



公益社団法人 日本農芸化学会
中部支部 第 176 回例会

講演要旨集

農芸化学の先端へ

—平成 28 年度 農芸化学奨励賞受賞講演ならびに基調講演—

平成 28 年 7 月 9 日(土)
岐阜大学 応用生物科学部 101 講義室

公益社団法人 日本農芸化学会

中部支部 第 176 回例会

平成 28 年 7 月 9 日（土）
岐阜大学応用生物科学部 101 講義室

賛助企業・協力企業展

11 : 00 賛助企業・協力企業展（102・103 講義室）

平成 28 年度 農芸化学奨励賞 受賞講演（101 講義室）

13 : 00 開会の挨拶

13 : 15 「植物ペプチドホルモンに関する生物有機化学的研究」

近藤 竜彦 名古屋大学大学院生命農学研究科

13 : 45 「糸状菌のユニークな代謝系を支える新規酵素の発見と多様な代謝を
制御する細胞内レドックス恒常性維持機構の解明」

志水 元亨 名城大学農学部

14 : 15 「環境細菌間における可動性遺伝因子の挙動に関する研究」

新谷 政己 静岡大学大学院総合科学技術研究科

14 : 45 休 憩

15 : 00 「有用植物二次代謝産物の生合成機構に関する生化学および分子細胞
遺伝学的研究」

野村 泰治 富山県立大学工学部

15 : 30 「芳香族ポリケタイドの生合成研究と物質生産への応用」

鮒 信学 静岡県立大学食品栄養科学部

基調講演

16 : 10 「1つの研究課題を長期間継続することの意義とすすめ」

鈴木 文昭 岐阜大学 理事・副学長

17 : 00 懇親会（岐阜大学応用生物科学部 会議室）

植物ペプチドホルモンに関する生物有機化学的研究

近藤 竜彦（名古屋大学大学院生命農学研究科）

はじめに

植物ホルモンというと、ジベレリンやオーキシンなど低分子有機化合物が形態形成や生長に重要な役割を果たしていることが古くから知られている。一方で、植物のペプチドホルモンに関しては、1990 年代にいくつかの先駆的な研究があるものの注目している研究者は比較的少なかった。ところが、2000 年のシロイヌナズナのゲノム解読により、ペプチドホルモンの前駆体（N 末端に分泌シグナルを持つ低分子タンパク質）をコードしている遺伝子が植物のゲノム上に数百というオーダーで存在することが明らかになるに至り、この分野は多くの研究者の注目を集めることになった。私がこの分野に関わることになった 2004 年頃には、ゲノム解読で明らかになった前駆体遺伝子に由来する「成熟型ペプチドの同定」という段階が植物のペプチドホルモン研究のボトルネックとなっているように感じられた。そこで、様々な手法や工夫を取り入れることによって、成熟型ペプチドの同定を目的とした研究に取り組むこととなった。

1. 植物の茎頂分裂組織の幹細胞数を制御する MCLV3

植物の地上部に形成される葉や花などの組織は、茎頂に存在する分裂組織の中心に存在する一群の未分化細胞（幹細胞）が分化して生じた原基が成長することによって形成される。*CLV3* はこの幹細胞で特異的に発現する遺伝子で、幹細胞数を負に制御するペプチドホルモンの前駆体をコードしていると考えられていたが、成熟型構造は不明であった。そこで、この植物地上部の形態形成の根幹で機能する *CLV3* 遺伝子を研究対象とすることにした。

ちょうどこの時期に、化学と生物誌に掲載されていた「新規生理活性ペプチドの新しい探索法」という記事に出会った。この記事では、動物の内分泌器官の凍結切片に直接レーザーを照射して MALDI-TOFMS を測定することにより、その器官から分泌される成熟型ペプチドを直接検出、同定するという驚くべき手法が紹介されていた。この記事を参考に種々検討を行い、最終的に、*CLV3* 遺伝子を過剰発現させたカルスから調整した凍結切片にレーザーを照射して MALDI-TOFMS を測定することにより、*CLV3* 前駆体の C 末端付近に存在する保存領域（CLE モチーフ）に由来し、2 カ所のプロリン残基が水酸化された生理活性ペプチドを検出、同定することに成功し、MCLV3 と命名した。さらに、カリフラワー可食部から調製した膜画分中に MCLV3 と非常に特異的に結合する受容体タンパク質が存在することを明らかにし、トリチウム標識した MCLV3 を利用したハイスループットな受容体結合アッセイ系を確立することができた。そこで、MCLV3 の類縁ペプチドを多数化学合成し、茎頂および根端に対する生理活性と受容体結合能を網羅的に評価する構造活性相関研究を展開した。その結果から、受容体結合に必要な残基や、ペプチドの構造保持に必要な残基を明らかにした。

2. 植物表皮細胞の気孔分化を誘導する stomagen

気孔密度は植物の光合成効率や乾燥耐性に大きな影響を与えることが知られている。また、気孔の形成過程には表皮系幹細胞の運命決定と機能分化、不等分裂を介した表皮のパターン形成などの複雑な過程が含まれていることから、多くの研究者の興味を集めている。

大阪大学大学院理学研究科教授の柿本先生のグループの研究から、この気孔形成過程において表皮細胞が気孔へ分化することを促進するペプチドホルモンの前駆体遺伝子が同定された。そこで、この遺伝子（*STOMAGEN*）に由来する成熟型ペプチドホルモンの同定を目的とした共同研究を行った。

