回、この多汁性を決定する遺伝子を同定するため、先の解析で用いた F₂ 個体から後代の F₃ 世代を展開し、候補領域の絞り込みを行った。

F₃ 世代は 13 系統各 4~30 個体を材料として用いた。それぞれの個体から得られた果実の果肉を圧縮することで多汁性を評価した。また、水ナス（柿本種苗：泉州絹皮水茄子）のリシークエンス解析 (Illumina 社 Hi-seq, 「Eggplant genome consortium V3」(Barchi *et al.* 2019) のリファレンスゲノムにマッピング) により得られた塩基多型データから、第 9 染色体の遺伝子座近傍に DNA マーカーを新たに 8 つ作成した。各 F₃ 個体の表現型と DNA マーカーによる遺伝子型決定により、遺伝子候補領域を第 9 染色体長腕側の約 1.4 Mb に絞り込んだ。本研究は、JSPS 科研費 19K15838 の助成を受けて実施した。

2Ba-07

イネの *ELONGATION OF SILIQUES WITHOUT POLLINATION* 1 と 2 は受精非依存的な子房発生を制御する

Ovary development regulation without fertilization by expression of *Oryza sativa ELONGATION OF SILIQUES WITHOUT POLLINATION 1 and 2*

名川(宮脇) 香織¹, 大沼 万里子¹, 貴嶋 紗久¹, 白濱 里帆^{1,3}, 坂本 真吾¹, 池田 美穂², 高崎 寛則², 高木 優², 光田 展隆¹, 大島 良美¹

¹産総研・生物プロセス, ²埼玉大院・理工, ³長岡技科大・生物

被子植物では、花粉がめしべに受粉した後、卵細胞と中央細胞がそれぞれ精細胞と受精することで胚、胚乳および子房の発生を開始する。一方、未受精条件下ではこれらの発生は抑制される。近年、我々はシロイヌナズナにおいて、転写因子である *ELONGATION OF SILIQUES WITHOUT POLLINATION* (*ESP*) 遺伝子群のキメラリプレッサーが受精なしに長角果の肥大を誘導することを発見した。本研究では、これらの遺伝子のイネのオーソログである *OsESP1* と *OsESP2* を単離し、単子葉植物においても未受精条件下で子房の肥大に関与しているかを調べた。

OsESP1 と *OsESP2* のキメラリプレッサー発現体 (*OsESP1a-SRDX*, *OsESP2a-SRDX*) を作製して除雄試験を行ったところ、受精なしでも子房の肥大が確認された。また、肥大した子房の内容物を調べたところ、可溶性の糖が蓄積していることが明らかになった。これにより、*OsESP1a* と *OsESP2a* は糖の蓄積および子房の肥大を制御している可能性が示唆された。

2Ba-08

変異型種子貯蔵タンパク質を発現するシロイヌナズナの作出と解析

Analysis of Arabidopsis expressing abnormal seed storage protein

成田 裕貴, 岡田 龍之介, 松盛 巧, 山田 黎, 岩田 雄二, 小泉 望

大阪公立大・農学

小胞体内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、小胞体シャペロン等の遺伝子発現が誘導される細胞応答を小胞体ストレス応答と呼ぶ。種子貯蔵タンパク質 α -zein のシグナルペプチドの切断位置に変異が生じたトウモロコシ *floury-2* では種子や細胞の形状に異常が見られ、小胞体ストレス応答が観察される。しかし、こうした表現型と小胞体ストレス応答の関連は明らかになっていない。本研究ではシロイヌナズナの種子貯蔵タンパク質 12S globulin ファミリーの Cruciferin C (*CRC*) に変異を持つシロイヌナズナを作成し、種子の表現型と小胞体ストレス応答の関係を調べることを目的とした。

CRC のシグナルペプチド切断部位付近の2つのアミノ酸に変異を導入した *CRC* (*mCRC*) を *CRC* 欠損シロイヌナズナで発現させたところ種子は明らかな形態異常を示した。電子顕微鏡観察の結果、種子の細胞構造も野生型と大きく異なっていた。また、*mCRC* 植物において *CRC* タンパク質量は野生型と比べて明らかに減少した。一方、種子の登熟に伴って、小胞体ストレス応答の指標である BiP3 タンパク質が *mCRC* 種子においてのみ発現した。つまり *mCRC* 植物では *floury-2* と同様、種子の異常と小胞体ストレス応答が見られた。また、*mCRC* 植物では発芽率の大幅な低下が見られたが、発芽した植物体の成長には野生型と比べて大きな違いは見られず、結実に関しても顕著な違いは見られなかった。*mCRC* 植物と小胞体ストレス応答に関わるシロイヌナズナの変異体を用いることで小胞体ストレス応答の種子における生理的役割を調べることができると考えられた。

2Ba-09

リンドウの休眠制御に関連する *FRUITFULL* ホモログの機能解析

Gentian *FRUITFULL* homolog represses untimely budbreak during ecodormancy

高橋 秀行¹, 西原 昌宏², 吉田 千春², 伊藤 紀美子³

¹東海大・農, ²岩手生工研, ³新潟大・農

多年生植物であるリンドウは、越冬芽と呼ばれる休眠器官を形成し、休眠・越冬する。休眠には、完全な休眠状態である自発休眠と外部環境による強制的な休眠状態である他発休眠があり、自発休眠から他発休眠へ移行（休眠打破）することで春の萌芽が可能になる。しかし、休眠打破や各休眠状態の制御機構は未だ解明に至っていない。

これまで我々は、リンドウの *FLOWERING LOCUS T (FT)* ホモログの1つである *GtFT2* に着目し、1年を通じた経時的発現解析から *GtFT2* の発現が休眠打破期に顕著に高まることを明らかにした。さらにゲノム編集により作成した *ft2* 変異体において、萌芽の遅延や萌芽率の低下が確認されたことから、*GtFT2* が休眠打破に深く関与することが示唆された。一方で、過去の報告から、ブドウ等の冬芽では *FT* を中心に様々な花成関連遺伝子が休眠打破前後に発現変動することが知られている。そこで、リンドウの花成関連遺伝子の発現解析を実施したところ、自発休眠期と他発休眠期で発現量が変動する遺伝子が見出された。中でも、*FRUITFULL (GtFUL)* は他発休眠期に顕著に発現が上昇し、他方 *ft2* 変異体ではその上昇が抑制されたことから、*GtFUL* は *GtFT2* の下流で作用することが予想された。さらに、ゲノム編集で *ful* 変異体を作成し休眠への影響を調査すると、*ful* 変異体の越冬芽は休眠せず萌芽したことから、*GtFUL* は萌芽抑制機能を有することが示された。即ち、*GtFUL* は他発休眠期における異常な萌芽を抑制し、春に発現量が低下することで萌芽を誘導していることが示唆された。

2Ba-10

シロイヌナズナ傷害カルスからの組織再生の分子メカニズム

Molecular mechanism of tissue regeneration from wound-induced callus

岩瀬 哲^{1,5}, 森中 初音¹, 竹林 有理佳¹, 鈴木 孝征², 石 東博^{3,5}, 杉本 慶子^{1,4}

¹理研・環境資源科学, ²中部大・応用生物, ³ポツダム大 生化学・生物学研究所, ⁴東大・生物科学, ⁵JSTさきがけ

シロイヌナズナのカルス形成には、外因性の高濃度オーキシンによって駆動される分子経路と、傷害ストレスによって駆動される分子経路があることが、ここ10余年の国内外の研究から明らかになってきた¹。私たちはこれまでに、傷口のカルス（傷害カルス）形成と傷害カルスからの組織再生現象にどのような分子メカニズムがあるのかについて特に研究を進めてきた。傷害誘導性の転写因子群とその下流に存在する他の転写因子群による階層的な遺伝子発現ネットワークによってカルス化と組織再生が引き起こされることを明らかにしている²⁻⁵。しかしながら、傷害カルスはどのような特性を有した細胞で構成されているのか、カルスの中でどのように幹細胞が新生されて組織が再生するのかについて、その詳細を理解する途上にある。現在、傷害カルスからの組織再生が外因性の植物ホルモン非依存的に起こるシロイヌナズナ植物体³を用いて Single nucleus RNA-seq 解析に取り組んでいる。本発表では、傷害カルスからの組織再生の分子メカニズムについて、私たちが近年取り組んできた傷害誘導性転写因子の機能解析と Single nucleus 解析に基づいて議論する。

【参考文献】¹Ikeuchi et al., Ann. Rev. Plant Biol., 2019; ²Iwase et al., Curr. Biol., 2017; ³Iwase et al., Plant Cell, 2017; ⁴Iwase et al., Dev. Biol. 2018; ⁵Iwase et al., New Phytol. 2021.

2Ba-11

形態形成制御遺伝子を導入したタバコ組換え細胞の分化反応の解析

Analysis for differentiation of tobacco transgenic cells expressing the morphogenic regulators

佐藤 優加¹, 南川 舞³, Berbudi B. Pratama¹, 井川 智子^{1,2}

¹千葉大・院園芸, ²千葉大・植物分子科学研究センター, ³千葉大・IAAR

組換え細胞から再分化を促し植物体を再生させるには、植物ホルモンを最適な種類や濃度、組合せで使用する必要がある。植物種や品種に応じて、各々に適した培養条件を探らなければならないのが現状であり、その培養条件の検討には多大な労力を必要とする。また、この検討に膨大な労力を費やしても植物体再生に至らない場合も多く、これらの手間が植物科学研究やバイオテクノロジー育種の発展の障壁となっている。

そこで多くの植物種で適用可能かつ、植物ホルモンを使用せずに自発的に植物体へと再生させるシステム構築が有効だと考え、本研究の最終目標としている。本システム構築のアプローチ方法として、植物の発生や発達において機能する形態形成制御遺伝子の効果を検証している。これまでにシロイヌナズナ由来の *WUS* (*Wus chel*) の改変型遺伝子と *BBM* (*Babyboom*) 遺伝子をアグロバクテリウム法によってタバコ組織片に導入すると、培養中に植物ホルモンを使用しなくても組織片から自発的に脱分化・再分化が誘導される現象を見出した。この分化反応過程で変動するタバコの遺伝子発現および内生ホルモンについて解析した。また、同デザインの遺伝子導入ベクターを用いて他の植物種でも同様の効果が見出された。本発表では一連の結果について報告する。

2Ba-12

シロイヌナズナにおける細胞壁クチクラ連続体構造の解析

Structure analysis of cell wall-cuticle continuum in *Arabidopsis*

大島 良美^{1,2}, 羽馬 哲也³, 谷口 創³, 瀧口 裕子¹, 坂本 真吾¹, 光田 展隆¹

¹産総研・生物プロセス, ²科学技術振興機構・さきがけ, ³東京大学大学院 総合文化研究科 先進科学研究機構

クチクラは植物表面のほとんどすべてを覆っている疎水性の構造であり、陸上環境の外的なストレスから植物を保護するとともに、水分とガス交換システムの一部を担っている。長年、クチクラは表皮細胞壁の外側の脂質層と考えられてきたが、細胞壁を構成する多糖類とクチクラの脂質は混ざり合って存在していることが知られるようになってきた。本研究では、クチクラを細胞壁との境目が無い「細胞壁クチクラ連続体」としてとらえ、その構造解析を試みた。これまで葉の形状から適用が難しいとされてきたシロイヌナズナにおいて、偏光変調反射吸収赤外分光法 (PM-IRRAS) による疎水性の層の構成成分と分子の結晶構造・配列の分析を行った。加えて、全反射減衰赤外分光法 (ATR-IR) を応用し、親水性の層を含めて深度ごとの構造解析を行った。これらをシロイヌナズナ野生型およびクチクラ高蓄積植物に適用し、構造を比較した。以上の結果と、細胞壁多糖類の組成分析、電子顕微鏡観察等の結果から、シロイヌナズナでは、疎水性の層の主成分はワックスなどの炭化水素であること、親水性の層では主にペクチンとワックス、クチンが共存していること、さらにワックスの結晶構造とクチンの炭素鎖のパッキング構造を明らかにした。

2Ca-01

CRISPR/Cas9 システムによる *DCL2/4* 遺伝子ノックアウト *Nicotiana benthamiana* の作出

CRISPR/Cas9-mediated knockout of the *DCL2* and *DCL4* genes in *Nicotiana benthamiana*

松尾 幸毅

産総研・生物プロセス

植物には、病害抵抗性の主要機構の一つとして遺伝子サイレンシング機構が存在する。本機構は、有用物質生産のために植物に導入した遺伝子に対しても働くため、その影響により組換えタンパク質の生産性が低下することが知られている。本研究では、植物による物質生産性を向上させることを目的として、遺伝子サイレンシング機構の重要な構成要素である *Dicer-Like* (*DCL*) 2 及び *DCL4* 遺伝子をゲノム編集によりノックアウトした遺伝子組換え *Nicotiana benthamiana* 植物体を作成した。さらに、作成した植物体を用いて組換えタンパク質一過性発現を実施し、その効果を検討した。

CRISPR-Cas9 システムにより *DCL2* 遺伝子及び *DCL4* 遺伝子を同時にノックアウトした植物体 (*dcl2dcl4* 植物体) を作出し、モデルタンパク質として GFP をバキュームインフィルトレーション法により一過性発現させた。その結果、野生型植物体ではインフィルトレーション 4 日目以降において GFP 蛍光が減衰したが、*dcl2dcl4* 植物体では GFP 蛍光の減衰はほとんど認められなかった。また、リアルタイム RT-PCR 及び ELISA 解析の結果、*dcl2dcl4* 植物体では野生型に比べて多くの GFP 遺伝子由来 mRNA 及びタンパク質の蓄積も認められた。以上のことから、*dcl2dcl4* 植物体を用いることで、組換えタンパク質の生産性を向上させることが可能であることが示唆された。

本研究は JSPS 科研費「高効率物質生産植物体の開発」(16K14833) の助成を受け実施した。

2Ca-02

花粉形成関連遺伝子を標的としたゲノム編集による無花粉スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) の作出

Generation of pollen-free lines in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) by disruption of genes related to male strobilus development using CRISPR/Cas9

七里 吉彦¹, 小長谷 賢一¹, 上野 真義², 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樹種である。戦後の拡大造林政策により大量に植林された結果、現在日本の人工林面積の 44% (国土面積の 12%) をスギが占めるまでになっている。一方、春に大量に放出される花粉が原因のスギ花粉症が大きな問題となっており、無花粉スギ系統の開発や普及が急務となっている。そこで、無花粉スギ系統を短期間に作出するため、ゲノム編集により花粉形成に関与する遺伝子を改変することで無花粉化を誘導できないか調査した。雄花で特異的に発現する花粉形成関連遺伝子を標的遺伝子として選抜し、CRISPR/Cas9 システムによりそれら遺伝子の破壊を試みた。その結果、標的遺伝子のゲノム編集系統が複数得られ、それらの中には花粉形成が認められなかった系統も存在していた。それら系統のキメラ性を調査するため、各個体 4 か所の枝から雄花を誘導し花粉調査を行ったがどの枝の雄花からも花粉は見られなかった。次に、これらの系統と野生型の花粉を交配させ、導入遺伝子の除去を試みたところ、期待通り導入遺伝子が除去された系統が得られた。また、CRISPR/Cas9 発現ベクターをスギに最適化することで、効率的に標的遺伝子のゲノム編集個体を得ることに成功した。現在それら個体の花粉調査を行っており、本発表ではその結果についても報告したい。

2Ca-03

塩基編集技術による *ALS* 遺伝子改変スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) 個体系統の除草剤耐性能の解析

Analysis of generating tolerance to *ALS*-inhibiting herbicide in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) using base editing

川邊 陽文¹, 七里 吉彦¹, 小長谷 賢一¹, 上野 真義², 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

我が国の主要樹種のひとつであるスギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) では、無花粉や高成長、材木としての材質の改善などを目的とした育種が進められている。林木の育種では膨大な時間が必要となるため、育種効率を大幅に向上させる技術として、狙った遺伝子領域の改変が可能なゲノム編集が注目されている。これまでスギに CRISPR/Cas9 システムを適用し、標的遺伝子のノックアウトに成功しているが、今後、点変異導入による遺伝子の機能改変にも対応させることを目的として塩基編集技術のスギへの利用を試みた。

塩基編集システムとして“NG”を PAM 配列として認識する改良型 nCas9 (nCas9-NG) にシチジンデアミンナーゼ (CDA1) を連結した Target-AID を、また、標的遺伝子として点変異導入により除草剤耐性を獲得するアセト乳酸シンターゼ (*ALS*) をそれぞれ用いた。除草剤耐性を獲得した系統のシーケンス解析の結果、*ALS* の標的塩基はバイアレリックに置換されていなかった。この原因として、nCas9-NG の活性が“NGG”を PAM 配列として認識する従来型の nCas9-NGG と比べて低いことにあると予想した。そこで、nCas9-NGG に CDA1 を連結し、*ALS* の塩基置換効率を調査した。その結果、除草剤耐性を示した細胞系統の中で、標的のシトシンがチミンにバイアレリックに置換されているものが複数系統得られた。これらの系統から植物個体を再生し、塩基配列を解析したところ、個体レベルでもバイアレリックに置換されていた。現在、これら個体の詳細な除草剤耐性能を調査しており、本発表ではその結果についても報告したい。

2Ca-04

イネ科モデル植物ミナトカモジグサにおけるゲノム編集システムの確立と環境ストレス応答遺伝子 *SnRK2* の機能解析

Functional analysis of the stress-responsive gene *SnRK2* in the grass *Brachypodium distachyon* using a genome editing tool

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

¹宮城大・院食産業学, ²宮城大・食産業学

ミナトカモジグサはコムギと同じイチゴツナギ亜科に属する温帯性一年生植物である。植物体が小型で世代交代が早く、さらにゲノム配列解析が完了していることから温帯性イネ科植物のモデルとして注目されている。私達は、温帯性イネ科植物の遺伝子機能を明らかにする効率的な実験系を構築するために、ゲノム編集システムによるミナトカモジグサの遺伝子改変を試みている。これまでにミナトカモジグサ *U6 snRNA* プロモーターで *sgRNA* を、トウモロコシユビキチンプロモーターにより *Cas9* を発現させるベクターを作成し、アグロバクテリウムを介した形質転換法によりゲノム編集を行うシステムを確立した。4つの遺伝子をモデル遺伝子として遺伝子改変の有無を調べたところ、全ての遺伝子について標的配列が編集された個体が得られ、編集個体の割合は安定形質転換体の 75%以上であった。この結果は、本ゲノム編集システムを用いることで、効率的に遺伝子改変が可能であることを示している。さらに環境ストレス応答遺伝子 *SnRK2* について、機能欠失と推定される変異をホモ接合に持つ *SnRK2.2* ゲノム編集個体が作出された。この *SnRK2.2* ゲノム編集個体について、10℃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。従って、ミナトカモジグサの *SnRK2.2* は低温ストレス応答に関与することが示唆された。本発表では、ミナトカモジグサにおけるゲノム編集システムの実施状況と *SnRK2.2* の機能を議論する。

2Ca-05

TALE ドメインによる DNA 配列認識を介したシロイヌナズナ核遺伝子の標的一塩基置換

Targeted base editing in *Arabidopsis* nuclear genes via DNA recognition by TALE domain

細田 恵子¹, 中里 一星¹, 奥野 未来², 伊藤 武彦³, 高梨 秀樹¹, 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹

¹東大・院農, ²久留米大・医, ³東工大・院生命理工

植物の核への標的一塩基置換ツールには、既に CRISPR/Cas9 系の人工塩基置換酵素があるが、塩基置換効率や非標的配列への変異導入などの課題が残る。本研究では、認識配列がより長く、また葉緑体とミトコンドリアの DNA で高効率に塩基置換導入 (C:G > T:A) に成功した、人工塩基置換酵素 TALECD を用いて、シロイヌナズナ核ゲノム編集への有効性を検証した。この酵素は、TALEN の DNA 結合ドメイン (TALE) と細菌の cytidine deaminase (CD) を繋げたタンパク質である。遺伝子欠損により子葉のみに白色化を引き起こす *CYO1* 内の二つのシトシンを最初の標的として選んだ。核移行シグナル配列を N 末端に付加した一対の TALECD を発現するコンストラクトを、アグロバクテリウム法で Col-0 系統に形質転換した。得られた形質転換体 T₁ 世代の多数個体で子葉の一部ないし全体の白色化が観察された。種子低温処理後 21 日目に TALECD の標的配列を確認したところ、C:G から T:A への標的塩基置換によって終止コドン化変異が生じた T₁ 個体が各標的で見られ、標的塩基が完全に置換されている個体も存在した。また、*CYO1* 以外の複数の標的配列の全てでも塩基置換が安定的に導入され、中には T₁ 世代の同時点で最大 17/24 個体 (70.8%) で完全に置換された標的が存在した。T₁ 世代の一部個体で全ゲノムを解読し、TALECD の認識配列と相同性が高い配列近傍における非標的変異導入の有無を調べたところ、認識配列長が 30 bp 以上の TALECD を導入した個体では非標的変異は検出されなかった。また、導入した標的変異は後代に安定的に遺伝した。以上の結果から、本手法が効率・精度の高い植物ゲノム編集ツールとして活用できる可能性が示された。

2Ca-06

標的一塩基置換酵素 mitoTALECD を用いた、シロイヌナズナのミトコンドリアゲノムの精緻な改変

Pinpoint modification of mitochondrial genomes of *Arabidopsis thaliana* by mitoTALECD, the site-specific base-editing enzyme

中里 一星¹, 奥野 未来^{2,3}, 周 暢¹, 伊藤 武彦², 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹

¹東大院・農生, ²東工大・生命理工, ³久留米大・医

ATP 合成の鍵遺伝子を有するミトコンドリアゲノムの改変によって、作物の収量やバイオマスが向上する可能性がある。従来の陸上植物のミトコンドリアゲノム改変技術である mitoTALEN 法 (ミトコンドリアに局在する人工制限酵素 TALEN を用いた標的 DNA 切断) は、標的遺伝子を破壊できる一方で、標的配列近傍における数百から数千塩基対の欠失や、遺伝子の順序の変化等のゲノム構造の変化も引き起こしてしまう。そのため、ゲノム構造の変化を伴わない、精緻なミトコンドリアゲノム改変手法の開発が望まれていた。本研究では、ミトコンドリアに局在する人工標的一塩基置換酵素 mitoTALECD を用いて、シロイヌナズナのミトコンドリアゲノムの精緻な改変 (標的一塩基置換) を試みた。

mitoTALECD 発現ベクターを核ゲノムに導入した形質転換体 T₁ 世代 78 個体のうち 30 個体で、特定の C:G 対が T:A 対に、一細胞に数十から百コピーほどあるミトコンドリアゲノムの全てで置換された。導入した塩基置換は種子後代 T₂ 世代に安定遺伝し、この中には核ゲノムの *mitoTALECD* 遺伝子を持たない個体も含まれた。*mitoTALECD* 遺伝子を持たない T₂ 世代 8 個体の全ミトコンドリアゲノムを解読したところ、mitoTALEN 法で生じたゲノム構造の変化の兆候は検出されなかったことから、精緻なゲノム改変が達成されたことが明らかになった。

本手法は、未成熟終止コドンの創出、多様なアミノ酸置換、RNA の高次構造の改変が可能であるため、機能不明な ORF を含むミトコンドリアゲノム遺伝子の機能解析の高速化に寄与する。さらに、作物の農業形質を強化するミトコンドリアゲノム上の有用な一塩基多型を同定するための貴重なツールにもなりうる。

2Ca-07

ミトコンドリアゲノム編集によるトマト細胞質雄性不稔性原因遺伝子の同定

Identification of tomato cytoplasmic male sterility-causative gene by mitochondrial genome editing

桑原 康介¹, 有村 慎一², 白澤 健太³, 有泉 亨⁴

¹筑波大・院理工情報生命, ²東大・院農生命, ³かずさDNA研究所, ⁴筑波大・生命環境系

【目的】細胞質雄性不稔性 (CMS) は, ミトコンドリアゲノムの異常な遺伝子 (CMS 原因遺伝子) によって稔性花粉の形成が阻害される形質である。トマトとジャガイモ野生種の非対称性細胞融合によってトマト CMS 系統 'CMS[P]' が作出されたが, CMS 原因遺伝子は同定されていない。一方でこれまでに我々は, トマト CMS 原因遺伝子候補として *orf137* を見出した。本研究ではミトコンドリアゲノム編集ツール mitoTALEN を用いて, *orf137* が CMS 原因遺伝子であるかを検証した。

【材料・方法】 'CMS[P]' に矮性トマト品種 'Micro-Tom' を戻し交雑して Dwarf 'CMS[P]' を作出した。 *orf137* を標的にした mitoTALEN ベクターをアグロバクテリウム法により Dwarf 'CMS[P]' に導入した。 PCR および Pacbio シーケンサーにより再分化個体のミトコンドリアゲノムを解析し, 花粉発芽培地を用いて花粉発芽率を調査した。 また, Dwarf 'CMS[P]' の各組織から RNA を抽出し, RT-PCR により *orf137* の組織別発現解析を実施した。

【結果・考察】 3 つの *orf137* 消失変異体を取得でき, Pacbio シーケンサーによる解析の結果, *orf137* とその周辺領域において 74~11,491 bp の消失が検出された。 花粉発芽率は Dwarf 'CMS[P]' では 0% であったが, 3 つの変異体では 82~93% であり, コントロールの 'Micro-Tom' (89%) と同程度であった。 また, RT-PCR の結果より *orf137* は植物体全身で発現することが示唆された。 従って, *orf137* は植物体全身で発現する一方で, 雄性器官特異的に形態異常を引き起こすトマト CMS 原因遺伝子であると結論づけた。

【謝辞】 生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業 (JPJ 007097)」, JSPS 科研費 JP21J20479 の支援を受けて実施した。

2Ca-08

小型 Cas タンパク質 Cas12f によるイネの標的変異導入

Targeted mutagenesis by a miniature CRISPR/Cas12f in rice

助川 聖¹, 濡木 理², 土岐 精一^{1,3,4,5}, 雑賀 啓明¹

¹農研機構・生物研, ²東京大・理, ³龍谷大・農, ⁴横浜市大・木原生研, ⁵横浜市大・生命ナノ

CRISPR/Cas システムを利用したゲノム編集では, その活性の高さから *Streptococcus pyogenes* 由来 Cas9 (SpCas9) が主に利用されているが, サイズの大きさ (1368 アミノ酸残基) ゆえに発現ベクターが大きくなり, ウイルスペクターに搭載すると不安定である。本研究ではそのような問題を改善できないかと考え, 497 アミノ酸残基という非常に小型の *Syntrophomonas palmitatica* 由来 Cas12f (SpCas12f) に着目した。昨年ヒト細胞やトウモロコシで SpCas12f による標的変異導入が報告されたが, イネでの変異導入の成功例は報告されていない。我々はイネにコドン最適化した SpCas12f と *OsTubulin* をターゲットとした gRNA の発現ベクターを構築し, アグロバクテリウム法による形質転換によりイネカルスに導入した。形質転換カルス由来のゲノム DNA をもとにアンプリコンシーケンス解析を行った結果, Target-1 では 28.2%, Target-2 では 41.7% のカルスにおいてターゲット領域への変異導入が確認された。さらに T1 植物において導入変異が遺伝することを確認した。以上の結果から, イネにおいて Cas12f による標的変異導入が可能であることが実証できた。トウモロコシの先行論文では, 28°C での培養では変異が導入されず, 45°C×4 時間の熱処理を 3 日間施すことで変異が導入されたことが報告されている。興味深いことに, 我々は熱処理を施さずとも SpCas12f を用いたイネの変異導入に成功した。イネでは比較的高温 (30~33°C) で長期間培養するため, この培養条件が標的変異導入にポジティブに作用する可能性が示唆された。今後は, ウイルスペクターを用いた Cas12f によるゲノム編集技術の開発に向け, 変異導入効率の更なる改良を進めたい。

2Ca-09

小型 RNA ガイドヌクレアーゼを CasΦ/Cas12j は植物において短いターゲット配列を切断する

Compact RNA-guided nuclease CasΦ/Cas12j cleaves short target sequences in plants

長谷川 玲花, 中村 彰良, 菅野 茂夫

産総研・生物プロセス

CRISPR-Cas を活用した植物のゲノム編集において、変異体を単離する際に問題になるのは重複遺伝子の存在である。特に、異質倍数性を持つ植物では、一つのホメオログを破壊するためにも多数の gRNA が必要となる。その問題を克服するためには、多数の gRNA を発現させるだけでなく、gRNA の認識配列を短くする、あるいは、あえてオフターゲット活性を利用するなどによって、一つの gRNA に多数の遺伝子を認識させる方法も有効なアプローチの一つである。もっとも普及しているゲノム編集手段の CRISPR-Cas9 では 17 nt が切断可能な最も短い認識長であり、配列を短くするほどオフターゲットが少なくなることが報告されている。本発表では、重複遺伝子を同時に編集する手段として、改変型 CasΦ/Cas12j の利用を検討したので報告する。シロイヌナズナのプロトプラストを用いた一過的ゲノム編集系を用いて、CasΦ2 の変異型 vCasΦ2 が PDS3 遺伝子内の 16 nt のターゲット配列を切断する活性を持つことを見出した。プロトプラストで活性が確認された vCasΦ2 発現ベクターを導入したシロイヌナズナの T1 植物体においては葉の一部が白くなる表現型が確認された。続いて、17 nt の認識長の crRNA を利用して、重複遺伝子の破壊を試みた。TRY 遺伝子の 17 nt のターゲット配列に加えて、TRY のパラログである ETC2 遺伝子についてもターゲット配列が 1 塩基ミスマッチをもつにも関わらず同時に切断されることがプロトプラストにおいて確認された。今後は、vCasΦ2 が短いターゲット配列で重複遺伝子や異質倍数性をもつ遺伝子などを同時に編集できるかについて植物体レベルで確認したい。

2Ca-10

花粉のゲノム編集と RNP 導入

Genome editing of pollen and direct introduction of CRISPR/Cas9 RNP

皆川 吉¹, 田中 左恵子², 大島 崇彰¹, 水多 陽子³, 東山 哲也³, 江面 浩⁴, 間 和彦¹

¹(株)ニッポン・中研・イノベーション, ²(株)ファスマック・バイオ研究支援, ³大・高等研・ITbM, ⁴筑波大・生命環境/つくば機能植物

農作物の生産現場では、気候変動や病害虫の蔓延など、食糧危機に直結する多くの問題が生じており、時代背景や環境変化に合わせた品種改良の期間短縮が急務となっている。そのような中、近年、育種改良スピードを飛躍的に高める方法として、新植物育種技術 (New plant Breeding Techniques: NBT)、中でもゲノム編集技術が注目を浴びている。

本研究は、被子植物の配偶体である花粉を使うことで、直接次世代をゲノム編集する技術の開発を目的としており、今までに、パーティクルボンバードメント法を用いて花粉へ CRISPR/Cas9 を導入する方法、導入率を向上させる方法、また、導入された花粉の選抜方法について検討を進めてきた。今回、CRISPR/Cas9 を導入し、花粉をゲノム編集した場合の編集率や編集状況について報告したい。具体的には、CRISPR/Cas9 プラスミド DNA を導入した場合、また、DNA の代わりに RNP を導入した場合の花粉の編集率や編集状況について、導入花粉を単離し、1 細胞 PCR により標的遺伝子領域を増幅、解析することで状況を明らかにした。結果、導入する花粉の時期により編集率や編集状況が異なること、また、プラスミド DNA と RNP では編集率が著しく異なることが分かった。

