



グリーンサイエンス
カフェ2023(後半)

「ICGST2023、グ
リーン科学技術に関
する国際会議開催」
報告

学術活動、国際交流

受賞、出版物

研究業績トピック

- 報道
- 科研費
- 外部資金
- 特許

特集1 : シルクロードからバイオロードへ

生物分子機能研究コア 教授 朴龍洙 P.2

特集2 : トマトのリポカリンタンパク質の機能解析

フィールドインフォマティクス研究コア 教授 本橋 令子 P.5

特集3 : 温泉メタンと微生物群集を用いた分散型 エネルギー生産

新エネルギー研究コア 教授 木村 浩之 P.8



図: 特集1, シルクロード
からバイオロードへ。



グリーン科学技術研究所
Research Institute of Green Science and Technology

©静岡大学グリーン科学技術研究所



シルクロードからバイオロードへ

生物分子機能研究コア 教授 朴 龍洙

カイコは人類と歴史をともにし、巨大な産業、養蚕業を創成しました。我が国での生糸の生産は明治、大正、昭和の初め頃まで盛んになり、全輸出の40%を占める程の基幹産業として成長し、我が国の近代化に多大な貢献をしました。昭和の中期頃から、人工繊維の台頭に伴い、徐々に生糸の需要が減り、行き場失った養蚕業は次第に歴史の表舞台から去って行きました。現在は博物館に展示されている展示品からその偉業の面影を見ることができます。養蚕業を作ったカイコは、生体の中で極微量しか存在しないタンパク質を大量に合成する能力を持っています。さらに細胞培養と違ってバイオリクターも、制御用計装装置も、温度やpH、溶存酸素の供給も必要ありません。また高価な培地ではなく桑の葉のみでタンパク質の生産が可能な素晴らしい発現系です。そのタンパク質は新たなバイオ産業やバイオ医薬への道を拓いています。

1. カイコバイオテクノロジーの黎明期

19世紀中頃、カイコの病気がヨーロッパからアフリカやインドにまで広がり、養蚕業が全滅しました。その頃、我が国は、鎖国下であったため病気から免れ、産業として成長していきました。一方、大陸ではカイコの伝染病が広がり、生糸の生産が中止されたため大陸から蚕商人がカイコの卵を求めて密入国してきました。カイコの卵は、常温では孵化しやすいため、わざと寒いシベリア地方を回ってヨーロッパに戻り、カイコ卵を売りさばいたそうです。病気の原因を突き止めるために当時フランスの若い生物学者ルイ・パスルールは、顕微鏡を使ってガの卵を観察したところ、病気のガが生んだ卵には必ず小さな微粒子状のものがたくさん存在していることを確認しました。1950年代に入り、バキュロウイルスがこの微粒子の正体であり、このウイルスの感染によってカイコに感染症が引き起こされたことを突き止めました。

そこで、カイコに感染するバキュロウイルスの能力を逆に利用し、バキュロウイルスを有用な遺伝子をカイコ細胞に運ぶ遺伝子運び屋として使えることを証明したのが、前田進博士でした。前田博士は、インターフェロン遺伝子をカイコに導入し、カイコの体内でインターフェロンの発現に成功しました¹⁾。これがカイコバイオテクノロジー時代を拓く切っ掛けとなりました。

2. カイコバイオテクノロジーの開発期

前田博士が開発したカイコへの遺伝子導入方法は、バキュロウイルスの感染性を利用したものでした。発現したい目的遺伝子をバキュロウイルスのゲノムに組換えてから、組換えバキュロウイルスを純粋培養し大量に増やす必要があります。このために、カイコ細胞を使う必要があり、長い作業時間と労力が費やされました。これが、カイコのバイオ利用を妨げる要因の一つになり、微生物発現系のような広がりはありませんでした。

そこで、当研究室ではバキュロウイルスを利用しなくても発現したい遺伝子をカイコの細胞に導入できる新規カイコ遺伝子発現系を開発しました。カイコに感染する機能と大腸菌でも遺伝子複製が可能な機能を持ち合わせ、さらに大腸菌のような遺伝子組換えスクリーニングが可能な新規カイコ用バクミドの作製に成功し、カイコで数ヶ月かかる遺伝子発現を数週間に短縮できる革新的な遺伝子導入方法を世界で初めて開発しました²⁾。

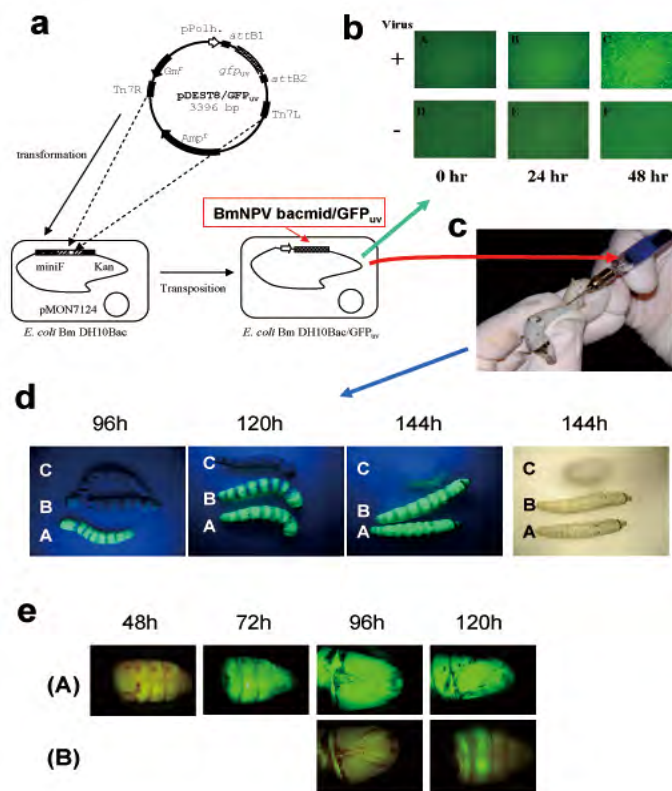


図1. カイコ用バクミドによる緑色蛍光タンパク質(GFP)の発現例。(a) GFP遺伝子のバクミドへの組み込み、(b)バクミドをカイコ細部への形質導入、(c)大腸菌からバクミドを抽出してカイコへの注射、(d)カイコでのGFP発現様子(AとBはバクミド注射済、Cはコントロール)、(e)カイコサナギでのGFP発現様子。

3. カイコで発現したタンパク質発現の生化学的解析

真核細胞由来のタンパク質は、糖鎖の付加、リン酸化及びジスルフィド結合などの様々な翻訳後修飾を受け、生物学的な機能を有します。今までカイコで発現したタンパク質の翻訳後修飾を詳しく調べた研究例が多くありませんでした。糖鎖の修飾の場合、カイコで発現した組換えタンパク質のN型糖鎖構造を解析した結果、昆虫細胞に見られるパウシマンノース型糖鎖の割合が43.4%、ヒトの糖鎖の特徴であるガラクトースやN-アセチルグルコサミンが付加された複合型糖鎖が16.2~21.3%であることから、カイコで発現したタンパク質の糖鎖の付加は不完全であることが示されました。タンパク質の機能制御に重要な働きをになうリン酸化について調べた結果、所定のアミノ酸残基にリン酸化の修飾が確認でき、リン酸化—脱リン酸化により酵素の活性が制御されることを明らかにしました³⁾。また、カイコで発現したインシュリン様ペプチドをLC-MS/MS解析の結果、ドメイン間に二箇所、ドメインの内側に一箇所のジスルフィド結合を形成していることを証明しました⁴⁾。これらの結果によりカイコで発現したタンパク質は、糖鎖の修飾以外ではありますが、哺乳動物細胞と同等の翻訳後修飾を受けることが明らかになりました。

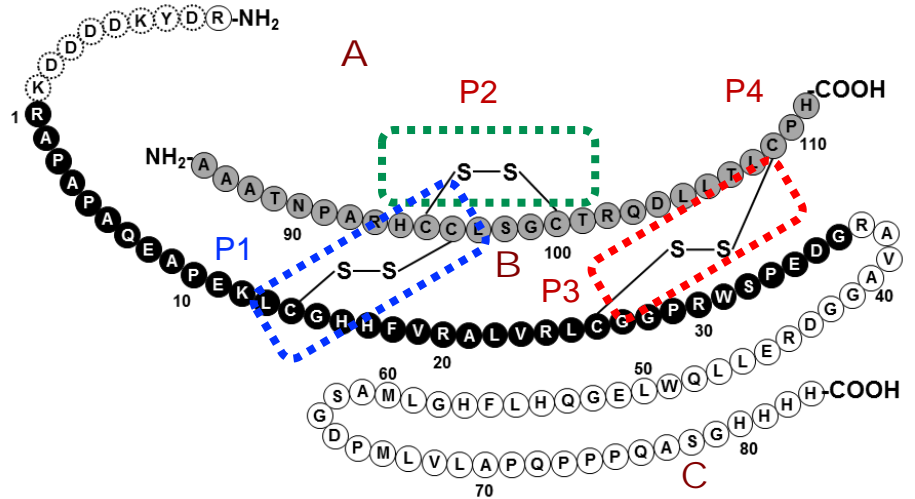


図2. カイコで発現したInsulin-like peptide 3 (INSL3)のジスルフィドの構造解析。ドメインA内側に一つ、ドメインBとC鎖の間に2つのジスルフィド結合を形成した。P1~P4はジスルフィド結合部位を示す。

4. ウイルス様粒子 (Virus-like particle, VLP) の発現、表面修飾、ワクチンへの利用

VLPは、ウイルスの皮膜タンパク質や遺伝子を包んでいるカプシドタンパク質や構造タンパク質が自己組織化して形成されるナノサイズの粒子であり、感染の恐れがなく、免疫を誘導できるのでワクチンの候補として注目されています。既に抗体産生能の高い2種類の抗原をRous sarcomaウイルスのVLPの表面に提示した高免疫応答型2価VLPを開発し、ネオスポラ症に対するワクチン効果を確認しました⁵⁾。さらに、皮膜を持たないノンエンベロープVLPをカイコで作製し、特定抗原のみをノロウイルス様粒子 (No-VLP) 表面提示する方法の開発に成功しました。

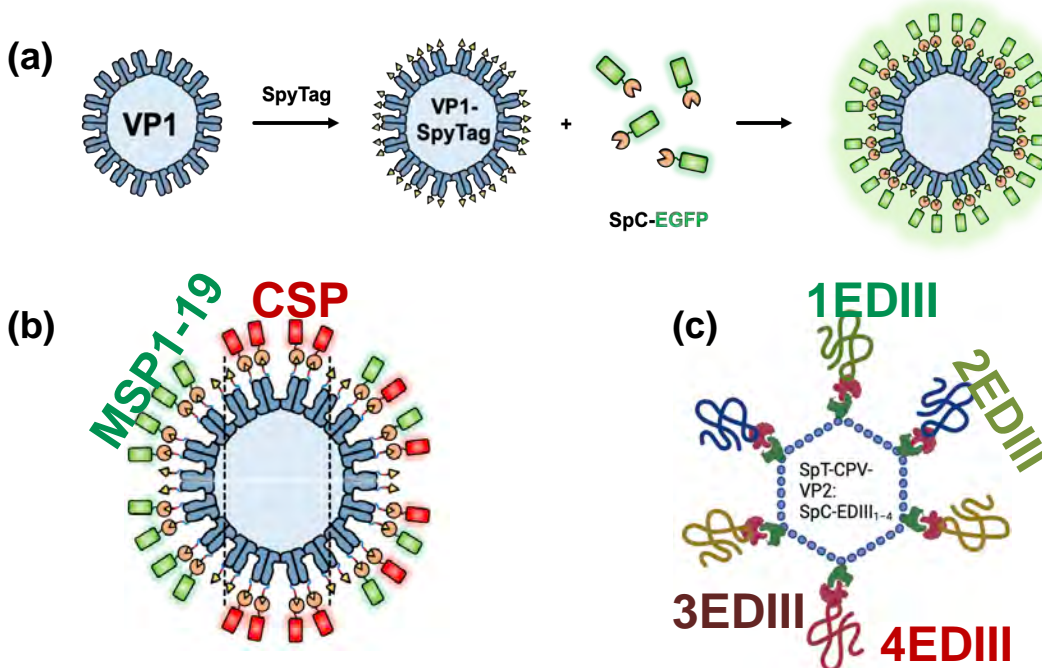


図3. 抗原提示VLPの作製。(a) ノロウイルス様粒子 (NoV-LP) の形成するVP1とSpyCatcher (SpC) を融合したVLPに、GFP-SpyTag (SpT) 融合タンパク質をイソペプチド結合 (SpTとSpCのリジンとアスパラギン酸の間で形成される結合) で行ったVLPの表面提示。(b) NoV-LPの表面にマラリア抗原CSPとMSP1-19を提示したイラスト、(c) イヌパルボウイルス様粒子の表面にデングウイルスの4つの血清型EDIII領域を提示したイラスト。

また、ホワイトスポットシンドロームウイルスの感染によるクルマエビの感染症(WSD)に対する予防用ペプチドワクチンを世界で初めて開発しました。WSDワクチンを発現したカイコサナギをエビの飼料に混合し経口投与した結果、WSDを90%以上予防しました⁶⁾。この結果は、サナギは、ワクチンキャリアとして有効であることはもちろん、機能的な成分も合わせ栄養的にも有効であることが示され、動物ワクチンへの応用も期待されます。

5. シルクロードからバイオロードへ

上記のようにカイコをタンパク質生産用宿主とする基盤を作り、様々なタンパク質をmgレベルで発現し、カイコの優れた機能を証明してきました。本研究で得られた成果を基に、カイコバイオフィクトリー(カイコタンパク質生産工場)をエコで持続可能な先端バイオ産業としての発展を目指し、我が国から新たなカイコの道「バイオロード」が4大陸に繋がることを願っています。



図4. シルクロードからバイオロードへ。

引用文献

- 1) Maeda, S. et al. (1985) Production of human α -interferon in silkworm using a baculovirus vector. *Nature* 315, 592-594.
- 2) Motohashi, T. et al. (2005) Efficient large-scale protein production of larvae and pupae of silkworm nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) bacmid system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 326 (1): 564-569.
- 3) Hwang, I-W. et al. (2014) Human acetyl-CoA carboxylase 2 expressed in silkworm *Bombyx mori* exhibits post-translational biotinylation and phosphorylation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98(19): 8201-8209.
- 4) Miyazaki, T. et al. (2017) Insulin-like peptide 3 expressed in the silkworm possesses intrinsic disulfide bonds and full biological activity. *Sci. Rep.* 7: 17339.
- 5) Boonyakida, J. et al. (2023) Improvement of Modular Protein Display Efficiency in SpyTag-Implemented Norovirus-like Particles, *Biomacromolecules* 24(1), 308-318.
- 6) Boonyakida, J. et al. (2022) Immunostimulation of shrimp through oral administration of silkworm pupae expressing VP15 against WSSV. *Fish Shellfish Immunol.* 128: 157-168.

謝辞

本研究は、1999年から2024年3月まで約25年間静岡大学にて行った研究です。ご協力頂きました多くの卒業生、研究員、及び研究室の同僚教員には深く感謝申し上げます。また、財政的な支援を賜った日本学術振興会や複数の民間財団にも感謝いたします。

トマトのリポカリンタンパク質の機能解析

フィールドインフォマティクス研究コア 教授 本橋 令子

トマト果実は成熟に合わせて果実細胞にあるクロロプラスト内の内膜構造であるグラナラメラ構造が分解すると同時に、チラコイド膜に内包されているアンテナタンパク質のクロロフィルも分解され、クロモプラストへと分化し、そこでリコペン等のカロテノイドを合成、蓄積することで果実色が赤色に変化する(*Li et al.*, 2013)。私たちの研究室では 実験用ミニトマト ‘Micro-Tom’ (*Solanum lycopersicum*)に加え、果実が一回り大きく、楕円形の白色トマトである ‘White beauty’ と果実のショルダー部分は緑色と赤色が混ざった、黒に近い色を呈する ‘Black tomato’ を研究に使用している(図1)。

各トマト果実からカロテノイドの含有量の測定を行った結果、 ‘White beauty’ の成熟果実ではカロテノイドの蓄積が確認されず、フラボノイドの一つであるナリングニンカルコンが蓄積されており、 ‘Black tomato’ を研究に使用している(図1)。



各トマト果実からカロテノイドの含有量の測定を行った結果、 ‘White beauty’ の成熟果実ではカロテノイドの蓄積が確認されず、フラボノイドの一つであるナリングニンカルコンが蓄積されており、 ‘Black tomato’ の成熟果実のカロテノイド含有量は ‘Micro-Tom’ の成熟果実と比較して半分程度であった(*Suzuki et al.*, 2015)。

各果実から透過型電子顕微鏡を用いて果実細胞内のプラスチドの観察を行った結果、 ‘Micro-Tom’ では開花30日後のMature Green期において葉緑体のグラナラメラ構造が観察された。開花32~35日後のYellow期、Orange期ではグラナラメラ構造が分解され、結晶構造や高分子密度の膜構造が見られた。開花45日後のRed期では渦巻き状の膜構造が観察された。 ‘Black tomato’ の成熟果実では ‘Micro-Tom’ のYellow期に見られるような小さなチラコイドが観察され、 ‘White beauty’ の成熟個体では、 ‘Micro-Tom’ のMature Green期のプラスチドに似た構造が確認され、トマト果実のプラスチド構造には品種間で明確な違いが見られた。

プラスチド分化と果実色及び成熟の関係性を明らかにするために、果実のプラスチドタンパク質のプロテオーム解析をおこなった(*Suzuki et al.*, 2015)。異なる果実色のトマトからNycodenz密度勾配遠心法によりプラスチドを単離し、単離プラスチドからプラスチドタンパク質を抽出し、2次元電気泳動のより分離した結果、TIL(Temperature-induced Lipocalin)タンパク質の発現量やサイズ、等電点が異なって

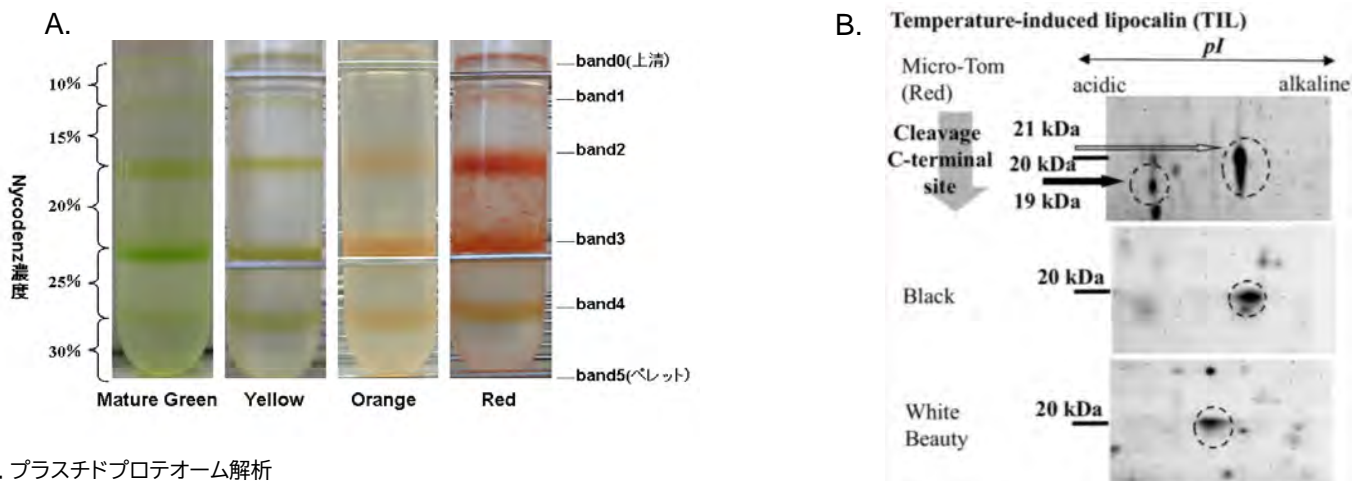


図2. プラスチドプロテオーム解析
A. Nycodenz密度勾配遠心分離によるMicro-Tom果実のプラスチド単離
B. プラスチドタンパク質の2次元電気泳動

いた(Suzuki *et al.*, 2015)(図2)。また、‘White beauty’と‘Black tomato’において、果実のプラスチックタンパク質を比較したところ、カロテノイド蓄積関連タンパク質であるCHRC(Chromoplast-specific Carotenoid-associated)とPAP(Plastid lipid-Associated Proteins)/Fibrillinファミリーのタンパク質に類似した配列を持つHarpin binding protein 1のタンパク質量が‘Micro-Tom’に比べて少ないことが確認された。これらのタンパク質は疎水性分子の輸送など、リポカリンタンパク質と同様な特性と機能を持っている(Suzuki *et al.*, 2015)。

リポカリン(Lipocalin)は細菌、動物、植物に広く見られ、疎水性小分子を結合することができるタンパク質ファミリーである。リポカリンの結晶構造は高度に保存されており、内部のリガンド結合部位を囲む、8本鎖の逆平行 β シートが水素結合した β バレルを含んでいる(Flower, 1996)。大腸菌のリポカリンBlcは、飢餓や高浸透圧などの細胞ストレス応答に関与していることが示唆され、分子内ジスルフィド結合を持たないことが他のリポカリンタンパク質と異なる点である。Blcは膜の生合成や修復を担っており、他にも抗生物質耐性遺伝子の伝播や免疫の活性化に関与していることが示唆されている(Bishop, 2000)。最近のゲノム解読の結果から、少なくとも20種類の細菌性リポカリンが存在することが明らかになった。動物のリポカリンは免疫や発達過程調節に重要な役割を果たしており、様々なストレスへの応答やシグナル伝達経路に関与している。ヒトではアポリポタンパク質D(APOD)が1963年にヒト血漿リポタンパク質の成分として最初に検出された糖タンパク質である。APODは酸化ストレスや炎症ストレス、UVなど、いくつかのストレス条件で発現誘導される(Do Carmo *et al.*, 2007)。また、APODの発現は細胞増殖誘導物質であるエストロゲンによって阻害され、細胞増殖阻害剤であるアンドロゲンによって誘導されることが示された。

昆虫のリポカリンであるグリアラザリロはキイロショウジョウバエで酸化ストレスに対して保護的な役割を果たしていた(Sanchez *et al.*, 2006)。

植物におけるリポカリンは温度誘導リポカリン(TIL)と葉緑体リポカリン(CHL)に分類された(Charron *et al.*, 2005)。アミノ酸配列や構造、系統分析によりTILとCHLは進化的に関連する3つのリポカリン、細菌のBlc、哺乳類のアポリポタンパク質D、昆虫のラザリロと相同性を持つことが明らかになっている。シロイヌナズナの*AtTIL*では高温、低温ストレス条件下においてその発現が増加し、*AtTIL*をノックアウトさせた個体においては熱ストレス耐性に影響を与えると考えられている。また、*AtCHL*は葉緑体のチラコイド内腔に局在しており、パラコート処理や乾燥によって誘発される酸化ストレスに対する耐性を高める(Levesque-Tremblay *et al.*, 2009)。そこで、トマトにおけるリポカリンの機能解析を行なった(Wahyudi *et al.*, 2018, 2020)。トマトにはTIL1とTIL2の2コピー存在し、TIL1とTIL2のアミノ酸配列相同性は約84%と高かった(Wahyudi *et al.*, 2018)。また、各リポカリンタンパク質遺伝子の上流1000bpのプロモーター領域のシスエレメント解析を行なった結果、温度ストレスや乾燥ストレスなどの非生物的ストレスに応答するシスエレメントが確認され、発現解析の結果、*TIL 1*は低温、塩、活性酸素ストレスにおいて発現量が増加した。一方、*TIL2*や*CHL*では塩ストレスにおいて遺伝子の発現量が増加したが、温度ストレス、パラコートストレスでは発現量が減少した。また、*SICHL*では果実の成熟に伴い、遺伝子発現が減少し、葉緑体に局在していることが観察された(Wahyudi *et al.*, 2018)。

次に、トマトの*TIL 1*、*TIL2*、*CHL*それぞれの遺伝子において、過剰発現体と発現抑制体を作製した結果、野生型と比較して過剰発現体では早期開花、花や花序、果実の増加や花柄、果実の巨大化の表現型が見られた(図3)。発現抑制体では、過剰発現体と対照的に開花や果実成熟の遅れ、果実数の減少、葉の早期老化といった表現型が確認された(図4)。また、活性酸素種を分解する酵素であるSOD遺伝子の発現量も、*SITILs*や*SICHL*の過剰発現体では野生型と比べて発現量が増加し、発現抑制体では減少した(Wahyudi *et al.*, 2020)。

現在はリポカリンタンパク質の植物ホルモン応答を観察しながら、プラスチック分化との関係の解明を試みている。

図3. *TIL1*, *TIL2*, *CHL*遺伝子の過剰発現体の表現型通常の光条件で栽培した野生型と過剰発現体、BとF. 葉、CとG. 蕾と花卉、DとH. 未熟果実、E. 弱光条件で栽培した野生型と過剰発現体

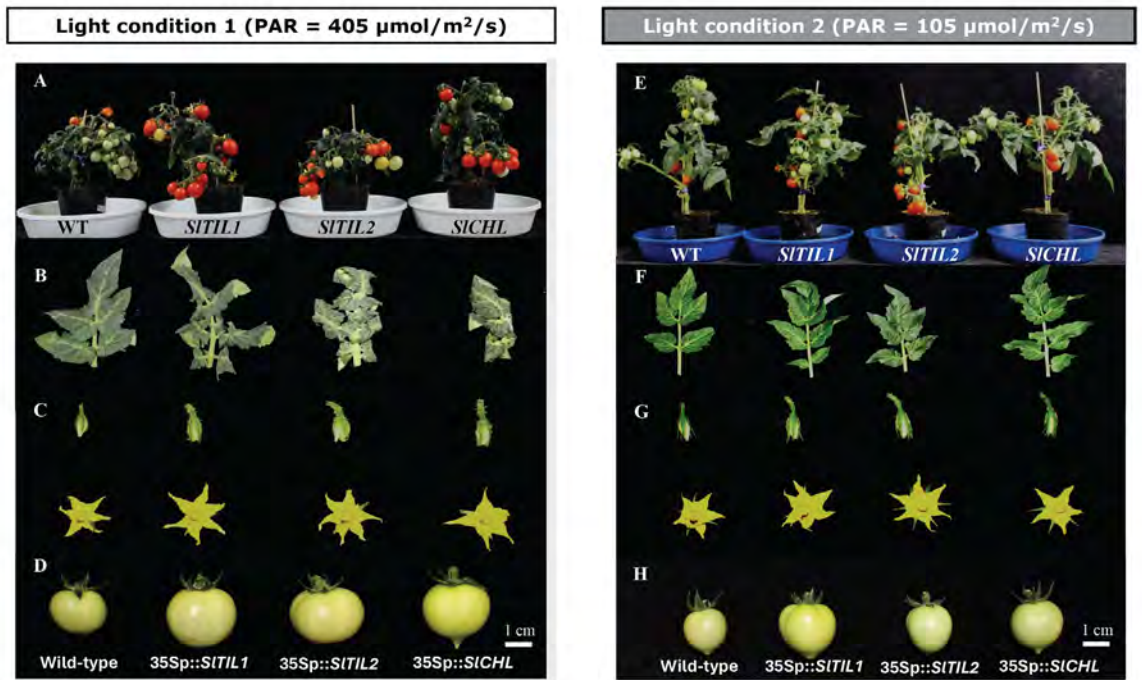
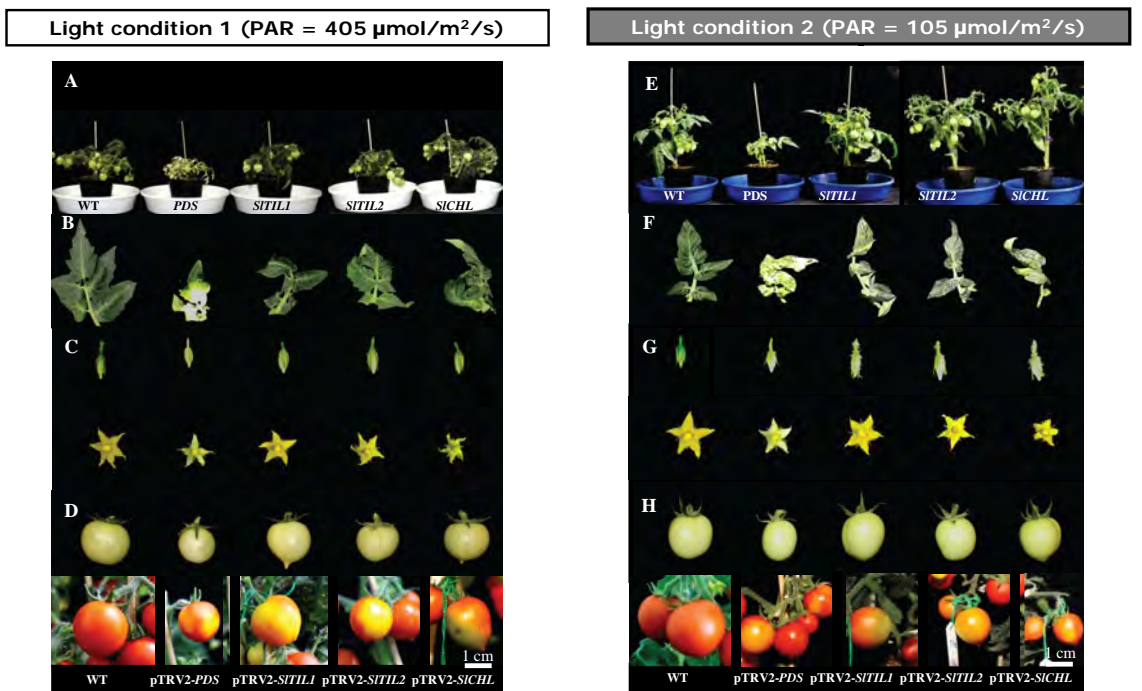


図4. *TIL1*, *TIL2*, *CHL*遺伝子の発現抑制体の表現型通常の光条件で栽培した野生型と発現抑制体、BとF. 葉、CとG. 蕾と花卉、DとH. 未熟果実と成熟果実(果実にVIGS接種)、E. 弱光条件で栽培した野生型と発現抑制体



引用文献

- Bishop, R. E. (2000). *The bacterial lipocalins*. B.B.A. 1482:73-83.
- Charron, J. B. F., Ouellet, F., Pelletier, M., Danyluk, J., Chauve, C., Sarhan, F. (2005). Identification, expression, and evolutionary analyses of plant lipocalins. *Plant Physiology*, 139(4), 2017-2028.
- Do Carmo, S., Levros, L. C., Rassart, E. (2007). Modulation of apolipoprotein D expression and translocation under specific stress conditions. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1773(6), 954-969.
- Flower, D. R. (1996). The lipocalin protein family: Structure and function. *Biochemical Journal*, 318(1), 1-14.
- Levesque-Tremblay, G., Havaux, M., Ouellet, F. (2009). The chloroplastic lipocalin AtCHL prevents lipid peroxidation and protects Arabidopsis against oxidative stress. *Plant Journal*, 60(4), 691-702.
- Sanchez, D., López-Arias, B., Torroja, L., Canal, I., Wang, X., Bastiani, M. J., Ganfornina, M. D. (2006). Loss of Glial Lazarillo, a Homolog of Apolipoprotein D, Reduces Lifespan and Stress Resistance in *Drosophila*. *Current Biology*, 16(7), 680-686.
- Suzuki, M., Takahashi, S., Kondo, T., Dohra, H., Ito, Y., Kiriwa, Y., Hayashi, M., Kamiya, S., Kato, M., Fujiwara, M., Fukao, Y., Kobayashi, M., Nagata, N., Motohashi, R. (2015). Plastid proteomic analysis in tomato fruit development. *PLoS ONE*, 10(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137266>
- Wahyudi, A., Ariyani, D., Ma, G., Inaba, R., Fukasawa, C., Nakano, R., Motohashi, R. (2018). Functional analyses of lipocalin proteins in tomato. *Plant Biotechnology*, 35(4), 303-312.
- Wahyudi, A., Fukasawa, C., Motohashi, R. (2020). Function of SITILs and SiCHL under heat and oxidative stresses in tomato. *Plant Biotechnology*, 37(3), 335-341.