まず、*STOMAGEN*遺伝子を過剰発現したシロイヌナズナ植物体からアポプラスト（細胞間隙）液を精製出発原料として非常に夾雑物の少ない抽出液を得ることができた。次に問題となったのが生物検定である。この点については、配列情報をもとにして抗ペプチド抗体を作製し、生物検定の代わりにこの抗体に対する反応性を指標として成熟型ペプチドの精製を行うことにした。最終的に、この遺伝子に由来する45アミノ酸残基からなる生理活性ペプチドstomagenを単離、同定することに成功した。また、合成ペプチドを用いた詳細な構造解析により、その構造を分子内の3対のジスルフィド結合様式も含めて明らかにした。現在は、stomagenおよびその類縁ペプチドを化学合成および組換えタンパク質として得る手法を確立し、構造活性相関について明らかにする研究を進めている。

おわりに

これまでの研究では、植物ペプチドホルモンの成熟型構造を明らかにすることを主目的として研究を行ってきたが、今後は得られた知見をどのようにして農業生産の場に還元していくかという点に重点を置いた研究を行っていきたいと考えている。

本研究は、名古屋大学大学院生命農学研究科生理活性物質化学研究分野において行われたものです。この研究の機会を与えていただくとともに、日々ご指導ご鞭撻を賜りました名古屋大学大学院生命農学研究科教授であられた故・坂神洋次先生に謹んで心よりの感謝を申し上げます。また、現在同研究室でご指導いただいている小鹿一先生、中川優先生にも感謝いたします。本研究を通じて植物ペプチドホルモンという興味深い分野に飛び込んでいく機会をいただき、共同研究を通じて多くのご協力、ご助言をいただきました大阪大学大学院理学研究科教授 柿本辰男先生、京都大学大学院農学研究科教授 入江一浩先生をはじめとする諸先生方に深く感謝申し上げます。また、本研究に参加し、多くの時間と労力を捧げてくれた名古屋大学大学院生命農学研究科生理活性物質化学研究分野の修了生、院生、そして機器分析を中心に多大なサポートをいただいた技術職員の皆様に深く感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会中部支部長・堀尾文彦先生（名古屋大学大学院生命農学研究科教授）ならびにご支援を賜りました農芸化学会中部支部の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

略歴

近藤竜彦（こんどうたつひこ）

2003 年 3 月	東京大学大学院農学生命科学研究科 博士課程 卒業 博士（農学）を取得
2003 年 4 月	学術振興会特別研究員（PD）
2003 年 6 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 生命機能化学講座 生理活性物質化学研究分野 助手
2007 年 4 月	同 助教へ配置換え
2016 年 4 月	同 講師（現職）

糸状菌のユニークな代謝系を支える新規酵素の発見と多様な代謝を制御する

細胞内レドックス恒常性維持機構の解明

志水 元亨（名城大学農学部）

はじめに

糸状菌は古くから我が国の発酵・醸造、酵素や抗生物質の生産にとって重要であり、産業上の重要性はますます高まっている。特に、糸状菌は酵素の宝庫といわれ、すでにアミラーゼをはじめ様々な酵素が産業利用されている。今後、さらに多岐にわたる分野で利用可能な糸状菌由来の新規酵素が発見される可能性を秘めている。本研究では、ポストゲノム解析技術を基盤として、糸状菌のユニークな代謝系を支える新規酵素を多数発見し、さらに糸状菌の多様な代謝を制御する細胞内レドックス恒常性維持機構について解明した。

1. 新規 GH134 ファミリーに属するβ-マンナーゼ Man134A の発見

β-マンナン（グルコマンナンおよびガラクトマンナン）は針葉樹、グアーガムやコーヒー豆などの様々な植物に含まれる多糖で、自然界に多く存在するバイオマスの1つであることから、様々な産業分野での利用が期待されている。我々は、β-マンナンを唯一の炭素源として、麹菌と近縁の糸状菌である *Aspergillus nidulans* を生育させた際に、よく知られたすでに産業利用されている Glycoside Hydrolase 5 (GH5) ファミリーに属するマンナン分解酵素（β-マンナーゼ；40-50 kDa, アミノ酸配列から既知のβ-マンナーゼは GH5, GH26 および GH113 に分類されている）と同様に細胞外に多量に分泌される低分子量（18 kDa）の機能未知タンパク質（HP）を同定した。このタンパク質は、既知のβ-マンナーゼを含む機能が分かっているいずれのタンパク質とも全く相同性を有しておらず、推定される機能ドメインすら含んでいなかった。精製した HP を用いた解析から、このタンパク質が新規のβ-マンナーゼ（Man134A）であることを生化学的に明らかにし、新しい GH134 ファミリーを創設した。また、既知のβ-マンナーゼと比べて Man134A は、ユニークな酵素学的性質を持つことおよびβ-マンナンの資化に重要であることが明らかになった。

2. 糸状菌の多様な代謝系を制御する新規細胞内レドックス恒常性維持機構の発見

レドックス恒常性の破綻はエネルギー活動の停止を引き起こす。そのため、細胞内レドックスは厳密に制御されている。糸状菌において、発酵をはじめとする多様な代謝を行う上で、細胞内のレドックス制御は極めて重要である。糸状菌の二次代謝、アミノ酸生合成、アルコール発酵など有用物質の生合成に関与する酵素、遺伝子について数多くの研究が行われてきたが、それらの代謝経路には、NAD(P)(H)などの補酵素を必要とする酸化還元反応が多数存在することが分かっている。我々は、糸状菌が多様な生物機能を支える代謝系を活性化させる際に、それらの代謝反応に必要な NAD(P)(H)産生系を同時に制御することによって、ユニークな代謝系の効率を高めていることを明らかにした。

2-1. 新規 Nudix hydrolase (NdxA) による細胞内レドックス調節に依存したサーチュイン (SirA) による二次代謝物の生産制御

細胞内における NAD⁺ と NADH の総量は、*de novo* での生合成とサルベージ経路でコントロールされていると考えられているが、NAD(H) の分解による調節機構についてはほとんど分かっていない。我々は、*A. nidulans* において、真核生物に広く保存されており、トランスクリプトーム解析から定常期に発

