

生物資源ゲノム解析拠点ニュースレター

No.11

NGRC ニュース

No.15

2023年度

東京農業大学 生物資源ゲノム解析センター

# 巻頭あいさつ

2023年度にはコロナ感染症が5類に移行し、社会活動が以前の状態に戻ってきました。研究の分野ではそれより前から正常化に近づいていましたが、難しかった学会年会のような大勢の集会の対面開催も可能になりました。さらに、普及したリモート技術は現在の活動を支援する形として発展的に取り込まれていると考えます。

さて、2023年度の東京農業大学生物資源ゲノム解析センターは、第2期の5年目にあたる共同利用・共同研究拠点活動と学内を中心とする定常的な活動を行いました。NGSを利用した多様かつ活発な研究活動が行われたと思います。詳細は別記事および各課題からの報告をご覧くださいと思います。

センター活動が目指すことの一つに、研究における次世代シーケンサー利用の普及が上げられます。民間の受託サービスが一般化する中でも、試薬のイニシャルコストや手法の習得に係る最初のハードルがあると考えられることから、なかなか利用に踏み出せない研究者もまだ多いと思います。それを踏まえ、共同研究活動では、初めてNGSを利用する研究者、特に若手研究者の支援にも力を入れています。

また、学内の研究支援においては、学生自身によるデータ解析を可能にするための講習会やソフトウェアの利用に努めてきています。現在、国はデータサイエンス人材の育成に力を入れており、大学においては数理・AIデータサイエンスプログラムの運用が広がっています。将来的には、学生の誰もがNGS解析について抵抗なく取り組めるようになっていくことを期待しています。

2024年度は第2期拠点活動の最終年度となりますので、通常活動に加えて、シンポジウムなどの開催により本センターの活動の成果公開や総括を行う予定にしております。

今後とも、本センターの運営にご支援を賜りますようよろしくお願いいたします。

生物資源ゲノム解析センター

センター長 矢嶋 俊介

# CONTENTS

巻頭あいさつ	1
<b>生物資源ゲノム解析拠点ニュースレター</b>	<b>5</b>
生物資源ゲノム解析センターの運用実績	7
生物資源ゲノム解析センター 情報発信活動	8
2023 年度 研究発表実績	10
2023 年度 共同利用・共同研究拠点採択課題一覧	12
ペチュニア花冠のカロテノイド蓄積による鮮黄発色機構の遺伝解析	14
野生種トマトのゲノム多様性	15
マイクロームにおけるストリゴラクトン生合成関連遺伝子の網羅的発現解析	16
群体性緑藻の無性生殖サイクルの制御に関与する遺伝子の探索	17
ツノゴケ類におけるリプログラミングの分子機構の解明	18
雑種稔実 4 倍体イネを利用したヘテロ接合性と倍数性が引き起こす遺伝子発現変動の解析	19
植物ウイルス保毒による媒介昆虫の匂い感受性変化メカニズムの解明	20
サツマイモが病原菌から獲得した ACS 遺伝子によって生産する アグロシノピン様物質が微生物相に与える影響の解析	21
有用微生物の高温限界温度における生存を強化する分子基盤	23
大気二酸化窒素の植物成長促進効果の分子機構の解明	24
超硫黄分子による光形態形成の制御機構	25
難分解性ペルフルオロオクタン酸の代謝・分解を担う細菌酵素の探索・同定	26
イチゴ萎黄病菌のカリフォルニア及び岐阜県由来の菌株における特異的配列の特定	27
ゲノムワイド関連解析による自殖シンドローム進化の解明	28
TORC1 下流の TFE3 ブランチの細胞特異的遺伝子発現への干渉	29
鉄センサー遺伝子 <i>OsHRZ</i> のゲノム編集による鉄欠乏耐性・鉄蓄積イネが非組換え体であることの 証明と標的遺伝子の探索	30
枯草菌の自然形質転換能を制御する RNA イノシン修飾の解析	31
ゲノム編集によって耐病性を獲得したイネの非閉鎖系圃場試験に向けたゲノム解析	32
ウシ黄体細胞の 2 次元ならびに 3 次元体外培養系における LHCGR 発現動態の変化	33
マウス胚におけるアレル特異的 CTCF/Rad21 結合領域の探索	34
植物の高湿度応答と免疫応答のクロストーク解明	35
イネの新規細菌共生系における RNA シークエンス解析	36

<b>NGRC ニュースレター</b> .....	<b>37</b>
2023 年度 学内公募一覧 .....	39
低濃度のエタノール暴露が卵子に及ぼす影響 .....	42
卵子と胚の発育を支持する卵胞液中の miRNA .....	43
若齢・加齢オス由来の胚のガラス化保存がミトコンドリアとテロメアに及ぼす影響 .....	44
全ゲノム解析に基づいた群馬県ツキノワグマの遺伝的集団構造 .....	45
鶏肉の培養肉生産に用いる細胞と市販モモ肉の遺伝子発現の違い —安全性評価基準の提案を目指して— .....	47
霊長類の味乳頭間における酸味受容体発現の違い .....	48
MiCAPs 法を用いた新規家禽エミューの産肉形質関連 QTL の同定 .....	49
水族園飼育下マゼランペンギンに見出された小脳変性症の遺伝解析 .....	50
RAD-seq 解析による皮膚炎発症遺伝子座の同定 .....	51
雌牛の生殖機能制御における抗ミューラー管ホルモンの役割 .....	52
被毛長の性差を引き起こす変異型 FGF5 の役割 .....	53
発泡スチロールを食する昆虫幼虫の腸内で発現している遺伝子の転写解析の試み .....	54
精神疾患の分子メカニズムの同定を目的としたトランスクリプトーム網羅的解析 .....	55
植物の長期高温ストレス耐性には正確な mRNA スプライシングの維持が重要 ～何日も続く高温に適応する作物育種へ期待～ .....	56
Eco & Bee CPS—環境の多様性を考慮した養蜂技術の開発と展開— .....	57
イネ節間の細胞壁蓄積異常を伴う矮性原因遺伝子の特定 .....	59
ヒメツリガネゴケにおけるオーキシン高感受性変異体 <i>ahs2</i> のゲノムリシークエンスによる原因遺伝子探索 .....	60
アブラナにおける低酸素処理中に根及び葉で応答する遺伝子の網羅的解析 .....	61
Evolution of molecular desiccation gene for osmostress signaling using non-HK5 mutant lines in the <i>physcomitrium patens</i> .....	62
藍藻の巨大プラスミド DNA 複製に関わる新規 Rep タンパク質の同定と発現ベクター系への利用 .....	64
塩生植物の保全に向けた環境要因の解析 .....	65
放線菌 <i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) M145 株における抗生物質生産活性回復現象の解明 .....	66
油糧酵母 <i>Moesziomyces aphidis</i> NBRC 111112 の脂肪酸産生関連遺伝子の発現解析 .....	67
ヒト毛髪に常在する細菌叢の分布の解明 .....	68
様々な発酵環境から単離された産業微生物の大規模ドラフトゲノムシークエンス .....	69
グルコースとセルロースの施用が土壌微生物バイオマス量と細菌叢の多様性に及ぼす影響 .....	70
清酒酵母における各種遺伝子破壊株の網羅的な転写解析 .....	71
研究発表実績 .....	72



# 生物資源ゲノム解析拠点 ニュースレター

東京農業大学生物資源ゲノム解析センター  
2024年3月号



共同利用・共同研究拠点「生物資源ゲノム解析拠点」

## 生物資源ゲノム解析センターの運用実績

東京農業大学生物資源ゲノム解析センターは、文部科学省の認定を受け、生物資源ゲノム解析拠点の運用を開始してから11年、今年度は2期目に入ってから5年目の活動となりました。本拠点は、我が国の農学分野を中心とする新たな研究領域の開拓を図り、本学と学外の研究者間における共同研究を対象に、今日では多くの研究分野で活用されている次世代シーケンサー（NGS）を利用した遺伝情報解析を支援しています。また、この支援活動では、学内-学外間で研究者同士の新たなコミュニティの創成、さらには農学分野で遺伝情報解析を介した研究を担う人材育成に貢献することも目指しています。

当センターは、Illumina社のNGSを5台（HiSeq 2500、MiSeq 2台、NextSeq 500、NextSeq 1000）、Oxford Nanopore Technologies社のロングリードシーケンサー MinIONを2台、解析サーバを9台設置しており、ライブラリー調製からシーケンサーのオペレーション、データ解析までを一貫して行える研究員が常勤しています。各研究員は、それぞれ専門分野を中心に微生物から高等な動植物まで多岐にわたる生物種を対象に、ゲノム、トランスクリプトーム、エピゲノム、およびメタゲノムなど様々な解析目的の研究課題に対応できる体制となっています。

令和5年度は、22件の研究課題に対して解析支援を実施しましたが、これまで通り多くの研究者の方々から農学分野において重要な生物を対象とした様々な研究課題の申請があり、採択件数は初年度から累積すると360件を越えました（図1）。そして、今年度の採択課題の対象生物種は、動物、植物、微生物など多岐にわたり、解析手法別にまとめると、これまでと同様に今年度も網羅的な発現量解析を目的としたRNA-seqを用いた課題が最も多く、次いで全ゲノム中の変異解析を目的としたResequencingを用いた課題が対象となりました（図2）。そのほか、特定の空間における菌叢プロファイリングを目的としたWhole metagenome、遺伝子発現制御について解析することを目的としたChIP-seq、ゲノム情報が解読されていない非モデル系生物を対象としたDe novo DNA-seqやDe novo RNA-seq、関連解析を目的としたRAD-seqを用いた課題が対象となり、これまでの解析支援による経験を十分に活かした対応を行うことができました（図2）。またMinIONによるロングリードを用いた真核生物のDe novo DNA-seqなども実施し、さらに充実した解析環境が整いつつあります。

さらに、2021年度より実施しているオンラインセミナーの開催や当センターの見学案内により、多くの研究者に対してNGS解析に関わる技術や研究紹介を行うことができました。今後も、共同研究や情報発信を通して学内外の研究者間の交流を深め、NGSを用いた研究に貢献できるよう取り組んで参ります。

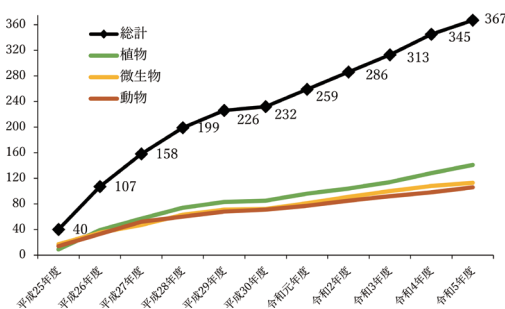


図1 共同利用・共同研究課題件数（累積）



図2 共同研究課題における解析手法

各解析手法の括弧内には、課題件数を示す。ゲノム解析を青字、トランスクリプトーム解析を緑字、メタゲノム解析を紫字、エピゲノム解析を橙字で示す。

(生物資源ゲノム解析センター 松谷峰之介・細井昂人)



## 生物資源ゲノム解析センター 情報発信活動

当センターでは、解析支援業務のほか次世代シーケンサー（NGS）やデータ解析に関する知見を深めること、および研究者コミュニティの拡大を目的として、セミナー開催などを通じた積極的な情報発信活動を推進しています。

まず、当センターの共同利用・共同研究拠点「生物資源ゲノム解析拠点」の周知と新規課題応募の獲得を目的として、オンライン説明会を実施いたしました。2023年度後期課題募集の説明会として2023年7月24日および26日の2日間と、2024年度前期募集の説明会として2023年12月19日および21日の2日間で説明会を実施し、当センターで保有するシーケンサー類や各種データ解析に必要なデータ量などについての紹介を行いました。計4回の説明会はオンライン開催という事もあり、東京近郊に限らず多くの研究機関から、幅広い分野の研究者の方々にご参加いただきました。また、説明会の質疑応答では、解析に必要なデータ量やサンプル数などについて、NGS利用における基礎的かつ具体的な質問が寄せられたことから、NGS需要の高まりを感じました。

さらに、2021年度から始まった取り組みである NGRC セミナーを本年度も引き続き開催いたしました。本セミナーは、当センターおよび拠点事業を周知するための活動の一環として実施しておりますが、内容としてはシーケンス後の各種データ解析について詳しく解説するというビギナー向け講座になっています。NGSを用いた解析が一般化しつつある一方で、シーケンス後のデータ解析は初心者にとって依然として高いハードルと考えています。そこで当センターの取り組みが若手研究者やNGSに新規参入する研究者の解析の一助となるべく、このような内容でセミナーを開催することとなりました。開催したセミナーには幅広い学科・学部の学生や、他大学の先生方に多くご参加いただいたことから、NGS関連の技術や情報に多くの関心が寄せられていることがうかがえます。このような活動を通じて、当センターが共同利用・共同研究拠点におけるNGS解析を通じて、研究者間の交流並びに後進の教育的側面としての役割を担うことができると期待しております。

また、前年度より引き続き、大阪府立国際会議場で開催されたNGS EXPO 2023に当センター所属研究員が参加し、センターの広報を行いました。当センターはポスターセッションで参加し、研究実績や設備のPR活動を行いました。会場では数多くの研究者や企業が参加しており、最も注目されているトピックはシングルセルRNA-seqとロングリードシーケンスでした。当センターでもこれらの需要にも対応すべく、ロングリードシーケンサーの導入やデータ解析環境の整備などを目指し注力しております。

東京農業大学生物資源ゲノム解析センターは、今後も遺伝情報解析による支援活動のほか、セミナー開催等を通して情報発信活動を積極的に推進します。

(生物資源ゲノム解析センター 輿石雄一)



## 2023 年度 研究発表実績

### 論文発表

- Iwami R, Takai N, Matsutani M, Shiwa Y, Kokubo H, Kasahara K, Kokubo T.  
TFIID dependency of steady-state mRNA transcription altered epigenetically by simultaneous functional loss of Taf1 and Spt3 is Hsp104-dependent.  
*PLoS One*. 18 (2):e0281233. (2023)
- Richard Albert J, Kobayashi T, Inoue A, Monteagudo-Sánchez A, Kumamoto S, Takashima T, Miura A, Oikawa M, Miura F, Takada S, Hirabayashi M, Korthauer K, Kurimoto K, Greenberg MVC, Lorincz M, Kobayashi H.  
Conservation and divergence of canonical and non-canonical imprinting in murids.  
*Genome Biol*. 24 (1):48. (2023)
- Enoki S, Tanaka K, Moriyama A, Hanya N, Mikami N, Suzuki S.  
Grape cytochrome P450 *CYP90D1* regulates brassinosteroid biosynthesis and increases vegetative growth.  
*Plant Physiol Biochem*. 196:993-1001. (2023)
- Nishiyama N, Shinozawa A, Matsumoto T, Izawa T.  
High genome heterozygosity revealed vegetative propagation over the sea in Moso bamboo.  
*BMC Genomics*. 24 (1):348. (2023)
- Kawaguchi M, Chang WS, Tsuchiya H, Kinoshita N, Miyaji A, Kawahara-Miki R, Tomita K, Sogabe A, Yorifuji M, Kono T, Kaneko T, Yasumasu S.  
Orphan gene expressed in flame cone cells uniquely found in seahorse epithelium.  
*Cell Tissue Res*. 393 (1):47-62. (2023)
- Kawaguchi YW, Tsuchikane Y, Tanaka K, Taji T, Suzuki Y, Toyoda A, Ito M, Watano Y, Nishiyama T, Sekimoto H, Tsuchimatsu T.  
Extensive Copy Number Variation Explains Genome Size Variation in the Unicellular Zygnematophyccean Alga, *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* Complex.  
*Genome Biol Evol*. 15 (8):evad115. (2023)
- Suda H, Kubo T, Yoshimoto Y, Tanaka K, Tanaka S, Uchino A, Azuma S, Hattori M, Yamaguchi T, Miyashita M, Tominaga T, Iwakami S.  
Transcriptionally linked simultaneous overexpression of P450 genes for broad-spectrum herbicide resistance.  
*Plant Physiol*. 192 (4):3017-3029. (2023)
- Ogura M, Matsutani M, Asai K, Suzuki M.  
Glucose controls manganese homeostasis through transcription factors regulating known and newly identified manganese transporter genes in *Bacillus subtilis*.  
*J Biol Chem*. 299 (8):105069. (2023)

- **Mishina T, Chiu MC, Hashiguchi Y, Oishi S, Sasaki A, Okada R, Uchiyama H, Sasaki T, Sakura M, Takeshima H, Sato T.**  
 Massive horizontal gene transfer and evolution of nematomorph-driven behavioral manipulation of mantids.  
*Current Biol.* 33 (22):4988-4994.e5. (2023)
- **Odani S, Tanaka K, Kitalong C, Nwe YY, Komatsu K, Sato Y, Kitanishi K, Shikata-Yasuoka K.**  
 A Regional History of Oceania Viewed through the Genealogy of Banana Cultivars of Japan and Palau.  
*People and Culture in Oceania.* 38:17-33. (2023)
- **Matsumoto N, Matsutani M, Tanimoto Y, Nakanishi R, Tanaka S, Kanesaki Y, Theeragool G, Kataoka N, Yakushi T, Matsushita K.**  
 Implication of amino acid metabolism and cell surface integrity for the thermotolerance mechanism in the thermally adapted acetic acid bacterium *Acetobacter pasteurianus* TH-3.  
*J Bacteriol.* 205 (11):e0010123. (2023)
- **Sekine A, Yasunaga G, Kumamoto S, Fujibayashi S, Munirah I, Bai L, Tani T, Sugano E, Tomita H, Ozaki T, Kiyono T, Inoue-Murayama M, Fukuda T.**  
 Characterization of Common Minke Whale (*Balaenoptera Acutorostrata*) Cell Lines Immortalized with the Expression of Cell Cycle Regulators.  
*Adv Biol (Weinh).* e2300227. (2023)
- **Taketa S, Kim JS, Takahashi H, Yajima S, Koshiishi Y, Sotome T, Kato T, Mochida K.**  
 Genomic traces of Japanese malting barley breeding in two modern high-quality cultivars, 'Sukai Golden' and 'Sachiho Golden'.  
*Breeding Science.* 73 (5):435-444. (2023)
- **Matsumura K, Onuma T, Kondo S, Noguchi H, Uchiyama H, Yajima S, Sasaki K, Miyatake T.**  
 Transcriptomic comparison between populations selected for higher and lower mobility in the red flour beetle *Tribolium castaneum*.  
*Sci Rep.* 14 (1):67. (2024)
- **Himi E, Kurihara-Yonemoto S, Abe F, Takahashi H, Tanaka K, Matsuura T, Maekawa M, Sasaki T, Rikiishi K.**  
*Tamyb10-D1* restores red grain color and increases grain dormancy via suppressing expression of *TaLTP2.128, non-specific lipid transfer protein* in wheat.  
*Euphytica.* 220:16. (2024)
- **Hishida A, Shirai R, Higo A, Matsutani M, Nimura-Matsune K, Takahashi T, Watanabe S, Ehira S, Hihara Y.**  
 CRISPRi knockdown of the *cyabrB1* gene induces the divergently transcribed *icfG* and *sll1783* operons related to carbon metabolism in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803.  
*J Gen Appl Microbiol.* (2024) Epub ahead of print.

# 2023 年度 共同利用・共同研究拠点採択課題一覧

## 前期採択課題一覧

1. 中塚 貴司（静岡大学）  
「花卉におけるカロテノイド高蓄積メカニズムの解析」
2. 杉本 貢一（筑波大学）  
「野生種トマト・ピンピネリフォルウムが保有する遺伝的多様性の解明」
3. 梅原 三貴久（東洋大学）  
「マイクロトムにおけるストリゴラクトン生合成関連遺伝子の網羅的発現解析」
4. 児玉 豊（宇都宮大学）  
「群体性緑藻フタヅノクンショウモの *de novo* ゲノム解析」
5. 鈴木 秀政（東北大学）  
「ツノゴケ類におけるリプログラミングの分子機構の解明」
6. 山本 敏央（岡山大学）  
「雑種稔実4倍体イネを利用したヘテロ接合性と倍数性が引き起こす遺伝子発現変動の解析」
7. 湊 菜未（新潟大学）  
「植物ウイルス保毒による媒介昆虫の匂い感受性変化メカニズムの解明」
8. 竹本 大吾（名古屋大学）  
「サツマイモが病原菌から獲得した ACS 遺伝子によって生産するアグロシノピン様物質が微生物相に与える影響の解析」
9. 山田 守（山口大学）  
「有用微生物の高温限界温度における生存を強化する分子基盤」
10. 高橋 美佐（広島大学）  
「大気二酸化窒素の植物成長促進効果の分子機構の解明」

〈課題番号順〉

## 後期採択課題一覧

1. 清水 隆之（奈良女子大学）  
「超硫黄分子による光形態形成の制御機構」
2. 乾 秀之（神戸大学）  
「難分解性ペルフルオロオクタン酸の代謝・分解を担う細菌酵素の探索・同定」
3. 加藤 寛（高崎健康福祉大学）  
「イチゴ萎黄病菌のカリフォルニア及び岐阜県由来の菌株における特異的配列の特定」
4. 土松 隆志（東京大学）  
「ゲノムワイド関連解析による自殖シンドローム進化の解明」
5. 片岡 浩平（横浜市立大学）  
「TORC1 下流の TFE3 ブランチの細胞特異的遺伝子発現への干渉」
6. 小林 高範（石川県立大学）  
「鉄センサー遺伝子 *OsHRZ* のゲノム編集による鉄欠乏耐性・鉄蓄積イネが非組換え体であることの証明と標的遺伝子の探索」
7. 相馬 亜希子（千葉大学）  
「tRNA 修飾酵素を介した枯草菌の自然形質転換能の制御機構の解明」
8. 清水 圭一（鹿児島大学）  
「ゲノム編集によって耐病性を獲得したイネの非閉鎖系圃場試験に向けたゲノム解析」
9. 木村 康二（岡山大学）  
「ウシ黄体細胞の 2 次元ならびに 3 次元体外培養系における LHCGR 発現動態の変化」
10. 原 聡史（佐賀大学）  
「マウス胚におけるアレル特異的 CTCF/Rad21 結合領域の探索」
11. 安田 盛貴（奈良先端科学技術大学院大学）  
「植物の高湿度応答と免疫応答のクロストーク解明」
12. 西條 雄介（奈良先端科学技術大学院大学）  
「イネにおける新規の細菌共生系における RNAseq 解析」

〈課題番号順〉

## ペチュニア花冠のカロテノイド蓄積による鮮黄発色機構の遺伝解析

カロテノイドは植物色素の一つで、果実や花弁の着色に関わっている。また、カロテノイドの一種であるβカロテンは、ビタミンAの前駆物質として食品栄養にとっても重要な物質である。それゆえに、農作物にとってカロテノイド蓄積は、重要な形質の一つである。カロテノイドは、光合成における集光や光防御の役割、アブシシン酸などの植物ホルモンの中間産物として存在し、すべての植物はゲノム上にカロテノイド生合成酵素遺伝子を保有している。しかし、果実や花弁にカロテノイドを高蓄積できる植物種は限られており、生合成酵素とは別にカロテノイド蓄積を制御する特殊なメカニズムが存在すると考えられている。これまで、果実や花弁にカロテノイド色素を蓄積しているトマトやタルウマゴヤシなどの植物を用いて、カロテノイド蓄積量が減少した変異体の解析から、カロテノイド高蓄積を決定する鍵因子の特定を試みられてきた。しかし、まだそのメカニズムの全貌は解明されていない。

ペチュニアは、花色が多様で育てやすいため花壇花として人気のある植物であり、アントシアニンに基づいたピンクや赤、青、紫色の花色を持つ品種が育成されている。しかし、これまでオレンジ色や黄色の花色をもつ品種は存在しなかったが、近年鮮黄色をもつ品種が育成された。この黄花品種は、花弁にカロテノイド色素を高蓄積することで鮮黄色を発色しており、カロテノイド高蓄積メカニズムの解明の材料として有効であると考えた(図1)。

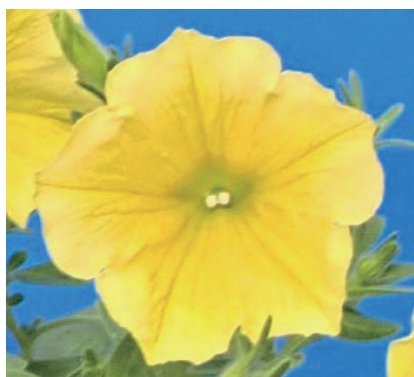


図1 鮮黄花を有するペチュニア品種

鮮黄花ペチュニアの花冠には、ルテインとβ-カロテンが主要カロテノイドとして蓄積していた。カロテノイド生合成酵素遺伝子の発現解析では、鮮黄花品種の花冠裂片における*GGPS1*、*PSY1*、*ZDS*、*LCYB*、*PDS*、*CHYB1*、*CHYB/CYP97A*の発現量が、白花品種よりも有意に高かった(図2)。様々なカロテノイド生合成遺伝子の活性化が検出されたことから、このペチュニアの鮮黄色化は、転写制御因子や、カロテノイド蓄積や色素分化に関わる遺伝子の変異が関与しているのではないかと仮定した。さらに、このカロテノイド高蓄積の遺伝様式を明らかにするために、鮮黄色花品種の自殖および白花系統との正逆交雑を行った。自殖後代では、親品種と同様に鮮黄花色をもつ個体が得られた。一方、F<sub>1</sub>では、淡黄花色個体は存在したが、親品種と同等の鮮黄花色を有する個体は出現しなかった。このことから、ペチュニアにおけるカロテノイド蓄積は優性形質であり、その蓄積量の制御には量的遺伝子座が関与していると推定した。

本共同研究では、育成したF<sub>2</sub>集団を用いて、カロテノイド蓄積関連遺伝子座の同定に向けて次世代シーケンズを用いたゲノムワイド関連解析を行った。その結果、カロテノイド蓄積量と強い相関があるSNPsが検出された。現在、そのSNPsが座化するゲノムスキュフォールドに存在する遺伝子の発現解析や機能解析を実施している。これらの解析により、カロテノイド高蓄積に関わる遺伝子の特定や、そのメカニズムの解明に繋がるのが期待できる。

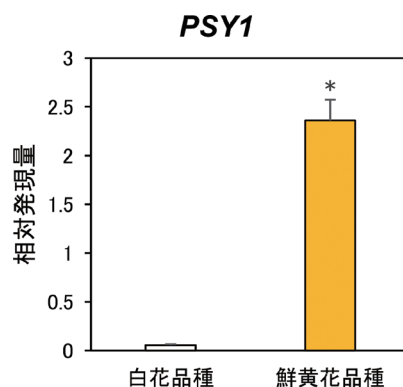


図2 カロテノイド生合成酵素遺伝子の発現解析

## 野生種トマトのゲノム多様性

野生種植物は自然環境中での生態学的な研究に利用されるほか、野菜類の近縁種であれば育種素材としても利用されている。栽培トマト (*Solanum lycopersicum*) には交配可能な近縁野生種が複数知られており、栽培トマトにはない病原体抵抗性などの有用な表現型を示すものが存在する。また野生種内の多様性も大きく、アクセッションによって異なる表現型を示すことも一般的にみられる。近年は第2世代シーケンサーの発達に伴い多数の栽培トマト系統や複数の野生種トマトのショートリードデータが公開されている。一方で、トマト品種間の遺伝学的研究からはリファレンスゲノムに存在しない遺伝子が系統特異的な表現型に関与していることも明らかになってきた。そのため、ロングリードシーケンサーを利用した各系統のゲノム情報を整備することは今後の研究や品種開発にとって有用である。

筑波大学・つくば機能植物イノベーション研究センター

が運営するナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) トマトではトマト変異体系統の整備・配布に加えて、野生種の採種および配布も行っている。栽培トマトに特に近縁な野生種として知られている *S. pimpinellifolium* のアクセッションは NBRP トマトに4つ存在し、それぞれが異なる表現型を持つ (下図)。表現型の整理が進むとともに、各アクセッション同士の交配系統を作製することで遺伝学的な情報が集まってきたが、表現型の発現に関与する遺伝子を同定するにはゲノム情報利用するのが近道である。

本研究プロジェクトでは、NBRP トマトが保有する *S. pimpinellifolium* の4つのアクセッションすべてのゲノム情報をロングリードシーケンサーを利用して取得し、リソースを利用するすべてのユーザーにとって使いやすい形として公開する。

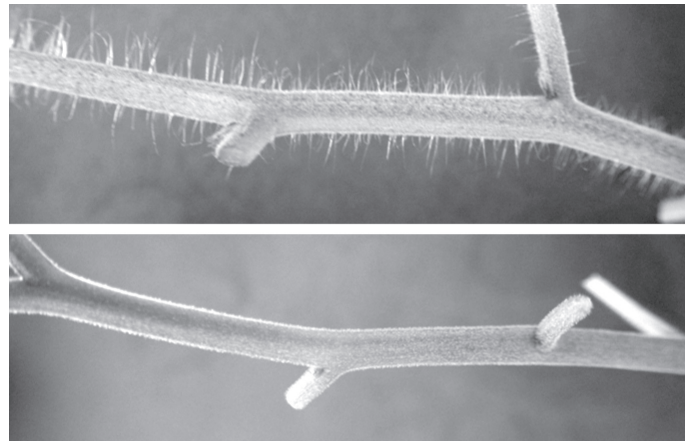


図 トライコーム形成能を持つアクセッション (上) と持たないアクセッション (下) の見た目の違い。

杉本 貢一 (筑波大学  
つくば機能植物イノベーション研究センター)

共同研究先：篠澤 章久 (生命科学部)  
Sk Rahul (生物資源ゲノム解析センター)  
細井 昂人 (生物資源ゲノム解析センター)  
田中 啓介 (東京情報大学総合情報学部)



## マイクロトムにおけるストリゴラクトン生合成関連遺伝子の網羅的発現解析

ストリゴラクトン (SL) は、植物の枝分かれを抑制する植物ホルモンである。SLは無機栄養 (特に窒素やリン酸) が欠乏すると増加する。この現象はいろいろな植物で確認されている。SLは宿主植物に供給する共生菌、アーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) の菌糸分岐を活性化させる。したがって、低窒素・低リン酸条件下で増加した SL は余計な枝分かれを抑制し、根から SL を分泌して AM 菌との共生を促し、土壌中の限られた窒素やリン酸を効率よく回収するためのシグナルとして働くと考えられる。多くの研究者がシロイヌナズナやイネを中心に SL 研究を行ってきたが、近年ではトマトを使った SL 研究も増えている。

図 1 にトマトにおける主要な SLs 生合成経路を示す。 $\beta$  カロテンイソメラーゼ、カロテノイド酸化開裂酵素 CCD7 と CCD8 による一連の酵素反応を介して  $\beta$  カロテンからまずカーラクトン (CL) が作られる。その後、シトクロム P450 の CYP711A による酸化反応を経てカーラクトン (CL) からカーラクトン酸 (CLA) に変換される。CLAMT というメチル基転移酵素のはたらきで、CLA にメチル基が結合するとカーラクトン酸メチル (MeCLA) が作られ、LATERAL BRANCHING OXIDOREDUCTASE (LBO) がコードする 2 オキソグルタル酸依存的酸化酵素によって 1'-hydroxy MeCLA が作られる。また、CYP722C の働きで CLA からオロバンコールが作られ、その下流でジデヒドロオロバンコール (DDH) やソラナコールが作られる。トマトでは CLA を起点として non-canonical SL と canonical SL を作る 2 つの生合成経路に分岐する。

申請者らの研究グループは、Micro-Tom の SL 関連突然変異体コレクションを揃えてきた。Targeting Induced Local Lesions In Genomes (TILLING) 法で SL 生合成欠

