

第41回

日本植物バイオテクノロジー学会(仙台)大会

要 旨 集

2024年8月30日(金)～9月1日(日)

東北大学 川内北キャンパス

プログラム

受賞講演

日時 8月31日(土) 15:15-18:05

会場 F会場 (M206)

● 学術賞

- 15:15 **A-1** 木質バイオマス生合成の分子基盤研究とその応用展開
出村 拓 (奈良先端大・デジタルグリーンイノベーション)
- 15:45 **A-2** 硝酸シグナル伝達機構の解明と窒素利用強化方法の開発
柳澤 修一 (東大・院農学生命)

● 技術賞

- 16:15 **A-3** 青いキクの開発
野田 尚信¹, 能岡 智^{1,2}, 中山 真義¹, 道園 美弦¹, 間 竜太郎¹ (¹農研機構・野菜花き研究部門, ²現:農研機構・本部)

● 奨励賞

- 16:35 **A-4** 植物における高効率・高精度ゲノム編集ツールの開発とその普及
遠藤 真咲 (農研機構・生物研)
- 16:55 **A-5** メタボローム解析を用いたシュウ酸合成機構の解明
宮城 敦子 (山形大・農)
- 17:15 **A-6** 植物種間比較を中心とした栄養欠乏応答の代謝生物学的研究
渡邊 むつみ (奈良先端大・バイオ)

● 学生奨励賞

- 17:35 **A-7** 切るだけで増殖可能な薬用植物トコンの不定芽形成機構に関する研究
岡崎 夏鈴 (東洋大・院生命科学)
- 17:50 **A-8** トマトにおける細胞質雄性不稔性と稔性回復に関する研究
桑原 康介 (東北大・院農学)

● 論文賞 (受賞講演はありません)

Plant Biotechnology 40(3): 211-218

Integrated gene-free potato genome editing using transient transcription activator-like effector nucleases and regeneration-promoting gene expression by *Agrobacterium* infection.

Naoyuki Umemoto*, Shuhei Yasumoto, Muneo Yamazaki, Kenji Asano, Kotaro Akai, Hyoung Jae Lee, Ryota Akiyama, Masaharu Mizutani, Yozo Nagira, Kazuki Saito, Toshiya Muranaka (*責任著者)

シンポジウム 1

植物における有用物質生産とその動向

Production of Useful Materials in Plants and Its Trend

オーガナイザー：三浦 謙治（筑波大学）、平井 優美（理化学研究所）

日時 8月30日（金） 午後 14:00–16:45

会場 F会場（M206）

概要 本シンポジウムは、持続可能性への貢献を目指したバイオ基盤技術の開発に焦点をあて、植物のもつ特性を活かした有用物質生産の可能性について、世界的な動向の紹介と先端的な研究成果の御講演をいただき、植物をホストとした有用物質生産について多角的に捉え、これらの技術が社会に与える影響や持続可能性への貢献について議論し、本分野の将来展開について議論する場としたい。

14:00		はじめに 平井 優美（理研・CSRS）
14:10	S1-1	Sustainability に貢献する植物バイオ基盤技術開発 桑原 明日香（JST 研究開発戦略センター）
14:35	S1-2	ベンサミアナタバコを用いた有用テルペノイド生産：実例と課題 關 光（阪大院・工・生物学，大阪大学先導的学際研究機構）
15:00	S1-3	植物に由来する芳香族配糖体の合成生物学的生産システムの構築 大西 利幸（静大・グリーン研，静大・農）
15:25	S1-4	紫外線 LED を用いた芳香族化合物の生産向上 —温暖化に伴う果物の着色障害克服— 岡澤 敦司（大阪公大・院農）
15:50	S1-5	微細藻類を用いたカルボン酸生産 小山内 崇（明治大・農）
16:15	S1-6	植物発現系を用いた再生医療用細胞加工向け細胞増殖因子の製造法開発 佐々野 晴花（三菱ケミカル（株））
16:40		おわりに 三浦 謙治（筑波大・生命環境）

シンポジウム 2

難培養植物の再分化技術の開発最前線

The Frontier of Plant Regeneration Technology for Recalcitrant Plants

オーガナイザー：七里 吉彦（森林総合研究所森林バイオ研究センター）、安本 周平（大阪大学）

日時 8月30日（金） 午後 14:00-17:00

会場 E会場（C200）

概要 ゲノム編集技術を利用した作物の分子育種が精力的に進められているなか、難培養植物の再分化技術の開発はますます重要性を増している。本シンポジウムでは、再分化に関わる遺伝子や低分子生理活性物質の研究に携わるフロントランナーに登壇してもらい、技術開発にいたる過程やノウハウ、失敗例やコツなど論文ではみえにくい工程や実際について紹介していただき、難培養植物の再分化技術開発の一助となる場としたい。

- | | | |
|-------|-------------|--|
| 14:00 | | はじめに
七里 吉彦（森林総合研究所森林バイオ研究センター） |
| 14:05 | S2-1 | シロイヌナズナを用いた器官再生制御メカニズムの解明
池内 桃子（奈良先端大・バイオ） |
| 14:35 | S2-2 | A Novel Shoot Converter Set: ATHB25/REM7 は再分化誘導を向上させることができるか？
花野 滋（東北大・院生命科学、かずさ DNA 研） |
| 15:05 | S2-3 | ホルモンフリー培養で組換え細胞の分化を制御する基盤システムの構築
井川 智子（千葉大・院園芸学、千葉大・植物分子科学センター、千葉大・宇宙園芸センター） |
| 15:35 | | 休憩 |
| 15:45 | S2-4 | 花卉園芸植物ストックの形質転換までの長い道のり
中塚 貴司（静岡大・農学） |
| 16:15 | S2-5 | トコンの不定芽形成系を利用した生理活性物質の活性評価
梅原 三貴久（東洋大・生命科学・生物資源） |
| 16:45 | | 総合討論
安本 周平（阪大・院工・生物工学） |

シンポジウム 3

植物細胞農業：植物バイオテクノロジーを活用した細胞性食品の生産

Plant Cellular Agriculture: Production of Cultured Foods Using Plant Biotechnology

オーガナイザー：五十嵐 圭介（東北大学）

日時 8月30日（金） 午後 14:00–15:40

会場 A 会場（B200）

概要 細胞培養技術を活用して、本来は動物や植物から収穫される農産物を特定の細胞を培養することで生産する新しい考え方は細胞農業（Cellular Agriculture）と呼ばれている。植物においては古くから細胞培養技術が盛んに研究されてきており、多くの要素技術の研究蓄積がある。本シンポジウムでは、細胞農業の分野の一端を担う植物細胞農業について、これからどのような方向性で研究開発を進めればいいのかを、具体的な研究事例や事業事例をもとに議論し連携を深めることを目的とする。

- | | | |
|-------|-------------|---|
| 14:00 | | はじめに
五十嵐 圭介（東北大・院農） |
| 14:10 | S3-1 | 食用植物細胞の細胞農業 ～カメリア属の培養事例
荻田 信二郎（県立広島大・生物資源） |
| 14:25 | S3-2 | 細胞培養による多糖類生産に向けたイナゴマゲノム解析
日渡 祐二（宮城大・食産業学） |
| 14:40 | S3-3 | 藻類由来培養液を用いた動物細胞培養による循環型食料生産システム
清水 達也（東京女子医科大学 先端生命医科学研究所） |
| 14:55 | S3-4 | 食品業界における分子農業ビジネスの現状と今後
橋詰 寛也（株式会社 Kinish） |
| 15:10 | S3-5 | 数千トンスケール細胞培養への道
羽生 雄毅（インテグリカルチャー株式会社） |
| 15:25 | S3-6 | 学際的な細胞農業の社会実装に向けて
杉崎 麻友（日本細胞農業協会 CAIC） |

シンポジウム 4

植物ゲノム情報解析と共有技術の最前線

Frontiers in Genome Information Analysis and Sharing Technologies

オーガナイザー：中村 保一（国立遺伝学研究所）

日時 9月1日（日） 午前 9:00-11:00

会場 E会場（C200）

概要 植物バイオテクノロジーの基盤となる情報としてのゲノムの完全解読は昨今ますます大規模化・高速化してきている。その活用に必要な情報として、ゲノム完全決定技術、変異解析、アノテーション構築、データベース構築などについてのそれぞれの分野で活躍する研究者から最新の要素技術やその実装について情報共有していただき、議論する。

- | | | |
|-------|-------------|--|
| 9:00 | S4-1 | シングルセル解析のためのアノテーション高度化
望月 孝子（遺伝研・大量遺伝情報研究室） |
| 9:30 | S4-2 | 花の構造色を発色する微細構造：ゲノム・トランスクリプトーム解析による関連因子の同定
越水 静（遺伝研・生命ネットワーク） |
| 10:00 | S4-3 | 「系統—生育環境—表現型」データベースと植物ゲノムポータルサイト Plant GARDEN のデータ活用
市原 寿子（かずさ DNA 研） |
| 10:30 | S4-4 | ゲノム情報を活用したシアノバクテリアの光色感知機構の解析
広瀬 侑（豊橋技科大・院・工） |

シンポジウム 5 (国際シンポジウム)

Global trends of applications and regulations of plant genome editing

オーガナイザー：江面 浩（筑波大学），有村 慎一（東京大学）

日時 9月1日（日） 午後 13:30-17:40

会場 A 会場（B200）

概要 ゲノム編集技術は精確かつ最小限の変化での効率的な作物育種を可能とするため、今後の変動環境下での人口増に見合う作物生産を行うための救世主の一つと期待されており、遺伝子組換え技術とは異なる社会需要や規制のあり方が検討されている。本シンポジウムでは世界各国・地域での社会需要と規制の現状について各当事者/関係者から総論/各論の最新情報を紹介していただきつつ、世界の潮流と日本のとるべき未来について議論を行う。

13:30		Opening remarks Hiroshi Ezura (Inst. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba)
13:35	S5-1	Global Trends and Future Challenges in Regulations Concerning Genome-Edited Crops Masashi Tachikawa (Nagoya University)
14:05	S5-2	Global Trends and Future Challenges in the Practical Application of Genome-Edited Crops Mieko Kasai (American Seed Trade Association)
14:35	S5-3	The EU regulatory proposal for New Genomic Techniques - state of play and next steps Petra Jorasch (Euroseeds)
15:05		Break
15:20	S5-4	Breakthroughs in Pea Gene Editing: Applications and Regulatory Landscape in Canada Pankaj Kumar Bhowmik (National Research Council Canada, 110 Gymnasium Place, Saskatoon SK S7N 0W9, CANADA)
15:50	S5-5	Gene Editing Guidelines in the Philippines Geronima Eusebio (Department of Agriculture, Bureau of Plant Industry, Republic of the Philippines)
16:20	S5-6	Policy and Regulation on Genome Edited Crops in Indonesia Satya Nugroho (Research Center for Genetic Engineering-National Research and Innovation Agency (BRIN))
16:50	S5-7	Social Acceptance and Regulatory Challenges for Genome-Edited Crops in Japan Hiroshi Ezura (Inst. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba)
17:20		General Discussion

ランチョンセミナー

ランチョンセミナー (1) *Plant Biotechnology* 誌の今とこれから

オーガナイザー：日本植物バイオテクノロジー学会 編集委員会
(委員長 梅田 正明, 奈良先端科学技術大学院大学)

日時 8月30日(金) 12:30-13:30

会場 E会場 (C200)

概要 *Plant Biotechnology* 誌は、1984年に前身の Plant Tissue Culture Letters として創刊されて以来、植物バイオテクノロジーに関連した様々な論文を、基礎・応用に関わらず数多く出版してきました。インパクトファクターも上がってきており、2022年は1.6となっています。本誌をさらに広くアクセスしやすいジャーナルにするため、最近独自のホームページを開設し、論文情報だけでなく、ジャーナルに関する様々な情報をより多くの研究者に届けられるようにしました。本ランチョンセミナーでは、この新ホームページも含め、最近の *Plant Biotechnology* 誌をめぐる動向についてわかりやすくご紹介します。また、パネルディスカッションを通じて論文作成の秘訣など、投稿のためになる情報をエディター側の視点からお届けする予定です。

- 12:30 **L-1** *Plant Biotechnology* 誌の今とこれから
- ・新ホームページの紹介など
 - ・*Plant Biotechnology* 誌への投稿について
 - ・パネルディスカッション (パネラー：青木 考, 杉山 暁史, 中野 優, 山口 雅利, 横井 彩子)

ランチョンセミナー (2) キャリアの様々な形

オーガナイザー：日本植物バイオテクノロジー学会
男女共同参画・キャリア支援委員会 (委員長 三浦 謙治, 筑波大学)

日時 8月31日(土) 12:45-13:45

会場 E会場 (C200)

概要 本学会は男女共同参画・キャリア支援の推進に取り組んでおります。これまで、アカデミア、企業などの各方面でご活躍の先生方をお招きし、研究生活やライフスタイルについてのご講演を通じて、若手研究者のキャリアパスの考察の一助となる活動を行ってきました。こうしたなかで、世の中の多様性が求められているのと同様、本分野においても多様性が求められる時代になってきました。本ランチョンセミナーでは、アカデミアに所属しながら起業をされた経験のお話や、クラウドファンディングと研究者とのあり方といった観点で話題提供をしていただきます。キャリアパスの多様な形について考える機会になればと思います。

- 12:45 **L-2** 年収1000万円のポスドクを生み出せるか？
小山内 崇 (明治大学農学部 / シアノロジー)
- 13:15 **L-3** 学術系クラウドファンディングサイト「academist」の10年史
柴藤 亮介 (アカデミスト株式会社)

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	特化代謝	特化代謝
9:30	<p>1A-01 ENTRY</p> <p>サボジラ (<i>Manilkara zapota</i>) 由来 <i>trans</i> 型プレニルトランスフェラーゼ MztPT2 による <i>trans</i> 型ポリイソプレン合成機構の解明とその応用 Molecular mechanism of <i>trans</i>-polyisoprene synthesis by a <i>trans</i>-prenyltransferase MztPT2 from <i>Manilkara zapota</i> and its application 井澤大輔¹, 三輪幸祐¹, 廣森美樹¹, 青木裕一², 和氣駿之¹, 小島幸治¹, 山口晴彦⁴, 宮城ゆき乃⁴, 山下哲³, 戸澤謙⁵, 中山亨¹, 高橋征司¹ (¹東北大・院工, ²東北大・東北メディカルメガバンク, ³金沢大・院自然科学, ⁴住友ゴム工業(株), ⁵埼玉大・院理工)</p>	<p>1B-01</p> <p>イメージング質量分析法による植物特化代謝物の空間分布の可視化 Visualizing the spatial distribution of plant specialized metabolites by imaging mass spectrometry 森哲哉, 武田紀子, 鶴崎真妃, 西澤具子, 豊岡公德, 平井優美 (理研CSRS)</p>
9:44	<p>1A-02 ENTRY</p> <p>パラゴムノキの天然ゴム生合成マシナリを構成するタンパク質の探索および機能解析 Exploration and functional analysis of proteins constituting a natural rubber biosynthetic machinery of the Para rubber tree 三上智世¹, Nadia Nur Shazana Binti Abu Talib Khan¹, 小島幸治¹, 廣森美樹¹, 和氣駿之¹, 山下哲², 戸澤謙³, 山口晴彦⁴, 宮城ゆき乃⁴, 中山亨¹, 高橋征司¹ (¹東北大・院・工, ²金沢大・院・自然科学, ³埼玉大・院・理工, ⁴住友ゴム工業(株))</p>	<p>1B-02 ENTRY</p> <p>アンビエントイオン化質量分析を用いた“ネコのマタタビ反応”の原因成分の蓄積・放出機構の解明 Mechanisms of accumulation and release of the chemical for “Matatabi reaction of cats” in silver vine using ambient ionization mass spectrometry 有瀧慎太郎¹, 西川俊夫¹, 宮崎雅雄², 上野山怜子², 関本奏子³, 白武勝裕¹ (¹名古屋大・院生命農学, ²岩手大・農, ³横浜市大・院生命ナノシステム科学)</p>
9:58	<p>1A-03</p> <p>比較機能解析による高等植物の class I テルペン合成酵素の触媒重要残基の探索 Identification of highly conserved catalytic residues among class I terpene synthases from higher plants by comparative functional analysis 天野博之, 栗栖尚嗣, 角掛陽, 茂木大介, 菊池洋平, 廣森美樹, 和氣駿之, 中山亨, 高橋征司 (東北大・院工)</p>	<p>1B-03 ENTRY</p> <p>Exploring representative functional compounds and diversity of volatile organic compounds in 13 varieties of Sakura flowers Yongqing Cai¹, Shuri Kato², Makoto Kobayashi^{1,3}, Miyako Kusano^{1,3,4} (¹Univ. Tsubata, ²FFPRI, ³RIKEN CSRS, ⁴T-PIRC)</p>
10:12	<p>1A-04</p> <p>ブナ科植物におけるイソプレン放出能の種間多様性の解明 Molecular Mechanism of Isoprene Emission Capacity in Fagaceae 小坂青空¹, 棟方涼介¹, 福島健児², 永野惇^{3,4}, 斉藤拓也⁵, 佐竹暁子⁶, 三浦謙治⁷, 杉山暁史¹, 矢崎一史¹ (¹京大・生存研, ²遺伝研NIG, ³龍谷大・農学, ⁴慶應大・先端生命研, ⁵国環研NIES, ⁶九州大・理学, ⁷筑波大・生命環境)</p>	<p>1B-04 ENTRY</p> <p>チャ遺伝資源におけるテアニン生合成および蓄積に関する自然変異の解析 Analysis of Varietal Differences in Specialized Metabolic Mechanisms in Tea Genetic Resources 利根菜月^{1,2}, 福田祐介², 舟川奈那², 石黒雄大^{1,2}, 山下寛人^{1,2,3,4}, 一家崇志^{1,2,3,4,5} (¹岐阜大・院連農, ²静岡大・院農, ³静岡大・農, ⁴静大・TSI, ⁵静大・グリーン研)</p>
10:26	<p>1A-05</p> <p>イチゴ果実においてテルペン系香気成分の分泌に関わる候補遺伝子の機能解析 Functional analysis of candidate genes relevant for the secretion of volatile terpenes in strawberry fruits 後藤桃佳¹, 段奈々子¹, 上岡颯人¹, 李豪¹, 橘頼之¹, 市野琢爾^{1,2}, 杉山暁史¹, 棟方涼介¹, 矢崎一史¹ (¹京都大・生存研, ²神戸薬科大)</p>	<p>1B-05 ENTRY</p> <p>茶カテキン類生合成およびその制御機構の無機栄養応答の解析 Mineral nutritional responses of catechin biosynthesis and its transcriptional regulation in tea plants 樋口京佳¹, 山下寛人^{2,3}, 若狭琴乃¹, 永野惇^{4,5}, 一家崇志^{2,3,6} (¹静岡大学大学院農学専攻, ²静岡大学大学院農学領域, ³静岡大学ティーサイエンス研究所, ⁴龍谷大学農学部, ⁵慶應義塾大学先端生命科学研究所, ⁶静岡大学グリーン科学技術研究所)</p>
10:40	<p>1A-06 ENTRY</p> <p>トマトにおけるソラノエクレピン生合成に関わるメチル基転移酵素の解析 Analysis of methyltransferases involved in solanoclepin biosynthesis in tomato 赤沼花恋¹, 須澤尚太¹, 秋山遼太^{1,2}, 串田篤彦³, 谷野圭持⁴, 水谷正治¹ (¹神戸大・院農学, ²理研CSRS, ³農研機構・北農研, ⁴北大・院理)</p>	<p>1B-06</p> <p>4 つの遺伝子座の組み合わせがダイズの多様な種皮色を形成する A combination of four color-related loci produces various seed coat colors in soybean 菅波真央¹, 小島創一², 鎌倉雅都³, 白石愛花³, 別府和則³, 吉田英樹¹, 二瓶直登^{1,4}, 高橋秀和^{1,4}, 升本早枝子^{1,4}, 和氣駿之⁵, 中山亨⁵, 吉田久美⁶, 松田幹^{1,4}, 渡辺正夫⁷, 松岡信¹ (¹福島大学食農学類附属醸造研究所, ²東北大学大学院農学研究科, ³愛媛県立西条農業高校, ⁴福島大学食農学類, ⁵東北大学大学院工学研究科, ⁶愛知淑徳大学食創造科学科, ⁷東北大学大学院生命科学研究科)</p>

C会場	D会場	時間
遺伝子組換え・ゲノム編集	ホルモン・シグナル伝達	
<p>1C-01 ENTRY</p> <p>‘プリンセチア’(<i>Euphorbia pulcherrima</i> × <i>Euphorbia corollata</i>)に高頻度で生じる T-DNA 切断には逆位反復配列が関与する Inverted repeat sequences are involved in the high frequency of T-DNA truncation in ‘Princettia’ (<i>Euphorbia pulcherrima</i> × <i>Euphorbia corollata</i>) 伊藤 皓矢¹, 小岸 玲子¹, 進藤 沙弥香¹, 志茂 里菜¹, 新保 由紀子¹, 大坪 真樹¹, 松井 啓祐², 鈴木 賢一², 友松 康一², 大坪 憲弘¹ (1京都府大・院生命環境, 2サントリーフラワーズ(株)・開発部)</p>	<p>1D-01 ENTRY</p> <p>時系列トランスクリプトームに基づくチャ休眠芽のフェノロジー制御機構の解析 Time-series transcriptome reveal the phenological regulation for bud dormancy release in tea plants 大貫 真弥¹, 川木 純平², 小嶋 美紀子³, 竹林 裕美子³, 榎原 均^{3,4}, 永野 惇^{5,6}, 一家 崇志^{7,8,9}, 山下 寛人^{7,8} (1静岡大学大学院農学専攻, 2静岡県茶業研究センター, 3理化学研究所環境資源科学研究センター, 4名古屋大学大学院生命農学研究科, 5龍谷大学農学部, 6慶應義塾大学先端生命科学研究所, 7静岡大学大学院農学領域, 8静岡大学ティーサイエンス研, 9静岡大学グリーン研)</p>	9:30
<p>1C-02 ENTRY</p> <p>ユーストマ(<i>Eustoma grandiflorum</i>)花弁質感関連遺伝子導入系統の作出と表皮細胞形態の調査 Generation of <i>Eustoma grandiflorum</i> petal texture-related transgenic lines and investigation of their epidermal cell morphology 石田 怜子¹, 谷上 愛海¹, 池田 有理子¹, 矢野 翼², 新保 由紀子¹, 大坪 真樹¹, 足立 浩崇³, 大沼 紀子³, 藤田 和義⁴, 坂口 公敏³, 河西 崇³, 寺川 輝彦², 武田 征士¹, 大坪 憲弘¹ (1京都府立大・院・生命環境, 2インプラントイノベーションズ, 3ミヨシ, 4三好アグリテック)</p>	<p>1D-02 ENTRY</p> <p>GLV により誘導されるストレス耐性候補因子 CaM および CML の探索 Investigation of CaM and CML as stress tolerance candidate factors induced by GLVs 伊澤 真由子¹, 本庄 三恵², 工藤 洋², 水谷 正治¹, 杉本 幸裕¹, 山内 靖雄¹ (1神戸大・院農, 2京大・生態研)</p>	9:44
<p>1C-03</p> <p>Advancing plant transformation techniques for studying economically related genes in wild strawberries <u>Chonprakun Thagun</u>, Yutaka Kodama (C-Bio, Utsunomiya Univ.)</p>	<p>1D-03 ENTRY</p> <p>立体構造予測に基づいたシロイヌナズナ 2-hexenal 受容体候補タンパク質の情報伝達に必要な領域の同定 Identification of Regions Required for Signaling in Arabidopsis 2-hexenal Receptor Candidate Proteins Based on 3D Structure Prediction 松井 一弘, 乾 智晴, 水谷 正治, 杉本 幸裕, 山内 靖雄 (神戸大・院農)</p>	9:58
<p>1C-04 ENTRY</p> <p><i>Agrobacterium</i>-mediated genetic transformation of <i>Begonia x semperflorens</i> with betalain biosynthesis-related genes Karatas Ikbal¹, Masahiro Otani², Masaru Nakano² (1Grad. Sch. Sci. Tech., Univ. Niigata, 2Faculty of Agriculture, Univ. Niigata)</p>	<p>1D-04 ENTRY</p> <p>ダイズにおけるホメオドメインタンパク質 BLH6 の分子機能の解明 Elucidation of Molecular Function of the Homeodomain Protein BLH6 in Soybean 佐藤 萌¹, 菅波 真央², 渡辺 正夫³, 松岡 信², 小島 創一¹ (1東北大学大学院農学研究科, 2福島大学食農学類附属発酵醸造研究所, 3東北大学大学院生命科学科)</p>	10:12
<p>1C-05 ENTRY</p> <p>複数種類のメロン品種での形質転換効率の比較 Comparison of transformation frequency in melon cultivars 太田 翔一郎¹, Ana Montserrat Martín-Hernández², 野中 聡子^{3,4} (1筑波大・院・生物資源科学学位プログラム, 2Institute of Agrifood Research and Technology, 3筑波大・生命環境系, 4筑波大・筑波機能植物イノベーション研究センター)</p>	<p>1D-05 ENTRY</p> <p>活性酸素種生成を指標にした深層学習による新規抵抗性誘導剤のバーチャルスクリーニング手法 Novel in silico screening system for plant defense activators using deep learning-based prediction of reactive oxygen species accumulation 西尾 大樹¹, 佐藤 暁², 古川 貴大², 小越 将行¹, 朽津 和幸³, 水野 秀之¹, 来須 孝光¹ (1公立諏訪東京理科大・院・工, 2公立諏訪東京理科大・工, 3東京理科大・創域理工・生命生物学)</p>	10:26
<p>1C-06 ENTRY</p> <p>寄生植物コシオガマの形質転換法確立に向けた条件検討 Investigation of transformation methods for <i>Phtheirospermum japonicum</i> 柏瀬 友咲, 吉田 聡子 (奈良先端大・バイオサイエンス)</p>	<p>1D-06 ENTRY</p> <p>トコンの植物体再生初期におけるサイトカニン生合成に関する解析 Analysis of cytokinin biosynthesis on early stages of plant regeneration in ipocac 岡崎 夏鈴¹, 片野 亘¹, 柴田 恭美², 山口 勝司³, 重信 秀治³, 朝比奈 雅志^{2,4}, 小柴 和子¹, 下村 講一郎¹, 梅原 三貴久¹ (1東洋大・院生命科学, 2帝京大・理工・バイオ, 3NIBB・トランスオミクス解析室, 4帝京大・先端機器分析センター)</p>	10:40

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	特化代謝	特化代謝
10:54	<p>1A-07 ENTRY</p> <p>メタボローム解析によるソラノエクレピンの生合成経路の解析 Metabolomic analysis of the biosynthetic pathway of solanoelepin 須澤 尚太¹, 秋山 遼太^{1,2}, 串田 篤³, 谷野 圭⁴, 杉本 幸祐¹, 水谷 正治¹ (1神戸大院・農, 2理研・CSRS, 3農研機構・北農研, 4北大院・理)</p>	<p>1B-07</p> <p>細胞外ポリマー生合成酵素 CYP86 の緑色植物種横断的な機能比較解析 The Origin and Function of Fatty acid hydroxylase Contributing to Apoplastic Polymer Emergence 巽 奏^{1,2}, Hugues Renault² (1京大大学生存圏研究所, 2フランス国立科学研究センター植物分子生物学研究所)</p>
11:08	<p>1A-08 ENTRY</p> <p>トマトにおけるソラノエクレピンの代謝変換を担う酵素の探索 Exploration of enzymes responsible for the metabolic conversion of solanoelepin in tomato 永友 陽¹, 秋山 遼太^{1,2}, 河野 結¹, 串田 篤彦³, 谷野 圭持⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹ (1神戸大院・農, 2理研・CSRS, 3農研機構・北農研, 4北大院・理)</p>	<p>1B-08</p> <p>タバコ BY-2 培養細胞におけるエピジェネティック修飾剤投与による休眠二次代謝覚醒 Activation of cryptic secondary metabolism by epigenetic modifiers in tobacco BY-2 cells 野村 泰治, 加藤 康夫 (富山県大・生物工/生医工研セ)</p>
11:22	<p>1A-09</p> <p>Dirigent タンパク質が駆動するストリゴラクトンの構造多様化 Structural diversification of strigolactones driven by dirigent proteins 若林 孝俊^{1,2}, 本間 大翔², 阿部 怜生², 森脇 由隆^{1,3}, 滝川 浩郷¹, 水谷 正治², 杉本 幸裕² (1東京大院・農生科, 2神戸大院・農, 3東京医科歯科大)</p>	<p>1B-09</p> <p>トマト栽培品種と野生種の代謝多型解析 Exploiting metabolic polymorphism of polyphenols in tomato species 峠 隆之^{1,2} (1奈良先端大・バイオ, 2奈良先端大・LiSCo)</p>
11:36	<p>1A-10 ENTRY</p> <p>ジャガイモゲノム中の多重化ジオキシゲナーゼがもたらすグリコアルカロイド多様性 Glycoalkaloid Diversity Caused by Dioxygenases from Duplication in the Potato Genome 池山 倅¹, 秋山 遼太^{1,2}, 李 栄宰¹, 渡辺 文太³, 浅野 賢治⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹ (1神戸大・院農, 2理研・CSRS, 3慈恵医大, 4農研機構・北農研)</p>	<p>1B-10</p> <p>青パパイヤの機能性成分と性別との関係性 Functional components of unripe papaya and their relationship to sexes 解良 康太, 浅田 遥香, 菊地 駿介, 齊藤 翔真, 飯嶋 益巳, 中山 勉 (東農大・応用生物科学)</p>
11:50	<p>1A-11</p> <p>レプチンを蓄積するコロラドハムシ抵抗性ジャガイモの構築 Construction of Colorado Potato Beetle-Resistant Potatoes Accumulating Leptine 梅基 直行¹, 秋山 遼太², 池山 倅², 浅野 賢治³, 濱田 晴康⁴, 柳楽 洋三⁴, 森 哲哉¹, 斉藤 和季¹, 水谷 正治² (1理研CSRS, 2神戸大・院農, 3農研機構・北農研, 4(株)カネカ)</p>	<p>1B-11</p> <p>ケシ科ハナビシソウのイソキノリンアルカロイド生合成系を制御するジャスモン酸応答性の Group IX AP2/ERF 転写因子群の解析 Analysis of jasmonate-responsive Group IX AP2/ERF transcription factors involved in the regulation of isoquinoline alkaloid biosynthesis genes in <i>Eschscholzia californica</i> 山田 泰之, 平谷 万里, 土反 伸和 (神戸薬大)</p>
12:04	<p>1A-12</p> <p>ジャガイモ植物病抵抗性マーカー物質の探索 The identity of potato disease resistance markers substrate 牧 慎也¹, 原田 隆大¹, 松本 敏一², 山本 伸一³, 渡邊 和男⁴ (1長岡技科大, 2島根大学, 3農研機構, 4筑波大)</p>	

C会場	D会場	時間
遺伝子組換え・ゲノム編集	ホルモン・シグナル伝達	
<p>1C-07 ENTRY アグロバクテリウム法による虫こぶ形成植物ヌルデ (<i>Rhus chinensis</i>) の効率的な形質転換系の確立 Establishment of efficient <i>Agrobacterium</i>-mediated transformation system for the insect gall-forming plant <i>Rhus chinensis</i> 塗木 彩花¹, 藤井 祐都², 大坪 憲弘² (1京都府大・生命環境, 2京都府大・院生命環境)</p>	<p>1D-07 極矮性イネ「京のゆめ」の解析 Analysis of an extremely dwarf rice variety "Kyo no Yume" 寺迫 鷹¹, 佐藤 壮一郎¹, 増村 威宏^{1,2}, 森田 重人^{1,2} (1京都府立大院・生命環境, 2京都府農技セ生資セ)</p>	10:54
<p>1C-08 ヒノキにおける遺伝子組換え系の効率化とゲノム編集の試み Optimization of the genetic transformation system and genome editing attempts in Hinoki cypress 小長谷 賢一¹, 七里 吉彦¹, 平尾 知士², 楠本 大³, 谷口 亨¹ (1森林機構・森林バイオ, 2森林機構・林木育種セ, 3東京大・院農学生命科学)</p>	<p>1D-08 葉面積制御に伴うオーキシンの一過的上昇は代謝ネットワークを介したインドールグルコシノレートの分解によって引き起こされる Transient accumulation of auxin levels with leaf size control is driven by degradation of indole glucosinolates via metabolic networks 多部田 弘光^{1,2}, 古賀 皓之³, 佐藤 心郎¹, 塚谷 裕一³, Ali Ferjani², 平井 優美^{1,4} (1理研CSRS, 2学芸大・教育・生命, 3東大・院・理, 4名大・院・生命農学)</p>	11:08
	環境応答	
<p>1C-09 トウヒの不定胚培養および形質転換基盤技術の構築 Establishment of embryonic masses culture and transformation fundamental technology for Spruce 井上 夏実, 矢野 翼, 寺川 輝彦 (株式会社インプラントイノベーションズ)</p>	<p>1D-09 ENTRY ダイズ SUMO プロテアーゼのミスセンス変異と SUMO サイクルの解析 Missense mutations in soybean SUMO protease and the SUMO cycle 桑原 渚¹, 菅波 真央², 渡辺 正夫³, 松岡 信², 小島 創一¹ (1東北大学大学院農学研究科, 2福島大学食農学類附属発酵醸造研究所, 3東北大学大学院生命科学科)</p>	11:22
<p>1C-10 根の表皮と維管束でリン酸トランスポーターを協調的に過剰発現させたシロイヌナズナの成長とリン酸吸収 Growth and phosphate absorption of Arabidopsis plant dominantly overexpressing a phosphate transporter in root epidermis and vascular bundle tissue 多田 雄一^{1,2}, 清水 碧¹ (1東京工科大・応用生物, 2東京工科大・食と農の未来研究センター)</p>	<p>1D-10 ENTRY トマトリポカリンの植物ホルモンに対する応答 Response of lipocalin to phytohormones in tomato 小久保 祥子¹, 富安 美玖², 松井 真宙³, 本橋 令子^{1,2,3} (1静岡大・創造科学技術大学院・バイオサイエンス専攻, 2静岡大・院総合科学技術研究科・農学専攻, 3静岡大・農学・応用生命科学)</p>	11:36
<p>1C-11 ENTRY サイトカニン合成酵素遺伝子を用いたイントラジェネシスによる稲わらの糖化性の向上 Enhancement of saccharification yields from intragenic rice straws with a senescence-inducible cytokinin biosynthesis gene 西村 帆真, 三浦 佳乃, 伊藤 幸博 (東北大・農)</p>	<p>1D-11 ENTRY ヒメツリガネゴケ (<i>Physcomitrium patens</i>) におけるペルオキシダーゼ Prx34 の機能に関する研究 Studies on the function of Prx34, a peroxidase from <i>Physcomitrium patens</i> 中 雄輝¹, 秋田 求² (1近大・院生物理工, 2近大・生物理工)</p>	11:50
<p>1C-12 ENTRY 稲わら糖化性の品種間差を決める遺伝子候補の過剰発現による絞り込み Screening of a gene that determines saccharification yields from rice straws by overexpression of the candidates 山口 万優子, 小野 彩花, 伊藤 幸博 (東北大・院農)</p>	<p>1D-12 ENTRY シロイヌナズナにおいて揮発性ホモテルペンが誘発する生理応答の解析 Analysis of physiological responses induced by volatile homoterpenes in <i>Arabidopsis thaliana</i> 藤井 咲紀¹, 豊田 正嗣², 水谷 正治¹, 杉本 幸裕¹, 山内 靖雄¹ (1神戸大・院農学, 2埼玉大・院理工学)</p>	12:04

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	特化代謝	遺伝子組換え・ゲノム編集
9:00	<p>2A-01 ENTRY</p> <p>化学防御活性を強化するトマト由来 UGT91 の酵素学的解析 Enzymatic characterization of tomato UGT91 in chemical defense system 本間 駿一¹, 稲葉 環¹, 杉本 貢一², 小笠 栄一郎³, 堀川 学⁴, 豊永 宏美⁴, 塚原 壮彦¹, 藤川 紘樹⁴, 大澤 月穂⁴, 切岩 祥和¹, 松井 健二⁵, 三浦 健治², 江面 浩², 高林 純二⁶, 大西 利幸^{1,7} (1静大院・総合科技, 2筑波大・つくば機能植物イノベ, 3サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社, 4サントリー生命科学財団, 5山口大・農, 6京大・生態研, 7静大・グリーン研)</p>	<p>2B-01 ENTRY</p> <p>耐熱性セルラーゼ類を大量発現する葉緑体形質転換タバコ Transplastomic tobacco plants overexpressing thermostable cellulases 坂本 晴那¹, 磯野 真秀², 中平 洋一² (1茨大・院農学, 2茨大・農学)</p>
9:14	<p>2A-02 ENTRY</p> <p>サツマイモにおける香気二糖配糖体の構造解明および生合成酵素の機能解析 Functional characterization of aroma glycoside biosynthetic enzymes in sweet potato 西山 大貴¹, 太田 信吾¹, 塚原 壮彦¹, 佐藤 浩平^{2,3}, 間瀬 暢之^{2,3}, 竹内 純^{2,4}, 轟 泰司^{2,4}, 大西 利幸^{2,4} (1静大院・総合科技, 2静大・グリーン研, 3静大・工, 4静大・農)</p>	<p>2B-02 ENTRY</p> <p>内在性タンパク質抑制技術を用いた有用抗体を発現するイネの作出と解析 Generation and analysis of rice that express useful antibodies using endogenous protein suppression technology 西條 晃芽¹, 赤苺 汐津¹, 野澤 彰³, 賀屋 秀隆⁴, 黒田 昌治⁵, 森田 重人^{1,2}, 澤崎 達也³, 増村 威宏^{1,2} (1京都府立大・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愛媛大学・院農学, 5農研機構)</p>
9:28	<p>2A-03 ENTRY</p> <p>ブドウにおける香気配糖体の多様な糖部分を作り出す配糖化酵素の酵素学的解析 Enzymatic characterization of UDP-glycosyltransferases involved in biosynthesis of chemical diverse aroma glycosides in grape 上田 美沙紀¹, 加藤 美香¹, 勝又 章椰¹, 小笠 栄一郎², 堀川 学³, 大澤 月穂³, 藤川 紘樹³, 佐藤 浩平^{4,5}, 間瀬 暢之^{4,5}, 周藤 美紀⁶, 八幡 昌紀⁶, 杉山 啓介⁷, 奥田 徹⁷, 竹内 純^{5,6}, 轟 泰司^{5,6}, 大西 利幸^{5,6} (1静大院・総合科技, 2サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社, 3サントリー生命科学財団, 4静大・工, 5静大・グリーン研, 6静大・農, 7山梨大・ワイン研)</p>	<p>2B-03 ENTRY</p> <p>抗 Her2 抗体を発現するイネの作出および解析 Production and analysis the rice expressing anti-Her2 antibodies 四方 怜人¹, 野澤 彰³, 賀屋 秀隆⁴, 黒田 昌治⁵, 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・プロテオサイエンスセンター, 4愛媛大・院農学, 5農研機構)</p>
9:42	<p>2A-04 ENTRY</p> <p>コーヒーの香り成分蓄積に関わるリナロール配糖化酵素の機能解析 Characterization of linalyl-glycosyltransferases related as a volatile compound accumulation from coffee 井田 美帆¹, 佐々木 香織¹, 川上 寛子², 水野 幸一² (1秋田県大・院生物資源, 2秋田県大・生物資源)</p>	<p>2B-04 ENTRY</p> <p>ウイルスに対する中和抗体を高発現する矮性イネの作出と解析 Transformation and analysis of dwarf rice plants expressing high levels of neutralizing antibodies 中野 大樹¹, 野澤 彰³, 賀屋 秀隆⁴, 黒田 昌治⁵, 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愛媛大学院・農学, 5農研機構)</p>
9:56	<p>2A-05</p> <p>クレマチスのアントシアニン合成にかかわる 3 種の糖転移酵素について Characterization of three glucosyltransferase involved in the anthocyanin biosynthesis of <i>Clematis</i> 田中 良和¹, 石黒 加奈子¹, 水野 貴行², Mahboubeh Davoudi Pahnkolayi¹, 北尾 和紀¹, 中村 典子¹ (1サントリーグローバルイノベーションセンター, 2国立科学博物館筑波実験植物園)</p>	<p>2B-05</p> <p>ユニークな PAM 配列を認識する AalCas9 の同定とそのゲノム編集への活用 Characterization of the Cas9 ortholog AalCas9 which prefers unique PAM sequences and its application to genome editing 菅野 茂夫¹, 山本 宏¹, 光田 展隆¹, 矢野 翼², 長谷川 玲花², 牧野 洋一³, 寺川 輝彦², 伊藤 誠一郎³, 中村 彰良¹ (1産総研・生物プロセス, 2株式会社インプラントイノベーションズ, 3TOPPAN株式会社)</p>
10:10	<p>2A-06 ENTRY</p> <p>ソバのケルセチン配糖体生合成に関与する配糖化酵素の機能解析 Functional characterization of glucosyltransferases involved in quercetin glycoside biosynthesis in <i>Fagopyrum esculentum</i> 市川 尚哉¹, 福嶋 織百¹, Tamara Klett^{2,3}, 田口 悟朗^{1,2} (1信州大・院総合理工, 2信州大・繊維, 3現・京都大・院農学)</p>	<p>2B-06 ENTRY</p> <p>シロイヌナズナにおける DNA メチル化編集技術の開発 Development of DNA Methylation Editing Technology in <i>Arabidopsis</i> 平田 峻也¹, 小園 大成², 河合 顕真², 安里 隼³, 望月 暁登³, 池田 陽子⁴, 西村 泰介², 小林 括平³, 賀屋 秀隆³ (1愛媛大・連合農学, 2長岡技科大・院工, 3愛媛大・農, 4岡山山大・植物研)</p>

C会場	D会場	時間
環境応答	一次代謝	
<p>2C-01 シロイヌナズナの転写因子 SGR5 は気孔制御に関与する Arabidopsis Transcription Factor SGR5 is Involved in Stomatal Regulation 荒井 萌伽^{1,2}, 木越 景子¹, 森脇 宏介¹, 宮下 京子¹, 中野 仁美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>2D-01 ENTRY エゾノギシギシのシュウ酸合成経路は明暗で異なる Oxalate synthesis pathways in <i>Rumex obtusifolius</i> L. are different between light and dark conditions 佐久間 若菜¹, 村山 秀樹², 宮城 敦子² (1山形大・院農, 2山形大・農)</p>	9:00
<p>2C-02 ENTRY ミヤコグサにおける葉面積と細胞密度の種内多型と関連遺伝子の探索 Intraspecific polymorphisms in leaf area and cell density and associated genes in <i>Lotus japonicus</i> 金木 拓都¹, 加藤 壮英¹, 佐藤 修正², 加藤 晃^{1,3}, 若林 智美¹ (1奈良先端大・バイオ, 2東北大・院・生命, 3奈良先端大・DGI)</p>	<p>2D-02 ENTRY イネアンモニウム輸送体 1;2 とその負の調節キナーゼ ACTPK1 の窒素依存的相互作用 Nitrogen-dependent interaction between rice ammonium transporter 1;2 and its negative modulator kinase ACTPK1 星川 正太郎, 早川 俊彦 (東北大・院農学)</p>	9:14
<p>2C-03 ENTRY 2つのゼニゴケ標準株間の高浸透圧ストレスに対する遺伝子発現の差異 Differences in gene expression in response to high osmotic stress between two standard strains of <i>Marchantia polymorpha</i> 岸本 知也¹, 加藤 大幹¹, 加藤 壮英¹, 加藤 晃^{1,2} (1奈良先端大・バイオ, 2奈良先端大・DGI)</p>	<p>2D-03 イネ細胞質型グルタミン合成酵素変異体の窒素肥料と栽培密度への応答とその細胞壁成分の利用 Response of rice cytosolic glutamine synthetase mutant to nitrogen fertilizer and density population, and utilization of its cell wall components 高山 あまね, 小島 創一 (東北大学大学院農学研究所)</p>	9:28
<p>2C-04 ENTRY シロイヌナズナ野生系統間における浸透圧耐性多様性に寄与する遺伝子座の同定 Identification of Osmo-sensitive locus in <i>Arabidopsis thaliana</i> accessions 村越 祐介¹, 番場 康介¹, 平野 貴大¹, 有賀 裕剛², 田中 啓介³, 四井 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)</p>	<p>2D-04 イネの窒素欠乏応答ネットワークにおける OsbZIP11 転写因子の機能解析 Functional analysis of OsbZIP11 transcription factor in the regulatory network of nitrogen deficiency response 大槻 並枝¹, 植田 佳明², 櫻庭 康仁¹, 柳澤 修一¹ (1東大・農, 2JIRCAS)</p>	9:42
<p>2C-05 ENTRY 塩馴化後浸透圧耐性欠損変異株 <i>aod28</i> と <i>aod29</i> の解析 Genetic analysis of two <i>Arabidopsis</i> <i>acquired osmotolerance defective</i> mutants: <i>aod28</i> and <i>aod29</i> Victor Kouspits¹, 細井 昂人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>2D-05 植物スフィンゴ脂質分解代謝系のメタボローム解析 Metabolic fingerprinting of sphingolipid hydrolytic pathways in plants 石川 寿樹¹, 近藤 雄大¹, 市川 莉菜¹, 門屋 茜¹, 梅村 悠太², 田中 秀則³, 長野 稔⁴, 田中 保⁵, 川合 真紀¹ (1埼玉大・院理工, 2岐阜大・院連農, 3岐阜大・iGCORE, 4立命大・生命科学, 5徳島大・院社会産業理工)</p>	9:56
<p>2C-06 SALT 遺伝子欠損はシロイヌナズナ野生系統 Lch-0 の耐塩性に寄与する Defect of <i>SALT</i> gene improves salt tolerance of <i>Arabidopsis thaliana</i> accession Lch-0 梶野 拓磨¹, 内山 佳織¹, 有賀 裕剛², 長谷 純宏³, 堀江 智明⁴, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (1東京農大・バイオ, 2農研・遺伝資源研究センター, 3量研高崎量子応用研究所・放射線生物応用研究部, 4信州大・応生)</p>	<p>2D-06 ENTRY 転写開始点制御により細胞内局在の異なる分子種が生じるシロイヌナズナ Ca²⁺/CaM 依存性 NAD キナーゼの機能解析 Functional analysis of <i>Arabidopsis</i> Ca²⁺/CaM-dependent NAD kinases, whose subcellular localization is determined by the transcription start sites 坂口 浩朗¹, 石川 寿樹¹, 山口 雅利¹, 児玉 豊², 川合 真紀¹ (1埼玉大・院理工, 2宇都宮大・バイオセンター)</p>	10:10

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	特化代謝	遺伝子組換え・ゲノム編集
10:24	<p>2A-07</p> <p>ワサビの isosaponarin 生合成に関与する配糖化酵素 WjAGT2 の反応性と細胞内局在性の解析 Analysis of enzymatic reactivity and subcellular localization of the glucosyltransferase WjAGT2 involved in the isosaponarin biosynthesis in <i>Eutrema japonicum</i> 西部 あぐる¹, 庄司 のえみ¹, 田口 悟朗^{1,2} (1信州大院・総合理工, 2信州大・繊維・応生)</p>	<p>2B-07</p> <p>高効率かつ正確な Prime Editing 系の植物への適用 Efficient and accurate Prime Editing system in plants 横井 彩子¹, 飯田 恵子¹, 森 明子¹, 主藤 裕太郎², 中川 綾哉², 濡木 理², 土岐 精一^{1,3,4} (1農研機構・生物研, 2東大・理・生科, 3横浜市大・生命ナノ, 4龍谷大・農学部)</p>
10:38	<p>2A-08</p> <p>タバコ (<i>Nicotiana tabacum</i>) の異物代謝に関わる二糖配糖化酵素の機能の解析 Analysis of glycosyltransferases involved in the xenobiotic metabolism in <i>Nicotiana tabacum</i> 須藤 雄大¹, 佐藤 里佳¹, 瀧 啓一郎¹, 東野 兼次郎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>2B-08</p> <p>イネ RT98C が持つ稔性回復様遺伝子と細胞質雄性不稔性の原因遺伝子の探索 Exploring the Cytoplasmic Male Sterility Causative Gene and Fertility Restorer-like Gene in Rice RT98C 五十嵐 圭介¹, 小林 碧尊¹, 有村 慎一², 鳥山 欽哉¹ (1東北大学大学院農学研究科, 2東京大学大学院農学生命科学研究科)</p>
10:52	<p>2A-09</p> <p>ラベンダーのクマリン生合成に関与する β-グルコシダーゼの探索 Investigation of β-glucosidases involved in the coumarin biosynthesis in lavender (<i>Lavandula angustifolia</i>) 松永 都¹, 松村 英生^{1,2}, 田口 悟朗^{1,3} (1信州大院・総合理工, 2信州大・遺伝子, 3信州大・繊維・応生)</p>	<p>2B-09 ENTRY</p> <p>葉緑体ゲノム標的一塩基置換技術を用いた, 除草剤メトリブジン耐性シロイヌナズナの作出 Resistance to the herbicide metribuzin was conferred to <i>Arabidopsis thaliana</i> by targeted base editing of the chloroplast genome 中里 一星¹, 矢守 航¹, 松村 浩由², 奥野 未来³, 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹ (1東大・院・農生, 2立命館大・生命科学, 3久留米大・医)</p>
11:06	<p>2A-10 ENTRY</p> <p>グレープフルーツの器官別トランスクリプトーム解析によるクマリン代謝関連酸化酵素遺伝子の探索と機能解析 Characterization of Oxidases Related to Coumarin Metabolism Found by Organ-Specific Transcriptome in Grapefruit 市川 公康¹, 松下 修平¹, 新屋 和花¹, 松川 哲也^{2,3}, 杉山 暁史¹, 矢崎 一史¹, 棟方 涼介¹ (1京都大・生存研, 2近大・附属農場, 3近大・生物理工)</p>	<p>2B-10 ENTRY</p> <p>緑藻クロレラ科 MK201 株への CRISPR/Cas9 システムの適用 Application of CRISPR/Cas9 system to green algae Chlorellaceae strain MK201 森村 綾花¹, 安本 周平^{1,2}, 村中 俊哉^{1,2} (1阪大・院工・生物工学, 2阪大・先導的学際研究機構)</p>
11:20	<p>2A-11 ENTRY</p> <p>セリ科植物アシタバにおける三環性クマリン類の環化制御機構の解明 Biosynthetic Mechanism Regulating Tricyclic Coumarin Cyclization in the Apiaceae Herb <i>Angelica keiskei</i> 新屋 和花¹, 韓 俊文¹, 三浦 謙治², 谷口 雅彦³, 杉山 暁史¹, 矢崎 一史¹, 棟方 涼介¹ (1京大・生存研, 2筑波大・生命環境, 3大阪医薬大・薬)</p>	<p>2B-11</p> <p>CRISPR-Cas3 を用いたイネゲノム編集技術の開発 Genome editing using CRISPR-Cas3 in rice 雑賀 啓明¹, 安本 周平², 村中 俊哉², 吉見 一人³, 真下 知士³, 土岐 精一^{1,4,5,6} (1農研機構・生物研, 2大阪大院・工, 3東京大・医科研, 4横浜市大・生命ナノシステム, 5横浜市大・木原生研, 6龍谷大・農)</p>
11:34	<p>2A-12</p> <p>アントシアニン合成ニンジン培養細胞からのアシルグルコース依存型アントシアニン糖転移酵素の単離 Identification of acyl-glucose dependent anthocyanin glucosyltransferase from anthocyanin-producing carrot cultured cells 古賀 駿也¹, 宮原 平², 西崎 雄三³, 小関 良宏¹, 佐々木 伸大⁴ (1農工大・工・生命工, 2千葉大・園芸, 3東洋大・食環境, 4大工大・農・応生)</p>	<p>2B-12</p> <p>Target-AID システムによりアセト乳酸合成酵素遺伝子に点変異を付与したスギ (<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don) の除草剤耐性能 Herbicide resistance in sugi (<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don) containing modified ALS gene by Target-AID 七里 吉彦¹, 川邊 陽文¹, 小長谷 賢一¹, 上野 真義², 永野 聡一郎³, 遠藤 真咲⁴, 谷口 亨¹ (1森林機構・森林バイオ, 2森林機構・森林総研, 3森林機構・林育セ, 4農研機構・生物機能部門)</p>

C会場	D会場	時間
環境応答	一次代謝	
<p>2C-07 ENTRY イネ SALT 遺伝子のゲノム編集と耐塩性評価 Genome-editing of <i>OsSALT1</i> and <i>OsSALT2</i> genes in rice and evaluation of the salt tolerance 久保田 希美, 伊澤 かな, 四井 いずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭 (東京農大・バイオ)</p>	<p>2D-07 ヒユ科ツルノゲイトウ属とホウレンソウ属におけるスフィンゴ脂質の比較 Comparison of sphingolipids in <i>Alternanthera</i> and <i>Spinacia</i> 今井 博之¹, 石川 寿樹², 時水 洋和¹ (1甲南大・院生物, 2埼玉大・院理工)</p>	10:24
	バイオマス	
<p>2C-08 ENTRY 耐塩性獲得変異株 <i>sot</i> の単離と遺伝学的解析 Isolation and genetic analysis for <i>salt overly tolerant (sot)</i> mutants of <i>Arabidopsis thaliana</i> 大橋 知世¹, 細井 昂人², 太治 輝昭¹, 坂田 洋一¹, 四井 いずみ¹ (1東京農大・バイオ, 2東京農大・ゲノムセンター)</p>	<p>2D-08 ENTRY 日本イネコアコレクションの窒素肥料に対するバイオマス応答性の集団遺伝学的な評価 Population genetics of biomass response of the Japanese rice core collection to nitrogen fertilizer 本田 圭一¹, 村尾 陽¹, 菅波 真央², 小島 創一³ (1東北大学農学部, 2福島大学食農学類附属醸造研究所, 3東北大学大学院農学研究科)</p>	10:38
<p>2C-09 ENTRY シロイヌナズナの短期高温耐性に寄与する遺伝子座の探索 Isolation and genetic analyses of short term heat-stress tolerant mutants of <i>Arabidopsis thaliana</i> 柳原 美来¹, 植木 真生¹, 鈴木 孝征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中部大・応用生物科学)</p>	<p>2D-09 野生イネの種子貯蔵タンパク質の解析 Analysis of seed storage proteins in wild rice 松本 啓輔¹, 増村 威宏^{1,2}, 森田 重人^{1,2} (1京府大・院生命環境, 2京都府農技センター)</p>	10:52
	細胞・組織培養	
<p>2C-10 ENTRY シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 <i>sloh2</i> の解析 Genetic analyses of sensitive to long-term heat 2(<i>sloh2</i>) mutant of <i>Arabidopsis thaliana</i> 芳野 晴臣¹, 山口 凌¹, 細井 昂人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>2D-10 ENTRY トドマツ培養細胞からの二次木部の特徴をもった管状要素の誘導 In vitro induction of secondary xylem-like tracheary elements in calli of <i>Abies sachalinensis</i> 土井 巖¹, 丸山 莉生¹, 河村 健太^{1,2}, 半 智史¹, 船田 良¹ (1東京農工大・院農, 2森林総研林木育種センター)</p>	11:06
<p>2C-11 ENTRY シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 <i>sloh7</i> の単離解析 Physiological and genetic analyses of <i>sensitive to long term heat7 (sloh7)</i> mutant of <i>Arabidopsis thaliana</i> 野菅 梨々香¹, 細井 昂人², 鈴木 孝征³, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (1東京農大・バイオ, 2東京農大・ゲノムセンター, 3中部大・応生)</p>	<p>2D-11 ENTRY エゾマツ成熟種子からの不定胚形成細胞を経由した植物体再生 Plant regeneration by embryogenic suspensor masses from mature seeds of <i>Picea jezoensis</i> 丸山 莉生¹, 土井 巖¹, 河村 健太^{2,3}, 半 智史¹, 船田 良¹ (1東京農工大大学院農学府, 2森林総合研究所林木育種センター, 3東京農工大大学院連合農学研究科)</p>	11:20
<p>2C-12 ENTRY 長期高温耐性シロイヌナズナ Berg-1 の高温耐性メカニズムの解析 Genetic analyses of long-term heat tolerance in <i>Arabidopsis thaliana</i> Berg-1 北島 あすみ, 四井 いずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭 (東京農大・バイオ)</p>	<p>2D-12 センブリ組織培養におけるインドール-3-酪酸及びシヨ糖濃度の検討 Study on the concentrations of indol-3-butyric acid and sucrose in tissue culture for <i>Swertia japonica</i> 山本 和彦¹, 河野 徳昭¹, 由井 秀紀², 金子 倫久³, 高田 泰生³, 吉松 嘉代¹ (1医薬健康研薬植セ, 2長野県野菜花き試, 3日本粉末薬品)</p>	11:34

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	特化代謝	遺伝子組換え・ゲノム編集
11:48	<p>2A-13</p> <p>センナからの UGT72 サブファミリー配糖化酵素の単離と配糖化活性の解析</p> <p>Molecular cloning and characterization of UGT72 subfamily glycosyltransferases from <i>Senna alexandrina</i></p> <p>大山 真優, 牧野 利明, 寺坂 和祥 (名市大・院薬)</p>	<p>2B-13 ENTRY</p> <p>ゲノム編集ダイズを用いたソヤサポニン生合成関連遺伝子 <i>GmBAS</i> ホモログの機能解析</p> <p>Functional analysis of <i>GmBAS</i> homologs involved in soyasaponin biosynthesis in genome-edited soybeans</p> <p>麻 裕毅¹, 桑原 慎子¹, 田中 和², 高橋 貴明³, 山田 哲也¹ (¹北海道大・院農, ²北海道大・農, ³兼松(株))</p>
12:02		<p>2B-14 ENTRY</p> <p>ホトトギス (<i>Tricyrtis hirta</i>) における <i>TFL1</i> (<i>TERMINAL FLOWER 1</i>) ホモログ遺伝子を対象としたゲノム編集個体の作出</p> <p>Production of genome-edited plants targeting <i>TFL1</i> (<i>TERMINAL FLOWER 1</i>) homologous gene in <i>Tricyrtis hirta</i></p> <p>高梨 壮大¹, 今村 優斗¹, 大谷 真広², 中野 優² (¹新潟大・院自然研, ²新潟大・農)</p>
12:16		<p>2B-15 ENTRY</p> <p>ゲノム編集による高精度かつ高 GABA トマト品種作出</p> <p>High sugar and high GABA Tomato variety creation by genome editing</p> <p>Seungje Choi¹, Islam Abdellatif², 岩間 健¹, 三浦 謙治² (¹筑波大・院 生命地球/ Grad. Sci. Life & Earth Sci., Univ. Tsukuba, ²つくば機能植物イノベーション研究センター/ Tsukuba-Plant Innovation Research Center)</p>

C会場	D会場	時間
バイオインフォマティクス	細胞・組織培養	
<p>2C-13 エキソームシーケンシングによるトマト変異体の変異情報整備 Exome sequencing of tomato mutants distributed from National Bioresource Project-Tomato 杉本 貢¹, 矢野 亮², 有泉 亨¹, 江面 浩¹ (筑波大・T-PIRC, ²農研機構・分析研)</p>	<p>2D-13 改変型転写因子を用いたホルモンフリー不定芽・不定胚誘導時の細胞学的観察と植物体再生 Hormone-free adventitious shoot and somatic embryo induction and plant regeneration using modified transcription factors 池田 美穂¹, 佐藤 舞², 中山 潤², 山形 翼² (福井県大・生物資源, ²埼玉大・理工)</p>	11:48
<p>2C-14 ENTRY メタ解析を用いたシロイヌナズナのストレス応答遺伝子アトラスの構築 Development of an atlas of stress responsive genes in <i>Arabidopsis thaliana</i> using meta-analysis 福田 由介¹, 川口 晃平¹, 福島 敦史^{1,2} (京都府大・院生命環境, ²理研CSRS)</p>	<p>2D-14 ENTRY 植物細胞農業による細胞性食品のための基礎培地開発の試み Attempts to develop standardized culture medium for cellular foods produced by plant cellular agriculture 松本 萌人, 五十嵐 圭介 (東北大・院農学)</p>	12:02
		12:16