当方法により、ゲノム編集された花粉から種子が作出できれば、アグロバクテリウム法等の従来技術の適用が困難な植物種へのゲノム編集が可能となる。有用農作物の育成に限らず、幅広く植物の改変を極めて簡略化する普遍的な技術の開発が期待される。

2Ca-11

ゲノム編集ジャガイモ中の外来遺伝子検出法の検討

Examination of Detection of Foreign Nucleotides in Genome-edited Potato by *k*-mer Method

安本 周平^{1,2}, 坂井 寛章³, 吉田 均³, 梅基 直行⁴, 斉藤 和季⁴, 村中 俊哉^{1,2,4}

¹阪大院・工, ²阪大・OTRI, ³農研機構, ⁴理研・CSRS

ゲノム編集技術はゲノム情報を書き換えることを可能とする新たな育種技術として期待されている。私たちは人工制限酵素 TALEN を、アグロバクテリウムを介して一過的に発現させることで、ゲノム編集ジャガイモを作出した (Yasumoto et al. 2020)。近年、ゲノム編集植物中の外来核酸の検出方法として、次世代シークエンス (NGS) を利用した手法が注目されている。NGS で出力される配列を任意の文字数 (*k*-mer) で切り出し、ゲノム編集に利用した DNA 配列と一致するものをカウントし、ゲノム編集系統中の外来核酸の残存を検定する *k*-mer 法がイネ等で適用されている (Itoh et al. 2020)。

本研究では、*k*-mer 法によるゲノム編集ジャガイモ中の外来遺伝子検出について検討を行った。先行研究で作出されたゲノム編集ジャガイモのうち、形質転換 1 系統、複数セットのゲノム PCR で外来遺伝子が検出されなかった 7 系統、ならびに、ゲノム編集前の親系統 (品種：サッシー) について、NGS データを取得し、*k*-mer 法による解析を実施した。その結果、形質転換系統において T-DNA 領域が検出できた。一方、ゲノム PCR で外来遺伝子が検出されなかった 1 系統においては、最小で 150 bp 程度の複数の配列が検出された。この断片について PCR による検定を行ったところ、増幅が見られた。特性の異なる複数の検出手法を用いることで、外来遺伝子の残存性をより確実に評価することが可能となる。本研究の結果から、*k*-mer 法がジャガイモにおける外来核酸検出法の 1 つとして有効であることが示された。

2Ca-12

GABA 高蓄積ゲノム編集トマトの塩ストレス条件下での栽培評価

Characterization of cultivation performance of a genome-edited high GABA tomato under salt stress conditions

鈴木 斗音¹, 松岡 瑞樹², 住吉 美奈子³, 高山 真理子^{3,4}, 江面 浩^{3,4}

¹筑波大・生物資源, ²筑波大・つくば機能植物イノベーション研究センター, ³サナテックシード(株), ⁴筑波大・生命環境系

【背景と目的】GABA 高蓄積ゲノム編集トマトは、厚生労働省、農林水産省への届出を令和 2 年 12 月 11 日に完了し、日本国内での実用化が実施可能となった。これはストレスにより活性化することが示唆される GABA 生合成酵素遺伝子 (*SIGAD3*) に CRISPR/Cas9 技術で変異を導入することで、常にストレスがかかった状態に改変したトマトである。本研究では、当該トマトに塩ストレスをかけることでさらに GABA の蓄積量が増加するか、GABA 蓄積量を増加させたことで収量や前駆体のグルタミン酸含有量に影響が生じるかを調査することを目的とした。

【方法】ゲノム編集技術により作出された GABA 高蓄積トマト‘シシリアンルージュハイギャバ (SRHG)’と原品種の‘シシリアンルージュ (SR)’を対照区実験の材料として用いた。各トマト品種の栽培には標準水耕液区 (EC = 1.2~2.4) と高塩濃度水耕液区 (EC = 8.0) の 2 試験区を準備し、4 処理区で栽培を行った。赤熟果実に対し GABA 含有量やグルタミン酸の含有量、収量の調査を行った。

【結果と考察】塩ストレス処理区の SRHG では、SR と比較して果実の GABA 含有量、グルタミン酸含有量、糖度の増加が見られた。一方、収量は低下傾向が見られた。

塩ストレス処理によるグルタミン酸含有量、糖度、収量の変化は先行研究と一致する結果であった。一方、SRHG は、SR と比較して塩ストレスによる GABA 含有量の増加量が多かった。このことから、塩ストレスにより *SIGAD3* 遺伝子の発現量が増加した、他の GABA 代謝関連遺伝子の発現量に変化が生じた、もしくはその他の代謝経路に影響が生じたなどの可能性が考えられる。

2Ca-13

ゲノム編集リンドウからのヌルセグリガント個体の作出と解析

Production and Analysis of Null Segregants from Genome-Edited Gentian Plants

西原 昌宏¹, 平瀨 亜紀子¹, 後藤 史奈¹, 吉田 千春¹, 高橋 重一¹, 根本 圭一郎¹, 阿部 陽¹, 小田島 雅², 中里 崇², 小澤 傑², 内藤 善美²

¹岩手手工研セ, ²岩手農研セ

我々はこれまでに CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集技術をリンドウに適用し, 効率的な変異体の作出技術を確認している。変異体は育種素材として有用であるが, 育種に利用するためには導入遺伝子の除外個体(ヌルセグリガント)の作出が不可欠である。本研究では花色変異個体と八重咲き変異個体の後代を育成することにより, 外来遺伝子を持たない個体の作出を行った。

元個体としてフラバノン3位水酸化酵素遺伝子(*F3H*)編集体(薄青花)と *AGAMOUS(AG1)* 遺伝子編集体(八重咲き)を用いた。ヌルセグリガント個体の作出, 解析は以下のように行った。ゲノム編集個体に野生型の花粉を交配し, 胚珠培養により実生を得た。得られた F₁ 実生について PCR 解析を行い, 外来遺伝子の増幅が認められない個体を選抜した。本 F₁ 個体を栽培し, 自殖と胚珠培養により F₂ 個体を得, 馴化育成し, 遺伝子型の確認と表現型の観察を行った。その結果, *F3H* 花色編集体では編集変異をホモに持ち, 編集当代と同じ表現型(薄青花)を示す個体を得られた。 *AG1* 編集八重咲き個体の F₂ についても現在, 栽培を進めている。ヌルセグリガントの確認は T-DNA 全域をカバーする PCR と NGS 解析(*k-mer* 検出)により行った。先行して, ニルセグリガントと思われる *F3H* 編集体の F₁ 個体を解析したところ, PCR による外来遺伝子の増幅は認められなかった。また, *k-mer* 検出でも本 F₁ 個体ではゲノム上に外来性 DNA 断片の有意な残存は認められなかった。現在, *AG1* 編集による八重咲き個体についても同様の解析を進めている。

本研究は, 農林水産省委託プロジェクト研究「ゲノム編集技術を活用した農作物品種・育種素材の開発(個別)」(JP19190722)の補助を受けて行った。

2Ca-14

ゲノム編集効率が高い標的配列を選ぶには? —シロイヌナズナ 網羅的変異解析で見えてきたこと—

Factors affecting genome editing efficiency in plants

遠藤 真咲^{1,2,3,4}, 根岸 克弥^{1,5}, 孫 建強², 鐘ヶ江 弘美², 土岐 精一^{1,3,4,6}

¹農研機構・生物研, ²農研機構・農情研, ³横浜市立大院・生命ナノ, ⁴横浜市立大・木原生研, ⁵農研機構・果茶研, ⁶龍谷大・農

ゲノム編集効率は Cas9 の活性や Cas9, gRNA の発現量の影響を受けるが, 同じ CRISPR/Cas システムを用いた場合であっても, 標的配列によって変異率は大きく異なる。近年, 標的配列毎の変異の入りやすさを予測してくれるツールも複数存在するが, 予測結果が異なることも多い。

いずれのツールも, 動物細胞における変異率を教師データに用いており, 一部のツールに関しては異種生物での予測精度を検証した報告もあるが, 植物における変異実測データを用いて予測精度を検証した報告はない。そこで本研究では, 植物においてゲノム編集標的配列を選択する上で参考になるツールの有無やその精度に関して, 検証を試みることにした。

まず, シロイヌナズナの 7 遺伝子, 計約 300 ケ所を SpCas9 の標的配列に選定した。葉肉プロトプラストを用いた実験では, Cas9 発現 plasmid と異なる遺伝子を標的とする 7 種類の gRNA 発現 plasmid を PEG 法により導入した。24 時間後に DNA 抽出を行った後, PCR, amplicon seq により, 7 ケ所の標的配列それぞれの変異率を算出した。3 回の反復実験を行い, 遺伝子毎に, 実測順位と各ツールの予測順位の相関を解析したところ, 実測順位と比較的近い順位を予測するツールを選定することができた。その一方で, 標的遺伝子によっては, いずれのツールの予測も正しくない場合もあり, 標的配列に加え以外の要因も変異率に影響を及ぼすことが確認された。

2Ca-15

農業・食品分野でのゲノム編集に対する理解醸成と意識動向

Public understanding and awareness trend for the use of genome editing in the field of agriculture and food

高原 学¹, 中野 善公¹, 森山 力¹, 大田 方人¹, 赤羽 幾子¹, 西山 哲史², 藤井 毅³

¹農研機構 企画戦略本部 新技術対策課, ²株式会社リバナス, ³農林水産・食品産業技術振興協会

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、天然毒素を低減したバレイシヨ・フロリゲン遺伝子を改変したイネ・穂発芽耐性コムギの文科省への情報提供が2021年に行われ、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/>)を解説し、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2万人を突破した。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いる。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。Twitter解析による国民の意識動向の把握にも取り組んでおり、これらの最近の動向について報告する。

なお、本発表の内容は、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」によって実施されている。

2Da-01

カラマツにおける植物体再生系と培養細胞の凍結保存法の確立

Establishment of plantlet regeneration system and cryopreservation method of cultured cells in Japanese larch

小長谷 賢一¹, 三嶋 賢太郎², 井城 泰一², 福田 陽子², 谷口 亨¹

¹森林機構・森林バイオ, ²森林機構・林木育種セ

カラマツは、初期成長が早く、材の剛性が強いなどの優良な形質を有していることから、近年需要が拡大し、再造林樹種としてのニーズが高まっている。しかしながら、カラマツは着花の豊凶が激しい樹種であり、有効な着花促進技術もないため、種子の供給不足や品種開発の困難さといった問題を抱えている。そこで、ゲノム編集技術に着目し、着花に関与する遺伝子の改変により成長や材質に優れた精英樹に高着花性を付与することを目標とした。一方で、針葉樹でゲノム編集を行うためには、ゲノム編集ツールを導入するための個体再生可能な培養細胞(不定胚形成細胞:EC)の樹立が必要である。本研究では、ゲノム編集へ利用可能なカラマツECの単離と個体再生するための培養系の確立を目的とした。また、ECは継代培養を続ける過程で個体再生能力を失うことが知られているため、液体窒素によるECの効率的な凍結保存法の開発を試みた。

組織培養の外植体として子葉原基が形成される前の未成熟種子胚を用い、DCR(Wang et al. 2007)を基本培地とすることで、平均約5%の効率でECが樹立され、ECの誘導効率は供試した家系により大きく異なった。得られたECはスギで確立されている方法に準じて不定胚誘導、不定胚の発芽、幼植物体の伸長培養を行うことで植物体を獲得できることが明らかとなった。また、得られた全EC系統の約9割が不定胚誘導能を有していた。さらに、スギで既に確立されている緩速予備凍結法を応用することで、85%以上の生存率でECを凍結保存することに成功した。今後は得られたECを用いて遺伝子導入系の開発を行う予定である。

2Da-02

熱ショックタンパク質誘導によるサトイモ茎頂のガラス化保存法の効率化

Efficiency of cryopreservation method using taro shoot apex by heat shock protein induction

篠村 菜月¹, 矢作 蒼生¹, 田中 大介^{2,4}, 小西 達夫³, 本橋 令子^{1,5}

¹静大・院農学, ²農研・遺伝資源, ³進化生物学研, ⁴筑波大・生命環境科学, ⁵静大・農学

長期保存が難しい作物であるサトイモの遺伝資源保全のために、茎頂のガラス化保存法の確立を試みている。無菌培養した幼苗から単離した2、3枚の葉原基を含む1mm程度の茎頂を供試材料とし、超低温保存処理から4週間後、8週間後の生存率を検証した。最適化した条件を以下に示す。

3%ショ糖添加MS培地で生育した幼苗から単離した茎頂を0.3Mショ糖添加MS培地に移し前培養(26℃, 22h)を行い、アルミニウム製クライオプレート上でアルギン酸ナトリウムビーズに包埋し、ローディング処理(室温, 2h)、PVS2処理(0℃, 2h)を行った。これを液体窒素中で急速冷却することで茎頂をガラス化させた。再生育には1.0Mショ糖溶液を用いて、室温で20分間急速昇温し、これを0.3Mショ糖添加MS培地で26℃、暗所にて2日間培養し再生を促した。その後、0.1Mショ糖添加MS培地にて26℃の弱光条件で10日間培養し、通常の3%ショ糖添加MS培地26℃で培養した。

栽培品種12点についても本方法を試したところ、多くの品種で70%程度の生存率を示した。しかし、新潟の品種である「大和早生」は生存率が30%ほどと低かった。より高い生存率を得るために、前培養過程において40℃の熱処理を与え、熱ショックタンパク質の発現を誘導した。その結果、26℃で前培養をしたサンプルと比べて生存率が有意に上がった。また、前培養後のサトイモの葉からタンパク質を抽出し、ウエスタンブロットにてHeat Shock Protein 70の検出を行ったところ、熱処理を加えたことによる発現量の増加を確認できた。このことから、熱処理によるHSP70の発現誘導が、サトイモの超低温保存後の生存率を上げる手段として効果があることが示された。

2Da-03

リーフレタスのシュート再分化効率に関する形態学的マーカー

Morphological marker to optimize for direct shoot regeneration in leaf lettuce

木村 光宏, 吉積 毅

高崎健大・農学部

レタスは世界的に重要な葉菜類の一つである。近年、農業形質の改良や医療用タンパク質、生体物質を蓄積させた形質転換レタスが開発されている。植物のシュート再分化効率は形質転換にとって重要な要素であるが、その効率は品種や系統に大きく依存することが報告されている。本研究では、リーフレタス2品種を用いて、シュート再分化効率を最適化するための培地組成を検討した。結果、無機塩類やオーキシン濃度の最適条件は同様であったが、サイトカイニン濃度が異なっていた。また、2品種は異なる種皮色を示していた。そこで、4品種を追加し、解析を行った結果、サイトカイニン濃度の最適条件と種皮色には強い相関が見られた。よって、リーフレタスの種皮色は、シュート再分化効率を最適化するためのサイトカイニン濃度を決定する形態学的マーカーとなり得ることを示唆した。

2Da-04

アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) 根及び胚軸外植体由来の培養細胞からの地上部再分化の検討

Shoot regeneration from cultured hypocotyl and root explants in the common ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum* L.)

大串 康太¹, 有馬 友佳子², 佐藤 稜真¹, John C. Cushman³, 東江 栄⁴

¹九州大・院・生物資源環境科学府, ²香川大・院農学研究科, ³ネバダ大・リノ校, ⁴九州大・院農学

【背景】アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) 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、培養細胞からの地上部の再分化が困難であるため、実用的な遺伝子組換え技術が確立されていない。本研究では地上部の再分化に適した培養条件を検討し、あわせて再分化関連遺伝子を単離して発現解析を行い、地上部再分化を制御する要因を検討した。

【結果と考察】シロイヌナズナの形質転換に用いられる、根を外植体とした地上部再分化法では、カルスは誘導されず再分化もしなかった。培地に添加するホルモン、培地用混合塩類、光強度、培養期間、外植体の種類、NaCl、細胞周期の同調化及び活性炭を検討した。地上部の再分化した個体は、播種後3週目の幼苗の胚軸を、1mg/L NAA及び100mM NaClを添加したMS培地で5日間培養した後、0.1mg/L NAA、1mg/L TDZ及び100mM NaClを添加したMS培地で2週間程度培養することで得られた。再分化率は4.2%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単離し、地上部再分化誘導中の根由来カルスにおける発現量を調べた。10種の遺伝子のうち、茎頂分裂組織形成に関わる転写因子STMが発現していなかった。外植体のカルス化過程における多能性の獲得、その後の茎頂分裂組織の形成及び地上部再分化等、それぞれの過程に特異的に発現する合計23種の再分化関連遺伝子を単離した。講演では検討した条件下における培養細胞の外形的特徴の変化から、アイスプラントの培養に適した条件を考察する。また、上記の遺伝子の発現解析の結果を基に、アイスプラントの再分化制御機構についても考察する。

2Da-05

ストリゴラクトン関連阻害剤とサイトカイニンの同時処理が不定芽形成に与える影響

Effect of simultaneous treatment of strigolactone-related inhibitors and cytokinin on adventitious shoot formation

岡崎 夏鈴, 下村 講一郎, 梅原 三貴久

東洋大院・生命科学

薬用植物トコン (*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson) は、切断した節間切片を植物ホルモンフリー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。我々の先行研究では、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) が内生サイトカイニン (CK) を増加させることでトコン節間切片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であることを見出した。一般的に不定芽形成促進剤としてCKが多く用いられることから、本研究では、SL 関連阻害剤およびCKを同時に添加した時の不定芽形成に与える影響についてトコンの節間切片、シロイヌナズナおよびトマトの胚軸を用いて調べた。その結果、トコンの不定芽形成数はSL 関連阻害剤とCKを同時に添加するとそれぞれの単独処理時と同程度、もしくはそれ以下に減少し、SL 関連阻害剤とCKの相加相乗効果は認められなかった。シロイヌナズナおよびトマトの胚軸においては、CK含有のシュート誘導培地にSL 関連阻害剤を同時に添加したが、SL 関連阻害剤無添加時と比べて不定芽形成に変化がない、もしくは抑制される傾向にあった。一方、Asgarらはリンゴおよびタバコの葉では、CKとSL 関連阻害剤を同時に培地へ添加すると不定芽形成が促進されたことを報告している。したがって、植物の種類によっては、CK存在下でもSL 関連阻害剤が不定芽形成を促進する。

2Da-06

ギョウジャニンニクの不定芽形成におけるオーキシンおよびサイトカイニンの影響

Effects of auxins and cytokinins on adventitious shoot formation of *Allium victorialis*

宮澤 聖希¹, 谷井 啓樹², 長野 由麻², 下村 講一郎¹, 梅原 三貴久^{1,2}

¹東洋大院・生命科学, ²東洋大・生命科学・応用生物

ギョウジャニンニク (*Allium victorialis* L.) は含有成分に抗血栓作用やコレステロール抑制作用などの特有の薬理効果をもつため、機能性植物として注目されている。しかし、本植物は播種から収穫までに数年を要することから効率的な増殖方法が必要である。本植物の特徴として、根端に不定芽が形成される。しかしながら、その数は少ないため、植物生長調節剤を添加した培地で根端切片を培養することで根端からの不定芽形成率の向上を図る。本研究では、無菌培養しているギョウジャニンニク植物体の根端からの不定芽形成に対するオーキシンおよびサイトカイニンの影響を検討した。幼植物体の根を根端から 1 cm で切断した切片をオーキシンまたはサイトカイニンを添加した MS 液体培地で 80 rpm, 5 週間振盪培養後、ホルモンフリーの 1/2MS 固体培地で 16 週間静置培養した。培養条件は 24°C, 明期 14 時間, 暗期 10 時間, 光強度 35-58 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とした。その結果、5 μM インドール-3-酢酸あるいはインドール-3-酪酸 (IBA) で処理した場合、不定芽が形成された根端がわずかに確認された。また、5 μM チジアズロン (TDZ), 6-ベンジルアミノプリンあるいはカイネチンの処理でも、不定芽が形成された根端がわずかに確認された。次に、オーキシンまたはサイトカイニンの単独処理で不定芽が形成されたことから、IBA および TDZ の組み合わせについて検討した。その結果、全ての濃度区において不定芽形成が確認され、特に 50 μM IBA と 500 μM TDZ において、40%と最も高い不定芽形成率が認められた。これらの結果の中では、50 μM IBA と 500 μM TDZ が不定芽形成に効果的と考えられる。

2Da-07

組織培養においてカルス誘導に適した植物成長調節物質の条件を示す分子マーカーの開発

Development of a molecular marker indicating suitable conditions of plant growth regulators for callus induction

大谷 真広¹, 室住 陸人², 野中 聡子³, 松倉 千昭³, 中野 優¹

¹新潟大学農学部, ²新潟大学大学院自然科学研究科, ³筑波大学生命環境系

組織培養は植物バイオテクノロジーの基盤であり、大量増殖や形質転換体作出等の際に必須の技術となっている。組織培養において、脱分化や再分化に適した植物成長調節物質の種類・濃度・組み合わせは材料に用いる植物や器官・組織の種類によって異なるため、それぞれの材料において個々に条件検討を行う必要がある。しかし、従来の条件検討には多くの作業と長い時間を要する。そこで本研究では、組織培養における植物成長調節物質の条件検討を効率化するため、カルス誘導（脱分化）に適した条件を示す分子マーカーの開発を試みた。

6 種の植物を用いた RNA-seq 解析により、カルス誘導用培地に外植体を置床して 24 時間以内に共通して発現量が上昇する遺伝子を探したところ、セルラーゼの一種であるエンドグルカナーゼ遺伝子が見出された。次に、エンドグルカナーゼ遺伝子の発現量と組織培養における実際のカルス誘導効率を比較するため、オーキシン (NAA) およびサイトカイニン (BA) を様々な濃度で組み合わせた計 36 試験区の培地を用いて調査を行った。各試験区の培地に置床して 24 時間後のタバコ葉外植体におけるエンドグルカナーゼ遺伝子の発現量は、2 mg/L NAA および 1 mg/L BA を添加した培地において最大となった。また、このエンドグルカナーゼ遺伝子の発現量と培養開始 4 週間後におけるカルスの誘導・増殖効率にはある程度の相関が確認された。これらの結果から、エンドグルカナーゼ遺伝子は組織培養における脱分化に適した植物成長調節物質の条件を示す分子マーカーとして有望であることが示唆された。

2Da-08

ジャガイモマイクロチューバーの形成技術の開発

Development of potato microtuber induction technology

和田 誠人, 古川 一, 和田 光生

大阪公立大・院農学

【目的】 ジャガイモのマイクロプロパゲーションでは、従来は、低スクロース濃度培地で育成させた後に高スクロース濃度培地へ移植し、暗黒条件下で培養してマイクロチューバー（以下、MT）を形成させていたがこの方法では、培地の変更が必要であり、MTのサイズが不均一になるため、生育が揃わない。一方、宇宙農場へMTを輸送する際には、ロケット内は空間制限があるためMTの体積を小さく、微生物汚染を回避するため無菌のMTを輸送する必要がある。そこで、宇宙農場での利用を前提として、上記の問題を解決できるMTの形成技術を開発することにした。

【材料・方法】 茎頂培養で得たジャガイモ (*Solanum tuberosum* L.) 'インカのめざめ', 'キタアカリ', 'メークイン' および '男爵' の培養植物を用いた。葉と腋芽を1つ含む莖とスクロース 40, 60, 80, 100 g・L⁻¹, グランガム 4.5 g・L⁻¹, pH5.8 の1/2MS培地を使用し12時間明期 (150 μmol・m⁻²・s⁻¹) とした。(1) 育成・低温処理法 25℃で20日間培養した後、培地は変更せず12℃で40日間培養した。(2) 低温処理法 12℃で40日間培養した。

【結果・考察】 (1) では 'インカのめざめ' および '男爵' でスクロース濃度とMT総新鮮重において、(2) では 'インカのめざめ' および 'キタアカリ' でスクロース濃度とMT総新鮮重において、二次関数で数式化でき統計的に意味のある回帰を認めた。回帰分析からスクロース濃度 60~80 g・L⁻¹ でMT総新鮮重はピークを示した。また、(2) で培養したMTのサイズはばらつきが少なかった。以上から、(2) で培地のスクロース濃度 60~80 g・L⁻¹ として培養したMTはサイズが均一であり宇宙農場での利用に適していると考えた。

2Da-09

培養苗を利用したトウキ種苗生産システムの開発

Development of a bio-nursery system for *Angelica acutiloba* using tissue-cultured seedlings

山本 和彦¹, 由井 秀紀², 河野 徳昭¹, 樋山 肇³, 櫻井 美希³, 近藤 健児³, 田村 隆幸⁴, 吉松 嘉代¹

¹医薬健康研・薬植セ, ²長野県野菜花き試, ³株式会社ツムラ, ⁴富山県薬総研

【目的】 トウキ (*Angelica acutiloba* Kitagawa) はセリ科シシウド属の多年生草本で、根は生薬「当帰」として利用され、多くの漢方製剤に配合されている。トウキの栽培においては、高い発芽率、品質の均一性、晩抽性等を有する優良系統が求められる。しかしながら、採種には3年目の株を用いるため、優良株の選抜には長い年月を要する。我々は、組織培養技術を用いたトウキ優良株の効率的な増殖方法の開発を進めており、これまでに得られた結果を報告する。

【方法】 トウキ種子を、2%ショ糖を含む1/2MS固形培地 (0.25%ゲルライト) に無菌播種し、その後、1%ショ糖、0.1mg/L 3-インドール酪酸 (IBA), 0.1mg/L ベンジルアデニン (BA), 0.5 g/L MES 含有 MS 固形培地で数回継代した後、2種類の培地条件でシュート増殖、発根誘導を行い、生育を比較した。発根した培養苗は閉鎖温室へ植え出し、パーミキュライトを支持体として馴化を行なった。馴化苗は長野県野菜花き試験場佐久支場の圃場へ定植し、収穫物の生育調査及び採種を実施した。

【結果及び考察】 トウキの組織培養では、MS without NH₄NO₃ を基本培地とした場合に、MS培地に比べて生育の改善が見られた。得られた発根苗は、閉鎖温室で良好に生育することを確認した。さらに、馴化した苗は圃場での栽培及び採種が可能であることを確認した。本研究で確立した培養苗を利用したトウキ苗生産方法は、今後のトウキ優良種苗の開発に貢献することが期待される。

【謝辞】 本研究はAMED課題JP20ak0101104の支援を受けた。

2Da-10

ヒロハセネガのバイオナーサリーシステムの開発

Development of bio-nursery system in *Polygala senega* L.var.*latifolia* Torrey et Gray

吉松 嘉代¹, 山本 和彦¹, 河野 徳昭¹, 熊谷 健夫¹, 淵野 裕之¹, 北野 康史², 高田 泰生²

¹医薬健康研薬植セ, ²日本粉末薬品

【目的】北米原産のヒメハギ科の多年草であるヒロハセネガの根は、生薬「セネガ」として、去痰薬に利用されている。ヒロハセネガは国内で商業栽培されているが、栽培農家の高齢化、後継者不足等の影響で、近年、国内生産量が減少し、安定確保が危惧されている。また、生産地において、種子の発芽率が低いことが問題となっている。我々は、生薬の国内生産拡大を目的に、植物バイオテクノロジーを活用した種苗供給（バイオナーサリー）システムの実装化を指向した開発研究を実施しており、今回、ヒロハセネガについて若干の知見を得たので報告する。

【発芽試験・育苗】10, 15及び20°Cで種子の発芽試験を行った。播種後32日の発根及び子葉展開率はいずれも10°Cで最高値を得たが、発根率28%、子葉展開率13%であった。そこで、未反応種子を低温暗所に約1ヶ月間置いた後、変温条件に移したところ、急激な発根率の上昇が観察された。発根種子は、15°C14時間明期で子葉が展開し、土壌への移植と苗化が可能であった。

【植物組織培養苗の育成と評価】種子をショ糖2%含有Murashige and Skoog培地に無菌播種し、73日目までは15°C14時間明期又は低温暗所、それ以降は10°C12時間明期で培養した。播種後116日の発根率は初期低温暗所で高く、高知産種子では70%以上を示した。得られた無菌実生を材料に植物組織培養による増殖系の確立と得られた培養苗の人工水耕栽培を行った。約7ヶ月間の人工水耕栽培で得られたセネガは日本薬局方規格（確認試験、乾燥減量、希エタノールエキス含量）を満たすことを確認した。

【謝辞】本研究はAMED課題JP21ak0101104の支援を受けた。

2Da-11

イネカサの組織再編におけるオートファジーの役割

Critical roles of autophagy in the regulation of regeneration in rice callus

来須 孝光¹, 天白 恭鳳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新潟大・自然科学系(農), ⁵東京理科大・理工・応用生物

1つの細胞が、体を構成するすべての細胞に変化できる能力を分化全能性という。近年、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が、花粉成熟過程における分化や代謝制御、タバート細胞におけるプログラム細胞死過程に重要な役割を果たすことが判明している。我々は、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サ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、再分化幼苗も極めて脆弱であることが明らかになった。カサ塊の活性酸素種(ROS)蓄積をNBT染色により解析したところ、コントロールに比べて明らかなROS蓄積が観察された。RNA-seq解析により、カサ培養過程における遺伝子発現への影響を網羅的に検証した結果、*Osatg7-1*において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に変動が見られ、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、植物ホルモン生合成代謝経路への影響も観察された。本発表では、メタボロミクス解析の結果も踏まえ、植物の分化全能性の制御におけるオートファジーの意義とストレス適応、ホルモン代謝ネットワークとの関連等について議論する。

2Da-12

シロイヌナズナ緑色培養細胞における葉緑体の機能

Functions of chloroplast in cultured green cells of *Arabidopsis*

小笠 功太郎¹, 竹田 恵美²

¹大阪府大・院理学, ²大阪公大・院理学

培養細胞は無菌である、均質な細胞が大量調整できる、細胞レベルで解析が可能、環境条件の調節が容易である、等の研究材料としての利点をもつ。しかし、一般的な植物を脱分化させて得られる培養細胞は、葉緑体の発達が十分ではなくエネルギー源を培地中の糖に依存して生育するため、葉緑体機能の研究材料には適していない。そこで本研究では、二酸化炭素富化条件下で細胞選抜を重ねることで、無糖培地中でも培養細胞自身の光合成だけで生育できるシロイヌナズナ光独立培養細胞株 (APAC) を確立した。さらに、この細胞を二酸化炭素富化なし条件で選抜を重ねて、大気二酸化炭素濃度下でも生育可能な細胞株 (APAO) を確立した。本研究では、培養細胞と緑葉の光合成機能の違いについて明らかにすることを目的に実験を行った。

各細胞の光合成機能をクロロフィル蛍光測定法 (PAM) によって測定した。その結果、培養細胞の光合成電子伝達速度は、緑葉とほぼ同等の値が得られたが、培養細胞の NPQ の形成は葉に比べると遅く、値も小さい結果となった。また、HPLC による色素組成分析を行ったところ、培養細胞は強光ストレスの緩和機構であるキサントフィルサイクル色素の総量が緑葉よりも多かった。しかし、強光照射によって増加し、過剰な光エネルギーの熱散逸に関与するとされているゼアキサントチンの形成速度は緑葉に比べると遅い結果となった。現在、この原因について解明するため、NPQ の形成に関与するタンパク質 PSBS とゼアキサントチンを合成する酵素ビオラキサントチンデアポキシダーゼの発現量の違い、さらに、葉緑体脂質分析を行い緑葉との比較を行っている。

