

「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」  
事後評価報告書

平成22年11月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会

平成22年11月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
理事長 村田 成二 殿

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会 委員長 西村 吉雄

NEDO技術委員・技術委員会等規程第32条の規定に基づき、別添のとおり  
評価結果について報告します。

## 目 次

はじめに	1
分科会委員名簿	2
審議経過	3
評価概要	4
研究評価委員会におけるコメント	8
研究評価委員会委員名簿	9
第1章 評価	
1. プロジェクト全体に関する評価結果	1-1
1. 1 総論	
1. 2 各論	
2. 個別テーマに関する評価結果	1-26
2. 1 モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析	
2. 2 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発	
3. 評点結果	1-47
第2章 評価対象プロジェクト	
1. 事業原簿	2-1
2. 分科会における説明資料	2-2
参考資料1 評価の実施方法	参考資料 1-1
参考資料2 評価に係る被評価者意見	参考資料 2-1

## はじめに

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構においては、被評価プロジェクトごとに当該技術の外部専門家、有識者等によって構成される研究評価分科会を研究評価委員会によって設置し、同分科会にて被評価対象プロジェクトの研究評価を行い、評価報告書案を策定の上、研究評価委員会において確定している。

本書は、「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」の事後評価報告書であり、第25回研究評価委員会において設置された「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」（事後評価）研究評価分科会において評価報告書案を策定し、第26回研究評価委員会（平成22年11月11日）に諮り、確定されたものである。

平成22年11月  
独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会

「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」

事後評価分科会委員名簿

(平成22年8月現在)

	氏名	所属、役職
分科会長	うちみや ひろふみ 内宮 博文	埼玉大学 総合研究機構 環境科学研究センター 教授
分科会長 代理	たなか くにしげ 田中 國介*	京都府立大学 名誉教授
委員	さとう ふみひこ 佐藤 文彦	京都大学大学院 生命科学研究科 教授
	しのはら けんじ 篠原 健司	独立行政法人 森林総合研究所 研究コーディネータ
	しまだ ひろあき 島田 浩章	東京理科大学 基礎工学部 生物工学科 教授
	はまもと てつお 浜本 哲郎	アメリカ穀物協会 日本代表
	みむら てつろう 三村 徹郎	神戸大学大学院 理学研究科 教授

敬称略、五十音順

注\*：実施者の一部と同一大学であるが、所属部署が異なるため（実施者：京都府立大学生命環境科学研究科）「NEDO 技術委員・技術評価委員規程(平成22年7月1日改正)」第34条（評価における利害関係者の排除）により、利害関係はないとする。

## 審議経過

### ● 第1回 分科会（平成22年8月18日）

#### 公開セッション

1. 開会、分科会の設置、資料の確認
2. 分科会の公開について
3. 評価の実施方法について
4. 評価報告書の構成について
5. プロジェクトの概要説明

#### 非公開セッション

6. プロジェクトの詳細説明
7. 全体を通しての質疑

#### 公開セッション

8. まとめ・講評
9. 今後の予定、その他
10. 閉会

### ● 第26回研究評価委員会（平成22年11月11日）

## 評価概要

### 1. 総論

#### 1) 総合評価

植物機能に着目した持続的・生物生産系の開発は、わが国のバイオテクノロジー戦略、および地球環境問題の解決に向けた国家プロジェクトにふさわしい大きな研究課題であり、基礎と応用の連携を目指した企画は評価できる。単に新規な製造法を開発するというよりも、モデル植物を用いた基盤研究開発から、実用植物を用いた応用研究へ展開する新規な研究戦略を確立する試みとして重要であり、特に物質代謝に関して遺伝子レベルから代謝産物レベルに及ぶ網羅的なデータベースの構築、樹木に遺伝子組換え技術を用いて有用物質生産をするという目標に対して隔離圃場試験まで進んだことなどは大きな成果である。

しかし、一部のテーマでは、現在のバイオテクノロジーの水準からして、世界の先端に到達していない成果レベルに留まっているものもある。モデル植物を用いた基礎研究、あるいは技術開発のための基盤的研究が、企業研究とどの程度有効に連携し、貢献出来たのかが一部では具体的には見えにくい。新規な研究戦略が実証されたというには不十分である。

日本国内で組換え体を実用化するには、科学的な理由以外の要因による障壁が未だ大きく、これを排除する政策的な手だてが不可欠であり、国民に正しい情報を伝えるよりいっそうの啓発活動が必要である。

#### 2) 今後に対する提言

植物を利用する再生可能な物質生産系の確立は、今後の人類社会の持続的発展のためには必須のものであり、工業原料などの生産に役立つ遺伝子組換えを利用した、光合成に基づく高等植物の物質生産系の確立は、緊急かつ実現性の高い目標である。現在、遺伝子組換え技術に関する国民の不信はまだ根強いものがあるが、食糧ではなく工業原料としての利用を進めることができれば、社会に受け入れられるようにするためのきっかけとなる。

しかしながら、ユーカリ・トチュウ・パラゴムノキは海外での開発を視野に入れている現状を鑑みると、遺伝子組換え植物の実用化利用における課題の1つは圃場試験であり、今後のわが国国内でのバイオテクノロジーの発展を見据えた場合には、国内で圃場試験が実施できる環境を常に整えておく必要がある。そのために農林水産省をはじめとする他省庁との連携を可能とするコンソーシアムを形成し、ともすればばらばらに行われているいわゆる PA 活動を束ねてい

くことも有用であろう。

また、今回のプロジェクトでは、高付加価値工業原料が指向されたが、国際的には、植物生産機能を食料のみならず、環境保全、エネルギー資源として利用する動きが急であり、こうした視点からの研究継続が不可欠である。

また、このような、高い技術を持つ基礎系研究室が参加する場合には、そこで実施される具体的テーマについて、プロジェクトリーダーがかなり踏み込んだ指導を行うことが重要であろう。実際に大学等でプロジェクトを実施する場合には、評価が論文数や質で行われる博士研究員や院生ではなく、企業研究者が大学側に派遣され、そこで活発な共同研究が行えるようにすることが大事と思われる。

## 2. 各論

### 1) 事業の位置付け・必要性について

植物を用いた物質生産系の構築を目的とする本プロジェクトは、環境安心イノベーションプログラムの一環として、21世紀の基盤技術としての重要性は高く、植物の機能を活用したグリーンイノベーションに繋がる先行投資型の技術開発プロジェクトとして評価できる。陸上光合成生物を用いた物質生産を遺伝子組換え技術を用いて行う本研究の課題は、プロジェクト開始時には社会的コンセンサスが十分に得られていたとは言い難く、時代を先取りした、民間会社が個別的に行うにはまだハードルの高い、NEDO が関与するのにふさわしい課題であった。

米国や中国でも大規模な研究費投資が行われている中、本プロジェクトの、わが国のバイオテクノロジー戦略、および地球環境問題の解決に向けた取り組みにおける意義は大きい。また、全人類がこの技術の受益者であると考えられ、この成果は国際的にも通用するものであり、実用化に向けた積極的な研究の推進と今後の発展が期待される。

しかしながら、目標とする化合物に偏りが有り、より安価で大量に必要とされる糖、油等の工業原料に対する目的設定が少なかったのは残念である。関連する課題として、対象とする化合物が特殊であるために、生合成経路、遺伝子の探索に多くの時間を要し、その代謝改変の評価の時間が十分に取れなかったといえる。代謝系、あるいは、転写ネットワークをどのようにデザインするかは、やっと端緒についたばかりであり、今後の研究が不可欠である。

### 2) 研究開発マネジメントについて

時代の要請に答えた十分に戦略的な目標が設定され、実用化の可能性が高いテーマが選ばれ、研究資源の集中が行われた。個別テーマにおいても、モデル



植物と実用植物をつなぐ目的を果たすライブラリーの作成やデータベースの構築では具体的かつ定量的目標が設定された。当該分野のトップの科学者であるプロジェクトリーダーのもと、モデル植物を中心とした中核的研究グループと個別の実用植物を研究する 2 つのグループが連携した、総合的な戦略を打ち出しやすい体制ならびに運営であった。

しかし、モデル植物を用いた基礎研究、あるいは技術開発のための基盤的研究が、企業研究とどの程度有効に連携し、貢献出来たのかが一部では具体的には見えにくい。モデル植物研究と実用植物研究を橋渡しをする機関、あるいはコーディネーターとなるリーダーを、複数置いても良かったかもしれない。

また、例えば基礎研究は 5 年程度、後 3 年は応用研究に特化する、などの戦略をとるべきではなかったか。

また、安易な目標設定で達成度が高くなる課題を選択するよりも、難度は高いがより重要な課題で、達成度が低くなる危険性があるかも知れない課題でもあえて選択するような姿勢を評価すべきである。

### 3) 研究開発成果について

当初の目標の多くが達成された。特に、これまで、解析が遅れていた多様な代謝産物の生産に関わる代謝遺伝子ならびに転写調節遺伝子が単離され、かつ、その機能が個体レベルで評価されつつあり、また、データベースを整備し、これら遺伝子機能を迅速に解析出来る基盤が確立されつつある。データベースの作成、転写因子の網羅的解析などは世界最高水準にある。ユーカリ、トチュウは投入された予算、時間に見合う実用化の成果が、圃場での試験として得られていると考えられる。

しかし、最終目標とする工業原料を効率的に生産する植物を創成するという観点からすると、遺伝子の単離はあくまでも通過点であり、特に圃場レベルでの評価がほとんど行われていないことは、実用品種の育成において大きな課題である。実用植物においては、実用化にまで達していないものもあるが、本プロジェクトの課題である物質生産制御基盤技術の開発に、どの程度貢献出来ているかを明らかにする必要がある。「市場の予想」にスペシャリストをいければ、より成果を上げられたのではないか。

一方、研究成果は著名な国際誌にも公表されているが、論文の数（質）は予想を下回った。また、社会への貢献をアピールするために、研究成果紹介用パンフレット、ウェブサイトへの掲載、冊子体の関係機関への配布などの工夫が必要である。NEDO がより戦略的にマスコミ教育、対策などを進めることで、将来に有用な情報発信を行うべきである。

#### 4) 実用化の見通しについて

統合データベースを構築するような巨大プロジェクトは国が支援をする形をとらないと不可能である。その点、本プロジェクトは重要な公共財を創出しつつあると評価できる。植物科学分野はもとより、他の農学、食品、薬品業界の基礎研究にも、十分に影響を持つことができ、波及効果は大きい。また、実用植物の一部は、圃場レベルでの機能解析も開始されつつあり、今後こうした圃場レベルでの評価が加速されることにより実用化の見極めが大きく進むものと期待される。また、実用化プロジェクト参加の企業において、研究開発に従事した研究員の資質向上にも貢献している。

しかし、いくつかの期待できる遺伝子が単離され、また、一般的技術も構築されつつあるが、安定した開発基盤技術が確立されたという段階には遠い。出来るだけ早く、実用化を目指せる植物の育成が不可欠である。マーケティングの予測が不十分だった点もあるのではないか。また、日本国内で組換え体を実用化するには、科学的な理由以外の要因による障壁が未だ大きく、これを排除する政策的な手だてが不可欠であり、国民に正しい情報を伝えるよりいっそうの啓発活動が必要である。

## 研究評価委員会におけるコメント

第26回研究評価委員会（平成22年11月11日開催）に諮り、了承された。研究評価委員会からのコメントは特になし。

## 研究評価委員会

委員名簿（敬称略、五十音順）

職 位	氏 名	所 属、役 職
委員長	西村 吉雄	学校法人早稲田大学大学院 政治学研究科 (科学技術ジャーナリスト養成プログラム) 客員教授
委員長 代理	吉原 一紘	オミクロンナノテクノロジージャパン株式会社 最高顧問
委員	安宅 龍明	オリンパスビジネスクリエイツ株式会社 事業企画本部 戦略探索部 探索2グループ シニアマネージャー
	伊東 弘一	学校法人早稲田大学 理工学術院総合研究所 客員教授（専任）
	稲葉 陽二	日本大学 法学部 教授
	大西 優	株式会社カネカ 顧問
	尾形 仁士	三菱電機エンジニアリング株式会社 相談役
	小林 直人	学校法人早稲田大学 研究戦略センター 教授
	小柳 光正	東北大学未来科学技術共同研究センター 教授
	佐久間一郎	国立大学法人東京大学大学院 工学系研究科 精密機械工学専攻 教授
	菅野 純夫	国立大学法人東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻 教授
	架谷 昌信	愛知工業大学 工学部機械学科 教授・総合技術研究所所長
宮島 篤	国立大学法人東京大学 分子細胞生物学研究所 教授	

## 第1章 評価

この章では、分科会の総意である評価結果を枠内に掲載している。なお、枠の下の「○」「●」「・」が付された箇条書きは、評価委員のコメントを原文のまま、参考として掲載したものである。

## 1. プロジェクト全体に関する評価結果

### 1. 1 総論

#### 1) 総合評価

植物機能に着目した持続的生物生産系の開発は、わが国のバイオテクノロジー戦略、および地球環境問題の解決に向けた国家プロジェクトにふさわしい大きな研究課題であり、基礎と応用の連携を目指した企画は評価できる。単に新規な製造法を開発するというよりも、モデル植物を用いた基盤研究開発から、実用植物を用いた応用研究へ展開する新規な研究戦略を確立する試みとして重要であり、特に物質代謝に関して遺伝子レベルから代謝産物レベルに及ぶ網羅的なデータベースの構築、樹木に遺伝子組換え技術を応用して有用物質生産をするという目標に対して隔離圃場試験まで進んだことなどは大きな成果である。

しかし、一部のテーマでは、現在のバイオテクノロジーの水準からして、世界の先端に到達していない成果レベルに留まっているものもある。モデル植物を用いた基礎研究、あるいは技術開発のための基盤的研究が、企業研究とどの程度有効に連携し、貢献出来たのかが一部では具体的には見えにくい。新規な研究戦略が実証されたというには不十分である。

日本国内で組換え体を実用化するには、科学的な理由以外の要因による障壁が未だ大きく、これを排除する政策的な手だてが不可欠であり、国民に正しい情報を伝えるよりいっそうの啓発活動が必要である。

#### 〈肯定的意見〉

- 基盤的アプローチと実用的アプローチを平行して進めてきたことは良かったと思う。
- 実用的成果については、実際には大きな評価を与えることはできないにしても、意図した方向への成果が見えていると言える。
- わが国のバイオテクノロジー戦略、および地球環境問題の解決に向けた研究として今後も強力に推し進めてゆくべき方向のプロジェクトの一つと思われる。
- 植物機能に着目した持続的生物生産系の開発は、21世紀の基盤技術として重要である。特に、植物が生産する多様な工業原料化合物に着目し、その物質生産のための代謝基盤開発のプラットフォームを構築しようとしたものとして、評価できる。
- 基礎と応用の連携を目指した企画は評価できる。

- 「モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析」では遺伝子機能解析や代謝産物解析の結果を統合させたデータベースの構築、「実用植物を用いた物質生産制御技術の開発」では目標に応じた実用植物毎の物質生産制御技術の開発を達成しており、本プロジェクト「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」は最終目標を達成したと判断する。
- 物質代謝に関して遺伝子レベルから代謝産物レベルに及ぶ網羅的なデータベース構築などが達成されている。
- これらは国家プロジェクトにふさわしい大きな研究課題である。
- また、個別のテーマにおいてもいずれも優れた成果が得られていると認められる。
- これらの成果は今後の科学技術研究に大きく貢献するものと期待される。
- 地球資源の枯渇が明らかになりつつある状況の中で、再生産可能な植物を利用して物質生産あるいは、そのための基盤資源を作る技術を開発するという本プロジェクトの目的は、植物の利用が食糧生産を中心とした農業面に偏りがちな中で、大変重要な視点を持っていたと思われる。事後評価をしている 2010 年時点では、社会がバイオエネルギーなどに注目することも多いので、コンセンサスを得やすい当たり前の課題とも思われるが、プロジェクト開始時点では時代の要請を先取りした意欲的課題であった。その意味で、このような視点からの大きなプロジェクトが長期にわたって進行したことの意味は大きい。特に、高等陸上植物の利用を中心としたことは、この手のプロジェクトが微生物に偏りがちな中で、新しい方法論の可能性を提案したものとして評価できる。8 年間のプロジェクトの中で、モデル植物を中心とした植物基礎科学への貢献、あるいはそこから得られた多彩な情報のデータベース化、モデル植物から得られたデータや技術の実用植物への応用など、有効に機能したと理解している。
- 2002 年からの 8 年という期間で、一定の成果が得られていると考えられる。特に、樹木に遺伝子組換え技術を応用して有用物質生産をするという目標に対して隔離圃場試験まで進んだことは大きな成果である。

〈問題点・改善すべき点〉

- 中間評価後の「絞り込み」が不十分。「一般公募」を行い「競争的資金」として認知されるシステムが必要。
- 現在のバイオテクノロジーの水準からして、世界の先端を行く水準とは考えられないレベルに留まっているものもある。成果を玉石混交に発表せず、早期に本プロジェクトの成果として実用化が期待される課題については、研究を加速して国民にアピールする工夫も必要かと思う。

- 各企業が担当する応用的な個別テーマの研究においては、公的な研究機関と各企業の間で有機的な連携がなされていたと認められる。一方、公的研究機関独自で実施している基礎的な研究成果は、各企業で実施する応用研究とどういう関連があるのか不明確である。この成果が、今後の研究の遂行にどのように生かされていくのか道筋を明確に示すべきであろう。
- 隔離圃場試験を行うレベルまで達成されたということは、仮にわが国の国内での圃場試験を実施するための社会受容上のハードルが低ければさらに実用化に向けた大規模な圃場試験ができたと考えられる。研究開発の成果の評価には必ずその成果の社会への貢献やインパクトを考慮しなくてはならない。その点で、社会的受容が低い現状は憂うべきであり、受容の向上のための活動を産業振興を一つの柱とする経済産業省と NEDO において、さらに活発化させるべきである。
- プロジェクト全体の枠組みは、極めて重要だと理解できるが、個々の研究が全体像の中に上手くあてはめきれなかったように思われる。植物に物質生産をさせるという最終目標に対して、個別の事例を積み上げるのか、技術開発のための基盤研究中心で進めるのか、やや焦点が絞り切れなかったように感じる。人類社会の持続的発展のためには、いずれもが大事であり、かつ近い将来に向けて積極的な投資が必要になる分野だと思われるが、両者を総合するという壮大な試みの中で、何が本当に上手く行って、どの部分は上手く機能しなかったかも、もう少し具体的に検証する必要がある。それら具体的かつ個別的検証を一つ一つ進める中で、テーマ設定の問題なのか、実験技術の問題なのか等が明らかになりうる今後、この分野の研究の発展は資源不足の中で必須になると思われるので、成功例をただ並べるのではなく、National プログラムとして失敗した（予定通り進展しなかった）部分のより詳細な検討とその提示があっても良かったのではないか。
- 単に、新規な製造法を開発するというよりも、モデル植物を用いた基盤研究開発から、実用植物を用いた応用研究への展開の研究戦略を確立する試みとしても、重要であったと思われる。cDNA の収集や統合データベースの構築など、一定の成果はあったといえるが、新規な研究戦略が確立できたといえるには不十分である。こうした研究開発ではスピードが必要であり、どれだけ早く実用品種を確立出来るかがポイントになると考えられる。そうした点で、研究マネジメントに、より工夫が必要と考えられる。



#### 〈その他の意見〉

- ・ 経済産業省として実用化、事業化を展望するならば、しかるべき方向への可能性が確信出来る課題を重点的に加速しその実現を強力にサポートするべきである。
- ・ 基礎研究が重要であることは論を待たない。しかし、純然たる学術的興味だけでの研究でない基盤的研究も強力にサポートしてゆくべきである。
- ・ 我が国では、依然、組換え植物の屋外での評価実験が困難である。今回のプロジェクトにおいて、隔離圃場が整備されるなどの一定の進展があったが、土壌や気候などの環境によって大きな影響を受ける植物の評価を行うには、不十分である。開放系での評価系の整備とともに、閉鎖系植物工場での評価系との連携をより効率的に行うことが望まれる。
- ・ 期間が長いので受益者（顧客）の利点が不透明になった。
- ・ 研究成果の普及については、新名 PL が執筆された「植物力ー人類を救うバイオテクノロジー」は高く評価できるが、研究者向けのシンポジウムだけでなく、一般国民にも理解できるようなパンフレットなどを作製し、NEDO ウェブサイトに掲載するほか、冊子体として関係機関に配布するなどの工夫が必要である。
- ・ 基礎研究の分野での成果も、モデル植物でのデータベースを構築できたことは大きな成果であり、プロジェクト終了によっても変わることなく今後の活用を続けていくべきである。
- ・ それぞれの研究テーマで、優れた研究成果が得られているので、これをもっと積極的にアピールすべきである。広報活動が不足していると強く感じる。この研究プロジェクトで目指すものは、組換え体植物を用いた物質生産という新規技術分野の確立である。この新技術が世の中に広く認知されることは、組換え体植物の利用に関する障害を取り除くことになり、この技術の有効利用へとつながるものと思われる。

## 2) 今後に対する提言

植物を利用する再生可能な物質生産系の確立は、今後の人類社会の持続的発展のためには必須のものであり、工業原料などの生産に役立つ遺伝子組換えを利用した、光合成に基づく高等植物の物質生産系の確立は、緊急かつ実現性の高い目標である。現在、遺伝子組換え技術に関する国民の不信はまだ根強いものがあるが、食糧ではなく工業原料としての利用を進めることができれば、社会に受け入れられるようにするためのきっかけとなる。

しかしながら、ユーカリ・トチュウ・パラゴムノキは海外での開発を視野に入れている現状を鑑みると、遺伝子組換え植物の実用化利用における課題の1つは圃場試験であり、今後のわが国内でのバイオテクノロジーの発展を見据えた場合には、国内で圃場試験が実施できる環境を常に整えておく必要がある。そのために農林水産省をはじめとする他省庁との連携を可能とするコンソーシアムを形成し、ともすればばらばらに行われているいわゆる PA 活動を束ねていくことも有用であろう。

また、今回のプロジェクトでは、高付加価値工業原料が指向されたが、国際的には、植物生産機能を食料のみならず、環境保全、エネルギー資源として利用する動きが急であり、こうした視点からの研究継続が不可欠である。

また、このような、高い技術を持つ基礎系研究室が参加する場合には、そこで実施される具体的テーマについて、プロジェクトリーダーがかなり踏み込んだ指導を行うことが重要であろう。実際に大学等でプロジェクトを実施する場合には、評価が論文数や質で行われる博士研究員や院生ではなく、企業研究者が大学側に派遣され、そこで活発な共同研究が行えるようにすることが大事と思われる。

### 〈今後に対する提言〉

- ・ 我が国における遺伝子組換え植物の開発は依然実験室レベルにとどまっている。今回のプロジェクトで一部圃場レベルでの開発が行われていることは評価できるが、まだ、部分的である。遺伝子組換え植物の利用における課題を再度明確にし、その課題解決を行うことが同様のプロジェクトを今後実行する上で不可欠である。1つは、隔離圃場レベルでの申請のための条件の緩和であろう。そうした法的整備と実際に栽培管理できる人材の育成が不可欠である。
- ・ また、今回のプロジェクトの対象となった工業原料はパルプやゴムを除くと比較的生産量の少ないものである。高付加価値を指向することは、栽培地面積が限られている我が国を対象にしたプロジェクトでは不可避的であるが、科学技術を外交手段として考える場合には、こうした制約はない。

国際的には、植物生産機能を食料のみならず、環境保全、エネルギー資源として利用する動きが急であり、こうした視点からの研究継続が不可欠である。

- 本プロジェクトでは、植物の物質生産プロセス制御基盤技術の開発だけでなく、実用化に近い組換え植物の開発にも成功している。今後、隔離圃場試験、一般圃場試験を経て、商業栽培に一步でも近付けるべきであり、そのためには想定される組換え体の栽培地が海外であっても継続的な支援が必要である。そして、グリーンイノベーションに貢献してほしいものである。
- 企画段階で「一般公募」し、国家プロジェクトとしての透明性を出すことが必要。
- 本プロジェクトはわが国のものとしては比較的長期のものではあったが、今後も本プロジェクトの後継プロジェクト（類似プロジェクト）などを継続すべきである。
- 本プログラムの成果の今後の実用化に関して特に重要なステップである圃場試験については、ユーカリ・トチュウともに海外での開発を視野に入れていることは、わが国国内の現状を鑑みると無理はない。しかし、今後のわが国国内でのバイオテクノロジーの発展を見据えた場合には、国内で圃場試験が実施できる環境を常に整えておく必要がある。したがって、エリートラインの選抜など開発にとって重点的な圃場試験は海外で実施しつつ、国内で実施可能な圃場試験については、独立行政法人、国の研究所を中心にして、民間企業への支援を厚くすることによって常に実施を続けていくべきである。
- またそれらの研究開発と並行して、有用物質生産のための遺伝子組換え植物を試験、開発するための特区をわが国国内に設けるなどの斬新な施策を進めるべく、本プロジェクトにかかわっている推進者の先生方、NEDOをはじめとする行政担当者の方々に大きく期待する。また、そのために農林水産省をはじめとする他省庁との連携を可能とするコンソーシアムを形成し、ともすればばらばらに行われているいわゆる PA 活動を束ねていくことも有用であろう。
- 植物を利用する再生可能な物質生産系の確立は、今後の人類社会の持続的発展のためには必須のものである。本プロジェクトの後継がどのようになるのかは判らないが、バイオエネルギーではなく、工業原料などの生産に役立つ物質生産へとつなげることは極めて重要であろう。そのような観点から考えた時に、単なる食糧系の物質生産ではなく、工業系の物質生産は、農水省などとは異なる観点からプロジェクトを立ち上げることができる

であろう。また、その場合には付加価値の高い物質生産を行わせることで、生産コストの相殺も可能になるのではなかろうか。また、微生物を利用したバイオリファイナリー技術を超えて、遺伝子組換えを利用した、光合成に基づく高等植物の物質生産系の確立は、人類社会にとって緊急のしかも、実現性の高い目標になり得ると考えている。このようなプロジェクトを立ち上げ、高い技術を持つ基礎系研究室が参加する場合には、そこで実施される具体的テーマについて、プロジェクトリーダーがかなり踏み込んだ指導を行うことが重要であろう。また、実際に大学等でプロジェクトを実施する場合には、評価が論文数や質で行われる博士研究員や院生ではなく、企業研究者が大学側に派遣され、そこで活発な共同研究が行えるようにすることが大事と思われる。

- ・ 植物を用いた物質生産の研究は、今後の安定的な未来社会を構築する上で推進すべき非常に重要な課題である。今回は特定の物質生産に着目して研究課題が実施されたが、対象とした物質の選択に偏りが認められる。バイオマス・エネルギーなども重要な課題であるので、次のプロジェクトでは、このような物質についても研究対象が広がることを強く期待する。
- ・ イネなどの農作物は物質生産のための研究の対象外であるという考え方には同意できない。このような研究範囲の限定（排除）には全く合理的理由がない。省庁間でプロジェクトの重複は避けるべきであるが、有用物質生産に限定するならば、形質転換法が確立された植物はすべからず研究対象に含めるべきである。このような研究の進展を妨げるような考え方は即刻やめるべきである。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 脱石油を目的とした産業育成を目標として本プロジェクトは立案されたものと理解している。植物による物質生産が課題であるが石油そのものも太古の植物起源だとすると石油へ変換される前段階の植物素材そのものを生かす、または簡易な処理をして直接的に活用できるようにするためのプロジェクトも考えるべきだろう。
- ・ 「トップダウン方式」に見える為、一般研究者・企業の関心も低い。
- ・ 現在、森林管理協議会（FSC）は組換え樹木の商業植林を承認していない。しかし、中国は食葉害虫抵抗性 GM ポプラ（Bt ポプラ）の商業植林を開始している。こうした情勢下で、海外で組換え樹木の商業植林が実現できるよう経済産業省や農林水産省を通じて FSC へ働きかけをする必要がある。

- 学術的な研究成果は論文として積極的に発表すべきである。また、実用化の可能性が高い研究成果はさらに研究を発展させ、国内・海外のいずれでもよいので、実用化されることを強く期待する。
- 8年という期間の中間に中間評価を入れたことは、実用化を視野に入れた研究開発プロジェクトとしては妥当であったと考える。また、海外の同様の研究開発状況を常に監視し、無駄のない、有益なプロジェクトであったと思われる。
- 施策を実現するためには、国民の理解と利益が必須である。現在、遺伝子組換え技術に関する国民の不信はまだ根強いものがあるが、食糧ではなく工業原料としての利用を進めることができれば、いずれ GMO を社会に普通に受け入れられるようにするためのきっかけとすることができそうに思える。そのためにも、食糧とは異なる物質生産技術の開発とその宣伝が、日本の将来のために大変重要にであろう。

## 1. 2 各論

### 1) 事業の位置付け・必要性について

植物を用いた物質生産系の構築を目的とする本プロジェクトは、環境安心イノベーションプログラムの一環として、21世紀の基盤技術としての重要性は高く、植物の機能を活用したグリーンイノベーションに繋がる先行投資型の技術開発プロジェクトとして評価できる。陸上光合成生物を用いた物質生産を遺伝子組換え技術を用いて行う本研究の課題は、プロジェクト開始時には社会的コンセンサスが十分に得られていたとは言いがたく、時代を先取りした、民間会社が個別的に行うにはまだハードルの高い、NEDOが関与するのにふさわしい課題であった。

米国や中国でも大規模な研究費投資が行われている中、本プロジェクトの、わが国のバイオテクノロジー戦略、および地球環境問題の解決に向けた取り組みにおける意義は大きい。また、全人類がこの技術の受益者であると考えられ、この成果は国際的にも通用するものであり、実用化に向けた積極的な研究の推進と今後の発展が期待される。

しかしながら、目標とする化合物に偏りが有り、より安価で大量に必要とされる糖、油等の工業原料に対する目的設定が少なかったのは残念である。関連する課題として、対象とする化合物が特殊であるために、生合成経路、遺伝子の探索に多くの時間を要し、その代謝改変の評価の時間が十分に取れなかったといえる。代謝系、あるいは、転写ネットワークをどのようにデザインするかは、やっと端緒についたばかりであり、今後の研究が不可欠である。

#### 〈肯定的意見〉

- 植物機能に着目した持続的生物生産系の開発は、環境安心イノベーションプログラムの一環として、21世紀の基盤技術としての重要性は高い。特に、限りある資源である石油に依存しない、植物が生産する多様な工業原料化合物に着目し、その物質生産のための代謝基盤開発のプラットフォームを構築しようとする試みとして、評価できる。
- 企業として新規の研究が展開したという意味はある。
- わが国のバイオテクノロジー戦略、および地球環境問題の解決に向けた取り組みにおける意義は大きい。取り上げられた課題はどれも必要欠かすことのできないものである。従って今後も強力で押し進めてゆくべき方向のプロジェクトであることは疑いない。

- 本プロジェクトは、植物の機能を活用したグリーンイノベーションに繋がる先行投資型の技術開発プロジェクトとして評価できる。民間企業だけでは達成不可能な新たな BT 植物の開発を、産学官の連携を進めさせることで最終目標を達成している点も評価でき、NEDO の事業として妥当性は言うまでもない。
- 植物を用いた物質生産系の構築は、バイオマス資源の有効利用という観点からみて、国家プロジェクトとして積極的に、かつ戦略的に推進すべき課題である。今回の研究プロジェクトは、この分野における先進的なものであり、実用化につながる優れた成果が得られていると判断できる。
- 有用物質生産を焦点にした NEDO の趣意に沿ったプロジェクトであると考えられる。また、有用物質生産植物の開発は国内とともに国際的に貢献する可能性の大きい分野である。
- 陸上光合成生物を用いた物質生産を遺伝子組換え技術を用いて行うとする本研究の課題は、民間会社が個別的に行うにはまだハードルの高い課題であると思われる。一部企業の課題は、プロジェクト以前から実施されていたものもあるようだが、全体として、新しい視点を企業の研究活動に持ち込むということで NEDO が関与するのにふさわしい課題であったと思われる。
- 本プロジェクト開始時には、まだ社会的コンセンサスが十分に得られていたとは言い難い、植物による物質生産技術の開発であったが、その後のバイオエネルギーやバイオリファイナリーへの注目度を考えると、時代を先取りした妥当なプロジェクトであったと考えられる。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- このプロジェクトで研究対象とした有用物質は特定の物質に偏っている。今後は、バイオマス資源として利用価値の高い、デンプン、油脂などの物質やバイオマス・エネルギー物質の生産にも着目して研究を展開されることを期待する。この技術をこれらの物質生産系の構築にどのように応用できるかの道筋を示すべきであろう。
- いわゆる中小「ベンチャー型」企業の育成にはならなかった。今後の課題。
- 現在のバイオテクノロジーの水準からして、世界の先端に到達していないと思われる設定もある。それらの課題に対してはプロジェクト内での共同研究なりでレベルアップに向けた指導も必要であった。また目標達成が容易と考えられる研究計画は立てるべきではない。目標達成に対して困難と思われる課題であるが波及効果などを考慮して重要と思われるチャレンジングな課題を積極的に支援する姿勢が大切と思う。

- 目標とする化合物が付加価値の高いものに偏り、より安価で大量に必要とされる糖、油等の工業原料に対する目的設定が少なかったのは残念である。関連する課題として、対象とする化合物が特殊であるために、生合成経路、遺伝子の探索に多くの時間を要し、その代謝改変の評価の時間が十分に取れなかったといえる。代謝系、あるいは、転写ネットワークをどのようにデザインするかは、やっと端緒についたばかりであり、今後の研究が不可欠である。
- モデル植物を用いた基礎研究、あるいは技術開発のための基盤的研究が、企業研究とどの程度有効に連携できたのかが、やや見えにくい。NEDOのような応用研究による成果を目的とするプログラムにおいて、基礎研究側からの貢献をもう少し具体的に知りたかった。
- 本プロジェクトは実用化に向けての技術開発課題であり、研究成果が実用化に直接繋がっているわけではない。将来の皮算用により、投入した予算の費用対効果を論じても意味がないと考える。
- 国民の税金を使っている以上、NEDOとして一般国民にも理解できるような研究成果紹介用パンフレット作りを進め、NEDO ウェブサイトに掲載するほか、冊子体として関係機関に配布するなどの工夫が必要である。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 本プロジェクトが開始された当時、米国 DOE は年間 70 億円規模の研究費をポプラゲノムの解読に数年間に渡って投資していたと聞く。現在、中国は GM 作物の開発に年間約 300 億円規模の膨大な研究費を 12 年間に渡って投入している。
- ・ 本プロジェクトの推進で、有能な若手研究者の雇用が図られており、人材育成にも貢献したと言える。
- ・ バイオ組合、50 社程度では波及効果を期待できない。
- ・ 経済産業省として実用化、事業化を展望するならば、しかるべき方向への可能性が確信出来る課題を加速しその実現を強力にサポートするべきである。
- ・ 基礎研究が重要であることは論を待たない。しかし、純然たる学術的興味だけで研究が展開されているような課題は、本プロジェクトでは避けるべきである。
- ・ 天然ゴムはプランテーションされているとはいえ、労働集約型であり、今後も需要が大きい。既に、クローン育種されてきているとはいえ、一方で、安定生産のための課題も大きい。新規な工業原料を開発する試みとともに、天然ゴムのような戦略的資源の確保の戦略は重要である。同様に、パルプ



資源の確保は、きわめて需要が大きい課題である。一方、植林には、二酸化炭素の固定による地球温暖化への貢献も期待されるが、工業植林はこうした視点からの貢献にカウントされないというジレンマもある。より大きな国際的な炭素隔離の枠組みにおいて、新しい基準の策定と持続的政策が必要である。

- 全人類がこの技術の受益者であると考えべきである。この技術の成果は国際的にも通用すると思われるので、実用化に向けた積極的な研究を推進していただきたい。今後の発展を期待する。

## 2) 研究開発マネジメントについて

時代の要請に答えた十分に戦略的な目標が設定され、実用化の可能性が高いテーマが選ばれ、研究資源の集中が行われた。個別テーマにおいても、モデル植物と実用植物をつなぐ目的を果たすライブラリーの作成やデータベースの構築では具体的かつ定量的目標が設定された。当該分野のトップの科学者であるプロジェクトリーダーのもと、モデル植物を中心とした中核的研究グループと個別の実用植物を研究する2つのグループが連携した、総合的な戦略を打ち出しやすい体制ならびに運営であった。

しかし、モデル植物を用いた基礎研究、あるいは技術開発のための基盤的研究が、企業研究とどの程度有効に連携し、貢献出来たのかが一部では具体的には見えにくい。モデル植物研究と実用植物研究を橋渡しをする機関、あるいはコーディネーターとなるリーダーを、複数置いても良かったかもしれない。

また、例えば基礎研究は5年程度、後3年は応用研究に特化する、などの戦略をとるべきではなかったか。

また、安易な目標設定で達成度が高くなる課題を選択するよりも、難度は高いがより重要な課題で、達成度が低くなる危険性があるかも知れない課題でもあえて選択するような姿勢を評価すべきである。

### 〈肯定的意見〉

- 新名プロジェクトリーダーのもと、継続的に開発指導がなされたことは、プロジェクトの一貫性を維持する上で重要であったと考える。また、モデル植物を中心とした中核的研究グループと個別の実用植物を研究する2つのグループが連携し、研究開発にあたったことは、ややもすると個別研究だけになりがちな植物機能開発において総合的な戦略を打ち出しやすい体制ならびに運営であったと評価したい。
- 情報システム開発（メタボローム）に経費が注がれた点。
- プロジェクトリーダーと主要プロジェクトのリーダー間における連携は比較的密接にとられていると感じられ問題はなかったと思う。
- プロジェクトリーダーは、当該分野のトップの科学者であり、有用物質生産に必要な基盤技術と、実用化に適したテーマとの連携が行われた結果、実用化可能な技術のシーズが成果として得られた。
- 植物に食糧生産とは異なる物質生産能を与える技術を開発し、それを用いて具体的な実用植物を開発するという目標は、時代の要請に答えた十分に戦略的な目標である。実用植物については、その目標は具体的であり、それなりに定量的であったと理解される。モデル植物と実用植物をつなぐ目的を果たすライブラリーの作成やデータベースの構築も、具体的かつ定量

的目標が設定されていた。いずれの場合も、目標達成度を一般的に判断することが可能であったと考えられる。

- モデル植物研究と実用植物研究をつなぐ役割を与えられている「物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」テーマの委託先に全体の1/4の資金が投入されているが、これは機器の整備などを考えるとやむを得ない状況であろう。
- モデル植物研究の中から生まれてきた基盤的技術が複数あり、その一部が実用植物に適用されたことは評価できる。
- 全体のプロジェクトリーダー、及びサブリーダーが大変な努力をされて、本プロジェクトを進行してきたことは十分に理解できる。個別のプログラムもモデル植物研究では、それなりの論文や学会発表が、企業による実用植物研究は、いくつかは最終産物の実用化が可能なレベルに達しているように見える。
- 実用植物については実際に生産物の実用化目前までたどり着いている研究課題もあり、十分に戦略的だったのではないか。また、特許出願数もそれなりの数が確保されているように思われる。
- モデル植物研究については、論文のレベルは高く、基礎研究としての注目度が高い研究も多い。
- プロジェクト進行中に、多くの植物のゲノム構造が明らかになってきたことから、データベース作成のレベルがかなり高くなったと思われるが、統合データベースは、さらに世界のトップレベルのデータベースとして有益に使われているように見える。
- 中間評価において、モデル植物研究、実用植物研究のいずれにおいても、組織の見直しが行われている。また分担先企業自体の解散などもあったが、それらの課題を、上手く後半のプロジェクトでも発展させていたように思える。
- 「モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析」と「実用植物を用いた物質生産制御技術の開発」を十分に連携させ、「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」の最終目標を達成したことから、研究開発目標の妥当性、研究開発計画の妥当性、研究開発実施の事業体制の妥当性、研究開発実施の事業体制の妥当性、情勢変化への対応等は適切と判断する。
- 実用化の可能性が高いテーマが選ばれており、研究資源を集中することで高い成果が得られたと考えられる。

〈問題点・改善すべき点〉

- 反面、民間発注（アウトソーシング）でも対応できたのではないか。
- 中間評価以降、プロジェクトリーダーのもとに、研究開発委員会がおかれ、また、テーマごとの分科会を設けるなど、研究の活性化に努力されたことが伺えるが、その効果は、報告資料を見る限り明確ではない。プロジェクトリーダーの強い指導性は評価できるが、一方、流動的な情勢変化に対応する、より弾力的かつ機動的な運用が必要であったとも思われる。現実には、こうした対応が可能であったのかは、報告書では明らかではない。基本的に本プロジェクトは、研究に参画した研究団体の共同研究であり、自前の研究組織ではないことが、大きな足かせとなったともいえる。遺伝子組換え植物で企業化しようとする国産企業がほとんどない現状では、国策としての推進が不可欠であると思われる。
- 中核機関の1つである「物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」テーマの委託先は、その組織の持つ能力の限界まで頑張ったとはいえるが、実際の栽培等の評価を含むものではなく、自ずと限界があったと考える。こうした点、独立した植物、あるいは生物産業開発のための研究機関の設立、あるいは、今回も参画していた「葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発」テーマの委託先の大幅な改組等により、基礎から応用までの研究を実践出来る研究組織の確立が不可欠と考える。
- また、NEDO からの研究支援に関しては、報告書から見る限り、予算措置以外明確ではない。この期間、担当者が継続してプロジェクト支援を行っていたのかも、明らかではない。研究の実行チームとともに、研究支援チームが継続してプロジェクトにあたることがプロジェクトの成否に関わるといえる。これらの点は、今後の大きな課題と考える。
- 公的な研究機関が独自に実施し確立した基盤技術は重要な研究アイテムであるが、これらが各企業が実施した研究にどのように貢献したのか具体的に述べられていないと感じる。
- プロジェクトの中には研究内容の共通項目が多くいっそうグループ化して共同研究体制をとったほうが密な情報交換、相互補完も期待でき研究成果の加速が期待できる課題もあった。個々の企業の立場もあろうが国プロ遂行の立場では企業エゴは控えることも必要であろう。この点のマネジメントには少し物足りなさが感じられる部分もある。
- 資金配分について、全体のほぼ半分が企業側に配分され、そのこと自体はNEDO の目指す実用出口を見つけるという点から十分に理解できるが、その中で労務費のしめる割合が大きい。労務費が大きいということは、こ

れが人件費であるとする、プロジェクト研究の間だけ企業で働く人間が多数雇われているのだとする、プロジェクトの成果を技術も含めて企業への蓄積とするという点で、やや疑問を感じざるを得ない。

- また、「葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発」テーマの委託先や「統括的な遺伝子の発現制御機能の解析」テーマの委託先の位置が、研究内容と資金配分の比較という点で理解しにくい。本来なら、「物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」テーマの委託先と同様に、基礎研究を行う大学等の機関と実用研究を行う企業との間であって、必要な研究データや技術の橋渡しとなるべきであったと思われるが、想定以上に自己完結した研究機関となっているように思われた。
- モデル植物研究と実用植物研究を結び付けることで、より有効な出口に早く到達するという考え方は十分に理解できる。そのための組織の組み立ても理解できるが、橋渡しをする機関、あるいはコーディネーターとなるリーダーを、複数置いても良かったかもしれない。「物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」テーマの委託先に負担がかり過ぎたように感じられた。
- また、選定された実用植物研究が、既存の生体有用物質の合成増大や生育環境の拡大に偏っており、研究成果を得るという意味では安全な手法ではあるが、もう少し冒険的な研究があっても良かったのではないか。
- モデル植物研究の中から出てきた技術の実用化が、もう少し多様にあっても良かったのではないか。
- 本プロジェクトで確立されたデータベースは公開が原則であり、それで良いと思うが、データベースを実用植物に利用する方法論について、もう少し一般的かつ具体的手法が知財として提示されても良かったように思える。
- 組織変更等に伴う技術移転、あるいは材料の移転の実際がどの程度ロスなく行われたのかを明確に記述して欲しい。
- 統合データベースのレベルが高いことは良く判るが、それがなければ出来なかったことがあることを、具体的に検証する必要がある。データベースのレベルを上げることと、それを効率的に利用することは別の課題である。
- 学会での発表は十分に行われているが、社会への貢献のアピールにとって重要な役割を果たす、一般メディアへの成果の説明がさらに必要である。
- 基礎研究は5年程度、後3年は応用研究に特化すべきではなかったか。

〈その他の意見〉

- ・ 実用化シナリオに基づき、中間評価段階から最終目標を達成させた PL や SPL の能力及び NEDO 担当者の支援は評価できる。その結果、GM 植物の開発に対して未経験の民間企業も最終目標に到達できたと判断する。
- ・ 人材育成などの面でどのような功績があったか、どのように役だったかを明記して欲しい。
- ・ 目標は出来る限り高度に据えチャレンジ精神を鼓舞するような研究推進体制が望ましい。安易な目標設定で達成度が高くなる課題を選択するよりも、難度は高いがより重要な課題で、達成度が低くなる危険性があるかも知れない課題でもあえて選択するような姿勢を評価すべきである。
- ・ 予算配分について、資料から読み取ることが困難であった。特に、どのように、人件費が管理されていたかということは分かりにくい。バイオ組合が人件費を管理していたように理解したが実際に、どの研究機関に人員が配置され、研究をおこなったのか、個別の実施計画にどれだけの予算が措置されたかは理解がしにくかった。追加の資料を戴いたが、それでもなお、予算対成果の評価が困難であった。共同研究も、それぞれの研究機関間で、必要経費をやり取りをすることにより、よりコスト意識が明確になったのではないかとも思われる。今後のプロジェクト研究のあり方における予算管理のあり方をもう一度考えるべきである。また、バイオ組合は運営委員会を組織し、事務管理をおこなったということであるが、その役割は、明確ではない。評価会における資料の作成にかなりの費用が発生しているように、管理のためのコストが大きいのではないかと思われる。より、実質的な体制をとることが必要である。

### 3) 研究開発成果について

当初の目標の多くが達成された。特に、これまで、解析が遅れていた多様な代謝産物の生産に関わる代謝遺伝子ならびに転写調節遺伝子が単離され、かつ、その機能が個体レベルで評価されつつあり、また、データベースを整備し、これら遺伝子機能を迅速に解析出来る基盤が確立されつつある。データベースの作成、転写因子の網羅的解析などは世界最高水準にある。ユウカリ、トチュウは投入された予算、時間に見合う実用化の成果が、圃場での試験として得られていると考えられる。

しかし、最終目標とする工業原料を効率的に生産する植物を創成するという観点からすると、遺伝子の単離はあくまでも通過点であり、特に圃場レベルでの評価がほとんど行われていないことは、実用品種の育成において大きな課題である。実用植物においては、実用化にまで達していないものもあるが、本プロジェクトの課題である物質生産制御基盤技術の開発に、どの程度貢献出来ているかを明らかにする必要がある。「市場の予想」にスペシャリストをいければ、より成果を上げられたのではないか。

一方、研究成果は著名な国際誌にも公表されているが、論文の数（質）は予想を下回った。また、社会への貢献をアピールするために、研究成果紹介用パンフレット、ウェブサイトへの掲載、冊子体の関係機関への配布などの工夫が必要である。NEDO がより戦略的にマスコミ教育、対策などを進めることで、将来に有用な情報発信を行うべきである。

#### 〈肯定的意見〉

- 「市場の予想」にスペシャリストをいければ、成果を上げられたのではないか。
- 統合データベース構築に関しては、非常に堅実な成果を挙げていると評価できる。今後、更に完成度をあげることで有用なツールとなると思う。
- 自己評価にもあるように、当初目標としていたことの多くを達成していると思われる。特に、これまで、解析が遅れていた多様な代謝産物の生産に関わる代謝遺伝子ならびに、転写調節遺伝子が単離され、かつ、その機能が個体レベルで評価されつつあることは評価できる。また、データベースを整備し、これら遺伝子機能を迅速に解析出来る基盤が確立されつつあることも評価できる。
- 「モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析」及び「実用植物を用いた物質生産制御技術の開発」の研究開発成果は最終目標に到達しており、そのレベルは世界最高水準にあり、将来の市場の創造に繋がると考える。

- また、「モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析」で構築された統合データベースや開発された技術は汎用性も高く、新たな技術領域の開拓も期待できる。
- 研究成果は著名な国際誌にも公表されている。
- 遺伝子のクローン数、代謝産物の分析数など、数値で結果を表すことができる成果は、目標値を十分にクリアしている。
- 転写因子の導入なども、基礎科学としては高いレベルに達していると思われる。
- データベースは、現時点ではほぼ頂点に近いレベルにある。
- 実用植物については、ユーカリ、トチュウなどの形質転換体は、目標に近い段階に達している。
- 実用植物の研究のうち、セルロースやゴムなどの供給体制を拡大出来るということで、市場の拡大に貢献できそうである。
- モデル植物研究において、データベースの作成、転写因子の網羅的解析などは世界最高水準にある研究である。
- 適切に行われていると想定される。
- モデル植物については、高いレベルの論文が発表されている。データベースなどは、参加研究者以外にも公開され、国内外の基礎研究の発展に十分に貢献していると思われる。
- 掲げられている研究目標を十分にクリアしていると考えられる。また、一部の研究は実用化される可能性が見えており、期待させる内容となっている。
- ユーカリ、トチュウに投入された予算、時間に見合う実用化の成果が、圃場での試験として得られていると考えられる。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- モデル植物を用いた基礎実験は、論文作成という点ではそれなりのレベルに達していると思われるが、実用植物作成にどのくらい貢献できているかははっきりしない。
- 実用植物においては、実用化にまで達しているとは思えないものもある。そのこと自体は、研究の進展上やむを得ないと思うが、本プロジェクトの課題である物質生産制御技術の開発に、どの程度貢献出来ているかを明らかにして欲しい。
- モデル植物によって明らかにされた代謝経路、遺伝子発現機構、転写因子などは、その研究自体のレベルは極めて高い。また、いくつかについては実用植物への応用も可能である。プロジェクト開始時点での、この戦略は



他の方法論が良く知られていなかった状況の中で意味のある選択だったと思われる。しかし、ゲノム解読が容易になり、形質転換技術も様々に開発されている 2010 年度時点で、このプロジェクトで開発された手法のいくつが、実用植物への応用のために生き残れるかは、なお不明である。

- 統合データベースを用いた新しい実験手法以外、古典的な手法の網羅的解析にはどの程度の汎用性があるかははっきりしない。
- 大学などでモデル植物を用いた基礎研究では、高い論文のレベルが発表されているし、それが重要な出口と思われるが、発表数については参加研究室数の割にはやや少ないように思える。
- 公開されたデータベースを、実用研究に結びつける手法などが一般化されていないように見える。本プロジェクトから見出されたより共通性のある手法が一般化されれば、基礎研究者だけでなく、企業における応用研究にもより高いレベルで貢献することができるのではないか。
- 一般への情報発信は、努力と結果が必ずしも比例するものではないため、どのようにするのが良いかはなかなか判らない。しかし、本プロジェクトのような **GMO** を用いた研究では、広く一般社会に成果を広めることが、次のステップでは必須となる。ここでは、プロジェクトリーダーやサブリーダーの個人的努力に期待するのではなく、**NEDO** がより戦略的にマスコミ教育、対策などを進めることで、将来に有用な情報発信を行うべきである。
- 論文の数（質）は予想を下回る。
- 世界的なメタボロミックス拠点としての地位を維持するには引き続き支援が必要と思う。
- 多くの評価できる成果が上がっている一方、これらの遺伝子の単離はあくまでも通過点であり、最終目標とする工業原料を効率的に生産する植物を創成するという観点からすると、その到達度は不十分であると判定せざるを得ない。特に、圃場レベルでの評価がほとんどおこなわれていないことは、実用品種の育成において大きな課題である。また、いくつかの基盤技術の確立が行われたが、葉緑体形質転換においてみられるように、モデル系にとどまっており、実用作物への展開が遅れていることは大きな課題である。特に、実用作物の大きな課題である再分化系、あるいは、形質転換系、ならびに、安定した遺伝子発現系は、一部確立されつつあるとはいえ、依然大きな課題である。また、遺伝子導入したゲノムの部位を特定出来ないことは、安定かつ再現性のある形質転換体の作成において大きな課題である。特に、我が国では、遺伝子組換え作物の圃場栽培において、遺伝子導入部位の特定が必須であることから、相同組換え技術の導入など、更な

る技術革新が不可欠である。

- 論文としての成果発表の数が少ない（とくに企業の研究成果）。また、研究成果の国民へのアピール（広報活動）が不足していると感じる。いっそうの努力が必要であろう。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 一般的傾向として、基礎研究を主体とする大学からの学術論文の発表が多く、企業からの発表は少ない傾向がある。但し、こうした論文の公表が果たして研究の実体を反映し、かつ、成果の普及に貢献しているかという点も必ずしも、そうではないように思われる。悪戯に論文数や特許数をもって、成果の普及度を評価するという評価のありかたは、改める必要がある。成果は本来、研究開発を行う研究機関や大学において普及されることが第一義的であるべきであり、別の評価基準が必要とも考えられる。例えば、プロジェクト研究の成果として、どれ位の共同研究が発生したのか、また、研究に参画した人材がその後どのように職を得たのか、企業でいえば、どのように部門が発展したかということも指標となると考えられる。既に、NEDO においても継続的な事後評価がなされていると聞いており、そうした評価システムの成果をもとに、評価システムの検討がなされるべきである。
- ・ 研究成果の普及については、専門家への情報発信は十分なされているものの、新名 PL の執筆された「植物力ー人類を救うバイオテクノロジー」以外に、一般国民にも理解できるようなパンフレットを作製し、NEDO ウェブサイトに掲載するほか、冊子体として関係機関に配布するなどの工夫が必要である。
- ・ チャンピオンデータだけを報告するのではなく、研究を実施するにあたって苦労した点、難しかった点、さらには失敗例なども報告していただくと、今後の研究に大きく役立つ。後続の研究を実施する研究者にとって非常に参考となる。
- ・ 新産業育成、新産業創出のためには、従来の知見、技術だけでは乗り越えられない基盤的課題克服を伴う場合が多い。そのような基盤的課題克服は一企業単独ではリスクが大きくアプローチが難しいと思われるので、そのような課題に対して NEDO は積極的に支援すべきである。

#### 4) 実用化の見通しについて

統合データベースを構築するような巨大プロジェクトは国が支援をする形をとらないと不可能である。その点、本プロジェクトは重要な公共財を創出しつつあると評価できる。植物科学分野はもとより、他の農学、食品、薬品業界の基礎研究にも、十分に影響を持つことができ、波及効果は大きい。また、実用植物の一部は、圃場レベルでの機能解析も開始されつつあり、今後こうした圃場レベルでの評価が加速されることにより実用化の見極めが大きく進むものと期待される。また、実用化プロジェクト参加の企業において、研究開発に従事した研究員の資質向上にも貢献している。

しかし、いくつかの期待できる遺伝子が単離され、また、一般的技術も構築されつつあるが、安定した開発基盤技術が確立されたという段階には遠い。出来るだけ早く、実用化を目指せる植物の育成が不可欠である。マーケティングの予測が不十分だった点もあるのではないかな。また、日本国内で組換え体を実用化するには、科学的な理由以外の要因による障壁が未だ大きく、これを排除する政策的な手だてが不可欠であり、国民に正しい情報を伝えるよりいっそうの啓発活動が必要である。

#### 〈肯定的意見〉

- 本プロジェクトの実用化イメージや出口イメージは明確であり、開発段階のマイルストーンも明確である。
- 構築された統合データベースや開発された技術は、植物科学の進展に貢献し、遺伝子組換え技術を用いた植物による工業原料の効率的生産も期待でき、波及効果は極めて大きい。
- 統合データベースの作成や cDNA ライブラリーの作成等、今後の植物機能の開発の基盤が形成され、今後の展開が期待できる段階にある。また、一部は、圃場レベルでの機能解析も開始されつつある。今後、こうした圃場レベルでの評価が加速されることにより、実用化の見極めが大きく進むものと期待される。中国においてトチュウの実用栽培が進行中であることは、今後の実用化の1つのモデルとして期待できる。
- 「高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化」、「トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発」の研究成果は近い将来の実用化がイメージできる。その他の研究課題についても興味深い成果が得られており、今後の展開が期待される。ぜひ、実用化に向けた研究を推進していただきたい。
- 実用化のイメージは、明確に立っている。

- また、波及効果としては、実用化プロジェクト参加の企業において、研究開発に従事した研究員の資質向上にも貢献している。
- ユーカリ、トチュウなどは実用化イメージ・出口イメージが明確である。その他の実用植物についても、出口イメージは明確に見える。
- データベースを始めとする、モデル植物研究については、植物科学分野はもとより、他の農学、食品、薬品業界の基礎研究にも、十分に影響を持つことができると思われる。
- プロジェクトの開始以降、大学と企業との間での人材交流や、実際に企業に就職することができた研究者もいると聞いているので、その意味では人材育成に十分な貢献をしたと言える。
- 企業研究は出口が明確であった。
- 統合データベースを構築するような巨大プロジェクトは国が支援をする形をとらないと不可能である。その点、本プロジェクトは重要な公共財を創出しつつあると評価できる。十分とは言えないとしても現在の資金供給レベルを継続してデータベースとして国際的にトップの拠点を維持すべきと思う。
- 基盤的研究として得られた統合データベースそのものは物質生産ではないが、物質生産を目標とした課題担当者からの利用も多く成功したと言ってよい。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- 実用化イメージはあるものの、実際に圃場での開発段階以降の研究開発、特にわが国国内での開発を進めるためには、遺伝子組換え作物の国内での肯定的な受け入れが必要である。
- モデル植物研究では、そもそも実用植物との連携が十分に取れていないように見えるため、どの程度の実用化・出口がイメージされているか、はつきりしない。
- 今回のモデル植物を中心とした研究で開発されたデータベースや分子育種技術をもとに、実用植物による物質生産技術の開発を目指した本プロジェクトは、それぞれの分野では成果を上げることができたと考えられるが、両者の連携は、それほどはつきりしたものではなかった。基盤研究の大学と応用研究の企業とのあいだで、より活発な人材交流を行えるようなプロジェクト指導の枠組みがあれば、研究成果の連携がより積極的になり、新しい成果やその波及効果も大きかったのではないかと強く感じる。
- 参加出来ない企業の波及効果をどうするか？

- 本プロジェクトの意義が十分理解できる人は植物科学の研究者の中でも限られた人達になるかもしれない。まして一般市民の多数に理解してもらうためには特別な工夫が必要だろう。この点に関する広報活動への支援も必要である。
- モデル植物のゲノム情報が開示された段階から、実用植物の機能開発を行うための基盤技術開発を試み、一定の成果を挙げてきている。いくつかの期待できる遺伝子が単離され、また、一般的技術も構築されつつあるが、まだ、安定した、かつ再現性のある開発基盤技術が確立されたという段階には遠い。できるだけ早く、実用化を目指せる植物の育成が不可欠である。また、単に工業原料素材を提供するのみならず、その利用に対しても、一貫した見通しが必要である。トチュウにおけるゴム生産は1つのモデルであり、他の目標に対しても、同様の取り組みが必要であろう。なお、組換え植物の国外生産は、現地における協力が不可欠であり、国際的な合意を形成しておく必要がある。生態系の多様性保全の問題については、すでに調査中であるとのことであるが、十二分の準備が必要である。
- 組換え体の利用にはまだ制約が多いことを考えると自然に存在する、あるいは人為的に作成した交雑体等の変異体を利用することが不可欠であろう。近年急激に進展してきた次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解読、比較ゲノムは今回のプロジェクトでは十分に活用できるにはいたらなかった。今後、同様なプロジェクト開発においては、今回のデータを基盤として、こうした新しい技術の利用が不可欠と考える。
- 日本国内で組換え体を実用化するにあたって、科学的な理由以外の要因による障壁が未だ大きい。これを排除する政策的な手だてが不可欠である。また、国民に正しい情報を伝えることが肝要であり、これが過剰な拒否反応を取り除くことにつながると考える。よりいっそうの啓蒙活動が必要である。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 本プロジェクトの推進で、有能な若手研究者の雇用が図られており、世界水準の研究を推進することで人材育成にも貢献したと言える。
- ・ 日本国内での実用化にあまりこだわる必要はないと思う。海外で実用化できた場合は、国際貢献につながり、また、日本発の技術として国際的にアピールするよい機会であると考えます。
- ・ マーケティングの予測が不十分ではないか？

- フォーラムなども必要である。しかし、参加者は極く限定された人たちである場合が多い。やはり成果があったとおもわれる部分については速やかにメディアを通じた広報活動もすべきである。
- 統合データベースの構築は、この分野の発展に大きく貢献するものであると考えるが、その維持管理が不可欠である。また、本プロジェクトに貢献した人材がさらに活躍する場の形成が必要であろう。プロジェクト推進と平行して、こうしたプロジェクト成果を活用した起業化が不可欠と考える。一部のプラスミドや試薬等は市販されたということであり、こうした成果がより一般化され、利用されることが望まれる。データベースも無料公開が原則であろうが、一部は有料化し、人材の活躍の場を確保することも考えるべきである。

## 2. 個別テーマに関する評価結果

### 2. 1 モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

#### 1) 成果に関する評価

モデル植物自体の研究は、遺伝子発現解析、遺伝子クローニング、あるいは転写因子の網羅的解析など、分子生物学的研究を中心に重要な成果を上げ、世界初、あるいは最高水準に近い研究も複数見られる。構築されたデータベースは類似の研究を遂行するうえで、貴重な基盤的情報を提供するものである。論文発表、学会発表等での公開は適切に行われている。

しかしながら、モデル植物から実用植物への展開を目的としていたが、公的研究機関で独自に実施された基礎的な研究が応用的な研究にどのように関連しているのかが一部では明確でない。モデル植物での遺伝子機能解析が直接実用植物に適用できるわけではなく、今後の研究戦略には、もう一段の工夫が必要と考えられる。物質生産技術に特化した手法の開発を集中して進めるべきであった。

一方、学会での発表は十分に行われているが、社会への貢献のアピールにとって重要な役割を果たす一般メディアへの成果の説明がさらに必要である。

#### 〈肯定的意見〉

- モデル植物自体の研究は、遺伝子発現解析、遺伝子クローニング、あるいは転写因子の網羅的解析など、分子生物学的研究を中心に重要な成果を上げたと考えられる。
- モデル植物から得られた遺伝子発現解析と代謝物質測定を組み合わせた統合データベースのレベルも十分に高い。
- モデル植物を用いた研究では、世界初、あるいは最高水準に近い研究も複数見られる。一部には汎用性もある。論文発表、学会発表等で公開制も確保されている。
- 適切に行われていると思われる。
- 論文、学会での発表は着実に行われている。また、講演会活動などを通じた一般への成果の普及も努力されている。
- 当初、培養細胞を用いることの危険性が指摘されていたが、むしろその利点が活かされたと思われる。モデル植物の培養細胞を用いて得られた制御遺伝子が実用植物の成熟分化した植物体についても機能していることが示された点は本プロジェクトでのアプローチが間違いでなかったと評価できる。

- 「物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」テーマの委託先を中心として、実用作物における有用機能遺伝子の cDNA 単離を目的とした cDNA ライブラリーの整備と解析、代謝産物の網羅的解析、統合データベースの構築、転写因子を用いた統括的な遺伝子発現解析等が進行しており、植物機能開発のための基盤技術のプラットフォーム構築に貢献していると評価できる。
- 「モデル植物を用いた代謝基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」、「葉緑体における物質生産プロセスの解体及び制御基盤技術の開発」、「植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析」の研究開発成果は最終目標に到達しており、そのレベルは世界最高水準にあり、将来の市場の創造に繋がると考える。
- 構築された統合データベースや開発された技術は汎用性も高く、新たな技術領域の開拓も期待できる。
- 研究成果は著名な国際誌にも公表されている。
- 「物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」で構築されたデータベースは類似の研究を遂行するうえで、貴重な基盤的情報を提供するものである。非常に汎用性が高いと認められる。また、いずれの研究機関においても、個別テーマへのサポートが充分なされていたと考えられる。
- 基盤リソースの整備に関しては、遺伝子情報、発現情報について、実施者の知的・技術的基盤を最大限に活用した成果が得られている。また、本プログラムで行われた実用化プロジェクトの基盤技術としての活用も、実用化サイドとの連携を適切に行いながら、技術、素材提供ができています。また、遺伝子発現制御と葉緑体利用プロジェクトについて、植物体を利用して有用物質生産を図る際の生産制御にとって必要不可欠な重要技術の基礎的知見が得られた。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- モデル植物から、実用植物への展開を目的としていたが、モデル植物での遺伝子機能解析が直接実用植物に適用できるわけではなく、今後の研究戦略には、もう一段の工夫が必要と考えられる。特に、植物の場合には、個別の代謝系において、得意的な代謝遺伝子、また、場合によっては転写因子が機能している場合がある。特に、次世代シーケンサーを用いたゲノム解読技術がここ数年で急激に進展していることから、比較ゲノムを利用した新しいアプローチ、また、実用植物に特化した個別技術の開発、例えば、形質転換技術などの開発が不可欠である。



- モデル植物を用いた解析から得られた制御遺伝子等の機能が、他の実用植物体においても機能していると言うが、示された例はまだ少ない。このような例を今後増やす努力が必要であろう。
- 知的財産権等の取得では特許出願件数は多くはないが、「モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析」が基礎基盤的研究内容によるものと考えられる。
- 葉緑体を用いた物質生産系の構築やキメラリプレッサーの利用技術は、特定の研究テーマを除いて、他のテーマとの関連性が明確に述べられていない。研究成果の汎用性などをもっとアピールすべきであろう。また、葉緑体の形質転換技術がタバコのみ限定されているのなら、汎用性に乏しいと考える。他の植物の形質転換に成功しているのであれば、それをもっと強くアピールすべきであろう。
- 遺伝子発現解析、代謝物質解析など多くの研究は適切に行われていると思われるが、モデル植物からの葉緑体の単離、形質発現系の解析、あるいは形質転換系は、一般的基礎研究の域を出なかったように思われる。
- 物質生産技術に特化した手法の開発を集中して進めるべきではなかったかと思われる。とくに、これらの生理、細胞生物学技術は、実験材料固有の性質に依存することが多く、モデル植物で開発された技術が、すぐに実用植物に応用できるとは限らない。
- 光合成生物である陸上植物を、物質生産に利用しようとする場合、最も重要な技術であることは事実だから、基礎研究としての成果を確保するのではなく、むしろ直接的に実用植物を用いるなど、より応用に向けた研究を強く推進した方が良かったように思える。
- 統合データベースの確立、転写因子解析などは、世界レベルの研究であり、また汎用性もある。基礎データの収集に時間とお金が相当程度かかることを考えると、やや多額には見えるが、このレベルの研究費の投入はやむを得ないと思われる。まだ、公開されていないデータも多量にあるようなので、それらが随時公開されることを望む。
- 論文・学会発表等の公開は、どの研究グループも適切に行われているが、一方で大学などに所属する基礎科学研究者にとっては、現状の評価システムでは応用可能性や実用研究との連携よりも、論文発表が重要であることもまぎれもない事実である。そのため、研究の方向性が論文をまとめる方向に向いてしまうことは止めようもない。

- 研究評価がグローバルに行われている状況で、これらの研究者に応用研究と連携しうる研究の実施を要求しても、それだけでは十分な成果を生むことは出来ないであろう。大学における基礎研究の中に、実用研究に不可欠な技術開発の種が眠っていることも間違いないので、それを目指した研究においては、企業からの研究者が大学等に出向することなどを、より積極的にすすめ、実用化にフォーカスされた研究を進めることがより必要となると思われる。

〈その他の意見〉

- ・ 統合データベースが植物科学の進展に大きく貢献することを期待する。
- ・ 公的研究機関で独自に実施された基礎的な研究が、応用的な研究にどのように関連しているのかが見えない。単なる応用研究のサポートだけを実施したとは思わないが、両者を有機的に結合するために、どのような方策がとられたのか、また、その結果、どういうことになったのかをきちんと検証してほしい。
- ・ モデルと応用を分けた点が連携の欠如につながったのではないか？
- ・ モデル植物で得られた方法を実用植物に適用し、実用植物での有用成分の効率的生産のための統括的制御因子等を速やかに特定できるようなシステムを構築することが望まれる。
- ・ 将来的に、本プロジェクトで整備されたデータベースを有益に活用していくことが望ましい。

## 2) 実用化の見通しに関する評価

単離した cDNA 等の情報は貴重なリソースであり、また、統合データベースは公共財産として公開され、今後の代謝解析のプラットフォームとしてプロジェクト内外からの利用、共同研究も多く、間接的に実用化に大きく寄与している。また後続の研究に対する基盤技術として有用であると認められる。本プロジェクトの推進で、有能な若手研究者の雇用が図られており、世界水準の研究を経験することで人材育成にも貢献したと言える。

しかし、モデル植物についての制御遺伝子等の機能が実用植物体においても機能している例はまだ少なく、このような例を今後ふやす努力が必要である。

データベースの整備は重要なステップであったが、今後、実用植物の代謝デザインにつなげることが期待される。また、資金面でのサポートが十分で無くなった時点で、このデータベースをどのように維持、発展させていくかは今後の課題である。

### 〈肯定的意見〉

- 有用物質生産に必要な基盤技術と、実用化に適したテーマとの連携が行われた結果、実用化可能な技術のシーズが成果として得られた。
- 統合データベースが公開されていることにより、本プロジェクトで整備された基盤は十分に利用されていると思われる。
- プロジェクトに参加している研究室から、学生・研究員が参加企業に就職した例もあると聞いているので、両者にとって人材育成効果があったと理解できる。
- 本プロジェクトでの基盤的知見を得るための研究は、物質生産を直接効率化するものではないかも知れない。しかし、効率的な物質生産に到達するために必要な代謝系に関する知見を提供していると評価できる。すなわち転写因子遺伝子の単離同定、それを用いる形質転換による植物体の改変と言う流れを確立するために寄与できる。直接、物質生産をする成果ではないが、プロジェクト内外からの利用、共同研究も多く間接的に実用化に大きく寄与していると評価できる。
- 単離した cDNA 等の情報は貴重なリソースであり、今後の活用に期待したい。また、統合データベースの整備は今後の代謝解析のプラットフォームとして、重要であると考えます。
- 統合データベースは、植物科学の進展に貢献するだけでなく、医薬品、食品や農作物の開発へ利用できる。また、葉緑体工学に必要な基盤技術や転写因子を用いた遺伝子発現制御技術も新たな組換え植物の開発に利用でき、統合データベースや開発された技術は公共財としての知的基盤の価値

は高く、関連分野への波及効果も高い。「物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」テーマの委託先は、統合データベースを供給・維持するための体制を十分に整えている。本プロジェクトの推進で、有能な若手研究者の雇用が図られており、世界水準の研究を経験することで人材育成にも貢献したと言える。

- 公共財産として公開されており、後続の研究に対する基盤技術として有用であると認められる。研究プロジェクトの成果として波及効果が認められる。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- データベースの整備は重要なステップであったが、それを、実用植物の代謝デザインにつなげるための工夫が十分であったかという点に関しては、疑問である。データベースを活用した代謝デザインは、今後の植物を含む生物機能開発において最も重要な部分であり、データベース構築から、新たにデザインが可能な人材の育成が不可欠である。
- 研究成果の普及については、専門家への情報発信は十分なされているものの、新名 PL の執筆された「植物力ー人類を救うバイオテクノロジー」以外に、一般国民にも理解できるようなパンフレット版を作製し、NEDO ウェブサイトなどに掲載するほか、冊子体として関係機関に配布するなどの工夫が必要である。
- 特定の植物、特定の物質生産のためのデータ取りに限定されないよう、個別の企業プロジェクトに関連したデータについても、できるかぎり速やかに公開し、公共の財産として利用できるようにすべきである。
- 学会での発表は十分に行われているが、社会への貢献のアピールにとって重要な役割を果たす、一般メディアへの成果の説明がさらに必要である。
- 資金面でのサポートが十分で無くなった時点で、このデータベースをどのように維持、発展させていくかは、今後の課題である。
- 人材育成効果もそれなりにあったようには見えるが、実際にはそれをさらに積極的に進めることが、単なる人材育成ではなく、基礎研究と実用研究の間の壁を下げ、両者の連携研究が可能になるのだろうと思われる。
- テクニカルアドバイザー等、専門性有する人材からの評価がないため、成果が見えにくい。
- モデル植物についての制御遺伝子等の機能が実用植物体においても機能していると言うが、示された例はまだ少なく、このような例を今後ふやす努力が必要である。

〈その他の意見〉

- モデル植物から得られた知見が実用植物の物質生産に対しても有用であることは確認された。今後、継続して更なる知見獲得作業を進めてゆく必要がある。更に確立した方法を実用植物にも適用してゆき実用植物における有用成分の効率的生産のための統括的制御因子等を効率的に特定できるようなシステムにしてゆくことが望まれる。
- 後続の研究に役立つよう、整備された装置などを有効活用していただきたい。また、これにより新たな雇用を生み出すよう努力していただきたい。

### 3) 今後に対する提言

植物の統括的な遺伝子発現制御技術はまだ試行錯誤の状態であるが、遺伝子発現解析、代謝物質解析と、それを用いた統合データベースの作成は、モデル植物の基礎研究に大きな貢献をしているばかりでなく、それを一部の有用植物にも利用可能であることを証明した効果は大きい。今後、有用植物に対する有用成分の効率的生産のための統括的制御因子を特定できるようなシステムが出来ることが望まれると共にその技術を、他の様々な植物にどのように応用していくかが重要な視点と成りうる。構築された統合データベースの高度化と他の植物種への拡充を期待する。

葉緑体の形質転換技術に関しては、基礎的な葉緑体遺伝子発現制御に関する知見を与えてはいるが、それを実用化するための基盤技術とするための努力が少なく、有用植物への展開もアスタキサンチン合成にとどまったのは残念である。

なお、データベースなどは日々の更新が不可欠である。また、ニーズも変化すると考えられる。これに対応するために、予算措置を含めて継続的な運営を求めたい。

#### 〈今後に対する提言〉

- ・ 構築された統合データベースの高度化と他の植物種への拡充を期待する。また、開発された葉緑体工学に必要な基盤技術や転写因子を用いた遺伝子発現制御技術が有用植物へ利用されることを期待する。
- ・ データベースなどは日々の更新が不可欠である。また、ニーズも変化すると考えられる。これに対応するために、予算措置を含めて継続的な運営を求めたい。
- ・ 各技術について、さらに展開が望めることから現時点で中断することなく進めることが望ましい。
- ・ 個別の研究は進んだが、委託課題への「専念義務」が乏しい。
- ・ 本プロジェクトの課題の一つである「基盤リソース解析と統合データベース構築」は実用化と一見距離があるように見えるが、効率的物質生産のための考え方を確立するために有用であることが実証されたと思う。今後、継続して更に完成度を高めてゆく必要がある。更に確立した方法を用いて有用植物にも適用してゆく有用植物に対する有用成分の効率的生産のための統括的制御因子を特定できるようなシステムが出来ることが望まれる。
- ・ 葉緑体の形質転換技術に関しては、花粉による遺伝子の飛散防止、高い遺伝子発現能力が期待できるなど、重要な基盤技術であると考えられるが、本プロジェクトの成果は依然植物種がタバコに限定されている。また、基

礎的な葉緑体遺伝子発現制御に関する知見を与えてはいるが、それを実用化するための基盤技術とするための努力が少なく、実用植物への展開もアスタキサンチン合成にとどまったのは残念である。

- 物質生産プロセス基盤リソースの生理と植物の物質生産機能の解析は、つまるところ、化合物の同定と統合データベースの開発が中心であり、遺伝子機能の解析に関して、目標を上回る成果、例えば、代謝をデザインするにはいたらなかったのは残念である。本予算での設備が代謝産物の解析が中心であったためと思われるが、本来のゲノム解析からの開発戦略が構築出来れば、さらに興味深い成果が得られたのではないかと思われ、残念である。
- 遺伝子特異的アレーの開発等は、ベンチャーとしてもやれる可能性があるテーマであり、そうした起業化が今回の成果として出てこなかったのは残念である。
- 植物の統括的な遺伝子発現制御技術はまだ試行錯誤の状態であるが、いくつかの興味ある遺伝子が単離されてきたことは、こうしたアプローチの可能性を示している。逆にいえば、モデル植物だけでは分からない部分が多くあり、実用植物グループとの密接な連携がまさに必要と考えられる。
- 「物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析」の委託先が中心となって進めた、遺伝子発現解析、代謝物質解析と、それを用いた統合データベースの作成、あるいは培養細胞系を用いた多数の形質転換ラインの確立は、モデル植物の基礎研究に大きな貢献をしているばかりでなく、それを一部の実用植物にも利用可能であることを証明した効果は大きい。今後、その技術を、他の様々な植物にどのように応用していくかが重要な視点と成りうる。
- **RITE** が中心となって進めてきた、葉緑体機能の解析、遺伝子発現操作、形質転換などは、基礎研究としては十分高いレベルの研究であり、論文等も発表されているが、それが、実際の実用植物を用いた研究にどのように応用できたのかははっきりしなかった。国内で、葉緑体解析では最も高い技術を持つ研究室が複数参加していたのだから、その技術をより直接的に実用植物に向けても良かったのではないかと考えられる。
- 産総研を中心とする遺伝子発現系の解析も、基礎研究としてのレベルは十分に高いが、それが実用研究の発展に寄与するにはまだ十分とは言えなかったかもしれない。これは、両者が単にバラバラに実験をしたということではなく、どのレベルの技術や知財が、具体的にどのように役立つかの検討がやや不足したのではないかという印象を受けた。その他個別の大学における研究は、どれとどれがどのようなネットワークのもとで進めら

れたのかが明確ではなかった。プロジェクトを始める段階では、どの研究が発展するかは、なかなか判るものではないので、複数の可能なグループを巻き込んでおくのは仕方がないと思えるが、研究開始後は、実用研究とどのように連携できるかについては、プロジェクトリーダー、あるいはサブリーダーが、常に研究テーマの詳細に踏み込んだ指導が必要ということだと思われる。

〈その他の意見〉

- ・ 「モデル植物」からの脱却が必要。
- ・ 生物による物質生産の効率性は遺伝子発現制御に負うところが多い。しかし、効率的生産を総合的にみた場合、遺伝子発現以降の輸送、集積のプロセスも無視できない。今後、遺伝子発現以降のプロセスに視点を置いた問題解決の方向も重要と思われる。
- ・ モデル系と実用系ではどこが違うか、また、モデル系での研究成果を個別の有用植物へ展開するために何が必要かなどを十分に検証してほしい。



## 2. 2 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

### 1) 成果に関する評価

各課題が、工業原料となり得るような物質を、実用植物に生産させる系を開発する目的で実用化に向けた基盤的な技術開発を行っており、ほぼ計画通り代謝物解析から鍵遺伝子の特定まで進んでおり、課題毎により達成度が異なるものの、目標値を概ねクリアしていると考えられる。

ユーカリにおいて、生長性、あるいは、ストレス耐性に優れた組換え体が作成され、圃場試験レベルに達していること、また、パラゴム、あるいは、トチュウのトランス型ゴムの生合成に関わる遺伝子が単離され、その生合成活性を向上出来る可能性が示されたことは、今後の実用化において重要な進展といえる。開発された物質生産制御技術は、新たな市場の創造も期待できる。

しかし、可能性のある遺伝子組換え体が作成されたとはいえ、圃場での評価はまだこれからの段階であり、市場までは遠い。圃場実験が困難であるという我が国において圃場レベルでの評価を推進する体制の強化が今後のプロジェクト研究においては不可欠である。

一方、物質生産を制御できる実用植物について、より広範囲の宣伝活動を期待したい。NEDO が前面にでて、その有用性を広く情報発信することが実用化に向けては何より重要である。

#### 〈肯定的意見〉

- 「実用植物を用いた物質生産制御技術の開発」の研究開発成果は最終目標に到達しており、そのレベルは世界最高水準にあり、将来の植物による工業原料の生産に繋がると考える。また、開発された物質生産制御技術は汎用性も高く、新たな市場の創造も期待できる。研究成果は著名な国際誌にも公表されている。
- 物質生産としての木質バイオマスは重要な研究対象である。その生産性を統括的制御因子を見出すことで制御しようとする方向性は間違っていない。高バイオマス生産性樹木の開発として遺伝子組換え塩耐性樹木が網室栽培実験の段階まで到達していることは評価できる。
- ポリイソプレノイド成分の分析技術を確立して、樹種の品質特定、選抜方法の規格化が出来るようになったことは重要なステップである。
- パラゴムノキについて遺伝子導入に必要な基本的技術は確立していると理解できる。

- 従来の動物由来で生産されていたステロール・トリテルペン類を植物由来のもので代替してゆこうとする方向が見えてきた。動物原料経由によるウイルス汚染などの危険性を払拭するための方法として有効であり方向として評価できる。
- 各課題が、ほぼ計画通り代謝物解析から鍵遺伝子の特定まで進んでおり進展は評価できる。また、具体的目標設定も比較的明確になされており理解しやすい。
- ヒアルロン酸については、タンパク質以外の動物性成分が植物を使って実際に生産できることが示されており植物を扱う者にとって自信を持たせる結果である。
- ユーカリにおいて、生長性、あるいは、ストレス耐性に優れた組換え体を作成され、圃場試験レベルに達していること、また、パラゴム、あるいは、トチュウのトランス型ゴムの生合成に関わる遺伝子が単離され、その生合成活性を向上出来る可能性が示されたことは、今後の実用化において重要な進展といえる。また、それ以外の植物成分に関しても、今後の実用化の可能性のある遺伝子素材が作成されつつあることは評価できる。
- 実用化に向けた基盤的な技術開発を行っており、目標値を十分にクリアしていると考えられる。特に、ユーカリの形質転換技術などは世界最高水準に達していると思われる。今後の発展を期待する。
- 工業原料となり得るような物質を、実用植物に生産させる系を開発するという当初の目的は、一部実施期間中の組織変更などがあったが、概ね目的を達成したと言っても良いように思う。
- 個々の実用植物のうちのいくつかが達成した物質産生能あるいは生理機能の改善は、世界最高水準にあると思われる。環境耐性をあげたユーカリや、トチュウあるいはパラゴムノキに関する研究は、大変高いレベルにある。いずれも、単なる応用研究というよりは、基礎研究を積み上げた上に成り立っている実用植物研究であるから、他の追随をそう簡単には許さないであろう。
- 適切に進められていると思われる。
- 研究の目的上、研究成果を早い段階で一般化することは簡単ではないと思われるが、汎用性の高い技術や成果については、アレイやベクターなど、プロジェクトに参加していない研究者も利用可能になっていることは評価できる。物質生産を実現した実用植物をより広く一般に提示することができれば **GMO** などにも追い風になると思われる。サントリーの青いバラと同様に、企業イメージも決して悪い方向には向かないのではないか。

- 8年という期間で、特に樹木の形質転換について成功を収め、野外試験段階まで進んだことは大きな成果である。

〈問題点・改善すべき点〉

- 可能性がある遺伝子組換え体が作成されたとはいえ、その圃場での評価はまだこれからの段階であり、自然界において実用性をもつかどうかの検証は今後待たなければいけない。圃場実験がきわめて困難であるという我が国の問題はあるが、こうした圃場評価無くして、遺伝子機能の評価は意味をなさないともいえる。特に、成分の改変と成長性、ストレス耐性は密接に関係していることから、圃場レベルでの評価を推進する体制の強化が今後のプロジェクト研究においては不可欠である。
- 市場までは遠いのが残念。基礎研究の成果も「最先端」とは言い難い。
- 各々の有用物質生産制御技術を確立するためには候補遺伝子の遺伝子組換えによる実証が必要であるがその点の進捗状態が不十分である。
- ゴムについても遺伝子組換え樹種からの生産を期待する。
- 他の研究グループとの情報交換、研究の共同乗り入れなどにより進行を加速する必要があると感じる。
- 本プロジェクトの趣旨からは、遺伝子ライブラリーの構築、主動制御遺伝子の特定、遺伝子組換え体による育種へのステップに、是非、挑戦してほしい。
- 高生産性の確立のためには、集積部位への集積関連機構の分子生物学的解析と最適化についても配慮する必要がある。
- カルタヘナ条約によると外国で組換え体を栽培する場合においても、我が国における基準をクリアしている必要があるならば、我が国においても組換え樹木を普及させる努力が必要と思う。
- 個別の研究成果はあがっているが、研究プロジェクト内の横のつながりが不足していたように感じる。企業間でのデータのやりとりなどは難しい面もあるが、このプロジェクトで開発された技術を共有するために、研究手法に関するディスカッションなどをもっと活発化すればよかったのではないかと感じる。
- 実用植物の目標達成は、本プロジェクト開始前から動いていた課題と、このプロジェクトで始まった課題とでは、目標への到達度はかなり異なるのはやむを得ないが、課題毎により達成度が随分異なる印象を受ける。
- 物質生産の制御機構を開発することの重要性は良く判るが、個別の実用植物で開発された技術のどのくらいが、他への応用可能性を持っているのかの検証が足りない。実際には、応用可能性が見えてきた時点で、それぞれ

の技術の普遍性の検証をするプログラムを走らせても良かったのではないか。

- 木本系植物の物質生産能の改善に比べて、特定の物質の増産、蓄積を目標とした実用植物研究の方が、最終成果への到達が困難であるように見える。これは、木本植物の形質転換目標の方が、植物システムの攪乱の度合いが低いことによるのかもしれない。特定の物質の生産だけをいじる方が簡単に思えるが、むしろその方が困難が多いのかもしれないという印象を受けた。このことは、今後の重要な検討課題であろう。
- せっかく実現した、物質生産を制御できる実用植物について、より広範囲の宣伝活動が繰り広げられるのを期待したい。企業イメージなどがあると思われるので、プロジェクトあるいは NEDO が前面にでて、その有用性を広く情報発信することが何より重要である。
- 野外圃場試験の段階での規制体制の整備、また社会受容を待つ部分が大きい、さらに、実用化を目指した選抜を野外試験にて行うべきである。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 失敗した実験事例はほとんど述べられていないが、後続の研究者のためにも、何が問題なのか、何が適切であったのかなどをきちんと検証して報告してほしい。また、形質転換法など独自に開発した技術は論文等で報告し、汎用的な共有財産としてほしい。
- ・ 遺伝子ライブラリーの構築、主動制御遺伝子の特定、遺伝子組換え体による育種への応用は、今後も研究グループ間で密な情報交換、共同研究なども行い研究を加速してほしい。
- ・ いくつかの旧研究組織が解散を余儀なくされたことは残念であったが、後継研究組織への引継ぎは比較的うまく行き成果も出たと思う。
- ・ このプロジェクト全体について言える事だが、物質生産を考える場合、目的生産物の殆どは細胞内で生合成・輸送・集積あるいは分泌の経路を経てプロセスが成り立つ。物質生産の効率化をトータルに実現するためには、その点の配慮が今後なされるべきである。
- ・ ユーカリを材料とする 2 つの競合メーカーが参画し、お互いに競い合ったことは、研究推進にとってメリット、デメリットがあったと思われる。国家プロジェクトとして推進していく上で、このような状況は何度も存在したであろうし、また、今後も起こりうることである。今回、そうした困難さを乗り越え、それなりの成果を両社が達成したが、より協力することにより、より大きな成果が上がったのではないかという期待は大きい。こうしたマネージメントのノウハウの蓄積がなされることを期待する。

- 研究成果の普及については、専門家への情報発信は十分なされているものの、新名 PL の執筆された「植物力ー人類を救うバイオテクノロジー」以外に、一般国民にも理解できるようなパンフレットを作製し、NEDO ウェブサイトに掲載するほか、冊子体として関係機関に配布するなどの工夫が必要である。

## 2) 実用化の見通しに関する評価

ユーカリでは、形質転換等の技術的な問題点をクリアして、樹木では国内最初の野外栽培の段階に入った。トチュウでは、他の追随を許さない基礎研究のレベルに達し、新しいビジネスモデルを見据えた研究の展開はプロジェクト研究の1つのモデルであろう。ややもすると、基礎研究だけで終わり、その後の事業化への展開が立ち消えになってしまうことが危惧される中、このように発展性をもって、事業展開されることは望ましい。また、パラゴムに関しては、その育種に対する期待は大きく、形質転換系が確立されたことの意義は大きい。

しかし、遺伝子組換え植物の社会受容や経済情勢等も絡め、実現にはまだ距離があると考えられる。トチュウでは、ビジネスモデルまで組み立てられているが、それ以外は、まだ、事業化への道のりが遠いと感じられる。

組換えユーカリ以外にも組換え実用植物を隔離圃場で機能評価できる法規制もしくはその運用の緩和が必要である。また、カロチノイドやグリチルリチンなど、個別の代謝産物の産生を目指した研究は、実験室レベルではそれなりの成果になっているように見えるが、実際に野外栽培や工業品として扱えるレベルまではまだ来ていない。遺伝子組換え体を育成し、それによる物質生産を実現するためには長い時間が必要である。目標実現のためには引き続き研究が必要である。

一方、大学と個別企業との間で進められた人材交流については、それなりの効果があったが、実際に長期にわたって人材交流が可能になるような制度設計が必要である。会社からの派遣研究員が大学等で、日常的に応用プログラムを動かし、一方で学生・院生が関連会社で研究を行うことができれば、人材育成には、大変有益である。

このプロジェクトが終わると研究も終了ということにならないよう、研究体制の維持を期待したい。また、技術移転なども積極的に行っていただきたい。

### 〈肯定的意見〉

- トチュウを利用したゴムの生産は実用化が見えている。ぜひ成功させていただきたい。その他の研究プロジェクトも優れた研究成果が得られており、出口のイメージを描くことができる。当初の計画は十分に達成されていると考えられる。
- プロジェクトによって、今後、エリート系統の選抜などを行えば、実用化可能な段階の成果が得られたと考えられる。
- 樹木を用いた研究方向は意図した方向に向かっている。成果はまちまちだが出口に向かった成果が得られていると評価できる。
- 樹木以外の有用物質生産については実用化が非常に近く期待が持てる。

- トチュウに見られるように、新しいビジネスモデルを見据えた研究の展開はプロジェクト研究の1つのモデルであろう。ややもすると、基礎研究だけで終わり、その後の事業化への展開が立ち消えになってしまうことが危惧される中、このように発展性をもって、事業展開されることは望ましい。
- 特定の遺伝子や複数の遺伝子を導入した物質生産制御技術は、植物科学の進展に貢献するだけでなく、新たな組換え実用植物の開発に利用できる。開発された技術は知的基盤の価値は高く、他の実用植物への応用という波及効果も高い。本プロジェクトの推進で、有能な若手研究者の雇用が図られており、世界水準の研究を経験することで人材育成にも貢献したと言える。
- 個々の実用植物については、実用化イメージ・出口イメージは明確と思われる。実際に実用化できるかどうかは、経済情勢等も絡んだ話しになると思われるが、社会に実際にものを出すということが、ナショナルプロジェクトとしての重要な作業であろう。
- 生産した物質自体が持つ波及効果は当然それがあることを前提として組まれたプロジェクトと理解している。
- 個々の実用植物で開発された技術について、一般化可能な技術がどの程度あるのか、それらの波及効果があるのかは、尚不明な点が多い。
- 大学と個別企業との間で進められた人材交流については、それなりの効果があったものと思われる。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- トチュウでは、ビジネスモデルまで組み立てられているが、それ以外は、まだ、事業化への道のりが遠いと感じられる。遺伝子機能が推定されたことから、パラゴムのようにクローン化された植物では、その育種が進展することが期待される。同様に、パルプ用エリート樹木の育種も大きな進展が期待される。単に、遺伝子組換え育種だけを指向するのではなく、より実現性のある展開が計画に包含されてくることを期待している。
- 遺伝子組換え体を育成し、それによる物質生産を実現するためには長い時間が必要である。目標実現のためには引き続く研究が必要である。
- このプロジェクトにより蓄積されたノウハウや、育成された人材の有効活用を願う。新たなプロジェクトの実施などにより、この成果を発展させてほしい。
- 代謝産物の産生・蓄積能の増大は、実験室レベルではそれなりの成果になっているように見えるが、実際に野外栽培や工業品として扱えるレベルまではまだ来ていない。本プロジェクトは、標品を最終出口まで持っていく

ということが目的ではないので、そのことは問題とは思わないが、想定とは異なるタイムコースで研究が進んだのはどうしてかという検証は必要なのではないか。

- 人材交流、特に大学と企業との間で実際に長期にわたって人材交流が可能になるような制度設計が必要である。
- 8年間というプロジェクト期間はそれなりの長さを持つてはいるが、それでもPDなどが、地位不安定なまま働くのでは、技術や情報の蓄積が難しい。会社からの派遣研究員が大学等で、日常的に応用プログラムを動かし、一方で学生・院生が関連会社で研究を行うことができれば、人材育成には、大変有益だと思われる。
- 研究成果の普及については、専門家への情報発信は十分なされているものの、新名PLの執筆された「植物カー人類を救うバイオテクノロジー」以外に、一般国民にも理解できるようなパンフレット版を作製し、NEDOウェブサイトなどに掲載するほか、冊子体として関係機関に配布するなどの工夫が必要である。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 本プロジェクトの本来の目標は、遺伝子組換え体を育成し、それによる物質生産の成果を期待するものであるとすると、実現にはまだ距離があると考えられる部分もある。しかし、実現したときの効果は大きいので、本プロジェクトにより方向付けられた後継プロジェクトが立ち上がることを期待している。
- ・ 本プロジェクト終了後に継続性のある研究開発を民間企業に求めるならば、行政として、連続的な支援あるいはプロジェクトを実施していくことが重要である。
- ・ 組換えユーカリの隔離圃場試験は、樹木では国内最初のものである。世界最高基準の実用植物を用いた物質生産制御技術の開発に成功しているのであるから、組換えユーカリ以外にも組換え実用植物の隔離圃場試験の実績がほしかった。
- ・ このプロジェクトが終わると研究も終了ということにならないよう、研究体制の維持を期待したい。また、技術移転なども積極的に行っていただきたい。



### 3) 今後に対する提言

樹木の形質転換による有用物質生産の研究開発については、ぜひ、継続した開発をお願いしたい。また、グリチルリチン、アスタキサンチン、ヒアルロン酸等の有用物質生産は必ずしも圃場での栽培が必要ではなく、品質管理という観点からは、むしろ植物工場等での栽培管理が必要と考えられ、より制御した環境下での栽培により生産性の向上も期待出来る。適当な遺伝子汚染防止策さえ講じれば国内栽培が可能と考えられ、より総合的な研究開発が望まれる。

一方、遺伝子組換え植物の実用化に向けた環境影響性評価試験など日本国内での環境整備が不十分であり、国民への啓発活動も不足している。多くの国民は仮想のリスクにのみ脅かされて、遺伝子組換え技術がもたらす有用性を理解できないでいる。正しい理解のためには国レベルでの説明戦略が必要である。このプロジェクトを「範」として分析し、NEDO および経済産業省などが指導力を発揮して、実用化するための環境整備や法的措置を期待する。

#### 〈今後に対する提言〉

- ・ 遺伝子組換え植物の実用化に向けた、安全性試験など日本国内での環境整備が不十分である。国民への啓蒙活動も不足している。NEDO および経済産業省などが指導力を発揮して、実用化するための環境整備や法的措置を行っていただきたい。
- ・ 樹木の形質転換による有用物質生産の研究開発については、ぜひ、継続した開発をお願いしたい。
- ・ 高い生長性やストレス耐性の樹木の育成に有望な遺伝子が単離され、今後の展開に期待がもてるが、これらの評価は実験室レベルの評価に近く、今後は、より実際の栽培環境で行う必要がある。特に、実際の栽培条件では、複数の環境要因の関与が想定され、より多くの環境での評価が不可欠である。
- ・ パラゴムに関しては、その育種に対する期待は大きく、形質転換系が確立されたことの意義は大きい。今後、既に確立されているエリート株等を活用することにより、遺伝子機能の更なる評価と利用が進むことを期待したい。
- ・ カンゾウのグリチルリチンやアスタキサンチン、ヒアルロン酸生産に関しても一定の成果が認められるが、実用化には、まだ、課題は多いと考えられる。これらの植物成分の場合には、かならずしも圃場での栽培が必要ではない、あるいは、品質管理という観点からすれば、むしろ、植物工場等での栽培管理が必要と考えられる。この場合、より制御した環境下での栽培により、より生産性の向上も期待できる。より総合的な研究開発が望ま

れる。

- 遺伝子組換えにより形質転換した樹木の国内での実用化は難しいかもしれない。しかし、グリチルリチン、アスタキサンチン、ヒアルロン酸等の有用物質生産は実用農作物での生産が可能である。
- 適当な遺伝子汚染防止策さえ講じれば国内栽培が可能と考えられる。NEDO は積極的に国内栽培可能な施設整備などを支援すべきだ。
- 実用化シナリオに基づき、開発した物質生産制御技術を実用植物に応用して組換え植物を開発し、隔離圃場試験、一般圃場試験を経て、セルロース等製紙原材料、植物油脂を原材料とする燃料、塗料、化粧品、メバロン酸系の制御による天然ゴム等の生産増大を図り、工業原料となるバイオマスの安定供給体制を構築してほしいものである。そして、植物によるグリーンイノベーションに貢献すべきである。
- 日本製紙、王子製紙によるユーカリの形質転換は、技術的な問題点をクリアし、野外栽培の段階に入っているという成果は素晴らしい。一方、これら形質転換体が実際に経済的に有用なレベルに到達するのかどうかは、しっかり検証する必要がある。
- トチュウの研究は、実用植物の物質生産制御研究というよりは、基礎研究としても、他の追随を許さないレベルに達していると思われる。このような研究が、実際に製品生産のためにどのくらい必要かは、はっきりはしないが、将来的な応用可能性を広げるためには、大変有効な蓄積となったと思われる。パラゴムノキの研究も、十分にレベルの高いものであった。いずれも、今後の経済的有用性の詳細を知りたい。
- カロチノイドやグリチルリチンなど、個別の代謝産物の産生を目指した研究は、成果が実用レベルに達するには、尚、苦労が多いというイメージを持った。これが、物質固有の性質に依存するのか、そもそも代謝過程をいじることが難しいのかは、本プロジェクトの最重要課題でもあることから、より詳細な検証をしておいてもらいたい。それが、今後の形質転換植物による物質生産技術の開発に最も必要な作業と思われる。
- 本プロジェクトでは、実用植物の研究といえども、物質生産制御技術の開発に主眼が置かれているので、産生するようになった物質の経済性を、投入された研究費との関係で検討することには、あまり大きな意味があるようには思えない。それ以上に、複数の実用植物研究の中からどれだけの汎用性のある技術が確立したのか、あるいは、袋小路に向かう可能性がある目標設定を避けるための共通の認識を得ることができたか。または、どこを乗り越えれば経済的に有用な物質生産につなげることができるのかなどを明らかにすることが大事であり、それらの理解を一般化することが、

ナショナルプロジェクトとしての責務と思われる。

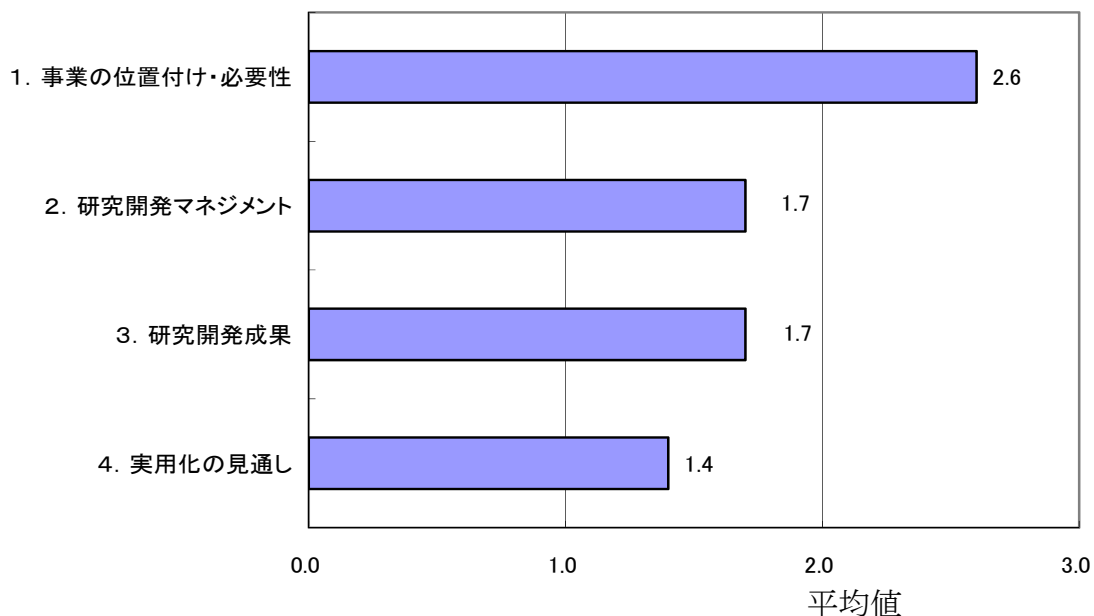
- このプロジェクトを「範」として分析し、今後の国家プロジェクトの在り方を考えて欲しい。

〈その他の意見〉

- 一般的[中期目標]は数値化されているので、その点を取り入れて欲しい。
- 多くの国民は仮想のリスクにのみ脅かされて、遺伝子組換え技術がもたらす有用性を理解できないでいる。正しい理解のためには国レベルでの説明戦略が必要である。
- 論文発表数が少ないと感じる。研究成果の一般へのアピールなどの啓蒙活動も不足していると思う。

### 3. 評点結果

#### 3. 1 プロジェクト全体



評価項目	平均値	素点 (注)							
		A	A	B	B	A	B	A	
1. 事業の位置付け・必要性について	2.6	A	A	B	B	A	B	A	
2. 研究開発マネジメントについて	1.7	B	B	B	C	B	C	B	
3. 研究開発成果について	1.7	B	B	B	C	B	C	B	
4. 実用化の見通しについて	1.4	B	B	B	C	C	C	C	

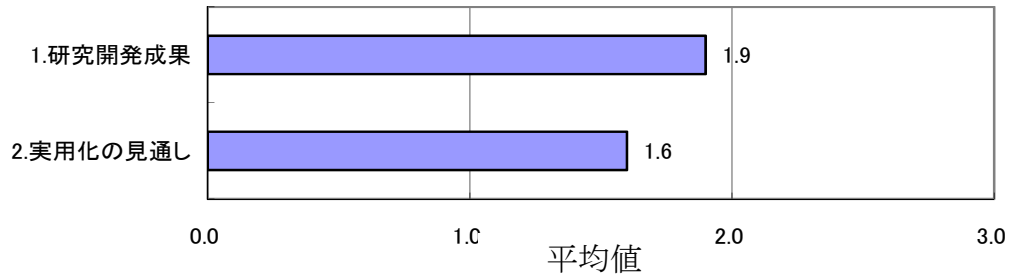
(注) A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

#### 〈判定基準〉

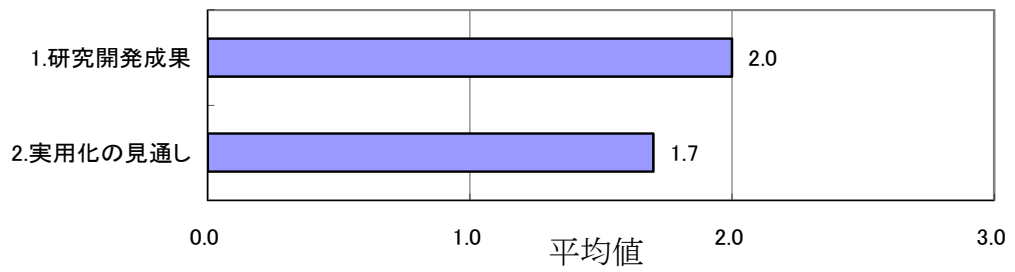
1. 事業の位置付け・必要性について	3. 研究開発成果について
・非常に重要 →A	・非常によい →A
・重要 →B	・よい →B
・概ね妥当 →C	・概ね妥当 →C
・妥当性がない、又は失われた →D	・妥当とはいえない →D
2. 研究開発マネジメントについて	4. 実用化の見通しについて
・非常によい →A	・明確 →A
・よい →B	・妥当 →B
・概ね適切 →C	・概ね妥当であるが、課題あり →C
・適切とはいえない →D	・見通しが不明 →D

### 3. 2 個別テーマ

#### 3. 2. 1 モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析



#### 3. 2. 2 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発



個別テーマ名と評価項目	平均値	素点（注）							
3. 2. 1 モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析									
1. 研究開発成果について	1.9	B	C	C	B	B	A	B	
2. 実用化の見通しについて	1.6	B	C	C	C	B	B	B	
3. 2. 2 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発									
1. 研究開発成果について	2.0	C	B	C	B	A	A	B	
2. 実用化の見通しについて	1.7	B	C	C	B	B	B	B	

（注）A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

〈判定基準〉

1. 研究開発成果について

- ・非常によい
- ・よい
- ・概ね適切
- ・適切とはいえない

2. 実用化の見通しについて

- A ・明確
- B ・妥当
- C ・概ね妥当であるが、課題あり
- D ・見通しが不明

## 第2章 評価対象プロジェクト

1. 事業原簿

次ページより、当該事業の事業原簿を示す。



植物機能を活用した高度モノづくり基盤技術開発  
「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発プロジェクト」

事業原簿【公開】

担当部	独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 バイオテクノロジー・医療技術部
-----	--

## 目次

### 概要

#### プロジェクト用語集

#### I. 事業の位置付け・必要性について

1. NEDOの関与の必要性・制度への適合性	I-1
1.1 NEDOが関与することの意義	-1
1.2 実施の効果（費用対効果）	-3
2. 事業の背景・目的・位置づけ	-3
2.1 事業の背景	-3
2.2 事業の目的	-4
2.3 事業の位置づけ	-5

#### II. 研究開発マネジメントについて

1. 事業の目標	II-1
2. 事業の計画内容	-2
2.1 研究開発の内容	-2
2.2 研究開発の実施体制	-58
2.3 研究の運営管理	-59
2.4 研究開発成果の実用化、事業化に向けたマネジメントの妥当性	-61
3. 情勢変化への対応	-61
4. 中間評価結果への対応	-66
5. 評価に関する事項	-83

#### III. 研究開発成果について

1. 事業全体の成果	III-1
1.1 目標に対する達成度	-1
1.2 事業全体の成果概要	-1
2. 研究開発項目毎の成果	-3
2.1 目標に対する達成度	-3
2.2 研究開発項目毎の成果の詳細	-25
2.3 年度毎の特許、論文、外部発表等	-211

#### IV. 実用化の見通しについて

1. 事業全体の見通し	IV-1
2. 研究開発項目毎の見通し	-1

#### (添付資料)

1. イノベーションプログラム基本計画
2. プロジェクト基本計画
3. 技術戦略マップ（分野別技術ロードマップ）
4. 論文リスト
5. 成果発表・広報リスト

概 要

		作成日	2010/07/12							
制度・施策（プログラム）名	環境安心イノベーションプログラム									
事業（プロジェクト）名	植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発	プロジェクト番号	P02001							
担当推進部/担当者	バイオテクノロジー・医療技術開発部／長谷川義基									
0. 事業の概要	工業原料を効率的に生産する植物を創成する技術を開発する。									
I. 事業の位置付け・必要性について	従来の石油を原料とする化学プロセスから植物の生産物を原料とする製造プロセスへと産業構造の変換を図るものである。省エネルギー、省資源、CO <sub>2</sub> 削減等、循環型社会を目指す技術開発であり緊急度は高い。しかし、植物の遺伝子組換え技術を合理的に駆使することを基幹とするが、実用植物の遺伝子組換え技術はまだ十分に発展しておらず、産業界の自発的研究のみでは間に合わない。そのため国が主導して大学の基盤技術も利用する形で早急に取り組む必要がある。									
II. 研究開発マネジメントについて										
事業の目標	モデル植物と特定の実用植物を用い、物質生産系を解析し（cDNA 取得・解析、物質生産経路・機能解析、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析）、作成した統合データベースを活用して、目的とする工業原料を、適当な部位・時期に、適当な量を効率的に生産させる技術基盤を構築する。									
事業の計画内容	主な実施事項	H14fy	H15fy	H16fy	H17fy	H18fy	H19fy	H20fy	H21fy	
	①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析 1) cDNA の取得及び解析 2) 物質生産系の経路と機能の解析 3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析 4) 統合データベースの作成									
事業の計画内容	②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発 1) cDNA の取得及び解析 2) 物質生産系の経路と機能の解析 3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析 4) 目的物質生産に関する遺伝子等の解析 5) モデル植物や実用植物を用いた確認試験									
開発予算 （会計・勘定別に事業費の実績額を記載） （単位：百万円）  契約種類：委託	会計・勘定	H14fy	H15fy	H16fy	H17fy	H18fy	H19fy	H20fy	H21fy	総額
	一般会計								389	389
	特別会計（需給）	880	835	769	819	808	618	556	0	5,773
	加速予算	0	27	50	161	40	139	71	38	526
	総予算額	880	862	819	934	848	719	598	427	6,200
開発体制	経産省担当原課	経済産業省製造産業局生物化学産業課								
	プロジェクトリーダー サブプロジェクトリーダー サブプロジェクトリーダー	奈良先端科学技術大学院大学 新名惇彦 教授（現 副学長） 地球環境産業技術研究機構 富澤健一 主席研究員（～H18fy） かざさ DNA 研究所 柴田大輔 チームディレクター（現 部長）（H18fy～）								
	委託先（*委託先が管理法人的の場合は参加企業数も記載）	バイオテクノロジー開発技術研究組合＜参加 10 社：タカラバイオ株式会社（～H17fy）、株式会社東洋紡総合研究所（現東洋紡績株式会社）、株式会社海洋バイオテクノロジー研究所（H20fy～キリンホールディングス株式会社）、株式会社植物工学研究所（～H16fy）、日本製紙株式会社（共同実施先：筑波大（H16fy～））、株式会社常磐植物化学研究所（共同実施先：千葉大、岐阜薬科大（～H18fy）、岩手医科大（H20fy）、日本大（H18fy～））、日立造船株式会社（共同実施先：大阪大、九州大、西北農林科技大）、株式会社ブリヂストン（共同実施先：大阪大、九州大、BPPT）、味の素株式会社（～H18fy）、王子製紙株式会社（共同実施先：京都								

		大、東北大) >、事務局 (再委託先: 石川県立大 (~H20fy) 東北大、大阪府立大、日本大 (~H17fy)、東京工業大、京都大 (~H18fy)、千葉大、東京農工大、奈良先端大)、(共同実施先: 奈良先端大 (H15fy~))、財団法人地球環境産業技術研究機構 (RITE) (共同実施先: 大阪大、奈良先端大 (~H17fy)、名古屋市立大、名古屋大 (~H17fy)、愛知学院大 (~H17fy)、京都府立大、京都大 (~H17fy)、関西学院大 (~H17fy))、(再委託先: 中電CTI (~H18fy))、財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所、独立行政法人産業技術総合研究所
情勢変化への対応	<p>急速な分析機器の進歩に対応するため、およびカルタヘナ法に対応するために加速財源で、分析機器や GM 植物栽培のための施設の整備を行った。その結果、実用植物における研究が促進され、基盤研究グループとの連携を強化した。</p> <p>キメラリプレッサーを用いた遺伝子発現制御技術が基礎研究段階から実用段階に適用可能となったことから、16 年度より、独立行政法人産業技術総合研究所において同技術を用いた植物物質生産に関与する転写因子の機能解明を開始した。</p> <p>16 年度末で植物工学研究所が解散となったため、一部テーマを海洋バイオ研究所で引き継いだ。19 年度末で海洋バイオ研究所が解散となったため、テーマをキリンホールディングスで引き継いだ。</p>	
中間評価結果への対応	<p>プロジェクト全体に関する評価に対する対応、個別テーマ毎に関する評価に対する対応ともに、可能な部分から速やかに対応した。実用植物グループ内での積極的な連携及び実用植物グループとモデル植物グループとの積極的な連携が図れるよう、プロジェクトリーダーの強いリーダーシップの下、H17 年度中に連携すべき研究課題を設定し、それらのグループが定期的に情報交換できる場として、研究開発委員会とテーマ毎の分科会を設けた。それらの活動により得られた具体的な連携課題や体制を H18 年度以降の実施方針および実施計画に反映した。実用化を念頭に置いて、本プロジェクトで達成すべき物質生産の効率の目標を明確にし、その達成のための課題抽出及び達成の可能性を H17 年度中に見極めた。さらに国際的な重要性を評価し、その結果を基に、特に実用化のための基盤技術開発を支援できないテーマを実施している大学等への資金投入をやめる等 H18 年度以降、メリハリのある資金配分を実施した。</p>	
評価に関する事項	事前評価	なし
	中間評価	17 年度 中間評価実施
	事後評価	22 年度 事後評価実施
Ⅲ. 研究開発成果について	<p><b>1. 事業全体</b> 植物科学もポストゲノム時代に入り、ゲノム、転写物、タンパク質、代謝物産物の網羅的解析が原理的には可能になった。しかし、植物による工業原料生産の実用化を目指すとき、工業原料を生産する実用植物で直接網羅的解析から始めるには、まだデータの蓄積が乏しかった。そこでまず、全ゲノム配列が解読されたシロイヌナズナのゲノム情報を活用して、遺伝子の挙動と代謝物産物の相関をできるだけ詳細に解析した。また、植物の遺伝的多様性を解析することも重要であると考えられ、プロジェクト期間中に全ゲノム解読が終了と予想されていた各種の植物種も比較対照とした。一方、工業原料生産を目指す、それぞれの実用植物のそれぞれの代謝産物については、シロイヌナズナなどでの成果を有機的に活用するとの観点から、プロジェクトを組み立て、実用技術の基盤整備を行い、当初目的の実用植物による有用物質生産を達成した。</p> <p><b>2. 個別テーマ</b> ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析 <u>(1) 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析 (かずさDNA研)</u> <u>A. cDNAの取得及び解析</u> ミヤコグサ完全長 cDNA 解読を 800 クローンを追加して解読し、プロジェクト内部で公開した。アカシアマンギウムに関しては、京都大学梅澤研究室と共同して解析を進め、約 1 万個の EST 解読を行い、2,784 個 contig と 3,468 個の Singleton を得た。これらの Blast 解析を行い、配列情報を公的データベースへ登録した。これらの解析技術を各企業が対象とする実用植物、ユーカリ、トチュウ、バラゴムノキ、カンゾウに適用し、cDNA を取得して目的の有用物質生産に繋げた。 <u>B. 物質生産系の経路と機能解析</u> 1. 遺伝子発現プロファイリング 従来の Agilent 社のシロイヌナズナ DNA アレイに加えて、搭載遺伝子の種類の異なる Affymetrix 社の DNA チップをかずさ DNA 研究所が整備した装置を用いて行ない、総数 507 回の解析を行なった。また、日立造船からの依頼でトチュウの DNA アレイのデザインを行い、</p>	

トチュウ DNA アレイの解析を行った（総数 103 回のアレイ実験）。パラゴムノキの DNA アレイ解析に関して、ブリヂストンに対して技術支援を行い、総数 88 回のアレイ実験をおこなった。ミヤコグサのトランスクリプトーム分析は総数 20 回の実験を行った。

## 2. 代謝産物プロファイリング

総数 13,050 回の CE-MS アニオン分析、総数 10,883 回の CE-MS カチオン分析、総数 8,297 回の GC-MS 分析、総数 460 回の LC-IT-MS 分析を行った。また、平成 17 年度加速財源により整備した UPLC-Q-TOF-MS を用いた分析では、総数 6,374 回の分析を行ない、研究を加速した。かずさ DNA 研究所が整備した最新型質量分析装置 LC-FT-MS においても総数 1,604 回の分析を行った。FT-IR では、総数 198 遺伝子を個別に導入した系統に関する解析を行なった。日本製紙から依頼されたユウカリ・グロビュラス、カマルドレンシスの形質転換植物体のグリシンペタインの定量分析を行った。平成 19 年度に加速財源により整備した高分子化合物の分子量を分析可能な液体クロマトグラフィー解析システム（GPC-MALS）を加速資金で整備し、ヒアルロン酸生成系遺伝子を導入したシロイヌナズナ組換え体について総数 230 回の分析をおこなった。さらに、ポリイソブレンの標準品を用いて、種々の分析条件を検討した（分析回数 173 回）。

### C. 物質生産系における調節遺伝子等の機能解析

キリン HD(旧海洋バイオ研究所)との共同研究において、カロテノイド合成に関わる遺伝子を多重連結し、総数 21 種類のベクターの作製に成功した。これらの多重連結ベクターを用いて、組換え体細胞系統および組換え体植物系統を作製した。東洋紡のヒアルロン酸生成に関与する 3 種の遺伝子について総数 24 種類の多重連結コンストラクトを作製した。常磐植物化学のグリチルリチンカロテノイド合成に関わる 3 つの関連遺伝子を多重連結し、総数 10 種類のベクターの作製に成功した。実用化研究グループがターゲットとしている代謝制御に関わる鍵遺伝子として、本プロジェクトで整備した遺伝子発現プロファイリングデータ、代謝産物プロファイリングデータをシステムズバイオロジーの手法により解析して、転写因子などをコードする遺伝子の特定を進め、平成 17 年度までに整備した代謝経路遺伝子過剰発現系統や新たに作製した系統を用いて、トランスクリプトーム、メタボローム解析を進めた。モデル植物の遺伝子を工業原材料植物で有効利用する基礎データを得る目的で、シロイヌナズナ、ミヤコグサ、トマトで、オルソログ遺伝子間の発現レベルを比較解析し、類似性や差異のある遺伝子群を見だし、遺伝子レベルでの違いを解析した。産総研(高木 G)が進めている CRES-T システムの中で、代謝に関連する転写因子を選び出し、DNA アレイデータ解析結果から総数 198 サンプルのメタボローム解析を行った。

### D. 統合データベースの作成

毎年、更新して、最終的に KaPPA-View4 を完成させ、一般に公開した。KaPPA-View4 では、遺伝子相関の表示、多種植物間での比較、4 つまでの代謝地図の表示など多彩な機能を搭載している。また、初期バージョンに比べて代謝地図がかなり早く表示できる。KaPPA-View4 についてもプロジェクト終了後に論文として発表する予定である。トランスクリプトーム、メタボロームデータベースの作成、オミクスデータ解析のためのソフト開発を行った。メタボロームデータ管理のシステムとして、分析データ管理システム (AIDA) を構築した。メタボロームデータベースの一部として、標準代謝物質データベース (DS standard) および、分析結果のデータベース (MassBase) を構築した。LC-MS ピーク解析ソフト BulkMSGet、GC-MS ピーク解析ソフト FragmentAlignBatch を開発した。標品として所有しているフラボノイド化合物の LC-FT-ICR-MS スペクトルの測定を positive, negative mode の両方でを行い、MS/MS スペクトルにおけるフラグメンテーションの帰属を行い、MS-MS Fragment Viewer を開発した。

### (2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)

生育ステージと日周変化に伴う遺伝子発現と代謝物解析を実施し、いずれも顕著に変動することが明らかになった。またレポーター遺伝子を用いた主要なアミノ酸合成遺伝子発現解析のための形質転換体を作出した（～平成 16 年度）

遺伝子発現と代謝物解析からアミノ酸含量調節に関与すると考えられた遺伝子を抽出しその過剰発現株を作出した。なかでもグルタミン酸グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ過剰発現株はアミノ酸含量が大幅に増加し、グルタチオンや有機酸類の増加が認められた。この他グルタミン酸合成酵素、MYB 型転写因子の過剰発現によりアミノ酸の蓄積量を変化させ得ることを明らかにした。また遺伝子発現と代謝物解析からアミノ酸含量制御に植物ホルモンが関与することを明らかにした。（～18 年度）

### (3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)

無傷オルガネラの単離法の確立と葉緑体遺伝子発現における核様体構造の解析として、葉緑体の代謝産物と代謝酵素を網羅するために必要な葉緑体の植物生葉からの単離法を確立した。葉緑体遺伝子発現における核様体構造の評価をするために、シロイヌナズナの葉緑体から単離した核様体を用いて DNaseI 感受性試験を実施し、*psbD* 遺伝子プロモーター周辺で領域によって核様体の凝集度が異なることが明らかとなった。

葉緑体遺伝子発現転写過程での制御として、葉緑体に局在して葉緑体遺伝子の発現制御に関わる候補タンパク質をシロイヌナズナ葉緑体より 11 種同定した。葉緑体 RNA ポリメラーゼの機能解析としては、RpoTmp が、発芽後初期段階での葉緑体発達に関わっていることを明らかにした。また、PEP をコア酵素を含む画分とシグマ因子を含む画分に分画して調製することに世界で初めて成功した。転写因子の機能解析では、葉緑体シグマ因子のうち 3 種のシグマ因子の機能を解明した。葉緑体転写因子を利用した発現制御技術の開発では、組み換え遺伝子の発現レベルを SIG5 を使って人為的に制御できる可能性を示した。また、葉緑体プロモーターのカタログ化を行い、種子の登熟過程で特異的に活性化されるプロモーター、胚珠および葯で高い活性を維持するプロモーターなどを同定した。

葉緑体遺伝子発現翻訳過程での制御では、タバコ葉緑体 *in vitro* 翻訳活性を約 100 倍に改良し、短時間で高感度の翻訳効率の測定が可能となった。この系を用いて、翻訳効率の高い葉緑体 mRNA を選出し、翻訳シス配列に変異を導入し、翻訳効率を測定した。また、組織特異的な翻訳調節シス配列の候補を見いだした。

タバコとエンドウの RNA エディティング部位を明らかにした。また、RNA エディティングに必要なシス配列とトランス因子を検出した。有用遺伝子のコード領域設計のため、同義コドン間の翻訳効率を実験的に解析し、同義コドンの使用頻度と翻訳効率が必ずしも一致しないことを明らかにした。5'非翻訳領域とコード領域の組み合わせが翻訳効率に与える影響について、*in vitro*での解析を行い、コード領域も翻訳効率に大きく関与することを見出した。終止コドンおよびその下流配列の特徴を抽出し、各種終止コドン・下流領域を設計し、翻訳効率を測定した。

代謝系のメタボローム解析として、モノリス型キャピラリーHPLC カラムシステムを分離手段としたマイクロ HPLC システムを構築し、従来型 LC-MS システムの 100 倍超の高感度を達成した。微量高感度・高解像度の定性・定量検出系の開発を行った。また、GC-MS による親水性低分子化合物のプロファイリングシステムを開発し、データマイニングシステムも開発した。

基幹代謝系操作・改良技術開発では、LC-MS、CE-MS を用いた代謝フィンガープリンティングおよび炭素フロー測定技術を開発した。また開発した手法を用いて葉緑体内における炭素フローを測定し、炭素フロー律速ステップを見出した。

基幹代謝系関連遺伝子データベースの構築では、葉緑体関連情報検索ポータルサイトの開発とサブプロジェクト研究成果共有システムの構築を行った。また、光合成関連遺伝子約 50 種の転写開始点を決定した。

基幹代謝改変植物作出のため、葉緑体を中心とした物質生産経路に関する情報を収集整理し、公開した。

基幹代謝系のプロテオミクスでは、総計 550 種のシロイヌナズナの葉緑体タンパク質を同定し、光合成関連タンパク質の同定をほぼ終了した。シロイヌナズナ葉緑体遺伝子のトランスクリプトーム解析のために、葉緑体マイクロ・マクロゲノムアレイの作製を行った。

基幹代謝系改変植物の作出では、海洋性細菌由来の遺伝子 *crtZ*, *crtW* を葉緑体ゲノムに導入し発現させることにより、野生株タバコでは生成しないケトカロテノイド「アスタキサンチン」を葉内に高蓄積する組換え体を開発し、蓄積量が既報文献値の 4-5 倍に上る株を開発した。また、翻訳活性化によるアスタキサンチン含量のさらなる増加を図ることを目的とし、*crtZ* および *crtW* mRNA の翻訳に適した 5'非翻訳領域を選定した。