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	特化代謝	遺伝子組換え・ゲノム編集
9:00	<p>3A-01</p> <p>補酵素 A によるカルコン合成酵素の生成物特異性の制御 Coenzyme A-mediated product specificity modulation of chalcone synthase 和氣 駿之, 今泉 璃城, 川極 幸村, 土井 大和, 宇野 海地, 中野 拓也, 高橋 征司, 中山 亨 (東北大・院工)</p>	<p>3B-01</p> <p>交配により外来核酸を取り除いた <i>GBSSI</i> ゲノム編集ジャガイモ中の外来核酸残存の評価 Evaluation of remaining foreign DNA in <i>GBSSI</i> genome-edited potatoes after genetic segregation 安本 周平^{1,2}, 島田 浩章^{1,3}, 村中 俊哉^{1,2} (¹阪大・院工・生物工学, ²阪大・先導的学際研究機構, ³東京理科大・生命システム)</p>
9:14	<p>3A-02</p> <p>活性矯正タンパク質によるカルコン合成酵素の矯正機構に関する構造的洞察 Structural Insights into the Mechanism of Chalcone Isomerase-like Protein that Rectifies Chalcone Synthase Activity 今泉 璃城¹, 和氣 駿之¹, 竹下 浩平², 安田 あおい³, 松浦 滉明², 川極 幸村¹, 中多 舜³, 坂井 直樹², 片岡 邦重³, 高橋 征司¹, 山本 雅貴², 山下 哲³, 中山 亨¹ (¹東北大・院工, ²理研RSC, ³金沢大・院自然科学)</p>	<p>3B-02 ENTRY</p> <p>人工腸液試験におけるピーナッツタンパク質の消化抵抗性の数値化 Quantification of the digestibility of peanut proteins during trypsin treatment 寺島 瑞歩¹, 西内 巧², 宮原 平¹, 児玉 浩明¹ (¹千葉大・院園芸, ²金沢大・疾患モデル総合研究センター)</p>
9:28	<p>3A-03 ENTRY</p> <p>フラボノイド生合成に関わるシトクロム P450 と可溶性酵素間の相互作用解析 Protein-protein interaction analyses of cytochrome P450 and soluble enzymes involved in flavonoid biosynthesis 高橋 玄, 和氣 駿之, 今泉 璃城, 川極 幸村, 高橋 征司, 中山 亨 (東北大学工学研究科 バイオ工学専攻 応用生命化学講座)</p>	<p>3B-03</p> <p>カルタヘナ法に基づく遺伝子組換え農作物の生物多様性への影響評価 Risk Assessment of Genetically Modified Crops on Biological Diversity Based on Cartagena Act 青木 政典 (農林水産省消費・安全局農産安全管理課)</p>
9:42	<p>3A-04 ENTRY</p> <p>ペニバナ (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) 由来 Chalcone isomerase-fold protein の酵素機能解析 Functional characterization of chalcone isomerase-fold proteins from safflower (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) 小杉 泰世¹, 和氣 駿之¹, 今泉 璃城¹, 寺下 美穂¹, 藤田 直樹², 蛭名 宏佑², 加藤 幹也², 根岸 尚志³, 青木 裕一⁴, 高橋 征司¹, 中山 亨¹ (¹東北大院・工/Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ, ²アーティエンス(株)/artience Co., Ltd., ³トーヨーケム(株)/TOYOICHEM Co., Ltd., ⁴東北大学東北メディカル・メガバンク機構/Tohoku Medical Megabank Organization)</p>	<p>3B-04</p> <p>ゲノム編集イネ系統の届出制度による野外栽培試験の取組み Field Cultivation Trials of Genome-edited Rice Lines under The Notification System 小松 晃¹, 大武 美樹¹, 金原 千佳子¹, 坂井 寛章² (¹農研機構・生物機能利用研究部門, ²農研機構・高度分析研究センター)</p>
		新技術開発
9:56	<p>3A-05 ENTRY</p> <p>キンギョソウの液胞膜に局在するカルコン輸送体の解析 Characterization of chalcone transporter in the tonoplast of <i>Antirrhinum majus</i> 一色 桂吾, 高梨 功次郎 (信州大・総合理工学)</p>	<p>3B-05</p> <p>太陽誘起クロロフィル蛍光画像を用いたスマート農業とカーボンニュートラルのイノベーション Innovations in Smart Agriculture and Carbon Neutrality Using Solar-Induced Chlorophyll Fluorescence Imaging 増田 健二¹, 飯尾 淳弘², 岡澤 宏³, サイモン イェーツ⁴ (¹静岡大・技術, ²静岡大・農, ³東京農業大・地域環境科学, ⁴AgEagle社)</p>
10:10	<p>3A-06 ENTRY</p> <p>シコニン生産と関連するムラサキの ABC 輸送体 LePDR1 の解析 Analysis of ATP-binding cassette protein LePDR1 related to shikonin production of <i>Lithospermum erythrorhizon</i> 近藤 菜友¹, 坪山 愛¹, 市野 琢爾^{1,2}, 李 豪¹, 巽 奏¹, 松田 陽菜子¹, 刑部 敬史³, 下村 講一郎⁴, 棟方 涼介¹, 杉山 暁史¹, 矢崎 一史¹ (¹京都大・生存研, ²神戸薬科大・薬学部, ³徳島大・生物資源, ⁴東洋大・生命科学)</p>	<p>3B-06</p> <p>ゼニゴケを用いたオルガネラ形質変異体の探索のためのトランスポゾンタギング Transposon tagging for generating mutants of organelle phenotype in <i>Marchantia polymorpha</i> 神名 唯衣^{1,2}, 児玉 豊^{1,2} (¹宇都宮大・バイオセンター, ²宇都宮大院・地域創生)</p>

C会場	D会場	時間
有用物質生産	遺伝子発現	
<p>3C-01 一過性遺伝子発現法を用いた植物利用型有用タンパク質生産のための栽培環境調節 Environmental control for plant-made biopharmaceutical protein production with transient gene expression technology 松田 怜 (東大・院農学生命科学)</p>	<p>3D-01 ENTRY ミヤコグサにおける枝分かれ関連候補遺伝子 <i>AtUMAMIT2 orthologue</i> の機能推定 Functional Inference of <i>AtUMAMIT2 orthologue</i>, a Candidate Gene Related to Branching in <i>Lotus japonicus</i> 上野 公之¹, 加藤 壮英¹, 佐藤 修正², 加藤 晃^{1,3}, 若林 智美¹ (1奈良先端大・バイオ, 2東北大・院生命科学, 3奈良先端大・DGI)</p>	9:00
<p>3C-02 単子葉植物のスプラウトを宿主とする組換えタンパク質の一過的大量生産系の開発の試み Development of Agrobacterium-based transient expression system for producing recombinant proteins in monocot sprouts 夏原 宏季¹, 森田 重人^{2,3}, 北島 佐紀人¹ (1京工繊大・応用生物, 2京都府大院・生命環境, 3京都府農技セ・生資セ)</p>	<p>3D-02 ENTRY 二次細胞壁マスター因子の転写制御機構 Transcriptional Regulation of Master Regulators of Secondary Cell Wall Formation 向井 陸馬¹, 清水 悠裕¹, 藤澤 りみり¹, 満山 進², 坂本 真吾³, 光田 展隆³, 石川 寿樹¹, 川合 真紀¹, 山口 雅利¹ (1埼大・院理工, 2東大・院農学生命科学, 3産総研・生物プロセス)</p>	9:14
<p>3C-03 ENTRY イネを用いた黄色ブドウ球菌特異的抗菌タンパク質リゾスタフィンの生産と局在箇所に着目した蓄積量評価 Production of a <i>Staphylococcus aureus</i>-specific antimicrobial protein lysostaphin in rice and evaluation of its accumulated amount among different subcellular localization 粥川 颯人, 下田 蒼, 米山 裕, 伊藤 幸博 (東北大・院農)</p>	<p>3D-03 <i>ghost white</i> 変異体の原因遺伝子である <i>Solyc08g005010</i> の機能解析 Functional analysis of <i>Solyc08g005010</i>, the gene responsible for the <i>ghost white</i> mutant 肖 渝焯¹, 中村 克行¹, 牧田 菜加¹, 高橋 征司², 白澤 健太³, 本橋 令子¹ (1静大・院農学, 2東北大・院工学, 3かずさ研・先端)</p>	9:28
<p>3C-04 ENTRY 節足動物由来の抗菌ペプチドの融合タンパク質とその融合部位を切断するプロテアーゼをそれぞれ生産する遺伝子組換えイネの作出と解析 Generation and analysis of transgenic rice plants that produce an arthropod-derived antimicrobial peptide-fused protein and protease that cleaves the fused site 板垣 美菜子, 藤田 岳, 下田 蒼, 米山 裕, 伊藤 幸博 (東北大・院農学)</p>	<p>3D-04 CW 型細胞質雄性不稔性イネ原因遺伝子の破壊によるレトログレードシグナルの変化 Knockout of <i>orf307</i> in CW-type cytoplasmic male sterile rice leads changes of retrograde signaling 風間 智彦¹, 有村 慎一², 鳥山 欽哉³ (1九大・院・農, 2東大・院・農生命, 3東北大・院・農)</p>	9:42
発生分化・形態形成		
<p>3C-05 ENTRY ゼニゴケにおけるビタミン D3 高生産を目的としたコレステロール産生増強株の構築 Construction of the enhanced cholesterol production strain for high vitamin D3 yield in <i>Marchantia polymorpha</i> 梶野 理桜¹, 水田 珠希¹, 那須 詩織¹, 石崎 公庸², 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹ (1神戸大・院農学, 2神戸大・院理学)</p>	<p>3D-05 DR 遺伝子による植物細胞分化制御系の構築 Development of the Plant Cellular Differentiation Control System by DR Genes Expression 小山 翔平¹, 佐藤 優加¹, Berbudi Bintang Pratama¹, 井川 智子^{1,2,3} (1千葉大・院園芸学, 2千葉大・植物分子科学センター, 3千葉大・宇宙園芸センター)</p>	9:56
<p>3C-06 ENTRY フェアリー化合物の生合成・代謝に関する研究 Biochemical studies on biosynthesis and metabolism of fairy chemicals 徳岡 佑¹, 崔 宰燾^{1,2,3,4,5}, ネルソン デイビット⁶, 道羅 英夫^{1,5}, 平井 ヒロフミ^{1,2,3,4,5}, 河岸 洋和^{3,5} (1静大院・総科技/ Grad. Sch. of Integr. Sci. and Tech., 2静大・グローバル共創/Fac. of Glob. Interd. Sci. Inno., 3静大・農/Fac. of Agric., 4静大・グリーン研/RIGST, 5静大・キノコ科研/ Ins. of Mushr. Sci. Shizuoka Univ., 6Bot. Plant Sci., UCR)</p>	<p>3D-06 ENTRY 発生制御遺伝子の発現制御法と改変が及ぼす分化反応の評価 Evaluation of the Differentiation Responses Influenced by the Developmental Regulator Gene Expression Level and Modification 井上 翔太¹, 井川 智子^{1,2,3} (1千葉大・院園芸学, 2千葉大・植物分子科学センター, 3千葉大・宇宙園芸センター)</p>	10:10

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	特化代謝	新技術開発
10:24	<p>3A-07 ENTRY</p> <p>ゼニゴケのビスビベンジル生合成に関与する cytochrome P450 の探索 Screening of cytochrome P450s involved in the bisbibenzyl biosynthesis in <i>Marchantia polymorpha</i> 木村 渚¹, 小林 悠華¹, 水田 珠希², 水谷 正治², 高橋 宏暢³, 久保 浩義¹, 高梨 功次郎¹ (1信州大院・総合理工学, 2神戸大院・農, 3徳島文理大・薬)</p>	<p>3B-07 ENTRY</p> <p>生きた植物細胞における核を染色する新しい蛍光化合物の同定 Identification of a new fluorescent compound that stains nuclei in living plant cells 市川 晋太郎^{1,2}, 北村 未帆¹, 児玉 豊^{1,2} (1宇都宮大・バイオセンター, 2宇都宮大院・地域創生)</p>
10:38	<p>3A-08</p> <p>ゼニゴケにおけるフェニルプロパノイド生合成経路遺伝子破壊株のメタボローム解析 Metabolome analysis of knockout lines of phenylpropanoid pathway genes in <i>Marchantia polymorpha</i> 水田 珠希¹, 井上 珠緒¹, 橘 美紗希¹, 中村 幸誠¹, 石崎 公庸², 浅川 義範³, 高梨 功次郎⁴, 水谷 正治¹ (1神戸大・院農学, 2神戸大・院理学, 3徳島文理大・薬, 4信州大・院総合理工)</p>	<p>3B-08 ENTRY</p> <p>抑制制御によって植物に環境ストレス耐性を付与する遺伝子を探索するシステムの構築 Establishment of a system for exploration of genes improving abiotic stress resistance of most land plants via gene suppression 澤口 友菜¹, 堀井 陽子², 松井 南², 近藤 陽一¹ (1関東学院大学・院物質生命, 2理研・CSRS)</p>
10:52	<p>3A-09 ENTRY</p> <p>ゼニゴケのフラボン7位グルクロン酸転移酵素 Flavone-7-O-glucuronosyltransferases in <i>Marchantia polymorpha</i> 古館 拓来, 徳江 創太郎, 久保 浩義, 高梨 功次郎 (信州大院・総合理工)</p>	<p>3B-09 ENTRY</p> <p>シアノバクテリア用「テオフィリン誘導型人工リボスイッチ」のシステムティックな改変 Systematic modification of the theophylline-dependent synthetic riboswitches for cyanobacteria 藤原 未来¹, 大嶋 真由子², 中平 洋一² (1茨大・院農学, 2茨大・農学)</p>
11:06	<p>3A-10 ENTRY</p> <p>ゼニゴケのグルクロン酸配糖化酵素の分子進化 Molecular evolution of glucuronosyltransferases in <i>Marchantia polymorpha</i> 佐伯 結衣, 徳江 創太郎, 久保 浩義, 高梨 功次郎 (信州大院・総合理工学)</p>	<p>3B-10</p> <p>Development of chemically inducible protein heterodimerization (CID) in the plant Jekson Robertlee¹, Kotaro Nishiyama², Yutaro Shimizu¹, Shinya Hagihara¹ (1RIKEN Center for Sustainable Resource Science (CSRS), 2School of Agriculture, Meiji University)</p>
11:20	<p>3A-11</p> <p>リグナン/フラボノイド OMT におけるリグナンメチル化活性の選択的機能破壊 Selective loss of function of lignan O-methylation activity in lignan/flavonoid O-methyltransferase 小林 慶亮¹, 陶山 莉菜乃¹, 三上 文三¹, 山村 正臣^{1,2}, 梅澤 俊明¹ (1京大大学生存圏研究所, 2徳島大学大学院社会産業理工学研究部)</p>	<p>3B-11</p> <p>キャベツにおける一過的発現ツールを用いた <i>in planta</i> ゲノム編集法の開発 Development of <i>in planta</i> genome editing method by transient expression tool in cabbage 高橋 秀¹, 小林 美咲¹, Islam Mohamed Yassin Abdellatif², Na Renhu², Martina Bianca Fuhrmann-Aoyagi¹, 三浦 謙治² (1筑波大・院生命地球, 2つくば機能植物イノベーション研究センター)</p>
11:34	<p>3A-12</p> <p>ムラサキゴテンの flavonoid 8-hydroxylase の同定と機能解析 Identification and Characterization of the Flavonoid 8-hydroxylase in <i>Tradescantia pallida</i> 内田 開¹, 平井 優美^{1,2} (1理研CSRS, 2名大・院生命農学)</p>	<p>3B-12 ENTRY</p> <p>トマトでのゲノム編集酵素の一過的発現による <i>in planta</i> ゲノム編集法の開発 Development of <i>in planta</i> genome editing method by transient expression of genome editing enzymes in tomato 小林 美咲¹, Na Renhu², 高橋 秀¹, Martina Bianca Fuhrmann-Aoyagi¹, 三浦 謙治^{1,2} (1筑波大・院生命地球, 2つくば機能植物イノベーション研究センター)</p>

C会場	D会場	時間
有用物質生産	発生分化・形態形成	
<p>3C-07 ENTRY</p> <p>フェアリー化合物由来 SAM と SAH アナログとメチル化機構の関係 Relationship between SAM and SAH analogs derived from fairy chemicals and methylation mechanisms 久米 ころる¹, 崔 宰燾^{1,2,3,4,5}, 道羅 英夫^{1,4,5}, 謝 肖男^{5,6}, 大内 仁志⁷, 滝田 良⁷, 平井 浩文^{1,2,3,4,5}, 河岸 洋和^{3,5} (1静大院・総科技/Grad. Sch. Inte. Sci. and Tech., Shizuoka Univ., 2静大・グローバル共創/Fac. Glob. Int. Sci. Inno, 3静大・農/Fac. of Agric, 4静大・グリーン研/Res. Inst. Green Sci. Tech., Shizuoka Univ., 5静大・キノコ科研/Res. Inst. Mushroom Sci., Shizuoka Univ., 6宇都宮大・バイオ/Cent. Bio. Res. and Edu., Utsunomiya Univ., 7静大・薬/Dep. Phar. Sci., Univ. Shizuoka)</p>	<p>3D-07 ENTRY</p> <p>花粉栄養細胞での発生制御遺伝子の発現による半数体作出の試み Attempt of Haploid Production by Expressing Developmental Regulator Gene in the Pollen Vegetative Cells 菱田 蒼¹, Berbudi Bintang Pratama¹, 井川 智子^{1,2,3} (1千葉大・院園芸学, 2千葉大・植物分子科学センター, 3千葉大・宇宙園芸センター)</p>	10:24
<p>3C-08 ENTRY</p> <p>カラスビシャク塊茎由来機能性多糖アラバンの生合成酵素遺伝子の探索 Exploration of biosynthesis genes for araban, a functional polysaccharide in <i>Pinellia ternata</i> tubers 山本 健太¹, 栗木 淳寛¹, 下川 響¹, 青木 達大¹, 佐藤 春菜¹, 田中 宏幸², 江口 壽彦³, 松岡 健^{1,3,4} (1九大院・生資環, 2山陽小野田大・薬, 3九大・実生環, 4九大院・農)</p>	<p>3D-08</p> <p>細胞伸長を促進する TCP 転写因子制御ネットワークの解析 Functional Analysis of TCP Transcription factors That Regulate Cell Expansion 小山 知嗣¹, 光田 展隆², 関 原明³, 高橋 宏二^{4,5}, 木下 俊則^{4,5}, 別所 歩武⁶, 國枝 正^{6,7}, 出村 拓^{6,7}, 高木 優⁸ (1(公財)サントリー生命科学財団・生有研, 2産総研・生物プロセス, 3理化学研究所・環境資源科学, 4名古屋大院・理, 5名古屋大・トランスフォーメティブ生命分子, 6奈良先端大・バイオサイエンス, 7奈良先端大・デジタルグリーンイノベーション, 8埼玉大院・理工)</p>	10:38
<p>3C-09</p> <p>ステビアのステピオール糖転移酵素 UGT91D2 の機能改変 Functional Modification of Steviol Glycosyltransferase UGT91D2 in <i>Stevia rebaudiana</i> 小牧 真樹¹, 庄司 翼^{2,3}, 田中 良和¹, 溝端 栄一⁴, 菅原 聡子², 榊原 圭子², 斎藤 和季², 平井 正良^{1,5} (1サントリーグローバルイノベーションセンター(株), 2理研CSRS, 3富山大・和漢医薬学総合研究所, 4大阪大・工学研究科, 5サントリー食品インターナショナル(株))</p>	<p>3D-09</p> <p>MIXTA 様転写因子による細胞壁クチクラ連続体形成制御機構の解析 Regulation of cell wall-cuticle continuum formation by the MIXTA-like transcription factor 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, 津山 濯⁴, 菅野 茂夫¹, 光田 展隆¹ (1産総研・生物プロセス, 2JST・さきがけ, 3東大院・総合文化, 4宮崎大・農)</p>	10:52
<p>3C-10</p> <p>cis 型プレニルトランスフェラーゼを用いたバイオポリマー合成の試み Biopolymer synthesis by cis-prenyltransferase 山口 晴彦¹, 廣森 美樹², 石井 智樹², 山家 史大², 和氣 駿之², 今泉 瑠城³, 坂口 祐美¹, 戸澤 謙⁴, 山下 哲³, 中山 亨², 高橋 征司² (1住友ゴム工業(株), 2東北大・院・工, 3金沢大・院・自然科学, 4埼玉大院・理工)</p>	<p>3D-10</p> <p>尾上菜の自家不和合性の制御機構 Regulatory mechanism of self-incompatibility in <i>Onoena</i> 久保 健一^{1,2}, 浅井 七音¹, 下枝 聖矢¹, 池田 直樹³, 中川 幸彦¹, 尾西 晃一³, 井坂 圭介¹, 蔡 晃植^{1,2,3} (1長浜バイオ大・バイオ, 2長浜バイオ大・ゲノム編集研, 3長浜バイオ大・院・バイオ)</p>	11:06
<p>3C-11</p> <p>チャノキ (<i>Camellia sinensis</i>) 新葉から誘導したカルスの特性評価 Characterization of callus induced from new leaves of <i>Camellia sinensis</i> 中寺 紗希, 齋藤 靖和, 荻田 信二郎 (県立広島大・院・生命システム科学)</p>	<p>3D-11</p> <p>アマモの種子で発現する F1F0-ATPase inhibitor をコードする遺伝子の解析 Analysis of the gene encoding an F1F0-ATPase inhibitor in eelgrass seeds 瀨屋 千紘, 鈴木 康太, 小林 亜衣, 塩田 肇 (横浜市立大学 生命ナノシステム)</p>	11:20
生物間相互作用	その他	
<p>3C-12 ENTRY</p> <p>イチジク乳液中に存在するクラス V キチナーゼ FcVCh およびそのホモログの抗昆虫機能の解析 Analysis of the anti-insect function of class V chitinase in <i>Ficus carica</i> latex and its homologues 村田 ゆとり¹, 杉森 未来¹, 谷 尚樹¹, Hyrmeya Savadogo Eric¹, 秋野 順治¹, 吉田 英樹¹, 三浦 謙治², 平良 東紀³, 矢崎 一史⁴, 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, 4京都大・生存研)</p>	<p>3D-12 ENTRY</p> <p>タイワンホトトギス (<i>Tricyrtis formosana</i>) とヤマジノホトトギス (<i>T. affinis</i>) 間の種間交雑による半数体, 二倍体雑種および四倍体雑種の作出 Production of Haploids, Diploid Hybrids and Tetraploid Hybrids by Interspecific Crosses Between <i>Tricyrtis formosana</i> and <i>T. affinis</i> 中村 愛理¹, 加藤 友梨², 福原 楓¹, 岡田 萌子², 大谷 真広², 中野 優² (1新潟大・院自然研, 2新潟大・農)</p>	11:34

一般口頭発表

時間	A会場	B会場
	特化代謝	新技術開発
11:48	<p>3A-13</p> <p>ナデシコ科のフラボン C-配糖体生合成に関わる酵素 cDNA の同定と機能解析 Identification and functional analysis of the enzymes involved in C-glycosylflavone biosynthesis in Caryophyllaceae 内田 開, 原野 健太, 明石 智義 (日本大学・生物資源)</p>	<p>3B-13 ENTRY</p> <p>RdDM 組換え体に由来するヌルセグメントにおけるオミックス解析 Omics analyses of null segregants obtained from the RdDM transgenic plants 森本 春花¹, 西内 巧², 宮原 平³, 児玉 浩明³ (1千葉大・園芸, 2金沢大・研究基盤, 3千葉大・院園芸)</p>
12:02	<p>3A-14</p> <p>フラボン C-配糖体の生合成に必要な 2-ヒドロキシフラバノン C-配糖体脱水酵素遺伝子の同定 Identification of 2-hydroxyflavanone C-glucoside dehydratase gene for biosynthesis of flavone C-glucoside 中村 典子¹, 高藤 和輝¹, 別府 佳紀¹, 久津見 ゆうか¹, 勝元 幸久¹, 明石 智義², 田中 良和¹ (1サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社 研究部, 2日本大学 生物資源科学部 応用生物科学科)</p>	<p>3B-14 ENTRY</p> <p>植物工学応用に向けた大気圧温度制御プラズマジェット of 温度応答評価 Evaluation of temperature response in atmospheric pressure plasma jet for plant engineering uses 杉浦 諒¹, 大澤 泰樹¹, 八井田 朱音¹, 柳川 由紀^{2,3}, 沖野 晃俊¹ (1東工大 未来研, 2千葉大・院園芸, 3理研CSRS)</p>
12:16	<p>3A-15 ENTRY</p> <p>ホウレンソウにおける低シュウ酸化寄与遺伝子の同定 Identification of genes contributing to low-oxalate-content in spinach 山中 温人¹, 市川 翔哉¹, 石橋 和太², 佐々木 健太郎², 増田 悟郎¹, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (1農大・バイオ, 2農研機構)</p>	<p>3B-15</p> <p>ソルガム種子へのプラズマ照射がもたらす生育への効果 The impact of plasma irradiation on the growth of <i>Sorghum bicolor</i> 柳川 由紀^{1,2}, 蒔田 由布子^{2,3}, 奥村 賢直⁴, 藤田 美紀², 平岡 信之³, 小山 翔平¹, 栗山 朋子², 河内 正治², 井川 智子^{1,5,6}, 松井 南², 古閑 一憲⁴ (1千葉大・院園芸, 2理研CSRS, 3前橋工大・工, 4九大・シス情報, 5千葉大・宇宙園芸, 6千葉大・植物分子科学)</p>

C会場	D会場	時間
生物間相互作用	その他	
<p>3C-13 イネが生産するジテルペン型ファイトアレキシンがチョウ目害虫抵抗性を付与する Rice diterpenoid phytoalexins enhance resistance to lepidopteran herbivores 神田 恭和¹, 藏満 司夢², 高橋 章¹, 津田 麻衣³, 戒能 洋一², 森 昌樹¹ (¹農研機構・生物研, ²筑波大・生命環境系, ³筑波大学・T-PIRC)</p>	<p>3D-13 自生サトイモのゲノム情報から読み解く縄文時代のサトイモ Jomon period taro deciphered from the genome information of wild taro 本橋 令子¹, 石澤 悟¹, 齊藤 惟奈¹, 小西 達夫², 長田 直樹³ (¹静岡大・院農学, ²進化生物学研究所, ³北大・院情報)</p>	11:48
<p>3C-14 新規ソラノエクレピンの単離構造決定 Isolation and structural determination of a novel solanoeclepin 秋山 遼太^{1,2}, 河野 結¹, 清水 宏祐¹, 串田 篤彦³, 谷野 圭持⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹ (¹神戸大・院農, ²理研CSRS, ³農研機構・北農研, ⁴北大・院理)</p>	<p>3D-14 Production of Organic Fertilizer from Waste Sludge of Rubber Processing Plants at Dong Nai Rubber Corporation, Vietnam Thanh Tran, Thi Thu Pham, Xuan Duy Pham, Minh Tan Nguyen, Thi Huong Ly Doan, Thi Hanh Hoang, Van Phuc Tra, Minh Tuan Do (Dong Nai Rubber Corporation)</p>	12:02
<p>3C-15 ENTRY トマト水耕液におけるソラノエクレピン類の生産条件の検討 Investigation of production conditions of solanoeclepins in tomato hydroponic solution 牧野 壮一郎¹, 秋山 遼太^{1,2}, 串田 篤彦³, 谷野 圭持⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹ (¹神戸大・院農学, ²理研・CSRS, ³農研機構・北農研, ⁴北大・院理)</p>		12:16

A-1

学術賞

木質バイオマス生合成の分子基盤研究とその応用展開

Molecular basis of woody biomass biosynthesis and its applied development

出村 拓

奈良先端大・デジタルグリーンイノベーション

木質バイオマスは主に、植物の木質細胞（道管、仮導管、繊維細胞など）の厚い細胞壁（二次細胞壁）を由来とする再生可能な資源であり、その生産性の向上と有効利用は将来に向けた重要な課題である。私はこれまで、木質バイオマスの生合成の分子的理解に向けた研究を推し進めてきた。主に道管に着目した研究から、道管分化鍵転写因子 VNS を発見した。また、VNS 転写因子を起点とした転写制御ネットワークが多様な植物種において、二次細胞壁の生合成を担っていること、このネットワークが植物進化の初期に獲得されたことを明らかにした。さらに、これらの知見を応用展開に結びつけるために、樹木バイオテクノロジー研究に取り組み、VNS 転写制御ネットワークに摂動を与えることで木質バイオマスの質的量的な改変が可能であることを、ポプラを用いた研究展開によって示してきた。また、遺伝子組換え樹木の社会実装に向けた実践研究として、遺伝子組換えポプラの野外圃場試験を筑波大学等との共同研究として推進した。近年では、大阪大学永井健治教授との共同研究として、発光キノコの発酵関連遺伝子をポプラに導入することで、自発光ポプラの作出にも成功し、永井教授と共に起業したスタートアップ（株式会社 LEP）をもとに、植物バイオテクノロジー研究の社会実装を目指した研究を展開している。

A-2

学術賞

硝酸シグナル伝達機構の解明と窒素利用強化方法の開発

Elucidation of nitrate signaling mechanisms and development of a method to enhance nitrogen utilization

柳澤 修一

東大・院農学生命

窒素は植物の多量必須元素であり、獲得窒素量の低下は作物の収量を大きく減少させる。このため、窒素肥料は農業において欠かすことができないが、窒素肥料は環境汚染を引き起こすことから、作物の窒素栄養の吸収能力の強化方法の開発が求められている。イネなどの一部の植物ではアンモニウムを主たる窒素源として利用するが、多くの陸上植物では土壌中の硝酸イオンが主要な窒素源である。硝酸イオンは窒素源としてだけでなく、植物栄養シグナルとして窒素同化や様々な生理反応を制御することで植物の成長や作物の収量に大きな影響を及ぼしていることが予測されてきた。しかし、硝酸シグナルによる制御の分子メカニズムは全く不明であった。そこで、シロイヌナズナの硝酸応答型の遺伝子発現を担うDNA配列 (*cis*-element) の同定から研究を開始し、この配列に作用する転写因子として NLP 転写因子を同定することで、硝酸シグナル伝達機構の全容の解明に至った。また、硝酸シグナル伝達機構における負の制御因子として NIGT1/HHO 転写抑制因子群を発見し、一方で、遺伝子共発現解析という全く異なる手法によってイネの窒素欠乏応答の中心制御因子として NIGT1/HHO 転写抑制因子群に属する OsHHO3 を同定した。OsHHO3 は主要な複数のアンモニウム輸送体遺伝子の転写抑制因子であるので、CRISPR/Cas9 を用いて OsHHO3 遺伝子を破壊するとイネのアンモニウム吸収能力が向上し、低窒素栄養環境下では分けつ数の増加を伴って収量の増加が起こることを示した。ゲノム編集による OsHHO3 遺伝子破壊は、社会実装可能な窒素利用効率の向上方法であると考えられる。一連の窒素栄養に関連した基礎研究と応用研究を紹介する。

A-3

技術賞

青いキクの開発

Development of blue chrysanthemum

野田 尚信¹, 能岡 智^{1,2}, 中山 真義¹, 道園 美弦¹, 間 竜太郎¹

¹農研機構・野菜花き研究部門, ²現: 農研機構・本部

キクは世界的にもバラに次ぐ重要な切り花品目である。キクには青い花色はなく、その開発が望まれていた。しかし、青い花をもつ近縁の植物種が存在しないため、従来の育種技術での作出は不可能であった。そこで、アグロバクテリウム法によるキクの形質転換系を開発した後、2001年から遺伝子組換え技術を用いて青い花色形質を付与する技術開発に着手した。花卉で外来遺伝子を効率よく機能させるため、プロモーターや翻訳エンハンサーの解析を行うなど、様々な試行錯誤を行った。その結果、2013年に、カンパニュラ由来フラボノイド 3',5'-水酸化酵素遺伝子を、キク由来フラバノン 3-水酸化酵素遺伝子のプロモーターと ADH 翻訳エンハンサーで発現させることで、デルフィニジン型アントシアニンをほぼ 100%の割合で花卉に蓄積させた紫色のキクを作出した。次に、より鮮やかな青色のキクを目指して研究を進め、2017年に「青いキク」を作出する技術を確立した。カンパニュラの遺伝子に加えて、チョウマメ由来のアントシアニン 3',5'-糖転移酵素遺伝子を導入し、デルフィニジン配糖体の B 環 3',5'位にグルコシル基を結合させることで、花卉を鮮やかな青色に改変することに成功した。2つの導入遺伝子により花卉で作られた 3',5'-グルコシル化デルフィニジン配糖体の色は、単独では青紫だが、花卉で蓄積するフラボン配糖体と相互作用することで、青を発色することを解明した。この青色化技術を、様々な色調・花形のキクに適用し、水色・青色・青紫色等の青いキクを開発した。生産性や商品性を検討するための試験栽培を経て選抜された 5 系統について、2023 年 9 月からサントリーフラワーズ株式会社によって北米での販売が開始されている。

A-4

奨励賞

植物における高効率・高精度ゲノム編集ツールの開発とその普及

Development of efficient and precise genome editing tools in plants

遠藤 真咲

農研機構・生物研

今日、CRISPR/Cas9による遺伝子破壊は数多くの植物種で成功しており、ゲノム編集は遺伝子の機能解析や農業形質の改良に広く利用されるようになってきた。私が“自由自在にゲノムを改変する技術”の確立を目指した研究を開始したのは今から25年前の学部時代であり、当時夢見た技術に“ゲノム編集”という名前がつき、基礎研究のみならず、育種ツールとしての応用利用が実現していることは感慨深い。

我々のグループは、人工制限酵素が開発される以前から、偶発的に生じるDNA二重鎖切断と相同組み換え修復を利用して標的遺伝子を改変するジーンターゲットング(GT)系の開発に取り組んでおり、形質転換系の最適化や、GT細胞選抜系の工夫により、イネの特定遺伝子に塩基置換を導入することに成功していた [Endo et al. (2007) Plant J.]。

その後、配列特異的にDNAを切断できる人工制限酵素として、Zinc finger nucleaseやTALENsが開発され、2012年にCRISPR/Cas9が登場すると、編集効率の高さとベクター構築の容易さから、生物種を問わず、その使用が一気に広がった。我々も最初の論文が発表された直後にCRISPR/Cas9の利用を開始したが、当初は哺乳類と植物で同一のツールが機能するのか、配列認識の特異性はどの程度高いのかといった情報はほとんどなかった。そこで、CRISPR/Cas9コンストラクト間のゲノム編集効率の比較 [Mikami et al. (2015) Plant Mol. Biol.]、オフターゲット変異の解析 [Endo et al. (2015) Plant Cell Physiol.]、イネカルス培養期間がゲノム編集効率に及ぼす影響評価 [Mikami et al. (2015) Plant Cell Physiol.]といった基礎的な知見の集積から着手し、その後は、オフターゲット変異の入りにくいDNA切断系の構築 [Mikami et al. (2016) Plant Cell Physiol.]、特性の異なる多様なCasタンパク質を用いた植物ゲノム編集 [Endo et al. (2019) Nat. Plants; Negishi et al. (2020) Front. Genome Ed.] など、ゲノム編集ツールの改良に取り組んだ。

また、ゲノム編集を行う上ではDNA修復系を理解し、その制御によって、好ましい変異を誘導することも重要であり、非相同末端結合修復の鍵因子の一つであるDNA ligase 4 (Lig4)の欠損は、鋳型DNAを用いたGT効率の向上 [Endo et al., (2016) Plant Physiol.] に効果があることを確認している。ゲノム編集を高度化、効率化するにはツールの開発、改良と並行して、DNAや染色体動体、細胞周期など、ゲノム再構成に関与する基礎研究を進めていくことも重要であると考えている。

我々のグループが作成したゲノム編集ベクターは国内の多くの研究者にご利用いただいております。提供ベクターそのものでゲノム編集に成功した植物種もあれば、多くの改良を必要とした植物種もある。ゲノム編集ツール開発に携わることで、多くの研究者と知り合うことができ、専門分野内での交流のみでは得られない知見、人脈を得ることができたことは大きな財産だと感じている。

学生時代から現在までご指導、ご協力いただいている、土岐精一 現龍谷大学教授をはじめ、研究室の新旧メンバー、共同研究者の皆様に厚く御礼申し上げます。

A-5

奨励賞

メタボローム解析を用いたシュウ酸合成機構の解明

Elucidation of the oxalate synthesis mechanisms using metabolome analysis

宮城 敦子

山形大・農

シュウ酸はさまざまな植物種に蓄積するジカルボン酸であり、動物からの被食防御、酸性土壌中のAlイオンとのキレート化、葉の老化や果実の成熟時に生じる過酸化水素の基質として役立つ。一方、ヒトや家畜にとってシュウ酸はミネラル不足や尿路結石症などの疾病をもたらすため、作物におけるシュウ酸の低減は農業上の重要課題である。植物のシュウ酸合成において、主に3つの経路（イソクエン酸経路、グリコール酸経路、アスコルビン酸経路）が報告されている。しかしながら、いずれの経路がシュウ酸蓄積に寄与するかは不明であった。

そこで、私はタデ科の高シュウ酸植物エゾノギシギシ (*Rumex obtusifolius* L.) を材料として、CE-MSを用いたメタボローム解析を行い、シュウ酸蓄積に寄与する物質や経路の特定を目指した。イタコン酸によるイソクエン酸経路の主要酵素イソクエン酸リアーゼ (ICL) の阻害実験により、シュウ酸含量が1/10以下に減少した一方で、クエン酸やアミノ酸などが蓄積することを見出した。加えて、安定同位体¹³Cを用いたトレーサー実験によりイソクエン酸経路が主要経路であり、主根に蓄積するクエン酸が転流先の葉のシュウ酸蓄積に寄与することを証明した。さらに、多様な突然変異を得られる放射線照射による代謝改変を試み、ガンマ線照射種子から発芽した個体を解析したところ、シュウ酸含量が通常の約1/3程度まで減少し、放射線照射がシュウ酸の低減に有効であることを明らかにした。このように、代謝経路の推定が困難な野生植物において、メタボローム解析によりシュウ酸蓄積における特定の代謝経路の優位性を初めて示すとともに、阻害剤や放射線照射を用いた低シュウ酸化にも成功した。

シュウ酸蓄積に寄与する遺伝子を特定するため、近年ではイネ (*Oryza sativa* L.) の葉を用いた研究も遂行している。イネでもイタコン酸によりシュウ酸含量が通常の2/3に減少したため、ICLのシュウ酸合成への寄与を検証した。ICLプロモーター活性の解析により、ICLが暗所で発現することを明らかにし、イソクエン酸経路を介したシュウ酸合成が夜間に行われる可能性を初めて示した。ICL以外でシュウ酸蓄積に寄与する遺伝子を探索するため、イネ品種間差を利用してGWASを行った結果、シュウ酸蓄積候補遺伝子の特定に至らなかったものの、ジャポニカ型がアウス型やインディカ型よりもシュウ酸を蓄積する傾向を明らかにした。ジャポニカ型のコシヒカリとインディカ型のタカナリの正逆染色体部分置換系統 (80 CSSLs) を用いたQTL解析により、シュウ酸蓄積に寄与する複数の染色体部分領域を明確にし、3つの候補遺伝子を見出した。さらに、イオンビーム照射コシヒカリ系統より見出した低シュウ酸個体の中には、アスコルビン酸やアミノ酸等の有用物質の増加が認められた。これらの知見は、イネのシュウ酸蓄積機構の遺伝子レベルでの解明や他の作物における品質向上、低シュウ酸品種の作出につながる事が期待できる。

本研究の遂行において、ご指導およびご協力くださったすべての皆様に厚く御礼申し上げます。

A-6

奨励賞

植物種間比較を中心とした栄養欠乏応答の代謝生物学的研究

Comparative analysis of nutrient deficiency responses in plant species

渡邊 むつみ

奈良先端大・バイオ

陸上植物の栄養欠乏適応機構の根本的な理解は、作物生産の向上や、土壌の栄養欠乏による生育障害の本質的な改善につながると考えられる。私達は、植物の栄養欠乏時の代謝適応機構の包括的理解を目指し、モデル植物や作物種を対象にした栄養欠乏時の代謝物や遺伝子発現の変動データの統合オミクス解析や、栄養欠乏応答の鍵となる新規遺伝子の機能ゲノミクス研究を行ってきた。さらに、植物種間の多様性や生育条件等の変動する要素に対して弾性的に働く適応機構としての代謝ネットワークの特定を目的として、モデル植物で得た栄養欠乏代謝応答の研究知見を他の植物種や作物種に展開するための研究基盤の構築に注力している。本発表では、モデルケースの一つとして、アブラナ科植物及び作物種を対象にした窒素、リン、硫黄欠乏における経時的代謝物変動の捕捉や栄養欠乏応答マーカー代謝物/遺伝子の特定を行った研究を紹介する。研究成果は、植物栄養状態の診断、植物種ごとの最適な施肥/追肥の種類/時期の決定等にも活用可能であると考えている。さらに、植物種間比較ゲノムシテニー領域解析によって、植物種特異的に分化した遺伝子群を特定することもできた。今後は、これらの遺伝子について機能解析を行い、栄養欠乏代謝応答遺伝子の機能分化過程を明らかにしていく。また、解析対象の植物種を拡大し、アブラナ科、ナス科、マメ科、イネ科の植物、合計数百系統の代謝多型解析データを活用し、他の作物種や穀物種へと研究を展開する。将来的には、圃場現場で実装可能なマーカー遺伝子や代謝物、栄養欠乏耐性強化育種へと応用展開するための鍵代謝ネットワークの特定を目指すための研究基盤を構築する。

A-7

学生奨励賞

切るだけで増殖可能な薬用植物トコンの不定芽形成機構に関する研究

Studies on the mechanism of adventitious shoot formation in ipecac, a medicinal plant that propagates easily

岡崎 夏鈴

東洋大・院生命科学

多くの植物種において、植物組織から不定芽を誘導するため、培地中に植物ホルモンのオーキシンやサイトカイニン(CK)を添加する必要がある。しかし、植物種によって不定芽の誘導に最適な植物ホルモンの種類や濃度が異なるため、培養条件の確立は容易ではない。さらに、高濃度の植物ホルモンの添加やカルスを經由した不定芽形成では、変異が起こりやすい。植物組織を切り出すだけで、内生植物ホルモンのほたらきによって直接不定芽を誘導できれば、より簡便で安定したクローン増殖が可能になると考えられる。トコン(*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson)は植物ホルモン無添加で節間切片から簡単に不定芽を誘導できる。そのため、内生植物ホルモンがトコンの不定芽形成に関与していることが考えられる。本研究では、トコンの不定芽形成におけるオーキシン、ストリゴラクトン(SL)、サイトカイニン(CK)の役割について調べた。

トコンの不定芽は培養2週目に表皮上に形成され始め、節間切片の茎頂側に偏って形成される。不定芽形成前に数多くの遺伝子の発現が変動すると考えられるため、培養0週目および1週目の節間切片における遺伝子の発現量をRNA-seqで解析した。その結果、培養1週目の茎頂側(不定芽形成予定領域)では、メリステム形成関連遺伝子やCK生合成遺伝子などの発現が亢進していた。これらの結果から、培養1週目の節間切片では既に不定芽形成が開始していることが示唆された。

トコンでは、節間切片上に複数形成される不定芽のうち、1本が優先して伸長する。これは頂芽優勢の現象と類似しているため、頂芽優勢を制御するオーキシンに着目し、不定芽形成への影響を調べた。合成オーキシンは不定芽形成を抑制し、オーキシン関連阻害剤は不定芽形成部位を茎頂側から中央部および基部側に変化させた。これらの結果から、オーキシンは節間切片において不定芽形成予定領域の決定に貢献していることが分かった。また、頂芽優勢と同様、優先して伸長した不定芽からオーキシンが新たに供給されることで、他の不定芽の伸長を抑制していることが分かった。頂芽優勢では、オーキシンの下流でSLも関与することから、不定芽形成におけるSLの影響を調べた。その結果、SL合成アナログは不定芽形成を抑制し、SL関連阻害剤は不定芽形成を促進した。また、SL関連阻害剤はメリステム形成関連遺伝子のENHANCER OF SHOOT REGENERATION2の発現を亢進した。さらに、SL関連阻害剤を処理したとき、主要なCKであるトランスゼアチン(tZ)型とイソペンテニルアデニン(2iP)型のうち、2iP型が不定芽形成予定領域で増加する傾向にあった。このことから、2iP量の増加によって不定芽形成が促進されると考えられる。現在、節間切片におけるCK生合成遺伝子の発現部位や内生CKの分布について詳細な解析を行っている。

本研究によって、トコンの節間切片では、不定芽形成予定領域において内生CK/オーキシン比が自発的に高くなることで、植物ホルモン無添加でも不定芽が形成されると考えられる。

A-8

学生奨励賞

トマトにおける細胞質雄性不稔性と稔性回復に関する研究

Studies on cytoplasmic male sterility and fertility restoration in tomato

桑原 康介

東北大・院農学

雑種第一代 (F₁) の種子生産において、自殖を防ぐために種子親の葯をあらかじめ除去する必要があるが、この作業には膨大な労力と費用がかかる。また、種子親の自殖種子が F₁ 種子に混入する危険性もあり、F₁ 種子純度の低下や企業保有の親品種の漏洩につながる。これらを改善するために注目されているのが細胞質雄性不稔性 (Cytoplasmic Male Sterility, 以下 CMS) である。CMS とは、ミトコンドリアゲノム上の遺伝子 (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。また、核ゲノム上の稔性回復 (Restorer of Fertility, 以下 RF) 遺伝子は CMS 原因遺伝子の発現を抑制することで、F₁ 品種において稔性回復を誘導できる。CMS 系統と RF 系統を用いることで、自殖種子が混入しない、効率的な F₁ 種子生産が可能となる。しかし、トマトの CMS/RF に関する研究は進んでおらず、実用化には至っていない。そこで本研究では、雄性不稔性の元の原因であるトマト CMS 原因遺伝子の探索および有用なトマト RF 系統の開発を目的とした。

1. トマト CMS 原因遺伝子の探索と検証

ロングリードシーケンサー PacBio Sequel を用い、トマト稔性系統と CMS 系統のミトコンドリアゲノムを構築した。CMS 系統のみに存在して発現するミトコンドリア遺伝子を探索した結果、2つの候補遺伝子 (*orf137*, *orf265*) を絞り込むことに成功した。次に、ミトコンドリアゲノム編集技術 mitoTALEN により2つの候補遺伝子を検証した。トマト CMS 系統において *orf137* をノックアウトした結果、稔性回復が観察されたことから、*orf137* をトマト CMS 原因遺伝子として同定することに成功した。

2. トマト RF 系統の開発と RF 遺伝子の同定

トマト RF 遺伝子はトマト近縁野生種3種 (*S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, *S. cheesmaniae*) に存在することが報告されていた。しかし、これらの近縁野生種が保有する RF 遺伝子の稔性回復レベルが非常に弱いことが判明した。弱い稔性回復レベルはトマトの着果率の低下を引き起こすことから、実用化には適していない。また、上記のトマト近縁野生種以外に RF 遺伝子を持つ系統は自然界では発見されていなかった。その一方で、突然変異育種により人工的に13系統の新規トマト RF 系統を開発することに成功した。さらに、Bulked Segregant Analysis により、各系統において5つの RF 遺伝子候補を特定した。トマト CMS 系統において、ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 を用いて各候補遺伝子を個々にノックアウトすることで候補遺伝子の検証を実施した。その結果、それぞれの候補遺伝子のノックアウト系統において、いずれも稔性回復することがわかったことから、5つの遺伝子をトマト RF 遺伝子として同定することに成功した。

本研究を遂行するにあたり、直接ご指導いただいた筑波大学故有泉亨准教授をはじめとする諸先生方、共同研究者の皆様には厚く御礼申し上げます。また本研究は、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 (JPJ007097)」の支援を受けて実施しました。

S1-1

Sustainability に貢献する植物バイオ基盤技術開発

Plants Matter Sustainability: Plant Science's Contribution to the Planetary Boundary Issue

桑原 明日香, 柴田 大輔

JST 研究開発戦略センター

1988年のIPCC設立以来、気候変動研究は、人類による地球環境影響評価に関する研究開発を先導してきた。OECDや先進各国がこぞってバイオエコノミー戦略を策定していた2010年代も、解決すべき地球環境問題の筆頭は気候変動であった。

一方、近年は人類活動による地球環境影響評価に関する研究開発が進んでいる。ストックホルム・レジリエンス研究所によるプラネタリーバウンダリー研究では、人類がもたらした環境変化を9項目に分けて評価し、そのうち6項目の環境悪化は、人類の生存が脅かされる程度であることが示された。この6項目は新規物質の蔓延、気候変動、生物多様性、土地利用変化、淡水の利用、リンと窒素の物質循環で、農業は少なくともこのうち5項目の主要因である。農地の拡大はこれらの6項目を全て悪化させる主要因となるため、農地の拡大を伴う人類活動は、持続可能ではないというグローバルな合意が形成されつつある。今や、農地を拡大してエネルギー作物を栽培し、化石資源代替とすることは、持続可能とはみなされない。

2022年の生物多様性条約第15回締約国会議で、196カ国が「昆明・モンリオール生物多様性枠組」に合意し、自然関連財務情報開示タスクフォース(TNFD)も開始した。このように、グローバルな持続可能関連政策は、カーボンニュートラルに代表される気候変動対策一本槍から、全方位の地球環境保全/回復の方向へ、大きく変動しつつある。植物は、化石資源に代わる唯一の炭素源であると同時に、農業や森林など、地球環境変化に根幹から関わる重要な自然資産である。経済界がネチャーポジティブに強い関心を寄せる今、農学や植物バイオテクノロジーの立ち位置を議論したい。

S1-2

ベンサミアナタバコを用いた有用テルペノイド生産：実例と課題

Production of useful terpenoids in *Nicotiana benthamiana*—Examples and challenges

關 光^{1,2}

¹阪大院・工・生物工学, ²大阪大学先導的学際研究機構

アグロ浸潤法によるベンサミアナタバコ葉での一過性外来遺伝子発現はヒトに感染性を持つ病原体の混入リスクが低いことなどから医療用タンパク質の生産方法として注目されており、より高い収量が得られるタンパク質発現システムが求められている。筑波大学の三浦博士らは、植物細胞核内で自己複製するジェミニウイルス由来のDNA複製システムおよび転写ターミネーターの機能を増強したバイナリーベクターを利用したタンパク質大量発現系(つくばシステム)を開発した。一方演者らは、つくばシステムを用いてベンサミアナタバコ葉での機能性テルペノイドの生産研究を行っている。植物トリテルペノイドの一種であるマスリン酸には高齢者の運動機能改善効果が確認されており機能性表示食品としても販売されている。演者らは、アグロ浸潤法を用いてマスリン酸合成経路の構築に必要な5種の酵素遺伝子を一過的に同時発現させることで、アグロインフィルトレーション後1週間で約27mg/g乾重のマスリン酸を生産することに成功した。この値は、マスリン酸の原料として使用されているオリーブ果実の約20倍に匹敵する。また演者らは、上記5種の酵素の内の一つだけを別の酵素に置き換えることで、熱帯性植物のバナバから抽出され血糖低下を促進するホルモンであるインスリンと同様な作用を持つコロソリン酸の生産に容易にスイッチできることも示した。これらの結果は、本手法が有用トリテルペノイドのオンデマンド生産に適していることを示している。一方、さらなる生産量の向上には物質生産により適したシャーシ株の開発など様々な課題が存在している。それらについても議論したい。

S1-3

植物に由来する芳香族配糖体の合成生物学的生産システムの構築

Synthetic biological system for aromatic glycosides derived from plants

大西 利幸^{1,2}

¹静大・グリーン研, ²静大・農

植物の揮発性有機化合物 (VOCs) は、主に糖と結合して香気配糖体として貯蔵される。ブドウ、サツマイモ、ホップ、チャなどに含まれる香気配糖体は、加工工程で糖加水分解されて VOCs が遊離して、それぞれワイン、芋焼酎、ビール、茶の香りを生み出す。このように香気配糖体は食品の「香り」の源である。また北欧で薬用植物として用いられているイワベンケイソウ (*Rhodiola rosea*) に内生する香気配糖体ロザピン((2E)-3-Phenylprop-2-en-1-yl β-vicianoside は、ヒトオープン試験において抗疲労作用や抗ストレス作用を示し、香気二糖配糖体は医薬品としても利用されている。最近、(Z)-3-hexenyl β-vicianoside が食害昆虫の成長を抑制することが報告され、香気配糖体が環境ストレス耐性を惹起する化学防御物質であることが示された。香気配糖体の生理機能や有用性をより明らかにしていくための化学ツールとして、糖部分や非糖部分に多様性をもつ香気配糖体が必要である。これまで香気配糖体は、主に植物体からの抽出・精製、化学合成、糖加水分解酵素の逆反応を利用した酵素合成によって生成されてきた。しかし、それぞれの方法に長所はあるが、糖部分や非糖部分に構造多様性をもつ香気配糖体を簡便に生成する手法として用いるには短所も多い。そこで我々は、代謝経路を改変した組換え大腸菌や、植物が大気中の香気成分を取り込むことを利用して配糖化酵素を増強した組換え植物を用いて、芳香族配糖体や脂肪族配糖体の代謝工学生産を試みた。実験過程で見えてきた組換え植物や組換え大腸菌のメリット、デメリットについて実例を示しながら報告する。

S1-4

紫外線 LED を用いた芳香族化合物の生産向上—温暖化に伴う果物の着色障害克服—

Improved production of phenolic compounds using UV-LEDs overcoming fruit coloration problems associated with global warming

岡澤 敦司¹, 鶴本 智大², 藤川 康夫²

¹大阪公大・院農, ²日亜化学工業(株)

紫外線 (UV) は、DNA の二量体化に代表されるように、多くの生体分子を変化させ、その機能に影響を与える。植物は、UV による生体分子機能損傷の修復やその影響を低減するための生理応答など、独自の UV 応答機構を備えている。芳香族化合物は UV を比較的強く吸収するため、いわゆる日焼け止めとしてその生合成が UV によって誘導されることが知られている。筆者らは、狭波長 UV-LED により植物の UV 応答を目的に応じて制御する技術開発を行っている。その一つの応用として、UV-LED による芳香族化合物生合成の活性化が挙げられる。

シロイヌナズナに対して、280 および 310 nm の UV-LED 光を照射し、その応答についてトランスクリプトミクスおよびメタボロミクスを行った。その結果、UV でも 280 と 310 nm に対するシロイヌナズナの応答は全く異なっていることが明らかになった。芳香族化合物の生合成も含め、UV 応答として知られている各遺伝子の発現や生合成は 280 nm UV-LED 照射で誘導されていた。

ブドウに対して 290 nm UV-LED を高照度で短時間照射したところ、品種を問わず果皮中のレスベラトロールなど、スチルベノイドの顕著な増加が確認された。興味深いことに、この条件では果色の変化は確認されず、メタボロミクスによってフラボノイドの生合成には影響がないことが示された。

本発表では、上記の研究の成果に加えて、UV-LED 応用の今後の展開についても述べたい。特に、地球温暖化に伴う課題となった果物の着色障害克服技術の確立に向けた取り組みについて紹介する。

S1-5

微細藻類を用いたカルボン酸生産

Carboxylic acid production using microalgae

小山内 崇

明治大・農

微細藻類は、光エネルギーを利用して二酸化炭素を固定する能力を持ち、その中でもラン藻は原核生物であり、遺伝子組換えが容易で増殖も速い。ラン藻から高等植物まで、炭素を固定する主要な酵素は RubisCO である。しかし、C4 型植物では、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEPC) が最初に二酸化炭素を取り込み、その後 RubisCO によって固定される。この PEPC およびその後の一連の酵素反応は、二酸化炭素の濃縮機構として機能している。PEPC を中心とする二酸化炭素の濃縮機構は C4 型植物に特有であるとされてきたが、我々の研究により、ラン藻にも類似の機構が存在することが示唆された。ラン藻では、PEPC やクエン酸の酵素が特殊であり、好気条件ではクエン酸回路の最後の反応が、リンゴ酸からピルビン酸に変換される C4 植物型の反応であることがわかった (Katayama et al. 2022 mBio)。このことは、ラン藻が C4 型植物と類似した独特の炭素代謝経路を有することを示唆するとともに、微細藻類の二酸化炭素固定にはまだ未解明な点が多く残されていることを意味する。さらに、炭素代謝に特徴を有するラン藻は、発酵条件で培養すると細胞外にコハク酸、酢酸、乳酸などのカルボン酸を放出することがわかった (Iijima et al. 2021 Metab Eng.)。このラン藻のカルボン酸生産は、細胞内の pH によって変化することや RNA ポリメラーゼシグマ因子で制御されるなど、メカニズム解明などが進んでいる。

S1-6

植物発現系を用いた再生医療用細胞加工向け細胞増殖因子の製造法開発

Production of Recombinant Growth Factors for Cell Processing in Regenerative Medicine using a Plant-Based Expression System

佐々野 晴花, 永島 明知

三菱ケミカル(株)

細胞増殖因子は再生医療や細胞医療において、患者又はドナーから採取した細胞を培養する際に、細胞の維持、増殖、または目的の細胞や組織、臓器への分化誘導等の重要な役割を果たすタンパク質である。

細胞増殖因子は主に、大腸菌や、酵母、昆虫細胞、哺乳動物細胞などを宿主とした組換えタンパク質として製造されている。一方、我々の研究グループでは、タバコ属植物の *Nicotiana benthamiana* を宿主とした一過性発現系による細胞増殖因子の製造法開発に取り組んでいる。植物を用いた細胞増殖因子の製造は、安定供給や動物由来の病原体の混入リスク回避の面で有利と考えられる。また、ヒト由来のタンパク質は細菌では活性を発揮する状態で発現させることが難しいものが多いが、植物では細菌よりもタンパク質の発現機構がヒトに近いことから、正しくフォールディングした活性のあるタンパク質として発現することが期待できる。

我々はこのような植物一過性発現系を利用して製造した細胞増殖因子の有用性・安全性を示すと同時に、再生医療等製品の製造への利用を見据えた安定した品質と供給を実現させる生産システムの構築を目指している。本講演では、Activin A や VEGF などの細胞増殖因子製造の実例を示しながら、当社における植物を用いた細胞増殖因子の製造法開発の取り組みを紹介する。併せて、当社の製造法の特徴の 1 つである、水耕栽培による植物一過性発現技術開発についても紹介する。

S2-1

シロイヌナズナを用いた器官再生制御メカニズムの解明

Uncovering regulatory mechanisms on organ regeneration using Arabidopsis

池内 桃子

奈良先端大・バイオ

植物は一般的に器官再生能力が高い生物として知られている。しかし一方で、植物種によってはオーキシン・サイトカニンを用いた組織培養系で器官新生が困難であり、再生応答を内生的に制限する機構が存在すると考えられる。こうした難培養の問題解決に向けた有効なアプローチのひとつとして、モデル植物シロイヌナズナを用いた再生応答の制御機構の解明が挙げられる。我々の研究グループは、シロイヌナズナにおいて WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 13 (WOX13) がカルスからのシュート新生を抑制的に制御していることを見出した (Ogura et al. 2023 Science Advances)。以前の研究で我々は、傷口でのカルス形成および接ぎ木における器官接着を正に制御する因子として WOX13 を同定しており (Ikeuchi et al., 2022 Plant Physiol.; Tanaka et al., 2023 PCP)、この因子がシュート新生を抑制することは意外な発見であった。組織培養系で形成されたカルスにおいて、WOX13 は SAM 確立に必須な因子である WUSCHEL と相互排他的に発現し、この 2 つの WOX が多能性を持ったカルス細胞の分化運命決定を担っているというモデルを我々は提唱している。WOX13 は陸上植物に広く保存された因子であり再生制御において普遍的な機能を果たしている可能性が考えられる。本講演では、モデル植物を用いた研究を通して見えてきた再生制御の枠組みと知見の応用可能性について議論する。

S2-2

A Novel Shoot Converter Set: ATHB25/REM7 は再分化誘導を向上させることができるか？

A Novel Shoot Converter Set: Can ATHB25/REM7 Enhance Regeneration Induction?

