

平成 21 年度科学交流フォーラム
第 11 回静岡ライフサイエンスシンポジウム

生物のパワーはどこまで利用できるか

－生物機能の活性化による有用物質生産－

2010 年 3 月 5 日（金）
静岡大学 大学会館 大ホール

主催：静岡生命科学若手フォーラム、大学ネットワーク静岡、静岡県

目 次

スケジュール	・ ・ ・ 2
シンポジウムの要旨	・ ・ ・ 5
ポスター発表の演題一覧	・ ・ ・ 11
ポスター発表の要旨	・ ・ ・ 14

スケジュール

9 : 30 受付

10 : 00 開会の辞

興 直孝 (静岡大学長)

10 : 05 イントロダクション 1

小谷真也 (静岡大学)

10 : 10 「潜在遺伝子活性化による有用放線菌の創出」

保坂 毅 (信州大学)

10 : 40 「蛋白質間相互作用を標的とする阻害ペプチド・蛋白質ドメインの創出」

河原崎泰昌 (静岡県立大学)

11 : 10 ポスター発表 1

12 : 10 昼食

12 : 40 ポスター発表 2

13 : 40 「カンキツ果実におけるβ-クリプトキサンチンの蓄積・調節メカニズム」

加藤雅也 (静岡大学農学部)

14 : 10 イントロダクション 2

栗井光一郎 (静岡大学)

14 : 15 「Intersection of the metabolic pathways for tocopherol and photosynthetic pigments at the plastoglobules of chloroplasts」

Dr. Peter Dörmann (ドイツ・ボン大学)

15 : 05 休憩

15 : 10 イントロダクション 3

栗井光一郎 (静岡大学)

15 : 15 「Plant biomass and the role of plant lipid biotechnology for fuels and materials」

Dr. Sten Stymne (スウェーデン農業大学)

16 : 05 ポスター賞受賞者発表

16 : 15 ポスター賞受賞者講演

17 : 05 閉会の辞

17 : 30 交流会 (場所：大学会館 大ホール)

演題名	潜在遺伝子活性化による有用放線菌の創出
氏名	保坂 毅
所属	信州大学ファイバーナノテク国際若手研究者育成拠点
要 旨	

放線菌は抗生物質に代表される有用な二次代謝産物の宝庫として、極めて魅力的な微生物群である。現在までに発見された微生物由来の低分子生理活性物質（広義の抗生物質）の約 7 割が放線菌の二次代謝産物であり、それらの中には、医薬、農薬、動物薬として実用化されたものも少なくはない。近年、放線菌研究における代表菌株の全ゲノム配列が次々と決定され、興味深いことに、放線菌の二次代謝産物生合成遺伝子の大半が実際には眠ったまま（通常の培養条件では検出には到らない微弱な発現レベル）の状態にあることが判ってきた。この事実から、放線菌には我々の予想をはるかに超えた高い潜在的な利用価値があることも新たに見えてきた。放線菌の潜在的な二次代謝産物生合成遺伝子を覚醒できれば、抗生物質をはじめとする有用な生理活性物質の発見に繋がる。従って、放線菌を対象とした潜在遺伝子活性化技術を確立することは、新薬の創出に大きく貢献するものと考えられている。

ごく最近我々は、放線菌に特定のリファンピシン耐性変異（RNA ポリメラーゼ β -サブユニットをコードする *rpoB* 遺伝子の変異）あるいはストレプトマイシン耐性変異（リボソームタンパク質 S12 をコードする *rpsL* 遺伝子の変異）を持たせると、RNA ポリメラーゼやリボソームの機能が変化して、潜在的な抗生物質生産力が劇的に増大するという現象を見出した [1]。本講演では、抗生物質を生産しないと思われた土壌分離放線菌の潜在遺伝子を目覚めさせ、実際に新しい抗生物質を発見することに成功した事例に基づき、RNA ポリメラーゼ変異やリボソーム変異を活用した放線菌の潜在遺伝子活性化技術の概略（下図参照）を紹介する。

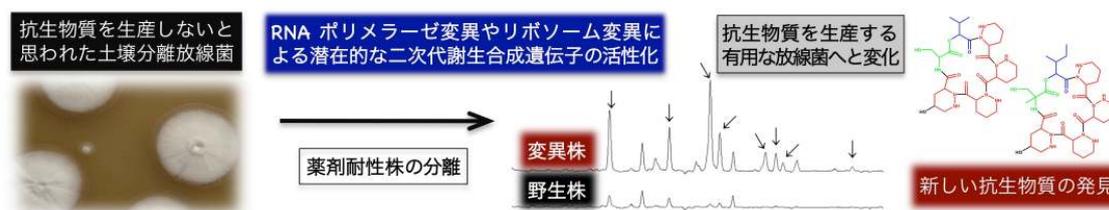


図 潜在遺伝子活性化による放線菌からの新抗生物質探索。

潜在遺伝子を目覚めさせることで、抗生物質を生産しないと思われた放線菌からも新しい抗生物質を見つけ出すことが可能である。

Reference: [1] T. Hosaka, M. Ohnishi-Kameyama, H. Muramatsu, K. Murakami, Y. Tsurumi, S. Kodani, M. Yoshida, A. Fujie, and K. Ochi. Antibacterial discovery in actinomycetes strains with mutations in RNA polymerase or ribosomal protein S12. *Nat Biotechnol* **27**:462-464 (2009).

演題名	蛋白質間相互作用を標的とする 阻害ペプチド・蛋白質ドメインの創出
氏名	河原崎 泰昌
所属	静岡県立大学食品栄養科学部
要 旨	
<p>疾患や感染症などを含め、蛋白質間の相互作用はあらゆる生命活動において中心的な役割を担う。このため、相互作用蛋白質の大規模解析（インタラクトーム解析）はポストゲノム解析における中心的課題である。当該分野の次の目標はそれぞれの相互作用の生物学的意義の解明、およびそれに基づく疾患に関連する相互作用の同定である。これらの目標を達成するには「逆遺伝学のプロテオミクス版」、すなわち「特定相互作用の選択的破壊による表現型観察」を如何にして実施するかが大きなポイントとなっている。</p> <p>私たちは進化分子工学の手法を利用し、相互作用を担う蛋白質ドメインを迅速に精密同定する方法（Ikeuchi et al., NAR 2003）を開発してきた。現在はこの手法を基盤技術とし、蛋白質ドメインおよびその変異体を用いた相互作用の選択的破壊法を確立するため研究を行っている。特定の相互作用を選択的に破壊できる相互作用ドメインは、ペプチド性相互作用阻害剤として利用可能であり、創薬への展開も期待できる。</p> <p>精密同定した相互作用ドメインを強力な相互作用阻害剤にするには、進化工学的な蛋白質機能改良法が有効ではないかと我々は考えている。つまり、相互作用ドメインの領域に無作為・大規模な変異導入（Ikeuchi et al., Biotechnol. Progr. 2003; Kawarasaki et al., NAR 2003 など）を行い、結合能がより増大した変異体を高速スクリーニングする、というものである。</p> <p>しかしながら、より強い結合能を獲得したクローンを効率よくスクリーニングするためには、半定量的に蛋白質間相互作用を検出できる相互作用レポーター遺伝子、およびこの遺伝子を用いた高速スクリーニング系が不可欠である。そこで我々は、酵母2ハイブリッド系で用いることができる新たなレポーター遺伝子として糸状菌由来分泌型β-ガラクトシダーゼを改良し、様々な特性解析を進め、半定量的高速スクリーニングに用いている。このスクリーニング系では、野生型配列の数倍以上の標的結合活性を獲得した変異体を 10⁵ クローン以上のライブラリーから容易に選び取れる。現在、特に酵母の染色体分配のチェックポイントに関わる蛋白質間の相互作用を標的としたペプチド断片のスクリーニングを行っている。</p> <p>シンポジウムでは、これら“逆（リバーズ）・プロテオミクス”ともいふべき研究領域の創成に向けた私たちの上取り組みを紹介したい。</p>	

演題名	カンキツ果実におけるβ-クリプトキサンの蓄積・調節メカニズム
氏名	加藤 雅也
所属	静岡大学農学部共生バイオサイエンス学科

要 旨

カンキツ果実には、カロテノイドが豊富に含まれる。カロテノイドは、フィトエンから脱水素、環化、水酸基導入、エポキシ化を経て生合成され、600種以上にも及ぶ重要な植物色素の一群である(図1)。カロテノイドの1種であるβ-クリプトキサンチンは、ウンシュウミカン果実に特異的に含まれる。このβ-クリプトキサンチンは、ビタミンA効力を有するほか、がん、骨粗しょう症といった生活習慣病を予防できる機能性成分である。

カンキツ果実におけるβ-クリプトキサンの蓄積メカニズムを解明するために、砂じょう(果肉部分)にβ-クリプトキサンを蓄積するウンシュウミカン、ビオラキサンチンを蓄積するバレンシアオレンジ、カロテノイド含量が少ないリスボンレモンのカンキツ3品種を用いて、カロテノイド生合成・分解に関わる遺伝子の発現を比較した。その結果、ウンシュウミカンとバレンシアオレンジでは、カロテノイド生合成経路の上流と下流の遺伝子の発現バランスが逆転していることが明らかとなった(Kato et al., 2004)。また、カロテノイドを分解する carotenoid cleavage dioxygenase の遺伝子発現についても、カンキツ3品種において異なるパターンを示した(Kato et al., 2006)。以上の結果から、ウンシュウミカン果実におけるβ-クリプトキサンの蓄積には、カロテノイド生合成・分解に関わる遺伝子の発現が、深く関与していることが示唆された。

β-クリプトキサンの調節メカニズムを解明するために、上記カンキツ3品種の砂じょうを培養し、どのような要因がβ-クリプトキサンの調節に関わっているか調査を行った。培養砂じょうは、環境条件などを容易に設定、変更することができる。本研究では、このような培養砂じょうを用いて、低温、光照射、水分ストレス、植物ホルモン、糖(スクロース)処理を行った。その結果、培養砂じょうのβ-クリプトキサンチン含量ならびに関連遺伝子の発現は、これらの処理により様々な変動を示した。従って、これらの要因は、β-クリプトキサンチン含量を調節する上で、重要であると考えられた。

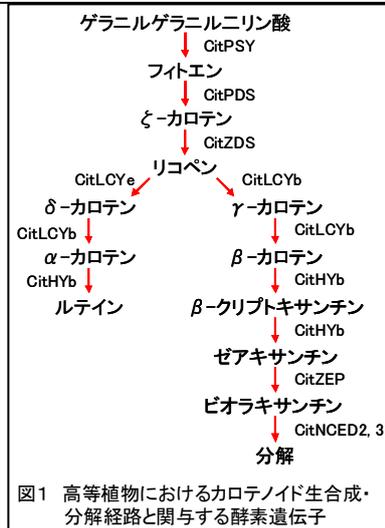


図1 高等植物におけるカロテノイド生合成・分解経路と関与する酵素遺伝子

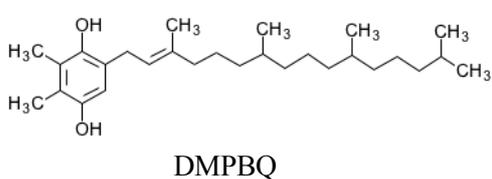
<引用文献>

- Kato et al. (2004) Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiology*, 134: 824-837.
- Kato et al. (2006) The role of carotenoid cleavage dioxygenases in the regulation of carotenoid profiles during maturation in citrus fruit. *Journal of Experimental Botany*, 57: 2153-2164.