損変異体の *slccd8* および *slmax1* (CYP711A の変異体) を各 2 系統ずつ発見した。両変異体とも内生 SL 量が著しく減少し、枝分かれの数が野生型の約 2 倍に増加していた。このうち、*slccd8* は根寄生植物 *Phelipanche aegyptiaca* の感染実験を行い、感染率が野生型より減少することを示した。さらに、CRISPR/Cas9 によるゲノム編集で SL 生合成欠損変異体 *sllbo*、SL 受容体タンパク質欠損変異体 *sld14* を各 2 系統ずつ得た。*sllbo* の枝分かれの数は野生型よりわずかに増加し、*sld14* は枝分かれの数は他の SL 生合成欠損変異体と同様、野生型の約 2 倍に増加していた。

活性型の植物ホルモンは、一般的にシグナル伝達欠損変異体で蓄積することが多い。そこで、*sld14* の SL 分析を実施し、*sld14* で蓄積する SL をいくつか捉えた。我々は、この物質が枝分かれを制御する活性型 SL に近いものと考えている。本研究では、RNA-seq 解析によって *sld14* で蓄積する SL の合成に関わる生合成酵素遺伝子の候補を探索することを目的とする。

植物の枝分かれの数は、作物の収量に大きな影響を与える重要な農業形質で、植物の枝分かれを適度な数に制御することは農業上重要である。トマト農家では、トマトの果実品質を保つために腋芽を手作業で除去しているところもある。もし SL を介した枝分かれの制御が容易になれば、この研究成果は農業や園芸の場面で大きく貢献することが期待できる。また、トマトを含む多くの農作物は植物共生菌のアーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) と共生する。この AM 菌は、宿主植物に土壌中の栄養を供給してくれる善玉菌で、宿主植物の根から分泌された SL を感知すると菌糸を活発に分岐して宿主植物との共生関係を強める。したがって、SL の生合成制御は、AM 菌との共生をコントロールする上でも重要である。

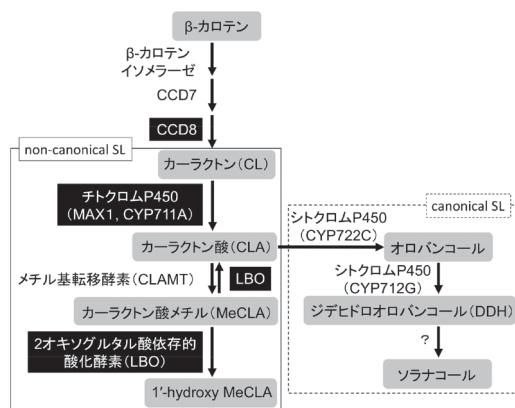


図 1 トマトの SL 生合成経路

梅原三貴久 (東洋大学生命科学部)  
野村 崇人 (宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センター)

共同研究先: 伊藤 晋作 (生命科学部)  
細井 昂人 (生物資源ゲノム解析センター)

## 群体性緑藻の無性生殖サイクルの制御に関与する遺伝子の探索

微細藻類は高い光合成能を持つため、産業利用する上で陸上植物よりも高い生産性を持つと考えられている。さらに、さまざまな有用物質を生産することが知られており、エネルギー源や環境保全、食品等に应用され、多岐にわたる産業分野に貢献している。しかし、生産コストや培養の安定化には多くの課題を抱えており、目的に応じた機能だけでなく、高いバイオマス生産性も有する種の選択が求められている。

フタヅノクンショウモは、淡水生態系に生息する群体性緑藻であり、農学分野にとって重要な生物種である。たとえば、淡水環境が悪化すると増殖できなくなるため、淡水生態系の良し悪しをモニターできる生物種であることが報告されている (Papry et al., 2021)。また、ヒ素などの有害物質や高濃度なマンガンを浄化できることも報告されており、淡水環境のファイトレメディエーションへの利用の可能性が示されている (Papry et al., 2021; Thongpitak et al., 2019)。さらに、夏季に脂質を高蓄積するため、バイオ燃料生産への応用も期待される (未発表)。フタヅノクンショウモの産業利用のためには、その生育コントロールが望まれる。

フタヅノクンショウモの群体を構成する細胞数は多くの場合2<sup>n</sup>個 (n=2-6) であり、その細胞群が平面状かつ放射状に配列する (図1)。また群体は、図2に示すような無性生殖サイクルを経て増殖する。まず、図2のように、(A) 群体を構成する個々の細胞が肥大化し (B) 多核化した後、(C) 各細胞がそれぞれ4-64個の娘細胞群に分裂し、(D) 娘細胞群は鞭毛を持つ遊走子群を形成する。その後、(E) 遊走子群は親細胞由来の包膜に包まれたまま放出され、(F) 互いに接着することで、新しい娘

群体を形成する。つまり、親細胞1つから複数の細胞で構成される1つの娘群体が作られる。たとえば、1つの64細胞群体 (細胞数64個) は、最大64倍の娘群体 (細胞数4,096個) を作り出すため、フタヅノクンショウモは爆発的な増殖ポテンシャルを有する。

研究代表者は、フタヅノクンショウモの生育をコントロールするため、その生活環の制御メカニズムの解明を目指している。これまでの研究において、図2 (B) で示す多核化の過程に未知の温度センサーが関与し、図2 (E) で示す遊走子放出の過程に未知の光受容体が関与することが示唆されている。これらの温度センサーや光受容体の詳細が解れば、フタヅノクンショウモの生育を環境制御によってコントロールすることが可能になると考えている。しかし、フタヅノクンショウモのゲノムおよび遺伝子情報はほとんど明らかになっておらず、遺伝学的解析が困難な状況である。

当共同研究では、帝京大学の篠村知子教授が単離したフタヅノクンショウモを材料に用いたRNA-seq解析によって、フタヅノクンショウモの無性生殖サイクルの制御に関わる遺伝子の探索を行っている。実験は、宇都宮大学・児玉研究室の正木亜嘉理氏 (修士2年) が中心となって実施している。温度や光に応じて発現が変動する遺伝子が明らかになれば、周囲の環境に応じて無性生殖サイクルを制御するメカニズムの解明につながる。フタヅノクンショウモの爆発的な増殖ポテンシャルを生かした短期間での大量培養を実現できれば、ファイトレメディエーション技術やバイオ燃料へ応用できる新たな微細藻類種として確立できると考えている。

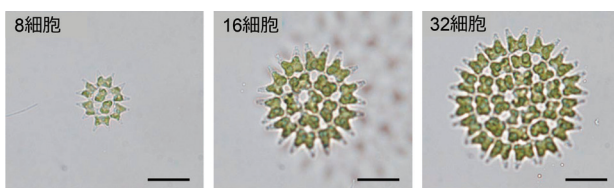


図1 異なる数の細胞から構成されるフタヅノクンショウモ群体の顕微鏡写真

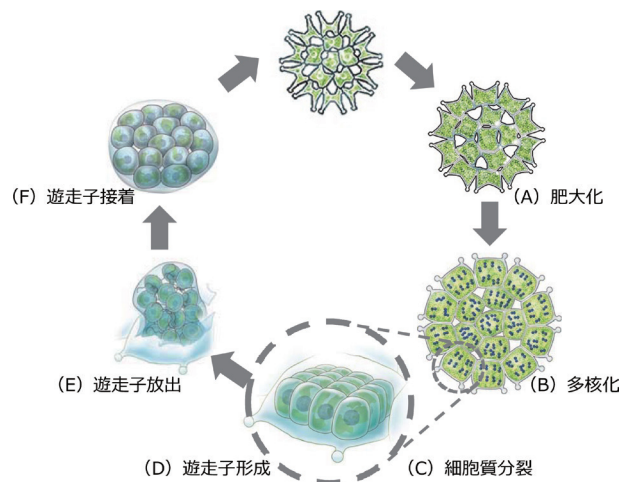


図2 フタヅノクンショウモの無性生殖サイクル

## ツノゴケ類におけるリプログラミングの分子機構の解明

植物は動物に比べ高い再生能力を有し、挿し木や接ぎ木といった農業技術の基盤となっている。再生のカギとなるのは、分裂停止した体細胞を分裂する状態に戻す「リプログラミング」である。本研究では、ほぼ全ての体細胞が再生し得るという驚異的な再生能力をもつコケ植物に着目し、そのしくみを研究した。

コケ植物は約 4.5 億年前に維管束植物と分岐した系統であり、蘚類・苔類・ツノゴケ類からなる。従来、コケ植物の発生や遺伝子機能は蘚苔類で解析されてきた。他方、コケ植物の基部系統であるツノゴケ類は、2020 年にゲノム解読 [1, 2]、2021 年に形質転換手法が報告されたばかりであり [3]、知見に乏しい。本研究では、進化的に離れたツノゴケ類と蘚苔類の比較を通じてコケ植物の再生能力の秘訣を解明することを目標に、ツノゴケ類におけるリプログラミングのしくみを解析している。

本研究で用いたホウライツノゴケ (*Anthoceros angustus*) は、植物体 (葉状体) の先端から脱離性の組織「無性芽」を生じる (図 1A, B)。無性芽は細胞分裂を停止した状態にあり、親個体から脱離すると分裂を再開して葉状体へと成長する。我々は、S 期の細胞に取り込まれる EdU 試薬により細胞分裂を可視化することで、無性芽は脱離後約 1 日で分裂を再開することを突き止めた。そこで本支援においては、脱離後 0, 1, 3, 6, 12, 18, 24 h 時点の無性芽をサンプリングして RNA-seq 解析を行い、どのような過程を経てリプログラミングが実現されるのかを解析した (図 1C)。

RNA-seq データを主成分分析したところ、各時点のサンプルはまとめて時系列順に分離された (図 1D)。特に、0, 1, 3h のサンプル間に大きな開きがあり、発現遺伝子が大きく変化していると考えられた。そこで、サンプル間で二群間比較したところ、0~1 h で 3,000 ほどの遺伝子が、その後 1~3h で 2,700 ほどの遺伝子が発現変動していた。発現変動した遺伝子について Gene Ontology Enrichment 解析し、どのような生理調節がなされているかを調べた。その結果、0~1h 時点で発生や分化に関する遺伝子の発現が高まり、その後 12h にかけてタンパク質合成が活性化されていた。12h 以降には、EdU 処理実験とも一致して、細胞分裂に関わる遺伝子の発現が促進されていた。こうした結果から、ホウライツノゴケの無性芽は親個体から脱離すると 1h 以内にすみやかにリプログラミングし、細胞分裂の準備を始めることが示唆された。

今後、0~1h で発現変動した遺伝子に注目してより詳細に解析し、コケ植物の再生能力の秘訣を明らかにしていきたい。

### 参考文献

- [1] Li et al. *Nat Plants*. 6 (3): 259-272 (2020)
- [2] Zhang et al. *Nat Plants*. 6 (2): 107-118 (2020)
- [3] Frangedakis et al. *New Phytol*. 232 (3): 1488-1505 (2021)

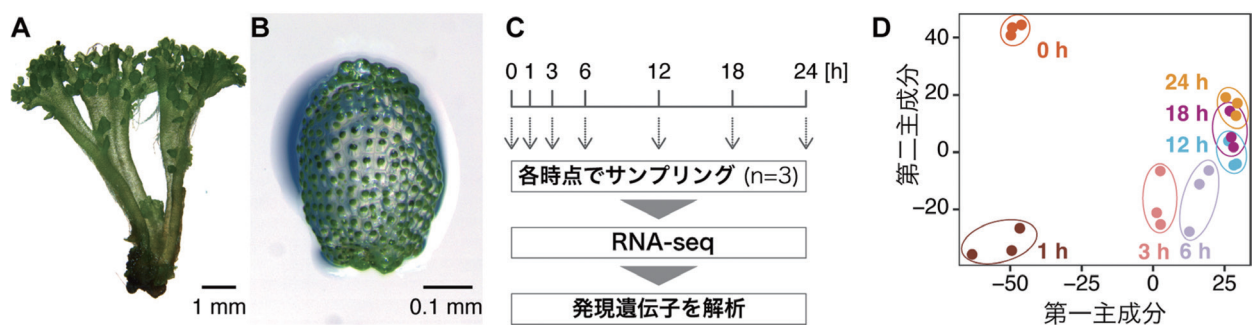


図 1 ホウライツノゴケをモデルとしたリプログラミング研究の概要

- A, B. ホウライツノゴケの葉状体 (A) と無性芽 (B)。
- C. 本研究における次世代シーケンサ解析のワークフロー。
- D. RNA-seq データの主成分分析。

## 雑種稔実 4 倍体イネを利用したヘテロ接合性と 倍数性が引き起こす遺伝子発現変動の解析

作物の倍数性は進化の過程で獲得した適応戦略であるとともに、人類が食料等として積極的に利用してきた選抜特性でもある。特に、コムギやアブラナ属作物のような倍数性新作物は、収穫対象とする器官や成分を著しく改変させたり、環境への適応性を高めることで人類の繁栄に多大な貢献をしてきた。一方で、イネやトウモロコシにおいては、倍数性の栽培種は存在せず、他の種間雑種で見られたような倍加による画期的な特性向上の余地が残されている。

私たちはこれまでに、アジア栽培種である *O. sativa* とアフリカ栽培種である *O. glaberrima* の雑種に由来する稔実 4 倍体イネの遺伝解析を進めている。2つの種は別の祖先野生種を起源としており、交雑は可能なものの雑種  $F_1$  では自殖種子が得られない。しかし雑種  $F_1$  を薬培養した再分化個体の中に自殖稔実個体が見いだされ、それらは全て 4 倍体であった (Kuniyoshi et al. 2020)。そこで、この自殖後代から稔実率を高めた複数の 4 倍体系統群を作成してゲノム構成を明らかにし、農業形質の GWAS 解析を実施した。その結果、既報と合致する複数の QTL が検出されたことに加えて、いくつかのゲノム領域でヘテロ接合時に高い表現型値を示す現象 (ヘテロシス) を見出した。

本研究では、種分化の主要因である生殖隔離が倍数性によって打破される機構と、倍数性やヘテロ接合性が引き起こす作物の強勢機構を、ゲノムレベルで解明することを目指している。その最初のステップとして、東京農業大学生物資源ゲノム解析拠点の支援を受けて、2 倍体や同質 4 倍体と比較した雑種稔実 4 倍体の遺伝子発現プ

ロファイルの特徴づけを開始した。雑種稔実 4 倍体系統 (SSGG) およびその薬培養を経て作出した還元 2 倍体系統 (SG) を混合ゲノム系統として、また *O. sativa* と *O. glaberrima* の 2 倍体系統 (SS, GG) および同質 4 倍体系統 (SSSS, GGGG) をホモ型両親系統として用いる (図)。全サンプルについて、5-6 葉齢時の苗を用いた RNA-seq を行い、得られた遺伝子発現プロファイルについて、2 倍体系統と 4 倍体系統を比較することにより倍数化の効果を検証する (図の縦方向)。またホモ型両親系統と混合ゲノム系統を比較することにより異種ゲノムの対立遺伝子による相加効果およびヘテロシス効果を検証する (図の横方向)。

これまでに、公開済みの *O. sativa* 参照配列と独自に整備した *O. glaberrima* 参照配列に属する全ての遺伝子配列について相互に類似性検索を実施し、転写産物の由来ゲノムの識別が可能かつ 1 対 1 の対応関係にあるオルソログ対のデータベースを作成した。現在は、RNA-seq で得られたリード配列をこのデータベース配列にマッピングして、倍数性の違いおよびヘテロ接合性の違いに注目してサブゲノムごとに発現量やスプライシングバリエーションの変化を調査している。特定の遺伝子やゲノム領域の変化が確認できれば、注目すべき表現型や機能の予測を通じて、作物の強勢発現機構の理解に繋がると期待している。

### 参考文献

Kuniyoshi et al. *Frontiers in Plant Science* 11: 579305 (2020)

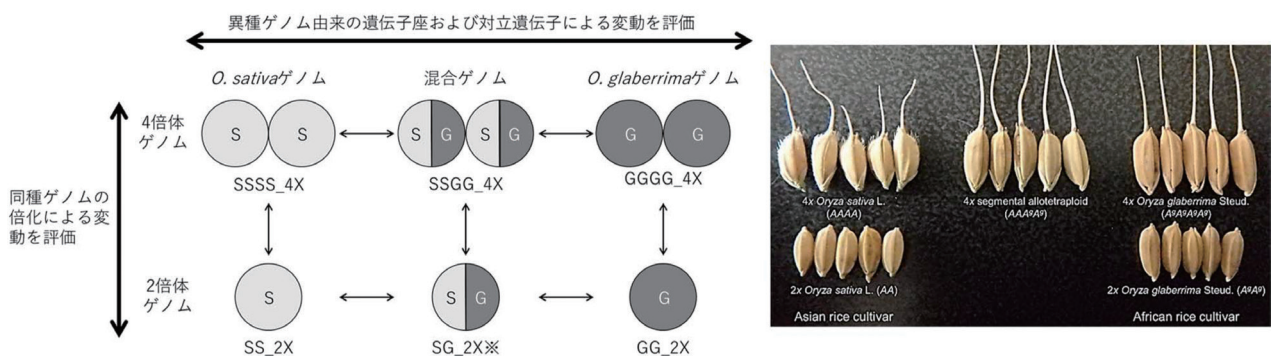


図 研究材料と研究全体の概念図

混合ゲノム個体内の遺伝子型を決定するとともに、全ての系統群について表現型、RNAseq データを得る。各組み合わせで検出される DEG 等から倍数性レベル (縦軸) およびヘテロ接合性レベル (横軸) で影響を受けるものを抽出する。

山本 敏央 (岡山大学資源植物科学研究所)  
古田 智敬 (岡山大学資源植物科学研究所)  
長岐 清孝 (岡山大学資源植物科学研究所)

共同研究先: 加藤 浩 (農学部)  
奥石 雄一 (生物資源ゲノム解析センター)

## 植物ウイルス保毒による媒介昆虫の匂い感受性変化メカニズムの解明

古来より農業生産に大きな打撃を与え続けてきた植物病の中でも、昆虫によって媒介される病害は特に難防除であることが知られており、近年特に発展途上国において深刻な被害が報告されている。中でも農業による防除が困難であるウイルス病については現在でも有効な対策は確立されておらず、昆虫伝染性ウイルスに対する新規防除法の確立は農業上の喫緊の課題である。農業現場において、病害と虫害はほぼ全ての作物で併発している。また近年では発病した植物が害虫を誘引するなど、病害と虫害の発生にリンクが認められている。しかしながら、これまで植物の病害と虫害は別個の問題として切り分けられ、それぞれにその場しのぎの対応策が取られてきた。したがって、農業生産上より実践的な防除策を講ずるためには病原体-宿主植物-媒介昆虫の三者間相互作用を理解し、基盤的知見を蓄積することが不可欠である。

昆虫伝染性ウイルスを中心とした「植物-ウイルス-媒介昆虫」の相互関係において、媒介昆虫は唯一能動的に移動・拡散する能力を持つ。したがって昆虫伝染性ウイルスは、媒介昆虫の寄主選択行動を操作することにより自身の感染拡大を画策することが知られている。ほとんどの場合において、ウイルスを体内に保毒している媒介昆虫はウイルス非感染植物を好み、ウイルスを未保毒である昆虫はウイルス感染植物を好んで吸汁することにより、ウイルスは昆虫を介して感染植物から非感染植物へと効率的に伝搬することが可能となる。

研究代表者らは、コムギをはじめとしたムギ類植物に黄萎病を引き起こし大きな経済被害をもたらしている昆虫伝染性ウイルス barley yellow dwarf virus (BYDV)

を対象として、植物ウイルスによる媒介昆虫の寄主選択行動の変化について解析を進めてきた。これまでにBYDVを介したムギ類植物と媒介昆虫の種間相互作用について、ウイルス保毒虫によるウイルス感染植物の忌避を示している。またBYDVによる媒介昆虫の寄主選択行動の変化には、ウイルス感染による植物側の変化とウイルス保毒による媒介昆虫側の変化の両方が必須であることを明らかにしている。植物側については既報においてウイルス感染に伴う揮発性有機化合物の変化が報告されているほか、研究代表者らによりBYDV感染植物における遊離アミノ酸組成等の栄養生理学的変化が示されている。また研究代表者らは、BYDV保毒により媒介昆虫のテルペン化合物に対する感受性が低下することを見出している。

本共同研究課題では、植物ウイルスBYDVの媒介昆虫ムギクビレアブラムシ (*Rhopalosiphum padi*) の無翅雌成虫を対象として、BYDV保毒虫と非保毒虫からmRNAを抽出し次世代シーケンサーを用いたRNA-Seqにより遺伝子発現変動解析を行った。はじめにアブラムシ whole body および頭部のみから抽出したRNAを用いてテストランを実施したところ、DEGsおよびGO解析によりwhole body由来サンプルでは頭部と比較してウイルス保毒による遺伝子発現変動がマスクされている可能性が考えられた。このことから、本試験においてはBYDV保毒虫と非保毒虫頭部由来のmRNAについてRNA-Seqにより遺伝子発現プロファイルを得て比較解析を行った。これをもとに、現在は植物ウイルスの保毒が媒介昆虫に及ぼす影響について特に匂い化合物に対する感受性変化のメカニズムの解析を進めている。

### 【研究材料】



### 【共同研究課題の背景】

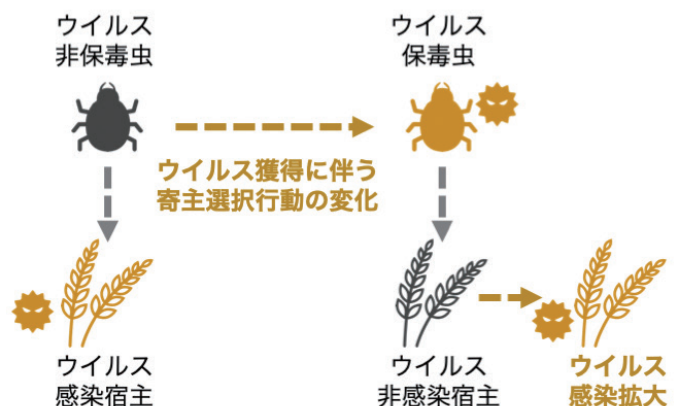


図 植物ウイルスの媒介昆虫ムギクビレアブラムシ (左) およびウイルス保毒による媒介昆虫の寄主選択行動の変化 (右)

## サツマイモが病原菌から獲得した ACS 遺伝子によって生産するアグロシノピン様物質が微生物相に与える影響の解析

サツマイモ (*Ipomoea batatas*) は貧栄養環境に強く、古くから救荒作物として利用されてきた。しかし、サツマイモが栄養条件の悪い環境で生育できる機構については殆ど明らかになっていない。近年、サツマイモのゲノム解析から、病原菌であるアグロバクテリウム由来の遺伝子配列が見出され、栽培品種に広く保存されていることが明らかとなった<sup>1)</sup>。この遺伝子配列には、特定の微生物によって分解・資化される糖類化合物アグロシノピンの合成酵素遺伝子 ACS が含まれていた。

アグロシノピンはスクロースとアラビノース（またはグルコース）がホスホジエステル結合した特殊な化合物で、アグロバクテリウム他数種の細菌から資化酵素が見つかった。一方で、植物が利用するという報告はない。このことから、サツマイモは ACS 遺伝子を維持してアグロシノピンを生産することで、土壌中や植物内在性のサツマイモにとっての有用微生物との相互作用を促進し、悪条件下での生長を可能にしている可能性が推定された（図1）。

これまでに申請者らは、ACS 遺伝子の植物における機能を解析するため、ACS 遺伝子を発現する形質転換タバコを作成した。その結果、サツマイモの ACS 遺伝子が植物細胞に含まれる糖を基質として、アグロシノピン A を生産する活性を持つことが明らかとなった。興味深いことに、ACS 発現タバコでは根圏の微生物相が変化し、アグロシノピンを資化できる微生物が増加することが確認された<sup>2)</sup>。

そこで、サツマイモにおける ACS 遺伝子の機能を調べるため、ACS 遺伝子を破壊した変異体をゲノム編集により作出した。その結果、野生型と比較し ACS 変異体の生育が顕著に抑制されることが明らかとなった（図2）。この ACS 変異体でみられた生育抑制は滅菌土壌を用いて栽培した場合には認められなかったことから、ACS によって生産されるアグロシノピンの機能は、有用微生物との相互作用の促進であるという仮説がさらに支持された。

そこで本研究では、1) サツマイモが生産するアグロシノピン（あるいはその類縁化合物）の構造決定、2) サツマイモの生産するアグロシノピン様物質による根圏微生物相への影響の調査、3) サツマイモの生育を促進する有用微生物の特定とその性状解析などを進めることで、サツマイモの貧栄養環境に強いという特性のメカニズム解明と農業へ有効活用できる有用微生物（群）の単離を目指している。

サツマイモの生育促進に寄与する微生物を特定するため、野生株と ACS 遺伝子破壊株の根圏メタゲノム解析を進めた。非滅菌土壌において生育させた野生株と ACS 遺伝子破壊株では、それぞれ 105 および 79 のゲノムが検出され、ACS 遺伝子破壊株の根圏での微生物多様性が低下していることが明らかとなった。野生株でのみ検出された 26 ゲノムのうち、20 が真正細菌であった。そのうち属名が特定できたものはわずか 3 種（そのうち種名が特定できたものは 2 種）であり、殆どのゲノムが新規性の高い種のものであった（図3）。今後、それら微生物種の全ゲノム情報をもとに、植物の生長促進に関わる既知の機能（窒素固定、植物ホルモン生産等）に関わる遺伝子群の有無を調査するとともに、これら微生物の培養法を確立することで、その性状解析を通して有用微生物の特定を目指す計画である。



サツマイモ 系統1 系統2  
(野生株) IbACS欠損株

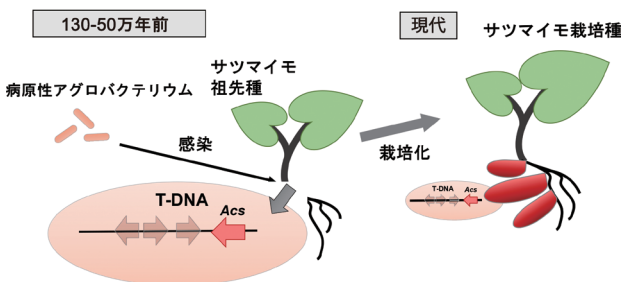


図1 サツマイモ栽培種への T-DNA 伝播

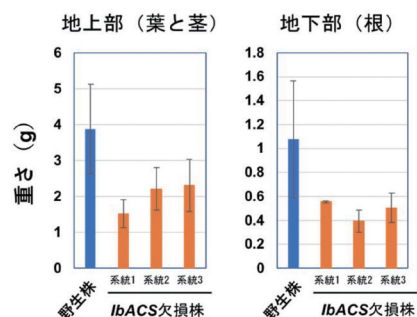


図2 サツマイモ Acs 遺伝子欠失による生育の低下

引用文献

- 1) Tanaka et al. Mol. Plant-Microbe Interact. 35: 73-84. (2022)  
 2) Kyndt et al. Proc Natl Acad Sci USA 112: 5844-5849. (2015)

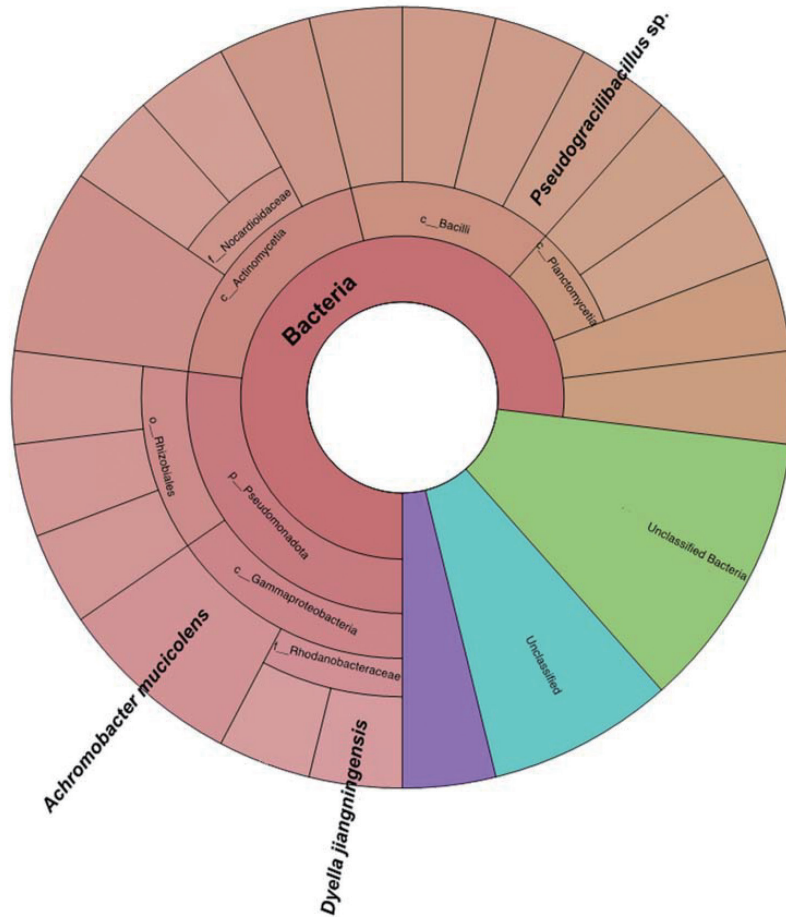


図3 野生株で特異的に検出された微生物種の種類  
 空欄は新規（未報告）の微生物

竹本 大吾 (名古屋大学生命農学研究科)  
 田中 愛子 (名古屋大学生命農学研究科)

共同研究先：齋藤 宏昌 (生命科学部)  
 松谷峰之介 (生物資源ゲノム解析センター)

## 有用微生物の高温限界温度における生存を強化する分子基盤

常温菌の中には熱帯地域などの環境条件に適応し、耐熱性を有するものが存在する。その遺伝学的背景を明らかにするために大腸菌や耐熱性ザイモナス菌等を解析し、各々において耐熱性を付与する遺伝子（耐熱性遺伝子）を特定してきた<sup>1,3)</sup>。一方、耐熱化の分子機構を知るために、実験室での耐熱化研究を進めている。この耐熱化研究は、地球温暖化が進むなか耐熱化の限界を知るためにも重要な研究となる。加えて、耐熱性株を用いたエタノール高温発酵技術構築を進めている。耐熱化株を用いることにより、さらに安定でかつ経済的な高温発酵系の構築が可能となる。

まず、耐熱化の正確な評価のために生育限界温度の決定方法を確立した<sup>4)</sup>。耐熱化はザイモナス菌2株と大腸菌1株について温度を徐々に上げながら耐熱化限界まで繰り返し培養を実施したところ、それぞれ2°C高温で生育できる株を得た。さらに限界を見極めるために、耐熱化株をミューテータに改変し、それを用いて高温適応育種を耐熱化限界まで実施したところ、さらに1°C高温で生育できる株を得た。これらの結果により耐熱化限界が最大3°Cであることが示唆された。また、*Zymomonas mobilis* CP4（図1）と*Escherichia coli* W3110をそれぞれ4系列並行して高温適応育種を行ったところ、同様な表現型や遺伝型をもつものがそれぞれに得られたことから高温適応において多様性が極めて低いことが分かった。これらの結果は急激な地球温暖化が進行するとヒトの生活温度領域で棲息する微生物の生存が脅かされる可能性を暗示する。さらにCP4の4系列育種から得られた4耐熱化株（Z4-80a, Z4-80b, Z4-80c, Z4-80d）について、個々の変異を親株ゲノムへ導入することによって耐熱化の主な原因遺伝子変異をそれぞれ2つ特定した。一方、活性酸素種（ROS）消去酵素や熱ショック蛋白質等の遺伝子発現強化<sup>5)</sup>あるいはMg<sup>2+</sup>やK<sup>+</sup>の添加<sup>6)</sup>によってもそれ

