



公益社団法人 日本農芸化学会 中部支部  
第 197 回例会

# 講演要旨集

受賞講演

シンポジウム

『生命のデジタルマップ：  
ゲノム情報基盤型生命科学研究の交差点』

令和 5 年 11 月 25 日 (土)  
名古屋大学農学部  
第8講義室(講義棟1F)

主催：日本農芸化学会中部支部

日本農芸化学会中部支部第 197 回例会（受賞講演およびシンポジウム）  
講演プログラム

13:00 - 13:05 開会挨拶

受賞講演 2023 年度 農芸化学奨励賞

13:05 - 13:45

山口 拓也（富山県立大学工学部）

「動植物のアルドキシムを介したニトリルやニトロ化合物の代謝に関する研究」

シンポジウム「生命のデジタルマップ：ゲノム情報基盤型生命科学研究の交差点」

13:45 - 14:15

広瀬 侑（豊橋技術科学大学大学院工学研究科）

「シアノバクテリアが光の色を見分ける仕組み」

14:15 - 14:45

大沼 亮（神戸大学内海域環境教育研究センター）

「盗葉緑体性渦鞭毛虫類をモデルとした葉緑体獲得進化の解明」

14:45 - 15:05

休憩

15:05 - 15:35

中川 明（石川県立大学生物資源工学研究所、ファーマランタ株式会社共同創業者兼 CTO）

「大腸菌を用いた多段階反応系を要する発酵生産」

15:35 - 16:05

篠原 秀文（福井県立大学生物資源学部）

「植物のペプチドホルモン研究は（まだ）ブルーオーシャンなのか？」

16:05 - 16:35

山口 滋生（クミアイ化学工業（株） 研究開発本部 生物科学研究所 生命・環境研究センター）

「*Curvularia* 属糸状菌が生産する抗菌性環状ペプチド化合物の生合成遺伝子クラスターの同定」

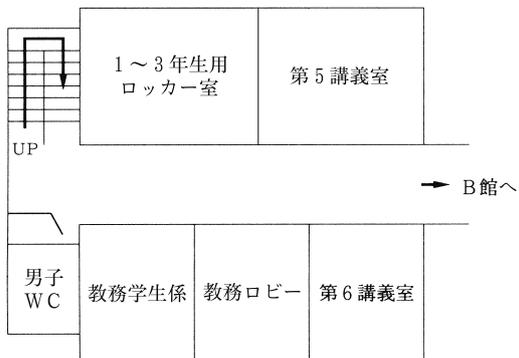
16:35 - 16:40 閉会の挨拶

17:00 - 19:00 懇親会（名古屋大学内、レストラン花の木）

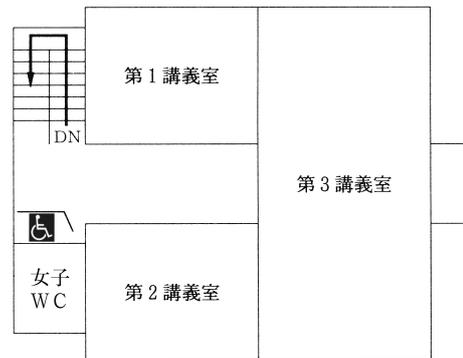
会場案内図 (名古屋大学農学部 講義棟 1階 第8講義室)



講義棟 2階



講義棟 3階



講義棟 1階



## 動植物のアルドキシムを介したニトリルやニトロ化合物の代謝に関する研究

山口拓也

富山県立大学工学部生物工学科

微生物のアルドキシム-ニトリル経路上から、アクリルアミドの工業生産に利用されているニトリルヒドラターゼなどの重要な有用酵素群が見出されてきた。植物と節足動物であるヤスデも同様にアルドキシムやニトリルの代謝経路を有すると想定されていたが、酵素レベルでの研究は未解明な点が多かった。そこで、植物および節足動物の広範な非モデル生物を研究対象として、それらのアルドキシムを介したニトリルやニトロ化合物の代謝経路を酵素と遺伝子レベルで詳細に解明し、アルドキシムを介した代謝経路の意義を明らかにするとともに、新規ニトロ基合成酵素など多数の新規酵素を見出した(図1)。さらに微生物、植物およびヤスデ由来酵素を用いる物質生産法の開発を進めてきた。本発表では、その成果の概要を紹介する。