温泉メタンと微生物群集を用いた分散型エネルギー生産

新エネルギー研究コア 教授 木村 浩之

はじめに

2020年10月、日本政府は2050年までにカーボンニュートラルを達成することを宣言しました。カーボンニュートラルとは、二酸化炭素(CO₂)等の温室効果ガスの排出量からCO₂の吸収量及び回収量を差し引くことで、温室効果ガスの排出量を実質ゼロにすることです。カーボンニュートラルを実現するためには、未利用エネルギーを有効活用することが非常に重要です。また、CO₂の排出量を削減することに加えて、CO₂を吸収・回収・資源化する技術の開発も必要不可欠です。

現在、CO₂を回収して、そこからメタン(CH₄)を始めとする様々な炭素化合物を合成する技術に注目が集まっています。中でも、水素ガス(H₂)とCO₂からCH₄を合成するメタネーション($4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$)については、多くの研究プロジェクトが進められています。メタネーションは、ニッケル系またはルテニウム系の触媒を用いた化学メタネーションと水素資化性メタン生成菌を用いた微生物メタネーションがあります。化学メタネーションは、1902年にフランスの化学者ポール・サバティエが発見した反応であり、熱化学的にメタンを製造する方法です。反応は、250～500℃の高温で10～40気圧の高圧条件下で進むため、頑丈な反応槽が必要となります。また、高価な希少金属を含む触媒が必要です。さらに、硫化水素などの硫化物や空気が反応槽に混入することにより、触媒が劣化し、CH₄生成速度が著しく低下することもあります。

一方、微生物メタネーションは、原核生物のアーキアに属する水素資化性メタン生成菌のエネルギー代謝を利用した反応です。水素資化性メタン生成菌は20～80℃、且つ、常圧環境にてCH₄を生成することができます。よって、メタン生成菌を培養するための培養槽(バイオリクター)を安価に製造することが可能です。さらに、バイオリクターに硫化水素などの硫化物が混入しても、水素資化性メタン生成菌の増殖速度やCH₄生成速度が低下することはありません。加えて、微生物メタネーションに利用される水素資化性メタン生成菌は、海底堆積物や下水汚泥、温泉、水田土壌といった環境サンプルから入手することができます。しかしながら、化学的メタネーションと比較して、微生物メタネーションはCH₄生成リアクターの大型化やCH₄生成の高速化が進んでいません。

西南日本の太平洋側の地域には白亜紀から古第三紀に形成された四万十帯とよばれる付加体が分布しています。付加体は、海洋プレートが沈み込む際に海洋プレートの上部に堆積している海底堆積物が大陸プレートの側面に付加することによって形成された深さ10 km以上にもなる厚い堆積層です。付加体の堆積層は海底堆積物に由来することから、有機物を豊富に含んでいます。また、付加体の堆積層は砂岩からなる砂層と泥岩からなる泥層によって構成されており、砂層部には天水や海水を起源とする地下水が大量に貯えられています。静岡県中西部の四万十帯が分布する地域に構築された深度500～2,000 mの大深度掘削井からは、付加体の深部帯水層に蓄えられ、地熱によって温められた嫌気性の地下水(非火山性温泉)が揚水されています。さらに、これらの大深度掘削井では温泉とともに湧出する温泉付随ガス(主に、CH₄)を観察することもできます。

我々は、静岡県中西部の大深度掘削井を介して非火山性温泉及び温泉付随ガスを採取し、温泉水に含まれる微生物群集の嫌気培養及び遺伝子解析を進めてきました(図1)。その結果、温泉水に含まれる微生物群集には水素発生型発酵細菌及び水素資化性メタン生成菌が優占していること、堆積層に含まれる有機物が水素発生型発酵細菌によって分解され、H₂とCO₂が生成されること、水素資化性メタン生成菌によってH₂とCO₂からCH₄が生成されることを見出しました(1-4)。



図1. 非火山性温泉と温泉付随ガス

また、これらの微生物群集は宮崎県南東部及び沖縄本島の付加体の深部帯水層に由来する非火山性温泉からも同定されており、水素発生型発酵細菌と水素資化性メタン生成菌の共生によるCH₄生成が西南日本の深部帯水層で広く見られることを明らかにしました(5,6)。

現在、静岡県中西部および沖縄本島において、温泉付随ガス(温泉メタン)を活用した分散型エネルギー生産システムの創成を進めています。また、付加体の深部帯水層に由来する非火山性温泉を採取し、そこに含まれる水素資化性メタン生成菌を用いて、H₂とCO₂からCH₄を生成する微生物メタネーションシステムの開発にも取り組んでいます。

温泉メタンを用いた分散型エネルギー生産システムの社会実装

島田市(静岡)および企業と連携して、静岡県島田市の川根温泉にて温泉メタンガス発電施設を構築しました。本施設は、メタンを湧出する温泉用掘削井とガスセパレーター、ガスホルダー、ガスエンジン発電機(コージェネレーション)を組み合わせたものであり、年間73万kWhの発電と年間68万kWhの熱供給を行っています。そして、川根温泉宿泊施設に電熱供給を行っており、年間5,000トン-CO₂の温室効果ガスの排出を削減しています。これらの取り組みが認められ、コージェネ財団よりコージェネ大賞2017民生用部門優秀賞をいただきました。



図2. 沖縄県南城市の温泉メタンガス発電施設

また、沖縄県南城市の温泉宿泊施設においても、温泉用掘削井とガスセパレーター、コージェネレーションを組み合わせた温泉メタンガス電熱供給システムの構築に貢献しました(図2)。本システムでは、年間36万kWhの発電と年間33万kWhの熱生産を行い、隣接する宿泊施設にこれらのエネルギーを供給しています。そして、年間2,000トン-CO₂の温室効果ガス排出削減効果を上げ、年間860トン分のJ-クレジット認証を受けています。



図3. 静岡県焼津市の温泉メタン都市ガス化施設

さらに、東海ガス株式会社と連携して、静岡県焼津市の焼津温泉にて温泉メタン都市ガス化施設を創成しました(図3)。現在、年間51万Nm³の都市ガスを製造し、約1,800世帯分の都市ガスを供給しています。本施設は年間10,000トン-CO₂の温室効果ガス排出削減に貢献しています。

温泉微生物群集によるメタネーションシステムの開発

静岡県島田市の田代の郷温泉が所有する深度1,489mの大深度掘削井から深部帯水層に由来する非火山性温泉を採取しました。本掘削井は、静岡県中西部に分布する瀬戸川群層(四万十帯東部)の南端部に位置しています。また、瀬戸川群層は古第三紀の漸新世から始新世に形成された付加体の一部であり、岩相は主に砂岩泥岩互層から成ります。

田代の郷温泉の大深度掘削井から採取した温泉水とメタン生成菌用の液体培地をバイアル瓶に添加し、バイアル瓶の気相にはH₂/CO₂混合ガス(80:20, vol/vol)を添加しました。その後、40℃、静置条件下でインキュベートしました。バイアル瓶の気相に十分な量のCH₄が検出された後、気相のガスをH₂/CO₂混合ガスで置換しました。その後、40℃の静置条件下にて、再度、インキュベートしました。H₂/CO₂混合ガスによるガス置換及び40℃でのインキュベーションを1つのステージとし、CH₄を生成するための培養を繰り返しました。その結果、190日間で第1ステージから第14ステージまで培養を実施し、全てのステージにおいてCH₄生成を確認することができました(図4)。

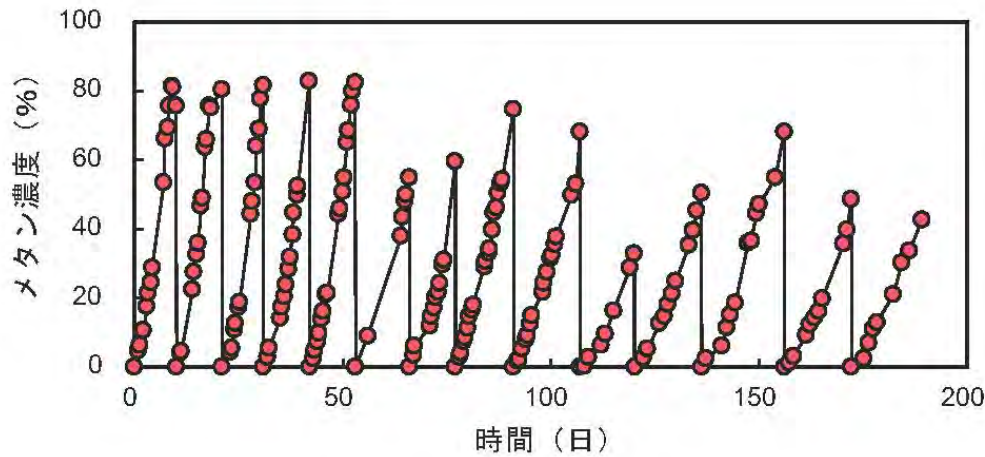


図4. 温泉微生物群集を用いたメタン生成

今後の展望

日本全国には数多くの温泉の源泉があります。その中で、メタンを湧出する源泉(温泉用掘削井を含む)は約4,000ヶ所あると言われています。しかしながら、これらの源泉にて見られるメタンの湧出量に関するデータはほとんど存在しません。現在、ほとんどの温泉メタンは温泉水から分離された後に大気放散されており、温泉メタンをエネルギー資源として有効利用している事例は全国で10ヶ所程度と極めて少ないです。今後、西南日本の付加体の分布域、北海道西部、東北地方の日本海沿岸域、南関東などに構築された温泉用掘削井を広く調査する計画です。そして、温泉メタン湧出量の測定と温泉メタン発電施設の普及を進めます。さらに、人工衛星による赤外線観測データを活用して温泉メタンを視覚化・定量化するプロジェクトも計画しています。今後も、未利用エネルギーの活用、温室効果ガス排出削減、地球温暖化防止、分散型エネルギー生産、災害時ライフライン供給に貢献したいと考えています。

微生物メタネーション技術の開発に関しては、バイオリクターの大型化およびメタン生成の高速化を進めたいと考えています。将来的には、火力発電所や鉄鋼業当の工場から排出されるCO₂を回収し、苛性ソーダ工場からの余剰水素等のH₂と混合して温泉微生物群集に供給し、CH₄を生成するシステムを社会実装したいと考えています。

参考文献

- (1) Kimura H., Nashimoto H., Shimizu M., Hattori S., Yamada K., Koba K. et al. (2010) Microbial methane production in deep aquifer associated with the accretionary prism in Southwest Japan. *The ISME Journal*, 4, 531-541.
- (2) Baito K., Imai S., Matsushita M., Otani M., Sato Y., and Kimura H. (2014) Biogas production using anaerobic groundwater containing a subterranean microbial community associated with the accretionary prism. *Microbial Biotechnology*, 8, 837-845.
- (3) Matsushita M., Ishikawa S., Nagai K., Hirata Y., Ozawa K., Mitsunobu S., and Kimura H. (2016) Regional Variation of CH₄ and N₂ Production Processes in the Deep Aquifers of an Accretionary Prism. *Microbes and Environments*, 31, 329-338.
- (4) Iso S., Sato Y., and Kimura H. (2024) Impacts of groundwater pumping on subterranean microbial communities in a deep aquifer associated with an accretionary prism. *Microorganisms*, 12, 679.
- (5) Matsushita M., Magara K., Sato Y., Shinzato N., and Kimura H. (2018) Geochemical and microbiological evidence for microbial methane production in deep aquifers of the cretaceous accretionary prism. *Microbes and Environments*, 33, 205-213.
- (6) Matsushita M., Ishikawa S., Magara K., Sato Y., and Kimura H. (2020) The potential for CH₄ production by syntrophic microbial communities in diverse deep aquifers associated with an accretionary prism and its overlying sedimentary layers. *Microbes and Environments*, 35, ME19103.

令和4年度グリーン科学技術研究所プロジェクト研究 成果報告

グリーン科学技術研究所では、研究所内外での共同研究を進め、研究力向上と研究成果の社会実装を推進するため、令和元年度よりプロジェクト研究をスタートさせました。

この研究プロジェクトは、研究所内外での共同研究を推進するため、他学部や他機関・他大学の研究者が参画できるようになっています。また、研究所員から応募があった研究課題を選定し、採択された研究課題にプロジェクト研究費を支援しました。

※所属、役職は令和4年度当時

研究課題：ペプチドライブラリ構築を加速するlate-stage分子変換法の開発

研究代表者：佐藤 浩平 助教（グリーン分子創造技術研究コア）

研究分担者：鳴海 哲夫 准教授（グリーン分子創造技術研究コア）

研究概要

糖尿病治療薬であるインスリンに代表されるペプチド医薬品は、ごく微量で強力な薬理活性を示すために広く利用されてきた。とくに近年は、低分子医薬、抗体医薬に続く新しいモダリティとして中分子医薬が注目されていることも相まって、ペプチド医薬開発を加速する手法が求められている。

シードペプチドの活性や動態の改善を目指したペプチドライブラリを構築する際、末端構造の誘導体化はデファクトスタンダードである。ペプチド合成終盤に修飾可能なN末端の誘導体化は容易である一方で、C末端誘導体は合成序盤の修飾が必須でありライブラリ構築の足かせとなっていた。

本プロジェクト研究では、合成終盤にペプチドC末端を誘導体化する化学選択的反応の開発を目指した。具体的には、共通中間体としてペプチドヒドラジドを利用し、合成終盤でペプチドアミドおよびペプチドカルボン酸に変換可能な手法の開発に取り組み、最適な反応条件を特定した。抗菌ペプチドの一つである modelin-5誘導体の合成に本手法を適用し、カルボン酸体とアミド体を共通前駆体のヒドラジドから合成した。前駆体を含めた3種類のペプチドの大腸菌W3110株に対する抗菌活性を評価したところ、アミド体がカルボン酸体よりも高い抗菌活性を示し既知の結果を再現した。一方、ヒドラジドはアミド体よりもさらに高い抗菌活性を示すことが明らかとなった。本結果は、合成終盤の誘導体化がライブラリ構築に有用であり、ライブラリ拡充がより良い化合物の獲得につながることを示す一例である。

研究成果

糖尿病治療薬であるインスリンに代表されるペプチド医薬品は、ごく微量で強力な薬理活性を示すために広く利用されてきた。とくに近年は、低分子医薬、抗体医薬に続く新しいモダリティとして中分子医薬が注目されていることも相まって、ペプチド医薬開発を加速する手法が求められている。

シードペプチドの活性や動態の改善を目指したペプチドライブラリを構築する際、C末端構造は生物活性・二次構造安定性・膜透過性などに影響することから、C末端の構造多様性をもつライブラリの効率的構築が求められている。しかし、一般的なペプチド固相合成の原理上、合成最初期に多様化の分岐点が存在するため、同一ペプチド配列で異なるC末端構造を持つペプチドを得るには、異なる固相担体を用いてそれぞれ独立に合成する必要があった(図1A)。

合成経路の終盤、すなわちペプチド鎖構築後に修飾・誘導体化できれば、同一ペプチド配列の多数の類縁体に直接アクセス可能となる。すなわち、C末端誘導体にアクセスするにはペプチド鎖構築後に利用可能なC末端選択的分分子変換法の開発が求められる。そこで本研究では、ペプチドC末端構造の合成後期多様化を目指し、無保護ペプチドヒドラジドを鍵中間体とする分子変換に取り組んだ(図1B)。

ヒドラジドは他の求核性官能基存在下においても高い化学選択性を示す官能基であり、さまざまな分子が混在する環境下でも特定の分子のみと選択的に反応することから、生体直交型反応への応用が進められている。この性質を利用すれば、無保護ペプチドを基質とする合成後期分子変換が達成できると考えた。まず、ヒドラジドからカルボン酸への変換を目指し、ヒドラジドの酸化と続く加水分解による変換を検討した(図2A)。種々酸化剤を検討した結果、オキシソンをを用いた際に水系溶媒中37°Cで30分間処理すると所望のカルボン酸が中程度から高収率で得られた。しかし、システイン、メチオニン、トリプトファンを含む場合は、これらアミノ酸の側鎖官能基が酸化され選択的酸化反応は達成できなかった。

この結果を受けて、2-メルカプトエタノールエステルを経由するカルボン酸への変換反応を試みた(図2B)。ヒドラジドは、酸性水溶液中でNaNO₂を作用させるとアシルアジドに変換可能で、これに中性条件下チオールを作用させるとチオエステルへと導くことができる。一連の反応はペプチドチオエステル合成法として確立されており、酸化耐性の低いアミノ酸を含むペプチド配列に対しても適用可能である。また、2-メルカプトエタノールをチオエステル化すると分子内O-Nアシル転移と続く分子内S_N2反応によりカルボン酸を生じることが報告されている。そこで、これら反応を組み合わせたところ、一部の嵩高いアミノ酸で反応が遅かったものの中程度から高収率でヒドラジドからカルボン酸誘導体を得られた。特にオキシソン酸化に耐性のなかったアミノ酸を含むペプチドに対しても本反応条件は顕著な副生成物を生じることなく進行した。

ヒドラジドからカルボン酸への変換条件が確立できたので、続いてアミドへの変換反応を検討した。上述のアシルアジド中間体に対してアンモニウム塩を作用させることを計画したが、一部のアミノ酸を含むペプチド配列で低収率となった(図2C)。特にC末端にグルタミン酸を有するペプチドでは、所望のアミド体の生成は確認できずカルボン酸体のみが生成した。この副生成物は、おそらくアンモニアの求核性がチオールと比較して低いために、側鎖カルボキシル基の巻き込みによる分子内酸無水物形成が優先的に進行し、これが加水分解を受けたために生じたと考えられる。

より汎用性の高いアミド化条件を特定するために、シュタウディンガー反応を利用することとした。すなわち、アシルアジド中間体に対してホスフィンを用いて生じるイミノホスホラン化学種を加水分解して1級アミドに導くことを計画した(図2D)。常法に従い調製したアシルアジド化ペプチドに対して水溶性ホスフィンであるトリス(2-カルボキシエチル)ホスフィンを添加し、室温で30分間反応させたところ望む反応が進

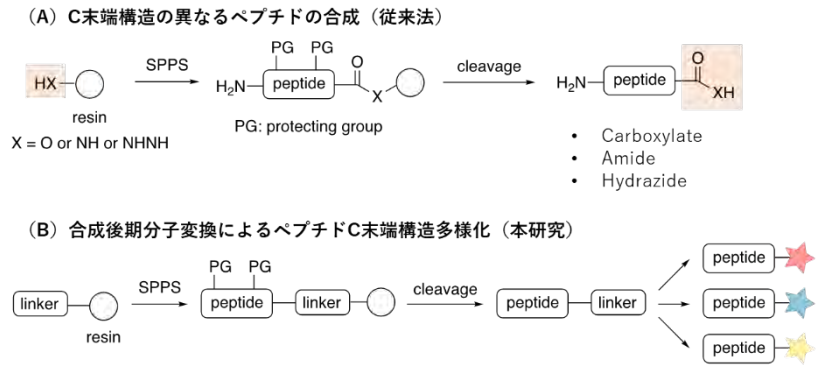


図1. 異なるC末端構造をもつペプチドの合成法

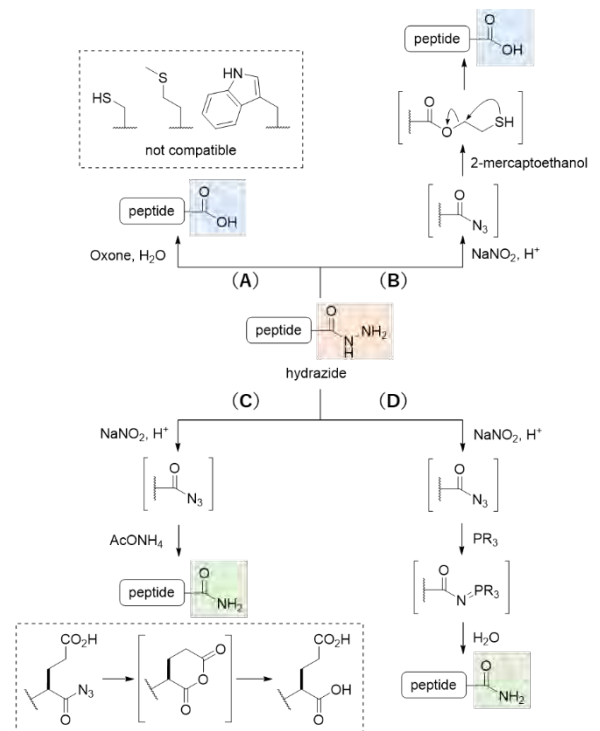


図2. (A) 酸化-加水分解によるカルボン酸合成. (B) 2-MEエステル経由のカルボン酸合成. (C) アシルアジドのアミノリシスによるアミド合成. (D) アシルアジドのシュタウディンガー反応によるアミド合成

行し、対応するアミド誘導体を得られた。アミノリシス条件で加水分解体しか得られなかったグルタミン酸含有ペプチドにおいても本反応は良好に進行し、74%でアミド体を与えた。

ヒドラジドを共通中間体としてカルボン酸とアミドに変換可能な反応条件を特定したので、本合成法を抗菌ペプチド合成に適用した(図3A)。抗菌ペプチドの一つであるmodelin-5は、C末端構造がアミドの時カルボン酸と比較して高い抗菌活性を示す。Modelin-5のヒドラジド体を固相合成したのちに、一部をオキソソルホン酸化条件でカルボン酸誘導体に導いた。同様に、ヒドラジド体の一部をアシルアジドに変換した後にホスフィン作用させることでアミド誘導体を合成した(図3B)。

最後に得られた2つの誘導体に前駆体であるヒドラジドを加えた3種類のmodelin-5誘導体について抗菌活性を評価した。大腸菌W3110株にmodelin-5誘導体を添加し37°Cで1時間インキュベートした後にプレートに植菌し、37°Cでさらに一晩インキュベートした時のコロニー数をカウントすることで抗菌活性を評価した(図3C)。その結果、カルボン酸誘導体と比較してアミド誘導体が高い抗菌活性を示し、文献情報と一致する結果が得られた。一方で、予想外の結果としてヒドラジド誘導体が今回評価したペプチドの中で最も高い抗菌活性を示すことが明らかとなった。この結果は、合成後期多様化によるライブラリ拡充がより良い候補化合物を獲得するうえで重要であることを示す一例である。

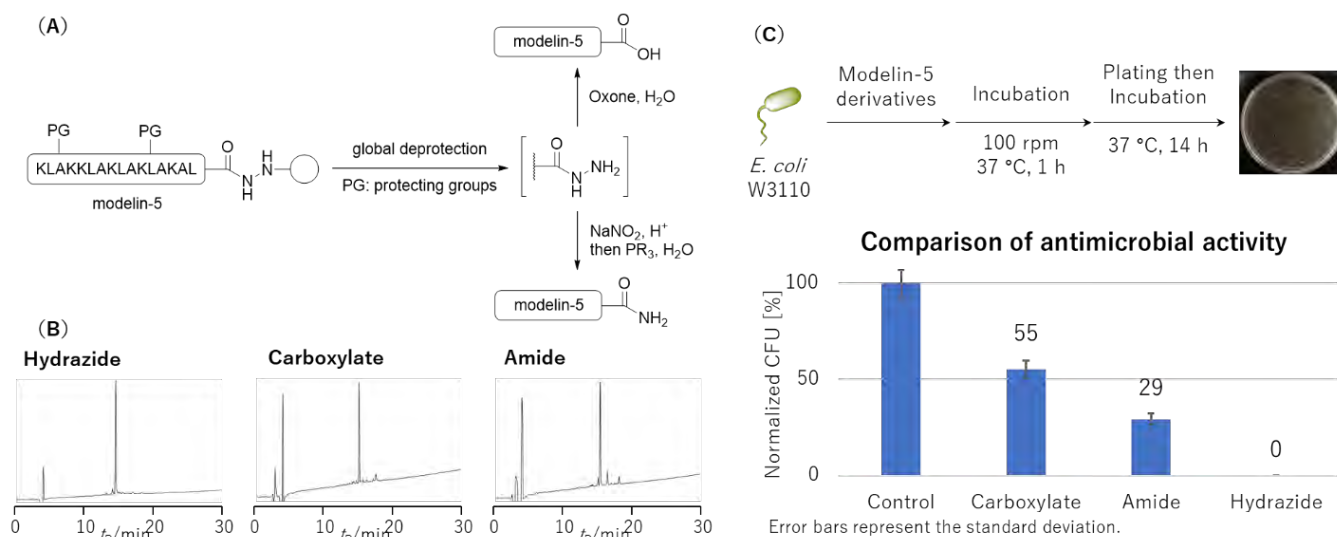


図3. (A) Modelin-5誘導体の合成. (B) Modelin-5誘導体合成後の粗生成物のHPLC結果. (C) Modelin-5誘導体の抗菌活性評価.

本プロジェクト研究では、ペプチドライブラリ構築を加速する合成後期における分子変換法の開発を目指し、ヒドラジドを鍵中間体としてカルボン酸体とアミド体を与える反応条件を特定した。2-メルカプトエタノールによるカルボン酸合成の条件では、C末端が嵩高いアミノ酸の時に長い反応時間が必要であった。これに対して、高速加水分解を可能にするチオール添加剤の開発研究を他大学グループと共同で開始した。また、modelin-5誘導体の抗菌活性評価は静岡大学工学部化学バイオ工学科 田代陽介 講師と共同で実施し、ヒドラジド化による抗菌活性向上メカニズムの解明研究を引き続き進めている。今回得られた成果は、ペプチド医薬開発のライブラリ構築効率化と合成工程効率化に伴う環境負荷低減を通して「SDG's目標3:あらゆる年齢のすべての人々の健康的な生活を確保し、福祉を促進する」と「SDG's目標12:持続可能な消費生産形態を確保する」に貢献するものである。

【関連発表論文】

“Late-stage diversification strategy for the synthesis of peptide acids and amides using hydrazides”

S. Tanaka, M. Kanno, Y. Tashiro, T. Narumi, N. Mase, K. Sato

Explor. Drug Sci. 2023, 1, 322-335. (doi: 10.37349/eds.2023.00023)

<https://www.explorationpub.com/Journals/eds/Article/100823>

研究課題：細胞のストレス応答メカニズムの解明

研究代表者：加藤 竜也 教授（生物分子機能研究コア）

研究分担者：朴 龍洙 教授（生物分子機能研究コア）

丑丸 敬史 教授（生物分子機能研究コア）

宮崎 剛亜 助教（生物分子機能研究コア）

研究概要

細胞への様々なストレスは、細胞のホメオスタシスを乱し、細胞や組織の障害を引き起こして老化や疾患につながる。したがってストレスに対する細胞の応答メカニズムの解析は、ストレス応答の理解とアンチエイジングなどの薬剤開発につながる。本研究では、様々なストレス応答解析を真核微生物（糸状菌、酵母）を用いて、下記の2つのテーマで行う。

①糸状菌におけるストレス応答としてのリボフラビン生産

②酵母におけるストレス応答

①では“リボフラビンを過剰生産することで、糸状菌(*Ashbya gossypii*)はストレスから身を守る”という仮説を立て、ストレス保護剤としてのリボフラビンの役割を証明する。具体的には、ストレス誘導剤の影響や遺伝子破壊によるストレス誘導とその影響を、分子生物学的に解析する。

②では、老化寿命関連酵素TORC1を中心に研究を行う。TORC1の活性低下で老化が抑制されることがよく知られているが、それがどのような機構で起こるのかは不明である。TORC1研究のモデル生物となっている酵母を用いて、カロリー制限(オートファジーによる細胞浄化を誘導)、変性タンパク質蓄積(認知症の原因)のストレスに対してTORC1がどのようにそれを感知して応答するのかを分子生物学的かつ細胞生物学的手法を用いて解析する。

研究成果

細胞老化の一つとして、酸化ストレスやDNA損傷などによって引き起こされるストレス性細胞老化がある。そのようなストレスに対する細胞応答を解析することは、細胞老化のメカニズムを明らかにできるとともに、アンチエイジングなどの薬剤開発につながる。本研究では、上記研究概要に記している通りに、①糸状菌におけるストレス応答としてのリボフラビン生産、②酵母におけるストレス応答 の2つの研究に分けて遂行した。

①糸状菌におけるストレス応答としてのリボフラビン生産

糸状菌*Ashbya gossypii*はリボフラビン生産菌として知られており、工業的なリボフラビン生産に利用されている。このリボフラビン生産の細胞内代謝の解析が行われており、リボフラビン生産の代謝機構は明らかになっている^{1,2}。しかし、そのリボフラビン生産のトリガーや生理的意義に関し

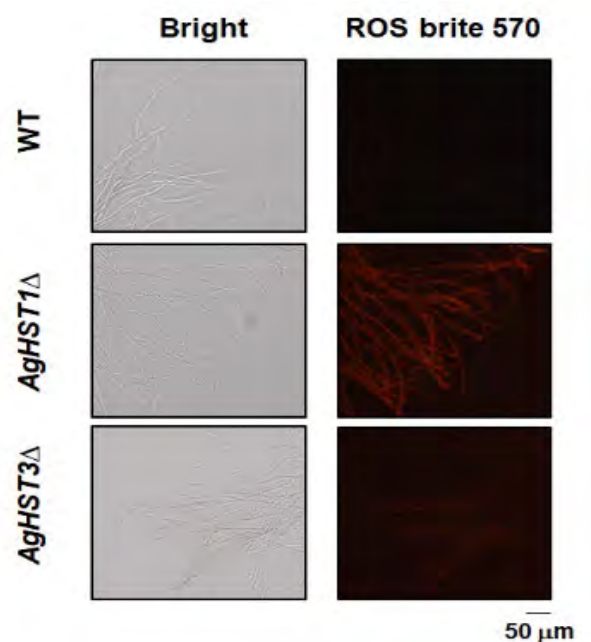


図1 それぞれの株のROS産生

関しては、いまだに解明されていない。したがって、本研究では、ストレス応答の面から、それぞれを解明することを試みた。

以前に単離されたサーチェイン遺伝子破壊株 *A. gossypii* *AgHST1Δ*株および *A. gossypii* *AgHST3Δ*株は、野生株に比べて約4.3倍および約2.9倍のリボフラビン生産が認められている。まず始めに、これら株における活性酸素種(ROS)をROS Brite 570 (AAT Bioquest)で特異的に染色したところ、野生株に比べてどちらの遺伝子破壊株において特異的な染色が認められ、特に *A. gossypii* *AgHST1Δ*株で蛍光が強く観察された(図1)。また細胞の抗酸化機構に関する遺伝子発現を定量逆転写PCRで解析を行ったところ、遺伝子破壊株で抗酸化遺伝子の発現が上昇していた。また同様にこれらの遺伝子発現株では、リボフラビン合成遺伝子の発現も上昇していた。これらの結果から、サーチェイン遺伝子破壊株ではROS産生が誘導されるとともに、リボフラビンが過剰生産されることが明らかになった。また以前の研究で、二本鎖DNA切断を誘導するカンプトテシン存在下でリボフラビン生産が約1.4倍上昇することが示されており、ROS産生によるリボフラビン過剰生産機構が徐々に明らかにされつつある。

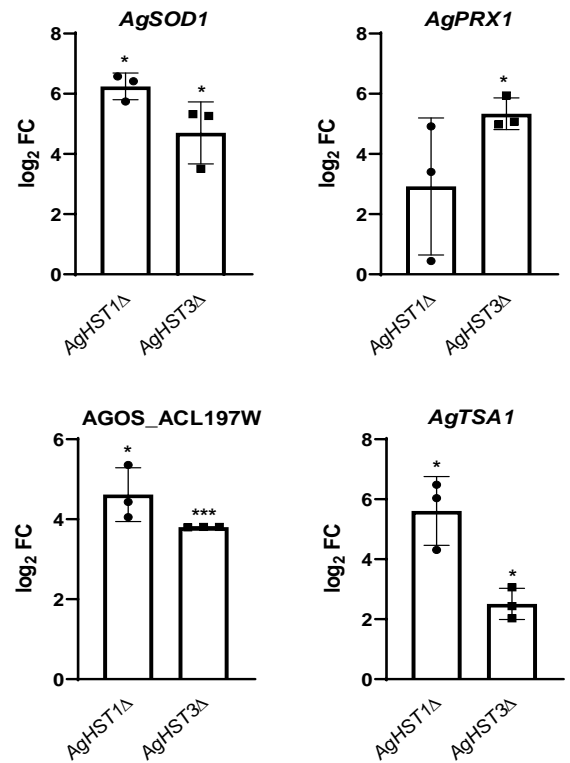


図2 それぞれの株の抗酸化遺伝子発現

②酵母におけるストレス応答

タンパク質は正確に折りたたまれて機能するが、変性タンパク質となると細胞毒性をもつ。変性タンパク質は能動的に細胞内に集められタンパク質凝集体となり細胞の決まった場所に蓄積するが、その機構は不明である。一方、変性タンパク質の細胞内蓄積がどのようにモニターされ、除去機能が活性化するのも不明である。脳神経細胞中の変性タンパク質の細胞内蓄積はアルツハイマー病を含めた認知症の原因となり、これらの諸課題はこれらの治療にとって重要である(図2-1)。

最近、寿命関連因子TORC1プロテインキナーゼがタンパク質凝集体除去とアルツハイマー病軽減に深く関与することがマウスの研究から明らかとなった。変性タンパク質が蓄積するようなストレスがかかると、TORC1活性が低下することを最近、丑丸は見出し報告した。それを受けて本研究で丑丸は、モデル生物である出芽酵母を用いてその機構解明を行った。

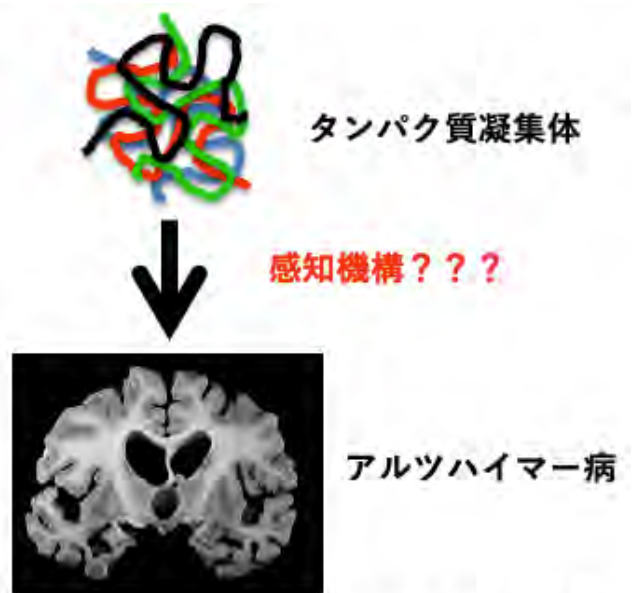


図2-1. タンパク質凝集体蓄積によるアルツハイマー病の発症

通常TORC1は液胞膜上に均一に局在し、このTORC1局在がTORC1の活性と機能に重要であるため、細胞がタンパク質毒性ストレスにさらされた場合、TORC1の局在が変化するのではないかと予想して研究を行った。その結果、変性タンパク質が細胞中に蓄積して形成されたタンパク質凝集体にTORC1が集積することを見出した。通

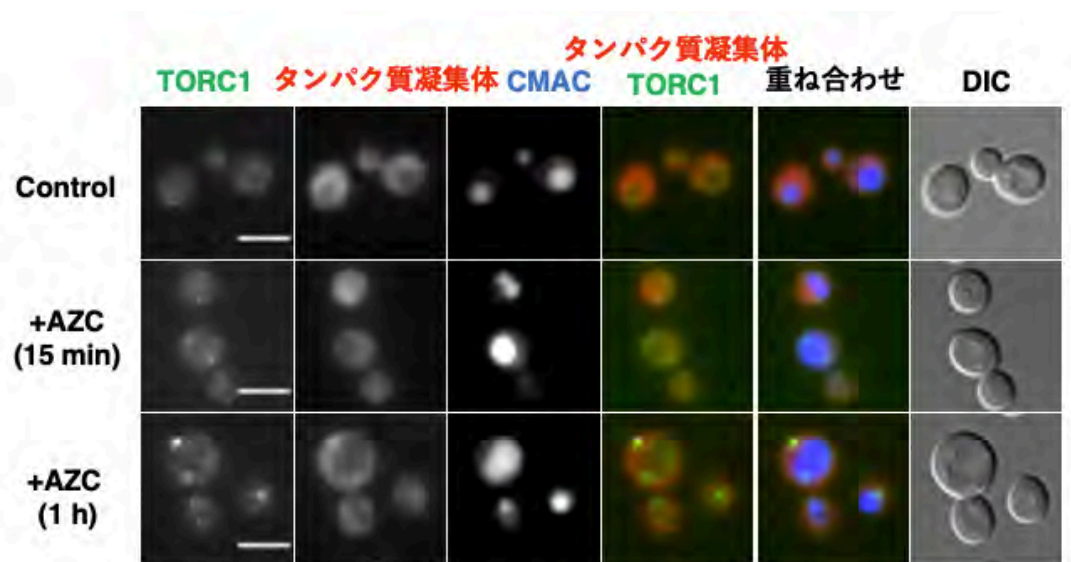


図2-1. TORC1がタンパク質凝集体集積のコアになる。

常TORC1は液胞膜上に均一に局在するが、この時TORC1は液胞膜上で点状集積して、そこにタンパク質凝集体も集積した(図2-2)。このことは、TORC1がタンパク質凝集体を集積させるコアになることを示唆する。その後、タンパク質凝集体はTORC1とともに液胞膜上から遊離した。TORC1の液胞膜上の均一な局在がTORC1の活性と機能に重要だが、このTORC1の局在変化がTORC1の活性と機能を低下させる要因であることが判明した。TORC1の液胞膜からの解離を人為的に抑制すると、タンパク質凝集体の遊離も抑制されたことから、TORC1がタンパク質凝集体の集積と液胞膜遊離を制御することが示された。以上、TORC1がタンパク質凝集体形成に深く関与することが本研究から明らかとなり、今後の外部資金獲得のための基盤となる成果が得られた。

1. Schwechheimer SK, Park EY, Revuelta JL, Becker J, Wittman C. Biotechnology of riboflavin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100(5), 2107-2119, 2016.
2. You J, Pan X, Yang C, Du Y, Osire T, Yang T, Zhang X, Xu M, Xu G, Rao Z. Microbial production of riboflavin: Biotechnological advances and perspectives. *Metab. Eng.* 68, 46-58, 2021.
3. Kato T, Azegami J, Kano M, El Enshasy HA, Park EY. Effects of sirtuins on the riboflavin production in *Ashbya gossypii*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 105(20), 7813-7823, 2021

投稿中論文1報

・Kato T, Azegami J, Kano M, El Enshasy HA, Park EY. Enhancement of the riboflavin production by oxidative stress in sirtuin gene-disrupted *Ashbya gossypii*.

