

第42回 日本植物バイオテクノロジー学会(神戸)大会

要 旨 集

2025年9月5日(金)～9月7日(日)

神戸大学 六甲台第2キャンパス

プログラム

受賞講演

日時 9月6日(土) 15:10-17:40

会場 百年記念館

●学術賞

- 15:10 **2RpJ1** ワイドターゲットメタボロミクスによる植物システム生物学の展開
平井 優美 (理研 CSRS, 名大院生命農)
- 15:40 **2RpJ2** イネ種子貯蔵タンパク質の合成・蓄積機構の解明とその応用に関する研究
増村 威宏 (京都府立大・院生命環境, 京都府農技セ・生資セ)

●技術賞

- 16:10 **2RpJ3** 分子育種技術を駆使した新奇性の高いリンドウ品種の育成
西原 昌宏 (福井県立大・生物資源)

●奨励賞

- 16:30 **2RpJ4** ゲノム編集ジャガイモの実用化に向けた研究開発
安本 周平 ((株) カネカ, 阪大・院工)
- 16:50 **2RpJ5** ゲノム情報を利用したベンジルイソキノリンアルカロイド生合成系とその発現
制御機構の解明, および物質生産への展開
山田 泰之 (神戸薬大)

●学生奨励賞

- 17:10 **2RpJ6** 植物オルガネラを染色する蛍光色素の同定
市川 晋太郎 (宇都宮大院・地域創生)
- 17:25 **2RpJ7** トマト特化代謝産物を介した植物細菌間相互作用に関する研究
高松 恭子 (京大・生存研)

シンポジウム 1

一細胞からフィールドで捉える植物二次代謝物の新機能

Advances in the Functional Analysis of Plant Specialized Metabolites: From Single-Cell to Field Scale

オーガナイザー：杉山 龍介（千葉大学）、棟方 涼介（京都大学）

日時 9月5日（金） 午前 9:30-12:15

会場 百年記念館

概要 植物が生み出す多様な二次代謝物は、成長制御や他生物とのコミュニケーションなどに利用される。また、植物由来の揮発性分子（Biogenic Volatile Organic Compounds, BVOCs）はその大気中の量や反応性の高さから、気候にまで影響を及ぼす。しかし、自然環境における植物分子の役割は多くが未解明である。本シンポジウムでは、植物二次代謝物の新機能を明らかにする取り組みとその成果の一端について紹介する。一細胞解析や、フィールドでのリアルタイム質量分析など、マイクロ～マクロスケールの最新技術を二次代謝研究にどう生かすか、討論を行う。

9:30		はじめに 棟方 涼介（京都大学）
9:35	1RaS1	根寄生植物が生産するフェニルエタノイド配糖体の生物学的意義 瀬戸 義哉（明治大・農）
10:00	1RaS2	植物二次代謝物の細胞内標的タンパク質を同定するためのプロテオミクス解析 相原 悠介（神戸大・院理）
10:25	1RaS3	一細胞レベルでの解析技術を用いた植物二次代謝産物研究 白川 一（中央研究院・IPMB）
10:50		休憩
10:55	1RaS4	BVOC の気候フィードバック：ブナ科におけるイソプレン合成酵素の分子進化 棟方 涼介（京大・生存研）
11:20	1RaS5	BVOC が強化する植物の環境ストレス耐性の分子メカニズム 大西 利幸（静岡大学 グリーン科学技術研究所）
11:45	1RaS6	生態系内における BVOC の時空間イメージング 関本 奏子（横浜市立大学・院生命ナノ）
12:10		おわりに 杉山 龍介（千葉大学）

シンポジウム 2

AI が拓く植物バイオの新時代

The New Frontier of Plant Biotechnology Unlocked by Artificial Intelligence

オーガナイザー：福島 敦史（京都府立大学）、庄司 翼（富山大学）

日時 9月6日（土） 午前 9:00–11:40

会場 百年記念館

概要 AI 技術の進化が、植物バイオ研究の新たな可能性を切り拓いています。生成 AI による知的生産の革新、機械学習を活用した画像解析、文献データからの知識抽出など、最先端の AI 技術とその応用を専門家が紹介します。研究の効率化や新たな発見につながる AI 活用の最前線を知る絶好の機会です。AI と植物バイオの未来を共に考えましょう。

- | | | |
|-------|--------------|---|
| 9:00 | 2RaS1 | ChatGPT と生成 AI で広がる知的生産の新しいかたち
山本 康平（AI ナレッジワークス合同会社、Finding AI） |
| 9:30 | 2RaS2 | 生成 AI の最新動向とバイオ分野への応用を探る
久米 慧嗣（Bio“Pack”athon） |
| 10:00 | 2RaS3 | 実験サンプルデータベースの混沌に大規模言語モデルで挑む
池田 秀也（情シス研・DS 施設・DBCLS） |
| 10:40 | 2RaS4 | 見るコストの削減によって見えてきた植物の野外環境応答 –機械学習の利用例–
爲重 才覚（京都府大・院生命環境、横市大・木原生研） |
| 11:10 | 2RaS5 | 代謝設計と AI 技術：文献・公開データからの知識抽出による設計提案
伊藤 潔人（（株）日立製作所） |

シンポジウム 3

エンジニアリングバイオロジーが拓く CO₂ 資源産業への道

Engineering Biology: Paving the Way to a CO₂ Resource Industry

オーガナイザー：平井 優美（理化学研究所環境資源科学研究センター）、水谷 正治（神戸大学）

日時 9月7日（日） 午前 9:00–11:50

会場 百年記念館

概要 微生物宿主による化成品生産はすでに実用化されているが、CO₂ を直接資源として利用できる点や、複雑な構造を持つ高付加価値化合物の生産が可能である点から、植物宿主への期待が高まっている。一方、CO₂ 固定能の向上に関する研究開発は、これまで主に農業的な視点に基づいて行われてきた。本シンポジウムでは、CO₂ の固定と利活用を一体として捉え、多様な社会的・産業的ニーズに応える「CO₂ 資源産業」の創出を目指した、エンジニアリングバイオロジーを基盤とした最新の取り組みを紹介する。

後援 JST 革新的 GX 技術創出事業（GteX） バイオものづくり領域「先端的植物バイオものづくり基盤の構築」

9:00		はじめに 平井 優美（理化学研究所環境資源科学研究センター）
9:05	3RaS1	東京科学大学 /GteX ゲノム構築拠点での研究活 相澤 康則（東京科学大学・生命理工，神奈川県立産業技術総合研究所・合成生物基盤）
9:30	3RaS2	持続的な物質生産のための微細藻類を用いた CO ₂ の固定と利用技術の開発 持田 恵一（理研 CSRS）
9:55	3RaS3	植物一過的発現系「つくばシステム」を用いた有用物質生産 三浦 謙治（筑波大生命環境）
10:20		休憩
10:25	3RaS4	キャッサバの活用によるカーボンニュートラルな循環型社会への貢献を目指して 関 原明（理研 CSRS）
10:50	3RaS5	種子の油脂蓄積におけるプラスチドと小胞体の代謝的協調 中村 友輝（理研 CSRS）
11:15	3RaS6	Developmental engineering meets cellular agriculture with plant synthetic biology Naomi Nakayama (Okinawa Institute of Science and Technology (OIST) Graduate University, Imperial College London)
11:45		終わりに 水谷 正治（神戸大学）

ランチョンセミナー

知の集積とその活用

オーガナイザー：日本植物バイオテクノロジー学会

男女共同参画・キャリア支援委員会（委員長 三浦謙治，筑波大学）

日時 9月5日（金） 12:30-13:30

会場 B 会場

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。近年，イノベーションという言葉が広く用いられるようになってきましたが，イノベーションを起こすには何が必要なのか，どのような姿勢で取り組むべきなのか，今一度考えてみる機会をもってみたいと思います。学生や若手研究者にとっても，今後のキャリアのなかで，こうした取り組みが重要になると推察されますので，本セミナーが良いきっかけになればと考えております。

12:30 **L-1** 研究者に必要なコトを仕掛けるためのコミュニケーション

高橋 宏之（リバネス株式会社 知識創業研究センター センター長）

パネルディスカッション：

パネリスト：竹山 政仁（株式会社プランテックス 企画室長）

藤原 すみれ（産業技術総合研究所 植物機能制御研究チーム
研究グループ長）

モデレーター：高橋 宏之

一般口頭発表

時間	A会場	B会場	
	一次代謝	環境応答	
9:30	1Aa1 イネの窒素欠乏応答における NIGT1 転写抑制因子の役割の解明 Functional analysis of OsNIGT1 transcriptipnal repressor in rice nitrogen deficiency responses <u>田中 大智</u> （東大院・農学生命・アグテック）	1Ba1 Raspberry Pi を用いたゼニゴケ葉状体のタイムラプス撮影システムの構築 Development of a time-lapse Imaging system for <i>Marchantia polymorpha</i> thallus using Raspberry Pi <u>宮野 雄貴</u> , 加藤 壮英, 加藤 晃（奈良先端大・バイオ）	
9:45	1Aa2 植物の C/N ストレス応答における分泌経路の制御機構の解析 Analysis of the regulatory mechanisms of the secretory pathway in C/N stress response of plants <u>遠藤 海斗</u> ¹ , 松井 博輝 ² , 江田 樹那 ² , 眞木 美帆 ³ , 高木 純平 ³ , 佐藤 長緒 ³ （ ¹ 北大・院生命, ² 北大・理, ³ 北大・院理）	1Ba2 カリウムトランスポーター AtHAK5 の活性型のシロイヌナズナでの過剰発現は低カリウム耐性と耐塩性を向上させる Overexpressing an activated form of potassium transporter AtHAK5 enhance low potassium and salinity tolerance in transgenic Arabidopsis 渡邊 公平, 渡邊 勇貴, 板倉 愛, 鈴木 洋弥, <u>多田 雄一</u> （東京工科大・応用生物）	
10:00	1Aa3 シロイヌナズナ緑色培養細胞における光合成機能 Features of photosynthetic function of the photoautotrophically cultured green cells of <i>Arabidopsis</i> <u>諏訪 大智</u> , 竹田 恵美（大阪公立大・院理学）	1Ba3 Enhancing salt tolerance in Arabidopsis thaliana by overexpressing a vacuolar Na ⁺ /H ⁺ antiporter NHX2 from a halophyte, <i>Sporobolus virginicus</i> <u>Roksana Aftab</u> , Hiromi Suzuki, Yuichi Tada (Grad Sch of Bionics, Tokyo Univ of Technol)	
10:15	1Aa4 シロイヌナズナの種子におけるスフィンゴ脂質糖鎖型の機能解析 Function differently of glycosylated sphingolipids in Arabidopsis thaliana seeds <u>白木 夕姫乃</u> , 川合 真紀, 石川 寿樹（埼玉大・院理工）	1Ba4 植物油汚染が植物の成長に与える影響 The influence of vegetable oil pollution on plant growth <u>鈴木 優志</u> ¹ , 手呂内 伸之 ² （ ¹ 大妻女子大・社会情報, ² 大妻女子大院・人間生活文化）	
10:30	1Aa5 スフィンゴ脂質分解活性をもつ NPC の分子系統解析 Phylogenetic analysis of NPCs exhibiting sphingolipid-degrading activity <u>市川 莉菜</u> , 川合 真紀, 石川 寿樹（埼玉大・院理工）	1Ba5 緑藻クラミドモナスにおけるロロキサンチン合成調節に関与する光受容体の探索 Estimation of photoreceptors involved in the regulation of lodoxanthin biosynthesis in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <u>藤野 真衣</u> , 竹田 恵美（大阪公大・院理学・生物化学）	
10:45	1Aa6 シロイヌナズナに内在する GIPC ホスホリパーゼ C 活性の解析 Characterization of endogenous GIPC phospholipase C activity in Arabidopsis <u>門屋 茜</u> , 川合 真紀, 石川 寿樹（埼玉大・院理工）	1Ba6 Subclass II SnRK2s are involved in stomatal regulation and abiotic stress tolerance in poplar <u>Borislav Horvat</u> ¹ , Yuhei Shikakura ¹ , Taichi Oguchi ^{2,3} （ ¹ Life and Earth Sci., Univ. Tsukuba, ² Inst. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, ³ T-PIRC, Univ. Tsukuba）	
11:00	1Aa7 シロイヌナズナ CCR4 family の CCR4E と CCR4F はミトコンドリア局在の NADP phosphatase である Arabidopsis CCR4E and CCR4F function as mitochondria-localized NADP phosphatases <u>藤本 貴文</u> ¹ , 児玉 豊 ² , 石川 寿樹 ¹ , 川合 真紀 ¹ （ ¹ 埼玉大・院理工, ² 宇都宮大・バイオ）	1Ba7 トマト幼植物の塩・湛水複合ストレスに対する応答 Responses of tomato seedlings to a combination of salt stress and waterlogging <u>鈴木 伸洋</u> ^{1,2} , Taufika Anee ^{2,3} （ ¹ 上智大学 理工学部, ² Graduate School of Science and Technology, Sophia University, ³ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Sher-e-Bangla Agricultural University）	

	C会場	D会場	時間
	遺伝子組換え・ゲノム編集	細胞・組織培養	
	1Ca1 イネにおける SpCas9-NG を用いた paired prime editing における PAM の嗜好性 PAM preference using paired prime editing with SpCas9-NG in rice 横井 彩子¹, 飯田 恵子¹, 森 明子¹, 土岐 精一^{2,3} (1農研機構 生物研, 2横浜市大・木原生研, 3龍谷大学・農学部)	1Da1 シャクヤクバイオナーサリーシステムの開発とその活用 Development of a bio-nursery system for <i>Paeonia lactiflora</i> and its application 山本 和彦¹, 乾 貴幸¹, 河野 徳昭¹, 田村 隆幸², 小島 英^{3,4}, 米田 健一³, 富田 武志⁵, 山路 弘樹⁵, 小松 かつ子⁶, 吉松 嘉代¹ (1医薬健康栄研薬植セ, 2富山県薬総研, 3奈良県農業研究開発セ, 4奈良県農業水産振興課, 5ツムラ, 6富山大和漢研)	9:30
	1Ca2 ゲノム編集技術 TiD-X による植物の新規 CRISPR activation ツール開発 Development of the novel CRISPR activation tool using TiD-X in plants 後藤 空吾¹, 城所 聡¹, 古田 忠臣¹, 和田 直樹², 刑部 敬史², 刑部 祐里子¹ (1東京科学大・生命理工, 2徳島大院・社会産業理工)	1Da2 Streptomycin 耐性遺伝子を用いたシロイヌナズナおよびゼニゴケの形質転換体選抜 Applying Streptomycin resistance genes to selection of transgenic <i>Arabidopsis thaliana</i> and <i>Marchantia polymorpha</i> 三木 葵葉¹, 池田 陽子², 秋山 樹菜¹, 島谷 真奈¹, 小林 括平¹, 賀屋 秀隆¹ (1愛媛大・農, 2岡山大・資源研)	9:45
	1Ca3 高活性型 TiD (TiD-X) を用いた高効率イネゲノム編集技術の確立 Development of efficient genome editing using TiD-X in rice genes 室本 翔太¹, 阿江 祐迪², 丸井 和也², 川口 晃平¹, 和田 直樹², 刑部 敬史², 刑部 祐里子¹ (1東京科学大・生命理工, 2徳島大・大学院社会産業理工)	有用物質生産	
	1Ca4 国産ゲノム編集技術 TiD-X と高効率形質転換技術を組み合わせた作物育種基盤の構築 Evaluation of gene-editing efficiency in commercial cultivars using a modified Type I-D CRISPR-Cas (TiD-X) 濱田 晴康¹, 島谷 善平¹, 山田 創¹, 近藤 京子², 城所 聡², 和田 直樹³, 村上 愛実³, 長楽 佳奈³, 刑部 祐里子², 刑部 敬史³, 柳楽 洋三¹ (1(株)カネカ・食糧生産支援SU, 2東京科学大・生命理工学院, 3徳島大院・社会産業理工学研究部)	1Da3 ゼニゴケ葉緑体工学によるアスタキサンチン生産 Production of astaxanthin by chloroplast genetic engineering in liverwort 竹村 美保¹, 石崎 公庸², 水谷 正治³, 梶川 昌孝⁴, 小山 竜平³ (1石川県大・資源研, 2神戸大・院理学, 3神戸大・院農学, 4近畿大・院生物理工)	10:00
		1Da4 高油脂生産性藻ナンノクロロプシスにおけるポリリン酸と脂質代謝を標的とした二重ゲノム編集によるトリアシルグリセロール蓄積の改変 Engineering triacylglycerol accumulation by double genome editing targeting polyphosphate and lipid metabolism in the oleaginous microalga <i>Nannochloropsis oceanica</i> 岡崎 久美子¹, 岩井 雅子², 栗田 朋和³, 堀 孝一⁴, 下嶋 美恵⁴, 前田 真一郎⁵, 高見 明秀⁵, 山本 卓^{1,3}, 太田 啓之^{2,4}, 坂本 敦¹ (1広島大・院統合生命, 2ファイトリビッド・テクノロジーズ, 3広島大・ゲノム編集イノベーションセンター, 4東京科学大・生命理工院, 5マツダ・技術研)	10:15
	1Ca5 植物細胞における CRISPR-Cas3 の RNP を用いたゲノム編集の検証 Genome editing using CRISPR-Cas3 RNP in plant cells 雑賀 啓明¹, 原 奈穂¹, Hongpu Wang¹, 遠藤 真咲¹, 吉見 一人² (1農研機構・生物研, 2東京大・医科研)	1Da5 イナゴマメガラクトマンナン生合成経路酵素の同定と機能解析 Identification and Functional Analysis of the Genes Related to Galactomannan-biosynthesis from Carob, <i>Ceratonia siliqua</i> 日渡 祐二^{1,2}, 藤原 楓², 遠藤 春香², 阿久津 光紹³ (1宮城大・食産業, 2宮城大・院食産業, 3青葉化成(株))	10:30
	1Ca6 葉緑体ゲノム標的 A-to-G 置換酵素の活性および正確性の向上の試み Trials to enhance the activity and precision of chloroplast-genome-targeted A-to-G base editors 中里 一星, 田村 美子, 増田 麗子, 堤 伸浩, 有村 慎一 (東大・院農生)	1Da6 Bioproduction of Glycyrrhizin using the Tsukuba System in Tobacco Leaves Muchammad Fanani¹, Kenji Miura², Hikaru Seki^{1,3} (1Dept. Biotechnol., Grad. Sch. Eng., Univ. Osaka, 2T-PIRC, Univ. Tsukuba, 3OTRI, Univ. Osaka)	10:45
	1Ca7 ペプチド修飾カーボンナノチューブを利用したミトコンドリアへの効率的な遺伝子送達法 Peptide-modified single-walled carbon nanotubes for enhanced gene delivery in plant mitochondria 小田原 真樹^{1,2}, 森 真愛², Simon Law², 沼田 圭司^{1,2} (1京大・院工学, 2理研・CSRS)	1Da7 自己遮蔽効果が藍藻 <i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942 の光合成・代謝・物質生産に及ぼす影響 Effects of cellular self-shading on photosynthetic metabolism and bioproduction in cyanobacteria <i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942 加藤 悠一¹, 田中 謙也², 釜阪 紘平², 松田 真実², 小泉 裕子², 大林 龍胆³, 蘆田 弘樹⁴, 近藤 昭彦^{5,6}, 蓮沼 誠久^{2,5} (1富山県大・工, 2神戸大・先端バイオエセ, 3東京都立大・理, 4神戸大院・人間発達環境, 5神戸大院・科技イノベ, 6パッカス・バイオイノベーション(株))	11:00

一般口頭発表

時間	A会場	B会場	
	一次代謝	環境応答	
11:15	1Aa8 油脂産生微細藻類ナンノクロロプシスの細胞内局在が異なる NAD kinase の解析 Analysis of NAD Kinases with Distinct Subcellular Localizations in the Oil-Producing Microalga <i>Nannochloropsis</i> 大橋 そら ¹ , 児玉 豊 ² , 石川 寿樹 ¹ , 川合 真紀 ¹ (¹ 埼玉大・院理工, ² 宇都宮大・バイオセンター)	1Ba8 シロイヌナズナ野生系統 Lch-0 は <i>SALT</i> 遺伝子の欠損により耐塩性を獲得した Loss-of-function of the <i>SALT</i> gene confers salt tolerance on Lch-0 梶野 拓磨 ¹ , 内山 佳織 ¹ , 野田 祐作 ² , 長谷 純宏 ² , 有賀 裕剛 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 量研高崎量子応用研究所・放射線生物応用研究部, ³ 農研・遺伝資源研究センター, ⁴ 信州大・応生)	
11:30	1Aa9 シロイヌナズナにおけるオルガネラ間連携を介したシステイン合成機構の解明 Organelle-coordinated cysteine biosynthesis in <i>Arabidopsis thaliana</i> 渡邊 むつみ ¹ , Bernd Zechmann ² , Rainer Hoefgen ³ , 峠 隆之 ¹ (¹ 奈良先端大・バイオ, ² グラーツ大学(オーストリア), ³ ペイラー大(USA), ³ マックスプランク研究所(ドイツ))	1Ba9 長期高温感受性変異株 <i>sloh7</i> の解析 Analyses of <i>sensitive to long term heat7</i> (<i>sloh7</i>) mutant of <i>Arabidopsis thaliana</i> 野萱 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)	
11:45	1Aa10 ノンターゲットメタボローム解析によるセレン酸に応じた代謝変化の解析 Non-targeted metabolomics approach to dissect the metabolic changes in response to selenate Hongqiao Li ¹ , 森 哲哉 ² , 森山 凜太郎 ¹ , 藤田 萌香 ¹ , 畑中 源喜 ³ , 塩塚 直輝 ¹ , 細見 亮太 ³ , 丸山 明子 ¹ (¹ 九州大院農, ² 理研CSRS, ³ 関西大化学生命工)	1Ba10 シロイヌナズナ耐塩性における <i>CCX1</i> 遺伝子の機能解析 Functional analysis of Cation Calcium exchanger genes in salt tolerance of <i>Arabidopsis</i> 小山 珠実 ¹ , 長島 由布子 ¹ , 有賀 裕剛 ² , 西村 浩二 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 農研機構・遺伝資源, ³ 島根大学・生物資源科学部, ⁴ 信大・繊維)	
12:00	1Aa11 メタボローム解析から探るリンゴ果実の良食味の指標 Exploring an indicator of good taste in apples using metabolome analysis 宮城 敦子 ¹ , 廣瀬 友香 ² , 長谷川 光希 ² , 太田 智弥 ¹ , 高山 宥美 ³ , 多田 史人 ³ , 高品 善 ³ , 安孫子 裕樹 ³ , 村山 秀樹 ¹ (¹ 山形大・農, ² 山形大・院農, ³ 山形県農研センター・園農研)	1Ba11 ハクサンハタザオ自然集団の毎週トランスクリプトームから見出した季節応答性遺伝子 <i>STTP</i> の機能 Analysis of the novel seasonal temperature-tracking gene <i>STTP</i> , which was identified in field transcriptome data from <i>Arabidopsis halleri</i> subsp. <i>gemmaifera</i> 守屋 健太 ^{1,2} , 清水 華子 ¹ , 杉阪 次郎 ¹ , 相原 悠介 ² , 深城 英弘 ² , 石崎 公庸 ² , 松林 嘉克 ³ , 本庄 三恵 ¹ , 工藤 洋 ¹ (¹ 京都大・生態研, ² 神戸大・院・理, ³ 名古屋大・院・理)	

	C会場	D会場	時間
	遺伝子組換え・ゲノム編集	有用物質生産	
	1Ca8 致死性植物遺伝子の Hypomorphic Mutant を作出するための開始コドン標的型ゲノム編集戦略 A Start Codon-Targeted Genome Editing Strategy for Generating Hypomorphic Mutants of Lethal Plant Genes 吉村 美香, 石田 喬志 (FAST, Kumamoto Univ.)	1Da8 微細藻類の核ゲノムを標的とする高発現ベクターの開発 Development of high expression vector targeting the nuclear genome of microalgae 竹中 理莉 ¹ , 田村 泰造 ¹ , 西尾 拓真 ³ , 鬼丸 洸 ³ , 吉見 暢 ³ , 東田 英毅 ³ , 加藤 晃 ^{1,2} (¹ 奈良先端大・バイオ, ² 奈良先端大・CDG, ³ 株式会社 ちとせ研究所)	11:15
	1Ca9 DR 遺伝子恒常発現による形態異常を回避する分化制御システムの構築 Development of the differentiation control system to circumvent morphological abnormalities caused by constitutive expression of DR genes 小山 翔平 ¹ , 井川 智子 ^{1,2,3} (¹ 千葉大・院園芸, ² 千葉大・植物分子科学, ³ 千葉大・宇宙園芸)	1Da9 タバコ毛状根による組換えタンパク質生産 Development of a recombinant protein production system in <i>Nicotiana benthamiana</i> hairy root culture 村上 直也 ^{1,2} , 梶浦 裕之 ^{1,2} , 三崎 亮 ^{1,2} , 藤山 和仁 ^{1,2} (¹ 阪大院・工・生物工学, ² 阪大・生工国際セ)	11:30
	1Ca10 オレイン酸の割合が高まったシロイヌナズナ変異体系統群の生育への影響評価 Influence of Accumulation of Oleic Acid in Arabidopsis Mutants 金澤 宏哉 ¹ , 榊原 章太 ² , 川合 真紀 ¹ , 石川 寿樹 ¹ , 山口 雅利 ¹ (¹ 埼玉大・院理工, ² 埼玉大・工)	1Da10 小胞体貯留組換えタンパク質の新規分解抑制法について Avoiding Recombinant Protein Degradation by Co-expression of KDEL Receptor Protein 竹本 浩 (三菱ケミカル株式会社 Science & Innovation Center)	11:45
	1Ca11 油料作物の DGAT1 活性をゲノム編集による 1 アミノ酸置換で改良する試み Attempt to improve DGAT1 activity in oil crops by single amino acid substitution by gene editing 畠中 知子, 笹山 大輔, 深山 浩, 東 哲司 (神戸大・農学)	1Da11 イネもやしを用いた有用タンパク質の超低コスト生産手法の開発 Development of a method to produce a useful protein with cost-effectiveness using an etiolated rice seedling 粥川 颯人 ¹ , 清水 瞭太 ¹ , 渡邊 明子 ¹ , 矢原 拓人 ¹ , 下田 蒼 ^{1,2} , 戸部 隆太 ¹ , 米山 裕 ¹ , 伊藤 幸博 ¹ (¹ 東北大・農, ² 現・農研機構・動物衛生)	12:00

一般口頭発表

時間	A会場	B会場	
	特化代謝	環境応答	
9:00	2Aa1 ムラサキゴテンの 8-O-配糖化フラボン生合成の解明 Elucidation of the biosynthesis of 8-O-glycosylated flavones in <i>Tradescantia pallida</i> 内田 開 ¹ , 明石 智義 ² , 平井 優美 ^{1,3} (¹ 理研CSRS, ² 日大・生物資源・応用生物, ³ 名大・院生命農学)	2Ba1 ミヤコグサにおける高温環境下での種子生産と遺伝子発現解析 Analysis of Reproductive Success and gene expression in <i>Lotus japonicus</i> under high Temperature condition 角南 楓也 ¹ , 加藤 晃 ^{1,3} , 佐藤 修正 ² , 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・CDG)	
9:15	2Aa2 フェニルプロパノイド高生産に導く非典型フェニルアラニンアンモニリアーゼ Atypical phenylalanine ammonia lyases that enable high production of phenylpropanoids in plants 木村 ゆり ^{1,2} , Jorge El-Azaz ² , Hiroshi Maeda ² (¹ 山形大・農, ² Botany, Univ. Wisconsin-Madison)	2Ba2 ミヤコグサ種内におけるゲノム網羅的塩基多型に基づく自然選択の評価と遺伝子網羅的発現解析 Evaluation of natural selection based on genome-wide polymorphisms and gene expression analysis within <i>Lotus japonicus</i> 喜田 健月 ¹ , 佐藤 修正 ² , 加藤 晃 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・バイオ, 奈良先端大・CDG)	
9:30	2Aa3 ゼニゴケの dihydro- <i>p</i> -coumaroyl-CoA 生合成酵素の同定 Identification of enzymes involved in dihydro- <i>p</i> -coumaroyl-CoA biosynthesis in <i>Marchantia polymorpha</i> 小林 悠華 ¹ , 橘 美紗希 ² , 木村 渚 ¹ , 水田 珠希 ² , 肥塚 崇男 ³ , 太田 哲 ¹ , 清水 文一 ⁴ , 野村 泰治 ⁵ , 加藤 康夫 ⁵ , 石崎 公庸 ⁶ , 水谷 正治 ² , 久保 浩義 ¹ , 高梨 功次郎 ¹ (¹ 信州大院・総合理工, ² 神戸大院・農, ³ 山口大院・創成科学, ⁴ 東洋大・生命科学, ⁵ 富山県大・工, ⁶ 神戸大院・理)	2Ba3 イネの高温ストレス応答に関わる Heat Shock Protein 群の機能解析 Functional analysis of rice Heat Shock Proteins under heat stress conditions 田中 豊浩 ¹ , 小島 優希 ¹ , 高橋 史憲 ² (¹ 東京理科大・院先進工, ² 東京理科大・先進工)	
9:45	2Aa4 芳香族香気成分ラズベリーケトンの生産を指向したナス科植物におけるフェニルプロパノイド代謝経路の再設計 Reconstruction of the Phenylpropanoid Pathway in Solanaceous Plants for the Production of Volatile Raspberry Ketone 肥塚 崇男 ¹ , 吉田 恵祐 ¹ , 飯島 陽子 ² , 杉本 貢一 ³ (¹ 山口大院・創成科学, ² 工学院大・先進工, ³ 農研機構・分析研)	2Ba4 海生種子植物アマモの水分調節における原形質膜アクアポリンの役割 Plasma membrane aquaporins function in moisture regulation in eelgrass 梁田 健一, 近藤 果歩, 猪野 名津美, 板東 由希子, 黒川 圭太, 田中 一郎, 塩田 肇 (横浜市大・院生命ナノシステム)	
10:00	2Aa5 タケ培養細胞においてヒドロキシ桂皮酸ブトレッシンアミドを生成するアシル基転移酵素の同定と機能解析 Molecular identification and functional characterization of putrescine hydroxycinnamoyltransferase in bamboo cells 野村 泰治 ^{1,2} , 加藤 康夫 ^{1,2} (¹ 富山県大・生物工, ² 富山県大・生医工研セ)	2Ba5 セリ科植物由来のポリアセチレン化合物の熱ショック応答誘導能に関する研究 Study on heat shock response-inducing activity of Polyacetylenes derived from Apiaceae 村野 宏樹 ¹ , 早川 敏弘 ² , 原 正和 ¹ (¹ 静大創造院, ² 静大技術部)	
			発生分化・形態形成
10:15	2Aa6 ペチュニアにおける香気貯蔵物質の生合成酵素の機能解析 Characterization of biosynthetic enzymes responsible for volatile storage metabolites in petunia 宮里 真琴 ¹ , 小掠 由樹 ¹ , 小木曾 こはる ¹ , 佐藤 浩平 ^{2,3} , 間瀬 暢之 ^{2,3} , 竹内 純 ^{2,4} , 轟 泰司 ^{4,6} , 肥塚 崇男 ⁵ , 渡辺 修治 ⁶ , 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, ⁵ 山口大院・創成科学, ⁶ 静大院・創造)	2Ba6 傷害カルスの分子風景: シングルセル・空間オミクス解析が照らす幹細胞新生と機能 Molecular landscape of wound-induced callus: Illuminating stem cell reformation and function through single-cell transcriptome and spatial omics 岩瀬 哲 ¹ , 鳥井 孝太郎 ^{1,2} , 森中 初音 ¹ , 森 哲哉 ¹ , 河村 彩子 ¹ , 平井 優美 ¹ , 杉本 慶子 ¹ (¹ 理研 環境資源, ² 理研 最先端)	
10:30	2Aa7 スギにおける揮発性モノテルペン生合成酵素の同定と機能解析 Identification and functional characterization of the volatile monoterpene synthases in <i>Cryptomeria japonica</i> 小牧 龍波 ¹ , 尾崎 桃子 ¹ , 大西 利幸 ^{2,3} (¹ 静大院・総合科技, ² 静大・グリーン研, ³ 静大・農)	2Ba7 TCP 転写因子による細胞伸長の促進機構の解析 TCP transcription factors mediate cell expansion in <i>Arabidopsis thaliana</i> 小山 知嗣 ¹ , 豊永 宏美 ¹ , 延原 美香 ¹ , 光田 展隆 ² , 石田 順子 ³ , 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 産業技術総合研究所・バイオものづくり, ³ 理化学研究所・環境資源科学, ⁴ 名古屋大学大学院・理学, ⁵ 名古屋大学・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 National Cheng Kung University, College of Bioscience and Biotechnology)	

	C会場	D会場	時間
	遺伝子組換え・ゲノム編集	遺伝子発現	
	2Ca1 RSV ワクチン抗原を発現する組換えイネの作出および解析 Development and analysis of transgenic rice expressing RSV vaccine antigen 西尾 勇人 ¹ , 澤崎 達也 ³ , 野澤 彰 ³ , 賀屋 秀隆 ⁴ , 清野 宏 ⁵ , 中橋 理佳 ⁵ , 幸 義和 ⁵ , 黒田 昌治 ⁶ , 森田 重人 ^{1,2} , 増村 威宏 ^{1,2} (1京都府大院・生命環境, 2京都府農技セ・生資セ, 3愛媛大学・プロテオサイエンスセ, 4愛媛大院・農学, 5千葉大・医学, 6農研機構)	2Da1 トマトの根におけるリポカリンの機能解析 Functional analyse of tomato lipocalins in roots 松井 真由 ¹ , 小久保 祥子 ² , 富安 美玖 ¹ , 齋藤 貴子 ¹ , 本橋 令子 ¹ (1静岡大・院農学, 2静岡大・院バイオサイエンス)	9:00
	2Ca2 抗 Her2 抗体を発現するイネの作出および解析 Production and analysis of the rice expressing anti-Her2 antibodies 四方 怜人 ¹ , 野澤 彰 ³ , 澤崎 達也 ³ , 賀屋 秀隆 ⁴ , 黒田 昌治 ⁵ , 森田 重人 ^{1,2} , 増村 威宏 ^{1,2} (1京都府大・院生命環境, 2京都府農技セ・生資セ, 3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)	2Da2 トマトリポカリンの温度ストレス応答と組織別発現解析 Temperature stress response and tissue-expression analysis of tomato lipocalin 小久保 祥子 ¹ , 松井 真由 ² , 齋藤 貴子 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)	9:15
	2Ca3 極矮性イネ品種の利用に向けたジベレリン欠損イネ系統の解析 Analysis of gibberellin-deficient mutant rice for utilization of ultra-dwarf rice cultivars 田井 彩乃 ¹ , 寺迫 鷹 ¹ , 佐藤 壮一郎 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)	2Da3 病害防御応答に関与する葉緑体タンパク質の機能解析 Functional analysis of pathogen resistance factors related to chloroplast proteins 中島 萌美路 ¹ , 星野 孝太 ² , 松永 遥平 ¹ , 本橋 令子 ¹ (1静大・院農学, 2静大・農学)	9:30
	2Ca4 複数メロン系統での形質転換効率の調査 Comparison of transformation efficiency in multiple melons 番匠 玲月 ¹ , 太田 翔一郎 ¹ , Martín-Hernández Ana Montserrat ² , 野中 聡子 ^{3,4} (1筑波大・院生物資源科学, 2Institute of Agrifood Research and Technology, 3筑波大・生命環境系, 4筑波大・T-PIRC)	2Da4 キュウリモザイクウイルス 2b とシロイヌナズナ Dicer-Like1 の相互作用と細胞内局在 Interaction and Subcellular Localization of Cucumber Mosaic Virus 2b and Arabidopsis Dicer-Like1 生田 朋, 木上 椋介, 小泉 望, 岩田 雄二 (大阪公大・院農学)	9:45
	2Ca5 花の左右相称性に関与する <i>CYCLOIDEA/DICHOTOMA</i> と相同なトレニア由来 <i>TfCYC1</i> 遺伝子の機能解析 Functional analysis of the <i>TfCYC1</i> gene derived from <i>Torenia</i> homologous to <i>CYCLOIDEA/DICHOTOMA</i> controlling floral asymmetry 鳴海 貴子, 田中 豊彦, 橋本 千明, 日下文聡, 青木 真希子, 岡本有加 (香川大・農学部)	2Da5 植物における mRNA ポリアデニル化に関連するシス配列の探索 Identification of a cis sequence associated with mRNA polyadenylation in plant 北出 祥大 ¹ , 田村 泰造 ¹ , 加藤 晃 ^{1,2} (1奈良先端大・バイオ, 2奈良先端大・CDG)	10:00
	新技術開発		
	2Ca6 アサガオの花を長持ちさせる転写因子阻害剤の発見 Discovery of Transcription Factor Inhibitors Extending the Longevity of Morning Glory Flowers 野澤 彰 ¹ , 渋谷 健市 ² , 澤崎 達也 ¹ (1愛媛大PROS, 2農研機構)	2Da6 転写開始点の収束に着目した新規高発現ベクター系構築に向けた検証 Evaluation of a novel high-expression vector system focused on transcription start site Convergence 山木 淳正 ¹ , 田村 泰造 ¹ , 加藤 晃 ^{1,2} (1奈良先端大・バイオ, 2奈良先端大・CDG)	10:15
	2Ca7 太陽誘起蛍光を利用したドローン搭載のマルチスペクトルカメラの開発 Development of a drone-mounted multispectral camera using solar-induced fluorescence 増田 健二, 飯尾 淳弘 (静岡大・農)	2Da7 二つの二次細胞壁マスター転写因子ファミリーの分子機能解析 Molecular Functions of Two Master Transcription Factor Families Regulating 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・バイオものづくり研究センター)	10:30

一般口頭発表

時間	A会場	B会場	
	特化代謝	発生分化・形態形成	
10:45	2Aa8 植物トリテルペン生合成関連酵素および転写因子に関する RDF データベース「Triterpene RDF」の構築 Construction of "Triterpene RDF": An RDF-based Database of Plant Enzymes and Transcription Factors Involved in Triterpene Biosynthesis <u>田村 啓太</u> ^{1,2} , 千葉 啓和 ³ , 坊農 秀雅 ^{2,3,4} (¹ 阪大・院工・生物工学, ² 広島大・ゲノム編集イノベーションセ, ³ ROIS-DS・DBCLS, ⁴ 広島大・院統合生命)	2Ba8 <i>Nicotiana benthamiana</i> における花成制御候補遺伝子 <i>NbFT1-3</i> の機能解析 Functional analysis of <i>NbFT1-3</i> , candidate genes involved in flowering in <i>Nicotiana benthamiana</i> 古川 成雪 ¹ , 黒谷 賢一 ² , 小林 括平 ¹ , 野田口 理孝 ² , 賀屋 秀隆 ¹ (¹ 愛媛大・院農, ² 京都大・院理)	
11:00	2Aa9 パパイア葉の機能性成分と発達段階の関係性 Functional components of papaya leaves and their relationship to developmental stages <u>解良 康太</u> , 相馬 孝亮, 杉本 七海, 井上 陽菜, 遠藤 明仁, 飯嶋 益巳 (東農大・応生)	2Ba9 CYP722A1 が関与するストリゴラクトン生合成を介したシロイヌナズナの花成制御 Regulation of floral transition by CYP722A1-dependent strigolactone biosynthesis in <i>Arabidopsis thaliana</i> 若林 孝俊 ^{1,2} , 久野 真暉 ² , 宮本 歩美 ² , 高野 日向子 ¹ , 中嶋 正敏 ¹ , 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)	
	その他		
11:15	2Aa10 パラゴムノキラテックスの含有代謝物と天然ゴム材料特性との統合解析 Integrated Data Analysis of Metabolites and Material Properties of Natural Rubber 平岡 信之 ^{1,2} , 今井 俊輔 ² , 塩山 晋太郎 ² , 米山 史紀 ² , 間瀬 昭雄 ² , 蒔田 由布子 ¹ (¹ 前工大・院工環境生命, ² 住友理工株式会社)	2Ba10 KARRIKIN INSENSITIVE 2 を強力に阻害する β-プロピオラクトン化合物 Characterization of β-propiolactone compounds as strong inhibitors of KARRIKIN INSENSITIVE 2 荒河 琴音 ¹ , 大西 利幸 ^{1,2} , 轟 泰司 ^{1,2} , 竹内 純 ^{1,2} (¹ 静大院・総技研, ² 静大・グリーン研)	
	生物間相互作用		
11:30	2Aa11 ミヤコグサ根粒共生における周期的サイトカニン応答の生理的意義の解明 Elucidating the physiological significance of periodic cytokinin responses in root nodule symbiosis of <i>Lotus japonicus</i> <u>征矢野 敬</u> ^{1,2} , 川口 正代司 ^{1,2} (¹ 基生研, ² 総研大)	2Ba11 イネ系統間で異なるエチレン応答の遺伝的基盤の解析 Analysis of genetic basis of different ethylene response among rice accessions <u>池辺 彩乃</u> ¹ , 広井 旭人 ¹ , 谷島 響平 ¹ , 藤岡 怜奈 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)	
11:45	2Aa12 α-リポ酸処理による活性酸素シグナルと植物免疫亢進機構の解明 Elucidation of reactive oxygen species signaling and enhanced plant immunity mechanism induced by α-Lipoic acid treatment <u>小林 哲也</u> , 来須 孝光 (公立諏訪東京理科大・院・工)		
12:00	2Aa13 水田マルチオミクス解析による植物-微生物相互作用の推定とバイオセンサーを用いた相互作用モニタリング Inference of Plant-Microbe Interactions by Paddy-Field Multi-Omics Analysis and Their Monitoring with Biosensors <u>山崎 真一</u> ¹ , 長峯 邦明 ² , 奥井 楓人 ² , 青柳 まりか ² , 原田 翔生 ² , 山本 敏央 ^{3,4} , 林 誠 ¹ , 市橋 泰範 ¹ (¹ 理研CSRS, ² 山形大, ³ 農研機構, ⁴ 岡山大)		

C会場	D会場	時間
新技術開発	遺伝子発現	
2Ca8 オーキシシン活性を示さない 4-PBA 類似体の解析 Analysis of 4-PBA Analog Devoid of Auxin Activity 近藤 陽一, Zhengxue Du, 永川 雄大, 半田 賢斗, 伊佐早 総司, 都藤 藍, 飯田 博一 (関東学院大・理工・生命)	2Da8 二次細胞壁形成過程における膜貫通型 NAC ドメイン転写因子の機能解析 Functional Analysis of Membrane-Associated NAC Transcription Factors during Secondary Cell Wall Formation 森 啓太 ¹ , 藤澤 りみり ¹ , 清水 悠裕 ¹ , 坂本 真吾 ² , 光田 展隆 ² , 宮城 敦子 ^{1,3} , 石川 寿樹 ¹ , 川合 真紀 ¹ , 山口 雅利 ¹ (¹ 埼玉大・院・理工, ² 産総研・バイオものづくり, ³ 山形大・農)	10:45
2Ca9 種子に空気プラズマ照射したソルガムの温室栽培試験 Greenhouse cultivation test of sorghum with air plasma-irradiated seeds 柳川 由紀 ¹ , 奥村 賢直 ² , 小山 翔平 ¹ , 井川 智子 ^{1,3,4} , 古閑 一憲 ² (1千葉大・院園芸, ² 九大・シス情報, ³ 千葉大・宇宙園芸, ⁴ 千葉大・植物分子科学)	2Da9 老化特異的に著しく遺伝子発現を誘導するプロモーターの解析 Analysis of a promoter inducing gene expression in response to leaf senescence 井窪 勇気 ¹ , 坂本 真吾 ² , Isura Nagahage ³ , 山口 雅利 ¹ (1埼玉大学大学院・理工学研究科, ² 産業技術総合研究所・バイオものづくり研究センター, ³ ケンタッキー大学・植物土壌科学科)	11:00
2Ca10 ゼニゴケ代謝工学に向けた核ゲノム改変重層化の技術基盤 Technical platform for multilayered nuclear genome editing and transformation toward metabolic engineering in <i>Marchantia polymorpha</i> 酒井友希 ¹ , 守屋 健太 ¹ , 水谷 正治 ² , 石崎 公庸 ¹ (1神戸大・院理, ² 神戸大・院農)	2Da10 Plastid encoding of <i>Rubisco Activase</i> improves photosynthetic performance but decreases phenotypic plasticity to light Shamitha Rao Morey-Yagi ^{1,2} , Yoichi Hashida ³ , Mieko Higuchi-Takeuchi ² , Yoko Horii ² , Masaki Odahara ^{1,2} , Keiji Numata ^{1,2} (1Laboratory of Biomaterial Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University, ² Biomacromolecules Research Team, RIKEN Center for Sustainable Resource Science, ³ Faculty of Agriculture, Takasaki University of Health and Welfare)	11:15
バイオマス		
2Ca11 低ケイ素含量ソルガム変異体におけるリグニンの高蓄積とその応用 Higher accumulation of lignin in low-Si sorghum mutants and their application Reza Ramdan Rivai ^{1,2,3} , 小林 優 ² , 山崎 清志 ^{1,4} , 宮本 託志 ¹ , 飛松 裕基 ¹ , 三上 文三 ¹ , 徳永 毅 ⁵ , 藤原 徹 ⁴ , 梅澤 俊明 ¹ (1京都大学生存圏研究所, ² 京都大学大学院農学研究科, ³ インドネシア国立研究革新庁, ⁴ 東京大学大学院農学生命科学研究科, ⁵ 株式会社弥生植物リサーチ)	2Da11 Regulatory Networks Shaping Fra Protein Expression During Leaf Development in Wild Strawberry Chonprakun Thagun ¹ , Yoshinori Fukasawa ¹ , Tomohiro Suzuki ¹ , Takahito Nomura ¹ , Masanori Okamoto ¹ , Yutaka Kodama ^{1,2} (1C-Bio, Utsunomiya Univ., ² Grad. Sch. Regional Dev. Creativity, Utsunomiya Univ.)	11:30
2Ca12 Mitigating Grass Lignin Complexity by Multiplex Engineering of Lignin Biosynthetic Pathways for Boosting Lignocellulose Deconstruction Pingping Ji ¹ , Senri Yamamoto ¹ , Osama Ahmed Afifi ^{1,2} , Keishi Osakabe ³ , Yuriko Osakabe ⁴ , Toshiaki Umezawa ¹ , Yuki Tobimatsu ¹ (1RISH, Kyoto Univ., ² US DOE Brookhaven Natl. Lab., ³ Fac. Biosci. Bioind., Tokushima Univ., ⁴ Sch. Life Sci. Technol., Inst. Sci. Tokyo)	2Da12 2 系統のカラスビシャクを用いた薬効多糖アラバンの生合成遺伝子の探索 Exploration of the biosynthetic genes of the medicinal polysaccharide Arabin using two isolates of <i>Pinellia ternata</i> 山口 尚輝 ¹ , 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)	11:45
	バイオインフォマティクス	
2Ca13 ミヤコグサにおける root/shoot 比の種内多型によるバイオマス配分関連遺伝子の探索 Detection of genes associated to biomass allocation through intraspecific polymorphism of root/shoot ratio in <i>Lotus japonicus</i> 片山 瑛斗 ¹ , 加藤 晃 ^{1,2} , 若林 智美 ¹ (1奈良先端大・バイオ, ² 奈良先端大・CDG)	2Da13 NBRP トマトにおける変異体リソースの収集・活用促進と情報基盤の整備 Development of Mutant Resources, Promotion of Their Utilization, and Establishment of an Information Infrastructure in NBRP Tomato 久家 徳之 ¹ , 杉本 貢一 ^{1,2} , 川本 祥子 ³ , 江面 浩 ¹ (1筑波大・つくば機能植物イノベーション研究センター, ² 農研機構・高度分析研究センター, ³ 国立遺伝学研究所・情報研究系)	12:00

奇数 9:00-10:30 偶数 10:30-12:00

PA: ショートオーラルプレゼンテーション 9月5日(金) 14:00~18:00, A会場, 番号順に発表

PR: ショートオーラルプレゼンテーション 9月5日(金) 14:00~18:00, R会場, 番号順に発表

発表時間は、交代を含めて **3分**です(発表2分40秒以内, 質疑なし, 交代20秒, 時間厳守)**PA1 ENTRY**シロイヌナズナでは転写開始点制御によって異なる細胞内局在を示す Ca^{2+} /CaM 依存性 NAD キナーゼが生じるTranscript variants of Ca^{2+} /CaM-dependent NAD kinase produce isoforms with distinct localizations in Arabidopsis坂口 浩朗¹, 児玉 豊², 石川 寿樹¹, 山口 雅利¹, 川合 真紀¹ (1埼玉大・院・理工, 2宇都宮大・バイオセンター)**PA2 ENTRY**

シロイヌナズナ CCR4 family CCR4H・CCR4I は NADPH phosphatase である

CCR4H and CCR4I of the Arabidopsis CCR4 family are NADPH phosphatases

上籠 美希, 藤本 貴文, 坂口 浩朗, 石川 寿樹, 川合 真紀 (埼玉大・院理工)

PA3 ENTRY

クワの倍数性及び品種の違いがその代謝産物に与える影響についての NMR メタボロミクスを用いた検討

Study of Effects of Mulberry Ploidy and Variety on its Metabolites Using NMR Metabolomics

赤坂 美穂¹, 阿部 潤¹, 大塚 京平¹, 熊木 康裕², 久米田 博之³, 伊東 昌章⁴, 新井 達也¹, 相沢 智康¹ (1北大・院生命科学学院, 2北大・院理学研究院, 3北大・院先端生命科学研究院, 4沖縄高専)**PA4 ENTRY**ゼニゴケにおける硝酸シグナル伝達の分子メカニズムの解析
Molecular mechanism underlying nitrate signaling in *Marchantia polymorpha*劉 逸¹, 大槻 並枝¹, 大濱 直彦¹, 篠崎 大樹¹, 櫻庭 康仁¹, 林 誠², 石崎 公庸³, 柳澤 修一¹ (1東大院・農学生命・アグテック, 2理研・環境資源科学研究センター, 3神戸大・院・理)**PA5 ENTRY**高糖度トマト変異体 *hs1* の特性評価Characterization of tomato high sugar mutant *hs1*
Characterization of tomato high sugar mutant *hs1*小林 美咲¹, Shaoze Yuan¹, Islam Abdellatif^{1,2}, Siyan Xu¹, 有泉 亨¹, 江面 浩¹, 三浦 謙治¹ (1筑波大・生命地球, 2ミニア大学・農)**PA6 ENTRY**

シモツケ属植物におけるチューリップシド類縁体の酵素法による探索と同定

Enzyme reaction-based screening and identification of tuliposide analogs in the genus *Spiraea*倉知 菜月¹, 宇部 尚樹^{2,3}, 加藤 悠一^{2,3}, 加藤 康夫^{2,3}, 野村 泰治^{2,3} (1富山県大院・工, 2富山県大・工, 3富山県大・生医工研セ)**PA7 ENTRY**

Investigating the potential metabolon in the biosynthetic pathway of a natural sweetener glycyrrhizin from licorice

Ruizhen He¹, Soo Yeon Chung¹, Toshiyuki Waki², Toshiya Muranaka³, Hikaru Seki^{1,3} (1Grad. Sch. Eng., Univ. Osaka, 2Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., 3OTRI, Osaka Univ.)**PA8 ENTRY***HISE1* 変異がシロイヌナズナにおける異種トリテルペノイド生産におよぼす効果Impact of the *HISE1* mutation on the production of heterologous triterpenoids in Arabidopsis加藤 勇稀¹, Fanani Muchammad¹, 島田 貴士², 關 光^{1,3} (1阪大・院工・生物工学, 2千葉大・院園芸, 3阪大・先導的学際研機構)**PA9 ENTRY**

ダイズにおいてソヤサポニンの含有量を制御する転写制御因子の機能解析

Analysis of the function of a transcription factor that regulates the soyasaponin content in soybeans

松本 杏樹¹, 森田 遥絵¹, 岡本 有平¹, 北村 実紗子¹, 西村 悠希¹, 田村 啓太^{1,2}, 坊農 秀雅^{2,3}, 村中 俊哉⁴, 關 光^{1,4} (1阪大院・工・生物工学, 2広島大・ゲノム編集イノベーションセ, 3広島大院・統合生命, 4大阪大学先導的学際研機構)

奇数 9:00-10:30

偶数 10:30-12:00

PA10 ENTRY

マルミノヤマゴボウの CYP76AD11 および DOPA 4,5-ジオキシゲナーゼの機能解析

Functional analysis of CYP76AD11 and DOPA 4,5-dioxygenases in *Phytolacca japonica*

深山 友紀子¹, 小川 拓水¹, 三浦 謙治², 岡澤 敦司¹ (大
阪公大・院農, ²筑波大・生命環境)

PA11

センブリカルス液体培養系で産生されるゲンチオピクロシドの代謝制御

Metabolic regulation of the gentiopicroside-production in the liquid culture of *Swertia japonica*

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

PA12 ENTRY

植物中におけるケイヒ酸の異性化メカニズムの解明

Studies on *cis/trans* isomerization mechanism of cinnamic acid in plants

都筑 恵, 鈴木 泰輝, 西山 康太郎, 瀬戸 義哉 (明治大・
院農学)

PA13 ENTRY

高等植物とは異なる起源を持つ蘚類由来イソプレレン合成酵素の分子進化の解明

The origin of isoprene synthase in mosses differs from that in higher plants

川上 哲也¹, 野中 彩智², 井上 侑哉³, 宮崎 翔⁴, 川出
洋^{1,2} (大東農工大院・連合, ²東農工大院・農, ³科博・植物,
⁴東京電機大・理工)

PA14 ENTRY

柑橘外果皮における傷害応答性リグニン沈着のメカニズムの解析

Unveiling the mechanisms of lignification by wounding in citrus flavedo

釜田 陽光¹, 窪井 健斗¹, クレット タマラ¹, 松下 修平¹,
市川 公康¹, 松川 哲也^{2,3}, 三浦 謙治⁴, 飛松 裕基¹, 矢崎
一史¹, 杉山 暁史¹, 棟方 涼介¹ (大京大・生存研, ²近大・
附属農場, ³近大・生物理工, ⁴筑波大・生命環境系)

PA15

エゾリンドウ花卉で発現する ABCC 輸送体 GtABCC1 の機能解析

Functional analysis of the ABCC transporter GtABCC1 expressed in the petals of *Gentiana triflora*

土反 伸和¹, 大張 衿奈¹, 牧原 希実¹, 市野 琢爾¹, 平尾
稔貴¹, 西山 由美¹, 山田 泰之¹, 田崎 啓介², 手嶋 琢³,
根本 圭一郎³, 西原 昌宏⁴ (大神戸薬大, ²東京農大・農,
³岩手生工研, ⁴福井県大・生物資源)

PA16 ENTRY

ネギ属植物におけるシステインスルホキシド誘導体群の生合成経路の探索

Exploration of the biosynthetic pathways of S-alk(en)ylcysteine sulfoxides in *Allium* plants

関口 裕太¹, 北野 花梨¹, 杉山 龍介^{1,2,3}, 山崎 真巳^{1,2}, 吉
本 尚子^{1,2} (大千葉大・院薬, ²千葉大・植物分子科学研セ,
³JSTさきがけ)

PA17 ENTRY

硫黄欠乏がタマネギのシステインスルホキシド誘導体群の生合成に与える影響の解析

Analysis of the effect of sulfur deficiency on the biosynthesis of S-alk(en)ylcysteine sulfoxides in onion

美野 智子¹, 山崎 真巳^{1,2}, 吉本 尚子^{1,2} (大千葉大・院薬,
²千葉大・植物分子科学研セ)

PA18 ENTRY

キジカクシ目の青い花がもつフラボノイド水酸化酵素の機能解析

Functional analysis of flavonoid hydroxylase in blue flowers of the Asparagales family

境 あかね, 本藤 紀花, 宮原 平 (大千葉大・院園芸)

PA19 ENTRY

モクレン科植物タムシバにおけるグアイアコール O-メチル基転移酵素の機能解析

Biochemical Characterization of Guaiacol O-Methyltransferase in *Magnolia salicifolia*

後藤 佳音¹, 前野 慎太郎¹, 鈴木 史朗², 岡澤 敦司³, 高
梨 功次郎⁴, 肥塚 崇男¹ (大山口大院・創成科学, ²岐阜大・
応用生物科学, ³大阪公立大・農, ⁴信州大・理)

奇数 9:00-10:30 偶数 10:30-12:00

PA20 ENTRY

ペチュニア花弁で高発現する香氣成分配糖化遺伝子の同定
Identification of Glucosyltransferase Genes Highly Expressed in
Petunia Flowers that Utilizes Volatile Compounds as Substrates

山本 新之助¹, 北島 佐紀人², 肥塚 崇男¹ (1山口大院・創成科学, 2京工繊大・応用生物)

PA21 ENTRY

一過的発現系を用いたペチュニア花冠特異的に発現する
MYB 転写因子の機能解析

Characterization of an MYB Transcription Factor Expressed in
Petunia Limb using a Transient Expression System

齊藤 千優¹, 山本 新之助¹, 高梨 功次郎², 北島 佐紀人³,
肥塚 崇男¹ (1山口大院・創成科学, 2信州大・理, 3京工繊大・応用生物)

PA22 ENTRY

セリ科植物アシタバにおける三環性クマリン類生合成を担
うシトクロム P450 酵素遺伝子の機能解析

Molecular characterization of cytochrome P450s involved in
tricyclic coumarin biosynthesis in *Angelica keiskei*

新屋 和花¹, 韓 俊文¹, 谷口 雅彦², 三浦 謙治³, 杉山 暁
史¹, 矢崎 一史¹, 棟方 涼介¹ (1京大・生存研, 2大阪医薬
大・薬, 3筑波大・生命環境)

PA23 ENTRY

デルフィニウムのアントシアニン合成を制御する転写調節
因子 MYB についての解析

Analysis of the transcriptional regulator MYB control of
anthocyanin synthesis in delphinium

鈴木 ふみ¹, 幅 夏実², 須澤 諒¹, 坂口 公敏³, 磯部 知
里³, 河西 崇³, 宮原 平¹ (1千葉大・院園芸, 2千葉大・園
芸, 3ミヨシ)

PA24 ENTRY

ブナ科のイソプレン放出能の種間多様性を担うテルペン合
成酵素ファミリーの分子進化

Molecular evolution of the terpene synthase family responsible for
the diversity of isoprene emission ability in Fagaceae

小坂 青空¹, 棟方 涼介¹, 福島 健児², 永野 惇^{3,4}, 齊藤 拓
也⁵, 楠見 淳子⁶, 池崎 由佳⁷, 佐竹 暁子⁷, 杉山 暁史¹,
矢崎 一史¹ (1京大・生存研, 2遺伝研NIG, 3名古屋大・
BBC, 4慶應大・先端生命研, 5国環研NIES, 6九州大・院比
文, 7九州大・院理学)

PA25 ENTRY

シロイヌナズナにおけるフェノール性異物代謝酵素群の発
現解析および機能解明

Expression analysis and functional characterization of enzymes
involved in phenolic xenobiotics metabolism in *Arabidopsis
thaliana*

伊東 万里奈¹, 瀧 啓一郎¹, 八尾 惟¹, 田口 悟朗^{1,2} (1信
州大院・総合理工, 2信州大・繊維・応生)

PA26 ENTRY

オウレン培養細胞を用いた安定同位体標識ベルベリン類生
産法の改善および生合成研究への応用

Production of stable isotope-labeled protoberberine alkaloids
using *Coptis japonica* culture cells and its application to tracer
experiments

河西 俊介¹, 高松 編花¹, 小関 雄太^{1,2}, 山田 泰之^{3,4}, 杉
山 龍介^{1,4,5}, 山崎 真巳^{1,5} (1千葉大院薬, 2ツムラ(株),
3神戸薬大, 4JSTさきがけ, 5千葉大植物分子科学セ)

PA27 ENTRY

シロイヌナズナ種子ネオリグナンの生合成に関与するディ
リジェントプロテイン AtDIR12 の機能解析

Functional analysis of the dirigent protein AtDIR12 involved in
neolignan biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* seeds

高江洲 広司¹, 巽 奏¹, 榊原 圭子², 小埜 栄一郎³, 堀 千
明⁴, 高野 俊幸⁵, 齊藤 和季², 梅澤 俊明¹, 飛松 裕基¹
(1京大生存研, 2理研CSRS, 3サントリーグローバルノ
ベーションセンター(株), 4北大院環境, 5京大院農)

PA28 ENTRY

カルボキシ配糖化酵素を C-配糖化酵素へ転換する試み

Attempts to convert the reactivity of carboxy-glycosyltransferases
to C-glycosylation activity

伊藤 馨¹, 田中 克治¹, 加藤 空来¹, 新井 亮一^{1,2}, 田口 悟
朗^{1,2} (1信州大院・総合理工, 2信州大・繊維・応生)

PA29 ENTRY

スイートクローバーのクマリン生合成に関わる β-グルコシ
ダーゼの機能と細胞内局在性の解析

Functional analysis and subcellular localization of β-glucosidase
involved in coumarin biosynthesis in sweet clover (*Melilotus alba*)

加藤 創大¹, 羽鳥 友稀¹, 田口 悟朗^{1,2} (1信州大院・総合
理工, 2信州大・繊維・応生)

奇数 9:00-10:30

偶数 10:30-12:00

PA30

コーヒー由来テルペン類配糖化酵素の基質選択性に関する酵素領域の探索

Exploration of the region related to the substrate specificity in glycosyltransferases from coffee

井田 美帆, 島田 旭, 佐々木 香織, 川上 寛子, 水野 幸一 (秋田県大・生物資源)

PA31

ムラサキのシコニン生合成遺伝子と共発現する銅含有ポリフェノールオキシダーゼの機能解析

Characterization of a copper-dependent polyphenol oxidase co-expressed with the shikonin biosynthetic genes in *Lithospermum erythrorhizon*

中西 浩平^{1,2}, 高野 祐希², 山本 恭子², 松田 悠希³, 佐々木 佳菜子², 小原 一朗², 市野 琢爾^{2,4}, 巽 奏², 李 豪², 棟方 涼介², 刑部 敬史⁵, 下村 講一郎⁶, 杉山 暁史², 高梨 功次郎³, 矢崎 一史² (1富山大・和漢研, 2京都大・生存研, 3信州大院・総合理工, 4神戸薬大, 5徳島大・生物資源, 6東洋大・生命科学)

PA32 ENTRY

グルコシノレートリサイクル経路における raphanusamic acid 分解酵素遺伝子の探索

Screening for genes responsible for raphanusamic degradation in the glucosinolate recycling pathway

菊地 ひめか¹, 杉山 龍介^{1,2,3}, 山崎 真巳^{1,3} (1千葉大薬, 2JSTさがけ, 3千葉大植物分子科学セ)

PA33 ENTRY

トマトにおけるソラノエクレピン生合成に関わる酸化酵素をコードする遺伝子の解析

Analysis of genes encoding oxidase involved in solanoelepin 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)

PA34 ENTRY

ソラノエクレピンC生合成に関わるトマト由来アセチル基転移酵素の同定

Identification of an acetyltransferase involved in solanoelepin C biosynthesis in tomato

須澤 尚太¹, 秋山 遼太^{1,2}, 永友 陽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)

PA35 ENTRY

キンギョソウのオーロン生合成に関するカルコン輸送体の解析

Characterization of chalcone transporter involved in aurone synthesis in *Antirrhinum majus*

一色 桂吾, 佐伯 結衣, 古舘 拓来, 高梨 功次郎 (信州大院・総合理工)

PA36 ENTRY

ゼニゴケにおけるビスビベンジル大環化に関するシトクロム P450 の同定

Identification of cytochrome P450s involved in bisbibenzyl macrocyclization in *Marchantia Polymorpha*

橋 美紗希¹, 水田 珠希¹, 井上 珠緒¹, 熊田 小有里¹, 中村 幸誠¹, 浅川 義範², 石崎 公庸³, 高梨 功次郎⁴, 水谷 正治¹ (1神戸大・院農学, 2徳島文理大・薬, 3神戸大・院理, 4信州大・院総合理工)

PA37 ENTRY

ゼニゴケ合成生物学に資する CHS 破壊による芳香族の高生産シャーシ系の構築

Construction of High Aromatic Precursor Yield Strain in Biomanufacturing of *Marchantia polymorpha*

中村 幸誠¹, 水田 珠希¹, 石崎 公庸², 水谷 正治¹ (1神戸大・院農, 2神戸大・院理)

PA38 ENTRY

ヌルデのオーロン生合成経路の解明

Aureusidin biosynthesis in *Rhus javanica*

原 萌果, 高梨 功次郎 (信州大・院総合理工学)

PA39 ENTRY

サボジラ (*Manilkara zapota*) 由来短鎖型 *trans*-プレニルトランスフェラーゼの機能解析

Functional analyses of short-chain *trans*-prenyltransferases from *Sapodilla (Manilkara zapota)*

佐藤 誠一郎¹, 今泉 璃城¹, 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, 山口 晴彦³, 坂口 祐美³, 山下 哲⁴, 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गाバンク, 3住友ゴム工業(株), 4金沢大・院・自然科学, 5埼玉大・院・理工)

奇数 9:00-10:30 偶数 10:30-12:00

PA40 ENTRY

ナス属植物におけるステロイドグリコアルカロイド生成に関わる糖加水分解酵素の機能解析

Functional Analysis of Glycoside Hydrolase involved in Steroid Glycoalkaloid Biosynthesis in *Solanaceae* Plants

池山 倭¹, 秋山 遼太^{1,2}, 梅基 直行², 水谷 正治¹ (1神戸大・院農, 2理研・CSRS)

PA41 ENTRY

グルコシノレート生合成の抑制因子 *SDI1* および *SDI2* の硫黄不足に応じた遺伝子発現促進への SLIM1 転写因子の寄与
Contribution of SLIM1 Transcription Factor to the Induction of Gene Expression in Response to Sulfur Deficiency in the Glucosinolate Biosynthesis Repressor *SDI1* and *SDI2*

吉元 雄琉¹, 川口 諒太¹, 丸山 明子² (1九大院生資環, 2九大院農)

PA42 ENTRY

Raphanus 属植物が産生するフェニルアシル化フラボノイドの探索

Investigation of phenylacyl-flavonoid biosynthesis in *Raphanus* spp.

金 陽喜, 安川 小百合, Yuting Liu, 小牧 伸一郎, 渡邊 むつみ, 峠 隆之 (奈良先端大・先端科学技術)

PA43 ENTRY

Seasonal Changes in the Contents of Asarones and Related Phenylpropanoids in *Acorus calamus* L.