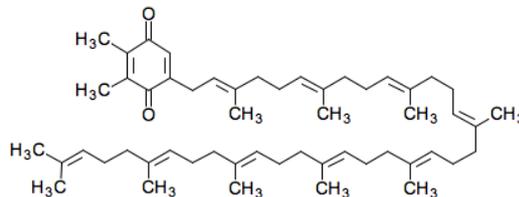
Title	Intersection of the metabolic pathways for tocopherol and photosynthetic pigments at the plastoglobules of chloroplasts.
Name	Peter Doermann
Affiliation	IMBIO Institute, University of Bonn, Germany
Abstract	
<p>Arabidopsis contains four forms of tocopherol which differ by the number and position of methyl groups on the chromanol ring. Tocopherol represents a chloroplast lipid antioxidant that is essential for human nutrition (vitamin E). During tocopherol synthesis, phytol from phytol-diphosphate is linked to homogentisate by homogentisate phytyl transferase (HPT1). After methylation, dimethyl-phytyl-benzoquinol (DMPBQ) is converted into gamma-tocopherol by tocopherol cyclase (VTE1). Plastoquinol-9, the electron carrier of photosystem II, harbors the same headgroup as DMPBQ but contains a longer isoprenoid side chain. Overexpression of VTE1 in Arabidopsis leaves resulted in the conversion of a large proportion of plastoquinol-9 into its cyclized product, plastocholesterol-8 (PC-8). Therefore, plastoquinol-9 can also undergo VTE1-dependent cyclization, analogous to DMPBQ. PC-8 is also detectable in Arabidopsis wild type leaves, albeit at low concentration. Chloroplast fractionation experiments showed that large proportions of tocopherol and of PC-8 localize to plastoglobules, small lipid-protein particles in the chloroplasts. Plastoglobules presumably represent storage particles for excess lipid material in the chloroplasts. The conversion of plastoquinol-9 into PC-8 by VTE1 might represent a mechanism for the regulation of the plastoquinol-9 pool available for photosynthesis.</p> <p>During senescence and abiotic stress, chlorophyll is broken down in the chloroplasts of plants. While the catabolism of the chlorophyll headgroup has been well characterized, little is known about the metabolism of free phytol. In young plants, a large proportion of phytyl-diphosphate is derived from the isoprenoid de novo synthesis pathway. In older plants and during senescence, free phytol from chlorophyll degradation can be phosphorylated by phytyl kinase (VTE5) and phytyl-phosphate kinase. We obtained a cDNA and the corresponding T-DNA insertion mutant from Arabidopsis as a candidate for phytyl-phosphate kinase ("vte6") by sequence homology searches. Homozygous vte6 mutants are strongly reduced in size, and the leaves are deficient in tocopherol indicating that this gene is involved in tocopherol synthesis.</p>	

モデル植物であるシロイヌナズナには 4 種のトコフェロール（ビタミン E）が存在しており、それぞれクロマンオール環に結合しているメチル基の位置や数が異なる。ヒトの必須栄養素でもあるトコフェロールは、葉緑体では脂溶性抗酸化剤として機能していると考えられている。トコフェロール合成ではまず、フィトールピロリン酸のフィトールがホモゲンチジン酸フィチル基転移酵素（HPT1）によってホモゲンチジン酸に転移され、続くメチル化後、生成したジメチルフィチルベンゾキノール（DMPBQ）がトコフェロール環化酵素（VTE1）によって γ -トコフェロールへと変換される。光化学系 II の電子伝達体であるプラストキノール-9 は、DMPBQ とよく似た構造をしており、より長いイソプレノイド側鎖を持つ。シロイヌナズナの VTE1 過剰発現株の葉では、プラストキノール-9 の大部分が環化され、プラストクロマンオール-8（PC-8）に変換されていたことから、プラストキノール-9 も DMPBQ と同様の VTE1 依存の環化反応を受けていることがわかった。PC-8 は低濃度ではあるが、シロイヌナズナ野生株の葉でも検出される。葉緑体を様々な画分に分けたところ、大部分のトコフェロールと PC-8 は、葉緑体の中にある小さな脂質-タンパク質粒子であるプラストグロビュルに存在することがわかった。このことから、プラストグロビュルは葉緑体に過剰に存在する脂溶性物質を貯蔵していると思われる。VTE1 によるプラストキノール-9 から PC-8 への変換は、おそらく光合成に必要なプラストキノール-9 のプールの制御機構に関与しているであろう。

老化や非生物的ストレスにより、植物葉緑体でクロロフィルは分解される。クロロフィルのポルフィリン環部位の分解代謝研究は進展しているが、遊離したフィトールの分解についてはあまり良く分かっていない。若い植物体では、大部分のフィトールピロリン酸はイソプレノイドを用いた新規合成経路によって合成されるが、成熟した植物や老化過程では、クロロフィルの分解によって遊離したフィトールがフィトールリン酸化酵素（VTE5）やフィトールリン酸化酵素によってリン酸化を受けられると思われる。我々は相同性解析から、フィトールリン酸化酵素の cDNA や、対応する T-DNA 挿入遺伝子破壊株（vte6）の候補をシロイヌナズナから単離した。vte6 変異株のホモ接合体では、植物体が矮化し、葉のトコフェロールが欠乏していた。このことは、この遺伝子がトコフェロール合成に関与していることを示している。



DMPBQ



プラストキノール-9

Title	Plant biomass and the role of plant lipid biotechnology for fuels and materials
Name	Sten Stymne
Affiliation	Swedish University of Agricultural Sciences
Abstract	
<p>Climate, geopolitical and economic reasons necessitate a rapid replacement of the fossil oil with environmental neutral and sustainable alternatives. In the last years, agricultural products have been in the focus as an alternative, in particular for the production ethanol and biodiesel. Despite that there is no doubt that agriculture can only replace a minor part of the fossil oil used today, I will in this presentation argue for that agriculture can have an important role to deliver reduced hydrocarbons in form of plant oils to replace the fossil oil, in particular for the chemical industry. Plant oils are energy dense, liquid and resemble chemically the fossil oil, the latter being actually derived from plant (algae) oils. From these perspectives, plant oils are the obvious choice as alternatives to fossil oil for both liquid fuel and chemical industry. I will present a vision whereby we, in the next 20 years, can make it possible replace 60% of the fossil oil in the chemical industry with plant oils by using plant biotechnology and this without jeopardizing food production. In order for the chemical industry to consider plant oils instead of fossil oils on a big scale, we have to make sure that vegetable oil production will not be limited for them as well as we have to optimize the chemical structures of the oil to suit the various industrial applications. I will, with some examples, show how plant biotechnology is addressing these challenges.</p> <p>気候変動、地政学、経済学上の理由により、化石燃料を代替エネルギーへと転換し、環境負荷を下げた持続可能な社会へと移行することが急務となっている。その代替エネルギー候補として、近年特にエタノールやバイオディーゼル生産の材料となる農産物が注目を集めている。今日利用されている化石燃料の量は膨大であり、そのごく一部しか農業によって代替できないことは疑いのない事実である。そこで、本講演では化石燃料の代替物として、特に化学産業の需要に対する、還元炭化水素である植物油の供給について議論する。植物油は高エネルギーの液体であり、石油と化学的に近い物質である。実際、石油は元々植物（藻類）の油脂から出来たものである。これらのことから、植物油は液体燃料・化学工業原料両方において石油に代替する有力な候補であると言える。そこで私は、今後 20 年間のうちに、現在化学産業で利用されている石油の 6 割を、食糧生産を危機に陥れることなく、植物バイオテクノロジーによって植物油と置き換える方策を提案する。石油に代わって植物油を大規模利用をすることを化学産業に検討させるため、まず植物油が十分量生産可能であることを示す必要がある。また、油脂を様々な工業的応用に適した化学構造に最適化する必要がある。本講演では、いくつかの例と共に、植物バイオテクノロジーによってどのようにしてこれらの問題を解決していくのかを紹介したい。</p>	

ポスター発表演題一覧

【奇数番がポスター発表 1 (11:10-12:10)、
偶数番がポスター発表 2 (12:40-13:40) でプレゼンをして下さい】

P-1

放線菌 *Streptomyces hawaiiensis* から
の新しい抗菌物質の単離

P-2

放線菌 *Streptomyces aureofaciens* から
の新しい抗菌物質の単離

P-3

茶カテキン類と食品タンパク質との
分子間相互作用の解析：食品の機能性
改良に向けて

P-4

レモンマートルのシトラール合成
に関わる酵素遺伝子のクローニング
と発現酵素の特性解析

P-5

ゲンタミシン耐性変異による放線菌
の潜在的抗生物質生産活性化メカニズ
ムの解明

P-6

放線菌から分離した抗生物質高生産
エリスロマイシン耐性株の特性解析

P-7

Effect of LED lights and plant
hormones on carotenoid metabolism and
its regulation mechanism in citrus fruits

P-8

Regulation of ascorbate metabolism by
1-methylcyclopropene and ethylene in
post-harvest broccoli and cauliflower