現に誘導された NAD(H) を加水分解する新規 Nudix hydrolase である NdxA が、定常期における NAD^+/NADH のバランスを調節することで、 NAD^+ を用いてヒストンの脱アセチル化を制御する SirA の働きをコントロールする新規エピジェネティック制御因子であることを明らかにした。

2-2. 低酸素条件下で活性化する分岐鎖アミノ酸発酵による NAD(P)^+ 再生機構

プロテオーム解析から、低酸素条件下（細胞内 NAD^+/NADH の比率が低下する環境）において *A. nidulans* は分岐鎖アミノ酸 (BCAA) およびグルタミン酸の生合成を活性化させていることを見出した。そこで、培地中の代謝物を分析したところ、低酸素条件下において、エタノール、乳酸および BCAA やグルタミン酸を含む種々のアミノ酸が蓄積していた。さらに、生化学および分子生物学的に検討した結果、BCAA の生合成はグルタミン酸をアミノ供与体として用いるため、BCAA の生合成とグルタミン酸の供給が協調して機能し、2 つの反応（経路）を効率よく行なうことで、低酸素条件下において蓄積した NAD(P)H を NAD(P)^+ へと再酸化（分岐鎖アミノ酸発酵）し、生成した NAD(P)^+ を解糖や発酵に利用していることを明らかにした。

おわりに

糸状菌は発酵・醸造および酵素や抗生物質の生産に重要な役割を果たしている。今後、さらに糸状菌由来の新規の酵素や抗生物質が発見され産業利用されるであろう。また、発酵・醸造や酵素・物質生産など糸状菌を培養する過程では、糸状菌がしばしば高密度培養され酸素不足に陥り、低酸素状態に曝される。また、糸状菌には植物や動物の病原菌が数多く知られている。このことは、動植物の体内といった比較的低酸素環境にも糸状菌は棲息し病徴を引き起こすことを意味する。一方、病原性糸状菌の感染時には、宿主が生成する活性酸素種により攻撃されることも知られている。従って、糸状菌の生育環境に応答したレドックス恒常性維持機構が理解できれば、実用上重要な糸状菌の生育制御技術の可能性が見出され、糸状菌を利用した多方面の応用技術開発に役立つことが期待される。

謝 辞

本研究は、名城大学農学部応用生物化学科応用微生物学研究室ならびに筑波大学生命環境科学研究科負荷適応微生物学研究室において行われたものです。ポスドク時代に最先端の糸状菌研究を行う機会を与えていただき、終始ご指導ご鞭撻を賜りました筑波大学教授・高谷直樹先生に深甚なる感謝の意を表します。また、研究遂行において多大なるご助言とご支援を賜りました名城大学教授・加藤雅士先生、名古屋大学教授・小林哲夫先生に心より感謝申し上げます。大学院時代にポストゲノム研究および酵素研究の基礎を厳しくご指導くださった九州大学教授・割石博之先生に深く感謝申し上げます。本研究の成果は、研究室の卒業生・在学生および共同研究者すべての皆様のご協力、ご支援によるものであり、ここに深く感謝申し上げます。最後に、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会中部支部長・堀尾文彦先生ならびにご支援くださいました諸先生方に厚く御礼申し上げます。

略 歴

志水 元亨（しみず もとゆき）

平成 17 年 3 月 九州大学大学院 生物資源環境科学府 森林資源科学 博士課程 修了 博士（農学）

平成 17 年 4 月 九州大学大学院農学研究院 特任助教

平成 19 年 4 月 筑波大学生命環境科学研究科生物機能科学専攻 常勤研究員

平成 21 年 4 月 筑波大学生命環境科学研究科生物機能科学専攻 日本学術振興会特別研究員(PD)

平成 24 年 4 月 名城大学農学部応用生物化学科 助教 現在に至る

環境細菌間における可動性遺伝因子の挙動に関する研究

新谷 政己（静岡大学大学院総合科学技術研究科）

はじめに

プラスミドやトランスポゾンなどの可動性遺伝因子は、微生物の急速な進化・適応能を促し、その多様性を産み出す。特に伝達性のプラスミドは、微生物の物理的な接触を介して細胞間を移動し、薬剤耐性遺伝子や、代謝遺伝子群を「運ぶ」。本研究では、環境中に汚染物質として残留する化合物に対する分解遺伝子を「運ぶ」可動性遺伝因子の様々な環境下における動態解析を行ってきた。

1. カルバゾール分解（*car*）遺伝子群の水平伝播を担う遺伝因子の基本機能の解明

Pseudomonas resinovorans CA10 株は、ジベンゾ-*p*-ダイオキシンの構造類縁体、カルバゾール（以下 CAR）を唯一の炭素源・窒素源・エネルギー源として生育可能な微生物である。CA10 株は、CAR 分解(*car*)遺伝子群を約 200 kb のプラスミド pCAR1 上にもつ。pCAR1 の全塩基配列を決定し、その基本機能（複製・維持・接合伝達）を分子遺伝学的手法によって調べたところ、pCAR1 は不和合性群、IncP-7 群に属し、その複製・維持には *repA*, *oriV*, *par* 遺伝子群が必須であること、*Pseudomonas* 属細菌間を接合伝達可能なことが明らかになった。また pCAR1 上の *car* 遺伝子群は、染色体等、他の複製単位に転移可能な、73 kb のトランスポゾン、Tn4676 に含まれる形で存在していた。さらに、異なる CAR 分解菌からも pCAR1・Tn4676 が見出され、これらの遺伝因子が *car* 遺伝子の水平伝播を担うと推定された。