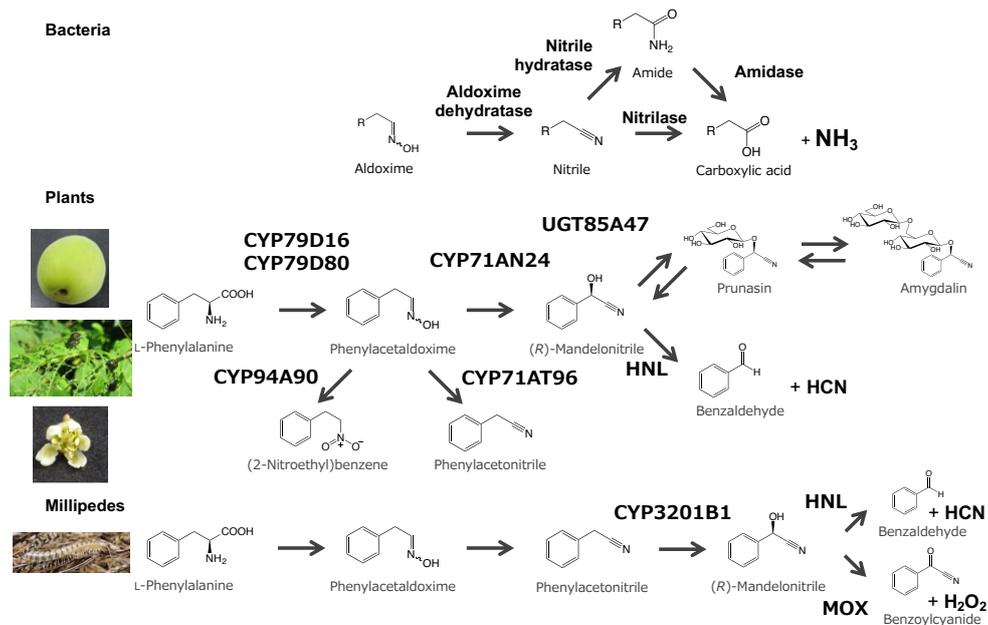


図1. 微生物、植物および節足動物におけるアルドキシム-ニトリル経路

### 植物

①ウメ (*Prunus mume*) は、種子に青酸配糖体であるアミグダリンを蓄積している。昆虫食害などの組織破壊によって、アミグダリンは(R)-マンデロニトリルに変換される。続いてヒドロキシニトリルリアーゼ (HNL) によって好気呼吸を阻害する猛毒であるシアン化水素が生じる。アミグダリンの生合成酵素は未解明であったが、2つのシトクロム P450 (P450) と、UDP-グルコシルトランスフェラーゼ (UGT) を生合成酵素として見出した。すなわち、CYP79D16がL-フェニルアラニンフェニルアセトアルドキシムに、CYP71AN24がアルドキシムをマンデロニトリルに変換する。続いてUGT85A47がマンデロニトリルの配糖体であるプルナシンを合成する。②オオイタドリ (*Fallopia sachalinensis*) は昆虫

食害誘導的にフェニルアセトニトリルを生合成し、揮発成分として放出する。フェニルアセトニトリルはウメと同様にL-フェニルアラニンからフェニルアセトアルドキシムを介して生合成されることを、重水素標識体を用いた取り込み実験によって明らかにした。さらにフェニルアセトアルドキシムをフェニルアセトニトリルに変換する CYP71AT96 を見出した。CYP71AT96 は出芽酵母と大腸菌で発現しない問題に直面したが、昆虫培養細胞を用いることで酵素活性の検出に成功した。本酵素はマンデロニトリルを生成しない点でウメ由来 CYP71AN24 と決定的に異なる。③天然物としては極めて珍しいニトロ化合物、(2-ニトロエチル)ベンゼンを花香成分として放出するビワから、出芽酵母発現系とタバコにおける一過性発現系を用いてフェニルアセトアルドキシム合成酵素 CYP79D80 と、アルドキシムからニトロ基を合成する新規反応を触媒する CYP94A90 を見出した。CYP94A サブファミリーに属す P450 は双子葉植物に広く分布し、脂肪酸  $\omega$  水酸化酵素として知られていた。CYP94A90 も脂肪酸  $\omega$  水酸化活性を示し、さらに他の植物由来 CYP94A もフェニルアセトアルドキシムから(2-ニトロエチル)ベンゼンを合成したことから、多くの植物がニトロ基合成酵素を隠し持っているという予想外の結論に至った。

植物は、微生物とは異なり、L-フェニルアラニンからフェニルアセトアルドキシムを合成する。その後、アルドキシム代謝酵素の多様な反応によってニトリル、ヒドロキシニトリル、ニトロ化合物へと変換されることを示した。いずれも化学防御システムとして機能していると考えられる。