#### (4) 遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイの開発および遺伝子発現制御技術の開発とデータベース化 (タカラバイオ)

シロイヌナズナの遺伝子特異的 DNA マイクロアレイの設計技術の開発を行い、全遺伝子規模の設計を達成した。次に、特異性の評価をホモロジーの度合いが異なる様々な配列を搭載したテストアレイを用いて行い、1 枚のアレイで遺伝子特異的に全遺伝子規模で発現の検出が可能で高感度 cDNA マイクロアレイを完成した。本技術を利用したマイクロアレイは、平成 17 年度に事業化した。また、アレイ用に増幅した DNA 断片を利用した遺伝子発現ノックダウンの系を開発した。さらに、開発したマイクロアレイで、細胞壁関連遺伝子の調節因子の候補を探索し、平成 17 年度に鍵遺伝子と考えられる遺伝子を見つけた。統合データベース作成においては、DNA マイクロアレイ情報とゲノム配列や公開転写物配列より作成した重なりのない転写配列情報を関連付けたデータベースの作成を行い、プロジェクト内に公開した。平成 17 年度に、アレイの配布に合わせて更新を行うと同時に、一般に用いられるゲノムビューワに連携表示できるように拡張し、平成 18 年度からはかずさ DNA 研究所の統合データベースに組み入れて運用した。

#### (5) 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (産総研)

シロイヌナズナのゲノムデータベース等を基にして転写因子遺伝子の *in silico* 同定、分子系統解析、種間比較解析、発現プロファイル解析等を行い、選抜した遺伝子の cDNA クローニング及び形質転換体の作製と形質変化等の解析を行った。シロイヌナズナ培養細胞の過剰発現体において、代謝系制御機能推定の基盤となる 63 遺伝子分、176 枚のマイクロアレイデータを取得した。転写因子過剰発現植物体での機能解析によって、バイオマス生産の増大、渇水耐性

の向上、老化遅延、収穫後鮮度維持の向上といった、実用植物での物質生産・バイオマス生産の増大・効率化への有用性が期待される転写因子を見出した。

キメラリプレッサーを用いてシロイヌナズナのフェニルプロパノイド系代謝経路、脂質代謝経路、シキミ酸経路のそれぞれの経路に関わる転写因子の探索を行い、リグニン合成を抑制したNST1 キメラリプレッサー発現体で医薬原料となるアルカロイド合成系を活性化していること、5-メチルトリプトファン耐性を指標としてカマレキシン合成経路に関わる転写因子、抗がん作用があると報告されているグルコシノレート生産量を増加させる転写因子キメラリプレッサー、およびヒアルロン酸合成を増加させるキメラリプレッサーを同定した。

## ②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

### (1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化 (日本製紙)

製紙用の実用品種であるユーカリ・グロビュラスへの遺伝子導入方法を改良し、6種類(高成長性、高バルブ化適性、耐塩性、耐寒性、耐乾燥性、高バイオマス生産性)の遺伝子を導入した。合計1,200個以上の組換え体の不定芽を取得し、増殖・発根能力等による候補系統の選定を行い、各種実用性の評価試験を行った。4種類の組換え系統について、特定網室での生物多様性影響評価試験を実施し、先行している耐塩性組換えユーカリについては、第一種使用申請の認可を得て、隔離ほ場での野外栽培による生物多様性影響評価試験を実施している。また、ユーカリ・クローンからの不定芽分化促進に、ホルモン遺伝子の利用が効果的であることを確認した。

### (2) 循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の開発 (王子製紙)

実用植物ユーカリを用いた木質バイオマス生産制御、向上を目的として、ユーカリ樹幹内での各種組織をサンプルにカスタムユーカリオリゴアレイによる発現解析を行い、「木質成分合成及び木繊維形成に関与する遺伝子群、および制御因子遺伝子群」の候補を絞り込み、ユーカリ由来の細胞壁形成に関わる転写因子遺伝子を単離し、これをユーカリに導入することにより、生長性に優れ、セルロース含量向上、繊維長向上といった高バイオマス生産に適する遺伝子組換えユーカリの作出に成功した。

### (3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発 (日立造船)

温帯圏で唯一大量のゴム(トランス型ゴム)を産生するトチュウについて、中国との共同研究で遺伝資源の確保、ゴム高産生能精英樹の選抜、変異体の分析を実施、組換え体栽培の基礎を構築した。トチュウのEST解析を実施し、ゴム産生遺伝子(TIDS)の機能評価をモデル植物と実用植物で行い国際特許を出願した。更に、トチュウ組換え体による過剰発現により、ゴムの3倍増産、RNA干渉による制御に成功した。タバコでの異種生物のゴム産生を確認することを世界で初めて成功した。また、リアルスペクトルイメージング顕微鏡により細胞内ゴム蓄積機序を非破壊で観察する手法の開発やDNAマイクロアレイによりゴム産生と同時に働く遺伝子や転写因子などを発見し、世界に先駆けてトランス型ゴム生産機構を解明した。

### (4) パラゴムノキのゴム生産制御技術の開発 (ブリヂストン)

インドネシアBPPT(科学技術評価応用庁)と共同研究体制を構築した。葯および未熟種子由来カルスを培養し不定胚経て植物体を高頻度に再生させる系を確立した。また、アグロバクテリウムを用いた形質転換系の確立を試み、レポーター遺伝子の一過的発現を指標に形質転換効率の向上をはかり形質転換細胞・形質転換体植物の取得に成功した。ラテックス生産部位と非生産部位の完全長cDNAライブラリー、ESTライブラリーを作成しそれらを統合して世界最大規模のunigene化転写情報ライブラリーを作成し、同時にライブラリー情報に基づきマイクロアレイを作成した。次に、組織染色や免疫電顕などの手法を用いて組織観察を行い、ゴムの生合成部位および生合成様式(開始点および速度)を明らかにし、その情報に基づいてマイクロアレイを用いた転写解析を実施し、ゴムの生合成に関与すると考えられる遺伝子の絞込みに成功した。プロテオーム解析も実施し、ゴム生合成の場であるゴム粒子に存在するタンパク質群を明らかにした。さらに、ラテックス非ゴム成分の中で特に産業上重要な老化防止剤であるビタミンE(トコトリエノール)の生合成に関与する遺伝子を取得した。ゴム生産モデル植物ペリプロカを用いた形質転換による機能確認実験で取得された遺伝子が確かにパラゴムノキのトコトリエノール生合成遺伝子であることを世界で始めて証明した。

### (5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発 (常磐植物化学研究所)

ウラルカンゾウ肥大根茎をから56,000クローンのcDNAを解読し、約10,000の重複しない配列を得た。このESTを元にBLAST解析を行い、β-アミリン以降グリチルリチンに至る推定生合成経路に関与すると思われる酸化還元酵素遺伝子37クローンと糖転位酵素遺伝子35クローンをピックアップした。この中から、β-アミリンからグリチルレチン酸への変換に関わる2種の酸化還元酵素遺伝子、GuCYP88D6遺伝子並びにCYP-A21遺伝子(仮称)を取得した。配糖化反応については、グリチルレチン酸モノグルクロニドを基質としてグルクロン酸1分子を付加する配糖化遺伝子を単離した。肥大根茎より成分を抽出、LC-MSによるノンターゲット分析を行い、目的成分であるグリチルリチンおよび生合成関連成分であるリコリスサポニン類を含め、約100のピークを解析、分子量より該当する化合物を推定した。形質転換植物によるグリチルリチン生産を目的として、ウラルカンゾウの植物体再分化技術を

	<p>確立した。また、カンゾウ由来遺伝子 <i>GuCYP88D6</i> 及び <i>CYP-A21</i> をダイズに導入し、ダイズ種子中でのグリチルリチン生合成中間体生産に成功した。</p> <p><b>(6) ステロイド生産制御技術の開発 (植物工学研究所)</b></p> <p>アマの形質転換系を確立し、マーカー (GUS) 遺伝子が導入された形質転換体を得ることができた。そのほか <i>HMGR</i> 遺伝子が導入された形質転換体、ステロイド生産のための有用遺伝子が導入された形質転換体を得た。昆虫由来イソプレノイド代謝系の植物への応用を目的に、カイコのプロステロールエポキシド・リアーゼ遺伝子、プロステロールエポキシダーゼ遺伝子を単離した。ユーホルピア由来の <i>HMGR</i> 遺伝子を導入したシロイヌナズナ形質転換体ではステロール含量が最大 3 倍増加していることが明らかになった。同様にアマに <i>HMGR</i> 遺伝子を導入して種子油中の総ステロール含量が対照の約 1.5 倍増加している個体が見いだされた。</p> <p><b>(7) カロテノイド生産制御技術の開発 (キリンホールディングス (海洋バイオ研究所))</b></p> <p>シロイヌナズナ培養細胞 T87 を用いてカロテノイド合成の鍵遺伝子の同定を行った。イソプレノイド関連代謝物の網羅的解析を NMR、HPLC/PDA/MS、GC/MS などで行い、約 50 個の脂溶性代謝物を同定した。アスタキサンチン等のカロテノイド合成の鍵遺伝子を同定しその機能が最適化した <i>crtW</i>、<i>crtZ</i>、<i>idi</i> 遺伝子を含む最大 7 個の多重遺伝子発現用プラスミドを 10 種類以上、かずさ DNA 研と共同して作製した。これらのプラスミドにより形質転換された実用植物 (ナタネ、アマ等) を加速財源により設置した石川県立大学の特定網室等を用いて増殖させ、その葉や種子について、カロテノイド代謝関連遺伝子の発現解析やカロテノイド関連代謝物の解析を実施した。平成 20 年に構築した多重のカロテノイド合成遺伝子発現用プラスミド 6 種類を導入したナタネ (キャノーラ; 品種 Westar) の形質転換体のうち、すべての導入遺伝子を保持する幼植物を多数 (50 株以上) 単離し、1 コピーの株を 19 株得た。これらのうち 14 株がノルフルラゾン耐性 (<i>crtI</i> 遺伝子の高発現の指標) を示した。これらの形質転換体の種子について色素分析を行ったところ、多くが 1 mg/g (湿重量) の総カロテノイド (アスタキサンチンや <math>\beta</math>-クリプトキサンチンを含む) を生産していることがわかり、1 mg/g 湿重量以上のカロテノイド生産という目標を達成した。また、当初計画にはないが、アスタキサンチン合成遺伝子 (<i>crtW</i> 及び <i>crtZ</i>) により葉緑体が形質転換されたレタスの作出を行った。その葉を用いて色素分析を行ったところ、全カロテノイドの 38% がアスタキサンチンであり、70% が非組換え体には存在しないケトカロテノイドであり、世界最高水準の含有率を達成した。</p> <p><b>(8) 外来糖質生産植物の研究開発 (東洋紡)</b></p> <p>植物の糖質の合成経路を活用し、植物細胞内でヒアルロン酸合成酵素 (HAS) を発現させることにより、植物に存在しないヒアルロン酸合成経路を構築したモデル植物を作製し、植物におけるヒアルロン酸生産能を検証した。さらに、ヒアルロン酸合成経路の鍵酵素として着目したグルタミン:フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ (GFAT) および UDP-グルコース脱水素酵素 (Ugd) の遺伝子を HAS 遺伝子に加えた三重遺伝子を導入することにより、タバコ形質転換体の葉におけるヒアルロン酸生産能はコスト的に微生物法を凌ぐ目標レベル 0.1% を達成した。これらの知見を基に、実用植物として選定したジャガイモの塊茎においてヒアルロン酸が効率的に生産可能なことも検証された。</p> <p><b>(9) 総合調査研究 (バイオ組合)</b></p> <p>研究開発委員会・分科会の設置と開催、関連技術動向の情報収集、再委託・共同研究先との契約締結、基盤研究室等への研究員派遣によるモデル植物及び実用植物の解析を行った。</p>	
	投稿論文	「査読付き」321 件、「その他」59 件 (2010.04.30)
	特許	「出願済」75 件、「登録」1 件、「実施」1 件 (うち国際出願 15 件)
	その他の外部発表 (プレス発表等)	プレス発表・新聞報道等 30 件 学会・シンポジウム等発表 1,018 件
IV. 実用化の見通しについて	<p><b>1. 事業全体</b></p> <p>本プロジェクトの大目標は工業原料の生産に、過去の太陽エネルギーの産物である化石資源に依存せず、現在の太陽エネルギーの産物である植物資源を利用する技術開発である。植物による工業原料の生産が一部でも実用化に成功すれば、その波及効果は大きく、多くの工業原料に影響を及ぼし、加速的に実用化開発が促進されるものと期待される。これを実現するために、従来のピンポイント式の有用遺伝子の植物への導入ではなく、ポストゲノム時代に対応し、モデル植物でゲノム・転写物・代謝産物を網羅的解析し、論理的に鍵となる代謝反応を突き止め、これを実用植物に応用する体制を取っている。これらの基盤技術は単独でも食料増産、工業原料・機能性物質の生産に実用化される可能性がある。</p> <p>我国の消費者は遺伝子組換え植物に対して拒否反応を示している傾向があり、実用化における重要な制限因子の一つとなっている。このため、情報公開、研究初期からの環境・生態系への安全性試験に取り組んでいる。また、安全性試験を終えた後に遺伝子組換え植物の栽培を行っている海外で実用化することを視野に入れている。</p>	



## 2. 個別テーマ

### ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

(1) 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析 (かずさDNA研)  
植物による物質生産に関わる基盤リソースの整備と植物物質生産機能の解析の成果は、プロジェクト参画企業での実用化研究とそれに引き続く事業化に貢献すると考えられる。

#### (2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)

アミノ酸の多くは発酵法により生産されているが、化石燃料や植物由来の糖源を使用していることから、植物によるアミノ酸生産への転換は次世代技術として期待されている。また効率的なアミノ酸生産は植物の生育改善に繋がることが期待される。一方で現行の発酵によるアミノ酸製法は極めて効率がよく低コストで達成されており、代替技術の開発にはこれまで得られた知見を活用し、より包括的なアミノ酸合成システムの改変と実用作物での評価が必要である。

#### (3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)

葉緑体を対象に、物質生産プロセスの解析 (タンパク質、メタボローム)、葉緑体への遺伝子導入技術、遺伝子発現の翻訳/転写過程での制御、光合成産物であるソースをそれぞれの工業原料に対応するシンク部分に特化した形で流すための代謝改変手法の確立、データベース整備などを行い、基幹代謝系改良モデル植物の作出に、前倒しで着手に至っており、総論として、実用化へのステップを着実に歩みつつある。また、葉緑体の物質生産に関する知的基盤整備を通じての公共的貢献が達成される見込みである。

#### (4) 遺伝子特異的cDNAマイクロアレイの開発および細胞特異的遺伝子発現解析技術の開発とデータベース化 (タカラバイオ)

平成17年度には、研究開発を終了し、商業ベースで高品質・低価格のDNAマイクロアレイを製造・販売する体制を整え、受託サービスとして事業化した。また、遺伝子特異的フラグメント作製技術を応用したノックダウン植物作製受託事業も開始した。

#### (5) 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (産総研)

転写因子の過剰発現あるいはキメラリプレッサー過剰発現によって物質生産系、成長・分化、ストレス応答等の有用形質の改変による物質生産プロセス制御の基盤技術開発の情報基盤、技術基盤となる知見を得た。企業等との共同研究や技術供与により実用植物への適用性の検証、利用技術の開発等を推進することで、実用化の加速が見込まれる。特にナタネではより早期の実用化が期待される。

### ②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

#### (1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化 (日本製紙)

製紙用原材料であるユーカリの生産性を改良し、原材料を効率的に確保するために、日本製紙が保有する独自の技術を利用し、耐塩性を付与した組換えユーカリの開発に成功している。さらに、筑波大学と共同で加速財源により設置した特定網室および隔離ほ場での生物多様性影響評価試験を実施し、日本国内における環境アセスメント作りに貢献している。実用化に向け、組換え樹木の試験植林候補地を調査中である。

#### (2) 木質バイオマス統括的生産制御技術の開発 (王子製紙)

高セルロース、低リグニン、細胞壁厚や繊維長の改変された組換えユーカリを作出し、クローン植林により大規模に育成することによって、セルロースを核にしたバイオマスの安定的供給が可能となる。

#### (3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発 (日立造船)

本プロジェクトの基盤技術開発により生化学の7不思議とされた複雑な生合成経路を網羅的に解析することが可能となり、グリーンサステイナブルケミカル原料 (特にナフサの代替) として、工業原料ケミカル、触融反応による代替燃料 (ジェット燃料の代替)、菓粒類の生産、健康食品、ひいては農業生産までもが計画的に制御され、目的にあった工業原料、有用成分や香味等の創出が可能となり、トチュウ生産は工業原料生産として新規産業に発展すると考えられる。

#### (4) パラゴムのゴム生産制御技術の開発 (プリヂェストン)

形質転換個体作出技術の最適化を行った後、インドネシア BPPT において、機能確認に成功したビタミン E の生合成遺伝子など実用的な遺伝子を導入したパラゴムノキの形質転換体の作出に集中して実験を行う。さらに BPPT において隔離温室を利用した形質手転換体の評価試験から栽培申請までの手続きを実施した後、本格的な実用化に移行する予定である。パラゴムノキの形質転換による優良品種は、第2世代以降への形質の継承を確認し、農園へ展開していく。

#### (5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発 (常磐植物化学研究所)

本研究によって得られる成果は以下に結びつくものと期待される。  
グリチルリチン高生産性品種や含有成分改変品種の販売や抽出素材生産、サポニン配糖体類の販売あるいは配合製品製造販売、遺伝子組換え植物の栽培についての許認可獲得、新規成分の有効性試験および安全性試験等、グリチルリチン抽出素材の品質及び価格の安定化、新規有効成分を配合した医薬品、健康食品による人々の健康維持とともに、栽培あるいは培養による生産の普及により自生地での乱獲が少なくなり砂漠化が抑制される。

	<p><b>(6) ステロイド生産制御技術の開発 (植物工学研究所)</b>  アマ等の植物でスクワレンやコレステロールの高生産系を確立することにより、これらスクワレン等のステロール原材料の安全で安定的供給が可能になる。これに加え、生理活性を有するステロール関連物質の高生産系確立などの波及効果が期待される。</p> <p><b>(7) カロテノイド生産制御技術の開発 (キリンホールディングス (海洋バイオ研究所))</b>  アスタキサンチンは、養殖魚飼料や健康食品素材として有用性がはっきりしておりニーズが高いが、従来の生物資源では製造コストがかかるため、天然物の供給量は全体の5%程度である。本研究開発により植物の油性組織で高生産することを通して安価で多量にアスタキサンチン等の有用カロテノイド色素を供給することができれば、世界で年間200億円以上の市場に有利に参入することが可能になるだけでなく、強力な抗過酸化添加剤としての工業用油脂への適用等、新たな工業的用途開発も期待される。</p> <p><b>(8) 外来糖質生産植物の研究開発 (東洋紡)</b>  ヒアルロン酸は、化粧品素材、医薬品原料として長年利用されているが、近年、食品分野においても注目され、健康食品としての需要も急増している。現在、国内の年間生産量は10トンを超え、市場は拡大している。植物によるヒアルロン酸の大量生産が可能になれば、コスト面や安全面から、新たな需要が広がり、市場全体の活性化等の波及効果が期待される。</p> <p><b>(9) 総合調査研究 (バイオ組合)</b>  総合調査研究はプロジェクト運営の円滑化・効率化を行うものであり、それ自身での実用化・事業化は想定していない。再委託テーマの成果は、公共財として利用が図られるべく積極的に発信している。</p>	
V. 基本計画に関する事項	作成時期	平成14年3月制定
	変更履歴	基本計画の改訂履歴 (1) 平成14年3月、制定。 (2) 平成15年3月、2. (1) 研究開発実施体制にプロジェクトリーダー名を追記。 (3) 平成16年3月、独立行政法人移行に伴い、法人名、略称、根拠法等に関する記述、及び評価の実施時期を改訂。 (4) 平成18年3月、プロジェクト名を(生物機能活用型循環産業システム創造プログラム)「植物機能利用工業原料生産技術開発/植物利用エネルギー使用合理化工業原料生産技術開発(生産プロセス制御等技術開発)」から(生物機能活用型循環産業システム創造プログラム・省エネルギー技術開発プログラム/植物機能を活用した高度モノづくり基盤技術開発)「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」に変更。 (5) 平成20年3月、1. (1) 研究開発の目的に最新の情勢の変化を追記。プロジェクトリーダーの所属を変更。 (6) 平成20年7月、イノベーションプログラム基本計画の制定により、「(1) 研究開発の目的」の記載を改訂。

## プロジェクト用語集 I (植物名、微生物名編)

### ・アカシア(*Acacia* spp.)

マメ科アカシア属植物の総称。代表的な熱帯早生樹。ユーカリに比べ土壌条件を問わず成長が旺盛で、パルプ用材として広く用いられている。熱帯アジア、オーストラリア、南米を中心に主に低緯度地方に分布する。熱帯の林木として重要な *Acacia mangium*, *A. auriculiformis* の他、観賞用、薪炭用、タンニンなどの二次代謝産物資源などとして利用されている。林木としては *A. mangium* と *A. auriculiformis* との種間雑種が材質や成長力の点で両親よりも優れているものがあるために、優良個体を挿し木でクローン増殖し植林に利用されている。

### ・アマ

アマ (学名 : *Linum sitatissimum* L. 英名 : *flax*) は、ふうろそう目亜麻科に属する中央アジア原産の一年生草本で、繊維の原料および工業原料であるリノレン酸生産に利用されている。種子生産量は平均して 1 t/ha であり、種子中の含油量は 40% であることから、400kg/ha のオイル生産が可能である。さらに、コレステロールを蓄積することが知られている。油の絞りかすは飼料にする。繊維の原料のアマはヨーロッパで主に生産されロープ、麻袋、服地、紙幣に用いられている。近年になって遺伝子導入の技術が応用されるようになってきた。

### ・ *Erwinia uredovora*

*Pantoea ananatis* を参照。

### ・カンゾウ (*Glycyrrhiza* spp.)

中国東北部からスペインにかけて自生するマメ科の多年生草本植物で、その肥大根及び地下茎に甘味配糖体であるグリチルリチン(*glycyrrhizin*)を含有する。*Glycyrrhiza* 属には約 40 種が属するが、このうち生薬として用いられるのがウラルカンゾウ(*G. uralensis*)及びスペインカンゾウ(*G. glabra*)の 2 種で、この他にチョウカカンゾウ(*G. inflata*) がグリチルリチンの抽出材料として用いられている。近年、乱獲による品質低下が問題となっており、主要産国である中国は自生地保護のための輸出制限を開始した。このため、品質向上と安定供給を目的とした品種開発や栽培技術開発が緊急の課題となっている。

### ・シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)

アブラナ科の一年性植物。世代サイクルが短い(世代時間 約 6 週間) こと、ゲノムサイズが小さい(約 100Mb) こと、形質転換が容易なことなどから、モデル植物として利用されている。2000 年に全塩基配列が決定されたことから、モデル植物としての意義はますます高まっている。

### ・ジャガイモ

南米原産のナス科ナス属の植物 (英名 : *potato*、学名 : *Solanum tuberosum* L.)。食用となるのは地下の塊茎である。用途は生食用、加工用、工業用途を含むデンプン用である。

### ・ゼニゴケ

地球上に広く分布するコケ植物の一種であり、進化上「最初の陸上植物」と考えられている。最初に葉緑体、ミトコンドリアゲノムの全塩基配列が決定された植物種でもある。性染色体を有する雌雄異株植物であることから、性決定、生殖器官分化などの研究に用いられている。近年、ゲノミック・ライブラリーが構築されるとともに形質転換法が確立されたため、遺伝子機能の解析が可能になった。また、高等植物には見られないアラキドン酸、エイコサペンタエン酸などの高度不飽和脂肪酸を多く含み、脂肪酸生合成酵素の遺伝子資源として注目されている。

### ・ダイズ

マメ科の一年草（学名 *Glycine max*）で原産地については諸説ある。植物の中では唯一肉に匹敵するだけの蛋白質を含有することから「畑の肉」ともよばれる。蛋白質以外にも豊富な栄養分を含有することから、食用および飼料用として重要な作物である。

### ・タバコ

ナス科植物。ニコチンを生産する。再分化、形質転換が容易なので、形質転換体が非常に容易にできる。植物も大きいので材料が十分量得られる。ただし、世代時間が3~4月と長いという問題がある。

### ・トチュウ（杜仲：*Eucommia ulmoides* Oliver)

中国四川省を原産とする落葉性の喬木で、樹高20mに達する。雌雄異株で性判断は開花するまで判らない。染色体数は $2n=34$ で1科1属1種の固有種である。栽培面積は中国で約370kha、本邦では約3khaである。樹皮は生薬として利用され日本では局方に指定されている。葉は杜仲茶として食品に加工されている。本邦には20世紀の初めに、海底ケーブル用のゴムやゴルフボール・歯科原料として導入された。また、電気絶縁性に優れており絶縁材としても利用されている。最近では、中国政府がタイヤやギブスの原料としての利用価値を創成している。

### ・ナタネ

*Brassica napus*, *B.juncea*, *B.rapa*などのブラシカ属の油糧作物の総称。*B.napus*は、ヨーロッパ、カナダ、中国が主な産地で、国際的な種子会社により育種が進められている。カナダでは、作付面積の70%以上が除草剤耐性の遺伝子組換えナタネである。また、優性不稔を利用したハイブリッド品種の開発も進んでいる。種子重のおよそ40%が脂質で、オレイン酸含量が高いことがナタネ油の特徴である。組織培養、形質転換は比較的容易である。

### ・ニンジン

アフガニスタンの原産でセリ科ニンジン属に属する（英名：carot 学名：*Daucus carota* L.）。食用部位は根である。

### ・パラゴムノキ(*Hevea brasiliensis*)

トウダイグサ科の広葉樹。ブラジル原産であるが、現在ではゴムを採取するため、東南アジア

や南太平洋地域で多く造樹されている。樹幹に傷を付けて得られる樹液「ラテックス」から天然ゴムが得られるが、現在市販されている天然ゴムの99%がパラゴムノキから得られたものであるという。

・ *Pantoea ananatis*

カロテノイドを合成する黄色の土壌細菌であり、グラム陰性の $\gamma$ -プロテオバクテリア綱に属する。従来は *Erwinia uredovora* と呼ばれていた。本細菌が有するカロテノイド生合成遺伝子群はファルネシルニリン酸 (FPP) からゼアキサンチン配糖体までの合成酵素をコードしており、その機能は世界で最初に解明された。

・ *Paracoccus* 属 N81106 株

アスタキサンチンを合成する赤色の海洋細菌であり、グラム陰性の $\alpha$ -プロテオバクテリア綱に属する。従来は *Agrobacterium aurantiacum* と呼ばれていた。本細菌が有するカロテノイド生合成遺伝子群は FPP からアスタキサンチン配糖体までの合成酵素をコードしており、アスタキサンチン合成の鍵となるカロテノイドケトラーゼ遺伝子 (*crtW*) を含んでいる。

・ *Haematococcus pluvialis*

強力な抗酸化力をもつカロテノイドであるアスタキサンチンを合成する緑藻の一種である。健康食品としてのアスタキサンチンは、この緑藻を用いて富士化学工業 (株) やヤマハ発動機 (株) 等により生産されている。

・ ペリプロカ

ペリプロカ属は、ガガイモ科に属し、熱帯域に12種分布する。半木性で1年生の茎葉はツル性で高さは1m以上になる。2年枝以降は匍匐して拡散して栄養繁殖する。地下茎は栄養器官となり肥大する。代表的な種は *Priploca sepium* である。この種の特徴として、1年生の新梢または茎葉を切断すると乳液が涎流する。乳液に含まれる炭化水素が可燃性であるため、歴史的に万里の長城の燈火台連絡用薪炭の可燃誘導植物原料として利用された。乳液に強心配糖体 (ペリプロシン) やサポニンを含み、毒性作用を有することから山羊や羊からの捕食を回避する。作用は中枢系へのアゴニストとして働く。また、生薬用途として用いられ、生薬名をコウカヒ (香加皮) と呼ぶ。薬剤の部位は乾燥した根皮である。薬効としてはリュウマチ性関節炎などの主治として丸剤として用いている。

・ ミヤコグサ

マメ科植物で形質転換可能であるが、種子は小さい。マメ科植物のモデル植物として最近研究が盛んになっている。ゲノムサイズが小さく、世代時間も短い。かずさ DNA 研究所でゲノム解析が2008年に終了した。

・ ユーカリ (*Eucalyptus* spp.)

オーストラリアを中心とするオセアニア地域に500種以上が自生する多種属植物であり、多くが

成長性に優れること、様々な環境に適応性があること、深刻な害虫被害が少ないこと、さらに産業的には木材生産、パルプ生産、薪炭材の生産に適していることから、世界各地で植林がなされている。1990年の国連食糧農業機関の調べでは、世界中で推計1千万ヘクタール、熱帯地域の人工林面積の約1/4にユーカリが植栽されており、世界の主要植林樹木となっている。

主要な品種としてはユーカリ・グロビュラス (*Eucalyptus globulus*、日本名ユーカリノキ。英名 Tasmanian Blue Gum) とユーカリ・カマルドレンシス (*Eucalyptus camaldulensis*、日本名はセキザイユーカリ。英名 Red River Gum) があり、前者は容積重が重く、パルプ適性が高いため、日本の製紙会社が植林を行っているチリ、オーストラリア等の温帯の植林地において、最も重要な植林木として活発に植栽されている。しかしながら、植林適地は狭く、場所によっては生育が劣ることが問題となり、環境ストレス耐性の付与が望まれている。培養が困難であるだけでなく、挿し木増殖も困難で、世界的にも形質転換体作出の成功例は極めて少ない。一方後者は熱帯から温帯の各国で広く植林に使用されている。広範な気候条件に耐え、耐塩性も高いとの報告がある。ユーカリの中では培養が比較的容易で、形質転換の成功例も多い。

#### ・ユーフォルビア(*Euphorbiaceae*)

トウダイグサ科、高木、低木または草本。しばしば植物体に乳液がある。主として熱帯に多くパラゴムノキはその1例。アカメガシワ、アブラギリ、シラキやハナキリンなども同じ科の植物である。

あ行

・アスタキサンチン

カニ、エビの甲殻類に多いカロテノイドの一つ（分子量 596.85）である。遊離状態やタンパク質と結合した色素タンパク質として存在するが、加熱などによって容易に分解して赤色を呈する。アスタキサンチンは、従来は着色用の食品添加物として使われることが多かったが、抗酸化作用が強いという報告が 1980 年代に相次ぎ、今では機能性食品として注目されており、世界で 200 億円以上の市場がある。これまで、オキアミや酵母がアスタキサンチンの原料として利用されてきたが、含量の高い微細藻類を培養して、商業規模に生産する方法が主流になっている。

・RNAi

RNA 干渉 (RNA interference) のことで、2 本鎖 RNA を細胞に導入すると、その RNA に相同な RNA が分解される現象。この仕組みを利用して、遺伝子をロックアウトして、機能を調べることができる。しかし、全ての遺伝子がこの方法でロックアウトできるわけではない。植物でも RNAi がアンチセンス法よりも効率良く遺伝子発現を抑制できることが知られている。

・RNA エディティング

転写された RNA 前駆体の特定の位置にヌクレオチドが挿入あるいは欠失したり、特定のヌクレオチドだけが他のヌクレオチドに変換する現象。葉緑体では、トウモロコシで 27 箇所、タバコで 34 箇所のエディティング部位が確認されている。大部分のエディティングは、タンパク質コード領域内で常にタンパク質配列の生物間種での保存性を高める方向へアミノ酸置換を引き起こすことから、エディティングは機能的に重要であると考えられる。また、翻訳開始コドンを生じる場合や、アミノ酸置換を生じないサイレントなエディティングも知られている。

・遺伝子特異的マイクロアレイ

DNA マイクロアレイは、数百から一万種類以上に及ぶ遺伝子の DNA 断片をスライドガラス等の基板上に数平方センチメートルの範囲内で整列固定したものである。膨大な数の遺伝子発現の状態を一度の操作で解析することができる画期的なツールである。これまでの cDNA を用いた DNA マイクロアレイでは、他遺伝子との無関係な結合に起因する特異性の低さが問題視されているが、他遺伝子に対して最もホモロジーの低い遺伝子領域を選択するプログラム及び特異性を高める解析条件を採用することにより完成した遺伝子特異的 DNA マイクロアレイは、上記の問題点を克服し、信頼性の高い遺伝子発現の解析結果を得ることができる。

・EIA

酵素免疫測定法(enzyme immunoassay)の略。特定の酵素で標識した抗体を用い、対応する抗原を測定する方法で、サンドイッチ法等を用い、目的の物質を高感度で測定する。サンドイッチ法によるヒアルロン酸測定法では、抗体の代わりにヒアルロン酸結合タンパク質を固相に結合させた後、試料中のヒアルロン酸を反応させて捕捉し、酵素標識したヒアルロン酸結合タン

パク質を更に結合させ、標識酵素の反応でヒアルロン酸を測定する。

#### ・イソプレノイド

イソプレン(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)を炭素骨格の基本単位とする一群の天然有機化合物の総称であり、テルペン、テルペノイドとも呼ばれる。炭素骨格の数により、モノテルペン(C<sub>10</sub>)、セスキテルペン(C<sub>15</sub>)、ジテルペン(C<sub>20</sub>)、トリテルペン(C<sub>30</sub>)・・・などとも分類されるが、ビタミン-A, -D, -E やコレステロール等の各種ステロイド類、カロテノイド、ドリコール、天然ゴムなど、23,000 種以上にも及ぶ著しい構造の多様性を示す化合物群である。構造の一部にイソプレン構造を持つ複合テルペンとして、クロロフィル、ビタミンK、ユビキノン (コエンザイム Q<sub>10</sub>) 等もあり、古くから香料の原料や医薬品などに用いられているものも多い。

#### ・ *in silico*

生物、細胞、生体物質など解析する対象物を直接扱わずにコンピュータを用いて計算によって予測解析を行うこと。例えば、遺伝子や cDNA のクローニングを行わずにゲノムデータベースの塩基配列情報から特定のタンパク質をコードする遺伝子を予測し、その配列情報を基にタンパク質の構造や分子機能を予測する場合などに用いられる。

#### ・エチレン

植物ホルモンの一つ。通常条件では気体。傷害応答や感染防御応答など、ストレス応答に関与していることがよく知られている。その他、老化の誘導、果実の登熟、実生のフックの形成、発芽促進、葉の上編生長、避陰反応など様々な生理作用が知られている。

#### ・エリシター

植物に感染や食害などに対する防御応答を誘導する生体物質の総称。オリゴ糖やペプチド、脂質など様々な微生物由来の物質が主であるが、植物由来のものも知られている。最近では、重金属や化学物質など非生物学的な物質も含めて、植物に様々な生体防御応答を誘導する刺激を広くエリシターと呼ぶこともある。多くのエリシターが、植物に二次代謝系の誘導など顕著な代謝変動を引き起こすことが知られている。

#### ・オレアナン骨格

2,3-オキシドスクアレンが閉環して生合成される多様なトリテルペン骨格群の一つ。他にバツカラン、ルパンなどの骨格があるが、植物に含まれるトリテルペンの多くは、オレアナン骨格を有する。

### か行

#### ・核様体

色素体 DNA (葉緑体 DNA) は、色素体の中では様々な DNA 結合タンパク質とともにコンパクトな複合体を構成している。この複合体を核様体と呼ぶ。核様体は、色素体 DNA の複製、転写、分配における機能的な単位となっている。核様体の存在様式 (形状や数、存在部位など)



は、色素体分化の過程で大きく変化する。この核様体の存在様式の変化は、色素体 DNA の複製・転写機能の変化と密接に関係していると考えられているが、詳細は不明である。

#### ・カロテノイド

緑色植物、カビ、酵母、きのこ、細菌などが作る黄～赤～紫の色素成分であって、化学構造的には炭素数が 40 前後で、多数の二重結合を含み、対称に近い形をとっている。また、トマトに多く含まれるリコペンを原型とし、分子の両端の閉環、酸素化などにより数百種類以上の色素が知られている。カロテノイドは一般に抗酸化作用があり、機能性食品やサプリメントの機能性成分として注目されている。

#### ・キメラ (周縁キメラ)

複数の遺伝的に異なる細胞群よりなる個体。キメラはその構造から周縁キメラ、部分キメラ、区分キメラに分けられ、接ぎ木のほかに偶発的あるいは放射線照射による体細胞変異や薬品処理による染色体倍化によって作成されている。植物の組織は、3つの細胞層 (L1,L2,L3) より構成されている。これらの細胞層ごとに異なる性質を持つ周縁キメラは産業的価値が高いが、周縁キメラ個体が得られる確率は極めて低い。

#### ・キメラリプレッサー

転写因子に転写抑制ドメインを付加して、転写抑制因子 (リプレッサー) に機能変換したものの。これを形質転換植物で発現させると内在の転写因子に優先して標的遺伝子の発現が抑制される。その結果、転写因子の機能喪失型(loss-of-function)変異株と同様な表現型が現れることが期待される。

#### ・グリチルリチン

カンゾウの主成分で、トリテルペノイドサポニンの一種。肥大根及び地下茎に乾燥重量あたり 5~10%含有される。強い甘味をもつため、甘味料として用いる他、抗炎症作用、抗アレルギー作用、肝細胞障害抑制作用、さらにウイルス増殖抑制など多くの薬理作用が報告されている。

#### ・グリシンベタイン

トリメチルグリシン、または単にベタインとも呼ばれる。グリシンの窒素が 4 級アンモニウムの形までメチル化した構造を持つ、双性イオンの一種である。多くの生物体内に存在し、特にテンサイ (ビート) や塩生植物であるシチメンソウに多く含まれる。細胞外高浸透圧を調整する作用や変性条件下におけるタンパク質の構造安定化作用があることが知られている。遺伝子組換えによりこの物質を多く蓄積したモデル植物で、耐塩性や低温耐性が付与されたとの報告がある。

#### ・グルタミン:フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ(GFAT)

EC 2.1.1.22. 以下の反応を触媒する酵素で、逆反応は触媒しない。

D-フルクトース 6-リン酸+L-グルタミン→D-グルコサミン 6-リン酸+L-グルタミン酸

哺乳動物細胞および微生物においては、UDP- D-*N*-アセチルグルコサミンに至るヘキソサミン合成経路の鍵酵素と考えられている。植物においても本酵素は存在し、本酵素の反応がアミノ酸代謝経路からの窒素の入口になる。ヒアルロン酸合成酵素を有するクロレラウイルスにおいても、ゲノム上に本酵素をコードする遺伝子がヒアルロン酸合成酵素遺伝子の近傍に存在する。

- **clade**

分岐群ともいう。分子系統樹において、ある一つの分岐点を起点にした場合のその末端側の分岐の枝の集合体。

- **Gateway エントリーベクター**

Gateway システムと呼ばれる汎用ベクター系で用いる cDNA をクローニングするためのベクター。一度、エントリーベクターに組み込んだ cDNA は、Gateway システムに対応した各種の発現ベクターに制限酵素切断やライゲーション反応などを経ずに容易に移し替えることができる。

- **ケトカロテノイド**

4位の炭素がケト化されたβ環をもつカロテノイドのことで、アスタキサンチン、アドニキサンチン、カンタキサンチン、エキネノン等が含まれる。アスタキサンチンやカンタキサンチンの化学合成品は養殖魚の色揚げ剤として広く用いられている。

- **GO\_term**

従来、ある生命現象を記述する場合、異なる分野や研究者の視点によって同一の言葉で表されることがきわめて少なく、情報の共有化が困難であった。この問題を解決するために、生命現象を概念的な同一性でもって捉え、それらを GO\_term として定義・分類するプロジェクトが多くモデル生物で進行している。GO は Gene Ontology の略である。

## さ行

- **ジーンサイレンシング**

遺伝子の発現がゲノムレベル、転写レベルおよび翻訳レベルで抑制される現象で、特に植物バイオテクノロジーの分野では、植物へ導入した外来遺伝子の発現が意図せず抑制されることを指す。また、人為的に目的とする遺伝子をジーンサイレンシングする方法として、アンチセンス DNA/RNA 法、RNA 干渉(RNAi)等がある。

- **σ 因子**

原核型 RNA ポリメラーゼ PEP のプロモータ認識と転写開始に関わる制御因子。原核生物は一般に複数のσ因子を持ち、それぞれが異なったプロモータを認識する。従って、σ因子の使い分けが転写制御の中心機構となる。高等植物葉緑体も複数のσ因子を持っているが、それぞれのシグマ因子のプロモータ認識性や機能分担についてはよくわかっていない。

### ・ジャスモン酸

植物ホルモンの一つ。メチルエステルは、ジャスモンの香気成分として単離され、傷害応答や感染防御応答など、ストレス応答に関与していることがよく知られている。その他、生長阻害、老化の促進、クロロフィルの分解、種子の発芽阻害、花粉の成熟、葯の開裂、開花、塊茎形成など様々な生理作用が知られている。

### ・ステロール

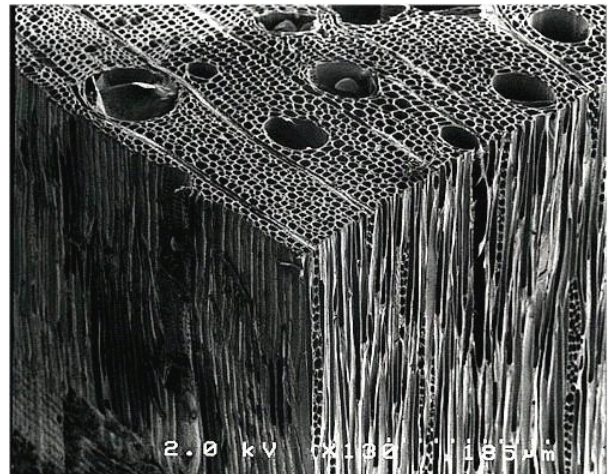
多くの植物でアセチル CoA, スクワレン経で生合成され、植物生理活性物質であるブラシノステロイド等の前駆物質である。

### ・ストロン

地表または地下を水平に這う茎。その先端や節から芽や根を出して若苗が増殖する。ランナー、あるいは匍匐茎と呼ばれることもある。

### ・接線径、放射径

木材には三つの方向がある。道管の孔と年輪が見える横断面(写真上部)、下のほうに放射組織の横縞が見える放射断面(写真下、左側)、細胞の豆が入った'さや'状の放射柔組織が縦に走る接線断面(写真下、右側)。写真はこの三つを一度に見たものである。横断面にあいた穴は、正規の道管である道管要素と、少し小さめの繊維状道管である。その隙間を放射柔組織と軸方向柔組織が埋めている。放射柔組織は接線断面で横断面に垂直に走り、横断面では接線断面に垂直に走っている。放射断面では下部のように縞状に見え、組織の位置関係がはっきりわかる。軸方向柔組織は材に平行にできており、横断面では丸く断面に、接線断面と放射断面では縦線状に見える。各断面の縦線状で計測される道管の直径をそれぞれ、接線径、放射径と呼ぶ。



### ・セルロース

炭水化物の一種であり、植物の細胞壁を構成する主成分である天然高分子化合物。水や熱水に溶けない。また、人間は消化管内で分解することができない。

### ・ソヤサポニン

トリテルペン配糖体の一種で、主にダイズの種子中に含まれる。高い抗酸化活性やウイルス感染阻止効果など、ヒトの健康維持に関する種々の生理活性が知られている。

た行

### ・TAC ベクター (Transformation competent artificial chromosome ベクター)

植物への長鎖遺伝子導入を目的に開発されたベクター。アグロバクテリウム法を用い 80kbp を越える DNA 分子を導入することが可能であるため、一度に多重遺伝子を導入するのに適している。セクションマーカーとしてハイグロマイシン耐性遺伝子を持つ。

### ・DNase I 感受性

染色体 DNA の DNA 分解酵素 (DNase I) に対する反応性。染色体 DNA は通常、ヒストンと共にヌクレオソームを形成し、さらにヌクレオソームが凝集したクロマチン構造を取る。一方、遺伝子の転写や発現に伴ってクロマチン構造が緩むと、その部分の DNA が露出し他の凝集した領域より DNaseI によって切断されやすくなる。DNase I 感受性の違いは、染色体 DNA の構造に依存した DNase I に対する反応性の差異を反映し、染色体 DNA の中で遺伝子の転写が盛んに起きている部位を表す傾向がある。

### ・統括的遺伝子発現制御機能

物質生産代謝系調節など植物の代謝生理機能は、特異的な多数の遺伝子群の発現を介して制御されている。代謝系の一連これらの酵素遺伝子の発現は、特定の転写因子によって統括的に制御されており、代謝系調節の場合、一つ特定の転写因子によって多段階の酵素反応からなる物質代謝系の生合成機能が制御されている。たとえば、フラボノイド合成系はが myb や bHLH といった転写因子ファミリーの遺伝子によって、統括的に制御されていることが知られている。このような転写因子の統括的な遺伝子発現制御機能を明らかにし、転写因子の機能発現を人為的に操作することで、物質生産プロセスの効率化や有用物質生産のための新規な基盤技術の確立開発が可能となる。

### ・トランジットペプチド

葉緑体内のタンパク質のうち、その合成遺伝子が染色体内に存在する場合は、合成されたタンパク質を葉緑体内に運ぶためのリーダー配列がタンパク質 N 末についており、その配列はトランジットペプチドと呼ばれる。RuBisCO 小サブユニットのトランジットペプチドは任意の外来遺伝子産物を葉緑体に運ぶ目的でしばしば用いられる。

## な行

### ・ノルフルラゾン

植物がもつ酵素フィトエンデサチュラーゼの阻害剤の 1 つであり、非選択的除草剤として用いられた。ノルフルラゾンで植物を処理すると、その植物はカロテノイドを合成できないため、光酸化的障害を受けて枯死する。

## は行

### ・パタチンプロモーター

ジャガイモの主要な貯蔵タンパク質であるパタチンをコードする遺伝子のプロモーター領域。異種タンパク質をジャガイモで発現させる場合、本プロモーターを用いることにより、ジャガ

イモの塊茎において特異的に発現させることが可能になる。

#### ・ヒアルロン酸

D-N-アセチルグルコサミンと D-グルクロン酸が交互に結合した直鎖状の高分子多糖。生体内においては、皮膚、関節、眼、脳、血管等広範囲に存在する。脊椎動物および一部の連鎖球菌に存在することが確認されているが、植物には存在しない。水分の保持、緩衝、潤滑等の作用を有し、これらの特性を活かして、化粧品、医療、健康食品等の分野で用いられている。国内では、鶏冠からの抽出および微生物醗酵による年間生産量が 10t を超え（2009 年）、市場が成長し続けている。

#### ・ phloem loading

ソース葉において、炭酸同化によって生産された糖などが、葉肉組織から篩部へ移送されること。これとは逆にシンク葉においてソース葉から篩管を通して輸送されてきた糖などが篩部から葉肉組織に移送されることを **phloem unloading** という。

#### ・プロテオーム

プロテオーム(proteome)とは、タンパク質(protein)と集合体(-ome)を組み合わせた造語として用いられる。プロテオームはゲノム情報に基づく全遺伝子産物として、ある時期において細胞や組織に発現している全てのタンパク質のセットを表している。また、タンパク質の全セットを、2次元電気泳動法などにより分離し、ここのタンパク質の構造、生成量の増減、翻訳後修飾など、タンパク質群の全体像を解析する研究手法をプロテオミクスと呼ぶ。

#### ・ヘミセルロース

ヘミセルロースは、植物の細胞壁のうち、セルロースとペクチン以外の不溶性食物繊維の総称で、キシラン、マンナン、ガラクトサンなどの糖質から成る高分子化合物。

#### ・β-アミリン

2,3-オキシドスクアレンを基質として閉環酵素の一種であるβ-アミリン合成酵素によって生合成される化合物。カンゾウの甘味成分であるグリチルリチンやダイズのソヤサポニン類は、β-アミリンを共通の出発材料として生合成される。

#### ・β-カロテン

カロテノイド色素の1つであり、植物の葉を始めとして植物に広く存在している。ニンジンやカボチャの主要カロテノイドはβ-カロテンである。β-カロテンはビタミン A の前駆体であるので、プロビタミン A とも呼ばれる。

ま行

#### ・遺伝子特異的マイクロアレイ

DNA マイクロアレイは、数百から一万種類以上に及ぶ遺伝子の DNA 断片をスライドガラス

等の基板上に数平方センチメートルの範囲内で整列固定したものです。膨大な数の遺伝子発現の状態を一度の操作で解析することができる画期的なツールです。これまでの cDNA を用いた DNA マイクロアレイでは、他遺伝子との無関係な結合に起因する特異性の低さが問題視されているが、他遺伝子に対して最もホモロジーの低い遺伝子領域を選択するプログラム及び特異性を高める解析条件を採用することにより完成した遺伝子特異的 DNA マイクロアレイは、上記の問題点を克服し、信頼性の高い遺伝子発現の解析結果を得ることができる。

#### ・マイクロ RNA

マイクロ RNA とは 20-24 塩基からなる、低分子の非コード RNA のことをさし、標的分子のタンパク質への変換を抑制する働きをもっている。

#### ・マイクロチューバー

無菌的に生育させたジャガイモの苗を、高濃度の糖を含む培養条件下におくことで茎に形成する直径 1cm 程度の塊茎。通常のジャガイモ塊茎と同様、種芋として用いることも可能である。

#### ・MAT ベクター (Multi-auto-transformation ベクター)

形態異常誘導遺伝子と部位特異的組換え系を組み合わせることにより、選抜マーカー（抗生物質耐性遺伝子など）が植物ゲノムに残留していないマーカーフリー植物体を作成する遺伝子導入法。形態異常誘導遺伝子（例えばサイトカイニン合成遺伝子）の導入により、組換え細胞を選抜した後、部位特異的組換え系の作用により形態異常誘導遺伝子を植物ゲノムから除去し、マーカーフリー植物を得る。

#### ・メタボローム

生物が生産する（あるいは代謝する）全ての化合物の集合体のこと。メタボロームを研究する分野はメタボロミクスと呼ばれる。（医学分野ではメタノミクスと呼ぶ場合がある）。

#### ・木質バイオマス

太陽エネルギーにより大気中の二酸化炭素と根から吸い上げた水を使って生産・蓄積された糖類、セルロース、リグニン等により構成される樹木の全部またはその一部。通常はチップにして得られる木質産物であり、特にエネルギー生産に向けられる枝条、梢端、市場価値の無い幹（林地残材のほか、製材工場などの残廃材や産業廃棄物とされる建築廃材・解体材など）、広義では、パルプ工場の廃液も含める。木本植物に由来する木質バイオマスは、再生可能バイオマス資源の中で、最も多量に蓄積している。

### や行

#### ・UDP-グルコース脱水素酵素(Ugd)

EC 1.1.1.22. UDP-グルコースの 6 位を酸化して、UDP-グルクロン酸に変換する反応を触媒する酵素で、NAD を補酵素とする。植物の場合、本酵素の反応を経て、植物の細胞壁多糖であるヘミセルロースおよびペクチンの構成糖の前駆体である UDP-キシロースおよび UDP-ガラ

クツロン酸の合成反応に至る。ヒアルロン酸を合成する *Streptococcus* 属細菌の場合、本酵素をコードする遺伝子が、*hasB*としてヒアルロン酸合成酵素遺伝子(*hasA*)およびUDP-グルコースピロホスホリラーゼ遺伝子(*hasC*)と共にオペロンを形成し、ヒアルロン酸の合成を担っている。ヒアルロン酸合成酵素を有するクロレラウイルスにおいても、ゲノム上に本酵素をコードする遺伝子がヒアルロン酸合成酵素遺伝子の近傍に存在する。

## ら行

### ・ラテックス

パラゴムノキの樹皮に傷を付けて得られる樹液のことを言い、天然ゴムの原料となる。ラテックス中には直径 0.5~5  $\mu\text{m}$  のゴム粒子が懸濁液となっている。近年、ラテックス中の物質によるアレルギーによって引き起こされるアナフィラキシーショックが問題となっている。

### ・リアルタイム定量 PCR

ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法を用いて増幅された解析対象となる核酸分子 (cDNA など) の二本鎖DNAに結合して蛍光を発する蛍光色素や増幅されたDNAに特異的に結合するオリゴヌクレオチドプローブに結合した蛍光色素の蛍光を経時的 (リアルタイム) に測定して算出される増幅率を基に鋳型となる核酸分子の分子数 (コピー数) を定量する方法。

### ・リコリスサポニン

カンゾウ属植物に含まれるトリテルペンサポニンの総称。グリチルリチンに似た構造を持ち、グリチルリチンも広義のリコリスサポニンであるが、特に甘みを持たない化合物を指すことが多い。現在までに 種が知られている。

### ・ルテイン

カロテノイド色素の1つであり、植物の葉を始めとして植物に広く存在している。マリーゴールド花の主要カロテノイドはルテインである。ルテインは白内障や黄斑変性症など眼の病気の予防に効果があるとされている。

## I. 事業の位置付け・必要性について

### 1. NEDOの関与の必要性・制度への適合性

#### 1. 1 NEDO が関与することの意義

20世紀の文明は化石資源、エネルギーの大量消費により飛躍的に発展し、物質的に豊かな社会を築き上げた。しかし、そのために地球規模での環境破壊、地球温暖化、酸性雨等をもたらした。現在、化石資源の使用により世界中で排出されるCO<sub>2</sub>は年間285億ト(炭素換算で78億ト)に達している(2007年現在:世界の統計2010、総務省統計局)。一方、地球全体の植物の光合成反応により固定されるCO<sub>2</sub>は550億トであり(独)森林総合研究所HP)、化石資源エネルギーからの排出量のおよそ7倍に相当する。そして、陸上植物が固定している炭素量は6,500億トに達している(90%は林木)(山地憲治、藤野純一、山本博巳著「バイオエネルギー」2000年、ミオシン出版)。言い換えれば大規模植林、砂漠緑化、環境ストレス耐性植物の育種等により、植物バイオマス量を年間、1.2%増やせば、化石資源燃焼により生じるCO<sub>2</sub>をすべて吸収できることになる。CO<sub>2</sub>の吸収源である植物の光合成能の拡大はエネルギー、環境問題解決の鍵を握っているとと言っても過言ではない。

第4期科学技術基本計画ではキャッチフレーズにライフ・イノベーションとグリーン・イノベーションを掲げ、後者については太陽光発電、風力発電、原子力発電、電気自動車の普及がクローズアップされているが、これらはいずれも化石燃料の消費を減らし、CO<sub>2</sub>発生を抑えることができて、大気中のCO<sub>2</sub>を直接減らすものではない。繰り返しになるが、CO<sub>2</sub>を直接吸収するのは植物の光合成反応である。バイオマス発電、バイオ液体燃料もカーボンニュートラルではあるが、あくまでもニュートラルである。強いて言えば、CO<sub>2</sub>を固定したバイオマスがバイオ燃料として消費されるまでの間、炭素を貯蔵していることになるので、バイオ燃料利用システムが大規模になれば、一時的に固定している炭素量は増えることになる。

一方、工業原料も、現在その供給の多くをナフサを代表とする化石資源に依存している。太陽光発電等により化石燃料に依存しない電力供給が可能になっても、ナフサを代替するバイオ原料から化成品の製造、つまりバイオリファイナーの供給体制の整備が急務である。また、原料から各種化学製品を製造・精製する化学工業プロセスではエネルギーを大量に消費し、有害で危険な化学薬品も多量に使用する。このため、現在の化学工業プロセスは、省資源、省エネルギー、環境負荷低減を図るうえで大きな課題を残している。このような化学工業プロセスを代替しエネルギー消費、廃棄物発生等を抑えた循環型社会を構築することが重要課題である。

その解決策のひとつとして、植物の物質生産機能を活用した工業原料生産技術の開発を挙げることができる。すなわち、植物が生産するバイオマスの大規模な工業的利用による石油資源の消費抑制を図ると同時に、植物の光合成による炭酸ガス吸収量の拡大を図るものである。

ところで、20世紀は経済原則により工業原料は植物をはじめとする天然物から石油等の化石資源への転換の歴史であった。その歴史の中で、原油を中心とする工業原料の供給システムが構築され、その石油系原料を出発点とする利用・加工技術として現在の化学工業システムが高度に発達してきた。これをまた逆の方向へ引き戻すことは必要ではあっても技術的、経済的に非常な努力と時間が要求される。

また、植物による効率的な工業原料生産を行うためには、遺伝子組換え技術は不可欠な技術であるが、現在は日本のみならず世界的にみて、組換え植物の野外栽培は、社会的な認知や規制のうえで様々な問題に直面している。したがって、開発成果の実用化・産業化を考えた場合に、民間



企業が取り組む課題としてはリスクが高いため、日本におけるバイオ産業の振興とバイオ技術の競争力の維持・増強を図る必要がある。また、科学技術立国を目指す我が国としては、21世紀の主演の一つと考えられる植物バイオテクノロジー分野の技術開発と知的財産の確保は、国家戦略上の重要課題として取り組むべきものであると考えられる。

このように、本プロジェクトは、環境保全、省エネルギー（化石燃料使用の削減）を目的とした工業原料ソースの抜本的変換を目指し、循環型社会へと産業構造を導く端緒である。さらに、日本だけでなく世界的規模での、農業とは異なった新しい植物利用産業の創造となるものであり、国家的視野、世界的視野での取り組みが必要であり、NEDO、経済産業省が主導して取り組むべき技術開発課題のひとつである。

## 1. 2 実施の効果（費用対効果）

現在研究開発予算としては当初予定は8年間の合計で64億円程度を予定していたが、実際は61億円であった。本プロジェクトが成功し、現実に産業化され主要工業原料が植物生産物に代替できればエネルギー使用合理化に非常に大きな効果が期待される。また、本プロジェクトは植物の遺伝子操作技術などかなり基礎的な技術開発を含んでいるので、その成果はさらに多くの植物種から各種の工業原料を生産する技術の基盤としても有用なものである。このプロジェクトを契機として多くの工業原料を植物によって生産する研究開発が進めば、エネルギー使用合理化はもちろん、植物による炭酸ガスの削減も果たすことが可能であり、その効果ははかりしれないものがあり、投入資源に対して十分効率的・効果的であると言える。

## 2. 事業の背景・目的・位置付け

### 2. 1 事業の背景

我が国は、京都議定書に基づき、炭酸ガスの排出量を1990年比で、2008年から2012年の第一コミットメント期間において6%削減するという目標を掲げて、さまざまな政策や技術開発を推進している。さらに2009年、鳩山政権は2020年までに1990比25%削減という大幅に踏み込んだ事実上の国際公約を表明した。しかしながら、主要な温室効果ガスであるCO<sub>2</sub>は、1999年には、1990年比ですでに10%前後増大しており、削減目標との差が拡大している。一方エネルギーの観点からは、政府は平成6年6月に石油依存度を2010年には47.7%にまで引き下げることを目標とする閣議決定を行っている。このような状況の中で、エネルギー使用量の削減効果のある、工業原料を植物に生産させることは、同時に主要な温室効果ガスであるCO<sub>2</sub>の吸収固定も併せて果たすことができる点で、大きな注目を集めている。また、平成7年11月15日に「科学技術基本法」が公布、施行されるなど、我が国は、21世紀に向けて「科学技術創造立国」を目指して科学技術の振興を強力に推進していく方針が示されている。

一方、植物による工業原料生産を考えるうえで、重要な植物の遺伝子組換え技術については、除草剤耐性、昆虫耐性植物の創成など、事業展開が成功した例があるものの、多種多様な組換え植物が実用化され、大規模な工業原料生産が実現するには至っておらず、特に我が国では企業ベースの研究開発も欧米に比べると活発とは言えない状況にある。これは、パブリックアクセプタンスというような社会的要因もあるが、現在の遺伝子組換え技術が単一遺伝子の導入技術の域を出ていないこと、遺伝子の発現調節を合目的に行うために必要なプロモーターや制御遺伝子等の解析が不十分であること、導入すべき適切な遺伝子ソースが確保されていないこと、等の技術的

背景が、大きな要因として指摘できる。例えば、除草剤耐性、昆虫耐性、ウイルス病耐性作物などとして開発された、遺伝子組換え植物は、単一遺伝子の導入によるものであり、外来タンパク質の発現量は多くても除草剤耐性大豆で0.288mg/g生組織（0.0288%）、昆虫耐性とうもろこしで0.047mg/g生組織（0.0047%）と極めて微量で、工業原料の大量生産にはほど遠い現状にある。また、どの生物のどのような遺伝子をどのようなプロモーターと一緒に導入すれば、有用な工業原料生産が可能かという知見も大いに不十分である。すなわち、直接工業原料生産を目標とするという技術開発はまだ初歩的な段階であったといえる。

本プロジェクトに先立ち、NEDOでは「植物の多重遺伝子導入技術開発」プロジェクト（1999－2002）および「植物機能改変技術実用化開発」プロジェクト（2003－2005）を実施した。その開始時点ではシロイヌナズナのゲノム解読完了前であり、現在のようなプロテオーム、メタボロームなどの網羅的解析はなかった。そこで、ストレス耐性遺伝子、代謝関連遺伝子をピンポイント的に実用植物に導入し、工業原料生産を目的としていた。また、このプロジェクトでは多数の遺伝子を植物に導入する必要性が考えられたので、多重遺伝子導入技術の開発と合理的遺伝子発現制御技術開発のためのマイクロアレイを用いた、シロイヌナズナのプロモーター収集とカタログ化を柱とした。これらの課題はそれぞれ初期の目的を達したが、植物もポストゲノム時代に入り、網羅的に遺伝子と代謝産物を解析し、総合的に植物の機能を改変する技術開発の重要性が認識され、本プロジェクトの立案に至った。

最近、ヒトゲノムはもちろん、イネやシロイヌナズナのゲノム解析が終了し、遺伝子機能の解析が急速に進んでいる。近年、従来のシークエンサーよりも1000倍近い解析速度を有するギガシークエンサーが登場し、多様な植物種の遺伝子情報が整備されつつあり、これを背景にした国際的な技術開発の競争により、この10年から20年の間に、多重遺伝子の導入技術、プロモーターおよび制御遺伝子の解析・利用技術、工業原料としてのバイオマス生合成系の解析・利用技術は、著しい発展を遂げるものと予想されている。そのなかで、我が国は国際的な技術開発に出遅れることなく、国際的な優位性を保つべく取り組むことが求められている。

また、現在まで、ヒトを含め多くのゲノムプロジェクトが行われ、植物分野においても2000年末にシロイヌナズナゲノム全DNA塩基配列が決定され、光合成、窒素同化、脂質代謝などに介在する全タンパク質（酵素）の遺伝情報が明らかにされた。このゲノムプロジェクト研究過程で、cDNAの取得、解析は日常的な手法として確立されている。一方、メタボローム、トランスクリプトーム、プロテオーム等のポストゲノム研究が欧米を中心に本格化しつつあるものの、例えばメタボローム解析については国内の先行研究者を含め、既存技術による新知見探求型研究が主で、技術開発型研究は希少である。ましてやトランスクリプトーム、プロテオーム等との有機的融合基盤技術の開発は全くない。植物もポストゲノム時代に入った現在、生物機能を利用したバイオプロセスの構築のために日本独自のポストゲノム基盤技術を開発することは、植物バイオテクノロジー分野での国際的優位を確立するために必須の課題である。

## 2. 2 事業の目的

「環境安心イノベーションプログラム」は、化石資源に大きく依存した化学工業を始めとする生産システムを環境調和型循環産業システムに変革すべく、生産プロセスに関連したバイオテクノロジー技術基盤を構築することを目標とする。本プログラムの一環として「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」プロジェクトを実施する。

生物機能を利用したバイオプロセスは、循環型の産業システムを実現する上で極めて重要であると考えられている。平成13年9月に取りまとめられた総合科学技術会議の分野別推進戦略においても、「近年急速に蓄積されつつあるゲノム情報や目覚ましい進展を見せているゲノム関連技術を活用し、生物の持つ多様な機能を高度に活用することによって、有用物質の効率的な生産技術や環境汚染物質の分解を行うなど環境対応型の産業技術を開発する」ことの重要性が指摘されている。

生物機能を利用したバイオプロセスの構築のため、微生物や植物に遺伝子組み換え等を行い、有用物質を生産させる技術の開発が従来より行われてきた。植物に関しては、多重遺伝子を導入する技術を開発している段階にまで発展してきたが、優良な工業原料を合目的に効率よく生産する遺伝子組換え植物を作成するには、植物の物質生産系の制御技術が必要である。幸いなことに、植物についても、近年、ゲノム情報の解析・整備が進み、これらの研究開発を行う技術的背景が整いつつあり、植物を用いたバイオプロセス構築のための基盤技術を開発し、我が国が植物バイオテクノロジー分野で国際的優位を確立する上でも、今が好機であると判断される。

本プロジェクトでは、このような背景のもと、植物による物質生産系を構築する上でモデルとなる植物の代謝関連酵素・遺伝子の特定、物質生産調節機能の解析、それらを統合するデータベースを構築するとともに、構築したデータベースを活用することによって、実際に物質生産を行わせる実用植物が有する目的物質生産系を解析し、工業原料の効率的生産の見通しを確認し、植物を利用した優良な工業原料を効率的に生産する基盤技術を開発することを目的とする。

また、植物の基幹代謝系である葉緑体を中心としたオルガネラに注目し、ポストゲノム手法の確立を通して植物を工業原料生産プロセスとして活用するための基盤技術の確立を図ることも目的とする。

### 2.3 事業の位置付け

本事業は、環境と調和した循環型経済社会の構築および革新的・基盤技術の涵養に相当する事業である。すなわち、循環型経済社会の構築には、石油プロセス依存からの脱却が重要な課題として設定されており、本事業は、バイオマスを出発点とする化学産業構築のための原料としてのバイオマス生産に関する技術開発に取り組むものであり、重要な位置を占めると考えられる。

研究開発の具体的目的の一つは、光合成産物であるソースをそれぞれの工業原料に対応するシンク部分に特化した形で流すための代謝改変手法の確立にある。例えば、炭水化物から多糖類への流れに特化させた場合、セルロース等の増加が期待でき製紙産業を筆頭に大きく貢献できる。脂肪酸への流れに特化させた場合、植物油脂を原材料とする燃料、塗料、化成品等の業界への貢献は大きい。メバロン酸への特化は、天然ゴム等の生産増大につながる。また、アルカロイド、フラボノイド等に特化させれば、ファインケミカルズの増産が期待できる。

これらの代謝産物の生合成の上流に位置する基幹代謝系の反応の場は葉緑体であり、葉緑体機能の改変、いわゆる葉緑体工学の活用による産業利用への期待も大きい。また、この葉緑体工学の主要手法である葉緑体ゲノムへの遺伝子導入は、母性遺伝による導入遺伝子の隔離が可能である。従来の核への遺伝子導入で懸念される、花粉を介した遺伝子拡散や汚染等、生態学的、社会的に重大な問題を葉緑体工学では基本的に回避することができ、組換え植物の実用化において社会的な受容が期待できる技術として位置付けられる。

また、もう一つのねらいである、ポストゲノム手法の確立とバイオインフォマティクスを視野

に入れたメタボロームデータベースの構築は、当時は国際的に見てもまだその途についたばかりであった。本プロジェクトは極めて新規制・先進性が高く、広範な遺伝子組換え関連産業に大きなインパクトを与えるものであり、革新的・基盤技術の涵養にも相当すると考えられた。現在本プロジェクトの成果により世界最高水準のデータベースが構築された。

米国では 1998 年、USDA (米国農務省)、DOE (米国エネルギー省)、NIH (国立衛生研究所)、NSF (米国科学財団)、OSTP (科学技術政策局)、OMB (行政予算管理局) が省庁横断的に先端植物ゲノム国家プロジェクト (NPGI) を 5 年計画で実施しており、農業、エネルギー、健康、ひいては次世代の国民の生活レベルの向上を目的としている。第 2 期までの主体は農業生産の向上であったが、現在第 3 期 (2009 – 2013) に入り、エネルギー・工業原料も視野に入れ始めた。この点で、2002 年から開始した産官学が結集した本 NEDO プロジェクトは先駆的事業であった。

## II. 研究開発マネジメントについて

### 1. 事業の目標

#### 1. 1 目標

##### 1. 1. 1 最終目標（平成 21 年度末）

モデル植物と特定の実用植物を用い、物質生産系を解析し cDNA 取得・解析、物質生産経路・機能解析、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析により統合データベースを作製する。これらを活用して、目的とする工業原料を、適当な部位・時期に、適当な量を効率的に生産させる技術基盤を構築する。

##### 1. 1. 2 中間目標（平成 17 年度末）

モデル植物を用いた物質生産系の解析では、cDNA の整備を進め、主要な物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する遺伝子の機能解析を行い、実用植物の目的物質生産系の解析に資する統合データベースを構築できる見通しを得る。

実用植物を用いた物質生産制御技術の開発では、cDNA の整備を進め、モデル植物で得られる知見を活用しながら、特定の目的物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する遺伝子の機能解析を行い、主要遺伝子を見極める。

個々の研究開発目標については、「2. 2 研究開発項目毎の内容の詳細」で説明する。

#### 1. 2 目標設定理由

##### 1. 2. 1 研究開発項目①「モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析」

実用植物に目的とする物質を効率的に生産させるためには、実用植物が有する代謝経路を解明した上で、制御することが必要である。実用植物における代謝経路や関連する遺伝子の情報は乏しく、あっても断片的であるため、ゲノム情報の蓄積が進み、実験系なども確立されているモデル植物を選定し、モデル植物の代謝経路や関連する遺伝子を解析しデータベース化した上で、実用植物とのゲノム比較等の手法により解析することが最も効率的である。このため、モデル植物の cDNA を取得、解析し、物質生産系の経路を解析するとともに、代謝に関連する遺伝子や調節遺伝子の機能を解明した上で、統合的なデータベースを構築することが必要である。

##### 1. 2. 2 研究開発項目②「実用植物を用いた物質生産制御技術の開発」

実用植物に目的とする物質を効率的に生産させるためには、目的とする物質に関連して実用植物が有する代謝経路を解明した上で、合目的に制御することが必要である。このため、実用植物の cDNA を取得した上で、モデル植物における解析データを参照しつつ、物質生産系の経路を解明するとともに、生産や調節に関連した遺伝子の機能を解析することが必要である。また、外部遺伝子を導入する場合は、導入する遺伝子の機能を解析した上で、実際に遺伝子改変等を行うことにより、確認試験を行うことが必要である。

## 2. 事業の計画内容

### 2. 1 研究開発の内容

#### 2. 1. 1 研究開発項目

本研究開発においては、植物による物質生産系を構築する上でのモデルとなる植物の代謝関連酵素・遺伝子の特定、物質生産調節機能の解析、それらを統合するデータベースを構築するとともに、構築したデータベースを活用することによって、実際に物質生産を行わせる実用植物が有する目的物質生産系を解析し、工業原料の効率的生産が可能となる見通しを確認することで、植物を利用した優良な工業原料を効率的に生産する基盤技術を開発することを目指している。これを達成するために、本研究開発では下記の2つのサブテーマを設定し、実施期間は、平成14年度から平成21年度までの8年間とする。

後述の個別テーマを設定して、以下の研究開発項目に沿って研究開発を実施する。

##### ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

- 1) cDNA の取得及び解析
- 2) 物質生産系の経路と機能の解析
- 3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析
- 4) 統合データベースの作成

##### ②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

- 1) cDNA の取得及び解析
- 2) 物質生産系の経路と機能の解析
- 3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析
- 4) 目的物質生産に関する遺伝子等の解析
- 5) モデル植物や実用植物を用いた確認試験

#### 2. 1. 2 個別テーマ

##### ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

- (1) 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析 (財団法人 かずさ DNA 研究所)
- (2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素株式会社、～H18fy)
- (3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (財団法人\_地球環境産業技術研究機構)
- (4) 遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイの開発および細胞特異的遺伝子発現解析技術の開発とデータベース化 (タカラバイオ株式会社、～H17fy)
- (5) 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (独立行政法人 産業技術総合研究所)

##### ②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

- (1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化 (日本製紙株式会社)
- (2) 循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の開発 (王子製紙株式会社)
- (3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発 (日立造船株式会社)
- (4) パラゴムノキのゴム生産制御技術の開発 (株式会社ブリヂストン)
- (5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発 (株式会社常磐植物化学研究所)

- (6) ステロイド生産制御技術の開発 (株式会社植物工学研究所、～H16fy)
- (7) カロテノイド生産制御技術の開発 (株式会社海洋バイオ研究所、～H19fy。H20fy～キリンホールディングス株式会社)
- (8) 外来糖質生産植物の研究開発 (東洋紡績株式会社)
- (9) 総合調査研究 (バイオテクノロジー開発技術研究組合)

### 2. 1. 3 個別テーマ毎の研究予算の推移

	(千円)							
	H14FY	H15FY	H16FY	H17FY	H18FY	H19FY	H20FY	H21FY
開発予算	880,000	862,129	819,023	980,023	848,212	756,737	626,963	427,574
味の素(株)	20,000	19,811	20,118	19,999	9,999	—	—	—
タカラバイオ(株)	87,520	70,328	71,418	52,050	—	—	—	—
日本製紙(株)	35,000	32,688	30,665	61,662	74,800	32,079	31,437	30,709
王子製紙(株)	80,000	69,338	65,047	61,789	68,799	78,599	46,438	37,156
日立造船(株)	28,000	24,762	22,658	22,556	43,874	67,963	37,191	34,699
(株)ブリヂストン	20,000	24,762	22,658	73,595	77,478	41,071	40,249	32,199
(株)常磐植物化学研究所	25,000	23,377	23,061	24,877	44,931	33,734	33,059	27,515
(株)植物工学研究所	30,000	28,032	26,297	—	—	—	—	—
(株)海洋バイオテクノロジー研究所 キリンホールディングス(株)	20,000 —	19,811 —	18,125 —	32,999 —	46,308 —	34,392 —	— 34,500	— 30,760
(株)東洋紡績総合研究所 東洋紡績(株)	20,000 —	19,811 —	18,125 —	22,599 —	— 41,767	— 27,999	— 27,999	— 26,699
バイオ組合総合調査	102,999	95,381	88,643	86,421	73,897	51,908	86,921	30,308
(財)地球環境産業技術研究機構	129,000	128,150	120,221	111,639	81,999	71,061	39,193	23,456
(財)かずさDNA研究所	242,998	238,429	214,737	284,522	208,802	208,050	152,744	120,611
(独)産業技術総合研究所	30,000	36,725	35,655	79,375	75,559	71,782	68,425	33,083
(総額)	870,517	831,405	778,000	934,084	848,212	718,638	598,157	427,198
その他	9,483	30,724	41,023	45,939	0	38,099	28,806	376

### 2. 1. 4 個別テーマと研究開発項目の対応

2. 2. 1 ①のモデル植物を用いた各テーマにおいては、味の素およびRITEが1) cDNAの取得及び解析を実施しない以外は、2. 1. 1に示した①の全研究開発項目を実施した。

2. 2. 1 ②の実用植物を用いた各テーマについて、2. 1. 1 ②の研究開発項目の1) cDNAの取得及び解析を日本製紙、キリンホールディングス、東洋紡が、3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析について日立造船、ブリヂストン、常磐植物化学研究所、植物工学研究所、キリンホールディングスが実施しない以外は、全ての研究開発項目を実施した。

## 2. 1. 5 個別テーマごとの研究開発の内容

個別テーマ毎の中間目標と最終目標を一覧表に示す。(中間評価対応見直し後)

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析			
(1) 物質生産プロセスの整備と植物の物質生産機能の解析(かずさDNA研)	A. cDNAの取得及び解析	工業原材料解析モデル植物ミコグサ： 完全長 cDNA の取得、完全長 cDNA クロンの EST 解読 (4 万個)、約 2,000 個のクローンに関して完全長の解読 工業原材料植物アカシア： 完全長 cDNA を取得、4,000 クロンの EST 解読 他の工業原材料植物の EST 解読	ミコグサ：完全長 cDNA の取得、約 2,000 個の完全長 cDNA を解読。 アカシアの EST 解読：約 1 万個のアカシアの EST 解読 H18 年度以降：工業原材料生産と密接に関係する植物の主に完全長 cDNA を取得、cDNA の EST 解読 (クロンの部分配列解読、1 万個以上)
	B. 物質生産系の経路と機能の解析 1) 遺伝子発現プロファイリング	工業原材料解析モデル植物シロイヌナズナ： 300 条件での遺伝子発現解析 工業原材料解析モデル植物ミコグサ： 50 条件で mRNA を調製、遺伝子発現解析	A. で cDNA が整備された植物において、DNA アレイ解析による網羅的な遺伝子発現解析を行い、工業原材料生産に関わる代謝と関連する遺伝子の発現をデータベース化する。 シロイヌナズナ、ミコグサ：総数 500 の条件での発現解析
	2) 代謝産物プロファイリング	工業原材料と密接な関係にある代謝産物の解析 工業原材料解析モデル植物シロイヌナズナ及びミコグサ、工業原材料植物アカシアで行う。年間 50 サンプル程度を解析	網羅的なプロファイリング(メタボロミクスアプローチ) 目的成分にターゲットした代謝産物解析 代謝産物プロファイリング：遺伝子発現プロファイリングで絞り込んだサンプルに関して年間平均 50 サンプルを解析
	3) 物質生産経路の解析	工業原材料植物の代謝制御解析に必要なシロイヌナズナ代謝関連の 500 個程度の遺伝子を培養細胞に導入し、遺伝子機能の解析 工業原材料解析モデル植物ミコグサ： 完全長 cDNA を培養細胞に導入、100 個程度の遺伝子機能の検定 工業原材料植物アカシアへの遺伝子導入少なくとも 5 コントラクトの遺伝子導入を開始 工業原材料解析モデル植物シロイヌナズナおよびミコグサの凍結保存方法の開発、長期保存の効果を調査	培養細胞を用いた実験系の凍結保存方法を開発 シロイヌナズナ：1500 個程度の遺伝子を培養細胞に導入し遺伝子機能を解析。 実用化グループとの連携
	C. 物質生産系における調節遺伝子等の機能解析	工業原材料解析モデル植物の遺伝子を他の植物に導入した場合の効果を解析するために、工業原材料モデル植物シロイヌナズナの 200 個の遺伝子をミコグサに導入し、遺伝子発現解析を開始 工業原材料解析に必要なデータを取得するため、組織細胞レベルでの遺伝子発現を網羅的に解析	転写因子の発現抑制系における形質転換植物の網羅的な代謝物プロファイリング(メタボロミクスアプローチ)
	D. 統合データベースの作成	工業原材料植物の代謝制御解析に必要な遺伝子発現解析データの共用を開始 (平成 14 年度から) 基礎データの一般への公開を開始	シロイヌナズナ、ミコグサなどの遺伝子発現プロファイリング、代謝産物プロファイリングのデータを統合したデータベースを構築 本プロジェクトで解明した遺伝子機能のデータや、国内外で解明される遺伝子機能に関するデータを組み込み、未知の遺伝子機能解析を容易にし、実用植物での機能解析に役立つ機能を付与した統合データベースを構築



研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
(2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)	A. 窒素化合物代謝経路に関わる生体成分分析	光独立栄養条件下で生育をそろえる栽培方法を確立し、日周 (5点) と3生育ステージ (初・中・後期) 合計15タイムポイントのアミノ酸等生体成分のデータを取得する	光独立栄養条件下で栽培した植物による日周・生育ステージ15タイムポイント、および、環境応答に対するアミノ酸等の生体成分のデータを取得する。(18年度末)
	B. 窒素化合物代謝経路の酵素・遺伝子の発現解析	上記15タイムポイントにおける網羅的な遺伝子発現情報をAffymetrix社のGene Chip 22Kを用いて取得する。	上記タイムポイント・環境応答などの網羅的遺伝子発現データを取得し、アミノ酸の合成・代謝経路にかかわる遺伝子、転流に関与する遺伝子を検出する。(18年度末)
	C. 窒素化合物生代謝経路の解析のための形質転換体の作出	重要な20遺伝子について発現解析を行うためのレポーター遺伝子形質転換体を作成する。プロファイリング解析の結果、重要と判断される遺伝子については、過剰発現形質転換体、抑制株を作成し解析に着手する。	プロモーター・レポーター形質転換体を用いた組織特異性、環境応答を明らかにする。重要な遺伝子の過剰発現、抑制株によるアミノ酸代謝への効果を解析する。(18年度末)
	D. 窒素化合物生産に関わる遺伝子発現プロファイリング、代謝産物プロファイリング	取得したアミノ酸含量・網羅的遺伝子発現データより、日周期、生育ステージごとのプロファイリングを行う。窒素化合物の生産に関する重要な遺伝子を見出す。グルタミン酸、グルタミン合成・代謝経路における既知情報、および、以上の研究より明らかにした情報をかずきDNA研究所データベースに提供する。	日周期、生育ステージ (15タイムポイント) 環境応答による生体成分と網羅的遺伝子発現解析から、アミノ酸合成・代謝・転流に関与し、生産性向上に寄与する遺伝子を検出する。(18年度末)
(3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)	A. 基幹代謝系操作・改良技術開発	無傷葉緑体単離法の開発 (~16年度) 核様体構造の解析 (~16年度) 葉緑体の転写過程を制御する新規遺伝子を取得する (~16年度)。 転写複合体のプロテオーム解析 (~17年度) に取り組む。 葉緑体形質転換、 <i>in vitro</i> 転写によるPEPの機能解析を行う (~17年度)。 分子遺伝学的アプローチによるNEPの機能解析を行う (~16年度)。 葉緑体の転写制御に関わる因子(シグマ因子3種、その他の制御因子3種)について分子遺伝学的解析を行う (~17年度) 転写因子を用いた葉緑体遺伝子の発現制御の可能性を検証する (~17年度)。 タバコ葉緑体 <i>in vitro</i> 翻訳系および <i>in vitro</i> RNA エプサイジング系の改良を行い、高速アッセイ可能な系を開発する (~H16年度) 翻訳効率の高い葉緑体 mRNA を選定する (~17年度) 翻訳制御や RNA エプサイジングに関するシ配列を同定する (~17年度) 翻訳シ配列の候補をゲノムワイドに探索する (~17年度) タバコとエンドウで RNA エプサイジング部位を網羅的に解析する (~17年度) 翻訳および RNA エプサイジングのシ配列に結合するトランス因子を検出する (~17年度)	葉緑体組み換え遺伝子の大量発現誘導系を開発し、実用遺伝子での性能試験を行う。  非光合成組織における葉緑体組み換え遺伝子の大量発現系を開発し、葉緑体に導入した外来遺伝子の発現を翻訳段階で制御できる基盤技術開発を目指す。  有用遺伝子のコード領域設計のため、アミノ酸の同義コドン間の翻訳効率を実験的に解析する。 様々な翻訳効率を持つ5'非翻訳領域のカタログ化を行う。 コード領域と5'非翻訳領域との組み合わせが翻訳活性に与える影響について、 <i>in vitro</i> での解析に着手する 終止コドンおよびその下流配列を数多く収集し、解析に着手する。

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
		シロイヌナズナ葉緑体代謝物の網羅的解析条件の検討を行う。分析結果の多変量解析システムを開発する。	GC-MS, LC-MS, CE-MS を用いたシステムにより、種々の葉緑体関連形質転換体ならびに変異株を解析し、葉緑体基幹代謝を理解することを目標とする。特に、GC-MSによる代謝フィンガープリンティングならびに LC-MS および CE-MS を用いた含窒素代謝物の動的解析を方法として用いる。
	B. 統合データベース構築	シロイヌナズナ葉緑体関連遺伝子群のうち約 2,000 種の再アノテーションを行う (~16年度) 葉緑体遺伝子データベースの構築を目指す (~18年度) シロイヌナズナ葉緑体プロテオームにより、主要タンパク質を 500 種同定する。 葉緑体マイクロ・マクロゲノムアレイの整備	葉緑体関連遺伝子データベースを構築・公開するとともに、コンソーシアム型の研究開発を行う際に有効な情報共有システム開発を目指す。 単離、精製された葉緑体機能タンパク質複合体(基幹代謝制御・調節タンパク質)を中心とした、葉緑体基幹代謝系関連タンパク質の同定する。 作出された基幹代謝系改良株およびシロイヌナズナ変異株の問題点を検証および解析する手段としてのプロテオミクス・メタボミクス・トランスクリプトミクスの可能性について検討する。
	C. 基幹代謝系改良モデル植物の作出	タバコ葉緑体形質転換により、葉緑体代謝改変植物の作出開始	工業原材料生産代謝系の前駆体および有用代謝物質が従来の 1.2~2 倍程度に増量されたモデル植物を作出する。 1) 光合成産物である糖の蓄積強化を図ることにより、基幹代謝の促進を行う。このために必要な代謝情報を取得する。 2) 転写・翻訳活性化によるアスタキサンチン含量のさらなる増加を図ることを目的とし、その効果を検証する。 3) アスタキサンチンを中心としたイソプレノイド生合成経路の代謝解析を実施するとともに、遺伝子発現量の強化によりさらなるアスタキサンチン高蓄積化を図る。また、代謝改変により生じた各種イソプレノイド化合物の検出系を確立し、代謝改変の効果を検証する。
(4) 遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイの開発および遺伝子発現制御技術の開発とデータベース化 (カラバイオ)	A. 遺伝子特異的マイクロアレイ設計	cDNA クローンからの設計技術を確立する。 14 年度までの設計終了遺伝子数 ≥ 8000 遺伝子	同左 (17 年度末)
	B. 遺伝子特異的 DNA マイクロアレイの製造と検証	搭載遺伝子数 ≥ 8,000 遺伝子、H14 年度マイクロアレイ枚数 = 400 枚 特異性等の設計評価技術を確立する 植物細胞から正確に RNA を増幅、ラベルする技術を確立する。	同左 (17 年度末)
	C. シロイヌナズナ全遺伝子搭載の DNA マイクロアレイの開発と製造	ゲノム配列、EST、完全長 cDNA 配列から設計技術を確立する。 全遺伝子規模のマイクロアレイの配布 (400 枚/年規模製造、1 枚に全遺伝子搭載に変更)	同左 (17 年度末)
	D. ゲノム情報とリンクした遺伝子発現解析データベース開発	設計プローブ情報の搭載した cDNA、ゲノム配列データベースを完成し、公開する。 上記データベースと遺伝子発現データベースの統合方法を確立する	同左 (17 年度末)

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
	E. 遺伝子発現制御技術開発の基盤技術開発	遺伝子発現制御のためジーンサイレンシングできる dsRNA 発現ベクターを作製し70%以上発現抑制のできた組換えシロイヌナズナを得る	同左 (17年度末)
	F. 遺伝子特異的 DNA アレイとノックアウトシロイヌナズナを用いた細胞壁の再構築に関わる遺伝子群の解析	エンド型キロゲルカン転移酵素遺伝子の発現量を変えた組換え体や関連変異株の遺伝子発現解析し、細胞壁の再構築の主要遺伝子を同定する 自社蓄積発現データを統合データベースへ統合する	同左 (17年度末)
(5) 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (産総研)	A. 転写因子遺伝子の <i>in silico</i> 解析および cDNA の収集	モデル植物の転写因子遺伝子の <i>in silico</i> 解析法の確立 主要な転写因子遺伝子ファミリーの cDNA の収集 発現ベクターのライブラリーとしての整備	シロイヌナズナ全転写因子ファミリーの遺伝子情報の収集と整備 モデル植物の遺伝子情報との比較による植物種に特異的な転写因子遺伝子の同定 機能解析の候補となるシロイヌナズナ転写因子遺伝子の cDNA のクローニング
	B. 転写因子遺伝子の発現解析	転写因子遺伝子の発現の定量的な解析法の確立 転写因子遺伝子群の発現プロファイルのデータの蓄積	モデル植物の転写因子の遺伝子群の発現プロファイルの解析法の確立 転写因子機能解析のための発現プロファイル情報の取得
	C. 転写因子遺伝子の機能解析	形質転換植物の作成と形質発現プロファイル解析手法の確立 転写因子遺伝子の形質転換植物の標的遺伝子の発現プロファイルのデータ取得 有用機能を有する転写因子遺伝子の探索技術の確立	転写因子遺伝子の形質転換植物の標的遺伝子発現プロファイルのデータ取得 有用な制御機能を有する転写因子遺伝子の取得する転写因子遺伝子の取得
	D. キメラプロモーターを用いた遺伝子発現制御技術の開発		フェニルプロパノイド、脂質、シクロ酸の生合成系を制御する転写因子の探索研究をキメラプロモーターを用いて同定する。 キメラプロモーターを用いた効率的な有用物質生産系の確立を目指す。 NST 転写因子の下流で作用する因子を同定する ヒアルロン酸生産に関して、キメラプロモーターを利用したメタボリックエンジニアリング技術を用いて行い、生産能力の向上を目指す。
② 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発			
(1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化 (日本製紙)	A. MATベクターによる樹木への遺伝子導入	改良型 MATベクターの構築 > 3種類 最適条件の検索 > 3種類	1 段目は B で実施、2 段目は F に移行
	B. 組換え樹木の作成	細胞壁合成に関与する遺伝子を導入した組換え体 > 2種類 (各 10 個体)	各種プロモーターと有用遺伝子の組合せ > 6種類 実用性評価試験用 > 3種類
	C. 生物多様性影響評価試験		組換え樹木の安全性評価 > 3種類 (1 種類当り 3 系統、1 系統を 5 個体に増殖、合計 45 本)
	D. 無菌キメラ作成技術	プロモーターの発現評価システム > 2種類 プロモーターの分離と評価 > 3種類 キメラ作成ベクターの構築と評価 > 3種類	A の 2 段目と統合して、F に移行
	E. 遺伝子発現制御に関する技術開発	無菌的周縁組換えキメラ作成技術 > 植物 2 種類	中間評価後の見直しで D に統合
	F. 樹木への遺伝子導入技術開発		組換え樹木において、2 段目の脱離の作動確認を行う > 樹木 2 系統 培養の困難なユカリクロンへの遺伝子導入により、不定芽分化を促進させる。 > 3 系統

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
(2) 循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の研究開発(王子製紙)	A. 細胞壁成分の生合成・木繊維細胞形態形成に関する遺伝子群の網羅的解析	木質成分合成及び木繊維形成に関する遺伝子候補群の探索 制御因子(転写因子および分子スイッチ) 遺伝子候補群の探索	木質成分合成及び木繊維形成に関する遺伝子群の絞り込み(10個程度)と、これらの単離・同定 制御因子(転写因子および分子スイッチ) 遺伝子群全長単離
	B. 木質バイオマス形成に関わる遺伝子群の統括的発現制御システムの構築	ユーカリ遺伝子ライブラリ構築 制御因子スベック検定(手法の確立含む)	木質成分合成及び木繊維形成に関するプロモーター領域の単離 制御因子のスベック検定を必要に応じて継続し、情報量の獲得に努め、上記目標の達成と改善を支援する。
	C. ユーカリ遺伝子組換え体の評価	形質転換技術は本プロジェクト開始以前より既に確立済みであり、上記項目の成果等を踏まえて18年度より着手。	遺伝子組換えユーカリの作出と評価。 セルロース、ヘミセルロース含量の増大、繊維細胞形態の人為的制御。 花粉(花芽)形成に関する制御技術開発を17年度より実施する。(実用における組換え植物野外育成において重要)
(3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発(日立造船)	A. ポリイソプレノイド成分の分析と精英樹選抜	ポリイソプレノイド分析の簡易調製法・分析手法を構築 標準化マニュアル(中・英・日)を作成・技術移転 日本・中国の遺伝資源からトチュウゴム成分の分析評価 分子量・含有量情報から精英樹、種内変異差から生合成遺伝情報を解析	ポリイソプレノイド迅速かつ高性能分析法を確立する  デアリエンシヤル検定によりポリイソプレノイド生合成遺伝子の異なった個体間の比較によってトチュウゴム鍵酵素関連遺伝子を同定する。
	B. ゴム産生能の異なるトチュウ変異体の育種	トチュウの変異体の作出と分析評価 様々なゴム代謝系が潰れた変異体の作出	ポリイソプレノイド生合成遺伝子の鍵となる遺伝子を明らかにする
	C. 組織・細胞レベルでのゴム生合成機構の解析	細胞・組織からのゴム代謝経路の解析と同定 ゴムの組織内蓄積機構の同定	局在性を解析することによって、指定された部位での貯蔵力を向上させる。
	D. メタボローム解析	ゴム生合成上流の代謝物についても分析系を構築 ゴム代謝能の異なる個体の上流代謝物のプロファイリング 上流代謝物とゴム成分との統合解析	トチュウポリイソプレノイドの成分構成と生産量を向上させるために糖代謝などの上流代謝経路の鍵酵素遺伝子を取得する。
(4) パラゴムノキのゴム生産制御技術の開発(ブリヂストン)	A. 組織培養技術の開発	パラゴムノキの再分化の基礎技術を開発して、再生植物体を取得する。	優良クローンにおいて再分化率が高いパラゴムノキ組織培養技術を確立する。
	B. 形質転換技術の開発	パラゴムノキへの遺伝子導入の基礎技術を開発して、形質転換細胞を取得する。 形質転換モデル実験系を開発する。	パラゴムノキの形質転換体を作成する技術を確立する。
	C. ラテックス生合成メカニズムの解析	ラテックス生合成に関する酵素の遺伝子を探索するため、生合成メカニズムを解析する技術開発に着手する	ラテックス生合成部位の特定、新鮮ラテックス中のタンパク質解析、メタボローム解析などによって、遺伝子組換えのターゲットとする生合成経路を特定する。
	D. ラテックス生合成関連遺伝子の取得・解析	パラゴムノキの遺伝子のESTデータベースを構築し、生合成に有効と推測される候補遺伝子を約100個抽出する。	関連遺伝子を解析する。
	E. 遺伝子発現・機能解析	遺伝子発現解析・機能解析の基礎技術を開発する。EST解析で抽出した候補遺伝子の完全長cDNAを取得して、候補遺伝子の発現部位を細胞レベルで確認する。	<i>in situ hybridization</i> による発現量の差異解析、免疫染色法などによる発現解析や、相補性試験、モデル実験系による機能解析などにより、候補遺伝子を絞込んでターゲットとする遺伝子を取得する。
	F. 形質転換体作出と機能確認	ラテックス及びゴムの分析技術・物性評価技術を開発する。	モデル実験系やパラゴムノキにラテックス生合成関連遺伝子を導入して形質転換体を作成する。形質転換体において設計したラテックス特性が発現していることなど機能を確認

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
(5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発(常磐植物化学)	A. 材料植物の確保、育成、培養系の確立	カンゾウ属植物主要 3 種より、培養及び形質転換等に適した種 (1 種) を選定する。 エリターやストレス等約 10 項目の処理を行い、トリテルペノイド等の生合成経路及びその制御機構が誘導される培養条件を確立する。	カンゾウ属植物への有用遺伝子導入系を確立する。 有用遺伝子を導入したカンゾウ細胞培養系を確立する。 グリチルチン等の高生産性培養体や個体を導入遺伝子 1 種につき 3 系統(個体)以上作出する。 有用遺伝子を導入したダイオ植物体を 3 系統以上作出する。
	B. 成分の分離分析系の確立	トリテルペノイド生合成に関連する物質の単離、同定を行い、約 100 種類の代謝産物の詳細なプロファイリングを行う。	遺伝子導入によって得られた、形質転換細胞や再分化植物体について成分分析を行う。
	C. 細胞および遺伝子レベルの研究	カンゾウの DNA アレイにより、トリテルペノイド生合成と密接に関連している遺伝子を同定する EST ライブラリーの作製 (5000 クローン以上) cDNA-AFLP 等により組織及び細胞特異的遺伝子の同定を行う	EST 及びカンゾウクローンよりグリチルチン生合成に関与する遺伝子を同定する。
	D. 遺伝子発現と全代謝物プロファイリングの統合	—	グリチルチン生合成遺伝子クローニングと、組換えダイオの作製と成分分析(計画見直しで、これに注力することとしたためにプロファイリング統合は中止。これに伴い、カンゾウ DNA アレイ実験も中止)
	E. 効率的な物質生産系の確立	—	優良個体(グリチルチン含有率 6%DW 以上)の選別後、苗を増殖し圃場での栽培試験を行う。 グリチルチン生合成遺伝子導入ダイオを人工気象器中で栽培、種子を収穫する。
(6) ステロイド生産制御技術の開発(植工研)	A. アマ再生系及びアマ形質転換系の開発	アマ形質転換体の作出: マーカー遺伝子導入植物 > 10 系統	コレステロールまたはスクレン含量が高いアマの作出 > 各々 5 系統 種子油中のコレステロールまたはスクレン含量の増加 > 各々種子含油量の 5%
	B. 昆虫イブレイト代謝系の植物への応用	カイロ由来の dealkylation 酵素の単離同定 > 1~2 種類	酵母由来 dealkylation 酵素導入植物の作出 > 10 系統
	C. ユーフォルビア由来遺伝子のイブレイト代謝系への応用	ユーフォルビア由来の鍵酵素の単離 > 2 種類 シロイヌナをを用いた系での機能の解析 > 2 種類	ユーフォルビア由来の高活性鍵酵素の過剰発現植物の作出 > 10 系統
	D. イブレイト代謝系関連遺伝子の探索と応用	イブレイト代謝関連 CYP11A1 遺伝子応用	イブレイトの蓄積機構に関与する遺伝子の単離と発現植物の作出 > 1 遺伝子、10 系統
(7) カテノイド生産制御技術の開発(キリンホールディングス(H19fy まで海洋バイオ研究所))	A. モデル植物を用いたカテノイド代謝関連遺伝子と代謝物の解析	モデル植物において、カテノイド関連代謝系遺伝子と発現の全体像が把握され、3 種以上の鍵遺伝子が特定されていること	同左 (平成 17 年度末)
	B. カテノイド代謝関連鍵遺伝子の同定と機能の最適化	3 種以上のカテノイド代謝に関与する鍵遺伝子の機能が最適化されていること	同左 (平成 17 年度末)
	C. 非形質転換植物のイブレイト系代謝物プロファイルの作製	モデル植物及び実用植物において、カテノイド関連代謝物の網羅的分析法が確立され、50 個以上の関連代謝物がプロファイル化されていること	同左 (平成 17 年度末)

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
	D. 形質転換実用植物のイブノイド系代謝物の解析	—	1mg/g(湿重量)以上の有用カテノイド(アスタキチンまたはβクリプトキサンチンを主成分)を種子に蓄積するトランスジェニック・アマ(ナネ)が作出されていること。
	E. 実用評価試験	—	作出されたトランスジェニック・アマ(ナネ)の実用化の目処が立っていること
(8) 外来糖質生産植物の研究開発(東洋紡)	A. ヒアルロン酸合成酵素遺伝子組換えモデル植物の作出	ヒアルロン酸合成酵素遺伝子の取得および改変を完了 ヒアルロン酸合成酵素遺伝子組換えモデル植物の作製	同左(17年度末で完了)
	B. モデル植物を用いた糖スクレオト代謝経路の解明	データベース、糖スクレオト代謝産物の解析等により、糖スクレオト代謝主要遺伝子を決定 糖スクレオト代謝遺伝子を3種以上取得	糖スクレオト代謝酵素遺伝子導入植物における糖スクレオトの蓄積
	C. ヒアルロン酸生産実用植物の作出	—	ヒアルロン酸合成酵素遺伝子および糖スクレオト代謝酵素遺伝子の多重遺伝子導入実用植物におけるヒアルロン酸の蓄積
(9) 総合調査研究(バリエーション)	—	—	—
(9-1) 植物代謝産物に関する統合データ解析ならびにデータマイニング(奈良先端大・金谷教授)	A. マススペクトル統合開発システムの開発	GC-MS, FT-MS など個別解析システムを構築し、統合化に着手	GC-MS、FT-MSなどの統合解析システムの構築(18年度完成)
	B. 生物メタボライト関係データベースの設計ならびにデータ収集	データベースシステムの設計を行い、10,000メタボライトデータを入力	30,000メタボライトデータからなるデータベースを構築(21年度末)
	C. マススペクトルデータからメタボライトの推定法の開発	MSデータからメタボライト候補を列挙する方式の開発 プロトタイプの開発	システムを構築(18年度までに)
	D. 植物における発現プロファイルと代謝プロファイルの統合化	発現プロファイル解析法の開発 FT-MSとの統合化による分子式推定システムの開発 統合解析プロトタイプのシステム開発	統合解析システムを構築(19年度までに)
	E. 植物に関する特許のウェブ公開システムの構築	—	植物に関する特許のウェブ公開システムの構築
(9-2) ミコグサの細胞・器官培養系を用いた代謝産物解析(日大・綾部教授)	A. 組織培養系の確立	懸濁培養系の確立 器官(根)培養系の確立	同左(17年度末完了)
	B. 形質転換培養系の作出	両者についてメタボローム解析(特にイブノイド系, フェニルプロパノイド系, フラボノイド系)に適した条件の設定 オキシスクワレン閉環酵素, フェニルアラニンモノアミンアーゼ, カルコン異性化酵素, 各種シクロム P450などの候補 cDNA の取得と形質転換の影響の検証	同左(17年度末完了)
(9-3) DNAマイクロアレイによる細胞壁関連遺伝子群の発現プロファイル解析(東北大・西谷教授)	A. 遺伝子特異的DNAアレイ評価	300bpと70bpの比較で決定する遺伝子群の選抜≥数百 全候補遺伝子コグ DNAアレイの作成	同左(17年度末完了)
	B. 細胞壁遺伝子群の発現解析	300bpと70bpの比較で解析法を決定 細胞壁構築・再編制御遺伝子≥数百	同左(17年度末完了)

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
(9-4) 導入遺伝子発現制御技術の開発 (クロマチン構造を介した新規発現ユニットの開発)(奈良先端大・新名教授(加藤助教))	A. プロモーター領域のクロマチン及びヌクレオソーム構造の解析	モデル遺伝子 (4種類) についてのヌクレオソーム構造と遺伝子発現の関係を解明	モデル遺伝子(転写因子:既同定、発現プロファイル:既知)及び細胞壁・イグプリド合成関連遺伝子についてのヌクレオソーム構造と遺伝子発現の関係を解明
	B. 核マトリクスと相互作用する DNA 領域の探索と機能解析	核マトリクスと相互作用する DNA 領域 (10 領域) を同定	シイヌズナゲムアレイ(約 6Mb をカバー)による該 DNA 領域の同定 新規ターミネーターを活用した、新規発現ユニットの構築と実用遺伝子を用いた有用性の実証
	C. 導入遺伝子発現を転写後レベルで制御する技術の開発	相対値で 1、5、25、100 の 4 段階が期待できる発現系の開発	染色体高次構造に影響を与える要素を利用した新規発現ユニットの開発・モデル植物及び実用植物の 5'UTR のカタログ作成・4 段階程度、任意の遺伝子産物発現量が得られる発現系・ストレス環境を考慮した発現系を開発する
(9-5) フェニルプロパノイド代謝系の制御に関わる転写調節因子遺伝子群の解析 (東京農工大・小関教授)	A. プロモーター・シエレメントの同定	最も重要と思われる 2 個の配列決定転写調節遺伝子 cDNA 2 個以上取得 得られた cDNA 全てにつき結合特異性を解明	得られた cDNA 全てにつき結合特異性を評価 最も重要と思われる 1 個の転写調節遺伝子のプロモーター・シエレメントの解明
	B. シエレメントに結合する転写調節遺伝子の探索と解析	転写因子導入組換え植物を 15 個以上作成する	転写因子導入組換えポプラを 3 個体以上作成する
	C. 転写調節遺伝子の異所発現・機能改変による生産制御基盤技術の開発	組換え植物についての発現誘導・抑制により生産制御に必要な解析を行う	ドミナント・ネガティブ効果を利用した形質転換ポプラを作出して解析を行う。
(9-6) モデル植物を用いた細胞プロファイリング(京大・梅澤教授)	A. 代謝産物の分析法確立	代謝中間体の安定同位体標識体合成 (30 化合物) 安定同位体希釈分析法の確立	同左 (17 年度未完了)
	B. モデル植物(シイヌズナ、ミヨクサ、アカシア)及びその形質転換培養細胞の代謝産物プロファイリング	代謝産物プロファイリング (100 件/年)	同左 (17 年度未完了)
(9-7) モデル植物における P450 依存の生体成分合成・分解機能の網羅的解析 (大阪府大・太田教授)	A. P450ファミリー遺伝子の同時導入	TAC クローンによる P450 ファミリー遺伝子をミヨクサ、シイヌズナに導入する 遺伝子発現様式と代謝産物解析による変化データの取得を行う	単一遺伝子あるいは多重遺伝子導入した細胞・植物体を供試し、メタボロミクス実験による P450 酵素反応解析を実施する。 合計 15 種類以上の酵素反応同定を目指す。
	B. P450 遺伝子の機能解析と新規代謝フローの探索 (名称変更)	共通機能関連 P450 遺伝子の代謝産物解析と発現解析を実施	代謝パスウェイ予測プログラムを完成させ、一般公開する。FT-ICR/MS 機器を稼働させ、プロジェクト参加研究グループの要請に応じて代謝産物分析業務に携わる。
	C. 代謝産物プロファイリング実験プラットフォーム構築(ハイオ組合共同研究)	GCMS, LCMS, FTMS を稼働させ、メタボロミクス実験基盤を整備する。	FT-ICR/MS メタボロミクスによる分析とともに、かずさ DNA 研究所、ハイオ組合との共同で P450 機能を探索し、研究開発期間中に合計 15 種以上の新規 P450 酵素反応の同定を目指す。

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	最終目標 (H21年度末)
(9-8)テルペノイド類等二次代謝系の代謝制御に関わる生理活性物質の機能解明と網羅的解析に必要な基盤情報の整備(東京工業大・太田教授)	A. ジャスモン酸類等による遺伝子発現応答のカラゲ化	ジャスモン酸類等に応答する全発現遺伝子群についての発現の組織特異性、機能解析などのカラゲ化	ジャスモン酸類等に応答する全発現遺伝子群についての発現の組織特異性、機能解析などのカラゲ化
	B. ジャスモン酸類等に応答する遺伝子群のカラゲ化と機能解析	ジャスモン酸による代謝制御の中心となる候補遺伝子の絞り込みを行う。	ジャスモン酸による代謝制御の中心となる候補遺伝子の絞り込みを行い、得られた候補遺伝子の機能を解析する。
	C. シロイヌナズナ遺伝子発現情報のデータベース化	遺伝子発現情報データベースの作成	データベースの作成と効率化
(9-9)パラボムノキのシスプレニルトランスフェラーゼとその活性化因子の解明(東北大学・古山教授)	A. 活性化因子および重合促進因子の同定	アテックス超遠心沈殿画分中の活性化因子を同定する タバク性因子の cDNA 取得、発現系構築、促進因子の化学構造解明。	アテックス超遠心微小コム粒子画分中の活性化因子を同定する
	B. <i>in vitro</i> でのコム合成系の再構築	高効率化天然コム合成系の再構築	タバク性因子の cDNA 取得、発現系構築、促進因子の化学構造解明
	C. モデル植物での機能解明	パラボムノキ・シスプレニルトランスフェラーゼ遺伝子のモデル植物における機能解析	パラボムノキ・シスプレニルトランスフェラーゼ遺伝子のモデル植物における機能解析
(9-10)ステロル化合物の高産生植物の研究開発(石川県大・大山教授)	A. ユーフォルビアのオキニトスクアレノ及びシクロアルテノールの調査	ユーフォルビアステロル代謝産物の GC/MS による解析及びコムまたは cDNA ライブラリーの構築	オキニトスクアレノシクラーゼ遺伝子の発現、抑制形質転換株の確立。
	B. オキニトスクアレノシクラーゼ遺伝子の単離の研究	オキニトスクアレノシクラーゼの全長遺伝子及び完全長 cDNA クローンの取得、発現抑制用ベクターの構築	—
	C. シクロアルテノールシクラーゼ遺伝子の単離の研究	シクロアルテノールシクラーゼの全長遺伝子及び完全長 cDNA の取得、過剰発現用ベクターの構築	シクロアルテノールシクラーゼ遺伝子の過剰発現形質転換株の確立
	D. ユーフォルビア形質転換系開発	ユーフォルビアの培養細胞を用いた形質転換系の開発開始	ゼニコクまたはユーフォルビアにおける上記二重形質転換株作成の基礎条件の確立。
	E. 遺伝子資源・有用二次代謝産物データベース構築		ユーフォルビアの二次代謝産物に関する遺伝子資源をデータベースとして整備する。
(9-11)アカシアにおける組織培養・遺伝子導入系の開発(千葉大・三位教授)	A. 植物体再生系の開発	アカシア培養増殖した植物数 $\geq 100$	アカシアの培養増殖個体を 100 個体以上作出する。 カンゾウの培養増殖個体を 10 個体以上作出する。
	B. 形質転換法の開発	アカシア実用レベルの形質転換方法の確立	アカシアの形質転換体を最低 1 個体作出する。 カンゾウに候補遺伝子を導入した形質転換カルスを最低 5 系統作出する。



## 2. 1. 6 個別テーマ毎の研究開発の内容

### ①モデル植物を用いた植物の物質生産プロセスの解析

#### (1) 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析 (かずさ DNA 研究所)

工業原材料を効率よく植物に生産させるために、代謝産物解析の基盤となるリソースの整備を進め、特定の物質代謝に関わる遺伝子発現機構を、モデル植物を用いて分子レベルで解析し、それを制御する方法を開発する。具体的には、モデル植物における cDNA 部分配列情報 (Expressed Sequence Tag, EST) および完全長 cDNA を整備する。また、次世代型リソースとして、地球上のバイオマスの大半を占める細胞壁、および、工業原材料としての価値が高いイソプレノイド系化合物などに焦点を当て、種々の生理条件下でのゲノムワイドな遺伝子発現プロファイリング (トランスクリプトミクス研究) と代謝産物プロファイリング (メタボロミクス研究) を行い、基礎データを整備する。これを活用し、工業原材料生産に関係が深い代謝制御に関わる遺伝子群や因子の機能を明らかとし、制御方法を開発する。これらの成果を、バイオインフォマティクスを活用して統合データベースを作成し、実用植物での応用研究の基盤を整備する。中間評価後は、実用研究グループとの連携を深めて研究を行う。

#### A. cDNA の取得及び解析

各種のモデル植物及び工業原材料生産に結びつく植物種から cDNA を取得し、代謝制御を行うための遺伝子リソースとして整備する。

##### 1) ミヤコグサ完全長 cDNA の取得

ゲノム解読が進んでいるマメ科モデル植物ミヤコグサの cDNA ライブラリーを整備するとともに、EST 解読を行う。EST 解読したクローンの中から完全長 cDNA を取得して配列を解読する。完全長 cDNA の候補は、細胞壁やイソプレノイド合成などが行なわれている組織、細胞で発現している遺伝子を DNA アレイ法で解析して見出し、バイオインフォマティクス、文献情報を活用して選抜する。最終年度までに、総数 6 万クロンの EST 解読を行い、完全長 cDNA は約 2,000 クロンを解読する。

##### 2) 他植物の cDNA 取得

工業原材料生産に結びつく植物種からの cDNA 取得を進めるために、アカシア、アマ、カンゾウから完全長 cDNA ライブラリーを作製して、EST 解読を行う。アマ、カンゾウに関しては、それぞれ植物工学研究所、常磐植物化学研究所と共同して研究を進める。平成 17 年度までにアカシア、アマ、カンゾウのライブラリーを作製し、EST 解読を開始する。アカシアに関しては、心材形成に関係する組織から数千個の EST クロンを単離し、中間目標(平成 17 年度末)までに解読する。カンゾウに関しては、グリチルリチンを高濃度に蓄積するカンゾウの根より完全長 cDNA ライブラリーを作製し、中間目標(平成 17 年度末)までに約 2 万程度の EST を解読する。グリチルリチン生合成経路に関与している水酸化酵素をコードする遺伝子をバイオインフォマティクス、文献情報を活用してクローン選抜し、完全長 cDNA として解読する。アマに関しては、植物工学研究所が作成したライブラリーについて中間目標(平成 17 年度末)までに数千個の EST クロンを解読する。

最終目標までに、工業原材料生産と密接に関係するシロイヌナズナ以外の植物の完全長 cDNA を取得する。完全長 cDNA はモデル植物シロイヌナズナ及びミヤコグサの研究を考慮して、物質

代謝に関与する数十～数百の cDNA を取得する。

## B. 物質生産系の経路と機能解析

物質生産系の機能解析を強化するために、中間目標までに、遺伝子発現及び代謝産物の基盤データを獲得し、遺伝子導入細胞系統リソースを整備する。平成 18 年度以降、遺伝子導入細胞系統リソースの代謝物生産機能の評価を中心として研究を進める。

具体的には、モデル植物シロイヌナズナおよびミヤコグサを用いて、物質生産系の経路と機能解析を行うために必要となる基盤データを獲得する目的で、種々の生理条件下でのゲノムワイドな遺伝子発現プロファイリング（トランスクリプトミクス研究）と代謝産物プロファイリング（メタボロミクス研究）を行う。得られたデータをデータベース化し、それと並行して、遺伝子導入細胞系統リソースを整備する（中間目標までに達成）。最終年度までに、それらの基盤データ及び整備されたリソースを用いて、種々の代謝関連酵素遺伝子の物質生産系での機能解析を行う。

### 1) 遺伝子発現プロファイリング

市販（アジレント社）のシロイヌナズナマイクロアレイ、タカラバイオが開発中のマイクロアレイ及び自作のマクロアレイを用いて、300 条件の種々の生理条件下で遺伝子発現解析を行う。ミヤコグサに関しても、自作のマクロアレイを用いて、50 条件の遺伝子発現解析を行い、中間目標までに終了する。同時にミヤコグサのマイクロアレイの作製にも着手し、ゲノム情報と比較して、数万遺伝子を搭載のアレイを完成させる。平成 18 年度以降は、作製したマイクロアレイを用いて、ミヤコグサの物質生産系の経路と機能解析を行う。これら全ての解析データをもとに公開データベース化する。

### 2) 代謝産物プロファイリング

代謝産物プロファイリングは、(i) 網羅的なプロファイリング（メタボロミクスアプローチ）と、(ii) 目的成分に焦点を絞った代謝産物解析を行う。

網羅的な解析では、キャピラリー電気泳動-質量分析（CE-MS）、ガスクロマトグラフ-質量分析（GC-MS）、高速液体クロマトグラフ-質量分析（LC-MS）などを駆使して、モデル植物シロイヌナズナおよびミヤコグサの基本的な成分の徹底的なプロファイリングを行う。市販の植物 1 次代謝産物（400 種類以上）、2 次代謝産物（300 種類以上）を予算の範囲内で購入し、代謝産物の同定に必要な質量分析ライブラリーを作成する。中間目標まで、基本の代謝産物の質量分析ライブラリーを完成させる。また、超高分解能フーリエ変換質量分析（FT-MS）を用いたプロファイリングも検討する。目的成分に焦点を当てた代謝産物解析では、フラボノイド成分、糖成分、細胞壁成分及び脂質（特に、イソプレノイド）成分など工業現在料と密接な関係にある代謝産物の解析を行う。

### 3) 物質生産経路の解析

物質生産経路遺伝子群の機能解析を、培養細胞系および植物体を用いたハイスループット実験法により行い、その成果を利用して、植物体での物質生産経路の制御技術の開発を行う。具体的には、シロイヌナズナおよびミヤコグサの遺伝子を完全長 cDNA クローンやゲノムクローンから、GateWay ベクターなどに移し替え、適当な遺伝子発現制御下に配置して、シロイヌナズナ培養細

胞に遺伝子導入し、遺伝子機能を過剰発現、および発現抑制による代謝産物の変動を調べる。

#### i) 遺伝子導入細胞系統リソースの整備

シロイヌナズナおよびミヤコグサからの遺伝子の選抜は、代謝活性が亢進している細胞に関する DNA アレイ解析の結果や、特定の植物代謝経路研究の専門家（バイオ組合からの再委託先）の協力のもとに、バイオインフォマティクス解析などで行なう。

候補遺伝子を含む 1,000 以上のコンストラクトを、理化学研究所が配布しているシロイヌナズナの完全長 cDNA などを用いて、バイナリーベクターに組み込み、アグロバクテリウムを介してシロイヌナズナ（T87 系統）あるいはミヤコグサの培養細胞に導入する。これらを遺伝子導入細胞系統リソースとして整備する。さらに、以下の「遺伝子導入細胞系統リソースの評価」において効果が認められた遺伝子に関しては、遺伝子発現抑制ベクターなどへの組み込みを行なう。

得られたシロイヌナズナ培養細胞を維持するために、凍結保存方法を開発し、長期保存の体制を整える。中間目標までに、凍結保存方法のハイスループット化を検討し、毎年作出される数千の形質転換培養細胞を効率良く、保存できる技術を開発する。

#### ii) 遺伝子導入細胞系統リソースの評価

形質転換培養細胞の代謝・遺伝子解析情報の知識に基づいた代謝制御技術に対して、特許による権利化を行うために、遺伝子を導入した細胞系統リソースの解析を進める。遺伝子発現プロファイリングに比べて代謝産物プロファイリングはコストが掛かり、時間を要するので、先の基盤データから得られた遺伝子発現・代謝産物プロファイリングデータを解析して、絞り込んだ遺伝子候補を中心に優先順位の高い 100 以上の遺伝子導入細胞系統から解析を行う。

代謝産物の抽出方法及び分析方法にも改良を加え、細胞系統リソースをより効率的に分析できるように、検討を加える。

#### iii) 工業原材料生産に結びつく植物への遺伝子導入技術

シロイヌナズナ、ミヤコグサで有効であった遺伝子に関しては、アカシアに遺伝子導入して効果を調べる。遺伝子導入コンストラクトをバイオ組合からの再委託先の千葉大学三位研究室でアカシアへ導入する。なお、アカシアの形質転換は確立していないので、まず形質転換の高効率化の研究を行ない(平成 17 年度末)、中間目標までに、少なくとも 5 コンストラクトの遺伝子導入を開始する。中間評価において実用研究グループとの連携を強化することが求められたために、アカシアの研究は中止し、各社との個々の研究テーマを行う。

### C. 物質生産系における調節遺伝子等の機能解析

異種植物間でのプロモーターの機能の共通点と相違点を比較ゲノムの手法を用いて解析する。

具体的には、シロイヌナズナの 15 個から 20 個のゲノム遺伝子を含む TAC クローンをミヤコグサに導入し、シロイヌナズナとミヤコグサでの遺伝子発現プロファイリングを比較する。中間目標までに 5 個の TAC クローン（150 から 200 遺伝子をコード）の解析を行い、シロイヌナズナとミヤコグサでの遺伝子発現制御因子の違いを明らかにする。

また、物質生産系における遺伝子の発現調節に関わる研究として、細胞レベルでの遺伝子発現を網羅的に解析し、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析を行う。具体的には、植物組織切片から細胞（群）を取り出す技術（レーザーキャプチャー法）を利用して、細胞レベルでの遺伝子発現プロファイリングを行い、物質生産系における調節遺伝子の単離を行なう。

中間評価以降、調節遺伝子機能解析への要望が強く、産総研・高木グループ、大阪府立大学太田研究

室との連携による研究を行う。

#### D. 統合データベースの作成

本研究開発によって得られた膨大なデータは、専用のデータサーバーに蓄積し、プロジェクト参加メンバーに公開し、一定の期間をおいてインターネット上で一般公開する。統合データベースには、取得した cDNA に関する情報、代謝産物プロファイリングと網羅的遺伝子発現プロファイリングの統合データが含まれる。また、これらのデータベースに付随する文献情報なども記載する。

代謝産物プロファイリングと網羅的遺伝子発現プロファイリングのデータを統合して代謝マップ上に表示するビューワーに関しては、中間目標までに完成させ、公開する。網羅的遺伝子発現プロファイリングのデータに関しては、作成したビューワーなどを用いて公開する。

統合データベースは、バイオインフォマティクスを用いて、データマイニングできるシステムを構築し、遺伝子機能解析を容易にし、実用植物での機能解析を支援するための各種の機能を付与する。

#### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. cDNA の取得及び解析								▶
B. 物質生産系の経路と機能の解析								▶
C. 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析								▶
D. 統合データベースの作成								▶

## (2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)

アミノ酸は、それ自体が有用な窒素化合物であるとともに、タンパク質、二次代謝産物の初発物質である。これらの物質を植物で効率的に生産させることが求められており、そのための基盤技術開発としてモデル植物シロイヌナズナを用い以下の研究を行う。アミノ酸の生合成・代謝の経路に関しては微生物で研究が進んでおり、代謝制御発酵によるアミノ酸生産が工業化されているが、植物においては微生物の方法論をそのまま適用することはできない。その理由は、植物はアミノ酸の生合成・代謝経路の制御がより複雑であることによると思われる。植物では、無機窒素はグルタミン酸 (Glu)・グルタミン (Gln) 生合成系で取り込まれ、主として Glu、Gln、アスパラギン酸 (Asp)、アスパラギン (Asn) で転流する。また、これらのアミノ酸から、すべてのタンパク質構成アミノ酸を合成することができる。したがって、窒素化合物の効率的な生産のために、これらアミノ酸をはじめとする生体成分および関連する遺伝子の発現データ取得と解析が重要である。

### A. 窒素化合物代謝経路に関わる生体成分分析

植物による窒素化合物生産を実用化するために必要な基盤技術情報の一つに、光独立栄養条件下における生体成分のデータがある。しかし、光独立栄養条件下の栽培におけるアミノ酸含量をはじめとする生体成分のデータはほとんどない。また、栽培条件の微妙な変動が生体成分の含量に影響を与えることが解析を困難にしている。そこで、生育をそろえる栽培方法を確立し、日周と生育ステージごとのアミノ酸などのデータを取得する。

### B. 窒素化合物代謝経路の酵素・遺伝子の発現解析

生体成分と同様に光独立栄養条件下における遺伝子発現情報は重要である。日周や生育ステージ、環境によりアミノ酸生合成・代謝経路、機能する遺伝子が異なることが予想される。そこで、上記項目で確立する栽培方法で調製したシロイヌナズナを用い、日周や生育ステージ、環境応答などによる生合成・代謝経路にかかわる遺伝子を明らかにするために、網羅的な遺伝子発現情報を Affymetrix 社の Gene Chip を用いて取得する。

### C. 窒素化合物生代謝経路の解析のための形質転換体の作出

アミノ酸の生合成・代謝経路に関与する遺伝子の多くは重複して存在しており、それぞれ異なる機能を担うと推察されるが、その組織特異性や環境応答などは明らかではない。そこで、これまでの知見や上記解析から重要と推察される 20 遺伝子をリストアップし、当該遺伝子のプロモーター領域にレポーター遺伝子を連結し、シロイヌナズナに導入し、形質転換体ミニライブラリを作成し、アミノ酸生合成・代謝経路の組織特異性や環境応答を調べる。また、リストアップした遺伝子の中で重要と思われるものについては、過剰発現形質転換体を作成し、解析する。

### D. 窒素化合物生産に関わる遺伝子発現プロファイリング、代謝産物プロファイリング

上記項目の生合成・代謝経路の遺伝子発現のプロファイリング、代謝産物のプロファイリングを行い物質生産のために重要な遺伝子を明らかにする。また、形質転換体の解析を行い、アミノ酸の生合成・蓄積に重要な役割を担うと推察される遺伝子を特定し、機能を解析する。上記領域における公知情報、および、上記研究により得られたアミノ酸生合成・代謝系などの経路に関する

る情報を、統合データベース作成に提供する。

### 実施計画

研究項目	年 度				
	H14	H15	H16	H17	H18
A. 窒素化合物代謝経路に関わる生体成分分析	→				
B. 窒素化合物代謝経路の酵素・遺伝子の発現解析	→				
C. 窒素化合物代謝経路の解析のための形質転換体の作出	→				
D. 窒素化合物物質生産に関わる遺伝子発現プロファイリング、代謝産物プロファイリング		→			

### (3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)

植物体の構成要素である細胞は、細胞質や、ミトコンドリア、葉緑体、液胞などの細胞内小器官から構成されており、それぞれ植物における物質生産に関して様々な機能を分担している。中でも、独立性の高い独自の遺伝物質を有するオルガネラの葉緑体とミトコンドリアは、前者が光合成の中心であり、植物における物質生産の最上流、すなわち基幹代謝系と位置付けることができ、後者が ATP すなわちエネルギー生産の中心であることから、植物の物質生産プロセスの解析・制御を目指す本プロジェクトでは重要な研究対象である。このように、植物の物質生産系をオルガネラや細胞質などのいくつかのモジュールとして考えることで分析対象が少なくなり新規分析手法の開発が容易になり、作出する遺伝子組換え植物の転写産物、翻訳産物、代謝産物の変動を見ることにより、モジュール内あるいはモジュール間の生合成反応をネットワークとして捉えることが可能となる。

本サブプロジェクトは、特に、葉緑体を中心的な研究対象とすることで、植物の物質生産の最上流に位置する基幹代謝系の解析を進めるとともに、すでに構築した葉緑体遺伝子導入や多重遺伝子導入の基盤技術をさらに改良・活用することで、これらの物質生産プロセスを人為的に制御することが可能であることを実証しようとするものである。