Oyundari Ganbat¹, Nagomi Kashimoto¹, Bolortuya Ulziibat², Takumi Ogawa¹, Takao Koeduka³, Atsushi Okazawa¹ (1Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University, 2Department of Research and R&D policy, Mongolian Academy of Sciences, 3Graduate School of Science and Technology for Innovation, Yamaguchi University)

PA44

ダイズ根における有用物質生産の促進をめざした機能性アミノ酸カクテルの開発

Development of functional amino acid cocktail to promote production of useful compounds in soybean roots

多部田 弘光¹, 平井 優美^{1,2} (1理研CSRS, 2名大・院・生命農学)

PA45

組換えタンパク質大量生産を目指したイネ種子による抗体・機能性タンパク質生産技術の開発

Development of Antibody and Functional Protein Production Technology by Rice Seeds for Mass Production

澤崎 佑太¹, 平野 咲良¹, 森田 重人², 増村 威宏², 澤崎 達也¹, 野澤 彰¹ (1愛媛大PROS, 2京府大生命環境)

PA46 ENTRY

遺伝子改変によるイネ振盪培養細胞における抗菌タンパク質分泌促進

Promotion of Antimicrobial Protein Secretion in Rice Suspension Cells via Genetic Modification

矢原 匠人, 渡会 岳, 大田原 有咲, 下田 蒼, 戸部 隆太, 米山 裕, 伊藤 幸博 (東北大・院農学)

PA47 ENTRY

ゼニゴケにおけるトリテルペノイド・ステロイド高生産を目的とした HMGR 過剰発現株の構築

Construction of HMGR overexpression strain for high production of triterpenoids and steroids in *Marchantia polymorpha*

梶野 理桜¹, 水田 珠希¹, 那須 詩織¹, 小林 祐介¹, 中村 幸誠¹, 石崎 公庸², 水谷 正治¹ (1神戸大・院農学, 2神戸大・院理学)

PA48

ワックスエステル蓄積増強作用を示す 1,4-diaminoanthraquinone を処理したユーグレナにおける代謝プロファイルの解析

Effects of 1,4-diaminoanthraquinone on the metabolite accumulation profile of *Euglena gracilis* during the induction of wax ester biosynthesis

小川 拓水^{1,2}, 福田 修大², 樽本 和希², 太田 大策¹, 岡澤 敦司^{1,2} (1阪公大・院農学, 2阪公大・農学)

PA49 ENTRY

メナジオン処理によるユーグレナの脂質蓄積増強メカニズムの解明

Elucidation of the effects of menadione on wax ester biosynthesis in *Euglena gracilis*

樽本 和希¹, 小川 拓水^{1,2,3,4}, 福田 修大³, 佐藤 一裕⁴, 岡澤 敦司^{1,2,3,4}, 太田 大策^{1,2,3,4} (1阪公大・農学, 2阪公大・院農学, 3阪府大・生命環境科学, 4阪府大・院生命環境科学)

奇数 9:00-10:30

偶数 10:30-12:00

PA50 ENTRY

一過性遺伝子発現法におけるペンサミアナタバコの外来タンパク質含量と遺伝子発現パターンに及ぼす明期の影響
Effects of Photoperiod on the Amount of Transiently Expressing Foreign Protein and Gene Expression Patterns in *Nicotiana benthamiana*

菊池 要¹, イ ジュン¹, 富士原 和宏¹, 山崎 将太郎², 松田 怜¹ (¹東大・院農学生命科学, ²阪大・微生物病研)

PA51 ENTRY

植物スフィンゴ脂質を分解する菌類由来酵素の探索
Exploring fungal enzymes hydrolyzing plant sphingolipids

松本 香凜, 川合 真紀, 石川 寿樹 (埼玉大・院理工)

PA52 ENTRY

遺伝子組換えイネを用いた抗菌ペプチド persulcatusin の効率的生産システムの構築
Generation of an Efficient Production System of an Antimicrobial Peptide 'Persulcatusin' Using Transgenic Rice

板垣 実菜子¹, 藤田 岳¹, 下田 蒼^{1,2}, 戸部 隆太¹, 米山 裕¹, 伊藤 幸博¹ (¹東北大・院農学, ²農研機構・動物衛生研究部門)

PA53 ENTRY

イナゴマメガラクトマンナン生合成酵素遺伝子を用いたタバコ BY-2 培養細胞によるガラクトマンナン生産の試み
Galactomannan Production in Tobacco BY-2 Suspension Cells via Expression of a Galactomannan Biosynthetic Enzyme Gene from Carob(*Ceratonia siliqua*)

藤原 楓¹, 阿久津 光昭², 日渡 裕二^{1,3} (¹宮城大・院食産業, ²青葉化成株式会社, ³宮城大・食産業)

PA54 ENTRY

シアノバクテリア *Nostoc punctiforme* のジェオスミン産生関連遺伝子群の解析
Analysis of Geosmin Biosynthesis-Related Gene Cluster in the Cyanobacterium *Nostoc punctiforme*

宮村 紀香, Dayarathne Kaushalya, 石川 寿樹, 川合 真紀 (埼玉大・院理工)

PA55

キヌア FT ファミリー遺伝子の発現制御と表現型解析
Functional characterization of FT family genes in quinoa

小賀田 拓也¹, 藤田 泰成^{2,3} (¹国際農研・生物資源利用, ²国際農研・食料プログラム, ³筑波大・生命環境)

PA56

スギ木部細胞誘導系を用いた二次壁形成に関する遺伝子の網羅的解析
Investigation of molecular mechanisms underlying secondary cell wall formation using an ectopic xylem cell induction system in *Cryptomeria japonica*

佐藤 良介¹, 永野 聡一郎², 七里 吉彦¹, 小長谷 賢一¹, 谷口 亨¹, 高田 直樹¹ (¹森林機構・森林バイオ, ²森林機構・林育セ)

PA57 ENTRY

ナガエツルノゲイトウの節におけるスフィンゴ脂質と長鎖塩基不飽和化酵素について
Sphingolipids and long-chain-base desaturase in the nodes of *Alternanthera philoxeroides*

時水 洋和¹, 石川 寿樹², 八木 宏樹³, 今井 博之¹ (¹甲南大・院自然科学, ²埼玉大・院理工学, ³北里大・獣医学)

PA58 ENTRY

小胞体ストレスセンサー IRE1 による分泌タンパク質をコードする mRNA の分解機構
Degradation Mechanism of mRNAs Encoding Secretory and Membrane Proteins by the ER Membrane-localized Stress Sensor IRE1

松本 帆夏, 小泉 望, 岩田 雄二 (大阪公大・院農学)

PA59 ENTRY

シロイヌナズナにおけるフェアリー化合物処理応答のメカニズム解明
Elucidating the Mechanism of the Response to Fairy Chemical Treatment in *Arabidopsis thaliana*

谷口 有希¹, 岩本 耕太郎², 圓山 恭之進³, 謝 肖男⁴, 崔 宰燾⁵, 河岸 洋和⁶, 本橋 令子⁶ (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・総合科学技術研究科, ³国際農研, ⁴宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター, ⁵静岡大・グローバル共創科学部, ⁶静岡大・農学部)

PA60

原料調達プロセス構築に向けた *Dendropanax trifidus* の樹脂生産組織の局在分析
Localization Analysis of Resin Producing Cells on *Dendropanax trifidus* for Biomass Procurement

中村 涼^{1,2}, 田鶴 葵¹, 中澤 慶久² (¹ハリマ化成(株), ²徳大院・創成科学)

奇数 9:00-10:30 偶数 10:30-12:00

PA61 ENTRY

Abelmoschus Manihot—越前和紙用系統と観賞用系統の比較
Abelmoschus manihot—Comparison of Echizen washi paper strains
 and ornamental strains

高橋 望花¹, 大関 澄花¹, 小嶋 美紀子², 竹林 裕美子²,
 榊原 均², 嶋田 千香³, 池田 美穂¹ (¹福井県大・生物, ²理
 研・環境資源, ³福井大・学術研究院)

PA62 ENTRY

シロイヌナズナにおける高いシュート再生効率を示すエピ
 変異体 *esre* の1番染色体に座乗する原因候補遺伝子の解析
 Study on a candidate gene on chromosome 1 which causes high
 shoot regeneration efficiency in the *esre* epi-mutant in *Arabidopsis*
thaliana

中嶋 紗那¹, 河合 顕真¹, 鈴木 涼太², 前地 弘基¹, 平沢
 巽¹, 平田 峻也³, 賀屋 秀隆³, 佐瀬 英俊⁴, 永野 惇^{5,6},
 武田 真⁷, 西村 泰介^{1,2} (¹長岡技術科学大・院・工, ²長岡
 技術科学大・工, ³愛媛大・院・農, ⁴沖縄科学技術大学院
 大, ⁵名古屋大・生物機能開発利用研究センター, ⁶慶應義
 塾大・先端生命科学研究所, ⁷名古屋大・院・生命農学)

PA63

シロイヌナズナにおけるスフィンゴ脂質長鎖塩基の C-4 水
 酸基の機能解析
 Functional Analysis of the C-4 Hydroxyl Group in Long-Chain Bases
 of Sphingolipids in *Arabidopsis thaliana*

須田 颯太, 川合 真紀, 石川 寿樹 (埼玉大・院理工)

PA64 ENTRY

オクトリカプトの有用物質産生にキュウリモザイクウイル
 スが与える影響
 The effects of cucumber mosaic virus on the production of
 pharmacological compounds in *Aconitum japonicum*

牧田 瀬茄¹, 岩井 一真¹, 今 辰哉¹, 河下 美都里², 藤 晋
 一¹, 川上 寛子¹ (¹秋田県大院・生物資源, ²(株)ツムラ)

PA65 ENTRY

ウイルスがセンキュウのリグスチリド及びクロロゲン酸産
 生に与える影響
 Effects of viruses on the production of ligstilide and chlorogenic
 acid in *Cnidium officinale*

上之郷 玉星¹, 岩井 一真¹, 今 辰哉¹, 河下 美都里², 藤
 晋一¹, 川上 寛子¹ (¹秋田県大院・生物資源, ²(株)ツムラ)

PA66

アーバスキュラー菌根菌におけるオルガネラ可視化の試み
 Visualization of organelles in Arbuscular mycorrhizal fungi

及川 和聡, 田中 幸子, 橋本 佳世, 川口 正代司 (基生
 研・共生システム)

PA67 ENTRY

シロイヌナズナにおける病原菌耐性を示すエピ変異体の原
 因遺伝子座の探索

Mapping of the responsible loci for pathogen resistance
 phenotype observed in the *Arabidopsis* epi-mutant

小園 大成¹, 太田 稔基¹, Kainat Zahra¹, 石賀 康博², 西
 村 泰介¹ (¹長岡技術科学大・院・工, ²筑波大・生命環境系)

奇数 9:00-10:30 偶数 10:30-12:00

PA: ショートオーラルプレゼンテーション 9月5日(金) 14:00~18:00, A会場, 番号順に発表

PR: ショートオーラルプレゼンテーション 9月5日(金) 14:00~18:00, R会場, 番号順に発表

発表時間は、交代を含めて **3分**です(発表2分40秒以内, 質疑なし, 交代20秒, 時間厳守)**PR68 ENTRY**

リンゴカラムナー樹形原因酵素の機能追究

Investigation to reveal unidentified functions of the enzyme responsible for apple columnar tree

井上 太喜¹, 岡本 啓佑¹, 長野 玄知¹, 宮崎 翔², 高橋 郁夫¹, 岡田 憲典¹, 浅見 忠男¹, 岡田 和馬³, 中嶋 正敏¹
(¹東大院・農生科, ²東京電機大・理工, ³農研機構)**PR69 ENTRY**

イネ品種のアンモニウム態窒素濃度変動環境における伸長恒常性維持機構の解明

Regulatory Mechanisms of Rice Growth Homeostasis in Response to Dynamic Changes of Nitrogen Concentration

栗川 穂乃花¹, 轡田 圭又¹, 西澤 具子², 小泉 美希子², 小林 誠², 七夕 高也³, 福島 敦史^{4,5}, 草野 都^{2,6,7} (¹筑波大・理工情報生命学術院, ²理研・CSRS, ³かずさDNA研究所, ⁴京都府大・院生命環境, ⁵理研・R-IH, ⁶筑波大・生命環境系, ⁷つくば機能植物イノベーション研究センター)**PR70 ENTRY**

シロイヌナズナに耐塩性を付与する植物成長促進根圏細菌の探索

Identification of halotolerant-PGPR enhancing salt tolerance of *Arabidopsis*渡部 響¹, 山本 紘輔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・分子微生物)**PR71**バレイショ *TAS14* は乾燥ストレスによって強く発現誘導され, ゲノム編集により得られた変異体植物は浸透圧ストレスに伴う遺伝子発現機構が変化したPotato *TAS14* was abundantly induced when exposed to drought stress, and its genome-edited mutants exhibited variability in leaf gene expression with osmotic stress川本 健太¹, 増富 裕文¹, 樫木 亮介¹, 島田 浩章², 石原 克之¹ (¹カルビー(株), ²東京理科大学・院先進工学)**PR72 ENTRY**

自己抑制ドメイン削除による GABA 高蓄積トマトの2品種間の果実品質と収量の調査

Investigation of fruit quality and yield between two tomato cultivars with high GABA accumulation due to truncation of the autoinhibitory domain

鈴木 斗音¹, 高山 真理子^{2,3,4}, 松岡 瑞樹², 住吉 美奈子³, 江面 浩^{2,3,4} (¹筑波大・院生物資源科学, ²筑波大・つくば機能植物イノベーション研究センター, ³サナテックライフサイエンス(株), ⁴筑波大・生命環境系)**PR73 ENTRY**

シロイヌナズナ野生系統間にみられる浸透圧耐性多様性機構の解析

Analyses of Osmo-sensitive locus in *Arabidopsis thaliana* accessions村越 祐介¹, 番場 康介¹, 平野 貴大¹, 増田 悟郎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)**PR74 ENTRY**カリウム欠乏時のシロイヌナズナの根毛発達における系統間差を用いた新規カリウム欠乏応答制御因子の同定の試み
A challenge to identify novel potassium deficiency response regulators using natural variations in *Arabidopsis* root hair growth during potassium deficiency

手島 大希, 杉村 菜那, 櫻庭 康仁, 柳澤 修一 (東大院・農学生命・アグテック)

PR75 ENTRY

シロイヌナズナ野生系統における耐塩性多様性解析

Analysis of natural variation in salt tolerance among *Arabidopsis thaliana* accessions原田 優生¹, 花田 耕介², 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹ (¹東京農大・バイオ, ²九工大・情報工)

奇数 9:00-10:30 偶数 10:30-12:00

PR76 ENTRY

シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh2* の解析
Analyses of *sensitive to long term heat 2 (sloh2)* mutant of *Arabidopsis thaliana*

芳野 晴臣¹, 村越 祐介¹, 山口 凌¹, 細井 昂人², 増田 悟郎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)

PR77

シロイヌナズナの環境ストレス応答における WALL-ASSOCIATED KINASE 2 の解析
Functional analysis of WALL-ASSOCIATED KINASE 2 under environmental stress conditions in *Arabidopsis thaliana*

櫻井 香乃¹, 高橋 史憲² (¹東京理科大・院先進工, ²東京理科大・先進工)

PR78 ENTRY

4-CPA またはエタノールの施用は, 熱ストレス下における *phyA* 変異体の植物成長と着果を促進する
Application of 4-CPA or Ethanol Enhances Plant Growth and Fruit Setting of *phyA* Mutant under Heat Stress

岡 夏実¹, Riham Ahmed¹, Islam Abdellatif¹, 小林 美咲¹, Martina Bianca Fuhmann-Aoyagi¹, 戸高 大輔², 関原明^{2,3}, 三浦 謙治⁴ (¹筑波大・院生命地球科学, ²理研 CSRS, ³横浜市立大学木原生物学研究所, ⁴つくば機能植物イノベーション研究センター)

PR79 ENTRY

南極地域固有種ハリギボウシゴケからの small heat shock protein ホモログ遺伝子の単離および機能解析
Isolation and functional characterization of a small heat shock protein homologous gene from the Antarctic moss *Coscinodon lawianus*

石井 輪之介¹, 工藤 栄^{2,3}, 伊村 智^{2,3}, 中野 優⁴, 大谷 真広⁴ (¹新潟大・院自然科学, ²極地研, ³総研大・極域科学, ⁴新大・農学)

PR80 ENTRY

ナガエツルノゲイトウの地上部における鉛直方向への伸長が節での発根に及ぼす影響について
The effect of vertical elongation of the aboveground parts of *Alternanthera philoxeroides* on rooting at nodes

上村 隼生¹, 八木 宏樹², 今井 博之¹ (¹甲南大・院自然科学, ²北里大・獣医学)

PR81 ENTRY

シロイヌナズナの高温ストレス耐性を示すエピ変異体のスクリーニング条件の検討
Screening for epimutants exhibiting heat stress resistance in *Arabidopsis thaliana*

山上 由愛, 西村 泰介 (長岡技術科学大学・院・工 物質生物工学分野)

PR82 ENTRY

シロイヌナズナから見出した耐塩性遺伝子の作物への応用展開
Application of salt tolerant genes identified from *Arabidopsis* to crops

横田 紗那子¹, 有賀 裕剛², 伊澤 かな¹, 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)

PR83 ENTRY

細胞内エネルギーセンサー SnRK1 を介した植物免疫活性制御機構の解析
Regulatory Mechanisms of Plant Immunity by Cellular Energy Sensor SnRK1 in *Arabidopsis*

江島 早紀¹, 杉崎 歩美¹, Jie Linnan², 眞木 美帆², 安田 盛貴³, 高木 純平², 西條 雄介³, 佐藤 長緒¹ (¹北大院・生命, ²北大院・理, ³奈良先端大・バイオ)

PR84 ENTRY

植物体地上部に塩が付着する潮害ストレス応答機構の解析
Analysis of salt spray stress response in *Arabidopsis*

千葉 陽一¹, 村越 祐介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)

PR85 ENTRY

シロイヌナズナ塩馴化後浸透圧耐性欠損変異株 *aod30*, *aod31* の解析
Analysis of *Arabidopsis acquired osmotolerance defective 30 and 31* mutants

玉木 健太¹, 増田 悟郎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)

奇数 9:00-10:30

偶数 10:30-12:00

PR86 ENTRY

ダイズの硫黄欠乏応答遺伝子による代謝制御機構の解析
Functional analysis of sulfur deficiency responsive genes in soybean

家田 愛菜, 小牧 伸一郎, 峠 隆之, 渡邊 むつみ (奈良先端大・先端科学技術)

PR87 ENTRY

長期高温耐性シロイヌナズナ Berg-1 の解析
Analysis of long-term heat tolerant *Arabidopsis thaliana* Berg-1

北島 あすみ, 増田 悟郎, 四井 いずみ, 坂田 洋一, 太治 輝昭 (東京農大・バイオ)

PR88 ENTRY

薬用植物アマチャ由来ジヒドロイソクマリン類の効率的生産法の開発研究
Efficient production method of dihydroisocoumarins from medicinal plant *Hydrangenolmacrophylla* var. *thunbergii*

荒木 康佑, 高見 朋花, 太田 智絵, 月岡 淳子, 中村 誠宏 (京都薬大)

PR89 ENTRY

エゾマツ未成熟種子胚からの不定胚形成
Somatic embryogenesis in immature zygotic embryos of *Picea jezoensis*

丸山 莉生¹, 小美野 絢子¹, 河村 健太¹, 土井 巖¹, 中田 了五², 半 智史¹, 船田 良¹ (¹農工大・院農, ²森林総研林育セ)

PR90 ENTRY

トドマツ成熟種子からの不定胚形成における培養条件の検討
Investigations of culture conditions for somatic embryogenesis from mature seeds of *Abies sachalinensis*

小美野 絢子¹, 丸山 莉生¹, 中田 了五², 河村 健太¹, 船田 良¹, 半 智史¹ (¹農工大・院農, ²森林総研林育セ)

PR91 ENTRY

ハナミズキカルの褐変抑制における有機酸の有効性
Effectiveness of organic acids in suppressing browning of Dogwood callus

川田 泰生¹, 古川 一実², 高原 美規³, 大岡 久子⁴ (¹群馬高専・環境工学専攻, ²沼津高専・物質工学科, ³長岡技科大・物質生物系分野, ⁴群馬高専・物質工学科)

PR92

キリ属植物 (*Paulownia* spp.) の葉の基底部と葉柄を含む切片を外植体とした再分化条件の検討
Examination of regeneration conditions from leaf-petiole explants in *Paulownia* species

七里 吉彦¹, 小埜 栄一郎², 星 比呂志³, 逢沢 峰昭⁴, 谷口 亨¹ (¹森林機構・森林バイオ, 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会津里山森林資源育成研究会, ⁴宇都宮大・農)

PR93 ENTRY

TPX 製フィルムバッグ“OKUDAKE”を用いた鮮類 *Physcomitrium patens* の液体静置培養法
Liquid Static Culture of the Moss *Physcomitrium patens* Using TPX Film Bags “OKUDAKE”

中 雄輝¹, 秋田 求² (¹近大・院生物理工, ²近大・生物理工)

PR94 ENTRY

植物細胞性食品製造に向けた安全なフードグレード培地の開発と評価
Development and Evaluation of Safe Food-Grade Media for Plant Cell-Based Food Production

松本 萌人, 五十嵐 圭介 (東北大・院農学)

PR95

精密調湿処理による植物培養細胞への化合物導入法
Fine humidity control for introducing target compounds into plant cultured cells

荻田 信二郎 (県立広島大・生物資源)

PR96 ENTRY

植物組織培養を用いた薬用植物ヒガンバナ由来アルカロイド生産法の開発研究
Alkaloid production method from medicinal plant *Lycoris radiata* using plant tissue culture

木庭 優佳, 清水 晴志, 原 みなみ, 太田 智絵, 月岡 淳子, 中村 誠宏 (京都薬大)

PR97 ENTRY

植物組織培養を用いた薬用植物クララ由来抗がん作用成分の効率的生産法の開発研究
Efficient production method for anticancer constituents from medicinal plant *Sophora flavescens* using plant tissue culture

尾本 汐音, 市岡 桜, 原 みなみ, 太田 智絵, 月岡 淳子, 中村 誠宏 (京都薬大)

奇数 9:00-10:30 偶数 10:30-12:00

PR98 ENTRY

Brassicaceae 科植物における細胞融合効率と系統的距離の関係解析

Investigation Of Cell Fusion Efficiency In Relation To Phylogenetic Distance Among *Brassicaceae* Species

間宮 翼, 山崎 茉央, 荒井 野杏, 高橋 直紀 (明治大・農)

PR99 ENTRY

シリンジ法による難形質転換植物への簡便な遺伝子導入
A Simple Method for Gene Introduction into Recalcitrant Plant Species Using Syringe Infiltration

五十嵐 由依¹, 杉本 愛華¹, 小林 壮生¹, 乾 弥生², 工藤 洋³, 山本 将之⁴, 松永 幸大², 風間 裕介¹, 池田 美穂¹
(¹福井県大・生物, ²東大・院・新領域・先端生命, ³京大・生態研, ⁴富山大・院・理工)

PR100 ENTRY

キシラン還元末端構造を有するオリゴ糖のプライマー機能と IRX10 活性化機構の解析

Xylan Reducing End Sequence-Containing Oligosaccharides Function as Priming Acceptors and Promote Elongation Efficiency in Recombinant Arabidopsis and *Setaria viridis* IRX10

鈴木 聖治¹, 坂本 茉優³, 戸田 陽己², 木塚 康彦^{1,2,3,4}, 石水 毅⁵, 鈴木 史朗^{1,2,3} (¹岐阜大・院連農, ²岐阜大・院自然研, ³岐阜大・応用生物, ⁴東海機構・iGCORE, ⁵立命館大・生命)

PR101

細胞壁架橋構造の増強に向けた *HCALDH* 過剰発現イネの作出と性状解析

Generation and characterization of *HCALDH*-overexpressing rice for enhanced cell wall cross-linking

山本 千莉¹, Ji Pingping¹, Pui Ying Lam Lydia², 窪井 健斗¹, 梅澤 俊明¹, 飛松 裕基¹ (¹京大・生存研, ²秋田大)

PR102 ENTRY

イネのリグニン生合成に寄与するラッカーゼパラログの機能解析: 多重ゲノム編集イネの作出と解析

Laccase paralogs involved in lignin biosynthesis in rice: generation and characterization of multiplex genome-edited mutants

窪井 健斗¹, 寺野 真季¹, 山本 千莉¹, 巽 奏¹, 三上 文三¹, 刑部 敬史², 刑部 祐里子³, 梅澤 俊明¹, 飛松 裕基¹
(¹京都大・生存研, ²徳島大・生物資源産業, ³東科大・生命理工)

PR103 ENTRY

LsALN 遺伝子のゲノム編集により作出したアラントイン高蓄積型レタスの解析

Analysis of allantoin hyperaccumulating lettuce produced by genome editing of *LsALN*

田淵 良菜¹, 峰地 楓子¹, 斎藤 安希子¹, 野尻 増俊², 浅田 隆之², 西田 敬二³, 小山 竜平¹, 西口 真嗣⁴, 中野 伸一⁴, 宇野 雄一¹ (¹神戸大・院農学, ²株式会社カネカ・アグリバイオリサーチセンター, ³神戸大・先端バイオ工学研究センター, ⁴兵庫県立農林水産技術総合センター)

PR104

ジベレリンとブラシノステロイド生合成酵素遺伝子の二重ゲノム編集によるアサガオ超矮性品種の作出

CRISPR/Cas9 double mutation of GA and BR synthase genes to produce a super-dwarf morning-glory

小野 公代¹, 山下 遼¹, 鈴木 義人², 仁田坂 英二³, 土岐 精一⁴, 雑賀 啓明⁵, 遠藤 真咲⁵, 小野 道之¹ (¹筑波大・T-PIRC遺伝子, ²茨城大・農, ³九州大・理, ⁴龍谷大・農, ⁵農研機構・生物研)

PR105

カルス培養を必要としない *in planta* Particle Bombardment (iPB)法による DNA フリーのソルガムゲノム編集系の開発
Development of a DNA- and callus culture-free sorghum genome editing system using *in planta* particle bombardment (iPB) method

永田 俊文¹, アキリ 亘¹, 五嶋 俊弘², 今井 亮三¹ (¹農研機構・生物研, ²トヨタ・CN開発)

PR106

自己複製型ベクターを用いたペプチド法によるタバコ葉緑体形質転換

Peptide-mediated chloroplast transformation using self-replicating vector

堀井 陽子¹, 小田原 真樹², 沼田 圭司^{1,2} (¹理研CSRS, ²京都大・院工学研究科)

奇数 9:00-10:30

偶数 10:30-12:00

PR107 ENTRY

'プリンセチア' (*Euphorbia pulcherrima* × *Euphorbia corollata*) に高頻度で生じる T-DNA 切断メカニズムの解析と種特異性の解明に向けた親系統での形質転換系の確立
Analysis of the T-DNA truncation mechanism frequently occurring in 'Princettia' (*Euphorbia pulcherrima* × *Euphorbia corollata*) and establishment of a transformation system in parental lines to elucidate species specificity

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)

PR108 ENTRY

EgAP2 遺伝子ゲノム編集ユーストマ (*Eustoma grandiflorum*) における稔性を維持した八重化形質の評価
Evaluation of Double-Flowered Traits with Fertility Maintenance in *Eustoma* (*Eustoma grandiflorum*) Genome-Edited of *EgAP2* Gene

坂元 葉¹, 新保 由紀子¹, 大沼 紀子², 池田 有理子¹, 矢野 翼³, 大坪 真樹¹, 坂口 公敏², 河西 崇², 寺川 輝彦³, 藤田 和義⁴, 武田 征士¹, 大坪 憲弘¹ (1京府大・院生命環境科学, 2ミヨシ, 3インプラントイノベーションズ, 4三好アグリテック)

PR109

デジタル PCR を用いたコムギ種子集団内の挿入及び置換変異型種子の検出効率

Efficiency of detection for insertion or substitution mutants from bulked wheat seeds by digital PCR

神田 恭和¹, 高木 健輔¹, 山地 奈美², 安倍 史高³, 加星 光子¹, 佐藤 和広^{1,2,4} (1かずさDNA研, 2岡山大・植物研, 3農研機構・生物研, 4摂南大・院農)

PR110 ENTRY

虫こぶ研究モデル樹木としてのヌルデ (*Rhus chinensis*) 形質転換系の構築

Establishment of a transformation system of *Rhus chinensis* as a research model for insect gall formation

塗木 彩花, 藤井 祐都, 大坪 憲弘 (京都府大・院生命環境)

PR111 ENTRY

トランスグラフトングにおける台木から穂木への Bt タンパク質の移行

Movement of insecticidal Bt protein in the transgrafted plants

安藤 杏里彩¹, 大久保 一実¹, 牧 久恵², 西内 巧³, 宮原 平¹, 児玉 浩明¹ (1千葉大・院園芸, 2女子栄養短大・食物栄養, 3金沢大・疾患モデル総合研究センター)

PR112 ENTRY

核ゲノムの標的塩基置換によるシロイヌナズナ光化学系 II の水分解反応の活性向上

Nuclear Base Editing for Enhancing the Water Oxidation Activity of Photosystem II in *Arabidopsis thaliana*

今泉 滉¹, 有村 慎一², 伊福 健太郎¹ (1京大・院・農, 2東大・院・農生)

PR113 ENTRY

ブルーベリーの形質転換効率向上に向けた共存培養条件の検討

Optimization of co-cultivation conditions for enhancing *Agrobacterium*-mediated transformation efficiency in blueberry (*Vaccinium* spp.)

藤山 脩真, 大森 真史, 山根 久代, 田尾 龍太郎 (京大・院農学)

PR114

高効率なナス形質転換法の開発に向けた条件検討

Investigation of conditions for efficient transformation of eggplant

大沼 万里子, 小野寺 瞳, 市川 裕章, 菅野 茂夫, 貴嶋 紗久, 坂本 真吾, 藤原 すみれ, 光田 展隆 (産総研・バイオものづくり)

PR115

高日持ち性ゲノム編集メロンの人工追熟技術の開発と香気成分の分析

Development of artificial ripening methods and metabolic profiling of volatiles in a long shelf-life melon

浦野 薫¹, 佐々木 健太郎¹, 田中 福代², 耳田 直純³, 野中 聡子⁴, 江面 浩^{3,4}, 今井 亮三¹ (1農研機構・生物研, 2農研機構・分析研, 3サナテックライフサイエンス(株), 4筑波大・生命環境系)

奇数 9:00-10:30 偶数 10:30-12:00

PR116 ENTRY

AtSCPL44 プロモーター制御下の GA2-oxidase 遺伝子の発現は矮化形質のみを誘導する

Expression of the GA2-oxidase gene under the control of *AtSCPL44* promoter induces only dwarf traits

藤野 愛花里¹, 中野 優², 大谷 真広² (1新潟大・院自然研, 2新潟大・農)

PR117 ENTRY

イチゴアレルギー Fra a 1.01 のノックアウト個体の解析
Knockout of major allergen Fra a 1.01 in strawberry

細見 陽菜¹, 武部 加奈子¹, 河野 勇希¹, 永野 達也², 福本 毅², 西田 敬二³, 石橋 美咲⁴, 小山 竜平¹, 宇野 雄一¹ (1神戸大・院農学, 2神戸大・院医学, 3神戸大・先端バイオ工学研究センター, 4京都大・院農学)

PR118

大規模ゲノム改変ツール Type I-D CRISPR-Cas(TiD)の微細藻類への応用

Application of a large-scale genome modification tool Type I-D CRISPR-Cas (TiD) in microalgae

川口 晃平¹, 後藤 美帆¹, 和田 直樹², 刑部 敬史², 刑部 祐里子¹ (1東京科学大・生命理工, 2徳島大院・社会産業理工)

PR119 ENTRY

シロイヌナズナにおける DNA メチル化編集技術の汎用性向上に向けた取り組み

Developing a DNA Methylation Editing Technology in Arabidopsis

平田 峻也¹, 池田 陽子², 小林 括平³, 西村 泰介⁴, 賀屋 秀隆³ (1愛媛大・連合農学, 2岡山大・学術研究院・先鋭研究領域, 3愛媛大・院農, 4長岡技科大・院工)

PR120 ENTRY

シロイヌナズナにおいて高度に DNA メチル化されている *PAI* 遺伝子の DNA 脱メチル化の試み

DNA demethylation of the hyper methylated *PAI* gene in Arabidopsis by epigenome editing

檜迫 拓海¹, 平田 峻也², 池田 陽子³, 西村 泰介⁴, 小林 括平¹, 賀屋 秀隆¹ (1愛媛大・院農, 2愛媛大・連合農学, 3岡山大・資源研, 4長岡技科大・院工)

PR121 ENTRY

CRISPR-dCas9 転写活性化システムによる資源作物の高効率再生系の構築

Development of efficient regeneration system for resource crops by transcriptional activation using CRISPR-dCas9

西村 穰¹, 坂口 潤¹, 竹原 美樹¹, 城所 聡¹, 刑部 敬史², 刑部 祐里子¹ (1東京科学大院・生命理工, 2徳島大院・社会産業理工)

PR122 ENTRY

1°C 以下の精度で温度を精密制御した大気圧プラズマを用いた植物葉の表面処理

Surface treatment of plant leaves using atmospheric plasma with precise temperature control accurate within 1K

杉浦 諒¹, 大澤 泰樹¹, 八井田 朱音¹, 柳川 由紀², 沖野 晃俊¹ (1東京科学大 未来研, 2千葉大・院園芸)

PR123 ENTRY

新規作物利用を目指したゼニゴケ栽培技術の開発

Development of liverwort cultivation technology for new crop utilization

北 勇進¹, 梶川 昌孝², 湯浅 正洋³, 水谷 正治¹, 石崎 公庸⁴, 竹村 美保⁵, 宇野 雄一¹, 小山 竜平¹ (1神戸大・院農学, 2近畿大・生物理工学, 3神戸大・院人間発達環境学, 4神戸大・院理学, 5石川県立大・生物資源工学研)

PR124 ENTRY

バクテリオファージ由来抗菌遺伝子の導入による抗生物質非依存的アグロバクテリウム除菌法の構築

Establishment of an Antibiotic-Free *Agrobacterium* Elimination Method Using Antimicrobial Genes Derived from Bacteriophages

諏訪園 悠^{1,2}, 池谷 美香², 菅野 茂夫^{1,2} (1東理大・院創域理工・生命生物, 2産業技術総合研究所・バイオものづくり)

PR125 ENTRY

葉緑体・ミトコンドリアゲノム特異的なランダム変異導入技術と葉緑体ゲノム変異体の単離

Plant-organelle-genome-specific Random Mutagenesis and Isolation of Plastid Genome Mutants

小坂 七海¹, 原田 佳樹¹, 中里 一星¹, 奥野 未来², 伊藤 武彦³, 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹ (1東京大・院農学生命科学, 2久留米大・医, 3東京科学大・院生命理工)

奇数 9:00-10:30

偶数 10:30-12:00

PR126 ENTRY

ホトトギス属植物の花被におけるトランスクリプトーム解析によるアントシアニン生合成制御因子の探索

Exploring regulatory factors of anthocyanin biosynthesis in tepals of *Tricyrtis* sp. by transcriptome analysis

新奥 佑太, 中野 優, 大谷 真広 (新潟大・院自然研)

PR127 ENTRY

SRscore: 複数のトランスクリプトームデータを横断的にメタ解析して遺伝子のストレス応答性を定量化する R パッケージ

SRscore: an R package for quantifying gene stress responsiveness across multiple transcriptome data using meta-analysis

福田 由介¹, 福島 敦史^{1,2} (1京都府大・院生命環境, ²理研・情報統合本部)

PR128 ENTRY

Pestalotiopsis 葉枯病に対するパラゴムノキの耐病性遺伝子を同定するためのゲノムワイド関連解析

Genome-Wide Association Analysis of Resistance to Pestalotiopsis Fall Disease in *Hevea brasiliensis*

大滝 武輝¹, Oktavia Fetrina², 栗山 朋子³, 河内 正治^{1,3}, 松井 南^{3,4}, 蒔田 由布子^{1,3} (1前橋工科大学, ²インドネシアゴム研究所, ³理研CSRS, ⁴横浜市立大学)

PR129 ENTRY

イネのトランスクリプトームデータを用いたメタ解析による単一および複数のストレスに応答する遺伝子群の同定

Identification of Rice Genes Responsive to Single and Multiple Stresses through Meta-Analysis of Transcriptome Data

大林 俊太¹, 福田 由介¹, 福島 敦史^{1,2} (1京都府大・院生命環境, ²理研・情報統合本部)

PR130

理化学研究所 CSRS における植物バイオテクノロジー研究を支援するメタボローム解析プラットフォーム 2025

Metabolomics platform 2025 supporting plant biotechnology research at RIKEN CSRS

森 哲哉, 井原 雄太, 小嶋 美紀子, 小林 誠, 佐々木 亮介, 佐藤 心郎, 高野 耕司, 竹林 裕美子, 山田 豊, 平井 優美 (理研CSRS)

PR131

植物ホルモンの高感度・ハイスループット分析定量プラットフォーム

Comprehensive and high-throughput phytohormone quantification analysis

小嶋 美紀子¹, 竹林 裕美子¹, 榎原 均^{1,2} (1理研CSRS, ²名古屋大・院生命農学)

PR132

ホルボール・エステル化合物群のバイオ燃料植物ジャトロファにおける蓄積変動

Accumulation pattern of phorbol esters in a biofuel crop *Jatropha curcas*

山崎 友渡¹, 横野 瑞希², 北原 匠³, 只野 翔太⁴, 明石 欣也^{1,3,4} (1鳥取大院・持続性, ²鳥取大・技術部, ³鳥取大・農, ⁴鳥取大院・連農)

PR133 ENTRY

モザンビークにおける乾燥耐性型バイオ燃料植物ジャトロファの開花特性

Flowering Characteristics of the Drought-Tolerant Biofuel Plant *Jatropha curcas* in Mozambique

河合 弘太¹, Jose Aiuba², 佐藤 峻^{2,3}, Yogendra Kumar Tripathi³, 合田 真³, 明石 欣也¹ (1鳥取大院・連農, ²Agro-negócio para o Desenvolvimento de Moçambique, ³日本植物燃料)

PR134

2025 年度の理研 BRC における植物培養細胞リソースの収集・提供・品質管理

FY2025 Activities for the Collection, Distribution, and Quality Control of Plant Cell Resources at RIKEN BRC

小林 俊弘, 菅原 真由美, 蔀 有里, 香西 麻美子, 阿相 幸恵, 井内 敦子, 齊藤 裕子, 川勝 泰二 (理研・BRC)

2RpJ1

学術賞

ワイドターゲットメタボロミクスによる植物システム生物学の展開

Development of plant systems biology through widely targeted metabolomics

平井 優美^{1,2}¹理研CSRS, ²名大院生命農

メタボロームは、細胞の状態を示す「見えない表現型」である。私は、メタボロミクスの黎明期より、メタボロミクスをツールとして植物代謝をシステム生物学的に理解することに取り組んでいる。初期には、統合オミクス解析によって「予測」し分子生物学や遺伝学の実験によって「検証」という研究手法を確立し、特化（二次）代謝物グルコシノレート生合成のマスター制御因子である MYB 転写因子を同定するなどしてきた。当初のメタボロミクスといえば非ターゲット分析のことであったが、これは代謝物検出の網羅性に優れている一方、代謝物同定に高度なインフォマティクスを要するなど、多くの生物学者にとって敷居の高い技術である。そこで私達は、標品化合物を用いて予め決定した検出条件を使うことで「検出＝同定」となるターゲット分析の技術を利用し、検出対象を拡張することで網羅性を高めた手法を確立して widely targeted metabolomics と名付けた。この技術は検出感度が高いため、シロイヌナズナ種子 1 粒でのメタボローム分析が可能となった。また、試料調製の半自動化、および、独自のアルゴリズムによる分析時間の短縮により、数百の試料に対して 300～500 代謝物を検出（同定）する分析を比較的容易に行うことが可能となり、大規模なデータセット取得に道を拓いた。この手法を用いて、多数の共同研究を行ってきたほか、以下のような幅広い研究を行った。

代謝の数値モデリング：代謝の動的モデリング手法としてはミカエリス・メンテン式を使うものが有名であるが、個々の酵素反応の K_m , V_{max} 値を生化学実験で算出する必要があり、ゲノムスケールモデルへの拡張性に乏しい。私達は、バイオケミカルシステム理論に則って代謝マップと時系列メタボロームデータのみからゲノムスケールモデルを構築する方法を提案し、メチオニン生合成制御システムの理解に適用した。

代謝ゲノムワイド関連解析 (mGWAS)：シロイヌナズナの 245 アクセッションの種子について 140 代謝物を検出対象とする分析を行い、既知の SNPs 情報を用いた GWAS を行って、ヒスチジンをメチル化する新規メチル基転移酵素を同定した。

機械学習によるマーカー代謝物の同定：作物の育種や栽培に関わる農業形質を代謝プロファイルから予測することを目的とし、対象とする形質（目的変数）と各種代謝物の蓄積量（説明変数）との関係性を機械学習によって数式化した。キクの突然変異育種における母本系統の花色変異の出やすさを予測するモデル、および、自然光型植物工場におけるトマトの開花速度を予測するモデルを構築し、それぞれのモデルで寄与率の高い代謝物を同定することで、花色変異の出やすさ、および、開花速度と関係の深い鍵代謝物をバイオマーカー候補として同定した。

最近では、同位体標識した代謝物のフィード実験とメタボロミクスの組合せにより、グルコシノレートを分解して硫黄栄養源として利用する新規経路を同定したほか、セリン生合成酵素 PGDH の機能破壊がゼニゴケにおいて代謝変動のみならず精子形成不全をもたらすことを見いだすなど、発生成長における代謝物の機能に注目した研究を行っている。

2RpJ2

学術賞

イネ種子貯蔵タンパク質の合成・蓄積機構の解明とその応用に関する研究

Research on the synthesis and accumulation mechanisms of rice seed storage proteins and their applications

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

イネ種子貯蔵タンパク質であるプロラミン、グルテリンが多重遺伝子族から構成されており、プロラミンとグルテリンの間では、遺伝子配列やタンパク質の構造は大きく異なることを明らかにした。また、イネ種子貯蔵タンパク質が同一胚乳細胞内で合成されるにも関わらず、蓄積する場所（タンパク質顆粒：PB）が異なる点に着目し、タンパク質の輸送・蓄積機構の解明へ研究を展開した。乾燥種子の切片作製方法を改良し、それまで困難だったイネ完熟種子の組織観察が容易に行えるようになり、登熟過程から完熟種子に至るまでの蛍光顕微鏡および電子顕微鏡による観察像を得ることが出来た。プロラミンの分子種を区別可能な抗体を作製し、組織観察を行うことにより、複数のプロラミン分子種が登熟過程で発現制御を受け、PB-I に層状に蓄積することが明らかとなった。疎水性のプロラミン分子種が層状に蓄積することが PB-I がヒトの消化管で難消化性の性質を示す要因であると考えられた。その性質を用いることが腸管までワクチン抗原を送達させるコメ型経口ワクチンの開発へと繋がった。

上記の様な基盤的な研究による成果を社会実装するためには解決すべき課題があった。有用タンパク質をイネ種子中で高蓄積するためには、内在性貯蔵タンパク質の発現を抑制しつつ、外来タンパク質を高発現するシステムを構築する事が重要だと考え、RNAi による内在性貯蔵タンパク質の抑制に関する研究を行った。医療用の有用タンパク質のモデルとして、コレラ毒素 B サブユニット（CTB）をワクチン抗原として高蓄積する遺伝子組換えイネを作出し、新しい経口ワクチンシステム（Muco-Rice CTB）の開発を共同研究先と共に行った。世界初のコメ型経口ワクチンは、医薬品としての多くの検証を済ませ第一相の臨床試験まで検討が進んでいる。現在、第二相の臨床試験を目指した研究開発が共同研究先と共に継続中である。

Muco-Rice CTB では、ゲノム構造が既知の日本晴を宿主に用いてきたが、大型のイネでは閉鎖系温室での栽培量が限られることから、今後は屋内栽培に適したイネの選定が重要だと考えた。播種から種子収穫までの時間を短縮し、立体的かつ周年栽培可能な矮性イネについても長年にわたり研究を続けてきた。その成果を社会実装するために、2022 年 6 月に未来食研究開発センター株式会社を起業した。現在、屋内栽培に最適な矮性イネ「京のゆめ」の販路を広げているところである。また「京のゆめ」は遺伝子組換えイネとしても有利な点を多く持つことから、遺伝子組換えに適したイネとしての普及を協業先と展開しているところである。

2RpJ3

技術賞

分子育種技術を駆使した新奇性の高いリンドウ品種の育成

Production of novel gentian cultivars using molecular breeding techniques

西原 昌宏¹, 根本 圭一郎², 小田島 雅³, 高橋 亮⁴, 下川 卓志⁵¹福井県立大・生物資源, ²岩手生工研セ, ³岩手農研セ, ⁴八幡平市花きセ, ⁵量研機構・量医研

リンドウは日本を代表する花きの一つであり、特に岩手県においては主要な花き品目として位置付けられている。水田の転作を活用した中山間地での栽培が盛んに行われており、現在では全国生産の約6割を占める一大産地となっている。リンドウは自殖弱勢を示すことから遺伝的にヘテロ接合性が高く、形質の固定が困難な植物である。加えて、多年生植物であることも育種期間の長期化を招く要因となっており、品種改良が難しい作物の一つである。現在は仏花としての利用が主であるが、新たな需要の拡大に向けて、新奇性の高い品種の育成が求められている。そこで我々は、リンドウの有用形質について分子レベルでの解析を進めるとともに、得られた知見をもとにさまざまな分子育種技術を開発し、実際の育種現場に適用することで新奇性の高い品種の創出を試みてきた。これまでに、リンドウの花色や花型に関する早期DNAマーカー選抜技術、培養系を用いた重イオンビーム照射による突然変異誘発技術、さらにゲノム編集技術の開発を行ってきた。特に、前二者の技術により、実用品種である八重咲きリンドウや濃桃色リンドウの育成に成功している。また、ゲノム編集技術に関しては、最も汎用的に使用されているCRISPR/Cas9システムをリンドウに適用し、ベクターやプロモーターの改良によって高効率な遺伝子ノックアウト技術を確立した。これまでに、花色、花型、花持ち、越冬性など、さまざまな形質に関与する遺伝子のゲノム編集を進めており、一部ではヌルセグリガントの作出にも成功している。現在では、遺伝子機能の解析や有用形質の改変手法として本技術の利用が進んでおり、リンドウの分子育種研究の進展に大きく貢献している。さらに、ゲノム編集技術と従来の遺伝子組換え技術を組み合わせることで、ナデシコ目特有の色素であるベタレインのエンジニアリングを行い、これまで作出が困難であった黄花リンドウの育成にも成功した。本研究グループでは、これらの技術を活用し、現在もリンドウの品種開発を継続している。リンドウにおけるこれらの分子育種技術の開発事例は、今後、他の花き品目への応用も大いに期待される。本研究の成果は、多くの共同研究者および研究助手、技術補助員の皆様のご支援により得られたものであり、ここに関係各位に深く感謝申し上げます。

Nishihara et al. (2025) Plant Biotechnol. (in press), Nishihara et al. (2023) Plant Biotechnol. 40: 229-36, Nishihara et al. (2023) New Phytol. 240: 1177-88, Takahashi et al. (2022) Int. J. Mol. Sci. 23: 5608, Takahashi et al. (2022) Plant Physiol. 188: 1887-99, Tasaki et al. (2020) BMC Plant Biol. 20: 370, Tasaki et al. (2019) Sci. Rep. 9: 15831, Sasaki et al. (2018) Plant Biotechnol. 35: 249-57, Tasaki et al. (2017) Molecular Breeding 37: 33

2RpJ4

奨励賞

ゲノム編集ジャガイモの実用化に向けた研究開発

Research and development for practical application of genome-edited potatoes

安本 周平^{1,2}¹(株) カネカ, ²阪大・院工

ゲノム編集技術は、生物のもつゲノム情報を高精度に改変できる有用な技術である。通常、高等植物のゲノム編集では、ゲノム編集酵素の発現に必要な DNA（外来遺伝子）を導入した遺伝子組換え体の作成と、標的遺伝子への変異導入確認によって変異系統が作出される。遺伝子組換え体は開放系での栽培が制限されているため、ゲノム編集作物の実用化を目指す場合、交配によって外来遺伝子を保持しないゲノム編集系統“ヌル分離系統”を取得する必要がある。しかし、世界的にも重要な作物であるジャガイモはゲノムのヘテロ接合性が高く、後代系統が親系統とは異なる形質を持つため、ヌル分離系統を直接新しい品種として利用することが難しい。

我々は、植物の形質転換に利用されるアグロバクテリウムの一過的な遺伝子発現系に着目し、ゲノム編集酵素 TALEN をジャガイモで一過的に発現させることによって、外来遺伝子を保持しないゲノム編集系統の作出を試みた。結果として、アグロバクテリウムを感染させたジャガイモ組織片から得られた再分化系統を解析することで、外来核酸を保持しないと思われるゲノム編集系統の作出に成功した。これはヘテロなゲノムを保持する栄養繁殖性の作物においてゲノム編集技術の利用を加速する成果であると考えられる。

外来遺伝子の残存しないゲノム編集系統は、従来育種技術によって作出された系統と見分けがつかず、日本国内では遺伝子組換え生物の使用等を規制するカルタヘナ法の対象外となることが示されている。遺伝子組換え生物中の外来核酸の検出法としては、PCR 法、サザンハイブリダイゼーション法、次世代シーケンシング（NGS）を使用した *k*-mer 法が知られている。PCR 法やサザンハイブリダイゼーション法は高感度に目的核酸を検出することが可能であるが、短い外来核酸を網羅的に検出することは難しい。*k*-mer 法は外来核酸検出の新たな手法として提案されていたが、ジャガイモにおける利用は報告されていなかった。我々は、*k*-mer 法をジャガイモへ適用するため、シミュレーションによる解析と、実サンプルを用いた解析を行った。シミュレーション解析では、20 塩基対という短い DNA 断片がジャガイモのゲノムに挿入された場合でも、外来核酸を確実に検出できることが示された。実サンプルを用いた解析においては、ジャガイモの染色体に挿入された 150 塩基対程度の短い外来 DNA 断片についても正確に検出できることが示され、*k*-mer 法がゲノム編集ジャガイモにおける外来核酸検出法として有用であることが示された。また、上記の手法で開発した一過的発現系を使用したゲノム編集ジャガイモについて、*k*-mer 法を用いた外来核酸残存性の検定を行い外来核酸が残存していないと推定される系統について、現在研究目的の野外栽培試験を実施し、その特性解析を進めている。

本研究は、大阪大学・村中俊哉先生のご指導を受けて始めたものであり、多くの方々との共同研究によって得られた成果です。共同研究者の皆様に厚く御礼申し上げます。

2RpJ5

奨励賞

ゲノム情報を利用したベンジルイソキノリンアルカロイド生合成系とその発現制御機構の解明、および物質生産への展開

Elucidation of benzyloisoquinoline alkaloid biosynthesis using genome sequences of medicinal plants and an application for the effective production of alkaloids

山田 泰之

神戸薬大

植物が生産する特化代謝産物の中でもベンジルイソキノリンアルカロイド（BIA）は、医薬品やその原料となるものも多い。BIA の中でも抗菌作用のある berberine や鎮痛作用のある morphine は生合成機構が解明されており、代謝工学や微生物生産などの応用研究も多数報告されている。しかし、生合成機構が未解明な BIA も多く、さらに生合成遺伝子の発現調節機構に関する知見が明らかとなっているものは限られる。本研究では、BIA 生合成に関する基礎的研究をより深化させ、代謝工学など応用研究をより発展させるとともに、特化代謝生合成系の進化に関する知見を得ることを目的に、①ケシ科ハナビシソウ (*Eschscholzia californica*) を中心としたゲノム/トランスクリプトーム解析による BIA 生合成、およびその発現制御機構の解明、ならびに②培養細胞や微生物を用いた代謝工学による BIA の効率的生産系構築のための基盤研究を行った。

①BIA 生合成研究のモデルとして安定形質体の作出が可能なハナビシソウに着目し、そのドラフトゲノム解読を行った。比較ゲノム解析の結果、モルヒネを生産しないハナビシソウには、ケシのモルヒネ生合成酵素遺伝子ホモログが存在しないことや、特定のシトクロム P450 遺伝子ファミリーの数が増大し、クラスターを形成していることなどが明らかとなった。また、BIA 産生を誘導するジャスモン酸に応答する遺伝子群の網羅的解析から、Group IX サブファミリーに属する AP2/ERF 転写因子群や WRKY 転写因子を複数単離し、それらが BIA 生合成系の遺伝子発現制御因子として機能している可能性を見出した。さらに、特定の植物種にのみ見られる BIA の生合成機構を明らかにするために、トランスクリプトームデータを取得して生合成酵素遺伝子の単離・同定を並行して進めた。

②BIA の効率的生産系構築のために、複数の遺伝子発現を同時に制御可能な転写制御因子による代謝工学を試みた。ベルベリン生合成系の包括的制御因子である CjWRKY1 をハナビシソウ培養細胞に導入し、BIA 生産性に及ぼす影響を調べた結果、BIA 生産性が向上するだけでなく、特定の BIA の培地中への排出量が増大していた。

また、近年、急速に発展してきている微生物生産系において、生産物による負のフィードバック等が生産性低下の要因の一つであると考えられたため、輸送体を導入して（輸送工学）その緩和を目指した。BIA の重要中間体レチクリンを生産する大腸菌に、BIA の排出トランスポーターを導入したところ、培地への排出や生産性が全体的に向上した。このような輸送工学は酵母における物質生産でもその有用性が実証されており、今後、多様な化合物の迅速かつ効率的な生産が可能になることも多いに期待される。

2RpJ6

学生奨励賞

植物オルガネラを染色する蛍光色素の同定

Identification of fluorescent dyes that stain plant organelles

市川 晋太郎

宇都宮大院・地域創生

蛍光色素を用いた染色法は、蛍光タンパク質と並び、ライブセルイメージングにおける有効な手法の一つである。蛍光色素染色は、蛍光タンパク質を利用する場合に必要な形質転換が不要であり、観察までの操作も簡便である。このため、特にオルガネラを可視化するための蛍光色素が数多く開発されてきた。しかし、これらの多くは動物細胞を基盤に開発されている。たとえば、ミトコンドリアを染色する蛍光色素は動物細胞を材料に開発され、その後に植物細胞への応用が進められた。このように、植物特有のオルガネラを可視化する最適な蛍光色素の探索は、これまでほとんど行われてこなかった。

植物細胞は、葉緑体や液胞など特徴的なオルガネラを有しており、特に葉緑体はストロマ、チラコイド膜、デンプン顆粒、葉緑体包膜など、複数のサブオルガネラで構成される複雑な構造を持つ。しかし、植物細胞を基盤とした蛍光色素イメージング技術の開発は遅れており、植物特有のオルガネラやサブオルガネラを可視化する蛍光色素は非常に限られている。そこで、市販されている多くの蛍光色素は植物での使用実績がないと考え、商用蛍光色素を用いた染色実験を行い、植物細胞のオルガネラやサブオルガネラを染色する蛍光色素の探索を実施した。その結果、核と核小体を染色する Dimidium Bromide、葉緑体包膜を染色する Rhodamine B および Nile Red、葉緑体デンプン顆粒を染色する Fluorescein および Fluorescein Diacetate を同定した。本講演では、特に Fluorescein および Fluorescein Diacetate を用いたデンプン顆粒の蛍光イメージングに関する研究成果を紹介する。

Fluorescein を植物細胞に処理したところ、細胞内に取り込まれた後、細胞質を経由して葉緑体内部のストロマに到達し、デンプン顆粒に結合することが確認された。結合メカニズムの解析から、Fluorescein はヨウ素デンプン反応に類似した仕組みでデンプンに結合していることが明らかとなった。さらに、より高輝度な観察が可能な Fluorescein Diacetate を用いることで、葉緑体デンプン顆粒の 3 次元イメージングに成功し、デンプン顆粒の体積や個数の定量的解析を実現した。

いずれの蛍光色素も生きた植物細胞で利用可能であり、切り取った葉を 10 分程度染色するだけで目的のオルガネラやサブオルガネラを観察できる。本研究で確立した蛍光色素イメージング技術は、モデル植物だけでなく形質転換が困難な農作物や非モデル植物にも適用できるため、多様な植物種における細胞生物学研究の発展に大きく貢献することが期待される。

2RpJ7

学生奨励賞

トマト特化代謝産物を介した植物細菌間相互作用に関する研究

Plant-microbiota interactions mediated by a specialized metabolite secreted from tomato roots

高松 恭子

京大・生存研

根圏は植物根からの影響を受ける土壌領域と定義され、植物が根から分泌する代謝産物を介した活発な生物間相互作用が行われる。近年の研究により、植物種に特徴的な特化代謝産物が異なる根圏細菌叢を形成し、宿主植物に対する食害や病害の抑制、養分吸収の促進などをもたらすことが判明した。植物特化代謝産物を介した生物間相互作用を基盤とする根圏細菌叢制御の持続的農業生産への応用が期待される。しかし、土壌細菌がどのように植物特化代謝産物に応答して根圏細菌叢を形成するののかの分子メカニズムは明らかにされていない。トマト (*Solanum lycopersicum*) の特化代謝産物 α -トマチンはステロイドグリコアルカロイドに分類され、主に地上部における病原菌や食害虫に対する化学防御機能を果たす。本研究では、トマト特化代謝産物の α -トマチンを介した植物細菌間相互作用のメカニズムを解明することを目的とした。 α -トマチンを介してトマト根圏で増加する細菌の探索と、その単離菌のトマトに対する作用および α -トマチン分解遺伝子の有無によるトマト根圏への定着性の違いを解析した。

野生型トマトと α -トマチン低生産の *jre4-1* 変異体トマトを圃場で栽培し、細菌叢を解析したところ野生型と比較して変異体の根圏や根内における Sphingomonadaceae 科の *Sphingobium* 属細菌の相対存在量が低下した。また、異なる三カ所の圃場土を加えた土で栽培したトマト根内の菌叢を解析したところ、全てのトマト根内で有意な *Sphingobium* 属細菌の増加が示された。公共データ解析からも同様の結果が得られ、トマト根圏における *Sphingobium* 属細菌の増加が広く共通して示された。加えて、*Sphingobium* 属細菌の増加が α -トマチンにより起こるのかをトマト根圏を再現する疑似根圏装置を確立することで検証した。 α -トマチンの濃度に応じた *Sphingobium* 属細菌の増加が示された。さらに、トマト根からの単離菌 *Sphingobium* sp. RC1 は α -トマチンに対する有意な正の走化性を示し、接種によりトマト根の生育を促した。

トマト根圏における *Sphingobium* 属細菌の増殖や定着のメカニズムは未解明である。RC1 の α -トマチン分解活性に着目し、RC1 の α -トマチン分解酵素遺伝子の欠損株を作出することで、菌の植物特化代謝産物の分解能と根圏への定着性との関係を調べた。RC1 の遺伝子欠損株は、野生株と比較して α -トマチンの分解能が低下した。野生株と欠損株の増殖試験から菌の α -トマチンの毒性に対する耐性と炭素源とする資化能を評価したところ、RC1 の分解酵素遺伝子が重要であることが示された。疑似根圏装置を応用して野生株と欠損株の定着性を評価したところ、野生株に対する遺伝子欠損株の定着の低下が見られた。本研究成果は、根圏で増加する細菌の植物特化代謝産物の分解能が植物根への定着性や増殖性に重要であることを示し、根圏細菌の農業資材としての安定的な供給に繋がることが期待される。

1RaS1

根寄生植物が生産するフェニルエタノイド配糖体の生物学的意義

Physiological significance of phenylethanoid glycosides in root parasitic plants

瀬戸 義哉, 大野 春香, 大谷 真彦, 西山 康太郎, 小野寺 唯

明治大・農

根寄生雑草は他の植物の根から侵入し、宿主植物の維管束組織に自身の道管を連結することで、宿主から水や養分を奪い取って生育する。アフリカ等の地域では、ストライガに代表される根寄生雑草が農地に侵入し、重要作物にも寄生することで、甚大な農業被害をもたらしている。日本国内では、農業被害の報告はないものの、外来種であるヤセウツボが様々な地域で観測されており、主に赤クローバーに寄生する形で生育している。また、条件的寄生植物の一種であるコシオガマも国内様々な地域に生育している。我々は、ヤセウツボが、二次代謝産物として、アクテオシドやオラポシドといったフェニルエタノイド配糖体を極めて多量に蓄積していることを見出した。また、条件的寄生植物であるコシオガマにおいても、ヤセウツボ程の含量ではないが、同様のフェニルエタノイド配糖体を生産することを見出している。本研究では、これら根寄生植物が、こういった目的でこれらの二次代謝産物を生産するのか、その生物学的意義を明らかにすることを目的としている。その解明に向けて、まずは、ヤセウツボやコシオガマにおけるアクテオシド生合成酵素遺伝子の探索を行い、基本骨格を形成するために必要な配糖化酵素、アシル基転移酵素を見出すことに成功した。加えて、これら生合成酵素遺伝子の発現解析や、内生のアクテオシドの量的変化を分析すること等を通じて、現在これらの分子が有する生物学的意義の解明に取り組んでいる。シンポジウムにおいては、それらの一端について紹介したい。

1RaS2

植物二次代謝物の細胞内標的タンパク質を同定するためのプロテオミクス解析

Proteomics analysis for target identification for plant secondary metabolite

相原 悠介

神戸大・院理

植物が産生する膨大な種類の二次代謝物の中でも、近年、環境応答や発生のシグナル分子として機能する興味深い分子がいくつも報告されてきている。しかしながら、それらの二次代謝物の生理機能を解明する鍵となる「作用標的タンパク質」についてはほとんど明らかでない。我々は、アブラナ目植物の二次代謝物イソチオシアネート（ITC; マスタードなどの辛味成分）を題材に、植物における多面的な標的タンパク質と生理機能の解明を目指している。我々は最近、ベンジルイソチオシアネート（BITC）が気孔（植物表皮の通気孔）の開口を阻害するブレーキ役としてはたらくことを発見した。本発表では、ITCのプロープ分子化を活用したアフィニティプルダウンとプロテオミクス解析による、ITCの植物細胞内標的タンパク質の同定解析と、その手法を広く植物二次代謝物に適用する試みについて報告する。

1RaS3

一細胞レベルでの解析技術を用いた植物二次代謝産物研究

Single-Cell Technologies for Exploring Plant Specialized Metabolism

白川 一

中央研究院・IPMB

植物が生み出す多様な二次代謝物は、生体防御や他生物とのコミュニケーションなどに利用される。一部の二次代謝物を除けば、二次代謝物の生合成・輸送・蓄積の分子メカニズムには不明な点が多い。二次代謝物の生合成・輸送・蓄積を細胞レベルで解析するには、レポーターラインの確立など、形質転換体の作製が必要となる実験も多く、非モデル植物では時間と労力が必要となるものが大多数を占める。近年、数千から数万個の細胞のトランスクリプトームデータを一度に取得するシングルセル（核）解析が注目されている。本発表では、植物の生体防御系を担うミロシナーゼ・グルコシノレートシステムに着目し、それらの合成・蓄積を担う細胞のシングルセル（核）解析について発表する。また、非モデル植物を用いたシングルセル（核）解析のために必要な実験ステップについて実際の研究例を紹介し、今後の展望について議論したい。

1RaS4

BVOC の気候フィードバック：ブナ科におけるイソプレン合成酵素の分子進化

Feedback to the climate by BVOCs: Molecular evolution of isoprene synthase in Fagaceae

棟方 涼介

京大・生存研

植物が放出する揮発性有機化合物（Biogenic Volatile Organic Compounds: BVOCs）は、様々な生物間相互作用に関与する重要な二次代謝産物であるが、よりマクロな視点では、気候にも影響を及ぼすことが知られている。BVOC は大気中で酸化され、エアロゾルを形成し、雨雲の形成の促進や太陽光の反射などに寄与する。植物が放出する全球レベルの BVOC 量は、炭素換算で年間 10 億トンに及び、ヘミテルペン類のイソプレンはその約半分を占めることから、BVOC の気候との関係性を考える上で最も重要な分子といえる。イソプレンの放出量の多い植物種は系統分類上散在して見出されるが、生合成機構が未知の植物系統が残っており、植物界におけるイソプレン放出能の獲得過程の全体像は未だ不明である。

北半球において、ブナ科植物は代表的なイソプレン放出系統の一つであり、またブナ科内にはイソプレンを放出しない種も存在するという興味深い特徴がある。そこで本研究では、ブナ科におけるイソプレン合成酵素遺伝子（*IspS*）の同定およびイソプレン放出能の多様化の要因となる *IspS* の分子進化の解明を目的とした。まず、テルペン合成酵素ファミリーに着目したトランスクリプトーム解析や生化学的解析を行い、イソプレン放出種のコナラから *IspS* を同定した。次に、近縁のイソプレン非放出種が持つオルソログとの比較から、イソプレン放出能の種間差と関連する遺伝子配列の差異を見出した（Koita et al., bioRxiv, 2025）。さらに、その違いが生じた分子進化過程を明らかにするため、詳細な分子系統解析を行った。

1RaS5

BVOC が強化する植物の環境ストレス耐性の分子メカニズム

BVOC-mediated enhancement of plant stress tolerance

大西 利幸

静岡大学 グリーン科学技術研究所

植物は植食者の攻撃を受けると、生物起源揮発性有機化合物（Biogenic Volatile Organic Compounds；BVOCs）を放出し、近隣の植物に警戒情報を伝達する。この植物間コミュニケーションは、生物学的ストレスに対する予防的適応戦略である。従来、BVOC の配糖化は、細胞内に BVOC を安定的に貯蔵するための代謝的手段と理解されてきた（Ohgami *et al.*, 2015；Ono and Ohnishi, 2016）。チャでは、複数の糖転移酵素が段階的に作用し、BVOC を二糖配糖体に変換して不揮発化し、必要に応じて加水分解によって再放出する仕組みが知られている。しかし近年、大気中の(Z)-3-ヘキセノール（Hex）を受容したトマトがこれを配糖化して生成する香気二糖配糖体(Z)-3-ヘキセニル β-ピシアノシド（HexVic）が、単なる貯蔵型特化代謝産物ではなく、食害昆虫に対して直接的な毒性を示すことが明らかとなった（Sugimoto *et al.*, 2014）。この知見は、香り物質の配糖化が揮発性情報分子の安定化のみならず、植物の積極的な防御戦略として機能することを意味し、BVOC 代謝の生態学的意義を再定義するものである。

本講演では、HexVic の生成を制御する糖転移酵素 UGT91R1 の同定と機能解析について紹介する。トマト栽培種および野生種の染色体断片置換系統を用いた遺伝解析により UGT91R1 を同定し、組換え酵素による *in vitro* 反応および遺伝子欠損株・過剰発現株による *in vivo* 解析を通じて、UGT91R1 が HexVic の生成に直接関与することを明らかにした（Sugimoto *et al.*, 2023）。

本研究は、香気配糖体が情報伝達と防御毒性という二重の生理機能を担うことを実証し、植物間コミュニケーション研究に新たな視座を提供するものである。

1RaS6

生態系内における BVOC の時空間イメージング

Spatiotemporal Imaging of Biogenic Volatile Organic Compounds (BVOCs) in Ecosystems

関本 奏子

横浜市立大学・院生命ナノ

植物から放出される揮発性有機化合物（BVOC）は、大気中に ppb～ppt オーダーの低濃度で存在する。BVOC は風に乗って移動・拡散していく過程で、様々な化学反応を起こし、最終的に対流圏の科学や生態系に様々な影響をもたらす。例えば、「みどりの香り」として知られるヘキサナールやヘキサノールなどの BVOC は、周囲の植物に病虫害抵抗性反応を発揮させるなど、生物間相互作用を促す。一方、イソプレンやモノテルペンのような反応性の高い BVOC が酸化反応を受けると、酸素原子を多く含む揮発性の低い酸化体に変化する。これらは、PM2.5 に代表される二次有機エアロゾルや対流圏オゾン（光化学オキシダントの一つ）を生成させ、気候や大気質、雲形成、放射強制力に影響を与える。

これまで BVOC の測定には、ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC/MS）が多く用いられてきた。GC/MS は BVOC の同定・定量性能が高いものの、サンプルの捕集が必須であることから、「どのようなタイミングで、どのような BVOC が放出されているのか」を観測することが困難であった。

近年演者は、大気化学の分野で多用されているプロトン移動反応質量分析法（PTR-MS）や大気圧化学イオン化法を基としたアンビエント質量分析法を用い、微量な BVOC の同定や多成分 BVOC のリアルタイム計測を行っている。本講演では、葉に機械刺激を与えた際の殺虫・忌避成分の放出挙動や、森林における BVOC の日周変化について、最新のデータを紹介したい。

2RaS1

ChatGPT と生成 AI で広がる知的生産の新しいかたち

New Modes of Intellectual Production Enabled by ChatGPT and Generative AI

山本 康平^{1,2}

¹AIナレッジワークス合同会社, ²Finding AI

大規模言語モデル（LLM）の一つである ChatGPT は、「Chat」と「GPT（G: Generative, P: Pre-trained, T: Transformer）」の頭文字を組み合わせた名前であり、膨大なテキストデータから学習して、自然で柔軟な対話を実現する人工知能（AI）である。ChatGPT の中には、Google が 2017 年に発表した Transformer という仕組みが使われており、文脈を深く理解し、次に続く言葉を予測し、文章を作ることができる。ユーザーはこの AI との対話を通じて、質問に対する回答を得たり、自分の意見に対してフィードバックを得たり、議論を深めながら新しいアイデアを得ることができる。活用できる場面は幅広く、例えば、データの整理・可視化、長い文章の要約、日々のタスク管理などが挙げられる。さらに、網羅的な検索が可能である Deep Research と組み合わせれば、植物科学に関する論文を大量に読み込んで要点をまとめ、専門的な情報を効率よく集め、さらには学術論文の査読を支援することもできる。本発表では ChatGPT の基本的な活用事例および研究現場での利用例を概説する。また、モデルも進化を続けており、目的や用途に合わせたモデルを使い分ける方法を紹介する。本発表が、今日あなたを ChatGPT マスターにする。

2RaS2

生成 AI の最新動向とバイオ分野への応用を探る

The Latest Trends in Generative AI and an Exploration of Its Applications in Biology

久米 慧嗣

Bio"Pack"athon

生成 AI は、大規模言語モデルを基盤として、テキストや画像、プログラミングコードなど多様なデータを扱い、さまざまな知的タスクの自動化を可能にしています。本発表では、2025 年までの同技術進化の変遷を俯瞰し、今年注目されている生成 AI の最新動向を紹介します。また、生成 AI の具体的な利用シーンや生物学分野におけるデータ解析への応用の可能性について議論します。本発表では、AI と対話しながら主成分分析や統計解析、レポート作成などを自動的に実行する事例や、ユーザーのアイデアだけでウェブツール等の試作が行える事例を紹介します。さらに、米国の予想サイト Metaculus で AGI（汎用人工知能）の最短到達予想が 2028 年 6 月とされる中（2025 年 5 月現在）、学会開催時での予想がどこまで早まるのか、その社会的・研究的インパクトを展望します。併せて、AI 活用の利便性とリスクを踏まえ、生物学者が AI を活用する際に意識すべきリテラシーについても考察します。

2RaS3

実験サンプルデータベースの混沌に大規模言語モデルで挑む

Tackling The Chaos Of An Experimental Sample Database With Large Language Models

池田 秀也

情シス研・DS施設・DBCLS

核酸配列解析などの実験手法の発展により、膨大な実験データが公共データレポジトリに登録され、二次的な利用が可能になっている。実験に用いられた生物学的サンプルのデータベースとして BioSample が開発され、実験の条件やサンプルの性質を記述したメタデータを蓄積することで、公共データレポジトリのユーザーが興味のあるデータを検索できるようにしている。しかし、同一の実験条件であっても投稿者によって異なる記述がされているため、目的のデータを検索するのが難しくなっている。例えばシロイヌナズナの同一のエコタイプを表すのに "Col-0" や "Columbia" などの表記があるが、単純な文字列検索で "Col-0" と検索すると "Columbia" と書かれているサンプルを見つけることができない、といった問題がある。

これまでに、メタデータ中に記述された生物学的概念を表す文字列を、整理された語彙集であるオントロジーで定義された用語と対応付けることで表記揺れを解消し、検索性を向上させる試みがなされてきたが、事前に定めたルールベースで行う手法では正確性に限界があった。そこで我々は、大規模言語モデル（LLM）を用いて、オントロジーと対応付けるべき文字列をメタデータ中から抽出することを試みた。テストセットを用いた評価の結果、従来のルールベースの手法と比較して精度を落とすことなく再現率を高めることができることを確認した。本発表では、植物サンプルの実例を提示しながら、LLM の活用により実験データの再利用性を改善することができることについて報告する。

2RaS4

見るコストの削減によって見えてきた植物の野外環境応答 –機械学習の利用例–

Plant Responses to Field Environments Revealed by Reducing the Cost of Observation -Examples of Machine Learning Applications-

爲重 才覚^{1,2}

¹京都府大・院生命環境, ²横浜市大・木原生研

植物の葉色は環境や生理状態を反映して日々変化する。特にアントシアニン量は、低温や強光、乾燥などの環境ストレスに影響を受けることが室内実験から知られている。しかし野外では環境要因が複雑に変動するため、実験室での知見が野外の植物理解にどの程度適用できるのか検証が難しい問題である。同時に、野外環境では精度や時間解像度の高い計測データを収集するコストが高くなり、十分なデータを得にくいという問題もある。

そこで本研究では、葉のアントシアニン含量を長期的に非破壊でモニタリングする安価な手法として、解析システム PlantServation を開発した。これは安価な撮影装置と、深層学習を活用した自作の画像解析ソフトウェアから構成されている。これを用いて複数のフィールドでの 12 系統のシロイヌナズナ属の画像を数ヶ月にわたり取得し、アントシアニン含量の時系列変動を推定した。気象データと組み合わせで解析したところ、寒さ、日射量、降水量がアントシアニンに有意に影響していた。これは本システムが、野外での植物の環境応答を解明するために有用であることを示すものである。さらに、異なる系統間でアントシアニンの変動を比較した結果、異質四倍体である *Arabidopsis kamchatica* の一部系統の挙動が、祖先種である二倍体の特性を組み合わせたものであることが示された。これは倍数体形成の際にどのような環境応答パターンが進化するのかを示唆する興味深い結果である。本発表では、計測コストを下げてデータ規模を上げる努力がどのように発見につながるのかについても議論したい。

2RaS5

代謝設計と AI 技術：文献・公開データからの知識抽出による設計提案

Metabolic Design and AI Technology: Design Proposals Based on Knowledge Extraction from Literature and Public Data

伊藤 潔人

(株)日立製作所

AI 技術の急速な進展に伴い、バイオ分野への応用が拡大している一方で、代謝設計への活用には依然として多くの課題が残されている。本講演では、代謝設計において文献や公開データの集合体を活用し、新たな設計提案を導出するための情報処理技術の可能性について論じる。

従来の代謝設計に向けた情報処理技術は、化学量論的モデルなど、細胞内代謝を忠実に再現するアプローチに基づき、既存のモデル内での最適化をめざすものが中心であった。これらの手法ではモデルに含まれない新規経路や着想を導き出すことが困難であり、代謝設計を革新するための「次の一手」を提案する技術が依然求められている。

本講演では、文献・公開データと機械学習や自然言語処理といった情報処理技術を組み合わせた代謝設計の新たなアプローチについて議論する。具体的には、微生物の代謝改変を対象に開発した、学習モデルの段階的利用による代謝経路探索や、人間の知見に加え自然言語処理を活用した改変遺伝子候補の提案手法などを、事例を通じて紹介する。これらの手法は、従来ノウハウに依存していた代謝設計におけるキー遺伝子の同定などにおける研究者の試行錯誤のサイクルを加速させ、膨大な情報から効率的に新規設計案を抽出できる可能性を示唆する。

さらに、代謝設計に必要な実験データが依然として不足している現状にも触れ、公開データと実験データを相互補完的に活用する必要性について議論する。

本講演で紹介する研究の一部は NEDO「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」事業により得られたものである。

3RaS1

東京科学大学/GteX ゲノム構築拠点での研究活

Research Activities at the Genome Engineering Hub of Tokyo Institute of Science / GteX

相澤 康則^{1,2}

¹東京科学大学・生命理工, ²神奈川県立産業技術総合研究所・合成生物基盤

本ゲノム構築拠点では、GteX プロジェクトの中核となるゲノム書き換え・合成技術の実装に向けて、基盤整備を進めています。特に、我々のグループが参画してきた国際コンソーシアムにおける酵母全合成ゲノムプロジェクト（Sc2.0）で培った長鎖 DNA の設計・合成・アセンブリ技術を、本プロジェクトに応用可能な形で展開しています。本拠点の対象生物種は植物および微細藻類に特化しており、なかでも葉緑体能力を高めるためにゲノムを大規模に書き換えるための新技術の開発とその活用 に注力しています。GteX 植物チームの皆さんとアイデアを持ち寄りながら、設計支援ツールやアセンブリ戦略の最適化を含めた総合的な技術基盤の構築を進めています。本講演では、これらの取り組みの現状について紹介します。

3RaS2

持続的な物質生産のための微細藻類を用いた CO₂ の固定と利用技術の開発

Development of Carbon Capture and Utilization Technologies Using Microalgae for Sustainable Biomanufacturing

持田 恵一

理研CSRS

微細藻類は、光合成により大気中の CO₂ を有機物へと固定する「緑の細胞工場」として、持続可能な物質生産の基盤として期待されている。バイオ燃料に加え、機能性成分など付加価値の高い物質の生産への応用は、微細藻類による生産システム全体の経済性を高め、脱炭素社会および資源循環型産業の構築において重要な意義を持つ。微細藻類は、生育形態や培養スケジュールの柔軟性に優れるためスケーラビリティが高い。そのため、工業規模での応用や CO₂ 排出源に接続した培養環境にも適応性を示す。こうした能力を最大限に活かすには、炭素固定のメカニズムの理解と制御技術の確立、ならびに生産性向上を目指した育種・遺伝子改変技術の開発が不可欠である。私たちは、産業利用に適した微細藻類ユーグレナを対象に、ゲノム改変による有用形質の強化に取り組んでいる。また、微細藻類バイオマスを用いた CO₂ 固定・資源化技術を、火力発電所と連携して実装する国際共同研究も進行中である。さらに、GteX では多様な微細藻類研究者が連携し、炭素固定能の理解と改良、そしてバイオものづくりへの応用に関する研究を推進している。本シンポジウムでは、微細藻類を活用した CCU（Carbon Capture and Utilization）技術に基づく CO₂ 資源産業への展望と課題について議論する。

3RaS3

植物一過的発現系「つくばシステム」を用いた有用物質生産

Production of useful substances using Tsukuba system, a transient plant expression system

三浦 謙治¹, 關 光²

¹筑波大生命環境, ²大阪大工学

植物における一過的発現システムとは、形質転換体を作製することなく、一過的にタンパク質を発現させる方法であり、短期間（3～7日）で目的のタンパク質を大量に発現できるという利点がある。我々はこの一過的発現システムに用いるベクターに、ジェミニウイルス由来複製システムとダブルターミネーターを組み合わせることで、ベンサミアナタバコを宿主として用いた場合、3日間で4mg GFP/g 新鮮重の収量を得ることに成功し、「つくばシステム」と名付けた。この収量が短期間でピークを得られるものとして、世界トップレベルの収量であることが示された。また、高濃度アスコルビン酸を噴霧することで、壊死を抑制し、収量を向上させることにも成功している。植物を用いる利点として、タンパク質複合体でも作製できることと、植物由来の代謝産物を生産できる点が挙げらる。

本シンポジウムでは、つくばシステムを用いた物質生産を行っており、1つはタンパク質の生産としてT細胞の認識を行うMHCクラスIIの生産について詳細を示す。もう1つとして、代謝酵素をつくばシステムにより高発現させることによるテルペノイド類の生産について示す。テルペノイド類は特化代謝産物として多様な種類が存在するが、つくばシステムによって酵素を強制的に発現させることで、その代謝産物の蓄積が可能であることが示された。

3RaS4

キャッサバの活用によるカーボンニュートラルな循環型社会への貢献を目指して

Toward the contribution to carbon-neutral, circular society through the utilization of cassava

関 原明¹, 武田 智之¹, 戸高 大輔¹, Huong Thi Pham^{1,2}, Nhu Ngoc Quynh Vo¹, 田中 真帆¹, 高橋 聡史¹, 内海 稚佳子¹, 武井 良郎¹, Anh Thu Vu^{1,2}, 江副 晃洋¹, 徳永 浩樹^{1,3}, 石谷 学⁴, 内海 好規^{1,5}

¹理研CSRS, ²AGI, ³国際農研, ⁴CIAT, ⁵福山大学

キャッサバ (*Manihot esculenta* Crantz) は、食料安全保障やバイオ燃料などの工業原材料への利用の観点から重要な熱帯の澱粉資源作物¹⁾であり、世界全体で年間約1億5,000万トンのCO₂を塊根で澱粉として固定している (FAO, 2021)。我々は、カーボンニュートラルな循環型社会への貢献を目指して、国内外のアカデミアや企業と連携して、キャッサバを利用した以下の研究プロジェクトを推進している。1) 形質転換・ゲノム編集など基盤技術の構築²⁾, 2) 塊根形成・開花などの重要形質の分子メカニズムの解明^{3),4)}, 3) 形質転換・ゲノム編集や化学的制御技術による環境ストレス耐性^{5),6)}, 植物バイオマス^{7),8)}およびCO₂吸収・固定能力の向上, 4) 苦鉄質岩の施用による風化促進, 5) 環境再生型農業システムの確立 (SATREPS プロジェクト代表者: 信濃卓郎)。本シンポジウムでは、上記プロジェクトについて紹介する。

参考文献: [1] Malik et al. (2020) Breed. Sci. 70:145-166. [2] Utsumi et al. Plant Mol. Biol. (2022) 109:271-282. [3] Utsumi et al. (2022) Plant Mol. Biol. 109:249-269. [4] Tokunaga et al. (2022) Plant Mol. Biol. 109:233-248. [5] Vu et al. Plant Mol. Biol. (2022) 110: 269-285. [6] Vu et al. (2025) Plant Biotechnol. (in press) [7] Utsumi et al. (2022) Plant Mol. Biol. 108: 413-427. [8] Seki et al. (2018) Proc. 18th Science Council of Asia (SCA) Conference.

3RaS5

種子の油脂蓄積におけるプラスチドと小胞体の代謝的協調

A spatial understanding of metabolic cooperation between plastids and ER in plant seed oil accumulation

中村 友輝, グエン ヴァン, アンカウィジャヤ アルティックエリザ

理研CSRS

グリセロ脂質の生合成経路は、プラスチドおよび小胞体の両方に存在している。主要なリン脂質およびトリアシルグリセロール (TAG) の合成は主に小胞体で行われる一方、脂肪酸の生合成はプラスチド内で進行する。非光合成器官において、プラスチド局在のグリセロ脂質生合成酵素が小胞体局在の TAG 生合成経路にどのように寄与するのかについては、未だ不明な点が多い。我々は最近、シロイヌナズナの鞘において、小胞体およびプラスチド外包膜に局在する一対のホスファチジン酸ホスファターゼ (phosphatidic acid phosphatases), LPP α 2 および LPP ϵ 1 が、協働して TAG 生合成に役割を担うことを明らかにした。特に、プラスチドに局在する LPP ϵ 1 の過剰発現により小胞体局在の LPP α 2 の過剰発現と同等の TAG 産生促進効果を示したことから、プラスチド局在の酵素が小胞体における TAG 合成に寄与し得ることを示唆している。さらに、主要なプラスチドおよび小胞体型のリゾホスファチジン酸アシルトランスフェラーゼ (lysophosphatidic acid acyltransferases; LPAT) LPAT1 および LPAT2 についても解析を行った結果、小胞体局在 LPAT2 の発現抑制は種子中の TAG 含量に有意な影響を及ぼさなかったが、プラスチド局在 LPAT1 を種子特異的に抑制した場合には、プラスチド脂質には大きな変化を示さず、主に小胞体リン脂質の生合成に影響を及ぼすことが明らかとなった。以上のことから、種子の油脂蓄積においてプラスチドと小胞体が代謝的に協調する TAG 生合成に関する新規経路の存在と、代謝エンジニアリングへの応用の可能性が示唆された。

3RaS6

Developmental engineering meets cellular agriculture with plant synthetic biology

Naomi Nakayama^{1,2}

¹Okinawa Institute of Science and Technology (OIST) Graduate University, ²Imperial College London

From food to materials and medicinals, plants are the biofactory of natural products in our daily lives. Yet, in engineering biology-based industrial biotechnology, they have remained minor platforms of bio-production. Our lab studies the structure-function relationships in plant cells, organs, and organ systems, exploring what forms may confer environmental resilience in the changing climate. In doing so, we comprehensively examine the morphospace of the structure under investigation, which is created by synthetic-biology-based developmental engineering. The resulting forms are then characterized for structural functions via biomechanical analyses. An example of these projects is identifying the shoot architecture types that may withstand extreme wind conditions or enable better air circulation in the field. In parallel with the whole plant works, we are also creating a bottom-up developmental engineering platform, where suspension cell cultures are differentiated into specific cell types with enhanced biosynthesis capacity. I will discuss our progress in the whole-plant and cellular agriculture projects. The main focus will be placed on the development of synthetic biology and bioinformatics tools to facilitate rational molecular network engineering, which is at the heart of developmental pathway modulation.