ぞれ1°C程度耐熱化できることを示した。

本共同研究では耐熱化株における耐熱化による転写変化をRNAseqによって解析し、その結果に基づいて変化した代謝を推測し、耐熱化機構を理解することを目的とした。研究対象は上記のCP4の4耐熱化株とした。1系列で行われた従来の高温適応進化（実験室進化）と比べて、4系列での解析はより一般的な耐熱化分子機構が見出せる可能性がある。RNAseq解析は4耐熱化株とそれぞれの個々の変異を親株ゲノムへ導入した1遺伝子変異株7株を対象とした。一方、高温を含めたストレス条件下で耐熱化株と1遺伝子変異株で生育を比較したところ、それぞれの耐熱化株のストレス耐性は主に2つの遺伝子変異が原因であることが分かった。RNAseq解析から4耐熱化株、3耐熱化株、2耐熱化株に共通する発現変動遺伝子が見出され、それぞれの原因となる1遺伝子変異も見えるようである。耐熱化機構の解明に向けて今後さらに詳細な分析を進める。

### 参考文献

1. Murata M, et al *PLoS ONE*, 6(6): e20063 doi: 10.1371/journal.pone.0020063 (2011)
2. Soemphol W. et al *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75: 1921-1928 (2011)
3. Charoensuk K, et al *Biotechnol. Biofuels*, 10:204. doi: 10.1186/s13068-017-0891-0 (2017)
4. Kosaka T, et al *PLoS ONE*, 14 (6): e0218985. doi: 10.1371/journal.pone.0215614 (2019)
5. Sakunda A, et al *Front. Microbiol.*, doi: 10.3389/fmicb.2019.03073 (2020)
6. Kosaka T, et al *Front. Microbiol.*, doi: 10.3389/fmicb.2020.00502 (2020)

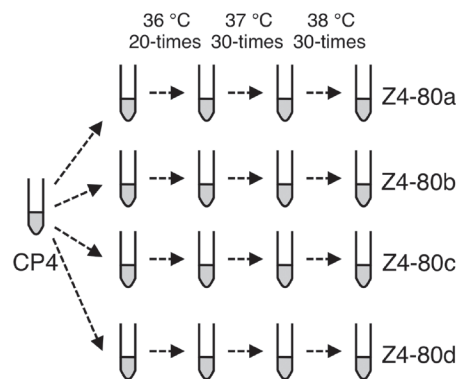


図1 *Z. mobilis* CP4の耐熱化



## 大気二酸化窒素の植物成長促進効果の分子機構の解明

二酸化窒素 (NO<sub>2</sub>) は、大気汚染物質として規制されており、その環境基準は 40~60 ppb (1 時間値の 1 日平均値) である。疫学的調査から NO<sub>2</sub> は喘息と関連することが示唆されており、また、光化学スモッグ生成を引き起こす。植物は NO<sub>2</sub> に曝されると、気孔から NO<sub>2</sub> を取り込む。取り込まれた NO<sub>2</sub> は植物体内で硝酸イオンと亜硝酸イオンに乖離し、硝酸還元酵素によって硝酸イオンを亜硝酸イオンに、亜硝酸還元酵素によって亜硝酸イオンをアンモニアまで還元され、さらに、アミノ酸にまで代謝される [1]。ただし、アミノ酸へ代謝される NO<sub>2</sub> は、植物が取り込んだ最大 7 割に過ぎず、残りの 3 割は未知の窒素化合物として植物体内に存在する (Morikawa et al. 2004)。これらの未知の窒素化合物の具体的な性質や存在状態はまだ解明されておらず、候補物質としては、ニトロ化合物やニトロソ化合物などの活性窒素が考えている [2]。

植物を長期間にわたり環境レベルの NO<sub>2</sub> に曝すと、どのような影響があるのか。 *Nicotiana plumbaginifolia* 植物を環境レベルの NO<sub>2</sub> (150 ppb) に曝して 9 週間栽培した結果、対照区と比較してバイオマスが約 2 倍に増加し、炭素、窒素リン、無機元素の取り込みも増加した。また、器官がサイズアップし、バイオマス蓄積が顕著に増えた。この NO<sub>2</sub> の植物成長促進効果は、モデル植物であるシロイヌナズナを含む 12 種の植物で観察された。さらに、NO<sub>2</sub> 処理によって、花芽形成が促進され、胚軸伸長が抑

制された。NO<sub>2</sub> に曝して栽培した期間に植物が取り込んだ NO<sub>2</sub> 由来の窒素は、植物体中の全窒素の約 3% であり、NO<sub>2</sub> が窒素源としてではなく、シグナルとしてバイオマス増加に寄与していると考えられる [3]。この NO<sub>2</sub> の植物成長促進効果に上述の NO<sub>2</sub> 由来の未知の窒素化合物が関与していると考えているが実証はできていない。今後の課題の一つである。

NO<sub>2</sub> の植物成長促進作用機構、特にその原因遺伝子について研究する中で、NO<sub>2</sub> に曝して長期間栽培しても胚軸伸長の抑制やバイオマス蓄積の促進が観られない変異体を見出した (高橋、未発表データ)。この変異体の原因遺伝子は *Phytochrome Interacting Factor 4 (PIF4)* であった。PIF4 は、避陰反応や高温応答など種々の環境応答に関与する転写因子で、オーキシシンシグナル伝達経路遺伝子の発現を制御して細胞伸長を促進する。今後、共同研究によって、NO<sub>2</sub> 処理による植物の成長促進機構の解明を目指す。さらに、将来的にはこの二酸化窒素処理による植物の成長促進効果を農作物栽培に応用したい。

### 参考文献

- [1] Yoneyama and Sasakawa. *Plant and Cell Physiol.* 20:263-266, (1979)
- [2] Morikawa et al. *Planta.* 219: 14-22, (2004)
- [3] Takahashi et al. *New Phytol.* 168: 149-154, (2005)

## 超硫黄分子による光形態形成の制御機構

土壌中で芽生える植物にとって、地上の光刺激に応答して生理機能や形態を調節することは、その後の生存を左右する重要な初期イベントである。一連の変化は光形態形成と呼ばれ、なかでも光合成を行うための葉緑体形成は特に厳密に制御されている。植物の葉緑体形成に必要な遺伝子は、葉緑体だけでなく核内の染色体にも存在する。そのため、葉緑体が正しく形成されるためには、葉緑体内の遺伝子と核内の遺伝子が協調的に発現調節される必要がある。この機構では、葉緑体から核への情報伝達を行うプラスチドシグナルが提唱されており、これには6つのGUNタンパク質が重要だと考えられている(図1)。私たちは、この制御で中心的な役割を担うGUN1の分子機能とヘムを介したプラスチドシグナルの関係性を明らかにした。しかし、GUNタンパク質群を介したプラスチドシグナルには、葉緑体ゲノムの転写やレドックスなどの関与も示唆されており、GUN1とヘムによるシグナル伝達だけでは説明できない現象も多く残されている。

この課題解決に対して新たな視座をもたらし、植物の新規シグナル研究領域を創成するために、私たちは「超硫黄分子」に着目した。超硫黄分子は、分子内に過剰な硫黄原子が付加されたポリスルフィド類で、タンパク質のポリスルフィド化を介して様々な生理機能の制御に関わる。ここ数年で、植物においても、根毛発達や気孔開閉などの生理機能の調節に超硫黄分子が関わるのがわかってきた。さらに、シロイヌナズナの総タンパク質の約1割がポリスルフィド化されることが報告され、植

物における超硫黄分子シグナル制御機構の重要性が強く示唆された。しかし、植物の生理機能に対する超硫黄分子シグナルの位置づけや生物学的意義は未だ不明である。

興味深いことに、シロイヌナズナで同定されたポリスルフィド化タンパク質を精査したところ、GUN2, GUN4, GUN5が含まれていた。特に、GUN2がコードするヘムオキシゲナーゼ1は、フィトクロムの色素団合成に働く主要なアイソフォームであり、その変異体 *gun2/hy1* は異常な光形態形成や葉緑体形成を引き起こす。これより、葉緑体形成が超硫黄分子により制御にされることが考えられた(図1)。

そこで私たちは、超硫黄分子ドナーである硫化水素(NaHS, GYY4137)を含んだ培地に播種し、光形態形成を観察したところ、硫化水素がクロロフィル含量、光合成関連遺伝子の転写、光合成タンパク質量、光合成活性に影響を及ぼすことがわかった(図2)。さらに、この制御系には転写因子HY5/HYHが関与することを見出している。しかし、本制御系の分子機構や生理的意義は不明である。これを明らかにするために、RNA-seq解析を行うことで、超硫黄分子に反応して制御される遺伝子を網羅的に同定する。超硫黄分子による発現パターンの変化と表現型における機能を精査していく予定である。

超硫黄分子と光形態形成の関係性を分子レベルで解明することは、植物の生育における超硫黄分子シグナルの生理的意義を明確化するだけでなく、超硫黄分子を活用した植物の光合成機能の維持・高機能化に繋がる極めて重要な研究である。

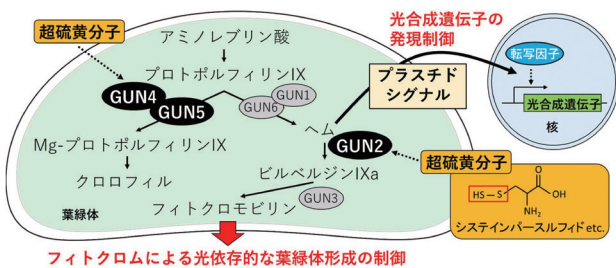


図1 GUNタンパク質による葉緑体形成制御と超硫黄分子

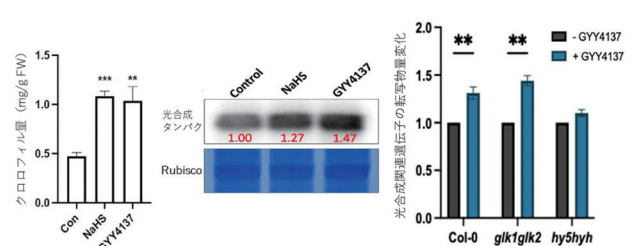


図2 硫化水素が葉緑体形成に及ぼす影響

## 難分解性ペルフルオロオクタン酸の代謝・分解を担う 細菌酵素の探索・同定

ペルフルオロアルキル物質及びポリフルオロアルキル物質 (PFASs) は、高蓄積性、長距離移動性、ヒトの健康や環境への有害性の特性を併せ持ち、さらに難分解性を示すため環境中で分解されにくく、“フォーエバーケミカル=永遠の化学物質”と呼ばれている。約4,700種の合成化学物質群であるPFASsのうち、ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) とペルフルオロオクタン酸 (PFOA) はその代表的な例として知られている (図1)。それぞれ炭素数8の直鎖に、フッ素が結合し、末端にPFOSはスルホ基、PFOAはカルボキシ基を持つ。これらはいずれも、結合エネルギーが高いC-F結合を含むため、物理・化学的に非常に安定しており、さらに、撥水・撥油性など独自の特性により工業的に広く利用されている。主な用途として、泡消火剤、衣類の撥水剤、半導体洗浄、カテーテルや留置針などの医療機器、さらに食品トレーなど、私たちの生活で身近に存在する製品にも含まれる。そのため、日本のみならず世界中の水系や大気から検出され、ヒトをはじめとする野生生物体内に高濃度に蓄積し、その結果、健康に悪影響を及ぼすことが懸念されている。しかし、代替品への転換が難しく、産業製品の生産に依然として使用され、環境汚染は現在も進行している。環境省のモニタリング調査では、地下水や水道水から高頻度・高濃度に検出され、2020年から水道水の水質管理目標設定項目としてPFOS/PFOAの合計の目標値 (暫定) が50 ng/L以下と設定された。一方、アメリカでは2022年に、これまでの水道水濃度の勧告値70 ng/L (PFOS/PFOAの合計値) からPFOSは0.02 ng/L、PFOAは0.004 ng/L以下に変更された。このような基準値の厳格化はPFOS/PFOAの毒性が極めて高く、優先的に対応する必要があることを強く示唆している。したがって、PFOS/PFOAを環境、そしてより身近な水道水から取り除くことは喫緊の課題である。

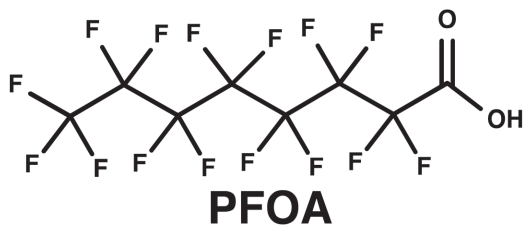


図1 PFOAの構造

バイオレメディエーションは、生物自身やそれが持つ酵素、すなわち生物機能を利用した汚染物質の浄化方法の一つで、汚染土壌の除去や洗浄等の物理化学的手法に比べ、浄化にかかるコストを低く抑えることができる利点を持つ。さらに、広範囲にわたる低濃度の汚染の浄化にも適している。しかしながら、PFOS/PFOAは環境中では極めて安定であることから、この分解に関わる生物の存在は限られていると考えられる。

細菌は環境の変化に応じて様々な遺伝子の発現を活性化することにより、それに対応している。例えば、生育に悪影響のある汚染物質が高濃度に存在する環境下において、汚染物質の分解酵素遺伝子を誘導発現し、無毒な化合物に変換して耐性を獲得する。このような遺伝子発現を変化させることによる環境適応は、細菌が劣悪な環境で生存するために必須である。PFOA汚染環境下でも同様に、これに対抗する遺伝子発現が引き起こされると考えられる。そこで本研究では、汚染した河川底質 (図2) から単離したPFOAを代謝・分解する可能性のある細菌を用いて、次世代シーケンス技術により網羅的に遺伝子発現を調べる。これにより、PFOAの代謝・分解に関わる遺伝子を見出し、PFOA代謝・分解に関わる酵素を同定する。

細菌は環境の変化に応じて様々な遺伝子の発現を活性化することにより、それに対応している。例えば、生育に悪影響のある汚染物質が高濃度に存在する環境下において、汚染物質の分解酵素遺伝子を誘導発現し、無毒な化合物に変換して耐性を獲得する。このような遺伝子発現を変化させることによる環境適応は、細菌が劣悪な環境で生存するために必須である。PFOA汚染環境下でも同様に、これに対抗する遺伝子発現が引き起こされると考えられる。そこで本研究では、汚染した河川底質 (図2) から単離したPFOAを代謝・分解する可能性のある細菌を用いて、次世代シーケンス技術により網羅的に遺伝子発現を調べる。これにより、PFOAの代謝・分解に関わる遺伝子を見出し、PFOA代謝・分解に関わる酵素を同定する。

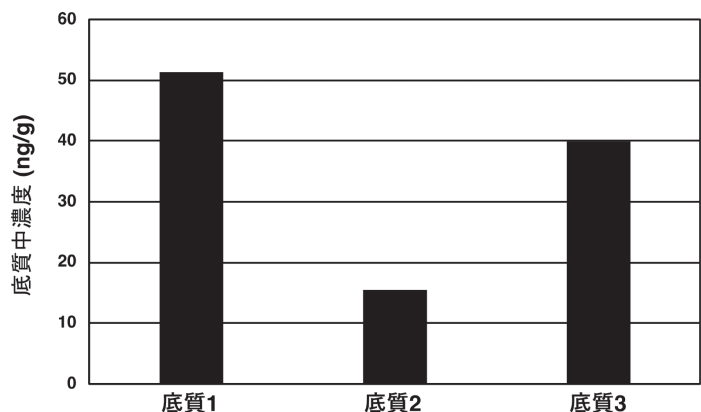


図2 細菌を単離した河川底質中のペルフルオロカルボン酸の濃度

## イチゴ萎黄病菌のカリフォルニア及び 岐阜県由来の菌株における特異的配列の特定

不完全菌類 *Fusarium oxysporum* は、多くの分化型 (forma specialis 略記 f. sp.) が確認されており、それぞれが各々の農作物に被害をもたらす。その一種であるイチゴ萎黄病菌 *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* は収益性が高いイチゴに感染し、世界中に深刻な経済的被害をもたらしている。イチゴ萎黄病菌の厚膜胞子は数年間土壌中で生存可能なため、感染苗のみならず厚膜胞子が潜伏する土壌も感染源となる (Winks and Williams, 1965)。また苗に感染した場合、好適条件下でも 30~40 日間の潜伏期間があり、健全苗との識別が困難である (石川, 2011)。潜伏苗が生産現場に持ち込まれ感染源となるケースもある。また土壌中には非病原性 *Fusarium* 属菌も潜伏している。そこでイチゴ萎黄病菌を迅速かつ特異的に検出するため、目視判別が可能で 60 分の処理で済む Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法を採用した (Katoh et al., 2021)。これまで PCR (Suga et al., 2013) で標的にしたイチゴ萎黄病菌の特異的な配列 (GenBank acc. No. JX204304) を LAMP 法に使用したところ、栃木県由来の 32 菌株に特異的に反応し非病原性 *F. oxysporum* やその他糸状菌に陰性反応を示した (Katoh et al., 2021)。しかしカリフォルニア由来の 2 菌株 (以下 GL1270, GL1385, Henry et al., 2017) は検出に 90 分を要し (Katoh et al., 2021)、岐阜県由来の 2 菌株 (以下 GF725, GF726) には陰性反応だったことから、これら 4 菌株について異なる配列の保持が示唆された。そこで、4 菌株について次世代シーケンサーを用いてゲノム情報を取得することで原因を探った。

高崎健康福祉大学で 4 菌株の培養菌糸から核酸 DNA を抽出し、東京農業大学生物資源ゲノムセンターで Illumina シーケンサーでデータを取得した。いずれのサンプルについても 8-10Gb 程度のデータ量が得られ、アセンブリには支障のないデータ量が得られたためゲノムアセンブリを実施し、GL1270 は 52.8Mbase、GL1385 は 56.1Mbase、GF725 は 48.4Mbase そして GF726 は 48.8Mbase の概要ゲノムをそれぞれ得た。

まず既報の LAMP 法 (Katoh et al., 2021) で使用した領域 (249bp) について GL1270、GL1385 の 2 菌株のデー

タを基に Local Blast で解析したところ、それぞれ 188bp が 98%、200bp が 96% の相同性を示した。どちらの配列も 5' 側約 50bp の配列が異なることが確認された。そこで 1) 日本株の配列と GL1270、GL1385 間で保存性が高い配列を含む 230~300bp を選抜、2) 候補について、公開されている *F. oxysporum* 非病原性菌株 (GL1552, GL1702, GL1703, GL1704, Burkhardt et al., 2019) のゲノム配列中で確認されないものを選抜、3) イチゴ萎黄病菌のゲノム配列中により高い相同性を示すものを選抜、4) Prime Explorer Ver 5.0 (<https://primerexplorer.jp/lampv5/>) を用いて LAMP 法用のプライマーセットのデザインが可能な配列を選抜。以上の流れで新規の LAMP 法用のプライマーセットのデザインに最適な配列を選抜した。その結果、GF726 から得られたデータから 1) ~ 4) の条件を満たす配列 230bp を選抜した。その配列は *F. oxysporum* 非病原性菌株では確認されず、GF725 と GF726 を含む日本株並びに GL1270、GL1385 で同一のものが確認された。またこの配列は検出感度を高めるループレイマー (Nagamine et al., 2002) もデザイン可能であることが分かった。今後この配列を標的にしたプライマーセットを用いて、培養菌体から抽出した核酸を鋳型に LAMP 法で目視判別を試みる。

### 参考文献

- Burkhardt et al., *Plant disease*, 103, 1006-1013. (2019)  
 Henry et al., *Plant disease*, 101, 550-556. (2017)  
 石川成寿 これを防げるイチゴの炭疽病、萎黄病. 農文協 (2011)  
 Katoh et al., *Plant disease*, 105, 1072-1079. (2021)  
 Nagamine et al., *Molecular and cellular probes*, 16, 223-229. (2002)  
 Suga et al., *Plant disease*. 97, 619-625. (2013)  
 Winks et al., *Queensland journal of agricultural and animal sciences* 22, 475-479. (1965)

## ゲノムワイド関連解析による自殖シンドローム進化の解明

生物進化の過程では、新奇な形質の誕生だけでなく、特定の器官・組織の縮退や消失といった「退化」もしばしば起きてきた。近年、退化的現象は「選択緩和」と呼ばれる、環境の変化に伴い形質の維持に重要であった選択圧が消失・減少する過程のひとつとして統一的理解が進みつつある (Lahti et al. 2008 *Trends Ecol Evol* ほか)。しかしながら、退化がどの程度適応進化により起きているのか、迅速な進化を可能にする要因は何かといった点に関する定量的な実証研究は乏しいのが現状である。

私達は、被子植物で繰り返し起きた自家受精 (自殖) の進化と、それに伴い進化した花弁の退縮や花粉数減少等の花形質群「自殖シンドローム」を対象に、この問題に取り組んできた (図; Tsuchimatsu & Fujii 2022 *Phil Trans R Soc B*)。自殖シンドロームは、頻繁に起きた平行進化の例として植物学では古くから認識されてきたが、その遺伝的背景に関する知見が報告されるようになったのはごく最近である。私達は自殖シンドロームの一形質である花粉数を規定する遺伝子 *RDPI* をシロイヌナズナで初めて同定したが (Tsuchimatsu et al. 2020 *Nature Commun*)、自殖シンドロームの普遍性の割に、その遺伝的基盤に関する知見は現状ほぼモデル生物とその近縁種に限定されている上、自殖シンドロームがどの程度適応的な形質群かは、いまだ十分に検証されていないのが現状である。そこで本研究では、自殖性・他殖性に種内で大きな変異がみられるペチュニア属植物に着目し、QTL解析とゲノムワイド関連解析 (GWAS) を組み合わせた

遺伝子単離、集団ゲノムデータを活用した分子集団遺伝学的解析による選択圧と自殖の進化時期の推定、遺伝子導入・破壊実験による自殖シンドロームの適応性の検証を統合することで、自殖シンドロームがどの程度適応的に、かつ迅速に進化するかを明らかにすることを目的としている。

本研究で対象とするペチュニアには自家不和合、自家和合性系統の両方がみられ、相互交配が可能である。この性質を利用して申請者はF2集団を用いたQTL解析を実施することで花粉数・花弁サイズ・胚珠数など多くの自殖シンドローム形質について責任領域をすでに絞り込んでおり、より解像度の高いGWASを組み合わせることで遺伝子同定が可能な状況にある。このたび、GWASに供する系統の一部の全ゲノムリシーケンス解析を申請しており、これによりGWASを実施できる見込みである。

Lahti et al. Relaxed selection in the wild. *Trends Ecol Evol* 24 (9): 487-96. (2008)

Tsuchimatsu, T. et al. Adaptive reduction of male gamete number in the selfing plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature Commun* 11: 2885. (2020)

Tsuchimatsu, T. and Fujii, S. The selfing syndrome and beyond: Diverse evolutionary consequences of mating system transitions in plants. *Phil Trans R Soc B* 377: 20200510. (2022)

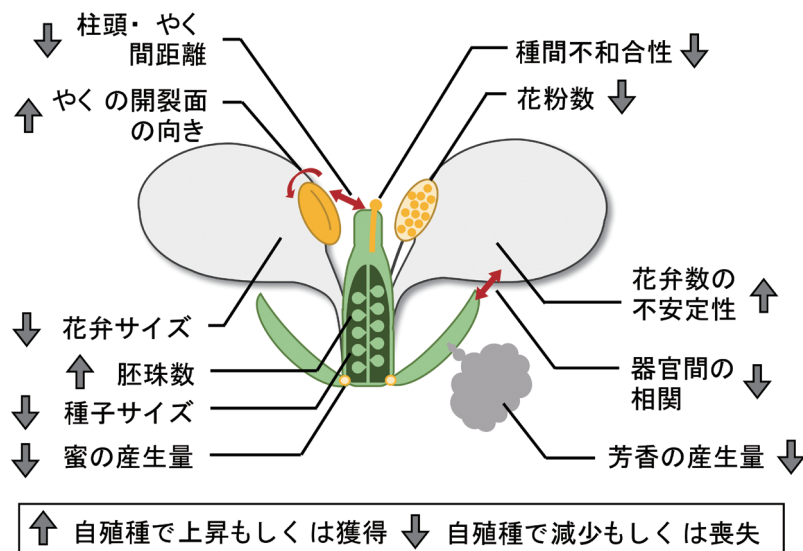


図 植物で広くみられる自殖シンドロームに関わる形質群  
Tsuchimatsu & Fujii 2022 *Phil Trans R Soc B* を改変

## TORC1 下流の TFE3 ブランチの細胞特異的遺伝子発現への干渉

細胞内情報伝達機構のひとつである TORC システムは、真核生物の栄養感知・応答系のひとつとして、広く酵母から植物、哺乳動物まで共通に使われている。TORC は、代謝・翻訳・転写などのさまざまなレベルでの応答を司り、細胞増殖やオートファジーの制御などにおいて中心的な役割を果たすことが明らかにされてきた。TORC (TORC1 および TORC2 複合体) は、未だにその制御機構に不明な部分が残されていることに加え、TORC を共通に使いながらも、生物種によって、あるいは多細胞生物では細胞の種類によって、多彩なアウトプットを表現するので、その理解は生物の栄養状態への応答の戦略を知ることにつながるだろう。本研究は、TORC1 と転写調節との関わり (とりわけ共通性と個性性) に着目した。

TORC1 は、細胞にとってエネルギーを多く消費する過程である翻訳反応を調節するが、転写のレベルにおいても、リボソーム RNA 遺伝子の転写を調節する (図 1)。また、TORC1 の下流ブランチのひとつである転写因子 TFE3 は、栄養飢餓とそれに引き続く TORC1 不活性化に反応して核へと移行し、オートファジー・リソソーム関連遺伝子上の CLEAR 配列に結合して転写を促進することで、細胞が栄養飢餓状態に対応するシステムの一部を担っている (図 1 左)。一方で我々は、TFE3 の新しい

機能として、β細胞の機能抑制という側面を発見した。TFE3 は、β細胞においてはインスリン、*glut2*、*mafA* などのβ細胞機能に必要な遺伝子の発現を抑制することで、インスリン分泌を抑える働きもしていることを見出した (図 1 右)。この際に、TFE3 がβ細胞で機能する転写因子に結合し、その活性を抑制する可能性を見出しており、この分子機構の解明を含めて、本システムの役割を本共同研究では追究している。

これまでに、培養β細胞株で TFE3 を活性化した際の遺伝子発現の変化を RNA-seq 解析により調べたところ、確かにβ細胞特異的な遺伝子群 (*mafA*, *pdx1*, *slc2a2*/*glut2* など) の発現抑制が有意に起きることが観察され (図 2)、TFE3 がβ細胞機能を抑制することがトランスクリプトーム全体のレベルでも立証された。今後、TFE3 や、その標的となる候補転写因子の ChIP-seq 解析を行う予定であり、これらの一連の解析を通じて、このシステムの全体像が明らかになると期待される。

膵β細胞は脊椎動物の血糖値コントロールの司令塔であるので、TORC1 は細胞内レベルでの栄養応答だけでなく、動物個体レベルでの栄養応答も制御するという新しい機能側面を持つことを明らかにしてゆきたいと考えている。

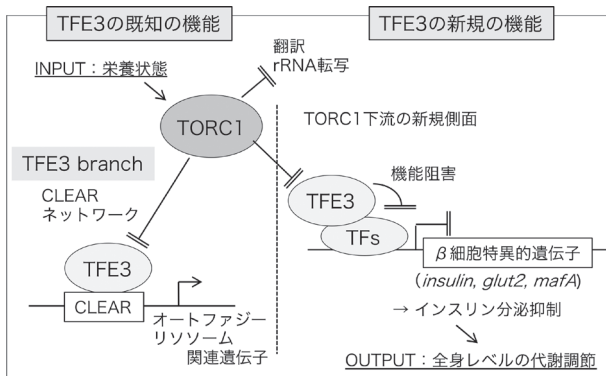


図 1 TORC1 下流ブランチ TFE3 の膵β細胞での新規機能

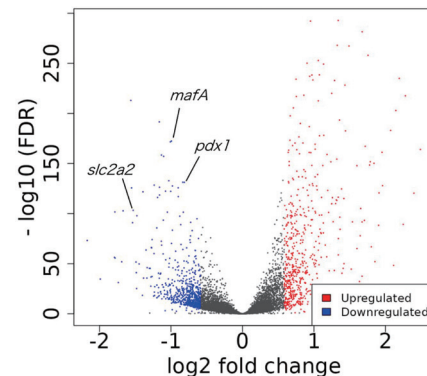


図 2 β細胞での TFE3 活性化時のトランスクリプトーム変化

## 鉄センサー遺伝子 *OsHRZ* のゲノム編集による鉄欠乏耐性・鉄蓄積イネが非組換え体であることの証明と標的遺伝子の探索

鉄はほぼ全ての生物の必須元素である。土壌中には鉄が豊富に含まれているが、水に溶けにくい植物には吸収しにくい。特に世界の耕地土壌の30%以上を占めるアルカリ性の石灰質土壌では、鉄がきわめて溶けにくい植物の多くが鉄欠乏になり、葉が黄白色化して生育が著しく阻害される。これは農業生産および環境保全上の深刻な問題となっている。

また、植物が土壌中から吸収する鉄は、植物の生育に必要なだけでなく、私たち人間が食品を介して摂取する鉄分の由来となる。鉄欠乏は人間にとっても深刻な問題であり、貧血症だけでなく免疫力の低下や意欲減退などの原因となる。WHOの報告によれば、世界で約30億人が鉄欠乏と推定され、特に発展途上で深刻である。世界人口の半分はコメを主食としているが、コメの鉄含有量は低く、また精米によってその多くが失われるためアジア諸国では鉄欠乏症の人々の割合が高い。日本においても成人女性と子供の約40%が鉄欠乏と推定されている。コメの鉄分を高めることができれば、このような鉄欠乏症の改善に大きく貢献することが期待される。また、亜鉛欠乏も世界的に深刻な問題であり、鉄欠乏、亜鉛欠乏はビタミンA欠乏と並んで世界の三大栄養欠乏に挙げられる。

植物は鉄の多寡を感知して、鉄欠乏時にのみ鉄の吸収・輸送に関わる遺伝子を発現誘導する。研究代表者らが同定した植物の鉄・亜鉛結合性ユビキチンリガーゼ *HRZ* は、この鉄欠乏応答を抑制する因子であり、植物細胞内鉄センサー分子の最有力候補である (Kobayashi *et al.* 2013 *Nat. Commun.*)。これまでに研究代表者らは、イネの *HRZ* 遺伝子 (*OsHRZ1*, *OsHRZ2*) の発現を低下させ

たイネや、CRISPR/Cas9によるゲノム編集で *OsHRZ1*、*OsHRZ2* 遺伝子の4種類の金属結合ドメインに各々変異を導入したイネを作製した。これらの多くの系統は石灰質土壌などの鉄を吸収しにくい環境でもよく生育し、鉄・亜鉛を玄米・白米・葉に多く蓄積した (Kobayashi *et al.* 2013 *Nat. Commun.*; 論文未発表)。通常の植物では *HRZ* が働きすぎて鉄を効率的に吸収できない状態となっており、一部の *HRZ* 遺伝子の変異により鉄欠乏応答の抑制を部分的に解除することで効率的な鉄の吸収と輸送が促進されるものと考えられる。

さらに、研究代表者らはゲノム編集による *OsHRZ* 遺伝子変異イネの後代での分離により Cas9/gRNA 導入遺伝子が除かれ、良好に生育するホモの非組換え *OsHRZ* 変異系統 1CHY、1Rub、2CT、2Ri を選抜した (図1)。これらの選抜系統は、通常の合成培土で栽培すると玄米に鉄を多く蓄積した。さらに 1CHY、1Rub 系統は、アルカリ性の石灰質土壌ポットにおいても野生型よりも緑色を保ち、鉄欠乏耐性を示した (図2)。