葉緑体を中心とした転写・翻訳系の詳細な解析に基づく改良、そしてその結果である代謝産物を同時に解析する本サブプロジェクト手法の確立は、実生産に適した工業用植物の設計、開発をより迅速に可能とするものであり、併せて、有用物質の効率的な生産のための有用形質増強や未知の遺伝子機能解析に必須であるため、民間において需要が高い。

本サブプロジェクトを基盤技術として得られる実用植物は、石油代替としての工業原料・燃料生産における植物利用の可能性を拡大し、循環型産業システムの構築に大きく貢献することが期待できる。さらに、本研究開発がターゲットとしている葉緑体ゲノムの人為的改変による物質生産プロセスの制御は、国際的な競争が激化することが予想される重要領域であるが、いち早くキーテクノロジーである葉緑体遺伝子組換えを確立・改良を重ねてきたことから、国際的に優位性を発揮できる基盤技術を開発するものであり、その成果は環境、エネルギー、食糧等現在及び近未来の重要課題の解決に不可欠であり、我が国の国家技術戦略上も重要な、国際的優位性を確保できる基幹技術となる。

#### 実施項目と研究計画

本研究開発ではモデル植物の物質生産系の上流部分（基幹代謝系）に焦点を合わせ、工業原材料の前駆体増産により、新規バイオマス植物の創成のための基盤技術を確立する。具体的にはモデル植物のシロイヌナズナ、タバコの基幹代謝系関連の転写系・翻訳系の詳細な解析と改良、プロテオーム解析・メタボローム解析等ポストゲノム手法を駆使した基幹代謝系統合データベースの構築を目指している。これを達成するために、本研究開発では下記の実施項目を設定している。

#### A. 基幹代謝系操作・改良技術開発

##### A-1. 無傷オルガネラの単離法の確立および葉緑体遺伝子発現における核様体構造の解析（奈良先端科学技術大学院大学、RITE）

- シロイヌナズナにおいて、葉緑体代謝活動（光合成）が正常である無傷葉緑体の単離法を確立する（～平成 16 年度）。

- 全シロイヌナズナ葉緑体ゲノムをカバーする DNaseI 感受性試験用のプローブ (500 bp) を用いて、全ゲノム領域を対象とした核様体構造解析に着手する。この中で *psbD* 遺伝子領域については重点的に解析を行う (～平成 16 年度)。

#### A-2. 葉緑体遺伝子発現の転写過程での制御 (京都府立大学、京都大学RI総合センター、関西学院大学)

- シロイヌナズナのゲノム情報を基にした細胞内局在解析 (～平成16年度)、転写複合体のプロテオーム解析 (～平成18年度)、two hybridスクリーニング (～平成18年度) などに取り組み、葉緑体の転写過程を制御する新規遺伝子を取得する。
- 葉緑体RNAポリメラーゼについて、葉緑体形質転換、*in vitro*転写によるPEPの機能解析 (～平成18年度)、分子遺伝学的アプローチによるNEPの機能解析 (～平成16年度) に取り組む。
- 葉緑体の転写制御に関わる因子 (シグマ因子および新規制御因子) について、分子遺伝学的解析 (～平成18年)、葉緑体形質転換や*in vitro*転写を用いた解析 (～平成21年度) を行い、その分子機能を明らかにしていく。
- 転写因子を用いた葉緑体遺伝子の発現制御の可能性を検証し (～平成18年度)、さらに、導入遺伝子の発現を人為的に制御する基礎技術の開発に取り組む (～平成21年度)。

#### A-3. 葉緑体遺伝子発現の翻訳過程での制御 (名古屋市立大学、名古屋大学)

- タバコ葉緑体 *in vitro* 翻訳系およびタバコ葉緑体 *in vitro* RNA エディティング系を改良し、非 RI アッセイ法を導入して、低バックグラウンドかつ高速アッセイが可能な系を開発する (～平成 16 年度)。
- *in vitro* 翻訳系を用いて、様々な葉緑体 mRNA の 5'非翻訳領域を比較し、翻訳効率の高い葉緑体 mRNA を選出する (～平成 17 年度)。
- タバコとエンドウで RNA エディティング部位を網羅的に解析し、翻訳の on/off 制御が可能なエディティング部位を探索する (～平成 17 年度)。
- *in vitro* 系を用いて、様々な葉緑体 mRNA の翻訳制御や RNA エディティングに関わるシス配列を同定する (～平成 17 年度)。
- 葉緑体 DNA マイクロアレイを用いて、翻訳シス配列の候補をゲノムワイドに探索するとともに、組織特異的な翻訳シス配列の候補も選択する (～平成 17 年度)。
- 代表的な翻訳および RNA エディティングのシス配列に結合するトランス因子を UV クロスリンク法で同定する (～平成 16 年度)。
- 有用遺伝子のコード領域設計のため、アミノ酸の同義コドン間の翻訳効率を実験的に解析する。コドン選択用ソフトの試作に必要な関連データを収集し、*in silico* 解析を行い、コドン選択用ソフトを試作する (～平成 19 年度)。
- タバコ葉緑体の恒常的発現(*rps2* mRNA)と光誘導的発現(*psbA* mRNA)について、5'非翻訳領域に欠失変異を導入し、その翻訳効率を測定する (～平成 18 年度)。次いで、翻訳シス配列に変異を導入し、翻訳効率を測定し、様々な翻訳効率を持つ 5'非翻訳領域のカタログ化を行う (～平成 19 年度)。
- コード領域と 5'非翻訳領域との組み合わせが翻訳活性に与える影響について、5'非翻訳領域と動物由来のコード領域について、*in vitro* での解析に着手する (～平成 19 年度)



- 終止コドンのリードスルーやリボソームのスタックを防いで、効率的な翻訳をさせる有効配列を探索するため、終止コドンおよびその下流配列を数多く収集し、解析に着手する（～平成 19 年度）

#### A-4. 基幹代謝系のメタボローム解析（大阪大学、RITE）

- シロイヌナズナの葉緑体に存在する一次代謝関連代謝化合物および光合成に係わる代謝物を親水性低分子化合物を中心に網羅的に解析するための、条件検討（抽出方法、誘導体化方法、保存方法、分析方法）を行う。得られた結果をもとにして、代謝物インデックスを作成する。目標値としてワンパス分析で 200 個の代謝産物の分離分析を目標とする。得られた分析結果を対象とした種々の多変量解析手法（PCA、HCA 等）を活用した解析システムを開発する（～平成 16 年度）。
- 平成 16 年度以降は、解析システムの性能向上に努めるとともに、それまでに開発したシステムを用いて、種々の葉緑体関連変異株および、形質転換体のメタボローム解析を実施し、代謝関連の新知見を得る（～平成 18 年度）。
- CE-MS を用いたシステムにより、葉緑体基幹代謝系路における炭素フローを測定する分析系を確立する（～平成 19 年度）。

### B. 統合データベース構築

#### B-1. 基幹代謝系関連遺伝子データベースの構築（愛知学院大学、株式会社中電シーティーアイ、名古屋大学、名古屋市立大学）

- 約 3,500 種と推定されるシロイヌナズナの葉緑体関連遺伝子群のうち約 2,000 種を文献情報などを基として再アノテーションを行い（～平成 16 年度）、葉緑体関連遺伝子データベースの構築を目指す（～平成 18 年度）。
- 葉緑体を中心とした物質生産経路に関する情報を収集整理し、遺伝子情報と関連づけて一部公開に着手する。引き続き収集整理を進め公開を行う。一応の収集整理を完了しすべて公開する（～平成 18 年度）。

#### B-2. 基幹代謝系のプロテオミクス（RITE、奈良先端科学技術大学院大学）

- シロイヌナズナ葉緑体のプロテオーム解析については、二次元電気泳動の結果あらわれる 2,500 程度のスポットのうち 50%程度について同定を試み、葉緑体主要代謝に関与する酵素群を同定する（～平成 16 年度）。
- 単離、精製された葉緑体の機能タンパク質複合体（基幹代謝制御・調節タンパク質）を中心とした、葉緑体の微量タンパク質を集中的に解析し、葉緑体基幹代謝系関連タンパク質の同定を行う（～平成 18 年度）。
- 作出された基幹代謝系改良タバコおよびシロイヌナズナ変異株の問題点を検証および解析する手段としてのプロテオミクス・メタボロミクス・トランスクリプトミクスの可能性について検討する（～平成 18 年度）。

### C. 基幹代謝系改良モデル植物の作出

#### C-1. 基幹代謝系改良モデル植物の作出（京都府立大、名古屋市立大、大阪大、RITE）

- 特定前駆体の生産の鍵酵素を特定し、この遺伝子組換え植物の作成に着手する（～平成 17 年度）。
- 工業原材料生産代謝系の前駆体（多糖類、脂肪酸、メバロン酸、アセチル CoA 等）および有用代謝物質が従来の 1.2～2 倍程度に増量されたモデル植物を作出する（～平成 21 年度）。
- 転写・翻訳活性化によるアスタキサンチン含量の増加を目的に、転写、翻訳に適した配列を検討し、その効果を検証する（～平成 21 年度）。

#### D. 総合調査研究

上記の研究開発を支援するものであり、各テーマを担当するグループが効率的に研究を行うために必要な技術情報を総合的に調査するとともに、プロジェクト全体の方向付け、最適化を図るために、RITE、参加大学および企業の研究者等からなる研究開発委員会を設置し、研究計画及び成果の推進、評価および技術情報の共有化等を行う(平成 21 年度)。

#### 実施計画表

研究開発項目	H14FY	H15FY	H16FY	H17FY	H18FY	H19FY	H20FY	H21FY
A 基幹代謝系操作・改良技術開発								
A-1 無傷オルガネラの単離法確立、葉緑体遺伝子発現における核様体構造の解析	→	→	→					
A-2 葉緑体遺伝子発現転写過程での制御	→	→	→	→	→	→		
A-3 葉緑体遺伝子発現翻訳過程での制御	→	→	→	→	→	→		
A-4 基幹代謝系のメタボローム解析	→	→	→	→	→	→		
B 統合データベース構築								
B-1 基幹代謝系関連遺伝子データベースの構築	→	→	→	→	→			
B-2 基幹代謝系のプロテオミクス	→	→	→	→	→			
C 基幹代謝系改良モデル植物の作出								
C-1 基幹代謝系改良モデル植物の作出				→	→	→	→	→
D 総合調査研究	→	→	→	→	→	→	→	→

#### (4) 遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイの開発および遺伝子発現制御技術の開発と

##### データベース化 (タカラバイオ)

植物における物質生産機能の解析を効率よく促進するための網羅的な遺伝子発現解析ツールや遺伝子発現制御技術が求められており、シロイヌナズナで全遺伝子規模の解析を行うための基盤技術開発として以下の研究を行う。

##### A. 遺伝子特異的 DNA マイクロアレイ設計

マイクロアレイにおいて遺伝子特異的に検出するため、また、遺伝子発現制御において遺伝子特異的にノックダウンするため、遺伝子特異的なフラグメント配列の設計を行う。手法は、ゲノム配列、完全長 cDNA 配列、EST 配列を利用して転写配列を作成し、各遺伝子転写配列毎に他の転写配列に比較して最もホモロジーの低い領域を検索し、これを遺伝子特異的配列とする。早期にマイクロアレイを供給するために、平成 14 年度までに cDNA クローン利用の設計技術を確立し、8,000 遺伝子規模を設計終了することを目標にする。

##### B. 遺伝子特異的 DNA マイクロアレイの製造と検証

かずさ DNA 研究所内 NEDO 基盤研究室やプロジェクト参加チームが早期からモデル植物の cDNA 解析に利用できるようにするため、cDNA クローンを主に用いた 8,000 遺伝子相当を搭載した遺伝子特異的 DNA マイクロアレイを、先行して 400 枚規模で作製する (平成 14 年度)。また、特異性などの設計評価技術を確立する。さらに、植物細胞から正確に RNA を抽出、ラベルする技術を確立する。

##### C. シロイヌナズナ全遺伝子搭載の DNA マイクロアレイの開発と製造

網羅的な遺伝子発現解析のために、シロイヌナズナの約 25,000 相当の全遺伝子の載った DNA マイクロアレイを作製する。かずさ DNA 研保有の cDNA クローン以外の遺伝子に関しては、ゲノム DNA から増幅する。コストを下げるため、断片の増幅には大量生産の可能な等温遺伝子増幅法である ICAN 法を採用する。このため、ゲノムからの増幅用の設計技術を確立する。年間 400 枚相当を作製し、実用評価を行った後、平成 17 年度に製品化を目指す。

##### D. ゲノム情報とリンクした遺伝子発現解析データベース開発

統合データベースの一部として遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイ開発と連動して、マイクロアレイの使用・遺伝子発現解析に際しての有用な情報を提供するため、DNA マイクロアレイ情報と転写配列情報を関連付けたデータベースを作成する。WWW によるプロジェクト内の公開をアレイ配布と同時に行うことと、基盤研の遺伝子発現等のデータベースとの統合方法を確立することを目標にする。

##### E. 遺伝子発現制御技術開発

物質生産系の経路と機能解析を効率的に進めるために、シロイヌナズナ全遺伝子規模の増幅 DNA 断片を利用した遺伝子発現ノックダウンの系を開発する。平成 15 年度中に基本ベクターを完成し、遺伝子発現を 70%以上ノックダウンできる系を目指す。

## F. 遺伝子特異的 DNA アレイとノックアウトシロイヌナズナを用いた細胞壁の再構築に関わる遺伝子群の解析

細胞壁関連の物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析のために、ブラシノステロイド誘導型の細胞壁の再構築に関わるキシログルカン転移酵素遺伝子 (EXGT) とそのファミリー遺伝子、ブラシノステロイド合成と代謝関連酵素に特に着目して発現制御メカニズムを遺伝子特異的 DNA マイクロアレイとノックアウトシロイヌナズナを用い解析する。最終的に、開発の DNA マイクロアレイと遺伝子発現ノックダウン技術の有用性を示すとともに、細胞壁の再構築に関連する物質生産プロセスにおける主要調節遺伝子の同定を目指す。

### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. 遺伝子特異的 DNA マイクロアレイ設計	→							
B. 遺伝子特異的 DNA マイクロアレイの製造と検証	→							
C. シロイヌナズナ全遺伝子搭載の DNA マイクロアレイの開発と製造		→	→	→				
D. ゲノム情報とリンクした遺伝子発現解析データベース開発		→	→	→				
E. 遺伝子発現制御技術開発		→	→	→				
F. 遺伝子特異的 DNA アレイとノックアウトシロイヌナズナを用いた細胞壁の再構築に関わる遺伝子群の解析			→	→	→			

## (5) 植物の統括的な遺伝子発現制御技術の開発 (産業技術総合研究所)

植物の物質生産プロセスを目的に応じて操作するためには、目的の代謝系に関連する遺伝子群の発現を統括的に制御する転写因子を同定し、その機能を利用することが重要である。そこで、転写因子の統括的な遺伝子発現制御機能について、モデル植物において包括的かつ体系的な解析を行う。これによって有用な物質生産プロセスを統括的に制御するための技術基盤および知的基盤の確立を目指す。

### A. 転写因子遺伝子の *in silico* 解析と cDNA の収集

転写因子の包括的な機能解析を効率的に行うために、遺伝子ファミリーごとに体系的な解析を行う。そのために、シロイヌナズナのゲノムデータベースを基に転写因子遺伝子を遺伝子ファミリーごとに *in silico* 同定し、構造・機能等の情報を解析・整理する。

転写因子遺伝子の cDNA を、解析した配列情報を基に PCR によって効率的に取得する手法を確立する。遺伝子ファミリーごとに Gateway エントリーベクターのライブラリーとして整備する。

### B. 転写因子遺伝子の発現解析

転写因子遺伝子の発現解析を行うため、定量 PCR、DNA アレイ等の解析手法を検討する。これらの手法を用いて、シロイヌナズナの各植物組織や生育条件下での転写因子遺伝子の発現プロファイルのデータを取得する。その結果から、一次・二次代謝系が大きく変動する条件で協調的に発現変動する転写因子を同定し、その機能を推定する。

### C. 転写因子遺伝子の機能解析

効率的な転写因子遺伝子の機能解析手法を確立するために、過剰発現、アンチセンス法や RNAi 法などの発現抑制などのベクターへの変換が容易な Gateway システムを用いた植物発現ベクターの整備とこれらを用いたシロイヌナズナの形質転換法を確立する。

転写因子を過剰発現させた形質転換シロイヌナズナ培養細胞を作製する。作製した形質転換細胞において標的遺伝子群の発現プロファイリングを行い、そのデータ解析によって導入した転写因子遺伝子が制御する代謝系について明らかにする。さらにその時に量的変化が予想される代謝産物プロファイルの解析を行って確認する。これらの機能解析によって、転写因子遺伝子の統括的な代謝系制御機能を順次明らかにし、物質生産プロセス制御に有用な転写因子遺伝子を同定する。また、推定された機能の検討と物質生産プロセス制御において重要あるいは有用な機能に関与する転写因子の探索のために転写因子遺伝子の過剰発現コンストラクトを導入した形質転換植物体の作製と形質変化の解析、さらに有望な機能が推定された転写因子の作用機構の解析を行う。

### D. キメラリプレッサーを用いた遺伝子発現制御技術の開発

新規に開発したキメラリプレッサーを用いた転写因子遺伝子機能のサイレンシング技術を用いて、シロイヌナズナの転写因子の機能解析を行い、有用形質の制御、特に代謝に関わる転写因子の同定を目指す。具体的には、シロイヌナズナを用いて代謝に関連すると考えられる転写因子をキメラリプレッサーに改変し、それらを発現する形質転換体を作成し、メタボローム解析を行い、代謝に変化をもたらす転写因子キメラリプレッサーを同定する。



## ②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

### (1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの開発（日本製紙）

植物は、二酸化炭素を吸収し、太陽エネルギーを利用してバイオマス資源に変換している。換言すれば、太陽光エネルギーをバイオマスの化学エネルギーに変換している。特に、樹木は、多量の高分子化合物（セルロース、ヘミセルロース、リグニン）を木材の細胞壁に蓄積しており、代替の工業用原材料・エネルギーとして最も有望視されている。

製紙産業は、樹木を原材料とした循環型産業である。製紙用原材料を効率的かつ安定的に獲得するために、遺伝子工学技術により高バイオマス生産性のユーカリを作製する基盤技術開発として以下の研究を行う。

#### A. MAT ベクターシステムによる樹木への遺伝子導入法

ユーカリは遺伝子導入および組織培養が困難なことが知られている。そこで、ユーカリ用 MAT (Multi-auto-transformation) ベクターシステムを 3 種類 (植物ホルモン遺伝子の組合せ 1 種類、ネガティブ選抜 2 種類) を構築し、評価する。また、遺伝子導入効率を向上させるための条件検討を 3 種類 (基本培地、植物ホルモン前駆体、播種条件) 実施する。有用遺伝子の発現を検討するために、各種プロモーターと有用遺伝子の組み合わせ 6 種類 (MC8-des9, ubi-codA, 35SCaMV-anitiLIM, C2-C1a, 35SCaMV-gols, 35SCaMV-cds) について、遺伝子導入実験を実施する。

#### B. 組換え樹木の作製

ユーカリ用 MAT ベクターシステムを用いて、有用遺伝子を導入した組換えユーカリを作製する。有用遺伝子を導入した組換え体を 3 種類 (各 10 本) 作製する。最終的には、3 種類の組換え体で形質評価試験を実施する。

#### C. 生物多様性影響評価試験

組換えユーカリ実用化のためには、隔離ほ場試験を実施するためのシステムが必要である。B. において作製した組換えユーカリの特定網室および隔離ほ場における形質および生物多様性影響評価試験を筑波大学と本プロジェクトで設置された施設を使用して共同で実施する。特定網室における生物多様性影響評価試験は、3 種類以上の組換え系統での実施を目標とする。隔離ほ場試験は 3 系統 (1 系統あたり 5 本以上) を目標とする。

#### D. 無菌キメラ作成技術

導入した有用遺伝子の発現を適切に制御するために遺伝子工学的手法により周縁キメラ個体を作製する。遺伝子工学的手法として、部位特異的組換え系を利用したキメラ作成ベクター 3 種類 (R/RS 型 2 種類、Cre/lox 型 1 種類) を構築し、評価する。周縁状に遺伝子を発現させるために、細胞層特異的プロモーター 3 種類 (PDF, CLV1, CLV3) を評価する。キメラ作成には、植物体が大きく又、組換え体の作製が容易なタバコを用いてモデルシステムを構築する。

#### E. 遺伝子発現制御に関する技術開発

周縁キメラを作成するもう一つの手段として、組織培養による無菌的周縁キメラ作成技術を開

発する。接ぎ木によりキメラ作成が可能なアブラナ科の植物 1 種類とタバコを用いて実施する。

#### F. 樹木への遺伝子導入技術開発

2 段階 MAT ベクターシステムや無菌キメラ作成などの遺伝子工学的手法をユーカリに適用するためには、作製した組換え体へ再度の遺伝子導入が必要である。ユーカリ・グロビュラスのクローンからの不定芽分化は非常に困難であるため、これを改良するために植物ホルモン遺伝子を利用したユーカリ葉からの不定芽促進技術を開発する。ユーカリ・クローン 3 系統の葉からの不定芽分化を目指す。また、2 段階脱離システムの樹木における検証にはポプラ 3 系統を選定し、少なくとも 1 系統で確認することを目標とする。

#### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. MAT ベクターシステムによる樹木への遺伝子導入法の開発							→	
B. 組換え樹木の作製	→							→
C. 生物多様性影響評価試験								→
D. 無菌キメラ作成技術							→	
E. DNA アレイ技術の応用	→							
F. 樹木への遺伝子導入技術開発								→



## (2) 循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の開発 (王子製紙)

木質バイオマス生産に関わっている重要な遺伝子群の発現量を調節するための調節因子や分子スイッチの探索あるいは人為的構築を実施し、これらをユーカリに導入・作用させることにより、木質バイオマス生産を統括的に制御する基盤技術開発として以下の研究を行う。

### A. 細胞壁成分の生合成・木繊維細胞形態形成に関与する遺伝子群の網羅的解析

これまでの遺伝子組換えによる木質バイオマスの改変は、例えばリグニン合成系の1酵素遺伝子を導入することで1成分を変えようとする試みであったが、木質バイオマスとして総合的にとらえ改変するという研究はなされていない。課題解決には、木質バイオマスの形成という観点から、一連の細胞壁成分の生合成機構並びに木繊維細胞の形態形成に関与する遺伝子群の同定、遺伝子相互の発現ネットワークの解明を行う。その具体的戦略としては、ESTデータベースを利用したマイクロアレイ解析などのゲノム科学的アプローチを行う。これらの知見に基づいて、生合成経路（フロー）における律速ポイントや遺伝子相互の発現制御機構の探索等を行う。

### B. 木質バイオマス形成に関わる遺伝子群の統括的発現制御システムの構築

既報のセルロース合成やリグニン合成の制御研究成果から、複雑な生合成系（フロー）の制御は1つの酵素遺伝子を変えるだけでは不足であり、フロー全体を制御しうる遺伝子発現調節因子（転写因子）やレセプター・Gタンパク質等の分子スイッチを利用することが効果的であることを示唆する結果や情報を独自に得ている。当社は既に大規模なユーカリ樹幹ESTデータベースを構築しており、木部形成時に働く転写因子や分子スイッチの遺伝子を多数同定し所有している。これらは木部形成時に働いていることから、木部形成に必要な遺伝子群の発現制御等に関わっていることが推測できるが、その詳細なスペック（どのレベルの遺伝子群をどの程度制御するか）は不明である。そこで、これらの中から様々な遺伝子群を効果的に制御しうる因子を、網羅的かつ迅速な手法により探索し、木質バイオマス形成遺伝子群の働きを統括的に制御する技術を開発する。この技術により木質バイオマスを目的に沿った形で効率よく改変することを可能とする。

### C. ユーカリ遺伝子組換え体の評価

上記研究項目A、Bによって得られた情報に基づき、制御因子を導入した遺伝子組換えユーカリを作出する。適宜、タバコによる統括的発現制御の効果に関する検証を併用する。最終的には、作出された遺伝子組換えユーカリの性質を評価し、事業植林における活用を目指す。

## 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. 細胞壁成分の生合成・木繊維細胞形態形成に関与する遺伝子群の網羅的解析			→					
B. 木質バイオマス形成に関わる遺伝子群の統括的発現制御システムの構築								→
C. ユーカリ遺伝子組換え体の評価			- - -					→

### (3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発 (日立造船)

研究対象となる実用植物は温帯系においてトランス型ゴムを産生するトチュウ(杜仲：*Eucommia ulmoides*)である。本研究はトランス型ゴムの生産能の向上と安定生産、ゴム分子量を改変しトチュウの目的の組織に蓄積させるための機構を解析する基盤要素技術の開発である。これらの技術開発にはゴムの代謝制御を解析するためメタボローム解析技術の開発、ゴム生合成経路の解析、ゴム代謝に関連する遺伝子やその形質の発現・蓄積部位などの技術領域について基盤技術開発を必要としている。

トチュウは中国の中南部を原産とする1属1種の落葉性喬木であり、生薬原料として使われる他、全草にトランス型ポリイソプレノイドであるトチュウゴムが葉(2%)、樹皮(15%)および果皮(30%)に含まれる。トチュウゴムの利用は現在では中国で一部のプラスチック素材として利用されているが、工業素材としての産業利用は未開発である。しかし、20世紀初めに絶縁性ゴムの用途開発として本邦に導入された経緯もあり、当時から素材の重要性には着眼されていたと推察される。そして、最近では植物由来のポリマー樹脂は接着剤としての機能性エポキシ化樹脂としての利用や、電子制御部品に利用されるなどのIT関連部品産業には欠かせない素材としての利用価値が高まっている。

また、トチュウには様々な植物科学領域の解決すべき問題が散在しており、対象が高分子化合物の複合体であるなど基礎化学の背景から見ても困難な点が多い。しかし、実用植物でのゴム生合成代謝制御の研究開発は生物機能活用型循環産業システムを構築するうえで核となるものであり、これらの代謝制御技術が解析される事により石油に変わるエネルギー資源を確保すると同義の成果が得られると考察される。

本研究の目的は、トランス型ゴム植物の遺伝子を解析し工業原料用植物としての用途を高めるための分子育種技術の開発であり、トチュウでトチュウゴムを効率よく生産するための基盤技術開発として以下の研究を行う。

#### 研究項目

##### A. ポリイソプレノイド成分の分析と精英樹選抜

トチュウのトランス型ゴム生合成に関与している遺伝子を網羅的に取得して、それらのゴム生合成に関わる遺伝子をデファレンシャル解析することを目標とする。まずは、ポリイソプレノイド分析のため簡易の調製法・分析手法を構築する。本研究は日中共同研究であるため、手法の標準化マニュアル(中・英・日文)を作成し、技術情報の共有化を計る。次に、標準手法による日本・中国の遺伝資源(トチュウゴム選抜林および天然選抜林)からトチュウゴム成分(分子量分布・含有量分布)の分析評価をおこなう。更にトチュウゴムの分子量・含有量情報をベースに精英樹を選抜して、種内変異差の特徴からトチュウゴムの生合成に関する遺伝情報を解析する。

##### B. ゴム産生能の異なるトチュウ変異体の育種

放射線(ガンマー線)や変異原(アルキル化剤)処理により突然変異体を誘導し、ゴム産生能の異なるトチュウ変異体の作出をおこなう。そして、ゴム産生能の異なるトチュウを選抜育種し、ゴム含有量や分子量分布などの差異解析によりトチュウゴム代謝の基礎科学的評価をおこなう。

### C. 組織・細胞レベルでのゴム生合成機構の解析

トチュウにおける組織および細胞レベルでのゴム生合成の局在を光学顕微鏡・共焦点レーザー顕微鏡・電子顕微鏡などを使用して解析する。更に EST 解析等の情報を利用してゴム生合成関連遺伝子および酵素の発現部位を特定するべく取り組み、ゴム生合成に関する局在性の基礎的情報を取得する。

### D. メタボローム解析

トチュウゴム代謝に関連する様々な生合成経路解析と一次・二次代謝物との関連性評価やメタボローム解析について、ゴム生合成上流の代謝物についても分析系を構築する。構築した分析系を用いてトチュウゴム精英樹を中心としたゴム代謝能の異なるトチュウの上流代謝物のプロファイリングを行う。また、ゴム成分との統合解析についても試みる。

### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. ポリイソプレノイド成分の分析 と精英樹選抜				→				
B. ゴム産生能の異なるトチュウ変 異体の育種				→				
C. 組織・細胞レベルでのゴム生合成 機構の解析								→
D. メタボローム解析								→

#### (4) パラゴムのゴム生産制御技術の開発 (ブリヂストン)

本事業では有用工業原料である天然ゴムを産出する唯一の植物であるパラゴムノキを対象とし、遺伝子組換えを利用した形質転換体作製の手法を用い、パラゴムノキ (*Hevea brasiliensis*) の代謝系改良を通じて、代謝物であるラテックスの生成量の多い優良品種あるいは非ゴム成分含量やゴム分子量分布等が従来品種とは異なる高品質ラテックス生產品種等を分子育種するための技術開発として以下の研究を行う。

##### A. 組織培養技術開発

形質転換体作出を目的に、パラゴムノキの再分化の基礎技術を確立する。中間目標として再生植物体を取得する技術を確立して、最終目標として優良クローンにおいて再分化率が高いパラゴムノキ組織培養技術を確立する。

九州大学の指導のもとブリヂストンが主にインドネシアの天然ゴム農園で行う。

##### B. 形質転換技術開発

パラゴムノキへの遺伝子導入の基礎技術を確立する。中間目標として形質転換細胞の取得と培養根などによる形質転換モデル実験系の開発を行い、最終目標としてパラゴムノキの形質転換体を作成する技術を確立する。

インドネシア BPPT と共同研究を行い、九州大学で基礎技術を構築してインドネシアで開発技術を展開する。

##### C. ラテックス生合成メカニズム解析

ラテックス生合成に関与する酵素遺伝子を探索するため生合成メカニズムを解析する。中間目標として組織観察・免疫染色等の技術開発を行いゴムが生合成されている組織・細胞の特定を行う。最終目標として電子顕微鏡観察・免疫電顕等の技術開発を行い、ゴムが生合成される細胞(乳管細胞)内でのラテックス生合成メカニズムを解析する。さらに安定同位体でラベルされた前駆体候補化合物のゴムへの取りこみ実験によってゴム前駆体生合成経路を特定する。さらに文献情報も統合して、ラテックス生合成経路全体像を構築する。

九州大学、大阪大学から分析技術開発の支援を受けてブリヂストンが共同して実施する。新鮮サンプルの入手及び前処理は、ブリヂストンのインドネシアの農園(BSKP 等)で行う。

##### D. ラテックス生合成関与遺伝子の取得・解析

ラテックスの EST 解析によりラテックス生合成関与の候補遺伝子群を取得する。中間目標としてラテックス遺伝子の EST データベースを構築しゴム分および非ゴム分の生合成に有効と推測される候補遺伝子群の抽出を終える。その後、得られた遺伝子群を用いて転写解析による遺伝子絞込みに用いるマイクロアレイ (GeneChip、DNAchip) を外注で作成する。

インドネシア BPPT と資源移転契約を締結して、日本で遺伝子解析を実施する。mRNA のサンプリングはインドネシアの農園で行い、EST 解析は主に技術力の高い大阪大学およびかずさ DNA 研究所で実施する。

##### E. 遺伝子発現・機能解析

EST 解析により抽出した候補遺伝子群からマイクロアレイを構築し、転写解析を行うことでターゲット遺伝子の絞込みを行う。中間目標としてラテックス生合成関与候補遺伝子群の完全長 cDNA を取得して、パラゴムノキにおける *in situ hybridization* 等の遺伝子発現・機能解析の基礎技術を開発し、候補遺伝子の発現部位を細胞レベルで確認する。最終目標としてゴム分子量分布の異なる 1 年生組織と 8 年生組織の転写量比較、およびタッピング後に活性化されるゴム生合成と連動して転写が活性化される遺伝子の絞込みにより、ゴム生合成に関与する遺伝子群を絞込む。さらに、ラテックス生合成メカニズム解析で明らかとなったゴム生合成に関与する細胞内小器官（ゴム粒子）に存在する蛋白の網羅的解析により、転写解析で絞り込んだ遺伝子候補をさらに絞り込む。

主に、大阪大学およびかずさ DNA 研究所の指導のもと、ブリヂストンが開発する。

#### F. 形質転換体作出と機能確認（18 年度より実施）

モデル植物やパラゴムノキに、ラテックス生合成関与遺伝子、たとえば非ゴム成分ビタミン E の生合成遺伝子を導入した形質転換体などを作成して、その機能確認を行う。中間目標としてラテックス非ゴム成分及びゴムの分析技術・物性評価技術を確立して、最終目標としてモデル植物形質転換体において、設計したビタミン E 組成などのラテックス特性が発現していることなどの機能確認を行なう。

ラテックス及びゴムの分析技術・物性評価技術はブリヂストンが確立する。最終的な成果である形質転換体はブリヂストンの農園（BSKP 等）に植林できるように、現地での法的な手続きも含め体制を構築する。

#### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. 組織培養技術開発								
B. 形質転換技術開発								
C. 生合成メカニズム解析								
D. 生合成関与遺伝子の取得・解析								
E. 遺伝子発現・機能解析								
F. 形質転換体作出と機能確認								

## (5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発（常磐植物化学研究所）

マメ科のカンゾウ属（*Glycyrrhiza* 属）植物は重要な医薬品・食品原料であるが、その自生地保護や栽培化が求められている。カンゾウの肥大根及び肥大根茎に含まれるトリテルペン配糖体であるグリチルリチン、及びフラボノイドの効率的な生産を目的とした技術基盤構築のため、以下の研究を行う。

### A. 材料植物の確保、育成、培養系の確立

#### 1) 生合成および蓄積に関わる植物細胞（組織）の同定あるいは誘導系の確立

DNA マイクロアレイ等により二次代謝を誘導あるいは調節する遺伝子を検出しクローニングするために、トリテルペノイド生合成経路発現を誘導する条件（化学物質や環境条件等）の検討を行う。

#### 2) 材料植物の確保、育成、培養条件の確立

カンゾウ属植物のうちグリチルリチンを含有する主要 3 種より、含有成分やその含有率、形質転換効率等を指標として実験に適した種あるいは個体を選定し、遺伝子導入技術及び植物体再分化技術を確立する。また、並行してダイズへの遺伝子導入を行いダイズによるグリチルリチン生産技術を確立する。

### B. 成分の分離分析系の確立

成分プロファイル及び遺伝子の機能解析を目的として、GC/MS、LC/MS 等及び分取液体クロマト装置等の分析機器を用い、グリチルリチン及びその生合成関連物質、フラボノイドなどの代謝物（100 種類以上）の分析システムを構築する。

### C. 細胞および遺伝子レベルの研究

グリチルリチンの生合成及び蓄積の場であると考えられる肥大根茎を材料に、完全長 cDNA ライブラリーを作製し、20,000 クローンの塩基配列を解読、EST ライブラリーを構築する。また、グリチルリチン生産組織で特異的に発現する遺伝子を明らかにするためにディファレンシャルディスプレイ法により遺伝子を単離、機能解析を行う。

### D. 遺伝子発現と全代謝産物プロファイリングの統合（18 年度以降実施）

グリチルリチン等の二次代謝経路の発現制御機構を明らかにするために、遺伝子発現と全代謝産物プロファイリングを統合した解析を行う。

### E. 効率的な物質生産系の確立（18 年度以降実施）

#### 1) 人為的な制御による物質生産

生合成関連遺伝子発現を指標とした優良個体の選抜や培養細胞の選抜を行う。また、生合成関連遺伝子発現を指標としてエリクター等による処理や環境制御下での細胞培養や栽培を行い、生産性の高い物質生産技術を開発する。

## 2) 遺伝子組換え植物による物質生産

効率的な成分生産のために、得られたグリチルリチン産生制御遺伝子をカンゾウ及びダイズに導入、植物体を再分化し、優良個体（グリチルリチン含有率 15-20%DW 以上）の選別後、圃場での栽培試験を行い、また経済的採算性を検討する。

### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A.材料植物の確保、育成、培養系の確立								
1)生合成および蓄積に関わる植物細胞（組織）の同定あるいは誘導系の確立	→							
2)材料植物の確保、育成、培養条件の確立	→							
B.成分の単離同定と分析系の確立	→							
C.細胞及び遺伝子レベルの研究	→							
D.遺伝子発現と全代謝プロファイリングの統合					→			
E.効率的な物質生産系の確立								
1)人為的な制御による物質生産					→			
2)遺伝子組換え植物による物質生産							→	

## (6) ステロイド生産制御技術の開発 (植物工学研究所)

ステロール・トリテルペン類は、世界的に見ると約 7,000 億円にもものぼる市場規模をもつ産業上極めて有用な物質である。たとえば医療用ステロイドはステロール類を化学変換することで生産されているが、これまで主に動物・植物からの抽出原料に頼っていた。近年、動物原料の安全性も議論されることから、代替原料開発の必要性が生じている。一方、植物のトリテルペン類は漢方薬原料として重要であるが、資源の枯渇が危惧されている。これらのことから、植物のステロール類の含量組成を改変することにより望むステロール類を植物で安価に製造するプロセスの開発が急務となっている。その技術開発の第一歩として、コレステロール及びスクワレンを各々アマ種子中に油含量の 5%以上蓄積させることを目指し以下の研究を行う。

### A. アマ再生系及びアマ形質転換系の開発

アマは、工業原料であるリノレン酸の生産に利用されており、工業生産物を産生するのに適した植物といえる。ステロール類の蓄積に関して殆ど知見がないので、まずアマの種子油中のステロールプロファイルを解析する。一方、アマの形質転換系に関しては、これまで報告はあるものの効率が悪く実用的とはいえない。形質転換系の効率向上を図り、実用的な形質転換アマを作出することが必要である。中間目標としては、マーカー遺伝子を発現させた形質転換体 10 系統以上の作出を目指し、最終年にはコレステロールやスクワレン含量の高い亜麻を各々 5 系統以上作出する。

### B. 昆虫イソプレノイド代謝系の植物への応用

植物のステロール組成を定性的に改変した代表例としては、sterol 24-methyl transferase1 遺伝子 (SMT1) の発現抑制によるコレステロール含量が増加した形質転換体の作出がある。この方法による植物ステロールの組成改変技術は米国モンサント社によって既に特許化されている。我々は独自のステロール組成改変技術を開発するために、異種生物の持つ遺伝子を利用することを試みた。植物を栄養源とする昆虫および線虫はコレステロール生合成経路を欠くため、植物のステロール類を脱アルキル化酵素系によってコレステロールに変換し資化することで生きている (図 0-1)。

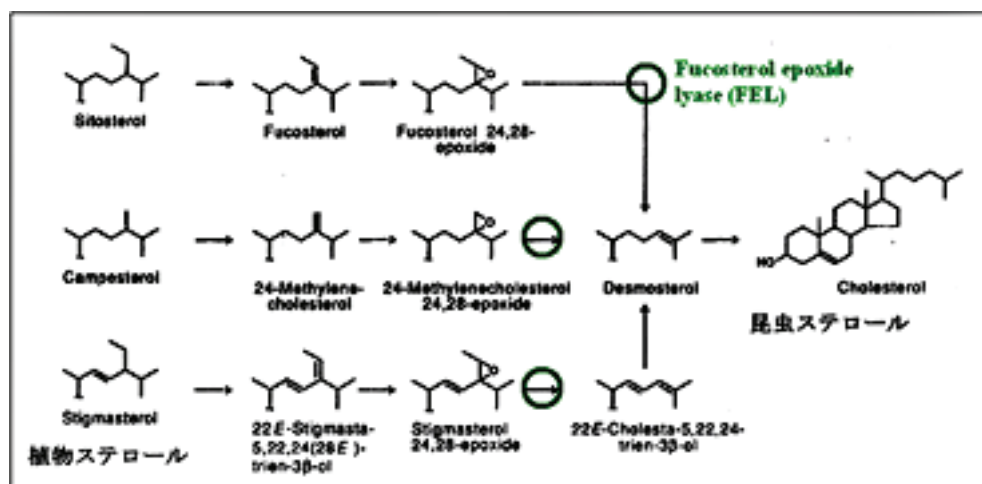


図 0-1 昆虫の持つ植物ステロール側鎖 dealkylation 酵素系



この酵素系の遺伝子は、まだ単離されていない。この遺伝子を単離し植物で脱アルキル化酵素系を機能させることで、コレステロールを生産する新規なプロセスを開発できる可能性がある。そこで、この酵素系遺伝子の発現が盛んであると考えられる蚕の中腸 cDNA からの遺伝子単離に着手した。中間目標としては、カイコ由来の dealkylation 酵素を 1～2 種類単離同定する。最終年度にはカイコ由来の dealkylation 酵素を発現する植物を 10 系統以上作出する。

### C. ユーホルビア由来遺伝子のイソプレノイド代謝系への応用

ステロール類を高生産するには生合成経路の鍵酵素遺伝子を高発現させるというアプローチが有効であるが、Co-suppression を回避するため遺伝子配列の近い近縁種からのアマへの導入は避ける必要がある。ユーホルビアは、石油植物とも呼ばれイソプレノイド化合物を高蓄積するので、この植物の持つ鍵酵素は優れた特性を持っている可能性もある。既にユーホルビアの cDNA ライブラリーを構築されている京都大学の大山教授の研究室との共同研究により、中間目標としてはユーホルビア由来の鍵酵素を 2 種類以上単離し、シロイヌナズナを用いてその機能を解析する。最終年度にはユーホルビア由来の鍵酵素を過剰発現する植物を 10 系統以上作出する。

### D. イソプレノイド代謝系関連遺伝子の探索と応用

ステロール類を高生産するには蓄積機能を強化する必要もあるが、植物種子へのステロール類蓄積機構はまだよくわかっていない。そこで文献調査およびシロイヌナズナの T-DNA tag lines データベースの検索により、イソプレノイドの蓄積機構に関与する 1 つ以上の遺伝子候補の決定を行い解析に着手する。このことにより最終年度にはイソプレノイドの蓄積機構に関与する遺伝子を 1 つ以上単離し、10 系統以上の発現植物を作出する。その他、ステロール類生合成に関与する遺伝子の探索にも着手する。

### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. アマ再生系及びアマ形質転換系の開発	→							
B. 昆虫イソプレノイド代謝系の植物への応用	→							
C. ユーホルビア由来遺伝子のイソプレノイド代謝系への応用	→							
D. イソプレノイド代謝系関連遺伝子の探索と応用	→							

## (7) カロテノイド生産制御技術の開発

(～H19FY 海洋バイオテクノロジー研究所、H20FY～ キリンホールディングス)

カロテノイド色素であるアスタキサンチン (astaxanthin) や $\beta$ -クリプトキサンチン ( $\beta$ -cryptoxanthin) 等の有用カロテノイド色素を安価に生産することが求められており、アマ (亜麻、*Linum usitatissimum* L.) またはナタネ (菜種、*Brassica napus* L.) の種子等で効率よく生産するための基盤技術開発として以下の研究を行う。

### A. モデル植物を用いたカロテノイド代謝関連遺伝子と代謝物の解析

かずさ DNA 研究所と共同して、モデル植物であるシロイヌナズナ培養細胞 (葉緑体を保有した緑の培養細胞) を用いて、カロテノイド代謝関連遺伝子の解析を、カロテノイド関連代謝物の解析と対応させながら実施する。

### B. カロテノイド代謝関連鍵遺伝子の同定と機能の最適化

(株)植物工学研究所と共同して、シロイヌナズナ、タバコ等のモデル植物を宿主として用いて、カロテノイド代謝の鍵になる遺伝子の探索・同定を実施する。さらに、同定された鍵遺伝子について、植物での発現に適するように触媒機能の最適化を実施する。

### C. 非形質転換植物のイソプレノイド系代謝物プロファイルの作製

アマの葉、種子、及び、シロイヌナズナ培養細胞を用いて、カロテノイド関連代謝物を始めとした低分子性イソプレノイド関連代謝物の網羅的解析 (メタボロミクス) を実施する。

### D. 形質転換実用植物のイソプレノイド系代謝物の解析

#### 1) 多重のカロテノイド代謝関連鍵遺伝子発現用プラスミドの構築

アスタキサンチンまたは $\beta$ -クリプトキサンチンを含むカロテノイド生産能力を向上させるために、かずさDNA研究所、奈良先端科学技術大学院大学及び地球環境産業技術研究機構と共同または協力して、Bで触媒機能が最適化された遺伝子を含む多重のカロテノイド代謝関連鍵遺伝子の実用植物 (ナタネまたはアマ等) における高発現用プラスミドを構築する。

#### 2) 実用植物への多重遺伝子の導入とカロテノイド代謝関連遺伝子の発現と代謝物の解析

石川県立大学と共同して、1) で作製した多重遺伝子高発現用プラスミドにより形質転換された実用植物 (アマまたはナタネ等) の葉、種子を用いて、カロテノイド関連代謝物を始めとした低分子性イソプレノイド関連代謝物のメタボロミクスと関連遺伝子の発現解析を実施する。かずさDNA研究所を中心として作成する統合データベースの充実化に協力する。

### E. 実用評価試験

作出された有望な組換え実用植物 (アマまたはナタネ等) について交配により遺伝形質の安定したホモ体の取得を目指すと共に、取得した種の加工プロセス試験等の形質評価試験に着手する。

## 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. モデル植物を用いたカロテノイド代謝関連遺伝子と代謝物の解析							→	
B. カロテノイド代謝関連鍵遺伝子の同定と機能の最適化							→	
C. 非形質転換植物のイソプレノイド系代謝物プロファイルの作製			→					
D. 形質転換実用植物のイソプレノイド系代謝物の解析								→
E. 実用評価試験								→

## (8) 外来糖質生産植物の研究開発 (東洋紡)

ヒアルロン酸は、化粧品素材、医療用途等で広く利用され、鶏冠からの抽出、微生物を用いた発酵法等により生産されている。しかしながら、昨今の BSE、鳥インフルエンザ等の危険性から動物原料は敬遠され、微生物原料においても感染性物質の混入が否定できないことから、より安全性の高い生産系が望まれている。本研究は、植物が本来生産しない外来の糖質であるヒアルロン酸を、遺伝子組換えにより植物で大量生産することを目的とする。所望の組換え植物を作出するため、糖ヌクレオチド代謝経路を解析し、糖ヌクレオチド代謝遺伝子およびヒアルロン酸合成酵素遺伝子で形質転換した植物のヒアルロン酸生産能を評価する。

### A. ヒアルロン酸合成酵素 (HAS) 遺伝子組換えモデル植物の作出

ヒアルロン酸の生合成は、UDP-グルクロン酸(UDP-GlcA)および UDP-N-アセチルグルコサミン(UDP-GlcNAc)の 2 種類の糖ヌクレオチドを基質とするヒアルロン酸合成酵素(HAS)が担っている。まず、由来の異なる(動物、微生物、クロレラウイルス等) HAS 遺伝子を取得し、モデル植物にこれらの HAS 遺伝子を導入し、ヒアルロン酸生産能を検証する。次に、HAS 遺伝子の改変により、組換えモデル植物のヒアルロン酸生産能を向上させる。

### B. モデル植物を用いた糖ヌクレオチド代謝経路の解明

ヒアルロン酸の出発原料である UDP-GlcA および UDP-GlcNAc は、植物体内において、種々のリン酸化酵素、脱水素酵素等で構成される複雑な糖ヌクレオチド代謝経路により合成される。ヒアルロン酸を植物で高度に生産するには、上述の HAS 遺伝子の導入と共に、遺伝子組換えにより糖ヌクレオチド代謝経路を制御することにより、十分量のヒアルロン酸合成原料を供給する必要があると考えられる。そこで、糖ヌクレオチド代謝遺伝子およびヒアルロン酸合成酵素遺伝子で形質転換したモデル植物の糖ヌクレオチド代謝産物および代謝酵素遺伝子を解析し、ヒアルロン酸の合成に関与する糖ヌクレオチド代謝経路を解明する。

### C. ヒアルロン酸生産実用植物の作出 ~~(18年度以降実施予定)~~

実用植物におけるヒアルロン酸生産系の確立を目指す。上述のモデル植物で効果を確認した複数の糖ヌクレオチド代謝酵素遺伝子およびヒアルロン酸合成酵素遺伝子から成る多重遺伝子を実用植物へ導入し、ヒアルロン酸の生産性を評価する。ヒアルロン酸の大量生産に適した実用植物として、糖代謝能、形質転換技術等に着目し、テンサイ、サトウキビ、サツマイモ、ジャガイモ、ニンジン、イネ、カボチャ、レタス等の候補作物から実用植物を選定する。最終的には、実用植物でのヒアルロン酸の生産を検討する。ヒアルロン酸の生産性は湿重量当たり 0.1%を目標とする。

実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. ヒアルロン酸合成酵素遺伝子組換えモデル植物の作出				→				
B. モデル植物を用いた糖ヌクレオチド代謝経路の解明		→				→		
C. ヒアルロン酸生産実用植物の作出					→			→

## **(9) 総合調査研究 (バイオ組合)**

### **A. 研究開発委員会・分科会の設置と開催**

全受託者及び外部学識経験者からなる研究開発委員会を設置・開催し、事業の円滑なる推進を促進する。また、関連の深い課題を実施する受託者及び外部学識経験者による分科会を適宜開催し、効率的な情報交換を行う。

### **B. 関連技術動向の情報収集**

学会等への参加及び内外の研究機関との交流を行い、最新の技術情報を収集する。また、専門機関への調査外注、文献調査による情報収集を行い、研究活動の促進に資する。

### **C. 再委託・共同研究先との契約締結**

かずさ DNA 研究所及び産業技術総合研究所との共同研究を締結し、モデル植物の解析と実用植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発の緊密な連携を構築・維持する。

プロジェクトの共通要素技術として、特定研究機関が独立して実施することが望ましい技術課題については、必要に応じて大学等への再委託を行う。また、共通要素技術として、先端的な技術、設備及び知見を有する大学等と必要に応じて共同研究を実施する。

### **D. 基盤研究室等への研究員派遣によるモデル植物及び実用植物の解析**

共同研究を行うかずさ DNA 研究所等へ研究員を派遣し、モデル植物の解析と、研究分担先で実施する実用植物におけるプロセス制御基盤技術開発（以下「実用植物研究」という。）の境界領域の研究開発を促進する。

## (9-1) 植物代謝産物に関する統合データ解析ならびデータマイニング

(奈良先端科学技術大学院大学・金谷教授)

本研究では、植物における代謝産物プロファイルと遺伝子発現プロファイルの統合解析を進めるために必要となる基盤技術の開発ならびにデータベースの構築を行う。代謝産物プロファイルの解析において GC-TOF-MS, FT-MS などの高精度な機器分析が用いることにより得られスペクトル全体を大量、迅速、かつ網羅的に解析するためのバイオインフォマティクス技術を開発する。このことにより植物の遺伝子発現と代謝の関係を体系的かつ網羅的に把握することが可能となる。本研究では、マススペクトルからメタボライトの候補を列挙することを目標に、以下の研究を行う。

### A. マススペクトル解析システムの構築 GC-TOF-MS, FT-MS などの統合解析システムの構築

GC-TOF-MS, FT-MS などの統合解析システムの構築を行う。今までに、FT-MS におけるマススペクトル生データからのピーク検出アルゴリズムの開発ならびに複数のスペクトルデータの比較を行うためのマトリックス構築システムを開発する。さらに、GC-TOF-MS におけるマススペクトルを用いて分子の開裂情報をもとに複数のスペクトルデータを比較するためのアルゴリズム開発を進める。

### B. 生物-メタボライト関係データベースの設計ならびにデータ収集

データベースシステムのプロトタイプ設計を行う。データの収集については 21 年度において 30,000 メタボライトを目標とする。この目標値は、植物二次代謝物における基本骨格の 90%を網羅するメタボライトとして規定した。

### C. マススペクトルデータからメタボライトの推定法の開発

スペクトルデータなどの分析情報に基づいたメタボライト推定システムを構築する (18 年度完成予定)。FT-MS では、メタボライト全体の  $m/z$  値が得られるため、特定の元素のみを考慮したときの分子式を列挙するとともに、既知のメタボライト候補を列挙するアルゴリズムの開発を進める。このことにより、スペクトルデータからメタボライトを予測が可能となる。

### D. 植物における発現プロファイルと代謝プロファイルの統合化

マススペクトラム解析システムと発現プロファイル解析システムの統合によるメタボローム・トランスクリプトーム統合解析システムの構築を行う (18 年度完成予定)。マススペクトラム解析システムと発現プロファイルを統合解析するためには、これらの異なった様式のデータを統計的に補正し、対等に扱うことが必要である。そのためのスケーリング法ならびにマススペクトラムにおけるピークと発現量変化における遺伝子について共通の挙動をするグループを探索するアルゴリズムを自己組織化法を中心とする手法を基礎において構築を進める。

## 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. マススペクトル解析システムの構築			→					
B. 生物-メタボライト関係データベースの設計ならびにデータ収集			→					
C. マススペクトルデータからメタボライトの推定法の開発					→			
D. 植物における発現プロファイルと代謝プロファイルの統合化					→			



## (9-2) ミヤコグサの細胞・器官培養系を用いた代謝物解析 (日本大学・綾部教授)

植物による効率的な物質生産を実現するためには、ゲノムプロジェクトの情報が活用可能なモデル植物を用いて代謝産物プロファイルを解析し、発現プロファイル情報との統合を計ることが極めて有効なアプローチである。しかし、モデル植物の場合、実用植物に比べると代謝産物に関する基本的な情報が十分でないのが現状である。そこで本研究では、ミヤコグサの大規模代謝産物プロファイリングを有効に実施するために必要な情報・材料を得ることを目的にする。

### A. 組織培養系の確立

既に得られているミヤコグサのカルスを液体培養に移行し懸濁培養細胞系を確立する。また、幼植物の胚軸に *Agrobacterium rhizogenes* を接種し毛状根を誘導し、抗生物質で除菌して無菌の器官(根)培養系を得る。両者について標準的な培養条件を定め、各培養ステージごとに代謝産物を抽出する。また、種々の化学的処理を行った培養組織から代謝産物を抽出する。各代謝成分を基盤研究室で分析し、それぞれの代謝系を解析するのに適した条件を検討する。

### B. 形質転換培養系の作出

代謝成分の生合成に関与することが予想される cDNA を用いて形質転換培養系を作出する。形質転換には、アグロバクテリウム法を用いる。代謝成分を分析し、形質転換による成分の変化が実際に検出するかどうかを検証する。必要に応じて培養系の処理条件等を検討する。形質転換には、基盤研究室で取得される cDNA を用いるほか、他種植物で知られているオルソログの既知アミノ酸配列情報を元にしたディジェネレート PCR などを用いた cDNA の取得も独自に行う。cDNA は、翻訳産物の性質により大腸菌または酵母細胞を用いて発現させ、その機能を *in vitro* のアッセイにより同定する。

### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. 組織培養系の確立	→							
B. 形質転換培養系の作出		→						

### (9-3) DNA マイクロアレーによる細胞壁関連遺伝子群の発現プロファイル解析

(東北大学・西谷教授)

細胞壁は陸上における最大のバイオマスであるだけでなく、未だ解明されていない有用な有機化合物を多数擁した新規の機能化合物の宝庫である。従って、それらの合成過程の理解および、それに基づく有用素材や機能分子の生産の技術の開発が求められるところである。本研究では、この技術開発に関わる汎用の基盤技術を開発するために、モデル植物であるシロイヌナズナと主たる植物材料とし、細胞壁の構築・再編に関わる遺伝子群に焦点をあてた遺伝子およびタンパク質の発現プロファイル解析を DNA マイクロアレーおよびプロテオーム解析により進める。ついで、これらの研究成果を基盤として、樹木および作物において、効率よく有用な細胞壁を生産するために以下の研究を行う。

#### A. 遺伝子特異的 DNA アレー評価

シロイヌナズナの遺伝子特異的なアレーシステムの構築およびその評価が本研究の成否を分けるものと考えられる。シロイヌナズナの細胞壁関連遺伝子群に特化した、DNA マイクロアレーシステムを独自に製作し、タカラバイオの DNA マイクロアレーと性能比較をおこない、遺伝子特異的解析用のプロトコルを作成する。

#### B. 細胞壁遺伝子群の発現解析

マイクロアレー法により、細胞壁の関連遺伝子群の発現プロファイルを解析する。

#### C. 細胞壁遺伝子群転写制御解析 (H17 年度以降実施予定)

これまでの細胞壁遺伝子の発現プロファイルおよび、過剰発現シロイヌナズナ培養細胞ラインメタボローム解析の発成果を元にして、有用な細胞壁成分の代謝に関わる遺伝子の発現制御に関わる転写因子の特定を行う。

#### D. 新規細胞壁機能の創出 (18 年度以降実施予定)

有用な細胞壁成分の合成・分解に関わる代謝経路およびその制御遺伝子に関する知見を元にし、細胞壁機能を改変した形質転換有用植物の作出を行う。

#### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. 遺伝子特異的 DNA アレー評価					→			
B. 細胞壁遺伝子群の発現解析					→			
C. 細胞壁遺伝子群転写制御解析						→		
D. 新規細胞壁機能の創出								→

#### (9-4) 導入遺伝子発現制御技術の開発 (奈良先端科学技術大学院大学・新名教授、加藤助教)

物質生産機能をはじめとした植物機能は、多様なタンパク質・酵素が決まった部位・時期に必要な量存在することによって発揮される。これは、有用遺伝子を植物へ導入し、植物機能の改良および新たな代謝経路を創設する場合にも同様である。目的とする工業原料を合目的にまた効率良く生産させるために、導入した外来遺伝子(群)を部位・時期特異的にまた量的に制御できる基盤技術の開発のため以下の研究をかずさ DNA 研基盤研究室との連携のもとに行う。

##### A. プロモーター領域のクロマチンおよびヌクレオソーム構造の解析

転写因子が同定され、発現プロファイルが明らかなモデル遺伝子(熟誘導性、ホルモン誘導性、細胞周期依存性、構成性)を対象としてヌクレオソーム構造と遺伝子発現の関係を明らかにする。転写が活性化および不活性化状態の細胞から核を単離し、DNaseI 感受性試験・MNase およびプライマー伸長法・免疫沈降法により、染色体の凝集度合、ヌクレオソームのポジショニング、転写因子の結合およびヒストンの修飾状態を解析する。モデル遺伝子に関しては、解析系の評価という側面もあり、平成 17 年度末までには解析を終了する。想定される物質代謝経路に関わる遺伝子群の発現様式はモデル遺伝子に含まれると考えられ、17 年度以降引き続き対象代謝系遺伝子領域について解析を進める。

##### B. 核マトリクスと相互作用する DNA 領域の探索と機能解析

約 14 Mb をカバーするシロイヌナズナゲノムアレイ(かずさ DNA 研基盤研究室より供与)を用いて、核マトリクスと相互作用する DNA 領域(MAR)の探索を行う。ゲノムアレイ領域に関する発現プロファイルの情報(基盤研で整備予定)を活用し、同定した DNA 領域と遺伝子発現の関係を調べる。A. の知見も踏まえ、同定した DNA 領域を付加した外来遺伝子発現系を構築し、植物細胞内での機能評価を行い、染色体高次構造に影響を与えるエレメントを利用した新規発現ユニットの開発を行う。平成 17 年度末を目処に内在遺伝子の発現と染色体高次構造の関係を明らかにし、最終年度までに新規発現ユニットの開発をシロイヌナズナを対象に完了する。また、平成 18 年度までの成果から、転写終結領域(ターミネーター)と MAR が密接に関係することが明らかとなったため、平成 19 年度より、新規ターミネーターを活用した「新規発現ユニットの構築と実用遺伝子を用いた有用性の実証」に着手した。

##### C. 導入遺伝子の発現を転写後レベルで制御する技術の開発

先行する「植物利用エネルギー使用合理化工業原料生産技術開発」で行った“高効率の翻訳に寄与する 5'UTR の単離および機能解析”の結果を踏まえ、翻訳効率の異なる 5'UTR のカタログ化を行い、導入遺伝子の発現を転写後レベルで制御する技術の開発を行う。平成 16 年度より、開始コドン近傍配列の翻訳効率へ与える影響をシロイヌナズナ・イネを対象に解析し、平成 17 年度までに完了させる。また、ストレス環境下における翻訳効率の変化も解析し、各器官・環境下で発現する導入遺伝子産物の期待量について数値化する。これら知見をもとに、平成 21 年度までに B. の新規発現ユニットと組み合わせた任意の遺伝子産物発現量が期待できる発現系(相対値で 1、5、25、100)の開発を行う。

実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. プロモーター領域のクロマチン およびヌクレオソーム構造の解 析							→	
B. 核マトリクスと相互作用する DNA 領域の探索と機能解析								→
C. 導入遺伝子の発現を転写後レベ ルで制御する技術の開発								→

## (9-5) フェニルプロパノイド代謝系の制御に関わる転写調節因子遺伝子群の解析

(東京農工大学・小関教授)

本研究の目的：芳香族化合物の生産を植物で行うことが求められている一方、ユーカリなどでは製紙工程においてリグニン含量の低下が求められている。そこでこれら化合物の合成系であるフェニルプロパノイド代謝系の酵素遺伝子の発現を一括制御するための基盤技術開発として、その発現制御に関わる転写調節因子遺伝子群について以下を行う。

### A. フェニルプロパノイド代謝系遺伝子プロモーターのシスエレメントの同定

フェニルプロパノイド代謝系はフェニルアラニン アンモニア-リアーゼ (PAL)、桂皮酸-4-ヒドロキシラーゼ (C4H)、4-クマロイル-CoA リガーゼ (4CL) の 3 つの酵素によって基本的な化合物骨格が合成される。そこで、これら酵素に対する遺伝子の発現プロファイルと遺伝子プロモーターの塩基配列を一過性発現系などによって詳細に検討することによって、発現制御にもっとも重要と考えられるシスエレメントを 2 個程度決定する。

### B. フェニルプロパノイド代謝系遺伝子プロモーターのシスエレメントに結合する転写調節因子の探索

決定されたシスエレメントの配列に対し、酵母 one-hybrid 法などを用いて結合する転写調節因子 cDNA のクローニングを行なう。また、すでに他の植物種において、これらのシスエレメントに結合する転写調節因子が見いだされているものについては、その転写調節因子の配列をもとに、シロイヌナズナの全ゲノム配列に対して *in silico* スクリーニングを行ない、シスエレメントに結合する転写調節因子の候補となる遺伝子を見だし、これに対する cDNA を得る。これらの方法によって、転写調節因子 cDNA を 2 個以上獲得し、さらにそれらの *in vitro* および *in vivo* における結合の特異性を調べる。

### C. 転写調節因子の異所発現および機能改変によるフェニルプロパノイド化合物生産制御技術の開発

得られた転写調節因子 cDNA を発現誘導ベクターなどに導入し、これをシロイヌナズナに遺伝子導入し、組換え植物体を 10 個体以上得る。かずさ DNA 研究所で行われるトランスクリプトミクス研究から得られるこれら転写調節因子遺伝子の発現プロファイルをもとに、得られた遺伝子組換え植物体の様々な生育段階、分化状態の組織・器官に対して異所的に発現誘導を行ない、表現型を調べる。さらに、RNAi 法や産総研のグループにより開発されるドミナントネガティブ化による発現抑制技術等を用いて、組換え植物体をシロイヌナズナにおいて 15 個体以上得る。これらに対し、タカラ・バイオが作成する DNA アレイを用いた発現解析とかずさ DNA 研究所が開発する Kazusa Pathway Viewer を用いた解析を行うことによって、フェニルプロパノイド化合物生産制御技術を開発する。さらにシロイヌナズナなどのモデル植物において得られた成果などをもとに、樹木のモデル植物であるポプラへの遺伝子導入を行い、フェニルプロパノイド合成系の統括的な制御の可能性を明らかにする。

実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. フェニルアラニン代謝系の制御に関わる転写調節因子遺伝子群の解析								
B. フェニルアラニン代謝系遺伝子プロモーターのシスエレメントに結合する転写調節因子の探索								
C. 転写調節因子の異所発現および機能変化によるフェニルアラニン化合物生産制御技術の開発								

## (9-6) モデル植物を用いた細胞壁形成及び心材形成の代謝プロファイリング

(京都大学・梅澤教授)

地球上で最も多量に存在する循環型資源である木質バイオマスをさらに効率的に樹木に産生させるための代謝制御技術の開発は、来るべき循環型社会に適合する次世代型リソースの開発の基盤となる。本研究では、この代謝制御技術開発の基盤を整備するため、モデル植物を用いて細胞壁成分並びに心材成分の代謝プロファイリングを行うため以下の研究を行う。

### A. 代謝産物の分析法確立

標的化合物に対する一連の安定同位体標識内部標準物質を化学合成し (30 化合物)、これらを用いた同位体希釈法による標的化合物の一斉分析法を確立する。

### B. モデル植物 (シロイヌナズナ、ミヤコグサ、アカシア) 及びその形質転換培養細胞の代謝産物プロファイリング

A. で確立した分析法を用いて、草本および木本 (樹木) モデル植物やかずさDNA研究所基盤研究室が作製した遺伝子機能を過剰発現あるいは抑制した培養細胞における標的代謝系のメタボローム解析を行う。ケイヒ酸モノリグノール経路及び心材形成の代謝中間体の重水素標識体および対応する非標識体の化学合成を行う。

### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. 代謝産物の分析法確立		→						
B. モデル植物(シロイヌナズナ、ミヤコグサ、アカシア)及びその形質転換培養細胞の代謝産物プロファイリング		→	→	→				

## (9-7) モデル植物における P450 依存の生体成分生合成・分解機能の網羅的解析

(大阪府立大学・太田教授)

新規の植物 P450 遺伝子機能を探索するための技術基盤確立を目的とする。研究は、P450 遺伝子に関する分子生物学的・分子遺伝学的研究と、P450 メタボロミクスのための質量分析によって構成する。すなわち、機能未知の P450 遺伝子の発現レベルを増減（強制発現・抑制、長鎖 DNA 導入による P450 ファミリーの包括的形質転換）させ、その時のメタボローム変化を P450 遺伝子操作に起因する植物形質変化として把握するための質量分析実験を行う。これにより、新規 P450 遺伝子機能と生体成分生合成の関連付けを行う。

### A. P450 ファミリー遺伝子の同時導入

8種の P450 遺伝子ファミリーに属する 50 個の P450 パラログ遺伝子の機能解析を目的として、TAC クローン（かずさ DNA 研究所 NEDO 基盤研究室）を用いて、植物あるいは植物培養細胞を形質転換し、P450 メタボロミクス実験に供試する。

### B. P450 遺伝子の機能解析と新規代謝フローの探索\*1

P450 依存の新規代謝フロー探索を目的として、植物機能調節物質生合成・分解への関与が予測される 48 の P450 遺伝子ファミリーの全てを研究対象とする。それぞれの遺伝子ファミリーを代表する最低 1 種の cDNA クローンを取得し、植物培養細胞と植物体を形質転換するとともに、異種発現系での組換えタンパク質発現を行う。T-DNA 挿入変異系統の解析も行う。得られた全ての形質転換体についてメタボローム解析と発現解析を行い 6 以上の遺伝子の機能を解明する。

### C. 代謝産物プロファイリング実験プラットフォーム構築（バイオ組合共同研究）\*2

大阪府立大学先端科学研究所において GC/MS、LC/MS/MS およびフーリエ変換イオンサイクロトロン質量分析（FTMS）機器を稼働させ、代謝成分の一斉分析化学実験、分子量データと定量再現性の関連付け・統計処理によってメタボローム解析実験プラットフォームを構築する。FTMS による一斉解析システムを構築する。ベンチマークとしたカナダ・フェメノーム社の FTMS メタボロミクス法よりも優れたプラットフォームを構築し、さらに精密質量分析データを元にした新規の代謝マッピング法による新規物質同定法を開発する。

## 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. P450 ファミリー遺伝子の同時導入								→
B. P450 遺伝子の機能解析と新規代謝フローの探索*1								→
C. 代謝産物プロファイリング実験プラットフォーム構築（バイオ組合共同研究）*2								→

\*1 研究項目を変更: 表現の変更、 \*2 項目追加: 大阪府大に FTICR/MS が導入されたことによる。



**(9-8) テルペノイド類二次代謝系の代謝制御に関わる生理活性物質の機能解明と網羅的解析に必要な基盤情報の整備 (東京工業大学・太田教授)**

工業原材料として使われる植物由来の化合物の多くは、テルペノイド類等の二次代謝経路で合成されるが、ジャスモン酸類等の生理活性物質はこれらの化合物合成に関わる遺伝子の発現と密接な関係にあることが知られている。しかし、そのような二次代謝系遺伝子の具体的な挙動や役割に関しては不明な点が多い。本研究では、ジャスモン酸類等の生理活性物質による二次代謝合成系遺伝子の発現制御様式を解明し、ジャスモン酸類による遺伝子発現制御に関わる制御因子を網羅的に同定する。これらのことからジャスモン酸類に制御される有用物質の代謝系を改変し、より効率よく有用物質の生産を行うために基盤となるモデル系を確立する。

**A. ジャスモン酸類応答性遺伝子の網羅的解析とカタログ化**

シロイヌナズナ、ミヤコグサを材料とし、ジャスモン酸類等の生理活性物質に応答する遺伝子の網羅的解析を行い、テルペノイドなど二次代謝系の合成・制御に関わる遺伝子群をはじめとするジャスモン酸応答性遺伝子群のカタログ化を行う。

**B. 主要ジャスモン酸類応答性遺伝子の機能解析**

A. で見出された遺伝子のうち、制御の中心的な役割をになうと考えられる遺伝子群については、ノックアウト体の検索を始め、過剰発現株の作成や、機能の解析を開始する。また、ジャスモン酸類の機能の解析を行う。

**C. シロイヌナズナ遺伝子発現情報のデータベース化**

シロイヌナズナの遺伝子発現の網羅的解析に必要な基盤情報の整備として、かずさ DNA 研究所 NEDO 基盤研究室と共同で、全発現遺伝子の発現の基礎的情報の収集を開始する。

**実施計画**

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. ジャスモン酸類応答性遺伝子の網羅的解析とカタログ化	→							
B. 主要ジャスモン酸類応答性遺伝子の機能解析					→			
C. シロイヌナズナ遺伝子発現情報のデータベース化					→			

### (9-9) パラゴムノキのシスプレニルトランスフェラーゼとその活性化因子の解析

(東北大学・古山教授)

パラゴムノキから単離したシスプレニルトランスフェラーゼ遺伝子のコードする酵素タンパク質の活性化因子を特定し、その分子解析を進めると共に、それらの遺伝子をモデル植物で発現させる系を確立するための研究を行う。具体的には、活性化因子の調査、活性化因子のクローン化と発現系構築、*in vitro*での発現系構築などを実施する。

#### A. 活性化因子および重合促進因子の同定

パラゴムノキのラテックス超遠心沈殿画分に存在するシスプレニルトランスフェラーゼの活性化因子、および重合促進因子を同定し、タンパク性因子についてはcDNA取得、発現系構築を行い、化合物性因子については化学構造解明を行う。

#### B. *in vitro*での高効率化天然ゴム合成系の再構築

シスプレニルトランスフェラーゼの活性化因子、重合促進因子、およびシスプレニルトランスフェラーゼを含む系での、*in vitro*での高効率化天然ゴム合成系の再構築を行う。

#### C. モデル植物におけるパラゴムノキのシスプレニルトランスフェラーゼ遺伝子の機能解析

パラゴムノキのシスプレニルトランスフェラーゼ遺伝子をモデル植物シロイヌナズナ培養細胞系に導入し、機能解析を行う。

#### 実施計画

研究項目	年 度						
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20
A. 活性化因子および重合促進因子の同定							→
B. <i>in vitro</i> での高効率化天然ゴム合成系の再構築							→
C. モデル植物での機能解析							→

## (9-10) ステロール化合物の高産生植物の研究開発 (石川県立大学・大山教授)

高純度ステロール化合物を植物で多量に生産することが求められており、ユーフォルビアで効率よく生産するための基盤技術開発として以下の研究を行う。

### A. スクアレンオキシド及びシクロアルテノールの調査

ステロール代謝経路の産物の GC/MS による解析、及びゲノム及び cDNA ライブラリー作成の開発。GC/MS によるステロール類の分析、及びコスミドベクターによるゲノムライブラリー及び pSPORT プラスミドによる cDNA ライブラリーは構築する。また EST 解析をする。

### B. オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の単離の研究

オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の全長 cDNA をクローニングする。オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の発現抑制用ベクター開発。オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の発現抑制用ベクターとして、RNAi コンストラクトを構築する。オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の発現抑制の解析。発現抑制形質転換体を得る。

### C. シクロアルテノールシンターゼ遺伝子の単離の研究

シクロアルテノールシンターゼ遺伝子の全長遺伝子及び完全長 cDNA を取得する。シクロアルテノールシンターゼ遺伝子の過剰発現用ベクターの開発。シクロアルテノールシンターゼ遺伝子の過剰発現形質転換体を得る。

シクロアルテノールシンターゼ遺伝子の完全長 cDNA 配列の大腸菌へのクローニングが困難と判明したため、スクアレンシンターゼ遺伝子をもちいて、スクアレンシンターゼ遺伝子をバイナリーベクター pBR121、pCAMBIA1300 にクローニングし 35S プロモータによるステロール過剰発現ベクターを構築する。

### D. ユーフォルビア形質転換系開発

スクアレンシンターゼ過剰発現ベクターによる形質転換体系をカルス培養細胞で確立する。ユーフォルビアの細胞培養化、ユーフォルビアディスク細胞からの植物体の再分化を試みる。二重形質転換体作成のための基礎技術開発を行う。本研究最終目標を達成するため、トリテルペン・ステロール増の条件を同時に満たす形質転換体を取得し、高純度ステロール産生量の増加を目指す。

## 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. スクアレンオキシド及びシクロアルテノールの調査	→	→						
B. オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の単離の研究			→					
C. シクロアルテノールシンターゼ遺伝子の単離の研究		→	→	→				
D. ユーフォルビア形質転換系開発						→	→	→
E. 遺伝子資源・有用二次代謝産物データベース構築							→	→

### (9-11) アカシアおよびカンゾウにおける組織培養・遺伝子導入系の開発

(千葉大学・三位教授)

熱帯の造林樹種として重要な *Acacia mangium* をはじめとして、多様な用途を持つアカシア属植物では、その栽培や品質にとって重要な形質の短期間での改良が求められており、それらの要求に応えるために必要な基盤技術として、以下の研究を行う。

また、薬用植物として重要なカンゾウは、その原産地である中国で資源保護を名目に輸出規制のかかる恐れがあり、国内での早急な生産体制確立が求められている。しかし、国内生産では主要成分であるグリチルリチンの含量が低く、その高含量な品種開発が求められている。この要求に短期間で応えるためには遺伝子組換えの利用が必須であり、そのために必要な基盤技術として、以下の研究を行う。

#### A. 植物体再生系の開発

##### 1) アカシア

- ・ *Acacia mangium* において 40%程度の頻度で不定芽再生のできる培養系を確立する。
- ・ アカシア属の中で 80%以上の不定芽分化率を示す培養系を少なくとも 2 種について確立する。

##### 2) カンゾウ

- ・ ウラルカンゾウ *Glycyrrhiza uralensis* において 40%程度の頻度で不定芽再生のできる培養系を確立する。

#### B. 形質転換法の開発

##### 1) アカシア

- ・ アカシア属のモデル植物 2 種で形質転換方法を確立し、形質転換植物各 1 個体を作成する。

##### 2) カンゾウ

- ・ ウラルカンゾウで *Agrobacterium* による形質転換方法を確立し、形質転換カルスを作成する。

#### 実施計画

研究項目	年 度							
	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
A. 植物体再生系の開発								
1) アカシア					→			
2) カンゾウ					→	→		
B. 形質転換法の開発								
1) アカシア			→	→	→	→	→	→
2) カンゾウ					→	→	→	→

2. 2 研究開発の実施体制



## 2. 3 研究の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有する NEDO は、経済産業省及び研究開発責任者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて、NEDO に設置する技術審議委員会及び技術検討会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じてプロジェクトの進捗について報告を受けること等を行う。なお、本プロジェクトは、「植物利用エネルギー使用合理化工業原料生産技術開発 植物の多重遺伝子導入技術開発」と技術的に密接な関係にあり、上記運営管理に際しては、技術検討会等を合同で行うなど、効率的な情報交換を図るものとする。

### (1) 植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発研究開発委員会における登録委員

委員	任期	所属
委員長 新名 惇彦	*	国立大学法人 奈良先端科学技術大学院大学・副学長
学識 経 験 者 委 員	森川 弘道	～H17 国立大学法人 広島大学・教授
	大森 正之	～H17 国立大学法人 埼玉大学・教授
	福井 希一	～H17 国立大学法人 大阪大学・教授
	小笠原 直毅	～H17 国立大学法人 奈良先端科学技術大学院大学・教授
	横田 明穂	H18～ 国立大学法人 奈良先端科学技術大学院大学・教授
	多田 雄一	H18～ 東京工科大学准教授
松村 健	H18～ 独立行政法人 産業技術総合研究所北海道センター グループリーダー	
受 託 者 代 表 委 員	柴田 大輔	* 財団法人 かずさディー・エヌ・エー研究所
	進士 秀明	～H19 独立行政法人 産業技術総合研究所
	鈴木 馨	H20～
	富澤 健一	～H17 財団法人 地球環境産業技術研究機構
	三宅 親弘	H18,H19
	鈴木 伸昭	H20～
	大山 莞爾	* 石川県立大学 (旧 石川県農業短期大学)
	杉浦 昌弘	～H17 公立大学法人 名古屋市立大学
	湯川 泰	H18～
	椎名 隆	* 公立大学法人 京都府立大学
	大住 千栄子	～H18 味の素株式会社
	境野 信	～H20 王子製紙株式会社
	日尾野 隆	H21
	溝渕 重幸	～H19 株式会社海洋バイオテクノロジー研究所
	三沢 典彦	H20～ キリンホールディングス株式会社
	大場 利治	～H17 タカラバイオ株式会社
柴谷 滋郎	* 東洋紡績株式会社 (旧 株式会社東洋紡総合研究所)	
妹尾 修次郎	～H19 株式会社常磐植物化学研究所	
中嶋 淳一郎	H19～	
海老沼 弘安	～H18 日本製紙株式会社	
島田 照久	H18～	
中澤 慶久	* 日立造船株式会社	
加藤 信子	～H20 株式会社ブリヂストン	
林 泰行	H21	
石井 正文	* バイオテクノロジー開発技術研究組合	

\*全期間 (H14～H21)

(2) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発グループの  
研究開発委員会における登録委員

個別テーマ ①－(3)「葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発」においては、他のテーマとの独立性が高いため、平成17年度までは別途グループ委員会を設けた。

委員	富澤 健一	地球環境産業技術研究所・主席研究員
委員	杉浦 昌弘	名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科研究科長
委員	椎名 隆	京都府立大学人間環境学部・助教授
委員	横田 明徳	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス科・教授
委員	加藤 晃	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス科・助手
委員	福崎 英一郎	大阪大学大学院工学研究科助教授
委員	小保方 潤一	名古屋大学・助教授
委員	續 伯彦	愛知学院大・教授
委員	角山 雄一	京都大学放射性同位元素総合センター・助手
委員	竹葉 剛	京都府立大学学長
委員	豊島 喜則	関西学院大学理工学部・教授
委員	大森 正之	東京大学 教養学部 生命・認知科学科長
委員	小関 良宏	東京農工大学 工学部生命工学科・教授

注：所属役職は平成17年度時点



## 2. 4 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性

研究開発委員会において各受託者の実用化の見通しについて発表させ、それに対してプロジェクトリーダー、サブリーダー、外部委員が意見を述べた。知財権に関しても、組換え植物に関する特許調査を継続して行い、委員会等で出願状況の報告と確認を行い、積極的な知的財産権取得を促進した。市場調査、海外での組換え体栽培の状況および法的規制等の調査を行い助言を与えた。

## 3. 情勢変化への対応

### 3. 1 事業全般

本プロジェクトは8年間の長期にわたるもので、その間に科学技術、社会情勢が刻々変化したので、適宜それらに対応する処置を取った。

#### 1) 植物のポストゲノム科学

米国では省庁横断の先端植物ゲノム国家プロジェクトが1998年から5年毎に見直しながら進んできた。2004年頃から、米国、ドイツでは民間企業がシロイヌナズナのT-DNAタグラインと過剰発現植物の解析に大量の資金と人員を投入し、全代謝物プロファイリングを始めた。ベルギーにおいても企業が形質転換イネ等の解析を大規模完全自動化温室も設置し、先端研究を開始した。

これらに対抗するため、本プロジェクトではシロイヌナズナの培養細胞T87の転写因子遺伝子も含め個々の遺伝子の過剰発現・発現抑制細胞を大規模に作成し、遺伝子発現、代謝物変動を網羅的に解析する手段を取った。形質転換植物体では栽培条件で遺伝子発現が微妙に変動し、結果の解釈が困難であるのに対し、培養細胞では一定条件下で遺伝子発現、代謝物変動を追えるからである。未分化の培養細胞での解析には当然のことながら制約があるが、限られた予算で成果を上げるには極めて有効であると判断した。シロイヌナズナに集中するために当初のミヤコグサの解析を縮小した。後述のように、プロジェクト期間中に開発された最先端の分析機器を適宜、加速財源等で購入し迅速に成果に上げた。プロジェクト後半では実用植物の目的生産物に関わる代謝物解析にも注力した。シロイヌナズナ培養細胞で得られた成果は実用植物にも十分適用可能であった。なお、本プロジェクトで得られた統合データベースのサイズは現在世界最大である(後述)。

#### 2) キメラリプレッサー技術の導入

転写因子のノックダウンにおいて、機能類似の複数遺伝子が存在する場合は表現型が現れないが、キメラリプレッサー技術を用いれば、かなりの転写因子遺伝子の機能抑制が可能である。そこで2005年より、この技術の第一人者をプロジェクトの参画させ、成果を上げてきた。

#### 3) 遺伝子組換え樹木の野外栽培

大豆、トウモロコシ、ワタ、ナタネなど、遺伝子組換え作物の世界の栽培面積は2006年に1億haを越えた。2008年現在、栽培面積は米国、アルゼンチン、ブラジルの順に22カ国に普及している。アルゼンチンの大豆はほぼ100%、カナダのナタネの77%が遺伝子組換えである。わが国では市民のGMOに対する根強い抵抗があったが、表示が不要な遺伝子組換え作物由来のデンプン、油は広く市場に出回っている。2009年、サントリーホールディングによる、わが国初の遺伝子組換え植物の商業栽培が実施された、青いバラは市民に受け入れられたようである。

これら1年生の植物に比べ、本プロジェクトが対象とするユーカリ、パラゴムノキ、杜仲のように多年生の樹木の遺伝子組換え体の場合は生態・環境への遺伝子の水平移動の制御は容易ではない。プロジェクト参加企業はユーカリ、パラゴムノキ、杜仲をいずれも海外で栽培する予定で

あるが、この観点から、世界各国における遺伝子組換え樹木の栽培状況の調査をシンクタンクに依頼した。野外試験栽培はユーカリ、ポプラ、トウヒ、リンゴ、オレンジなどが各国で実施されているが、商業栽培が実施されているのは米国のウイルス耐性パパイヤと中国のウイルス耐性パパイヤ、害虫抵抗性ポプラである。一方、実用栽培を目指して積極的に野外試験を実施しているのはブラジルのユーカリである。EUではGM樹木の商業栽培には至っていない。ドイツでの課題は、規制に関する手続きの煩雑さ、自然環境に与える影響（花粉飛散）に対する賠償責任問題が上げられている。

本プロジェクトでは、これらの状況を念頭に、日本製紙が筑波大学で耐塩性ユーカリの隔離圃場試験を実施した。中国でのGM杜仲、ブラジルでのGMユーカリの栽培の見通しは明るいのである。しかし、将来的には不稔性のユーカリ、パラゴムノキの開発が必要であろう。種皮からゴムを回収する杜仲の場合は不稔性というわけには行かないので、日立造船は中国で花粉の飛散距離の確認試験を実施した。

2003年のイタリア・ミラノでのCOP9において、樹木は長期間にわたりCO<sub>2</sub>を固定できるため、地球温暖化防止策として森林の保全や植林が高く評価され、各国の法規制に則り進めるという条件付でGM樹木の使用を認めたことから、その重要性と大きな期待が伺われる、

### 3.2 個別事業

#### ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

##### (1) 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析（かずさDNA研究所）

研究を立ち上げた当初は、遺伝子機能解析の対象となる検体数が限られてきたが、研究が本格化したことに伴い、15年度加速財源により、かずさディー・エヌ・エー研究所に遺伝子機能解析装置を導入して研究促進をはかった。

16年度加速財源により、独立行政法人産業技術総合研究所で新規に開発されたキメラリプレッサーを用いた遺伝子発現制御技術を利用した植物物質生産に関与する転写因子の機能解明が始まったことに伴い、産業技術総合研究所と大阪府立大学と共同して遺伝子機能の解析を行い、研究促進をはかった。

本プロジェクトが始まって数年間は、世界的にみて、代謝物の網羅的解析は、比較的精度の低い質量分析装置で行われていた。しかし、最新式の装置が開発され、より詳細な代謝物分析が可能になってきた。そこで、17年度加速財源により、精密質量測定装置（UPLC-Q-TOF-MS）を導入し、総数6374回の網羅的な代謝物解析を進め、データベースを構築し、研究促進をはかった。

プロジェクト全体の研究が進み、質量分析装置による低分子代謝物を分析するばかりでなく、それらの装置では測定できない高分子を解析する必要性が生じてきた。そこで、19年度加速財源により、高分子化合物の分子量を分析可能な液体クロマトグラフィー解析システム（GPC-MALS）を導入し、東洋紡が世界で始めて植物で作出したヒアルロン酸の分子量分布を評価し、研究促進をはかった。

研究の進捗にともない、対象とする複数の鍵遺伝子が見出されてきたので、植物機能改変実用化開発プロジェクトで開発された多重遺伝子導入技術を積極的に導入して研究を進めた。

##### (2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析（味の素）

計画に変更なし。

### (3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)

葉緑体に関連する約 2,000 個の遺伝子配列情報、発現情報等を入力した統合データベースの完成に伴って、研究項目「統合データベース構築」のサブテーマを H18 年度で終了し、サブテーマ内の研究項目も適時変更した。代わって、より実用化に向けた成果を出すことを目的に、研究項目「基幹代謝系改良モデル植物の作出」のテーマを拡大し、メタボローム解析技術の開発・利用および外来遺伝子の転写・翻訳等、遺伝子発現に関する研究項目を追加するとともに、開発したデータベース等の情報を利用する形で研究開発を強化した。また、基幹代謝経路を改変した組換え植物の作成を前倒しで始めた。

### (4) 遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイの開発および遺伝子発現制御技術の開発とデータベース化 (タカラバイオ)

アフィメトリクス社が 20mer の合成オリゴを、アジレント社が 60mer の合成オリゴを、それぞれ、24,000、22,000 遺伝子分を 1 枚に搭載したアレイを発売したので、C. の研究項目を早めるとともに、1 枚に 25,000 遺伝子分以上搭載するアレイに開発目標を変更して取り組んだ。

### (5) 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (産業技術総合研究所)

シロイヌナズナの転写因子データベース、cDNA リソース、発現プロファイルデータベースが公開され、利用可能になったこと及び中間評価指摘事項への対応により、物質生産プロセス制御において重要あるいは有用な転写因子の探索のための植物体での機能解析に重点化し、cDNA ライブラリー整備及びデータベース整備に関する研究内容を整理・縮小した。

産業技術総合研究所で新規に開発されたキメラリプレッサーを用いた転写因子遺伝子機能のサイレンシング技術を用いて転写因子遺伝子の機能解析を行い、有用形質の制御に関わる転写因子の同定を目指すため、平成 16 年度よりキメラリプレッサー形質転換シロイヌナズナの作製と形質の解析を開始した。東洋紡において開発されたヒアルロン酸生産形質転換植物での生産性のさらなる向上のために有用なキメラリプレッサーの探索を行った。

## ② 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

### (1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの開発 (日本製紙)

組換え体の作成を予定より早期に達成したことと、組換え体の安全性 (生物多様性影響性) 確認の要求が高まってきていることから、後期に予定していた研究項目「安全性評価試験」を 1 年早めて実施することとした。そのため加速財源により、平成 17 年度に樹木用特定網室を、平成 18 年度に隔離圃場を筑波大に設置した。

予算が削減されているため、研究項目「マイクロアレイの構築とプロファイリング」の実施を中止した。

東京農工大学との共同研究を中止したため、研究項目「DNA アレイ技術の応用」のうち、無菌的周縁キメラ作成技術の開発を中止した。

中間評価対応見直しで、研究項目「MAT ベクターによる樹木への遺伝子導入」を分割して 1 段目は「組換え樹木の作成」に移行した。また 2 段目については「樹木への遺伝子導入技術開発」に移行し、遺伝子を利用した樹木における形質転換促進技術開発を新たに設定した。

### (2) 木質バイオマス統括的生産制御技術の開発 (王子製紙)

19 年度加速で、ユーカリマイクロ RNA の単離と、その作用機構を活用した新規遺伝子制御方法の開発を実施した。この背景には、ゲノム情報の解析に伴い、多くの生物でマイクロ RNA に

よるタンパク質翻訳制御機構が見いだされ、植物においても形態形成（発根作用、花芽形成）に重要な関与があることが報告され、RNAの新規作用として世界的に注目されたことに因る。遺伝子組換えによる有用形質付加（本プロジェクトの場合は、特に花芽形成の抑止に着目）における新規遺伝子制御技術として確立できると判断し、19年度下期より実施した。

### （3）トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発（日立造船）

形質転換体のゴム代謝を定性・定量的に計測することに加えゴム代謝の位置を知る組織内局在解析が必要であるが、日立造船と大阪大学では、平成18年にニコンから発売された共焦点レーザー顕微鏡と分光光度計を組み合わせたリアルスペクトル顕微鏡システムを活用することにより、ゴム専用プローブによるゴム含有量と組織内局在を瞬時に解析し、デジタル処理によってゴム含有量と組織内分布を読み取る手法を開発した。本手法を用いれば戦略的物資であるゴムの生合成機構を迅速に解析することが可能となり、生合成制御に関する有力な特許の権利化が期待されることから平成19年度の加速財源によりリアルスペクトル顕微鏡システムを導入した。

### （4）パラゴムのゴム生産制御技術の開発（ブリヂストン）

天然ゴムの分子生物学的な生産制御技術開発については海外との競争が重要であることが判明したので、以下の対応を行った。

これまでに、パラゴムノキにおけるポリイソプレン生合成関連遺伝子を抽出することを目的にESTライブラリーを作成した。さらに、代謝物解析（ラテックスの成分分析）において品種や組織、季節に変動があることが確認された。その結果、これら代謝物の変動と遺伝子の網羅的発現の相関をより多く解析することにより、ターゲット遺伝子の絞込みをより早く行うことが重要な課題となった。そこで、17年度加速財源によりカスタムマイクロアレイの作製とアレイスキャナーの導入を行い、より早期に実用化につながる基盤の構築とPAT取得を促進した。

また、これまで乳管細胞のプロトプラスト化や断面構造の解析などを行ってきたが、さらに細胞内でゴム粒子が生合成され、蓄積される過程を動的に解析する技術（解析装置）が必要となった。新規解析装置を導入することにより、ゴムの生合成場所や輸送・貯蔵過程、タンパク質の存在部位の詳細を解析することが可能となる。そこで、18年度加速財源で共焦点レーザー顕微鏡を導入し定量的な測定技術を開発することにより、ゴム粒子の生合成のメカニズム解明を促進した。

### （5）生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発（常磐植物化学研究所）

中間評価後の見直しを受け、以下の点を修正した。

カンゾウの栽培適地が半砂漠に限定されるのに対して、ダイズは栽培適地が広く生産のインフラも整っていることからカンゾウ以外に、より効率良くグリチルリチンを生産出来る可能性があるダイズを材料植物として追加し、組換えダイズでのグリチルリチン生産について検討することとした。

フラボノイドも目的代謝物として挙げていたが、グリチルリチン生合成系の解析に注力するために中止とした。

遺伝子発現と代謝物の網羅的解析を予定していたが、これを中止し、形質転換ダイズによるグリチルリチン生産技術開発に集中することとした。

### （6）ステロイド生産制御技術の開発（植物工学研究所）

本テーマは、分担先（株植物工学研究所）が解散となったことから事業を中止する。なお、石川県農業短期大学（現石川県立大学）および株海洋バイオテクノロジー研究所との研究協力で実

施しているユーフォルビア由来ステロール合成系鍵酵素遺伝子やカロテノイド関連遺伝子の植物への導入は、(株)海洋バイオテクノロジー研究所に引き継いで実施した。

#### (7) カロテノイド生産制御技術の開発(キリンホールディングス(～H19fy 海洋バイオ研究所))

上記理由により、(株)植物工学研究所で実施予定であった「実用植物への外来遺伝子導入と形質転換植物の単離」を研究内容として追加した。平成 19 年度末に(株)海洋バイオテクノロジー研究所が解散したことからキリンホールディングス(株)が研究事業を継承した。また、形質転換実用植物の栽培環境を改善し本開発研究を加速するため、平成 20 年度の加速財源により共同研究先の石川県立大学に設置された特定網室を使用した。

#### (8) 外来糖質生産植物の研究開発(東洋紡)

平成 20 年度より、産業技術総合研究所において、CRES-T 法を用いたメタボリックエンジニアリングをヒアルロン酸生産性植物に適用した。転写因子に作用するキメラリプレッサーを用いるジーンサイレンシングの手法である CRES-T 法により、植物の糖代謝経路に関与する転写因子を探索すると共に、ヒアルロン酸生産能向上に寄与する基盤データを得ることを目的とした。

#### (9) 総合調査研究(バイオ組合)

メタボローム解析において海外研究の進捗が速く包括的代謝物分析の強化が必要になったこと及び再委託先である大阪府立大学に FT-MS が導入され本プロジェクトで使用が可能となったことから、組合より研究員を派遣して分析・解析方法を共同して実施することとした。

バイオインフォマティクスの重要性は当初から認識しており、よりの確な共同研究先を探索した結果、奈良先端科学技術大学院大学・金谷教授が適任であるとの結論に達し、組合より研究員を派遣し共同実施を行うこととした。

「ステロール化合物の高生産植物の研究開発」(石川県大・大山教授)は、シクロアルテノールシンターゼ完全長 cDNA 配列の大腸菌へのクローニングが困難と判明したため、その上流のスクアレンシンターゼ遺伝子を用いて研究を行った。また、中間評価における指摘事項に対応して、平成 20 年度加速財源により石川県立大学に特定網室を設置した。

## 4. 中間評価への対応

中間評価は平成 17 年度に実施した。

### 4. 1 プロジェクト全体に関する評価に対する対応

#### 4. 1. 1 中間評価および指摘事項

##### 1) 総合評価

得られた成果のうちモデル植物を用いた解析はいずれも高いレベルに達しており、質の高いデータベースの構築、高度なゲノムツールの開発、モデル植物の物質代謝の網羅的解析、実用植物の遺伝子発現の解析、そして実用植物の形質転換技術の開発など先進的な成果が数多く得られている。汎用性ある技術として構築出来れば、微生物、動物細胞を使用しているバイオ産業にも多くの知見を与え、関連分野や、世界の類似の研究者への波及効果は大きい。実用植物を用いる技術開発研究は、スタート地点に着いたばかりの段階のものが多い。これまでのモデル植物で蓄積してきた成果を駆使して実用植物での目的成分の飛躍的な生産の鍵になる遺伝子を見つけることに全力を上げる必要がある。

モデル植物課題の成果を具体的にどう実用植物課題に利用するのか、生産させた物質をどのように栽培した植物からどのように取り出して利用するのか、大量に消費される工業原料を生産して実際に化石資源由来の原料を減らすにどうすればよいのか、具体的に課題を設定し取り組まれない。これらの視点を意識し、他の方法（化学合成、微生物生産等）とコストを含めた比較を行い、遺伝子組換えの必然性を明確にして研究開発を進めるべきである。

このプロジェクトでは遺伝子組換えを主要技術の一つに据えている。この技術に対する市民の理解を得るためにも遺伝子組換え技術による有用物質生産を一日も早く実現し、実用化に向けた展開を加速すべきだと考える。

##### 2) 今後に対する提言

本プロジェクトの統合データベースの構築については、重要な公共財を創出しつつあると評価できる。遺伝子組換え技術による有用物質生産を一日も早く実現し、最先端科学技術が生産力を向上させかつ環境保全に貢献できることを証明すべきで、さらなる推進を希望する。これまでに得られた成果に基づき、今後の進め方について次の提言を行なう。

- (1) 【1】類似の研究課題は出来る限り情報交換をさらに密にし、実用化に向けた展開を加速すべきである。また、【2】実用化については実用化担当グループに任せきりにしないでモデル植物研究グループもさらに積極的に関与させることが有効である。
- (2) すべてのテーマを平均的にサポートするのではなく、【3】目玉となる成果を早く提出できるように重点的なサポートを考えるべきである。また、早期に実用化の方向を見出すプロジェクトであるため、【4】物質生産の効率に希望が持てない課題があれば今後の資金投入を避けるべきである。【5】特に再委託先・共同研究先の大学の研究は実用化のための基盤技術開発を支援できるものに重点化すべきである。
- (3) プロジェクト前半で得た基礎データを基に、【6】後半はできる限り定量的な目標設定をすべきである。また、【7】実用化に向けた研究については、プロジェクトリーダーを中心とした推進委員によるサポート体制を作って適切な助言をおこなって欲しい。
- (4) 【8】光合成で容易に大量生産できる代謝産物（澱粉、セルロース及び油など）に対する技術開発も重要である。これらの物質は工業原料として有用であり、採算が合うので検討する価値

値がある。特に植物油は石油代替物質として有用である。

- (5) 物質生産をする場合、物質生産の場のシンク能力が生産量の上限を決める可能性がある。生産プロセスは連続した化学反応であるので、【9】最終産物の貯蔵形態が反応速度を規定して反応系に大きく影響することを念頭におき技術開発すべきである。葉緑体で大量に物質生産させた場合に光合成を阻害するなどの障害が現れる。この点も考慮した研究開発を進めるべきである。
- (6) プロジェクトの後半では、【10】エネルギー需給の情勢も踏まえて、実用植物を用いた物質生産技術の開発を重点化することが望ましい。
- (7) 遺伝子組み換え実用植物による物質生産技術の早期実用化のため、【11】国のリーダーシップのもと、国内各地の実証研究設備拡充や安全性を考慮した新たな実証プロジェクト立案などが望まれる。

### 3) 事業の位置付け・必要性について

本プロジェクトは我が国の植物科学研究のプロジェクトとして、地球規模での環境・エネルギー・水などに関する諸問題解決のために重要であり、国際的な問題解決のための取り組みとしても大きな意義がある。このような研究基盤の整備は、研究の出口を短時間で求められる民間企業単独での取り組みが困難であることから NEDO 事業として相応しい。

ただ、実用植物の技術開発を目指している研究では多量に必要な物質だけではなく、【12】少量で付加価値の高い物質に関しては、現行の製造プロセスに比べて、省エネルギー、化学物質使用量の削減による環境負荷軽減がもたらされるなどの、ダウンストリーム全体を見た優位性を考慮すべきである。(ダウンストリーム；目的物質を分離・精製を進め製品化する工程)

類似のポストゲノム研究は理化学研究所や農林水産省のプロジェクトでも実施されている。

【13】省庁の壁を越え協力し、重複することなく協調して最大限の成果をあげる努力が重要。である。また、遺伝子組換え研究を更に活性化するために、【14】安全性に関しての啓発活動、技術的裏付けについても、専門家の観点から意識してさらに積極的に取り組んで欲しい。

### 4) 研究開発マネジメントについて

先進的な技術力をもつ実施者、事業化能力のある民間企業が各々の事業領域に近い植物開発でプロジェクトに入っている。また、プロジェクトリーダーが全体をよく把握し、主要プロジェクトのサブリーダー間における連携は比較的密接にとれていると判断される。しかしながら、モデル植物を用いた研究と実用植物を用いた研究にギャップがあり、【15】今後は強いリーダーシップをもって各テーマ間の有機的結合を図るべきである。

研究プロジェクトをモデル植物に関するものと実用化を目指すものに分け、前半期はモデル系を中心に研究を進め、後半期は前半の成果を実用植物に応用するという手法は、効率的で、研究戦略として妥当であろう。今後は実用植物でのマネジメントを積極的に行い、真に意味のある成功例を示して欲しい。本事業の成否は成功例の有無で判定されるであろう。

中間評価段階の目標設定については容易に達成できるような安易な課題設定がなされている場合もあった。【16】目標は出来る限り高度に据えチャレンジ精神が鼓舞されるような研究推進体制が望ましい。【17】後半期においては、より重要で国際的にも進んだ研究を選び、重点的な資金配分を行なうことを提案したい。

全体的には、最新の技術をいち早く取り入れるように運用されている。世界レベルでは類似のプロジェクトがあることから、今後も情勢変化に機敏に対応して、世界を先導する立場を常に意識して、日本発の植物科学研究に発展することを期待したい。

## 5) 研究開発成果について

モデル植物、培養細胞系を用いたデータベース構築に関しては、順調な成果を挙げていると評価できる。特に、データベース構築やマイクロレイ・システムの完成などめざましい成果が認められる。一部の研究成果はモデル植物であるシロイヌナズナには適用可能であるが、やや汎用性に欠けるものもあり、それを補完するためにすでに実用植物でのデータ収集も始まっている。今後はこれらの成果を実用植物へ適用できる「役に立つ統合データベース」へと編集することが必要である。

実用植物を用いる技術開発研究は、スタート地点に着いたばかりの段階のものが多い。**【18】** これまでのモデル植物で蓄積してきた成果を駆使して実用植物での目的成分の生産に鍵になる遺伝子を見つけることに全力を上げる必要がある。

16 件の特許出願、90 報の査読付原著論文発表があったが、機関によっては特許出願・原著論文発表がなく、また外国出願件数が少ない。欧米の植物バイオ産業ではわずかな進歩に対しても巧妙に特許を出願している。**【19】** 適切に特許出願し、有用な特許の増加を期待する。

なお**【20】** 成果の普及のために、本プロジェクトに未参加の研究者に対するデータベース、分子資材などのサービス提供をさらに進めるとともにその認知を図ることが、類似分野の研究者の理解を得るために国家プロジェクトとしては考えるべきだろう。

## 6). 実用化の見通しについて

本プロジェクトの統合データベースの構築については、重要な公共財を創出しつつあると評価できる。後半期において、遺伝子の絞り込みなど実用化の成否を決定する重要な決断をおこなうことから、十分なデータを集めておくことと、役に立つわかり易いデータベースにしておく必要がある。汎用性ある技術として構築出来れば、微生物、動物細胞を使用しているバイオ産業にも多くの知見を与え、関連分野や、世界の類似の研究者への波及効果は大きい。

一方、実用植物については、現時点では出口イメージ、実用化イメージが弱いテーマがある。**【21】** 最終目標のイメージを具体化し、そこから逆算して、基盤技術開発の課題を明らかにして今後の研究に取り組むことが望まれる。

また、実用化を目指すものの多くが遺伝子導入されたものである。これらが社会的に受け入れられるためには、**【22】** 組換え植物についての一般市民に対するイメージを変えるための安全性に関する実験的証明とマスコミの活用を含めた広報活動が重要である。

## 4. 1. 2 中間評価および指摘事項への対応

**【1】【2】【7】【15】**については、実用植物グループ内での積極的な連携及び実用植物グループとモデル植物グループとの積極的な連携が図れるよう、プロジェクトリーダーの強いリーダーシップの下、H17 年度中に連携すべき研究課題を設定し、それらのグループが定期的に情報交換できる場として、研究開発委員会とテーマ毎の分科会を設けた。それらの活動により得られた具体的な連携課題や体制を H18 年度以降の実施方針および実施計画に反映した。



【3】【18】については、プロジェクト全体を効率良く推進するためまた成果の目玉になると考えられる遺伝子機能の推定及び遺伝子の絞り込みを行うため、成果に結びつけるまでの道筋や絞り込みの指針を策定することを前提に、モデル植物グループの迅速な代謝産物解析及び実用植物グループの遺伝子発現解析に加速財源を投入した。独立行政法人産業総合研究所の保有する独自技術である CRES-T 法による技術開発を追加し、鍵遺伝子の制御に関する研究を行った。

【4】【5】【17】については、実用化時を念頭に置いた本プロジェクトで達成すべき物質生産の効率の目標を明確にし、その達成のための課題抽出及び達成の可能性を H17 年度中に見極めた。さらに国際的な重要性を評価し、その結果を基に、特に実用化のための基盤技術開発を支援できないテーマを実施している大学等への資金投入をやめる等 H18 年度以降、メリハリのある資金配分を実施した。

【6】【16】【21】については、最終的な実用化の態様（具体的な目標イメージ）を想定し、これまでに得られた成果を基に本プロジェクト内でのチャレンジングで定量的な達成目標及び研究推進体制を H17 年度中に設定し、H18 年度以降の実施方針および実施計画に反映した。

【8】については、光合成で容易に大量生産できる代謝産物（澱粉、セルロース及び油等）について H17 年度から先導調査を実施し、工業原料として重要であり実用化の可能性の高いものについてはプロジェクト後半で取り込むことを検討した。その結果、モデル植物の研究の中でこれらの代謝産物についても着目して実施することとした。

【9】最終産物の貯蔵形態が反応系に及ぼす影響を H17 年度中に調査し、本プロジェクトで実施している植物について影響を及ぼす可能性が判明すれば、それを回避するための対策を技術開発課題として位置づける。

【10】将来のエネルギー需給見通し及び現行の工業原料等の製造プロセスも考慮に入れ、将来の燃料及び工業原料として重要であり、省エネルギー、省資源となる実用植物についてトチュウやパラゴムノキでのゴム生産の開発を加速した。

【11】遺伝子組み換え実用植物実証のための特定網室等研究設備の拡充をしているが、新たに国内各地に実証に必要な数の設備を設けることを検討した。その結果、加速財源により筑波大に隔離圃場を、石川県立大に特定網室を設置した。

さらに安全性を考慮した閉鎖型人工環境制御下での実証プロジェクトを検討した結果、経済産業省のプロジェクトとして、閉鎖型人工環境制御下での高付加価値物質生産を目的とした「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発」プロジェクトを立ち上げた。

【14】【22】H16 年度実施のパブリックアクセプタンスを目的とする活動を H17 年度以降も継続的に実施した。さらに安全性に関する実験的証明とマスコミの活用を含めた広報活動を実施した。具体的には、一般公開で添付資料 5-1 に記載の「市民講座」や「国際ワークショップ」を開催し、本プロジェクトの成果を発表し、遺伝子組換え植物による植物育種の重要性和必要性についての啓蒙に努めた。また、受託者においても、添付資料 5-1 に記載のシンポジウム等を開催したり、添付資料 5-3 に記載の各種シンポジウム・講演会等で発表を行うなどの広報・啓蒙活動を行った。

【12】少量で付加価値の高い物質については、製品化迄の全工程を考慮し、現行の製造プロセスと比較して省エネルギー、環境負荷軽減等優位性の有無を H17 年度中に明確にし、それらを考慮に入れ、H18 年度以降にメリハリをつけた資金配分を実施した。

【13】理化学研究所との間で共通の連携可能な課題に関して協調的に研究を実施した。

【19】 H17 年度中に国際的出願戦略を策定し、プロジェクト終了までに外国出願を 10 件行った。

【20】 本プロジェクトに未参加の研究者に対するデータベース、分子資材等のサービス提供について H17 年度中にその適否の基準を策定するとともに、データの追加を行った。またこれらのサービス提供を高めるためデータベースの内容、利用方法に関するワークショップ、展示会、マスコミ等の活用等を積極的に実施した。

【23】 プロジェクト目標との整合性を H17 年度中に、共同研究先・再委託先毎に評価し、18 年度以降の実施計画でテーマを取捨選択し、統合を行った。

## 4. 2 個別テーマ毎に関する評価に対する対応

### 4. 2. 1 モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

#### (1) 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析

(実施者；財団法人 かずさ DNA 研究所)

##### 1) 中間評価における指摘事項

cDNA 注) の取得・解析、発現プロファイリング、代謝産物プロファイリング、統合データベース構築など、先進的なゲノミック研究リソースの構築が進められている。これらの成果は評価できる。培養細胞の凍結保存技術、形質転換法など基盤整備に必要な技術開発も確立している。

【1】 得られた成果が、他の研究テーマで活用されるように、今後はより強力な指導力を発揮し、本プロジェクトを先導して欲しい。

今後の課題としては、【2】 事例を増やす必要がある。得られた制御遺伝子の成熟植物体における応用例は少ない。【3】 過剰発現系を用いた評価はストレス反応と導入遺伝子の本来の機能を区別する方策を考える必要がある。過剰発現が植物細胞のストレス反応を誘導する場合も多い。また、【4】 多細胞の植物について、組織を構成する個々の細胞で営まれている代謝の研究をさらに進めることも必要ではないか。培養細胞から容易にデータが得られるという利点が活かされているが、得られた知見の適用範囲が限られているという欠点も認識して取り扱うべきである。多くのデータが得られているが、意味のあるデータの蓄積をさらに進めることが必要である。植物の代謝は昼と夜で異なるので、これをどのように取り扱うか議論しデータベースの構築に活かして欲しい。

一般の研究者にも技術・情報提供ができる体制の構築が始まりつつあるが、【5】 我が国の植物科学研究の格段のレベルアップをはかる先導的な役割も期待したい。【6】 今後、より集約的な予算措置も必要かもしれない。

##### 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】 については、遺伝子発現解析、代謝産物解析で得られた成果を使い、実用研究グループとの連携を深めて、プロジェクトの成果がでるように努めた。具体的には、日本製紙との連携においては、組換えユーカリの成分分析を行い、遺伝子組み換え技術による効果の検証に貢献した。キリンHD (旧、海洋バイオ研) との連携においては、7つの遺伝子を同時に発現させる様々なコンストラクトの作製、およびその代謝物の解析を行い、最もカロテノイド含量の高い種子の作出に大きく貢献した。東洋紡との連携において、多重遺伝子連結技術を用いて各種のヒアルロン酸合成植物の作出に貢献した。ブリジストンとの連携において、パラゴムノキの遺伝子発現解析な

どにおいて貢献した。日立造船との連携において、トチュウの遺伝子発現解析などにおいて貢献した。常盤植物化学との連携において、カンゾウのEST解読、多重連結技術を用いた組換え体作出などに貢献した。王子製紙との連携において、ユーカリ遺伝子解析データをKaPPA-Viewシステムに搭載することに貢献した。このような連携を通して、強力な指導力を発揮し、プロジェクトを先導した。

【2】については、植物培養細胞を用いた網羅的な遺伝子機能解析で見出した制御遺伝子が成熟植物体で機能するかどうかを幾つかの具体的な例で示すことができた。グルコシノレート合成制御に関わる転写因子の場合、植物体でも機能していることを証明し、その論文をトップレベルの科学誌であるPNAS誌にて発表した。細胞壁構築に関する重要な遺伝子の機能を培養細胞だけでなく植物体においても示すことができた。現在、論文投稿準備を進めている。

【3】については、導入遺伝子の本来の機能を区別する方策として、網羅的な遺伝子発現の解析ばかりでなく、網羅的な代謝物解析を行って、全体像を把握することに努めた。200以上の過剰発現系統において精査し、それらの結果をデータベース化した。現在、これらの結果について論文投稿準備を進めている。

【4】については、培養細胞での解析は、多数の遺伝子の中から候補を選び出す手段として優れているが、植物体において、直接的に適用できると考えている訳ではなく、むしろ、植物体レベルでの検証が必須と考えている。実際、②の指摘への対応でも示したように、植物体を使って積極的に遺伝子機能を証明してきた。本研究で得られた膨大な遺伝子発現および代謝データは、様々な観点から検討し、多機能なデータベースとして構築した。このデータベースには、昼と夜の代謝データも含まれる。

【5】については、網羅的な代謝物解析（メタボローム解析）に重きをおいて研究を展開してきたことにより、膨大な代謝データを得るとともに、これらを情報処理する技術の開発も行った。これらの研究成果は、世界最速の代謝物解析技術の開発、世界最大の代謝データベースの構築に繋がり、わが国の植物科学研究の格段のレベルアップに貢献した。

【6】については、18年度以降の実施計画における予算配分および加速財源において反映した。

## (2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析（実施者；味の素株式会社）

### 1) 中間評価における指摘事項

本研究は実用化を目指した基盤研究である。研究目標は、すべての物質生産の基盤となる窒素代謝関連研究であり、組換え体植物を用いてアミノ酸を効率的に生産することを目指している。完成すればバイオマス資源が効率的に利用可能で、従来手法に置き換わる画期的な生産法となる。成分分析、遺伝子発現解析、形質転換植物解析等が研究計画に従って行われており、一定の成果を上げている。

本研究で得られる知見を、「植物によるアミノ酸生産方法の開発」にどのように結びつけていくのか、具体的な道筋を明らかにすることが望ましい。また、アミノ酸合成のために既知の微生物の遺伝子ではなく、植物の遺伝子を網羅的に解析し、その成果を利用することについての理由付けを、より明確にする必要がある。

この窒素代謝関連研究を進めることで、他の物質生産プロセスの解明にどう役立つのか、その道筋を示すことも必要であろう。

## 2) 中間評価指摘事項への対応

味の素㈱は平成18年度で本事業を終了したので、その後の自社研究において上記指摘事項を参考にすることとした。

## (3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発

(実施者；財団法人 地球環境産業技術研究機構)

### 1) 中間評価における指摘事項

本研究は有用遺伝子を葉緑体ゲノムに導入して、工業原料を生産する基盤技術を開発することを目標としている。このような技術開発は先例がないため、改良植物を作出し、最終目標を達成するには多くの試行錯誤が必要であろう。今後は、【1】対象とする有用遺伝子候補の提案が欲しい。形質転換技術がタバコ近縁植物に限定されている現状を改善する提案を行い具体性を持たせて欲しい。従来から行われている学術的研究の進展が主な成果であり、共同研究先・再委託先の大学での研究、特に転写・翻訳系に関する論文発表は活発で評価に値する。しかし【2】これらの学術的成果は本事業目的の達成のために連携させる必要がある。実用化に向けてまとめるよう具体的な目標を設定し、技術開発に資するよう改善して欲しい。

一方、葉緑体代謝増強植物の作出を目指して、代謝系の解析方法を検討する研究、統合データベースの構築を志向した研究等も実施されている。当初の目標を達成したことは評価できる。今後は【3】葉緑体を用いるより高度な研究を目指し、プロジェクトの目標達成を目指した成果へと発展して欲しい。【4】R I T E (財団法人地球環境産業技術研究機構) が主体的となり、葉緑体グループが散漫にならないように、共同研究先・再委託先の研究を必要があれば取捨選択して統合し、事業目標に沿った研究として成果が得られるようにするべきである。【5】葉緑体での物質生産は葉緑体だけでは完結しないことを念頭におき、焦点を絞り目標が達成されることを期待する。

## 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】については、高い抗酸化能等を持つことから近年、ファインケミカルとして注目されるアスタキサンチン等のイソプレノイド化合物をモデルに、イソプレノイド代謝経路を改変の候補として取り上げ研究開発を行った。この代謝経路において対象とする有用遺伝子の候補として、デオキシキシルロースリン酸レダクトイソメラーゼ遺伝子 (*dxr*)、 $\beta$ -carotene hydroxylase 遺伝子 (*crtW*)、 $\beta$ -carotene ketolase 遺伝子 (*crtZ*) を取り上げ、葉緑体工学による組換え体作出を提案した。結果として、特に後者 (*crtW*、*crtZ*) の組換え体で、非常に高いイソプレノイド化合物を蓄積する植物を開発することができた。

【2】については、中間評価の提言を受け、葉緑体グループに属する各研究機関で連携を深め、実用化に向けてまとめるよう目標設定をし、プロジェクトリーダー等と討議しつつ研究開発を進めた。具体的には、葉緑体工学全体を俯瞰し、葉緑体工学の基盤を成す要素技術(遺伝子導入法、導入遺伝子の発現、転写、翻訳、代謝解析技術等)の開発を各研究機関で分担し連携を取りつつ、技術開発及び知見の充実に努めた。また、開発技術を用いて有用化合物を生成するモデル植物の開発を実施し、植物による生産プロセスの確立に必要な基盤技術整備に取り組んだ。

【3】については、前述のような体制で葉緑体工学を構成する要素技術及び知見の充実に取り組んだほか、i.二酸化炭素固定に関する代謝解析技術の開発 ii.超高感度代謝成分分析技術の確立

iii.葉緑体における新規な翻訳メカニズムの発見 iv.葉緑体ゲノムの核ゲノムの進化に関する新規知見の取得等、学術的に意義のある成果を出すことにも努力をした。これらはいずれも、次世代のバイオ技術を確立するシーズとなる可能性があり、またプロジェクトの目標である、植物により目的工業原料を効率的に生産する技術を確立するのに必要な基盤技術を構成する。

【4】については、中間評価以後、前述のように遺伝子転写、遺伝子翻訳、代謝に関する基礎的部分をそれぞれ大学研究機関が担当し、RITEが遺伝子組換え体の作出および解析を行う新体制を取った。この研究体制のもとでプロジェクトの目標達成に向けて研究開発を実施した。

【5】については、中間評価以後、指摘を受け核ゲノムの組換えに関する研究も念頭に置き研究開発を行った。また、二酸化炭素の固定に関する代謝経路及びイソプレノイド化合物に関する代謝経路に焦点を絞り、プロジェクトの目標達成に向けた研究開発を行った。特にイソプレノイド代謝経路に関しては、葉緑体に留まらず細胞質における代謝経路も存在するため、核ゲノムの組換えによりイソプレノイド代謝経路の改変を行う研究グループとも十分に意見交換をし、研究開発を実施した。

#### (4) 遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイの開発および遺伝子発現制御技術の開発とデータベース化 (実施者；タカラバイオ株式会社)

##### 1) 中間評価における指摘事項

本研究テーマは、物質生産を直接、効率化する研究ではなく、物質生産に到達するために必要な代謝系の解析に必須な機材提供の技術開発である。当初の目標を達成している。特異性が高いために実用化植物を利用した研究への貢献度はまだ低い可能性があるものの、シロイズナズナ以外の植物種のマイクロアレイ作製に関する基礎技術を確立したことは評価できる。バイオ研究に威力を発揮する DNA チップを国産化しており、実用化の見通しもついている。

今後の課題として、汎用性を更に確定して、利用者のニーズに応えるツールへと進化させて欲しい。標準的なシステムとして、多くの研究者が利用するためには、データの守秘に対する処置を施した上で、利用者が得たデータを集約してデータベースとして公開できる仕組みが必要である。また、本技術開発の権利化を急いで欲しい。

すでに市場にでているマイクロアレイとの差別化を意識しないと、広く実用化には結びつきにくい。かずさ DNA 研究所が担当する実用的植物に関する遺伝子情報をもとにした、これらの遺伝子発現を効果的に検出できるアレイの開発を期待する。

##### 2) 中間評価指摘事項への対応

タカラバイオ(株)は平成17年度で本事業を終了するので、その後の自社研究において上記指摘事項を参考にすることとした。

#### (5) 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (実施者；独立行政法人 産業技術総合研究所)

##### 1) 中間評価における指摘事項

膨大な数の転写因子の中から技術開発に有用と推定される因子を探し出す本研究テーマは有意義であり、世界的にも重要である。植物細胞の可塑性を考慮すると、おびただしい相互作用が推定されるため、代謝系に絞り込み、調べるという試みも評価できる。遺伝子発現制御を転写因子の側から網羅的にアプローチする方法や、キメラリプレッサーを用いる方法も独自性がある。転

写因子による物質生産プロセス制御をめざし、配列情報収集、cDNA 収集・解析、発現解析、機能解析など、研究計画に従って成果をあげている。実用植物への応用も期待が持てる。

課題としては、【1】転写因子による形質転換実験を更に数多く進めること、その結果を基にして、本手法の有用性を確認すること、【2】実用樹木等への応用展開を早急に進めることなどがある。【3】有用機能が期待される転写因子遺伝子の過剰発現において、形態及びその他の形質に影響は出ていないかの解析をさらに進める必要がある。さらに、【4】未知な転写制御因子の抽出とその機能解明にも取り組んで欲しい。新しい転写因子を探すことで新たな展開が期待できる。

物質生産プロセス制御の基盤技術研究という性格が強いと感じられる。【5】実用化に具体的に貢献しうる特徴をさらに強く出すべきである。

## 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】については、プロジェクトの実施方針の範囲の中で可能な限り多数の形質転換体の作製及び機能解析を進めた。その結果、実用植物での物質生産の増大・効率化への有用性が期待される転写因子を見出した。

【2】 【5】については、ヒアルロン酸等の有用物質の生産系の制御や増産に関わる転写因子の探索あるいはバイオマス生産や環境適応と言った実用植物の生産性や増産に関わる形質に注目した転写因子の探索を行い、機能解析を進めた。また、セイヨウナタネやポプラを実用モデル植物として、シロイヌナズナで見られた有用機能発現の検証について検討した。

【3】については、有用機能が期待される転写因子の過剰発現体において、その形質だけでなく生育過程の発生・生長・分化、環境ストレス応答等への影響の解析も行った。

【4】については、シロイヌナズナのゲノム情報を基に転写因子として *in silico* 同定される遺伝子のほとんどは、既知の転写因子の保存ドメインに対する相同性を基に同じファミリーに属することが推定されるだけで、機能に関しては未知である。そこで、機能情報の全くない遺伝子についても機能解析を進めた。また、作製した転写因子の形質転換株を用いた機能スクリーニングを行うことで、未知な機能に関与する転写因子の抽出を行った。

## 4. 2. 2 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

### (1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化

(実施者；日本製紙株式会社)

#### 1) 中間評価における指摘事項

本研究テーマでは、ユーカリの物質生産に関わる研究を分子生物学的に進めている。世界的にも重要な研究である。実用化の方針、戦略が明確であり、新手法の開発に積極的である。MATベクター注)などの独自の遺伝子導入技術によって、組換え体植物ができています。周縁キメラ作成技術の研究も、生殖器官に目的遺伝子が導入されないとすれば、画期的な技術である。実用化すれば、他の植物にも応用可能であり、組換え植物の安全性という問題の克服に大きな力になる。

【1】実用化を進める上で、高収量化（高成長性・高パルプ化適性）を、環境適応性（耐寒性・耐塩性の形質）が導入されたのかを調べる必要がある。また、【2】組換えユーカリの材を用いて、実際にパルプ化特性（材積、脱リグニン挙動、繊維長など）を確認する必要がある。また、【3】種々の至適化技術を施し導入した遺伝子が長期にわたって安定的に発現するシステムや、地力低下を防止しユーカリの成長を何世代にもわたって継続させる方法も検討すべきであろう。

本研究内容の、【4】国際的な評価を得るためにも、インパクトのある学術雑誌に成果を報告する努力をして欲しい。また、【5】海外で栽培を行なう計画であることから、国際的に全く問題のない状況で実験を行なうよう、細心の注意を払って欲しい。

【6】王子製紙とユーカリの育種で共同して研究ができないだろうか。材質の改善では王子製紙が、遺伝子拡散抑止技術では日本製紙がそれぞれ優位であると思う。両者が共同して、素晴らしい成果を出すことが、本プロジェクトにとっても、また、遺伝子組換え技術に対するパブリックアクセプタンスを得るためにも重要なことだと思う。

## 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】については、高収量化を狙った組換え体においては、増殖・発根が可能で遺伝子発現の高い系統が得られなかった。一部の系統について栽培を実施したが、高収量化の効果は認められなかった。環境適応性については、耐塩性、耐寒性の評価試験を行い、形質の導入が確認された候補系統が得られている。

【2】については、組換えユーカリの材を得るためにも、野外栽培を実施できたことは大きな成果であると考えている。野外栽培中の組換えユーカリの生育は順調であり、生物多様性影響評価試験の終了後にこれらの組換えユーカ리를伐採してチップを作成し、パルプ化特性等を確認する予定である。

【3】については、作出から3年間クローン増殖を繰り返した組換えユーカリにおいて、導入遺伝子が安定して保持されていることと、遺伝子の発現を確認した。また、目的物質についても、高蓄積していることを確認した。他のユーカリ種において、大型の特定網室内で種子を得ることに成功しており、本プロジェクトの成果物であるユーカリについても、栽培を継続して種子の取得を目指している。また、林地での栽培技術については、社内で重要な課題として取り組んでいる。