2Ea-01

狭波長 UV-LED により誘導される植物の UV-B 応答

UV-B response in plants induced by narrow-band UV-LED

鶴本 智大^{1,2}, 藤川 康夫², 斧田 優志², 上森 真広³, 平松 和也³, 谷本 秀夫³, 太田 大策^{1,4}, 岡澤 敦司^{1,4}

¹阪府大・院生命環境, ²日亜化学工業(株), ³大阪環農水研, ⁴大阪公大・院農

植物は UV-B に対し、ストレス応答、病害応答、フェノール性化合物の合成など、様々な応答を誘導することが、主に UV-B ランプを用いた実験で明らかにされてきた。これらの応答の一部は、280nm 付近に極大吸収を持つ UV-B 受容体蛋白質、UVR8 によって誘導される。UV-B ランプは 310nm 付近がピークであるため UVR8 の極大吸収から外れており、半値幅も約 30nm と波長域の広い光源である。そこで、波長域の狭い UV-B で効率的に UV 応答が誘導できるかを検討するため、半値幅が約 10nm であり特定のピーク波長が照射できる UV-LED を用いて、シロイヌナズナとブドウを用いて実験を行った。

シロイヌナズナでは、280nm および 310nm の UV-LED を用いて、UV-B 領域内の異なる波長に対する応答を網羅的に解析した。シロイヌナズナに UV-LED を 45 分照射し、その直後、および、暗所で 2 日間育成させた植物中のトランスクリプトームを RNA-Seq により解析した。結果、植物の UV-B 応答として知られる生物的ストレス応答や二次代謝産物生合成関連遺伝子の発現は 280nm 照射時にものみ変化することが明らかになった。また、暗所で 2 日間育成させた植物中のメタボロームにおいても、含有量が顕著に変化したのは 280nm 照射時であった。

ブドウでは、高照射量の UV-B がブドウ果皮中のレスベラトロール含量に及ぼす影響を評価した。収穫後のマスカットベリー A に 290nm の UV-LED を 225,000 μ mol/m² 照射し、2 日間暗所保管することでレスベラトロール含量が 9 倍増加し、シャインマスカットとデラウェアでもそれぞれ 3 倍、28 倍に増加した。

本研究により、UV-LED の使用は植物の UV-B 応答の新たな知見を得る有効な手段であり、効率的に UV 応答を誘導できる可能性が示された。

2Ea-02

シロイヌナズナ β -カロテンヒドロキシラーゼ遺伝子 *Chy1* によるキサントフィルサイクル色素合成の調節

Regulation of xanthophyll cycle pigment synthesis by Arabidopsis β -carotene hydroxylase gene *Chy1*

岡野 安佐子¹, 竹田 恵美²

¹大阪府大・院理学, ²大阪公大・院理学

葉緑体が吸収した光エネルギー量が光合成による消費量を超える強光時に、過剰なエネルギーを安全な形で散逸し、活性酸素種の発生を抑え、光合成組織の損傷を防ぐための仕組みのひとつとしてキサントフィルサイクルがある。サイクルを構成するゼアキサンチン (Z), アンテラキサンチン (A), ビオラキサンチン (V) の総量 (VAZ 総量) は、強光照射することにより増加することが多くの植物で報告されている。VAZ 総量の調節機構はよくわかっていないが、同じ光強度で波長の影響を調べたところ、赤色強光と比較し、青色強光照射によって、より増加することがわかった。

β -カロテンヒドロキシラーゼ *Chy1* は β -カロテンからゼアキサンチンを合成する酵素のひとつである。*Chy1* 欠損株に強光照射しても、野生株と比較し VAZ 総量増加の割合が小さかったことから、*Chy1* は VAZ 総量調節に重要であると考えられる。

昨年の本学会において、*Chy1* の青色光による発現には CRY1 と HY5 が重要であること、青色光による発現増加は弱光時 (0~30 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) と強光時 (100~200 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の二段階であることを報告した。

そこで本研究では、*Chy1* 発現調節における青色光シグナル伝達機構を明らかにすることを目的として、段階的に削り込んだ *Chy1* プロモーター領域をレポーター遺伝子に連結し、アグロバクテリウムによってシロイヌナズナに導入した形質転換植物を作製して、レポーターアッセイにより発現解析を行った。その結果、*Chy1* プロモーター領域中の-503bp よりもさらに上流の領域が青色光による発現に必要であることがわかった。さらにプロモーター領域と青色光強度による発現量変化との関連性について解析を行なっている。

2Ea-03

局部刺激で誘起する概日時計の位相特異点に関する数理モデル解析

Analysis of a Mathematical Model for Phase Singularity of Circadian Clock Induced by Local Stimuli

小田 彬人¹, 福田 弘和^{1,2}

¹大阪府大・機械, ²大阪公大・機械

先行研究において、シロイヌナズナの根には局所的に概日時計が乱れた位相特異点が発生することが観測された。しかし、この位相特異点が成長にもたらす影響は明らかになっておらず、自然発生する位相特異点のみで説明することは困難である。そこで、根に外部刺激を与えることで多数の位相特異点を誘起することができれば、その影響を解明できると考えた。本研究は、そのための局部刺激を考案することを目的とする。

植物において、各細胞の時計遺伝子の発現は周期的に振動しており、隣接した細胞同士で相互作用している。したがって、各細胞の状態は振幅方程式に従うと考えてよく、根全体は3次元の結合振動子系として扱ってよい。

本研究では根を結合振動子系とし、表皮細胞などの遺伝子発現をする「外層」と維管束などの遺伝子発現を行わない「内層」の2層構造とした。各細胞はスチュアート・ランダウ方程式に従うとして数値シミュレーションを行った。方程式の初期条件には、概日時計の位相を、根の長さ方向に一定の距離間隔で反転させたものを用いた。(この「初期条件」が「局部刺激」に対応する)そして、距離間隔のスケールを変えた複数の初期条件に対して位相の時間発展を解析し、位相特異点の生成数を比較した。

シミュレーションの結果、概日時計の位相が反転した領域をつくれれば、位相特異点を誘起できることがわかった。さらに、位相を反転させる距離間隔が小さいほどその数は増えるが、一定の値を下回ると消滅しやすいこともわかった。最後に、これらを踏まえた位相特異点の誘起に最適な距離間隔について考察した。

2Ea-04

シロイヌナズナ塩馴化後浸透圧耐性獲得変異株の解析

Genetic analyses of acquired osmo-tolerant 19 (*aot19*) mutant of *Arabidopsis thaliana*

森 研人¹, 田村 将士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

シロイヌナズナにおいて高い塩耐性を持つ accession は生育に影響を与えない程度の塩ストレスを一定期間経ることで海水と同程度の極めて高い浸透圧にも耐性を示す「塩馴化後浸透圧耐性」を有することを明らかにした。また近年、塩馴化後浸透圧耐性の原因遺伝子として ACQOS の同定に成功した。ACQOS は浸透圧ストレス下において過剰な自己免疫応答を誘導するため浸透圧耐性を減じることが明らかとなった。しかし、塩馴化後浸透圧耐性がどのようにして確立されているのか、ACQOS がどのようにして浸透圧ストレスを認識しているかは不明である。そこで本研究では塩馴化後浸透圧耐性メカニズムの解明を目的に、ACQOS を有するために塩馴化後浸透圧耐性を示さない Col-0 種子に EMS による突然変異を誘導し、塩馴化後浸透圧耐性を獲得する変異株 *acquired osmo-tolerant 19 (aot19)* を単離した。マッピングにより原因遺伝子座を 1Mbp 以内に絞り込み、当該領域のシーケンスの結果、3 つの遺伝子に非同義置換を誘導する変異を検出した。当該候補遺伝子の T-DNA 挿入変異株を用いて塩馴化後浸透圧試験を行った結果、1 つの変異株が耐性を示したことから原因遺伝子の可能性が示唆された。この遺伝子は免疫応答を正に制御することが報告されていた。そこで *aot19* と野生株における浸透圧ストレス下での免疫応答を調べたところ、野生株と比較して *aot19* では免疫応答マーカー遺伝子の発現が抑制されていた。この結果より、当該遺伝子の欠損が浸透圧下で ACQOS が誘導する免疫応答を抑制することで耐性を獲得することが考えられた。

2Ea-05

シロイヌナズナ accession 間に見られる浸透圧耐性多様性メカニズムの解析

Dissecting of natural variation in osmotolerance among *Arabidopsis thaliana* accessions

村越 祐介¹, 番場 康介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

モデル植物として広く利用されているシロイヌナズナは、世界中の様々な地域に生息し、その accession 数は 2000 以上に上る。これまでにシロイヌナズナ accession 間において、塩馴化後浸透圧耐性の有無が認められること、さらに塩馴化後浸透圧耐性は ACQOS 遺伝子の有無に因ることを報告した。ACQOS を持つ accession は、浸透圧ストレスに高感受性を示し、逆に ACQOS を持たない accession は塩馴化後浸透圧耐性を示す。しかしながら、ACQOS を持たない accession の間にも浸透圧耐性に多様性が認められることから、ACQOS 以外にも浸透圧耐性の多様性に寄与する遺伝子座の存在が示唆された。そこでシロイヌナズナの浸透圧耐性多様性機構の解明を目的に ACQOS を持たない数百 accession を用いて、塩馴化を介さない浸透圧耐性評価を実施し、GWAS 解析に供した結果、有意に相関を示す SNP は検出されなかった。この結果から、複数遺伝子座の寄与、あるいは accession 間で浸透圧耐性に寄与する遺伝子座が異なることが示唆された。一方、Tsu-0 を含むいくつかの Tsu-0 近縁 accession は、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した。ACQOS は、浸透圧ストレス下において免疫応答を亢進させるために、浸透圧耐性を損なうが、Tsu-0 は浸透圧ストレス下で免疫応答がないことから、ACQOS とは異なるメカニズムにより浸透圧感受性に至ると考えられた。遺伝学的解析の結果、原因遺伝子座を約 208Kb 内に絞り込むことに成功した。ゲノムシーケンスの結果、Tsu-0 と耐性 accession 間に非同義的な多型を 11 遺伝子中に検出した。現在、この 11 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。

2Ea-06

シロイヌナズナ Wt-1 における塩馴化後浸透圧耐性欠損表現型の解析

Dissecting mechanisms of osmosensitive phenotype in *Arabidopsis thaliana* Wt-1

平野 貴大¹, 有賀 裕剛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農研機構・遺伝資源

先行研究において、高い塩耐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与えることで、高い浸透圧ストレスにも耐性を示す「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。さらに近年、塩馴化後浸透圧耐性の多様性を決定する遺伝子として、*Acquired osmo-tolerance (ACQOS)* 遺伝子を同定するに至った。ACQOS を有するシロイヌナズナは浸透圧感受性を示すが、その浸透圧感受性メカニズムは、ACQOS が浸透圧ストレスに応じて免疫応答を亢進させ、細胞死を誘導するためであった。シロイヌナズナ accession における ACQOS 遺伝子座は 5 つの haplogroup に大別され、ACQOS 遺伝子を持つグループの accession のみが浸透圧ストレスに感受性を示し、持たないグループの accession は浸透圧ストレスに耐性を示す。しかし私たちは、ACQOS 遺伝子を持たないにも関わらず、浸透圧ストレスに感受性を示す accession, Wt-1 を見出した。そこで本研究では Wt-1 に見られる塩馴化後浸透圧耐性欠損の原因解明を目的とした。Wt-1 は ACQOS を有する accession 同様、浸透圧ストレス下で免疫応答の亢進が認められた。ACQOS を有する accession では免疫応答の主要因子である *pad4* 変異により浸透圧耐性を回復させることから、その免疫応答は *PAD4* 依存的であることが分かっている。しかしながら Wt-1 に *pad4* 変異を導入したところ、浸透圧感受性のままであったことから、Wt-1 では *PAD4* 非依存的な免疫応答の亢進によって浸透圧耐性が損なわれていることが示唆された。

2Ea-07

塩馴化後浸透圧耐性欠損変異体 *aod5* の解析

Genetic analysis of an *Arabidopsis acquired osmotolerance defective5, aod5* mutant

小林 晃也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

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、海水と同程度の高い浸透圧にも耐性を示す、「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。そこで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 (*acquired osmotolerance defective5, aod5*) 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、*aod5* は野生株と比較して、塩馴化後浸透圧ストレスだけでなく酸化ストレスにも感受性を示した。また通常生育において、*aod5* は生育遅延、および葉の縁側の黄化を示し、さらに著しい矮性を示す個体も散見された。*aod5* における塩馴化後浸透圧感受性の原因遺伝子座をマッピングした結果、第一染色体に座乗することが示唆された。興味深いことに、*aod5* において矮性を示す原因遺伝子座をマッピングしたところ、塩馴化後浸透圧感受性の原因遺伝子座と同一であることが示唆された。ゲノムシークエンスを実施した結果、マッピングにより絞り込まれた候補遺伝子領域内においてアミノ酸の非同義置換を伴う変異が 1 遺伝子にのみ認められた。当該遺伝子の変異体は、葉緑体 DNA の損傷や葉緑体の形態異常といった表現型が報告されている。以上の結果より、*aod5* の塩馴化後浸透圧感受性および葉の黄化や矮性表現型は、当該遺伝子の変異による葉緑体 DNA の損傷が原因であると示唆された。

2Ea-08

浸透圧耐性シロイヌナズナ accession から得られた塩馴化後浸透圧耐性欠損変異株 *aod10* の原因遺伝子探索

Genetic analyses of *acquired osmotolerance-defective 10* (*aod10*) mutant derived from an osmotolerant *Arabidopsis thaliana* accession

高橋 弥子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・遺伝子資源, ³東京農大・ゲノムセンター

シロイヌナズナには 2000 種類を超える accession が存在する。先行研究により、Bu-5 など高い耐塩性を示すシロイヌナズナ accession は、生育に影響しない程度の塩ストレスを一定期間経た後に海水程度の浸透圧にも耐性を示す、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。塩馴化後浸透圧耐性のメカニズムを明らかにするために、Bu-5 にイオンビーム照射による突然変異処理を施し、塩馴化後浸透圧耐性欠損株 *acquired osmotolerance defective 10* (*aod10*) mutant を単離した。本研究では *aod10* の原因遺伝子の同定を試み、塩馴化後浸透圧耐性の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。*aod10* は野生型と比べて、塩馴化後浸透圧、および塩馴化を介さない浸透圧ショックストレスに対して感受性である一方、野生型と同程度の塩耐性を示す。また、通常生育条件下において、根の伸長阻害が認められた。浸透圧感受性を示すシロイヌナズナ accession は浸透圧ストレス下において免疫応答が亢進する。そこで *aod10* を免疫応答が停止する 28°C 条件下で浸透圧ストレス耐性試験にかけたところ、浸透圧耐性が回復した。よって *aod10* の浸透圧感受性の一因として免疫応答の亢進が考えられた。*aod10* の原因遺伝子座を特定するためにマッピングと *aod10* のゲノムシーケンズを行った結果、第一及び第五染色体領域において、転座による染色体領域の一部の入れ替わりが生じていると明らかになり、3つの原因遺伝子候補を見出した。うち1つについては根の伸長に関わる遺伝子であり、当該遺伝子欠損により根の伸長阻害が生じていると考えられた。現在、当該遺伝子と浸透圧耐性および免疫応答の関係を調べている。

2Ea-09

太陽光と類似した波長域を有する LED で栽培したミヤコグサおよびシロイヌナズナの特性

Characteristics of *Lotus japonicus* and *Arabidopsis* cultivated with LEDs having a wavelength range similar to that of sunlight

古川 一¹, 松川 詠梅², 飯田 哲司², 雉鼻 一郎²

¹大阪公立大学大学院農学研究科, ²(株)日本医化器械製作所

蛍光灯は太陽光と類似した波長域のピークを有しており、モデル植物の育成に利用されている。しかし、蛍光灯は水銀を含むので、使用が規制されつつあるため、太陽光に似た波長領域の LED が望まれている。

そこで、①3 LED (青色 430 nm, 緑色 520 nm および赤色光 660 nm にピーク) ②5 LED (紫色 410 nm, 青色 430 nm, 緑色 520 nm, 赤色 660 nm および遠赤色光 730 nm にピーク)、③擬似太陽光 LED (連続的に太陽光と似た波長領域) を用いて、ミヤコグサおよびシロイヌナズナを人工気象器で栽培し、開花および種子の品質にどのような影響が現れるかを調査した。対照には、④プラントフレック電球色 LED (青色 450 nm および赤色 620 nm にピーク、緑色から遠赤色光までの波長域) および⑤3波長蛍光灯を用いた。

ミヤコグサでは、5 LED において、開花が 10 日間程度、早まり、得られた種子の種子サイズ、100 粒重および播種後 4 日目の実生数は、①および⑤比べて、有意に大きかった。シロイヌナズナでは、擬似太陽光 LED において、①、②、④および⑤に比べて、播種後 44 日目の花茎長は有意に大きくなった。一方、5 LED では、①、③、④および⑤と比べて、開花が 10 日程度、早まり、種子サイズも有意に大きくなった。しかし、すべての処理と対照において、発芽数や子葉展開に有意な差は認められなかった。なお、擬似太陽光 LED は植物体が通常の色に見えるため、他の LED と比べると観察や調査がしやすかった。

以上の結果から遠赤色光は、花成誘導および種子形成に影響を及ぼす可能性があり、モデル植物育成用の LED に必要であると考えた。

2Ea-10

シロイヌナズナにおけるフェアリー化合物の生合成経路の探索と生理応答の解明

Elucidation of the biosynthetic pathway and physiological functions of fairy chemicals in *Arabidopsis thaliana*

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

¹静大・院農学, ²宇都宮大・農, ³静大・農学

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 (FCs) と総称する。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 は環境ストレス耐性付与効果も観察されており, AOH 処理による ABA の蓄積が見られたことから, その一部の効果は ABA が関与している可能性が考えられた。そこで, AOH による根の伸長抑制と同程度の抑制を示す ABA 濃度から, ABA 阻害剤である PANMe の最適濃度を求め, FCs との共処理を行った。PANMe は単独でシロイヌナズナの生育に悪影響を及ぼすため, 1 μ M 以下の濃度で FCs との共処理を観察した。PANMe 共処理により伸長抑制が回復したことから, FCs の根の伸長抑制効果に ABA が関わることが示唆された。

また, FCs は植物にも内生することが分かっているが, その生合成経路は未だ不明な点が多い。AHX から AOH の代謝への関与が疑われる *XDH1*, *XDH2* の遺伝子を破壊したゲノム編集個体を作製したが, 直接的な関与を示すような結果は得られなかった。そこで, XDH 阻害剤である Allopurinol (APO) を用いた実験として, APO と各 FCs, APO と尿酸を培地に添加して2週間表現型観察を行った。結果, APO と AHX, ICA を共処理すると表現型が回復したが, AOH や尿酸と共処理しても回復は見られなかった。このことから, AHX や ICA が APO で遮断される経路を回復させている可能性が示唆された。

2Ea-11

ゼニゴケに対する低温プラズマ照射の影響と初発反応の解析

Effects and initial responses of DBD plasma irradiation on *Marchantia polymorpha*

坪山 祥子¹, 奥村 賢直², 古閑 一憲^{2,3}, 白谷 正治², 朽津 和幸¹

¹東京理科大・理工・応用生物科学, ²九大・シス情, ³自然科学研究機構

常圧・常温条件でプラズマを発生できる大気圧低温プラズマ発生装置の開発により, 近年, その生物応用が盛んに研究されている。植物種子へのプラズマ処理による, 発芽・成長促進効果が多数報告されており, プラズマは安全・安心な農業技術の新たな手段として期待されている。その効果には, 発生した活性酸素・窒素種 (Reactive oxygen and nitrogen species: RONS) の関与が示唆されているが, その分子機構はほとんど不明である。

被子植物の種子は, 親株の生育環境・種子の保存状態・期間等により, 植物ホルモン量や休眠状態等の生理状態が変動し, プラズマ処理に対する感受性が大きく変化することが明らかとなった。そこで我々は, ゼニゴケの無性芽を材料に用いた新しい実験系を構築した。多量のサンプルの同時処理を可能にするスケールアップ誘電体バリア放電 (DBD) プラズマ装置を用いて, 無性芽に処理すると, 低線量プラズマ照射により無性芽の成長が促進され, 高線量では成長が抑制された。また, 顕微鏡下にてゼニゴケへのプラズマ照射が可能な小型のペン型プラズマ装置を新たに開発・導入し, 蛍光イメージング法を用いて, プラズマ照射直後にゼニゴケの細胞内で誘導される初発反応を捉えることに成功した。RONS の関与の可能性を含むその効果の分子機構の解析と, 新たに構築した実験系のプラズマ科学への応用の可能性について議論する。

2Fa-01

大気圧温度制御プラズマを用いた細胞への直接 Cas9/sgRNA 導入によるイネ及びタバコのゲノム編集

Genome editing through direct introduction of Cas9/sgRNA by a temperature controllable atmospheric-pressure plasma in rice and tobacco plants

柳川 由紀^{1,2}, 飯島 勇介³, 末永 祐磨³, 遠藤 真咲^{4,5,6}, 加藤 悦子^{4,7}, 土岐 精一^{4,5,6,8}, 沖野 晃俊³, 光原 一朗⁴

¹千葉大・院園芸, ²理研・CSRS, ³東工大・未来研, ⁴農研機構, ⁵横浜市大院・生命ナノ, ⁶横浜市大・木原生研, ⁷東洋大・食環境科学, ⁸龍谷大学・農学部・植物生命

プラズマはエネルギーの高い電離ガスを含む気体であり、金属板の表面処理など産業利用が進んでいる。近年は、殺菌や止血などの医療分野など生物への利用が注目されており、植物への利用も期待されている。

私たちは、これまでに大気圧温度制御プラズマを用いて植物細胞にタンパク質を直接導入する技術を開発した (Yanagawa et al, PLoS One 2017; 特許第 6875686 号)。私たちはこの系を用いて、植物細胞内に Cas9/sgRNA を導入し、ゲノム編集に成功したので、本大会では最新の研究成果を報告する。なお、本研究では、ゲノム編集の評価のために、レポーター遺伝子を導入したイネカルス及びタバコ葉を使用した。レポーター遺伝子としては、イネではルシフェラーゼ遺伝子 (LUC) 内に I-SceI 認識配列を挿入した *I-(I-SceI)-UC* 遺伝子を、タバコではハイグロマイシン耐性遺伝子 (HPT) の上流に *waxy* 遺伝子の部分配列を挿入した *sGFP-wTALEN-HPT* 遺伝子を用いた。これらのレポーター植物に Cas9/sgRNA を導入し、培養したところ、ルシフェリン処理で発光あるいはハイグロマイシン耐性を有するカルスが得られた。カルスからゲノム DNA を抽出し、それらを鋳型にして編集が期待される部位を含む断片を増幅させ、増幅断片を I-SceI あるいは Cas9/sgRNA で消化したところ、切断されない断片が検出された。そこで、断片の配列を調べたところ、ゲノム編集が示唆される配列が得られた (特開 2021-78362)。

2Fa-02

大気圧温度制御プラズマによる植物細胞へのタンパク質導入機構の解析

Elucidation of mechanism for direct protein introduction into plant cells by a temperature controllable atmospheric-pressure plasma

柳川 由紀^{1,2}, 相澤 駿輝³, 末永 祐磨³, 飯島 勇介³, 沖野 晃俊³, 光原 一朗⁴

¹千葉大・院園芸, ²理研・CSRS, ³東工大未来研, ⁴農研機構

プラズマは活性酸素分子種などを含む電離気体であり、常温常圧に調節した大気圧温度制御プラズマは、プラズマ照射による熱損傷や放電損傷を与えず、様々なイオンや活性種を生成できるため、プラスチックや半導体などの材料の表面処理だけでなく、皮膚や植物などの生体の表面処理にも応用されている。私たちは、これまでに温度制御プラズマを用いて植物細胞にタンパク質を直接導入する技術を開発した (Yanagawa et al, PLoS One 2017; 特許第 6875686 号)。プラズマ処理によるタンパク質導入は、プラズマ中に生成されたイオンや活性種が寄与していると考えられるが、その分子機構については不明である。本大会では、植物細胞へのタンパク質導入機構を薬理的に解析した結果について発表する (Yanagawa et al, Plant Biotechnol. (Tokyo) 2022)。

まず初めに GFP 融合タンパク質を用いて導入能の持続期間を調べたところ、タバコ葉にプラズマ照射した後、少なくとも 3 時間はタンパク質の導入が継続することが明らかとなった。また、細胞への導入速度を調べたところ、プラズマ照射後から徐々に導入が確認され、照射 5 時間後には一晚 GFP 融合タンパク質に浸したサンプルと同等の導入量に達することが明らかとなった。プラズマ処理による GFP タンパク質の取り込みは、ショ糖およびアジ化ナトリウム処理によって阻害されたことから、ATP 依存的な能増輸送によるものであると想定され、さらにプレフェルディン A で阻害されたことからクラスリンタイプのエンドサイトーシスがタンパク質導入に関与していることが明らかとなった。

2Fa-03

シロイヌナズナにおける DNA 脱メチル化編集技術開発の試み

An attempt to develop DNA demethylation editing technology in *Arabidopsis thaliana*

平田 峻也¹, 大河 優奈², 町田 千代子³, 高橋 広夫⁴, 小林 括平¹, 西村 泰介⁵, 池田 陽子⁶, 賀屋 秀隆¹

¹愛媛大・院・農, ²愛媛大・農, ³中部大・応用生物, ⁴金沢大・医薬保健, ⁵長岡技科大・生物機能工学, ⁶岡山大・植物研

シロイヌナズナでの DNA メチル化編集技術開発のため、DNA 脱メチル化酵素である Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 1 (TET1) と、2 つある nuclease domains の一方に変異を導入した nickase 型の nSpCas9 (D10A) の融合タンパク質をシロイヌナズナで発現させた。野生型 (Col) では *FWA* 遺伝子の promoter 領域の DNA がメチル化されていることで、*FWA* 遺伝子の発現が抑制されている。これに対して、late flowering 表現型を示す *fwa101-D* では、*FWA* 遺伝子の promoter 領域の DNA が脱メチル化されることで *FWA* 遺伝子が発現している。そこでこの *FWA* promoter 領域を標的とした sgRNA と *TET1-nSpCas9* を Col で共発現させ、McrBC アッセイにより DNA メチル化レベルの変化を調べたところ、*FWA* promoter 領域での DNA メチル化レベルが低下していることを確認できた。一方、negative control として、*FWA* promoter 領域以外を標的とする sgRNA と *TET1-nSpCas9* を共発現させた個体では、*FWA* promoter 領域での脱メチル化は見られなかった。これらのことから、sgRNA による部位特異的な DNA 脱メチル化を誘導できる可能性が示唆された。今後は、標的領域のバイサルファイト解析を行い、DNA メチル化パターンおよび影響範囲を調べる予定である。

2Fa-04

生細胞における葉緑体外包膜の蛍光染色法の開発

Fluorescent Staining of the Chloroplast Outer Envelope Membrane in Living Plant Cells

市川 晋太郎, 児玉 豊

宇都宮大・バイオセンター

光合成生物に必須のオルガネラである葉緑体は、ストロマ、チラコイド、デンプン顆粒などのサブオルガネラ区画が、外包膜と内包膜で構成される二重の生体膜で囲まれている。葉緑体の外包膜と内包膜は、葉緑体内部と細胞質間の自由な物質の移動を制御する物理的なバリアとして働くだけでなく、包膜上に局在する輸送体を介して多くの代謝物やタンパク質を選択的に交換する役割を担っている。葉緑体の周囲を可視化するために、これまで蛍光タンパク質を用いた葉緑体外包膜マーカーが開発されてきた。しかし、これらのマーカータンパク質を利用するためには形質転換が必要であるため、使用できる植物種が限定されてしまう。また、葉緑体外包膜マーカータンパク質を過剰に発現させると、葉緑体の凝集や異常な構造体の形成といった表現型を示すことも報告されている。現在、マーカータンパク質でしか葉緑体外包膜を蛍光で可視化することができず、その技術的な制限から、多くの植物種の野生細胞における葉緑体やその外包膜の挙動については不明な点が多く残されている。本発表では、農作物を含む様々な植物種において葉緑体外包膜を可視化できる 2 つの蛍光化合物を発見したことを報告する。ひとつは葉緑体外包膜への特異性が高く、農作物を含む多くの植物種の葉緑体外包膜を染色することができたが、例外として苔類ゼニゴケの葉緑体外包膜を染色することができなかった。もう一方は、葉緑体外包膜への特異性は低いが、ゼニゴケを含む多くの植物種の葉緑体外包膜を染色することができた。今後は、これらの蛍光化合物を利用することで多様な植物種の葉緑体外包膜の挙動が解明されることが期待できる。

2Fa-05

植物に適した光-電子相関顕微鏡法の開発：蛍光タンパク質の検討

Development for correlative light and electron microscopy suitable for plants

豊岡 公德, 後藤 友美, 武田 紀子

理研・CSRS

光-電子相関顕微鏡法 (CLEM) は、光学顕微鏡(光顕)と電子顕微鏡(電顕)を用いて同一試料・同一箇所を観察し、両顕微鏡により得られた像の相関を得る解析法である。試料調製時に工夫を施すことにより、蛍光標識した細胞内小器官(オルガネラ)の蛍光像や組織染色像を光顕で撮像し、その同一撮影箇所を走査電顕または透過電顕で観察することにより、微細構造の取得が可能となる。GFPなど蛍光タンパク質で標識した細胞やオルガネラのCLEM解析する場合、固定や樹脂包埋の段階で蛍光が退色する問題がある。近年、動物培養細胞を用いた研究で、四酸化オスミウム(Os)固定とエポキシ樹脂包埋に耐性を持つ蛍光タンパク質(Osエポキシ耐性蛍光タンパク質)の報告がいくつかあり、これらの蛍光タグの植物試料への応用を試みた。具体的には、Osエポキシ耐性蛍光タンパク質として報告がある、CLEM-Red, CLEM-Green, mEosEM, mCherry2にオルガネラ移行を付加した融合タンパク質をCaMV35sプロモーター下で発現させ、各蛍光タンパク質標識したオルガネラを持つシロイヌナズナ形質転換体を作製した。共焦点レーザー顕微鏡下で生細胞における蛍光の強弱、アルデヒド固定、Os固定、樹脂包埋による蛍光の強弱などを比較した。その結果、CLEM-Redが他の蛍光タンパク質より若干蛍光が残りやすい傾向があった。本発表では、それら具体的な結果とCLEM解析するための試料調製法、相関像を得る条件など述べる。

2Fa-06

機能性ペプチドを利用した植物改変技術-スプレー法とペプチド修飾カーボンナノチューブによる核酸送達法-

Methods for plant modification using functional peptides: nucleic acid delivery methods using foliar spraying and carbon nanotubes hybrids with functional peptides