Ashbya gossypii リボフラビン過剰生産変異株の分譲1件

・Dr. Takaoki Kasahara, AG Neurosensory Sciences/Animal Navigation Institut für Biologie und Umweltwissenschaften, Carl-von-Ossietzky Universität Oldenburg, Germany.

研究課題：静岡県有用海洋性酵母の単離とその応用

研究代表者：丑丸 敬史 教授（生物分子機能研究コア）

研究分担者：山崎 資之 上席研究員（静岡県水産・海洋技術研究所）

研究概要

【研究背景】

静岡県は現在、地場産業振興の目的で海洋性微生物の食品への有効利用研究を推進している。研究代表者は昨年度からこれに協力し、予備的研究で海洋性酵母の単離に成功した。本研究申請は、この産官学の取り組みを強力に推進することを目指す。

【研究目的】

静岡県の海洋環境由来酵母を単離、選抜、評価、活用し、それをを用いた食品開発に向けた研究を行う。

【研究内容】(2年間でのスケジュール)

- 1) 海洋由来酵母の単離：水産物、水産加工現場、海水、海藻を中心に海洋生物資源から酵母の単離を行う。
- 2) 単離酵母の解析と種同定：単離酵母のスクリーニング試験、特性試験、種同定を行う。有用酵母単離はゲノム解析を行う。
- 3) 水産発酵食品への適性評価：魚醤、塩辛、魚介発酵エキスの食品開発を想定した製造試験を行う。
- 4) 日本酒、ビール等の酒類への適性評価：ビール、日本酒開発を想定した発酵試験を行う。

研究成果

プロジェクトとしては2年間を予定しているもののうち、本年度はその初年度の研究を行った。

(1) 海洋由来酵母の単離

水産物、水産加工現場の海洋生物資源から酵母の単離を行った。実際には、駿河湾由来の魚の内臓、シラス、干物製造用の塩汁から酵母単離を試みた。微生物を含むと思われる液体(内臓、シラスは液を加えてブレンダーで破碎して使用)を酵母用の寒天培地に塗布し25℃で培養しそこから形成されるコロニーを分取した。コロニーを形成した微生物を顕微鏡観察し酵母と思われるものを単離した。全体で16株の酵母KYY24～39が単離できた(図1)。形状は、丸型のもの多く、味噌、醤油づくりに通常使用される耐塩性酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* と似た形状のものも含まれていた。

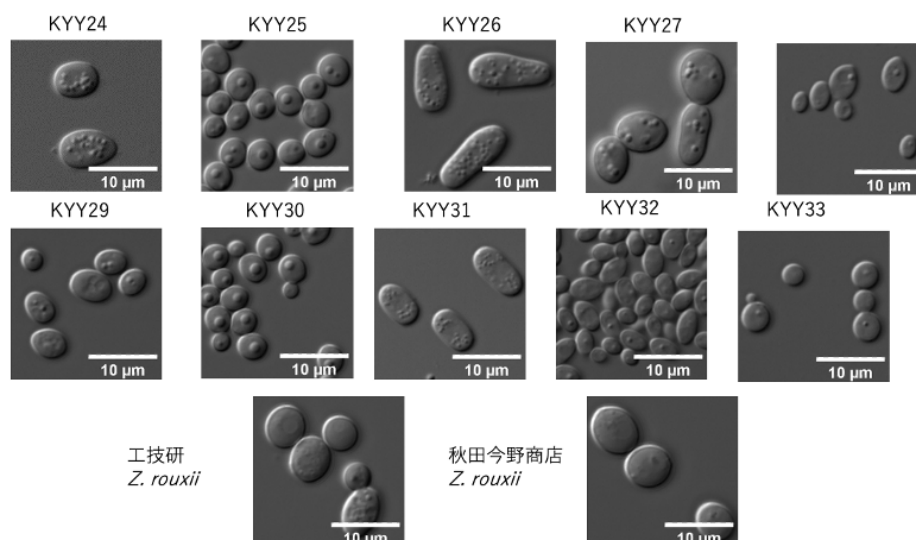


図1. 単離した海洋由来酵母（一部）

(2) 海洋由来酵母の解析

海洋由来ということで、酵母の耐塩性を評価した。耐塩性をもつ酵母は味噌、醤油づくりに応用できる。その結果、干物製造用の塩汁から味噌、醤油づくりの際の塩濃度に匹敵する15% NaCl(シャークベイソルトを使用)存在下でも生育できる酵母KYY25, KYY30, KYY33株が単離された(図2)。図には示さないが、この他にも耐塩性株KYY34株が取得され、合計4株が取得された。

海水と同程度の3.5% NaClを含む培地では耐塩性をもたない実験室酵母(BY4741)は感受性を示した。一方、単離株KYY24~33は味噌、醤油づくりに通常使用される耐塩性酵母*Zygosaccharomyces rouxii*と同程度の塩耐性を示した。このことは、使用方法によっては今回単離された酵母はすべて、味噌、醤油づくりに使用できる可能性があることを示す。

(3) 海洋由来酵母の同定

上記の酵母をゲノムDNA解析(rDNA)から種同定を行なった。その結果、*Apiotrichum domesticum*, *Candida metapsilosis*, *Trichosporon japonicum*, *Candida zeylanoides*, *Yarrowia lipolytica*, *Debaryomyces vindobonensis*, *Candida parapsilosis*であることが判明した。*Zygosaccharomyces rouxii*そのものは単離されず、これまでに味噌醤油に使用されていない食経験のある塩汁から単離されたことで、未利用の酵母が単離されたことになる。

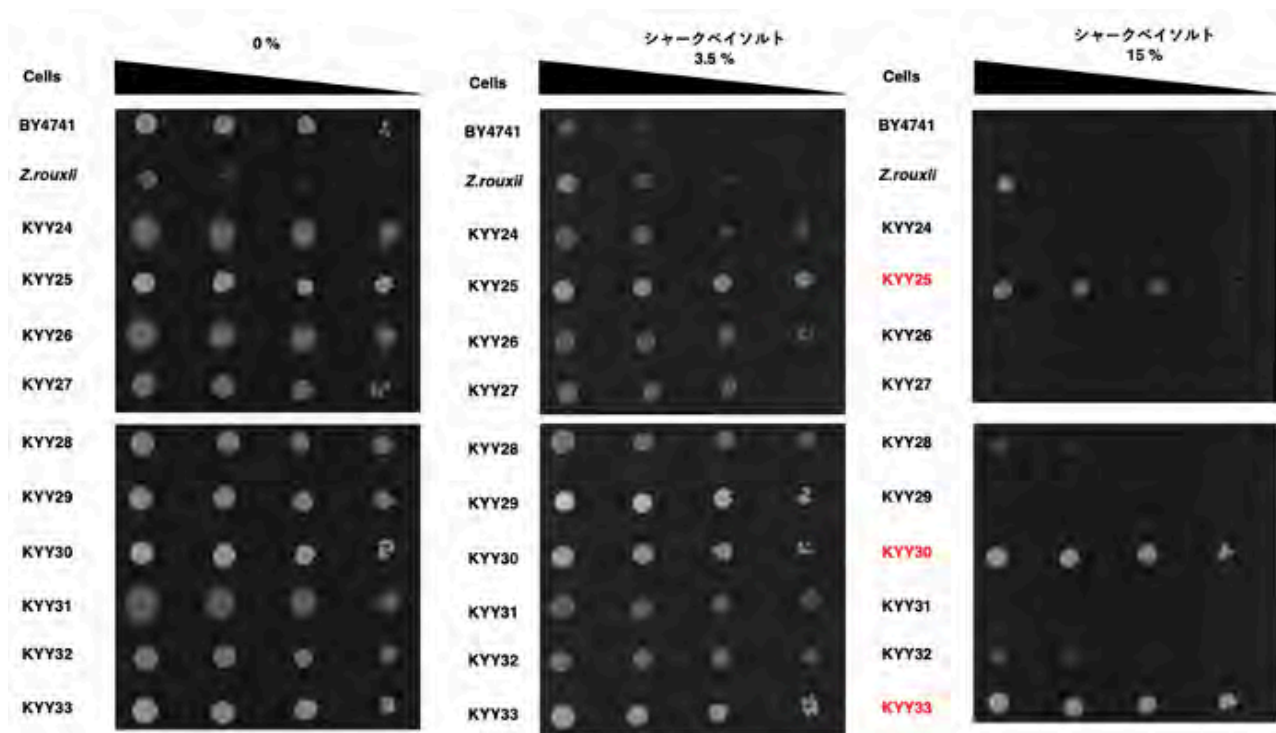


図2. 耐塩性酵母のスクリーニング。

(4) 本研究の成果と今後の展開と展望

本研究で、静岡県水産・海洋技術研究所と協力して未利用の食経験のある塩汁から海洋由来酵母が単離された。本プロジェクトは2年計画であり、順調に初年度の研究の進捗が見られた。次年度もプロジェクト経費を得て、引き続き力強く研究を推進していきたい。

次年度の予定では、今年度取得できた酵母を利用して、1) 水産発酵食品への適性評価として、魚醤、塩辛、魚介発酵エキスの食品開発を想定した製造試験を行う、2) 日本酒、ビール等の酒類への適性評価としてビール、日本酒開発を想定した発酵試験を行う、ことを予定している。これにより、地場産業育成、振興に貢献することが期待される。

研究課題：温度ストレスに対して頑強性を惹起するバイオスティミュラント化合物の開発

研究代表者：大西 利幸 教授（植物ストレスマネジメント研究コア）

研究分担者：原 正和 教授（植物ストレスマネジメント研究コア）

轟 泰司 教授（植物ストレスマネジメント研究コア）

崔 宰熏 准教授（植物ストレスマネジメント研究コア）

竹内 純 准教授（植物ストレスマネジメント研究コア）

研究概要

グリーン科学技術研究所 コアC（植物ストレスマネジメントコア）では、「温度ストレスを緩和するバイオスティミュラント化合物の開発と応用展開」に一丸となって取り組んでいる。農作物の最大収穫量は、種を播いた時点で決まる。しかし、病害や害虫（生物的ストレス）、高温や低温、乾燥など（非生物的ストレス）により、収量は減少する。従来の農作物生産は、①育種（優秀な作物遺伝子資源の開発）、②肥料（植物栄養の供給）、③農薬（害虫、病気、雑草などの生物学的ストレスの制御）を中心に進められてきた。近年、第4の方策としてバイオスティミュラントの開発が進められている。バイオスティミュラントは、植物に対する非生物的ストレスを制御して植物のダメージを軽減し、健全な農作物生産に資する技術を意味しており、非生物的ストレスに対する耐性を向上させて、農作物の実収量を増加させる。現在、農作物生産の現場における喫緊の課題は、気候変動に伴う著しい高温や、突発的な低温などこれまでに経験したことのない温度ストレス環境でどのように安定的な農産物生産を維持、向上させることである。2022年度において、本研究プロジェクトでは、植物のストレス応答に関与するアブシジン酸、ストリゴラクトンやロリオリドに着目し、バイオスティミュラント候補化合物125種（その内58は新規化合物）をリスト化し、化合物ライブラリーを整備した。また高温耐性を誘導する脂肪族アルコールを曝露された植物では、脂肪族アルコールを配糖体として貯蔵することを明らかにして、植物間コミュニケーションにおける揮発性有機化合物の受容の仕組みの分子メカニズムの解明に寄与した。

研究成果

農作物の最大収穫量は、種を播いた時点で決まる。しかし、病害や害虫（生物的ストレス）、高温や低温、乾燥など（非生物的ストレス）により、収量は減少する。従来の農作物生産は、①育種（優秀な作物遺伝子資源の開発）、②肥料（植物栄養の供給）、③農薬（害虫、病気、雑草などの生物学的ストレスの制御）を中心に進められてきた。近年、第4の方策としてバイオスティミュラントの開発が進められている。バイオスティミュラントは、植物に対する非生物的ストレスを制御して植物のダメージを軽減し、健全な農作物生産に資する技術を意味しており、非生物的ストレスに対する耐性を向上させて、農作物の実収量を増加させる。現在、農作物生産の現場における喫緊の課題は、気候変動に伴う著しい高温や、突発的な低温などこれまでに経験したことのない温度ストレス環境でどのように安定的な農産物生産を維持、向上させることである。本研究課題「温度ストレスを緩和するバイオスティミュラント化合物の開発と応用展開」では、静岡大学グリーン科学技術研究所コアCメンバーが密に連携して、環境ストレス耐性を惹起する化合物の開発と評価を行い、バイオスティミュラント化合物の実用化を目的とした。

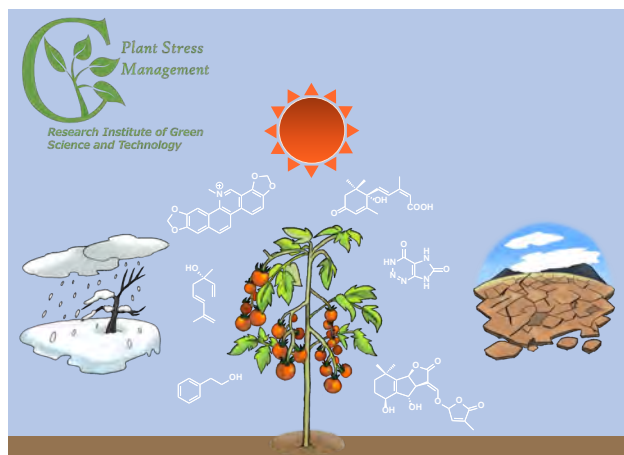


図1. 温度ストレスを緩和するバイオスティミュラント化合物の開発と応用展開

① 環境ストレス耐性を惹起するバイオスティミュラント化合物の創出

バイオスティミュラント化合物の開発において植物体、内における環境ストレス耐性を惹起する作用機序が明確化されていることは化合物創成の利点だ。植物ホルモンの一つであるアブシシン酸 (ABA) は、乾燥や高温などの環境ストレス耐性を誘導する。長年、農業利用が期待されてきたが、ABAの光安定性の低さと代謝不活性化の速さが課題となり、未だその利用実績は非常に限定的である。本研究項目では、ABAの光安定性の低さと代謝不活性化の速さを克服して、農業利用を実現可能とするバイオスティミュラント化合物の開発を行った。ABAの側鎖ジエン酸をフェニル酢酸に置換したABAアナログ (BP2A)、およびBP2Aの α 、 β -不飽和カルボニル基を還元したBP2Aアナログを合成し、これらはABAと比較して光安定性が向上することを確認した。中でも、Me-1',4'-trans-diol-BP2Aは、1週間屋外に放置しても全く分解されることのない高い光安定性と、ABAの1/3程度の生物活性を有する。以上のように光安定性を強化したABAの作用機序に効果を示すバイオスティミュラント化合物の創出に成功した。

次にABAの代謝不活性化の速さを打破する化合物の創出に取り組んだ。ABAはABA 8'-水酸化酵素による不可逆的酸化代謝ならびにABA 1位配糖化酵素による可逆的配糖化によって、迅速に代謝不活性化される。そこで、これら代謝酵素のモデル構造を基盤とした分子設計によって特異的阻害剤を創出した。ABAの側鎖を改変したイソシアニド型化合物BPNCsは既存のアゾール型阻害剤アブシナゾールE3Mよりも強いABA 8'-水酸化酵素阻害活性を示した。また、ABAの側鎖末端にフェニル基を導入したABPsは、ABA 8'-水酸化酵素による不活性化を受けない構造をもつABA類縁体の活性を増強し、またABA 8'-水酸化酵素阻害剤と併用することで、ABAの生物活性を著しく強化できることを確認した。現在、これらの化合物について、実用化を念頭においた詳細な機能解析およびストレス耐性付与効果の検証を検討している。

② 生物活性を指標とした温度ストレス耐性評価システムの構築

トマトやシロイヌナズナを用いて、温度ストレス耐性評価システムの構築を行った。揮発性有機化合物は植物の高温ストレス耐性を強化することが知られており、すでに商品化されている揮発性有機化合物もある有望なバイオスティミュラント化合物である。揮発性有機化合物の高温ストレス耐性の強化の指標として、植物の水分蒸散量と光合成活性を設定して、温度ストレス耐性評価を行った。トマトに揮発性有機化合物を曝露した後、高温条件で育成した (明期: 35°C, 12 h, 暗期: 30°C, 12 h)。水分蒸散量および光合成活性の定量的解析は高温処理後、1, 2, 3, 10日目に行った。植物が環境ストレスを受けたときに傷害シグナルとして働く (Z)-3-ヘキセノールをトマトに曝露して高温下で育成した際、光合成活性は有意に上昇するとともに、葉内二酸化炭素濃度 (Ci) は低下した。このことは、高温処理下でもトマトが正常通り育成していることを示しており、(Z)-3-ヘキセノールが高温ストレスに対する耐性を強化していることが示唆された。また(Z)-3-ヘキセノールを曝露されたトマトでは、(Z)-3-ヘキセノールを非糖部に有する香気二糖配糖体が蓄積していることも明らかにした (Sugimoto et al, *Nature Communications*, 2023)。近年、香気二糖配糖体の蓄積が植物に対して環境ストレス耐性を強化することが示唆されており、今後ゲノム編集植物などを用いて検証して予定である。またフェアリー化合物についても同様の試験を行った結果、高温ストレス耐性を強化することが示唆された。

③ バイオスティミュラント候補化合物のカタログ化

植物のストレス応答に関与する植物ホルモンとして知られているABAやストリゴラクトン、ロリオリドに着目し、125化合物(その内58は新規化合物)をバイオスティミュラント化合物の候補として合成し、化合物ライブラリーを整備した。上記②で構築した評価試験に基づいた環境ストレス耐性を検証するとともに、一部の化合物においては、農薬会社において生物活性試験を進めている。

本研究課題に基づいて報告した原著論文

Sugimoto, K., Ono, E., Inaba, T. *et al.* Identification of a tomato UDP-arabinosyltransferase for airborne volatile reception. *Nature Communications*, 14, 677 (2023).

研究課題：植物フェノタイピングのためのXAI に関する研究

研究代表者：峰野 博史 教授（フィールドインフォマティクス研究コア）

研究分担者：中川路 哲男 農業情報研究センター長（農研機構）

大石 直記 主任研究員（静岡県農林技研）

研究概要

本研究では、植物フェノタイピングのためのXAI(eXplainable Artificial Intelligence: 説明可能なAI)の研究を進めた。植物が遺伝子型と環境との相互作用により成長過程で目に見える形で現れる表現型(フェノタイプ)を把握し定量化する植物フェノタイピングの研究が盛んであるが、機械学習モデルがどのように一定の結論に達したかを、技術的な知識のない人やデータサイエンスの基礎知識を持たない人が理解できるようにすることはとても重要である。そのため、対象データに対するドメイン知識や経験的知見も用いて、得られたデータセットの特徴を分析するだけでなく、欠損値や異常値の扱い、数値やカテゴリ変数の変換、時系列データの変換、他テーブルとの結合、集約した統計量の活用、時系列特徴の活用、次元削減、データ増幅といった特徴量の作成によって説明可能かつ解釈可能なXAI の実現に取り組む必要がある。本研究では、特に植物フェノタイピングに焦点を絞り、どの因子を重視して判断しているか、どの事例を重視して判断しているか、どのような判断傾向があってバイアスはないか、どのような条件で推定値を信頼できるかといった観点から、機械学習によって構築されたAIが、訓練データから何を学んだか理解可能にする植物フェノタイピングのためのXAI 実現を目指した。

研究成果

本研究では、特に植物フェノタイピングに焦点を絞り、どの因子を重視して判断しているか、どの事例を重視して判断しているか、どのような判断傾向があってバイアスはないか、どのような条件で推定値を信頼できるかといった観点から、機械学習によって構築されたAI が、訓練データから何を学んだか理解可能にする植物フェノタイピングのためのXAI について検討した。

まずメロンの等級判定

AI について研究を進めた [1]。等級判定AI は、輪郭画像から輪郭特徴ベクトルに変換する部分と、網目画像から網目特徴ベクトルに変化する部分から成る(図1)。網目特徴ベクトルの抽出は、網目画像から画像全体の特徴を抽出するのではなく、画像の等級を表す数~数十ピクセルの局所的なクラス固有の特徴を検出す

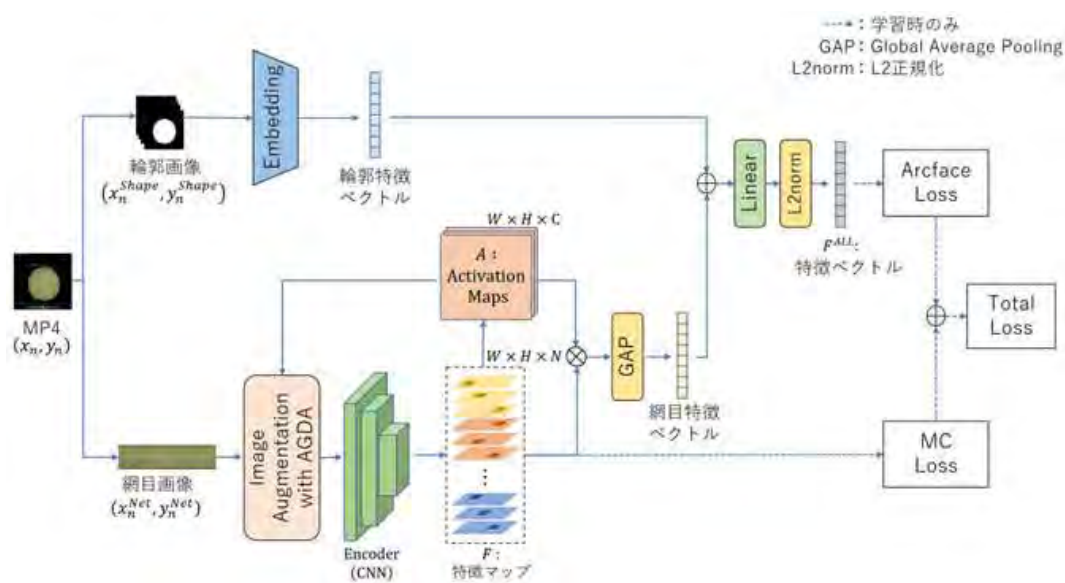


図1 等級判定AI の全体構造

ることを目指した。また、導入した。さらに、輪郭特徴ベクトルと網目特徴ベクトルを連結し、線形変換特徴マップを集約することで画像空間上のどの部位の特徴がモデルの推定結果に寄与しているかを可視化するActivation Map を換後にL2 正規化したベクトルをメロンの特徴ベクトルとし、この特徴ベクトルをArcFace を用いてベクトルの類似度を指標とした角度距離空間上に埋め込んだ。またクラス毎に異なるマージン領域を設定することで、特徴ベクトルを埋め込む領域を調整可能とした。今回のメロンの等級判定の場合、A等級は比較的均一な品質でありクラス内のばらつきが少なかったが、C やD 等級は傷など様々な不良パターンが存在するためクラス内のばらつきが大きかった。そこで、データの性質に合わせ、クラス内のばらつきが少ないデータは埋め込む領域を小さく、クラス内のばらつきが大きいデータは埋め込む領域を大きくすることで過学習の軽減を図った。

ImageNet で学習済みのResNet50 をベースにMC-Loss、クラス別マージンを加味したArcFace、AGDA (Attention-guided data augmentation) を組み合わせることで、約82%の精度で等級判定が可能なシステムを構築し、熟練生産者が約84%で許容できる等級判定を行えることを確認した。その際、Activation Map を用いて等級判定に大きく寄与した特徴が存在する部位を可視化だけでなく(図1)、各クラスの平均特徴ベクトルと判定対象のメロンの特徴ベクトルとのコサイン類似度によってどの等級に近いかを定量化しレーダーチャートで等級判定結果を表現可能とすることで、訓練データから何を学んだか、どのような判断傾向があるのかなど植物フェノタイピングのためのXAI を検討した(図2)。

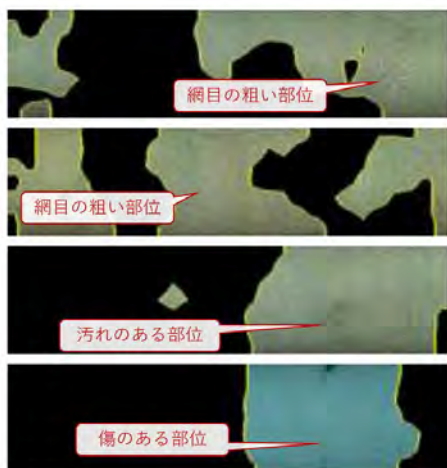


図2 AIが注目した部分

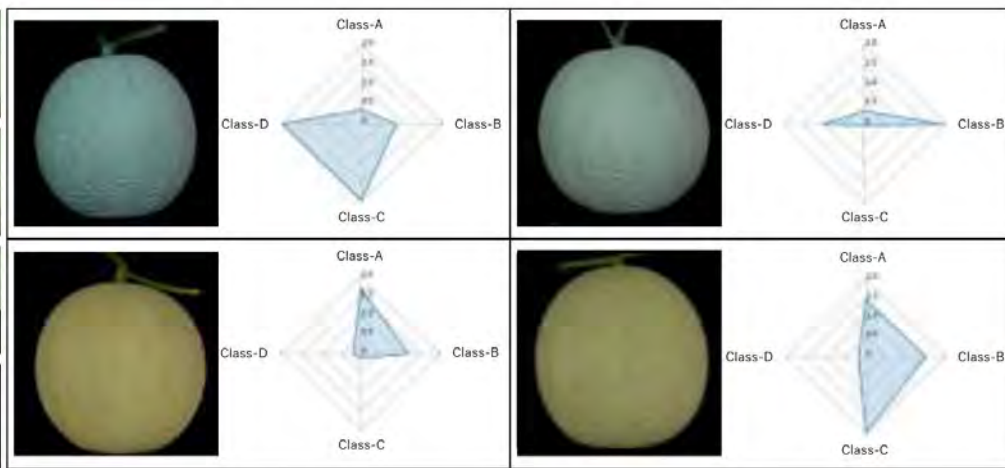


図3 レーダーチャートによる表現

一方、栽培データは、季節や時間の変動に大きく影響を受けやすいことから分布に大きな不均衡性を持っている。データドリブンの機械学習では、不均衡な分布は偏りの大きいデータに適した学習を行ってしまう傾向があり推定精度の低下要因とされ、不均衡に対する措置が必要とされる。

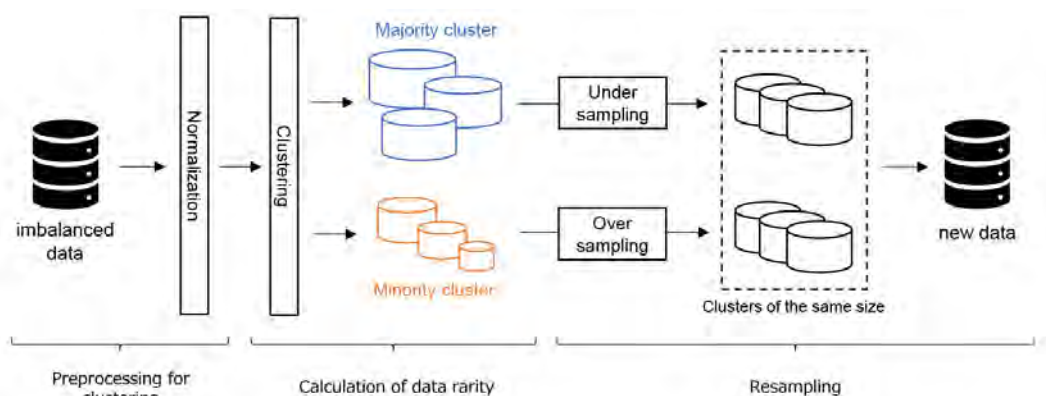


図4 CREAMERの概要

そこで、不均衡性の解消による推定精度の向上を目的とし、新たなリサンプリング手法としてCREAMER (Clustering-based R-EsAmpling MEthod for Regression) を研究開発した[2]。CREAMERは既存のリサンプリング手法と異なり、データ希少度の算出からリサンプリングまで全てを行い、クラスタリング用前処理部、データ希少度算出部、リサンプリング部の3つの処理部を経て前処理を行う(図4)。

施設栽培イチゴデータの光合成速度や蒸発散速度の推定に対して、本手法の効果を検証した結果、光合成速度の学習ではリサンプリングによる恩恵は少ないが、CREAMERのみ僅かに精度の向上を確認できた。

蒸発散速度の推定ではリサンプリングの適用が有効であることを確認した。蒸発散速度の分布は光合成速度の分布より偏りが大きく、データ不均衡性による推定精度への影響も大きくなったため、光合成速度の推定よりもリサンプリングの恩恵を得られたと考える。各リサンプリング手法適用後の7次元の説明変数を、

UMAPで2次元に圧縮し2変量ヒストグラムで表現した(図5)。既存のリサンプリング手法(図中c, d, e, f)の説明変数の分布は、目的変数の希少度が高い部分にデータが集中している。一方、CREAMERは均等にデータを分散させるような分布を形成しており、類似した目的変数を持つデータに対しても異なる扱いをしていることを示している。例えば、gの破線で囲まれている箇所は実線で囲まれている箇所と同じような目的変数の希少度であるが、リサンプリング後のデータ密度が異なっている。さらに目的変数の希少度が高い部分は他よりも密度が高い傾向にあることから、クラスタリング時の目的変数の重みづけが有効に働いているといえる。

以上のように、AIの推定と根拠を多角的に分析し、専門知識との整合性を確認でき、AIの発見した知見を人が理解可能にすることは、これまでにない新しい応用を開拓できると考える。今後、限定的な条件において網羅的な特徴量作成と効果検証による探索を行い、AIの発見した新たな知見に対して人が理解することができるか検討を進める。本研究で得られた知見や研究成果をもとに、植物フェノタイピングに限らず複数のステップからなる一連のプロセスにおいて、XAI実現の機械学習パイプラインの整理ならびに研究体制の強化を引き続き目指していく。

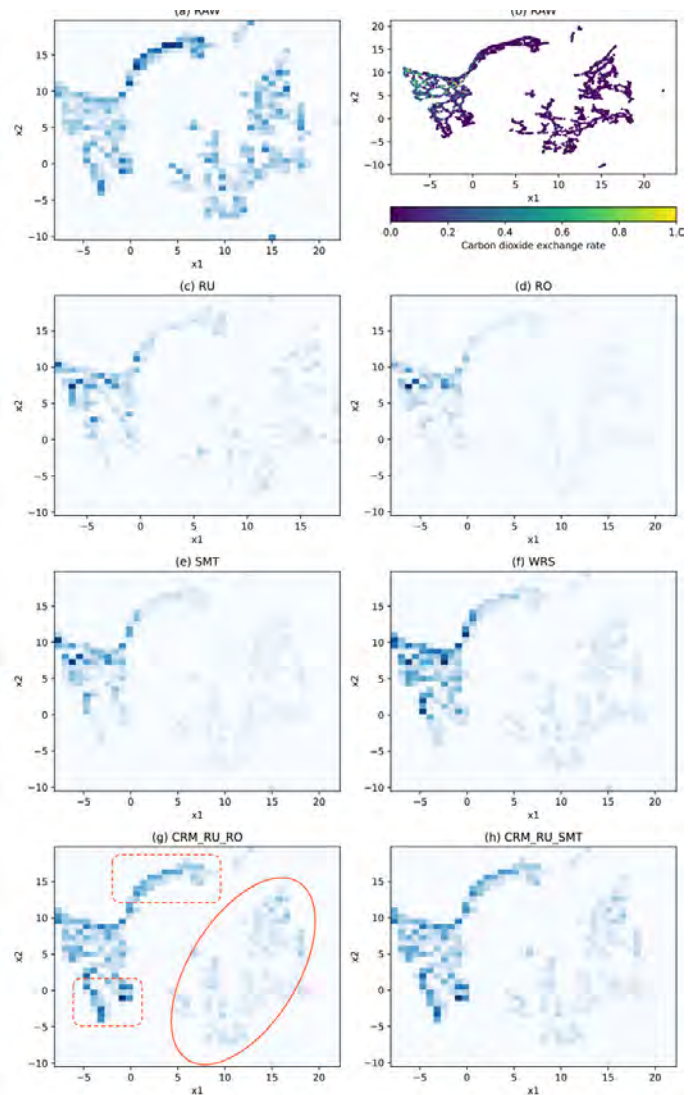


図5 各リサンプリング適用後の説明変数の分布(光合成速度)

[1] 画像局所特徴の類似度を用いたメロン等級判定システムの開発、情処論CDS、Vol.13(1) (Jan.2023).

[2] 栽培データの分布不均衡性を考慮した植物生理状態の推定、情処論、Vol.63(11) (Nov.2022).