【4】については、「ユーカリ・グロビュラスへの遺伝子導入方法の開発と耐塩性組換えユーカリの作成」に関する論文を作成中であり、国際的な雑誌への投稿を予定している。

【5】については、安全を最優先に考え、パキスタン国での一般野外栽培試験については、政治状況が不安定であることから計画を変更した。共同研究先である筑波大学は、国際的な情報にも明るく、国内の形質転換植物の共同研究拠点に選ばれるほど組換え体の栽培についての専門性が高い。今後も協力し、海外植林については細心の注意を払って検討する予定である。

【6】両社は本プロジェクトや他の国家プロジェクトに同時に参加しており、情報交換は常に行われていることと、本プロジェクトにおける両社の研究は目的とする形質や対象とするユーカリ種、研究プロセスが異なり、共同研究とすべき共通の課題がないことから、本プロジェクトにおいては研究開発委員会や分科会での情報交換を行うことで十分であると判断した。

## (2)循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の開発 (実施者；王子製紙株式会社)

### 1) 中間評価における指摘事項

実用化を目指して、ユーカリの物質生産に関わる研究を分子生物学的に進めており、世界的にも重要な研究である。統括的制御因子を見出して、生産性を制御しようとする研究方向は重要である。材形成に関わる遺伝子群の網羅的解析は今後の研究発展のための知的財産となる。マイクロアレイ解析等から興味深い知見が得られている。積極的な特許申請、成果発表も評価できる。

今後の課題として、【1】研究の方向性の正しさを実証できる因子の特定が重要である。マイクロアレイ解析で得られるデータは二次的な効果によるものが多いため、目的とする木質バイオマスの向上に関わる因子を効率よく特定する必要がある。実用化には、野外での大規模な植栽を行わなければならない。【2】遺伝子組換え植物に対する社会的コンセンサスの獲得を含めた基盤整備も必要である。また、【3】研究内容について国際的な評価を得るために、インパクトのある学術雑誌に成果を報告して欲しい。

【4】日本製紙とユーカリの育種で共同して研究ができないだろうか。材質の改善では王子製紙が、遺伝子拡散抑止技術では日本製紙がそれぞれ優位であると思う。両者が共同して、素晴らしい成果を出すことが、本プロジェクトにとっても、また、遺伝子組換え技術に対するパブリックアクセプタンスを得るためにも重要なことだと思う。

## 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】については、モデル植物（タバコ）を用いて、目的因子の実用性を早期に評価、その結果を基に組換えユーカリの作出を行い、実用利用価値の高い遺伝子組換えユーカリの作出に成功した。

【2】については、1企業単独での対応は難しい。実際にGM生物の実用化に関しては、産官学の連携により世界的に議論が進んでいるところであり、その動向は常に追跡調査している。

【3】については、別途提示の通り実施済み。

【4】については、両社は本プロジェクトや他の国家プロジェクトに同時に参加しており、情報交換は常に行われていることと、本プロジェクトにおける両社の研究は目的とする形質や対象とするユーカリ種、研究プロセスが異なり、共同研究とすべき共通の課題がないことから、本プロジェクトにおいては研究開発委員会や分科会での情報交換を行うことで十分であると判断した。

## (3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発（実施者；日立造船株式会社）

### 1) 中間評価における指摘事項

本研究テーマは、トランス型ゴムの生産に関与する遺伝子の解析に関する研究であり、未利用資源の活用につながる。実用化を視野に入れて、中国との共同研究を進めており、資源のない日本にとって重要な研究である。トチュウの成分分析、精英樹選抜、変異体育種、生合成系解析、メタボローム注) 解析などについて、研究計画に従い一定の成果をあげている点は評価できる。ただ、本来の研究目的については、これから本格的に取り組む段階にある。

【1】ゴムの生産性に関わる遺伝子の抽出・機能解明を行い、最終的な研究成果の達成目標である、ゴムの増産、改質という、実用化に至るまでの戦略と道筋を明確にすることが必要である。まず、【2】どういう細胞がゴムを生合成し、どのように輸送され、どこに蓄えられているのかという基本的情報をさらに詳細に把握すべきである。その後【3】どのような条件でゴムが蓄積するかを把握するために、段階別の研究計画を見直す必要がある。また、研究の【4】鍵となる遺伝子をいかにして見つけるか、その道筋を再検討する必要がある。

### 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】については、ゴムの生産性に関わる遺伝子の抽出・機能解明のため、組換え大腸菌による機能発現のためコールドショック法に取り組みEST解析の成果から機能解明をマイクロアレイに



て進めた。ゴムの増産、改質のため目的の酵素をモデル植物（タバコ）に導入し中間生成物の解析を試みた。更に、最終的にトチュウに導入し、ゴムの増産、改質という筋道を確立した。

【2】については、トチュウゴム生合成機構・輸送機構・蓄積機構を明らかにするために、ゴム生成細胞を特定した。特定には加速財源で導入したスペクトルレーザー顕微鏡(SCLMS)を用いて非破壊により証明した。更に、目的タンパク質をタバコ培養細胞にマーカー遺伝子と混合導入して、細胞内輸送経路を解析した。TIDS遺伝子の細胞内輸送についてタバコ培養細胞によるネットワーク解析をGFP融合タンパク質により実施し、細胞内ダイナミズムを観察した。更に、加速財源で導入したスペクトルレーザー顕微鏡（SCLMS）を用いて、トチュウゴムに特異的な蛍光波長を有するナイルレッド染色を行い、組織・細胞内における脂溶性物質とゴム成分の状態を非破壊で局在解析して、ゴム生成機構をすべて証明することに成功した。

【3】については、ゴムの蓄積に関しては【1】の分子生物学的手法、【2】の細胞生物学的手法を用いてゴム合成に関わる遺伝子と酵素、それを支持するトチュウのゴム蓄積機構を解明した。

【4】については、【1】【2】【3】の断片的情報を再構築し、ゴムの生合成に関わる鍵酵素の発見することにした。

#### (4)パラゴムノキのゴム生産制御技術の開発（実施者；株式会社 ブリヂストン）

##### 1) 中間評価における指摘事項

本研究テーマでは、世界的に不足する可能性のある天然ゴムの増産を目標にしたインドネシアとの共同プロジェクトが含まれている。NEDOの事業として成功させて欲しい。天然ゴムは重要な工業原料であるが、その生合成系については未解明な点が多く、技術基盤確立のための研究開発に着手した点は評価できる。パラゴムノキの組織培養や形質転換など実用植物育成のための重要な成果を得ており、今後の成果が期待される。

本プロジェクトの目的を考慮すると最終的には実用的で優良なパラゴムノキの作出に挑戦してはいるが、【1】高品質ラテックス、非ゴム成分組成等について、更に具体的目標を設定して進めることが望まれる。最初に、【2】どの細胞がゴスを生合成し、どのように輸送され、どこに蓄えられるかという基本的情報を把握すべきである。【3】ゴム生産に関わる遺伝子群として機能未知のものを多数得ているが、重要遺伝子の絞り込みは今後の課題である。この絞り込みの際の指針も明確にしておく必要がある。

また、【4】インドネシアで実施している研究内容と重複しないように、棲み分けと相互理解のための十分な討論を継続してゆくことが必要である。

##### 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】については、天然ゴスをタイヤ材料として利用した際、耐熱劣化性能を向上させる要因として天然成分としてゴスに含まれるトコトリエノールが効果があることがわかっている。天然ゴスには $\alpha$ -トコトリエノールが多く含まれており、この含有量が20%増加させることができれば、耐熱劣化特性を大幅に向上させることが可能となるので、これを目標とした。

【2】、ゴスはパラゴムノキの篩部に存在する乳管細胞で生合成され貯蔵されると考えられる。そこで、乳管細胞の組織学的解析とタッピングしたラテックスの遺伝子発現の変化を追跡することにより、ラテックスの生合成の過程を明確にすることを試みた。具体的には乳管組織の透過型電子顕微鏡および共焦点顕微鏡による詳細解析と、タッピングを開始してから流出が止まるまでのラ

テックスをサンプリングし、DNAアレイによる遺伝子発現と成分分析により代謝物の変動を追跡した。

【3】については、タッピング処理により乳管細胞内のゴム粒子数が減少し、ゴムの生合成が再開されることが、タッピング後2時間目までのラテックスのDry rubber contentの減少とそれ以降の緩やかな増加から示唆される。したがって、タッピング後2時間目までに急速に活性化する遺伝子群をGeneChip転写解析によりまず絞り込み、さらにゴムの生合成の場である小胞体・ゴム粒子の膜上タンパク質およびタンパク質に結合して存在するタンパク質を解析し、ゴム粒子を対象にプロテオーム解析を行い、DNAアレイの結果と統合することにより遺伝子の絞込みを行うことで基本情報を取得することとした。

【4】については、形質転換実験の材料が日本国内では調達できず、通常、パラゴムノキの日本での栽培は許可されないことから、以下の通り、研究領域を分担して実施した。

#### 拠点1．インドネシア：ブリヂストンスマトララバーエステート<BSRE>

ゴム農園内にラボを設置し、通年、組織培養および遺伝子解析実験用の試料を入手できる環境を活かし、未熟種子、蒴を外植体とする組織培養実験（再分化系の検討と遺伝子導入用の材料供給）、DNAアレイ用ラテックスのサンプリングおよびプロテオーム解析用試料前処理を実施した。

#### 拠点2．BPPT BIOTEKセンター

ジャカルタ郊外に位置し、ゴム農園から距離はあるが、隔離温室、網室、形質転換実験設備を有しており、パラゴム以外の熱帯植物の形質転換の経験もあることから、アグロバクテリウム法および遺伝子銃法による形質転換実験と温室を利用した馴化技術を主として分担して研究した。

#### 拠点3．ブリヂストン：小平

実験用カルスをインドネシアから持ち帰り、アグロバクテリウム法による感染条件の最適化を検討した。

### (5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発（実施者；株式会社 常磐植物化学研究所）

#### 1) 中間評価における指摘事項

本研究テーマでは、重要な医薬品・食品原料であるカンゾウについて、重要成分の効率的な生産を目的とした技術基盤確立のための研究開発に着手した点は評価できる。計画した研究項目も一定の成果をあげている。最新手法による成分の変動と栽培方法による変動の分析、グリチルリチン蓄積と肥大根の相関に注目した進め方も評価できる。

本研究では、【1】形質転換手法は、主要実施項目のひとつと位置付けられているが、供試材料が限定されており、検討が不十分である。また、網羅的解析から得られる制御因子を特定して二次代謝産物の含量を高度に生産する手法が適応できる可能性があるが、【2】実用化見通しの時間軸が記されていない。

現時点で再分化系が確立されていないことから、この植物ではカルスからの再分化が非常に困難であることが予想される。【3】根の培養系での生産を考えると、育種以外の方法も考えたほうが良い。また、野生種での高蓄積結果を見ると、【4】生育環境の要因を調査し、この栽培条件に応答する遺伝子を調べることで効率的生産の道が拓ける可能性がある。

#### 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】については、カンゾウの栽培適地が半砂漠に限定されるのに対して、ダイズは栽培適地が広く生産のインフラも整っており、より効率良くグリチルリチンを生産出来る可能性があることからダイズを実験材料植物に追加し、ダイズ種子によるグリチルリチン生産技術開発も行うこととした。

【2】については、計画書に盛り込んだ。

【3】については、培養による生産は、本プロジェクトの前提条件である炭酸ガス削減技術開発に合致しないと考えた。

【4】については、自生地 of 土壌条件や、栽培技術開発者からの情報収集に努めた。

## (6) ステロイド生産制御技術の開発 (実施者; 株式会社 植物工学研究所)

### 1) 中間評価における指摘事項

本研究テーマでは、動物由来で生産されていたステロール・トリテルペン類を植物由来のものに代替することを目指している。動物原料経路によるウイルス汚染などの危険性を避けるための方法として有効であり、方向性は評価できる。カイコ由来の遺伝子を用いて、植物由来の遺伝子のみでは不可能な反応を植物体で実現しようとする試みはユニークであり、意欲的な発想である。また研究の戦略も論理的である。

アマにおいて5%以上の蓄積という目標設定は明確であり、計画に従い着実に成果を上げている。微生物を用いた発酵法との違い、ステロール生産を植物で行なうことの利点、問題点も明確にすべきである。

課題として、コレステロールを高生産するには集積の効率と安定性も重要であるため、集積に必要な細胞内オルガネラの研究も必要である。植物体内に存在しない物質を植物細胞中に作る場合、正常に貯蔵されるか、細胞組織内の反応も考慮すべきである。また、未知の制御遺伝子が大きな役割を担っている可能性も配慮して欲しい。

本研究テーマは、分担先である(株)植物工学研究所が解散を余儀なくされた。研究テーマを引き継ぐ研究機関にこの研究成果が有効活用され、実用化へつながることを期待する。また当初の目的達成のために、プロジェクト推進委員会の支援を望みたい。

### 2) 中間評価指摘事項への対応

上記の提言については、研究テーマの一部を引き継ぐ(株)海洋バイオテクノロジー研究所(H20FYからは麒麟ホールディングス(株))および石川県立大学の実施計画において引き継ぐ研究内容の範囲内において反映させた。

## (7) カロテノイド生産制御技術の開発

(実施者; 麒麟ホールディングス株式会社(H19fyまでは(株)海洋バイオテクノロジー研究所))

### 1) 中間評価における指摘事項

本研究テーマは、植物を使ったアスタキサンチンの大量生産を目指している。生合成の鍵となる因子の導入で高収量が達成できれば、バイオマスを利用した物質生産法の先駆的存在となる。目標設定は“アマ、又はナタネで1 mg/g 湿重量のカロテノイドの発現”と明確である。*crtB*などカロテノイド生合成の鍵になる遺伝子をモデル植物で明らかにし、代謝物解析から鍵遺伝子の特定まで進んでおり、着実に成果をあげている。プロジェクト内で共同研究を進めていること、

成果をある程度公表していることも評価できる。

カロテノイド生合成系は複雑であるため、今後、【1】網羅的解析だけでは鍵遺伝子の同定が難しくなる可能性がある。カロテノイドの代謝を制御する遺伝子も検索する必要もある。また、【2】モデル植物を利用した遺伝子の絞り込み作業や改変*crtW*遺伝子を導入した植物体を作成し、生産性向上の検証作業が必要になるかもしれない。高生産性を確立させるには、【3】集積部位への集積関連機構の分子生物学的解析と最適化を配慮する必要もある。実用化に向けて、【4】有機合成法、発酵法に比べてこの方法が有利であることを明確に示す必要がある。

【5】健康食品用途では遺伝子組換えに対する消費者の不安感がある。このようなハードルを超えるような、(組換え以外の)他の方法では生産できない高価値のカロテノイド生産を、アスタキサンチン以外にも期待したい。

## 2) 中間評価指摘事項への対応

【1】については、このコメントを受けて、カロテノイドの代謝を制御する遺伝子の検索を行った。具体的には、東京農工大学・小関良宏 教授の研究によりクロロフィルとカロテノイド合成を促進する可能性があるシロイヌナズナ由来の制御遺伝子 (At2g47520) を多重遺伝子の一つとして挿入したプラスミドを平成19年度に作製し、ナタネへの導入を行った。他にも、同様の効果があると考えられる転写因子 (ARR14及びPIF5) を平成21年度に東北大学・高橋征司 博士より分譲してもらい、ナタネへの導入を開始した (かずさDNA研でもシロイヌナズナ等に導入している)。残念ながら、これらの制御遺伝子の効果は現在までのところ確認されていないが、今後も検討を続けたい。

【2】については、かずさDNA研と共同し、モデル植物 (シロイヌナズナT87培養細胞) に、改変*crtW*と改変*crtZ*遺伝子を導入し35Sプロモーターで発現させることにより、実際にアスタキサンチンが効率的に合成されることを確認した。このことを通して、改変両遺伝子による生産性向上の検証を行うことができた。この検証作業の結果通り、これら2つの改変遺伝子は、地球環境産業技術研究機構 (RITE) が行った葉緑体形質転換タバコだけでなく、我々が行った葉緑体形質転換レタスにおいても、アスタキサンチンを著量 (それぞれ、全カロテノイドの70%及び40%) 合成することができた。

【3】については、集積部位への集積関連機構の分子生物学的解析にまでは手が回らなかったが、今回の我々の研究 (外来遺伝子の発現レベル上昇の分子生物学的解析と生成したカロテノイドの種類と量の相関性の解析) により、油糧作物の種子では、基質の一つである酸素分子の供給量が律速となる可能性が高いことがわかった。この問題をクリアするため、酸素分子の供給が十分にある葉もアスタキサンチン生産の場として検討することにした。実際に、葉緑体形質転換タバコやレタスでの葉は著量のアスタキサンチンが生産されることを確認した。

【4】については、健康食品用アスタキサンチンを製造・販売している業界トップの富士化学工業株式会社・西田光徳 社長、山下栄次 研究部長に直接、お話を伺った (平成17年8-9月)。この会社では、微細藻である *Haematococcus pluvialis* を使ってアスタキサンチン生産を行っているが、アスタキサンチンの製造コストは純品換算で1gあたり1,000円とのことであった (化学合成法はこの1/3程度の価格)。我々は油糧植物の種に湿重量で0.1%以上のアスタキサンチンを生産させることを目指している。この遺伝子組換え作物をカナダやアメリカで生産すれば、食用油1リットルあたり100円の製造コストになるので、抽出したカロテノイド入りの油をそのまま利用すれば、

1gあたり100円の製造コストとなり、微細藻で生産する場合の1/10になると試算できる。

参考までに、彼らの話の詳細を以下に示す。「富士化学工業では、*Haematococcus*属藻類でアスタキサンチンを生産し、主に健康食品用を中心に市販している。健康食品としての富士化学のシェアは世界で70%であり、国内の原体の売り上げは10億円程度であり、末端製品価格に換算すると50億円以上になる。現在、ヒト用の健康食品としての引き合いが強くて、なかなか他の分野に廻らない。アスタキサンチンは、*Paracoccus*属海洋細菌、*Phaffia*属酵母、または*Haematococcus*属微細藻により生産されるが、*Haematococcus*属微細藻の生産量が一番高い。富士化学工業は、ハワイのマウイ島でバイオドームと呼ばれる半円形の培養層で*Haematococcus*属微細藻を培養しているが、その生産量は乾重量当り6%である（湿重量当りに換算すると1%強位）。製造コストは、100万円/kgアスタキサンチンである。」

【5】については、化学合成法でカロテノイドを製造すると、これに含まれる副産物は非天然型の化合物となり、安全性に疑念が残る。また、*Haematococcus*属藻類で製造すると、アスタキサンチンが100%となり、そのほとんどがエステル体である。カロテノイドはアスタキサンチン以外にも、眼の健康の維持増進に効果があるルテインやゼアキサンチン、骨粗鬆症や肺癌の予防に効果があるβ-クリプトキサンチン、前立腺癌の予防に効果があるリコペン、プロビタミンAであるβ-カロテンやα-カロテンを始めとして、個々のカロテノイドが個別の生理活性をもつことが多い。遺伝子組換え作物を使うと、これらの有用カロテノイドを同時に生産させることが可能である。そこで我々は、アスタキサンチンを含むいくつかの高価値カロテノイドを油糧作物の種で同時に多量に作る技術開発を行うことにした。なお、京都府立医科大学の西野輔翼 名誉教授によると、高価値カロテノイド（mixed carotenoids、multi carotenoidsとも呼ばれる）を混ぜて使うと相乗効果が出る場合があるとのことであった。

## （8）外来糖質生産植物の研究開発（実施者；株式会社 東洋紡績株式会社）

### 1）中間評価における指摘事項

本研究テーマは、化粧品や医薬品の素材として重要なヒアルロン酸を植物で生産することである。目標設定は比較的明確になされており、理解しやすい。実際に、遺伝子導入タバコにおいて、ヒアルロン酸生産能が確認されている。この成果は、タンパク質以外の動物性成分が植物を使って生産可能であることを示している。植物を動物由来有用物質の生産工場として使うモデルケースとしても魅力的である。基礎研究としても重要な内容を含んでおり、研究の展開を期待する。海外を含めて特許出願を進めており、実用化に向けた開発としても評価できる。

課題としては、【1】糖ヌクレオチド代謝全体を制御する統括的制御因子の特定、引き続き遺伝子レベルでの改質等に配慮すべきである。【2】効率的にヒアルロン酸を取り込む工夫も必要である。また、植物において生産したヒアルロン酸を、効率よく精製・純化することを考慮に入れた上で、【3】生産のために用いる実用植物の種類と株について早急に決定する必要がある。今後の計画策定に際し、以上の点をふまえて、展望を明らかにして欲しい。

実用化研究ではあるが、【4】インパクトのある国際学術雑誌で、積極的に成果を公表して欲しい。

### 2）中間評価指摘事項への対応

【1】については、平成20年度より、産業技術総合研究所において、CRES-T法を用いたメタボ

リックエンジニアリングをヒアルロン酸生産性植物に適用した。転写因子に作用するキメラリプレッサーを用いるジーンサイレンシングの手法であるCRES-T法により、植物の糖代謝経路に関与する統括的な転写因子を探索すると共に、ヒアルロン酸生産能向上に寄与する基盤データを得ることを目的とした。遺伝子レベルでの改質として、多重遺伝子 (*cvHAS*, *cvGFAT*および *cvUgd*) 導入によりヒアルロン酸合成関連酵素を共発現させ、ヒアルロン酸生産能の大幅な向上をタバコ植物体において確認した。さらに、ターミネーターを改変した多重遺伝子の導入によりヒアルロン酸合成関連酵素を安定に共発現させ、ヒアルロン酸生産能向上をタバコBY-2培養細胞において確認した。

【2】については、ジャガイモ塊茎における効率的なヒアルロン酸の高生産を目指し、プロモーターおよびターミネーターを改変した種々の多重遺伝子を導入した実用植物の形質転換体を取得し、ヒアルロン酸合成関連酵素の高発現によるヒアルロン酸生産能向上の効果を評価した。その結果、ヒアルロン酸合成関連酵素を塊茎特異的に発現させ、塊茎においてヒアルロン酸を効率的に生産させるパタチンプロモーター駆動型発現ベクターの効果が検証された。

【3】については、ヒアルロン酸の大量生産に適した実用植物として、糖質生産性、形質転換技術、生産コスト等に着眼し、候補作物の一つとしてジャガイモを選定した。

【4】については、投稿準備中。

## 5. 評価に関する事項

過去に実施した評価は次に記す中間評価（1回）である。

- ① 評価の実施時期：平成 17 年度
- ② 評価手法：外部評価
- ③ 評価事務局：研究評価部
- ④ 評価項目・基準：「標準的評価項目・評価基準」研究評価部改訂版（中間評価分科会資料 3-4）
- ⑤ 評価委員

分科会長	田中 國介	京都府立大学 名誉教授
会長代行	佐々木 幸子	元名古屋大学大学院生命農学研究科 教授
委員	岡田 清孝	京都大学大学院 理学研究科 植物学教室 分子植物科学講座 植物分子遺伝学分科 教授
	山谷 知行	東北大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻 植物細胞生化学分野 教授
	島田 浩章	東京理科大学 基礎工学部 生命工学科 教授
	高部 圭司	京都大学大学院農学研究科 森林科学専攻 生物材料機能学 植物細胞構造学 助教授
	田部井 豊	独立行政法人農業生物資源研究所 遺伝子組換え技術開発・情報センター センター長
	横山 峰幸	株式会社 資生堂マテリアルサイエンス研究センター 創薬科学研究所 副主幹研究員
	小鞠 敏彦	日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター 所長
	小原 聡	アサヒビール株式会社 R&D本部技術開発研究所 バイオマスグループ 主任

### Ⅲ. 研究開発成果について

#### 1. 事業全体の成果

##### 1. 1 目標に対する達成度

###### 1. 1. 1 中間目標に対する達成度

研究テーマ	中間目標 (H17 年度末)	達成状況	理由・根拠
①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析	cDNA の整備を進め、主要な物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する機能の解析を行い、実用植物の目的物質生産系の解析に資する統合データベースを構築できる見通しを得る。	達成	データベース蓄積のための効率的な技術開発を進め、統合データベースを着々と構築した結果、実用植物の目的物質生産系の解析に資する統合データベースを構築できる見通しを得た。
②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発	cDNA の整備を進め、モデル植物で得られる知見を活用しながら、特定の目的物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する機能の解析を行い、主要遺伝子を見極める。	達成	関連遺伝子、代謝物の情報を各目標値以上に集積することができた。 各実用植物の形質転換系のプロトタイプを完成させた。

###### 1. 1. 2 最終目標に対する達成度

研究テーマ	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析	物質生産系を解析し cDNA 取得・解析、物質生産経路・機能解析、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析により統合データベースを構築する。	達成	モデル植物での遺伝子機能解析、代謝産物解析に関して集積した膨大なデータを含む世界で最大級の統合データベースを構築した
②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発	統合データベースを活用して、目的とする工業原料を、適当な部位・時期に、適当な量を効率的に生産させる技術基盤を構築する。	達成	モデル植物研究グループと実用植物研究グループが密接な連携により研究を進め、各工業生産植物毎の基盤技術を構築した

#### 1. 2 事業全体の成果概要

##### ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

シロイヌナズナの遺伝子発現プロファイル、代謝産物プロファイルの取得の整備を進めると同時に、転写因子を含む代謝制御の鍵となる遺伝子の特定などを進め、それらから得られる膨大なデータをバイオインフォマティクスの技術を用いて統合し、この種のデータベースとしては最大規模のものを構築し、目標以上の成果を挙げた。これらの整備と平行して、実用研究グループとの連携を深め、実用植物の代謝改変に活かすことができた。

植物の一次代謝の場である葉緑体の遺伝子発現、発現制御機構の解析において、無傷葉緑体からのタンパク質同定、翻訳活性の改良、RNA エディティングの解明、葉緑体代謝物解析などを進め、基盤代謝改変植物の作出に成功するなど、複数の研究グループの協力により種々の観点から総合的に成果を収め、目標を十分達した。

##### ②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

実用植物による木質バイオマス、ゴム、テルペノイド、ステロイド、カロテノイド、ヒアルロ



ン酸の生産に関する基盤的な情報が少ないので、中間評価までは、それぞれの関連遺伝子、代謝物の情報をできるだけ多く集積することを目標とした。中間評価以降は、取得遺伝子の機能解析を迅速に進め、最終目標の達成にむけて研究を進めた。最終目標が遺伝子組換え技術による植物の物質生産の向上であるので、形質転換に特化した分科会を設けるなどの努力をした結果、各実用植物の形質転換系のプロトタイプを完成させることに成功した。

以上、プロジェクト全体を通して順調に成果を上げることができたが、これには共同研究、再委託研究に参加した多数の大学の研究者の貢献度も大きい。

## 2. 研究開発項目毎の成果

### 2. 1 目標に対する達成度

#### 2. 1. 1 中間評価に対する達成度

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17 年度末)	達成状況	理由・根拠
①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析				
(1)物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析(かずさDNA研)	A. cDNAの取得及び解析	工業原材料解析モデル植物ミコグサ： 完全長 cDNA の取得、完全長 cDNA クローンの EST 解読 (4 万個)、約 2,000 個のクローンに関して完全長の解読	達成	ミコグサの cDNA ライブラリーを 3 種類作製し、6 万個の EST の解読及び約 2,000 個の完全長を解読した。
		工業原材料植物アカシア： 完全長 cDNA を取得、4,000 クローンの EST 解読	達成	アカシアの根の表皮及び皮層、また茎から cDNA ライブラリーを作製し、3,000 個の EST の解読をした。
		他の工業原材料植物の EST 解読	達成	また、アマの cDNA ライブラリーの作製及びカヅウの EST 解読 (1 万 2 千個) も行った。
	B. 物質生産系の経路と機能の解析 1) 遺伝子発現プロファイリング	工業原材料解析モデル植物シロイヌナズナ： 300 条件での遺伝子発現解析	達成	種々の生理条件で 300 以上の DNA アレイデータを取得した。
		工業原材料解析モデル植物ミコグサ： 50 条件で mRNA を調製、遺伝子発現解析	未達	ミコグサは 24 条件でアレイデータを取得した。中間評価への対応から実用 G 連携業務優先で繰り延べ
	2) 代謝産物プロファイリング	工業原材料と密接な関係にある代謝産物の解析	達成	約 850 種類の化合物を入手し、3 種の分析機器で 862 個の MS ライブラリーを作製した。
		工業原材料解析モデル植物シロイヌナズナ及びミコグサ、工業原材料植物アカシアで行う。年間 50 サンプル程度を解析	予定以上に達成	CE-MS で約 6 千、GC-MS で約 5 千、LC-MS で約 1 千回分解析した。
	3) 物質生産経路の解析	工業原材料植物の代謝制御解析に必要なシロイヌナズナ代謝関連の 500 個程度の遺伝子を培養細胞に導入し、遺伝子機能の解析	予想以上に達成	1879 個のシロイヌナズナ代謝関連遺伝子を導入し、約 2 万種類のシロイヌナズナ培養細胞を作出した。
		工業原材料解析モデル植物ミコグサ： 完全長 cDNA を培養細胞に導入、100 個程度の遺伝子機能の検定	未達	ミコグサの 21 個の遺伝子をシロイヌナズナ培養細胞に導入した。中間評価への対応から実用 G 連携研究実施のため中止
		工業原材料植物アカシアへの遺伝子導入少なくとも 5 コストラクトの遺伝子導入を開始	未達	アントシアニンの制御遺伝子導入のみを開始した。残りは中間評価への対応で実用 G 連携研究実施のため中止
工業原材料解析モデル植物シロイヌナズナおよびミコグサの凍結保存方法の開発、長期保存の効果を調査		達成	シロイヌナズナ及びミコグサの凍結保存のハイスループ化に成功した。	
C. 物質生産系における調節遺伝子等の機能解析	工業原材料解析モデル植物の遺伝子を他の植物に導入した場合の効果を解析するために、工業原材料モデル植物シロイヌナズナの 200 個の遺伝子をミコグサに導入し、遺伝子発現解析を開始	達成	シロイヌナズナ由来の 9 種類の TAC クローン (総数 193 種類遺伝子) をミコグサに導入にし、形質転換植物を得た。	

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17 年度末)	達成状況	理由・根拠
		工業原材料解析に必要なデータを取得するため、組織細胞レベルでの遺伝子発現を網羅的に解析	達成	レーザーキャプチャー法を利用して、シロイソナ組織細胞レベルでの遺伝子発現プロファイリングに成功した。
	D. 統合データベースの作成	工業原材料植物の代謝制御解析に必要な遺伝子発現解析データの共用を開始 (平成 14 年度から) 基礎データの一般への公開開始	達成	KATANA, KaPPa-View, DAGViz などの検索、解析ツールを公開し、メタボーム解析の解析ツールを開発した。
(2)窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)	A. 窒素化合物代謝経路に関わる生体成分分析	光独立栄養条件下で生育をそろえる栽培方法を確立し、日周 (5 点) と生育ステージ (初・中・後期) 合計 15 タイムポイントのアミノ酸等生体成分のデータを取得する。	達成	16 年度までにアミノ酸分析データを取得した。
	B. 窒素化合物代謝経路の酵素・遺伝子の発現解析	上記 15 タイムポイントにおける網羅的な遺伝子発現情報を Affymetrix 社の Gene Chip 22K を用いて取得する。	達成	生育ステージ 3 点、タイムポイント 5 点の遺伝子発現解析を終了した。
	C. 窒素化合物生代謝経路の解析のための形質転換体の作出	重要な 20 遺伝子について発現解析を行うためのレポーター遺伝子形質転換体を作成する。プロファイリング解析の結果、重要と判断される遺伝子については、過剰発現形質転換体、抑制株を作成し、解析に着手する。	達成	20 遺伝子形質転換体を取得した。複数の遺伝子について過剰発現、発現抑制形質転換体を取得したそれぞれの解析に着手した。
	D. 窒素化合物物質生産に関わる遺伝子発現プロファイリング、代謝プロファイリング	取得したアミノ酸含量データ、網羅的遺伝子発現データより、日周期、生育ステージごとのプロファイリングを行う。	達成	生育初期・中期・後期のプロファイリングを終了した。
		窒素化合物の生産に関する重要な遺伝子を見出す。 グルタミン酸、グルタミン合成・代謝経路における既知情報、および、以上の研究より明らかにした情報をかずさ DNA 研究所データベース「」に提供する。	達成	複数の重要な遺伝子を見出した。 16 年度までに明らかになったデータを提供した。
(3)葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)	A. 基幹代謝系操作・改良技術開発	無傷葉緑体単離法の開発 (～16 年度)	達成	光合成活性を維持した無傷葉緑体単離法を構築。
		核様体構造の解析 (～16 年度)	達成	<i>psbD</i> 遺伝子領域について解析終了。
		葉緑体の転写過程を制御する新規遺伝子を取得する (～16 年度)。	達成	葉緑体に局在し、転写過程の制御に係わる可能性のある遺伝子 11 種を同定。
		転写複合体のプロテオーム解析 (～17 年度) に取り組む。	達成	PEP コア画分のプロテオーム解析を行った。
		葉緑体形質転換、 <i>in vitro</i> 転写による PEP の機能解析を行う (～17 年度)。	達成	PEP コア画分に対するシグマ因子 Sig1 の再構成に成功し、Sig1 が <i>psbA</i> プロモーターを認識することを示した。
		分子遺伝学的アプローチによる NEP の機能解析を行う (～16 年度)。	達成	NEP(RpoTnp)の機能を明らかにした。
		葉緑体の転写制御に関わる因子(シグマ因子 3 種、その他の制御因子 3 種)について分子遺伝学的解析を行う (～17 年度)	達成	葉緑体の転写制御に関わるシグマ因子について、ノックアウト変異体を解析した。2 つのシグマ因子が葉緑体分化の初期課程で働く重要な因子であることを明らかにした。

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17 年度末)	達成状況	理由・根拠
				それ以外のシグマ因子について、 <i>in vivo</i> での相補性試験を行い6種のシグマ因子の機能解析を達成した。 葉緑体の遺伝子転写に必須の因子の解析を進めた。 葉緑体 Ca <sup>2+</sup> 結合タンパク質や葉緑体フォスファターゼについて機能解析を進めた。
		転写因子を用いた葉緑体遺伝子の発現制御の可能性を検証する(～17年度)。	達成	Dex 誘導プロモーターを使い、Sig5 の発現を顕著に誘導することに成功したが、psbD LRP の活性には Sig5 以外の要因が必要であることが分かった。 Sig5 を恒常的に発現させると塩ストレスに対する耐性が高まった。
		タバコ葉緑体 <i>in vitro</i> 翻訳系および <i>in vitro</i> RNA エディティング系の改良を行い、高速アッセイ可能な系を開発する(～H16 年度)	達成	H16/3 に完成
		翻訳効率の高い葉緑体 mRNA を選定する(～17 年度)	達成	H17/3 に完成
		翻訳制御や RNA エディティングに関するシ配列を同定する(～17 年度)	達成	16 年度末までに4ヶ所の RNA エディティングのシ配列を同定完了。翻訳制御のシ配列は H17 年度末までに同定した。
		翻訳シ配列の候補をゲノムワイドに探索する(～17 年度)	達成	H16/3 に完成
		タバコとエンドウで RNA エディティング部位を網羅的に解析する(～17 年度)	達成	H16/3 に完成
		翻訳および RNA エディティングのシ配列に結合するトランス因子を検出する(～17 年度)	達成	16 年度末までに RNA エディティングのトランス因子を2種類検出。翻訳制御のトランス因子は17年度末までに達成。
		シイヌズナ葉緑体代謝物の網羅的解析条件の検討を行う。分析結果の多変量解析システムを開発する。	達成	16 年度末までに、シイヌズナ葉、培養細胞、単離葉緑体について代謝物抽出ならびに分析システムを確立した。分析結果のマトリクスデータへの変換方法を開発した。PCA を中心とした多変量解析のシステムを開発した。
	B. 統合データベース構築	シイヌズナ葉緑体関連遺伝子群のうち約2,000種の再アノテーションを行う(～16 年度)	達成	16 年度末に完成
葉緑体遺伝子データベースの構築を目指す(～18 年度)		達成	16 年度末に完成	
シイヌズナ葉緑体プロテオームにより、主要タンパク質を500種同定する。		達成	16 年度12月に550種の葉緑体タンパク質を同定完了。	
葉緑体マイクロRNAの整備		達成	16 年度末までに整備完了	
	C. 基幹代謝系改良モデル植物の作出	タバコ葉緑体形質転換により、葉緑体代謝改変植物の作出開始	達成	17 年度4月にカテナノト、トフェール代謝関連遺伝子導入ベクター完成。17 年度末までに形質転換体取得。

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	達成状況	理由・根拠
(4) 遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイの開発および遺伝子発現制御技術の開発とデータベース化 (カバライカ)	A. 遺伝子特異的マイクロアレイ設計	cDNA クローンからの設計技術を確立する	達成	15年1月に完成
		14年度までの設計終了遺伝子数 $\geq$ 8,000遺伝子	達成	14年度末までに15,894遺伝子設計を達成
		搭載遺伝子数 $\geq$ 8,000遺伝子、H14年度マイクロアレイ枚数=400枚	達成	14年3月に8,280遺伝子搭載アレイを完成、14年3月~16年6月に計442枚配布
		特異性等の設計評価技術を確立する	達成	15年12月に完成、3)の評価に使用
	B. 遺伝子特異的DNAマイクロアレイの製造と検証	植物細胞から正確にRNAを増幅、ラベルする技術を確立する	達成	15年12月に完成、16年9月にはプロジェクト内トレーニングも実施
		C. ショイスナ全遺伝子搭載のDNAマイクロアレイの開発と製造	ゲム配列、EST、完全長cDNA配列から設計技術を確立する 全遺伝子規模のマイクロアレイの配布(400枚/年規模製造、1枚に全遺伝子搭載に変更)	達成 達成
	D. ゲム情報とリンクした遺伝子発現解析データベース開発	設計プローブ情報の搭載したcDNA、ゲム配列データベースを完成し、公開する。	達成	15年10月にver.1、16年7月にver.2、17年7月にver.3を公開とゲノムビューワ表示のしくみを完成
		上記データベースと遺伝子発現データベースの統合方法を確立する	達成	17年度末までに統合を考えたデータベース構造構築
	E. 遺伝子発現制御技術開発の基盤技術開発	遺伝子発現制御のためシークエンシングできるdsRNA発現ベクターを作製し70%以上発現抑制のできた組換えショイスナを得る	達成	15年7月までにベクター構築、最大90%の発現抑制を達成
	F. 遺伝子特異的DNAアレイとノックアウトショイスナを用いた細胞壁の再構築に関わる遺伝子群の解析	エンド型キログラム転移酵素遺伝子の発現量を変えた組換え体や関連変異株の遺伝子発現解析し、細胞壁の再構築の主要遺伝子を同定する	達成	16年度末までに68種の候補遺伝子の組換え体作製まで進み、17年度に鍵遺伝子1つを発見した
自社蓄積発現データを統合データベースへ統合する		達成	17年度末までに主要発現データの蓄積を終了した	
(5) 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (産総研)	A. 転写因子遺伝子の <i>in silico</i> 解析および cDNA の収集	モデル植物の転写因子遺伝子の <i>in silico</i> 解析法の確立 主要な転写因子遺伝子ファミリーの cDNA の収集 発現ベクターのライブラリーとしての整備	達成	約1,600個の転写因子遺伝子を <i>in silico</i> 同定した。 7ファミリーの約200遺伝子の cDNA を取得し、発現ベクターとして整備した。
	B. 転写因子遺伝子の発現解析	転写因子遺伝子の発現の定量的な解析法の確立 転写因子遺伝子群の発現プロファイルのデータの蓄積	達成	転写因子遺伝子特異的オリゴDNAマイクロアレイと定量PCRによる発現解析手法を確立し、データを取得した。
	C. 転写因子遺伝子の機能解析	形質転換植物の作成と形質発現プロファイル解析手法の確立 転写因子遺伝子の形質転換植物の標的遺伝子の発現プロファイルのデータ取得 有用機能を有する転写因子遺伝子の探索技術の確立	達成	80個の転写因子の形質転換培養細胞を作成した。 25の形質転換培養細胞の発現プロファイルデータを取得した。 糖代謝系、フェニルプロパノイド

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17 年度末)	達成状況	理由・根拠
				代謝系等の遺伝子群の発現に変化が見られた。
②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発				
(1)高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化 (日本製紙)	A. MATベクターシステムによる樹木への遺伝子導入	改良型 MATベクターの構築>3種類 最適条件の検索>3種類	達成	改良型ベクターを3種類構築、評価した。そのうち1種類については、特許出願を行った。ベクターの改良とともに、基本培地、前駆体添加、播種条件を検討し、再分化率、増殖率を向上させた。
	B. 組換え樹木の作成	細胞壁合成に関与する遺伝子を導入した組換え体>2種類 (各10個体)	達成	高成長性、リグニン合成関連、耐塩性、耐寒性遺伝子を導入した組換え体をそれぞれ200-350系統作成し、その中から安全性評価試験に用いる約20系統を選抜した。
	C. 生物多様性影響評価試験	(最終目標のみ)	前倒着手	組換え体作成を早期に達成したことにより、特定網室での栽培試験準備を前倒して開始した。
	D. 無菌キメラ作成技術	プロモーターの発現評価システム>2種類 プロモーターの分離と評価>3種類 キメラ作成ベクターの構築と評価>3種類	達成	細胞層特異的に発現するプロモーターを単離、評価した。部位特異的組換え系を利用した2種類のキメラ作成ベクターを構築、評価した。このうち1種類のベクターを用いて周縁キメラ候補個体を作成した。キメラ作成法として、17年度に特許分割出願予定。
	E. 遺伝子発現制御に関する技術開発	無菌的周縁組換えキメラ作成技術>植物2種類	延期	東京農工大学との共同研究を中止したため、前期は実施を中止した。
	F. 樹木への遺伝子導入技術開発	(最終目標のみ)		
(2)循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の研究開発(王子製紙)	A. 細胞壁成分の生合成・木繊維細胞形態形成に関与する遺伝子群の網羅的解析	木質成分合成及び木繊維形成に関与する遺伝子候補群の探索 制御因子(転写因子および分子スイッチ) 遺伝子群候補群の全長探索	達成	木質成分合成及び木繊維形成に関与する転写因子「遺伝子群」の候補として21個遺伝子を絞り込んだ。
	B. 木質バイオマス形成に関わる遺伝子群の統括的発現制御システムの構築	ユークリ遺伝子ライブラリー構築 制御因子スベック検定(手法の確立含む)	達成	木質成分合成及び木繊維形成期に関与するプロモーター領域(シ因子)群」の候補として16個を絞り込んだ。
	C. ユークリ遺伝子組換え体の評価	形質転換技術は本プロジェクト開始以前より既に確立済みであり、上記項目の成果等を踏まえて18年度より着手。	達成	実用利用を目指し、17年度より、組換え植物野外育成において重要である花粉(花芽)形成に関する制御技術開発を加える。

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17 年度末)	達成状況	理由・根拠
(3)トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発(日立造船)	A. ホリイブレイト成分の分析と精英樹選抜	ホリイブレイト分析の簡易調製法・分析手法を構築	達成	分析時間を短縮した。サンプル必要量を 1mg まで低減。
		標準化マニュアル(中・英・日文)を作成・技術移転	達成	マニュアルを作成し中国への技術移転を完了した
		日本・中国の遺伝資源からトチュゴム成分の分析評価	達成	WT より 3 倍量多い個体を選抜した。
		分子量・含有量情報から精英樹、種内変異差から生合成遺伝情報を解析	達成	過剰発現によるゴム増産、RNA 干渉による生産制御および低分子ゴム鎖長制御、アレイ解析による乳管形成の転写因子を解明した。
	B. ゴム産生能の異なるトチュウ変異体の育種	トチュウの変異体の作出と分析評価	達成	倍数体・放射線変異体も含め変異体のゴム含量の変化を解析、倍数体は一次代謝能力が高いことを確認した。
		様々なゴム代謝系が潰れた変異体の作出	達成	代謝物の網羅的解析により倍数体の一次代謝の亢進を確認した。
	C. 組織・細胞レベルでのゴム生合成機構の解析	細胞・組織からのゴム代謝経路の解析と同定	達成	SCLMS でゴム蓄積機構、組織内局在を明らかにした。
		ゴムの組織内蓄積機構の同定	達成	<i>in situ</i> hybridization により目的遺伝子の局在発現を解析した
	D. メタボローム解析	ゴム生合成上流の代謝物についても分析系を構築	達成	メタボローム解析方法を確立した
		ゴム代謝能の異なる個体の上流代謝物のプロファイリング	ほぼ達成	上記解析方法を用いプロファイリングに着手、組換え体での評価は未完
		上流代謝物とゴム成分との統合解析	達成	統合解析システムの開発に着手
	(4)パラゴムノキのゴム生産制御技術の開発(フリヂストン)	A. 組織培養技術の開発	パラゴムノキの再分化の基礎技術を開発して、再生植物体を取得する。	達成
B. 形質転換技術の開発(ブリヂストン)		パラゴムノキへの遺伝子導入の基礎技術を開発して、形質転換細胞を取得する。	達成	16 年末に GFP、GUS 遺伝子の導入に成功し、形質転換細胞を取得した。
		形質転換モデル実験系を開発する。	達成	培養根培養技術を確立。モデル実験系として遺伝子導入実験を開始。
C. ラテックス生合成メカニズムの解析		ラテックス生合成に関与する酵素の遺伝子を探索するため、生合成メカニズムを解析する技術開発に着手する	達成	組織観察、タンパク質分析、メタボローム解析等の技術開発を行い、各種分析及び解析に着手した。
D. ラテックス生合成関与遺伝子の取得・解析		パラゴムノキの遺伝子の EST データベースを構築し、生合成に有効と推測される候補遺伝子を約 100 個抽出する。	達成	16 年にラテックスと木部の EST データベースを構築し、約 100 個の候補遺伝子の抽出を終った。H17 年に EST データベース構築により終了
E. 遺伝子発現・機能解析		遺伝子発現解析・機能解析の基礎技術を開発する。EST 解析で抽出した候補遺伝子の完全長 cDNA を取得して、候補遺伝子の発現部位を細胞レベルで確認する。	達成	3'RACE 解析で約 100 個の完全長配列を決定し、発現部位確認のため、 <i>in situ</i> ハイブリダイゼーション解析を行った。

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17 年度末)	達成状況	理由・根拠
	F. 形質転換体 作出と機能確 認	ラテックス及びゴム の分析技術・物性評価 技術を開発する。	達成	組織別の分子量分布測定、 組成分析法を開発し、実試 料の分析に着手した。
(5)生理活 性物質等 の有用物 質生産制 御技術の 開発(常磐 植物化学 研究所)	A. 材料植物の 確保、育成、培 養系の確立	カンゾウ属植物主要 3 種より、培養及び 形質転換等に適した種(1 種)を選定 する。	達成	15 年度 1 種選定
		エリキナーやストレス等約 10 項目の処理を行 い、トリテルペノイド等の生合成経路及び その制御機構が誘導される培養条件 を確立する。	達成	16 年度 10 種検討を達成
	B. 成分の分離 分析系の確立	トリテルペノイド生合成に関連する物質の 単離、同定を行い、約 100 種類の代 謝産物の詳細なプロファイリングを行う。	達成	16 年度までに 100 種 の ピーク分離条件確立、6 種の トリテルペノイド同定。中間評価 後の計画見直しでトリテルペノ イドに集中することとした
	C. 細胞および 遺伝子レベルの 研究	カンゾウの DNA アレイにより、トリテルペノ イド生合成と密接に関連している遺伝子 を同定する	達成	17 年度カンゾウ DNA アレイ作製 した。 カンゾウ DNA アレイを作製した ことによりミコグサ DNA アレイ による実験は中止した。
		EST ライブラリーの作製 (5,000 クローン以 上)	達成	16 年度 12,000 クローン達成
		cDNA-AFLP 等により組織および細胞 特異的遺伝子の同定を行う。	達成	18 年度カゴソト法により達 成
(6)ステロ イド生 産制御 技術の開 発(植物工 学研究所)	A. アマ再生系及 びアマ形質転換 系の開発	アマ形質転換体の作出：マーカー遺伝子導 入植物 > 10 系統	達成	16 年度末までに、マーカー遺伝 子導入植物 14 個体、 <i>HMGR</i> 遺伝子導入植物 20 個体を得た。
	B. 昆虫イブ レノイド代謝系 の植物への応用	カイロ由来の dealkylation 酵素の単離 同定 > 1~2 種類	ほぼ達成	16 年度末までに、 <i>Fucosterol epoxide lyase</i> 遺伝子候補を同定できた。
	C. ユーフォルビ ア由来遺伝子の イブレノイド代 謝系への応用	ユーフォルビア由来の鍵酵素の単離 > 2 種類 シロイヌナズナを用いた系での機能の解析 > 2 種類	ほぼ達成	16 年度末までに、 <i>HMGR</i> 遺伝子と <i>Squalene</i> 合成酵 素遺伝子を単離し、シロイ ヌナズナで <i>HMGR</i> の機能 を確認した。
	D. イブレノ イド代謝系関連 遺伝子の探索と 応用	イブレノイド代謝関連 <i>CYP11A1</i> 遺 伝子応用	ほぼ達成	酵母では <i>CYP11A1</i> 遺伝子 導入で医療用ステロイドの生 産プロセスが開発されてい る。
(7)カロテ ノイド生 産制御 技術の開 発(海洋 バイオ研 究所)	A. モデル植物を 用いたカロテノ イド代謝関連遺 伝子と代謝物の 解析	モデル植物において、カロテノイド関連代謝 系遺伝子と発現の全体像が把握さ れ、3 種以上の鍵遺伝子が特定され ていること	達成	カロテノイド関連代謝系遺伝子 と発現の全体像を把握す ると共に、 <i>crtB</i> , <i>crtI</i> , <i>crtY</i> の 3 個の鍵遺伝子を特定 した。
	謝関連鍵遺 伝子の同定と機 能の最適化	鍵遺伝子の機能が最適化されている こと		遺伝子の機能が最適化
	B. カロテノ イド代	3 種以上のカロテノイド代謝に関与する	達成	17 年度末までに 3 種の鍵
	C. 非形質転換 植物のイブ レノイド系代謝物 プロファイルの 作製	モデル植物及び実用植物において、カ ロテノイド関連代謝物の網羅的分析法が 確立され、50 個以上の関連代謝物が プロファイル化されていること	達成	16 年度末までに各々につ いて 50 個のプロファイル化を達 成



研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	達成状況	理由・根拠
(8) 外来糖質生産植物の研究開発(東洋紡)	A. ヒアルロン酸合成酵素遺伝子組換えモデル植物の作出	ヒアルロン酸合成酵素遺伝子の取得および改変を完了	達成	HAS 遺伝子の取得を完了。17 年度末に遺伝子改変を完了。
		ヒアルロン酸合成酵素遺伝子組換えモデル植物の作製	達成	ヒアルロン酸生産能を有するタバコ培養細胞および植物体を作製。
	B. モデル植物を用いた糖ヌクレオチド代謝経路の解明	データベース、糖ヌクレオチド代謝産物の解析等により、糖ヌクレオチド代謝主要遺伝子を決定	ほぼ達成	ヒアルロン酸合成酵素遺伝子、Ugd 遺伝子および GFAT 遺伝子からなる多重遺伝子を導入したタバコ植物体において、目標値の 0.1% のヒアルロン酸生産性を確認
		糖ヌクレオチド代謝遺伝子を 3 種以上取得	達成	Ugd 遺伝子(6 種類)および GFAT 遺伝子(2 種類)を取得。
(9) 総合調査研究(ハイツ組合)		—	—	
(9-1) 植物代謝産物に関する統合データ解析ならびデータマイニング(奈良先端大・金谷教授)	A. マススペクトル解析システムの開発	GC-MS, FT-MS など個別解析システムを構築し、統合化に着手	達成	生データからのピーク検出アルゴリズムおよびマトリクス構築システム開発済特許出願
	B. 生物メタボライト関係データベースの設計ならびにデータ収集	データベースシステムの設計を行い、5,000/年メタボライトデータを入力	達成	プロトタイプデータベース開発・使用開始 約 20,000 メタボライトデータ入力済
	C. マススペクトルデータからメタボライトの推定法の開発	MS データからメタボライト候補を列挙する方式の開発 プロトタイプの開発	達成	標準サンプルのデータ登録システム開発完了 プロトタイプの開発に着手
	D. 植物における発現プロファイルと代謝プロファイルの統合化	発現プロファイル解析法の開発	達成	PJ 内で実用化
		FT-MS との統合化による分子式推定システムの開発	達成	ほぼ完成
		統合解析プロトタイプのシステム開発	達成	プロトタイプを開発完了
(9-2) ミヤコグサの細胞・器官培養系を用いた代謝産物解析(日大・綾部教授)	A. 組織培養系の確立	懸濁培養系の確立	達成	15 年末に達成
		器官(根)培養系の確立	達成	16 年末に達成
	B. 形質転換培養系の作出	両者についてメタボーム解析(特にイソプレノイド系, フェルロプロノイド系, フラボノイド系)に適した条件の設定	達成	懸濁培養系については 16 に達成。根培養系については H17FY 末に達成。
		オキニトスクワレン閉環酵素, フェルロアテニアソモリアーゼ, カルコン異性化酵素, 各種シクロム P450 などの候補 cDNA の取得と形質転換の影響の検証	達成	cDNA の取得、P450, オキニトスクワレン閉環酵素 cDNA の導入は 16 年に達成。イソフラボノイド生合成に関わる P450, 脱水酵素, カルコン異性化酵素は 17 年度に達成。
(9-3) DNA マイクロアレイによる細胞壁関連遺伝子群の発現プロファイル解析(東北大・西谷教授)	A. 遺伝子特異的 DNA アレイ評価	300bp と 70bp の比較で決定する遺伝子群の選抜 ≥ 数百	達成	15 年末に完了
		全候補遺伝子リコ DNA アレイの作成	達成	15 年末に完了
	B. 細胞壁遺伝子群の発現解析	300bp と 70bp の比較で解析法を決定	達成	70p アレイの有用性を 16 年末に実証。
		細胞壁構築・再編制御遺伝子 ≥ 数百	達成	細胞壁遺伝子群の発現解析を 17 年度中に達成。

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17年度末)	達成状況	理由・根拠
(9-4)導入遺伝子発現制御技術の開発 (クロマチン構造を介した新規発現ユニットの開発) (奈良先端大・新名教授(加藤助教))	A. プロモーター領域のクロマチン及びヌクレオソーム構造の解析	モデル遺伝子(4種類)についてのヌクレオソーム構造と遺伝子発現の関係を解明	達成	H16年度末までに2遺伝子について解析終了。他の遺伝子は、H17年度末までに解析終了。
	B. 核マトリクスと相互作用するDNA領域の探索と機能解析	核マトリクスと相互作用するDNA領域(10領域)を同定	達成	H16年度末までに30領域候補領域を取得。2領域は同定済み。H17年度末までに8領域を同定し達成。
	C. 導入遺伝子発現を転写後レベルで制御する技術の開発	相対値で1、5、25、100の4段階が期待できる発現系の開発	達成	開始トロン近傍配列について、シロイヌナズナとイネで解析終了。H17年度末までに翻訳エンハンサーと組み合わせ系の開発終了。
(9-5)フェニルプロパノイド代謝系の制御に関わる転写調節因子遺伝子群の解析 (東京農工大・小関教授)	A. プロモーター・シスエレメントの同定	最も重要と思われる2個の配列決定 転写調節遺伝子 cDNA 2個以上取得	達成	GCC-box と L-box を決定した。
		得られた cDNA 全てにつき結合特異性を解明	達成	GCC-box に結合する ERF cDNA を 14 個、L-box に結合する mybc DNA を 9 個得た。
	B. シスエレメントに結合する転写調節遺伝子の探索と解析	転写因子導入組換え植物を 15 個以上作成する	達成	T1 世代で合計 469 ライン、T2 世代で合計 76 ラインの遺伝子組換えシロイヌナズナ得た。
	C. 転写調節遺伝子の異所発現・機能改変による生産制御基盤技術の開発	組換え植物についての発現誘導・抑制により生産制御に必要な解析を行う	達成	強制発現組換え体においてリガニン合成系の生産制御を司る因子を見いだした。
(9-6)モデル植物を用いた細胞壁形成及び心材形成の代謝プロファイリング (京大・梅澤教授)	A. 代謝産物の分析法確立	代謝中間体の安定同位体標識体合成(30化合物) 安定同位体希釈分析法の確立	達成	16年度までに、安定同位体希釈分析法の確立
	B. モデル植物(シロイヌナズナ、マコガサ、アカシア)及びその形質転換培養細胞の代謝産物プロファイリング	代謝産物プロファイリング(100件/年)	達成	約450件/4年実施
(9-7)モデル植物におけるP450依存の生体成分合成・分解機能の網羅的解析 (大阪府大・太田教授)	A. P450ファミリー遺伝子の同時導入	TAC クローンによる P450 ファミリー遺伝子をマコガサ、シロイヌナズナに導入する 遺伝子発現様式と代謝産物解析による変化データの取得を行う	達成	11 個の TAC クローンをを用い、50 個の P450 遺伝子でシロイヌナズナとタバコの培養細胞を形質転換し、メタボロミクス分析のために継代維持している。
	B. P450 遺伝子の機能解析と新規代謝フローの探索(名称変更)	共通機能関連 P450 遺伝子の代謝産物解析と発現解析を実施	達成	A と B によって 8 種の新規 P450 遺伝子機能解明した
	C. 代謝産物プロファイリング実験プラットフォーム構築(ハ材組合共同研究)	GCMS, LCMS, FTMS を稼働させ、メタボロミクス実験基盤を整備する。	達成	現在使用できる ESI-FTMS 法での代謝プロファイリングを可能にした。

研究テーマ	研究項目	中間目標 (H17 年度末)	達成状況	理由・根拠
(9-8)テルヘノイド類等二次代謝系の代謝制御に関わる生理活性物質の機能解明と網羅的解析に必要な基盤情報の整備(東京工業大・太田教授)	A. ジャスモン酸類等による遺伝子発現応答の網羅的解析とカタログ化	ジャスモン酸類等に応答する全発現遺伝子群についての発現の組織特異性、機能解析などのカタログ化	達成	ジャスモン酸類等に応答する全発現遺伝子群についての発現の組織特異性、機能解析などによるカタログ化は完了。
	B. ジャスモン酸類等に応答する遺伝子群のカタログ化と機能解析	ジャスモン酸による代謝制御の中心となる候補遺伝子の絞り込みを行う。	達成	制御の中心となる候補遺伝子を絞り込みその過剰発現株、ノックアウトの作成を開始した。
	C. シイナスナ遺伝子発現情報のデータベース化	遺伝子発現情報データベースの作成	達成	データについては、一部については外部から閲覧できるように設定し遺伝子発現情報データベースの作成を行った。
(9-9)パラボムキのシプレニトランスフェラーゼとその活性化因子の解明(東北大・古山教授)	A. 活性化因子及び重合促進因子の同定	ラテックス超遠心沈殿画分中の活性化因子を同定する タンパク性因子の cDNA 取得、発現系構築、促進因子の化学構造解明、	中断	試料となるパラボムキの新鮮なラテックスの入手が困難となり中断。 新鮮なラテックス超遠心沈殿画分による活性化因子の再現性を現地(タイ)にて精査した結果、優位な再現性が得られなかったため、微小ゴム粒子での活性化因子の探索に転換した。
	B. <i>in vitro</i> での高効率天然ゴム合成系の再構築	高効率化天然ゴム合成系の再構築	達成	微小ゴム粒子について達成。微小ゴム画分にゴム合成酵素活性を促進させるタンパク質を見出した。
	C. モデル植物における遺伝子の機能解明	パラボムキ・シプレニトランスフェラーゼ遺伝子のモデル植物における機能解析	未達	形質転換は終了、詳細な機能解析は 17 年度に着手。
(9-10)ステロール化合物の高産生植物の研究開発(石川県大・大山教授)	A. ユーフォルビアのオキシスクアレン及びシクロアルテノールの調査	ユーフォルビアステロール代謝産物の GC/MS による解析及びゲノムまたは cDNA ライブラリーの構築	達成	植物、培養細胞の GC/MS による解析完了。十分な数のゲノムまたは cDNA ライブラリー完成。完全長 cDNA を 3 種取得。
	B. オキシスクアレンシクラーゼ遺伝子の単離の研究	オキシスクアレンシクラーゼの全長遺伝子及び完全長 cDNA クローンの取得、発現抑制用ベクターの構築	達成	完全長 cDNA 3 種取得、ベクター構築完了。
	C. シクロアルテノールシクラーゼ遺伝子の単離の研究	シクロアルテノールシクラーゼの全長遺伝子及び完全長 cDNA の取得、過剰発現用ベクターの構築	達成	さらにスクアレンシクラーゼ (達成)、スクアレンエポキシシクラーゼ全長 cDNA のクローニング。
	D. ユーフォルビア形質転換系開発	ユーフォルビアの培養細胞を用いた形質転換系の開発開始	前倒達成	過剰発現形質転換は達成、発現抑制形質転換は 17 年度内達成。
(9-11)アカシアにおける組織培養・遺伝子導入系の開発(千葉大・三位教授)	A. 植物体再生系の開発	アカシア培養増殖した植物数 ≥ 100	達成	100 個体以上の植物を培養することにより再生系を検討し、再生植物体 10 個体を作成した
	B. 形質転換法の開発	アカシア実用レベルの形質転換方法の確立	達成	A. mangium をはじめとして 3 種で Agrobacterium 法による形質転換方法を確立した。

## 2. 1. 2 最終目標に対する達成度

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析				
(1)物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析(かずさDNA研)	A. cDNA の取得及び解析	ミコグサ：完全長 cDNA の取得、約 2,000 個の完全長 cDNA を解読。	達成	約 3,500 個のミコグサ完全長 cDNA の解読及びデータベースの構築及び公開
		アカシアの EST 解読：約 1 万個のアカシアの EST 解読	達成	約 1 万個のアカシアの EST 解読及び約 2 万 6 千個のカゾウの EST 解読
		H18 年度以降：工業原材料生産と密接に関係する植物の主に完全長 cDNA を取得、cDNA の EST 解読(クローンの部分配列解読、1 万個以上)	達成	約 90 個のカゾウ完全長 cDNA の解読、アカシアの EST データベースの構築及び公開
	B. 物質生産系の経路と機能の解析 1) 遺伝子発現プロファイリング	A. で cDNA が整備された植物において、DNA アレイ解析による網羅的な遺伝子発現解析を行い、工業原材料生産に関わる代謝と関連する遺伝子の発現をデータベース化する。	達成	種々の生理条件で約 1,000 以上の DNA アレイデータを取得した。(シロイヌナは 1,000 条件、ミコグサは 47 条件でアレイデータを取得した)
		シロイヌナ、ミコグサ：総数 500 の条件での発現解析	達成	種々の生理条件で約 1,200 以上の DNA アレイデータを取得
		網羅的なプロファイリング(メタボロミクスアプローチ)	予定以上に達成	CE-MS で約 3 万、GC-MS で約 1 万、LC-MS で約 7 千回分を解析した。
	2) 代謝産物プロファイリング	目的成分にターゲットした代謝産物解析	達成	約 900 種類の化合物を入手し、3 種の分析機器で約 1,000 個の MS ライブラリーを作製した
		代謝産物プロファイリング：遺伝子発現プロファイリングで絞り込んだサンプルに関して年間平均 50 サンプルを解析	予定以上に達成	3 種の分析機器で、年平均約 125 サンプルを解析。
		培養細胞を用いた実験系の凍結保存方法を開発	達成	シロイヌナ及びミコグサの凍結保存のハイスルットアップ®化に成功した。
	3) 物質生産経路の解析	シロイヌナ：1,500 個程度の遺伝子を培養細胞に導入し遺伝子機能を解析。	予定以上に達成	1,927 個のシロイヌナ代謝関連遺伝子を導入し、約 2 万種類のシロイヌナ培養細胞を作出した。
		実用化グループとの連携	達成	<b>ブリヂストン</b> ：種々の生理条件で 40 以上のパロコムノキ DNA アレイデータを取得。形質転換ペリプロカの代謝物を 3 種の分析機器で約 200 個のメタボロムデータを取得。パロコムノキの代謝物を 3 種の分析機器で約 90 個のメタボロムデータを取得 <b>日立造船</b> ：種々の生理条件で 100 のトチュウ DNA アレイデータを取得。トチュウの代謝物を 3 種の分析機器で約 30 個のメタボロムデータを取得。 <b>常磐植物化学</b> ：10 種の多重連結遺伝子コンストラクトの作成。カゾウの代謝

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
				物を 3 種の分析機器で約 100 個のメタボロームデータを取得。 キリン HD: 21 種の多重連結遺伝子コンストラクトの作成。形質転換ホストの代謝物を 3 種の分析機器で約 150 個のメタボロームデータを取得。 日本製紙: 形質転換ホストの代謝物を 3 種の分析機器で約 500 個のメタボロームデータを取得。 東洋紡: 22 種の多重連結遺伝子コンストラクトの作成。形質転換ホストの代謝物を 3 種の分析機器で約 500 個のメタボロームデータを取得。 GPC-MALS でのヒアルロン酸の分析を約 30 回測定。
	C. 物質生産系における調節遺伝子等の機能解析	転写因子の発現抑制系における形質転換植物の網羅的な代謝物プロファイリング (メタボロミクスアプローチ)	達成	産総研・高木グループと大阪府立大学・太田研究室との連携において、シロイヌナズナ由来の約 30 種の転写因子をキメラリプレッサコンストラクトで導入した形質転換シロイヌナズナでの 3 種の分析機器で約 30 個の以上のメタボロームデータを取得
	D. 統合データベースの作成	シロイヌナズナ、ミヤコザなどの遺伝子発現プロファイリング、代謝産物プロファイリングのデータを統合したデータベースを構築 本プロジェクトで解明した遺伝子機能のデータや、国内外で解明される遺伝子機能に関するデータを組み込み、未知の遺伝子機能解析を容易にし、実用植物での機能解析に役立つ機能を付与した統合データベースを構築	中止 達成	予算削減のため、実用化グループ支援のみに集中 KATANA, FuLoja, KAGIANA, Kappa-View ver.4, DAGViz, MassBase, MS-MSFragment viewer, CoP, Komics, KaNApSack, 形質転換シロイヌナズナの転写トームおよびメタボロームの解析データ (Regulatory network research, RnR) などの検索、解析ツールを経済産業省統合データベース(JBiC)に公開及び一般公開。 メタボローム解析の解析ツール (Metabolometrics, PeakIdentifier)及び遺伝子解析ツール (SokanProject、遺伝子共発現解析) をソフト開発。
(2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)	A. 窒素化合物代謝経路に関わる生体成分分析	光独立栄養条件下で栽培した植物による日周・生育ステージ 15 タイムポイント、および、環境応答に対するアミノ酸等の生体成分のデータを取得する。(18 年度末)	達成	16 年度までにアミノ酸分析データを取得
	B. 窒素化合物代謝経路の酵	上記タイムポイント・環境応答などの網羅的遺伝子発現データを取得し、アミノ酸の	達成	各ポイントの遺伝子発現データを取得し、アミノ酸含量制御

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
	素・遺伝子の発現解析	生合成・代謝経路にかかわる遺伝子、転流に関する遺伝子を検出する。(18年度末)		に關与すると考えられる生合成酵素や輸送体を抽出した。またアミノ酸代謝制御に關与すると思われる植物ホルモシグナル系の存在を明らかにした。
	C. 窒素化合物生代謝経路の解析のための形質転換体の作出	プロモーター・レポーター形質転換体を用いた組織特異性、環境応答を明らかにする。重要な遺伝子の過剰発現、抑制株によるアミノ酸代謝への効果を解析する。(18年度末)	達成	作製した形質転換体を用いて組織特異的発現および環境応答を解析した。複数の重要遺伝子候補の過剰発現、抑制株を作出。
	D. 窒素化合物物質生産に関する遺伝子発現プロファイリング、代謝プロファイリング	日周期、生育ステージ (15 タイムポイント) 環境応答による生体成分と網羅的遺伝子発現解析から、アミノ酸生合成・代謝・転流に關与し、生産性向上に寄与する遺伝子を検出する。(18年度末)	達成	上記の生体成分・遺伝子発現解析、および形質転換体の解析から、アミノ酸含量制御に關与する因子や収量増加に寄与する因子を同定した。
(3)葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)	A. 基幹代謝系操作・改良技術開発	葉緑体組み換え遺伝子の大量発現誘導系を開発し、実用遺伝子での性能試験を行う。	達成	psbA プロモーターを用いた葉緑体での大量発現系を確立し、数種の遺伝子についてその評価を行った。
		非光合成組織における葉緑体組換え遺伝子の大量発現系を開発するし、葉緑体に導入した外来遺伝子の発現を翻訳段階で制御できる基盤技術開発を目指す。	達成	Rrm プロモーターおよび人工 5' 非翻訳領域を用いた葉緑体での大量発現系に必要な知見を得た。
		有用遺伝子のコード領域設計のため、アミノ酸の同義コドン間の翻訳効率を実験的に解析する。	達成	9 種のアミノ酸の同義コドンの翻訳効率を実験的に測定した。
		様々な翻訳効率を持つ 5' 非翻訳領域のカラゲ化を行う。	達成	様々な 5' 非翻訳領域の翻訳効率を測定し、5' 非翻訳効率のカラゲ化を行った。
		コード領域と 5' 非翻訳領域との組み合わせが翻訳活性に与える影響について、in vitro での解析に着手する	達成	葉緑体での翻訳には 5' 非翻訳領域だけでなく、コード領域や、5' 非翻訳領域とコード領域との組み合わせについて解析した。
		終止コドンおよびその下流配列を数多く収集し、解析に着手する。	達成	終止コドンおよびその下流配列が翻訳効率にどの程度影響するかについて解析した。
		GC-MS, LC-MS, CE-MS を用いたシステムにより、種々の葉緑体関連形質転換体ならびに変異株を解析し、葉緑体基幹代謝を理解することを目標とする。特に、GC-MS による代謝フィンガープリンティングならびに LC-MS および CE-MS を用いた含窒素代謝物の動的解析を方法として用いる。	達成	GC-MS, LC-MS, CE-MS を用いた方法により、葉緑体の代謝フィンガープリンティング、動的解析法を確立した。これを用いてアミノ酸等の含窒素代謝物の解析を実施した。また、解析に用いる形質転換体を作成した (解析成果は研究項目 C で実施)
		B. 統合データベース構築	葉緑体関連遺伝子データベースを構築・公開するとともに、コンソーシアム型の研究開発を行う際に有効な情報共有システム開発を目指す。	達成

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
		単離、精製された葉緑体機能タンパク質複合体(基幹代謝制御・調節タンパク質)を中心とした、葉緑体基幹代謝系関連タンパク質の同定する。	達成	2D ゲルおよび LC-MS/MS による単離、生成、同定により、基幹代謝系路であるカルビン回路関連タンパク質 10 種、呼吸関連タンパク質 3 種等、葉緑体機能タンパク質を多数、同定した。
		作出された基幹代謝系改良タコおよびシロイヌナギ変異株の問題点を検証および解析する手段としてのプロテオミクス・メタボロミクス・トランスクリプトミクスの可能性について検討する。	達成	各研究機関で実施したプロテオミクス、メタボロミクス、トランスクリプトミクスの結果を統合し、データベースとして運営する可能性を検討した。
	C. 基幹代謝系改良モデル植物の作出	工業原材料生産代謝系の前駆体および有用代謝物質が従来の 1.2~2 倍程度に増量されたモデル植物を作出する。 1)光合成産物である糖の蓄積強化を図ることにより、基幹代謝の促進を行う。このために必要な代謝情報を取得する。	達成	平成 19 年度末までに GC-MS, LC-MS, CE-MS および <sup>13</sup> C を用いた <i>in vivo</i> 代謝解析法を確立し、タバコ基幹代謝経路の情報を取得した。
	2)転写・翻訳活性化によるアスタキサンチン含量のさらなる増加を図ることを目的とし、その効果を検証する。 3)アスタキサンチンを中心としたイソプレノイド合成経路の代謝解析を実施するとともに、遺伝子発現量の強化によりさらなるアスタキサンチン高蓄積化を図る。また、代謝改変により生じた各種イソプレノイド化合物の検出系を確立し、代謝改変の効果を検証する。	達成 達成	葉緑体内で、イソプレノイド生成経路の遺伝子を過剰発現させることにより、アスタキサンチン含量の増加を達成し <sup>13</sup> C を用いた <i>in vivo</i> 代謝解析法により、イソプレノイド合成経路の代謝解析を実施した。また、TOF-MS を用いた各種イソプレノイド化合物の検出系を確立し、代謝改変により生じたこれらの化合物を分析した。代謝改変による効果を検証した。	
(4)遺伝子特異的 cDNA マイクロアレイの開発および遺伝子発現制御技術の開発とデータベース化 (カバイオ)		(17 年度末で完了)		
(5)植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (産総研)	A. 転写因子遺伝子の <i>in silico</i> 解析および cDNA の収集	シロイヌナギの全転写因子ファミリーの遺伝子情報の収集と整備 モデル植物の遺伝子情報との比較による植物種に特有な転写因子遺伝子の同定 機能解析の候補となるシロイヌナギ転写因子遺伝子の cDNA のクローニング	達成	シロイヌナギゲノムデータベースにおける相同性解析により、転写因子をコードすると考えられる遺伝子について、 <i>in silico</i> 同定し、リスト化した。各ファミリーについて、比較解析を行い、種間の共通性及び特異性を見出した。196 遺伝子の cDNA を取得

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
				し、発現ベクターとして整備した。
	B. 転写因子遺伝子の発現解析	モデル植物の転写因子の遺伝子群の発現プロファイルの解析法の確立	達成	公開データベースからシロイソナダの発現プロファイルデータを取得し、in-houseでの転写因子遺伝子群の発現プロファイル解析手法を確立した。
		転写因子機能解析のための発現プロファイル情報の取得		転写因子の器官別での発現プロファイルの半定量PCRによる解析手法を確立し、データを取得、発現プロファイル情報の取得と解析により、遺伝子の選定や植物体での機能解明に寄与する情報が得られた。
	C. 転写因子遺伝子の機能解析	転写因子遺伝子の形質転換植物の標的遺伝子発現プロファイルのデータ取得 有用な制御機能を有する転写因子遺伝子の取得	達成	63種の転写因子の過剰発現培養細胞において176個のアレロデータを取得し、Kappa-Viewにデータを公開した。 分子系統解析、発現プロファイル解析の結果等を基に、37種の転写因子遺伝子について過剰発現植物体を作成し、形質などの解析を行った。
	D. キメラプロモーターを用いた遺伝子発現制御技術の開発	フェニルプロパノイド、脂質、シキミ酸の生合成系を制御する転写因子の探索研究をキメラプロモーターを用いて同定する。	達成	フェニルプロパノイド、脂質、シキミ酸の生合成系を制御する転写因子をキメラプロモーターで同定した。
		キメラプロモーターを用いた効率的な有用物質生産系の確立を目指す。 NST転写因子の下流で作用する因子を同定する	達成	NSTキメラプロモーターを薬用植物などの実用植物に導入した形質転換体の作成を達成した。
		ヒアルロン酸生産に関して、キメラプロモーターを利用したメタボリックエンジニアリング技術を用いて行い、生産能力の向上を目指す。	達成	東洋紡と共同して行ったヒアルロン酸を対照に比べ1.5倍以上生産するタバコ細胞培養株を単離した。
②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発				
(1)高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化(日本製紙)	A. MATベクターシステムによる樹木への遺伝子導入		—	1段目はBで実施、2段目はFに移行
	B. 組換え樹木の作成	各種プロモーターと有用遺伝子の組合せ>6種類 実用性評価試験用>3種類	達成	7種類の組換えユーカリを作成し、各4~10系統を選定した。これらについて、評価試験を実施した。
	C. 生物多様性影響評価試験	組換え樹木の安全性評価>3種類(1種類当り3系統、1系統を5個体に増殖、合計45本)	達成	4種類15系統合計56本について特定網室にて評価した。1種類3系統、36本について、隔離ほ場で評価した。
	D. 無菌キタ作成技術		—	Aの2段目と統合して、Fに移行



研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
	E. 遺伝子発現制御に関する技術開発		—	中間評価後の見直しでDに統合
	F. 樹木への遺伝子導入技術開発	組換え樹木において、2 段目の脱離の作動確認を行う。樹木 2 系統培養の困難なユーカリクローンへの遺伝子導入により、不定芽分化を促進させる。>3 系統	達成	中間評価対応見直しで樹木における形質転換促進技術の項目を設定 3 系統の交雑ヤマナラシで脱離の確認の見込み。ホルモン遺伝子の導入により、ユーカリ 4 系統の葉からの不定芽分化を確認。
(2) 循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の研究開発(王子製紙)	A. 細胞壁成分の生合成・木繊維細胞形態形成に関する遺伝子群の網羅的解析	木質成分合成及び木繊維形成に関する遺伝子群の絞り込み(10 個程度)と、これらの単離・同定 制御因子(転写因子および分子スイッチ)遺伝子群全長単離	達成	ユーカリ遺伝子ライブラリー等より、木質成分合成及び木繊維形成に関する制御因子(転写因子)遺伝子群を選び、モデル植物(タバコ)、ユーカリへの遺伝子導入、生長性、繊維細胞長、細胞壁成分の改良に有意な4種の転写因子遺伝子を獲得した。
	B. 木質バイオマス形成に関わる遺伝子群の統括的発現制御システムの構築	木質成分合成及び木繊維形成に関するプロモーター領域の単離 制御因子のスポット検定を必要に応じて継続し、情報量の獲得に努め、上記目標の達成と改善を支援する。	達成	ユーカリ遺伝子ライブラリー等より、樹幹部形成層で特異的に発現する遺伝子群より、プロモーター領域について、転写因子の結合特異性を解析すると共に、プロモーター遺伝子を連結した人工遺伝子をユーカリへ導入し、その特異発現結果を確認した結果、CcOMT プロモーターが最も有用であることを見いだした。
	C. ユーカリ遺伝子組換え体の評価	遺伝子組換えユーカリの作出と評価。 セルロース、ヘミセルロース含量の増大、繊維細胞形態の人為的制御。 花粉(花芽)形成に関する制御技術開発を17年度より実施する。	達成	転写因子、EcHb1 を過剰発現させた結果、生長性の向上、木部繊維細胞長の増大が認められ、バイオマス生産の向上に繋がるユーカリの作出に成功した。遺伝子組換えユーカリの野外植栽、評価について、ブラジルをその有力候補地とした(プロジェクト終了後に実施の予定)。
(3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発(日立造船)	A. ポリイソプレノイド成分の分析と精英樹選抜	ポリイソプレノイド迅速かつ高性能分析法を確立する ディフェンシバル検定によりポリイソプレノイド生合成遺伝子の異なった個体間の比較によってトチュウゴム鍵酵素関連遺伝子を同定する。	達成 達成	極微量のハイスループット分析法を確立した。 鍵酵素はファルネシル二リン酸の変異体であることが判明。TIDS と命名し3タイプの変異体を取得した。うち、TIDS5 がトチュウ特異的であった。
	B. ゴム産生能の異なるトチュウ変異体の育種	ポリイソプレノイド生合成遺伝子の鍵となる遺伝子を明らかにする	達成	鍵遺伝子の構造変異、機能評価を行い、TIDS は異種生物でも長鎖ゴム産生機能を有する変異型とトチュウに特異的なものとに分かれた。TIDS のタンパクモデルによるイソプレンの重合反応をシミュ

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
	C. 組織・細胞レベルでのゴム生成機構の解析	局在性を解析することによって、指定された部位での貯蔵力を向上させる。	達成	レゾンにより解析し、ゴム生成機構を解明した。 ゴム形成時と増加時の TEM 写真、乳管細胞の形成方法、転写因子などゴム産生に関わる局在での発現を視覚的にとらえる事に成功した
	D. メタボローム解析	トランスクリプトームの成分構成と生産量を向上させるために糖代謝などの上流代謝経路の鍵酵素遺伝子を取得する。	達成	組換え体によるゴム代謝機構を解析 主流の生合成経路がパロニン酸経路であった。 TISD1 遺伝子導入個体の根からの再分化個体を育成中。
(4) パラゴムノキのゴム生産制御技術の開発 (フレンチストン)	A. 組織培養技術の開発	優良クローンにおいて再分化率が高いパラゴムノキ組織培養技術を確立する。	達成	優良クローン PB260 他 2 品種において、未熟種子を外植体として効率の良い再分化系を確立。
	B. 形質転換技術の開発	パラゴムノキの形質転換体を作成する技術を確立する。	達成	GFP 遺伝子を導入した形質転換体を作成。ビタミン E 生合成遺伝子を導入した形質転換細胞を取得した。
	C. ラテックス生合成メカニズムの解析	ラテックス生合成部位の特定、新鮮ラテックス中のタンパク質解析、メタボローム解析などによって、遺伝子組換えのターゲットとする生合成経路を特定する。	達成	トレーサー実験により IPP の生合成経路を確認した。
	D. ラテックス生合成関与遺伝子の取得・解析	関連遺伝子を解析する。	達成	新たに師部組織と葉の情報およびデータベース情報を加え、DNA アレイを作成した。
	E. 遺伝子発現・機能解析	In situ hybridization による発現量の差異解析、免疫染色法などによる発現解析や、相補性試験、モデル実験系による機能解析などにより、候補遺伝子を絞込んでターゲットとする遺伝子を取得する。	達成	組織観察、免疫染色法を開発しポリプレックスの生合成に関連する鍵遺伝子を確認するとともに、候補遺伝子の絞り込みおよびゴム粒子表面のプロテオーム解析を行った。ビタミン E 生合成関連遺伝子を抽出。
	F. 形質転換体作成と機能確認	モデル実験系やパラゴムノキにラテックス生合成関与遺伝子を導入して形質転換体を作成する。	達成	ペリプロカ(モデル植物)の形質転換体を作成。
		形質転換体において設計したラテックス特性が発現していることなど機能の確認を行なう。	達成	形質転換体の代謝物の分析により候補遺伝子の機能確認を行い、ビタミン E 生合成に関してターゲット遺伝子の絞り込みに成功。
(5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発(常磐植物化学研究所)	A. 材料植物の確保、育成、培養系の確立	カンゾウ属植物への有用遺伝子導入系を確立する。	達成	3 種類の遺伝子を導入する連結ベクターを完成し、カンゾウに導入した。
		有用遺伝子を導入したカンゾウ細胞培養系を確立する。	達成	3 種類の遺伝子を導入したカルス培養物を作製した。
		グリチルチン等の高生産性培養体や個体を導入遺伝子 1 種につき 3 系統(個体)以上作出する。	未達	3 種類の遺伝子を導入した形質転換カルスからの植物体再生を行ったが、再生は困難であった。

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
		有用遺伝子を導入した <i>ダイズ</i> 植物体を3系統以上作出する。	達成	形質転換 <i>ダイズ</i> を14系統作出した。
	B. 成分の分離分析系の確立	遺伝子導入によって得られた、形質転換細胞や再分化植物体について成分分析を行う。	達成	形質転換 <i>カンゾウ</i> ウカリス及び形質転換 <i>ダイズ</i> の含有成分をGC-MS分析等により達成した。
	C. 細胞および遺伝子レベルの研究	EST及び <i>カゾ</i> クローンより <i>グリチルチン</i> 合成に関与する遺伝子を同定する。	ほぼ達成	器官特異的発現遺伝子探索により、 <i>グリチルチン</i> 合成遺伝子2種類を同定した。また、糖転移酵素遺伝子については、2種のうち1種のほぼ確実に判断されるクローンを取得した。1種は未達となった。
	D. 遺伝子発現と全代謝物プロファイリングの統合		—	中間評価後の計画見直しで、中止した。これに伴い、 <i>カゾ</i> ウDNAアレイ実験も中止とした。
	E. 効率的な物質生産系の確立	優良個体( <i>カゾ</i> チルチン含有率6%DW以上)の選別後、苗を増殖し圃場での栽培試験を行う。 <i>グリチルチン</i> 合成遺伝子導入 <i>ダイズ</i> を人工気象器中で栽培、種子を収穫する。	未達 達成	組換え <i>カゾ</i> ウに関しては遺伝子組換え植物が得られなかった。 組換え <i>ダイズ</i> については14系統を栽培、種子を収穫した。
(6)ステロイド生産制御技術の開発(植物工学研究所)	A. アマ再生系及びアマ形質転換系の開発	コレステロールまたはスクレン含量が高いアマの作出>各々5系統 種子油中のコレステロールまたはスクレン含量の増加>各々種子含油量の5%	中止	植物工学研究所がH16で解散したことにより中止した。
	B. 昆虫 <i>イソプレノイド</i> 代謝系の植物への応用	酵母由来 <i>dealkylation</i> 酵素導入植物の作出>10系統		
	C. ユーフォルビア由来遺伝子の <i>イソプレノイド</i> 代謝系への応用	ユーフォルビア由来の高活性鍵酵素の過剰発現植物の作出>10系統		
	D. <i>イソプレノイド</i> 代謝系関連遺伝子の探索と応用	<i>イソプレノイド</i> の蓄積機構に関与する遺伝子の単離と発現植物の作出>1遺伝子、10系統		
(7)カテノイド生産制御技術の開発(キノホルテイングス(H19fyまで海洋バイオ研究所))	A. モデル植物を用いたカテノイド代謝関連遺伝子と代謝物の解析	(平成17年度で終了)	—	
	B. カテノイド代謝関連鍵遺伝子の同定と機能の最適化	(平成17年度で終了)	—	
	C. 非形質転換植物の <i>イソプレノイド</i> 系代謝物プロファイルの作製	(平成17年度で終了)	—	
	D. 形質転換実用植物の <i>イソプレノイド</i> 系代謝物	1mg/g(湿重量)以上の有用カテノイド(アスタキサンチンまたはβクリプトキサンチンを主成分)を種子に蓄積するトランスジェニック・ア	達成	1mg/g(湿重量)以上の有用カテノイド(アスタキサンチンまたはβクリプトキサンチンを含む)を種

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
	の解析	マ(タネ)が作出されていること。		子に蓄積するトランスジエニック・タネを作出した。なお、レタスについても、アスタキサンチンを主成分とするトランスプラストミック・レタスが得られた。
	E. 実用評価試験	作出されたトランスジエニック・アマ(タネ)の実用化の目処が立っていること	達成	カロテノイドを増量したトランスジエニック・アマ及びトランスジエニック・タネでは1コビールの胚体を得て、形質評価試験を行うため種子の増殖を行い、カロテノイドの効率的抽出の条件を決定した。1mg/g(湿重量)以上の有用カロテノイドを作るトランスジエニック・タネについては母本を作製した
(8) 外来糖質生産植物の研究開発(東洋紡)	A. ヒアルロン酸合成酵素遺伝子組換えモデル植物の作出	(17年度末で完了)	—	
	B. モデル植物を用いた糖ヌクレオチド代謝経路の解明	糖ヌクレオチド代謝酵素遺伝子導入植物における糖ヌクレオチドの蓄積	達成	GFAT 遺伝子導入タバコ培養細胞における糖ヌクレオチド代謝産物の蓄積を確認。
	C. ヒアルロン酸生産実用植物の作出	ヒアルロン酸合成酵素遺伝子および糖ヌクレオチド代謝酵素遺伝子の多重遺伝子導入実用植物におけるヒアルロン酸の蓄積	ほぼ達成	タバコ植物体において目標値の0.1%のヒアルロン酸生産性を確認。ジャガイモ塊茎において0.06%のヒアルロン酸生産性を確認。
(9) 総合調査研究(パイオ組合)		—	—	—
(9-1) 植物代謝産物に関する統合データベース構築ならびにデータベース構築(奈良先端大・金谷教授)	A. マススペクトル解析システムの開発	GC-MS、FT-MSなどの統合解析システムの構築(18年度完成)	達成	逐次改良実施
	B. 生物-メタボライト関係データベースの設計ならびにデータ収集	30,000メタボライトデータからなるデータベースを構築(21年度末)	達成	約36,000メタボライト入力済
	C. マススペクトルデータからメタボライトの推定法の開発	システムを構築(18年度までに)	達成	逐次改良実施
	D. 植物における発現プロファイル	統合解析システムを構築(19年度までに)	達成	ほぼ完成。逐次改良実施
	E. 植物に関する特許のウェブ公開システムの構築	組換え植物に関する特許のウェブ公開システム構築	達成	完成(逐次追加)
(9-2) ミヤコグサの細胞・器官培養系を用いた代謝産物解析(日大・綾部教授)	A. 組織培養系の確立	(17年度末完了)		
	B. 形質転換培養系の作出	(17年度末完了)		

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
(9-3)DNA マイクロアレイによる細胞壁関連遺伝子群の発現プロファイル解析(東北大・西谷教授)	A. 遺伝子特異的 DNA アレイ評価	(17 年度未完了)		
	B. 細胞壁遺伝子群の発現解析	(17 年度未完了)		
(9-4)導入遺伝子発現制御技術の開発 (クロマチン構造を介した新規発現ユニットの開発) (奈良先端大・新名教授(加藤助教))	A. プロモーター領域のクロマチン及びヌクレオソーム構造の解析	モデル遺伝子(転写因子:既同定、発現プロファイル:既知)及び細胞壁・イプレノイド合成関連遺伝子についてのヌクレオソーム構造と遺伝子発現の関係を解明	達成	H19 年度までの成果により、解析を終了した。
	B. 核マトリクスと相互作用する DNA 領域の探索と機能解析	シロイヌナゲゲノムレイ(約 6Mb をカバー)による該 DNA 領域の同定 新規ターミネーターを活用した、新規発現ユニットの構築と実用遺伝子を用いた有用性の実証	達成 達成	H18 年度までの成果により、解析を終了した。 H20 年度末までに新規発現ユニットの構築を終了。H21 年度末までにモデル遺伝子を用いて実証試験を行い達成。また、H20 年度末までに複数の参加企業に新規発現ユニットを提供した。
	C. 導入遺伝子発現を転写後レベルで制御する技術の開発	染色体高次構造に影響を与えるエレメントを利用した新規発現ユニットの開発・モデル植物及び実用植物の 5'UTR のカウパ作成・4 段階程度、任意の遺伝子産物発現量が得られる発現系・ストレス環境を考慮した発現系を開発する	達成	H20 年度末までに上記新規発現ユニットと導入遺伝子の発現を転写後レベルで制御する技術を組み合わせた発現系の構築を終了した。H21 年度末までにモデル遺伝子を用いて実証試験を行い達成。
(9-5)フェニルプロパノイド代謝系の制御に関わる転写調節因子遺伝子群の解析(東京農工大・小関教授)	A. プロモーター・シスエレメントの同定	得られた cDNA 全てにつき結合特異性を評価	達成	得られた cDNA の中で結合特異性の最も高いものとして 2 つの ERF、cDNA および 1 つの myb cDNA に絞り込んだ。
		最も重要と思われる 1 個の転写調節遺伝子のプロモーター・シスエレメントの解明	達成	転写抑制に関わるシスエレメントを決定した。
	B. シスエレメントに結合する転写調節遺伝子の探索と解析	転写因子導入組換えポプラを 3 個体以上作成する	達成	4 系統の転写因子導入遺伝子組換えポプラを得た。
	C. 転写調節遺伝子の異所発現・機能改変による生産制御基盤技術の開発	ドミナント・ネガティブ効果を利用した形質転換ポプラを作出して解析を行う。	達成	4 系統の形質転換ポプラのうち、1 系統においてリガニン合成蓄積量の低下が見られた。
(9-6)モデル植物を用いた細胞壁形成及び心材形成の代謝プロファイリング(京大・梅澤教授)	A. 代謝産物の分析法確立	(17 年度未完了)		
	B. モデル植物(シロイヌナゲ、ミコグサ、アカシア)及びその形質転換培養細胞の代謝産物プロファイリング	(17 年度未完了)		

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
(9-7)モデル植物における P450 依存の生体成分合成・分解機能の網羅的解析 (大阪府大・太田教授)	A. P450 ファミリー遺伝子の同時導入	単一遺伝子あるいは多重遺伝子導入した細胞・植物体を供試し、メタボロミクス実験による P450 酵素反応解析を実施する。	達成	A と B によって、6 以上の新規 P450 遺伝子機能解明した。
		合計 15 種類以上の酵素反応同定を目指す。	達成	合計 15 種類以上の新規 P450 酵素反応を同定
	B. P450 遺伝子の機能解析と新規代謝フローの探索	代謝ハスウェイ予測プログラムを完成させ、一般公開する。FT-ICR/MS 機器を稼働させ、当該プロジェクト参加研究グループの要請に応じて代謝産物分析業務に携わる。	達成	各種データベースから、6,928 個の酵素反応基質と生成物ペアのリストを作成し、代謝ハスウェイ予測手法を金谷教授と完成した。生化学的・有機化学的な整合性を基にして、メタボロミクスによって発見された新規化合物の生合成経路を推定することを可能にした。ツールは奈良先端大 (金谷教授) から公開した。
	C. 代謝産物プロファイリング実験プラットフォーム構築 (ハゲイ組合共同研究)	FT-ICR/MS メタボロミクスによる分析とともに、かずさ DNA 研究所、ハゲイ組合との共同で P450 機能を探索し、研究開発期間中に合計 15 種以上の新規 P450 酵素反応の同定を目指す。	達成	最終的には A と B によって、合計 20 種類の P450 遺伝子機能を解明することに成功。
(9-8)テルペノイド類等二次代謝系の代謝制御に関わる生理活性物質の機能解明と網羅的解析に必要な基盤情報の整備 (東京工業大・太田教授)	A. ジャスモン酸類等による遺伝子発現応答の網羅的解析とカタログ化	ジャスモン酸類等に応答する全発現遺伝子群についての発現の組織特異性、機能解析などのカタログ化	達成	ジャスモン酸類等に応答する全発現遺伝子群についての発現の組織特異性、機能解析などによるカタログ化は完了。
	B. ジャスモン酸類等に応答する遺伝子群のカタログ化と機能解析	ジャスモン酸による代謝制御の中心となる候補遺伝子の絞り込みを行い、得られた候補遺伝子の機能を解析する。	達成	制御の中心となる候補遺伝子を絞り込み、得られた候補遺伝子 INU1, INU2, PAH1, PAH2 のノックアウト、過剰発現株の作成を行い、その機能解明を完了。
	C. シロイヌナズナ遺伝子発現情報のデータベース化	データベースの作成と効率化	達成	遺伝子発現情報データベースの作成と効率化を完了。
(9-9)ハロコムキのシスプレニルトランスフェラーゼとその活性化因子の解明 (東北大・古山教授)	A. 活性化因子及び重合促進因子の同定	ラックス超遠心微小コム粒子画分中の活性化因子を同定する	未達	活性化因子の部分精製、キャラクレーションを進めたが、純化、同定までに至らなかった。
	B. <i>in vitro</i> での高効率天然コム合成系の再構築	タバコ性因子の cDNA 取得、発現系構築、促進因子の化学構造解明	未達	活性化因子の同定が未達のため、cDNA 取得、発現系構築、促進因子の化学構造解明には至らなかった。
	C. モデル植物における遺伝子の機能解明	ハロコムキ・シスプレニルトランスフェラーゼ遺伝子のモデル植物における機能解析	中断	形質転換体の表現系に特筆すべき機能が見出されなかったため中断。
(9-10)ステロール化合物の高産生植物の研究開発 (石川県大・大山教授)	A. ユーフォルビアのキトスクアレン及びシコアルテノールの調査	キトスクアレンシクレゼ遺伝子の発現、抑制形質転換株の確立。	達成	形質転換株のカスの単離。植物細分化系の確立。
	B. キトスクアレンシクレゼ遺伝子の単離の研究	(平成 17 年度末で完了) —	—	—

研究テーマ	研究項目	最終目標 (H21 年度末)	達成状況	理由・根拠
	C. シクロアルテロールシンターゼ遺伝子の単離の研究	シクロアルテロールシンターゼ遺伝子の過剰発現形質転換株の確立	達成	スクアレンシンターゼ過剰発現形質転換体を G418 選抜により単離した。植物ステロール絶対値を GC/MS 解析した
	D. ユーフォルビア形質転換系開発	ゼニコケまたはユーフォルビアにおける上記二重形質転換株作成の基礎条件の確立。	達成	組織培養法によるトリテルペン合成抑制技術を確立しその条件下で植物ステロールを過剰発現。
	E. 遺伝子資源・有用二次代謝産物データベース構築	ユーフォルビアの二次代謝産物に関する遺伝子資源をデータベースとして整備する。	達成	ユーフォルビアにおけるステロール・トリテルペン・セスキテルペン化合物 GC/MS 同定と EST クロンの代謝地図へのマッピング。
(9-11)アカシアにおける組織培養・遺伝子導入系の開発(千葉大・三位教授)	A. 植物体再生系の開発	アカシアの培養増殖個体を 100 個体以上作出する。	達成	アカシアの培養増殖個体を 100 個体以上作出した。
		カンゾウの培養増殖個体を 10 個体以上作出する。	達成	カンゾウの培養増殖個体を 10 個体以上作出した。
	B. 形質転換法の開発	アカシアの形質転換体を最低 1 個体作出する。	達成	<i>Acacia gonoclada</i> の形質転換体を 1 個体作出した。
		カンゾウに候補遺伝子を導入した形質転換カルスを最低 5 系統作出する。	達成	達成見込：カンゾウに候補遺伝子を導入した形質転換カルスを 5 系統作出した。

## 2. 2 研究開発項目毎の成果の詳細

### ①モデル植物を用いた植物の物質生産プロセスの解析

#### (1) 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析 (かずさDNA研究所)

##### A. cDNA の取得及び解析

##### 1) ミヤコグサ完全長 cDNA の取得

「平成 14 年度～17 年度」

マメ科植物の代謝に関与する遺伝子機能の解明を効率よく行うために、植物発現型ベクターに組み換え可能な 2 種類の完全長 cDNA ライブラリーの整備を行った。2 種類の完全長ライブラリーはプロトプラスト処理したミヤコグサ培養細胞 (日本女子大学庄野教授が樹立した株) とメチルジャスモン酸及びサリチル酸処理のミヤコグサ培養細胞からそれぞれ RNA を調製して作製した。この 2 種類の完全長 cDNA ライブラリーを用いて、総数 4 万のクローンの 5' 側のシーケンス (EST) を行った (平成 15 年度終了)。また、ミヤコグサ植物体の地上部、地下部、培養細胞、酵母エキスをエリクターとして処理した培養細胞の、4 種類の組織より全 RNA を調製し、それらが互いに区別しうるタグを付けて完全長率の高いビオチンキャップトラッパー法によりライブラリーを新たに作製した。この新しいライブラリーも総数 2 万のクローンの EST 解読を行った。

シロイヌナズナに存在しない遺伝子で代謝に関係すると予想される遺伝子を選抜するため、本研究で解読した EST データとデータベースに公開されている全 EST データ (139,727 個) を用いて、UNIGENE の構築と機能推定を行った。これらの EST をアセンブリグしたところ 24,105 個の UNIGENE (10,024 singlet 含む) が得られた。これらの UNIGENE の機能を推定するために NCBI (nr), TIGR (AGI, LJGI, MTGD)、および、TAIR との相同性検索 (blastp および blastn,  $1e-10$ ) を行ったところ、いずれのデータベースからも相同性のみられなかった UNIGENE が全体の約 4 割を占めた。これらのミヤコグサの未知遺伝子は、植物の遺伝的多様性を解析する上で重要である。また、得られた UNIGENE からの完全長 cDNA クローンを大規模に選抜するため、24,105 個の各 UNIGENE から 5' 末端に位置する EST を抽出し、そのうち、約 3,000 クローンを選抜した。大規模なリソース基盤を構築するという目的の上で、この解析においても、アセンブルから得られたコンティグ (コンセンサス配列) とコンティグを構成する EST メンバー、それらのアライメント位置を手作業で調べ、5' EST 末端に位置するクローンを識別することは困難である。そこで、アセンブル情報から完全長シーケンシングを行うクローンの候補リストを出力するための自動化システムを完成させた (図 1-1)。約 2,000 クローンを完全解読し、遺伝子機能に関して予測されるアミノ酸配列情報から機能予測をした (平成 16 年度終了)。

「平成 18 年度～21 年度」

さらに 800 クローンを追加して解読し、プロジェクト内部で公開した。これらのミヤコグサの塩基配列は、プロジェクト終了後に一般公開し、論文として発表する予定である。

##### 2) 他植物の cDNA 取得

「平成 14 年度～17 年度」

常磐植物化学株式会社との共同研究により、グリチルリチンを高濃度に蓄積するカンゾウの根より完全長 cDNA ライブラリーを作製した。総数 12,000 のクローンの 5' 側のシーケンス (EST) を行った (平成 16 年度終了)。アセンブルによるコンティグ化および、アノテーション情報による遺伝子分類を行い、水酸化酵素遺伝子の情報を得た。また、植物工学研究所との共同研究により、



アマ cDNA ライブラリーを作製した。(平成 16 年度終了)。さらに、アカシアマンギウム の播種後 2 ヶ月の第 1 側根を表皮及び皮層を含む部分に分け、それぞれの組織から cDNA ライブラリーを作製し、総数 3,000 のクローンの 5' 側のシーケンス (EST) を行った (平成 16 年度終了)。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

アカシア・マンギウムに関しては、京都大学梅澤研究室と共同して解析を進め、約 1 万個の EST 解読を行い、2,784 個コンティグと 3468 個の Singleton を得た。これらの Blast 解析を行い、配列情報を公的データベースへ登録し、さらに、論文として投稿した。常磐植物化学株式会社から要望があったカンゾウ完全長クローンの解読をおこなった。カンゾウ EST 配列に関しては論文として発表した。

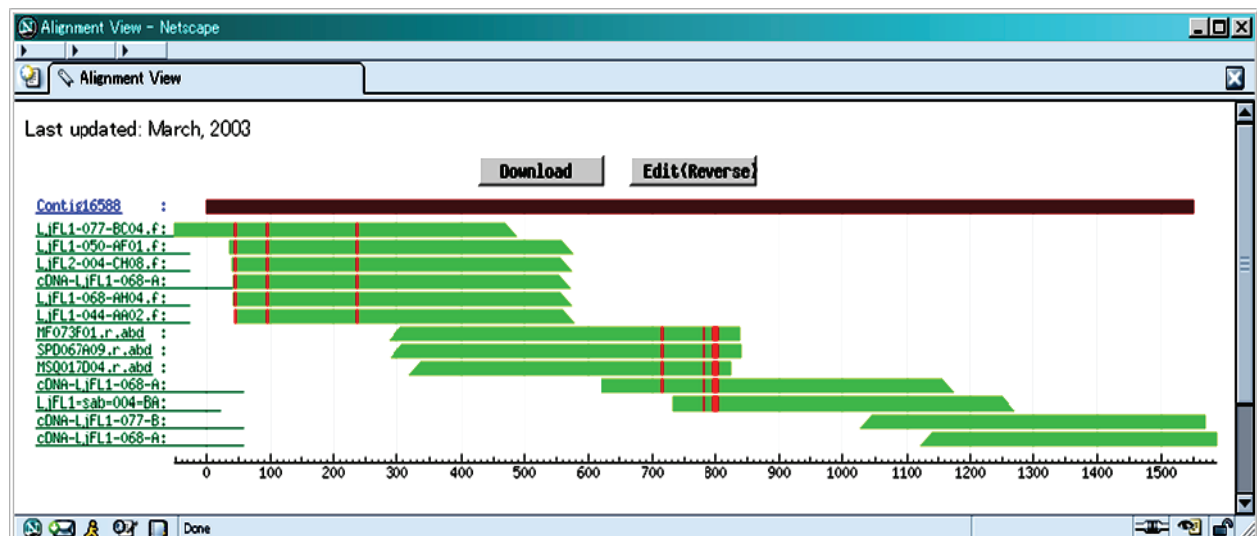


図 1 - 1 Contig 配列(茶色)と EST(緑色、矢印が EST の方向を表す)のアライメント例  
(この例では、ミヤコグサ完全長 cDNA クローン LjFL1-077-BC04 由来の EST が最も 5' 末端側に位置する)

## B. 物質生産系の経路と機能解析

### 1) 遺伝子発現プロファイリング

#### 「平成 14 年度～17 年度」

シロイヌナズナマイクロアレイに必要な PCR 産物を用いてこれをナイロンフィルターにスポットし、マイクロアレイフィルターを約 100 セット作製した。このアレイを用いて、バイオ組合からの再委託先である東京工業大学太田研究室と共に、2 次代謝産物の誘導を引き起こすことが既に知られている条件での遺伝子発現解析を、旋回培養シロイヌナズナ T87 細胞培養を用いて行った。また、シロイヌナズナ培養細胞 T87 の継代後の培養過程における遺伝子発現プロファイリングをアジレント社のシロイヌナズナマイクロアレイ (22k) を用いて行い、培養時における遺伝子発現の変化様式をとらえた。また、メチルジャスモン酸 (MeJA) 及びサリチル酸処理した T87 における遺伝子発現の経時的変化を、同様にアジレント社のマイクロアレイを用いて解析した。さらに、レーザーキャプチャーでシロイヌナズナの髓と木部組織を調製し、微量な mRNA を増幅する方法を検討した。調製した 2 種類の細胞から cDNA ライブラリーを作製して、細胞間での遺伝子発現プロファイリングを比較するために EST 解析を行い、同時にアジレント社のマイクロアレイを用い

て2種類の細胞の遺伝子発現量を比較検討した。タカラバイオ社が開発しているマイクロアレイに関しては、遺伝子発現プロファイリングに使用可能とするために、シグナル強度の増強をはかり IVT ラベリングによる検出方法を検討し、平成 16 年度に完成した ARI3 マイクロアレイを用い、後に述べるシロイヌナズナ培養細胞 T87 の遺伝子導入形質転換系の評価を行った。以上のように、我々はシロイヌナズナの遺伝子発現プロファイリングに関して、200 条件以上の種々の生理条件下で遺伝子発現解析を行った（平成 16 年度終了）。

平成 14 年度から 17 年度は、ミヤコグサの機能解析において、ミヤコグサの PCR 産物からマイクロアレイフィルターを 50 セット作製した。ミヤコグサマイクロアレイに関しては、メチルジャスモン酸、サリチル酸、ジベレリン、アブシジン酸、酵母エキス、塩化銅、Nod ファクターなど、2 次代謝経路を含め様々な遺伝子発現に影響を与えるエリシターを処理したミヤコグサ培養細胞における遺伝子発現プロファイリングを行った。酵母エキスを処理したミヤコグサ培養細胞の遺伝子発現変化および代謝産物の変化を比較検討した結果、5 倍以上の遺伝子発現が上昇するイソフラボノイド合成関連遺伝子が 23 個検出されたため、個々の遺伝子機能の解析を行った。また、遺伝子特異的な発現解析を行うために、ミヤコグサマイクロアレイを作製した。マイクロアレイのプローブデザインは、当初、EST 解析のデータをもとに行う予定であったが、かずさ DNA 研究所において、ミヤコグサのゲノム塩基配列の解読結果が蓄積されてきたことにより、塩基配列鎖の方向性、遺伝子特異性などの再評価を行い、さらに信頼性の高いデザインを行った。プローブに用いる配列の選別が完了したので、アジレント社にマイクロアレイの作製を依頼した。平成 18 年度以降は、ミヤコグサアレイを用いた共同研究を進めた。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

従来のアジレント社のシロイヌナズナ DNA アレイに加えて、搭載遺伝子の種類の異なる Affymetrix 社の DNA チップをかずさ DNA 研究所が整備した装置を用いて行ない、総数 507 回の解析を行なった。また、日立造船からの依頼でトチュウの DNA アレイのデザインを行い、トチュウ DNA アレイの解析を行った（総数 103 回のアレイ実験）。パラゴムノキの DNA アレイ解析に関して、ブリヂストンに対して技術支援を行い、総数 88 回のアレイ実験をおこなった。ミヤコグサのトランスクリプトーム分析は総数 20 回の実験を行った。

## 2) 代謝産物プロファイリング

代謝産物プロファイリングは、(i) 網羅的なプロファイリング（メタボロミクスアプローチ）と、(ii) 目的成分に焦点を合わせた代謝産物解析を行った。

### (i) 網羅的なプロファイリング

キャピラリー電気泳動-質量分析 (CE-MS)、ガスクロマトグラフィー-質量分析(GC-MS)、高速液体クロマトグラフィー-質量分析(LC-MS)などを駆使して、モデル植物シロイヌナズナおよびミヤコグサの基本的な成分の徹底的なプロファイリングを行った。

#### 「平成 14 年度～17 年度」

キャピラリー電気泳動-質量分析 (CE-MS) ではイオン性化合物を中心に分析を行った。アニオン分析に関しては、バッファー組成、カラムの種類などの改良により、アニオン分析を安定して行うことが可能なシステムの構築に成功した。カチオン分析はアミノ酸分析において、高感度で定量性の良い分析が可能となった。平成 15 年度研究加速財源により導入した CE-MS で多くの資料の分析が可能となった。ガスクロマトグラフィー-質量分析(GC-MS)において、TMS 誘導体

化を効率よく行い、再現性の高いデータを得るために、窒素気流下で誘導体化が可能なチャンバーを導入し季節に関係なく、安定なデータを取得することに成功した。高速液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)に関しては、化合物の分離能を向上させるために、モノリスカラムを導入し、ハイスループット対応の数種の抽出方法を確立した。

代謝産物プロファイリングにおける物質の同定を効率良く行うために、市販されている植物代謝産物の標準品を購入し、MS ライブラリーの整備を進めた。現在、約 850 種類の化合物を購入済である。これまでに GC-TOF-MS : 331 種類、液体クロマトグラフフォトダイオードアレイ質量分析機器(LC-PDA-MS) : 182 種類、CE-MS : 142 種類 (カチオン分析)、207 種類 (アニオン分析) のライブラリーを作成した。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

総数 13,050 回の CE-MS アニオン分析、総数 10,883 回の CE-MS カチオン分析、総数 8,297 回の GC-MS 分析、総数 460 回の LC-IT-MS 分析を行った。また、平成 17 年度加速財源により整備した UPLC-Q-TOF-MS を用いた分析では、総数 6,374 回の分析を行ない、研究を加速した。かずさ DNA 研究所が整備した最新型質量分析装置 LC-FT-MS においても総数 1,604 回の分析を行った。FT-IR では、総数 198 遺伝子を個別に導入した系統に関しての解析を行なった。

#### (ii) 目的成分に焦点を合わせた代謝産物解析

LC-MS を中心に植物特有の二次代謝産物をターゲットして分析を行った。

#### 「平成 14 年度～17 年度」

シロイヌナズナに特徴的な二次代謝成分グリコシノレートを効率よく分析可能な抽出方法、測定方法を確立した。ミヤコグサの 2 種類 (Gifu, Miyakojima) の花、茎、葉、根を用いて、各器官のフラボノイドを中心とした代謝プロファイリングを行った。70 種以上のフラボノイド成分を同定・推測した。これらの 70 種のフラボノイド成分を同定するために、イギリスの PlantecUK 会社から複数のフラボノイド標準品を購入し、詳細なライブラリーを構築した。これらの成果は論文として公表した。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

日本製紙から依頼されたユーカリ・グロビュラス、カマルドレンシスの形質転換植物体のグリシンベタインの定量分析を行った。平成 19 年度に加速財源により設置した高分子化合物の分子量を分析可能な液体クロマトグラフィー解析システム (GPC-MALS) を加速財源で整備し、ヒアルロン酸生合成系遺伝子を導入したシロイヌナズナ組換え体について総数 230 回の分析をおこなった。さらに、Poly-isoprene の標準品を用いて、種々の分析条件を検討した (分析回数 173 回)。

#### (iii) 代謝解析ソフトの開発

#### 「平成 14 年度～17 年度」

大量の代謝産物プロファイリングを効率よく統計解析し、有用な情報を得るために、バイオ組合の再委託先の奈良先端科学技術大学院大学の金谷教授と大阪府立大学の太田教授との共同で、データ処理ソフトを開発した。サンプル毎の代謝産物の溶出時間が多少ずれてしまう現状 (ピークドリフト) を補正するため、クロマトグラム波形データをサンプル毎に補正するプログラムを開発した。また、代謝産物の溶出時間及び MS 情報を取り入れて、サンプル毎の補正を行うシステムを構築した。そして、グループごとの t 検定、PCA 解析、ピーク毎の相関解析等の機能を取り入れ、ソフトを完成させた。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

前者はプロジェクト内で公開し、プロジェクト終了後に一般に公開する予定である。後者はすでに論文として発表し、ソフトも一般公開した。

### 3) 物質生産経路の解析

#### (i) 培養細胞の超低温保存

「平成 14 年度～17 年度」

物質生産経路遺伝子群の機能解析を、培養細胞系を用いたハイスループット実験法により行うために、シロイヌナズナ懸濁培養細胞 T87 株を超低温保存するための新ビーズ乾燥法を開発した。具体的には新ビーズ乾燥法を元に培養細胞を含むビーズの微小化とその超低温保存を試み、5 $\mu$ l の微小ビーズ化に成功した。2ml バイアルに約 2,000 粒を収容することが可能であることから、急速冷却・再加温のサイクルを繰り返しても再増殖の低下が認められないような超低温保存法を確立した。さらなるハイスループット化を目指すために大容量のプログラムフリーザーの導入と操作が簡便な予備凍結法の開発し、1 人が 1 日 (1 時間作業) で 100 バイアル (10 コンストラクト $\times$ 5 系統 $\times$ 2 バイアル) の超低温保存が可能となった。

「平成 18 年度～21 年度」

これらの方法をプロジェクト内で公開し、その後、前者は超低温保存法として論文発表した。また、後者に関してもプロジェクト終了後に論文として公表する予定である。

#### (ii) 培養細胞の形質転換

「平成 14 年度～17 年度」

シロイヌナズナ懸濁培養細胞 T87 株にアグロバクテリウム介して遺伝子導入する作業の効率化に成功した。1 人が 1 日 (4 時間作業) で 24 コンストラクトを同時に作業し、月曜日から金曜日で培養、感染、除菌が終了するハイスループット形質転換方法を確立した。

#### (iii) ハイスループットコンストラクトの作製技術

平成 14 年度から 17 年度は、大規模構築を行う場合、cDNA の内部で切断しない制限酵素を選抜して、それぞれのプラスミドから cDNA 断片を切り出す作業を効率化させるために、35S プロモーターの高発現型の Gateway System を使用し、多数の遺伝子断片のバイナリーベクターへの挿入を同時に行うことに成功した。構築に必要なほぼ全過程を 96 ウェルプレートを用いて行うことに成功し、大量の処理が可能となった。アグロバクテリウムの形質転換方法も、96 ウェルプレートで、凍結融解手法を用いて作業が可能となった。

「平成 18 年度～21 年度」

これらの方法をプロジェクト内で公開し、その後、論文として発表した。

また、高発現型プロモーターに続き、RNAi コンストラクト、誘導型プロモーターコンストラクトも作製した。200bp～300bp の遺伝子特異的な配列を用いて、RNAi コンストラクトを作製した。これらを個別の遺伝子機能解析に利用した。

#### i) 遺伝子導入細胞系統リソースの整備 (図 1-2)

「平成 14 年度～17 年度」

シロイヌナズナおよびミヤコグサからの遺伝子の選抜は、代謝活性が亢進している細胞に関する DNA アレイ解析の結果や、特定の植物代謝経路研究の専門家との打ち合わせ、バイオインフ

オマティクス解析などで行った。遺伝子発現コンストラクトの遺伝子の種類は、細胞壁、P450、リグニン、アミノ酸、フラボノイド、イソプレノイド、脂肪酸、グリコシノレートなどの代謝産物の生合成酵素遺伝子が中心となり、またそれらの生合成経路に関わる転写因子もコンストラクト作製に用いた（図1-2）。主として、理化学研究所が配布している完全長 cDNA(RAFL)などを用いて候補となる遺伝子を選び出し、発現ベクターに組み込んだ。1,879 個の RAFL クローンを用いて、1,695 個のバイナリーベクター（35S プロモーター）を作製し、全てアグロバクテリウムに導入し、グリセロール中で保存し、すでに、遺伝子導入したシロイヌナズナ培養細胞を 1,019 種類作製した（図1-2）。1 コンストラクトにつき、20 系統の培養細胞を選抜するため、約 2 万系統の培養細胞を作出した。上記のハイスループットな培養細胞の超低温保存を同時に行って、培養細胞を凍結保存した。

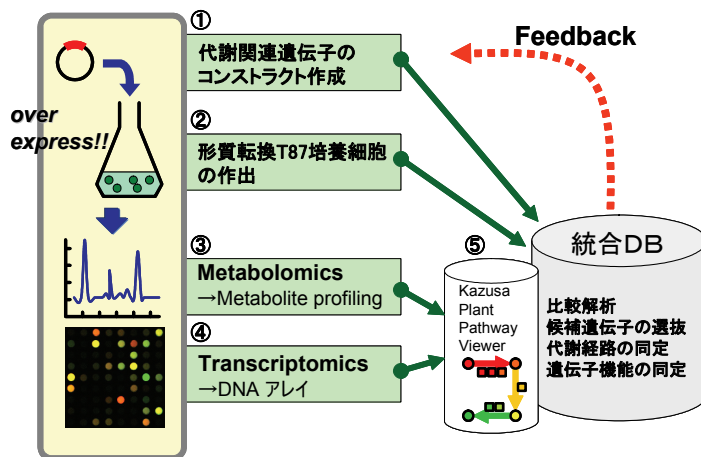


図1-2 物質生産プロジェクト NEDO 基盤研究チームの研究の流れ

## ii) 遺伝子導入細胞系統リソースの評価

作製した遺伝子導入細胞系統において、遺伝子導入がどのような効果を及ぼしているのかを評価するために、凍結保存前後の培養細胞の遺伝子発現および代謝産物の蓄積に与える影響を調べた。

### 「平成 14 年度～17 年度」

独立に凍結保存を行った 3 系統で、凍結前の細胞と凍結保存後に 4 回継代した後の細胞を、アジレント社のシロイヌナズナマイクロアレイ(22k)により比較した。2 倍以上の変動が見られた遺伝子は、各 248, 254, 345 個であり、非凍結保存細胞による 2 回の繰り返し実験 (52, 70 個) よりも変動が大きかった。また、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いたメタボローム比較では、凍結保存前後の細胞で少数の代謝産物に変動が見られた。以上の結果から、超低温保存法では何らかの遺伝子発現変動およびそれに伴う代謝産物の変化が生じていることが判明したが、これらの知見を考慮することにより、凍結保存細胞を用いた解析結果を評価することが可能であることが判明した。我々の遺伝子導入細胞のリソース整備は、遺伝子の過剰発現系であるので、今回、超低温保存による遺伝子・代謝物の変動は、より大きな変動を引き起こすことが予想されるので、超低温保存で経変動する範囲を超えた遺伝子・代謝物の変動を遺伝子導入による効果として評価する。

転写因子 PAP-1D の過剰発現細胞株を作製し、遺伝子導入によって形質転換細胞の表現型を変化させ、遺伝子発現および代謝産物の変化を伴うことを確認した。具体的には、PAP-1D 過剰発

現培養細胞では、野生型ではほとんど検出されない cyanidin 配糖体が蓄積しており、その他の代謝系の物質には目立った変化は見られなかった。22K Agilent アレイを用いたトランスクリプトーム解析では、アントシアニン生合成経路の下流にある遺伝子および、修飾転移酵素（糖転移酵素、メチル基転移酵素）などいくつかの遺伝子の発現が増加していた。以上の結果から、T87 培養細胞を用いた解析では、過剰発現植物体には見られなかった代謝産物、遺伝子発現が確認され、本研究プロジェクトのワークフローが機能することが立証された。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

遺伝子導入リソースを活用してグルコシノレート合成、カロテノイド合成の解析を行い、これらは論文として発表した。

### iii) ネットワーク解析を用いた遺伝子・代謝物の相関解析

#### 「平成 14 年度～17 年度」

遺伝子間、代謝産物間の相互関係や制御関係を明らかにするために、すでに得られている大量のデータをもとに、相関関係を指標にネットワーク解析を始めた。モデル植物での解析結果が、他の工業原材料生産と密接に関係する植物の解析に有益な情報となることが期待される。具体的には、バイオ組合からの再委託先の東京工業大学太田研究室から、公開しているシロイヌナズナマイクロアレイデータ（700 以上）を用いて、22,591 遺伝子対の相関係数を計算した。そして、相関係数 0.6 以上でのそれぞれの代謝レベルの関係を解析した。ネットワークソフト Pajek を用いて、視覚的にそれぞれの関係を描写することにも成功した。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

公開されているシロイヌナズナマイクロアレイデータと本研究で得られたデータを統合して、階層的クラスタリングや新たなアルゴリズムを開発するなどして遺伝子モジュール化を検索し、データベース化した。これらはプロジェクト内で公開し、その後、一般にも公開した。これらの成果は論文として投稿した。

## C. 物質生産系における調節遺伝子等の機能解析

異種植物間でのプロモーターの発現制御の共通点と相違点を比較ゲノムの手法を用いて解析するため、シロイヌナズナのプロモーターがミヤコグサで機能するかどうかを検討した。平成 14 年度から 17 年度は、シロイヌナズナのゲノム DNA を保持する TAC クローンを選び、アグロバクテリウムを介して、シロイヌナズナゲノム配列を導入したミヤコグサ形質転換体を作出した。その内 5 個に関しては、形質転換体が得られた。

#### 「平成 14 年度～17 年度」

物質生産系における遺伝子の発現調節に関わる研究として、細胞レベルでの遺伝子発現を網羅的に解析する手法で物質生産系における調節遺伝子等の機能解析を行った。具体的には、植物組織切片から細胞（群）を取り出す技術（レーザーキャプチャー法）を利用して、リグニンが蓄積している細胞と蓄積していない細胞を 22K Agilent アレイを用いた遺伝子発現を比較した。その結果、リグニン生合成経路に関与する遺伝子の発現を同時に観測でき、それらの上流のプロモーターが同じシス因子を有しており、同じ調節下に制御されていることが示された。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

キリン HD(旧海洋バイオ研究所)との共同研究において、カロテノイド合成に関わる遺伝子を多重連結し、総数 21 種類のベクターの作製に成功した。これらの多重連結ベクターを用いて、組換

え体細胞系統および組換え体植物系統を作製した。東洋紡のヒアルロン酸生合成に関与する 3 種の遺伝子について総数 24 種類の多重連結コンストラクトを作製した。常磐植物化学のグリチルリチンカロテノイド合成に関わる 3 つの関連遺伝子を多重連結し、総数 10 種類のベクターの作製に成功した。実用化研究グループがターゲットとしている代謝制御に関わる鍵遺伝子として、本プロジェクトで整備した遺伝子発現プロファイリングデータ、代謝産物プロファイリングデータをシステムズバイオロジーの手法により解析して、転写因子などをコードする遺伝子の特定を進め、平成 17 年度までに整備した代謝経路遺伝子過剰発現系統や新たに作製した系統を用いて、トランスクリプトーム、メタボローム解析を進めた。モデル植物の遺伝子を工業原材料植物で有効利用する基礎データを得る目的で、シロイヌナズナ、ミヤコグサ、トマトで、オルソログ遺伝子間の発現レベルを比較解析し、類似性や差異のある遺伝子群を見だし、遺伝子レベルでの違いを解析した。産総研(高木 G)が進めている CRES-T システムの中で、代謝に関連する転写因子を選び出し、DNA アレイデータ解析結果から総数 198 サンプルのメタボローム解析を行った。

#### D. 統合データベースの作成

本プロジェクトで整備したリソースの遺伝子解析、代謝物解析から得られるデータを統合するデータベースの作成を行った。以下に作成したデータベースについて内容を示す。

#### LIMS (Laboratory Information Management Systems) の構築

##### 「平成 14 年度～17 年度」

本研究開発によって得られた膨大な形質転換シロイヌナズナ懸濁培養細胞 T87 株を遺伝子検索、コンストラクト作製、凍結保存など、リソース・データベースとして管理するために、LIMS (Laboratory Information Management Systems) を構築した。これにより、各作業が効率的且つスムーズに行うことができ、予想以上に、形質転換培養細胞のリソースの整備が進んだ。

##### 「平成 18 年度～21 年度」

継続的に利用して研究を進めた。

#### シロイヌナズナ統合データベース KATANA (<http://www.kazusa.or.jp/katana/>) の構築

モデル植物であるシロイヌナズナのデータベース・サービスは数多く提供されているが、情報収集に当たっては、各サイトにおける特有かつ複雑な検索システムを、それぞれ、理解して利用する必要がある。そこで、