#### 節足動物 (ヤスデ)

オビヤスデ目のヤスデは体節の側面にある側庇の内側に貯蔵室と反応室からなる防御腺を有している。貯蔵室には(R)-マンデロニトリルを、反応室には HNL を貯蔵している。刺激応答的に(R)-マンデロニトリルと HNL を混合し、ベンズアルデヒドとシアン化水素を臭孔から体外へ放出する。このようなシアン化水素発生機構は 50 年以上前に提唱されていたが、ヤスデ HNL の酵素分子化学的諸性質は未解明であった。ヤスデが酵素資源として着目された例はなく、ゲノム情報もなく、飼育法も確立されていなかった。さらに個体数が少ない種が多く、実験サンプルを安定に確保することが課題であった。そこで、毎秋一部の地域で大発生する外来種のヤンバルトサカヤスデ (*Chamberlinius hualienensis*) を研究の主材料とした。また、タンバアカヤスデ (*Nedyopus tambanus tambanus*) が富山県立大学内で毎春発生することを見出し、HNL を精製することに成功した。さらに広範囲 (富山県、岐阜県、静岡県、熊本県、鹿児島県) に及ぶ野生のヤスデの探索を行い、計 12 種の HNL 遺伝子を単離し、機能解析を行った。いずれも既知の植物由来 HNL だけでなく、他のタンパク質と相同性が認められない構造をしており、非常に高活性かつ広い温度と pH において安定な HNL がシアン発生性のヤスデに保存されていることを明らかにした。また、ヤスデ特有の化学防御機構として、マンデロニトリル酸化酵素を利用し、過酸化水素を放出するヤスデ独自の経路を見出した。さらに、ヤンバルトサカヤスデから 50 種の P450 を獲得、機能解析を行うことで、(R)-マンデロニトリルの生合成最終ステップを触媒する CYP3201B1 を見出した。シアン発生に関わる酵素群は植物とヤスデにおいて相同性が全くないことから、ヤスデと植物は進化の過程で独自にシアン化水素発生に関わる酵素遺伝子群を獲得し、収斂進化によってシアン化水素発生経路を獲得したと考えられる。

#### 植物とヤスデ由来酵素の利用

ウメの青酸配糖体であるプルナシンは、抗炎症活性などの有用な生理活性が報告されているが、その有効な合成法は開発されていなかった。そこで、ウメ由来 UGT85A47 は(R)-マンデロニトリル選択的に配糖体化することから、UGT85A47 を大腸菌で発現した休止菌体を用いて(R,S)-マンデロニトリルからプルナシンの合成法を初めて開発した。グルコースドナーである UDP-グルコースを大腸菌内で効率的に供給するために、大腸菌由来 UDP-グルコース生合成酵素遺伝子群を過剰発現した。合計 4 種類の微生物およびウメ由来の酵素遺伝子が大腸菌において発現させ、プルナシン生産量は約 4 倍増加し、2.4 g/L (反応液) まで向上させることに成功した。このように、植物と微生物由来酵素を組み合わせることで、より優れた物質生産系を構築できることを示した。

HNL は生体内ではシアンを発生する役割を担っているが、その逆反応を利用して医薬品などの重要な合成中間体である光学活性ヒドロキシニトリルを合成することができる。これまで植物由来 HNL が中心に利用されてきたが、ヤスデ由来 HNL を用いた光学活性ヒドロキシニトリルの合成法を開発した。ヤスデ由来 HNL は昆虫培養細胞では発現できるが、一般的な異種発現宿主である大腸菌 BL21(DE3) で発現できない。そこで上記の探索により発見した複数のヤスデ由来 HNL の大腸菌発現と最適な菌株を検討し、6 種のヤスデ由来 HNL を大腸菌 SHuffle T7 で発現することに成功した。これらの比活性は 2000~3000 U/mg と既知の HNL をはるかに上回る高い比活性と、優れた立体選択性を示した。大腸菌で最も生産量の高いミドリババヤスデ (*Parafontaria tonominea*) 由来 Pton3HNL を発現した休止菌体を用いて、(R)-マンデロニトリルを鏡像体過剰率 (ee) 97.6% で生産することに成功した。

#### 謝辞

本研究は富山県立大学 ERATO 浅野酵素活性分子プロジェクト、同大学工学部生物工学科および筑波大学生命環境系で行われたものです。多大なご指導、ご鞭撻を賜りました浅野泰久先生 (富山県立大学名誉教授) に衷心より御礼申し上げます。本研究を遂行するにあたって、多くのご助言をいただいた桑原保正先生 (京都大学名誉教授)、松本宏先生 (筑波大学名誉教授) に厚く御礼申し上げます。本研究の発展に多大なるご支援とご指導を賜りました共同研究者の皆様へ感謝申し上げます。また、本研究の遂行を支えていただきました研究室のスタッフ、および共に研究を行った学生の皆様へ感謝いたします。

#### 略歴

山口 拓也 (やまぐち たくや)

札幌市生まれ。2007年3月北海道大学農学部応用生命科学科卒業、2012年3月北海道大学大学院農学院生物資源科学専攻博士後期課程修了、博士(農学)取得。2012年4月富山県立大学 ERATO 浅野酵素活性分子プロジェクト生物資源探索グループリーダー、2016年11月筑波大学生命環境系助教を経て、2021年4月より富山県立大学工学部生物工学科助教。