2. pCAR1 のモデル環境・実環境試料中での動態解析

CA10 株から見出された pCAR1 や Tn4676、およびそれらを持つ微生物（＝宿主）について、モデル環境・実環境中における動態解析を行った。実環境を模したモデル土壌・環境水に CAR を添加し、pCAR1 の宿主を接種した後、宿主の生残性・CAR 残存性・接合伝達性を追跡したところ、土と水環境で宿主や pCAR1 の挙動は大きく異なることを見出した。pCAR1 の接合伝達は、土壌環境では検出されず、水環境でのみ検出された。その際、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} が接合伝達に必須なことも見出した。さらに pCAR1 が *Pseudomonas* 属とは細菌目の異なる *Stenotrophomonas* 属細菌にも伝達可能なことを初めて見出した。

3. pCAR1 の異なる宿主内における挙動解析

プラスミドの宿主内ではプラスミド・染色体上の双方の遺伝子発現が影響を及ぼし合い、宿主の挙動が変化すると予測される。そこで pCAR1 の異なる宿主内における挙動の比較を試みた。まず pCAR1 をもつ *Pseudomonas* 属に属する各宿主の表現型の違いを比較するとともに、ゲノム配列既知の宿主 *P. putida* KT2440, *P. aeruginosa* PAO1, *P. fluorescens* Pf0-1 株について、トランスクリプトーム比較を行った。その結果、3 株に共通して鉄獲得に関与する遺伝子の転写量が増大し、宿主は一過的な鉄欠乏を生じることが判明した。また pCAR1 を持つ KT2440 株では、排出ポンプが強く発現し、高濃度の抗生物質にも耐性を示すこと、さらに、pCAR1 上にコードされる核様態タンパク質（nucleotide associated proteins, 以下 NAPs）が、pCAR1 が安定に維持されるのに重要であることも判明した。

4. 一細胞解析手法の確立とプラスミドの宿主域の解明

未培養・難培養性細菌を多数含む土壌由来の微生物画分にプラスミド保持株を接種し、接合完了体細胞を培養せずに一細胞ずつ検出・分離・解析することで、どのような微生物がプラスミドを受け取るか、

プラスミドの宿主域の決定を試みた。プラスミド伝達の指標として GFP を利用し、蛍光を示す細胞をセルソーターで一細胞ずつ検出・分離した後、各細胞から直接全ゲノムを増幅して遺伝子解析を行った。その結果、培養行程を経ない手法によって、従来は得られなかった細菌網に属する宿主を得ることに成功した。

5. プラスミドデータベースの整備

微生物のゲノム解読が急速に進むにつれ塩基配列解読済みのプラスミドの数も急増する一方で、宿主やプラスミドの種類に基づくデータベースの整備が不十分であった。そこで複製開始タンパク質のアミノ酸配列と、接合伝達を担う一連のタンパク質群のアミノ酸配列に基づき、公的データベースに登録された約 5000 のプラスミドの再分類を行った。同時に宿主の系統分類学的な位置と、プラスミドの特徴（サイズ、GC 含量、接合伝達性の有無）とを比較して整理した。実際に本データベースを活用し、上述した NAPs 遺伝子のプラスミド上の分布を調べたところ、伝達性を有し、サイズの大きいプラスミドほど、複数の NAPs 遺伝子を有することが判明した。

おわりに

本研究では、環境中の可動性遺伝因子の挙動を左右する、重要な環境因子・宿主因子・可動性遺伝因子上の因子を発見してきた。現在は、本研究で用いた手法やデータベースを活用して、微好気・嫌気環境へと対象を広げて、新たなプラスミドを探索するとともに、その挙動について研究を行っている。

謝 辞

本研究は、東京大学生物生産工学研究センター、理化学研究所バイオリソースセンターと、静岡大学工学部にて行われたものです。学生の頃から今日に至るまで、公私にわたり親身にご指導ご鞭撻を賜りました。東京大学名誉教授 大森俊雄先生、同名誉教授 山根久和先生（現・帝京大学理工学部教授）、同教授 野尻秀昭先生に深く感謝申し上げます。また本研究を継続・発展させる機会をお与え頂き、貴重なご助言を賜りました。理化学研究所 大熊盛也先生、静岡大学教授 金原和秀先生に厚く御礼申し上げます。本研究の成果は、私が所属した研究室の多くの方々のご指導・ご助言の賜物です。深く感謝申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会中部支部長・堀尾文彦先生（名古屋大学大学院生命農学研究科教授）に厚く御礼申し上げます。

略 歴

新谷 政己（しんたに まさき）

2001 年	3 月	東京大学農学部生物生産科学課程生命化学専修卒業
2006 年	3 月	東京大学大学院農学生命科学研究科応用生物工学専攻 修了 博士（農学）取得
2006 年	4 月	日本学術振興会特別研究員（PD）
2007 年	4 月	東京大学 産学官連携研究員
2008 年	4 月	東京大学生物生産工学研究センター 特任助教
2010 年	4 月	独立行政法人理化学研究所基礎科学特別研究員
2012 年	11 月	静岡大学工学部 准教授
2015 年	4 月	静岡大学大学院工学領域化学バイオ工学系列 准教授（名称変更）

有用植物二次代謝産物の生合成機構に関する生化学および分子細胞遺伝学的研究

野村 泰治（富山県立大学工学部）

はじめに

植物二次代謝産物の存在意義の 1 つは、病原菌や害虫に対する防御にあるものと考えられている。一方、我々ヒトにとっての有用性の観点から、抗菌活性等の生物活性を有する植物二次代謝産物は、医薬品、化粧品等の種々の分野で利用されている。こういった有用植物二次代謝産物の生合成機構を解明することは学術上重要であるだけでなく、耐病性育種や、難入手化合物の効率的生産法の開発といった応用を展望する上でも欠かせないものである。筆者はこれまで、食用作物（コムギ）、薬用植物（トコン）、園芸植物（チューリップ）といった非モデル植物における有用植物二次代謝産物を対象として、生化学および分子細胞遺伝学的なアプローチによってその生合成機構の解明に取り組んできた。