L-1

研究者に必要なコトを仕掛けるためのコミュニケーション

高橋 宏之

リバネス株式会社 知識創業研究センター センター長

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。近年、イノベーションという言葉が広く用いられるようになってきましたが、イノベーションを起こすには何が必要なのか、どのような姿勢で取り組むべきなのか、今一度考えてみる機会をもてみたいと思います。学生や若手研究者にとっても、今後のキャリアのなかで、こうした取り組みが重要になってくると推察されますので、本セミナーが良いきっかけになればと考えております。

1Aa1

イネの窒素欠乏応答における NIGT1 転写抑制因子の役割の解明

Functional analysis of OsNIGT1 transcriptional repressor in rice nitrogen deficiency responses

田中 大智

東大院・農学生命・アグテック

窒素は植物の三大栄養素の一つであり、タンパク質や核酸、クロロフィルなどの植物の成長に必須な化合物の構成元素である。窒素が不足すると、植物は、窒素栄養の獲得に関わる輸送体遺伝子の発現を高めるなどの応答を示す。このような一連の応答は窒素欠乏応答と呼ばれ、シロイヌナズナでは硝酸塩投与によって発現が誘導される4つのNIGT1転写抑制因子遺伝子が重要な役割を担うことが明らかになっている。窒素欠乏環境ではNIGT1遺伝子の発現が低下することで窒素欠乏応答を誘導していることが示されている。主要な窒素源がアンモニウムであるイネもNIGT1遺伝子(OsNIGT1)を一つを保持しているが、OsNIGT1が窒素欠乏応答に関与するかは未だ分かっていない。そこで、OsNIGT1遺伝子の破壊変異株(Osnigt1株)と過剰発現株(OsNIGT1-OX株)の成長解析を標準窒素条件と低窒素条件において行った。その結果、OsNIGT1-OX株は低窒素条件において地上部が著しく矮化し、Osnigt1株は野生型株と比較して高成長を示すことがわかった。ガラス温室での低窒素含有土壌を用いた栽培実験においてもOsnigt1株は野生型株よりも高成長を示し、Osnigt1株における収穫量の増加も確認された。さらに、Osnigt1株を用いたDNAマイクロアレイ解析により、OsNIGT1は窒素栄養の獲得、輸送、シグナル伝達に関わる多くの遺伝子の発現抑制に関与することが示唆された。これらの結果に基づいて、OsNIGT1の窒素欠乏応答における役割について議論する。

1Aa2

植物のC/Nストレス応答における分泌経路の制御機構の解析

Analysis of the regulatory mechanisms of the secretory pathway in C/N stress response of plants

遠藤 海斗¹、松井 博輝²、江田 樹那²、眞木 美帆³、高木 純平³、佐藤 長緒³

¹北大・院生命、²北大・理、³北大・院理

植物にとって糖(炭素源: C)と窒素(N)は代謝に必須の栄養源であり、それぞれの絶対量だけでなく相対量(C/N)も生育に影響を与えることが分かっている。例えばシロイヌナズナにおいて、高C/低N条件(C/Nストレス条件)では発芽後成長の抑制や老化の促進が見られる。植物がC/Nを感知して応答するメカニズムについて、我々はこれまでに膜交通因子SYP61がC/Nストレス応答に関与することを明らかにしており、膜交通とC/Nストレス応答の関係が示唆されている。しかし、C/Nストレスに応じて膜交通が実際どのように制御されているかはほとんど分かっていない。今回我々は、C/Nストレス応答に関与する膜交通因子としてMIN7/BEN1/BIG5(MIN7)を同定した。MIN7は輸送小胞形成の引き金となるARF-GEFタンパク質であり、膜交通のハブとなるオルガネラ、トランスゴルジ網(TGN)に局在する。共局在解析より、MIN7がTGNにおいて分泌経路を担う領域に局在すること、min7変異体において分泌経路に異常が見られることが分かった。さらに、分泌経路に着目した共局在解析から、分泌経路がC/Nストレスに応じて制御されることも示唆された。C/Nストレスに応じたMIN7による分泌経路の制御メカニズムを探るため、MIN7のIP-MS/MS解析を行うと、相互作用因子としてHLB1が同定された。HLB1は分泌に関与する、植物特異的なタンパク質である。以上の結果を踏まえ、C/Nストレスに応じたMIN7とHLB1による分泌経路の制御について議論する。

1Aa3

シロイヌナズナ緑色培養細胞における光合成機能

Features of photosynthetic function of the photoautotrophically cultured green cells of *Arabidopsis*

諏訪 大智, 竹田 恵美

大阪公立大・院理学

培養細胞は、無菌性、均質性、環境制御のしやすさなど、研究材料として数多くの利点がある。しかし、ほとんどの培養細胞は、生育を外因性の糖に依存しており、葉緑体が未発達であるため、光合成過程の研究においてその有用性が制限されていた。我々は、細胞選抜により、無糖培地で持続的に増殖できるシロイヌナズナ光独立栄養培養細胞株（APAC）の確立に成功した。さらに、APAC を糖含有培地で再培養し、APM 細胞株を確立した。APAC は光化学反応の指標となる電子伝達速度が緑葉と同程度であり、葉肉細胞のモデルとして有用であると考えられる。しかし、APAC の NPQ 値は野生型緑葉に比べて非常に低かった。本研究では、培養細胞と緑葉における NPQ 値と、NPQ 形成に関連するタンパク質や葉緑体色素、チラコイド膜の色素-タンパク質複合体を分析し、APAC の光合成機能の特徴を調べた。NPQ 測定の結果、培養細胞の NPQ 値はいずれも野生型緑葉に比べて非常に低くなっていた。特に光照射に伴う APAC の NPQ 値は上昇は早い段階と遅い段階に分かれており、早い段階は PsbS 欠損変異体 *npq4* の緑葉と同程度であった。ところが早い段階の NPQ を誘導する PsbS の蓄積を調べたところ、APAC は野生型緑葉に比べてはるかに多くの PsbS を蓄積していた。また、チラコイド膜の色素-タンパク質複合体の分析より、APAC では野生型緑葉に比べて LHC II trimer の蓄積が少なかった。葉緑体色素組成の分析の結果、培養細胞、特に APAC では強光照射に伴うゼアキサンチンの形成速度が野生型緑葉よりも極めて遅かった。これらの結果から APAC では光照射時のチラコイド膜を介した ΔpH の形成が不十分である可能性が示唆された。

1Aa4

シロイヌナズナの種子におけるスフィンゴ脂質糖鎖型の機能解析

Function differently of glycosylated sphingolipids in *Arabidopsis thaliana* seeds

白木 夕姫乃, 川合 真紀, 石川 寿樹

埼玉大・院理工

スフィンゴ脂質は、スフィンゴイド長鎖塩基と脂肪酸がアミド結合したセラミドを基本骨格とする脂質である。植物にはグリコシルイノシトールホスホセラミド（GIPC）と呼ばれる固有のスフィンゴ脂質クラスが存在し、リン酸イノシトールおよびグルクロン酸を第一糖とするオリゴ糖鎖からなる親水部をもつ。GIPC は、第二糖がヘキソースの H 型と、ヘキソサミンの N 型に分類される。シロイヌナズナでは、H 型 GIPC は植物全体に存在し、合成酵素 GMT1 の欠損変異体は著しい生育不全や実生致死を示す。一方、N 型 GIPC は種子など限定的に存在し、欠損変異体は種子の肥大化や形成不全を示す。これらのことから、H 型と N 型糖鎖は異なる役割を担うと考えられるが、分子レベルでどのような機能の違いがあるかは未解明である。本研究では、シロイヌナズナ種子における GIPC 糖鎖型の機能を解析することを目的として、H 型と N 型の両方の糖鎖型が存在する種子に着目した。欠損により不稔となる H 型 GIPC 合成酵素 GMT1 の種子における機能を解析するため、GMT1 を種子特異的に過剰発現またはノックダウンさせた系統を作出した。その結果、いずれの系統でも、期待に反して H 型 GIPC は大きな変化がなく N 型 GIPC が著しく増減した。このことから、種子の H 型 GIPC 含量を一定に調節する機構が存在し、N 型 GIPC はその影響を大きく受けたことが推測された。さらに、N 型糖鎖欠損の生殖への影響を詳しく調べるため、WT と *gint1* を相互に交配させたところ、*gint1* の種子形成不全の表現型は、花粉の遺伝子型によらず、めしべの遺伝子型によって決まる母性遺伝の特徴をもつことがわかった。

1Aa5

スフィンゴ脂質分解活性をもつ NPC の分子系統解析

Phylogenetic analysis of NPCs exhibiting sphingolipid-degrading activity

市川 莉菜, 川合 真紀, 石川 寿樹

埼玉大・院理工

スフィンゴ脂質は長鎖塩基を骨格とする脂質の総称で、真核生物に共通の生体膜脂質である。スフィンゴ脂質の大部分は複合脂質として存在しており、長鎖塩基に脂肪酸がアミド結合したセラミド疎水部と、リン酸や糖などの親水部から構成される。植物はグリコシルイノシトールホスホセラミド (GIPC) と呼ばれる固有の複合スフィンゴ脂質をもつ。近年、GIPC をファイトセラミド 1-リン酸 (PC1P) とイノシトールグリカンに分解するホスホリパーゼ D (GIPC-PLD) 活性が被子植物で見出され、アブラナ科植物では NPC3 がその活性を担うことが明らかになった。NPC は植物に広く保存されたファミリーを構成しているが、それらの GIPC 分解活性の全容は明らかになっていない。本研究では、NPC ファミリーにおける GIPC-PLD 活性の分布と進化的起源を明らかにすることを目的とした。はじめに、様々な植物で GIPC 分解活性を解析したところ、コケ植物やシダ植物、裸子植物の一部においても被子植物と同様に GIPC の分解に伴い PC1P が増加した。このことから GIPC-PLD 活性は陸上植物に広く保存されていることが明らかになった。次に、これらの植物種の NPC 配列を用いて分子系統樹を作成したところ、種子植物で 4 つ、車軸藻類、コケ植物、シダ植物で 1 つのグループに大きく分類された。高い GIPC 分解活性を示したゼニゴケがもつ 3 つの NPC を大腸菌発現系とタバコ一過発現系で解析したところ、そのうち 1 つが強い GIPC-PLD 活性を示した。これらの結果より、GIPC-PLD 活性は NPC の異なるグループにまたがって分布していることが考えられた。

1Aa6

シロイヌナズナに内在する GIPC ホスホリパーゼ C 活性の解析

Characterization of endogenous GIPC phospholipase C activity in Arabidopsis

門屋 茜, 川合 真紀, 石川 寿樹

埼玉大・院理工

スフィンゴ脂質は、長鎖塩基と脂肪酸がアミド結合したセラミドを基本骨格とする生体膜脂質である。セラミドにリン酸イノシトールと数残基の糖が付加された glycosylinositolphosphoceramide (GIPC) は、植物の最も主要なスフィンゴ脂質クラスである。GIPC は化学的には安定な物質だが、ある種の植物組織を破碎すると、酵素的に分解される現象が発見された。この反応を触媒する酵素として GIPC のイノシトール—リン酸間を切断するホスホリパーゼ D (GIPC-PLD) が最近同定された。一方、シロイヌナズナなどでは GIPC のリン酸—セラミド間を切断するホスホリパーゼ C (GIPC-PLC) 活性の存在も示唆されているものの、その実体は未同定である。そこで本研究では、植物組織を破碎した際に起こる GIPC 分解反応を詳しく解析した。シロイヌナズナの組織を破碎すると、GIPC が急速に減少し、GIPC-PLC 産物であるセラミドとホスホイノシトールグリカンが著しく増加したが、GIPC-PLD 産物であるセラミド 1-リン酸はほとんど変化しなかった。また、同じ破碎物中では、セラミド 1-リン酸の脱リン酸化はわずかにしか起こらなかった。これらのことから、シロイヌナズナの GIPC 分解反応は、主に PLC が担っていることが示唆された。また、この反応は、シロイヌナズナに存在するヘキサソース型やヘキササミン型のいずれの糖鎖型の GIPC も分解したことから、GIPC-PLC は糖鎖構造の違いによらず、幅広い GIPC 種に対する分解能をもつと考えられる。

1Aa7

シロイヌナズナ CCR4 family の CCR4E と CCR4F はミトコンドリア局在の NADP phosphatase である

Arabidopsis CCR4E and CCR4F function as mitochondria-localized NADP phosphatases

藤本 貴文¹, 児玉 豊², 石川 寿樹¹, 川合 真紀¹

¹埼玉大・院理工, ²宇都宮大・バイオ

NAD(P)(H)は様々な代謝反応に関与する酸化還元物質であり, NAD(H)は主に呼吸などの異化反応, NADP(H)は主に光合成などの同化反応に使用されている. NAD(H)をリン酸化して NADP(H)に変換する NAD kinase (NADK) はシロイヌナズナにおいて 4 種類存在し, それぞれ異なる細胞内局在性を示す. 一方で, NADP(H)を脱リン酸化し, NAD(H)に変換する NADP phosphatase の実体はこれまで不明であった. 当研究室の先行研究により, 葉緑体局在型 NADK の欠損変異体 (*nadk2*) の表現型を回復させる復帰変異体から CCR4C (*Carbon Catabolite Repressor 4C*) が同定され, 細胞内局在解析やリコンビナントタンパク質を用いた解析から, CCR4C は葉緑体局在の NADP phosphatase であることが示された. シロイヌナズナには CCR4C を含む 9 つの CCR4 family 遺伝子が存在し, 分子系統解析の結果, CCR4E および CCR4F は CCR4C と同一のクレードに属する. 本研究では, CCR4E, CCR4F も同様に NADP phosphatase として機能すると予想し, CCR4E, CCR4F の機能解明を目的に研究を行った. まず, MBP 融合タンパク質として CCR4E および CCR4F を大腸菌で発現・精製し, NADP phosphatase 活性を測定した. その結果, CCR4E, CCR4F の両方で NADP および NADPH 双方に対する phosphatase 活性が検出された. また, GFP を用いた細胞内局在解析の結果, CCR4E-GFP, CCR4F-GFP とともにミトコンドリアのマーカーであるマイトトラッカーと共局在したことから, CCR4E と CCR4F はミトコンドリア局在の NADP phosphatase であることが明らかとなった.

1Aa8

油脂産生微細藻類ナンノクロロプシスの細胞内局在が異なる NAD kinase の解析

Analysis of NAD Kinases with Distinct Subcellular Localizations in the Oil-Producing Microalga *Nannochloropsis*

大橋 そら¹, 児玉 豊², 石川 寿樹¹, 川合 真紀¹

¹埼玉大・院理工, ²宇都宮大・バイオセンター

化石燃料の枯渇とその使用に伴う温室効果ガスの排出は解決すべき社会課題の 1 つである. その解決策の 1 つにバイオマス燃料での代替がある. 二次共生藻ナンノクロロプシス (*Nannochloropsis oceanica*) は, バイオマス燃料の 1 つであるトリアシルグリセロール (TAG) を合成する能力に長けることから近年注目されている. ナンノクロロプシスの光合成や脂肪酸合成は TAG 合成の重要な要素であることが示されており, 酸化還元補因子として主に NADP(H)を用いる. NADP(H)は NAD kinase (NADK) によって NAD(H)がリン酸化されて合成される. シロイヌナズナ *nadk2* 変異体では光合成電子伝達効率が低下することや, ナンノクロロプシスの NADPH を合成する酵素を発現させた緑藻では NADPH 量が増加し, 中性脂質量も増加することが報告されている. 以上から細胞内の NADP(H)の量やリン酸化比は光合成や脂肪酸合成を含めた代謝系に影響を与え, TAG 合成に関与すると考えられる. またナンノクロロプシスは二次共生藻であるため, 光合成生物でありながら陸上植物とは異なる代謝経路を持っている. そこで我々は, *N. oceanica* のもつ NADK を同定し, そののはたらきを明らかにすることを目的として研究を行った. ゲノム解析により 2 つの NADK (NoNADKa, NoNADKb) を単離し, GFP を用いた細胞内局在解析を行った結果, NoNADKa はミトコンドリア局在, NoNADKb は葉緑体局在であることが示され, これらが異なる細胞小器官ではたらくていることが明らかとなった.

1Aa9

シロイヌナズナにおけるオルガネラ間連携を介したシステイン合成機構の解明

Organelle-coordinated cysteine biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*

渡邊 むつみ¹, Bernd Zechmann², Rainer Hoefgen³, 峠 隆之¹

¹奈良先端大・バイオ, ²グラーツ大学(オーストリア), ³ペイラー大 (USA), ³マックスプランク研究所(ドイツ)

自然界の有機硫黄化合物の多くは、植物が無機硫黄を同化して合成したものであり、生物の生命活動に欠かせない栄養源となっている。有機硫黄化合物は抗酸化作用やストレス応答にも関与し、環境ストレス耐性の向上にも寄与することから、植物の硫黄同化機構の解明は、生態系における硫黄循環の理解や、作物の栄養価および耐環境性の向上において重要である。植物の硫黄同化経路は多段階で構成されており、その最終段階でシステインが合成される。システイン合成には、セリンアセチル転移酵素 (SERAT) および O-アセチルセリン (チオール) リアーゼ (OASTL) が関与し、これらの酵素は葉緑体、ミトコンドリア、細胞質といった異なる細胞内区画に局在している。しかし、各区画における酵素群の寄与や局在の生理的意義は、いまだ十分に解明されていない。本研究では、シロイヌナズナの SERAT および OASTL 遺伝子に T-DNA が挿入された変異体および多重変異体を単離し、多様な組織において遺伝子発現解析、酵素活性測定、代謝物解析を行った。その結果、システイン合成における酵素群の寄与は局在するオルガネラごとに大きく異なり、またその機能的寄与は組織によっても変化することが明らかとなった。さらに、免疫金標識法による代謝物の細胞内局在解析により、システインなどの硫黄代謝物が異なる細胞内区画間を移行し、その移行には方向性がある可能性も示された。これらの結果は、植物の硫黄同化が細胞内で空間的に分業され、複数のオルガネラが動的に連携しながら統合的に制御される、多層的かつ組織特異的な代謝調節ネットワークとして機能している可能性を示唆している。

1Aa10

ノンターゲットメタボローム解析によるセレン酸に応じた代謝変化の解析

Non-targeted metabolomics approach to dissect the metabolic changes in response to selenate

Hongqiao Li¹, 森 哲哉², 森山 凜太郎¹, 藤田 萌香¹, 畑中 源喜³, 塩塚 直輝¹, 細見 亮太³, 丸山 明子¹

¹九州大院農, ²理研CSRS, ³関西大化学生命工

セレン (Se) は、多くの生物の必須元素である一方、高等植物では有用元素と位置付けられる。濃度によってストレス低減や生育促進効果を示す反面、高濃度では毒性を示す。土壌中の主な化学形態であるセレン酸は、硫酸イオンと類似し、硫酸イオンの同化過程と同様に、ATP による活性化、セレン化物イオンへの還元を経てセレノシステインへと同化される。タンパク質中のシステインやメチオニン残基へのセレノアミノ酸の取り込みにより毒性を発揮すると考えられている。植物へのセレン酸処理は、S 不足 (-S) に対するのと同様の応答を引き起こすが、与えるセレン酸の濃度によって植物の反応が異なり、セレン酸処理の標的となる代謝系は明確ではない。

本研究では、生育を強く阻害しない濃度のセレン酸処理によって起きる植物の代謝変化の解明を目的とした。0~50 μ M のセレン酸カリウム (K_2SeO_4) を加えた寒天培地上で植物を育成したところ、2 μ M のセレン酸では大きな生育阻害が認められなかった一方、-S 応答遺伝子の発現が上昇した。そこで、2 μ M の K_2SeO_4 を含む、含まない培地で育成した植物をノンターゲットメタボローム解析に供した。 K_2SeO_4 処理により変化する代謝物を調べたところ、グルコシノレート (GSL) とアミノ酸が減少し、フラボノイドが増加していた。S や含硫化合物を測定したところ、GSL やシステイン、ほとんどのアミノ酸が減少する一方で、グルタチオンや総 S 量は維持されていた。これらの結果から、セレン酸の標的が S 同化やアミノ酸合成、エネルギー代謝であることが示唆された。メタボローム解析ではセレン酸により増加、減少する代謝物も検出された。発表ではこれらについても議論したい。

1Aa11

メタボローム解析から探るリンゴ果実の良食味の指標

Exploring an indicator of good taste in apples using metabolome analysis

宮城 敦子¹, 廣瀬 友香², 長谷川 光希², 太田 智弥¹, 高山 宥美³, 多田 史人³, 高品 善³, 安孫子 裕樹³, 村山 秀樹¹

¹山形大・農, ²山形大・院農, ³山形県農研センター・園農研

セイヨウリンゴ (*Malus domestica*) の果実のおいしさには、味、香り、みずみずしさ、食感、外観などが挙げられ、これらの要素が複雑に絡み合っていると考えられている。おいしさの主たる評価法は、食味試験による官能評価であり、併せて分析機器による定量化により糖度や酸度、硬度、水分含量などが評価されている。しかしながら、個々の成分における詳細な分析や評価例は少ない。そこで、本研究では、令和5年度に17品種7系統の各収穫適期（8-11月）に採取したリンゴ果実（山形県農業総合研究センター園芸農業研究所植栽）を用いてメタボローム解析を行い、水分量、食味、硬度、果皮色などの因子と併せて多変量解析を行うことにより、リンゴのおいしさに寄与する因子の特定を目指した。その結果、これまでの報告の通り、リンゴの糖度にはフルクトースが、酸度にはリンゴ酸が最も寄与することが示された。しかし、糖含量が多ければ甘味を呈すとは限らず、アポプラスト液量も呈味を左右することが明らかとなった。また、晩生の品種ほど有機酸含量やアポプラスト液量が低下する傾向が見られた。一部の品種または系統間で糖およびアミノ酸含量において類縁関係が反映されることも見出した。蜜入り品種では、カプロン酸エチルなどのエステル類が多く検出される傾向が見られた。さらに、果皮における地色や着色においてシュウ酸含量と高い相関が見られ、果実の成熟におけるシュウ酸の関与が示唆された。今後、より詳細な解析を行うことにより、リンゴの美味しさに寄与する因子の解明だけではなく、客観的なおいしさの評価法や成分育種の指標として役立つことが期待できる。

1Ba1

Raspberry Pi を用いたゼニゴケ葉状体のタイムラプス撮影システムの構築

Development of a time-lapse Imaging system for *Marchantia polymorpha* thallus using Raspberry Pi

宮野 雄貴, 加藤 壮英, 加藤 晃

奈良先端大・バイオ

植物の育成はその取り巻く環境に大きく影響を受ける。ゼニゴケは無性生殖でも増殖し、約3週間で一巡する生活環を持ち、環境が成長に与える影響を解析するのに適したモデル植物である。しかし、数日ごとで成長を追跡した場合、急激な成長変化を見逃すことがある。そこで本研究では、ゼニゴケの成長様式をより短いタイムラプスで自動撮影するシステムを構築し、葉状体の成長様式の詳細な定量解析を試みた。初めに、Raspberry Pi と複数のカメラモジュールを組み合わせ、1時間間隔で2週間自動撮影する生育ラックを作製し、生育用LEDライト下で4プレート/ラックの同時観察を可能にした。本大会では、通常培地における標準系統株 *Tak-1* の成長解析について報告する。各無性芽が葉状体へと成長するタイムラプス画像からその表面積を取得し、成長の時間的変化を定量的に評価した。その結果、2週間を通して見るとおおそ対数増殖的な成長傾向が確認された。続いて、成長速度に着目すると、成長様式は常に一定ではなく、変遷することが示された。プレートに蒔いた後、無性芽は急速な面積増加が見られるが、2日経過すると成長速度が緩やかになり、さらに5日目以降、成長速度に顕著な日周期性が表れた。これらの結果は、ゼニゴケの成長が一樣ではなく、葉状体の成熟過程に伴う段階性を示していると考えられる。今後、時間経過に伴う表面積、成長速度に加え、形態変化や杯状体形成のタイミングなどをパラメータ化し、多変量解析により統合的な評価を行う計画である。また、本システムを活用し、異なる系統間の成長様式の違いや、環境要因に対する成長の影響を定量的に解析することを目指す。

1Ba2

カリウムトランスポーター *AtHAK5* の活性型のシロイヌナズナでの過剰発現は低カリウム耐性と耐塩性を向上させる

Overexpressing an activated form of potassium transporter *AtHAK5* enhance low potassium and salinity tolerance in transgenic *Arabidopsis*

渡邊 公平, 渡邊 勇貴, 板倉 愛, 鈴木 洋弥, 多田 雄一

東京工科大・応用生物

シロイヌナズナの high affinity potassium transporter 5 (*AtHAK5*) の過剰発現により低カリウム耐性や耐塩性の向上が可能かどうかを検証した。 *AtHAK5* 遺伝子を, *CaMV35S* プロモーター, または根の表皮特異的に発現するシロイヌナズナの Shaker family inward rectifying potassium channel 1 (*AKT1*) プロモーターで制御してシロイヌナズナに導入した。 また, *AtHAK5* は C 末端側にリン酸化部位と自己抑制ドメインをもち, これらを欠失した変異型タンパク質は酵母で常時活性を示すことが報告されている。 そこで, *AtHAK5* の 557 番目のアミノ酸のコドンをストックコドンに改変した活性型変異遺伝子 (*AtHAKΔ556*) を *CaMV35S* プロモーター, または *AKT1* プロモーターで制御してシロイヌナズナに導入した。 得られた組換え体を通常条件と低カリウム条件で栽培して, 根の伸長量とシュートの成長量を測定した。 35S-*AtHAK5*, *AKT1*-*AtHAK5*, 35S-*AtHAKΔ556* 組換え系統は, WT と比較して通常条件でも低カリウム条件での根の伸長量に差はなかった。 *AKT1*-*AtHAKΔ556* 組換え系統は, WT と比較して低カリウム条件で有意に根の伸長量が多い系統が認められ, カリウム含量は有意差はないものの WT と比較して高かった。 さらに, 耐塩性の向上が認められた。 これらの結果から, 活性型の *AtHAK5* を根の表皮特異的に発現させることでカリウムの取り込み能力が強化され, 低カリウム耐性と耐塩性が向上することが示された。

1Ba3

Enhancing salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* by overexpressing a vacuolar Na^+/H^+ antiporter *NHX2* from a halophyte, *Sporobolus virginicus*

Roksana Aftab, Hiromi Suzuki, Yuichi Tada

Grad Sch of Bionics, Tokyo Univ of Technol

Soil salinity affects over 20% of irrigated land globally and is expected to impact over 50% of arable land by 2050, increasing food insecurity. Salinity stress hinders plant growth through toxic Na^+ accumulation. The sequestration of Na^+ into vacuoles, thereby reducing its cytosolic toxicity, is a common salt tolerance mechanism in both halophytes and glycophytes. However, halophytes generally exhibit a stronger ability to sequester Na^+ . In the present study, we investigated the effect of overexpressing *SvNHX2*, a Na^+/H^+ antiporter from the halophyte *Sporobolus virginicus*, on salt tolerance in *Arabidopsis*. Transgenic *Arabidopsis* lines expressing *CaMV35S*-*SvNHX2* were assessed for salt tolerance under control and saline conditions using agar plates and hydroponic assays. On the agar plate test, transgenic lines exhibited improved shoot growth compared to wild-type (WT) plants under salt stress conditions (100 mM and 125 mM NaCl). In hydroponic culture, the transgenic lines showed significantly lower Na^+ levels in both shoots and roots and higher K^+ levels in shoots compared to WT plants under 100 mM NaCl. These results suggest that the overexpression of *SvNHX2* enhanced salt tolerance in *Arabidopsis* by reducing Na^+ accumulation while maintaining K^+ homeostasis and a favorable K^+/Na^+ ratio.

1Ba4

植物油汚染が植物の成長に与える影響

The influence of vegetable oil pollution on plant growth

鈴木 優志¹, 手呂内 伸之²

¹大妻女子大・社会情報, ²大妻女子大院・人間生活文化

家庭から排出される植物油は固めたり紙に吸わせたりして可燃ごみとして処分するのが望ましいが、農水省の調査では、油を土に埋めたり流しに捨てたりする人が約9%いることが報告されている。これらの油は一部が環境中に流出し、土壌や水質を汚染しているが、これらの植物油が植物の発芽・成長にどのような影響を与えるのかについてはほとんど知見がない。本研究は、土壌中に流出した植物油が植物の成長に与える影響を明らかにすることを目的とする。

単子葉植物のコムギ、双子葉植物のシロイヌナズナ、ハツカダイコン、トマト、ミヤコグサを寒天培地に播種し、種子に植物油を数滴ドロップして人工気象器で育成した。いずれの植物種においても、植物油ドロップの有無は発芽率にはほとんど影響しなかった。しかし、植物油をドロップした植物は、コントロール処理区の植物に比べて、発芽後の成長が著しく阻害されていた。さらに、植物油を土に混ぜた模擬汚染土壌を作製し、土壌中の植物油が植物の成長に与える影響について解析したところ、いずれの植物も土に10%の植物油を混ぜた模擬汚染土壌で育てると成長が著しく阻害された。このことは、土壌中の植物油は普遍的に植物の成長を阻害することを示している。また、成長阻害の植物油濃度依存性を調べたところ、シロイヌナズナでは土に対して0.1%の、コムギでは土に対して0.3%の植物油が混入するだけで成長が阻害されることを見出した。このことは、わずかでも植物油が環境中に流出すると、大きな土壌汚染被害を引き起こす可能性があることを示している。

1Ba5

緑藻クラミドモナスにおけるロロキサンチン合成調節に関与する光受容体の探索

Estimation of photoreceptors involved in the regulation of loroxanthin biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*

藤野 真衣, 竹田 恵美

大阪公大・院理学・生物化学

光合成生物は、光量や光質の変化に応じて光合成色素の構成を柔軟に調節し、光利用効率や過剰光からの防御を最適化している。緑藻のモデル生物であるクラミドモナスは、高等植物では蓄積しないカロテノイドであるロロキサンチン (Lo) を弱光条件下で特異的に蓄積する。Loは機能性カロテノイドであるシホナキサンチンの前駆体であり、ルテイン (Lu) から変換されると考えられているが、合成に関与する酵素はこれまで同定されていない。高等植物では、赤色光受容体フィトクロムや青色光受容体クリプトクロムがカロテノイド合成の光制御に関与することが知られているが、クラミドモナスにおける光受容体による制御機構は未解明である。クラミドモナスにはフィトクロムは存在しないとされるが、クリプトクロム様タンパク質として animal-like cryptochrome (a-CRY), plant-like cryptochrome (p-CRY), さらに Phototropin (PHOT) が存在する。

本研究では、クラミドモナスにおけるカロテノイド合成調節機構を明らかにすることを目的とし、まず野生株を用いて異なる光強度下での Lo および Lu の含量を定量した。その結果、光強度が増加するにつれて Lo が減少し、Luが増加する傾向が認められた。さらに、a-CRY, p-CRY, PHOT の各変異株を用いて同様の解析を行い、これら遺伝子の変異株におけるカロテノイド生合成への光の影響を調べた結果を報告する。

1Ba6

Subclass II SnRK2s are involved in stomatal regulation and abiotic stress tolerance in poplar

Borislav Horvat¹, Yuhei Shikakura¹, Taichi Oguchi^{2,3}

¹Life and Earth Sci., Univ. Tsukuba, ²Inst. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, ³T-PIRC, Univ. Tsukuba

SnRK2 is a plant-specific family of signaling kinases, comprising three subclasses (I, II, III). Subclass III has long been known to regulate ABA-responsive stomatal behavior. Subclass II is also involved in ABA-mediated abiotic stress responses; however, in *Arabidopsis thaliana*, it has not been linked to the regulation of stomatal behavior. Nevertheless, we recently reported that poplar plants overexpressing *AtSnRK2.8*, a subclass II *SnRK2* from *Arabidopsis*, exhibited reductions in both stomatal density and aperture. To further investigate the role of subclass II *SnRK2* in stomatal regulation in poplar, we analyzed the phenotypes of poplar plants overexpressing a subclass II *SnRK2* gene derived from poplar. Poplar plants overexpressing *PtSnRK2.7*, a subclass II *SnRK2* from poplar, exhibited lower stomatal density than non-transgenic controls under in vitro conditions. Furthermore, in the netted-greenhouse experiment, *PtSnRK2.7*-overexpressing poplar displayed reduced stomatal conductance and enhanced tolerance to osmotic stress induced by polyethylene glycol 6000, compared to non-transgenic controls. These results suggest that subclass II SnRK2s may contribute to abiotic stress responses in poplar, potentially through the regulation of stomatal behavior.

1Ba7

トマト幼植物の塩・湛水複合ストレスに対する応答

Responses of tomato seedlings to a combination of salt stress and waterlogging

鈴木 伸洋^{1,2}, Taufika Anee^{2,3}

¹上智大学 理工学部, ²Graduate School of Science and Technology, Sophia University, ³Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Sher-e-Bangla Agricultural University

これまで植物の環境ストレス応答に関する研究は、塩、乾燥、湛水および熱などが単独で発生したストレスに注目して行われてきた。しかし、自然界における植物は、これらの複数のストレスが同時に作用する環境にさらされることが多く、それぞれの単独ストレスとは異なる応答機構が働くため、複合ストレスに対する理解を深めることが重要である。近年では、地球温暖化に伴う海面上昇や洪水などの被害増加により、塩および湛水の複合ストレス（塩・湛水複合ストレス）が今後、世界的に増加すると予測されている。そこで本研究では、トマトを用いて、塩、湛水および塩・湛水複合ストレスに対する応答を生育、生理学および分子生物学の観点から解析した。その結果、塩または湛水ストレス単独でも生育抑制が観察されたが、とりわけ湛水ストレスの影響が顕著であった。一方で、塩・湛水複合ストレス下では、湛水による生育抑制が軽減されることが明らかとなった。この現象は、酸化ストレスの程度やプロリンおよび葉緑素の含有量と関連していることも示された。さらに、活性酸素種（ROS）除去酵素の活性はストレスの種類によって異なる挙動を示し、これらの酵素だけでは複合ストレス下における酸化ストレス応答を説明できないことから、他の因子の関与も示唆された。加えて、ROS生成やレトログレードシグナルおよび植物ホルモンシグナルに関与する遺伝子の発現は、ストレス条件だけでなく、植物体内の部位によっても異なることが明らかとなった。これらの結果から、トマト幼植物の塩・湛水複合ストレス応答は、植物体内におけるシグナルの空間的制御にも依存していることが示唆される。

1Ba8

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

Loss-of-function of the *SALT* gene confers salt tolerance on Lch-0

梶野 拓磨¹, 内山 佳織¹, 野田 祐作², 長谷 純宏², 有賀 裕剛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量研高崎量子応用研究所・放射線生物応用研究部, ³農研・遺伝資源研究センター, 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、野生系統間の耐塩性を評価したところ、耐塩性に多様性が見られた。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。様々な遺伝学的解析の結果、Lch-0 の原因遺伝子座に座乗する 1 遺伝子に、数百 bp の塩基挿入を検出した。そこで当該遺伝子の Col-0 背景 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 と比較して、耐塩性を示す *SALT* 遺伝子欠損株では地上部への Na 蓄積が抑制されていたことから、Lch-0 の欠損系統の耐塩性には Na の蓄積抑制が関与することが示唆された。興味深いことに、Lch-0 の *SALT* 遺伝子には数百 bp の挿入以外に、Col-0 と比較して、いくつかの多型が存在する。*SALT* 遺伝子に Lch-0 と同様の多型が生じている野生系統の耐塩性評価の結果から、*SALT* 遺伝子が、植物の耐塩性の多様性に寄与することが示唆された。

1Ba9

長期高温感受性変異株 *sloh7* の解析

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

シロイヌナズナ実験系統である Col-0 は、シロイヌナズナ野生系統間において短期高温ストレス (42°C, 45 分) には比較的高感受性を示す一方、長期高温ストレス (37°C, 5 日間) には耐性を示すことから、高温ストレスの期間によって耐性メカニズムが異なると示唆された。短期高温ストレスには転写因子を起点とした応答が知られているものの、長期高温ストレス耐性メカニズムは未だ不明点が多い。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、Col-0 の EMS 突然変異種子より、長期高温耐性を損なった *sensitive to long-term heat* (*sloh*) 変異株を複数単離し、本研究ではこのうち *sloh7* に関して解析を行った。生理学的解析の結果、*sloh7* は長期高温ストレスに高感受性を示す一方、短期高温ストレスには同程度の耐性を示した。高温以外の非生物学的ストレスに対しては 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* の遺伝学的解析の結果、原因遺伝子は既に同定された *sloh* 変異株とは異なる遺伝子座に座乗し、当該領域を WT と比較したところ、3 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のうち、ある 1 遺伝子の相補系統が *sloh7* の長期高温感受性表現型を相補したことから、原因遺伝子 *SLOH7* の同定に成功した。*SLOH7* は葉緑体で機能していることが示唆されているものの、これまでに高温ストレス応答に関する報告はない新規の遺伝子であった。

1Ba10

シロイヌナズナ耐塩性における *CCX1* 遺伝子の機能解析

Functional analysis of Cation Calcium exchanger genes in salt tolerance of *Arabidopsis*

小山 珠実¹, 長島 由布子¹, 有賀 裕剛², 西村 浩二³, 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農研機構・遺伝資源, ³島根大学・生物資源科学部, ⁴信大・繊維

先行研究において、耐塩性を付与する遺伝子の探索を目的に、シロイヌナズナ近縁の塩生植物である *Eutrema salsugineum* 由来の完全長 cDNA を 35S プロモーターにつないで過剰発現させる、Full-length cDNA over expression hunting (FOX hunting) を行った。スクリーニングの結果、CationCalcium exchanger 1 (*EsCCX1*) を耐塩性付与遺伝子として見出した。シロイヌナズナの相同遺伝子 *AtCCX1* の過剰発現体を作出し、その耐塩性評価をしたところ、*EsCCX1* 同様に耐塩性の向上を示したことから、*CCX1* が耐塩性付与遺伝子として機能することが明らかとなった。*CCX* は様々な陽イオンを輸送する膜局在性の輸送体であり、シロイヌナズナには *CCX1-5* の 5 つのホモログが存在する。興味深いことに私たちの以前の研究において、*CCX4* はゴルジ体に局在する Ca^{2+} 輸送体であり、シロイヌナズナの浸透圧耐性に必須の遺伝子であることを報告している。また他グループより、リンゴの *CCX1* 相同性遺伝子が耐塩性を付与することが報告されている。*CCX1* の局在については液胞膜、あるいは小胞体との報告が混在すること、さらに *CCX1* と *CCX* の中で *CCX1* と最も相同性の高い *CCX2* はゲノム上にタンデムに座乗しており、機能重複が考えられた。そこで本研究では、共局在マーカーを用いた *CCX1* の局在解析、*ccx1 ccx2* 二重変異株の作出と解析を行っている。

1Ba11

ハクサンハタザオ自然集団の毎週トランスクリプトームから見出した季節応答性遺伝子 *STTP* の機能

Analysis of the novel seasonal temperature-tracking gene *STTP*, which was identified in field transcriptome data from *Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*

守屋 健太^{1,2}, 清水 華子¹, 杉阪 次郎¹, 相原 悠介², 深城 英弘², 石崎 公庸², 松林 嘉克³, 本庄 三恵¹, 工藤 洋¹

¹京都大・生態研, ²神戸大・院・理, ³名古屋大・院・理

植物は自然環境下において季節によって移り変わる長期的な気温の変化を感知し、適切に応答し成長する必要がある。しかし、季節応答する遺伝子の機能については未解明な点が多い。私たちは、植物の季節応答性の分子基盤を明らかにするべく、シロイヌナズナの近縁種である多年生草本ハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*) の自然集団を対象とした経時的な野外トランスクリプトーム解析を行った。その結果として、全遺伝子の中で気温の移動平均と遺伝子発現量の間に最も高い相関係数をもつ遺伝子を同定し、*STTP* と命名した。*STTP* と相同な遺伝子は真核生物に広く保存されており、生物の生存に重要な役割を果たす可能性が示唆されるが、機能に関する知見は限られている。本発表では、シロイヌナズナにおける *STTP* ホモログの機能について議論する。

1Ca1

イネにおける SpCas9-NG を用いた paired prime editing における PAM の嗜好性

PAM preference using paired prime editing with SpCas9-NG in rice

横井 彩子¹, 飯田 恵子¹, 森 明子¹, 土岐 精一^{2,3}

¹農研機構 生物研, ²横浜市大・木原生研, ³龍谷大学・農学部

Prime Editing (PE) は、鋳型 RNA を逆転写することで標的遺伝子に任意の改変（塩基置換、挿入、計画的な欠失など）を導入できる技術である。これまでに我々は、prime editing guide RNA (pegRNA) の末端に RNA の分解を阻害する RNA シュードノット配列を付加した改変型 pegRNA (epegRNA) を 2 分子用い、両方の DNA 鎖に同時に変異を導入することで高効率 PE 系をイネで確立することに成功した。この方法は非常に有用であるが、SpCas9 を用いる場合、標的部位に隣接した PAM 配列（NGG および CCN）がないと適用できない。そこで本研究では、NG-PAM を認識する SpCas9-NG バリエーションを用いた PE-NG と NGG-PAM を認識するオリジナル SpCas9 を用いた PE-wt を作出し、標的箇所に隣接した NG-PAM あるいは標的から少し離れた NGG-PAM を標的とする paired epegRNAs と共に発現させて目的の改変を導入できる効率をイネで評価した。

複数のイネの内在性遺伝子において塩基置換や欠失を導入する効率を形質転換イネカルスにおいて評価したところ、PE-NG に対する epegRNA の少なくとも 1 つが NGC-PAM を認識する場合において、PE-wt の効率が PE-NG に比べて常に高いことが明らかになった。一方、PE-NG に対する paired epegRNAs の両方が NGC-PAM 以外を認識する場合は、PE-wt と PE-NG の効率に違いは認められなかった。このことから、PE-NG による変異導入効率は、NGC-PAM の標的部位で特に低いことが示された。

1Ca2

ゲノム編集技術 TiD-X による植物の新規 CRISPR activation ツール開発

Development of the novel CRISPR activation tool using TiD-X in plants

後藤 空吾¹, 城所 聡¹, 古田 忠臣¹, 和田 直樹², 刑部 敬史², 刑部 祐里子¹

¹東京科学大・生命理工, ²徳島大院・社会産業理工

近年、ヒト細胞において複数の Cas タンパク質から構成されるクラス 1 タイプ I CRISPR-Cas を利用した CRISPR activation (CRISPRa) ツールが開発されてきた。これらの技術は構成 Cas タンパク質に機能ドメインを複数融合可能な点や、30 塩基以上の gRNA 標的配列を用いることから、高い活性と標的特異性を兼ね備えた転写活性化ツールとして期待される。一方、植物においてタイプ I CRISPR-Cas を用いた CRISPRa ツールの報告は少なかった。我々は、タイプ I-D CRISPR-Cas を利用したゲノム編集技術 TiD を開発した。TiD は Cas3d, Cas5d, Cas6d, Cas7d, Cas10d, Cas11d と 35-36 塩基を標的とする gRNA を用いて標的配列の認識と切断を行う。最近、従来型とは異なる細菌種から同定したタイプ I-D CRISPR-Cas を用い、高いゲノム編集活性を有する改良型 TiD-X を開発した。本発表では、TiD-X を用いた植物における新規 CRISPRa システム「TiD-X activator」の構築について報告する。Cas3d を除き不活性型となった TiD-X を構成する Cas タンパク質に複数の転写活性化ドメインを融合させることで TiD-X activator を作製した。シロイヌナズナにおいて乾燥ストレスへの耐性獲得に関与する *NCED3* 遺伝子を標的とした際に、プロトプラストにおける *NCED3* 遺伝子の発現量が従来の dCas9-activator の 5 倍に対し、TiD-X activator は 15-20 倍程度増加することが明らかになった。さらに、gRNA 標的配列の長さによって、転写活性の強度が調整できることを見出し、最大で 50 倍以上の転写活性化に成功した。本研究により、高い活性を有する新規 CRISPRa ツールとして、TiD activator が植物における遺伝子発現制御に応用できることが期待できる。

1Ca3

高活性型 TiD (TiD-X) を用いた高効率イネゲノム編集技術の確立

Development of efficient genome editing using TiD-X in rice genes

室本 翔太¹, 阿江 祐迪², 丸井 和也², 川口 晃平¹, 和田 直樹², 刑部 敬史², 刑部 祐里子¹

¹東京科学大・生命理工, ²徳島大・大学院社会産業理工

我々はこれまで、藍藻 *Microcystis aeruginosa* 由来 Type I-D CRISPR-Cas を用いた新たなゲノム編集技術 TiD を構築した。TiD は gRNA 標的配列が CRISPR-Cas9 よりも長く、特異性が高い技術として期待される。また、小さな塩基挿入・欠失に加え、標的配列から双方向の長鎖欠失を誘導するという独自の特徴を持つ。我々は最近、別の菌株由来の高活性型 TiD (TiD-X) の構築に成功した。本発表では、イネにおける TiD-X を用いた高効率ゲノム編集技術の確立について報告する。*OsDEP1* を標的とする 5 種の crRNA 標的配列をそれぞれ TiD-X 発現ベクターに導入し、イネ (日本晴) カルスに形質転換した。TiD-X 形質転換カルスにおいて長鎖 PCR による変異解析を行った結果、いずれの標的配列においても 50% 以上のカルスで長鎖欠失が検出された。Nanopore シーケンスによる詳細な変異解析により、*OsDEP1* 全長を欠失した変異配列等、最大 10.6 kbp の様々なパターンの長鎖欠失変異が検出された。次に、カルスから再生した TiD-X 形質転換シュート (T0) において変異解析を行った結果、2 種の標的配列においてそれぞれ 24% および 61% のシュートでバイアレリックな長鎖欠失変異が示された。T0 世代において得られた *OsDEP1* 変異体は既報と同様に半矮性の表現型を示し、次世代 (T1) では、T0 と同一の長鎖欠失変異を有するホモ変異個体がそれぞれ 14% および 100% の頻度で得られた。以上より、イネにおいて TiD-X は高い効率で長鎖欠失を誘導することが示され、植物遺伝子機能改変の基盤技術として利用できることが明らかとなった。今後、様々な植物種における TiD-X によるゲノム編集技術の応用、および TiD-X の変異導入メカニズムの解明を進める。

1Ca4

国産ゲノム編集技術 TiD-X と高効率形質転換技術を組み合わせた作物育種基盤の構築

Evaluation of gene-editing efficiency in commercial cultivars using a modified Type I-D CRISPR-Cas (TiD-X)

濱田 晴康¹, 島谷 善平¹, 山田 創¹, 近藤 京子², 城所 聡², 和田 直樹³, 村上 愛実³, 長楽 佳奈³, 刑部 祐里子², 刑部 敬史³, 柳楽 洋三¹

¹(株)カネカ・食糧生産支援SU, ²東京科学大・生命理工学院, ³徳島大院・社会産業理工学研究部

ゲノム編集技術は農作物の品種開発を劇的に加速し得る革新的技術として大きな期待が寄せられる。しかし、汎用的に用いられる編集技術 Cas9 においては、海外基本特許に加え周辺特許の増加により、これらに対する抵触リスク回避が複雑化しており、商業利用の障壁となっている。一方、現行の遺伝子デリバリー法の多くは、その適用がモデル品種へ限定されるため、ゲノム編集を含めた形質転換技術を育種へ展開する上で障害となっている。そこで我々は、上記ボトルネックを解消したゲノム編集による育種基盤技術の構築を目指すこととした。本検討では、既存ゲノム編集技術に抵触しない国産ゲノム編集技術 TiD-X (Type I-D CRISPR-Cas システム)、および多品種に適用可能な弊社植物形質転換技術を組み合わせ、実用品種における TiD-X の変異導入効率を評価した。2A 自己開裂ペプチド配列を介して複数の Cas 遺伝子を連結させたオールインワンベクターを構築し、アグロバクテリウムを介してイネおよびジャガイモの各外植片に導入した。形質転換後の各々の再分化個体について、long-PCR 法を用いた長鎖 DNA 欠失変異解析および NGS による欠失領域の検出を行い、実用品種における TiD-X の機能を評価した。本発表では、これらの結果について報告すると共に、ゲノム編集技術と植物形質転換技術をパッケージ化した応用展開の可能性について紹介する。本発表内容は JST-ASTEP 産学共同 (本格型) 「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」における研究成果の一部である。

1Ca5

植物細胞における CRISPR-Cas3 の RNP を用いたゲノム編集の検証

Genome editing using CRISPR-Cas3 RNP in plant cells

雑賀 啓明¹, 原 奈穂¹, Hongpu Wang¹, 遠藤 真咲¹, 吉見 一人²

¹農研機構・生物研, ²東京大・医科研

大腸菌由来の CRISPR-Cas3 (Eco CRISPR-Cas3) は標的部位に一方の長い欠失を導入できるゲノム編集ツールである。前回大会では、*Agrobacterium* 法を用いた Eco CRISPR-Cas3 によるイネの標的変異導入技術について報告した。本発表では、植物における Eco CRISPR-Cas3 による DNA フリーゲノム編集技術を開発することを目的とし、モデル植物シロイヌナズナを材料に、Eco CRISPR-Cas3 の ribonucleoprotein (RNP) を用いたゲノム編集実験の結果について報告する。Eco CRISPR-Cas3 は、標的配列の認識に関わる Cascade 複合体 (5 つの Cas タンパク質と crRNA) と DNA 切断に関わる Cas3 タンパク質で構成される。まず、これらの構成因子を個々に発現させるプラスミドを構築し、PEG 法によりシロイヌナズナのプロトプラストに共導入した。導入後 48 時間後のプロトプラストから抽出した DNA を用いて PCR を行い、そのシーケンスを解析したところ、3.8kb の欠失が確認された。次に、Cascade 複合体の RNP と Cas3 タンパク質を用いて同様の実験を行った結果、標的部位に長い欠失が生じたと考えられる短い PCR 産物が増幅された。以上から、双子葉植物においても Eco CRISPR-Cas3 による変異導入が可能であり、また、Eco CRISPR-Cas3 の一過的発現や RNP によっても変異導入が可能であると考えられた。今後は、ダイズ等主要な双子葉作物にも、Eco CRISPR-Cas3 によるゲノム編集を適用する予定である。

1Ca6

葉緑体ゲノム標的 A-to-G 置換酵素の活性および正確性の向上の試み

Trials to enhance the activity and precision of chloroplast-genome-targeted A-to-G base editors

中里 一星, 田村 美子, 増田 麗子, 堤 伸浩, 有村 慎一

東大・院農生

葉緑体ゲノムにコードされる光合成関連遺伝子の改変によって作物の収量が増加する可能性があり、ゲノム編集技術はその基盤技術として期待される。葉緑体ゲノムに局在する標的 A-to-G 置換酵素 transcription activator-like effector-linked deaminases (TALED) は塩基置換効率が低いものの、標的領域のどの位置の A が置換されやすいかは不明であり、また塩基置換ドメイン TadA8e の特性上 T や C の直後の A (それぞれ TA, CA と表記) と比べて G や A の直後の A (それぞれ GA, AA と表記) は置換されにくいと考えられた。本研究では、GA の置換活性が高いことが報告されている TadA8r を塩基置換ドメインとして用いた改変型 TALED (TALEDr) を作製し、シロイヌナズナの葉緑体ゲノムにおいて、これらの酵素の間で GA, AA, TA, CA の置換効率を比較する共に、標的領域において置換されやすい A の位置の傾向を調べた。両酵素の間で CA の置換頻度に差は見られなかったが、TALEDr は TALED と比べて GA を高頻度に置換した。なお、TA や AA の置換頻度は現在解析中である。また、どちらの酵素も標的領域の中央付近の A を置換したが、とりわけ TALEDr はその範囲が広く、正確性に課題を残した。そこで、TALED や TALEDr の塩基置換ドメインに正確性の向上が期待される変異 V28R を導入した TALEDV28R や TALEDrV28R を作製し、標的領域において置換される塩基の数が減少するかどうかを現在検証している。

1Ca7

ペプチド修飾カーボンナノチューブを利用したミトコンドリアへの効率的な遺伝子送達法

Peptide-modified single-walled carbon nanotubes for enhanced gene delivery in plant mitochondria

小田原 真樹^{1,2}, 森 真愛², Simon Law², 沼田 圭司^{1,2}

¹京大・院工学, ²理研・CSRS

植物ミトコンドリアは呼吸を担うとともに、農業上重要な形質である細胞質雄性不稔にも関与するオルガネラである。外部からの遺伝子導入による植物ミトコンドリアの改変技術は強く望まれているが、いまだ実現には至っていない。私たちの研究室では、高分子科学を基盤とした植物オルガネラ改変技術の開発に取り組んでおり、これまでに、単層カーボンナノチューブ（SWCNT）の表面に機能性ペプチドを修飾したキャリアを用いることで、植物ミトコンドリアへの効率的な遺伝子送達を達成してきた。一方で、上記キャリアはミトコンドリアへの選択性が十分でないという課題も明らかになっている。本研究では、従来 SWCNT の修飾に用いていた酵母由来ミトコンドリア移行ペプチド Cytcox に着目し、これを植物遺伝子 HSP60 由来の移行シグナルである PMTP に置換することにより、遺伝子送達効率およびミトコンドリア選択性への影響を評価した。PMTP 修飾 SWCNT を用いたシロイヌナズナ根のミトコンドリアへの遺伝子送達に成功し、その効率は従来の Cytcox 修飾 SWCNT に比べ約 2 倍に向上した。一方で、ミトコンドリア選択性の指標として核への送達を評価した結果、PMTP 修飾 SWCNT では Cytcox 修飾 SWCNT に比べて約 30%に低下しており、ミトコンドリア選択性の向上が示唆された。また、PMTP 修飾 SWCNT は細胞毒性が低く、シロイヌナズナのさまざまな生育ステージの根や成熟葉のミトコンドリア、さらにはタバコ葉ミトコンドリアへの遺伝子送達にも適用可能であり、汎用性の高い効率的な遺伝子送達ツールであることが示された。

1Ca8

致死性植物遺伝子の Hypomorphic Mutant を作出するための開始コドン標的型ゲノム編集戦略

A Start Codon-Targeted Genome Editing Strategy for Generating Hypomorphic Mutants of Lethal Plant Genes

吉村 美香, 石田 喬志

FAST, Kumamoto Univ.

植物遺伝子の機能解析を行う際、生存性に重要な遺伝子は完全な機能喪失変異体は致死的な表現型を示すため困難となる場合が多い。本研究では、翻訳開始コドンを標的としたゲノム編集により、生存可能な hypomorphic allele を作出する新たな戦略を提案する。モデルケースとして DNA 修復とゲノム安定性の維持に関与する SMC5/6 複合体の構成因子であり既報の T-DNA 挿入変異体が胚性致死を示すシロイヌナズナ *NSE1* に着目し、ゲノム編集を行った。CRISPR-Cas9 システムの導入により開始コドンを欠失させた *NSE1* の変異体アレルを作出し、これより得られたホモ接合体は矮化や本葉の発生不良など重度の形態異常を示した。また、DNA 損傷の増大や DNA 修復と細胞周期チェックポイント遺伝子の発現上昇、根端分裂組織における細胞死などのゲノム不安定性を示唆する表現型を観察した。これらの結果から、我々が提案する方法は、RNAi のように構築や系統選抜に労力を必要としない、簡便に hypomorphic allele を作出する汎用性の高いアプローチと言える。本法の活用により、遺伝子機能解析の選択肢を拡げ、遺伝学的解析が困難だった重要な遺伝子の機能解析が可能となり、植物の基礎生物学や応用研究における有用なツールとなると考えている。

1Ca9

DR 遺伝子恒常発現による形態異常を回避する分化制御システムの構築

Development of the differentiation control system to circumvent morphological abnormalities caused by constitutive expression of DR genes

小山 翔平¹, 井川 智子^{1,2,3}

¹千葉大・院園芸, ²千葉大・植物分子科学, ³千葉大・宇宙園芸

植物組織培養では、培地中に植物ホルモンなどの植物成長調節物質（PGR）を添加することで、細胞の脱分化や再分化を通じて植物体を再生させることができる。この方法を基盤として細胞に遺伝子を導入することによって遺伝子組換え植物を獲得できるが、分化誘導のために必要な PGR の種類や濃度などは植物種や組織によって異なり、有用な遺伝子組換え植物作出を妨げる要因の一つとなっている。

これまでに植物の形態形成や胚発生に関する遺伝子（Developmental Regulator genes; 以下 DR 遺伝子）を過剰発現させた植物体の組織から自発的な分化が誘導される研究報告はあったが、所属研究室では 2 種類の DR 遺伝子（*BABY BOOM*, *WUSCHEL*）を発現させることで、完全な PGR フリー培養条件下で組換え細胞からの分化誘導に成功した（Sato et al. 2024）。しかし分化後も DR 遺伝子の恒常的な発現が高レベルで続くと再生植物体が奇形になる。

そこで本研究では、恒常的な DR 遺伝子発現を停止するシステムを構築した。このシステムでは DEX 誘導性プロモーターを用いて Cre-*loxP* による相同組換えを起こすことで、任意のタイミングで DR 遺伝子を植物ゲノム上から脱落させ、恒常発現を停止させて形態異常を回避する。再分化シュートを DEX 処理後、遺伝子が脱落した一部の植物体が正常な形態に成長した。ただし遺伝子脱落効率に課題を残したため、誘導制御系および誘導法の改良を進めている。本演題で進捗状況を報告する。

1Ca10

オレイン酸の割合が高まったシロイヌナズナ変異体系統群の生育への影響評価

Influence of Accumulation of Oleic Acid in Arabidopsis Mutants

金澤 宏哉¹, 榊原 章太², 川合 真紀¹, 石川 寿樹¹, 山口 雅利¹

¹埼玉大・院理工, ²埼玉大・工

私たちが利用する植物油中には、炭素数や不飽和度が異なる脂肪酸が含まれており、それらの脂肪酸組成は植物種によって異なっている。オレイン酸（18:1）は、酸化されにくく安定な特性を持つことから、その割合を高めることは、付加価値が高い油として期待されている。植物の脂肪酸生合成は、FAD2, FAD6 によってオレイン酸（18:1）からリノール酸（18:2）への不飽和化反応が行われる。また、アブラナ科では FAE1 によってオレイン酸（18:1）からエイコセン酸（20:1）への伸長反応が行われる。シロイヌナズナにおいて FAD2 や FAE1 をノックダウンさせた変異体がオレイン酸の割合を高めることが明らかになっている。しかしながら、これらの遺伝子の機能を完全に欠失させたノックアウト変異体の解析はされていなかった。そこで私たちは、オレイン酸の高蓄積化が種子形成や生育にどのような影響をもたらすかを調べるために、ゲノム編集技術によりノックアウト変異体系統群を作出し、それらの表現型を解析した。*fad2* 単独変異体、*fae1* 単独変異体、*fad2fae1* 二重変異体は、野生型と比較して、種子あたりの脂肪酸蓄積量には変化がないものの、オレイン酸の割合が高まることが明らかとなった。また、各ノックアウト変異体の生育への影響を調べた結果、*fad2* 変異体では発芽率が低下することが明らかとなった。興味深いことに、オレイン酸の割合が最も高い *fad2fae1* 二重変異体は、*fad2* 単独変異体の発芽率よりも高まる傾向を示した。現在、発芽後の生育やストレス条件下での発芽率の検証を行っており、これらの観察結果についても報告する予定である。

1Ca11

油料作物の DGAT1 活性をゲノム編集による 1 アミノ酸置換で改良する試み

Attempt to improve DGAT1 activity in oil crops by single amino acid substitution by gene editing

畠中 知子, 笹山 大輔, 深山 浩, 東 哲司

神戸大・農学

アシル-CoA:ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ (DGAT) は、トリアシルグリセロール (TAG) 合成の最終段階を触媒する。シロイヌナズナ、ダイズ、ヒマ、ベルノニア、ヒマワリ、ジャトロファ、ゴマの *DGAT1* 遺伝子を、酵母に導入して比較したところ、TAG 蓄積量が少ない 3 種 (シロイヌナズナ、ヒマ、ダイズ) と、それらより蓄積量が約 10 倍高い 4 種 (ベルノニア、ヒマワリ、ジャトロファ、ゴマ) に分かれた。前者 3 種 ('Low'グループ) と後者 4 種 ('High'グループ) の DGAT1 アミノ酸配列を比較すると、特徴的に異なるアミノ酸残基が 3 ヶ所見つかった。ダイズ DGAT1 のこれら 3 ヶ所のアミノ酸残基を 'High'グループのアミノ酸に置換すると、TAG 蓄積量は野生型ダイズ DGAT1 の 2.1~3.7 倍に増加した。シロイヌナズナ DGAT1 で同様の実験を行うと、高いものでは TAG 蓄積量は野生型シロイヌナズナ DGAT1 の約 8 倍に上昇し、'High'グループに属するヒマワリ DGAT1 の値に近かった。これらのうち、A286V は (GCA) → (GTA) であり、「切らないゲノム編集」である「塩基編集」技術が利用可能であることがわかった。現在、ターゲット付近の塩基配列がシロイヌナズナと同じである、油料作物カメリナの *DGAT1* について「塩基編集」技術による改良を試みている。

1Da1

シャクヤクバイオナーサリーシステムの開発とその活用

Development of a bio-nursery system for *Paeonia lactiflora* and its application

山本 和彦¹, 乾 貴幸¹, 河野 徳昭¹, 田村 隆幸², 小島 英^{3,4}, 米田 健一³, 富田 武志⁵, 山路 弘樹⁵, 小松 かつ子⁶, 吉松 嘉代¹

¹医薬健康研薬植セ, ²富山県薬総研, ³奈良県農業研究開発セ, ⁴奈良県農業水産振興課, ⁵ツムラ, ⁶富山大和漢研

シャクヤク (*Paeonia lactiflora* Pall.) は、ボタン科の多年草で根が生薬として利用される。シャクヤクの使用量は年々増加しているものの、その供給のおよそ 97% を中国に依存しており、国内栽培の拡大が求められている。シャクヤクは、株分けで栽培する場合は 3 年以上、種子から栽培する場合は 6 年以上の栽培期間を要し、短期間で大量増殖が困難であることから、種苗の供給が大きな課題の一つとなっている。我々は、シャクヤクの種苗供給の課題解決に貢献するため、植物組織培養技術を活用したバイオナーサリーシステムの開発を行っており、これまでにシャクヤク培養苗の育成方法や水耕栽培方法について報告している。今回、シャクヤク培養苗の培養条件及び馴化条件の改良と、その後の圃場栽培の結果について報告する。

シャクヤク種子または根茎より作出した培養苗を用いて、シュート増殖時の温度条件、発根誘導時のカルシウム濃度、発根苗の馴化方法について検討した。シュート増殖時の培養温度は、15°C 一定に比べて 15/5°C の変温条件が適していた。発根誘導時のカルシウム濃度は高い方 (6 mM Ca²⁺) が植え出し後の生存率が高く、苗の生育も良好であった。馴化方法は、発根誘導した培養苗を 4°C で 1 ヶ月程度低温処理後、20°C 一定の閉鎖温室へ植え出す方法が適していると考えられた。

現在、上記の方法で複数系統のシャクヤク培養苗を育成し、優良系統の選抜のための圃場栽培を進めている。その進捗も合わせて報告する予定である。

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

1Da2

Streptomycin 耐性遺伝子を用いたシロイヌナズナおよびゼニゴケの形質転換体選抜

Applying Streptomycin resistance genes to selection of transgenic *Arabidopsis thaliana* and *Marchantia polymorpha*

三木 葵葉¹, 池田 陽子², 秋山 樹菜¹, 島谷 真奈¹, 小林 括平¹, 賀屋 秀隆¹

¹愛媛大・農, ²岡山大・資源研

植物の形質転換体作製において、選抜マーカーは重要な役割を果たす。シロイヌナズナでは主に Hygromycin や Kanamycin が使用されている。ゼニゴケでは Hygromycin や Chlorsulfuron が一般的に使用されており、昨年新たに Sulfadiazine とその耐性遺伝子が新たな選抜マーカーとして利用可能だと報告された。我々はシロイヌナズナとゼニゴケにおいて、安価で利用可能な Streptomycin とその耐性遺伝子 *SmR* に着目した。本研究で *SmR* として用いた *aadA* 遺伝子産物は Streptomycin と Spectinomycin の両方を不活性化することが知られている。本研究では、これらの抗生物質に対する各植物の感受性を評価した。その結果、シロイヌナズナの芽生えは、Streptomycin 30–50 mg/L, Spectinomycin 10–30 mg/L で感受性を示した。ゼニゴケ Tak-1 株の葉状体からの再生時においては、Streptomycin 30–50 mg/L, Spectinomycin 10–30 mg/L で感受性を確認した。次に、レポーターとして *GUS* 遺伝子をもつ *pRI-PcUBI::GUS_SmR* をシロイヌナズナに形質導入し、Streptomycin による選抜の有効性を検証した。その結果、Streptomycin 30 mg/L で形質転換体候補を選抜し、GUS 染色と T-DNA の挿入を確認した。次世代では、Spectinomycin 10 mg/L での耐性と Hygromycin や Kanamycin への感受性を確認した。これらの結果は *SmR* 遺伝子が Hygromycin や Kanamycin とは独立に利用できることを示している。ゼニゴケには *pRI-ZmUBI::GUS_SmR* を葉状体に形質導入し、Streptomycin および Spectinomycin を用いて選抜を行っている。現時点で Streptomycin 100 mg/L で植物全体が GUS 染色された個体を確認できた。今後、選抜条件を最適化し、効率的な選抜方法について報告する予定である。

1Da3

ゼニゴケ葉緑体工学によるアスタキサンチン生産

Production of astaxanthin by chloroplast genetic engineering in liverwort

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

¹石川県大・資源研, ²神戸大・院理学, ³神戸大・院農学, ⁴近畿大・院生物理工

葉緑体は、さまざまな代謝産物を合成する場であり、核とは別に独自の DNA (葉緑体 DNA) を持つ。葉緑体 DNA は、1 細胞中に 1,000 コピー以上存在するため、葉緑体ゲノムを改変することができれば、目的タンパク質の大量発現が可能となる。そこで我々は、ゼニゴケを用いて、葉緑体工学による有用物質生産研究を行っている。

本研究では、葉緑体代謝産物であるカロテノイドをターゲットとして、ゼニゴケ葉緑体工学による有用物質 (アスタキサンチン) 生産を試みた。まず、相同組換えを起こすための領域、スペクチノマイシン耐性遺伝子、およびアスタキサンチン合成酵素遺伝子を持つ葉緑体形質転換用ベクターを作成した。次に、このベクター DNA をパーティクルガンによって、ゼニゴケ幼植物に撃ち込んだ。スペクチノマイシン耐性により選抜し、得られた耐性株のゲノム PCR により、相同組換えが起こっているかを確認した。その結果、複数個の相同組換え株を得ることができた。これらの相同組換え株は、褐色を呈しており、HPLC-PDA 分析の結果、野生型にはないアスタキサンチンを生産していることが明らかとなった。

葉緑体形質転換の有効性を検証するために、並行して、葉緑体移行ペプチドを付加したアスタキサンチン生合成酵素遺伝子をゼニゴケの核ゲノムに形質転換した核形質転換株を作出した。これらの遺伝子導入とアスタキサンチン生産を確認した後、葉緑体形質転換株とアスタキサンチン生産量を比較した。その結果、核形質転換株と比較して、葉緑体形質転換株は約 3 倍のアスタキサンチンを生産していた。以上のように、葉緑体での物質生産が有効であることが明らかになった。

1Da4

高油脂生産性藻ナンノクロロプシスにおけるポリリン酸と脂質代謝を標的とした二重ゲノム編集によるトリアシルグリセロール蓄積の改変

Engineering triacylglycerol accumulation by double genome editing targeting polyphosphate and lipid metabolism in the oleaginous microalga *Nannochloropsis oceanica*

岡崎 久美子¹, 岩井 雅子², 栗田 朋和³, 堀 孝一⁴, 下嶋 美恵⁴, 前田 真一郎⁵, 高見 明秀⁵, 山本 卓^{1,3}, 太田 啓之^{2,4}, 坂本 敦¹

¹広島大・院統合生命, ²ファイトリピッド・テクノロジーズ, ³広島大・ゲノム編集イノベーションセンター, ⁴東京科学大・生命理工院, ⁵マツダ・技術研

微細藻類は再生可能なエネルギーの生産源として有望視され、なかでもナンノクロロプシスは栄養飢餓などのストレス条件下でトリアシルグリセロール（TAG）を高度に蓄積するため注目されている。この目的で一般に微細藻類に適用される窒素欠乏は、TAG 蓄積を強力に誘導する反面、細胞増殖や光合成機能への阻害的影響が極めて大きいため、相対的に緩やかな栄養飢餓条件であるリン欠乏下で TAG の蓄積を増強させる遺伝子改変を試みた。ナンノクロロプシスでは吸収されたリン栄養（無機リン酸）はポリリン酸として貯蔵されるが、その合成酵素 SPX2 の遺伝子破壊はリン欠乏下でさらに TAG の蓄積を増加させた。このとき、*spx2* 株ではオートファジーやオルガネラ間脂質輸送関連遺伝子の発現が顕著に上昇していたことから、貯蔵リンの低下がリン欠乏に応答した栄養資源の再分配を加速化したことが示唆された。一方、TAG 合成/分解系の遺伝子発現は SPX2 破壊による影響があまり見られなかったことからリパーゼを第二の改変のターゲットとし、プラチナ TALEN を用いたゲノム編集により SPX2 と LIPASE 14（LIP14）を破壊した二重変異株を作出した。*spx2 lip14* 二重変異株は、野生株やそれぞれの単一遺伝子破壊株と比較して、細胞当たりバイオマス量と TAG 蓄積量が約 2 倍に増加しており、培養液当りで比較しても有意な増加がみられた。以上の結果は LIP14 の遺伝子破壊によってリン欠乏下での TAG 分解が抑制されたことを示唆しており、リン欠乏応答を加速化させるポリリン酸の代謝改変との組み合わせが TAG 蓄積の増強に有効であることを示している。

1Da5

イナゴマメガラクトマンナン生合成経路酵素の同定と機能解析

Identification and Functional Analysis of the Genes Related to Galactomannan-biosynthesis from Carob, *Ceratonia siliqua*

日渡 祐二^{1,2}, 藤原 楓², 遠藤 春香², 阿久津 光紹³

¹宮城大・食産業, ²宮城大・院食産業, ³青葉化成(株)

イナゴマメ（*Ceratonia siliqua*）は地中海沿岸に栽培されるマメ科植物であり、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である。LBG は増粘多糖類として食品加工に利用されているが、国内ではそのすべてを輸入に依存している。私たちは、植物細胞培養系を利用した GM の国内生産を目指し、その基盤技術の開発に取り組んでいる。本研究では、GM 生合成経路の最終段階に関与する酵素に着目し、イナゴマメのゲノム解析を通じて、マンナン合成酵素（ManS）およびガラクトマンナンガラクトース転移酵素（GMGT）のホモログを同定した。これらの酵素はそれぞれ GDP-マンノースおよび UDP-ガラクトースを基質とし、GM 合成に直接関与することが知られている。さらに、胚乳で高発現する *CsManS* および *CsGMGT* を見出し、これらが GM 生合成の鍵酵素遺伝子である可能性を示唆した。また、これらの遺伝子の機能解析を目的として、形質転換が容易で細胞増殖性に優れるモデル植物ヒメツリガネゴケを用いて、*CsManS* および *CsGMGT* の解析系としての適性を評価した。まず、細胞内に基質が内在するかを LC-MS/MS で調べた結果、GDP-マンノースおよび UDP-ガラクトースの存在が確認され、機能解析に適した系であることが示唆された。現在、*CsManS* または *CsGMGT* を発現させたヒメツリガネゴケ形質転換体の解析を進めている。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。

1Da6

Bioproduction of Glycyrrhizin using the Tsukuba System in Tobacco Leaves

Muchammad Fanani¹, Kenji Miura², Hikaru Seki^{1,3}

¹Dept. Biotechnol., Grad. Sch. Eng., Univ. Osaka, ²T-PIRC, Univ. Tsukuba, ³OTRI, Univ. Osaka

Glycyrrhizin is a natural zero-calorie sweetener triterpenoid saponin that also has health benefits. It is widely used in the food, cosmetics, and pharmaceutical industries. However, its production currently depends on extraction from licorice plants, which requires harvesting underground tissues after long cultivation periods. This raises concerns about supply chain stability, environmental impact, and plant biodiversity. To address these issues, we developed an alternative bioproduction system using tobacco (*Nicotiana benthamiana*) leaves as a heterologous host. We applied the "Tsukuba System", a binary vector equipped with a geminiviral replication system that enables high-level transient expression of biosynthetic genes in plant cells. Using this approach, we successfully produced glycyrrhizin in tobacco leaves. To further enhance yields, we applied a push-pull strategy by co-expressing genes that boost precursor supply. In this presentation, we will share our recent progress in optimizing this plant-based bioproduction system of glycyrrhizin and discuss strategies to improve yield and pathway efficiency.