*OsHRZ* 変異系統が持つ鉄欠乏耐性および鉄・亜鉛蓄積の形質を実用化するためには圃場栽培が必須である。そこで本研究では、*OsHRZ* 選抜系統が真に非組換え体であることを証明するためのゲノムリシーケンスを行っている。今後、*k*-mer 法により導入遺伝子の不在を検証するとともに、gRNA と比較的相同性が高くオフターゲット変異が導入された可能性がある箇所について変異の有無を確認する予定である。なお、研究題目の「標的遺伝子の探索」については本研究の支援対象外となったため、別途研究を進める予定である。

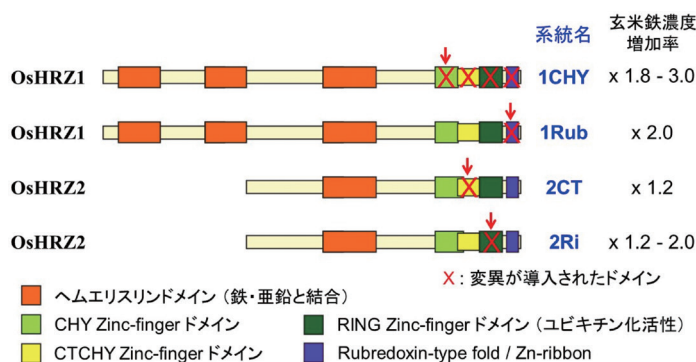


図1 選抜した非組換え *OsHRZ* ホモ変異系統



図2 石灰質土壌での鉄欠乏耐性

小林 高範 (石川県立大学生物資源工学研究所)

共同研究先: 樋口 恭子 (応用生物科学部)  
 齋藤 彰宏 (応用生物科学部)  
 輿石 雄一 (生物資源ゲノム解析センター)

## 枯草菌の自然形質転換能を制御する RNA イノシン修飾の解析

tRNA は多種多様な転写後修飾を受けることで機能性を獲得する。中でもアンチコドンのイノシン修飾はすべての生物ドメインに保存され、コドンの翻訳に重要な役割を果たす<sup>1</sup>。イノシンはアデニンの脱アミノ化によって酵素的に生じ、したがって tRNA イノシン修飾酵素 (tRNA アデノシンデアミナーゼ; TadA) 遺伝子はほとんどの生物の生育に必須であると考えられている。実際に大腸菌の *tadA* の条件破壊株を作製し、その発現を抑制する条件で培養すると、 $\beta$ -galactosidase 活性を指標としたタンパク質合成能が著しく低下し、生育はすみやかに停止した (未発表)。ところが、グラム陽性細菌のモデル生物である枯草菌では、*tadA* のホモログ遺伝子 (*yaaJ*) が生育に非必須であることが、欠失・変異株作製プロジェクト<sup>23</sup> および我々の解析から明らかになった<sup>4</sup>。*yaaJ* 欠失株ではわずかに生育の低下が見られた一方で、 $\beta$ -galactosidase 活性を指標としたタンパク質合成活性は、野生株に比べて 1.5 倍程度に上昇した<sup>4</sup>。すなわち、枯草菌では tRNA のアンチコドンがイノシン修飾を受けなくても翻訳が可能であることが分かった。イノシン修飾に依存しないコドン認識の分子メカニズムの解明に向けて解析を進めている。

枯草菌は貧栄養ストレスにさらされると DNA の取り込みと相同組換えを伴う自然形質転換能 (コンピテンス) を発揮するほか、内生胞子を形成して応答する。*yaaJ* の欠失により胞子形成能に顕著な影響は見られなかったが、形質転換効率 は 100 倍程度に低下した<sup>4</sup>。枯草菌のコンピテンスは数百ものタンパク質因子を介した複雑なカスケードにより制御される (図 1)。*yaaJ* 欠失株ではそのカ

スケードにおける主要な転写制御因子の発現量が著しく低下することを見出しているが、既述の通り *yaaJ* 欠失株のタンパク質合成能は低下しないことから、tRNA の翻訳機能の不全が原因ではないと予想される。「tRNA イノシン修飾酵素遺伝子の欠失によりコンピテンスが消失する原因の特定や、その制御機構の解明」が今後の課題である。

tRNA は古くから研究されてきた、いわゆる古典的な機能性 RNA 分子であるが、未だに不明な点も多く、近年では新たな生理活性が数多く発見されている。tRNA やその転写後修飾がバクテリアのコンピテンスに関わるという報告はこれまでになく、本研究課題の遂行により新規概念に基づく制御機構の発見およびバクテリアエピトランスクリプトミクス発展につながると期待される。

本支援を受けて、枯草菌 *yaaJ* 欠失株のトランスクリプトーム解析を行い、イノシン修飾酵素の欠失により発現が変動する遺伝子群を同定する。また、その結果とさらに生化学的解析を行うことで、直接的に影響を受ける標的遺伝子または標的分子を特定するとともに、RNA 修飾を介したコンピテンス制御の分子機構を解明する。

1. Agris et al., *RNA Biol.* 15, 537-553. (2018)
2. Ogasawara, *Res. Microbiol.* 151, 129-134. (2000)
3. Kobayashi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 4678-4683. (2003)
4. Soma et al., *Genes* 14: 1515. (2023)
5. Hamoen et al., *Microbiology* 149, 9-17. (2003)

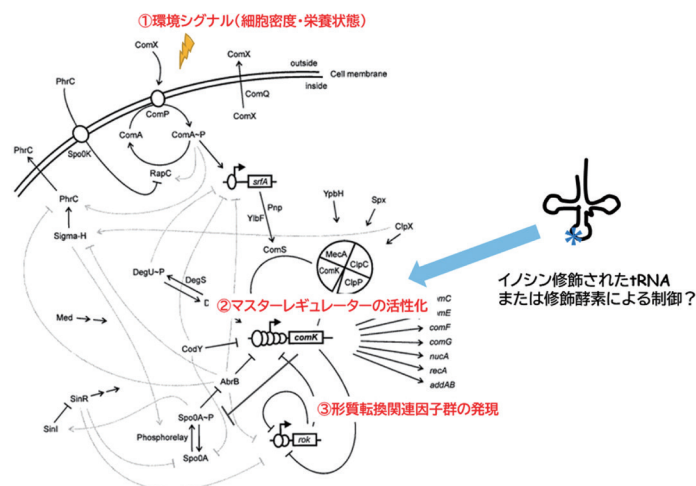


図 1 枯草菌の形質転換能発現における遺伝子カスケード  
Hamoen (2003) Fig.2 を改変



## ゲノム編集によって耐病性を獲得したイネの 非閉鎖系圃場試験に向けたゲノム解析

白葉枯病菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* 以下 *Xoo*) によって生じる白葉枯病は、イネの最重要病害の一つであり、Mansfield et al. (2012) の総説によると、細菌病の中で4番目に重要と位置付けられている。その対策には、抵抗性遺伝子の活用が効果的である。インド型イネ系統 IR24 は、ほぼすべての *Xoo* レースに感受性であるが、化学変異原メチルニトロソウレアによって突然変異を誘発することにより見出された XM14 系統は、供試されたすべての *Xoo* レースに抵抗性であり、1 潜在性抵抗性遺伝子 *xa42* をもつ (Busungu et al. 2016)。連鎖分析の結果、*xa42* は、これまでに同定された白葉枯病抵抗性遺伝子とは異なる脂肪酸組成関連遺伝子の一塩基置換 (非同義置換) によって生じたことが明らかになっている。また、XM14 と IR24 の葉中の脂肪酸組成を比較したところ、遺伝子機能から予想されるような脂肪酸組成の明瞭な差が認められた。以上の実験結果は、イネにおける新たな抵抗性の分子機構を提唱できる可能性が高いことを示している。

この一塩基置換をゲノム編集によって導入し、感受性品種を抵抗性品種に改良することを試みた。まず、Tang et al. (2019) によって開発された塩基置換のゲノム編集カセットに標的遺伝子の gRNA を挿入した。次に、白葉枯病感受性の日本型イネ品種であるトヨニシキに、このゲノム編集カセットをアグロバクテリウム法で導入した。その結果、標的遺伝子がバイアレリックで変異した3個体のゲノム編集個体が得られた。これらの個体では室内による接種試験で耐病性が確認されたが、確実に耐病性を確認するためには圃場試験を行う方が望ましい。

しかしながら、本研究のゲノム編集体は、外来遺伝子をゲノム中に保持しているため、カルタヘナ法の規制の対

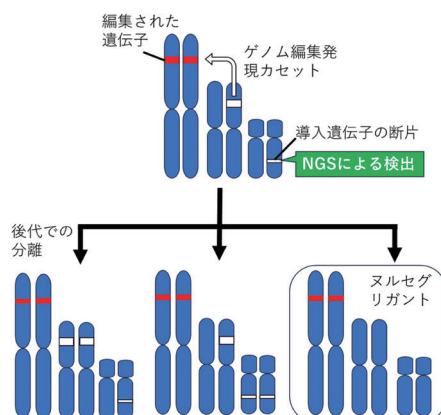
象となっている。そのため、圃場試験を行うためには、隔離圃場等の施設が必要であるが、鹿児島大学には当該設備が無いと莫大な費用と煩雑な手続きを要する。

そこで、ゲノム編集個体後代において外来遺伝子を分離させ、抵抗性遺伝子の変異型で且つ外来遺伝子を持っていない個体 (ヌルセグリガント) を選抜することを着想した。しかしながら、アグロバクテリウム法による形質転換では、導入された遺伝子の小断片が染色体上に散在している場合があり、通常の PCR 法ではそういった小断片の検出が困難である。そこで NGS 解析によって、それらの小断片を検出することができれば、断片のある周辺の配列情報からプライマーを作成し、形質転換後代でそれらの小断片を持っていない個体を PCR 法によって選別可能になることが期待できる。さらに、NGS 解析によってオフターゲット変異の検出も可能であり、オフターゲット変異がない (少ない) 個体を選抜することで、非閉鎖系の圃場試験が可能となる。

本研究による NGS 解析により、完全なヌルセグリガントが得られれば、育種の間接母本としても利用可能であり、イネの耐病性育種に貢献することが期待できる。また、本研究の耐病性遺伝子は、これまでにイネで発見されたシグナル伝達系に関わる耐病性遺伝子と異なり、脂肪酸の組成に関わる遺伝子であることから、新たな耐病性形質の研究に資するものと考えられる。

### 参考文献

- Mansfield et al. *Mol. Plant Pathol.* 13: 614-29. (2012)  
 Busungu et al. *Breed. Sci.* 66: 636-645. (2018)  
 Tang et al. *Plant Biotechnol. J.* 17: 1431-1445. (2019)



### 本研究の概念図：

PCR 法では検出が困難な外来遺伝子の小断片の位置を、NGS により特定する。  
 後代での PCR によるヌルセグリガントの選抜が可能になる。

## ウシ黄体細胞の2次元ならびに3次元体外培養系におけるLHCGR発現動態の変化

近年ウシの受胎率低下が我が国の畜産業において喫緊に解決すべき問題の一つとなっている。ウシの受胎には様々な体内組織が関与しており、その詳細な情報を得ることがこの問題解決の糸口と考えられる。

黄体は排卵後の卵巣に一過性に形成される組織であり、これから分泌されるプロゲステロンは卵管や子宮の分泌機能に関与するとともに、胚の着床や妊娠の維持など受胎の成立に大きく関与している。したがって黄体機能は直接ウシの受胎性を左右する。

黄体は排卵後の卵巣が変化して形成される。卵巣内に存在する顆粒膜細胞ならびに卵胞膜細胞は排卵前の黄体形成ホルモン（LH）サージの影響を受けて、それぞれが黄体細胞へと分化する。分化した黄体細胞はさらにLHに対してそのレセプター（LHCGR）を介して反応し、妊娠に必須のホルモンであるプロゲステロンを分泌する。

これまで、この黄体細胞の詳細な機能制御については体外培養系を用いて研究が行われてきた。一方、近年、黄体細胞は黄体を構成するそれ以外の細胞（血管内皮細胞や免疫細胞等）と相互に影響をおよぼし合い、その機能を制御していることが明らかとなっている。そのため、従来の平面上での黄体細胞の体外培養（2次元培養）よりも、黄体細胞が立体的に接着する3次元培養技術を導入することにより、より体内に近い環境下におけるウシ

黄体細胞機能発現の制御メカニズムを検討することが出来ると考えられる。本研究では最初に、ウシ黄体細胞を採取し、特殊な表面処理を施した培養プレート上で培養することにより細胞塊を形成させ（3次元培養）、このプロゲステロン産生能を一般的な培養用である2次元培養と比較した。2次元培養ではLHに反応してプロゲステロン産生が有意に上昇したが、3次元培養ではLH非存在下でのプロゲステロン産生は有意に増加したものの、LH存在下ではこのプロゲステロン産生は増加しなかった（図1）。この3次元培養における黄体細胞のLH感受性の低下の原因を探るため、その受容体であるLHCGR遺伝子の発現量を検討したところ、3次元培養したウシ黄体細胞ではその発現は2次元培養と比較して著しく減少していた（図2）。生体内においてウシ黄体細胞は下垂体からのLHに反応してプロゲステロン分泌を上昇させるが、2次元培養よりも生体の状態に非常に近いとされる3次元培養でむしろ生体とはかけ離れた結果が得られたことは非常に興味深い。本共同研究において、この2つの培養系における網羅的発現遺伝子解析によって、LHCGR遺伝子発現を制御する上流因子を決定し、本研究の原因を追究することが出来れば、体外での細胞機能研究に大きな貢献をもたらすと思われる。

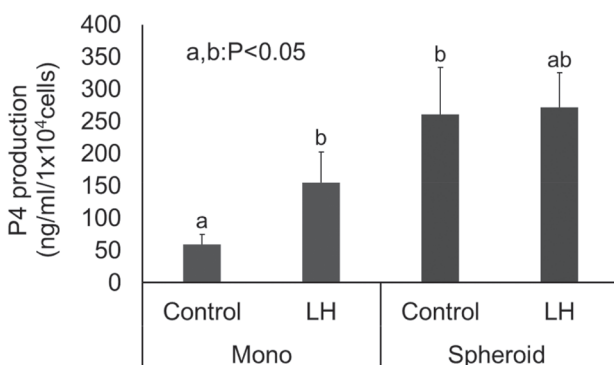


図1 2次元（mono）および3次元培養（spheroid）したウシ黄体細胞のプロゲステロン産生能

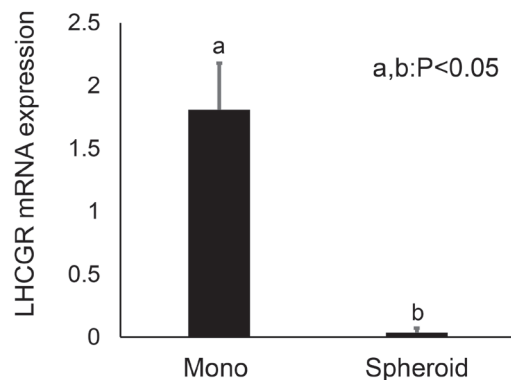


図2 2次元（mono）および3次元培養（spheroid）したウシ黄体細胞におけるLHCGR遺伝子発現

## マウス胚におけるアレル特異的 CTCF/Rad21 結合領域の探索

近年の分子生物学的な解析技術の飛躍的な進歩により、真核生物のクロマチンはTAD (Topologically Associated Domain) とよばれるループ構造を単位として折りたたまれていること、エンハンサーとその標的遺伝子の多くは同一のTADの内部に存在し、エンハンサーと遺伝子のプロモーターが空間的に近接することで、遺伝子の転写調節が行われることがわかってきた。TADの形成に重要な因子として、CTCF (CCCTC-binding factor) タンパク質が知られている。CTCFは個々のTADの境界となるDNA配列に結合し、コヒーシントよばれる環状のタンパク質複合体とともにTADの境界を規定することで、クロマチンのループ構造を形成させる。ゲノム上のCTCF結合配列を欠失した場合はTADの境界が失われ、正常なループが形成できなくなる。その結果、遺伝子の発現低下や異所的な遺伝子発現をもたらす、ヒトにおいては先天性疾患の原因にもなることがわかっている。このようなDNA領域の空間的相互作用は塩基配列の変化を伴わないことから、エピジェネティックな遺伝子発現制御の一つとして捉えられている。TAD形成は父母アレル間で同じであることが前提であるが、例外として、父母いずれかのアレルからのみ発現するインプリント遺伝子においてはアレル特異的なTADが形成されていることが報告されている。

当研究室ではこれまで、マウスにおける *Igf2-H19* インプリント領域の遺伝子発現制御機構に着目して研究を行ってきた。*Igf2-H19* インプリント領域を制御する *H19*-

ICR と呼ばれる配列は、CTCF およびコヒーシンが母性アレル特異的に結合する。CTCF およびコヒーシンが母性アレルに結合できなくなると母性アレルの高メチル化およびインプリント遺伝子の発現異常を引き起こす。このことから、母性アレル特異的なCTCF およびコヒーシンの結合がアレル特異的なTADの形成に重要であると考えられている。しかし、ゲノム中のインプリント領域のうち、報告のない他の領域にもCTCF およびコヒーシンが結合しているのか、*Igf2-H19* と同様に非メチル化状態に重要なのか、またこのような結合様式を持つのは現在知られているインプリント領域だけなのか不明である。

申請者はアレル特異的にCTCF およびコヒーシンが共局在する領域の同定を目的として、マウス胚においてアレル特異的にCTCF およびコヒーシンの構成要素の一つであるRad21が共局在するゲノム領域を探索した。その結果、常染色体において母性アレルあるいは父性アレルにCTCF/Rad21が共局在する領域が検出された。この中には既知のインプリント領域も複数含まれていることが確認された。興味深いことに、父母どちらか一方のアレルにのみCTCF/Rad21が共局在する領域がインプリント領域以外にも複数確認された(図)。今後は、このようなCTCF/Rad21の片アレル性の結合が、ICRと同様に親の由来に依存しているか、あるいは系統間のゲノム配列の違いに依存しているかを明らかにすることで、アレル特異的なTADによる遺伝子発現制御機構の解明を行っていきたいと考えている。

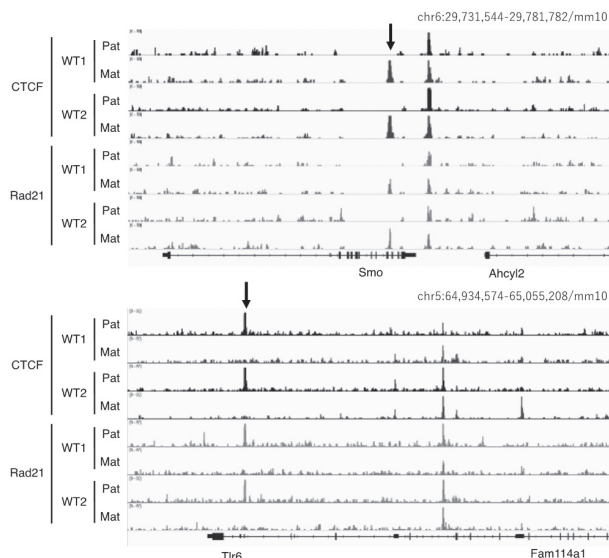


図 片方のアレルにのみCTCF/Rad21が共局在する領域

CTCF および Rad21 の ChIP-seq 解析。母性アレルのみ (上)、父性アレルのみ (下) にCTCF/Rad21 がどちらも結合しているピークが認められる。このピークが存在する *Smo* および *Tlr6* はインプリント遺伝子でない。

## 植物の高湿度応答と免疫応答のクロストーク解明

高湿度環境は、降雨、ハウス栽培、植物の密集などで発生し、植物病原菌による農作物の被害を拡大する要因となります。近年、アブラナ科植物シロイヌナズナとトマト斑葉細菌病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) DC3000 を対象とした研究から、病原細菌が高湿度で葉の病害を助長する仕組みが、徐々に紐解かれてきました。そのひとつが、葉内の病原細菌による水浸漬の誘導です。気孔を介して葉内に侵入した病原細菌は、自身が定着した場所に水を保持するため、エフェクターと呼ばれるタンパク質を介して宿主植物の生理機能を攪乱します。水浸漬が発生することで病原細菌は爆発的に増殖し、感染葉に甚大な被害をもたらします。水浸漬を誘導する *Pst* DC3000 のエフェクターとして AvrE と HopM1 が同定されており、これらは宿主植物の ABA (アブシシン酸) 応答を活性化することで、気孔閉鎖を促し、感染葉の保水性を高めます。

一方で、植物は水浸漬に対する抵抗性を獲得してきたことも明らかになってきました。私たちはこれまでに、シロイヌナズナの細胞膜アクアポリン PIP2:6 と ABA 代謝酵素 CYP707A3 が、高湿度における水浸漬抵抗性を担うことを突き止めました。高湿度では、PIP2:6 のリン酸化および CYP707A3 の遺伝子発現が誘導され、葉内の細菌による水浸漬の発生を防ぎます。また、他グループの

研究から、ABA 応答を正に制御する NAC 型転写因子遺伝子のヒストン H3K27 メチル化が上昇し、それらの発現が抑えられることで水浸漬を防ぐことも示されています。したがって、植物は高湿度に応じて水浸漬抵抗性を誘導し、葉内細菌の増殖を抑えていると考えられます。

高湿度環境において、植物は、葉柄伸長、クチクラ層の変化、気孔開口、植物ホルモンの蓄積量・応答性など、様々な形態および生理的变化を示します。私たちの研究から、シロイヌナズナの葉では、高湿度に僅か 30 分間曝露されることで 1840 遺伝子の発現が変動することが明らかとなり (2021 年度後期の本共同研究で得られた成果)、多様な高湿度応答を支える遺伝子発現プロファイルおよびその制御機構が見えてきました。その制御メカニズムの解明も現在進めており、カルモジュリン結合型転写活性化因子 CAMTA がその中心的な役割を担うことも見出しました。さらに、私たちの研究から病原細菌がエフェクターを介して高湿度応答を攪乱すること、病原細菌の感染に伴う免疫応答の活性化と高湿度応答の相互作用も示唆されています (図 1)。本研究課題では、高湿度における植物と病原細菌の相互作用をトランスクリプトームレベルで明らかにし、その分子実体に迫りたいと考えております。

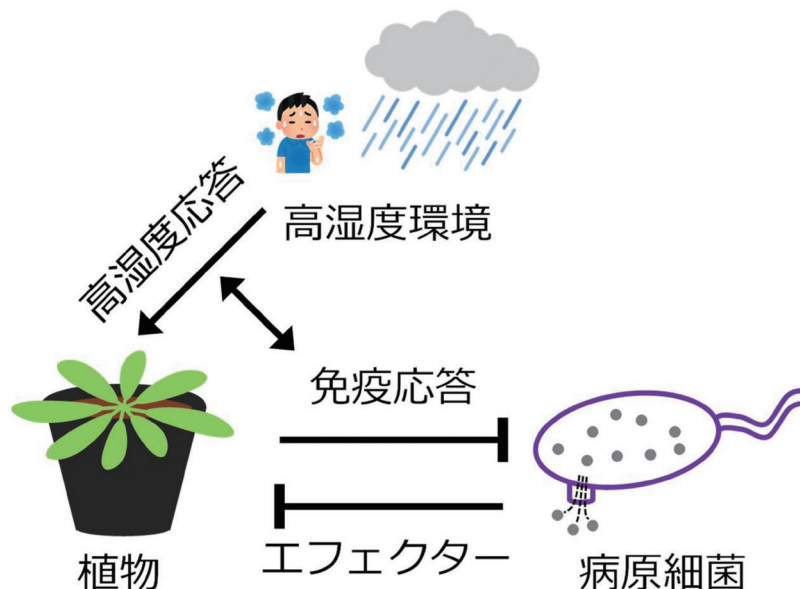


図 1 高湿度-植物-病原細菌の 3 者間相互作用

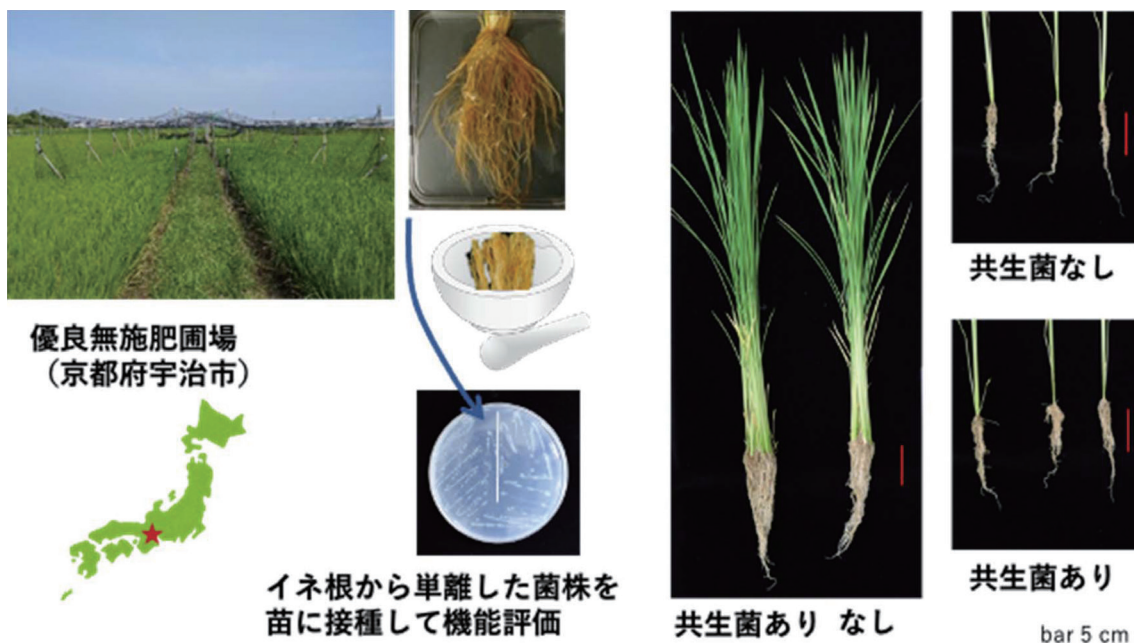
## イネの新規細菌共生系における RNA シーケンス解析

植物は組織内に多様な微生物集団（微生物叢）を宿しており、環境変動に応じてその組成や機能性を変化させて環境適応を進めている。植物の生存・生育に寄与する微生物叢は、環境調和型の農業技術のシーズとしても注目され、メタ DNA シーケンス解析によるプロファイリングや構成菌株の単離は盛んに進められている。しかしながら、大多数の生理機能や動態は依然として不明である上、宿主植物による共生制御メカニズムは不明な点が多い。

そこで、我が国に稀有な資源として、無施肥無農薬栽培を長年継続しながら高生産性を示す優良水田で成立しているイネの微生物共生の実態や機能性の解明を進めている。同圃場と隣接する有施肥圃場における 2018-2021 年の 4 年間にわたる比較調査によって、根の共生微生物叢のメタ 16S 解析プロファイルを取得し、前者に特徴的な貧栄養土壌適応型の共生微生物叢の動態データやマーカー菌種に関する情報を得た。さらに、同圃場で栽培されたイネから共生細菌株を単離し、イネ接種試験を通し

て苗床（開放土壌）や野外水田圃場においてイネの成長・収量を増進する有用菌株を複数種同定した。中でも、本研究の対象である新種の共生細菌株は、イネの免疫活性化 OsPep ペプチド受容体 OsPEPR1、及び菌根共生制御因子 CCaMK 等に依存しながら、新規の感染様式を経て根に侵入して共生を成立させることを見出した。水稲においては菌根共生が成立しないこともあり、本細菌共生機構の解明は、イネにおける菌根共生制御因子を介した細菌共生制御の実態や分子メカニズムに関する理解を深めるとともに、共生微生物剤を活用した環境保全型農業の推進に資することが期待される。

そこで、本支援により、上記の共生不全変異体も活用して、細菌接種苗における根侵入から感染・共生成立までのステージごとに、共生成立に即した宿主の遺伝子発現変動プロファイルを得ることを目指す。それにより、共生の成立機構や共生によるイネ成長促進機構に関する情報を得て上記の研究や応用展開を加速化したいと考えている。



西條 雄介 (奈良先端科学技術大学院大学  
バイオサイエンス領域)

共同研究先：太治 輝昭 (生命科学部)  
細井 昂人 (生物資源ゲノム解析センター)

# NGRC ニュース

東京農業大学生物資源ゲノム解析センター  
2024年3月号



## 2023 年度 学内公募一覧

1. 太治 輝昭 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「シロイヌナズナの野生型および変異株のリシーケンス」
2. 和久 大介 (国際食料情報学部 国際農業開発学科)  
「哺乳類の全ゲノム解析及び食性解析」
3. 岩田 尚孝 (農学部 動物科学科)  
「異なる作成方法が卵子や胚盤胞期胚の遺伝子発現に及ぼす影響」
4. 田村 倫子 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「培養肉のトランスクリプトーム解析」
5. 渡辺 智 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「シアノバクテリアにおける巨大プラスミド維持機構の解明」
6. 志波 優 (生命科学部 分子微生物学科)  
「土壌・植物・食品・微小粒子状物質中のメタ 16S/ITS 解析」
7. 佐々木 豊 (地域環境科学部 生産環境工学科)  
「Eco & Bee CPS」
8. 岩槻 健 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「味蕾部位による味細胞機能の違い」
9. 志波 優 (生命科学部 分子微生物学科)  
「異なる水分条件とホワイトギニアヤムの共生細菌叢の関連性に関する研究」
10. 佐々木 康幸 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「放線菌の変異体のリシーケンス」
11. 岩槻 健 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「ヒト味蕾の RNA-Seq No.1」
12. 山本 紘輔 (生命科学部 分子微生物学科)  
「アッケシソウ由来の植物生育促進根圏細菌の全ゲノム配列の解析」
13. 輿石 雄一 (生物資源ゲノム解析センター)  
「MiCAPs 法を用いた、新規家禽エミューにおける産肉関連 QTL の同定」
14. 矢嶋 俊介 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「不妊オスに対するメスの適応進化可能性」
15. 庫本 高志 (農学部 動物科学科)  
「RAD-seq 解析による皮膚炎発症遺伝子座の同定」
16. 三浦 大樹 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「患者由来 iPS 神経細胞を用いた 3q29 領域欠失が脳発達に与える影響の解析」
17. 菊野 日出彦 (国際食料情報学部共通)  
「農大研究アイランドホッピング - 在来希少作物の実装化、南西諸島を北から南へ -」
18. 太治 輝昭 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「シロイヌナズナ長期高温感受性変異株の RNAseq 解析」



19. 岩田 尚孝 (農学部 動物科学科)  
「良質な胚作成方法に関する研究」
20. 岩槻 健 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「ヒト味蕾オルガノイドの作製」
21. 岩槻 健 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「ヒト腭管オルガノイドの作製」
22. 平山 博樹 (生物産業学部 北方圏農学科)  
「AMH シグナル抑制がウシ子宮内膜細胞機能に及ぼす影響の解析」
23. 岩田 尚孝 (農学部 動物科学科)  
「ルミナック給与がルーメン内の細菌叢に及ぼす影響」
24. 朝井 計 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「代表納豆菌間の遺伝子レパートリの違いの *in silico* 解析」
25. 伊澤 かな (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「イネ変異体を用いた節間伸長制御機構の解明」
26. 和田 健太 (生物産業学部 北方圏農学科)  
「*Fgf5* の変異を介した長毛化と、その性差を引き起こすメカニズムの解明」
27. 庫本 高志 (農学部 動物科学科)  
「水族園飼育下マゼランペンギンに見出された小脳変性症の遺伝解析」
28. 田村 倫子 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「培養肉カルチャーに用いる鶏卵胚もも肉のトランスクリプトーム解析」
29. 中山 俊一 (応用生物科学部 醸造科学科)  
「清酒酵母における各種遺伝子破壊株の網羅的な転写解析」
30. 田中 尚人 (生命科学部 分子微生物学科)  
「油糧酵母 *Moesziomyces aphidis* NBRC 111112 の産生脂肪酸生合成制御について」
31. 渡邊 康太 (応用生物科学部 醸造科学科)  
「ヒト毛髪に常在する細菌叢の分布と生態の解明」
32. 福島 穂高 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「モデルマウスを用いた精神疾患の分子病態解析」
33. 四井 いずみ (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「ヒメツリガネゴケにおけるオーキシン高感受性変異体の原因遺伝子探索」
34. 志波 優 (生命科学部 分子微生物学科)  
「発泡スチロールを食する昆虫幼虫で発現している遺伝子の転写解析」
35. 志波 優 (生命科学部 分子微生物学科)  
「人工環境表面サンプルにおけるショットガン・メタゲノム解析の条件検討」
36. 太治 輝昭 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「植物の環境ストレス応答に関する研究 \_Re-sequencing」