##### 「平成 14 年度～17 年度」

公開データベースのデータを基に、同時検索が可能な統合データベース KATANA の構築を行った。KATANA では、遺伝子とタンパク質の配列、遺伝子ファミリー、アノテーション、パスウェイ、遺伝子発現プロファイル情報、ならびに、ジーン・オントロジー(GO)で定義されている分類名(GO\_term)の同時検索が可能である。また、現在、提供されているシロイヌナズナの GO データベースでは、あるシロイヌナズナ遺伝子に対応する GO\_term から、より簡易な言語で定義されている親の GO\_term を見出そうとする場合には、GO がもつ複雑なネットワークを閲覧する必要がある。この問題を解決するために、KATANA では、GO\_term に対して、任意の階層に位置する親の GO\_term を出力する機能も備えている。このように、KATANA は、本プロジェクトの遺伝子検索に重要な役割を果たした。

「平成 18 年度～21 年度」

プロジェクト内部で公開し、その後、論文として発表した。

### DAGViz (<http://www.kazusa.or.jp/dagviz/>) の構築

「平成 14 年度～17 年度」

機能未知の遺伝子の情報を効率的に行うために、本プロジェクトでは GO\_term を積極的に取り入れており、その際に、複雑な GO\_term を可視化するために DAGViz を開発した。GO\_term はツリー構造をなしているため、遺伝子に対応付けられている GO\_term だけではなく、ツリー構造の根に至るまでのパスを通して存在する上位（親）の GO\_term も閲覧していくことで、より詳細な遺伝子機能についての情報を得ることが可能であるので、その様子を DAGViz で可視化した。DAGViz では、微生物や動植物におけるモデル生物やタンパク質データなどの代表的な 32 個の GO データベースを統合し、かつ、複数の GO\_term に対するパスを同時出力し得るビューワーとブラウザ機能を備えている。

「平成 18 年度～21 年度」

プロジェクト内部で公開し、その後、論文として発表した。

### トランスクリプトームとメタボロームデータを統合する植物代謝パスウェイビューアー

#### Kappa-View ( <http://kpv.kazusa.or.jp/kappa-view/> ) の構築

「平成 14 年度～17 年度」

植物物質生産機能の解析のため、DNA アレイと代謝プロファイリングにより代謝の変化を比較し、代謝関連遺伝子の同定を行う過程で、DNA アレイと代謝プロファイリングを統合する Web ベースの植物代謝パスウェイビューアー Kappa-View の開発を行った。Kappa-View の主要な機能は、1) 代謝産物プロファイルデータと遺伝子発現プロファイルデータのデータベース化、2) 任意の実験間の代謝産物プロファイルデータと遺伝子発現プロファイルデータを植物代謝マップ上で同時に比較・表示である。代謝マップは、工業原材料物質の生産に主に関与する二次代謝経路を中心に、代謝経路間の連携を理解しやすいように作成した。代謝マップの描画形式は Scalable vector graphic (SVG) 形式を用いていた。SVG 形式の採用は、Web 上でプロファイルの変化を動的に色表示することを可能にした。また、より直感的に遺伝子発現及び代謝産物の変化を確認することを可能とするため、下層のマップグループにおける遺伝子発現及び代謝産物の変動を集計して表示するシステムなどを付加した。代謝マップの作成は TAIR の AraCyc と KEGG のデータもとにして作成し、植物に特徴的な経路の増強や重複する経路の削除などを行って、約 130 枚のマップに集約させた。また、各酵素反応に関与する遺伝子については、相同性の面から候補となる遺伝子の追加を行った。代謝マップの精度を高めるために、代謝マップの監修をバイオ組合からの再委託先の専門家に依頼した。具体的には、リグニン代謝は京大梅澤助教授、イソプレノイド代謝は東北大古山教授、カロテノイド代謝は海洋バイオテクノロジー研究所三沢室長、硫黄代謝、フラボノイド代謝及びグリコシノレート代謝は千葉大斉藤教授、脂肪酸代謝は東工大太田助教授、細胞壁関連の代謝は東北大西谷教授に監修を依頼した。

「平成 18 年度～21 年度」

プロジェクト内部で公開し、その後、論文として発表した。さらに機能を強化するために、毎年、更新して、最終的に KaPPA-View4 を完成させ、一般に公開した。KaPPA-View4 では、遺



伝子相関の表示、多種類植物間での比較、4 つまでの代謝地図の表示など多彩な機能を搭載している。また、初期バージョンに比べて代謝地図がかなり早く表示できる。KaPPA-View4 についてもプロジェクト終了後に論文として発表する予定である。

### 網羅的遺伝子発現プロファイリングのデータベースの構築

本研究開発によって得られた膨大なアレイデータは、

#### 「平成 14 年度～17 年度」

アジレントテクノロジー（旧シリコンジェネティクス社）の Signet（旧 GeNet）に蓄積しており、プロジェクト内での公開を行った。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

KaPPA-View システムを用いて、プロジェクト内で公開した。これらはプロジェクト終了後に一般公開する。

### マメ科植物等の代謝化合物データベースの構築

#### 「平成 14 年度～17 年度」

KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) や AraCyc 等の公開データベース、Dictionary of Natural Products や Phytochemical Dictionary of the Leguminosae 等の成書の他、各種原著論文からシロイヌナズナおよびマメ科植物に見出される代謝化合物を検索し、約 1,500 個の化合物をリストアップした。これらの化合物について ID 番号、名称、別名、組成式、分子量、CAS ID、KEGG ID 等の情報を盛込んだリストを作成した。マメ科植物に見出される化合物（主として二次代謝化合物）については文献情報を付け加えた。さらに、これらの化合物を分類し、マメ科植物に特徴的なイソフラボノイド等を含む化合物の代謝経路を推定して、代謝地図を作成した。化学構造が明らかな化合物については、化学構造式描画ソフト ChemDraw を用いて構造式を描画した。これらの情報を統合し、マメ科植物の代謝化合物の名称から構造式、代謝地図および文献情報を検索できるデータベースを作成した。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

これらのデータは KaPPA-View の機能の一部として組み込んだ。

### その他のデータベースの構築

#### 「平成 18 年度～21 年度」

トランスクリプトーム、メタボロームデータベースの作成、オミクスデータ解析のためのソフト開発を行った。メタボロームデータ管理のシステムとして、分析データ管理システム (AIDA) を構築した。メタボロームデータベースの一部として、標準代謝物質データベース (DS standard,) および、分析結果のデータベース (MassBase) を構築した。LC-MS ピーク解析ソフト BulkMSGet、GC-MS ピーク解析ソフト FragmentAlignBatch を開発した。標品として所有しているフラボノイド化合物の LC-FT-ICR-MS スペクトルの測定を positive, negative mode の両方で行い、MS/MS スペクトルにおけるフラグメンテーションの帰属を行い、MS-MS Fragment Viewer を開発した。

## (2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)

### A. 窒素化合物代謝経路に関わる生体成分分析

「平成 14 年度～17 年度」

実用作物での物質生産を目的とした際、できる限り実栽培に近い条件での解析が行われることが望ましく、シロイヌナズナを用いて、光独立栄養条件下で生育をそろえる栽培ノウハウを確立した。この方法に従って、シロイヌナズナロゼット葉の日周 (1 日 5 点)、生育ステージ (初期、中期、後期) ごとのアミノ酸含量を測定した (n=3)。アミノ酸含量は日周で変化し、また、生育ステージでも変化することがわかった (図 2-1)。

「平成 18 年度」

作出した形質転換体の生体成分分析を実施した。また植物ホルモンのうち、アミノ酸生合成制御に関与すると思われるサイトカイニン処理によるアミノ酸含量変化を調べた。遺伝子機能と合わせた結果・考察に関して項目 C/D の成果として記載した。

### B. 窒素化合物代謝経路の酵素・遺伝子の発現解析

「平成 14 年度～17 年度」

上記項目の栽培方法に従って、シロイヌナズナロゼット葉の日周期 (5 点)、生育ステージ (初期、中期) ごとの網羅的遺伝子発現解析データ (n=4) を Gene Chip を用いて取得した。多くの遺伝子が日周に応じて変動することを明らかにした。この結果からメタボローム解析、トランスクリプトーム解析において厳密な植物の生育ステージと日周時間の管理が重要であることを示した。

「平成 18 年度」

シンクが発達した生育後期におけるロゼット葉の遺伝子発現データを取得した。これまで取得した生育初期から後期までの発現解析から、アミノ酸含量調節に関わる因子としてグルタミン酸合成酵素 (*GLU1*)、アスパラギン合成酵素 (*ASN2*)、アミノ酸トランスポーター (*AAP*) の発現量が生育ステージに応じて変化することが判った (図 2-2)。アミノ酸含量変化に伴い、生合成酵素遺伝子が減少し、輸送系遺伝子が増加したことから、これらの変動が生育ステージに伴うアミノ酸含量変化の要因となっている可能性が考えられた。

### C. 窒素化合物生代謝経路の解析のための形質転換体の作出

「平成 14 年度～17 年度」

Glu, Gln 合成・代謝経路酵素代謝マップ 図 2-3 における主要酵素遺伝子のプロモーター領域にレポーター遺伝子を用いた解析を行うための形質転換体を作成した。レポーターには組織特異性解析に適した *GUS* 遺伝子および環境応答解析に適した *LUC* 遺伝子を用いた。いずれの形質転換体においても安定的に発現が認められる系統を選抜・世代更新を行ない、解析に着手した。

また、研究項目 A/B/D の結果からアミノ酸含量制御において重要と思われる候補因子を絞り込み、そのうちグルタミン酸グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ (*GGAT*)、グルタミン合成酵素 (*GLU*)、アミノ酸トランスポーター (*AAP*)、MYB 型転写因子の形質転換体・発現抑制株を作成した。*GGAT1* 過剰発現株は Ser/Gly 含量が *GGAT1* 遺伝子発現量と高い相関をもって高度に蓄積することがわかった。

### 「平成 18 年度」

安定的にレポーターの発現が確認できた T2-T3 世代の植物体を用いて発現部位の解析とシグナルに対する応答を解析した。組織特異的な発現解析の結果から、複数重複して存在する遺伝子のうち、着目した葉組織において主に機能している因子の絞込みを行なった。また、主要な窒素シグナルと植物ホルモンによる応答を調べた結果、Glu/Gln 代謝に関与する遺伝子の多くが種々の環境刺激に対して柔軟に応答して発現量を変化させることが示唆された（表 2-1）。また、ここで作製したアミノ酸生合成系発現解析用の形質転換体ミニ・ライブラリーは、より詳細な発現変化や様々なシグナル応答等の解析に有用と判断できた。

## D. 窒素化合物生産に関わる遺伝子発現プロファイリング、代謝産物プロファイリング

### 「平成 14 年度～17 年度」

生育中期までの生体成分分析と網羅的遺伝子発現解析の結果から葉内の Glu/Gln/Asp/Asn といったアミノ酸生合成能の強化が収量増加に繋がる可能性を示す結果を得た。また代謝物・遺伝子機能解析から得られた情報を、かずさ DNA 研究所作成の統合データベース作成に提供した。

### 「平成 18 年度」

項目 A/B による生育後期までの解析結果および項目 C の環境応答の解析結果にもとづき、アミノ酸生合成制御に関与するシグナル経路の探索を実施した。生育ステージの進行に伴うアミノ酸含量の減少と同調してサイトカイニン（植物ホルモンの一種）誘導遺伝子 *ARR* の発現量が減少すること（図 2-4）、サイトカイニンによって *GLN1-1*、*GLN1-5*、*GDH3* の遺伝子発現量が増加すること（表 2-1）、切り取り葉にサイトカイニン処理をすることでアミノ酸含量が変化すること、を見出し植物ホルモンのアミノ酸含量制御への関与が示唆された。

作出した過剰発現株の詳細解析を実施し、その効果を検証した。*GGAT1* 過剰発現株は GC-TOF-MS 分析からアミノレブリン酸を蓄積することを見出し、同時に未同定の複数の生体成分が顕著に蓄積していることが示唆された（かずさ DNA 研究所との共同研究）。さらに代謝物一斉解析から有機酸やグルタチオン（図 2-5）などが蓄積されることを明らかにした。これらの結果から *GGAT1* がアミノ酸代謝および周辺代謝系にも関与している重要因子であることが明らかになった。

*GLU1* 過剰発現株は生育ステージ初期における葉の総アミノ酸含量が増加し、さらに種子あたりの重量が増大することが明らかになった（図 2-6）。これらの結果から *GLU1* は生育初期段階におけるアミノ酸生合成能の根幹を担うとともに、その機能が収量へと直接連動している可能性を示した。

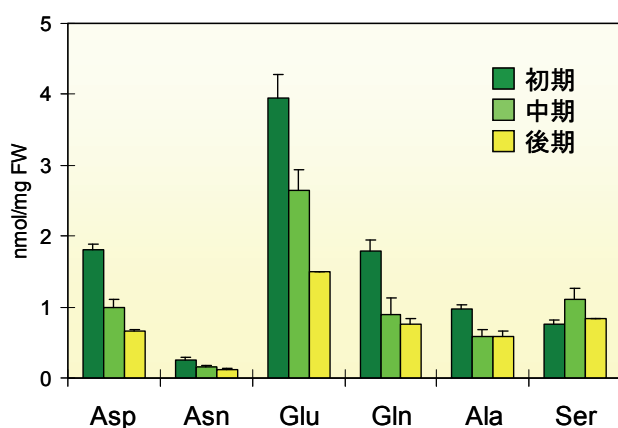


図 2-1 生育ステージに応じた葉のアミノ酸含量の変動

生育ステージに応じて Asp/Glu/Gln などの主要なアミノ酸含量が低下した。葉においてアミノ酸生合成能が低下し、子実への輸送が促進されたことが予想された。

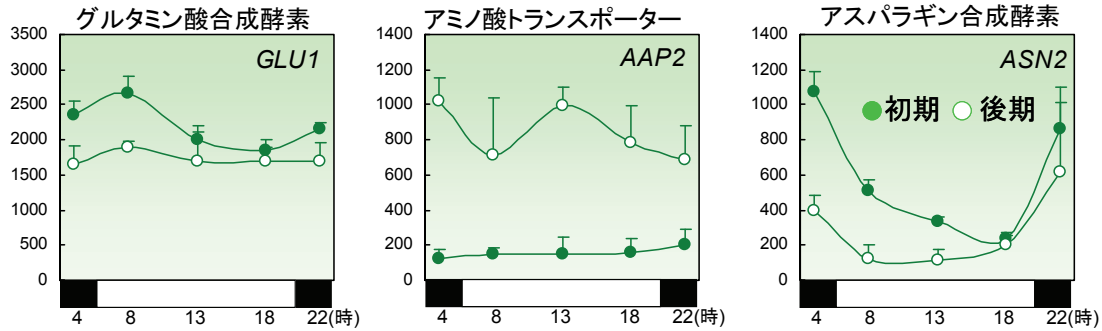


図2-2 生育ステージ・日周期における遺伝子発現解析  
 生育ステージ3点、日周5点、における網羅的遺伝子発現解析を実施した。  
 アミノ酸含量制御にかかわる因子として、アミノ酸合成酵素がおよび輸送体の発現  
 量が変わることが判った。

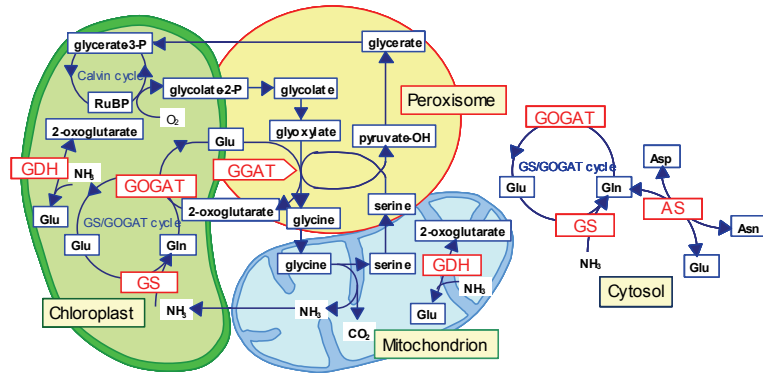


図2-3 主要な Glu/Gln 合成代謝経路と酵素

Luciferase Reporter Assay

genes	treatment									
	NO3	NH4	Glu	Gln	Light	Dark	tZ	IAA	ABA	
GLN1-1	3.5	7.2	4.2	0.9	5.6	1.3	3.6	0.4	0.5	
GLN1-2	1.3	1.1	1.1	1.6	1.0	1.1	0.7	0.7	0.9	
GLN1-3	2.8	3.2	1.4	1.7	3.0	1.2	0.9	1.0	0.6	
GLN1-4	1.8	1.8	1.6	1.1	1.6	1.3	0.8	1.0	1.1	
GLN1-5	3.9	2.3	1.2	0.8	2.0	0.8	2.1	0.6	0.5	
GLN2	1.1	0.6	1.5	1.1	1.6	1.1	0.7	0.5	0.5	
GDH1	1.3	2.7	1.9	2.1	0.8	8.7	0.5	0.2	0.4	
GDH2	1.7	6.3	2.0	5.9	1.5	24.7	0.7	0.7	0.7	
GDH3	7.5	3.8	1.6	0.9	2.7	1.1	1.7	0.7	0.6	
ASN1	1.6	1.1	1.9	23.1	1.1	459.6	0.6	2.2	0.4	
ASN2	0.6	0.1	0.5	1.6	0.7	0.7	0.5	0.6	0.7	
GLU1(Fd-GOGAT)	1.9	0.9	1.5	2.5	1.9	0.6	0.5	0.5	0.8	
NADH-GOGAT	1.7	1.4	1.5	2.1	2.0	1.9	0.7	0.6	0.9	
GAD1	1.5	1.5	1.5	1.1	1.2	0.9	0.7	0.8	0.9	

表2-1 窒素、アミノ酸、光、植物ホルモン刺激に対するアミノ酸合成系酵素遺伝子発現解析

種々の刺激に対して柔軟に発現量を変化させ、環境適応のためにアミノ酸含量を調整している可能性が示された。

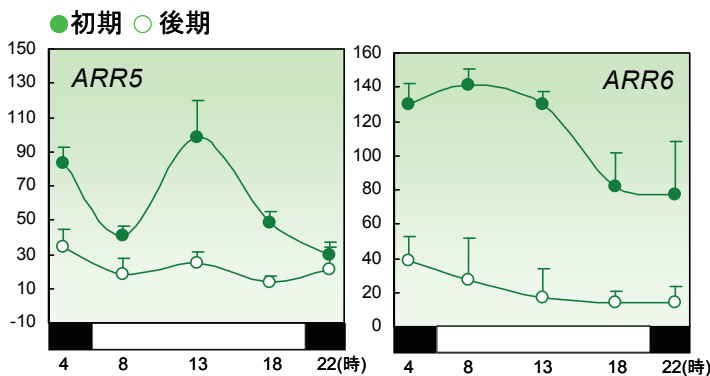


図2-4 ステージ変化に伴う遺伝子発現変化  
 生育の進行に伴いサイトカニン誘導遺伝子(ARR5/ARR6)の発現が減少した

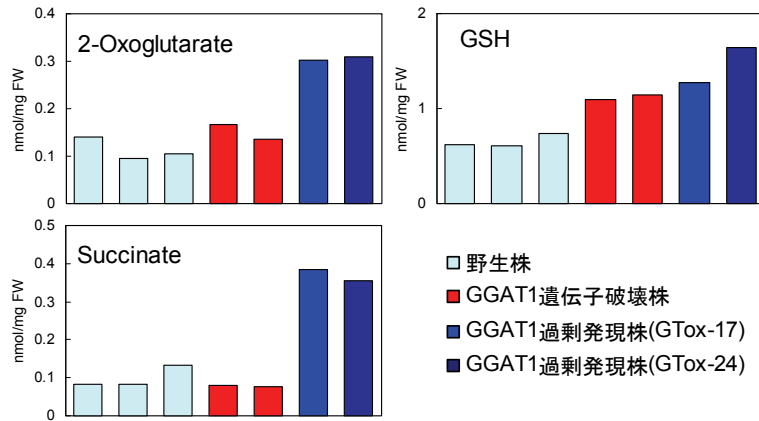


図2-5 GGAT1 過剰発現株の代謝物解析  
Ser Gly といったアミノ酸のほかに有機酸類やグルタチオンが蓄積した

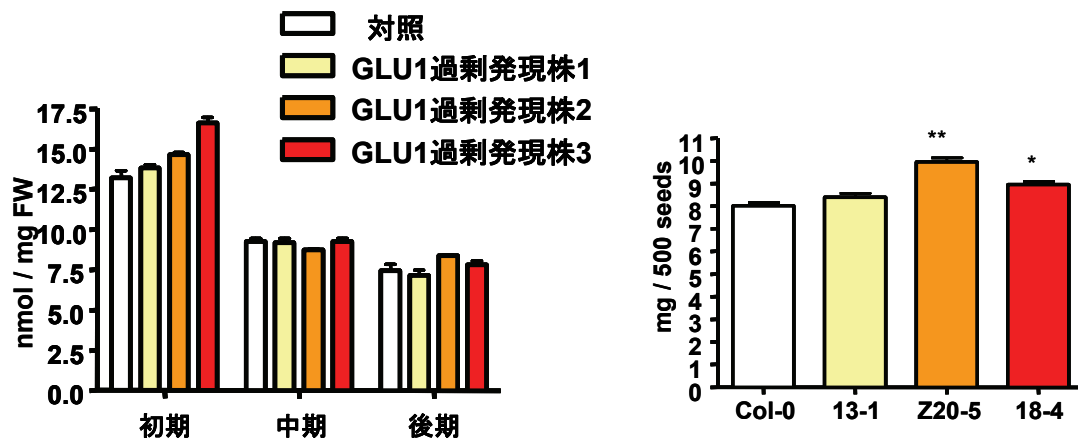


図2-6 GLU1 過剰発現株の解析

GLU1 過剰発現株は生育初期において総アミノ含量が増加した(左)。さらに過剰発現株では種子あたりの重量が増加した

### (3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)

#### A. 基幹代謝系操作・改良技術開発

##### A-1. 無傷オルガネラの単離法の確立および葉緑体遺伝子発現における核様体構造の解析

(奈良先端科学技術大学院大学、RITE)

「平成 14 年度～17 年度」

#### 1) シロイヌナズナからの無傷葉緑体単離法の確立

葉緑体は、有用物質生産系で基幹代謝を掌るモジュール（オルガネラ）である。この基幹代謝を制御するためには、葉緑体での代謝産物および代謝酵素の全同定を行うことにより代謝の全貌を把握する必要がある。本研究では、代謝産物を網羅（メタボローム）、代謝酵素を網羅（プロテオミクス）するために必要な葉緑体の植物生葉からの単離法の確立を行った。

無傷オルガネラの単離法は、モデル植物であるシロイヌナズナおよびコムギ生葉を葉緑体と同浸透圧をもつ溶液で破碎し、細胞内オルガネラ（葉緑体、ミトコンドリア、ペルオキシゾームなど）を無傷のまま維持する、つぎに、破碎液中に含まれる無傷の各オルガネラをそれぞれの密度にしたがって遠心分画する、この2つの段階に分けられる。本研究では、破碎液中の浸透圧を葉緑体と同一するために、ソルビトール濃度を 0.33M に設定した。各オルガネラを密度分画するための密度媒体にパーコール溶液を用い、パーコール濃度を変えることにより、葉緑体の単離を行った。その結果、無傷葉緑体は、40%と 70%パーコール濃度溶液間層に濃縮単離された。得られた無傷葉緑体の光合成活性の評価を、クロロフィル蛍光測定による光化学系 II(PSII)の量子収率 $\Phi$ (PSII)解析により行った。その結果、 $\Phi$ (PSII)は、両植物生葉が示す $\Phi$ (PSII)の光強度依存性を示し、その値は生葉の 80~90%の値を示した。これは、単離葉緑体が非常に生葉に近い活性を持ち、光合成を行っていることを示す。

以上の結果は、本研究で単離した葉緑体の代謝活動が正常であることを意味しており、メタボロームおよびプロテオーム解析に供することができる無傷葉緑体を単離する方法が確立できたことを示している。

#### 2) 葉緑体遺伝子発現における核様体構造の解析

核様体構造を評価する方法の一つに DNaseI 感受性試験があるが、シロイヌナズナ葉緑体の核様体構造は、核クロマチン構造と比較すると DNaseI に対する感受性が非常に高く、また、内在性のヌクレアーゼにより消化されやすいため、適度な消化状態の DNA を調製することが困難であった。そこで、条件検討を行い、適度な消化状態の DNA を調製し、*psbD* 遺伝子領域について重点的に解析した。

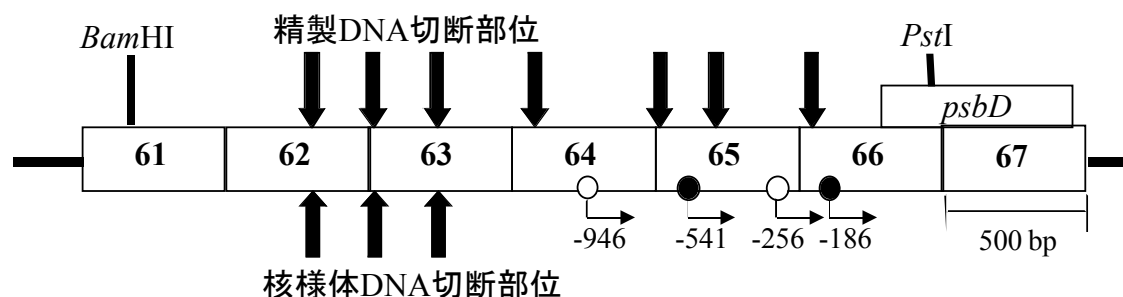


図 3-1 *psbD* 遺伝子プロモーター領域周辺の核様体構造

*psbD* 遺伝子を含む 500 bp の連続する 6 種類 (AP62~AP67) をプローブとしてサザン解析を行った。また、完全に精製した葉緑体 DNA を用いた DNaseI 感受性試験も同時に行った。すべての領域で DNaseI の配列特異的な切断に由来すると思われるシグナルが認められたが、核様体 DNA では、シグナルが消失する領域が存在した。これらシグナルについて、おおよその泳動距離から推測した葉緑体 DNA 上での位置を図 3-1 に (↓) で示す。これらの結果から、*psbD* 遺伝子プロモーター周辺で領域によって核様体の凝集度が異なることが明らかとなった。

## A-2. 葉緑体遺伝子発現の転写過程での制御

(京都府立大学、京都大学 RI 総合センター、関西学院大学)

「平成 14 年度~17 年度」

葉緑体の転写過程を制御する基本原理を理解し、それらを活用した遺伝子発現制御技術の開発を目指した。

### 1) 葉緑体転写因子遺伝子の取得

シロイヌナズナのゲノム情報を基に選抜した候補遺伝子 30 種について、その細胞内局在を解析した。その結果、葉緑体に局在し、転写過程の制御に関わっている可能性のある遺伝子を 11 種同定した。また、PEP に相互作用する制御因子の取得を目指し、シグマ因子を含まない PEP コア画分の調製と、その LC-MS/MS によるプロテオーム解析を行った。PEP コア画分の調製は世界で初めての成功例であり、今後、転写因子の機能解析のための強力な手段となる。

### 2) 葉緑体 RNA ポリメラーゼの機能解析

分子遺伝学的研究から、NEP の 1 種である RpoTmp が、発芽後初期段階での葉緑体発達に関わっていることを明らかにした。また、先述した PEP コア画分を用いた *in vitro* 転写実験で、SIG1 の再構成に成功した。

### 3) 転写因子の機能解析

#### (i) 葉緑体シグマ因子の機能解析

シロイヌナズナに存在する 6 種のシグマ因子のうち 4 種 (Sig2, Sig4, Sig5, Sig6) について分子遺伝学的解析を行い、葉緑体分化初期過程で働く Sig6、Sig5 は光応答プロモーター *psbD* LRP を認識する特殊なシグマ因子であること、SIG4 はマイナーであるが恒常的にはたらく一般的シグマ因子であると考えられることなどを明らかにした。さらに、二重変異体の解析から、Sig2 と Sig6 が葉緑体分化初期過程を支える重要な因子であることを解明した。さらに、*in vivo* 相補性試験により、Sig5 以外のシグマ因子のプロモーター認識に共通性があることを確認した。

また、Sig5 については、核ゲノムへの遺伝子導入による Sig5 過剰発現体と、葉緑体形質転換による葉緑体内 Sig5 過剰発現体を作製し、*psbD* LRP の光活性化について比較した。その結果、Sig5 の葉緑体への輸送過程が葉緑体レドックスによって制御されている可能性を示唆する結果を得ている。これは、葉緑体遺伝子発現が転写因子の葉緑体輸送の段階で制御されている可能性を示す初めての成果であり、今後、重点的に研究を進めていく。

#### (ii) 葉緑体転写過程で働く制御因子の機能解析

1) の研究で同定した新規の制御因子 7 種について、ノックアウト変異体や過剰発現体を作製し、機能解析に取り組んだ。その結果、PEP 制御に関わっている SAP ドメイン核様体タンパク質 pTAC3、シグマ因子結合タンパク質の候補 SIB1、リボソームの成熟過程に必要な小分子量 GTP 結合タンパク質 ObgA1, Era、葉緑体核様体に局在し葉緑体分化に関わる SWIB タンパク質、ス

トレスに応答した葉緑体  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルに関係する CAS、タンパク質脱リン酸酵素 AP2C1 などの機能を解析した。

#### 4) 葉緑体転写因子を利用した発現制御技術の開発

葉緑体における遺伝子の発現制御技術の開発を目的に、葉緑体プロモーター機能を解析する新しい技術開発を行った。マーカーとしてルシフェラーゼを用い、*in vivo* 遺伝子発現モニター系を開発したほか、開発技術を用いて葉緑体プロモーター活性のサーカディアンリズム変動のリアルタイム測定に初めて成功した。また、これらの遺伝子発現制御技術を用いることで、グルタミン合成酵素(GS)を大量発現する葉緑体形質転換体の作製に成功した。代謝産物プロファイリングの結果、予想通りグルタミン量の増大が確認された。

一方、本研究では葉緑体の *psbD* 光応答プロモーター(*psbD*LRP)を特異的に認識するシグマ因子として Sig5 を同定している。そこで、*psbD*LRP の下流につないだ葉緑体組み換えタンパク質の発現レベルを人為的に制御する技術の開発に取り組んだ。まず、Sig5 の過剰発現によって *psbD*LRP の活性増大が起こることを確認し、続いて、Sig5 を核の 35SCaMV プロモーターから恒常的に発現させ、*gfp* 遺伝子を葉緑体の *psbD* LRP から発現させる葉緑体・核二重形質転換体を作製した。その結果、Sig5 発現量に依存し *gfp* 遺伝子の発現を mRNA レベルで増大できることを確認した。

「平成 18 年度～21 年度」

#### 1) 葉緑体遺伝子発現誘導系の開発

Sig5 を誘導的に発現させることで、*psbD* LRP 制御下の遺伝子発現を誘導的に活性化する技術開発をおこなった。まず、Dex 誘導プロモーターを使い、Sig5 の発現を大きく誘導することに成功した。しかし、予想に反して、葉緑体 *psbD*LRP の活性化は見られなかった。Sig5 以外の別因子の関与が示唆された。

#### 2) 葉緑体プロモーターのカタログ化

##### (i) 組織別

葉緑体 DNA マクロアレイ解析、ノザン解析を行い、各組織で特異的に働くプロモーターの同定・カタログ化を行った。種子の登熟初期過程では、まず *rpoB* および *rpoA* プロモーターが特異的に活性化され、引き続き、*accD* プロモーターが活性化されることが分かった。また、胚珠や蒴では、多くの葉緑体遺伝子発現が大きく減少する中、*accD*、*clpP* プロモーターが特異的に活性化されていることが分かった。*accD* プロモーターは、根でも構成的な発現をしていた。

##### (ii) ストレス応答

葉緑体 DNA マクロアレイを用い、低温、塩、高浸透圧、エリシター、傷害などの処理に対する葉緑体遺伝子の網羅的発現解析を行った。その結果、低温、塩、高浸透圧に対して、唯一 *psbD* LRP が活性化されることを見いだした。一方、傷害に対しては、*rrn5S* の発現が特異的に抑制されることを明らかにした。

### A-3. 葉緑体遺伝子発現の翻訳過程での制御 (名古屋市立大学、名古屋大学)

#### 1) 葉緑体遺伝子発現の翻訳過程での制御による有用タンパク質の効率的生産に関する研究開発

##### (i) タバコ葉緑体翻訳系の *in vitro* 解析



#### 「平成 14 年度～17 年度」

- タバコ葉緑体 *in vitro* 翻訳系を改良し、GFP や蛍光標識アミノ酸を利用した非 RI アッセイ法を確立した。翻訳系調製法の改変により、翻訳活性が従来の系に比べて約 100 倍に高まり、短時間で高感度の翻訳効率の測定が可能となった。
- 改良したタバコ葉緑体 *in vitro* 翻訳系を用いて、十数種の葉緑体 mRNA の 5'非翻訳領域を比較し、翻訳効率の高い葉緑体 mRNA を選出した。高い翻訳効率を有する 5'非翻訳領域シス配列は、*psbA*, *rbcL*, *atpB*, *rps2* 由来のものであった。このうち、SD 様配列を持たない *psbA* の場合、5'非翻訳領域に加えて、翻訳開始点下流の配列も翻訳効率に影響を与えた。
- 組織特異的な翻訳調節シス配列があるかどうかについて、タバコ葉緑体 DNA マイクロアレイを用いて、ゲノムワイドに探索した結果、数種類のシス配列の候補を見いだした。
- タバコとエンドウの RNA エディティング部位を網羅的に解析し、タバコでは 36 ヶ所、エンドウでは、27 ヶ所のエディティング部位があることを明らかにした。また、*in vitro* RNA エディティング系を用いて、*psbE*, *petB*, *ndhF*, *rpoB* の RNA エディティングに必要なシス配列がエディティング部位の上流 5～20 塩基にあることを同定した。
- タバコ葉緑体 *in vitro* RNA エディティング系を改良し、蛍光ヌクレオチドと自動シーケンサーを利用した非 RI アッセイ法を確立した。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

- 有用遺伝子のコード領域設計のため、9 種類のアミノ酸（アラニン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、フェニルアラニン、チロシン、ヒスチジン、アルギニン、ロイシン）の同義コドン間の翻訳効率を実験的に解析し、フェニルアラニン、チロシン、アルギニンの同義コドンでは使用頻度と翻訳効率が大きく異なっていることを明らかにした。また、これらの結果をもとに、コドン選択用ソフトを試作した。
- 高い翻訳効率を有する 5'非翻訳領域のうち、タバコ葉緑体で恒常的発現をする *rps2* mRNA と光誘導的発現する *psbA* mRNA について、翻訳シス配列に変異を導入し、翻訳効率を測定した。両 mRNA の翻訳効率は高いので低くする場合どの領域を変異すればよいかを明らかにした。
- 5'非翻訳領域とコード領域の組み合わせが翻訳効率に与える影響について、*psbA* 5'非翻訳領域と動物由来のコード領域について、*in vitro* での解析を行った。コード領域の 5'末端より 30 コドンの領域で強い翻訳が見られ、この領域が翻訳効率に大きく関与することを見出した。
- 終止コドンのリードスルーやリボソームのスタックを防いで、効率的な翻訳をさせる有効な配列を探索するため、終止コドンおよびその下流配列の特徴を抽出した。得られた特徴を基に各種終止コドン・下流領域を設計し、翻訳効率を測定したところ若干の変化が見られた。

#### (ii) トランス因子の解析

- *psbE*, *petB*, *ndhF*, *rpoB* の RNA エディティングに関わるトランス因子を、UV クロスリンク法を用いて検出し、それぞれのエディティング部位には分子量の異なるトランス因子が結合していることを明らかにした。

#### A-4. 代謝系のメタボローム解析（大阪大学）

メタボロミクスの基本システム（図3-2）の開発を実施した。

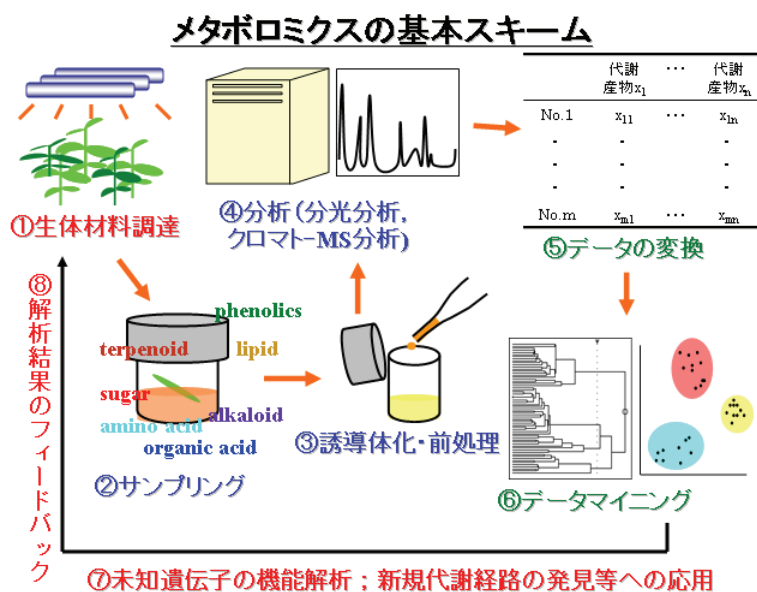


図3-2 メタボロミクスの基本スキーム

### 1) モノリス型キャピラリーHPLC カラムシステムを分離手段としたマイクロ HPLC システムの構築

「平成14年度～17年度」

分離部は、ナノフローポンプにモノリスキャピラリーカラムを連結したクロマトシステムを構築した。検出は、ESIプローブを装着したイオントラップ型質量分析計（ブルッカーダルトニクス社製 Esquire3000）を連結した。従来型 LC-MS システムの100倍超の高感度システムの構築を完了した。

### 2) 微量サンプルの分析系への注入方法の開発

「平成14年度～17年度」

希釈サンプル溶液を ODS 逆相担体に吸着濃縮し、ナノ HPLC に導入するシステムを開発した。当該方法での濃縮が困難なサンプルについては、ナノインジェクター（バルコ社製）を用いて、手動で、インジェクションする方法を新たに開発した。現在、50nl のサンプル容量を安定に注入可能となった。

### 3) 微量高感度・高解像度の定性・定量検出系の開発

「平成14年度～17年度」

上記のモノリスキャピラリーナノ LC-MS/MS システムを基本として、カラムの検討、イオン化方法の検討、MS/MS 解析方法の検討を行い、主として基幹中心代謝化合物（アミノ酸、含窒素化合物、有機酸等）を中心とした定量分析システムを開発した。特に、葉緑体代謝において重要な位置をしめる含窒素化合物群を対象として、 $^{15}\text{N}$  安定同位体希釈定量システムを開発し、不安定化合物の比較相対定量ならびに、含窒素代謝物のターンオーバー解析が可能となった。（図3-3）

### In vivo <sup>15</sup>N-同位体標識によるプロファイリング

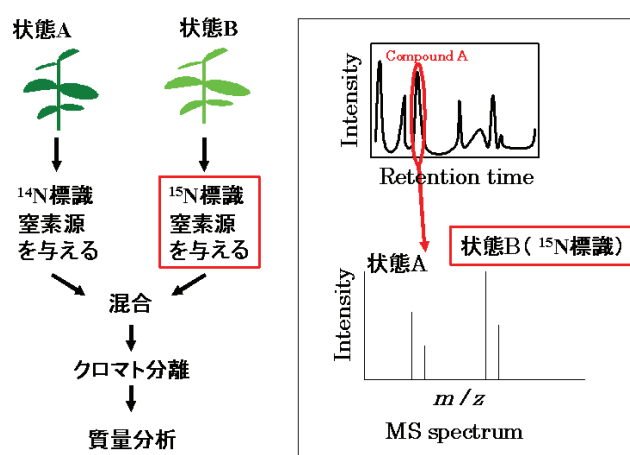


図3-3 *In vivo*<sup>15</sup>N-同位体標識によるプロファイリング

#### 4) GC-MS を用いた親水性低分子代謝物を対象としたメタボロミクス系の開発

「平成14年度～17年度」

一次代謝物質に焦点を絞り、親水性低分子化合物を対象としたプロファイリングシステムを開発した。サンプリングは、生体材料を破碎後、クロロフォルム-メタノール-水の分配システムで水溶性成分を抽出濃縮した。誘導体化条件を検討した結果、トリメチルシリル化および、メトキシ化の併用により、糖、アミノ酸類、有機酸、リン酸化合物のすべてを網羅することに成功した。誘導体化物の経時安定性を評価した結果、誘導体化後、10時間以内にGC-MS分析をすべきとの結論を得た。GC-MS分析のスキームを図3-3に示す。

#### 5) CE-MS を用いたイオン性低分子代謝物を対象としたメタボロミクス系の開発

「平成18年度～21年度」

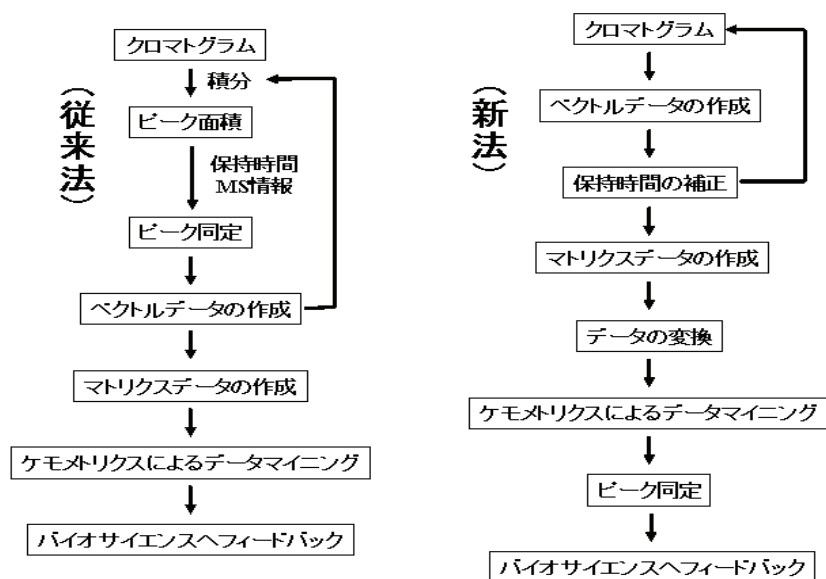
一次代謝産物の中にはGC/MSで分析困難なイオン性代謝物が含まれる。特に、重要かつ分析困難な陰イオン性代謝物を標的としてCE/MS分析系の開発を行った。従来の陰イオン性代謝物分析は、内面をプラス電荷でチャージした高分子で被覆したフューズドシリカキャピラリーを用いることが必須であったが、当該方法はコストがかかる上に不安定な分析系だった。問題解決のために陰イオン性官能基で内面を修飾したフューズドシリカキャピラリーカラムを用い、電圧印加時の極性を反転させ、電気浸透流を主たる駆動力とした全く新規な分析系を構築した。

#### 6) データマイニングシステムの開発

「平成14年度～17年度」

GC-MS分析によって得られた生データは、ケモメトリクスによるマイニング作業に供するために、しかるべき変換作業を実施し、標準化されたマトリクスデータセットに変換した。目的に応じて、大別して2種類のマイニング系を開発した。代謝物プロファイリングが主目的の場合は、GC-MSの結果からピーク同定を行い、ピークリストをあらかじめ作成し、「化合物名」を独立変数、「ピークエリア面積」を従属変数とするマトリクステーブルを作成した。メタボリックフィンガープリンティングが主目的の場合は、「保持時間インデックス」を独立変数、「ピークポイント値」を従属変数としたマトリクステーブルを作成した。得られたマトリクステーブルを種々の多変量解析系（主成分分析、階層的クラスター分析、自己組織化マッピング等）に供し、種々の解析に適した前処理法（データポイント補正、ベースライン補正、トランスフォーム、その他）を

最適化した (図 3-4)。



### データマイニングの新手法(福崎法)

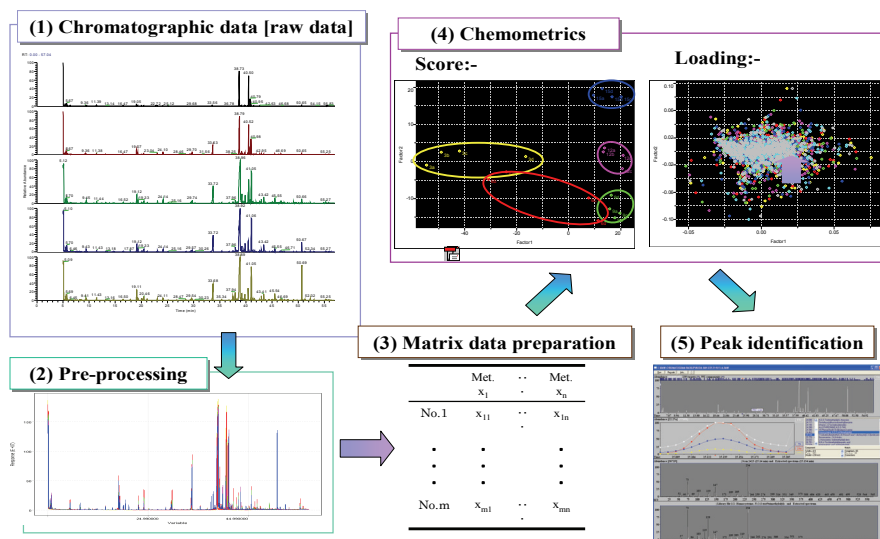


図 3-4 データマイニングの新手法

## 7) 植物ホルモン類の微量定量システムの開発

「平成 18 年度～21 年度」

植物ホルモンは、生体内で極微量しか存在せず、これまで観測困難な代謝物であった。例えばシロイヌナズナのロゼッタ葉から植物ホルモン類を一斉観測しようとする、数 100 枚のロゼッタ葉を材料とする必要があった。質量分析スプレイヤー一体型キャピラリーカラムを自作し、低拡散型ナノフロー LC/MS/MS システムを構築し、植物ホルモンを数 100 アトモル～数フェムトモルの絶対感度で観測することに成功した。本システムを用いることにより、シロイヌナズナのロゼッタ葉 1 枚を材料として植物ホルモンのプロファイリングが可能となった。

## B. 統合データベース構築

### B-1. 基幹代謝系関連遺伝子データベースの構築

(愛知学院大学、株式会社中電シーティーアイ、名古屋大学、名古屋市立大学)

#### 1) 葉緑体関連情報検索ポータルサイト (ChloroplastNet) の開発

「平成 14 年度～17 年度」

- シロイヌナズナの葉緑体関連遺伝子群のうち、1,775 種の遺伝子データを収集し、分類、整理した。また、これらの遺伝子群に関連する文献情報として約 1,200 の情報を収集、整理した。
- 上記遺伝子情報に関するデータをデータベース化するためのフォーマットとして、独自の XML 形式を定義した。また、収集した遺伝子データを XML 形式に変換するコンピュータツールを開発した。このツールを使用し、シロイヌナズナの葉緑体関連遺伝子群のデータを XML 形式に変換した。変換したデータは、Chloroplast Net (<http://Chloroplast.net>) を通して公開した。
- タバコ葉緑体 DNA マイクロアレイの基礎データを公開した。

「平成 18 年度～21 年度」

- 基幹代謝改変植物作出のため、葉緑体を中心とした物質生産経路に関する情報を収集整理し、公開した。

#### 2) サブプロジェクト研究成果共有システムの構築

「平成 14 年度～17 年度」

イントラネット系のデータベースシステムの、機能定義、画面構成、データフロー、システム構成、実装計画について設計した。本サブプロジェクトの研究者に統合データベースの理想像を聴取したところ、ネガティブデータや生データを含む各研究機関の情報を共有し、研究開発上のコミュニケーションを円滑にするシステムを期待する声が多かった。そこで、十分なセキュリティを確保しつつ、研究者間の情報共有を図れるシステムを志向して、本サブプロジェクトに参加する研究者間の閉じたメンバーで研究成果を速やかに共有できるシステムを考案し設計した。平成 16 年度に、プロトタイプを実装し、名古屋市立大学、名古屋大学、愛知学院大学、(株)中電シーティーアイ間で試験的に運用を開始した。このシステムの運用に関しては、研究成果の帰属、守秘契約などの契約行為を利用者相互に取り交わしておく必要がある。

#### 3) 光合成関連遺伝子コアプロモーター構造の解析

「平成 14 年度～17 年度」

タバコ光化学系成分をコードする核遺伝子約 50 種の転写開始点を決定し、コアプロモーターの *in silico* 解析を行い、その特徴を抽出し、独自の遺伝子予測プログラムの開発に着手した。

### B-2. 基幹代謝系のプロテオミクス (RITE、奈良先端科学技術大学院大学)

「平成 14 年度～17 年度」

#### 1) シロイヌナズナ葉緑体タンパク質のプロテオミクス

シロイヌナズナのゲノム情報より、シロイヌナズナ葉緑体には 2,000～3,000 種類のタンパク質が存在すると推定されている。これらを網羅的に同定し、葉緑体タンパク質の全体像を明らかにするために、シロイヌナズナより、無傷葉緑体を調製し、葉緑体タンパク質を二次元電気泳動により分離した。分離したタンパク質 (2,449 スポット) の約半数について、トリプシンによる *in-gel* 消化後、LC-MS/MS を用いた質量分析による同定を試み、356 種類のタンパク質を同定した。ま

た、二次元電気泳動による分離が困難であるタンパク質および同定不可能であった微量タンパク質に関して、抗 Rubisco 抗体による葉緑体ストロマ画分から Rubisco の除去、逆層クロマトグラフィーおよび一次元 SDS-PAGE によるタンパク質の分離、ショットガン法の併用により同定することを可能とした。これらの葉緑体タンパク質の調製・分離法の改良により、これまでに総計 550 種の葉緑体タンパク質を同定し、基幹代謝である光合成（カルビン回路および光合成電子伝達経路）関連タンパク質の同定をほぼ終了した。また、同定タンパク質の約 2 割が機能未知タンパク質であり（図 3-5）、約 2 割が TargetP および LumenP の細胞内局在予測プログラムにより葉緑体以外の細胞内局在を予測されるタンパク質であった（図 3-6）。この結果は、ゲノム情報だけでは、同定不可能である葉緑体タンパク質の同定に対して、葉緑体プロテオミクスが有効であることを示している。

### MAPMAN (Max Planck Institute) による、これまでに同定したシロイヌナズナ葉緑体タンパク質の機能分類

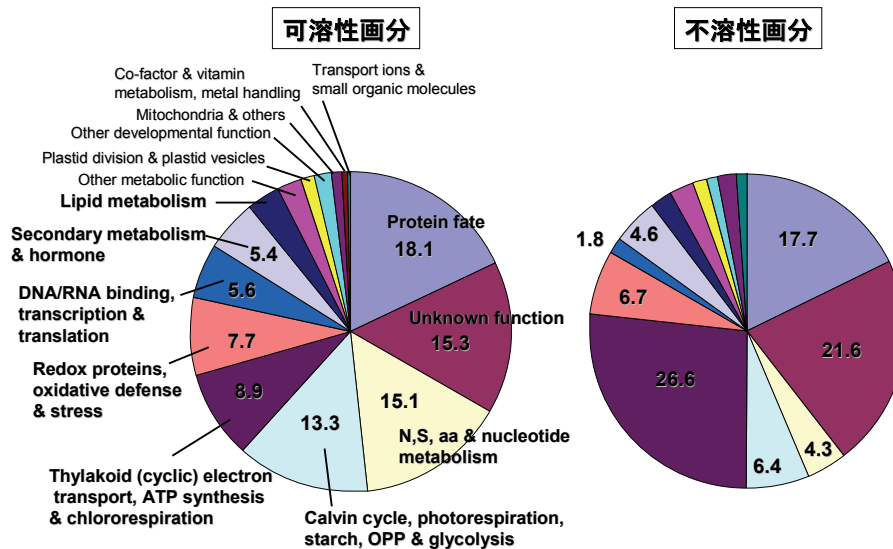
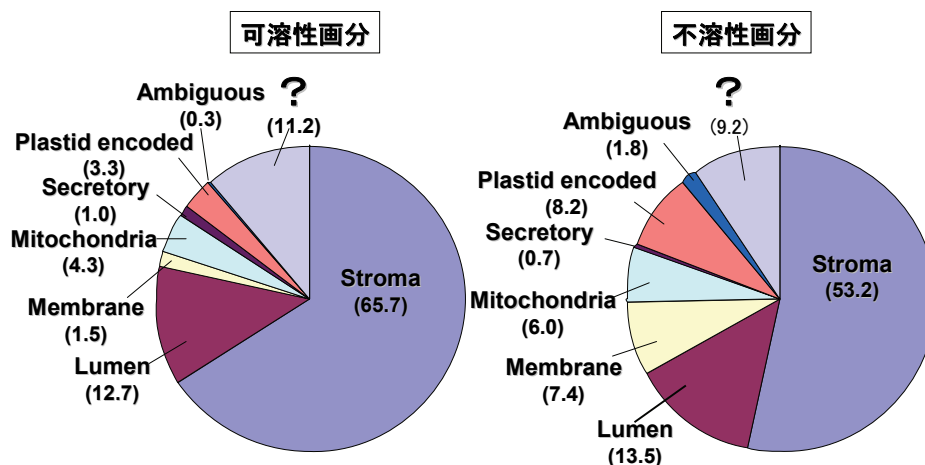


図1.シロイヌナズナ葉緑体タンパク質の機能分類

図 3-5 シロイヌナズナ葉緑体タンパク質の機能分類

## TargetP, LumenP, TMHMM によるこれまでに同定した シロイヌナズナ葉緑体タンパク質の細胞内局在予測



局在予測プログラムでは予測できない葉緑体局在タンパク質を多数同定した。

図3-6 シロイヌナズナ葉緑体タンパク質の細胞内局所予測

### 2) シロイヌナズナ液胞膜のプロテオミクス

葉緑体以外の細胞内小器官である、液胞に関してもプロテオーム解析に取り組んだ。これまでに分子レベルで存在が確認されている液胞膜タンパク質は少なく、液胞機能解明には、さらなる液胞膜タンパク質の解析が必要である。シロイヌナズナ培養細胞から高度に純化した液胞膜のプロテオーム解析を行い、液胞膜表在性画分で約 90 種、膜貫通画分で約 100 種のタンパク質を同定した。そのうち、両画分に共通して見出されたタンパク質は約 30 種であった。同定したタンパク質には、液胞タンパク質として代表的な V-H<sup>+</sup>-ATPase、V-H<sup>+</sup>-PPase のほか、各種トランスポーターや未知の膜貫通タンパク質などが含まれていた。この成果は、今後の液胞研究の重要な情報源となることが期待できる。

### 3) シロイヌナズナ葉緑体遺伝子のトランスクリプトミクス

葉緑体遺伝子のトランスクリプトーム解析のために、葉緑体マイクロ・マクロゲノムアレイの作製を行った。シロイヌナズナ葉緑体ゲノム (154.5 kb) のうち非重複領域 (128.5 kb) を連続する 500 bp の領域に分割し (257 領域)、対応する領域を PCR によってそれぞれ増幅した。マイクロアレイは、奈良先端大コンソシアムの協力により、スライドガラスに各増幅 DNA 断片をスポットした。マクロゲノムアレイは、京都府立大学と共同で同じ増幅 DNA 断片を用いてメンブレンを作製した。

## C. 基幹代謝系改良モデル植物の作出

### C-1. 基幹代謝系改良モデル植物の作出 (京都府立大、名古屋市立大、大阪大、RITE)

「平成 14 年度～17 年度」

#### 1) 特定前駆体の生産の鍵酵素の特定及び遺伝子組換え植物の作成

これまでに葉緑体形質転換モデル植物による有用物質生産制御の要素技術として、葉緑体遺伝子発現制御技術として葉緑体転写・翻訳制御技術開発、葉緑体形質転換モデル植物の検証・解析

ツールとしてのメタボロミクスの技術開発を進めてきた。平成17年度以降、上記要素技術を用いて、タバコを主とする葉緑体形質転換モデル植物におけるタンパク質、有用代謝産物（カロテノイド、トコフェロール等）の生産制御および生産増強に着手した。各種有用化合物の代謝経路の中から、平成17年度、イソプレノイド代謝経路を標的とし、イソプレノイド代謝経路上流に位置するMEP経路におけるデオキシキシルロースリン酸レダクトイソメラーゼ（DXR）遺伝子を導入した形質転換タバコの作出を開始した。

## 2) 工業原材料生産代謝系の前駆体および有用代謝物質が増量された植物の作出

### 「平成 18 年度～21 年度」

#### i. 糖合成経路律速ステップの強化

有用代謝物質の増量を目的に、基幹代謝経路の炭素フロー解析系の確立に取り組んだ。

<sup>13</sup>Cラベルの二酸化炭素を用い、葉内に取り込まれた二酸化炭素のフローを分単位で観測することができるサンプリング装置を開発した。また葉内に取り込まれた<sup>13</sup>Cのフローを「D.代謝系のメタボローム解析（大阪大）」の研究項目で開発したCE-MSを用いた分析法で検出し、解析した。また、より汎用な分析手法であるLC-MSを用い、糖リン酸化合物等の分析技術を新たに確立し、これらの手法を統合することで炭素の葉緑体内におけるフローを検出する技術を開発した。

#### ii. 有用代謝物質が増量された植物の作出

葉緑体形質転換技術によりホモプラズミックなタバコDXR遺伝子過剰発現株を作成し、分析した。野生株と比較して100倍以上、DXR活性が高い株を取得することができた。また、この株を解析した結果、野生株と比較して葉面積当りでクロロフィルが20%、カロテノイドが13%増加していることが分かった。また、タバコで最も主要なポリプレノール成分であるソラネソールにおいて20～30%の増加が見られたほか、βシトステロール含量が野営株と比較して2倍以上、蓄積することが分かった。一方、DXRの過剰発現株は見た目において野生株と違いがなく、地上部高、葉の枚数や大きさも同程度であった。

#### iii. *crtZ*, *crtW*の導入によるアスタキサンチン高蓄積タバコの作製

アスタキサンチンは海洋細菌や微細藻類が産生する赤色カロテノイドである。強い抗酸化能を所持し、医薬・食品産業で需要が拡大しつつある。一方、植物はβ-carotene hydroxylase (*crtW*)を有するが、β-carotene ketolase遺伝子 (*crtZ*)を持たないため、通常、アスタキサンチンを生産しない。このことから、海洋微生物 *Brevundimonas* 属由来の *crtZ* ならびに *crtW* 遺伝子をタバコ葉緑体ゲノムに導入し過剰発現させることにより、アスタキサンチンを含むこれらのイソプレノイドを高蓄積する植物の作出に取り組んだ。その結果、*crtZ* 下流に *crtW* を連結してタバコ葉緑体ゲノムに導入することで、5.44 mg/g-DWのアスタキサンチンを生成する株を作製することができた。これは学術論文等でこれまでに報告された値の5倍以上である。葉緑体工学の技術を用い、バクテリア由来の遺伝子を植物で過剰発現させることにより、著量のアスタキサンチンを蓄積する植物体を作製することができた。

## 3) 葉緑体における転写、翻訳に適した配列の検討

### 「平成 18 年度～21 年度」

- ・ 翻訳活性の高い 5'非翻訳領域を用いて、*crtZ* mRNA の翻訳活性を測定した結果、T7gene10



の 5'非翻訳領域が適していることを明らかにした。

- 開始コドン周辺の二次構造と翻訳活性について、5'非翻訳領域として *rrn* をモデルに解析を行ったが、*crtZ* mRNA の翻訳活性を高めることは困難であった。しかし、上記の結果より、*crtZ* mRNA は T7gene10 を 5'非翻訳領域に用いることで十分な翻訳活性を有しており、二次構造の影響を考慮する必要がない。
- *crtZ-crtW*間のスペーサーを改変し、下流の *crtW* の翻訳を活性化させるスペーサーを探索した。様々な長さを持つ葉緑体 mRNA 由来のスペーサーを比較したが、*crtW* の翻訳を活性化するスペーサーを発見することは困難であった。しかし、*crtW* mRNA は 5'非翻訳領域に T7gene10 を用いると、十分な翻訳活性を示すので、*crtZ* と *crtW* はモノシストロニック mRNA として翻訳させるのが適していることを明らかにした。

#### (4) 遺伝子特異的cDNAマイクロアレイの開発および遺伝子発現制御技術の開発と

データベース化 (～H17FY) (タカラバイオ)

##### A. 遺伝子特異的 DNA マイクロアレイ設計

本項目の主要目標は、cDNA クローンからの遺伝子特異的マイクロアレイ設計技術を確立し、搭載プローブ配列の設計方法を早期に完成することである。

設計のため、まず、かずさ DNA 研究所のシロイヌナズナの cDNA クローンの配列を含む全 EST 配列、ゲノム情報からの ORF 配列を用いて、EST クラスタリングとアSEMBルを行った結果、25,397 個に分類された。この結果からかずさ DNA 研究所のクローンの配列を推定し、図 4-1 に動作概要を示した独自のミニマムホモロジー領域を検索するプログラムを用いて、シロイヌナズナ cDNA クローンからの遺伝子特異的マイクロアレイ設計技術を確立した。その結果、15,894 遺伝子に関して設計ができ、早期にプロジェクト内で使用できる初期バージョンマイクロアレイの開発に生かされ、目標を達成することができた。

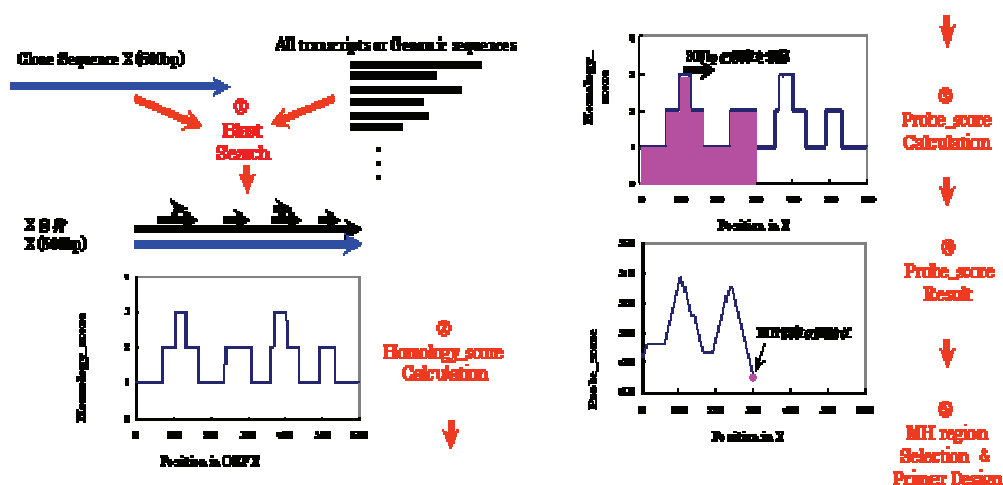


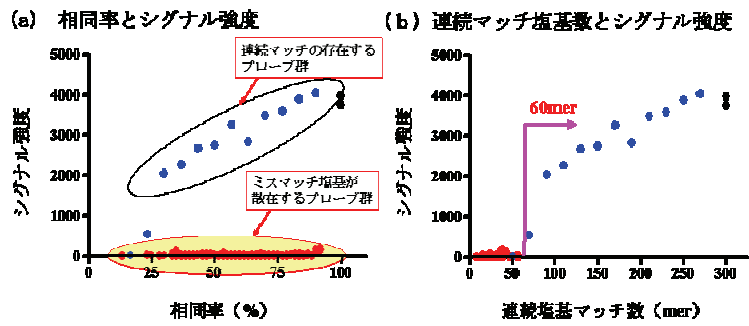
図 4-1 ミニマムホモロジー領域の検索プログラムの動作概要

##### B. 遺伝子特異的 DNA マイクロアレイの製造と検証

本項目の主要目標は、特異性などの設計評価技術を確立して、早期に、プロジェクト内で使用できる初期バージョンマイクロアレイを配布することである。

前項で設計したシロイヌナズナの遺伝子特異的 DNA マイクロアレイ搭載配列の評価のために、遺伝子特異性の評価を様々なホモロジーの配列を搭載したテストアレイで行った結果、我々の推奨ハイブリ条件では連続長 60 base のパーフェクトマッチがなければハイブリダイゼーションシグナルが得られないことがわかった (図 4-2)。前項の設計技術で遺伝子特異的な約 300 base の DNA 配列を選び、主に cDNA クローンを鋳型とした ICAN 法を用いた増幅で末端アミノ化フラグメントを作製し、一本鎖を共有結合で固定化できる TaKaRa-Hubble スライド基板上にスポットすることで、cDNA マイクロアレイを作製した。テストアレイでの評価実験から、搭載遺伝子プローブ (DNA 断片) の約 94%は推奨条件においてクロスハイブリダイゼーションがなく遺伝子特異的であると推定された。同時に少量サンプルからの RNA 抽出、Amplify、ラベリングのプロトコールも完成し、配布先にハイブリダイゼーショントレーニングを実施した。よって、目標の特異性などの設計評価技術、RNA ラベル技術の確立を達成した。また、初期バージョンの

マイクロアレイ（8,000 遺伝子相当）は、平成 14 年度に製造終了、配布開始し、平成 16 年度前半までに 442 枚配布したので、目標を達成した。



ハイブリ温度65℃、Formamide濃度25%、洗浄温度65℃解析条件下でのプローブの性質とシグナル強度の関係を調べた結果、プローブ内に連続マッチの配列が60塩基以上存在する場合には、有意なシグナルが検出された。

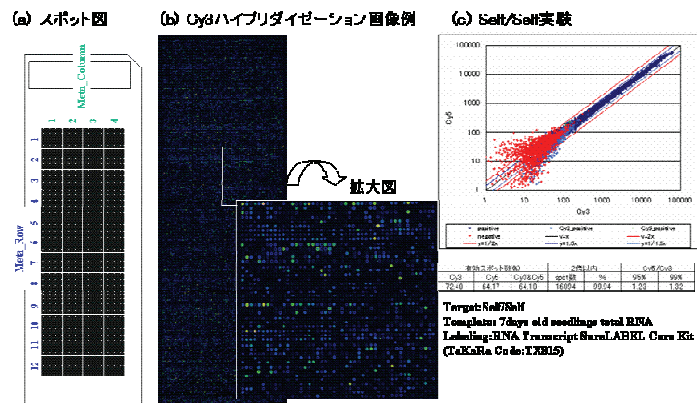
図 4-2 テストアレイを用いたハイブリ条件、特異性の検討結果

### C. シロイヌナズナ全遺伝子検出可能な DNA マイクロアレイの開発と製造

本項目の主要目標は、ゲノム配列からの設計技術を確認し、全遺伝子規模のマイクロアレイを完成、プロジェクト内に配布することにある。

まず、ゲノム DNA からのフラグメント調製、全遺伝子搭載に向けて、完全長 cDNA 配列を利用したクラスタリング、アセンブル、エキソンの配列部位を考慮した primer 設計、大量処理のための中間データ格納方法の変更などプログラム改修を加え、全遺伝子搭載に向けた設計技術の基盤を完成した。順次追加設計をした結果、総計 25,000 個以上のほぼ全遺伝子分の設計が完了した。次に、cDNA クローン及びシロイヌナズナゲノムを鋳型に、30,000 以上の各 DNA 断片を増幅し末端アミノ化フラグメントを作製した。予測遺伝子も含む全遺伝子約 26,600 のうち約 25,000 遺伝子以上のフラグメントを Takara-Hubble Slide Glass にスポットして、センス鎖の 1 本鎖を共有結合で固定化した DNA マイクロアレイを製造した。

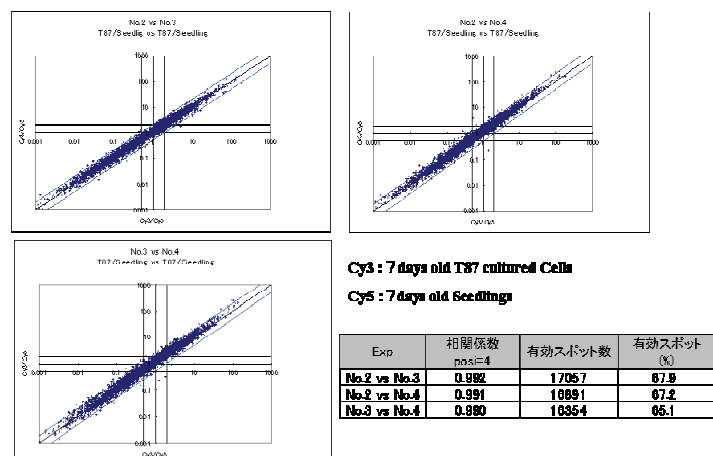
アレイの評価として、同じ RNA サンプルを用いた Self/Self 実験を行って発現変動をみたところ、有効スポットのほぼすべてが 2 倍以内に収束（99%が 1.32 倍以内）しており、発現の低いものから高いものまで精度よく発現比を測定できると評価された（図 4-3）。



Self/Self実験より有効スポットのほぼすべてが2倍以内に収束(99%が1.32倍以内)しており、発現の低いものから高いものまで精度よく発現比を測定できると評価された。

図 4-3 シロイヌナズナの全遺伝子規模 DNA マイクロアレイの概要

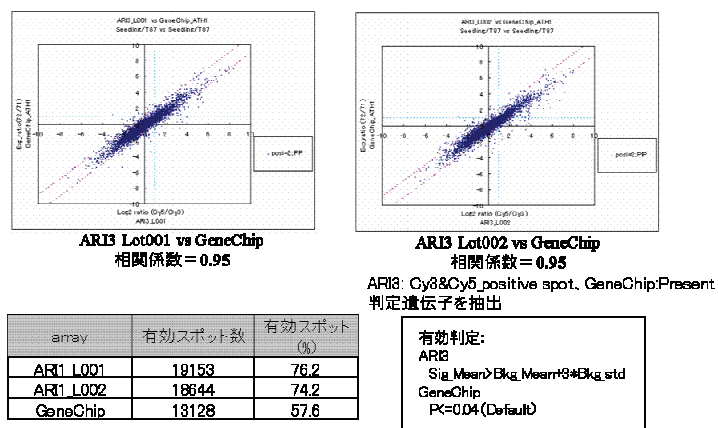
また、培養7日目の T87 細胞と培養7日目の Seedling から RNA を調製し、3 回の再現性実験で比較すると、相関係数 0.990~0.992 と高い相関を示した。よってこのアレイでは再現性のよい発現比データを得ることが可能であることがわかった (図 4-4)。



3回の実験の発現ratioを比較すると、相関係数0.990~0.992と高い相関を示した。このアレイでは再現性のよい発現ratioデータを得ることが可能であることがわかった。

図 4-4 シロイヌナズナの全遺伝子規模 DNA マイクロアレイの再現性実験

さらに、市販の 20mer のオリゴプローブの On Chip 合成タイプの GeneChip® (アフィメトリクス社製) との発現比データの比較を培養7日目の T87 細胞と培養7日目の Seedling から調製した同じ RNA サンプルを用いて行った (図 4-5)。その結果、複数プローブを使用しているために信頼性が高いとされる GeneChip®とは、高い相関性を示した (相関係数 0.95)。60mer のオリゴプローブのアレイ (アジレント社製) とは、開発のアレイも GeneChip®もそれほど高い相関性を示さなかった。また、Default の有効判定で比較すると、評価できる遺伝子数が開発したマイクロアレイのほうが GeneChip®より多いことがわかった。このことから、開発したマイクロアレイは、搭載遺伝子数でも検出遺伝子数でも国内で市販されているシロイヌナズナの DNA マイクロアレイの中で最高のものであると考えられた。



発現データの蓄積が豊富で、複数プローブの搭載から正確性の優れたGeneChip®と比較すると相関係数が0.95以上と高い相関を示した。GeneChip®より低コストで同等の発現比率データを得ることができる。また、Defaultの有効判定で比較すると、評価できる遺伝子数がARI3の方が多いいえる。

図 4-5 20mer オリゴプローブの On Chip 合成タイプアレイ (GeneChip®) との相関性

なお、本マイクロアレイはプロジェクト内の物質生産プロセスの解析を効率よく進めるために、平成 16 年度に 400 枚配布、平成 17 年度に 400 枚配布した。また、平成 17 年度には本技術を活かし、マイクロアレイを製造、受託解析事業を開始し、目標を達成した。

#### D. ゲノム情報とリンクした遺伝子発現解析データベース開発

本項目の主要目標は、設計プローブ情報の搭載した cDNA、ゲノム配列データベースを完成し、公開すること、さらに、基盤研究室の遺伝子発現やパスウェイのデータベースと統合することにある。

まず、マイクロアレイ情報と、ゲノム配列や公開転写物配列より作成した重ならない転写配列データベースを関連付けた、公開可能な WWW ベースのデータベース開発、および容易に情報閲覧できるビューの開発を行った。マイクロアレイ情報としては、spot 位置情報、プローブ配列情報、特異性評価結果、公開データベースの AGI コードとの対応、アノテーション情報、GO ターム等を示した。このビューでは、搭載遺伝子のキーワード検索、特異性結果検索、結果の CSV ファイル出力などが可能である。また、公開配列との位置関係を塩基配列レベルまで確認することができる（図 4-6）。



図 4-6 マイクロアレイ情報一覧ビューと検索機能および配列確認

目標の WWW によるプロジェクト内の公開は、アレイ配布と同時に達成した。平成 17 年度には、データベースをアレイの配布にあわせて更新すると同時にゲノムとの対比表示ができるように拡張し、様々なデータベースとの連携統合を完成した（図 4-7）。具体的には、データベースサーバに AtEnsembl と LDAS のシステムを構築して、様々なゲノム情報と並列に統合表示できるようになった。図 4-7 の統合表示画面は、NASC (The Nottingham Arabidopsis Stock Centre) の AtEnsembl 上に LDAS を通して、本プロジェクトのアレイ配列情報を表示した例である。

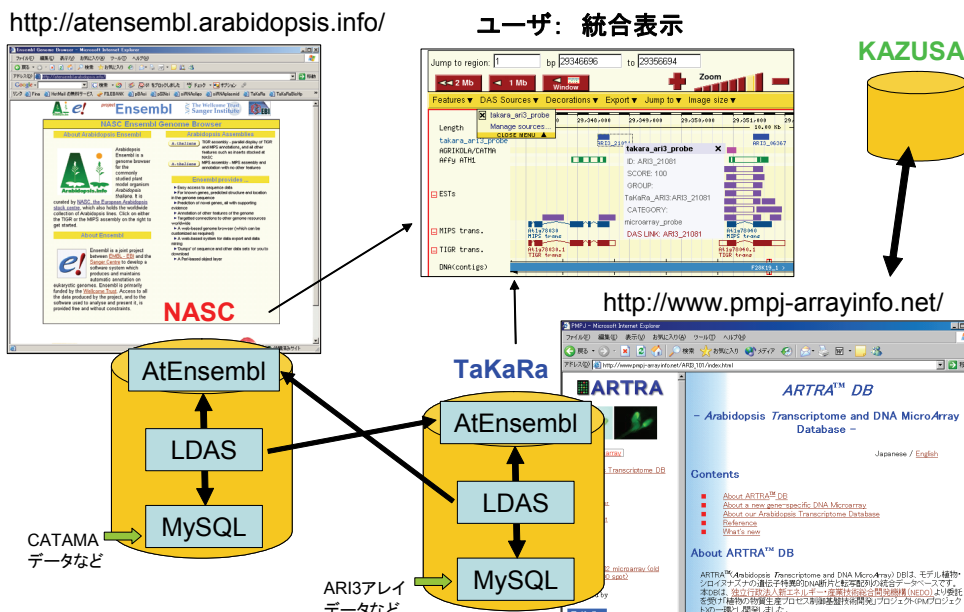


図 4-7 ゲノムビューワーとの連携統合

## E. 遺伝子発現制御技術開発

本項目の主要目標は、物質生産系の経路と機能の解析のために効率のよい遺伝子発現制御のベクター、方法を確立することにある。

全遺伝子規模の約 300 base の遺伝子特異的 DNA 断片を利用することにより、シロイヌナズナの物質生産系の経路にかかわる遺伝子も含む網羅的な遺伝子発現ノックダウンラインの作製と解析が可能になると考えられる。そこで、シロイヌナズナの遺伝子特異的フラグメントには効率よくクローニングできるようにユニバーサルな配列を両端につけておき、GateWay の系を用いて、効率よくインバーティド・リピートの形で植物への導入ベクターを作製した。このベクターを用いて、アグロバクテリウムを介して改良した *in planta* 法（蕾感染法）を用いてシロイヌナズナに感染、形質転換植物を作製し、遺伝子ノックダウンが可能かを調べた。効率よく効果を確認するために花の形態変化を伴う機能既知のホメオティック遺伝子をターゲットにして遺伝子特異的 DNA 断片の効果の検証を行った。つまり、遺伝子特異的 DNA 断片を利用した dsRNA 発現用の T-DNA ベクター（図 4-8 a）によって、ホメオティック遺伝子を dsRNA の形で発現する形質転換植物を作製した。試したホメオティック遺伝子、AG（図 4-8 b）、AP1（図 4-8 c）、AP2（図 4-8 d）すべてにおいて、遺伝子ノックダウンと花の形態変化の誘導が容易に行えることがわかった。また、定量 RT-PCR でターゲットの転写物の発現量を確認したところ、強い表現型を示した形質転換植物では、約 10%まで発現量が抑えられており、目標を達成できた。

このことにより、物質生産系の経路と機能解析を効率的に進めることができ、また、物質生産に直接かかわる酵素遺伝子をノックダウンすることにより不要な代謝の経路を抑制して目的物質の生産経路に前駆物質が使われるようにコントロールが可能になると考えられる。

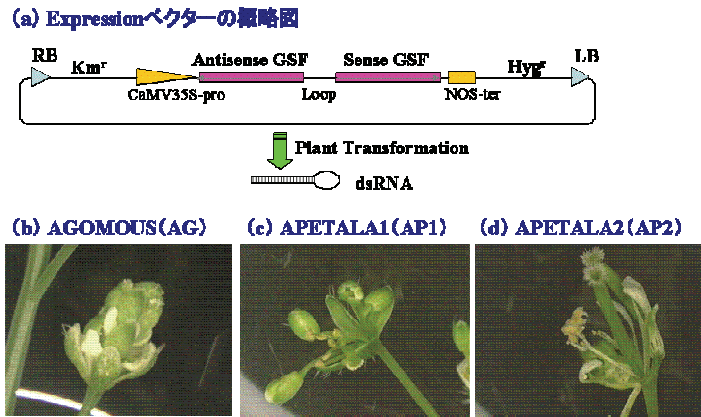


図 4-8 遺伝子特異的 DNA 断片を利用したホメオテツィク遺伝子の発現ノックダウン植物例

#### F. 遺伝子特異的 DNA アレイとノックアウトシロイヌナズナを用いた細胞壁の再構築に関わる遺伝子群の解析

本項目の主要目標は、細胞壁の再構築に関連の物質生産プロセスにおける主要調節遺伝子を同定することにある。

そこで、本プロジェクトで作成した DNA マイクロアレイや MPSS を用いて、ブラシノステロイドで制御される細胞壁関連遺伝子やブラシノステロイドの生合成と代謝関連遺伝子の調節因子をスクリーニングした。まず、シロイヌナズナの野性株（コロンビア株）とブラシノステロイドの生合成のノックアウトライン *det2* 変異体の芽生えを用いて、ブラシノリド処理 3h によってアップレギュレートおよびダウンレギュレートされる遺伝子群として 1,488 種類を見出した。次に、他の網羅的発現解析データも利用して、注目している細胞壁関連遺伝子やブラシノステロイドの生合成と代謝関連遺伝子と遺伝子発現制御のうえで相関のある遺伝子として 57 種類を見出した。その 57 種類の遺伝子および注目遺伝子 37 種類に対して、本プロジェクトで作成した遺伝子ノックダウン系のベクターを使用して、遺伝子ノックダウンが期待できる組換えシロイヌナズナ合計 68 種類を作製した。

これまでに、いくつかの遺伝子ノックダウン植物において興味深い表現型が確認された。このうち、細胞壁関連遺伝子 *XTR7* と発現相関が高く、矮化を引き起こす遺伝子、Brassinosteroid Responsive Ring Finger Protein, *BRR1* 遺伝子を同定した。独立した 2 系統のノックダウン植物において siRNA の生成、内在 *BRR1* の発現抑制を介した矮化が見られたことから、*BRR1* が植物の生長を制御していることがわかった（図 4-9）。

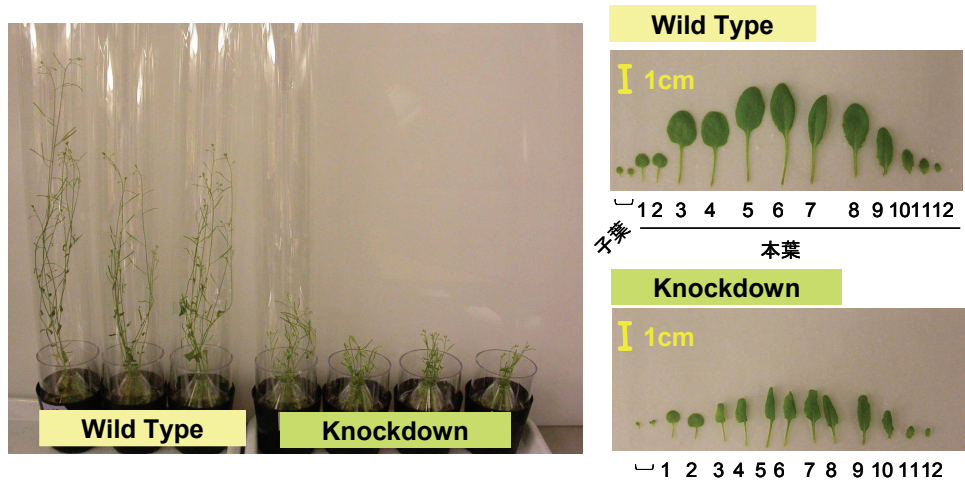


図4-9 RNAi法によるBRR1遺伝子のノックダウン効果



## (5) 植物の統括的な遺伝子発現制御技術の開発（産業技術総合研究所）

### A. 転写因子遺伝子の配列情報と cDNA の収集と解析

平成 14～17 年度には、シロイヌナズナゲノムデータベース、タンパク質データベースおよび文献情報等を基にして相同性検索等の *in silico* 解析を行い、転写因子ファミリーに属する遺伝子についての配列情報を収集・解析した。合計で 51 種の転写因子ファミリーに属する 1,619 種の遺伝子を *in silico* 同定した。平成 18 年度～21 年度には、さらに解析を進め、最終的に合計 1,909 種を同定した。

シロイヌナズナの遺伝子数の多い転写因子ファミリーの体系的な機能解析を効率的に行うために、遺伝子の配列情報に基づいた系統分類及びゲノム情報が利用可能な他の植物種との比較解析等を行った。平成 14～17 年度には、ERF、DOF、MYBL、BZF、NIN について分子系統解析及び保存モチーフ解析等を行い、それらの結果を基にしたグループ分類を行った。特に ERF ファミリーについて詳細な解析を行った。シロイヌナズナのゲノムデータベースから 122 遺伝子を *in silico* 同定し、分子系統解析および保存モチーフの詳細な解析により、12 のグループに分類した。またイネから 139 遺伝子を同定し、分子系統解析およびシロイヌナズナとの比較によって、15 のグループに分類した（図 5-1）。ほとんどのグループは両種に共通していたが、イネに特異的なグループの存在を明らかにした。この成果は、モデル植物との比較解析が実用植物のオーソログあるいは特異的な転写因子遺伝子の同定に有用であることを示している。この成果は、ストレス応答、ホルモン応答、発生・分化、代謝系制御など植物の重要な制御機能への関与が推定される ERF ファミリーの種々の植物種における機能解析や有用機能の探索のために有用な情報基盤となっている。平成 18～21 年度には、MYBL、STK、BZF の分子系統について、イネとの比較解析を行った。特に MYBL のグループ 2 及び 3 については、保存モチーフの解析を含めて詳細に行い、シロイヌナズナ及びイネに特異的な遺伝子を見出した。また、ERF 及び DOF については、ミヤコグサとの比較解析を行った。

次に分子系統分類や機能情報などから遺伝子を選抜し、配列情報に基づいて PCR によって転写因子の ORF の cDNA を調製して Gateway システムのエントリーベクターにクローニングした。これまでに、次の 7 ファミリーを選定して、cDNA クローニングを行った。

- ・ ERF ファミリー：AP2/ERF ドメインを有する。感染や乾燥・低温などストレス応答に関与する転写因子として同定された。成長や分化、代謝の制御に関わる ERF 遺伝子も報告されている。シロイヌナズナゲノムには、122 個の遺伝子が見いだされているが、機能が明らかにされた遺伝子はごく少数である。
- ・ DOF ファミリー：DOF タイプの Zinc フィンガードメインを有する。発芽、炭素代謝などの制御に関わる転写因子として知られている。シロイヌナズナゲノムには、36 遺伝子が見いだされているが、多くの DOF 遺伝子の機能は、未知である。最近、トウモロコシの DOF 遺伝子が過剰発現したシロイヌナズナの窒素同化能が上昇することが示された。
- ・ STK ファミリー：ジャガイモで塊茎形成過程での糖の転流の制御に関与する転写因子として同定された。シロイヌナズナゲノムには 23 遺伝子が見いだされるが、機能については全く情報がない。
- ・ BZF ファミリー：B box タイプの Zinc フィンガードメインを有する。日長に応答した花芽形成を制御する転写因子として同定された CO を含む。シロイヌナズナゲノムには、33 遺伝子が見いだされているが、ほとんどは機能未知である。日長や花成と関連した代謝系を制御する機能

などが推定される。CCT ドメインを含むか否かでそれぞれ CO&COL あるいは BZF の二つのサブファミリーに大別される。

- ・ NIN ファミリー：マメ科において、根粒形成に関わる転写因子として同定された。シロイヌナズナゲノムには 14 遺伝子が見いだされるが、全く機能に関する情報がない。
- ・ MYBL ファミリー：R2R3 タイプ、R1R2R3 タイプとは異なる MYB ドメインを持つ、CCA1 タイプ、B タイプの ARR、KANADI、PHR1 などが含まれる。シロイヌナズナゲノムには 156 遺伝子が見出されるが、ほとんどの機能は未知である。
- ・ BRX ファミリー：根の成長を制御する遺伝子として同定された新規な転写因子。シロイヌナズナゲノムには 6 個の遺伝子が見いだされている。

平成 14～17 年度には、シロイヌナズナ転写因子ファミリーのうち、ERF (67 種)、DOF (36 種)、STK (23 種)、BZF (24 種)、BRX (6 種)、NIN (14 種)、MYBL (90 種) を選定し、*in silico* 同定した遺伝子の配列情報に基づいて PCR による cDNA 調製、エントリーベクターへのクローニングを行った。合計で 192 遺伝子 [ERF (62 種)、DOF (36 種)、STK (23 種)、BZF (23 種)、NIN (10 種)、MYBL (32 種)、BRX (6 種)] について cDNA エントリークローンを作製した。そのうち 33 種 [ERF (2 種)、DOF (8 種)、STK (9 種)、BZF (2 種)、BRX (2 種)、NIN (6 種)、MYB (4 種)] は当時のデータベースに登録されていない新規な cDNA であった。平成 18 年度～19 年度には、さらに ERF (3 種)、NAC (1 種)] のクローニングを行い合計で 196 種の cDNA エントリークローンを作製した。

## B. 転写因子遺伝子の発現解析

平成 14～17 年度には、半定量 PCR、リアルタイム定量 PCR、マイクロアレイ、マクロアレイ等の手法を用いた転写因子遺伝子の発現プロファイル解析法を検討した。二次代謝系などの代謝系が大きく変動する条件で協調的に発現変動する転写因子を同定するために、シロイヌナズナ植物体において感染防御応答を誘導するエリシターに応答した転写因子遺伝子の発現を解析するための実験系を確立した。このエリシター応答の実験系を用いて、リアルタイム定量 PCR を用いた解析法の検討を行い、内部標準遺伝子を選定し、特異的プライマーの設計法、反応条件の検討法などを確立した。また、シロイヌナズナマイクロアレイを用いて、エリシター処理による発現プロファイルの変動のデータを取得した。平成 18～21 年度には、そのアレイデータの解析を行い約 90 の転写因子遺伝子の発現上昇が見出された。半定量 PCR によるシロイヌナズナの器官別発現プロファイル解析により、平成 14～17 年度には、DOF ファミリーに関するデータを取得し、平成 18～21 年度には、MYBL ファミリーのグループ 2 及び 3、BZF ファミリーのうち CCT ドメインを持たず一つの B box を有するグループに関するデータを得た。

平成 14～17 年度には、特定の転写因子ファミリーについて包括的な発現プロファイルを簡便に解析するため、ERF、BZF、DOF、NAC の各ファミリーに属する 288 遺伝子および内部標準として選定した 12 遺伝子について各遺伝子特異的な塩基配列のオリゴ DNA を設計・合成してナイロンメンブレンにスポットした DNA マクロアレイを作製した。このマクロアレイを用いた解析のために mRNA の精製、ラベリング、ハイブリダイゼーション、シグナル検出、データ解析などの条件・手法等の検討を行った。これを用いてジャスモン酸、エチレンあるいは傷害を処理した植物の発現プロファイル解析を行った。エチレンおよび傷害に応答するいくつかの遺伝子の発現変動について、リアルタイム定量 PCR 法を用いて確認した。その結果、エチレン及びジャスモン

酸に応答する新規な4種の転写因子 [NAC 1種、ERF 1種、DOF 2種] を同定した。特にエチレンとジャスモン酸の協調的な効果によって発現誘導が起こる ERF 遺伝子として CEJ1 を同定し、平成 18～21 年度にはさらに CEJ2 を同定した。

平成 18～21 年度には、AtGenExpress 等の公開データベースからシロイヌナズナのマイクロアレイデータを取得し、GeneSpring を用いて各転写因子ファミリーの各種条件での発現プロファイル解析を行う手法を構築した。このような解析結果から、ERF ファミリーのグループ IIb の遺伝子群が低温等のストレス応答性の違いによって IIb-1 及び IIb-2 の二つのサブグループに分けられることが見出された。このような相違は、分子系統上の clade の相違と一致していると共に、イネにおいてもグループ IIb が二つの clades に分けられることから、イネにおいても同様のサブグループに分けられると考えられた (図 5-2)。さらに、シロイヌナズナの IIb-2 に対してイネの IIb-2 と考えられる遺伝子数は 2 倍であることが見出された。

### C. 転写因子遺伝子の機能解析

#### 1) 培養細胞での過剰発現体の作製と機能解析

平成 14～17 年度には、転写因子遺伝子 cDNA のエントリークローンから、Gateway system によって植物発現用ベクターへ変換し、アグロバクテリアを用いてシロイヌナズナ培養細胞 T87 株の形質転換体作製を行った。そのために、まず、T87 細胞の形質転換法および形質転換細胞の維持の方法を確立した。合計 135 遺伝子 [ERF (43 種)、DOF (34 種)、STK (14 種)、BZF (11 種)、MYBL (28 種)、NIN (5 種)] の形質転換体を作製した。これらのうち 95 遺伝子 [ERF (20 種)、DOF (26 種)、STK (13 種)、BZF (8 種)、MYBL (23 種)、NIN (5 種)] の形質転換体において、導入遺伝子の過剰発現を確認した。また、いくつかの遺伝子については、アンチセンス RNA や RNAi 用のベクターによる形質転換を行った。

平成 14～17 年度には、形質転換培養細胞の発現プロファイル解析のためにタカラバイオ社が開発したプロトタイプのシロイヌナズナマイクロアレイ (ARI1&2) を用いて解析条件を確立し、11 遺伝子 [ERF (3 種)、DOF (7 種)、STK (1 種)] について、各遺伝子毎に過剰発現を確認した 3 系統を選抜してアレイデータを取得した。平成 16 年秋に新バージョンの全遺伝子規模マイクロアレイ (ARI3) が使用可能になったので、これを用いた解析法を再度検討した。アレイ解析に用いる形質転換培養細胞は、選抜マーカーの抗生物質を含む寒天培地で培養し、導入した 1 遺伝子につき過剰発現を確認した 3 系統を選抜して解析した (図 5-3)。比較対象として GUS 遺伝子を過剰発現させた形質転換培養細胞を作製して用いた。ARI3 を用いて 60 遺伝子 [ERF (14 種)、DOF (25 種)、STK (9 種)、MYBL (5 種)、BZF (2 種)、NIN (5 種)] について、アレイデータを得た。基本的に ARI1&2 を用いて既に解析した形質転換体については、ARI3 を用いて取り直しを行っている。

得られた発現データを GeneSpring および PathwayViewer (Kappa-View、かずさ DNA 研究所 NEDO 基盤研究室) などを用いて解析し、導入遺伝子の過剰発現によって変化する遺伝子群を解析した。その結果、糖代謝、脂肪酸代謝系、フェニルプロパノイド代謝系、多糖生合成系など、導入した転写因子遺伝子ごとに異なる一次・二次代謝系の遺伝子群の発現レベルが変動しているものが見られた (図 5-4 に一例を示した)。

グループの異なる 7 種類の DOF 遺伝子の過剰発現体では、それぞれの DOF 遺伝子について、カルビン回路系、ショ糖代謝系、脂質代謝系、フェニルプロパノイド代謝系など、特徴的な代謝

系の変動が見られた。特にカルビン回路およびショ糖代謝系について、DOF 遺伝子ごとの特徴的な制御機能が示唆された (表 5-1)。ある種の ERF 遺伝子の過剰発現培養細胞では多糖類の合成系遺伝子群の発現上昇がアレイ解析によって示唆された。

転写因子遺伝子を過剰発現させた形質転換培養細胞の代謝産物プロファイルの解析のために、培養、サンプリング等の条件についてかずさ DNA 研究所 NEDO 基盤研究室と連携して検討を行った。さらに、GUS 遺伝子および 3 遺伝子の DOF を導入した形質転換培養細胞について、GC-TOF-MS 分析を NEDO 基盤研究室と共同して行った。それぞれの DOF 遺伝子の形質転換培養細胞において、アミノ酸あるいは脂肪酸のピークにコントロールの培養細胞と比べて、変化が見られた (図 5-5)。

これらの成果は、本研究における転写因子遺伝子の形質転換体における発現プロファイルおよび代謝プロファイルの解析が、未知の転写因子の統括的な代謝制御機能を可視的な表現型として観察されない場合でも見出すことができることを示している。たとえば、植物特異的な転写因子である DOF ファミリーに属する 24 遺伝子をそれぞれ過剰発現したシロイヌナズナ培養細胞におけるマイクロアレイデータを基にこれら DOF 転写因子の代謝系制御機能について検討したところ、各 DOF 過剰発現体ごとに光合成系の遺伝子群、窒素同化系の遺伝子群の発現変動が見られた。また、芳香族アミノ酸合成系の遺伝子群の発現の低下が見られるもの、フラボノイド系の遺伝子群の特徴的な発現変動とそれと対応すると考えられる代謝物の変化が見られるものなどがあつた。このようなことから、DOF 転写因子は、基幹代謝系から二次代謝系に至る炭素フローの調整及びそれと関連する C/N バランスの調節などを分担していると考えられた。一方、ERF43 過剰発現体では、フェニルプロパノイド系遺伝子群の発現低下及びペクチン合成の基質合成系遺伝子群の発現上昇が見られる (図 5-6) とともにリグニン蓄積の低下及びペクチン抽出量の増加が見られ (図 5-6)、ERF43 は細胞壁成分の合成・沈着に関与すると考えられた。

さらに、転写因子遺伝子の形質転換体を効率的に作製する手法を確立するために、複数のエントリークローンを同時に形質転換用ベクターに変換して、同時にアグロバクテリアに導入し、同時に植物細胞あるいは植物体に感染させる方法を検討した。すなわち、Gateway 技術に対応した cDNA コレクションから選抜した多数の cDNA クローンを一括して連続的に扱うことによりシロイヌナズナ培養細胞を形質転換する簡便な方法について検討を行い、10 個の DOF 遺伝子の cDNA プールを用いて実効性を示した。

平成 18~21 年度には、さらに ARI3 を用いて形質転換培養細胞のアレイ解析を進め、ARI3 を用いて合計 76 遺伝子 [ERF (17 種)、DOF (25 種)、STK (11 種)、MYBL (11 種)、BZF (7 種)、NIN (5 種)] について、アレイデータを得た。それらのうち、ラベリング反応やハイブリダイゼーションによると考えられる異常な結果を示すデータを除いた 63 遺伝子 [ERF (17 種)、DOF (24 種)、STK (8 種)、MYBL (7 種)、BZF (3 種)、NIN (4 種)] 分、176 枚のアレイデータについて、NEDO 基盤研 (かずさ DNA 研) を介して Kappa-View での解析用データとして本プロジェクト内に公開した。

## 2) 過剰発現植物体の作製と機能解析

形質転換培養細胞におけるアレイデータの解析を基に推定された機能の検討と物質生産プロセス制御において重要あるいは有用な機能に関与する転写因子の探索のために転写因子遺伝子の過剰発現コンストラクトをシロイヌナズナ Col-0 に導入した形質転換植物体の形質変化の解析と有

望な機能が推定された転写因子の作用機構の解析を進めた。平成 14～17 年度には、DOF (8 種)、ERF (5 種) について T2 系統を作製した。平成 18～21 年度には、さらに形質転換植物体の作製を進め、合計で 37 種 [ERF (15 種)、DOF (12 種)、BZF (5 種)、MYBL (5 種)] の転写因子の過剰発現コンストラクトを導入した T2 系統を得た。

BZF1 遺伝子の過剰発現植物体において、Col-0 の花成誘導条件である長日条件における花芽形成の遅延すなわち栄養成長期の延長とバイオマス量 (栄養成長量) の増大が見られること、また灌水を停止した後の生存日数の延長すなわち渇水耐性の向上が見られること、一定の灌漑水量あたりの栄養成長期におけるバイオマス生産量すなわち灌漑水利用効率の向上が見られることを明らかにした (図 5-7)。BZF1 は、過剰発現によって、phloem loading の制御に関わるトコフェロール合成系を抑制し、糖代謝系の制御及び栄養生長の制御に関わるトレハロース 6 リン酸合成系を促進し、さらに炭素欠乏応答系を昂進し、光合成及び基幹代謝系を抑制し、さらに蒸散が低下すると考えられた (図 5-8)。これまで植物の基幹代謝系や物質分配の制御に関わる転写因子に関する報告は極めて限定的であり、この発見は、植物の物質生産の基盤的な制御機構を理解し、その生産性を操作する技術を開発するためにも重要であると考えられる。一方、これまでに報告されていた乾燥応答性の遺伝子発現の制御に関わる転写因子の高発現によって乾燥耐性が向上した形質転換植物では、乾燥応答性の遺伝子発現の昂進によって脱水耐性が向上する例がよく知られていた。しかし、BZF1 過剰発現体では、脱水耐性に関わることが知られている遺伝子の発現上昇は見られなかった。また、乾燥ストレス応答を制御する植物ホルモンである ABA に対するこれらの遺伝子発現の昂進も見られなかった。これらの結果は、これまでに知られている転写因子過剰発現による乾燥応答あるいは脱水耐性の強化による渇水耐性向上とは異なる新たな機構によるものであることを示している。さらに BZF1 と相同性の高い BZF2 についても類似の機能を持つことが示唆された。このように BZF1 過剰発現体においては、基幹代謝系や物質分配に関する遺伝子発現が統括的に制御されることによって、生育に必要な水の消費が節約されて渇水耐性が向上し、栄養成長の増大によってバイオマス生産量が向上し、さらに灌漑水利用効率が向上すると考えられた。この形質転換体では、ストレス応答を強化する転写因子の過剰発現体に見られるような極端な生育抑制等は見られず、実用植物の生産性・生産量の向上、栽培の省力化・節水化、栽培地域の拡大などへの応用が期待される (図 5-9)。

本プロジェクトにおいて作製した転写因子遺伝子の形質転換体について、バイオマス生産性やストレス耐性など有用性が期待される形質の探索を行ったところ、BZF1 と同様に栄養生長の増大と渇水耐性の向上が見られる転写因子として MYBL57 と DOF8 を見出した (図 5-10)。これらの 3 つの転写因子機能の共通性及び特異性を解析したところ、光応答の制御系に共通して影響を及ぼしていることが示唆された。一方、MYBL57 の過剰発現体では、クロロフィル及びカロテノイドの含量が高いという興味深い形質が見出された (図 5-11)。また、過剰発現によって花成時期に影響を与えずにバイオマス生産を高めることが期待される MYBL 及び DOF に属する転写因子を見出した。

ERF43 過剰発現体において、花茎基部や根、胚軸のアントシアニン蓄積が低下すると共に生育過程での老化 (senescence) が遅延することを見出した (図 5-12)。異形葉性にも変化が見られ、発生が進んだ個体に生じる葉が本来の成熟葉の形態ではなく幼若葉の形態を示した。切除葉においては、長日条件で誘導されるアントシアニン蓄積、連続暗条件で誘導されるクロロフィル減少の低減など、老化誘導が遅延すると共に収穫後の鮮度維持能力が向上していた。ERF43 過剰

発現体では、ジャスモン酸類などオキシリピン類の合成系遺伝子の発現が低下していたが、外生的にメチルジャスモン酸を与えることで老化の促進が見られた。これらの結果から、**ERF43** がオキシリピン合成系の遺伝子発現を抑制的に制御することで組織・器官もしくは個体の成熟を抑制し、その結果、老化の遅延及び収穫後鮮度維持の向上が引き起こされるものと考えられた。さらに、**ERF43** と同じサブグループに属する遺伝子も同様の機能を有することが見出された。植物の老化は、光合成を中心に物質同化能力を低下させるとともに、同化産物の分解を促進し、植物のバイオマスや種子や塊茎・塊根などの貯蔵器官の生産量を激減させるため、作物の生産性の向上にとって重要な問題である。また、切除した茎葉部等では急激な老化が進行するために、老化は、収穫後の鮮度保持能力あるいは貯蔵効率などの改良のためにも重要な課題である。したがって、**ERF43** のこのような機能は、有用物質やバイオマス生産の生産性の向上、原料成分の状態保持、収穫物の貯蔵・輸送の効率化などへの応用が期待される。

**MYBL50** の過剰発現体において、野生型と比べて生育過程の進行に大きな違いは見られなかったが、花茎形成後の葉の老化が遅延する傾向が見られた。興味深いことに、**ERF43** 過剰発現体とは異なり、切除葉の老化誘導には大きな違いは見られず、根から切り離れた地上部を長日条件あるいは連続暗条件においた場合に野生型では古い葉ほど老化が早く進行するのに対して、**MYBL50** 過剰発現体では遅延もしくは抑制されていた (図 5-13)。これらの結果と **MYBL50** が野生型の篩部で発現していることなどから、過剰発現体では同化産物の再分配の制御を介して老化の遅延及び収穫後鮮度維持の向上が起きていると考えられた。

実用植物への応用展開を念頭に置いた機能解析・機能検証の一環として、シロイヌナズナと近縁のアブラナ科植物であり、本プロジェクトにおける実用植物の一つであると共に重要な油糧作物の一つであるセイヨウナタネを実用モデル植物としてシロイヌナズナの転写因子遺伝子の形質転換体の作製と形質の検証を試みた。**ERF43** について、高発現が確認された系統が複数得られ、野生型とはほぼ同様の生長・外観を示す系統と発芽率が低く生育が抑制された系統が見られた。

平成 14~17 年度には、東京農工大学の小関研究室と転写因子による代謝系制御に関して連携して研究を進めた。フェニルプロパノイド代謝系の制御に関わると考えられる **ERF** ファミリーおよび **R2R3MYB** ファミリーの遺伝子群の形質転換植物体におけるタカラバイオ社製 **ARI3** を用いた発現プロファイル解析に協力し、解析条件を検討した。

#### D. キメラリプレッサーを用いた遺伝子発現制御技術の開発

平成 14~17 年度には、新たにキメラリプレッサーを用いた遺伝子発現制御技術の開発に着手し、キメラリプレッサー遺伝子の作製を開始し、平成 18~21 年度には次のような成果を得た。

データベースを利用したシロイヌナズナ転写因子遺伝子の発現プロファイリングから物質代謝に関与すると考えられる転写因子を選択し、それらに対するキメラリプレッサー遺伝子を作製した。解析対象とする代謝系は、フェニルプロパノイド、脂質、シキミ酸経路の植物に於いて重要な物質を生産する 3 つの代謝経路に注目し、これらの代謝系に関わる酵素遺伝子と発現が相関する関連転写因子を選択し、キメラリプレッサーに変換したものでシロイヌナズナに形質転換し、**T2** 種子の収集を行った (図 5-14)。作製した **T2** 植物の中から物質代謝に変異を持つ形質転換体の選抜を、色、形態など明瞭な表現型で示される形質を指標として探索し、それらの形質を付与するキメラリプレッサーの同定を行った。同定したキメラリプレッサーを発現する形質転換体の次世代の解析を行い、それらのメタボローム解析をかずさ DNA 研究所、大阪府立大学

で行った。

植物の生体機能に重要な役割を果たす二次代謝物であるフラボノール、アントシアニン、プロアントシアニジンおよびリグニン等は、フェニルプロパノイド経路の産物である。そこでフェニルプロパノイド生合成初期段階で働く酵素である phenylalanine ammonia-lyase (PAL)に注目し、PALの発現パターンと相関性の高い発現（正の相関および負の相関）を有する転写因子を選抜するため、マイクロアレイデータを利用した発現プロファイリングを行った。その結果、MYBファミリーである At1g74840, bZIP である At1g64530, HD ファミリーである At1g04850, AP2-ERF ファミリーである At1g80580, bHLH ファミリーである At1g64100, MADS ファミリーである At1g65360 が PAL の発現パターンと強い相関があることが判明した。そこでこれらの転写因子をキメラリプレッサーに機能変換し、さらにそれらを発現する形質転換植物の作製をおこなった。これらの内 MYB 転写因子 At1g74840 および HD 転写因子 At1g04850 のキメラリプレッサーを発現する T2 植物では共通して花茎の顕著な伸長が認められ、植物の伸長生長に関わる因子に影響を与えていることが示唆された。

植物の脂質は、産業上大変重要な代謝物である。そこで、脂質合成に関する転写因子を選抜するため、oil body を構成する oleosin、並びに脂肪酸合成を促進するアシル CoA シンテターゼに注目し、これらと発現パターンの類似している転写因子をマイクロアレイを利用した発現プロファイリングデータの解析から選抜した。解析の結果から、C3H2N1F ファミリーである At5g07500, HD ファミリーである At5g07260, ABI3-VP1 ファミリーである At3g24650, bZIP ファミリーである At3g44460 と At4g18650, GARP ファミリーである At5g07210, CCAAT-box 結合転写因子ファミリーである At5g47670 と At1g21970, MYB At3g13540 の転写因子群が oleosin の発現と相関を持つ関連転写因子であることが推察された。また、アシル CoA 合成酵素が NAC ファミリーに属する At1g77450, At1g32870, At1g34190, At3g04070 と bZIP ファミリーである At2g46270, At4g02640 の発現様式と相関を持つことが示された。そこで、これらの転写因子遺伝子のキメラリプレッサー発現植物を作製し、T2 世代において表現型に変化を生じる否かを解析すると同時に、メタボローム解析を行った。

シキミ酸経路で生合成される芳香族アミノ酸（フェニルアラニン、チロシンおよびトリプトファン）は、アルカロイドに代表される様々な二次代謝産物の重要な前駆体である。よって芳香族アミノ酸の代謝を制御することにより有用二次代謝産物生産をコントロールすることができる。Chorismate synthase はシキミ酸派生物質からコリスミン酸を生合成するための重要な酵素である。一方、chorismate mutase はコリスミン酸からフェニルアラニン・チロシン合成経路に派生するステップの重要な酵素である。そこでこれらの酵素をコードする遺伝子の発現パターンと相関性の高い発現（正の相関および負の相関）を有する転写因子を選抜するため、これらと発現パターンの類似している転写因子の選抜をマイクロアレイを利用した発現プロファイリングデータを解析し、候補群の選抜を行った。その結果、HSF ファミリーである At1g67970、bHLH ファミリーである At2g22770、Dof ファミリーである At5g60200 が、上記の酵素の発現パターンと相関があることが判った。そこで、これらの転写因子遺伝子のキメラリプレッサー発現植物を作製し、T2 世代の植物のメタボローム解析を行った。同様に、コリスミン酸から派生するトリプトファン合成経路で、インドールやトリプトファンの生合成ステップに関わる酵素である Tryptophan synthase に関しても同様に発現解析を行い、C2H2ZnF ファミリーである At3g02790、NAC ファミリーである At5g14000、bHLH ファミリーである At1g61660 および TCP ファミリーである

At3g47620 が、Tryptophan synthase 遺伝子の発現様式と相関があることが判明した。そこでこれらの転写因子のキメラリプレッサー発現体の作製を行い、メタボローム解析を行った。その中で AT3G02790 の発現は、カマレキシンの生合成を制御する PAD3 酵素遺伝子の発現と負の相関を示すことが判り、AT3G02790 のキメラリプレッサーを発現する植物体は、トリプトファンのアナログである 5 メチルトリプトファンに耐性を示すことが判った (図 5-15)。このことから、AT3G02790 は、カマレキシシン合成経路にかかわる転写因子であること、およびキメラリプレッサーを用いたスクリーニング法が代謝関連遺伝子の同定に有効であることが示された。また、メタボローム解析の結果、At2g22770 に対するキメラリプレッサーを発現する植物体は、近年抗ガン作用が示唆されているグルコシノレートを生型に比べ 2 倍以上蓄積していることが明らかになった (図 5-16)。また、種々の二次代謝生成に関わるジャスモン酸応答経路に関わる転写因子の探索を行うため、メチルジャスモン酸に対して非感受性を示すキメラリプレッサー発現体の探索を行い、bHLH017 転写因子に対するキメラリプレッサーがジャスモン酸に対して非感受性を示すことが明らかにした。また、bHLH017 キメラリプレッサー発現体では、アントシアニンの生合成が抑制されていることも明らかにした。

また、加速事業として、東洋紡バイオフロンティアプロジェクト推進室で遂行している「外来糖質生産植物の研究開発」に関連して、より生産性の高いヒアルロン酸生産プラットフォーム植物の開発に有用なキメラレプレッサーの探索のために、植物培養細胞のキメラリプレッサー形質転換およびヒアルロン酸の生成量分析のハイスループットシステムの確立を行った。これまでに 300 個の候補キメラリプレッサーで形質転換し、ヒアルロン酸生合成量の有意に上昇する転写因子キメラリプレッサーを 2 種同定した。その中で bHLH 転写因子 t2G46510 に対するキメラリプレッサー(HR0729)は、ヒアルロン酸の生成量が親株に比べ 3 倍以上上昇していることが明らかになった (図 5-17)。このことはまた、キメラリプレッサーを用いて 一次代謝の制御に関わる転写因子を単離できることを示している。



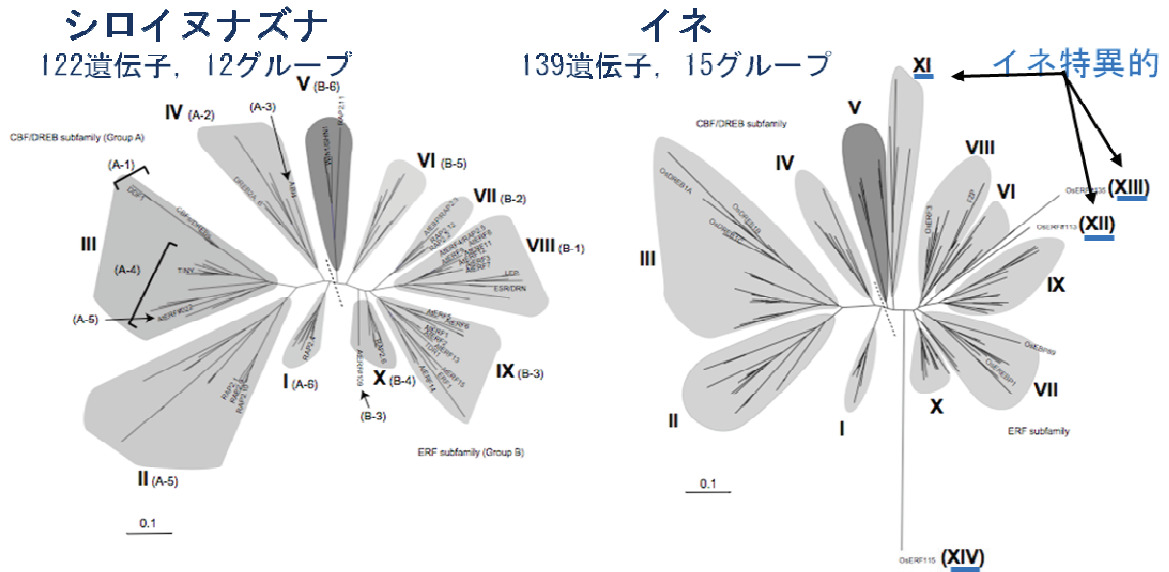


図5-1 シロイヌナズナとイネの ERF ファミリーの分子系統と種間比較

AP2/ERF ドメインのアミノ酸配列を用いた分子系統樹。ほぼ同じ規模の遺伝子数及びグループで構成されているが、イネに特有のグループが存在する。Nakano et al. (2006) Plant Physiol. 140: 411-432 の Fig.2 及び Fig.8 を一部改変。

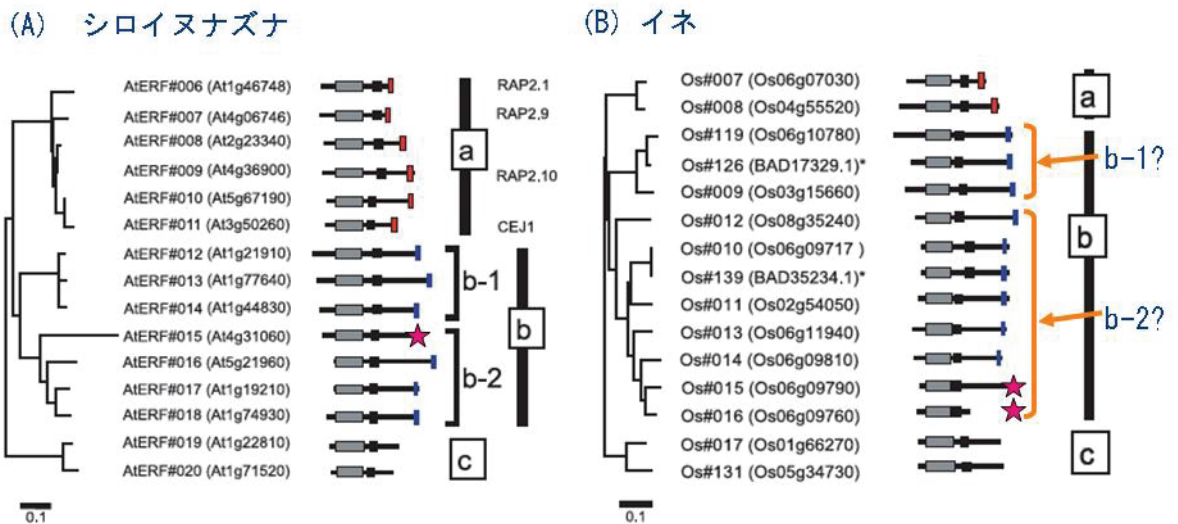


図5-2 シロイヌナズナ及びイネのグループ II の ERF

グループ IIb は、低温応答性の違いによりシロイヌナズナでは IIb-1 と IIb-2 に分けられ、分子系統上も二つの clades に分かれる。分子系統上の特徴からイネでも IIb-1 と IIb-2 に分けられると考えられる。(A)は Nakano et al. (2006) Plant Physiol. 140: 411-432 の Fig.2B を一部改変。

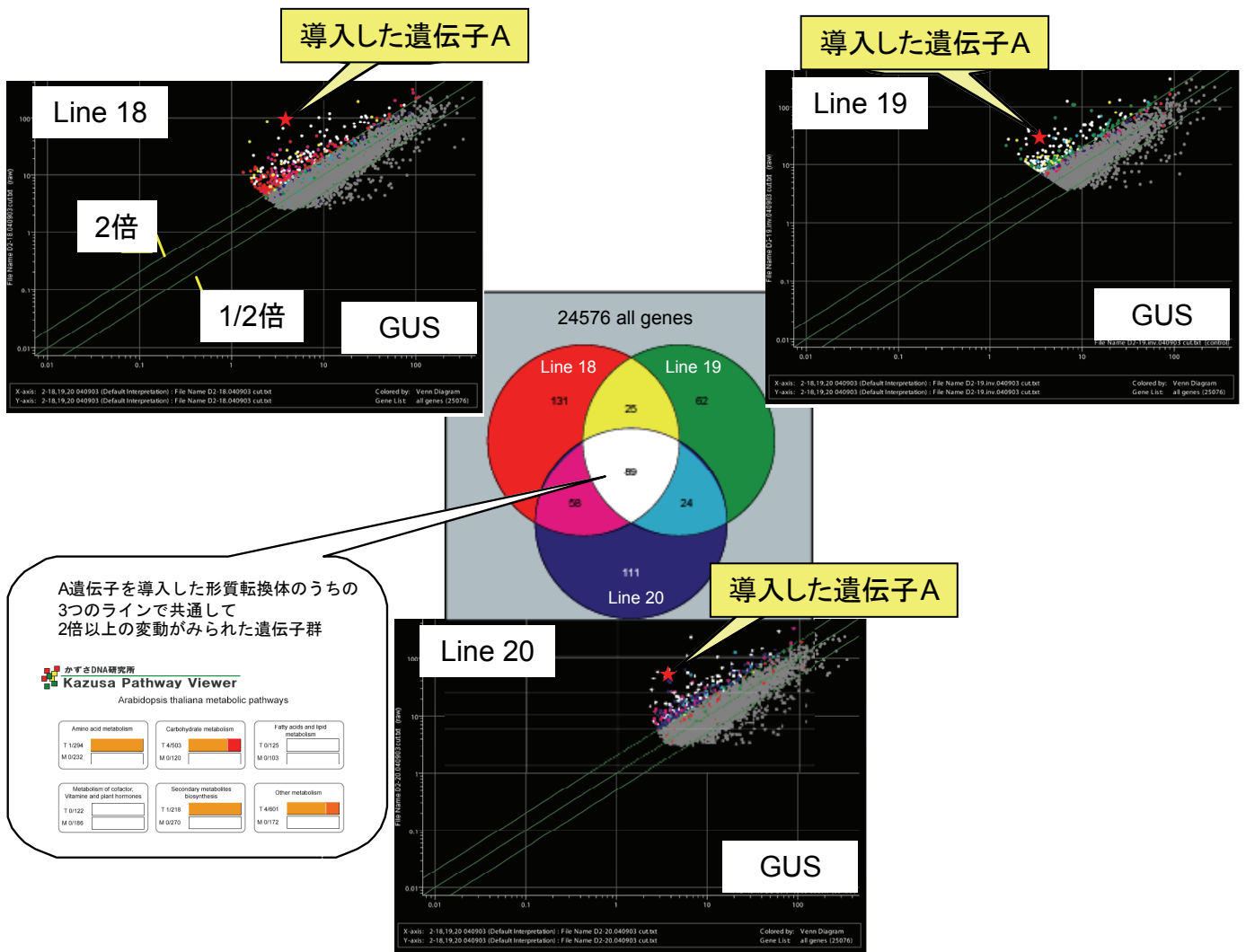


図 5 - 3 転写因子遺伝子が過剰発現した形質転換培養細胞のマイクロアレイを用いた発現プロファイルの解析例

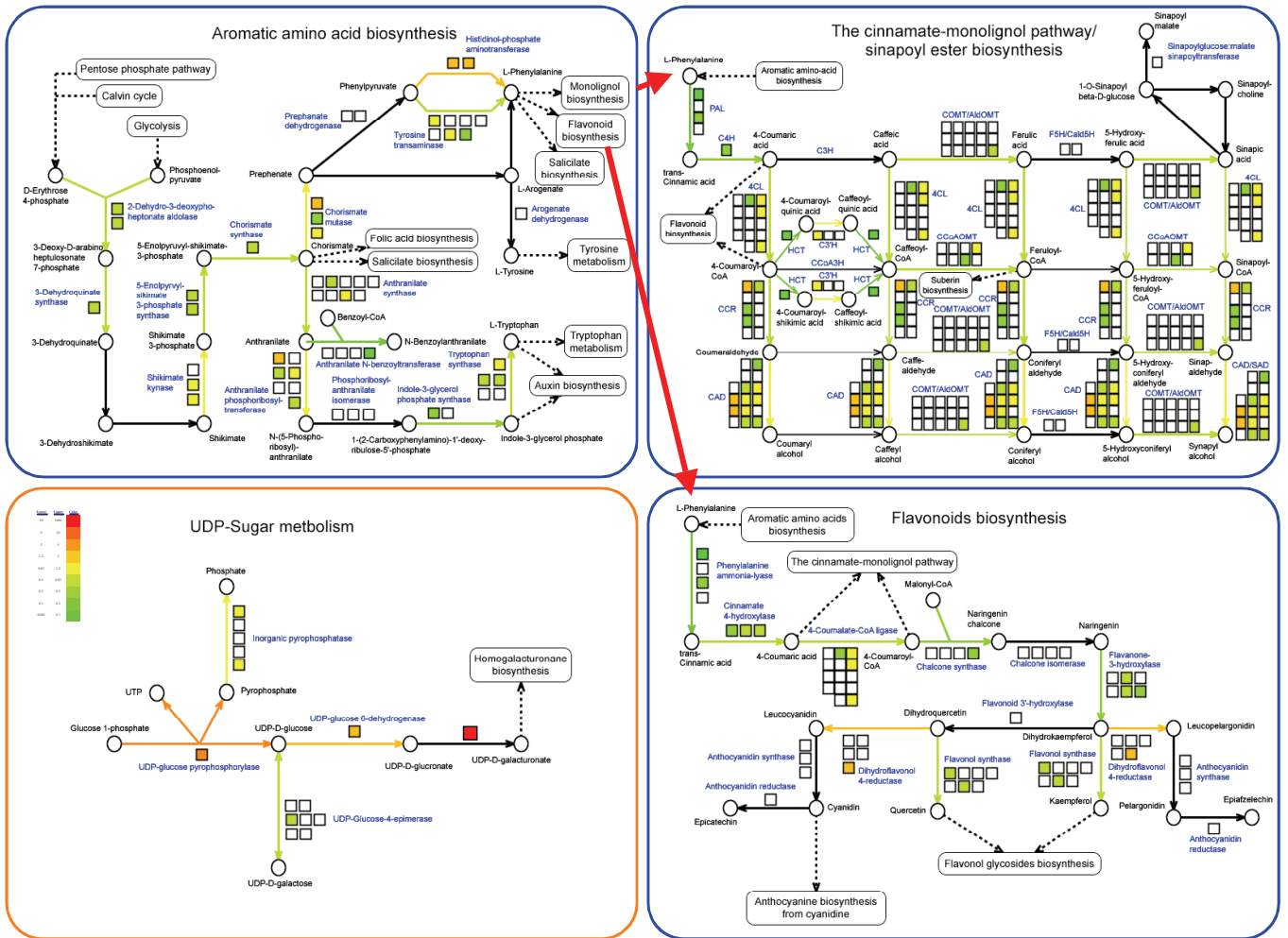


図5-4 転写因子遺伝子が過剰発現した形質転換培養細胞における代謝系遺伝子群の発現変動の解析例

表5-1 DOF転写因子ファミリーによる糖代謝系の制御

形質転換培養細胞の発現プロファイルをPathwayViewrで解析した結果をカルビン回路およびシヨ糖代謝に注目してまとめた。

Gene	Group	Calvin cycle				sucrose metabolism	
		RuBPCase	FBPase	SPBase	PRK	sucrose synthase	sucrose-P synthase
DOF2	3	up					
DOF3	5	unchanged					
DOF4	6	down					
DOF5	1						
DOF7	4						
DOF11	2						
DOF12	7						

代謝物プロファイル解析

転写因子遺伝子が高発現している形質転換T87培養細胞(3ライン)



GC-MS, LC-MS, CE-MS  
(NEDO基盤研)