1Da7

自己遮蔽効果が藍藻 *Synechococcus elongatus* PCC 7942 の光合成・代謝・物質生産に及ぼす影響

Effects of cellular self-shading on photosynthetic metabolism and bioproduction in cyanobacteria *Synechococcus elongatus* PCC 7942

加藤 悠一¹, 田中 謙也², 釜阪 紘平², 松田 真実², 小泉 裕子², 大林 龍胆³, 蘆田 弘樹⁴, 近藤 昭彦^{5,6}, 蓮沼 誠久^{2,5}

¹富山県大・工, ²神戸大・先端バイオエセ, ³東京都立大・理, ⁴神戸大院・人間発達環境, ⁵神戸大院・科技イノベ, ⁶バックス・バイオイノベーション(株)

光合成微生物である藻類(微細藻類・藍藻)は、太陽光をエネルギー源として、CO₂のみを炭素源として培養することが可能である。持続可能な社会の実現に向けて、藻類を宿主としたCO₂を直接原料とする有用物質生産が期待されている。藻類を培養する際、細胞が互いに光を遮蔽し合う「自己遮蔽効果」が問題となる。自己遮蔽効果により、細胞密度が高くなるほど個々の細胞の受光量が低下するため、光独立栄養条件において藻類が達成できる細胞密度には限界がある。また、細胞密度の増加は有用物質の生産量向上に寄与する一方で、その際同時に自己遮蔽効果による光合成効率の低下も発生すると考えられるが、十分な検証は行われていなかった。

本研究は、藍藻 *Synechococcus elongatus* PCC 7942 をモデルとして、自己遮蔽効果が藻類の光合成・代謝・物質生産に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。PCC 7942 細胞を異なる細胞密度で培地に懸濁し、¹³C 標識した CO₂ を供給しながら培養した。カルビン回路では細胞密度が高いほどの代謝物への ¹³C の取り込み率が低下し、この傾向は TCA 回路においてさらに顕著であった。次に、ムコン酸生成遺伝子を導入した組換え株を用いて、有用物質生産に対する自己遮蔽効果の影響を検証した。細胞密度が高すぎる場合にムコン酸生産量の低下が見られ、これは自己遮蔽効果による悪影響であると考えられた。

以上のように、本研究は自己遮蔽効果の影響を藍藻において実験的に示すことに成功した。今後、自己遮蔽効果を回避する培養技術の開発や、自己遮蔽効果下での有用物質に適した株の開発において、本研究で得られた知見の活用が期待される。

1Da8

微細藻類の核ゲノムを標的とする高発現ベクターの開発

Development of high expression vector targeting the nuclear genome of microalgae

竹中 理莉¹, 田村 泰造¹, 西尾 拓真³, 鬼丸 洸³, 吉見 暢³, 東田 英毅³, 加藤 晃^{1,2}

¹奈良先端大・バイオ, ²奈良先端大・CDG, ³株式会社 ちとせ研究所

生物の機能を利用して細胞に高付加価値物質を生産させる技術開発において、藻類は太陽光エネルギーを利用することでCO₂を初発炭素源として様々な物質を生産できることから、優れた宿主として注目されている。藻類の葉緑体ゲノムを標的とする形質転換技術が確立されて以降、葉緑体で脂肪酸やアミノ酸など産業に直結した物質を生産させる技術開発が活発に推進された。更に近年では、翻訳後修飾を受けた機能性タンパク質や分泌タンパク質など、核ゲノムを介した外来遺伝子の発現を制御する技術開発も行われている。しかし、多くの藻類において核ゲノムを介した外来遺伝子の発現効率は低い傾向にあり、葉緑体ゲノムに比べて核ゲノムから生産させる外来遺伝子のタンパク質収量は明確に少ないことが報告されている。そのため、藻類核ゲノムを介した有用物質生産には外来遺伝子の発現を現状よりも強力かつ効率的に誘導する技術改良が求められている。

本研究は藻類の核ゲノムを介した有用物質の生産性向上に向けて、外来遺伝子を効率的に発現させる新規発現ベクター系の構築を目的とする。既に、藻類内在および外来プロモーターを用いた転写調節によって、外来遺伝子を高発現させる技術は多くの研究で検証されている。そこで、既存の研究を上回るタンパク質収量の向上を目指すため、mRNA 5'非翻訳領域(5'UTR)を用いた翻訳調節に着目した。現在、対数増殖期にある藻類培養サンプルから高度に翻訳されている内在RNAをポリソーム解析によって単離し、ロングリードRNA-seq解析によって高い翻訳活性を誘導する配列的特徴の同定を進めている。発表では、これらの要素を組込んだ新規発現ベクターについて報告する。

1Da9

タバコ毛状根による組換えタンパク質生産

Development of a recombinant protein production system in *Nicotiana benthamiana* hairy root culture

村上 直也^{1,2}, 梶浦 裕之^{1,2}, 三崎 亮^{1,2}, 藤山 和仁^{1,2}

¹阪大院・工・生物工学, ²阪大・生工国際セ

近年、植物において組換えタンパク質生産が注目されている。本研究ではさらなる植物の可能性を広げるべく、毛状根を用いた組換えタンパク質生産系に着目した。毛状根(Hairy root: HR)は、*Agrobacterium rhizogenes*の感染により誘導される根様組織である。毛状根培養(Hairy root culture: HRC)は液体培地中で植物ホルモン無添加下でも良好な増殖を示し、導入遺伝子が長期的かつ安定的に発現するため、有用物質生産のプラットフォームとして有望と言える。さらに、通常の培養細胞に比べHRCでは培地と組織の分離が容易であり、組換えタンパク質を培地へ分泌させることでバイオマス破碎や抽出工程等を省略でき、培地をそのまま精製工程に用いることも可能になる。

こうした利点に注目し、我々はタバコ近縁種 *Nicotiana benthamiana* の毛状根を用いて、組換えタンパク質の分泌生産システムを構築することを目指した。タンパク質分泌には宿主に応じた適切なシグナルペプチドの選定が不可欠である。しかし、植物由来のシグナルペプチドの探索、特に毛状根に関してはほとんど行われていない。そこでまず、*N. benthamiana* 毛状根に適した分泌シグナルペプチドを探索するため、毛状根培養におけるセクレトーム解析を行った。同定した天然分泌タンパク質がもつシグナル配列を推定し、それらを緑色蛍光タンパク質(GFP)のN末端に融合させ、毛状根で発現させた。本発表では、形質転換毛状根から培地中に分泌したGFP量の測定結果をもとに、各シグナル配列の分泌能について報告する。

1Da10

小胞体貯留組換えタンパク質の新規分解抑止法について

Avoiding Recombinant Protein Degradation by Co-expression of KDEL Receptor Protein

竹本 浩

三菱ケミカル株式会社 Science & Innovation Center

植物で組換えタンパク質発現を行う際、植物の内在性タンパク質分解酵素により組換えタンパク質が分解されることがある。組換えタンパク質が分解を受けると、その製造において分解物の除去工程が必要となり、手間とコストがかかる。そこで、小胞体貯留組換えタンパク質の分解抑制法を開発した。細胞外に運ばれるヒト由来タンパク質を植物で発現させた場合、アポプラストに蓄積する。アポプラストには内在性プロテアーゼが多く存在しており、組換えタンパク質が分解を受けることがある。これまで、アポプラストでの分解を回避するため、発現タンパク質を小胞体に留める方法がとられているが、それでもなお、組換えタンパク質の分解を回避できない場合がある。これは、組換えタンパク質の発現が小胞体貯留システムのキャパシティを超えて多くがアポプラストに流出しているためだと推察される。そこで、小胞体貯留システムの中核となる KDEL 受容体タンパク質を共発現で追加することで、単独発現では分解を受けるタバコ過性発現組換えタンパク質の分解を回避できるか検討した。

ヒト由来 Oncostatin M (OSM) は、KDEL 配列を付与して小胞体貯留型としても部分的に分解を受ける。本タンパク質をヒトあるいは *Nicotiana benthamiana* 由来の KDEL 受容体と共発現することで部分分解を著しく抑制することが出来た。発現タンパクを部分精製して生理活性を調べたところ市販品の活性と同等であり共発現が OSM の活性にネガティブな影響をもたらさないことが確認された。ヒト由来 VEGF165 についても同様な分解抑止効果が認められることから本法が小胞体貯留組換えタンパク質に広く適応可能であることが示唆された。

1Da11

イネもやしを用いた有用タンパク質の超低コスト生産手法の開発

Development of a method to produce a useful protein with cost-effectiveness using an etiolated rice seedling

粥川 颯人¹, 清水 瞭太¹, 渡邊 明子¹, 矢原 拓人¹, 下田 蒼^{1,2}, 戸部 隆太¹, 米山 裕¹, 伊藤 幸博¹

¹東北大・農, ²現・農研機構・動物衛生

抗生物質の過剰使用により、多剤耐性菌が蔓延し、畜産業や人の公衆衛生上の脅威となっている。我々は、抗菌タンパク質、抗菌ペプチドを抗生物質の代替薬として利用することを目的に、有用タンパク質を超低コストで生産する手法の開発を行っている。植物を用いて有用タンパク質を生産する場合、植物工場を用いるが、植物工場は照明とそれに伴いエアコンの電気コストがかかる。そこで、暗所での生産を考えた。

まず、暗所で発芽、生育したイネ実生の総可溶性タンパク質量を調べたところ、明所の等量から 7 割ほどの量となった。次に GFP、黄色ブドウ球菌特異的抗菌タンパク質リゾスタフィン、コレラ毒素 B サブユニットをコードする遺伝子をイネに導入し、自殖次世代の種子を明所および暗所で発芽させて目的のタンパク質量を調べたところ、個体あたりのタンパク質量および総可溶性タンパク質量に対する割合の両方が暗所の方が多かった。暗所では光合成タンパク質の発現が抑制されたためと考えられた。

次に、リゾスタフィンの生産量を増やすため、リゾスタフィンの蓄積量が多くなる細胞内局在を調べた。アポプラスト、小胞体、プラスチド、ミトコンドリアへの移行配列を付加したリゾスタフィン遺伝子をイネに導入し、カルスおよび再分化個体の葉でリゾスタフィンの発現を調べたところ、リゾスタフィンはアポプラスト、小胞体、プラスチドに局在させた場合には検出されたが、ミトコンドリアに局在させた場合はほとんど検出されなかった。現在、アポプラスト、小胞体、プラスチドに局在させた場合の明所および暗所でのリゾスタフィン量を調べている。

2Aa1

ムラサキゴテンの 8-O-配糖化フラボン生合成の解明

Elucidation of the biosynthesis of 8-O-glycosylated flavones in *Tradescantia pallida*

内田 開¹, 明石 智義², 平井 優美^{1,3}

¹理研CSRS, ²日大・生物資源・応用生物, ³名大・院生命農学

フラボノイドの一種であるフラボンは陸上植物に広く分布している二次代謝物である。ツクサ科のムラサキゴテンはフラボンの中でも希少な 8 位が水酸化・配糖化された 8-O-配糖化フラボンを蓄積する。我々は前年度の大会でこの生合成に関与するフラボン 8 位水酸化酵素 (F8H) を同定したことを報告したが、それ以外の生合成の詳細は不明であった。本研究では、8-O-配糖化フラボン生合成に関与するフラボン合成酵素およびフラボン 8-O-配糖化酵素 (F8OGT) の単離と機能解析を行った。

ムラサキゴテンのトランスクリプトームデータには既知のフラボン合成酵素と明確に高い同一性を示す配列が存在せず、また、F8OGT はどの植物種でも同定されていなかったため、同定済みの F8H と類似の発現量・パターンを示す cytochrome P450 および UDP-glycosyltransferase を候補遺伝子として選抜した。これら候補遺伝子の酵素アッセイの結果、フラバノンから 2-ヒドロキシフラバノンへの変換を触媒する flavanone 2-hydroxylase (F2H) 活性および F8OGT 活性を示す酵素遺伝子の単離に成功した。単離した F2H はフラバノンから直接フラボンへの変換を触媒する flavone synthase 活性もわずかに持っている二機能性の酵素であることが示唆された。また、F8OGT は UDP-糖ドナーとして UDP-glucose および UDP-glucuronic acid の両方を認識し、シソ目植物の glucuronosyltransferase に保存されているトリプトファン残基のアルギニン残基への置換が F8OGT でも確認された。現在これら酵素の詳細な機能解析を行っている。

2Aa2

フェニルプロパノイド高生産に導く非典型フェニルアラニンアンモニアリアーゼ

Atypical phenylalanine ammonia lyases that enable high production of phenylpropanoids in plants

木村 ゆり^{1,2}, Jorge El-Azaz², Hiroshi Maeda²

¹山形大・農, ²Botany, Univ. Wisconsin-Madison

植物が生産するフェニルプロパノイド化合物は、医薬品や食品添加物、芳香族系原料として必須である上、CO₂ 低減に向けた炭素隔離においても重要である。従って、分子育種技術を用いたフェニルプロパノイド化合物の蓄積量増大は植物バイオテクノロジーにおける重要課題である。しかし、その課題解決に向けては、フェニルプロパノイド経路に備わる緻密な代謝制御機構の理解が必要である。

フェニルプロパノイド経路の初発反応はフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) により触媒される。本経路への炭素流量を決定づける PAL の活性は、転写翻訳前後の多段階で制御される。これらの制御機構はフェニルプロパノイド化合物の高生産を妨げる要因になっていると指摘されるが、植物系統間での制御機構の保存性や多様性について不明な点が多い。本研究では、フェニルプロパノイド蓄積量向上に高い潜在性をもつ新規の PAL ホモログを見出した。まず分子系統樹解析により、被子植物の PAL 酵素には、研究知見が豊富な典型 PAL 酵素だけでなく、モデル植物を除く一部の植物が持つ非典型 PAL (PALnc) 酵素が存在することがわかった。次に、PALnc を含む複数の酵素を対象に、下流代謝物に対するフィードバック制御の特性を調査した。その結果、多くの PAL 酵素が負の制御を受けるのに対し、一部の PALnc 酵素は正の制御を受けることが判明した。さらに、正の制御特性を示す酵素遺伝子をシロイヌナズナに発現したところ、フェニルプロパノイド化合物の蓄積量が有意に向上した。以上より、本研究で見つかった非典型 PALnc は、植物におけるフェニルプロパノイド蓄積量向上に向けた新たな手段を提供すると期待される。

2Aa3

ゼニゴケの dihydro-*p*-coumaroyl-CoA 生合成酵素の同定

Identification of enzymes involved in dihydro-*p*-coumaroyl-CoA biosynthesis in *Marchantia polymorpha*

小林 悠華¹, 橘 美紗希², 木村 渚¹, 水田 珠希², 肥塚 崇男³, 太田 哲¹, 清水 文一⁴, 野村 泰治⁵, 加藤 康夫⁵, 石崎 公庸⁶, 水谷 正治², 久保 浩義¹, 高梨 功次郎¹

¹信州大院・総合理工, ²神戸大院・農, ³山口大院・創成科学, ⁴東洋大・生命科学, ⁵富山県大・工, ⁶神戸大院・理

コケ植物タイ類のゼニゴケは維管束植物と同様にコアフェニルプロパノイド経路を有するものの、マルカンチン類をはじめとするビスビベンジル化合物を特異的に生産する。先行研究のトレーサー実験により、ゼニゴケのビスビベンジル生合成経路の中間体である dihydro-*p*-coumaroyl-CoA は、*p*-coumaric acid が還元された dihydro-*p*-coumaric acid から生成されると推測された【1】。しかしながら、*p*-coumaric acid の不飽和カルボニル二重結合を還元する酵素はコケ植物と維管束植物、どちらにおいても同定されていない。本研究では、ゼニゴケの dihydro-*p*-coumaroyl-CoA の生合成に関与する酵素を同定することで、ビスビベンジル生合成経路の一端を解明することを目的とした。

発表者はゼニゴケのビスビベンジル生合成を正に制御している MpMYB2 の過剰発現株を作出した【2】。この株において発現が上昇した複数の 4-coumarate CoA ligase (4CL) や double-bond reductase (DBR) などのフェニルプロパノイド経路上の酵素を大腸菌に発現させ、*p*-coumaric acid や dihydro-*p*-coumaric acid などの推定ビスビベンジル生合成経路の中間体を基質とした酵素アッセイを行った。本発表では、これら酵素アッセイの結果およびノックアウト株の代謝産物解析から推測された、新しいゼニゴケのビスビベンジル生合成経路を紹介する。

【1】Friederich et al., *Phytochemistry* (1999) 50:589-598

【2】Kubo et al., *J Plant Res* (2018) 131:849-864

2Aa4

芳香族香気成分ラズベリーケトンの生産を指向したナス科植物におけるフェニルプロパノイド代謝経路の再設計

Reconstruction of the Phenylpropanoid Pathway in Solanaceous Plants for the Production of Volatile Raspberry Ketone

肥塚 崇男¹, 吉田 恵祐¹, 飯島 陽子², 杉本 貢一³

¹山口大院・創成科学, ²工学院大・先進工, ³農研機構・分析研

揮発性芳香族化合物であるラズベリーケトンは、バラ科ラズベリー (*Rubus idaeus*) 果実の特徴的な香気成分であり、脂肪燃焼促進作用やメラニン生成抑制による美白効果を有することから、化粧品原料やサプリメントとして利用されている。しかし、天然での分布は限られた植物種でしか生産されず、含有量も極めて少ない。本研究では、ナス科のモデル植物であるタバコおよびトマトを用い、フェニルプロパノイド生合成経路における *p*-クマロイル CoA を分岐点として代謝フローを切り替えることにより、植物の潜在的な代謝能力を活用した持続的かつ効率的なラズベリーケトン生産プラットフォームの構築を目指した。具体的には、*p*-クマロイル CoA からラズベリーケトンへの変換を担う 2 種の代謝酵素 benzalacetone synthase (BAS) および raspberry ketone/zingerone synthase (RZS) を 35S プロモーター下でタンデムに連結した発現コンストラクトを構築し、これをアグロバクテリウム法により植物体へ導入することで形質転換タバコを作出した。その結果、アントシアニンの蓄積量が減少するとともに、ラズベリーケトンが産生され、主に配糖体の形で細胞内に蓄積されていることを明らかにした。さらに、フェニルプロパノイド経路に関与するマスター転写制御因子の共発現により、生合成前駆体の供給を強化した形質転換体ではラズベリーケトン量が優位に増加することも判明した。本代謝工学デザインは、同じナス科植物であるトマトにおいても同様に有効であり、芳香族香気成分であるラズベリーケトンの生産には、生合成経路の分岐点に着目した代謝フローのリダイレクトが有効であることを示した。

2Aa5

タケ培養細胞においてヒドロキシ桂皮酸プトレッシンアミドを生成するアシル基転移酵素の同定と機能解析

Molecular identification and functional characterization of putrescine hydroxycinnamoyltransferase in bamboo cells

野村 泰治^{1,2}, 加藤 康夫^{1,2}

¹富山県大・生物工, ²富山県大・生医工研セ

当研究室で樹立されたタケ Pn 培養細胞は、木化を促進する培地条件で培養した際に、ヒドロキシ桂皮酸アミド類である feruloylputrescine (FP) の生合成が活発となる。遺伝子組換え植物培養細胞による効率的な物質生産のためには、宿主細胞で活発な代謝経路から分岐経路を構築することが重要であり、そのような代謝工学的手法を我々は「合理的代謝フロースイッチング」と命名し、Pn 細胞をモデルとした実証を進めてきた。これまで、FP 生合成からのスイッチングによって、種々のフェニルプロパノイド由来化合物の高生産に成功しているが、生産効率のさらなる向上のためには、内生の FP 生合成酵素の機能破壊が有効であると考えられる。そこで本研究では、Pn 細胞から FP 生合成酵素遺伝子を同定することを目的とした。

木化促進条件で培養した Pn 細胞において、feruloyl-CoA と putrescine から FP を生成するアシル基転移酵素活性を検出したものの、酵素の同定には至らなかった。そこで、エリシター添加による同酵素活性および FP 蓄積量の増強を検討したところ、キトサンオリゴマーの添加が有効であった。同添加条件で培養した Pn 細胞からの酵素精製を経て、BAHD アシル基転移酵素ファミリーに属する酵素遺伝子 *PnPHT1* を同定した。*PnPHT1* 酵素はアシル基供与体および受容体として、feruloyl-CoA および putrescine をそれぞれよい基質とすることが確認された。さらに、同遺伝子の発現は、木化促進条件およびキトサンオリゴマー添加条件下で顕著に誘導されることも併せて確認された。今後、*PnPHT1* 遺伝子の機能破壊によって、遺伝子組換え Pn 細胞でのフェニルプロパノイド由来化合物のより効率的な生産が可能となると期待される。

2Aa6

ペチュニアにおける香気貯蔵物質の生合成酵素の機能解析

Characterization of biosynthetic enzymes responsible for volatile storage metabolites in petunia

宮里 真琴¹, 小掠 由樹¹, 小木曾 こはる¹, 佐藤 浩平^{2,3}, 間瀬 暢之^{2,3}, 竹内 純^{2,4}, 轟 泰司^{4,6}, 肥塚 崇男⁵, 渡辺 修治⁶, 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, ⁵山口大院・創成科学, ⁶静大院・創造

植物は揮発性有機化合物 (volatile organic compounds; VOCs) を香気配糖体として貯蔵し、多くの植物は香気二糖配糖体を蓄積する。発表者らは、ペチュニアにおける単糖配糖化酵素 UGT85As を同定し、VOCs の貯蔵機構を解明した (*J. Plant Physiol.*, 2020)。その研究の過程で、ペチュニアは VOCs を香気二糖配糖体ではなく香気マロニル配糖体として貯蔵することを見出した。これまでに、チャやジャスミン、ペチュニアなどにおいて、香気マロニル配糖体が内生していることが報告されている。しかし、香気単糖配糖体を基質としたマロニル基転移酵素 (MaT) に関する知見は少ない。そこで本研究は、VOCs における貯蔵の多様性を分子レベルで解明することを目的に、ペチュニア花弁における香気単糖配糖体に対するマロニル基転移酵素の同定と機能解析を行った。マロニル基転移活性を指標としたペチュニア花弁由来精製酵素のペプチド解析および RNA-seq 解析により、マロニル基転移酵素遺伝子として二分子種 (*PhMaT1*, 2) を選抜した。大腸菌異種発現系により酵素を調製し、香気配糖体および malonyl-CoA を基質としたマロニル基転移活性試験を行った。その結果、*PhMaT1* および *PhMaT2* は香気マロニル配糖体を生成した。さらに相対活性試験の結果、*PhMaT1* は広範な香気単糖配糖体に対してマロニル化活性を示すのに対し、*PhMaT2* は芳香族アルコールをアグリコンとする香気単糖配糖体に対して特異的にマロニル化することを明らかにした。以上より、ペチュニアにおいて、*PhMaT1* および *PhMaT2* が VOCs の貯蔵の多様性に寄与していることを示した。

2Aa7

スギにおける揮発性モノテルペン生合成酵素の同定と機能解析

Identification and functional characterization of the volatile monoterpene synthases in *Cryptomeria japonica*

小牧 龍波¹, 尾崎 桃子¹, 大西 利幸^{2,3}

¹静大院・総合科技, ²静大・グリーン研, ³静大・農

植物から放散される揮発性モノテルペンは、病虫害に対する抗菌・忌避活性を示すだけでなく、酸化ストレス耐性を向上させることで植物の防御応答を誘起する。また、モノテルペンは大気中でオゾンや NO_x と反応して二次有機エアロゾルを形成し、大気質や気候変動に影響を与える。植物が大気中に放出する biogenic volatile organic compounds (BVOCs) の炭素換算総量は約 600–800 Tg C/年で、そのうちモノテルペンは約 15% (約 160 Tg C/年) を占め、国内ではスギ林が主要な放出源である。しかし、スギ (*Cryptomeria japonica*) における揮発性モノテルペンの生合成・放散・貯蔵の分子機構は、不明慮な点がある。本研究では、揮発性モノテルペンの生合成を分子レベルで明らかにすることを目的に、スギ由来モノテルペン合成酵素 (mono-terpene synthases: mono-TPSs) の同定および酵素機能解析を行った。スギのモノテルペンプロファイル調べた結果、(+)-sabinene および α-pinene が主要なモノテルペンであった。そこで、(+)-sabinene や α-pinene を生合成する mono-TPSs を探索するため、スギゲノムデータベースより TPS モチーフを有する 46 分子種を選抜した。系統樹解析および発現データに基づいた階層クラスタリング解析をより、6 分子種 (CjTPS01–06) を候補遺伝子として絞り込んだ。ペンサミアナタバコ異種発現系を用いた酵素機能解析の結果、CjTPS01 が(+)-sabinene や α-pinene を生合成することを明らかにした。この結果、CjTPS01 がスギにおける揮発性モノテルペンの生合成の主要な mono-TPS であることを示唆した。

2Aa8

植物トリテルペン生合成関連酵素および転写因子に関する RDF データベース「Triterpene RDF」の構築

Construction of "Triterpene RDF": An RDF-based Database of Plant Enzymes and Transcription Factors Involved in Triterpene Biosynthesis

田村 啓太^{1,2}, 千葉 啓和³, 坊農 秀雅^{2,3,4}

¹阪大・院工・生物工学, ²広島大・ゲノム編集イノベーションセ, ³ROIS-DS・DBCLS, ⁴広島大・院統合生命

植物は多種多様な構造を有するトリテルペン（トリテルペノイドおよびステロイド）を生合成する。これらは、2,3-オキシドスクアレンを共通前駆体とし、オキシドスクアレン環化酵素（OSC）によって多様な骨格構造が生じたのち、部位特異的な酸化や糖転移反応などを受けることでさらなる構造多様性が生じる。近年の研究により、こうした構造多様性に関わる酵素や、酵素遺伝子の発現を制御する転写因子が多数報告されてきているが、それらの機能情報は既存の公共データベースには十分整理されておらず、トリテルペン生合成関連遺伝子の機能アノテーションにおける障壁となりうる。そこで本研究では、植物トリテルペン生合成に関与する既知の酵素および転写因子をマニュアルキュレーションにより収集し、RDF 形式によって合計 532 の配列について整理したデータベース「Triterpene RDF」(https://ktamura2021.github.io/triterpene_rdf/) を構築した。本データベース上の配列は UniProt Knowledgebase あるいは NCBI protein database とリンクしており、OSC やシトクロム P450 酸化酵素、転写因子といったタイプや、タキソノミーによって必要なセットのみに絞り込んで表示することができるほか、表示されたタンパク質の配列を FASTA 形式でダウンロードして遺伝子機能アノテーションの参照配列として利用することができる。本データベースに関する論文は、Plant Biotechnology 誌の特集号「Synthetic Biology and Bioproduction in Plants」に掲載された (DOI: 10.5511/plantbiotechnology.24.0312c)。

2Aa9

パパイヤ葉の機能性成分と発達段階の関係性

Functional components of papaya leaves and their relationship to developmental stages

解良 康太, 相馬 孝亮, 杉本 七海, 井上 陽菜, 遠藤 明仁, 飯嶋 益巳

東農大・応生

【目的】

パパイヤはアブラナ目パパイヤ科に属する植物である。世界的には、パパイヤといえばフルーツとして果実を食べることが一般的であるが、アジア圏ではパパイヤ葉を食品利用することが知られている。パパイヤ葉はマラリアやデング熱の治療などで効果があるとされ、民間薬としても活用されてきた。本発表では、パパイヤ葉の利用拡大に向けて、成熟段階が異なる葉の機能性成分の違いについて評価した結果について報告する。

【方法】

茨城県で露地栽培されたパパイヤの木から、パパイヤ葉を採取した。パパイヤ葉は幹の中央部から展開を始め、発達とともに葉柄が伸びていくため、幹の中央部から下部に向けて4段階に分けて葉を採取した。それぞれの発達段階で、葉の色が異なり、若葉では黄緑色で成熟に伴い、鮮やかな緑、成葉では濃い緑色というように変化していく。成分抽出は80%メタノールで行い、LC/Q-TOFにより分析を行った。また、カゼインを基質として、プロテアーゼ活性についても併せて検討した。

【結果】

パパイヤ特有の機能性成分であるカルバインおよびその誘導体に着目したところ、濃い緑色の成葉で減少していることが示唆された。また、機能性関与成分として知られるγ-アミノ酪酸（GABA）は、葉の成熟に伴い増加傾向があった。パパイヤ葉のGABAの量は、緑茶には及ばないものの機能性表示食品として利用できる可能性が示された。プロテアーゼ活性については、若葉の方が高かったことから肉のテンダライズ処理などで活用できる可能性が示された。このように、期待する機能性とその関与成分量の管理のためには、葉の発達段階を考慮することが重要であることが示唆された。

2Aa10

パラゴムノキラテックスの含有代謝物と天然ゴム材料特性との統合解析

Integrated Data Analysis of Metabolites and Material Properties of Natural Rubber

平岡 信之^{1,2}, 今井 俊輔², 塩山 晋太郎², 米山 史紀², 間瀬 昭雄², 蒔田 由布子¹

¹前工大・院工環境生命, ²住友理工株式会社

天然ゴム（NR）は主にパラゴムノキラテックスから製造される、優れた機械的特性を示す材料である。NRと合成ゴムとの差異の一つはNR中に存在するタンパク質、脂質や無機物などの非ゴム成分であり、これまで特定成分の添加や除去による材料特性の変化が報告されている。一方でNR生合成や病害耐性の機構解明を主目的としたラテックスの網羅的解析も報告されており、見出された非ゴム成分と比べて材料特性への影響が確認された成分は限定的である。材料特性に対する非ゴム成分の影響の全容解明は、工業的なゴム材料の高性能化だけでなく、高性能ラテックスの生産など材料特性を志向した育種への応用も期待される。本研究では、材料特性への幅広い非ゴム成分の影響解明を目指し、まずラテックス中の代謝物と材料特性を継続的に評価し、統合して分析した。

一般的なラテックスの採取期間である5~1月の各月に、タイの農園で採取された計9サンプルを入手した。代謝物についてはLC-TOFMSおよびCE-TOFMSにより計431ピークが同定され、約50%は一部サンプルからのみ検出された。材料特性については固形NRに加工したサンプルに対する3種類の特性試験、計80項目が測定された。代謝物と材料特性との相関については、様々な組み合わせの高相関が見られたが特に注目すべき代謝物は絞り込めなかった。そこで前段階として材料特性に対する代謝物の影響の複雑さを線形回帰モデルから評価した結果、各特性につき5程度の代謝物を選出してさらに検討することが有効であることが示唆された。

2Aa11

ミヤコグサ根粒共生における周期的サイトカイニン応答の生理的意義の解明

Elucidating the physiological significance of periodic cytokinin responses in root nodule symbiosis of *Lotus japonicus*

征矢野 敬^{1,2}, 川口 正代司^{1,2}

¹基生研, ²総研大

根粒共生はマメ科植物にとって有益な形質である。しかし、宿主は窒素固定細菌との共生関係を安定に保つため、根粒の数や分布を調節し、根の本来の機能を維持する必要がある。マメ科植物では、根の成長軸に沿って、表皮に感染糸が高密度に形成される領域と、低密度な領域とが交互に現れる。この空間的なパターンの調節には、根粒共生関連遺伝子の根端付近における周期的な発現が関与しており、その発現リズムの維持にはサイトカイニン応答が重要であることを、発光ライブイメージングを用いた解析により明らかにしてきた。サイトカイニンは根粒形成を誘導する重要なホルモンであり、感染糸形成や根粒原基形成における遺伝子発現に影響を与える。また、周期的応答と相関してサイトカイニン量が変動することから、サイトカイニンの生合成と不活化の制御が周期性の形成に関与すると考えられる。この周期的な応答に影響を与える環境刺激を同定することで、生育環境における周期性の生理的意義を明らかにしたいと考えており、いくつかの条件で周期性の変化と感染糸の分布が変化することを見出した。また、共生遺伝子の周期的発現の分子機構を解明することを目的に、ミヤコグサを用いてサイトカイニン代謝関連遺伝子とサイトカイニン応答の周期性との関係および根粒菌感染シグナル経路とサイトカイニン代謝制御を仲介する共生遺伝子の同定を試みており、各種変異体や過剰発現植物での周期的応答や感染糸の分布パターンを解析している。

2Aa12

α-リポ酸処理による活性酸素シグナルと植物免疫亢進機構の解明

Elucidation of reactive oxygen species signaling and enhanced plant immunity mechanism induced by α-Lipoic acid treatment

小林 哲也, 来須 孝光

公立諏訪東京理科大・院・工

生物刺激剤とは、作物の生理状態を改善することで、植物本来の抵抗力を引き出し、ストレス耐性や収量、品質などに好影響を与える物質である。細胞のミトコンドリアに存在し、抗酸化作用を持つα-リポ酸は活性酸素を除去し、酸化ストレスを軽減でき、イネ科植物においては塩ストレス、クロロフィル代謝に関与する遺伝子に影響を与えることが分かっている。一方で、病虫害に対する抵抗性などの植物免疫応答への影響や、具体的な生理作用は解っていない部分が多い。我々は、感染シグナル由来の活性酸素種（ROS）生成を含む免疫応答への効果を検証した結果、シロイヌナズナ及びタバコ植物体を含めた複数の植物種において、flg22由来のROS生成亢進が観察されるとともに、PR1a, ICS1等のサリチル酸関連のマーカー遺伝子群の発現誘導が確認された。本発表では、酸化ストレスを含めた環境ストレス耐性へのα-リポ酸処理の効果についても報告し、α-リポ酸の作用点および免疫応答との関係性についても議論したい。

2Aa13

水田マルチオミクス解析による植物-微生物相互作用の推定とバイオセンサーを用いた相互作用モニタリング

Inference of Plant-Microbe Interactions by Paddy-Field Multi-Omics Analysis and Their Monitoring with Biosensors

山崎 真一¹, 長峯 邦明², 奥井 楓人², 青柳 まりか², 原田 翔生², 山本 敏央^{3,4}, 林 誠¹, 市橋 泰範¹

¹理研CSRS, ²山形大, ³農研機構, ⁴岡山大

日本の主要作物であるイネ (*Oryza sativa*) については、これまでに多くの遺伝学的・生理学的・栄養学的解析が行われてきたが、地下部における多様な根圏微生物の影響については未解明な点が多い。そこで本研究では、イネ根圏の微生物叢動態およびイネ体内の遺伝子発現動態を時系列で追跡することにより、水田環境におけるイネと根圏微生物叢との相互作用を包括的に解明することを目的とした。

2019年に茨城県つくば市の実験圃場にて、沖積土および黒ぼく土の水田にジャポニカ品種「コシヒカリ」とインディカ品種「タカナリ」を栽培した。4つの生育ステージ（幼苗期、栄養成長期、生殖成長期、成熟期）において、根の16S rRNAアンプリコンシーケンスおよび葉のRNA-seq解析を行った。その結果、コシヒカリとタカナリの間で根における鉄還元細菌の相対頻度に有意な差が認められた。また、微生物叢と遺伝子発現との関連性を共起ネットワーク解析により評価した結果、鉄還元細菌を含む根圏微生物群集と、葉における鉄イオン恒常性に関わる遺伝子群との間に強い正の相関が検出され、鉄を介した植物-微生物間の動的な相互作用が示唆された。

この仮説を実験的に検証するため、植物-微生物相互作用を電気化学的に連続計測可能なバイオセンサー装置を新たに開発した。アルギン酸ゲルを用いて鉄還元細菌をグラッシーカーボン電極に固定化し、固定化後も鉄還元活性が保持されること、さらに電子供与体として酢酸ナトリウムを添加することでその活性が増強されることを確認した。現在は、イネ植物体を用いて根近傍における細菌活性の連続モニタリングを進行中であり、本発表ではその最新の結果について報告する。

2Ba1

ミヤコグサにおける高温環境下での種子生産と遺伝子発現解析

Analysis of Reproductive Success and gene expression in *Lotus japonicus* under high Temperature condition

角南 楓也¹, 加藤 晃^{1,3}, 佐藤 修正², 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・CDG

植物は光・温度・水分などの多様な環境要因の影響を受けながら生育している。その中でも温度は、成長速度や代謝活性、繁殖戦略などに大きく影響を与える重要な環境要因である。また高温は、植物の成長や繁殖に深刻な影響を及ぼすことが知られている。このような過酷な環境に生育する植物に着目し、高温に対する応答機構を解明することは、植物の環境適応の理解においても重要である。国内に広く分布するミヤコグサは、北海道から南西諸島までの多様な環境下に自生しており、特に南西諸島のような亜熱帯気候に由来する系統では、恒常的な高温条件に対して特有の生理的応答を示すと考えられる。本研究では国内での分布の最南端である宮古島由来の系統を用いて、温度条件間における繁殖成功度およびゲノム網羅的遺伝子発現の変化から、高温が本種の宮古島系統の繁殖成功度に与える影響の評価と、遺伝子レベルでの高温応答機構の解明を目的とした。

まず、25℃および30℃の温度条件で得られた種子を用いて、それぞれ25℃および30℃で栽培する4つの生育条件を設定し、各条件下で開花数と鞘数、結実率を求めた。その結果、30℃の栽培条件では花数および鞘数、結実率がいずれも有意に低下した。特に30℃由来の種子においてその傾向が顕著であった。先行研究では30℃条件における岐阜系統の繁殖成功度が著しく低下する結果が得られているが、宮古島系統では結実が確認され、高温下においても一定の生殖能力を維持していた。次に、温度条件間でゲノム網羅的な発現解析を行い、検出された発現変動遺伝子の機能に基づいて、関連する生物プロセスや高温応答に関わる遺伝的要因についても考察を行う。

2Ba2

ミヤコグサ種内におけるゲノム網羅的塩基多型に基づく自然選択の評価と遺伝子網羅的発現解析

Evaluation of natural selection based on genome-wide polymorphisms and gene expression analysis within *Lotus japonicus*

喜田 健月¹, 佐藤 修正², 加藤 晃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・バイオ, 奈良先端大・CDG

動くことのできない植物にとって、環境適応は種の存続に重要である。集団内には表現型や遺伝子型の違いがあり、生育環境に応じてその頻度が変化する自然選択は進化のプロセスの一つで、多型が維持または排除されるパターンがある。しかし、ゲノム網羅的に自然選択の影響を評価した研究は限定的であり、さらに、自然選択の影響と RNA スプライシングバリエーションレベルや遺伝子機能との関連については十分に解明されていない。環境勾配の大きな日本列島に広く分布するミヤコグサは、多様な環境に適応してきた。本種はモデル植物であり、全ゲノム配列情報や国内各地に由来する野生系統、さらにはそのリシーケンスデータが利用できる。本研究では、国内のミヤコグサにおいて多様化または単一化する方向に選択を受けた遺伝子群を検出し、さらに、遺伝子機能や遺伝子発現との関連の検証を目的とした。解析には 102 の野生系統のゲノムリシーケンスデータおよび 8 系統の long-read RNA-seq に基づく RNA トランスクリプトームデータを用いた。まず、102 系統に共有されるゲノム網羅的塩基多型データを抽出し、遺伝子領域全体および遺伝子を構成する領域 (5' UTR, 3' UTR, CDS, exon, intron) ごとに自然選択の影響を統計的に評価した。GO enrichment 解析により各群の機能的な特徴を確認したところ、まず遺伝子単位では多様化および単一化群にそれぞれ複数の機能が濃縮されたが、群間での目立った違いは確認できなかった。一方で、遺伝子領域ごとでは領域間で異なる傾向を確認した。これらの結果に加え、本発表では自然選択の影響とスプライシングバリエーションレベルでの RNA アイソフォームの多様性との関連についても議論する。

2Ba3

イネの高温ストレス応答に関わる Heat Shock Protein 群の機能解析

Functional analysis of rice Heat Shock Proteins under heat stress conditions

田中 豊浩¹, 小島 優希¹, 高橋 史憲²

¹東京理科大・院先進工, ²東京理科大・先進工

シロイヌナズナ Heat Shock Protein 70s (AtHSP70s) は、Heat shock transcription factor A1d (HsfA1d) 転写因子と結合し、HsfA1d の核移行を抑制することで、高温ストレス応答を負に制御する。しかし、イネ Heat Shock Protein 70s (OsHSP70s) の詳細な機能は、明らかになっていない。本研究では、OsHSP70s に属する、OsHSP70-1 および OsHSP70-2 に着目し、機能解析を行った。

OsHSP70-1 は主に葉で、OsHSP70-2 は主に根で、高温ストレス依存的な発現上昇を示した。OsHSP70-GFP 過剰発現シロイヌナズナを用いた解析から OsHSP70-1 は高温ストレス依存的に細胞質から核へ移行するのに対し、OsHSP70-2 は細胞質において、ストレス顆粒を形成することを明らかにした。OsHSP70-1-GFP 過剰発現シロイヌナズナは、高温ストレス依存的な AtHSP18.2 及び AtHSP22 の発現を抑制し、高温ストレス感受性を示した。一方、OsHSP70-2-GFP 過剰発現シロイヌナズナはこれら遺伝子群の発現変動を抑制せずに、高温耐性を示した。これらの結果は、OsHSP70-1 は AtHSP70-1 相同遺伝子として機能するのに対して、OsHSP70-2 は、新規な機能を持つ可能性を示唆する。

本発表では、イネ高温ストレス応答における OsHSPs の機能分担について議論したい。

2Ba4

海生種子植物アマモの水分調節における原形質膜アクアポリンの役割

Plasma membrane aquaporins function in moisture regulation in eelgrass

梁田 健一, 近藤 果歩, 猪野 名津美, 板東 由希子, 黒川 圭太, 田中 一郎, 塩田 肇

横浜市大・院生命ナノシステム

アマモ (*Zostera marina*) は、生活の場を陸上から海水中に移した単子葉植物 (海草類) の一種であり、海水中の環境に適応するために独自の生理メカニズムを進化させたと考えられる。本研究では、アマモの水分調節における原形質膜アクアポリン (Plasma membrane intrinsic protein: PIP) の役割に着目した。アマモゲノムには PIP 遺伝子が 4 種類しか存在せず、そのうち発現レベルの高い ZoPIP1;1 と ZoPIP2;1 について解析した。両者をタマネギ表皮細胞で発現させると、ともに原形質膜に局在した。また、花粉プロトプラストで発現させると、ZoPIP2;1 は単独で水透過性を示したが、ZoPIP1;1 は単独では水透過性を示さなかった。このように、ZoPIP1;1 と ZoPIP2;1 では一般的な PIP の特徴が保存されていた。ZoPIP1;1 と ZoPIP2;1 の発現は多様な組織で検出され、特に葉、根、雌花での発現が高く、対照的に雄花での発現は低かった。両遺伝子の発現は果実に比べて種子で高く、種子が成熟すると発現が著しく低下した。種子発芽すると ZoPIP1;1 と ZoPIP2;1 の発現は徐々に上昇し、同時に幼葉鞘で含水率の増加が見られた。一方、葉では脱水を受けると両遺伝子の発現が上昇し、葉が再吸水すると低下した。脱水した葉にアクアポリンの阻害剤として水銀イオンを処理すると、再吸水に遅れが見られた。これらのことから、ZoPIP1;1 と ZoPIP2;1 は、種子発芽時の吸水および脱水した葉の再吸水において、細胞の水分調節に役割をもつと考えられる。

2Ba5

セリ科植物由来のポリアセチレン化合物の熱ショック応答誘導能に関する研究

Study on heat shock response-inducing activity of Polyacetylenes derived from Apiaceae

村野 宏樹¹, 早川 敏弘², 原 正和¹

¹静大創造院, ²静大技術部

【背景・目的】熱耐性向上剤は、農作物の高温障害を緩和する農業資材、バイオスティミュラントの一種である。ある種の熱耐性向上剤は、植物の熱耐性獲得機構の一つである熱ショック応答 (Heat shock response, HSR) を誘導し、その結果増加する熱ショックタンパク質 (Heat shock protein, HSP) により植物の熱耐性を向上させると考えられている。実際に、HSR を誘導する物質を含むバイオスティミュラントが作物の高温障害を緩和したという事例がある。さて、HSR を誘導する物質はいくつか報告されているが、活性が不十分などの理由により実用化された例は少なく、より高い活性物質の探索が望まれる。発表者は、静岡大学及びその周辺に自生する植物を調査した結果、セリ科植物のセントウソウ *Chamaele decumbens* (Thunb.) Makino の抽出物に HSR 誘導活性を見出した。本研究では、活性本体を同定し、その物質の生理作用について調査した。

【方法・結果】採集したセントウソウの根抽出液から、オープンカラムクロマトグラフィーにより 2 種類の HSR 誘導性物質を分取し、MS 及び NMR により構造を推定した。結果、両物質は一部のセリ科やウコギ科植物が産生するポリアセチレン化合物であることが分かった。両者の標準品も HSR 誘導活性を示した。両者を処理したシロイヌナズナでは HSP 遺伝子及びタンパク質の発現が誘導され、それらの応答は根端及び葉の周縁部において見出された。さらに、両者を処理したシロイヌナズナは、無処理のものに比べ、高温暴露後に有意にクロロフィル含量を維持した。以上の結果は、両ポリアセチレン化合物が新たな熱耐性向上型バイオスティミュラントのシーズとなる可能性を示唆する。

2Ba6

傷害カルスの分子風景：シングルセル・空間オミクス解析が照らす幹細胞新生と機能

Molecular landscape of wound-induced callus: Illuminating stem cell reformation and function through single-cell transcriptome and spatial omics

岩瀬 哲¹, 鳥井 孝太郎^{1,2}, 森中 初音¹, 森 哲哉¹, 河村 彩子¹, 平井 優美¹, 杉本 慶子¹

¹理研 環境資源, ²理研 最先端

植物細胞は一度分化した後でも分裂を再開し、幹細胞を新生して様々な組織や胚までも再生させることができる。この分化多能性/全能性を発揮させる際に形成される細胞の塊がカルスである。傷害ストレスによって生じるカルスは、その存在が200年以上前から報告されており、傷口を塞いで組織を再生させる等、様々な生物学的役割を有しているとこれまで考えられてきた。しかしながら、実際、カルスがどのような機能を有する細胞から成り立っているのか、また、それらのカルス細胞がどのような細胞系譜を経て存在しているのかについてはほとんど未解明である。近年のシングルセル・空間オミクス解析技術の発展により、分子風景とも呼ぶべき解像度で生物現象を理解することが可能になりつつある。本発表では、シロイヌナズナ傷害カルスの形成機構と役割について、私たちが最近取り組んでいるシングルセル解析、MERFISH解析、イメージング質量分析から見てきた新知見について報告する。

2Ba7

TCP 転写因子による細胞伸長の促進機構の解析

TCP transcription factors mediate cell expansion in *Arabidopsis thaliana*

小山 知嗣¹, 豊永 宏美¹, 延原 美香¹, 光田 展隆², 石田 順子³, 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産業技術総合研究所・バイオものづくり, ³理化学研究所・環境資源科学, ⁴名古屋大学大学院・理学, ⁵名古屋大学・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,

⁸National Cheng Kung University, College of Bioscience and Biotechnology

本発表では、シロイヌナズナ TEOSINTE BRANCHED1, CYCLOIDEA, PCF (TCP) 転写因子が細胞伸長を促進することを報告する。まず、光学顕微鏡解析により、TCP 転写因子のモデルである TCP3 の過剰発現体で、野生型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。つまり、TCP 転写因子が細胞伸長を促進すると考えられた。次に、遺伝子発現解析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にした。さらに、プロモーターレポーター解析により、TCP3 および TCP3 標的遺伝子によるシグナルを子葉と胚軸で認めた。遺伝学的な関係を明らかにするために、TCP3 下流遺伝子を tcp 六重変異体で異所発現させたところ、胚軸の細胞サイズが野生型レベルまで回復したので、下流遺伝子が表現型を相補することを確認した。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。そこで、pH 指示薬を共焦点レーザー顕微鏡解析したところ、TCP3 によるアポプラストの酸性化を明らかにした。さらに、原子間力顕微鏡解析から、TCP3 による細胞弾性率の低下を認めた。これらの結果から、TCP 転写因子が細胞伸長を促進するメカニズムを明らかにした。

2Ba8

Nicotiana benthamiana における花成制御候補遺伝子 *NbFT1-3* の機能解析

Functional analysis of *NbFT1-3*, candidate genes involved in flowering in *Nicotiana benthamiana*

古川 成雪¹, 黒谷 賢一², 小林 括平¹, 野田口 理孝², 賀屋 秀隆¹

¹愛媛大・院農, ²京都大・院理

FT 遺伝子はシロイヌナズナを始め様々な植物種において花成を制御する鍵遺伝子である。*Nicotiana benthamiana* は Agroinfiltration 法を用いた植物ウイルス等の病害応答および耐病性の研究や遺伝子組換えを用いた有用タンパク質の大量生産などといった分子生物学的な研究において広く使用されてきた。本研究では、*Nicotiana benthamiana* においてフロリゲンとして機能する FT 遺伝子の単離を試みている。*N. benthamiana* は異質二倍体であり複数の反復配列が存在することに加えて、ゲノムサイズが約 3.1 Gbp とイネ（約 0.43 Gbp）やシロイヌナズナ（0.135 Gbp）よりも遥かに大きいことからゲノム解析は難航していたが、2023 年に *N. benthamiana* のゲノム全ゲノム配列が明らかになりゲノム編集等による遺伝子解析が可能となった。これまでに FT ホモログ検索や系統樹解析を行い、6 つの候補 *NbFT1-6* を得た。各 *NbFT* 候補遺伝子をシロイヌナズナにおいて過剰発現させたところ、*NbFT1*, *NbFT2*, *NbFT3* 過剰発現体は、野生型よりも花成が促進された。これらの遺伝子は強い花成促進能力を持つことが分かった。一方、*NbFT4*, *NbFT5*, *NbFT6* 過剰発現体は、野生型よりも花成が遅延した。現在、ゲノム編集により *NbFT1-6* の各変異体を単離し、変異体での花成における表現型を調べている。

2Ba9

CYP722A1 が関与するストリゴラクトン生合成を介したシロイヌナズナの花成制御

Regulation of floral transition by CYP722A1-dependent strigolactone biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*

若林 孝俊^{1,2}, 久野 真暉², 宮本 歩美², 高野 日向子¹, 中嶋 正敏¹, 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

ストリゴラクトン (SL) は、植物の形態形成や環境応答を制御する植物ホルモンであると同時に、根圏に分泌されることで菌根菌との共生や他の植物との相互作用にも関与するシグナル分子である。SL はその構造により、典型的 SL と非典型的 SL に大別される。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) では、SL 生合成変異体が過剰な枝分かれや早期の花成といった表現型を示すことが報告されている。これまでに、非典型的 SL である carlactonoic acid (CLA) が CLA methyltransferase (CLAMT) によってメチル化され、MeCLA を生合成する経路が枝分かれ抑制因子の生成に寄与することが明らかとなっている。一方、典型的 SL は主に根圏シグナルとして機能し、双子葉植物における生合成は、CLA を起点として CYP722C サブファミリーに属する酵素によって担われる。シロイヌナズナのゲノムには CYP722C 遺伝子が存在せず、典型的 SL を合成しないと考えられている。その代わりに、双子葉植物に広く保存される CYP722A サブファミリーに属する、機能未知の CYP722A1 遺伝子を有している。本研究では、生化学的解析により、CYP722A1 が CLA の 16 位水酸化を触媒して 16-HO-CLA を生成し、それが CLAMT によってメチル化され、16-HO-MeCLA が合成される代謝経路を明らかにした。これらの化合物は野生型において検出されたが、CLA 生合成に欠損を持つ *max1-4* 変異体および *cyp722a1* 変異体では検出されなかった。興味深いことに、*cyp722a1* 変異体では過剰な枝分かれは観察されないものの、早期花成の表現型を示すことが明らかとなった。これらの知見から、CYP722A1 は枝分かれ制御とは独立して、花成を特異的に制御する SL の生合成を担う可能性が示された。

2Ba10

KARRIKIN INSENSITIVE 2 を強力に阻害する β -プロピオラクトン化合物

Characterization of β -propiolactone compounds as strong inhibitors of KARRIKIN INSENSITIVE 2

荒河 琴音¹, 大西 利幸^{1,2}, 轟 泰司^{1,2}, 竹内 純^{1,2}

¹静大院・総技研, ²静大・グリーン研

KARRIKIN INSENSITIVE 2 (KAI2) は、ストリゴラクトン受容体 (D14) のパラログであり、植物が燃焼した際の煙に含まれる発芽誘導物質カリキンの受容体として同定された。しかし、KAI2 と結合する植物内生リガンド (KAI2 ligand, KL) は未だ発見されていない。KAI2 の機能を阻害する化合物は、KL 探索研究における化学ツールとしての利活用も期待できる。極最近、トリアゾールウレアを母格とした化合物 (KK181N1) が KAI2 選択的阻害として報告された。しかし、KK181N1 は植物試験において、KAI2 アゴニストの効果を完全に打ち消すことは出来ていない。そこで本研究では、より強力な KAI2 阻害剤の創出を目的に、KAI2 の触媒残基と共有結合を形成することを期待して、分子内に β -プロピオラクトン環を有する化合物 (PEOs) を設計した。

PEOs は、 β -プロピオラクトン環とベンゼン環をエチル鎖で繋いだ化合物であり、ケテン-アルデヒド環縮合反応により簡便に合成した。中でも、ベンゼン環パラ位に *tert*-ブチル基を導入した 4tBu-PEO は、酵母ツーハイブリッド法において KAI2 とパートナータンパク質である SMAX1 との相互作用を強力に阻害し、シロイヌナズナ胚軸伸長試験においても KAI2 アゴニストである GR24^{ent-5DS} による伸長阻害を完全に抑制した。また、*kai2* 変異体を用いた胚軸伸長試験では、D14 アゴニストである GR24^{5DS} の効果をキャンセルしなかったことから、4tBu-PEO は KAI2 選択性を有していることが示唆された。現在、X 線結晶構造解析により 4tBu-PEO と KAI2 の結合様式を明らかにするとともに、同化合物が KAI2 選択性を示すメカニズムを理解するために、KAI2 と D14 に対する結合活性を比較する *in vitro* 試験を進めている。

2Ba11

イネ系統間で異なるエチレン応答の遺伝的基盤の解析

Analysis of genetic basis of different ethylene response among rice accessions

池辺 彩乃¹, 広井 旭人¹, 谷島 響平¹, 藤岡 怜奈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

植物ホルモンの一種であるエチレンは、発芽、伸長、開花、老化、器官の離脱といった植物の発達・生長において重要な役割を果たしている。シロイヌナズナなどの多くの植物において、エチレン処理により暗所でシュート及び根の伸長抑制が見られるが、イネ（日本晴）では根の伸長が抑制される一方でシュートの伸長が促進される。これはイネの進化の過程で獲得した特有の表現型であると考えられる。当研究室の先行研究において、多様なイネ系統の集団である世界のイネコアコレクション (WRC) について黄化芽生えのシュートのエチレン応答を調査した結果、系統間でエチレン応答に違いがあることが示された。その遺伝的基盤を解析するために、シュートのエチレン応答の調査結果と WRC 系統のゲノム配列情報を用いてゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行い、エチレン応答の原因遺伝子候補を探索した。その結果、シュートのエチレン応答と有意な相関を示す SNP が 2 個検出され、これらの SNP の近傍に位置する原因遺伝子候補を探索したところ、エチレンやその他の植物ホルモンの伸長と関連する遺伝子が複数見つかった。今後、候補遺伝子内の SNP によるアミノ酸配列の変異の探索、ハプロタイプ解析及び遺伝子発現解析などを行い、候補遺伝子の中から有望な遺伝子を絞り込み、機能解析を行う予定である。

2Ca1

RSV ワクチン抗原を発現する組換えイネの作出および解析

Development and analysis of transgenic rice expressing RSV vaccine antigen

西尾 勇人¹, 澤崎 達也³, 野澤 彰³, 賀屋 秀隆⁴, 清野 宏⁵, 中橋 理佳⁵, 幸 義和⁵, 黒田 昌治⁶, 森田 重人^{1,2}, 増村 威宏^{1,2}

¹京都府大院・生命環境, ²京都府農技セ・生資セ, ³愛媛大学・プロテオサイエンスセ, ⁴愛媛大院・農学, ⁵千葉大・医学, ⁶農研機構

感染症は人類の歴史を通じて社会に大きな影響を与えてきた。感染症対策には、治療法の確立と並行して予防策も重要であり、ワクチンは最も有効な手段の一つである。しかし、従来のワクチンは高い生産コストや低温での輸送・保存の必要性、長期保存の困難さなどの課題がある。課題克服のため、近年は粘膜免疫に優れる経口ワクチンの研究開発が進められている。

本研究では、イネ種子が常温でも貯蔵物質を長期間安定して保存できる性質に着目し、備蓄型経口ワクチン生産システムの構築を目指し、小児や高齢者の下気道感染症の原因ウイルスである RSV に対するワクチン抗原を発現するイネを作出した。薬剤耐性マーカー、内在性貯蔵タンパク質である 13 kDa プロラミンおよびグルテリン A の部分配列を含む RNAi カセット、RSV の抗原領域を持つ Ti プラスミドベクターを作製し、アグロバクテリウム法によりイネ（日本晴）を形質転換した。抗原領域には、アジュバント機能を持つ CTB と RSV 由来疎水性タンパク質の細胞外ドメイン（SHe）を融合するように設計した。形質転換イネは、RSV-A が 34 個体、RSV-B が 38 個体得られた。葉から抽出したゲノム DNA を鋳型に PCR を行い、遺伝子導入を確認した。種子が得られた 13 系統を用い、SDS-PAGE およびウエスタンブロットティングを行った。CTB-RSV-B-SHe 導入系統の T₁ 種子で抗原タンパク質の発現を確認した。さらに、これらの系統を播種して得た T₂ 種子についても同様に抗原タンパク質の発現を確認した。現在、安定な抗原発現系統の後代を育成中であり、種子が得られ次第、後代における発現解析、細胞内局在観察および経口ワクチンとしての免疫活性の評価を行う予定である。

2Ca2

抗 Her2 抗体を発現するイネの作出および解析

Production and analysis of the rice expressing anti-Her2 antibodies

四方 怜人¹, 野澤 彰³, 澤崎 達也³, 賀屋 秀隆⁴, 黒田 昌治⁵, 森田 重人^{1,2}, 増村 威宏^{1,2}

¹京都府大・院生命環境, ²京都府農技セ・生資セ, ³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

抗体医薬は治療効果が強く副作用が少ない反面、製造に特殊な設備を必要とし、低温貯蔵の必要があるなどの課題があった。これら課題解決のため、私達はイネ種子を用いた有用タンパク質を生産する研究を行ってきた。イネ種子貯蔵タンパク質はプロテインボディタイプ 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 による内在性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することが既に報告されている。

本研究では、乳がんに対して治療効果が見込まれる抗 Her2 抗体に着目した。Her 抗体遺伝子と種子貯蔵タンパク質（グルテリン A と 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。T0 系統 14 個体の内、稔実率が高く抗 Her2 抗体が高発現である 5 個体の後代を育成し、各種解析を行った。リアルタイム PCR を行い、低コピー系統を選抜した結果、2 系統が低コピーであることが示唆された。それら系統を 20 粒ずつハイグロマイシン培地に播種し発芽率を測定した結果、いずれの系統も発芽率が 50%未満であった。また、これらの系統の種子からタンパク質を抽出し、ウエスタンブロットティングを行った結果、系統内で抗 Her2 抗体の発現の有無にばらつきが見られた。これらの結果から、今回得られた系統はヘテロ接合体だと示唆された。また、種子中の抗 Her2 抗体の詳細な局在場所を明らかにするために共焦点顕微鏡観察を行ったので、その結果についても報告する。

2Ca3

極矮性イネ品種の利用に向けたジベレリン欠損イネ系統の解析

Analysis of gibberellin-deficient mutant rice for utilization of ultra-dwarf rice cultivars

田井 彩乃¹, 寺迫 鷹¹, 佐藤 壮一郎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

遺伝子組換え植物による有用物質生産を実用化する場合、植物工場等の屋内で生産することが求められる。そのためには省スペースで生産が可能な矮性品種が有利である。イネ種子の貯蔵機能はワクチン抗原や抗体医薬などの有用タンパク質生産に利用できることから、我々は極矮性イネを遺伝子組換えの宿主として利用する研究を進めている。当研究室で保有している極矮性イネ品種京のゆめは、草丈が約 20cm と超短稈であり世代時間が短いといった利点を持つが、一斉収穫ができない、乾燥耐性が低いなどの不利な生育特性を持つ。我々の先行研究で、京のゆめはジベレリン生合成経路の GA3ox2 (*D18*) 遺伝子に変異を持つジベレリン欠損系統であると示唆されている。京のゆめの持つ不良形質がジベレリン欠損によるものであるかどうかを検討するため、そのゲノム配列の解析と、*D18* 遺伝子のノックアウト系統の作出を行った。

京のゆめのゲノム DNA のリシークエンス結果をもとに、日本晴と比較してアミノ酸配列が大きく異なる 613 個の遺伝子について GO 解析を行った。その結果、ストレス応答や乾燥耐性に関する遺伝子を多数見出した。これらの遺伝子の変異によって京のゆめでは乾燥耐性が低下していると示唆された。また日本晴の *D18* 遺伝子を CRISPR/Cas9 システムにより変異させるためゲノム編集コンストラクトを構築した。これを日本晴カルスに導入した結果、極矮性の表現型を示す再分化個体が 14 個体得られ、そのうち 9 個体で種子が得られた。今後、これらの極矮性個体の後代を育成し、京のゆめと異なる生育特性を示すかを調査する予定である。

2Ca4

複数メロン系統での形質転換効率の調査

Comparison of transformation efficiency in multiple melons

番匠 玲月¹, 太田 翔一郎¹, Martín-Hernández Ana Montserrat², 野中 聡子^{3,4}

¹筑波大・院生物資源科学, ²Institute of Agrifood Research and Technology, ³筑波大・生命環境系, ⁴筑波大・T-PIRC

形質転換技術は、遺伝子機能解析や遺伝子組換え作物の作出、ゲノム編集作物の作出に利用される基盤技術の一つであるが、形質転換効率は、系統ごとに大きく異なる。このため、形質転換技術は限られた系統でしか利用できないことが課題になっている。形質転換技術の汎用化に向けて、この点を解消する必要がある。本研究では、形質転換効率の系統間差の解消に向けた基盤知見の取得に向けて、難形質転換作物であるメロンの形質転換効率の系統間差を調査した。

メロン (*Cucumis melo* L.) は、重要なウリ科作物の一つであり、温帯地域を中心に世界中で栽培されている。最新の詳細なゲノム解析から、原産地はアフリカとされており、アフリカで 1 回、インドで 2 回の栽培化のイベントを経て西洋と東洋へ伝搬したと考えられている。また、*ssp. melo* と *ssp. agrestis* の 2 つの亜種に分類され、イネの亜種 (*japonica* と *indica*) 間に匹敵するほど強い遺伝的分化を示し、亜種ごとで独立的に栽培化したことが知られている。

本研究では、西洋系統の *ssp. melo*、東洋系統の *ssp. melo* および *ssp. agrestis* の 10 系統について、外植片への遺伝子導入頻度と形質転換効率を評価した。遺伝子導入頻度は、共存培養直後に一過的遺伝子発現強度を指標に調査し、形質転換効率は個体の再生後に調査した。遺伝子導入頻度は、*ssp. agrestis* と *ssp. melo* で差はなく、全品種で確認された。一方で、形質転換効率は、*ssp. melo* よりも *ssp. agrestis* で高い傾向が示された。また、形質転換効率と遺伝子導入頻度には相関が認められなかった。

2Ca5

花の左右相称性に関与する *CYCLOIDEA/DICHOTOMA* と相同なトレニア由来 *TfCYC1* 遺伝子の機能解析

Functional analysis of the *TfCYC1* gene derived from *Torenia* homologous to *CYCLOIDEA/DICHOTOMA* controlling floral asymmetry

鳴海 貴子, 田中 豊彦, 橋本 千明, 日下 文聡, 青木 真希子, 岡本 有加

香川大・農学部

花の左右相称性は、転写因子によって制御されていることが報告されている。キンギョソウにおいて花の左右相称性に関わる転写因子として *CYCLOIDEA* および *DICHOTOMA* が報告されており、これらの遺伝子が花の原基の向軸側で発現することにより向軸側の花弁の運命の決定および花の左右相称性に関わると考えられている。今回、トレニアの左右相称性花の発生のメカニズムの解明を目指し、トレニアから *CYCLOIDEA/DICHOTOMA* と相同な *TfCYC1* を単離し、遺伝子発現解析、*TfCYC1* 過剰発現体および *TfCYC1* 機能抑制形質転換体の作出による機能解析を行ったので報告する。

TfCYC1 遺伝子の発現は、花弁出現期から花弁長 3 mm に至るまで増加傾向を示した。がく裂開前の花弁着色期で *TfCYC1* 遺伝子の発現レベルは減少傾向を示し、がくから花弁が出現す段階で再び *TfCYC1* 遺伝子の発現レベルは高くなり、満開時にはがく裂開前と同等の発現レベルを示した。*TfCYC1* 過剰発現体では、側部花弁が向軸側花弁様を示す個体、向軸側花弁が側部花弁様を示す個体、花色が変化した個体が認められた。向軸側花弁が側部側花弁に変化した個体では内在の *TfCYC1* 遺伝子の発現レベルが野生型に比べ低く、さらには導入遺伝子の発現レベルも低かった。このことから、向軸側花弁が側部花弁様に変化した *TfCYC1* 過剰発現体の表現型は、コサプレッションによって生じたことが示唆された。*TfCYC1* 機能抑制形質転換体では、向軸側花弁が側部花弁様を示した。

以上の結果から、*TfCYC1* はトレニアの向軸側花弁の運命を決定していることが示唆された。

2Ca6

アサガオの花を長持ちさせる転写因子阻害剤の発見

Discovery of Transcription Factor Inhibitors Extending the Longevity of Morning Glory Flowers

野澤 彰¹, 渋谷 健市², 澤崎 達也¹

¹愛媛大PROS, ²農研機構

花の寿命は、遺伝的にプログラムされたメカニズムにより厳密に制御されており、開花もしくは受粉後一定時間が経過すると、プログラム細胞死に関与する遺伝子群の発現が誘導され、花は萎れ枯れてゆく。我々はこれまでの研究において、アサガオの花の老化を制御する転写因子 EPHEMERAL1 (EPH1) を同定し、EPH1 の活性を抑制する薬剤を用いることで花もちを延長できるのではないかと考えた。

本研究では、無細胞タンパク質合成系および AlphaScreen 法を用いて、EPH1 と標的 DNA との相互作用を定量的に検出可能なアッセイ系を確立した。このアッセイを用いて化合物ライブラリーのスクリーニングを行った結果、EPH1 と DNA の結合を特異的に阻害する化合物を同定することに成功した。

さらに、得られた化合物の作用機序を解析した結果、EPH1 は二量体化を介して DNA へ結合すること、ならびに本化合物が EPH1 の二量体形成を阻害することにより、DNA 結合活性を低下させることが明らかとなった。加えて、切花処理系において当該化合物を添加した条件では、花弁中の DNA およびタンパク質の分解が抑制され、花の寿命が約 2 倍に延長されることが確認された。

本研究は、花の老化制御に関与する転写因子の分子機構の解明と、花もち延長を目的とした化学的制御の可能性を示すものである。

2Ca7

太陽誘起蛍光を利用したドローン搭載のマルチスペクトルカメラの開発

Development of a drone-mounted multispectral camera using solar-induced fluorescence

増田 健二, 飯尾 淳弘

静岡大・農

太陽誘起クロロフィル蛍光 (SIF) と光化学反射指数 (PRI) を同時に測定できるドローン搭載のマルチスペクトルカメラ (MS カメラ) を AgEagle 社と共同で開発している。MS カメラで作物の生育状態を診断する方法がある。この分析には正規化植生指数 (NDVI) データが用いられている。MS カメラに、SIF 画像を撮影するフィルタを装着することで、NDVI よりも高い精度で生育状況を診断することができる。最近では、PRI 画像の作成にはハイパースペクトルカメラが利用されているが、高価であるため農業分野での利用は限られている。そのため、簡便に PRI 画像を取得できるカメラの開発が期待されている。MS カメラに、余剰エネルギーの蛍光 (Excess F) 画像を撮影するフィルタを装着することで、PRI よりも高い精度で蒸散量を検出することができ、渇水ストレスの高精度の診断に利用できる。

・発明の名称：クロロフィル蛍光画像取得装置、発明者：増田健二、特許出願人：国立大学法人静岡大学

出願番号：特願 2023-194128、出願日：2023 年 11 月 15 日

・発明の名称：クロロフィル蛍光画像取得装置、発明者：増田健二、特許出願人：国立大学法人静岡大学

国際出願番号：PTC/JP2024/037745、国際出願日：2024 年 10 月 23 日

2Ca8

オーキシシン活性を示さない 4-PBA 類似体の解析

Analysis of 4-PBA Analog Devoid of Auxin Activity

近藤 陽一, Zhengxue Du, 永川 雄大, 半田 賢斗, 伊佐早 総司, 都藤 藍, 飯田 博一

関東学院大・理工・生命

我々は植物のストレス耐性を向上させる化合物として、ケミカルシャペロンとしての効果を有している 4-フェニル酪酸 (4-PBA) に着目して研究を行っている。4-PBA には植物の高温ストレス耐性を向上させる効果があるが、生育も強く阻害する。この生育阻害の原因は 4-PBA の炭化水素鎖が植物内で β 酸化され、天然オーキシシンの一つであるフェニル酢酸 (PAA) になることである。そこで生育阻害効果を指標に、可能な限りオーキシシン活性を有していない化合物を 4-PBA 類似体の中から探索した結果、ほとんど生育阻害を引き起こさない 4-PBA 類似体を見いだした。

DR5:GUS 系統を用いて、この 4-PBA 類似体がオーキシシンのシグナル伝達系の活性に影響を与えるか解析を行ったところ、この化合物を添加してもオーキシシンシグナル伝達系の活性化は見られなかった。また小胞体ストレスを可視化できるシロイヌナズナの YFP-ATG8e 系統を用いて、この化合物がケミカルシャペロン活性を有しているか評価した。その結果、4-PBA 類似体の添加によりツニカマイシンによる小胞体ストレスの誘導が緩和された。

4-PBA はヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤としても知られているが、植物ではこの活性が見られないことが分かっている。4-PBA 類似体の HDAC 活性をアセチル化ヒストン H3 に対する抗体を利用したウェスタンブロッティングにより検証したところ、この化合物も 4-PBA と同様に HDAC 阻害剤活性を有していないことが分かった。これらの結果は、この 4-PBA 類似体がオーキシシン活性も HDAC 活性も示さないケミカルシャペロンであることを示している。

2Ca9

種子に空気プラズマ照射したソルガムの温室栽培試験

Greenhouse cultivation test of sorghum with air plasma-irradiated seeds

柳川 由紀¹, 奥村 賢直², 小山 翔平¹, 井川 智子^{1,3,4}, 古閑 一憲²

¹千葉大・院園芸, ²九大・シス情報, ³千葉大・宇宙園芸, ⁴千葉大・植物分子科学

プラズマは固体、液体、気体に並ぶ物質の第4の状態であり、気体に高い電圧をかけることでプラズマを発生させることができる。古より「雷が多い年は豊作になる」という言い伝えがあり、プラズマである雷が植物の生育に影響を与えると感覚的に信じられてきた。我々のこれまでの研究から、大気圧下で生成する空気プラズマをソルガム（BTx623）種子に照射すると発芽及び生育が促進することが明らかになった。今回、温室を使ってプラズマ照射したソルガムの栽培試験を行ったので、本大会ではその成果を報告する。

ソルガムはアフリカ原産のイネ科植物である。ソルガムは高温や乾燥に強いことから、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、他の農作物や園芸植物の生産へも技術展開できると期待する。

2Ca10

ゼニゴケ代謝工学に向けた核ゲノム改変重層化の技術基盤

Technical platform for multilayered nuclear genome editing and transformation toward metabolic engineering in *Marchantia polymorpha*

酒井 友希¹, 守屋 健太¹, 水谷 正治², 石崎 公庸¹

¹神戸大・院理, ²神戸大・院農

植物は多様な有機物を生産し、その中でも環境適応の中で進化した二次代謝産物は、医薬品や健康食品として広く利用されてきた。しかし、有用な代謝産物を生産する植物は栽培が困難な場合が多く、代謝工学による生産性向上が求められている。従来こうした代謝工学には作物が用いられてきたが、形質転換に時間がかかる点が課題だった。一方、コケ植物ゼニゴケ（*Marchantia polymorpha*）は成長が早く、全ゲノム情報が整備され、短期間で代謝改変が可能な形質転換法やゲノム編集法が確立されている。核・葉緑体の両ゲノムを標的とすることで、高効率に外来遺伝子を導入・発現できる。今後、大量培養システムの確立により、ゼニゴケを使った植物代謝工学の実用化が大きく進展することが期待されている。

この目的のために、迅速な代謝改変を短期間で実現するゼニゴケ代謝工学のための技術基盤の整備が急務である。本発表では、現在我々が進めている核ゲノムの改変・遺伝子導入を重層化するための複数のシステムについて報告する。

2Ca11

低ケイ素含量ソルガム変異体におけるリグニンの高蓄積とその応用

Higher accumulation of lignin in low-Si sorghum mutants and their application

Reza Ramdan Rivai^{1,2,3}, 小林 優², 山崎 清志^{1,4}, 宮本 託志¹, 飛松 裕基¹, 三上 文三¹, 徳永 毅⁵, 藤原 徹⁴, 梅澤 俊明¹

¹京都大学生存圏研究所, ²京都大学大学院農学研究科, ³インドネシア国立研究革新庁, ⁴東京大学大学院農学生命科学研究科, ⁵株式会社弥生植物リサーチ

持続型社会の構築に向けて、リグノセルロース（木質）バイオマスからの工業原材料生産や石炭代替ペレット燃料生産に関する必要性が近年世界的に顕に高まっている。リグノセルロースバイオマスは樹木系とイネ科植物系に分けられるが、イネ科植物はバイオマス生産性及び化学成分分離特性の点で樹木系より遥かに優れており、資源として今後一層重要になると考えられる。イネ科植物のうちソルガム（*Sorghum bicolor*）は、そのバイオマス生産性が特に高い等、種々の理由から石炭代替ペレット燃料生産用原料として注目されている。しかし、イネ科植物が一般に高含量で含むケイ素（Si）は燃焼炉の保守などに問題を引き起こすことから、ソルガム中の Si 含有量の低減が強く求められている。本研究では、まずソルガムの水耕栽培において Si の供給を制限すると、リグニン含量とシリングルリグニン／グアイアシルリグニン比が有意に増加することを示した。次に、Si の取り込みに欠損を持つグリーンソルガム（*S. bicolor* cv. BTx623）変異体について検討し、野生型と比較してこの変異体では葉の Si 含量とリグニン含量が、それぞれ大幅に減少および有意に増加することを示した。さらに、バイオマス生産性の高いバイオマスソルガム変異体集団から対応する変異体をスクリーニングした。そしてこのバイオマスソルガム変異体は、BTx623 変異体と同様に、葉中のリグニン含量が増加し、Si 含量が激減することを示した。これらのソルガム変異体は、石炭代替ペレット燃料生産に向け、高リグニン含量で Si 含量の少ない実用的な高バイオマス産生品種を開発するために有用と考えられる。

2Ca12

Mitigating Grass Lignin Complexity by Multiplex Engineering of Lignin Biosynthetic Pathways for Boosting Lignocellulose Deconstruction

Pingping Ji¹, Senri Yamamoto¹, Osama Ahmed Afifi^{1,2}, Keishi Osakabe³, Yuriko Osakabe⁴, Toshiaki Umezawa¹, Yuki Tobimatsu¹

¹RISH, Kyoto Univ., ²US DOE Brookhaven Natl. Lab., ³Fac. Biosci. Bioind., Tokushima Univ., ⁴Sch. Life Sci. Technol., Inst. Sci. Tokyo

Grass biomass represents a sustainable resource for lignocellulose-derived biochemicals. However, the inherently complex structures of grass lignin, stemming from its incorporation of a wide array of lignin monomers, poses challenges for converting grass lignocellulose into valuable chemicals. In this study, we generated new rice mutant and transgenic lines that produce simplified lignins through multiplex engineering of lignin biosynthetic pathways. Specifically, introducing a stacked mutation to a gene encoding CONIFERALDEHYDE 5-HYDROXYLASE (Cald5H) into a rice mutant deficient in genes encoding *p*-COUMAROYL-COENZYME A:MONOLIGNOL TRANSFERASE (PMT) produced lignins highly enriched in guaiacyl (G) units (~96%) by eliminating syringyl (S) units along with grass-specific *p*-coumarate (P) decoration units. Conversely, overexpressing *Cald5H* in the *PMT*-deficient mutant yielded lignins highly enriched in S units (~84%). These G- and S-lignin-enriched rice lines displayed significant increases in cellulose-to-glucose yield during enzymatic saccharification, as well as enhanced yield and purity of phenolic monomers from oxidative lignin depolymerization. Overall, our results demonstrate that simplifying grass lignin structures by manipulating canonical G and S units along with grass-specific P decoration units presents a promising strategy to improve grass lignocellulose utilization.