P-9

出芽酵母 TOR を介した DNA 複製の
制御機構の解析

P-10

マウス動脈硬化症発症に対する
EGCG およびカフェインの効果

P-11

分裂酵母の減数分裂前期テロメア集
合は SUN ファミリー核膜タンパク質
と微小管モータータンパク質に依存す
る

P-12

妊娠および必乳中のマウス乳腺内
における CCL25 ケモカインの発現

P-13

分裂後期セキュリンによるセパラ
ーゼ阻害の解析

P-14

複製チェックポイント因子 Mrc1 は
減数分裂特異的なセントロメア制御に
関与する

P-15

分裂酵母のテロメア集合におけるセ
ントロメアの役割の検討

P-16

マウス動脈硬化症発症における社会
的孤立ストレスの影響

P-17

カンキツ培養砂じょうにおけるカロ
テノイド含量ならびに関連遺伝子の発
現に及ぼす培地中の糖濃度の影響

P-18

RNA オリゴマーによる細胞内の転
写制御機構の解析

P-19

核酸結合タンパク質 EWS によるグ
アニン四重鎖構造認識機構の解析

P-20

細胞内における核酸結合タンパク質
EWS の機能解析

P-21

分裂酵母の減数分裂特異的な APC 活性化因子 Fzr1 の機能解析

P-22

グアニン四重鎖に結合するペプチドの解析

P-23

マウス自己免疫病発症に対するブラジル産プロポリスの効果

P-24

生息環境が隣接した地域におけるカラス 2 種の行動生態学的比較

P-25

複数データベースを用いた miRNA ターゲットに関する網羅的解析

P-26

ショウジョウバエの $\beta 3$ -オクトパミン受容体遺伝子は変態期における形態形成に必須である

P-27

ショウジョウバエを用いたローヤルゼリーの生理活性成分の検出と探索

P-28

簡易型 BMI 端末を用いた鉄道模型、ラジコンロボット、エレメカゲームの操作

P-29

小鳥の歌文法解析と歌神経核の細胞外モノアミンレベルの連続測定

P-30

TOR は Cdc42 を介して出芽を制御する

P-31

分裂酵母 *tor2* ラパマイシン感受性株の解析

P-32

tor2 ラパマイシン感受性株のマルチコピーサプレッサーの取得と解析

P-33

CAM 法による血管新生抑制活性に関する研究

P-34

ニワトリ胚前腸門領域におけるカドヘリン接着分子の発現解析

P-35

減数分裂における新規な染色体分配異常変異株の取得と解析

P-36

環境ホルモン暴露による衝動性・刺激馴化・短期記憶への影響

P-37

核酸結合タンパク質 TLS による翻訳制御機構の解明

P-38

テロメア領域における核酸結合タンパク質 TLS の機能解明

P-39

核酸結合タンパク質 TLS の核酸結合性の解析

P-40

TOR シグナルはツメガエル胚の前後の位置価を制御する

P-41

BCNE センターの役割：脳形成と軸形成の両方に関わる

P-42

RGG タンパク質が結合したグアニン四重鎖構造の解析

P-43

LC-MS/MS を用いたトマト果実プラスチドのショットガンプロテオミクス

P-44

ヒト Mad2 高結合型ペプチドの創製と機能解析

P-45

分裂酵母 *tor1* 温度感受性変異株の取得と解析

P-46

シロイヌナズナのタグラインを用いた DNA/RNA 結合モチーフを持つ新規葉緑体タンパク質の解析

P-47

シロイヌナズナのタグラインを用いた RNA 結合モチーフを持つ葉緑体タンパク質の機能解析

P-48

シロイヌナズナのタグラインを用いたリボソーム結合因子 RBFA のホモログ APG4 とその関連タンパク質の機能解析

P-49

草刈り強度を弱めると水田畦畔植生の多様性は高まるか？ - 伝統的棚田と大規模水田の比較 -

P-50

植物のトゲの役割 ～植物-植食性昆虫-天敵昆虫の三者系における最適な毛茸の形態～

P-51

静岡県安倍川流域における外来植物ネズミムギ集団のエンドファイト感染率および垂直伝播効率

P-52

コムギ畑に生息する種子食昆虫はエンドファイトに感染した外来雑草ネズミムギの種子を忌避する

P-1

放線菌 *Streptomyces hawaiiensis* からの新しい抗菌物質の単離

*¹ 小早川文哉, ¹ 小谷真也

¹ 静岡大・農・応生

放線菌は抗生物質生産の生物資源として用いられてきた。現在においても新しい有用物質が発見されており、探索研究が盛んにおこなわれている。本発表において *S. hawaiiensis* から新しい抗菌物質を単離したので報告する。*S. hawaiiensis* 寒天培養菌体をアセトン抽出し、抽出液を減圧濃縮後、逆相オープンカラムを用い含水メタノールによって溶媒分画した。活性の見られた画分から ODS カラムを用いた HPLC 分取によって活性物質を単離した。この成分はポジティブモードの ESI-MS 測定で m/z 263 にイオンピークを与えた。本物質は HPLC で検出された 2 成分が溶液中で構造的に変換していると考えられた。そのため、アセチル化反応を行い安定な構造に変換した後、NMR および MS スペクトルの解析を進め、その部分構造を決定した。

P-2

放線菌 *Streptomyces aureofaciens* からの新しい抗菌物質の単離

*¹ 青木信幸, ¹ 小谷真也

¹ 静岡大・農・応生

放線菌は多種多様な抗生物質を生産し、古くから新奇抗生物質の探索研究が盛んにおこなわれている。本発表において *S. aureofaciens* から新しい抗菌物質を単離したので報告する。*S. aureofaciens* 寒天培養菌体をアセトン抽出し、抽出液を減圧濃縮後、逆相オープンカラムを用い含水メタノールによって溶媒分画した。活性の見られた画分から ODS カラムを用いた HPLC 分取によって活性物質を単離した。本物質は HPLC で検出された 4 成分が溶液中で構造的に変換していると考えられた。そのため、アセチル化反応を行い安定な構造に変換した後、NMR および MS スペクトルの解析を進め、その部分構造を決定した。また六炭糖が結合していることが示唆されたため、加水分解後、誘導體化し、HPLC 分析中である。

P-3

茶カテキン類と食品タンパク質との分子間相互作用の解析：食品の機能性改良に向けて

*1 市川達也, 1 山本彩乃, 1 尾登賢一, 1 石井剛志, 1 中山 勉
1 静岡県立大・食品・食品分子工学

茶カテキン類は多様な生理作用を有し、天然の機能性素材として食品や医薬品への有効活用が期待されている。食品素材として利用する場合、カテキン類はタンパク質や脂質などの食品成分と相互作用し、食品の機能性（栄養機能、感覚機能、生体調節機能）に影響することが予想される。本研究では、分子間相互作用に着目し、茶やカテキン類の添加による食品タンパク質の構造や機能の変化を解析した。

様々な食品からカテキン類と相互作用するタンパク質の探索を行った結果、高い親和性を有するタンパク質として乳カゼインと大豆リポキシゲナーゼを同定した。カテキン類と相互作用することで、カゼインは高分子量化し、リポキシゲナーゼは脂質の酸化活性が低下した。カゼインの高分子量化は食品の物性や成分の安定性に、リポキシゲナーゼの不活化は青臭さの低減に関与する。茶カテキン類は、タンパク質との相互作用を介して食品の機能性を改良する可能性がある。

P-4

レモンマートルのシトラール合成に関わる酵素遺伝子のクローニングと発現酵素の特性解析

*1 齋藤瑛介, 2 伊藤創平, 3 杉浦瑞枝, 4 Koltunow.Anna.M、#5 酒井坦
静岡県立大・食品・蛋白質工学

レモンマートルはオーストラリア原産のフトモモ科に属する植物で、その葉には強いレモン臭を持つシトラールが多く含まれている。シトラールは、ゲラニオールとその異性体のネラールの混合物で、それぞれゲラニオールとネロールから脱水素酵素によって合成される。Sweet basil ではこの反応を Cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD) と Geraniol dehydrogenase (GEDH) が触媒するとの報告がある。本研究はレモンマートルにおける、シトラール合成に関与するアルコール脱水素酵素遺伝子のクローニングと発現酵素の特性解析を目的とした。既知の CAD と GEDH の配列からデザインした縮重プライマーを用いて、1 個の CAD と 4 個の GEDH と予想される遺伝子をクローニングした。そのうちの 2 つの GEDH を大腸菌で発現し、この発現酵素はゲラニオール、ネロールに対する活性を示した。現在それら酵素の特性解析を行なっている。

P-5

ゲンタミシン耐性変異による放線菌の潜在的抗生物質生産活性化メカニズムの解明

*1 藤原達也, 2 千菊夫, 3 越智幸三, #4 保坂毅

1 信州大院・農, 2 信州大・農, 3 食総研, 4 信州大・若手拠点

【目的】我々は、放線菌にゲンタミシン（リボソーム攻撃性アミノグリコシド系抗生物質）耐性を持たせると潜在的な抗生物質生産力が劇的に増大する現象を見出した。本研究では、ゲンタミシン耐性変異による放線菌の潜在能力活性化メカニズムの解明を目指して、抗生物質高生産ゲンタミシン耐性株の特性解析に着手した。

【結果】薬剤耐性選抜法により、通常の培養条件では抗生物質を生産しない土壌分離放線菌 *Streptomyces* sp. 631689 から 100 菌株のゲンタミシン耐性株を分離した。驚くべきことに、そのうち 13 菌株が 631689 株における潜在性抗生物質ピペリダマイシンの生産力を獲得していた。また、ピペリダマイシン高生産ゲンタミシン耐性株の多くが種々のアミノグリコシド系抗生物質に耐性を示すことも判ってきた。現在、この性質をもとに潜在的な抗生物質生産力を活性化するゲンタミシン耐性変異の特定を進めている。

P-6

放線菌から分離した抗生物質高生産エリスロマイシン耐性株の特性解析

*1 今井優, 2,3 田中幸徳, 4 千菊夫, 2 越智幸三, #5 保坂毅

1 信州大院・農, 2 食総研, 3 静岡大・農, 4 信州大・農, 5 信州大・若手拠点

【背景】近年、放線菌にリボソーム攻撃性の薬剤に対する耐性を持たせると、潜在的な抗生物質生産力が劇的に増大することが判ってきた。エリスロマイシン (EM) は細菌のリボソーム 50S サブユニットに結合し、ペプチド鎖転移反応を阻害するマクロライド系抗生物質である。ごく最近我々は、放線菌への EM 耐性の付与が抗生物質生産を強力に活性化する現象を見出したので報告する。

【結果】薬剤耐性選抜法を活用して放線菌 *Streptomyces coelicolor* から 259 菌株の EM 耐性株を取得したところ、青色抗生物質アクチノロージンの高生産株が 22.4% という極めて高い頻度で出現することが判明した。驚くべきことに、野生株の 100 倍以上のアクチノロージン生産力を獲得した EM 耐性株も存在した。現在、EM 耐性に関わる変異遺伝子を特定するとともに、様々な放線菌での抗生物質生産活性化効果を調べている。

P-7

Effect of LED lights and plant hormones on carotenoid metabolism and its regulation mechanism in citrus fruits

*1 張 嵐翠, 1,2 馬 剛, 1 沖松明史, 1 橋野紘幸, 1 加藤雅也, 1 山脇和樹, 1 切岩祥和, 3 松本 光, 3 生駒吉識

1 静岡大農学部, 2 岐阜大院連合農学研究科, 3 農研機構果樹研

Carotenoid metabolism, which has been well documented in various plant species, is a complicated process and influenced by environmental factors and plant hormones. In our study, the effects of LED lights (blue, white and red) and plant hormones (ABA and GA) on carotenoid metabolism and its regulation mechanism in the three citrus cultivars (Satsuma mandarin Valencia orange, and Lisbon lemon) were investigated. The results showed that the carotenoid accumulation was induced by the blue and white lights, while it was not affected by the red light in Satsuma mandarin, Valencia orange and Lisbon lemon. With the treatment of ABA and GA the carotenoid contents decreased significantly in the three citrus cultivars. Gene expression analysis by real-time PCR showed that the modulation of the carotenoid metabolism by the LED lights, ABA and GA was highly regulated at the transcript level.