\* 右図は、TF-B、TF-CとコントロールのGUS過剰発現体のGC-MS解析例

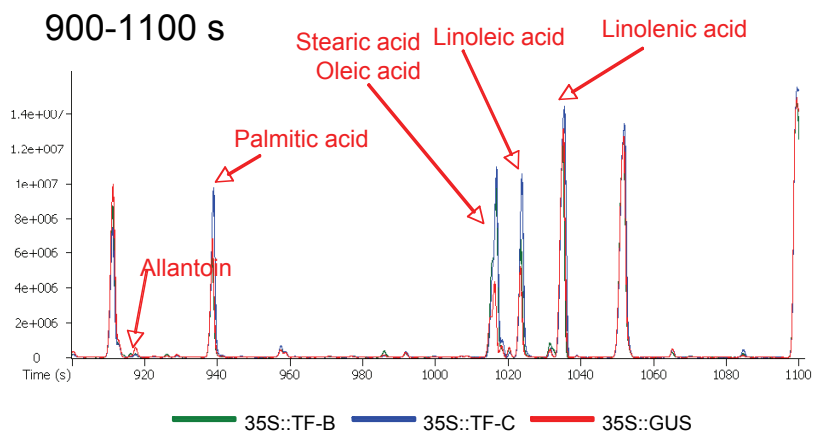
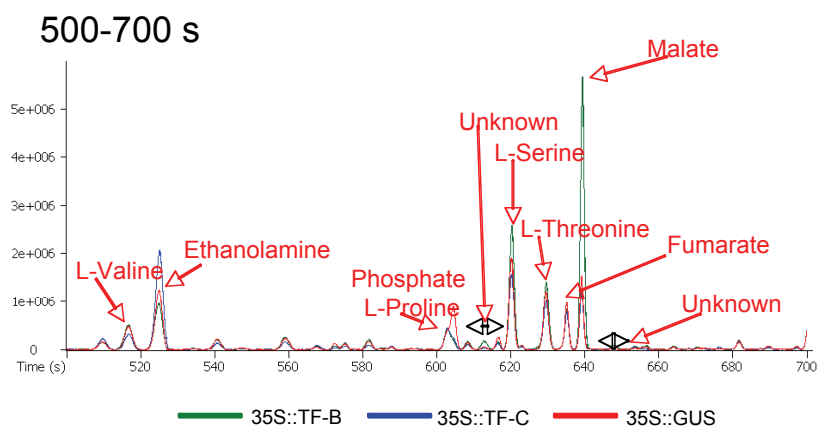
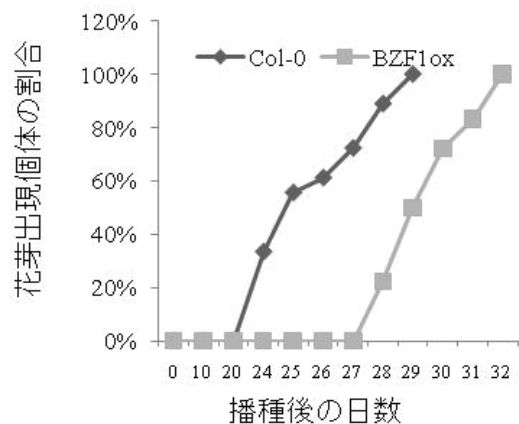


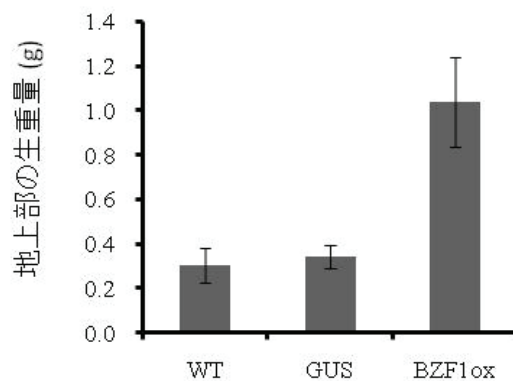
図5-5 転写因子遺伝子が過剰発現した形質転換培養細胞の代謝産物プロファイルの解析例



(a) 栄養成長期間の増大



(b) 栄養器官のバイオマス量の増大



(c) 渇水耐性の向上



(d) 灌漑水利用効率

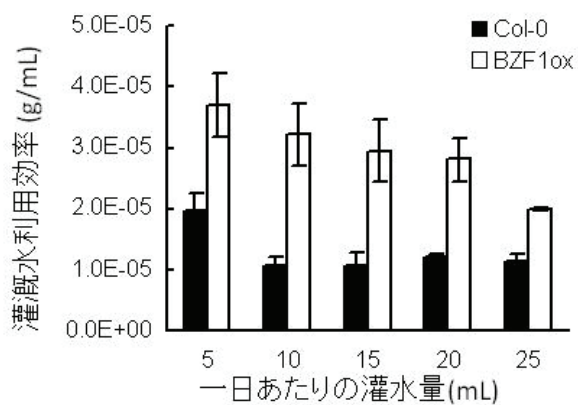


図 5-7 BZF1 過剰発現体のバイオマス生産及び渇水耐性の向上

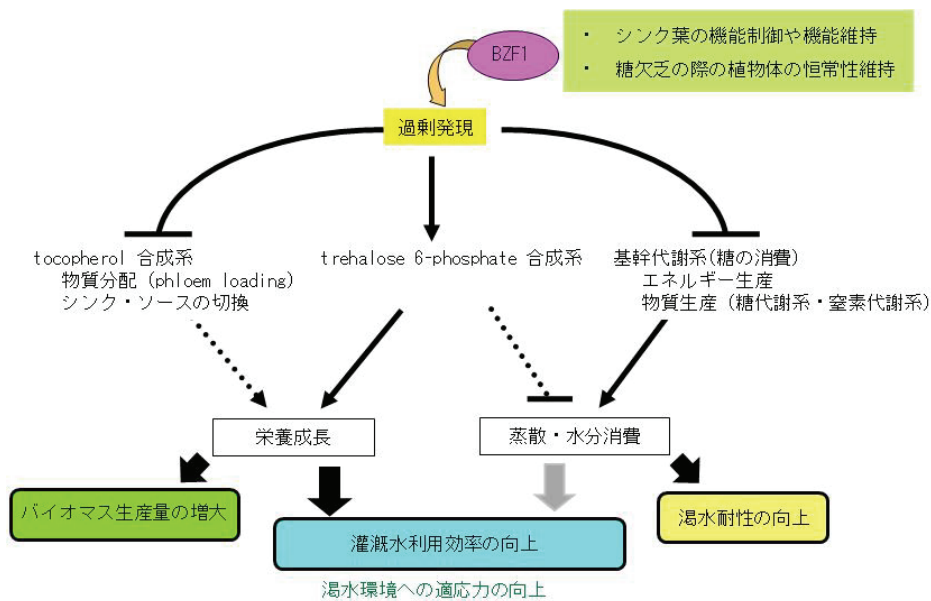
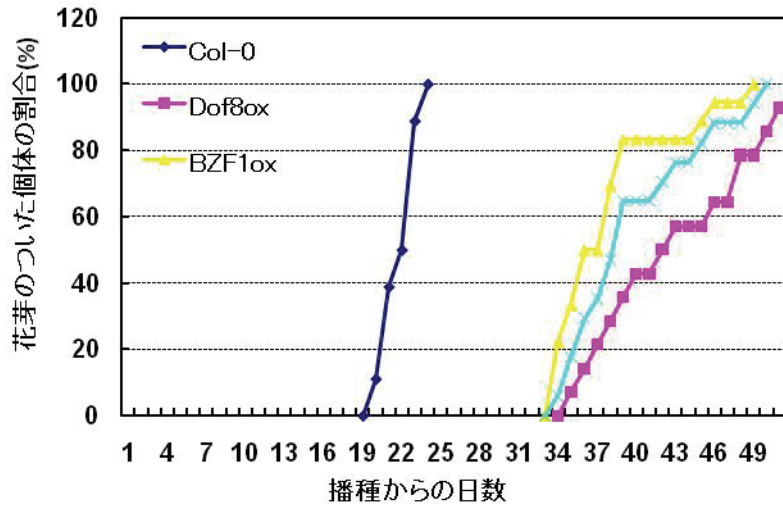


図 5-8 推定される BZF1 の作用機構



図 5-9 資源作物生産量増大への BZF1 機能の応用

(a) 栄養生長期間の増大



(b) 渇水耐性の向上

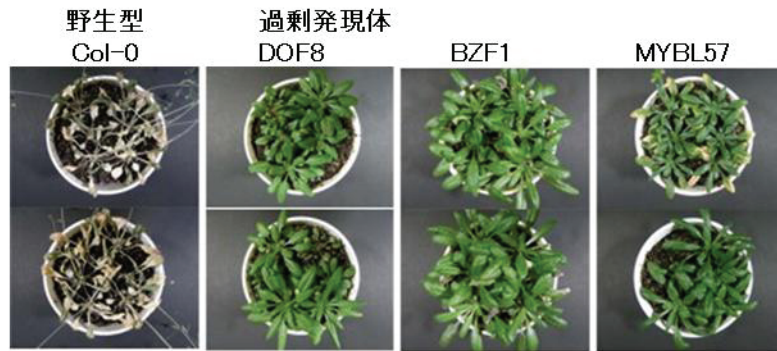


図 5-10 BZF1、MYBL57、DOF8 の過剰発現による栄養成長期の増大と渇水耐性の向上

花茎が抽苔し始める頃の植物体  
Col-0 (25d)      oxMYBL57 (35d)



クロロフィル・カロテノイド量

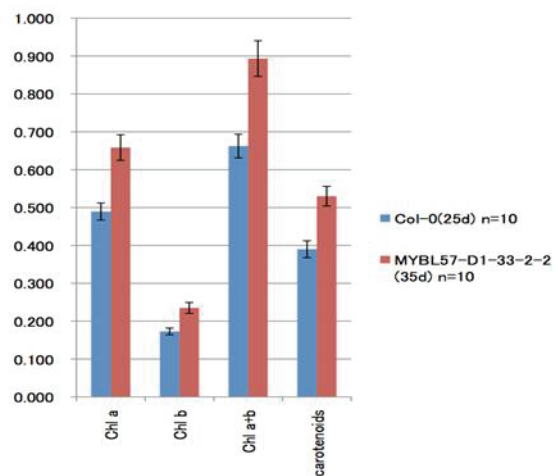


図 5-11 MYBL57 過剰発現によるクロロフィル・カロテノイド含量の増加



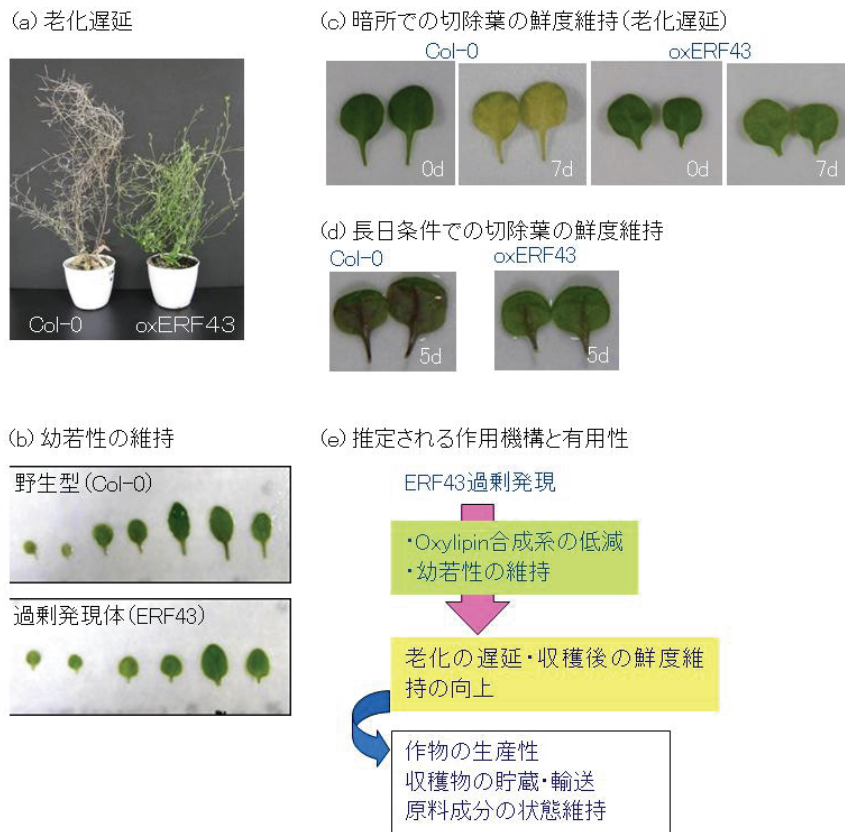


図 5-1 2 ERF43 過剰発現による老化遅延及び収穫後鮮度維持の向上

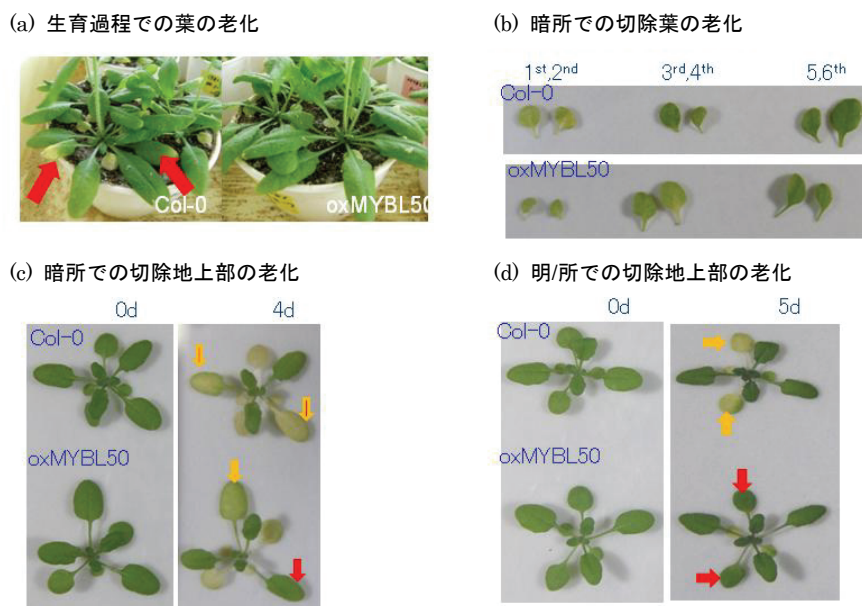


図 5-1 3 MYBL50 の過剰発現による老化遅延及び収穫後鮮度維持の向上

①シキミ酸経路~トリプトファン派生経路

②フェニルプロパノイド経路

③脂質関連

関連因子

Chorismate synthase  
Chorismate mutase  
Tryptophan synthase  
*PAD3*等と発現が相関  
(正および負)する転写因子  
At2g22770  
At3g02790  
At5g14000  
At1g61660  
At3g47620

*PAL*等の発現と発現が相関  
(正および負)する転写因子  
At1g74840  
At1g64530  
At1g04850  
At1g80580  
At1g65360

アシルCoA synthase  
Oleosinと発現が相関  
(正および負)する転写因子  
At5g07500 At5g07260  
At3g44460 At3g24650  
At4g18650 At5g07210  
At2g46270 At1g21970  
At1g77450 At1g32870  
At1g34190 At3g04070  
At4g02640

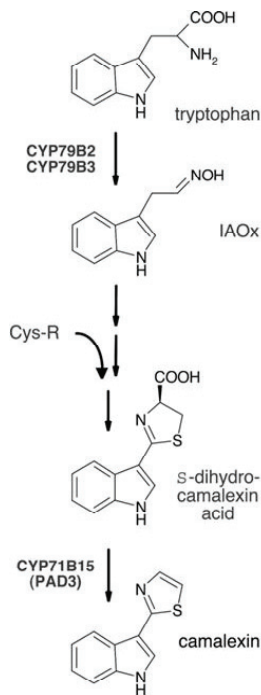
関連代謝物

インドールグルコシノレート  
カマレキシン等

フラボノイド  
アントシアニン  
プロアントシアニジン  
リグニン

脂質  
脂肪酸組成

図5-14 代謝関連遺伝子の発現と相関を持つ転写因子遺伝子



Schuhegger et al. 2006

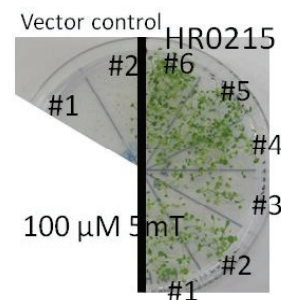
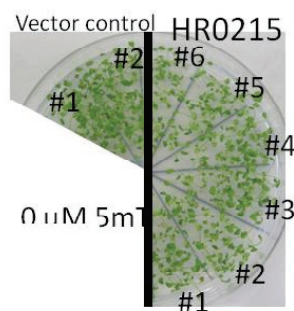
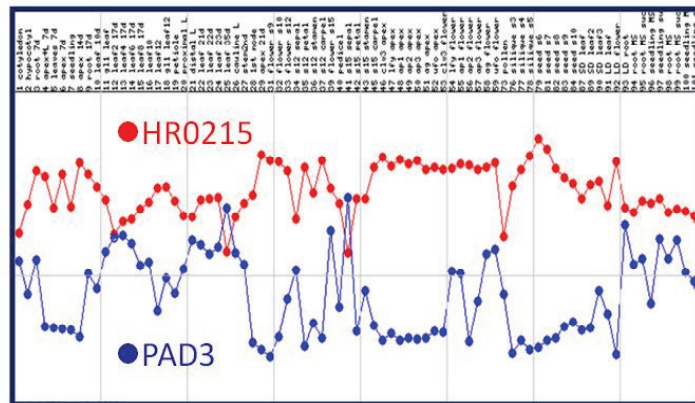


図5-15 シキミ酸経路に関わる *PAD3* と負の相関を示す *HR0215* キメラリプレッサーは、5メチルトリプトファンに耐性を付与する

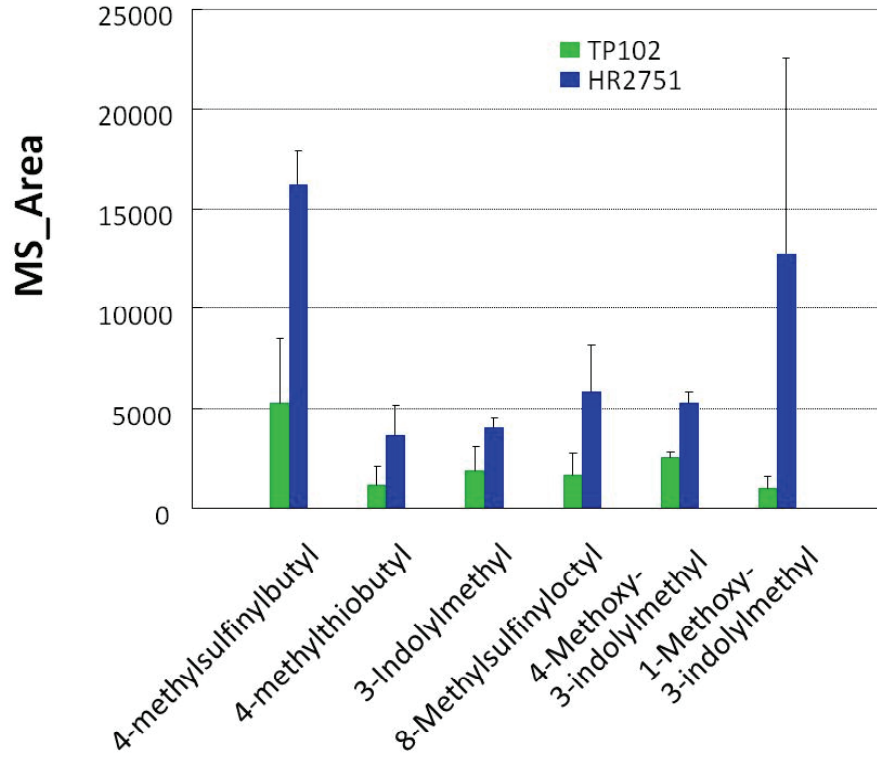


図 5-1 6 グルコシノレートの生産増を誘導するキメラリプレッサー

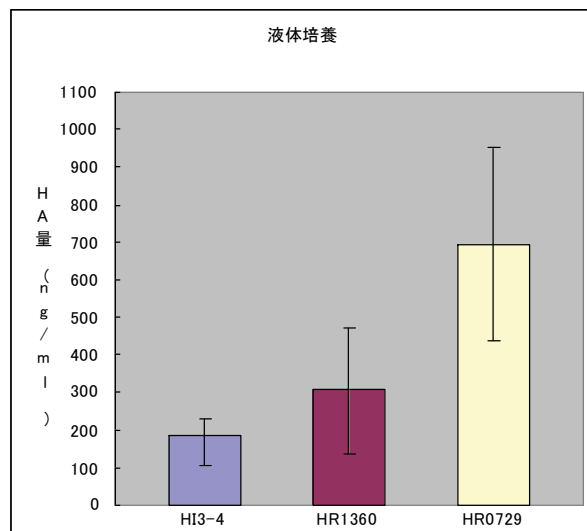


図 5-1 7 タバコ培養細胞におけるヒアルロン酸の合成量を増加させるキメラリプレッサー

## ②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

### (1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化（日本製紙）

#### A. MATベクターシステムによる樹木への遺伝子導入

##### 「平成14年度～17年度」

MATベクターシステムは部位特異的組換え系と植物ホルモン遺伝子を組み合わせることにより、樹木などの組織培養が困難な植物でのマーカーフリー個体の作製を可能にする技術である。平成14年度より、MATベクターシステムを用いてユーカリへの遺伝子導入を試み、組換え体を得たが、頻度、キメラ性などの問題と同時に、導入した遺伝子が高発現している組換え体を得られなかったことから、平成16年度より新規システムである「2段階MATベクターシステム」の開発に着手した。MATベクターシステム以外の既存のマーカーフリー作成技術は、マーカーフリー個体を得るために交配を必要としている。しかし、2段階MATベクターシステムでは、再遺伝子導入によりマーカーフリー個体を作製するため、交配までに長い期間を必要とする樹木全般に対して有用な技術である（平成17年3月31日特許出願）。また、2段階MATベクターシステムは選抜マーカー遺伝子を除去し、マーカーフリー個体を作製だけでなく、遺伝子置換技術にも応用できる汎用性の高い技術である。平成16年度より、タバコでの実証試験とともに、ユーカリ用2段階MATベクターを4種類構築し、評価に着手した。

##### 「平成18年度～19年度」

平成18年度から、2段階MATベクターの樹木における2段階目の脱離システムの作動確認試験を開始した。評価用のベクターを構築し、ユーカリ・グロビュラス茎および葉への脱離システム作動確認用ベクターの導入を行った。しかしながら、アグロバクテリウムによる導入後に、組織およびカルスの重度のネクロシスが観察され、種子由来の胚軸に比較して、ユーカリ・クローンからの不定芽の再分化が非常に困難であることが判明した。ユーカリにおいて2段階MATベクターシステムを有効に利用するためには、新たな樹木の形質転換促進技術の開発が必要であると考えられた。そこで、平成20年度からは本項目とDの無菌キメラ作成技術を統合して新たな研究項目（F：樹木への遺伝子導入技術開発）を設定した。

#### B. 組換え樹木の作製

##### 「平成14年度～17年度」

製紙用の実用品種であるユーカリ・グロビュラスは遺伝子導入および組織培養が困難であることが知られている。グロビュラスの組換え体を作製するために、2段階MATベクターによる遺伝子導入実験を開始した。遺伝子導入実験に用いる植物材料、培地条件などを検討することにより、組換え体作製効率を0%から約2%まで向上させた。これにより、4種類の有用遺伝子を用いて遺伝子導入実験を行い1段階目の組換えユーカリを得た。1段階目の組換えユーカリの作製系統数を表6-1に示す。

表6-1 組換えユーカリの作製系統数

遺伝子	作成系統数
高成長性	141
高パルプ化適性	202
耐寒性	170
耐塩性	162

実用化に用いる系統は、遺伝子発現の安定性および社会的受容を考慮すると、導入遺伝子が低コピーであることが望ましい。また、事業植林では数万本単位で植栽を行うため、旺盛に増殖する性質を持つことが望ましい。表6-1に示した系統について増殖試験およびサザン分析を行った結果を表6-2に示す。

表6-2 増殖系統および低コピー系統数

遺伝子（形質）	①増殖系統数	② 1あるいは2個の遺伝子が導入された系統数
高成長性	50	8
高パルプ化適性	68	21
耐塩性	53	12
耐寒性	51	15

それぞれの遺伝子について、実用化に用いる候補系統が約10~20系統得られている。

平成16年度より、新規な有用遺伝子としてバイオマス生産性を示すことが期待される *cds* 遺伝子を導入した組換え体の作製にも着手した。

また、上記の系統を用いて、2段目の遺伝子導入実験に着手し、ベクター2種類を構築した。

#### 「平成18年度~21年度」

引き続き、有用遺伝子のユーカリ・グロビュラスへの導入と組換え体の作製を行った。

得られた不定芽は、伸長培地で培養し、GUS 遺伝子の発現または目的遺伝子の PCR 分析により組換え体であることの確認を行った。さらに、同様の培地で芽の増殖を行い、増殖が可能な系統について、DNA、RNA 分析および発根試験を実施した。表6-3に、各有用遺伝子について新たに作製した組換え体の系統数を示す。耐寒性については、表6-1、2の系統数も含む。

表6-3 作製系統および発根試験実施系統数

遺伝子（形質）	取得不定芽数	組換え系統数	試験実施系統数
耐寒性	372	348	34
高成長性(追加)	152	139	32
耐塩性（追加）	90	87	32
耐乾燥性	217	206	89
高バイオマス生産性	246	236	48
耐塩性(新規ベクター)	98	93	71

作製した各種組換え体について、実用性を評価するための検討を行った。

以下に、各種プロモーターと連結した遺伝子をベクター毎に示し、作製した組換え体における評価結果を記載する。

#### ① 高パルプ化適性遺伝子：35S-*Ntlm1*

得られた系統において、増殖・発根可能な系統は4系統のみであった。これらの系統も、増

殖能力が低く、苗生産性が劣ることから実用性が低いと判断した。発根の可能な 4 系統については特定網室（筑波大学）において栽培試験を行い、生物多様性影響評価試験の新たな試験方法の開発に使用した。

② 高成長性遺伝子：*C2-prxC1a*

得られた系統において、ノーザン分析による遺伝子発現確認試験を実施した。不定芽の状態では発根が確認された系統もあったが、増殖・発根が可能な系統において、発根の高い系統が得られなかった。発根が良好で苗生産の先行していた 1 系統については、特定網室において栽培し、生物多様性影響評価試験の新たな試験方法の開発に使用した。18 年度より新たに同様のベクターを導入して検討を行ったが、発根の高い候補系統が得られなかった。

③ 耐塩性遺伝子：*ubi-codA*（基礎生物学研究所より供与）

17 年度までに作製した系統に追加系統を加えて増殖試験を実施し、増殖が可能だった 44 系統について、目的物質であるグリシンベタインの分析を行った（かずさ DNA 研究所に依頼）。非組換え体の平均（約  $0.05 \mu \text{mol/g fresh wt}$ ）に比較して低い系統は 1 系統のみであり、最高で  $0.71 \mu \text{mol/g fresh wt}$  と高い蓄積が確認された。その後の発根試験により発根の良好な 4 系統を選定して（グリシンベタイン濃度はコントロールの 3~6 倍程度）、筑波大学の特定網室において耐塩性の評価試験を実施した。3 系統に耐塩性が確認できたので、さらに生物多様性影響評価試験を実施した。特定網室での生育性については、3 系統ともコントロール（種子由来の非組換え系統）と同程度以上であった。

④ 耐寒性遺伝子：*MC8-des9*（キリンホールディングス社より供与）

増殖が可能だった 29 系統について脂肪酸組成の分析を行った（かずさ DNA 研究所に依頼）。その結果、27 系統において非組換え体にはほとんど含まれていないパルミトイル酸(C16:1)の蓄積が確認された。12 系統のノーザン分析による遺伝子の発現確認試験の結果から、パルミトイル酸の蓄積量と *des9* 遺伝子の発現に相関が認められた。無菌苗を使用した低温試験の結果、一部の系統でコントロール（非組換え系統）と比較して耐寒性が確認された。7 系統について、特定網室での栽培試験を行ったところ、1 系統で明らかな生育不良が観察されたが、他の 6 系統についてはコントロールと同程度の生育性を示した。

⑤ 耐乾燥性遺伝子：*35S-AtGols*（理化学研究所より供与）

増殖が可能だった 45 系統について、ガラクトキノールおよびラフィノースの分析を行った（かずさ DNA 研究所に依頼）。また、同様の 45 系統についてノーザン分析による *AtGols* 遺伝子の発現確認試験を行った。種子由来であるため、これらの糖の蓄積量にバラツキがあるものの、コントロールの平均に比較して 2 倍以上の蓄積を示す系統は、すべて *AtGols* 遺伝子発現の高い系統であった。さらに増殖、発根、アグロバクテリウム残存性試験により選定した耐乾燥性候補 3 系統について、特定網室での栽培を開始した。

⑥ 高バイオマス生産性遺伝子：*35S-cds*

作製した系統の中で増殖、発根が可能だった 20 系統について、ノーザン分析による目的遺伝

子の発現確認試験を行ったが、発現の高い系統が得られなかった。

#### ⑦ 耐塩性遺伝子：35S-*codA*

*ubi*プロモーターによる *codA* 遺伝子の発現とグリシンベタイン分析の結果より、耐塩性をさらに増強するためには新たなベクターの導入が有効であると判断し、平成 20 年度より新規ベクターの遺伝子導入を行った。増殖が可能だった 61 系統についてグリシンベタインの分析を行った（かずさ DNA 研究所に依頼）。その結果、25 系統において旧ベクターの最高値を超えるグリシンベタインの蓄積量が認められた。これらの耐塩性候補系統の苗生産と人工太陽光室への馴化を実施した。

ユーカリ・グロビュラスは挿し木による苗生産も困難であることが知られ、組換え体のシュートの発根試験においても、系統により発根率が非常に低いことが問題であった。そこで、クローン増殖による苗生産方法についても様々な検討を行った。その結果、これまでに比較してさらに発根率を向上させる方法を見出し、特許「ユーカリ属植物のクローン苗の生産方法」を平成 21 年 12 月 9 日に出願した。

### C. 生物多様性影響評価試験

#### 「平成 14 年度～17 年度」

組換えユーカリの実用化を重視するため、後期に予定していた安全性評価試験を前倒し、特定網室での安全性評価試験の準備を開始した。組換え農作物の野外試験の実施経験を持つ筑波大学から技術指導を受け、平成 17 年度からの特定網室における安全性評価試験の申請準備を開始した。この試験に用いる組換え体の大量増殖および苗生産を実施している。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

各種組換えユーカリについて、筑波大学の特定網室において生物多様性影響評価試験を行い、データの蓄積を行った（高パルプ化適性遺伝子導入 4 系統、高成長性遺伝子導入 1 系統、耐塩性遺伝子導入 3 系統、耐寒性遺伝子導入 7 系統）。耐乾燥性遺伝子導入 3 系統については、21 年度より特定網室での生育試験を開始した。研究が先行している耐塩性組換えユーカリ 3 系統については、特定網室における生物多様性影響評価試験の結果をもとに平成 19 年度に主務省庁（文部科学省、環境省）への第一種使用申請を行った。その後、有識者による公聴会、一般説明会、パブリックコメントの募集を経て使用が認可され、平成 20 年 3 月より筑波大学の隔離ほ場において栽培し、野外における生物多様性影響評価試験を実施した。組換えユーカリの生育は順調で、これまでの生物多様性影響評価試験の結果からは、非組換え体と比較して問題となるような違いは認められていない。耐寒性候補系統については、第一種使用申請に必要なデータの取得を終了した。今後、これらの耐寒性候補系統についても第一種使用申請を行い、隔離ほ場試験の実施を目指す予定である。

### D. 無菌キメラ作成技術

#### 「平成 14 年度～17 年度」

プロモーターの作動を検出するシステムを開発し、これを用いて層特異的発現が報告されてい

る既知のプロモーター3種類を評価したが、安定した層特異的発現は確認されなかった。プロモーター評価については、新規キメラ作成システムでキメラ作成の可能性が示されたため、更なる検討は延期する。

遺伝子発現を鋭敏に検出するために、顕微鏡観察に適すると思われるマーカー遺伝子を収集、評価に着手した。

#### 「平成 18 年度～19 年度」

この技術をユーカリに応用するため、平成 18 年度よりキメラ作成の材料となる 1 段目の組換えユーカリの作製を開始した。平成 19 年度までに 20 系統の組換え体を分析し、1 コピーの組換えユーカリ・グロビュラス 3 系統を選定・増殖した。ユーカリにおいて本技術を有効に利用するためには、ユーカリ・クローンへの遺伝子導入技術の開発が必須であり、そのためには、新たな樹木の形質転換促進技術の開発が必要であると考えられた。そこで、平成 20 年度からは本項目と A の MAT ベクターによる樹木への遺伝子導入の 2 段目を統合し、新たに研究項目（F：樹木への遺伝子導入技術開発）を設定した。

### E. 遺伝子発現制御に関する技術開発

#### 「平成 14 年度～17 年度」

東京農工大学との共同研究を中止したため、中間目標を植物 1 種類（タバコ）に修正した。東京農工大学ではナタネ類を材料として、組織培養によるキメラ作成を予定していたが、日本製紙で実施している部位特異的組換え系を利用したキメラ作成法により、キメラ候補個体の作製に成功しているため、技術開発に影響はない。

周縁キメラは産業的価値が高いが、その作成は困難であり、接木法で柑橘類において極めて低頻度で作出されている例があるのみである。

この問題を解決するため、部位特異的組換え系を利用したキメラ作成技術の開発を試みた。平成 14 年度より、部位特異的組換え系による 2 種類のキメラ作成ベクターを構築し、評価した。その結果、1 種類のベクターでキメラ性を示す個体が得られた。しかしながら、キメラ性が安定しないことと分析の煩雑さが問題となり、平成 16 年度から 2 段階キメラ作成法を開発に着手した。2 段階キメラ作成法は、有用遺伝子の導入（1 段目）と特定の細胞からの有用遺伝子の除去（2 段目）からなる部位特異的組換え系を利用した技術である。2 段階キメラ作成法により、タバコを用いて周縁キメラ候補個体を 5 系統得た。これらのうち 4 系統は花粉などを形成する L2 層から遺伝子が除去されている L2 層周縁キメラ個体である可能性が示唆されている。

中間評価後の見直しで、平成 18 年度以降は、D に統合とした。

### F. 樹木への遺伝子導入（東京農工大、産総研と研究協力）

#### 「平成 20 年度～21 年度」

ユーカリ・グロビュラスのクローンからの不定芽分化促進技術の開発のため、アグロバクテリウム由来の 2 種のホルモン遺伝子（*ipt, iaaH*）とホルモン前駆体（NAM）を使用して検討を行った。平成 20 年度から、これらのホルモン遺伝子と *GUS* 遺伝子を含むベクターを作製し、ユーカリ・クローン（非組換え体）への遺伝子導入を行った。適切な濃度の NAM を培地に添加することにより、8 系統中 4 系統で不定芽の分化が確認された。平成 21 年度には、隔離ほ場試験を実施



している耐塩性組換えユーカリ 3 系統の無菌苗の葉について、同様のホルモン遺伝子を含む 2 段目の遺伝子導入を行った。ホルモン遺伝子の働きにより、3 系統中 2 系統において、不定芽の分化を確認することができた。

遺伝子脱離システムの樹木における検証のためには、ポプラの一種である交雑ヤマナラシを使用した。平成 20 年度には 1 段目の評価用ベクターを導入した 20 系統の組換え体を作製し、1 コピーの 3 系統を選定した。平成 21 年度には、これらの 3 系統の茎への 2 段目の脱離検証用ベクターの導入を行った。ホルモン遺伝子の働きにより、遺伝子が導入された茎からの旺盛な不定芽分化が確認され、すべての系統において、一部の不定芽の GUS 染色が確認された。さらに 1 系統については、GUS 染色される正常な個体の分離に成功した。以上の結果から、2 段階 MAT ベクターの脱離システムが、樹木においても有効に機能することが明らかとなった。

## (2) 循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の開発 (王子製紙)

木質バイオマスは、多数の遺伝子産物が複雑な反応ステップを経て形成すると考えられる。これまで、リグニン生合成機構、最近の新しい成果としてはセルロース生合成機構について、遺伝子レベルでの理解が深まってきている。しかしながら、こうした生合成過程を実際に制御している植物固有のシステムについてはその存在の有無を含めて何ら有効な知見が得られていない。本研究の課題である木質バイオマスの統括的生産制御の具体的な方策として、木質バイオマス生産に関わっている重要な遺伝子群の発現量を調節するための調節因子や分子スイッチの探索あるいは人為的構築と、これらをユーカリに導入・作用させることにより、木質バイオマス生産を統括的に制御する技術を確立する。なお、目標達成までの具体的なプロセスとして、モデル植物(シロイヌナズナ)並びに実用植物(ユーカリ)を用いて以下の具体的解析項目を段階的に進め、当該課題の研究開発を実施した。

- 1) cDNA の取得及び解析 (研究項目のAに該当)
- 2) 物質生産系の経路と機能の解析 (研究項目のAに該当)
- 3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析 (研究項目のBに該当)
- 4) 目的物質生産に関する遺伝子等の解析 (研究項目のBに該当)
- 5) モデル植物や実用植物を用いた確認試験 (研究項目のCに該当)

### A. 細胞壁成分の生合成・木繊維細胞形態形成に関与する遺伝子群の網羅的解析

「平成 14 年度～17 年度」

シロイヌナズナ並びにユーカリにおいて、細胞伸長、2 次壁肥厚組織を材料に、cDNA 配列情報の取得、マイクロアレイ解析により網羅的な遺伝子発現変動を解析し、その結果を基に候補遺伝子群を絞り込んだ。

本研究開発で実施している主たる解析手法である「マイクロアレイ実験」の実施詳細については、信頼性の高いデータの取得に成功済みである(15 年度のプロジェクト内成果報告会にて説明)。

シロイヌナズナについては、細胞伸長期(図 7-1)に発現が増大する遺伝子群として、シロイヌナズナ全遺伝子(約 22,000 個)を対象におよそ 400 個程度に絞り込んだ。これらは 7 割程度が何らかの機能が推測されたものの、残りの 3 割については機能が特定されていない遺伝子であった(図 7-2)。

ユーカリについては、細胞伸長部位および 2 次壁肥厚部位双方を含めて、遺伝子発現の増減について、i) 樹齢差、ii) 樹幹内差、iii) 種間差、iv) その他の観点でデータを取得した。樹幹で発現するユーカリ遺伝子群(約 8,000 個)を対象に、細胞伸長期特異的発現、肥大成長期特異的発現等の比較から、10 の発現群に分類し、機能推定等を含めて解析候補を絞り込んだ(図 7-3)。

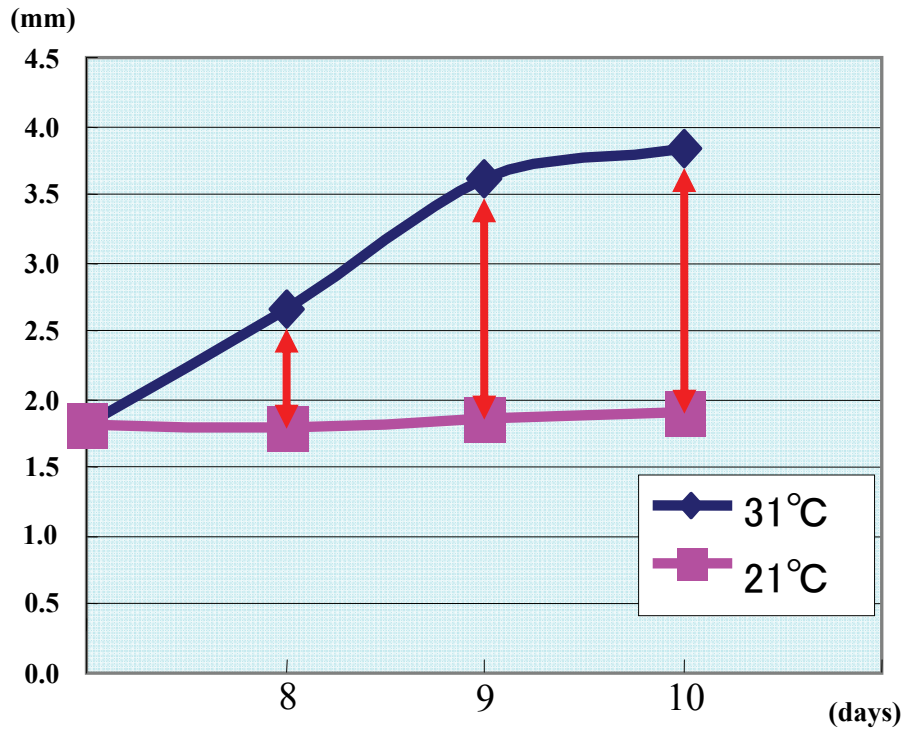


図7-1 シロイヌナズナ生育温度による下胚軸の伸長差

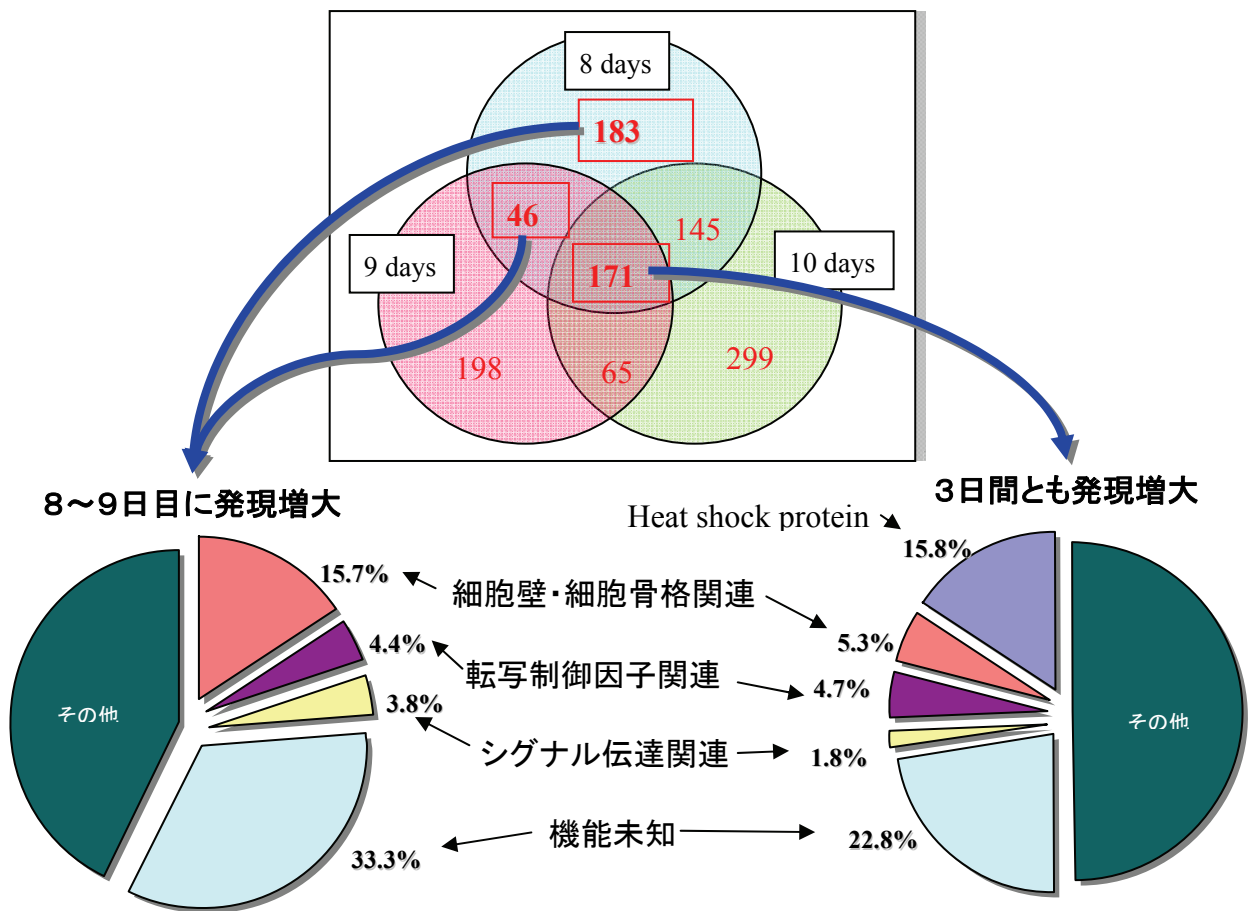
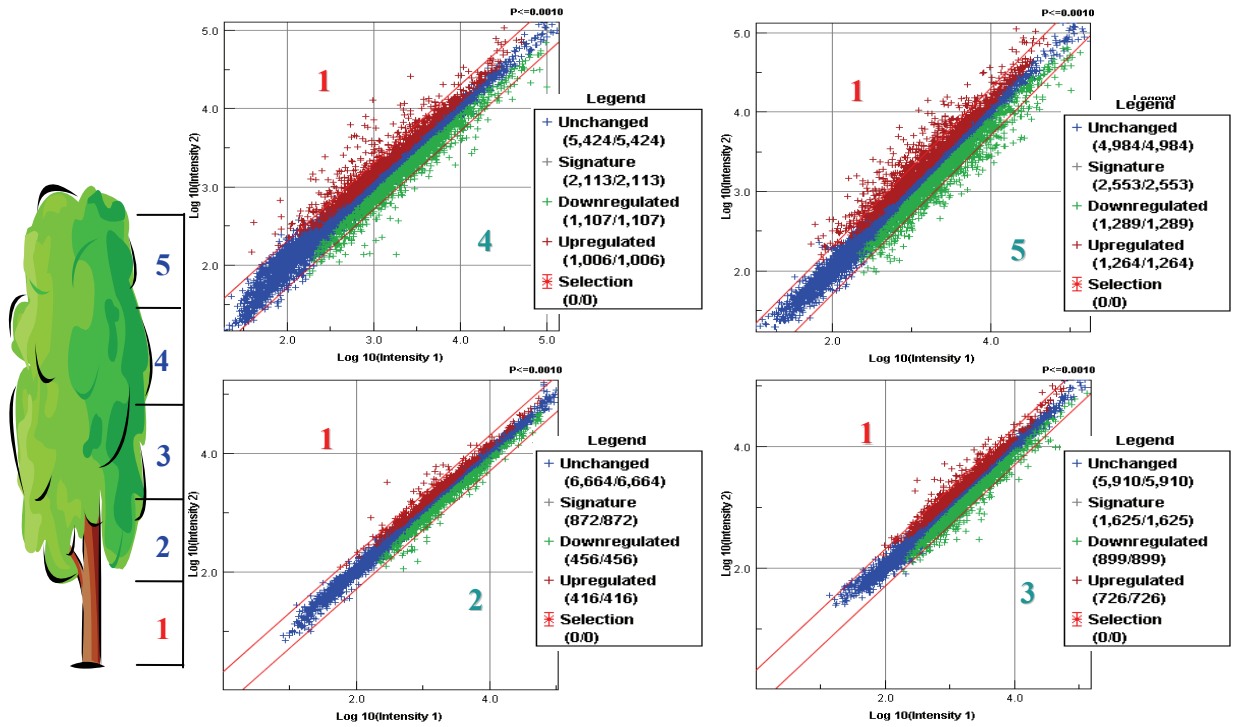


図7-2 シロイヌナズナ生育温度による下胚軸の伸長時に発現変動する遺伝子群

### ユーカリマイクロアレイ実験 (樹幹内の差)



### ユーカリマイクロアレイ実験 (樹齢の差)

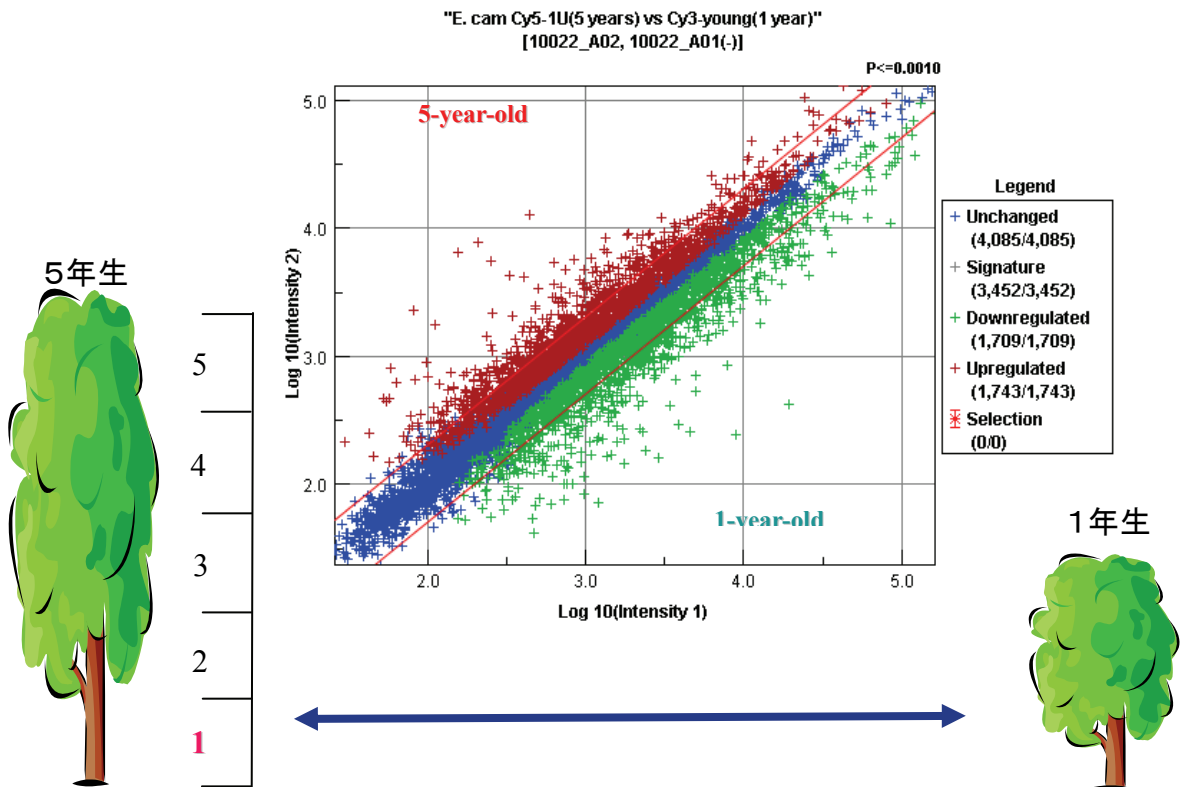


図 7-3 ユーカリ樹幹部で発現する遺伝子群のデータプロフィール

「平成 18 年度～21 年度」

プロジェクト前半の結果を基に、細胞壁形成に関与する可能性の高い転写因子遺伝子を下表に示す 10 個に絞り込んだ。

ID #	制御因子タイプ	最も似ている制御因子名
77629	CCAAT	transcription factor [ <i>Vitis riparia</i> ]
73384	MYB	MYB transcription factor [ <i>Eucalyptus gunnii</i> ]
74387	MYB	myb transcription factor werewolf MYB66 [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ]
72062	WRKY	transcription factor NtWRKY4 [ <i>Nicotiana tabacum</i> ]
72727	ジンクフィンガー	transcription factor LIM [ <i>Populus kitanamiensis</i> ]
73187	ジンクフィンガー	putative zinc finger protein [ <i>Cicer arietinum</i> ]
73448	ホメオボックス	homeobox protein PpHB4 [ <i>Physcomitrella patens</i> ]
73643	ホメオボックス	knotted1-like homeobox protein [ <i>Malus x domestica</i> ]
76469	ホメオボックス	homeobox 2 protein [ <i>Lycopersicon esculentum</i> ]
75229	bZIP	bZIP transcription factor [ <i>Nicotiana tabacum</i> ]

これらの実用有効性を早期に評価することを目的として、タバコを用いて遺伝子導入を行い、生長性、材質、繊維長について解析を行った。特に、*EcHB1* と命名した転写因子遺伝子 (ID#: 73448) の導入により作出された遺伝子組換えタバコでは、野生株に比べ体高が平均 50% 向上 (最大 60%) し、繊維長が長くなる効果が認められた (図 7-4)。

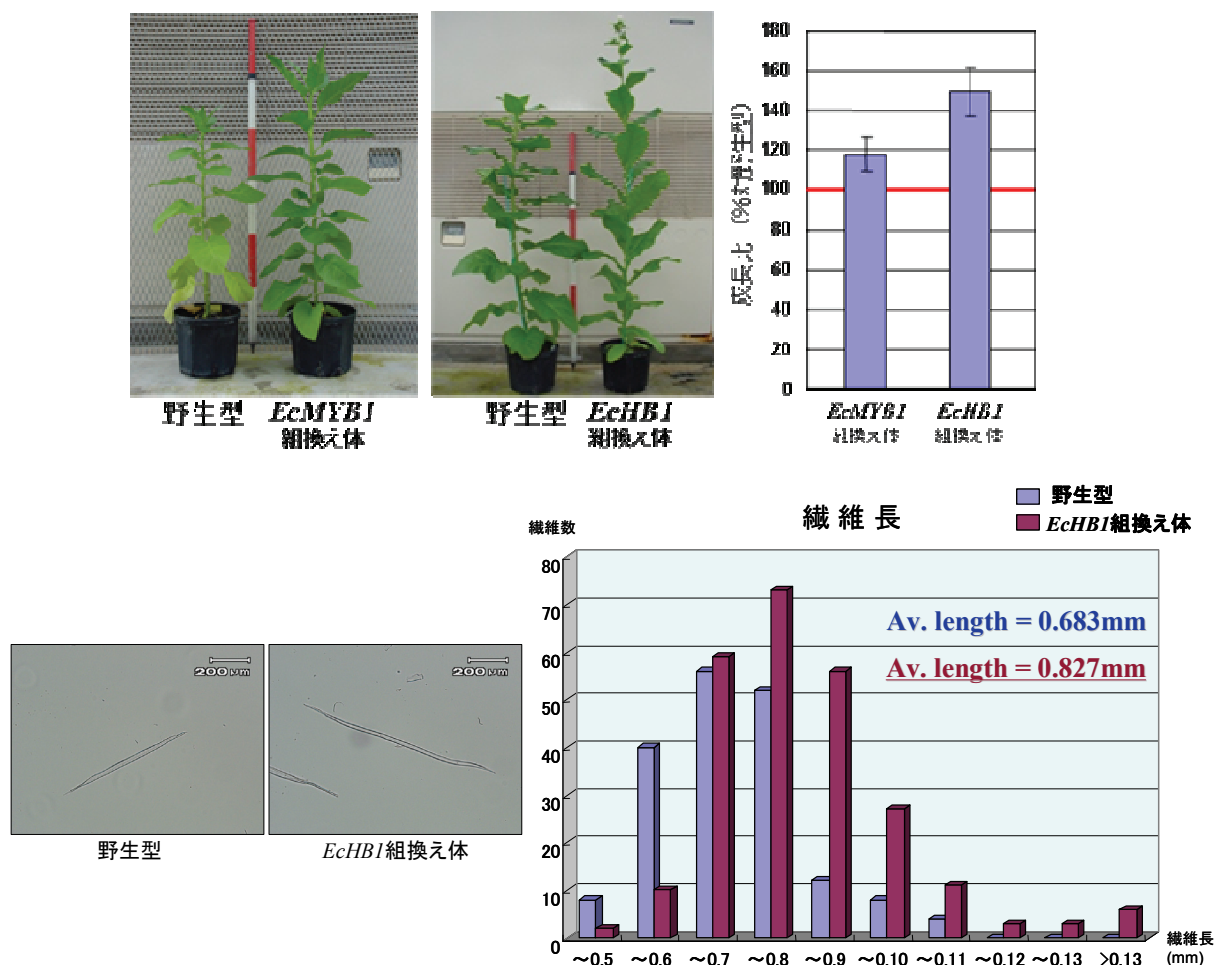


図 7-4 *EcHB1* を過剰発現させた組換えタバコの評価結果

## B. 木質バイオマス形成に関わる遺伝子群の統括的発現制御システムの構築

### 「平成 14 年度～17 年度」

上記 A. に記載の内容を基に、シロイヌナズナについては、候補遺伝子中の転写制御遺伝子を優先的に解析することとし、目的遺伝子の破壊株系統を入手、育成、解析を進めたが単一の遺伝子破壊での形質変化に顕著な差異が認められないため、これらについては交配を行い、2 個以上の遺伝子破壊系統を獲得することとした。

ユーカリについては、独自のカスタムユーカリオリゴアレイによる解析に引き続き、発現制御に関わる遺伝子の解析に必要なユーカリ遺伝子ライブラリーを作製した。カスタムユーカリオリゴアレイによる解析について 16 年度前半までに総括した結果、「木質成分合成及び木繊維形成に関与する遺伝子群、および制御因子（転写因子および分子スイッチ）遺伝子群」の候補として 21 個の遺伝子を絞り込んだ。さらに、これらの候補遺伝子と連携して「木質成分合成及び木繊維形成に関与するプロモーター領域（シス因子）群」の候補として 16 個の遺伝子を絞り込んだ。

これらは順次、ユーカリ遺伝子ライブラリーからの単離を実行した。また、制御因子とプロモーターとの相互作用を検証するための実験系として、制御因子のターゲットとなるプロモーター領域の取得（クローニング）についても効率的手法を確立すると共に酵母のワンハイブリッド法を改変した機能同定法を確立した。上記、21 個の制御因子候補 vs.16 個のシス領域候補の相互作用について、継続して検証中である。さらに詳細な細胞別遺伝子発現データ（マクロダイセクションによる）を併せることによって、目的の制御因子遺伝子の絞り込みを達成したいと考えている。

### 「平成 18 年度～21 年度」

プロジェクト前半の結果を基に、「木質成分合成及び木繊維形成に関与するプロモーター領域（シス因子）群」の候補として 2 種の遺伝子（*CcOMT*、*CAD*）のプロモーターについて、ユーカリへの導入を行い、レポーター遺伝子（*GUS*）の発現確認より、*CcOMT* プロモーターを最も有効な分子スイッチとして獲得した（図 7-5）。

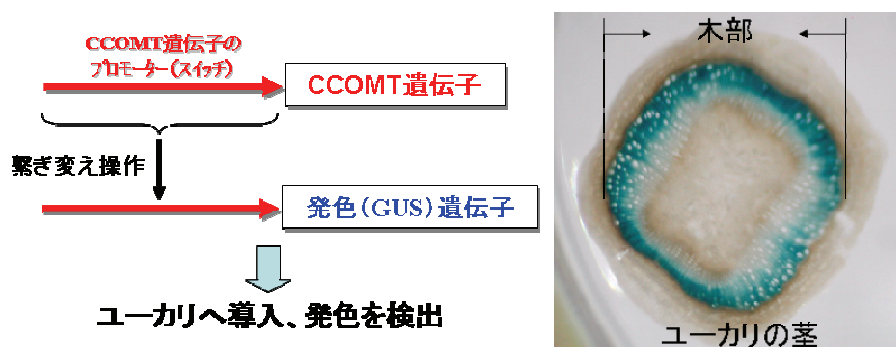
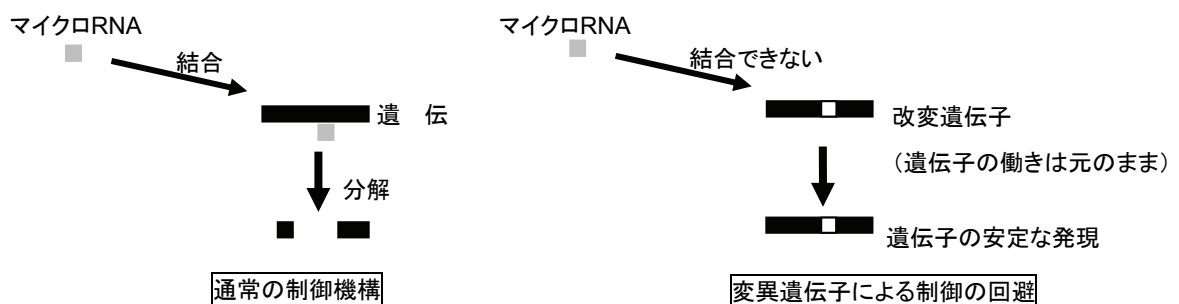


図 7-5 ユーカリ形成層で特異的、かつ強く発現する *CcOMT* プロモーター

遺伝子組換え植物実用植栽時において、人工変異遺伝子の環境への伝播への懸念がある。多くの GM 作物の場合は結実の必要から花粉飛散の距離、生物多様性への影響程度を考慮する形で、既に実用植栽されているものの、樹木の場合は多年生植物である特徴を持ち、1 年生植物である作物に比べて相応の対応が必要である可能性が高いので、花粉飛散を根本から抑止するために、

花芽形成に関わる転写制御因子（*EcAGL*）遺伝子を単離、RNAiによる花粉抑止を目的として遺伝子組換えユーカリを作出した。現在、開花促進剤等の添加により導入遺伝子の挙動効果を継続して調査中である。

さらに、19年度の加速案件として、ユーカリマイクロRNAの単離とその制御機構を応用した新規遺伝子制御技術の開発を進め、*EcMyb1* 遺伝子（ID#: 73384）の翻訳抑制活性持つマイクロRNA（*Eg-miR828*）を同定した。*Eg-miR828*の作用を回避するために人工変異を組み込んだ改変*EcMyb1* 遺伝子（塩基配列のみ変更し、コードされるアミノ酸配列は変えない）を作製し、タバコへ導入した結果、生長性が向上することが認められ、マイクロRNAの翻訳活性を回避する新しい遺伝子発現向上技術の開発に成功した（図7-6）。



野生型 改変 *EcMYB1*

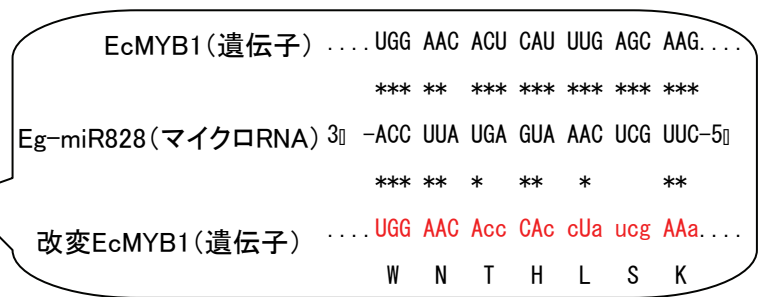


図7-6 マイクロRNA制御機構を利用した新規遺伝子制御技術例

### C. ユーカリ遺伝子組換え体の評価

「平成14年度～17年度」

ユーカリの分子育種に必要な形質転換体作出技術は既に確立しており、17年度以降、モデル植物として早期検定を目的とするタバコを併用しつつ、ユーカリについて形質転換体を作成、検証を行った。

「平成18年度～21年度」

実施項目 A、B の結果を基に、3種の転写制御因子遺伝子（*EcHB1*、*EcMyb1*、*EcZF1*）に

ついて、過剰発現 (CaMV35S プロモーター)、並びに CcOMT プロモーターを用いた組織及び時期特異的な発現を狙った遺伝子組換えユーカリを作出し、解析を行った。その結果、*EcHB1* を導入した場合に、樹高成長増大、繊維長増大が認められた。

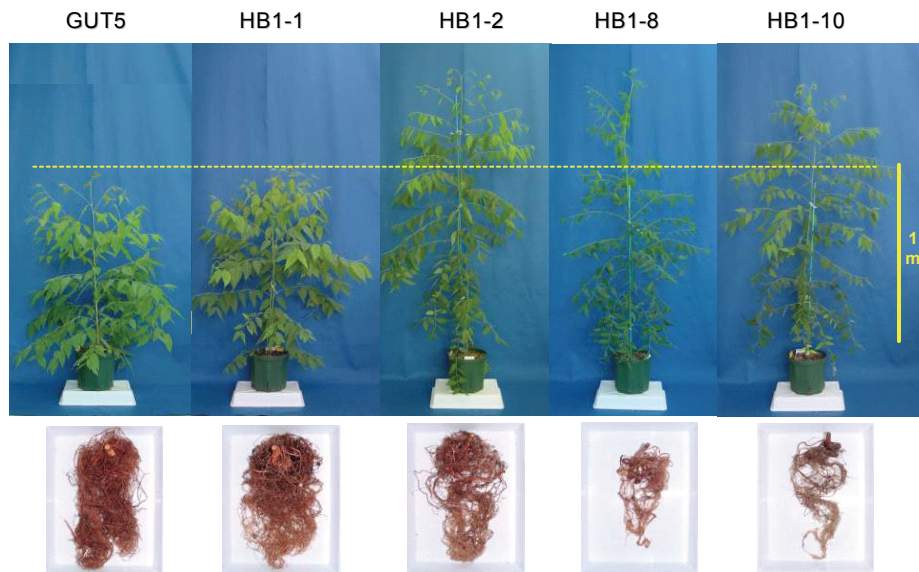


図 7-7 *CaMV35S::EcHB1* 組換えユーカリの地上部(上)と根部(下)の形態 (育

*EcHB1* を過剰発現させた組換え体はコントロール (GUT5) に対して樹高成長が 50%増大したが (図 7-7)、莖径は 30%減少し、樹幹生重量としては 15%増加していた。一方、組換え体の根量が減少し、事業植林で養水分吸収の低下が懸念された。材構成成分についてはセルロース含有率が 4~10%増加し、逆にヘミセルロースが 2~7%減少していた。また、平均繊維長は 5~11%増大した。

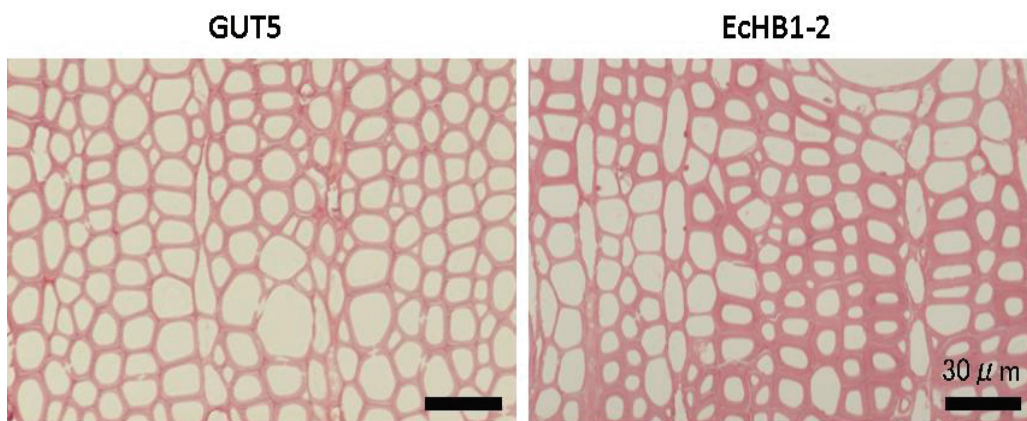


図 7-8 組換え体 *EcHB1-2* 樹幹の木口面切片光学顕微鏡写真

木部繊維の詳細な構造を明らかにするため、組換え体 *EcHB1-2* 樹幹の木口面切片を作製し、光学顕微鏡で観察を行った結果 (図 7-8)、組換え体で細胞壁が 50%厚くなった。また、木部繊維の細胞径に関しては、接線径は有意な差はない。一方、放射径は組換え体で 11%小さくなったが、組換え体の細胞壁率が有意に 44%増加した

一方、木部特異的に *EcHB1* を発現させた組換えユーカリは、非組換えユーカリに対して、樹



高成長が平均 7%、最大 18% 増大した。茎径も平均 10%、最大 16% 増大した。根量は、平均 12% 増加し、*EcHB1* 過剰発現ユーカリでのマイナス面（茎径減少、根量減少）を克服した（図 7-9）。

樹幹生重量も平均 13%、最大 26% 増加し、*EcHB1* 過剰発現ユーカリ同様収量増加への寄与が期待された。また、最大 14% の繊維長増大が認められたが、材構成成分は *EcHB1* 特異的発現ユーカリでは変化を認めなかった。この要因としては、CcOMT プロモーターによる発現時期や部位の違いから、育成 1 年時では顕著な差とならなかったことが考えられる。

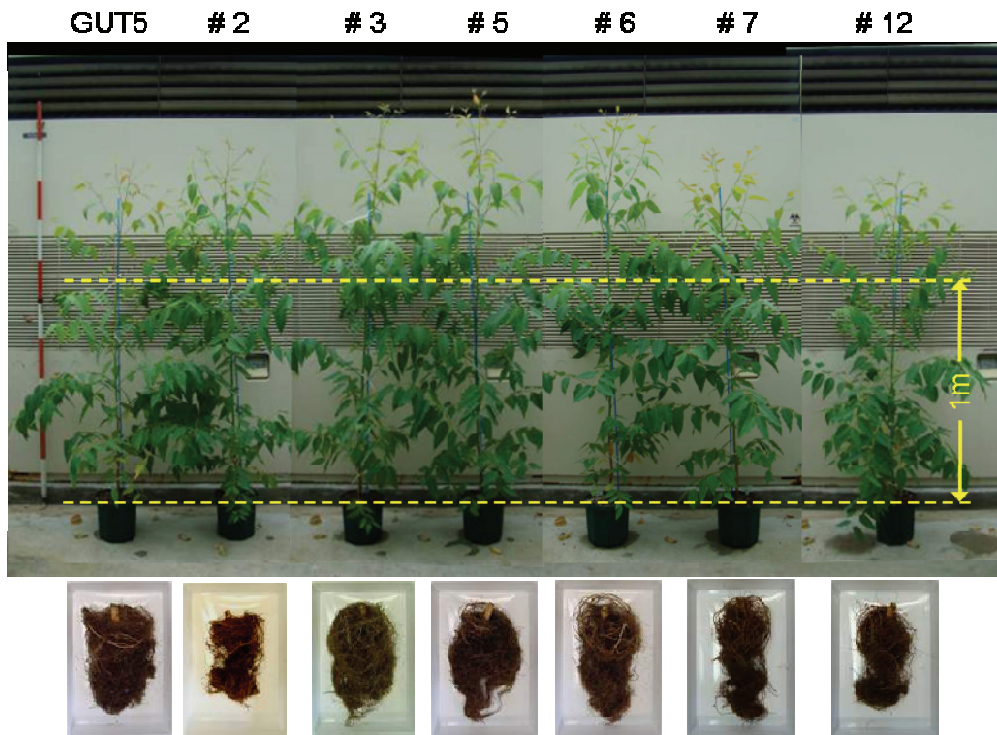


図 7-9 *CcOMT::EcHB1* 組換えユーカリの形態（育成 12 ヶ月）

転写因子遺伝子：*EcHB1* を改良して利用することにより、鉢内での限られた容積での 1 年間の育成結果に留まるものの、一定の材質改良が確認された。

特に樹高成長増大、繊維長増大が認められ、さらに CcOMT プロモーターによって木部特異的に *EcHB1* を発現させることにより、植物体全体で発現させた時の茎径減少、根量減少といったマイナス効果が無くなり、伸長成長、肥大成長いずれにおいても改良効果が現れ、実用レベルでの有効性が示唆された。

長期の育成により、遺伝子組換え効果の程度が実用レベルに相当するかを見極めることが重要であり、今後は、ブラジルでの実施を目指す野外試験でその効果を検証していきたい。

### (3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発 (日立造船)

#### A. ポリイソプレノイド成分の分析と精英樹選抜

「平成 14 年度～17 年度」

トチュウポリイソプレノイド分析を効率的に高精度で実施するための試料調製法の再構築に取り組み、ダウンサイジングおよび抽出時間の短縮に成功した。そして、構築したトチュウポリイソプレノイド分析法の標準化マニュアル (中文, 英文, 日本文) 作成に取り組み完成し共同研究先に配布して情報の共有化を行った。

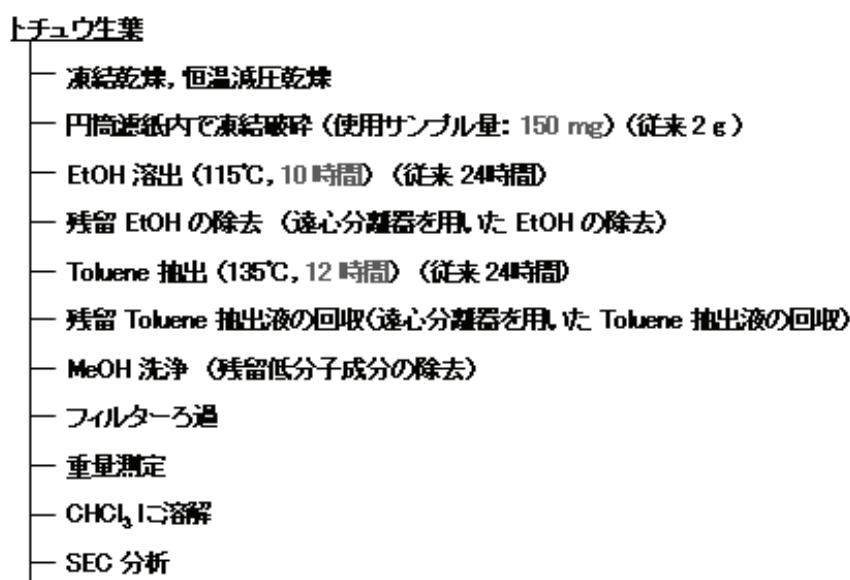


図 8-1 トチュウイソプレノイドのハイスルーブットの抽出・分析法

中国のトチュウゴム遺伝資源分析は、分析業務を西北農林科技大学に技術移転し大学内にあるトチュウゴム選抜固体 21 個体を利用して分析を進めている (図 8-2-①)。現在、予備試験の実施結果からゴム含有量と分子量分布が精英樹により異なる重要な結果を得た (図 8-2-②)。平成 17 年度にはゴム代謝の季節・経時・代謝部位変化などを把握するため総合的な評価を行う。

また、トチュウの天然林と人工林が混在している地域からのトチュウゴム含有量の異なる精英樹選抜として、中国・陝西省と四川省の境界にある安康市ならびに大巴山脈の山系北の嵐皋県にて生態・選抜・採取調査を行った (図 8-3)。その結果、胸高直径 1m を超す野生種の根茎を採取し西北農林科技大学へ根挿し移植して原種の遺伝資源の保存とすでに選抜された精英樹とのゴム産生能の違いについて比較試験を行っている。また、中国各地より種子を入手し、西北農林科技大学渭河試験場にて発芽させて、約 1 万株から肉眼観察において 8 個体の変異個体選抜を行った (図 8-3)。現在、植物体の生育 (3 年生以上) を待ってゴム含有量の分析を行なった。

## トチュウのゴム産生選抜林からの ゴム遺伝子の比較選抜



図8-2-① 西北農林科技大学・トチュウゴム選抜林の分析結果 (予備試験結果)

西北農林科技大学・トチュウゴム選抜個体のゴム含有量(葉)予備試験結果

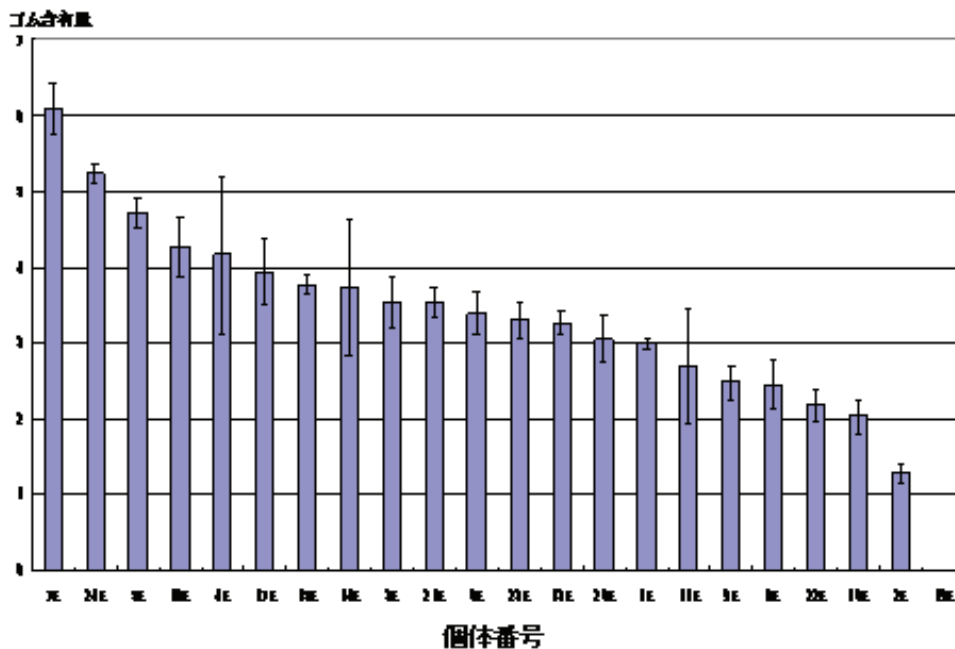


図8-2-② 西北農林科技大学・トチュウゴム選抜林の分析結果 (予備試験結果)

本年度の成果：ゴム産生能の異なるトチュウの選抜



中国・トチュウ野生遺伝資源の確保



トチュウ種子からの変異体選抜

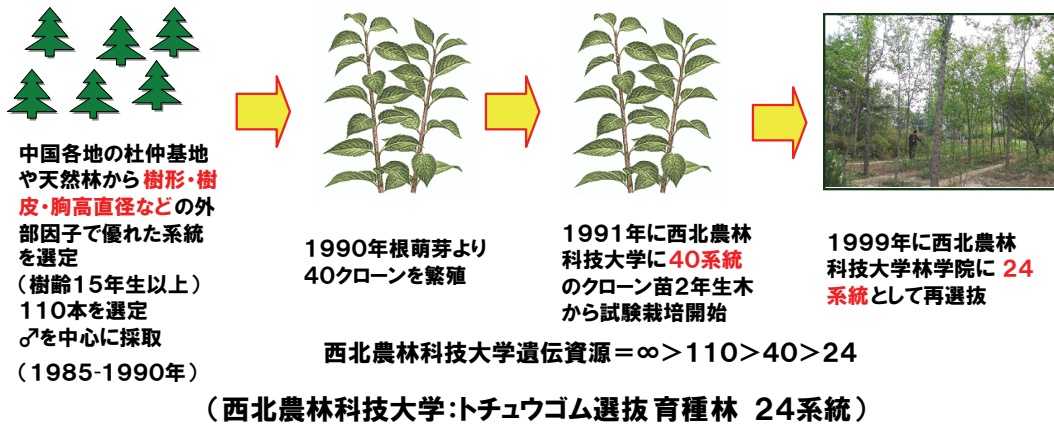


図8-3 中国遺伝資源の確保と選抜育種状況

「平成18年度～21年度」

西北農林科技大学内にあるトチュウゴム高含有株2個体についてゴム代謝の季節変動、ゴム成分・分子量などの経時変化・葉の位置でのゴム代謝相関などを更に再分析し、植物内でのゴム代謝変化を総合的に評価した(図8-4-①)。

西北農林科技大学トチュウ選抜育種林



2004年10月から各個体の南方中央部の葉を採取して分析を進めている

図8-4-① 西北農林科技大学のゴム高含有精英樹検定方法

# トチュウゴム精英樹保存林の検定

(H18年3月～:西北農林科技大学 博物園内)



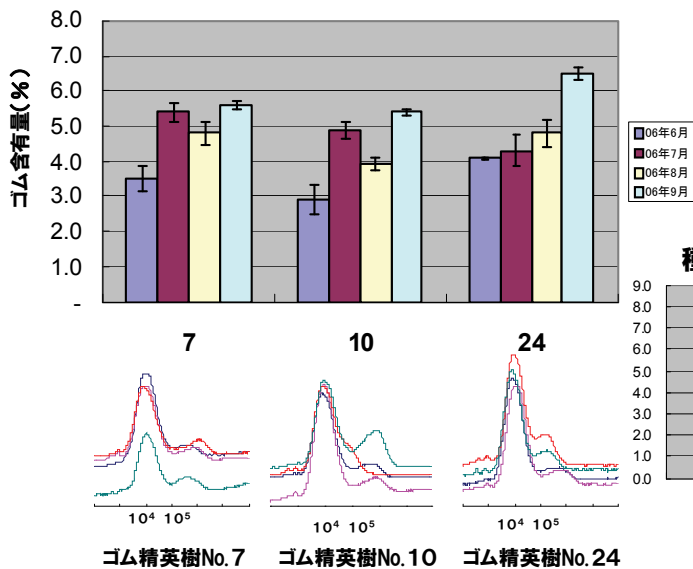
トチュウゴム精英樹のゴム代謝に関する**個体間の変動差**について、詳細なデータを取得するために**櫓**を設置して**葉の展開時期・方向**などの詳細な情報を把握して分析(10月採集分まで毎月)。葉柄のゴム変化を新システムで観察し分析データと合わせて相関性を検証する



図8-4-② 西北農林科技大学のゴム高含有精英樹検定方法

# トチュウゴム精英樹保存林の分析結果

トチュウゴム精英樹の季節変動(葉:東西南北混合)



トチュウゴム精英樹 種子中のゴム含有量変動

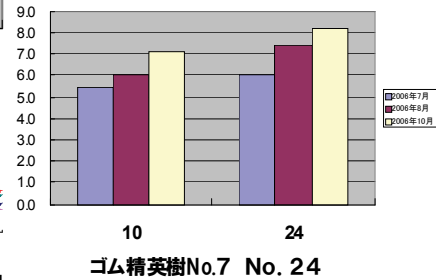


図8-5 西北農林科技大学のゴム高含有精英樹のゴム変動評価

図8-5に結果を示した。西北農林科技大学に所有するゴム高含有精英樹の一年間をとおした安定的にゴム含有量や分子量分を計測するためには、図8-4-②にあるような櫓を組み立て、当年で伸張する枝の状況（徒長枝となる枝や花芽となるシュートなど）を読みとり分析すると安定したゴム含有量と分子量分布の変化が解析可能となった。精英樹のゴム含有量は経月的に含有量が増加するが、高温期（40℃超）の8月にゴム増加量が低下する。そして、10月までの気温低下期に向けて再度ゴム含有量が増加することが判明した。従って、遺伝子組換え体など野外で栽培する固体のゴム含有量を測定する場合は、10月頃がトチュウのゴム含有量判定の適期であることが判明した。

高ゴム含有精英樹として選抜された個体は、西北農林科技大学自然博物館に移植され恒久的に保存栽培されることが決定している。これら精英樹のうち No.24 の枝を九州大学内のトチュウ保存林に接ぎ木などの栄養繁殖により繁殖させている（図8-6）。EST 標準木とのディファレンシャル検定整備を進めゴム精英樹のゴム代謝と蓄積等に関する組織構造の相関を詳細に解析し、低分子ゴム量と高分子ゴム量の比率に関して総合的に評価した。その結果、リアルスペクトルイメージング顕微鏡（以下、「SCLSM」という。）で観察した結果、ゴム高含有精英樹は葉柄のゴム含有量が 6.2%と EST 標準木に比べて違いのあることが判明した。

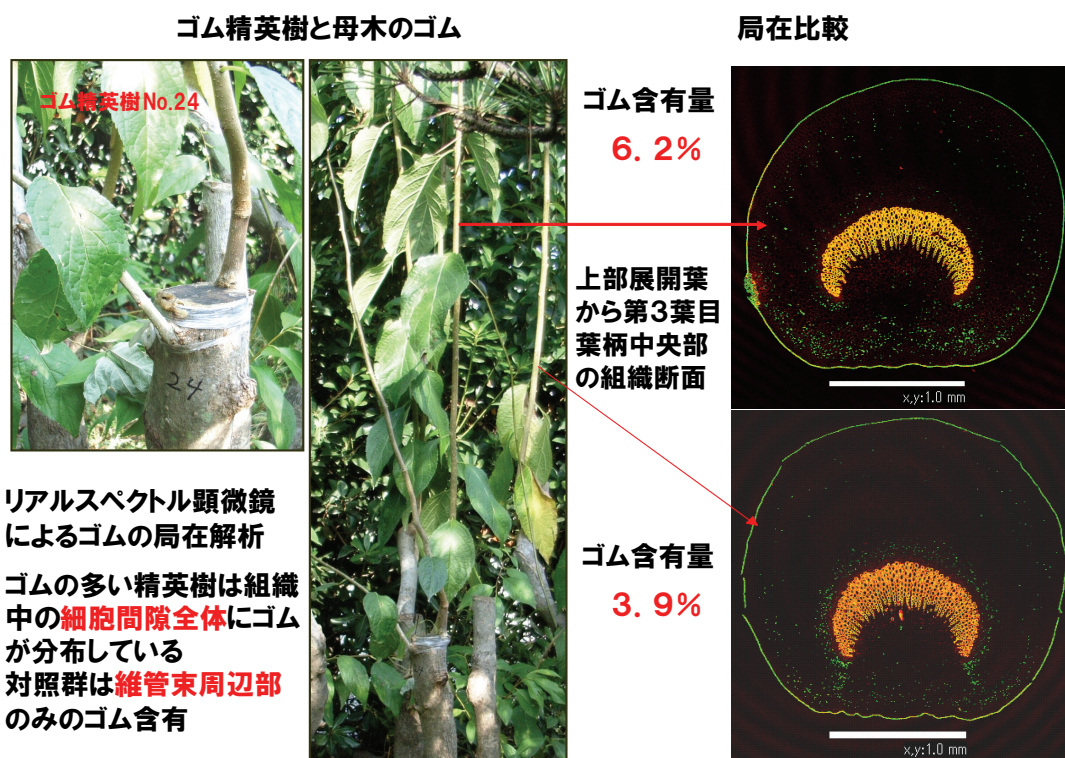


図8-6 ゴム高含有精英樹の接木繁殖（九州大苗畑）、葉柄部分のゴム含有量が SCLMS の導入で簡単に判明できる

これら中国の貴重な遺伝資源は環境による変動などが双方の植栽場所で変わる可能性もあり、今後は経年的にその変動を調査する予定である。更に、中国河南省では、中国全土における変異体をコレクションしており、特に器官毎に違いのある変異体を接木繁殖により増殖させて栽培している。図8-7は中国における変異体の違いを示した。A, B は茎葉分化が違っており、葉は縮緬状に広がっている。雌株であるが秕(しいな)になっている。その他、雌個体の中に多産型となり

果実結実量が高くなることや、種子の形状の大小など様々な変化が見られている。これからに関しては詳細な解析を実施中である。

### 中国で新たな分析対象のトチュウ形態変異体

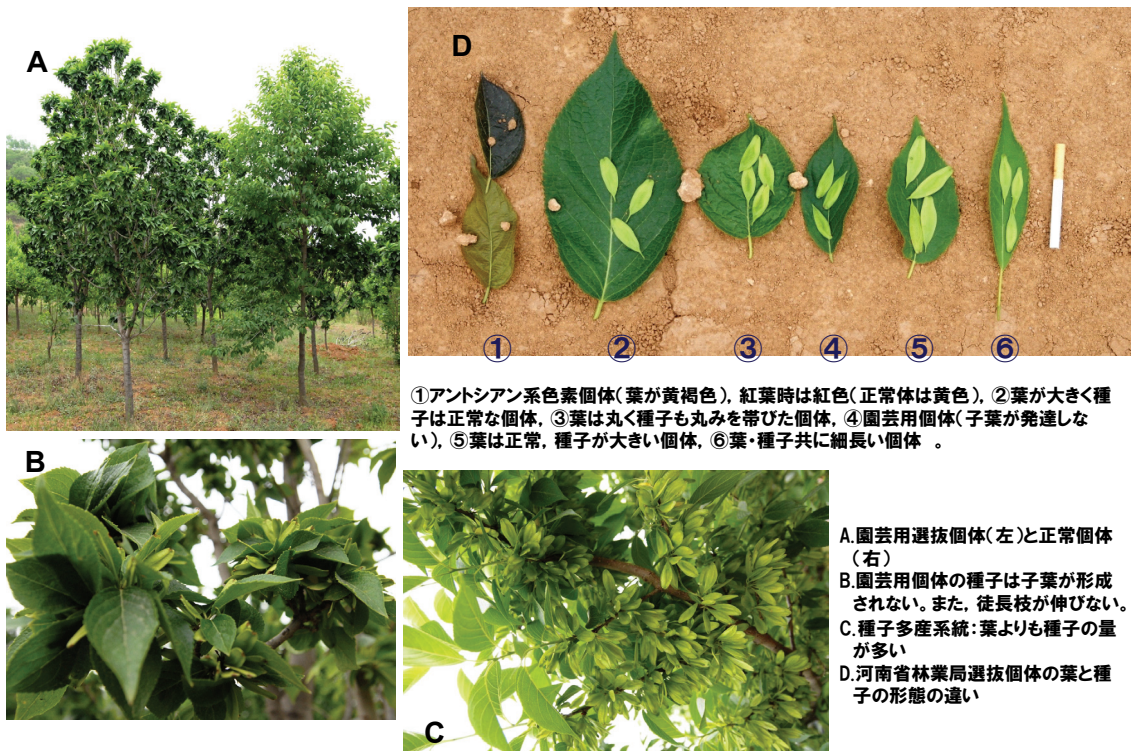


図8-7 中国変異体の状況(茎葉変化、秕個体、多産型、種子の大小など)

### B. ゴム産生能の異なるトチュウ変異体の育種

「平成14年度～17年度」

トチュウゴム代謝機能の異なる変異体を育種しディファレンシャルスクリーニングによるゴム代謝機能の違いを精査するため突然変異体と倍数体を育種してその比較試験を行う目的で変異個体作成を行った。

#### これまでの研究成果

#### 突然変異育種

##### ◆ γ線種子照射

LD<sub>50</sub>: 140Gy, 160Gy, 200Gy



野外においてγ線照射個体を栽培している様子



播種後15ヶ月のトチュウ苗 左:無照射苗 右:140Gy種子照射苗

##### γ線照射個体の形質評価

- ポリイソプレノイド分析
- メタボローム解析

10

##### ◆ γ線生体照射

#### 放射線育種場ガンマフィールド内のトチュウ



γ線0.5Gy照射中



γ線1Gy照射中



形態異常と思われる個体

形質評価のために葉をサンプリング  
1個体につき3~5葉採取

- ポリイソプレノイド分析
- メタボローム解析

11

図8-8 変異体・倍数体の作出状況

ガンマー線による種子照射及び生体照射の結果、種子照射した 5 万粒の種子から形態異常変異を 1 個体作出しており現在トチュウゴム成分の分析中である。また、生体照射として農水省・農林生物研究所放射線育種場（ガンマー線フィールド試験場）において 0.5, 1Gy の線量の $\gamma$ 線緩照射を連続的に施している。枝変わりの突然変異誘導を促すため強剪定を促し、新しく展開した新梢からの変異個体の誘導とトチュウゴムの分析・評価を行っている（図 8-8）。

人為倍数体の作出は、種子にコルヒチン処理を行いフローサイトメトリー（FCM）分析の結果 4 倍体と推察される個体を 20 個体得た（図 8-8）。この倍数体の中から新梢が展開した個体から葉を採取してゴム分析を実施したところ、通常体とは異なる代謝を有することが判明した。さらに、この代謝系の違い起因についてはメタボーム解析を実施中である。

これらの形態異常体や倍数体を用いて、今後はゴム含量や分子量分布の精査おこないディファレンシャルスクリーニングの対象となる個体を選定・育種する。

## 「平成 18 年度～21 年度」

### 1) DNA マイクロアレイ解析

DNA マイクロアレイを用いて、トチュウゴム含有量の異なる試料の比較解析を行うことにより、ゴム生合成遺伝子の同定を行う。DNA マイクロアレイを用いたトチュウ遺伝子発現解析のため、DNA マイクロアレイの作成をかずさ DNA 研究所の協力を受けて、クラスタリングおよびアノテーションを再度行い（図 8-9 上）、ワンパスシーケンスデータの精査を再度行う。得られたデータをもとに、NimbleExpress™ Array Program（アフィメトリクス社）のカスタムアレイに搭載可能な 11,000 の遺伝子に絞り込み、アレイを作成した。

次に、DNA マイクロアレイに供するゴム含有量の異なる試料のトランスイソプレニル 2-リン酸合成酵素(TIDS)遺伝子の発現・転写因子を評価した。また、中国精英樹以外に、トチュウゴム合成に影響を及ぼすと考えられる様々な摂動によるゴム含量の変化についても検討し、変化のあったものも解析の対象に加えた。

取得したアレイ情報の解析をかずさ DNA 研究所と共同で取り組む。そして、ゴム代謝の摂動因子と関連する TIDS 遺伝子の動きと形質転換体等を用いたトチュウゴム代謝関連遺伝子群の発現様式、ゴム産生に関わる摂動因子および乳管特異的な遺伝子発現等のネットワーク構造を解析し、ゴム代謝に関わる新規遺伝子の取得を行い終了した。

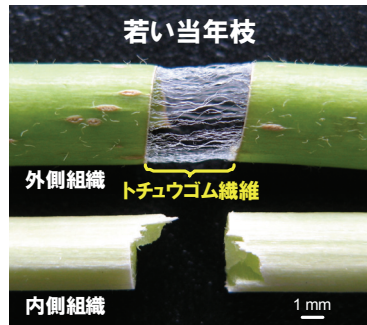
アレイ関連に関する実験結果を以下に示す（図 8-9）。

アレイ解析に至る前提条件として、EST 解析によって得られた情報から、パラゴムノキなどで発現する遺伝子がトチュウにおいても観察された。更に、乳管形成などに関わるいくつかの転写因子も確認されており（図 8-9 上）、ゴム産生に関しては TIDS 遺伝子以外に多くの関連遺伝子の発現が同調することが確認された。



## EST 解析の概要

- ▶ トチュウの乳管細胞は師部組織などで形成される
- ▶ 当年枝の維管束形成層よりも外側の組織と内側の組織から、それぞれ cDNA ライブラリーを調製し、大規模 EST 解析に供した



Total ESTs	38,168
(Outer part library)	(17,914)
(Inner part library)	(20,914)
High quality ESTs	27,752
<b>Unigenes</b>	<b>10,520</b>
(Contigs)	(4,302)
(Singletons)	(6,218)
NCBI nr matches (%)	74.8

## EST 解析で同定された注目遺伝子群

*H. brasiliensis* (天然ゴム原料植物)が生産するシス型ゴムの顆粒に局在する SRPP/REF と相同なタンパク質が 6 種類同定された

メバロン酸経路酵素	9
非メバロン酸経路酵素	4
トランスイソプレニルニリン酸合成酵素(TIDS)	9
(TPI 合成酵素)	3
ゴム顆粒局在タンパク質(SRPP/REF)	6
NAC 転写因子	22
MYB 転写因子	19

## DNA マイクロアレイ解析の概要

- ▶ トチュウゴム合成酵素(*TIDS1*, *TIDS3*, *TIDS5*)と共発現する遺伝子、およびゴム生産に付随する遺伝子の探索を行った
- ▶ アジレント・テクノロジー社のカスタムアレイと解析システムを利用した
- ▶ **10,396 遺伝子** x 4 反復のプローブを搭載したカスタムアレイを設計した
- ▶ 種々の器官(葉、枝、果実)について、発達段階(ゴム蓄積量)が異なる試料や様々な実験処理を施した試料(合計 100 種類)を供試した

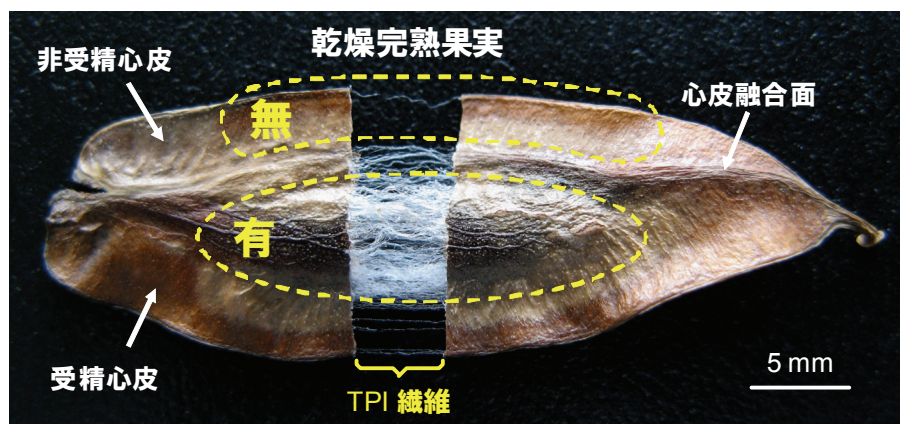
図 8-9 EST 解析の結果および DNA マイクロアレイの概要

DNA マイクロアレイの作製は総数で 120 枚とした。アレイの解析にはかずさ DNA 研究所の協力を仰ぎ、当方の研究員が出向いて解析を進めた。

アレイ解析に関しては、バイオマスと活用する種子を材料とした。種子の翼部分にはトチュウゴムが形成されず、近傍の果皮には 30%を超えるトチュウゴムが存在する (図 8-10 上)。

## 果実における繊維状ゴムの蓄積部位

- ▶ トチュウの果実は片方の心皮だけで受精する
- ▶ 子房室が形成される領域の果皮において、乳管細胞組織と網状脈が形成される



## 果実の発達とゴム繊維の蓄積

- ▶ 5 月から 6 月の間にゴム繊維の著しい形成が観察された
- ▶ 7 月初旬にはゴム繊維が飽和しているように見えた

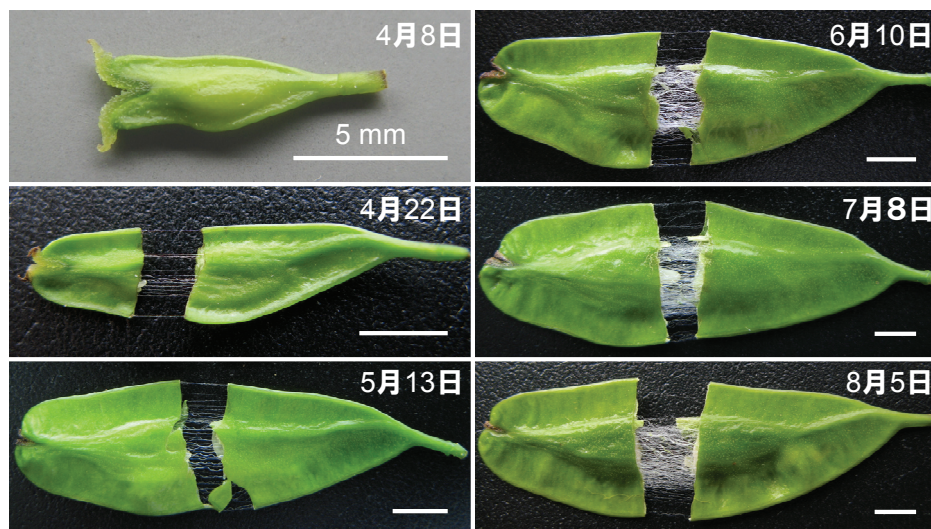


図 8-10 トチュウ種子のゴム形成部位とゴム蓄積時期

これら同一組織で発現する遺伝子群の差異について、DNA マイクロアレイを用いた解析を行った。更に、果皮にトチュウゴムが急激に生成される時期（図8-10下）について、5月13日～6月10日間に発現するゴム関連遺伝子群の状況について精査した。

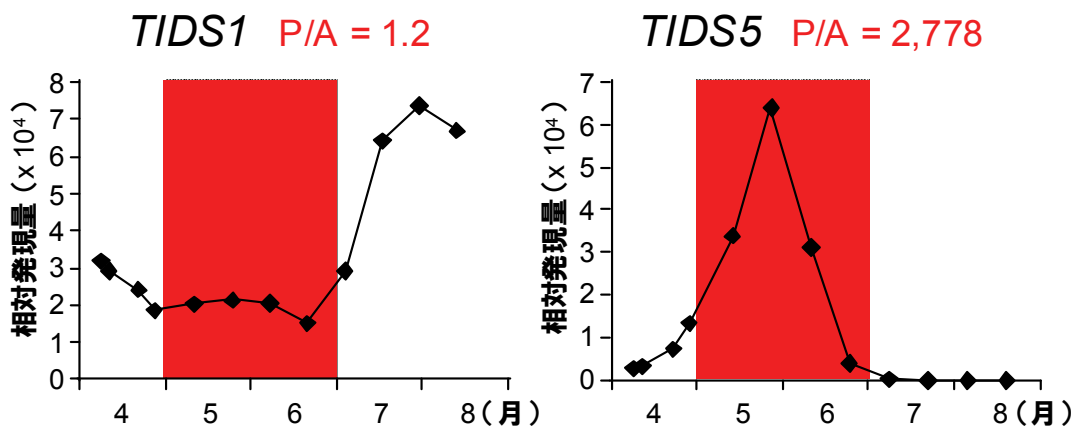
その結果を図8-11に示す。トチュウ果皮における TIDS 遺伝子の発現は、TIDS5 が顕著手であった。よって、TIDS5 遺伝子については、トチュウ種子特異的な発現であることが推定された（図8-11-①）。更に、NAC, MYB という転写因子（図8-11-②）、SRPP, REF というシス型ゴムで発現する遺伝子群（図8-11-③）、また、IPP の基質となるメバロン酸経路の遺伝子発現（図8-11-④）が発現しており、ゴムの生合成に関わる遺伝子群と乳管細胞の形成に関わる一連の遺伝子発現が観察された。この成果を総括すると、ゴムを産生させるために、基質となる原料の生産、ゴムそのものを合成させる TIDS5 という遺伝子、それに関わる既知のゴム生合成遺伝子（SRPP, REF）、ゴムという疎水系代謝物を蓄積する乳管組織の形成など植物組織内で総合的なゴム生合成系と蓄積に関する遺伝子発現が必要である。高度化された制御システムが機能してゴムが産生されていることが判明した。

ゴム生合成に関わる TIDS 遺伝子の細胞内発現に関してタバコ培養細胞を用いて組換え実験により精査した。細胞内発現は TIDS と GFP の共発現により細胞内ネットワークを調べるものである。その結果、TIDS 遺伝子は核膜周辺から生成され、ゴルジ体を介した膜輸送により小胞輸送され、細胞内膜壁へ輸送されていることが図8-12のとおり判明した。

一連の細胞内輸送において、トチュウゴムの形成がみられている事が判明した。

## トチュウゴム合成酵素の発現様式

- ▶ TIDS5 はゴム繊維形成が著しい5月から6月の間に一過的に高発現する  
(図中の赤の期間)
- ▶ TIDS5 はゴム繊維が形成される領域で特異的に発現する



P/A: ゴム繊維が形成される領域(P)とされない領域(A)における相対発現量の比  
(P: 図8-10上の「有」の部分、 A: 図8-10上の「無」の部分)

図8-11-① DNA マイクロアレイによる種子のゴム形成に関わる遺伝子発現

## TIDS5 と発現様式が類似する転写因子

- ▶ TIDS5 と発現様式が類似する 2 種類の転写因子(NAC, MYB)が見出された
- ▶ NAC #1 および MYB #1 は乳管細胞の分化発達制御を担う転写因子の有力候補である

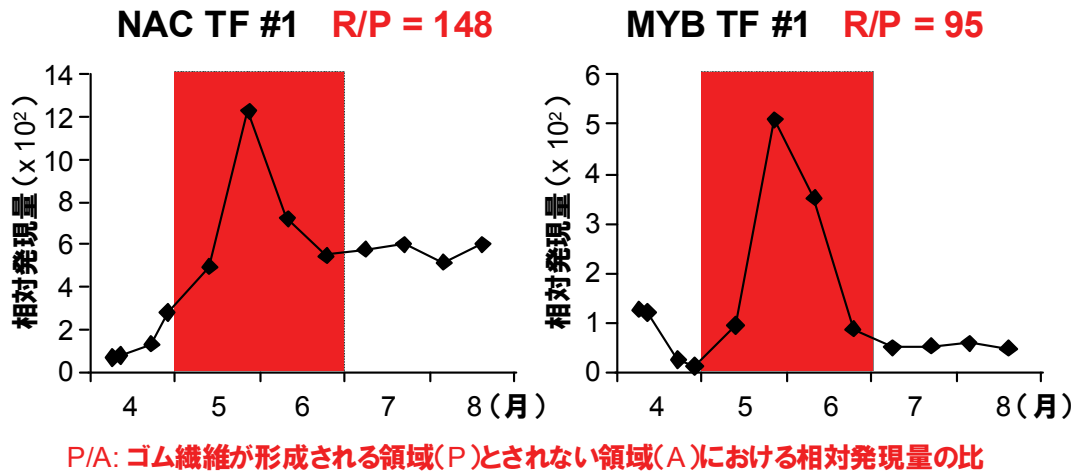


図 8-11-② DNA マイクロアレイによる種子のゴム形成に関わる遺伝子発現

## TIDS5 と発現様式が類似するその他の遺伝子

- ▶ シス型ゴム顆粒局在タンパク質のホモログ(SRPP/REF #1) は TIDS5 と発現様式が類似する
- ▶ SRPP/REF #1 はトチュウにおいても、ゴム分子の合成やゴム顆粒の形成に関与していると予想される

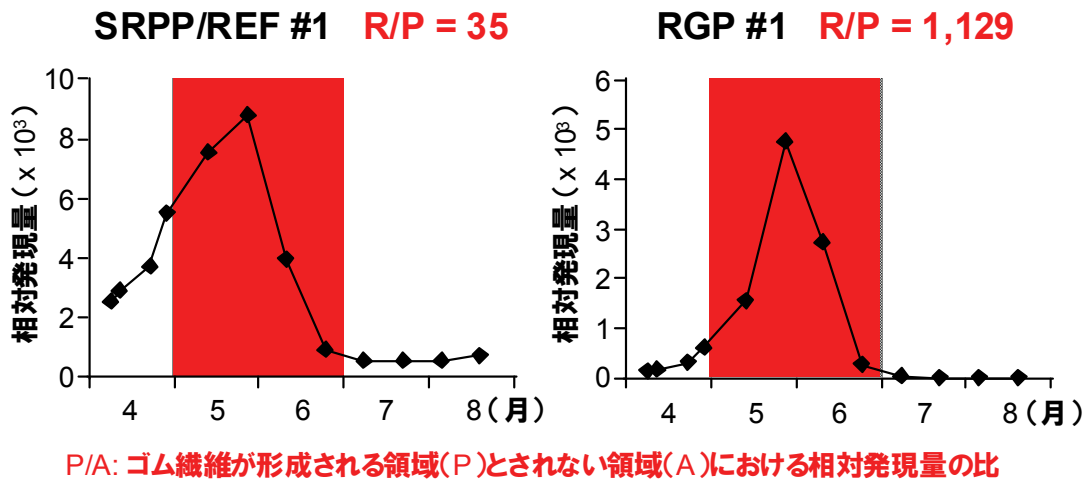


図 8-11-③ DNA マイクロアレイによる種子のゴム形成に関わる遺伝子発現

## メバロン酸経路酵素の発現様式

- ▶ いくつかの酵素は 5 ～ 6 月に発現亢進が認められた
- ▶ それらは基底レベルが高く、部位非特異的な発現様式を示した

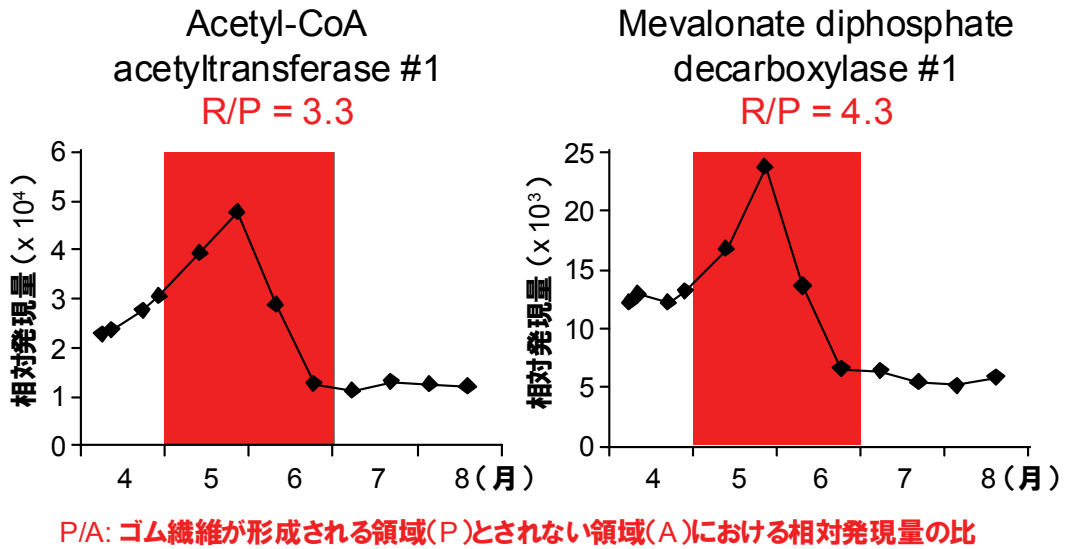
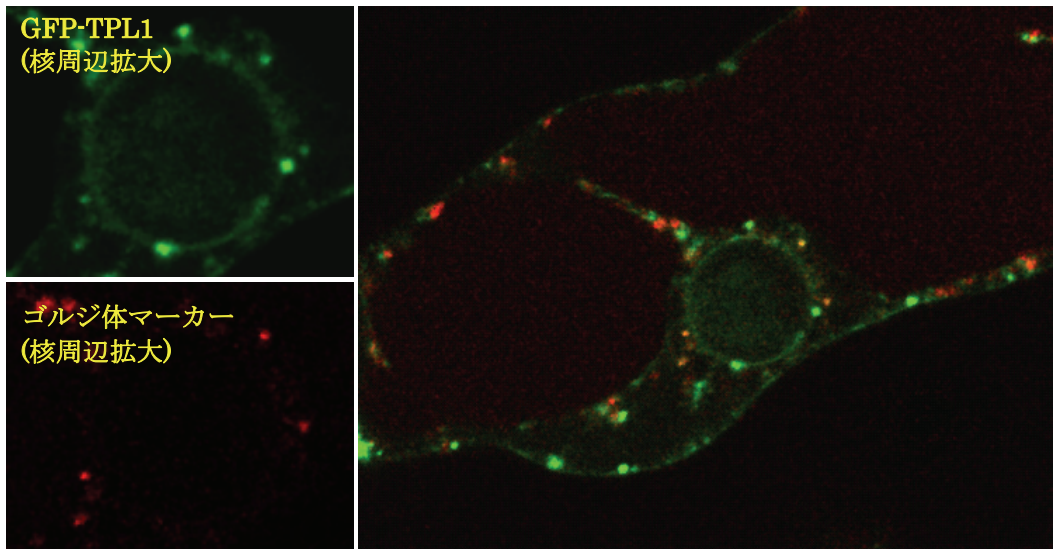


図 8-11-④ DNA マイクロアレイによる種子のゴム形成に関わる遺伝子発現

### ゴムを産生する遺伝子の解析

(TIDS のタバコ培養細胞での遺伝子発現部位の評価)

導入遺伝子構築



- ・ トチュウゴム生合成機構仮説を強く支持した
- ・ ゴルジ体をトチュウゴム生産の開始場所とする

図 8-12 タバコ培養細胞における TIDS 遺伝子の細胞内輸送

## C. 組織・細胞レベルでのゴム生合成機構の解析

「平成 14 年度～17 年度」

成木組織を解析し、師部組織で層別化したゴム集積層群と思われる形成層付近の近傍組織にゴム産生細胞群と思われる厚片した細胞集塊を確認した。それらの細胞群を特殊な蛍光剤でゴムと生細胞に分けて共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、ゴム特有の蛍光と生細胞特有の波長での蛍光が得られた。これはゴム生合成が形成層近傍のみでごく初期の生合成が行われているとの考察に至った。しかし、詳細には抗体免疫染色による遺伝子発現との関連性を精査することが必要と考えられた。

「平成 18 年度～21 年度」

### 1) SCLMS 新システムの開発

SCLSM を用いて組織構造とゴム含有量を短時間で解析するシステム（以下、「新システム」という。）を確立する。接ぎ木により生育した中国精英樹を活用して EST 標準木とのディファレンシャル検定によりゴム含有量の違いについて新システムを活用し機能評価を完了する。

SCLMS の成果について、以下のとおり報告する。図 8-13-①の SCLSM を用いて組織構造とゴム含有量を短時間で解析するシステム（以下、「新システム」という。）の開発を行った。接ぎ木により生育したゴム高生産中国精英樹を活用して EST 標準木とのディファレンシャル検定によりゴム含有量の違いについて新システムを活用し機能評価を行った。

## トチュウゴムの局在解析: リアルスペクトルイメージング顕微鏡システム

### C1si - PFS (Nikon) を用いての *trans* 型 polyisoprene の組織内局在解析



特徴

#### 320nm の広範囲波長をワンショットで取得

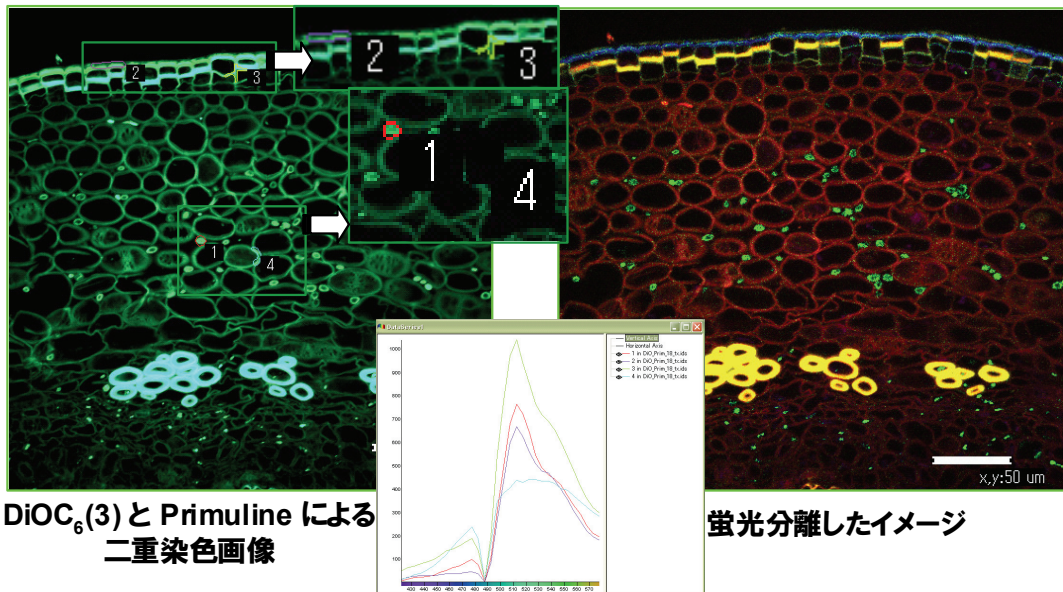
最大 320nm の広い範囲の波長を一度のレーザー照射で取得，生細胞のダメージを最小限に抑え，32チャンネル画像(検体)を同時に取得

#### クロストークのないイメージング

波長範囲が大きく重なり合った蛍光標識同士 (2.5nm) を正確に分離して、クロストークのない画像を取得

図 8-13-① SCLMS によるゴム生産性の解析開発

# トランス型ポリイソプレンの局在イメージング解析



1(トチュウゴム)、2(クチクラ層テルペン)、3(コルク層・リグニン化組織)、4(細胞壁・セルロース組織)領域のスペクトルデータを取得、蛍光分離により得た局在イメージング画像  
 その他、二次代謝物の局在についても応用可能(テルペン類確認)である

図 8 - 1 3 - ② SCLMS によるゴム生産性の解析開発

## スペクトル分離によるゴム局在の違い

ゴム含有量の大小は、既存のソックスレー抽出では細胞間隙のどこに蓄積・分布しているか不明であった。同生育ステージの葉柄でゴムの局在を観察、ゴム含有量は間隙への蓄積量でなく、組織全体の間隙に発現する量が増加してゴム含有量が増産した

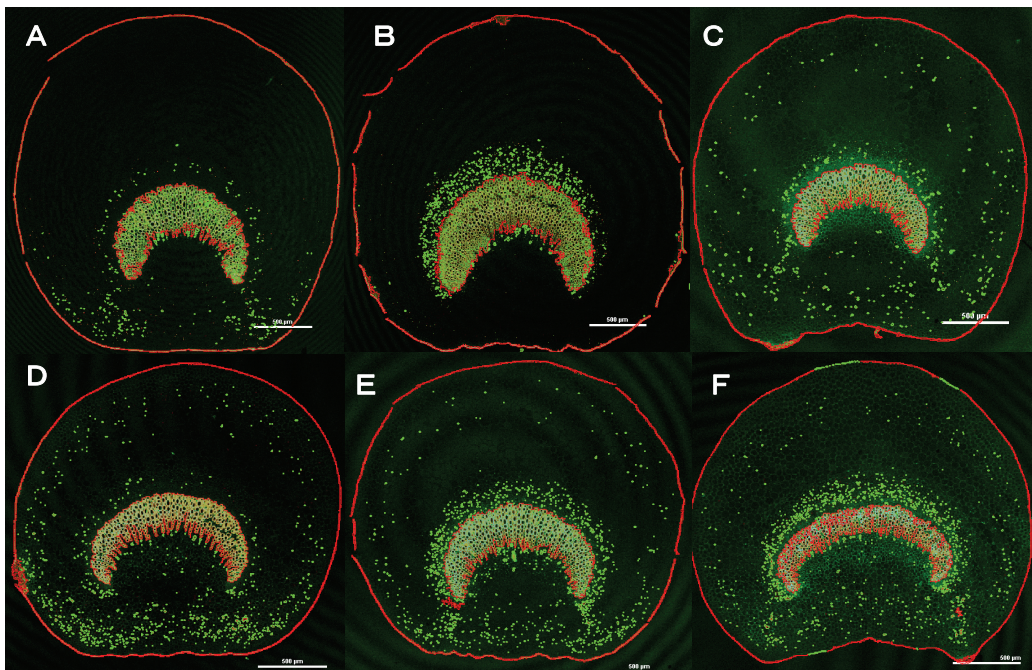


図 8 - 1 3 - ③ SCLMS によるゴム生産性の解析開発

# スペクトル分離によるゴムの定量方法の開発

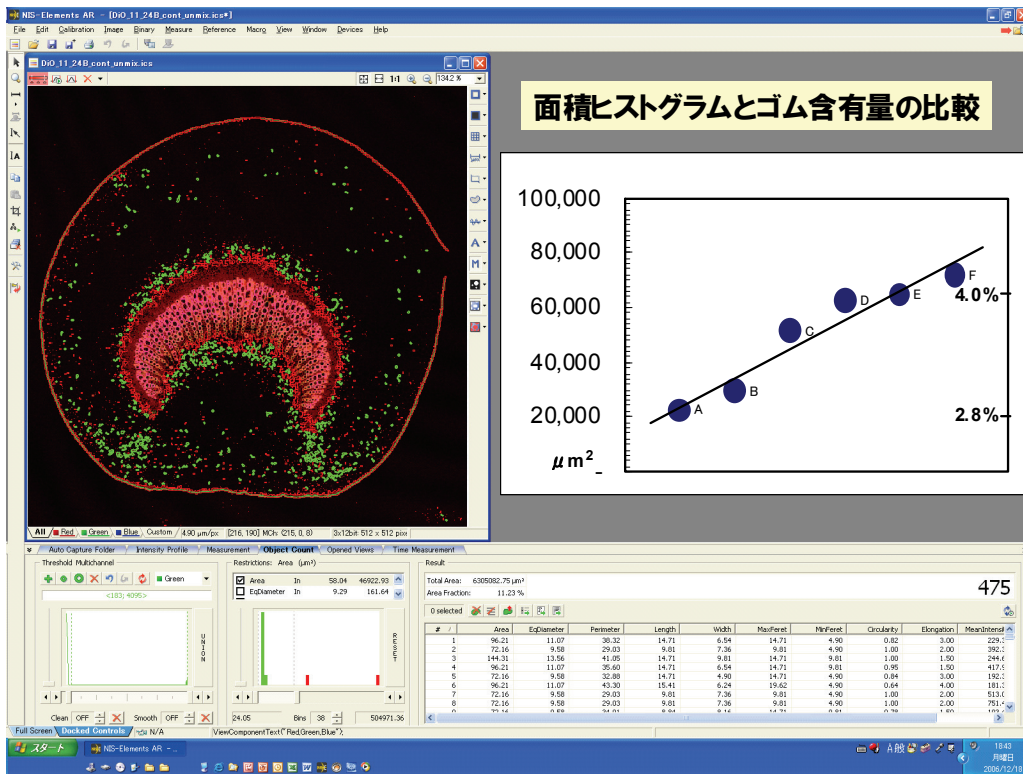


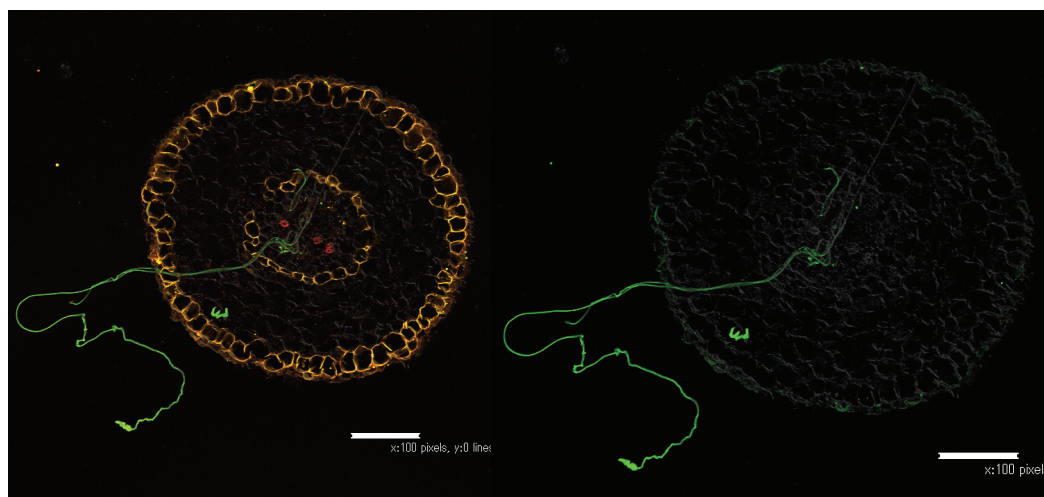
図 8-13-④ SCLMS によるゴム生産性の解析開発

SCLMS による葉柄に含有するトチュウゴムの分布について局在解析した。ナイルレッド染色により取り出したトチュウゴムの最大蛍光波長と波形パターンから蛍光分離によってゴムの分布を顕微画像として抽出 (図 8-13-②) した。トチュウ個体間差を把握するためや、組織内の部位特異的な箇所にもゴム成分が局在するのかなど、容易に検定可能となった (図 8-13-③)。トチュウゴムのドット面積を専用ソフトで面積化し定量する方法を開発した (図 8-13-④)。

更に、SCLMS を用いた遺伝子組換え体への応用について精査した。図 8-14 は TIDS1 遺伝子を過剰発現したトチュウ培養根におけるトチュウゴムの分布をクロスセクションで示した。培養根の組織が柔らかいため切片中のゴムがむき出しになっているが、組換えによって生じたゴムの状況を可視観察することに成功した。SCLMS と組織観察の説明に関しては別の乳管細胞の項目で詳しく解説する。



## リアルスペクトルイメージング処理による 形質転換体のトチュウゴム評価(IPP)



波長抽出によるイメージング

トチュウゴムの波長のみを抽出

図 8 - 1 4 SCLMS による遺伝子組換え培養根の観察

### 2) ゴム生合成酵素の機能解析

これまでのゴム生合成に関する研究は、図 8 - 1 5 に示すファルネシル2リン酸からの新たな異性化酵素による生合成経路の解析と遺伝子の解析が必要であった。本研究の中間評価段階の平成 18 年当時、この酵素はファルネシル2リン合成酵素(FPPIs)と称していた。その原因は、酵素活性試験において活性を検証することができず、機能未定であった為である。

平成18年以降、本酵素に関しては、組換え大腸菌をコールドショック法など親水性環境下で疎水性物質を極めて微量で発現できる実験系を確立したが、確証に至る結果は得られなかった。そこで、実用植物（トチュウ）を用いて解析を進めることとした。なお、当該酵素はFPPIsと期首段階では提示していたが、その後、機能未同定における名称をTPL(*trans*- Prenyldihospate Leik)と命名していたが、最終的に遺伝子組換え体で機能同定が完成したので、TIDS (*trans*-Isoprenyl-diphosphate Syntase)と命名した。