## シアノバクテリアが光の色を見分ける仕組み

広瀬 侑

豊橋技術科学 大学大学院工学研究科 応用化学・生命工学系

シアノバクテリアは、植物と同じ酸素発生型の光合成を行う原核生物であり、光をエネルギー源として利用する。シアノバクテリアの一部は、赤色光を捕集するアンテナタンパク質（フィコシアニン）と、緑色光を捕集するアンテナタンパク質（フィコエリスリン）を持ち、環境中の光の色に応じてそれらの量比を調節する。この現象は補色順化と呼ばれ、光合成の環境応答の代表的な例として一世紀以上前から知られていたが、シアノバクテリアがどのように光の色を見分けているのか、光色感知の分子機構は不明であった。我々は、シアノバクテリアのゲノム情報を手掛かりに、補色順化を制御するセンサータンパク質の単離に成功し、そのタンパク質が新奇の緑・赤色光変換能を有することを明らかにした（Hirose Y. et al. 2008 PNAS）。さらに、センサータンパク質の光変換において発色団の光異性化と共役したプロトンの脱着反応が起こっていることを発見した（Hirose Y. et al. 2013 PNAS）。さらに、センサータンパク質によるフィコエリスリン遺伝子発現制御機構を明らかにした（Hirose Y. et al. 2010 PNAS）。これらの研究により、長らく謎に包まれていた補色順化の光感知機構の解明が大きく進展した。その後、我々はこの研究をさらに発展させ、光受容体の結晶構造解析（Nagae T. et al. 2021 PNAS）、ラマン分光法による発色団の脱プロトン化部位の同定（Osoegawa S. et al. 2019 J. Phys. Chem. B.）、シグナル帰属のための同位体標識発色団の調製法の確立（Kamo T. et al. 2021 Plant Cell Physiol.）に取り組んできた。さらに我々は、上述の研究と並行し、次世代シーケンサーを用いたシアノバクテリア門全体の補色順化の多様性と進化の解明にも取り組んだ。国立環境研究所のカルチャーコレクションと協力し、約40種のシアノバクテリアのゲノム解析に取り組んできた（Hirose et al. 2021 DNA Res.他）。さらに、データベースに登録されたシアノバクテリア約500株のゲノム情報を精査することにより、フィコエリスロシアニンと呼ばれる第3のアンテナタンパク質や、ロッド型のアンテナタンパク質が調節される新しいタイプの補色順化を発見し、その起源の一端を明らかにした（Hirose Y. et al. 2017 DNA Res.; Hirose Y. et al. 2019 Mol. Plant）。本シンポジウムでは、我々がなぜこのような研究に（結果的に）取り組んできたのかを振り返りつつ、これからの研究の展望についても議論したい。

### 略歴

広瀬 侑（ひろせ ゆう）

岩手県一関市生まれ。2006年3月北海道大学農学部生物機能化学科卒業、2011年3月東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻博士課程修了、博士（理学）取得。2011年4月日本学術振興会特別研究員 PD、2011年9月豊橋技術科学大学エレクトロニクス先端融合研究所特任助教、2014年12月豊橋技術科学大学環境・生命工学系助教を経て、2022年4月より豊橋技術科学大学応用化学・生命工学系准教授。

## 盗葉緑体性渦鞭毛虫類をモデルとした葉緑体獲得進化の解明

大沼 亮

(神戸大学 内海域環境教育研究センター)

藻類は、非光合成生物であった祖先が光合成生物を取り込み、細胞内共生を成立させることによって誕生した。この「藻類化」は真核生物の様々な系統で独立に起こっているが、この進化過程については多くの不明な点が残されている。盗葉緑体現象はもともと光合成をしない生物が藻類を取り込んで、その葉緑体を細胞内に維持し、光合成に用いる現象を指し、盗葉緑体性の生物は取り込んだ藻類と一時的に細胞内共生関係を結ぶ。このようなことから、盗葉緑体現象は藻類化の進化の中間的段階であると解釈される。

私はこれまでに、クリプト藻から葉緑体を盗む *Nusuttodinium* (ヌスットディニウム) 属の渦鞭毛藻類を用いて藻類化の進化の解明を試みてきた。ヌスットディニウム属の渦鞭毛藻類はクリプト藻をまるごと取り込むが、細胞内での盗葉緑体の挙動に種間で違いがあることが明らかとなっている。*Nusuttodinium poecilochroum* は取り込んだクリプト藻の核、ミトコンドリアを含む細胞質のほとんどを食胞に移し、葉緑体のみを維持する。この種では、盗葉緑体のサイズの変化は伴わない。一方で、*N. aeruginosum* は葉緑体に加えて、クリプト藻の核も維持し、細胞内で盗葉緑体を拡大させることが明らかとなった。*Nusuttodinium aeruginosum* では、宿主細胞の分裂と同調して盗葉緑体の分裂が起こるが、クリプト藻核は分裂せず片方の娘細胞に受け継がれる。クリプト藻核を受け継いだ細胞は分裂を繰り返しても盗葉緑体のサイズを保ち、クリプト藻核を失った細胞は葉緑体が縮小していくことから、盗葉緑体の維持にはクリプト藻核も維持する必要があることがわかった。