P-8

Regulation of ascorbate metabolism by 1-methylcyclopropene and ethylene in post-harvest broccoli and cauliflower

*1,2 馬 剛, 2 張 嵐翠, 2 加藤雅也, 2 山脇和樹, 2 浅井辰夫, 3 西川英美恵, 3 松本 光, 3 生駒吉識

1 岐阜大院連合農学研究科, 2 静岡大農学部, 3 農研機構果樹研

The effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) and ethylene on ascorbate metabolism were studied and the possible molecular mechanisms were examined in two cultivars of broccoli, 'Haitsu' and 'Ryokurei' and two cultivars of cauliflower, 'Violet Queen' and 'Snow Crown'. The results showed that the decrease in AsA content was delayed by treatment with 1-MCP, while it was accelerated by treatment with ethylene in 'Haitsu', 'Ryokurei', and 'Violet Queen' after harvest. However, in 'Snow Crown', the AsA content was lower and less sensitive to the 1-MCP and ethylene treatments than that in the other three cultivars. In addition, the AsA metabolism in the four cultivars was highly co-regulated by the cytosolic, mitochondrial, and chloroplastic genes for the enzymes involved in ascorbate-glutathione cycle in response to 1-MCP and ethylene treatment. These results might provide new insights into the mechanisms by which 1-MCP and ethylene delay or accelerate the senescence in plants.

P-9

出芽酵母 TOR を介した DNA 複製の制御機構の解析

*1 牧野仁志穂、#1 丑丸敬史

1 静岡大・院理・生物

DNA 複製には DNA の材料や関係するタンパク質が働く為のエネルギーが必要である。もし DNA 複製の途中で飢餓になったら細胞はどうなってしまうのだろうか？DNA の二本鎖はほどかれた状態になり、傷つくリスクが高くなる。そこで、DNA 複製を行っても良い状態か感知し、DNA 複製を制御する機構が存在するのではないかと我々は考えた。

TOR というタンパク質は栄養を感知して細胞内で起こる現象を制御するタンパク質であるが、TOR が DNA 複製も制御しているのではないかと仮説を立て、新たな DNA 複製の制御の仕組みを探っている。今回は、この仕組みの大きな枠組みが見えてきたので、それを報告する。

P-10

マウス動脈硬化症発症に対する EGCG およびカフェインの効果

*高穎，茶山和敏

静岡大・院農・応生

これまでの研究で、我々はカテキンとカフェインの組み合わせ投与が、強い動脈硬化症抑制作用を有することを明らかにしている。そこで、本研究では、カテキンの主要成分であるエピガロカテキンガレート(EGCG)とカフェインを単独あるいは組み合わせてマウスに投与し、それらの動脈硬化症発症抑制作用を検討した。その結果、動脈硬化部位の個数は各投与群で差が見られなかった。しかし、動脈硬化部位の面積は EGCG 単独および EGCG+カフェイン投与によって有意に減少した。そのため、EGCG は動脈硬化発症後の悪性進展抑制効果を有し、この効果にカフェインは関係しないことが示唆された。そして、カテキンとカフェインの組み合わせ投与による動脈硬化症の発症抑制作用は、EGCG 以外あるいは EGCG を含めた種々のカテキンとカフェインの相乗効果によるものと考えられた。

P-11

分裂酵母の減数分裂前期テロメア集合は SUN ファミリー核膜タンパク質と微小管モータータンパク質に依存する

*1 吉田昌史, #2 山本歩

静岡大・理・化学

減数分裂では多くの真核生物においてテロメアが集合するが、この集合は相同染色体の対合に必要である。近年、様々な生物において、テロメアの集合に核膜と細胞骨格をつなぎ止める働きをしている SUN タンパク質が関与することが明らかとなっている。しかし、テロメア集合機構の詳細は未解明である。我々は分裂酵母のテロメア集合に微小管モーターである細胞質ダイニン、またキネシンモーターが関与することを見いだした。SUN タンパク質である Sad1 がテロメア集合の起こる前に一過的にテロメアに集積するが、我々はさらに KASH ファミリー核膜タンパク質に属する Kms1 および Kms2 が集積することを見いだした。またこのとき、テロメアが細胞質微小管と共局在することも判明した。我々はテロメアに SUN および KASH タンパク質が集積して細胞質微小管の形成を促し、この微小管と微小管モーターによってテロメア集合がおこると考えている。

P-12

妊娠および泌乳中のマウス乳腺内における CCL25 ケモカインの発現

*1 竹中正樹, #2 茶山和敏

1 静岡大・院農・応用生物化学, 2 静岡大・院農・応用生物化学

乳腺組織内での初乳への IgA 移行に対するケモカインの関与について調べるため、腸管での IgA 分泌に関係している CCL25 に着目し、妊娠及び泌乳中のマウス乳腺組織内での発現を調べた。

12 週齢のメス ddY 系マウスを、処女、妊娠 10、18、19 日目、出産直後、出産後 10 日目、離乳後 5 日目の実験群に分けて、乳腺を摘出した。そして、半定量 RT-PCR 法によって各群の CCL25 の mRNA 発現を比較した。また、CCL25 抗体を用いて免疫染色を行い、CCL25 陽性細胞の割合と染色部位を比較した。その結果、CCL25 の mRNA 量は出産直前および直後に増加した。CCL25 陽性細胞数は妊娠 19 日目から上昇し、出産直後にピークに達した。CCL25 の発現のピークが出産直後で、乳腺組織内の IgA 量と相関していたことから、CCL25 が初乳 IgA の移行に関わっている可能性が示唆された。

P-13

分裂後期セキュリンによるセパララーゼ阻害の解析

端野裕樹

静岡大・院理・生物 丑丸研究室

分裂後期開始時セパララーゼ（出芽酵母では Esp1）により、コヒーシンが切断され姉妹染色体が分離する。Esp1 は、分裂中期まではセキュリン（出芽酵母では Pds1）により阻害されているが、分裂後期開始時に Pds1 の分解により活性化する。Pds1 は APC/C-Cdh1 に認識される KEN box も持つため、分裂後期から分裂終期移行期にも分解を受けると考えられる。本研究では、分裂終期への進行には Esp1 の活性が必要であり、Pds1 はそれに対して阻害的に働いていることを示す。

WB において、後期から終期移行時にも Pds1 の分解がみられた。後期で Pds1 を喪失させると後期からの脱出が起これ、分解を抑制すると脱出が阻害された。一方、ESP1 の過剰発現は、後期からの脱出を促進し、喪失は、抑制した。さらにセパララーゼ活性を持たない Esp1 を過剰発現させると後期からの脱出が遅延した。切断されない Sdk1 を発現すると後期からの脱出が抑制された。

分裂終期開始時 APC/C-Cdh1 が活性化すると正のフィードバックが起これ、残りの Pds1 が分解されると考えられる。

P-14

複製チェックポイント因子 Mrc1 は減数分裂特異的なセントロメア制御に関与する

*1 大羽辰典, 1 鈴木廉, 1 日野原裕美, 1 松原央達, 2 村上浩士, #1 山本歩

1 静岡大・院理・化学 2 名古屋市立大・医・細胞生化

減数分裂では第一分裂において相同染色体が分配され、この分配には減数分裂特異的なセントロメア構造の形成が必要であるが、その制御機構の詳細は不明である。Mrc1 は DNA 複製異常が生じた際に細胞周期の進行を抑制する複製チェックポイント機構の因子の一つであるが、今回我々は Mrc1 がこの制御に関わる事を見いだした。さらに複製チェックポイントにおいて上流で働く Rad3 が必要だが、下流で働く Cds1、Chk1 は必要でないことが判明した。この結果から、Mrc1 による制御は複製チェックポイント機構を介さず DNA 複製を直接制御することによってキネトコアの方向性あるいはセントロメア間の結合を制御していると考えている。

P-15

分裂酵母のテロメア集合におけるセントロメアの役割の検討

*中村博人,#山本歩

静岡大・院理・化学

減数第一分裂で起こる相同染色体の分配には、相同染色体が対合することが必要である。多くの真核生物で、対合が起こる減数分裂前期に分散していたテロメアが移動して SPB 近傍に集合する。このテロメア集合は相同染色体の対合に必要であると考えられているが、このテロメア集合機構の詳細は多くが未解明である。我々は分裂酵母をモデル生物として研究を行っている。分裂酵母では、テロメア集合が起こる前に染色体の中央領域であるセントロメアは SPB 近傍に位置している。そのためセントロメアが染色体腕部を介してテロメアを SPB へ集合させている可能性がある。テロメア集合におけるセントロメアの必要性を検討したところ、テロメア集合にセントロメアが必要ないことが判明した。

P-16

マウス動脈硬化症発症における社会的孤立ストレスの影響

*1 武市充広, 2 茶山和敏

1 静岡大・院農・応用生物科学, 2 静岡大・院農・応用生物科学

近年、心理的ストレスが肥満や冠動脈疾患発症に影響を与えることが示唆されている。そこで、本研究では動脈硬化症に対する社会的孤立ストレスの影響を調べた。

動脈硬化症モデルマウスを集団飼育群（1 ケージ 3 匹）と孤立ストレス群（1 ケージ 1 匹）に分けて 12 週間飼育した。その後、大動脈の動脈硬化部位の数及び面積を分析するとともに、血清・肝臓中の脂質等を測定した。その結果、雌雄共に孤立ストレス群で動脈硬化部位の面積が有意に増加していた。また、血中総コレステロール、トリグリセリド、リン脂質及び HDL コレステロール量は孤立飼育によって変化し、その増減は雌雄で異なっていた。さらに、肝臓脂質量は、雄では孤立ストレス群で増加していたが、雌では逆に減少していた。以上の結果から、動脈硬化症の発症および悪性進展は雌雄ともに社会的孤立ストレスによって促進されるが、その発症促進メカニズムは雌雄で異なる可能性が考えられた。

P-17

カンキツ培養砂じょうにおけるカロテノイド含量ならびに関連遺伝子の発現に及ぼす培地中の糖濃度の影響

*1 沖松明史, 1 橋野紘幸, 1,2 馬 剛, 1 張 嵐翠, 1 加藤雅也, 1 山脇和樹, 1 高木敏彦, 3 松本光, 3 生駒吉識, 3 吉岡照高

1 静岡大農学部, 2 岐阜大院連合農学研究科, 3 農研機構果樹研

カンキツ果実は、多量のカロテノイドを蓄積する。本研究では、カンキツ果実のカロテノイド含量・組成の調節メカニズムを解明するために、5%、10%、15%のスクロースを含む MS 培地ならびに0%、3%、6%のマンニトールを含む MS 培地にウンシュウミカン、バレンシアオレンジ、リスボンレモンの砂じょうを培養した。カンキツ培養砂じょうのカロテノイド含量ならびに一部のカロテノイド関連遺伝子の発現は、スクロースおよびマンニトールの濃度が高いと増大する傾向を示した。これらの結果から、カンキツ果実の培養砂じょうの一部のカロテノイド関連遺伝子の発現は、糖濃度や水分ストレスにより調節されることが示唆された。