37. 太治 輝昭 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「植物の環境ストレス応答に関する研究 \_RNAseq」
38. 松谷 峰之介 (生物資源ゲノム解析センター)  
「様々な発酵環境から単離された産業微生物の大規模ドラフトゲノムシーケンス」
39. 太治 輝昭 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「ハウレンソウの低シュウ酸化に関する研究」
40. 加藤 拓 (応用生物科学部 農芸化学科)  
「セルロースおよびグルコース施用量ならびに作物生育の有無が土壌細菌叢に及ぼす影響」
41. 志波 優 (生命科学部 分子微生物学科)  
「成人における食物アレルギー患者の腸内細菌叢メタゲノム解析により将来的な治療標的の探索を目指す医農連携研究」
42. RAHUL SK (生物資源ゲノム解析センター)  
「Evolution of molecular desiccation gene for osmopress signaling using non-HK5 mutation lines in the *Physcomitrium patens*」
43. 田村 倫子 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「酵母の環境中に存在する糖に対する応答機序の解析」
44. 篠澤 章久 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「アブラナにおける低酸素処理中に根及び葉で応答する遺伝子の網羅的解析」
45. 尾畑 やよい (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「培養が胚発生に及ぼす要因の解析」
46. 岩槻 健 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「サル空腸オルガノイドに対するプロシアニジンの効果」
47. 佐藤 拓海 (生命科学部 分子微生物学科)  
「各種培養条件における糞便培養時の菌叢変動解析」
48. 三浦 大樹 (生命科学部 バイオサイエンス学科)  
「精神疾患と強く関連する遺伝子欠失が概日リズムに与える影響の解析」



## 低濃度のエタノール暴露が卵子に及ぼす影響

飲酒はおとなの楽しみではあるが、妊娠や育児に悪影響があることは広く知られている。妊娠が判明している、その可能性が考えられる場合、飲酒を控えるのが一般的であるが、排卵前、すなわち、受精前の段階では楽しく飲酒する機会が多い。この実験では、マウスやウシの卵巣から卵子を回収し体外で成熟培養する24時間に低濃度0.1%のエタノールに卵子を暴露するとどうなるのかについて検討した。

エタノール暴露は、マウス卵子の体外成熟能力やATP含量には影響しなかった。一方で卵子中のミトコンドリアDNAコピー数やミトコンドリア膜電位は有意に低下した。さらに、リン酸化AMPKの量が上昇しp-AMPK/AMP比も上昇した。エタノール処理卵子では脂質含量が減少し、代謝変化が予想された。卵子のRNAseqでは発現変動遺伝子がMitochondrial respiratory chainやMitochondrial electron transportに関連付けられ、濃縮されるパスウェイにはOxidative phosphorylationやMetabolic pathwaysがあった。卵子のDNAの5メチルヒストン(5mC)を免疫染色で比較するとエタノール暴露が5mCを低下させることDNMT3Aのタンパク発現量を減少させることが分かった。またエタノールに暴露された卵子から胚盤胞期胚への発生率が悪く、発生した胚盤胞も細胞数が少なくなることが明らかになった。低級脂肪酸の代謝には動物種差がある。そこでヒトやマウスに比べて脂質含量が著しく多いウシの卵子で同様の実験を行った。面白いことに、ウシ卵子では低濃度のアルコール暴露はミトコンドリアのDNAコピー数を増やし、ミトコンドリア膜タンパクの発現量や膜電位も増やした。またエタノール処理卵子のATP含量は上昇し、脂質含量は低下した。5mCを比較すると処理区と非処理区では

差が認められず、一方で、卵子を体外受精処理して得た初期胚の免疫染色の結果では、エタノール処理がH3K9のトリメチル、H3K9アセチルといったヒストン修飾を有意に変えることが分かった。胚盤胞期胚への発生は、マウスと異なり、有意に上昇した。そのため種間によってエタノールへの反応性に差があることが分かった。そこでウシのエタノール処理卵子を用いてRNAseqを行った。マウスの変動遺伝子とウシの変動遺伝子を比べると同方向に有意に変動した遺伝子はMitochondrial respiratory chainに関連付けられ両種ともエタノールのターゲットがミトコンドリアであることが推測された、逆方向に変動している遺伝子はSphingolipid metabolism等に関連付けられた。今回の研究結果から低濃度のエタノール暴露はミトコンドリアに影響し、エピジェネティックな影響を惹起する可能性があること、動物種によってその影響が異なることが明らかになった。得られた知見は下記の2つの論文に掲載された。

### 参考文献

- Sato T, Hamazaki M, Inoue Y, Aoki S, Koshiishi Y, Shirasuna K, Iwata H.  
Effect of a low ethanol concentration during in vitro maturation of bovine oocytes and subsequent embryo development. *Theriogenology*. 15; 208: 158-164. (2023)
- Susaki K, Sato T, Inoue Y, Tasaki H, Shirasuna K, Okiishi Y, Iwata H.  
Effect of low ethanol concentration in maturation medium on developmental ability, mitochondria, and gene expression profile in mouse oocytes *Reproductive Biology* (2024) Accepted.



## 卵子と胚の発育を支持する卵胞液中の miRNA

卵子の発育は卵胞内で行われる。この卵胞は卵胞液 (FF) という粘性を持った体液で満たされている。FF 中には細胞外小胞が含まれ、この中に miRNA が存在し卵子の発育を左右することを我々は示している (J Assist Reprod Genet. 2020 37:2569-79)。一方、FF は排卵時に卵管に流れ込み、卵管環境の構築に貢献している。食肉センター由来の卵巣卵子を用いた研究では卵子の発育能力には個体差が大きいことが明らかになっている。また、生体のウシでは、過剰排卵処理で得られる胚の質に大きな個体差がある。そこで卵子と胚発育両方に FF 中の miRNA が影響しているのではないかと考えた。

卵巣卵子を個体ごとに培養してその胚盤胞期胚への発育率から順位づけし、上位下位 3 頭の FF を等量に混合して Good と Poor-FF とした。同様の処置を 3 回繰り返して 3 ロット作成した。Good-FF は卵子の成熟培養 (10% 添加) に添加しても、受精後 48 時間までの初期培養 (1% 添加) に添加しても胚の発育を有意に促した。Good-FF と Poor-FF の細胞外小胞の RNA を対象に行った small-RNaseq から Good-FF に有意に多い miRNA (miR-151-3 および miR-425-5p) を同定した。これらの miRNA は体外成熟培地、初期発育培地いずれに添加しても胚発

育を有意に促した。また個体ごとの FF から抽出した細胞外小胞中の RNA を対象に RT-qPCR で当該 miRNA の多い、少ない個体の FF を選びこれらの添加実験を行った結果、当該 miRNA の多い FF に卵子や胚発育支持能力が高いことを確認した。

さらに miRNA の添加実験では Dual-Luciferase 試験で当該 miRNA がターゲットを正確に抑制している事を示し、さらに顆粒層細胞に標識した miRNA を細胞外小胞として分泌させ、これらを卵子や胚が取り込むことを示した。

以上の結果から FF 中の細胞外小胞に含まれる miRNA には、卵子の成熟だけでなく受精後の初期発育を支持する能力があることが明らかになり、卵子や胚の質の差を FF が決定している事が示唆された。得られた知見は下記の論文に掲載された。

Aoki S, Inoue Y, Hara S, Itou J, Shirasuna K, Iwata H. microRNAs associated with the quality of follicular fluids affect oocyte and early embryonic development. *Reproductive Medicine and Biology*, 23 (1), e12559. (2024)



## 若齢・加齢オス由来の胚のガラス化保存が ミトコンドリアとテロメアに及ぼす影響

ガラス化保存は、ヒトの生殖医療では妊娠する機会を増やすため、畜産業では優良な個体の子孫を増産するために広く活用されている。ヒトの生殖医療のデータからガラス化保存した胚に由来する産子に生時体重の増加など、エピジェネティックな変化に起因すると思われる事例が多く報告されており、胚の保存に起因する変化を詳細に検討する必要がある。我々は、胚のガラス化保存がミトコンドリアに傷害を与えること、さらに母体の加齢が、ガラス化・加温が惹起した傷害からのミトコンドリアの回復を阻害し、ガラス化保存による悪影響をさらに助長させていることを報告した (Biol Reprod. 2023 ;109:271-81)。一方で、オスの加齢が胚のミトコンドリアに悪影響を与えることも我々は報告している (Mitochondrion. 2023 68:105-113)。そこで父親の加齢が胚のミトコンドリアの恒常性の維持やガラス化保存後の胚のミトコンドリア回復に悪影響を与えるのではないかと考え検討を行った。

同一のオスマウスの若齢時 13-23 週と加齢時 50-55 週令に、若齢メスマウスと胚を作成し、RNAseq でオスの加齢が胚の遺伝子発現に及ぼす影響について検討した。発現変動遺伝子は、ミトコンドリアやその機能に関連付けられ、父親の加齢が胚のミトコンドリアに影響する背

景を明らかに出来た。次に父親が若齢時と加齢時の胚をガラス化保存し、胚の回復とミトコンドリアとテロメア長について検討した。オスの加齢は、ミトコンドリアやテロメア長を減少、短縮させた。一方で、両週令の父親マウスに由来する胚で、障害を受けたミトコンドリアの更新が活性化していることを確認した。また、ガラス化保存はミトコンドリア数やテロメア長には影響しないことが明らかになった。新鮮胚では父親の若齢・加齢に関係なくテロメア長とミトコンドリア数の間に相関関係が見られ、一方でガラス化・加温胚には観察されなかった。そこで新鮮卵ではテロメア長はミトコンドリア数の決定に関与しているが、ミトコンドリアの傷害回復にはテロメア長が影響しないと推測された。得られた知見は下記の論文に掲載された。

Aburada N, Ito J, Inoue Y, Yamamoto T, Hayashi M, Teramoto N, Okada Y, Koshiishi Y, Shirasuna K, Iwata H.

Effect of paternal aging and vitrification on mitochondrial DNA copy number and telomere length of mouse blastocysts *Journal of Reproduction and Development* (2024) Accepted.



## 全ゲノム解析に基づいた群馬県ツキノワグマの遺伝的集団構造

ツキノワグマ (*Ursus thibetanus*) の亜種であるニホンツキノワグマ (*U. t. japonicus*) は本州、四国に生息する(環境省, 2020)。しかし、一部の地域集団(個体群)は絶滅の危機に瀕している。そんななか近年、人間と接触する事故が増加しており、高い狩猟圧や捕獲圧にさらされている。人的被害の防止や農作物への被害を軽減するため、群馬県では、個体数管理計画が施行されているが、地域集団を考慮しないまま狩猟および有害捕獲が実施されており、このままでは遺伝的多様性に乏しい地域集団の絶滅を招く危険性が指摘されている(群馬県, 2019)。このことから、ツキノワグマの地域集団の現状を理解した上で適切な保全対策を実施すること求められる。これまで、群馬県に生息するツキノワグマの遺伝子解析は、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の部分配列で行われてきた。先行研究では、有害駆除された個体から mtDNA の D-loop 領域の塩基配列を決定し、ハプロタイプ解析を行っている。これらの研究の結果、県内の地域集団は適正管理計画で示されている越後・三国個体群と関東山地個体群という2集団ではなく、南西部集団、中之条集団、北東部集団の3集団で構成されている可能性が示唆され、管理区域を見直す必要性が指摘されている(図1)。しかし、mtDNA では母系の遺伝情報のみが示され、オスの遺伝情報を得ることができない。ツキノワグマはオスで

10~250 km<sup>2</sup>、メスで4~100 km<sup>2</sup> という非常に広い行動圏を持っており(群馬県, 2019)、オスの移動が本種の遺伝的流動に深く関わっている。母系の遺伝情報に偏った分析では、遺伝的集団構造に関して誤った評価をしてしまう可能性があるため集団構造の解明にはオスの遺伝情報も分析する必要がある。そこで本研究では、2022年に県内で有害駆除されたオス7個体の筋肉組織からDNAを抽出し、全ゲノム解析をし、父系・母系両方の情報から集団構造を解明するため解析を行った。

本研究で解析した7個体のうち、mtDNA 部分配列に基づく3つのハプロタイプ(E01が4個体、E10が1個体、E11が2個体)が確認されたが(表1)、mtDNA 全長配列と比較すると、同じ配列は1個体も存在しなかった。E01の4個体では全長配列の中で13カ所の変異が存在し(表2)、E11の2個体では全長配列の中で7カ所の変異が存在した(表3)。すなわち、部分配列同一ハプロタイプでも変異があるのでヒトと同じようにハプログループとして扱うのが適切な可能性がある。

さらに、全ゲノム(約2.6GB)にマッピングしたところ、カバレッジは2.75~6.03xとなった(表4)。今後はSNPを集め、PCA・Admixture・IBD解析などで血縁関係や祖先集団の違いを求め、群馬県内のツキノワグマの適正管理に役立てる。

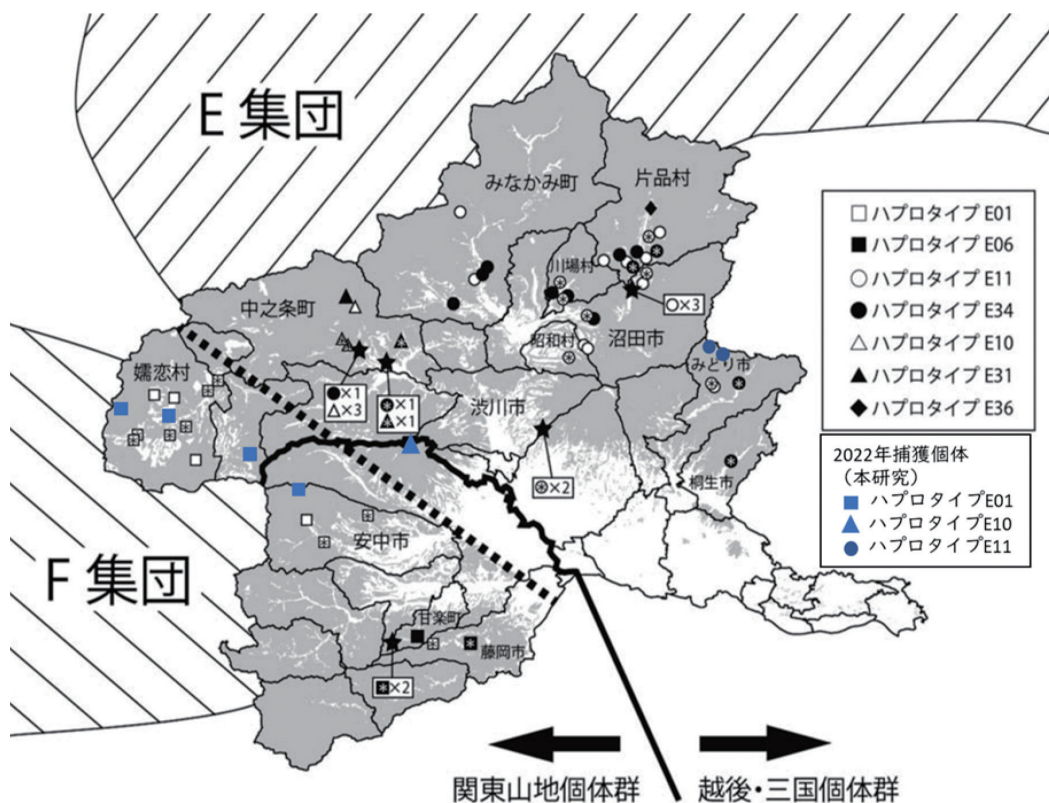


図1 先行研究によって示されたハプロタイプ分布との比較

表1 各個体のハプロタイプ、適性管理計画区分および標本に関する詳細

ハプロタイプ	地域個体群	環境森林事務所	捕獲・駆除された市町村	個体番号	変異サイト(bp)		
					49	277	630
E01	関東山地	西部	高崎市	vm22-54	C	G	G
				vm22-85	.	.	.
	越後・三国	吾妻	嬭恋村	vm22-113	.	.	.
				東吾妻	vm22-118	.	.
E10	関東山地	西部	高崎市	vm22-69	.	A	.
E11	越後・三国	桐生	みどり市	vm22-53	T	.	.
				vm22-76	T	.	.

表2 E01 ハプロタイプ内における全長配列の比較

個体番号	変異サイト(bp)												
	1108	1179	2311	4184	5949	7230	7305	7592	10158	10587	11617	13739	14695
vm22-54	C	C	G	T	A	T	T	G	C	A	G	C	G
vm22-85	.	.	A	G	.	.	.	.	A	.	.	.	A
vm22-113	.	.	A	G	G	.	C	.	A	.	.	.	A
vm22-118	T	T	.	G	.	A	.	C	A	T	T	A	.

表3 E11 ハプロタイプ内における全長配列の比較

個体番号	変異サイト(bp)							
	2627	5578	8333	12340	13316	15090	15287	
vm22-53	T	A	G	T	A	T	T	
vm22-76	G	T	T	G	T	G	A	

表4 全ゲノムへのマッピング結果とデブス（読み込み深度）

個体番号	Coverage (max)	平均読み込み深度
vm22-47	81.78	3.78
vm22-53	73.57	2.75
vm22-54	77.32	4.12
vm22-69	76.94	4.23
vm22-76	71.45	3.06
vm22-85	76.90	3.57
vm22-110	91.16	6.03
vm22-113	74.45	3.42
vm22-118	71.99	3.19



## 鶏肉の培養肉生産に用いる細胞と市販モモ肉の遺伝子発現の違い —安全性評価基準の提案を目指して—

人口増加に伴う食糧資源の獲得は必須の項目である。近年、novel food（新規食品）が着目され、食経験のない藻類や昆虫、培養肉の積極的な利用と開発が進められている。細胞培養技術を用いて製造される食品（いわゆる培養肉）の研究・開発も進められているが、この一方で、製造される食品の安全性においては、いまだ評価項目すら決定されていない。そこで本研究は、市販に向けて培養肉における危害要因を抽出・整理し、リスク評価における検討項目並びに基本的考え方を提案することを最終目標とした。

今回は鶏肉に着目し、培養肉生産の初段階に用いる筋肉細胞と市販の鶏肉とを比較して、基礎的知見を得ることとした。まずはじめの検討として、トランスクリプトーム解析により遺伝子発現パターンの違いに着目した。

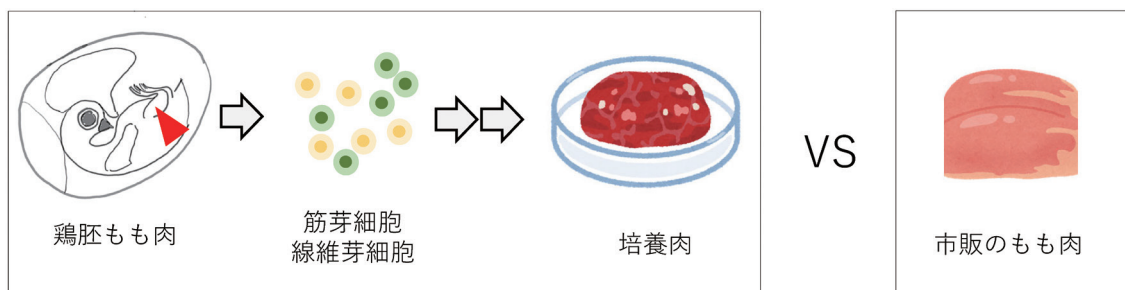
ニワトリ胚のモモ肉から線維芽細胞と筋芽細胞を単離し、継代3~5代目の細胞を3サンプルずつ得た。市販の鶏肉は、精肉店から山梨県産の飼育約40日の鶏3羽のモモ肉を購入した。細胞および組織からtotal RNAを抽出した後にmRNAライブラリーを作成し、次世代シーケンサーを用いてトランスクリプトーム解析を行った。

線維芽細胞と市販モモ肉を比較すると、発現量が2倍以上異なる遺伝子数は解析に用いた全25440遺伝子のうち3942遺伝子あった。これは全遺伝子の約15%であり、多くの遺伝子が抽出された。一方で、線維芽細胞と筋芽細胞の遺伝子発現を比較したところ、2倍以上発現量に差のある遺伝子は64遺伝子であった。また、市販モモ肉と市販ムネ肉を比較したところ、42遺伝子であった。線維芽細胞と市販モモ肉との比較で多くの遺伝子に発現量の差が生じた理由として、単一細胞である線維芽細胞に

対して、市販モモ肉は神経、血管、筋組織など多種の細胞から成る組織であることが考えられた。このことから市販の肉と培養肉とは各々を構成する細胞の種類の数があり異なり比較が困難であることが分かった。

そこで線維芽細胞と市販モモ肉とのGOエンリッチメント解析を、発現量に5倍以上差がある1438遺伝子を用いて試みた。線維芽細胞で発現量が増加した遺伝子には、細胞接着に関わる遺伝子や、細胞周期の調節に関わる遺伝子が含まれた。一方、市販モモ肉で発現量が増加した遺伝子には、筋肉の収縮や重合、分化に関わるものが含まれた。筋芽細胞と市販モモ肉との比較においても、ほぼ同じ結果が得られた。このことから、培養細胞は細胞分裂とその調整を主な代謝プロセスとしている一方で、市販モモ肉は筋組織としての形成・維持を主な代謝プロセスとしていることが示された。

今回の解析から、培養肉を構成する細胞と市販肉とに大きな違いがあることが示された。安全性評価基準の提案を目指し見えてきた課題として、1種類の細胞が多数存在する培養肉と、多種多様な種類の細胞から成る組織との比較を行うと、単一細胞に発現していない遺伝子群のほとんどが有意な差として検出されるため、その中で安全性に関わる遺伝子（例えば細胞のガン化やアレルギー、意図しない代謝に関わる遺伝子）の発現変動を見いだすににくいという点があげられる。今後は、培養肉作製時の培養過程に着目し、遺伝子発現の経時的変化や、アレルギーの代謝、細胞の癌化や不死化が起こっていればそのプロセスについても検討し、安全性評価の項目を検討する際の指標としたい。



本実験の概要イメージ図





## 霊長類の味乳頭間における酸味受容体発現の違い

いわゆる五感の中で味覚は、最も身近な感覚であるにも関わらず研究が遅れている感覚である。しかし、超高齢化を迎えた現代社会では、いかにQOLを向上させ幸せな一生を送るかが重要視されはじめ、味覚研究も活発になりつつある。口腔内に入った味物質は味細胞に発現する味覚受容体によって受容され、味神経を介して中枢へと伝達される。味細胞は50~150個の集団で存在し味蕾を形成し、味蕾は味乳頭と呼ばれる突起状の構造体の中に埋め込まれている。味乳頭には有郭乳頭、葉状乳頭、茸状乳頭、糸状乳頭の4種類が存在する。有郭乳頭は舌後方中央部に、葉状乳頭は舌後方側面に、茸状乳頭は舌前方から後方に向かって放射状に点在する。

1901年に発表された論文をもとに、舌上のどの場所での味を感じるかを示す味覚地図が存在する。同論文では官能評価により、舌の部位により味覚感受性が異なることが示唆された。しかし、論文が翻訳された際、特定の味は舌の限られた部位でしか認識されないという誤った見解が広まってしまった。その後、2000年代に味覚受容体が同定され、味蕾が存在する部分では全ての味が認識できる事が明らかとなり、以前の味覚地図の解釈は誤りである事が明らかになっている。現在では、うま味、甘味、苦味を受容するII型味細胞の代表的なマーカーであるPhospholipase C Beta 2 (PLCb2) やG Protein Subunit Alpha Transducin 3 (GNAT3) は各味乳頭に分布

していることが分かっている。一方、味乳頭間における味覚受容体の分布については、未だ研究が進んでいない。特に、酸味受容体であるOtopterin-1 (OTOP-1)は、ごく最近同定されたことから、舌における発現分布については未だ調べられていない。よって我々は、各味乳頭から作製された味蕾オルガノイドを用いて、乳頭間におけるOTOP-1の発現の違いを明らかにすることを目的とした。

まず、サルの有郭乳頭(CV)および葉状乳頭(foliate)部位より味蕾オルガノイドを作製し、トランスクリプトーム解析により二つの乳頭間における味覚関連遺伝子の発現を調べた(図1)。その結果、味覚関連遺伝子のうち、酸味受容体であるOTOP-1のmRNA発現が有郭乳頭に比べ葉状乳頭において有意に高いことが判明した(図2)。味細胞の代表的なマーカーであるPLCb2、POU2F3、TRPM5、うま味受容体であるT1R1およびT1R3では味乳頭間における発現の差は無かった。

これらのことから、酸味受容体だけが葉状乳頭で特異的に発現が高く、酸味受容は有郭乳頭が存在する舌の奥部よりも舌側部において強く感じられる事が示唆された。このことは、これまでの官能評価の結果と矛盾しないことから、霊長類においては酸味受容体であるOTOP-1の発現量が他の部位よりも多いことで、より酸味刺激を強く伝える事が予想された。



図1 味蕾オルガノイドの作製と味乳頭間における遺伝子発現解析

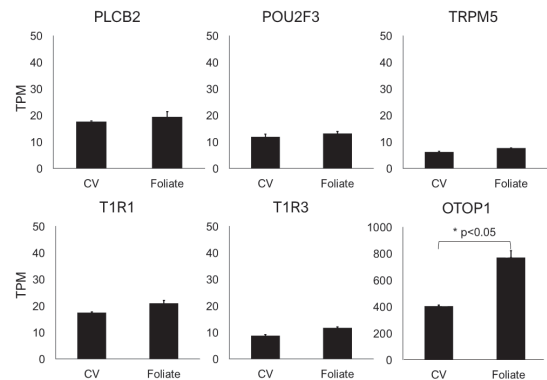


図2 味蕾オルガノイドの作製と味乳頭間における遺伝子発現解析



## MiCAPs 法を用いた新規家禽エミューの産肉形質関連 QTL の同定

エミュー (*Dromaius novaehollandiae*) はオーストラリア原産の走鳥類であり、体長は 1.6 から 2.0 メートル、体重は最大で 50 kg 程度まで成長する。また、低アレルゲン性が期待される卵、抗炎症作用がある脂肪および低脂肪高タンパク質でヘルシーな食肉など、既存の家畜と異なる有用な性質を示す生産物を得ることが可能であり、将来の新規家禽になることが期待されている (図 1)。その一方でエミューはこれまで選抜育種が行われておらず、産業用に大規模飼育が行われているにもかかわらず屠畜形質が均一でなく、一次産業の基盤として不安定な状況である。現代の家畜における効率的な選抜育種手法として、形質に関連する DNA マーカーを指標として優秀な個体を選抜するマーカーアシスト選抜 (MAS) が有効である。エミューにおいてもこの手法は有効であると考えられる一方、利用可能な DNA マーカーはほとんど開発されていない状況である。

縮約ゲノム解析手法である RAD-seq は簡便かつ低コストであるため、多検体を対象に変異を網羅的に取得できる手法であり、多くの先行研究で家畜やモデル動物の家系解析や GWAS などに応用されてきた。また、RAD-seq の派生法である MiCAPs は生物資源ゲノム解析センターで開発された手法で、RAD-seq より長いシーケンス長を得られる。これにより MiCAPs は、より多くのハプロタイプおよびマイクロサテライト (SSR) 多型の情報を得ることが可能である。したがって申請者は、高効率な DNA マーカー開発手法である RAD-seq および MiCAPs を用いて、新規家禽であるエミューにおける大規模な DNA マーカーの開発および産業形質を対象にした GWAS 解析を試みた。



孵化から約2年で成熟し、1.6~2.0メートル程度まで成長する。秋から冬季にかけて皮下脂肪を蓄え、それを精製したエミューオイルは高品質なため高値で取引される。

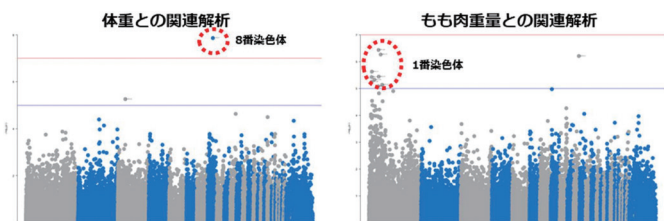
図 1 エミュー (左) とその生産物 (右)

申請者はまず、北海道網走市で飼育および屠畜され、屠体形質が記録されている 169 個体のエミューの肝臓由来 DNA を、RAD-seq および MiCAPs 解析に供した。その結果、RAD-seq では 56,984 か所の SNPs が検出され、MiCAPs では 33,655 か所の SNPs および 985 か所の多型 SSR が得られた。このうち、マイナーアレル頻度が 5% 以上かつ HWE に有意に一致していた SNPs で各屠畜形質と関連解析を行った結果、もも肉重量および除脂肪体重は 1 番染色体上に、体重は 8 番染色体上に有意に関連する領域が検出された (図 2)。また、エミューの 1 番染色体上の候補領域をニワトリの QTL DB と比較したところ、当該領域はニワトリにおいて “Body weight”、“Carcass weight”、“Feed conversion ratio” などの体重形質に関連する QTL が多いことが明らかになった。

また、これまでエミューにおいて開発された多型 SSR マーカーは 100 種類に満たず、連鎖地図を作成することが困難であった。しかしながら本解析では、MiCAPs を用いてエミューゲノムの物理地図上にマップされた約 1000 種の多型 SSR マーカーを開発することに成功した。

本研究では RAD-seq および MiCAPs を用いて、エミューの産肉能力関連候補領域の推定および物理地図情報のある多型 SSR マーカーの大規模開発に成功した。これらを利用することで産業形質関連領域のファインマッピングや MAS に利用可能な DNA マーカーの開発が可能になり、将来的にエミューの効率的な選抜育種が可能になると考えられる。

本研究は、「令和 5 年度 公益財団法人伊藤記念財団 食肉に関する研究又は調査に対する研究助成」の助成により実施された。



RAD-seq で得られた SNPs を基に屠体形質と GWAS 解析を行った結果、1 番染色体はもも肉重量および除脂肪体重、8 番染色体上には体重と有意に関連する領域が検出された。

図 2 屠体形質とのゲノムワイド関連分析



## 水族園飼育下マゼランペンギンに見出された 小脳変性症の遺伝解析

### 【背景と目的】

動物園・水族園の役割として、種の保存、教育、調査・研究、レクリエーションがある。神戸市にある須磨海浜水族園は、“スマスイ”の愛称で親しまれ、外来種問題への取り組み、学術賞の設立、自然環境保全事業など、従来の水族館の枠に囚われない活動を展開している。

須磨海浜水族園にはマゼランペンギンが飼育されており、水族園の人気者として来場者に親しまれている。飼育展示は1988～89年に導入した19羽の野生個体から始まり、延べ157羽が飼育下繁殖や他施設との交換・譲渡により飼育されてきた。近年、本来病気にかかりにくい10歳前後で、運動失調症を呈し、数年後に死亡する事例が発生した。発症個体は、臨床経過および死後の病理解剖により小脳変性症と診断された (Ioannidis et al., 2019)。その後、発症個体の子、兄弟の中にも同様の症例が散見された。以上のことから、須磨海浜水族園のマゼランペンギンに見出された小脳変性症は遺伝性であり、その原因遺伝子は集団内に浸透している可能性が高いと考えられた。