研究課題：エネルギー・環境問題の解決に向けた超分子・分子集合体の新物質開発

研究代表者：小林 健二 教授（超分子・分子集合体研究コア）

研究分担者：近藤 満 教授（超分子・分子集合体研究コア）

加藤 知香 教授（超分子・分子集合体研究コア）

守谷 誠 准教授（超分子・分子集合体研究コア）

研究概要

超分子・分子集合体コアでは、分子自己組織化と分子配列制御を基盤に、超分子・分子集合体に立脚した「超分子カプセル・多孔性分子集合体・水素製造用光触媒・全固体電池」などの研究を行い、エネルギー・環境問題解決を指向したボトムアップ型ナノサイエンス & テクノロジーのグリーン基盤科学技術を化学の立場から開拓することを目的としている。

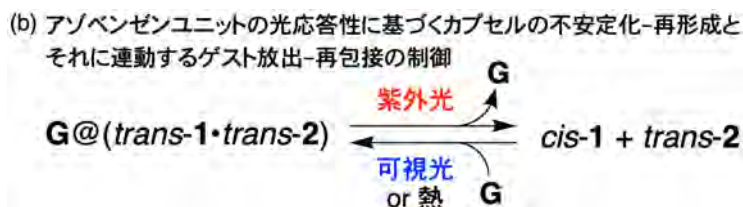
本申請課題では、「エネルギー・環境問題の解決に向けた超分子・分子集合体の新物質開発」を念頭に、4名の研究コア員によって、以下に示す各自の研究課題を遂行しつつ、互いに連携し、化学の立場からグリーン基盤科学技術を開拓することを目的に研究を行った。

1. 分子集合性ナノ空間の創出と機能化(小林担当)
2. カプセル分子を利用した有害陰イオン検出・除去の新技术(近藤担当)
3. 貴金属ナノ構造の精密制御による水素製造用光触媒の開発(加藤担当)
4. 有機イオン柔粘性結晶の開発(守谷担当)

研究成果

本申請課題では、4名の研究コア員によって、各自の研究課題を遂行しつつ、互いに連携し、化学の立場からグリーン基盤科学技術を開拓することを目的に研究を行った。

小林グループでは、光応答性の分子集合カプセルの研究を行っている。アゾベンゼン誘導体は、紫外光照射により *trans*体 → *cis*体へと異性化し、可視光照射または熱により *cis*体 → *trans*体へと異性化する光応答性分子である。今回我々は、アゾベンゼン部位を組み込んだ *m*-ペリジルアゾフェニルキャビタンド1と *p*-フェノールアゾフェニルキャビタンド2を合成し、CDCl₃中で1と2を1:1で混合すると、PyN⁺⋯HOPh水素結合に基づく分子集合カプセル1・2を形成することを見出した(図1a)。キャビタンド1と2は水素結合部位を含むアゾベンゼンユニットの配座柔軟性により、包接されるゲスト分子のサイズに応じてカプセルのキャビティー伸縮が起きることを見出した。カプセル1・2のゲスト包接能はG₄ < G₁ < G₃ < G₂の順に増加した。ビティー伸縮が起きることを見出した。カプセル1・2のゲスト包接能はG₄ < G₁ < G₃ < G₂の順に増加した。また、1のアゾベンゼンユニットの光応答性に基づき(2は光異性化せず)、紫外光-可視光照射によるカプセルの不安定化-再形成、および、それに連動したゲスト分子の放出-再包接の制御を達成した(図1b)。



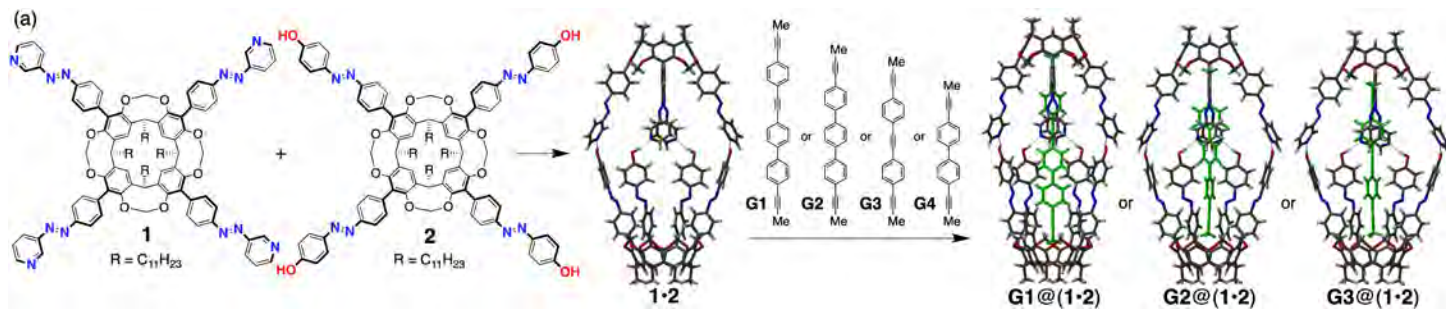


図1. (a) PyN \cdots HOPh水素結合に基づく分子集合カプセル1・2とゲストG1~G3を包摂したカプセル1・2のモデル図 (PM3 level). (b) ゲスト包摂カプセルG@(1・2)の光応答性の模式図.

近藤グループでは、以下の研究を展開した。硝酸態窒素(硝酸イオンおよび亜硝酸イオン)はヒトが経口摂取するとメトヘモグロビン血症を引き起こす毒性をもつ。日本において硝酸対窒素の水道水中における許容濃度は硝酸イオンに換算しておよそ44 ppm (0.63 mM)と定められている。これまで硝酸イオンと亜硝酸イオンの定量には複雑な化学処理が必要で、呈色による簡便な検出方法は確立されていなかった。今回、対イオンに陰イオン性のアゾ色素(Azo dye)を対イオンにもつカプセル型錯体(1)を合成単離し、呈色により硝酸イオンと亜硝酸イオンを同時に定量する新しい技術の開発に成功した。硝酸イオンと亜硝酸イオンを同時に含む水溶液に錯体1のDMF溶液を添加すると、対イオン交換反応(図2a)により、水溶液は硝酸イオンの濃度に依存して黄色への呈色し、硝酸イオンの濃度を定量できることが分かった。さらに、この水溶液に希塩酸を数滴加えて酸性にすると、亜硝酸イオンの濃度に依存して赤色の褪色が起こることが明らかとなった。3分後の水溶液の呈色強度が亜硝酸イオンの濃度をよく反映することから(図2b)、その水溶液の呈色強度を利用して亜硝酸イオンの濃度を定量できることを見出した。

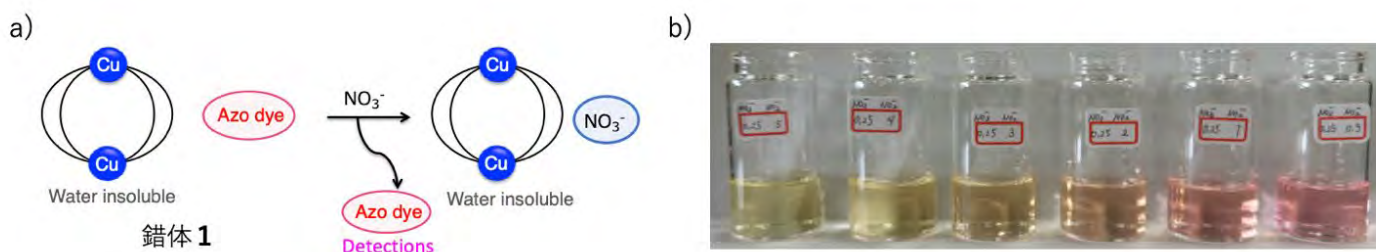


図2. 錯体1対イオン(陰イオン性アゾ色素(Azo dye))が対イオン交換により放出され、対象とする陰イオンを呈色により定量できる(a).亜硝酸イオン(左から5, 4, 3, 2, 1, 0.5 (mM))と0.25 mMの硝酸イオンを含む水溶液に錯体1を添加し、硝酸イオンを定量後、酸性にした後3分間静置した水溶液.

加藤グループでは、熱的安定性に優れており、高い電子受容能を有するポリオキソタングステートに着目し、その骨格構造に*cis*-ジアンミン白金種と2,2'-ビピリジンパラジウム種を隣接配位させたバイメタル化合物の新規合成を行った(図3)。アルミニウムポリオキソカチオンを介した二核型白金化合物の酸化チタン表面への静電的担持法の開発も行い、得られた固体が不均一系での水からの水素生成反応に対して優れた光触媒活性を示すことや、ろ過により回収した反応後の触媒が失活せずに再利用可能であることを見出した。本プロジェクトで得られた成果は、1件の特許出願(「金属担持体及びその製造方法、反応触媒、並びにカチオン修飾担体及びその製造方法」, 特願2022-175452)と1報の論文発表(C. N. Kato *et al.*, *Inorg. Chem.*, 61, 9445 - 9453, 2022)にて公表した。今後は、貴金属サイトの高効率利用と持続的水素製造を両立させた光触媒の開発を進めていく予定である。

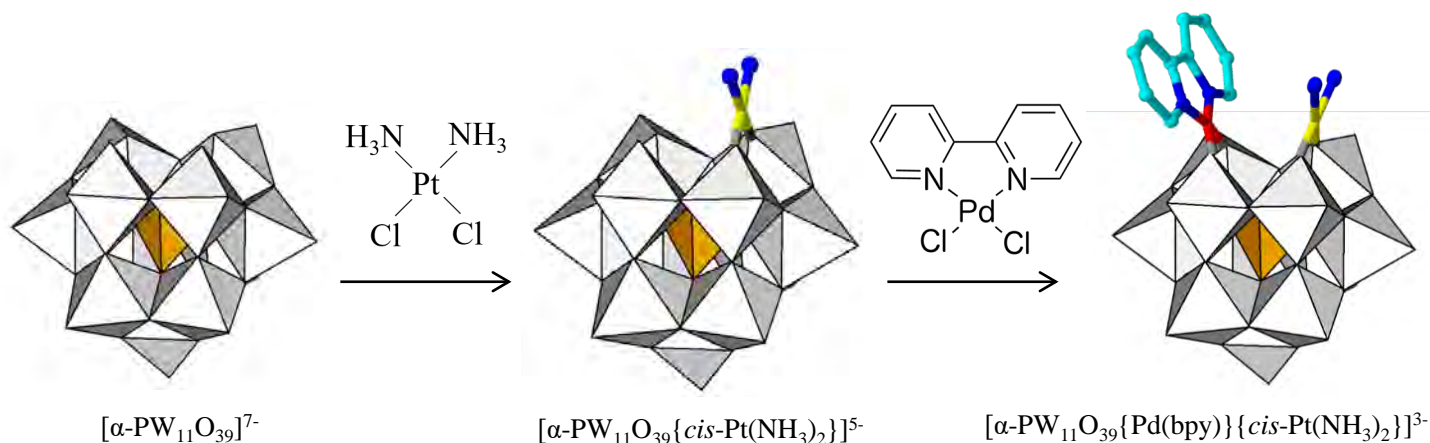


図3. 白金-パラジウムバイメタルサイトを有するポリオキソタングステートの合成スキーム

守谷グループでは、結晶と液体の中間相の一つである柔粘性結晶に注目してきた。柔粘性結晶は「規則的な分子配列」と「分子の動的挙動」という特長を併せ持つことから、固体電解質の母材として大きな可能性がある」と期待されている。このような柔粘性結晶を得るための構成要素として、守谷らは環状パーフルオロスルホニルアミドアニオンの活用が有効であることを見出している。ただし、このアニオンを用いた有機イオン種に関する報告は例が限られている。そのため、材料としては様々な構造を持つ物質が合成可能ではあるものの、構造と物性との関係性については不明な点が多く残されている。そこで本研究では、これまで合成例のない四級ホスホニウムイオンと環状パーフルオロスルホニルアミドアニオンからなる新規有機イオン種の合成を試みた。その結果、新規ホスホニウム系有機イオン種を得るとともに、その結晶構造解析に成功した(図4)。今後は、得られた試料の物性評価を進め、ホスホニウム系柔粘性イオン結晶の設計指針の構築につなげる予定である。

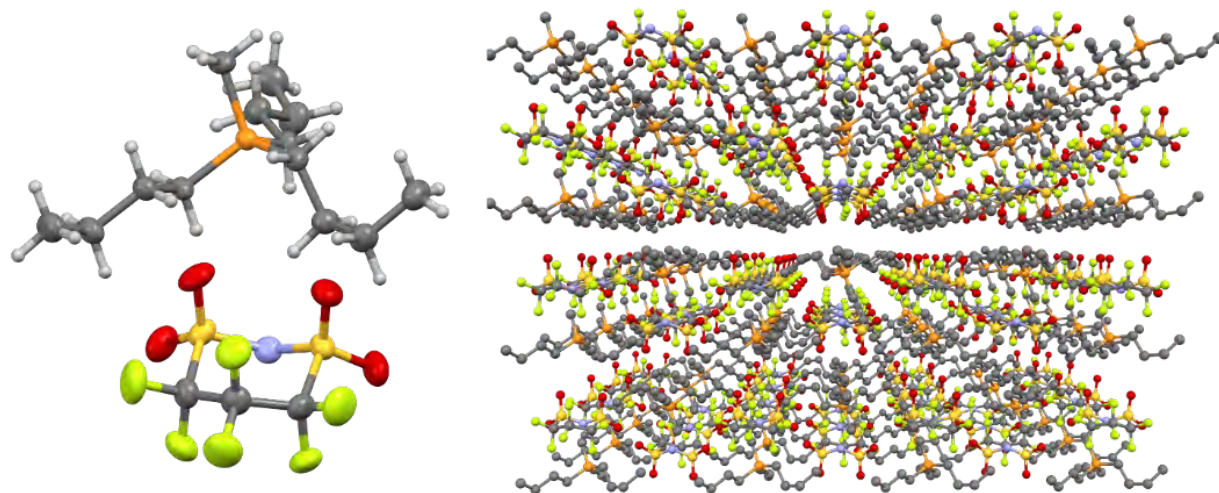


図4. 得られたホスホニウム系有機イオン種についての結晶構造解析の結果
(左)分子構造、(右)パッキング図(C: 灰、N: 青、O: 赤、F: 黄緑、S: 黄、P: 橙、H: 白)

研究課題：多機能性有機材料に向けた外部応答能を持つイオン伝導性分子結晶の開発

研究代表者：守谷 誠 准教授（超分子・分子集合体研究コア）

研究分担者：松本 剛昭 准教授（静岡大学理学部）

研究概要

革新的なデバイスの実現に向け、複数の機能を持つ多機能材料がその鍵として大きな注目を集めている。研究代表者である守谷は、分子が持つ構造多様性を生かすことにより、以下のような有機材料の開発を10年以上にわたって取り組んでいる。

- ・イオン伝導性分子結晶：リチウム塩と有機分子からなるイオン伝導パスの構築（たとえば、Nano Lett. (2020), J. Mater. Chem. A (2021), Inorg. Chem. (2022)）
- ・圧電性や触媒能を持つ遷移金属錯体：キラル分子あるいは大環状化合物を持つ錯体の開発（たとえば、Inorg. Chem. (2012), J. Phys. Chem. C (2020), JACS Au (2021)）

本研究では、複合機能を有する新規有機固体材料の開発を目的として、上に示した二つのコンセプトを組み合わせた材料開発を試みた。具体的には、光照射による電荷分離や異性化のような機能を持つ分子をリチウム塩と組み合わせた新規分子結晶を合成することにより、外部刺激応答能とイオン伝導性を併せ持つ多機能性有機材料の開発を試みた。研究は、試料の合成と物性評価を代表者である守谷が担当し、光化学を専門とする松本が分光測定、理論計算を担当することにより進めた。

研究成果

守谷らは、分子性アニオンを有するリチウム塩と配位性官能基を有する有機基質の自己集積化と結晶化によって得られる分子結晶電解質に注目し、新規電解質材料の開発と特性向上を検討してきた¹。分子結晶電解質では、結晶格子中でリチウムイオン、対アニオン、有機分子が規則的に配列することによってリチウムイオンが規則的に配列し、イオン伝導パスに相当する構造が形成される。さらに、このイオン伝導パスを介して、リチウムイオンが選択的に拡散することによりイオン伝導性が発現する。分子結晶電解質の構成要素となるリチウム塩や有機分子は構造多様性に富むという特徴を有する。また、構成要素に用いるリチウム塩と有機分子の組合せも多様性に富む。そのため、構成要素の分子構造を変化させる、あるいはアニオンと有機分子の組合せを種々検討するといったことにより、イオン伝導パスの構造を多彩に制御することが可能であり、このイオン伝導パスの構造制御を通して、リチウムイオン伝導性を向上させることが可能である(図1)。

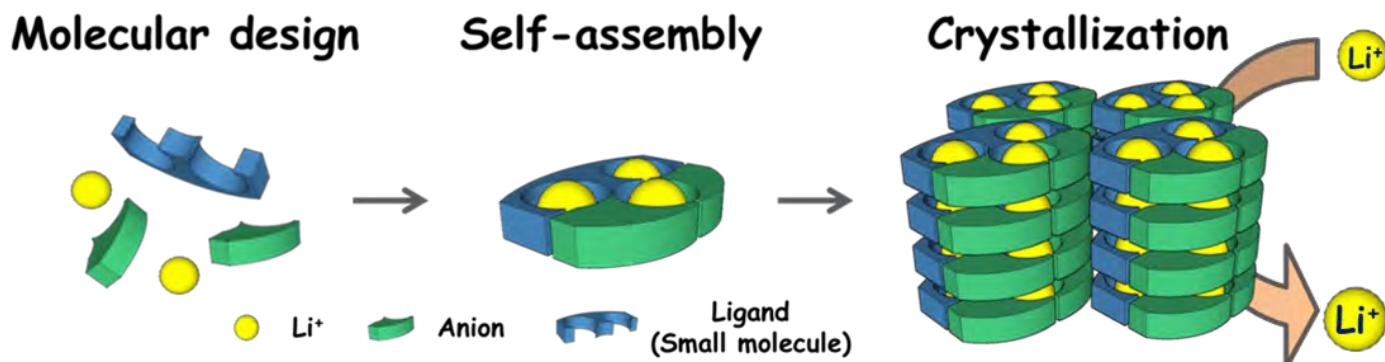


図1. 分子結晶電解質の開発についての概念図

最近では、 $\text{Li}\{\text{N}(\text{SO}_2\text{F})_2\}$ (LiFSA)とスクシノニトリル (SN)からなる分子結晶電解質 $\text{Li}(\text{FSA})(\text{SN})_2$ が、室温で $10^{-4} \text{ S cm}^{-1}$ という高いリチウムイオン伝導性を示すことを見出し、さらには $\text{Li}(\text{FSA})(\text{SN})_2$ を固体電解質とした薄膜全固体電池の作製と安定的な動作にも成功している。この結果は、分子結晶電解質が全固体電池の実現に向けた新たな固体電解質の候補として大きな可能性を有することを示す結果として注目を集めている²。

このような分子結晶電解質にイオン伝導性以外の機能を付与することが出来れば、多機能材料としての応用が広がるものと考えられる。例えば、外部刺激に応答し、イオン伝導性を変化させることができれば、分子結晶を用いたスイッチング素子の実現につながることを期待される。ただし、分子結晶電解質自体の開発事例が少ないことから、このような多機能化に関する検討事例は皆無といって良い状況にある。そこで本研究では、守谷グループで検討を続けている分子結晶電解質と松本グループが得意とする光機能を組み合わせることにより、複数の機能を併せ持つ新規材料の開発を試みた。具体的には、外部刺激応答能とイオン伝導性を併せ持つ多機能性有機材料に向け、光照射に対する応答性を持つ有機分子をリチウム塩と組み合わせた新規機能性分子結晶電解質の合成を検討した。

これまでの検討から守谷グループでは、分子結晶電解質の構成要素として、 $\text{Li}\{\text{N}(\text{SO}_2\text{F})_2\}$ (LiFSA)あるいは $\text{Li}\{\text{N}(\text{SO}_2\text{CF}_3)_2\}$ (LiTFSA)といった高解離度を特徴とするスルホニルアミドアニオンを有するリチウム塩の活用が、伝導パス構築と高イオン伝導性の発現に対して有効であることを見出している。また、松本らは光をプローブとした分子の自己集積構造の理解を通じた研究のなかで、光照射による電荷分離能を有することが知られている4-(ジメチルアミノ)ベンゾニトリル (DMABN)に興味を持っていた。分子結晶電解質の構成要素となる有機分子には、伝導パスを構成するために配位性の官能基が必要になることが知られている。興味深いことに、このDMABNには、配位座として振る舞うことが良く知られているアミン、ニトリルといった官能基を有していることから、伝導パスの構成要素として振る舞うことが期待される。このような知見を基に、本研究ではDMABNとLiTFSAとの反応から、新規分子結晶電解質を合成することを試みた。その結果、 $\text{Li}(\text{TFSA})(\text{DMABN})_4$ を新規化合物として得るとともに、その結晶構造を明らかにすることに成功したので、以下にまとめる。

新規分子結晶 $\text{Li}(\text{TFSA})(\text{DMABN})_4$ は、アルゴン雰囲気下でLiTFSAと過剰量のDMABNを反応させることにより得た。具体的には、LiTFSAとDMABNを混合、加熱することにより粘性の高い融液を得た後、この融液を室温下で静置することにより、無色透明の単結晶として $\text{Li}(\text{TFSA})(\text{DMABN})_4$ を得ることに成功している。単結晶X線構造解析を行うことにより明らかにした $\text{Li}(\text{TFSA})(\text{DMABN})_4$ の構造を図2に示す。

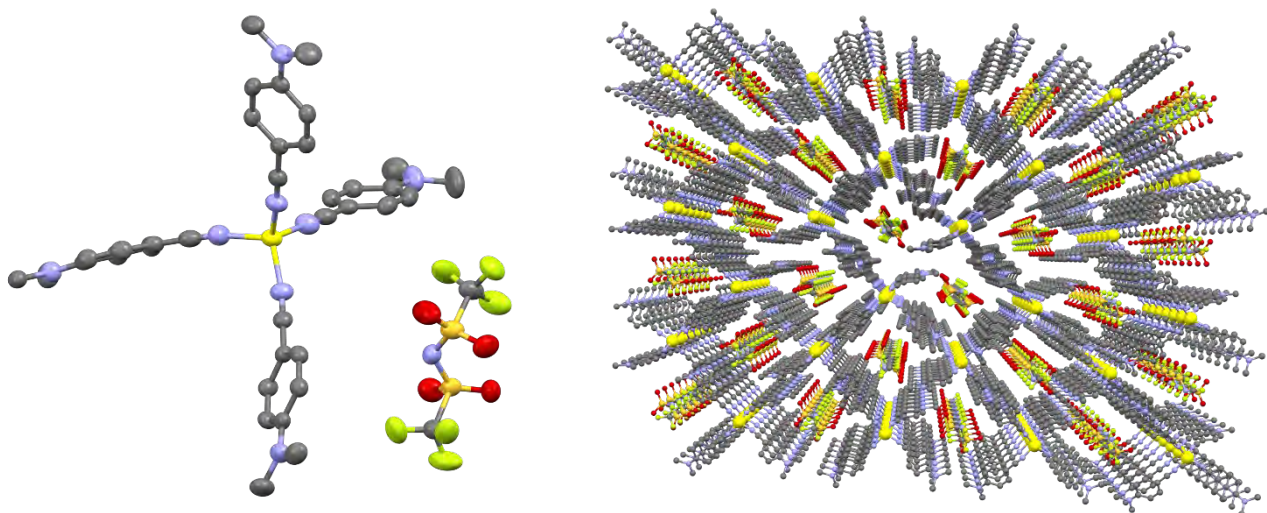


図2 $\text{Li}(\text{TFSA})(\text{DMABN})_4$ の単結晶X線構造解析の結果(左)分子構造、(右)パッキング図
(C: 灰、N: 青、O: 赤、F: 黄緑、S: 黄、P: 橙。なお、水素原子は省略している。)

結晶格子中において、リチウムイオンは四分子のDMABNとニトリル基を介して相互作用していることが確認された。また、TFSAアニオンはリチウムイオンとは相互作用することなく、遊離していることも確認された。リチウムイオンとDMABNで構成されるカチオン部分に注目すると、平均Li-N間距離は2.01 Åと算出された。この数値はLi(FSA)(SN)₂の結晶構造から確認された平均Li-N間距離(2.04 Å)と比較的近い値である。Li(TFSA)(DMABN)₄のパッキング図からは、リチウムイオンが規則的に配列した、伝導パスに相当する構造が形成されている様子が見て取れる。これまでの知見から、イオン伝導性の高い分子結晶では、パッキング図中に見られる最近接位のLi-Li間距離が短い傾向がある。例えば、Li(FSA)(SN)₂ではこのLi-Li間距離が5.03 Åであることが知られている²。一方、ここで得られたLi(TFSA)(DMABN)₄では8.88 Åと算出され、Li(FSA)(SN)₂に比べると1.8倍程度、伸長した値になっていた。

これらの成果をもとに、守谷グループでは熱分析、イオン伝導性、光照射下での物性変化に関する評価を今後実施する予定である。なお、共同研究者である松本のグループでは基準振動解析、自然結合軌道解析などの量子化学計算を行うために、2台のワークステーションを本年度の助成により整備した。この装置を利用し、計算プログラムの試験運用を目的として、構造情報が既知であるピロールクラスター(2量体と3量体)の π 水素結合構造を最適化し、赤外およびラマンの基準振動解析を行い、赤外によるNH伸縮振動およびラマンによる分子間振動の計算結果を二次元相関分光法で解析することにより、ブロードバンド成分に埋もれる多様な分子間振動をクラスターサイズごとに選別して分離帰属することができることを示している。今後は、この試験運用の成果を参考に本研究で対象とする光応答性分子に対する量子化学計算を実施することを予定している。このような検討を継続することにより、外部刺激応答能とイオン伝導性を併せ持つ多機能性有機材料の開発を進めていく。

1. Moriya, M. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2017, 18, 634–643.

2. Tanaka, K.; Tago, Y.; Kondo, M.; Watanabe, Y.; Nishio, K.; Hitosugi, T.; Moriya, M. *Nano Lett.* 2020, 20, 8200–8204.

研究課題：複合微生物系制御に向けたハイブリッド型二次代謝産物生合成技術の基盤構築

研究代表者：二又 裕之 教授（新エネルギー研究コア）

研究分担者：鳴海 哲夫 准教授（グリーン分子創造技術研究コア）

田代 陽介 講師（静大大学院 総合科学技術研究科）

研究概要

様々な種類の微生物が存在する複合微生物系を用いて、グリーンエネルギーの効率的安定生産を図るためには、目的エネルギー物質（水素、メタンや電子）を生産する微生物のみならず、システム全体を調和的に制御する必要がある。その為には、微生物間相互作用の理解が必須である。そこで本研究では、一般環境微生物の1種である *Pseudomonas sp.* LAB-08株が生産する微生物間相互作用物質の実態解明を最終的な目標とした。

これまでの研究から、本物質生産を担う遺伝子の同定および大まかな分子構造は推測されているものの、実態解明には大量の当該物質を必要とする。また、培養経験から当該物質は二次代謝産物であり発現機構は不明であり、推測された分子構造から当該物質を有機合成することは極めて困難であると推定された。更に、同定された遺伝子産物の機能推定から、当該物質はまず大きな骨格が形成され、それを基盤に諸々の修飾・環化が生じて形成されると予想された。

そこで本研究では、これらの課題を解決し当該物質の大量生産を図る1つの解決策として、主要な炭素骨格を有機化学的に合成し、当該物質に抗菌作用がないことを確認した。LAB-08株から当該物質生成に関する酵素遺伝子をクローニングし目的タンパク質の発現を確認した。今後、発現酵素との反応により目的物質生成を目指し、ハイブリッド型二次代謝産物生合成技術の基盤構築を進める。

研究成果

【目的】

微生物の生産する二次代謝産物は、一般的に生産が不安定かつその代謝が不明であること、また化学構造も不明な場合が多く、純物質の獲得は容易でない。当研究室で発見された *Pseudomonas sp.* LAB-08株により生産されるシデロフォア的一种である Histicorrugatin (Fig. 1) はこれまでの研究により他微生物に対する増殖抑制効果が確認されている。Histicorrugatin はN末端にC8アシル化、主鎖骨格にアミジン環の導入、複数のアミノ酸の α -ヒドロキシ化された中分子サイズの構造で特徴づけられる。2,4-ジアミノブタン酸 Dab の側鎖アミノ基が主鎖に巻き込んだ主鎖アミジン骨格は、ペプチドの構造や生物活性に大きく影響を与えることが示唆されているものの、汎用性の高い合成法は未開拓である。また、ヒスチジン側鎖やアスパラギン側鎖が α -ヒドロキシ化されているものの、それらの立体化学は明らかにされておらず、その立体選択的合成法も確立されていない。

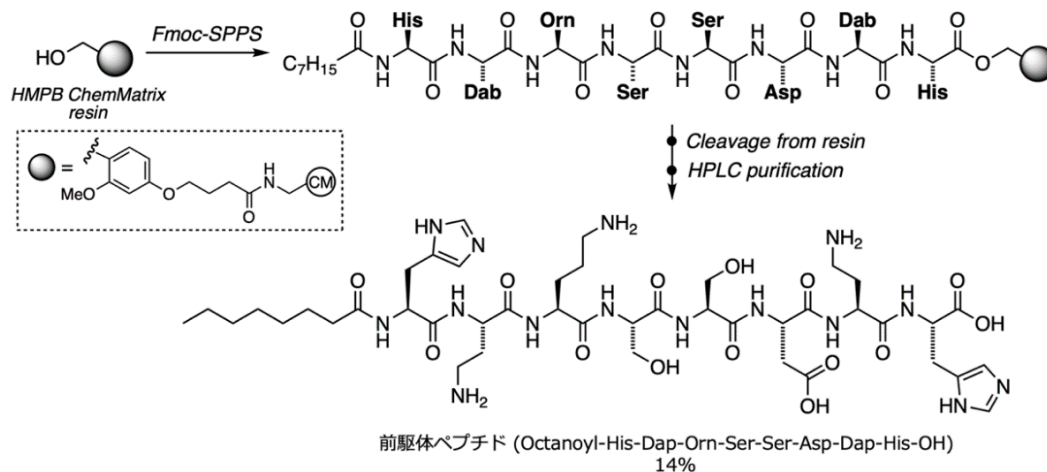


Fig. 1. Histicorrugatinの化学構造

そこで本研究では、まず骨格構造(Histicorrugatin前駆体ペプチド)を有機化学的に合成し、その骨格構造物質をLAB-08株もしくは当該微生物から抽出した酵素によって修飾・環化させることで、目的物質の取得を試みた。

【結果および考察】

1) Histicorrugatin前駆体ペプチドの合成

ヒドロキシ化酵素の基質となり得る前駆体ペプチド (Octanoyl-His-Dap-Orn-Ser-Ser-Asp-Dap-His-OH) をFmoc-固相合成法によって合成した。HMPB ChemMatrix resinに対し、対応する保護アミノ酸をDIC/Oxyma条件で順次縮合することでペプチド鎖を構築し、常法に従い精製することで、所望のHisticorrugatin前駆体ペプチドを収率14%で合成した(Fig. 2)。現在、主鎖アミジン骨格を有する前駆体ペプチドを合成するために、アミジン環の新規合成法の開発に取り組んでいる。

2) 合成Histicorrugatin前駆体ペプチドの抗菌活性評価

ペプチドには抗菌活性を発揮するものが報告されている。合成Histicorrugatin前駆体ペプチド(Fig. 2)にもペプチド鎖が含まれているため、当該物質の抗菌活性を微生物の増殖力で評価した。これまで、Histicorrugatinによって強い増殖抑制を受ける *Comamonas testosteroni* R2株を供試菌株としフェノールを炭素源とした最小培地にて合成Histicorrugatin前駆体ペプチドを終濃度68.5 μ Mの濃度で添加し培養した。その結果、供試濃度ではR2株の増殖はコントロール系と比較し抑制されなかった(Fig. 3)。以上の結果から、LAB-08株もしくは当該微生物から抽出した酵素によって修飾・環化させる場合、上記濃度では問題がないことが示唆された。

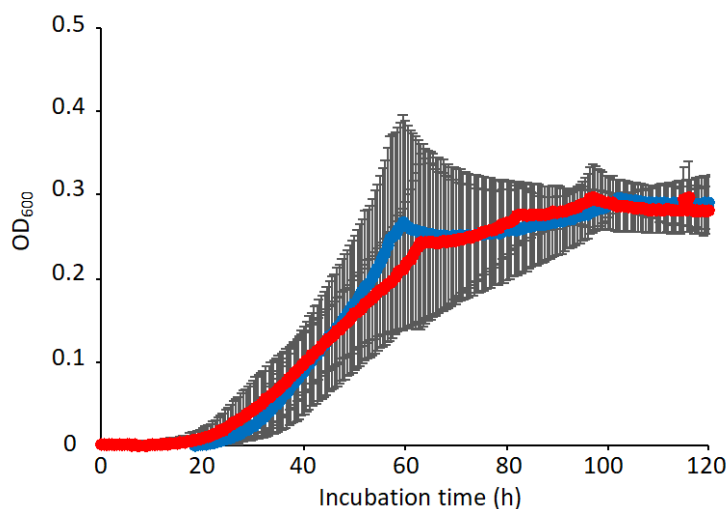


Fig. 3. 合成Histicorrugatin前駆体ペプチドの抗菌活性力の評価
合成Histicorrugatin前駆体ペプチド添加系の *Comamonas testosteroni* R2株の増殖曲線を赤色線、無添加系の増殖曲線を青色線で示す。
各データは三連の平均値および誤差を示す。

3) 合成Histicorrugatin前駆体ペプチドのb-ヒドロキシ化に向けた酵素の発現

先行研究より、Histicorrugatinの増殖抑制は鉄添加で解除され、シデロフォアは鉄とキレートし細胞内へ取り込まれることから、本物質の増殖抑制には鉄キレート能の重要性が考えられた。鉄キレート能はペプチド側鎖のヒドロキシ基が関与していると考えられた為、骨格構造のヒドロキシ化を試みた。Histicorrugatinの生合成遺伝子クラスターが報告されており(S. Matthijs et al. 2016)、このうちhcsCおよびhcsEがそれぞれアスパラギン酸およびヒスチジンのヒドロキシ化を担う事が示されている(Zachary L. Reitz et al. 2019)。そこで、これらの遺伝子をクローニング(Fig. 4A)し大腸菌でのIPTGによる発現誘導を行い、目的タンパク質に付加したHisタグを標的としたウェスタンブロットティング(Fig. 4B)により、目的タンパク質の発現が確認された。

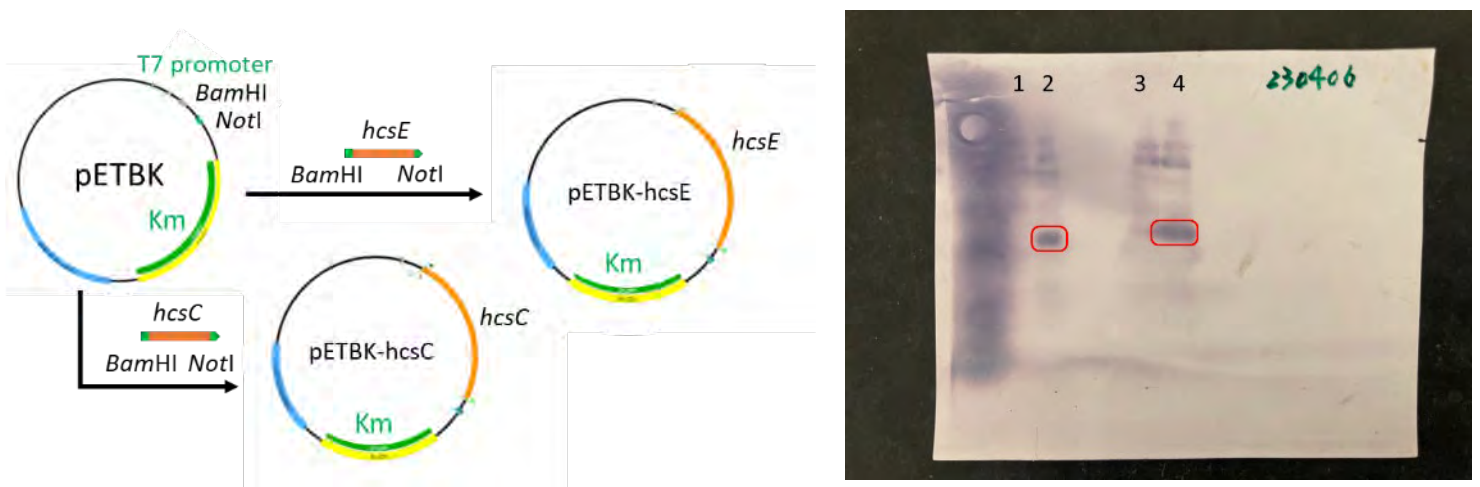


Fig. 4. タンパク質発現ベクター作製概略図およびウェスタンブロットティングの結果

A: HcsCおよびHcsE発現用ベクターの作製概略図。B:ウェスタンブロットティングの結果。レーン

1:pETBK-hcsC保持株IPTG誘導無、2:pETBK-hcsC保持株IPTG誘導有、3:pETBK-hcsE保持株IPTG誘導無、4:pETBK-hcsE保持株IPTG誘導有。赤枠:目的タンパク質