P-18

RNA オリゴマーによる細胞内の転写制御機構の解析

*1 齋藤悠,2 高濱謙太郎,3 丑丸敬司,#4 大吉崇文

1,2 静岡大・院理・化学,3 静岡大・理・生物,4 静岡大・理・化学

近年タンパクをコードしない non-coding RNA が、新しい機構で遺伝子発現を制御しているので注目されている。これらの non-coding RNA の内、転写因子と直接結合して転写を制御しているという報告があるが、詳しい機構はまだ分かっていない。転写因子である EWS (Ewing's sarcoma) は RNA 結合領域を有しているため、non-coding RNA によってその転写活性を制御できる可能性があるタンパクの1つである。当研究室において EWS の RNA 結合領域とグアニン四重鎖 RNA が *in vitro* で結合する事を見出しているが、EWS の細胞内での転写制御機構は詳しく解明されていないので、グアニン四重鎖 RNA によって EWS の転写活性を制御されるか酵母を用いて解析した。

EWS の転写活性を調べる為に、酵母の生育により転写活性を解析できる実験系を構築した。その結果 EWS に *in vitro* で結合するグアニン四重鎖 RNA を発現させると、EWS だけの時よりも転写活性が促進された。従って、EWS はグアニン四重鎖 RNA の構造を特異的に認識して転写活性を制御していることが示唆された。

P-19

核酸結合タンパク質 EWS によるグアニン四重鎖構造認識機構の解析

1 高濱謙太郎, 2 黒川理樹, 3 大吉崇文

1 静岡大・院理・化学, 2 埼玉医大・ゲノム医セ・遺伝子構造機能, 3 静岡大・理・化学

本研究では、ガン化に関係している核酸結合タンパク質 EWS によるグアニン四重鎖認識機構の解明を目的としている。これまでに EWS の C 末端側核酸結合領域がガン遺伝子の転写因子の DNA 結合領域に置換されたタンパク質がガン細胞内で見出されたことから、EWS の核酸結合領域は生物学的に重要だと考えられる。しかし、EWS 本来の核酸結合性については未だ不明な点が多く、細胞内における機能も完全に解明されていない。

最近我々は EWS 核酸結合領域内のアルギニン・グリシン・グリシン(RGG)領域がグアニン四重鎖を認識してヒトテロメア DNA に結合することを報告した。更に、RGG 領域はグアニン四重鎖構造を特異的に認識している事や、RGG 領域が結合することによってグアニン四重鎖が安定化される事も示した。そこで今回我々はゲルシフトアッセイ及び円偏光二色性測定により、RGG 領域によるグアニン四重鎖認識機構を詳細に解析した。

P-20

細胞内における核酸結合タンパク質 EWS の機能解析

*1 渡辺裕美, 2 茶山和敏, #3 大吉崇文

1 静岡大・院理・化学, 2 静岡大・農・応用生物化学, 3 静岡大・理・化学

本研究では、テロメア RNA の転写に関わる EWS の機能の解析を目的としている。転写因子 EWS は核酸結合領域が欠損し、異なる転写因子の核酸結合領域が融合した変異タンパク質としてガン細胞内で見出された為、EWS の機能は生物学的に重要と思われるが未だ不明な点が多い。最近我々は、試験管内で EWS の核酸結合領域中のアルギニン-グリシン-グリシン配列に富んだ領域がグアニン四重鎖構造に結合することを見出している。グアニン四重鎖構造は生体内でテロメア領域に存在していると考えられることから、その生物学的意義が注目されている。特にテロメア領域内にはグアニン四重鎖構造を形成しうるテロメア RNA が含まれており、RNA ポリメラーゼ κ 「砲茲蠹昭未氣譴襪海箬? 迺疊鷺陞氣譴燭?? 昭無々修砲弔い堂緋世氣譴討い覆あ? 修海撚罇垢蓮? NA ポリメラーゼ κ 「鳩髻腓靴禿昭未邕萱[®]修垢訶 WS がテロメア RNA の転写に関わっているかを調べた。

P-21

分裂酵母の減数分裂特異的な APC 活性化因子 Fzr1 の機能解析

*日原大輔、#山本歩

静岡大・院理・化学

体細胞分裂とは異なり減数分裂では二回の染色体分配が起こる。染色体分配は APC によって制御され、その活性は APC 活性化因子によって制御されている。我々は分裂酵母の減数分裂において、体細胞分裂時に働く Slp1 と Ste9 に加え、Ste9 とアミノ酸配列が類似している Fzr1 が APC を制御することを見出しているが (Yamamoto et al, 2008)、その機能はよく分かっていない。本研究では Fzr1 の機能を解明するために Ste9 との機能互換性、および基質認識機構の差異を解析した。その結果、Ste9 は Fzr1 の機能を代替できるが、Fzr1 は Ste9 を代替できないことが分かり、基質認識機構も全く同じではないことが分かった。これらのことから、Fzr1 は減数分裂特異的な APC 制御を担っていることが考えられる。

P-22

グアニン四重鎖に結合するペプチドの解析

*1 田出朋也, 2 高濱謙太郎, 3 杉本知恵莉, 4 道羅英夫, #5 大吉崇文

1 静岡大・院理・化学, 2 静岡大・遺伝子実験施設, 3 静岡大・理・化学

グアニン豊富な核酸配列 $d(\text{GGGTTA})_n$ は生理学的なイオン条件下でグアニン四重鎖構造という高次構造を形成する。私たちはこれまでに、核酸結合タンパク質 EWS (Ewing's sarcoma) や TLS (Translocated in liposarcoma) の核酸結合領域の RGG(Arginine-Glycine-Glycine)配列に富んだ RGG 領域がグアニン四重鎖を形成する $d\{\text{AGGG}(\text{TTAGGG})_3\}$ に特異的に結合し、安定化することを見出してきた。本研究ではグアニン四重鎖 DNA に結合できる EWS や TLS の RGG 領域の最小領域を報告する。

EWS, TLS の RGG 領域の両末端から一部を欠損させたペプチドを複数設計した。このペプチド存在下でグアニン四重鎖を形成する $d\{\text{AGGG}(\text{TTAGGG})_3\}$ を含む一本鎖テンプレート DNA を DNA Polymerase が伸長できるかどうか調べることで安定性を判断できる DNA Polymerase stop assay を用いて解析した。

P-23

マウス自己免疫病発症に対するブラジル産プロポリスの効果

*1 小松紘大, 2 熊澤茂則, 2 幡野愛, #1 茶山和敏

1 静岡大・農・応用生物化学, 2 静岡県立大・院・生活健康

プロポリスはミツバチが樹木の新芽、蕾、樹皮などから採取した樹液や植物色素系物質などにミツバチ自身の分泌物を混ぜて出来た巣材で、抗酸化作用、抗炎症作用などを有することが知られている。そこで、本研究では、自己免疫病発症に対するブラジル産プロポリスの経口投与の影響を調べた。ブラジル産プロポリスのエタノール抽出物を1%及び2%混合した飼料を、オスの MRL-*lpr*^{cg}/*lpr*^{cg} マウスに生後4週齢から12週間経口投与し、投与終了後、各種臓器重量の測定及び腎臓の病理組織検査を行った。その結果、プロポリス投与群のリンパ節肥大が有意に抑制されると共に、糸球体腎炎の顕著な改善が観察された。また、血清学的検査では、2%プロポリス投与群の抗DNA抗体、免疫複合体、尿素窒素、TNF- α 、IFN- γ 、IL-10 量に有意な減少が見られた。以上の結果から、ブラジル産プロポリスの経口投与によって、自己免疫病の発症が抑制されることが明らかになった。

P-24

生息環境が隣接した地域におけるカラス2種の行動生態学的比較

*1 秋田さおり, #2 竹内浩昭

静岡大・院理・生物

一般的に日本で見られるカラスの種類は、ハシブトガラスとハシボソガラスの2種類であり、様々な場所で見ることができる。静岡市内は農耕地と山林、海辺が隣接しており、異なった環境条件下での調査が可能であることから、それぞれの地域における2種の営巣状況や繁殖状況などを比較した。結果、沿岸部は、両種とも営巣場所として選択していたが、山林はハシブトガラス、農耕地などのひらけた場所はハシボソガラスの占有地域であった。また、ハシブトガラスは樹木が連続した隠蔽度の高い場所や、人の接近が少ない場所を営巣場所として選択し、ハシボソガラスは、人の影響はあまり問題にしておらず、民家の近くでも営巣していた。さらに、樹木が連続した場所だけでなく、一本木にも営巣していた。これは、営巣環境に対する2種間の選択性が異なっていることを示唆している。

P-25

複数データベースを用いた miRNA ターゲットに関する網羅的解析

*太田慈人, #大相弘順

静岡理工科大・総合情報

miRNA の役割の傾向を知る目的で、複数のデータベースを利用して、miRNA の予想ターゲットタンパク質に関する網羅的解析を行った。特に、ヒトの miRNA についてその予想ターゲットタンパク質が有するドメイン傾向を知るために、EBI の Micro Cosm Targets に 2009 年 12 月時点で登録のある、ヒト miRNA 851 種、そのターゲットタンパク質 34788 種を基にし、それらのタンパク質がもつドメインの全てについて、InterProID の網羅的調査・解析を行った。また、それらドメインの情報を元に、ターゲットタンパク質の機能傾向を調べるために、GO カテゴリーデータベースを用いた解析を行った。このような解析から、制御系のタンパク質が miRNA によるさらなる制御を受けているという図式が強く予想される傾向が見られた。また、ヒトの発癌遺伝子と miRNA ターゲットの関係についても網羅的に解析を行った。

P-26

ショウジョウバエの β 3-オクトパミン受容体遺伝子は変態期における形態形成に必須である

*1 大原裕也, 2 萱嶋泰成, 3 林良樹, 3 小林悟, #2 小林公子

1 静大・大学院・生活健康科学, 2 静大・食品栄養科学, 3 基生研・岡崎統合バイオ

β 無脊椎動物におけるオクトパミンは、脊椎動物のアドレナリン・ノルアドレナリンと相同な興奮性の伝達物質であることは知られているが、オクトパミンの受容体とされる β -オクトパミン受容体 (β 1, 2, および 3) の生体での役割は不明な点が多い。

ショウジョウバエを用い、 β 3-オクトパミン受容体遺伝子の発現解析を行ったところ、変態期において発現量が増加することがわかった。また、遺伝子の発現組織を調べたところ、 β 3-オクトパミン受容体遺伝子は、成虫原基、唾腺などの変態に関わる組織において高発現していることがわかった。また、RNAi により β 3-オクトパミン受容体遺伝子の発現を低下させると、変態期における形態形成が正常に行われず、E74, E75 などの変態に関わる転写因子の遺伝子発現が低下することがわかった。これらのことから、 β 3-オクトパミン受容体遺伝子は、変態期における形態形成に必須であることが示唆された。