もし、原因遺伝子を同定できれば、小脳変性症のキャリアを選別し繁殖から除外することで、小脳変性症を克

服できる。遺伝子同定には遺伝解析が必要であるが、そのための遺伝マーカーの開発はなされていない。

そこで、本研究では、発症個体、非発症個体のゲノムDNAを用いてRAD-seq解析を行い、遺伝マーカーを開発し、ゲノム解析を行うことを目的とした。

### 【材料と方法】

須磨水族園で採材された39個体の血液より、NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel) を用いてゲノムDNAを抽出した。運動失調を発症した個体は7個体であった。これらのゲノムDNAを用いてRAD-seq解析を行い、SNPマーカーの開発とジェノタイピングを行った。

### 【結果と考察】

運動失調の発症の有無を表現型値としてGWAS解析を行った。その結果、ゲノムワイドレベルで有意な連鎖は見いだせられなかった (図1)。理由としては、発症個体が少ないこと、本来発症する個体が未発症のため、未発症個体としてカウントされている可能性がある。今後、別の園のマゼランペンギンのDNAを用いて運動失調の原因遺伝子座の同定研究を進めていく。

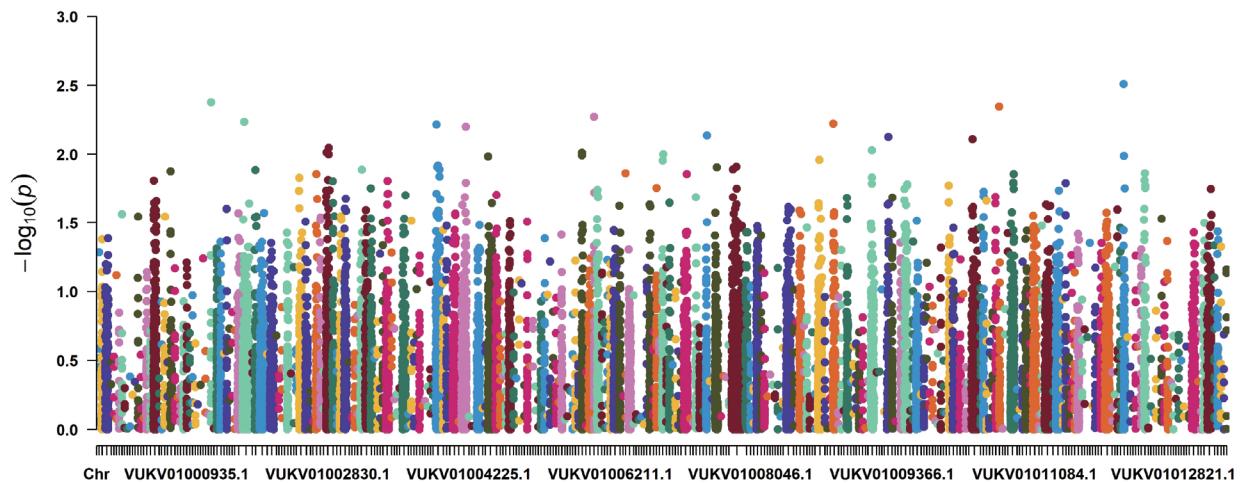


図1 GWAS で得られた運動失調の有無についてのマンハッタンプロット



## RAD-seq 解析による皮膚炎発症遺伝子座の同定

### 【背景と目的】

アトピー性皮膚炎 (AD) は、かゆみを伴う湿疹を主病変とする疾患である。患者の多くは、アレルギー性疾患の家族歴・既往歴をもつ。また、IgE 抗体を産生しやすい体質をもつ。さらに、皮膚バリアの機能障害が、AD の発症に深く関わっている。我が国では、国民の約 1 割が罹患していると推定されている (厚労省リウマチ・アレルギー対策委員会)。治療は、抗炎症剤を用いた対症療法が主体であり、完治は難しい。AD のリスクファクターのうち最大のものは家族歴である。この遺伝的要因を明らかにすることで、AD の発症機能的な解明や新しい治療法の開発が期待されている。

AD の原因遺伝子を同定する手法として、動物モデルを用いた方法がある。KFRS4 ラットは、約 6 か月齢で、ダニなどの感染なしに、引っ掻き行動を伴う重篤な皮膚炎を自然発症する。また、血中 IgE の上昇、皮膚バリアの機能障害が観察される。このように、KFRS4 の皮膚炎は、ヒト AD に類似しており、AD のモデルとして、発症機構の解明、薬や治療法の開発に貢献すると期待されている (Kuramoto et al., 2015)。

KFRS4 ラットの皮膚炎には性差があり、6 か月齢の皮膚炎スコアは雌の方が有意に高い。また、発症率も雄では 50% にとどまるが、雌では 100% の個体が発症する (Kuramoto et al., 2015)。これまで、(KFRS4 × PVG) F2 ラットを用いた遺伝解析から、皮膚炎発症に係わる QTL が第 17 番染色体に同定された。しかし、アトピー性皮膚炎は複数の遺伝的要因で発症することが知られている。そこで、本研究では、標準的な系統である F344 を用いて作出した (KFRS4 × F344) F2 ラットを用いて遺伝解析を行い、KFRS4 の皮膚炎発症に係わる遺伝子座を

同定することを目的とした。

遺伝子座の同定には、多数の遺伝マーカーを用いることが望ましい。これまでに、遺伝マーカーとして Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) が用いられてきた。しかし、利用できる数が少ないという問題点があった。そこで、本研究では、RAD-seq 法を用いて SNP の探索とジェノタイピングを行うこととした。

### 【材料と方法】

(KFRS4 × F344) F2 ラットを 111 個体制した。8 週齢から 38 週齢にかけて 2 週間に一度、皮膚炎症状を観察し、スコアリングした。発症週齢、最高スコア、総スコアを表現型値とした。88 個の SSLP マーカーについて遺伝型を決定した。F2 産子 106 個体、KFRS4 系統、F344 系統、(KFRS4 × F344) F1 の計 109 個体を用いて RAD-seq 法を実施した。

QTL 解析には、GWAS と R/qtl の 2 つの解析ソフトを用いた。

### 【結果と考察】

RAD-seq 法により、5,383 個の SNP を検出し、それぞれについて遺伝子型を決定した。表現型値と遺伝型を使用して QTL 解析を行ったところ、いずれの解析においてもゲノムワイドレベルで有意なアトピー性皮膚炎発症遺伝子座は検出されなかった (図 1)。

アトピー性皮膚炎原因遺伝子座が検出されなかった大きな原因として、発症個体が少ないことが挙げられる。また、観察期間が短かったために本来発症する個体が非発症としてカウントされた可能性があること、多因子の遺伝的要因が関わっている可能性があることが考えられた。

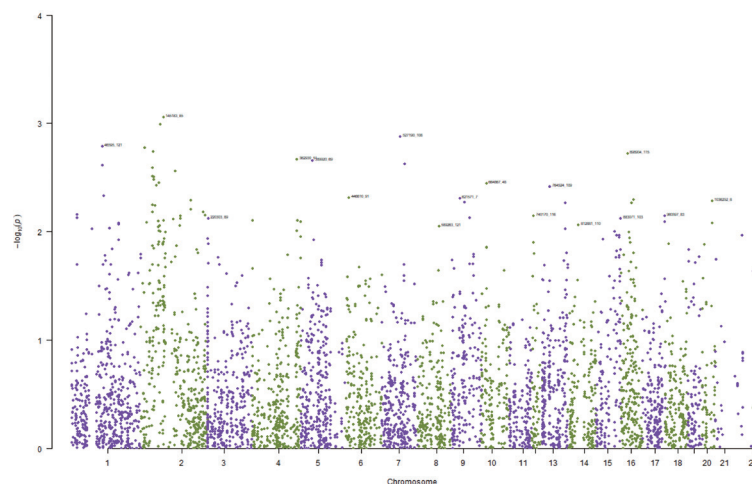


図 1 GWAS で得られた皮膚スコアについてのマンハッタンプロット



## 雌牛の生殖機能制御における抗ミューラー管ホルモンの役割

我が国では、乳用牛および肉用牛ともに飼養戸数や畜産従事者の減少が進み、畜産物の生産基盤の維持と強化が課題となっている。また、和牛肉は国内消費だけでなく輸出品目としても注目されその増産が求められている。しかし、生産現場では雌牛の繁殖能力低下が問題となっており、乳用牛の人工授精受胎率は10年間で15%程度も低下している。このため、従来から重要視されている泌乳能力や産肉能力に加え、性成熟後の妊娠確率の高い育成牛を繁殖雌牛として選畜できれば、効率的な牛の増頭が可能となる。また、受精卵移植技術は、乳用種を借り腹牛として良質な和牛肉を生産する方法などとして急速に利用が拡大している。しかし、移植用の受精卵を生産する能力は供卵牛毎に大きく異なり、効率的な受精卵生産技術の開発が課題となっている。

私たちの研究グループでは、これらの課題を解決するために抗ミューラー管ホルモン（AMH）を指標とした繁殖雌牛の選抜技術開発に取り組んでいる。我々は、これまでに血中 AMH 濃度を測定することで過剰排卵処理によって一頭の供卵牛から生産される受精卵の数を推定できることを実証している（Hirayama et al., 2012, 2017, 2019）。また、現在実施中の学内プロジェクトでは、血中 AMH 濃度が牛の受胎確率の指標となることを明らかにしつつある。これを受けて、生産現場では血中 AMH 濃度の測定希望が急増しているが、測定依頼先および選

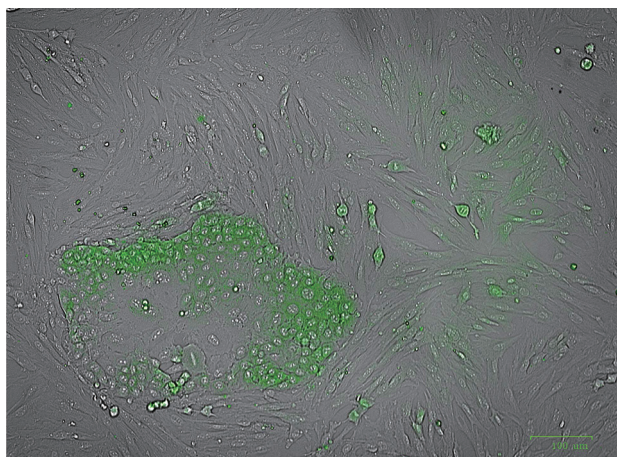


写真 ウシ子宮内膜培養細胞における AMH 発現  
(グリーンシグナル)

抜基準が整備されていないことが問題となっている。そこで、このプロジェクトでは黒毛和種供卵牛および繁殖雌牛を選抜するための血中 AMH 濃度基準値を作成するとともに、子牛の段階で可能な繁殖雌牛早期選抜方法、血中 AMH 濃度レベル簡易判定技術の開発に取り組んでいる。

一方で、ウシの生理機能制御における AMH の役割は未だ不明な部分が多い。AMH はウシの卵胞発育を抑制する分子としてよく知られているが、卵胞以外のいくつかの組織にも AMH 受容体が存在することが明らかになっている。また、ヒトやマウスにおける研究から、AMH が腫瘍細胞などの増殖制御に関与することも明らかになってきた。そこで、私たちの研究グループはウシの卵巣や子宮における AMH の新たな生理的役割を探索している。AMH は、多様な機能を持つサイトカインとして知られる TGF- $\beta$  スーパーファミリーに属している。そのため、AMH の有するその未知の機能は多岐に及ぶことが予想され、トランスクリプトーム解析など高度なスクリーニング技術を活用して研究を進めている。

### 引用文献

- Hirayama, H., Naito, A., Fujii, T., Sugimoto, M., Takedomi, T., Moriyasu, S., Sakai, H., & Kageyama, S. Effects of genetic background on responses to superovulation in Japanese Black cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 81 (3), 373-378. (2019)
- Hirayama, H., Naito, A., Fukuda, S., Fujii, T., Asada, M., Inaba, Y., Takedomi, T., Kawamata, M., Moriyasu, S., & Kageyama, S. Long-term changes in plasma anti-Müllerian hormone concentration and the relationship with superovulatory response in Japanese Black cattle. *The Journal of Reproduction and Development*, 63 (1), 95-100. (2017)
- Hirayama, H., Kageyama, S., Naito, A., Fukuda, S., Fujii, T., & Minamihashi, A. Prediction of superovulatory response in Japanese Black cattle using ultrasound, plasma anti-Müllerian hormone concentrations and polymorphism in the ionotropic glutamate receptor AMPA1/GRIA1. *The Journal of Reproduction and Development*, 58 (3), 380-383. (2012)



## 被毛長の性差を引き起こす変異型 FGF5 の役割

Fibroblast growth factor 5 (FGF5) は、毛周期を成長期から退行期へ誘導する因子の一つであり、それをコードする遺伝子の突然変異は、ヒト、マウス、イヌ、およびネコなどにおいて異常な被毛の伸長を引き起こすことが報告されている。我々もまた、自然発症によって単離・近交化された長毛シリアンハムスター (MALC) が *Fgf5* の 1 塩基欠失変異 (*Fgf5malc*) であることを明らかにしてきた [1]。ところが、これまでの *Fgf5* 変異とは異なり、MALC は雄に顕著な長毛、すなわち被毛長の性差を示した。我々は、この被毛長の性差がアンドロジェン受容体 (AR) の活性化により引き起こされることも併せて報告した [1]。この *Fgf5* 変異が AR の活性化を通じて性差のある長毛化を引き起こす現象は、これまで報告のない新たな発見であった。しかしながら、*Fgf5* 変異と AR との関連、それらがどのように共役して雄に顕著な長毛化を引き起こすのかは不明のままである。そこで我々は、配偶子操作をほとんど必要としない新たなゲノム編集マウスの作製法、GONAD 法によって *Fgf5malc* を模倣したモデルマウス (*Fgf5go-malc*) を樹立した [2]。我々の期待通り、*Fgf5go-malc* は野生型に比べて明らかな長毛を呈し、それは雌に比べて雄に顕著にみられた。そこで本研究は、変異型 FGF5 が長毛化を引き起こすメカニズムの解明と、その性差の発現に関わる分子の特定を目的とした。

供試材料は、野生型として C57BL/6J (B6) の雌雄、および *Fgf5go-malc* の雌雄をそれぞれ 3 個体ずつ用いた。RNA-seq 解析は、毛周期が成長期から退行期に移行すると推測された脱毛後 17 日の皮膚由来 RNA (n=3) を用いて行った。

RNA-seq 解析の結果、40 種 (増加: 22 種; 減少: 18 種) の遺伝子は B6 雌雄に比べて *Fgf5go-malc* の雌雄に

共通して有意に発現変動した (図 1A)。発現量の増加が認められた遺伝子のうち 5 種は、“animal organ development” (GO: 0048513) にカテゴリ化され、それらはケラチンの合成に関与する遺伝子群であった。また、毛周期の休止期に高発現する 1 種の遺伝子および Wnt シグナリングに関する 1 種の遺伝子は B6 に比べて *Fgf5go-malc* において減少した。このことは、*Fgf5go-malc* が B6 に比べて毛周期の成長期が延長することを良く反映し、これら遺伝子は *Fgf5* の変異による被毛長の変化に関与することが推測された。次に本研究は、B6 の雌雄間で変動しない、かつ *Fgf5go-malc* の雌雄で変動した 50 種の遺伝子 (増加: 44 種; 減少: 6 種) を抽出した (図 1B)。これら遺伝子群は、“animal organ development” (GO: 0048513) に加えて、“keratinization” (GO: 0031424) に有意に関連した。増加したもののうち、35 種 (79.5%) はケラチンあるいはケラチン関連タンパク質をコードする遺伝子であった。以上の結果から、これら遺伝子群は *Fgf5go-malc* の雌雄における被毛長の差異に関与することが期待された。現在は、これら遺伝子群の発現変動について検証を進めるとともに、FGF5 に影響される下流のシグナル伝達分子を探索している。

- 1) Yoshizawa Y, Wada K, Shimoi G, Kameyama Y, Wakabayashi Y, Fukuta K, Hashizume R. A 1-bp deletion in *Fgf5* causes male-dominant long hair in the Syrian hamster. *Mamm Genome* **26**: 630-637. (2015)
- 2) Takahashi R, Takahashi G, Kameyama Y, Sato M, Ohtsuka M, Wada K. Gender-difference in hair length as revealed by CRISPR-based production of long-haired mice with dysfunctional FGF5 mutations. *Int J Mol Sci* **23**: 11855. (2022)

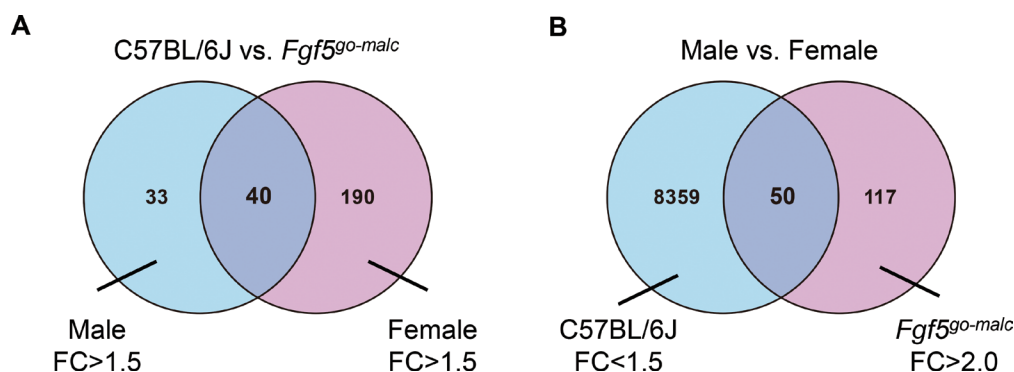


図 1 *Fgf5go-malc* の皮膚において変動した遺伝子群

- A. 野生型の雌雄に比べて *Fgf5go-malc* の雌雄に共通して 1.5 倍に変動した遺伝子 (40 種)。
  - B. 野生型の雌雄では変動しない、かつ *Fgf5go-malc* の雌雄において 2 倍以上の発現変動が認められた遺伝子群 (50 種)。
- FC: Fold change.



## 発泡スチロールを食する昆虫幼虫の腸内で発現している遺伝子の転写解析の試み

### 【研究背景と目的】

自然界で分解されにくいプラスチックを人類が大量製造・大量廃棄し、それが地球上の海洋やその他の地域を汚染し、その場に居る生物の生存を脅かしている。甲虫のチャイロコメノゴミムシダマシ (*Tenebrio molitor* Linnaeus) やツヤケシオオゴミムシダマシ (*Zophobas atratus* Fabricius) の幼虫が、自然界で分解されにくいプラスチックの一つで、高分子化合物であるポリスチレンを主成分とする発泡スチロールを食べ養分としているとの報告がある (Y. Yang *et.al.*, Environ. Sci. Technol. 49:12080-12086, 2015; Y. Yang *et.al.*, Science of the Total Environment 708:135233, 2020)。*Z. atratus* の幼虫の消化管内で、ポリスチレンが低分子に分解され、体内に吸収されている可能性がある。このことは、*Z. atratus* の幼虫・その腸内生物・腸内微生物のいずれかが、ポリスチレンを低分子に分解する酵素の遺伝子を持ち、発現して発泡スチロールを分解していると考えられた。

昨年度の本研究課題において、幼虫サイズが大きく消化管部分を解剖で容易に取得できそうな *Z. atratus* の幼虫の解剖し、消化管部分からの RNA 抽出を行い高品質な RNA を得られた。次に、生物種に依存せずに rRNA 除去が可能な RNA Zymo-Seq RiboFree Total RNA Library Kit を用いてライブラリー調製を行い、シーケンスに供したところ、rRNA 配列の大部分が除去されることが確認された。

しかしながら、個体サイズが小さい幼虫から、周囲が脂肪組織で覆われている消化管のみの解剖が困難だったこと、昆虫ゲノムのドラフトゲノム配列が未公開だった

ことから、その後のバイオインフォマティクス解析による、候補遺伝子の発見は困難であった。

そこで、今年度の研究課題においては、発現変動プロファイルを比較しやすくするために、幼虫個体から複数組織（頭部・脚部・消化管）を解剖により採取し、新たに公開された *Z. atratus* ドラフトゲノム配列にマッピングし、消化管における発泡スチロールを食している条件下における発現変動遺伝子の抽出を試みた。

### 【材料と方法】

フスマを餌として *Z. atratus* 幼虫の予備飼育を行い、その後ガラスピーカーに 10 匹ずつを入れ、2023/4/21～5/5 の期間に本飼育を条件で次の 3 試験区 a) ～ c) で飼育した。飼育期間中に、a) コムギフスマ + 水、b) 発泡スチロールブロック + 水、c) 水のみ。生育状況を知るため、実験区ごと 7 日間隔で 10 匹まとめて体重測定をした。2023/5/24 に解剖にて各部位を取り出し -80℃ 保存した。その後、Maxwell RSC simplyRNA Cells/Tissue Kit を用いて RNA 抽出とライブラリー調製、NextSeq 1000 によるシーケンスを実施した。平均濃度 80 ng/μl、RINe 値 8.6 の高品質な RNA が得られた。得られた Total RNA から昨年同様の Zymo-Seq RiboFree Total RNA Library Kit を用いてライブラリー調製を行った。現在、CLC Genomics Workbench を用いて *Z. atratus* ドラフトゲノム配列へのマッピング解析を行っている。今後は、発泡スチロールを餌とした実験区での発現変動遺伝子の抽出を試みる。

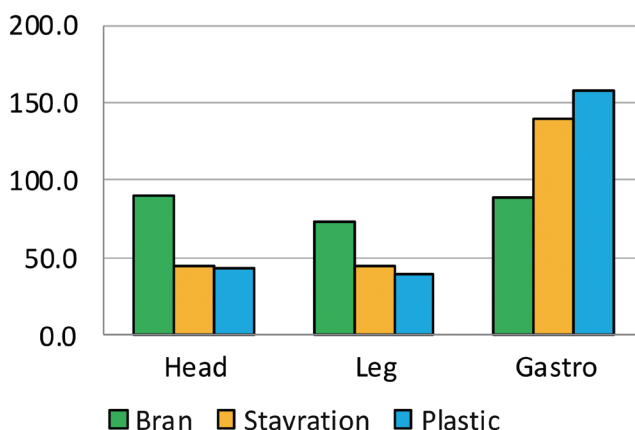


図 抽出された RNA の部位別平均 RNA 濃度

(Head : 頭部、Leg : 脚部、Gastro : 消化管、Bran : コムギフスマ区、Starvation : 水区、Plastic : 発泡スチロールブロック区)



## 精神疾患の分子メカニズムの同定を目的とした トランスクリプトーム網羅的解析

我々は遺伝子操作により記憶能力が向上または低下したトランスジェニックマウスや、環境要因を再現した精神疾患動物モデルを開発してきました。しかし、これらマウスの脳内でどのような生化学的変化が起こっているかは十分に明らかに出来ておりません。そこで、これらゲノム要因と環境要因を再現した動物モデルのトランスクリプトームの網羅的解析を行い、その発現プロファイルを詳細に比較することで、精神病態の分子基盤・病態機序を同定することを目的としました。

前頭前野は、哺乳類の脳の皮質領域の一部であり、認知、意思決定、学習・記憶など様々な認知機能を制御する際の司令塔の役割を担う脳領域です。また、成熟過程における神経回路の形成やニューロン間のシナプス接続はダイナミックな編成を受けることで、幼若期から成体期への移行中に生じる環境変化に最適に反応するように前頭前野の神経回路が適応していきます (Gogtay et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 8174-8179. (2004); Caballero et al., *Neurosci. Biobehav. Rev.* 70, 4-12. (2016); Larsen and Luna B. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 94, 179-195. (2018)。

青年期の生活環境はヒトを含めた高等動物において成

体期の脳機能に影響を与えます。マウスにおいて、生後3-4週齢の時期から飼育ケージに1匹で飼育（個別飼育）することによる社会的隔離処置は、生後の脳発達が成体期での脳機能にどのような影響を及ぼすのかを研究するための動物モデルの一つとして用いられています。現在、この解析系を用いることにより、学習・記憶や社会行動などの行動を制御する神経回路の同定を中心とした研究が行われていますが、行動異常を引き起こす原因となる分子レベルの解析は十分に進んでおりません。そのため、行動異常を伴う病態の分子基盤を明らかにすることは、新規治療薬の開発に繋がると期待されています。

そこで本研究では、社会的隔離処置を施したマウスの前頭前野におけるトランスクリプトーム解析を実施し、記憶・社会行動異常の原因となる分子の同定を試みました。その結果、ニューロンの形成、皮質の発達、シナプス形成に関与する遺伝子群において有意な発現変動が認められました。興味深いことに、外界からの刺激に応じて発現が誘導される遺伝子群においても有意な発現変動が認められました。現在、これら遺伝子プロファイルをもとに、より詳細な解析を進めています。



図1 解析に用いたマウス

トランスクリプトーム解析に供した C57BL/6 系統のマウス（奥、黒色）と社会性相互試験に用いた C3H 系統のマウス（手前、茶色）。



# 植物の長期高温ストレス耐性には正確な mRNA スプライシングの維持が重要 ～何日も続く高温に適応する作物育種へ期待～

## 研究背景

高温は作物の生長や収量に影響を及ぼす重大なストレスです。近年の温度上昇による主要作物の収量減少が報告されており、植物の高温耐性メカニズムの解明、耐性植物の作出が重要な課題とされています。植物の高温ストレス応答については、これまでにシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を含むモデル植物を中心に研究が進められ、細胞レベルにおける数分から1時間の素早くダイナミックな転写ネットワーク応答や、個体レベルにおける数時間で茎の伸長や下偏成長(葉を立ち上げる)を誘導する熱形態形成が知られています。従来の植物高温応答研究のほとんどは短期的な高温に対するものであり、長期的な高温に対するメカニズムはほとんど分かっていないのが現状でした。

一方、自然界には劣悪環境でも生育可能な植物が存在します。その耐性メカニズムは将来の耐性作物育種に向けて興味深いものの、その鍵遺伝子の同定には未だほとんど至っていません。シロイヌナズナには2000種を超える野生系統が世界中に存在し、さまざまな表現型に多様性を示すことから、多様性を遺伝子レベルで紐解く良い実験材料となっています。これまでに研究グループでは、シロイヌナズナ野生系統間に見られる水不足耐性の多様性を決定する遺伝子を同定しました (Ariga et al., 2017 Nature Plants)。しかしながら、シロイヌナズナ野生系統間における高温ストレスの多様性については不明でした。

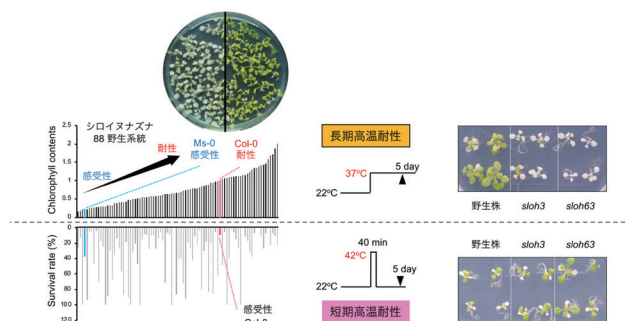
## 研究成果

174種のシロイヌナズナ野生系統について、「長期間続く高温ストレス (37°C\_7日間)」と「短期間の極端な高温ストレス (42°C\_50分間)」に対する耐性(以後、前者を長期高温耐性、後者を短期高温耐性とする)をそれぞれ評価しました(短期高温耐性については174種のうち88種を使用)。どちらのストレス耐性においても大きな種内多様性が認められた一方、長期高温耐性を示す野生系統は必ずしも短期高温耐性を示さなかったことから、長期高温耐性は、より一般に研究されている短期高温耐性とは異なるメカニズムに因って制御されていることが示唆されました。長期高温ストレス耐性系統と感受性系統を交配したF2集団を用いた遺伝学的解析により、長期高温ストレス耐性に寄与する遺伝子座を同定し、これを *LHT1* (*Long-term Heat Tolerance 1*) と命名しまし

た。この遺伝子座は、真核生物に広く保存され、mRNAのスプライシングに関与するRNAヘリカーゼをコードするMOS4関連複合体(MOS4 Associated Complex, MAC)のMAC7と同一でした。長期高温感受性系統では1アミノ酸欠失が*LHT1*の機能欠損を引き起こし、その結果、スプライシングの異常が広く見られるようになっていました。

他方、長期高温ストレスに高感受性を示すけれども、短期高温耐性は損なわれていないシロイヌナズナ *sloh3* (*sensitive long-term heat 3*) および *sloh63* 変異株を単離しました。*sloh3* および *sloh63* 変異株はいずれも *LHT1* 同様、MOS4 関連複合体を形成する *MAC9*、および *MAC17* に生じた変異が原因でした。両変異株とも mRNA のスプライシングに異常が見られ、異常タンパク質の蓄積により引き起こされる小胞体(ER)ストレスが亢進していました。さらに、スプライシング阻害剤をシロイヌナズナ野生型植物に投与すると、長期高温耐性が濃度依存的に低下し、同様にERストレスが亢進しました。

以上の結果より、MOS4 関連複合体の正確な mRNA スプライシング維持が植物の長期高温耐性に不可欠なことが示唆されました。本成果は国際科学誌「PNAS Nexus」に2報同時掲載されました。



**図 シロイヌナズナの長期(上)・短期(下)高温耐性**  
 左: シロイヌナズナ野生系統(88系統)における長期高温耐性(上)と短期高温耐性(下)。上下に同じ野生系統を並べているが、長期高温耐性を示す野生系統は必ずしも短期高温耐性を示さず、長期と短期で耐性メカニズムが異なることが示唆された。  
 右: シロイヌナズナ突然変異株 *sloh3* および *sloh63* の長期高温耐性(上)と短期高温耐性(下)。*sloh3* および *sloh63* 変異株は長期高温ストレスに感受性を示すものの、短期高温耐性は野生株と同等なことから、長期高温耐性のみが欠損していることが示唆された。



## Eco & Bee CPS

### —環境の多様性を考慮した養蜂技術の開発と展開—

#### 緒言

ミツバチは農業と深い関わりがある。まず養蜂は畜産であり、蜂蜜や蜜ろうなど、多くの栄養価の高い食品として古来より扱われている。次に、花粉媒介者（ミツバチ、鳥、コウモリ）は世界の農作物生産の35%に影響し、世界の主要な87の食用作物に加え多くの植物由来の医薬品の増産に貢献しているとされており、特に食べる果実や種子として栽培される作物の75%がミツバチの恩恵を受けている。しかしながら、過剰農業、単作、激化農薬の使用、気候変動による温暖化などで世界的に減少していることが指摘され、これに関連して生物多様性を示す指標として注目されており、蜜蜂地図作成プロジェクトなども行われている。このような農業生産や生物多様性（植生と微生物）と重要性の高いミツバチに着目し、本研究プロジェクトでは、ミツバチを活用した新しい養蜂や食品開発、環境設計手法の構築を目指している（図1）。主な研究目的が次である。

1. M5Stack を活用した安価かつ CPS につながるスマート養蜂装置の開発を行い、その高度化と省力化、次世代のスマート農業を実現する。
2. 取得された蜂蜜から DNA を取得し、周辺植生の多様性評価を行い、将来的にミツバチが生息している環境評価から、植生の多様性を重視したまちづくりや地域設計へ展開する。
3. ミツバチの巣から DNA 解析を行って、都市のマイクロバイーム推定技術を開発する。
4. ミツバチを活用した新しい花酵母分離手法を構築し、食品開発や産業創出を実現する。

ここで、CPS (Cyber-Physical System) とは、JEITA

によると「実世界（フィジカル空間）にある多様なデータをセンサーネットワーク等で収集し、サイバー空間で大規模データ処理技術等を駆使して分析／知識化を行い、そこで創出した情報／価値によって、産業の活性化や社会問題の解決を図っていくもの」であり、Society5.0の中核である。