【今後の展望】

今後、これらの酵素タンパク質を精製し合成Histicorrugatin前駆体ペプチドと反応させ、ペプチド側鎖のヒドロキシ化を行う予定である。並行して、有機化学反応でアミジン環化させ、精製酵素によるヒドロキシ化についても検討し、ハイブリッド型二次代謝産物生合成技術の構築を目指す。

研究課題：温泉メタン都市ガス化プロジェクトの推進と社会実装

研究代表者：木村 浩之 教授（新エネルギー研究コア）

研究分担者：道羅 英夫 教授（植物ストレスマネジメント研究コア）

後藤 芳彦 供給事業部長（東海ガス株式会社）

竹村 昌徳 供給保安部長（東海ガス株式会社）

金子 邦行 供給管理課主事（東海ガス株式会社）

研究概要

静岡県中西部は付加体と呼ばれる堆積層からなる。付加体は、海洋プレートが大陸プレートの下に沈み込む際に海洋プレート上の海底堆積物が大陸プレートの縁辺部にくっつき、その後、隆起してできた非常に厚い堆積層である。付加体の深部帯水層には、地熱によって温められた嫌気性の地下水（非火山性温泉）と天然ガス（主にメタン）が大量に貯えられている。静岡県焼津市では、焼津市および東海ガス株式会社（焼津市）によって焼津温泉が開発された。焼津温泉は、JR焼津駅から約500メートルの場所に構築された焼津港1号井（深度1,500 m）を源泉とし、焼津市内8カ所の温泉施設および宿泊施設に温泉水を供給している。一方、焼津港1号井からは温泉水と一緒に温泉付随ガス（メタン98.5%、湧出量 $1,400 \text{ Nm}^3 \text{ day}^{-1}$ ）が自噴により湧出しており、大気放散されていた。

本研究では、地域の未利用エネルギーの有効活用の観点から焼津港1号井から湧出している温泉付随ガスを都市ガスとして利用することを目的とした「温泉メタン都市ガス化プロジェクト」を推進する。具体的には、焼津港1号井から温泉水と付随ガスを定期的に採取し、温泉水の環境データを行う。また、温泉水に含まれる微生物群集の蛍光顕微鏡観察、各種嫌気培養、DNA/RNAの網羅解析を行う。一連の研究により、静岡県焼津地区の深部帯水層におけるメタン生成メカニズムを明らかにするとともに、持続的に温泉メタンを都市ガス化するための基盤データを収集する。

研究成果

令和3年1月に静岡県焼津地区に掘削された温泉用掘削井（焼津港1号井、深度1,500 m）にて、約6ヶ月ごとに嫌気性の地下水（非火山性温泉）および温泉付随ガス（温泉メタン）を採取した。そして、環境データ、付随ガス組成、イオン濃度、各種安定同位体比、微生物活性、微生物群集構造をモニタリングした。その結果、温泉水の水温、pH、酸化還元電位、電気伝導率、各種イオン濃度、水素・酸素安定同位体比の変動はほとんど見られなかった。また、温泉付随ガスのガス組成やメタンの炭素安定同位体比も一定の値を示した。一方、温泉水に含まれる微生物群集を解析した結果、令和3年1月に採取した微生物群集においては原核生物に占めるアーキアの割合は1%程度であったが、令和3年8月には7%、令和4年2月および8月には60~70%を示した。また、アーキア群集の中にはメタン生成菌はほとんど含まれていなかった。バクテリア群集においては、令和3年1月では *Thermoanaerobacterales* が優占種であったが、令和4年2月および8月には *Rhodobacterales* が最も優占していた。さらに、16S rRNA遺伝子のGC含量から微生物の生育温度を推定したところ、令和3年1月は42℃、令和3年8月は46℃、令和4年2月および8月には50~52℃へと微生物群集の至適生育温度が上昇したことが示された。大深度掘削井を構築して揚水すること

によって深部帯水層の地下水が流動し、微生物群集構造が中温菌から好熱菌へ変化した可能性が示された。一連の研究結果より、静岡県焼津地区の深部帯水層において微生物群集の生息は見られるがメタン生成菌がほとんど生息していないことが明らかとなった。また、焼津地区の深部帯水層においては堆積層中の有機物が熱分解することによってメタン生成が行われていることが示唆された。

本研究においては、焼津市および東海ガス株式会社と連携して焼津港1号井から湧出する温泉付随ガスを利用した温泉メタン都市ガス化プロジェクトを推進した。令和3年度において、東海ガスによってガス除湿機、ガスホルダー、熱量調整装置、付臭装置、都市ガス管への送付装置を組み合わせた温泉メタンガス供給システムが設計された。そして、令和4年11月に温泉メタン都市ガス化施設(中港製造所)を完成させ、温泉メタンから都市ガスを製造・供給する事業を開始した。

現在、焼津港1号井から湧出する温泉メタンから年間511,000 Nm³(約1,700世帯分)の都市ガスを製造し、周辺の地域へガス供給を行っている。国際的な天然ガスの価格変動にもよるが、年間1.6億円から2億円のガス料金の収入を見込んでいる。本プロジェクトは、カーボンニュートラル、温室効果ガス排出削減、地球温暖化防止、地域の未利用エネルギーの利活用、エネルギー自給率の向上、災害時のライフライン供給に貢献するものと考えられる。

**社会
実装**

焼津温泉での温泉メタン都市ガス化プロジェクト



温泉メタン都市ガス化施設



温泉用掘削井(深度1,500 m)



メタン分離槽



ガス貯蔵タンク



増熱用LPガス貯蔵タンク



全自動付臭装置



都市ガス供給管



研究課題：人類の未来を左右するプラスミドの網羅的カタログの構築

研究代表者：新谷 政己 准教授（新エネルギー研究コア）

研究分担者：鈴木 仁人 主任研究官（国立感染症研究所）

鈴木 治夫 准教授（慶應義塾大学）

野田 尚宏 グループリーダー（産業技術研究所）

研究概要

微生物は、世界的な食糧問題や気候変動等の解決の鍵を握るが、その機能の解明には、注目する微生物に外来DNAを導入し、遺伝子を破壊したり外来DNAを発現させたりすることが必要になる。プラスミドは、微生物細胞内に染色体とは物理的に独立して存在する遺伝因子であり、それを有する微生物に薬剤耐性や特殊な物質を代謝する能力を与える遺伝子(群)を含む。またプラスミドには、それをもつ供与菌から、もたない受容菌へと、接合伝達とよばれる機構で移動する接合伝達性プラスミドも含まれる(図1)。

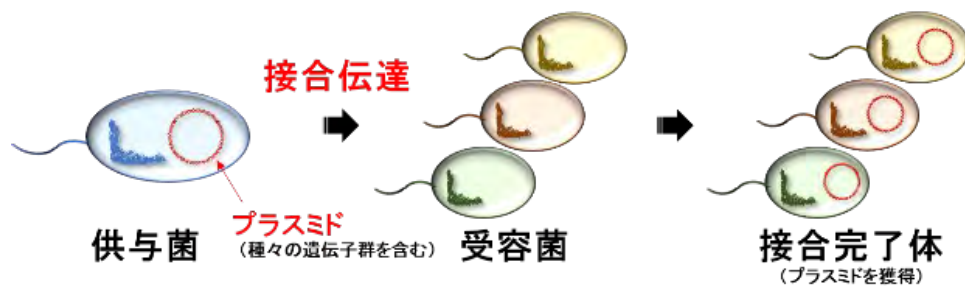


図1(左). プラスミドの接合伝達。接合伝達性プラスミドは種々の細菌間を接合伝達によって移動し、受容菌(接合完了体)の形質を大きく変える。

微生物の研究を行う際には、このような天然のプラスミドを基に作製されたツール(ベクター)が利用される。しかし、現状は、限られた微生物(大腸菌・酵母)を対象としたベクターしか整備されておらず、それ以外の微生物を扱う場合には、プラスミドの「カタログ」というべきデータベースが無く、論文から関連情報を探して個別に入手するしかない。その結果、研究者や企業がユニークな微生物を持っていても、手が出せない状況が生じており、大きな損失となっている。また、プラスミドは、近い将来、癌よりも多くの死亡者をだすと予測される、多剤耐性菌の出現・蔓延の原因となっており、人類の未来を左右する遺伝因子でもある。従って、プラスミドの網羅的なカタログができれば、基礎・応用両面で極めて重要になる。現在、世界各国で見出され、その全DNA配列が解読されたプラスミドは46,000を越えている。しかし既存のデータベースは、限定された種類のプラスミドに特化して作られており、また、のプラスミドが、どの微生物に伝達し、複製・維持されるかという宿主域の情報との連結がなされておらず、網羅性に乏しい。薬剤耐性遺伝子をもつプラスミドの誤分類は、疫学上も極めて深刻な問題になるため、研究代表者らは、誤分類を正す論文を発表してきた(論文リスト1)。このままでは、プラスミドが次々に誤分類され、基礎・応用両面で大きな混乱を生じる。このような背景から、本研究では、プラスミドの網羅的なカタログの整備を最終目的とし、その第一歩として、特にPseudomonas属細菌由来のプラスミドを中心に、性状を明らかにするとともに、正確なデータベースの整備を行った。

研究成果

プラスミドの分類の指標として、その複製開始を担うタンパク質(replication initiation protein, RIP)ををコードする遺伝子配列と、複製開始点(*oriV*)の情報を用いた。まず、日本国内で1970年代以降に見出された緑膿菌由来のプラスミドで、研究代表者らがその全塩基配列を決定したプラスミド(IncP-5, IncP-11, IncP-12群プラスミド)と、環境試料から収集したプラスミドのうち、*Pseudomonas*属細菌を宿主にするにもかかわらず、その性状が未解明なプラスミド(pYKAS102, pYKCK106, pKIFA123)についてRIPおよび*oriV*を決定した(一部論文リスト2で発表)。得られた情報を基に、カタログの基盤情報を整理した。その結果、*Pseudomonas*属細菌由来のプラスミドとして登録されている、476のうち、305のプラスミドについて、正確に分類が可能になった。

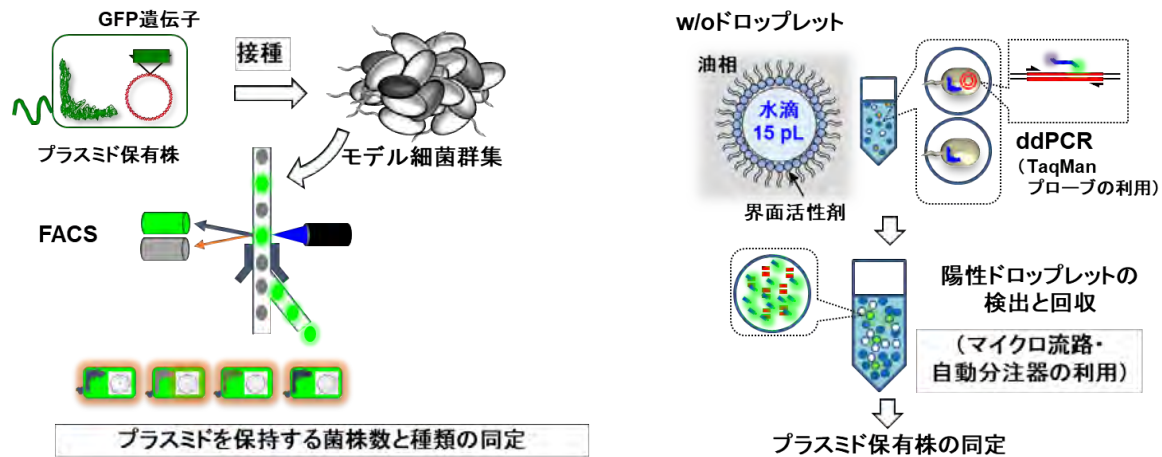


図2. 各プラスミドの宿主域の決定方法。

また、申請者らがこれまでに確立した手法を利用して、*Pseudomonas*属細菌由来の各プラスミドに関し、最も重要な性状の一つである、宿主域を決定した(図2)。各プラスミドに、接合伝達後にのみ発現する、緑色蛍光タンパク質GFP遺伝子を挿入し、当該プラスミドをもつ*Pseudomonas*属細菌(供与菌)と、環境試料(土壌・湖水)中に生息する微生物群集を混合して接合実験を行った。その後、プラスミドを受け取った接合完了体を、緑色蛍光を指標にフローサイトメトリーとセルソーター(FACS)によって分取した(図2左)。分離した接合完了体の16S rRNA遺伝子配列を解読することで、どの微生物がプラスミドを受け取ったのか同定した。その結果、プラスミドごとに、異なる微生物間を伝播し、その微生物の種類が多様性が異なること、特にプラスミド群が同じであっても、塩基配列が少し異なるだけで、宿主域が異なることも判明した(図3左)。現在は、さらに詳細な宿主域比較を行うために、各プラスミドを保有する供与菌、206種類の門・綱の異なる微生物からなる菌株カクテルを混合して同様の実験を行っている。また、並行して、油相中で安定な、直径30 μm の水滴、water-in-oil (w/o) dropletを作成し、本droplet内で行うmultiplex droplet digital (dd) PCRと、蛍光を指標に1 dropletずつ分注する技術を組み合わせ、シングルセルレベルで解析した(図2右)。まず、手法を確立するために、湖底泥試料から抽出した微生物細胞と、PromA群プラスミドの複製を担う遺伝子(*repA*)と16S rRNA遺伝子の部分領域をそれぞれ特異的に増幅させるPCR反応液をw/o dropletに封入した。このとき、*repA*の増幅を検出して蛍光を示すTaqManプローブも加えることで、ddPCR後に、PromA群プラスミドを含む細胞の入ったdropletのみが蛍光を示す。その後、マイクロ流路と分注器を組み合わせた機器によって、蛍光を示すdropletを1個ずつ取得した。回収したdropletからDNAを抽出し、*repA*および16S rRNA遺伝子の部分領域を改めて個別にPCR増幅し、塩基配列を解読した。現在までに、500万以上のdropletから、116個の蛍光を示すdropletの回収を行い、そのうち29個から*repA*および16S rRNA遺伝子の部分領域の増幅産物を取得した(図3右)。それぞれの塩基配列を解読して、PromA群プラスミドを保有していることを確かめた上で、16S rRNA遺伝子配列に基づいて天然の宿主を同定した。現在までに少なくとも14種類の目に属する宿主候補が得られ、このうち6種類は、2つ以上のdropletから同定された。また、未分離と考えられる種類の微生物も、天然の宿主

候補として同定されたことから、PromA群プラスミドは、未培養・難培養性微生物にも保有されている可能性もある。こうした情報は、各プラスミドの性状としてデータベースにも記載した。

以上の成果について、原著論文を2報、国内外での学会発表21回(うち招待講演4回)を行った。

各PromA亜群プラスミドの「行き先」候補						PromAy亜群プラスミドの「持ち主」候補							
Class	Family	Genus	pSN110	pMH061	pYK0414pSN072	Class	Order	Family	Genus	Number			
			4-11	3-68	012						9-62		
			Beta-1	Beta-2	Gamma				Delta				
Alphaproteobacteria	Rhizobiaceae	Rhizobium	2			1	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	1		
		Agrobacterium	1					Geodermatophiales	Geodermatophilaceae	Blastococcus	1		
		Beijerinckia	1							Kokuria	2		
		Ensifer	4							Leifsonia	4		
									Micrococcales	Microbacteriaceae	Microbacterium	1	
Betaproteobacteria	Comamonadaceae	Comamonas		54		8				Leucobacter	1		
		Variovorax	2						Microbacteriaceae	bacterium	1		
		Burkholderia		1		1			Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	Cutibacterium	2	
		Delftia	2			2			Bacteroidia	Chitinophagales	Saprospricaceae	Saprospricaceae bacterium	1
		Alcaligenaceae	Achromobacter	4		3		5				Chitinophages bacterium	1
Xanthomonadaceae	Aquimonas				1			Bacillales		Bacillaceae	Anoxybacillus	2	
	Stenotrophomonas	6	3	17	6			Lactobacillales		Streptococcaceae	Streptococcus	1	
	Enterobacter	3	19	1	5	Bacilli		Paenibacillales		Paenibacillaceae	Paenibacillaceae bacterium	1	
	Klebsiella	8	6	1	1					Staphylococcales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	1
	Kosakonia	4	2							Rhizobium	Beijerinckiaceae	Beijerinckiaceae bacterium	1
Leiflotia				1				Methylobacteriaceae		Methylobacterium	2		
Leclercia		4					Rhodobacterales	Rhodobacteraceae		Paracoccus	1		
Enterobacteriaceae	Siccibacter		1				Sphingomonadales	Sphingomonadaceae		Sphingomonas	2		
	Pluralibacter		1				Gammaproteobacteria	Moraxellales	Moraxellaceae	Moraxella	1		
	Yokenella		2					Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas	1		
	Raoultella		34	5	1	21							
	Citrobacter		3	1	5								
Buttiauxella		2											
Gammaproteobacteria	Shewanellaceae	Kluyvera		2									
		Erwinia				1							
		Hafnia		1									
		Pseudomonas	25	9	4	62							
		Acinetobacter			3								
Aeromonadaceae	Aeromonas	Aeromonas	17	27	24	37							
		Vibrio	1		1	5							
		Shewanella		1		8							

図3. PromA群プラスミドの宿主域情報。

今後は、本研究で確立した方法を活かして、プラスミド・データベースの再整備と拡充を図る。現在、*Pseudomonas*属細菌由来の未分類の171のプラスミドのうち、106については、RIPを見出しており、現在ori配列の探索中である。また、データベースの更新作業も進めており、現在執筆中の論文を発表次第公開する予定である。データベースが公開されれば、微生物を中心としたバイオプロセスの導入を促進し、カーボンニュートラル社会の構築にも貢献する。また、プラスミドのカタログが充実すれば、問題を生じる感染症の原因微生物がもつ薬剤耐性プラスミドの同定が容易になり、他の細菌に伝播するかどうか予測可能になる。危険度が高い場合には、予め隔離することで伝播を遮断するなど、予防対策にも貢献できる。従って、以上から、本研究課題は、生命科学の発展だけでなく、医療や産業の両面においても、大きく貢献する高い波及効果をもつ。

現在、こうしたデータベースの拡充を加速させるため、日本のDNAデータバンク(DDBJ、国立遺伝学研究所)と共同で、プラスミドDNAをデータバンクに登録する際に、本カタログへの登録も必須とする仕組みを構築しつつある。今後の展開として、本事業に関し、本年9月に国立遺伝研で勉強会を兼ねた打ち合わせを行う(大学共同利用機関法人情報・システム研究機構国立遺伝学研究所「研究会」の公募に採択済)。また、本プロジェクト研究に関連する研究課題で、外部資金、財団法人発酵研究所から関連する研究助成(2年間10,000千円)を受けることとなった。また、日本発のプラスミド・データベースの継続的な拡充を進めていくために、1年後に浜松市で研究代表者を実行委員長として開催する国際プラスミド生物学会(<http://www.plasmidbiologysociety.org/future-meetings/>)でデータベースの再整備について、関連の話題提供をするとともに、会員の協力を要請する。

論文リスト

1. **Shintani M, Suzuki H, Nojiri H, Suzuki M** (2023) "Reconsideration of the previously classified incompatibility groups of plasmids, IncP-1 and IncP-11", *Environmental Microbiology*, in press, doi:10.1111/1462-2920.16345.
2. **Hayakawa M, Tokuda M, Kaneko K, Nakamichi K, Yamamoto Y, Kamijo T, Umeki H, Chiba R, Yamada R, Mori M, Yanagiya K, Moriuchi R, Yuki M, Dohra H, Futamata H, Ohkuma M, Kimbara K, Shintani M.** "Hitherto-unnoticed self-transmissible plasmids widely distributed among different environments in Japan", *Applied and Environmental Microbiology*, 88(18):e0111422.

研究課題：ビームパターニングによる多光子電離水素製造の製造能力向上

研究代表者：松井 信 准教授（新エネルギー研究コア）

研究分担者：桑原 彬助教（名古屋大学 大学院工学研究科）

水嶋 祐基 助教（静岡大学 工学領域）

研究概要

本研究では、フェムト秒レーザーによる水分子の多光子電離をトリガーとした海水からの水素製造法（MPI-WS）の開発を行う。2021年度の本プログラムによる助成により、着手より5か月（7月より着手）で、コア技術の特許出願と論文投稿（A. Kuwahara et al., *RSC Adv.* 2022）を達成している。しかし、MPI-WSはレーザーのスポット付近でのみ生じる局所現象であり、単位面積当たりの製造量で優れるものの、スケールアップに課題を抱えている。先行する電気分解並の水素製造量（ $1\sim 10^4$ NL/h以上）を実現するには、MPI-WSの現象解明を足掛かりとした、水素製造方法の抜本的な改善が不可欠である。そこで本研究では、MPI-WSにおけるプラズマ-気泡生成過程の制御を試みる。具体的には、フェムト秒レーザーの空間位相変調（=ビームパターン操作）を行い、多光子電離や生成気泡の数密度・液相運動に与える影響を実験・計算の両面から調査する。これらを踏まえ水分子への高効率なエネルギー注入、発生水素の高純度化および生成気泡の輸送に有利な最適化要素（ビームパターン、レーザー照射間隔、パルスエネルギーなど）を選定し、実用化に向けたMPI-WS改善を試みる。

研究成果

①シングルスポットにおけるパルスエネルギーの影響

既往研究においては、パルスエネルギーと水素生成量の関係が報告されており、パルスエネルギーを増加させることはスケールアップに寄与しない（H. K. Pawlak, et al., *Appl. Energy*, 247, 24, 2019）。そこで本研究では、マルチスポット化に先立ち、各スポットに分配するエネルギーを最適化するため、シングルスポットでのパルスエネルギーをパラメータとして水素生成量を取得し、飽和傾向を明らかにした。実験結果を図1に示す。パルスエネルギーが0.1 mJより低い領域では、水素生成量との間に線形性が見られるが、0.1 mJより高くなると水素生成量が飽和に向かうことが確認された。この結果は、シングルスポットへ投入するエネルギーを増加させることは水素製造の電力消費に対して非効率であることを示しており、これは気泡によるレーザー光の遮断又はエネルギー吸収が主要因と考えられる。したがって、マルチスポットへのエネルギー分散が重要、かつ、スケールアップの手法として適していることを示している。次に、曲線は反応モデルを示しており、フィッティングの結果から0.028 mJが線形領域の最大値であることが推定された。

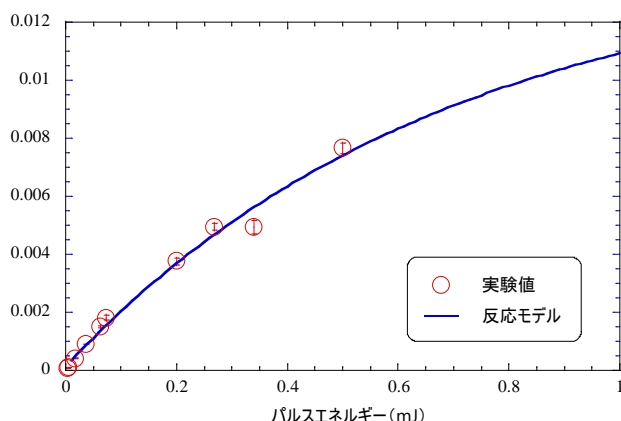


図1 パルスエネルギーと水素発生量の関係

表1 マルチスポットのパルスエネルギー

スポット	透過率 (%)	0次光 (%)	1次光 (mJ)
2	77	61.2	0.073
4		52.6	0.045
6		46.3	0.032
8		40.1	0.029
10		39.2	0.023
12		45.5	0.017

②マルチスポット化による水素製造

空間位相変調器SLM(浜松ホトニクス社製・C15788-02)を組み込んだ水素製造システムの概要を図2に示す。空間位相変調器は水平偏光成分のみを変調することができるため、入射前に半波長板を挿入した。図3に入力画像と実際のビームプロファイルの代表例を示す。ビームプロファイルのコンター図より、12スポット(1次光)を再現していることが確認できる。また、中心に見られるビームは水平偏光成分以外の0次光であり、ここでは1次光の焦点距離に合わせてビームプロファイラを設置したことで、0次光の焦点位置からずれビーム径が大きく観測されている。

次に、スポット数毎のスポット(1次光)のエネルギーを表1に示す。ここで1次光のエネルギーは、パワーメータによる全体のエネルギーとビームプロファイルのピクセル情報から算出している。これらの結果から、現況の0.5 mJ級のフェムト秒レーザーにおいては、8スポットの場合に最も最適値(0.028 mJ)に近いエネルギー分配が可能になることが分かる。なお、SLMの透過率 η_2 は約77%であった。

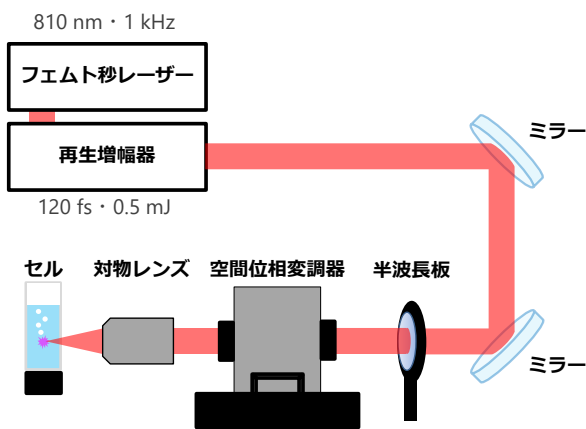


図2 SLMの配置図

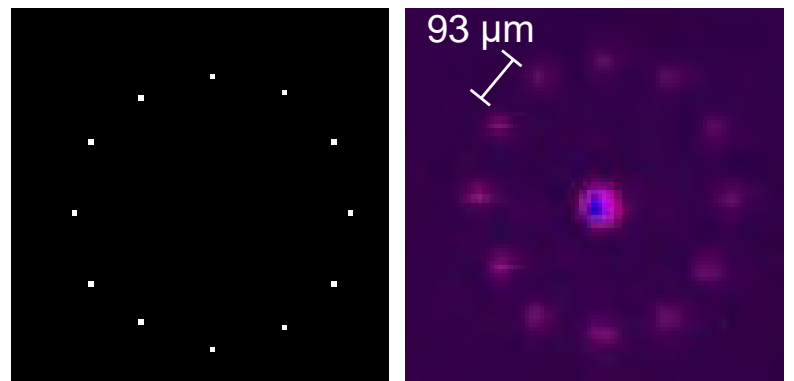


図3 SLM入力画像と実際のビームプロファイル

表1に示すスポット数にて水素製造量を定量分析した結果を図4に示す。ここで推定値は、各スポットのパルスエネルギーから図1の反応モデルを用いて計算した値であり、エラーバーはフェムト秒レーザー装置由来のパルスエネルギーの変動に起因している。一方、実験結果は、1サンプルに対して3回行った定量分析の結果であることから、使用したガスクロマトグラフの安定度を示している。これらの結果から、実験値は推定値のエラーバー内に収まっており、各スポットにおいて反応モデルに即した反応を誘起できたと考えられる。今回の実験では、水素生成量の向上を確認することができなかったものの、これは(i)SLMの透過率及び変調成分による損失、(ii)現況のパルスエネルギーの2点において、0.5 mJのシングルスポットを上回るだけのエネルギー投入がなかったことが原因である。これについては、現在取り組んでいる20 mJ級への改造完了後に改めて実証する課題である。

本研究から得られたスケールアップ戦略をまとめる。SLMを用いたマルチスポット化では、反応モデルからパルスエネルギーに応じたスポット数が単一スポットの最適値(0.028 mJ)から決定される。さらに、このスポット数は空間位相変調器における透過率と1次光の利用効率に影響を受ける。これらを考慮した場合、水素生成量 N_{est} のスケールアップ則は、フェムト秒レーザーのパルスエネルギー E の関数として以下の式で表すことができる。

$$N_{est} = N_{\infty} (1 - \exp^{[-k((1-\eta_1)\eta_2 E - E_0)])} + N \cdot N_{\infty} (1 - \exp^{[-k(0.028 - E_0)])} \quad (1)$$

ここで、 N_{∞} は水素生成量の限界値、 k は反応モデルのフィッティングパラメータ、 η_1 は水平偏光成分のエネルギー割合、 η_2 は空間位相変調器の透過率、 E_0 はエネルギー閾値を示す。スポット数 N は反応セルに入射するパルスエネルギーで決定され、以下の式で表すことができる。

$$N = \eta_1 \eta_2 E / 0.028 \quad (2)$$

この関係式より、20 mJへの出力向上時のスケールアップを推定することができる。計算結果を図5に示す。計算結果より、0.5 mJの水素生成量と比べて17~23倍の水素生成量の向上が見込まれ、この時のスポット数は160~250個であった。このスケールアップ戦略のモデル式(1)は、基礎的な反応モデルを組み込んでおり、汎用性のあるモデルであると言える。

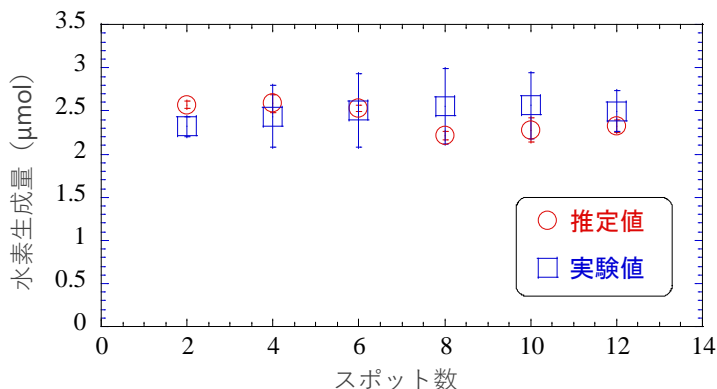


図4 0.5 mJにおけるスポット数と水素生成量

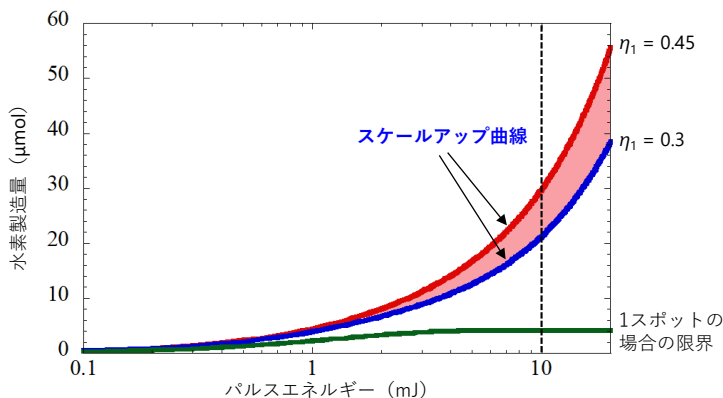


図5 スケールアップ戦略の計算結果

生成気泡の液相運動については、シャドウグラフの結果を解析的に追跡することで、気泡挙動を明らかにしている(図6)。代表例としてN.A.=0.28の対物レンズを使用した場合、気泡は光軸方向に1.2 mmの範囲に広がって生成されており、これはスポット間の気泡相互作用に応用できる可能性があることを確認している。

社会実装・SDGs

本研究は海水を直接水素に変換することでクリーン水素を創り出すSDGs目標7「エネルギーをみんなにそしてクリーンに」に関連する研究である。2022年度は社会実装に向けて民間企業との共同開発に向けた活動として、技術展示会への出展や自治体・企業へのインタビューを精力的に実施した。今後は、本基盤技術を確立させ、実用規模のプラントを実証することを目指す。

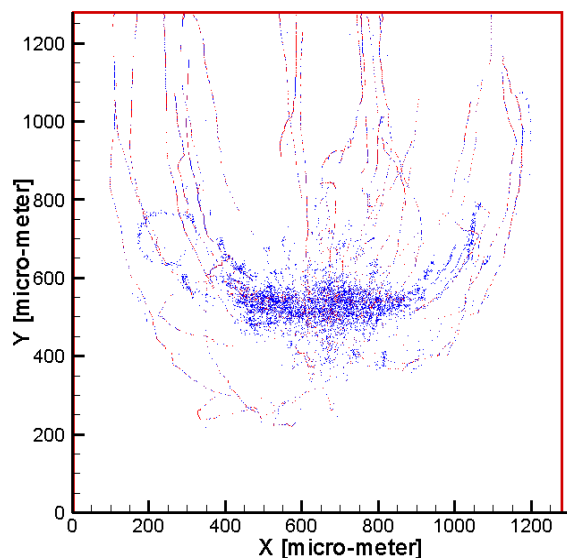


図6 生成気泡の運動挙動

研究課題：グアニン四重鎖構造とi-モチーフ構造をターゲットとする二重標的型ペプチド性抗がん剤の創製

研究代表者：鳴海 哲夫 准教授（グリーン分子創造技術研究コア）

研究分担者：大吉 崇文 准教授（グリーン分子創造技術研究コア）

中村 彰彦 准教授（グリーン分子創造技術研究コア）

中林 一彦 室長（国立生育医療研究センター 周産期病態研究部 周産期ゲノミクス研究室）

研究概要

DNAやRNAが形成するグアニン四重鎖構造(G4構造)は、がん遺伝子の発現制御において重要な役割を担うことから、がんの重要な創薬標的である。これまでに申請者らは、G4構造に結合するタンパク質にしばしば含まれるアルギニン-グリシン-グリシン配列(RGG配列)に着目し、G4構造に特異的に結合するタンパク質TLS/FUSのRGG3ドメインからG4構造に選択的に結合する14残基RGGペプチドYKT-11を見出している。しかし、YKT-11のG4結合親和性はサブマイクロモラーレベルであり、リードペプチドとして創薬展開するには、親和性・選択性ともにナノモラーレベルまで向上させる必要がある。

本研究ではこれまでの知見をもとに親和性・選択性・機能性に優れたG4リガンドの創製を目的として、①RGGペプチドをリードとしたライブラリー構築と構造解析、②RGGFポリペプチドの機能解析、③DNA結合ペプチド・タンパク質の1分子計測系の構築を行った。