P-27

ショウジョウバエを用いたローヤルゼリーの生理活性成分の検出と探索

*1 山梨敬子, 2 宇野真未, 3 森大気, 3 石井剛志, 2 熊澤茂則, 1 小林公子, #1 萱嶋泰成
静岡県立大・食品・1 人類遺伝学・2 食品分析化学・3 食品分子工学

ローヤルゼリー(RJ)は、健康食品として広く利用されているが、その効果について科学的には未解明な部分が多い。そこで、遺伝子の 70%がヒトと相同性を持ち、遺伝学的な解析に優れたショウジョウバエを用いて RJ が生体にもたらす効果を遺伝子レベルで検証した。餌に RJ を含ませることでハエに投与したところ、外形的な変化は見られなかったが、発生促進、産卵促進、寿命延長、TOR 経路遺伝子発現量の変動、などの作用を及ぼす事が判明した。また、RJ の発生促進作用を指標として生理活性成分のスクリーニングを行ったところ、RJ による発生促進作用は水溶性画分に含まれていることが判明した。この水溶性画分を細分し、それぞれをハエに投与して発生促進活性を持つ分画を調べるとともに、各分画にどのようなタンパク質・ペプチド・多糖類が含まれているか解析を行うことで、RJ に含まれる活性成分の同定を実行中である。

P-28

簡易型 BMI 端末を用いた鉄道模型、ラジコンロボット、エレメカゲームの操作

*酒井亮太, 橋本竜一郎, 村松孝亮, #奥村哲
静岡理工科大・理工・情報システム

近年、脳波や筋電などの信号をもちいて手足を使わずに車椅子やリモコンを操作する技術が注目されている。本研究では安価で簡便な市販の脳波マウスデバイス（米国 OCZ 社製）を用いて、脳波や筋電情報などをどのように活用することが有効かを検討した。額の 3 点から導出可能な電気信号としては、前頭部の脳波、筋電位、眼球運動電位があるが、脳波の信号は解析処理に時間がかかった。そこで筋電位と眼球運動電位を用いて、鉄道模型の発車と停止を操作するシステムを作り、システムの応答時間を計測した（酒井）。結果、閉口筋を用いた噛みしめ運動によって生じる筋電情報を用いた応答時間は平均 579 ms であり、眼球運動による応答時間は 800 ms であった。また筋電信号を自在に操作するには訓練が必要ながわかった。その訓練を楽しくできるように、筋電情報で操作するラジコンロボット（橋本）とエレメカゲーム（村松）を開発したので報告する。

P-29

小鳥の歌文法解析と歌神経核の細胞外モノアミンレベルの連続測定

*1 遠藤高史, 2 岡ノ谷一夫, #1 奥村哲

1 静岡理工科大・理工・情報システム, 2 理研・BSI・生物言語

ジュウシマツという小鳥のオスは文法構造をもつ歌をメスに囀る。歌を生成する歌神経核のうち主に文法学習に関わるとされる AreaX と感覚運動中枢への聴覚フィードバックに関わる Nif にマイクロダイアリシスプローベを留置し、各神経核の細胞外モノアミンレベルの変化を自由行動下で 15 分毎に連続測定した。またプローベ内をムシモール(GABA アゴニスト)とカルバコール(Ach アゴニスト)で灌流し、両核を薬理的に刺激した。歌文法は解析ソフト EUREKA を用いて N-Gram 解析しオートマトンを描画した。Nif 核のムシモール刺激により NE, DA およびその代謝物の上昇、歌の終端部配列(チャンク)の欠落と途中の歌要素(音素)の繰り返し数の増加などが認められた。また Nif のカルバコール刺激では DA およびその代謝物濃度の上昇と、文法上、途中分岐構造の減少、終端部を形成するチャンクの繰り返し数の増加などが認められた。

P-30

TOR は Cdc42 を介して出芽を制御する

*1 杉野史朗, 1 水口万裕美, 1 田澤理沙, 2 大吉崇文, 2 山本歩, 2 瓜谷眞裕, #1 丑丸敬史

1 静岡大・理・生物科学, 2 静岡大・理・化学

出芽酵母の出芽は Rho ファミリー GTP 結合タンパク質である Cdc42 によるセプチンの形成で開始する。Cdc42 は GAP (Cdc24) と GEF (Bem2/3, Rga1/2) により制御される。プロテインキナーゼ TOR は栄養源に応答して細胞成長や増殖を制御する。栄養源飢餓で TOR が不活性化すると、S 期細胞の出芽が阻害されることを我々は見出した。本研究は、TOR が Cdc42 を介して出芽を制御することを報告する。TOR を不活性化させると、セプチンリングの形成とともに出芽が著しく抑制された。それに伴って、Cdc42-GEF, -GAP を含む Cdc42 の制御因子のほとんどが減少した。Bem3 と Rga1 は TOR 不活性化で分解が促進された。CDC42 の過剰発現は TOR 不活性化による出芽抑制を解除した。以上の結果は、TOR が Cdc42 の機能を介して出芽を制御していることを示している。

P-31

分裂酵母 *tor2* ラパマイシン感受性株の解析

*1 伊藤健悟, 1 一杉篤, 1 石川優, 1 磯村寿郎, 2 丑丸敬史, 3 登田隆, #1 瓜谷眞裕
1 静岡大・理・化学, 2 静岡大・理・生物, 3 Cancer Research UK

TOR は進化的に保存されたプロテインキナーゼで、複合体 TORC1 と TORC2 をとる。ラパマイシンで TORC1 が阻害されると、細胞は増殖を G1 期で停止する。分裂酵母はラパマイシン添加での増殖阻害を示さないが、TOR の遺伝子は 2 つ (*tor1*⁺と *tor2*⁺) 存在する。そのうち Tor2 は TORC1 として機能すると考えられている。

我々はラパマイシン感受性 *tor2*⁺変異株を取得、解析してきた。この変異株はラパマイシン添加後に増殖を G1 期で停止し、窒素源飢餓特異的な現象や遺伝子発現を示した。以上の結果は、この株がラパマイシン添加で窒素源飢餓応答と似た挙動を示すことを示す。そこで Tor2 の機能とシグナル経路を知る目的で、この株を用いて、ラパマイシン感受性を抑圧するマルチコピーサプレッサー遺伝子の取得を試みた。いくつか候補が得られているが、現在、アミノ酸トランスポーターと転写因子について詳しく調べている。今後、Tor2 の窒素源飢餓応答への機能とこれらタンパク質との関連についてさらに検討を行う。

P-32

tor2 ラパマイシン感受性株のマルチコピーサプレッサーの取得と解析

*溝口 怜, #瓜谷眞裕
静岡大・理・化学

TOR (Target of rapamycin) とは免疫抑制剤ラパマイシンの標的タンパク質である。TOR は生物の生育に必須な栄養素である窒素源を感知して成長・増殖を制御しており、ヒトなどの多くの生物に存在し、老化・癌化・肥満にも関与することが知られている。

分裂酵母は TOR 研究に優れたモデル生物で、Tor1 と Tor2 の 2 つの TOR を持つ。なかでも Tor2 は生育に必須で、窒素源を感知して成長・増殖を制御している。しかし、Tor2 の経路は未解明なため、Tor2 の下流タンパク質を明らかにすることを目指す。本研究では、*tor2* に変異を入れた *tor2* ラパマイシン感受性株(*tor2*^{ts})を用いている。*tor2*^{ts} は、ラパマイシン存在下において Tor2 の機能が低下するため、窒素源があるにも関わらず窒素源飢餓応答に似た挙動を示す。このときの *tor2*^{ts} にゲノム DNA ライブラリーを導入し、ラパマイシンの感受性を抑圧するマルチコピーサプレッサー遺伝子を取得し、解析する。

現在、ラパマイシン存在下でも増殖できるものを 84 コロニー取得し、解析を行っている。

P-33

CAM 法による血管新生抑制活性に関する研究

*1 岡村直樹、1 太田敏郎、2 宇都義浩、2 中田栄司、2 堀均、1 熊澤茂則

1 静岡県立大・院生活健・食品分析化学、2 徳島大・院ソシオテクノサイエンス

【目的】血管新生とは、既存の血管から新たに血管網が形成される現象であり、様々な疾病に関与していることが明らかとなっている。本研究では安価で、操作が簡便であり、短期間で結果の得られる *in vivo* 試験として鶏胚漿尿膜 (Chorioallantoic Membrane : CAM)法を、フラボノイド類を用いて確立し、血管新生抑制活性を評価した。【方法・結果】CAM 法とは、有精鶏卵の CAM 上に試料を添加し、血管新生抑制活性を評価する方法である。具体的には、試料添加後 3 日目における血管新生抑制を観察し、活性の強さを目視により 5 段階で評価した。その評価を基に、血管新生抑制率を算出することで定量化を行った。CAM 法による評価では、各試料いずれにおいても、濃度依存的な血管新生抑制活性が観察された。よって、CAM 法が *in vitro* 試験およびマウスを用いた *in vivo* 試験の代替法として、有用であることが示唆された。

P-34

ニワトリ胚前腸門領域におけるカドヘリン接着分子の発現解析

*1 櫻井みなみ、2 塩尻信義、#2 小池亨

1 静大・院理・生物、2 静大・理・生物

細胞接着分子は、その発現を変化させ細胞の動態制御を行う。特に Ca^{2+} 依存性の細胞接着分子であるカドヘリンは動物胚発生中の形態形成過程において重要な役割を担う。しかしながらニワトリ胚肝臓発生過程におけるそれらの発現はほとんど明らかにされていない。そこで私たちはニワトリ胚初期肝臓発生過程における E-、N-カドヘリンの発現パターンに着目し、免疫染色でその発現を解析した。その結果、E-カドヘリンは肝芽細胞で恒常的に強く発現していた。また N-カドヘリンは腹側内胚葉の前腸門が閉じる部位、及び肝外胆道系で強く発現していたが、肝芽細胞では弱い発現しか観察されなかった。さらに、ニワトリ胚腹側前腸の一部で N-カドヘリンが特に強く発現している部位が存在した。現在、漿尿膜移植培養を用いた前腸腹側領域における N-カドヘリン強陽性部位の細胞系譜解析を行っており、その結果も合わせて報告する。

P-35

減数分裂における新規な染色体分配異常変異株の取得と解析

*松原央達,#山本歩

静岡大・院理・化学

減数分裂は配偶子形成過程で見られる特殊な細胞分裂であり、第一分裂において相同染色体の分配が起こる。相同染色体の分配機構はまだ解明されておらず、この機構を理解するためには関与する因子の変異株を探索し解析する必要がある。分裂酵母は減数分裂を行うことで胞子を形成するが、分配に異常が生じると胞子生存率が低下すると考えられる。そこで胞子生存率を指標とし、スクリーニングを行った。変異を導入した 12000 株から胞子生存率の低下した 500 株を単離し、この 500 株の染色体を観察して、減数分裂での染色体の形状あるいは分配異常を示す 59 株の変異株を選抜した。59 株の変異株から胞子生存率の特に低下している 22 株を減数分裂における染色体分配異常株として取得した。この 22 株には、フィラメント状の染色体が観察される核の変形や核の断片化など、これまでに報告例のない表現型を示す株も含まれており、未知の因子に変異が存在している可能性を示唆している。