このクリプト藻核がどのような機能をもつかを明らかにするため、*Nusuttodinium aeruginosum* に取り込まれる前のクリプト藻と取り込まれた後のクリプト藻のトランスクリプトーム解析を行った。取り込まれた後のクリプト藻核では、光合成に関連する遺伝子群の発現が特異的に発現上昇しており、渦鞭毛藻の細胞内でも転写活性を維持していることがわかった。一方で、取り込まれる前のクリプト藻では明暗の切り替えに応答して発現が変化した遺伝子群が、取り込まれた後ではその応答性がなくなることがわかった。このようなことから、取り込まれた後のクリプト藻は光合成に特化した「マシーン」のように変化していると示唆される。本講演では盗葉緑体性の生物と既に藻類化した生物を比較しながら、藻類化の進化における仮説を議論する。



### 略歴

大沼 亮（おおぬま りょう）

宮城県柴田郡村田町生まれ。2010年3月山形大学理学部生物学科卒業、2015年3月北海道大学大学院理学院自然史科学専攻博士課程修了、博士（理学）取得。2015年4月国立遺伝学研究所博士研究員、2018年4月JSPS特別研究員(PD)を経て、2021年4月より神戸大学内海城環境教育研究センター講師。

## 大腸菌を用いた多段階反応系を要する発酵生産

中川 明

(石川県立大学・ファーマランタ株式会社)

微生物を用いた物質生産の研究は、SDGs、脱炭素、グリーンケミストリーという現代の潮流から、注目を集めている研究分野である。我々は、これまでに化学合成が難しく、非常に高価な植物二次代謝産物を大腸菌で生産する研究をおこなってきた。本演題では、大腸菌を用いた植物の二次代謝産物の実用化を目指した研究について発表する。

植物の二次代謝産物は、様々な生理活性を持つため、医薬品をはじめ、健康増進サプリメント、香料、食品添加物、農薬等様々な用途で人類の幸福に寄与している。しかし、その多くは、複雑な分子構造を持つため化学合成が難しく、天然含有量が少ないことから、化学合成が可能な化合物に比べて、非常に高価である。よって、このような植物の二次代謝産物を、遺伝子操作や培養の容易な微生物を用いて大量に生産することができれば、安価に安定的に供給できると考えられる。

植物の二次代謝産物が植物で生成されるのは、当然、その生合成酵素遺伝子が植物に存在しているからであり、微生物で植物の二次代謝産物を生産するには、それらの酵素遺伝子をすべて微生物に導入すればよい。すなわち、機能のわかっている酵素遺伝子を微生物に入れるだけなので、それは単なる作業であり、研究する要素というのは見当たらないはずである。しかし、実際はそんな単純な話ではない。植物の二次代謝産物の生合成経路遺伝子の全てがわかっていない場合があり、代替酵素を探索する必要がある。また、オルガネラや組織で隔てられている植物と違い、微生物は単細胞であるため、導入する酵素遺伝子が予期せぬ作用をすることがあり、それを回避するような仕掛けも必要となってくる。更に、植物の酵素遺伝子が微生物では発現しない、もしくはしても非常に弱いこともあり、それらは、既存の文献情報を元に類推し、様々なトライアルアンドエラーを遂行して解決する。これらの作業は非常に長い年月を要し、どう考えてもうまくいくはずの手段がうまくいかないことも多々あるため、研究と呼ぶにふさわしい技術開発となっている。このような努力にも関わらず、その生産量は実用化するには程遠い。よって、実用化を目指すためには、まったく新しい手法を開発する必要がある。

本演題では、ケシのアルカロイドであるテバインを大腸菌で生産する研究をモデルとして、その研究開発過程を説明する。テバインはオピオイド系鎮痛剤の原料であり、1 kg あたり 40 万円以上もする非常に高価な化合物である。発展途上国では、ガンや手術等でオピオイド系鎮痛剤が必要となっても、高価で使用できず、患者の QOL の低下や、ひどい場合は痛みからショック死を引き起こすため、大きな問題となっており、安価なテバイン生産系は世界レベルで望まれている。

テバインを安価な原料であるグルコースから生産するのに 20 遺伝子が必要となり(図)、先述の問題点に加え、このような多数の遺伝子を導入する際に特有な問題点が明らかになっている。現在のところ、その生産量はまだまだ実用化できるレベルではないが、実用化を目指すために必要な要素技術は着々と開発できてきている。本演題では、様々な要素技術開発について論じ、植物の二次代謝産物を実用化レベルで生産するにはどうしたらいいかを示したい。