花野 滋^{1,2}, 戸松 創², 大竹 興一郎², 瀧田 英司², 舛本 寛², 佐藤 修正¹, 柴田 大輔²

¹東北大・院生命科学, ²かずさDNA研

植物の再生は、体細胞の脱分化、器官の誘導、それに続く器官の形成を経て行われる。再生能力は植物によって異なり、そのメカニズムは未解明の部分が多い。我々は、ARABIDOPSIS THALIANA HOMEODOMAIN PROTEIN 25 (ATHB25, At5g65410) と B3 ファミリー転写因子 REPRODUCTIVE MERISTEM 7 (REM7, At3g18960) の 2 つの転写因子を同時に誘導することで、シロイヌナズナの根から地上部茎様緑色器官 (SSO) を人工的に誘導することに成功した。SSO は負の重力屈性と分化した維管束の表現型を示し、ATHB25/REM7 の根における異所性発現によって、地上部茎の特性を制御する遺伝子の発現が根で誘導された。興味深いことに、遺伝子誘導条件下で SSO に連続した隣接部で根の成長の回復も見られた。ATHB25/REM7 の共発現によって茎の特性を示す器官を誘導するというユニークな結果は、器官形成メカニズムの解明ばかりでなく、再分化後の器官形成の促進に利用できる可能性がある。本講演では、難培養植物の再分化誘導技術の進歩に焦点を当て、新たな地上部変換セットである ATHB25/REM7 の可能性について探求する。実験の結果、ATHB25/REM7 がシロイヌナズナの再分化誘導を向上させる初期の証拠を発見した。このセットの利用により、難培養植物の再生能力が向上し、バイオテクノロジーの応用範囲が拡大する可能性がある。本講演では、ATHB25/REM7 による植物再分化誘導のメカニズムや応用の展望についても議論したい。

S2-3

ホルモンフリー培養で組換え細胞の分化を制御する基盤システムの構築

Technological base development to control the differentiation of transgenic cells under hormone-free culture conditions

井川 智子^{1,2,3}

¹千葉大・院園芸学, ²千葉大・植物分子科学センター, ³千葉大・宇宙園芸センター

遺伝子組換えまたはゲノム編集などのバイオテクノロジーによって改変植物を作出するためには、対象植物種ごとの「細胞からの個体発生」技術が必要条件である。植物細胞の分化全能性は1958年に既に実験的に証明され、それから70年近く経った現代でも、細胞・組織培養において培地に植物ホルモンを添加する外生処理が主な分化制御法として行われている。ある植物種の組織細胞からの植物体再生に至るホルモン処理条件を探る場合、現実には感覚的な予測から限定的に試験区を設けて分化反応評価を行う。しかし、コストや時間も要したものの結果的に系が構築できないケースも多い。特に再分化を誘導する植物ホルモン条件が整備できない植物材料は難培養性とされる。難培養性のためにバイオテクノロジーが適用できず植物科学と応用研究の発展が妨げられている状況は今後克服すべき課題でもある。

近年、発生制御因子として機能する転写因子の過剰発現によって組換え細胞の分化促進効果が報告されている。そして我々の研究室ではモデル植物シロイヌナズナ由来のBBMとWUSを用いて発現制御法と改変を検証した結果、組換え細胞が植物ホルモンフリー培地上でも分化する系の構築に至った。本シンポジウムでは系の構築に至ったプロセス、分化反応に伴う内在性植物ホルモンと遺伝子発現解析結果も紹介するとともに、構築できた基盤技術の今後の改善点や展開についても議論したい。

S2-4

花卉園芸植物ストックの形質転換までの長い道のり

Long road to production of transgenic *Matthiola incana*

中塚 貴司

静岡大・農学

ストックは、冬季に無加温温室で生育・開花する省エネ花卉であり、冬から春を彩る主要花卉品目の一つである。ストックは、様々な花色の品種が育成されている一方で、花型は八重咲きが主流であるが、その多様性に乏しい。そこで、新たな遺伝資源の作出や遺伝子機能解析のために、ストックの形質転換技術の確立に挑んだ。ストックは、1ppm BAを含むMS培地において約1ヶ月後にシュート形成が誘導され、再分化が比較的容易であった。アグロバクテリウム系統のうちGV3101が高い形質転換効率を示し、共存培養は5日間が最適であった。これらの条件を組み合わせると形質転換操作を行ったが、葉片が枯死するだけで、カルス・シュート形成に至らなかった。そこで、1) シュート形成の開始時期が遅いこと、2) 抗生物質に対して感受性が高いことが、ストックで形質転換体が獲得できない要因ではないかと仮説を立てて、更なる実験を行った。サイトカイン以外にオーキシンと組み合わせても、カルス形成開始まで最低4週間程度必要であった。そのような時期に、新規植物カルス誘導化合物FPX (Nakano et al. PCP, 2018) の存在を知った。シロイヌナズナと同じアブラナ科のストックであれば効果があるかもしれないと試してみたところ、葉片は置床2週間後には切り口で旺盛なカルス形成を示した。そこで、アグロバクテリウム接種し、FPX培地で共存および選抜培養を行ったところカルスが形成し、その後再生したシュートは外来遺伝子の導入が確認された。このようにFPXの利用により、形質転換体の獲得が難しかったストックにおいて、安定した形質転換体の獲得が可能となった。

S2-5

トコンの不定芽形成系を利用した生理活性物質の活性評価

Activity evaluation of bioactive compounds using adventitious shoot formation of ipecac

梅原 三貴久

東洋大・生命科学・生物資源

一般的に、植物組織から新たに芽や根などの器官形成を誘導するには、植物ホルモンのオーキシシンやサイトカイニン(CK)を培地に添加する必要がある。ただ、植物種によっては既存の植物ホルモンの組み合わせが最適とは限らず、再分化が困難な難培養性植物も残されている。したがって、新規の器官分化誘導剤を見つけることは重要な研究課題の一つと言える。薬用植物トコン(*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson)の場合、切断した節間を植物ホルモン無添加の培地に置床するだけで簡単に不定芽を誘導できる。そのため、トコンの培養系を使えば、不定芽形成における処理した薬剤の影響を直接評価することができる。我々の研究グループは、これまで植物ホルモンのストリゴラクトン(SL)の生理作用に関する研究を進めてきた。その中で、SL生合成阻害剤(TIS108, KK5)およびSLアンタゴニスト(KK094)がトコン節間切片からの不定芽形成を促進することを明らかにした。その原因として、内生CKの増加やメリステム形成関連遺伝子のENHANCER OF SHOOT REGENERATION2(ESR2)の発現亢進が考えられる。TIS108に関しては、トコン以外の植物でトレニア、リンゴ、タバコなどの不定芽形成も促進することが明らかとなり、SL関連阻害剤が新規の不定芽形成促進剤として使用できる可能性を見出した。この他、東京大学の創薬機構が保有するケミカルライブラリーを分譲していただき、トコンの不定芽形成効率を変化させる化合物を探索している。現在、トコンの不定芽形成を促進あるいは阻害するものがいくつか見つかったので、それらの事例についても紹介する。

S3-1

食用植物細胞の細胞農業 ～カメリア属の培養事例

Plant cellular agriculture in *Camellia* sp.

荻田 信二郎

県立広島大・生物資源

21世紀型の食基盤として革新的フードテックの一つとして「細胞農業」が注目されており、各種動物細胞の培養肉や、微生物による精密発酵については、実用レベルの研究開発が進んでいる。一方で、植物細胞工学の研究分野において、細胞の増殖や二次代謝産物の蓄性について論じた基礎研究や医薬・化成品製造を目指した応用研究は、これまで多数報告されているが、食用植物細胞に焦点を絞った研究報告はほとんどなく、フードテック分野における新ジャンルの学術研究ともいえる。近年、コーヒー細胞由来のコーヒー生産技術(2021)や、カカオ細胞由来のチョコレート生産技術(2022)が海外のスタートアップ企業等から報告され始めており注目の分野である。

植物細胞農業の技術開発を進める上で、細胞そのものを生産物とする「細胞性産物」と、細胞から分泌された、もしくは細胞から抽出した物質を生産物とする「非細胞性産物」を想定できる植物種をターゲットとすることは有効であると考えられる。本発表では、当研究室で行ってきたチャノキ(*Camellia sinensis*)のうま味成分テアニン等の分析、カフェイン生合成解析、ヤブツバキ(*C. japonica*)およびサザンカ(*C. sasanqua*)の細胞株樹立とその脂質蓄積性評価など研究成果を交えながら、食の多様な価値を創造できるカメリア(*Camellia*)の「新規食用植物細胞モデル」としての可能性について概説したい。

S3-2

細胞培養による多糖類生産に向けたイナゴマメゲノム解析

Genome Analysis of Carob (*Ceratonia siliqua*) for Polysaccharide Production from Cell Culture

日渡 祐二

宮城大・食産業学

イナゴマメ(*Ceratonia siliqua*)は、主に地中海沿岸で栽培されるマメ科の木本植物である。その種子の胚乳から抽出されるローカスビーンガム(LBG)は、ガラクトマンナン(GM)を主成分とする多糖類であり、水溶性と粘性が高いため、食品加工において増粘多糖類として広く利用されている。このことから、LBGは国内の食品製造現場で非常に求められているが、LBGの原料は全て輸入に依存しており、その供給の不安定さが問題となっている。イナゴマメでは、細胞を培養するとGMが合成されるため、私達はイナゴマメ細胞培養系を用いたGMの細胞工学的生産を目指している。これまでにイナゴマメのGM生合成経路は解析されているが、遺伝子情報が未整備であるため、生合成経路に関わる遺伝子群は全く知られていなかった。そこで、生合成経路の遺伝子情報を取得するために、*de novo*ゲノムアセンブリを構築し、概要ゲノムを解析した。

ゲノム配列解読の結果、予測ゲノムサイズ604 Mbpに対し、概要ゲノムはコンティグ数44で合計長496 Mbpとなり、アセンブリの完全性を評価した結果、Embryophytaデータセットに対し97.4%の良好な完全性を示した。この概要ゲノム配列を用いて、GM生合成酵素遺伝子のオルソログを網羅的に調べたところ、既知の全ての生合成酵素についてオルソログの網羅的なリスト化に成功した。現在、細胞培養系の確立も進めており、細胞培養によるGM生産技術の開発とその展望について紹介する。

本研究は生研支援センター「スタートアップ総合支援プログラム(SBIR支援)JPJ010717」の支援を受けて行った。

S3-3

藻類由来培養液を用いた動物細胞培養による循環型食料生産システム

Circular Cell Culture Using Algae and Animal Cells for Food Production

清水 達也

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

人口増加、温室効果ガス蓄積による気候変動、豚熱や鳥インフルエンザなどの感染症が持続的な食料生産の大きな障壁となっている。このような状況の打開策の一つとして注目されているのが培養肉に代表される細胞培養による食料生産（細胞農業）である。そのプロセスとしては細胞ソースの確保、細胞の増幅、細胞の成熟化、立体組織化となる。培養肉の普及にはコストや環境負荷を鑑みた製造プロセスが必要であり、特に課題となるのが培養液である。動物細胞の培養には、グルコース・アミノ酸・ビタミン・ミネラルなどの基本栄養素を含む基礎培地にウシ胎仔血清や増殖因子を加えた培養液が使用される。世界的には高価な血清や増殖因子の代替の開発が盛んに行われている。一方で基本栄養素の多くは穀物由来である。しかしながら、これらの穀物栽培には化石燃料を用いて製造される窒素肥料や農薬が用いられており、細胞農業の拡大にともない新たな課題となることが予測される。さらに、将来的に細胞農業が拡大すると大量の培養廃液が生じることになり、あわせて解決していく必要がある。そこで当研究所では穀物栽培に依存しない藻類由来の成分から構成される培養液を作製して動物細胞の培養を行うことを着想して研究開発を進めている。さらに動物細胞の培養で生じる廃液を藻類培養の栄養源として循環させることで、低コスト・低環境負荷の循環型食料生産システム（サーキュラーセルカルチャー）の構築を目指している。本シンポジウムでは世界的な培養肉の開発状況と循環型食料生産システムについて概説する。

S3-4

食品業界における分子農業ビジネスの現状と今後

The Status Quo and Future of Molecular Farming Business in the Food Industry

橋詰 寛也

株式会社Kinish

現在食品領域における環境問題は日に日に注目されており、その問題は地球温暖化、水不足、土壌保全、動物愛護、生物多様性の確保など多岐にわたる。一方で世界的には人口増加、また新興国の食の多様化によって、現状の方法では多岐にわたる環境問題を解決することは困難な状況にある。

この解決策として分子農業が昨今注目を集めており、例えば遺伝子組換えレタスから牛乳たんぱく質であるカゼインを創出させる、遺伝子組換え大豆から豚たんぱく質を創出させるといった取り組みが盛んになりつつある。

本シンポジウムでは食と環境問題の関連性や分子農業を用いた食品開発の世界的なトレンドを共有し、分子農業の可能性を共有したい。また、登壇者である橋詰が創業した会社、株式会社 Kinish は日本で唯一の分子農業による牛乳たんぱく質を生成する会社であり、当社における取り組みもご紹介差し上げたい。

S3-5

数千トンスケール細胞培養への道

Road to 1000t-scale cell culture

羽生 雄毅

インテグリカルチャー株式会社

いわゆる醸造業や一部の乳業においては、しばしば数千トンスケールで菌類や酵母菌が培養される。こうした技術実績の上で、ゲノム編集した菌体を大量培養して目的物を得る、いわゆる精密発酵も産業化の事例が増えている。

動物細胞や植物細胞は、倍加時間の長さ、コンタミや攪拌時の物理ストレスへの耐性の低さなど、培養条件がより厳しいことが知られている。そのためスケール化については、医薬品製造を出口として、多くは数十L、最大でも数千Lスケールに留まっている。

一方で、食肉需要の増大と現行タンパク源の環境負荷の観点から、2020年前後より、細胞性食品（いわゆる培養肉・培養魚肉など）を出口とする、数千トンスケールで動物細胞を培養する技術の開発が世界各地で進んでいる。国内でも「バイオモノづくり」として省庁主導で大型予算が投入されるなどの動きがみられる。

ただし医療 GMP を前提とした現行の動物細胞培養の方法論では、最終製品コストが数桁過大になるため、食品として妥当な規格基準にて製造プロセスを構築することが技術目標となっている。それでも採算性の観点から、細胞性食品は「うなぎ」「フォアグラ」「まぐるトコ脂肪」など高重量単価の製品に留まると観測されている。植物細胞での細胞性食品について、主にチョコレートやコーヒーなどの高単価製品で製造プロセスが検討されるのは、動物細胞と同様のコスト低減要求が存在するためである。

そこで動物細胞による細胞農業を実例として、細胞性食品の製造などの「バイオモノづくり」における、バイオプロセスの再設計における論点と現状について紹介する。

S3-6

学際的な細胞農業の社会実装に向けて

Interdisciplinary Cellular Agriculture: Towards a Societal Embrace

杉崎 麻友

日本細胞農業協会 CAIC

細胞農業（Cellular Agriculture）という用語は、2015年アメリカの非営利組織 New Harvest から誕生した。

細胞農業とは、細胞培養で食料や資源を生産することを指し、細胞自体がプロダクトとなる細胞性産物と細胞が生産する有用物質をプロダクトとして抽出過程で細胞自体は取り除く非細胞性産物がある。

その技術の関連分野は広く、組織工学、細胞工学、バイオプロセス工学、合成生物学など、多岐に渡る。

単細胞生物から多細胞生物まで、培養の対象にできるバリエーションは幅広く、動物細胞はもちろんのこと、植物細胞や藻類もその範疇に入る。

日本における細胞を活用した食品生産として、微生物発酵の文脈では、味噌、醤油、納豆、日本酒などがよく引き合いに出されるが、実は細胞性産物でも古くから食されているものがある。「海苔」である。

細胞農業は、日本人にとっては実は馴染みの深い分野になるのではなかろうか。

気候変動による自然環境の悪化、国際社会における経済安全保障、他国の輸入に依存しない食料資源自律といった、一刻も早い対処が求められる課題が山積みの現代においては、細胞農業で生産された製品が社会に普及する未来は、そう遠くないのかもしれない。

多分野融合領域であるがゆえに複雑で理解しづらい概念の「細胞農業」を、消費者が受け入れられる社会を見据えて、今一度改めて定義してみたい。

S4-1

シングルセル解析のためのアノテーション高度化

Enhanced Annotation for Single-Cell Analysis

望月 孝子

遺伝研・大量遺伝情報研究室

精度の高いゲノム配列と遺伝子構造、機能アノテーションは、様々な形質に関連する遺伝子の同定、遺伝子発現解析、一細胞遺伝子発現解析において極めて重要な役割を果たす。一般的に、ゲノムプロジェクトのアノテーションは遺伝子セットの概要を定義することを目的としているため、組織特異的・時期特異的に発現し、種特異的な形態形成をはじめとした興味深い生命現象に関与する遺伝子モデルの定義が圧倒的に不足している場合が多い。一細胞遺伝子発現解析の代表的なプラットフォームである 10x genomics 社の chromium では、3'末端側の転写配列のみをシーケンスし、リファレンスゲノムにマッピングすることで遺伝子発現量を定量するため、3'末端側の遺伝子構造ならびに UTR のアノテーションが正確でなければならない。しかしながら、多くの非モデル生物では、精度の高い遺伝子構造アノテーションの整備が不十分であるため、一細胞遺伝子発現解析を行う前に、遺伝子構造アノテーションのやり直しが必要となる場合が多い。本発表では、フタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) にて、ドラフトゲノムアノテーションで遺伝子アノテーションが不足していた神経ペプチドの追加アノテーションを行なった事例を紹介する。この事例では遺伝子アノテーションが不足している非モデル生物であっても、特定の遺伝子群を研究している研究者がそれぞれの知見からドラフトゲノムアノテーションへの定義を追加し公開していくことで、その生物の研究全体の促進へ繋げることができることを示す。このアプローチは植物研究にとっても有用であると考えられる。

S4-2

花の構造色を発色する微細構造：ゲノム・トランスクリプトーム解析による関連因子の同定

Fine ridges that show structural coloration on flowers: identification of the related genes by genome and transcriptome analyses

越水 静

遺伝研・生命ネットワーク

構造色とは、物質そのものが色素を持たないにも関わらず、物体表面の微細構造によって生じる色のことである。構造色の例として、コンパクトディスク (CD) や、昆虫の翅 (モルフォチョウやタマムシ) が挙げられる。構造色は植物の花弁にも発見されており、構造色を示す花弁細胞におけるクチクラ層の断面を観察すると、微細な突起 (幅 1 μ m 以下) が 1 細胞表面に複数形成されている。この微細な凹凸構造により光が回折・干渉し、構造色が発色する。しかし花の構造色については知見が少なく、微細構造の形成メカニズムについても不明なままである。

ギンセンカ (*Hibiscus trionum*) は、花弁に構造色を持つ植物の 1 つであり、1 枚の花弁で構造色を発色する領域と発色しない領域を作り分ける。そのため同一花弁内において比較解析が可能である。発表者はギンセンカを研究材料とし、ゲノム配列決定および、構造色を発色する領域としない領域を用いた RNA-seq 解析を行った。その結果、微細構造の形成に関わる有力な 3 つの候補因子を絞り込むことに成功した。

次の 3 つの因子、*SHINE1*、*CUTIN SYNTHASE 2*、*CYP77A* ファミリー遺伝子は全てクチンの合成に関わり、モデル植物であるシロイヌナズナ花弁に見られる放射状の微細構造形成に関わることが明らかになっている。そのことから、これらの因子がギンセンカ花弁の微細構造形成にも関与する可能性が高いと考えられた。

S4-3

「系統—生育環境—表現型」データベースと植物ゲノムポータルサイト Plant GARDEN のデータ活用

Database development of the "lineage-environment- phenotypic traits" and utilization of Plant GARDEN data

市原 寿子¹, 山田 学¹, 戸田 陽介¹, 山下 サマツチャヤー¹, 白澤 沙知子¹, 平川 英樹¹, 中村 保一^{1,2}, 七夕 高也¹, 田畑 哲之¹, 磯部 祥子¹

¹かずさDNA研, ²遺伝研

植物の表現型は、遺伝子型と環境の組み合わせの影響を受け、同じ系統でも異なる環境において、異なる表現型を示す例が数多く知られる。この性質を活用できれば、既存系統の生育環境の制御によって、交配育種に依らずに意図した表現型の作物を生育する「既存系統の表現型デザイン」が期待できる。この実現には、(1) [系統と生育環境と表現型] および (2) [系統と遺伝型] の関係性を抽出できることが重要となる。そこで、人工的な生育環境下での表現型の検証報告が多数存在するレタス *Lactuca sativa* 等の情報で [系統・生育環境・表現型] のデータベースを構築した。一方、[系統と遺伝型] の情報については、Plant GARDEN (Genome And Resource Database Entry; <https://plantgarden.jp>) から公開されているデータとツールを活用することにした。Plant GARDEN は、多種の植物ゲノム配列データを格納した「植物ゲノム情報ポータルサイト」である。次世代型シーケンサーの技術革新に伴い、変種ごとのゲノムデータや、高精度化されたデータが様々な研究機関から次々と公開されており、Plant GARDEN では、そうしたデータを同じフレームワークで整理し、ユーザーがワンストップで解析できるシステムを提供している。特に、PlantGARDEN に格納されたゲノム配列を参照ゲノムとして、NCBI の公開 SRA データから算出した gVCF 形式の変異情報に加え、ユーザーが所有する材料のゲノム配列と比較して VCF 形式のデータを生成するツールも提供している。これらを (2) の [系統と遺伝型] の情報または情報生成に活用し、(1) の [系統と生育環境と表現型] の情報と組み合わせることで、「既存系統の表現型デザイン」の基盤構築を目指している。

S4-4

ゲノム情報を活用したシアノバクテリアの光色感知機構の解析

Elucidation of the light colour sensing mechanism in cyanobacteria using genome data

広瀬 侑

豊橋技科大・院・工

シアノバクテリアは酸素発生型の光合成生物であり、光の色を感知するための独自の光色感知システムを持つ。本発表では、演者が共同研究者と共に取り組んできた、国立環境研究所 NIES カルチャーコレクションのシアノバクテリアのゲノム解析と、ゲノム情報を活用した光受容体の分子機構の解明についてご紹介する。

S5-1

Global Trends and Future Challenges in Regulations Concerning Genome-Edited Crops

Masashi Tachikawa

Nagoya University

We are witnessing genome-edited crops are being placed on the market in several countries around the world. However, if we look at the regulations, we see that there is a great deal of international diversity in the regulations surrounding genome-edited crops. What kinds of regulations are appropriate for these genome-edited crops? Regulations governing genome-edited crops have the characteristic of being updated frequently, even in countries where they have been introduced. For example, the U.S. often implements policy updates around genome editing technologies. The EU is currently undergoing a major overhaul of its very regulations. We need to learn from these revision processes in these regulations. This paper provides an overview of global trends in the regulation of genome-edited crops. It will be very interesting to see whether the world's regulations are moving toward convergence or divergence. I will also touch upon an attempt to classify the regulatory trends and discuss issues surrounding the future of regulations.

S5-2

Global Trends and Future Challenges in the Practical Application of Genome-Edited Crops

Mieko Kasai

American Seed Trade Association

The American Seed Trade Association is a non-governmental, non-profit organization founded in 1883 in the United States. It represents nearly 700 members involved in seed production and distribution, plant breeding, and other seed-related industries. Over the last few hundred years, plant breeders have developed and accumulated many tools to combine desirable traits into a few elite varieties to meet the expectations of farmers and consumers. As our understanding of the relationship between genotype and phenotype grows, these plant breeding techniques are becoming more genomics-driven. There has been growing alignment to exclude genome-edited crops that meet certain criteria from the GMO regulations, thereby accelerating development. While GM technology has focused on herbicide and pest resistance in major crops such as soybeans and corn, genome editing techniques have been used for over 70 crops and plants with a wide range of traits. Although the path to market is visible, some challenges remain. For example, regulatory schemes in major markets such as China and Europe still need to be determined. Also, the differences in the information required for regulatory consultation and the timeline for decision-making need to be addressed.

S5-3

The EU regulatory proposal for New Genomic Techniques - state of play and next steps

Petra Jorasch

Euroseeds

In 2020 an EU Commission study concluded that under the current EU regulatory system, there are implementation and enforcement challenges under the GMO law, in particular related to the detection and differentiation of New Genomic Techniques (NGT) products that do not contain any foreign genetic material and that could occur in nature or be produced by conventional breeding methods. Based on the outcome of the study the EU Commission published a proposal for a new Regulation on plants produced by certain new genomic techniques.

The proposal for a regulation foresees a verification procedure for plants and products resulting from targeted mutagenesis and cisgenesis. If the compliance of NGT plants with certain equivalence criteria is confirmed by authorities, these plants and their products are considered conventional-like (Category 1) to which the rules of the EU GMO legislation do not apply. Category 1 NGT plants remain subject to any regulatory framework that applies to conventionally bred plants.

If NGT plants and products do not meet the equivalence criteria, they are considered Category 2 and are subject to an adapted GMO risk assessment as well as GMO detection, traceability, and labelling requirements. The presentation will give an update on the state of play of the political procedures and discussions related to the implementation of the new legislation.

S5-4

Breakthroughs in Pea Gene Editing: Applications and Regulatory Landscape in Canada

Pankaj Kumar Bhowmik

National Research Council Canada, 110 Gymnasium Place, Saskatoon SK S7N 0W9, CANADA

The National Research Council's Sustainable Plant Protein Program aims to enhance the value of plant-based proteins and their co-products. Legumes, with over 19,500 species, are vital for sustainable agriculture and global food security. However, they face significant abiotic and biotic stresses, worsened by climate change. Advanced plant breeding technologies offer solutions to improve crop resilience. At NRC Canada, our goal is to advance plant biotechnologies and gene-editing tools for efficient deployment in crops. Parameters such as optimization of promoters to drive Cas9 expression and the use of fluorescent reporters and selection markers have been evaluated. Delivery methods, including electroporation, biolistic, and Agrobacterium-mediated transformation, have been optimized for high-efficiency genome editing. Significant progress includes optimizing mesophyll protoplast systems for gRNA validation and delivering gene-editing components into pea, lentil, and chickpea explants. A CRISPR construct was designed to create knockouts for PsLOX2 in field peas, with successful editing confirmed by DNA sequencing. These lines were assessed for LOX activity, PUFA levels, and VOCs. Ongoing progress, challenges, and guidelines for gene editing in crops, as provided by Health Canada and the CFIA, will be presented.

S5-5

Gene Editing Guidelines in the Philippines

Geronima Eusebio

Department of Agriculture, Bureau of Plant Industry, Republic of the Philippines

The Philippines has developed a framework for evaluating products of plant breeding innovations (PBIs) or gene editing. The National Committee on Biosafety of the Philippines (NCBP), the lead body responsible for formulating biosafety policies in the country, issued Resolution No. 1, s2020, which established that PBIs can be classified as either GMOs or non-GMOs. This resolution laid the foundation for the Department of Agriculture's Memorandum Circular No. 8, s2022 (DA MC No. 8, s2022), which delineates the rules and procedures for evaluating and determining the regulatory status of PBI products.

The policy adopts a product-based approach that evaluates genetic changes and identifies novel combinations of genetic material in PBI products. If a PBI product exhibits novel genetic combinations, it is classified as a GMO and regulated under the DOST-DA-DENR-DOH-DILG Joint Department Circular No.1 Series of 2021 (JDC No. 1, s2021). Conversely, if it lacks novel genetic combinations, it is classified as a non-GMO and considered a conventional product.

Since the implementation of this policy in 2022, the Philippines has received five requests for determination. Among these, the reduced browning banana and high GABA tomato have been officially classified as non-GMO.

S5-6

Policy and Regulation on Genome Edited Crops in Indonesia

Satya Nugroho

Research Center for Genetic Engineering-National Research and Innovation Agency (BRIN)

Indonesia recognizes genome editing as an important break through that will play significant roles in its bioeconomy. As one of the megadiversity countries, Indonesia is expected to be able to benefit from the application of genome editing. Currently several research institutes and universities are performing genome editing on different crops. However, genome editing has not been regulated. To establish guidelines for genetically edited products, focus group discussions have been conducted involving the Technical Team for Biosafety of Genetically Modified Product, the Ministry of Agriculture and the Indonesian Institute of Sciences (LIPI) (now under National Research and Innovation Agency-BRIN) in collaboration with the Biosafety Committee for Genetically Modified Product (KKH-PRG), also attended by scientists from research institutes and universities, to come to a consensus on how Indonesia's stance on genome editing issues. The FGD acknowledged that the process of modifying a product via genome editing could result in a product that can be categorized as non-transgenic, depending on the presence or absence, and the types of novel genetic combination. Currently, the KKH-PRG, is establishing a guideline on the assessment and release mechanisms of genome edited products.

S5-7

Social Acceptance and Regulatory Challenges for Genome-Edited Crops in Japan

Hiroshi Ezura

Inst. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba

It has been more than 20 years since genome editing technology first attracted attention as an important tool for research and development in life science. The fact that the researchers who developed this technology was awarded the Nobel Prize in 2020 is also an indication of the global expectations for this new technology. Various genome-editing technologies have been developed and improved, and in the field of plant biotechnology, the development of genome-edited plants utilizing these technologies is underway worldwide. Rules for the handling of the developed genome-edited plants are also being developed at an accelerated pace around the world. Now that the technology and rules have been established, the next issue is how plants developed with the new technology, genome editing, will be accepted by society. In Japan, the genome-edited tomatoes we have developed are already being sold in stores, and we can say that we are leading the world in terms of social implementation of genome editing technology. In this presentation, using the genome-edited tomato as a case study, I will discuss the handling of genome-edited plants in Japan, the current social acceptance for genome-edited crops, and future challenges for each.

L-1

Plant Biotechnology 誌の今とこれから

梅田 正明

奈良先端科学技術大学院大学

Plant Biotechnology 誌は、1984年に前身の *Plant Tissue Culture Letters* として創刊されて以来、植物バイオテクノロジーに関連した様々な論文を、基礎・応用に関わらず数多く出版してきました。インパクトファクターも上がってきており、2022年は1.6となっています。本誌をさらに広くアクセスしやすいジャーナルにするため、最近独自のホームページを開設し、論文情報だけでなく、ジャーナルに関する様々な情報をより多くの研究者に届けられるようにしました。本ランチョンセミナーでは、この新ホームページも含め、最近の *Plant Biotechnology* 誌をめぐる動向についてわかりやすくご紹介します。また、パネルディスカッションを通じて論文作成の秘訣など、投稿のためになる情報をエディター側の視点からお届けする予定です。

L-2

年収 1000 万円のポストクを生き出せるか？

小山内 崇

明治大学農学部/シアノロジー

アカデミアにおける雇用の不安定さや相対的な待遇の悪さは、長年未解決となっている業界全体の課題である。昨今は、JSPSの学振特別研究員の雇用（若手研究者雇用支援事業）や、JSTの次世代研究者挑戦的研究プログラムなど、若手研究者に関してはサポートが手厚くなっている。しかし、アカデミアの研究者を職業として考えた場合、安定して収入を得る身分に達することが極めて難しく、業界からの人材流出の原因となっている。業界全体の雇用や待遇の改善のためには、大学や研究所の無期雇用ポストを増やすことが最も良い解決策であるが、少子化が進んでいる日本では、大学のポストはむしろ減少傾向である。このような状況を鑑みて、私は任期付きなどの不安定な雇用であっても雇用期間は給料が高い「外資企業のような待遇」を提供するのが、業界としての現実的な解ではないかと考えている。私は、2022年に自ら大学発ベンチャーを創業して代表取締役を務めており、アカデミア（および企業の研究開発職）の新しい働き方を模索している。本セミナーではこれらの経験を紹介し、業界全体の待遇改善を進める契機にしたいと考えている。

L-3

学術系クラウドファンディングサイト「academist」の10年史

柴藤 亮介

アカデミスト株式会社

学術系クラウドファンディングで研究資金を集める取り組みがはじまり、今年で10年が経過した。新たな研究費獲得手段として研究者コミュニティでの認知は進んでいるが、実際にどのように機能しているのだろうか。当日は、学術系クラウドファンディングのプロジェクト事例を共有しながら、伝統的な公的資金との違いを整理し、その特徴と今後の可能性について詳しく紹介する。

1A-01

サボジラ (*Manilkara zapota*) 由来 *trans* 型プレニルトランスフェラーゼ MztPT2 による *trans* 型ポリイソプレン合成機構の解明とその応用

Molecular mechanism of *trans*-polyisoprene synthesis by a *trans*-prenyltransferase MztPT2 from *Manilkara zapota* and its application

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

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

自然界に存在するポリイソプレノイドのうち、*cis*-1,4-ポリイソプレンを主骨格とするものは一般に天然ゴムと呼ばれ、弾性を示し耐摩耗性に優れることからタイヤなどに工業利用されている。一方 *trans*-1,4-ポリイソプレン (TPI) を主骨格とするものは、硬質な熱可塑性樹脂であり、歯科材料や絶縁性被覆材などとして工業利用されている。天然ゴムに比べ、TPI は産生植物も少なく、その生合成機構は長らく不明であった。近年、当研究室ではサボジラ (*Manilkara zapota*) より同定した *trans* 型プレニルトランスフェラーゼ (tPT) である MztPT2 が、分子量 10⁴ (重合度約 150) を中心とした TPI の合成活性を有することを明らかにしていた。tPT は全生物が普遍的に有する酵素であり、一般的な tPT では、各酵素内部の疎水性ポケットのサイズに応じて重合度 2~10 の生成物が合成されている。しかし、MztPT2 の三次元立体モデルにおいては、疎水性ポケットは非常に浅く、超高分子量 TPI の重合度がどのように制御されているかは謎であった。そこで本発表では、構造モデルなどから基質結合に重要であると予想されたアミノ酸残基を置換した変異体を作製し、詳細な酵素機能解析を行うとともに、特性の異なる種々の置換基を有する開始基質アナログを用いた活性測定により、MztPT2 による重合反応の制御機構を考察した。さらに、MztPT2 を含む TPI 合成関連酵素を異種発現させた大腸菌株及び植物培養細胞を作製し、その細胞形態観察および代謝物解析を行うことで、細胞培養系における TPI 生産の評価も行った。

1A-02

パラゴムノキの天然ゴム生合成マシナリを構成するタンパク質の探索および機能解析

Exploration and functional analysis of proteins constituting a natural rubber biosynthetic machinery of the Para rubber tree

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

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

天然ゴム (NR) は *cis*-1,4-ポリイソプレンを基本骨格とする産業的に重要な天然ポリマーであり、近年その需要が増大している。遺伝子工学的手法による NR 生産性向上の達成には、生合成の分子機構解明が必要となる。パラゴムノキの NR 生合成はラテックス内のゴム粒子 (RP) 上で進行しており、これまでに、NR 生合成に関連する RP 膜タンパク質として、NR 炭素骨格生合成酵素である HRT1 や、HRT1 と相互作用する HRBP、さらに、HRBP と相互作用する RP 膜構造タンパク質である REF が同定されており、この三者の複合体が天然ゴム生合成マシナリの中核として機能していると考えられている。しかし、これら三者を NR 非生産植物等で異種発現させても NR は合成されないことから、NR 合成にはさらに別のタンパク質が必要であると考えられている。そこで本研究は、天然ゴム生合成マシナリを構成する新たな膜タンパク質の探索を目的とした。

RP に両親媒性コポリマー (DIBMA, DIBMA glycerol) を処理することによって、膜脂質とタンパク質群の相互作用状態を保った RP 膜マイクロドメインを可溶化 (ナノディスク化) した。その後、ゲル濾過クロマトグラフィー、免疫沈降等によって HRT1 含有ナノディスクを単離し、LC-MS/MS 解析により HRT1 含有ナノディスクに特異的に含まれるタンパク質を同定した。さらに、これらを候補タンパク質とし、二分子蛍光補完法等により候補タンパク質と HRT1 の相互作用解析を行ったところ、HRBP の共発現下において HRT1 と相互作用しうるタンパク質が複数見出された。

1A-03

比較機能解析による高等植物の class I テルペン合成酵素の触媒重要残基の探索

Identification of highly conserved catalytic residues among class I terpene synthases from higher plants by comparative functional analysis

天野 博之, 栗栖 尚嗣, 角掛 陽, 茂木 大介, 菊池 洋平, 廣森 美樹, 和氣 駿之, 中山 亨, 高橋 征司

東北大・院工

テルペノイドは構造多様性に富む特化代謝産物ファミリーのひとつである。その基本炭素骨格は、テルペン合成酵素 (TPS) と総称される酵素によりプレニルニリン酸を基質として合成される。TPS のなかでも、class I に分類される TPS が触媒する反応の初発段階では、高度に保存された Asp-rich motif と Mg^{2+} のクラスターが基質のニリン酸基脱離を触媒してカルボカチオン中間体が生成されるが、二段階目の中間体の基本炭素骨格形成や、三段階目の最終中間体からのプロトン脱離の機構については未解明な点が多く残っている。我々はこれまでに、テルペノイドを豊富に蓄積するハープであるセイヨウトウキの TPS ファミリー (AaTPS) の網羅的比較機能解析を行い、class I TPS の触媒機構解明を進めてきた。その結果、TPS 反応の第一、第二段階においては、基質ポケットの内部構造が基質のプレニル鎖のコンフォメーションを強制することでニリン酸基脱離後のカチオン中間体の分子内求核反応が制御され、最終的な生成物の炭素骨格が決定される、というモデルを提案することができた。第三段階では、カチオン中間体の異なる炭素からプロトン脱離が起きること異なる構造の生成物が形成されうが、class I TPS のプロトン脱離を触媒する残基については不明であった。そこで本研究では AaTPS を中心とした比較機能解析から、プロトン脱離残基の探索を行った。その結果、高等植物の class I TPS に高度に保存された Tyr および Asp が見出された。これらの残基の置換により活性が消失することから、触媒機構に重要な残基であることが示唆された。

1A-04

ブナ科植物におけるイソプレン放出能の種間多様性の解明

Molecular Mechanism of Isoprene Emission Capacity in Fagaceae

小坂 青空¹, 棟方 涼介¹, 福島 健児², 永野 惇^{3,4}, 斉藤 拓也⁵, 佐竹 暁子⁶, 三浦 謙治⁷, 杉山 暁史¹, 矢崎 一史¹

¹京大・生存研, ²遺伝研NIG, ³龍谷大・農学, ⁴慶應大・先端生命研, ⁵国環研NIES, ⁶九州大・理学, ⁷筑波大・生命環境

植物起源の揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compounds, VOC) は、生合成後細胞外へ放出され、外敵の忌避や花粉媒介者の誘因といった生物間相互作用に関与する。さらに、植物の放出する VOC は、植物周辺の範囲に留まらずに大気中で酸化され、大気質や気候にまで影響を及ぼすことが知られている。大気中に放出された VOC は、主に酸化反応によりエアロゾルを形成し、光化学オキシダントの生成、雨雲の形成促進、また太陽光の反射などに寄与する。植物が大気中に放出する全球レベルの VOC 量は、炭素換算で年間 10^9 トンに及び、その約半分を占めるヘミテルペン化合物のイソプレンは、量的な観点から気候への影響が大きいものの 1 つである。北半球ではブナ科のコナラ属などがイソプレンを放出する代表的な植物種であるため、ブナ科植物のイソプレン放出機構を調べることは、植物由来 VOC の気候への影響を明らかにする上で重要である。これまでに、イソプレン合成酵素遺伝子はヤナギ科やフトモモ科など他の植物科で同定されてきたが、ブナ科においては未知であった。興味深い事に、ブナ科植物には明確なイソプレン放出種と非放出種が存在する。しかし、その違いを生む分子機構は不明である。本研究では、ブナ科植物のイソプレン生産能、及びその種間多様性の分子機構の解明を目的とし、ブナ科のイソプレン放出種コナラ (*Quercus serrata*) からのイソプレン合成酵素の遺伝子同定と、そのオルソログ遺伝子についてイソプレン放出種及び非放出種の比較解析を行った。

1A-05

イチゴ果実においてテルペン系香気成分の分泌に関わる候補遺伝子の機能解析

Functional analysis of candidate genes relevant for the secretion of volatile terpenes in strawberry fruits

後藤 桃佳¹, 段 奈々子¹, 上岡 颯人¹, 李 豪¹, 橘 頼之¹, 市野 琢爾^{1,2}, 杉山 暁史¹, 棟方 涼介¹, 矢崎 一史¹

¹京都大・生存研, ²神戸薬科大

植物の放出する揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compounds, VOCs) は、花粉媒介者の誘引や害虫忌避といった植物と他生物間のコミュニケーション、また熱保護といった非生物学的ストレス応答に関与する。VOC は従前、受動拡散によって植物細胞外に放出されると考えられてきたが、近年、膜輸送体や lipid transfer protein を介した能動的な分泌機構が報告されている。しかし、VOC 細胞外分泌を担う遺伝子の報告例は少なく、特に植物 VOC の中で量・種類ともに最も多いテルペン類についての知見はほとんどない。そこで本研究では、成熟に伴って果実から多量のテルペン系 VOC を放出するバラ科の草本オランダイチゴ (*Fragaria × ananassa*) を実験材料とし、イチゴのテルペン系香気成分分泌を担う分子機構の解明を目的とした。VOC の放出が果実成熟と正に相関することを利用し、未成熟・成熟果実の比較トランスクリプトーム解析により候補遺伝子を絞り込んだ。得られた候補遺伝子に対して、イチゴの葉、花、成熟過程を 4 段階に分けた果実を用いて遺伝子発現解析を行った。さらに、ベンサミアナタバコを用いた一過的発現系を用いて細胞内での局在を解析すると共にテルペン系 VOC 分泌能を評価した。

1A-06

トマトにおけるソラノエクレピン生合成に関わるメチル基転移酵素の解析

Analysis of methyltransferases involved in solanoeclipin biosynthesis in tomato

赤沼 花恋¹, 須澤 尚太¹, 秋山 遼太^{1,2}, 串田 篤彦³, 谷野 圭持⁴, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農学, ²理研CSRS, ³農研機構・北農研, ⁴北大・院理

ジャガイモシストセンチュウ (PCN) はジャガイモやトマトなどのナス科植物に特異的に寄生し、大幅な減収を引き起こす害虫である。PCN は宿主植物の根から分泌される孵化促進物質 (HF) を特異的に認識して孵化し寄生を達成する。2023 年に当研究グループにおいてソラノエクレピン B (SEB) の単離構造決定を報告した。また、トマトにおける SEB 生合成遺伝子 (*SOLA1*~*SOLA5*) を同定し、トマト毛状根でこれらの遺伝子をノックアウトすると SEB が消失することを明らかにした。また、本大会において、ジャガイモ水耕液からソラノエクレピン C (SEC) の単離構造決定を報告する。

さらに、様々な部位・処理を行なったトマトの公開トランスクリプトームデータと当研究室で構築した植物ホルモン処理したトマト毛状根のトランスクリプトームを統合し、遺伝子共発現解析を行った結果、既知生合成遺伝子と共発現する複数の候補遺伝子を選抜した。本発表では、候補遺伝子の一つ、メチル基転移酵素をコードする遺伝子 (*SOLA11*) について解析した結果を報告する。*SOLA11* ノックアウト毛状根の培養液中の SEC は消失し、この培養液の孵化活性も対照と比較して顕著に減少していたことから、*SOLA11* はソラノエクレピン生合成遺伝子であることが強く示唆された。*SOLA11* は SSEC 構造上一ヶ所あるメトキシ基の形成に関与している可能性が高く、現在、欠損株で蓄積する生合成前駆物質の解析を進めている。

1A-07

メタボローム解析によるソラノエクレピンの生合成経路の解析

Metabolomic analysis of the biosynthetic pathway of solanoeclepin

須澤 尚太¹, 秋山 遼太^{1,2}, 串田 篤³, 谷野 圭⁴, 杉本 幸祐¹, 水谷 正治¹

¹神戸大院・農, ²理研・CSRS, ³農研機構・北農研, ⁴北大院・理

ジャガイモシストセンチュウ (PCN) はナス科作物の根に特異的に寄生し、世界中で農業に深刻な被害を与えている最重要害虫である。土壤中で休眠している PCN 卵は、ナス科植物の根から分泌される孵化促進物質 (Hatching Factor: HF) によって宿主を認識し寄生する。1999 年にジャガイモ水耕液からソラノエクレピン A (SEA) が単離構造決定され、2023 年に当研究室で新規ソラノエクレピン B (SEB) の単離構造決定と 5 つの生合成遺伝子の同定が達成されたが、SEB 生合成系の全貌は不明である。本発表では、SEB 生合成遺伝子を破壊した毛状根をメタボローム解析することにより、SEB 生合成中間体を網羅的に取得する解析方法論について報告する。既知の SEB 生合成遺伝子と共発現する遺伝子を SEB 生合成候補遺伝子として選抜し、候補遺伝子をゲノム編集によりノックアウト (KO) したトマト毛状根を作成した。KO 毛状根の培養液を固相抽出カラムにより粗精製し、LC-MSMS により分析し SEB 消失が確認され、野生株 (WT) と比較して KO 毛状根の培養液に孵化活性の顕著な減少が見られた場合、その候補遺伝子を生合成遺伝子と特定した。これら SEB 生合成遺伝子の KO 毛状根の培養液又は毛状根抽出物には、SEB 生合成中間体が蓄積していると考えられる。WT と KO 毛状根の抽出物を LC-TOF-MS に供してノンターゲットメタボローム比較解析を行い、KO 毛状根で特異的に蓄積する代謝産物の精密質量や構造情報を SEB 生合成中間体の候補物質として網羅的に取得した。

1A-08

トマトにおけるソラノエクレピンの代謝変換を担う酵素の探索

Exploration of enzymes responsible for the metabolic conversion of solanoeclepin in tomato

永友 陽¹, 秋山 遼太^{1,2}, 河野 結¹, 串田 篤彦³, 谷野 圭持⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大院・農, ²理研・CSRS, ³農研機構・北農研, ⁴北大院・理

ソラノエクレピンはジャガイモシストセンチュウの孵化を促進する物質として知られている。ジャガイモシストセンチュウはナス科植物の根に特異的に寄生し、大幅な減収を引き起こす重大害虫であり、宿主植物の根から分泌される孵化促進物質を認識して孵化感染する。ソラノエクレピン A (SEA) が 1999 年にオランダの研究グループから単離同定され、2023 年に当研究グループはソラノエクレピン B (SEB) を単離構造決定し、さらに、本大会において関連化合物であるソラノエクレピン C (SEC) の単離構造決定を報告する。構造的特徴から、SEC は植物根内で SEB から代謝変換されて生合成されると考えられる。本研究は、トマトにおける SEB から SEC への変換を担う酵素の同定を目的としている。

まず、CRISPR/Cas9 システムを用いたノックアウトにより、エクレピン類を欠損したトマト毛状根を作出した。別途精製した SEB をエクレピン欠損毛状根の培養液に添加し、数日培養したのち、培養液中のエクレピン類を LC-MS/MS を用いて分析した。その結果、SEB 投与前では培養液から SEC が検出できなかった一方、投与後の培養液からは SEC が検出された。この結果から、植物根には SEB から SEC へ代謝変換する酵素が存在することが分かった。次に、この変換を担う酵素の探索を行うため、根で特異的に発現する酵素遺伝子を選抜した。これらの組換え酵素を用いた酵素アッセイの結果についても報告予定である。

1A-09

Dirigent タンパク質が駆動するストリゴラクトンの構造多様化

Structural diversification of strigolactones driven by dirigent proteins

若林 孝俊^{1,2}, 本間 大翔², 阿部 怜生², 森脇 由隆^{1,3}, 滝川 浩郷¹, 水谷 正治², 杉本 幸裕²

¹東京大院・農生科, ²神戸大院・農, ³東京医科歯科大

ストリゴラクトン (SL) は、植物ホルモンとしてだけでなく根圏シグナルとしても機能する。特に ABC 環を有する典型的 SL は根圏シグナルとしての機能を果たす。トマトやササゲは、典型的 SL として orobanchol (ORO) を根から分泌する。その生合成経路にはシトクロム P450 の CYP722C が関与するが、CYP722C の機能は生合成前駆体の carlactonic acid を 18-oxo-carlactonic acid (18-oxo-CLA) に変換するものであった。そのため、18-oxo-CLA を ORO へ導く立体選択的な BC 環形成に関与する因子の存在が示唆された。本研究では、当該因子を同定し Stereoselective BC-Ring-forming Factor (SRF) と命名した。SRF は多くの生化学的機能が不明な dirigent タンパク質に属する。トマトの組換え SISRF タンパク質は *in vitro* 酵素アッセイで 18-oxo-CLA から ORO への変換を触媒した。さらに、ゲノム編集で SISRF 遺伝子を破壊したところ、ORO に加えて C 環の立体化学が逆の *ent*-2'-*epi*-ORO が生産された。これは、SISRF 欠損により立体選択的な BC 環形成能が失われ 18-oxo-CLA が自発的に環化した結果と考えられた。また、AlphaFold2 による SRF モデル構造予測と分子動力学シミュレーションにより、SISRF の立体選択的な BC 環形成機構を提唱した。一方、ササゲは 2 つの SISRF ホモログ遺伝子を持つ。興味深いことに、VuSRF1 は SISRF と同様の活性を持つが、VuSRF2 は 18-oxo-CLA から ORO を経由し新規 SL へ変換する活性を有していた。この新規 SL は ORO の C 環部分が開裂した構造と推定している。以上のように、SL 生合成経路において dirigent タンパク質の SRF は、典型的 SL の骨格構造形成だけでなく、構造の多様化にも関与する重要なタンパク質であることを明らかにした。

1A-10

ジャガイモゲノム中の多重化ジオキシゲナーゼがもたらすグリコアルカロイド多様性

Glycoalkaloid Diversity Caused by Dioxygenases from Duplication in the Potato Genome

池山 倅¹, 秋山 遼太^{1,2}, 李 榮宰¹, 渡辺 文太³, 浅野 賢治⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農, ²理研・CSRS, ³慈恵医大, ⁴農研機構・北農研

植物の二次代謝経路は、ゲノム中の遺伝子重複に起因する新機能化によって、酵素が様々な新規活性を獲得することで進化してきた歴史があり、その一例にナス科植物のステロイドグリコアルカロイド (SGA) 生合成がある。SGA 生合成では多くの 2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ (DOX) が機能している。それらの一部は染色体上で多重化によるクラスターを形成しており、SGA の構造多様化に関与していると考えられる。本発表では野生種ジャガイモ *Solanum chacoense* における多重化 DOX の機能解析について報告する。栽培種ジャガイモ *S. tuberosum* に含まれる SGA はその 90%以上が α -ソラニンおよび α -チャコニンであるのに対し、*S. chacoense* はそれらに加えて、さらに修飾を受けた多様な SGA を生産する。*S. chacoense* における SGA 構造多様性に関与する DOX を同定するために、*S. chacoense* タンパク質データベースから、*S. tuberosum* における α -ソラニン生合成の最終段階を担う DPS と高い相同性を示す 4 つの DOX を選抜した。組換え酵素を用いた *in vitro* assay を行ったところ、2 つの DOX に DPS と同様の活性がみられた。さらに、その 2 つのうち 1 つは α -ソラニンと α -チャコニンを基質とした水酸化活性を、DPS 活性以上に強く示すことが確認された。反応生成物を NMR 分析に供することで、この DOX は α -ソラニンと α -チャコニンの C12 水酸化を担う酵素であると同定した。すなわち、遺伝子重複によって既知の DOX から派生・進化した DOX が新たな活性を獲得し、SGA の多様化に寄与していることを支持する結果となり、「多重化酵素に着目して新規活性を探索する」というアプローチが他の代謝経路などにも応用できる可能性を見出した。

1A-11

レプチンを蓄積するコロラドハムシ抵抗性ジャガイモの構築

Construction of Colorado Potato Beetle-Resistant Potatoes Accumulating Leptine

梅基 直行¹, 秋山 遼太², 池山 倅², 浅野 賢治³, 濱田 晴康⁴, 柳楽 洋三⁴, 森 哲哉¹, 斉藤 和季¹, 水谷 正治²

¹理研CSRS, ²神戸大・院農, ³農研機構・北農研, ⁴(株)カネカ

コロラドハムシ (CPB: Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*) は、ナス科の植物の葉を食する害虫で、特にジャガイモにおいて最大の虫害をもたらす。殺虫剤を使わない場合には生産量の40~80%の損失を生じ得る。CPBは、日本には上陸していないが、北米から欧州、アジアの世界各地に生育域を広げている。近年、中国にも定着し、CPB抵抗性ジャガイモの育種は世界的に重要な課題である。CPBに抵抗性を示す野生種ジャガイモ *Solanum chacoense* の一部の系統が知られ、グリコアルカロイドであるレプチンを葉でのみ蓄積することによって抵抗性を発揮していることが明らかとなっている。レプチンは、通常の栽培種ジャガイモ *S. tuberosum* が蓄積するソラニンやチャコニンから、2段階の反応を経て生合成されると予想されていた。我々は、生合成に関与する2つの遺伝子を明らかにするとともに、栽培種のジャガイモにそのうちの1つの遺伝子を発現するように導入するだけでレプチンを蓄積できることを示した。

(本研究の一部は研究成果最適展開支援プログラム A-STEP「国産ゲノム改変技術のシナジーによる革新的な作物育種ソリューションの開発」の支援により実施された。)

1A-12

ジャガイモ植物病抵抗性マーカー物質の探索

The identity of potato disease resistance markers substrate

牧 慎也¹, 原田 隆大¹, 松本 敏一², 山本 伸一³, 渡邊 和男⁴

¹長岡技科大, ²島根大学, ³農研機構, ⁴筑波大

ジャガイモ種芋生産方法はGHQが生産方法を指導したのが始まりで、NARO種苗管理センターが現在も生産しているが、50年以上前の栽培方法と大きな変更はない。ウイルスフリークローン種苗は本来植物が持っている最大限の能力を発揮できるため、収量が高く、霜などの被害にも強く、世界中で利用されている。しかしながら、冷暖房設備、専用の栽培環境設備が必要なためコストが高い。我々が開発したMESOS技術を応用した種苗生産技術は、冷暖房設備や光調整専用設備を不要として、SDGs循環型社会を実現できる革新的種芋・種苗生産技術である。日本にジャガイモがもたらされたのはスコットランドからといわれている。そのため、寒いところに育つ特性を持つ。日本で品種改良を重ねられ、新しい品種が数多く開発されているが、植物病原性を有していない品種が、特に九州地方で主に栽培されている。本研究では、筑波大学が保有している植物病原性抵抗性品種のMESOS培地について、有効性を確認した。今後の品種改良さらには、植物病防除のための知見を得るために、熱分解型TOF-GC/MS分析装置にて、植物病抵抗性物質の同定を試みた結果について報告する。

1B-01

イメージング質量分析法による植物特化代謝物の空間分布の可視化

Visualizing the spatial distribution of plant specialized metabolites by imaging mass spectrometry

森 哲哉, 武田 紀子, 鶴崎 真妃, 西澤 具子, 豊岡 公德, 平井 優美

理研CSRS

植物は、多様に分化した細胞が同じような形態や機能をもつ細胞同士で集団をつくり組織を構成し、様々な組織が集まった器官を複数形成している。そして各器官の機能に応じて特化代謝物を生産している。各器官で特異的な代謝物を明らかにするために、器官をすりつぶし抽出液中の代謝物を分析することでメタボローム解析を行う方法が確立されているが、組織スケールの解像度での局在情報を得ることは困難である。そこで本研究では、原理的にシングルセルレベルの空間分解能で分析が可能なイメージング質量分析技術を適用し、植物の各器官の特化代謝物の空間データを取得することを目的とした。成熟したシロイヌナズナの口ゼット葉、花茎、花、およびニチニチソウの発芽後の種子は横断面、シロイヌナズナの長角果は縦断面の凍結切片を作製し、それらの切片にスプレー法により2,5-ジヒドロキシ安息香酸、 α -シアノ-4-ヒドロキシけい皮酸、9-アミノアクリジンの各種マトリックスを自動塗布し、磁気共鳴-質量分析装置を用いてマトリックス支援レーザー脱離イオン化法によるイメージング質量分析を行った。またイメージング質量分析に用いたのと同じ器官の抽出物について、液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析を行い、化学的注釈付けを行った。注釈付けを行ったイオンについて、イメージング質量分析のデータに照合した結果、イメージング質量分析によりシロイヌナズナの器官中のフラボノイドとグルコシノレート、およびニチニチソウの発芽種子中のインドールアルカロイドとイリドイドが可視化された。本発表では、各器官における可視化された特化代謝物の空間的局在について報告する。

1B-02

アンビエントイオン化質量分析を用いた“ネコのマタタビ反応”の原因成分の蓄積・放出機構の解明

Mechanisms of accumulation and release of the chemical for "Matatabi reaction of cats" in silver vine using ambient ionization mass spectrometry

有瀧 慎太郎¹, 西川 俊夫¹, 宮崎 雅雄², 上野山 怜子², 関本 奏子³, 白武 勝裕¹

¹名古屋大・院生命農学, ²岩手大・農, ³横浜市大・院生命ナノシステム科学

マタタビはいわゆる“ネコのマタタビ反応”を引き起こし、この反応の主成分はネペタラクトールである。ネコは揮発性のネペタラクトールを体に纏い蚊を忌避することが明らかになっているが、マタタビにおけるネペタラクトールの生合成・蓄積・放出に関する機構は未解明である。

我々はネペタラクトールの蓄積形態および放出機構を解明するため、抽出・分離なしに代謝物のリアルタイム測定が可能な2種類のアンビエントイオン化質量分析法によりマタタビの葉のネペタラクトールを分析した。すなわち、葉を傷つける前後の揮発性有機化合物 (VOCs) を大気圧コロナ放電イオン化-タンデム質量分析装置 (APCDI-MS/MS) により、葉内の蓄積物質を探針エレクトロスプレーイオン化-MS/MS (PESI-MS/MS) により測定した。

APCDI-MS/MS による分析の結果、マタタビは葉が傷つくことでネペタラクトールを放出することが確認された。一方、PESI-MS/MS による分析の結果、葉内にネペタラクトールがほとんど検出されなかった。そこで、ネペタラクトールの植物体内での蓄積形態となる化合物を探索した結果、ネペタラクトールと同様のフラグメンテーションを示す候補代謝物を検出することに成功した。

この候補代謝物の精密質量を四重極-飛行時間型質量分析装置 (qTOFMS) およびオービトラップ型質量分析装置を用いて測定し、分子式の予測を行ったところ、候補代謝物はネペタラクトールの配糖体であることが推定された。

以上の結果から、マタタビの葉はネペタラクトールの配糖体を蓄積し、損傷を受けることでネペタラクトールを遊離させて放出する可能性が示唆された。

1B-03

Exploring representative functional compounds and diversity of volatile organic compounds in 13 varieties of Sakura flowers

Yongqing Cai¹, Shuri Kato², Makoto Kobayashi^{1,3}, Miyako Kusano^{1,3,4}

¹Univ. Tsubata, ²FFPRI, ³RIKEN CSRS, ⁴T-PIRC

Flowers are beneficial to human, and Sakura, in the family Rosaceae which is an integral part of Japanese culture. Several studies have been published which focus on extracts of Sakura flowers and leaves to investigate functional compounds. In addition, study on the fragrance of Sakura has been poorly reported. Thus, we quantified the content of functional compounds, i.e., anthocyanins, carotenoids, phenolics and flavonoids, in the 13 selected varieties originated from Oshimazakura. Additionally, non-targeted volatile organic compound (VOC) profiling was performed in these Sakura flowers. The highest content in Sakura flower was total flavonoids, the lowest content was carotenoids. The total flavonoids and phenolics were significantly correlated, while there were no correlations between carotenoids and other compounds. In VOC, 37 substances were annotated. Sakura was categorized into fragrant and non-fragrant varieties using multivariate analysis. Among 6 kinds of Sakura with fragrance, 4 VOCs were significantly changed in pink Sakura, while 16 VOCs were changed in white Sakura. Integrating functional compound analysis and VOC profiling is expected to predict Sakura flower's characteristics in the different point of view.