本研究によって、RGG3ドメイン全からRGGペプチドライブラリー（RGGペプチド10種類、RGGペプチドミメティック32種類）を構築し、 1.47×10^{-8} Mと高い結合親和性を示す新規RGGペプチドを見出した。また、グアニン四重鎖DNAを標的とする人工ポリペプチドRGGFのG4構造認識機構を解明し、転写抑制活性を有することを明らかにした。さらに、ガラスへのペプチドおよびDNA結合タンパク固定用酵素の調製と顕微鏡の照明・検出系の構築を行った。

今後、親和性・選択性・機能性に優れたG4リガンドの創製を目指し、RGGペプチドやRGGFを高度化・誘導体化を進める。

研究成果

【研究背景および目的】

がんは遺伝子疾患の一つであり、遺伝情報の構造因子であるDNAやRNAは重要な創薬標的である。なかでも、グアニン豊富な核酸配列にみられるグアニン四重鎖構造(G4構造)は、がん関連遺伝子の発現制御において重要な役割を担うことから、G4構造を安定化する化合物（G4リガンド）を起点とする創薬研究が進められている。これまでに当研究グループでは、G4構造に結合するタンパク質として、Translocated in liposarcoma / Fused in sarcoma (TLS/FUS)を見出している。また、核酸結合タンパク質にしばしば含まれるアルギニン-グリシン-グリシン配列(RGG配列)に着目し、TLS/FUSのRGG3ドメインからG4構造選択的に結合するRGGペプチドYKT-11を見出している。本研究では親和性・選択性・機能性に優れたG4リガンドの創製を目的として、①新規RGGペプチドの探索と構造解析、②RGGFポリペプチドの機能解析、③DNA結合ペプチド・タンパク質の1分子計測系の構築を行った。

①新規RGGペプチドの探索と構造解析 (Fig. 1)

RGGペプチドYKT-11は、TLS/FUSのRGG3ドメインに由来するG4構造選択的に結合する14残基ペプチドである。YKT-11の起源であるRGG3ドメインは76残基からなり、RGG配列を含む中分子ペプチドが理論上40種類以上設計可能であることから、RGGペプチド10種類、RGGペプチドミミック32種類からなるRGGペプチドライブラリーを構築し、G4結合親和性を評価した。その結果、RNA由来のグアニン四重鎖TERRAに対し、50 μ M以下の結合親和性を示したペプチドを12種見出し、なかには1.47 μ Mと高い結合親和性を示す新規RGGペプチドを見出した。

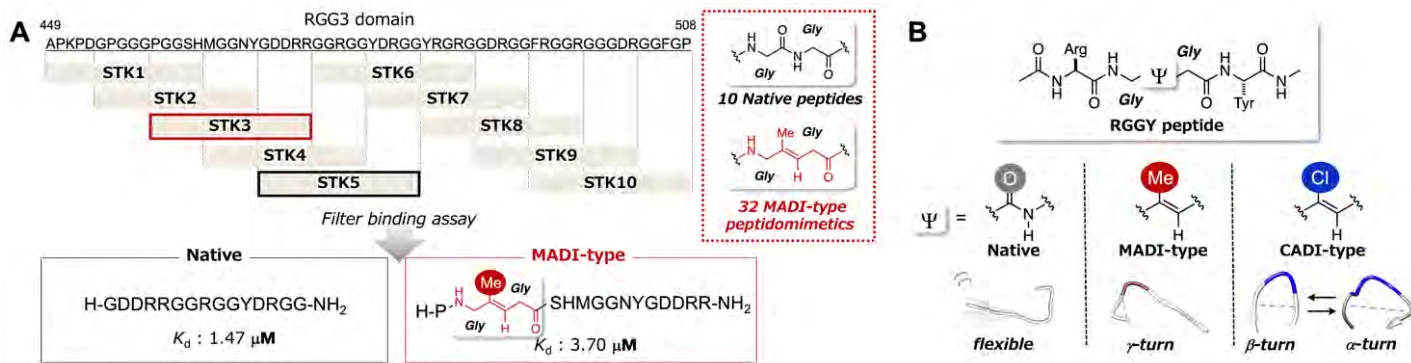


Fig. 1. 新規G4結合ペプチドの探索を指向したペプチドライブラリーとRGGペプチドの構造解析
 (A) RGG3ドメインから設計したRGGペプチドライブラリーおよび新たに見出したG4結合ペプチドの構造。
 (B) RGGYペプチドおよびアルケン型ミメティックの構造式とそれぞれのコンフォメーション

RGG配列は、 β -ターン構造を形成することが示唆されているものの、その詳細な構造解析は皆無である。また予察研究において、グリシン-グリシンペプチド結合を炭素-炭素二重結合に置換したアルケン型ミミックがG4構造に結合することを見出している。そこで、RGGペプチドの最小単位である4残基RGGYペプチドに加え、それに対応する (E)-メチアルケン型および (Z)-クロロアルケン型誘導体を合成し、溶液中におけるそれぞれの構造を¹H-NMRにより解析した。その結果、RGGYペプチドは特定の二次構造を形成しないのに対し、アルケン型はターン構造を形成することが明らかになった。興味深いことに、(E)-メチアルケン型は γ -ターン構造を形成し、(Z)-クロロアルケン型は β -ターン構造と α -ターン構造の平衡状態にあり、アルケン上の置換基は、RGGペプチドのコンフォメーションを決める構造因子であることが明らかになった。これまでの検討から14残基の(Z)-クロロアルケン型RGGペプチドミミックが、天然型や (E)-メチアルケン型と比較して、高いG4結合親和性を示すことを見出しており、これらの結果は β -ターン構造がG4結合親和性に重要であることを支持する結果となった。

②G4構造を標的とするRGGFポリペプチドによる転写抑制能の評価 (Fig. 2)

親和性・選択性・機能性に優れたG4リガンドを創製するために、TLS/FUSのC末端RGG領域がグアニン四重鎖DNAとRNAの両方に結合する知見をもとに、RGGリピート配列とフェニルアラニンを含む人工ポリペプチドRGGFを作成し、核酸認識機構を精査した。核酸結合性を評価した結果、RGGFはグアニン四重鎖DNAに特異的に結合し、G4のループ構造がデオキシリボースの分子認識に重要であること、ループ中の塩基数が多いものに強く結合することが明らかになった。

さらにRGGFの転写抑制能を評価した。これまでにガン遺伝子bcl-2の転写を制御するプロモーター中には、

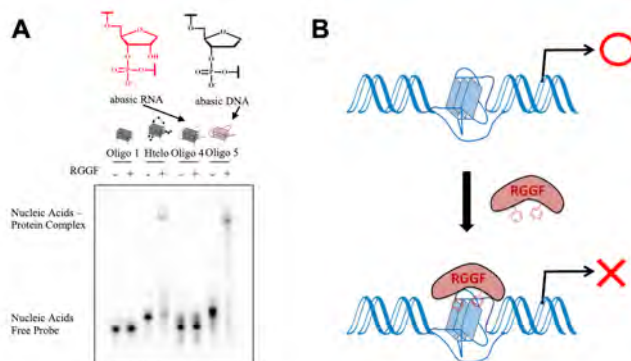


Fig. 2. RGGFの結合性とがん遺伝子制御のモデル図
 A: RGGFの結合性。B: RGGFによる転写抑制。

G4構造を形成する配列があることが報告されている。そこで、今回開発したRGGFとbcl-2のプロモーターが形成するG4との結合性を解析した結果、解離定数96 nMで強く結合することが明らかになった。さらに、RGGFを高発現させたヒトガン細胞を用いて、標的であるbcl-2のmRNA量を定量的PCRによって解析した。その結果、RGGFはbcl-2の転写を44%まで低下させることがわかった。以上の結果より、G4構造を標的とするペプチドは、転写制御において有用であることが示された。(ACS Omega 2023,8,10459–10465)

③DNA結合ペプチドおよびDNA結合タンパク質の1分子計測系の構築 (Fig. 3)

G4に特異的かつ強く結合するペプチドを創製するためには、RGGペプチドやRGGFとG4構造の結合様式や結合状態数をより詳細に解明する必要があるため、その目的を達成するために1分子計測系の構築を試みた。DNA結合ペプチド・タンパク質の1分子計測を行うためには、DNAまたはペプチド/酵素のガラスへの固定および蛍光標識が必要となる。DNA結合ペプチドは比較的安定であるため、蛍光標識物の作成が可能である。また基質のDNAについても、蛍光標識およびビオチン標識などの修飾物の合成が可能である。そこでDNA結合ペプチドの計測は、ビオチン標識したガラスをストレプトアビジンでコートし、さらにビオチンを介してDNAを固定する方法を設計した。ただしストレプトアビジン表面のリジンやアルギニン残基による非得意的なDNAとの相互作用またはガラス表面との相互作用が考えられるため、表面電荷をマイナ変化したストレプトアビジン変異体を作成した。封入体の洗浄による精製とリフォールディング条件の検討を行い、R53S-K80E-R84S-R103S-K134S変異体を作成した。非変性条件での電気泳動により、4量体の形成も確認した。今後機能についてガラスへ固定し、ビオチン標識した蛍光タンパク質等で固定化効率の確認する予定である。

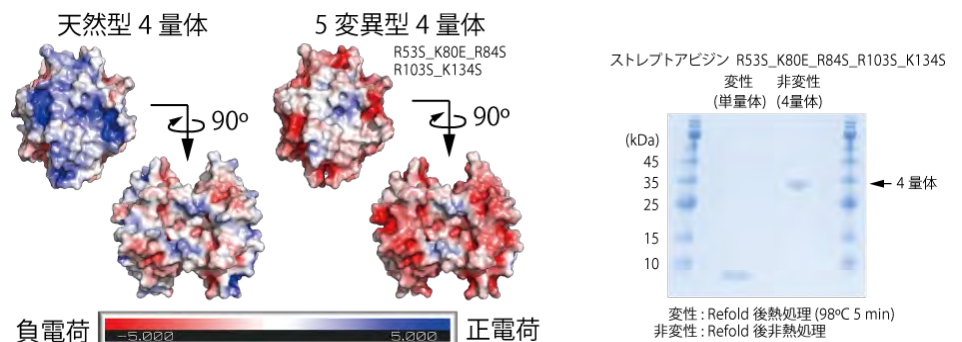


Fig. 3. 表面に負電荷をもつストレプトアビジン4量体
(左)表面電荷予測 (右)変異体の変性/非変性電気泳動結果

一方で、DNA結合タンパク質は不安定であり、蛍光標識も難しい。そこでアミノ基で修飾したガラス上に、グルタルアルデヒドを介して表面にリジン残基を導入した蛍光標識SpyCatcherを固定化し、Spy-tagを導入したDNA結合タンパク質を流し込むことで温和な条件で迅速に酵素の固定を行う系を設計した。大腸菌を宿主としてリジン導入SpyCatcherおよび酵素固定密度条件検証用のSpytag-RFP精製を行った。現在ガラス表面でのSpyCatcher密度の最適条件検討を行っている。

また上記計測のため、赤色/緑色レーザーの同時励起を行うための穴あきミラーの導入とシグナルを分離しながら同時計測するW-VIEW光学系のセッティングを行なった。Alexa555およびAlexa647を用いて、励起光の影響を受けず蛍光1分子シグナルの検出が可能であることを確認した。

【今後の展望】

今後、RGGペプチドやRGGFの高度化・誘導体化させ、親和性・選択性・機能性に優れたG4リガンドを創製する予定である。並行して、グアニン四重鎖の相補鎖に形成されるシトシン豊富なi-モチーフ構造に結合する核酸とRGGペプチドのコンジュゲート化についても検討し、G4構造に結合するRGGペプチドとiM構造に結合する核酸を共有結合で連結したヘテロ二価型リガンドの創製を目指す。

研究課題：植物の環境ストレス適応性を向上させる香気配糖体の探索と生合成解明

研究代表者：大西 利幸 教授（植物ストレスマネジメント研究コア）

研究分担者：杉本 貢一 特任助教（筑波大学）

切岩 祥和 教授（静岡大学 農学部）

水谷 正治 准教授（神戸大学大学院 農学研究科）

研究概要

世界の農業において、グローバルな農業システムの抜本的な変革が必要である。中でも農作物生産は、気候変動の影響を受けやすいため、気候変動への対策が急がれる。そのため劣悪な環境下での農作物生産に資する技術開発が喫緊の課題である。

近年、揮発性有機化合物を有する香気配糖体が環境ストレス適応性を向上させるシグナル分子として注目されている。農業害虫に食べられた農作物は揮発性有機化合物を発散する。被害を受けた農作物から発散された揮発性有機化合物は、危険を知らせる「警戒情報」として、近くの健全な植物に取り込まれ、揮発性有機化合物を取り込んだ健全な植物は、前もって防御を開始する。健全な植物が取り込んだ揮発性有機化合物を配糖体に変換することがトマト株で明らかになっている。しかし、健全なトマト株が、「どのように」揮発性有機化合物を配糖体に変換しているかは未解明なままである。本研究は、植物間コミュニケーションによって植物が身を守る仕組みを解明するために、香り物質を配糖体に変換する酵素の探索に取り組み、香気配糖体が環境ストレス（食害昆虫）に対するストレス耐性をどのように惹起するのかを分子レベルで明らかにすることを試みた。その結果、香気配糖体生成酵素UGT91R1を見出し、ゲノム編集技術で作製したUGT91R1欠損体が食害昆虫ストレス耐性を弱まることを見出した。今回の研究成果は、配糖体を生み出す配糖化酵素やその遺伝子を制御することで、多様な農作物において病害虫に強い品種の開発に繋がると期待される。また揮発性有機化合物を農作物に人工的に処理することで、病害虫に強い形質を与えることができ、農業被害の軽減、病害虫駆除の省力化など農作物生産の経済性を向上させることができることを示した。

研究成果

世界において、慢性的な食料摂取不足に苦しんでいる人々は、8憶人を超過しており、世界人口の増加に伴い2050年には20億人分の食料が不足する予測されている。そのためグローバルな農業システムの抜本的な変革が必要である。中でも農作物生産は、気候変動の影響を受けやすいため、気候変動への対策が急がれる。そのため劣悪な環境下での農作物生産に資する技術開発が喫緊の課題である。近年、揮発性有機化合物を有する香気配糖体が環境ストレス適応性を向上させるシグナル分子として注目されている。農業における主要な害虫であるハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) の幼虫は、様々な農作物の葉や果実を食害し、栽培種トマト (*Solanum lycopersicum*) にも大きな被害を与える。ハスモンヨトウの幼虫に食害されたトマト株（被害を受けたトマト株）は、様々な揮発性有機化合物を大気中に放出し、その成分の一つである (Z)-3-ヘキセノール（青葉アルコール; Hex）を、まだ食害を受けていないトマト株（健全なトマト株）が取り込むと、2つの糖（二糖）が結合した (Z)-3-ヘキセニル β-ビシアノシド（青葉アルコール二糖配糖体; HexVic）を貯蔵する。HexVicは、ハスモンヨトウの幼虫の成長を抑制し、また卵から孵化したての幼虫の生存率を低下させる防御物質である (*Sugimoto et al.*, PNAS, 2014)。一方、Hexに1つの糖が結合した (Z)-3-ヘキセニル β-D-グルコピラノシド（青葉アルコール単糖配糖体; HexGlc）はハスモンヨトウに対する防御効果を示さない。つまり、健全なトマト株は将来被害を受ける可能性のあるハス

モンヨトウの幼虫から自分を守るため、Hexを取り込み、HexVicに変換して、貯蔵することで前もって防御力を強めている。このようにHexVicは無加害株に対して免疫力を強化する「ワクチン」のような役割を担っており、環境ストレスの脅威からトマトを守っている（図1）。しかし、健全なトマト株が「どのようにして」HexからHexVicへと変換しているかは明らかになっておらず、またHexVicが環境ストレス耐性をどのように向上させるのか？その分子メカニズムは未解明なままであった。本研究プロジェクトでは、香り物質であるHexを防御物質であるHexVicに変換する酵素（配糖化酵素）の探索に取り組むとともに、揮発性有機化合物を曝露した植物の環境ストレス耐性を定量的に評価するとともに、香気配糖体内生量を増加させる分子メカニズムの解明に取り組んだ。

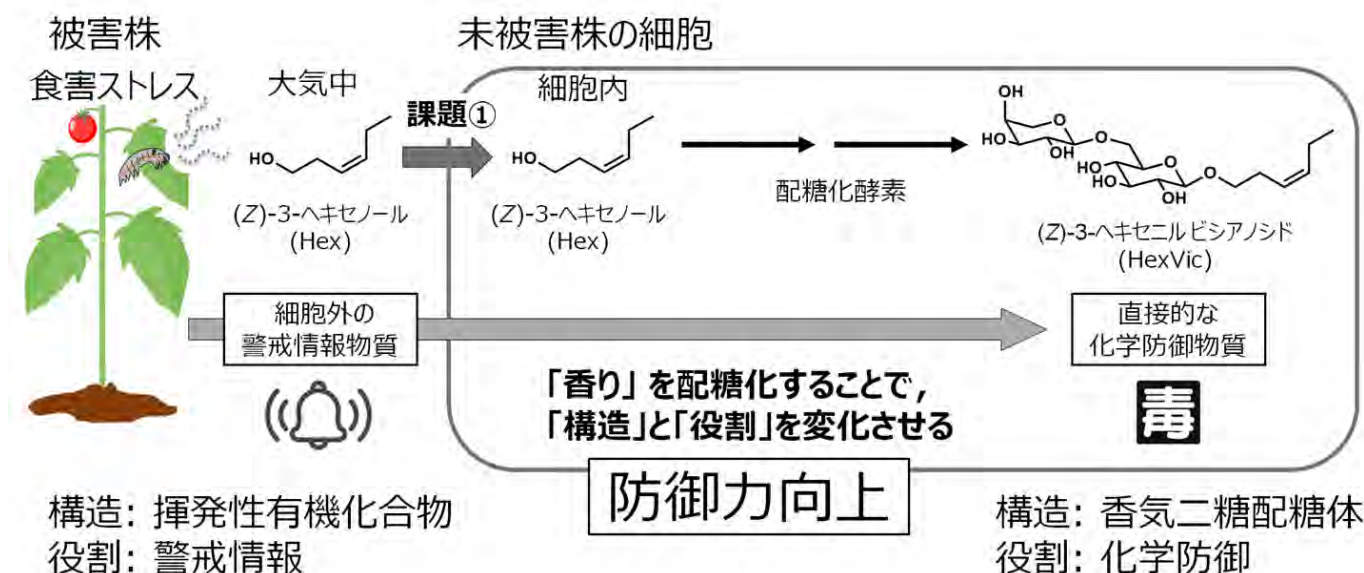


図1. 揮発性有機化合物を取り込んだ未被害植物の防御力向上メカニズム

① 香気配糖体蓄積能が高い品種の選抜

トマト野生種および栽培種（計17種）に傷害応答を誘引する揮発性有機化合物Hexを曝露してHexVicを高蓄積する品種の選抜を行った。その結果、トマト栽培種と多くのトマト野生種がHexVicを作ることを明らかにした。特にトマト野生種 *Solanum galapagense* ではトマト栽培種に比べて、HexVicが4倍以上蓄積しており、化学防御能が向上していることが示唆された。一方、トマト野生種 (*Solanum pennellii*) ではHexVicがほとんど蓄積しないことも明らかにした。

② 香気配糖体を蓄積した植物体の環境ストレス耐性の評価

HexVicを貯蔵する栽培種トマト (*Solanum lycopersicum*) を用いて、HexVicの蓄積の有無による環境ストレス耐性を評価するため、まずHexVic生合成酵素の同定を試みた。トマト栽培種は、HexVicを葉に貯める。そこでトマト葉で発現量が高かった配糖化酵素遺伝子を選抜し、大腸菌異種発現系を用いてHexVic生成能を調査した。その結果、糖転移酵素であるUGT91R1がHexGlcに糖を結合させて、HexVicに変換する配糖化酵素であることを明らかにした。UGT91R1がトマト株で働いているかを調べるために、ゲノム編集技術を用いてUGT91R1遺伝子を欠失させた遺伝子欠損変異株 (UGT91R1-ノックアウト株) と、UGT91R1遺伝子を過剰に発現させた過剰発現株 (UGT91R1-過剰発現株) を作製し、UGT91R1-ノックアウト株とUGT91R1-過剰発現株に含まれるHexVicを測定した。その結果、UGT91R1-ノックアウト株ではHexVicの内生量が25%に低下し、UGT91R1-過剰発現株ではHexVicの内生量が3倍に増加した (図2a, 2b)。さらにHexVicの内生量が減少している染色体断片置換トマト株を用いてハスモンヨトウ幼虫の食害試験を行った結果、食害に対する抵抗性は低下した (図2c)。以上の結果から、トマト株においてUGT91R1がHexVicを生み出す酵素として働いていることを明らかにした (Sugimoto, Ono, Inaba et al., *Nature Communications*, 2023)。以上より、健全なトマト株は、

トマト被害株から発散されたHexを取り込み、配糖化酵素UGT91R1によって防御物質であるHexVicを生み出して、予め防御力を強化しておくことで将来起こり得る病害虫の被害から身を守ることを明らかにしました。

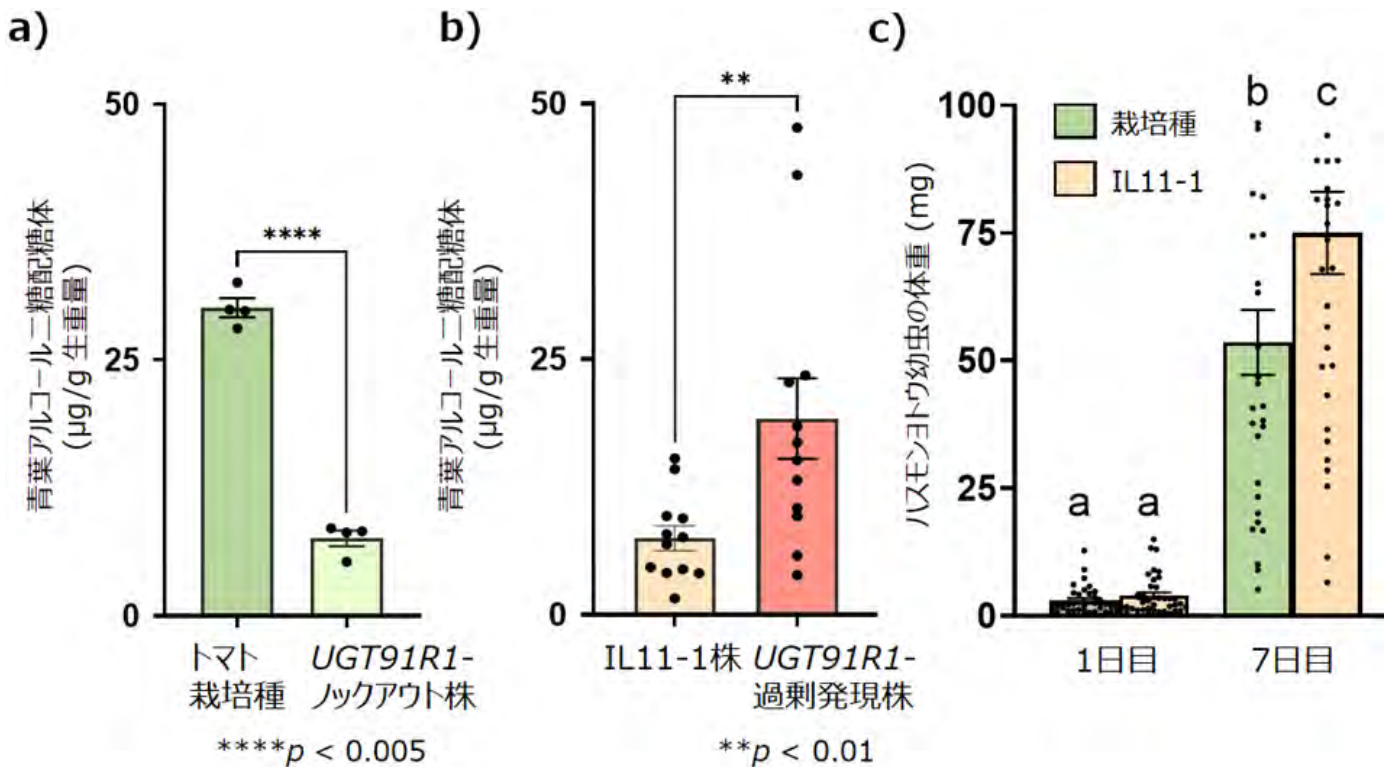


図2. UGT91R1遺伝子組換え株におけるHexVic内生量と食害昆虫成長試験

③ 遺伝子発現解析を用いた環境ストレス耐性メカニズムの解析

環境ストレス耐性メカニズムの解析を進めるため、傷害ストレス応答物質であるメチルジャスモン酸を曝露したトマト株におけるUGT91R1をはじめとする遺伝子発現解析とHexVic内生量変動解析を行った。その結果、メチルジャスモン酸の曝露によりHexVic内生量は増加した。一方、UGT91R1の発現量に有意差は確認できなかった。今後、メチルジャスモン酸の曝露によるHexVic生合成代謝酵素遺伝子の相関関係について調査を実施する。

本研究成果は、配糖体を生み出す配糖化酵素やその遺伝子を制御することで、多様な農作物において病害虫に強い品種の開発に繋がると期待される。また揮発性有機化合物を農作物に人工的に処理することで、病害虫に強い形質を与えることができ、農業被害の軽減、病害虫駆除の省力化など農作物生産の経済性を向上させることができることを示した。

本研究成果に基づいて報告した原著論文

Sugimoto, K., Ono, E., Inaba, T. *et al.* Identification of a tomato UDP-arabinosyltransferase for airborne volatile reception. *Nature Communications*, 14, 677 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36381-8>

研究課題：持続可能なフィールドインフォマティクスに関する研究

研究代表者：峰野 博史 教授（フィールドインフォマティクス研究コア）

研究分担者：本橋 令子 教授（フィールドインフォマティクス研究コア）

狩野 芳伸 准教授（フィールドインフォマティクス研究コア）

山本 祐輔 准教授（フィールドインフォマティクス研究コア）

一家 崇志 准教授（フィールドインフォマティクス研究コア）

研究概要

本研究では、食料の安定・計画生産や機能性向上だけでなく、労働条件の改善や生産者の健康応用、行動変容を促す持続可能なフィールドインフォマティクスに関する研究の醸成を進めた。12 月にグリーン研フィールドインフォマティクスコア内で連携研究プロジェクト創出に向けたワークショップを実施し、フィールドインフォマティクス分野におけるグリーン研ならではの特徴を見出す情報交換を行った。特に、SDGs における「8 働きがい」「12 持続可能な消費と生産」「4 質の高い教育」に配慮したフィールドインフォマティクス研究を意識した。具体的には、客観的事実である多様な「データ」を収集するところから、それらデータを処理・分析して「情報」として整理し、認識や理解によって学習に役立つ「知識」として伝達可能とし、さらに熟達者の暗黙知に代表される「知恵」へと昇華する際に、情報学を駆使した効果的なパイプラインの創出を目指す。環境に配慮したサプライチェーンの実現を意識しつつ、人の健康や環境への悪影響の最小化を目指した持続可能な開発技術や、自然と調和したライフスタイル創出に向けた行動変容技術の可能性について議論した。フィールドインフォマティクスの啓蒙活動や国際連携ならびに留学生教育を通じ物事を広い視野から多面的・多角的に考えられる人材育成についても言及し、継続して持続可能なフィールドインフォマティクスに関する連携プロジェクト研究の創出を目指していくこととした。

研究成果

【研究背景および目的】

本研究プロジェクトによって、グリーン研におけるフィールドインフォマティクスコアの体制強化を図り、これまでにない新しい応用の開拓を目指した(図1)。特に、SDGs における「8 働きがい」「12 持続可能な消費と生産」「4 質の高い教育」に配慮した持続可能なフィールドインフォマティクスに関する研究の推進を意識した。

例えば、「8 働きがい」に関して、食料の安定・計画生産や機能性向上に関する研究開発によって労働条件の改善を意識しつつ、生産者の行動変容や健康応用へと繋げることで、高い経済生産性の実現を目指す。また「12 持続可能な消費と生産」に関して、環境に配慮したサプライチェーンの実現を意識しつつ、人の

コアE: フィールドインフォマティクス



図 1. フィールドインフォマティクスコアの概要

健康や環境への悪影響の最小化を目指した持続可能な開発技術や、自然と調和したライフスタイル創出に向けた行動変容に関して検討する。さらに「4 質の高い教育」に関して、フィールドインフォマティクスの重要性や人材育成を意識し、国際連携や留学生教育を通じてグローバルな観点でも質の高い教育の実現に励む。食料の安定・計画生産や機能性向上だけでなく、労働条件の改善や生産者の健康応用、行動変容を促す持続可能なフィールドインフォマティクスに関する研究の醸成を進めるため、2022年12月9日(金)にグリーン研フィールドインフォマティクスコアのメンバならびに静岡県農業技術産学官連携研究開発センターの研究者らとフィールドインフォマティクスに関するワークショップ形式の研究ミーティングを実施した。午前中は静岡大学農学部にて議論ならびに研究施設視察を行い(図2)、午後は静岡県農業技術産学官連携研究開発センター「AOI-PARC」視察ならびに研究討議を行った(図3)。



図2. 静岡大学農学部での研究施設視察



図3. 静岡県農業技術産学官連携研究開発センター「AOI-PARC」視察ならびに研究討議

フィールドインフォマティクスに関する研究施設の視察や、具体的な議論を対面で実施することで、環境に配慮したサプライチェーンの実現を意識しつつ、従事者の健康や環境への悪影響の最小化を目指した持続可能な研究テーマの可能性など多岐に渡る議論で盛り上がった。具体的には、シロイヌナズナのタグラインやトマトの果色変異体などを用いたプラスチック分化のメカニズムの解明に関する研究や、静岡県 대표적인 基幹作物であるチャをはじめとした機能性植物や主要作物を用いて実験室レベルから圃場レベルで実施している植物機能生理学に関する研究、情報科学的なアプローチからのマルチモーダルフェノタイピングによる適応型情報協働栽培手法に関する研究、自然言語処理技術の医療・健康応用に関する研究、潜在的な心の状態を推定するAI 等による行動変容に関する研究だけでなく、静岡県農林技術研究所を中心に理化学研究所、慶應義塾大学、様々な研究機関や企業等が連携したアグリ・オープンイノベーション・プラットフォーム(AOI フォーラム)の活動や最先端科学技術を用いた機能性・収量向上に向けた農業の飛躍的な生産性向上を目指すAOI プロジェクト研究など議論した。また3月に、農学と情報学の融合によるスマート農業の実現に関する農研機構の取組について情報交換を行った。食による健康、食糧安全保障、候変動対策などの要因から、フィールドインフォマティクスの中でも農業の重要性は今後ますます高まることが予想され、情報技術による農業の高度化・効率化が期待される。植物という生き物を相手とし、工業製品のようなアプローチは通用しないため、農学と情報学をうまく融合させるスマート農業の実現について議論した。また、持続可能なフィールドインフォマティクスに関する質の高い教育活動への還元に関して、各自が推進している研究プロジェクトを通じ、客観的事実である多様な「データ」を収集するところから、それらデータを処理・分析して「情報」として整理し、認識や理解によって学習に役立つ「知識」として伝達可能とし、さらに熟達者の暗黙知に代表される「知恵」へと昇華する効果的なパイプラインの創出を目指していることを確認した。その効果は、グリーン研フィールドインフォマティクスコアメンバの指導学生による研究成果発表が受賞等に繋がっていることから実感できる。

本研究で得られた知見や研究成果をもとに、引き続きグリーン研における持続可能なフィールドインフォマティクスコア研究の醸成を図り、研究体制のさらなる強化を進めながら学問分野に新たな変革や転換をもたらす既存の学問分野の枠に収まらない革新的技術シーズを創出するためのチーム型研究への申請を目指していく。

研究課題：二酸化炭素循環の追跡に有用なカプセル分子の合成

研究代表者：近藤 満 教授（超分子・分子集合体研究コア）

研究分担者：濱島 義隆 教授（静岡県立大学薬学部医薬品創製化学分野）

繁田 堯 助教（静岡県立大学 食品栄養科学部 食品生命科学科 食品有機化学研究室）

小林 健二 教授（超分子・分子集合体研究コア）

研究概要

地球における二酸化炭素循環の追跡において、海水に溶け込んだ二酸化炭素の定量は非常に重要である。海水に溶けこんだ二酸化炭素は、そのほぼ90%が炭酸水素イオンとして存在するため、炭酸水素イオン濃度の定量がその追跡において非常に重要となる。しかし、水溶液中の炭酸水素イオンを直接定量する技術は未だ開発されておらず、その定量は非常に手間暇がかかる作業となっている。

本プロジェクトでは、水溶液中の炭酸水素イオンの簡便な定量に優れた活性を示す化合物として、陽イオン性のM₂L₄カプセルと陰イオン性の色素から構成される呈色剤を開発し、陰イオン性色素が炭酸水素イオンとの対イオン交換を介して水溶液中に放出されて水溶液が呈色されることによる簡便な定量技術の開発を進めた。

10種類以上の架橋配位子を合成して陽イオン性カプセルを合成し、さらに種々の陰イオン性色素との組み合わせを検討した結果、2種類の化合物が水溶液中の炭酸水素イオンに対して高い活性を示すことが明らかとなった。特に、*m*-bbitr_bと称する架橋配位子とBRB指示薬で知られる陰イオン性色素の組み合わせから合成した呈色剤は、炭酸水素イオンに対して高い選択的な呈色活性を示すことを見出した。呈色感度も0.1 mM と高く、今後の応用が十分に期待できる結果を得た。

研究成果

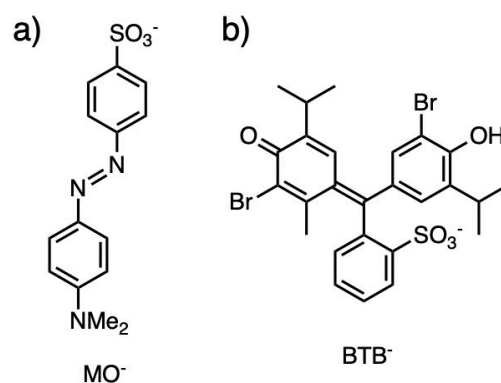
【背景と研究目的】地球における二酸化炭素循環の追跡において、海水に溶け込んだ二酸化炭素の定量は非常に重要である。海水に溶けこんだ二酸化炭素は、そのほぼ90%が炭酸水素イオンとして存在するため、炭酸水素イオン濃度の定量がその追跡において非常に重要となる。しかし、水溶液中の炭酸水素イオンを直接定量する技術は未だ開発されておらず、現在その定量には、例えば海水サンプルをリン酸で酸性にした後、窒素ガスを吹き込んで二酸化炭素を気相中に放出させ、赤外スペクトルで定量するなどの手間暇がかかる方法が用いられている。また、水溶液中の陰イオンの定量に用いられるイオンクロマトグラフィーのような機器分析を用いても、空気中の二酸化炭素の影響を受けるため炭酸水素イオンを精度良く定量することは極めて困難である。つまり、炭酸水素イオンを簡便に直接定量する技術は非常に重要な開発課題である。