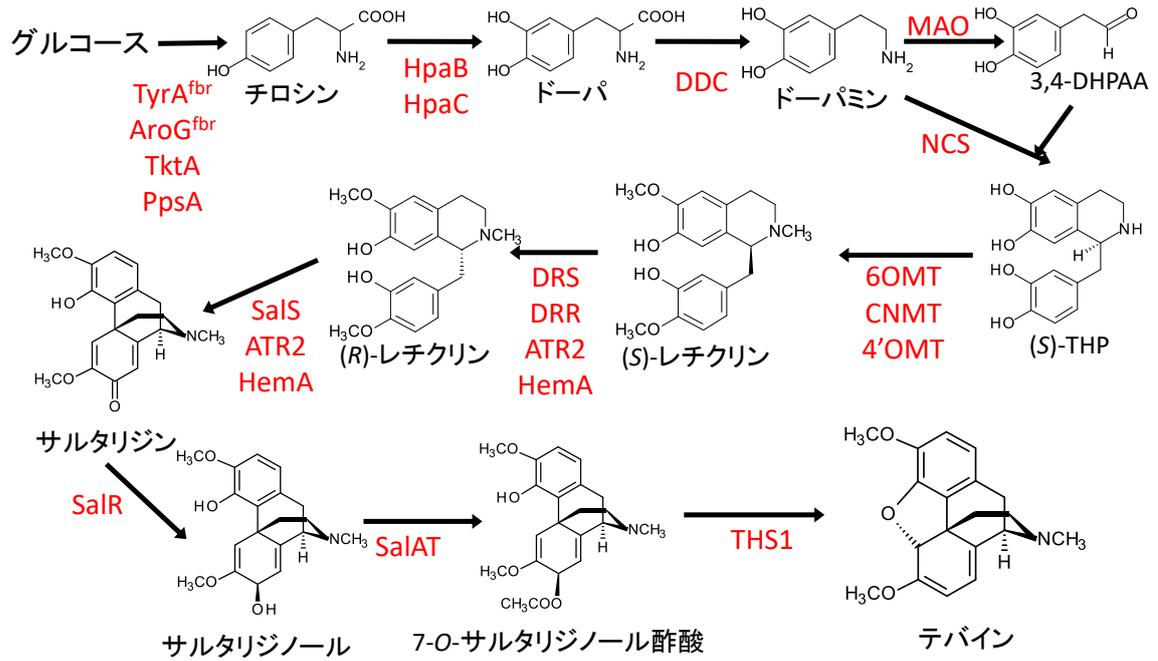


図 大腸菌内に構築したテバイン生合成経路

### 略歴

中川 明 (中川 明)

1974年千葉県生まれ練馬区育ち。1999年3月同志社大学工学部卒業、2006年9月奈良先端科学技術大学院大学専攻博士課程修了、同年12月博士(バイオサイエンス)取得。2006年10月協和発酵株式会社博士研究員、2009年4月石川県立大学博士研究員を経て、2017年4月より石川県立大学講師。2022年10月金融(M&A)の専門家である柗崎庄吾氏、長年ともに研究をおこなってきた石川県立大学南博道准教授とともにファーマランタ株式会社を設立。

## 植物のペプチドホルモン研究は（まだ）ブルーオーシャンなのか？

篠原秀文

福井県立大学 生物資源学部 生物資源学科

多細胞生物が生命活動を維持するためには、細胞同士が適切にコミュニケーションし、互いを制御し合うことが重要である。細胞同士のコミュニケーションの仕組みは多様だが、近年、細胞外分泌型のペプチドホルモンとその受容体を介した細胞間情報伝達機構が、植物の多様な成長過程に機能することが示されている。

分泌型のペプチドホルモンは、ペプチド前駆体遺伝子から転写・翻訳された後、ゴルジ体に運ばれ、水酸化や硫酸化、糖鎖付加といった翻訳後修飾、およびプロセッシングを受けて成熟型となり、細胞外に分泌される。分泌されたペプチドホルモンは、細胞膜上に存在する一回膜貫通型の受容体キナーゼに直接結合することで、情報伝達を行う（図1）。

植物ペプチドホルモンの研究は1990年代前半から始まり、比較的短鎖なペプチドをコードする遺伝子の変異株の表現型から機能解明を試みる、順遺伝学的なアプローチにより、いくつかのペプチドホルモンの存在や機能が示されていた。しかしペプチドホルモンはnMオーダーという低濃度で活性を示し、またペプチド遺伝子は時空間的に限定された発現を示す場合も多く、ゆえに植物体内に極