1B-04

チャ遺伝資源におけるテアニン生合成および蓄積に関する自然変異の解析

Analysis of Varietal Differences in Specialized Metabolic Mechanisms in Tea Genetic Resources

利根 菜月^{1,2}, 福田 祐介², 舟川 奈那², 石黒 雄大^{1,2}, 山下 寛人^{1,2,3,4}, 一家 崇志^{1,2,3,4,5}

¹岐阜大・院連農, ²静大・院農, ³静大・農, ⁴静大・TSI, ⁵静大・グリーン研

テアニンは茶葉特異的なアミノ酸アミドである。チャは、グルタミン酸とエチルアミンを前駆体とし、一般的な窒素同化経路から分化する形でテアニンを根で生合成するが、その意義や役割は未だ明白でない。本研究ではテアニンの窒素同化への適応機構理解と育種貢献への応用を目的に、チャ遺伝資源集団を対象に、テアニン生合成関連代謝物の定量ならびに関連自然変異の探索を行った。

チャ遺伝資源 142 系統の一年生挿し木苗を水耕栽培し、生育ステージを揃えて新葉と細根を採取した。HPLC により 9 種類の遊離アミノ酸含量、IC により無機態窒素とエチルアミン含量を測定した。また、新葉と根のテアニン含量が特徴的な系統群を対象に、テアニン生合成酵素 (TSs) の発現量解析を行った。さらに、TSs ならびにテアニン集積関連遺伝子の全ゲノム変異情報とテアニン含量のアソシエーション解析を行った。

チャ遺伝資源における各部位のテアニン含量は、乾物 1 g 当り根で 28.6-94.8 mg, 新葉で 1.1-30.6 mg の幅広いバリエーションが観察された。根のテアニン含量とグルタミン酸とエチルアミンとの間に高い相関関係は見られなかった。テアニン含量上位ならびに下位の系統群の TSs 発現量を調査したが、上位群と下位群間で有意な差は確認されず、前駆体含量や TSs 発現量がテアニン含量の系統間差に起因する可能性は低いと考えられた。一方、TSs ならびにテアニン集積関連遺伝子配列の変異とテアニン含量との関連を解析したところ、複数の関連遺伝子のアミノ酸多型が検出された。現在、これらアミノ酸多型によるタンパク機能への影響可能性について解析を進めている。

1B-05

茶カテキン類生合成およびその制御機構の無機栄養応答の解析

Mineral nutritional responses of catechin biosynthesis and its transcriptional regulation in tea plants

樋口 京佳¹, 山下 寛人^{2,3}, 若狭 琴乃¹, 永野 惇^{4,5}, 一家 崇志^{2,3,6}

¹静岡大学大学院農学専攻, ²静岡大学学術院農学領域, ³静岡大学ティーサイエンス研究所, ⁴龍谷大学農学部, ⁵慶應義塾大学先端生命科学研究所, ⁶静岡大学グリーン科学技術研究所

カテキン類は、茶葉中に豊富に含まれるフラボノイドの一種であり、その生理活性効果が注目されている。これまでに我々のグループでは、茶葉中のカテキン類含量が光や無機栄養量などの環境要因によって変動することを見出している。そこで本研究では、各種無機栄養に対する茶のカテキン類生合成の関連代謝酵素と転写制御因子の転写応答性を解析した。

チャ「やぶきた」一年生挿し木苗を用いて、窒素 (N)、リン (P)、カリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、アルミニウムを各々単独で除いた条件下で3か月間水耕栽培を行った。新葉を採取し、HPLCによる8種のカテキン類の定量とRNA-seq解析を行った。

栄養充足条件(対照区)と比較して、N欠乏処理区で遊離型カテキン類、NとPの欠乏処理区でガレート型カテキン類が有意に増加したが、他栄養欠乏処理では明確な変動がみられなかった。次に、カテキン生合成に関連する酵素遺伝子群と制御転写因子の転写量を調査したところ、NとPの欠乏処理区ではカテキン生合成に関わる *phenylalanine ammonia lyase (PAL)*、*anthocyanidin synthase (ANS)* 等の酵素遺伝子群とその転写を正に制御する転写因子群 (MBW complex 等) の転写量がともに増加していた。一方で、両処理区間ではガレート化に関わる *serine carboxypeptidase-like acyltransferase (SCPL1A)* や R2R3-MYB などの転写因子でその変化量に相違がみられた。以上の結果より、NとP栄養状態はチャのカテキン類生合成の制御に寄与することが示唆された。

1B-06

4つの遺伝子座の組み合わせがダイズの多様な種皮色を形成する

A combination of four color-related loci produces various seed coat colors in soybean

菅波 眞央¹, 小島 創一², 鎌倉 雅都³, 白石 愛花³, 別府 和則³, 吉田 英樹¹, 二瓶 直登^{1,4}, 高橋 秀和^{1,4}, 升本 早枝子^{1,4}, 和氣 駿之⁵, 中山 亨⁵, 吉田 久美⁶, 松田 幹^{1,4}, 渡辺 正夫⁷, 松岡 信¹

¹福島大学食農学類附属発酵醸造研究所, ²東北大学大学院農学研究科, ³愛媛県立西条農業高校, ⁴福島大学食農学類, ⁵東北大学大学院工学研究科, ⁶愛知淑徳大学食創造科学科, ⁷東北大学大学院生命科学研究科

ダイズの種皮やその他器官の色の多様性は、栽培化過程で出現した。各器官の色の多様性をもたらす遺伝子の多くは同定されており、黄色や緑色など非着色の原因となる *I* locus (*CHS* のサイレンシングを引き起こす)、茶色の原因となる *R* (アントシアニン合成関連遺伝子を制御する MYB)、花色を決める *W1* (Flavonoid-3'5'-Hydroxylase)、毛茸色を決める *T* (Flavonoid-3'-Hydroxylase) は、いずれもフラボノイド合成に関わる遺伝子座である。本研究では、全ゲノム情報を取得したダイズ 333 品種の福島ダイズパネルを用いて、ダイズの各器官の色が決定するメカニズムを調べた。各器官におけるフラボノイド生合成経路に関与する遺伝子の発現を解析した結果、各器官で機能している経路が異なり、これが器官ごとに色決定遺伝子が異なる原因であった。また、既知の4つの色関連遺伝子座 (*I*, *R*, *W1*, *T*) の組み合わせによって、種皮において機能する経路、および合成される pigment が変化し、多様な種皮色が作られていた。その中で、赤色種皮の色素は Pelargonidin-3-glucoside アントシアニンであり、その原因は *W1* と *T* の機能欠失型ハプロタイプの組み合わせであることを見出した。最後に、栽培化と育種におけるダイズ種皮の無色化プロセスを調べた。栽培化および初期の育種過程では *i* または *I* ハプロタイプが選択された。一方、現代の育種過程では、フラボノイド生合成経路を完全に不活性化し、外観の良い種子を生産するために、機能欠失型の *R* と *T* のハプロタイプの組み合わせが選択された。

1B-07

細胞外ポリマー合成酵素 CYP86 の緑色植物種横断的な機能比較解析

The Origin and Function of Fatty acid hydroxylase Contributing to Apoplastic Polymer Emergence

巽 奏^{1,2}, Hugues Renault²

¹京都大学生存圏研究所, ²フランス国立科学研究センター植物分子生物学研究所

約 5 億年前に淡水から陸上へ進出した植物は、乾燥や紫外線から自分自身を保護するためにクチン・スポロポレニン、重力に逆らった水分および栄養の長距離輸送を可能にするためにスベリン・リグニンをそれぞれ獲得した。リグニンは芳香族化合物のみ、クチン・スポロポレニン・スベリンは芳香族化合物と脂肪酸誘導体がそれぞれ重合した脂溶性のポリマーである。これら 4 種のポリマーは、被子植物において分布する組織が異なることから独立に進化したとこれまで考えられてきたが、分子系統解析と質量分析機器の発展により、祖先植物が陸上に適応する過程で獲得した単一の化合物に由来することが示唆された (Renault et al., 2017)。しかし、これら細胞外ポリマーがどのような化合物ならびに酵素反応を起源として獲得されたのかは明らかではない。そこで、細胞外ポリマーを構成する脂肪酸誘導体の初発酵素である脂肪酸水酸化酵素に着目し、その酵素機能の由来と進化を明らかにすることを目的とした。被子植物シロイヌナズナでは Cytochrome P450 スーパーファミリーに属する CYP86 がこの脂肪酸水酸化酵素をコードし、クチン生成に関与する。まず、分子系統解析から CYP86 ホモログが種子植物だけでなくコケ植物や小葉植物など陸上植物のより基部で分岐した植物種のゲノムに存在することを見出した。これら系統的位置関係の異なる植物 6 種の CYP86 ホモログを酵素活性試験や機能相補試験などの機能解析に供し、植物種横断的に比較した結果について、本発表では報告する。

1B-08

タバコ BY-2 培養細胞におけるエピジェネティック修飾剤投与による休眠二次代謝覚醒

Activation of cryptic secondary metabolism by epigenetic modifiers in tobacco BY-2 cells

野村 泰治, 加藤 康夫

富山県大・生物工/生医工研セ

植物培養細胞における二次代謝の休眠現象は、植物培養細胞を利用した物質生産の実用化を妨げる最大の要因の一つである。我々は以前、単子葉植物であるホウライチク (*Bambusa multiplex*) Bm 培養細胞をモデルとした実験によって、エピジェネティック修飾剤 (EM 剤) の投与が植物培養細胞の休眠二次代謝の覚醒に有効であることを世界で初めて実証した。本研究では、この新たな手法の汎用性検証の一環として、双子葉植物であるタバコ (*Nicotiana tabacum*) の BY-2 培養細胞をモデルとして実証実験を行った。

BY-2 懸濁培養細胞に、EM 剤としてヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤である *suberoyl bis-hydroxamic acid* (SBHA) を投与したところ、4 種の二次代謝産物の顕著な覚醒誘導がみられた。このことから、EM 剤投与による休眠二次代謝覚醒法は、単子葉と双子葉を含めた植物種全般に広く適用できることが示唆された。SBHA 投与による覚醒誘導物質の単離、構造解析の結果、それらはいずれもヒドロキシ桂皮酸誘導体であることが分かった。これらの蓄積を指標として各種 EM 剤の作用を比較した結果、SBHA 以外の HDAC 阻害剤の投与によっても二次代謝の覚醒誘導が再現された。このことから、BY-2 培養細胞における二次代謝の覚醒誘導は HDAC の阻害作用によるものであることが強く示唆された。一方、DNA メチル化酵素阻害剤の投与による覚醒誘導作用は限定的であった。このことから、BY-2 培養細胞においては、DNA のメチル化レベルよりもヒストンのアセチル化レベルの方が二次代謝の休眠に強く影響を及ぼしていることが示唆された。

1B-09

トマト栽培品種と野生種の代謝多型解析

Exploiting metabolic polymorphism of polyphenols in tomato species

峠 隆之^{1,2}

¹奈良先端大・バイオ, ²奈良先端大・LiSCo

未来の持続可能社会の実現には、変動する自然環境下においても作物の安定供給を可能とするパイプラインの構築は必須である。作物種の多くは、育種交配の長い歴史の中で遺伝的多様性が失われ、ストレス耐性の低下に伴う自生能力の低下や、ストレス防御物質の産生能の低下などの栽培化症候群と呼ばれる特徴をもつことが知られている。そのため、近年ではオミクス解析などを用いて、作物種と花粉交配可能な野生種間や品種間の多様性を解析し、品種改良のデザインに用いる研究が行われている。包括的代謝物分析（メタボロミクス解析）を用いた研究では、様々な含有成分を同時解析することで、ストレス防御物質のみならず植物代謝変動の全容を解析する。本研究では、トマトをモデルケースとして、栽培品種と野生種が産生するポリフェノール類の代謝多型解析および器官特異性の解析から生合成経路の全容を明らかにし、ヘルスケアなどに関わる機能性化合物の産生能向上や、収量の安定化を可能とするストレス防御代謝機構の鍵遺伝子の特定とその利用を目的として研究を行った。本発表では、現在までに得られた知見を紹介し、今後の展開について議論したい。

1B-10

青パパイヤの機能性成分と性別との関係性

Functional components of unripe papaya and their relationship to sexes

解良 康太, 浅田 遥香, 菊地 駿介, 齊藤 翔真, 飯嶋 益巳, 中山 勉

東農大・応用生物科学

【目的】

パパイヤはアブラナ目パパイヤ科に属する三性異株の植物である。一般に農園で栽培される場合、果実をつける両性株と雌性株が生育されることが多い。パパイヤの果実形状は性別によって異なり、両性株の果実は洋ナシ形の縦長の形状であり、雌性株は丸みを帯びた形状となる。パパイヤの未成熟果実は青パパイヤと呼ばれており、東南アジアを中心に野菜として食べられてきた。青パパイヤには完熟パパイヤにはほとんど含まれない機能性成分があることから、機能性食品、サプリメントなどへの応用に向けて注目されてきている。本研究では、青パパイヤの利用拡大に向けて、性別の異なる果実における機能性成分を比較した結果について報告する。

【方法】

同程度の成熟段階の青パパイヤについて、両性株、雌性株よりそれぞれ4個採取し、果皮、果肉、種子に分けて凍結保存した。凍結乾燥、粉末化を経て、80%メタノールによる成分抽出を行った。成分分析にはLC/Q-TOFを用いた。また、フォーリンチオカルト法による総ポリフェノール量測定、プロテアーゼ活性についても併せて検討した。

【結果】

青パパイヤに特徴的な機能性アルカロイドであるカルパインおよびその類縁体について比較したところ、雌性株由来の果皮と果肉において、カルパインの量が多い傾向があることが示唆された。また、主成分分析や階層的クラスター解析の結果、全体的な成分プロファイルとしては性別による大きな違いは見られなかった。プロテアーゼ活性についても性別間で大きな違いはなかった。結論としては、カルパインの機能性に着目した利用を考える場合において、性別を区別して果実を利用する必要があることが示唆された。

1B-11

ケシ科ハナビシソウのイソキノリンアルカロイド生合成系を制御するジャスモン酸応答性の Group IX AP2/ERF 転写因子群の解析

Analysis of jasmonate-responsive Group IX AP2/ERF transcription factors involved in the regulation of isoquinoline alkaloid biosynthesis genes in *Eschscholzia californica*

山田 泰之, 平谷 万里, 土反 伸和

神戸薬大

医薬品原料としても重要なイソキノリンアルカロイド (IQA) の生合成系は植物ホルモンであるジャスモン酸 (JA) により遺伝子発現が誘導される。我々は近年, IQA 生合成系における JA シグナル伝達機構の分子機構の解明と IQA の効率的な生産制御系確立を目的に, JA 応答性遺伝子の探索をケシ科ハナビシソウ (*Eschscholzia californica*) を用いて行った。その結果, WRKY や bHLH, AP2/ERF など複数の JA 応答性転写因子ファミリー遺伝子が選抜された。さらに, プロモーター-LUC を利用した転写誘導活性の評価を行い, 遺伝子発現制御因子の候補として 6 つの JA 応答性 AP2/ERF 型転写因子 (以下 ERF) を選抜した。本研究ではこれら AP2/ERF 転写因子群が IQA 産生に及ぼす影響を詳細に明らかにすることを目的に, 形質転換体等を用いた植物体レベルでの機能解析を行った。

6 つの候補 ERF の系統樹解析の結果, いずれの EcERF も Group IXb または IXc サブグループに属し, 他のアルカロイド生合成に関わる ERF が属する Group IXa とは異なっていた。また, 植物体の各組織における *EcERF* の発現量を調べた結果, 全て IQA が高蓄積する根で発現量が最も高く, 一部は葉での発現も高い傾向が見られた。これら *EcERF* の発現抑制株を作出し, 遺伝子発現量と IQA 蓄積量を組織別に解析した結果, *EcERF2* の抑制により地上部で蓄積が見られる IQA の減少と, 生合成遺伝子の発現低下が認められた。同様に, *EcERF16* や *EcERF17* の発現抑制株においても, 地上部 IQA の蓄積量の減少と生合成遺伝子の発現低下も認められた。さらに, IQA 以外の特化代謝生合成遺伝子の発現も変動しており, 代謝物の解析結果と合わせて EcERF 転写因子群の機能について議論したい。

1C-01

'プリンセチア' (*Euphorbia pulcherrima* × *Euphorbia coranstra*) に高頻度で生じる T-DNA 切断には逆位反復配列が関与する

Inverted repeat sequences are involved in the high frequency of T-DNA truncation in 'Princettia' (*Euphorbia pulcherrima* × *Euphorbia coranstra*)

伊藤 皓矢¹, 小岸 玲子¹, 進藤 沙弥香¹, 志茂 里菜¹, 新保 由紀子¹, 大坪 真樹¹, 松井 啓祐², 鈴木 賢一², 友松 康一², 大坪 憲弘¹

¹京都府大・院生命環境, ²サントリーフラワーズ(株)・開発部

植物の形質転換技法としてアグロバクテリウム法が現在広く利用されているが, 二つのボーダー配列 (RB, LB) に挟まれた T-DNA 領域が核内の植物ゲノムに組込まれる過程で切断が生じ, 完全長で組込まれない現象が多くの植物種で報告されている。この現象を詳細に調査した例はこれまでになく, その原因やメカニズムも明らかになっていない。そこで本研究では, この切断が高頻度で生じるポインセチアの種間雑種'プリンセチア'を材料に, 切断の配列特異性に着目して調査を行った。計 117 系統の'プリンセチア'組換え体を材料に T-DNA 領域の導入確認を行った結果, 68 系統で切断が生じていることが確認され, T-DNA 領域の途中から LB 側が欠失する傾向があることが判明した。切断は T-DNA 上の全域で見られたが, これらのうち切断頻度の高い領域で切断が生じていた系統を用いて切断位置や周辺配列をより詳細に調査したところ, T-DNA 上の切断位置直前または直後に逆位反復 (IR) 配列が存在し, 切断位置以降には T-DNA 領域の一部が逆位で挿入される例が多く見られた。これらの結果から, 植物ゲノムに組込まれる前に T-DNA 上の IR 配列が結合してステムループ構造を形成し, その領域で切断または分解が引き起こされるという新規の切断モデルを構築した。現在 IR 配列の頻度を低減させた T-DNA を導入した'プリンセチア'において切断頻度が減少するか調査しており, その結果についても報告する予定である。また, 切断位置以降に存在する植物ゲノム配列内に T-DNA 上の配列と相同な塩基基の配列が点在する傾向が確認されたため, これらの配列と T-DNA 切断との関係についても併せて調査を行っている。

1C-02

ユーストマ (*Eustoma grandiflorum*) 花卉質感関連遺伝子導入系統の作出と表皮細胞形態の調査

Generation of *Eustoma (Eustoma grandiflorum)* petal texture-related transgenic lines and investigation of their epidermal cell morphology

石田 怜子¹, 谷上 愛海¹, 池田 有理子¹, 矢野 翼², 新保 由紀子¹, 大坪 真樹¹, 足立 浩崇³, 大沼 紀子³, 藤田 和義⁴, 坂口 公敏³, 河西 崇³, 寺川 輝彦², 武田 征士¹, 大坪 憲弘¹

¹京都府立大・院・生命環境, ²インプラントイノベーションズ, ³ミヨシ, ⁴三好アグリテック

花卉質感とは「マット」「ピロード」といった言葉で表される花卉表面の特性のことを表す。四方らは、*AtbZIP44-SRDX* および *AtKNAT2-SRDX* を共導入したトレニア (*Toreniafourieri*) で花卉表皮細胞の基部が丸く変化しピロード様の質感となることを報告している (Shikata et al. 2011)。われわれは市場規模が大きく多様な品種が存在するユーストマにこの技術を適用し、バラのようなピロード様の質感を持つ品種の作出を目指している。ユーストマから単離した *EgbZIP44-SRDX* および *EgKNAT2-SRDX* をそれぞれトレニアに導入したところ、四方らと同様の形態と質感変化が観察されたことから (谷上 2022)、質感の変化が視覚的に分かりやすいユーストマの濃色品種‘ナイチンゲール’の種子親系統を用いてアグロバクテリウム法による形質転換条件の検討を行った。‘ハピネスブルー 2 型’で行った手順に基づき前培養期間と菌液への浸漬時間の検討を行ったところ、形質転換効率が最大 20%とやや低く、その後のカルスの増殖や不定芽の誘導も観察されなかった。そこで培地の植物ホルモン濃度の再検討を行い、他の系統で用いている BA 1.0 mg/L, NAA 0.1 mg/L から BA 3.0 mg/L, NAA 0.3 mg/L に変更したところ、形質転換効率が 36%まで上昇した。先行する‘ハピネスブルー 2 型’花粉親系統については、*EgbZIP44-SRDX* および *EgKNAT2-SRDX* をそれぞれ導入した系統で花卉表皮細胞の形態を観察したところ、野生型では先が細長い円錐状の形態を呈したのに対し、形質転換系統では丸みを帯びた花卉表皮細胞となる形態変化が観察された。現在これらの表皮細胞の形態変化について定量評価を進めており、それらについても報告したい。

1C-03

Advancing plant transformation techniques for studying economically related genes in wild strawberries

Chonprakun Thagun, Yutaka Kodama

C-Bio, Utsunomiya Univ.

Strawberries hold significant economic importance globally as fruit crops. However, sustainable cultivation of commercial strawberry cultivars (*Fragaria x ananassa*) faces challenges from various biotic and abiotic factors. The ancestral wild strawberry (*F. vesca*) presents a promising solution as an ideal experimental tool for investigating economically relevant genetic traits. Its simpler genetic background and compact plant size with complete sets of vegetative and reproductive organs make it conducive for preparatory research. Despite its potential, creating a stable transgenic line through genetic transformation of wild strawberries faces challenges due to laborious and prolonged plant regeneration processes. Our research aims to establish simplified protocols for transient gene expression in *F. vesca* to study the economic traits of strawberries. We then apply optimized techniques to characterize and manipulate targeted genes associated with commercially important traits in both wild strawberry and commercially important cultivars. This preliminary experimental approach not only facilitates the genetic improvement of commercial cultivars but also contributes to sustainable agro-industrial production through the judicious application of genetic engineering and gene-editing technologies.

1C-04

***Agrobacterium*-mediated genetic transformation of *Begonia x semperflorens* with betalain biosynthesis-related genes**

Karatas Ikbal¹, Masahiro Otani², Masaru Nakano²

¹Grad. Sch. Sci. Tech., Univ. Niigata, ²Faculty of Agriculture, Univ. Niigata

Betalains are tyrosine-derived plant pigments found exclusively in the order Caryophyllales and considered to have evolved to replace anthocyanins. They are generally classified into two groups: red-violet betacyanins and yellow-orange betaxanthins. Recently the betalain biosynthesis pathway has been identified and genes for this pathway have been isolated in several plant species. In the present study, we examined *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of a white-flowered cultivar of *Begonia x semperflorens* with betalain biosynthesis-related genes (DODA1 and CYP76AD1 genes) isolated from beet. Transgenic nature of regenerated plants was confirmed by PCR analysis. Apparent color alterations were observed in different organ of transgenic plants. They had brownish-olive leaves, ruby-red roots, pale-pink petals, strong-orange anthers and ruby-red seeds. Spectrophotometric analysis indicated that leaves and petals of transgenic plants contained betacyanins and betaxanthins. Quantitative real-time RT-PCR analysis showed expression of betalain biosynthesis-related genes in leaves and petals of transgenic plants. These results indicate the validity of genetic transformation with betalain biosynthesis-related genes for improving ornamental values of *B. x semperflorens*.

1C-05

複数種類のメロン品種での形質転換効率の比較

Comparison of transformation frequency in melon cultivars

太田 翔一朗¹, Ana Montserrat Martín-Hernández², 野中 聡子^{3,4}

¹筑波大・院・生物資源科学学位プログラム, ²Institute of Agrifood Research and Technology, ³筑波大・生命環境系, ⁴筑波大・筑波機能植物イノベーション研究センター

ウリ科は果菜類の中で生産量や利用量などでナス科に次ぐ大きなものであり、最も重要な蔬菜類の一つとして位置付けられている。115の属と960の種からなり、キュウリ、ズッキーニ、カボチャ、ニガウリ、スイカ、メロンなどが含まれている。中でもメロンでは、果実形質（果皮色、果肉色、追熟、食感、香など）、性表現、病害虫抵抗性などに多様な形質が見られるため、遺伝的基礎的研究の好材料として用いられている。また、豊富な遺伝資源と多様な遺伝的背景を利用して、様々なDNAマーカーが開発され、これらを利用した多様な品種が育成されている。

より効率的で迅速に変異を導入する技術としてゲノム編集技術が開発されており、メロン育種への利用も期待されている。ゲノム編集技術は形質転換技術を利用し、Casタンパク質やガイドRNAを導入し利用する。このため、様々な品種で一定の形質転換効率が得られることがゲノム編集技術の育種利用の鍵となる。メロンでは子葉外植片にアグロバクテリウムを感染させ、子葉外植片から不定芽を誘導する不定胚誘導法が利用されており、var. *cantalupensis* では、形質転換率が比較的高くゲノム編集が成功したとの報告例もあるが、そのほかの変種および品種においては報告例がほとんどない。

本研究では、形質転換効率が比較的高い var. *cantalupensis* 'Védrantais', 日本的高级マスクメロンの標準品種 var. *reticulatus* 'アールスフェボリット春系3号', スペインの標準系統である var. *inodorus* 'Piel de Sapo' について不定芽誘導法での形質転換効率を比較する。

1C-06

寄生植物コシオガマの形質転換法確立に向けた条件検討

Investigation of transformation methods for *Phtheirospermum japonicum*

柏瀬 友咲, 吉田 聡子

奈良先端大・バイオサイエンス

寄生植物は、宿主となる他の植物に侵入し、水分や栄養を奪い成長する。アフリカやヨーロッパの農地では、ハマウツボ科寄生植物が農作物に寄生し、農作物の著しい減収を引き起こしている。しかし、寄生を抑制する手段はなく、遺伝子レベルでの寄生メカニズムの解明が求められている。そこで、我々はハマウツボ科のモデル寄生植物として、コシオガマ (*Phtheirospermum japonicum*) を用いた寄生メカニズムの解明を進めている。

寄生メカニズムを解明するためには、遺伝子の機能解析ツールが必要である。現在までに、*Agrobacterium rhizogenes* による毛状根形質転換法が確立されているが、形質転換された細胞とされていない細胞が混在するキメラ根が出現することや、形質転換された毛状根を継代することができないことが問題となっている。そのため、本研究では、カルス化を介した *Agrobacterium tumefaciens* による安定的な形質転換法の確立を目指し、*A. tumefaciens* の菌株や濃度、共存培地の組成などの条件検討をおこなった。まず、コシオガマ植物片に *A. tumefaciens* を感染処理したところ、接種部位が過敏に反応し、褐変後枯死する傾向が見られた。そこで、カルス誘導培地で植物片を短期間前培養する回復処理や、アグロバクテリウム感染時に用いる液体培地の Sucrose 濃度の検討を行った。その結果、褐変を防ぎ、形質転換されたカルスを高効率で得ることができた。現在は、形質転換カルスから不定根および植物体を再分化させるための条件検討をおこなっている。

1C-07

アグロバクテリウム法による虫こぶ形成植物ヌルデ (*Rhus chinensis*) の効率的な形質転換系の確立

Establishment of efficient *Agrobacterium*-mediated transformation system for the insect gall-forming plant *Rhus chinensis*

塗木 彩花¹, 藤井 祐都², 大坪 憲弘²

¹京都府大・生命環境, ²京都府大・院生命環境

虫こぶを形成する寄生昆虫が寄主植物の形態や生理的機構を自在に操る能力は、新たな植物改変技術として活用できる可能性がある。ヌルデ (*Rhus chinensis*) はヌルデシロアブラムシ (*Schlechtendalia chinensis*) の寄生により不定形な袋状の虫こぶを形成する。昨年 Yang らによりヌルデの組織培養系の報告がなされたが、形質転換系は未だ確立されていない。本研究では虫こぶ研究素材としての寄主植物の機能改変を目的として、アグロバクテリウム法によるヌルデの形質転換系の構築を試みた。葉、葉柄、根の切片を材料に 5 種類のアグロバクテリウム除菌薬剤 (CBPC, CTX, MEPM, VCM, TIM) についてカルス誘導に与える影響を調査した結果、250 mg/L CBPC ではカルス増殖の促進効果が観察され、植物の生育にも影響を与えないことがわかった。次にカルス誘導培地における非形質転換体の選抜薬剤耐性を調査したところ、Hygromycin については 20 mg/L で植物を確実に枯死させたのに対し、Kanamycin では 400 mg/L でもカルス増殖が抑制できなかった。以上の結果を踏まえ、前培養後の外植片に OD600=0.8 の菌液を 10 分間接種後 3 日間共存培養し、さらに 500 mg/L CBPC 添加培地で 5 日間回復培養を行った後 250 mg/L CBPC と 20 mg/L Hyg で選抜培養を行うことを基本条件とした。この条件における前培養期間と培地のホルモン組成を検討した。CpYGFP を高発現するベクターを導入したアグロバクテリウム EHA105 株を接種し、前培養期間 0, 3, 5 日間、培地ホルモン組成 2 セット (2.0 mg/L BA と 0.5 mg/L NAA, 0.2 mg/L と 1.0 mg/L 2,4-D) で形質転換効率を比較した。この過程で形質転換カルスを取得して植物体の再生を進めているので、併せて報告する。

1C-08

ヒノキにおける遺伝子組換え系の効率化とゲノム編集の試み

Optimization of the genetic transformation system and genome editing attempts in Hinoki cypress

小長谷 賢一¹, 七里 吉彦¹, 平尾 知士², 楠本 大³, 谷口 亨¹

¹森林機構・森林バイオ, ²森林機構・林木育種セ, ³東京大・院農学生命科学

ヒノキは日本の人工林面積のうち約 2.5 割を占めており、スギに次いで主要な造林樹種となっている。近年、ヒノキゲノムが解読され、分子育種や遺伝子の機能解析に基づく有用形質発現のメカニズム解明が期待されている。特に近年社会問題化している花粉症に対し、無花粉等の形質は重要な育種目標である。そこで我々は、育種年限の短縮化や逆遺伝学的な解析ツールの基盤構築を目的として、ヒノキにおけるゲノム編集技術の開発を試みた。

ヒノキのゲノム編集に必要な遺伝子組換え系は谷口らにより報告されているアグロバクテリウム法を基盤とし、効率化を行った。まず、ヒノキ精英樹の 11 家系より不定胚形成細胞をそれぞれ複数系統樹立し、スギの緩速予備凍結法に準じた方法により凍結保存を行った。不定胚形成能の高い家系の異なる 4 細胞系統を供試材料とし、GFP 遺伝子を可視化マーカーとして、ペーパーウィックによるアグロバクテリウムとの共存培養法の効果を検証した。その結果、GFP 蛍光を有する組換え細胞が 1 g の供試細胞あたり約 20~180 系統と高い効率で得られ、これらは不定胚を經由して植物体に再生した。一方、共存培養を従来法である固形培地とした場合は組換え系統は得られなかった。次に改良法を用いて、スギで確立している CRISPR/Cas9 システムによる Mg-キラターゼ遺伝子を標的としたゲノム編集ベクターを導入した。得られた組換え細胞についてフラグメント解析による変異解析を実施した結果、50%以上の効率で bi-allelic 変異と推定される変異系統の獲得に成功した。現在詳細な解析を進めており、これらの結果についても報告する。

1C-09

トウヒの不定胚培養および形質転換基盤技術の構築

Establishment of embryonic masses culture and transformation fundamental technology for Spruce

井上 夏実, 矢野 翼, 寺川 輝彦

株式会社インプラントイノベーションズ

ドイツトウヒ (*Picea abies*) は中央および北ヨーロッパを原産とするマツ科の常緑樹で経済的、生態学的にも重要な針葉樹の一つである。特に建築用材や製紙用パルプ材、楽器、家具材として広く使われているため様々な環境下での大量栽培・生産が必要とされており海外でも活発に研究が行われている。日本では東北や北海道で、防風防雪効果のある樹木として植栽されているほか、身近には公園での植栽やクリスマスツリーとしても利用されている。一方で、世界的な気候変動に対して木本類の CO₂ 吸収固定化能力を強化することは環境再生にも貢献できる。しかし、木本類の遺伝子操作技術は限られていることもあり、今後遺伝子組換えやゲノム編集による育種に適用できる基盤技術が必要となる。最初に、トウヒの不定胚培養・再分化系の確立を行った。球果(森林総研東北育種場からの分譲)から未熟種子を取り出し、エンブリオジェニックカルスおよび不定胚形成条件、特に植物ホルモン濃度と培地組成の最適化を行った。その結果、低率ではあったものの未熟種子から pro-embryonic masses (PEMs) が形成できた。次に PEMs から不定胚形成、さらに植物体への再生条件について検討し、ABA および PEG 添加の有効性を見出した。その結果、既知 *Picea* 属の培養プロセスを基に新たな最適条件を確立することができた。最後に、PEMs への遺伝子導入法としてアグロバクテリウム法と直接導入法を用いた、蛍光発現プラスミドの導入条件の検討を行った。今後、形質転換による有用形質の付与や、ゲノム編集系の構築を目指す。

1C-10

根の表皮と維管束でリン酸トランスポーターを協調的に過剰発現させたシロイヌナズナの成長とリン酸吸収

Growth and phosphate absorption of Arabidopsis plant dominantly overexpressing a phosphate transporter in root epidermis and vascular bundle tissue

多田 雄一^{1,2}, 清水 碧¹

¹東京工科大・応用生物, ²東京工科大・食と農の未来研究センター

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

我々は、コムギのリン酸トランスポーター TaPT2 をシロイヌナズナの根の表皮 (AKT1 プロモーター)、または維管束 (AtHKT1;1, SKOR プロモーター) 特異的に過剰発現させることで、構成的 (CaMV35S プロモーター) に発現させた場合には見られない成長促進が通常リン酸条件でも、低リン酸条件でもみられることを報告した (Noike et al. 2023, 多田ら 2023 第 40 回日本植物バイオテクノロジー学会大会)。さらに、維管束特異的に過剰発現させた場合には、低リン酸条件によってはシュートのリン酸含量と根の全リン含量が増加した。特に、SKOR プロモーター組換え体は導管液のリン酸濃度が WT と比較して高かった。種子の全リン含量も高まった。

本講演では、AKT1-TaPT2 組換え体と SKOR-TaPT2 組換え体を交配して二重組換え体を作製し、成長とリン酸吸収・利用に与える影響を調べた。二重組換え体の乾物重は、通常リン酸条件でも低リン酸条件でも WT と差がなく、AKT1-TaPT2 組換え体や SKOR-TaPT2 組換え体に比較して小さかった。また、二重組換え体のシュートと根のリン酸含量も WT と差はなかった。今後、全リン含量と種子のリン酸、全リン含量を測定する予定であるが、これまでの解析では二重組換え体では、TaPT2 によるリン酸利用効率の向上が消失した。これらの結果から、植物のリン酸の輸送と利用は精密に制御されており、リン酸トランスポーターの構成的な発現や多組織での共発現は成長に有利な結果をもたらさないことが示された。

1C-11

サイトカニン合成酵素遺伝子を用いたイントラジェネシスによる稲わらの糖化性の向上

Enhancement of saccharification yields from intragenic rice straws with a senescence-inducible cytokinin biosynthesis gene

西村 帆貴, 三浦 佳乃, 伊藤 幸博

東北大・農

バイオマスを原料に化成品や燃料を製造することをバイオリファイナリーという。バイオリファイナリーは植物を原料としたカーボンニュートラルな技術であり、化石資源の枯渇や地球温暖化が問題となっている現代において重要な技術と考えられる。そこで、本研究では酵素糖化性が高いイネを作出し、有用なバイオリファイナリーの原料とすることを目的としている。稲わらは老化に伴い糖化性が低下することが知られている。そこで老化期特異的な SGR プロモーターでサイトカニン合成酵素遺伝子 LOG を発現させることにより老化を抑制し、糖化性が高い状態を維持できるのではないかと考え、この遺伝子を導入したイントラジェニックイネの作出と解析を行った。遺伝子導入の選抜マーカー遺伝子もイネ由来の除草剤耐性遺伝子を用いており、導入した配列は全てイネ由来である。導入した LOG の発現を RT-PCR で調べたところ、一部の系統で老化期特異的な LOG の発現が見られた。稲わらの糖化性を調べたところ葉身と葉鞘において糖化性の向上が見られ、特に葉鞘では 6 系統中 3 系統で野生型と有意な差を示した。また、サイトカニンによって誘導される OsRR9 遺伝子の発現を RT-PCR により調査した結果、老化期において LOG 導入個体の半数以上が野生型よりも強い発現をし、サイトカニン含量が増加していることが示唆された。以上の結果、サイトカニン合成酵素遺伝子を用いたイントラジェネシスにより、稲わらの糖化性を向上させることが可能と考えられた。

1C-12

稲わら糖化性の品種間差を決める遺伝子候補の過剰発現による絞り込み

Screening of a gene that determines saccharification yields from rice straws by overexpression of the candidates

山口 万優子, 小野 彩花, 伊藤 幸博

東北大・院農

バイオマスの有効活用は持続可能な社会の実現にとっても重要であり、中でも未利用のセルロース系バイオマスの活用が期待されている。しかし、これらは構造が非常に強固なため分解（糖化）に大きなコストがかかることが課題である。稲わらの糖化性には品種間差があり、3番染色体長腕の領域がカサラスに置き換わったコシヒカリは糖化性が向上する。本研究では、その領域に存在する高糖化性候補遺伝子の絞り込みを行った。

高糖化性遺伝子をマッピングしたところ、3番染色体長腕の近接する2つの領域がカサラス由来の場合に稲わら糖化性が向上することが分かった。この領域には計147個の遺伝子が存在し、RT-PCRによりコシヒカリよりカサラスでの発現が強い遺伝子をそれぞれ4個（遺伝子A-D）と6個（遺伝子E-J）選抜した。近接する2つの領域が共にカサラス由来であったときに糖化性が向上するが、各領域で1遺伝子ずつと仮定してもその組み合わせは $4 \times 6 = 24$ 通り存在する。全ての組を調査することは困難であるため、単独でも過剰発現させれば糖化性が向上することを期待し、カサラス由来遺伝子をユビキチンプロモーターと繋げてコシヒカリに導入し、10遺伝子の過剰発現体の作出を目指した。

遺伝子D過剰発現体は2系統、遺伝子G過剰発現体は3系統、遺伝子J過剰発現体は10系統の作出が完了した。遺伝子G過剰発現体と遺伝子J過剰発現体では根元から大きく垂れ下がる表現型を示す個体が多かった。遺伝子J過剰発現体は空ベクター導入個体と比較して草丈が高い傾向が見られた。

これらの表現型は細胞壁の構造変化との関連が予想されるため、今後は糖化性を評価するとともに細胞壁の構造観察を実施する予定である。

1D-01

時系列トランスクリプトームに基づくチャ休眠芽のフェノロジー制御機構の解析

Time-series transcriptome reveal the phenological regulation for bud dormancy release in tea plants

大貫 真弥¹, 川木 純平², 小嶋 美紀子³, 竹林 裕美子³, 榊原 均^{3,4}, 永野 惇^{5,6}, 一家 崇志^{7,8,9}, 山下 寛人^{7,8}

¹静岡大学大学院農学専攻, ²静岡県茶業研究センター, ³理化学研究所環境資源科学研究センター, ⁴名古屋大学大学院生命農学研究所, ⁵龍谷大学農学部, ⁶慶應義塾大学先端生命科学研究所, ⁷静岡大学学術院農学領域, ⁸静岡大学ティーサイエンス研, ⁹静岡大学グリーン研

樹木特有である芽の休眠は、木本作物の農業生産に直結する重要なフェノロジー形質である。チャの一番茶新芽は冬季から春季にかけて休眠移行/覚醒が起こり、萌芽後に生育した新芽が収穫される。つまり、チャ側芽の休眠特性は、新芽収穫の時期を決定する重要形質であるが、この特性の制御機構の理解は進んでいない。そこで本研究では、チャ休眠芽の覚醒過程におけるトランスクリプトーム情報を取得し、そのフェノロジー制御機構を解析した。

休眠期から覚醒・萌芽期に至る11月-4月において、1-2週間おきにチャ側芽を採取し、RNA-seqを行った。冬季から春季の変化に応じた発現プロファイルの主成分分析により、チャ休眠芽のフェノロジーは発現レベルで説明可能であることが示唆された。また、植物ホルモン応答性遺伝子の発現パターンを解析したところ、休眠覚醒においてアブシシン酸は負、ジベレリンとオーキシンは正の制御に働くことが示唆された。現在、これら植物ホルモンの内生量の測定を進めている。一方、植物ホルモン依存的な休眠覚醒制御に関わる鍵転写因子であるAP2/ERFファミリー遺伝子の多くは、冬季から春季にかけて発現減衰を示した。これは、休眠覚醒のpositive regulatorであるAP2/ERFファミリーのEARLY BUD BREAK (EBB) 遺伝子 (Azeez et al., 2021. *Nat. Commun.*) とは対照的な発現挙動だった。したがって、チャでは既知の制御機構とは異なり、AP2/ERF オーソログ遺伝子は休眠覚醒に対するnegative regulatorとして機能している可能性が考えられた。

1D-02

GLVにより誘導されるストレス耐性候補因子 CaM および CML の探索

Investigation of CaM and CML as stress tolerance candidate factors induced by GLVs

伊澤 真由子¹, 本庄 三恵², 工藤 洋², 水谷 正治¹, 杉本 幸裕¹, 山内 靖雄¹

¹神戸大・院農, ²京大・生態研

植物はストレスを受けると VOCs (揮発性有機化合物) を放出し, それを非ストレス環境下の植物体が吸収しストレス耐性を上げる現象が知られている。放出される VOCs の中でも C6 アルデヒド, アルコールとそのエステル化合物である GLVs (みどりの香り) は急速に生成され, 植物間情報伝達物質として注目されている。シロイヌナズナにおいて(E)-2-Hexenal (2HAL) の曝露は熱ストレス応答遺伝子を誘導し熱ストレス耐性を上げる。また細胞質 Ca²⁺濃度を増加させ, それは防御応答遺伝子の誘導に必須である。細胞質 Ca²⁺濃度の可視化に GCaMP3 が用いられるため, 2HAL による熱ストレス耐性向上に典型的な Ca²⁺センサーである CaM (Calmodulin) と CML (Calmodulin-like protein) の関与が示唆された。本研究では GLVs によるストレス耐性向上に寄与する CaM と CML の探索を目的とした。

シロイヌナズナ野生株 Col-0 に GLVs (2HAL, (Z)-3-Hexenal (3HAL), (Z)-3-Hexenol (3HOL), (Z)-3-Hexenyl acetate (3HAC)) を曝露した個体を RNA-Seq に供した。GLV 種により誘導される遺伝子の構成は異なっていた。2HAL でのみ誘導される遺伝子は主に低酸素応答, 酸化ストレス応答, 熱ストレス応答, 病原菌応答に, 3HAL でのみ誘導される遺伝子は主にプログラム細胞死の阻害に, 3HOL でのみ誘導される遺伝子は主に脂質輸送に, 3HAC でのみ誘導される遺伝子は主にグルコシノレート生合成に関与していた。また GLV 種により誘導される CaM と CML の構成も異なると明らかになった。現在は 2HAL でのみ誘導される CaM と CML の欠損変異体の作出を進めており, 変異体に 2HAL を曝露した際の熱ストレス応答マーカー遺伝子の発現変動についても併せて報告したい。

1D-03

立体構造予測に基づいたシロイヌナズナ 2-hexenal 受容体候補タンパク質の情報伝達に必要な領域の同定

Identification of Regions Required for Signaling in Arabidopsis 2-hexenal Receptor Candidate Proteins Based on 3D Structure Prediction

松井 一弘, 乾 智晴, 水谷 正治, 杉本 幸裕, 山内 靖雄

神戸大・院農

GLV (Green leaf volatile, 緑葉揮発性化合物) の 1 つである 2-hexenal は植物の酸化ストレス応答に関わる揮発性有機化合物であり, 2-hexenal を処理されたシロイヌナズナでは酸化ストレスのマーカー遺伝子である ZAT10 の発現誘導が 5 分後に開始する。他の GLV ではこの応答がないことから, 2-hexenal に特異的な受容体の存在が示唆されており, これまでに Cand8 という受容体候補タンパク質がスクリーニングされている。Cand8 は in vitro の実験でシロイヌナズナ G タンパク質の α サブユニットである GPA1 との相互作用が知られているので, 本研究では Alphafold を用いて Cand8 と GPA1 の構造的特徴と, それらの相互作用すなわち 2-hexenal シグナル伝達に不可欠と考えられる部位を推測した。その結果, Cand8 は動物型 7 回膜貫通型タンパク質である GPCR の GPR175 とプロスタグランジン E2 受容体 EP3 サブタイプ (EP3) と立体構造の特徴が類似していた。動物の GPCR では細胞内 loop3 と G タンパク質との相互作用のシグナル伝達への関与が知られている。Cand8 の loop3 は GPR175 や EP3 と立体構造だけでなくアミノ酸配列もほぼ相同なことから, Cand8 でも機能上重要な部位であると示唆された。また, C 末端部分も相互作用の際に機能していると知られている。そこで, それらの部位を欠損させたタンパク質を発現したシロイヌナズナを作製し 2-hexenal に対する応答を調べると, ZAT10 の発現誘導能は失われた。このことから, Cand8 の細胞内 loop3 と C 末端部分はシグナル伝達に必要な領域であると結論付けられた。そして, Cand8 細胞内 loop3 は塩基性アミノ酸に富んでおり, この領域が GPA1 の酸性アミノ酸に富んだ N 末端領域と相互作用するのではないかと考えられる。

1D-04

ダイズにおけるホメオドメインタンパク質 BLH6 の分子機能の解明

Elucidation of Molecular Function of the Homeodomain Protein BLH6 in Soybean

佐藤 萌¹, 菅波 眞央², 渡辺 正夫³, 松岡 信², 小島 創一¹

¹東北大学大学院農学研究科, ²福島大学食農学類附属発酵醸造研究所, ³東北大学大学院生命科学研究所

ホメオドメインタンパク質 BLH6 は、シロイヌナズナにおいて転写因子 KNAT7 と相互作用し、そのヘテロ複合体が転写因子 REV のプロモーター活性を抑制することで、植物の形づくりを制御する (Liu et al. 2014)。ダイズにおいて、BLH6 の機能は明らかにされていないが、我々は NARO ジーンバンクの日本、世界のコアコレクションを含む 300 系統超の福島ダイズパネルの中で、海外のダイズは機能型を持つものに対し、日本ダイズの多くは 1 塩基欠失のフレームシフト変異による機能欠失型を持つことを見出した。本研究では、ダイズでも BLH-KNAT の相互作用がシロイヌナズナと同様に保存されているか検証し、BLH6 の機能欠失がダイズの形態形成に及ぼす影響を明らかにすることを目指した。まず、酵母 2 ハイブリッドにより相互作用能力を評価した。シンテニーを考慮しながらシロイヌナズナ KNAT7 のカウンターパートとなるダイズ KNAT を選抜し、機能型 BLH6 を持つ William 82 の根や葉から調製した cDNA を鋳型として BD ベクターへクローニングした。機能型 BLH6 を持つ品種 William 82 から調製したゲノムを鋳型として、BLH ゲノムをクローニングし、次に BLH ゲノムを鋳型として BLH コーディングシーケンスを取得し、AD ベクターへクローニングした。酵母 2 ハイブリッドアッセイの結果、相互作用依存的なレポーター活性が検出されたため、BLH-KNAT 間の相互作用はダイズでも保存されていることが示唆された。

1D-05

活性酸素種生成を指標にした深層学習による新規抵抗性誘導剤のバーチャルスクリーニング手法

Novel in silico screening system for plant defense activators using deep learning-based prediction of reactive oxygen species accumulation

西尾 大樹¹, 佐藤 暁², 古川 貴大², 小越 将行¹, 朽津 和幸³, 水野 秀之¹, 来須 孝光¹

¹公立諏訪東京理科大・院・工, ²公立諏訪東京理科大・工, ³東京理科大・創域理工・生命生物学

現在、抵抗性誘導剤の開発頻度は極端に低下しており、従来の目視や特定タンパク質の活性調節とは異なる新規探索手法の開発が望まれている。我々は、多様な生理作用を持つ活性酸素種 (ROS) に着目し、タバコ培養細胞 BY-2 の感染シグナル誘導性 ROS 活性と化合物 1 万点の化学的特徴量を組み合わせた深層学習による ROS 制御剤のバーチャルスクリーニング手法を構築し、700 万点の商用データベースから得られた既存剤と類縁特徴を持つ化合物群を 8,000 点以上選抜した。無作為抽出した 37 点の化合物について BY-2 株を用いた感染シグナル誘導性の ROS 実測を行った結果、16 点が ROS 制御剤として確認された (Kogoshi et al., 2023; Plant Methods, Vol.19:e142)。この結果は、バーチャルスクリーニング探索手法の初期探索における有用性を示唆している。本手法から選抜され、タバコ BY-2 株やシロイヌナズナそしてタバコ幼苗を含む複数の植物種で高 ROS 活性を示す化合物 8 点について、シロイヌナズナ幼苗を用いた ROS シグナル、サリチル酸 (SA)、ジャスモン酸 (JA) を含めたマーカー遺伝子群による発現解析を行った。多くの化合物群において ROS シグナルの変動が観察され、一部の化合物群では、既存の抵抗性誘導剤である ASM と異なる発現変動パターンを示した。本発表では、これらの結果について化合物の作用点を含めて検証するとともに、ROS 制御剤のバーチャルスクリーニングの活用についても議論したい。

1D-06

トコンの植物体再生初期におけるサイトカイニン生合成に関する解析

Analysis of cytokinin biosynthesis on early stages of plant regeneration in ipecac

岡崎 夏鈴¹, 片野 亘¹, 柴田 恭美², 山口 勝司³, 重信 秀治³, 朝比奈 雅志^{2,4}, 小柴 和子¹, 下村 講一郎¹, 梅原 三貴久¹

¹東洋大・院生命科学, ²帝京大・理工・バイオ, ³NIBB・トランスオミクス解析室, ⁴帝京大・先端機器分析センター

トコン (*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson) の不定芽は、植物ホルモン無添加の培地に切断した節間を置床するだけで簡単に形成され、しかも節間切片の茎頂側の表皮に形成される。節間切片の茎頂側では、不定芽形成開始前にサイトカイニン (CK) 生合成遺伝子の発現が亢進し、内生 CK 量が増加する。これらのことから、植物ホルモン無添加での不定芽形成の誘導には、CK 生合成の開始が重要な役割を持つと考えられる。不定芽形成中における CK 生合成の制御機構を明らかにするため、本研究では、トコンの節間切片における CK 生合成の遺伝子発現解析およびその転写因子の探索を行った。

まず、トコンの不定芽が表皮に形成されることから、髄を含まない表皮組織だけでも不定芽が形成されるかどうかを調べた。表皮組織片のみでは CK 生合成遺伝子の発現量および内生 CK 量が減少しており、不定芽は形成されなかった。節間切片における CK 生合成遺伝子の発現部位を調べた結果、*ISOPENTENYLTRANSFERASE3* (*CiIPT3*) の発現は髄、*LONELY GUY7* (*CiLOG7*) の発現は表皮に局在していたことから、CK 前駆体が髄で生合成され、それが表皮へ輸送される。その後、表皮で活性型 CK に変換された場所で不定芽形成が起こると推測される。

次に、*CiIPT3* および *CiLOG7* の転写因子を探索するため、培養初期の節間切片について、経時的な RNA-seq 解析を行った。*CiIPT3* および *CiLOG7* の発現パターンとそれぞれ同じクラスターに分類された遺伝子のうち、シロイヌナズナの *IPT3* および *LOG7* の転写領域に結合配列を持つ転写因子が、それぞれ 4 個ずつ存在した。これらの転写因子を *CiIPT3* および *CiLOG7* の転写制御因子の候補とし、今後解析を進める。

1D-07

極矮性イネ「京のゆめ」の解析

Analysis of an extremely dwarf rice variety "Kyo no Yume"

寺迫 鷹¹, 佐藤 壮一郎¹, 増村 威宏^{1,2}, 森田 重人^{1,2}

¹京都府立大院・生命環境, ²京都府農技セ生資セ

イネ種子の持つ貯蔵機能は、ワクチン抗原などの有用タンパク質生産のプラットフォームとして有望である。しかし現状では、遺伝子組換え生物の規制があるため組換え体を屋外で大規模に栽培するのは困難である。そこで我々は、植物工場などの屋内施設で多数の個体を栽培可能な極矮性イネに着目した。当研究室では、草丈が 20cm 程度の極矮性品種である「京のゆめ」を保有している。既存の極矮性イネ系統ではジベレリン生合成系が欠損していることが知られているが、「京のゆめ」の矮性の原因遺伝子は不明であり、生育特性についても不明な点が多いため、本研究ではそれらの解明を目的とした。

「京のゆめ」のゲノム DNA の次世代シーケンズ解析を行い、ジベレリン生合成系遺伝子の配列を調べた。その結果、*D18* (*GA3ox2*) 遺伝子に 17bp の欠失によるフレームシフト変異が見られた。このことから「京のゆめ」はジベレリン欠損系統であることが示唆された。また「京のゆめ」にジベレリン応答性があるのかを調べるために、播種 10 日後の芽生えを 1 μ M または 10 μ M GA_3 で 4 日間処理し、シュートと根の伸長を測定した。その結果、シュートは 1 μ M GA_3 で、根は 10 μ M で有意に伸長していた。さらに、播種 8 日後の個体を土に移植し 0.2 μ M または 1 μ M GA_3 存在下で栽培し、長期的な影響を調べたところ、いずれの GA_3 濃度でも有意に草丈が上昇していた。以上のことから、「京のゆめ」は草丈と根に関して、ジベレリン処理に対して応答することが示された。

1D-08

葉面積制御に伴うオーキシン量の一過的上昇は代謝ネットワークを介したインドールグルコシノレートの分解によって引き起こされる

Transient accumulation of auxin levels with leaf size control is driven by degradation of indole glucosinolates via metabolic networks

多部田 弘光^{1,2}, 古賀 皓之³, 佐藤 心郎¹, 塚谷 裕一³, Ali Ferjani², 平井 優美^{1,4}

¹理研CSRS, ²学芸大・教育・生命, ³東大・院・理, ⁴名大・院・生命農学

細胞数と細胞サイズにより決定される葉面積は、光合成効率を介して作物の生産性にも影響を与えている。有限成長の器官である葉の面積は、通常ほぼ一定に保たれているが、細胞分裂能が低下した場合、葉肉細胞の顕著な肥大によって葉の面積が補われる現象である補償作用が起こる。補償作用は、器官形成における細胞の数とサイズの協調性制御を解明する鍵として注目されてきた。

これまで我々は、補償作用を示す *fugu5* 変異体の解析により、発芽時の代謝異常が分裂能の低下をもたらすこと、また、代謝異常自体がシグナルとなりオーキシン量を一過的に増加させることで補償的な細胞肥大が生じることを明らかにした。よって現状では、葉面積の協調は代謝ネットワークの制御下にあると考えられるが、その詳細については未解明のままである。そこで本研究では、葉面積制御機構の解明を目的に、メタボロミクスによる上述の代謝ネットワークの解明を目指した。

一括学習自己組織化マップ法による代謝物クラスタリングの結果、上述のオーキシン量の増減と類似した変動パターンを示す代謝物の同定に成功し、HAF8 と名付けた。次に、HAF8 に焦点を置いた相関ネットワーク解析を行ったところ、アブラナ科特有の特化代謝産物であるインドールグルコシノレート (iGSL) が同調的に増減することを見出した。また、トランスクリプトミクスと遺伝学的解析より、iGSL の分解酵素 PYK10 とその下流で働くオーキシン変換酵素 NSP1 が補償的な細胞肥大に寄与することが明らかになった。以上より、代謝ネットワークの変化によりオーキシン合成が活性化すること、そして iGSL が葉面積制御に資するオーキシンの供給源として働くことが示唆された。

1D-09

ダイズ SUMO プロテアーゼのミスセンス変異と SUMO サイクルの解析

Missense mutations in soybean SUMO protease and the SUMO cycle

桑原 渚¹, 菅波 眞央², 渡辺 正夫³, 松岡 信², 小島 創一¹

¹東北大学大学院農学研究科, ²福島大学食農学類附属発酵醸造研究所, ³東北大学大学院生命科学研究所

SUMO (small ubiquitin-like modifier) は基質タンパク質の翻訳後修飾に関与する。SUMO 化は基質タンパク質と他のタンパク質間の相互作用、細胞内局在、構造変化による安定性や活性を制御する。SUMO 化は SUMO プロテアーゼ (ULP) による周期的なプロセスである。ULP は基質から SUMO を切断して SUMO を遊離するとともに、未成熟な SUMO の C 末端からペプチドを切り出して成熟させる。酵母ゲノムは二つの ULP をコードし、ULP1 の欠損は致死である。シロイヌナズナゲノムは 8 つの ULP をコードする。ULP2 に相同性が高く、生殖に関わる分子種が SPF と命名されている。SPF は主に生殖器官で発現し、その欠損は生殖機能や発達の異常を引き起こす (Liu et al. 2017, Castro et al. 2018)。SPF 変異体は基質タンパク質と結合している SUMO を蓄積し、SUMO サイクルが不全となる。SPF1 の基質タンパク質として、花粉と胚の発達に必須の 3-phosphoglycerate dehydrogenase (EDA9) が発見されている。我々は大部分のダイズ品種はシロイヌナズナと同様の SPF を持つ一方、一部の品種の SPF には一塩基置換によるミスセンス変異が見られることを見出した。本研究は (1) ダイズ SPF がシロイヌナズナ SPF 変異体を相補できるか、(2) SPF-EDA9 相互作用が変異によってどう変化するかを論じる。

1D-10

トマトリポカリンの植物ホルモンに対する応答

Response of lipocalin to phytohormones in tomato

小久保 祥子¹, 富安 美玖², 松井 真宙³, 本橋 令子^{1,2,3}

¹静岡大・創造科学技術大学院・バイオサイエンス専攻, ²静岡大・院総合科学技術研究科・農学専攻, ³静岡大・農学・応用生命科学

先行研究において、クロモプラスト分化や果実成熟に関するタンパク質を調べるために果実色の異なる3種のトマトの果実中のプラスチドタンパク質を抽出して二次元電気泳動で分離したところ、果実色によってその等電点や質量が異なるという特徴を示した1つのタンパク質スポットがリポカリン (Temperature induced lipocalin; TIL) であった。

リポカリンは、動物や植物、昆虫など広範囲に渡り存在するタンパク質であり、疎水性小分子の輸送、免疫や発達過程調節に重要な役割を果たしており、様々なストレスへの応答やシグナル伝達に関与していることが分かっている。トマトリポカリンは TIL1, TIL2 の2コピーが存在し、両者間のアミノ酸配列相同性は約84%と高かった。加えて、各リポカリン遺伝子の上流1kbpのプロモーター領域のシスエレメント解析を行なった結果、温度や乾燥ストレスなどの非生物的ストレスに応答するシスエレメントが確認され、発現解析の結果、TIL1は低温、塩、活性酸素ストレスにて発現量が増加した。