1. コムギにおけるベンゾキサジノン類の生合成研究

「ベンゾキサジノン（Bx）類」は、コムギやトウモロコシを含む数種のイネ科植物にみられる耐病性二次代謝産物である。このうち、コムギ（パンコムギ）は A, B, D の 3 つのサブゲノムからなる 6 倍体のゲノム（ゲノム式 AABBDD）をもつことを特徴としており、2 倍体のトウモロコシにはみられない倍数性植物特有の二次代謝生合成機構が存在していることが想定された。マッピングの結果、コムギでは生合成遺伝子群は A, B, D の各サブゲノムに 1 セットずつ計 3 セット存在していることが分かった。そこで、3 つのサブゲノムに由来する生合成遺伝子の発現量と酵素触媒能をサブゲノム間で比較したところ、生合成への寄与率にはサブゲノム間で非常に大きなバイアスが生じていることが明らかになった。興味深いことに、トウモロコシではクラスターを形成している生合成遺伝子群が、コムギでは複数の染色体上に分散していた。植物二次代謝生合成遺伝子クラスターはトウモロコシでの発見以降、相次いで報告され、その意義について様々な議論がなされているが、コムギにおいてクラスターの分散は Bx 生合成には何ら悪影響を及ぼしていない。この発見は、植物の二次代謝生合成遺伝子クラスターの存在意義に対して一石を投じるものである。

2. 薬用植物トコンにおけるイペカックアルカロイド類の生合成研究

催吐剤として使われる生薬トコンに含まれる「イペカックアルカロイド類」は、テルペノイドーイソキノリン骨格を有する代表的なアルカロイドであるが、その生合成経路は、前駆物質やいくつかの中間体の構造を除いて分かっていなかった。そこで、イペカックアルカロイド類のうち、主成分である「エメチン」を高生産する *in vitro* 培養根の EST 配列から、推定生合成反応をつかさどると予想される候補遺伝子を選抜し、詳細な機能解析を行った。その結果、生合成初期の鍵酵素の一つである「Ipecac alkaloid β -glucosidase」をエメチン生合成酵素遺伝子としてはじめて同定した。さらに、2 分子のドーパミンに由来するエメチン中のメトキシ基 4 つが、3 種の「Ipecac alkaloid O-methyltransferase」による段階的な反応によって形成されていることを、詳細な酵素学的解析によって明らかにした。これら計 4 種の生合成酵素遺伝子の同定によって、これまで未解明であったイペカックアルカロイド生合成経路の全体像を提唱することができた。

3. チューリップにおけるチューリップシド／チューリップパリン類の生合成研究

チューリップの耐病性二次代謝産物として古くから知られているグルコースエステル「チューリップシド (Pos) 類」を抗菌活性物質本体であるアグリコンのラクトン化体「チューリップパリン (Pa) 類」へと変換する酵素系を解明した。この変換反応を触媒する「Pos 変換酵素」の分子実体はこれまで分かっていたなかったが、主要 Pos 類である PosA および PosB はそれぞれ異なる酵素によって、対応する PaA および PaB へと変換されるとの作業仮説に基づき、PosA 変換酵素および PosB 変換酵素をチューリップ組織から精製することに成功した。Pos 変換酵素は、カルボキシルエステラーゼファミリー酵素でありながら、グルコースエステルである Pos 類の加水分解反応は一切触媒せず、分子内エステル転移反応によるラクトン形成のみを触媒するユニークな酵素であった。酵素の局在解析に基づいて、健全細胞では Pos 類と Pos 変換酵素は、液胞とプラスチドに隔離されることによって不必要な酵素反応を回避し、感染等による細胞破碎に伴い両者が接触すると、酵素反応によって速やかに活性物質である Pa 類を生成するという、チューリップの化学防御機構を新たに提唱した。さらに、本酵素変換系を応用することで、化学合成が困難な光学活性物質 PaB の酵素法による生産プロセスを構築し、かねてより種々の分野で抗菌剤としての利用が期待されてきた PaB の用途開発への端緒を開いた。

謝 辞

本研究は京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生物機能制御化学分野、同応用生物学専攻植物遺伝学分野、米国 Donald Danforth Plant Science Center, Toni M. Kutchan Laboratory, ならびに富山県立大学工学部生物工学科植物機能工学講座において行われたものです。ムギ類の二次代謝研究において、ご指導、ご鞭撻を賜りました京都大学名誉教授・岩村倅先生、同・遠藤隆先生（現 龍谷大学教授）、神戸大学名誉教授・大川秀郎先生、同教授・今石浩正先生、鳥取大学教授・石原亨先生に心より感謝いたします。留学期間中、公私にわたってご指導を賜りました Toni M. Kutchan 博士、故 Meinhart H. Zenk 博士夫妻に厚く御礼申し上げます。チューリップの二次代謝研究の機会を与えていただき、日頃から惜しまないご指導とご協力を賜っている富山県立大学教授・加藤康夫先生に深甚なる感謝の意を表します。現所属への着任以来ご支援いただいている荻田信二郎先生（現 県立広島大学教授）に深く感謝いたします。最後に、本賞にご推薦くださいました日本農芸化学会中部支部長・堀尾文彦先生に厚く御礼申し上げます。

略 歴

野村 泰治（のむら たいじ）

平成 11 年 3 月	京都大学農学部生物機能科学科 卒業
平成 13 年 4 月	日本学術振興会 DC1 特別研究員
平成 16 年 3 月	京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻博士課程修了 博士（農学）
平成 16 年 4 月	日本学術振興会 PD 特別研究員
平成 19 年 4 月	米国 Donald Danforth Plant Science Center 博士研究員
平成 21 年 5 月	日本学術振興会海外特別研究員
平成 21 年 10 月	富山県立大学工学部生物工学科 助教
平成 26 年 4 月	同 講師