低分子のトランス型ゴムを産出する酵素として、Tarhis et al. (1996) PNAS 93, 15018が唱えた酵素のモデルを用いた。この酵素の特徴として、伸張するIPPが通過できる空間が存在していることが必要であった。

ここで、トチュウからこの酵素に近似したホモログについて、2000年にホモログを取得していた。しかし、この酵素がトチュウに存在することは検定できたが、組換え大腸菌による機能発現は6年間の期間を費やしたが、大腸菌や酵母レベルで検定することができなかった。その原因は、親水性の細胞内という環境が、超巨大分子の疎水性物質をその場で生成することは出来ず、インクルージョンボディーとなって成功には至らなかった。

その解決には、超高分子、疎水性物質を蓄積する器官（組織・細胞）の存在が必須であり、

# ゴムを産生する遺伝子の解析 (ゴム代謝合成経路と鍵酵素(TIDS))

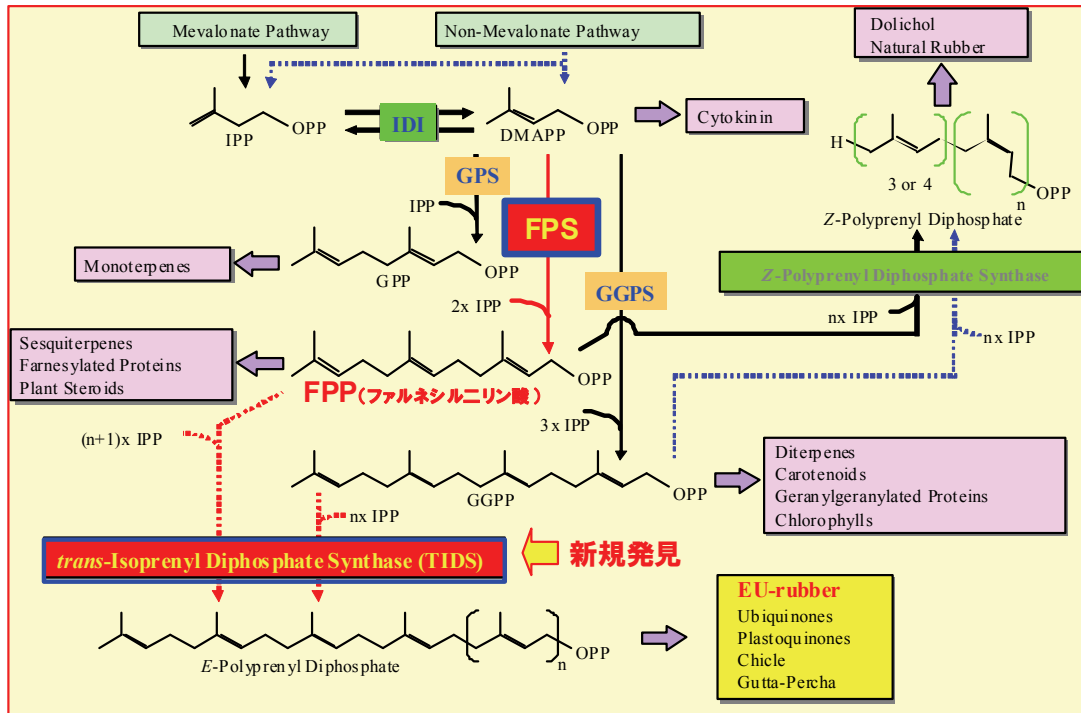


図 8-15 トチュウゴムの合成経路(TIDS)遺伝子群の位置付け

図 8-17 のような浸水系から疎水系への変化対応ができる器官、すなわち、乳管細胞の有無が不可欠であることが判明した。

乳管細胞の特徴は、二次代謝産物で毒性の高い化合物などを乳管細胞内に満たしており、昆虫における咀嚼や環境変化で組織等に損傷が起きた場合の防御物質を蓄積していると考えられる。ゴムをはじめとする、疎水性化合物の植物内ソースとして重要な器官である。

将来の植物科学領域は、このような特殊機能を有する器官の解析が非常に重要であり、乳管工学など新分野の解析が期待される。

## トチュウゴムを産生する遺伝子の解析 (生合成機構の仮説:親水性→疎水性への急激な変化)

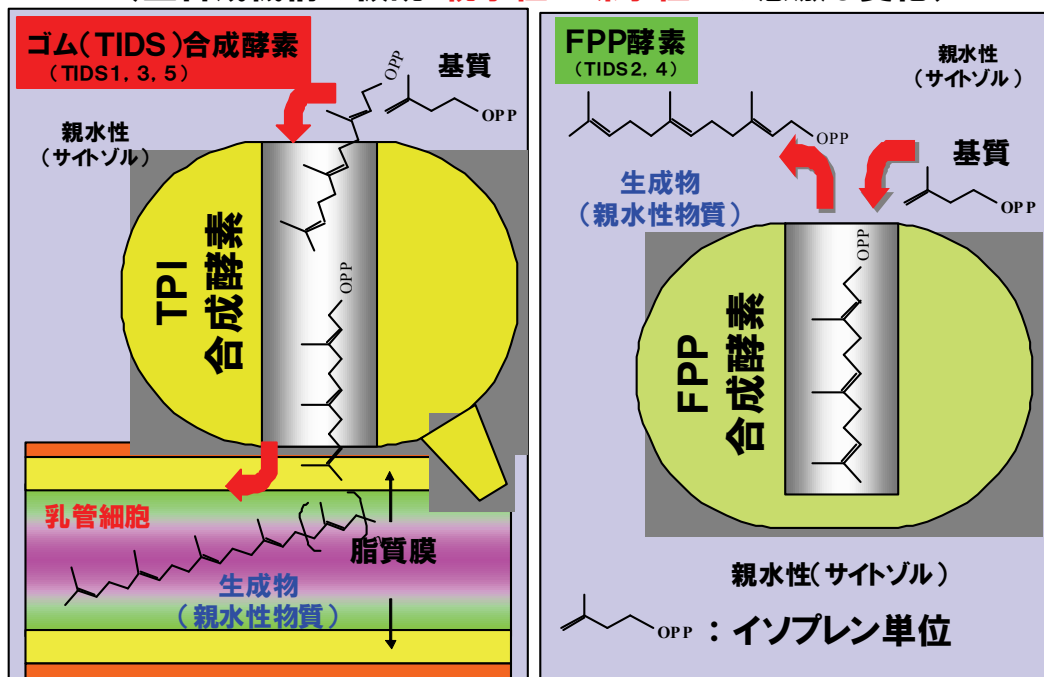


図 8 - 1 7 親水性物質の産生と疎水性物質産生機構の違い  
乳管細胞という器官に疎水性化合物が蓄積される

### 3) 局在解析

局在解析として、新規システムの導入(SCLMS)によりゴムの局在性と含有量を解析する定量分析法を確立するとともに、低分子ゴムの細胞内蓄積と高分子ゴムの細胞間隙蓄積に関わる機構を解析する。また、発芽段階でのステージごとに組織観察、成熟葉組織および幼葉組織の顕微鏡観察により細胞成熟過程におけるゴム貯蔵組織の局在解析を新システムにより明らかにする。

上記の局在解析に関する研究成果として、SCLMS により組織内のゴム蓄積機能が判明した。トチュウゴムは、単乳管細胞内に蓄積されるが、乳管細胞は姉妹細胞となっており、発生直後は通常の細胞と同じである。ある時期に、姉妹細胞の片方が細胞間隙に沿って伸張が開始し、ペクチナーゼにより進行方向を解離させて伸張する。いわゆる無核細胞となっているが、ある一定の距離 (0.5mm) ほど伸張すると停止し、細胞内へゴムの蓄積が開始する。SCLMS で乳管細胞内のゴム蓄積をステージ毎に示した (図 8 - 1 9 - ①)。顆粒状のゴムが膜質周辺から形成され、顆粒がステージ毎に増加し、飽和した状態でゴムの蓄積が終了していることが判明した。顆粒状にゴムが集積している箇所を TIDS5 の抗体で組織免疫染色を行ったところ、顆粒状の周辺部で TIDS5 遺伝子が発現していることが判明した (図 8 - 1 9 - ②)。顆粒状ゴムの乳管細胞超薄切片を TEM で観察 (図 8 - 1 9 - ③) したところ、顆粒状のゴムが観察され、その周辺に脂質膜の存在が確認された。免疫抗体染色で TIDS5 が局在しているのはこの膜であり、まさしく脂質膜内にゴムが集積されていることが SCLMS、TEM の観察から証明された。

更に、量子化学シミュレーションから、脂質膜内 (一重膜) に集積して行く状態をモデルとして予測することが出来た。

ゴム産生に関する細胞生物学的生成機構に関しては、これまで不明な点が多く生化学の 7 不思議とされてきた。しかし、トチュウによるゴム産生機構が解明され、ゴム生成機序における細胞生物学的なダイナミズムが判明したことで、多くの産業的な価値が高まると想定される。すなわち、工業原料や油脂をはじめとする疎水性の物質は、通常細胞では貯蔵することが不可能であり、同一の組織内に親水性の部位と疎水性の部位を両立しなければならない。これは、器官を持たない酵母や微生物では不可能な話である。しかし、植物には乳管細胞という、疎水性の二次代謝物（例：毒性物質）を貯蔵できる組織があることによって、恒常性が維持され、何らかの原因によって破壊された場合は、保護や対象物に対して毒性などの機能性を有すること確保したと言える。乳管細胞は非常に重要な特殊器官であり、今後もっと注目されるべき器官である。植物の二次代謝研究や光合成産物の直接的回収を考えると人類にとって最も機能性が高い組織であり、将来、乳管工学など新分野の開発が期待される。

### ゴムを産生する遺伝子の解析 (トチュウゴムの細胞内蓄積過程の評価)

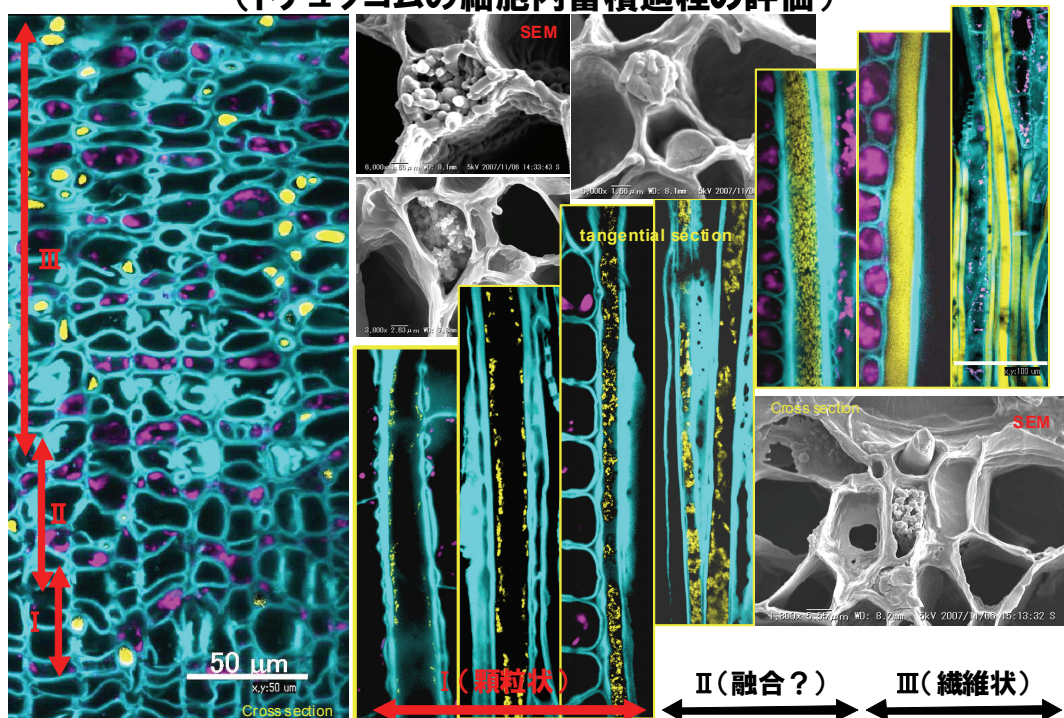
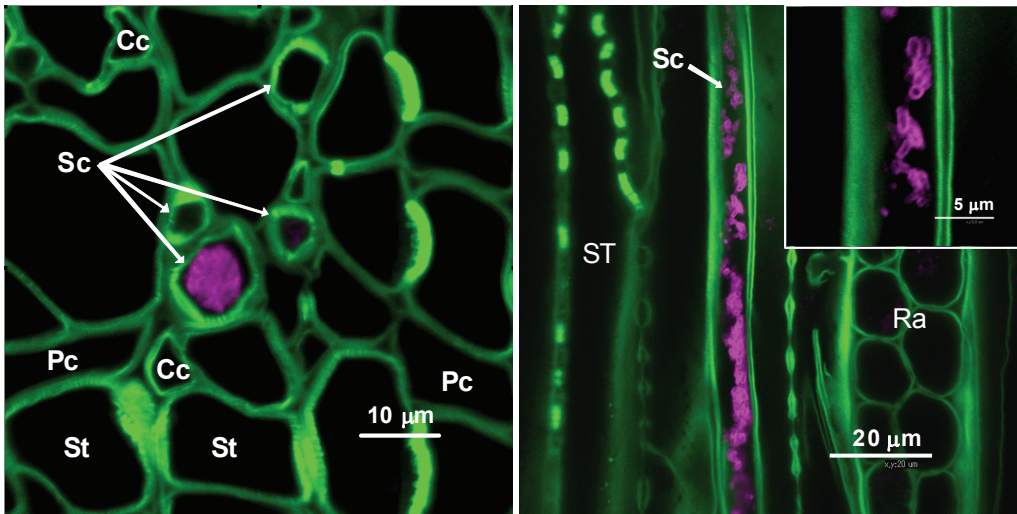


図 8-19-① 乳管細胞へのトチュウゴム蓄積に関する顕微観察  
(SCLMS 観察)

## トチュウゴムを産生する遺伝子の解析 (TIDS5の局在解析(免疫組織染色)の評価)

横断面拡大像

接線面拡大像

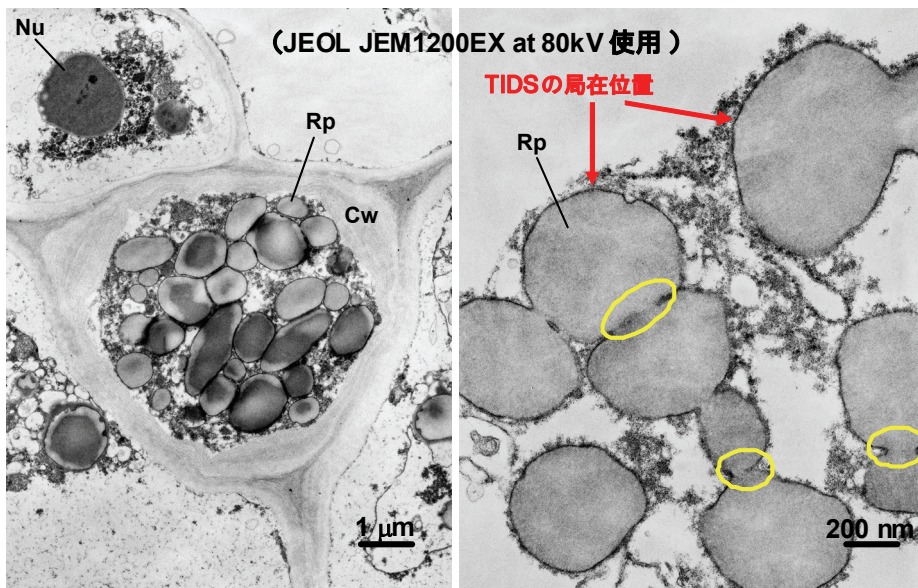


St:篩管, Ra:放射柔組織, Sc:分泌細胞, Cc:伴細胞, Pc:柔細胞

- TIDSはラバーパーティクル(顆粒状ゴム)の表面に局在
- トチュウゴム生産に関わる種々酵素の抗体を取得してH21年度は局在調査

図8-19-② 乳管細胞へのトチュウゴム蓄積に関する顕微観察  
(免疫抗体染色)

## トチュウゴムを産生する遺伝子の解析 (トチュウゴムのTEMによる超薄切片の解析評価)



- 顆粒状ゴムは、膜構造に覆われたラバーパーティクル内に蓄積される
- ラバーパーティクル同士は容易に融合し、融合した部分の膜構造は失われる

図8-19-③ 乳管細胞へのトチュウゴム蓄積に関する顕微観察  
(TEMによる観察)

## トチュウゴムの産生・蓄積メカニズム（推定モデル）

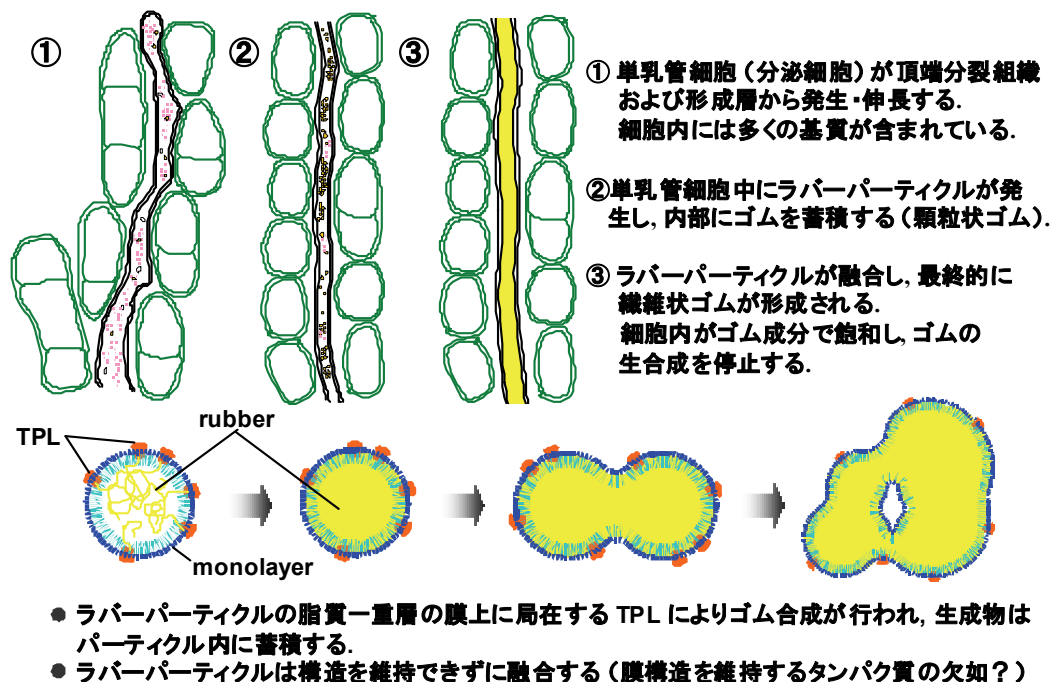


図 8-20 トチュウのゴム蓄積メカニズム

図 8-20 はトチュウの乳管細胞発達とゴムの蓄積に関するモデルを図式化したものである。トチュウは単乳管細胞（無節乳管）である。連結乳管細胞の様な同調的形成は見られない。しかし、髄や維管束周辺に発生し、その発生様式も前述した様にユニークである。トチュウの場合は、この乳管細胞内にゴムが満たされた時点で機能が停止し、乳管そのものが死細胞化して内容物のゴムは乳管のレプリカとなっている。この様な現象は他の植物は無くトチュウ特有の現象である。トチュウは非常に古い植物であり、受精様式も風媒花である。花卉などの組織の発達もなく、鮮新世中期に繁茂した以降は現存種のみである。当時の環境に耐えるための工夫かも知れないが推察の領域である。

### 4) 形質転換・組換え評価

トチュウ培養根の形質転換による遺伝子機能の評価を行うために、以下の研究項目を設定した。

トチュウ培養根の形質転換系の効率化を図る。また、胚軸再分化系を活用し形質転換系の効率化を図る。トチュウ培養根などへ TIDS 遺伝子、EST 情報、アレイ情報、酵素情報、局在情報をベースにトチュウゴム生合成系遺伝子の導入と機能評価を 20 系統以上行う。検定は、SCLMS を用いた新システムにより、TIDS 遺伝子と各情報の機能評価を完了する。そして、トチュウ胚軸やモデル植物培養細胞へゴム生合成系遺伝子の導入を行い低分子ゴムの産生について検定を行う。

遺伝子組換え個体によるトチュウゴム候補遺伝子の評価として、IPPI、TIDS1, 3, 5 遺伝子を過剰発現やアンチセンス形式で導入して個体の再分化を図り、リアルタイム PCR により測定する遺伝子発現量を指標に選抜し、必要個体を取得した時点で終了する。また、モデル植物によるゴム

中間体の産生評価として、TIDS 遺伝子導入によるタバコ、ペリプロカからのゴム産生を検証する。

TIDS1 形質転換体の再分化を図る。マイクロアレイ解析等によって得られた新規トチュウゴム関連遺伝子等について、組換え培養根を作成し機能評価を行い、再分化個体へと生長させて実用化植物体を作成する。また、シス型モデル植物のペリプロカにトチュウのトランス型ゴム遺伝子を導入しシス型モデルでトランス型ゴムを産生させる。

以下、遺伝子組換えによる TIDS 機能の評価の結果を述べる。

研究に先駆けて、TIDS 遺伝子の機能をモデル植物で検証することが求められた。そこで、トチュウ胚軸やモデル植物培養細胞へゴム生合成系遺伝子の導入を行い低分子ゴムの産生について検討した。

### ①タバコでの TIDS 機能評価

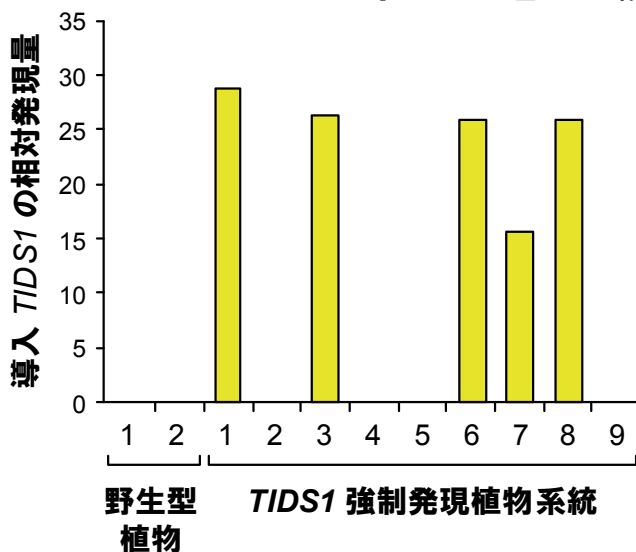
タバコに TIDS 遺伝子を導入し機能評価を行った。その結果を図 8-21-①~②に示す。TIDS1 遺伝子を導入した 9 個体のうち、5 個体において q-PCR の結果から TIDS1 遺伝子の相対発現が見られた (図 8-21-①)。そこで、サイズ排除クロマトグラフ (SEC) において分子量分布を測定しところ、すべての個体において野生株にはない  $10^4 \sim 10^5 M$  付近のピークが見られた。そのピークを分画して NMR にて解析を行ったところ、トランス型ポリイソプレンのケミカルシフト値を確認することが出来た。すなわち、異種のタバコにおいて TIDS1 はトランス型ゴムを産生することが判明した。

## ゴムを産生する遺伝子の解析 (TIDSの異種生物(タバコ)での遺伝子組換え)

35S pro: 植物ウイルス由来強カプロモーター



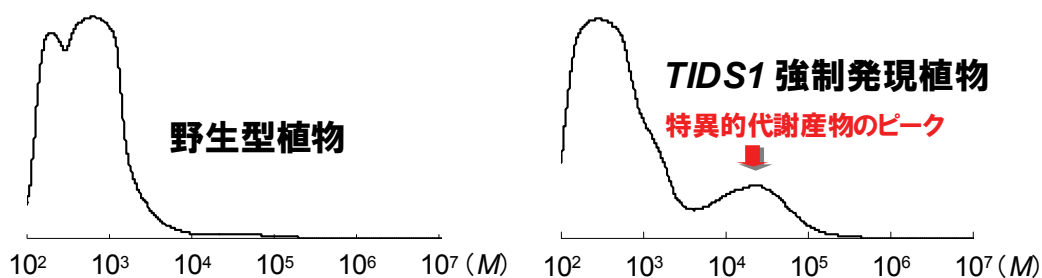
タバコに導入した遺伝子構築の模式図



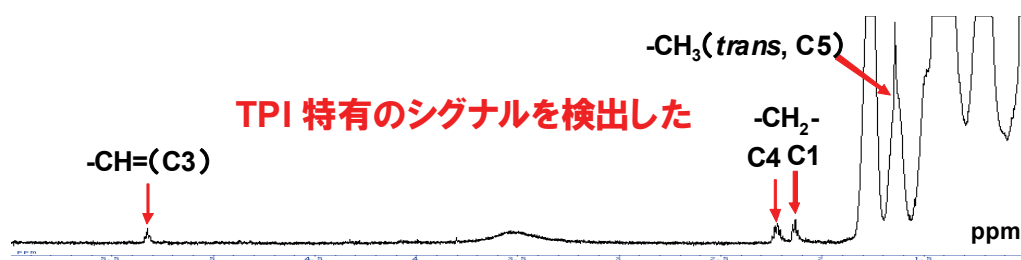
12

図 8-21-① タバコでのゴム産生機能の評価

## ゴムを産生する遺伝子の解析 (TIDSの異種生物(タバコ)での遺伝子組換えによる評価)



成果1. サイズ排除クロマトグラフィーによる葉の抽出物の分析



成果2. 特異的代謝産物画分の  $^{13}\text{C}$ -NMR 解析

13

図8-21-② タバコでのゴム産生機能の評価

ファルネシル 2 リン酸合成系を有しているが、モデル植物のタバコにおいてゴムを産出することは画期的なことである。なお、ゴムの産生蓄積部位に関して確認はできていないが、これまでの考察では膜輸送の機序がタバコ培養細胞の実験で判明している。従って、ゴムの蓄積は、細胞膜周辺に極微量蓄積していると考えられる。

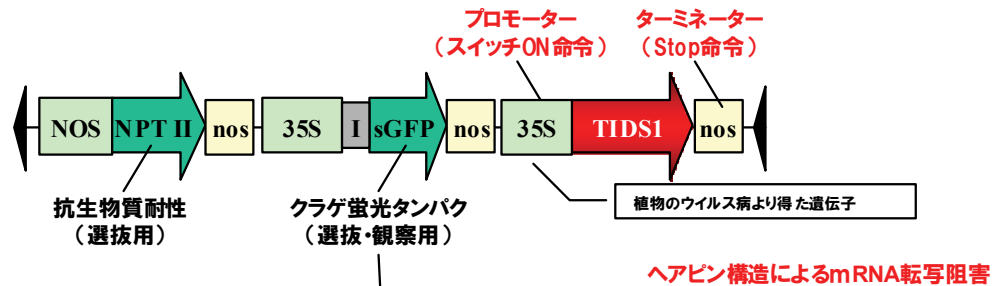
### ②トチュウ培養根への TIDS 遺伝子の導入と機能評価

遺伝子組換え個体による機能評価として、図8-22に示す TIDS1 遺伝子の過剰発現体やアンチセンス導入した組換え体を作製した (図8-22-①)。トチュウ培養根の選抜には GFP をマーカーにした (図8-22-②)。最終的に TIDS 遺伝子の機能評価は、リアルタイム PCR 測定による遺伝子発現量を指標に選抜、必要個体を取得した。一定期間培養し伸張させた培養根を用いて、総イソプレレン量として Py-GC/MS 分析を行い、その後、ゴム分子量分布を計測した。

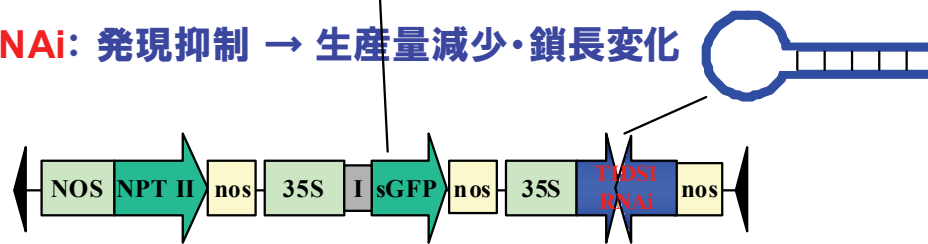


# 遺伝子組換えとゴム増産の評価 (ゴム遺伝子導入用ベクター(媒体)の作成)

**Overexpression: 発現増強 → 生産量増加**



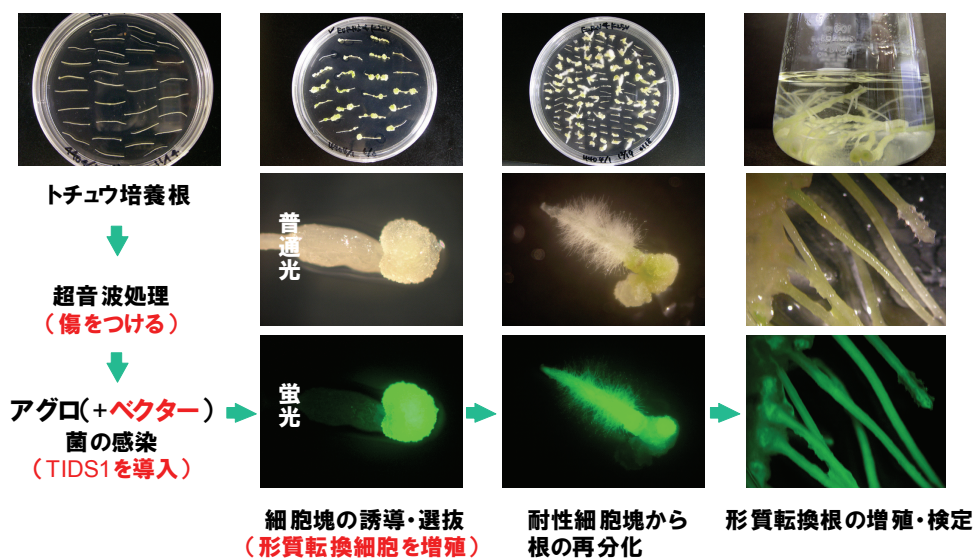
**RNAi: 発現抑制 → 生産量減少・鎖長変化**



## 遺伝子発現の増強及び抑制によって遺伝子の機能を評価

図 8-22-① トチュウ培養根への遺伝子導入系

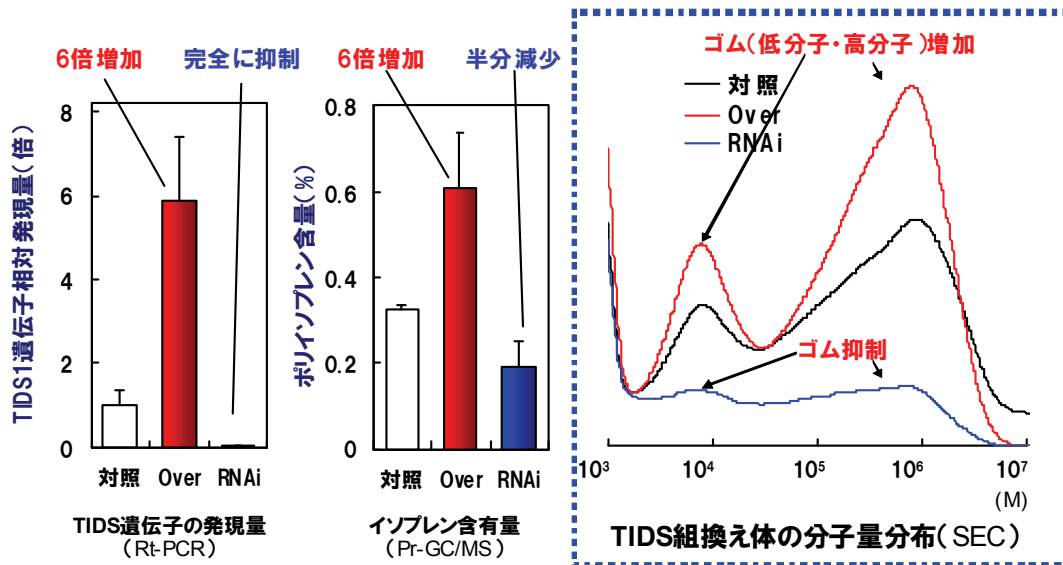
# 遺伝子組換えとゴム増産の評価 (トチュウ培養根へのTIDS1遺伝子の導入)



## 抗生物質を添加した培地で選抜、GFP蛍光で遺伝子導入状況を把握

図 8-22-② トチュウ培養根への遺伝子導入系

## 遺伝子組換えとゴム増産の評価 (TIDS1遺伝子組換え体のゴム成分評価)



### 結果:TIDS1はトチュウゴムの増産・抑制遺伝子と評価

図8-23 遺伝子組換えトチュウのゴム増産と抑制成果

その結果を、図8-23に示した。TIDS1を導入したトチュウ培養根の遺伝子発現はリアルタイムPCRの結果、発現量は6倍に達した。逆に、RNAiで抑制した場合は完全に発現が見られず抑制していた。総イソプレン量では過剰発現では3倍に達し、抑制した場合は1/3であった。SECによる分子量分布の解析では、低分子、高分子両方のゴム含有量が増加し、RNAiによる抑制では、ゴム産出機能を消失させることに成功した。以上、ゴムの増産、抑制などゴム産生能力を制御することを世界で初めて成功した。

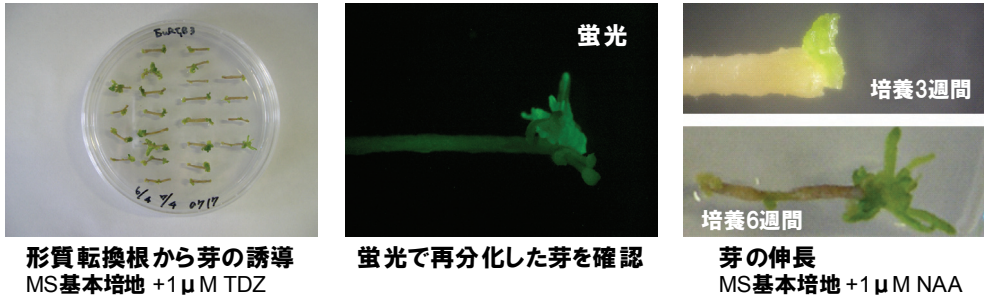
### ③ 組換えトチュウの再分化系の確立

トチュウの組織培養系による再分化系はすでに確立し、クローン増殖が可能となっている。本研究は、トチュウの組換え培養根からゴム増産個体の再分化系を確立するため、組換え培養根からの再分化について検証した。

トチュウの組換え培養根からの再分化には、切断した根の先端をカルス化させて、再分化を誘導する方法と培養根を増殖させて、根萌芽を誘導する2種類が考えられる。前者の手法ではすでに2cm程の再分化個体を複数取得することができた(図8-24-①)。更に、培養根に関しては肥大成長を続けており、最終的に組換え体の幼苗を数個体育てる予定である(図8-24-②)。

## 遺伝子組換えとゴム増産の評価 (トチュウ形質転換根から植物体の再分化)

### 芽の誘導による植物体の再分化→馴化→植物体(1cm)



### 根萌芽による植物体の再分化→鉢内で根が伸長→来春伸長

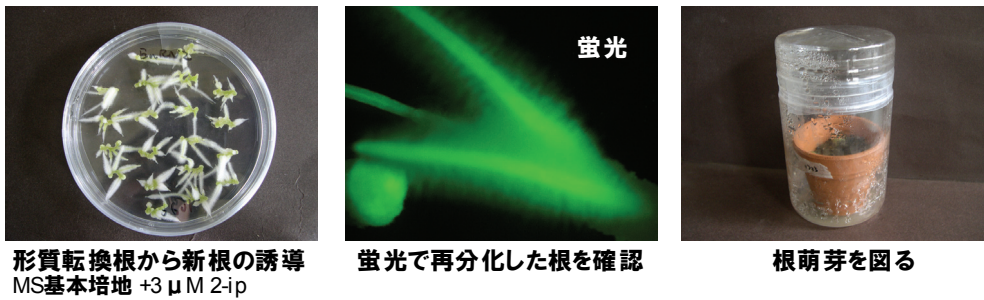


図8-24-① 組換えトチュウ培養根からの再分化

## 遺伝子組換えとゴム増産の評価 (トチュウ形質転換根から植物体の再分化)

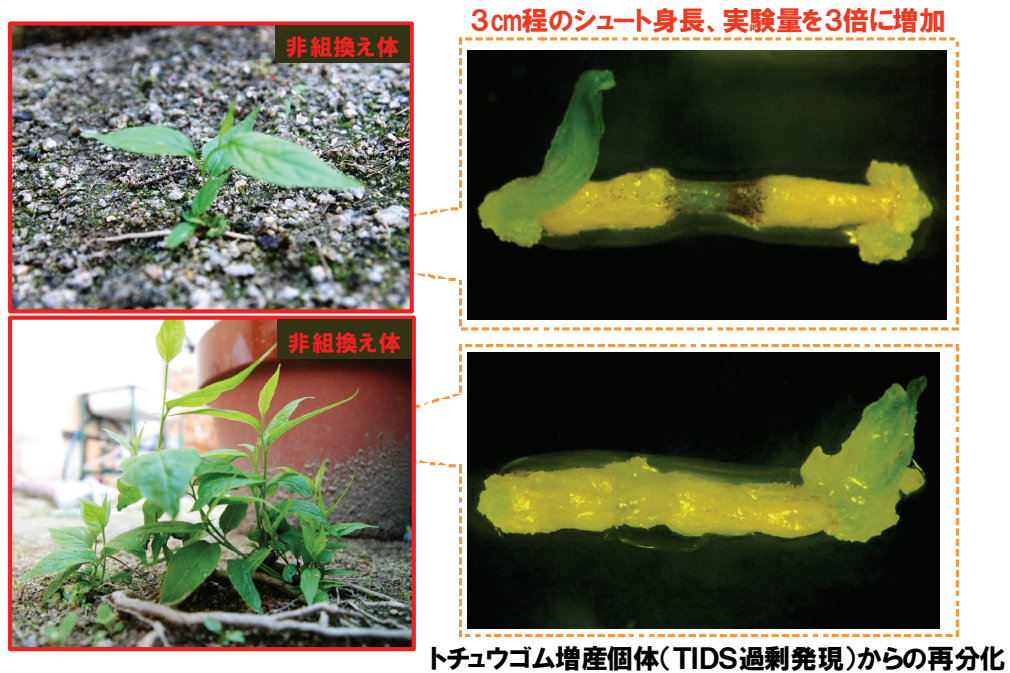


図8-24-② 組換えトチュウ培養根からの再分化

## D. メタボローム解析

「平成 14 年度～17 年度」

トチュウをはじめとしたゴム産生植物においてメタボローム解析が行われた実績はなく、まず、ゴム産生植物に対応した各代謝物の抽出・分画方法および分析手法の検討から試みた。各代謝物を効率的に解析するため、疎水性高分子（ゴム成分）、疎水性中・低分子（ポリプレノール、脂肪酸、カロテノイド等）、親水性低分子（アミノ酸、糖類、有機酸等）の画分に分け、それぞれに適した分析手法を構築した（図 8-25）。また、多数の試料のスクリーニングにも対応したハイスループットで解析できる手法（代謝物の総体を赤外・近赤外分光法を用いて分析）についても構築した。また、個々のイソプレノイドの分析系として、ユビキノン、プラストキノン、カロテノイド類、ステロール類、プレニル 2-リン酸（GGPP まで）、ポリプレノール（異性体分離可能）の分析系を構築した。また、各種機器分析データを統合的に解析できるよう共通フォーマット（AIA 形式）へのデータ変換や前処理についても検討し、統合的に多変量解析ができるシステムを構築した（図 8-25）。

現在、これらの分析系を用いて、日本各地で生育するトチュウの分析を進めている。今後は、ゴム成分および他の分析系のデータとの統合解析を行う。

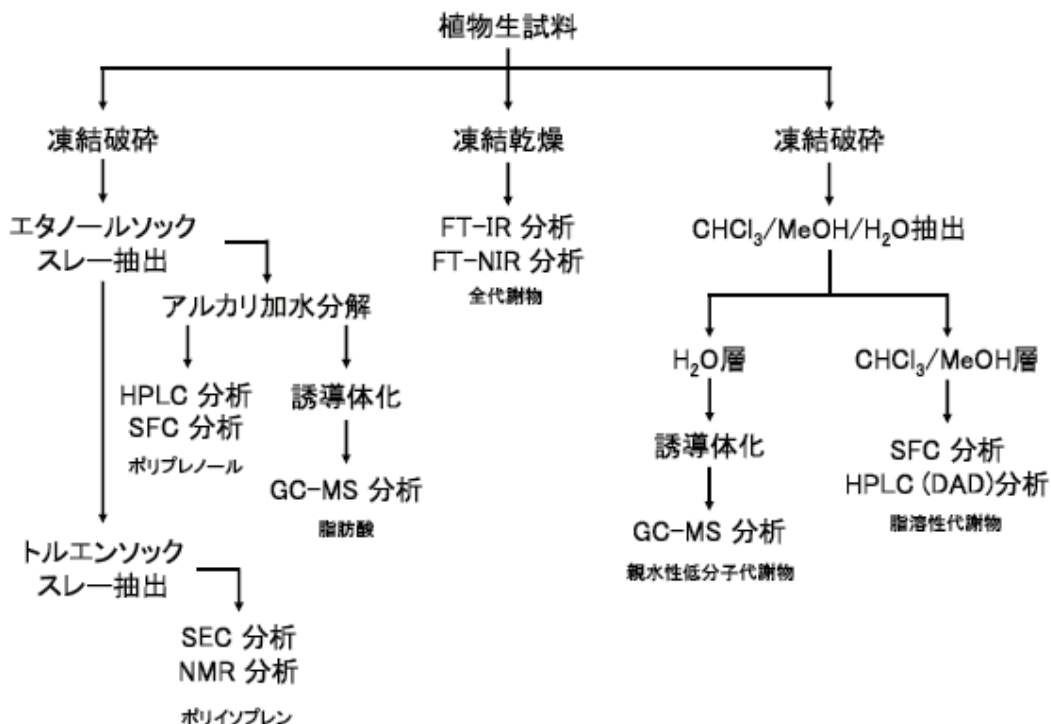


図 8-25 ゴム産生植物のための代謝物解析系の構築

「平成 18 年度～21 年度」

熱分解 GC/MS を用いた実用的な高感度解析手法の確立を行った。その結果、熱分解 GC/MS によるハイスループット分析方法の確立について、トチュウに含まれるイソプレン類（トチュウゴムを含む）を熱分解装置（パイロライザー）によりリモネン等のモノテルペン類に熱分解し、発生したモノテルペン量を総イソプレン重量として GC/MS で定量する手法の開発に取り組んだ。

図 8-26 に示す手法を開発しこれまでソックスレー分析での必要最低重量は 150mg で 4 日間

分析に要していたが、本手法の開発により、サンプルの最低必要重量は 1mg となり、GC/MS を用いて 30 分で完了するなど大幅な改善が見られた。本手法の開発により、試験材料の少ない遺伝子組換え体の評価が飛躍的に向上した。この手法に関しては発表済み (Takeno et al. BBB 2010) である。

## 熱分解GC/MSによる微量ポリイソプレン分析方法

分析方法(Takeno et al. BBB 2010)

- ①サンプルを秤量(1mg)
- ②熱分解GC/MSで分析

分析条件

System: PyGC/MS (Trace DSQ, Double-Shot Pyrolyzer PY-202)

Pyrolysis: 450 °C

Injector: 250 °C

MS transfer line: 250 °C

Mass range: 50 – 650 m/z

Internal standard : polybutadiene

従来の方法

・ソックスレー抽出法ではサンプル乾燥重量150mg必要

・1サンプルの分析に4日間必要

新規開発の方法

・熱分解GC/MS分析法ではサンプル乾燥重量1mgで分析が可能

・1サンプルの分析は30分



微量のサンプル量  
で多量分析が可能

図 8 – 2 6 熱分解イソプレン分析手法の開発

Takeno et al. BBB71(1) 13-17 2010

#### (4) パラゴムのゴム生産制御技術の開発 (ブリヂストン)

##### A. 組織培養技術開発

###### 「平成 14 年度～17 年度」

パラゴムノキの遺伝子組み換え体作出にあたり、組織培養・再分化技術の確立は必須の課題であるが、一般に木本類の再分化は困難である。パラゴムノキに関しては以前から中国、マレーシアなどのグループが研究して成功事例も報告されているが、再分化可能なクローン種が限定されるなど、まだ技術の実用化には至っていない。組織培養実験にあたり、熱帯植物であるパラゴムノキは雑菌が多いことが予想されるため、比較的滅菌が容易と推定される雄花の葯および未熟種子を外植体として、再分化系確立を目的に実験に着手した。

平成 14 年度には、組織培養技術の準備として、野外調査を行い、クローンごとの落葉・開花時期を把握した。また、基本培地の調製法、ホルモン添加法、植物体の消毒法を検討し、手順を標準化した。BSKP 敷地内にて栽培中のクローン、GT1、PB260 を主な材料として、開花前の雄花の葯および未熟種子をサンプリングした。葯培養において、開花前の状態の花序をサンプリングし、希釈した次亜塩素酸ソーダ中で 3～5 分間ゆっくり攪拌することにより滅菌した後、クリーンベンチ内で滅菌水にて洗浄し、そのままの状態である程度乾燥するまで放置した。乾燥後、実体顕微鏡下で有柄針を用いて傷つけないように注意深く葯を取り出し、培養材料とした。未熟種子培養においては、直径 1.5～4.0cm 程度の未熟な果実を採取し、表面をエタノール消毒した後クリーンベンチ内で果皮を破って種子を取り出した。未熟種子を滅菌したメスで小片に切り、培養材料とした。培地組成については、外植体からカルスを誘導する培地は、Chen や Carron らの報告を参考とし、MS 混合培地をベースに調製した。ホルモンはオーキシシンとして 2,4-D(2,4-ジクロロフェノキシ酢酸)および IAA (インドール 3-酢酸) あるいは NAA(1-ナフタレン酢酸)を、サイトカイニンとして BAP(6-ベンジルアミノプリン)を添加、スクロースを 60～70g/l の高濃度に加え、pH 5.6～5.8 に調整した後、粉末寒天にて培地を固化させた。培養条件は、カルス誘導の培養条件は 27℃の一定温度の暗所とした。葯、未熟種子ともに IAA, NAA のいずれのホルモンを使用しても、数週間から 2 ヶ月の間、カルスは順調に増殖することが確認された。

平成 15 年度にも、パラゴムノキの葯・未熟種子を外植体として培養実験を継続した。MS 培地あるいは MB 培地をベースに、ホルモンとして 2,4-D+BAP(あるいは KIN)+IAA(あるいは NAA)を添加した系において、安定したカルス誘導が可能となった。葯由来のカルスは未熟種子由来のカルスより均質なものが得られ、増殖力も高かった。以後、主に葯を外植体として検討した。

カルスが安定的に誘導できるようになったので、次に、不定胚の誘導を試みた。カルス培養後 50 日経過した時点で、不定胚誘導培地に移植し経過を観察したところ、embryogenic callus と推定されるカルスの変化が観察されたが、不定胚には至らなかった。また、カルスの性状は、ホルモン組成やクローン種により差異があることも明確となり、不定胚誘導に向けて、条件の最適化を探索した。

平成 16 年度には、クローン種による差異の明確化、培地ホルモン組成などの条件を検討した結果、カルスから embryogenic callus の安定的な誘導が可能となり、さらに不定胚を誘導することができた。カルス増殖は、実験に用いたいずれのクローンにおいても、MS 培地あるいは MB 培地をベースとした 2,4-D/BAP/NAA の組み合わせにおいて増殖速度が最も速かった。また、不定胚誘導培地に移植後の embryogenic callus の誘導状況は、クローン種による違いが認められたが、PB260 においては安定した経過が得られ、複数個の不定胚を取得することができた。現在、



よびカルスに遺伝子銃にて pGFP の導入を試みたところ、葉において一過性発現が確認され、形質転換細胞取得の可能性が示唆された。また、九州大学においても、遺伝子銃法、アグロ法による導入実験に着手した。

平成 16 年度に、パラゴムノキの未熟胚培養により得た上胚軸や根などの組織や、薬培養から誘導したカルスを外植体として、パーティクルガン法およびアグロバクテリウム法による遺伝子導入を試みた。パーティクルガン法においては pBIsGFP(豊田中研：カナマイシン、ハイグロマイシン耐性遺伝子構築)を用い、Helios gene gun(Bio-rad 社製)で実験した。He ガスの圧力を変化させ遺伝子導入し 10 日後に観察した結果、新たなカルス形成と GFP の安定的な発現を示す緑色のスポットが確認された。一方、アグロバクテリウム法においては、菌株は EHA101 及び EHA105、ベクターは pBIsGFP および pIG121-Hm(カナマイシン、ハイグロマイシン耐性遺伝子、GUS 遺伝子構築)を用いた。外植体を感染処理後、アセトシリンゴンを添加した共存培地で 3 日間培養した結果、GFP あるいは GUS 遺伝子の発現が観察された。以上のとおりパラゴムノキの組織へ GFP 遺伝子、GUS 遺伝子の導入が可能であることが確認できた。今後は転換効率向上のための条件を検討する。

形質転換体の機能を短期間で評価するためには、ラテックス産生植物によるモデル実験が必要である。そこで、パラゴムノキの根を用いたモデル実験系の開発に取り組んだ。

平成 15 年度には、まず、未熟胚を用いて発根誘導と増殖に適した植物ホルモンの検討を行ったところ、植物ホルモンの IBA を用いることで発根が誘導でき、また、成熟中期から後期の未熟胚を用いて光照射下で培養すると根の伸長・増殖の状態が良い傾向が認められた。次に、振とう培養法による培養根の大量増殖を試みたところ、根の伸長並びに発根数などの状態が寒天培地上で培養したときよりも良く、効果が認められた。一方、培養根の組織観察や組成分析を行ったところ、パラゴムノキの培養根にはラテックスが存在することを確認した。こうして、根を用いた形質転換体評価系の基礎となる根の組織培養法と大量増殖法が確立できた。現在、培養根へのアグロ感染など形質転換培養根の作製技術を検討しており、培養根などを用いたモデル実験系を開発する。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

パラゴムノキ薬由来カルスの形質転換効率向上を目指すため、最適感染期を調べた。バイオフォトレコーダーでアグロバクテリウムの増殖曲線を作成し、感染力が高いとされる対数増殖期中期のアグロバクテリウムに対し、薬カルスの培養ステージを 8 水準(培養齢 5、6、7、8、9、10、12、14 週)設定し感染実験を行った。感染後 8 週経過の GFP 蛍光カルス取得率は、培養 7～9 週目のカルスを用いた場合で最も高く約 80%であった。得られた GFP 蛍光カルスを PCR、western blot 分析し形質転換が確認された。その他、培養の諸条件として、サージカルテープを使用すると形質転換カルスの増殖が良好であった。

形質転換カルスからの不定胚形成条件を検討するため、CIRAD (フランス)、RRII (インド)の先行事例をトレースした。感染実験に用いた全カルスのうち CIRAD 法の条件で不定胚取得に成功したが、形質転換カルスからの不定胚形成には至らなかった。しかし、感染実験後のカルスから不定胚が得られたことにより、CIRAD 法をベースにした薬カルスからの形質転換体作出条件を最適化していくことにした。その結果、60～80%の効率で形質転換カルスを得ることが可能となった。得られた多数の形質転換カルスから植物体再生を試みたが、不定胚様組織の取得にとどまった。



平成19年度からは、組織培養の成果を導入し、蒴カルスよりも不定胚形成率が高い未熟種子由来カルスを用いて形質転換体作出条件を検討した。アグロバクテリウム法による未熟種子由来カルスの形質転換効率は10%未満で、蒴カルスよりも形質転換効率が著しく低下した。そこで、未熟種子由来カルスを形成部位・硬さなどで5種類にタイプ分けし、タイプ別に遺伝子導入を試みた。種子の未熟胚付近や胚嚢から形成される乳白色～半透明のカルスの形質転換効率は約30%で、その他のタイプでは0～5%未満であり、カルスのタイプにより形質転換効率が異なる傾向がみられた。形質転換効率が比較的高いタイプのカルスを用い、遺伝子導入を試みることにした。

## C. ラテックス生合成メカニズム解析

### 「平成14年度～17年度」

パラゴムノキの形質転換を行う上でラテックス成分の生合成メカニズムの解明および植物中でラテックス成分を産生する組織を特定することは重要な課題である。本研究では植物体内におけるラテックスの産生部位を特定するために、乳管組織の観察およびラテックス成分の組織内分布を解析する手法を検討した。

平成14年度には、パラゴムノキの実生苗を材料として組織切片作製法の検討を行った。実生苗の葉、茎、根、葉柄を凍結させてマイクロトームにて30～40 $\mu$ mに切り出し、組織内に存在するラテックス中に含まれる脂質成分をズダンⅢ染色法にて染色し、顕微鏡で観察した。パラゴムノキのラテックスは粘度が低く、切片作成時に組織から流出し、顕微鏡観察の段階まで組織内に固定するのが難しい。試料を凍結させて切削することにより、ラテックスを固定することが可能となった。

平成15年度は、インドネシアのBSKPにて試料をFAA(ホルマリン/酢酸/エチルアルコール)固定液で処理後日本に持ち帰り、マイクロトームを用いて凍結組織切片を作製した。乳管組織の位置・形態を観察するために、ズダンⅢ、オイルレッドO染色法の比較検討を行った。オイルレッドOはズダンⅢよりラテックス中の脂質の染色状態がよく、かつ操作が容易であるので、オイルレッドO染色法を採用した。オイルレッドO染色法により、乳管の存在部位を明瞭に観察することが可能となった。乳管は、枝においては篩部組織内に複数層存在しており、横方向の分岐(連結)も確認された。葉においては葉脈に類似した形状で存在することが観察された。

平成16年度には、ラテックス生合成関与遺伝子の組織内での発現解析(*in situ* hybridization; ISH)に繋げる目的等で、パラゴムノキの組織切片作製・観察技術を検討した。インドネシアのBSKPにて、当年枝の組織を4%PA(パラホルムアルデヒド)固定、テクノビット樹脂包埋を行い、包埋試料を持ち帰り、マイクロトームで厚さ5～7 $\mu$ mの組織切片を作製した。そして、オイルレッドO染色による乳管観察、メチルグリーンピロニン染色によるDNA,RNAの染色と観察を行った。樹脂包埋切片においても、凍結切片と同様にラテックス中の脂質が染色され、乳管の形態観察ができた。メチルグリーンピロニン染色では、DNA,RNAの染色が観察でき、ISH用包埋試料の保存状態が確認できた。

### 「平成18年度～21年度」

#### 1) 組織学的解析

平成18年度には、乳管細胞の詳細な構造観察を行い、ゴム生合成機構を組織学的に解いていく

ため、適当な蛍光色素の選択を中心に検討を行った。乳管細胞を蛍光観察する色素として、oil body を選択的に染色できる nile red に着目した。ラテックスを用いた検討により、ラテックス中のゴム粒子が nile red で染色されるのを確認した。そこで、パラゴムノキの組織切片を nile red 染色したところ、組織内のゴム貯蔵部位が蛍光検出でき、乳管細胞の蛍光観察が可能になった。さらに、Hoechst33342 で核染色を行ったところ、乳管細胞の核を観察することが出来た。

平成 19 年度には蛍光観察を発展させ、スペクトル共焦点レーザー顕微鏡を用いた形態解析を行った。nile red で染色した乾燥ラテックスと師部組織の組織切片を用い、スペクトル共焦点レーザー顕微鏡で nile red の蛍光分離を試みた。ラテックスと細胞内の脂溶性物質の蛍光スペクトル間において、20nm の最大蛍光波長の差と波形が異なることが認められた。これにより、スペクトル共焦点レーザー顕微鏡を用いることで、nile red のラテックス特異的な蛍光が分離可能になった。そこで、師部組織においてゴム生合成能がある乳管細胞を推定するため、師部組織の接線方向の連続組織切片を作製し、nile red 染色で乳管細胞の形態変化を層別に観察した。乳管組織は形成層からの距離が遠くなるほど網目状に形成したネットワーク構造が崩壊していく様子が観察された。このことから、ネットワーク構造が崩壊するにつれゴム生合成能も消失していくと推定された。(図 9-2 ①.②)

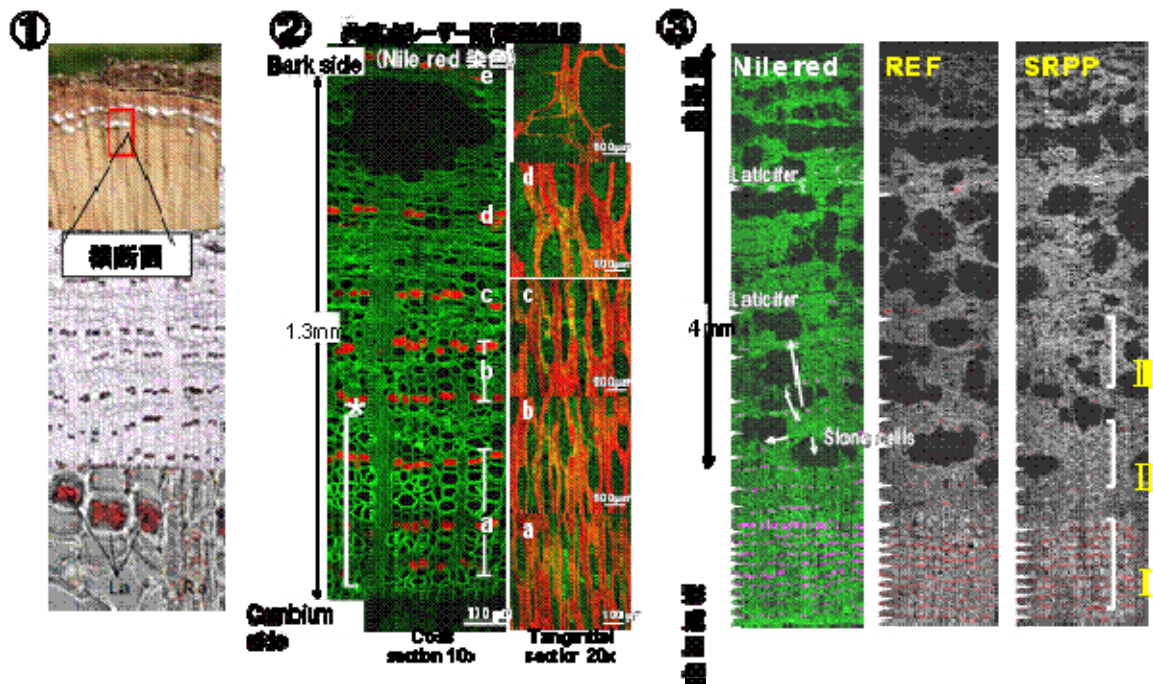


図 9-2 パラゴムノキ 乳管組織観察結果

平成 20 年度には、乳管組織の構造変化とゴム生合成能との関係について検証するため、ゴム生合成関連タンパクの組織内局在を免疫組織学的手法で明らかにすることにした。ゴム生合成関連タンパクの Rubber elongation factor (REF)、Small rubber particle protein (SRPP) のマウスポリクローナル抗体を作製し、これら抗 REF 抗体、ならびに抗 SRPP 抗体を用いて免疫染色を行い、スペクトル共焦点レーザー顕微鏡で解析した。その結果、REF は nile red により明視化された乳管組織の分布と同じパターンで強いシグナルが検出された。一方、SRPP は conducting phloem 内の乳管組織において強いシグナルが検出され、石細胞が形成される付近から表皮にかけてシグナルは弱くなっていく傾向が観察された。乳管組織のネットワーク構造の変化と SRPP の

局在パターンは乳管細胞のゴム生合成能と関連すると推定された。一方で、REF は普遍的に局在していたことから、ゴム生合成能との関連性は低いと推定された。(図9-2③)

平成21年度には、乳管細胞のマクロ観察からミクロ観察へと解析を進め、電顕観察を実施した。師部組織の樹脂包埋切片上で、抗REF および抗SRPP 抗体を用いた免疫電顕観察を試みた。乳管細胞内では、ゴム粒子において金コロイドで標識されたREF およびSRPP が観察された。さらに、ラテックス中のゴム粒子を回収し同様に免疫電顕観察を試みたところ、REF は粒径100nm から450nm のゴム粒子に、SRPP は粒径100nm 以下のゴム粒子に局在していることも明らかとなった。また、タッピング前後の組織をサンプリングし、タッピングによる乳管細胞内の変化を電顕観察したところ、ゴム大粒子(断面径で約200nm 以上)はタッピングにより乳管細胞内から流出したのち、ゴム小粒子(断面径で約10nm)が乳管細胞の膜近傍に局在して現れることも明らかになった。(図9-3) 現在、ゴム生合成活性があるのは小粒子と考えられており(タイ研究者学会報告)、今回の観察結果と合致する。

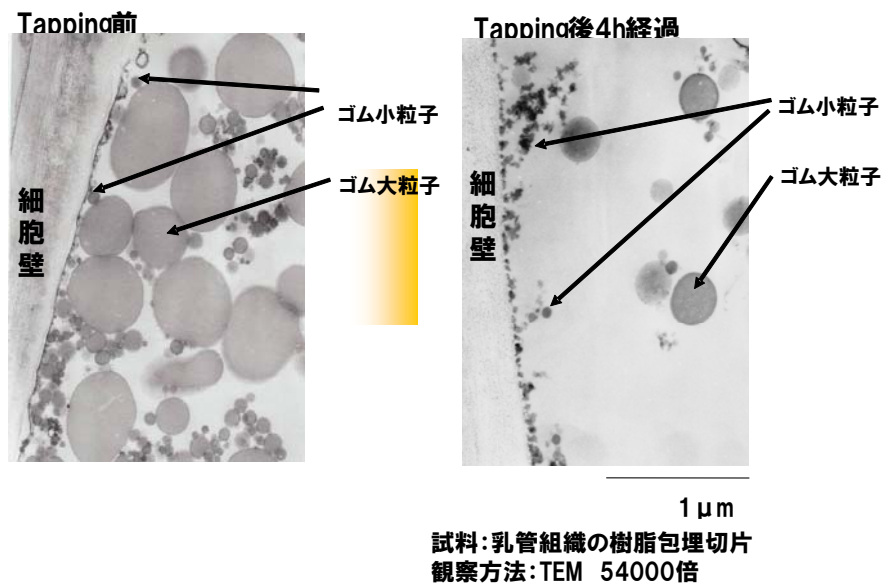


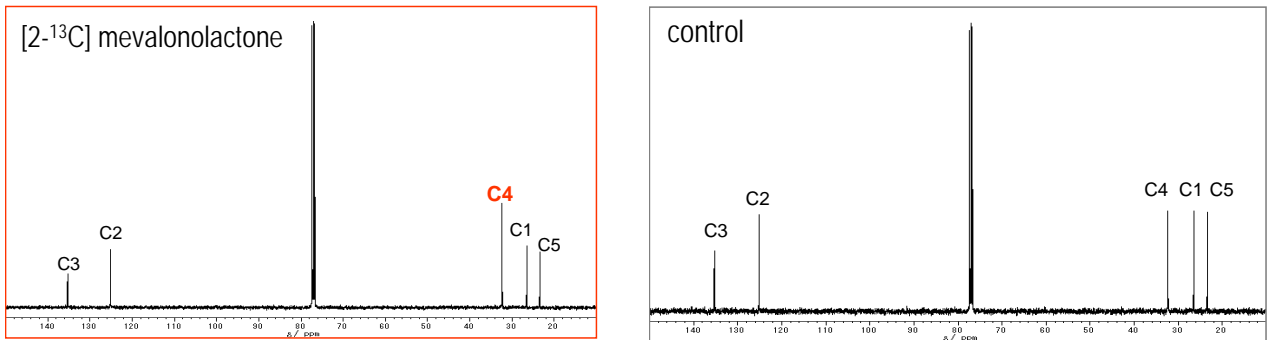
図9-3 乳管細胞内 観察結果

今後、さらなる電顕観察により、乳管細胞内におけるゴム粒子の生成起源(器官)を特定するとともに、大小のゴム粒子表面タンパクのプロテオーム解析と併せてゴム生合成機構の全貌解明に繋げていく必要がある。

## 2)天然ゴムの生合成経路

ポリイソプレンの前駆体であるIPPの供給経路としてメバロン酸経路と非メバロン酸経路の2つが知られているが、パラゴムノキにおける経路を確認するために、安定同位体 $^{13}\text{C}$ 化合物によるトレーサー実験を行った。メバロン酸の中間物質として mevalonolactone、非メバロン酸の中間物質として 1-deoxy-D-xylulose-3,4,5-triacetate のそれぞれ特定の炭素を $^{13}\text{C}$ でラベルし、これらを別々に加えた無菌培地を用いてパラゴムノキの無菌実生を取得した。得られた苗から採取したラテックス中の $\beta$ -シトステロールと、 $\beta$ -カロテンのMS分析により同位体化合物のラテックス中への取り込みを確認した後、ゴム成分を $^{13}\text{C}$ -NMRにより分析した。その結果、mevalonolactoneを添加した系において同位体ラベルした炭素(4位の炭素)による有意なピーク強度の増加が確

認められ、天然ゴムはメバロン酸経路で合成された IPP を前駆体として重合されることが示唆された (図 9-4)。



実生苗中のラテックスの<sup>13</sup>C-NMR 結果 (左: mevalonolactone 添加、右: コントロール)

図 9-4 NMR 測定結果

今回得られたゴムの前駆体としての IPP 合成経路に関する知見と文献情報を統合し、乳管細胞内のゴム、非ゴム合成経路の全体像をまとめると図 9-5 のようになる。光合成で作られた sucrose は、解糖反応、エネルギー生産系、前駆体生成系の後、ポリマー重合反応を経て cis-polyisoprene となる。これらの反応を触媒・制御している蛋白の遺伝子発現を明らかにすることがパラゴムノキのゴム生産制御技術の開発には重要である。

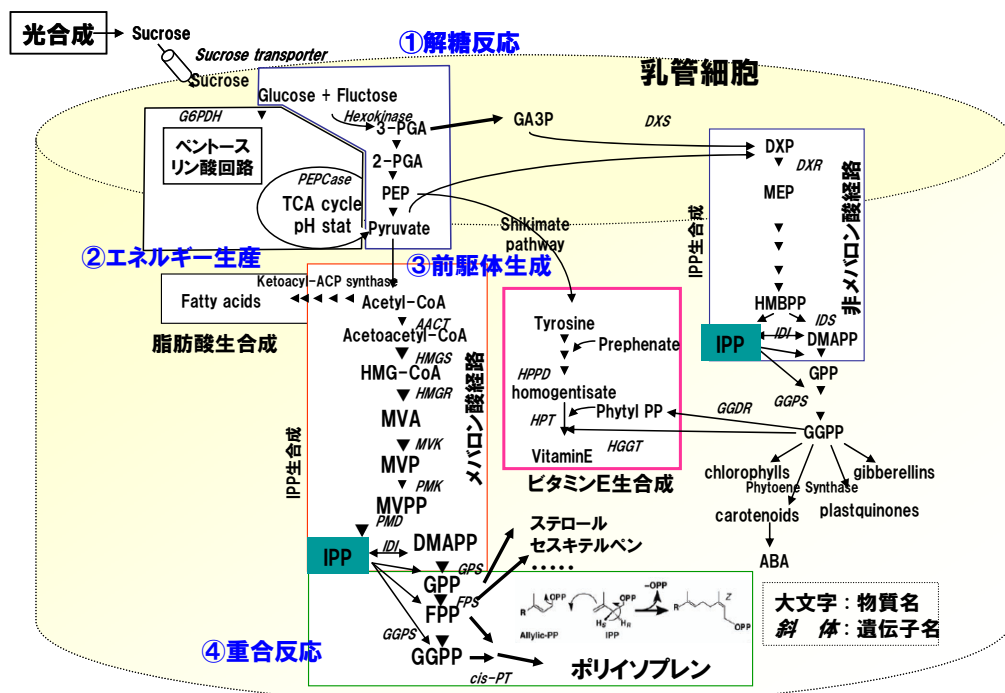


図 9-5 乳管細胞内の生合成経路

#### D. ラテックス生合成関与遺伝子の取得・解析

「平成 14 年度～17 年度」

平成 15 年度にインドネシア BPPT と資源移転契約を締結して、インドネシアからパラゴムノ

キの試料の日本への持込みが可能となった。パラゴムノキの組織から純度の高い RNA を抽出するために、サンプリング部位、前処理法、試料運搬法などを最初に検討した。ジャカルタ近郊のプランテーションで RRIM600 の標準木から mRNA 抽出用にラテックス、葉、茎をサンプリングした後、RNA Later に浸漬する方法とそのまま凍結保存して運ぶ 2 つの方法で日本に持ち帰った。検討の結果、ラテックス生産部位としてタッピング直後のラテックスと、ラテックス非生産部位として当年枝の xylem を試料とすることとし、両者から高純度の RNA を抽出することができた。次に、total RNA より mRNA を精製し、10<sup>5</sup> オーダーの完全長 cDNA ライブラリーを作製した。

平成 16 年度には、cDNA ライブラリーから、各々 20,000 クローンの EST ワンパスシーケンスによる配列情報を取得し、BLAST 検索によるアノテーション解析およびクラスタリング解析 (VISUALBIO) を経て、約 33,000 個の配列情報からなるパラゴムノキの EST データベースを構築した。

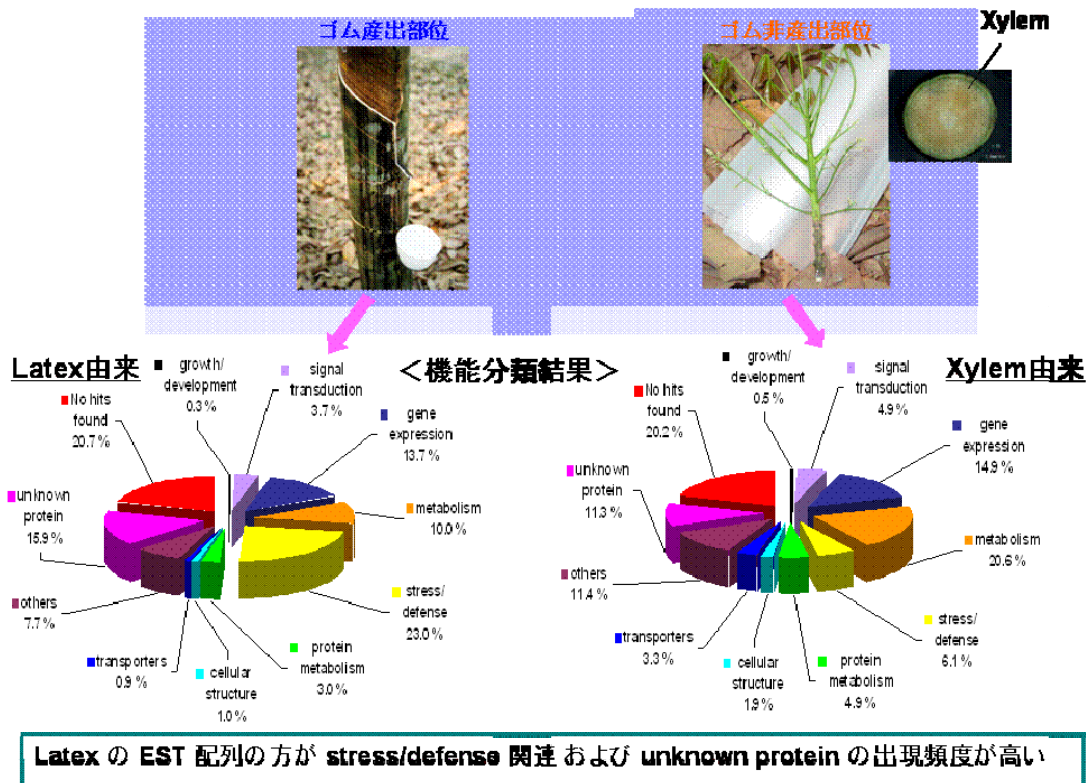


図 9-6 遺伝子解析；EST 解析結果

ラテックスと xylem とで比較解析した結果、それぞれに特異的な遺伝子が存在することが判明し、さらにアノテーションの結果をベースに機能分類を行ったところ 各部位における遺伝子発現の傾向が明らかになった (図 9-6)。ラテックス中には、これまで報告されている IPP isomerase のほか、メバロン酸、非メバロン酸経路に関わる遺伝子が確認された。また、シスポリイソプレン生合成に関わる候補遺伝子と並んで、有用非ゴム成分に関連する候補遺伝子も見出した。これらの有用非ゴム成分は、工業原料としてのゴムの物性に寄与する有用な成分であるため、シスポリイソプレン生合成関与遺伝子と併せて候補遺伝子として着目した。こうして、生合成に関与すると考えられる、メバロン酸経路関連、非メバロン酸経路関連、prenyltransferase 関

連、及び latex 特異的高発現遺伝子、並びに有用非ゴム成分など約 100 個の候補遺伝子の EST 部分配列を抽出した。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

平成 16 年度作成した EST データベース（第一期 DB）では、乳液・木部合わせてクローン数 33,863 種のクローンを取得したが、遺伝子の種類としては 12,459 種にとどまった。この理由としては、REF や SRPP のように高発現・ないしはマルチコピーの遺伝子由来 EST が第一期 EST には多く含まれていることによると考えられた。このデータベースにおいては、比較的発現量が低い重要性の高い遺伝子の発現情報が抜け落ちている可能性が高いので、遺伝子発現が大きく異なると考えられる篩部と葉の 2 種類の組織から抽出した mRNA を用い、ノーマライズ処理を行いより網羅性の高い完全長 cDNA データベース（クローン数 11,849 種、第二期 DB）を構築した。次いで、第一期と第二期のデータベース情報、GeneBank 遺伝子データも統合したクローン数 55,792 種、遺伝子種類数としては 19,428 種の統合データベースを構築した。遺伝子発現解析を行うために、この統合データベース情報にマイクロサテライトも加えた遺伝子数 19,930 種（プローブとしては相補鎖も加え 39,808 種のプローブ）が載った DNA アレイ（Agilent 社）を作成した。

### E. 遺伝子発現・機能解析

#### 1) 遺伝子発現解析

##### 「平成 14 年度～17 年度」

< *in situ* hybridization による遺伝子発現部位解析 >

約 100 個の EST(部分配列)に対して、3'RACE 法により完全長配列をクローニングし、約 100 個の生合成関与候補遺伝子(完全長配列)を取得した。発現解析・機能解析による候補の絞込みに着手した。これら候補遺伝子がパラゴムノキ組織中のどこで発現しているのか知ることは、遺伝子の機能の解明に繋がる。

そこで、平成 16 年度には、パラゴムノキの組織観察技術を発展させ、ISH 法で用いる組織標本の作製方法を検討した。インドネシアにおける組織のサンプリング時に、FAA 固定して樹脂包埋する組織固定法を開発した。包埋試料から切片を作製し mRNA の発現状態を観察したところ、組織中の mRNA が分解されていないことが確認できた。

EST 解析で得られたラテックス特異的な rubber elongation factor protein の cDNA プローブ、および木部 (xylem) 特異的な metallothionein-like protein の cDNA プローブを作製し ISH を実施した。その結果、木部特異的な metallothionein-like protein では、木部と篩管においてその遺伝子発現が確認できた。現在、ラテックス特異的な rubber elongation factor protein の cDNA プローブを用いて乳管での遺伝子発現を検討中である。また、今後は、他のラテックス高発現の cDNA プローブを用いた検討を進めていく予定である。

##### 「平成 18 年度～21 年度」

< 転写解析 >

平成 18 年からは、EST データベースをもとに作成した Affimetrix 社 GeneChip および統合データベースをもとに作成した Agilent 社 DNA チップを用い、ゴム生合成に関与する遺伝子の絞

込みに着手した。遺伝子の絞込みを行うには、ゴムの分子鎖長のような質的差異あるいはゴム生合成活性のような量的差異と呼応した遺伝子転写量の変化を、網羅的解析により捉える必要がある。パラゴムノキの1年生組織（当年枝）から採取されるゴムは  $10^5$  をピークとする1山分布を示し、8年生組織から採取されるゴムは  $10^5$  以外に  $10^6$  のピークも持つ2山分布を示すことが明らかになっていた。GeneChip を用いた転写解析により、8年木での NR 分子量差（高分子量）には *cis*-prenyltransferase をコードしている *Hevea rubber transferase1* (*HRT1*) の転写量増加が関与している可能性が示唆された。RT-PCR で確認したところ、1年生組織では *Hevea rubber transferase2* (*HRT2*) が、一方8年生組織では *HRT1* が主に発現しており、この2種類の *cis*-prenyltransferase の発現差異により分子量分布差異が生じている可能性のあることが示唆された。1年生組織で発現が低く8年生組織で発現が上がる遺伝子としては、他に *myb*、*MADS*、*F-Box*、*CasSyn* などが絞り込まれた。

次に、タッピングによりラテックスが流出した後、再合成が起きる現象に着目し、ゴム分・非ゴム分を反映した代謝物の変動と呼応して起きる遺伝子発現量の変動を調べることで、ゴム分ないしは非ゴム分の生合成に関与する遺伝子を絞り込む研究に着手した。まず、タッピング時にゴム成分におきる変化を調べたところ、Total solid content (TSC) は2時間目まで低下しその後回復することがわかった。タッピング時乳管細胞への水の流入による浸透圧差でラテックスが希釈されながら流出することで、2時間目までの減少がおき、その間にゴムおよび非ゴム成分の生合成が開始されるので TSC が反転して上昇すると考えられる（図9-7）。

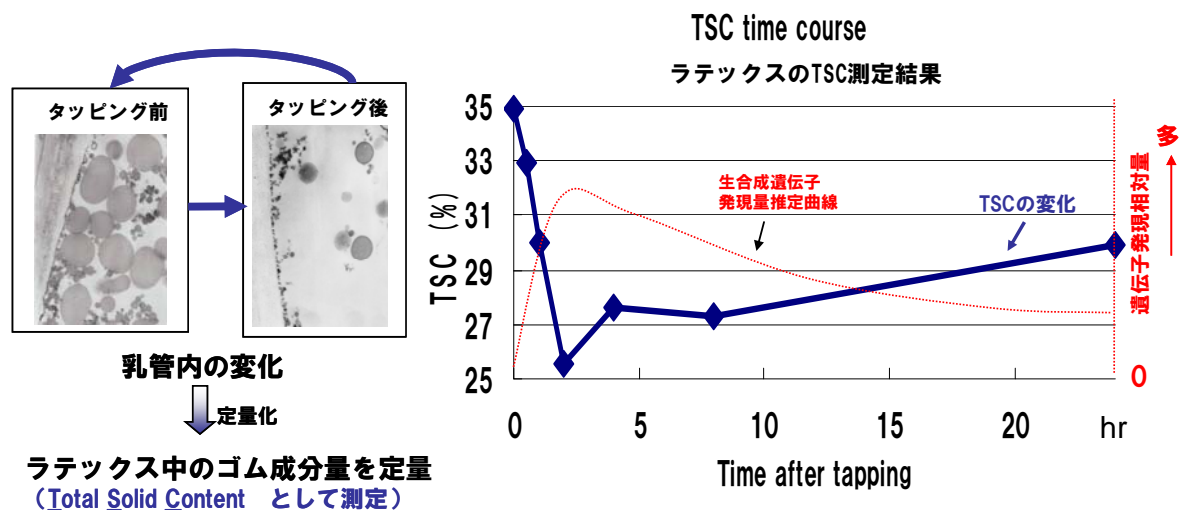


図9-7 タッピングによるラテックス成分の変化

タッピング後2時間目までにおきるゴムの生合成開始と呼応した発現をする遺伝子候補を Agilent 社の DNACHIP を用いて解析したところ、図9-5で示した解糖系、エネルギー生産反応系、前駆体生成系の重要な鍵段階の酵素遺伝子である、hexokinase(解糖系)遺伝子、glucose-6-phosphate dehydrogenase (エネルギー生産) 遺伝子、phosphoenol pyruvate carboxylase (エネルギー生産) 遺伝子、3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthase (前駆体生成) 遺伝子の発現が急速に上昇することがわかった。さらには、重合反応の触媒ユニットであると考えられる *cis*-prenyltransferase 遺伝子 (*HRT1* および *HRT2*) の発現も上昇することが明らかと

なった。さらに *HRT2* と同じ発現動向を示す約 300 の遺伝子候補を抽出した。

#### ＜プロテオーム解析＞

##### 「平成 14 年度～17 年度」

平成 14 年度には、シスポリイソプレンの生合成過程解明を目的に、まずラテックス中のタンパク分析法を確立するため市販のアンモニアラテックスを試料として分析手法を検討した。その結果、試料中のタンパク質を硫酸沈殿などで濃縮し電気泳動で分離後、MALDI-TOF-MS で分析すると高感度で迅速に分析できることが判った。この手法で市販ラテックスからも rubber elongation factor(REF)、small rubber particle protein(SRPP)などのシスポリイソプレンの生合成に関係すると見られるタンパク質が確認された。しかし、*cis-prenyltransferase*、IPP isomerase) など、主に IPP の鎖延長やイニシエーターの形成を触媒するタンパク質は検出されなかった。

平成 15 年度には、ラテックス生合成関与酵素をターゲットとして、新鮮ラテックスの分析を行うことにより、さらに正確なタンパク質の情報が得られるものと期待して、インドネシアの BSKP に超遠心分離機を設置し、採取した新鮮ラテックスを超遠心分離機により、ゴム相、セラム相、ボトム相に分離する実験を開始した。分離後、セラム相及びボトム相の凍結乾燥物を日本に持ち帰り、平成 14 年度に市販ラテックスを用いて開発したタンパク質分析法を使って分析した。新鮮ラテックスのセラム相とボトム相を 2 次元電気泳動で分離し、主なスポットのゲル内消化物を MALDI-TOF-MS によりペプチドマスフィンガープリンティング分析したが、同定できるタンパク質には限界があった。

平成 16 年度も、シスポリイソペン生合成関与遺伝子の同定の手がかりとすべく、新鮮ラテックスのセラム相及びボトム相のタンパク質分析を 2 次元電気泳動及び MALDI-TOF-MS により実施した。通常のペプチドマスフィンガープリンティング法のみでは同定できるタンパク質は限られたので、マススペクトルから予想されるアミノ酸配列と EST 解析のデータを比較対照することを試みた結果、より多くのタンパク質が同定できることが判明した。現在、EST-データベースで得られた約 33,000 クローンの配列情報をもとに、この手法を用いて、2 次元電気泳動の各スポットの同定を試みている。今後、クローン種別、部位別など多くの場合における発現タンパク質の差異概要の把握を試みる。

##### 「平成 18 年度～21 年度」

ゴムはゴム粒子（大粒子：LRP、小粒子：SRP）の中に充填されてラテックス中に存在する。先の電顕による組織観察の結果からも、ゴムの生合成の場はゴム小粒子と考えられるので、ゴム粒子に存在するタンパク質を網羅的に明らかにすることで、転写解析で絞り込んだゴムの生合成に関与すると考えられる 300 の遺伝子候補と照らし合わせ、ゴム生合成に必須の遺伝子を明らかにすることができる。そこで、ゴム合成能の殆どない大粒子と小粒子の膜表面タンパク質を抽出し比較することで、ゴム小粒子にのみ存在する約 20 種類のタンパク質を分離することにはじめて成功した。興味深いことに膜タンパク質は小粒子・大粒子ともに SRPP、REF ファミリーのタンパク質からなるがその組成比が小粒子・大粒子で異なることが明らかとなった。

ゴム大粒子・小粒子のみならず、ボトム画分に含まれる（結合している）全タンパク質の定性分析も実施し、ボトム画分については 15 種類のタンパク質の同定に成功した。



## 2) 遺伝子機能解析

### 「平成 14 年度～17 年度」

メバロン酸・非メバロン酸、及び、天然ゴム物性に影響を与える有用非ゴム成分関連遺伝子の機能確認をするために、酵母あるいはモデル植物(シロイヌナズナ、タバコなど)の変異株を用いた相補性試験を行なった。さらに、機能未知の遺伝子に関しては、ラテックス産生モデル植物(パラゴムノキ培養根など)を用いて機能確認する形質転換モデル実験に着手した。ラテックスが *in vitro* 生合成できれば候補遺伝子の機能確認へ利用できる可能性があるため、まずはインドネシアにおいて新鮮ラテックスから分離したボトム相を用いた *in vitro* 生合成の実験に着手した。今後、約 100 個の候補遺伝子に対して、以上の方法を組み合わせた発現・機能解析を行ない、有用遺伝子を絞込む予定である。

### 「平成 18 年度～21 年度」

天然ゴムの高品質化を目的として、天然ゴムの耐熱劣化性能を改良する効果が明確な、ラテックス中のビタミン E の増産を第一ターゲットとして設定した。パラゴムノキの組織別にビタミン E 同族体の定量分析を行ったところ、葉では  $\alpha$ -トコフェロールが、ラテックスでは  $\gamma$ -トコトリエノールが主成分として含まれていた。パラゴムノキでは、トコフェロール、トコトリエノールは図 9-8 で示すような生合成経路で合成されると考えられた。そこで、ビタミン E の生合成に関連する遺伝子の単離、クローニングを試みた結果、10 種類の遺伝子の取得に成功した。さらに各遺伝子の発現量を調べた結果、トコフェロールの生合成に重要な geranylgeranyl pyrophosphate reductase 遺伝子 (*GGPR*④) と homogentisate phytyltransferase 遺伝子 (*HPT* ⑥) は葉で、トコトリエノールの生合成に重要な homogentisate geranylgeranyltransferase 遺伝子 (*HGGT* ⑦) はラテックスでそれぞれ多く発現していることが明らかとなった。そこでこれらの遺伝子の機能確認を行うために、モデル実験を実施した。

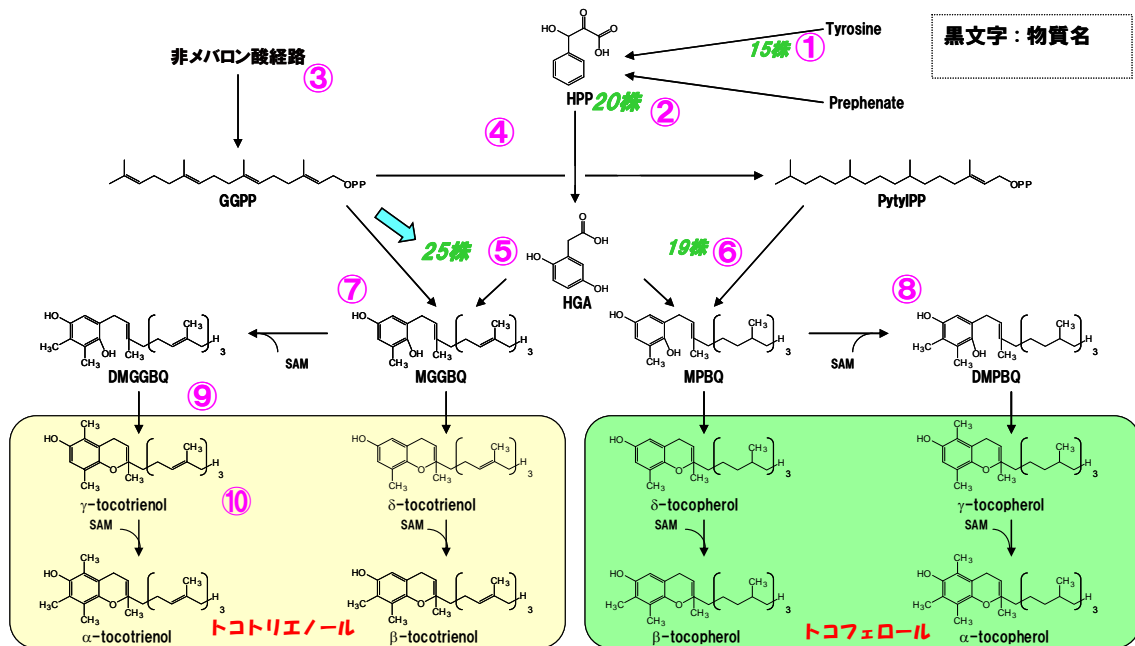


図 9-8 ビタミン E 生合成経路

## F. 形質転換体作出と機能確認

### 「平成 14 年度～17 年度」

組織中のラテックス成分の差異を解析し、生合成メカニズム解析や遺伝子の機能解析につなげるため本格的な分析法検討に着手した。

平成 15 年度には組成分析を開始して NMR および FTIR スペクトルを測定したところ、シスポリイソプレン以外の成分では、培養根中には葉や茎より糖類（主成分はスクロース）が多く存在し、葉・茎には存在しないアミノ酸やタンパク質が多く含まれていると推定される結果が得られた。この前処理方法では、ラテックス成分と植物組織由来成分の分類ができないため、組織から直接ラテックスを回収する方法を検討した。

平成 16 年度には、実生苗の葉、茎、根および培養根から抽出したゴム成分の分析を行ったところ、葉<根=培養根<茎の順で分子量に差異が確認された。今後、不溶分(ゲル分)の分析、微量ゴム成分の分析、及びクローン種や樹齢による差などを検討を実施することとした。

### 「平成 18 年度～21 年度」

候補遺伝子の機能評価を行うために、カルスからの再分化が容易で形質転換技術が確立しているペリプロカをモデル植物として形質転換体を作成した。ペリプロカは乳管細胞においてラテックスを産生するツル性木本植物であり、ラテックス中には、 $10^5$  から  $10^6$  オダーの高分子量のシス型ポリイソプレンが含まれるなど、パラゴムノキと類似した特徴を示す植物である。また、ペリプロカラテックス中にはビタミン E としてトコフェロールが含まれていることが明らかとなり、パラゴムノキのビタミン E 生合成遺伝子候補の機能を検証する良いモデル系である。

パラゴムノキから単離、クローニングしたビタミン E の生合成に関与する遺伝子のうち、ビタミン E の増産に重要と推定される 4 種の遺伝子 prephenate dehydrogenase 遺伝子 (*PD*), 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase 遺伝子 (*HPPD*), *HGGT*, *HPT* を選び、pMSIsGFP ベクターに組み込んだ。このベクターをアグロバクテリウム EHA105 に導入し、クローン化したペリプロカの茎 (1cm) へ遺伝子導入を行った。茎はカナマイシンを含むカルス選抜培地で培養し、形成されたカルスから GFP 蛍光が確認されたカルスを選抜した後、同じ培地上でシュートを再分化させた。再分化した不定芽から Genomic DNA を抽出し PCR を行い、アガロース電気泳動により導入遺伝子の確認を行った。遺伝子導入が確認された不定芽は発根させた後、ガラス温室内で馴化させた。馴化させた各クローンの葉から、mRNA を抽出して Real-time-RT-PCR を行い、導入した遺伝子の発現量を測定した。また、同じ試料について、ソクスレー抽出により得られた抽出成分を HPLC 法により分析し、形質転換体の葉に含まれるビタミン E の組成と含有量を求めた。*PD* および *HPPD* はビタミン E の前駆体である homogentisate の生合成遺伝子であるが、これら単独の過剰発現形質転換体において、トコトリエノール生合成量の増加は認められなかった。*PD* と *HPPD* を複合させて発現させることが必要である可能性がある。

一方、*HGGT* 導入形質転換体を解析した結果、形質転換体 20 クローンで導入した *HGGT* の発現が確認され、うち 19 クローンにおいてトコトリエノールが新規に合成されていることが認められた。このことから単離された homogentisate geranylgeranyl transferase 遺伝子候補はトコトリエノールの生合成遺伝子であることが明らかになった。(図 9-9)

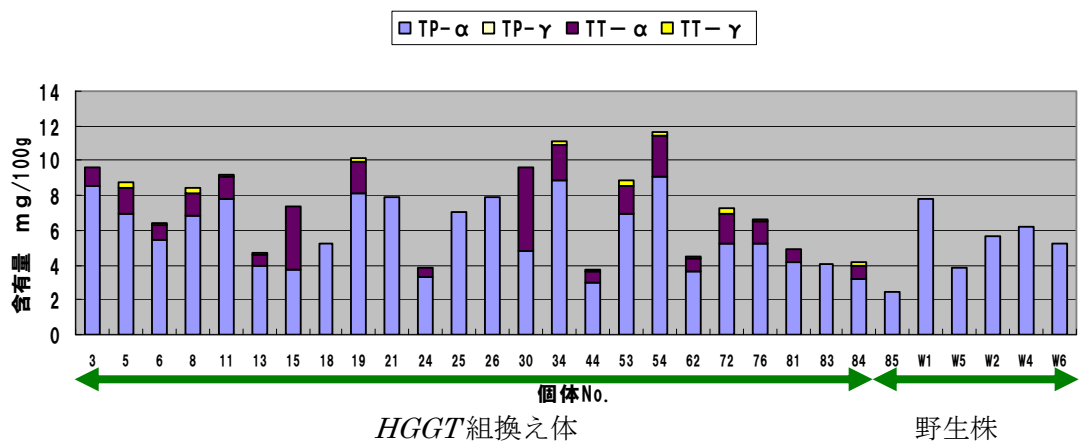


図9-9 形質転換体中のビタミンE定量分析結果

参考文献

- 1) Chen Zhenghua, Handbook of plant cell culture Vol.2, Macmillan New York p 546-57(1984)

(5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発 (常磐植物化学研究所)

A. 材料植物の確保、育成、培養系の確立

1) 生合成および蓄積に関わる植物細胞 (組織) の同定あるいは誘導系の確立

「平成 14 年度～17 年度」

播種後 2 ヶ月で肥大根を形成させる人工気象室内栽培方法を確立し、肥大根、水耕栽培根、ストロン様培養物、カルスおよび毛状根培養物 (図 10-1) とあわせて、その蓄積成分パターンを LC-MS 分析により比較した。その結果、肥大根のみにグリチルリチン及びリコリスサポニン類が蓄積し、肥大根形成がトリテルペノイド生合成あるいは蓄積に重要であることが示された。

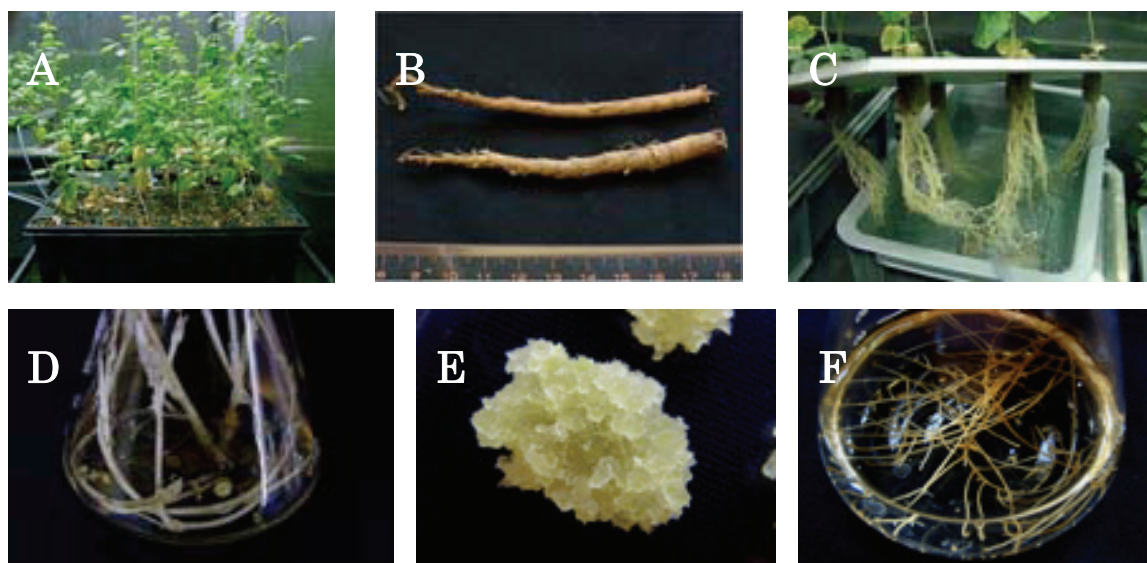


図 10-1 カンゾウ人工気象室内栽培植物 (A)、同肥大根 (B)、水耕栽培植物 (C)、ストロン様培養物 (D)、カルス (E)、毛状根 (F)

根の肥大に伴う二次代謝関連遺伝子の発現とグリチルリチン蓄積量の相関を調べるため、人工気象室で栽培した播種 2 ヶ月目と 3 ヶ月目の肥大根を収穫し、根の平均直径、グリチルリチン含量、 $\beta$ -アミリン合成酵素遺伝子 (bAS) mRNA 発現レベルを比較した。その結果、根の平均直径は 2 ヶ月では 2.14mm、3 ヶ月後では 4.25mm に肥大していた。それに伴いグリチルリチン含量も 2 ヶ月の 0.11% に対して 3 ヶ月後は 0.34% に上昇していた。また、bAS の mRNA 発現レベルには大きな差は見られなかった。

次に、人工光下栽培植物を用い、bAS の発現量変動をグリチルリチン生合成経路の発現指標として、ストレス化合物投与及び地上部の影響を調べた。人工気象室内で 2 ヶ月間栽培したカンゾウに、さらにメチルジャスモン酸を長期間 (2 ヶ月) 投与した。その結果、bAS の発現量は増加したが、グリチルリチンの蓄積には影響がなかった。また、地上部を切除した肥大根では bAS の発現量が急速に低下し、切除後 14 日目以降地上部の再生に伴って発現量が回復した (図 10-2)。これは、地上部からの何らかのシグナルが地下部でのグリチルリチン生合成及び蓄積を誘導している事を示唆している。さらに光照射の影響を調べるため、5 ヶ月間栽培したウラルカンゾウを地上部切断もしくは暗黒下でさらに 2 日間栽培し、収穫した肥大根の bAS mRNA 発現レベルを測定した。図 10-3 に示すように地上部切断と暗黒下で栽培したウラルカンゾウの bAS mRNA 発現レベルは、コントロールに比べて低下していた。

以上の結果は、カンゾウ肥大根における bAS mRNA の発現には地上部が必要であることを示すとともに、光の照射の必要性をも示すもので、地上部で生産される光合成産物が大きく関与していることが示している。

次に、地上部切除等による bAS mRNA 発現レベルの低下をジャスモン酸によって回復させることを試みた。播種後、6,000lux の屋内で5ヶ月間栽培したウラルカンゾウを材料に、地上部を切断したもの、あるいはジャスモン酸を投与した後暗黒下で栽培したものを個別別に bAS mRNA 発現レベルを測定した。その結果、地上部を切断した後ジャスモン酸を投与したものも、ジャスモン酸を投与して暗黒下で栽培したものも、bAS mRNA 発現レベルは回復しなかった。

以上の結果より、ウラルカンゾウにおいてグリチルリチン産生には光と地上部の存在が必要であることが示唆された。さらに光照射下で栽培した植物ではジャスモン酸による bAS mRNA の発現レベルの上昇が確認されたことを踏まえると、ジャスモン酸が bAS mRNA 発現に影響を与える過程において光や地上部の存在が必要になるものと考えられた。

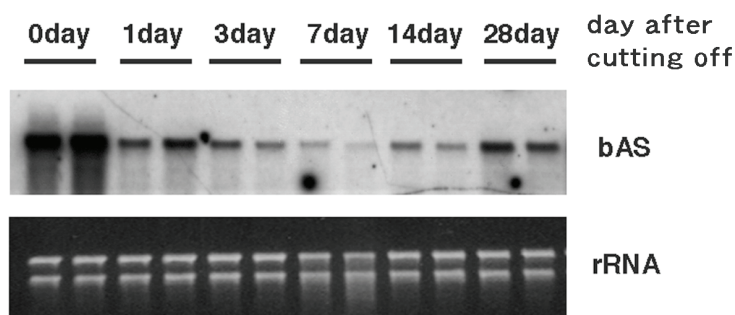
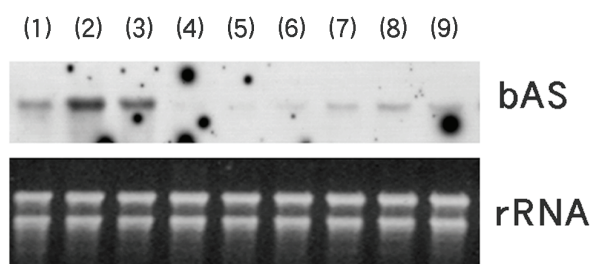


図 1 0 - 2 地上部切断後の bAS と rRNA の発現レベルの経時変化



(1)~(3) control、(4)~(5)切断 2day、(7)~(9)暗黒下 2day

図 1 0 - 3 bASmRNA と rRNA 発現レベルの比較

## 2) 材料植物の確保、育成、培養条件の確立

「平成 14 年度~17 年度」

海外より導入したカンゾウ 2 種 3 系統 (*Glycyrrhiza uralensis* T4/5(ウラルカンゾウ)及び T6、

*G. glabra* A22(スペインカンゾウ) を播種し、人工気象室で栽培を行った。播種 3 ヶ月後、各 10 個体を収穫し地上部の高さ、根の直径、グリチルリチン含量、mRNA 発現レベルを比較した。その結果、根の平均直径は T4/5 では 3.5mm、T6 では 3.5mm、A22 では 2.3mm でありスペインカンゾウに比べてウラルカンゾウの肥大根形成が優れていた。さらにグリチルリチン含量もウラルカンゾウの T4/5 では 0.23%、T6 では 0.24%であったのに対して、スペインカンゾウの A22 は 0.11%とウラルカンゾウの方が高かった (図 10-4)。また bAS mRNA 発現レベルもスペインカンゾウに比べてウラルカンゾウのほうが高く、ウラルカンゾウの方がグリチルリチンの生合成が活発であることが示唆された。さらに、茎葉の形態、DNA 塩基配列等を比較した結果、T6 系統は、ほぼ純粋な *G. uralensis* であることが判明した。今後、この系統を主たる材料として使用することとした。

次に、培養系の確立のため、T6 系統種子の無菌発芽方法を確立し、培養系検討のための多数の無菌材料を得ることが出来るようになった。この無菌発芽実生を材料として、不定胚あるいは不定芽形成能を有するカルスの誘導条件を検討した。特に新規サイトカイニンである TDZ の濃度や他のホルモンとの組み合わせについて検討を行い、再分化の前段階と考えられるグリーンスポットを有し、良く増殖するカルスを誘導した。また、新たな方法として、日本製紙 MAT ベクターシステムによる遺伝子導入と再分化植物取得の実験に着手した。

毛状根培養系による遺伝子の機能解析のため、ウラルカンゾウ毛状根の培養条件を検討している。また、*Agrobacterium rhizogenes* を用いた効率良い遺伝子導入および毛状根取得のための条件検討に着手した。

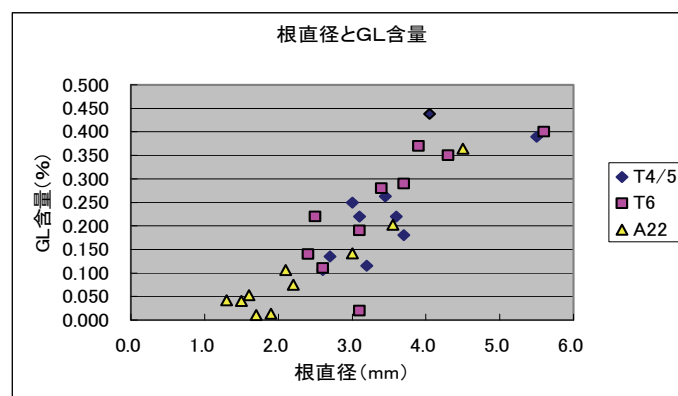


図 10-4 根直径とグリチルリチン含量

#### 「平成 18 年度～21 年度」

カンゾウへの遺伝子導入及び植物体再分化技術を確立するために、無菌発芽種子を用いて培地条件を検討した。平成 17 年度までに取得したカンゾウ種子を用い、無菌発芽種子を子葉、胚軸、本葉等の組織ごとに切り分け、各種ホルモンを添加した培地に置床した。培養開始 5 ヶ月後、基本培地として MS 培地を用い、ホルモン TDZ 1mg/l、糖源としてマルトース 30g/l を添加し、ジェランガム 2.5g/l で固化した培地で培養した胚軸より不定芽の発生が観察された (図 10-5)。さらにこの不定芽を 10mg/l の GA3 を添加した MS 固形培地 (マルトース 30g/l) に移植したところ、シュートの伸長がみられた。

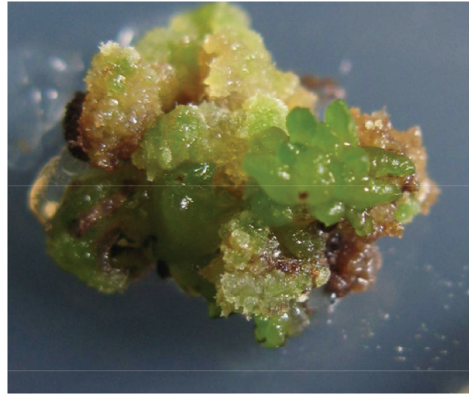


図10-5 カンゾウカルスからの不定芽分化

次に、ダイズによるグリチルリチン生産を目的として、カンゾウの遺伝子を導入した組換えダイズの作出を検討した。ダイズは、グリチルリチンと同様にβアミリンを基質として生合成されるソヤサポニン(図10-6)を種子中に蓄積し、遺伝子組換え技術も確立していることから、比較的容易にグリチルリチン生産ダイズを作出することが可能と考えられたからである。また、カンゾウに比較して土壌や気候などの栽培環境条件に対する適応性が広く、低コストでのグリチルリチン生産が可能と思われる。

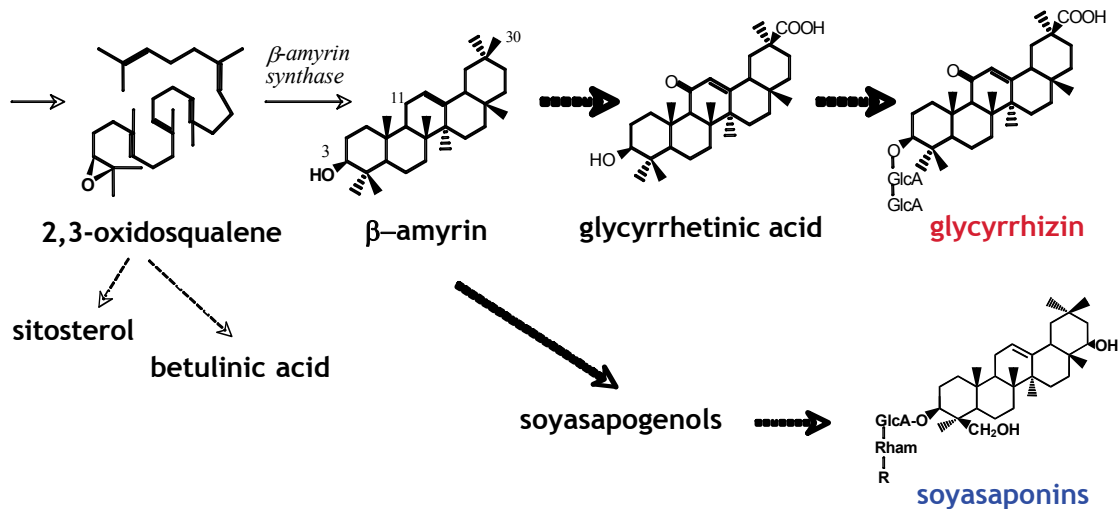


図10-6 グリチルリチン及びソヤサポニンの生合成経路

本研究事業によりクローニングされた2種類の酸化酵素遺伝子、すなわち *GuCYP88D6* と *CYP-A21* (仮称) を連結させたベクターと、さらにソヤサポニン生合成を抑制するためのコンストラクト *CYP93E1-RNAi* 配列を連結させた2種の発現カセットを作製した。これをパーティクルガン用ベクターに組み込み(図10-7)、ダイズ品種‘Jack’不定胚に導入した(図10-8)。不定胚はハイグロマイシン耐性と赤色蛍光タンパク質により形質転換を確認し、一部を成分分析、残りをさらに生育、順化し、合計14系統の組換えダイズ植物体を育成した。

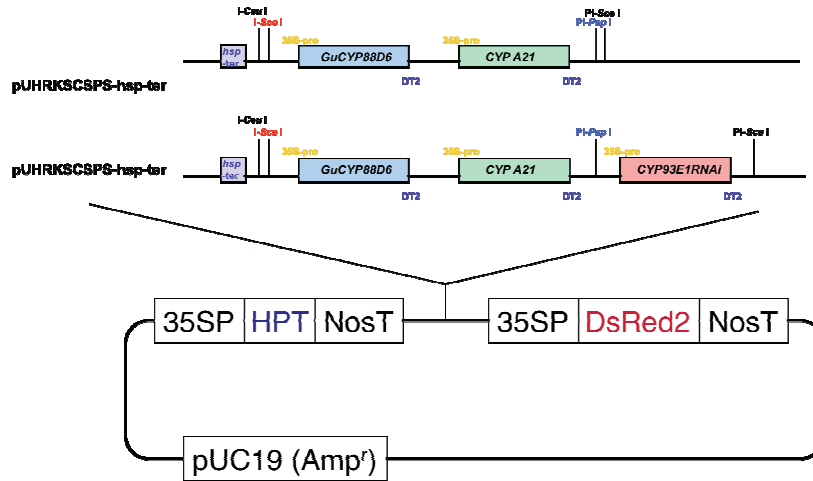


図 10-7 ダイズ形質転換用多重連結ベクター



図 10-8 カンゾウ由来遺伝子を導入したダイズ不定胚

## B. 目的成分の単離同定と分析系の確立

「平成 14 年度～17 年度」

3 年間栽培したウラルカンゾウ根茎より成分を抽出し、LC-MS (ESI および APCI の 2 種のイオン化法による) 分析条件を検討した。得られた 100 前後のピークについて分子量やフラグメンテーションパターンの解析を行った (図 10-9 A)。これまでに、重要なターゲット成分であるグリチルリチンおよびその生合成関連成分であるリコリスサポニン類 (図 10-9 B)、βアミリン等の文献データに基づく解析を終えた。



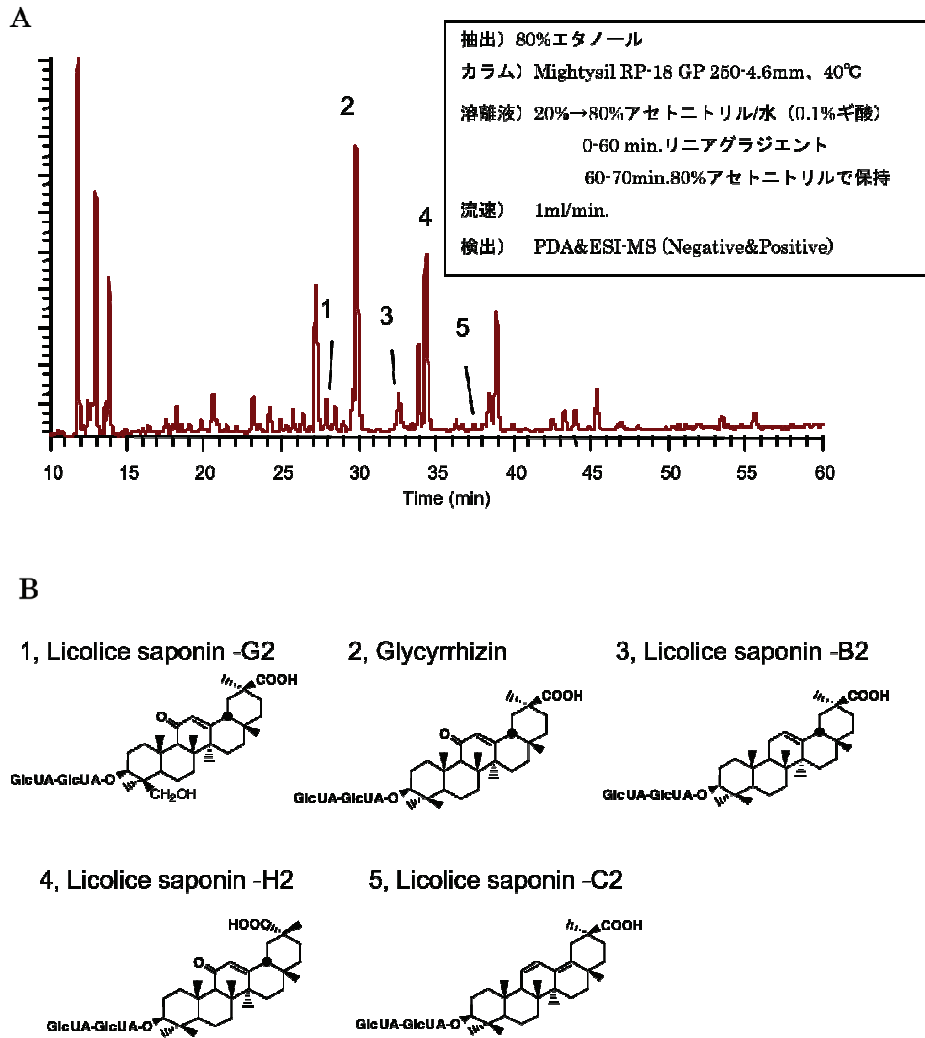


図 10-9 ウラルカンゾウ根茎の LC-MS クロマトグラム及びリコリスサポニン類

「平成 18 年度～21 年度」

カンゾウ由来グリチルリチン生合成関連遺伝子を導入したダイズ不定胚及び組換えダイズ種子の GC-MS 分析を行った。不定胚、種子の胚軸それぞれからエタノール抽出後、アグリコン部分を分析するために酸加水分解し GC-MS 分析に供した。不定胚、胚軸ともに GuCYP88D6、CYP-A21、CYP93E1-RNAi の 3 連結遺伝子導入株のみで、グリチルリチン生合成中間体である 11-oxo- $\beta$ -amyrin が検出された (図 10-10)。11-oxo- $\beta$ -amyrin は GuCYP88D6 により  $\beta$ -amyrin より産生するが、3 連結遺伝子導入時のみで検出されたことは、RNAi 配列によりソヤサポニンへの代謝の流れが抑制され、グリチルリチンへの代謝経路が強化されたためであると推測される。

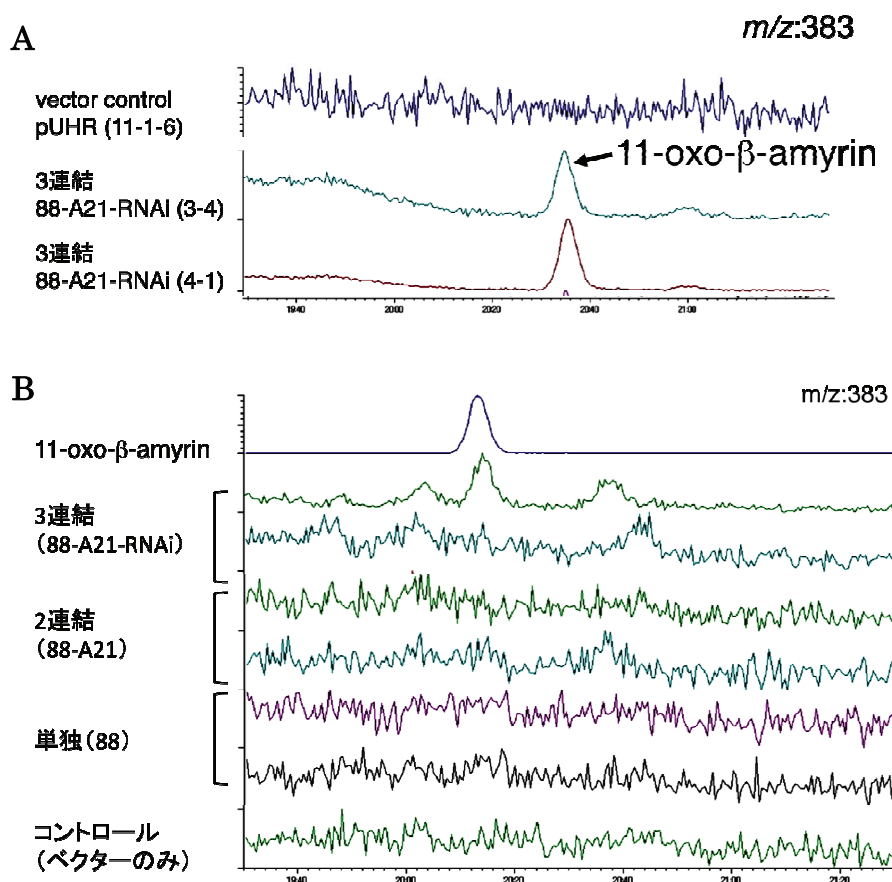


図 10-10 形質転換ダイズの GC-MS 分析チャート

A, 不定胚、B, 種子胚軸 (m/z:383 のマスクロマトグラム)

## C. 細胞および遺伝子レベルの研究

「平成 14 年度～17 年度」

### 1) EST の構築

圃場で 3 年間栽培したウラルカンゾウ肥大根茎を材料に作製した完全長 cDNA ライブラリーについて、その 5' 端塩基配列を解読し、カンゾウ EST とした。これまでに 12,000 クローンの解読を終えており、phred/phrap によるクラスタリングの結果、約 3,500 の contig が形成された。

また、作製したカンゾウ cDNA ライブラリー 12,000 クローンの塩基配列について BLAST 解析を行いアノテーションの付与ならびに推定される遺伝子機能によるカテゴライズを行った。 $\beta$ -アミリン以降グリチルリチンに至る推定生合成経路 (図 10-11) に関与する可能性がある酸化還元酵素遺伝子 14 クローンと糖転位酵素遺伝子 12 クローンをピックアップした。

「平成 18 年度～21 年度」

### 2) $\beta$ アミリン酸化酵素遺伝子のクローニング

カンゾウ cDNA ライブラリーを追加解読し約 26,000 の配列情報を得た。また組織特異的発現遺伝子を効率的に取得する手法であるメガソート法により、グリチルリチン蓄積部位である肥大根で特異的に発現する約 500 配列を取得した。さらに同様の研究を進めていた理化学研究所から

提供された約 30,000 の配列情報を合わせ、合計約 56,000 の配列情報を得た。この中から重複した配列を除去し、最終的に約 10,000 配列（遺伝子）からなるカンゾウ EST とした。カンゾウの総遺伝子数は明らかになっていないが、遺伝子数が最も少ないとされるシロイヌナズナの総遺伝子数が約 26,000 個、イネでは約 32,000 個であることから考えると、約 1/3 が捕捉されたものと考えられる。

このカンゾウ EST の中から、グリチルリチンのオレアナン骨格炭素原子に対する酸化反応を触媒すると考えられる P450 遺伝子をデータベース検索により約 40 個選び出した。さらにこの中から、グリチルリチン蓄積部位である根や地下茎で多く発現し、これを含まない地上部（葉や茎）ではほとんど発現していない 5 個の遺伝子を RT-PCR 分析により選び出した。

この 5 個の候補遺伝子の生化学的機能解明のため、バキュロウイルス/昆虫細胞系による異種発現と、これにより得られた P450 タンパク質を含むミクロソーム画分を用いた試験管内酵素反応実験を行った。反応物の GC-MS 分析により、5 つの P450 タンパク質のうち 1 つが、 $\beta$ -アミリンの 11 位の水酸化反応（2 段階）を触媒し、 $\beta$ -アミリンをグリチルリチン生合成の中間体の 1 つである 11-oxo- $\beta$ -amyrin に変換する活性を持つことを明らかにした。さらにこの遺伝子が生体内でも同様の機能を持つことを明らかにするため、ミヤコグサ由来の  $\beta$ -アミリン合成酵素遺伝子と共に酵母に導入し、培養後に代謝物の GC-MS 分析ならびに NMR 分析を行った。その結果、前述の試験管内反応と同じ 11-オキソ- $\beta$ -アミリンの蓄積を確認した（図 10-12）。以上の結果から、この P450 タンパク質はグリチルリチン生合成反応を触媒するものと結論づけ、コードする遺伝子を *GuCYP88D6* と命名した。さらに同様にして、オレアナン骨格 30 位炭素原子の酸化酵素遺伝子 CYP-A21（仮称）をクローニング、生化学的機能を同定した。これら 2 種の遺伝子により、 $\beta$ -アミリンからグリチルリチンのアグリコンであるグリチルレチン酸が生合成されることが明らかになった（図 10-13）。

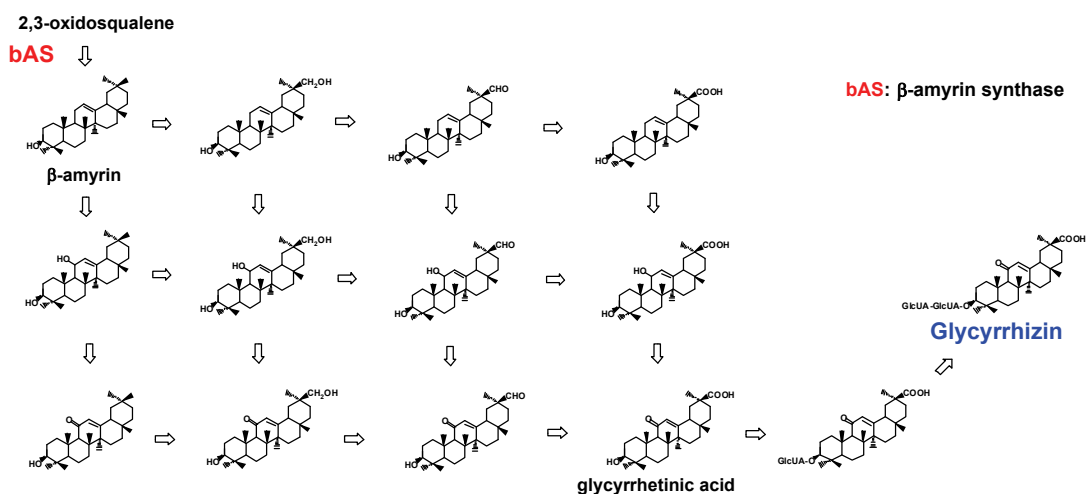


図 10-11 推定されるグリチルリチン生合成経路

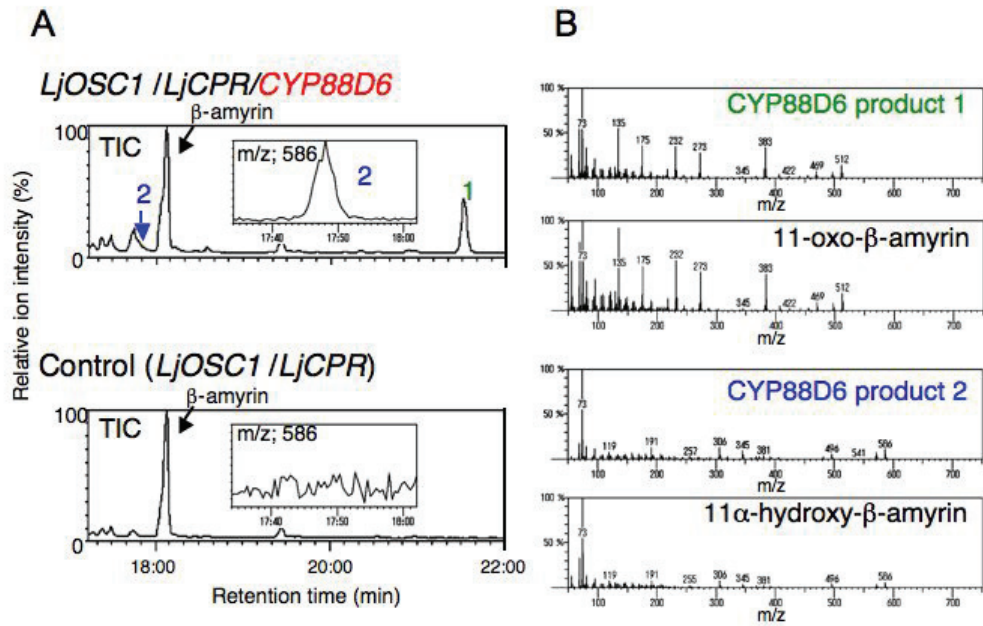


図 10-12 CYP88D6 遺伝子導入酵母代謝産物の GC-MS 分析

A, TIC クロマトグラム

B, ピーク 1 及び 2 のマススペクトルグラム

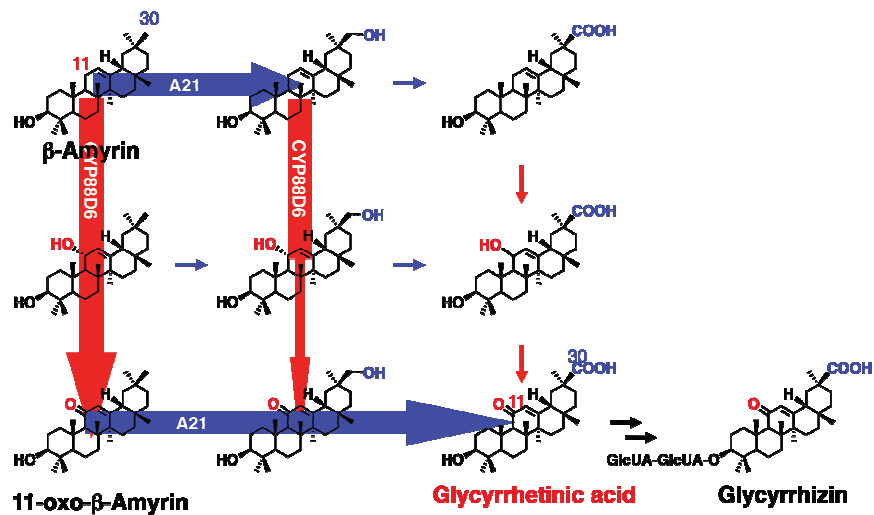


図 10-13  $\beta$ アミリンからグリチルレチン酸合成に関わる遺伝子

#### D. 遺伝子発現と全代謝物プロファイリングの統合

中間評価後の計画見直しにより、本研究項目は中止とした。

#### E. 効率的な物質生産系の確立

### 「平成 18 年度～21 年度」

パーティクルガン法によって作出したダイズ不定胚（図 10-8）より植物体を再生し、外部環境に順化後、人工気象室内で栽培した（図 10-14）。カンゾウ由来遺伝子による生育阻害等の現象は認められず開花結実した。採取した種子は GC-MS 分析により、グリチルリチン生合成中間体である 11-oxo- $\beta$ -amyrin を蓄積していることが確認された。これにより、ダイズ植物によるカンゾウ由来成分の生産が可能であることが示されたが、その蓄積量は極めて低く、実用化にあたっては、導入遺伝子コンストラクトの見直しやサポニン蓄積機構の解明が必要と考えられた。