そこで本研究では、'Micro-Tom'を用いて、植物ホルモンであるエチレン、病害や虫害応答時に合成されるジャスモン酸、ABA等を外的に処理することによって、リポカリンの植物ホルモンへの発現応答を調査し、リポカリンの機能を明らかにすることを目的に試験を行った。結果、幼葉に外的にエチレンを処理すると TIL1 の発現が増加し、ABAを処理すると TIL2 の発現が増加する傾向があった。植物ホルモンの種類によって TILs の発現応答が異なり、リポカリンの植物ホルモンに対する応答を通じた果実成熟のメカニズムについて報告する。

1D-11

ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrium patens*) におけるペルオキシダーゼ Prx34 の機能に関する研究

Studies on the function of Prx34, a peroxidase from *Physcomitrium patens*

中 雄輝¹, 秋田 求²

¹近大・院生物理工, ²近大・生物理工

クラスIIIペルオキシダーゼ (EC: 1.11.1.7) は、主に、活性酸素種 (ROS) の生成と除去を行い、防御反応や細胞壁の調節およびそれらに関連するシグナルの伝達に重要な役割をもつ。私たちは、モデル植物ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrium patens*) のクラスIIIペルオキシダーゼである Prx34 に注目してきた。Prx34 は、ヒメツリガネゴケ培養液にキトサンを加えると、迅速に培養液中へ放出され、また、糸状菌に対する抵抗性に重要な役割を担うことが報告されている。ヒメツリガネゴケ野生株 (WT) の茎葉体培養液にキトサン、グルコサミン、N-アセチルグルコサミンを加えたときの過酸化水素の生成を DAB 染色により観察した。WT では、グルコサミンとキトサン処理時のみで染色されたが、*prx34* 遺伝子を破壊した Prx34^{KO} 株では、全ての処理区で染色された。可溶性ペルオキシダーゼ活性測定結果とあわせて、Prx34 がヒメツリガネゴケにおける主要なペルオキシダーゼであると考えられた。野生株茎葉体へのキトサンやグルコサミン処理により ROS は放出されるが、Prx34 は放出されないことから、Prx34 によって生成される ROS は Prx34 の放出を誘導するものではないことがわかった。しかし、キトサン添加時に Prx34 が迅速に培地中へ放出される機構については明らかでない。EGFP ラベルした Prx34 を Prx34^{KO} 株に導入し、Prx34 の細胞内局在性や、N 末端のシグナル様配列の役割を調べた。その結果、Prx34 はアポプラストに局在し、Prx34 のシグナル様配列は、この局在に必要なことがわかった。

1D-12

シロイヌナズナにおいて揮発性ホモテルペンが誘発する生理応答の解析

Analysis of physiological responses induced by volatile homoterpenes in *Arabidopsis thaliana*

藤井 咲紀¹, 豊田 正嗣², 水谷 正治¹, 杉本 幸裕¹, 山内 靖雄¹

¹神戸大・院農学, ²埼玉大・院理工学

生物的または非生物的ストレスを受けた植物が放出した揮発性有機化合物 (Volatile organic compounds : VOCs) を、近隣のストレスを受けていない植物が受容して防御応答を行うという植物間コミュニケーションが知られている。揮発性ホモテルペンである(E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (DMNT) は、植物の傷害時に放出が有意に増加し、害虫に対する忌避効果を示すことで防御応答を誘発することが知られている。しかし、植物における DMNT の受容および応答に関与する分子メカニズムは不明である。そこで、本研究ではモデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて DMNT の受容機構および応答反応メカニズムを解明すること目的としている。DMNT の処理濃度、密閉時間、化合物の立体が異なる条件で処理し、表現型の観察、PS II 活性の測定、q-PCR による遺伝子発現解析および GCaMP3 導入シロイヌナズナを用いた蛍光観察を行った。その結果、DMNT が情報伝達物質として機能し、生理的な応答を誘発するような揮発投与条件を確立した。今後は確立した条件において DMNT を揮発投与した植物サンプルを用い、RNA-seq による網羅的な遺伝子解析を行うことで、応答反応の解明が期待される。

2A-01

化学防御活性を強化するトマト由来 UGT91 の酵素学的解析

Enzymatic characterization of tomato UGT91 in chemical defense system

本間 駿一¹, 稲葉 環¹, 杉本 貢一², 小埜 栄一郎³, 堀川 学⁴, 豊永 宏美⁴, 塚原 壮彦¹, 藤川 紘樹⁴, 大澤 月穂⁴, 切岩 祥和¹, 松井 健二⁵, 三浦 健治², 江面 浩², 高林 純二⁶, 大西 利幸^{1,7}

¹静大院・総合科技, ²筑波大・つくば機能植物イノベ, ³サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社, ⁴サントリー生命科学財団, ⁵山口大・農, ⁶京大・生態研, ⁷静大・グリーン研

トマト栽培種 (*Solanum lycopersicum*) は、ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) に食害されると揮発性有機化合物である(Z)-3-hexenol (Hex) を大気中に放散する。放散された Hex は、未食害のトマトに取り込まれた後、香気二糖配糖体(Z)-3-hexenyl β -vicianoside (HexVic) に代謝される。HexVic はハスモンヨトウに対して成長抑制活性を示す化学防御物質である。一方、トマト野生種 (*Solanum pennellii*) における HexVic 内生量は栽培種と比べ著しく低い。発表者らは、これまでに栽培種由来糖転移酵素 UGT91R1 が HexVic の二糖目を転移させることを明らかにした (*Nature Commun.*, 2023)。本研究は、トマトの栽培種と野生種における HexVic 内生量の違いを生み出す分子メカニズムの解明を目的として、栽培種由来 UGT91R1 と野生種由来 UGT91R4 の酵素学的解析を行った。UGT91R1 と UGT91R4 の UDP-arabinose を糖供与体とした糖転移活性を比較した結果、UGT91R1 の k_{cat}/K_m 値が UGT91R4 の 4.6 倍を示した。この結果は、栽培種は糖転移活性を上昇させ、HexVic 生成能を向上させたことを示唆している。さらに、糖転移活性の上昇の要因を解明するため、UGT91R1 と UGT91R4 の 145 番目のアミノ酸である Val と Phe を相互に交換した変異体 (UGT91R4_V145F) を作製し、糖転移活性を比較した。その結果、UGT91R4_V145F は UGT91R4_WT に比べて配糖化活性が 2 倍以上に上昇した。このことは UGT91R4 の V145 が HexVic の酵素活性に寄与していることを意味しており、トマトの栽培種と野生種における HexVic 内生量の違いは、糖転移酵素の酵素活性に起因しており、その違いを生み出すアミノ酸残基を明らかにした。

2A-02

サツマイモにおける香気二糖配糖体の構造解明および生合成酵素の機能解析

Functional characterization of aroma glycoside biosynthetic enzymes in sweet potato

西山 大貴¹, 太田 信吾¹, 塚原 壮彦¹, 佐藤 浩平^{2,3}, 間瀬 暢之^{2,3}, 竹内 純^{2,4}, 轟 泰司^{2,4}, 大西 利幸^{2,4}

¹静大院・総合科技, ²静大・グリーン研, ³静大・工, ⁴静大・農

サツマイモ (*Ipomoea batatas*) は、塊根にモノテルペンアルコール (MTA) を配糖体として貯蔵する。軟腐病菌 (*Pectobacterium carotovorum*) など病原菌に感染したサツマイモ塊根は MTA を放散する。病原菌に感染したサツマイモ塊根部を用いて製造される芋焼酎は MTA をはじめとする芳香が高いことが知られている。サツマイモ塊根部には遊離の MTA がほとんど検出されていないことから、MTA が菌感染により配糖体が加水分解されて遊離した可能性が高い。しかし、サツマイモ塊根における MTA を非糖部に有する MTA 配糖体の化学構造は未同定のみであり、その生合成酵素の解明にも至っていない。そこで、本研究では、サツマイモ塊根に内生する MTA 配糖体の化学構造の同定と MTA 配糖体を生成する糖転移酵素の探索と機能解明を行った。サツマイモ塊根抽出物を LC-MS 分析に供した結果、サツマイモ塊根における主要な MTA 配糖体は、MTA を非糖部に有する二糖配糖体であることを同定した。次に、サツマイモ塊根における MTA の配糖化酵素を探索し、候補遺伝子を大腸菌異種発現によって調製し、その配糖化活性を調べた。その結果、MTA を単糖配糖化する *lbmonoUGT* および MTA 単糖配糖体を二糖配糖化する 6 分子種の *lbdiUGT1-6* を見出した。塊根外側における発現量が最も高い *lbdiUGT2* の基質特異性を調べた結果、 K_m 値が 57.4 μM 、 k_{cat} 値が 4.06 (s^{-1}) であり、トマトやチャの二糖配糖化酵素と同様の基質特異性を示すことを明らかにした。

2A-03

ブドウにおける香気配糖体の多様な糖部分を作り出す配糖化酵素の酵素学的解析

Enzymatic characterization of UDP-glycosyltransferases involved in biosynthesis of chemical diverse aroma glycosides in grape

上田 美沙紀¹, 加藤 美香¹, 勝又 章椰¹, 小埜 栄一郎², 堀川 学³, 大澤 月穂³, 藤川 紘樹³, 佐藤 浩平^{4,5}, 間瀬 暢之^{4,5}, 周藤 美紀⁶, 八幡 昌紀⁶, 杉山 啓介⁷, 奥田 徹⁷, 竹内 純^{5,6}, 轟 泰司^{5,6}, 大西 利幸^{5,6}

¹静大院・総合科技, ²サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社, ³サントリー生命科学財団, ⁴静大・工, ⁵静大・グリーン研, ⁶静大・農, ⁷山梨大・ワイン研

植物は揮発性有機化合物を香気配糖体として貯蔵し、特にチャ、トマト、サツマイモなどの主な香気配糖体は、糖部分が二糖である香気二糖配糖体である。香気二糖配糖体の非糖部は、テルペンアルコール、芳香族アルコール、脂肪族アルコールなど構造多様性を示す。一方、糖部の化学構造は植物種によって異なり、トマトでは $O\text{-}\alpha\text{-L-arabinopyranosyl-(1,6)-}\beta\text{-D-glucopyranoside}$ (vicianoside)、チャでは $O\text{-}\beta\text{-D-xylopyranosyl-(1,6)-}\beta\text{-D-glucopyranoside}$ (primeveroside) が主たる糖部である。ワインの香気成分は、ブドウ (*Vitis spp.*) 果実内生する香気二糖配糖体の糖加水分解によって主に生じる。我々はブドウ果実 (*Vitis vinifera*) における香気二糖配糖体の直接的な定量解析を行った結果、ブドウ果実成長段階において様々な糖部分を有する香気二糖配糖体が内生することを明らかにした。そこで、我々はブドウ果実における香気二糖配糖体の糖部 (glycon) の化学的多様性が二糖配糖化酵素 *VvdiUGT* の種類や基質特異性に起因すると考え、二糖配糖化酵素遺伝子 (*VvdiUGT*) の探索と酵素機能解析を行った。進化系統樹解析の結果、候補遺伝子として 6 分子種を選抜した。大腸菌発現系により酵素機能解析を行った結果、5 つの酵素が香気二糖配糖化活性を示した。また、完熟期に発現量が高い *VvdiUGT1* と *VvdiUGT2* の相対活性試験を行った結果、*VvdiUGT1* は香気単糖配糖体に幅広く配糖化活性を示したのに対して、*VvdiUGT2* の基質特異性が高いことを明らかにした。以上より、ブドウにおいて、複数の香気二糖配糖化酵素遺伝子の存在および各酵素遺伝子の基質認識の差が多様な香気二糖配糖体の貯蔵に寄与していることを示した。

2A-04

コーヒーの香り成分蓄積に関わるリナロール配糖化酵素の機能解析

Characterization of linalyl-glycosyltransferases related as a volatile compound accumulation from coffee

井田 美帆¹, 佐々木 香織¹, 川上 寛子², 水野 幸一²

¹秋田県大・院・生物資源, ²秋田県大・生物資源

コーヒー豆の優劣を決める重要なファクターの一つである特有の芳香の主成分として、テルペン類が挙げられる。これらテルペン類は、植物体内での生成後は揮発性であるため速やかに大気中へ放出されるが、一部は配糖化を受け蓄積している。チャでこの配糖化は、第一段階目は UDP-glucose glycosyltransferase : UGT が、第二段階目は Glycoside-specific glycosyltransferase : GGT が触媒し、二配糖体として蓄積していることが報告されている。本研究では *Coffea arabica* におけるテルペン類の配糖化を担う酵素遺伝子の網羅的解析を進め、それら揮発性物質の植物体内における蓄積のメカニズムを明らかにする。まず配糖化酵素群の遺伝子を単離し、大腸菌発現系により組換え型酵素を生産し、その反応産物を同定した。その結果、CaUGT4 がリナロールの一配糖化を担うことが明らかとなった。さらにリナロールの二配糖化活性を有する CaGGT3 および CaGGT7 を見出した。一方、リナロールに対する基質選択性に寄与する酵素領域探索のために、基質選択性の異なる CaUGT4 および CaUGT20 を用いて 6 種のキメラ酵素 (Chi_1-6) を作製した。これをもとに生産した組換え型酵素活性試験の結果から、CaUGT4 の N 末端配列を持つか否かで活性に違いが見られた。この結果をもとに、CaUGT4 の N 末端側に位置するアミノ酸を標的とした部位特異的変異体を作製し、TLC によりその活性を確認した。現在、シミュレーションによる基質結合の変化を解析している。

2A-05

クレマチスのアントシアニン合成にかかわる 3 種の糖転移酵素について

Characterization of three glucosyltransferase involved in the anthocyanin biosynthesis of *Clematis*

田中 良和¹, 石黒 加奈子¹, 水野 貴行², Mahboubeh Davoudi Pahnkolayi¹, 北尾 和紀¹, 中村 典子¹

¹サントリーグローバルイノベーションセンター, ²国立科学博物館筑波実験植物園

園芸種のクレマチスは数種の *Clematis* 属植物から育成されたツル性の植物である。青いクレマチスの萼片には、delphinidin 3-O-(2"-caffeoylglycosyl)-(1→2)-(6"-caffeoyl-tartaroyl-malonylgalactoside)-3'-O-glucuronide (Sakaguchi et al., 2013) などの糖とアシル基で複雑に修飾されたアントシアニンが含まれ、複数の糖転移酵素とアシル基転移酵素がその生合成に関与していると思われる。品種 Violet の萼片の発育を 5 段階に分け、それぞれの RNA-seq を実施した。アントシアニンの生合成の盛んな段階で特異的に高発現している、既知の生合成遺伝子群に高い相同性を示す一連の遺伝子を得た。このうち 3 種の family 1 糖転移酵素 (GT) について大腸菌で発現させ、酵素活性を測定した。①既知のアントシアニン 3GT に類似の GT は UDP-ガラクトースを特異的に利用し、マルビジン以外のアントシアニンに対してガラクトースを効率よく転移したため、UDP-galactose: anthocyanidin 3-O-galactosyltransferase とした。②アントシアニン 3-グルコシド GT に類似の GT は、糖供与体としては UDP-グルコースに特異的で、アントシアニン 3-ガラクトシドをアントシアニン 3-グルコシドよりも効率的に利用したため、UDP-glucose: anthocyanidin 3-O-galactoside glucosyltransferase と考えられた。③3 つ目の GT は、UDP-グルクロン酸を特異的に利用し、吸収スペクトルの変化、 Al^{3+} による色の变化、MS 解析から、UDP-glucuronic acid: anthocyanin 3'-O-glucuronosyltransferase とした。他にも、アシル基転移酵素の遺伝子が同じ時期に高発現しており、これらがクレマチスのアントシアニンのアシル化に関与している可能性がある。

2A-06

ソバのケルセチン配糖体生合成に関する配糖化酵素の機能解析

Functional characterization of glucosyltransferases involved in quercetin glycoside biosynthesis in *Fagopyrum esculentum*

市川 尚哉¹, 福嶋 織百¹, Tamara Klett^{2,3}, 田口 悟朗^{1,2}

¹信州大・院総合理工, ²信州大・繊維, ³現・京都大・院農学

ソバ (*Fagopyrum esculentum*) は、抗酸化活性などの機能が注目されている rutin などのケルセチン配糖体を花や葉に多く蓄積する。我々はこれまでに rutin 生合成のラムノシル化を担う FeF3G6"RhaT を同定した¹⁾。さらに、ソバの葉から 3-O-配糖化を担う酵素 (F3GT) の部分精製を行い、候補遺伝子として *FeGT3* と *FeGT14* を獲得し、*FeGT14* が 3-O-グルコシル化酵素であることを報告した²⁾。本研究ではこれらについてさらに解析を行った。大腸菌で異種宿主発現させた *FeGT3* はフラボノールやアントシアニジンの 3 位の水酸基に対し *FeGT14* の 1/1000 程度の弱いグルコシル化活性しか示さなかった。そのため、糖供与体特異性を確認したところ、*FeGT3* は UDP-galactose に特異性を示すガラクトシル化酵素であった。反応速度論的解析の結果、*FeGT3* は quercetin に対して K_m が $0.63 \pm 0.25 \mu\text{M}$ 、 k_{cat} が $0.62 \pm 0.1 \text{ s}^{-1}$ であり、*FeGT14* と比べると基質親和性は 3 倍、活性は 1/40 であった。RT-PCR 解析の結果、*FeGT14* は *FeF3G6"RhaT* と同様の遺伝子発現パターンを示したが、*FeGT3* はそれらと大きく異なっていた。以上から *FeGT3* は rutin ではなく quercetin 3-O-robinobioside などのガラクトース配糖体の生合成に関与することが示唆された。

¹⁾ Koja et al. (2018) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **82**: 1790-1802. ²⁾ 市川ら (2023) 第 40 回日本植物バイオテクノロジー学会 (千葉) 講演要旨集。

2A-07

ワサビの isosaponarin 生合成に関する配糖化酵素 WjAGT2 の反応性と細胞内局在性の解析

Analysis of enzymatic reactivity and subcellular localization of the glucosyltransferase WjAGT2 involved in the isosaponarin biosynthesis in *Eutrema japonicum*

西部 あぐる¹, 庄司 のえみ¹, 田口 悟朗^{1,2}

¹信州大院・総合理工, ²信州大・繊維・応生

ワサビ (*Eutrema japonicum*) は葉にフラボン配糖体である isosaponarin を蓄積する。その生合成は、apigenin の 6 位が C-配糖化酵素 WjGT1¹⁾により C-配糖化され、続いて 4'位が O-配糖化されると考えられる。その O-配糖化反応はシナポイルグルコースを糖供与体とするアシルグルコース依存型配糖化酵素 WjAGT2 によることが示唆された²⁾。その *in vitro* での反応性と、WjGT1 と WjAGT2 を発現させたタバコ BY-2 細胞での apigenin 投与実験の結果から、WjAGT2 は液胞に局在すると推測された³⁾。そこで、WjAGT2 の N 末端の推定シグナル配列を蛍光タンパク質 Gamillus に結合させたもの (sigG) と、さらに WjAGT2 を結合させたもの (sigG_AGT2) をアグロインフィルトレーションでベンサミアナタバコ葉肉細胞に導入し蛍光顕微鏡で観察した。その結果、sigG の蛍光は細胞質と液胞、sigG_AGT2 の蛍光は液胞のみで観察されたことから、推測通り WjAGT2 は液胞に局在し、局在には N 末端シグナル配列に加えて C 末端側配列も必要であることが示唆された。以上より、ワサビでは apigenin は細胞質で WjGT1 により isovitexin に変換された後、液胞に輸送されて WjAGT2 により isosaponarin に変換されることが示唆された。現在、WjGT1 の細胞内局在性や WjAGT2 の反応解析を行っているので併せて報告したい。

¹⁾ Mashima et al (2019) *PCP* 60 2733, ²⁾ 庄司ら (2022) 第 39 回日本植物バイオテクノロジー学会 (堺) 大会講演要旨集, ³⁾ 第 40 回日本植物バイオテクノロジー学会 (千葉) 大会講演要旨集

2A-08

タバコ (*Nicotiana tabacum*) の異物代謝に関わる二糖配糖化酵素の機能の解析

Analysis of glycosyltransferases involved in the xenobiotic metabolism in *Nicotiana tabacum*

須藤 雄大¹, 佐藤 里佳¹, 瀧 啓一郎¹, 東野 兼次郎¹, 田口 悟朗^{1,2}

¹信州大・院総合理工, ²信州大・繊維・応生

植物は体内に有害な低分子化合物が侵入してきた際、配糖化による修飾を行ってその化合物の性質を変化させ、解毒や代謝を行うことでその毒性を回避している。タバコ (*Nicotiana tabacum*) 細胞にフェノール性異物である 2-naphthol (2-NA) を投与すると、グルコース配糖体、マロニル化された配糖体が蓄積され、配糖体の糖部にもう 1 つ糖が付加した二糖配糖体も蓄積される。これまでにその二糖配糖化に関与する酵素の候補遺伝子として、活性および発現量から *NtGGT2* とそのホモログである *NtGGT1*, および *NtGGT4*, *NtGGT40* を選抜した。本研究では、大腸菌で異種宿主発現させた酵素について、基質特異性調査を行った。その結果、供試 3 つの酵素のうち *NtGGT2* が 2-naphthol glucose (2-NAG) に対する活性が最も高く、次いで *NtGGT4* であった。そこで、これらの候補遺伝子とマロニル化酵素遺伝子を同時に発現抑制する RNAi ベクターを作成し、タバコ BY-2 細胞に導入してそれぞれの遺伝子発現抑制株を作成した。これらの抑制株に、2-NA 投与、その培地および細胞内に蓄積された代謝物の調査を行った。その結果、いずれにおいても二糖配糖体である 2-naphthol gentiobioside の細胞内蓄積量の減少が確認され、これら 2 つの酵素が二糖配糖化に関与していることが示唆された。また、2-NA 投与により誘導される遺伝子発現量の調査を行ったところ、*NtGGT4* がより強く発現誘導を受けることが確認された。今後、ゲノム編集や RNAi により代謝経路のさらなる調査を行っていく予定である。

2A-09

ラベンダーのクマリン生合成に関与する β -グルコシダーゼの探索

Investigation of β -glucosidases involved in the coumarin biosynthesis in lavender (*Lavandula angustifolia*)

松永 都¹, 松村 英生^{1,2}, 田口 悟朗^{1,3}

¹信州大院・総合理工, ²信州大・遺伝子, ³信州大・繊維・応生

イングリッシュラベンダー (*Lavandula angustifolia*) はシソ科の多年草で、その花は観賞用や香料原料として利用されている。その主要な香気成分として、花に蓄積されるリナロールなどのモノテルペン類が知られているほか、葉に抗菌作用や抗血液凝固作用などを示すクマリンが蓄積されている。しかし、ラベンダーにおけるクマリンの生合成機構は明らかになっていない。クマリンを大量に蓄積するスイートクローバーでは、中間生成物である *cis-o*-クマル酸グルコシド (*cis-o*-CAG) の加水分解によりクマリンが生合成されると考えられており、ラベンダーでも同様の機構が想定された。そこで、この反応に関わる β -グルコシダーゼ (BGLU) の探索を行った。

ラベンダーの葉から調整した粗酵素画分中に *cis-o*-CAG に対する BGLU 活性が確認されたため、粗酵素画分から 7 段階の精製過程により酵素の部分精製を行った。この酵素は、至適 pH が 5.0-5.5 であり、*cis-o*-CAG に対して高い活性を示す一方で、同じ中間生成物である *trans-o*-クマル酸グルコシド (*trans-o*-CAG) や構造の類似したサリシンに対してはほとんど活性を示さなかった。さらに、この部分精製酵素を SDS-PAGE で分離後、LC-MS/MS によるペプチド断片の解析を行ったところ、BGLU と相同性を示す複数のペプチド断片が得られた。そこで、この情報を元に NCBI に登録されているラベンダーのゲノム配列に対して BLAST 検索するとともに、AUGUSTUS を用いて遺伝子予測を行い、2 つの候補遺伝子配列を獲得した。現在、そのクローニングと、異種宿主発現による機能解析を行なっている。

2A-10

グレープフルーツの器官別トランスクリプトーム解析によるクマリン代謝関連酸化酵素遺伝子の探索と機能解析

Characterization of Oxidases Related to Coumarin Metabolism Found by Organ-Specific Transcriptome in Grapefruit

市川 公康¹, 松下 修平¹, 新屋 和花¹, 松川 哲也^{2,3}, 杉山 暁史¹, 矢崎 一史¹, 棟方 涼介¹

¹京大・生存研, ²近大・附属農場, ³近大・生物理工

クマリン類は植物が生産するフェノール系二次代謝産物の一種であり、捕食者に対する化学防御や、鉄欠乏への適応といった役割が報告されている。柑橘類は、その外果皮に分泌腔と呼ばれる細胞外区画を発達させクマリン類を高蓄積する。これらはヒトの健康に有益または有害な生理活性をもつことから、柑橘類の育種ターゲットとして注目されている。例えば、グレープフルーツなどで知られるオーラプテンは認知機能維持効果が臨床試験で認められている一方、フラノクマリン類のサブグループは光毒性や薬物代謝かく乱作用といった毒性を示す。これらクマリン成分の生産能力は植物系統特異的に獲得されたと考えられているが、柑橘類におけるクマリン類の代謝経路は、未だ多くの反応段階が明らかになっていない。また、クマリン成分の輸送や転写制御のメカニズムも未解明である。そこで本研究では、クマリン生産を担う分子機構の解明を目的とし、クマリン高蓄積種であるグレープフルーツのトランスクリプトーム解析を通じて、クマリン生産関連遺伝子群の探索を進めている。本発表では、この過程で見出されてきた酸化酵素遺伝子の酵素機能解析結果について報告する。

2A-11

セリ科植物アシタバにおける三環性クマリン類の環化制御機構の解明

Biosynthetic Mechanism Regulating Tricyclic Coumarin Cyclization in the Apiaceae Herb *Angelica keiskei*

新屋 和花¹, 韓 俊文¹, 三浦 謙治², 谷口 雅彦³, 杉山 暁史¹, 矢崎 一史¹, 棟方 涼介¹

¹京大・生存研, ²筑波大・生命環境, ³大阪医薬大・薬

植物において、三環性クマリン類はクマリン骨格に含酸素芳香環が付加した構造を有し、植食性昆虫や病原微生物に対する化学防御に寄与している。環構造は含酸素芳香環の炭素数により五員環型と六員環型に大別され、それぞれ異なった生理活性が報告されている。五員環形成を担う酵素としてシトクロム P450 が知られ、クマリン骨格に結合したプレニル基を酸化的に環化する。一方で、六員環型については、*in vitro* においてセリ科由来の五員環形成酵素が酸性 pH 条件下で六員環を主に形成するが、生理的条件下では五員環型が主生成物となるため、植物体内での形成機構は現状明らかにされていない。そこで、本研究では、日本原産のセリ科植物アシタバ (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz.) に着目した。この植物種は、自生地の違いによりケモタイプの異なる 2 系統があり、大島系統は五員環型を蓄積し、八丈島系統は六員環型を蓄積する。そのため、アシタバは三環性クマリン類の環化制御機構を理解する上で好適なモデルと考えられる。両系統でそれぞれ五・六員環形成特異的な P450 酵素が存在すると仮説を立て、大島系統及び八丈島系統の器官別トランスクリプトーム解析によって候補遺伝子を選抜し、異種発現系による酵素機能解析を進めている。その結果、これまでに大島系統から五員環を主に合成する P450 酵素を同定した。現在、八丈島系統から単離した候補遺伝子の機能解析を行っており、大会では両者の結果を併せて発表する。

2A-12

アントシアニン合成ニンジン培養細胞からのアシルグルコース依存型アントシアニン糖転移酵素の単離

Identification of acyl-glucose dependent anthocyanin glucosyltransferase from anthocyanin-producing carrot cultured cells

古賀 駿也¹, 宮原 平², 西崎 雄三³, 小関 良宏¹, 佐々木 伸大⁴

¹農工大・工・生命工, ²千葉大・園芸, ³東洋大・食環境, ⁴大工大・農・応生

ムラサキニンジン (*Daucus carota* L.) 根のアントシアニンは安定であるため、食品添加物用天然色素としても利用されている。その主要色素は cyanidin 3-O-([2"-O-β-D-xylosyl-6"-O-(6'''-O-sinapoyl-β-D-glucosyl)-β-D-galactoside)]であり、その修飾に関わる酵素について、ガラクトース、キシロース、シナポイル基の転移酵素は同定されているが、グルコース転移に関しては未解明であった。アントシアニンへのグルコース転移の多くは UDP 糖依存型糖転移酵素 (UGT) により行われる。しかし、アントシアニンを合成しているニンジン培養細胞由来の粗酵素抽出液では UDP-グルコース依存的な cyanidin 3-xylosylgalactoside (Cy3XGal) 配糖化活性は検出されなかった。一方で、アシルグルコースを糖供与体として配糖化活性を検討したところ、Cy3XGal へのグルコース転移が認められた。この酵素活性を指標に酵素精製を行い、LC-MS/MS 分析によってアミノ酸部分配列を決定し、それをもとにニンジン培養細胞から全長 cDNA を獲得した。さらにベンサミアナタバコに導入し、この遺伝子の組換えタンパク質を生産して酵素活性を検討したところ、Cy3XGal に対するアシルグルコース依存的な糖転移活性が検出された。この酵素をコードする遺伝子はアントシアニン合成培養細胞とムラサキニンジン根において高い発現が見られた。これらの結果からニンジンではアントシアニンのグルコース転移反応がアシルグルコース依存型の酵素によることが示された。

2A-13

センナからの UGT72 サブファミリー配糖化酵素の単離と配糖化活性の解析

Molecular cloning and characterization of UGT72 subfamily glycosyltransferases from *Senna alexandrina*

大山 真優, 牧野 利明, 寺坂 和祥

名古屋市大・院薬

マメ科植物のセンナ (*Senna alexandrina*) は小葉や果実が瀉下薬として用いられており、その活性成分の一つとして、sennoside A をはじめとしたアントラキノン配糖体が知られている。しかし、その生合成を担う特異的な配糖化酵素は明らかになっていない。これまで当研究室では、様々な植物からアントラキノン配糖化酵素の探索を行ってきた。その中で、UGT72 サブファミリーに属する分子種の 1 つがアントラキノン特異的な配糖化活性を有することを見出した。そこで本研究では、センナにおけるアントラキノン特異的な配糖化酵素を単離するため、同じサブファミリー分子種を中心とした配糖化酵素の単離を行い、配糖化活性を解析した。

まず網羅的な配糖化酵素単離を行うため、センナの葉から抽出した total RNA を用いて、RNA-seq 解析を行った。このアセンブリデータから、配糖化酵素遺伝子を絞り込み、UGT72 サブファミリーに属すると推定された 8 分子種の全長 cDNA を単離した。これらを実験系を用いて組換え酵素として発現させ、配糖化活性を評価した。その結果、いくつかの分子種においてアントラキノンアグリコンである aloe-emodin や rhein に対して配糖化活性を示したが、フラボノイドやスチルベンに対してより高い活性を示した。また、センナ植物体各器官におけるアントラキノン類の蓄積を調べたところ、aloe-emodin, rhein, physcion の配糖体が花に多く蓄積していた。さらに、8 分子種の各器官での遺伝子発現を解析したところ、葉での発現が高い分子種が多く、配糖体の蓄積との明確な相関は見られなかった。現在、UGT72 サブファミリー分子種のアントラキノンに対する基質認識の違いについて解析を進めている。

2B-01

耐熱性セルラーゼ類を大量発現する葉緑体形質転換タバコ

Transplastomic tobacco plants overexpressing thermostable cellulases

坂本 晴那¹, 磯野 真秀², 中平 洋一²

¹茨大・院農学, ²茨大・農学

植物細胞壁に含まれる“セルロース”は地球上に最も豊富に存在するバイオマスである。セルロース系バイオマスを分解・糖化して、有用物質（バイオ燃料・バイオプラスチック・化学製品など）へと変換する「バイオリファイナリー」は、持続可能でCO₂排出量の抑制にも貢献できる生産システムとして注目されている。セルロース系バイオマスの分解・糖化法には種々あるが、細胞壁分解酵素（セルラーゼ類）を用いた「酵素法」は、環境負荷が少ないのが利点である。しかし、酵素法の課題は、酵素生産にかかる“コスト”である。我々は、植物細胞において目的タンパク質の大量発現が可能な「葉緑体工学」を用いることで、セルラーゼ類を低コストで生産する技術開発を進めている。

本研究では、好熱性細菌・古細菌由来の（70°C以上で至適活性を示す）耐熱性セルラーゼ類（エンドグルカナーゼ、エキソグルカナーゼ、β-グルコシダーゼ）に注目し、各酵素を発現する葉緑体形質転換タバコ（計3種）を作出した。その結果、野生型タバコと比較して、若干の生育遅延を示す形質転換体はみられたものの、3種ともに、極端な表現型異常は観察されなかった。緑葉での酵素発現量を調べたところ、いずれも、（葉に最も豊富に存在する）ルビスコ大サブユニットと同等の大量発現が確認された。現在、各酵素の活性測定を進めており、その結果も併せて報告予定である。

2B-02

内在性タンパク質抑制技術を用いた有用抗体を発現するイネの作出と解析

Generation and analysis of rice that express useful antibodies using endogenous protein suppression technology

西條 晃芽¹, 赤苅 汐津¹, 野澤 彰³, 賀屋 秀隆⁴, 黒田 昌治⁵, 森田 重人^{1,2}, 澤崎 達也³, 増村 威宏^{1,2}

¹京都府立大・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愛媛大学・院農学, ⁵農研機構

近年、様々な感染症の検出や、癌の治療法として「抗体」が有効だと考えられている。抗体は高い特異性・安定性があり、様々な利用方法が考案され注目が集まっているが、抗体の生産や保存に高いコストがかかるという課題があった。そこで検討され始めたのが植物種子を利用した有用タンパク質生産で、従来法より安価かつ安定的に長期保存が可能という利点がある。本研究では宿主にイネを用いてヒトの癌に対する抗体を産生し、有用抗体のイネ種子内での安定的生産を目的とした。先行研究ではイネ種子の内在性タンパク質であるグルテリン A と 13kDa プロラミンを抑制し、タグ配列を認識するウサギ抗体を安定的に発現させることが確認されている。

本研究では、目的タンパク質に抗ヒト EGFR 抗体および抗ヒト PD-1 抗体の 2 種類を設定し、どちらの導入系統も RNAi でグルテリン A、13kDa プロラミンを抑制し、各系統の発現量および発現部位の解析を目的とした。アグロバクテリウム法で形質転換したイネから、ゲノミック PCR により抗体遺伝子が導入された系統（T₀ 個体）を選抜した。T₁ 種子を収穫後、SDS-PAGE、ウエスタンブロッティングによって抗 EGFR 抗体および抗 PD-1 抗体の発現をそれぞれ複数系統で確認した。また、蛍光顕微鏡および共焦点レーザー走査顕微鏡を用いてイネ種子内の抗体の局在部位を確認したところ、主に PB-II および細胞質に局在していた。現在、それぞれの抗体発現系統の後代を育成しており、安定的生産のためホモ系統を選抜し、種子が得られ次第後代の解析を行う予定である。

2B-03

抗 Her2 抗体を発現するイネの作出および解析

Production and analysis the rice expressing anti-Her2 antibodies

四方 怜人¹, 野澤 彰³, 賀屋 秀隆⁴, 黒田 昌治⁵, 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・プロテオサイエンスセンター, ⁴愛媛大・院農学, ⁵農研機構

ガン治療において抗体医薬は治療効果が高く、副作用が少ない反面、製造に特殊な設備を必要とするため薬価が高額である他、低温貯蔵する必要がある等の課題がある。これらの課題解決のために植物を用いて抗体等の有用タンパク質を生産する様々な研究が行われている。イネ種子貯蔵タンパク質はプロテインポディタイプ I (PB-I) およびタイプ II (PB-II) に貯蔵されており、先行研究では外来タンパク質を PB に蓄積させた場合、常温で長期間保存可能であることが明らかになっている。また、RNAi によるイネ種子貯蔵タンパク質の発現抑制により外来タンパク質の蓄積量が増加したことが報告されている。

本研究では、乳ガンに対して治療効果がある抗 Her2 抗体に関する遺伝子とイネ種子貯蔵タンパク質（グルテリン A および 13kDa プロラミン）の発現抑制カセットが共導入された形質転換イネを作出した。抗 Her2 抗体遺伝子の導入が確認された 14 系統の内、解析に十分な種子数を確保できた 6 系統を用いて SDS-PAGE, ウエスタンブロッティングを行った。各系統の白濁種子では野生型と比較してグルテリンおよび 13kDa プロラミンが減少していた。その中の 5 系統の白濁種子では抗 Her2 抗体の重鎖および軽鎖の発現が確認された。また、抗 Her2 抗体の発現が確認された系統の種子を用いて蛍光顕微鏡観察を行った。その結果、白濁種子においてサブアリュロン層のデンプン粒の隙間に抗 Her2 抗体を示す蛍光が確認された。今後は有望な系統の後代を育成し、種子解析を行う予定である。

2B-04

ウイルスに対する中和抗体を高発現する矮性イネの作出と解析

Transformation and analysis of dwarf rice plants expressing high levels of neutralizing antibodies

中野 大樹¹, 野澤 彰³, 賀屋 秀隆⁴, 黒田 昌治⁵, 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愛媛大学院・農学, ⁵農研機構

近年注目を集めているバイオ医薬品の多くは細菌や培養細胞を用いて産生されるが、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。一方、植物は特殊な設備を必要とせず、ヒトに感染する病原体も無く、次世代型のバイオ医薬品生産プラットフォームとして注目されている。先行研究によりイネ種子に外来タンパク質を高蓄積させる技術が確立されており、種子内に蓄積した外来タンパク質は常温で長期間保存可能であることから、低コストのバイオ医薬品開発への応用が期待されている。

本研究では、これまでに使用されてきた品種の「日本晴」に比べ、極矮性である「京のゆめ」を使用した。「京のゆめ」は背丈が 20cm 程であり、移植後 3 ヶ月で収穫可能になるなど、植物工場での多段栽培に適していると考えられるが、使用例が少なく不明な点が多かった。そこで形質転換イネとしての適性を評価した。

本研究の目的は、ウイルスに結合し活性を奪う中和抗体を「京のゆめ」で発現させ、栽培上の特性、生成物の機能と発現量を解析することである。中和抗体の高蓄積に必要なカセットをアグロバクテリウム法で「京のゆめ」に導入した。得られた形質転換イネ (T0 世代) の葉の DNA を用いリアルタイム PCR を行い導入遺伝子のコピー数を調べた。先行研究で導入遺伝子が 1 コピーの系統が目的産物を安定して発現したことに着目し、コピー数が少ない系統を選抜した。選抜した個体で種子タンパク質の解析したところ、中和抗体の発現が確認できた。今後は、発現を確認した T1 種子を用いて後代の育成を行い、導入遺伝子が 1 コピーのホモ系統を分離させ、中和抗体の発現量と局在を確認する予定である。

2B-05

ユニークな PAM 配列を認識する AalCas9 の同定とそのゲノム編集への活用

Characterization of the Cas9 ortholog AalCas9 which prefers unique PAM sequences and its application to genome editing

菅野 茂夫¹, 山本 宏¹, 光田 展隆¹, 矢野 翼², 長谷川 玲花², 牧野 洋一³, 寺川 輝彦², 伊藤 誠一郎³, 中村 彰良¹

¹産総研・生物プロセス, ²株式会社インプラントイノベーションズ, ³TOPPAN株式会社

Streptococcus pyogenes Cas9 (SpyCas9) は、ゲノム編集ツールの標準として使用されている。SpyCas9 は、ターゲットゲノム DNA のうち、PAM 配列として 5'-NGG-3' を認識し、その上流 20 塩基が gRNA に認識される。PAM 配列の認識の特異性はゲノム編集可能な領域を制約するため、その改変に関して、さまざまな研究・開発が行われてきた。PAM 配列をよりフレキシブルに認識する変異型 SpyCas9 や、AT リッチな PAM 配列を認識する Cas タンパク質がすでに報告されている。本研究では、Cas9 のオーソログを探索し、*Abyssicoccus albus* の Cas9 (AalCas9) が、ユニークな PAM 配列 5'-NNACG-3' を認識することを見出した。5'-NNACG-3' を PAM 配列として認識する Cas9 オーソログは、今まで報告されていない。AalCas9 は、*Staphylococcus aureus* Cas9 (SauCas9, 5'-NNGRRT-3' という、AalCas9 とは全く異なる PAM 配列を認識) と相同性を示した。AalCas9 の gRNA を SauCas9 の gRNA 配列に近づけた変異 gRNA にすると、DNA 切断活性が向上した。AalCas9 はシロイヌナズナ・イネ・ヒト培養細胞において、それぞれ、5'-NNACG-3' を PAM 配列とした場合に、SpyCas9 に少し劣る程度のゲノム編集活性を示した。加えて、AalCas9 の PAM 相互作用ドメインに 1 塩基変異を導入すると、5'-NNACG-3' 認識から 5'-NNAC-3' 認識に特異性が変化することを見出した。AalCas9 は野生型 SpyCas9 ではターゲットできないゲノム領域を編集するための、新しい選択肢となる。

2B-06

シロイヌナズナにおける DNA メチル化編集技術の開発

Development of DNA Methylation Editing Technology in *Arabidopsis*

平田 峻也¹, 小園 大成², 河合 顕真², 安里 隼³, 望月 暁登³, 池田 陽子⁴, 西村 泰介², 小林 括平³, 賀屋 秀隆³

¹愛媛大・連合農学, ²長岡技科大・院工, ³愛媛大・農, ⁴岡山大・植物研

DNA メチル化編集技術の開発を目指している。*nSpCas9* (D10A) 遺伝子を *Spiroplasma sp.* MQ1 株由来の CG 特異的メチル化酵素の変異型 *Sssl* (*mSssl*) 遺伝子と直接融合させた *mSssl-nSpCas9* を用いることで、シロイヌナズナにおいて標的 DNA メチル化に成功した。標的としてシロイヌナズナ *fwa-101D* 変異体の *FWA* 遺伝子の promoter 領域を選んだ。*fwa-101D* 変異体では、この領域が脱メチル化されており、*FWA* 遺伝子の異所発現により花成が遅延する。この *fwa101D* 変異体において *mSssl-nSpCas9* と *FWA* promoter 領域を標的とする *sgRNA* を共発現させたところ、標的領域の DNA メチル化レベルが上昇していることがバイサルファイト解析により確認された。加えて、*FWA* 遺伝子の発現抑制と花成の早期化も見られた。次に、T-DNA (*mSssl-nSpCas9* 遺伝子と *sgRNA*) を持たない null-segregant を単離し、null-segregant での同領域のバイサルファイト解析をおこなった。興味深いことに、*mSssl-nSpCas9* が無くても標的領域の DNA メチル化レベルは維持されていた。この結果から、*mSssl-nSpCas9* による DNA メチル化は次世代に遺伝する可能性が示唆された。

2B-07

高効率かつ正確な Prime Editing 系の植物への適用

Efficient and accurate Prime Editing system in plants

横井 彩子¹, 飯田 恵子¹, 森 明子¹, 主藤 裕太郎², 中川 綾哉², 濡木 理², 土岐 精一^{1,3,4}

¹農研機構・生物研, ²東大・理・生科, ³横浜市大・生命ナノ, ⁴龍谷大・農学部

Prime Editing (PE) は、ニッカーゼ型の Cas9 と逆転写酵素を融合したタンパク質と、single guide RNA (sgRNA) の末端に逆転写酵素の鋳型を付加した prime editing guide RNA (pegRNA) を細胞内で発現させることで標的部位に任意の改変を導入できる技術である。2019 年に本技術が報告されて以降、主に動物細胞を用いて高効率化が進められてきた。我々の研究では、RNA pseudoknot 配列の付加による pegRNA の安定化と pegRNA を 2 分子利用して両方の DNA 鎖に同時に変異を導入するアプローチにより、イネ内在性遺伝子の様々な改変（方向性のない塩基置換の導入、長い挿入、正確な欠失など）に成功している。これらのアプローチにより PE 効率が大幅に向上する一方で、不必要な変異が導入される頻度も増えることが明らかとなった。この不必要な変異のほとんどは、逆転写酵素による鋳型鎖の逆転写が鋳型上で止まらずに sgRNA の scaffold 配列の最初の数塩基まで逆転写された結果、塩基置換や挿入が生じてしまうことが原因である。そこで東大・濡木研が開発した sgRNA の scaffold 配列を改良した改良型 pegRNA をイネ内在性遺伝子の改変に適用した。その結果、改良型 pegRNA は従来の pegRNA と比べて目的の変異導入効率は同程度であるのに対して、scaffold の逆転写による不必要な変異が生じる効率は顕著に抑制された。即ち、改良型 pegRNA の利用で、高効率かつ正確な PE を植物において適用することが可能になった。

2B-08

イネ RT98C が持つ稔性回復様遺伝子と細胞質雄性不稔性の原因遺伝子の探索

Exploring the Cytoplasmic Male Sterility Causative Gene and Fertility Restorer-like Gene in Rice RT98C

五十嵐 圭介¹, 小林 碧尊¹, 有村 慎一², 鳥山 欽哉¹

¹東北大学大学院農学研究科, ²東京大学大学院農学生命科学研究科

イネの細胞質雄性不稔 (Cytoplasmic male sterility: CMS) 系統 RT98A に対する稔性回復系統 RT98C は、稔性回復必須遺伝子 *PPR762* のほかに、*Rf* 遺伝子座に稔性回復補助遺伝子が存在することが示唆されている (Igarashi et al. 2016)。PacBio ロングリードシーケンスにより、RT98C は *Rf* 遺伝子座に *Rf* 様 *PPR* 遺伝子を 12 個保持していることが新たにわかった。また、稔性回復補助遺伝子の候補領域には WA 型 CMS に対する稔性回復遺伝子 *Rf4* の相同遺伝子である *PPR782* が重複して存在していることが明らかとなった。薬から抽出した RNA を用いたノーザンプロット分析で、*orf113* と *orf276* のバンドパターンが CMS 系統 RT98A と稔性回復系統 RT98C で異なることが明らかとなった。*orf276* は WA 型 CMS の原因遺伝子 WA352 と相同な配列を保持しているため、*PPR782* が作用している可能性が考えられる。また、稔性回復遺伝子 *PPR762* を導入した形質転換体のノーザンプロット分析では、RT98A とバンドパターンに違いが見られなかった。以上のことから、稔性回復必須遺伝子 *PPR762* は翻訳制御に関与している可能性があり、稔性回復補助遺伝子は *PPR782* が候補であり *orf276* に作用しているのではないかと考えられる。mitoTALEN を用いたノックアウトを試みた結果、*orf276* 欠失個体では稔性が回復しなかったため、稔性回復必須遺伝子が作用する CMS 原因遺伝子を予測したい。

2B-09

葉緑体ゲノム標的一塩基置換技術を用いた、除草剤メトリブジン耐性シロイヌナズナの作出

Resistance to the herbicide metribuzin was conferred to *Arabidopsis thaliana* by targeted base editing of the chloroplast genome

中里 一星¹, 矢守 航¹, 松村 浩由², 奥野 未来³, 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹

¹東大・院・農生, ²立命館大・生命科学, ³久留米大・医

葉緑体ゲノムは多くの植物種で母性遺伝し、種子親の葉緑体ゲノムの遺伝情報は次世代に 100% 遺伝する。そのため、有用形質を付与する遺伝情報を葉緑体ゲノムに導入できれば、作物育種、特に一代雑種育種の効率化が期待される。しかし、葉緑体ゲノムは改変が難しく、作物育種にほとんど利用されてこなかった。本研究では発表者らが開発した、葉緑体ゲノムの標的 C:G 対を T:A 対に置換する標的一塩基置換酵素 ptpTALECD や ptpTALECD_v2 が、葉緑体ゲノムの作物育種利用に寄与しうることを示す。

市販の除草剤メトリブジンは、葉緑体ゲノムがコードする D1 タンパク質（光化学系 II の反応中心）に結合し、光合成電子伝達を阻害して植物を枯死させる。D1 のアミノ酸変異がメトリブジン耐性を付与することが知られており、この内 C:G 対から T:A 対への置換で導入可能な V219I と A251V を上記の塩基置換酵素を用いてシロイヌナズナ Col-0 に導入した。作出した変異体のメトリブジン耐性を調べたところ、Col-0 < V219I 変異体 < A251V 変異体 < V219I & A251V 二重変異体の順に耐性が強いことが示された。また、二重変異体は作物栽培に推奨される用量のメトリブジンを噴霧しても生育が大きく損なわれなかった。さらに、A251V 変異体の地上部乾燥重と葉面積は Col-0 と比べて小さいが、興味深いことに二重変異体は Col-0 と比較して少し小さいか同等であった。

安全性が確認された市販の除草剤を使用できる作物種を増やすことで、新規除草剤開発にかかるコストを削減できる。また、塩基置換技術は従来の突然変異育種と異なり目的変異のみを導入できるため、葉緑体ゲノムを利用した作物育種の基盤技術になることが期待される。

2B-10

緑藻クロレラ科 MK201 株への CRISPR/Cas9 システムの適用

Application of CRISPR/Cas9 system to green algae Chlorellaceae strain MK201

森村 綾花¹, 安本 周平^{1,2}, 村中 俊哉^{1,2}

¹阪大・院工・生物学, ²阪大・先導的学際研究機構

微細藻類は光独立栄養の真核生物であり、屋内外を問わず大規模培養が容易であるため、高価値化合物やバイオ燃料生産の宿主として期待されている。先行研究では、高光合成効率、高増殖率、高温・高 CO₂ 耐性を持つ微細藻類としてクロレラ科に属する MK201 株が発見された。この培養特性から MK201 株は工業的に有用であり、脂質組成の改変などさらなる特性の付与により幅広い利用が期待できる。しかし、MK201 株は遺伝子解析や分子育種技術が確立されていなかった。

本研究では、MK201 株における分子育種技術を確立させることを目的とし、ゲノム配列の解読と形質転換法、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集法の確立を目指した。まず、次世代シーケンス解析を行い、MK201 株のドラフトゲノム（約 50 Mbp）を構築した。次に、*Chlorella vulgaris* において報告されている方法を参考として、MK201 株へ CRISPR/Cas9 発現ベクターの導入を試みた。遺伝子の破壊によって 2-fluoroadenine (2-FA) 耐性の付与が期待できる *Adenine Phosphoribosyl Transferase* (APT) 遺伝子を標的として使用した。Cas9 遺伝子、gRNA、NPTII 遺伝子を含むベクターをエレクトロポレーション法によって MK201 株へ導入し、G418 を含む培地、2-FA を含む培地での二段階選抜を行った。

2-FA 耐性を獲得した系統のうち、一系統において標的配列への変異導入が確認された。現在、gRNA と Cas9 タンパク質の複合体を直接細胞に導入する RNP 法を用いたゲノム編集も検討を進めている。

2B-11

CRISPR-Cas3 を用いたイネゲノム編集技術の開発

Genome editing using CRISPR-Cas3 in rice

雑賀 啓明¹, 安本 周平², 村中 俊哉², 吉見 一人³, 真下 知士³, 土岐 精一^{1,4,5,6}

¹農研機構・生物研, ²大阪大院・工, ³東京大・医科研, ⁴横浜市大・生命ナノシステム, ⁵横浜市大・木原生研, ⁶龍谷大・農

大腸菌由来の CRISPR-Cas3 は Class1 Type I-E に分類される CRISPR-Cas であり, 5 種類の Cas タンパク質 (Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas11) と crRNA から成る Cascade 複合体が標的配列を認識し, Cas3 タンパク質が DNA を切断する. 本研究では, イネにおける CRISPR-Cas3 を用いたゲノム編集技術を開発することを目的とした.

まず, CRISPR-Cas3 による標的遺伝子のノックアウトを試みた. CRISPR-Cas3 を構成する 6 種類の Cas と crRNA の計 7 種類の発現カセットを構築し, それらを 2 つのバイナリーベクターに分けて搭載した. それぞれのバイナリーベクターを有するアグロバクテリウムをイネカルスに共感染し, 1.5 か月選抜を行った. 得られた形質転換カルスのうち約 40%において, PAM 配列の上流側に数 kb にわたる長い欠失が生じていることが確認された. 次に, 精密ゲノム編集技術として, CRISPR-Cas3 の Cascade 複合体を利用した base editor の開発を試みた. Cas8 に塩基置換ツールである Target-AID を融合したベクターを構築し, 同様にイネカルスで評価したところ, 標的配列への塩基置換導入が確認された.

本研究により, CRISPR-Cas3 を用いたイネの標的遺伝子ノックアウトと塩基置換導入を実証できた. 引き続き CRISPR-Cas3 によるゲノム編集技術の高度化や適用拡大を進めることにより, CRISPR-Cas3 をベースにした植物ゲノム編集ツールの充実を図る予定である.

2B-12

Target-AID システムによりアセト乳酸合成酵素遺伝子に点変異を付与したスギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) の除草剤耐性能

Herbicide resistance in sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) containing modified ALS gene by Target-AID

七里 吉彦¹, 川邊 陽文¹, 小長谷 賢一¹, 上野 真義², 永野 聡一郎³, 遠藤 真咲⁴, 谷口 亨¹

¹森林機構・森林バイオ, ²森林機構・森林総研, ³森林機構・林育セ, ⁴農研機構・生物機能部門

スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) は日本における主要な造林樹種であり, 育種が精力的に進められているが, 林木の育種には 1 世代あたり 10 年単位の時間を必要とする. そのため, 育種効率向上の手段として, 狙った領域の遺伝子を改変できるゲノム編集が注目されている. しかし, 従来のゲノム編集は改変様式が制御できないため, 望ましい改変様式を持つ個体の選抜に多くの労力を割いているのが実情である. そこで, 我々はスギにおいて塩基編集技術による精密な遺伝子改変技術の構築を目指している. 塩基編集技術としてニッカーゼ型 SpCas9 にシチジンデアミナーゼを連結した Target-AID を, 標的遺伝子として点変異の導入により除草剤耐性を獲得するアセト乳酸合成酵素 (ALS) をそれぞれ選んだ. Target-AID において A123V, および A652T の点変異が付与された変異型 ALS (以下, ALS-A123V, ALS-A652T) をもつ細胞系統について, 植物個体を再生し除草剤含有培地に移植して除草剤耐性能を調査したところ, 塩基編集された植物個体から除草剤耐性が確認された. 特に, 両アリルとも塩基編集に成功した ALS-A123V 系統では, 高濃度の除草剤にも耐性を示した. ただ, これら系統の葉色は黄緑であり, 成育も遅い傾向にあった. 現在, これら個体を自然に近い環境条件で栽培が可能な特定網室で育成を続けており, 特定網室での成育や除草剤接種試験の結果も併せて報告する.