P-36

環境ホルモン暴露による衝動性・刺激馴化・短期記憶への影響

*1 高橋啓輔,2 陰山亜矢,2 横越英彦,3 村山美穂,3 阿部秀明,#1 竹内浩昭

1 静岡大・院理・生物, 2 京大・野生動物研 C, 3 静岡県立大・院生活健康科学・食品栄養科学

胎児や幼児は環境ホルモン (EDCs) 暴露による脳神経系への影響を受けやすく、注意欠陥多動性障害 (ADHD) などの脳機能障害と EDCs の関連性が示唆されている。特にビスフェノール A (BPA) は一部の哺乳瓶や食器類等の原料であり、食物を通じて体内に入り汚染されることが危惧されている。本研究ではこの BPA に焦点を当て、脳発達障害と関連の高いモノアミン神経伝達物質の解析と、衝動性・刺激馴化・短期記憶などの行動測定を行い、脳神経系・行動への影響について検証した。また、ADHD と関連の深い遺伝子多型が発見され、この遺伝子多型を調べることで遺伝子と性格・行動の関連性を推察した。その結果、BPA 5ppb 群と 50ppb 群で刺激馴化力・短期記憶力はより低下した。また衝動性の実験でも、低濃度 BPA、特に 5ppb 群で高衝動性の個体が多く見られた。また 500ppb 群ではモノアミン濃度に最も影響を受けた。このように濃度によってモノアミンや行動に受ける影響が異なる結果となった。

P-37

核酸結合タンパク質 TLS による翻訳制御機構の解明

*1 内山裕美子, 2 高田麻美, 3 高濱謙太郎, #4 大吉崇文

1 静岡大・院理・化, 2 静岡大・理・化, 3 静岡大・院理・化, 4 静岡大・理・化

これまでに、当研究室では、核酸結合タンパク質 EWS (Ewing's sarcoma) の核酸結合領域中にある Arg-Gly-Gly を多く含む領域 (RGG 領域) が mRNA 中のグアニン四重鎖 RNA に結合することで翻訳を抑制することを報告した。そこで、本研究では、EWS と同じファミリーのタンパク質で、RGG 領域をもつ TLS (Translocated in liposarcoma) の核酸結合領域による翻訳制御機構を、翻訳領域中にグアニン四重鎖構造を形成する配列を有する mRNA を用いて、in vitro translation によって解析した。その結果、TLS の核酸結合領域存在下で、mRNA からの翻訳量が減少した。また、グアニン四重鎖構造を不安定化する変異を加えた配列を有する mRNA からの翻訳は、TLS 存在下であっても、阻害されなかった。このことから、TLS の核酸結合領域はグアニン四重鎖構造に結合し、構造を安定化することで mRNA からの翻訳を阻害していることが考えられる。

P-38

テロメア領域における核酸結合タンパク質 TLS の機能解明

*1 多田将太, 2 茶山和敏, #3 大吉崇文

静岡大・理・化学, 2 静岡大・農・応用生物化学, 3 静岡大・理・化学

本研究では、核酸結合タンパク質 TLS (Translocated in liposarcoma) のテロメア RNA の転写に関する機能を解析する。近年テロメア領域でテロメア RNA が RNA ポリメラーゼ II によって転写されていることが報告されており、テロメア RNA はヒストンのメチル化による転写抑制やテロメラーゼ中の RNA と二本鎖を形成することによってテロメア伸長を阻害し細胞の老化やガン化に関わっていると予想されている。近年網羅的解析によりテロメア領域内に TLS が存在していることが報告された。TLS の機能として細胞周期に関わる因子のプロモーター領域でヒストンアセチル化酵素の抑制に関与していることから、テロメアにおいてもテロメア RNA の転写制御に関わっているのではないかと考えられる。そこで我々は TLS がテロメア RNA の転写制御に関与しているかを HeLa 細胞を用いて解析した。

P-39

核酸結合タンパク質 TLS の核酸結合性の解析

*1 高田麻美, 2 高濱謙太郎, #3 大吉崇文

1 静岡大・理・化学, 2 静岡大・院理・構造化学, 3 静岡大・理・化学

本研究では核酸結合タンパク質 TLS (Translocated in liposarcoma) のテロメアへの結合性を解析した。これまでに HeLa 細胞のテロメア複合体内に TLS が含まれている事が報告された。このことから TLS はテロメア維持に関わる働きをしていると予想されるが、TLS がテロメア DNA 及びその他のテロメア結合タンパク質のいずれに結合してテロメアに局在しているのかは明らかにされていない。グアニン豊富な一本鎖のテロメア配列は試験管内においてグアニン四重鎖構造を形成することが示されているため、本研究では TLS の核酸結合性を二本鎖ヒトテロメア DNA とグアニン四重鎖構造を形成させたヒトテロメア DNA を用いたゲルシフトアッセイによって調べた。その結果 TLS はテロメア配列とは異なる一本鎖 DNA や二本鎖ヒトテロメア DNA には結合せずヒトテロメアが形成するグアニン四重鎖 DNA に結合することが示された。

P-40

TOR シグナルはツメガエル胚の前後の位置価を制御する

1 森山侑輝, 1 丑丸敬史, 2 黒田裕樹

1 静岡大・院理・生物, 2 静岡大・院教育・生物

TOR(Target of Rapamycin)シグナルは、全真核生物が共有する TOR キナーゼ分子を働きを中心としたシグナルである。我々は、TOR シグナルの中でも研究が遅れている初期発生における役割について、ツメガエル胚を用いて研究に取り組んだ。まず、TOR キナーゼやその上流分子として働く Ras 様蛋白質である Rheb が、初期胚において発現していることを確認した。続けて、Rheb の機能獲得型変異と機能欠失型変異を作成し、その mRNA を胚に注入した。その結果、変異を加えていない Rheb 分子や機能獲得型変異を加えた Rheb 分子が存在する状態では後方構造の欠損が、逆に機能欠失型変異の場合には前方構造の欠損が確認された。同じく、Rheb の翻訳を阻害するモルフォリノオリゴを注入した場合にも、前方構造の欠損が表れた。これらの結果より、TOR キナーゼが胚の前後の位置価を決定すると結論づけた。

P-41

BCNE センターの役割：脳形成と軸形成の両方に関わる

*1 松村典子, #1 黒田裕樹

1 静岡大・院教育・生物

初期発生に関する両生類を用いた近百年以上の歴史の中で、(分子生物学的知見の集積不足のために、)21 世紀になるまで発見が遅れたシグナルセンターが胞胚期の背側動物極側に存在する BCNE (Blastula Chordin- and Noggin-Expressing)センターである。我々はツメガエル胚を用いて、この領域の働きを調べることにした。まず、BCNE センターのマスター遺伝子として働く *Siamois* と *Twin* について、その働きをモルフォリノオリゴで阻害したところ、特に脳構造の誘導が完全に阻害され、頭部構造が欠損することが判明した。また、中胚葉誘導への影響を調べたところ、中軸中胚葉に分化することが判明した。以上の結果より、BCNE センターが中胚葉誘導の非存在下では脳に、存在下では中軸中胚葉に主に分化すると判断した。

P-42

RGG タンパク質が結合したグアニン四重鎖構造の解析

*1 杉本知恵莉, 2 高濱謙太郎, 3 大吉嵩文

1 静岡大・理・化学, 2 静岡大・院理・化学, 3 静岡大・理・化学

テロメアは通常、細胞分裂する度に短くなり細胞死を迎える。一方、がん細胞では細胞分裂が起こりながらもテロメアは伸張し続け、細胞の不死化を引き起こす。このように生物学的に重要なテロメアはグアニン塩基豊富であり試験管内でグアニン四重鎖を形成しテロメア伸長を阻害する。更に試験管内でグアニン四重鎖に結合し構造を不安定化するタンパク質の hnRNP A1 は、テロメアに局在し生体内でテロメア伸長を促進する。近年、アルギニン-グリシン-グリシンアミノ酸配列豊富な RGG 領域を有する TLS の HeLa 細胞のテロメア局在が明らかになった。更に当研究室では RGG タンパク質の EWS がグアニン四重鎖構造特異的に結合し、安定化することを報告した。そこで hnRNP A1 及び、EWS 又は TLS 存在下におけるグアニン四重鎖構造解析を目指し、各タンパク質存在下におけるグアニン四重鎖構造を CD スペクトルによって解析した。

P-43

LC-MS/MS を用いたトマト果実プラスチドのショットガンプロテオミクス

*1 鈴木美穂、1 高橋祥子、2 道羅英夫、1 切岩祥和、3 藤原正幸、3 深尾陽一郎、
#1 本橋令子

1 静岡大・農、2 静岡大・遺伝子実験施設、3 奈良先端大・バイオ・植物ユニット

本研究は急速に技術が発達しているプロテオーム解析とトマトゲノミックリソースを利用することにより、成熟段階の異なる緑、黄、橙、赤のトマト果実を用いてクロモプラストに特異的なタンパク質を多数同定し、クロモプラストのプロテオームデータベース作りを行う。葉緑体からクロモプラストの分化に関与するタンパク質を網羅的に解析し、クロモプラスト分化の鍵遺伝子の候補の特定、分化メカニズムの解析を目的としている。成熟段階の異なるマイクロトム果実(緑、黄、橙、赤)を用いて Nycodenz 密度勾配遠心分離によりプラスチドを単離し、LC-MS/MS を用いて 607 のプラスチドタンパク質を推定した。4 ステージの成熟段階のうち橙ステージで最も多くのタンパク質を検出し、橙ステージのプラスチドは葉緑体とクロモプラストの両方の機能を持ち、光合成タンパク質とカロテノイドを含む代謝生産に関わるタンパク質が最も活発に発現していると考えられる。検出したタンパク質をトウガラシのクロモプラストプロテオームデータと比較したところ、共通しているタンパク質はわずか 12 個であり、トマトのクロモプラスト特異的なタンパク質を多数同定することができた。GO をもとに本研究で検出したクロモプラストタンパク質の 40%が代謝プロセスに関わっていることが分かり、クロモプラストは様々な代謝産物の生産と蓄積を行っていると考えられる。

P-44

ヒト Mad2 高結合型ペプチドの創製と機能解析

*杉本佳乃子，神谷拓摩，河原崎泰昌

静岡県立大・生活研・食品栄養

【背景と目的】Mad2 は G2/M 期スピンドルチェックポイント蛋白質であり、Mad1 との相互作用は重要な役割を担う。我々は Mad1-Mad2 間の相互作用を阻害するペプチド断片が医療やプロテオミクスに寄与すると考え、Mad2 高結合型 Mad1 変異体配列の取得を試みた。