小田原 真樹¹, Chonprakun Thagun^{1,2}, Simon Law¹, 児玉 豊^{1,3}, 沼田 圭司^{1,2}

¹理研・環境資源科学, ²京大・院工学, ³宇都宮大・バイオサイエンス

私達のグループでは機能性ペプチドを基盤とした高分子による植物改変技術の開発を行っている。機能性ペプチドは細胞透過性ペプチド(CPP)や核酸結合性ポリカチオンペプチド、オルガネラ移行ペプチド等の短いペプチドであり、これらを組み合わせた融合ペプチドを用いることによって核酸を細胞内に送達することができる。これまでは減圧加圧法や針なしシリンジを用いた手法により核酸-融合ペプチド複合体を植物に浸潤させ細胞内へと送達させていたため、処理できる植物材料に制限があった。今回、核酸-融合ペプチド複合体溶液を葉に噴霧することによって植物細胞内に核酸を送達する手法を開発した(スプレー法)。スプレー法によりDNAを導入した場合にはレポーター遺伝子GUSやGFPの発現、siRNAを導入した場合には遺伝子のサイレンシングが観察された。さらに、融合ペプチドに葉緑体移行ペプチドを用いることにより、導入したレポーター遺伝子の発現とsiRNAによるサイレンシングは葉緑体においても観察された。この手法により、ハイスループットな植物の核と葉緑体の改変が可能となる。一方、植物ミトコンドリアへの遺伝子送達の新たな担体として、ミトコンドリア移行ペプチドとポリカチオンペプチドで修飾を施したカーボンナノチューブを作製した。この担体を用いることによって、根のミトコンドリアへの効率的な遺伝子送達が可能となった。また、導入したDNAを相同組換えを介してミトコンドリアゲノムに組み込み、植物の形質を改変することにも成功した。今後ペプチド修飾カーボンナノチューブを用いることで、植物のオルガネラを効率的に改変することが可能になると期待される。

2Fa-07

局所的遺伝子導入法を用いた、シロイヌナズナの1細胞ゲノム編集、および、ホルモンフリー不定芽・不定胚誘導

Simple *Agrobacterium*-mediated Infiltration Methods Can Be Used for Single-cell Genome Editing and Hormone-free Adventitious Bud / Somatic Embryo Formation in *Arabidopsis thaliana*

池田 美穂¹, 中山 潤², 佐藤 舞², 石塚 徹², 竹内 洋輔², 山形 翼²

¹福井県大・生物資源, ²埼玉大・分生

アグロインフィルトレーション法は、外来遺伝子を植物細胞内で一時的に発現させる一過的遺伝子発現系の一つである。我々は、シロイヌナズナ実生に対して、シリンジを用いて引圧をかけることで局所的に遺伝子を導入するアグロインフィルトレーション法、「局所的遺伝子導入法」を開発した。これまでの大会では、本法を用いることで、*Pro35S:GFP* 遺伝子導入後 20 日間という長期間に渡って安定して GFP の蛍光を検出できること、さらに、本法を用いたトランジェントアッセイにより、下流遺伝子の発現変動を解析する手法を提案してきた。

今回は、局所的遺伝子導入法の活用例として、1) 1細胞ゲノム編集、および、2) 分化制御因子導入による不定芽・不定胚誘導を試みた。

1細胞ゲノム編集実験においては、恒常的に *tdTomato* を発現する形質転換体 (*ProRPS5A:H2B-tdTomato*) に対して、*tdTomato* をターゲットとしたガイド RNA を持つゲノム編集用ベクターを局所的に導入した。また、GFP をマーカーとして用いることで、遺伝子導入細胞を蛍光で判別した。局所的遺伝子導入後 18 日目のガイド RNA 導入細胞においては、*ProRPS5A:H2B-tdTomato* に由来する蛍光が減少することが確認された。

分化制御因子導入による不定芽・不定胚誘導においては、*Pro35S:BBMvp16:Hspter* と *ProRPS5A:RSE1srdx:Hspter* を同時に導入するコンストラクトを子葉に局所的に導入したところ、遺伝子導入細胞を持つ子葉において、高頻度で不定芽・不定胚の形成が観察された。不定芽・不定胚は植物ホルモンを含まない培地上で、遺伝子導入後 15~20 日目ごろから形成され、形成率は遺伝子導入細胞の数が多い個体で高い傾向が見られた。

2Fa-08

研究倫理教育におけるケーススタディの重要性

The importance of case studies in research ethics education

原田 英美子

滋賀県大・環境科学

筆者はこれまでに、組織的な研究不正を防ぐためには知識と技術の取得が重要だと考え、道徳教育にとどまらない研究倫理教育プログラムの構築を検討してきた。本発表では、研究倫理教育におけるケーススタディの重要性について論じる。ケーススタディは、実際に起こった出来事を詳しく分析することにより必要な一般的法則や原理を引き出す研究法で、リスク回避や新たな解決策が可能となる可能性がある。筆者らが推奨する、アクティブ・ラーニングを利用した実践的研究倫理教育プログラムにも導入が容易と考えられる。学生や若手研究者が不正グループに利用されないように、PI (研究室主宰者、研究責任者) が果たすべき役割についても述べる。

参考文献：1) 原田英美子, 池上徹 (2021) ポストコロナ時代の研究倫理教育 ―効果的な遠隔講義の立案に向けて。日本の科学者 56(3): 240-245. 2) 原田英美子 (2018) 研究不正とアカデミックハラスメントに負けないための研究倫理教育：滋賀県立大学新規開講科目環境研究倫理特論。日本の科学者 53(10): 570-574. 3) 原田英美子 (2018) 研究不正問題の包括的理解と実践的な解決法の探索。日本分子生物学会ワークショップ 生命科学分野における実践的研究倫理教育を目指して (2018年11月30日, 横浜) Researchmap にて講演資料公開 (<https://researchmap.jp/7000024000/>)。4) 原田英美子 (2016) トップダウン型研究不正の手法解明: 捏造・アカハラ研究室でいかに生き残るか? 東北大学金属材料研究所の例から学ぶ。金属 86(12): 1159-1170.

2Fa-09

ナノポアシーケンサー MinION による吉野川由来スジアオノリのゲノムシーケンシング

Genome sequencing of edible green alga *Ulva prolifera* originated from Yoshinogawa river in Japan using Oxford Nanopore Technologies' MinION sequencer

田村 啓太^{1,2}, 坊農 秀雅^{1,2}

¹広島大・院統合生命, ²広島大・ゲノム編集イノベーションセ

第3世代シーケンサー、あるいはロングリードシーケンサーと呼ばれる技術の登場により、ゲノムシーケンシングの報告が近年非常に活発になっている。なかでも Oxford Nanopore Technologies 社の MinION は、実験室で手軽に扱えるポータブルサイズでありながら最長数 100 kb～数 Mb ともいわれるロングリードが得られることが特徴で、植物ゲノムのシーケンシングにも幅広く用いられている。本研究では、MinION を用いて、スジアオノリ (*Ulva prolifera*) のゲノムシーケンシングを行った。広島県福山市の走島で陸上養殖されている吉野川由来のスジアオノリからゲノム DNA を抽出し、先行文献等から予測されたゲノムサイズ (約 100 Mbp) の約 170x カバレッジの Nanopore リードを取得した。低クオリティ領域のトリミングおよびリード長によるフィルタリングを行って取得した 158x カバレッジの Nanopore リードについて、NECAT アセンブラーを用いてアセンブルし、別途取得した Illumina ショートリードによるエラー補正および scaffolding を行うことで、全長 103.8 Mbp, N50 = 4.11 Mbp, 142 本の scaffold にアセンブルした。NECAT 以外の4種のアセンブラー (Miniasm, wtdbg2, Flye, NextDenovo) との比較検討結果および、NECAT 使用時のパラメーター設定の最適化結果についても発表する。

2Fa-10

ゲノム及びトランスクリプトーム解析を用いたアイスプラントの好塩性機構を制御する翻訳・非翻訳領域の機能解明

Functional analysis of untranslated regions in the halophilism of the common ice plant using genomic and transcriptomics

佐藤 稜真¹, 党 健¹, 近藤 侑梨¹, John C. Cushman², 東江 栄³

¹九州大・院・生物資源環境科学府, ²ネバダ大・リノ校, ³九州大・院農学

【背景】アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) は、作物の生育を阻害する濃度の NaCl 存在下で成長が促進する好塩性を示す。本研究では、本種ゲノムの特徴及び好塩性の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

【方法】本種 DNA からゲノムを構築し、その特徴を分析した。また、NaCl 存在下で培養した本種の懸濁培養細胞において発現量に変化する転写産物を同定し、機能並びに関連する代謝系を検討した。さらに、本種の遺伝子発現制御機構に対する長鎖非翻訳 RNA の機能を考察した。

【結果と考察】新規に構築した本種ゲノム配列の全長は約 283 Mb であり、高等植物に保存される遺伝子のうち 93.5 % を有していた。ゲノム解析により、34223 種類に及ぶ遺伝子及び反復配列を含む非翻訳領域の特徴を明らかにした。その結果、アイスプラントにのみ存在する、ウイルス応答、原形質流動、及び O-アセチル基転移酵素活性等に関与する遺伝子を見出した。また、100 mM NaCl で 14 日間処理した細胞のトランスクリプトーム解析の結果、1138 個の遺伝子の発現が有意に変動した。そのうち、561 個の遺伝子 (CYP72A219-like 等) の発現量が増加し、577 個の遺伝子 (HEXO2 等) の発現量が低下した。エンリッチメント解析から、発現変動遺伝子に多く含まれる機能として、酸化ストレス応答、原形質膜、及び FAD 結合等に関連する機能が示された。さらに、発現変動した長鎖非翻訳 RNA のうち 14 個がプロリン脱水素酵素及びシグナルペプチド等をコードする 44 個の mRNA と結合し、標的の発現量を制御することが予測された。以上の結果から、アイスプラントは NaCl 存在下で成長を促進させる独自の機構を有することが示唆された。

2Fa-11

植物由来のメタボローム測定生データの再解析とメタボローム統合データベース MetaboBank の構築

Reanalysis of Metabolome Raw Data from Plants and Construction of MetaboBank, an Integrated Metabolome Database

長崎 英樹¹, 荒 武^{1,2}, 福島 敦史^{3,5}, 大澤 祥子¹, 高橋 みき子⁵, 藤澤 貴智⁴, 時松 敏明⁴, 児玉 悠一⁴, 福田 亜沙美⁴, 諏訪 和夫⁶, 小林 紀郎⁷, 櫻井 望⁴, 金谷 重彦⁸, 平川 英樹¹, 有田 正規^{4,5}

¹かずさDNA研・植物DNA解析グループ, ²京大・生存圏研, ³京都府大・生命環境, ⁴遺伝研・DDBJ, ⁵理研CSRS, ⁶(株)リオレクト, ⁷理研R-IH, ⁸奈良先端大・情報科学領域

我々は統合化推進プロジェクトにおいて多様な代謝物をより多く同定することを目指すメタボローム解析データのアーカイブ化を行っている。かずさ DNA 研究所 (KDRI) で所有するメタボローム解析のメタデータのうち、主に液体クロマトグラフィ-質量分析装置 (LC-MS) による植物由来を中心とした 88 スタディ、1,197 サンプルについては Metabolonote (<https://metabolonote.kazusa.or.jp>) としてデータベース化され公開されてきたが、データ解析から数年以上が経過しているものが多く含まれるため、最新のソフトウェアやデータベースで再解析することで新たな代謝産物や機能性成分などが明らかになる可能性があった。解析ソフトウェアとして PowerGetBatch (Sakurai and Shibata, 2017) を用いて、LC-MS の機種ごとの設定の見直しを行い、KDRI のスーパーコンピュータシステムで再解析を行った。

メタボローム解析では、分析装置、解析手法などの設定が多様なため、実験を記したメタデータも複雑になる。このため国立遺伝学研究所で構築中の MetaboBank (<https://mb2.ddbj.nig.ac.jp/>) はサンプルから解析手法、結果ファイルまで追跡可能な MAGE-TAB 形式で登録し、Resource Description Framework (RDF) というデータ形式でアーカイブ化するため、検索等のデータ処理や他のオミックスのメタデータやデータベースとの連携が容易になる。KDRI とともに理化学研究所のメタボローム解析データも格納し、順次公開を行っており、本発表では研究コミュニティへの寄与についても考察する。

2Fa-12

薬用植物ムラサキにおける 2 つのハーフサイズ ABCG 輸送体の解析

Characterization of two half-size ABCG transporter genes from a lipid-secreting medicinal plant *Lithospermum erythrorhizon*

市野 琢爾¹, 巽 奏¹, 棟方 有桂¹, 坪山 愛¹, 森吉 英子¹, 中安 大¹, 高梨 功次郎², 矢崎 一史¹

¹京大・生存研, ²信州大・理

植物は多様な代謝産物を生産し、細胞内に蓄積あるいは細胞外に分泌することによって、変動する生息環境に適応してきた。一般に、地上部の表皮細胞は、ワックスやクチンからなるクチクラ層を細胞壁の外側に形成することで、乾燥ストレスに対応している。植物種に特化した例では、カマレキシニンやジテルペン類の分泌を介した病原菌からの防御や、香氣成分の放出による花粉媒介者の誘引なども知られる。これまでに G サブファミリーに属する ABC タンパク質がこれらの疎水性代謝産物の輸送に関与することが報告されてきた。

薬用植物ムラサキは、東アジアを中心に自生するムラサキ科の多年生草本である。ムラサキの根を乾燥させたものは「紫根」と呼ばれ、伝統的に衣類の染料や生薬として利用されてきた。ムラサキの細胞は、特化代謝により生合成される赤色素シコニン類や、ベンゾキノンであるエキノフラン類に加えて、貯蔵脂質であるトリアシルグリセロールを分泌している。しかしながら、これら脂溶性物質を細胞外に分泌するメカニズムは不明である。そこで、我々はムラサキで発現する 2 つの ABCG タンパク質 LeABCG1 と LeABCG2 に着目して研究を進めた。ムラサキの根において、LeABCG1 は根皮での発現が高い一方、LeABCG2 は恒常的に発現することを見出した。局在解析の結果、LeABCG1 と LeABCG2 は共に細胞膜に分布することがわかった。本発表では、分子系統関係に基づくシロイヌナズナオーソログとのアミノ酸配列及びゲノム構造の保存性についても議論する。本研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) のスマートセル・プロジェクト「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」の支援の下で実施した。

2Fa-13

ヒメツリガネゴケ由来のペルオキシダーゼ (Prx34) の大腸菌による生産と特徴づけ

Production of a recombinant peroxidase derived from *Physcomitrium patens* and its characterization

伊藤 健司¹, 中 雄輝¹, 秋田 求²

¹近畿大院・生物工学, ²近畿大・生物工学

ペルオキシダーゼ (E.C. 1.11.1.7) は、防御応答や細胞壁の修飾、オーキシン代謝、二次代謝物質生合成などにおいて多様な役割を担い、また医療や工業など様々な分野で用いられている汎用性が高い酵素である。

私たちは蘚類の *Physcomitrium patens* の病害応答の研究で見出されてきたキトサン応答性ペルオキシダーゼ (Prx34) に注目している。Prx34 は、病害応答誘発物質でもあるキトサン処理により速やかに培地中に放出され、病原体接触時の迅速な活性酸素種 (ROS) の生成にも関与している。また、Prx34 はカビに対する抵抗性において重要な役割を担うことが報告されている (Lehtonen et al., 2009)。

この Prx34 の詳細な機能を明らかにするとともに利用可能性を検討するため、私たちは大腸菌 (Rosetta DE3) による異種生産と解析を試みてきた。大腸菌で発現させた組換え Prx34 (rPrx34) は、封入体を形成することなく、主に培地を中心とした可溶性画分に誘導された。そして、精製された rPrx34 は植物由来の西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) の 20 倍以上高い比活性 (Diammonium 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate): ABTS) を示した。ABTS 酸化活性において rPrx34 は HRP に比べてより酸性側で活性を維持し、かつ高い触媒効率を示していた。また、Tetramethylbenzidine (TMB) 酸化活性でも同様に HRP を上回る触媒効率を示した。本発表では、rPrx34 の ABTS や TMB, o-Phenylenediamine (OPD) などのペルオキシダーゼ基質に対する反応性を HRP と比較した結果を示し、Prx34 の特徴づけを試みた結果を報告する。

2Fa-14

マーガレットとイワコマギクの属間雑種作出と雑種性の確認

Production and confirmation of intergeneric hybrid between *Argyranthemum frutescens* and *Anacyclus pyrethrum*

勝岡 弘幸

静岡農林技研・伊豆農研セ

マーガレット (*Argyranthemum frutescens*) は切り花や鉢物用として広く栽培されている。花き類では、新しい特性を持った新品種の作出が、需要の喚起と収益性の向上のために重要である。既存の品種にはない特性をマーガレットに付与するため、マーガレットとイワコマギク (*Anacyclus pyrethrum*) の属間交雑を行い、後代の作出と、形態的特性の調査、DNA マーカーによる雑種性の判定を行った。

マーガレットを種子親、イワコマギクを花粉親に用いた交配を行った。マーガレット'08-23-1'とイワコマギク'シルバーキス'の交配組合せから充実した胚珠が得られ、胚珠培養により健全な植物体を得た。得られた個体の葉型は両親の間中型、草丈は種子親のマーガレットよりも低く、花色は花粉親のイワコマギクと同様、舌状花卉の表面が薄桃色で裏面が赤色であった。得られた個体の雑種性を確認するため、両親および近縁種の ITS 領域の塩基配列情報から、それぞれの属に特異的な増幅断片が得られるようプライマーを作成し、雑種性の判定を行った。電気泳動像の解析の結果、種子親、花粉親には想定された属特異的なバンドが観察され、交配後代は両属に特異的なバンドの両方を有していたため、雑種であると判定された。

本研究により、マーガレットとイワコマギクが交雑可能なことが初めて明らかとなった。また、この雑種は、既存のマーガレットにはない花色パターンを有しており、マーガレットよりも草丈が低いことから鉢物としての有用性が高いと考えられる。今後、品種登録と産地への導入を視野に、生育および開花特性の調査を行う。

2Fa-15

台中 65 号の細胞質およびアフリカイネの核を持つ TG-CMS の原因遺伝子解析とその稔性回復様式の調査

Analysis of genes responsible for male sterility and a mode of fertility restoration in TG-CMS with the cytoplasm of Taichung 65 and the nucleus of African rice

武田 信哉¹, 市田 裕之², 阿部 知子², 有村 慎一³, 風間 智彦⁴, 陳 孫祿⁵, 金岡 義高⁵, 貴島 祐治⁵, 鳥山 欽哉¹

¹東北大・院・農, ²理研・仁科, ³東大・院・農生命, ⁴九大・院・農, ⁵北大・院・農

日本型イネ台中 65 号 (T65) の核をアフリカイネ *Oryza glaberrima* で置換した系統は細胞質雄性不稔性 (Cytoplasmic male sterility; CMS) を示し, T65 の第 10 染色体に存在する稔性回復遺伝子の作用により稔性が回復する (金岡ら, 2018 育種学研究 20 別 1:121)。この CMS の原因遺伝子の解析, および稔性回復様式の調査を目的とした。

花粉を観察したところ, 稔性回復系統 (TGC) では正常な花粉が観察された一方で, CMS 系統 (TGA) ではデンプンが蓄積せず潰れた表現型を示した。また, これらを交配して得られる F₁ の花粉は全て正常な表現型を示した。さらに, F₂ において, 稔性回復遺伝子に連鎖した SSR マーカーを使用してジェノタイプングを行った結果, TG-CMS の稔性回復遺伝子は孢子体型で作用することが明らかになった。

T65 のミトコンドリアゲノムの全塩基配列を決定し (DDBJ 登録番号 LC697740), TGA の花粉と同様の表現型を示す WA-CMS (Luo *et al.*, 2013) に関連した遺伝子の発現をノーザンブロット解析で調査したところ, *orf288* について, TGA では強いシグナルが検出された一方, TGC ではシグナルが見られなかったため, *orf288* が TG-CMS 原因遺伝子と考えられた。稔性回復遺伝子がマッピングされた領域に存在する *Rf* 様 *PPR* 遺伝子がタペート細胞において *orf288* RNA のプロセッシングに関与していると予測された。(謝辞: 科研費 20K21300)

2Ap-01

サクラソウ属特異的なフラボノイド生合成の解明

Elucidation of *Primula*-specific flavonoid biosynthesis

内田 開^{1,2}, 明石 智義², 平井 優美¹

¹理研CSRS, ²日大・生物資源・応用生物

サクラソウ属 (*Primula*) 植物は北半球を中心に様々な国と地域に自生しており, 日本においても様々な品種のサクラソウが知られている。サクラソウ属植物の特徴として, フラボン (2-phenylchromone) などの高い疎水性を示すフラボノイド (プリムラフラボノイド) を生産することが知られている。さらに一部の種はこれをトライコームから体外に排出する, いわゆる「粉を吹く」ことが知られている。近年, 植物体外に排出されたフラボンが耐寒・耐凍性に寄与することが報告されたが, その生合成および排出メカニズムについては一切わかっていない。そこで本研究では園芸品種「プリムラ」の原種の一つであるカウスリップ (*Primula veris*) のトランスクリプトームデータを用いて, プリムラフラボノイド生合成に関与する酵素遺伝子の同定を行った。

P. veris のドラフトゲノムは不完全であったため, sequence read archive から *P. veris* の RNA-sequencing データを取得し, Trinity を用いた *de novo* assemble によりコンティグを再構築した。このデータからフラボノイド生合成に関与すると予想されるアノテーションが付与された cytochrome P450 を複数選抜し, クローニングと酵母発現系を用いた *in vivo* アッセイを行った。その結果, プリムラフラボノイド特異的に活性を示す新規フラボノイド水酸化酵素が見つかった。さらに, フラバノン (2-phenylchromanone) を基質にフラボンを生成するフラボン合成酵素も見つかり, これは既知のもの (CYP93B and G) とは異なるファミリーに属していた。今後はこれらの詳細な酵素機能の解明およびプリムラフラボノイド生合成と排出メカニズムの全容を解明していく予定である。

2Ap-02

Important roles of PGDH-mediated serine synthesis in thallus growth, male gametogenesis and metabolism in *Marchantia polymorpha*

Mengyao Wang¹, Hiromitsu Tabeta^{1,3,5}, Kinuka Ohtaka^{1,6}, Ayuko Kuwahara¹, Kiminori Toyooka¹, Mayuko Sato¹, Mayumi Wakazaki¹, Hiromichi Akashi¹, Takayuki Kohchi⁴, Ryuichi Nishihama^{4,8}, Keisuke Yoshida⁷, Ali Ferjani⁵, Masami Yokota Hirai^{1,2}

¹Yokohama Inst., Riken, ²Grad. Bio. Sci., Univ. Nagoya, ³Grad. Arts. Sci., Univ. Tokyo, ⁴Grad. Bio., Univ. Kyoto, ⁵Grad. Bio., Univ. Tokyo Gakugei, ⁶Grad. Chem. Bio., Univ. Japan Women's, ⁷Lab. Chem. Life Sci., Inst. Tokyo Tech, ⁸Fac. Sci. Tech., Sci. Univ. of Tokyo

Among three serine synthesis pathways in plants, the phosphorylated pathway is conserved in animals, plants, and bacteria. This pathway is the sole source of serine in some specific cell types is essential for development of embryo, pollen, male gametophyte and postembryonic root. Because the 3-phosphoglycerate dehydrogenases (PGDHs) are responsible for several physiological events, they may represent a major checkpoint in this pathway. Here, we investigated the role of the phosphorylated pathway in *Marchantia polymorpha* L. by analyzing *Mppgdh* loss-of-function mutants. We found that the phosphorylated pathway is crucial for thallus growth in the dark and for sperm formation. Additionally, the *MpPGDHpro:GUS* transformed plants displayed clear GUS staining in gemma, midribs, and antheridiophores. Metabolome analysis of plants grown under different light regimes and CO₂ levels revealed changes in the contents of various metabolites related to tricarboxylic acid cycle, one-carbon metabolism, and plant responses to environmental stressors. Together, our results indicate that serine production by the phosphorylated pathway is particularly important for growth, sperm formation and stress response.

2Ap-03

ダイズ栽培における土壌中の揮発性有機化合物の時系列変動

Time-series variation of volatile organic compounds in soil under soybean cultivation

朽方 ひかり¹, 福島 直登², 市橋 泰範³, 草野 都⁴

¹筑波大・院生物資源科学, ²福島大・食農学類, ³理研・BRC, ⁴筑波大・生命環境系

国産ダイズの需要は増加傾向にあるが、海外に比べ単収が低く品質や収量が不安定といった課題がある。このような状況下、地力の向上—即ち土壌環境と植物の相互作用に対する理解が求められている。揮発性化合物 (VOCs) は相互作用への関与が示唆されているが、VOCs と土壌に関する研究は少ないのが現状である。

そこで本研究ではダイズ栽培土壌に着目し、播種時から成熟期にかけて、経時的に採取した土壌に含まれる VOCs の時系列変動を捉え、土壌環境の把握、生育変化に伴う土壌への影響の解明を目的とした。福島県農業総合センターの圃場でダイズ (*Glycine max* “里のほほえみ”) を栽培し、播種時から成熟期まで 2 週間ごとに土壌を採取した。条件として採取深度、施肥の 2 種を設定した。

土壌中の VOCs の捕集には SPME 法を、検出および分析には GC-TOF-MS を使用した。統計解析として VOCs プロファイルの条件ごとの比較は主成分分析 (PCA) および判別分析の一種である PLS-DA を適用した。

GC-TOF-MS 分析の結果、全 118 のピークが検出された。アノテーションのついたピークは 45 種であり、アルコールやテルペン類など多様な化合物が検出された。PCA と PLS-DA では採取日の一部期間が、深度は 2 項目について異なる傾向が見られた。時系列では一部で規則的な変動が見られ、16 個の化合物が一部期間で増加傾向にあった。一部の VOCs の時系列変動は開花期、子実肥大期など生育ステージに応じて変化が認められた。

このことから生育時期における微生物など土壌環境の変化に応じて VOCs の量が変化する可能性が示唆された。本研究は SIP 「スマートバイオ産業・農業基盤技術」(管理法人:生研支援センター) によって実施されました。

2Ap-04

エリシテーションにより高発現したゴマ培養細胞中アシル化酵素の解析

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

藤 佑志郎^{1,2}, 松藤 寛³, 明石 智義⁴, 平井 優美¹

¹理研CSRS, ²日大・生資科, ³日大・食生, ⁴日大・応生

フェニルエタノイド配糖体 (PhGs) は、C₆-C₂ ユニットのグルコシドを基本骨格とし、数百種以上の薬用植物に含まれる特化代謝産物である。様々な薬理作用を有することから、医薬品として、またこれらをリード化合物とした創薬利用が期待されている。しかし、天然に最も広く存在し (150 植物種以上)、代表的な PhGs として知られるアクテオシドでさえ、大量生産系が確立されておらず、疾病治療に用いるには量産化が大きな課題となっている。一方、アクテオシド生合成経路について、チロシンやフェニルアラニンから、カフェ酸やヒドロキシチロソールを経て生合成されることが報告されている。しかし、カフェ酸やヒドロキシチロソール以降の中間体や遺伝子、酵素は明らかにされておらず、C₆-C₂ から配糖体・アシル化体へ至る生合成機構の詳細は不明である。

これまでにゴマ (*Sesamum indicum* L.) の組織培養を試み、アクテオシドのみを優先的に生産し、ジャスモン酸メチル (MeJA) を用いたエリシテーションにより、アクテオシド量のみが有意に増加する培養細胞が得られた。さらに RNA-seq 解析に供したところ、MeJA により高発現したアシル化酵素遺伝子を 2 種選抜できた。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、C₆-C₂ グルコシドに対するアシル化活性を検討した。これら酵素の機能解析について報告する。

2Ap-05

落花生におけるポリフェノール代謝経路の解析

Analysis of polyphenol metabolism in *Arachis hypogaea*

早川 修平¹, Chaiwat Aneklaphakij^{1,2}, 渡邊 むつみ¹, 峠 隆之¹

¹奈良先端大・先端科学, ²Mahidol大・薬学

ポリフェノール類は、食品や食物に含まれるヘルスケア成分であるとともに、種皮や花序などの器官やストレス応答時に産生されるストレス防御機能をもつ植物特化 (二次) 代謝物である。落花生は、フラボノイドやスチルベノイドなどのポリフェノールが豊富に含まれており、それら成分の生物活性の評価や代謝工学的な含量改変を目的とした研究が注目されている。しかし、より高品質な種実類作物の品種改良に応用可能なポリフェノール産生の鍵遺伝子群の特定に至る方法論の構築は、生合成経路全体の解明が必要なため、解決すべき課題が多い。一方、近年のシークエンス技術の発展により、栽培種落花生 (*Arachis hypogaea*) の全ゲノムが解読され、オミクス解析が可能になった。そこで本研究では色素自然変異品種を含む栽培種落花生を用いて、品種間や器官特異性に着目したメタボロミクス比較解析を行った。またデータベースで公開されている RNA-seq を用いたトランスクリプトーム解析との統合解析を行うことで、落花生特異的に複製している遺伝子群やポリフェノール類産生に関わる配糖体化酵素の候補遺伝子を複数特定することができた。本発表では、落花生が産生するポリフェノール類の器官特性および特定した候補遺伝子の特性について紹介する。

2Ap-06

イチイ培養細胞と酵母を使ったタキサン化合物生合成系の開発

Engineering of bioconversion system of taxane compounds in yeast and yew cell culture

草野 博彰¹, 南洋², 加藤 嘉博², 金沢 香織¹, 李 豪¹, 飛松 裕基¹, 杉山 暁史¹, 多葉田 誉², 矢崎 一史¹

¹京大・生存研, ²北海道三井化学・ライフサイエンスセンター

イチイは抗がん薬パクリタキセルをはじめ、多様な類縁化合物（タキサン化合物）を生産している。このタキサン化合物およびその生合成系には、パクリタキセルに至る経路を含めて未だ多くの未同定因子が残されている。我々はタキサン化合物の生産技術開発に向けて、酵素および輸送体遺伝子の単離、および酵母を応用した生合成系の開発に取り組んできた。また、新たに開発・公開したメタボロミクス解析技術を応用して、イチイ培養細胞の培養系の調節することで酵母による発酵生産の出発物質に適したタキサン化合物の組成を得ることを試みた。これまでの研究から、酵母にタキサン化合物を取り込ませることが可能な輸送体遺伝子を利用することで、培養液に添加されたタキサン化合物を代謝できることがわかった。この系は未同定酵素遺伝子のスクリーニングに利用できるほか、複数種類の酵母株を同時併用した並行複醗酵に適用することができる。本研究は新エネルギー産業技術開発機構（NEDO）の助成を受けたプロジェクト成果に基づいています。

2Ap-07

植物のフェノール基質プレニル化酵素の部位特異性を担うアミノ酸領域の解析

Analysis of an amino acid region responsible for the regio-specificity of plant aromatic prenyltransferases

韓 俊文¹, 棟方 涼介¹, 高橋 宏暢², 肥塚 崇男³, Alain Hehn⁴, 矢崎 一史¹

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

植物における膜結合型プレニル化酵素（PT）は、フェノール等の基質にプレニル基を転移させる反応を触媒する。またこのプレニル側鎖は生理活性の発現重要であることが知られる。一般に植物 PT は基質やプレニル化部位に対して高い特異性を示すが、その分子機構は不明である。本研究では、植物 PT のプレニル化部位特異性の解明を目的とし、セリ科パースニップ（*Pastinaca sativa*）由来の PsPT1 及び PsPT2 を実験材料として選定した。PsPT1 と PsPT2 は相同性約 70% で、それぞれクマリン類の 6 と 8 位にプレニル基を転移させるが、その部位特異性（8 位プレニル化体量/全生成物量）は各々 3%、83% と大きく異なる。ドメインまたアミノ酸残基レベルで置換したキメラ酵素群の生成物特異性を生化学的に解析した結果、1 残基置換で最も大きな変化を示すものとして、PsPT2 の 165 番目のアラニン（A165）を見出した。現在、A165 に変異を導入した酵素について、詳細な酵素機能解析を進めている。