芳香族ポリケタイドの生合成研究と物質生産への応用

鮒 信学（静岡県立大学食品栄養科学部）

はじめに

ポリケタイドは、酢酸やプロピオン酸を基本単位とする二次代謝産物の総称である。III 型ポリケタイド合成酵素（III 型 PKS）は、伸長反応と閉環反応によってポリケタイドに構造多様性を賦与する。伸長反応とは、基質の縮合のことであり、III 型 PKS はこの種類および縮合回数を規定する。また、III 型 PKS は閉環反応において、ポリケタイド鎖の折りたたみの様式を制御する。

ゲノム情報のホモロジー検索に基づいた天然有機化合物の生合成研究を、ゲノムマイニングと呼ぶ。微生物や植物のゲノムを宝の山とみたと、それを採鉱するという意味である。現在、データベースには、ゲノム解読などによって見出された無数の III 型 PKS 様配列が蓄積されている。本講演では、III 型 PKS のゲノムマイニングの成果と、III 型 PKS の触媒機能を利用した芳香族ポリケタイドの微生物生産について発表する。

1. III 型 PKS、RppA の発見および修飾酵素群の研究

放線菌 *Streptomyces griseus* の RppA は、植物に特有な酵素、カルコン合成酵素（CHS）の相同蛋白質である。私は、RppA が 1,3,6,8-tetrahydroxynaphthalene（THN）を合成する新規なポリケタイド合成酵素（PKS）であることを明らかにした（図 1）。RppA は Malonyl-CoA のみを伸長反応に用い、脱炭酸を伴う Claisen 縮合により閉環を行う。RppA の発見により、CHS 相同蛋白が微生物一般に分布する PKS であることが明らかになった。PKS は I 型、II 型、CHS 型に分類されていたが、この発見が契機となり、現在、CHS 型は III 型 PKS と呼ばれている。

S. griseus の P-450mel は、THN を酸化的にカップリングし、hexaperylenequinone（HPQ）を合成することを見出した。さらに、P-450mel の遺伝子破壊株の UV 感受性が上昇したことから、HPQ は放線菌の新規なメラニンであることが明らかになった（図 1）。この発見により、THN を介したメラニンの生合成が細菌にも分布していることが明らかになった。また、植物の III PKS が UV 防御に関与する例は知られていたが、放線菌の III PKS も類似な機能を持つことが明らかになった。

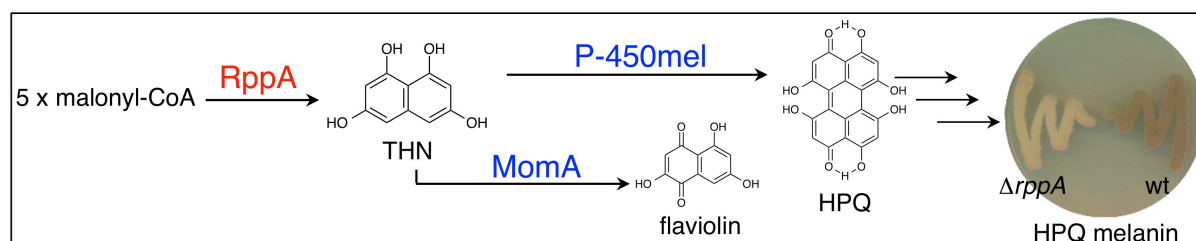


図 1 *Streptomyces* 属における III 型 PKS RppA、酸化酵素 P-450mel および MomA の反応

THN はカビの DHN メラニンの前駆体であるが、放線菌では新規 HPQ メラニンの前駆体である。*rppA* 破壊株はアルビノ形態を示す。放線菌の種によって THN 以降の修飾酵素に多様性がある。MomA はその一例。

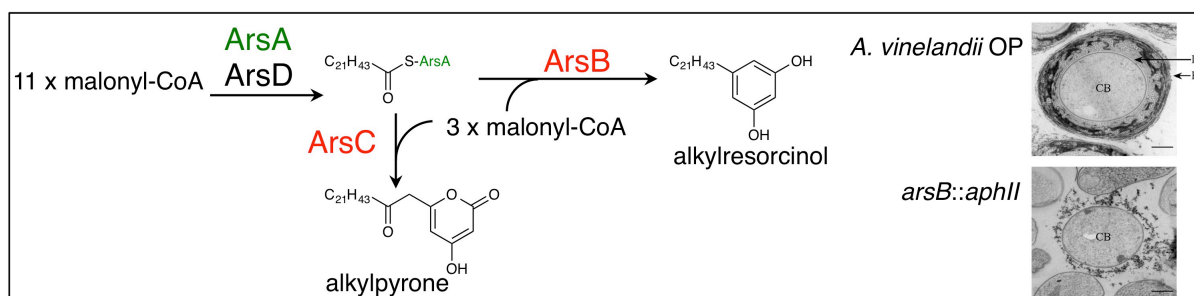


図 2 *Azotobacter vinelandii* における I 型および III 型 PKS Ars による alkylresorcinol の生合成、酸化酵素 P-450mel および MomA の反応. I 型 PKS ArsAD により C_{22} の脂肪酸前駆体が生合成される. III 型 PKS ArsBC は ArsA のドメインに共有結合している前駆体を直接基質とする. Alkylresorcinol は *A. vinelandii* の胞のうの膜成分であり、*arsB* 破壊株は正常な胞のうを形成できない。

2. 微生物における III 型 PKS の生理機能の解明

窒素固定細菌 *Azotobacter vinelandii* の I 型ポリケタイド合成酵素 ArsAD、二種の III 型 PKS、ArsB および ArsC の触媒機能を解明した (図 2)。Ars 酵素群は両親媒性の alkylresorcinol の合成を担う。alkylresorcinol は耐久細胞の一種である胞のうの膜成分であり、*arsB* の破壊株は正常な胞のうを形成できない (図 2)。