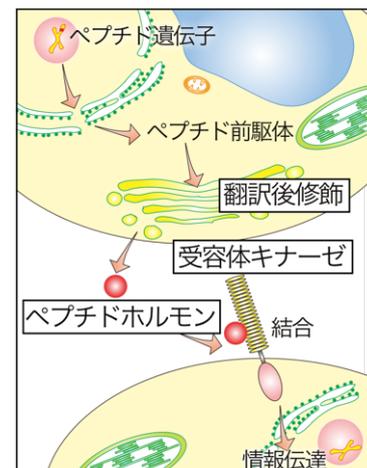


図1. 植物ペプチドホルモンによる細胞間コミュニケーション

微量しか存在しないペプチドホルモンを検出することは困難であった。またペプチドホルモンは、その親水性の高さから細胞膜を透過できないため、細胞膜上にペプチドを認識・結合する受容体が存在することが予想されていたが、ペプチドホルモンの受容体として機能するとされていた受容体キナーゼ遺伝子は、遺伝子重複による機能的冗長性の高さゆえに、ペプチド耐性を指標とした順遺伝学的変異体スクリーニングが難しく、ペプチドホルモンの受容体探索は困難を極めた。

これらの問題を克服するため、演者の所属研究グループでは、シロイヌナズナを水中培養し、培養液の抽出画分の nano LC-MS/MS 解析による、極微量の成熟型ペプチドホルモンの検出法、およびペプチド受容体候補を、リガンド結合能を維持したまま網羅的に発現・維持する受容体ライブラリーと、光反応性ペプチドホルモン誘導體を用いたフォトアフィニティーラベリングによる網羅的結合解析を組み合わせたペプチド受容体の同定法を確立し、数々のペプチドホルモナー受容体ペアの同定と機能解明に貢献してきた。本講演では、演者が携わってきた植物ペプチドホルモナー受容体ペアの同定と機能解析について、独自の手法にフォーカスしながら研究内容を紹介する。また最近、演者が進めている、陸上化後にシロイヌナズナを含む被子植物とは独立に分岐したコケ植物や、陸上化以前のより始原的な植物である水生藻類をターゲットとした、分子進化的な視点を組み入れた植物ペプチドホルモン研究について最新の知見を交えながら紹介し、演題である「植物のペプチドホルモン研究は（まだ）ブルーオーシャンなのか？」という問いに対する、演者なりの答えをお示ししたい。



### 略歴

篠原 秀文（しのはら ひでふみ）

長野県生まれ。2004年3月名古屋大学農学部応用生物科学科卒業、2009年3月名古屋大学大学院生命農学研究科応用分子生命科学専攻博士課程修了、博士（農学）取得。2009年4月名古屋大学グローバルCOE・博士研究員、2011年3月自然科学研究機構基礎生物学研究所・助教、2014年4月名古屋大学大学院理学研究科・助教、2019年10月同講師を経て、2021年10月より福井県立大学生物資源学部・准教授（現職）。

## ***Curvularia* 属糸状菌が生産する抗菌性環状ペプチド化合物の 生合成遺伝子クラスターの同定**

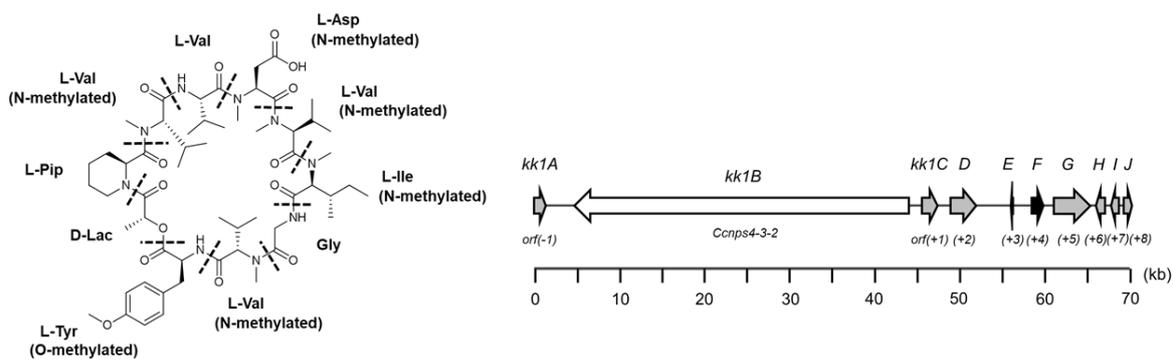
山口 滋生

(クミアイ化学工業株式会社 研究開発本部 生物科学研究所 生命・環境研究センター)