さらに、このアミノ酸残基を中心として周辺アミノ酸が、植物 PT ファミリーの触媒機能に普遍的に影響を与えるかを確かめるため、クワ科のイチジクにおいて PsPT1 と同様の酵素活性を有する FcPT1a に着目した。両酵素は互いに独立した分子進化により発生しているため、相同性が 23% と低く PT の中でも互いに別サブグループに分類される。FcPT1a について、PsPT2 の A165 に相当する部位、またその周辺に変異を導入し、生成物特異性に対する効果を調べた。大会ではその結果についても報告する。

2Ap-08

ムラサキのシコニン生合成に関わる 2 つの 4-coumaroyl-CoA ligase の機能特性

The functional characteristic of two 4-coumaroyl-CoA ligase involved in shikonin biosynthesis in *Lithospermum erythrorhizon*

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

¹京都大学 生存圏研究所, ²徳島大学 生物資源産業学部, ³東京慈恵会医科大学 医学部, ⁴東洋大学 生命科学研究科

薬用植物ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*, ムラサキ科) は、根特異的に脂溶性二次代謝産物のシコニンを生産する。シコニンは、赤色のナフトキノン誘導体で、多様な薬理活性を有し、古くから薬用や染料として利用されてきた。しかしながら、ムラサキは現在、絶滅危惧種に指定されており、その解決策として 1980 年代に培養細胞を用いたシコニンの安定生産系が確立された。シコニンは、*p*-hydroxybenzoic acid と geranyl diphosphate のカップリングにより生成する *m*-geranyl-*p*-hydroxybenzoic acid を基本骨格とし、その後、数段階の酵素反応を経て生合成される。近年の研究技術の発達を受け、新たな生合成酵素や関連遺伝子が報告されてきているが、培養細胞の確立から約 40 年となる今も尚、シコニン生合成の全容解明には至っていない。

これまでの研究で、シコニン生合成に酵素 4-coumaroyl-CoA ligase (4CL) が関与することを *in vivo* 解析により明らかにしてきた。一方、ゲノム配列が明らかとなったことで、ムラサキには少なくとも 8 つの 4CL パラログが存在することが明らかになった。発現プロファイルの解析からは、その内シコニン生産と同調した発現パターンを示すパラログが 3 遺伝子見出された。そこで、ゲノム編集技術を用いて、これら 3 遺伝子を標的としたノックアウト毛状根を作製し、シコニン生産量への影響を解析した。その結果、2 つの 4CL がシコニン生合成に関与することが示唆された。さらに、これら 2 つの 4CL が C 末端側に peroxisome targeting signal (PTS1) を有することからペルオキシソームに局在することが予測された。そこで、これら 2 つの 4CL の GFP 融合タンパク質を構築し、その局在解析を行った。

2Ap-09

マスティックノキ (*Pistacia lentiscus*) 由来の色素体局在性長鎖型 *cis*-プレニルトランスフェラーゼの機能解析

Identification and functional characterization of a plastidial long-chain *cis*-prenyltransferase from *Pistacia lentiscus*

田中 海斗¹, 廣森 美樹¹, 和氣 駿之¹, 青木 裕一², 山下 哲³, 戸澤 譲⁴, 山口 晴彦⁵, 宮城 ゆき乃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埼玉大・院・理工, ⁵住友ゴム工業(株)

マスティックノキ (*Pistacia lentiscus*) の滲出液には多様なイソプレノイドが含まれ、その利用の歴史は古い。我々は、マスティックノキにおけるイソプレノイド生合成経路解明のため、ポリイソプレノイドの基本炭素骨格を生合成する *cis* 型プレニルトランスフェラーゼ (cPT), PlcPT1 および PlcPT2 の詳細な機能解析を行った。PlcPT1, PlcPT2 はいずれも N 末端側に色素体移行配列の存在が推定された。大腸菌で異種発現させた全長 PlcPT1 は不溶性タンパク質となり、C₅₅, C₆₀ のポリイソプレノイドを合成する活性を示したのに対して、全長 PlcPT2 は不溶性であり、明確な活性が確認できなかった。しかし、N 末端 58 残基を除いた PlcPT2 ΔN58 は可溶となり、C₈₀-C₁₀₀ のポリイソプレノイド合成活性を示した。そこで、より詳細に N 末端配列欠失の影響を解析したところ、48 残基欠失で可溶性となり、12 残基欠失で明確な活性が示されるようになった。生成物鎖長解析の結果、N 末端アミノ酸配列を削除するに従って生成物鎖長が長くなる傾向が見られた。これらの結果から、N 末端領域が cPT 活性に干渉していることが示された。さらに、ベンサミアナタバコを用いた局在解析の結果、PlcPT2 が色素体局在であることが明らかとなった。一般に、C₈₀-C₁₀₀ を合成する長鎖型 cPT は ER に局在し、その活性発現には相互作用タンパク質を必要とするため、PlcPT2 が新奇な特性を有する cPT であることが示された。

2Ap-10

ワスレナグサの花に蓄積するピロリジジナルカロイドの評価およびその生合成に関与する Homospermidine synthase の解析

Pyrrolizidine alkaloids are biosynthesized and accumulated in flowers of *Myosotis scorpioides*

高野 恭平¹, 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

特定の植物が生産するピロリジジナルカロイド (PAs) は、強い毒性から防御系代謝産物として知られる一方で、特定のチョウの性フェロモンの原料になることが知られている。日本列島の渡りで知られるタテハチョウ科に属するアサギマダラ (*Parantica sita*) は、初夏から晩夏にかけて、ムラサキ科植物のワスレナグサ (*Myosotis scorpioides*) の群落に集まる様子が観察される。ムラサキ科植物は PAs を生合成することが知られているが、ワスレナグサにおいて生産される PAs の生合成経路や蓄積部位については分かっていない。また、これまでにアサギマダラとワスレナグサの関係性について言及する論文もない。そこで本研究では、ワスレナグサの PAs 動態の基盤情報を得るとともに、アサギマダラとの PAs を介した相互作用の有無について調べることを目的とした。ワスレナグサの各部位から代謝産物を抽出し、LC-MS/MS 解析に供したところ、花を含めた全組織から特定の PAs を検出した。また、PAs が蓄積していた茎組織から total RNA を抽出し、RNA-Seq 解析を用いて PAs の生合成初期に関与するとされる homospermidine synthase (HSS) の探索を行ったところ、2 分子種の HSS が見つかった。大腸菌発現系を用いてこれらの酵素アッセイを行ったところ、2 分子種とも homospermidine 生成活性を示した。半定量的 RT-PCR を行ったところ、ワスレナグサにおいてはすべての組織で *HSS1-2* が発現していることが分かった。これらの結果は、ワスレナグサの花において PAs が生合成および蓄積されていることを示し、アサギマダラとの間に PAs を介した相互作用が存在する可能性を強く示唆する。

2Cp-01

熱帯熱マラリアワクチン抗原高発現イネの解析

Analysis of Malaria vaccine antigen high level expression rice

加藤 洋香¹, 藤本 菜緒¹, 中野 大樹¹, 野澤 彰³, 高島 英造³, 曾我 郁弥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

現在、世界中で猛威を振るっている新型コロナウイルス感染症をはじめとする多くの感染症の予防にはワクチン製剤が有効であると考えられている。ワクチン製剤の多くは動物細胞を用いて産生されているが、培養設備などが必要であるため、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注目されている。先行研究では、種子中にコレラ菌に対するワクチン抗原 (CTB) を産生するイネの開発に成功した。CTB は免疫原性を保った状態で、腸管上皮組織まで到達し、粘膜免疫を誘導した。

本研究では、世界で多くの死者を出しているにも関わらず、いまだに有効なワクチンが開発されていない、熱帯熱マラリア感染症に着目した。イネ種子でワクチン抗原を高発現させ、その機能を解析することを目的として研究を行っている。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) を対象とした。GAMA5 をコードする遺伝子を用いて発現プラスミドを構築し、アグロバクテリウム法を介してイネを形質転換した。その結果、7 系統のイネが得られた。形質転換したすべてのイネ個体のゲノム DNA 中に導入遺伝子の配列が確認された。形質転換イネ種子を粉末化しタンパク質を解析したところ、ワクチン抗原が含まれていることが確認された。現在、ワクチン抗原のイネ種子細胞内局在に関する調査を行っている。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。

2Cp-02

β-カロテンを果実に蓄積させた遺伝子組換えナス

Genetic engineering of eggplant accumulating β-carotene in fruit

三柴 啓一郎¹, 西田 佳永², 井上 直人², 藤原 知也², 寺西 俊滋², 岩田 雄二², 山本 涼平¹, 竹田 恵美³, 小泉 望²

¹龍谷大・農学, ²大阪公大・院農学, ³大阪公大・院理学

ナス (*Solanum melongena* L.) 果実は、同じナス属のトマト果実に豊富に含まれている β-カロテンなどのカロテノイドをほとんど含まない。そこで本研究では、代謝工学によりナス果実の β-カロテン含量を高める可能性について検討した。ナスのカロテノイド生合成関連遺伝子の発現を調査したところ、*PSY* の mRNA 発現量が果実で低かったことから、*PSY* が律速である可能性が見出された。そこで、*Erwinia uredovora* の *PSY* をコードする *crtB* 遺伝子を、果実で発現する *EEF48* 遺伝子のプロモーターに連結し、ナス品種'千両二号'への導入を試みた。アグロバクテリウム感染により得られた組換えナス 2 系統の果実より RNA を抽出し *crtB* の mRNA 発現を解析した結果、1 系統で発現が認められ、この系統の果肉は薄いオレンジ色を呈した。この組換えナス果実と野生型果実のカロテノイド含量を測定した結果、野生型果実の β-カロテン含量が 0.05 μg/gFW であったのに対して、組換え果実では約 30 倍の 1.5 μg/gFW 含まれていた。この組換え系統の自殖後代における T-DNA の分離比は 3:1 になったことから、1 コピーの T-DNA が挿入されていることが推定された。後代植物のうち T-DNA 挿入個体では、果肉が薄いオレンジ色を呈して β-カロテンを蓄積していたのに対し、T-DNA が挿入されていない個体では野生型果実と同程度の β-カロテン含量であった。これらの結果から、ナス果実で *crtB* を発現させることにより β-カロテンを蓄積することが示された。

2Cp-03

老化誘導プロモーターとセルラーゼを用いた高糖化性イネの開発

Enhanced saccharification of rice straw by senescence-induced expression of cellulase

三浦 佳乃, 高畑 開理, 市川 晋, 古川 佳代子, 伊藤 幸博

東北大・院農

現在、作物の非可食部を用いた、稲わらなどのセルロース系バイオマスを原料としたバイオリファイナリーが注目を集めているが、セルロースが構造上分解しにくく、糖化处理にコストがかかるという問題がある。そこで、本研究ではイネにセルラーゼ遺伝子を組み込むことで細胞壁の部分分解を誘導し、糖化性を向上させることを目的とした。また、先行研究より、恒常的にセルラーゼを過剰発現させると形態異常や不稔が引き起こされることが分かっているため、プロモーターには老化期に発現を誘導する、*SGR* プロモーターを用いた。セルラーゼはその分解様式によりエキソグルカナーゼ (*EXG1*)、エンドグルカナーゼ (*ENG1*) に分類でき、これを単独で発現させる、*SGR:EXG1* 導入系統、また、これらを融合したハイブリッドセルラーゼを発現させる、*SGR:EXG1-ENG1* 導入系統、*SGR:ENG1-EXG1* 導入系統を作出した。

これらを葉身、葉鞘、茎の三部位に分け、糖化性試験を行った結果、*SGR:EXG1* 導入系統と *SGR:EXG1-ENG1* 導入系統ではいずれの部位においても糖化性の向上は見られなかった一方で、*SGR:ENG1-EXG1* 導入系統では葉鞘の一部の系統において糖化性が有意に向上していた。このことから、ハイブリッドセルラーゼを導入した系統では、1 つのタンパク質が両方の活性を持つことで効率的にセルロースを分解でき、稲わらの糖化性が向上したと考えられた。また、*SGR:ENG1-EXG1* 導入系統が *SGR:EXG1-ENG1* 導入系統よりも糖化性が高かったことから、融合のさせ方が重要であると考えられた。今後は、導入したハイブリッドセルラーゼの発現およびセルラーゼ活性と糖化性の向上との間の相関を調査したい。

2Cp-04

Switching Localization of an Arsenite Transporter PvACR3;1 Using N-Terminal Region of a Boric Acid Channel AtNIP5;1

Abhijit Arun Daspute¹, Daichi Wasa², Keita Muro¹, Junpei Takano¹

¹Osaka Metropolitan University, ²Osaka Prefecture University

Arsenic (As) is a toxic metalloid present in the soil. It is a very serious problem for human health when accumulated in plants. In the previous studies, two arsenite transporters; *PvACR3* and *PvACR3;1* were isolated from As hyper-accumulator fern, *Pteris vittata*. In transgenic Arabidopsis with 35S:*PvACR3*-GFP construct, *PvACR3*-GFP localized to the plasma membrane (PM) and enhanced As efflux from root and translocation to shoot (Chen et al., 2013). In contrast, *PvACR3;1*-GFP localized to the vacuolar membrane and showed As accumulation in root and lower translocation to shoot in Arabidopsis and tobacco (Chen et al., 2017). We have previously reported that the N-terminal cytoplasmic region of *AtNIP5;1* is important for the polar localization in the PM towards soil side of root epidermal cells (Wang et al., 2017). In the present study, we aimed to create Arabidopsis plants that can actively excrete arsenite from the root by expressing and localizing the exporter on the soil-side PM of the epidermal cells. The N-terminal regions of *PvACR3* and *PvACR3;1* were replaced with that of *AtNIP5;1* and the chimeric fusion constructs were expressed under the control of the *AtNIP5;1* promoter. The confocal imaging revealed the localization of GFP-*AtNIP5;1*Nter-*PvACR3;1* to the PM in the root epidermal cells. We are analyzing As excretion from root and As accumulation in shoot of the transgenic plants.

2Cp-05

持続可能な農業のための省肥料植物の開発に向けたカリウムトランスポーターとリン酸トランスポーターの強化

Enhancement of potassium transporters and phosphate transporters to develop fertilizer-saving plants for sustainable agriculture

多田 雄一¹, 牧野 空², 野池 優希¹

¹東京工科大・応用生物, ²東京工科大・院・バイオニクス

リン酸は世界の農地の7割で不足しているうえ、植物による吸収・利用効率は低く、原料のリン鉱石の枯渇が予想されている。カリウムも生産性を高めるためには施肥する必要がある。一方で、これらの肥料は富栄養化などの環境問題も引き起こしている。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、持続可能な農業を行ううえで重要である。

これまで、各種リン酸トランスポーターやリン酸の吸収・利用を制御する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ることで、高リン酸・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ることを見出した。これらの組換え体では無機リン酸と全リン含量は WT と差はなく、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。一方で、Actin プロモーターにより構成的に TaPT2 を発現させた場合には成長促進は見られず、根の表皮特異的な発現がリン酸利用効率を高めるために重要であることが示された。

また、根の皮層と維管束で発現する SKOR プロモーターによりカリウムトランスポーター (SvHKT2) を発現した場合にも、低カリウム条件での組換え体の成長が向上した。0.05 mM カリウム培地で水耕栽培した WT の成長量が 3mM の場合と比較して 63%減少したのに対して、SKORpro-SvHKT2 を発現する組換えシロイヌナズナの成長量の減少は 25.5%にとどまった。このことから、SvHKT2 を組織特異的に発現させることで低カリウム耐性を強化できる可能性が示された。

2Cp-06

OsERA1 遺伝子改変イネの乾燥ストレス応答の解析

Mutation of *OsERA1* gene affects drought stress response in rice

小賀田 拓也¹, 石崎 琢磨², 藤田 美紀³, 藤田 泰成^{1,4}

¹国際農研・生物資源利用, ²国際農研・熱帯・島嶼研究拠点, ³理研・CSRS, ⁴筑波大・生命環境

シロイヌナズナの *ERA1* (*Enhanced Response to ABA1*) 遺伝子は、タンパク質ファルネシル基転移酵素 β サブユニットをコードしている。*ERA1* 遺伝子の発現が抑制されると、アブシシン酸に対する気孔閉鎖応答などが促進され、植物の乾燥応答が向上することが示されてきた。また、私たちは、ダイズの *GmERA1* 遺伝子の発現を抑制することにより、干ばつ耐性が付与できることを示してきた。本研究では、イネの *ERA1* 相同遺伝子 *OsERA1* の遺伝子機能と、乾燥ストレス応答における役割について明らかにするために、ゲノム編集技術を用いてイネ *OsERA1* 遺伝子に変異の導入を試みた。*OsERA1* のエクソン配列上にガイド RNA 配列を設計した CRISPR/Cas9 コンストラクト構築し、アグロバクテリウム法により日本晴に導入した。この結果、*OsERA1* の第 1 エクソンにおいて塩基挿入型変異を有する系統が複数得られた。Cas9 発現カセットを持たないヌルセグメントを選抜し、塩基挿入型変異を固定した後代を用いて栽培試験を行った結果、*osera1* ゲノム編集系統は野生型に比べて根長が長く、また、アブシシン酸処理による生育阻害を野生型よりも強く示す傾向がみられた。低水分ストレス試験を行った結果、*osera1* ゲノム編集系統は、乾燥ストレス誘導時の気孔コンダクタンスの低下が早まり、野生型に比べてより早く気孔を閉じる傾向がみられた。これらの結果から、*OsERA1* はイネの乾燥ストレス応答を抑制する負の制御因子としての機能を有していることが示唆された。*osera1* イネの干ばつ耐性について議論する。

2Cp-07

特定網室試験による *AtGolS2* 組換えポプラ及び *AtSRK2C* 組換えポプラの乾燥ストレス耐性特性の評価

Trait evaluation of drought tolerance of *AtGolS2*- or *AtSRK2C*-transgenic poplars by the semi-confined screen house trial

鹿倉 悠平¹, 大谷 美沙都^{2,3}, 出村 拓², 菊池 彰^{4,5}, 渡邊 和男^{4,5}, 小口 太一^{4,5}

¹筑波大・院・理工情報生命学術院, ²奈良先端大・先端科学技術, ³東京大・院・新領域, ⁴筑波大・生命環境系, ⁵筑波大・T-PIRC

木質バイオマスは、化石資源に代わる再生可能資源の一つとして期待される。ポプラ属林木は温帯地域における最重要林木の一つであるが、植林にかかる水消費量の抑制が課題である。これまでに水利用効率改善を目的とし、ラフィノース属オリゴ糖の前駆体であるガラクトキノール合成酵素の *AtGolS2* 遺伝子、ABA のシグナル伝達に関連する *AtSRK2C* 遺伝子を導入した組換えポプラ (*Populus tremula* × *tremuloides*, T89 株) が先行研究にて作出された。本組換えポプラは実験室内で、非組換え体と比較し、いずれも乾燥ストレス耐性の向上が報告されている。そこで本研究では、本組換えポプラの乾燥ストレス耐性を半開放系環境である特定網室で評価した。10 日間の灌水制限により非組換え系統の葉の光合成量子収率 (QY) は 50% 以下に低下したのに対し、*AtGolS2* 系統では 60% 以上の水準を保持した。一方、同条件での *AtSRK2C* 系統の QY は、非組換え系統と同程度またはそれ以下となった。同時に、サーモカメラで測定した葉表面温度は *AtSRK2C* 系統のみ非組換え系統よりも高く、気孔開度の低下が示唆された。以上の結果から、特定網室における *AtGolS2* 系統での乾燥耐性の向上が示唆された一方、*AtSRK2C* 系統では気孔開度が低下しているものの乾燥耐性は向上しない可能性が示された。*AtGolS2* 系統は、隔離ほ場試験での乾燥耐性向上も示唆されており、ポプラの水利用効率改善において、*AtGolS2* 遺伝子の高い有効性が期待される。

2Cp-08

形質転換植物細胞における翻訳レベルのアンバーコドンサプレッションを介したポリシストロニックな tRNA-gRNA のプロセシングのモニタリング

Translational amber codon suppression to monitor processing of polycistronic tRNA-gRNA in transformed plant cells

赤間 一仁^{1,2}, Mohammad Moniruzzaman², 湯川 泰³

¹島根大・生資, ²島根大院・自然科学, ³名市大院・システム自然科学

近年ゲノム編集技術において、複数種のガイド RNA (gRNA) を同時に発現させる multiple gRNA expression system の開発が盛んに行われている。その中でも tRNA-gRNA を縦列に並べた構成である polycistronic tRNA-gRNA (PTG) 遺伝子は生物界で高度に保存された tRNA プロセシング系に基づいており、幅広く用いられている。もし、PTG 遺伝子からプロセスされた tRNA を簡便にモニターする実験系を確立することができれば、gRNA のプロセシングと発現を同時に測定することが可能になる。本研究では植物の強力なアンバーサプレッサー tRNA である NtS2/amber を PTG 遺伝子のスペーサー tRNA として採用し、そのプロセシングと発現量を GFP/amber と GUS/amber の mRNA の翻訳レベルでのサプレッションによる発現回復からモニターする実験系を構築したので報告する。

遺伝子銃を用いたタマネギ表皮細胞での一過的発現実験、アグロバクテリウムを用いたシロイヌナズナ、タバコ、イネ細胞での一過的な発現実験の結果、いずれの植物においてもレポーター遺伝子の発現の回復が観察された。PTG 遺伝子の *in vitro* 転写実験の結果と合わせて、スペーサーとして用いた NtS2/amber は正確にプロセシングされてアンバーサプレッサー活性を発揮していることが示唆された。

これに加えて、5つの tRNA-gRNA を連絡させた PTG 遺伝子をタバコ無細胞転写系において発現させた結果、スペーサー tRNA のコピー数に依存して NtS2-amber 転写産物の蓄積が観察された。このことは5つの gRNA もまた正確にプロセシングされたことを示唆する。現在生体内 (タマネギやタバコなど) での発現解析を進めており本大会にて併せて報告する予定である。

2Cp-09

ペプチドを用いた葉緑体ゲノムへの選択的遺伝子導入法の開発

Selective Gene Transduction into the Chloroplast Genome by Peptide-based Method

堀井 陽子¹, 小田原 真樹¹, 伊丹 順¹, 根岸 由紀¹, 沼田 圭司^{1,2}

¹理研・和光, ²京都大・院工学研究科

近年、植物を利用した有用物質生産に期待が高まっており、その生産性を向上させるためにも植物のエネルギー生産を担うオルガネラの改変が必要とされている。これまで植物の形質転換にはアグロバクテリウム法やパーティクルガン法が用いられていたが、これらの方法では各オルガネラを特異的に標的化することが難しく、使用できる植物種が限定されることや、特殊な装置を必要とするなどの課題があった。これまでに我々は、ポリカチオン配列にオルガネラ移行配列を付加したペプチドをキャリア分子として用いた、植物オルガネラへの選択的な遺伝子導入法 (ペプチド法) の確立を目指して研究を進めてきた。ペプチド法は非常に簡便かつ迅速な手法であり、特殊な機器を必要とせず、多種多様な植物種へ汎用可能である。本研究では、タバコ、イネ、ケナフを実験材料とし、ポリカチオン性 DNA 結合ペプチド KH9 と葉緑体移行ペプチド OEP34 で構成される機能性融合ペプチド KH9-AtOEP34 を用いて、葉緑体形質転換個体の作出を試みた。プラスミド DNA とペプチドの複合体を形成し、各植物の細胞に直接導入すると、DNA 内に設計された葉緑体ゲノムとの相同配列による相同組換えを介して、目的遺伝子が葉緑体ゲノム DNA に組み込まれた。抗生物質を含む培地で選抜培養を行った結果、各植物で再分化個体が得られ、これらの形質転換体は遺伝子導入後数か月および次世代 (T1) においても導入された遺伝子を保持していることが、ジェノタイプング PCR やサザンブロット解析で確認された。これらの結果は、KH9-AtOEP34 ペプチドによる遺伝子導入がヘテロプラスミックではあるが、安定した葉緑体形質転換を成功させたことを示唆している。

2Cp-10

DNA-金ナノ粒子結晶への Cas9-RNP の封入とパーティクルガンへの応用

Encapsulation of Cas9-RNP into DNA-functionalized colloidal crystals and their application to biolistic bombardment

鈴木 隼人¹, 横森 真麻², 中村 彰良¹, 田川 美穂², 菅野 茂夫¹

¹産総研・生物プロセス, ²名大・未来研

パーティクルガンによる Cas9-ガイド RNA 複合体 (RNP) の植物細胞への導入は、作物のゲノム編集育種において2つの観点から重要である。1) 外来 DNA を用いないため、作出されたゲノム編集個体は遺伝子組換え体とならない。2) 茎頂メリステムへ RNP の直接導入を行うことで、難易度の高い再分化を介さずにゲノム編集種子が得られるため、ゲノム編集を適用可能な植物種・品種が拡大する。一方で、パーティクルガン法の効率の低さは問題であり、有用品種作出のために労力が必要となる。その効率改善は育種産業において重要な課題である。

通常、パーティクルガンでは担体である金マイクロ粒子の表面に RNP を吸着させて細胞に送達する。この担体自身を改良し、RNP の搭載量・送達量を増加させられれば、ゲノム編集効率を改善できると考えられる。RNP 搭載量を増加させるには、RNP の担体表面への吸着だけでなく、担体内部への封入が有効である。そこで我々は、粒子充填率が低く内部に空隙を持つ DNA-金ナノ粒子結晶を活用・改良し、パーティクルガンの新しい担体の創出を試みた。DNA-金ナノ粒子結晶は、多数の1本鎖 DNA を表面に結合させた金ナノ粒子とそれらを DNA 二本鎖結合によりつなぎ合わせる1本鎖リンカー DNA から構成される。この DNA 配列と長さを変更することで、従来よりも空隙の多い結晶の作製に成功し、結晶内部への RNP の封入を可能にした。また、これを金マイクロ粒子の代わりにパーティクルガンに使用し、植物細胞でゲノム編集を引き起こせることを確認した。現在は金マイクロ粒子と DNA-金ナノ粒子結晶によるゲノム編集効率の正確な比較を行うため、高速シーケンサーを用いた分析手法の開発に取り組んでいる。

2Cp-11

ウイスキー超音波法を用いた CRISPR/Cas9 RNP 導入によるゲノム編集イネの作出

Genome editing in rice by direct delivery of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein using the sonication-assisted whisker method

中村 彰良¹, 矢野 翼², 光田 展隆¹, 古林 真衣子¹, 伊藤 誠一郎³, 菅野 茂夫¹, 寺川 輝彦²

¹産総研・生物プロセス, ²(株)インプラントイノベーションズ, ³凸版印刷(株)

DNA を用いないゲノム編集法である DNA フリーゲノム編集は、社会受容性の高いゲノム編集植物を作る方法として重要である。植物において、CRISPR-Cas9 を用いた DNA フリーゲノム編集の鍵となる工程は、Cas9-gRNA 複合体 (リボヌクレオタンパク質, RNP) の導入である。植物細胞は動物細胞と異なり、分厚い細胞壁を持つため、大きな分子を細胞に導入しにくいという問題がある。本発表では、植物における RNP 導入の新しい方法としてウイスキーの活用を報告する。従来、DNA の導入のために使用されてきたウイスキー超音波法を、イネへの RNP 導入に最適化した。イネカルスに高アスペクト比の材料ウイスキーと RNP を混合して超音波処理することで、標的変異の誘発に成功した。マーカー遺伝子導入との組み合わせにより、CRISPR-Cas9 RNP によって変異導入されたゲノム編集イネ個体を単離できた。加えて、最適化された条件を利用して、カロテノイド合成系遺伝子 *OsLCYb* をゲノム編集により破壊し、リコピンが蓄積したイネ個体も単離した。本方法は、Cas9 をコードする DNA 断片を用いることなく、ゲノム編集イネを作出する手段として有効であると考えられる。

2Cp-12

トランスグラフティングにおける台木から穂木へのルシフェラーゼタンパク質の移動

Movement of luciferase protein from rootstock to scion in transgrafted plants

大久保 一実¹, 梅山 幸子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、遺伝子組換え植物体を台木、非遺伝子組換え植物体を穂木とする接ぎ木技術を指す。トランスグラフティングでは、穂木で得られる成果物には導入遺伝子が含まれない為、新しい育種技術として注目されている。遺伝子組換え植物を用いた接ぎ木個体の場合、可食部となる穂木は非遺伝子組換え植物であるため、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い。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は十分に考えられるため、台木に導入された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、どの程度移動するかに関して知見の蓄積が必要である。そこで、台木における導入遺伝子産物であるルシフェラーゼタンパク質の穂木への移行について調べた。

接ぎ木4週間後に穂木におけるルシフェラーゼ活性を測定したところ、明らかな活性が接ぎ木部より5cm離れた茎で観察され、台木から穂木へと移行することが示された。次に接ぎ木条件による、接ぎ木面を介したタンパク質の移動への影響を調べるために、接ぎ木の際に穂木の葉を除去し、茎頂分裂組織の成長を台木側の葉からの栄養分供給に依存させる「メンター接ぎ木法」を検討した。その結果、メンター接ぎ木では、通常の接ぎ木植物体よりも、穂木の葉にルシフェラーゼが蓄積する傾向がみられた。以上の結果から、接ぎ木の方法によって、台木から穂木へのタンパク質の移動量や、穂木における蓄積部位には違いが生じることが示唆された。

2Cp-13

遺伝子改変台木と非遺伝子改変穂木間の生体成分輸送に起因する食品安全性評価点の解明

Food safety studies on the fruits from non-GM tomato scion grafted onto GM tobacco rootstock

加藤 奏¹, 杉岡 優美², 明日香 晴絵², 小川 拓水³, 望月 知史³, 宮原 平⁴, 児玉 浩明⁴, 太田 大策³

¹大阪府立大学大学院生命環境科学研究科, ²大阪府立大学生命環境科学域, ³大阪公立大学大学院農学研究科, ⁴千葉大学大学院園芸学研究院

NPBT (New Plant Breeding Technology) とは、ゲノム編集や様々な形質改変技術を組み合わせた革新的な植物育種技術の総称である。本研究では、NPBTの一つとして、遺伝子改変作物を台木、非遺伝子改変作物を穂木とした接ぎ木作物の開発に着目した。このような接ぎ木作物は、外来遺伝子導入やゲノム配列の改変なしに、可食部に有用形質を付与することができる。しかし、外来遺伝子由来の組換えタンパク質が台木から穂木へ移行する可能性、遺伝子改変台木における新たな代謝産物の生成・蓄積、これらの代謝産物の穂木への輸送、既存代謝経路への介入など様々な影響が想定される。このような接ぎ木作物を食品とする際の安全性に関わる懸念やリスクは、科学的エビデンスに基づいた議論が必須であるが、詳細な解析を実施した報告例は無い。本研究では、遺伝子改変台木と非改変穂木から成る接ぎ木作物の、穂木可食部の食品としての安全性を評価するための課題を明らかにすることを目的とする。遺伝子改変台木を用いたモデル接ぎ木作物として、ルシフェラーゼを CaMV 35S プロモーター制御下で発現させたタバコを台木とし、穂木に非改変トマト（マイクロトム）を用いた接ぎ木作物を作出した。対照実験として、台木に非改変トマトまたは非改変タバコを用いた接ぎ木作物を作出した。これらの接ぎ木個体において、穂木への外来遺伝子由来タンパク質であるルシフェラーゼ移行を解析した。さらに、質量分析により毒性アルカロイドであるニコチンおよびトマチンの定量、および代謝物の一斉解析による各系統間の相对比较を行った結果を報告する。