#### 研究方法及び結果

養蜂については、株式会社蜂蜜工房（千葉県君津市）の協力と支援を受けて実施した（図2）。また、アゼルバイジャン共和国との比較を行いながら、世界に展開できる技術開発を想定しており、アゼルバイジャン共和国に関しては、東京農業大学大学院生である Oruj Orujov 氏と現地調査や養蜂学会参加を行っている（図3）。

DNA 解析については、田中啓介准教授（東京情報大学 総合情報学科）に依頼し、解析を行っている。DNA 抽出の様子を図4に示す。また2023年9月25日に東京農業大学で取得した蜂蜜について、バイオインサイト株式会社に協力してもらい、植生解析結果の一部を取得している（図5）。

#### 結言

本研究プロジェクトでは、環境に配慮した新しい養蜂技術の開発を目指しており、2023年度はスマート養蜂装置の試作や、東京農業大学における養蜂と蜂蜜の採取、一部植生解析を実施した。今後は定期的に蜂蜜を取得して地理的要因や季節性の解析、スマート養蜂装置の改善、新しい食品開発などを行っていく予定である。



図1 研究プロジェクトビジョン



図2 東京農業大学屋上における養蜂実験 (2023年3~10月)



図3 アゼルバイジャン国際養蜂学会発表 (2024年1月27日)



図4 DNA抽出の様子 (生物資源ゲノム解析センター)

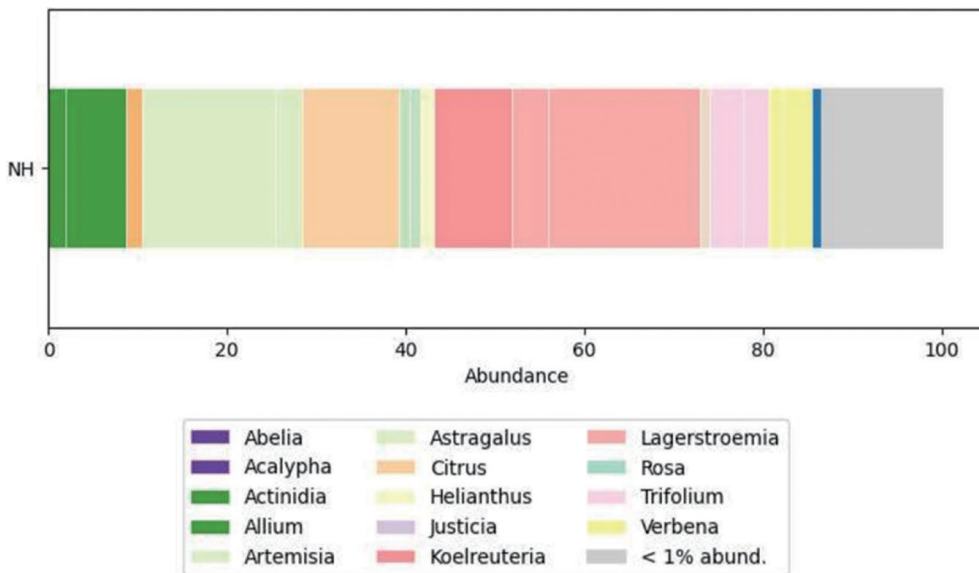


図5 蜂蜜の植生解析の例 (バイオインサイト社レポートより)

## イネ節間の細胞壁蓄積異常を伴う矮性原因遺伝子の特定

イネの適切な草丈の制御は、コメの収量や品質を決定する重要な要素の一つである。イネの草丈は、生殖成長期の節間伸長により最終的に決められている。これまでのイネ矮性変異体を用いた解析では、節間伸長の制御にはジベレリンやブラシノステロイドなどの植物ホルモンが関わるのが主に明らかにされてきた。一方で、著者らは植物ホルモンとは異なり、イネ節間細胞壁の形成異常により矮性が誘導される変異体の特性解析とその原因遺伝子の同定を試みてきた。

本研究で対象としているイネ矮性変異体 *edp1* (*ectopic deposition of phenolic components 1*) は、栄養成長期には親品種である金南風と見分けがつかない生育を示すが、生殖成長期に起こる節間伸長で親品種と比較して矮性形質が認められる (図1)。矮性を示した節間の内部構造観察および細胞壁成分分析から、*edp1* 変異体では節間の柔組織細胞壁に細胞壁リグニンと考えられるフェノール成分を過剰に蓄積してしまうことが明らかとなった (図2)。

同じ親品種由来で同様の表現型を示す変異体を2系統単離していたため、交配による遺伝解析を実施したところ、2系統の変異体は同一の遺伝子が欠損したアレルであることが判明した。これら2系統の変異体では、異常な細胞壁に蓄積するフェノール成分含有量が異なっていた。したがって、これら2系統の変異体を *edp1-1*、*edp1-2* と命名してマップベースクローニングによる原因遺伝子の特定を行った。その結果、欠損遺伝子である *edp1* は第5染色体上長腕側の約350 kbpの領域に座乗していることが明らかとなった。マップベースクローニングではこの約350 kbpの領域をこれ以上狭めることができなかつ

た。データベースからこの領域には約45の遺伝子が座乗していることが分かった。そのうち、イネ節間で発現している遺伝子は約30遺伝子であり、その中には矮性を引き起こすことが報告された既知の遺伝子は含まれていなかった。アノテーションから原因遺伝子の可能性が高いと考えられるいくつかの遺伝子について、サンガーシーケンスによる配列解析を行ったが、親品種と *edp1-1*、*edp1-2* 変異体で配列の違いを見出すことができなかった。

そこで *edp1* 遺伝子を同定するために、すでにゲノム配列が公開されているイネ品種日本晴のシーケンスをもとに、*edp1-1* 変異体、*edp1-2* 変異体、およびその親品種である金南風のゲノムのリシーケンスを本年度実施している。現時点ではまだシーケンス結果が出ていない状態であるが、本解析から親品種及び *edp1* 変異体のゲノム配列、及び、親品種と変異体間のSNPsデータが得られることと期待している。得られたゲノム情報のうち、マップベースクローニングで特定した第5染色体長腕側の約350 kbpの領域のSNPs情報から、*edp1* 候補遺伝子を絞り込み、相補性検定により原因遺伝子を特定できることを期待している。

マップベースクローニングにより同定した約350 kbpの領域には矮性を引き起こす既知の遺伝子がないことから、本解析によりイネの節間伸長に関わる新たな遺伝子を同定できることが期待される。この遺伝子の機能を解明することで、イネ節間伸長制御の新たな制御メカニズムを解明していきたいと考えている。

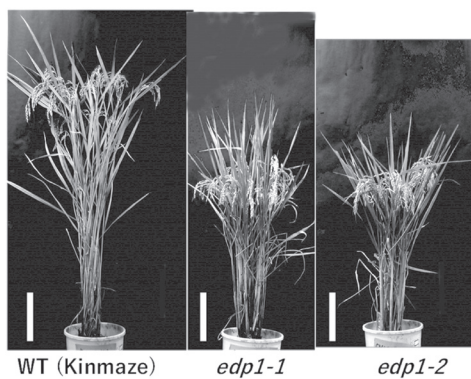


図1 親品種 (WT) と *edp1* 変異体の外部形態  
Bars = 20cm

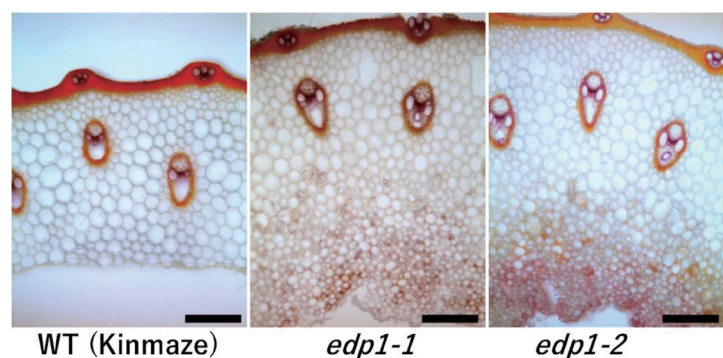


図2 節間横断切片のリグニン染色像  
Bars=200μm



## ヒメツリガネゴケにおけるオーキシン高感受性変異体 *ahs2* のゲノムリシーケンスによる原因遺伝子探索

オーキシンは、植物の細胞分裂や細胞伸長の促進、形態形成などに不可欠な植物ホルモンである。コケ植物ヒメツリガネゴケにおいて、オーキシンはクロロネマ細胞からカウロネマ細胞への分化やカウロネマ細胞から芽形成など、細胞分化の制御に重要な役割を担っている。また近年の報告により、病原微生物である *Pectobacterium carotovorum* 由来のエリシター処理後のヒメツリガネゴケにおいてオーキシン合成が促進されること、オーキシン処理により微生物の構成成分で誘導されるパターン誘導免疫の指標であるフェニルアラニンアンモニリアーゼ (PAL) の発現が誘導されることが明らかにされた。このことから、オーキシンがヒメツリガネゴケの免疫応答に関与すると考えた。

ヒメツリガネゴケ原系体はオーキシン濃度依存的に生

育阻害と褐変化を示す。植物の免疫応答におけるオーキシンシグナルの働きを解明することを目的として、野生型株が生育阻害と褐変化を示さない低濃度オーキシン処理で褐変化を示すオーキシン高感受性変異体 (*auxin-hypersensitive*: *ahs*) のスクリーニングを行った。その結果、複数の変異体を単離し、そのうちの1つ *ahs2* は多犯性の病原微生物である *Botrytis cinerea* 接種後の菌糸の広がり野生型より抑えられており *B. cinerea* に対して抵抗性を示すことを明らかにした。また、通常生育下における PAL の発現量が野生型株より上昇していたことから、オーキシンシグナルが免疫応答を制御していることが示唆された。*ahs2* の原因遺伝子を探索するために *ahs2* ゲノムのリシーケンスを行い、CDS 領域に非同義置換を有する遺伝子を探索している。

## アブラナにおける低酸素処理中に 根及び葉で応答する遺伝子の網羅的解析

近年は豪雨の増加が認められ、様々な水害が発生している。圃場において排水能力を超えた雨が降ると、土壌は水浸しの状態となる。水浸し状態の土壌中では、通常土壌間壁に存在する空気はすべて水に置換される。植物の根は土壌間壁に存在する空気を利用して好気呼吸を行っており、水浸し状態では酸欠状態に陥り、酸欠状態が継続するとやがて根の細胞は死んでゆく。このように、降雨による土壌中の過剰水分により引き起こされる根圏の酸素不足に起因し、植物が生育阻害を受ける現象を湿害と言う。一般的に畑作物は湿害に対して感受性を示すため、畑作物の耐湿性強化は農業において重要な課題の一つである。アブラナは花や葉を食す以外にも、その種子からは油（なたね油）が生産される。我々の生活の中ではダイズ、コメ、パームなど様々な植物由来の油が使用されているが、なたね油は国内で最も消費される植物油である。しかしながら、アブラナ種子は殆どを輸入に頼っている現状である。主要な要因として、①アブラナは湿害への抵抗性が低い、②国内でのアブラナ栽培は、湿害の起こりやすい水田転換畑が利用される、などの点があ

げられる。これらの点から、湿害耐性を強化したアブラナ品種の育成が国内におけるアブラナ種子生産量の増産に重要と考えている。そこで、本研究ではアブラナの耐湿性強化を目的とし、アブラナの低酸素応答機構解明の端緒として、根を低酸素状態に晒した際の表現系解析を実施している。

根の観察を容易に、及び、根圏の温度・栄養素そして酸素濃度を均一にするため水耕系を用いた。低酸素状態でアブラナを栽培した所、数時間程度で急激に葉が萎れる現象が観察された。この萎れた葉はそのまま枯死するのではなく一度回復した。その後、葉の萎れが回復したアブラナを酸素を含む水耕液に戻すと、低酸素処理を施していないコントロールと同様の生育を示した。一方で、葉の萎れが回復した後も低酸素処理を継続した場合、葉の枯死を伴う著しい生育阻害が観察された。すなわち、アブラナは萎れた葉を回復させる一過的な低酸素耐性機構を有する事が明らかとなった。そこで、低酸素状態に晒した根、及び、葉を用いたRNA-seqを実施し、本耐性に関わる遺伝子群の同定を試みている。



図 アブラナの低酸素処理

左から酸素有、酸素無しの処理区。酸素有の個体と比較して、酸素無しの個体の葉は萎れを示している。

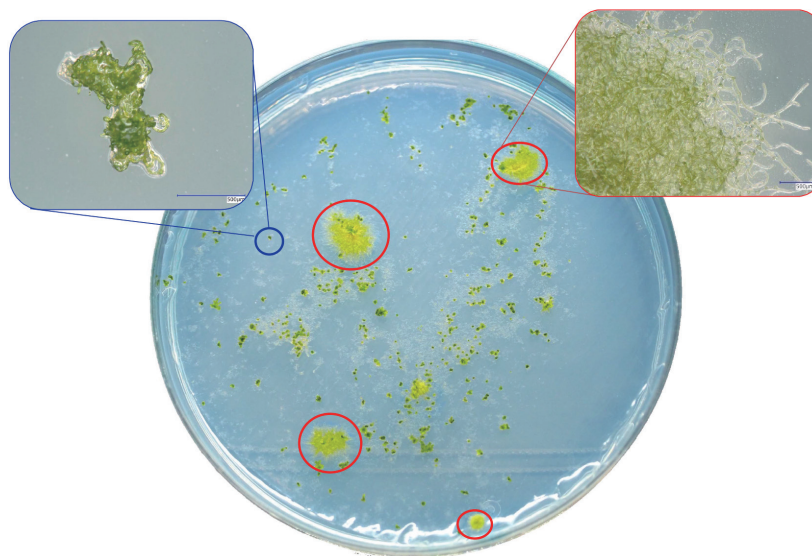
## Evolution of molecular desiccation gene for osmstress signaling using non-HK5 mutant lines in the *physcomitrium patens*

Environmental factors that affect plant growth, development, and geographic distribution are the main causes of abiotic stress. Therefore, global climate change has a significant impact on crop quality and yield. Indeed, the phytohormone plays an important role in the plant's development of multiple stress responses. Most plants depend on an intricate network of Abscisic Acid (ABA) and Ethylene receptors that activate evolutionary conserved kinases, namely SNF-related protein kinases 2 (SnRK2), which inactivate PP2C from SnRK2 and interact with ABA receptors PYR/PYL/RCAR in the presence of ABA (Umezawa et al., 2009; Shinozawa et al., 2019; Kamiyama et al., 2020; Toriyama et al., 2020). Identified that SnRK2s activated by an independent subfamily of B Raf-like kinases (ARK) group under the osmstress condition in *physcomitrium patens* (Saruhashi et al., 2015; Islam et al., 2020). Recently, we confirmed the ethylene control ARK/SnRK2 model via endoplasmic reticulum (ER) sensors from the histidine kinases (HKs) family (Toriyama et al., 2020; Sk et al., 2022). PpETR-HKs are further divided into two groups: PpHK5/13/20/24 and PpHK9A/B. Previous studies confirmed that the quadruple disruptant (Pphk5/13/20/24) of the PpERT-HK genes was defective in ABA signaling, but the triple disruptant (Pphk13/20/24) showed ABA responsiveness comparable to that of the wild type and that PpETR-HK5 can physically interact with and regulate ARK. In order to prevent the ARK mutation caused by UV irra-

diation, we created 171 mutation candidates using the ARK/PphkTKO line (Figure). Those colonies were defective in ABA media. Remarkably, following open reading frame analysis, we discovered a small number of PpHK5 mutation candidates; at most, there were non-PpHK5 mutant candidates. Although some of the candidates showed an ABA response, these non-PpHK5 mutants were neither ARK nor PpHK5 mutants. It seems to be suggesting that ABA activation may include the novel gene. Although the mechanism of osmstress sensing and ABA signaling cascades is still mostly unknown, this characteristic enables plants to thrive in environments with inadequate water availability. We will use variant-calling single nucleotide polymorphism (SNP) analysis to find the ABA response gene. To do this, we chose six non-PpHK mutant candidates and the ARK/TKO line as a control for genome sequence analysis. Furthermore, we believe understanding the ABA signaling network will be effective for the osmstress response in plants.

### Reference:

Islam M, Inoue T, Hiraide M, Khatun N, Jahan A, Kuwata K, Katagiri S, Umezawa T, Yotsui I, Sakata Y, et al Activation of SnRK2 by Raf-like kinase ARK represents a primary mechanism of ABA and abiotic stress responses. *Plant Physiol* 185: 533-546 (2020)  
 Kamiyama Y, Hirotsu M, Ishikawa S, Minegishi F, Katagiri S, Takahashi F, Nomoto M, Ishikawa K,



**ABA insensitive mutant candidates by culturing on 10  $\mu$ M ABA media.  
 The brood cell is on the left, and the mutant cells are on the right.**

- Kodama Y, Tada Y, et al SNF1-related protein kinase 2 directly regulate group C Raf-like protein kinases in abscisic acid signaling. *Biorxiv* 2020.02.04.933978 (2020)
- Saruhashi M, Ghosh TK, Arai K, Ishizaki Y, Hagiwara K, Komatsu K, Shiwa Y, Izumikawa K, Yoshikawa H, Umezawa T, et al Plant Raf-like kinase integrates abscisic acid and hyperosmotic stress signaling upstream of SNF1-related protein kinase 2. *PNAS* 112: E6388-E6396 (2015)
- Shinozawa A, Otake R, Takezawa D, Umezawa T, Komatsu K, Tanaka K, Amagai A, Ishikawa S, Hara Y, Kamisugi Y, et al SnRK2 protein kinases represent an ancient system in plants for adaptation to a terrestrial environment. *Commun Biology* 2: 30 (2019)
- Sk R, Miyabe MT, Takezawa D, Yajima S, Yotsui I, Taji T, Sakata Y Targeted in vivo mutagenesis of a sensor histidine kinase playing an essential role in ABA signaling of the moss *Physcomitrium patens*. *Biochem Bioph Res Co* 637: 93-99 (2022)
- Toriyama T, Shinozawa A, Yasumura Y, Saruhashi M, Hiraide M, Ito S, Matsuura H, Kuwata K, Yoshida M, Baba T, et al Sensor histidine kinases mediate ABA and osmostress signaling in the moss *Physcomitrium patens*. *Curr Biology Cb* 32: 164-175.e8 (2020)
- Umezawa T, Sugiyama N, Mizoguchi M, Hayashi S, Myouga F, Yamaguchi-Shinozaki K, Ishihama Y, Hirayama T, Shinozaki K Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *PNAS* 106: 17588-17593 (2009)



## 藍藻の巨大プラスミド DNA 複製に関わる 新規 Rep タンパク質の同定と発現ベクター系への利用

酸素発生光合成を行う藍藻では、複数種の大型プラスミド (100 kbp ~) を保持する種が数多く見つかっている。これらのプラスミドは細胞内において、不和合性を引き起こさないよう、異なる複製メカニズムを持ち、協調して細胞機能を担うと考えられる。しかしながら、藍藻において、プラスミドの複製開始メカニズムに関する情報は極めて限られている。

藍藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 は pSYSM、pSYSX、pSYSA、および pSYSG という 4 つの大型プラスミドを持つ。これまでに我々は pSYSA の複製開始に関わる Rep タンパク質を新たに同定したが、それ以外の大型プラスミドの Rep は未同定であった。我々は、*Synechocystis* 6803 の Rep タンパク質を特定することを目的として、*Synechocystis* 6803 のゲノムライブラリーを用いたスクリーニングである AR-seq (Autonomous Replication sequencing) 法を用いて、新たに pSYSX 上に 2 つの Rep

候補遺伝子 (*slr6031*, *slr6090*) を見出した。Slr6031 と Slr6090 タンパク質は、保存性は決して高くはないものの、他のバクテリアの複製関連タンパク質と構造的な類似性を示した。

これらの Rep 候補遺伝子を GFP 発現コンストラクトと融合させ、GFP 蛍光やプラスミド構造に基づき、候補遺伝子の自律複製活性を評価した。その結果、シアノバクテリア細胞においてこの人工プラスミドが安定的に維持されることが示された。さらに、我々は *Synechococcus* 7942 細胞内では、Slr6031 と Slr6090 を共存できることを示した。これらの結果から、Slr6031 と Slr6090 を CyRepX1 (Cyanobacterial Rep-related protein encoded on pSYSX) および CyRepX2 と命名した。これらの発見は、藍藻のプラスミド複製の基本原理の解明に貢献できるだけでなく、藍藻工学を促進するための新たなツールの開発にも応用が期待される成果である。

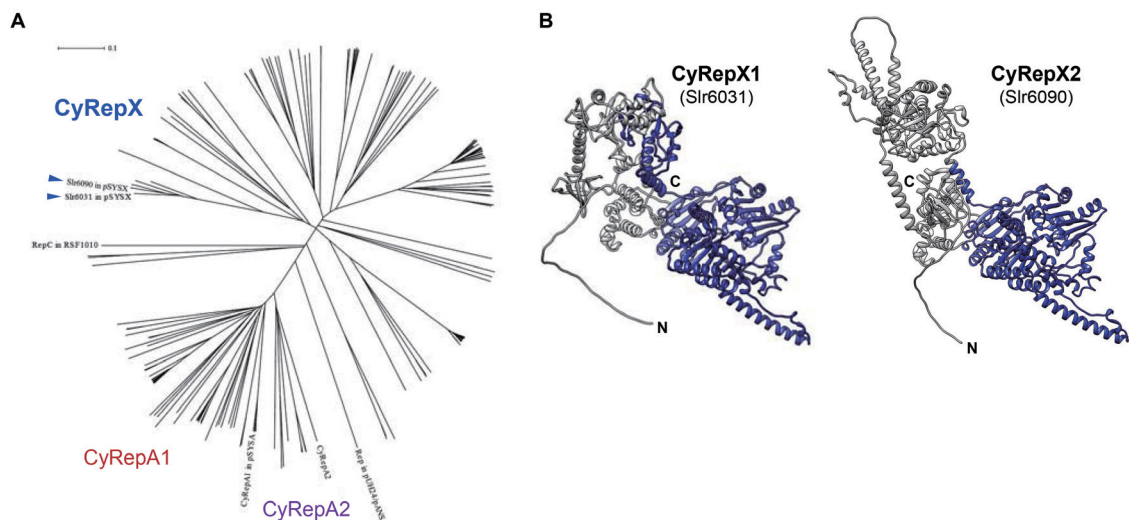


図 CyRep タンパク質の系統樹 (A) と予測構造 (B)  
CyRepX1 (Slr6031) と CyRepX2 (Slr6090) を矢頭で示す。立体構造は AlphaFold2 を用いて予測した。  
青色は DNA ヘリカーゼと構造的に類似した領域である。

渡辺 智 (生命科学部 バイオサイエンス学科)

荷村 (松根) かおり (生命科学部 バイオサイエンス学科)

## 塩生植物の保全に向けた環境要因の解析

塩生植物は、沿岸の生物多様性維持のために重要な植物であるが、環境変動に弱いこと、絶滅危惧・準絶滅危惧種に指定されている種が多い。日本でもアッケシソウ (*Salicornia europaea* L.) は、絶滅危惧Ⅱ類の指定されており、保全の対象となっている。

植物の保全を行う上で、自生地の土壌理化学的・生物性を把握することが重要とされている中、塩生植物の自生地の土壌理化学的・生物性の報告が少ないのが現状である。そこで、本研究ではアッケシソウ自生地の土壌理化学的および土壌生物性として細菌叢を解析することを

目的とした。

2021年および2022年に北海道ノトロ湖に自生するアッケシソウの調査を行い、アッケシソウの生育が異なる自生地3地点を本研究の環境モデルとし、土壌理化学的および細菌叢を解析した。その結果、アッケシソウの生育が良好な地点で特有の土壌特性および細菌叢の存在を推測できるデータを得た(図1)。

今後は、アッケシソウの生育が良好な地点の細菌叢からアッケシソウ保全の環境指標の候補となる細菌を探索するために解析を継続する予定である。

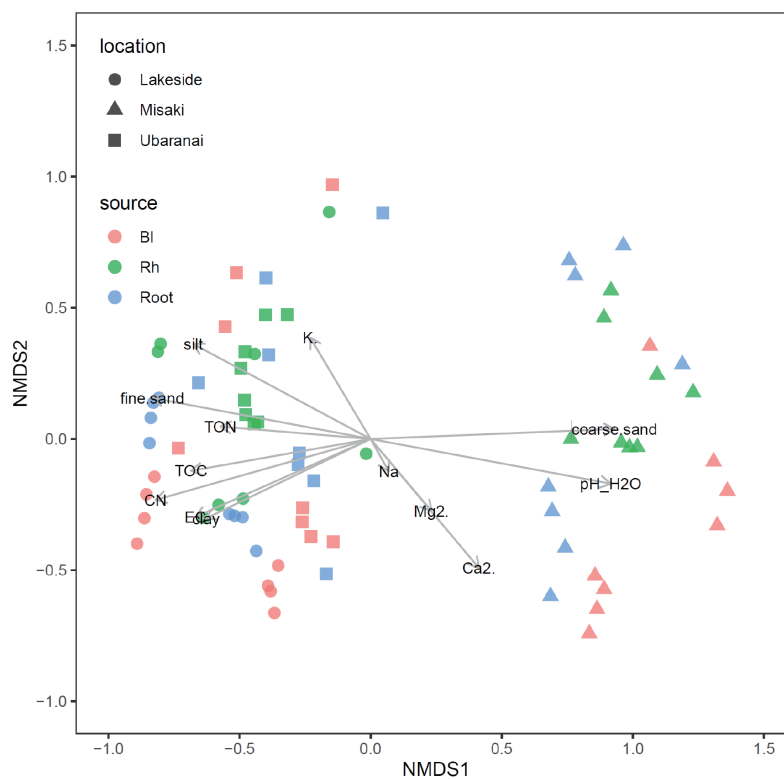


図1 NMDSによるアッケシソウの細菌叢の解析

山本 紘輔 (生命科学部 分子微生物学科)  
小泉 敬彦 (生命科学部 分子微生物学科)  
加藤 拓 (応用生物科学部 農芸化学科)

松谷峰之介 (生物資源ゲノム解析センター)  
坂本 光 (生物産業学部 北方圏農学科)



## 放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3 (2) M145 株における 抗生物質生産活性回復現象の解明

放線菌 *Streptomyces* 属は、土壤中で生息し、半数以上の放線菌を構成する重要なグラム陽性細菌である。一般的な細菌と異なる特性として、本菌群は、気中菌糸を伸ばし、胞子を形成する複雑なカビに似た形態分化が挙げられる。さらに本菌属は、抗結核剤であるストレプトマイシンやアミノグリコシド系抗生物質であるカナマイシン、農業用殺菌剤であるカスガマイシン、抗寄生虫剤であるエバーメクテンなど、多岐にわたる人類にとって極めて有用な二次代謝産物を生産する特徴があり、産業面および臨床面において広く利用されている。

近年、我々の研究グループは、放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3 (2) M145 株において、硝酸、亜硝酸、一酸化窒素 (NO) が循環する窒素酸化物循環経路を有することを見いだした。本菌が内在的に生産する NO は二次代謝および形態分化を調節するシグナル分子として機能することが示唆され (Yasuyuki Sasaki *et al.* Sci Rep. 25:6:22038.) たが、一方、細胞内の NO の濃度が高くなると、二次代謝および形態分化が有意に抑制されることが明らかになっている (Sota Honma *et al.* Appl Environ Microbiol 25:87 (14):e0048021.)。しかし、本抑制条件下

にも関わらず、紫外線照射によって得られた亜硝酸高感受性変異株 (NS5 株) と共培養を行うと、WT の抗生物質生産活性が顕著に回復することを見出した。そのため、NS5 株が WT の抗生物質生産活性の回復を引き起こす、何らかの物質を生産していると考え、この興味深い現象の解明を目指して検証を進めている。

本研究では、NS5 株は WT に紫外線を照射することにより得られた変異株であることから、WT と NS5 株の遺伝子配列を高精度な DNA シーケンス技術を用いて解析し、NS5 株の遺伝子配列の変異点を調べた。その結果、7 つの変異を確認した。現在、それぞれの変異を含む遺伝子と薬剤耐性遺伝子を組み換え、それぞれの遺伝子の破壊株を作成中である。今後はこれらの破壊株を用いて実験を行い、WT の抗生物質生産活性回復に関与する遺伝子の特定および、本現象を引き起こすメカニズムの解明に役立てたい。

本研究は、放線菌 *Streptomyces* 属が持つ多様な生物学的特性に関する理解を深めると同時に、生態や代謝経路の詳細を解明することで、有用な生物活性物質や抗生物質の開発、促進への貢献が期待される。

## 油糧酵母 *Moesziomyces aphidis* NBRC 11112 の脂肪酸産生関連遺伝子の発現解析

油糧酵母はバイオマス重量の20%以上の油脂（主にグリセリド）を含有する酵母であり、長鎖脂肪酸の供給源として期待され、C16やC18の産生についての研究が多い。長鎖脂肪酸の中でもC20以上のものの多くは植物から抽出して医薬品や化粧品等に利用されているが、植物は限られた資源でもあることから新たな油糧酵母の利活用が注目されている。前述のC16やC18を産生する油糧酵母の1つは *Lipomyces* 属であり、脂肪酸供給源としての実用化が期待されている。一方で、C20以上の長鎖脂肪酸については、例えば *Rhodotorula mucilaginosa* やクサレケカビ (*Mortierella chlamydospora*) で若干の産生の報告があるもののまだ実用化に向けての知見は乏しい。

このような背景から、我々はC20以上の長鎖脂肪酸を産生する酵母をスクリーニングするために様々な子囊菌および担子菌酵母を入手して各株の全菌体脂肪酸を分析し、C20以上の脂肪酸の占める割合の高い株として

*Moesziomyces aphidis* NBRC 11112 を選抜した。興味深いことに、その株の産生する脂肪酸の炭素鎖長や組成が培養条件で変化する。この生合成代謝の制御機構を明らかにすることで、油糧酵母による長鎖脂肪酸の発酵生産技術開発の一助になることを期待し、RNA-Seq解析を行った。

NBRC 11112 は担子菌酵母であり、培養条件によっては図1のように細胞のほとんどを油滴が占める。培養条件、培地条件、growth phase等の様々な条件での菌体脂肪酸組成を調べ、特徴ある脂肪酸組成が認められた4つの条件で培養した菌体を試料としてRNA-Seq解析を行った。詳細な解析はこれからだが、各条件での遺伝子発現には違いが確認されている（図2）。本株のゲノム配列および近縁種の脂肪酸関連代謝経路はKEGGに登録されている。これらのデータを利用し、各条件での既知の代謝経路の挙動、また、遺伝子発現ネットワーク解析を行い、長鎖脂肪酸合成の制御機構について検討していく。



図1 ナイルレッドによる油滴染色

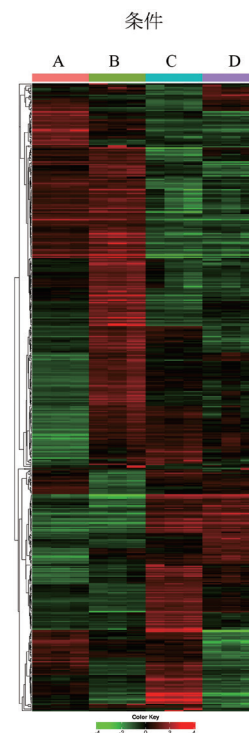


図2 階層的クラスタリング解析

田中 尚人 (生命科学部 分子微生物学科)

松谷峰之介 (生物資源ゲノム解析センター)

## ヒト毛髪に常在する細菌叢の分布の解明

人体の様々な部位に細菌は棲息しており、特に口内や腸内では微生物叢の解析が広く行われている。また、人の皮膚でも表面に棲息する細菌の微生物叢が詳細に解析されており、採取部位によりその構造が異なることが明らかとなっている。