本プロジェクトでは、研究代表者がこれまでに見出したノウハウを応用し、対イオンに陰イオン性色素をもつカプセル分子を系統的に合成し、海水中の炭酸水素イオンを簡単な操作で直接定量できる呈色剤の開発を企図した。海水中(あるいは陸水中)の炭酸水素イオンの濃度は概ね 1.5 mM~2.0 mM であることから、0.1 mM レベルの炭酸水素イオンを高選択的に定量できる呈色剤の開発を目的として研究を進めた。

【呈色剤の合成】我々は、これまでに対イオンに陰イオン性の色素をもつカプセル分子を合成し、過塩素酸イオンとの対イオン交換反応によって、水溶液中の過塩素酸イオンを高精度で定量する手法を見出してきた。この呈色反応において、過塩素酸イオンは陽イオン性カプセルの対イオンとして水溶液内で沈澱し、色素が水溶液中に残ることで呈色が起こる。つまり、炭酸水素イオンに対して選択的に不溶性の塩を形成する陽イオン性カプセルを見出せるかどうかことが重要となる。本研究プロジェクトでは10種類以上の新しい架橋配位子を合成し、対イオンに陰イオン性色素をもつ呈色剤を系統的に合成した。これらの中で2種類の呈色剤が優れた炭酸水素イオン呈色活性を示すことを見出した。

【アゾ色素を対イオンにもつ呈色剤】架橋配位子 *m*-bbitrmot (Figure 1a) と硫酸銅の反応から得た M_2L_4 カプセル型錯体をメチルオレンジの主成分であるアゾ色素のナトリウム塩 ($NaMO$) (Scheme 1) と反応させ、 $[SO_4 \subset Cu_2(m\text{-bbitrmot})_4](MO)_2$ (錯体1) を単離した。目的化合物の生成と構造は単結晶X線解析により明らかにした (Figure 1b)。この錯体を $5 \mu L$ 程度の DMF に溶かし、種々の陰イオン (1.0 mM) のナトリウム塩を溶かした水溶液に添加したところ、過塩素酸イオンと炭酸水素イオン、および硝酸イオンを含む水溶液に対して呈色が見られた。呈色感度は過塩素酸イオンが最も高く、続いて炭酸水素

イオン、硝酸イオン、亜硝酸イオンの順となった。また、炭酸水素イオンの濃度に対して呈色の依存性も確認された (Figure 1c)。



Scheme 1. MO^- (a) と BTB^- (b) の構造

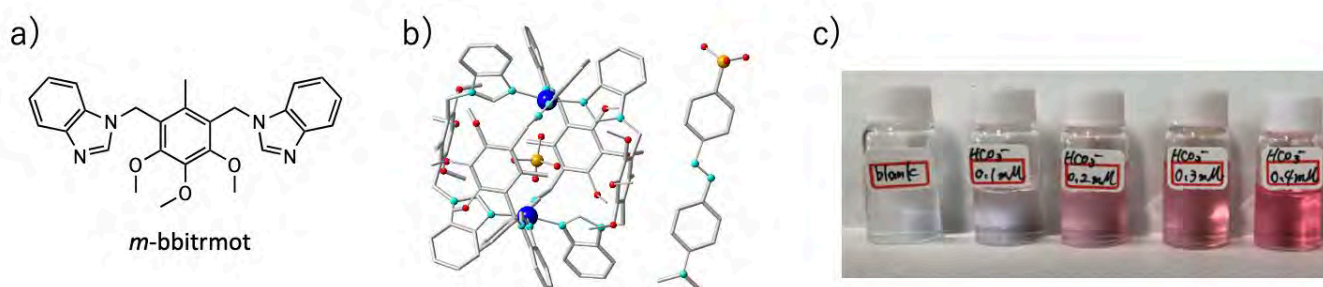


Figure 1. (a) *m*-bbitrmot の構造. (b) 錯体1の単結晶構造. (c) 炭酸水素イオンの検出。左からblank, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 mM の炭酸ナトリウム水溶液に対する呈色結果

【フクソン環をもつ色素を対イオンにもつ呈色剤】プロモチモールブルー (BTB) で知られる色素は、トリフェニルメタン様の骨格 (fuchson環) をもつ陰イオン性色素として知られる。この陰イオン性色素を種々の架橋配位子を用いて合成した陽イオン性カプセルユニットを組み合わせることで検討した結果、*m*-bbitrb (Figure 2a) を架橋配位子にもつ Cu_2L_4 カプセルと、対イオンに BTB の陰イオン性部位 (BTB^-) をもつカプセル錯体 $[SO_4 \subset Cu_2(m\text{-bbitrb})_4](BTB)_2$ (錯体2) が炭酸水素イオンに対して優れた呈色活性を示すことが分かった。この化合物の生成と構造は単結晶X線構造解析によって行った (Figure 2b)。

汎用的な12種類 (Figure 3a 参照) の無機アニオンのナトリウム塩 (1.0 mM) をそれぞれ溶かした水溶液 (20 mL) を用意し、それぞれの水溶液に錯体2の DMF 溶液を $500 \mu L$ ずつ加えた。30分静置した後シリジフィルターで濾過し、濾液の呈色強度を検討した結果、炭酸水素イオンを含む水溶液についてのみ強

い呈色が観測された(Figure 3a)。さらに、炭酸水素イオンの濃度に対する呈色強度を分光スペクトルを用いて検討した結果、炭酸水素イオン濃度に対して吸光度が直線的に強くなること、さらに0.1 mM レベルでの定量が可能なが明らかになった。

海水中にはおよそ 500 mM の高濃度の塩化物イオンが存在する。その高濃度の塩化物イオンの妨害をどの程度受けるかどうか検討を行った。500 mM の塩化ナトリウム水溶液に、2.0 mM の炭酸水素ナトリウムを溶かした水溶液を用意して、呈色実験を行った。その結果、500 mM 塩化ナトリウム水溶液に対しては呈色が見られず、ここに 2.0 mM の炭酸水素イオンが存在する場合には呈色が見られた(Figure 4)。しかし、呈色強度は弱く(吸光度およそ0.1)、上記の条件に比べて感度が25%程度に落ちていることが分かった。現在、高濃度の塩化物イオンの影響の排除する反応条件を探っている。

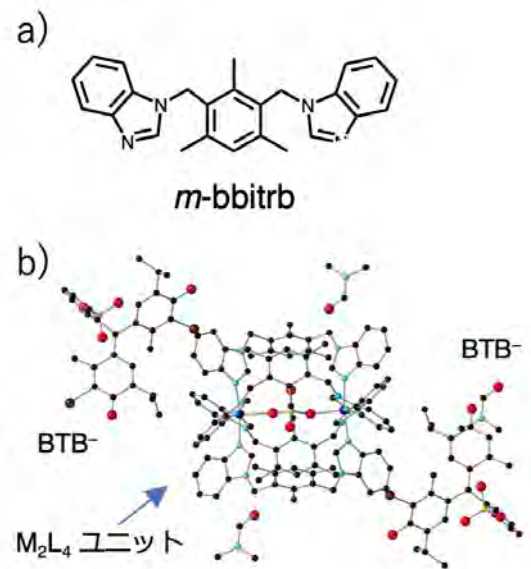


Figure 2. (a) m-bbitrb の構造. (b) 錯体2の単結晶構造

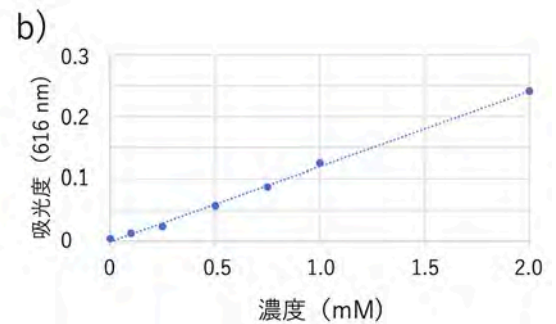
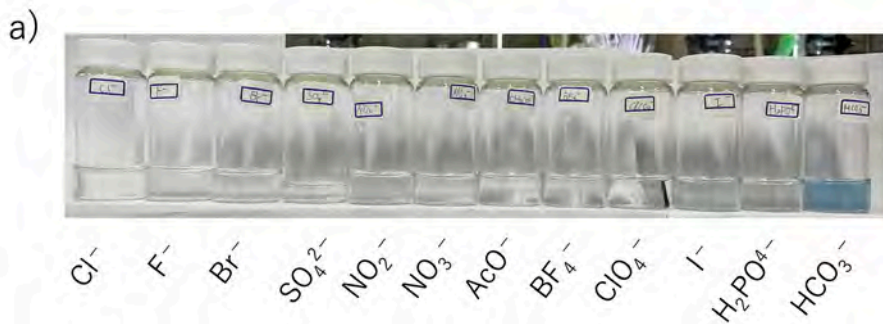


Figure 3. (a) 種々の陰イオンを含む水溶液に対する錯体2の呈色結果. 炭酸水素イオンに対してのみ強い呈色が見られる(より強い塩基性水溶液を与える酢酸ナトリウム水溶液では呈色が見られないことからpHに対する呈色ではない). (b) 炭酸水素イオン濃度に対する吸光度の直線性

【まとめ】本プロジェクトにおいて、地球の二酸化炭素循環の追跡に有用な海水中の炭酸水素イオンの呈色剤の開発を進めた。呈色剤は陽イオン性のカプセル分子と陰イオン性の色素から構成され、炭酸水素イオンと色素が選択的に交換することで、色素が水溶液に放出され、その呈色が起こる。試行錯誤を繰り返しながら目的とする呈色剤を系統的に合成した結果、炭酸水素イオンに対して選択的に呈色活性を示す2種類のカプセル化合物の開発に成功した。これは水溶液中の炭酸水素イオンを呈色できる世界初の化合物である。現在、感度の向上と共に、海水に対して有効な反応条件の開拓を進めている。



Figure 4. 2.0 mM の炭酸水素ナトリウムを溶かした500 mM の塩化ナトリウム水溶液(左)と 500 mM 炭酸水素ナトリウム水溶液(右)に対する錯体2の呈色結果

研究課題：ソテツ珊瑚根における窒素固定藍藻の共生機構の解明と土壌改良への展開

研究代表者：兼崎 友 特任助教（研究支援室）

研究分担者：村上 明男（神戸大学大学院理学研究科）

田中 啓介 助教（東京農業大学生物資源ゲノム解析センター）

研究概要

裸子植物ソテツには側根から派生する特殊な根である「珊瑚根」が存在する。成長した珊瑚根の内部には窒素固定能を有するシアノバクテリア（藍藻）が共生しており、ソテツへの窒素化合物の供給に役立っていると考えられている。ソテツ珊瑚根内の窒素固定シアノバクテリアが長期安定維持される機構は未だ不明であり、またこれらの共生シアノバクテリアの多様性や共通性質の全容も未だ明らかになっていない。植物とシアノバクテリアの共生関係の長期維持に関わる形質や遺伝子群を理解することは応用研究への可能性も含め非常に重用である。

本研究においては、県内外のソテツ (*Cycas revoluta*) の珊瑚根から *Nostoc* 属の共生シアノバクテリア株を多数新規単離することに成功した。そのうち1株についてゲノム情報の完全解読をおこなった。現在、近縁種との比較解析により共通遺伝子と固有遺伝子の探索を進めている。

また共生 *Nostoc* 株について、共生状態に特異的な発現遺伝子群を明らかにするため、まず通常状態、窒素欠乏状態についてのRNA-seq解析を進め、ニトロゲナーゼなど条件特異的な発現変動を示す遺伝子群の同定に成功した。現在、別条件の検証を進めている。一方で、顕微鏡による形態観察の結果からは、窒素固定細胞の出現割合が実験室環境下よりも珊瑚根共生時のほうが高いことが明らかになり、未知の制御因子があることも明らかになった。

これらのソテツ共生株を標準的な淡水性の近縁株と並べていくつかの環境ストレス条件に曝したところ、ソテツ由来株は高い環境ストレス耐性能をもつことが示された。また一部の株においては培養中に多量の細胞外多糖を生産することなども明らかになったため、現在応用研究の可能性を模索中である。

研究成果

【研究概要】

シアノバクテリア（藍藻）は酸素発生型の光合成をおこなう原核生物の総称であり、生理的・形態的に非常に多様なシアノバクテリアの種が存在する。一部のシアノバクテリアは植物との共生関係を持ちながら存在していることが古くから知られており、これは一部のシアノバクテリアだけが持つ窒素固定能に依るところが大きい。窒素固定をおこなう糸状性シアノバクテリアの一部は、ヘテロシストと呼ばれる窒素固定細胞を分化し、分子状窒素をアンモニアに変換している。

裸子植物のソテツは岩場などの貧栄養な土地でも生育可能な植物であり、その側根には『珊瑚根』と呼ばれる特殊な器官が分化する(図1)。珊瑚根の組織内の細胞間隙には糸状性シアノバクテリアの共生が見られ、これを掻き出すことで単離が可能である(図2)。ソテツ珊瑚根内の共生関係が長期安定維持されるメカニズムは未だ不明な点が多く、またソテツの生育が極めて遅いことも実験系の構築を困難にしている。しかし、共生系の安定維持のメカニズムが理解できれば、高い窒素固定能を持ったシアノバクテリアを長期間維持し、土壤改良につなげるような技術開発の可能性が拓かれる。



図1 ソテツの主根・側根・珊瑚根

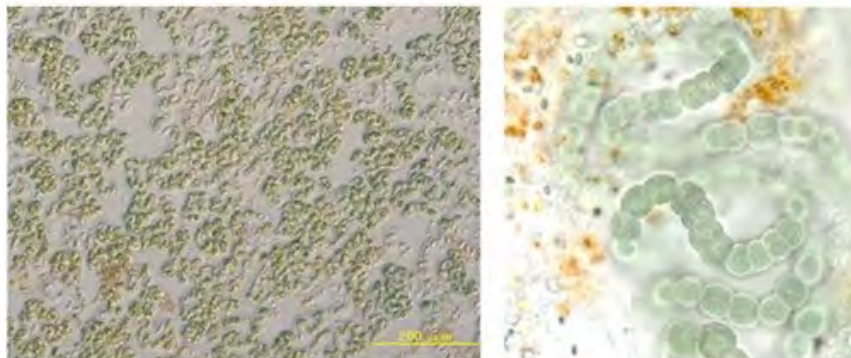


図2 ソテツ珊瑚根から掻き出したシアノバクテリア

【研究成果】

本研究では県内外のソテツ珊瑚根から新たに複数の共生シアノバクテリアを新規単離することに成功した。これらについてゲノム解析を進め、1株の全ゲノム情報と2株のドラフトゲノム情報を得た。いずれも非共生時には土壤中で自由生活することが予想されるため、一部の絶対共生細菌に見られるような大規模なゲノム縮退や多数の必須代謝系遺伝子群の欠落といった現象はゲノム配列を見る限りでは観測されなかった。カルチャーコレクションセンターから近縁株を取り寄せて同条件での培養試験をおこなった結果、多量の細胞外多糖を放出する有用株を見出すことができた。新規単離株や以前単離した *Nostoc* sp. WK-1 株についてRNA-seq解析を実施し、窒素欠乏条件で特異的に発現する遺伝子群を同定することに成功した。また新規単離株の珊瑚根内部での細胞形態について電子顕微鏡解析により確認をおこない、自由生活時の細胞形態と比較することで共生状態の特異性がどこにあるかを整理した。これらの研究成果は近く取りまとめて論文化を進める。

また本研究に関連し、本学理学部の粟井教授、島根大学の太谷教授、金沢大学の坂本准教授らとの共同研究により、南極のコケ群落から単離された低温耐性の共生シアノバクテリアである *Nostoc* sp. SO-36 株の全ゲノム情報を新たに解読することにも成功し、*Journal of Plant Research* 誌に発表した。この株は近縁種と比べてゲノム配列構造のシンテニーがユニークであり、多くの細胞外多糖を放出して凝集する性質を持っていた。これにより植物とシアノバクテリアの共生関係や極低温ストレス耐性の機構を研究する上で興味深い知見が得られた。

【社会実装に向けた今後の取り組み】

一般的に土壌性のシアノバクテリアを新規単離する際には、カビなどの他の微生物の混入によりシアノバクテリアが駆逐されてしまい上手くいかないことが多い。しかし本研究で新規単離した窒素固定シアノバクテリアのうちの数株はこのようなコンタミネーションがあっても最終的に寒天培地上で優先化する性質を持っていた。土壌改良などへの利用可能性を検討するため、実際のモデル土壌や他の培養条件においても他の微生物によって駆逐されずに生存・増殖可能かどうかについて現在検討を進めている。

【学会発表】

1) NIESコレクションのシアノバクテリアのゲノム解析の取り組み

広瀬侑、大坪嘉行、三澤直美、米川千夏、長尾信義、志村遥平、藤澤貴智、兼崎 友、加藤 浩、片山光徳、山口晴代、吉川博文、池内昌彦、浴 俊彦、中村保一、河地正伸

藍藻の分子生物学2022 (2022年12月) 千葉

2) 南極から単離されたシアノバクテリア *Nostoc* sp. SO-36の低温耐性と細胞外多糖の関連性

Devi B. Effendi, Toshio Sakamoto, Shuji Ohtani, Koichiro Awai, and Yu Kanesaki

藍藻の分子生物学2022 (2022年12月) 千葉

【関連発表論文】

1) Effendi D.B., Sakamoto T., Ohtani S., Awai K., and Kanesaki Y.*

Possible involvement of extracellular polymeric substrates of Antarctic cyanobacterium *Nostoc* sp. strain SO-36 in adaptation to harsh environments.

Journal of Plant Research (2022) 135: 771-784.

2) Kanesaki Y.*, Hirose M., Hirose Y., Fujisawa T., Nakamura Y., Watanabe S., Uchida H., and Murakami A. Draft genome sequence of the nitrogen-fixing and hormogonia-inducing cyanobacterium, *Nostoc cycadae* strain WK-1, isolated from the coralloid roots of *Cycas revoluta*.

Genome Announcements (2018) 6: e00021-18.

研究課題：絶滅危惧種スイゼンジノリを取り巻く環境メタゲノム解析とその応用研究

研究代表者：兼崎 友 特任助教（研究支援室）

研究分担者：吉川 伸哉 教授（福井県立大学海洋生物資源学部）

研究概要

スイゼンジノリは九州地方にしか棲息していない淡水性の食用藍藻で200年以上にわたって養殖され珍重されてきた。スイゼンジノリはサクランという高分子多糖を生合成するなど、産業的にも極めて価値ある生物種である。しかし、環境省より絶滅危惧種I類の指定を受ける絶滅危惧種でもあり、その生息環境の維持が危ぶまれている。研究代表者らはスイゼンジノリの保全と利用のため、単離したクローン株2株の高精度ドラフトゲノム情報を世界で初めて解読してきた。混入微生物配列の影響でまだゲノム情報の一部にギャップが残るものの、このゲノム情報からサクランの生合成に関わることが予想される細胞外多糖合成系遺伝子群や窒素固定に関わる遺伝子群の推定を実施した。現在、ギャップ領域の配列データ改善を進めている。

スイゼンジノリの保全には同じ生息環境で競合する微生物群の理解が極めて重要であるが、同じ養殖場環境から単離され、スイゼンジノリと同様に多くの細胞外多糖を作る別属藍藻1株のゲノム情報整備にも成功した。これまで、細胞外多糖中や河川環境に共存・共生する他生物種の情報も、分子レベルでモニターされてこなかったため、本研究において、夏季と秋季にサンプリングしたスイゼンジノリ藻体や河川底土、河川水からDNAを抽出し、スイゼンジノリの至適増殖環境時の微生物叢組成についての情報を収集・解析した。また同サンプルを異なる条件で培養することで、生息環境下で競合する他の藍藻の分離を進め、複数の分離株ラインを構築できた。

研究成果

【研究概要】

スイゼンジノリは九州地方で養殖される絶滅危惧種の淡水性藍藻で、古来より懐石料理や献上品として珍重されてきた。多量の細胞外多糖基質の塊の中に、多数の楕円形の細胞が散在する独特のコロニーを形成するが、特に大きなコロニーは水面に浮遊して存在していることが多い。スイゼンジノリが合成する細胞外多糖類はサクランと呼ばれ、極めて高い保水性を持つことから産業的にも極めて価値ある生物種として知られており、その増産が期待されている。しかしスイゼンジノリは環境省より絶滅危惧種I類(2020年時点)の指定を受ける藻類であり、増産以前にその生息環境の保全のレベルで大いに危ぶまれている状況にある。

研究代表者らはスイゼンジノリ (*Aphanothece sacrum*)の保全をゲノムレベルから推し進めるべく、これまでに単離したクローン株2株の高精度ドラフトゲノム情報を初めて解読することに成功してきた。現在、さらにゲノム情報の高度化を進めるとともに、生態学的解析と生物情報科学の技法を駆使することで、スイゼンジノリが生息する水系で共存・競合する微生物群をカタログ化して環境保全や養殖の安定に資するデータの構築を進めている。スイゼンジノリの保全には、同じ棲息環境で共生あるいは競合する他の藍藻や真核藻類などの理解も極めて重要である。細菌間で広く保存された16S rRNA遺伝子の部分配列をPCR

法により増幅し、次世代シーケンサーを用いて網羅的な生物群集解析を実施することで、多数の微生物情報の取得に成功した。また、スイゼンジノリが生息する河川水サンプルを様々な培養条件に曝すことで、環境中で競合する可能性のある他の藍藻株の分離培養を実施した。サンガー法によりそれらの株の16S rRNA 遺伝子配列を決定し分子系統を明らかにすると共に、純化や形態観察、生理学的解析を進めている。



図1 スイゼンジノリの藻体

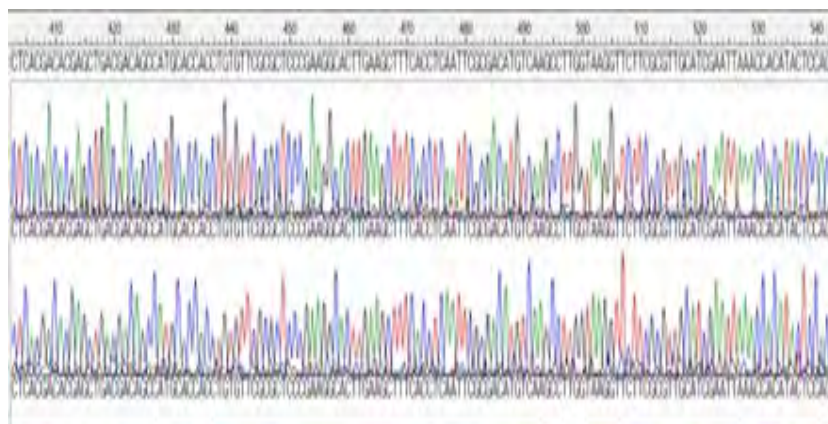


図2 河川環境中に共存する別種藍藻の16S rRNA配列

【社会実装に向けた今後の取り組み】

採取した河川底土と河川水中には無数の微生物が存在しており、藍藻に限ってみても培養条件を調整することにより当初の採取サンプルでは光学顕微鏡レベルでもほとんど見られなかったマイナーな株を集積培養することが可能であった。当然のことではあるがこれらの結果は河川環境の僅かな変化がスイゼンジノリと競合する藍藻の発生につながる可能性を示しており、環境保全活動の難しさを明確に示している。現段階ではこれらの競合藍藻のゲノム情報や分子系統情報を確実に明らかにし、保全活動の目安となる微生物種カタログの完成を目指す。また関連する競争的研究費獲得に向けて、引き続き共同研究ネットワークを構築中である。

【関連研究会の開催等】

- 1) ラン藻ゲノム交流会（2022年6月） 東京都立大学/オンライン開催（共同世話人）
- 2) ラン藻ゲノム交流会（2023年7月） 東京大学（共同世話人）

【関連発表論文】

- 1) Ohki K., Kanesaki Y., Suzuki N., Okajima M., Kaneko T., Yoshikawa S.
Physiological properties and genetic analysis related to exopolysaccharide (EPS) production in the fresh-water unicellular cyanobacterium *Aphanothece sacrum* (Suizenji Nori).
The Journal of General and Applied Microbiology (2019) 65: 39-46.
- 2) 谷口智之、兼崎 友、金子慎一郎、大城 香
希少生物スイゼンジノリの自生地の現状と保全に向けた取り組み
バイオサイエンスとインダストリー(B&I) (2020) 78: 350-353.
- 3) Yoshikawa S., Kanesaki Y., Uemura A., Yamada K., Okajima M., Kaneko T., Ohki K.
Physiological and genomic analysis of newly-isolated polysaccharide synthesizing cyanobacterium *Chroococcus* sp. FPU101 and chemical analysis of the exopolysaccharide.
The Journal of General and Applied Microbiology (2021) 67: 207-213.



ICGST2023がマレーシア、クアラルンプールで開催されました

International Conference on Green Science and Technology 2023

2023年12月7日から8日にかけて開催された「ICGST2023、グリーン科学技術に関する国際会議」は、68名の参加者を迎え、成功裏に終了しました。このシンポジウムは、国際都市として目覚ましい発展を続けているマレーシアのクアラルンプールで行われ、オンラインとオンサイトのハイブリッド形式で実施されました。

シンポジウムでは、SDGsの目標2(飢餓をゼロに)、3(すべての人に健康と福祉を)、7(エネルギーをみんなに、そしてクリーンに)の達成を目指す研究者による招待講演やポスター発表が行われ、「To Know Each Other for Green Science and Technology」というテーマの下で、参加者間の有意義な知識交流が実現されました。

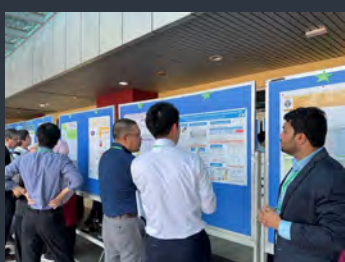
グリーン科学技術研究所からは、4名の招待講演者、11名のポスター発表者、4名の教員を含む合計19名が現地で参加しました。また、静岡大学を含む4か国7大学からの参加者がシンポジウムの成功に大きく貢献しました。イベントのオンライン部分はWebexを介して進行され、直接参加できない研究者にもアクセスの機会が提供されました。

すべての参加者、発表者、サポートスタッフへの心からの感謝と、UTMの運営委員会、特にHesham教授とDaniel博士の卓越した管理能力と献身に対する特別な感謝を申し上げます。

ICGST2023の成功を基に、今後のイベントやシンポジウムもさらなる発展を目指します。なお、次回のICGSTは2025年にインドで開催予定です。



▼ポスター発表の様子



グリーンサイエンスカフェ(後半)が開催されました

2023年11月4日(土) 会場: 静岡キャンパス キャンパスフェスタ

◆第5回「Tealはどこから日本へ? ~ゲノム情報から茶の伝播経路を考察する~」

日本における緑茶の起源を探る本イベントでは、一家崇志准教授が国内の茶のDNA情報を基にした先進的な研究を紹介しました。800種類以上の在来茶のDNA解析結果と古文書を組み合わせ、茶の由来や伝播経路に関する新たな知見を明らかにしました。最新のゲノム解析技術を、一般的な例えを用いてわかりやすく説明し、参加者の理解を助けました。

静岡市科学館・く・るとの共催で、44名の参加者を迎えたこのイベントでは、お茶の歴史、文化、そして科学に関する情報が豊富に提供されました。講義では、産地や品種だけでなく、茶葉を構成する物質の違いについても触れ、実際のお茶の試飲を通じて理解を深めました。さらに、研究室見学ツアーも実施され、実験室や植物栽培の様子を間近で見ることで、研究現場への理解が一層深まりました。

2023年11月11日(土) 会場: 浜松キャンパス テクノフェスタ

◆第6回「DNAってどんなかたち? ~いろんなかたちのDNAが生命のカギになる~」

DNAの多様な構造とその生命科学への重要性をテーマに、大吉崇文氏が、一般的な二本鎖のらせん構造から三本鎖や四本鎖のDNA構造に至るまでの幅広い知識を提供しました。特に、これらの構造が最近の病気研究にどのように関わっているかに焦点を当て、最新の発見について解説しました。参加者は小学生からシニアまでの幅広い年齢層の声があがる場面も多く、和やかな雰囲気の中でイベントが進行しました。講師は参加者の知識レベルに合わせて、DNAの基本から最新の研究成果までを分かりやすく説明しました。また、実験も行われ、参加者は1時間半にわたって集中し、互いの実験結果を見せ合うなどの交流が活発に行われました。

参加者の反応は非常に肯定的で、実験の準備や手順もわかりやすく、イベント全体がスムーズに進行しました。参加者はイベントを通じて常に明るい表情を見せ、学びと交流の場としてのイベントの成功がうかがえました。

▼第5回



▼第6回



2024年度開催告知

6/1 静岡大学 浜松キャンパス
化学の力でタンパク質をつくる
～たんぱく質の構造と機能～

7/6 浜松科学館 みらいホール
生成AIってなに?
～その仕組みとできること、できないこと～
講師: 浜松科学館

9/21 静岡大学 静岡キャンパス
お宝酵母を発掘せよ!
～静岡の古くから伝わる
小学発酵、および15発酵～

10/26 静岡大学 静岡キャンパス
金属の不思議!
～金属イオンのカラフルな世界を観察してみよう～
～静岡の歴史とつながる～

11/2 静岡大学 静岡キャンパス キャンパスフェスタ
菌類も会話する!
～そのコミュニケーションの正体は化学物質?～

11/9 静岡大学 静岡キャンパス テクノフェスタ
宇宙への行き方、帰りの方
～未来の宇宙飛行士から宇宙飛行士まで～
～宇宙飛行士の準備～

静岡ろく・くる、
浜松みらい～らと共催決定!