2Cp-14

バラの遺伝子拡散を検出するための交配調査方法の確立

Establishment of a Crossing Survey Method for Detecting Gene Flow of Roses

浅越 優奈¹, 中村 典子², 武田 征士¹

¹京都府立大・院生命環境, ²サントリーグローバルイノベーションセンター(株)

バラはバラ科バラ属の植物の総称で、日本の切り花市場での出荷額が上位3位である。交配育種などの品種改良によって八重咲きや特徴的な花色を持つものなどの品種が作出されている。近年では、遺伝子組換え技術により新しい形質をもつバラが作出され、今後も多くの品種が遺伝子組換え技術やゲノム編集等によって産出されることが予想される。これらの商用利用の際に最も懸念されるのは、導入された外来遺伝子が自然界に流出して野生品種と交配し、生態系に影響を及ぼす「遺伝子拡散」の可能性である。この可能性を検証するため、非組換え体の園芸品種および野生品種を密植し、両品種間の交配の有無を検証した。開花期と訪花昆虫の調査により、園芸・野生品種双方で重複が見られ、交配の可能性が示唆された。次に、園芸品種と野生品種を区別する2つのDNAマーカー(KSNおよびAP2)を用いて交配の有無を検証した。これまでの報告では1個体ごとにDNA抽出を行っていたが、検証の効率向上のためDNAのバルク化検証を行った。各個体から抽出したDNAについて、希釈率を変えたもので検証したところ、園芸品種のDNA濃度が1/40でも、園芸と野生種を区別することが確認できた。次に、園芸品種、野生品種の葉を等量ずつサンプリングし、それらを合様々な割合で混合して検証したところ、園芸品種が1/20(KSN)および1/40(AP2)の濃度で希釈したもので、DNAマーカーによる区別が可能であった。このことから、少なくとも10個体の葉をバルク化しても、DNAマーカーによる交配の有無を調査できることが分かり、効率のよい交配調査が可能になった。

2Cp-15

隔離ほ場試験データに基づくシミュレーションモデルによる *des9* 遺伝子組換えユーカリの潜在的植林可能域の予測

Prediction of potential plantation areas of *des9* transgenic *Eucalyptus* by simulation model based on the confined field trial data

中鉢 友彰¹, 森田 和樹², 林 奈々美², 穴戸 敦子³, 菊池 彰^{4,5}, 渡邊 和男^{4,5}, 小口 太一^{4,5}

¹筑波大・院・理工情報生命学術院, ²筑波大・院・生命環境科学研究科, ³筑波大・生物学類, ⁴筑波大・生命環境系, ⁵筑波大・T-PIRC

ユーカリは重要な植林木の一つであるが、植林可能な地域は低緯度の暖地に限られている。当研究グループは、ラン藻 *Anacystis nidulans* 由来の脂肪酸不飽和酵素遺伝子 (*des9*) の導入した遺伝子組換えユーカリ (*des9-Eucalyptus globulus*) について、2011~2017年に茨城県つくば市で隔離ほ場試験を実施し、2013~2016年度の4冬季に葉の光合成量子収量(QY)の時系列観測データを取得した。本研究では、*des9*組換えユーカリの耐冷性の評価を目的とし、QY値と気象観測データとの間で回帰モデルを作成し、作成されたモデルを利用したシミュレーション解析による*des9*組換えユーカリの耐冷性評価法について検討した。まず、2013~2015年度の3冬季について、非組換え系統のQY値を最もよく説明できる気象パラメータを最尤法で推定した。その結果、過去46日間に日最高気温が9.5°Cを下回る気温を積算した値を説明係数とすることで、2016年度のQY値の変動のうちの81%を説明することができた。次に、本モデルを利用したユーカリの潜在的植林可能域のシミュレーションを行った。気象庁ClimatViewより入手した2018年1月~2022年3月の世界4599地点の気温データをもとに予測された潜在的植林可能域は、既存のユーカリ植林地の分布とほぼ一致した。さらに、*des9*組換えユーカリのQY値を用いて同様のシミュレーション解析を行った結果、*des9*組換えユーカリの潜在的植林可能域は、非組換え体よりも約6%拡大することが予測された。

2Dp-01

***Nicotiana benthamiana* as a production platform for bioactive triterpenoid maslinic acid**

Jutapat Romsuk¹, Shuhei Yasumoto^{1,2}, Ery Odette Fukushima^{1,3}, Kenji Miura⁴, Toshiya Muranaka^{1,2}, Hikaru Seki^{1,2}

¹Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., ²OTRI, Osaka Univ., ³Universidad Regional Amazónica IKIAM, ⁴Fac. Life and Envi., Univ. Tsukuba

Maslinic acid is a pentacyclic triterpene widely found in plants with various biological activities. Previously, we developed an engineered yeast that produces maslinic acid *de novo* by the C-2 α hydroxylation of oleanolic acid, a biosynthetic intermediate for maslinic acid, catalyzed by CYP716C53 of *Avicennia marina*. We also used Tsukuba system, an agroinfiltration-based transient protein expression system using a geminivirus replicon vector pBYR2HS, for oleanolic acid production in *Nicotiana benthamiana* leaves through the co-expression of mutated CYP716A12 and other pathway enzymes. By using pBYR2HS, we achieved 13-fold increasing oleanolic acid production compared to conventional binary vector. Here, we applied Tsukuba system to produce maslinic acid in *N. benthamiana* by the co-expression of mutated CYP716A12 and CYP716C53. The analysis of *N. benthamiana* leaves at 7-day after agroinfiltration showed that maslinic acid accumulated at 27.22 mg/g dry weight corresponding to 20.65-fold the highest content in edible plant sources (*Olea europaea* 'Kalamata' Fruit). Therefore, our expression system would be suitable for high-titer production of bioactive triterpenoids including maslinic acid and its precursors.

2Dp-02

Characterization of *Eutrema japonicum* methylthioalkylmalate synthases on their roles in methionine-derived glucosinolate biosynthesis

Dheeradhach Medhanavyn, Toshiya Muranaka, Shuhei Yasumoto

Graduate School of Engineering, Osaka University

Eutrema japonicum or commonly known as Japanese wasabi is widely commercialized for its unique flavor, tastes and pharmaceutical substances. 6-Methylsulfanylhexyl isothiocyanate (6-MSITC), a 6-carbons chain glucosinolate derivative, is one among the compound that accumulated in wasabi and reported As a potential anti-carcinogenic and anti-inflammatory compound. Previously it is known that the carbon length of the final glucosinolate compounds are determined with in the elongation process carried out by major enzyme, Methylthioalkylmalate synthases (MAMs).

In this study, we focusing on the first elongation enzyme, MAMs, from wasabi. EjMAM1 and EjMAM3 gene are recombinantly expressed in *E. coli* and purified prior for *in vitro* enzyme assay. Michaelis-Menten's kinetic of EjMAMs are identified with major substrate 4- methylthiobutarate and acetyl-CoA, results of the K_m for both EjMAM1 and EjMAM3 are within the similar range to AtMAM3. Divalent metal ion cofactor assays revealed that Mn²⁺ achieved the highest activity on EjMAMs similar to AtMAMs. However, EjMAM3 surprisingly retained it activity at approximately 20 percent without divalent ion or in high concentration of EDTA. Homology modeling of the enzymes has been constructed and performs *in silico* docking analysis to further identify the key amino acids that involved in particular catalytic activity of EjMAMs.

2Dp-03

Distinct alterations of lignin biosynthesis in genome-edited rice mutants deficient in two 4-COUMARATE:COENZYME A LIGASE genes

Osama Ahmed Afifi^{1,2}, Yuki Tobimatsu¹, Pui Ying Lam³, Andri Fadillah Martin⁴, Takuji Miyamoto⁵, Yuriko Osakabe⁶, Keishi Osakabe⁷, Toshiaki Umezawa^{1,8}

¹Research Institute for Sustainable Humanosphere (RISH), Kyoto University, Japan, ²Faculty of Science, Al-Azhar University, Egypt, ³Graduate School of Engineering Science, Akita University, Japan, ⁴Research Center for Genetic Engineering, National Research and Innovation Agency (BRIN), Indonesia, ⁵Sakeology Center, Niigata University, Japan, ⁶School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, Japan, ⁷Faculty of Bioscience and Bioindustry, Tokushima University, Japan, ⁸Research Unit for Realization of Sustainable Society (RURSS), Kyoto University, Japan

4-COUMARATE:COENZYME A LIGASE (4CL) plays a pivotal role as it directs the cinnamate/monolignol pathway carbon flux to canonical monolignols for lignification as well as other important compounds including *p*-hydroxycinnamates and flavonoids (e.g., tricetin) which are also integrated components of the lignin polymer in grass cell walls. In rice, a model for grass species and an economically important food crop, there are five 4CL isoforms but their functional diversification and the contribution of each isoform in lignin biosynthesis are yet not fully understood. Herein, we investigated the functional roles of two lignin-associated rice 4CLs, i.e., Os4CL3 and Os4CL4, primarily through cell wall characterizations of genome-edited rice mutant lines. We generated rice mutants harboring knockout mutations in either of the two 4CL genes by CRISPR/Cas9 and subjected their cell walls to in-depth structural analyses using a series of wet-chemical methods and 2D NMR. Consequently, we showed that loss-of-function of Os4CL3 and Os4CL4 differently altered the composition of lignin polymer units derived from the diverse lignin monomers. Overall, our data suggested that Os4CL3 and Os4CL4 both play major roles in cell wall lignification, but differentially contribute to coordinating the production of the diverse lignin monomers used for cell wall lignification in rice.

2Dp-04

Measurement of ROS activity by luminol-based assay in *Nicotiana benthamiana*, *Arabidopsis thaliana*, and *Brassica rapa* subsp. *rapa*

Lalita Jantean¹, Kentaro Okada¹, Ken-ichi Kurotani¹, Michitaka Notaguchi^{1,2,3}

¹Bioscience and Biotechnology Center, Univ. Nagoya, ²Grad. Sch. Bioagricultural Sciences, Univ Nagoya, ³Institute of Transformative Bio-Molecules, Univ. Nagoya

Reactive oxygen species (ROS) are essential for many plant processes. The optimal amount of ROS helps plants respond well to different stimuli, while excessive levels can cause severe to plant cell structure and function. Measuring ROS activity has been an indicator for plant PTI or stress conditions. One of the widely used methods is a luminol-based assay which has the simplest and most popular method to measure extracellular ROS. Nevertheless, the common problem with ROS measurement is intra-experimental variation, with *Nicotiana benthamiana* and *Arabidopsis thaliana* being the primary plant materials. To handle data variation, increasing replicates per sample is needed. Data variation was generally smaller in *A. thaliana* than in *N. benthamiana*. However, due to the small size of *A. thaliana* leaves, many plants are required for experimentation. Hence, this study examined ROS activity in another member of the Brassicaceae family, *Brassica rapa* subsp. *rapa* (turnip), which has large leaves. A series of different flg22 concentration treatments revealed that high ROS values were obtained by treatment of 10 nM to 100 nM flg22 in turnip. When the standard deviations from ROS measurement were compared, turnip had a lower standard deviation but no statistically significant difference. Notwithstanding, these results suggested that turnip can be a good material for ROS measurement.

2Dp-05

Histone chaperone NAP1 proteins are involved in nitrogen deficiency response in *Arabidopsis thaliana*

Linnan Jie¹, Miho Sanagi², Yongming Luo², Junji Yamaguchi², Junpei Takagi², Takeo Sato²

¹Graduate School of Life Science, Hokkaido University, ²Faculty of Science, Hokkaido University

Nitrogen (N) nutrient is one of the important factors for regulating plant metabolism and growth. N availability affects global gene expression profile to optimize plant metabolism and growth. Several studies have reported dynamic changes in chromatin structure with altered histone modifications and nucleosome assembly/disassembly to regulate gene expressions under various environmental stresses in plants. However, only a few reports have shown the involvement of chromatin regulation in plant nutrient responses. In this study, we investigated the function of Arabidopsis histone chaperone NUCLEOSOME ASSEMBLY PROTEIN1 (NAP1) proteins in plant responses to N deficiency. Expression levels of marker genes induced by N deficiency were repressed in the *nap1* triple mutant plants. Subsequent analysis showed that the *nap1* triple mutant exhibited a decrease in the promotion of lateral root growth under N deficiency. In addition, the *nap1* mutant showed a delay in N deficiency-induced leaf senescence. Taken together, these results suggest that NAP1s function in modulating gene expressions and plant growth under N deficient stress conditions in Arabidopsis plants.

2Dp-06

Elucidation of drought tolerance displayed by the expression of glycine-rich repeat regions of spider silk in tobacco

Shamitha Rao Morey-Yagi¹, Yoichi Hashida³, Masanori Okamoto⁴, 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, ⁴Center for Bioscience Research and Education, Utsunomiya University

Spider silk, especially dragline silk from *Trichonephila clavipes*, is an excellent natural material with superior strength, toughness, and elasticity. In this study, we generated nucleus- and plastid-encoded expression of the six-repeat domain of one of the components of dragline silk, major ampullate spidroin 1 (MaSp1), in tobacco (MaSp1-tobacco), and evaluated its effect on plant mechanical properties and physiology. Although the MaSp1 expression had no effect on leaf mechanical properties, it conferred drought tolerance, demonstrated by an increased growth on PEG growth medium (Ψ_w -1.42 MPa and -0.63 MPa) and higher drought recovery in soil. Transcriptome analyses of seedlings grown in Ψ_w -0.63 MPa revealed an upregulation of genes involved in stress response and antioxidant activity in the MaSp1-tobacco. Genes encoding peroxidase, LEA, proline-rich proteins, lipoxygenase and cytochrome P450 were consistently upregulated in these lines, that also displayed a higher total anti-oxidant status. The extent of increase was higher in the plastid-encoded lines, in which upregulation of genes in the DNA and RNA metabolic process, and RNA binding was also observed. Under normal watering conditions, the ABA content in MaSp1-tobacco was significantly higher than the WT. We believe that the ABA priming of the MaSp1-tobacco is responsible for its drought tolerance and recovery.

2Dp-07

Up-regulation of cell division and vascular development-related genes of host plants is not caused by the mechanisms similar to tissue reunion in the parasitic interface

Jihwan Park, Koh Aoki

Grad. Sch. Agric., Osaka Metro. Univ

It has previously been shown that a stem parasitic plants, *Cuscuta japonica* enhanced the expression of genes involved in vascular development of the host, *Glycine max*. However, the cause of the expression changes has not been clarified yet. In this study, we confirmed that another stem parasitic plant, *Cuscuta campestris*, induced changes in the expression of *AtWOX4*, *AtVND6*, *AtCALS7*, *AtCYCB1;2*, and *AtNEN4* in the host Arabidopsis. We also found that *ANAC071* involved in the tissue reunion process is up-regulated, implying the processes similar to the tissue reunion could occur in the parasitic interface. To test whether the up-regulation of these genes was caused by the local deposition of auxin or not, Arabidopsis was decapitated to remove the source of polarly transported auxin. Expression level of *ANAC071* and *ATACS2* involved in ethylene biosynthesis at the parasitic site increased 96 hours after attachment. Additionally, expression of *ANAC071*, *AtCYCB1;2*, *AtWOX4*, *AtVND6* and *AtCAL7* were up-regulated in the parasitic interfaces with mutants, such as *anac071/096/011*, *art6/8*, *ein2-1* and *acs*-octuple mutant, suggesting that up-regulation of cell division and the vascular-related genes are not caused by a process similar to the tissue reunion. The expression of *ANAC071* in the parasitic interface is independent of ethylene. This work was partly supported by Kakenhi 19H00944.

2Dp-08

Targeted base editing in the mitochondria genome of *Arabidopsis thaliana*

Chang Zhou¹, Issei Nakazato¹, Yoshiko Tamura¹, Nobuhiro Tsutsumi¹, Mizuki Takenaka², Shin-ichi Arimura¹

¹Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo, ²Graduate School of Science, Kyoto University

Mitochondria-localized TALENs but not CRISPR/Cas9 were shown to make it possible to carry out genome editing of mitochondrial genomes. But large deletions (~Kb) at the target and ectopic recombination with homologous sequences occur and lead to changes of the structure of plant mitochondrial genomes. Bacterial cytidine deaminase (CD) fused to DNA binding domain (TALECDs) was reported to substitute a targeted C to T in mitochondria DNA (mtDNA) of mammalian cultured cells, which enables the precise manipulation of mtDNA. In this study, we designed four kinds of CDs of *Burkholderia cenocepacia* DddA (G1333CN, G1333NC, G1397CN, G1397NC), assembled with DNA binding domains of platinum TALENs for the probable non-lethal sites by base changing, which are upstream regions of the mitochondrial genes, *ATP9*, *ATP8/ATP6-1*, and *ATP6-2*. Same copy in the nuclear genome (designated as numt) of *ATP8* and *ATP9* resulted in heteroplasmic sequence result in targeted base, and we've confirmed that *ATP8* and *ATP9* have achieved homoplasmic mutation in the targeted base under the circumstances of excluding interferences from their numt. As a result, we successfully obtained mutant plants of four genes with inherited sole homoplasmically changed targeted base. The result suggests TALECD worked in mitochondria genome of Arabidopsis and offered essential information for the potential efficient TALECD pairs.

2Dp-09

Construction of a novel inducible gene expression system towards developing a synthetic regulatory circuit in the plant

Jekson Robertlee, Shinya Hagihara

Molecular Bioregulation Research Team, RIKEN CSRS

In electronics, arrangements of silicon components work as logic gate circuits to process the signals and allow them to function. Since the beginning of life, the same concepts have long been used in organisms through molecular components such as genes and proteins. Our scientific advances have allowed us to identify and even engineer these molecular components to act differently. Our group has previously succeeded in engineering the auxin receptor protein pair (TIR1-IAA) using a bump-and-hole approach to perceive the exogenous synthetic auxin ligand (cvxIAA) instead of the endogenous auxin ligand. The engineered ccvTIR1 receptor can bind to IAA7 protein in the presence of exogenous cvxIAA but not cross-react to the original endogenous auxin ligand (IAA). **We have further modified the TIR1-IAA protein pair to prevent its degradation and downstream auxin signaling, so it works as an inducible gene expression system in the presence of cvxIAA as the inducer.** Our system showed a comparable reporter gene expression level with the well-established estradiol inducible (XVE) system in the *Nicotiana benthamiana* transient assay. We will also discuss the combination of our and XVE systems to create the dual-independent inducible gene expression system in the plant, which will act as additional molecular tools in the era of synthetic biology.

2Ep-01

マイクロ流路デバイスを用いた miRNA の検出による植物の栄養ストレス診断法の開発

Detection of miRNAs using microfluidic devices for nutrient stress diagnosis in plants

川勝 弥一, 野田口 理孝

名古屋大 生物機能開発利用研究センター

植物は様々な環境ストレスに晒されており、特に土壌における栄養の欠乏は、時として作物生産を大きく阻害する原因となる。リンは植物が土壌から吸収する無機塩で、欠乏すると様々なシグナル応答が起こり、リンのホメオスタシスが維持される。リン欠乏の初期応答に関わる因子に、マイクロRNAである miR399 が知られている。miR399 はリン欠乏に応答して篩管を通して伝達されるシグナル因子であることが、接木の研究などから報告されている。この miR399 を簡易に検出することができれば、植物のストレス状態を早期に診断し、栽培管理を行う技術に利用できると期待できる。miRNA の検出には、定量的 PCR やマイクロアレイなどが知られているが、これらの解析には専門性の高いサンプルの前処理や高額な解析装置が必要である。そこで我々は、マイクロ流体デバイスを用いた生体分子の検出方法に注目した。本研究では、マイクロ流路デバイスを用いたサンドイッチハイブリダイゼーションによって、少量のサンプルから miRNA を簡易検出するシステムを開発した。人工 miRNA を用いた実験から、本システムは濃度依存的かつ配列依存的な miRNA の検出が可能であることが示された。さらに、本システムを用いて 5 μ l のトマト搾汁液から miR399 の検出を行なった結果、リン欠乏ストレスを与えたサンプルから強い検出シグナルが確認でき、植物のストレス応答シグナルの検出に成功した。本システムは、マルチレーンを搭載したデバイスを用いることで、複数の項目を同時に診断することも可能である。

2Ep-02

乾燥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環境変動によって干ばつや塩害のように農地環境の悪化が進み、農作物や資源植物の生産性への悪影響が問題になっている。また世界人口の増加も進んでおり、環境変動に適応した農作物や資源植物の安定供給および増産が求められている。課題解決へのアプローチの一つとして、我々は植物転写因子に着目し環境ストレス耐性機構解明および応用につなげることを目指している。その中で転写抑制ドメインを持つ転写因子に活性化ドメイン VP16 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。乾燥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 過剰発現系統が乾燥耐性を示すことを見出した。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。転写活性化能検定の結果、SGR5 の転写抑制活性が VP16 付加により弱まっていることが判明した。SGR5 のプロモーター活性が孔辺細胞において観察され、SGR5-VP16 過剰発現体では気孔開度の低下が観察されたが、SGR5 機能欠損株では野生型と有意な差は見られなかった。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、乾燥耐性機構における SGR5 の機能を考察する。

2Ep-03

KLU/CYP78A5 はクチクラワックス合成に関与し、様々な非生物的ストレス耐性を向上させる

KLU/CYP78A5, a cytochrome P450 monooxygenase identified via FOX hunting, contributes to cuticle biosynthesis and improves various abiotic stress tolerances

梶野 拓磨¹, 山口 将弘¹, 大島 良美², 中村 彰良², 成島 純平³, 矢口 行雄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産総研・生物プロセス, ³医食衛研・生化, ⁴東京農大・農生研

シロイヌナズナの野生系統間の塩順化後浸透圧耐性には多様性があり、実験系統である Col-0 は塩順化後浸透圧感受性を示すことが明らかとなった。そこで塩順化後浸透圧耐性を付与する遺伝子の探索を目的に、シロイヌナズナ近縁の塩生植物、*Eutrema salsguineum* 由来の cDNA を、Col-0 に過剰発現させる Full-length cDNA overexpression (FOX) hunting を行ったところ、シトクロム P450 をコードする *KLU/CYP78A5* 遺伝子を単離した。シロイヌナズナの *KLU* 相同遺伝子の過剰発現株を作出し塩順化後浸透圧耐性について評価したところ、野生型と比較して、同じく耐性を示すことが明らかとなった。興味深いことに、当該遺伝子の過剰発現株は塩順化後浸透圧耐性のみならず、塩順化を介さない浸透圧、塩、酸化、高温ストレスといった様々な非生物的ストレスに対する耐性の向上が認められた。*KLU* 過剰発現株は通常生育条件下において植物体の矮化などの形態異常を示す他、葉に光沢が認められた。電子顕微鏡にて植物体表皮を観察したところ、野生型と比較して発達したワックスの結晶構造が認められた。そこで *KLU* 過剰発現株と野生型のワックス含量を定量化したところ、*KLU* 過剰発現株ではワックスの構成成分の一つである長鎖・極長鎖脂肪酸量が増加していることが明らかとなった。Alpha fold2 を用いた立体構造の推測から、*KLU* は極長鎖脂肪酸の生合成に関与することが示唆された。本発表では、逆にワックスを著しく損なう変異株の解析結果を踏まえ、ワックスと非生物ストレス耐性との関連性について紹介する。

2Ep-04

南極産ハリギボウシゴケからの DREB ホモログ遺伝子の単離および発現解析

Isolation and expression analysis of a dehydration responsive element binding (DREB) transcription factor gene from the Antarctic moss *Grimmia lawiana*

北村 春樹¹, 工藤 栄^{2,3}, 伊村 智^{2,3}, 中野 優⁴, 大谷 真広⁴

¹新潟大・院自然科学, ²極地研, ³総研大・複合科学, ⁴新潟大・農学

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、および塩等の様々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。植物における中心的な環境ストレス応答遺伝子としては、dehydration responsive element binding (DREB) 遺伝子が藻類から高等植物にまで広く共通して存在することが知られている。DREB 遺伝子は各種の環境ストレスに応答して発現し、転写因子として下流の環境ストレス耐性関連遺伝子の発現を誘導する。そこで本研究では、南極地域に固有の種であるハリギボウシゴケ (*Grimmia lawiana*) から DREB ホモログ遺伝子を単離し、各種の環境ストレスに対する応答性を調査した。

これまでに、RACE 法により 1 クローンの DREB ホモログ遺伝子 (*GIDREB1*) を単離している。*GIDREB1* の推定アミノ酸配列には、DREB 転写因子に特徴的な AP2/ERF ドメインが存在していた。また、分子系統解析により、*GIDREB1* が DREB 転写因子サブファミリーの中の DREBA-5 サブグループに属することが示された。ハリギボウシゴケにおける *GIDREB1* の発現レベルは低温および乾燥ストレス処理では変動しなかったが、塩ストレス処理によって一過的に約 160 倍に増加した。この結果は、*GIDREB1* がハリギボウシゴケの塩ストレス耐性に関与している可能性があることを示している。現在、ストレス応答に関与する植物ホルモンに対する *GIDREB1* の応答性についても調査を行っている。

2Ep-05

シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh1* の解析

Genetic analyses of *sensitive to long-term heat 1 (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、シロイヌナズナ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、その M2 種子を用いた長期高温感受性変異株 *sensitive to long-term heat (sloh)* のスクリーニングにより、*sloh1* を得た。*sloh1* を短期高温、浸透圧、塩、酸化ストレス試験に供したところ、短期高温、酸化ストレスでは有意な差が認められなかった一方、浸透圧、塩ストレスに対しては野生株と比較して感受性を示した。このことから、*sloh1* の原因遺伝子 *SLOH1* は長期高温のみならず、浸透圧、塩ストレス応答にも重要な役割を果たすことが示唆された。*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、第三染色体下部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。

2Ep-06

シロイヌナズナ長期高温応答における転写後制御

Post-transcriptional regulation in long-term heat response of *Arabidopsis*

遠藤 直弥, 月本 亮, 磯野 一帆, 四井 いずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭

東京農大・バイオ

植物は短期的な高温ストレスだけでなく、数日間に渡って長期的な高温ストレスに曝されることが想定される。先行研究において、短期高温耐性を示すシロイヌナズナ accession が必ずしも長期高温耐性を示さなかったことから、それぞれの耐性機構が異なることが示唆された。長期高温耐性の分子メカニズムは短期高温耐性ほど明らかとなっていない。そこで、長期高温耐性メカニズムの解明を目的に、長期高温耐性を示す Col-0 種子に EMS 処理を行い、得られた突然変異種子より長期高温感受性変異株 (*sensitive to long-term heat3, sloh3*) を新たに単離した。*sloh3* は長期高温ストレスに高感受性を示したが、短期高温、浸透圧、塩、酸化ストレス耐性は野生株と同程度であった。遺伝学的解析の結果、*sloh3* の原因遺伝子である *SLOH3* は mRNA スプライシング関連遺伝子であることが明らかとなった。*sloh3* を長期高温ストレスに曝した際のスプライシングへの影響を調べたところ、高温処理時間依存的に intron retention をはじめとする様々な長さの未成熟 mRNA が蓄積することが明らかとなった。また、*sloh3* とは異なる長期高温感受性変異株である *sloh63* の原因遺伝子も mRNA スプライシングに関与している遺伝子であることが明らかとなった。以上のことから、長期高温ストレス耐性にはストレス下における適切な mRNA スプライシングの維持が重要であることが示唆された。

2Ep-07

腐植酸処理した植物における病害防御応答機構の解明

Characterization of disease defense response mechanisms under humic acid treatment in plants

本田 一馬¹, 鳴坂 義弘², 鳴坂 真理²

¹デンカ(株), ²岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

堆肥や褐炭等に含まれる腐植酸は土壌改良材として用いられる一方で、発根促進や植物の受けるストレスの緩和等、植物に対し直接的に作用することが経験的に知られているが、そのメカニズムは明らかにされていない。

世界的に減肥料・減農薬が求められる中、農作物を安定生産するために植物のストレス低減に資する農業資材が求められており、腐植酸の機能解明が期待されている。

本研究では腐植酸の施用による植物の病害防御応答への影響を明らかにするために、トマト (*Solanum lycopersicum*) とシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて解析した。

亜炭から抽出した腐植酸抽出液をシロイヌナズナ (Col-0) に噴霧処理し、10, 24, 48 時間後に RNA を抽出した。リアルタイム PCR により防御応答のマーカー遺伝子である *AtPR1* および *AtPDF1.2* の発現を解析した。また、トマト (レジナ) においても同様の処理を行い、*SIPR1* 遺伝子の発現を解析した。

さらに、トマトに腐植酸抽出液を 1 週間おきに 3 回噴霧処理し、最終処理 2 日後にトマト斑葉細菌病菌 *Pseudomonas syringae* を接種して 5 日後に発病度を調査した。

遺伝子発現解析の結果、シロイヌナズナでは腐植酸処理 10 時間後に *AtPDF1.2* の発現が上昇した。また、処理 24 時間後には *AtPR1* が発現上昇した。さらに、トマトにおいても腐植酸処理 24 時間後に *SIPR1* の発現上昇が認められた。また、接種実験の結果、腐植酸を処理したトマトでは斑葉細菌病の発病がわずかに抑制された。本結果から腐植酸が植物の病害応答機構に作用することが示唆された。

2Ep-08

FTIR 計量化学と化学的分画によるコムギの高温応答プロファイリング

Profiling of high temperature response in wheat by FTIR chemometrics and chemical fractionation

竹田 佳生¹, Salma Osman^{2,3}, 只野 翔大², 深内 百合子¹, 山崎 裕司⁴, Abu Sefyan Saad³, Izzat Tahir³, 辻本 壽⁴, 明石 欣也^{1,2,4}

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】地球温暖化に伴い、高温環境で生産できるコムギ品種の育成と、育種に資する分子マーカーの開発が求められている。そこで本研究では、圃場での分析が容易であり、高分子の分析が可能なフーリエ変換赤外 (FTIR) 分光法をケモメトリックス手法と組み合わせ、コムギの高温ストレス分子応答の理解を深めることを目的とした。

【方法】コムギの標準系統である農林 61 号 (N61)、高温感受性系統の Chinese Spring (CS)、耐性系統の Imam を日中温度 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 3 日間暴露した。コムギ葉から KBr 錠剤を調製し、FTIR スペクトルを取得し多変量解析に供した。

【結果・考察】N61 系統の FTIR データの主成分分析では、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、ストレス特異的なスペクトル領域は確認されなかった。そこで同データを機械学習による線形判別分析 (LDA) に供した結果、高温ストレス葉とコントロール葉の識別に成功した。さらに LDA においてストレス葉の識別に重要な赤外光吸収領域を抽出し、6 種の FTIR マーカーを開発した。このマーカーを CS および Imam 系統に適用した結果、高温耐性系統に特異的な分子挙動が認められた。この分子の実体を解明するために、N61 系統の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ところ、ペクチンを主成分とする酢酸ナトリウム可溶性画分において指紋領域のスペクトル形状に顕著な差異が認められた。これらの結果はコムギの高温応答が細胞壁ペクチン構造の変化を伴うことを示唆している。