2Ca13

ミヤコグサにおける root/shoot 比の種内多型によるバイオマス配分関連遺伝子の探索

Detection of genes associated to biomass allocation through intraspecific polymorphism of root/shoot ratio in *Lotus japonicus*

片山 瑛斗¹, 加藤 晃^{1,2}, 若林 智美¹

¹奈良先端大・バイオ, ²奈良先端大・CDG

資源配分は植物の成長や繁殖戦略に関わるため、環境適応の理解に重要である。例えば root（地下部）への資源配分は土壌中の養分吸収に、shoot（地上部）への資源配分は光合成に寄与する。しかし植物が利用できる資源は有限であり、配分する器官間の大きさはトレードオフの関係にある。野生植物では生育環境下で最適に資源配分された個体が選択され、その環境に適応している。本研究の材料であるマメ科ミヤコグサは、環境勾配の大きい日本列島に広く分布している。異なる環境に分布拡大した本種は、生育環境によって資源配分が異なり、その指標となる root/shoot 比に種内多型を持つ。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利用して、本種の root/shoot 比の種内多型の様相や由来地環境との関連を統計的に評価し、環境に応じた資源配分の多型に関連する遺伝的要因の探索を目的とした。

まずミヤコグサ国内野生系統 117 系統を同一条件で栽培し、播種後 2 週間後の root, shoot 重量を測定して root/shoot 比を算出した。形質間の相関解析の結果、root/shoot 比はほぼ root に依存し、shoot との関連性は低かった。また、環境値との相関解析から、root/shoot 比と気温・降水量の間に負の相関関係が認められた。

次に資源配分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 root/shoot 比多型について全ゲノム関連解析を行った。その結果、第 3 染色体上に表現型多型と有意に関連するゲノム領域が検出された。この領域内には *PLEIOTROPIC DRUG RESISTANCE 12* 相同遺伝子など複数の候補遺伝子が含まれ、本種の資源配分多型に寄与する可能性が考えられる。

2Da1

トマトの根におけるリポカリンの機能解析

Functional analyse of tomato lipocalins in roots

松井 真宙¹, 小久保 祥子², 富安 美玖¹, 齋藤 貴子¹, 本橋 令子¹

¹静岡大・院農学, ²静岡大・院バイオサイエンス

多様な生物に存在するリポカリンタンパク質ファミリーは疎水性分子輸送やストレス応答等の役割を担うとされるが、植物においてその機能は未解明な部分が多い。植物に存在するリポカリンの一種である *TIL* (*Temperature-induced Lipocalin*) は、トマトにおいて *SITIL1*, *SITIL2* の 2 コピーが存在している。*SITIL1* は発芽直後から伸長中の根で発現が増加し、また高温環境、低温環境下において発現が誘導された。この結果から根の生育と温度ストレス応答への *SITIL1* の役割に着目した。

SITIL1 を過剰発現させた個体と野生型の幼苗を用いて根の初期生育を観察した。その結果、野生型と比較して側根数の増加と主根の伸長が見られ、*SITIL1* に幼根の初期生育を促進させる働きがあることが示唆された。また、トマトの生育には適さない 35℃の高温環境、及び 5℃の低温環境に幼苗を曝し温度ストレスを 5-7 日間与え、根の生育を抑えた後に、通常栽培条件（回復期）下に戻し根を観察したところ、*SITIL1* 過剰発現体では野生型に比べ、高温処理後、低温処理後のいずれでも早期の根の伸長回復が確認され、*SITIL1* に温度ストレスからの傷害を抑える機能があることが示唆された。現在、温度ストレス処理後から回復期に根の *SITIL1* の発現量がどのような変化するか、温度ストレスだけでなく浸透圧や塩、活性酸素種（ROS）や植物ホルモンなどの外的環境ストレスに対しての *SITIL1* の発現応答についても調査を進めており、この経過についても報告する。

2Da2

トマトリポカリンの温度ストレス応答と組織別発現解析

Temperature stress response and tissue-expression analysis of tomato lipocalin

小久保 祥子¹, 松井 真宙², 齋藤 貴子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

リポカリンは、動物や植物、昆虫など広範囲に存在するタンパク質であり、疎水性小分子の輸送、免疫、各器官の発達に重要な役割を果たし、様々なストレス応答やシグナル伝達に関与している事が知られている。私達はトマトリポカリン (Temperature induced lipocalin; TIL) は *TIL1*, *TIL2* の2コピー及び葉緑体リポカリン (*CHL*) の存在を明らかにし、*TIL1,2* の上流 1kbp のプロモーター領域の *cis*-element を解析した結果、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 *cis*-element を確認した。各リポカリンの発現解析より *SITIL1* は温度、塩、活性酸素 (ROS) ストレスにて発現量が増加し、*SITIL2* は温度ストレスや ABA 処理にて葉や果実で発現量が増加した。本研究では *TILs* の更なる機能解析の為、*SITIL1,2* のプロモーター (GUS) アッセイを検討し、組織特異性評価では *SITIL1* は幼根の根端分裂組織や果実成熟期に、*SITIL2* は本葉や果実で発現し、特に果実成熟期に種子の発生に繋がる維管束や Seed coat で発現が高まった。加えて私たちが作出したリポカリン過剰発現体の内、*SITIL1* 過剰発現体は野生型より幼苗にて主根の伸長、側根形成が有意に早かった。*SITIL1,2* 過剰発現体は通常条件にて WT よりも根端分裂組織に ROS が有意に発生していた一方で、35°C高温処理にて WT は葉及び根端に ROS が発生したが、*SITIL1,2* 過剰発現体は共に葉や根端における ROS 発生は減少した。また高温処理時の *SITILs* 発現比較より、*SITIL1* よりも *SITIL2* の発現が高い傾向が認められた。上記の結果より、*SITIL1,2* とも温度ストレス応答や果実成熟に寄与し、特に *SITIL1* は根の伸長と ROS 除去に、*SITIL2* は各種ストレスや植物ホルモン応答に寄与している事が示唆された。

2Da3

病害防御応答に関与する葉緑体タンパク質の機能解析

Functional analysis of pathogen resistance factors related to chloroplast proteins

中島 萌美路¹, 星野 孝太², 松永 遥平¹, 本橋 令子¹

¹静大・院農学, ²静大・農学

葉緑体と病害応答が関係していることは 30 年ほど前から知られ、植物の病害応答の最初の段階である PAMP (pathogen-associated molecular pattern) シグナルが葉緑体に伝達され Ca^{2+} シグナルを生じること、この Ca^{2+} シグナルの発生には葉緑体チラコイド膜タンパク質 (CAS) が関与し、一重項酸素をはじめとした活性酸素種 (ROS) シグナルを誘導して防御応答遺伝子群の発現を誘導していることが明らかになっている。葉緑体の新たな機能の探索と解明を目的とし、植物が細菌エリシターの flg22 を感知すると成長と防御のトレードオフにより成長阻害を受けることを指標に、シロイヌナズナの核ゲノムコード葉緑体タンパク質であると予測された遺伝子破壊株のうち、flg22 による成長阻害の影響が大きかった変異株を感受性株、影響の小さかった株を非感受性株とした。免疫応答に関連する植物ホルモンで、異なる経路を活性化することで拮抗して作用することが知られているサリチル酸 (SA) とジャスモン酸 (JA) の生合成が共に葉緑体で始まることに着目し、SA と JA をそれぞれ変異株に処理し、変異株と野生株の違いを調査した。flg22 非感受性株は野生株と比較して JA 処理時の光合成活性が低下しにくく、JA 応答遺伝子の発現が減少していたことに加え、原因遺伝子の発現が SA による負の調節を受けていたことから、flg22 非感受性株の原因遺伝子が JA 経路を介して植物の免疫応答の制御に関わっている可能性が示唆された。

2Da4

キュウリモザイクウイルス 2b とシロイヌナズナ Dicer-Like1 の相互作用と細胞内局在

Interaction and Subcellular Localization of Cucumber Mosaic Virus 2b and Arabidopsis Dicer-Like1

生田 朋, 木上 椋介, 小泉 望, 岩田 雄二

大阪公大・院農学

RNA サイレンシングは植物のウイルス抵抗性に重要な役割を果たしている。キュウリモザイクウイルス (CMV) は広範な植物に感染し病徴を引き起こすが、CMV のコードする 2b タンパク質は RNA サイレンシング抑制活性をもち、2b をシロイヌナズナに恒常発現させると microRNA (miRNA) 経路が攪乱され形態異常が起こる。2b は miRNA, small interfering RNA (siRNA), Argonaute (AGO) タンパク質など複数の宿主因子と相互結合することが知られているが、私たちは 2b がシロイヌナズナの Dicer-Like1 (DCL1) と結合することを明らかにした。DCL1 は miRNA 前駆体を切断し miRNA を切り出す RNase であることから、2b による miRNA 生成の阻害の可能性が示唆された。DCL1 は植物の他の DCL タンパク質には無い N 末端領域を持つが、この領域を介して 2b は DCL1 と核で相互作用すること、この相互作用はシロイヌナズナ以外の他の植物の DCL1 との間でも見られることが明らかになった。また、DCL1 は核内の D-body と呼ばれる構造体に局在することが知られているが、2b 発現により DCL1 の D-body への局在が見られなくなった。これらの結果から、CMV 感染の際に 2b が果たす役割について議論したい。

2Da5

植物における mRNA ポリアデニル化に関連するシス配列の探索

Identification of a cis sequence associated with mRNA polyadenylation in plant

北出 祥大¹, 田村 泰造¹, 加藤 晃^{1,2}

¹奈良先端大・バイオ, ²奈良先端大・CDG

ロングリードシーケンスによる全長 mRNA の網羅的解析により、真核生物の多くの mRNA 3'UTR には複数のポリ A 付加部位 (Cleavage and Polyadenylation Site: CPS) が存在し、選択的なポリアデニル化によって UTR 長が異なる mRNA (3'UTR バリエント) が転写されることが示された。これら 3'UTR バリエントは植物の発達段階や環境ストレスなどに応じて転写量が増減することから、3'UTR 長を調節することで mRNA 発現を質的に制御する機構が提唱された。哺乳類における 3'UTR バリエントの転写は CPS を決定するシス配列 (AAUAAA) によって調節されるが、植物全 mRNA における AAUAAA 様配列の保有率は 1 割程度であり、残り 9 割の 3'UTR バリエントが転写される分子機構は未だ不明である。

本研究では、植物 mRNA における 3'UTR バリエントの転写機構の解明に向け、ポリ A 鎖付加部位を規定するシス配列の出現パターンと選択的ポリアデニル化の関連性を検証する。先行研究により、植物の 3'UTR プロセッシングには CPS 以外に、PAS (polyadenylation signal), DSE (downstream sequence element) などの複数のシス配列が寄与しており、それらシス配列の組合せがポリ A 付加部位を規定する可能性が示唆された。そのため、まずはロングリード RNA-seq 解析によるシロイヌナズナの mRNA 完全長配列データから選択的ポリアデニル化を起こしている mRNA 配列情報を取得し、配列内に存在するシス配列の組合せとポリアデニル化パターンとの関連性を定量的に評価する解析パイプラインを構築する。また、3'UTR のプロセッシングに寄与する新規シス配列の探索も進めることで、植物 mRNA から多様な 3'UTR バリエントが転写される分子メカニズムの解明を目指す。

2Da6

転写開始点の収束に着目した新規高発現ベクター系構築に向けた検証

Evaluation of a novel high-expression vector system focused on transcription start site Convergence

山木 淳正¹, 田村 泰造¹, 加藤 晃^{1,2}

¹奈良先端大・バイオ, ²奈良先端大・CDG

酵母などの真核生物における遺伝子発現制御機構の解明に向けた先行研究により、真核生物の多くの遺伝子には転写開始点の不均一性が存在し、一つの遺伝子から様々な転写開始点を持つ転写産物が生じることが明らかになった。さらに、この不均一な転写産物は本来発現すべきタンパク質の収量を低減させる可能性を持つことから、真核生物の内在プロモーターには潜在的に転写産物の質的制御を担う役割が存在することが示唆された。現在、既存の遺伝子発現ベクター系の多くは核酸供与体からの内在プロモーターを原型のまま使用しており、転写開始点などの質的制御に関わる配列要素の最適化は考慮されていない。したがって、転写開始点を収束させた改変プロモーターを含む遺伝子発現ベクター系を設計することで、導入遺伝子の発現量を既存の発現ベクター系よりも大幅に向上化できると考えられる。

本研究では、植物体および培養細胞を対象に、塩基置換によって転写開始点を一点に収束させた改変プロモーターを用い、導入遺伝子の発現量を向上化させる検証に取り組んでいる。植物研究で広く用いられる高発現プロモーターをモデルとして、*in silico* 解析で、転写開始点を収束させる塩基置換パターンを数種類予測した。現在、これらの塩基置換を施した改変プロモーターを含む発現ベクターを用い、シロイヌナズナ培養細胞およびタバコ植物体を対象に一過的発現解析を進めている。さらに、塩基置換によって、転写開始点が予測通り一点に収束しているかの検証も並行して進めており、これらの実験を通じて、転写開始点の収束と導入遺伝子の mRNA およびタンパク質の質的・量的調節の関連性を明らかにする。

2Da7

二つの二次細胞壁マスター転写因子ファミリーの分子機能解析

Molecular Functions of Two Master Transcription Factor Families Regulating 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埼玉大・院理工, ²東大・院農学生命科学, ³産総研・バイオものづくり研究センター

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では、通常の（一次）細胞壁の内側に肥厚した二次細胞壁が形成される。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。これらは共通して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。このような似て非なる二つの二次細胞壁マスター転写因子ファミリー間の分子機能の違いについては十分に解析がなされていない。そのような中で、私たちは NST ファミリーでのみ発現が正に制御される遺伝子を発見した。トランジェントアッセイにより、その遺伝子のプロモーターをレポーターとして用いることで、NST ファミリーが特異的に制御する配列の絞り込みを行った。さらに、絞り込んだ領域に塩基置換を導入することで、NST ファミリーによる転写活性が有意に低下する塩基を見出している。一方、VND ファミリーと NST ファミリー間で DNA 結合に関わる NAC ドメインのアミノ酸配列を比較したところ、複数のアミノ酸残基がファミリー間で異なることを明らかにした。そこで、VND ファミリーで保存されているアミノ酸に置換した NST1 を作製し、これらをエフェクターとしてトランジェントアッセイを行った。その結果、VND ファミリーが優先的に制御する *XCP1* プロモーターに対して転写活性を上昇させるアミノ酸置換の存在が明らかとなった。

2Da8

二次細胞壁形成過程における膜貫通型 NAC ドメイン転写因子の機能解析

Functional Analysis of Membrane-Associated NAC Transcription Factors during Secondary Cell Wall Formation

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

¹埼玉大・院・理工, ²産総研・バイオものづくり, ³山形大・農

維管束木部を構成する繊維細胞や道管要素では、一次細胞壁の内側に肥厚した二次細胞壁が形成される。二次細胞壁は、物理的強度の付与といった植物の成長に重要な役割を持つ一方で、木質バイオマス利活用の主要なターゲットとしても注目されている。シロイヌナズナでは、NAC ドメイン転写因子である NST1 と NST3、および VND ファミリーがそれぞれ繊維細胞、道管要素のマスター因子としての役割を担っている。これらは、二次細胞壁形成に関わる数多くの遺伝子群の発現を制御している。私たちは、二次細胞壁形成の制御機構を解明する目的で、NST3 の発現制御に着目して研究を行っている。これまでに、翻訳開始点の上流約 2 kbp から 1 kbp の領域が *nst1 nst3* 二重変異体の表現型を相補するのに必要不可欠であることを明らかにした。次に、この絞り込んだ領域に結合する転写因子を探索したところ、複数の膜貫通ドメインを有する NAC ドメイン転写因子が単離された。プロモーター解析により、単離された中には、維管束木部で発現する膜貫通型 NAC ドメイン転写因子が含まれていることが明らかとなった。この膜貫通型 NAC ドメイン転写因子が制御する配列を NST3 プロモーター領域の中から、一過的発現解析を通じて絞り込んでいる。さらに、ゲルシフトアッセイによる相互作用解析も進めており、この結果についても報告したい。また、過剰発現体や機能欠損体の作出も行っている。確立した機能欠損体 3 系統について花茎の横断切片を観察したところ、少なくとも単独変異体では、二次細胞壁形成に影響が生じないことが明らかとなった。過剰発現体の結果についても報告したい。

2Da9

老化特異的に著しく遺伝子発現を誘導するプロモーターの解析

Analysis of a promoter inducing gene expression in response to leaf senescence

井窪 勇気¹, 坂本 真吾², Isura Nagahage³, 山口 雅利¹

¹埼玉大学大学院・理工学研究科, ²産業技術総合研究所・バイオものづくり研究センター, ³ケンタッキー大学・植物土壌科学科

植物の葉における老化は、成長過程や環境ストレスなどの内的・外的要因により誘導される遺伝的に制御されたプロセスである。この老化過程で発現が誘導される遺伝子群として多くの Senescence-associated-genes (SAGs) が知られている。SAG12 はシステインプロテアーゼをコードする遺伝子であり、葉の老化の指標として広く利用されている。先行研究では、野生型のシロイヌナズナの葉を切除し暗所で処理することで、SAG12 の発現量が著しく増加することが示された。また、老化を抑制する働きを持つ NAC 転写因子である VNI2 (VND-INTERACTING 2) を欠損したノックアウト変異体では、同様の処理により SAG12 の発現量が野生型と比較してさらに増加することが明らかとなった。本研究では、SAG12 の発現制御機構を解析すると共に、SAG12 プロモーターを利用したタンパク質大量発現の有用性の検証を行った。老化を促進する複数の転写因子をエフェクター、SAG12 プロモーターをレポーターとして用いてトランジェントアッセイを行った結果、SAG12 の転写活性を促進する転写因子の存在が明らかとなった。現在、SAG12 プロモーター内の標的配列の同定も行っている。また、SAG12 プロモーターに GUS を連結したコンストラクトをシロイヌナズナの野生型に導入したところ、暗所処理によって葉における GUS の染色が誘導されること、その誘導の程度は生育の日数が進むにつれて強まることが明らかとなった。現在、vni2 変異体への GUS のコンストラクトの導入を進めている。

2Da10

Plastid encoding of *Rubisco Activase* improves photosynthetic performance but decreases phenotypic plasticity to light

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

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

Rubisco activase (RCA), a nucleus-encoded chloroplast protein, regulates photosynthesis by mediating light-dependent activation of Rubisco. In this study, we evaluated the growth and photosynthetic performance of transplastomic tobacco lines overexpressing *NtRCA1* (*RCA_{pla}*) at 28 °C under natural light. *RCA_{pla}* with 4 to 6 times higher RCA, displayed improved CO₂ assimilation rates and biomass. However, they failed to show higher biomass during the winter cultivation, when light intensity and quality deteriorated. Shade-to-light acclimation studies revealed the lack of phenotypic and physiological plasticity of *RCA_{pla}* to fluctuating light. Transcriptome analysis comparing *RCA_{pla}* and nuclear overexpression lines (*RCA_{nuc}*) with WT demonstrated reduced light-dependent changes in the expression of genes encoding photoreceptors, tetrapyrrole metabolism, cell communication, and nuclear-encoded photosynthesis genes. This suggested retrograde signaling abnormalities due to the expression of RCA from plastids. Moreover, *RCA_{nuc}* and *RCA_{pla}* showed contrasting phenotypes under low light conditions. These findings underscore the critical role of nuclear-encoded RCA in light acclimation and highlight potential trade-offs in plastid-encoded RCA overexpression despite improved photosynthetic performance.

2Da11

Regulatory Networks Shaping *Fra* Protein Expression During Leaf Development in Wild Strawberry

Chonprakun Thagun¹, Yoshinori Fukasawa¹, Tomohiro Suzuki¹, Takahito Nomura¹, Masanori Okamoto¹, Yutaka Kodama^{1,2}

¹C-Bio, Utsunomiya Univ., ²Grad. Sch. Regional Dev. Creativity, Utsunomiya Univ.

Leaf expansion is a key developmental process that enhances photosynthetic capacity and facilitates gas exchange and transpiration, supporting vegetative growth and environmental adaptability in both cultivated (*Fragaria × ananassa*) and wild strawberries (*Fragaria vesca*). Despite its importance, the regulatory mechanisms underlying leaf expansion in strawberry remain poorly understood. In this study, we employed a multi-omics approach to investigate transcriptional and hormonal dynamics during leaf development in *F. vesca*. RNA-seq analysis revealed that fully expanded leaves exhibit strong upregulation of genes related to photosynthesis, light-harvesting, calcium signaling, and defense responses, including those encoding allergenic *Fra* proteins. Hormone profiling showed elevated levels of abscisic acid (ABA) and a concurrent reduction in defense-related hormones such as salicylic acid (SA) and jasmonic acid (JA) in fully expanded leaves, indicating a hormone-regulated shift during leaf maturation. Computational prediction and transactivation assays identified ABA-responsive MYB transcription factors as potential regulators of clustered *Fra* genes. These findings suggest coordinated hormonal and transcriptional regulation of *Fra* expression during leaf expansion and offer new insights for genome editing strategies to improve crop performance and manage allergens in strawberry.

2Da12

2 系統のカラスビシャクを用いた薬効多糖アラバンの生合成遺伝子の探索

Exploration of the biosynthetic genes of the medicinal polysaccharide Araban using two isolates of *Pinellia ternata*

山口 尚輝¹, 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

カラスビシャク (*Pinellia ternata*) は塊茎による栄養繁殖、種子繁殖と共に、葉柄にムカゴを形成し繁殖する植物であり、またこの塊茎を加工した「半夏」は制吐性を持ち多くの漢方処方に用いられる重要な生薬である。制吐作用の主成分として、6種の単糖からなり14種の糖-糖結合を持つと推定される水溶性多糖「アラバン」が単離されているが、その生合成遺伝子群は未同定である。そこで我々は、アラバンを含有するムカゴの形成過程の解析を通じて、その生合成遺伝子の探索を進めている。

昨年度の本学会では、平均より大きな植物体であり塊茎に多量のアラバンを蓄積する Y4 系統において、幼若葉の塊茎から伸長、葉の展開、葉柄への幼ムカゴの形成、生長及び成熟からなるムカゴの形成過程が、6段階に区分されることを報告した (山本ら, 3C-08)。またこの過程でのムカゴへのアラバン蓄積量の変化および、複数の糖転移酵素遺伝子の発現変動についても報告した。これらの過程および変動がカラスビシャクに普遍的なものであるか検討するため、今回、植物体の大きさと塊茎へのアラバン蓄積量が平均的な A4 系統を対象に検討を行なった。Y4 系統と A4 系統でムカゴ発達過程における色彩変化は異なるが、A4 系統においても葉柄の伸長、葉の展開、葉柄へのムカゴの形成過程は Y4 系統と同様に6段階に区分が可能であった。現在、A4 系統を対象にムカゴへのアラバン蓄積量の変化および複数の糖転移酵素遺伝子の発現変動、及びムカゴへの澱粉の蓄積について解析を進めており、発表においては両系統の比較結果について議論する予定である。

2Da13

NBRP トマトにおける変異体リソースの収集・活用促進と情報基盤の整備

Development of Mutant Resources, Promotion of Their Utilization, and Establishment of an Information Infrastructure in NBRP Tomato

久家 徳之¹, 杉本 貢一^{1,2}, 川本 祥子³, 江面 浩¹

¹筑波大・つくば機能植物イノベーション研究センター, ²農研機構・高度分析研究センター, ³国立遺伝学研究所・情報研究系

NBRP トマトでは、実験系トマト品種マイクロトムを用いた変異体や形質転換体の収集・保存・提供を通じて、トマト研究基盤の整備を行っている。令和6年度には、EMS、重イオン照射、中性子線照射による変異体系統に加え、アクティベーションタグラインなどの形質転換体を含む計608系統を新たに収集した。これまでに保存された約2万2千系統のリソースの中から、令和6年度はコロナ禍前の水準を大きく上回る935系統を国内外の研究者に提供し、利用の拡大が見られた。DNAリソースとしては、完全長cDNAクローンの配布を行い、令和6年度には28クローンを提供した。情報リソースの整備としては、50系統において果実のBrix糖度およびカロテノイド含有量を測定し、得られたデータを変異体データベースTOMATOMAに登録・公開した。さらに広報活動として、国内外の学会・展示会など12件に参加し、研究成果やリソースの活用法を広く発信した。TOMATOMAの機能強化を目的として、従来TOMATOMICSで公開されていたトマトゲノムおよび遺伝子関連情報をTOMATOMAに統合した。新たにゲノム情報専用ページを作成し、エクソームシーケンスにより得られたDNA変異情報の公開も進めた。今後も、リソースの高品質化と情報発信を通じて、国内外のトマト研究コミュニティを支援し、変異体の利活用のさらなる促進を図る体制の構築を目指す。

PA1 ENTRY

シロイヌナズナでは転写開始点制御によって異なる細胞内局在を示す $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 依存性 NAD キナーゼが生じる

Transcript variants of $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -dependent NAD kinase produce isoforms with distinct localizations in Arabidopsis

坂口 浩朗¹, 児玉 豊², 石川 寿樹¹, 山口 雅利¹, 川合 真紀¹

¹埼玉大・院・理工, ²宇都宮大・バイオセンター

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド 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。特に植物では、NAD(H)が呼吸などの異化反応、NADP(H)が光合成や脂質合成などの同化反応や活性酸素の生成や消去における電子伝達体として機能する。環境の変化や植物の成長段階により NAD(P)(H)の量やバランスが変化することが知られているが、細胞内でどのような制御を受けているのかはよく分かっていない。NAD(H)から NADP(H)を合成する酵素である NAD キナーゼ (NADK) は NAD(P)(H)のリン酸化比の調節に関わる酵素である。中でも、植物における Ca^{2+} 依存性の NADK 活性は、非生物・生物的ストレスに応じて変化することが古くから知られており、その重要性が示唆されている。シロイヌナズナでは $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 依存性 NADK をコードする遺伝子として、*NADKc* (*At1g04280*) が唯一同定されている。そこで我々は、環境ストレスに応答した *NADKc* 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。NADKc には長さの異なる 2 種類の転写産物が登録されていたことから、まず植物で発現している完全長の *NADKc* 転写産物を得てその塩基配列を決定した結果、複数の転写産物が同定された。さらに、そこから推定された翻訳産物の細胞内局在の解析と組換えタンパク質を用いた NADK 活性測定を行った。その結果、転写開始点制御や選択的スプライシングによって、異なる細胞内局在を示す 2 つの NADKc タンパク質と NADKc 活性をもたない 2 つの短いタンパク質が作られることが示唆された。

PA2 ENTRY

シロイヌナズナ CCR4 family CCR4H・CCR4I は NADPH phosphatase である

CCR4H and CCR4I of the Arabidopsis CCR4 family are NADPH phosphatases

上箆 美希, 藤本 貴文, 坂口 浩朗, 石川 寿樹, 川合 真紀

埼玉大・院理工

NAD(P)(H)は、生体物質の代謝に関与する酸化還元物質である。非リン酸型の NAD(H)は呼吸などの異化反応に、リン酸型の NADP(H)は光合成などの同化反応に主に使用され、その量やバランスは植物の成長や環境ストレス応答において非常に重要である。NADP(H)を脱リン酸化して NAD(H)を生成する反応を触媒している酵素が NADP phosphatase である。当研究室の先行研究により、CCR4 (Carbon Catabolite Repressor 4) family の一員である CCR4C が葉緑体局在の NADP phosphatase であることが明らかとなった。シロイヌナズナには 9 つの CCR4 family タンパク質が存在している。このうち、CCR4A と CCR4B はサイトゾルで poly A 鎖の分解を行い、mRNA の安定性制御に関与することが報告されている。また、CCR4C に加え、CCR4E と CCR4F はミトコンドリア局在の NADP phosphatase であることが当研究室の先行研究で明らかとなった。しかし、それ以外の CCR4 family の機能は不明であることから、本研究では、CCR4H と CCR4I に注目し、シロイヌナズナにおける役割を明らかにすることを目的として研究を行った。CCR4H と CCR4I は EF hand モチーフを有するという特徴を持ち、明暗に応答して発現が変化することが示された。また、CCR4H は植物体全体で発現するのに対し、CCR4I は成熟した花粉で多く発現していた。GFP を用いた細胞内局在解析を行った結果、CCR4H はサイトゾル局在であることが示された。また、リコンビナントタンパク質を用いた酵素活性測定の結果、どちらも NADP^+ を基質とした場合では活性が検出されず、NADPH を基質とした場合でのみ活性が検出され、CCR4H と CCR4I は NADPH phosphatase であることが明らかとなった。

PA3 ENTRY

クワの倍数性及び品種の違いがその代謝産物に与える影響についての NMR メタボロミクスを用いた検討

Study of Effects of Mulberry Ploidy and Variety on its Metabolites Using NMR Metabolomics

赤坂 美穂¹, 阿部 潤¹, 大塚 京平¹, 熊木 康裕², 久米田 博之³, 伊東 昌章⁴, 新井 達也¹, 相沢 智康¹

¹北大・院生命科学, ²北大・院理学研究院, ³北大・院先端生命科学研究院, ⁴沖縄高専

クワにはヒトに対して機能性を示す成分も多く含まれ、その生産性向上のために倍数体の作出による品種改良もなされている。一般に倍数化は組織・器官の肥大と大型化を引き起こすと考えられており、代謝産物への質的、量的な特性にも影響を及ぼすことも報告されているが^[1]、有用成分の生産性への影響も含め、未知の点が多い。そこで本研究では、NMR メタボロミクスを用い、沖縄県浦添市で品種改良されたシマグワ (*Morus australis* Poir) の葉を対象としてその品種や倍数性の違いが代謝産物に与える影響を検討した。実験では、いくつかの品種において、野生体である二倍体、及び品種改良によって倍数化された四倍体の葉を採取し、凍結乾燥した葉を破碎した試料から水溶性代謝産物を抽出した。それぞれの抽出物を、測定や定量の基準となる内部標準物質を加えた重水緩衝液に溶解し、NMR 測定を行った。得られた NMR スペクトルを用いて各種代謝産物の同定と定量を行い、多変量解析による比較を行った。その結果、糖、アミノ酸、有機酸などの 40 種類以上の代謝産物の同定、定量に成功した。また、一部の有機酸や糖などにおいて、二倍体よりも四倍体の方が有意に高い濃度を示した。今後は、有用性が期待される各種二次代謝産物への影響や各種代謝経路との関連、さらには栽培条件や採取部位による代謝産物の変化等を詳細に解析する予定である。

[1] Park, C. H. et al. Comparative Analysis of Secondary Metabolites and Metabolic Profiling between Diploid and Tetraploid *Morus alba* L. *J Agric Food Chem*, 69, 1300–1307 (2021).

PA4 ENTRY

ゼニゴケにおける硝酸シグナル伝達の分子メカニズムの解析

Molecular mechanism underlying nitrate signaling in *Marchantia polymorpha*

劉 逸¹, 大槻 並枝¹, 大濱 直彦¹, 篠崎 大樹¹, 櫻庭 康仁¹, 林 誠², 石崎 公庸³, 柳澤 修一¹

¹東大院・農学生命・アグテック, ²理研・環境資源科学研究センター, ³神戸大・院・理

土壌中の硝酸イオンは陸上植物にとって主要な窒素源である。種子植物では、硝酸イオンは窒素源として重要であるのみならず、シグナル伝達物質として機能し、窒素同化に加え、様々な成長プロセスを調節していることが明らかになっている。種子植物で見られる複雑な硝酸シグナル伝達による成長制御の起源とその進化を明らかにするため、陸上植物の共通祖先に最も近縁な現生植物とされるゼニゴケに着目した。まず、種子植物における代表的な硝酸シグナル応答遺伝子のホモログ遺伝子の発現における硝酸イオン応答性を野生型ゼニゴケ (Tak-1) を用いて調べた結果、ゼニゴケにおいても硝酸シグナル誘導型の遺伝子発現制御機構が存在していることが示唆された。種子植物では NLP 転写因子群が硝酸シグナル応答型の遺伝子発現を制御しており、ゼニゴケでは NLP 転写因子遺伝子は 1 遺伝子のみであることから、次に、この遺伝子の破壊株 (*nlp* 株) を作製して、RNA-seq 解析と定量 PCR 解析を行なった。その結果、*nlp* 株では硝酸シグナル応答性遺伝子の発現が低下していることが明らかになった。さらに、ゼニゴケの NLP も、種子植物の NLP 転写因子同様に、硝酸シグナル応答配列 (NRE) に結合して転写を促進できることがシロイヌナズナ葉プロトプラストを用いた一過的発現解析により示され、また、硝酸イオンのみを窒素源とすると *nlp* 変異株の生育が著しく低下することも確認された。これらのことから、NLP 転写因子によって担われている硝酸シグナルの伝達がゼニゴケにおいても成長制御に深く関わっていることが示唆された。

PA5 ENTRY

高糖度トマト変異体 *hs1* の特性評価

Characterization of tomato high sugar mutant *hs1* Characterization of tomato high sugar mutant *hs1*

小林 美咲¹, Shaoze Yuan¹, Islam Abdellatif^{1,2}, Siyan Xu¹, 有泉 亨¹, 江面 浩¹, 三浦 謙治¹

¹筑波大・生命地球, ²ミニア大学・農

トマトは世界でも重要作物であり、特に日本では糖度の高いトマトは消費者に人気である。現在、灌水制御といった高度な栽培技術によって高糖度トマトが作出されている。我々の研究グループでは糖度 12 以上を示す変異体の獲得に成功し、これを *hs1* (*high-sugar 1*) 変異体と名付けた。トマトの糖度は通常 4~6 であり、灌水制御などによって作出される高糖度トマトも糖度 8 前後である。また、*hs1* 程の高糖度を示すトマト品種は未だ報告されていない。そこで我々は *hs1* 変異体の特性を評価した。果実のグルコース、フルクトース含有量はそれぞれ野生型の 1.82 倍、1.38 倍を示した。高糖度を示す以外にも興味深い形質がみられた。収穫した果実を室温で 10 週間放置したところ、野生型では腐り原型をとどめていなかったのに対し、*hs1* 変異体では形が保たれており、日持ち性も向上することが明らかになった。また、果実硬度も野生型に比べ 1.83 倍高かった。日持ちが長く硬度も高いことから *hs1* 変異体は流通においても有利であり、商業的に優れた品種になると考えられる。優れた特性を多くもつ一方で、*hs1* 変異体は野生型に比べ成長速度が遅く、収量も野生型に比べて 2.61% と低かった。茎断面を調べたところ野生型に比べ *hs1* 変異体では形成層の発達が遅れていることが明らかとなった。このことから水分や養分の輸送に影響を与えている可能性が考えられる。高糖度、長い日持ち性、高硬度を示す *hs1* 変異体は経済的価値が高く、今後トマト果実の食味と糖度を向上させる育種研究に利用できることが期待される。

PA6 ENTRY

シモツケ属植物におけるチューリップシド類縁体の酵素法による探索と同定

Enzyme reaction-based screening and identification of tuliposide analogs in the genus *Spiraea*

倉知 菜月¹, 宇部 尚樹^{2,3}, 加藤 悠一^{2,3}, 加藤 康夫^{2,3}, 野村 泰治^{2,3}

¹富山県大院・工, ²富山県大・工, ³富山県大・生医工研セ

糖エステル化合物である 6-チューリップシド (6-Pos) 類はチューリップの主要二次代謝産物として知られている。6-Pos 類は顕著な生物活性を示さないが、Pos 変換酵素の作用によって 6-Pos 類から生成されるチューリップリン (Pa) 類は様々な生物活性を示す。6-Pos/Pa 類は、チューリップを含む数種の单子葉植物に加え、双子葉植物であるバラ科シモツケ属のユキヤナギにも存在するが、ユキヤナギではチューリップにおいてみられない Pos 類縁体が複数同定されている。そこで本研究では、Pos 変換酵素を用いた酵素法による Pos 類縁体の探索法を適用し、ユキヤナギ以外の代表的なシモツケ属植物 3 種 (シモツケ、コデマリ、シジミバナ) から新規 Pos 類縁体を同定することを目的とした。

Pos 変換酵素が Pos 類のグルコース 6 位アシル基に特異的に作用することを利用し、各植物の茎葉部のメタノール抽出物を直接基質とした酵素反応によって消失する HPLC ピークを探索した。その結果、シモツケに 2 種、コデマリに 3 種、シジミバナに 7 種の Pos 類縁体候補化合物の存在が見いだされ、その際、シジミバナにおいてのみ 6-Pos 類と Pa 類の存在が確認された。候補化合物の単離・構造決定の結果、シジミバナから、ユキヤナギに存在するものに加え、新たな Pos 類縁体が同定された。また、いずれの植物種からもグルコース 6 位に桂皮酸類をアシルユニットとしてもつ化合物が同定された。このことから、Pos 変換酵素はグルコース 6 位に 6-Pos 類のものとは異なるアシル基をもつ化合物に対しても作用できることが明らかとなり、この反応特性は 6-Pos 類の探索を含め、広く 6-アシルグルコース類の探索に利用できることが示唆された。

PA7 ENTRY

Investigating the potential metabolon in the biosynthetic pathway of a natural sweetener glycyrrhizin from licorice

Ruizhen He¹, Soo Yeon Chung¹, Toshiyuki Waki², Toshiya Muranaka³, Hikaru Seki^{1,3}

¹Grad. Sch. Eng., Univ. Osaka, ²Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., ³OTRI, Osaka Univ.

Glycyrrhizin is a typical triterpenoid that primarily accumulates in the roots and rhizomes of several *Glycyrrhiza* species (licorice). Glycyrrhizin is used in medicine and cosmetics for its anti-inflammatory and antioxidant effects. It's also a natural non-sugar sweetener (~150 times sweeter than sucrose).

In recent years, the overharvesting of licorice led to significant environmental and economic problems. Although using yeast to de novo produce glycyrrhizin is possible. However, the titer is still not enough so far.

Metabolon is a transient structural-functional enzyme complex that can significantly improve metabolic flux and product yield. In this study, to identify potential metabolons in the glycyrrhizin biosynthetic pathway, we performed the yeast two-hybrid assay and bimolecular fluorescence complementation (BiFC) to analyze protein-protein interactions among glycyrrhizin biosynthetic enzymes, including oxidosqualene cyclase (β -amyrin synthase, β -AS), cytochrome P450 monooxygenases (CYP88D6 and CYP72A154), NADPH-cytochrome P450 reductases (CPR1 and CPR2) from *Glycyrrhiza* species, and glycosyltransferases (CSyGT and UGT73P12).

As a result, GuCSyGT suggested interacting strongly with GubAS, GuCPR2, and itself. These findings suggest a potential way for constructing artificial metabolons for glycyrrhizin biosynthesis in heterologous cells.

PA8 ENTRY

HISE1 変異がシロイヌナズナにおける異種トリテルペノイド生産におよぼす効果

Impact of the *HISE1* mutation on the production of heterologous triterpenoids in *Arabidopsis*

加藤 勇稀¹, Fanani Muchammad¹, 島田 貴士², 關 光^{1,3}

¹阪大・院工・生物学, ²千葉大・院園芸, ³阪大・先導的学際研機構

【背景・目的】シロイヌナズナ *high sterol ester 1* (*hise1*) 変異体の葉には、メバロン酸経路の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素 (HMGR) が野生型の 100 倍以上蓄積することから、*HISE1* が HMGR 量を負に制御し生合成経路下流のステロールの過剰な合成を抑制していることが示唆される。そのため、同じくメバロン酸経路を経て合成される有用トリテルペノイドを産生する植物に同様の変異を導入することで産生量の増加が期待できる。本研究では、医薬品原料に用いられる甘草由来トリテルペノイドであるグリチルリチンの生合成遺伝子を *hise1* 変異体および野生型シロイヌナズナに導入し、生成する生合成中間体の量を比較することで、*HISE1* 変異の異種トリテルペノイド生産への影響を解析した。

【方法・結果】グリチルリチン生合成に関わる β -アミリン合成酵素および β -amyrin-11 位酸化酵素の同時発現カセットを *hise1-2* および *hise1-3* 変異体と野生型シロイヌナズナにそれぞれ導入し、得られた T1 個体の葉における生合成中間体 (β -amyrin および 11-oxo- β -amyrin) の量を GC-MS で測定した。その結果、 β -amyrin 量は野生型バックグラウンド (11 ライン) と比較して、*hise1-2* (3 ライン) および *hise1-3* (10 ライン) では平均してそれぞれ約 7.9 倍および 8.4 倍に増加し、11-oxo- β -amyrin 量は約 4.7 倍および 4.9 倍に増加した。これらの結果から、*HISE1* のノックダウン変異が異種トリテルペノイドの生産性向上に寄与することが示された。

PA9 ENTRY

ダイズにおいてソヤサポニンの含有量を制御する転写制御因子の機能解析

Analysis of the function of a transcription factor that regulates the soyasaponin content in soybeans

松本 杏樹¹, 森田 遥絵¹, 岡本 有平¹, 北村 実紗子¹, 西村 悠希¹, 田村 啓太^{1,2}, 坊農 秀雅^{2,3}, 村中 俊哉⁴, 關 光^{1,4}

¹阪大院・工・生物工学, ²広島大・ゲノム編集イノベーションセ, ³広島大院・統合生命, ⁴大阪大学先導的学際研究機構

ソヤサポニンとはダイズをはじめとするマメ科植物に共通する植物特化代謝産物であり、トリテルペンであるβ-アミリンが酸化や配糖化などの修飾を受けて生合成される。ダイズのソヤサポニン生合成酵素（シトクロム P450 モノオキシゲナーゼや糖転移酵素など）のほとんどが既に同定されている一方で、その生合成制御機構については未だ知見が少ない。当研究室の先行研究により、ダイズにおいてソヤサポニン生合成を活性化する転写因子の有力な候補として basic helix-loop-helix 型転写因子（以後、GmTSAR1, Glycine max Triterpene Saponin Activating Regulator と記述する）が見いだされた。GmTSAR1 を過剰発現する組換えダイズ毛状では、ソヤサポニン量が有意に増加する。本研究では、GmTSAR1 を過剰発現する形質転換毛状根のトランスクリプトーム解析を行った。その結果、ほぼ全ての既知ソヤサポニン生合成酵素遺伝子およびメバロン酸経路に関わる酵素遺伝子の発現量が増加していた。また、GmTSAR1 に転写抑制ドメイン SRDX を付加したキメラリプレッサーを高発現する形質転換毛状根を作製し、その表現型を解析した結果、キメラリプレッサーラインにおいては、β-アミリン合成酵素およびその酸化修飾酵素遺伝子（CYP93E1 等）の発現上昇が見られず、ソヤサポニン I および II の蓄積量の増加も見られなかった。以上のことから、GmTSAR1 がダイズのソヤサポニン生合成を活性化する転写因子であることが示唆された。

PA10 ENTRY

マルミノヤマゴボウの CYP76AD11 および DOPA 4,5-ジオキシゲナーゼの機能解析

Functional analysis of CYP76AD11 and DOPA 4,5-dioxygenases in *Phytolacca japonica*

深山 友紀子¹, 小川 拓水¹, 三浦 謙治², 岡澤 敦司¹

¹大阪公大・院農, ²筑波大・生命環境

ヤマゴボウ属植物における植物色素ベタレイン生合成経路は完全に解明されていない。そこで、マルミノヤマゴボウの胚軸およびカルスから total RNA を抽出後、*de novo* アセンブリによってトランスクリプトームデータを取得し、推定ベタレイン生合成酵素遺伝子を選抜した。それらのうち *PjCYP76A11* と 4 つの *PjDODA* の遺伝子発現解析および機能解析を行った。実験材料にはマルミノヤマゴボウの実生胚軸由来の白いカルスとピンクのカルスを用いた。ベタシアニンの吸収極大は約 540 nm であり、それぞれのカルスの色素分析を分光光度計にて行ったところ、ピンクのカルスにのみ 542 nm の吸収が確認された。qRT-PCR を行った結果、ピンクのカルスにおける *PjCYP76AD11*, *PjDODAα3*, *PjDODAβ* の発現量は白いカルスより高かった。pTKB3 に酵素遺伝子を導入し、アグロインフィルトレーション法によってベンサミアナタバコで一過性発現を行った。結果、*PjCYP76AD11* と 4 つの DODA (*PjDODAα1*, *PjDODAα2*, *PjDODAα3* および *PjDODAβ*) それぞれの共発現では、*PjCYP76AD11* と *PjDODAα3* の場合に、赤色色素の蓄積を確認した。さらに共発現させたベンサミアナタバコからそれぞれ色素を抽出し HPLC-DAD 分析を行ったところ、*PjCYP76AD11* と *PjDODAα3* を共発現させた場合に、536 nm に吸収極大をもつピークが検出された。これらの結果から、マルミノヤマゴボウのベタレイン生合成には *PjCYP76AD11* および *PjDODAα3* が関与していることが示唆された。

PA11

センブリカルス液体培養系で産生されるゲンチオピクロシドの代謝制御

Metabolic regulation of the gentiopicroside-production in the liquid culture of *Swertia japonica*

川上 寛子, 松本 紘汰, 小峰 正史, 原 光二郎

秋田県大・生物資源

センブリ (*Swertia japonica*) は日本固有の民間薬であり、セコイリドイドのスウェルチアマリンやゲンチオピクロシド (GE) が主成分である。国内で健胃薬として利用される重要な医薬資源であるが、効率的なセコイリドイド産生条件や生合成関連遺伝子の制御に関する知見はほとんど報告がない。本研究では、センブリのセコイリドイド類の大量生産が可能な培養法を確立することを目的とし、センブリカルス液体培養系におけるジャスモン酸メチル (MeJA) の効果を検証し、GE 産生と生合成関連遺伝子の発現の変動パターンを比較した。まず、10 μ M NAA と 100 μ M KIN, 3%ショ糖を含む 1/8 濃度の Gamborg B5 液体培地にセンブリカルスを植え付け、MeJA (最終濃度 10 μ M) を添加し、7 日間振盪培養した。その結果、MeJA 添加区では経時的に GE 産生が増加し、7 日目に対照区に比べ 8.8 倍に増加した。次に、MeJA 添加区及び対照区のカルスから全 RNA を抽出し、qRT-PCR により相対遺伝子発現量を算出した。その結果、セコログニン合成酵素 (SLS) の 2 つのアイソフォーム (*SjSLSb1*, *SjSLSb2*) において、*SjSLSb1* の発現は対照区と比較して MeJA によってわずかに増強された一方で、*SjSLSb2* は MeJA 添加 1 日後に一過的に発現した。さらに WRKY 転写調節因子の遺伝子発現を解析した結果、数個の WRKY 遺伝子の発現が MeJA によって増強された。本研究では、センブリカルスの液体培養系における MeJA の GE 産生促進プロセスにおいて、重要な役割を担う数個の候補遺伝子群を初めて見出した。

PA12 ENTRY

植物中におけるケイヒ酸の異性化メカニズムの解明

Studies on *cis/trans* isomerization mechanism of cinnamic acid in plants

都筑 恵, 鈴木 泰輝, 西山 康太郎, 瀬戸 義哉

明治大・院農学

trans-ケイヒ酸 (*trans*-CA) は、リグニンなどの前駆体として、植物界に普遍的に存在する代謝物である。その異性体である *cis*-ケイヒ酸 (*cis*-CA) は、植物の成長を抑制するアレロケミカルとして単離されたが、我々は *trans*-CA と同様に、*cis*-CA も様々な植物に含まれていることを明らかにした。しかし、*cis*-CA の内生分子としての機能は、ほとんど解析されていない。また *cis*-CA は、植物中において *trans*-CA が、UV によって異性化することで生合成されると考えられているが、その詳細な異性化メカニズムも不明である。そこで本研究では、植物中におけるケイヒ酸の異性化メカニズムを解明することを目的とした。

trans-CA 単体では、蛍光灯照射による異性化はほとんど起きないが、シロイヌナズナ抽出物存在下では、*cis* 体への異性化が促進されることを明らかにした。よって、シロイヌナズナ中に、*trans*-CA の異性化を促進する因子が存在することが示唆された。その因子を探索した結果、シロイヌナズナ由来の二次代謝産物の一種が光増感剤として機能し、光依存的に *trans*-CA の異性化を促進することを見出した。また、該当二次代謝産物の構造類縁体を入手し、異性化触媒としての活性を評価したところ、その多くで、長波長の紫外線依存的に異性化反応を触媒することが明らかになった。現在、該当二次代謝産物の生合成変異体を用い、植物内において本反応による *cis*-CA の異性化が起こるか否かを詳細に検討している。

PA13 ENTRY

高等植物とは異なる起源を持つ蘚類由来イソプレン合成酵素の分子進化の解明

The origin of isoprene synthase in mosses differs from that in higher plants

川上 哲也¹, 野中 彩智², 井上 侑哉³, 宮崎 翔⁴, 川出 洋^{1,2}

¹東農工大院・連合, ²東農工大院・農, ³科博・植物, ⁴東京電機大・理工

イソプレンは、コケ植物（蘚類）を含む陸上植物で広く生合成されるテルペン系特化代謝産物であり、その生合成はテルペン合成酵素（TPS）ファミリーに属するイソプレン合成酵素（ISPS）によって触媒される。ISPS は、植物系統ごとに異なる TPS クレードから機能進化したことが知られている。すなわち、被子植物では TPS-b クレードに属するモノテルペン合成酵素から、裸子植物では TPS-d クレードのヘミテルペン合成酵素の副反応としてイソプレンが合成される。

一方、我々は世界に先駆けて蘚類ハイゴケ（*Calohypnum plumiforme*）由来の ISPS（CpISPS）を機能同定することに成功した。TPS ファミリーの系統解析により、CpISPS が TPS-c クレードに属するジテルペン合成酵素から機能進化した可能性が示された（Kawakami *et al.*, *FEBS Lett.*, 2023）。本研究では、CpISPS に部位特異的変異を導入し、酵素活性や基質認識の変化を解析することで、その進化的起源をより詳細に検証した。

さらに、ハイゴケとは系統的に離れた蘚類ヘチマゴケ（*Pohlia nutans*）においても ISPS の機能同定に成功し、当該酵素も CpISPS と同様に TPS-c クレード由来であることを明らかにした。また、本研究ではその他の蘚類における ISPS 探索結果についても報告する。

本研究を通じて蘚類独自の ISPS の分子進化を解明したとともに、陸上植物がそれぞれ独自の進化を経てイソプレン生合成能を獲得してきた平行進化の一端を明らかにした。

PA14 ENTRY

柑橘外果皮における傷害応答性リグニン沈着のメカニズムの解析

Unveiling the mechanisms of lignification by wounding in citrus flavedo

釜田 陽光¹, 窪井 健斗¹, クレット タマラ¹, 松下 修平¹, 市川 公康¹, 松川 哲也^{2,3}, 三浦 謙治⁴, 飛松 裕基¹, 矢崎 一史¹, 杉山 暁史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, ⁴筑波大・生命環境系

ミカン科柑橘類は、食品、香料原料、また生薬としても用いられる重要な植物系統である。柑橘の外果皮は、病害虫や病原菌などの生物的ストレスに対する防御機能を持つ組織であり、外果皮に存在する分泌腔と呼ばれる細胞間隙に、モノテルペンやクマリン類などの抗菌性・抗虫性の特化代謝産物を蓄積する。また、病原性細菌感染に応答して抗菌性のフェニルプロパン類が誘導される他、物理障害により疎水性ポリマーのリグニンが蓄積するといったストレス誘導性の防御応答も示す。しかしながら、これらの柑橘外果皮の防御機構の多くは分子レベルで解明されていない部分が多い。前回大会にて報告したグレープフルーツの器官別トランスクリプトームデータの解析により、リグニン生合成への関与が期待される酵素遺伝子が外果皮特異的に発現していることを確認した。そこで本研究では、柑橘外果皮における傷害応答性リグニン沈着のメカニズムの解明を目的とし、当該酵素遺伝子の生化学的解析および、柑橘外果皮の傷害で誘導されるリグニンの詳細な分析を行った。さらに、他の外果皮蓄積成分の解析や、公共のトランスクリプトームデータの解析により、現在外果皮の外傷による他の特化代謝産物の動態を調べているところである。外果皮のリグニン沈着は柑橘果実の品質低下につながるため、本研究の成果は柑橘育種においても有益な知見になると考えられる。

PA15

エゾリンドウ花卉で発現する ABCC 輸送体 GtABCC1 の機能解析

Functional analysis of the ABCC transporter GtABCC1 expressed in the petals of *Gentiana triflora*

土反 伸和¹, 大張 衿奈¹, 牧原 希実¹, 市野 琢爾¹, 平尾 稔貴¹, 西山 由美¹, 山田 泰之¹, 田崎 啓介², 手嶋 琢³, 根本 圭一郎³, 西原 昌宏⁴

¹神戸薬大, ²東京農大・農, ³岩手生工研, ⁴福井県大・生物資源

フラボノイドの一種であるアントシアニンの多くは、細胞質で合成された後、液胞に蓄積される。液胞への輸送に関しては、ABCC 輸送体による glutathione (GSH) との共輸送や、MATE 輸送体による輸送、小胞輸送などいくつか報告されているが、十分には解明されていない。青花リンドウでゲノム編集により glutathione S-transferase (GST) を欠損させると、花卉のゲンチオデルフィン蓄積が顕著に低下しており、GSH と共輸送する ABCC 輸送体の関与が示唆された。そこで我々は、エゾリンドウ (*Gentiana triflora*) の花卉で発現している輸送体に着目し、RNA-seq 解析から花卉で発現する ABCC 輸送体遺伝子を 4 つ見出した。花卉発達段階におけるこれらの遺伝子発現変化を検討したところ、GtABCC1, 4 の発現がアントシアニン蓄積量変化と比較的高い相関を示した。GtABCC1~4 を発現する出芽酵母を作出し、シアニジン-3-O-グルコシド (C3G) を含む培地で培養したところ、特に GtABCC1 発現酵母において細胞内の C3G 含量が高かった。そこで GtABCC1 に着目し、ゲンチオデルフィン含有培地で培養したところ、GtABCC1 および GtABCC1-GFP 発現酵母における細胞内含量がコントロールよりも 4 倍以上多かった。また、GtABCC1 は花卉細胞の内膜系で発現していることが観察された。これらの結果から、GtABCC1 がエゾリンドウにおいてアントシアニンを輸送する分子実体である可能性が考えられた。現在、さらに詳細な輸送解析を試みている。

PA16 ENTRY

ネギ属植物におけるシステインスルホキシド誘導体群の生合成経路の探索

Exploration of the biosynthetic pathways of S-alk(en)ylcysteine sulfoxides in *Allium* plants

関口 裕太¹, 北野 花梨¹, 杉山 龍介^{1,2,3}, 山崎 真巳^{1,2}, 吉本 尚子^{1,2}

¹千葉大・院薬, ²千葉大・植物分子科学研セ, ³JSTさきがけ

メチン、アリイン、イソアリイン等のシステインスルホキシド誘導体群 (CSOs) は、ネギ属植物の主要な外敵防御物質として機能する硫黄特化代謝産物である。現在までに、CSOs の生合成の後半で働く脱グルタミル化酵素や S-酸化酵素が同定されているが、生合成経路の全容は不明である。本研究では、CSOs 生合成経路の解明を目的とし、推定生合成中間体の投与実験と安定同位体ラベル実験を行った。

まず、メチンの生合成経路を明らかにするため、播種後 4 週齢のタマネギ植物体に推定メチン生合成中間体を投与し、メチンや関連化合物の含有量の変化を解析した。その結果、S-メチルグルタチオン、メチオニンおよびメタンチオール投与により、メチンやそのデオキシ体である S-メチルシステインの含有量が増加することが示された。この結果からタマネギでは、グルタチオンの S-メチル化を介する経路と、メチオニンのメタンチオールへの分解を介する経路の 2 通りの経路により S-メチルシステインが合成され、続く S-酸化によりメチンが生成すると推測された。そこで、これらの推定メチン生合成経路を支持する直接的な証拠や、メチン以外の CSOs の生合成経路の知見を得るため、メチン、アリイン、イソアリインを含有するニラを用いて硫黄安定同位体ラベル実験を行った。MS 培地に含まれる無機硫黄源を ³⁴S 試薬で置換した培地でニラを播種後 3 週間生育させたところ、CSOs が ³⁴S ラベル化された。現在、この ³⁴S 標識された植物体を生物材料として用いて、CSOs 生合成の中間体の探索や経路の同定を進めており、それらの結果も併せて報告する。

PA17 ENTRY

硫黄欠乏がタマネギのシステインスルホキシド誘導体群の生合成に与える影響の解析

Analysis of the effect of sulfur deficiency on the biosynthesis of S-alk(en)ylcysteine sulfoxides in onion

美野 智子¹, 山崎 真巳^{1,2}, 吉本 尚子^{1,2}

¹千葉大・院薬, ²千葉大・植物分子科学研セ

ネギ属タマネギは、硫黄特化代謝によりイソアリインやメチン等のシステインスルホキシド誘導体群 (CSOs) を生合成する。一般的に植物における含硫代謝物の生合成は硫黄環境の変化に応じて調節される。本研究では、硫黄環境変化がタマネギの CSOs 生合成に与える影響を解析した。

硫黄源として 1,500 μM の硫酸イオンを含む硫黄十分培地 (S1500 培地) と、硫酸イオンを全く含まない硫黄欠乏培地 (S0 培地) にそれぞれタマネギ種子を播種し 4 週間生育させた。S0 培地で生育させた植物では、S1500 培地で生育させた植物に比べて CSOs 含有量が著しく減少したが、植物体生重量や CSOs の生合成前駆体と推測されるシステイン、メチオニンおよびグルタチオンの含有量には有意な差は見られなかった。S1500 培地で生育させた植物では乾燥重量あたりのイソアリインおよびメチンの含有量は、それぞれ 24.9 および 20.8 $\mu\text{mol/g}$ であったのに対し、S0 培地で生育させた植物ではそれぞれ 8.36 および 1.06 $\mu\text{mol/g}$ に減少していた。これらの結果から、S0 培地条件では、種子に含まれる含硫代謝物を硫黄源として用いて生育していること、CSOs の生合成を抑制することで硫黄を一次代謝に優先的に分配していることならびにイソアリイン生合成よりもメチン生合成をより強く抑制していることが示唆された。現在、種子の含硫代謝物含有量の測定と、S1500 培地で生育させた植物と S0 培地で生育させた植物における CSOs 生合成関連遺伝子の mRNA 発現量の解析を進めており、その結果も併せて報告する。

PA18 ENTRY

キジカクシ目の青い花がもつフラボノイド水酸化酵素の機能解析

Functional analysis of flavonoid hydroxylase in blue flowers of the Asparagales family

境 あかね, 本藤 紀花, 宮原 平

千葉大・院園芸

植物色素の一種であるアントシアニンは、その基本骨格であるアントシアニジンの水酸基の数により色合いが異なる。その水酸化を担う酵素がフラボノイド水酸化酵素であり、シアニジン骨格を作る Flavonoid 3'-hydroxylase (F3'H), デルフィニジン骨格を作る Flavonoid 3',5'-hydroxylase (F3'5'H) の 2 種類が存在する。シトクロム P450 に属する本酵素は F3'H (CYP75B) と F3'5'H (CYP75A) として明確に異なる分類がされている。本研究で着目している単子葉類キジカクシ目のアガパンサス、ムスカリ、テコフィレアは青い花をもち、デルフィニジン誘導体のアントシアニンを合成している。しかし、花卉由来のトランクリプトームデータからは、F3'H 遺伝子のみが検出された。酵母による組換え酵素活性ではケンフェロールを基質として、ケルセチンとミリセチンが生成されることが示され、F3'H および F3'5'H の両方の活性が確認された。このような CYP75B に属する F3'5'H 活性をもつ F3'H はキク科でも報告があるが、分子系統樹ではキジカクシ目の F3'H はキク科のものとは異なる位置に存在している。これよりアガパンサス、ムスカリ、テコフィレアがもつ F3'H は、F3'H としての配列を持ちながら、F3'5'H 活性をもつ酵素であることが考えられた。本研究では酵母による組換え酵素活性が最も高く検出されたアガパンサスの F3'H の機能解析について報告する。

PA19 ENTRY

モクレン科植物タムシバにおけるグアイアコール O-メチル基転移酵素の機能解析

Biochemical Characterization of Guaiacol O-Methyltransferase in *Magnolia salicifolia*

後藤 佳音¹, 前野 慎太郎¹, 鈴木 史朗², 岡澤 敦司³, 高梨 功次郎⁴, 肥塚 崇男¹

¹山口大院・創成科学, ²岐阜大・応用生物科学, ³大阪公立大・農, ⁴信州大・理

日本固有のモクレン科植物のタムシバ (*Magnolia salicifolia*) は、地域ごとに異なる花香組成を示すが、その制御機構は未解明である。本研究では、全国 5 地域から採取したタムシバ花弁から香氣成分を抽出し、GC-MS 分析を行った。その結果、全系統でテルペン類が共通して検出された一方、東日本、北日本由来の個体では、methyleugenol や veratrole, α -asarone など、グアイアコール骨格がメチル化された揮発性ベンゼノイドが検出された。続いて、タムシバ花弁におけるトランスクリプトーム解析により、揮発性ベンゼノイドのメチル化に関わると推定されるメチル基転移酵素遺伝子 (*MsOMT*) の全長配列を単離した。次に、大腸菌発現系を用いて組換え酵素 *MsOMT* を発現させ、基質特異性を解析した。その結果、guaiacol 及び eugenol に高いメチル化活性 ($K_m=16-18 \mu M$) が検出された。一方で、分子内に同様のグアイアコール構造をもつスチルペノイド (isorhapontigenin) やフラボノイド (isorhamnetin) には顕著な活性が見られなかった。以上のことから、*MsOMT* は揮発性ベンゼノイドのような比較的小さなグアイアコール類縁体を特異的に認識・メチル化する酵素であることが明らかとなった。これは、モクレン科植物で初の知見であり、*MsOMT* がタムシバにおける揮発性ベンゼノイドの多様性制御機構に関わることが考えられた。

PA20 ENTRY

ペチュニア花弁で高発現する香氣成分配糖化遺伝子の同定

Identification of Glucosyltransferase Genes Highly Expressed in Petunia Flowers that Utilizes Volatile Compounds as Substrates

山本 新之助¹, 北島 佐紀人², 肥塚 崇男¹

¹山口大院・創成科学, ²京工繊大・応用生物

ナス科植物のペチュニアは、夜間特異的に揮発性ベンゼノイドを生成し、夜行性の送粉者であるスズメガを誘引することが知られている。これら揮発性ベンゼノイドは細胞内で生合成された後、一部は輸送体を介して大気中へと放散されるが、配糖体として貯蔵されることも報告されている。しかし、花香成分の配糖化を担う酵素や、花香の大気放散への影響は不明である。本研究では、ペチュニアの花における香氣成分配糖体の詳細な代謝物分析を行うとともに、配糖化酵素の単離、機能解析を行った。その結果、遊離の花香成分 (アグリコン) と同様に、開花後、特に夜間に多く香氣成分配糖体が顕著に蓄積されることが判明した。さらに、異なる開花段階および昼夜の異なる時間帯におけるトランスクリプトーム解析から、既報の揮発性ベンゼノイド生合成遺伝子と共発現する 2 つの配糖化酵素の候補遺伝子 (*UGT85A96*, *UGT74BK20*) を見出した。これら候補遺伝子を実験室で発現させた組換え酵素を用いた *in vitro* 機能解析により、*UGT85A96* は 2-phenylethanol や benzyl alcohol などの 1 級アルコールに対して高い基質特異性を示した。一方、*UGT74BK20* は、揮発性ベンゼノイドの生合成中間体である benzoic acid に対して高い活性を示し、さらにフェノール性水酸基を有するペチュニア花香成分の一つである isoeugenol にも配糖化活性を有し、その K_m 値は $164 \mu M$ であった。これらの結果から、ペチュニア花弁における香氣成分配糖体の蓄積が、少なくともこれら 2 種の配糖化酵素の作用により形成されることが考えられた。現在、RNAi 法による配糖化酵素の発現抑制体の作出を進めており、植物体内での機能解析を目指している。

PA21 ENTRY

一過的発現系を用いたペチュニア花冠特異的に発現する MYB 転写因子の機能解析

Characterization of an MYB Transcription Factor Expressed in Petunia Limb using a Transient Expression System

齊藤 千優¹, 山本 新之助¹, 高梨 功次郎², 北島 佐紀人³, 肥塚 崇男¹

¹山口大院・創成科学, ²信州大・理, ³京工繊大・応用生物

固着生活を送る植物は、効率的な受粉を行うために送粉者の活動時間に合わせて多様な香気成分を生成・放散する能力を獲得してきた。ナス科植物のペチュニアは、開花とともに isoeugenol や benzyl alcohol など揮発性ベンゼノイドを夜間特異的に生成し、夜行性のスズメガを誘引することが知られている。このような特徴的な花香成分の生成には、ODO1, EOB1, DEF などの転写因子による揮発性ベンゼノイド生合成経路の遺伝子制御が関与することが報告されている。しかし、ペチュニア花香成分の代謝動態がこれら転写因子の発現様式と完全に一致しないことから、未同定の転写因子の関与が考えられた。本研究では、花香生成を制御する新規転写因子の同定を目的に、異なる開花段階および昼夜の異なる時間に採取したペチュニア花を用い、網羅的な RNA-seq 解析を行った。その結果、開花とともに、また、夜間特異的に発現が増加する候補遺伝子 *PhMYB58* を選抜した。器官別（萼片、雄しべ、雌しべ、子房、花筒、花冠）の RT-PCR 解析により、*PhMYB58* は花香生成が最も活発な花冠に特異的に発現していた。さらに、*PhMYB58* はシロイヌナズナ由来の *AtMYB58* とアミノ酸レベルで 45% の相同性を示し、R2R3 型 MYB 転写因子に特徴的な保存ドメインを有していた。一方で、*PhMYB58* を一過的タンパク質発現ベクター（つくばシステム）に組み込み、アグロインフィルトレーション法によりペチュニア花弁で発現させた。その結果、蛍光タンパク質 GFP を用いたコントロールでは見られない、イソオイゲノールの生成が検出された。以上の結果から、*PhMYB58* はペチュニアにおける揮発性ベンゼノイドの生成を促進する新規転写因子である可能性が考えられた。

PA22 ENTRY

セリ科植物アシタバにおける三環性クマリン類生合成を担うシトクロム P450 酵素遺伝子の機能解析

Molecular characterization of cytochrome P450s involved in tricyclic coumarin biosynthesis in *Angelica keiskei*

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

¹京大・生存研, ²大阪医薬大・薬, ³筑波大・生命環境

三環性クマリン類はセリ科等の植物が生産する特化代謝物であり、生物学的ストレスに対する化学防御を担うとされる。代表例であるフラノクマリン類には、クマリン骨格に対するフラン環の結合位置が異なるリニア型とアンギュラー型の2種が存在し、この化学構造の多様性はセリ科の天敵であるチョウ目昆虫に対する防御に貢献することが知られる。三環性クマリン類の化学構造多様化には多数の酸化反応が関与し、これらの反応を担うシトクロム P450 酵素遺伝子が従前報告されてきたが、遺伝子未知の酵素反応ステップがある他、分子進化の全容も明らかになっていない。そこで本研究では、多様な三環性クマリン類を蓄積するセリ科植物であるアシタバ (*Angelica keiskei*) を実験材料として、新規酸化酵素遺伝子の同定を目指した。アシタバの器官別トランスクリプトームライブラリを構築し、既知生合成遺伝子との共発現解析から、三環性クマリン類の生合成に関わるシトクロム P450 の候補遺伝子を 11 個選抜した。候補遺伝子について出芽酵母系を用いた酵素機能解析を行った結果、三環性クマリン類を基質とする酸化酵素を複数同定した。さらに、分子系統樹解析により、これらの酵素がセリ科でどのような分子進化過程により獲得されたかを調査した。これらの酵素の反応産物およびその代謝産物は、植物の生物学的ストレス耐性に関与していると考えられる他、ヒトに対する生理活性も報告されている。そのため、病害耐性の付与や有用成分含量の向上などの有用形質をターゲットとした分子育種や、同定した酵素の異種発現による有用物質生産への応用が期待される。

PA23 ENTRY

デルフィニウムのアントシアニン合成を制御する転写調節因子 MYB についての解析

Analysis of the transcriptional regulator MYB control of anthocyanin synthesis in delphinium

鈴木 ふみ¹, 幅 夏実², 須澤 諒¹, 坂口 公敏³, 磯部 知里³, 河西 崇³, 宮原 平¹

¹千葉大・院園芸, ²千葉大・園芸, ³ミヨシ

デルフィニウム (*Delphinium grandiflorum*) 品種 F₁ スーパーブラチナブルー (PB, 株式会社ミヨシ) は、採花時期により花色が異なる。6 月に採花した花 (PB1) は濃青色であり、3 月に採花した花 (PB2) は薄い水色である場合が多い。花を形成する萼からの色素抽出液を解析した結果、PB1 では PB2 より有意にアントシアニン蓄積量が高いことが示された。そこで本研究では、PB のアントシアニン合成を制御する因子の同定を目的とした。萼のトランスクリプトームデータを取得し、PB1 と PB2 での発現変動遺伝子 (DEGs) を調査したところ、PB1 において多くのアントシアニン生合成関連遺伝子ならびに、転写調節因子 MYB の一つである *DgMYB4* の発現量が有意に高いことが明らかになった。また、PB2 では *DgMYB2* の発現量が PB1 よりも高いことが示された。さらに、GO エンリッチメント解析から、DEGs に光や温度に応答する因子が多く含まれていることが確認された。そこで、*DgMYB2* および *DgMYB4* のアントシアニン生合成に関する機能を調査するため、*DgMYB2* または *DgMYB4* 遺伝子を過剰発現させたタバコ (*Nicotiana tabacum*) を作成した。さらに、*DgMYB2* 発現体と *DgMYB4* 発現体を交配し、その F₁ 世代を作成した。その結果、*DgMYB4* 発現体は葉脈や花にアントシアニンの蓄積が顕著にみられることが確認され、*DgMYB4* がアントシアニン生合成を促進することが示された。よって、PB では春から初夏にかけて UV 量や気温の上昇に伴い *DgMYB4* の発現が促され、下流のアントシアニン生合成経路遺伝子の発現が促進されることで、結果としてアントシアニン蓄積量の多い濃青色の花になると示唆された。

PA24 ENTRY

ブナ科のイソプレン放出能の種間多様性を担うテルペン合成酵素ファミリーの分子進化

Molecular evolution of the terpene synthase family responsible for the diversity of isoprene emission ability 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, 楠見 淳子⁶, 池崎 由佳⁷, 佐竹 暁子⁷, 杉山 暁史¹, 矢崎 一史¹

¹京大・生存研, ²遺伝研NIG, ³名古屋大・BBC, ⁴慶應大・先端生命研, ⁵国環研NIES, ⁶九州大・院比文, ⁷九州大・院理学

植物が放出する揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compounds, VOCs) は全球レベルで年間 10⁹ トン (炭素換算) に及ぶ。VOCs は生物間相互作用に関与するのみならず、その放出量の大きさに加えて高い化学反応性を示すことから、大気質にまで影響を及ぼす。具体例として、大気中でのエアロゾル形成、これを核とする雲の発生、さらにそれを起因とする太陽光の遮蔽や降雨などが挙げられる。ヘミテルペンのイソプレンは生物起源 VOCs の約半分を占めるため、植物が放出するイソプレンは気候に対する影響が特に大きいと考えられている。ブナ科植物は北半球における主要なイソプレン放出システムを含むため、そのイソプレン放出機構の解明は、植物由来 VOC の気候影響を明らかにする上で極めて重要である。興味深い事に、ブナ科植物にはイソプレン非放出種も数多く存在する。しかしながら、ブナ科植物の進化上、イソプレン放出種と非放出種が生じた過程は不明であった。そこで本研究では、ブナ科のイソプレン合成酵素 (IspS) が属するテルペン合成酵素 (TPS) ファミリーの詳細な分子系統解析、及び推定された祖先型 IspS の生化学的解析を通じて、イソプレン放出能の種間差を生じた要因となる TPS ファミリーの進化過程を分子レベルで解明することを目指した。

PA25 ENTRY

シロイヌナズナにおけるフェノール性異物代謝酵素群の発現解析および機能解明

Expression analysis and functional characterization of enzymes involved in phenolic xenobiotics metabolism in *Arabidopsis thaliana*

伊東 万里奈¹, 瀧 啓一郎¹, 八尾 惟¹, 田口 悟朗^{1,2}

¹信州大院・総合理工, ²信州大・繊維・応生

植物が農薬や除草剤などの低分子化合物に曝されると、植物は化合物に対して配糖化や水酸化、アシル化などの修飾や加水分解をすることで毒性を下げる事が知られている。シロイヌナズナにフェノール性異物である 2-naphtol (2-NA) を投与すると、配糖化された 2-naphtol glycoside (2-NAG) や、さらにマロニル化された 2-naphtol malonyl glycoside (2-NAGM) が液胞に蓄積し、一部の 2-NAG は培地中に排出される。排出経路である 2-NA の配糖化には UGT72B1 が関与することが明らかになっているが、2-NAGM の蓄積経路には UGT72B1 に加えて別の配糖化酵素の関与が示唆された。これまでに、蓄積経路である 2-NA の配糖化に関与する酵素の候補遺伝子として、UGT71C1 とそのホモログである UGT71C2, UGT72B3 を選抜した。そこで、2-NA の配糖化に関与する 4 つの配糖化酵素の解析を行った。

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。1-NA と 2-NA に対する活性が酵素により大きく異なったため、フェノール性異物の構造によって働く酵素が異なることが示唆された。そこで、フェノール性異物代謝に関与する遺伝子を破壊したシロイヌナズナにフェノール性異物を投与し、その培地および植物体内に蓄積した代謝物の調査を行った。一方で、UGT71C1 は内在性化合物であるスコボレチンにも 1-NA と同程度の活性を示したため、異物代謝に特有の酵素ではない可能性がある。現在、フェノール性異物の投与による 4 つの配糖化酵素遺伝子の発現誘導を RT-qPCR で調査しており、その結果と併せて報告したい。

PA26 ENTRY

オウレン培養細胞を用いた安定同位体標識ベルベリン類生産法の改善および生合成研究への応用

Production of stable isotope-labeled protoberberine alkaloids using *Coptis japonica* culture cells and its application to tracer experiments

河西 俊介¹, 高松 編花¹, 小関 雄太^{1,2}, 山田 泰之^{3,4}, 杉山 龍介^{1,4,5}, 山崎 真巳^{1,5}

¹千葉大院薬, ²ツムラ(株), ³神戸薬大, ⁴JSTさがけ, ⁵千葉大植物分子科学セ

オウレン (*Coptis japonica*) はキンポウゲ科の日本固有種であり、根茎は生薬「黄連」として利用される。黄連の主成分は berberine などのベンジルイソキノリンアルカロイド (BIA) であり、乾燥重量の 5-10% にも達するが、BIA を根茎に高蓄積する意義は不明である。演者らは一昨年の本大会にて、オウレンにおける BIA 分解の検証を目的に、オウレン培養細胞を用いた ¹⁵N 標識 BIA の生産法を報告した。本発表では、BIA 精製法の改善、¹³C 標識 BIA の生産、そして安定同位体トレーサー実験をきっかけに同定した新規 BIA 生合成遺伝子について報告する。

Berberine 高生産性の 156-S 株を、窒素源を従来法の半分量に減量した 10.3mM ¹⁵NH₄¹⁵NO₃ と 9.4mM K¹⁵NO₃ を含む培地で 2 世代 (7 週間) 培養した。その結果、主要 BIA の ¹⁵N 標識率はそれぞれ約 90% と従来法と同等であり、¹⁵N 試薬の使用量削減に成功した。また、分取 HPLC の際にイオンペア試薬として過塩素酸ナトリウムを用いることで BIA のピークが先鋭化し、精製効率が向上した。¹³C 標識においては、ショ糖/¹³C₆-グルコース混合培地を用いることでグルコースによる生育阻害を抑制し、5.2 mg の ¹³C 標識 berberine (標識率 36%) を単離した。

各種 BIA を添加した培地でオウレン細胞を培養したところ、palmatine 添加条件において細胞内の jatrorrhizine 含量が有意に増加した。¹⁵N 標識 BIA によるトレーサー試験から、palmatine の 3 位脱メチル化により jatrorrhizine が直接生成すると示唆された。この反応の責任遺伝子をオウレン植物体の RNA-seq データから探索し、組換え酵素のアッセイから、palmatine をほぼ定量的に jatrorrhizine へ変換する新規ジオキシングナーゼ P3ODM を同定した。

PA27 ENTRY

シロイヌナズナ種子ネオリグナンの生合成に関与するディリジェントプロテイン AtDIR12 の機能解析

Functional analysis of the dirigent protein AtDIR12 involved in neolignan biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* seeds高江洲 広司¹, 巽 奏¹, 榊原 圭子², 小埜 栄一郎³, 堀 千明⁴, 高野 俊幸⁵, 斉藤 和季², 梅澤 俊明¹, 飛松 裕基¹¹京大生存研, ²理研CSRS, ³サントリグローバルイノベーションセンター(株), ⁴北大環境, ⁵京大院農

リグナンとネオリグナンは、ともにフェニルプロパノイドモノマーの酸化的ラジカルカップリングで生成するフェニルプロパノイドダイマーであり、前者は C8-C8' 結合、後者は C8-C8' 結合以外で二量化した化合物群である。天然から単離されたリグナンとネオリグナンは通常光学活性を示し、いずれもフェニルプロパノイドモノマーの位置及びエナンチオ選択的ラジカルカップリングにより生成すると考えられている。1997 年、リグナン生成におけるラジカルカップリングの位置選択性とエナンチオ選択性を制御するディリジェントプロテイン (DIR) が初めて同定された。その後、リグナン生成に関わる DIR について多くの研究が蓄積されてきた一方で、ネオリグナン生成に関わる DIR については、その存在は推定されていたものの、実態は不明であった。近年、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 変異体の代謝物解析から、種皮に蓄積するネオリグナン erythro-SC(4-O-8)G の生成に関与する DIR (AtDIR12) が当グループにより初めて同定された。しかし、erythro-SC(4-O-8)G 生成における AtDIR12 の寄与の詳細、特にラジカルカップリングにおける位置及びエナンチオ選択性の制御への寄与については、依然として未解明である。本発表では、AtDIR12 のさらなる機能解明を目的とし、シロイヌナズナ種子からの単離した erythro-SC(4-O-8)G のエナンチオ組成の解析および絶対配置の決定、さらに、組換え AtDIR12 の調製及び機能解析を進めた経過について報告する。

PA28 ENTRY

カルボキシ配糖化酵素を C-配糖化酵素へ転換する試み

Attempts to convert the reactivity of carboxy-glycosyltransferases to C-glycosylation activity

伊藤 馨¹, 田中 克治¹, 加藤 空来¹, 新井 亮一^{1,2}, 田口 悟朗^{1,2}¹信州大院・総合理工, ²信州大・繊維・応生

植物は様々な二次代謝産物を生成し、その多くは糖が付加された配糖体として蓄積されている。配糖体の中でも C-配糖体は O-配糖体と異なり、糖が酸素原子を介さず直接炭素同士で結合しているため、加水分解を受けにくく安定している。そのため、C-配糖体の生物活性は近年注目されているが、C-配糖体の生合成を司る C-配糖化酵素の詳細な反応機構は不明な点が多い。ワサビ (*Eutrema japonicum*, 旧名 *Wasabia japonica*) が持つフラボノイド C-配糖化酵素 WjGT1 (UGT84A57) は、C 環が開環したフラボノイドに反応する一般的な植物のフラボノイド C-配糖化酵素 (UGT708) と異なり、主に apigenin などの閉環したフラボノイドを基質として認識する。また、フラボノイドの C-配糖化酵素であるにもかかわらず、カルボキシ配糖化酵素 (UGT84) のファミリーに属している。これまでに我々は、WjGT1 と相同性が高いカルボキシ配糖化酵素 WjGT3 との比較から、O-配糖化活性と C-配糖化活性を変化させるのに必要であるいくつかのアミノ酸残基を特定している。

本発表では、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 由来の数種のカルボキシ配糖化酵素に、上記と同様のアミノ酸変異導入を行い、WjGT3 と同様に C-配糖化酵素へ活性転換されるか調査を行ったので、その結果を報告する。

PA29 ENTRY

スイートクローバーのクマリン生合成に関わる β -グルコシダーゼの機能と細胞内局在性の解析

Functional analysis and subcellular localization of β -glucosidase involved in coumarin biosynthesis in sweet clover (*Melilotus alba*)

加藤 創大¹, 羽鳥 友稀¹, 田口 悟朗^{1,2}

¹信州大院・総合理工, ²信州大・繊維・応生

スイートクローバーはマメ科シナガワハギ属に属する 1~2 年生草本植物であり、クマリンを植物体内に多く蓄積する。スイートクローバーのクマリン生合成では、中間生成物として *cis*-o-クマル酸グルコシド (*cis*-o-CAG) が蓄積され、その加水分解によってクマリンが合成されると推測されている。これまでにこの生合成に関与する β -グルコシダーゼ (BGL) として、MaBGL1 を単離・同定した。本研究では、引き続きその機能解析および細胞内局在性の解析を行った。

大腸菌で異種宿主発現した酵素を用いて基質特異性の調査を行ったところ、供試した化合物のうち *cis*-o-CAG に対して最も強い活性を示した一方、*trans*-o-CAG に対しては活性を示さなかった。MaBGL1 の *cis*-o-CAG に対する K_m は 7.05 ± 0.79 mM, k_{cat} は $7.64 \times 10^3 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$ と算出され、MaBGL1 の発現量及びクマリンの含有量を考慮すると、MaBGL1 がスイートクローバー内で十分に機能することが示唆された。また、緑色蛍光タンパク質 Gamillus の N 末端側に MaBGL1 のシグナル配列、C 末端側に MaBGL1 の配列を結合させた BGL1sig-Gamillus-BGL1 Δ sig を発現するバイナリーベクターを作出し、アグロバクテリウムを介してベンサミアナタバコの葉肉細胞で一過的に発現させるとともに、タバコ BY-2 細胞で強発現させた。その結果、MaBGL1 は細胞質かアポプラストに局在することが示唆された。現在、浸透圧処理による原形質分離により、細胞内局在性の詳細な解析を行っている。

PA30

コーヒー由来テルペン類配糖化酵素の基質選択性に関与する酵素領域の探索

Exploration of the region related to the substrate specificity in glycosyltransferases from coffee

井田 美帆, 島田 旭, 佐々木 香織, 川上 寛子, 水野 幸一

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、植物体内での生合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。この配糖化は、UGT (UDP-glucose glycosyltransferase) が触媒する。*C. arabica* からは、テルペン類配糖化酵素として UGT85A192 および UGT85A195 が同定されている (Miho I. *et al.*, 2024)。一般的に、配糖化酵素のアグリコンに対する基質特異性は低いことが知られている。本研究では、リナロールに対して配糖化活性を示す UGT85A192 および活性を示さない UGT85A195 をもとにこれらの変異体を作成し、機能解析を行うことでテルペン類に対する基質選択性に寄与する酵素領域の探索を試みた。組換え型酵素活性試験の結果、UGT85A192-G128A/A129G 変異体がシトロネロール、ペリリルアルコールおよびグラニオールに対して活性を示した。一方で野生型である UGT85A192 はそれらに加えてリナロールおよびテルピネオールに対しても活性を示す。このことから、UGT85A192 の G128 および A129 はリナロールの認識に関与していると考えられる。現在、これらの酵素と基質のドッキングシミュレーションにより基質ポケット周辺の解析を試みている。

PA31

ムラサキのシコニン生合成遺伝子と共発現する銅含有ポリフェノールオキシダーゼの機能解析

Characterization of a copper-dependent polyphenol oxidase co-expressed with the shikonin biosynthetic genes in *Lithospermum erythrorhizon*