詳細は下記から



「さくらサイエンスプログラム」を実施しました

静岡大学グリーン科学技術研究所は、日本科学技術振興機構(JST)の「さくらサイエンスプログラム」の一環として、インドネシア国立ガジャ・マダ大学からの研究者や大学院生10名を招へいしました。このプログラムは、化学、生化学、バイオテクノロジー、プロセス工学、栄養学、廃棄物管理、生産プロセス工学を学んでいる学生たちに、科学技術研究に関する深い学びを提供することを目的としています。この活動は、国立研究開発法人科学技術振興機構の2023年度国際青少年サイエンス交流事業(さくらサイエンスプログラム)の支援を受けて実施しています。

実施内容

訪問先: 静岡大学の複数の研究室および地域フィールド科学教育研究センター藤枝フィールド。

活動: 研究室ツアー、グリーン科学技術研究所の教員による講義、静岡大学国際連携推進機構への訪問、そして同時期にマレーシアで開催されていた「International Conference on Green Science and Technology 2023 (ICGST 2023)」のオンライン聴講。

イベントの意義

このプログラムは、日本とインドネシアの次世代研究者が協力し、持続可能な社会を実現するためのグリーン科学技術を追求めます。この分野横断型の取り組みには、多くの学生と教員が関わり、様々な研究分野で深い知識を共有する機会がありました。参加者は本学の関連施設を訪れ、この経験を通じて共に学びました。

- 植物ストレスマネジメント研究コア 崔研究室、竹内研究室、道羅研究室
- フィールドインフォマティクス研究コア 一家研究室
- 生物分子機能コア 加藤研究室、宮崎研究室
- 静岡共同利用機器センター
- 静岡大学農学部地域フィールド科学教育研究センター 藤枝フィールド 八幡 昌紀 准教授
- 静岡大学国際連携推進機構 松田 紀子 教授
- 静岡大学農学部生物資源科学科 切岩 祥和 教授

参加者の背景

来訪者はガジャ・マダ大学からの研究者や大学院生10名で、引率者であるニングラム博士は静岡大学大学院の卒業生です。ニングラム博士は参加者の希望と能力にマッチした研究室を推薦し、実り多い交流が行われました。

まとめ

当研究所でのこのプログラムは、日本とインドネシアの学術交流を促進し、両国間の研究者や学生に新たな視野を開く有意義な取り組みとなりました。このような国際協力により、グリーン科学技術の分野でのグローバルな学術交流がさらに強化されることが期待されます。



国際青少年サイエンス交流事業
さくらサイエンスプログラム

2023年12月6日～9日



第10回国際シンポジウム 「ISFAR-SU 2024」を開催しました

2024年3月6日(水)

静岡大学の研究と博士課程学生の教育を牽引している電子工学研究所、グリーン科学技術研究所、創造科学技術大学院、および大学院光医工学研究科と、本学の「重点研究分野」を超えた連携・融合による新研究領域の開拓に取り組む超領域研究推進本部が共同して、国際シンポジウム「The 10th International Symposium toward the Future of Advanced Research at Shizuoka University 2024 ~ Joint International Workshops on Advanced Nanovision Science / Advanced Green Science / Promotion of Global Young Researchers, on the basis of Interdisciplinary Domain Researches ~」を3月6日(水)オンラインにて開催しました。

このシンポジウムは、静岡大学における研究と教育の多様性、国際性、革新性をより深めるという目的の下、2014年度より毎年開催され、今年度で第10回目を迎えました。

昨年度に引き続きZoom配信にて実施し、情報科学、エネルギーシステム、ナノビジョンサイエンス、ナノマテリアル、ベーシックリサーチ、環境・エネルギー科学、統合バイオサイエンス、光医工学を中心とする研究分野の研究者や学生など約90名が参加しました。

シンポジウムは、日詰 一幸 学長の開会の挨拶から始まり、午前の部ではまず、関西学院大学・橋本秀樹教授による基調講演が行われました。その後、50名の学生・若手研究者が研究分野に応じて4つのセッションに別れ、研究発表・質疑応答を行いました。このセッションには、静岡大学が科学技術振興機構(JST)「グローバルサイエンスキャンパス」の委託事業として運営する「未来の科学者養成スクール(FSS)」を受講する高校生6名も参加し、それぞれの研究内容について、参加者と意見交換を行いました。

午後の部では、オーストラリア、インドネシア、マレーシア、インド、スリランカ、リトアニア、スロバキア及び日本の大学・研究機関から8名の招待講演者にご講演いただきました。シンポジウムの最後に行われた授賞式では、6名の大学院生と6名の高校生がベストプレゼンテーションアワードを受賞しました。

オンライン開催でありながらも、参加者同士が活発に議論して、今後の更なる国際共同研究の推進やグローバルに次世代を担う研究者育成の良い機会となりました。ご講演をいただきました招待講演者の皆様、関係者の皆様はこの場をお借りし、厚く御礼申し上げます。



The 10th International Symposium toward the Future of Advanced Research at Shizuoka University (ISFAR-SU 2024)

~Joint International Workshops on Advanced Nanovision Science / Advanced Green Science / Promotion of Global Young Researchers on the basis of Interdisciplinary Domain Researches~

9:00 - 18:00, 6th March, 2024
Zoom Distribution, Shizuoka University

Plenary Talk
Prof. Hideki Hashimoto (Kwansei Gakuin University, Japan)

Invited Talks
Prof. R.M.Gamini Rajapakse (University of Peradeniya, Sri Lanka)
Prof. Zdenko Machala (Comenius University, Slovakia)
Dr. Domas Paipulas (Vilnius University, Lithuania)
Dr. James Chon (Swinburne University of Technology, Australia)
Dr. Mani Navaneethan (SRM Institute of Science and Technology, India)
Dr. Eko Agus Suyono (Gadjah Mada University, Indonesia)
Dr. Rebeka Sultana (Tokyo University of Agriculture and Technology, Japan)
Dr. Abd Rahman Jabir Mohd Din (University of Technology Malaysia, Malaysia)

Program
AM: Short Presentation by Young Researchers
PM: Plenary / Invited Talks

Scan the QR codes for details
Symposium Website
Registration
Registration deadline: 26th Feb., 2024

Symposium Organizers:

- Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University
- Research Institute of Electronics, Shizuoka University
- Research Institute of Green Science and Technology, Shizuoka University
- Headquarters for Promotion of Interdisciplinary Domain Research, Shizuoka University
- Graduate School of Medical Photonics, Shizuoka University
- Future Scientists' School in Shizuoka University, Global Science Campus supported by Japan Science and Technology Agency

▶ 調講演：橋本 秀樹 教授（関西学院大学）



日本微生物学会生態学会第36回浜松大会 アジア微生物生態シンポジウム第13回浜松 大会開催

2023年11月27日～12月1日

グリーン科学技術研究所共催、新エネルギー研究コア・二又裕之教授が大会実行委員長を務める本大会が本日11月27日より4日間に渡り、アクティシティ浜松を会場に開催されてました。国内外から700余名の参加しました。新エネルギー研究コア・木村浩之教授、新谷政己准教授も大会実行委員として参加しました。



微生物群集の成り立ちを理解する新手法を開発 －微生物の「三角関係」から複雑な生態系を紐解く－

2024年2月5日

「微生物は地球上のあらゆる環境に微生物群集と呼ばれる複雑な生態系をつくって生息しており、その働きは農業・排水処理といった産業のほか、地球温暖化を始めとする環境問題と密接に関係しています。

今回、兵庫県立大学 大学院工学研究科の石澤秀紘助教、静岡大学 グリーン科学技術研究所の二又裕之教授、同大学 学術院工学領域の田代陽介講師、大阪大学 大学院工学研究科の池道彦教授、井上大介准教授の共同研究グループは、こうした微生物群集の成り立ちを、微生物間の競争・協力といった種間相互作用の情報をもとに予測する手法の開発に成功しました。

この手法は、環境中における微生物群集の挙動を正確に理解することに寄与し、適切な微生物群集の利用・管理に役立つことが期待されます。

本研究成果は、米国科学アカデミーが発行する学術雑誌「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)」に2024年2月5日公開(現地時間)に掲載されました。



一家崇志 准教授が国際日本茶協会が選ぶ「日本茶の30人」に選出されました

2024年3月14日

フィールドインフォマティクスの一 家崇志准教授が「日本茶の30人」に選出されました。「日本茶の30人」は、高齢化や生産量減少などの課題が山積する日本茶の世界において、日本茶の可能性を広げ、未来を創造する30の革新者を集める国際日本茶協会のプロジェクトです。

一家准教授は、「茶樹のDNA解析で得た遺伝情報により、カテキンやカフェインなどの機能性成分を予測する世界初の技術」の開発が評価され、この度選出されました。この技術により、これまで十年以上かかっていたお茶の品種改良が格段に早まり、オーダーメイドによるお茶の品種改良等への活用が期待されています。

[国際日本茶協会 《茶×DNA》「スマート育種」で10年が2年!? DNA情報活用で、個性あふれる新品種が思い通りに。【静岡大学 / 一家崇志】](#)

プラズマクラスター技術が寄与する植物の生育促進メカニズムを確認

2024年3月22日

フィールドインフォマティクス研究コアの 一 家崇志 准教授 および山下寛人 助教 の研究グループは、シャープ株式会社(以下、シャープ)との共同研究により、植物の生育を促進するメカニズムを検証した結果、プラズマクラスター技術が植物の初期生育 ※1促進に寄与していることを初めて確認しました。



播種(はしゅ)7日後のイネの様子
左:送風のみ、右:プラズマクラスターイオンあり

シャープは、プラズマクラスター技術が植物の生育にも有益となる可能性に着目し、検証を進めた結果、2016年にプラズマクラスター技術がレタスの生育を促進することを実証 ※2しました。

今回の実証では、その効果の背景となる、プラズマクラスターイオンが寄与する植物の生育促進メカニズムを確認するため、全遺伝情報が判明しているイネを用いた研究を実施しました。

その結果、播種直後からプラズマクラスターイオンを直接照射した場合は、初期生育における芽が送風のみの場合と比較して最大約4倍 ※3に長くなっており、さらにその生育促進メカニズムとして、エネルギー生成を指示する働き(遺伝子発現)が最大約3倍 ※4に増えていることを確認しました。

以上のことから、プラズマクラスターイオンを照射することで、植物の初期生育を促進できることが示唆されました。

今回の成果は、近年、持続可能な食料生産性の向上が世界的な課題となる中で、プラズマクラスター 技術がその解決に向けた新たな一助となる可能性を示すものです。

※1:発芽から種子の栄養を使った成長の最初の段階を指します。今回は、発芽からその数日以内を評価しました。

※2:プラズマクラスター技術でレタスの成長促進効果を実証(<https://jp.sharp/plasmacluster-tech/closeup/closeup03/>)。

※3:播種してから 3 日後の平均値より算出。

※4:播種してから 1 時間後のAmy(アミラーゼ遺伝子)の平均値より算出。

●プラズマクラスターロゴ(図形)およびプラズマクラスター、Plasmacluster はシャープ株式会社の登録商標です。

受賞

2023年12月

1st rank, Stance Classification Subtask in NTCIR-17 QA Lab-Poliinfo-4, KIS 's Stance Classification Model at the NTCIR-17 QA Lab-PoliInfo-4 狩野 芳伸 准教授

フィールドインフォマティクス研究コアの狩野芳伸研究室の仲田明良さんが国際会議NTCIR-17タスクで首位、Best Awardをダブル受賞

2023年12月

有機合成化学協会 味の素研究企画賞 佐藤 浩平 助教

タイトル:有機フッ素化合物分解酵素の完全化学合成と酵素鏡像体化による安定性向上に関する新戦略

2024年3月

情報処理学会 情報処理学会フェロー 峰野 博史 助教

タイトル:情報科学的アプローチからの情報協働栽培技術に関する研究開発および学会運営に対する貢献

2024年3月

静岡大学産学連携奨励賞 一家 崇志 准教授



▲国際会議NTCIR-17での表彰式の様子



▲静岡大学産学連携奨励賞 一家 崇志 准教授(左)

出版物

- 2023年10月『メタネーションとグリーン水素の最新動向』に木村浩之教授の研究内容(分担執筆)が掲載されました。

(発行元:株式会社シーエムシー出版)



- 2023年12月『連載記事「植物環境工学」(第十九回)』に峰野博史教授の研究内容(単著)が掲載されました。

(発行元:日本生物環境工学会)

- 2024年1月『ポリ乳酸の生産・成形加工・高機能化技術』に間瀬暢之教授の研究内容(分担執筆)が掲載されました。

(発行元:株式会社シーエムシー出版)

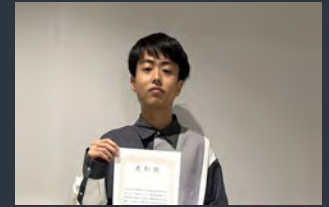


- 2024年3月『Peppers: Biological, Health and Postharvest Perspectives』に間瀬暢之教授の研究内容(分担執筆)が掲載されました。

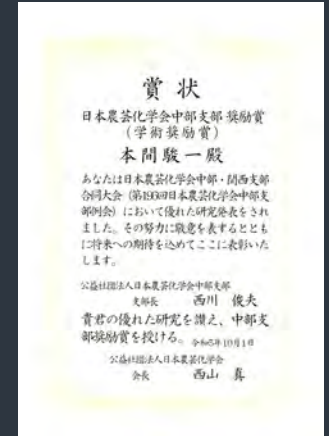
(発行元:CRC Press)

学生の受賞

- 2023年10月
総合科学技術研究科 渡邊 翔生さん（指導教員：峰野 博史 教授）が情報処理学会より「情報処理学会 第38回CDS研究会 優秀発表賞」を受賞しました。
受賞論文：ArduPilotと三次元深度情報を用いたクローラ型温室内自律走行車両の提案
- 2023年10月
総合科学技術研究科 本間 駿一さん（指導教員：大西 利幸 教授）が三重日本農芸化学会 中部・関西支部合同大会において「日本農芸化学会 中部支部学術奨励賞」を受賞しました。
- 2023年11月
総合科学技術研究科 小笹 祐吏さん（指導教員：轟泰 司 教授）が植物化学調節学会より「植物化学調節学会第58回大会 優秀発表賞」を受賞しました。
- 2023年11月
Muthuraman Krishna Rajaさん（指導教員：朴 龍洙 教授）が30th FAOBMB & 8th BMB ConferenceでMontri Chulavatnatol Scientific Pitching Awardを受賞しました。
- 2023年12月
創造科学技術大学院 ARBIN SUNUWARさん（指導教員：崔 宰熏 准教授）ICGST国際学会より「ポスター優秀賞」を受賞しました。
- 2024年2月
農学部 樋口 京佳さん（指導教員：一家 崇志 准教授）が茶学術研究会より「学術奨励賞」を受賞しました。
受賞テーマ：カテキン生合成の制御に関わる栄養元素の探索とその制御機構解析
- 2024年2月 総合科学技術研究科 利根 菜月さん（指導教員：一家 崇志 准教授）が茶学術研究会より「学術奨励賞」を受賞しました。
受賞テーマ：チャの根におけるテアニン生成能の遺伝要因の解析
- 2024年3月 創造科学技術大学院 Maho Tokudaさん（指導教員：新谷 政己 准教授）がISFAR-SU2024 Organizersより「Best Presentation Award」を受賞しました。
- 2024年3月 総合科学技術研究科 山田 愛莉さん（指導教員：小林 健二 教授）が日本化学会東海支部より「日本化学会東海支部支部長賞」、及び静岡大学大学院総合科学技術研究科 理学専攻より「専攻長表彰」を受賞しました。
- 2024年3月 情報学部 海老沢 源さん（指導教員：峰野 博史 教授）が情報処理学会より「情報処理学会第86回全国大会学生奨励賞」を受賞しました。
受賞論文：拡散モデルを用いた画像データ拡張によるメロン等級判定モデルの提案
- 2024年3月 情報学部 大沼 理巧さん（指導教員：峰野 博史 教授）が情報処理学会より「情報処理学会第86回全国大会学生奨励賞」を受賞しました。
受賞論文：葉の動態評価を活用した植物の応答に基づく自動灌水制御の提案
- 2024年3月 情報学部 中根 睦仁さん（指導教員：峰野 博史 教授）が情報処理学会より「情報処理学会第86回全国大会学生奨励賞」を受賞しました。
受賞論文：合成画像を入力としたPix2Pixモデルによるセグメンテーション画像拡張手法の提案
- 2024年3月 情報学部 原田 海斗さん（指導教員：峰野 博史 教授）が情報処理学会より「情報処理学会第86回全国大会学生奨励賞」を受賞しました。
受賞論文：NexmonによるCSIを用いた人物通過検出システムに関する研究
- 2024年3月 総合科学技術研究科 渡邊 翔生さん（指導教員：峰野 博史 教授）が情報処理学会より「情報処理学会第86回全国大会学生奨励賞」を受賞しました。
受賞論文：ArduPilotとRealSenseを用いたクローラ型温室内自律走行車両の開発
- 2024年3月 工学部 竹内 健人さん（指導教員：松井 信 准教授）が浜松工業会より「浜松工業会奨励賞」を受賞しました。
- 2024年3月 総合科学技術研究科 高野 成一郎さん（指導教員：松井 信 准教授）が日本機械学会より「日本機械学会三浦賞」を受賞しました



「日本農芸化学会 中部支部学術奨励賞」を受賞した本間 駿一さん



「植物化学調節学会第58回大会 優秀発表賞」を受賞した小笹 祐吏さん



Scientific Pitching Award最高賞を受賞した Muthuraman Krishna Rajaさん



報道

- 2023/10/22 読売新聞朝刊22面 狩野 芳伸 准教授
『静岡大 読売講座』生成系AI仕組みと課題
- 2023/11/01 月刊エネルギーフォーラム2023年11月号、106ページ 木村 浩之 教授
次代を創る学識者。地層中のメタンや微生物を活用した分散型エネルギーシステム構築を目指す。エネルギー供給の経済性、環境性、堰提供給向上に大きな期待がかかる。
- 2023/11/10 読売新聞朝刊21面 狩野 芳伸 准教授
『静大・読売講座 詳報』AI活用 積極的に学習を
- 2023/11/24 中日新聞朝刊8面 狩野 芳伸 准教授
静岡大・中日新聞連携講座 生成AI 進化加速
- 2023/12/01 静岡新聞朝刊16面 丑丸 敬史 教授
発酵食品飲料開発 事例や展望紹介
- 2023/12/09 静岡新聞 朝刊1面 一家 崇志 准教授
静岡県、静岡県立大と連携し茶園の炭素貯留機能を計測し「茶のJ-クレジット化」を目指す研究に着手
- 2024/01/25 中日新聞朝刊11面 新谷 己准 教授
人類の未来へ意義
- 2024/03/06 日経 朝刊 35面 一家 崇志 准教授
静岡大・浜松いわた信用金庫、産学連携の研究者を表彰
- 2024/03/06 中日新聞 朝刊 12面 一家 崇志 准教授
浜松いわた信金と静大 産学連携表彰
- 2024/03/18 Material Horizon誌 (The Royal Society of Chemistry:英国王立化学会)
小林 健二 教授
Material Horizon誌の10周年コレクション論文(アジア—太平洋地域)に選出
- 2024/03/19 静岡新聞 朝刊9面 一家 崇志 准教授
産学連携で貢献 研究者3人表彰
静大イノベーション社会連携推進機構と浜松いわた信金
- 2024/03/21 電波新聞 一家 崇志 准教授
<https://dempa-digital.com/article/539708>
シャープと静岡大、プラズマクラスターイオンによるイネの初期生育促進効果を確認
- 2024/03/27 日経 朝刊 近畿地方版 一家 崇志 准教授
プラズマクラスターでイネ育つ シャープ、静岡大学農学部・一家准教授と共同研究



論文発表 (2023年10月-2024年3月, CiteScore4以上)

- Takano, S., Homme, Y., and Matsui, M., Effects of the F-number on the generation condition of a diode-laser-sustained plasma *Optics Letters*, 48/21, 5447-5450, (2023/10)
- Takeshi Inada, Shoji Iguchi, Masahiro Yamamoto, Yusuke Hasegawa, Makoto Moriya, Junya Ohyama, Yuta Nabae, Shimpei Naniwa, Tsunehiro Tanaka, Kentaro Teramur, Fourteen-membered macrocyclic cobalt complex for the electrolysis of low-concentration gaseous carbon dioxide with high faradaic efficiency toward carbon monoxide, *Catalysis Science and Technology*, 14/, 391-396, (2023/11)
- Enoch Y. Park, Ankan Dutta Chowdhury, Malabika Ghosh, Keita Isago, Uddipan Dasgupta, Horoyuki Shimizu, Tetsuro Suzuki, Jasmina Vidic, Duplex-specific nuclease assisted magnetic nanoprobe for cyclic amplified RNA detection, *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 399/, -, 134833, (IF8.4) (2023/11)
- Yuki Kimura, Honami Osuda, Masakazu Hara, Prevention of liposome cryoaggregation by a radish (*Raphanus sativus* L.) vacuolar calcium-binding protein (RVCaB), *Food Bioscience*, in press/, -, (IF5.2) (2023/12)
- Jun Takeuchi, Haruka Asakura, Yuri Ozasa, Motoki Koide, Toshiyuki Ohnishi, and Yasushi Todoroki, Synthesis and biological activity of photostable and persistent abscisic acid analogs, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 21/48, 9616-9622, (2023/12)
- Kanno M, Shiota T, Ueno S, Takahara M, Haneda K, Tahara YO, Shintani M, Nakao R, Miyata M, Kimbara K, Futamata H, Tashiro Y, Identification of genes involved in enhanced membrane vesicle formation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: Surface sensing facilitates vesiculation, *Frontiers in Microbiology*, 14/, -, 1252155., (IF5.2) (2023/12)
- Yuya Sato, Teruhiko Miwa, Tomohiro Inaba, Takuto Akachi, Eiji Tanaka, Tomoyuki Hori, Keita Murofushi, Hiroshi Takagi, Hiroyuki Futamata, Tomo Aoyagi, Hiroshi Hab, Microbially produced fertilizer provides rhizobacteria to hydroponic tomato roots by forming beneficial biofilms, *Appl. Microbiol. Biotech*, 107/23, 7365-7374, (IF5) (2023/12)
- T. Mizokuro,* Y. Kikkawa, H. Ohsawa, K. Kobayashi, K. Kamada, Improvement in the upconversion efficiency of an alternating multilayer structure based on 9,10-bis(4-methylphenyl) anthracene and platinum octaethylporphyrin vacuum deposited on an in-plane oriented polythiophene film., *Thin Solid Films*, 791/, -, 140228, (I2.1) (2024/01)
- Maho Tokuda, Masaki Shintani, Microbial evolution through horizontal gene transfer by mobile genetic elements, *Microbial Biotechnology*, in press/, -, (IF6.58) (2024/01)
- Ba L, Wang H, Zhang S, Yamashita H, He S, Liang S, Wang Y, Ding Z, Fan K, Ikka T, Song C, Qian W., Alkaline Invertase 2 positively modulates cold adaptive of *Camellia sinensis* and enhances freezing and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*, *Industrial Crops and Products*, 209/, -, 118042, (IF5.9) (2024/01)

- Tatsuya Kato, J. Azegami, M. Kano, K. Kurabayashi, El Enshasy Hesham, Enoch Y. Par, Induction of oxidative stress in sirtuin gene-disrupted *Ashbya gossypii* mutants overproducing riboflavin, *Molecular Biotechnology*, /, -, (IF2.6) (2024/01)
- R. Fukuuchi, Y. Toyoshima, T. Yoshinami, N. Tripathi, C. Heck, K. Kobayashi,* K. Kamada, Solution to the Host-Guest Compatibility Problem of Solid Triplet-Triplet Annihilation Photon Upconversion by a Molecular-Anchor Sensitizer Approach, *Journal of Physical Chemistry C*, 128/6, 2604-2617, (IF3.7) (2024/02)
- Mana Ogawa, Sayaka Usami, Ryo Takahama, Kazuko Iwamoto, Tomomi Nabeta, Shin Kawashima, Ryoichi Kojima, Junya Ohyama, Teruaki Hayakawa, Yuta Nabae, Makoto Moriya, One-pot gram-scale rapid synthesis of MN4 complexes with 14-membered ring macrocyclic ligand as a precursor for carbon-based ORR and CO₂RR catalyst, *Dalton Transactions*, /,-, (2024/02)
- Hidehiro Ishizawa, Yosuke Tashiro, Daisuke Inoue, Michihiko Ike, Hiroyuki Futamat, Learning beyond-pairwise interactions enables the bottom-up prediction of microbial community structure, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, /, -e2312396121, (IF11.1) (2024/02)
- Tetsuo Narumi, Daichi Toyama, Junko Fujimoto, Ryuji Kyan, Kohei Sato, Kenji Mori, James T. Pearson, Nobuyuki Mase, Kentaro Takayama, Amide-to-Chloroalkene Substitution for Overcoming Intramolecular Acyl Transfer Challenges in Hexapeptidic Neuromedin U Receptor 2 Agonists, *Chemical Communications*, 60/26, 3563-3566, (IF4.9) (2024/02)
- Enoch Y. Park, Sjaikhurrizal El Muttaqien, Indra Memdi Khoris, Jodi Suryanggono, Provash C. Sadhukhan, Sabar Pambudi, Ankan Dutta Chowdhury, Point-of-care Dengue detection: Polydopamine-modified electrode for rapid NS1 protein testing for clinical samples, *Microchimica Acta*, 191/, -, 174, (IF5.7) (2024/02)
- Masahiro Honjo, Kenshi Suzuki, Junya Katai, Yosuke Tashiro, Tomo Aoyagi, Tomoyuki Hori, Takashi Okada, Yasuhisa Saito, and Hiroyuki Futamata, Stable states of microbial community are formed by dynamic metabolic networks with members functioning as both robustness and plasticity, *Microbes and Environments*, 39/1, -, ME23091, (IF2.9) (2024/03)
- Shinsei Iso, Yu Sato, Hiroyuki Kimura, Impacts of groundwater pumping on subterranean microbial communities in a deep aquifer associated with an accretionary pris, *Microorganisms*, 12/4, -, 679, (IF4.5) (2024/03)
- Toshio Mori, Sayaka Sugimoto, Syouma Ishii, Jing Wu, Akihiko Nakamura, Hideo Dohra, Kaoru Nagai, Hirokazu Kawagishi, Hirofumi Hirai, Biotransformation and detoxification of tetrabromobisphenol A by white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-62, *Journal of Hazardous Materials*, 465/, -, 133469, (IF13.6) (2024/03)
- Joni Prasetyo, Moh Adrian Barra Akbar, Aulanni' am, Euis Filaila, Deliana Dahnum, Roni Maryana, Muryanto Muryanto, Eka Triwahyuni, Yanni Sudyani, Teuku Beuna Bardant, Yan Irawan, Hirofumi Hirai, Optimizing for modified simultaneous saccharification and fermentation to produce bio-ethanol from environmentally friendly delignification of oil palm empty fruit bunch, *Biomass Conversion and Biorefinery*, /, -, (IF4) (2024/03)

科研費 採択状況・継続

一家 崇志 准教授

- 基盤研究(B): ゲノムワイド関連解析による茶葉中のアルミニウム含量低減を目指した育種素材の開発(代表)2020/04~2024/03
- 特別推進研究: フェアリー化合物の科学とその応用展開(分担)2020/08~2025/03
- 基盤研究(B): 単子葉植物に特有なアブシシン酸シグナル伝達機構の解明(分担)2022/04~2025/03

丑丸 敬史 教授

- 基盤研究(B): 液胞が制御する核内染色体・核小体の再配置と核分解オートファジーとの連動機構の解明(代表)2021/04~2024/03
- 新学術領域研究(研究課題提案型) ミクロヌクレオファジーにおける液胞と核の協働機構の解析(代表) 2022/04~2024/03

大西 利幸 教授

- 基盤研究(B): 「香り」の配糖化が強化する植物防御力の分子メカニズム(代表)2024/03~2027/03
- 基盤研究(B): 単子葉植物に特有なアブシシン酸シグナル伝達機構の解明(分担)2024/03~2027/03

加藤 竜也 教授

- 基盤研究(A): 分子制御が可能な多抗原提示型ウイルス様粒子による蚊媒介感染症のワクチン開発(分担)2020/04~2024/03
- 基盤研究(C): フラビンタンパク質機能から紐解く *Ashbya gossypii* リボフラビン生産(代表) 2021/04~2024/04

加藤 知香 教授

- 基盤研究(B): 白金ナノ構造の超強度化による凝集抑制技術の確立と省エネルギー化社会への展開(代表)2019/04~2024/03

狩野 芳伸 准教授

- 挑戦的研究(開拓): 自然言語処理技術を用いた日英仏議会テキスト解析による国会の特質・変則性の解明(分担)2020/07~2024/03
- 挑戦的研究(開拓): 脳科学・認知科学による人間に近いモデルに基づく日本語話し言葉解析器の構築と検証 (代表)2021/09~2024/03
- 基盤研究(B): SNS・新聞記事・議会議事録を用いたAIによる世論形成過程と政治家の応答性の分析(代表)2022/04~2027/03

木村 浩之 教授

- 基盤研究(B): 付加体の深部帯水層の地下温水と微生物群集を活用したメタン・水素生成リアクター(代表)2020/04~2024/03

小林 健二 教授

- 基盤研究(B): 大環状パイ共役アントラセン-アセチレン6量体の創製と機能および超分子化学特性(代表)2022/04~2025/03

佐藤 浩平 助教

- 基盤研究(C): タンパク質化学合成を基盤としたエステル連結ユビキチンシグナル解析プローブの創製(代表)2022/04~2025/03

新谷 政己 准教授

- 新学術領域研究(研究領域提案型): 微生物間相互作用が解き明かすポストコッホ微生物機能(分担)2019/06~2024/03
- 国際共同研究加速基金: 亜寒帯・温帯・熱帯植物の「植物体圏」におけるプラスミドの伝播現象の実態解明 研究課題(代表)2020/10~2024/03
- 基盤研究(B) プラスミドと細菌の共存機構に関する基盤研究(代表)2023/04~2026/03

科研費 採択状況・継続

竹内 純 准教授

- 基盤研究(B): アブシシン酸制御剤の創出と応用による種子の二次休眠誘導機構の解明と休眠制御(分担)2022/04~2027/03
- 萌芽的研究: N-degron経路を利用した植物内タンパク質のケミカルノックダウン(代表)2023/07~2025/03
- 基盤研究(B): 「香り」の配糖化が強化する植物防御力の分子メカニズム(代表)2024/03~2027/03
- 基盤研究(B): 単子葉植物に特有なアブシシン酸シグナル伝達機構の解明(代表)2024/03~2027/03

崔 宰勳 准教授

- 萌芽的研究: プリン代謝産物による植物由来アルギニン依存性一酸化窒素合成酵素の探索(代表)2022/07~2025/03
- 学術変革領域研究(A): フェアリー化合物の生合成・代謝メカニズムの解明(代表)2023/04~2025/03
- 基盤研究(B): フェアリーリング病の発生機序に関わる化学分子機構の解明(代表)2023/04~2027/03
- 国際共同研究加速基金(国際共同研究強化): シロイヌナズナにおけるフェアリー化合物の成長制御機構に関する分子遺伝学的解明(代表) 2023年度

朴 龍洙 教授

- 基盤研究(A): 分子制御が可能な多抗原提示型ウイルス様粒子による蚊媒介感染症のワクチン開発(代表)2020/04~2024/03

道羅 英夫 教授

- 基盤研究(C): 冬虫夏草類の子実体形成と二次代謝を制御する分子機構の解明(代表)2021/04~2024/03
- 基盤研究(C): 代謝物を介した土壌での多糖分解微生物の共存機構の解明と微生物制御への利用(分担)2021/04~2024/03
- 基盤研究(C): マナマコ内臓放出-横切断からの再生における再生芽形成と器官形成の分子機構の解析(分担)2021/04~2024/03
- 挑戦的研究(萌芽): プリン代謝産物による植物由来アルギニン依存性一酸化窒素合成酵素の探索(分担)2022/06~2025/03
- 基盤研究(B): 細菌との相互作用を利用した新たな白色腐朽菌機能制御技術の開発(分担)2023/04~2026/03
- 基盤研究(B): フェアリーリング病の発生機序に関わる化学分子機構の解明(分担)2023/04~2027/03

轟 泰司 教授

- 基盤研究(B): アブシシン酸制御剤の創出と応用による種子の二次休眠誘導機構の解明と休眠制御(代表)2023/04~2024/03

富田 因則 教授

- 挑戦的研究(萌芽): 変異シグネチャー育種;変異特徴を考慮したゲノムワイドマーカーの探索と活用(代表)2023/07~2025/03

中村 彰彦 准教授

- 基盤研究(B): 自然界に学ぶ「バイオマス分解機構」の解明(分担)2021/04~2024/03
- 挑戦的研究(萌芽): 高活性リグニン分解菌を用いた新規リグニンリファイナリー技術の構築(分担)2023/06~2025/03

鳴海 哲夫 准教授

- 基盤研究(B): アルケン型ペプチド結合等価体の二次構造特性の解明と創薬展開(代表)2023/04~2027/03

原 正和 教授

- 挑戦的研究(萌芽): 植物天然変性タンパク質の優れた超低温特性を利用した製剤凍結保存技術に関する研究(代表)2022/08~2025/03

科研費 採択状況・継続

平井 浩文 教授

- 基盤研究(A): 白色腐朽菌の環境汚染物質代謝能の意義解明及び汚染環境浄化への発展的応用(代表)2021/04~2024/03
- 挑戦的研究(萌芽): 高活性リグニン分解菌を用いた新規リグニンリファイナリー技術の構築(代表)2023/06~2025/03

二又 裕之 教授

- 基盤研究(B): 微生物制御の新展開: 電氣的代謝スイッチング制御機構の解明(代表)2021/04~2024/03

間瀬 暢之 教授

- 基盤研究(B): ファインバブルによるグリーンものづくり: 原理原則の解明から合成プロセス開発まで(代表)2021/04~2024/03
- 新学術領域研究(研究課題提案型): グリーンものづくりに向けた合成手法の機械学習最適化と化学反応の理解(代表)2022/04~2024/03

松井 信 准教授

- 挑戦的研究(開拓): レーザーを熱源とする炭素フリーのアルミニウム製錬法の開発(分担)2020/07~2024/03
- 挑戦的研究(萌芽): 超高感度マルチパスレーザーヘテロ干渉計の開発と衝撃波前方プリカーサ現象の解明(代表)2021/04~2024/03
- 基盤研究(B): 原子スペクトル線吸収を利用した近赤外レーザー維持プラズマの高効率化の検証(代表)2023/04~2026/03

峰野 博史 教授

- 基盤研究(A): 概日リズムの攪乱に由来する植物生育不安定性とノンパラメトリック栽培環境最適化(分担)2020/04~2024/03

宮崎 剛亜 准教授

- 基盤研究(A): 分子制御が可能な多抗原提示型ウイルス様粒子による蚊媒介感染症のワクチン開発(分担)2020/04~2024/03
- 基盤研究(C): 厳密な基質特異性を有する新規 α -グルカン分解酵素を駆使したオリゴ糖生産技術の開発(代表)2023/04~2026/03

本橋 令子 教授

- 基盤研究(B): カンキツ果実における「回青」現象の発生機構の解明(分担)2020/04~2024/03

科研費以外の外部資金 採択状況: 新規(2023年10月~2024年3月)

鳴海 哲夫 准教授

- 静岡大学 令和5年度 新学術領域開拓のための異分野間研究ネットワーク構築による研究力推進事業 / 医工学イノベーション研究連携 「疼痛を長時間緩和する新規抗体薬物複合体の創製」(代表)

松井 信 准教授

- 宇宙航空研究開発機構 受託研究 「HEK-Xを用いたTDLAS計測」(代表)

科研費以外の外部資金 採択状況:継続

一家 崇志 准教授

- 公益財団法人G-7奨学財団 「大麦新用途拡大に向けたミネラルデザイン育種基盤の構築」(分担)
- 農林水産省 「高品質茶生産拡大のための適期被覆技術体系の確立」(分担)
- 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター 「茶のスマート有機栽培技術体系の開発と現地実証試験」(分担)
- 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター 「国内生産力の強化を図るための果樹・茶品種の開発」(分担)
- 静岡県農林技術研究所茶業研究センター 「ゲノミック予測によるチャ個体群の成分予測」(代表)

丑丸 敬史 教授

- 東北大学加齢医学研究所 「寿命因子TORC1が制御する姉妹染色分体接着の制御機構の解明(課題番号4)」(代表)

狩野芳伸准教授

- 国立研究開発法人科学技術振興機構 「精神医学×メディア解析技術の展開:精神疾患への介入の挑戦」(分担)
- 公益財団法人セコム科学技術振興財団 情報セキュリティ分野「超スマート社会の「悪」の研究」 「SNSにおける欺瞞とその広がり自動検出・推測と政治学・社会学的分析および予防的介入」(代表)

新谷 政己 准教授

- 公益財団法人発酵研究所 「日本発の網羅的プラスミドデータベースの構築」(代表)

崔 宰熏 准教授

- 公益財団法人松籟科学技術振興財団 研究助成金 「シロイヌナズナにおけるフェアリー化合物の生理的役割の解明」(代表)
- 公益財団法人発酵研究所 「コムラサキシメジにおけるフェアリー化合物と一酸化窒素の生合成機構・生理的役割の解明」(代表)

富田 因則 教授

- 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター スタートアップ総合支援プログラム フェーズ2 「気候危機・自動化農業に適応する超多収・頑健遺伝子型植物のスマート育種によるプロセスイノベーション」(代表)

中村 彰彦 准教授

- 国立研究開発法人科学技術振興機構 創発的研究事業 「プラスチックを探して壊すバイオマイクロドローンの創出」(代表)

二又 裕之 教授

- 国立研究開発法人科学技術振興機構 「独創的原理に基づく革新的光科学技術の創生」(分担)

間瀬 暢之 教授

- 九州工業大学 「機械学習を活用した、有機化合物合成における溶媒効果の予測を可能とする新規手法の開」(分担)
- 経済産業省 成長型中小企業等研究開発支援事業(Go-Tech事業) 「核酸連続生産装置の開発」(分担)

松井 信 准教授

- 宇宙航空研究開発機構 「高感度レーザー分光法を用いた衝撃波管・膨張波管気流診断」(代表)

峰野 博史 教授

- 国立研究開発法人科学技術振興機構 「マルチモーダルフェノタイピングによる適応型情報協働栽培手法の確立」(代表)

特許出願（2023年10月～2024年3月）

加藤 知香 教授 「金属担持体及びその製造方法、反応触媒、並びにカチオン修飾担体及びその製造方法ポリオキシメタレート化合物の焼成体、並びに、反応触媒」
出願番号:PCT/JP2023/038554 出願日:2023/10/25
「貴金属含有材料を製造する方法、貴金属含有材料、膜電極接合体及び燃料電池」
出願番号:特願2023-203028 出願日:2023/11/30

木村 浩之 教授 「ガス測定装置およびガス測定方法」
特願2023-197208 登録日:2023/11/21

富田 因則 教授 「Oryza sativa L. コシヒカリ駿河sd1Hd16」
品種登録出願第37216号 登録日:2024/01/10
「Oryza sativa L. コシヒカリ駿河e1d60」
品種登録出願第37361号 登録日:2024/03/26



特許登録（2023年10月～2024年3月）





木村 浩之 教授 「メタン生成装置」 特許第7406205号 登録日:2023/12/19

富田 因則 教授 「Oryza sativa L. コシヒカリ駿河sd1Bms」
品種登録第30030号 登録日:2024/01/30



お問い合わせ先:静岡大学 学術情報部研究協力課 研究支援係
グリーン科学技術研究所HP <http://www.green.shizuoka.ac.jp/>
Phone: 054-238-4264 Email: kenkyu2@adb.shizuoka.ac.jp



 <https://www.instagram.com/rigst.su.green/>
 <https://www.fb.com/RIGST.SU>
 <https://sutv.shizuoka.ac.jp/subchannel/325>
 <https://twitter.com/RigstSu>