2Ep-09

デハイドリン K セグメント配列による乳酸脱水素酵素凍結保護活性メカニズム

A mechanism of lactate dehydrogenase cryoprotective activity by K-segment sequence of dehydrin

大須田 穂波¹, 吉原 有紗³, 原 正和^{1,2,3,4}

¹静岡大院・農, ²静岡大創造院, ³静岡大・農, ⁴静岡大グリーン科技研

【背景】デハイドリンは低温や乾燥によって誘導される植物固有の LEA (late embryogenesis abundant) タンパク質であり、定常状態で一定の二次構造を持たない天然変性タンパク質である。デハイドリンは低温感受性である乳酸脱水素酵素 (LDH) の凍結失活を抑制し、その保護活性にはデハイドリンの疎水性アミノ酸が重要であることが明らかになっている。しかし、その機能メカニズムは十分に解明されていない。本研究では、デハイドリンの保存ドメインである K-segment の典型配列 (TypK) を用い、LDH 凍結保護メカニズムについて調査した。

【結果と考察】15 アミノ酸からなる TypK に存在する疎水性アミノ酸の種類の一貫性や数の増加は、保護活性に大きな影響を与えなかった。一方で、配列をランダムにシャッフルすると、概ね保護活性が低下することから、TypK における疎水性アミノ酸の位置が活性に関与することが示唆された。また、TypK およびシャッフルペプチドの円二色性偏光 (CD) スペクトルを測定したところ、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 添加時のランダム構造の減少と保護活性に一定の相関が見られた。さらに、クロスリンク実験とサイズ排除 HPLC 試験において、TypK は LDH に結合することはないが、近接する可能性があることが分かった。つまり、疎水性アミノ酸の存在が TypK と LDH の親和性に影響を与えることが示唆された。以上の結果から、TypK の作用には配列特異的な二次構造の変化が必要であり、その結果生じた疎水性領域を介する相互作用によって LDH の凍結失活を抑制すると考えられる。

2Ep-10

シロイヌナズナデハイドリンによるリポソーム凍結保護作用に関する研究

A study on a liposome cryoprotection by a dehydrin from *Arabidopsis thaliana*

木村 友紀¹, 清水 広介², 間賀田 泰寛², 朴 龍洙^{1,3,4,5}, 原 正和^{1,3,4,5}

¹静岡大院・農, ²浜松医大光先端医学教育研セ, ³静岡大創造院, ⁴静岡大・農, ⁵静岡大グリーン科技研

【背景】デハイドリンは植物固有の LEA (late embryogenesis abundant) タンパク質であり, 完熟種子や低温・乾燥ストレス下の植物体において生成される。これまでに植物の低温耐性に関連した機能が報告されているが, その全容は解明されていない。以前当研究室は, シロイヌナズナデハイドリン AtHIRD11 が中性リン脂質からなるリポソーム (中性リポソーム) の凍結凝集を抑制することを報告した。本研究では, 酸性リン脂質からなるリポソーム (負電荷リポソーム) の凍結凝集抑制活性について調査した。さらに, 中性リポソームと負電荷リポソームへの AtHIRD11 の作用の差異を検証し, デハイドリンのリポソーム凍結凝集抑制メカニズムの解明を目指した。

【結果と考察】AtHIRD11 は中性および負電荷リポソームの凍結凝集を抑制したが, 負電荷リポソームに対する保護活性の方が高かった。AtHIRD11 をセグメント分割し凝集抑制活性を測定したところ, デハイドリンの保存配列 K セグメントがリポソームの凍結凝集抑制に不可欠であることが判明した。等温滴定カロリメトリーにより, AtHIRD11 は中性リポソームには結合せず, 負電荷リポソームにのみ結合することが分かった。また, K セグメントは中性および負電荷リポソームへの明確な結合を示さなかった。リポソーム内包物漏出試験では, AtHIRD11 はいずれのリポソームの膜損傷も抑制しなかったため, 損傷後の融合プロセスを阻害すると考えられた。以上の結果から, デハイドリンのリポソーム保護作用は, 活性部位である K セグメントが膜損傷部に近接することで発揮されると予想した。

2Ep-11

シロイヌナズナにおける γ -グルタミルトランスフェラーゼとフィトケラチン合成酵素によるグルタチオン及びグルタチオン-生体異物抱合体の代謝解析

Characterization of γ -glutamyltransferase and phytochelatin synthase mediated catabolism of glutathione and glutathione S-conjugates in *Arabidopsis thaliana*

井上 遼太, 中村 直人, 高瀬 尚文, 關谷 次郎, Rafael Prieto

京都先端科学大学, バイオサイエンス学科

グルタチオン (GSH, γ -Glu-Cys-Gly) は, 生体内の酸化還元状態の維持, GSH 抱合体 (GSX) 形成を通じて生体異物の解毒などに関与することによって生理機能を発揮するだけでなく, フィトケラチンの前駆物質としても重金属防御に重要な役割を担っている。シロイヌナズナには, γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) をコードする 3 種類の遺伝子 (AtGGT1, AtGGT2, AtGGT3) とフィトケラチン合成酵素をコードする 2 種類の遺伝子 (AtPCS1, AtPCS2) が存在する。本研究では, GSH 生合成遺伝子の *pad2-1/gsh1* 突然変異株, *atggt*, *atpcs1T-DNA* 挿入変異株, *atggt pad2-1*, *atggt atpcs1* 二重変異株及び *atggt1 atggt3 atpcs1* 三重変異株を用いて, HPLC による GSH 代謝解析と GSX (GS-bimane) 分解解析を行った。この解析の結果から, AtGGT と AtPCS が 2 つの異なる経路でシロイヌナズナにおける GSH 及び GSX 代謝に重要な役割を担っていることを確認した。

2Fp-01

トマトの着果制御におけるジャスモン酸の役割

The role of jasmonic acid in the regulation of fruit set in tomatoes

野村 悠華子¹, 陸 宇², 原田 圭一郎³, 矢野 亮一⁴, 小嶋 美紀子⁵, 竹林 裕美子⁵, 榎原 均⁶, 江面 浩^{2,7}, 有泉 亨^{2,7}

¹筑波大院・生命地球科学, ²筑波大・生命環境, ³筑波大院・生命環境科学, ⁴農研機構・分析研, ⁵理研・CSRS, ⁶名大院・生命農, ⁷筑波大・T-PIRC

トマト (*Solanum lycopersicum*) の収量は子房が果実へと分化する着果の効率に大きく依存しており、着果を促すための受粉作業が重労働であるという課題がある。しかし、受粉無しでの果実生産を可能にする「単為結果性」のメカニズムは完全には明らかになっていない。

単為結果性を示す変異体として、トマトの突然変異誘発系統より *Sldad1* (*Solanum lycopersicum defective in anther dehiscence1*) が単離された。この変異体の原因遺伝子 *SIDAD1* はジャスモン酸 (JA) の生合成に関与する遺伝子のホモログであった。本研究では、未だ不明な点が多い JA によるトマトの着果制御機構について検討した。

まず、表現型の調査を行うため、野生型と *Sldad1* 変異体の開花前後の子房サイズを測定した。野生型の未受粉の子房は肥大しなかったが、*Sldad1* 変異体の未受粉の子房は受粉したものと同程度まで肥大することが確認された。続いて、RT-qPCR により開花前から開花日にかけて野生型の花器官における *SIDAD1* 遺伝子の組織別 mRNA レベルを調査した。開花 2 日前に雄蕊の一部である花糸で特に発現がみられ、子房での発現は確認されなかった。野生型と *Sldad1* 変異体の花糸と子房における JA 含量を測定したところ、野生型では開花前 (特に開花 2 日前) において花糸だけでなく子房にも蓄積した。また、*Sldad1* 変異体の子房への JA 処理によって着果が抑制されることが確認された。

以上の結果から、JA は開花前の花糸で合成された後、子房へと輸送されて蓄積することで着果を抑制している可能性が示された。

2Fp-02

ミヤコグサの 8 アミノ酸ペプチド LjPep914L による根端境界細胞の脱離阻害

Eight-amino acid peptide, LjPep914L, inhibited the release of root border-like cells in *Lotus japonicus*

楊 建宇, 山口 夕

大工大・院農

防御応答を誘導する DAMP (damage-associated molecular pattern) として単離されたダイズ由来の 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機能すると考えられている。GmPep914 のホモログは、有用作物を多く含むマメ科植物やウリ科植物で保存されており、私たちは、Pep914 様ペプチド (Pep914L) の生理的役割を明らかにすることを目的として、マメ科モデル植物のミヤコグサを用いて研究を進めている。

LjPep914L の前駆体遺伝子である *LjPROPEP914L* は、根で強く発現しており、葉では傷処理によって発現が誘導されるなど、*GmPROPEP914L* と同様の発現パターンを示すことが分かった。加えて、ミヤコグサ実生に 0.1 μM の人工合成 LjPep914L を 3 週間処理すると、根端境界細胞の脱離阻害が観察された。セイヨウミヤコグサ培養根では、根冠脱離阻害に加えて有意な根の伸長阻害が観察された。根冠細胞は根の生長とともに順次脱離して新しい細胞が供給されており、根境界細胞の脱離は細胞壁成分の変化によって起こっていることが報告されている。そのため、現在は、根端の細胞壁成分に着目した解析を進めている。

また、8 アミノ酸と短いものの、ミヤコグサへ GmPep914 を処理した場合には、根端境界細胞の脱離阻害と根伸長阻害のどちらも見られず、植物とペプチドの特異性が認められた。そこで、複数のマメ科植物を用いて、GmPep914 と LjPep914 への応答性の違いについても調べている。

2Fp-03

Micro-Tom のストリゴラクトン受容体遺伝子 *DWARF14* 欠損変異体の特性評価

Characterization of *dwarf14* Mutants Defect in a Strigolactone Receptor of Micro-Tom

相場 北斗¹, 杉本 貢一², 篠崎 良仁², 瀬戸 義哉³, 野村 崇人⁴, 江面 浩², 梅原 三貴久¹

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) は植物の枝分かれを抑制する植物ホルモンであり, 根から滲出した SL は根寄生植物の発芽刺激活性を示す。トマト (*Solanum lycopersicum* L.) では, これまでに *slmax1* や *slccd8* などの SL 生合成欠損変異体が単離されてきたが, SL シグナル伝達の変異体については未着手であった。SL の受容体として, α/β 加水分解酵素ファミリーに属する *DWARF14* (D14) が知られている。本研究では, ゲノム編集技術により, Micro-Tom における *d14* 変異体 *sld14-1* および *sld14-2* を作出した。これらの系統では, フレームシフトによりタンパク質の長さが著しく短くなり, D14 の機能を完全に失っていると想定される。*sld14* の枝分かれの数は, 野生型 (WT) と比べて約 2 倍に増加した。SL 合成アナログの GR24 を処理すると, *slmax1* と *slccd8* の過剰な枝分かれは抑制されたが, *sld14* は GR24 に対して非感受性を示した。WT と *sld14* の根における LC-MS/MS 分析の結果, リン酸十分条件 (+P) ではトマトの内生 SL であるオロバンコールおよびソラナコールは検出限界以下であり, それらの根滲出液も根寄生植物 *Orobanche minor* の種子発芽を誘導しなかった。リン酸欠乏条件 (-P) の SL 内生量は分析中であるが, *sld14* の根滲出液は WT よりも *Orobanche minor* の種子発芽を促進したことから, SL の総量が多いと推定される。果実形質評価では, *sld14* の糖酸比は WT よりも高い値を示した。WT の蕾・花・果実における D14 の発現量は, 受粉前では高かったが果実の形成時には減少した。

2Fp-04

GCaMP3 を用いたシロイヌナズナの匂い受容シグナル情報伝達系の解析

Elucidation of Odorant Sensing Mechanism in *Arabidopsis* Using GCaMP3 Calcium Indicator

坂本 龍哉¹, 水谷 正治¹, 杉本 幸裕¹, 豊田 正嗣², 山内 靖雄¹

¹神戸大・院農, ²埼玉大・院理工

植物は一度根を張ると動けないという特性上, 環境から様々な刺激を受け応答している。先行研究より, 植物は揮発性化合物を受容し, 転写レベルでの調節を介した匂い応答を示すことが知られている。そのシグナル伝達には細胞内セカンドメッセンジャーとして Ca^{2+} が関与することが示唆されている。そこで本研究では GCaMP3 を用いたライブイメージングにより, 匂い刺激応答時の Ca^{2+} シグナルを時空間的に分析し, 植物の匂い受容メカニズムを高精度に解明することを目的としている。

Ca^{2+} 濃度の上昇に応じて蛍光を呈する GFP である GCaMP3 を細胞基質内に発現させたシロイヌナズナに揮発性化合物を暴露し, 細胞内 Ca^{2+} 流入を可視化した。担持溶媒のみを暴露した際には Ca^{2+} の流入はほとんど見られず, 揮発性化合物の暴露によってシロイヌナズナの本葉で一過的な Ca^{2+} 細胞内流入が引き起こされたことから, 匂い刺激によって誘引された Ca^{2+} シグナルが本葉を伝播していると考えられた。次に, 蛍光強度の上昇分を細胞内 Ca^{2+} 流入量と見立てて定量化を行うことで, 揮発性化合物の種類や濃度ごとに引き起こされる Ca^{2+} シグナルの強度を比較した結果, 強度に加えて反応の開始地点, シグナル伝達の方向性など, それぞれの揮発性化合物が引き起こす Ca^{2+} シグナルは異なっており, 植物がそれぞれの化合物を異なるメカニズムで受容していることが示唆された。

2Fp-05

KNOX 転写因子 KNAT7 の欠損変異体における道管形状異常の原因解明

Analysis of an irregular xylem mutant lacking transcription factors involved in secondary cell wall formation

関口 颯¹, 堺 剛平¹, 藤井 達也¹, 川越 優衣¹, 檜垣 匠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熊本大・院・先端科学, ³山形大・農

植物の木部を構成する繊維細胞や道管要素などは、細胞膜と一次細胞壁の間に二次細胞壁を形成する。二次細胞壁形成には多くの転写因子が関与し、その一つに KNOX 転写因子である KNAT7 が知られている。KNAT7 は相互作用因子 BLH6 によって転写活性が制御される。*blh6 knat7* 二重変異体では、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。本研究では、特定されていない *blh6 knat7* 二重変異体の irx の原因を明らかにすることを目的に解析を行った。まず、*blh6 knat7* 二重変異体の irx の原因を明らかにするため、遺伝子発現解析を行った。その結果、*blh6 knat7* 二重変異体の花茎では、キシラン主鎖合成酵素をコードする *IRX10* の発現が顕著に低下していることが明らかとなった。そこで、*blh6 knat7* 二重変異体背景で道管特異的な *VND7* プロモーターで *IRX10* を発現させた形質転換体 (*IRX10X* 系統) を作成した。画像解析により花茎の道管形状を比較した結果、*blh6 knat7* 二重変異体で見られた irx が *IRX10X* 系統において有意に回復することが明らかとなった。以上の結果から、*blh6 knat7* 二重変異体における irx の原因の一つは *IRX10* の発現低下であることが示された。

2Fp-06

繊維細胞分化のマスター因子の発現制御機構解析

Regulatory mechanism of expression of a key regulator for 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

維管束木部の繊維細胞や道管要素などの特定の植物細胞では、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 (Mitsuda et al. 2007)。*nst1 nst3* 二重変異体では、繊維細胞の二次細胞壁が形成されず、その結果花茎が自立できなくなる。本研究では、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た。まず、*nst1 nst3* 二重変異体に、異なる長さのプロモーター領域を含むゲノム断片を用いて相補性試験を行った。その結果、NST3 の翻訳開始点の上流約 2 kbp から 1 kbp の領域が二次細胞壁形成や自立形質の回復に必須であることが明らかとなった。そこで、この領域を bait にして酵母 1 ハイブリット法によるスクリーニングを行ったところ、複数の転写因子が単離された。さらに、一過的発現解析により、NST3 プロモーターに対して、有意に転写活性を示すものを見出した。

2Fp-07

センブリの開花に関わる遺伝子の探索 (2)

Exploration of Flowering Regulator Genes in *Swertia japonica* Makino (2)

河野 徳昭¹, 平川 英樹², 山本 和彦¹, 熊谷 健夫¹, 瀧野 裕之¹, 川原 信夫^{1,3}, 由井 秀紀⁴, 金子 倫久⁵, 高田 泰生⁵

¹医薬健康研・薬植セ, ²かずさDNA研, ³高知県立牧野植物園, ⁴長野県野菜花き試, ⁵日本粉末薬品

【目的】センブリはリンドウ科の二年草であり, 栽培1年目はロゼット状に成長し, 2年目の春に抽苔し, 秋に開花期を迎えた全草が生薬センブリとして用いられる。センブリの開花には, 1年目の冬の低温暴露がトリガーの一つとなっていると考えられるため, その生育期間の短縮等栽培効率化につながる開花制御法の確立を目標として, 開花調節に関わる遺伝子の探索を行った。

【材料及び方法】低温暴露による発現遺伝子の網羅的変動解析のため, 長野県野菜花き試験場佐久支場において, センブリ品種‘みまき2号’を栽培1年目の高温期9月と, 日平均気温が4°C以下に低下した12月に採取した。また, 高知県栽培系統を20°C温室で育成した個体を, 4°C暗所で28日または56日間低温処理したものを, 未処理の株とともに供試した。各試料は地上部と根に分け, 定法によりRNA調製・NGS解析を行い, 全試料共通に発現する完全長ORFの情報を得, 各試料におけるORFの発現量をTPM正規化法により求めた。はじめに, 地上部に着目し, 低温暴露により発現量が変動したORFとして, TPM値が10以上かつ対照と比較して2倍以上に増大したものを抽出した。

【結果及び考察】センブリ全試料で共通に発現する完全長ORFは54,553個であり, これらのうち地上部において, 長野県での夏季高温期と冬季寒冷期間, 4°C28日間処理区または4°C56日間処理区と未処理区間の3条件下で, ともに顕著な発現量の変動を示したものは644個であった。上記発現量の解析は各試料のORFに対し行ったが, 現在, 発現量の精度を上げるため, unigeneの構築手法を検討し, 得られたunigeneに対する発現量解析を進めている。

【謝辞】本研究はAMED課題JP21ak0101104の支援を受けた。

2Fp-08

塩生植物アッケソウのCd吸収トランスポーター遺伝子のクローニング

Cloning of a putative Cd transporter gene from a halophyte *Salicornia europaea*

渡辺 英彦, 小栗 秀, 坂本 光

東京農大・生物産業学

土壌におけるカドミウム (Cd) などの重金属は農地の生産性低下に繋がる。植物を用いたCd除去への寄与が期待される植物の一つに, ヒユ科の好塩性植物アッケシソウ (*Salicornia europaea*) が存在する。この植物はCdを吸収・蓄積する能力が高いことが明らかになっている。そのため, Cd汚染土壌においてアッケシソウを栽培することは土壌からのCd除去につながる。しかし, この植物のバイオマス量の少なさや浅根性といった特性から, アッケシソウを栽培するだけでは多量のCdの除去は困難であると考えられた。本研究ではアッケシソウが有するCd吸収トランスポーター遺伝子をクローニングし, 深根性等の特性を持つ他植物種にその遺伝子を導入することにより, 土壌からの効率的なCd除去に使用可能な遺伝子組換え植物の作出を目的とした。これまで, アッケシソウ RNA-seq 文献データをもとに, 既知の重金属トランスポーター遺伝子と相同性のある7つの遺伝子をクローニングした。その中に含まれるNRAMP6・NRAMP3トランスポーターは鉄・銅・亜鉛・Cdといった多種の金属輸送を担うことが, 広範な生物において知られている。クローニングしたアッケシソウNRAMP6/NRAMP3様遺伝子 (*SeNRAMP6/SeNRAMP3*) がCd輸送に関与するタンパク質をコードする可能性を検証するために, これらを発現させた酵母をCd含有培地上で培養した。その結果, *SeNRAMP6*発現酵母ではCd感受性に変化はなかったが, *SeNRAMP3*発現酵母ではCd感受性が上昇した。*SeNRAMP3*発現酵母では, *SeNRAMP3*の機能によってCd吸収能が増強された結果, Cdが細胞内に高蓄積しCd高感受性を示したと考えられる。このことから*SeNRAMP3*はCd吸収に関与している可能性が示唆された。

2Fp-09

小胞体ストレス応答によって転写因子 bZIP60 に生じる ORF2 の機能解析

Functional analysis of bZIP60 ORF2 translated under the ER stress response

溝口 裕之, 辻 雄貴, 坂上 友祐, 舟引 萌香, 岩田 雄二, 小泉 望

大阪公立大学 農学研究科

小胞体でのタンパク質のフォールディング異常に対応するために BiP に代表される小胞体シャペロンなどの転写が誘導される細胞応答を小胞体ストレス応答と呼ぶ。真核生物に広く存在する小胞体ストレスセンサー IRE1 は、その RNase 活性による bZIP 型転写因子の mRNA の細胞質スプライシングを介して転写因子の活性化に働く。酵母や動物では細胞質スプライシングの結果、分子量の大きな転写因子が生じるが、植物（シロイヌナズナ）では通常は小胞体膜に局在する bZIP60u が合成され、ストレス下ではフレームシフトにより膜貫通領域を失うことで核へ移行する分子量の小さな bZIP60s が合成される。bZIP60s は膜貫通領域を失うとともに新たな ORF (ORF2) を獲得する。ORF2 の機能を調べるために bZIP60 の標的遺伝子である BiP3 プロモーターにルシフェラーゼ遺伝子を連結し、bZIP60 破壊株のプロトプラストを用いたデュアルルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、ORF2 の付加により ORF2 を欠く bZIP60ΔC の 10 倍前後の活性化が認められ、ORF2 が活性化に関与することが示された。またウェスタンブロットングの結果、bZIP60ΔC と bZIP60s のタンパク質蓄積量に顕著な違いは見られず ORF2 のタンパク質の安定性への寄与は小さいと考えられた。GFP と ORF2 の融合タンパク質は核局在を示し、ORF2 の C 末に存在する核局在化シグナルが機能すると考えられた。しかし、核局在化シグナルを欠失させても活性化が認められたことから ORF2 の他のアミノ酸配列も活性化に寄与すると考えられた。

2Fp-10

Tadukan に由来する細胞質雄性不稔性イネの稔性回復候補遺伝子

The candidate genes for fertility restoration in Tadukan-type cytoplasmic male sterile rice

高塚 歩¹, 風間 智彦², 市田 裕之³, 阿部 知子³, 鳥山 欽哉¹

¹東北大・院・農, ²九州大・院・農, ³理研・仁科加速器科学研究センター

背景

細胞質雄性不稔性 (Cytoplasmic male sterility, CMS) はミトコンドリアの CMS 遺伝子により不稔となるが、核の稔性回復遺伝子 (*Restorer of fertility, Rf*) の作用を受けて可稔となる。CMS は F₁ 品種の採種省力化に利用されている。我々はこれまでにイネ品種 Tadukan に由来する CMS を解析し、葯の裂開を阻害するミトコンドリア CMS 遺伝子を同定した。今回は核の *Rf* 遺伝子の解析について報告する。

材料と方法

Tadukan に台中 65 号 (T65) を連続戻し交雑して可稔個体を選抜した。この個体の後代において、DNA マーカーを用いた遺伝子マッピングを行い Tadukan 染色体断片が残る領域を特定した。並行して、PacBio Sequel II シーケンサーを用いて Tadukan の全ゲノム配列を決定し、候補領域中に含まれる遺伝子の配列を解析した。さらに、*Rf* 候補遺伝子について RT-PCR による発現解析を行い候補を絞り込んだ。

結果と考察

Tadukan x T65 BC₃F₄ 集団を用いたマッピングにより、*Rf* 候補領域を第 10 染色体 18,572-19,134 kb (日本晴相当) へと絞り込んだ。De novo ゲノムアセンブリの結果、この領域に 81 個の遺伝子が予測された。この領域は、多くの CMS 系統に対する *Rf* 遺伝子として同定されている pentatricopeptide repeat (PPR) タンパク質をコードする遺伝子が存在する領域と一致した。Tadukan の候補領域中には、既報 *Rf* 遺伝子と高い相同性を示す PPR タンパク質をコードする遺伝子が 8 つ存在していた。RT-PCR を行うと、7 つの遺伝子が発現していることが明らかとなった。さらに、PPR モチーフ数が少ないもの、Tadukan-CMS 遺伝子と相同性の低い BT-CMS 遺伝子に対する *Rf* 遺伝子 (Wang et al., 2006) と配列が一致するものを除外し、5 つの候補に絞り込んだ。

2Fp-11

トマトのリポカリンタンパク質の環境応答

Environmental response of lipocalin proteins in tomato

富安 美玖¹, Wahyudi Anung², 深沢 知加子², 本橋 令子^{1,2,3}

¹静岡大・院農学, ²静岡大・創造科学技術研究院, ³静岡大・農学

トマト果実はカロテノイドの蓄積により緑色から赤色に変化し、細胞内のプラスチドはクロロプラストからクロモプラスチドへ分化する。果実のプラスチドのプロテオーム解析結果から、果実色ごとにリポカリンタンパク質の蓄積量、質量や等電点が異なることが明らかになった。そこでリポカリンタンパク質の機能を解析するため、異なる果実色のトマトを用いて実験を行った。

'Micro-Tom'の野生型への水切り処理、根の引き抜きによる乾燥ストレスに対して、葉でのリポカリン遺伝子の発現量を無処理区と比較した。乾燥ストレスに対して *TIL1*(Temperature-induced Lipocalin1), *TIL2* と *CHL*(Chloroplast Lipocalin)の発現量は増加していた。また、'Micro-Tom'と栽培品種である'White beauty', 'Black tomato'を用いて、果実でのリポカリン遺伝子の発現量を比較した結果、'Black tomato', 'White beauty'では Breaker 期に *TIL2* の発現が減少したものの、Red 期に発現が大幅に増加する傾向が見られた。全ての品種において *CHL* は果実の成熟とともに発現が減少した。さらに、*TIL2* のプロモーター領域にはエチレン応答のシスエレメントが存在していたことから、野生型の葉にエチレンを処理した結果、*TIL1* は発現量が大幅に増加し、*CHL* でも発現量が増加していた。*TIL* タンパク質において質量や等電点が果実色ごとに異なることから、エチレン応答や果実成熟時に *TIL* が関与している可能性が示唆された。

2Fp-12

トマト果実白色変異体 *ghost white* の表現型解析

Phenotypic analysis of tomato fruit white mutant *ghost white*

牧田 菜加¹, 中村 克之¹, 謝 肖男², 深沢 知加子¹, 本橋 令子¹

¹静岡大・院農学, ²宇都宮大・農

本研究室で発見された *ghost white* (*gw*) は'Micro-Tom'の突然変異体であり、野生型の果実が未成熟段階で緑色を示すのに対して、突然変異体ではクロロフィルが減少し、白色を呈する。加えて、野生型よりも早期に葉と萼の黄化が始まり、開花後 30 日、46 日での果実のカロテノイド含量が野生型の 1/2 にまで減少している。種子休眠に関わる ABA も開花後 30 日の果実では約 1/2、開花後 46 日では約 2/3 に減少しているため、*gw* 変異体では種子の果実内発芽率が野生型と比較し 1.7 倍高い。シロイヌナズナの *GW* 遺伝子ホモログの変異体も穂発芽率が高いという報告がある。そこで、*gw* 変異体に ABA を水耕栽培で施用して果実内発芽率が回復するか確認したところ、開花後 90 日の果実内発芽率は、ABA 未施用区で野生型 0%、*gw* 43%に対し、ABA 1 μ M 処理区では野生型 0%、*gw* 21.3%となり未処理区より果実内発芽率が減少した。*gw* 果実における ABA の内生量の低下が果実内発芽を促進させたと考えられた。

次に、*gw* の早期の葉や萼の黄化の原因を調べるために、二週間の強光・低温ストレス処理をした結果、*gw* は野生型よりも葉などの黄化が植物体全体で観察された。また、NBT 染色を行った結果、*gw* の方が濃く染色がされ、上位葉になるに従い染色が濃くなったため、 O_2 が多く発生していると考えられた。*gw* は野生型と比較しカロテノイド含量が低いため、活性酸素の消去能も低いと考えられ、強光などの環境ストレスによって生じた活性酸素が消去されず、クロロフィル分解による黄化が進んだと考えられる。