2B-13

ゲノム編集ダイズを用いたソヤサポニン生合成関連遺伝子 *GmBAS* ホモログの機能解析

Functional analysis of *GmBAS* homologs involved in soyasaponin biosynthesis in genome-edited soybeans

麻 裕毅¹, 桑原 慎子¹, 田中 和², 高橋 貴明³, 山田 哲也¹

¹北海道大・院農, ²北海道大・農, ³兼松(株)

ダイズにおいてソヤサポニンの生合成は、イソプレノイド経路で生じる 2,3-オキシドスクアレンから β アミリンが合成されることが開始点となる。β アミリン合成酵素遺伝子 *GmBAS* について、ダイズゲノム中に 2 つのホモログ *GmBAS1* および *GmBAS2* が存在しており、植物体全体で *GmBAS1* が主に発現し *GmBAS2* は一部の器官でわずかに発現することが報告されている。また、種子においては RNAi による両ホモログの発現抑制によってソヤサポニン含量が著しく低下することが知られている。しかし、これらのホモログの植物体内での機能的な差異は明らかになっていない。本研究では、iPB-RNP 法を用いたゲノム編集により各ホモログの機能が喪失した変異体を作成し、種子に加え、3 週齢の根、葉および莖におけるソヤサポニン含量を調べた。*GmBAS* の 2 つのホモログの第一エキソン内に共通する配列を標的とする gRNA を設計し iPB-RNP 法を介した変異誘発を行ったところ、両ホモログでもに変異が検出された個体に加え、いずれか一方のみで変異が検出された個体を作成することに成功した。フレームシフト変異を持つと考えられる個体について種子中のソヤサポニン含量の測定を行った結果、*GmBAS1* 変異体および二重変異体においてソヤサポニンが欠損した一方、*GmBAS2* 変異体においてソヤサポニン含量は変化しなかった。さらに、3 週齢の根、葉および莖においても同様の結果であった。したがって、ダイズのソヤサポニン生合成には *GmBAS1* のみが関わっていることが示唆された。

2B-14

ホトトギス (*Tricyrtis hirta*) における *TFL1* (*TERMINAL FLOWER 1*) ホモログ遺伝子を対象としたゲノム編集個体の作出

Production of genome-edited plants targeting *TFL1* (*TERMINAL FLOWER 1*) homologous gene in *Tricyrtis hirta*

高梨 壮大¹, 今村 優斗¹, 大谷 真広², 中野 優²

¹新潟大・院自然研, ²新潟大・農

TERMINAL FLOWER 1 (*TFL1*) は植物特異的な転写因子をコードしており、花芽分化を抑制することで植物の栄養成長を維持することが知られている。また、花序形態の決定には *TFL1* の発現パターンの関与が指摘されている。我々は、ホトトギス属植物 (*Tricyrtis* spp.) における花序形態の決定に関する分子メカニズムの解明を目的とした研究を行っており、すでにホトトギス (*T. hirta*) から *TFL1* ホモログ遺伝子 (*ThirTFL1*) を単離している。本研究では、ホトトギスにおける *ThirTFL1* の機能解析を目的として、CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集個体の作出を行った。様々な植物種の *TFL1* ホモログ遺伝子の第 1 エキソン間で高く保存性されている領域をターゲットとして single guide-RNA (sgRNA) を設計し、それらを含むコンストラクトをホトトギスに導入した。得られた形質転換体について DNA シークエンシングを行い、ターゲット領域内における変異の有無を確認した。変異が確認された形質転換体 (ゲノム編集個体) では、非形質転換体と比較して草丈および節間長の減少が観察されている。今後は、ゲノム編集個体の開花を待って、*ThirTFL1* 変異が花や花序形態に及ぼす影響や *LEAFY* (*LFY*) 等の花成関連遺伝子の発現に及ぼす影響を調査する予定である。

2B-15

ゲノム編集による高糖度かつ高 GABA トマト品種作出

High sugar and high GABA Tomato variety creation by genome editing

Seungje Choi¹, Islam Abdellatif², 岩間 健¹, 三浦 謙治²

¹筑波大・院 生命地球/ Grad. Sci. Life & Earth Sci., Univ. Tsukuba, ²つくば機能植物イノベーション研究センター/ Tsukuba-Plant Innovation Research Center

現在、育種において様々な技術が開発されている。その中で近年開発されたものとしてゲノム編集技術が挙げられる。ゲノム編集とは、標的配列を認識及び切断する人工ヌクレアーゼを用いてゲノム上の任意の位置に DNA 二本鎖切断 (DSB) を誘導し、切断された DNA の修復エラーを利用して突然変異を部位特異的に導入する技術であり、外来遺伝子の導入や内在遺伝子の正確な改変が可能となった。ゲノム編集の特徴として、様々な遺伝子を同時に編集できるという利点がある。本研究では、世界的に栽培が盛んであるトマトに付加価値を与えることを目的として高糖度かつ高 GABA トマト品種の開発をゲノム編集で行った。

本研究において、ターゲットとした遺伝子は *SIESK* (*Eskiimo*) と *SIGAD3* である。*SIESK* はシロイヌナズナの *AtESK* のホモログでありトマトにおいては 3 つのホモログが存在する。シロイヌナズナにおける研究では *esk* 変異体では可溶性糖の蓄積の向上で低温ストレスに強くなったと報告されている。また、*SIGAD3* 遺伝子は、グルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD, GABA 合成酵素) をコードする遺伝子の 1 つであり、C 末端に自己抑制ドメインを含んでいる。本研究では、*SIESK* の 3 遺伝子の変異を導入したものおよび *SIGAD3* に変異を導入したトマトの獲得に成功した。得られたトマト系統を野生型と比較すると、糖度 (Brix) については野生型が約 4.26% であるところ、変異体では Brix 値が約 7.9% であった。GABA 含有量については野生型の約 5 倍の蓄積が認められた。一方、ゲノム編集体では植物の成長の遅れが見られた。

以上の結果から、3 つの *SIESK* の変異により糖度を蓄積させることが可能であるが、生育の遅延が見られた。

2C-01

シロイヌナズナの転写因子 SGR5 は気孔制御に関与する

Arabidopsis Transcription Factor SGR5 is Involved in Stomatal Regulation

荒井 萌伽^{1,2}, 木越 景子¹, 森脇 宏介¹, 宮下 京子¹, 中野 仁美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

乾燥ストレスは植物の生育に大きな悪影響を及ぼし、農作物の収量を制限する要因の一つである。気孔は植物の水分量の調節とガス交換で重要な役割を果たしており、気孔を介した蒸散が植物の水分損失の大部分を占めることから、気孔の数や開閉の制御は乾燥ストレス耐性研究において重要な解析対象である。我々は乾燥ストレス耐性機構に関与する新規転写因子候補の一つとして、SHOOT GRAVITROPISM 5 (SGR5) を見出した。シロイヌナズナの実生を用いた水分損失測定試験から、コントロール株と比較して SGR5 を過剰発現した株は水分損失率が低く、SGR5 ノックアウト株は水分損失率が増加することが示された。先行研究において SGR5 のホモログ転写因子の INDETERMINATE DOMAIN 14 (IDD14) はアブシジン酸 (ABA) シグナル伝達系を介した気孔閉鎖反応に、IDD16 は気孔形成過程に関与することが報告されていたため、我々は SGR5 も気孔開閉または形成の制御に関与するかどうかを調べた。ABA や暗闇に対する気孔閉鎖応答を調べたところ、IDD14 とは対照的に SGR5 は ABA シグナル伝達経路との関連が低い可能性が示された。一方で、SGR5 ノックアウト株では暗闇に誘導される気孔閉鎖反応が弱まった。また気孔形成過程への関与を調べるために気孔密度を測定したところ、SGR5 ノックアウト株は野生型と比較して気孔密度がやや増加傾向を示した。これらの結果から、SGR5 が暗闇に誘導される気孔閉鎖反応および気孔形成の双方において機能する可能性が示唆された。

2C-02

ミヤコグサにおける葉面積と細胞密度の種内多型と関連遺伝子の探索

Intraspecific polymorphisms in leaf area and cell density and associated genes in *Lotus japonicus*

金木 拓都¹, 加藤 壮英¹, 佐藤 修正², 加藤 晃^{1,3}, 若林 智美¹

¹奈良先端大・バイオ, ²東北大・院・生命, ³奈良先端大・DGI

葉の大きさはバイオマスや光合成量や蒸散量, 温度調整といった植物の様々な生命活動に影響を与える重要な形質である。そのため葉の大きさの制御に関わる遺伝的メカニズムや環境要素を明らかにすることは、基礎研究だけでなく応用研究分野にも貢献する。野生植物において、例えば異なる環境に移入している種では生育環境に応じて最も適切な葉の大きさが選択され、同種であっても系統間で葉面積に違いを有する種が存在する。国内に広域分布するミヤコグサもその一種であり、産地の異なる系統間で葉面積の種内多型を有している。この表現型の種内多型は生育環境への適応により獲得されたと考えられる。本研究ではミヤコグサのモデル植物としての研究資源を活用して葉面積及び葉の細胞密度の種内多型の様相と、これらの多型に関連する遺伝的要因を検出することを目的とした。

まず国内野生系統 117 系統を同一条件にて栽培し、播種後 1 ヶ月の葉面積及び葉の細胞密度データを取得した。得られた表現型データから、本種ではより大きな葉面積の獲得に細胞密度と細胞サイズのそれぞれが関わるグループが種内に存在することがわかった。さらに、表現型データと、系統の由来地における環境値データとの相関関係から、形質に関連する環境要素の推定を行った。

次に表現型の違いに関連するゲノム領域を検出するため、ゲノム網羅的な種内の遺伝子型多型を使用して全ゲノム関連解析を行った。その結果、各形質において関連のあるゲノム領域が検出された。特に細胞密度についての結果においては、Phytochrome A を介した光シグナル伝達経路の調節因子の一つである F-box protein AFR をコードする遺伝子の相同遺伝子が検出された。

2C-03

2つのゼニゴケ標準株間の高浸透圧ストレスに対する遺伝子発現の差異

Differences in gene expression in response to high osmotic stress between two standard strains of *Marchantia polymorpha*

岸本 知也¹, 加藤 大幹¹, 加藤 壮英¹, 加藤 晃^{1,2}

¹奈良先端大・バイオ, ²奈良先端大・DGI

干ばつや高塩濃度などの環境ストレスは、植物体に脱水状態を引き起こし、その成長が妨げられ、収穫量の低下の要因となる。植物は、環境の水分変化を敏感に感受し、シグナル伝達経路を活性化させ応答する機構を持っている。この植物種に共通するメカニズムの理解は、作物の生産性の向上に重要である。コケ植物は、植物が陸生化した後に最初に分岐した基部植物と考えられており、ゼニゴケは陸上植物の環境ストレス応答の共通したメカニズムを知るうえで重要なモデル植物である。これまで Tak-1 標準株を用いて様々な環境ストレスに対する分子メカニズムが明らかにされ、陸上植物種間に共通の仕組みは示されてきた。当研究室では、sorbitol 添加による高浸透圧条件の培地において、ゼニゴケの 2 つの標準系統株 Tak-1, Tak-2 の生育は共に抑制されるものの、Tak-1 が Tak-2 に比べ感受性が高いことを示した。そこで、両系統間での高浸透圧ストレス下における遺伝子発現の違いについて検証するために、2 週間生育させた葉状体を用いて ABA 添加や葉状体の乾燥によって発現が誘導される遺伝子群について qPCR 解析を行った。sorbitol 添加による当該遺伝子の発現上昇が両系統で観察され、加えて Tak-2 では強く発現しており、Tak-2 の高浸透圧ストレス応答が Tak-1 に比べ効率よく機能している事を示唆した。そこで、両系統の高浸透圧ストレスの応答性の差を詳細に理解するため、高浸透圧ストレス条件下、両系統間で誘導される遺伝子群を RNA-seq により網羅的に解析する。本学会では、その解析についても報告する予定である。

2C-04

シロイヌナズナ野生系統間における浸透圧耐性多様性に寄与する遺伝子座の同定

Identification of Osmo-sensitive locus in *Arabidopsis thaliana* accessions

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

¹東京農大・バイオ, ²農研機構・遺伝資源, ³東京農大・ゲノムセンター

モデル植物であるシロイヌナズナは世界中に広く分布し、多くの野生系統が存在する。我々は、塩馴化後浸透圧耐性が野生系統間に広く存在することを見出し、この多様性を制御する遺伝子、ACQOS を同定した。シロイヌナズナの ACQOS 遺伝子座は 5 つのハプログループに大別でき、ACQOS をもつ野生系統のみが塩馴化後浸透圧耐性を示さないことが明らかになった。一方、他のハプロタイプに分類される系統は、塩馴化後浸透圧耐性を示すものの、その浸透圧ストレス耐性には多様性が見られたことから、ACQOS 以外にもシロイヌナズナ野生系統間の浸透圧耐性の多様性に寄与する遺伝子座の存在が示唆された。そこで本研究では、シロイヌナズナ野生系統間における浸透圧耐性制御機構の解明を目的に、ACQOS を持たないにもかかわらず、ACQOS を有する Col-0 と同程度の浸透圧高感受性を示す Tsu-0 と、高い浸透圧耐性を示した Kos-2 に着目し、二系統間の浸透圧耐性の違いに寄与する遺伝子座の同定を試みた。遺伝子マッピングの結果、Tsu-0 の浸透圧高感受性と連鎖する **Osmo-sensitive (OSMOS)** 遺伝子座を 208 Kbp に絞り込むことに成功した。この OSMOS 遺伝子座が 2 系統間の耐性差に、どの程度寄与しているのかを調べるため、Tsu-0 と Kos-2 の F1 系統に Tsu-0 の野生系統を 2 回かけ戻し、OSMOS 遺伝子座が耐性型である BC2F3 系統を作出した。この系統が、Kos-2 と同程度の浸透圧耐性を示したことから、OSMOS 遺伝子座が、Tsu-0、Kos-2 間の浸透圧耐性差を説明する上で大きな比重を担っていることが示唆された。現在、OSMOS 遺伝子の同定を試みている。

2C-05

塩馴化後浸透圧耐性欠損変異株 *aod28* と *aod29* の解析

Genetic analysis of two *Arabidopsis acquired osmotolerance defective* mutants: *aod28* and *aod29*

Victor Kouspits¹, 細井 昂人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

数百のシロイヌナズナ野生系統を用いた解析から、塩馴化後浸透圧耐性の多様性に寄与する ACQOS 遺伝子を同定した。ACQOS は、シロイヌナズナ実験系統である Col-0 を含む浸透圧高感受性の系統で保存されており、病害耐性に有益である一方、浸透圧ストレスに応答して有害な自己免疫を誘導し、結果として浸透圧耐性を抑制した。そのため、Col-0 背景の *acqos* 変異株 (Col-0_ *acqos*) は塩馴化後浸透圧耐性を示す。しかしながら、塩馴化後浸透圧耐性の獲得メカニズムは未だ不明である。そこで塩馴化後浸透圧耐性に寄与する遺伝子の同定を目的に、Col-0_ *acqos* 変異株の種子に突然変異処理を施し、塩馴化後浸透圧耐性を欠損した、*acquired osmotolerance defective*, *aod28* および *aod29* 変異株を単離した。生理学的解析において、*aod28* は野生株と比較して塩馴化後浸透圧、浸透圧、酸化および塩ストレスに対して高い感受性を示した。一方、*aod29* は塩馴化後浸透圧ストレスにのみ感受性を示し、それ以外の非生物学的ストレスには野生株と同程度の耐性を示した。塩馴化後浸透圧感受性の原因遺伝子座のマッピングにより、*aod28* は第 4 染色体の中央付近、*aod29* は第 2 染色体の上部に原因遺伝子が座乗することが示唆された。ゲノムシーケンズ解析の結果、マッピングにより絞り込まれた原因遺伝子領域内にアミノ酸の非同義置換を伴う変異が、*aod28* に 4 遺伝子、*aod29* に 2 遺伝子認められた。現在、これら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。

2C-06

SALT 遺伝子欠損はシロイヌナズナ野生系統 Lch-0 の耐塩性に寄与する

Defect of *SALT* gene improves salt tolerance of *Arabidopsis thaliana* accession Lch-0

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

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

モデル植物であるシロイヌナズナには 2000 を超える野生系統が存在する。先行研究により、約 300 の野生系統の耐塩性を評価したところ、耐塩性に多様性が見られた。しかしこの耐塩性の多様性に寄与する遺伝子は不明である。そこでこれらの野生系統のうち、特に高い耐塩性を示した Lch-0 に着目し、その耐塩性メカニズムの解明を行った。実験系統である Col-0 は塩感受性の表現型を示す一方で、Lch-0 は海水と同程度の塩濃度下でも生存可能であり、その耐塩性はシロイヌナズナ近縁の塩生植物である *Eutrema salsugineum* に匹敵する、驚くべき耐性を示した。また Lch-0 は塩化リチウムに対しても同様に耐性を示したことから、塩ストレス下で植物が被る浸透圧ストレスとイオンストレスのうち、特にイオンストレスに高い耐性を有する野生系統であることが明らかとなった。Col-0 と Lch-0 の F2 および Lch-0 に Col-0 を 5 回掛け戻した (BC5F3) Near Isogenic Line (NILs) を用いた遺伝学的解析により、Lch-0 の原因遺伝子座内のある 1 遺伝子に数百 bp の塩基挿入が生じていることが明らかとなった。そこで当該遺伝子の T-DNA 変異株を用いてその耐塩性を確認したところ、Lch-0 と同程度の耐塩性を示したことから、Lch-0 は単一の遺伝子 (*SALT* 遺伝子) を欠損することで耐塩性を獲得したことが示唆された。放射性同位体 ²²Na を用いたイメージング解析により、塩感受性を示す Col-0 では地上部全体での Na の蓄積が観察された一方で、*SALT* 遺伝子の欠損により耐塩性を示す Lch-0 及び NIL では地上部への Na の蓄積が抑制されていたことから、*SALT* 遺伝子は地上部での Na の蓄積に関与していることが示唆された。

2C-07

イネ *SALT* 遺伝子のゲノム編集と耐塩性評価

Genome-editing of *OsSALT1* and *OsSALT2* genes in rice and evaluation of the salt tolerance

久保田 希美, 伊澤 かな, 四井 いずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭

東京農大・バイオ

これまでに 300 を超えるシロイヌナズナ野生系統を用いた耐塩性評価から、海水と同程度の塩ストレスにも耐性を示す野生系統、Lch-0 を発見した。遺伝学的解析の結果、Lch-0 の耐塩性に寄与する *SALT* 遺伝子 (*AtSALT*) の同定に成功した。驚くべきことに、*SALT* 遺伝子はその単一機能欠損により、塩害地で生育可能なレベルまで耐塩性を向上させたことから、ゲノム編集を用いた耐塩性植物育種の有力なターゲットになりうると考えられた。そこで本研究では、イネにおける *SALT* 相同遺伝子の機能解明と、そのゲノム編集イネのなく出および耐塩性評価を目的とした。イネのゲノム上には、*SALT* 相同遺伝子が 2 遺伝子 (*OsSALT1*, *OsSALT2*) 存在したことから、二重欠損株の作出により、その機能が失われることが予想された。そこで本実験では、*OsSALT1*, *OsSALT2* 遺伝子それぞれの gRNA を 1 つのベクターに組み込んだゲノム編集用コンストラクトを用いてゲノム編集を試みた。その結果、両遺伝子に欠損が認められた *OsSALT* 二重欠損株を複数得ることに成功した。現在、変異のホモ固定化を進めており、それらを用いた耐塩性などの表現型解析を紹介する。

2C-08

耐塩性獲得変異株 *sot* の単離と遺伝学的解析

Isolation and genetic analysis for *salt overly tolerant* (*sot*) mutants of *Arabidopsis*

大橋 知世¹, 細井 昂人², 太治 輝昭¹, 坂田 洋一¹, 四井 いずみ¹

¹東京農大・バイオ, ²東京農大・ゲノムセンター

植物の塩ストレス応答に関する分子メカニズムについては、シロイヌナズナの耐塩性が損なわれた突然変異株の順遺伝学的解析を中心に明らかになってきた。一方、私達の所属グループのシロイヌナズナ野生系統で見られた耐塩性多様性に関する研究成果において、極めて高い耐塩性を示す野生系統が、実験系統の Col-0 と比較して、1 遺伝子欠損によりその耐塩性を獲得していること、さらには Col-0 の当該遺伝子欠損は耐塩性系統と同様に Col-0 の耐塩性を著しく向上させることを明らかにした。そこで本研究では、欠損により耐塩性が向上する遺伝子の単離を目的に、Col-0 に EMS による突然変異処理を施した種子より、耐塩性獲得する変異株、*salt overly tolerant* (*sot*) のスクリーニングを実施した。スクリーニングの結果、複数の *sot* 変異株の単離に成功した。このうち、*sot4*, *sot6* について生理学的、遺伝学的解析を進めている。様々な非生物ストレスに対する耐性評価を行ったところ、両変異株とも WT と比較して耐塩性のみならず、酸化ストレスにも耐性を示した。一方、*sot6* については、短期高温ストレスにも耐性を示した。現在、原因遺伝子を同定するために、Col-0 と同程度の塩感受性を示すシロイヌナズナ Berg-1 と掛け合わせを行い、その次世代である F2 を用いて原因遺伝子のマッピングを進めている。

2C-09

シロイヌナズナの短期高温耐性に寄与する遺伝子座の探索

Isolation and genetic analyses of short term heat-stress tolerant mutants of *Arabidopsis thaliana*

柳原 美来¹, 植木 真生¹, 鈴木 孝征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中部大・応用生物科学

モデル植物シロイヌナズナには世界中に 2000 種類以上の野生系統が存在しており、その表現型には様々な多様性が見られる。先行研究において 97 野生系統を短期高温耐性試験 (42°C 50 分) に供した結果、実験系統である Col-0 は短期高温感受性を示すのに対して、高い耐性を示す Ty-0 を見いだした。そこで本研究では、Ty-0 と Col-0 の 2 野生系統間における短期高温耐性の違いを生み出すメカニズムの解析を行った。生理学的解析の結果、Col-0 は短高温ストレス後の光に対して感受性を示すことが分かった。遺伝学的解析を行ったところ、Ty-0 の短期高温ストレス耐性に複数遺伝子の寄与が示唆されたが、原因遺伝子の特定には至っていない。

そこでシロイヌナズナにおける短期高温耐性メカニズムの解明を目的に、短期高温に感受性を示した Col-0 種子に対して EMS による突然変異処理を行い、短期高温に耐性を示す変異株の単離を試みた。スクリーニングの結果、4 系統の *sheat tolerant* (*sheat*) 変異株を獲得した。これらの短期、あるいは長期高温ストレス耐性を評価した結果、いずれの *sheat* 変異株も、短期高温ストレスにのみ特異的に耐性を示した。現在、これらの変異株の原因遺伝子の同定を目的に遺伝学的解析を進めている。

2C-10

シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh2* の解析

Genetic analyses of sensitive to long-term heat 2(*sloh2*) mutant of *Arabidopsis thaliana*

芳野 晴臣¹, 山口 凌¹, 細井 昂人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

植物が受ける高温ストレスは短期的なものに加え、長期的なものも想定される。長期的な高温ストレスに対する分子メカニズムはいくつかのシロイヌナズナの変異株の報告があるものの、短期的な高温ストレスと比較して未だ不明な点が多い現状にある。シロイヌナズナの長期高温ストレス耐性メカニズムを明らかにするために、シロイヌナズナ野生系統間でも長期高温ストレスに耐性を示す Col-0 種子に EMS 処理により突然変異処理を行い、長期高温感受性変異株 (*sensitive to long-term heat2sloh2*) を単離した。*sloh2* は長期高温ストレスに高感受性を示すものの、短期高温耐性は野生型と同程度であった。この変異体の特徴を調べるために、高温ストレスとは異なる非生物学的ストレスである塩、浸透圧、酸化ストレスに対する耐性を調べた結果、*sloh2* はいずれのストレスにおいても野生型と同程度の耐性を示し、長期高温ストレス特異的に感受性を示す変異株であることが明らかとなった。*sloh2* の原因遺伝子の同定を目的に、Col-0 と同等の長期高温耐性を示す野生系統である Da(1)-12 と *sloh2* を交雑した F2 種子を用いて原因遺伝子座のマッピングを行った結果、第 1 染色体上腕部に低い組み換え価が検出された。*sloh2* の全ゲノムシーケンス解析の結果、原因遺伝子領域の 1 遺伝子にのみアミノ酸置換を伴う塩基置換が検出された。当該遺伝子の T-DNA 挿入変異株が長期高温ストレスに対して感受性を示したことから、本遺伝子が原因遺伝子であることが示唆された。

2C-11

シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh7* の単離解析

Physiological and genetic analyses of *sensitive to long term heat7 (sloh7)* mutant of *Arabidopsis thaliana*

野菅 梨々香¹, 細井 昂人², 鈴木 孝征³, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹

¹東京農大・バイオ, ²東京農大・ゲノムセンター, ³中部大・応生

植物が被る高温ストレスには、42°Cが数十分続くような短期的な高温ストレスに加えて、37°Cが数日間続くような長期的な高温ストレスが考えられる。先行研究において、これらのストレスに対する耐性メカニズムが異なることが示唆された。短期高温ストレスは HsfA1s を起点とする転写応答が知られている一方、長期高温ストレス応答経路に関しては不明な点が多い。そこで長期高温ストレス耐性メカニズムの解明を目的に、シロイヌナズナ野生系統間で長期高温ストレスに比較的耐性を示す Col-0 に EMS による突然変異処理を施し、長期高温感受性変異株、*sensitive to long-term heat (sloh)* を複数単離した。本研究ではこのうち *sloh7* に関して解析を行った。*sloh7* の生理学的解析の結果、長期高温ストレスには WT と比較して有意に感受性を示した一方、短期高温ストレスには同程度の耐性を示した。高温ストレス以外の酸化ストレス、浸透圧ストレス、塩ストレス耐性も WT と同程度の耐性を示したことから、*sloh7* は長期高温ストレス特異的に感受性を示す変異株であることが示唆された。*sloh7* の長期高温ストレス耐性に寄与する原因遺伝子の同定のために *sloh7* と、Col-0 と同程度の長期高温耐性を示す Da(1)-12 を交雑し、得られた F2 を用いて原因遺伝子のマッピングを行った。その結果、他の *sloh* 変異株とは異なる遺伝子座に最も低い組換え価を得た。この領域において WT と比較して 3 つの遺伝子に非同義な変異が認められた。これらの候補遺伝子について、相補試験などで検証した結果、*sloh7* の原因遺伝子同定に成功した。*SLOH7* はこれまでに高温ストレス応答などの報告がない新規の遺伝子であった。

2C-12

長期高温耐性シロイヌナズナ Berg-1 の高温耐性メカニズムの解析

Genetic analyses of long-term heat tolerance in *Arabidopsis thaliana* Berg-1

北島 あすみ, 四井 いずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭

東京農大・バイオ

植物が被る高温ストレスには、短期的な厳しい高温に加えて、真夏日が何日にも渡るような長期的な高温ストレスが想定される。シロイヌナズナ野生系統を用いた高温耐性の多様性に関する先行研究により、短期高温耐性を示した系統が、必ずしも長期高温耐性を示さないことから、短期高温と長期高温に対する耐性機構は異なることが示唆された。短期高温耐性については転写因子 HsfA1s をはじめとした転写制御が広く知られているものの、長期高温耐性については不明な点が多い。そこで本研究では、シロイヌナズナ野生系統間に見られる長期高温耐性多様性を明らかにすることを目的に、160 のシロイヌナズナ野生系統を用いた長期高温耐性評価において最も高い耐性を示した Berg-1 に着目し、長期高温耐性機構の遺伝学的解析を行った。実験系統である Col-0 が 37°C 7 日間の長期高温試験では枯死する一方、Berg-1 は 37°C 7 日間の長期高温に耐性を示した。Berg-1 の短期高温耐性は Col-0 と同程度であったものの、酸化ストレス試験において Berg-1 は Col-0 と比較して耐性を示した。現在、Berg-1 の原因遺伝子座を特定するために、Col-0 と Berg-1 の F2 の耐性個体に Col-0 を複数回かけ戻すことにより、Near Isogenic Lines (NILs) を作出しており、これらの NILs を用いて Berg-1 の長期高温耐性に寄与する原因遺伝子座の絞り込みを行っている。

2C-13

エキソームシーケンシングによるトマト変異体の変異情報整備

Exome sequencing of tomato mutants distributed from National Bioresource Project-Tomato

杉本 貢一¹, 矢野 亮一², 有泉 亨¹, 江面 浩¹

¹筑波大・T-PIRC, ²農研機構・分析研

トマト (*Solanum lycopersicum*) はモデル植物・実験モデル野菜としての地位を確立しつつある植物種である。その中でも矮性品種・マイクロトムは蛍光灯下でライフサイクルを回せるため、他の作物種と比べて非常に使いやすい実験系統となっている。トマトは遺伝子組換え技術・ゲノム編集技術を利用した解析ができる一方で、シロイヌナズナやイネと比較して公共に広く使われている変異体の数が限られている。そこでナショナルバイオリソースプロジェクト・トマト (NBRP トマト) では変異原処理をしたトマト変異集団の中から各種変異体の収集に努めてきた。本発表ではトマト個別変異体系統約 700 系統のエキソームをシーケンスした結果を報告する。

NBRP トマトで収集した個別変異体 2708 系統の中からランダムに選抜した約 700 系統のゲノム DNA を抽出し、作製したエキソームライブラリを Illumina シーケンスにより解析した。変異情報を基にして表現型を推察できるかどうかを検討するため、形態の観察が比較的容易なトライコームを指標にした解析を行った。その結果、トライコームに構造維持に関わることが報告されている遺伝子にホモのフレームシフトもしくはナンセンス変異を持つ系統が 11 系統見つかった。この系統の栽培記録を調査したところ、このうち 10 系統にトライコーム変異の表現型が記録されていた。この結果から、エキソームデータより逆遺伝学的な解析が可能になると考えられる。これらの遺伝型情報は NBRP-Tomato が提供する変異体データベース TOMATOMA (<https://tomatoma.nbrp.jp/>) から提供できるようになる予定である。

2C-14

メタ解析を用いたシロイヌナズナのストレス応答遺伝子アトラスの構築

Development of an atlas of stress responsive genes in *Arabidopsis thaliana* using meta-analysis

福田 由介¹, 川口 晃平¹, 福島 敦史^{1,2}

¹京都府大・院生命環境, ²理研CSRS

植物の環境ストレス応答に関するトランスクリプトームデータはこれまでに数多く公開されており、効率的なストレス応答遺伝子の検索および予測が可能な情報システムの構築が望まれる。複数の研究データを統合するメタ解析は高い再現性と新たな知識の抽出とが期待され、より高い予測精度と新たな遺伝子機能の発見につながる。本研究の目的はメタ解析による新規のストレス応答遺伝子アトラスの構築である。モデル植物シロイヌナズナを対象に11種類の環境ストレス（アブシジン酸、低温、乾燥、高温、強光、低酸素、浸透圧、酸化、塩、傷害、病害）のマイクロアレイ（1131サンプル）およびRNA-Seq（1050サンプル）データセットを公共データベースから収集した。通常条件と各ストレス処理条件間の遺伝子発現比をもとに、複数の研究にわたって発現が変動したデータ数を遺伝子ごとにカウントし、これをStress Response score (SRscore) と命名した。これらSRscore群を要素としてストレス応答遺伝子アトラスを構築した。SRscoreの再現性を評価するため、SRscoreが高い遺伝子群について遺伝子オンロジーエンリッチメント解析をした結果、既知のストレス応答に関連する遺伝子群の有意な濃縮が示された。さらに、高温および低温ストレスに対するSRscoreが高い合計26個の機能未知遺伝子を選抜し、発現解析による実験的検証を行ったところ、ほぼ全ての未知遺伝子において発現レベルが顕著に増加していた。以上より、ストレス応答遺伝子アトラスの有用性が示され、今後は広く利用可能な情報システムとして確立するため更なる改良を進める。

2D-01

エゾノギシギシのシュウ酸合成経路は明暗で異なる

Oxalate synthesis pathways in *Rumex obtusifolius* L. are different between light and dark conditions

佐久間 若菜¹, 村山 秀樹², 宮城 敦子²

¹山形大・院農, ²山形大・農

シュウ酸は、植物において被食防御や酸性土壌中のAlイオンの解毒などに役立つ有益な生理活性物質だが、動物にとってはミネラル不足や尿路結石症などを引き起こす劇物である。植物のシュウ酸の合成経路として、主にイソクエン酸経路、グリコール酸経路、アスコルビン酸経路が存在する。これまでに、タデ科の高シュウ酸植物エゾノギシギシ (*Rumex obtusifolius* L.) ではイソクエン酸経路が葉のシュウ酸合成の主要経路であることが報告されている。しかしながら、イネではイソクエン酸経路の主要酵素の1つであるイソクエン酸リアーゼ (ICL) が夜間に発現することが報告されており、明所でのシュウ酸蓄積におけるイソクエン酸経路の寄与については不明である。そこで、本研究では、明暗の違いがシュウ酸合成経路に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした解析を行った。ICLの阻害剤であるイタコン酸に着目し、エゾノギシギシを異なる条件（明所、暗所、イタコン酸有・明所、イタコン酸有・暗所）で3週間生育した植物体の葉から代謝物を抽出し、CE-QQQ-MSを用いてシュウ酸を定量した。その結果、明所と暗所とで比較するとシュウ酸含有量は変わらず、暗所で育成した植物体ではイタコン酸処理によってシュウ酸含有量が1/5程度まで減少した。しかしながら、明所で育成した植物体ではイタコン酸を添加してもシュウ酸含有量は2/3程度であり、暗所ほどの減少は見られなかった。以上より、暗所でのシュウ酸合成にはイソクエン酸経路が寄与している一方で、明所では他の合成経路の寄与が大きいことが明らかとなった。このことは、昼夜でシュウ酸蓄積に寄与する経路が大きく異なることを示唆するものである。

2D-02

イネアンモニウム輸送体 1;2 とその負の調節キナーゼ ACTPK1 の窒素依存的相互作用

Nitrogen-dependent interaction between rice ammonium transporter 1;2 and its negative modulator kinase ACTPK1

星川 正太郎, 早川 俊彦

東北大学農学

水田栽培イネ (*Oryza sativa* L.) は、窒素源として主に土壌 NH_4^+ を吸収するが、高濃度 NH_4^+ 供与は多くの陸上植物に有害である。充足濃度 (> 0.25 mM) NH_4^+ 供与イネ根では、高発現・蓄積した STY キナーゼ/Raf-like MAPKKK の ACTPK1 が、主原形質膜 NH_4^+ 輸送体の AMT1;2 の Thr-453 残基をリン酸化して不活性化し、 NH_4^+ 吸収を抑制する。ACTPK1 は、低分子代謝産物結合やタンパク質間相互作用を介して機能調節する ACT ドメインを含む調節ドメインとキナーゼ触媒ドメインを基本構造とする。本研究では、AMT1;2 との相互作用に必須な ACTPK1 の構造領域とこの相互作用に影響する窒素分子種を探索した。タマネギ鱗葉表皮細胞での *CaMV35S* プロモーター制御下一過発現二分子蛍光補完 (BiFC) 実験を用い、窒素供与または非供与 MS 培地静置培養後の表皮細胞における、ACTPK1、各ドメインまたは ACT ドメイン欠損体と AMT1;2 との相互作用を解析した。標準窒素 (12.5 mM NH_4^+ , 31.3 mM NO_3^-) 供与下と 1 mM NH_4^+ 供与下では、ACT ドメインを保持した場合に相互作用が観察された。1 mM アンモニウム処理時に MSX (NH_4^+ のグルタミンへの同化の阻害剤) を添加してもこの相互作用が観察された。一方、1 mM NO_3^- 供与下と窒素非供与下では、ACT ドメインを欠損した場合に相互作用が観察された。以上から、ACT ドメインが、 NH_4^+ 供与下での ACTPK1 と AMT1;2 の相互作用に重要であり、 NH_4^+ 同化産物のグルタミンは相互作用に影響しないことが示唆された。

2D-03

イネ細胞質型グルタミン合成酵素変異体の窒素肥料と栽培密度への応答とその細胞壁成分の利用

Response of rice cytosolic glutamine synthetase mutant to nitrogen fertilizer and density population, and utilization of its cell wall components

高山 あまね, 小島 創一

東北大学大学院農学研究科

窒素は植物が多量に必要とする元素の一つである。還元的な土壌である水田で育つイネは、アンモニウムを主要な窒素源として成長する。アンモニウムはグルタミン合成酵素 (glutamine synthetase, GS) によってグルタミン酸と結合してグルタミンへ同化される。GS の中でも、細胞質型の GS1;2 はアンモニウムの初期同化の鍵酵素であり、その欠損は穂数の抑制を引き起こし、イネの収量を低下させる (Funayama et al. 2013 PCP)。一般的に、穂数の抑制はイネの収量を低下させるため、好ましい形質ではない。しかし、穂とならない無効な分けつを抑制する形質は、条件によってはイネの生産性を高めるかもしれない。とりわけ、植物が密集する密植環境では有利となる可能性がある。無機窒素が有機化されるためには有機酸による炭素骨格の供給が必要である。有機酸は光合成に由来する。過剰な施肥は有機酸への炭素投資を増加し、細胞壁を低下させる。それゆえに過剰に施肥された植物は病害に対する抵抗性が低い。本研究では、(1) 異なる栽培密度環境で GS1;2 欠損のバイオマスに対する効果を検証した。さらに、(2) GS1;2 の欠損が細胞壁成分へ与える影響を検証した。二つの研究から、窒素同化の調節によるリグノセルロース生産量の変化について考察した。

2D-04

イネの窒素欠乏応答ネットワークにおける OsbZIP11 転写因子の機能解析

Functional analysis of OsbZIP11 transcription factor in the regulatory network of nitrogen deficiency response

大槻 並枝¹, 植田 佳明², 櫻庭 康仁¹, 柳澤 修一¹

¹東大・農, ²JIRCAS

窒素は植物の多量必須元素の1つであり、窒素栄養の不足は作物の収穫量に深刻な影響を与えるので、窒素欠乏応答と呼ばれる低窒素環境に応答して起こる種々の生理反応の分子メカニズムを明らかにすることは重要である。我々は、窒素応答性の異なるイネ 20 品種の根を用いたトランスクリプトーム解析と遺伝子共発現解析により、窒素欠乏応答のための転写制御ネットワークの維持に貢献度が高い候補の1つとして bZIP 型転写因子である OsbZIP11 を見出した。そこで、今回、*osbzip11* 変異株と *OsbZIP11* 過剰発現株を作成して *OsbZIP11* の機能解析を行ったので報告する。*osbzip11* 変異株は、低窒素栽培条件において野生型株と比較して高成長を示し、また光合成活性も高く維持されていたが、一方で、*OsbZIP11* 過剰発現株では葉の黄化を伴う光合成活性の顕著な低下が観察された。また、トランスクリプトーム解析により *osbzip11* 変異株では複数の光合成関連遺伝子の発現が顕著に上昇していることが示されたことから、クロマチン免疫沈降アッセイとプロトプラストを用いた一過的発現系解析を行い、*OsbZIP11* が光合成遺伝子の発現を直接抑制していることを明らかにした。*OsbZIP11* 遺伝子の発現は根で強い一方で、低窒素応答は地上部で顕著であり、*OsbZIP11* の発現は低窒素処理により 10 倍以上に上昇した。これらのことから、根における転写制御ネットワークの解析から見出された転写因子 *OsbZIP11* は光合成遺伝子の負の制御因子であり、低窒素環境において光合成を負に制御することにも関与していると考えられた。

2D-05

植物スフィンゴ脂質分解代謝系のメタボローム解析

Metabolic fingerprinting of sphingolipid hydrolytic pathways in plants

石川 寿樹¹, 近藤 雄大¹, 市川 莉菜¹, 門屋 茜¹, 梅村 悠太², 田中 秀則³, 長野 稔⁴, 田中 保⁵, 川合 真紀¹

¹埼玉大・院理工, ²岐阜大・院連農, ³岐阜大・iGCORE, ⁴立命大・生命科学, ⁵徳島大・院社会産業理工

セラミド疎水骨格と多彩な親水部で構成されるスフィンゴ脂質は、膜ナノドメインを形成して細胞膜を介したシグナル伝達に寄与するだけでなく、分解代謝によってそれ自身もシグナル分子としてはたらく。動物ではスフィンゴミエリン分解をトリガーとするアポトーシス誘導がよく知られているが、植物におけるスフィンゴ脂質分解代謝系には未だ不明な点が多い。最近、植物型複合スフィンゴ脂質であるグリコシルイノシトールホスホセラミド (GIPC) の酵素的分解が、植物組織の破碎処理によって急速に進行することが見出された。本研究では、植物の組織破碎物中の GIPC 分解産物をプロファイリングし、分解代謝系の全容解明を目指した。シロイヌナズナなどいくつかの植物では、GIPC の疎水部に由来するセラミドおよびセラミド 1-リン酸と、親水部に由来するホスホイノシトールグリカンおよびイノシトールグリカンがそれぞれ主要な分解産物として検出されたことから、GIPC のホスホジエステル結合のいずれか一方を選択的に切断するホスホリパーゼ C (GIPC-PLC) とホスホリパーゼ D (GIPC-PLD) が主要な分解酵素と考えられた。さらに、タバコ一過的発現系と分解産物の網羅解析を組み合わせたスクリーニングにより、Non-specific Phospholipase C (NPC) ファミリーの一部が GIPC-PLD 活性を有することを特定した。分子系統解析および GIPC 分解活性試験の結果、陸上植物の NPC ファミリーは複数のクレードから構成され、そのうちいくつかで GIPC 分解活性が独立に進化してきたことが示唆された。

2D-06

転写開始点制御により細胞内局在の異なる分子種が生じるシロイヌナズナ $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 依存性 NAD キナーゼの機能解析

Functional analysis of Arabidopsis $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -dependent NAD kinases, whose subcellular localization is determined by the transcription start sites

坂口 浩朗¹, 石川 寿樹¹, 山口 雅利¹, 児玉 豊², 川合 真紀¹

¹埼玉大・院・理工, ²宇都宮大・バイオセンター

ピリジンヌクレオチド (NAD(P)(H)) は、様々な生体内代謝に関与している酸化還元物質である。NAD(H)は主に呼吸等の異化反応に使用されるのに対し、NADP(H)は光合成や脂質合成等の同化反応に使用されることから、NAD(P)(H)の量やバランスの制御は植物の生育に非常に重要である。NAD キナーゼ (NADK) は、NAD(P)(H)のリン酸化比のバランス制御に関わる酵素として知られており、NAD(H)をリン酸化してNADP(H)を合成する。シロイヌナズナには細胞内局在の異なる3つのアイソフォーム (NADK1-3) が知られていたが、近年、 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 依存性の新たな NADK (NADKc; At1g04280) が同定され、フラジェリン誘導性の oxidative burst に関与していることが報告された。シロイヌナズナの遺伝子データベースには、長さの異なる2種類の転写産物が登録されていることから、1つの遺伝子から機能や細胞内局在の異なる NADKc タンパク質がつくられる可能性が考えられた。そこで我々は、植物で発現している NADKc 転写産物を同定し、その生理的機能を解明することを目的として研究を行った。その結果、NADKc には複数の転写開始点が存在し、そこから4種類の異なる翻訳産物 (NADKc.1-4) が生じると推定された。GFP を用いた細胞内局在解析とリコンビナントタンパク質を用いた生化学的解析から、NADKc.1 は主にミトコンドリアに、NADKc.2 はサイトゾルに局在し、ともに $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 依存性の NADK 活性を有することが示された。

2D-07

ヒユ科ツルノゲイトウ属とハウレンソウ属におけるスフィンゴ脂質の比較

Comparison of sphingolipids in *Alternanthera* and *Spinacia*

今井 博之¹, 石川 寿樹², 時水 洋和¹

¹甲南大・院生物, ²埼玉大・院理工

本研究では、ヒユ科ツルノゲイトウ属のナガエツルノゲイトウとホソバツルゲイトウの葉のスフィンゴ脂質を分析し、ヒユ科ハウレンソウ属のデータと比較した。我々は以前、ヒユ科アカザ亜科のアッケシソウ、ビート、ハウレンソウの葉に含まれるグルコシルセラミド (GlcCer) の分析において、長鎖塩基の C-8 位の二重結合のシス-トランス異性体比が他の植物の科とは異なることを明らかにした。ツルノゲイトウ属の2種についても GlcCer の組成は、アカザ亜科のデータと同様の傾向を示した。また、遊離セラミド、グリコシルイノシトールホスホセラミド (GIPC) の分子種組成についても解析したところ、ケイトウ、ホソバツルノゲイトウ、ナガエツルノゲイトウは、ハウレンソウとビートと比較して、スフィンガジエニンを有する GlcCer 分子種が少ないが、GIPC は多かった。したがって、ケイトウ属のケイトウ、ツルノゲイトウ属のホソバツルノゲイトウ、ナガエツルノゲイトウと、アカザ亜科のハウレンソウやケイトウの間には、長鎖塩基の C-4 位に関する不飽和化及び水酸化のメカニズムに違いがあることが示唆された。

2D-08

日本イネコアコレクションの窒素肥料に対するバイオマス応答性の集団遺伝学的な評価

Population genetics of biomass response of the Japanese rice core collection to nitrogen fertilizer

本田 圭一¹, 村尾 陽¹, 菅波 眞央², 小島 創一³

¹東北大学農学部, ²福島大学食農学類附属発酵醸造研究所, ³東北大学大学院農学研究科

窒素は植物の必須の元素である。収量を増加させるために多くの窒素肥料が農耕地へ投与される。ハーバー・ボッシュ法による窒素肥料の製造は高温高圧環境で窒素と水素を結合してアンモニウムを合成するため、膨大な化石燃料を必要とする。現代社会の持続可能性を高めるために、窒素肥料の合成に伴う環境負荷を減らす必要がある。これまでの多肥多収の方向性とは異なり、現代農業の穀物品種は、窒素肥料をあまり与えなくとも平均的な収量を得られることが求められる。それゆえに、さまざまなイネ品種の窒素肥料応答性を評価して、低濃度窒素を効率的に利用する形質に関わる遺伝子領域を探索することは、効果的なアプローチとなる。

JRC (Rice Core Collection of Japanese Landraces) は農研機構により作成された日本在来品種のコレクションである。JRC の遺伝的多様性に基づいて光合成誘導反応の応答の違いが報告されるなど、異なる環境条件下では品種に応じて様々な環境応答が観察されることが期待されている。本研究では、窒素施肥条件を変えて栽培した JRC の窒素利用の違いを調査した。おおよそ 70 m² の水田を 2 枚使用して、窒素施肥した水田と窒素施肥していない水田とした。そして、それぞれの水田に JRC50 品種のイネを乱塊法で三反復になるように移植して登熟まで栽培した。収穫したイネの地上部を穂と藁に分けて秤量し、窒素肥料への応答性を評価した。評価の方法として、GWAS (ゲノムワイド関連解析) が適用できるか検討した。

2D-09

野生イネの種子貯蔵タンパク質の解析

Analysis of seed storage proteins in wild rice

松本 啓輔¹, 増村 威宏^{1,2}, 森田 重人^{1,2}

¹京府大・院生命環境, ²京都府農技セ生資セ

【背景と目的】 種子には次世代の窒素源として貯蔵タンパク質が存在している。イネ種子貯蔵タンパク質はプロラミンとグルテリンの 2 種類に大別され、プロラミンはヒトの消化管では難消化性であり、栄養として利用度が低いタンパク質である。野生イネ (*Oryza* 属イネ近縁種) は栽培イネ (*Oryza sativa*) にない有用形質を持つ系統が多数存在するため、イネ育種のための遺伝資源になり得る。本研究の目的は野生イネの種子貯蔵タンパク質の解析を行い、プロラミン含量が低く、消化性の良いタンパク質含量の高い野生イネを探索することである。

【方法と結果】 栽培イネの標準品種である日本晴と野生イネ 7 種 (栽培イネの祖先種である *O. rufipogon* (perennial, annual), *O. barthii*, それよりも遠縁の *O. punctata*, *O. officinalis*, *O. australiensis*, *O. brachyantha*) を実験材料に、種子タンパク質の SDS-PAGE を行った。さらに、貯蔵タンパク質各種に対する抗体を用いてウエスタンブロッティングを行った。*O. rufipogon* (perennial) は日本晴と似た貯蔵タンパク質の様式であったが、これよりも遠縁になると、バンドサイズが多数異なっており、特にグルテリン酸性サブユニット、16kDa プロラミンで種間の差が多くみられた。また、日本晴の貯蔵タンパク質遺伝子の配列を用い、野生イネに対して BLAST サーチを行った結果、各遺伝子の配列は日本晴から遠縁になるほど差がみられた。

2D-10

トドマツ培養細胞からの二次木部の特徴をもった管状要素の誘導

In vitro induction of secondary xylem-like tracheary elements in calli of *Abies sachalinensis*

土井 巖¹, 丸山 莉生¹, 河村 健太^{1,2}, 半 智史¹, 船田 良¹

¹東京農工大・院農, ²森林総研林木育種センター

【背景】樹木の二次木部の主な構成要素の一つに管状要素がある。管状要素とは木部の通道組織を構成する細胞の総称であり、針葉樹では仮道管が木材の90%以上を占め、水分通道および樹体支持を担っている。したがって、木材の形成機構を理解するために、針葉樹における管状要素の形成過程の研究を行うことは重要である。しかし、針葉樹では有縁壁孔や二次壁肥厚面積の広い二次木部の特徴をもった管状要素を安定して誘導できる誘導系は確立されていない。トドマツ (*Abies sachalinensis*) はモミ属の針葉樹で、カルスの増殖性が良く、カルス中に管状要素を含まないことから管状要素誘導系の確立に適した樹種である。そこで本研究では、トドマツを用いて二次木部の特徴をもった管状要素を安定して直接誘導できる系を確立することを目的に管状要素誘導を行った。

【結果と考察】トドマツ成熟種子を 2,4-D 5 μ M, BAP 5 μ M を添加し窒素源を半減させた 1/2NMS 培地で培養することでカルス誘導および維持を行った。管状要素誘導のため植物ホルモン、光条件、乾燥条件を検討したところ、NAA 5 μ M 添加条件では4%の細胞が管状要素に分化した。また、NAA 5 μ M 添加に加え、90分間の乾燥処理を施した条件では、観察された管状要素のうち55%が二次木部の特徴をもった管状要素であった。この結果より、トドマツ培養細胞において乾燥処理は二次木部の特徴をもった管状要素の誘導に有効であることが示唆された。本研究で得られた二次木部の特徴をもった管状要素の誘導率は、これまでのポプラやスギの系に比べ高い数値であり、トドマツ管状要素誘導系は二次木部の管状要素誘導系として有用であると考えられる。

2D-11

エゾマツ成熟種子からの不定胚形成細胞を経由した植物体再生

Plant regeneration by embryogenic suspensor masses from mature seeds of *Picea jezoensis*

丸山 莉生¹, 土井 巖¹, 河村 健太^{2,3}, 半 智史¹, 船田 良¹

¹東京農工大学大学院農学府, ²森林総合研究所林木育種センター, ³東京農工大学大学院連合農学研究所

【背景】植物組織培養では、植物の分化全能性を利用して、植物細胞を分化・増殖させることが可能である。植物組織培養を利用した植物体再生の1つの手法として、種子などから誘導した不定胚形成細胞 (Embryogenic suspensor mass : ESM) を経由して植物体を再生する間接培養法がある。ESMには、増殖性があり1つの胚から大量の不定胚を獲得できる、冷凍保存が可能といった特性があり、ESMを経由した植物体再生技術の確立は、効率の良い大量増殖や絶滅危惧種の保護に最適であるといえる。エゾマツ (*Picea jezoensis*) は、マツ科トウヒ属に属する常緑針葉樹であり、加工性に優れた樹種を生産する樹種であるが、エゾマツの蓄積量は年々減少している。したがって、将来の木材資源の確保や生物多様性の保全のために、本研究では、エゾマツ成熟種子からの ESM を経由した植物体再生を目的として実験を行った。

【実験方法】研究室内で2019年に誘導され5年間ほど長期継代している、エゾマツ成熟種子から誘導された ESM を、mL培地にマルトース、アブシシン酸 (ABA)、ポリエチレングリコール (PEG)、ゲランガムを含んだ培地に移植し不定胚誘導を行った。培養は、25°C暗条件で行った。誘導した不定胚を植物ホルモンを含まない培地に移し、25°C明条件で培養を行い発芽・発根を促した。

【結果と考察】不定胚誘導から6~8週間後に、60 g/L マルトース、120 μ M ABA、50 g/L PEG を含んだ培地において、多数の成熟不定胚が誘導された。誘導された不定胚を発芽発根用の培地に移すと、1~2週間後に発芽や発根が観察された。発芽および発根した幼植物体を同一の培地または植物培養支持体に移したその後の成長を観察している。

2D-12

センブリ組織培養におけるインドール-3-酪酸及びショ糖濃度の検討

Study on the concentrations of indol-3-butyric acid and sucrose in tissue culture for *Swertia japonica*

山本 和彦¹, 河野 徳昭¹, 由井 秀紀², 金子 倫久³, 高田 泰生³, 吉松 嘉代¹

¹医薬健栄研薬植セ, ²長野県野菜花き試, ³日本粉末薬品

センブリは、リンドウ科の二年草で、開花期の全草を乾燥させたものが生薬として利用される。センブリの使用量は年々増加しており[1]、国内栽培の拡大が求められているが、優良品種が少ないことや安定した種苗供給のシステムがないことが課題の一つとなっている。我々はそのような課題を解決するため、植物組織培養技術を活用した種苗生産システムの開発を行ってきた[2]。センブリ培養苗は継代を繰り返すにつれて花芽形成が進み、開花後枯死するものが多く、培養苗の長期間の維持が課題であった。そこで、本研究では、センブリ培養苗の長期間の維持が可能な培養条件を明らかにするため、植付材料、インドール-3-酪酸（IBA）濃度、ショ糖濃度について検討した。

まず、組織培養に使用する植付片の検討を行った結果、ロゼット状のシュートを使用した場合にシュート形成率が高い傾向がみられた。次に、培地中の IBA 濃度を検討した結果、抽苔率やシュート形成率に一貫した傾向は認められなかった。さらに、ショ糖濃度を検討した結果、複数の系統で、ショ糖濃度が低いほど、発根率及び抽苔率が低下する傾向がみられた。

得られた結果から、センブリの組織培養では、抽苔していないロゼット状のシュートを使用し、IBA は無添加、1%ショ糖の培地で培養することで、抽苔が抑えられ、長期間の培養物の維持が可能になると考えられる。

[1] 山本豊ほか, 生薬学雑誌 77(1), 24-41 (2023)

[2] 吉松嘉代ほか, 日本薬学会第 142 回年会 (2022)

【謝辞】本研究は AMED 研究課題 JP18ak0101104 及び JP23ak0101218 の支援を受けた。

2D-13

改変型転写因子を用いたホルモンフリー不定芽・不定胚誘導時の細胞学的観察と植物体再生

Hormone-free adventitious shoot and somatic embryo induction and plant regeneration using modified transcription factors

池田 美穂¹, 佐藤 舞², 中山 潤², 山形 翼²

¹福井県大・生物資源, ²埼玉大・理工

植物の体細胞は植物ホルモン処理などによって脱分化し、別の組織に分化する。我々は、改変型転写因子の過剰発現コンストラクト (*Pro35S:改変TF1*, *RPS5apro:改変TF2*) を 2 種類、同時に導入する不定胚・不定芽誘導系を開発し、一昨年の本学会で報告していた。この系においては、我々が開発した実生インフィルトレーション法（シロイヌナズナ実生に引圧をかけ、アグロバクテリウム溶液を主に子葉の細胞間に浸潤させる方法）を用いて遺伝子を導入する。感染後の実生をホルモンフリー培地で栽培するだけで、約 2 週間後から、生育中の感染植物体の子葉の上に不定芽・不定胚が形成される。今回は、不定芽・不定胚形成のタイミングを解明するため、GFP をマーカーとして感染後の子葉細胞の状態を経時的に観察したところ、感染 19 時間後に GFP 蛍光が観察され、50 時間後には形質転換細胞が 2 分裂していた。その後、分裂は継続的に進行し、細胞塊が形成された。

また、形成された不定芽・不定胚から植物体を再生するため、不定器官を含む子葉を単離、ホルモンフリー培地上で培養した。子葉上のカルス (Embryogenic callus) はホルモンフリーでも効率よく増殖し、たびたび植物体を再生した。再生されたシロイヌナズナ個体における GFP マーカー蛍光を確認したところ、葉上のカルスや根などでは蛍光が観察されたが、葉では観察されなかった。このことから、再生植物体では導入遺伝子がサイレンシングされた可能性が考えられた。

本学会では、この改変転写因子セットをリーフディスク法でタバコに導入し、ホルモンフリーで不定芽を誘導、植物体を再生した結果も報告する。

2D-14

植物細胞農業による細胞性食品のための基礎培地開発の試み

Attempts to develop standardized culture medium for cellular foods produced by plant cellular agriculture

松本 萌人, 五十嵐 圭介

東北大・院農学

現在, 世界中では, 地球温暖化や自然災害によって食料生産の維持が困難になっている。特に, 低・中所得国では干ばつによる被害が生産低下要因の約 8 割を占めている。そのため, 自然環境に左右されない特徴をもつ新たな食料生産方法が求められている。

この新たな生産方法として注目されているのが細胞農業 (Cellular Agriculture) である。細胞農業とは, 生物から採取した細胞を培養して細胞本体や抽出物などを食料や工業製品として屋内で生産する方法である。

細胞農業での生産工程は主に, 細胞採取, 培養, 細胞収穫, 製品化に分かれている。現在, 植物細胞農業を目的として標準化された基礎培地は存在しない。本研究では, 培養時に用いる培地について, 細胞培養のコストや生産物の安全性といった課題の解決を目的とし, 安全で低価格な食品グレード培地の開発を試みた。イネのカルス培養をモデルとして, カルス誘導に使用する N6Cl 培地を対象とした。試験グレードの N6Cl 培地の各成分について, 食品代替成分または食品添加物を用いて食品グレード培地を作製した。作製した培地を用いて, カルス誘導及びカルス増殖を行い, 試薬級培地でのカルス培養との比較を行った。また, 試薬級培地と食品グレード培地とのコスト比較を行った。食品グレード化した培地でもカルスの誘導と増殖を確認することができた。また, 試薬級の培地よりも約 3 分の 1 のコストに抑えることができた。

今後は, 本実験と同様な方法で別の培地の食品グレード化を行い, 他の作物の培養にも応用することで, 細胞農業の社会実装に向けた基礎を構築していきたい。

3A-01

補酵素 A によるカルコン合成酵素の生成物特異性の制御

Coenzyme A-mediated product specificity modulation of chalcone synthase

和氣 駿之, 今泉 璃城, 川極 幸村, 土井 大和, 宇野 海地, 中野 拓也, 高橋 征司, 中山 亨

東北大・院工

フラボノイド合成の前駆体であるカルコンは, III型ポリケタイド合成酵素 (III型 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 *p*-クマロイル CoA にマロニル CoA を 3 回縮合し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分子内環化反応を経てカルコンを生成する。しかしこの過程で, テトラケチド中間体の環化位置の異なる副生成物も生じる。我々は, CHS との相互作用タンパク質としてカルコン異性化酵素類似タンパク質 (CHIL) を見出し, CHIL が CHS を活性化し生成物特異性を矯正することを明らかにした。さらに, CHIL の作用は陸上植物に広く保存されているが, CHS と異なる分子内環化反応を主経路とするスチルベン合成酵素 (STS) やクマロイル三酢酸合成酵素 (CTAS) には作用しないことも示した。したがって, CHIL は III型 PKS の中でも CHS に特異的に作用することが示唆されるが, CHIL がどのように CHS を認識し, なぜ CHS のみが CHIL を必要とするのかは不明な点が多い。本発表では, CHIL による CHS の活性化および生成物特異性制御の作用機序解明を目指し, III型 PKS における CoA 阻害様式を解析した。サイズの CHS1, ブドウの STS, アサガオの CTAS を解析した結果, CHS のクライゼン縮合は低濃度の CoA により選択的に阻害され, その半数阻害濃度 (IC₅₀) は 67 μM となった。一方, STS や CTAS の生成物特異性は CoA の存在によって変化せず, IC₅₀ はそれぞれ 387 μM および 394 μM となった。これにより, CHS に特異的なクライゼン環化と CHIL の作用の関連性が示唆された。

3A-02

活性矯正タンパク質によるカルコン合成酵素の矯正機構に関する構造的洞察

Structural Insights into the Mechanism of Chalcone Isomerase-like Protein that Rectifies Chalcone Synthase Activity

今泉 璃城¹, 和氣 駿之¹, 竹下 浩平², 安田 あおい³, 松浦 滉明², 川極 幸村¹, 中多 舜³, 坂井 直樹², 片岡 邦重³, 高橋 征司¹, 山本 雅貴², 山下 哲³, 中山 亨¹

¹東北大・院工, ²理研RSC, ³金沢大・院自然科学

フラボノイドは植物特化代謝産物の一種であり、C6-C3-C6を基本骨格とするフェノール性化合物の総称である。これらは、優れた抗酸化能を持ち、抗がん作用や血管保護作用などヒトに対する様々な生理活性を示すことから、医薬品や健康食品、化粧品としても活用されている。カルコン合成酵素（CHS）は、フェニルアラニンより誘導される *p*-クマロイル CoA とマロニル CoA 3 分子の連続的な縮合および環化反応を触媒することで、フラボノイドの共通前駆体であるテトラヒドロキシカルコン（THC）を生成する。しかし、組換え型 CHS を用いた試験管内反応では、主として縮合後のポリケチド中間体がラクトン化することで、多量の副生成物が生じることが知られており、植物内では CHS の酵素活性を矯正する未知のメカニズムが存在すると考えられてきた。我々はこれまでに、陸上植物に広く保存されているカルコン異性化酵素類似タンパク質（CHIL）が、CHS の酵素活性を矯正し、THC の生成を促進することを見いだしている¹⁾。しかしながら、CHS に対する CHIL の作用機序に関する構造的な知見は乏しく、相互作用様式や量論比などの詳細については不明であった。本発表では、CHS-CHIL 複合体の精製・結晶化と、X 線結晶構造について報告し、CHIL が CHS の酵素活性に影響する分子メカニズムについて議論する。
【参考文献】 1) T. Waki, R. Mameda, T. Nakano, S. Yamada, M. Terashita, K. Ito, N. Tenma, Y. Li, N. Fujino, K. Uno, S. Yamashita, Y. Aoki, K. Denessiouk, Y. Kawai, S. Sugawara, K. Saito, K. Yonekura-Sakakibara, Y. Morita, A. Hoshino, S. Takahashi and T. Nakayama et al., *Nat. Comm.* (2020), **11**, 870.