【方法と結果】Mad1 の Mad2 結合サイトをランダム化し、分泌性 β -ガラクトシダーゼを指標とする酵母 2 ハイブリッド系を用いて野生型 Mad1 配列よりも高いレポーター活性を与える配列をスクリーニングした。さらに配列を最適化したところ、野生型配列の 20 倍以上のレポーター活性を与えるクローンを得た。現在、取得した最適化配列と GFP の融合蛋白質の発現系を構築し、精製を行っている。今後、Mad2 と高結合型変異体の動力的解析を行う予定である。

P-45

分裂酵母 *tor1* 温度感受性変異株の取得と解析

*1 盛山啓史, 1 石川優, 1 南千明, 2 丑丸敬史, #1 瓜谷眞裕

1 静岡大・理・化学, 2 静岡大・理・生物

TOR は進化的に保存されたプロテインキナーゼである。分裂酵母には TOR の遺伝子は2つ (*tor1*⁺と *tor2*⁺) 存在する。*tor1* 破壊株は普通の条件では正常に生育するが、ストレス環境下で生育できないうえ、窒素源飢餓応答もできない。以上から、Tor1 はストレス下での生育や窒素源飢餓応答に働くことが示唆される。しかし、ストレス時にその機能が要求されるのか、または、それ以前の段階に Tor1 が必要であるのかは不明であった。

今回、*tor1* 温度感受性株を作成した。この株は通常、25°Cでも 34°Cでも正常に生育できるが、ストレス環境下では、25°Cでは生育でき、34°Cでは生育できなくなる。この株で窒素源飢餓応答を調べた。34°Cで培養した細胞を 25°Cで窒素源飢餓に置くと正常に応答したが、25°Cで培養した細胞を 34°Cで窒素源飢餓に置くと正常な応答ができなかった。このことから、Tor1 は窒素源飢餓応答そのものに働くことが示唆された。さらに、この株のマルチコピーサプレッサー遺伝子の探索を行った。

P-46

シロイヌナズナのタグラインを用いた DNA/RNA 結合モチーフを持つ新規葉緑体タンパク質の解析

*1 原美由紀, 1 松浦匡輔, 1 後藤実薫子, 2 明賀史純, 3 庄野百合子, 3 永田典子, 2 篠崎一雄, 1 本橋令子

1 静岡大・院農・共生バイオ, 2 理化学研究所 PSC, 3 日本女子大・院理

核コードの新規葉緑体タンパク質の機能を明らかにするため、シロイヌナズナのタグラインから単離された色素異常変異体のうち、原因遺伝子が葉緑体タンパク質をコードし、DNA または RNA 結合モチーフを持つ *apg9*・*14*・*15* (*albino or pale green mutant 9, 14, 15*) の解析を進めている。APG9・APG14 はプラスチド転写活性染色体タンパク質(pTAC)と報告されており、プラスチドの遺伝子発現に関与している可能性が示唆されている。APG9 は核酸結合ドメインである SAP (after SAF-A/B, Acinus and PIAS) ドメインを持ち、APG14 は RNA 結合ドメインである S1 (Ribosomal protein S1) を持っている。またオルガネラ遺伝子の転写後調節に関与すると報告されている、PPR (Pentapeptide repeat) タンパク質ファミリーに保存された PPR モチーフを APG9・APG15 は有している。上記のようなタンパク質の配列情報より、これらのタンパク質が葉緑体遺伝子の転写調節に関与していると考えられたことから、多くの葉緑体遺伝子の転写産物について RNA ブロット解析を行った。

P-47

シロイヌナズナのタグラインを用いた RNA 結合モチーフを持つ葉緑体タンパク質の機能解析

*1 後藤実薫子、1 原美由紀、1 松浦匡輔、2 明賀史純、3 庄野由里子、3 永田典子、2 篠崎一雄、#1 本橋令子

1 静岡大・農、2 理化学研究所 PSC、3 日本女子大学・院・理

葉緑体を構成・機能に要求されるタンパク質の多くは核にコードされており、この核ゲノムコードのタンパク質による転写後調節によって葉緑体遺伝子が機能を持つ RNA 分子に成熟する。核コードの新規葉緑体タンパク質の機能を明らかにするため、我々はシロイヌナズナのタグラインから単離された色素異常変異体のうち、原因遺伝子が RNA 結合モチーフを持つ葉緑体タンパク質をコードする *apg14,15* (*albino or pale green mutant 14,15*) の解析を進めている。本研究では、APG14、15 タンパク質が RNA 結合モチーフを持つため、ノースウェスタン法、共免疫沈降解析によりターゲットとなる RNA 配列を同定し、機能を明らかにすることを目的としている。*APG14, 15* 遺伝子を GST (Glutathione S-transferase) タグのついたベクターに挿入したコンストラクトを作成し、タンパク質発現実験を行った。

P-48

シロイヌナズナのタグラインを用いたリボソーム結合因子 RBFA のホモログ APG4 とその関連タンパク質の機能解析

*1 一瀬瑞穂、1 加藤智子、1 岡田恵里、2,3 黒田浩文、3 松井南、3 篠崎一雄、#1 本橋令子

1 静岡大・農・共生バイオサイエンス、2 Inplanta Innovation Inc., 3 理研 PSC

葉緑体の機能や形成に関与するタンパク質の多くは核にコードされている。新規核コード葉緑体タンパク質の機能を解明するため、我々はシロイヌナズナのトランスポンタタグラインから単離されたアルビノ変異体 *apg4* (*albino or pale-green 4*) を用いて解析を行っている。*APG4* 遺伝子はリボソーム結合因子 RBFA のホモログタンパク質をコードしており、*apg4* 変異体は子葉がアルビノ、本葉が黄色と緑色の斑入りの表現型を示す。我々は RNA プロット解析から APG4 が 23S rRNA と 4.5S rRNA の間のプロセッシング、16S rRNA 転写産物の蓄積に関与することを明らかにした。また、大腸菌において 30S リボソームの成熟に関与する RimM (21-kDa protein formerly called 21K) と Era (*E. coli* Ras-like) が RBFA を類似の機能を担い、互いに機能を相補することが報告されている。*apg4* 変異体の表現型が成長するに連れ回復することから、我々はシロイヌナズナにおいても RimM と Era のホモログタンパク質が APG4 と類似の機能を担い、機能を相補しているのではないかと予測し、関係性を調べたので報告する。

P-49

草刈り強度を弱めると水田畦畔植生の多様性は高まるか？ - 伝統的棚田と大規模水田の比較 -

*1 丹野夕輝, 1 市原実, 1 山下雅幸, 1 澤田均, 2 稲垣栄洋

1 静岡大・農, 2 静岡農林研

水田畦畔は草原性草本種の重要な生育地の一つであり、畦畔植生の多様性を保全する必要がある。草刈り強度の違いは畦畔植生の多様性に大きく影響すると予想されるが、十分に解明されていない。本研究では静岡県内の伝統的棚田および大規模水田の畦畔にて草刈り強度の操作実験を行い、植生への影響を調査した。棚田では草刈り高 0cm 区、10cm 区および無刈取り区を設置し、大規模水田では草刈り高 0cm 区および 10cm 区を設置した。コドラート法により出現草種の被度および草高を測定した。棚田畦畔のコドラート(100cm×50cm)あたり平均種数は、無刈取り区(16.1 種) > 10cm 区(15.3 種) > 0cm 区(13.8 種)であった($p < 0.05$)。一方、大規模水田では 0cm 区(14.0 種)と 10cm 区(12.3 種)の間に有意差がなかった($p > 0.05$)。本研究より圃場の履歴や環境条件によって、水田畦畔植生の多様性と草刈り強度の関係が異なることが示唆された。

P-50

植物のトゲの役割 ～植物－植食性昆虫－天敵昆虫の三者系における最適な毛茸の形態～

*1 勝山祐子, 2 杉山恵太郎, 1 西東力, #1 田上陽介

1 静岡大・農・共生バイオサイエンス, 2 静岡防除所

植物葉の表面にあるトゲを毛茸という。毛茸は水分量の調節、日光の反射のほか、植食者を防ぐ働きも重要である。しかし、群集の中では植物にとって植食者の天敵も重要な存在である。したがって、植物にとって最適な戦略は、植食者は防いで、味方である天敵には影響がない毛茸を持つことにある。本研究では、インゲン－ハモグリバエ－ハモグリバエ寄生蜂の三者系を用い、毛茸が三者系の中で機能的に働いているのかを検証した。その結果、ハモグリバエは多くの個体がインゲン葉に付着し死亡していたが、寄生蜂ではほとんど見られなかった。また電子顕微鏡観察により、ハモグリバエより体サイズの小さい寄生蜂には毛茸の影響がないことが明らかとなった。したがって、インゲンの毛茸は、植食性昆虫のみを捕らえる最適なサイズ・形状になっていると考えられる。

P-51

静岡県安倍川流域における外来植物ネズミムギ集団のエンドファイト感染率および垂直伝播効率

*1 戸村和貴, 1 丸山啓輔, 1 山下雅幸, 1 澤田 均

1 静岡大・農

ネズミムギは牧草、緑化資材として導入・利用される反面、しばしば野生化、一部は雑草化している。静岡県安倍川流域でも堤防を主体に中下流域に広く分布している。ネズミムギには *Neotyphodium* エンドファイト (以下、エンドファイト) と呼ばれる内生菌の感染が確認されており、耐乾性、耐虫性などに寄与、競争力を高める可能性がある。エンドファイトは感染個体からの種子による垂直伝播でのみ維持・拡大することが知られているが、効率は不完全で、水分条件、特に冠水条件にて感染個体から非感染種子が発生することが報告されはじめた (Gundel 2008)。本試験では、安倍川の中流~下流域にかけ、冠水頻度の異なる立地条件でネズミムギを採取、集団あたりの感染率および垂直伝播効率を調査した。

P-52

コムギ畑に生息する種子食昆虫はエンドファイトに感染した外来雑草ネズミムギの種子を忌避する

*1 丸山啓輔, 1 戸村和貴, 1 市原 実, 1 山下雅幸, 1 澤田 均

1 静岡大・農

本州以南のコムギ畑ではネズミムギの雑草化が問題となっており、その防除手段の一つとして、コオロギ類、ゴミムシ類など地走性昆虫類による散布後種子捕食が注目されている。一方、ネズミムギにはエンドファイトと呼ばれる微生物が共生し、宿主に様々なストレス耐性を付与することが知られている。そこでネズミムギのエンドファイト感染が、種子食性昆虫の種子捕食に及ぼす影響を調査した。実験の結果、種子食性昆虫はいずれもエンドファイト感染種子を忌避しエンドファイト非感染種子を多く採食する傾向が認められた。よってネズミムギのエンドファイト感染は、種子食昆虫による捕食リスクを低下させることが示唆された。