あ			う			え		
		飯田 哲司	2Fa-02			大田 方人	2Ca-15	
		井川 智子	2Ea-09			太田 優介	2Ba-05	
相澤 駿輝	2Fa-02	井城 泰一	2Ba-11	上野 真義	2Ca-02	太田 李紀	1Ea-08	
間 和彦	2Ca-10	池田 美穂	2Da-01		2Ca-03	大谷 真広	2Da-07	
相場 北斗	2Fp-03		2Ba-07	上野登輝夫	1Ca-03		2Ep-04	
青木 慎一	S5-1		2Fa-07	宇賀 優作	S4-1	大谷美沙都	2Cp-07	
青木 裕一	1Ea-01	池田 陽子	2Fa-03	内田 開	1Aa-10	大坪 憲弘	S1-3	
	1Ea-02	石井 達也	2Ba-05		2Ap-01	大西 浩平	1Ea-07	
	1Ea-03	石川 寿樹	1Ca-02	内田 弘美	2Aa-06	大沼万里子	1Ea-09	
	1Ea-04		1Ca-03	内山 郁夫	S5-5		2Ba-07	
	2Aa-06		1Da-07	内海ゆづ子	S4-3	小笠功太郎	2Da-12	
	2Ap-09		1Da-08	宇野 海地	2Aa-08	岡崎 夏鈴	2Da-05	
	S5-1		1Da-09	梅澤 俊明	1Aa-08	岡崎 伸	1Ea-04	
青柳 裕之	2Ep-08		2Fp-05		1Da-01	岡澤 敦司	1Ca-01	
明石 欣也	1Aa-10	石川 優真	2Fp-06	梅田 健人	1Ca-07		2Ea-01	
明石 智義	2Ap-01	石崎 公庸	1Da-08	梅原三貴久	2Da-05	岡田 和馬	1Aa-12	
	2Ap-04		1Ca-04		2Da-06	小賀田拓也	2Cp-06	
	2Ca-15		1Ca-05		2Fp-03	岡田龍之介	2Ba-08	
赤羽 幾子	2Cp-08	石崎 琢磨	2Cp-06	梅基 直行	1Aa-05	岡野安佐子	2Ea-02	
赤間 一仁	2Da-04	石田 快	1Ca-03		2Ca-11	小川瑛利子	1Ca-14	
東江 栄	2Fa-10	石塚 徹	2Fa-07	梅山 幸子	2Cp-12	小川 拓水	1Ca-01	
	2Fa-13	石橋 和大	2Aa-04				2Cp-12	
秋田 求	1Ea-06	石水 毅	1Da-02				2Cp-13	
秋野 順治	2Aa-01	磯野 一帆	2Ep-06			荻田信二郎	S1-4	
秋元 奈弓	1Aa-05	磯部 一樹	1Da-06	江面健太郎	S3-7	沖野 晃俊	2Fa-01	
秋山 遼太	1Aa-09	伊丹 順	2Cp-09	江面 浩	2Ca-10		2Fa-02	
	1Ca-04	板谷 知健	1Ca-09		2Ca-12	奥谷 芙季	1Ea-01	
艾克然木卡得尔	1Da-08	市川 翔哉	2Aa-04		2Fp-01	小口 太一	2Cp-07	
浅井 恒志	2Aa-03	市川 晋	2Cp-03		2Fp-03		2Cp-15	
浅越 優奈	2Cp-14	市川晋太郎	2Fa-04	榎本 裕介	2Ba-03	奥野 未来	2Ca-05	
明日香晴絵	2Cp-13	市田 裕之	2Fa-15	遠藤 直弥	2Ep-06		2Ca-06	
阿部 陽	2Ca-13		2Fp-10	遠藤 政城	S5-1	奥村 賢直	2Ea-11	
阿部 和幸	1Aa-12	市野 琢爾	2Fa-12		2Ca-02	小栗 秀	2Fp-08	
阿部 知子	2Fa-15		2Ap-08		2Ca-03	刑部 敬史	1Aa-09	
	2Fp-10	市橋 泰範	2Ap-03		2Ca-14		1Da-01	
阿部 遥貴	1Ea-08	伊藤紀美子	2Ba-09		2Fa-01		2Ap-08	
荒 武	2Aa-01	伊藤 健司	2Fa-13			刑部祐里子	1Aa-09	
	2Fa-11	伊藤誠一郎	2Cp-11				1Da-01	
荒井 萌伽	2Ep-02	伊藤 武彦	2Ca-05			小山内 崇	1Da-03	
有泉 亨	2Ca-07		2Ca-06	大河 優奈	2Fa-03		1Da-04	
	2Fp-01	伊藤 幸博	1Ca-11	大串 康太	2Da-04	小澤 傑	2Ca-13	
	2Ea-06		1Ca-12	大久保一実	2Cp-12	小田 彬人	2Ea-03	
有海 将司	1Ca-13		2Cp-03	大倉 史生	S4-5	小田島 雅	2Ca-13	
有賀 裕剛	2Ea-05	井上 直人	2Cp-02	大澤 祥子	2Fa-11	小田原真樹	2Fa-06	
	2Ea-08	井上 遼太	2Ep-11	大島 崇彰	2Ca-10		2Cp-09	
	2Fa-11	伊福健太郎	S5-5	大島 良美	2Ba-07	小埜栄一郎	1Aa-08	
有田 正規	2Da-04		1Ea-01		2Ba-12	斧田 優志	2Ea-01	
有馬友佳子	2Ca-05	今井 博之	1Da-07		2Ep-03			
有村 慎一	2Ca-06	今泉 璃城	2Aa-08	大須田穂波	2Ep-09			
	2Ca-07	伊村 智	2Ep-04	大角有里沙	1Ca-14			
	2Fa-15	岩井 一真	1Ea-08	太田 大策	1Ca-01	海田 るみ	2Ba-04	
		岩瀬 哲	2Ba-10		1Da-06	加賀 秋人	1Ea-04	
		岩田 雄二	2Ba-08		2Ea-01	郭 威	S2-4	
			2Cp-02		2Cp-12	風間 智彦	2Fa-15	
			2Fp-09		2Cp-13		2Fp-10	
い						か		
飯島 勇介	2Fa-01							

梶野 拓磨	2Ep-03		き	児玉 浩明	2Cp-12	坂本 光	2Fp-08
菓子野康浩	S5-5			児玉 悠一	2Cp-13	坂本 美佳	S2-1
勝岡 弘幸	2Fa-14	菊池 彰	2Cp-07	児玉 豊	2Fa-11	坂本 龍哉	2Fp-04
勝間田やよい	2Aa-02				2Fa-04	櫻井 望	2Fa-11
加藤 悦子	2Fa-01	木越 景子	2Ep-02		2Fa-06	櫻井 美希	1Ea-08
加藤 奏	2Cp-13	雉鼻 一郎	2Ea-09	後藤 一法	1Ca-14		2Da-09
加藤 晃	1Ca-06	貴嶋 紗久	2Ba-07	後藤 史奈	2Ca-13	佐々木華凜	1Ca-11
	1Ca-07	貴嶋 祐治	2Fa-15	後藤 未羽	2Ca-04	佐竹 炎	1Aa-08
	1Ca-08	北島佐紀人	1Ea-06	後藤 友美	2Fa-05	佐藤 一裕	1Ca-01
	1Ca-09	北田 早貴	1Ca-09	小長谷賢一	2Ca-02	佐藤 長緒	1Da-05
	1Ca-10	北野 康史	2Da-10		2Ca-03	佐藤 菜央	2Aa-01
加藤 壮英	1Ca-09	北村 春樹	2Ep-04		2Da-01	佐藤 春果	2Aa-09
加藤 洋香	2Cp-01	北本 武郎	2Ba-03	小西 達夫	2Da-02	佐藤 文彦	1Aa-01
加藤 舞	2Aa-02	木塚 康彦	1Da-02	小林 括平	2Fa-03	佐藤 舞	2Fa-07
加藤 幹也	2Aa-06	木下 俊則	2Ba-02	小林 慶亮	1Aa-08	佐藤 心郎	2Ba-01
	2Aa-07	木場 章範	1Ea-07	小林 晃也	2Ea-07	佐藤 靖武	1Da-05
加藤 嘉博	2Ap-06	木村 成介	2Da-11	小林 紀郎	2Fa-11	佐藤 優花	1Aa-10
門脇 芽以	2Aa-06	木村 光宏	2Da-03	小林 優	1Ea-01		2Ba-11
金岡 義高	2Fa-15	木村 友紀	2Ep-10	小林 祐介	1Ca-05	佐藤 稜真	2Da-04
金沢 香織	2Ap-06	木村 (武田) ゆり	1Aa-07	小日向彩果	2Ea-10		2Fa-10
金谷 重彦	2Fa-11		1Da-01	小松原美乃	2Ba-03	眞木 美帆	1Da-05
鐘ヶ江弘美	2Ca-14			小森 貞男	1Aa-12	眞田 昇	1Da-07
金子 倫久	2Fp-07		<	小山 知嗣	2Ba-02	佐野 友哉	2Aa-07
金子 康子	S3-7			今 辰哉	1Ea-08	澤崎 達也	2Cp-01
叶内 愛莉	1Ca-11	草野 博彰	2Ap-06	近藤 健児	2Da-09		
上森 真広	2Ea-01	草野 都	2Ap-03	近藤 侑梨	2Fa-10	し	
神谷 紘汰	1Ca-06	串田 篤彦	1Aa-09				
神谷 岳洋	2Ba-03	朽方ひかり	2Ap-03	さ		志賀 悠暉	2Ba-05
賀屋 秀隆	2Fa-03	朽津 和幸	2Da-11			鹿倉 悠平	2Cp-07
川合 真紀	1Ca-02		2Ea-11	雑賀 啓明	2Ca-08	穴戸 敦子	2Cp-15
	1Ca-03	工藤 栄	2Ep-04	斎藤 和季	1Aa-05	土反 伸和	1Aa-01
	1Da-07	久保 晃生	1Da-05		1Aa-06	篠崎 良仁	2Fp-03
	1Da-08	熊谷 健夫	2Da-10		2Ca-11	篠原 結子	1Ca-03
	1Da-09		2Fp-07	斎藤 泰知	2Aa-05	篠村 菜月	2Da-02
	2Ep-02	来須 孝光	2Da-11	齋藤 雅也	2Ba-05	柴田ありさ	1Ea-03
	2Fp-05	黒田 昌治	2Cp-01	堺 剛平	2Fp-05	島田 貴士	1Da-06
	2Fp-06	桑原 康介	2Ca-07	坂井 寛章	2Ca-11	島田 浩章	S1-2
川勝 弥一	2Ep-01	郡司 玄	2Ba-01	坂上 友祐	2Fp-09	島本 航輔	1Da-03
川上 寛子	1Ea-08			榊原 均	2Fp-01	清水 宏祐	A-5
河岸 洋和	2Ea-10		け	坂田 至	1Aa-09		1Aa-09
川越 優衣	2Fp-05			坂田 洋一	2Aa-04		2Ep-10
河下美都里	1Ea-08	解良 康太	2Aa-01		2Ea-04	清水 悠裕	2Fp-06
川澄 留佳	1Ea-10				2Ea-05	下村講一郎	2Da-05
河野 徳昭	2Da-09		こ		2Ea-06		2Da-06
	2Da-10				2Ea-07		2Ap-08
	2Fp-07	小泉 望	2Ba-08		2Ea-08	謝 肖男	2Ea-10
河野 結	1Aa-09		2Cp-02		2Ep-03		2Fp-12
川原 信夫	2Fp-07		2Fp-09		2Ep-05	周 暢	2Ca-06
川原 善浩	S2-3	小乾 彰紘	1Ca-03		2Ep-06	庄司 翼	1Aa-06
川邊 陽文	1Ca-09	高上馬希重	1Aa-03	阪西 真実	1Aa-03	庄司のえみ	2Aa-10
	2Ca-03		1Aa-04	坂本 真吾	S3-7	白石 慧	1Aa-08
韓 俊文	2Ap-07	肥塚 崇男	A-2		1Ea-09	白澤 健太	2Ca-07
菅野 学	1Ea-09		2Ap-07		2Ba-07	白須 賢	1Ea-03
		古閑 一憲	2Ea-11		2Ba-12	白谷 正治	2Ea-11
		小嶋美紀子	2Fp-01		2Fp-06	白濱 里帆	2Ba-07

す			た			武田 征士		つ	
未永 祐磨	2Fa-01	平良 東紀	1Ea-06	武田 紀子	1Ea-05	塚谷 裕一	2Ba-01		
	2Fa-02	高内 滯奈	2Ca-04	竹田 佳生	2Fa-05	月本 亮	2Ep-06		
菅野 茂夫	2Ca-09	高木 純平	1Da-05	竹林有理佳	2Ep-08	辻 雄貴	2Fp-09		
	2Cp-10	高木 優	2Ba-02	竹林裕美子	2Ba-10	辻本 壽	2Ep-08		
	2Cp-11		2Ba-07	田坂 恭嗣	2Fp-01	堤 伸浩	2Ca-05		
杉岡 優美	2Cp-13	高崎 寛則	2Ba-07	太治 輝昭	1Ca-14		2Ca-06		
杉本 慶子	2Ba-10	高島 英造	2Cp-01		2Aa-04	坪山 愛	2Fa-12		
杉本 貢一	2Fp-03	高瀬 尚文	1Ea-04		2Ea-04	坪山 祥子	2Ea-11		
杉本 幸裕	1Aa-05		2Ep-11		2Ea-05	鶴本 智大	2Ea-01		
	1Aa-09	高田 泰生	2Da-10		2Ea-06				
	1Ca-04		2Fp-07		2Ea-07				
	1Ca-05	高塚 歩	2Fp-10		2Ea-08				
	2Fp-04	高梨功次郎	2Fa-12		2Ep-03				
杉山 暁史	1Ea-01		2Ap-10		2Ep-05	出村 拓	2Cp-07		
	1Ea-02	高梨 秀樹	2Ca-05	田代 史晶	2Ep-06	寺川 輝彦	2Cp-11		
	1Ea-03	高野 恭平	2Ap-10	多田 裕昭	1Ea-08	寺坂 和祥	2Aa-03		
	2Ap-06	高野 翔	1Ca-14	多田 雄一	1Ca-09	寺西 俊滋	2Cp-02		
杉山健二郎	2Aa-01	高橋 宏二	2Ba-02	只野 翔大	2Cp-05	寺見 大輝	1Aa-05		
助川 聖	2Ca-08	高橋 重一	2Ca-13	巽 奏	2Ep-08	天白 恭鳳	2Da-11		
鈴木 健太	2Ba-03	高橋 秀斗	1Ca-08		2Fa-12				
鈴木 耕陽	1Da-09	高橋 柊里	1Ca-11	辰己 泰基	2Ap-08				
鈴木 史朗	1Da-02	高橋 征司	2Aa-05	田中 海斗	1Aa-01	土井 大和	2Aa-08		
鈴木 聖治	1Da-02		2Aa-06	田中 啓介	2Ap-09	党 健	2Fa-10		
鈴木 孝征	2Ba-10		2Aa-07		2Ea-04	東木 美桜	2Ba-03		
鈴木 斗音	2Ca-12		2Aa-08		2Ea-05	峠 隆之	2Ap-05		
鈴木 隼人	2Cp-10		2Ap-09		2Ea-07	東條 元昭	1Ea-10		
鈴木 秀幸	1Aa-10	高橋 乃愛	1Ca-11		2Ea-08	土岐 精一	2Ca-08		
	2Aa-01	高橋 秀行	2Ba-09	田中左恵子	2Ep-05		2Ca-14		
鈴木 雄介	1Ca-02	高橋 広夫	2Fa-03	田中 大介	2Ca-10		2Fa-01		
須田 啓	S1-1	高橋 宏暢	2Ap-07	田中 保	2Da-02	時松 敏明	2Fa-11		
須田 互	1Ea-03	高橋 麻起子	1Ca-14	田中 保	1Da-07	戸澤 讓	2Ap-09		
須藤 雄気	L-1	高橋 みき子	2Fa-11	谷 尚樹	1Ea-06	轟 泰司	2Ea-10		
住吉美奈子	L-2	高橋 弥子	2Ea-08	谷井 啓樹	2Da-06	飛松 裕基	1Da-01		
	2Ca-12	高橋 優	1Da-03	谷口 創	2Ba-12		2Ap-06		
諏訪 和大	2Fa-11	高畑 開理	2Cp-03	谷口 亨	2Ca-02	富安 美玖	2Fp-11		
		高原 学	2Ca-15		2Ca-03	豊岡 公德	2Fa-05		
		高松 恭子	1Ea-01	谷口 有希	2Da-01	豊田 正嗣	2Fp-04		
		鷹見 優	2Ca-04	谷野 圭持	2Ea-10	豊福美和子	1Ea-01		
瀬上 修平	2Ba-06	高山真理子	2Ca-12	谷本 秀夫	1Aa-09	鳥山 欽哉	2Fa-15		
石 東博	2Ba-10	田川 美穂	2Cp-10	多葉田 誉	2Ea-01		2Fp-10		
關 光	1Aa-02	瀧口 裕子	2Ba-12	多部田弘光	2Ap-06				
	1Aa-03	田口 悟朗	2Aa-09	玉木 秀幸	2Ba-01				
	1Aa-04		2Aa-10	田村 啓太	1Ea-09				
	1Ca-05	竹内 亜美	A-6		S2-1				
関 原明	2Ba-02	竹内 さくら	1Ea-05	田村 隆幸	2Fa-09	内藤 善美	2Ca-13		
関口 颯	2Fp-05	竹内 純	2Ea-10	田村 将士	2Da-09	中 雄輝	2Fa-13		
關谷 次郎	2Ep-11	竹内 洋輔	2Fa-07		2Ea-04	中川 明	S3-2		
瀬戸 義哉	2Fp-03	竹島 幸乃	1Ca-11			長崎 英樹	2Fa-11		
		竹田 恵美	1Ca-13			中里 崇	2Ca-13		
			2Da-12			中里 一星	2Ca-05		
			2Ea-02	崔 宰薫	2Ea-10		2Ca-06		
			2Cp-02	陳 孫祿	2Fa-15	中田未友希	S3-7		
曾我 郁弥	2Cp-01		2Fa-15	中鉢 友彰	2Cp-15	中谷 正義	1Ca-03		
孫 建強	2Ca-14	武田 信哉		鄭 貴美	1Ea-09	中西 浩平	2Ap-08		

永野 惇	1Ea-04	似内 颯斗	1Ca-10	東山 哲也	2Ca-10		2Fp-07
中野 大樹	2Cp-01			曳地 康史	1Ea-07	舟引 萌香	2Fp-09
中野 正貴	2Da-11			樋山 肇	2Da-09	古川佳代子	2Cp-03
中野 優	2Da-07			平井 優美	S3-5	古川 一	2Da-08
	2Ep-04	沼田 圭司	2Fa-06		2Ba-01		2Ea-09
長野 由麻	2Da-06		2Cp-09		2Ap-01	古庄 律	2Aa-04
中野 善公	2Ca-15	濡木 理	2Ca-08		2Ap-04	古林真衣子	2Cp-11
中野 仁美	2Ep-02			平賀 靖英	2Aa-01		
中村 彰良	2Ca-09			平川 英樹	2Fa-11		
	2Cp-10				2Fp-07		
	2Cp-11	根岸 克弥	2Ca-14	平田 峻也	2Fa-03	黄 湘婷	S5-1
	2Ep-03	根岸 尚志	2Aa-06	平野 貴大	2Ea-06	坊農 秀雅	S2-1
中村 克之	2Fp-12	根岸 由紀	2Cp-09	平淵亜紀子	2Ca-13		2Fa-09
中村 直人	2Ep-11	根本圭一郎	2Ca-13	平松 和也	2Ea-01	星野 孝仁	S5-1
中村 典子	2Cp-14			廣田 隆一	S5-3	細田 恵子	2Ca-05
中村 保一	S2-1			廣森 美樹	2Ap-09	堀井 陽子	2Cp-09
中村 愉太	2Ca-04			日渡 祐二	2Ca-04	本田 一馬	2Ep-07
中安 大	1Ea-01	野池 優希	2Cp-05				
	1Ea-02	野澤 彰	2Cp-01				
	1Ea-03	野下 浩司	S4-2				
	1Ea-04	野田 蒼空	1Aa-05	フェルジャニ アリ	2Ba-01	前田 陽香	2Aa-10
	2Fa-12	野田口理孝	2Ep-01	深内百合子	2Ep-08	前野 哲輝	1Ea-05
中山 潤	2Fa-07	野中 聡子	2Da-07	深沢知加子	2Fp-11	間賀田泰寛	2Ep-10
中山 亨	1Aa-02	野村 純平	S5-1		2Fp-12	牧田 菜加	2Fp-12
	2Aa-05	野村 崇人	2Fp-03	福井 誼子	1Ea-07	牧野 空	2Cp-05
	2Aa-06	野村悠華子	2Fp-01	福島 敦史	2Fa-11	牧野 利明	2Aa-03
	2Aa-07			福島 直登	2Ap-03	増田 幸子	1Ea-03
	2Aa-08			福田亜沙美	2Fa-11	増村 威宏	2Cp-01
	2Ap-09			福田 敬志	2Aa-06	町田千代子	2Fa-03
中山 牧子	1Ca-14	萩原 美優	2Ba-03		2Aa-07	松尾 幸毅	2Ca-01
中山 真義	2Aa-02	朴 龍洙	2Ep-10	福田 弘和	S4-4	松岡 瑞樹	2Ca-12
	2Ba-05	橋本 隆	1Aa-06		2Ea-03	松川 詠梅	2Ea-09
名川 (宮脇) 香織	2Ba-07	蓮沼 誠久	S5-2	福田 陽子	2Da-01	松倉 千昭	2Da-07
那須 詩織	1Ca-04	長谷川玲花	2Ca-09	藤 晋一	1Ea-08	松崎 巧実	S5-1
七里 吉彦	A-3	畑田 珠希	1Ca-04	藤 佑志郎	2Ap-04	松田陽菜子	1Ea-04
	2Ca-02		1Ca-05	藤井 毅	2Ca-15	松永 幸大	S3-6
	2Ca-03	秦野 真優	2Aa-10	藤井 達也	2Fp-05	松藤 寛	2Ap-04
成田 裕貴	2Ba-08	羽鳥 友稀	2Aa-09	藤井 友理	1Da-06	松村 健	1Ca-14
鳴坂 真理	2Ep-07	花俣 繁	2Da-11	藤井 義晴	2Ba-04	松盛 巧	2Ba-08
鳴坂 義弘	2Ep-07	垣生 大希	2Aa-05	藤尾 瞳	1Ca-10		
成島 純平	2Ep-03	羽馬 哲也	2Ba-12	藤川 康夫	2Ea-01		
南谷 健司	1Ca-14	早川 修平	2Ap-05	藤澤 貴智	2Fa-11		
		早川 孝彦	S3-1	藤澤りみり	2Fp-06	三浦 佳乃	2Cp-03
		林 英里香	1Da-09	藤田 岳	1Ca-12	三浦 謙治	1Ca-13
		林 奈々美	2Cp-15	藤田 直樹	2Aa-06		1Ea-06
		原 正和	2Ep-09		2Aa-07	三沢 典彦	A-1
西井 麻貴	1Da-04		2Ep-10	藤田 美紀	2Cp-06	三柴啓一郎	2Cp-02
西内 巧	2Da-11	原田英美子	2Fa-08	藤田 泰成	2Cp-06	三嶋賢太郎	2Da-01
西田 佳永	2Cp-02	原田圭一郎	2Fp-01	藤本 菜緒	2Cp-01	水多 陽子	2Ca-10
西田 昇平	1Aa-01	番場 康介	2Ea-05	藤原健太郎	1Aa-03	水谷 正治	1Aa-05
西原 昌宏	2Ba-09				1Aa-04		1Aa-09
	2Ca-13				2Ep-02		1Ca-04
西村いくこ	1Da-06			藤原すみれ	2Ba-03		1Ca-05
西村 泰介	2Fa-03			藤原 徹	2Cp-02		2Fp-04
西村 侑美	1Ca-08	檜垣 匠	2Fp-05	藤原 知也	2Da-10	水野 晃希	1Ca-13
西山 哲史	2Ca-15	東 克己	2Ba-05	湊野 裕之			

溝口 裕之	2Fp-09	森田 和樹	2Cp-15	山崎 由実	1Ea-04	わ		
光田 展隆	S3-7	森田 重人	2Cp-01	山下 哲	2Aa-08			
	1Ea-09	森中 初音	2Ba-10		2Ap-09		和氣 駿之	1Aa-02
	2Ba-02	守山 弘基	1Aa-06	山田彩友美	2Aa-08			2Aa-05
	2Ba-07	森山 力	2Ca-15	山田 泰之	1Aa-01			2Aa-06
	2Ba-12	森吉 英子	1Ea-04	山田 黎	2Ba-08			2Aa-07
	2Cp-11		2Fa-12	山村 正臣	1Aa-08			2Aa-08
	2Ep-02	門田 有希	S2-5	山本 和彦	2Da-09			2Ap-09
	2Fp-06				2Da-10		和田 光生	2Da-08
光原 一朗	2Fa-01				2Fp-07		和田 雅人	1Aa-12
	2Fa-02			山本 千莉	1Da-01	和田 誠人	2Da-08	
皆川 吉	2Ca-10	柳下 良美	2Aa-02	山本 涼平	2Cp-02	渡邊 明子	1Ca-11	
南 洋	2Ap-06	八木橋春和	2Ba-03			渡邊 和男	2Cp-07	
南 博道	S3-2	矢口 行雄	2Ep-03				2Cp-15	
南 賢尚	1Ca-09	矢崎 一史	1Ea-01			渡辺 英彦	2Fp-08	
南川 舞	2Ba-11		1Ea-02	由井 秀紀	2Da-09	渡辺 文太	1Aa-05	
宮城 敦子	1Ca-02		1Ea-03		2Fp-07		1Aa-09	
	1Ca-03		2Fa-12	湯川 泰	2Cp-08		2Ap-08	
	1Da-07		2Ap-06			渡邊むつみ	2Ap-05	
	1Da-08		2Ap-07					
	1Da-09		2Ap-08					
	2Fp-05	安田 彩乃	2Aa-03	楊 建宇	2Fp-02			
	2Fp-06	安本 周平	2Ca-11	横井 彩子	A-4	Afifi, Osama A.	1Da-01	
宮城ゆき乃	2Ap-09	柳川 由紀	2Fa-01	横森 真麻	2Cp-10	Afifi, Osama Ahmed	2Dp-03	
宮城島進也	S5-4		2Fa-02	横山 峰幸	2Ba-04	Akashi, Hiromichi	2Ap-02	
宮澤 聖希	2Da-06	矢野健太郎	S2-2	余座万紀子	1Ea-05	Aneklaphakij, Chaiwat	2Ap-05	
宮原 平	2Aa-02	矢野 翼	2Cp-11	吉田 安佑	2Ba-03	Anung, Wahyudi	2Fp-11	
	2Cp-12	矢野 亮一	2Fp-01	吉田 光毅	S3-7	Aoki, Koh	2Dp-07	
	2Cp-13	矢作 蒼生	2Da-02	吉田 千春	2Ba-09	Arimura, Shin-ichi	2Dp-08	
宮本 健助	2Ba-04	山内 靖雄	2Fp-04		2Ca-13	Bartley, Laura E.	1Da-01	
		山形 翼	2Fa-07	吉田 英樹	1Ea-06	Chung, Soo Yeon	1Aa-02	
		山岸 萌子	1Ca-04	吉田 均	2Ca-11	Cushman, John C.	2Da-04	
		山口 華穂	2Ba-05	吉積 毅	2Da-03		2Fa-10	
棟方 有桂	2Fa-12	山口 晴彦	2Ap-09	吉原 有紗	2Ep-09	Daspute, Abhijit Arun	2Cp-04	
棟方 涼介	S3-3	山口 雅利	1Ca-02	吉松 嘉代	2Da-09	Dorjjugder, Nasanjargal		
	2Ap-07		1Da-07		2Da-10		2Aa-11	
	2Ea-05		1Da-08	四井いずみ	2Aa-04	El-Azaz, Jorge	1Aa-07	
村越 祐介	1Aa-02		1Da-09		2Ea-04	Ferjani, Ali	2Ap-02	
村中 俊哉	1Aa-03		2Fp-05		2Ea-05	Fukushima, Ery Odette		
	1Aa-04		2Fp-06		2Ea-06		2Dp-01	
	1Aa-05	山口 将弘	2Ep-03		2Ea-07	Hagihara, Shinya	2Dp-09	
	1Ca-04	山口 夕	1Ea-10		2Ea-08	Hashida, Yoichi	2Dp-06	
	1Ca-05		2Fp-02		2Ep-03	Hasi, Rumana Yesmin	1Da-07	
	2Ca-11	山口 凌	2Ep-05		2Ep-05	Hehn, Alain	2Ap-07	
室住 陸人	2Da-07	山崎将太郎	1Ca-06		2Ep-06	Ivanov, Nikolai	1Aa-06	
			1Ca-07	米山 裕	1Ca-12	Jantean, Lalita	2Dp-04	
			1Ca-08			Jie, Linnan	2Dp-05	
			1Ca-09			Kohchi, Takayuki	2Ap-02	
			1Ca-10			Kurotani, Ken-ichi	2Dp-04	
望月 知史	2Cp-12		1Ca-11			Kuwahara, Ayuko	2Ap-02	
	2Cp-13	山崎 真一	1Ea-01	李 豪	2Ap-06	Lam, Pui Ying	1Aa-11	
本橋 令子	2Da-02		1Ea-02		2Ap-08		1Da-01	
	2Ea-10		1Ea-03				2Dp-03	
	2Fp-11		1Ea-04					
	2Fp-12	山崎 真巳	S3-4			Law, Simon	2Fa-06	
森 研人	2Ea-04	山崎 裕司	2Ep-08	陸 宇	2Fp-01	Lo, Clive	1Aa-11	

Lui, Andy	1Aa-11	Umezawa, Toshiaki	1Aa-11
Luo, Yongming	2Dp-05		2Dp-03
Maeda, Hiroshi	1Aa-07	Van Quoc, Giang	1Da-05
Malapascua, Jose Romel. F.		Wakazaki, Mayumi	2Ap-02
	S5-1	Wang, Lanxiang	1Aa-11
Martin, Andri Fadillah	2Dp-03	Wang, Mengyao	2Ap-02
Medhanavyn, Dheeradhach		Wasa, Daichi	2Cp-04
	2Dp-02	Yamaguchi, Junji	2Dp-05
Miura, Kenji	2Dp-01	Yasumoto, Shuhei	2Dp-01
Miyamoto, Takuji	2Dp-03		2Dp-02
Moniruzzaman, Mohammad		Yokota Hirai, Masami	2Ap-02
	2Cp-08	Yoshida, Keisuke	2Ap-02
Moore, Bethany	1Aa-07	Zhou, Chang	2Dp-08
Morey-Yagi, Shamitha Rao			
	2Dp-06		
Muranaka, Toshiya	2Dp-01		
	2Dp-02		
Muro, Keita	2Cp-04		
Nakazato, Issei	2Dp-08		
Nishihama, Ryuichi	2Ap-02		
Notaguchi, Michitaka	2Dp-04		
Numata, Keiji	2Dp-06		
Odahara, Masaki	2Dp-06		
Ohtaka, Kinuka	2Ap-02		
Okada, Kentaro	2Dp-04		
Okamoto, Masanori	2Dp-06		
Osakabe, Keishi	2Dp-03		
Osakabe, Yuriko	2Dp-03		
Osman, Salma	2Ep-08		
Park, Jihwan	2Dp-07		
Pratama, Berbudi B.	2Ba-11		
Prieto, Rafael	2Ep-11		
Robertlee, Jekson	2Dp-09		
Romsuk, Jutapat	2Dp-01		
Saad, Abu Sefyan	2Ep-08		
Sanagi, Miho	2Dp-05		
Sato, Mayuko	2Ap-02		
Sato, Takeo	2Dp-05		
Savadogo, Eric Hyrmeya			
	1Ea-06		
Seki, Hikaru	2Dp-01		
Sierro, Nicolas	1Aa-06		
Sonia, Ouadi	1Aa-06		
Tabeta, Hiromitsu	2Ap-02		
Taguchi, Goro	2Aa-11		
Tahir, Izzat	2Ep-08		
Takagi, Junpei	2Dp-05		
Takano, Junpei	2Cp-04		
Takenaka, Mizuki	2Dp-08		
Tamura, Yoshiko	2Dp-08		
Thagun, Chonprakun	2Fa-06		
Tobimatsu, Yuki	1Aa-11		
	2Dp-03		
Toyooka, Kiminori	2Ap-02		
Tsutsumi, Nobuhiro	2Dp-08		

訂正

1Ea-04 共著者の追加

修正前：松田 陽菜子¹，山崎 由実¹，森吉 英子¹，中安 大¹，山崎 真一²，青木 裕一²，
高瀬 尚文³，岡崎 伸^{4,5}，永野 惇^{6,7}，加賀 秋人⁸

修正後：松田 陽菜子¹，山崎 由実¹，森吉 英子¹，中安 大¹，山崎 真一²，青木 裕一²，
高瀬 尚文³，岡崎 伸^{4,5}，永野 惇^{6,7}，加賀 秋人⁸，矢崎 一史¹，杉山 暁史¹

¹京大・生存研，²東北大・メディカル・メガバンク機構，³京都先端科学大・バイオ
環境，⁴農工大・院農，⁵農工大・院連合農，⁶龍谷大・農，⁷慶応大・先端生命科学研，
⁸農研機構

2Fp-08 演題タイトルの修正

修正前：塩生植物アッケソウの Cd 吸収トランスポーター遺伝子のクローニング

修正後：塩生植物アッケシソウの Cd 吸収トランスポーター遺伝子のクローニング

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

発行日：2022年9月8日

発行者：第39回日本植物バイオテクノロジー学会(堺)大会 実行委員会

〒599-8531 大阪府堺市中区学園町1番1号

大阪公立大学 大学院農学研究科 応用生物科学専攻 内

印刷：中西印刷株式会社