我々は先行研究にて、ヒト毛髪にも一定数の細菌が存在すること、そして安定した細菌叢が存在することを報告している。しかしながら、これまでの研究は主に頭頂部から採取した毛髪に限定されており、採取部位の違いが毛髪細菌叢に及ぼす影響は明らかになっていない。そこで本研究では異なる部位から採取した毛髪試料を対象に16S アンプリコン解析を行い、部位間での細菌叢の分布を比較した。

12名の被験者（#001～#012）を対象に頭頂部（Top）、前頭部（Front）、後頭部（Back）、右（Right）及び左側頭部（Left）の5部位の毛髪を採取し、各部位3サンプルずつ調製後、細菌DNAを抽出した。その後、細菌の16S rRNA 遺伝子のV4領域を用いて細菌叢を解析した。門レベルでは全サンプルで *Pseudomonadota* 門、*Actinomycetota* 門、*Bacillota* 門が主要であり、属レベルでは *Cutibacterium* 属、*Pseudomonas* 属、*Staphylococcus* 属、*Lawsonella* 属の4属がいずれのサンプルにおいても主に存在した。主要細菌4属の占有度を被験者間および採

取部位間で比較した結果、被験者間では有意差があった一方で、採取部位間では有意差がなかった。同様に、shannon 指数による  $\alpha$  多様性においても、被験者間では多様度は優位に異なる一方で、採取部位間では有意差がなかった。

次に、サンプル間での細菌叢の類似度を比較するため、主成分分析法による  $\beta$  多様性解析を行った（図1）。その結果、同一被験者内のプロット間の距離は近い傾向を示したのに対し、同一採取部位内のプロットは距離がばらつく傾向が見られた。さらに  $\beta$  多様性解析に用いた Weighted Unifrac distance 値による有意差検定を行ったところ、同一被験者のサンプルにおいては採取部位が異なっても Unifrac 値が類似し、他被験者よりも有意に小さいことが分かった。

最後に、プロット間の分散に寄与する因子を解析した結果、被験者の違いのみが統計的に有意なカテゴリーであり、採取部位での違いは有意な影響はなかった。以上の結果より、同一被験者内のヒト毛髪細菌叢の分布は採取部位の違いによらず類似することが示唆された。現在はヒト毛髪本体を使用したサンプルだけでなく、スワブ法により採取した毛髪サンプルの細菌叢解析結果も組み合わせ、新規毛髪細菌の採取法の確立を検証している。

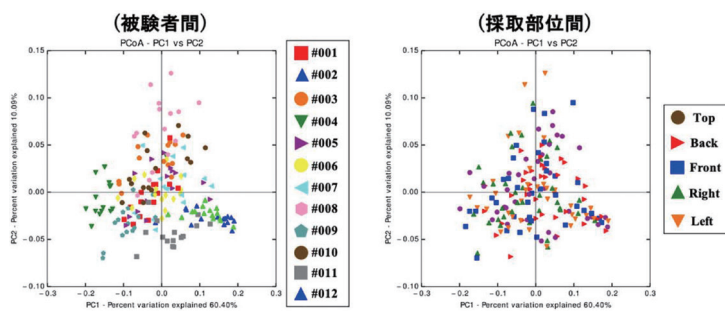


図1 主成分分析法による  $\beta$  多様性解析

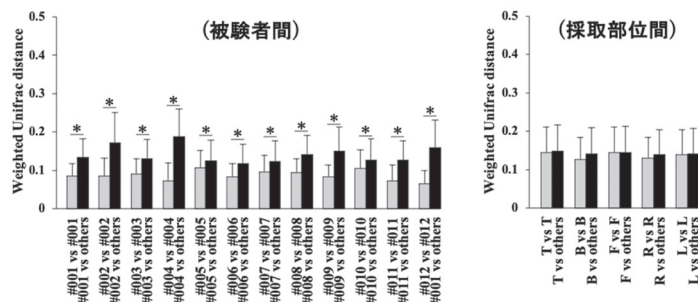


図2 Weighted Unifrac distances 値の比較

## 様々な発酵環境から単離された産業微生物の 大規模ドラフトゲノムシーケンス

酢酸菌が生成するバクテリアセルロースは微細なナノファイバーであり、ナノセルロース素材として化粧品などに利用されている。酢酸菌のBC生成能はゲノム不安定性に起因するセルロース生合成オペロンへの変異により消失し、アミノ酸置換を伴い復帰することを見出している。酢酸菌においては菌膜生成能を有するR (Rough) 株と生成能を失ったS (Smooth) 株が見いだされており、R株で振盪培養を繰り返すと、菌膜形成能を失ったS株が出現し、S株で静置培養を繰り返すと、再び菌膜形成能を有する復帰変異株 (R'株) が現れる (図1)。我々は、この性質を利用し、*Komagataeibacter oboediens* MSKU3株 (R株) から得たS株E3株から静置培養によって、4種のアミノ酸置換を伴うR'株を取得し、親株の数倍のBC生産能や微細繊維のBCを有する株を獲得して報告した (Taweecheep *et al.*, 2019)。

この手法を拡張して、これまでに様々な変異パターンを有する多数のS株を取得することでバクテリアセルロースの増産や物性改変をするうえでリファレンスとなる多数のバクテリアセルロース非生産変異株の育種を試みた。バクテリアセルロース生産が見られなくなった株について、コロニーを単離し、Illumina社のNextSeq 1000シー

ケンサーを用いた全ゲノムリシーケンスを実施した。公開済みのMSKU3R株のゲノム配列 (GenBank assembly acc. no.: GCA\_014905215.1) をリファレンスとしてゲノムマッピング解析をすることで変異箇所を同定した。昨年度までに、40株ほどの非生産変異株を取得するとともにゲノムリシーケンスによりセルロース生合成オペロン内部に生じた変異箇所を同定している。全てのセルロース非生産変異株において、必ずセルロース生合成オペロンを構成する遺伝子のいずれかに変異が見られたため、このオペロンが直接的にセルロース生産の欠失と復帰に寄与することが確認された。これらの菌株は、有用な復帰変異を取得するためのスターターとなるものであり、有用復帰変異の取得が期待される。

現在、YPGD培地を用いて試験管による静置培養を繰り返しながら、セルロース膜生産能が復帰した復帰変異株の取得を進めており、これまでに15株程度の復帰変異株の取得に成功している。今後は、これら復帰変異株の全ゲノムリシーケンスを進めるとともに、それら復帰変異株のセルロース生産量の増産や物性改変などの復帰変異により生じた表現型の変化について考察する。

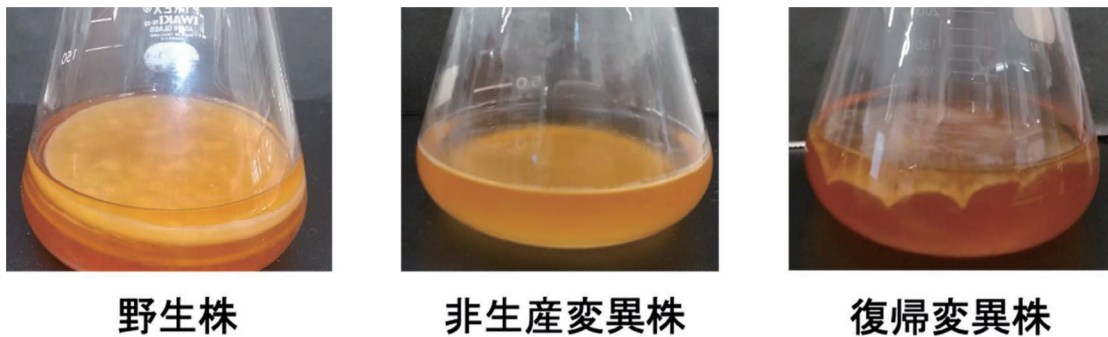
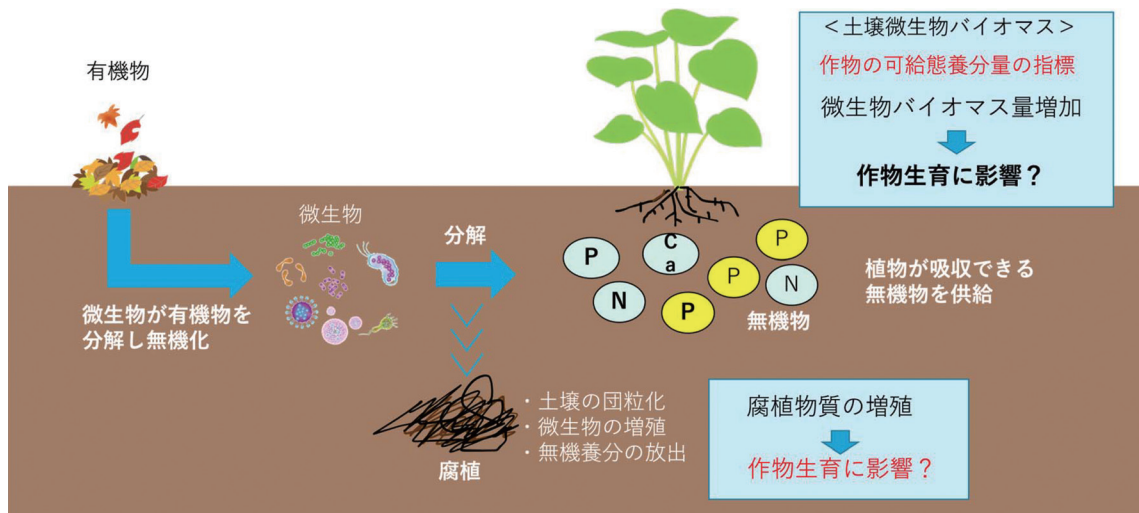


図1 セルロース生産株、非生産株および復帰変異株の比較。左から、野生株、非生産変異株、復帰変異株を表す。

## グルコースとセルロースの施用が土壤微生物バイオマス量と細菌叢の多様性に及ぼす影響

土壤微生物は作物の生育の良否に直接的・間接的に影響を及ぼしていると考えられる。また、土壌中には蓄積リン酸を可溶化するリン酸溶解菌の存在が確認されており、土壤微生物バイオマス量の増加により、蓄積リン酸の可給化が期待されている。本研究では化学構造が既知であるセルロースおよびグルコースを使用し、易分解性炭素源の添加による土壤微生物バイオマス量と細菌叢の多様性について検討し、土壌中の不可給態リン酸の可給性について、ソバを用いて検討した。供試土壌として淡色黒ボク土試料を用いた。供試土壌にセルロースおよびグルコースを  $100\sim 300\text{gm}^{-2}$  施用した区と無施用区（対照区）の計4試験区を設けた。全試験区に  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  と  $\text{KCl}$  を用いて  $\text{N}$  と  $\text{K}_2\text{O}$  をそれぞれ  $3\text{gm}^{-2}$  施用した。収

穫時に土壌試料を採取し、微生物バイオマス量および細菌叢の分析を行った。その結果、セルロースまたはグルコース添加量の増加に伴い、微生物バイオマス量は有意 ( $p<0.05$ ) に増加した。微生物バイオマス量の増加量は、セルロース施用区の方がグルコース施用区よりも高かったが、有意な差は認められなかった。微生物バイオマス量と溶存有機態炭素量の間には正の高い相関がみられた（グルコース施用区  $r=0.973$ ,  $p=0.027$ 、セルロース施用区  $r=0.997$ ,  $p=0.002$ ）。現在は細菌叢の多様性について解析し、易分解性炭素源の添加によって、リン酸溶解能力を有する微生物種が増加しているのかについて検討中である。



## 清酒酵母における各種遺伝子破壊株の網羅的な転写解析

清酒は麹菌が分泌する酵素により酒米のでんぷんを分解した後、生成されたグルコースを清酒酵母が利用し発酵することで醸造される。清酒には清酒酵母によって生成されるエタノールだけでなく様々な成分が含まれるため、香り豊かで味わいある醸造物になる。清酒の風味に影響を与える成分として主に有機酸、アミノ酸、香気成分等があるがこれらの生成量を決定づける最大の要因の一つが発酵を担う清酒酵母である。

清酒酵母は清酒の風味に大きく寄与することから、様々な酵母が単離されたり育種されたりしてきているものの、どのような遺伝子が清酒醸造時の風味に影響を及ぼすかについては解明されていない。特に清酒醸造に適するとされる発酵能に優れた酵母はミトコンドリアの機能が高いことも知られているが、清酒醸造における発酵嫌気条件下で行われるため、本当にミトコンドリアの機能と清酒醸造に関連性があるか不明である。

酵母のミトコンドリア活性の強さを判別する方法として2,3,5-Triphenyltetrazoliumchloride (TTC) 染色試験が用いられてきた(図1)。本染色試験は、TTCが還元されると1,3,5-Triphenylformazan という赤色を呈する物質に変化することを利用し、酵母のミトコンドリアにおける還元力を平板培地で視覚的に判断する試験である。TTC染色性は発酵能とも相関があると考えられており、発酵能に優れた清酒酵母では染色性が高くなる傾向にあることも知られているがこの原因がどこにあるかまた染

色性の違いによってどのような酒質になるか遺伝子レベルでは明らかとされていなかった。

当研究室ではTTC染色性がミトコンドリアの電子伝達系によるものであることを明らかにしてきたことから、清酒酵母において電子伝達系の遺伝子や呼吸に関する遺伝子の発現制御を担う転写因子についての破壊株を取得してきた。TTC染色性が著しく低下するこれらの遺伝子破壊株を用いて清酒醸造を行ったところ、エタノール生成量には変化がないものの清酒に深い味わいを付与するコハク酸や吟醸香を付与するカプロン酸エチル生成量が低下することを見出した。一方、ワイン酵母等他の酵母からは見出されない清酒酵母が特異的に有する遺伝子であるEHL遺伝子についても遺伝子破壊株を取得したところTTC染色性の低下の他、コハク酸やカプロン酸エチル生成量が低下していた(図2)。この様にTTC染色性と清酒の風味に寄与する代表的な成分の生成に相関が見いだされるもののどの様に遺伝子発現パターンが変化した結果これらの性質に変化したのかは明らかになっていない。

本研究では、清酒酵母を親株とした各種破壊株からRNAを抽出し次世代シーケンサーを用いてRNA-seq解析を実施し、親株と比較して各遺伝子破壊株で特異的に変動する遺伝子を抽出し、コハク酸やカプロン酸エチル生成に影響を及ぼす遺伝子の特定を試みている。



清酒酵母 呼吸欠損株

図1 TTC染色試験

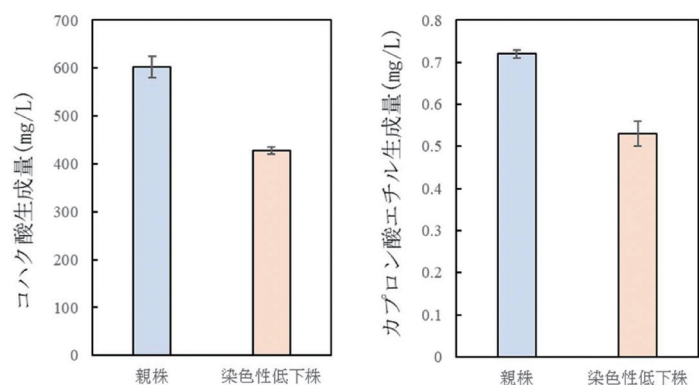


図2 TTC染色性が異なる清酒酵母で醸造した際のコハク酸とカプロン酸エチル生成量



## 研究発表実績

### 論文発表

- Mitsui Y, Yokoyama H, Nakaegawa W, Tanaka K, Komatsu K, Koizuka N, Okuzaki A, Matsumoto T, Takahara M, Tabei Y.  
Epistatic interactions among multiple copies of *FLC* genes with naturally occurring insertions correlate with flowering time variation in radish.  
*AoB Plants*. 15 (2):plac066. (2023)
- Kaltenbrunner A, Reimann V, Hoffmann UA, Aoyagi T, Sakata M, Nimura-Matsune K, Watanabe S, Steglich C, Wilde A, Hess WR.  
Regulation of pSYSA defense plasmid copy number in *Synechocystis* through RNase E and a highly transcribed asRNA.  
*Front Microbiol*. 14:1112307. (2023)
- Sakamaki Y, Maeda K, Nimura-Matsune K, Chibazakura T, Watanabe S.  
Characterization of a cyanobacterial rep protein with broad-host range and its utilization for expression vectors.  
*Front Microbiol*. 14:1111979. (2023)
- Khatun N, Shinozawa A, Takahashi K, Matsuura H, Jahan A, Islam M, Karim M, Sk R, Yoshikawa M, Ishizaki K, Sakata Y, Takezawa D.  
Abscisic acid-mediated sugar responses are essential for vegetative desiccation tolerance in the liverwort *Marchantia polymorpha*.  
*Physiol Plant*. 175 (2):e13898. (2023)
- Nakanishi N, Osuka S, Kono T, Kobayashi H, Ikeda S, Bayasula B, Sonehara R, Murakami M, Yoshita S, Miyake N, Muraoka A, Kasahara Y, Murase T, Nakamura T, Goto M, Iwase A, Kajiyama H.  
Upregulated Ribosomal Pathway Impairs Follicle Development in a Polycystic Ovary Syndrome Mouse Model: Differential Gene Expression Analysis of Oocytes.  
*Reprod Sci*. 30 (4):1306-1315. (2023)
- Lu Y, Nagamori I, Kobayashi H, Kojima-Kita K, Shirane K, Chang HY, Nishimura T, Koyano T, Yu Z, Castañeda JM, Matsuyama M, Kuramochi-Miyagawa S, Matzuk MM, Ikawa M.  
ADAD2 functions in spermiogenesis and piRNA biogenesis in mice.  
*Andrology*. 11 (4):698-709. (2023)
- Wakinaka T, Matsutani M, Watanabe J, Mogi Y, Tokuoka M, Ohnishi A.  
Identification of Capsular Polysaccharide Synthesis Loci Determining Bacteriophage Susceptibility in *Tetragenococcus halophilus*.  
*Microbiol Spectr*. 11 (3):e0038523. (2023)
- Soma A, Kubota A, Tomoe D, Ikeuchi Y, Kawamura F, Arimoto H, Shiwa Y, Kanesaki Y, Nanamiya H, Yoshikawa H, Suzuki T, Sekine Y.  
*yaaJ*, the tRNA-Specific Adenosine Deaminase, Is Dispensable in *Bacillus subtilis*.

- Genes (Basel)*. 14 (8):1515. (2023)
- **Kawasaki S, Ozawa K, Mori T, Yamamoto A, Ito M, Ohkuma M, Sakamoto M, Matsutani M.**  
Symbiosis of Carpenter Bees with Uncharacterized Lactic Acid Bacteria Showing NAD Auxotrophy.  
*Microbiol Spectr*. 11 (4):e0078223. (2023)
  - **Sato T, Hamazaki M, Inoue Y, Aoki S, Koshiishi Y, Shirasuna K, Iwata H.**  
Effect of a low ethanol concentration during in vitro maturation of bovine oocytes and subsequent embryo development.  
*Theriogenology*. 208:158-164. (2023)
  - **Kobayashi Y, Kayamori A, Aoki K, Shiwa Y, Matsutani M, Fujita N, Sugita T, Iwasaki W, Tanaka N, Takashima M.**  
Chromosome-level genome assemblies of *Cutaneotrichosporon* spp. (Trichosporonales, Basidiomycota) reveal imbalanced evolution between nucleotide sequences and chromosome synteny.  
*BMC Genomics*. 24 (1):609. (2023)
  - **Endo N, Tsukimoto R, Isono K, Hosoi A, Yamaguchi R, Tanaka K, Iuchi S, Yotsui I, Sakata Y, Taji T.**  
MOS4-associated complex contributes to proper splicing and suppression of ER stress under long-term heat stress in Arabidopsis.  
*PNAS Nexus*. 2 (11):pgad329. (2023)
  - **Isono K, Nakamura K, Hanada K, Shirai K, Ueki M, Tanaka K, Tsuchimatsu T, Iuchi S, Kobayashi M, Yotsui I, Sakata Y, Taji T.**  
*LHT1/MAC7* contributes to proper alternative splicing under long-term heat stress and mediates variation in the heat tolerance of Arabidopsis.  
*PNAS Nexus*. 2 (11):pgad348. (2023)
  - **Nguyen TT, Bui ATP, Le NTH, Vo HTN, Nguyen AH, Pham TD, Hara T, Yokota K, Matsutani M, Takatsuka Y, Nguyen ATV.**  
Heat-stable spores of carotenoid-producing *Bacillus marisflavi* and non-pigmented *Bacillus subtilis* cooperatively promote growth, quality, and gut microbiota of white-leg shrimp.  
*Beneficial Microbes*. 14 (6):623-640. (2023)
  - **Lertwattanasakul N, Pattanakittivorakul S, Nitiyon S, Matsutani M, Oguchi A, Hirata K, Kosaka T, Limtong S, Yamada M.**  
Mutants with Enhanced Multi-Stress Tolerance of *Kluyveromyces marxianus* and Their Ability for Ethanol Fermentation.  
*Fuels*. 4 (4):469-483. (2023)
  - **Kita K, Unno R, Osada T, Yoshiyama H, Masaki S, Nogimura S, Matsutani M, Ishikawa M, Suzuki T.**  
Relationship between microorganisms and volatile components in each fermentation process in the kusaya gravy that plays an important role in the manufacturing of kusaya, a traditional Japanese fermented fish product.  
*Biosci Biotechnol Biochem*. 88 (1):111-122. (2023)
  - **Shiwa Y, Baba T, Sierra MA, Kim J, Mason CE, Suzuki H.**  
Evaluation of rRNA depletion methods for capturing the RNA virome from environmental surfaces.  
*BMC Res Notes*. Jul 7;16 (1):142. (2023)

- Mori K, Murakoshi Y, Tamura M, Kunitake S, Nishimura K, Ariga H, Tanaka K, Iuchi S, Yotsui I, Sakata Y, Taji T.  
Mutations in nuclear pore complex promote osmotolerance in Arabidopsis by suppressing the nuclear translocation of ACQOS and its osmotically induced immunity.  
*Front. Plant Sci.* 15 (2024)
- Aburada N, Ito J, Inoue Y, Yamamoto T, Hayashi M, Teramoto N, Okada Y, Koshiishi Y, Shirasuna K, Iwata H.  
Effect of paternal aging and vitrification on mitochondrial DNA copy number and telomere length of mouse blastocysts.  
*J Reprod Dev.* Online ahead of print. (2024)
- Ishikawa E, Kanai S, Shinozawa A, Hyakutake M, Sue M.  
Hordeum vulgare CYP76M57 catalyzes C2 shortening of tryptophan side chain by C-N bond rearrangement in gramine biosynthesis.  
*Plant J.* Online ahead of print. (2024)
- Kanamori K, Nishimura K, Horie T, Sato MH, Kajino T, Koyama T, Ariga H, Tanaka K, Yotsui I, Sakata Y, Taji T.  
Golgi apparatus-localized CATION CALCIUM EXCHANGER4 promotes osmotolerance of Arabidopsis.  
*Plant Physiol.* 194 (2):1166-1180. (2024)

## 学会・セミナー等での発表

2023年8月25日

2023年度日本農芸化学会関東支部大会（東京）

坂田実乃里、青柳智大、荷村（松根）かおり、Alena Kaltenbrunner、Wolfgang Hess、渡辺智  
藍藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 の巨大プラスミド pSYSA の複製メカニズム解明とベクターの開  
発

田中基貴、坂巻裕、前田海成、高市真一、梅野大輔、伊藤晋作、渡辺智  
ストリゴラクトン生産強化に向けた新規 D27 の活性評価

大舘和真、前田海成、渡辺智

藍藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 の細胞外硫酸多糖 シネカンの大量生産系の確立

2023年9月4、7-9日

日本植物学会 第87回大会（北海道）

吉田美百合、太治輝昭、坂田洋一、四井いずみ

ヒメツリガネゴケにおけるオーキシンシグナルを介した免疫応答の解析

2023年9月7-8日

放線菌学会第37回大会（広島）

中島菜々海、石井花奈、本間颯太、伊藤晋作、矢嶋俊介、佐々木康幸

放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) M145 株における抗生物質生産活性に与える acetophenone  
の影響

**2023年9月11-13日**

**日本味と匂学会第57回大会（東京）**

吉光良世、竹村孝一、坂口恒介、今井啓雄、岩槻健  
味乳頭間における酸味受容体発現の違い

**2023年9月14-15日**

**NIG-JOINT 研究会（静岡）**

渡辺智  
シアノバクテリアにおける新規 Rep タンパク質の発見と遺伝子工学への応用

**2023年9月18-21日**

**日本畜産学会第131回大会（北海道）**

輿石雄一、大久保 倫子、平山博樹、相馬幸作、和田健太  
大規模 SNP ジェノタイピングによる国内エミュー集団の遺伝的組成

**2023年10月28-30日**

**第67回 TEAC（千葉）**

小野美月、坂巻裕、重成希、千葉櫻拓、下村健司、渡辺智  
シアノバクテリアを用いた光合成による 1,8-シネオールの生産

**2023年11月9日**

**酢酸菌研究会第11回研究集会（東京）**

松谷峰之介、志波優、矢嶋俊介  
東京農業大学・生物資源ゲノム解析センターの活動報告（2023年度）  
松谷峰之介、川嶋牴梧、薬師寿治、松下一信、石川森夫  
酢酸菌の易変異性を利用したセルロース生合成オペロンの改変

**2023年11月20-23日**

**BACELL2023（兵庫）**

Satoru Watanabe, Tomoya Mita, Masataro Hosomura, Yu Kanesaki, Hirofumi Yoshikawa, Mitsuhiro Itaya, and Kei Asai  
Gene expression profile of CyanoBacillus, carrying chimeric genome of Bacillus subtilis and cyanobacterium Synechocystis sp. PCC 6803  
Katsumi Amano, Chihiro Azai, Yuki Takahashi, Mitsuhiro Itaya, Kei Asai, Satoru Watanabe  
Introduction and heterologous expression of heliobacterial photosynthetic gene cluster in Bacillus subtilis

**2023年11月28-30日**

**The 36th JSME and The 13th ASME（静岡）**

駒形遥、坂巻裕、内田小百合、浦井誠、兼崎友、朝井計、渡辺智  
スピルリナ強光培養後に出現するアルカリバチルスの出現メカニズム解析  
坂田実乃里、青柳智大、荷村（松根）かおり、Alena Kaltenbrunner、Wolfgang Hess、渡辺智  
シアノバクテリアのプラスミド複製メカニズムと CyRepA1 タンパク質の保存性に関する研究

## 2023年12月6-8日

### 第46回日本分子生物学会年会（兵庫）

大館和真、坂田みのり、前田海成、坂巻裕、荷村（松根）かおり、大林龍胆、渡辺智

シアノバクテリアの巨大プラスミド DNA 複製に関わる新規 Rep タンパク質の同定と発現ベクター系への利用

大串航世、末崎裕寛、荷村（松根）かおり、大林龍胆、渡辺智

藍藻における DNA ヘリカーゼ DnaB とヘリカーゼローダー DciA の相互作用解析

嘉数健太、町田颯太郎、渡辺智

シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 における RNA 結合タンパク質 Rbp の機能解析

高橋諒、高橋剛、佐藤正宏、大塚正人、和田健太

Fgf5go-malc1 マウスの長毛表現型における変異型 FGF5 の効果

志波優、松浦俊一、鈴木治夫、馬場知哉

メソポーラスシリカ固定化 DNA 増幅酵素を用いて調製した環境表面 RNA ライブラリーの評価

## 2023年12月11日

### 高崎研オープンセミナー（群馬）

太治輝昭

植物の高温に対するレジリエンス機構の解明

## 2023年12月14-16日

### 第97回日本薬理学会年会（神戸）

浜田七海、三浦大樹、中澤敬信、福島穂高

Understanding the mechanism of memory impairment in POGZ-Q1038R mutant mice

岡田大樹、瀧ヶ平亜莉沙、河野翔太郎、福島穂高、三浦大樹、竹本龍也、中澤敬信

Phenotypic Analysis of ASD-related POGZ-Y594C Mutant Mice

橋本一真、三浦大樹、福島穂高、竹本龍也、中澤敬信

Functional analysis of CHAMP1, a gene product associated with intellectual disability, in circadian rhythms

鮎澤有希子、河野翔太郎、大友愛佳、片山沙香、濱田萌々子、福島穂高、三浦大樹、橋本均、橋本亮太、中澤敬信

English title: Functional Analysis of the Autism Spectrum Disorder-Associated Gene Product, POGZ Using Patient-Derived iPS Neurons

小川丈瑠、福島穂高、三浦大樹、中澤敬信

Functional analysis of CHAMP1, a gene related to intellectual disability

## 2024年3月17-19日

### 第65回日本植物生理学会年会（神戸）

吉田美百合、太治輝昭、坂田洋一、四井いずみ

The role of auxin signaling in immune responses of the moss *Physcomitrium patens*

Rahul Sk, Akihisa Shinozawa, Marcos Takeshi Miyabe, Daisuke Takezawa, Shunsuke Yajima, Izumi Yotsui, Teruaki Taji, Yoichi Sakata

Evolution of molecular desiccation gene for osmostress signaling using non-HK5 mutation lines by NGS in the *Physcomitrium patens*

## 2024年3月24-27日

### 日本農芸化学学会 2024 年度大会（東京）

中島菜々海、石井花奈、本間颯太、伊藤晋作、矢嶋俊介、佐々木康幸

放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3 (2) の抗生物質生産に及ぼす acetophenone の影響

田村倫子、樗澤怜、輿石雄一、清水達也、五十君静信

培養肉生産に用いる資源と市販肉とのトランスクリプトーム解析

## マスメディア

### 2023年3月

渡辺智

シアノバクテリアの広宿主ベクターに関する研究が紹介されました。

OPTRONICS ONLINE: <https://optronics-media.com/news/20230330/80757/>

## その他

### 2023年8月

坂巻裕、前田海成、荷村（松根）かおり、千葉櫻拓、渡辺智

日本農芸化学学会 2023 年度大会 トピックス賞を受賞しました。

「シアノバクテリアにおける自律複製領域の探索とそれを利用した高発現ベクターの構築」











2024年3月発行

### 生物資源ゲノム解析拠点ニュースレター No.11

学校法人東京農業大学 生物資源ゲノム解析拠点

〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1

TEL : 03-5477-2719 FAX : 03-5477-2377

E-mail : kyoten-g@nodai.ac.jp URL : <http://www.nodai-genome.org>

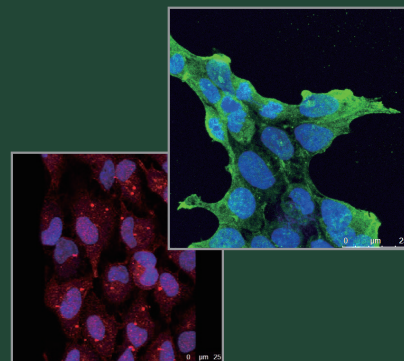
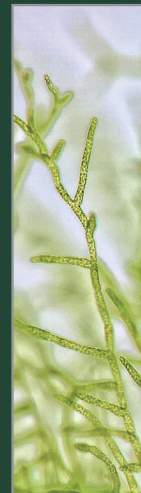
### NGRC ニュース No.15

学校法人東京農業大学 生物資源ゲノム解析センター

〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1

TEL : 03-5477-2769 FAX : 03-5477-2377

E-mail : nodaigc@nodai.ac.jp URL : <http://www.nodai-genome.org>



#### 表紙の説明

左上からヒメツリガネゴケ、国産チーズからの微生物の分離培養、社会的コミュニケーションの機会が制限された環境で育ったマウス、先天性白内障を発症するマウス、HEK-293-T 細胞 (pCMV\_GFP- 一過発現細胞)、HeLa 細胞 (pCMV\_GFP- 一過発現細胞)、成鳥エミュー、センチウウ、エミュー孵化後0日