中西 浩平^{1,2}, 高野 祐希², 山本 恭子², 松田 悠希³, 佐々木 佳菜子², 小原 一朗², 市野 琢爾^{2,4}, 巽 奏², 李 豪², 棟方 涼介², 刑部 敬史⁵, 下村 講一郎⁶, 杉山 暁史², 高梨 功次郎³, 矢崎 一史²

¹富山大・和漢研, ²京都大・生存研, ³信州大院・総合理工, ⁴神戸薬大, ⁵徳島大・生物資源, ⁶東洋大・生命科学

薬用・染料植物ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) が生産するシコニンは多様な薬理活性を備える特化代謝産物である。シコニンは赤色のナフトキノ誘導体であり、根特異的に生産・蓄積されることから、古来より「紫根」として薬用や染料に用いられてきた。現在では化粧品としての側面も持ち、人々の生活に広く利用されている。一方、ムラサキは絶滅危惧種に指定されていることからシコニンの安定生産系の確立は喫緊の課題と言えるが、未だ生合成経路の全容解明には至っていない。近年ゲノムデータが公開されたことを皮切りに、逆遺伝学的なアプローチによる新規生合成遺伝子の同定が加速しているが、シコニンの母核構造であるナフトキノ骨格形成については植物界全体を見ても知見に乏しく、関連酵素および生合成中間体は全くの未知である。

本研究では、シコニン生合成におけるミッシングリンクを明らかにすべく、マルチオミクス解析からナフトレン環形成反応に関連する候補遺伝子の探索を行った。シコニン生産が銅イオンを必須とすることを鑑み、シコニン生産と同調した発現プロファイルを示した銅含有酸化酵素のポリフェノールオキシダーゼ (PPO) を有力候補とした。ムラサキゲノムには 5 コピーの PPO が存在するが、*LePPO1* のみがシコニン生産と強い相関性を示した。そこで、*LePPO1* のノックアウト毛状根を作製し、シコニン生産への影響を解析した。また、シコニン生産量の顕著な減少が見られたノックアウトラインのメタボローム解析により、*LePPO1* の基質となる生合成中間体の探索を行った。

PA32 ENTRY

グルコシノレートリサイクル経路における raphanusamic acid 分解酵素遺伝子の探索

Screening for genes responsible for raphanusamic degradation in the glucosinolate recycling pathway

菊地 ひめか¹, 杉山 龍介^{1,2,3}, 山崎 真巳^{1,3}

¹千葉大薬, ²JSTさきがけ, ³千葉大植物分子科学セ

グルコシノレート (GL) は主にアブラナ科植物が生産する二次代謝産物であり、昆虫などの外敵に対する防御物質としてはたらく。また、硫黄欠乏条件下のシロイヌナズナでは、GL が硫黄の貯蔵源として分解・再利用されることが最近明らかとなった。硫黄欠乏条件では GL 分解産物として Cys 誘導体である raphanusamic acid (RA) が生じ、RA が Cys へと再生する過程でイソチオシアネート由来の硫黄原子が遊離すると考えられる。本研究では、この反応の責任酵素遺伝子を明らかにすることを目的として、シロイヌナズナの cDNA 発現ライブラリーの作製および機能スクリーニングを行った。

硫黄欠乏条件で生育したシロイヌナズナから抽出した全 RNA を鋳型とし、SMART 法を応用して 5'/3'両末端に既知配列を結合した cDNA を合成した。500 bp 以上の cDNA 断片をアガロースゲルから切り出して精製し、シームレススクリーニングを用いて出芽酵母用の恒常性発現プラスミドへ挿入した。作製した cDNA 発現ライブラリーを BY4741 株に導入し、RA を単一の硫黄源とする培地で増殖可能な形質転換体をスクリーニングした。この際、RA から S-O 交換反応を経て生じる 2-oxo-4-thiazolidinecarboxylic acid を Cys へと効率よく変換するため、5-oxoprolinase 1 を共発現させた。結果、期待通りの表現型を示すコロニーが複数得られたため、現在、導入遺伝子の配列解析を進めている。

PA33 ENTRY

トマトにおけるソラノエクレピン生合成に関わる酸化酵素をコードする遺伝子の解析

Analysis of genes encoding oxidase involved in solanoeclepin 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作物に特異的に寄生し、大幅な減収を引き起こす重要な害虫である。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。本研究グループは 2023 年に、孵化促進物質の一つであるソラノエクレピン B (SEB) の単離および構造決定を報告した。また、トマトにおける SEB の生合成遺伝子群 (SOLA1~SOLA5) を同定し、これらの遺伝子をノックアウトしたトマト毛状根で SEB が消失することを確認した。さらに、昨年度の大会では、新たな孵化促進物質ソラノエクレピン C (SEC) の単離と構造決定を報告した。

本研究では、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、候補遺伝子の中から、新たに同定した酸化酵素をコードする遺伝子について報告する。この遺伝子をノックアウトした毛状根を作成し、その解析を行った結果、培養液中の SEC や SEB の消失が確認された。ソラノエクレピン類はその構造から複数の酸化を受けていると考えられるため、ソラノエクレピンの生合成経路の解明につながる事が期待できる。現在も新たな生合成遺伝子の解析を進めている。

PA34 ENTRY

ソラノエクレピン C 生合成に関わるトマト由来アセチル基転移酵素の同定

Identification of an acetyltransferase involved in solanoeclepin C biosynthesis in tomato

須澤 尚太¹, 秋山 遼太^{1,2}, 永友 陽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

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。土壌中で休眠している 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、当研究室で 2023 年に新規ソラノエクレピン B (SEB)、2025 年に SEB のアセチル誘導体の新規ソラノエクレピン C (SEC) の単離構造決定が達成された。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が、SEC 生合成系の全貌は不明である。本発表では、SEB にアセチル基を付加するアセチル基転移酵素の同定について報告する。

CRISPR/Cas9 システムを用いて生合成遺伝子を欠損させ、SEB および SEC を生産しない毛状根を作成し、その欠損株の培地中に SEB を投与したところ、7 日後に培養液中から SEB と SEC の両方が検出された。この結果は、トマト毛状根中には SEB にアセチル基を付加して SEC を生成する酵素の存在を示唆している。そこで、トマト根で特異的に発現しているアセチル基転移酵素遺伝子を複数選抜し、それらの組換え酵素を作成して *in vitro* で評価したところ、SIAC1 のみが SEB を SEC に変換することが確認された。現在、SIAC1 欠損毛状根を作出し *in vivo* での影響を調査している。本研究の結果、植物は孵化促進活性の高い SEB を低活性な SEC に変換してから土壌中に分泌することが示唆された。これらの知見は、植物が産生するソラノエクレピンが土壌微生物によって意図せぬ形に変換され、それをセンチュウが利用するという三者間相互作用を示している。

PA35 ENTRY

キンギョソウのオーロン生合成に関与するカルコン輸送体の解析

Characterization of chalcone transporter involved in aurone synthesis in *Antirrhinum majus*

一色 桂吾, 佐伯 結衣, 古舘 拓来, 高梨 功次郎

信州大院・総合理工

[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弁で蓄積する 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。本研究ではオーロン生合成における代謝産物動態の解明を目的として, キンギョソウのカルコン輸送体の同定と機能解析を行う。

[方法と結果]

まずキンギョソウ花弁におけるカルコンの輸送時期を調べるために, 黄色品種のキンギョソウ花弁を開花状況に応じて 3 つのステージに分け, それぞれから膜ベシクルを調製した。膜ベシクルの形成はアクリジンオレンジ蛍光の消失により確認した。THC を基質とした輸送アッセイを行ったところ, ステージ 2 においてのみ ATP 依存的な THC の膜ベシクルへの取り込みが見られた。ステージ 2 の膜画分から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。この取り込みに関与する輸送体の機能を調べるために, 輸送基質特異性を調べ, さらに阻害剤を用いた輸送体ファミリーの同定を行った。

PA36 ENTRY

ゼニゴケにおけるビスビベンジル大環化に関与するシトクロム P450 の同定

Identification of cytochrome P450s involved in bisbibenzyl macrocyclization in *Marchantia Polymorpha*橘 美紗希¹, 水田 珠希¹, 井上 珠緒¹, 熊田 小有里¹, 中村 幸誠¹, 浅川 義範², 石崎 公庸³, 高梨 功次郎⁴, 水谷 正治¹¹神戸大・院農学, ²徳島文理大・薬, ³神戸大・院理学, ⁴信州大・院総合理工

タイ類ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) は marchantin および isoriccardin などの大環状ビスビベンジル類や, セスキテルペンといった二次代謝産物を豊富に蓄積し, 動物による捕食から免れていると考えられている。先行研究において, ビスビベンジルは *p*-coumaric acid を経由して作られること, ビスビベンジル骨格の形成にシトクロム P450 (CYP) が関与すること, ビスビベンジル生合成を誘導させる転写因子 MpMYB02 が存在することが報告されている。しかし, 未だにビスビベンジル生合成に関わる大環形成機構について全容が明らかにされていない。当研究室の先行研究において, 野生株と比較して MpMYB02 過剰発現株で発現が上昇している CYP がビスビベンジル生合成候補遺伝子として選抜された。本発表では選抜された候補遺伝子のうち大環化に関わる遺伝子のゲノム編集破壊株について報告する。

本研究では CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集により CYP6 と CYPiRS の欠損株を作成し, 代謝物を LC-MS/MS で解析した。cyp6 欠損株では isoriccardin D の消失が確認され, CYP6 は isoriccardin D の生合成に関与していることが示唆された。また, cypirs 欠損株では isoriccardin C の消失が確認され, CYPiRS は isoriccardin C の生合成に関与していることが示唆された。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。

PA37 ENTRY

ゼニゴケ合成生物学に資する CHS 破壊による芳香族の高生産シャーシ系の構築

Construction of High Aromatic Precursor Yield Strain in Biomanufacturing of *Marchantia polymorpha*

中村 幸誠¹, 水田 珠希¹, 石崎 公庸², 水谷 正治¹

¹神戸大・院農, ²神戸大・院理

植物バイオものづくりでは微生物と比較して生育速度や形質転換サイクルが遅いという課題がある。一方、モデル植物である苔類ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) は、自身のクローン体として無性芽を生成し、光と水と無機塩類のみで迅速に増殖可能であることや、高効率な形質転換系が確立していることから新たな物質生産基盤となる可能性を秘めている。

植物由来の芳香族化合物は化粧品や、栄養補助食品などで利用され、特に有機合成が困難な一部の希少なものは高い市場価値を有する。ゼニゴケは、被子植物と同様にフェニルプロパノイド代謝経路を有していることから、遺伝子組換えによる有用芳香族化合物の生産基盤として有望である。

ゼニゴケのフェニルプロパノイド代謝経路においてパラクマロイル CoA は重要な鍵中間体であり、ポリケチド合成酵素 (PKS) であるカルコン合成酵素 (CHS) によってナリンゲニンカルコンを経てフラボノイドを合成する経路と、別酵素によってコケ植物特有なビベンジル類 (マルカンチン類) を合成する経路に分岐する。また、パラクマロイル CoA は有用芳香族の中間体である。そこでゼニゴケのパラクマロイル CoA 代謝経路を遮断し、有用芳香族を高生産するためのシャーシ株の構築を行った。そこでまずゼニゴケ CHS の同定と破壊を本研究の目的とし、ゼニゴケゲノム内の 24 分子種の PKS から発現量および他植物の CHS との相同性によりゼニゴケ CHS 候補を選抜し、CHS 破壊株を作出した。CHS 機能欠損によりビベンジル類の生合成が促進されと考えられる。そこで LC-MS 解析を実施しフラボノイド、ビベンジル類の生産量の増減を評価した。

PA38 ENTRY

ヌルデのオーロン生合成経路の解明

Aureusidin biosynthesis in *Rhus javanica*

原 萌果, 高梨 功次郎

信州大・院総合理工学

Aureusidin はゼニゴケやキンギョソウ、ホソバハルシャギクなどで生合成される黄色を呈するフラボノイドであり、上記いずれの植物においても polyphenol oxidase (PPO) ファミリーの酵素が naringenin chalcone から aureusidin の生合成を触媒する。ゼニゴケにおいてこの aureusidin から生合成される riccionidin A は、近年新しいフラボノイドのクラスであるオーロニジンとして分類することが提唱されたものの、その生合成酵素は同定されていない。Riccionidin A の蓄積はウルシ科のヌルデの根においても報告されている。系統的に大きく異なるゼニゴケとヌルデにおいて riccionidin A が生産されることは、両者の進化的な距離を考慮すると、独立した過程でそれぞれ riccionidin A 生産能を獲得したと推測される。この平行進化の実態を明らかにするために、本研究ではヌルデのオーロン生合成経路をまず解明することとした。ヌルデの地上部と根からそれぞれ total RNA を抽出し、RNA-Seq 解析を行ったところ、根で特異的に発現する 5 分子種の PPO を見いだした。最も高く発現していた 1 分子種をクローニングし、出芽酵母に異種発現させて naringenin chalcone を基質とした酵素アッセイを行った。並行して in vitro culture 系で栽培したヌルデを用いて培養根を作製し、同様に粗酵素アッセイを行った。本発表では、これらの結果について報告する。

PA39 ENTRY

サポジラ (*Manilkara zapota*) 由来短鎖型 *trans*-プレニルトランスフェラーゼの機能解析Functional analyses of short-chain *trans*-prenyltransferases from Sapodilla (*Manilkara zapota*)佐藤 誠一郎¹, 今泉 璃城¹, 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, 山口 晴彦³, 坂口 祐美³, 山下 哲⁴, 戸澤 譲⁵, 中山 亨¹, 高橋 征司¹¹東北大・院・工, ²東北大・東北メディカルメガバンク, ³住友ゴム工業(株), ⁴金沢大・院・自然科学, ⁵埼玉大・院・理工

一部の植物は、必須分子の前駆体となる全 *trans*-オリゴ／ポリプレニルニリン酸 (C₁₀-C₄₅) に加え、重合度が極めて高いポリイソプレノイドも生合成する。ガタパーチャは、分子量 10⁴ 以上にも及ぶ *trans*-1,4-ポリイソブレン (TPI) を主成分とする熱可塑性樹脂である。我々はこれまでに、サポジラ (*Manilkara zapota*) より、分子量 10⁴ を中心とした高分子量 TPI の合成を触媒する *trans*-プレニルトランスフェラーゼ (tPT) である MztPT2 を同定している。MztPT2 は一般的な tPT には無い膜結合ドメインを N 末端側に有するが、触媒反応に寄与する他のドメインは、一次、三次構造においてオリゴプレニルニリン酸を合成する tPT と類似性が高く、MztPT2 における高分子量 TPI 合成の分子機構は不明であった。本研究では、MztPT2 のポリマー合成機構を一般的な tPT との比較機能解析により解明するため、サポジラのファルネシルニリン酸 (C₁₅) 合成酵素 (FPS)、ゲラニルゲラニルニリン酸 (C₂₀) 合成酵素 (GGPS) の同定、および機能解析を行った。

サポジラの葉のトランスクリプトームデータから既知の tPT のホモログを探索し分子系統樹解析を行うことで、MztPT2 に類似性の高い tPT ホモログを見出した。RT-PCR、RACE により全長 cDNA 配列を取得したのち、大腸菌内で異種発現させ、精製酵素を得た。これらについて活性測定を行った結果、FPS および GGPS を一種ずつ同定することができた。本発表では同定した FPS、GGPS と MztPT2 の構造比較についても議論する。

PA40 ENTRY

ナス属植物におけるステロイドグリコアルカロイド生合成に関わる糖加水分解酵素の機能解析

Functional Analysis of Glycoside Hydrolase involved in Steroid Glycoalkaloid Biosynthesis in *Solanaceae* Plants池山 倅¹, 秋山 遼太^{1,2}, 梅基 直行², 水谷 正治¹¹神戸大・院農, ²理研・CSRS

ステロイドグリコアルカロイド (SGA) は、窒素原子を含むステロイド配糖体の総称であり、ナス科植物の多くが生合成する有毒な二次代謝産物である。ジャガイモの α -ソラニンやトマトの α -トマチンなどが主に知られており、コレステロール (CHR) を出発物質として、酸化やアミノ基転移、配糖化からなる連続的な修飾を受けて生合成されると推定されている。我々はこれまでに、コレステロールへのグルクロン酸 (GlcA) 配糖化を触媒する Cellulose Synthase-like M (CSLM/GAME15) を同定し、報告した (Adam Jozwiak *et al.*, Science, 2024)。しかしながら、CSLM/GAME15 によるグルクロン酸配糖化を受けるにも関わらず、最終産物である SGA にはグルクロン酸が含まれないことから、グルクロニドを加水分解するステップの存在が示唆された。そこで、SGA 生合成遺伝子の共発現解析によりグルクロニド加水分解酵素 (SIGH1) の候補遺伝子を選抜し、ノックアウト毛状根を作製した。ノックアウト毛状根の蓄積物を LC-MS 分析に供した結果、SGA 蓄積量が減衰したことから、SIGH1 の SGA 生合成への関与が確認された。さらに、*N. benthamiana* を宿主として発現させた組換え酵素タンパク質を用いて酵素アッセイを行うことによって活性を解析したところ、酸性条件下で SIGH1 によるグルクロニドの加水分解活性が確認された。また、細胞内における SIGH1 の動態や生合成経路全容の解明に向けた調査の結果に関しても報告予定である。得られた知見は、有毒成分の合成を抑制したジャガイモやトマトの分子育種や、有用ステロイド化合物生産への応用が期待される。

PA41 ENTRY

グルコシノレート生合成の抑制因子 *SDI1* および *SDI2* の硫黄不足に応じた遺伝子発現促進への *SLIM1* 転写因子の寄与

Contribution of SLIM1 Transcription Factor to the Induction of Gene Expression in Response to Sulfur Deficiency in the Glucosinolate Biosynthesis Repressor *SDI1* and *SDI2*

吉元 雄琉¹, 川口 諒太¹, 丸山 明子²

¹九大院生資環, ²九大院農

アブラナ科植物は含硫特化代謝物グルコシノレート (GSL) を生合成する。GSL は、その分解産物であるイソチオシアネートとともに病害虫への忌避物質として働く他、硫黄の貯蔵にも働く。植物は、硫黄不足 (−S) に応じて GSL の生合成を抑制しつつ分解を促進すると同時に硫酸イオン吸収や同化を促進することにより、一次代謝への硫黄分配を増やす。

これらの −S 応答を包括的に制御する転写因子として Sulfur Limitation1 (SLIM1) が知られている。また、−S 下で発現が増加する *Sulfur Deficiency Induced(SDI)1* と *SDI2* は、メチオニン由来 GSL (mGSL) 生合成遺伝子に働く MYB28 の発現促進活性を抑制することで mGSL 生合成を制御する。一方、−S に応じた *SDI* の発現制御機構は不明である。

SDI の発現上昇への SLIM1 の寄与を明らかにする目的で、*SDI1* および *SDI2* のプロモーター-GFP 株 (pSDI1:GFP, pSDI2:GFP) と *slim1* 欠損株 (SKO) の掛け合わせ後代を作製し、野生型株 (Col) 背景の pSDI1:GFP, pSDI2:GFP と蛍光を比較した。SKO 背景の形質転換体では、pSDI1:GFP の蛍光強度は Col 背景のものと比較して低下したが、pSDI2:GFP については SKO 背景と Col 背景の間に蛍光強度の差が認められなかった。LUC 遺伝子を用いたレポーターアッセイにおいても、SLIM1 との共発現による LUC 活性の上昇は pSDI1 を用いた場合にのみ認められた。興味深いことに、Col 背景の pSDI1:GFP では、GSL 生合成の場である葉脈で GFP 蛍光が観察されたが、SKO 背景では pSDI1:GFP の組織特異性も失われた。以上の結果から、*SDI1* の −S 応答への SLIM1 の寄与が分子種によって異なること、SLIM1 が *SDI1* の −S 応答を量的・空間的に調節することが示された。

PA42 ENTRY

Raphanus 属植物が産生するフェニルアシル化フラボノイドの探索

Investigation of phenylacyl-flavonoid biosynthesis in *Raphanus spp.*

金 陽喜, 安川 小百合, Yuting Liu, 小牧 伸一郎, 渡邊 むつみ, 峠 隆之

奈良先端大・先端科学技術

陸上植物に広く保存されているフラボノイドは、紫外線や乾燥などのストレスに対する抗酸化活性物質として知られる。フラボノイド構造の化学修飾は、近縁種や同一種においても高い構造多様性がみられることや、環境変化への適応や自然選択との関連性が議論されている。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 野生種の自生地データと代謝多型の比較解析では、フラボノイドのフェニルアシル化修飾が紫外線吸収能を向上させることが明らかになった。一方で、根や花などに特異的に蓄積しているフェニルアシル化フラボノイドも報告されていることから、紫外線ストレス耐性強化以外の生理機能を持つことも考えられるが、代謝経路や構造多様性、酵素遺伝子については多くの植物種において部分的にしか明らかになっていない。そこで本研究では、フェニルアシル化フラボノイドの生理機能の解明を目的とし、代謝物解析によるフラボノイド生合成経路の構築と、産生の鍵となる酵素遺伝子の探索を計画した。複数種のアブラナ科植物を用いた代謝物解析を行った結果、ダイコン (*Raphanus sativus*) においてフェニルアシル化フラボノイドが確認された。また、複数のダイコンの栽培品種を用いて品種・器官間の代謝物比較解析を実施した結果、ケンフェロールやケルセチンをアグリコンとする化合物の産生が品種および器官特異的に示された。さらに、それらの蓄積パターンを用いて、ダイコン属植物のフェニルアシル化フラボノイドの生合成経路を構築することができた。本発表ではダイコンの栽培品種、器官別のフラボノイド代謝経路とその構造多様性ならびに、候補遺伝子の推定について議論する。

PA43 ENTRY

Seasonal Changes in the Contents of Asarones and Related Phenylpropanoids in *Acorus calamus* L.Oyundari Ganbat¹, Nagomi Kashimoto¹, Bolortuya Ulziibat², Takumi Ogawa¹, Takao Koeduka³, Atsushi Okazawa¹¹Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University, ²Department of Research and R&D policy, Mongolian Academy of Sciences,³Graduate School of Science and Technology for Innovation, Yamaguchi University

Acorus calamus L. is a monocot medicinal plant valued for bioactive compounds such as β -asarone, which has antimicrobial, neuroprotective, and antioxidant effects. However, the biosynthetic pathway of asarones remains poorly understood. This study investigated how seasonal changes affect the accumulation of asarones and related phenylpropanoid precursors. Leaf and root samples were collected across four seasons and analyzed using gas chromatography (GC) to quantify α -asarone, β -asarone, and putative precursors related to the phenylpropanoid pathway, including eugenol, isoeugenol, and methyl isoeugenol. β -Asarone levels in leaves followed a clear seasonal pattern, peaking in winter and dipping in spring, while its contents in the roots fluctuated irregularly. α -Asarone showed no significant seasonal variation. Isoeugenol level was stable across all samples, but methyl isoeugenol was higher in spring and winter leaves. Eugenol and *trans*-isoeugenol appeared only in the roots. Several unknown compounds correlated strongly ($R^2 \geq 0.89$) with β -asarone content, particularly in winter leaves, suggesting possible biosynthetic links. These findings suggest that seasonal factors, especially winter conditions, influence asarone accumulation and may inform future studies on asarone biosynthesis and sustainable production in *Acorus calamus* L.

PA44

ダイズ根における有用物質生産の促進をめざした機能性アミノ酸カクテルの開発

Development of functional amino acid cocktail to promote production of useful compounds in soybean roots

多部田 弘光¹, 平井 優美^{1,2}¹理研CSRS, ²名大・院・生命農学

農業の環境負荷低減は持続可能な農業生産を推進するにあたって重要であるとされており、作物生産量を維持しつつ、生産量に対する肥料や水の消費を削減していく技術の開発が急務とされる。これに対し我々は、天然非タンパク性アミノ酸の一種である L-2-aminopimelic acid (LAPA) が植物の発根を促進し、栄養の吸収効率を増進させる機能性代謝産物であることを見出した。近年、ダイズに LAPA を投与したところ、LAPA の投与によってダイズ根の形態変化と伴に有用代謝成分の合成が促進されること、またその変動には Glu と Arg の内在バランスが関与する可能性が示唆された。植物特化産物の多くはアミノ酸から合成されていることを踏まえると、これら Glu/Arg バランスの変化はダイズにおける有用成分の合成促進に寄与している可能性も考えられる。

そこで本研究では、LAPA に加え複数のアミノ酸を補充することで、有用代謝物の合成促進を実現する代謝カクテルの開発を試みた。ダイズ根をワイドターゲットメタボロミクスに供することで、どのような代謝産物の内在量が変化しているかを調べた結果、アミノ酸カクテルの投与により産業利用化合物であるアジピン酸の合成が促進されることが明らかになった。また、植物特化代謝産物の変動に着目したところ、ダイズ根におけるイソフラボン類の合成増進が生じることが明らかになった。さらに、LAPA と Glu を含む「LG カクテル」が代謝変化の効果を最も促進できる組み合わせであることも見出した。根圏に滲出するイソフラボンは微生物叢形成を促すことを踏まえると、LG カクテルは根における機能性成分の生産のみならず、植物体の生育促進にも寄与する可能性がある。

PA45

組換えタンパク質大量生産を目指したイネ種子による抗体・機能性タンパク質生産技術の開発

Development of Antibody and Functional Protein Production Technology by Rice Seeds for Mass Production

澤崎 佑太¹, 平野 咲良¹, 森田 重人², 増村 威宏², 澤崎 達也¹, 野澤 彰¹

¹愛媛大PROS, ²京府大生命環境

【背景】近年、抗体を主としたバイオ医薬品は次世代の治療方法として注目されているが、生産コストから薬価が高く、利用は限定的である。安価な抗体生産のためには生産方法の抜本的な転換が必要であると私達は考え、イネの種子を母体とした抗体生産技術に着目した。

【組換えイネ】イネ種子胚乳部分の主成分はデンプンだが、タンパク質も生重量あたり約 7%含まれる。これらの内在タンパク質の発現を RNAi によって抑制可能なベクターを用いることで、目的のタンパク質を種子重量の 1%という高い効率で発現させることができた。種子胚乳は夾雑タンパク質が少なく非常に安定的な貯蔵機構であり、抗体を発現させた種子は常温で数年間保存可能である。

【抗体生産】私達はまず同手法で自身の研究室で取得した抗 AGIA 抗体の遺伝子をイネに導入しイネ種子胚乳内部で発現させた。発現させた抗体は胚乳の粉末を PBS で懸濁する簡便な方法で発現量の約 10%が回収された。懸濁液を用いて抗 AGIA 抗体は胚乳内で 4 量体を形成することや、動物培養細胞で生産したものと同程度の抗原認識活性を持っていることが確認された。次に医薬品抗体として用いられる抗 PD-1 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 HER2 抗体をそれぞれ同手法で生産した。また抗体以外のタンパク質の生産と機能解析についても紹介する。

【まとめ】イネ胚乳を母体とした抗体生産方法は解決しなければならない課題も多いが、従来の方法よりも高効率かつ低コストに抗体を生産することが可能である。常温保存性やコストカットによって医薬品抗体の普及だけでなく、家畜やペットといった動物への抗体医薬品という新分野の開拓など様々な波及効果が期待される。

PA46 ENTRY

遺伝子改変によるイネ振盪培養細胞における抗菌タンパク質分泌促進

Promotion of Antimicrobial Protein Secretion in Rice Suspension Cells via Genetic Modification

矢原 匠人, 渡会 岳, 大田原 有咲, 下田 蒼, 戸部 隆太, 米山 裕, 伊藤 幸博

東北大・院農学

ウシ乳房炎は、泌乳量・乳質の低下を引き起こし、畜産分野で最も経済的損失の大きい疾病で、国内だけで年間 800 億円の損害が生じていると推定されている。治療には抗生物質が使われているが、多剤耐性菌の出現リスクから、使用量の削減が求められている。リゾスタフィン (LYS) は黄色ブドウ球菌特異的な抗菌タンパク質であり、1 頭につき 100 mg の投与により乳房炎治療効果が報告されている。しかし、現状 LYS は 1 mg あたり約 1 万円と高価であり、家畜への利用は困難である。イネ振盪培養細胞は分泌される内在性タンパク質が少ないため、培地中に組換えタンパク質を分泌させることで、生産コストの 8 割から 9 割を占める精製コストの大幅な削減が期待できる。さらにイネは食経験から安全性が担保されている。そこで本研究ではイネ振盪培養細胞で LYS を超低コストで生産することを試みた。イネ振盪培養細胞は、アミラーゼ由来の分泌シグナルを付加した LYS 遺伝子を導入した種子からカルスを誘導し、N6 液体培地に入れることで作出した。これまでに、抗 LYS 抗体を用いたウェスタンブロットにより培養上清に分泌された LYS を調べたところ、分泌量は 1 L あたり約 1 mg にとどまった。また、野生株の培養上清に市販 LYS を添加し保温したところ、数日以内に分解されることが確認された。このことから、上清中のプロテアーゼにより分解され、蓄積量が減少していると推定された。分泌効率の向上を目指して、分泌の競合因子と推定されるアミラーゼの KO 株を作製し、LYS 遺伝子の導入を行っている。また、培養上清における市販 LYS の分解が抑制された変異体に、LYS 遺伝子の導入も行っており、本演題ではこれらの取り組みについて報告する。

PA47 ENTRY

ゼニゴケにおけるトリテルペノイド・ステロイド高生産を目的とした HMGR 過剰発現株の構築

Construction of HMGR overexpression strain for high production of triterpenoids and steroids in *Marchantia polymorpha*

梶野 理桜¹, 水田 珠希¹, 那須 詩織¹, 小林 祐介¹, 中村 幸誠¹, 石崎 公庸², 水谷 正治¹

¹神戸大・院農学, ²神戸大・院理学

苔類ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) は、アグロバクテリウムを用いた迅速かつ高効率な形質転換系が確立されており、物質生産プラットフォームとして期待されている。先行研究により、ゼニゴケ体内でステロール 24 位還元酵素 (DHCR24) を過剰発現させ、7 位還元酵素遺伝子 *DWF5A* を破壊し、UV を照射することでビタミン D3 (VD3) の生産を確認した。また、 β -Anyrin synthase (*bAS*) の過剰発現により β -アミリンの生成を確認した。しかし、ゼニゴケにおいてトリテルペノイド・ステロイドを高生産するためには、さらなる改良が必要である。そこで、上流である MVA 経路に着目し、その律速酵素である HMG-CoA 還元酵素 (HMGR) の過剰発現による代謝フラックスの増強を試みた。HMGR の発現は植物の成長や環境応答によって制御されているが、その分子機構は未解明である。一方で、*Arabidopsis thaliana* 由来の HMGR (AtHMGR) は、ラットと同様に AMPK によるセリン 577 のリン酸化によって不活性化されるが、当該部位をアラニンに置換することで常に活性型として機能することが報告されている。

本研究では、この変異型 AtHMGR を、VD3 生産株 (*proEF1 α ::DHCR24-ox*, および *pro35S::DHCR24-ox*) と、 β -アミリン生産株 (*proEF1 α ::bAS-ox*) に導入した。GC-MS によりステロール量及び、コレステロール量、 β -アミリンの蓄積量を測定し、HMGR 過剰発現による前駆体増加の有効性を評価したので、それらの結果について報告する。

PA48

ワックスエステル蓄積増強作用を示す 1,4-diaminoanthraquinone を処理したユーグレナにおける代謝プロファイルの解析

Effects of 1,4-diaminoanthraquinone on the metabolite accumulation profile of *Euglena gracilis* during the induction of wax ester biosynthesis

小川 拓水^{1,2}, 福田 修大², 樽本 和希², 太田 大策¹, 岡澤 敦司^{1,2}

¹阪公大・院農学, ²阪公大・農学

微細藻類の一種であるユーグレナ (*Euglena gracilis*) は、嫌気条件下で貯蔵多糖を主な炭素源としてワックスエステル (WE) を生合成する。ユーグレナが生産する WE は、バイオディーゼルの原料として注目されている。我々は以前、1,4-diaminoanthraquinone (OATQ008 と呼称する) 処理がユーグレナの WE 蓄積を増強することを見出した。本研究では、CE-MS を用いたメタボローム解析により、OATQ008 がユーグレナの代謝に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。まず、OATQ008 の効果を明所と暗所で比較した。WE 蓄積は明所でより強く促進されたことから、OATQ008 が主に明所で活性化される代謝過程に影響を与えることが示唆された。次に、ユーグレナに DMSO (溶媒対照) または 100 μ M の OATQ008 を処理し、明所嫌気条件下で 6 時間培養後、CE-MS により代謝プロファイルを解析した。その結果、糖、アミノ酸、ヌクレオチド代謝に関与する化合物を含む 25 種類の化合物の蓄積量が処理間で有意に異なることが示された。DMSO または OATQ008 のいずれか一方の処理区でのみ再現性よく検出され、他方の処理区では検出されなかった化合物が 2 種類あり、それぞれアミノ酸代謝またはヌクレオチド代謝の調節に密接に関連する化合物であった。OATQ008 による WE 蓄積の促進とアミノ酸およびヌクレオチド代謝への影響の因果関係は不明だが、その作用機序の解明は、ユーグレナの WE 生合成における未解明の調節機構の発見につながる可能性がある。

PA49 ENTRY

メナジオン処理によるユーグレナの脂質蓄積増強メカニズムの解明

Elucidation of the effects of menadione on wax ester biosynthesis in *Euglena gracilis*

樽本 和希¹, 小川 拓水^{1,2,3,4}, 福田 修大³, 佐藤 一裕⁴, 岡澤 敦司^{1,2,3,4}, 太田 大策^{1,2,3,4}

¹阪公大・農学, ²阪公大・院農学, ³阪府大・生命環境科学, ⁴阪府大・院生命環境科学

微細藻類ユーグレナ (*Euglena gracilis*) が嫌気条件下で貯蔵多糖から生合成するワックスエステル (WE) は、バイオ燃料の原料として有用である。本研究で注目したメナジオン (2-methyl-1,4-naphthoquinone) は、ユーグレナ野生株 (Z 株) の WE 蓄積を 100 μ M 添加時に 2.3 倍増強する (Ogawa et al., 2022, *J Biosci Bioeng*, 133:243–249)。メナジオンは動物細胞内で酸化還元反応を介して過酸化水素 (H_2O_2) を生成し、酸素消費量を増加させる。また、複数の微細藻類で H_2O_2 処理による脂質蓄積の増加が確認されている。本研究では、メナジオンによるユーグレナの WE 蓄積増強の作用機序を解明するため、 H_2O_2 生成の関与を明らかにすることを目的とした。まず、ユーグレナの Z 株 及び葉緑体機能欠損株 (SM-ZK 株) に暗所でメナジオンを添加し、酸素電極により培地中酸素濃度の経時変化を測定した。その結果、両株のメナジオン 100 μ M 添加区で酸素消費速度が 2 倍以上に増加した。次に、Z 株にメナジオンを添加後、蛍光プローブ BES- H_2O_2 -Ac を用いて細胞内 H_2O_2 産生を可視化し、蛍光顕微鏡下で観察を行った。メナジオン添加区では対照区と比較して細胞全体で強い蛍光が観察され、細胞内の H_2O_2 濃度の上昇が示唆された。また、蛍光部位が細胞内の未同定顆粒に局在していたことから、メナジオン添加時に特定のオルガネラにおいて H_2O_2 が産生されている可能性が示唆された。さらに、 H_2O_2 添加により、Z 株の嫌気条件下での WE 蓄積量が対照区の 1.4 倍に増加することを確認した。以上より、メナジオンによる WE 蓄積増強に H_2O_2 の生成が部分的に関与している可能性が示唆された。

PA50 ENTRY

一過性遺伝子発現法におけるベンサミアナタバコの外来タンパク質含量と遺伝子発現パターンに及ぼす明期の影響

Effects of Photoperiod on the Amount of Transiently Expressing Foreign Protein and Gene Expression Patterns in *Nicotiana benthamiana*

菊池 要¹, イ ジユン¹, 富士原 和宏¹, 山崎 将太郎², 松田 怜¹

¹東大・院農学生命科学, ²阪大・微生物病研

植物を利用して医薬品原材料等となる外来タンパク質を生産する方法が注目されている。特に、ベンサミアナタバコを用いた一過性遺伝子発現法では、短期間で多量の外来タンパク質を生産可能である。演者らのグループでは、外来タンパク質として主にインフルエンザワクチンタンパク質であるヘマグルチニン (HA) を用いて、HA 含量を高めるための植物の栽培環境調節について研究してきた。Matsuda et al. (2019) は、遺伝子導入前の PPFD や気温を葉生体重・乾物重の増大に適したレベルとすると、遺伝子導入時や収穫時 (遺伝子導入から約 1 週間後) の葉生体重・乾物重が大きくなるのみならず、収穫時の葉生体重・乾物重あたり HA 含量も大きくなり、結果としてそれらの積である株あたり HA 含量を著しく高めうることを報告した。この結果は、遺伝子導入前のバイオマス生産を促進する環境条件の重要性を示している。

そこで本研究ではまず、PPFD・気温以外の環境要素として明期に着目し、遺伝子導入前の明期を 8, 12, 16, または 20 h d⁻¹ として、葉乾物重および葉乾物重あたり HA 含量に及ぼす影響を調べた。その結果、明期が長いほど遺伝子導入時および収穫時の葉乾物重は大きくなるものの、収穫時の葉乾物重あたり HA 含量は必ずしも大きくはならないことが明らかとなった。そこで、明期と PPFD・気温とが、遺伝子導入前のバイオマス生産促進を介して収穫時の葉生体重・乾物重あたり HA 含量に及ぼす影響が異なることの原因を明らかにするため、RNA-seq によりそれらの環境要素レベルが遺伝子発現パターンに及ぼす影響を現在調べている。発表では、その結果についても議論したい。

PA51 ENTRY

植物スフィンゴ脂質を分解する菌類由来酵素の探索

Exploring fungal enzymes hydrolyzing plant sphingolipids

松本 香凜, 川合 真紀, 石川 寿樹

埼玉大・院理工

グリコシルイノシトールホスホセラミド (GIPC) は植物組織に普遍的かつ多量に含まれるスフィンゴ脂質であり、細胞膜マイクロドメインの形成を通じて様々な生理機能に関与している。また、GIPC のセラミド構造はヒト肌のセラミド構造と近いことから、肌バリア機能の改善に効果的な天然セラミドの新たな供給源として産業的にも注目されており、GIPC の親水部を効率的に除去する手法が求められている。そこで本研究では、菌類が GIPC 分解能を持つことに注目し、新規の酵素遺伝子を同定することを目的とした。既知の脂質分解酵素との相同性を基に候補遺伝子を菌類ゲノムから選定し、それらのアミノ酸全長コード配列を遺伝子合成して出芽酵母に導入した。これらのタンパク質には、膜貫通ドメインや分泌シグナルを有するものが含まれていたため、細胞内画分と細胞外画分に分けて GIPC と反応させ、生成されたセラミドを LC-MS/MS により定量した。その結果、GIPC 分解活性を示す酵素を 3 種見出した。いずれの酵素も GIPC の分解産物として遊離セラミドのみを生じ、セラミド 1-リン酸は検出されなかったことから、ホスホリパーゼ C タイプの GIPC 分解活性を持つと考えられた。今後はこれら酵素の基質特異性や至適条件などの特性を解析し、植物 GIPC を原料とした遊離セラミドの産業利用を目指す。

PA52 ENTRY

遺伝子組換えイネを用いた抗菌ペプチド persulcatusin の効率的生産システムの構築

Generation of an Efficient Production System of an Antimicrobial Peptide 'Persulcatusin' Using Transgenic Rice

板垣 実菜子¹, 藤田 岳¹, 下田 蒼^{1,2}, 戸部 隆太¹, 米山 裕¹, 伊藤 幸博¹¹東北大・院農学, ²農研機構・動物衛生研究部門

薬剤耐性菌の出現は、公衆衛生上の深刻な課題となっている。薬剤耐性菌に有効な抗菌性物質として、抗菌ペプチドに注目した。イネを用いてシュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) に由来の抗菌ペプチド Persulcatusin (IP) を生産することを目指し、IP とカルモジュリン (CaM) との融合タンパク質 (CaM-IP) をコードする遺伝子をイネに導入した。IP はグラム陽性菌に対して強い抗菌活性を示し、抗生物質耐性株に対しても有効である。CaM は IP のイネへの影響を回避するために融合した。CaM と IP の融合部分に TEV プロテアーゼ認識配列を挿入した。抗 CaM 抗体を用いてウエスタンブロットを行ったところ、CaM-IP の発現が見られた。また、市販 TEV プロテアーゼで処理すると黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性が見られた。TEV プロテアーゼ遺伝子もイネに導入し、ウエスタンブロットで TEV プロテアーゼの発現を検出した。

各遺伝子を個別に導入したイネにおいて、目的タンパク質の生産が確認されたことから、細胞内局在の異なる CaM-IP と TEV プロテアーゼを 1 つのイネで発現し、タンパク質を抽出することにより自動的に TEV プロテアーゼが CaM-IP を切断し、活性化型の IP を生産するシステムの開発を目指した。CaM-IP および TEV プロテアーゼには細胞外分泌配列および葉緑体移行配列を付加した。パーティクルガン法を用いて両遺伝子を導入した結果、2 つの遺伝子を持つ個体が 7 系統得られた。現在、各系統における TEV プロテアーゼおよび CaM-IP 遺伝子のコピー数と生産量について解析を進めている。

PA53 ENTRY

イナゴマメガラクトマンナン生合成酵素遺伝子を用いたタバコ BY-2 培養細胞によるガラクトマンナン生産の試み

Galactomannan Production in Tobacco BY-2 Suspension Cells via Expression of a Galactomannan Biosynthetic Enzyme Gene from Carob(*Ceratonia siliqua*)

藤原 楓¹, 阿久津 光昭², 日渡 裕二^{1,3}

¹宮城大・院食産業, ²青葉化成株式会社, ³宮城大・食産業

イナゴマメ (*Ceratonia siliqua*) は主に地中海沿岸で栽培されるマメ科木本植物で、その種子由来のローカストビーンガム (LBG) はガラクトマンナン (GM) とよばれる増粘多糖類であり、食品加工に広く使われている。LBG は国内の需要が高いが、全量を輸入に依存しており、安定供給が問題となっている。私たちは、LBG の国内生産を目指して、イナゴマメ細胞培養を用いた GM の細胞工学的生産を試みている。これまでに GM 生合成の最終段階で働く酵素遺伝子として、マンナン合成酵素 (CsManS) とガラクトマンナンガラクトース転移酵素 (CsGMGT) の候補遺伝子をイナゴマメから単離した。本研究では、これらの候補遺伝子のタンパク質が、それぞれ ManS 活性と GMGT 活性を有するかを明らかにするために、タバコ BY-2 細胞を用いた機能解析を行った。

まず、BY-2 細胞においてマンナン合成およびガラクトース転移に必要な前駆体の有無を確認するために LC-MS/MS 解析を行った結果、これらの前駆体が細胞内に存在することが明らかとなった。次に、CsManS または CsGMGT を構成的に発現させる安定形質転換体から多糖類を抽出、加水分解して単糖を分析した。CsManS 発現細胞では、未導入細胞で検出されなかったマンノースが検出され、マンナン合成への関与が示唆された。CsGMGT 発現細胞ではガラクトースに加えマンノースも検出され、同酵素がガラクトース転移に加えマンナン合成にも関与する可能性が示された。現在、両遺伝子を共発現させた細胞で、イナゴマメ特有の GM 構造の再現を検証中である。

PA54 ENTRY

シアノバクテリア *Nostoc punctiforme* のジェオスミン産生関連遺伝子群の解析

Analysis of Geosmin Biosynthesis-Related Gene Cluster in the Cyanobacterium *Nostoc punctiforme*

宮村 紀香, Dayarathne Kaushalya, 石川 寿樹, 川合 真紀

埼玉大・院理工

全国各地で水道水のカビ臭被害が発生しており、これは河川等で増殖したシアノバクテリアがテルペン化合物であるジェオスミンや 2-Methylisoborneol (2-MIB) などのカビ臭物質を産生することが原因である。これまで放線菌を用いてジェオスミン合成酵素 (Geosmin Synthase, Gs) の研究が行われ、ゲノム上で Gs に近接して *Cyclic nucleotide binding protein* (Cnb) が存在し、これらはジェオスミン産生関連遺伝子と称されている。Cnb は 2-MIB 産生酵素の近接にも存在し、カビ臭物質生産酵素の区画化に関与すると推定されているが、シアノバクテリアにおけるカビ臭産生の機構については不明な点が多い。本研究では、分子遺伝学的研究が可能なモデル種であるジェオスミン産生性シアノバクテリア *Nostoc punctiforme* におけるジェオスミン産生機構の解明を目指す。

データベース解析の結果、*N. punctiforme* では Gs の下流に近接して 2 つの Cnb (CnbA, CnbB) が存在することが分かった。また、様々な種の Cnb の分子系統解析の結果、2-MIB 産生株とジェオスミン産生株でクラスターが分かれた。さらに、それぞれの中でシアノバクテリアと放線菌でクラスターが分かれたことから、Cnb はそれぞれの種、あるいは産物ごとで特異的に機能する可能性が示唆された。また、*N. punctiforme* で RT-PCR を行った結果、Gs, CnbA, CnbB は 1 つの転写単位としてオペロンを構成すると考えられた。一方、2-MIB 産生シアノバクテリア *Pseudanabaena foetida* では代謝酵素遺伝子、CnbA, CnbB はそれぞれ独立に発現することが報告されており、ジェオスミン生産と 2-MIB 生産に関与する遺伝子群の発現が、異なる機構により制御されていると考えられる。

PA55

キヌア FT ファミリー遺伝子の発現制御と表現型解析

Functional characterization of *FT* family genes in quinoa

小賀田 拓也¹, 藤田 泰成^{2,3}

¹国際農研・生物資源利用, ²国際農研・食料プログラム, ³筑波大・生命環境

南米原産のヒユ科擬穀類の一つ *Chenopodium quinoa* (キヌア) は、優れた栄養特性と環境適応力をもち、古くから重要な作物としてアンデスの人々に利用されてきた。近年、キヌアのゲノム概要配列が解読され、遺伝子配列情報に容易にアクセスすることが出来るようになってきている。キヌアにおける遺伝子組換えやゲノム編集技術は未だ確立されていないが、私たちは、キヌアの機能ゲノミクス解析を推進する手法として、リング小球形潜在ウイルスベクターを用いたキヌア遺伝子の機能解析系を確立している。

南米におけるキヌアの栽培地は、アンデス山脈に沿って異なる緯度地域に広がっており、その土地の環境や光周期に適応した系統が利用されてきたと考えられる。一方、キヌアの花成制御機構や関連因子について、これまでに詳細な解析はなされていなかった。そこで私達は、キヌアゲノム中より複数の開花制御因子 *FT* 様の配列を単離し、ウイルス誘導型ジーンサイレンシング (VIGS) およびウイルス媒介性遺伝子過剰発現 (VOX) によりキヌア植物体中における遺伝子機能解析を行い、一部の *CqFT* 遺伝子はキヌアの花芽形成を正に制御していることを明らかにした (2023 年度本大会)。今回、キヌアより新たに単離した *FT* 様配列を用いた解析と、晩生系統における *FT* 様遺伝子の機能解析の結果について報告する。晩生キヌア系統において開花促進型 *CqFT* 遺伝子を VOX および VIGS に供試した結果、早期開花あるいは開花遅延が誘導された。一方、花芽形成期における内在の *CqFT* 遺伝子の発現を調べた結果、遺伝子発現パターンは系統間で大きく異なっており、晩生系統では異なる花成制御機構が用いられていることが示唆された。

PA56

スギ木部細胞誘導系を用いた二次壁形成に関与する遺伝子の網羅的解析

Investigation of molecular mechanisms underlying secondary cell wall formation using an ectopic xylem cell induction system in *Cryptomeria japonica*

佐藤 良介¹, 永野 聡一郎², 七里 吉彦¹, 小長谷 賢一¹, 谷口 亨¹, 高田 直樹¹

¹森林機構・森林バイオ, ²森林機構・林育セ

樹木は維管束形成層から分化した木部組織が堆積することにより、強固な樹幹を形成する。木部組織は仮道管、道管、木部繊維、木部柔組織などから構成される。針葉樹では、仮道管が水分通導と樹体支持の両機能を担うのに対し、広葉樹では、道管が水分通導を、木部繊維が樹体支持を担う。これらの木部細胞は、二次壁を形成する点で共通している。広葉樹において、モデル樹木のポプラを用いた道管および木部繊維の二次壁形成に関する遺伝子レベルでの解析が進展しており、二次壁形成を制御する転写因子による転写制御ネットワークが明らかにされつつある。一方で、針葉樹における二次壁形成の分子機構には未解明な点が多い。本研究では、水分通導と樹体支持の2つの機能を担う針葉樹の仮道管に着目し、木部細胞の発生から二次壁形成までの分子機構の解明を目的とした。具体的には、スギを針葉樹のモデル樹種として、人為的に葉肉細胞を木部細胞へと転換させる実験系 (木部細胞誘導系) を用いて、木部細胞形成に関わる遺伝子の網羅的発現解析を行った。

木部細胞誘導系による時系列遺伝子発現解析の結果、ポプラやシロイヌナズナで二次壁形成に関与する Vascular-related NAC-Domain (VND) および MYB 転写因子のスギにおけるオルソログが、木部形成過程において段階的に発現し、それに伴いセルロース合成関連遺伝子群の発現も上昇した。これらの結果から、二次壁形成に関わる NAC-MYB 転写制御ネットワークがスギにおいても保存されていることが示唆された。今後は、同定された遺伝子について、ゲノム編集変異体を用いた機能解析を進め、スギにおける木部形成の転写制御ネットワークの解明を目指す。

PA57 ENTRY

ナガエツルノゲイトウの節におけるスフィンゴ脂質と長鎖塩基不飽和化酵素について

Sphingolipids and long-chain-base desaturase in the nodes of *Alternanthera philoxeroides*

時水 洋和¹, 石川 寿樹², 八木 宏樹³, 今井 博之¹

¹甲南大・院自然科学, ²埼玉大・院理工学, ³北里大・獣医学

ナガエツルノゲイトウ (*Alternanthera philoxeroides*) はヒユ科抽水性の多年草で、水辺で繁茂するが、乾燥にも強く、畦畔や畑地でも生育可能である。この植物は、節から活発に発根することや、茎断片からの再生力も旺盛であるため、極めて侵略的な特性をもち、我が国では特定外来生物に指定されている。本研究は、ナガエツルノゲイトウの環境適応力や繁茂の能力と、スフィンゴ脂質との関連性を明らかにすることを目的としている。ナガエツルノゲイトウは、節から対生葉が生じることや、節からの発根が知られている。そこで本研究では、茎をコントロールとして、茎と節それぞれから RNA を調製し、*de novo* RNA-Seq 解析を行った。その結果、茎よりも節において発現の高い遺伝子の中に、長鎖塩基不飽和化酵素遺伝子を見出した。

昨年度の本学会において、ナガエツルノゲイトウの葉に存在するグルコシルセラミド (GlcCer) の主要な構成長鎖塩基は、4, 8-スフィンガジエニン[d18:2(4,8)]であるのに対し、グリコシルイノシトールホスホセラミド (GIPC) の主要な構成長鎖塩基は、4-ヒドロキシ-8-スフィンゲニン[t18:1(8)]であることを報告した。本研究において、茎と節に含まれる GlcCer を分析した結果、節において d18:2(4,8) を有する GlcCer が特徴的に多いことを見出した。d18:2(4,8) は専ら GlcCer に存在すること、及び *de novo* RNA-Seq 解析の結果から、d18:2(4,8) を有する GlcCer が節において何らかの機能を有することが示唆された。

PA58 ENTRY

小胞体ストレスセンサー IRE1 による分泌タンパク質をコードする mRNA の分解機構

Degradation Mechanism of mRNAs Encoding Secretory and Membrane Proteins by the ER Membrane-localized Stress Sensor IRE1

松本 帆夏, 小泉 望, 岩田 雄二

大阪公大・院農学

シロイヌナズナの胞体ストレスセンサー IRE1 は胞体膜に局在する RNase であり、転写因子 bZIP60 をコードする mRNA のスプライシングと、分泌タンパク質や膜タンパク質をコードする mRNA の分解 (RIDD: Regulated Ire1-Dependent Decay) を触媒する。IRE1 は熱ストレス応答や塩ストレス応答、花粉や根の発達など多くの現象において重要であることが分かっている。bZIP60 mRNA のスプライシングは IRE1 が認識して切断する塩基配列や二次構造が明らかにされているが、そのような特徴は RIDD の標的となる mRNA にはほとんど見られないことから、RIDD の分子メカニズムは不明である。

本研究では既報のマイクロアレイデータを詳細に解析した。先行研究と同様、シグナルペプチド (SP) と膜貫通領域 (TMD) の少なくともいずれかをコードする mRNA の多くは、胞体ストレス誘導剤であるツニカマイシン (Tm) 処理により IRE1 依存的に分解されていた。SP と TMD をコードする mRNA はその全てが Tm 処理により同程度に分解されるわけではないことから、mRNA がコードするタンパク質の性質に着目して mRNA の種類を分類し、Tm 処理による分解のされやすさを調べた。その結果、mRNA がコードする SP の有無や TMD の数が、mRNA の分解のされやすさに影響する可能性が示唆された。現在、これらの可能性について、GFP-mCherry 融合タンパク質をコードする mRNA をモデルとして実験的な検証に取り組んでいる。

PA59 ENTRY

シロイヌナズナにおけるフェアリー化合物処理応答のメカニズム解明

Elucidating the Mechanism of the Response to Fairy Chemical Treatment in *Arabidopsis thaliana*

谷口 有希¹, 岩本 耕太郎², 圓山 恭之進³, 謝 肖男⁴, 崔 宰熏⁵, 河岸 洋和⁶, 本橋 令子⁶

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・総合科学技術研究科, ³国際農研, ⁴宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター, ⁵静岡大・グローバル共創科学部, ⁶静岡大・農学部

芝が円状に生育促進または抑制される現象はフェアリーリングと呼ばれ、糸状菌によって引き起こされる。この現象の原因菌の1種であるコムラサキシメジ (*Lepista sordida*) からフェアリーリング現象を惹起する物質として AHX (2-azahypoxanthine) と ICA (imidazole-4-carboxamide) が発見された。AHX は植物体内で代謝され、AOH (2-aza-8-oxohypoxanthine) に変換されることが明らかになっている。これら3種の化合物をフェアリー化合物 (fairy chemicals) と総称している。

フェアリー化合物処理は植物に非生物学的ストレス耐性を付与するが、詳細な作用機構は不明である。本研究では、シロイヌナズナにおいて、非生物学的ストレス耐性効果がみられた AOH に注目した。100 μ M AOH 処理はシロイヌナズナの地上部において、ABA を蓄積させ、乾燥耐性付与する傾向が観察された。マイクロアレイによる網羅的発現解析の結果、100 μ M AOH 処理はシロイヌナズナの地下部において、*HSP* (heat shock protein) や、*HSF* (heat shock transcription factor), *DREB* (*DRE-binding protein*) の発現を強く誘導した。AOH 処理により発現誘導された上位 100 遺伝子の上流配列における保存配列を解析したところ、有意に出現した配列は、*HSF* が結合する *HSE* (heat shock response elements) の部分配列や、*DREB* が結合する *DRE* (dehydration response element) と合致していた。AOH 処理による非生物学的ストレス耐性は、*HSF* や *DREB* といった転写因子が強く発現誘導されたことによって、下流遺伝子の発現が誘導されたためだと考えられた。植物へのフェアリー化合物処理は多面的な効果を示すが、*HSF* や *DREB* などの転写因子を活性化しているためであると考えられた。

PA60

原料調達プロセス構築に向けた *Dendropanax trifidus* の樹脂生産組織の局在分析

Localization Analysis of Resin Producing Cells on *Dendropanax trifidus* for Biomass Procurement

中村 涼^{1,2}, 田鶴 葵¹, 中澤 慶久²

¹ハリマ化成(株), ²徳大院・創成科学

カクレミノ (*Dendropanax trifidus*) は、樹幹の傷口から樹脂液を盛んに分泌する。この樹脂は反応性の高い官能基を有し、幾つかの機能性を発現することが知られるため、バイオマス原料として利用が期待される。一方、人的・植物的資源の制限により、樹脂の調達には効率的な回収プロセスの開発が必要である。特に、弊社が取り扱う松脂を参考にした採集手法では、その収量は少なく、さらに傷周辺の腐朽が進むほど生体への損傷が大きくなることが確認されている。

そこで本研究では、樹脂生産に関わる組織構造を明らかにし、生体の損傷を最小限に抑えた、持続可能な形で樹脂量を確保する手法の策定を目指した。

観察試料は、穴あけポンチを樹幹に打ち込み採取した、表皮から木部の一部までの組織ブロックとした。これを適当な大きさに切り分けた後、OCT コンパウンドに包埋し、凍結マイクロトームにて観察切片を作製した。

横断面の透過光観察から、エピセリウム細胞に囲まれた管を特徴とする樹脂道が垂直方向に分布することが形態学的な特徴から確認できた。次に、放射断面、接線断面を同様に切り出し、疎水性蛍光剤 Nile Red で樹脂を、Fluorescent Brightener 28 で細胞壁を染色した後、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。先に取得した樹脂成分の励起レーザー波長および蛍光スペクトル情報をもとに、樹脂生産に関わる組織の 3D イメージングを構築した。

結果、師部領域において、樹脂を内包する細胞が存在し、形態学的なスケールではこれらが垂直方向の網目構造をとる様子が観察できた。また、この構造は水平方向に適当な間隔で重層する形態であり、効率的な回収にはこの網目構造の見極めが重要であると考えられる。

PA61 ENTRY

Abelmoschus Manihot—越前和紙用系統と観賞用系統の比較

Abelmoschus manihot—Comparison of Echizen washi paper strains and ornamental strains

高橋 望花¹, 大関 澄花¹, 小嶋 美紀子², 竹林 裕美子², 榎原 均², 嶋田 千香³, 池田 美穂¹

¹福井県大・生物, ²理研・環境資源, ³福井大・学術研究院

トロロアオイは中国原産のアオイ科トロロアオイ属の植物で、根からとれる多糖質を含む粘液は和紙抄造に欠かせない「ネリ」として用いられる。トロロアオイには同じ学名で観賞用系統としてハナオクラと呼ばれるものがある。この2系統は同一とされているが、和紙職人は2系統を区別している。越前和紙用系統のトロロアオイはハナオクラと分けて維持されており、和紙抄造にはトロロアオイのみが使用されるが、2系統の違いは明確化されていない。本研究において、我々はこの2系統を形態的・生理学的に比較することで、越前和紙用系統の特徴を明確化した。

まず、トロロアオイとハナオクラそれぞれの根から和紙抄造時の方法を改変して粘性物質、「ネリ」を採取し、その粘度を比較した。その結果、ネリ粘度は個体ごとに異なったが、ハナオクラと比較して、トロロアオイの方が粘度が高い傾向があった。このことから、2系統の間で根の糖代謝が異なる可能性が示唆された。

さらに、形態について比較した結果、トロロアオイはハナオクラと比較して、著しく矮性で、花や葉が小さく、葉の切れ込みが浅い形態を示した。2系統の各種植物ホルモン量を測定した結果、特にトロロアオイでジベレリン前駆体量が低く、これが矮性形質の原因である可能性が示唆された。さらに、2系統を交配して得たF1植物体を解析した結果、交配種の葉の形態は2系統の中間、葉や花のサイズ、節間長はハナオクラに近い形態を示した。この結果から、トロロアオイはハナオクラの潜在矮性変異体である可能性が明らかとなった。この研究結果は、越前和紙用系統トロロアオイを正しく保全・供給するための一助となることが期待される。

PA62 ENTRY

シロイヌナズナにおける高いシュート再生効率を示すエピ変異体 *esre* の1番染色体に座乗する原因候補遺伝子の解析

Study on a candidate gene on chromosome 1 which causes high shoot regeneration efficiency in the *esre* epimutant in *Arabidopsis thaliana*

中嶋 紗那¹, 河合 顕真¹, 鈴木 涼太², 前地 弘基¹, 平沢 巽¹, 平田 峻也³, 賀屋 秀隆³, 佐瀬 英俊⁴, 永野 惇^{5,6}, 武田 真⁷, 西村 泰介^{1,2}

¹長岡技術科学大・院・工, ²長岡技術科学大・工, ³愛媛大・院・農, ⁴沖縄科学技術大学院大, ⁵名古屋大・生物機能開発利用研究センター, ⁶慶應義塾大・先端生命科学研究所, ⁷名古屋大・院・生命農学

シロイヌナズナのDNAメチル化維持酵素変異体 *met1* ではゲノム上のDNAメチル化が著しく減少し、脱分化・再分化に異常を示す。このことから、DNAメチル化が植物の脱分化・再分化に関与していることが示唆されたが、その詳細は不明である。

これまで私たちは、ゲノム塩基配列は野生型とほぼ同一だが、DNAメチル化パターンが異なるエピジェネティック組換え自殖系統群から、脱分化過程でカルスが緑化し、再分化過程で高いシュート再生効率を示す変異体 *esre* (*enhanced shoot regeneration in epiRILs*) を単離することに成功した。また、連鎖解析、DNAメチル化解析、発現量解析の結果、原因遺伝子座は複数あり、1番染色体に座乗している原因遺伝子候補の1つとして *AT1G30060* 遺伝子が挙げられた。この遺伝子はカルス誘導時に発現が誘導されること、強制発現体は *esre* と似た表現型を示すことが明らかになった(2019, 2023年本大会)。

esre では *AT1G30060* 遺伝子におけるDNAメチル化減少に伴う遺伝子発現上昇が表現型を引き起こしているという仮説を検証するため、*esre* 背景で *AT1G30060* 遺伝子機能欠失変異体の作出をし、表現型観察を行ったところ、部分的に野生型に復帰した表現型を示す個体がいづつか観察された。また、CRISPR/Cas9を利用した標的部位のDNAメチル化を増加させるエピゲノム編集により、*esre* 背景で *AT1G30060* 遺伝子を標的とした植物体を作出したところ、DNAメチル化が復帰した系統がいづつか作出された。現在、これらの系統の表現型観察を行っている。またいづつかのシロイヌナズナ野生型系統において、*esre* と似たような *AT1G30060* 遺伝子の発現およびDNAメチル化パターンを持つ系統は同様の表現型を示した。

PA63

シロイヌナズナにおけるスフィンゴ脂質長鎖塩基の C-4 水酸基の機能解析

Functional Analysis of the C-4 Hydroxyl Group in Long-Chain Bases of Sphingolipids in *Arabidopsis thaliana*

須田 颯太, 川合 真紀, 石川 寿樹

埼玉大・院理工

スフィンゴ脂質は長鎖塩基 (LCB) を骨格とする脂質の総称であり, LCB に脂肪酸が結合したセラミドと親水性頭部で構成される。植物には C-4 位が水酸化されたトリヒドロキシ LCB が豊富に含まれる。Sphingoid Base Hydroxylase 1 (SBH1) および SBH2 を欠損したシロイヌナズナ *sbh1 sbh2* 変異体は発芽後, 早期に枯死する実生致死の表現型を示す。同様な表現型を示すスフィンゴ脂質関連変異体には, 親水部オリゴ糖鎖のマンノース残基を欠損する *gmt1* 変異体が知られている。しかしながら, これらのスフィンゴ脂質疎水部と親水部の欠損がどのような機構で同様の実生致死をもたらすか, その分子機構はわかっていない。本研究では, SBH1 と SBH2 の機能について, 特に *gmt1* 変異体との表現型比較を中心に解析した。発現データベース解析を行ったところ, SBH1 は植物全体で一様に発現しているのに対し, SBH2 は種子で低く, 花粉で極めて高い発現を示すことから, 生殖過程で異なる機能を持つことが示唆された。さらに, SBH1 と SBH2 の一方がホモ欠損, 他方がヘテロ欠損の個体の次世代の分離比を解析した結果, 二重変異体の出現率は理論値より低い傾向を示した。このことから, LCB C-4 水酸基の欠損により, 種子の形成過程にも異常が生じていることが考えられた。*sbh1sbh2* の表現型を *gmt1* と比較した結果, 地上部の成長抑制と主根の伸長抑制は同様だったが, 側根形成は *gmt1* で促進, *sbh1sbh2* で抑制される逆の表現型を示した。このことから, スフィンゴ脂質の LCB 水酸基と糖鎖の欠損による実生致死は異なる原因によることが示唆された。

PA64 ENTRY

オクトリカブトの有用物質産生にキュウリモザイクウイルスが与える影響

The effects of cucumber mosaic virus on the production of pharmacological compounds in *Aconitum japonicum*

牧田 瀬茄¹, 岩井 一真¹, 今 辰哉¹, 河下 美都里², 藤 晋一¹, 川上 寛子¹

¹秋田県大院・生物資源, ²(株)ツムラ

オクトリカブト (*Aconitum japonicum*) は国内で栽培される主要な薬用植物の一つである。アコニチンやメサコニチン, ヒパコニチンなどのアコニチン類を主成分として含有する。我々はオクトリカブトに感染するウイルスとして, トリカブト潜在ウイルス (*Aconitum latent virus* (AcLV)), キュウリモザイクウイルス (*Cucumber mosaic virus* (CMV)) などのウイルスを報告した。これまで我々は, 培養苗に対して AcLV 接種試験を実施した結果, アコニチン類が増加する傾向を見出したが, CMV の影響は未知である。本研究の目的は, CMV がオクトリカブトの二次代謝に与える影響の解明とした。まず, 代謝物の変動を解析するために, LC-ESI-MS を用いてオクトリカブトの塊根, 葉及びカルスの成分を分析し, 化合物ライブラリーの構築を試みた。その結果, 文献値との比較により多数のアルカロイド類やアミノ酸類を同定した。また, より小スケールでの検証も可能にするため, カルスを誘導し, 代謝変動を解析する材料として加えた。カルスでは γ -Aminobutyric acid (GABA) の他, 数個の抗酸化物質を産生することを初めて見出した。次に, ベンサミアナタバコ (*Nicotiana benthamiana*) に CMV を感染させ, これを接種源として生育初期のオクトリカブトウイルスフリー苗に汁液接種し, 接種 1 ヶ月後に接種区及び非接種区間で代謝物を比較した。その結果, 代謝変動の一定の傾向は認められなかった。よって, CMV と AcLV は特にアコニチン類の代謝制御プロセスにおいて異なる作用を示すことが予想された。今後, 成熟したオクトリカブト植物体を用い, CMV がオクトリカブトの代謝に与える影響をより詳細に解析する。

PA65 ENTRY

ウイルスがセンキュウのリグスチリド及びクロロゲン酸産生に与える影響

Effects of viruses on the production of ligustilide and chlorogenic acid in *Cnidium officinale*

上之郷 玉星¹, 岩井 一真¹, 今 辰哉¹, 河下 美都里², 藤 晋一¹, 川上 寛子¹

¹秋田県大院・生物資源, ²(株)ツムラ

センキュウ (*Cnidium officinale*) は国内で栽培される薬用植物の 1 つである。本植物には 5 種のウイルス (cnidium vein yellowing virus (CnVYV), cnidium virus X (CnVX), cucumber mosaic virus (CMV), cnidium virus 1 (CnV1), cnidium virus 2 (CnV2)) の感染が報告されているが、センキュウの二次代謝にどのような影響を及ぼすのかは明らかではない。本研究では、センキュウの二次代謝と感染するウイルスとの関係を解明することを目的とした。まず、栽培したセンキュウの地上部及び地下部のメタノール抽出物を LC-ESI-MS 分析した結果、センキュウの主要成分である Ligustilide (LIG) や Chlorogenic acid (3-CQA) 及びその配糖体を同定した。次に、培養苗へ傷害病害応答性の植物ホルモンを添加し、LIG 量と CnVYV 量の関係を解析した。結果、ジャスモン酸メチル (MeJA) 添加では LIG 量が濃度依存的に増加した一方で、サリチル酸添加では減少した。また LIG 量が増加した MeJA 添加区では、CnVYV 量の変動は認められなかった。また栽培圃場で採取したセンキュウの二次代謝がウイルス感染パターンの異なるサンプル間で変動するかを比較した。材料には 2023 年に北海道で採取した葉を用い、5 種のウイルスを対象に感染の有無を RT-PCR で解析した。さらに qRT-PCR でウイルス量を定量し、センキュウの LIG 及び 3-CQA 量と植物体内のウイルス量との関係について調査した。加えて、HPLC-PDA 分析で LIG 及び 3-CQA 量を評価した。その結果、栽培圃場の葉では CMV 量が多いサンプルで LIG が増加する傾向が見られた。以上より、LIG 産生は CnVYV 量とは関係性が低く、一方で CMV 量が多いと LIG 産生が促されることが示唆された。

PA66

アーバスキュラー菌根菌におけるオルガネラ可視化の試み

Visualization of organelles in Arbuscular mycorrhizal fungi

及川 和聡, 田中 幸子, 橋本 佳世, 川口 正代司

基生研・共生システム

アーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) は、約 7 割の植物の根に共生し、宿主植物にリン酸などの無機栄養素を供給する絶対共生性の糸状菌である。AM 菌は、共生過程において、宿主植物から脂肪酸や糖などの炭素源を獲得して増殖することが知られているが、その詳細は明らかではない。ゆえに、これらの代謝に関与するオルガネラの機能解明は、AM 菌の共生メカニズムの理解において極めて重要である。これまでに、AM 菌内の核、脂肪滴、ミトコンドリアは化学染色法により可視化されており、多核構造やストリゴラクトン刺激によるミトコンドリアの動態変化、脂肪滴の原形質流動による菌糸内移動が報告されている。しかし、共生過程におけるオルガネラの生理的役割やその制御機構についての解析は進んでいない。本研究では、既存の蛍光染色試薬を用いて、AM 菌内の核、ミトコンドリア、脂肪滴の可視化とその動態解析を行った。また、AM 菌は、その絶対共生性と多核構造のため形質転換が困難であり、オルガネラを安定的に可視化した形質転換体の作成はこれまで報告されていない。そこで、オルガネラを可視化した形質転換体を作成するために、*Rhizophagus* 属の AM 菌を用いて、薬剤耐性遺伝子の有効性評価や内在性プロモーター/ターミネーターを選定し、さらには非共生培養法との組み合わせにより、形質転換体の作出を試みた。パーティクルガン法による一過的発現、PEG 法、およびアグロバクテリウムを利用した形質転換法についても検討した。

PA67 ENTRY

シロイヌナズナにおける病原菌耐性を示すエピ変異体の原因遺伝子座の探索

Mapping of the responsible loci for pathogen resistance phenotype observed in the *Arabidopsis* epi-mutant

小園 大成¹, 太田 稔基¹, Kainat Zahra¹, 石賀 康博², 西村 泰介¹

¹長岡技術科学大・院・工, ²筑波大・生命環境系

植物はすでに病原菌感染を経験した個体に2度目の感染を行うと、より高い免疫応答や病原菌抵抗性が観察される免疫プライミング効果を示すことが知られている。シロイヌナズナにおいて病原菌感染によってDNAメチル化が減少すること、DNAメチル化が減少した変異体では病原菌抵抗性遺伝子の発現が上昇することから、DNAメチル化は免疫プライミング効果に関係すると予想される。しかし、どの遺伝子におけるDNAメチル化の変化が重要かは明らかでない。

私たちは、シロイヌナズナのメチル化維持酵素変異体 *met1* と新規メチル化変異体 *drm2* を交配させることで、染色体上のDNAメチル化が部分的に消失し、新規メチル化活性の低下した系統群を作出し、その系統群からトマト斑葉細菌病菌の感染に高い抵抗性を示すエピ変異系統の単離に成功した(2023年、千葉大会)。このようなエピ変異系統の解析によりプライミング効果に重要なDNAメチル化を明らかにできると期待される。

この系統では、感染前は野生型と比べて表現型に目立った変化が観察されず、RNA-seq データ解析の結果からも、感染前は野生型との差が見られないが、感染時においてのみこの系統で発現が増加している遺伝子群が見いだされ、その中に免疫に関わる遺伝子が多く含まれることが示された。また、野生型との戻し交配によって新規メチル化活性を復帰させることで表現型が失われることが明らかになり、この系統の病原菌耐性にはDNAのメチル化が関与していることが強く示唆された。この系統について連鎖解析を行った結果、1番染色体と4番染色体に原因遺伝子座が座乗すると推定された。

PR68 ENTRY

リンゴカラムナー樹形原因酵素の機能追究

Investigation to reveal unidentified functions of the enzyme responsible for apple columnar tree

井上 太喜¹, 岡本 啓佑¹, 長野 玄知¹, 宮崎 翔², 高橋 郁夫¹, 岡田 憲典¹, 浅見 忠男¹, 岡田 和馬³, 中嶋 正敏¹

¹東大院・農生科, ²東京電機大・理工, ³農研機構

【背景・目的】リンゴ突然変異種には、枝が広がらない特異な棒状樹形(カラムナー樹形)を呈するものが知られる。この形質は、剪定や収穫作業の負担を軽減でき、高密度植を可能にするため、農産の現場において有用視されている。樹形の変化は、レトロポゾンの挿入に伴う原因遺伝子 *MdDOX-Co* の茎頂における異所発現と、生じた遺伝子産物 *MdDOX-Co* の有するジベレリン水酸化触媒能が主要因と考えられている[Watanabe *et al.*, 2021]。 *MdDOX-Co* は本来根に限定して発現し、ジベレリン関連酵素群と同じく2-オキシグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ(2ODD, DOX)に属するものの、系統樹上でそれらとは大きな隔りがある。そこで、 *MdDOX-Co* はジベレリン代謝以外の別の機能を本来的に持つと想定し、その解明を主たる目的に据えた。本発表では、本来機能解明の分子ツールとすべく、 *MdDOX-Co* 特異的阻害剤の創製に向けた化合物探索系の構築およびその選抜状況について報告する。

【方法・結果】大腸菌異種発現系を用い、リコンビナント *MdDOX-Co* を調製した。また、酵素反応の進行状況評価にGC-MSを活用することで1日あたり170化合物の活性測定を可能にする評価系を構築した。この系にライブラリー収録化合物を添加し、基準を超える *MdDOX-Co* 触媒反応阻害能が認められたものを対象に再試して1次選抜物とした。通過したものを対象に、既知ジベレリン代謝酵素の触媒反応に対する効果を調査し、阻害が認められないものを2次選抜物とした。最終的には、シロイヌナズナの *MdDOX-Co* 過剰発現変異体を含む植物体への投与試験を行い、目的である *MdDOX-Co* 選択的阻害化合物を選抜中である。

PR69 ENTRY

イネ品種のアンモニウム態窒素濃度変動環境における伸長恒常性維持機構の解明

Regulatory Mechanisms of Rice Growth Homeostasis in Response to Dynamic Changes of Nitrogen Concentration

栗川 穂乃花¹, 轡田 圭又¹, 西澤 具子², 小泉 美希子², 小林 誠², 七夕 高也³, 福島 敦史^{4,5}, 草野 都^{2,6,7}

¹筑波大・理工情報生命学術院, ²理研・CSRS, ³かずさDNA研究所, ⁴京都府大・院生命環境, ⁵理研・R-IH, ⁶筑波大・生命環境系, ⁷つくば機能植物イノベーション研究センター

窒素肥料の多用による環境負荷の低減は、持続的農業実現のための重要な課題である。低施肥条件でも収量を確保できる作物品種の開発が強く求められている。イネは主要な窒素源としてアンモニウムイオンを利用するが、世界に数万存在する多様な品種は、それぞれ異なる窒素応答システムを有すると推測される。本研究ではイネが示すアンモニウムイオン濃度変動に対する多様な応答性の中から、アンモニウムイオンの濃度に関わらず成長を維持する恒常性制御機構に着目し、その分子メカニズムを解明することを目的とした。

世界イネ品種の対立遺伝子の多様性を 90%カバーする世界イネコアコレクション (WRC) 69 品種に対し、先行研究で開発した新規地上部成長評価システムを用いたスクリーニングを行った。その結果、アンモニウム態窒素のダイナミックな濃度変化に対して顕著な成長応答を示す 3 品種および示さない品種 3 品種を選抜した。本研究では、アンモニウム態窒素変化にほぼ応答を示さない品種 (WRC-Y) に着目し、窒素十分・低・極低濃度条件下での表現型を詳細に観察するとともに、その根部および茎基部におけるトランスクリプトーム解析 (RNA-seq) を行った。注目すべきことに、WRC-Y の根における遺伝子発現プロファイルは、窒素十分、低、極低濃度といった異なる条件下で比較しても、ほとんど変動しないことが判明した。これは WRC-Y が窒素濃度の変化に対して、転写レベルの応答を抑制することで恒常性を維持している可能性を示唆する。今後は本プロファイルと表現型解析との統合により、イネの健全な成長を司る鍵遺伝子群の同定を目指す。