また、放線菌 *S. griseus* の III 型 PKS・SrsA、メチル化酵素 SrsB、酸化酵素 SrsC の触媒機能を解明した。そして、Srs 酵素群は放線菌の新規な膜成分 phenolic lipid を生産すること、*srsA* 遺伝子破壊株は細胞壁合成阻害剤に対する感受性が上がることを明らかにした。以上のように、微生物において、III 型 PKS が両親媒性のポリケタイドの合成を担い、その産物が細胞膜形成という生理的役割を有していることを明らかにした。

おわりに

私は、III 型 PKS の探索研究と、その機能解析を行ってきた。また、新規な化学構造を有する植物ポリケタイドの化合物コレクションの生産系を構築した。

有用遺伝子を「試薬」、微生物を「フラスコ」と見立てると、遺伝子を微生物に形質転換することは、あたかも試薬をフラスコに入れるかのようである。将来、有機合成化学のように、組換え微生物を用いて、好きな天然有機化合物やそのアナログを自由自在に生産させることができるようになるかと信じている。今後、試薬のより一層の充実と、より良いフラスコ造りが農芸化学の一分野として重要であると考えている。

略歴

鮒 信学 (ふな のぶたか)

平成 10 年 3 月 慶應義塾大学 理工学部 化学科卒業

平成 12 年 3 月 東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命工学専攻 修士課程修了

平成 12 年 4 月 日本学術振興会 特別研究員 DC1

平成 15 年 3 月 東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命工学専攻 博士課程修了

平成 15 年 4 月 東京大学大学院 農学生命科学研究科 助手

平成 20 年 4 月 同 助教

平成 22 年 4 月 静岡県立大学 食品栄養科学部 准教授 現在に至る

基調講演

1つの研究課題を長期間継続することの意義とすすめ

鈴木 文昭（岐阜大学 理事・副学長）

1つの研究テーマでどれだけ長期間に渡って継続し研究論文を出し続けられるのでしょうか。私の場合、当初は何度もテーマ変更にもうと思いましたが、叶わず今を迎えています。十数年前からは、レニンおよび関連研究を進めることに使命と責任を感じるようになりました。今では、「レニン、プロレニン、アンジオテンシノーゲンそして関連物質」に対して長期間学ばせていただいたことに感謝しています。今回の講演を通して、「1つの研究課題を長期間継続することの意義」について、私の研究の流れを1事例としてお示しし、その意義を共有したい。

1) 継続できた理由：内外の研究環境と研究テーマの魅力に惹かれる

- ・ 大型研究予算に縛られることなく、研究の主体性と責任を担う（研究テーマの選択に一定の自由度が与えられる）環境下にあった。
- ・ 一般的な酵素科学研究と異なり、「酵素（レニン：タンパク質）と基質（アンジオテンシノーゲン：タンパク質）」は不安定で市販されていなく（最近市販されるようになったが高価）、生成物：アンジオテンシンⅠの測定系も実験者自身で組み立てねばならなくて、大変に煩雑でしかも安定した実験条件を整える必要があった。結果として、簡単に研究に参入することができないテーマであった。
- ・ 関連する臨床系の研究論文は、ここ30年で年間1,000報以上あり、レニン・アンジオテンシン系の生体内での重要性を理解するとともに、臨床研究者からの基礎研究の進展への期待を強く感じた。

2) 継続して得られたこと：国内外にいる関連研究領域の推進グループとの対話と信頼関係の構築

- ・ テーマとしてのオリジナリティと研究者としてのアイデンティティを維持できた。
- ・ 酵素科学としてはアスパルチル・プロテアーゼの研究者の方々、測定系としてはイムノアッセイ系の研究者、そして遺伝子工学、細胞工学や分子生物学領域の研究者や、これらに身を置く臨床系の研究者との対話や情報交換を通して、常に新鮮な有益情報が得られ、研究のモチベーションを高く保つことができた。

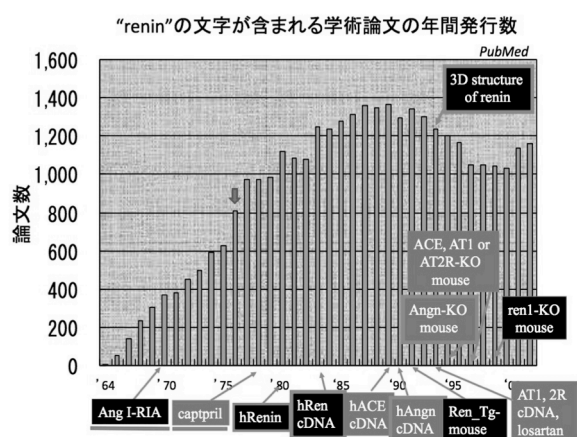
3) 量から質への転換：多くの研究者が読む学術誌への投稿チャレンジ

- ・ 論文数を年々上げていったり、発表数を維持したりすることは大切なことですが、質を上げてみることにチャレンジすることも重要なことに研究途中で気がついた。
- ・ 研究論文とは、研究者間で成果を共有することによって学問の発展へと繋げることで意味がでるので、多くの関連研究グループと敬意を表しあう関係を構築していくためには、研究の質を上げることが重要となる。

4) 長期間継続すべき研究テーマとは：自身の研究チームの俯瞰的位置付けで判断

- ・ 研究者個人の好みで1つのテーマを長期間継続する場合もあるが、価値ある継続とは、関係研究に影響を与え、全体として発展する潜在性を感じた場合は、継続すべきと考える。
- ・ 私自身が研究を継続すべきと判断した基準は、関連研究の年間論総数とその継続性です。PubMedのデータベースが充実した時期に、文字 ”renin” を検索した。1980年頃から年に1,000報以上を30