農業生産に由来する環境負荷の低減は持続可能な開発目標(SDGs)における重要課題の一つである。特に化学農薬への過度な依存による環境への影響は強く懸念されており、世界的に規制強化の動きが広まっている。このことから、環境負荷が比較的少ないとされる天然物由来の農薬への期待は今後一段と高まると予想される。また、微生物が生産する二次代謝産物には、ポリケタイド、非リボソーム依存型ペプチド、テルペノイドをはじめとする特殊な生合成機構に起因する炭素骨格をベースとした複雑な立体構造を有するものが多く存在するが、このような物質が農薬活性を示した場合、既存の化学農薬とは全く異なる作用機序を有することに期待できる。すなわち、天然物農薬は、病害虫や雑草の農薬抵抗性といった現代の農業分野の課題に対する一つの解決策にもなり得る点でも魅力がある。

弊社は天然の農薬活性物質として KK-1 に着目している。KK-1 は糸状菌 *Curvularia clavata* BAUA-2787 株から単離された環状デプシペプチド化合物である。基本骨格は 9 つの D-アミノ酸と 1 つの L-乳酸で構成されており、5 つのアミノ酸残基のアミノ基上の窒素原子がメチル化され、さらにはチロシン残基のフェニル基上のヒドロキシ基がメチル化修飾されている。KK-1 は重要病害の一種である灰色かび病を筆頭に多くの植物病原菌に対して防除効果を示す有望な農薬活性化合物であるが、農薬としてコストに見合った生産量を安定的に確保することは困難であり、実用化の障壁となっている。そこで、生合成遺伝子群の活性化や異種微生物での発現、さらには合成生物学的なアプローチによる将来的な KK-1 の大量生産が実現できないか検討を進めている。その第一段階として、KK-1 の生合成遺伝子群の同定を試みた。

*C. clavata* のゲノム配列情報は未知であったため、初めに BAUA-2787 株のドラフトゲノムを解読し、得られた配列データから KK-1 の基本骨格の生合成を担うと推定される NRPS 遺伝子を見出した。さらに、BAUA-2787 株における KK-1 生産培養条件および非生産培養条件下で取得した RNA-seq データを解析したところ、本 NRPS 遺伝子を含む同一ローカス上の連続した 10 遺伝子が KK-1 生産条件において顕著に発現上昇していたことから、これらを包含する 71 kb の領域を KK-1 生合成遺伝子クラスターと推定した。次に、さらなる詳細解析のため BAUA-2787 株の形質転換系を構築し、推定クラスター内に見出された転写因子遺伝子の高発現株、および各クラスター遺伝子の破壊株を創出した。続いてこれら組換え株の KK-1 生産量および推定クラスターの発現量を調べることで、各遺伝子が KK-1 の生合成に関与することを明らかにした。



1) Yamaguchi S, *et al. Front Fungal Biol.* 2023;3:1081179.

### 略歴

山口 滋生 (やまぐち しげなり)

埼玉県川口市生まれ。2012年3月慶應義塾大学工学部生命情報学科卒業、2014年3月慶應義塾大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻前期博士課程修了、2014年4月クミアイ化学工業株式会社入社、生物科学研究所配属。

## 2023年度 日本農芸化学会中部支部 賛助企業（五十音順）

アサヒビール(株) 名古屋工場	竹本油脂(株) 情報調査室
旭松食品(株) 食品研究所	辻製油(株)
天野エンザイム(株) イノベーションセンター	デザイナーフーズ(株)
イチビキ(株) 研究開発部	東海漬物(株) 漬物機能研究所
(株)伊藤園 中央研究所	東海物産(株) 研究部
伊藤忠製糖(株) 品質保証室	(株)東洋醗酵
伊那食品工業(株)	東洋紡(株) 敦賀バイオ研究所
科研製薬(株) CMC センター	中日本氷糖(株)
加藤化学(株) 技術部	名古屋製酪(株) 中央研究所
カネハツ食品(株) 技術部	(株)ニッポンジーン
(株)岐阜セラック製造所 天然物開発部	日本食品化工(株) 研究所
キリンビール(株) 名古屋工場	フジ日本精糖(株) 研究開発室
金印(株) 研究開発部	物産フードサイエンス(株) 研究開発センター
サンエイ糖化(株)	ポッカサッポロフード&ビバレッジ(株)
サンジルス醸造(株) 生産本部	三井農林(株) R&D グループ
敷島スターチ(株) 技術開発室	(株)Mizkan Holdings 中央研究所
敷島製パン(株)	名糖産業(株) 食品開発部
(株)真誠	盛田(株) 小鈴谷工場
新日本化学工業(株) 研究部	ヤマモリ(株) 桑名工場
太陽化学(株)ニュートリション事業部	養命酒製造(株) 商品開発センター
大和製罐(株) 総合研究所	

公益社団法人 日本農芸化学会 中部支部  
日本農芸化学会中部支部第 197 回例会  
講演要旨集

令和 5 年 11 月 8 日 発行

編集発行人: 日本農芸化学会中部支部 支部長 西川俊夫

名古屋市千種区不老町 名古屋大学 東山キャンパス内