3A-03

フラボノイド生合成に関わるシトクロム P450 と可溶性酵素間の相互作用解析

Protein-protein interaction analyses of cytochrome P450 and soluble enzymes involved in flavonoid biosynthesis

高橋 玄, 和氣 駿之, 今泉 璃城, 川極 幸村, 高橋 征司, 中山 亨

東北大学工学研究科 バイオ工学専攻 応用生命化学講座

フラボノイドは陸上植物に蓄積する特化代謝産物の一つであり、紫外線防御や抗酸化作用など、植物の成長戦略に重要な役割を果たしている。フラボノイドの生合成は、弱いタンパク質間相互作用を介した多酵素複合体（メタボロン）形成により効率化されていると考えられている。我々はこれまで、ダイズ (*Glycine max*) のイソフラボンやキンギョソウ (*Antirrhinum majus*) のアントシアニン生合成に関与する酵素群のタンパク質-タンパク質間相互作用解析により、シトクロム P450 を中心とした相互作用ネットワークを明らかにしている (Fujino et al. *Plant J.* 2018)。しかし、メタボロンは単離困難であるため、その全体像は不明のままである。本研究では、メタボロン全貌解明へ向けて、メタボロン形成の核となるシトクロム P450 に着目して可溶性酵素との詳細な相互作用様式の解析を行うこととした。

これまで解析対象としてきたシトクロム P450 に着目し、予測された N 末端膜貫通領域をフレキシブル配列に置換し、コドン最適化を施して pET21b ベクターに導入し、大腸菌 BL21 (DE3) による異種発現を行った。培養液に thiamine および amino levulinic acid を添加して IPTG による発現誘導後、His タグ精製を行ったところ、ダイズ由来 2-hydroxyisoflavanone synthase (GmIFS1) の精製に成功した。GmIFS1 は CO 差スペクトルにより活性型であることが示され、また、ダイズ由来シトクロム P450 還元酵素を発現させた酵母のミクロソーム画分との共反応により、ナリンゲニンおよびリキリチゲニンに対して活性を持つことが確認された。本発表では、バイオレイヤー干渉法による可溶性酵素との相互作用解析の結果も合わせて報告する。

3A-04

ベニバナ (*Carthamus tinctorius* L.) 由来 Chalcone isomerase-fold protein の酵素機能解析

Functional characterization of chalcone isomerase-fold proteins from safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

小杉 泰世¹, 和氣 駿之¹, 今泉 璃城¹, 寺下 美穂¹, 藤田 直樹², 蛭名 宏佑², 加藤 幹也², 根岸 尚志³, 青木 裕一⁴, 高橋 征司¹, 中山 亨¹

¹東北大院・工/Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., ²アーティエンス(株)/artience Co., Ltd., ³トーヨーケム(株)/TOYOCEM Co., Ltd., ⁴東北大学東北メディカル・メガバンク機構/Tohoku Medical Megabank Organization

ベニバナ (*Carthamus tinctorius* L.) は黄色・紅色色素や食用油の原料とされるキク科ベニバナ属の植物である。その花卉には、ベニバナに特異的な Hydroxysafflor yellow A および Safflor yellow B を代表とするキノカルコンやフラボノールなどのフラボノイド化合物が高蓄積している。しかし、その生合成経路には未だ不明な点が多く、特にキノカルコン生合成に関わる酵素はほとんど明らかになっていない。本研究では、ベニバナのフラボノイド生合成調節機構を明らかにすることを目的として、フラボノイド生合成に重要な役割を担う Chalcone isomerase-fold protein に着目し、Chalcone isomerase (CHI) および Chalcone isomerase-like protein (CHIL) をクローニングし、その詳細な酵素機能解析を行った。

ベニバナのゲノムデータベースより、Type I CHI を 2 つ (CtCHI1, CtCHI2) および Type IV CHI を 1 つ (CtCHIL) 見出した。これら CHI 遺伝子は、ベニバナの開花初期ステージの花卉において転写レベルが高く、キノカルコンおよびフラボノールの蓄積挙動や上流酵素である Chalcone synthase (CHS) の転写挙動と良く相関した。これら CHI をベニバナ花卉から抽出した Total RNA を鋳型とした RT-PCR によりクローニングし、大腸菌発現ベクターである pColdI にサブクローニングした。本発表では、*in vitro* における CHI, CHIL の酵素機能を報告し、キノカルコン生合成への寄与を考察する。

3A-05

キンギョソウの液胞膜に局在するカルコン輸送体の解析

Characterization of chalcone transporter in the tonoplast of *Antirrhinum majus*

一色 桂吾, 高梨 功次郎

信州大・総合理工学

[背景]

オーロンは他のフラボノイドと同様にカルコンを前駆体として生合成される。黄色品種のキンギョソウ花卉で蓄積する aureusidin 配糖体は、aureusidin synthase (AmAS1) が 2',4,4',6'-tetrahydroxy chalcone (THC) 配糖体の B 環への水酸基の導入と C 環の閉環を触媒することで、生合成される。キンギョソウにおいて chalcone glucosyltransferase (Am4'CGT) による THC の配糖化は細胞質で触媒され、AmAS1 によるオーロンへの変換は液胞内で起こるため、aureusidin 配糖体生合成の過程において THC 配糖体は液胞に輸送される必要があると推測されるが、その機構は明らかになっていない。

[方法と結果]

キンギョソウ花卉におけるカルコン輸送機構を調べるために、キンギョソウの花卉から膜ベシクルを調製した。THC を基質とした輸送アッセイを行ったところ、ATP 依存的な THC の膜ベシクルへの取り込みが見られた。続いて、シヨ糖密度勾配遠心法により液胞膜に富む画分を分画し、同様に輸送アッセイを行ったところ、やはり ATP 依存的な THC の取り込みが見られた。これらの結果はキンギョソウ花卉における THC の液胞輸送に、ATP 依存的な輸送体に関与することを示唆している。

3A-06

シコニン生産と関連するムラサキの ABC 輸送体 LePDR1 の解析

Analysis of ATP-binding cassette protein LePDR1 related to shikonin production of *Lithospermum erythrorhizon*

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

¹京都大・生存研, ²神戸薬科大・薬学部, ³徳島大・生物資源, ⁴東洋大・生命科学

ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) は、日本、韓国、中国に自生するムラサキ科の多年生草本である。その代表的な二次代謝産物であるシコニンは、ナフトキノン系の赤色色素で、抗菌作用、抗腫瘍作用など様々な生理活性を有する。シコニンは脂溶性の物質で、植物体の根や培養細胞において細胞外に大量分泌されるが、シコニンの輸送機構は不明である。陸上植物において、細胞外に分泌される脂溶性物質にはワックスやスベリンなどが知られており、その分泌には膜輸送体の ABC 輸送体が関わる経路と、膜ダイナミクスが関与する経路の 2 つが提唱されているが (1)、両者の相関は未解明である。本研究では、ABC 輸送体に着目し、シコニン輸送とその関与を明らかにすることを目的とした。

ムラサキはそのゲノムに少なくとも 118 個の ABC 輸送体遺伝子をコードしていることが推定された (2)。比較トランスクリプトーム解析を行い、シコニン生産制御の特徴を指標にシコニンの分泌生産と相関が示唆される遺伝子を探索した結果、G-タイプの ABC 輸送体 (PDR-like) をコードする遺伝子が見出され、*LePDR1* と名付けた。この *LePDR1* についてムラサキへの遺伝子導入系を用いた発現細胞層の特定および局在膜の特定、ゲノム編集を用いた発現欠損株の作出、ABC 輸送体の阻害剤を用いた実験を現在行っており、その結果について報告する。

(1) Ichino and Yazaki., *Current Opinion in Plant Biology*, 66, 102184. 2022

(2) Li et al., *DNA Research*, 29(3), dsac016. 2022

3A-07

ゼニゴケのビスビベンジル生合成に関与する cytochrome P450 の探索

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

木村 渚¹, 小林 悠華¹, 水田 珠希², 水谷 正治², 高橋 宏暢³, 久保 浩義¹, 高梨 功次郎¹

¹信州大院・総合理工学, ²神戸大院・農, ³徳島文理大・薬

【背景】タイ類のゼニゴケは維管束植物とは少し異なるフェニルプロパノイド経路を有しており、環状ビスビベンジル構造を有するマルカンチンを特異的に生産する。1999 年の先行研究において行われたトレーサー実験により、マルカンチン生合成経路中間体の lunularic acid の前駆体である dihydro-*p*-coumaroyl-CoA は、*p*-coumaric acid が還元された dihydro-*p*-coumaric acid から生合成されると推測された。さらに、その後の lunularic acid のカップリング反応は cytochrome P450 によるものと推測された (Friederich et al., 1999)。推測されている生合成経路のうち、マルカンチン前駆体である lunularic acid 生合成を触媒する酵素 (Zhu et al., 2022) および dihydro-*p*-coumaroyl-CoA 生合成を触媒する酵素 (昨年度の本大会) が報告された。ゼニゴケの環状ビスビベンジル生合成経路の未解明部分は残すところ lunularic acid のカップリング反応のみである。本研究では、lunularic acid のカップリング反応を行う酵素を同定することを目的とした。

【結果・考察】環状ビスビベンジルの蓄積が増大する MpMYB02 過剰発現株において、発現が誘導された 9 分子種の cytochrome P450 を解析対象とした。これらを出芽酵母に発現させ、環状ビスビベンジル生合成経路の中間体と推定される化合物を基質とした酵素アッセイを行ったところ、ビスビベンジル化合物と推定される化合物への変換活性を有する分子種が見出された。

3A-08

ゼニゴケにおけるフェニルプロパノイド生合成経路遺伝子破壊株のメタボローム解析

Metabolome analysis of knockout lines of phenylpropanoid pathway genes in *Marchantia polymorpha*

水田 珠希¹, 井上 珠緒¹, 橘 美紗希¹, 中村 幸誠¹, 石崎 公庸², 浅川 義範³, 高梨 功次郎⁴, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農学, ²神戸大・院理学, ³徳島文理大・薬, ⁴信州大・院総合理工

フェニルプロパノイド生合成経路は *L*-phenylalanine から *p*-coumaroyl-CoA を生成する共通経路からリグニン, フラボノイド, および系統特異的な代謝物を生成する経路へ分岐する陸上植物特有の経路であり, 産生される化合物は染料や香料, 医薬品などとして利用されている。コケ植物ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) は 1-2 カ月で形質転換体を取得でき, 遺伝子重層化も迅速に実施できるため物質生産プラットフォームとしてユニークなポテンシャルを備えている。ゼニゴケにおけるフェニルプロパノイド代謝工学の利用可能性について探索することを目的として, 本研究ではフェニルプロパノイド生合成経路遺伝子破壊株のメタボローム解析を行った。ゼニゴケは共通経路に加え, 種特異的なフェニルプロパノイド代謝産物として, ナリンゲニンカルコンから生じる riccionidin A (auronidin), および, ルヌラリン酸から生じる marchantin A に代表されるビスビベンジル類の生合成経路を有している。現在までに共通経路に位置する桂皮酸 4 水酸化酵素 (MpC4H1) と, marchantin 類生合成に関与すると推定される 4 種のシトクロム P450 (MpCYP1~MpCYP4) 候補の遺伝子破壊株を獲得している。これら破壊株の代謝プロファイルと比較すると, *Mpc4h-ko* と *Mpcyp4-ko* では marchantin 類の減少が確認された。現在, 詳細な代謝産物変動を調べるため LC-TOF MS による解析を進めている。

本研究の一部は JST 革新的 GX 技術創出事業 (GteX) : JPMJGX23B0 の支援を受けたものです。

3A-09

ゼニゴケのフラボン 7 位グルクロン酸転移酵素

Flavone-7-O-glucuronosyltransferases in *Marchantia polymorpha*

古舘 拓来, 徳江 創太郎, 久保 浩義, 高梨 功次郎

信州大院・総合理工

【目的】コケ植物のゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) はフラボノイド生合成経路を有しており, 主にフラボンの 7 位グルクロン酸配糖体を蓄積する。維管束植物のフラボノイド糖転移酵素として, グルコース転移酵素が多く報告されている一方で, グルクロン酸転移酵素は限られた植物種のみで報告されている。維管束植物とコケ植物はそれぞれ独立的にフラボノイド糖転移酵素を発展させてきたと推測されている。本研究では, ゼニゴケのフラボン生合成経路に関与する糖転移酵素の同定および機能解析を行うことで, コケ植物の糖転移酵素に関するさらなる知見を得ることを目的とした。

【結果】これまでに, ゼニゴケのフラボンのグルクロン酸配糖体が高蓄積する *MpMYB14* 過剰発現株において, 発現が上昇していた glycosyltransferase (MpGTs) 遺伝子に関する機能解析が行われ, フラボン 7 位グルクロン酸転移酵素 (MpGT1) を同定した。今回, 新たに *MpGT2* を単離し, 大腸菌に異種発現させて酵素活性を測定したところ, *MpGT1* と同様にフラボン 7 位グルクロン酸転移活性を示した一方で, *MpGT1* とは異なる基質特異性を示した。このことから, *MpGT1* および *MpGT2* はゼニゴケ生体内で機能分担していることが推測された。

3A-10

ゼニゴケのグルクロン酸配糖化酵素の分子進化

Molecular evolution of glucuronosyltransferases in *Marchantia polymorpha*

佐伯 結衣, 徳江 創太郎, 久保 浩義, 高梨 功次郎

信州大院・総合理工学

【目的】コケ植物は高等植物とは独立にフラボノイド生合成経路を獲得したため、その生合成酵素や生成物が高等植物とは少し異なる。フラボノイド配糖体もそのようなもののひとつであり、コケ植物はグルクロン酸、高等植物はグルコースをそれぞれ主に付加している。ゼニゴケのフラボン7位特異的にグルクロン酸を付加するグルクロン酸配糖化酵素の機能解析が行われ、活性中心付近の Arg 残基がグルクロン酸認識に必要であることが推測された。本研究では、この Arg 残基を有していたゼニゴケ配糖化酵素の中から、フラボノイドを高蓄積する MpMyb14 過剰発現株において発現が上昇していた2分子種について機能解析を行い、これらのフラボノイド生合成経路への関与を調べることにした。

【結果】対象とした2分子種の糖転移活性を調べるために大腸菌を用いて組換えタンパク質を調製した。アッセイを行ったところ2分子種はそれぞれフラボンの3'位、もしくは4'位特異的なUDP-グルクロン酸転移活性を有していた。活性中心付近の Arg 残基を Ala 残基に置換し、糖供与体特異性の変化を調べたところ、2分子種ともグルクロン酸転移活性が低下した。このことから、ゼニゴケのグルクロン酸配糖化酵素においてこの Arg 残基がグルクロン酸認識に重要な残基であると推測された。

3A-11

リグナン/フラボノイド OMT におけるリグナンメチル化活性の選択的機能破壊

Selective loss of function of lignan O-methylation activity in lignan/flavonoid O-methyltransferase

小林 慶亮¹, 陶山 莉菜乃¹, 三上文三¹, 山村 正臣^{1,2}, 梅澤 俊明¹

¹京大学生存圏研究所, ²徳島大学大学院社会産業理工学研究部

O-メチルトランスフェラーゼ (OMT) は、リグナン等の二次 (特化) 代謝産物の生合成において重要な役割を果たしている。現在までに、ジベンジルブチロラクトンリグナン (DBL) のメチル化を触媒する OMT (DBLOMT) として8種が同定されており、それぞれの基質特異性に関する解析が進んでいる。しかし、異なる基質特異性の発現に関与する DBLOMT のアミノ酸残基については、未だ系統的な知見が得られていない。 *Carthamus tinctorius* (ベニバナ, キク科) は、matairesinol OMT (CtMROMT) と flavonoid OMT (CtFOMT) と命名され、高いアミノ酸配列相同性 (73.7%) を示す2種の OMT を産生する。両 OMT ともフラボノイドの一種であるアピゲニンをメチル化しアカセチンを生成させる一方、CtMROMT のみが DBL の一種であるマタイレジノールのメチル化によるアクチゲニンの生成活性を有している。今回、マタイレジノールのメチル化活性 (MROMT 活性) は選択的に損なわれるが、アピゲニンのメチル化活性 (FOMT 活性) が保持されている CtMROMT 変異体を、部位特異的変異導入法により得た。これにより CtMROMT の MROMT 活性発現に選択的に関与するアミノ酸残基が同定された。この結果は、OMT の基質特異性に関与するアミノ酸残基の同定に関する新たな例であり、さらに、リグナンとフラボノイドという異なる二次代謝産物群間での基質特異性発現機構の差異の理解を進めるものである。

3A-12

ムラサキゴテンの flavonoid 8-hydroxylase の同定と機能解析

Identification and Characterization of the Flavonoid 8-hydroxylase in *Tradescantia pallida*

内田 開¹, 平井 優美^{1,2}

¹理研CSRS, ²名大・院生命農学

フラボノイドは高等植物に広く分布している二次代謝物であるが、8位が水酸化されたフラボノイドは限られた種にのみ分布している。これまでに、いくつかの flavonoid 8-hydroxylase (F8H) が同定されているが、植物ではいずれの F8H も双子葉植物からのみ単離されている。ムラサキゴテンはツユクサ科の単子葉植物で、高度にアントシアニンを蓄積するとともに hypolaetin (8-hydroxyluteolin) などの 8 位水酸化フラボン蓄積するが、その生合成に関する酵素遺伝子は一切明らかになっていない。そこで本研究ではムラサキゴテンを用いて、F8H の同定と機能解析を試みた。

明所および暗所で培養したムラサキゴテンの挿し芽を地上部と地下部に分けサンプリングし、RNA シーケンスを用いたトランスクリプトーム解析を行った。発現量などをもとに複数のシトクロム P450 およびフラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO) を候補遺伝子として選抜し、酵母発現系を用いてアッセイを行った。その結果、一つの FMO がフラボノイドの 8 位水酸化活性を示したことから、これを TpF8H と命名した。なお、これまでに同定されている植物の FMO タイプの F8H はミヤコグサ (LjF8H) のみである。

TpF8H の基質特異性を解析したところ、フラボノイドの中でも主にフラボンに対して強い活性を示し、ナリンゲニンなどのフラバノンにも活性が見られた。一方、LjF8H の主な基質と想定されているケルセチンなどのフラボノールに対しては活性を示さなかった。また、TpF8H と LjF8H はアミノ酸同一性が 34%程度しか見られない一方で、多様な FMO を含む系統樹上では同一クレードに属していた。現在 TpF8H を過剰発現した植物等を用いて詳細な機能解析を行っている。

3A-13

ナデシコ科のフラボン C-配糖体生合成に関わる酵素 cDNA の同定と機能解析

Identification and functional analysis of the enzymes involved in C-glycosylflavone biosynthesis in Caryophyllaceae

内田 開, 原野 健太, 明石 智義

日本大学・生物資源

フラボンは植物全般に存在するのに対し、その C-配糖体は植物界に散在して分布する。それらの生合成機構と関与する酵素は植物ごとに異なり、多様性が存在する。多くの植物では、シトクロム P450 (P450) 型の flavanone 2-hydroxylase (F2H) の働きでフラバノンの 2 位がヒドロキシ化され、その後配糖化、及び脱水反応を経てフラボン C-配糖体が生成すると想定されている。

ナデシコ科のシラタマソウ (*Silene vulgaris*) は、葉にフラボン C-配糖体を蓄積することが知られている。公共データベース中の同植物の葉の RNA-シーケンスデータを用いて探索を行うと、予想外なことに既知の P450 型の F2H ホモログと高い同一性を示す配列は検出されなかった。一方、2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ (ODD) である flavanone 3-hydroxylase (F3H) のオルソログと、これと 60%程度の同一性を示す配列 (SvF2H) が存在した。この酵素タンパク質を大腸菌で発現させて *in vitro* の酵素アッセイを行ったところ、これが F2H 活性を持つことが明らかになった。また F2H の次にはたらく C-配糖化酵素 cDNA (SvCGT) も同定した。

SvF2H のオルソログは、近縁のカワラナデシコ (*Dianthus superbus*) やムギナデシコ (*Agrostemma githago*) にも存在した。これによりナデシコ科のフラボン C-配糖体生合成の前半の酵素が明らかになると共に、F2H 活性を示す ODD が存在することが初めてわかった。さらに SvF2H と SvCGT を共発現させた組換え大腸菌を用いてフラボン C-配糖体の前駆体のバイオ生産も試みた。

3A-14

フラボン C-配糖体の生合成に必要な 2-ヒドロキシフラバノン C-配糖体脱水酵素遺伝子の同定

Identification of 2-hydroxyflavanone C-glucoside dehydratase gene for biosynthesis of flavone C-glucoside

中村 典子¹, 高藤 和輝¹, 別府 佳紀¹, 久津見 ゆうか¹, 勝元 幸久¹, 明石 智義², 田中 良和¹

¹サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社 研究部, ²日本大学 生物資源科学部 応用生物科学科

フラボン C-配糖体はファイトアレキシンや花色の青色化に寄与するコピグメントなどとして機能する。フラボン C-配糖体 (CFn) はイネなどでは、フラバノン→2-ヒドロキシフラバノン→2-ヒドロキシフラバノン C-配糖体 (2HFCG) を経て合成されるが、2HFCG→CFn の脱水反応を触媒する 2HFCG 脱水酵素 (2HDH) の実態は不明であった。マメ科の 2-ヒドロキシイソフラバノン脱水酵素がカルボキシルエステラーゼであることから、イネやソバなどがコードするホモログ数十種を大腸菌で発現させたが 2HDH の活性を示す遺伝子は得られなかった。これらの植物の粗酵素液では 2HDH 活性も検出できなかったが、ナデシコ花卉の粗酵素液から活性を検出できた。ナデシコ花卉の粗酵素液から数種のカラムクロマトグラフィーにより 2HDH を粗精製し、活性とパラレルな挙動を示すタンパク質をカーネーション花卉データベースに基づくマスペクトル解析から抽出した。これらの cDNA を大腸菌で発現させることにより、2HFCG からフラボン 6-C-配糖体を生成する 2HDH 遺伝子を同定した。本タンパク質は今まで酵素活性が報告されていない antimicrobial protein などと相同であり、このオルソログはナデシコ科の *Silene littorea* などから見出されたが、他のナデシコ目植物には見られなかったことから、今回解明した C-フラボンの合成経路はナデシコ科に特有であると推察された。本遺伝子をフラバノン 2-水酸化酵素、2-ヒドロキシフラバノン C-糖転移酵素と酵母で共発現させると、フラボン 6-C-配糖体が合成された。今後、植物で CFn を蓄積させることが可能になると期待される。

3A-15

ホウレンソウにおける低シュウ酸化寄与遺伝子の同定

Identification of genes contributing to low-oxalate-content in spinach

山中 温人¹, 市川 翔哉¹, 石橋 和太², 佐々木 健太郎², 増田 悟郎¹, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹

¹農大・バイオ, ²農研機構

ホウレンソウはビタミンやミネラルなどの栄養価が高い野菜として食されているが、シュウ酸を多量に蓄積しており、えぐみや腎結石形成の要因となることから、低シュウ酸化育種が望まれる。しかしながらホウレンソウの形質転換系は未だ確立されておらず、個体レベルで遺伝子機能の改変を行った報告はほとんどない。先行研究において Virus Induced Gene Silencing (VIGS) 法を用いてシュウ酸含量の低減に影響する遺伝子の探索を行ったところ、1つの遺伝子において遺伝子発現の低下に伴ってシュウ酸含量が低下することを見出し、その遺伝子を *Reducing Oxalate Content* (ROC) 遺伝子と名付けた。本研究では、EMS 処理による突然変異誘発により ROC 遺伝子変異株および、低シュウ酸含量変異株の単離を試みた。ROC 変異株スクリーニングでは、EMS 処理を行った M1 世代において ROC 遺伝子のエキソン領域を PCR で増幅し、その DNA 断片に T7 Endonuclease I 処理をすることで、ROC 遺伝子への変異検出を行い、さらにその M2 以降の世代を用いて低シュウ酸変異株のスクリーニングを行っている。また本研究では、組織培養を介さない新しいゲノム編集技術である in plant Particle Bombardment (iPB) 法をホウレンソウへ適用し、ROC 遺伝子へのゲノム編集による変異導入を試みた。

3B-01

交配により外来核酸を取り除いた *GBSSI* ゲノム編集ジャガイモ中の外来核酸残存の評価

Evaluation of remaining foreign DNA in *GBSSI* genome-edited potatoes after genetic segregation

安本 周平^{1,2}, 島田 浩章^{1,3}, 村中 俊哉^{1,2}

¹阪大・院工・生物工学, ²阪大・先導的学際研究機構, ³東京理科大・生命システム

ゲノム編集は作物のゲノムの狙った配列を改変可能な育種技術である。ゲノム編集作物を実用化するにあたっては、使用した外来核酸の残存について慎重な評価が求められている。我々は、デンプンの合成に関わる *GBSSI* 遺伝子を CRISPR/dMac3-Cas9 によりゲノム編集することによってデンプン形質を改変した形質転換体ジャガイモの作出に成功している [1]。さらに、トマトを台木として接ぎ木を行うことでジャガイモの結実率を向上させ、高効率に後代真正種子を取得することが可能となっており [2]、形質転換系統の交配によって、外来核酸を保持しないヌル分離系統の作出が期待できる。

本研究では次世代シーケンス技術を用いる *k*-mer 解析 [3,4] によって、形質転換当代とその後代系統の解析を実施したところ、交配に使用した形質転換当代系統ではゲノム編集酵素発現ベクターの T-DNA 領域の挿入が確認された。また、1 系統の後代系統において 25-mer の短い外来核酸が検出された。その他の複数の後代系統においてはベクターに由来する *k*-mer のピークが検出されず、交配によって外来核酸が遺伝的に分離したことが示された。

[1] Kusano *et al.*, *Scientific Reports* **8**, 13853 (2018)

[2] Takeuchi *et al.*, *Plant Biotechnology* **39**, 195-197 (2022)

[3] Itoh *et al.*, *Scientific Reports* **10**, 4914 (2020)

[4] Yasumoto and Muranaka, *Scientific Reports* **13**, 12246 (2023)

3B-02

人工腸液試験におけるピーナッツタンパク質の消化抵抗性の数値化

Quantification of the digestibility of peanut proteins during trypsin treatment

寺島 瑞歩¹, 西内 巧², 宮原 平¹, 児玉 浩明¹

¹千葉大・院園芸, ²金沢大・疾患モデル総合研究センター

遺伝子組換え作物における導入遺伝子産物である外来タンパク質のアレルギー誘発性のリスク評価では人工胃腸液処理試験（以下、消化性テスト）が課されている。代表的なアレルゲンタンパク質であるピーナッツの Ara h1 などが消化抵抗性を示すことから、消化性テストは腸管免疫機構への暴露量のリスク評価に用いられている。しかし、消化性テストとして実施されている SDS-PAGE による残存ペプチド断片の検出結果からは、アレルギー誘発性を示す原因となるエピトープ配列が消化されているかどうかは判別できない。また、非アレルゲンタンパク質でも消化抵抗性を示す例があることや果実由来アレルゲンタンパク質ではペプシンで容易に消化される例があることから、組換えタンパク質のアレルギー誘発性の評価における消化性テストの妥当性・必要性について議論されている。

本研究ではアレルギー誘発性を有する主要作物の可食部に含まれるタンパク質について消化抵抗性を網羅的に調べること、タンパク質の消化抵抗性とアレルギー誘発性との間での相関について明らかにすることを目標としている。Ara h1 のようなアレルゲンタンパク質が消化抵抗性を示す理由として、三次構造が強固であり消化酵素がタンパク質にアクセスできないことが考えられる。そこで、ウレア（尿素）処理により三次構造を変性させトリプシン消化を促進した場合とウレア未処理の通常の消化性テストでの消化断片を、プロテオーム解析により比較することでトリプシン消化における消化抵抗性を数値化した。本発表では、ピーナッツタンパク質について網羅的にトリプシン消化における消化抵抗性を調査した結果を報告する。

3B-03

カルタヘナ法に基づく遺伝子組換え農作物の生物多様性への影響評価

Risk Assessment of Genetically Modified Crops on Biological Diversity Based on Cartagena Act

青木 政典

農林水産省消費・安全局農産安全管理課

遺伝子組換え農作物について、我が国では、食品や飼料としての安全性及び生物多様性への影響について、それぞれ科学的な評価を経て全て問題のないもののみが、輸入、栽培等の一般的な使用が承認される。

このうち、生物多様性への影響については、カルタヘナ法に基づき、導入遺伝子により付与された生理学的・生態学的特性等の情報をもとに、野生動植物等に対する競合における優位性、有害物質の産生性、交雑性等の観点で評価される。その際、我が国の自然条件下で生育した場合の特性が不明なものに対しては、国内隔離ほ場試験での情報収集を求めている。このため、一般的な使用に当たっては、隔離ほ場試験に向けた評価と、隔離ほ場試験結果も踏まえた一般的な使用に向けた評価の2段階評価を経ることが原則となっている。

他方、生物多様性への影響評価においては、行政リソースの適切な配分の下、技術の進展に対応した評価が可能となるよう、過去の評価で得られた科学的知見に基づき、数次にわたり手続きの改善を行ってきた。その中で、隔離ほ場試験についても、宿主がトウモロコシ又はワタであって、①導入遺伝子の作用機序が明らかであり、②付与された性質がもたらす生物多様性への影響の程度が承認済みのものと同程度以下と認められる場合は、海外試験結果等による国内隔離ほ場試験の代替（データトランスポートビリティ）を段階的に認めてきたところであり、今般、対象となる宿主にダイズを追加予定である。

本発表では、カルタヘナ法に基づく遺伝子組換え農作物の評価について、その全体像を概説するとともに、同評価におけるデータトランスポートビリティの状況等を報告する。

3B-04

ゲノム編集イネ系統の届出制度による野外栽培試験の取組み

Field Cultivation Trials of Genome-edited Rice Lines under The Notification System

小松 晃¹、大武 美樹¹、金原 千佳子¹、坂井 寛章²

¹農研機構・生物機能利用研究部門、²農研機構・高度分析研究センター

現在、ゲノム編集作物の野外栽培については、平成31年2月に「ゲノム編集技術の利用により得られた生物であってカルタヘナ法に規定された「遺伝子組換え生物等」に該当しない生物の取扱いについて（環境省自然環境局長通知）」に従って、ゲノム編集技術の利用により得られた生物のうち、最終的に得られた生物に細胞外で加工した核酸が含まれない場合はカルタヘナ法の対象外とされ、一般の圃場を含めて栽培できる仕組みとなっている。

我々は、「ムーンショット型研究開発事業」において、NEDOが取り組むムーンショット目標「2050年までに、地球環境再生に向けた持続可能な資源循環を実現」の達成に向けた研究開発等を進めている。その一環として、これまで素材開発を進めてきたゲノム編集イネ系統について、今年度5月の野外栽培試験開始を目指し、「研究段階におけるゲノム編集技術の利用により得られた生物」の категорияとして、文部科学省に「ゲノム編集技術の利用により得られた生物の使用等に係る実験計画報告書」の届出を行った。

この報告書で情報提供する最も重要な項目として、「カルタヘナ法に規定される細胞外で加工した核酸又はその複製物が残存していないことが確認された生物であること」の証明が挙げられる。この項目に対しては、NGS解析結果を用いた「k-mer法」により、ベクター配列を含む核酸が残存していないことの証明を行った。今回の申請系統に対しては、報告書の記載とは別途、サザンブロット解析による残存の有無の確認も比較のために実施した。これらの結果についても報告する。

3B-05

太陽誘起クロロフィル蛍光画像を用いたスマート農業とカーボンニュートラルのイノベーション

Innovations in Smart Agriculture and Carbon Neutrality Using Solar-Induced Chlorophyll Fluorescence Imaging

増田 健二¹, 飯尾 淳弘², 岡澤 宏³, サイモン イェーツ⁴

¹静岡大・技術, ²静岡大・農, ³東京農業大・地域環境科学, ⁴AgEagle社

AgEagle社と太陽誘起クロロフィル蛍光(SIF)画像を用いたマルチスペクトルカメラの共同開発をしている。ドローン搭載のSIF対応のマルチスペクトルカメラは、スマート農業(精密農業)の圃場センシングの精度を格段に向上させる。また、カーボンニュートラルの前提である森林によるCO₂吸収量の特定は、人工衛星GOSAT等による全球レベルの森林植生による総一次生産(GPP)の推定や地球温暖化対策を検証する上でも重要となっている。高感度・高精度に広域のSIF画像データを瞬時に取得できる本マルチスペクトルカメラの能力は、研究分野に留まらず商業的にも大きな利益をもたらす可能性がある。太陽誘起蛍光(SIF)には、クロロフィル蛍光(Chl F)と余剰エネルギーの蛍光(Excess F)がある。Chl Fは、光合成経路に関連して、植物の生育状況(光合成活性)や光合成速度(CO₂を吸収する速度)を正確に測定できる。Excess Fは、熱放散経路に関連して、植物の蒸散量の推定や水ストレスの診断に利用できる。

3B-06

ゼニゴケを用いたオルガネラ形質変異体の探索のためのトランスポゾンタギング

Transposon tagging for generating mutants of organelle phenotype in *Marchantia polymorpha*

神名 唯衣^{1,2}, 児玉 豊^{1,2}

¹宇都宮大・バイオセンター, ²宇都宮大院・地域創生

生命現象の分子メカニズムを解明する手法の一つに、突然変異によって生じた形質の原因遺伝子を同定する順遺伝学的手法がある。植物において突然変異を誘発する変異原として、メタンスルホン酸エチルなどの化学物質、アグロバクテリウム形質転換の際に挿入されるT-DNAやゲノムDNA上を移動する塩基配列であるトランスポゾンなどが用いられている。これまで、これらの変異導入方法によって、様々な変異体が単離され、多くの機能遺伝子が同定されてきた。しかし、肉眼では観察できないオルガネラ形質の場合、多数の変異体の細胞を個別に顕微鏡観察しなければならないため、変異体探索に多大な労力がかかっている。そのため、オルガネラ形質に関連する遺伝子には未同定のものが多いと予想され、顕微鏡を用いた変異体探索に資する新しい技術の開発が必要と考えられる。本研究では、このような新技術を開発するため、成功事例が未だ報告されていないゼニゴケにおけるトランスポゾンタギングに着目した。トランスポゾンを用いた変異導入方法では、細胞ごとに異なる変異が導入されるという報告があるため、一つの形質転換個体の中に多数の突然変異細胞を生じさせることができる。本発表では、ゼニゴケの特性を利用して新たに開発したトランスポゾンタギング法を報告する。本法を使うことによって、植物のオルガネラ形質に関わる変異体探索の効率化が期待される。

3B-07

生きた植物細胞における核を染色する新しい蛍光化合物の同定

Identification of a new fluorescent compound that stains nuclei in living plant cells

市川 晋太郎^{1,2}, 北村 未帆¹, 児玉 豊^{1,2}

¹宇都宮大・バイオセンター, ²宇都宮大院・地域創生

植物細胞において核は遺伝子発現や DNA の複製・修復などの重要な現象を担うオルガネラであり、多くの研究で、直接的な核の観察や核局在タンパク質の観察などが行われている。核を観察する手段としては、DAPI や Hoechst 33258 などの蛍光染色試薬や核移行シグナルを用いた蛍光タンパク質マーカーなどの様々な観察方法が開発されている。

我々はこれまで、植物細胞において蛍光化合物を用いたイメージングツールを拡張するために、100 種類以上の市販の蛍光化合物を用いて植物細胞を染色して観察し、植物の細胞内構造体を可視化する化合物を探索してきた。本発表では、植物細胞の核を染色する新しい蛍光化合物を同定したため、これを報告する。

本蛍光化合物は、生きた植物細胞に処理して 10 分程度で核を観察できたため、短時間かつ簡便に核を観察することができる蛍光染色剤である。本蛍光化合物は、GFP や YFP と同じ波長の励起光 (488 nm や 514 nm) によって橙色から赤色の蛍光を発することもわかったため、GFP や YFP などの蛍光タンパク質と共に観察することができる。また、DNA や RNA に結合する性質を持っていることも判明し、核質と同時に核小体も可視化できることがわかった。本発表では、新たに発見した蛍光化合物による核の染色法について、これまで開発されてきた核の蛍光観察法と比較しながら長所と短所について議論したい。

3B-08

抑制制御によって植物に環境ストレス耐性を付与する遺伝子を探索するシステムの構築

Establishment of a system for exploration of genes improving abiotic stress resistance of most land plants via gene suppression

澤口 友菜¹, 堀井 陽子², 松井 南², 近藤 陽一¹

¹関東学院大学・院物質生命, ²理研・CSRS

私たちはゲノム編集による遺伝子欠損で植物の環境ストレス耐性を向上させることを目的として、ゲノム編集の標的となる遺伝子を探索するシステムの構築を進めている。本研究では、欠損させることで植物の環境ストレス耐性を向上させる遺伝子を探索するために、転写活性化因子の機能を、強制的に抑制化する技術である CRES-T 法を利用した。また、作物を含む陸上植物全般に効果が期待できる遺伝子を探索するために、基部陸上植物であるゼニゴケと、被子植物であるシロイヌナズナの 2 種類のモデル植物を用いている。本システムでは最初に、遺伝子導入効率が高いゼニゴケを利用して候補標的遺伝子を探索し、得られた効果が期待できる遺伝子をシロイヌナズナで評価する。両種で同様の有用な効果がある標的遺伝子は、イネ等の作物でも同様の効果が期待できる。

今回我々はこのシステムを用いて、作物に高塩濃度耐性を付与する有用遺伝子の単離を目指し、ゼニゴケを用いて候補標的遺伝子の選抜を試みた。シロイヌナズナの転写因子ライブラリーに転写抑制化ドメインを融合させたシロイヌナズナ抑制制御型転写因子ライブラリーを作製し、ゼニゴケに導入した。得られた形質転換体について高塩濃度条件下にて選抜した結果、5 系統の形質転換体の単離に成功した。さらに、これらの形質転換体に導入されていた抑制化ドメインと融合した転写因子についても同定した。同定された転写因子の中には、シロイヌナズナで過剰発現させるとストレス関連遺伝子の発現が低下するという報告がなされているものが含まれていた。今後、単離した標的候補遺伝子について、シロイヌナズナを用いて有用性の検証を行う予定である。

3B-09

シアノバクテリア用「テオフィリン誘導型人工リボスイッチ」のシステムティックな改変

Systematic modification of the theophylline-dependent synthetic riboswitches for cyanobacteria

藤原 未来¹, 大嶋 真由子², 中平 洋一²

¹茨大・院農学, ²茨大・農学

シアノバクテリアは、CO₂ から直接、有用物質を生産できるバイオリクターとして注目されている。代謝工学では、目的遺伝子の発現を厳密にコントロールできる「遺伝子発現誘導系」が求められるが、シアノバクテリアで有望なツールの1つが、「テオフィリン誘導型人工リボスイッチ」である。当該の人工リボスイッチは、リガンドである“テオフィリン”が結合する“アプタマー”と“リボソーム結合配列 (RBS)”から構成され、テオフィリンがアプタマーに結合することによって mRNA の二次構造が変化し、目的遺伝子の翻訳が開始される。これまでに、優れたスイッチ ON/OFF 比を示す RS-E*が見出され (Nakahira *et al.* 2013)、基礎・応用研究で用いられている。しかし、目的遺伝子によっては、十分な発現誘導が認められない場合もある。

本研究では、テオフィリン誘導型人工リボスイッチの性能に影響を与える3つの要素（「翻訳開始点から RBS までの距離」・「RBS と 16S rRNA の anti-SD との相補性」・「RBS とアプタマーの距離」）をシステムティックに改変することで、シアノバクテリアの物質生産により適した人工リボスイッチの創出を試みた。*Synechococcus elongatus* PCC7942 を宿主としたルシフェラーゼアッセイにより、改変型人工リボスイッチの特性を評価したと、RS-E*と同等のスイッチ ON/OFF 比を示しながらも、スイッチ ON 値が有意に向上した制御配列を見出した。現在、制御配列のさらなる改変を進めており、その結果も併せて報告予定である。

3B-10

Development of chemically inducible protein heterodimerization (CID) in the plant

Jekson Robertlee¹, Kotaro Nishiyama², Yutaro Shimizu¹, Shinya Hagihara¹

¹RIKEN Center for Sustainable Resource Science (CSRS), ²School of Agriculture, Meiji University

Arrangements of electrical components that work as logic gate circuits to process signals and allow electronic devices to function have brought us to the digital era. The same concepts have long been used in organisms through molecular components, such as genes and proteins. However, synthetic components are needed to finetune biological phenomena through biotechnology approaches. Here, we have developed a new molecular tool for plant synthetic biology in the shape of chemically inducible protein heterodimerization (CID) technology. We will show the use of our CID tool to build a novel inducible gene expression system in the plant. Our innovation allowed us to induce reporter gene expression in the fully mature transgenic *Arabidopsis thaliana* plants. The results suggest that our CID would also be functional in the whole plant regardless of the growing stages, which would be a powerful method for basic plant research and plant biotechnology. By carefully designing the arrangements of molecular components, we may reprogram biological functions, which brings us closer to achieving sustainability by design.

3B-11

キャベツにおける一過的発現ツールを用いた *in planta* ゲノム編集法の開発

Development of *in planta* genome editing method by transient expression tool in cabbage

高橋 秀¹, 小林 美咲¹, Islam Mohamed Yassin Abdellatif², Na Renhu², Martina Bianca Fuhrmann-Aoyagi¹, 三浦 謙治²

¹筑波大・院生命地球, ²つくば機能植物イノベーション研究センター

植物におけるゲノム編集を行う場合、ゲノム編集酵素をコードする核酸を植物細胞へ導入すること（トランスフェクション）と、導入されたゲノム編集酵素によって変異が生じた培養細胞からの植物個体の再生（組織培養）を経るものが主流である。そういった従来の植物ゲノム編集法で用いられてきた遺伝子組換え（安定トランスフェクション）の効率や組織培養による個体再生効率は植物種によって異なり、キャベツはそれらが低いいため適応が困難であり、ゲノム編集の先行研究も非常に少ない。本研究では安定トランスフェクションの代わりにゲノム編集ツールの一過的発現を行い、*in planta* 法と組み合わせることで、安定トランスフェクションと組織培養が不要かつキャベツに適応可能なゲノム編集法の開発を目的とした。この際に遺伝子 X をターゲットとしてキャベツにおいて変異が導入可能であるかを調べた。つくばシステムを用いて Cas9 および gRNA を植物細胞核内に一過的に発現させることにより、遺伝子 X に変異を導入することを試みた。茎組織切断面にて一過的に Cas9 と gRNA を発現させた。その結果、標的配列またはその付近に変異が導入された細胞が混在するキメラ性個体を得ることに成功した。これより、ゲノム編集ツールの一過的発現と分裂組織誘導による *in planta* 法で、キャベツの T0 個体にゲノム編集による変異の導入が可能と示された。

3B-12

トマトでのゲノム編集酵素の一過的発現による *in planta* ゲノム編集法の開発

Development of *in planta* genome editing method by transient expression of genome editing enzymes in tomato

小林 美咲¹, Na Renhu², 高橋 秀¹, Martina Bianca Fuhrmann-Aoyagi¹, 三浦 謙治^{1,2}

¹筑波大・院生命地球, ²つくば機能植物イノベーション研究センター

植物におけるゲノム編集技術で重要な工程は主に 2 つある。ゲノム編集酵素をコードする核酸を植物細胞へ導入すること（トランスフェクション）と、導入されたゲノム編集酵素によって変異が生じた培養細胞からの植物個体の再生（組織培養）である。従来の植物ゲノム編集法で用いられてきた安定トランスフェクションの効率や組織培養による個体再生効率は植物種によって異なり、特に実用作物種では極めて低い。これまで組織培養を不要にする *in planta* 法が開発されたが、安定トランスフェクションも同時に不要にする方法は報告されていない。そこで本研究では安定トランスフェクションの代わりにゲノム編集ツールの一過的発現を行い、*in planta* 法と組み合わせることで、安定トランスフェクションと組織培養が不要な新たなゲノム編集法の開発を目的とした。これにより多くの植物種や作物種に適応可能なゲノム編集方法の確立を目指す。トマトの茎組織切断面において Cas9 と gRNA、分裂組織誘導にはたらく因子の 1 つである *ipt* をアグロインフィルトレーションによって一過的に発現させた。その結果、標的配列またはその付近に変異が導入された細胞が混在するキメラ型の新たな茎葉を得ることに成功した。シーケンス解析の結果、いくつかの変異体ではフレームシフト変異に繋がる indel 変異も検出された。この結果から、ゲノム編集ツールの一過的発現と分裂組織誘導による *in planta* 法で、トマトの T₀ 個体にゲノム編集による変異の導入が可能と示された。

3B-13

RdDM 組換え体に由来するヌルセグレガントにおけるオミックス解析

Omics analyses of null segregants obtained from the RdDM transgenic plants

森本 春花¹, 西内 巧², 宮原 平³, 児玉 浩明³

¹千葉大・園芸, ²金沢大・研究基盤, ³千葉大・院園芸

外来遺伝子を導入した遺伝子組換え植物体を非遺伝子組換え株と交配して得られる後代のうち導入遺伝子を持たない分離個体であるヌルセグレガント (Null) 個体の利用は、遺伝子組換え生物には該当しない可能性が高いため、育種の効率化と消費者の社会的受容の改善が見込める New Plant Breeding Technology の基礎となる技術である。Null 個体では外来遺伝子の有無の確認は行われるが、外来遺伝子を一度導入したことによる意図しない影響については研究例が多くなく、Null 個体を利用した成果物 (食品) の安全性に関するエビデンスの蓄積が必要である。

本研究では、Null 個体における非意図的变化を探るために、small RNA を介した DNA のメチル化 (RdDM) を誘導する外来遺伝子を導入したタバコにおいて後代分離を行い、small RNA の標的配列のメチル化による表現型の改変が確認できる世代での Null 個体を得た。Null 個体群と非遺伝子組換え体群においてプロテオーム解析とトランスクリプトーム解析を行った。主成分分析の結果から、プロテオーム解析、トランスクリプトーム解析のどちらにおいても 2 群間でクラスターが分離することが示された。さらに、発現変動タンパク質および発現変動遺伝子を調査したところ、共通して変動する遺伝子が確認された。今回の Null に関するモデル実験において検出された変化が生じた原因と、これらの変化による Null 利用における食品としての安全性に対する考察については今後検討する必要がある。

3B-14

植物工学応用に向けた大気圧温度制御プラズマジェットの温度応答評価

Evaluation of temperature response in atmospheric pressure plasma jet for plant engineering uses

杉浦 諒¹, 大澤 泰樹¹, 八井田 朱音¹, 柳川 由紀^{2,3}, 沖野 晃俊¹

¹東工大 未来研, ²千葉大・院園芸, ³理研CSRS

大気圧低温プラズマジェットは低温なため熱に弱い生体にも照射可能であり、照射後の残留毒性も少ない。しかし、低温と言ってもガス温度は 40~100°C 程度であるため、動物よりも熱に弱い植物に熱損傷を与えないためには、より低いガス温度で照射する必要がある。このため、一般的には距離を離して照射されているが、それでは活性種も減少してしまう。

そこで我々の研究室では、プラズマのガス温度を零下から 200°C 程度まで制御可能な温度制御プラズマジェットを開発してきた。この装置を用いて約 20°C に制御したプラズマでタバコ葉などを処理して、ゲノム編集の高分子導入に使用してきた。しかし、従来のプラズマジェットは温度制御流体を装置筐体に流して温度を制御していた。この流体の熱容量が大きいために温度追従性が低く、1°C の加熱に 53 秒、1°C の冷却に 137 秒を要していた。また、ガス温度はモニタリングされおらず、温度ドリフトへの対応は困難であった。

本研究では、プラズマジェットの筐体に流す温度制御流体の温度を一定に保ち、必要に応じてガスをヒーターで加熱する温度制御方法と、プラズマのガス温度を常時測定してヒーターにフィードバック制御することで、高速かつ安定性の高い温度制御機構を開発した。新しく開発した温度制御機構の大気圧プラズマジェットの温度応答性を測定した結果、新しい温度制御機構では 1°C の加熱に 3.8 秒、1°C の冷却に 1.8 秒となり、従来の装置と比較してそれぞれ約 1/14 と 1/76 の時間に短縮された。植物工学への応用で想定される温度帯の温度応答性能と安定性についても報告する。

3B-15

ソルガム種子へのプラズマ照射がもたらす生育への効果

The impact of plasma irradiation on the growth of *Sorghum bicolor*

柳川 由紀^{1,2}, 蒔田 由布子^{2,3}, 奥村 賢直⁴, 藤田 美紀², 平岡 信之³, 小山 翔平¹, 栗山 朋子², 河内 正治², 井川 智子^{1,5,6}, 松井 南², 古閑 一憲⁴

¹千葉大・院園芸, ²理研CSRS, ³前橋工大・工, ⁴九大・シス情報, ⁵千葉大・宇宙園芸, ⁶千葉大・植物分子科学

プラズマは物質の第4の状態として知られており、エネルギーが高い電離ガスを含んでいる。「雷が多い年は豊作になる」という言い伝えがあるように、プラズマである雷が植物の生育に影響を与える可能性が古くから示唆されてきた。我々はこれまでに大気圧下で生成する空気プラズマをソルガム種子に照射することで、発芽及び生育が促進することを明らかにし、昨年度の大会で報告した。そこで、本大会ではそのメカニズムについて最新の成果を報告する。

ソルガムは乾燥や高温に強く、世界五大穀物の1つとして世界的に広く生産されており、近年はバイオエタノール原料としても注目されている。本研究はソルガムの効率的な生産技術の開発に貢献するとともに、プラズマ照射効果のメカニズム解明を通して他の農作物や園芸植物の生産技術へも展開できると期待する。なお、本研究で使用したソルガム品種はBTx623である。

3C-01

一過性遺伝子発現法を用いた植物利用型有用タンパク質生産のための栽培環境調節

Environmental control for plant-made biopharmaceutical protein production with transient gene expression technology

松田 怜

東大・院農学生命科学

植物を用いてバイオ医薬品原材料等の有用タンパク質を生産する方法は、従来の哺乳動物細胞培養による生産法に比べて、生産コストの低減や需要に応じたスケラブルな生産などが可能になると考えられている。これまでに、植物を用いて生産されたヒト用および動物用の医薬品が、各種の審査を経て、日本、韓国、カナダ等で承認に至っている。植物を用いた有用タンパク質生産の中でも、植物ウイルスやアグロバクテリウムをベクターとした一過性遺伝子発現法は、導入遺伝子の塩基配列決定から目的タンパク質を得るまでの期間が短く、また少量・多種類の目的タンパク質を同時に生産できるなどのメリットを有する。演者のグループでは、植物工場を利用した一過性遺伝子発現法による植物利用型有用タンパク質生産を想定して研究を進め、遺伝子導入前後の適切な栽培環境調節が、有用タンパク質の生産性を高める上で重要であることを実証してきた。例えば、通常の植物の生育適温であっても、遺伝子導入後の植物にはストレスが生じることがあり、有用タンパク質生産に適した気温は生育適温よりも低い場合があることを明らかにした。また、遺伝子導入後のみならず導入前の栽培環境も重要であり、導入前の栽培環境を適切に調節することで、導入後の有用タンパク質生産に適した性質をあらかじめ有する植物を用意できることも示した。一方、これらのような遺伝子導入前後の栽培環境が植物の有用タンパク質生産に及ぼす影響の生理的な機作については、必ずしも明らかでない部分も多い。発表では、演者らのこれまでの研究の概略を紹介し、今後必要となるであろう研究開発の方向性について議論したい。

3C-02

単子葉植物のスプラウトを宿主とする組換えタンパク質の一過的大量生産系の開発の試み

Development of Agrobacterium-based transient expression system for producing recombinant proteins in monocot sprouts

夏原 宏季¹, 森田 重人^{2,3}, 北島 佐紀人¹

¹京工繊大・応用生物, ²京都府大院・生命環境, ³京都府農技セ・生資セ

アグロインフィルトレーション法とは、アグロバクテリウムを介して遺伝子を一過的に導入する手法である。本法による組換えタンパク質の一過的大量生産の宿主は、通年で安価かつ大量に入手可能な種子を用い、播種後直ちに感染可能であることが望ましい。我々は以前、カイワレ大根 (*Raphanus sativus* cv. Kaiware) のスプラウトを宿主とする一過的生産系を開発した。この系では、種子の吸水からわずか 8 日後に Rubisco に匹敵する量の組換えタンパク質を子葉に蓄積する。

本研究では、目的に応じて選択可能な多様な宿主を提供するために、単子葉植物のスプラウト（カイワレ大根のスプラウトと異なり、種子から伸びる緑色の器官は本葉である）を宿主とすることを試みた。単子葉植物のうち、播種後の初期成長が旺盛で安価に入手可能な 6 種のイネ科植物のスプラウトを試した。「つくばシステム」の pBYR2HS ベクターを参考に、単子葉植物に感染するジェミニウイルスの一種、Wheat dwarf virus (WDV) の配列を使用し、新たに単子葉植物用のプラスミドベクターを作成した。ベクターには発現マーカーとして GUSplus または EGFP 遺伝子を組み込んだ。ベクターの構造、植物種、品種、栽培条件、感染前処理、添加物について検討した。

その結果、調べた植物種の中ではライムギが良好であった。種子の吸水から 5 日後に感染可能で、その発現レベルは従来型の T-DNA ベクターのそれを上回った。しかし、GUSplus の活性は葉の先端付近に限定され、タンパク質の量はカイワレ大根の一過的生産系には遠く及ばなかったため、今後も本技術の改善を図る。

3C-03

イネを用いた黄色ブドウ球菌特異的抗菌タンパク質リゾスタフィンの生産と局在箇所注目した蓄積量評価

Production of a *Staphylococcus aureus*-specific antimicrobial protein lysostaphin in rice and evaluation of its accumulated amount among different subcellular localization

粥川 颯人, 下田 蒼, 米山 裕, 伊藤 幸博

東北大・院農

ウシの乳房炎は畜産業における重要な課題であり、国内だけで年間 800 億円の経済的損失を引き起こしている。乳房炎の主な起因菌は黄色ブドウ球菌であるが、抗生物質の過剰使用による耐性菌の出現が公衆衛生上の脅威となっている。抗菌タンパク質・抗菌ペプチドは多剤耐性菌にも抗菌効果が認められているほか、多剤耐性菌が出現しにくいいため、抗生物質の代替薬として注目されている。しかし、生産コストの高さが課題となり、実用化には至っていない。

植物は、動物細胞や微生物と比較して安価に有用タンパク質を生産することが可能である。本研究では、イネを宿主としてブドウ球菌 (*Staphylococcus staphylolytics*) 由来の抗菌タンパク質リゾスタフィンの生産を試みた。

一般に、細胞内局在によって、目的タンパク質の蓄積量に違いが出ることが考えられる。そこで、アポプラスト、葉緑体、ミトコンドリア、小胞体の 4 箇所でのリゾスタフィン蓄積量を評価した。具体的には、リゾスタフィンをコードする配列にシグナルペプチド、葉緑体移行配列、ミトコンドリア移行配列、小胞体保留シグナルをそれぞれ連結した。これらをそれぞれ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。カルスから抽出したタンパク質を用いてウェスタンブロットを行った結果、各システムでリゾスタフィンのタンパク質レベルでの発現が確認された。特に小胞体に局在させた場合にリゾスタフィン蓄積量が最大となった。今後は、イネ葉身でのリゾスタフィン蓄積量の評価と、生産したリゾスタフィンの細胞内局在による抗菌活性の差異の有無を調べる予定である。

3C-04

節足動物由来の抗菌ペプチドの融合タンパク質とその融合部位を切断するプロテアーゼをそれぞれ生産する遺伝子組換えイネの作出と解析

Generation and analysis of transgenic rice plants that produce an arthropod-derived antimicrobial peptide-fused protein and protease that cleaves the fused site

板垣 実菜子, 藤田 岳, 下田 蒼, 米山 裕, 伊藤 幸博

東北大・院農学

特定のアミノ酸配列を特異的に切断するプロテアーゼ、およびタグとなるタンパク質と融合した抗菌ペプチドの2種類のイネを用いた生産を試みた。抗菌ペプチドは節足動物由来であり、グラム陽性菌への抗菌活性がある。タグとなるタンパク質はイネ細胞内で抗菌ペプチドが何らかの負の影響を与えることを防止するために融合した。両者の融合部位にはプロテアーゼ認識配列を挿入し、そのプロテアーゼで切断されるようにした。これらをコードする遺伝子をそれぞれイネに導入し、タンパク質を抽出し、混合することによって抗菌ペプチド融合タンパク質がプロテアーゼにより切断される。その結果抗菌活性を持った抗菌ペプチドが生産されるシステムの開発を最終的な目的とした。本研究では、抗菌ペプチド融合タンパク質遺伝子とプロテアーゼ遺伝子を導入したイネの作出と解析を行った。

プロモーターとして、恒常的に発現するユビキチンプロモーターを用い、葉緑体移行配列が細胞外に分泌するシグナル配列をN末端に持つプロテアーゼおよび抗菌ペプチド融合タンパク質をコードする遺伝子を作製し、それぞれイネに導入した。

葉緑体移行配列を付加したプロテアーゼ遺伝子導入イネを14個体作出した。生育の良い7個体を選びRT-PCRを行ったところ、プロテアーゼ遺伝子が発現していることが分かった。プロテアーゼの特異的抗体を用いたウエスタンブロットでは、想定される位置に薄いバンドが見られた。

また、葉緑体移行配列を付加した抗菌ペプチド融合タンパク質遺伝子導入イネは3個体得られた。現在解析中である。

3C-05

ゼニゴケにおけるビタミンD3高生産を目的としたコレステロール産生増強株の構築

Construction of the enhanced cholesterol production strain for high vitamin D3 yield in *Marchantia polymorpha*

梶野 理桜¹, 水田 珠希¹, 那須 詩織¹, 石崎 公庸², 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農学, ²神戸大・院理学

ビタミンD3 (VD3) は紫外線を浴びることでコレステロール (CHR) の前駆体である7-デヒドロコレステロール (7-DHC) から皮膚で合成されるが、不足しがちであるため食事やサプリメントからのVD3摂取が重要である。しかし、植物由来のVD3は少なく、主に動物由来で供給されている。そのため、植物ベースでのVD3生産技術の開発は、持続可能な栄養補給の観点から重要である。VD3を生産する植物体として苔類ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) を用いた。先行研究においてゼニゴケ全身発現性のEF1αプロモーターを使用しステロール24位還元酵素 (DHCR24) 過剰発現株 (*proEF1α::DHCR24-ox*) を作出し7位還元酵素遺伝子 *DWF5A* を破壊すると7-DHCの蓄積を確認できた。一方、CHR蓄積により矮性が生じたことから、本研究ではDHCR24過剰発現による矮性を改善し、より効率的なVD3生産法を開発することを目的とした。ステロール阻害剤をゼニゴケに投与すると、杯状体や成長点、無性芽の枯死や成長阻害が観察され、ステロール組成の変化がゼニゴケの発達に影響を与える可能性が示唆された。そこで成長点や杯状体で目的遺伝子の発現が弱く、それ以外の組織では *proEF1α* よりも発現が強い *CaMV 35S* プロモーターで *DHCR24* を過剰発現させた (*pro35S::DHCR24-ox*)。GC-MSにより *proEF1α::DHCR24-ox* と *pro35S::DHCR24-ox* のCHR生成量を比較すると、*pro35S::DHCR24-ox* でCHR蓄積量の増加が認められた。さらに *proEF1α::DHCR24-ox* と *pro35S::DHCR24-ox* の表現型についても併せて報告したい。本研究の一部はJST革新的GX技術創出事業 (GteX) : JPMJGX23B0の支援を受けたものです。

3C-06

フェアリー化合物の生合成・代謝に関する研究

Biochemical studies on biosynthesis and metabolism of fairy chemicals

徳岡 佑¹, 崔 宰燾^{1,2,3,4,5}, ネルソン デイビット⁶, 道羅 英夫^{1,5}, 平井 ヒロフミ^{1,2,3,4,5}, 河岸 洋和^{3,5}

¹静大院・総科技/ Grad. Sch. of Integr. Sci. and Tech., ²静大・グローバル共創/Fac. of Glob. Interd. Sci. Inno., ³静大・農/ Fac. of Agric., ⁴静大・グリーン研/ RIGST, ⁵静大・キノコ科研/ Ins. of Mushr. Sci. Shizuoka Univ., ⁶Bot. Plant Sci., UCR

世界各地の公園で見られる芝生が繁茂あるいは枯死した後にキノコが発生する現象はフェアリーリング現象と呼ばれている。当研究室では、フェアリーリングの原因物質として 2-azahypoxanthine (AHX), imidazole-4-carboxamide (ICA), 2-aza-8-oxohypoxanthine (AOH) を発見し、これら 3 つの化合物をフェアリー化合物 (Fairy Chemicals; FCs) と称している。FCs は植物の成長を調節し、作物の収量増加やストレス耐性の付与に関与する有用な化合物であり、農業への応用が期待される。農業への応用に向け、当研究室では生合成・代謝経路の解明を目指している。これまでに、イネにおいて FCs が 5-aminoimidazole-4-carboxamide (AICA) から生合成されることが明らかとなった。しかし、イネ培養細胞由来の粗抽出液を用いて AICA から FCs への変換活性を検討したところ、FCs は生成されないにも関わらず、AICA が完全に消失した。このことは、前駆体 AICA は FCs ではない別の化合物に代謝する経路が存在する可能性を示唆している。そこで、イネ培養細胞を抽出し、弱陰イオン交換カラムクロマトグラフィーに供することで、非吸着画分で活性を示した。マスコット解析によって候補タンパクを同定した結果、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) がヒットした。大腸菌で APX を異種発現し、酵素活性試験を行うと、APX は AICA を代謝することが明らかとなった。現在、APX の機能解析及び AICA 代謝産物の同定を試みている。また、AHX の酸化によって AOH が生合成される。この酸化反応は xanthine dehydrogenase (XDH) が担う可能性があり、イネ稲培養細胞由来の粗抽出液を用いて活性試験を行ったところ、AOH の生合成に XDH の関与が示唆された。