PR70 ENTRY

シロイヌナズナに耐塩性を付与する植物成長促進根圏細菌の探索

Identification of halotolerant-PGPR enhancing salt tolerance of Arabidopsis

渡部 響¹, 山本 紘輔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・分子微生物

耐塩性を高めるための作物改良に代わる戦略として、植物成長促進根圏細菌 (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) の導入が考えられる。特に塩類生息地から分離された、Halotolerant-PGPR, H-PGPR は、非塩類生息地から分離された PGPR よりも高塩濃度下でも植物成長促進効果が損なわれず、植物の塩に対する耐性を高める効率が高いことが示されている。当グループではこれまでに北海道トウフツ湖およびノトロ湖 (汽水湖_海水程度の塩濃度) に群生する塩性植物であるアッケシソウおよびシバナの根圏土壌・根より、それぞれ 217 種、640 種の細菌を単離・保有している。先行研究により、種子と菌を共培養する実験系において発芽時の耐塩性を向上させる共生菌が単離されたものの、植物体時における耐塩性の向上は認められなかった。そこで本研究では、植物体時における耐塩性を向上させる共生菌の探索と、その耐塩性向上メカニズムの解明を目的とした。はじめに植物体時における耐塩性評価系を確立した。具体的には、種子滅菌・低温処理後、種子を菌液で 1 時間共培養し、余分な菌液上清のみ覗いて 10mMNaCl を含む MS 培地へ播種。10 日間、発芽と生長を促した後、220mMNaCl を含む MS 培地へ植物体を移植することで耐塩性評価を行った。当該評価系を用いてスクリーニングを行った結果、これまでにシロイヌナズナの耐塩性を有意に向上させる菌を 2 株単離することに成功した。

PR71

バレイショ *TAS14* は乾燥ストレスによって強く発現誘導され、ゲノム編集により得られた変異体植物は浸透圧ストレスに伴う遺伝子発現機構が変化した

Potato *TAS14* was abundantly induced when exposed to drought stress, and its genome-edited mutants exhibited variability in leaf gene expression with osmotic stress

川本 健太¹, 増富 裕文¹, 樺木 亮介¹, 島田 浩章², 石原 克之¹

¹カルビー(株), ²東京理科大学・院先進工学

気候変動に伴う極端な降水量の減少は食糧需給に多大な影響を及ぼす。我々は乾燥ストレスを与えたバレイショ塊茎および葉で Late Embryogenesis Abundant タンパク質遺伝子である *TAS14* の顕著な発現増加を検出した。近年、多くのナス科植物においても乾燥ストレスによって *TAS14* が増加することが報告されており、乾燥ストレス応答ホルモンであるアブシジン酸 (ABA) との関連が示唆されているが、その機能は未解明である。本研究では馬鈴薯の *TAS14* 遺伝子をゲノム編集によって部分的に機能欠損させた変異体を作出し、その機能を探索した。

CRISPR/dMac3-Cas9 システムを用いて *TAS14* 遺伝子を標的とするゲノム編集ベクター pZD-*TAS14* guide RNA-dMac3-Cas9 を構築した。これを用いてアグロバクテリウム法によりバレイショ品種「さやか」を形質転換した。再分化したおよそ 300 株の形質転換体を調べたところ、3 系統のゲノム編集変異体 (GE) が得られた。*TAS14* 遺伝子の 4 つのアリルのうち、2 または 3 アリルに変異が生じており、これらの遺伝子の機能が失われていると考えられた。得られた形質転換体には 4 つのアリルすべてが壊れた Null 変異体は含まれなかった。

野生型および GE を栽培し、これらに Mannitol を添加することで浸透圧ストレスを負荷して *TAS14* 遺伝子および ABA 関連遺伝子の発現誘導を行った。3 株の GE は、浸透圧ストレスによって、*TAS14* 遺伝子だけではなく ABA 合成の鍵酵素をコードする *NCED3* (Nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3) 遺伝子の発現量が大きく低下した。この結果から、乾燥ストレスに対する応答時の ABA 生合成と *TAS14* との関連が示唆された。

PR72 ENTRY

自己抑制ドメイン削除による GABA 高蓄積トマトの 2 品種間の果実品質と収量の調査

Investigation of fruit quality and yield between two tomato cultivars with high GABA accumulation due to truncation of the autoinhibitory domain

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

¹筑波大・院生物資源科学, ²筑波大・つくば機能植物イノベーション研究センター, ³サナテックライフサイエンス(株), ⁴筑波大・生命環境系

【背景と目的】GABA はヒトにおいて血圧低下やストレス軽減など健康効果が報告されているアミノ酸である。また、植物にストレスを与えると GABA 含有量が増加するが、栄養器官や果実の生産性が低下する。GABA は抗酸化作用の活性化や H⁺ の消費によって、ストレス耐性に関わっていることが報告されている。先行研究において、GABA 高蓄積トマトを塩ストレス条件下で栽培した際、更なる GABA 増加と生産性減少の抑制が観察された。本研究では、先行研究で観察された GABA 高蓄積化による塩ストレス条件下での果実品質と収量への影響を再評価するため、GABA 高蓄積トマトの品種数を増やし調査した。【方法】ゲノム編集技術により作出された GABA 高蓄積トマト「シシリアンルーージュハイギャバ (SRHG)」・「エスプロッソハイギャバ (ERHG)」とそれぞれの原品種の計 4 品種を材料として用いた。各トマト品種の栽培には標準水耕液区 (EC = 1.2~2.4 dS/m) と高塩濃度水耕液区 (EC = 8 dS/m) の 2 試験区を準備し、温室内でヤシガラ培地を用い栽培を行った。赤熟果実に対し GABA や前駆体であるグルタミン酸やグルタミン、先行研究で減少が観察されたカロテノイドの含有量、果実重量と収量の調査を行った。

【結果と考察】塩ストレス条件下でハイギャバ品種は原品種に比べ、果実の GABA 含有量と果実数の増加、果実重量と収量の減少抑制が見られた。また、グルタミン、カロテノイドの減少は観察されず、先行研究と同様に糖度やグルタミン酸がストレスによって増加した。これより、ゲノム編集による GABA 高蓄積により、ストレス条件下でトレードオフ効果を相殺する代謝の増強や果実における GABA のストレス緩和効果が示唆された。

PR73 ENTRY

シロイヌナズナ野生系統間にみられる浸透圧耐性多様性機構の解析

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

村越 祐介¹, 番場 康介¹, 平野 貴大¹, 増田 悟郎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 内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 5 回かけ戻し、おおよそ OSMOS 遺伝子座のみが耐性の Kos-2 型である準同質系統 (NIL) を作出した。この NIL が、Kos-2 に近い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主要な役割を担っていることが示唆された。

PR74 ENTRY

カリウム欠乏時のシロイヌナズナの根毛発達における系統間差を用いた新規カリウム欠乏応答制御因子の同定の試み

A challenge to identify novel potassium deficiency response regulators using natural variations in *Arabidopsis* root hair growth during potassium deficiency

手島 大希, 杉村 菜那, 櫻庭 康仁, 柳澤 修一

東大院・農学生命・アグテック

カリウムは、窒素やリンと並ぶ植物の三大栄養素の一つであり、酵素の活性調節、浸透圧調節、気孔の開閉制御などに関与する。カリウムが不足した環境において、植物は、葉の黄化、地上部の矮小化、側根の伸長障害など、様々な成長異常を示す。また、低カリウム条件では、植物は、根毛を発達させることで、より効率的にカリウムを獲得しようとすると考えられる。本研究では、植物のカリウム欠乏時の根毛の発達に関わる新規制御因子の同定を目的として、遺伝的多様性を持つシロイヌナズナ野生系統を標準カリウム条件および低カリウム条件で育成し、根毛の発達を観察した。根毛の発達は、主根における 1 mm 当たりの根毛数および総根毛長を測定することで評価した。結果、解析した 100 系統間で低カリウム条件での根毛の発達に大きな系統間差があることが明らかとなった。また、低カリウム条件における根毛の発達と我々の先行研究において調査した他の低カリウム環境への適応に関連した形質の間に強い相関は認められず、低カリウム環境への適応に関連する種々の形質は独立に制御される可能性が示唆された。さらに、低カリウム環境に晒すことで引き起こされた根毛数と総根毛長の変化を量的形質としたゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行い、低カリウム条件における根毛の発達制御に関わる遺伝子候補を複数同定した。現在、見出した候補遺伝子の機能解析を進めている。

PR75 ENTRY

シロイヌナズナ野生系統における耐塩性多様性解析

Analysis of natural variation in salt tolerance among *Arabidopsis thaliana* accessions原田 優生¹, 花田 耕介², 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹¹東京農大・バイオ, ²九工大・情報工

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し、その表現型には多様性が認められる。2008 年から 2016 年にかけて、シロイヌナズナ 1001 Genomes Project が実施され、これまでに 1135 系統のゲノム配列が公開されている。これらのゲノム配列情報は多様性を解析する強力なツールとなっている一方、ショートリードシーケンサーを用いて実施されており、挿入・欠損の検出精度に限界があった。先行研究において 250 系統の耐塩性を評価したところ、Lch-0 が極めて高い耐塩性を示すことが明らかとなり、その耐塩性は *SALT* 遺伝子と名付けた遺伝子の欠損により耐塩性を獲得することが明らかとなった。しかしながら *SALT* 遺伝子における Lch-0 遺伝子型を有する耐塩性系統は非常に少数であり、シロイヌナズナにおける耐塩性多様性機構は未だ未解明な点が多く残されている。そこで本研究では、ロングリードシーケンサーを用いて挿入・欠損の検出精度を向上させたゲノム配列情報を有する 87 系統について新たに耐塩性を評価した。その結果、Lerik2-6 が高い耐塩性を有することを見出した。Lerik2-6 における *SALT* 遺伝子を確認したところ、Lerik2-6 の *SALT* 遺伝子は実験系統の Col-0 と同一であり、Lch-0 は異なるメカニズムで耐塩性を有することが示唆された。現在、Lerik2-6 の耐塩性メカニズムについて生理学的・遺伝学的解析を進めている。

PR76 ENTRY

シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh2* の解析Analyses of sensitive to long term heat 2 (*sloh2*) mutant of *Arabidopsis thaliana*芳野 晴臣¹, 村越 祐介¹, 山口 凌¹, 細井 昂人², 増田 悟郎², 鈴木 孝征³, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹¹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、短期的で厳しい高温に加え、数日間に渡る長期的な高温も想定される。私達のグループの先行研究において、数百のシロイヌナズナ野生系統を短期的な高温ストレスと長期的な高温ストレスに分けて耐性評価したところ、短期的な高温ストレスに耐性を示す系統が必ずしも長期的な高温に耐性を示さないことから、それぞれのストレスに対する耐性メカニズムが異なると示唆された。そこで本研究では、長期的な高温ストレスに対する分子メカニズムの解明を目的に、シロイヌナズナ野生系統において比較的長期高温耐性を示す実験系統 Col-0 の EMS 突然変異処理種子より、長期高温感受性変異株、sensitive to long term heat 2 (*sloh2*) 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、塩、浸透圧、酸化ストレス耐性は野生型と同程度であった。*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 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。その結果、第 1 染色体上腕部に見出した原因遺伝子領域において、1 遺伝子にのみ、アミノ酸置換を伴う塩基置換を検出した。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、本遺伝子の欠損が *sloh2* の原因と示唆された。本発表では *sloh2* の特徴づけのために行った RNA-seq 解析の結果も報告する。

PR77

シロイヌナズナの環境ストレス応答における WALL-ASSOCIATED KINASE 2 の解析

Functional analysis of WALL-ASSOCIATED KINASE 2 under environmental stress conditions in *Arabidopsis thaliana*

櫻井 香乃¹, 高橋 史憲²

¹東京理科大・院先進工, ²東京理科大・先進工

WALL-ASSOCIATED KINASE (WAK) は、オルガネラ膜に局在する膜タンパク質であると考えられている。これまでに、WAK2 を含む WAK1~WAK5 タンパク質群が、植物の免疫応答への関与が報告されている。しかし、その詳細な機能や他の環境ストレスとの関連性は明らかになっていない。そこで本研究では、WAK2 に着目し、乾燥ストレス応答におけるその機能解析を行った。

乾燥ストレス条件下での、葉および根における WAK2 の発現変動を解析した。その結果、WAK2 は根よりも葉での発現量が顕著に高く、かつ、葉では恒常的に発現していることを明らかにした。次に、WAK2 プロモーター GUS 植物体を用いて組織特異的発現を解析した結果、WAK2 は、葉の組織全体で発現していることを明らかにした。WAK2 過剰発現体を作成し、乾燥ストレス条件下における、WAK2 が制御する下流遺伝子群の探索を行った。その結果、WAK2 は活性酸素生成酵素の一つである *Respiratory burst oxidase homologue D* (*RbohD*) の発現を抑制することを明らかにした。これらの結果は、WAK2 が葉において傷害を含む乾燥ストレス応答に関与することを示唆する。

現在、WAK2 の細胞内局在解析や、傷害応答における機能を詳細に解析している。本発表では、WAK2 の乾燥および傷害ストレス応答における役割について議論したい。

PR78 ENTRY

4-CPA またはエタノールの施用は、熱ストレス下における *phyA* 変異体の植物成長と着果を促進する

Application of 4-CPA or Ethanol Enhances Plant Growth and Fruit Setting of *phyA* Mutant under Heat Stress

岡 夏実¹, Riham Ahmed¹, Islam Abdellatif¹, 小林 美咲¹, Martina Bianca Fuhmann-Aoyagi¹, 戸高 大輔², 関 原明^{2,3}, 三浦 謙治⁴

¹筑波大・院生命地球科学, ²理研CSRS, ³横浜市立大学木原生物学研究所, ⁴つくば機能植物イノベーション研究センター

トマトのフィトクロム A (*phyA*) 変異体は、栄養成長期に耐暑性を示すが、生殖成長期においては際立った耐暑性は示さず、単為結果果実が小さくなる。この *phyA* 変異体が生殖成長期においても耐暑性を示すならば、高温条件でも生育促進および収量向上に寄与すると考えられる。ケミカルプライミングは、植物のストレス耐性を向上させる有用な戦略である。本研究では、熱ストレス下 (37°Cあるいは夏期の温室内) において、4-クロロフェノキシ酢酸 (4-CPA) あるいはエタノールの噴霧により生殖成長期における *phyA* 変異体の耐暑性が向上することおよび糖度が上昇することが明らかになった。4-CPA あるいはエタノールを噴霧することで、熱ストレス下における生育が促進されることが明らかとなった。これは、熱ショック因子遺伝子 *HSF1a* や熱ショックタンパク質遺伝子 *HSP70*, オーキシンやジベレリン関連遺伝子が誘導されることによるものと示唆された。また、これらの化合物の投与により、糖度およびアスコルビン酸の蓄積が促進されることが明らかとなった。アスコルビン酸ペルオキシダーゼ遺伝子 *APX2* の発現も促進されていたことから、熱ストレスによって生じる活性酸素の除去機構が活発化されたものと示唆された。尚、糖度については、*phyA* 変異体以外の品種においてもエタノール噴霧により促進されることが、トマト果実における糖度上昇にエタノール噴霧が有効であることが示された。以上の結果から、4-CPA あるいはエタノールの適用および *phyA* 変異を組み合わせることで、トマトにおいて栄養成長期、生殖成長期ともに熱ストレス耐性を付与できることが示された。

PR79 ENTRY

南極地域固有種ハリギボウシゴケからの small heat shock protein ホモログ遺伝子の単離および機能解析

Isolation and functional characterization of a small heat shock protein homologous gene from the Antarctic moss *Coscinodon lawianus*

石井 輪之介¹, 工藤 栄^{2,3}, 伊村 智^{2,3}, 中野 優⁴, 大谷 真広⁴

¹新潟大・院自然科学, ²極地研, ³総研大・極域科学, ⁴新大・農学

極限環境にある南極地域には多様なコケ植物が自生している。これらは低温、強紫外線、および極度の乾燥といった様々な環境ストレスに対して強い耐性を有していると考えられるが、それらの環境ストレス耐性に関する分子メカニズムには未だ不明な点が多い。Heat shock protein (HSP) 遺伝子は原核生物から真核生物まで広く保存されたストレス応答遺伝子であり、その分子量により small HSP (sHSP), HSP60, HSP70, HSP90, HSP100 等に分類される。これらは分子シャペロンとして機能し、環境ストレス等の影響により変性したタンパク質の凝集抑制やリフォールディングを担っている。それらのうち sHSP は、主に変性タンパク質の凝集抑制に機能しており、各種の環境ストレス耐性に密接に関与している。本研究では、南極地域に固有のハリギボウシゴケ (*Coscinodon lawianus*) を研究対象として、sHSP ホモログ遺伝子の単離および機能解析を行った。

これまでに 1 クローンの sHSP ホモログ遺伝子の単離に成功しており、*ClshSP1* と命名した。*ClshSP1* の推定アミノ酸配列は、ヒメツリガネゴケの sHSP17.3kDa と 94.5 % の相同性を示し、また、sHSP に特徴的な ACD ドメインを有していた。分子系統解析の結果、*ClshSP1* は細胞質局在を特徴とするクラス II のグループに分類されることが示された。現在、*ClshSP1* を過剰発現する形質転換シロイヌナズナを用い、各種の環境ストレスに対する耐性への影響を調査している。

PR80 ENTRY

ナガエツルノゲイトウの地上部における鉛直方向への伸長が節での発根に及ぼす影響について

The effect of vertical elongation of the aboveground parts of *Alternanthera philoxeroides* on rooting at nodes

上村 隼生¹, 八木 宏樹², 今井 博之¹

¹甲南大・院自然科学, ²北里大・獣医学

ナガエツルノゲイトウ (*Alternanthera philoxeroides*) は、英名をアリゲーターウィード (Alligator weed) と呼び、南米原産のヒユ科に属する水草であり、地球上最悪の侵略植物として知られている。ナガエツルノゲイトウは中空の茎を持ち、しだれるように伸長するだけでなく、匍匐枝の節から発根する。節断片からの再生能力は高く、発根した節は定着すると自身のラメットを伸長させる。

多くの植物で、デンプン粒の細胞内での重力方向の蓄積がその後の細胞内シグナル伝達のきっかけとなることは Bose の研究 (1920 年) から知られている。ナガエツルノゲイトウにおいても、重力を感知するアミロプラストや、それが局在する部位などが Shibsankar ら (2023 年) によって報告されている。本研究において、インキュベーター内で栽培したナガエツルノゲイトウは、節から発根する際、節の地面側で、鉛直下向きに盛んに発根することを見出した。そのため、ナガエツルノゲイトウの発根の仕組みには、重力が関わっている可能性が考えられる。本研究では、ナガエツルノゲイトウの最大の特徴の 1 つである、節からの発根に着目し、枝の角度が鉛直に近い時、どのように発根するのかについて調べた。その結果、通常水平に対して 25°以下までしだれるように伸長した地上部からは 97% 発根が確認された。一方、鉛直方向に伸長させた地上部の場合、約 80% の地上部で発根が抑制される結果が得られた。このデータの統計解析の結果、ナガエツルノゲイトウ地上部の鉛直方向の伸長は、発根が抑制されることが分かった。

PR81 ENTRY

シロイヌナズナの高温ストレス耐性を示すエピ変異体のスクリーニング条件の検討

Screening for epimutants exhibiting heat stress resistance in *Arabidopsis thaliana*

山上 由愛, 西村 泰介

長岡技術科学大学・院・工 物質生物工学分野

植物が高温ストレスに耐性を示す「プライミング効果」には、ヒストン脱メチル化の誘導といったエピジェネティックな制御が関与することが知られている¹⁾。また、高温ストレス下でDNAメチル化パターンが変化する²⁾ことが知られているが、その役割は未解明である。我々は高温ストレス耐性となるエピ変異体（野生型とDNAメチル化パターンが異なる変異体）を単離し、原因遺伝子を明らかにすることで、DNAメチル化によって発現が制御される高温ストレス関連遺伝子の同定を試みている。シロイヌナズナにおいてスクリーニング条件の検討を行った結果、①43.5°C、20min 処理条件では、すでに発生していた子葉や本葉は枯死したが、その後は茎頂分裂組織からの正常な葉の発生が新たに確認された一方、②43.5°C、23min 処理条件では、茎頂分裂組織からの新たな葉の発生は観察されなかった。これらのことから、高温ストレスの感受性は葉組織と茎頂分裂組織で異なり、子葉、本葉において耐性を持つ変異体、茎頂分裂組織において耐性を持つ変異体、および両方で耐性を持つ変異体のそれぞれが得られる可能性が示唆された。現在、染色体上のDNAメチル化パターンが系統ごとにそれぞれ異なるエピジェネティック組換え自殖系統群³⁾に対して、これらの条件下で高温ストレス耐性となるエピ変異体のスクリーニングを進めているので、本発表ではその結果を発表する。

Ref. 1) Yamaguchi N, et al. Nat. Commun. 2021, 12, 3480

Ref. 2) Urszula K, et al. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 1555

Ref. 3) Reinders J, et al. Genes&Development, 2009,23:939-950

PR82 ENTRY

シロイヌナズナから見出した耐塩性遺伝子の作物への応用展開

Application of salt tolerant genes identified from *Arabidopsis* to crops横田 紗那子¹, 有賀 裕剛², 伊澤 かな¹, 四井 いずみ¹, 坂田 洋一¹, 太治 輝昭¹¹東京農大・バイオ, ²農研機構・遺伝資源

私達の先行研究において、数百の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 が発見された。遺伝学的解析の結果、Lch-0 の耐塩性に寄与する *SALT* 遺伝子が同定された。*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作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、シロイヌナズナと同じアブラナ科作物であるコマツナを対象に、*SALT* 相同性遺伝子のゲノム編集を実施することで耐塩性への影響を評価することを目的とした。はじめにコマツナにおける *SALT* 相同性遺伝子を探索したところ、コマツナのゲノム上には *SALT* 相同遺伝子が2つ (*BrSALTa*, *BrSALTb*) 存在していることから、二重欠損により機能欠損に至る可能性が考えられた。そこで本実験ではCRISPR-Cas9によるゲノム編集により、*BrSALTa*, *BrSALTb* それぞれの単一欠損株、および *BrSALTaBrSALTb* 二重欠損株の作出を試みた。これまでにいずれの欠損株の取得にも成功し、現在、耐塩性試験の準備を進めている。この他、先行研究において植物の乾燥・塩・高温耐性に必須の遺伝子としてワックス合成遺伝子を同定し、その過剰発現が様々な非生物ストレス耐性を向上させることを見出した。本発表では、当該遺伝子のイネへの応用についても紹介する。

PR83 ENTRY

細胞内エネルギーセンサー SnRK1 を介した植物免疫活性制御機構の解析

Regulatory Mechanisms of Plant Immunity by Cellular Energy Sensor SnRK1 in Arabidopsis

江島 早紀¹, 杉崎 歩美¹, Jie Linnan², 眞木 美帆², 安田 盛貴³, 高木 純平², 西條 雄介³, 佐藤 長緒¹

¹北大院・生命, ²北大院・理, ³奈良先端大・バイオ

植物は、病原体への防御応答（植物免疫）に多くのエネルギーを費やしている。そのため、植物の免疫活性は成長と防御のバランスを保つために、光合成や代謝状態と密接に関連していることが長い間示唆されてきた。しかし、細胞内エネルギー状態に応じて、植物の免疫活性を制御する分子メカニズムは未解明である。そこで本研究では、糖による植物免疫への影響に着目し、シロイヌナズナを用いた解析を行うことで、こうした謎の解明に取り組んでいる。これまでの研究から、糖飢餓条件下では、細菌鞭毛由来ペプチド flg22 に応答した遺伝子発現が抑制されることを見出している。加えて、真核生物に保存された細胞内エネルギーセンサーとして知られる SnRK1 キナーゼの変異株では、糖飢餓条件下でもこうした植物免疫関連遺伝子の発現レベルが高く、SnRK1 が特にサリチル酸シグナル伝達経路へ作用していることが示唆された。現在、こうした SnRK1 による植物免疫活性制御機構について詳しい解析を行っており、本発表ではこのような結果も併せて、植物細胞におけるエネルギー状態と免疫活性制御の関係について議論したい。

PR84 ENTRY

植物体地上部に塩が付着する潮害ストレス応答機構の解析

Analysis of salt spray stress response in Arabidopsis

千葉 陽一¹, 村越 祐介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

塩害は砂漠化の主要原因として知られており、植物の生育を大きく阻害する。世界の農地の 1/5 が塩害に曝されており、年間 70 万ヘクタールが深刻な塩害により不耕作農地として放棄されている。また近年では、温暖化による海水面温度の上昇に伴い大型台風の発生頻度が増加しており、日本でも沿岸部の畑において内陸数キロメートルに渡って海水しぶき飛散による塩害が生じている。この場合の塩害は、土壌の塩濃度上昇に加えて、植物の葉に海水しぶきが付着することで葉の（脱水による）枯死を引き起こす。これまでに塩害土壌を想定した、根からの塩害についてはよく研究されているものの、植物体地上部に塩が付着する塩害（本研究では「潮害」とする）を想定した研究はほとんど実施されていない。植物体地上部への潮害が植物にとってどのようなストレスなのか、根からの塩ストレスと同じように応答するのか、それとも異なるストレス応答を示すのか、その分子メカニズムの多くが不明である。そこで本研究では、潮害ストレス応答を明らかにすることを目的に、潮害ストレスアッセイ系の確立、潮害ストレスおよび地下部塩ストレス処理によるトランスクリプトーム解析に加え、シロイヌナズナにおいて野生株よりも潮害耐性が向上した、*salt spray tolerant* (*sprat*) 変異株の単離・解析を行う。これまでのスクリーニングの結果、*sprat1* 変異株の単離に成功した。現在、*sprat1* 変異株の生理学的・遺伝学的解析を進めている。

PR85 ENTRY

シロイヌナズナ塩馴化後浸透圧耐性欠損変異株 *aod30*, *aod31* の解析

Analysis of *Arabidopsis acquired osmotolerance defective 30 and 31* mutants

玉木 健太¹, 増田 悟郎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

モデル植物であるシロイヌナズナは 2000 種類を超える系統が世界中に存在する。先行研究において、生育に影響を与えない程度の塩ストレスを一定期間経ることで、より高い浸透圧に耐性を示す、「塩馴化後浸透圧耐性」に優れる野生系統を見出した。これまでに塩馴化後浸透圧耐性の多様性に寄与する ACQOS 遺伝子の特定に成功したものの、その耐性獲得機構については不明であった。この耐性の獲得メカニズムを明らかにするために、塩馴化後浸透圧耐性を欠損した *acquired osmotolerance defective*, *aod* 変異株を単離してきた。いくつかの *aod* 変異株では原因遺伝子が明らかになり、メカニズムの一端が明らかになりつつあるものの、これまでに得られた *aod* 変異株の原因遺伝子に重複はなく、新たな関連遺伝子発現の可能性が考えられた。そこで Col-0 背景の *acqos* 変異株が野生株よりも高い浸透圧耐性を獲得することに着目し、*acqos* 変異株種子に EMS 突然変異処理を施し、その M2 種子から、塩馴化後浸透圧耐性が欠損した、*aod30* および *aod31* 変異株を単離した。様々な非生物学的ストレスに供したところ、*aod30* は *acqos* 変異株と比較して塩ストレスに対して高感受性を示す一方、*aod31* は浸透圧ストレスに高感受性を示した。現在、*aod30* および *aod31* 変異株の原因遺伝子の同定を目的に、F2 マッピングによる原因遺伝子の絞り込みを行っている。

PR86 ENTRY

ダイズの硫黄欠乏応答遺伝子による代謝制御機構の解析

Functional analysis of sulfur deficiency responsive genes in soybean

家田 愛菜, 小牧 伸一郎, 峠 隆之, 渡邊 むつみ

奈良先端大・先端科学技術

植物において、硫黄はシステインやメチオニン、アブラナ科特異的含硫二次代謝物のグルコシノレート類 (GSLs) 等の生命維持や防御に関与する多様な代謝物の産生に必要な元素である。近年、土壌中の硫黄濃度低下による作物の生育障害や品質低下が引き起こされている。硫黄の要求量は植物種によって異なるが、特にアブラナ科やマメ科ではその要求量が高く、硫黄欠乏下のマメ科植物は高含硫アミノ酸で構成された貯蔵タンパク質の蓄積が著しく減少することが報告されている。以上より、これらの植物種の硫黄欠乏適応機構の解明は、作物の安定供給や品質維持という点において重要である。モデル植物シロイヌナズナでは、硫黄欠乏下で高発現する *Sulfur Deficiency-Induced 1 (SDI1)* および *SDI2* 遺伝子がコードするタンパク質が GSLs、種子貯蔵タンパク質、硫黄脂質の生合成制御に関与することが明らかとなった。このオルソログ遺伝子は様々な植物種に広く保存されているが、それらの植物体内における代謝制御機能は明らかとなっていない。そこで本研究は、ダイズの *SDI* 遺伝子制御下の代謝経路とその機構の解明を目的とした。本発表では、ダイズの *GmSDI* 遺伝子の硫黄欠乏応答性を評価し、さらに各成長段階および器官における代謝物と *GmSDI* 遺伝子の発現解析から相関性を評価することで、*GmSDI* の機能を予測した。また、シロイヌナズナを用いた *GmSDI* 遺伝子の異種過剰発現体の代謝物解析および遺伝子発現解析結果と、現在行っているダイズ毛状根を用いた *GmSDI* 過剰発現体の解析も含め、*GmSDI* 遺伝子の植物体内における役割を議論する。

PR87 ENTRY

長期高温耐性シロイヌナズナ Berg-1 の解析

Analysis of long-term heat tolerant *Arabidopsis thaliana* Berg-1

北島 あすみ, 増田 悟郎, 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。Berg-1 の長期高温耐性に寄与する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) を作出した。少なくとも 3 回の掛け戻しを行った NIL において、Berg-1 ほどではないものの Col-0 と比較して明らかに高温耐性を示す系統、Col-0 同様の高温感受性を示す系統を得た。これらの NILs を用いたジェノタイピングの結果から、原因遺伝子座を 500 kbp 以内に絞り込んだ。現在、当該領域内の遺伝子について配列比較や発現量解析を行い長期高温耐性に寄与する原因遺伝子の絞り込みを行っている。

PR88 ENTRY

薬用植物アマチャ由来ジヒドロイソクマリン類の効率的生産法の開発研究

Efficient production method of dihydroisocoumarins from medicinal plant *Hydrangenolmacrophylla* var. *thunbergii*

荒木 康佑, 高見 朋花, 太田 智絵, 月岡 淳子, 中村 誠宏

京都薬大

アマチャ (*Hydrangenolmacrophylla* var. *thunbergii*) 葉部に含有される代表的な二次代謝産物としてジヒドロイソクマリン hydrangenol 8-O-β-D-glucopyranoside (**1**), phyllodulcin 8-O-β-D-glucopyranoside (**2**), hydrangenol (**3**)および phyllodulcin (**4**)が挙げられる。そのうち **3** および **4** は重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) のスパイクタンパク質とアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) との結合を阻害することが報告されている。これらのジヒドロイソクマリン類は一般にアマチャから単離されるが、植物の栽培には長期間を要するため、効率的な生産法の確立が求められている。本研究では、薬学的に有用なジヒドロイソクマリン類の植物組織 (カルス) 培養を用いた効率的生産の検討を行った。アマチャ新芽からカルスを誘導し増殖させた後、植物ホルモン組成を変えた 8 種類の培地を用いてさらに培養し成分解析を行った。その結果、indole-3-acetic acid (IAA) と benzyl adenine (BA) で培養したカルスでは **1-4** が検出された。さらに IAA と BA の濃度や割合を変更した培地を用いてカルス培養を行ったところ、IAA (0.5 mg/L) と BA (1.0 mg/L) で培養したカルスに含有される **1** の収率 (2.03 - 3.46%) は植物含有率 (2.15 - 3.58%) に匹敵することが明らかとなり、ジヒドロイソクマリン **1-4** の生成に IAA と BA の組み合わせが重要であることが示唆された。

PR89 ENTRY

エゾマツ未成熟種子胚からの不定胚形成

Somatic embryogenesis in immature zygotic embryos of *Picea jezoensis*

丸山 莉生¹, 小美野 絢子¹, 河村 健太¹, 土井 巖¹, 中田 了五², 半 智史¹, 船田 良¹

¹農工大・院農, ²森林総研林育セ

北海道の代表的な針葉樹であるエゾマツ (*Picea jezoensis*) は、かつての天然林伐採と人工造林の困難さを背景に、近年その蓄積量が大きく減少している。エゾマツ苗木の持続的な生産技術が必要であり、組織培養による植物体再生系の確立はこの問題の解決に貢献する。不定胚形成 (somatic embryogenesis: SE) は、樹木の大量増殖や遺伝子工学、遺伝資源保存に効果的な手段である。Ishii (1991) はエゾマツ成熟種子胚からの SE を報告しているが、不定胚形成細胞の誘導率が低く、個体再生率も低い。本研究では、成熟種子胚よりも反応性が高いとされる未成熟種子胚からの SE を目的として、エゾマツの不定胚形成細胞の誘導条件を検討した。2024 年 8~9 月にかけて、森林総合研究所林木育種センター北海道育種場に生育するエゾマツ 3 母樹 (P1, P2, P3) から、2 週間ごとに計 4 回、球果を採取した。球果から取り出した未成熟種子胚を、BAP 5 μ M と 2,4-D 10 μ M を含む mLP 培地または 1/2 EM 培地に植え付け、培養 12 週間後の不定胚形成細胞の誘導率を評価した。すべての条件を合算して求めた誘導率は 4.2% (25/600) であった。母樹別の誘導率は P1 : 1.5% (3/200), P2 : 4.5% (9/200), P3 : 6.5% (13/200) であった。採取時期別の誘導率は 8 月 5 日 : 2.7% (4/150), 8 月 19 日 : 4.7% (7/150), 9 月 2 日 : 6.7% (10/150), 9 月 17 日 : 2.7% (4/150) であった。培地別の誘導率は mLP 培地 : 14/300 (4.7%), 1/2 EM 培地 : 3.7% (11/300) であった。継代培養により、10 以上のセルラインを確立した。今後、各セルラインにおける不定胚形成細胞の増殖率、不定胚誘導数、発芽率等を算出し、成熟種子胚由来の SE における再生率との比較から未成熟種子胚利用の有効性を明らかにする。

PR90 ENTRY

トドマツ成熟種子からの不定胚形成における培養条件の検討

Investigations of culture conditions for somatic embryogenesis from mature seeds of *Abies sachalinensis*

小美野 絢子¹, 丸山 莉生¹, 中田 了五², 河村 健太¹, 船田 良¹, 半 智史¹

¹農工大・院農, ²森林総研林育セ

植物組織培養を用いた植物体再生の 1 つの手法として、不定胚形成 (somatic embryogenesis : SE) を経由した植物体再生がある。不定胚形成細胞は高い増殖性をもち、超低温保存可能であるため、樹木の大量生産や遺伝資源の保存に有用である。トドマツ (*Abies sachalinensis*) は、北海道における主要な造林樹種である。トドマツ造林は実生苗で行われるが、種子生産は豊凶が激しく、有効な着花促進法は開発されていない。したがって、トドマツの苗木生産の効率化を進める上で、SE 経由の植物体再生が有効であるが、SE 経由の植物体再生系は未だ確立されていない。本研究では、不定胚形成能の高い不定胚形成細胞を誘導することを目的とし、基本培地や植物ホルモン濃度条件を検討した。供試材料として森林総合研究所林木育種センターより遺伝資源配布を受けたトドマツ成熟種子 5 系統を用いた。基本培地 (SH, 1/2EM, mLP 培地) やサイトカイニンの種類 (BAP, カイネチン) および濃度 (2.5, 5, 10 μ M) の異なる計 18 条件の培地に種子胚を植え付けた。植え付けから 12 週間後に、不定胚形成細胞誘導率を評価した。不定胚形成細胞誘導率は、1/2EM 培地に BAP を 10 μ M 添加した条件で最大値を示した (不定胚形成細胞誘導率 : 8.5%, 供試数 : 82)。全条件合算の不定胚形成細胞誘導率は 4.0% であった (不定胚形成細胞誘導数/供試数 : 32/794)。本研究では増殖性の高い不定胚形成細胞 12 セルラインの維持に成功した。今後は不定胚誘導を実施し、不定胚形成能に関する評価を行う予定である。

PR91 ENTRY

ハナミズキカルの褐変抑制における有機酸の有効性

Effectiveness of organic acids in suppressing browning of Dogwood callus

川田 泰生¹, 古川 一実², 高原 美規³, 大岡 久子⁴¹群馬高専・環境工学専攻, ²沼津高専・物質工学科, ³長岡技科大・物質生物系分野, ⁴群馬高専・物質工学科

植物のカルス化および再分化は、植物の品種改良を効率化させることができる重要な性質であり、それらが起こる条件が様々な植物種において研究されている。樹木の品種改良は林業や都市緑化、園芸分野などさまざまな分野で需要があるが、一般的に樹木のカルス化および再分化は困難である。本研究室では、ハナミズキ（学名：*Cornus florida*）のカルス化に成功している一方、再分化に適した条件を確立できていない。その要因の一つにカルの褐変がある。褐変は植物組織培養において一般的で深刻な問題であり、フェノール化合物の蓄積と酸化によって引き起こされる。褐変したカルスは生合成能力の低下と成長不良をもたらす、最終的には細胞死につながる。そこで本研究では、褐変の原因の一つである酸化を防ぐために、培地に有機酸（アスコルビン酸、マロン酸、コハク酸）を添加し、ハナミズキのカルスにおける褐変の程度と成長率に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

培地にマロン酸を添加することで、褐変を抑制し成長率が上昇することが明らかとなった。さらに、コハク酸を添加することでマロン酸と同程度の褐変抑制効果が得られるとともに、マロン酸よりも成長率が高くなることが判明した。一方、アスコルビン酸を添加すると培地の pH が低下し、褐変の促進と成長率の低下が起こることが確認できた。また、これらの有機酸を高濃度で添加した場合、カルの成長を著しく阻害することが判明した。本研究において、褐変を効果的に抑制する培地条件を明らかにした。

PR92

キリ属植物（*Paulownia* spp.）の葉の基底部と葉柄を含む切片を外植体とした再分化条件の検討Examination of regeneration conditions from leaf-petiole explants in *Paulownia* species七里 吉彦¹, 小埜 栄一郎², 星 比呂志³, 逢沢 峰昭⁴, 谷口 亨¹¹森林機構・森林バイオ, 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会津里山森林資源育成研究会, ⁴宇都宮大・農

我が国において、キリ属植物（*Paulownia* spp.）の材は軽さと強度を兼ね備え、かつ湿気に強いという特性を持ち、古くから家具、下駄、楽器などに利用されてきた。近年では早生樹としての利用にも注目が集まっている。しかし、胴枯れ性病害やてんぐ巣病などの病害がキリの栽培に甚大な被害を及ぼしており、耐病性系統の育種が強く求められている。そこで本研究では、短期間で耐病性系統を作出する育種手法として、ゲノム編集技術に着目した。植物でのゲノム編集には、再分化および遺伝子組換えによってゲノム編集遺伝子を導入した個体を効率的に作出する技術が不可欠である。本研究の目的は、キリ属植物における遺伝子組換え・ゲノム編集技術を見据えた効率的な再分化系の確立にある。

まず、葉切片を外植体として、2-10 mg/L BA および 0.5-1.0 mg/L NAA を添加した 1/2MS 培地にて不定芽誘導を試みたが、切り口からはカルスのみが形成され、不定芽は誘導されなかった。次に、葉の基底部と葉柄を含む切片を外植体として、2-8 mg/L TDZ および 0.5 mg/L IAA を添加した 1/2MS 培地により不定芽誘導を行った結果、TDZ 4-6 mg/L と 0.5 mg/L IAA の条件下において、2-3 週間後に葉柄および葉の切り口の両方から不定芽の誘導が確認された。その後、不定芽を含む外植体を植物ホルモン無添加の 1/2MS 培地に移植することでシュートの旺盛な生育がみられ、さらに 1/2WPM 培地により発根が確認されたことから、再分化に成功したと判断した。

PR93 ENTRY

TPX 製フィルムバッグ“OKUDAKE”を用いた鮮類 *Physcomitrium patens* の液体静置培養法Liquid Static Culture of the Moss *Physcomitrium patens* Using TPX Film Bags "OKUDAKE"中 雄輝¹, 秋田 求²¹近大・院生物理工, ²近大・生物理工

ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrium patens* subsp. *patens*) は、世代時間が短い、培養が容易、相同組換えが高頻度で起こる、葉の細胞が単層で顕微鏡観察が容易、などの特長をもつことから、モデル植物として広く研究に使用されている。ここでは、ヒメツリガネゴケの培養を継続しながら容易に顕微鏡観察する方法を提案する。ポリメチルペンテン (TPX) 製のフィルム (以下 TPX フィルム) は、高いガス透過性、耐熱性、光透過性を有している。したがって、TPX フィルムで作製したバッグ (OKUDAKE) は、植物の培養に使用することができる。実際に、ヒメツリガネゴケを TPX フィルムバッグ内で液体静置培養すると、寒天培地で培養した場合と遜色ない生育が観察できた。TPX フィルムバッグは、手軽に、インキュベーターと顕微鏡の間を持ち運びできる。緑色蛍光タンパク質 (EGFP) を導入したヒメツリガネゴケの葉切片を TPX フィルムバッグに入れ、倒立顕微鏡で EGFP の細胞内局在をフィルム越しに観察することも可能だった。また、TPX フィルムバッグ内でプロトプラストの原糸体への再生過程を培養を維持しながら観察することができた。ヒメツリガネゴケの形質転換操作では、一般的に、PEG 処理によってプロトプラストに DNA を取り込ませるが、このことは、TPX フィルムバッグ内で PEG 処理後のプロトプラストの培養過程を顕微鏡観察可能であることを示している。また、TPX フィルムバッグ内で、ヒメツリガネゴケ茎葉体に *Epicoccum nigrum* の孢子懸濁液を接種し、共培養して経時的に観察することも可能だった。

PR94 ENTRY

植物細胞性食品製造に向けた安全なフードグレード培地の開発と評価

Development and Evaluation of Safe Food-Grade Media for Plant Cell-Based Food Production

松本 萌人, 五十嵐 圭介

東北大・院農学

近年、気候変動や人口増加による食料不足への懸念から、代替的な食料生産手法の必要性が高まっている。その中でも、培養肉に代表される細胞性食品は、倫理的・環境的負荷が少ない食品製造方法として注目されている。しかし、植物細胞性食品の製造において、食用性を考慮した培地開発は未だ発展途上である。そこで本研究では、持続可能な食料供給の実現を目指し、植物細胞培養技術を応用した細胞性食品の製造に向けた基礎培地の開発を目的とする。

細胞農業においては培地成分を食品または食品添加物に置き換えることが安全性認可の取得において重要である。本研究では、食品添加物および食品成分のみを用いたフードグレード (FG) 基礎培地を開発した。①食品添加物に該当しない成分の除去、②食品添加物または食品による成分代替、の観点で従来の基礎培地を FG 化した。イネ用に調整した FG-N6 培地では従来の N6 基礎培地と同等の増殖性能が見られた。一方、FG-MS 基礎培地を用いたトマトの培養では、従来の MS 基礎培地と比較して生鮮重量の低下が見られた。この結果から、MS 基礎培地を FG にするプロセスで重要な成分が培地組成に十分含まれていない可能性が示唆された。代替成分の選択においては全く同じ化合物では代替できない場合があるため、イオン別で見ると成分バランスが崩れてしまい、代替の基準とするイオンの選択によっては別のイオンが従来より少なくなるケースもある。以上の結果から、FG 化においては従来の基礎培地に含まれる各イオンについて少なくなるような各成分濃度を調整すべきであると考えた。今後は改良後の FG-MS 基礎培地を用いた比較試験を行うことで、FG 培地の最適化を行う。

PR95

精密調湿処理による植物培養細胞への化合物導入法

Fine humidity control for introducing target compounds into plant cultured cells

荻田 信二郎

県立広島大・生物資源

【はじめに】 植物細胞への低分子、高分子化合物の添加や遺伝子導入は、対象植物の形態形成制御や代謝機能改変を目的とした研究において重要な技術である。本研究では、数種の植物培養細胞をモデルとして、生体膜等への透過性が低い化合物であっても、生きたままの植物培養細胞に高効率で目的の化合物を導入する簡便な方法を開発することを目的とした。

【方 法】 当研究室で継代維持している数種の植物培養細胞：レモン (*Citrus limon*)、コーヒー (*Coffea canephora*)、ハチク (*Phyllostachys nigra*)、イネ (*Oryza sativa* L.cv. Nipponbare) を主な材料に用いた。各種培養細胞を調湿するために、シリカゲル、ゼオライト、竹炭などを調湿担体として、基本条件としてガラス製マヨネーズ瓶に各担体 5g を入れ、160℃で2時間乾熱滅菌した。これらは使用直前まで 60℃の定温恒温乾燥器で保存した。クリーンベンチに容器を取り出して培養細胞を 100 mg ずつ測り取り、これを担体入りマヨネーズ瓶に入れた。その後 30 分ごとに重量（相対水分量）変化を測定した。また、各種相対水分量（10%から 100%）に調湿後の細胞を再培養して、それらの生存性を確認した。さらに膜透過性の異なる各種蛍光染色色素（Sytox Green, DiOC6, DAPI）を用いて化合物の導入効率を調査した。

【結 果】 植物培養細胞の含水率は概ね 90–95% であり、この状態を相対水分量 100% とした。相対水分量が 50% となるまでシリカゲルで概ね 150 分を要し、これらはほぼダメージなく増殖性を保ったまま再培養が可能であった。また膜透過性が低い SG や DiOC6 においても明瞭な染色性が認められた。本発表ではいくつかの実施例を紹介する。

PR96 ENTRY

植物組織培養を用いた薬用植物ヒガンバナ由来アルカロイド生産法の開発研究

Alkaloid production method from medicinal plant *Lycoris radiata* using plant tissue culture

木庭 優佳, 清水 晴志, 原 みなみ, 太田 智絵, 月岡 淳子, 中村 誠宏

京都薬大

ヒガンバナ (*Lycoris radiata*) は、ヒガンバナ科に属する多年草であり、その鱗茎には多様なアルカロイドを含有することが知られている。その中でも galantamine は、アルツハイマー型認知症の症状進行抑制薬として臨床で用いられている。また、我々はヒガンバナ含有成分 lycorine がヒト神経膠芽腫細胞株 U-251 MG 由来の幹細胞に対する駆逐作用 ($IC_{50} = 11.9 \mu M$) を示すことを見出した。これらの知見から、ヒガンバナ由来アルカロイドは医薬品開発の有望なリード化合物となり得る。しかし、ヒガンバナからのアルカロイドの収量は低く、安定供給が困難である点が実用化の障壁となる可能性がある。本背景のもと、我々は、本学薬用植物園において採取されたヒガンバナ鱗茎を用いてカルス誘導・増殖を行い、植物ホルモンの種類・濃度・割合を変化させた培地を用いて、アルカロイドの効率的生産法の開発に向けた基礎的検討を行った。すなわち、4 種の植物ホルモンの濃度やその比率を変化させた計 15 種の培地を作製し、それぞれの条件で得られたカルスを培養後、アルカロイドの含有量を比較した。その結果、上述の条件で誘導したカルスには、いずれも galantamine や lycorine が検出されなかった。一方で、2,4-dichlorophenoxyacetic acid, picloram および kinetin を含む培地で培養したカルスにおいて、LC-MS 分析により $m/z = 274$ のピークが認められた。このことから、galantamine や lycorine とは異なるアルカロイドが産生されている可能性が示唆された。

PR97 ENTRY

植物組織培養を用いた薬用植物クララ由来抗がん作用成分の効率的生産法の開発研究

Efficient production method for anticancer constituents from medicinal plant *Sophora flavescens* using plant tissue culture

尾本 汐音, 市岡 桜, 原 みなみ, 太田 智絵, 月岡 淳子, 中村 誠宏

京都薬大

クララ (*Sophora flavescens*) は日本, 中国, 朝鮮半島などに分布する多年生草本である。その根は, 生薬 “苦参” と呼ばれ, 苦味健胃作用や消炎止瀉作用を有することが知られている。クララの根の含有成分として, kushenol F をはじめとするグラニルフラボノイドや, matrine などのキノリジン型アルカロイドが報告されている。Kushenol F は抗炎症作用や抗酸化作用を含む様々な生物活性を示すことが報告されているが, matrine には神経毒性が報告されている。そのため, クララには有用なグラニルフラボノイドを含有するにもかかわらず, matrine の存在により生薬としての利用が制限される可能性がある。上述の背景を踏まえて, 本研究では, kushenol F を選択的に生産し, 神経毒性を持つ matrine を含有しないカルスの作製を目指し, その培養条件の最適化を試みた。具体的には, 本学薬用植物園クララ葉部を用いてカルス誘導および増殖を行い, 次に 9 種類の異なる培地で培養したカルスの kushenol F および matrine の含有量を定量した。その結果, kinetin および 6-benzylaminopurine (BA) の濃度と比率が kushenol F の含有量に大きく影響することが明らかとなった。特に, BA を用いたカルス誘導により, 植物由来の単離収率と同等の収率で kushenol F を生産することに成功した。また, kushenol F は, ヒト神経膠芽腫細胞株 U-251 MG 由来のがん幹細胞に対して駆逐作用を有することも確認された。

PR98 ENTRY

Brassicaceae 科植物における細胞融合効率と系統的距離の関係解析

Investigation Of Cell Fusion Efficiency In Relation To Phylogenetic Distance Among *Brassicaceae* Species

間宮 翼, 山崎 茉央, 荒井 野杏, 高橋 直紀

明治大・農

植物の品種改良において, 細胞融合は種間交雑が不可能な植物間での遺伝子組み合わせを実現し得る有効な手法であり, 特に形質導入や不稔性克服などにおいて重要な技術とされている。細胞融合は, 膜融合およびその後の核融合を経て, 異なる細胞由来の雑種細胞を形成する過程であり, 膜融合の誘導には一般的にポリエチレングリコール (PEG) を用いた方法が用いられる。しかしながら, 植物種間の系統的距離が膜融合効率に及ぼす影響については, 未だ系統的な検証が行われていない。そこで本研究では, まず *Brassicaceae* 科である *Arabidopsis thaliana* および *Brassica rapa* (コマツナ) 由来プロトプラストを用いて, PEG 濃度および処理時間の条件検討を行い, 同種間における膜融合の最適条件を検討した。融合効率は *A. thaliana* で PEG25%, *B. rapa* で PEG20%において最も高く, 処理開始後 8~9 分で定常状態に達することが示唆された。一方, 生存率は高濃度 PEG 処理により有意に低下し, *A. thaliana* では PEG40%, *B. rapa* では PEG35%以上で有意な減少が認められた。さらに, *Brassicaceae* 科内の複数種の植物を対象に異種間の細胞融合を試み, 膜融合効率と分子系統解析に基づく種間距離との関係を比較した。本発表では, この知見を基に, 植物種間の系統的な関係が膜融合の効率に与える影響について議論したい。

PR99 ENTRY

シリンジ法による難形質転換植物への簡便な遺伝子導入

A Simple Method for Gene Introduction into Recalcitrant Plant Species Using Syringe Infiltration

五十嵐 由依¹, 杉本 愛華¹, 小林 壮生¹, 乾 弥生², 工藤 洋³, 山本 将之⁴, 松永 幸大², 風間 裕介¹, 池田 美穂¹¹福井県大・生物, ²東大・院・新領域・先端生命, ³京大・生態研, ⁴富山大・院・理工

従来の遺伝子導入法には、アグロバクテリウム法、アグロインフィルトレーション法、パーティクルボンバードメント法などがあるが、これらは形質転換体の取得に時間がかかる、導入効率が低いなどの課題がある。

我々は、簡便かつ短期間で形質転換細胞の取得が可能なシリンジインフィルトレーション法を開発した。この方法では、針なしの10 ml シリンジを用い、発芽直後の植物実生に対してアグロバクテリウム懸濁液を減圧により浸透させ、外来遺伝子を導入する。本法を用いることで、シロイヌナズナにおいては播種から10日程度で形質転換細胞が得られるようになった。そこで今回は、シロイヌナズナで開発されたシリンジインフィルトレーション法を多様な植物種に適用することを目的として研究を行った。対象植物としては、モデル植物であるタバコに加え、遺伝子導入が困難なハクサンハタザオ、ヒロハノマンテマ、金ゴマを用いた。まず、各植物種を無菌播種し、実生が適切なサイズに育つまでの日数を決定した。次に適切な日数の実生を、*Pro35S::GFP* 遺伝子を持つアグロバクテリウム懸濁液に浸し、シリンジを用いて減圧処理後、除菌培地上で数日～3週間培養した。

アグロ感染から4日後には、導入を試みた全ての植物種で GFP 蛍光が観察された。導入効率はタバコで88%、ゴマでは83%と、高効率での遺伝子導入が確認された。さらに、タバコ、ハクサンハタザオ、ヒロハノマンテマでは、導入から3週間後も GFP 蛍光が維持されていた。これにより、シリンジインフィルトレーション法が複数の植物種への遺伝子導入に有効であると示された。

PR100 ENTRY

キシラン還元末端構造を有するオリゴ糖のプライマー機能と IRX10 活性化機構の解析

Xylan Reducing End Sequence-Containing Oligosaccharides Function as Priming Acceptors and Promote Elongation Efficiency in Recombinant Arabidopsis and *Setaria viridis* IRX10鈴木 聖治¹, 坂本 茉優³, 戸田 陽己², 木塚 康彦^{1,2,3,4}, 石水 毅⁵, 鈴木 史朗^{1,2,3}¹岐阜大・院連農, ²岐阜大・院自然研, ³岐阜大・応用生物, ⁴東海機構・iGCORE, ⁵立命館大・生命

キシランは植物細胞壁の主要ヘミセルロース成分であり、その還元末端には一部の維管束植物に特有の四糖配列 (Xylan Reducing End Sequence, RES) が存在する。これまで RES は、キシラン合成の「プライマー」あるいは「ターミネーター」として機能する可能性が示唆されていたが、生化学的な証拠は得られていなかった。そこで本研究では、RES に非還元末端キシロースを1残基付加した構造 (X-RES) を酵素反応基質として使用し、キシラン合成サブユニット IRREGULAR XYLEM 10 (IRX10) によるキシラン伸長活性を評価した。

Arabidopsis thaliana (RES 保有種) および *Setaria viridis* (RES 非保有のイネ科) 由来の組換え IRX10 (それぞれ AtIRX10L および SvIRX10) を用いた *in vitro* 酵素アッセイの結果、両種の IRX10 は X-RES を効率的に伸長し、X-RES と同じ重合度のキシロオリゴ糖 (Xyl₅) よりも高い反応効率を示した。さらにドッキングシミュレーションにより、X-RES は Xyl₅ よりもタンパク質と高い親和性を示し、その特殊な配列が基質認識に寄与する可能性が示された。

RES を有する双子葉植物 *Arabidopsis* に加え、RES を欠くイネ科 *Setaria viridis* においても X-RES がプライマーとして機能したことから、IRX10 による RES 構造の受容性は進化的に保存されていることが示唆された。本研究は、植物 IRX10 ファミリーによるキシラン合成開始機構に新たな知見を与えると同時に、細胞壁構築やバイオマス利用への応用に寄与する基盤情報を提供する。

PR101

細胞壁架橋構造の増強に向けた *HCALDH* 過剰発現イネの作出と性状解析

Generation and characterization of *HCALDH*-overexpressing rice for enhanced cell wall cross-linking

山本 千莉¹, Ji Pingping¹, Pui Ying Lam Lydia², 窪井 健斗¹, 梅澤 俊明¹, 飛松 裕基¹

¹京大・生存研, ²秋田大

単子葉類イネ科植物は、持続型社会の構築を担うリグノセルロースバイオマス供給源として重要な植物グループの一つである。イネ科植物は、様々な組織にフェルラ酸 (FA) 誘導体を蓄積し、特に二次細胞壁中では、FA がヘミセルロースとリグニン分子間を連結する架橋点として機能する。このような FA を介した細胞壁架橋構造は、細胞壁多糖の酵素糖化など、バイオマスの分解を阻害する要因となる。一方、FA を介した細胞壁架橋構造は、比較的温和なアルカリ処理などにより開裂可能なエステル結合を有するため、特定のリグノセルロースバイオマスの分解条件下においては、その増強が有利に作用することがこれまでに示されている。さらに、FA を介した細胞壁架橋構造や様々な FA 系代謝物の増強は、イネ科植物におけるバイオマスの機械的特性や有用代謝産物の生産性向上につながる可能性がある。本研究では、FA を介した細胞壁架橋構造及び FA 系代謝物の増強を目指し、演者らが最近報告したイネの FA 生合成に関わるヒドロキシケイ皮アルデヒドヒドロゲナーゼ遺伝子 (*OsHCALDH3*) を過剰発現させた組換えイネを作出し、その性状解析を行った。その結果、野生株と比較して細胞壁結合型 FA の含有量が 10–16% 増大した *HCALDH* 過剰発現イネが得られた。一方、*HCALDH* 過剰発現イネの種子中の γ -オリザノール含有量には、大きな変化は見られなかった。現在、細胞壁結合型 FA の増強がバイオマス分解利用特性に与える促進効果を明らかにするため、アルカリ前処理を用いた細胞壁の酵素糖化性試験などを進めている。

PR102 ENTRY

イネのリグニン生合成に寄与するラッカーゼパラログの機能解析：多重ゲノム編集イネの作出と解析

Laccase paralogs involved in lignin biosynthesis in rice: generation and characterization of multiplex genome-edited mutants

窪井 健斗¹, 寺野 真季¹, 山本 千莉¹, 巽 奏¹, 三上 文三¹, 刑部 敬史², 刑部 祐里子³, 梅澤 俊明¹, 飛松 裕基¹

¹京都大・生存研, ²徳島大・生物資源産業, ³東科大・生命理工

リグニンは、維管束植物の二次細胞壁に蓄積する芳香族高分子であり、木質 (リグノセルロース) の主要成分である。リグニン生合成機構の解明は、陸上植物の環境適応の仕組みや進化の過程の理解に加え、植物バイオマス資源を有効利用に向けた基盤研究として重要である。リグニン生合成の最終段階、すなわち細胞壁におけるリグニンモノマーの脱水素重合反応は、酸化酵素ラッカーゼ (LAC) 及びペルオキシダーゼ (PRX) により触媒される。LAC および PRX は大きな遺伝子ファミリーを構成し、多数のパラログが、異なる場所、時間において、異なるリグニンモノマー種を標的として、細胞壁形成に協調的に機能すると考えられているが、その詳細は未解明である。特に、食糧および木質の生産に重要なイネ科植物における LAC/PRX パラログの解析は遅れている。本研究では、イネ (*Oryza sativa*) のリグニン生合成に関与する LAC パラログの同定と機能の詳細解明を目的とし、ゲノム編集による多重 LAC 欠損イネ株の作出と解析を進めている。イネ LAC ファミリー (*OsLAC1*–*OsLAC30*) のバイオインフォマティクス解析により、主要な栄養組織のリグニン生合成に関与が予測される 7 つの LAC を選定した。次に、選定した LAC を標的としたマルチプレックスゲノム編集により、計 12 系統の一重から四重 LAC 欠損イネ株を作出した。本発表では、これまでに作出した LAC 欠損イネ株の細胞壁構造解析の結果に加え、さらなる五重から七重 LAC 欠損イネ株の作出と性状解析の進捗を報告する。

PR103 ENTRY

LsALN 遺伝子のゲノム編集により作出したアラントイン高蓄積型レタスの解析

Analysis of allantoin hyperaccumulating lettuce produced by genome editing of *LsALN*

田淵 良菜¹, 峰地 楓子¹, 斎藤 安希子¹, 野尻 増俊², 浅田 隆之², 西田 敬二³, 小山 竜平¹, 西口 真嗣⁴, 中野 伸一⁴, 宇野 雄一¹

¹神戸大・院農学, ²株式会社カネカ・アグリバイオリサーチセンター, ³神戸大・先端バイオ工学研究センター, ⁴兵庫県立農林水産技術総合センター

レタス (*Lactuca sativa*) は世界中の国で消費される重要な葉菜類であるが、主産地では異常気象により安定供給が妨げられている。このような乾燥ストレスへの抵抗性誘導剤として、アラントイン (5-ウレイドヒダントイン) が利用されつつある。アラントインは、植物体内ではプリン代謝の中間体であり窒素輸送形態として働く。またヒトやマウスにおいて皮膚の炎症抑制や抗がん剤副作用の緩和が認められたことから化粧品や医薬品に利用されている。我々はこれまでに外生アラントイン処理がレタスの乾燥耐性や洪水耐性に効果を示すことを明らかにした。そこで本研究では内生アラントインを高レベルで蓄積するレタスをゲノム編集により作出し、ストレス耐性と付加価値の向上を試みた。レタスのアラントイン分解酵素をコードする *LsALN* を CRISPR/Cas9 により機能欠失させた変異体を作成し、標的部位のシーケンス解析により 1 塩基挿入によって早期終止コドンを生じた系統を選抜した。自殖により外来遺伝子が除かれた null 分離個体 (*LsALN*-KO) 1 系統を解析対象として選抜し、オフターゲットの 4 候補配列に変異がないことを確認した。実生のアラントイン含量を測定したところ、*LsALN*-KO は WT に比べて高濃度の蓄積が確認された。また、RNA-seq により発現変動遺伝子を調査し GO 解析を行ったところ、オーキシン応答や光合成関連などの経路に関わる遺伝子群が上方制御されていた。オーキシンは環境ストレス応答に関わる報告があることから、側根の発達等が耐性獲得の一因であると考えられた。

PR104

ジベレリンとブラシノステロイド生合成酵素遺伝子の二重ゲノム編集によるアサガオ超矮性品種の作出

CRISPR/Cas9 double mutation of GA and BR synthase genes to produce a super-dwarf morning-glory

小野 公代¹, 山下 遼¹, 鈴木 義人², 仁田坂 英二³, 土岐 精一⁴, 雑賀 啓明⁵, 遠藤 真咲⁵, 小野 道之¹

¹筑波大・T-PIRC遺伝子, ²茨城大・農, ³九州大・理, ⁴龍谷大・農, ⁵農研機構・生物研

ゲノム編集技術の発展により標的遺伝子を選んで変異させることが可能になった。アサガオ (*Ipomoea nil*) を用いて我々は、伝統的な品種を用いた超矮性の作出を試みた。「渦性木立」は「原色朝顔検索図鑑 (1958)」にも掲載がある超矮性品種であるが、赤花の 1 色が現存するのみである (Q0338)。そこで、色鮮やかなアサガオの伝統的な品種を用いて、渦性木立の原因遺伝子であるブラシノステロイド生合成酵素遺伝子の欠失変異による渦性 (*contracted*, *ct*) と、ジベレリン生合成酵素遺伝子の欠失変異による矮性 (*dwarf*, *dw*) の二重変異体を作成した。*ct* の原因遺伝子は CYP90C1, INIL05g09538 であるとの報告がある (Hoshino *et al.*, 2016)。*dw* の原因遺伝子は、伝統的な矮性変異体 st. Kidachi の全ゲノムリシーケンス解析から、Gibberellin 3-oxidase1 (GA3ox1) をコードする INIL09g11126 のイントロンにトランスポゾン Tpn1 (8,809 bp) が挿入されていることを明らかにして、ジベレリンの定量解析等を進めてきた。ゲノム編集は、Cas9, guide RNA, 選抜マーカー遺伝子を搭載したオールインワンベクターの T-DNA をアグロバクテリウムを用いて未熟胚由来の胚性細胞に導入することで行った。その結果、強い矮性を示す再分化体の作出に成功した。用いた品種は茶色の花を咲かせる「團十郎」他の 4 品種である。二重変異体は不稔を示したため、ブラシノリドと GA₃ の投与に加え、元品種の花粉を用いた戻し交配を行うことで二重ヘテロ変異体を採種して親系統とし、T-DNA を持たない系統を選ぶことで SDN (Site-Directed Nuclease)-1 タイプのゲノム編集品種とした。

PR105

カルス培養を必要としない *in planta* Particle Bombardment (iPB) 法による DNA フリーのソルガムゲノム編集系の開発

Development of a DNA- and callus culture-free sorghum genome editing system using *in planta* particle bombardment (iPB) method

永田 俊文¹, アキリ 亘¹, 五嶋 俊弘², 今井 亮三¹

¹農研機構・生物研, ²トヨタ・CN開発

ソルガムは資源作物として注目されており、ゲノム編集による新しい育種技術の開発が期待されている。しかしソルガムは、組織片からのカルス形成やカルスからの植物体再生が難しく、培養適性が低い。そこで本研究では、組織培養を要しない *in planta* 法によるゲノム編集系の確立を目指した。我々が開発した iPB-RNP 法は、CRISPR/Cas9 ゲノム編集酵素複合体 (RNP) を植物茎頂組織にパーティクルガン装置を用いて直接導入する技術であり、茎頂の生殖系列細胞への変異導入により、次世代でゲノム編集個体を作成できる。これまでに、難培養性のコムギ、オオムギ、ダイズ、ソバ、メロン等においてゲノム編集を可能にしてきた。今回、ソルガム品種「千斤白」を用いて iPB-RNP 法の適用に挑戦した。標的遺伝子は PDS (phytoene desaturase) 及び CAD (cinnamyl alcohol dehydrogenase) 遺伝子とし、それぞれの gRNA を設計した。吸水完熟種子の茎頂を実体顕微鏡下で露出し、RNP をコーティングした金粒子を個別にパーティクルガン装置にて導入した。RNP 導入処理した茎頂から植物体 (E0 世代) を育成して DNA 抽出し、CAPS 及びシーケンス解析を行った。その結果、各遺伝子においてゲノム編集による変異が導入された個体を得た。E0 世代におけるゲノム編集効率は約 3% であった。PDS 遺伝子の変異体の中には斑入り個体が認められ、変異細胞と野生型細胞からなるキメラであることが視認できた。今後、変異が遺伝した次世代 (E1 世代) を獲得することで、iPB 法がソルガムに適用可能であることを示す予定である。

PR106

自己複製型ベクターを用いたペプチド法によるタバコ葉緑体形質転換

Peptide-mediated chloroplast transformation using self-replicating vector

堀井 陽子¹, 小田原 真樹², 沼田 圭司^{1,2}

¹理研CSRS, ²京都市大・院工学研究科

近年、植物などを利用した効率的な物質生産システムの構築が期待されており、物質やエネルギーの生産場である葉緑体やミトコンドリアなどのオルガネラゲノムの改変が重要であると考えられる。しかし、植物の形質転換に一般的に用いられてきたアグロバクテリウム法やパーティクルガン法は、各オルガネラを特異的に標的化することが難しく、使用できる植物種が限定されるなどの課題があった。我々はこれまでに、ポリカチオン配列にオルガネラ移行配列を付加した融合ペプチドをキャリア分子として利用することで、植物オルガネラへ選択的に遺伝子を導入することができる新しい形質転換法を確立した。このペプチド法は特殊な装置を必要としない非常に簡便かつ迅速な手法であり、他種多様な植物種への汎用性が高い。本研究ではタバコを植物材料とし、ペプチド法を用いて葉緑体ゲノムをターゲットとした遺伝子導入を行ない、葉緑体形質転換個体の作出を試みた。導入遺伝子として自己複製型プラスミドベクターを用い、ペプチド法のこれまでの課題点であった形質転換効率の向上を目指して実験を行なった。さらに、プラスミド DNA/ペプチド複合体の植物細胞内への取り込み効率を上げるため、細胞壁の構造を緩ませる作用のある双生イオン液体で植物片に前処理を行った。抗生物質による選抜培養を経ていくつかの再分化個体を得られ、これらの形質転換体は遺伝子導入後数か月および次世代植物においても導入された遺伝子を保持していることを、ジェノタイピング PCR で確認した。また、再分化個体および次世代植物を用いてウエスタン解析を行い、導入遺伝子が機能していることを確認した。

PR107 ENTRY

‘プリンセチア’ (*Euphorbia pulcherrima* x *Euphorbia corollata*) に高頻度で生じる T-DNA 切断メカニズムの解析と種特異性の解明に向けた親系統での形質転換系の確立

Analysis of the T-DNA truncation mechanism frequently occurring in 'Princettia' (*Euphorbia pulcherrima* x *Euphorbia corollata*) and establishment of a transformation system in parental lines to elucidate species specificity

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

¹京都府大・院生命環境, ²サントリーフラワーズ(株)・開発部

アグロバクテリウム法による植物の形質転換において、T-DNA の切断現象は効率的な遺伝子導入の障害となっている。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’ (*Euphorbia pulcherrima* x *Euphorbia corollata*) を対象に、切断発生における逆位反復 (IR) 配列の役割を調査した。これまで 113 bp の IR 配列を含むベクターで形質転換を行った場合にその位置で切断が高頻度で生じることを確認しており、今回の調査では 15 bp 以上の IR 配列を含まないベクターを‘プリンセチア’に導入し切断頻度が減少するか検証した。結果、取得した形質転換体のうち半数近くで切断が確認され、シーケンス解析により切断位置直前に 8-10 bp の IR または直接反復 (DR) 配列が存在する傾向がみられた。これにより、切断は比較的短いリピート配列によっても誘導されることが示唆された。一方、‘プリンセチア’の高頻度切断は花粉親 *E. corollata* に由来する可能性が示唆されていたことから、この切断の種特異性の解明に向け両親系統の形質転換系確立を目指した。花粉親系統ではカルス誘導培地 (CIM) に硝酸銀 (AgNO₃) を 10 または 15 mg l⁻¹ を添加した場合、茎切片からのカルス形成が促進される傾向がみられ、シュート形成も観察された。また、種子親系統ではこれまで CIM での培養期間中に枯死が多く観察されたが、ホルモン条件を TDZ 1.5 mg l⁻¹, IBA 0.1 mg l⁻¹ にすることで減少し、緑色のカルスが維持される傾向がみられた。現在、種子親系統における AgNO₃ のカルス形成およびシュート誘導効果についての調査、および花粉親系統での形質転換を進めておりその結果についても報告する予定である。

PR108 ENTRY

EgAP2 遺伝子ゲノム編集ユーストマ (*Eustoma grandiflorum*) における稔性を維持した八重化形質の評価

Evaluation of Double-Flowered Traits with Fertility Maintenance in *Eustoma grandiflorum* Genome-Edited of *EgAP2* Gene

坂元 栞¹, 新保 由紀子¹, 大沼 紀子², 池田 有理子¹, 矢野 翼³, 大坪 真樹¹, 坂口 公敏², 河西 崇², 寺川 輝彦³, 藤田 和義⁴, 武田 征士¹, 大坪 憲弘¹

¹京府大・院生命環境科学, ²ミヨシ, ³インプラントイノベーションズ, ⁴三好アグリテック

花器官形成に関わるクラス A 遺伝子である AP2 (*APETALA2*) は miR172 による負の制御を受ける。雄ずい及び雌ずいを損なわない八重化にはこの AP2 遺伝子の miR172 結合サイトの変異が関わっている可能性が高いことが、バラやウメなど複数の植物種で示されている。我々はゲノム編集によりこの変異を人為的に導入し、ユーストマの花弁を八重化させる技術の開発を進めている。市販品種‘ボレロホワイト’の種子親系統を材料に、*EgAP2* の miR172 結合部位に変異を導入した系統を作出し、そのうちホモ変異の 7 系統では雄ずいと雌ずいが正常に形成され、かつ花弁数が 3 倍以上に増加することがわかった。さらに、ゲノム編集系統の自殖によりヌルセグリガントの候補が 55 系統得られた。この八重化変異は生殖機能が正常であることから育種母本としての有用性も高く、不稔化しない八重化メカニズムの解明にも繋がると期待される。ゲノム編集個体の花蕾における複数の AP2 ホモログの発現を調査した結果、変異配列が実際に発現していることが確認された。現在、自殖後代の表現型調査と変異配列の解析を行い、この変異がドミナントに機能する可能性について検討を進めている。今後は複数品種の親系統で AP2 変異による八重形質が安定に再現されることを検証し、技術の有効性を実証する予定である。さらに、既存八重品種について AP2 ホモログの変異を調査し、八重育種の対象として扱われてきた八重化の原因遺伝子の特定を目指す。

PR109

デジタル PCR を用いたコムギ種子集団内の挿入及び置換変異型種子の検出効率

Efficiency of detection for insertion or substitution mutants from bulked wheat seeds by digital PCR

神田 恭和¹, 高木 健輔¹, 山地 奈美², 安倍 史高³, 加星 光子¹, 佐藤 和広^{1,2,4}

¹かずさDNA研, ²岡山大・植物研, ³農研機構・生物研, ⁴摂南大・院農

ゲノム編集技術が広範な作物に適用されつつある中で、変異系統の選抜等の場面で特定の多型を高感度に検出する技術が重要となっている。デジタル PCR (dPCR) 法は、PCR 反応系を多数の微小なパーティションに区切って PCR 増幅を行い、増幅が起きた区画数をもとにサンプル中のコピー数を計測する技術である。増幅の有無は PCR テンプレートに結合する蛍光プローブによって判定するため、プローブの設計によっては特定の多型のみを検出できる。本研究では作物の集団を対象とした dPCR 実験・プローブ設計のノウハウを得るために、挿入及び置換型の変異に対する dPCR の検出能力を検討した。

当グループで以前にコムギの穂発芽被害の低減を目指して種子休眠性関連遺伝子 *TaQsd1* _A, B, D に一塩基挿入変異を導入した *taqsd1* 三重変異型コムギ種子を解析対象とした。野生型種子に対して *taqsd1* 種子を 1–0.01% (w/w) 混合した種子粉末を対象に、2 種の蛍光プローブを用いた同時解析ができるナノプレート式 dPCR 装置 QIAcuity One (キアゲン) により全 *TaQsd1* コピー数及び一塩基挿入型 *TaQsd1* コピー数を測定した。測定された一塩基挿入型 *TaQsd1* / 全 *TaQsd1* の比は調製時の混合比と概ね一致し、0.1%混合であっても混合無しと区別 (1%水準) できた。次に、置換型多型を dPCR で区別できるか検討するために、互いに一塩基置換の関係となる変異を有する二つの *taqsd1* 系統を準備した。新たに蛍光プローブを設計して二つの *taqsd1* 系統の混合サンプルを同様に解析した結果、約 0.3% の存在比の特定の置換型多型のみを定量的に検出できた。以上より、dPCR 法によってコムギ種子集団中の特定の挿入・置換変異を高感度に検出できることが示された。

PR110 ENTRY

虫こぶ研究モデル樹木としてのヌルデ (*Rhus chinensis*) 形質転換系の構築

Establishment of a transformation system of *Rhus chinensis* as a research model for insect gall formation

塗木 彩花, 藤井 祐都, 大坪 憲弘

京都府大・院生命環境

虫こぶを形成する寄生昆虫は、寄主植物の形態や生理機構を巧みに制御する能力を有しており、この現象は有用物質の大量生産手法や新たな植物改変技術への応用が期待される。しかし、虫こぶを形成する植物の多くが非モデル生物であり、また限られた時期にしか研究材料が入手できないことから、植物機能の改変を伴う研究はほとんど進んでいない。そこで本研究では、比較的知見が蓄積されているヌルデ (*Rhus chinensis*) を虫こぶ研究のモデル樹木とすることを目的にアグロバクテリウム法による形質転換系の構築を試みた。

CpYGFP を高発現するベクターおよびアグロバクテリウム EHA105 株を用い、形質転換効率を供試数に占める蛍光を示す外植片の割合と定義した。また、蛍光カルスの大きさを 5 段階で評価することで増殖率の比較を行った。前回大会では、カルス誘導培地 (0.2 mg/L BA, 1.0 mg/L 2,4-D) と前培養との組み合わせで最も高い形質転換効率と増殖率を示すことを報告した。今回新たに 2 種類の培地組成と植物の前培養期間 0, 3, 5 日間の組み合わせによる形質転換効率の比較を行った。その結果、葉片における 3 日間の前培養期間と 2.0 mg/L TDZ および 0.5 mg/L IBA の組み合わせにおいて、感染から 8 日目で 98.8%, 50 日目においても 91.9% と高い形質転換効率を示し、増殖率も高いことが確認された。この条件を用いることにより感染から 78 日後と短期間で形質転換シュートが得られ、形質転換体の作出にも成功した。加えて、液体培地で浸潤させた紙上で共存培養を行うことで増殖率が著しく向上することも確認されていることから、これらの条件で最終的に得られた形質転換シュート数の比較結果についても併せて報告する。

PR111 ENTRY

トランスグラフティングにおける台木から穂木への Bt タンパク質の移行

Movement of insecticidal Bt protein in the transgrafted plants

安藤 杏里彩¹, 大久保 一実¹, 牧 久恵², 西内 巧³, 宮原 平¹, 児玉 浩明¹¹千葉大・院園芸, ²女子栄養短大・食物栄養, ³金沢大・疾患モデル総合研究センター

トランスグラフティング（以下 TG）とは、遺伝子組換え植物（GM 植物）と非 GM 植物からなる接ぎ木植物を生産する技術である。TG では GM によるメリットを生かしつつ、食品となるその成果物には導入遺伝子が存在しないため、非遺伝子組換え食品として利用できる可能性がある。TG の具体的な応用例として、害虫抵抗性タンパク質である、*Bacillus thuringiensis* の結晶タンパク質（Bt タンパク質）を発現する GM 台木を利用することで、地中の害虫に対する抵抗性を獲得できる。しかし、Bt タンパク質のような新規発現タンパク質（NEPs）が GM 植物の台木から非 GM 植物の穂木に移行する場合には、食品となる成果物の安全性について検討する必要があると思われる。実際に、Bt 台木を用いた接ぎ木では、ポプラやワタで、Bt タンパク質が接ぎ木接合部を越えて移動することが報告されている。そこで、本研究では形質転換 Bt タバコを用いて、Bt タバコを台木とした TG を行い、Bt タンパク質が穂木の葉と種で検出できるか調べた。その結果、穂木の葉で Bt タンパク質が検出されたが、穂木で作られた種子からは抗 Bt 抗体を用いた免疫沈降産物のプロテオーム解析においても Bt タンパク質は検出されなかった。この結果から、TG では台木に近接する穂木の葉や茎などでは外来遺伝子産物が検出されるが、穂木で得られた種子などの成果物に台木から輸送される外来遺伝子産物量は検出限界以下であると考えられた。

PR112 ENTRY

核ゲノムの標的一塩基置換によるシロイヌナズナ光化学系 II の水分解反応の活性向上

Nuclear Base Editing for Enhancing the Water Oxidation Activity of Photosystem II in *Arabidopsis thaliana*今泉 滉¹, 有村 慎一², 伊福 健太郎¹¹京大・院・農, ²東大・院・農生

近年、持続可能な資源開発に光合成を活用する試みが進んでおり、光合成効率の向上が目指されている。光合成の光エネルギー変換において中心的な役割を担うのが、光化学系 II（PSII）という複合体である。PSII は光エネルギーを用いて、水から電子を引き抜き酸素を生じる「水分解-酸素発生反応」を触媒することで、光合成の心臓部として機能する。

我々は PSII の触媒中心付近における PsbP-D139N 変異によって PSII の水分解反応の活性が大幅に向上することを *in vitro* 再構成系により発見した (Imaizumi et al., *PNAS Nexus*, 2022)。PSII の水分解反応の活性が向上するアミノ酸変異は過去に報告例がなく、極めて稀である。そこで本研究では、当該変異をモデル植物シロイヌナズナに導入し、その影響を植物体内で調べた。

PsbP を欠失すると植物が致死となることや、PAM 配列等の制限があると PsbP-D139N 変異の特異的な導入が難しいことなどから、従来の遺伝子組換え・ゲノム編集技術では目的の変異体の作出が困難であると判断された。そこで、オルガネラゲノムのゲノム編集法として着目される CRISPR-free の標的一塩基置換法（TALECD 法）を核ゲノム用に応用した nTALECD を用い、効率のかつ特異的にシロイヌナズナ PsbP-D139N 変異体の作出に成功した。得られた変異体において、PsbP の蓄積量や PSII を含む各種光合成電子伝達複合体の形成状態は野生型と同様であることが確認された。そのうえで、酸素発生活性の測定やクロロフィル蛍光の測定による表現型解析の結果、当該変異が生理的条件下においても PSII の水分解反応の活性を大幅に向上させることが明らかとなった。

PR113 ENTRY

ブルーベリーの形質転換効率向上に向けた共存培養条件の検討

Optimization of co-cultivation conditions for enhancing *Agrobacterium*-mediated transformation efficiency in blueberry (*Vaccinium* spp.)