年以上維持している。自分たちの論文の潜在的読者は 1,000 グループはいるという期待が湧いた。最近では被引用数の追跡も可能です。年間目標としては、私たちの論文総数の年間被引用数が 300 編以上、つまり 3 グループに 1 グループから引用されることが目標です。これが 10 年以上維持できていれば継続すべき研究テーマだと判断している。関連研究の年間論文総数が 10 年以上 1,000 報以上維持されているテーマで、しかも論文の被引用総数がその 20~30% を 10 年以上維持できていれば、さらに 10 年間は継続することをお勧めします。是非、ご自身の研究テーマで確認ください。



最後に、今回お示ししたことは、大学教員（特に中規模大学の）が研究者として世界的にも認知され、評価されるための 1 つの研究マネジメント手法といえるかもしれない。これからの農芸化学の発展を担う若手研究者の方々には、目先の研究テーマに惑わされることなく、学問の発展と社会貢献のために、世界中の関連研究者とその成果を共有し、大いに活躍されることを期待している。

略 歴

鈴木 文昭（すずき ふみあき）

昭和 50 年 3 月 岐阜大学農学部農芸化学学科卒業
 昭和 52 年 3 月 京都大学大学院農学研究科修士課程（食品工学専攻）修了
 昭和 52 年 4 月 村上和雄先生の下でレニン研究を始める（筑波大学大学院博士課程）
 昭和 53 年 3 月 筑波大学大学院博士課程中途退学、（昭和 60 年 3 月 農学博士（筑波大学））
 昭和 53 年 4 月 岐阜大学助手（農学部農芸化学科）
 昭和 61 年 3 月 ドイツ連邦共和国ドイツ高血圧研究所およびハイデルベルク大学薬理学研究所
 （アレキサンダー・フォン・フンボルト財団リサーチフェロー）～平成 62 年 9 月
 昭和 63 年 10 月 岐阜大学助教授（農学部生物資源利用学科）
 平成 5 年 3 月 農芸化学奨励賞受賞（第 304 号、日本農芸化学会）
 平成 7 年 5 月 岐阜大学助教授（遺伝子実験施設）
 平成 12 年 4 月 岐阜大学教授（農学部生物資源生産学科）
 平成 12 年 4 月 国際科学振興財団評議員 ～平成 19 年 3 月
 平成 16 年 4 月 岐阜大学応用生物科学部教授（食品生命科学課程）
 平成 17 年 11 月 BBB 編集委員 ～平成 21 年 3 月
 平成 20 年 4 月 日本農芸化学会評議員 ～平成 23 年 3 月
 平成 22 年 4 月 岐阜大学応用生物科学部・副学部長（併任）～23 年 3 月 31 日
 平成 23 年 4 月 岐阜大学連合農学研究科長（併任）～平成 26 年 3 月 31 日
 平成 26 年 4 月 岐阜大学理事・副学長（国際・広報担当）～現在（2016）に至る

日本農芸化学会中部支部 賛助企業（五十音順）



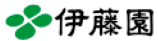
天野エンザイム(株) 岐阜研究所

<http://www.amano-enzyme.co.jp/jp/>



イチビキ(株) 研究開発部

<http://www.ichibiki.co.jp/>



(株)伊藤園 生産本部

<http://www.itoen.co.jp/>

 伊那食品工業株式会社 伊那食品工業(株)

<http://www.kantenpp.co.jp/>



加藤化学(株) 技術部

<http://www.katokagaku.co.jp/>



(株)岐阜セラック製造所 品質保証部

<http://www.gifushellac.co.jp/>



(株)三和化学研究所 三重研究所

<http://www.skk-net.com/>



敷島製パン(株) 研究部

<http://www.pasconet.co.jp/>



(株)真誠

<http://www.shinsei-ip.ne.jp/>

新日本化学工業(株) 研究部



太陽化学(株) ニュートリション事業部

<http://www.taiyokagaku.com/>



辻製油(株)

<http://www.tsuji-seiyu.co.jp/>



東海物産(株) 食品研究所

<http://www.tokaibsn.co.jp/>



中日本氷糖(株)

<http://www.nakahyo.co.jp/>



(株)ニッポンジーン

<http://www.nippongene.com/>



フジ日本精糖(株) 研究開発室

<http://www.fnsugar.co.jp/>



物産フードサイエンス(株)
研究開発センター

<http://www.bfsci.co.jp/>



ポッカサッポロフード&ビバレッジ(株)
中央研究所

<http://www.pokkasapporo-fb.jp/>



(株)Mizkan-Holdings 中央研究所

<http://www.mizkan.co.jp/company/>



ヤマモリ(株) 桑名工場

<http://www.yamamori.co.jp/>



養命酒製造(株) 商品開発センター

<http://www.yomeishu.co.jp/>

協力企業（五十音順）

アサヒビール(株) 名古屋工場	サンエイ糖化(株)	東洋紡績(株) 敦賀バイオ研究所
旭松食品(株) 食品研究所	サンジルス醸造(株) 生産本部	名古屋製酪(株) 中央研究所
アステラス製薬(株) CSR 部	敷島スターチ(株) 技術開発室	日本食品化工(株) 研究所
伊藤忠製糖(株) 品筆保証室	大和製罐(株) 総合研究所	三井農林(株) 食品総合研究所
科研製薬(株) 生産技術研究所	竹本油脂(株) 情報調査室	名糖産業(株) 食品開発部
カネハツ食品(株) 技術部	デザイナーフーズ(株)	盛田(株) 小鈴谷工場
キリンビール(株) 名古屋工場	東海漬物(株) 漬物機能研究所	
金印(株) 研究開発部	(株)東洋発酵	

公益社団法人 日本農芸化学会中部支部
第 176 回例会 講演要旨集

発行者：堀尾 文彦（日本農芸化学会中部支部 支部長）
名古屋市千種区不老町 名古屋大学 東山キャンパス内
発行日：平成 28 年 7 月 9 日