3C-07

フェアリー化合物由来 SAM と SAH アナログとメチル化機構の関係

Relationship between SAM and SAH analogs derived from fairy chemicals and methylation mechanisms

久米 こころ¹, 崔 宰燾^{1,2,3,4,5}, 道羅 英夫^{1,4,5}, 謝 肖男^{5,6}, 大内 仁志⁷, 滝田 良⁷, 平井 浩文^{1,2,3,4,5}, 河岸 洋和^{3,5}

¹静大院・総科技/ Grad. Sch. Inte. Sci. and Tech., Shizuoka Univ., ²静大・グローバル共創/ Fac. Glob. Int. Sci. Inno., ³静大・農/ Fac. of Agric., ⁴静大・グリーン研/ Res. Inst. Green Sci. Tech., Shizuoka Univ., ⁵静大・キノコ科研/ Res. Inst. Mushroom Sci., Shizuoka Univ., ⁶宇都宮大・バイオ/ Cent. Bio. Res. and Edu., Utsunomiya Univ., ⁷静大・薬/ Dep. Phar. Sci., Univ. Shizuoka

【背景・目的】

当研究室では、芝草の病気の一つであるフェアリーリングの原因物質として、植物成長調節活性を持つ 2-azahypoxanthine (AHX) と imidazole-4-carboxamide (ICA) を見出し、フェアリー化合物 (fairy chemicals; FCs) と称している。その後の研究で、イネにおける ICA 代謝産物として、S-ICA riboside-L-Met (S-ICAr-M) と S-ICA riboside-L-Hcy (S-ICAr-H) を発見した。これらの構造は生物のメチル化機構に関与する S-adenosyl-L-Met (SAM) と S-adenosyl-L-Hcy (SAH) の構造と非常に類似しているため、ICA 代謝産物がメチル化機構に関与する可能性が示唆された。そこで、本研究では、S-ICAr-M, S-ICAr-H などの代謝産物がメチル基供与体やメチル化阻害剤として機能するのか検討した。

【方法・結果】

ICA 処理時と ICA 未処理時のイネを用いた RNA-seq 解析を行ったところ、ICA 蓄積時にハロゲンメチルトランスフェラーゼ (HMT) が高発現していることが明らかになった。そこで、組換え HMT と市販の DNA メチルトランスフェラーゼが FCs 由来 SAM・SAH アナログを特異的に認識するのかを検討した。イネ由来の HMT を大腸菌で異種発現し、化学合成した FCs 由来 SAM・SAH アナログを用いて活性試験を行った。その結果、FCs 由来 SAH アナログとヨウ化メチルから対応する SAM アナログが生成されること、FCs 由来 SAM アナログとヨウ化カリウムから対応する SAH アナログが生成されることを明らかにした。さらに市販の DNA メチルトランスフェラーゼを用いた実験では、FCs 由来 SAM アナログが SAM による DNA メチル化の阻害剤として機能した。このことは、FCs の代謝産物がエピジェネティック制御に関与する可能性を示している。

3C-08

カラスビシャク塊茎由来機能性多糖アラバンの生合成酵素遺伝子の探索

Exploration of biosynthesis genes for araban, a functional polysaccharide in *Pinellia ternata* tubers

山本 健太¹, 栗木 淳寛¹, 下川 響¹, 青木 達大¹, 佐藤 春菜¹, 田中 宏幸², 江口 壽彦³, 松岡 健^{1,3,4}

¹九大院・生資環, ²山陽小野田大・薬, ³九大・実生環, ⁴九大院・農

サトイモ科ハング属のカラスビシャク (*Pinellia ternata*) は日本・中国・朝鮮半島に分布する高次倍数性の多年草である。この塊茎を加工したものは「半夏」と呼ばれ、約 23%の漢方処方に使用される非常に重要な生薬である。半夏は制吐作用を示し、この作用は水溶性多糖アラバンに起因する。アラバンはアラビノースやガラクトースなどの複数の糖から構成され、14 種類のグリコシド結合をもつと推定されているが、その生合成遺伝子は全く同定されていない。本研究においては、葉柄に形成されアラバンを含有する栄養繁殖器官であるムカゴに着目し、ムカゴ形成過程でのアラバン蓄積量の変化と糖転移酵素遺伝子の発現変動を比較することで、アラバン生合成に関わる酵素遺伝子を同定することを目指している。

まず葉柄の形成からムカゴの形成成熟および葉の枯死までの過程において、葉、葉柄、ムカゴの大きさ等の測定と色彩により、6 段階のステージに区分した。ELISA 法により各ステージにおけるアラバンの定量を行った結果、ムカゴが成熟する過程において乾物重量あたりのアラバン量が 2 倍程度に増加した。次いで、公共データベースに登録されているカラスビシャクの器官別 RNAseq データ等を用いて選出した塊茎で発現している 7 種類の糖転移酵素遺伝子の発現を RT-PCR で検討したところ、多くのものはステージに関係なく恒常的に発現していた。現在、RT-PCR 産物の配列を解析することで、各々の糖転移酵素遺伝子アイソフォームの発現パターンの詳細についての検討を進めている。

3C-09

ステビアのステビオール糖転移酵素 UGT91D2 の機能改変

Functional Modification of Steviol Glycosyltransferase UGT91D2 in *Stevia rebaudiana*

小牧 真樹¹, 庄司 翼^{2,3}, 田中 良和¹, 溝端 栄一⁴, 菅原 聡子², 榊原 圭子², 斎藤 和季², 平井 正良^{1,5}

¹サントリーグローバルイノベーションセンター(株), ²理研CSRS, ³富山大・和漢医薬学総合研究所, ⁴大阪大・工学研究科, ⁵サントリー食品インターナショナル(株)

南アメリカ原産のキク科植物ステビア (*Stevia rebaudiana*) が蓄積するステビオール配糖体は、低カロリー天然甘味成分として注目されている。ステビオールアグリコンの C19 位カルボキシル基と C13 位水酸基にグルコースやラムノースなどの糖が付加される。高度に配糖化された Rebaudioside M (RebM) と Rebaudioside D (RebD) はより味質が良いと言われているが、植物組織での蓄積量が極めて少ない。

本研究は、RebD などの合成の律速酵素と考えられている UDP-グルコース依存型糖転移酵素 UGT91D2 の活性向上を目指した。UGT91D2 の立体構造予測を基に、酵素活性に影響を与えると予測されるいくつかのアミノ酸残基を置換した変異型 UGT91D2 を作出した。これら変異型 UGT91D2 を用いて出芽酵母とベンサミアナタバコ (*Nicotiana benthamiana*) において基質の変換効率を検討した。基質のアクセプター領域に存在する特定残基の置換が、活性を顕著に向上させ副反応を抑制することを見出した。さらに、ベンサミアナにおいて UGT91D2 とともに複数の UGT を発現させることにより、ステビオールから RebM など高配糖成分への変換系を再構築した。今後、RebD を高蓄積するステビア品種や微生物発酵法による RebD 高生産系の開発への展開が期待される。

3C-10

*cis*型プレニルトランスフェラーゼを用いたバイオポリマー合成の試み

Biopolymer synthesis by *cis*-prenyltransferase

山口 晴彦¹, 廣森 美樹², 石井 智樹², 山家 史大², 和氣 駿之², 今泉 璃城³, 坂口 祐美¹, 戸澤 譲⁴, 山下 哲³, 中山 亨², 高橋 征司²

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

天然ゴムは、現代でもタイヤ製造など様々な産業において重要な自然由来の材料である。その構造は *cis*-1,4-ポリイソプレンを主骨格としており、*cis*型プレニルトランスフェラーゼ (cPT) と呼ばれる酵素が生合成に関わると考えられている。cPT ファミリーに属する酵素は多くの生物が有していることが報告されている一方、天然ゴムのような高分子ポリマーを合成する cPT はこれまで報告されてこなかった。そのため、天然ゴムの生合成には特別な cPT が関わっていると考えられていた。

しかしながら、近年我々の研究により、高分子を生合成しない cPT であっても、ゴム粒子上で高分子ポリマーを合成させることができることがわかった。ゴム粒子上でポリマー合成を行える cPT と行えない cPT の構造を比較したところ、Helix-2 と Helix-3 と呼ばれる構造部分に違いがあることを見出した。このことから、これら Helix 構造の違いが cPT のポリマー合成能の有無を決める要素であり、またこれら Helix 構造が条件を満たした cPT であれば、ポリマー合成に活用できることが示唆された。

これら Helix 構造を変えることで cPT の生成物鎖長を変えることができるかを確認するため、トマト由来の短鎖型 cPT (NDPS1) を基にした変異体作製を行った。NDPS1 は本来ゴム粒子上でポリマー合成が行えなかったが、Helix-2 と Helix-3 の構造を変えた NDPS1 変異体はゴム粒子上でポリマー合成が行えるようになった。

3C-11

チャノキ (*Camellia sinensis*) 新葉から誘導したカルスの特性評価

Characterization of callus induced from new leaves of *Camellia sinensis*

中寺 紗希, 齋藤 靖和, 荻田 信二郎

県立広島大・院・生命システム科学

【はじめに】世界人口の増加に伴い 21 世紀型の食基盤の最新トレンドとして「細胞農業」が注目されており、最近では食用植物細胞での発展が期待されている。当研究室で着目するチャノキ (*Camellia sinensis*) の葉にはアルカロイド、フラボノイド、うま味成分であるアミノ酸など有用代謝成分が含まれており、薬効を伴う飲用原料として重用されている。本研究では新茶から樹立したカルスを食用植物細胞の候補株として、その増殖と代謝特性を評価することを目的とした。

【材料および方法】主要茶品種である「ヤブキタ」、早生品種である「おおいわせ」、芳香が特徴的な「静 7132」の当年性新葉および節間を、定法により滅菌し、培地①2,4-D 3 μ M および BA 3 μ M を含有した改変 MS (KH₂PO₄ 680mg/L) と、培地②NAA 0.3 μ M および BA 10 μ M を含有した MS で明条件または暗黒条件で培養した。選抜した細胞株について、顕微鏡観察、DPPH 法による総ポリフェノール、TLC によるアミノ酸、HPLC による特化代謝物の各種定性・定量評価を行った。

【結果】3 品種の葉および節間を起源としたカルス誘導が可能であった。全体的に得られたカルスは硬質であり、カルスは管状要素化を伴う不均一な細胞群から構成されているが、サイトカイニン濃度が高い培地②で増殖させた場合に軟質かつほぐれ易くなる傾向が認められた。また色調や褐変傾向により細胞株の選抜が可能であり、例えば静 7132 では茶葉の様に濃緑色を呈する細胞株、褐変傾向の強いヤブキタの細胞株などが得られた。各細胞株を構成する細胞の形態、各種定性・定量実験の結果を総合して評価を進め、食用植物細胞としての可能性を検討した結果を報告する。

3C-12

イチジク乳液中に存在するクラス V キチナーゼ FcVCh およびそのホモログの抗昆虫機能の解析

Analysis of the anti-insect function of class V chitinase in *Ficus carica* latex and its homologues

村田 ゆとり¹, 杉森 未来¹, 谷 尚樹¹, Hymmeva Savadogo Eric¹, 秋野 順治¹, 吉田 英樹¹, 三浦 謙治², 平良 東紀³, 矢崎 一史⁴, 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, ⁴京都大・生存研

イチジク (*Ficus carica*) など一部の植物は乳液を作る。その中にはプロテアーゼやトリプシンインヒビターのような抗菌/抗昆虫タンパク質に加えて、機能未知タンパク質が含まれている。我々はこれまでに、イチジクの乳液中に PLAT タンパク質が多く存在し、それが昆虫の成長を抑制する抗昆虫機能を有することを報告した。イチジク乳液にはクラス V キチナーゼ ("FcVCh") も多く含まれるが、植物種を問わず、本タンパク質の抗昆虫機能は報告されていない。そこで本研究では、FcVCh とそのホモログを対象として抗昆虫機能を検証した。

我々が以前報告した、カイワレ大根を宿主とするアグロインフィルトレーション法では、種子の吸水からわずか 8 日間で大量の組換えタンパク質を蓄積した子葉が得られる。この系を利用し、「つくばシステム」の pBYR2HS ベクターを用いて FcVCh タンパク質を蓄積させた子葉を得た。独自に作成した抗 FcVCh 抗体を使用してウェスタンブロッティングを実施し、子葉での FcVCh の生産を確認した。この子葉をハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) の幼虫に食餌させ、6 日間の飼育ののちに体重測定を行った結果、体重の増加はコントロール区と比較して有意に小さかった。活性部位に変異を加えて酵素活性を失った FcVCh でも同様の成長抑制効果が確認できた。このことから、FcVCh の成長抑制効果はキチナーゼ酵素活性とは独立していると推測される。他の植物のクラス V キチナーゼについても同様の実験を行ったところ、成長抑制効果が見られるものと、そうでないものがあった。以上により、少なくとも一部のクラス V キチナーゼが抗昆虫機能を有することが明らかになった。

3C-13

イネが生産するジテルペン型ファイトアレキシンがチョウ目害虫抵抗性を付与する

Rice diterpenoid phytoalexins enhance resistance to lepidopteran herbivores

神田 恭和¹, 藏満 司夢², 高橋 章¹, 津田 麻衣³, 戒能 洋一², 森 昌樹¹

¹農研機構・生物研, ²筑波大・生命環境系, ³筑波大学・T-PIRC

植物は病原菌や害虫等を認識して様々な防御応答を起こす。イネでは病原菌に反応してジテルペン型ファイトアレキシン (DP) と総称される二次代謝産物が生産される。DP はこれまで病害抵抗性に寄与する化合物であると考えられてきた一方、害虫による食害時にも生産される。我々は最近、外部から添加したイネ DP が害虫 (チョウ目昆虫の幼虫) に対して直接的な成長抑制活性を示すことを明らかにし、DP 生産の生物学的意義が害虫への抵抗性にあることを示唆してきた。

本研究では、植物体の害虫抵抗性への DP の寄与を検証することを目的とし、DP 生合成を調節する鍵転写因子 DITERPENOID PHYTOALEXIN FACTOR (DPF) に注目した。DPF は病原菌や金属イオン等の存在下で DP 生合成遺伝子群の発現を正に制御し、DP 生産を活性化する。チョウ目害虫 (ツマジロクサヨトウ及びアワヨトウの幼虫) が食害した葉における遺伝子発現を解析した結果、DPF 遺伝子の発現は食害に反応して上昇した。さらに、DP 生合成遺伝子の食害下での発現が DPF ノックアウトによって抑制され、過剰発現によって亢進することを明らかにした。これらの結果は DPF が DP 生産を制御して害虫抵抗性因子として働くことを強く示唆している。続いて、DPF 過剰発現が抵抗性を増強するかを解析したところ、DPF 過剰発現イネを餌として飼育した幼虫では成長が顕著に抑制された。これらの結果はイネ植物体内に DP を高蓄積させることでチョウ目害虫に対して防除効果を発揮できることを示唆し、DPF 遺伝子や DP 化合物を将来的に害虫防除ツールとして活用できる可能性を示している。

3C-14

新規ソラノエクレピンの単離構造決定

Isolation and structural determination of a novel solanoeclepin

秋山 遼太^{1,2}, 河野 結¹, 清水 宏祐¹, 串田 篤彦³, 谷野 圭持⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農, ²理研CSRS, ³農研機構・北農研, ⁴北大・院理

ソラノエクレピンは、ジャガイモシストセンチュウ（PCN）の孵化を誘導する化合物（孵化促進物質: HF）である。PCN は、トマトやジャガイモなどのナス科植物に寄生し、大幅な減収を引き起こす重大害虫である。PCN は宿主植物が生産する HF を特異的に認識して孵化・寄生を達成する。この特性から、HF は PCN 防除の鍵として古くから研究が続けられてきた。1999 年にオランダの研究グループがソラノエクレピン A（SEA）を、2023 年に当研究グループがソラノエクレピン B（SEB）を単離構造決定し、いずれも極めて低濃度で PCN の孵化を誘導することが明らかにされている。また、我々は SEB が土壌微生物によって SEA へ変換されることを明らかにしている。さらに、トマト毛状根培養液を土壌に投与すると SEB が一時的に増加した後に SEA へ変化することが確認された。このことから、トマト毛状根培養液中には土壌中で SEB へと変換されるソラノエクレピン関連化合物（SRC）の存在が示唆された。本発表では SRC の単離・構造決定について報告する。我々はジャガイモ水耕栽培液中にも SRC が存在することを見出し、大規模水耕栽培液から単離精製を行った。NMR により SRC は既知のソラノエクレピンと類似した構造を有することを明らかにし、SRC をソラノエクレピン C（SEC）と命名した。興味深いことに、SEC の孵化促進活性は SEA や SEB と比べて 1 万倍程度低いことを明らかにした。また、トマト毛状根培地やトマト水耕液の分析を行った結果 SEC は SEB と比べて 50 倍量程度多量に存在することが明らかとなった。SEC の発見は、ソラノエクレピンの生合成研究および植物にとってのソラノエクレピン生産の意義の解明につながると期待される。

3C-15

トマト水耕液におけるソラノエクレピン類の生産条件の検討

Investigation of production conditions of solanoeclepins in tomato hydroponic solution

牧野 壮一郎¹, 秋山 遼太^{1,2}, 串田 篤彦³, 谷野 圭持⁴, 杉本 幸裕¹, 水谷 正治¹

¹神戸大・院農学, ²理研・CSRS, ³農研機構・北農研, ⁴北大・院理

ジャガイモシストセンチュウ（PCN）は、ナス科植物に特異的に寄生し、農作物に甚大な被害をもたらす重大害虫である。PCN はシストと呼ばれる低温や農薬に高い耐性を示す硬い殻を形成し、シスト内の卵は未孵化状態で 10 年以上の休眠が可能である。PCN は、宿主植物が生産する孵化促進物質（HF）を特異的に認識し孵化寄生する。この特性から、HF は PCN 防除の鍵物質であり、2023 年、我々の研究グループは新規 HF であるソラノエクレピン B（SEB）を発表した。さらに、本大会において、SEB の前駆物質と推定されるソラノエクレピン C（SEC）の単離構造決定を報告する。SEC はトマト水耕液中やトマト毛状根培養液中で SEB よりも 10 倍以上多量に存在する。一方、植物がなぜ非常に複雑な構造を有するソラノエクレピン類を生産するのかは全くの不明である。本発表では、トマト水耕栽培における SEC の生産条件を検討した結果について報告する。トマト水耕液中のエクレピン類を 1 週間毎に分析したところ、栽培開始から徐々に SEC 生産量が上昇し、4 週間目で極大を迎えた。また、水耕液中の養分濃度を変えて水耕栽培を行い、それぞれのトマト根から RNA を抽出し、エクレピン類生合成遺伝子の発現量を解析した。その結果、生合成遺伝子の発現は栄養条件によって顕著に変動することが明らかになった。さらに、それぞれの水耕液中のエクレピン類を分析した結果、SEC 生産量の変動が確認された。このように、ソラノエクレピン生合成および根からの分泌量は栄養条件によって顕著に変動することから、ソラノエクレピンは植物根圏にとって有益な役割を果たしている可能性が示唆された。

3D-01

ミヤコグサにおける枝分かれ関連候補遺伝子 *AtUMAMIT2 orthologue* の機能推定

Functional Inference of *AtUMAMIT2 orthologue*, a Candidate Gene Related to Branching in *Lotus japonicus*

上野 公之¹, 加藤 壮英¹, 佐藤 修正², 加藤 晃^{1,3}, 若林 智美¹

¹奈良先端大・バイオ, ²東北大・院生命科学, ³奈良先端大・DGI

植物にとって枝分かれは効率的に葉を広げ光合成を行うために重要な形質の一つである。また、枝の数は花数、ひいては種子数に影響を与えるため、農業品種における収量や、野生植物の繁殖成功にも関わる形質である。国内に広く分布するミヤコグサには、産地の異なる系統間で根元からの枝分かれ数の多型が見られることが知られている。先行研究において行われた、本種の根本での枝分かれ数についての全ゲノム関連解析では、アミノ酸輸送に関わる UMAMIT ファミリータンパク質の一つである *AtUMAMIT2* の相同遺伝子が検出された。本研究では、当該遺伝子の本種における根本の枝分かれへの効果を実験的に検証し、ゲノム網羅的遺伝子発現解析による機能推定を行うことを目的とする。

まず、当該遺伝子の組織ごとの発現傾向を確かめるため、実験系統 Gifu-B129 (WT) について shoot, crown, root の3つの組織に分けて、播種後2週間時点での qRT-PCR による遺伝子発現解析を行った。結果、当該遺伝子の発現量が root で高く、crown では低く、shoot ではさらに低いことがわかった。次に、レトロトランスポゾン LORE1 を用いて作成されたノックアウトライン (KO) を WT と同一条件で栽培し、播種後2週間と1ヶ月半時点での根本の枝分かれ数データを取得した。その結果、KO では WT より根本の枝分かれ数が有意に少なくなることがわかった。

また、本演題では、播種後4週間の WT と KO の crown, root について RNA-seq を行い、ゲノム網羅的遺伝子発現データをもとに、本遺伝子の不活化により発現が変動する遺伝子の機能についても報告し、当該遺伝子の機能について議論する。

3D-02

二次細胞壁マスター因子の転写制御機構

Transcriptional Regulation of Master Regulators of Secondary Cell Wall Formation

向井 陸馬¹, 清水 悠裕¹, 藤澤 りみり¹, 満山 進², 坂本 真吾³, 光田 展隆³, 石川 寿樹¹, 川合 真紀¹, 山口 雅利¹

¹埼大・院理工, ²東大・院農学生命科学, ³産総研・生物プロセス

維管束木部を構成する道管要素や繊維細胞などの特定の細胞においては、通常の（一次）細胞壁の内側に二次細胞壁が形成される。二次細胞壁は一次細胞壁に対して肥厚した構造をとり、光合成由来の炭素分が多く蓄えられていることから、植物バイオマスの主要な要素と考えられている。NAC 転写因子ファミリーである VND ファミリーや NST ファミリーは、それぞれ道管要素と繊維細胞のマスター転写因子として同定されている。これらは二次細胞壁形成に関与する遺伝子群の発現を制御する一方で、VND ファミリーはプログラム細胞死に関わる遺伝子群の発現も制御する。また、先行研究において VND7 の結合親和性の高い DNA 配列 (ICSV) が同定されている。しかしながら、似て非なる VND ファミリーと NST ファミリーが結合する DNA 配列の違いについては十分に明らかになっていない。そのような中で私たちは、VND7 では発現が制御されず、NST ファミリーのみで発現が正に制御される遺伝子のプロモーターを発見した。現在、そのプロモーター上で NST ファミリーが特異的に制御する DNA 配列をトランジェントアッセイによって絞り込んでいる。さらに、VND ファミリーと NST ファミリー間でアミノ酸配列を比較したところ、DNA 結合に関わる NAC ドメインにおいて、ファミリー間で異なったアミノ酸残基が保存されている部位が特定された。現在、アミノ酸置換を導入することで、結合特異性に寄与するアミノ酸残基の検証を行っており、これらの解析結果についても報告する予定である。

3D-03

***ghost white* 変異体の原因遺伝子である *Solyc08g005010* の機能解析**

Functional analysis of *Solyc08g005010*, the gene responsible for the *ghost white* mutant

肖 渝焯¹, 中村 克行¹, 牧田 菜加¹, 高橋 征司², 白澤 健太³, 本橋 令子¹

¹静大・院農学, ²東北大・院工学, ³かずさ研・先端

ghost white 変異体 (*gw*) は本研究室で発見した自然発生の変異体である。その特徴として、葉の早期退緑や種の果実内発芽率が高いこと、母体からの光合成産物の転流が停止する Mature Green 期 (MG 期) では果実が白色を示すことが挙げられる。先行研究より、*gw* の MG 期果実は野生型 (WT) と比べ、葉緑体内のチラコイド膜が早い時期に消失していることがわかった。また、*gw* のペリカーブと種子のアブシジン酸とカロテノイド類の含量が WT と比べ、少ないことがわかったため、カロテノイド合成系の *SIPSY1*、アブシジン酸合成系の *SINCED1*、クロロフィル分解に関わる *SISGR1* の三つの遺伝子に注目し、GW とのタンパク質間相互作用を、二分子蛍光補完 (BiFC 法) を用いて調べた。その結果、GW は *SINCED1* と結合することがわかった。また、WT に ABA を施用し半定量的 PCR 法を用いて発現量の変化を調べた結果、GW の発現量が減少した。これらのことから、GW は *SINCED1* と相互作用し、直接または間接的に植物体内の ABA 量を調節していることが示唆された。そして、根に光があたる状態で 1 週間植物を育てたところ、WT や GW の過剰発現体の主根にクロロフィルが蓄積したのに対し、*gw* の根にクロロフィルの蓄積が見られなかった。このことから、GW は根でのクロロフィルの蓄積に関わっていることが示唆され、間接的に *SISGR1* と関係していると考えられた。

3D-04

CW 型細胞質雄性不稔性イネ原因遺伝子の破壊によるレトログレードシグナルの変化

Knockout of *orf307* in CW-type cytoplasmic male sterile rice leads changes of retrograde signaling

風間 智彦¹, 有村 慎一², 鳥山 欽哉³

¹九大・院・農, ²東大・院・農生命, ³東北大・院・農

CW 型細胞質雄性不稔性 (CW 型 CMS) イネは、レトログレードシグナルによって発現が促進される *Retrograde-regulated Male Sterility (RMS)* 遺伝子によって不稔性を示すことが示されている。また、稔性回復系統では RMS 遺伝子のプロモーター領域に存在する 1 塩基変異によって RMS の発現が抑制されることが示唆されている。ミトコンドリアゲノムの解析より、CW 型 CMS イネはミトコンドリアに CMS 関連遺伝子 *orf307* を持つことが報告されており、*orf307* の発現によりミトコンドリアから核へレトログレードシグナルが送られ、RMS の発現を促進すると考えられている。我々は、*orf307* をターゲットとしたミトコンドリアゲノム編集によって種子稔性が回復することを報告した (第 38 回植物バイオテクノロジー学会つくば大会)。

CW 型 CMS イネの *orf307* をターゲットとする mitoTALEN (mitoTAL2) をアグロバクテリウムによって遺伝子導入し、6 個体の遺伝子導入個体を得ることができた。これらの個体のうち、1 個体は *orf307* に変異が生じていない個体であったが、それ以外は *orf307* 内で二本鎖切断が起こり、修復を受けていることが明らかとなった。これらの個体では、稔性が回復していた。これらの稔性が回復した個体の葯より RNA を抽出して、RMS の発現を調査したところ、RMS の発現が抑制されていることがわかった。*orf307* の発現とレトログレードシグナルの関係について考察をしたい。(謝辞：科研費 JP24H00514 および JP24H02279)

3D-05

DR 遺伝子による植物細胞分化制御系の構築

Development of the Plant Cellular Differentiation Control System by DR Genes Expression

小山 翔平¹, 佐藤 優加¹, Berbudi Bintang Pratama¹, 井川 智子^{1,2,3}

¹千葉大・院園芸学, ²千葉大・植物分子科学センター, ³千葉大・宇宙園芸センター

組織培養では葉切片や茎などの組織を適切な条件下で培養し、細胞の分化反応（脱分化及び再分化）を誘導して新たに植物体を再生させる。分化誘導には培養培地中に植物ホルモンなどの植物成長調節物質（Plant Growth Regulator ; PGR）を添加する方法が一般的である。しかし、細胞分化を可能にする PGR の添加条件は植物種などによって異なるため、最適条件の検討に膨大な手間がかかるケースもあり、未だに分化制御ができない植物種も多い。この現状は、細胞分化制御技術を基盤とした遺伝子組換え及びゲノム編集植物の作出研究を妨げ、様々な植物種での研究展開を目指す上での課題の一つとなっている。

近年、植物の胚発生に関する転写因子（Developmental Regulator ; DR）を組換え細胞内で人工的に過剰発現させることで分化反応を促進する事例が報告されている。当研究室ではシロイヌナズナ由来の 2 種類の DR 遺伝子をタバコ葉片細胞に導入した結果、PGR 非添加培養条件下において組換え細胞の分化誘導と植物体再生に成功している (Sato et al. 2024)。しかし植物細胞へ導入した DR 遺伝子の恒常発現により、分化植物体で形態異常が起こりやすいことを確認しており、システム実用化への課題となっている。そこで本研究では、分化誘導後に DR 遺伝子の発現を抑えることで植物体の形態異常を回避できる制御系の構築を行った。この制御系を導入したタバコ組換え体を作成し、DR 遺伝子の発現中及び抑制後における表現型を評価した。

3D-06

発生制御遺伝子の発現制御法と改変が及ぼす分化反応の評価

Evaluation of the Differentiation Responses Influenced by the Developmental Regulator Gene Expression Level and Modification

井上 翔太¹, 井川 智子^{1,2,3}

¹千葉大・院園芸学, ²千葉大・植物分子科学センター, ³千葉大・宇宙園芸センター

植物の遺伝子組換え技術は、基礎研究においては遺伝子機能解析を、応用研究においては新しい形質の付与を可能にするなど、植物科学の発展に重要な技術である。しかし、細胞から植物体を再生するために用いる植物成長調節物質（Plant Growth Regulator; PGR）の条件設定は種ごとに検討する必要があるため、適切な条件を確立するための作業が困難になるケースが多いため遺伝子組換え体を得やすい植物種は極めて限られている。当研究室では胚発生や形態形成に関与する転写因子（Developmental Regulator; DR）を過剰発現させることで、PGR フリーの培養条件下での組換え細胞の自律的分化誘導に成功している (Sato et al. 2024)。これは 2 種類の DR (BBM 及び WUS) を用いているため、研究では発現カセットのさらなる簡易化を最終目的として、まず 1 種類の DR を様々な制御系で発現させた時の分化反応を調査した。シロイヌナズナ由来の WUS を発現させるプロモーターの種類や Ω 翻訳エンハンサーの付加、転写因子の機能改変効果を検証するために 4 種類の発現カセットを構築した。これらを含む T-DNA 領域をアグロバクテリウム法によりタバコ葉片細胞に導入した結果、いずれも PGR フリーの培養条件下では分化反応が見られなかった。また、タバコ由来の WUS オーソログを導入しても分化は誘導されず、種間よりも発現レベルまたは WUS の改変が分化誘導により影響する可能性を示唆している。現在、導入遺伝子の発現レベルを qRT-PCR で調査中である。また、機能改変をもたらす調節配列の付加効果の検証を進めており、本大会で進捗を報告する。

3D-07

花粉栄養細胞での発生制御遺伝子の発現による半数体作出の試み

Attempt of Haploid Production by Expressing Developmental Regulator Gene in the Pollen Vegetative Cells

菱田 蒼¹, Berbudhi Bintang Pratama¹, 井川 智子^{1,2,3}

¹千葉大・院園芸学, ²千葉大・植物分子科学センター, ³千葉大・宇宙園芸センター

植物の育種や研究において、純系の獲得・維持は形質の安定化や遺伝学的解析において重要である。純系の固定には、自殖を繰り返して目的の形質と連鎖するマーカーを用いて選抜する工程が必要であり、何世代もの時間がかかる。従って効率良く半数体を得ることができれば、倍加によって短期間で純系を得ることができる。当研究室ではこれまでに、植物の発生制御に関与する転写因子をコードする遺伝子（以下、発生制御遺伝子）を人工的に発現させた組換え細胞が外生的な植物ホルモン処理を伴わずに脱分化や再分化する誘導系の開発に成功している（Sato et al, 2024）。そこで、核相がnである生殖細胞特異的に発生制御遺伝子を異所発現させることで半数体が得られないかと考えた。本研究では、花粉栄養細胞からの分化誘導系の構築を目的とした、花粉栄養細胞特異的プロモーターで1種類の発生制御遺伝子の転写を制御する遺伝子発現カセットを作製した。また、プロモーター下に翻訳増強配列であるΩ配列を繋いだ発現カセットも作製した。これらをアグロバクテリウムを用いてタバコのリーフディスクに感染させ、遺伝子を導入した。植物ホルモン及び選抜用薬剤を添加した培地上で発生したシュートをT0系統として生育させ、開花後の花粉の形態観察を行った。その結果、複数系統において核が見られず、潰れた形態の異常な花粉が観察されている。表現型をさらに精査するため、現在T1種子を播種し、薬剤耐性個体の花粉の観察を進めており、本大会では進捗を報告する。

3D-08

細胞伸長を促進する TCP 転写因子制御ネットワークの解析

Functional Analysis of TCP Transcription factors That Regulate Cell Expansion

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

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

葉の形態形成において、細胞伸長の制御は重要である。シロイヌナズナ TEOSINTE BRANCHED1, CYCLOIDEA, PCF (TCP) 転写因子は、葉の発生における細胞伸長の制御因子である。しかし、TCP 転写因子がどのように細胞伸長を制御しているのか、その作用機序については不明である。そこで本発表では、TCP 転写因子による細胞伸長の制御機構の解析について発表する。まず、光学顕微鏡分析により、TCP3 遺伝子過剰発現体では WT よりもサイズの大きな細胞を認めたが、逆に tcp 六重変異体ではサイズの小さな細胞を認めたので、TCP 転写因子が細胞伸長を促進することを明らかとした。遺伝子発現およびクロマチン免疫沈降解析を行ったところ、TCP3 が細胞伸長の制御遺伝子を標的とすることを明らかとした。さらに、プロモーターレポーター解析を行ったところ、TCP3 および TCP3 標的遺伝子によるシグナルを子葉と葉で認め、その領域は重なっていた。細胞伸長はアポプラストの酸性化を引き金として酸性 pH を至適とする細胞壁弛緩タンパク質の活性化により引き起こされるが、TCP 転写因子は細胞膜局在型プロトンポンプを活性化するとともに、アポプラストの酸性化を誘導することを明らかにした。さらに、原子間力顕微鏡解析から、TCP 転写因子による細胞弾性率の低下作用を認めた。これらの結果をもとにして、TCP 転写因子が細胞伸長を促進するメカニズムを議論する。

3D-09

MIXTA 様転写因子による細胞壁クチクラ連続体形成制御機構の解析

Regulation of cell wall-cuticle continuum formation by the MIXTA-like transcription factor

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, 津山 濯⁴, 菅野 茂夫¹, 光田 展隆¹

¹産総研・生物プロセス, ²JST・さががけ, ³東大院・総合文化, ⁴宮崎大・農

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ない「細胞壁クチクラ連続体」としてとらえ、クチクラ脂質、表皮細胞壁、それらの構造に着目した解析を行った。これまでに、花器官や葉のクチクラ形成を制御する MIXTA 様転写因子 MYB16 に強力な転写活性化ドメインを融合してシロイヌナズナで発現させ、クチクラが高蓄積することを確認した。この植物において、全反射減衰赤外分光法 (ATR-IR) を応用して深度ごとの解析を行い、細胞壁クチクラ連続体の構造を野生型と比較した。加えて、表皮細胞壁多糖類の組成分析、電子顕微鏡観察、表皮細胞 scRNA-Seq 解析を行った結果、MYB16 によって誘導される細胞壁クチクラ連続体は、野生型と比較して、結晶性のクチクラワックスが表層から深い層まで増加すること、ペクチンが含まれる層が薄くなって蓄積量が減少すること、セルロースの組成比が増加すること等が明らかになった。MYB16 はクチクラ脂質に加えて、直接または間接的に細胞壁多糖類の蓄積を制御することにより MYB16 発現組織特有の細胞壁クチクラ連続体形成を制御していることが示唆された。

3D-10

尾上菜の自家不和合性の制御機構

Regulatory mechanism of self-incompatibility in *Onoena*

久保 健一^{1,2}, 浅井 七音¹, 下枝 聖矢¹, 池田 直樹³, 中川 幸彦¹, 尾西 晃一³, 井坂 圭介¹, 蔡 晃植^{1,2,3}

¹長浜バイオ大・バイオ, ²長浜バイオ大・ゲノム編集研, ³長浜バイオ大・院・バイオ

滋賀県長浜市で古くから栽培されてきた葉物野菜である尾上菜は、*Brassica rapa* に属し、自家不和合性を示す。一般的にアブラナ科の自家不和合性は、S-遺伝子座上の花粉因子 *S-locus protein 11* (*SP11*) と雌蕊因子 *S-receptor kinase* (*SRK*) によって制御されている。そこで、尾上菜の自家不和合性の制御機構を明らかにすることを目的に研究を行った。

尾上菜を8個体選び、*SP11* 配列と、*SRK* の自他識別領域である S-ドメインのコード配列をクローニングした。*SRK*、*SP11* それぞれについて9つの対立遺伝子を得た。対立遺伝子間には配列多様性があり、特定の対立遺伝子はペアをなしており、S-ハプロタイプが確認できた。各S-ハプロタイプのホモ接合体を作成し、それぞれの交配による花粉管伸長、種子形成を確認した。その結果、同じS-ハプロタイプを持つ個体間では花粉管伸長阻害が認められ、異なる場合は多数の花粉管伸長と種子形成が認められた。

尾上菜の *SRK* 配列を他の *B. rapa* 由来の配列とともに用いて系統学解析を行った結果、尾上菜 *SRK* は Class I と Class II の2つのクレードに分類されることが分かった。Class I に分類された *S₄* と Class II に分類された *S₁₁* についてホモおよびヘテロ接合体を作成し相互交配実験を行ったところ、*S₄S₁₁* ヘテロ接合体の花粉は *S₄S₄* 雌蕊には排除されたが、*S₁₁S₁₁* 雌蕊には受容された。このことから、S-ハプロタイプ間の顕潜性の存在が確認された。逆転写定量 PCR 法によって *S₄S₁₁* 個体の *SP11* の転写を確認したところ、*S₁₁-SP11* 転写物の抑制が認められた。

結論として、尾上菜は *SP11-SRK* 型自家不和合性を有し、その *SP11* 遺伝子の発現には S-ハプロタイプ間の顕潜性制御が存在することが判った。

3D-11

アマモの種子で発現する F1F0-ATPase inhibitor をコードする遺伝子の解析

Analysis of the gene encoding an F1F0-ATPase inhibitor in eelgrass seeds

濱屋 千紘, 鈴木 康太, 小林 亜衣, 塩田 肇

横浜市立大学 生命ナノシステム

アマモ (*Zostera marina*, アマモ科) は、海水中で生活する単子葉植物 (海草) の代表種である。アマモは、陸生の単子葉植物と類似した形態・生理機構を持つ一方、海水中の環境に適応するために特殊な生理機構を進化させてきたと考えられる。しかし、その生理・生態については不明な点が多い。アマモ種子の発達、成熟、発芽の過程はすべて海水中で起こる。そのため、水分吸収によらない種子発芽調節の機構が存在すると考えられる。アマモ種子の休眠と発芽の機構を明らかにするため、成熟種子で特異的に発現する遺伝子を cDNA ライブラリーから単離した。そのうち DL203 は Mitochondrial F1F0-ATP synthase (F1F0-ATPase) inhibitor factor 1 (IF1) をコードしていた。DL203 の発現は、発芽前の成熟種子で突出して高く、発芽後には急激に低下した。また、発芽に適さない条件下 (高塩濃度、高浸透圧、高温) の種子では発現は高く保たれ、逆に発芽に適した条件下 (低塩濃度、低浸透圧、低温) の種子では発現が低くなった。DL203 と GFP との融合タンパク質をタマネギ表皮細胞で発現させたところ、ミトコンドリアでシグナルが観察された。発芽前後で種子の ATP 含有量を測定したところ、発芽後に ATP 含有量の増加が見られた。以上の結果から、DL203 が種子発芽過程での ATP の調節に関与していることが示唆された。

3D-12

タイワンホトトギス (*Tricyrtis formosana*) とヤマジノホトトギス (*T. affinis*) 間の種間交雑による半数体、二倍体雑種および四倍体雑種の作出

Production of Haploids, Diploid Hybrids and Tetraploid Hybrids by Interspecific Crosses Between *Tricyrtis formosana* and *T. affinis*

中村 愛理¹, 加藤 友梨², 福原 楓¹, 岡田 萌子², 大谷 真広², 中野 優²

¹新潟大・院自然研, ²新潟大・農

タイワンホトトギス (*Tricyrtisformosana*) における園芸形質の拡大を目的として、ヤマジノホトトギス (*T. affinis*) との種間交雑および胚珠培養による雑種作出を試みた。材料には、5 品種のタイワンホトトギス ($2n=2x=26$) およびヤマジノホトトギス ($2n=2x=26$) の鉢植え個体を用いた。相互交雑受粉の 14~21 日後、肥大子房から胎座付き胚珠を摘出して培養した。その結果、タイワンホトトギスを種子親とした交雑では、'蒼天'、'青竜'および'江戸の華'を用いた場合に、それぞれ 2 系統、13 系統、6 系統の胚珠培養由来個体が得られた。一方、ヤマジノホトトギスを種子親とした場合には、胚珠培養由来個体は得られなかった。フローサイトメトリー分析により胚珠培養由来個体の倍数性を調査したところ、'蒼天'×ヤマジノホトトギスおよび'江戸の華'×ヤマジノホトトギスでは全てが二倍体であった。それに対し、'青竜'×ヤマジノホトトギスでは、二倍体以外に半数体、半数体と二倍体の倍数性キメラ、および四倍体も確認された。ISSR 分析により、ほとんどの胚珠培養由来個体における雑種性が確認された。開花個体について簡単な形質調査を行ったところ、二倍体および四倍体の雑種は両親の中間型の形質を示した。一方、半数体および倍数性キメラの形質は、種子親であるタイワンホトトギスに類似していた。以上の結果から、半数体および倍数性キメラは、花粉親であるヤマジノホトトギスのゲノムの脱落により生じたと考えられた。

3D-13

自生サトイモのゲノム情報から読み解く縄文時代のサトイモ

Jomon period taro deciphered from the genome information of wild taro

本橋 令子¹, 石澤 悟¹, 斉藤 惟奈¹, 小西 達夫², 長田 直樹³

¹静岡大・院農学, ²進化生物学研究所, ³北大・院情報

サトイモ (*Colocasia esculenta*) はインドや中国あたりが原産とされ、約 1, 2 万年前に東南アジア付近で発祥した根裁農耕文化に伴い栽培され始めた植物である。日本への渡来ルートは明らかではないが、縄文時代には伝搬し栽培化したと考えられており、稲作が始まる前の重要な食料源の 1 つだったと推察される。温泉地や湧き水のある場所など、生育条件に恵まれた土地のサトイモは縄文時代後期の寒冷期を乗り越え自生化したと考えられ、日本にはそのような自生イモが弘法大師の石芋伝説として複数存在している。これらの自生イモと、主にアジアからオセアニア圏内で採取した野生サトイモ、栽培サトイモを供試し系統比較を行った。その結果、長野県沓掛温泉周辺や山梨県甲府市、佐賀県鳥栖市、島根県出雲市で採取した自生イモはエグイモだと推定でき、エグイモ品種群は日本に初期に持ち込まれたと考えられた。似たような系統が台湾や韓国、中国、オセアニアまで広がっていることが分かり、インド北部で発生したエグイモ品種群が、台湾や韓国を経由して日本に持ち込まれた可能性が考えられた。これらエグイモ品種群の自生イモは蓮葉芋・土垂、平大葉品種群と遺伝的に近縁であることがゲノム解析から示された。また、フローサイトメーター解析により、多くのエグイモ品種群は 3 倍体であり、長野県沓掛温泉周辺に自生しているエグイモも 3 倍体で種子繁殖をしないため、人の手により日本各地に伝搬され、各地で栽培されたと考えられる。縄文時代の人口増加にエグイモ品種群を含むサトイモが食料として貢献していたかの検証についても報告する。

3D-14

Production of Organic Fertilizer from Waste Sludge of Rubber Processing Plants at Dong Nai Rubber Corporation, Vietnam

Thanh Tran, Thi Thu Pham, Xuan Duy Pham, Minh Tan Nguyen, Thi Huong Ly Doan, Thi Hanh Hoang, Van Phuc Tra, Minh Tuan Do

Dong Nai Rubber Corporation

Dong Nai Rubber Corporation (DONARUCO) is a state-owned enterprise under the Vietnam Rubber Group (VRG). The business scope of DONARUCO includes (i) planting, tending, exploiting, processing and trading natural rubber, (ii) producing and trading industrial rubber products, (iii) producing and trading wood products, (iv) investment on and trading industrial park infrastructure, and (v) investment in high-tech agriculture sector. With a total rubber area of 46,711 ha, 4,000 workers, total rubber production of more than 45,000 tons/year, and average productivity of over 2.5 tons/ha (the highest in the world), DONARUCO is considered the largest and most efficient natural rubber producing enterprise in Vietnam. The missions of DONARUCO are to (i) search and awaken the power of our social potentials, and (ii) recognize and satisfy the needs of our clients, partners as well as employees towards a sustainable and prosperous life. DONARUCO has expanded its export products to more than 30 countries over the years, gaining mutual trust from our partners and customers for rubber products. In recent years, DONARUCO has focused on the development of new products and the effective application of technological advancements in production and business activities. This report aims to introduce and summarize the production of organic fertilizer from waste sludge of rubber processing plants.

あ		池田有理子	1C-02	う		大橋 知世	2C-08
		池田 陽子	2B-06			大山 真優	2A-13
間 竜太郎	A-3	池山 倅	1A-10	上岡 颯人	1A-05	岡崎 夏鈴	A-7
青木 達大	3C-08		1A-11	植木 真生	2C-09		1D-06
青木 政典	3B-03	井坂 圭介	3D-10	上田美沙紀	2A-03	岡澤 敦司	S1-4
青木 裕一	1A-01	伊澤かな	2C-07	植田 佳明	2D-04	岡澤 宏	3B-05
	3A-04	井澤 大輔	1A-01	上野 真義	2B-12	岡田 萌子	3D-12
赤苅 汐津	2B-02	伊澤真由子	1D-02	上野 公之	3D-01	荻田信二郎	S3-1
明石 智義	3A-13	石井 智樹	3C-10	上野山怜子	1B-02		3C-11
	3A-14	石川 寿樹	2D-05	鵜崎 真妃	1B-01	沖野 晃俊	3B-14
	1A-06		2D-06	内田 開	3A-12	奥田 徹	2A-03
赤沼 花恋	1A-06		2D-07		3A-13	奥野 未来	2B-09
秋田 求	1D-11		3D-02	内山 佳織	2C-06	奥村 賢直	3B-15
秋野 順治	3C-12		3D-02	宇野 海地	3A-01	刑部 敬史	3A-06
秋山 遼太	1A-06	石黒加奈子	2A-05	梅澤 俊明	3A-11	長田 直樹	3D-13
	1A-07	石黒 雄大	1B-04	梅原三貴久	S2-5	小山内 崇	S1-5
	1A-08	石崎 公庸	3A-08		1D-06	小関 良宏	2A-12
	1A-10		3C-05		2D-05	小園 大成	2B-06
	1A-11	石澤 悟	3D-13	梅村 悠太	1A-11	尾西 晃一	3D-10
	3C-14	石田 怜子	1C-02	梅基 直行		小野 彩花	1C-12
	3C-15	石橋 和大	3A-15			小笠原一郎	2A-01
	2B-13	磯野 真秀	2B-01	え			2A-03
麻 裕毅	2B-13	磯部 祥子	S4-3	江口 壽彦	3C-08	か	
浅井 七音	3D-10	井田 美帆	2A-04	江面 浩	2A-01		
浅川 義範	3A-08	板垣実菜子	3C-04		2C-13		
浅田 遥香	1B-10	市川 公康	2A-10	蛭名 宏佑	3A-04	戒能 洋一	3C-13
安里 隼	2B-06	市川 翔哉	3A-15	遠藤 真咲	A-4	河西 崇	1C-02
浅野 賢治	1A-10	市川晋太郎	3B-07		2B-12	風間 智彦	3D-04
	1A-11	市川 尚哉	2A-06			梶野 拓磨	2C-06
朝比奈雅志	1D-06	市川 莉菜	2D-05	お		梶野 理桜	3C-05
足立 浩崇	1C-02	市野 琢爾	1A-05	大内 仁志	3C-07	柏瀬 友咲	1C-06
阿部 怜生	1A-09		3A-06	大澤 泰樹	3B-14	片岡 邦重	3A-02
天野 博之	1A-03	市原 寿子	S4-3	大澤 月穂	2A-01	片野 亘	1D-06
荒井 萌伽	2C-01	一家 崇志	1B-04		2A-03	勝又 章椰	2A-03
有泉 亨	2C-13		1B-05	大嶋真由子	2A-03	勝元 幸久	3A-14
有賀 裕剛	2C-04	一色 桂吾	1D-01	大島 良美	3B-09	加藤 晃	2C-02
	2C-06	伊藤 皓矢	3A-05	太田翔一朗	3D-09		2C-03
有瀧慎太郎	1B-02	伊藤誠一郎	1C-01	太田 信吾	1C-05		3D-01
有村 慎一	2B-08	伊藤 幸博	2B-05	大竹興一郎	2A-02	加藤 壮英	2C-02
	2B-09		1C-11	大武 美樹	S2-2		2C-03
	3D-04		1C-12	大谷 真広	3B-04		3D-01
			3C-03		2B-14	加藤 大幹	2C-03
			3C-04	大槻 並枝	3D-12	加藤 美香	2A-03
			2A-01	大坪 憲弘	2D-04	加藤 幹也	3A-04
			1D-03		1C-01	加藤 康夫	1B-08
飯尾 淳弘	3B-05	稲葉 環	3D-06		1C-02	加藤 友梨	3D-12
飯嶋 益巳	1B-10	乾 智晴	3A-08		1C-07	門屋 茜	2D-05
飯田 恵子	2B-07	井上 翔太	1C-09	大坪 真樹	1C-01	金木 拓都	2C-02
五十嵐圭介	2B-08	井上 珠緒	2D-07		1C-02	金子 倫久	2D-12
	2D-14	井上 夏実	3A-01	大西 利幸	S1-3	金原千佳子	3B-04
		今井 博之	3A-02		2A-01	鎌倉 雅都	1B-06
井川 智子	S2-3	今泉 璃城	3A-03		2A-02	賀屋 秀隆	2B-02
	3B-15		3A-04		2A-03		2B-03
	3D-05		3C-10	大貫 真弥	1D-01		2B-04
	3D-06	今村 優斗	2B-14	大沼 紀子	1C-02		2B-06
	3D-07	岩間 健	2B-15				
池内 桃子	S2-1						
池田 直樹	3D-10						
池田 美穂	2D-13						

粥川 颯人	3C-03	久保田希美	2C-07	小牧 真樹	3C-09	佐藤壯一郎	1D-07
河合 顕真	2B-06	久米こころ	3C-07	小松 晃	3B-04	佐藤 春菜	3C-08
川合 真紀	2D-05	藏満 司夢	3C-13	小山 翔平	3B-15	佐藤 舞	2D-13
	2D-06	栗木 淳寛	3C-08		3D-05	佐藤 心郎	1D-08
	3D-02	栗栖 尚嗣	1A-03	小山 知嗣	3D-08	佐藤 萌	1D-04
河内 正治	3B-15	栗山 朋子	3B-15	近藤 菜友	3A-06	佐藤 優加	3D-05
川上 寛子	2A-04	来須 孝光	1D-05	近藤 雄大	2D-05	佐藤 里佳	2A-08
川木 純平	1D-01	黒田 昌治	2B-02	近藤 陽一	3B-08	澤口 友菜	3B-08
河岸 洋和	3C-06		2B-03			澤崎 達也	2B-02
	3C-07		2B-04				2B-03
川極 幸村	3A-01	桑原明日香	S1-1				2B-04
	3A-02	桑原 康介	A-8	蔡 晃植	3D-10		
	3A-03	桑原 慎子	2B-13	雑賀 啓明	2B-11		
川口 晃平	2C-14	桑原 渚	1D-09	西條 晃芽	2B-02		
河野 徳昭	2D-12			斉藤 和季	1A-11	塩田 肇	3D-11
河野 結	1A-08				3C-09	四方 怜人	2B-03
	3C-14			齊藤 翔真	1B-10	重信 秀治	1D-06
川邊 陽文	2B-12	解良 康太	1B-10	齊藤 拓也	1A-04	土反 伸和	1B-11
河村 健太	2D-10			齋藤 靖和	3C-11	柴田 恭美	1D-06
	2D-11			斉藤 惟奈	3D-13	柴田 大輔	S1-1
韓 俊文	2A-11			サイモン イェーツ	3B-05		S2-2
神田 恭和	3C-13	小坂 青空	1A-04	佐伯 結衣	3A-10	島田 浩章	3B-01
神名 唯衣	3B-06	古閑 一憲	3B-15	坂井 直樹	3A-02	清水 碧	1C-10
		古賀 駿也	2A-12	坂井 寛章	3B-04	清水 宏祐	3C-14
		古賀 皓之	1D-08	榊原 圭子	3C-09	清水 達也	S3-3
		小岸 玲子	1C-01	榊原 均	1D-01	清水 悠裕	3D-02
		小久保祥子	1D-10	坂口 公敏	1C-02	志茂 里菜	1C-01
菊地 駿介	1B-10	小越 将行	1D-05	坂口 浩朗	2D-06	下枝 聖矢	3D-10
菊池 洋平	1A-03	小柴 和子	1D-06	坂口 祐美	3C-10	下川 響	3C-08
木越 景子	2C-01	小島 幸治	1A-01	坂田 洋一	2C-04	下田 蒼	3C-03
岸本 知也	2C-03		1A-02		2C-05		3C-04
北尾 和紀	2A-05		1B-06		2C-06	下村講一郎	1D-06
北島あすみ	2C-12	小島 創一	1D-04		2C-07		3A-06
北島佐紀人	3C-02		1D-09		2C-08	謝 肖男	3C-07
	3C-12		2D-03		2C-09	主藤裕太郎	2B-07
	3B-07		2D-08		2C-10	肖 渝煒	3D-03
北村 未帆	3D-08		1D-01		2C-11	庄司 翼	3C-09
木下 俊則	3A-07	小嶋美紀子	S4-2		2C-12	庄司のえみ	2A-07
木村 渚	2A-01	越水 静	3A-04		3A-15	白石 愛花	1B-06
切岩 祥和		小杉 泰世	3B-02	坂本 真吾	3D-02	白澤 健太	3D-03
		児玉 浩明	3B-13		3D-09	白澤沙知子	S4-3
			2D-06	坂本 晴那	2B-01	白武 勝裕	1B-02
串田 篤	1A-07	児玉 豊	3B-06	佐久間若菜	2D-01	進藤沙弥香	1C-01
串田 篤彦	1A-06		3B-07	櫻庭 康仁	2D-04	新保由紀子	1C-01
	1A-08		1A-05	佐々木香織	2A-04		1C-02
	3C-14	後藤 桃佳	1C-08	佐々木健太郎	3A-15	新屋 和花	2A-10
	3C-15	小長谷賢一	2B-12	佐々木伸大	2A-12		2A-11
楠本 大	1C-08		3D-13	佐々野晴花	S1-6		
朽津 和幸	1D-05	小西 達夫	3D-11	佐竹 暁子	1A-04		
久津見ゆうか	3A-14	小林 亜衣	2B-08	佐藤 暁	1D-05		
工藤 洋	1D-02	小林 碧尊	2B-06	佐藤 浩平	2A-02	菅波 眞央	1B-06
國枝 正	3D-08	小林 括平	3A-11		2A-03		1D-04
久保 健一	3D-10	小林 慶亮	3B-11	佐藤 修正	S2-2		1D-09
久保 浩義	3A-07	小林 美咲	3B-12		2C-02		2D-08
	3A-09		3A-07		3D-01	菅野 茂夫	2B-05
	3A-10	小林 悠華					

さ

し

け

こ

き

く

す

	1A-03	羽馬 哲也	3D-09	古川 貴大	1D-05		1D-09
	1B-06	濱田 晴康	1A-11	古舘 拓来	3A-09	松川 哲也	2A-10
	3A-01	瀨屋 千紘	3D-11			松下 修平	2A-10
	3A-02	早川 俊彦	2D-02		へ	松田 幹	1B-06
	3A-03	原田 隆大	1A-12			松田陽菜子	3A-06
	3A-04	原野 健太	3A-13	別所 歩武	3D-08	松田 怜	3C-01
	3C-10	番場 康介	2C-04	別府 和則	1B-06	松永 都	2A-09
中山 真義	A-3			別府 佳紀	3A-14	松村 英生	2A-09
柳楽 洋三	1A-11		ひ			松村 浩由	2B-09
那須 詩織	3C-05				ほ	松本 啓輔	2D-09
夏原 宏季	3C-02	東野兼次郎	2A-08			松本 敏一	1A-12
七里 吉彦	1C-08	樋口 京佳	1B-05	星川正太郎	2D-02	松本 萌人	2D-14
	2B-12	菱田 蒼	3D-07	細井 昂人	2C-05	丸山 莉生	2D-10
		平井 正良	3C-09		2C-08		2D-11
		平井ヒロフミ	3C-06		2C-10		
			3C-07		2C-11		み
西内 巧	3B-02	平井 優美	1B-01	堀井 陽子	3B-08		
	3B-13		1D-08	堀江 智明	2C-06	三浦 佳乃	1C-11
西尾 大樹	1D-05		3A-12	堀川 学	2A-01	三浦 謙治	1A-04
西川 俊夫	1B-02	平尾 知士	1C-08		2A-03		2A-01
西崎 雄三	2A-12	平岡 信之	3B-15	本庄 三恵	1D-02		2A-11
西澤 具子	1B-01	平川 英樹	S4-3	本田 圭一	2D-08		2B-15
西部あぐる	2A-07	平田 峻也	2B-06	本間 駿一	2A-01		3B-11
西村 泰介	2B-06	平谷 万里	1B-11	本間 大翔	1A-09		3B-12
西村 帆貴	1C-11	平野 貴大	2C-04				3C-12
西山 大貴	2A-02	広瀬 侑	S4-4		ま	三上 智世	1A-02
二瓶 直登	1B-06	廣森 美樹	1A-01			三上 文三	3A-11
			1A-02	牧 慎也	1A-12	水田 珠希	3A-07
			1A-03	牧田 菜加	3D-03		3A-08
			3C-10	蒔田由布子	3B-15		3C-05
塗木 彩花	1C-07	日渡 祐二	S3-2	牧野壮一郎	3C-15	水谷 正治	1A-06
濡木 理	2B-07			牧野 利明	2A-13		1A-07
				牧野 洋一	2B-05		1A-08
				真下 知士	2B-11		1A-09
				増田 健二	3B-05		1A-10
				増田 悟郎	3A-15		1A-11
				増村 威宏	1D-07		1D-02
					2B-02		1D-03
					2B-03		1D-12
					2B-04		3A-07
					2D-09		3A-08
					1B-06		3C-05
				升本早枝子	S2-2		3C-14
				舂本 寛	2A-02		3C-15
				間瀬 暢之	2A-03	水野 幸一	2A-04
					2A-03	水野 貴行	2A-05
				松井 一弘	1D-03	水野 秀之	1D-05
				松井 啓祐	1C-01	溝端 栄一	3C-09
				松井 健二	2A-01	光田 展隆	2B-05
				松井 真宙	1D-10		3D-02
				松井 南	3B-08		3D-08
					3B-15		3D-09
				松浦 滉明	3A-02		3D-09
				松岡 健	3C-08	満山 進	3D-02
				松岡 信	1B-06	宮城 敦子	A-5
					1D-04		2D-01
橋詰 寛也	S3-4	藤原すみれ	2C-01				
長谷 純宏	2C-06	藤原 未来	3B-09				
長谷川玲花	2B-05	舟川 奈那	1B-04				
花野 滋	S2-2	船田 良	2D-10				
羽生 雄毅	S3-5		2D-11				

第41回日本植物バイオテクノロジー学会(仙台)大会 講演要旨集

発行日：2024年8月26日

発行者：第41回日本植物バイオテクノロジー学会(仙台)大会 実行委員会

〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-11

東北大学大学院工学研究科内

印刷：中西印刷株式会社