藤山 脩真, 大森 真史, 山根 久代, 田尾 龍太郎

京都大・院農学

ブルーベリーは形質転換体の作出例が報告されているが、形質転換効率が低いため、研究進展や育種への応用の障壁となっている。本研究では、アグロバクテリウムとの共存培養条件を再検討し、ブルーベリーの形質転換効率の向上を図った。植物材料には、形質転換の成功例があるハイブッシュブルーベリー品種 'Blue Muffin' (*V. corymbosum*) を用いた。MW 培地の構成成分を除去した条件 (-MW 条件) で共存培養することで GFP 発現率が向上し、-MW 条件が形質転換効率を向上させると考えられた。さらに共存培地の植物ホルモン組成を検討したところ、TDZ および NAA を添加した条件 (T+N 条件) では、TDZ のみを添加した条件と比較して GFP 発現率が向上した。今回検討した 8 条件のうち、-MW (T+N) 条件におけるカサの GFP 発現率が最も高く (4.88%)、この条件が形質転換効率の向上に有効であると考えられた。一方、アグロバクテリウム感染前の外植片の前培養や、植物の免疫応答を抑制する化合物であるテノキシカムの添加が形質転換効率に及ぼす影響を調査したが、形質転換効率の改善には至らなかった。以上の条件検討に加え、形質転換体の作出も試みた。ブルーベリーでは、早期開花系統 (VcFT 過剰発現系統) を台木に用いることで穂木の開花が早まる (Song ら, 2019)。早期開花台木を作出できれば、ブルーベリーの遺伝子機能評価や育種への応用が期待できる。そこで、シロイヌナズナ由来の FT の過剰発現系統の作出を試みた。現在、検討した条件で共存培養することで、形質転換体 2 系統が得られた。今後これらの形質転換系統を鉢上げし、表現型を評価する予定である。

PR114

高効率なナス形質転換法の開発に向けた条件検討

Investigation of conditions for efficient transformation of eggplant

大沼 万里子, 小野寺 瞳, 市川 裕章, 菅野 茂夫, 貴嶋 紗久, 坂本 真吾, 藤原 すみれ, 光田 展隆

産総研・バイオものづくり

ナスは世界各地で広く栽培されており、世界で 5 番目に多く生産されている野菜である。日本でも 1200 年間以上栽培されてきた馴染みのある野菜であり、多くの品種が存在する。しかしながら、同じナス科のトマトと比べると、ナスの形質転換技術を用いた研究報告例は少ない。また、日本国内でナスの形質転換を行うことができる機関も限られている。ナスに関する分子生物学的な研究や分子育種を進めるためにも、より汎用的で高効率な形質転換法の開発が求められている。

そこで我々は、長卵形ナスの代表的品種で、日本で最も市場に出回っている F1 品種の一つである「千両二号」と、日本のナスとして標準的な性質を持っており既に全ゲノムが解読済みの在来固定品種「中生真黒」の 2 つの品種を用いて、アグロバクテリウムを介した形質転換法の条件検討を行った。既存の手法とは異なる植物ホルモン条件の感染培地・選抜培地を作成し、子葉片を感染に用いて DR5pro-GFP の導入を試みた。その結果、千両二号では 60 個の子葉片からシュートを 37 個、中生真黒では 80 個の子葉片から 111 個のシュートを獲得した。また、千両二号では 35 個のシュートから外来遺伝子が導入された形質転換ナスを 15 個、中生真黒では 55 個のシュートから 17 個の形質転換ナスを得ることができた。

これにより、2 つのナス品種で効率よく形質転換体を取得することができる新たな植物ホルモン条件を確立することに成功した。本条件によって複数品種で効率的なナスの形質転換が可能になったことで、ゲノム編集等の技術の適用がより簡便になり、今後さまざまな有用形質を持つナスの作出が進められると期待される。

PR115

高日持ち性ゲノム編集メロンの人工追熟技術の開発と香気成分の分析

Development of artificial ripening methods and metabolic profiling of volatiles in a long shelf-life melon

浦野 薫¹, 佐々木 健太郎¹, 田中 福代², 耳田 直純³, 野中 聡子⁴, 江面 浩^{3,4}, 今井 亮三¹¹農研機構・生物研, ²農研機構・分析研, ³サナテックライフサイエンス(株), ⁴筑波大・生命環境系

ゲノム編集技術は、さまざまな作物に適用され、商業利用を目的とした作物開発が世界中で進められている。本研究では、我々のグループが開発した *in planta* particle bombardment (iPB) 法を難培養性のメロンに適用し、高級マスクメロンの標準系統 アールスメロリット「春系3号」の高効率ゲノム編集技術を確立することを目的とした。iPB法は、茎頂分裂組織にパーティクルガンを用いてゲノム編集酵素を直接導入し、生殖系列細胞を編集することで、外来DNAフリーかつ細胞培養を不要とする新規技術である。本研究では、メロン果実のエチレン合成に関与する ACC Oxidase 遺伝子 (*CmACO1*) を標的とし、227 個の RNP 導入 SAMs から育成した植物体をスクリーニングした結果、3 系統の *cmaco1* 変異体 (E₁ 世代) を得た (取得効率: 1.3%)。 「春系3号」と *cmaco1* 変異体果実を比較したところ、変異体では果実成熟の遅延およびエチレン放出量の著しい低下が確認された。また、収穫後貯蔵した *cmaco1* 変異体果実へ外生エチレンを投与すると、無処理果実と比較して果実硬度の低下や果汁搾汁率の上昇が観察され、追熟が回復することが明らかとなった。さらに、GC/MS による香気成分プロファイリングの結果、メロンの主要香気成分であるエステル類の発生が外生エチレン投与により変異体果実で誘導されることが示された。以上の結果から、iPB法を用いたゲノム編集により高日持ち性メロンの作出が可能であり、人工的な追熟により商品化の実現可能性が示された。

PR116 ENTRY

AtSCPL44 プロモーター制御下の GA2-oxidase 遺伝子の発現は矮化形質のみを誘導する

Expression of the GA2-oxidase gene under the control of *AtSCPL44* promoter induces only dwarf traits藤野 愛花里¹, 中野 優², 大谷 真広²¹新潟大・院自然研, ²新潟大・農

ジベレリン (Gibberellins; GAs) は茎の伸長や花成の誘導など、植物の成長・発達に広く関与する植物ホルモンである。GAs の代謝酵素である GA2-oxidase (GA2ox) は活性型 GAs の不活性化に関与することから、その遺伝子の過剰発現による矮性育種が期待されている。しかしながら、カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) 35S プロモーターのような恒常的プロモーター制御下で GA2ox 遺伝子を発現させた場合、矮化に加えて、葉の縮小や花芽形成の抑制などの影響が生じる。我々は今回、シロイヌナズナ由来 serine carboxypeptidase-like 44 (*AtSCPL44*) プロモーター制御下でトレニア由来 GA2ox (*TfGA2ox2*) を発現させることにより、葉や花の形質に大きな影響を及ぼさずに著しい矮化を誘導できることを見出した。本研究では、このシステムが植物の成長・発達に及ぼす影響を明らかにするため、形質転換タバコにおける詳細な形質調査を行った。

本システムを導入した形質転換タバコを2系統作出し、開花期において形質調査を行った。形質転換体の草丈はベクターコントロールの個体と比較して60%以上減少した。葉はロゼット状となったが、葉数に大きな変化はみられなかった。いずれの系統においても、開花がやや遅延する傾向がみられたが、花蕾を一斉につける特徴があり、第1花開花時の花蕾数は有意に増加した。また、花の形態や種子生産には変化はみられなかった。現在、*AtSCPL44* プロモーターの特性を解明するため、形質転換体における *TfGA2ox2* の発現解析を進めている。

PR117 ENTRY

イチゴアレルギー *Fra a 1.01* のノックアウト個体の解析Knockout of major allergen *Fra a 1.01* in strawberry細見 陽菜¹, 武部 加奈子¹, 河野 勇希¹, 永野 達也², 福本 毅², 西田 敬二³, 石橋 美咲⁴, 小山 竜平¹, 宇野 雄一¹¹神戸大・院農学, ²神戸大・院医学, ³神戸大・先端バイオ工学研究センター, ⁴京都大・院農学

イチゴは、モモやリンゴが属するバラ科の植物であり、シラカバ花粉由来アレルギーと交差反応するタンパク質をもつ。これが原因となり、主に花粉の感作を受けた人が口腔咽頭粘膜で痒み・腫れなどの口腔アレルギー症状（Oral Allergy Syndrome: OAS）を発症する。イチゴアレルギーには、OAS以外にも花粉による農業従事者の喘息、鼻炎、皮膚炎、結膜炎の症状が確認されており（小林ら、1973）、アレルギーの低減化が必要とされている。イチゴの低アレルギー化において、対象となる *Fra a 1.01* 遺伝子が多数のパラログを持つこと、同遺伝子群が欠損した育種素材がないことから、交配育種による改良は困難であると予想できる。そこで本研究では、イチゴ *Fra a 1.01* の低減化を目的として、ゲノム編集により同遺伝子を機能欠損させた変異体を解析した。作出した2系統の果実を用いて、モルモット抗体によるイムノブロットティングを行ったところ、*Fra a 1.01* は検出できないレベルにまで減少していた。ゲノム編集により改変されたタンパク質は30残基以下に欠損しており、エピトープが失われていると考えられた。ヒト検体によるイムノブロットティングを行った結果、コントロールの2系統の *Fra a 1.01* に反応し、*Fra a 1.01* 機能欠損体の2系統には反応しない患者血清が確認された。さらにイチゴ果実から後代の種子を獲得し、外来遺伝子を含まないヌル分離個体を得ており、今後の実用化が期待できると考えられた。

PR118

大規模ゲノム改変ツール Type I-D CRISPR-Cas (TiD) の微細藻類への応用

Application of a large-scale genome modification tool Type I-D CRISPR-Cas (TiD) in microalgae

川口 晃平¹, 後藤 美帆¹, 和田 直樹², 刑部 敬史², 刑部 祐里子¹¹東京科学大・生命理工, ²徳島大院・社会産業理工

微細藻類は大気中の CO₂ を吸収して、バイオ燃料や食品、医薬品等の原料となる有用物質を効率的に生産するポテンシャルをもち、バイオものづくりへの実用化が期待されている。有用物質の生産性向上のために、ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 を用いた微細藻類の機能改変が行われているが、大きなゲノム領域を改変することは、既存の技術では困難であった。近年、新規ゲノム編集ツールとして開発が進んでいる type I CRISPR-Cas は大規模な欠失を誘発する機能があり、我々の研究グループでは、藍藻由来の Type I-D CRISPR-Cas (TiD) システムを独自に開発した。これまでに動物細胞や植物において、TiD はゲノム領域上の標的配列から上流・下流の双方向に 10 kb を超える長鎖欠失を誘導し、標的箇所への大規模ゲノム改変が可能であることが示された。TiD を用いた大規模ゲノム改変技術の基盤構築は進んでいるが、微細藻類への TiD の応用はこれまでに行われていなかった。本研究では、微細藻類のモデル生物クラミドモナスへの TiD 導入および長鎖欠失の検出を行い、微細藻類における TiD の動作性を検証した。まず TiD 導入法について条件検討を行ったところ、エレクトロポレーション法によって簡便に TiD を導入することができた。さらに、いくつかの標的遺伝子上における変異解析の結果、TiD による標的遺伝子の欠損が検出された。以上の結果より、微細藻類でも同様に大規模ゲノム改変ツールとして TiD が活用できることが示された。今後は、多種多様な微細藻類に応用を可能とする TiD 遺伝子改変プラットフォームの構築を目指す。

PR119 ENTRY

シロイヌナズナにおける DNA メチル化編集技術の汎用性向上に向けた取り組み

Developing a DNA Methylation Editing Technology in Arabidopsis

平田 峻也¹, 池田 陽子², 小林 括平³, 西村 泰介⁴, 賀屋 秀隆³

¹愛媛大・連合農学, ²岡山大・学術研究院・先鋭研究領域, ³愛媛大・院農, ⁴長岡技科大・院工

本研究は、CRISPR/Cas9 システムを応用した DNA メチル化編集技術の汎用性向上を目的としている。我々はこれまでに、DNA メチル化酵素 MQ1v を nickase 型 SpCas9 (nSpCas9) に直接融合させた *MQ1v-nSpCas9* と sgRNA をシロイヌナズナにおいて発現させることで、*FWA* プロモーター領域の DNA メチル化に成功している。今回、*FWA* 以外の任意の遺伝子を DNA メチル化編集できるかを調べるため、花成制御において鍵遺伝子として機能している *FT* 遺伝子の *de novo* DNA メチル化を試みた。*FT* 遺伝子の promoter 領域は、遺伝子発現制御に重要な *cis*-element に関する情報が豊富である。*FT* の転写開始点近傍にある *CONSTANS* の結合領域 *CORE1*, *CORE2* 付近に sgRNA を設計し、*MQ1v-nSpCas9* とともに野生型 *Col* において共発現させた。T₂ 世代の植物において、DNA メチル化レベルを解析したところ、標的領域に新たに DNA メチル化が付加されていることを確認した。今後は、*FT* の遺伝子発現や花成時期に変化がみられるか検討する。

PR120 ENTRY

シロイヌナズナにおいて高度に DNA メチル化されている *PAI* 遺伝子の DNA 脱メチル化の試み

DNA demethylation of the hyper methylated *PAI* gene in Arabidopsis by epigenome editing

樫迫 拓海¹, 平田 峻也², 池田 陽子³, 西村 泰介⁴, 小林 括平¹, 賀屋 秀隆¹

¹愛媛大・院農, ²愛媛大・連合農学, ³岡山大・資源研, ⁴長岡技科大・院工

私たちは、CRISPR/Cas9 システムを利用した標的型 DNA 脱メチル化編集技術の開発を進めている。これまでに、human 由来の DNA 脱メチル化酵素 TET1 と nickase-type SpCas9 を直接融合した *TET1-nSpCas9* を用いることで、シロイヌナズナにおける *FWA* promoter 領域の DNA 脱メチル化に成功している。本研究では、この技術の汎用性を検証する。今回は、シロイヌナズナの *PAI* 遺伝子ファミリーに着目した。*PAI* 遺伝子は、トリプトファン生合成に関わる酵素をコードし、*Col* 系統では *PAI1*, *PAI2*, *PAI3* がそれぞれ独立した座位に存在し非メチル化で発現している。一方、*Ws* 系統では *PAI1* と *PAI4* が inverted repeat 構造を形成し、これがトリガーとなって *PAI1-PAI4* すべてが高密度にメチル化され転写抑制されている。そこで、本研究では、*PAI1* プロモーター領域を標的とする sgRNA を設計し、*TET1-nSpCas9* を *Ws* において共発現させた。解析の結果、標的領域におけるメチル化レベルの低下と *PAI1* 遺伝子の発現上昇が確認された。これにより、*TET1-nSpCas9* を用いることでシロイヌナズナにおいて、標的遺伝子の DNA 脱メチル化を目的とするエピゲノム編集技術の適用が可能で有と考えている。

PR121 ENTRY

CRISPR-dCas9 転写活性化システムによる資源作物の高効率再生系の構築

Development of efficient regeneration system for resource crops by transcriptional activation using CRISPR-dCas9

西村 穰¹, 坂口 潤¹, 竹原 美樹¹, 城所 聡¹, 刑部 敬史², 刑部 祐里子¹¹東京科学大院・生命理工, ²徳島大院・社会産業理工

植物のゲノム編集において、組織培養による再生が難しい植物種では、変異体の効率的な作製ができないことが課題となっている。これまで、植物の幹細胞制御に関わる転写因子 *WUSCHEL* (*WUS*) の過剰発現により、再生が難しい植物種において形質転換効率の向上が示されているが、内在性 *WUS* 遺伝子の発現制御を行うことで、より効率的な再生技術が確立できると考えられる。本研究は、再生が難しい植物種において、CRISPR-dCas9 転写活性化システムを用いた *WUS* 遺伝子の高発現による高効率植物再生系の構築を目指した。まず、ソルガム品種 Tx430 の *WUS* (*SbWUS*) を同定し、上流のプロモーター領域に 7 種の gRNA 標的配列 (gRNA1~7) を設計した。次に、シロイヌナズナプロトプラストの一過的発現系を用いて、*SbWUS* プロモーター：*LUC* を標的とする CRISPR-dCas9 転写活性化ツール CRISPR-AMS により、高い *SbWUS* プロモーター転写活性を示す gRNA 標的配列の選抜を行った。その結果、gRNA3 および gRNA4 を用いた条件で高活性が示された。さらに、より高い活性を示す条件として、2 種の gRNA 標的配列を同時に共発現させた結果、個々の活性に依存した相乗的な発現上昇が示された。次に、高活性を示した gRNA3 を用いて構築した dCas9-VP64 ベクターをパーティクルガン法によりソルガムカルスに導入した。その結果、GFP 発現ベクターを導入したコントロールと比較して、シュート原器が発達した緑色カルス数の割合が有意に増加した。以上の結果は、*SbWUS* プロモーターを標的とした dCas9-VP64 ベクターにより *SbWUS* の発現が増大した可能性を示唆している。今後は、CRISPR-AMS システムを用いた植物再生系の構築を進める予定である。

PR122 ENTRY

1℃以下の精度で温度を精密制御した大気圧プラズマを用いた植物葉の表面処理

Surface treatment of plant leaves using atmospheric plasma with precise temperature control accurate within 1K

杉浦 諒¹, 大澤 泰樹¹, 八井田 朱音¹, 柳川 由紀², 沖野 晃俊¹¹東京科学大 未来研, ²千葉大・院園芸

近年、新しい品種改良法としてゲノム編集技術が注目されているが、ゲノム編集酵素の植物細胞への導入は容易ではない。この課題の解決に向け、我々は大気圧低温プラズマを用いた植物表面処理の研究を行っている。熱に弱い植物にも損傷を与えずにプラズマ照射を行うため、プラズマのガス温度を零下から 120℃程度まで制御可能な大気圧温度制御プラズマを世界で初めて開発した。そして、約 20℃に制御したプラズマでタバコ葉などを処理して植物のゲノム編集に成功した。しかし、従来の温度制御プラズマはガス温度が常時測定されておらず、温度ドリフトへの対応が困難であった。また、熱容量の大きい温度制御流体を装置筐体に流して温度を制御していたために温度応答性が低く、1℃の温度上昇に 26 秒を要していた。

そこで本研究では、プラズマガス温度の安定性と応答性を向上させた新しい温度制御プラズマを開発した。この装置では、プラズマのガス温度を光ファイバ温度計で常時測定し、その温度を用いてガス加熱用ヒーターをフィードバック制御する。さらに、筐体内の温度制御流体の温度は一定に保ち、必要に応じてガスをヒーターで 20~300℃に加熱する方法で温度制御応答性の向上を図った。新しい装置の温度安定性を、目標温度とした 20℃に到達後のガス温度の実測値で評価した。その結果、目標温度との偏差は 0.84℃、標準偏差は 0.61℃だった。温度応答性をプラズマ生成直後の 5℃から 20℃までに要した時間で評価した結果、1℃の温度上昇は 4.8 秒となり、従来の装置と比較して約 1/5 の時間に短縮された。発表では、ガスの種類やプラズマ温度を変化させて植物葉を表面処理した結果についても報告する。

PR123 ENTRY

新規作物利用を目指したゼニゴケ栽培技術の開発

Development of liverwort cultivation technology for new crop utilization

北 勇進¹, 梶川 昌孝², 湯浅 正洋³, 水谷 正治¹, 石崎 公庸⁴, 竹村 美保⁵, 宇野 雄一¹, 小山 竜平¹¹神戸大・院農学, ²近畿大・生物理工学, ³神戸大・院人間発達環境学, ⁴神戸大・院理学, ⁵石川県立大・生物資源工学研

ゼニゴケは世界中に広く分布しているタイ類に属するコケ植物である。過去に食用や物質生産など作物利用のための栽培は行われておらず、これはコケ植物のバイオマスの小ささや、独特の臭いやエグ味が適していないためと考えられる。タイ類は様々な二次代謝物を生産することが知られている。ゼニゴケにおいても、一般的な作物は含まないアラキドン酸 (ARA) やエイコサペンタエン酸 (EPA) といった長鎖不飽和脂肪酸 (LCPUFA) や、希少な芳香族化合物が蓄積することが報告されている (Asakawa, 2012, 梶川, 2022)。また研究モデル植物としても、形質転換プロセスが短く、遺伝子組換えの重層化が迅速に実施できる利点もあり、近年技術的な発展が著しい。これらの理由から、CO₂ を原料としたバイオモノづくりのプラットフォームとして、藻類や既存作物を上回る物質生産ポテンシャルを秘めている。さらに機能性野菜として新しいニーズを開拓できる可能性もあり、将来的には食べるワクチンや宇宙食糧生産への発展も期待できる。そこで本研究では、ゼニゴケ産業利用を実現するために必須となる高効率栽培システムの確立を目指した。ゼニゴケの形態は根、茎、葉の区別がなく、主に葉状体と器官が平面的に成長するという特徴がある。また、弱光条件においても旺盛に生育することから、我々はゼニゴケが人工光を利用した多段式栽培に適していると考え、ゼニゴケに特化した気相栽培システムを考案した。完全制御型植物工場の様々な環境要因を任意に設定できる強みを利用し、ゼニゴケの高生産性と有用物質の蓄積増強を実現している。本研究の一部は JST 革新的 GX 技術創出事業 (GteX) : JPMJGX23B0 の支援を受けています。

PR124 ENTRY

バクテリオファージ由来抗菌遺伝子の導入による抗生物質非依存的アグロバクテリウム除菌法の構築

Establishment of an Antibiotic-Free *Agrobacterium* Elimination Method Using Antimicrobial Genes Derived from Bacteriophages諏訪園 悠^{1,2}, 池谷 美香², 菅野 茂夫^{1,2}¹東理大・院創域理工・生命生物, ²産業技術総合研究所・バイオものづくり

アグロバクテリウム法は、多種多様な植物に有効な汎用性の高い形質転換技術として広く利用されている。一方、形質転換過程においてアグロバクテリウムが意図しないタイミングで過剰に増殖すること (過剰増殖) で、目的個体の取得率を著しく低下させる問題がある。この問題への対処法には抗生物質の使用が一般的だが、植物種ごとに使用できる抗生物質は異なるうえ、植物へ悪影響を及ぼすこともあり、最善な方法とは言い難い。本研究では、抗生物質に代わる手段として、バクテリオファージ由来の抗菌遺伝子を用い、抗生物質を使用せずに過剰増殖を抑制することを目的とした。まず、候補となる遺伝子群に対して、アグロバクテリウムにおける誘導発現系を用い、吸光度変化によるスクリーニングを実施した結果、抗菌活性を示す遺伝子を複数同定した。これらの多くは報告のない、もしくは機能未解明な新奇なものであった。次に、同定した抗菌遺伝子の一つを導入したアグロバクテリウムを用いて、トマト子葉片を用いた感染実験を行った。その結果、培地に抗生物質を添加しない条件であっても、感染が成立したトマト子葉片周辺においてアグロバクテリウムの増殖が抑制され、短期間ながら過剰増殖の抑制効果が示唆された。現在、本手法によって抗生物質による植物への悪影響を回避できると見込まれることから、抗生物質を使用しない条件下で実際に形質転換実験を行い、形質転換個体の取得率やカルス形成効率などを指標とした有効性の評価を進めている。

PR125 ENTRY

葉緑体・ミトコンドリアゲノム特異的なランダム変異導入技術と葉緑体ゲノム変異体の単離

Plant-organelle-genome-specific Random Mutagenesis and Isolation of Plastid Genome Mutants

小坂 七海¹, 原田 佳樹¹, 中里 一星¹, 奥野 未来², 伊藤 武彦³, 堤 伸浩¹, 有村 慎一¹¹東京大・院農学生命科学, ²久留米大・医, ³東京科学大・院生命理工

植物オルガネラゲノムは細胞質雄性不稔や除草剤耐性, エネルギー生産など重要な作物形質に関連する遺伝子をコードしており, 育種の有効なターゲットとなりうる。しかし, オルガネラゲノムの表現型と遺伝子型の関係に関する情報は不足しており, どこをゲノム編集で改良すればよいかほとんど分かっていない。そこで本研究は, 農業的・生理学的に興味深い変異体を順遺伝学的に単離することを目指して, オルガネラゲノム特異的なランダム変異導入技術の開発を目的とした。

ランダム変異導入を実現するために, 人工融合タンパク質の発現カセットをシロイヌナズナ Col-0 に導入するという手法をとった。これらのタンパク質は, 葉緑体/ミトコンドリア標的シグナルペプチド, 配列非特異的 DNA 結合タンパク質ドメイン, 二本鎖 DNA に活性を持つシチジンデアミナーゼから構成されている。これにより, 標的されたオルガネラのゲノムにおける不特定な位置への C-to-T 塩基置換導入を狙った。

T₁ 植物の全ゲノム解析の結果, シグナルペプチドが標的とする葉緑体またはミトコンドリアいずれかのゲノムに特異的に, 様々な量の C-to-T 突然変異導入が確認された。T₂ 植物の遺伝子型を解析した結果, 少なくとも葉緑体ゲノムからは, 親が同一であっても個体間で異なる位置からホモ突然変異が検出された。さらに, スクリーニングにより特定の T₃ 集団から抗生物質スペクチノマイシンに耐性を持つ変異体を単離することに成功した。また, 白変した組織を持つ個体に関して葉緑体ゲノムの遺伝子型を調べたところ, RNA ポリメラーゼのサブユニットである *rpoA* に早期終止コドンを持っており, この変異体を単離することにも成功した。

PR126 ENTRY

ホトトギス属植物の花被におけるトランスクリプトーム解析によるアントシアニン生合成制御因子の探索

Exploring regulatory factors of anthocyanin biosynthesis in tepals of *Tricyrtis* sp. by transcriptome analysis

新奥 佑太, 中野 優, 大谷 真広

新潟大・院自然研

ユリ科ホトトギス属植物 (*Tricyrtis* sp.) の花被には, アントシアニン類の蓄積により薄紫色の地色に濃い赤紫色の斑点が無秩序に生じる。これまでの研究から, 地色の形成は光により誘導され, また, R2R3-MYB 遺伝子の 1 つである *TrMYB1* により制御されることが示されている。しかしながら, 光シグナルが *TrMYB1* の発現を制御する経路は明らかになっていない。また, 斑点形成には地色形成とは異なる制御メカニズムが関与していると推測されるが, それについても明らかになっていない。そこで本研究では, *TrMYB1* の光応答性および斑点形成の制御因子の特定を目的として, トランスクリプトーム解析を行った。

はじめに, 遮光条件下および非遮光条件下の外花被の遺伝子発現プロファイルを比較し, 発現変動遺伝子 (DEG) を抽出した。それらのうち, 機能アノテーションにより転写因子と推定されるものを *TrMYB1* の光応答性を制御する候補因子とした。次に, 得られたコンティグに対する網羅的な機能アノテーションにより MYB 転写因子を抽出し, 系統解析を行った。その結果, アントシアニン生合成に関与することが知られるサブグループ 6 に属する新規の R2R3-MYB が見出され, これを斑点形成に関与する候補因子とした。現在, それらの候補因子の遺伝子について, 異なる器官および異なる発達ステージの花被における発現解析を行い, アントシアニン蓄積量との関連を調査している。

PR127 ENTRY

SRscore: 複数のトランスクリプトームデータを横断的にメタ解析して遺伝子のストレス応答性を定量化する R パッケージ

SRscore: an R package for quantifying gene stress responsiveness across multiple transcriptome data using meta-analysis

福田 由介¹, 福島 敦史^{1,2}

¹京都府大・院生命環境, ²理研・情報統合本部

我々はこれまで、シロイヌナズナを対象に 11 種類のストレス条件にわたる公共トランスクリプトームデータを収集し、ストレス応答遺伝子の新たな情報検索プラットフォーム、AtSRGA (*Arabidopsis thaliana* Stress Response Gene Atlas) を開発してきた (<https://huggingface.co/spaces/fusk-kpu/AtSRGA>)。AtSRGA では、メタ解析を通じて異なるトランスクリプトームデータセットにわたる遺伝子発現変動をスコア化し (Stress Response score, SRscore)、その大きさに応じて特定のストレス条件下における遺伝子のストレス応答性を確認することが可能である。作物種への展開を見据え、またその開発を効率的に行うため、再現性の高い解析ワークフローを構築する必要がある。本研究では、トランスクリプトームメタ解析をより効率的に実行するための R パッケージ“SRscore”を開発した。本パッケージでは、メタ解析を以下の 3 つの工程に整理し、それぞれ関数を実装した：①比較ペアの対応付け、②発現変動比 (SRratio) の算出、③SRscore の算出。これにより、ユーザは事前に用意したトランスクリプトームデータセットとメタデータを用いて SRscore を単純かつ柔軟に算出できるようになり、再現性の向上やエラーの削減が期待される。得られたストレス応答性の指標は、他の R/Bioconductor パッケージによる可視化やエンリッチメント解析、テンプレートマッチングを通じたデータ解釈に用いることができ、より生物学的に重要な遺伝子の同定に役立つ。今後は、利用者のニーズに応じて機能を拡張し、より柔軟な解析が行えるような R パッケージへと進化させていく計画である。

PR128 ENTRY

Pestalotiopsis 葉枯病に対するパラゴムノキの耐病性遺伝子を同定するためのゲノムワイド関連解析

Genome-Wide Association Analysis of Resistance to *Pestalotiopsis* Fall Disease in *Hevea brasiliensis*

大滝 武輝¹, Oktavia Fetrina², 栗山 朋子³, 河内 正治^{1,3}, 松井 南^{3,4}, 蒔田 由布子^{1,3}

¹前橋工科大学, ²インドネシアゴム研究所, ³理研CSRS, ⁴横浜市立大学

パラゴムノキ (*Hevea brasiliensis*) は、柔軟性及耐摩耗性に優れた天然ゴムの原料となるラテックスの供給源であり、ラテックスの収量を高めるための様々な育種が進められている。しかし、近年インドネシアでは *Pestalotiopsis* 菌が主たる原因と考えられる葉枯病の急速な拡大による天然ゴムの生産減が問題となっており、パラゴムノキの耐病性を上げることが重要な課題となっている。

本研究では、同一環境下で育成されたパラゴムノキ F1 クローン 4 系統、145 個体の葉に *Pestalotiopsis* 菌を感染させ、7 日後の病斑のサイズを計測した表現型データと、それらの一塩基多型 (SNP) 遺伝子型データを用いて解析を行った。まず、主成分分析を用いてサンプル間の遺伝的な類似度を推定し、遺伝的背景が耐病性に与える影響を明らかにすることを目指した。次に線形混合モデルを用いて、ゲノムワイド関連解析を行い耐病性と関連する遺伝子を推定した。ここでは、擬陽性率を抑えるために主成分分析と Kinship 行列を共変量として組み込んだ。

ゲノムワイド関連解析の結果、いくつかの有意な SNP が発見され、特に第 5 染色体、第 12 染色体において、耐病性と有意なアソシエーションが見られた。

これらの有意と判断された SNP と近傍の SNP の連鎖不平衡の関係から、付近の遺伝子を探索した。その中から、葉枯病の耐病性に関連すると思われる候補遺伝子 20 個を推定した。内、10 個が *Glutathione S-transferase* (GST) であった。植物の GST は病原体と非生物ストレス因子の有害な影響を軽減する可能性があると考えられている。その他 PERK1, PER48, CRK5 遺伝子などの植物の防御応答に関する遺伝子が見られた。今後これらの遺伝子を検証していく予定である。

PR129 ENTRY

イネのトランスクリプトームデータを用いたメタ解析による単一および複数のストレスに
答する遺伝子群の同定

Identification of Rice Genes Responsive to Single and Multiple Stresses through Meta-Analysis of Transcriptome Data

大林 俊太¹, 福田 由介¹, 福島 敦史^{1,2}¹京都府大・院生命環境, ²理研・情報統合本部

植物では単独のストレスだけでなく複数のストレスの組み合わせが複雑な影響を与えることがわかっている。本研究では単一および複数のストレスに対して発現変動する遺伝子群の同定を目的とした。主要作物種であるイネを対象とし、公共データベースから生物ストレスおよび非生物ストレスを含む10種類のストレスに関するトランスクリプトームデータを収集した。これまで蓄積されてきたデータから一貫した傾向を得るために個々の研究を統合し再利用するメタ解析を用いた。異なるデータセットにわたる遺伝子発現変動を *Stress Response score* (SRscore) としてストレス条件ごとに評価し、遺伝子のストレス応答性を調査した。1つ以上のストレス条件下で SRscore の閾値を超える発現変動パターンを示した遺伝子群と各ストレス条件からなる SRscore 行列に対して階層クラスタリングにより20個のクラスタを抽出した。これらクラスタには、単一あるいは複数のストレスに特徴的な発現変動パターンを示す遺伝子群がそれぞれ集まっていた。さらにクラスタに属する遺伝子群を特徴づけるために Gene Ontology (GO) エンリッチメント解析を行なった結果、特定のストレスに特徴的なクラスタにはそのストレスに関連する GO 用語が有意に濃縮された。例えば既知の遺伝子として、低温ストレス応答に関連する *DREB1* (*Dehydration Response Element Binding protein 1*) や高温ストレスの応答に関連する *Hsp90* (*Heat shock protein 90*) は高い SRscore を示していた。今後はストレス条件下における転写因子の挙動を可視化し推測することに加えて異なるプラットフォームへの展開やメタ解析を活かした機能未知遺伝子のさらなる探索を目指す。

PR130

理化学研究所 CSRS における植物バイオテクノロジー研究を支援するメタボローム解析プラットフォーム 2025

Metabolomics platform 2025 supporting plant biotechnology research at RIKEN CSRS

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

理研CSRS

理化学研究所環境資源科学研究センター (CSRS) では、多様な高性能質量分析装置と専門的な解析技術を活用し、植物を中心としたメタボロームおよび植物ホルモン解析の技術支援を行っている (<https://prime.psc.riken.jp/support/index.html>)。対象とする代謝物は一次代謝物、特化代謝物 (二次代謝物)、イオン性化合物、脂質、植物ホルモンなど多様かつ網羅的であり、依頼者は研究目的に応じて複数の質量分析装置の中から最適な機器を選択することが可能な体制を構築している。昨年度、ワイドターゲット解析、脂質解析に特化した装置に加え、イメージング質量分析の機能を備えた装置を含む計3台の質量分析装置を更新し、より高感度かつ詳細に測定が可能になることを見込んでいる。この技術支援は依頼者と分析担当者が密に連携する共同研究であり、実験計画からサンプル調製、データ取得・解析、結果の共有まで協力することが重要である。特にサンプル調製は解析の精度や再現性に大きく影響を与えるため、担当者はサンプリングから発送までの適切な手順の遂行を依頼者に強く求めている。しかし、サンプル調製の不備により解析結果に支障をきたす事例も見られたため、サンプル調製に関する専用ウェブサイト (<https://masspec-phytohormone.riken.jp/sample/>) を設置し、受入可能なサンプルの条件や調製手順をフローチャート形式で分かりやすく案内しており、依頼者に適切な準備を依頼している。本発表では、メタボローム解析に特に着目して技術支援体制について具体的に紹介するとともに、サンプル調製の適切な管理を目的に作成した専用ウェブサイトの内容も詳細に説明する。

PR131

植物ホルモンの高感度・ハイスループット分析定量プラットフォーム

Comprehensive and high-throughput phytohormone quantification analysis

小嶋 美紀子¹, 竹林 裕美子¹, 榊原 均^{1,2}

¹理研CSRS, ²名古屋大・院生命農学

網羅的植物ホルモン解析技術は、包括的なホルモン代謝動態を理解し、複数のホルモン間での相互作用、相互制御に関する情報を得る為に非常に有用である。また、この技術を活用することにより、新たな制御機構や代謝経路を同定するための手がかりを得ることが可能である。私たちは、高速液体クロマトグラフィー・質量分析システムを使った、サイトカイニン、オーキシシン、アブシジン酸、ジベレリン、ジャスモン酸、サリチル酸、ブラシノステロイド、エチレンの活性分子又は前駆体、縮合体等、合計 49 分子種をひとつの植物試料（新鮮重量 10 mg~100 mg）から定量する方法を確立し、数多くの研究技術支援を行ってきた。このほど Rappsilber et al., 2003, Antoniadis et al., 2015 を参考にこれまで対応が難しかった微量（0.5 mg~5 mg）のサンプルについて、抽出・精製方法の検討・最適化を行い、微小サンプルからの網羅的分析定量データの取得が可能となった。このことにより、微量しか得ることができないサンプルの採取にかかる時間、労力が軽減されることから、取得可能なデータの範囲が拡大し、効率的なデータ取得が可能となると考えられる。また、この方法を、96 ウェルプレートでのハイスループット化を目指して取り組んでいる。今後、様々なサンプルに対応したシステムへ進化させることで、活用の幅を広げていきたい。本発表では、我々の解析技術の概要について紹介する。

PR132

ホルボール・エステル化合物群のバイオ燃料植物ジャトロファにおける蓄積変動

Accumulation pattern of phorbol esters in a biofuel crop *Jatropha curcas*

山崎 友渡¹, 横野 瑞希², 北原 匠³, 只野 翔太⁴, 明石 欣也^{1,3,4}

¹鳥取大院・持続性, ²鳥取大・技術部, ³鳥取大・農, ⁴鳥取大院・連農

【目的】 バイオ燃料植物ジャトロファはトウダイグサ科の多年生木本植物であり、乾燥耐性を示し種子に高濃度で油脂を蓄積する。ジャトロファに蓄積するホルボール・エステル群（PEs）はジテルペンの 1 種であり、カスベン合成酵素を初発酵素として一連のエステル化合物群が生成されるが、これらの蓄積挙動については不明な点が多い。そこで本研究では、PEs 分子種の蓄積様式について情報を収集した。

【方法・結果】 ジャトロファ成熟種子の粉末をメタノールで抽出し、LC/MS を用いホルボール環を有する化合物を MRM モードで検出したところ、7 つの PEs 分子種（J1-J7）が検出され、その組成比は過去の研究報告と概ね類似していた。その蓄積パターンを登熟過程のジャトロファ未熟種子と比較したところ、PEs 群の蓄積濃度は未熟種子の方が成熟種子よりも高く、PEs 蓄積が登熟期の早い段階で誘導蓄積される可能性が示唆された。PEs の 7 分子種は茎葉組織においても見いだされたが、未熟葉で蓄積量が総じて高く、茎で低い傾向が観察された。茎葉における PEs 蓄積は乾燥ストレスにより増大し、強光条件下では減少することが示された。PEs 分子種の存在比率はある種の条件で大きく変化し、明条件および暗所発芽下の子葉で特異的に蓄積上昇する分子種や、光合成組織で増大する分子種などが見いだされた。これらの結果から、PEs 代謝が環境刺激に応答し、光形態形成などの制御を受ける可能性が考えられた。

PR133 ENTRY

モザンビークにおける乾燥耐性型バイオ燃料植物ジャトロファの開花特性

Flowering Characteristics of the Drought-Tolerant Biofuel Plant *Jatropha curcas* in Mozambique

河合 弘太¹, Jose Aiuba², 佐藤 峻^{2,3}, Yogendra Kumar Tripathi³, 合田 真³, 明石 欣也¹

¹鳥取大院・連農, ²Agro-negócio para o Desenvolvimento de Moçambique, ³日本植物燃料

【目的・方法】ジャトロファは乾燥地に適したバイオ燃料作物として期待されるが、安定な種子生産にあたり開花に関する基礎知見が乏しく課題となっている。本研究では開花特性の把握を目的として、モザンビーク共和国ナンブラ州の圃場にて109系統の1年木を対象に雨期開始直後の11月中旬から花序構造の画像を取得し、主花軸からの分岐様式を記録し分類した。さらに選抜した12系統について、花序における第1花の開花から最終花の枯死までの連続画像を取得し時系列を追跡した。加えて、草丈や樹冠幅、基部周囲長等の植物成長データおよび気象データとの関係性を評価した。

【結果】ジャトロファは1花序に雄花と雌花を形成し、雌花は主花軸の先端や主花軸から分岐した側花軸の先端に、雄花は側花軸から分岐した二次花軸または三次花軸に配置する傾向があった。主花軸の最下部における側花軸の分岐構造は3型に分類され、2分岐型が90%以上と最も一般的であった。時系列解析を行った12系統における1花序当たりの総花数は平均で69.5個であり、このうち雌花の割合は1.2%から11.5%と多様であった。また雄花の開花期間は平均で1.2日と短命なのに対し、雌花は4.3日と長命であった。開花パターンの系統間差異は大きく、例えば系統16では開花初期に側花軸または二次花軸の先端に雄花が優先的に開花し、その3-5日後に雌花が主花軸や側花軸の先端に出現し、続いて各側枝で多数の雄花が開花する時系列的な開花パターンが観察された。一方、系統12では雌花が主花軸と側花軸に加え二次花軸の先端にも出現した。これらの開花パターンを担う分子遺伝学的要因について興味もたれる。

PR134

2025年度の理研BRCにおける植物培養細胞リソースの収集・提供・品質管理

FY2025 Activities for the Collection, Distribution, and Quality Control of Plant Cell Resources at RIKEN BRC

小林 俊弘, 菅原 真由美, 部 有里, 香西 麻美子, 阿相 幸恵, 井内 敦子, 齊藤 裕子, 川勝 泰二

理研・BRC

理研バイオリソース研究センター(BRC)実験植物開発室はナショナルバイオリソースプロジェクト「シロイヌナズナ／植物培養細胞・遺伝子」の中核機関として、植物バイオリソースの収集、維持及び提供事業を行っている。植物培養細胞は主要な植物バイオリソースの一つであり、細胞生物学的解析のモデル実験系として広く利用されてきた。現在、実験植物開発室では43植物種99細胞株を保有しており、そのうち89細胞株を公開している。その中には、タバコBY-2を始め、シロイヌナズナやイネなどモデル植物の細胞株や二次代謝産物を産生する物質生産株が含まれており、さらに最近では蛍光タンパク質を導入した細胞株や遺伝子組換え技術により二次代謝を改変した細胞株が加わっている。これらの細胞株の特性情報をカタログデータベース「Exp-Plant Catalog」で公開するとともに、培養方法に関するオンラインマニュアルを整備して利用者へ提供している。BRCの重要な任務の一つはバイオリソースの品質管理である。形態では互いに判別しにくい細胞株があり、取り違えが懸念される。植物種を同定可能なDNAバーコーディング技術と同一植物種の細胞株を判別するDNAマーカーを組み合わせることにより、ほとんどの細胞株を遺伝型で判別することが可能となった。判別できない場合でも、担当者を変えるなどの運用上の工夫により取り違えを未然に防いでいる。細胞株の由来を確認するとともに、品質の保証された植物培養細胞リソースを提供している。

あ		飯嶋 益巳	2Aa9	石原 克之	PR71	内海稚佳子	3RaS4
		飯島 陽子	2Aa4	石水 毅	PR100	内海 好規	3RaS4
相沢 智康	PA3	飯田 恵子	1Ca1	磯部 知里	PA23	宇野 雄一	PR103
逢沢 峰昭	PR92	飯田 博一	2Ca8	井田 美帆	PA30		PR117
相澤 康則	3RaS1	井内 敦子	PR134	板垣実菜子	PA52		PR123
相原 悠介	1RaS2	家田 愛菜	PR86	板倉 愛	1Ba2	宇部 尚樹	PA6
	1Ba11	五十嵐圭介	PR94	市岡 桜	PR97	梅澤 俊明	2Ca11
阿江 祐迪	1Ca3	五十嵐由依	PR99	市川 公康	PA14		PA27
青木 達大	2Da12	井川 智子	1Ca9	市川晋太郎	2RpJ6		PR101
青木真希子	2Ca5		2Ca9	市川 裕章	PR114		PR102
青木 裕一	PA39	生田 朋	2Da4	市川 莉菜	1Aa5	梅基 直行	PA40
青柳まりか	2Aa13	井窪 勇気	2Da9	市野 琢爾	PA15	浦野 薫	PR115
赤坂 美穂	PA3	池谷 美香	PR124		PA31		
明石 欣也	PR132	池崎 由佳	PA24	市橋 泰範	2Aa13	え	
	PR133	池田 秀也	2RaS3	一色 桂吾	PA35		
明石 智義	2Aa1	池田 美穂	PA61	伊藤 馨	PA28	江口 壽彦	2Da12
赤沼 花恋	PA33		PR99	伊藤 潔人	2RaS5	江島 早紀	PR83
秋田 求	PR93	池田有理子	PR108	伊藤 皓矢	PR107	江面 浩	PR72
秋山 樹菜	1Da2	池田 陽子	1Da2	伊藤 武彦	PR125	江副 晃洋	3RaS4
秋山 遼太	PA33		PR119	伊東 昌章	PA3	江田 樹那	1Aa2
	PA34		PR120	伊東万里奈	PA25	江面 浩	2Da13
	PA40	池辺 彩乃	2Ba11	伊藤 幸博	1Da11		PA5
アキリ 亘	PR105	池山 倅	PA40		PA46		PR115
阿久津光紹	1Da5	伊佐早総司	2Ca8		PA52	遠藤 明仁	2Aa9
	PA53	伊澤かな	PR82	乾 貴幸	1Da1	遠藤 海斗	1Aa2
浅川 義範	PA36	井澤 大輔	PA39	乾 弥生	PR99	遠藤 春香	1Da5
浅田 隆之	PR103	石井輪之介	PR79	猪野名津美	2Ba4	遠藤 真咲	1Ca5
浅見 忠男	PR68	石賀 康博	PA67	井上 太喜	PR68		PR104
蘆田 弘樹	1Da7	石川 寿樹	1Aa4	井上 珠緒	PA36		
東 哲司	1Ca11		1Aa5	井上 陽菜	2Aa9	お	
阿相 幸恵	PR134		1Aa6	井上 侑哉	PA13		
安孫子裕樹	1Aa11		1Aa7	井原 雄太	PR130	及川 和聡	PA66
阿部 潤	PA3		1Aa8	伊福健太郎	PR112	大岡 久子	PR91
安倍 史高	PR109		1Ca10	今井 俊輔	2Aa10	大久保一実	PR111
新井 達也	PA3		2Da7	今井 博之	PA57	大澤 泰樹	PR122
荒井 野杏	PR98		2Da8		PR80	大関 澄花	PA61
新井 亮一	PA28		PA1	今井 亮三	PR105	太田 哲	2Aa3
荒河 琴音	2Ba10		PA2		PR115	太田翔一朗	2Ca4
荒木 康佑	PR88		PA51	今泉 滉	PR112	太田 大策	PA48
有泉 亨	PA5		PA54	今泉 璃城	PA39		PA49
有賀 裕剛	1Ba8		PA57	伊村 智	PR79	太田 稔基	PA67
	1Ba10		PA63	岩井 一真	PA64	太田 智絵	PR88
	PR73	石崎 公庸	1Ba11		PA65		PR96
	PR82		1Da3	岩井 雅子	1Da4		PR97
有村 慎一	1Ca6		2Aa3	岩瀬 哲	2Ba6	太田 智弥	1Aa11
	PR112		2Ca10	岩田 雄二	2Da4	太田 啓之	1Da4
	PR125		PA4		PA58	大滝 武輝	PR128
アンカウィジャヤ	3RaS5		PA36	岩本耕太郎	PA59	大谷 真彦	1RaS1
アルティックエリザ			PA37			大谷 真広	PR79
安藤杏里彩	PR111		PA47				PR116
			PR123	う			PR126
		石田 順子	2Ba7	上籠 美希	PA2	大田原有咲	PA46
		石田 喬志	1Ca8	上村 隼生	PR80	大塚 京平	PA3
イ ジュン	PA50	石谷 学	3RaS4	内田 開	2Aa1	大槻 並枝	PA4
飯尾 淳弘	2Ca7	石橋 美咲	PR117	内山 佳織	1Ba8	大坪 憲弘	PR107

	PR108	小田原真樹	1Ca7	河合 顕真	PA62	北原 匠	PR132
	PR110		PR106	河合 弘太	PR133	北村実紗子	PA9
大坪 真樹	PR107	鬼丸 洸	1Da8	川合 真紀	1Aa4	城所 聡	1Ca2
	PR108	小埜栄一郎	PA27		1Aa5		1Ca4
大西 利幸	1RaS5		PR92		1Aa6		PR121
	2Aa6	小野 公代	PR104		1Aa7	木下 俊則	2Ba7
	2Aa7	小野 道之	PR104		1Aa8	木村 渚	2Aa3
	2Ba10	小野寺 瞳	PR114		1Ca10	木村 ゆり	2Aa2
大沼 紀子	PR108	小野寺 唯	1RaS1		2Da7	清野 宏	2Ca1
大沼万里子	PR114	小原 一朗	PA31		2Da8	金 陽喜	PA42
大野 春香	1RaS1	尾本 汐音	PR97		PA1		
大橋 そら	1Aa8				PA2		
大濱 直彦	PA4				PA51		
大林 俊太	PR129				PA54	グエン ヴァン	3RaS5
大林 龍胆	1Da7	河西 俊介	PA26		PA63	日下 文聡	2Ca5
大張 衿奈	PA15	河西 崇	PA23	川出 洋	PA13	草野 都	PR69
大森 真史	PR113		PR108	河内 正治	PR128	串田 篤彦	PA33
岡 夏実	PR78	風間 裕介	PR99	川勝 泰二	PR134		PA34
岡崎久美子	1Da4	梶浦 裕之	1Da9	川上 哲也	PA13	楠見 淳子	PA24
岡澤 敦司	PA10	梶川 昌孝	1Da3	川上 寛子	PA11	轡田 圭又	PR69
	PA19		PR123		PA30	工藤 栄	PR79
	PA48	檜迫 拓海	PR120		PA64	工藤 洋	1Ba11
	PA49	梶野 拓磨	1Ba8		PA65		PR99
岡田 憲典	PR68	梶野 理桜	PA47	河岸 洋和	PA59	國枝 正	2Ba7
岡田 和馬	PR68	片山 瑛斗	2Ca13	川口 晃平	1Ca3	久野 真暉	2Ba9
小賀田拓也	PA55	加藤 晃	1Ba1		PR118	久保 浩義	2Aa3
岡本 啓佑	PR68		1Da8	川口正代司	2Aa11	窪井 健斗	PA14
岡本 有平	PA9		2Ba1		PA66		PR101
岡本 有加	2Ca5		2Ba2	川口 諒太	PA41		PR102
小川 拓水	PA10		2Ca13	河下美都里	PA64	熊木 康裕	PA3
	PA48		2Da5		PA65	熊田小有里	PA36
	PA49		2Da6	川田 泰生	PR91	久米 慧嗣	2RaS2
小木曾こはる	2Aa6	加藤 創大	PA29	河野 徳昭	1Da1	久米田博之	PA3
荻田信二郎	PR95	加藤 空来	PA28	河村 彩子	2Ba6	久家 徳之	2Da13
沖野 晃俊	PR122	加藤 壮英	1Ba1	河村 健太	PR89	倉知 菜月	PA6
奥井 楓人	2Aa13	加藤 康夫	2Aa3		PR90	栗川穂乃花	PR69
奥野 未来	PR125		2Aa5	川本 健太	PR71	栗木 淳寛	2Da12
奥村 賢直	2Ca9		PA6	川本 祥子	2Da13	栗田 朋和	1Da4
小掠 由樹	2Aa6	加藤 悠一	1Da7	韓 俊文	PA22	栗山 朋子	PR128
刑部 敬史	1Ca2		PA6	神田 恭和	PR109	来須 孝光	2Aa12
	1Ca3	加藤 勇稀	PA8			クレット タマラ	PA14
	1Ca4	門屋 茜	1Aa6			黒川 圭太	2Ba4
	PA31	金澤 宏哉	1Ca10			黒田 昌治	2Ca1
	PR102	加星 光子	PR109	木上 棕介	2Da4		2Ca2
	PR118	釜阪 紘平	1Da7	菊池 要	PA50	黒谷 賢一	2Ba8
	PR121	釜田 陽光	PA14	菊地ひめか	PA32		
刑部祐里子	1Ca2	上之郷玉星	PA65	貴嶋 紗久	PR114		
	1Ca3	賀屋 秀隆	1Da2	木塚 康彦	PR100		
	1Ca4		2Ba8	喜田 健月	2Ba2	解良 康太	2Aa9
	PR102		2Ca1	北 勇進	PR123		
	PR118		2Ca2	北島あすみ	PR87		
	PR121		PA62	北島佐紀人	PA20		
尾崎 桃子	2Aa7		PR119		PA21	小泉 望	2Da4
小園 大成	PA67		PR120	北出 祥大	2Da5		PA58
小田島 雅	2RpJ3	粥川 颯人	1Da11	北野 花梨	PA16	小泉 裕子	1Da7

か

き

く

け

こ

小泉美希子	PR69		2Ca9		PR114	志茂 里菜	PR107
小坂 青空	PA24	小山 珠実	1Ba10	坂本 茉優	PR100	下川 卓志	2RpJ3
香西麻美子	PR134	小山 知嗣	2Ba7	櫻井 香乃	PR77	下川 響	2Da12
合田 真	PR133	小山 竜平	1Da3	櫻庭 康仁	PA4	下嶋 美恵	1Da4
河野 勇希	PR117		PR103		PR74	下田 蒼	1Da11
肥塚 崇男	2Aa3		PR117	佐々木香織	PA30		PA46
	2Aa4		PR123	佐々木佳菜子	PA31		PA52
	2Aa6	今 辰哉	PA64	佐々木健太郎	PR115	下村講一郎	PA31
	PA19		PA65	佐々木亮介	PR130	謝 肖男	PA59
	PA20	近藤 昭彦	1Da7	笹山 大輔	1Ca11	白川 一	1RaS3
	PA21	近藤 果歩	2Ba4	佐瀬 英俊	PA62	白木夕姫乃	1Aa4
古閑 一憲	2Ca9	近藤 京子	1Ca4	佐竹 暁子	PA24	新奥 佑太	PR126
小岸 玲子	PR107	近藤 陽一	2Ca8	佐藤 一裕	PA49	進藤沙弥香	PR107
小久保祥子	2Da1				PR109	新保由紀子	PR107
	2Da2	さ		佐藤 浩平	2Aa6		PR108
小坂 七海	PR125			佐藤 修正	2Ba1	新屋 和花	PA22
小島 英	1Da1	雑賀 啓明	1Ca5		2Ba2		
小嶋美紀子	PA61		PR104	佐藤 峻	PR133	す	
	PR130	西條 雄介	PR83	佐藤誠一郎	PA39		
	PR131	斎藤安希子	PR103	佐藤壮一郎	2Ca3	菅野 茂夫	PR114
小島 優希	2Ba3	斉藤 和季	PA27	佐藤 長緒	1Aa2		PR124
小関 雄太	PA26	齋藤 貴子	2Da1		PR83	菅原真由美	PR134
児玉 浩明	PR111		2Da2	佐藤 春菜	2Da12	杉浦 諒	PR122
児玉 豊	1Aa7	斉藤 拓也	PA24	佐藤 心郎	PR130	杉阪 次郎	1Ba11
	1Aa8	齊藤 千優	PA21	佐藤 良介	PA56	杉崎 歩美	PR83
	PA1	齊藤 裕子	PR134	眞木 美帆	1Aa2	杉村 菜那	PR74
後藤 佳音	PA19	佐伯 結衣	PA35		PR83	杉本 慶子	2Ba6
後藤 空吾	1Ca2	境 あかね	PA18	澤崎 達也	2Ca1	杉本 貢一	2Aa4
五嶋 俊弘	PR105	酒井 友希	2Ca10		2Ca2		2Da13
後藤 美帆	PR118	榊原 圭子	PA27		2Ca6	杉本 七海	2Aa9
小長谷賢一	PA56	榊原 章太	1Ca10		PA45	杉本 愛華	PR99
木庭 優佳	PR96	榊原 均	PA61	澤崎 佑太	PA45	杉本 幸裕	2Ba9
小林 括平	1Da2		PR131				PA34
	2Ba8	坂口 公敏	PA23	し		杉山 暁史	PA14
	PR119		PR108				PA22
	PR120	坂口 潤	PR121	塩田 肇	2Ba4		PA24
小林 壮生	PR99	坂口 浩朗	PA1	塩塚 直輝	1Aa10		PA31
小林 哲也	2Aa12		PA2	塩山晋太郎	2Aa10	杉山 龍介	PA32
小林 俊弘	PR134	坂口 祐美	PA39	四方 怜人	2Ca2	杉山 龍介	PA16
小林 誠	PR69	坂田 洋一	1Ba8	土反 伸和	PA15		PA26
	PR130		1Ba9	薮 有里	PR134	須澤 尚太	PA33
小林 優	2Ca11		1Ba10	篠崎 大樹	PA4		PA34
小林 美咲	PA5		PR70	渋谷 健市	2Ca6	須澤 諒	PA23
	PR78		PR73	島田 旭	PA30	鈴木 賢一	PR107
小林 悠華	2Aa3		PR75	島田 貴士	PA8	鈴木 史朗	PA19
小林 祐介	PA47		PR76	嶋田 千香	PA61		PR100
小牧伸一郎	PA42		PR82	島田 浩章	PR71	鈴木 聖治	PR100
	PR86		PR84	島谷 善平	1Ca4	鈴木 泰輝	PA12
小牧 龍波	2Aa7		PR85	島谷 真奈	1Da2	鈴木 孝征	1Ba9
小松かつ子	1Da1		PR87	清水 華子	1Ba11		PR76
小峰 正史	PA11	坂本 敦	1Da4	清水 晴志	PR96	鈴木 斗音	PR72
小美野絢子	PR89	坂元 栞	PR108	清水 文一	2Aa3	鈴木 伸洋	1Ba7
	PR90	坂本 真吾	2Da7	清水 悠裕	2Da7	鈴木 洋弥	1Ba2
米田 健一	1Da1		2Da8		2Da8	鈴木 ふみ	PA23
小山 翔平	1Ca9		2Da9	清水 瞭太	1Da11	鈴木 優志	1Ba4

鈴木 義人	PR104		PR77	田中 啓介	PR73	寺野 真季	PR102
鈴木 涼太	PA62	高橋 望花	PA61	田中 謙也	1Da7	手呂内伸之	1Ba4
須田 颯太	PA63	高橋 亮	2RpJ3	田中 幸子	PA66		
角南 楓也	2Ba1	高原 美規	PR91	田中 大智	1Aa1	と	
住吉美奈子	PR72	高松 編花	PA26	田中 豊彦	2Ca5		
諏訪 大智	1Aa3	高松 恭子	2RpJ7	田中 豊浩	2Ba3	土井 巖	PR89
諏訪園 悠	PR124	高見 明秀	1Da4	田中 宏幸	2Da12	峠 隆之	1Aa9
		高見 朋花	PR88	田中 福代	PR115		PA42
せ		高山真理子	PR72	田中 真帆	3RaS4		PR86
		高山 宥美	1Aa11	七夕 高也	PR69	東田 英毅	1Da8
關 光	3RaS3	瀧 啓一郎	PA25	谷口 亨	PA56	土岐 精一	1Ca1
	PA8	滝川 浩郷	2Ba9		PR92		PR104
	PA9	田口 悟朗	PA25	谷口 雅彦	PA22	時水 洋和	PA57
関 原明	3RaS4		PA28	谷口 有希	PA59	徳永 毅	2Ca11
	2Ba7		PA29	谷島 響平	2Ba11	徳永 浩樹	3RaS4
	PR78	武井 良郎	3RaS4	谷野 圭持	PA33	戸澤 譲	PA39
関口 裕太	PA16	竹内 純	2Aa6		PA34	戸田 陽己	PR100
関本 奏子	1RaS6		2Ba10	田渕 良菜	PR103	戸高 大輔	3RaS4
瀬戸 義哉	1RaS1	竹田 恵美	1Aa3	多部田弘光	PA44		PR78
	PA12		1Ba5	玉木 健太	PR85	轟 泰司	2Aa6
		武田 真	PA62	田村 啓太	2Aa8		2Ba10
そ		武田 征士	PR108		PA9	飛松 裕基	2Ca11
		武田 智之	3RaS4	田村 泰造	1Da8		PA14
相馬 孝亮	2Aa9	竹中 理莉	1Da8		2Da5		PA27
征矢野 敬	2Aa11	竹林裕美子	PA61		2Da6		PR101
			PR130	田村 隆幸	1Da1		PR102
			PR131	田村 美子	1Ca6	戸部 隆太	1Da11
		竹原 美樹	PR121	爲重 才覚	2RaS4		PA46
		武部加奈子	PR117	樽本 和希	PA48		PA52
田井 彩乃	2Ca3	竹村 美保	1Da3		PA49	富田 武志	1Da1
田尾龍太郎	PR113		PR123	ち		富安 美玖	2Da1
高江洲広司	PA27		1Da10			友松 康一	PR107
高木 健輔	1Aa2	竹本 浩	PA15			豊永 宏美	2Ba7
高木 純平	PR83	田崎 啓介	1Ba8	崔 宰熏	PA59	鳥井孝太郎	2Ba6
	2Ba7	太治 輝昭	1Ba9	千葉 啓和	2Aa8		
高木 優	1Aa11		1Ba10	千葉 陽一	PR84	な	
高品 善	PA56		PR70	長楽 佳奈	1Ca4		
高田 直樹	2Aa3		PR73			中 雄輝	PR93
高梨功次郎	PA19		PR75			永川 雄大	2Ca8
	PA21		PR76			中里 一星	1Ca6
	PA31		PR82	月岡 淳子	PR88		PR125
	PA35		PR84		PR96	中澤 慶久	PA60
	PA36		PR85		PR97	中嶋 紗那	PA62
	PA38		PR87	都筑 恵	PA12	中嶋 正敏	2Ba9
高野 耕司	PR130	多田 史人	1Aa11	堤 伸浩	1Ca6		PR68
高野 俊幸	PA27	多田 雄一	1Ba2		PR125	中島萌美路	2Da3
高野日向子	2Ba9	只野 翔太	PR132	都藤 藍	2Ca8	長島由布子	1Ba10
高野 祐希	PA31	橘 美紗希	2Aa3			永田 俊文	PR105
高橋 郁夫	PR68		PA36	て		中田 了五	PR89
高橋 宏二	2Ba7	巽 奏	PA27				PR90
高橋 聡史	3RaS4		PA31	手島 大希	PR74	永友 陽	PA34
高橋 征司	PA39		PR102	手嶋 琢	PA15	中西 浩平	PA31
高橋 直紀	PR98	田鶴 葵	PA60	出村 拓	2Ba7	永野 惇	PA24
高橋 宏之	L-1	田中 一朗	2Ba4	寺川 輝彦	PR108		PA62
高橋 史憲	2Ba3	田中 克治	PA28	寺迫 鷹	2Ca3	中野 伸一	PR103

永野聡一郎	PA56	ね	2RpJ3 PA15	ひ	2RpJ1 2Aa1 2Ba6 PA44 PR130 PA15 2Aa10 PA62 PA62 PR119 PR120 PA45 PR73 2Ba11 1Aa11 PA39 1Da5 PA53	藤原 徹	2Ca11						
永野 達也	PR117					船田 良	PR89						
長野 玄知	PR68					根本圭一郎	平井 優美	古川 一実	PR91				
中野 優	PR79									2Ca1 2Ca2 2Ca6 PA45 PR103 1Ba9 1Ba8 2Ba8 PA13 2Ca4 PR115 2Ba7 2Aa3 2Aa5 PA6	古川 成雪	2Ba8	
	PR116	の	古田 忠臣	1Ca2									
	PR126				野澤 彰								古舘 拓来
半 智史	PR89					平尾 稔貴	PA15	へ					
	PR90								平岡 信之	2Aa10			
中橋 理佳	2Ca1	平沢 巽	PA62										
長峯 邦明	2Aa13			平田 峻也	PA62								
中村 幸誠	PA36					PR119	別所 歩武	2Ba7					
	PA37								PR120				
	PA47	平野 咲良	PA45										
中村 誠宏	PR88			平野 貴大	PR73								
	PR96					坊農 秀雅	2Aa8 PA9						
	PR97							星 比呂志	PR92				
中村 友輝	3RaS5	野中 聡子	2Ca4							PR115			
中村 涼	PA60			廣瀬 友香	1Aa11								
中山 亨	PA39					廣森 美樹	PA39						
柳楽 洋三	1Ca4							日渡 祐二	1Da5				
那須 詩織	PA47	PA53	細井 昂人							1Ba9 PR76			
七里 吉彦	PA56			細井 昂人	PR84								
	PR92					細見 陽菜	PR117						
鳴海 貴子	2Ca5							細見 亮太	1Aa10				
に		は	深城 英弘							1Ba11			
				橋本 佳世	PA66								
						橋本 千明	2Ca5						
								蓮沼 誠久	1Da7				
西内 巧	PR111	長谷 純宏	1Ba8										
				西尾 拓真	1Da8					長谷川光希	1Aa11		
						西尾 勇人	2Ca1					福島 健児	PA24
								西口 真嗣	PR103				
西澤 具子	PR69	PA49	ま										
				西田 敬二	PR103					羽鳥 友稀	PA29		
						PR117	花田 耕介					PR75	PR127
								西原 昌宏	2RpJ3				
PA15	濱田 晴康	1Ca4	PR117										
				西村 浩二	1Ba10					早川 敏弘	2Ba5		
						西村 穰	PR121					林 誠	2Aa13
								西村 泰介	PA62				
PA67	原 光二郎	PA11	2Da7										
				PR81	原 奈穂					1Ca5	2Da8		
						PR119	原 正和					2Ba5	PA52
								PR120	原 みなみ				
西村 悠希	PA9	PR97	1Aa10										
				西山康太郎	1RaS1					PA38	PA55		
						PA12	2Aa13					PR116	PR87
								西山 由美	PA15				
仁田坂英二	PR104	PR125	1Aa7										
				番匠 玲月	2Ca4					PA2	2RrJ2		
						半田 賢斗	2Ca8					藤山 和仁	2Ba11
								板東由希子	2Ba4				
沼田 圭司	1Ca7	番場 康介	PR73										
				PR106	PA53					2Ca3	PA45		
						塗木 彩花	PR110					PA50	PA55
								富士原和宏	PR114				
藤原すみれ													

間瀬 暢之	2Aa6		PR123	森 真愛	1Ca7	山下 遼	PR104
松井 啓祐	PR107	水野 幸一	PA30	森田 重人	2Ba11	山田 創	1Ca4
松井 博輝	1Aa2	光田 展隆	2Ba7		2Ca1	山田 泰之	2RpJ5
松井 真宙	2Da1		2Da7		2Ca2		PA15
	2Da2		2Da8		2Ca3		PA26
松井 南	PR128		PR114		PA45	山田 豊	PR130
松岡 健	2Da12	満山 進	2Da7	森田 遥絵	PA9	山根 久代	PR113
松岡 瑞樹	PR72	峰地 楓子	PR103	森中 初音	2Ba6	山本 和彦	1Da1
松川 哲也	PA14	美野 智子	PA17	守屋 健太	1Ba11	山本 恭子	PA31
松下 修平	PA14	耳田 直純	PR115		2Ca10	山本 健太	2Da12
松田 真実	1Da7	宮城 敦子	1Aa11	森山凜太郎	1Aa10	山本 紘輔	PR70
松田 悠希	PA31		2Da8			山本 康平	2RaS1
松田 怜	PA50	宮崎 翔	PA13			山本新之助	PA20
松永 幸大	PR99		PR68				PA21
松永 遥平	2Da3	宮里 真琴	2Aa6	八井田朱音	PR122	山本 千莉	PR101
松林 嘉克	1Ba11	宮野 雄貴	1Ba1	八尾 惟	PA25		PR102
松本 杏樹	PA9	宮原 平	PA18	八木 宏樹	PA57	山本 卓	1Da4
松本 香凜	PA51		PA23		PR80	山本 敏央	2Aa13
松本 紘汰	PA11		PR111	矢崎 一史	PA14	山本 将之	PR99
松本 帆夏	PA58	宮村 紀香	PA54		PA22		
松本 萌人	PR94	宮本 歩美	2Ba9		PA24		ゆ
間宮 翼	PR98	宮本 託志	2Ca11		PA31		
丸井 和也	1Ca3	三輪 幸祐	PA39	安川小百合	PA42	湯浅 正洋	PR123
丸山 明子	1Aa10			安田 盛貴	PR83	幸 義和	2Ca1
	PA41			安本 周平	2RpJ4		
圓山恭之進	PA59			柳川 由紀	2Ca9		よ
丸山 莉生	PR89	向井 陸馬	2Da7		PR122		
	PR90	棟方 涼介	1RaS4	柳澤 修一	PA4	横井 彩子	1Ca1
			PA14		PR74	横田紗那子	PR82
			PA22	梁田 健一	2Ba4	横野 瑞希	PR132
			PA24	矢野 翼	PR108	吉田 恵祐	2Aa4
三浦 謙治	3RaS3		PA31	矢原 拓人	1Da11	芳野 晴臣	PR76
	PA5	村上 愛実	1Ca4		PA46	吉松 嘉代	1Da1
	PA10	村上 直也	1Da9	山上 由愛	PR81	吉見 一人	1Ca5
	PA14	村越 祐介	PR73	山木 淳正	2Da6	吉見 暢	1Da8
	PA22		PR76	山口 尚輝	2Da12	吉村 美香	1Ca8
	PR78		PR84	山口 晴彦	PA39	吉元 雄琉	PA41
三上 文三	2Ca11	村中 俊哉	PA9	山口 雅利	1Ca10	吉本 尚子	PA16
	PR102	村野 宏樹	2Ba5		2Da7		PA17
三木 葵葉	1Da2	村山 秀樹	1Aa11		2Da8	四井いずみ	1Ba8
三崎 亮	1Da9	室本 翔太	1Ca3		2Da9		1Ba9
水田 珠希	PA47				PA1		1Ba10
水田 珠希	2Aa3			山口 凌	PR76		PR70
	PA36			山崎 清志	2Ca11		PR73
	PA37	持田 恵一	3RaS2	山崎将太郎	PA50		PR75
水谷 正治	1Da3	本橋 令子	2Da1	山崎 真一	2Aa13		PR76
	2Aa3		2Da2	山寄 茉央	PR98		PR82
	2Ba9		2Da3	山崎 真巳	PA16		PR84
	2Ca10		PA59		PA17		PR85
	PA33	樺木 亮介	PR71		PA26		PR87
	PA34	森 明子	1Ca1		PA32	米山 裕	1Da11
	PA36	森 啓太	2Da8	山崎 友渡	PR132		PA46
	PA37	森 哲哉	1Aa10	山地 奈美	PR109		PA52
	PA40		2Ba6	山路 弘樹	1Da1	米山 史紀	2Aa10
	PA47		PR130	山下 哲	PA39		

り			Kaushalya, Dayarathne	PA54
			Kodama, Yutaka	2Da11
李 豪	PA31		Koeduka, Takao	PA43
劉 逸	PA4		Law, Simon	1Ca7
			Li, Hongqiao	1Aa10
わ			Linnan, Jie	PR83
			Liu, Yuting	PA42
若林 孝俊	2Ba9		Lydia, Pui Ying Lam	PR101
若林 智美	2Ba1		Maeda, Hiroshi	2Aa2
			Miura, Kenji	1Da6
			Morey-Yagi, Shamitha Rao	
和氣 駿之	PA39			2Da10
和田 直樹	1Ca2		Muchammad, Fanani	PA8
			Muranaka, Toshiya	PA7
			Nagahage, Isura	2Da9
			Nakayama, Naomi	3RaS6
渡邊 明子	1Da11		Nomura, Takahito	2Da11
渡邊 公平	1Ba2		Numata, Keiji	2Da10
渡辺 修治	2Aa6		Odahara, Masaki	2Da10
渡部 響	PR70		Ogawa, Takumi	PA43
渡邊むつみ	1Aa9		Oguchi, Taichi	1Ba6
			Okamoto, Masanori	2Da11
			Okazawa, Atsushi	PA43
渡邊 勇貴	1Ba2		Osakabe, Keishi	2Ca12
渡会 岳	PA46		Osakabe, Yuriko	2Ca12
			Pham, Huong Thi	3RaS4
A-Z			Pingping, Ji	PR101
			Rivai, Reza Ramdan	2Ca11
Abdellatif, Islam	PA5		Seki, Hikaru	1Da6
				PA7
Afifi, Osama Ahmed	2Ca12		Shikakura, Yuhei	1Ba6
Aftab, Roksana	1Ba3		Suzuki, Hiromi	1Ba3
Ahmed, Riham	PR78		Suzuki, Tomohiro	2Da11
Aiuba, Jose	PR133		Tada, Yuichi	1Ba3
Ana Montserrat, Martín-			Thagun, Chonprakun	2Da11
Hernández	2Ca4		Tobimatsu, Yuki	2Ca12
Anee, Taufika	1Ba7		Tripathi, Yogendra Kumar	
Chung, Soo Yeon	PA7			PR133
Du, Zhengxue	2Ca8		Ulziibat, Bolortuya	PA43
El-Azaz, Jorge	2Aa2		Umezawa, Toshiaki	2Ca12
Fanani, Muchammad	1Da6		Vo, Nhu Ngoc Quynh	3RaS4
Fetrina, Oktavia	PR128		Vu, Anh Thu	3RaS4
Fuhmann-Aoyagi, Martina			Waki, Toshiyuki	PA7
Bianca	PR78		Wang, Hongpu	1Ca5
Fukasawa, Yoshinori	2Da11		Xu, Siyan	PA5
Ganbat, Oyundari	PA43		Yamamoto, Senri	2Ca12
Hashida, Yoichi	2Da10		Yuan, Shaoze	PA5
He, Ruizhen	PA7		Zahra, Kainat	PA67
Higuchi-Takeuchi, Mieko			Zechmann, Bernd	1Aa9
				2Da10
Hoefgen, Rainer	1Aa9			
Horii, Yoko	2Da10			
Horvat, Borislav	1Ba6			
Ji, Pingping	2Ca12			
Kashimoto, Nagomi	PA43			

第42回日本植物バイオテクノロジー学会(神戸)大会 講演要旨集

発行日：2025年8月29日

発行者：第42回日本植物バイオテクノロジー学会(神戸)大会 実行委員会

〒657-8501 神戸市灘区六甲台町 1-1

神戸大学大学院農学研究科内

印刷：中西印刷株式会社