図 10-14 人工気象室内で栽培中のカンゾウ遺伝子導入ダイズ

## (6) ステロイド生産制御技術の開発（～H16FY、植物工学研究所）

### A. アマ再生系およびアマ形質転換系の関係

#### 1) アマ種子油の sterol profile 解析

遺伝的改変の基本戦略を立てるため、アマ種子油からのステロール抽出法を確立し sterol profile の分析を行った。アマ種子油中のスクアレン含量は平均 12.5ppm、コレステロール含量は平均 68.2ppm であった。当面の目標値である種子油中の 5%各成分を含ませるには、100 倍以上の含量増加につながる遺伝的改変が必要であることが明らかになった。

次に、ナタネ、シロイヌナズナ、アマ種子含有ステロール間で組成比較をおこなったところ、アマにのみ cycloartenol, 24-methylcycloartenol の 4,4-dimethyl 体ステロールが総ステロール量のほぼ 50%蓄積していることが明らかになった（図 1 1 - 1）。このことから、アマ種子油中に最終産物であるコレステロールおよびそれから派生したステロイド類を高濃度蓄積させるためには、アマ種子中でこれら前駆体ステロールの 4 位脱メチル化反応を促進する、あるいは 4 位脱メチル化したステロール類をより多く蓄積させるような遺伝的改変が必要であることが明らかになった。

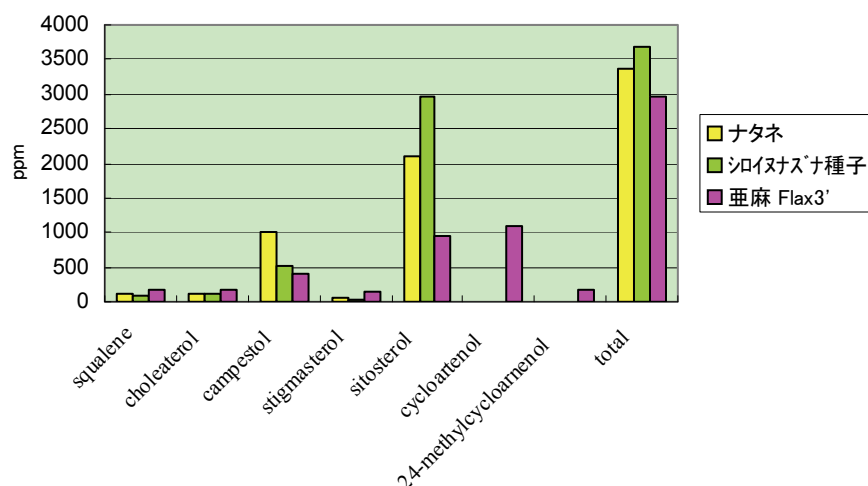


図 1 1 - 1 ナタネ、シロイヌナズナ、アマ種子含有ステロール組成の比較

#### 2) アマ再生系及びアマ形質転換系の開発

アマ 10 数品種をとりよせ品種間で形質転換効率に差があるかを詳細に調べた結果 Elite line ”Ward” を見出し、効率の良い形質転換系の確立に成功した。形質転換は、無菌発芽 2 週間目の幼胚軸および子葉を、プラスミドを含むアグロバクテリウム GV3101 に感染させることで行った。形質転換体はカナマイシン耐性により選抜した。形質転換約 1 ヶ月後に hypocotyle 由来形質転換カルス、cotyledon 由来形質転換カルスから再分化が始まった（図 1 1 - 2）。2 週間たった時点で再生芽を細かく切り分け培養し、マジエンタボックスで馴化させた後、葉からゲノム DNA を抽出し PCR により遺伝子導入を確認した。平成 16 年度までに、GUS 遺伝子が発現している形質転換体を 14 個体（形質転換効率 4.2%）、目的ステロール生産のためのユーホルビア由来 *HMGR* 遺伝子（truncated form）が導入された形質転換体を 20 個体（形質転換効率 10.7%）得ることができた。そのほかステロイド生産のための有用遺伝子が導入された形質転換体も 10 個体以上得て

いる。

## B. 昆虫由来イソプレノイド代謝系の植物への応用

酵母相補系および酵素精製の2つの方法で、fucosterol epoxide lyase 遺伝子（図1）の単離を試みた。

### 1) 酵母相補系構築

酵母は好気条件では外部からステロールを取り込むことが出来ないため、*ERG1* 遺伝子をはじめ大部分の ergosterol 生合成系遺伝子欠損株は致死となる。酵母のステロール生合成系の転写調節因子に Upc2p というタンパク質が存在するが、このタンパク質の 888 番目の Gly が Asp に置換した upc2-1 変異株では好気条件でも外部のステロールを取り込むようになる。そこで、プロモーター置換により galactose 存在下でのみ生育可能酵母 *erg1* 変異株の作成を作成し、これに upc2-1 変異を導入した酵母株を作成した。この株は cholesterol、campesterol、desmosterol 存在下で生育し、fucosterol、fucosterol epoxide（協力研究先の東京工業大学藤本研究室が合成）、stigmasterol では生育できなかった。この相補系に、発現ベクター pAD-HIS で作成したカイコ中腸 cDNA ライブラリーを導入することにより fucosterol epoxide lyase 遺伝子、fucosterol epoxidase 遺伝子を単離できる。

### 2) 中腸膜画分からの fucosterol epoxide lyase (*FEL*) 精製および遺伝子単離

我々は、まず fucosterol epoxide lyase の精製を計画した。東工大藤本教授の研究室で開発された方法で測定した FEL 活性を指標に、限外濾過・イオン交換クロマトグラフィー・ゲル濾過を組み合わせた酵素精製法を確立した。次いで、精製されたタンパク質の内部アミノ酸配列を決定し、遺伝子予測プログラムを用いてカイコ FEL 遺伝子配列を決定した。

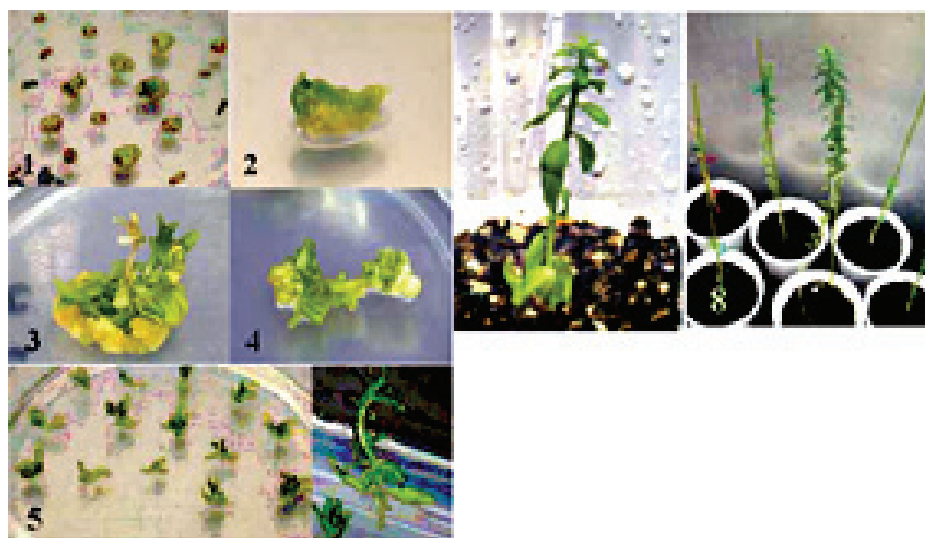


図 1 1 - 2 新種 Ward を用いたアマ形質転換系

#### (i) カイコ中腸膜画分タンパクの可溶化

5 齢のカイコ 200 頭から約 2g の中腸膜画分を単離し、*n*-octyl- $\beta$ -D-glucoside (OBDG) を含む可溶化緩衝液で可溶化し、50,000 分子量 cut の AmiconUltra 限外濾過フィルターで分子量分画を行った。濃縮されたフィルター上の溶液をそのまま陰イオンカラムクロマトグラフィーのサン

プルとした。

(ii) 陰イオンクロマトグラフィー

緩衝液A (50mM Tris-HCl(pH8.5), 0.1% OBDG)、緩衝液B (50mM Tris-HCl(pH8.5), 0.1% OBDG, 1M NaCl) を作成した。5ml の HiTrap Q-FF カラムを Acta-FPLC (アマシャムバイオサイエンス) に装着しサンプルをロードした。カラム平衡化 5CV, StartB conc. 0%, 0%B→100% B/20CV (linear gradient), fraction size 5ml の条件で溶出し各 fraction の FEL 活性を測定した。linear gradient の 40%B(NaCl 濃度 0.4M) で溶出された No.14 の fraction (図 1 1-3) に FEL 活性が局在することが明らかになった。この fraction をゲル濾過用のサンプルとした。活性を確認できた fraction については、PMSF, グリセロールをそれぞれ終濃度 0.5mM, 10% となるように加えよく混合し 4°C で保存した。

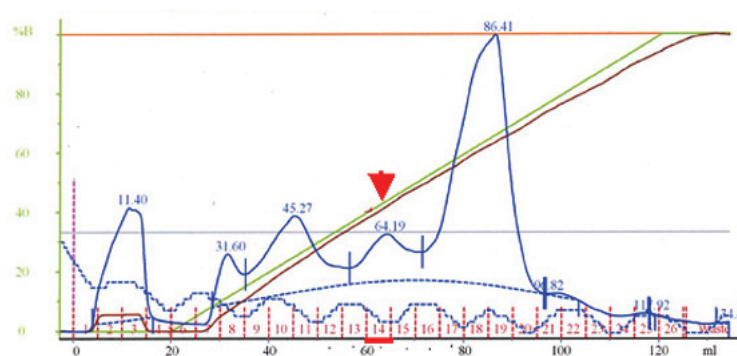


図 1 1-3 カイコ中腸膜画分の陰イオンクロマトグラフィー

(iii) ゲル濾過

イオン交換クロマトグラフィーで得た活性のある画分に 50mM Na-P(pH7.4)を加えて 15ml とし、分子量 50,000 cut の AmiconUltra 限外濾過フィルターで容量が 200  $\mu$ l になるまで 90 分遠心濾過し、これをサンプルとした。FPLC にカラム容積 24ml の Superose6 カラムを装着しゲル濾過用バッファー (50mM Na-P(pH7.4), 0.15M NaCl, 0.2%OBDG) でカラムを平衡化した後、サンプルを 100  $\mu$ l ロードした。ゲル濾過用緩衝液を 0.3ml/min で 1.5CV 流し fraction volume 0.5ml で分画した。主要ピークについて 300  $\mu$ l ずつ用いて FEL 活性を測定し (活性測定用バッファー 50mM Na-P を 0.7 ml 加えて 1ml 反応液とした)、No.26 の fraction を含むピーク (図 1 1-4) に FEL 活性が局在することを見出した。fucosterol epoxide lyase の比活性は、限外濾過、陰イオンクロマトグラフィー (QFF14)、ゲル濾過 (Superose6) 全過程を通じて約 400 倍に上昇した。



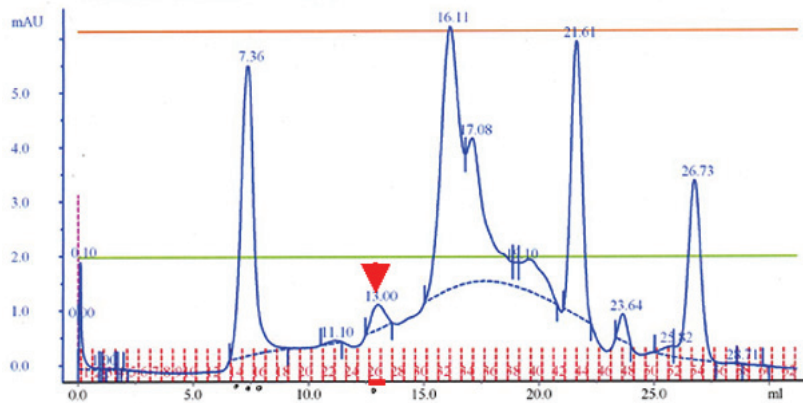


図 1 1 - 4 可溶化したカイコ中腸膜画分のゲル濾過

(iv) SDS-PAGE・内部アミノ酸配列決定・遺伝子配列決定

ゲル濾過を繰り返し行い、活性のある画分を分子量 50,000 cut の AmiconUltra 限外濾過フィルターを用いて濃縮し、Invitrogen 社の 7% Tris-acetate Nu-PAGE ゲル (1.5mm 厚) に  $30 \mu\text{g/lane}$  でロードし、150VC で1時間電気泳動した。その後、Invitrogen 社の Safe stain キットを用いてゲルをクマシー染色したところ 100kDa 付近にほぼ単一のバンドが検出された (図 1 1 - 5 の星印レーンの矢印位置)。



図 1 1 - 5 SDS-PAGE・クマシー染色による FEL 酵素タンパクのバンドの検出

検出されたバンドを切り取り、リジルエンドペプチダーゼ処理を用いた内部アミノ酸配列決定を行ったところ (アプロサイエンスに依頼)、Val-Leu-Asn-Gln-Asn-Leu-Asn-Thr-Ile-Thr-Gly からなる 11 アミノ酸の配列が決定した。この配列について農林水産省生物資源研究所 Silkworm genome research program の web サイトにある Kaiko blast プログラムで tBlastn 検索を実行したところカイコゲノム中の Scaffold002862 にヒットした。そこで 31,693 bp からなる塩基配列について米国マサチューセッツ工科大学の Genscan プログラムにかけたところ、33 個の Exon を持つ遺伝子が予測された。5,652 bp のこの遺伝子は 1,883 アミノ酸からなるタンパクをコードしていると考えられた。決定された 11 アミノ酸に相当する配列はこのタンパクの C 末側に存在していた。今後、Northern 分析により正確な転写産物の大きさを調べる。さらに、遺伝子配列をもとにカイコ mRNA から cDNA 合成を行い酵母発現ベクターに組み込み、本研究で開発された相補系を用いてこの遺伝子が本当に fucosterol epoxide lyase 遺伝子かどうかの確認を行う。

### C. ユーホルビア由来遺伝子のイソプレノイド代謝系への応用

#### 1) *HMGR* 遺伝子および *Squalene Synthase* 遺伝子のクローニング

植物 *HMGR* 遺伝子は、非常に保存性の高い領域を持つ。そこで、Genbank データベース中に報告されている植物の *HMGR* のうち（括弧内は Genebank Accession No.を記す）シロイヌナズナ (P14891, P43256)、ジャガイモ (P48020)、トマト (AAB4043)、タバコ (Q01559)、イネ (AAA21720)、トウモロコシ (O24595) を選び、保存領域中のアミノ酸配列のアライメントを GENETYX プログラムで行った。この中よりコドン縮重度の低いアミノ酸配列を選択しプライマーを設計し、ユーホルビアの培養細胞由来の cDNA ライブラリーから RACE-PCR 法で cDNA を単離した(京都大学大学院・農学研究科・大山研究室との共同研究)。得られたユーホルビア *HMGR* 遺伝子 cDNA (EuHMG1) は 1,791 塩基からなり、597 アミノ酸からなるタンパク質をコードしていることがわかった。同様にユーホルビア *squalene synthase* 遺伝子 cDNA も取得した。ユーホルビア *squalene synthase* 遺伝子 cDNA は 1,236 塩基からなり 412 アミノ酸をコードしていた。

#### 2) *hmg1* 変異体への遺伝子導入による *EuHMGR* 遺伝子の機能解析

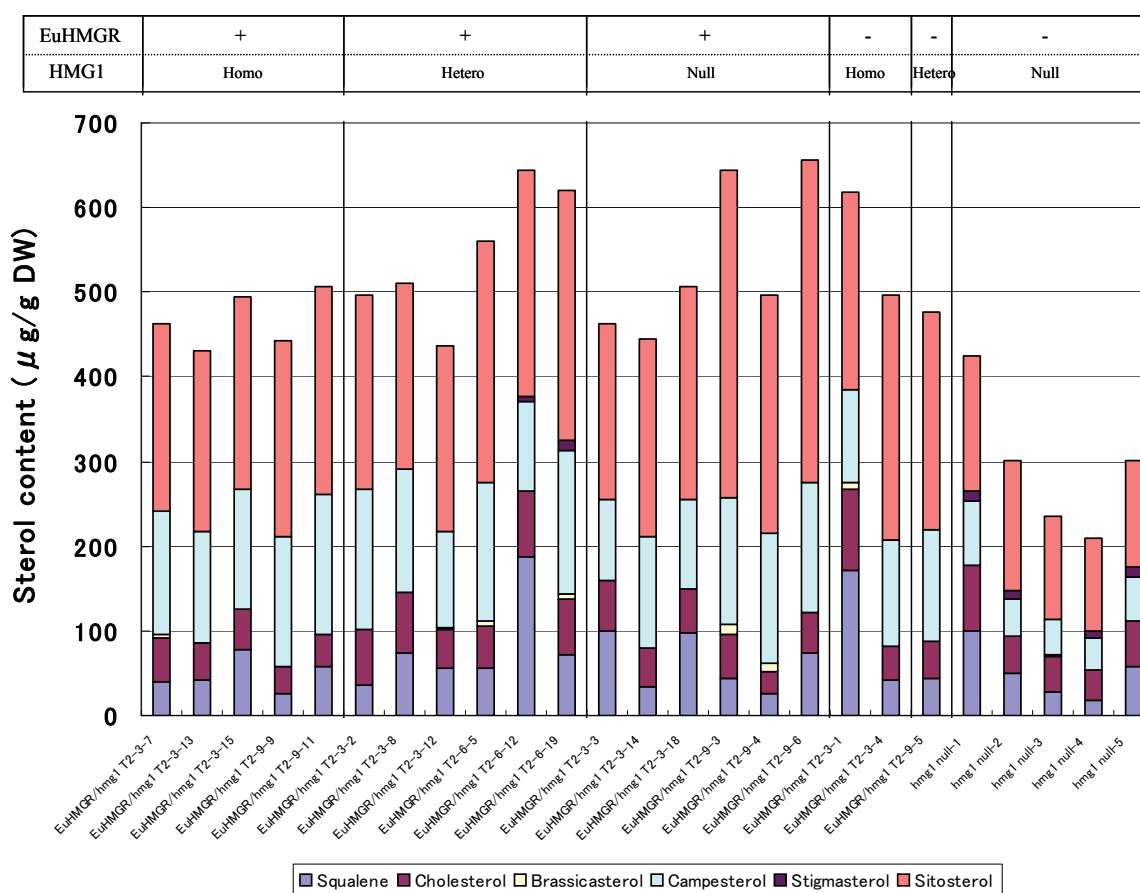


図 1 1 - 6 シロイヌナズナ *hmg1* 変異体への *EuHMGR* の遺伝子導入と Sterol profile の解析

取得したユーホルビア *HMGR* 遺伝子 (*EuHMGR*) のコードしているタンパク質が 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA-reductase としての機能をもっているか確認するため、*hmg1* 遺伝子を欠損しているシロイヌナズナ突然変異体 (T-DNA 挿入変異株 Hetero 接合体、理化学研

究所村中博士のご厚意で使わせていただいた。) にアグロバクテリウム法によって導入した。

図 1 1 - 6 に示すように、*HMGR* 遺伝子座が Null のシロイヌナズナの総ステロール含量は野生型 (Homo) 系統の約 50% に低下していたが、*EuHMGR* 遺伝子の導入によって (EuHMGR+) 野生型の総ステロール含量まで復帰した。このことにより、導入した *EuHMGR* のコードするタンパクが 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA-reductase としての機能をもっていることが明らかになった。

### 3) シロイヌナズナおよびナタネなどのモデル植物での過剰発現

物質生産のための遺伝的改変では何種類もの酵素遺伝子の効果を効率よく見極めながら、段階的に生産プロセスを構築してゆく必要があるが、我々はまず *HMGR* を高発現させることでアマ種子油中のステロール含量が増強されるか調べた。*HMGR* は N 末側の膜貫通領域で小胞体膜と結合しており、膜結合型 *HMGR* は分解による発現量制御を受けることが知られている。酵母などでは、この膜貫通領域を削った truncated form を過剰発現させる方がステロール含量の増強にはより効果があることが知られている。そこでユーホルビア由来の *HMGR* 遺伝子の過剰発現においても全長 (pEuHMGR) と truncated form (ptEuHMGR) の 2 種類の発現ベクターを用いることにした。

発現ベクター pEuHMGR を導入したシロイヌナズナ形質転換体 T3 世代のロゼット葉について、GC 分析により sterol profile を調べたところ、シロイヌナズナ形質転換体ではステロール含量が最大 3 倍増加していることが明らかになった (図 1 1 - 7)。転写量の多い T3-3 でステロール含量増加が認められないのは翻訳制御あるいは翻訳後の制御 (分解、リン酸化による酵素不活化) が機能しているのではないかと考えている。

次に、発現ベクター pEuHMGR および ptEuHMGR を導入したナタネ形質転換体種子 (T1 世代) について sterol profile の解析をおこなったところ、truncated form の *HMGR* を導入した形質転換体で総ステロール含量が対照 (Wester) の約 1.5 倍増加している個体が見いだされた。この形質転換体では、総ステロール含量の増加に伴い種子油中のコレステロール含量も 4 倍に増加していた。ここで解析した T1 種子は分離世代であり transgene に関して Null 型も含むため、種子油中のステロール生産が種子の遺伝子型によって支配されている場合には、種子中での遺伝子発現効果はより大きい可能性がある。今後分離世代で遺伝子導入の効果をさらに詳細に検討する必要がある。

### 4) 形質転換アマ植物体および種子油の Sterol profile 解析

モデル植物ナタネを用いた EuHMGR 遺伝子の過剰発現の結果から、truncated form の *HMGR* を導入する方が全長の遺伝子導入よりも効果が高いことが予測された。そこで、アマの形質転換はすべて発現ベクター ptEuHMGR を用いて行った。形質転換体の葉の sterol profile を調べたところ、truncated form の *HMGR* を導入した形質転換体は、対照植物 (GUS) に比べて総ステロール含量が 2 倍に増えていた (図 1 1 - 8)。同時にコレステロール含量も 2 倍に増加していた。

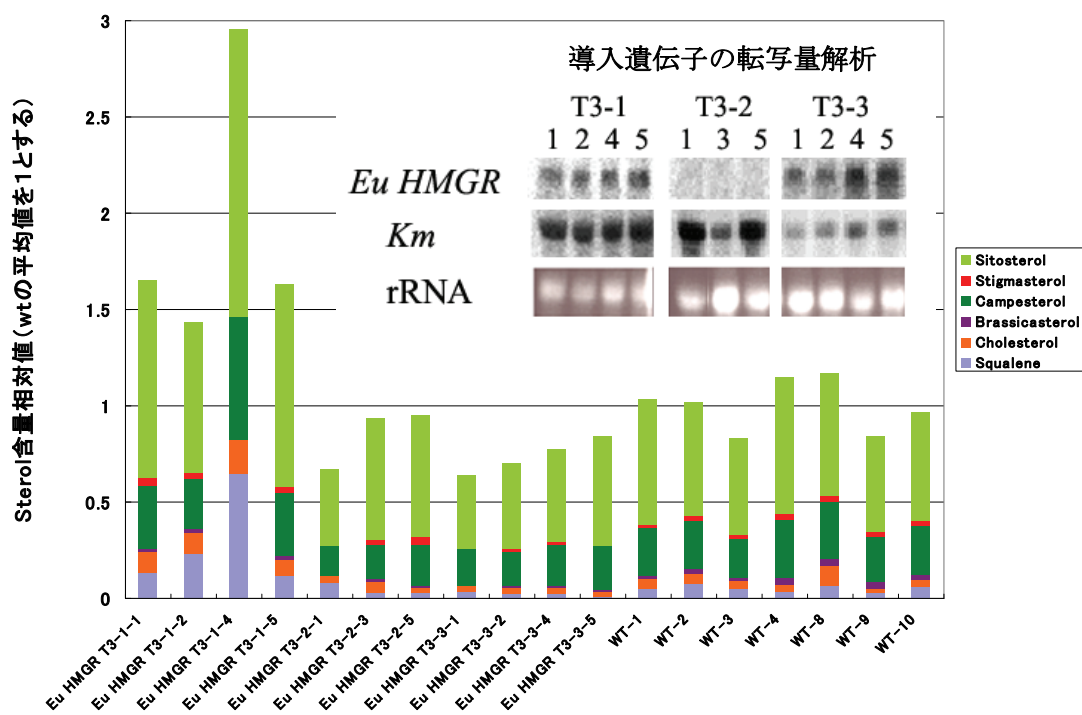


図 1 1 - 7 *EuHMGR* 導入シロイヌナズナの Sterol 含量 (野生型のステロール含量平均を 1 とした)。

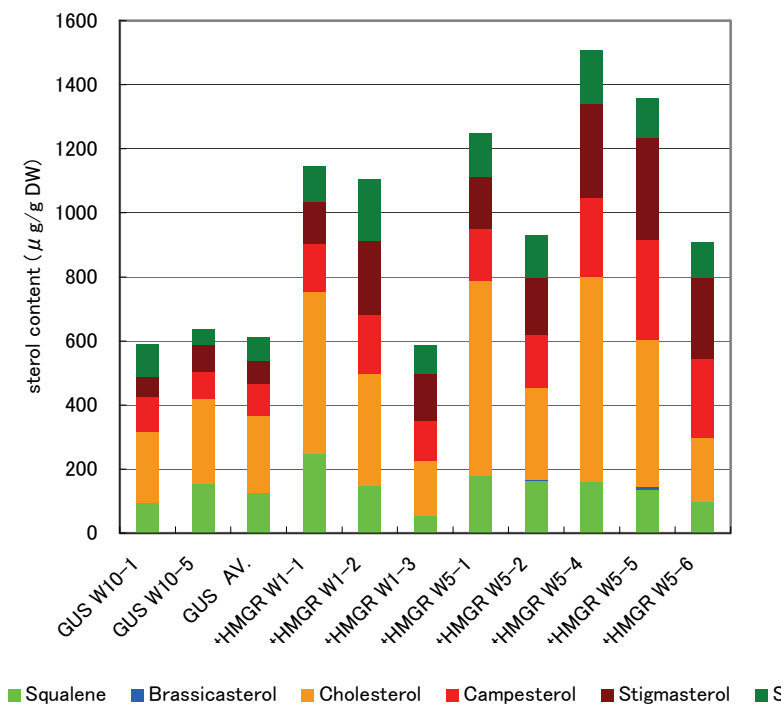


図 1 1 - 8 *EuHMGR* 遺伝子導入アマの植物体 (葉) の sterol profile 解析

次に、種子油の Sterol profile を比較したところ、truncated form の *HMGR* を発現している (RT-PCR+) 形質転換体の未熟種子においても、対照植物 (GUS) に比べて総ステロール含量が約 1.5 倍増えていた (図 1 1 - 9)。同時に対照の GUS 導入体では殆ど検出されなかったコレステロール含量も増加していた。形質転換ナタネの項で議論したように、ここで解析した T1 種子は分離世代であり transgene に関して Null 型も含むため、種子油中のステロール生産が種子の遺伝子型によって支配されている場合には、種子中での遺伝子発現効果はより大きい可能性がある。今後分離世代で遺伝子導入の効果をさらに詳細に検討する必要がある。

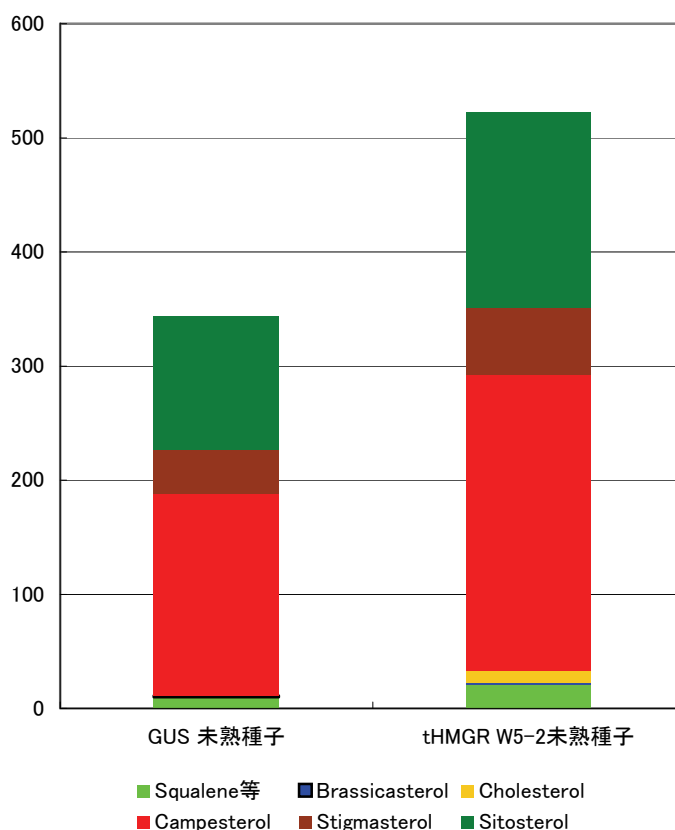


図 1 1 - 9 *EuHMGR* 遺伝子導入アマの種子油 (T1 分離世代) の sterol profile 解析

#### D. イソプレノイド代謝系関連遺伝子の探索と応用

ステロールの貯蔵に関わる新規遺伝子を単離するため、酵母のステロール蓄積機構に着目し、*ARE1* および *LRO1* のシロイヌナズナホモログを解析することに決定した。SALK tag lines (T-DNA による遺伝子破壊株) を選定して入手し解析を始めたが、2004 年夏の国際学会でフランス CNRS の研究者により植物ステロールアシル化酵素遺伝子の同定が報告された。このことをうけて、本研究課題については中間目標から削除し、異種生物由来 (酵母等) のアシル化酵素遺伝子導入などの別のアプローチを考えることにした。

一方、4 位脱メチル化系酵素の機能強化によってアマ種子油中のステロール含量が増加する可能性が明らかになったが、植物では 4 位脱メチル化酵素系遺伝子はシロイヌナズナで *AtSMO1,2* 遺伝子がクローニングされているのみである。そこで、我々は単離同定されていない酵素活性 (4  $\alpha$ -carboxysterol-C3-dehydrogenase/C4-decarboxy-lase および sterol C3-ketoreductase) に関わる新規遺伝子のクローニングを目指して、酵母の 4 位脱メチル化酵素系の情報をもとに Salk

tag-line を入手し解析に着手した。酵母 EGR28 のホモログ遺伝子候補 At1G10030 に関する Salk tag line (系統名 SALK\_000240) の解析では T2 世代のステロール組成の GC 分析から、未知の 2 種のステロール類を高蓄積する個体が約 1:3 の分離比であられることがわかった。この形質は T3 世代でも確認された。植物においても EGR28 のホモログ遺伝子候補 At1G10030 はステロールの生合成に関与していることが示唆された。

## (7) カロテノイド生産制御技術の開発

(キリンホールディングス (H19FYまで海洋バイオテクノロジー研究所))

### A. モデル植物を用いたカロテノイド代謝関連遺伝子と代謝物の解析

「平成14年度～17年度」

かずさ DNA 研究所と共同して、シロイヌナズナ培養細胞 T87 をモデル植物として用い、カロテノイド生合成に関与する上流の代謝関連遺伝子のうち、分岐点の最初の段階を担う鍵となる可能性がある酵素遺伝子 3 種類を選び、それらの外来遺伝子を導入し植物細胞内で発現させた時の効果を調べた。

土壌細菌 *Pantoea ananatis* 20D3 株 (旧名: *Erwinia uredovora* 20D3) 由来のフィトエン合成酵素 (シンターゼ) 遺伝子 (*crtB*)、大腸菌由来の 1-デオキシ-D-キシルロース 5-リン酸合成酵素遺伝子 (*dxs*) 及び 1-デオキシ-D-キシルロース 5-リン酸レダクトイソメラーゼ遺伝子 (*dxr*) を選び、これらの開始コドンの前にエンドウの Rubisco 小サブユニットのトランジットペプチド配列を付加したハイブリッド遺伝子を合成した。これら 3 個の遺伝子の全身発現用プラスミド (CaMV35S プロモーターを有するバイナリーベクター pBI121 を利用) を作製し、各々をアグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*) を介してシロイヌナズナ培養細胞 T87 株に導入し、各々の遺伝子を発現した形質転換細胞を数株ずつ単離した。

*crtB* 遺伝子を発現した細胞では、クロロフィル含量が減り、カロテノイド含量が約 2~4 倍上昇しており、最も生産量が高いもので 206 µg/g 湿重量のカロテノイド生産量であった。また、対照細胞の主要カロテノイド色素がルテインであるのに対して、*crtB* 遺伝子発現細胞では β-カロテンであった。*dxs* 遺伝子を高発現した細胞では、カロテノイド色素全体の生産が強く抑制されており、外来 *dxs* 遺伝子の高発現は、本細胞においてカロテノイド合成を負に制御するように思われた。*dxr* 遺伝子を高発現した細胞では、カロテノイド関連代謝物の量や組成に変化が認められなかった。

以上の結果は、本モデル植物において *crtB* 遺伝子はカロテノイドレベルを上昇させるのに効果がある鍵遺伝子であることを示している。しかし、この遺伝子の単独での使用は、さまざまなカロテノイド関連代謝系に影響を与えることを示している。また、*crtB* 遺伝子を高発現した培養細胞の死滅率はかなり高かったことから、*crtB* を高発現させることにより、イソプレノイド代謝のかなりの部分をカロテノイド代謝に向けるので、細胞の生育に必要な他のイソプレノイド成分が不足してしまうという可能性が考えられた。したがって、*CrtB* 酵素の基質である GGPP を細胞の生育に必要なレベルまで高めることが必要であるが、今回の結果により、*dxs* 遺伝子はカロテノイド合成に悪影響を与える遺伝子であり、*dxr* 遺伝子は鍵遺伝子で無いことがわかった。したがって、これら以外の GGPP を細胞の生育に必要なレベルまで高める可能性のある上流の遺伝子は、FPP から GGPP を作る GGPP 合成酵素遺伝子 (*crtE*) と IPP (IPP) イソメラーゼ遺伝子 (*idi*) である。この 2 つがカロテノイド合成の鍵遺伝子として働く可能性は高いと思われる。

「平成18年度から21年度」

平成 17 年度までに、フィトエン合成酵素遺伝子 (*crtB*) はカロテノイドレベルを上昇させる効果がある鍵遺伝子であることが示され、また、GGPP を細胞の生育に必要なレベルまで高める可能性のある上流の遺伝子として、GGPP 合成酵素遺伝子 (*crtE*) と IPP イソメラーゼ遺伝子 (*idi*) が挙げられた。平成 18、19 年度は、これらの遺伝子すなわち、*Pantoea ananatis* 20D3 株由来

*crtE*, *crtB*, *Paracoccus* 属 N81106 株の *Idi* をコードする合成遺伝子 (*idi*; 植物型のコドン仕様に改変) に加えて、*P. ananatis* 由来 *crtI*, *Brevundimonas* 属 SD212 株由来の *CrtW* と *CrtZ* をコードする合成遺伝子 (*crtW* と *crtZ*; 植物型のコドン仕様に改変) の計 6 遺伝子 (いずれも開始コドンの前にエンドウの Rubisco 小サブユニットのトランジットペプチド配列を付加) について全身発現用プラスミド (いずれも CaMV35S プロモーターを利用) を作製し、アグロバクテリウム法によりシロイヌナズナ T87 培養細胞に導入した (かずさ DNA 研究所と共同)。得られた 20 株のうち 5 株が、*crtI* 高発現の指標となる植物内在性のフィトエンデサチュラーゼ阻害剤ノルフルラゾン (norflurazon; 除草剤として利用される) に耐性を有し、赤色が濃く且つ生育が良好な形質転換細胞であった。HPLC/PDA によるカロテノイド関連代謝物解析の結果、湿重量 1 g 当たり 4.3~21.9  $\mu\text{g}$  のアスタキサンチンの蓄積が確認されるとともに、アドニルビン (adonirubin)、カンタキサンチン (canthaxanthin)、エキネノン (echinenone)、および 3'-ヒドロキシエキネノン (3'-hydroxyechinenone) 等の中間体ケトカロテノイドの蓄積が認められた。これらケトカロテノイドの蓄積量は、全カロテノイド量の 36%~53%に達した。また、形質転換細胞の全カロテノイド量は、非形質転換細胞と比較して 4.7~13.9 倍に増加していた。さらに、定量 PCR により全導入遺伝子が発現していることを確認できた株について、かずさ DNA 研究所と共同してマイクロアレイ解析を行った。その結果、 $\beta$ -カロテンヒドロキシラーゼ、ネオキササンチン切断酵素、アブシジンアルデヒドオキシダーゼ、*dxs*、GGPP 合成酵素遺伝子といった、多くの内在性カロテノイド代謝関連遺伝子の発現量が増加しており、培養細胞が葉緑体でのカロテノイド高生産型に代謝系を適応させていることが示唆された。(論文発表: H. Harada et al, *Plant Biotechnol.*, **26**: 81-92, 2009)

以上の結果は、項目 Bにおいて触媒機能の最適化を行った *Brevundimonas* 属 SD212 株由来の *CrtW* と *CrtZ* をコードする合成遺伝子 (*crtW* と *crtZ*: いずれも植物型のコドン仕様に改変) が植物細胞内で効率的に機能することを実証できたことを意味し、さらに、*Paracoccus* 属 N81106 株の *Idi* をコードする合成遺伝子 (*idi*: 植物型のコドン仕様に改変)、及び、*P. ananatis* 由来の *crtE*, *crtB* 及び *crtI* の同時発現がカロテノイド含量の増量に効果があることを示唆するものである。項目 Dでは、これらの遺伝子群を含む多重遺伝子発現用プラスミドを作製し実用植物に導入していく。

## B. カロテノイド代謝関連鍵遺伝子の同定と機能の最適化

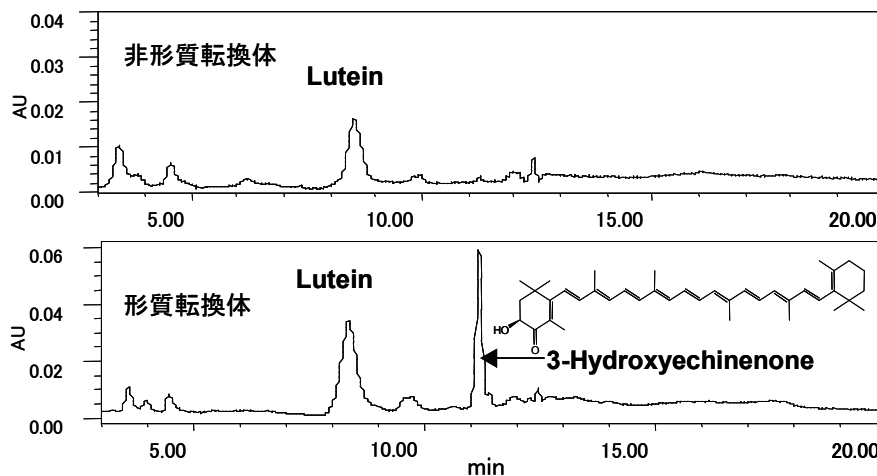
### 「平成 14 年度~17 年度」

植物でのカロテノイド生産において鍵となると予想される遺伝子を 8 個選んで、各々の遺伝子の種子特異的発現用プラスミドを作製した。すなわち、前述の *crtB*, *dxs*, *dxr* 遺伝子 (トランジットペプチド配列付) に加えて、*P. ananatis* 由来のカロテノイド生合成遺伝子である、GGPP 合成酵素遺伝子 (*crtE*)、フィトエンデサチュラーゼ遺伝子 (*crtI*) 及びリコペン環化酵素遺伝子 (*crtY*)、緑藻 *Haematococcus pluvialis* 由来の  $\beta$ -カロテンケトララーゼ (4,4'- $\beta$ -oxygenase) 遺伝子 (*bkt*)、及び、海洋細菌 *Paracoccus* 属 N81106 株 (MBIC 01143) (旧名: *Agrobacterium aurantiacum*) 由来の  $\beta$ -カロテンケトララーゼ遺伝子 (*crtW*) を選び、各々開始コドンの前にエンドウの Rubisco 小サブユニットのトランジットペプチド配列を付加したハイブリッド遺伝子を作製した。これらの遺伝子を、ナタネ由来のナピン (*napin*) プロモーター (植物工学研究所より分譲)、またはシロイヌナズナ由来の脂肪酸伸長酵素遺伝子 (*FAEI*) のプロモーター (植物工学研究所より分譲)



の下流に繋ぎ、種子特異的発現用プラスミド計 14 種類を作製した。次に、*A. tumefaciens* を介してタバコに導入し、各々の形質転換体の種子を取得した。また、一部のプラスミドはナタネへの導入も行った。

植物はアスタキサンチン (astaxanthin) などのケトカロテノイド (ケト基をもつカロテノイド) を合成できないが、*bkt* 遺伝子を発現した形質転換タバコの種子のカロテノイド分析を行ったところ、**図 1 2 - 1** に示すように、ケトカロテノイドである 3-ヒドロキシエキネノン (3-hydroxyechinenone) の産生が認められた。ただ、最終産物のアスタキサンチン (化学構造は**図 1 2 - 2** に示されている) の産生が認められなかったことから、植物内在性の  $\beta$ -カロテンヒドロキシラーゼ (3,3'- $\beta$ -hydroxylase) と導入された Bkt 酵素 ( $\beta$ -カロテンケトラーゼ) の活性は十分ではないと考えられた。



**図 1 2 - 1** タバコ種子中のカロテノイドの HPLC 分析 (検出波長: 470nm)

以上の結果は、植物種子でアスタキサンチンを生産するためには、最終産物であるアスタキサンチンへの変換活性が強い  $\beta$ -カロテンケトラーゼ遺伝子 (4,4'- $\beta$ -oxygenase ; *crtW*) と共に、アスタキサンチンへの変換活性が強い  $\beta$ -カロテンヒドロキシラーゼ遺伝子 (3,3'- $\beta$ -hydroxylase ; *crtZ*) の導入が必要であること、すなわち、両者は重要な鍵遺伝子であることを示している (*CrtW* と *CrtZ* の機能は**図 1 2 - 2** に示されている)。

次に、重要な鍵遺伝子である *crtW* について、コードされる遺伝子産物 (タンパク質) における触媒機能の最適化を実施した。現在までに、ラン藻 (*Nostoc* 属や *Gloeobacter* 属) や海洋細菌 (*Paracoccus* 属) 由来の *crtW* 遺伝子が知られている。ラン藻由来の  $\beta$ -カロテンケトラーゼ (*CrtW*) がゼアキサンチン (zeaxanthin) をアスタキサンチンに変換できるという報告がないのに対し、*Paracoccus* 属細菌の *CrtW* や *H. pluvialis* の Bkt はゼアキサンチンをアドニキサンチン (adonixanthin) を経てアスタキサンチンに変換することができる (**図 1 2 - 2**)。しかし、後者の *CrtW*/Bkt でさえ、変換効率が悪く、アスタキサンチンに加えて多量のアドニキサンチンが蓄積する傾向にあることを我々はすでに明らかにしていた。今回、我々は、他の海洋細菌 *Brevundimonas* 属 SD212 株から相当遺伝子を単離した。そして、ゼアキサンチンを産生する大腸菌を用いた相補試験により、*Paracoccus* 属細菌由来の 2 つの *CrtW* と *Brevundimonas* 属 SD212 株由来の *CrtW* の触媒機能を比較した。その結果、SD212 株由来の *CrtW* は、アドニキサンチンをアスタキサンチンに変換する効率が高く、*Paracoccus* 属細菌の *CrtW* を利用したものでは色素

生産量の 50%程度であったアスタキサンチン含量が 90%まで高められることを確認した。

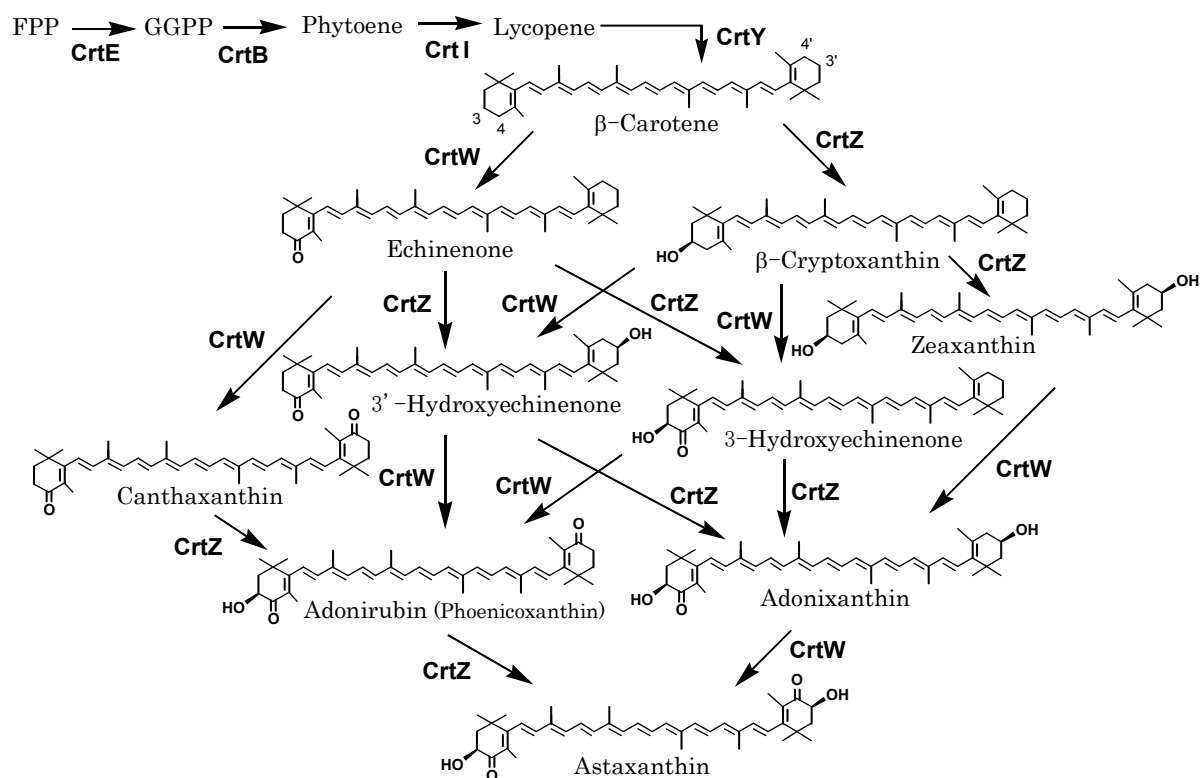


図 1 2 - 2 アスタキサンチン生合成経路と各種 *crt* 遺伝子産物 (Crt) の機能

植物への  $\beta$ -カロテンケトララーゼ遺伝子の導入はこれまで、*Paracoccus* 属 N81106 株の *crtW* 遺伝子か *H. pluvialis* の *bkt* 遺伝子 (N81106 株の CrtW と同等の機能を持つ酵素遺伝子) を用いて行われてきたが、今回の結果は、これを *Brevundimonas* 属 SD212 株由来の *crtW* 遺伝子に置き換えた方がよいことを示している。なお、SD212 株の *crtW* 遺伝子は GC 含量が 70%と高めであり、植物での発現に難があることが危惧されたので、植物型のコドン仕様に変えたもの (アミノ酸配列は同じ) を全合成した。今後、この合成 *crtW* 遺伝子を利用して植物での発現用プラスミドを作製していく。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

平成 17 年度までに、いくつかの海洋細菌由来 CrtW の中で、*P. ananatis* CrtZ の存在下で *Brevundimonas* 属 SD212 株由来の CrtW が  $\beta$ -カロテンをアスタキサンチンに変換する効率が最も高いことを示した。平成 18、19 年度は、その時調べなかったラン藻 (シアノバクテリア) *Anabaena* 属 PCC 7120 株や *Nostoc punctiforme* PCC 73102 株等由来の CrtW やラン藻 *Synechocystis* 属 PCC 6803 株由来の CrtO (CrtW とは構造の違う  $\beta$ -カロテンケトララーゼ) について、ゼアキサンチンを産生する組換え大腸菌を用いた相補試験により触媒機能の比較を行った。その結果、ラン藻由来の CrtW はゼアキサンチン (3-ヒドロキシ- $\beta$ 環) を変換する活性が相当低く、CrtO はゼアキサンチン (3-ヒドロキシ- $\beta$ 環) を基質として変換できないことが強く示唆された (論文発表: S. -K. Choi et al, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **75**: 1335-1341, 2007; T. Makino et al, *Plant Cell Physiol.*, **49**: 1867-1878, 2008)。平成 18、19 年度はさらに、重要な鍵遺伝子である *crtZ*

について、コードされる遺伝子産物（タンパク質）における触媒機能の最適化を実施した。我々は、*P. ananatis* 由来の *CrtZ*、*Paracoccus* 属 N81106 及び PC1 株由来の *CrtZ*、*Brevundimonas* 属 SD212 株由来の *CrtZ*、及び、*CrtZ* とは構造の異なる  $\beta$ -カロテンヒドロキシラーゼとして知られていた好熱細菌 *Thermus thermophilus* HB27 株由来の CYP175A1 及びラン藻（*Anabaena* 属 PCC 7120 株や *Synechocystis* 属 PCC 6803 株等）由来の *CrtR* について、カンタキササンチンを産生する組換え大腸菌を用いた相補試験により触媒機能の比較を行った。その結果、*Paracoccus* 属 N81106 株 *CrtW* の存在下で *Brevundimonas* 属 SD212 株由来の *CrtZ* が  $\beta$ -カロテンをアスタキササンチンに変換する効率が最も高く、*P. ananatis* 由来の *CrtZ* が 2 番目に効率がよいことがわかった（特許出願：PCT/JP2005/9609、論文発表：S. -K. Choi et al, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **72**: 1238-1246, 2006; T. Makino et al, *Plant Cell Physiol.*, **49**: 1867-1878, 2008)。なお、CYP175A1 や *CrtR* は、*CrtZ* とは違って、カンタキササンチン（4-ケト- $\beta$ 環）を基質として変換できないことが強く示唆された。なお、SD212 株の *crtZ* 遺伝子は GC 含量が 70% と高めであり、植物での発現に難があることが危惧されたので、植物型のコドン仕様に変えたもの（アミノ酸配列は同じ）を化学合成した。さらに、*Paracoccus* 属 N81106 株由来の *idi* 遺伝子（2 型）についても、GC 含量が高かったため、植物型のコドン仕様に変えたもの（アミノ酸配列は同じ）を化学合成した。

### C. 非形質転換植物のイソプレノイド系代謝物プロファイルの作製

#### 「平成 14 年度～17 年度」

優れた形質転換体作出には、カロテノイド代謝関連遺伝子の導入によって代謝全体がどのように変化したか分析することが重要であり、そのためにはイソプレノイド関連代謝物の網羅的解析（メタボロミクス）が必要不可欠である。本研究では、核磁気共鳴装置（NMR）、高速液体クロマトグラフィー/フォトダイオードアレイ検出/マススペクトロメトリー（HPLC/PDA/MS）、ガスクロマトグラフィー/マススペクトロメトリー（GC/MS）など種々の機器分析法を用いて、全関連代謝物の同定と高感度分析法の確立を試みた。植物中のイソプレノイド関連代謝物として、一般的にはカロテノイド類の他にトコフェロール、スクアレン、キノン類、クロロフィル類、ステロール類、脂質類などが存在するが、標品のない代謝物や未知物質が含まれている場合も多く、最初に天然物化学的手法による物質同定が必要である。網羅的定量分析は、対象代謝物をカロテノイドなど UV/VIS 吸収のあるグループ、ステロール類など比較的揮発性の高いグループ、その他脂質などのグループに分け、それぞれ HPLC/PDA、GC/MS、HPLC/大気圧化学イオン化法（APCI）-MS を用いて試みた。また、機器分析のための植物体からの抽出法や前処理方法は、アセトン抽出、クロロホルム/メタノール抽出、カラムクロマトグラフィー、けん化処理などをサンプルに応じて適宜組み合わせを行い、代謝物が変性しないように注意した。特に種子中の色素成分分析では、マトリックスとしての大量の脂質の存在と、アスタキササンチンのような極性カロテノイドのエステル化体の化学的けん化処理（加水分解処理）に伴う変性といった 2 つの問題点がある。そこで、シリカゲルクロマトグラフィーにより色素成分を分離し、さらに化学的けん化処理に代わってコレステロールエステラーゼを用いることを行った。

#### 1) カロテノイド分析のためのセミマイクロ LC/APCI-MS システム

カロテノイドは特徴的な紫外可視吸収（UV-VIS）スペクトルを有するので、他の化合物と区別しやすく、また HPLC/PDA により選択的検出も容易である。しかし、標品がないカロテノイドの場合、UV-VIS と HPLC 保持時間だけでは構造の推定が困難である。また、微量しか存在しな

いことが多いので、できるだけ高感度で少量の試料量でも可能な分析法が望ましい。そこで、分子量情報も得られる MS もオンラインでできる LC/MS システムとして、比較的低極性の物質に適した APCI によるセミマイクロ系 LC/MS 分析システムを用いた。さらにカラムの種類、移動相などを比較検討し、アスタキサンチンのような高極性のカロテノイドからリコペンのような低極性のものまでそれらの異性体も含めて一斉分析できる、C30 カラムを用いたセミマイクロ LC/APCI-MS システムを確立した。

## 2) アマの葉、種子、及びシロイヌナズナ培養細胞 T87 中の脂溶性代謝物の同定

あらかじめ予想される代謝物に関してはその分子量などから HPLC/PDA/MS による解析が可能である。しかし、イソプレノイド関連二次代謝物には、標品がない代謝物や未知物質が含まれている場合も多く、天然物化学的手法による物質同定が必要となる。そこで、NMR と HPLC/PDA/MS を併用して、網羅的解析を行った。

栽培したアマの葉ならびに種子からカロテノイドを含む脂溶性代謝物をアセトン抽出し、さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、葉抽出物は 14 画分、種子抽出物は 18 画分に細かく分画した。最初に TLC と <sup>1</sup>H NMR によりおおよその成分の推定を行った。これらに含まれるカロテノイドについては、分離能の優れた C30 逆相カラムでの HPLC/PDA/APCI-MS による分析法の最適化を行い、6 つのカロテノイドを同定できた。主なカロテノイドは葉では β-カロテン、種子ではルテインであった。ただし、種子におけるルテイン含量は痕跡量 (1 μg/g 湿重量以下) であった。また、葉抽出物には、少量だが目的の一つである β-クリプトキサンチンが含まれていることが明らかとなった。

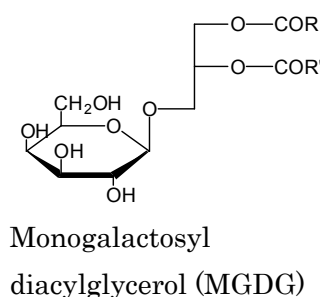
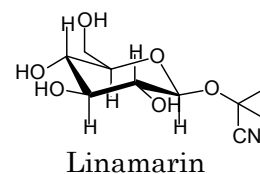
さらに、カロテノイド以外におおよそ 150 個の物質が検出され、それらについて LC/MS、NMR など各種分析法により構造決定を順次行った。これまでにキノン類、クロロフィル類、ステロール類、リグナン類、脂質、青酸配糖体 (リナマリン) など、表 1 2 - 1 に示した約 50 個の脂溶性代謝物の同定を行った。

また、シロイヌナズナ培養細胞 T87 についてもアマと同様に、脂溶性代謝物をアセトン抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより 18 画分に細かく分画して、NMR により成分の同定を行った。カロテノイドについては微量で NMR では分析が不可能なので HPLC/PDA/MS により同定した。カロテノイド成分として、ルテイン、β-カロテン、ビオラキサンチンが検出され、それ以外の成分は表 1 2 - 1 に記したアマ中成分とリグナン類とリナマリン以外はほぼ同じだった。

表 1 2 - 1 アマの葉および種子中の同定された化合物一覧

Class	Compounds	Class	Compounds
Carotenoids	$\beta$ -carotene	Lignans	MBB-a
	$\alpha$ -carotene		MBB-b
	$\beta$ -cryptoxanthin		MBB-c
	lutein		MBB-d
	auroxanthin	Lipids	LnLnLn
luteoxanthin	LLnLn		
Tocopherols	$\alpha$ -tocopherol		LLn
	Quinones		vitamin K <sub>1</sub>
ubiquinone(Q9)			OOL
plastquinone			LLO
Isoprenoids	squalene		OOO
	polyisoprenol(C25)		POP
Chlorophylls	chlorophyll a		SSO
	chlorophyll b		SOL
	pheophytin a	Lipids	LnLn
	pheophytin b		DAG
Steroids	cycroartenol	LL	
	$\beta$ -sitosterol	Lipids	Ln
	campesterol		MAG
	clipnasterol	Free fatty acid	Ln
	stigmasterol	MGDG	LnLn
	$\delta$ 7-avenasterol	Others	linamarin
	avenasterol		
	crinosterol		

TAG, Triacylglyceride  
 DAG, Diacylglyceride  
 MAG, Monoacylglyceride  
 FA, Free fatty acid  
 P, palmitic, C16:0  
 S, srearcic, 18:0  
 O, oleic, 18:1  
 L, linoleic, 18:2  
 Ln, linolenic, 18:3



#### D. 形質転換実用植物のイソプレノイド系代謝物の解析

「平成 18 年度～21 年度」

##### 1) 多重のカロテノイド代謝関連遺伝子発現用プラスミドの構築

平成 18～20 年度は、アスタキサンチンまたは $\beta$ -クリプトキサンチンを含むカロテノイド生産能力を向上させるために、かずさ DNA 研究所と共同して、B で触媒機能が最適化された遺伝子を含む多重のカロテノイド代謝関連遺伝子の実用植物（ナタネまたはアマ等）における発現用プラスミドを構築した。遺伝子材料としては 前述したように、*Brevundimonas* 属 SD212 株由来の *CrtW* と *CrtZ* をコードする合成遺伝子 (*crtW* と *crtZ*)、*Paracoccus* 属 N81106 株の *Idi* をコードする合成遺伝子 (*idi*) に加えて、*P. ananatis* 由来の *crtE*、*crtB*、*crtI*、*crtY* 遺伝子等を用いた。なお、これらの遺伝子についてはいずれも開始コドンの前にエンドウの Rubisco 小サブユニットのトランジットペプチド配列が付加されている（これ以降はこの記述を省略）。平成 18 年度は、これら 7 遺伝子を、種子特異的プロモーター [*FAEI* またはナピン (*nap*)] または CaMV 35S プロモーター及び *hsp* [*A. thaliana HSP18.2*; 奈良先端科学技術大学院大学 (奈良先端大) より購入] または *nos* ターミネーターの間に挿入し、タンデムに繋いだプラスミドを 4 種類 (プラスミド名 : p1a5a、p1a5b、p1a5c、p1b5c) 作製した。これらのプラスミドにおける挿入断片の構造を図 1 2 - 3 に示した。なお、バイナリーベクターとして pZK3B CSPS を用いた。本ベクターは、中央農業総合研究センターの黒田昌治 博士より分譲を受けた pZK3B (カナマイシン耐性) に、18～39 bp を認識する homing endonuclease の認識部位 (I-*CeuI*、I-*SceI*、PI-*PspI*、PI-*SceI*) を挿入したものである。

次のD2)において上記のプラスミドをナタネに導入したが、その結果に鑑み、平成20年度に改良型プラスミドを6種類(プラスミド名:pZWZ、pZWZL、pZZ、pZZL、pBhy、pBhyL)作製した(図12-4)。前2者はアスタキサンチン等のケトカロテノイド合成用プラスミドであり、残りの4つはβ-クリプトキサンチン等の有用カロテノイドの合成を狙ったものである。なお、用いたバイナリーベクターは前回と同様にpZK3B CSPSである。今回改良した個所は、各々の構造遺伝子の前にタバコのアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子の5'-非翻訳領域(UTR)を付けたこと、ターミネーターとしてhspとnosをタンデムに繋いだ二重ターミネーター(DT2)を用いたことである。奈良先端大の新名・加藤研究室の実験結果によりと、この5'-UTRの利用により、数十~百倍程度の発現量の増大が期待されるとのことである。さらに、平成18年度構築のプラスミドのナタネへの導入結果より、β-カロテンヒドロキシラーゼ遺伝子の発現の寄与が少ないと考えられたので、今回は、前回の合成crtZに加えて*P. ananatis* 20D3株のcrtZ遺伝子も加えた。また、α-カロテンからルテイン(lutein)への流れを少なくしアスタキサンチンまたはβ-クリプトキサンチンの生産量を増やせるかどうかを見る目的で、リコペン-ε-環化酵素遺伝子のRNAiを含むプラスミドも作製した。

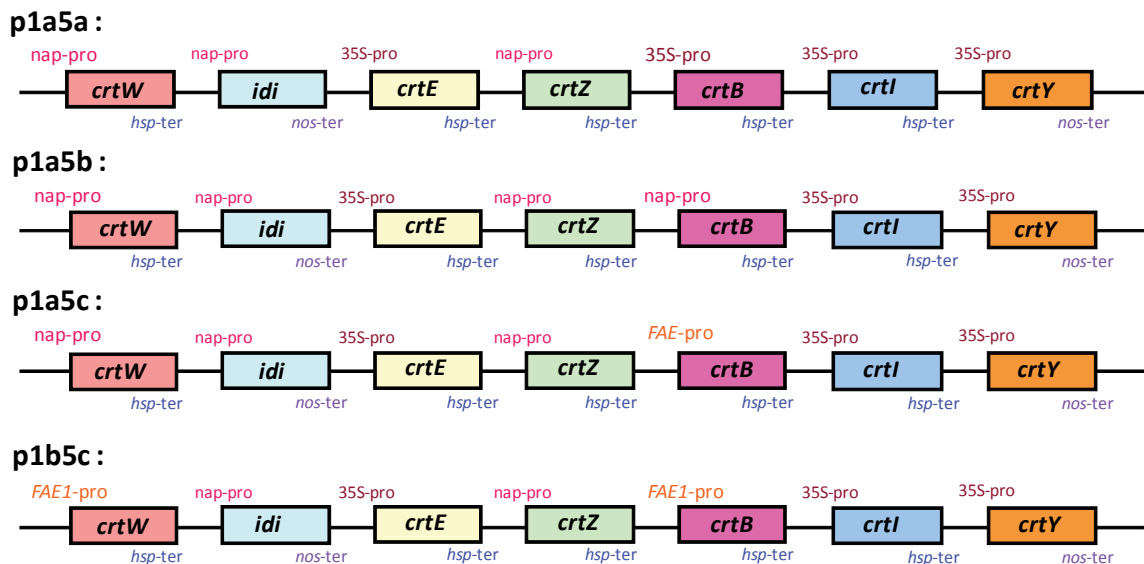


図12-3 平成18年度構築の多重遺伝子発現用プラスミド4種の挿入断片の構造

平成20年度はさらに、地球環境産業技術研究機構による葉緑体形質転換タバコの成果情報と材料提供に基づいて、レタス葉にアスタキサンチンを効率的に合成させることを目的に、レタスの葉緑体形質転換用プラスミド2種類の作製を行った(構造は図12-5)。上記の多重遺伝子発現用プラスミドと同様に、*Brevundimonas* 属SD212株由来のCrtWとCrtZをコードする合成遺伝子(crtWとcrtZ)や*Paracoccus* 属N81106株のIdiをコードする合成遺伝子(idi)を材料として用いたが、今回は葉緑体ゲノムへの挿入用プラスミドのため、葉緑体移行シグナル配列は付与していない。

## 2) 実用植物への多重遺伝子の導入とカロテノイド代謝関連遺伝子の発現と代謝物の解析

我々は、カロテノイド遺伝子の導入用実用植物として油糧作物であるナタネ(*Brassica napus*)とアマ(*Linum usitatissimum*)を対象として選定し、石川県立大学と共同して、これらの形質

転換体の作製を行った。平成 20 年度には加速財源により、遺伝子組換え温室（特定網室）が石川県立大学に設置されたので、本温室を用いて形質転換植物の栽培・増殖を効率的に行うことができた。我々が用いたナタネ及びアマの品種はそれぞれ Westar（キャノーラの 1 品種）と WARD（accession PI 523082）である。D1）において構築されたプラスミドを実用植物に導入し、その葉や種について、カロテノイド代謝関連遺伝子の発現解析やカロテノイド関連代謝物の解析を実施した。

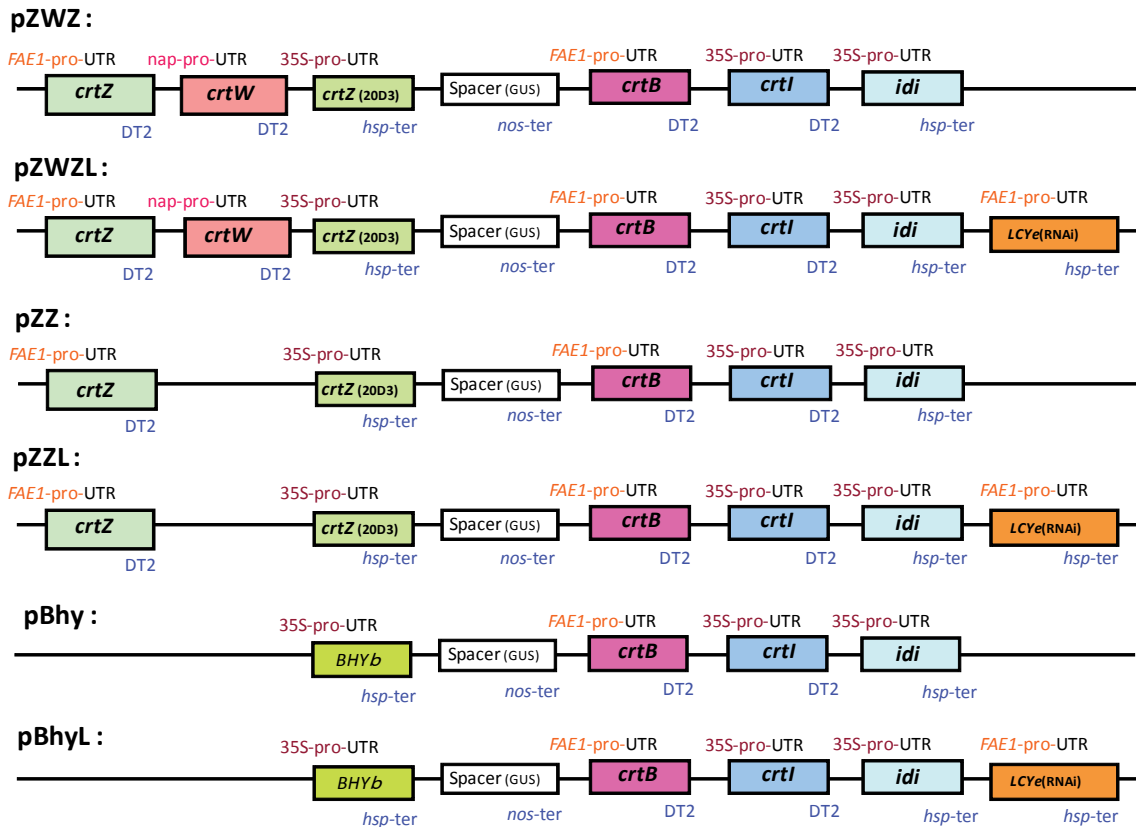


図 1 2 - 4 平成 20 年度構築の多重遺伝子発現用プラスミド 6 種の挿入断片の構造

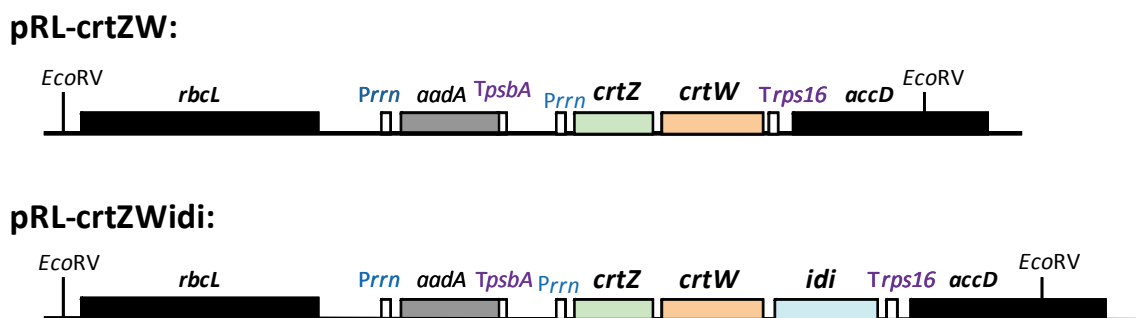


図 1 2 - 5 平成 20 年度構築のレタス葉緑体形質転換用プラスミドの構造

D1）において構築したプラスミドによる形質転換の結果が得られる前に、平成 17 年度に導入実験を行った形質転換体、すなわち *P. ananatis* の *crtB* 遺伝子をナタネ及びアマに導入し種子で発現させた形質転換体が 10 株程度ずつ得られた。その中で 1 コピーの *crtB* を発現した形質転換

ナタネ (*FAE1* プロモーターを使用) 及びアマ (CaMV 35S プロモーターを使用) の種子では、それぞれ 830 µg/g (湿重量) (非組換え体の 55 倍) 及び 156 µg/g (19 倍) の総カロテノイド ( $\beta$ -カロテン、 $\alpha$ -カロテン、ルテイン、フィトエン) が合成されていた (論文発表: M. Fujisawa et al, *J. Biosci. Bioeng.*, **105**: 636-641, 2008)。参考までに、植物の葉や種子におけるカロテノイド生合成経路は図 1 2-6 に示されている。この結果は、生産用宿主としてナタネの方がアマより優れていることを強く示唆したので、以後の実験はナタネを主として用いた。ただし、このアマの形質転換体 (S10-1 株) についてはホモ体を取得し開発用母本とするため、項目 E でさらに実験を行った。

平成 18 年度構築の 4 種類の多重遺伝子発現用プラスミド (図 1 2-3) をアグロバクテリウム法によりナタネに導入した。これらのプラスミドが導入された株 (各々につき 26~29 株) を単離し、7 個の多重遺伝子が染色体に挿入されているかどうかを調べた。計 109 個体の形質転換体の葉を分析したところ、全体の 70%にあたる 76 個体が 7 個すべての外来遺伝子を保持していた。これは、プロモーターとターミネーターに囲まれた 7 個もの多重遺伝子 (17 kb の DNA 断片) を導入したにもかかわらず、挿入断片がナタネ染色体で安定に保持される傾向にあることを示している。さらに、すべての外来遺伝子を含む形質転換ナタネのうち 19%が *crtI* 遺伝子の高発現の指標である除草剤ノルフルラゾンに対して耐性であることがわかった。このうち 3 系統について、種子のカロテノイド分析及び遺伝子発現解析を実施した。これらの種子は内部がピンク色または赤橙色を呈していた。これら種子の断面図の写真及び HPLC/PDA による分析結果を図 1 2-7 に示した。これらの形質転換体種子では非形質転換ナタネにも含まれるルテイン、 $\beta$ -カロテン、フィトエン量が増加しており、非形質転換体には含まれない $\alpha$ -カロテンや、ケトカロテノイドであるエキネノン、カンタキサンチン、アスタキサンチン等が蓄積し (図 1 2-2、6、7 参照)、種子中の総カロテノイド含量は非形質転換体 [22 µg/g 湿重量 (FW)] の 19~30 倍に増加していた (412~657 µg/g 湿重量)。一方、リアルタイム RT-PCR による発現解析の結果、導入遺伝子すべてにおいて発現が認められたが、発現レベルには系統によって差がみられた。そのうち *crtI* の発現レベルはノルフルラゾンに対する耐性能と対応し、また、*crtW* の発現レベルはケトカロテノイド蓄積量と対応していた。またナタネ内在性のカロテノイド代謝酵素遺伝子についての発現解析の結果、一部の遺伝子で非形質転換体と比べて大幅な発現レベルの変動が見られた。このことから遺伝子導入によって増加した種子中のカロテノイドが内在性遺伝子の発現に影響を与えたと推察された (論文発表: M. Fujisawa et al, *J. Exp. Bot.*, **60**: 1319-1332, 2009)。

平成 18 年度構築のプラスミドにより形質転換されたナタネ種子では、カロテノイド量の増加が認められたものの、総カロテノイド量は最大で 657 µg/g 湿重量であり、我々の目標値である 1 mg/g 湿重量に届かなかった。そこで、D1) で述べたように、平成 20 年度に 6 種類の改良型多重遺伝子高発現用プラスミド (図 1 2-4) を作製し、アグロバクテリウム法によりナタネへの導入を行った。すべての導入遺伝子を保持する幼植物を多数 (50 株以上) 単離した。これらの株における導入遺伝子のコピー数をリアルタイム PCR 法により調べ、1 コピーの株を 19 株得た。これらのうち 14 株がノルフルラゾン耐性を示した。これらの形質転換体の種子について色素分析を行ったところ、多くの株が 1 mg/g 湿重量以上の総カロテノイドを生産していることがわかり、1 mg/g 湿重量以上のカロテノイド生産という目標を達成することができた。たとえば、形質転換体 2 系統 (ZWZ1-1-2 及び ZWZL3-3-7; それぞれ pZWZ 及び pZWZL 導入株) の種子における総カロテノイド量はそれぞれ、総計 1.28 及び 1.37 mg/g (湿重量) であった。カロテノイド組成とし



では、アスタキサンチンの生産量は多くなかったが、ケトカロテノイドであるエキネノンやカンタキサンチンが主要カロテノイドとして合成されていた。また、ケトカロテノイド以外にも、 $\beta$ -クリプトキサンチン、 $\beta$ -カロテン、 $\alpha$ -カロテン、ルテイン等の有用カロテノイドがバランスよく含まれていた。

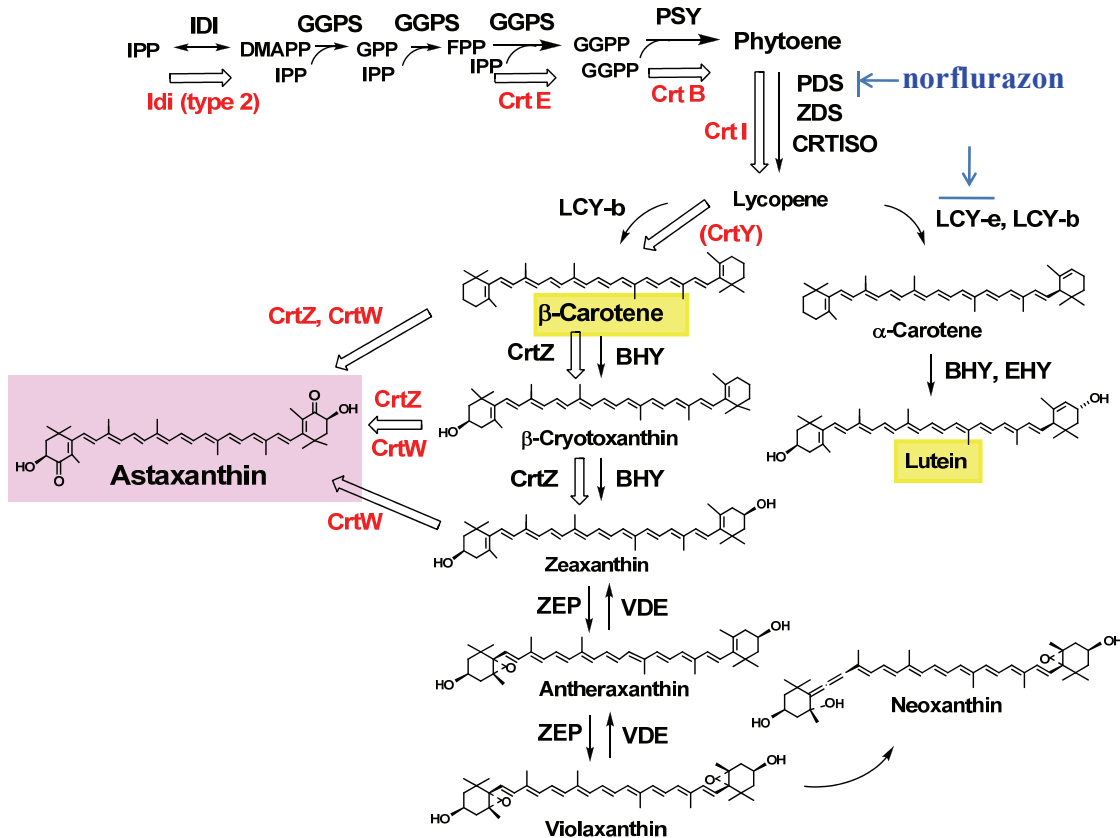


図 1 2 - 6 植物のカロテノイド生合成経路と導入された外来遺伝子産物（赤字）  
 ナタネの種では、元々、ルテイン、 $\beta$ -カロテン、フィトエンが蓄積している。

当初計画にはなかったが、プラスミド pRL-crtZW または pRL-crtZWidi (図 1 2 - 5) を用いて、レタス (*Lactuca sativa*; 品種: シスコまたはパークレー) の葉緑体形質転換を実施した。取得した葉緑体形質転換レタスの 1 つ (シスコ) の葉を用いて色素分析を行ったところ (図 1 2 - 8 参照)、全カロテノイドの 38% (58  $\mu\text{g/g}$  湿重量) がアスタキサンチンであり、70% が非組換え体には存在しないケトカロテノイド [新規及び希少カロテノイドである 4-ケトアンテラキサンチン (4-ketoantheraxanthin) 及びフリチセラキサンチン (fritshiellaxanthin; 4-ケトルテイン) を含む] であった (論文発表: K. Shindo et al, *Tetrahedron Lett.*, **49**: 3294-3296, 2008)。これらケトカロテノイドの推定される生合成経路を図 1 2 - 9 に示した。



Bars = 1 mm

Carotenoid	( $\mu\text{g/g FW}$ )	( $\mu\text{g/g FW}$ )	( $\mu\text{g/g FW}$ )	( $\mu\text{g/g FW}$ )
Total carotenoids	22	453 (21 times)	412 (19 times)	657 (30 times)
Ketocarotenoids	nd	162 (36%)	53 (13%)	133 (20%)
Astaxanthin	nd	0.6	Detectable	0.2
Canthaxanthin	nd	51	16	16
Echinenone	nd	110	37	117
Lutein	18	31	29	28
$\beta$ -Cryptoxanthin	nd	6.0	6.4	7.6
$\alpha$ -Carotene	nd	52	50	95
$\beta$ -Carotene	0.2	121	175	214
Phytoene	3.8	59	93	122

図 1 2 - 7 平成 18 年度構築の多重遺伝子発現用プラスミド (p1a5c、p1a5b、p1b5c) により形質転換されたナタネ種子の切断面とカロテノイド定量結果(赤字はケトカロテノイド)

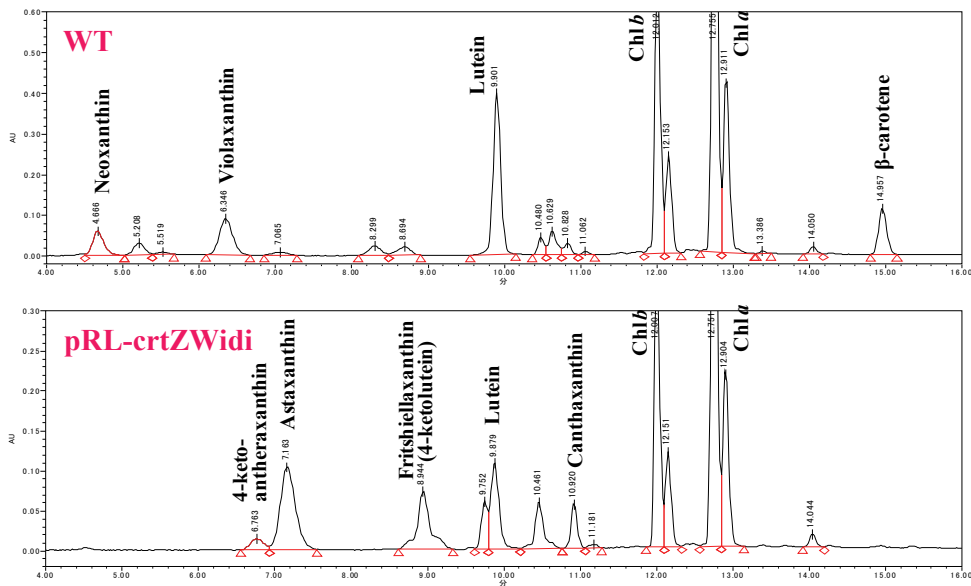


図 1 2 - 8 pRL-crtZWidi による葉緑体形質転換レタスの HPLC/PDA プロファイル

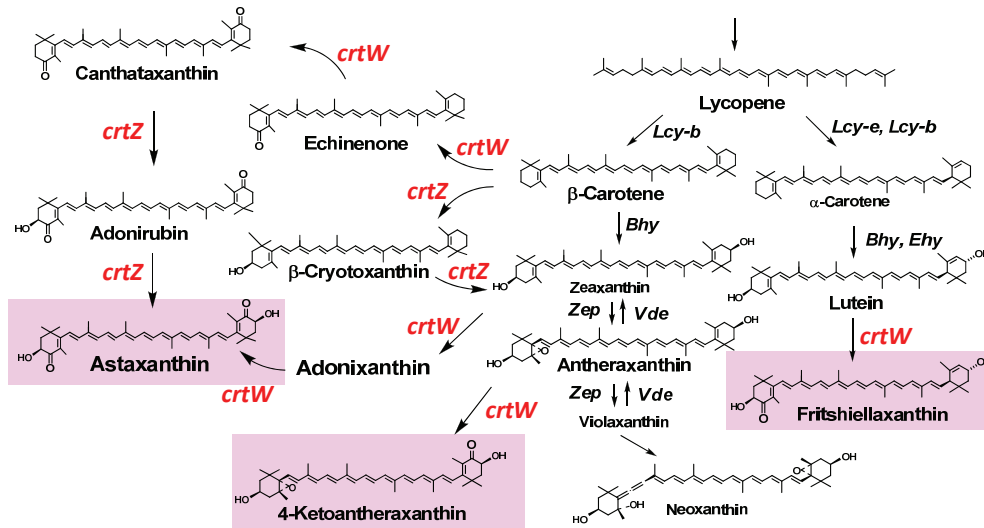


図 1 2 - 9 葉緑体形質転換レタスにおける各種ケトカロテノイドの生合成経路（赤字は導入遺伝子）

## E. 実用評価試験

「平成 18 年度～21 年度」

平成 18 年構築のプラスミドによる形質転換ナタネ 1a5c3-3-4 はリアルタイム PCR 分析の結果 1 コピーの外来遺伝子群導入株であることがわかったので、自殖 T1 世代 12 株を特定網室で栽培し、その T2 種子を取得し色を調べた。その結果、T1-11 系統ですべて種子が橙色を呈することがわかり、ホモ体であると考えられた。また、特定網室で栽培中の亜麻 S10-1（自殖 T2 世代）についてリアルタイム PCR 分析を行った結果、T1-1 と T1-3 の 2 系統がホモ体であることを確認し、自殖 T3 種子を採取した。ナタネ形質転換体 1a5c3-3-4 についてさらに、特定網室内で 1a5c3-3-4（T2 種子由来）の多量栽培を行い、種子 450 g を取得した。この種子 406 g を用いて 低コスト且つ効率的な総カロテノイドの溶媒抽出の条件を検討するための加工プロセス試験を行った。その結果、ミルなどの粉砕機を用いてある程度細かく粉砕した後、エタノール/ヘキサン（1/3；いずれも比較的安全的な溶媒）で抽出するのが最適であることがわかった。

## (8) 外来糖質生産植物の研究開発 (東洋紡)

### A. ヒアルロン酸合成酵素(HAS)遺伝子組換えモデル植物の作出

「平成 14 年度～17 年度」

#### 1) HAS 活性測定法およびヒアルロン酸分析法の構築

HAS 活性測定においては、通常、RI 標識した糖ヌクレオチドが基質として用いられているが、より迅速かつ簡便な測定法を構築した。EIA の原理に基づき、ヒアルロン酸結合タンパク質をマイクロタイタープレート固相上に結合させたヒアルロン酸測定用プレートを作製し、サンドイッチ法により検体中のヒアルロン酸濃度を高感度で測定した。組換え spHAS 粗酵素画分により得られたヒアルロン酸合成反応液のヒアルロン酸濃度をヒアルロン酸測定用プレートで測定し、RI 法とほぼ同等の HAS 活性を確認した。

#### 2) ヒアルロン酸合成酵素(HAS)遺伝子の単離

微生物由来の HAS 遺伝子として、*Streptococcus pyogenes* M13 株のゲノム DNA を鋳型とした PCR により、spHAS 遺伝子(DeAngelis et al. (1993) *J. Biol. Chem.*, 268, 14568-14571)の ORF 全長を単離した。また、動物由来の HAS 遺伝子として、マウス脳全 RNA を鋳型とした RT-PCR により、マウス由来 HAS1、HAS2 および HAS3 (mHAS1、mHAS2 および mHAS3) の cDNA(Itano, N. and Kimata, K. (1996) *J. Biol. Chem.*, 271, 9875-9878; Spicer A. P. et al. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 23400-23406; Spicer A. P. et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272, 8957-8961.)の ORF 全長をそれぞれ単離した。さらに、クロレラに感染するウイルス由来 HAS(cvHAS)遺伝子の ORF 全長を広島大・山田先生より供与頂いたクロレラウイルスゲノム DNA から単離した。

#### 3) spHAS および cvHAS の大腸菌における発現

HAS 遺伝子を導入した形質転換体を評価する上で、ポジティブコントロールとしての活性型組換え HAS を得る必要があることから、上述の spHAS および cvHAS 遺伝子が大腸菌で発現させ、粗膜画分として回収した組換え HAS を *in vitro* HAS 反応の酵素源に供した。ヒアルロン酸測定用プレートにより反応液中のヒアルロン酸濃度を測定し、組換え HAS の活性を確認した (表 1 3 - 1)。

#### 4) ヒアルロン酸合成酵素遺伝子導入植物細胞の作製と解析

mHAS1、spHAS および cvHAS 遺伝子をアグロバクテリウム法によりタバコ BY-2 培養細胞に導入した。選抜で得られたクローンを継体培養し、RT-PCR により HAS 遺伝子の発現を確認した。これらの HAS 遺伝子導入細胞から粗膜画分を調製し、*in vitro* HAS 反応の酵素源に供した。その結果、mHAS1 および spHAS 遺伝子導入細胞の粗膜画分の反応液中にヒアルロン酸は検出されなかった。一方、cvHAS 遺伝子導入細胞の粗膜画分の反応液中にはヒアルロン酸が検出され、*in vitro* HAS 活性が認められた (表 1 3 - 2)。

#### 5) ヒアルロン酸生産タバコ培養細胞の作製

上述の HAS 遺伝子導入細胞から調製した粗膜画分、細胞内可溶性画分および培地(細胞外液)のそれぞれの画分のヒアルロン酸濃度(*in vivo* HAS 活性)を測定した結果、cvHAS 遺伝子導入細胞にのみ、細胞内外の全ての画分にヒアルロン酸が有意に検出された (図 1 3 - 1)。さらに、cvHAS 遺伝子導入細胞の細胞内可溶性画分および培地から調製した多糖含有画分をウシ精巢由来ヒアルロニダーゼ(SIGMA 社)で処理したところ、ヒアルロン酸オリゴ糖が検出された (図 1 3 - 2)。これらの結果から、cvHAS 遺伝子導入細胞はヒアルロン酸生産能を有していることが確認された。

## 6) ヒアルロン酸生産タバコ(植物体)の作製

リーフディスク法により、cvHAS 遺伝子をタバコに導入した。得られた形質転換体の葉にはヒアルロン酸が有意に検出され、植物体においてもヒアルロン酸生産能が確認された。

## B. モデル植物を用いた糖ヌクレオチド代謝経路の解明

「平成 14 年度～17 年度」

### 1) 糖ヌクレオチド代謝関連遺伝子の単離

ヒアルロン酸合成酵素が利用する 2 種類の糖ヌクレオチド (UDP-GlcA および UDP-GlcNAc) の代謝に関与する遺伝子を単離した。UDP-GlcA を合成する鍵酵素の代謝遺伝子として、UDP-グルコース脱水素酵素(Ugd)遺伝子をシロイヌナズナおよびクロレラウイルスから単離し、組換え酵素の活性を確認した (図 1 3 - 3)。UDP-GlcNAc に至る鍵酵素の代謝遺伝子として、グルタミン:フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ(GFAT、グルコサミン-6-リン酸合成酵素) 遺伝子をシロイヌナズナおよびクロレラウイルスから単離し、組換え酵素の活性を確認した (図 1 3 - 3)。

### 2) 糖ヌクレオチド定量法の開発

代謝産物の糖ヌクレオチドは、細胞内では種々の糖ヌクレオチド、糖リン酸等と混在し、含有量も低いため、定量および分離精製は非常に困難である。そこで、個々の糖ヌクレオチドに特異性の高い糖転移酵素の反応を利用した糖ヌクレオチド分析法に着目した。UDP-GlcNAc に特異的な  $\beta$  1,2-N-アセチルグルコサミン転移酵素 (GnT-I) の反応を利用することにより、UDP-GlcNAc 濃度と GlcNAc 転移反応生成物の蛍光強度の相関から UDP-GlcNAc を高感度で測定することが可能になった。

### 3) タバコ培養細胞における GFAT の発現

組換え酵素の活性が認められたシロイヌナズナおよびクロレラウイルス由来の GFAT 遺伝子を pBI121 にクローニングし、アグロバクテリウム法でタバコ BY-2 培養細胞に導入した。得られた形質転換体から調製した細胞内粗抽出液中の糖成分を分析した。その結果、cvGFAT 遺伝子導入細胞において、UDP-GlcNAc に至る代謝経路が著しく活性化していることが示唆された。さらに、上述の UDP-GlcNAc 測定法により、cvGFAT 遺伝子導入細胞における UDP-GlcNAc 含量の有意な増加が確認された。

### 4) cvHAS および cvGFAT の共発現によるヒアルロン酸生産能の向上

タバコ植物体におけるヒアルロン酸生産能を向上させる目的で、cvHAS 遺伝子および cvGFAT 遺伝子からなる二重遺伝子をタバコ植物体に導入した。得られたタバコ植物体の葉のヒアルロン酸生産能は湿重量当たり 0.03%に向上し、糖ヌクレオチド代謝酵素遺伝子の導入がヒアルロン酸生産能向上にも寄与することが確認された (図 1 3 - 4)。

「平成 18 年度～21 年度」

### 5) 多重遺伝子導入モデル植物の作製と解析

タバコ植物体におけるヒアルロン酸生産能をさらに向上させるため、Ugd、GFAT および cvHAS からなる三重遺伝子を導入した。その結果、得られた形質転換体の葉において、湿重量当たり最大 0.3%のヒアルロン酸生産能が確認され、目標値 0.1%を達成した。これらの形質転換体のヒアルロン酸生産能は T1、T2 および T3 世代においても維持されていた。

## 6) ヒアルロン酸の高純度精製

植物細胞で生産されるヒアルロン酸の構造解析を目的として、タバコ BY-2 培養細胞の培地およびタバコ植物体の葉からヒアルロン酸を高純度に精製した。得られたヒアルロン酸の構造解析の結果、植物細胞で生産されるヒアルロン酸は、天然の構造を有することが確認された。また、タバコ BY-2 培養細胞およびタバコ植物体のヒアルロン酸の分子量は、それぞれ 50 万、100 万程度の分子量を有していた。

## 7) 改変型発現ベクターによるヒアルロン酸生産能の向上

ヒアルロン酸合成関連酵素遺伝子の高発現によるヒアルロン酸生産能のさらなる向上、ならびに高生産個体の効率的な取得を目的として、ターミネーターを改変した多重遺伝子を導入したモデル植物を作製した。多重遺伝子として、cvHAS、cvUgd および cvGFAT 遺伝子を含むヒアルロン酸合成関連酵素遺伝子に異なる二種類のターミネーターをそれぞれ付加した発現系を用いた結果、ターミネーター改変型の多重遺伝子を導入したタバコ BY-2 培養細胞において、ヒアルロン酸生産能が顕著に向上すると共に、cvHAS 遺伝子導入系統に比較して高い分子量のヒアルロン酸が得られた。

## C. ヒアルロン酸生産実用植物の作出

モデル植物のタバコ植物体においてヒアルロン酸が高度に生産可能になったことから、ヒアルロン酸を高度に生産する育種可能な実用植物の取得を目指した。ヒアルロン酸の大量生産に適した実用植物として、糖質生産性、形質転換技術、生産コスト等に着目し、候補作物の一つとしてジャガイモを選定した。まず、ジャガイモ無菌植物体の茎切片に CaMV35S プロモーター支配下でアグロバクテリウム法により cvHAS 遺伝子を導入し、形質転換カルスを誘導した。カルスから形成した再分化個体の粗抽出液をヒアルロン酸濃度測定に供した結果、ヒアルロン酸生産能を示す個体が得られ、ジャガイモにおけるヒアルロン酸生産能が検証された。

これらの再分化個体のヒアルロン酸生産能は、葉において最大 0.02%-F. W.の生産性を示したが、茎においては 0.01%-F. W.以下、さらに鉢上げ後の塊茎においては 0.001%-F. W.以下の値であった。そこで、ジャガイモ塊茎における効率的なヒアルロン酸の高生産を目指し、プロモーターおよびターミネーターを改変した種々の多重遺伝子を導入した実用植物の形質転換体を取得し、ヒアルロン酸合成関連酵素遺伝子の高発現によるヒアルロン酸生産能向上の効果を評価した。

パタチンプロモーター駆動型 cvHAS 遺伝子を導入した再分化個体のヒアルロン酸生産能は、葉において 0.01%-F. W.以下、茎においては 0.005%-F. W.以下の値をそれぞれ示した。一方、これらの再分化個体から誘導したマイクロチューバーにおけるヒアルロン酸生産能は 0.01～0.05%-F. W.の範囲にあり、CaMV35S プロモーター駆動型 cvHAS 遺伝子を導入した再分化個体から得られた塊茎よりも生産性はおよそ 2 桁向上した。このことから、塊茎特異的に発現するパタチンプロモーターの効果が検証された。さらに、マイクロチューバーに生産されたヒアルロン酸の分子量は、100 万程度の分子量を有していた。

表 1 3 - 1 大腸菌における組換え spHAS および cvHAS の活性。spHAS および cvHAS 遺伝子を発現させた大腸菌の粗膜画分を *in vitro* HAS 反応の酵素源に供した。ヒアルロン酸測定用プレートにより反応液中のヒアルロン酸濃度を測定し、HAS 活性を評価した。HI1 および KA1 は、HAS の起源であるクロレラウイルス弘前系統および角館系統をそれぞれ表す。

		HAS activity (ng-HA/h/mg-protein)
Mock		N.D.
spHAS		2.7
cvHAS	HI1, No.1	5.8
	HI1, No.2	3.6
	KA1, No.1	1.8
	KA1, No.2	1.3

表 1 3 - 2 BY-2 細胞粗膜画分の HAS 活性。HAS 遺伝子を導入した BY-2 細胞の粗膜画分を *in vitro* HAS 反応の酵素源に供し、表 1 3 - 1 と同様に、HAS 活性を評価した。

		$\Delta A_{450}$	HAS activity (ng-HA/h/mg-protein)
Wild		0.002	N.D.
Mock		0.004	N.D.
mHAS1		0.006	N.D.
spHAS		0.006	N.D.
cvHAS	HI1, No.1	0.098	4.5
	HI1, No.2	0.127	4.9
	KA1, No.1	0.158	6.5
	KA1, No.2	0.307	9.1

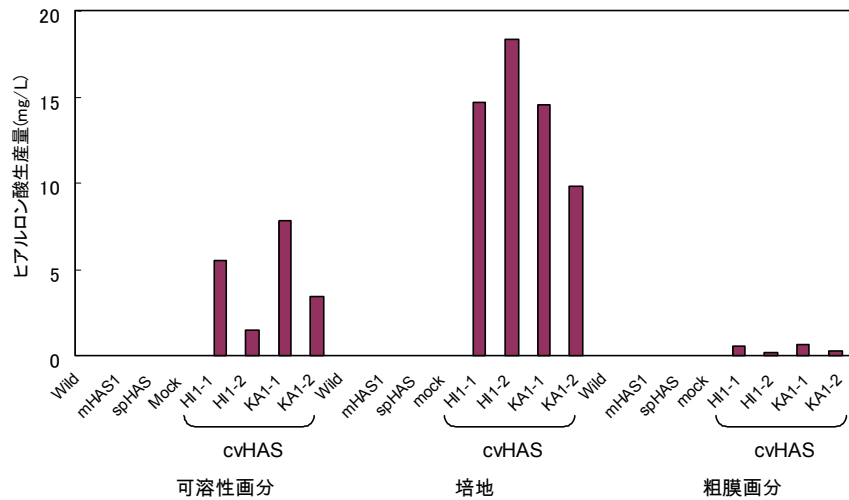


図13-1 BY-2細胞のヒアルロン酸生産能 (*in vivo* HAS 活性)。液体培養開始7日後のBY-2細胞の粗抽出液を超遠心し、可溶性画分および粗膜画分を調製した。ヒアルロン酸生産量は、仕込み培地体積当りに換算した。

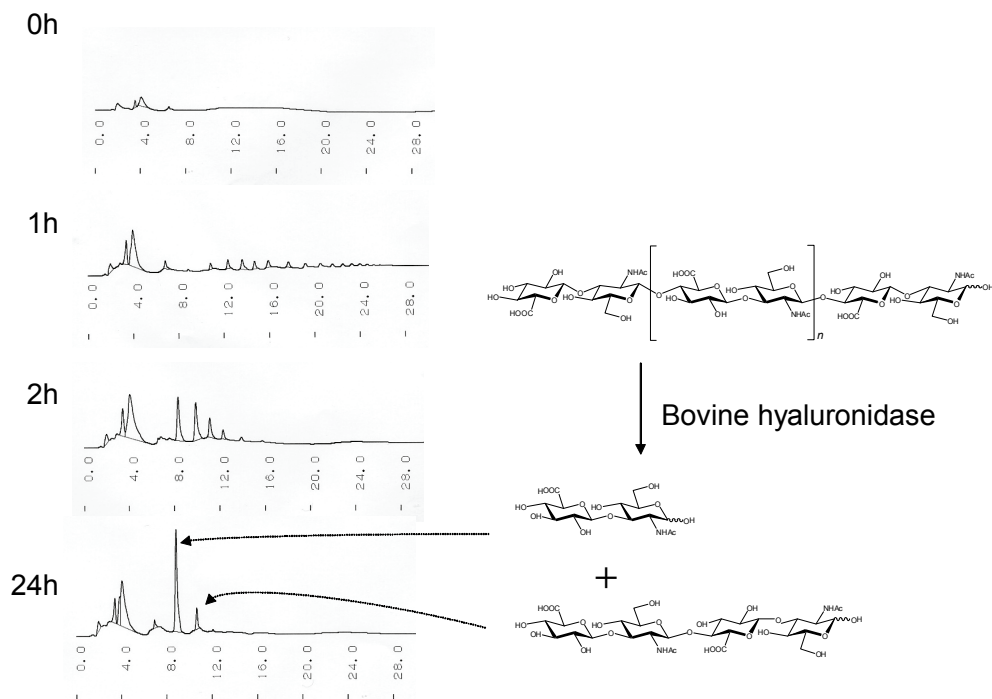


図13-2 cvHAS 遺伝子導入 BY-2 細胞の多糖含有画分のヒアルロニダーゼ処理。Tawadaらの方法 (Tawada et al., 2002, *Glycobiology*, 12, 421-426) に従い、ヒアルロニダーゼ処理液をHPLCによる分析に供した。



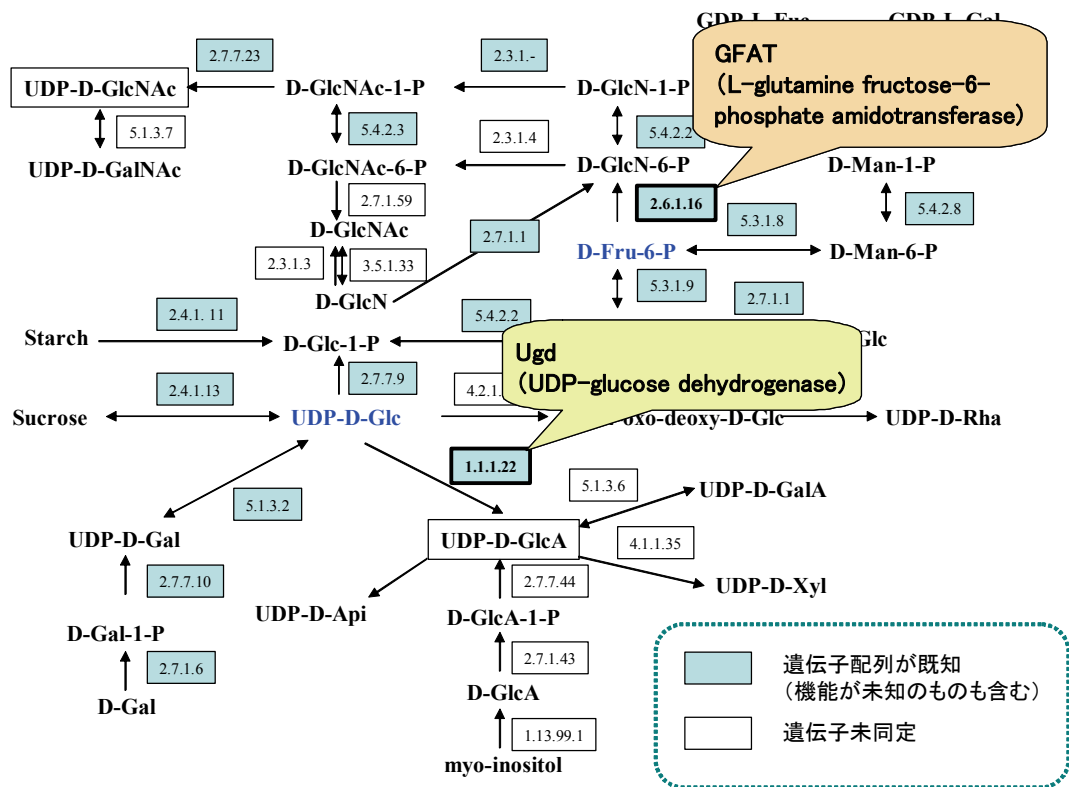


図 1 3 - 3 シロイヌナズナの糖ヌクレオチド代謝経路。GFAT および Ugd は、UDP-GlcNAc および UDP-GlcA のそれぞれの鍵酵素として着目した。

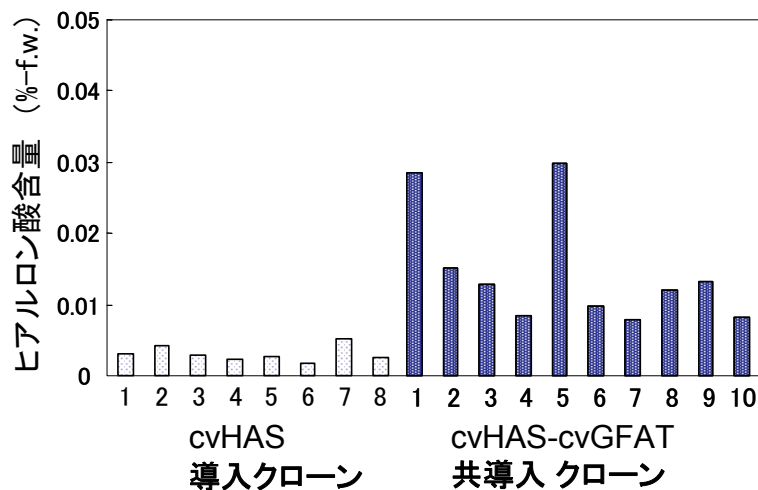


図 1 3 - 4 cvHAS および cvGFAT 遺伝子を導入したタバコの葉におけるヒアルロン酸生産能

## (9) 総合調査研究 (バイオ組合)

### A. 研究開発委員会・分科会の設置と開催

全受託者及び外部学識経験者からなる研究開発委員会を設置・開催した。また、関連の深い課題を実施する受託者及び外部学識経験者による分科会を催し、効率的な情報交換を行った。開催状況は次の通りである。

	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
研究開発委員会	2回	1回	1回(*1)	0回	2回	3回(*4)	2回	2回
分科会	2回(*2)	3回(*3)	3回	5回	3回	2回	2回	2回

\*1 かずさ DNA 研等が開発したデータベースや解析ツールのプロジェクト内への紹介(特長・使用方法)を折り込んだ。

\*2 内1回は組換え植物の安全性評価試験について、岩手生工研視察を折り込んだ。

\*3 内1回は農業生物資源研究所・田部井室長を招き、カルタヘナ法関連講演を折り込んだ。

\*4 内1回は経済産業省直轄プロジェクト「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発」との合同研究委員会として開催した。

### B. 関連技術動向の情報収集

#### 「平成 14～17 年度」

学会等への参加及び内外の研究機関との交流を行い、最新の技術情報を収集した。また、調査機関への外注により、2000年～2004年までに世界主要国で公開となった遺伝子組換え植物に関する特許のデータベースを作成し、プロジェクトメンバーへの提供を行った。(年4回、逐次追補版を提供)さらにこのデータベースをもとに特許から見た技術動向(特許マップ)を整理・作成した。

NEDOの海外プロジェクト動向調査中間結果をもとに、新名 PL とともに米国出張し、米国におけるナショナルプロジェクト動向と技術動向の調査を行った。

#### 「平成 18～21 年度」

引き続き、学会等への参加及び内外の研究機関との交流を行い、最新の技術情報を収集した。また、遺伝子組換え植物に関する特許のデータベース作成とプロジェクトメンバーへの配布を2009年末分まで進めた。このデータを後述の共同実施先・奈良先端科学技術大学院大学で構築している代謝物データベース「KNApSAcK」に組み込んだ。

本プロジェクトメンバーの共同実施先であるインドネシアと中国に新名 PL とともに出張し、該国における遺伝子組換え植物に関する研究状況とカルタヘナ議定書対応法整備の状況を調査した。

平成 18 年 9 月に、NEDO 主催国際ワークショップ「工業原料生産のための植物バイオテクノロジー」を共催し、米国科学技術財団(NSF)の後援を受け、国内外の研究者および一般市民との情報交換を行った。

世界において遺伝子組換え関連企業の開発動向を探るため、調査外注により関連企業の M&A や連携に状況の調査を行った。また、本プロジェクトの成果は海外での野外栽培が想定されるので、世界における遺伝子組換え樹木野外栽培状況調査を行った。

### C. 再委託・共同研究先との契約締結

#### 「平成 14～17 年度」

かずさ DNA 研究所及び産業技術総合研究所との共同研究を締結し、モデル植物の解析と実用植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発の緊密な連携を構築・維持した。

プロジェクトの共通要素技術として、特定研究機関が独立して実施することが望ましい技術課題については、必要に応じて大学等への再委託を行った。また、共通要素技術として、先端的な技術、設備及び知見を有する大学等と必要に応じて共同研究を実施した。(9 大学、11 研究室)

#### 「平成 18～21 年度」

17 年度までに引き続き、かずさ DNA 研究所及び産業技術総合研究所との共同研究を維持し、大学との再委託・共同研究については 17 年度までの中で、さらに研究が必要とされた 7 大学 8 研究室への再委託および共同研究を継続した。

### D. 基盤研究室等への研究員派遣によるモデル植物及び実用植物の解析

共同研究を行うかずさ DNA 研究所、大阪府立大および奈良先端科学技術大学院大へ研究員を派遣し、モデル植物の解析と、研究分担先で実施する実用植物におけるプロセス制御基盤技術開発（以下「実用植物研究」という。）の境界領域の研究開発を促進した（成果はかずさ DNA 研究所、大阪府立大および奈良先端科学技術大学院大の成果にまとめて記載）

## (9-1) 植物代謝産物に関する統合データ解析ならびデータマイニング

(奈良先端科学技術大学院大学・金谷教授)

### A. マススペクトル解析システムの構築 GC-TOF-MS, FT-MS などの統合解析システムの構築

GC-TOF-MS, FT-MS などの統合解析システムの構築を行う。今までに、FT-MS におけるマススペクトル生データからのピーク検出アルゴリズムの開発ならびに複数のスペクトルデータの比較を行うためのマトリックス構築システムを開発を完了した。

### B. 生物-メタボライト関係データベースの設計ならびにデータ収集

データベースシステムの設計はほぼ終了した。また、36,000 メタボライトデータの入力を完了した。なおデータベースシステムは KNApSAcK として <http://kanaya.naist.jp/KNApSAcK> より公開し、検索エンジン Google における "KNApSAcK Family" でのキーワード検索で第一位に位置づけられ、これまでに 219,000 件のアクセスがあった。また、Nature Protocol, Nature Chemical Biology で紹介されるなど現在までに、52 の専門論文で引用され使用されている。

### C. マススペクトルデータからメタボライトの推定法の開発

FT-MS における  $m/z$  値をもとに特定の元素のみを考慮したときの分子式を列挙するアルゴリズムはほぼ完了した。

### D. 植物における発現プロファイルと代謝プロファイルの統合化

マススペクトラム解析システムと発現プロファイルを統合解析するためには、これらの異なった様式のデータを統計的に補正し、対等に扱うことが必要であり、そのためのスケーリング法ならびにマススペクトラムにおけるピークと発現量変化における遺伝子について共通の挙動をするグループを探索するアルゴリズムの開発はほぼ完了した。

## (9-2) ミヤコグサの細胞・器官培養系を用いた代謝物解析 (～H17FY)

(日本大学・綾部教授)

### A. 組織培養系の確立

「平成16年度までの成果」

#### 1) 培養細胞系

*Lotus japonicus* (Regel) Larsen (ミヤコグサ)の標準系統 B-129 Gifu の胚軸から誘導したカルス培養 (Lj 株) を日本女子大学 庄野邦彦教授の好意により提供を受けた。カルスを、3%ショ糖、1 mg/l 2,4-D、0.1 mg/l カイネチンを含むムラシゲ・スクーグ液体培地に加え、25℃暗所で旋回培養 (120 rpm) した。継代する際の培養上清と新鮮培地との体積比を検討し、最終的に 1:4 の比率で継代維持可能で良好な増殖を示す培養細胞株を樹立した (図14-1)。

この培養細胞を還元型グルタチオンで処理し、放射性同位体でラベルしたメバロン酸を投与したトレーサー実験により代謝変動を調べたところ、還元型グルタチオン (GSH) 処理により、トリテルペン・ステロイド代謝経路が活性化することがわかった (図14-2)。

#### 2) 毛状根培養

播種1週間目のミヤコグサの無菌植物に対し、既報に従い *Agrobacterium rhizogenes* 1724 株を接種し、毛状根を誘導した。ホルモン無添加の培地上で成長すること指標に形質転換された毛状根と判定した。B-129 Gifu 系統の他に、帯広畜産大学島田徹教授から提供を受けた2種類の野生系統、MG-1 (高知県土佐清水市) と MG-2 (北海道大樹町) を使用した。ミヤコグサの3種類のアクセション、B-129 Gifu, MG-1 および MG-2 を用いて比較したところ、いずれの系統を用いても毛状根が誘導され、形質転換器官培養系の作出が可能であることが示唆された。

千葉大学齊藤和季教授との共同研究で、*A. rhizogenes* pRi15834 株を使用し、各種の毛状根誘導条件を検討した。その結果、100 mg/l ベンジルアデニン (BA) を含むガンボーク B5 固形培地に播種し5日目の幼植物の胚軸切片を外植片とし、アセトシリゴンを含む培地で5日間共存培養した場合に、再現性良く20%以上の効率で形質転換毛状根の誘導が見られ、モデル遺伝子 GUS の発現を確かめた (図14-3)。さらに、感染時のアグロバクテリウム菌濃度を OD=0.1 とすることで、除菌の失敗による菌の過剰増殖も抑制できた。

#### 3) 不定根培養

無菌播種した幼植物の根を長さ1~2 cm に切り、0.2 mg/L  $\beta$ -インドール酪酸を含む B5 液体培地に入れ、100~120 rpm、25℃で旋回培養したところ、根の形態を保ちながら無限増殖可能な器官培養系が確立した。還元型グルタチオン処理により、ミヤコグサのファイトアレキシンであるベスチトールが誘導された。

「平成17年度の成果」

毛状根切片2本を100 ml フラスコ中の液体培地50 ml に植え込み、暗所、25℃で旋回培養 (120 rpm) し成長曲線を求め、予備的に紫外線吸収成分の変動を HPLC で調べた。その結果、培養30日目の定常期後半が最も再現性良く成分の分析が可能であることがわかった。

### B. 形質転換培養系の作出

「平成16年度までの成果」

#### 1) 生合成酵素をコードする cDNA の単離・同定

##### a) マメ科ファイトアレキシン (イソフラボノイド) 生合成経路

cDNA ライブラリーの機能発現スクリーニングにより、マメ科植物カンゾウからイソフラボンメチル基転移酵素およびイソフラボン脱水酵素 (HID) をコードする cDNA クローンを、それぞれ世界で最初に単離した。ミヤコグサから両者のオルソログを、HID についてはさらにダイズからもオルソログを単離した。

他の植物で既知のアミノ酸配列をもとにしたディジェネレート PCR と、かずさ DNA 研究所との共同研究による遺伝子構造解析により、ミヤコグサのカルコン異性化酵素をコードする全ての遺伝子 (4 種) を同定した。cDNA を大腸菌で発現させてタンパク質産物の酵素機能を調べたところ、3 種がマメ科特異的の反応を触媒し、1 種が植物共通の反応を触媒することがわかった。

#### b) サポニン・ステロール生合成経路

他の植物で既知のオキシドスクアレン閉環酵素のアミノ酸配列をもとにしたディジェネレート PCR により、ステロール生合成に関わるシクロアルテノール合成酵素、マメ科サポニンの生合成に関わる  $\beta$ -アミリン合成酵素、ルペオール合成酵素をそれぞれコードするミヤコグサの cDNA を同定した。ミヤコグサのゲノム構造解析により、これらを含む計 8 種の OSC 関連遺伝子を同定した。

#### c) アントシアニン・縮合型タンニン生合成経路

ディジェネレート PCR により、ミヤコグサのジヒドロフラボノール還元酵素 cDNA を 6 種単離した。大腸菌発現系で機能を調べたところ、3 種のみが活性をもち、それぞれ基質特異性が異なることが明らかとなった。

#### 2) イソフラボノイド生合成酵素 cDNA を導入した形質転換毛状根

イソフラボノイド骨格形成を触媒する 2-ヒドロキシイソフラボン合成酵素 (IFS) またはダイズ由来 HID を高発現させるベクター、および IFS と HID を共発現させるベクターを構築し、*A. rhizogenes* pRi15834 株を用いてミヤコグサに導入し形質転換毛状根を誘導した。HPLC で成分を調べたところ、形質転換毛状根で特異的に誘導される成分が認められた。

#### 「平成 17 年度の成果」

##### 1) イソフラボノイド生合成酵素 cDNA を導入した形質転換毛状根の成分分析

特異的に蓄積する成分を NDEO 基盤研究室の協力を得て同定したところ、ダイズ由来 HID 高発現毛状根ではダイズのイソフラボン成分である 4-ヒドロキシ型のゲニステインとダイゼインが生成していた。一方、両者は GUS 遺伝子を導入したコントロールでは検出されなかった (図 14-4)。ミヤコグサでは 4-メトキシ型のイソフラボノイドが主成分であることが知られていることから、HID がイソフラボンおよびその代謝物のタイプ (4-ヒドロキシ型かメトキシ型か) の決定において重要な役割を果たすことが明らかとなった。

##### 2) カルコン異性化酵素 (CHI) 遺伝子発現を抑制する毛状根の作製

ミヤコグサのマメ科型 (CHI1) および非マメ科型 (CHI2) の CHI 遺伝子の塩基配列をもとに RNA 干渉 (RNAi) 用ベクターを構築し、*A. rhizogenes* pRi15834 株を用いてミヤコグサに導入し形質転換毛状根を誘導した。ベクターが導入された毛状根をハイグロマイシンで選抜し、CHI1 および CHI2 の発現抑制ベクター導入毛状根をそれぞれ 34 ラインおよび 14 ライン取得した。

#### C. 他の研究項目

シロイヌナズナ完全長 cDNA クローンの中から、フラボノイド生合成に関わると予想される flavonoid 3-glycosyltransferase (3GT)、WD40 repeat protein (WD40)、glutathione

S-transferase をコードすると予想されるクローン計 9 種を選び出し、T87 細胞への導入をかずさ DNA 研究所 NEDO 基盤研究室に依頼した。かずさ DNA 研究所 NEDO 基盤研究室で作製したバイナリーベクターをシロイヌナズナに導入し形質転換植物体を作製した。

3GT を異所的に発現させた植物体では、フラボノール組成が変化し、配糖化の過程が最終産物蓄積に大きく影響することが示唆された。また、形質転換植物の重量が顕著に増加したことから、3GT が糖の取り込みと代謝に影響を与えていることが予想された。

WD40 を異所的に発現させた植物体では、抽苔が遅れ、花茎・小花柄が融合し、アントシアニンの蓄積が促進された。WD40 が多くの制御因子を制御していることが示唆された。



図 1 4 - 1 ミヤコグサの培養細胞

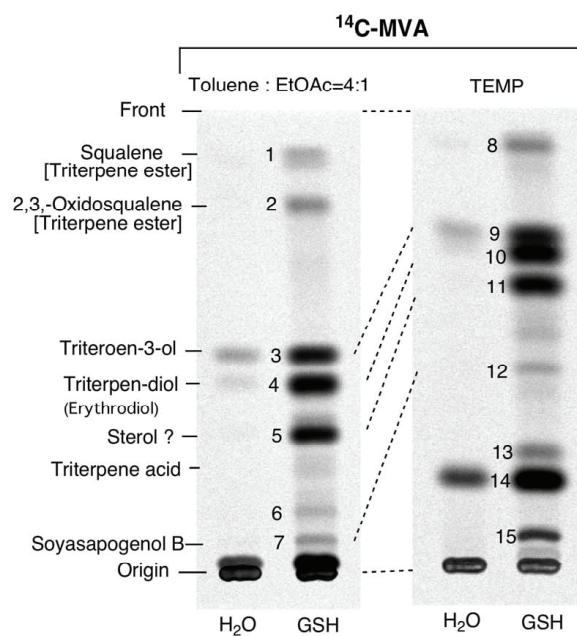


図 1 4 - 2 還元型グルタチオンによる代謝変動

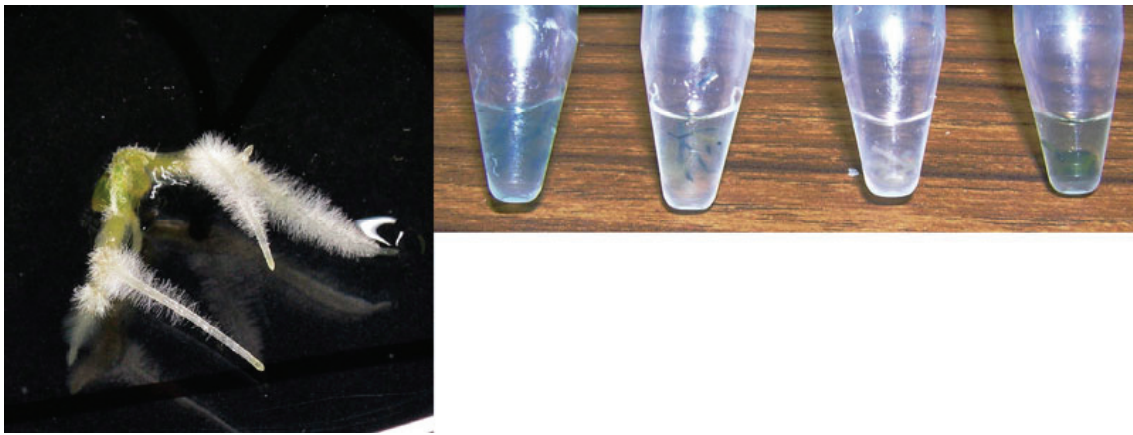


図 1 4 - 3 ミヤコグサ毛状根での GUS 発現

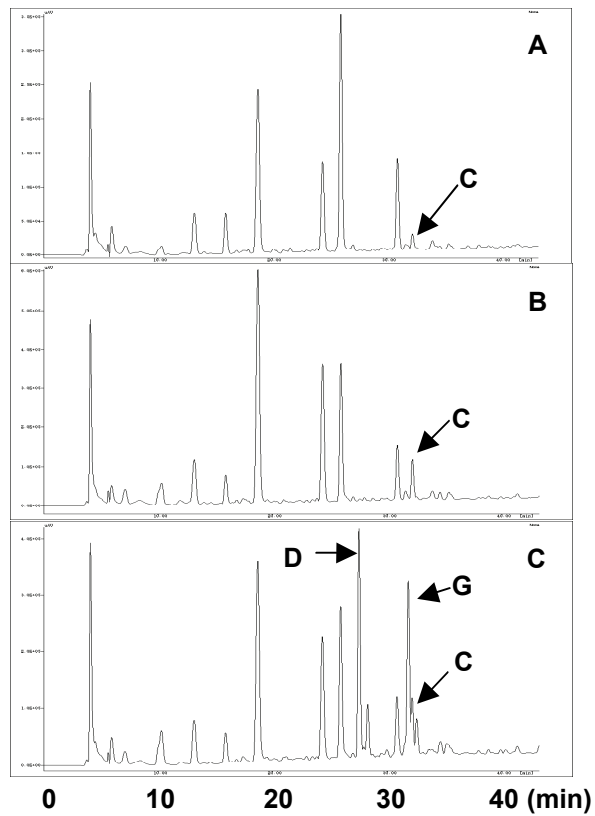


図 1 4 - 4 GUS (A)、IFS (B) および HID (C) をコードする cDNA を導入したミヤコグサ毛状根のフラボノイド成分。C、クメステロール；D、ダイゼイン；G、ゲニステイン。



### (9-3) DNA マイクロアレーによる細胞壁関連遺伝子群の発現プロファイル解析(～H17FY)

(東北大学・西谷教授)

#### A. 遺伝子特異的 DNA アレー評価

シロイヌナズナの細胞壁構築に関連した 30 遺伝子ファミリーの全メンバー765 遺伝子をゲノム情報を基にして選抜し、各遺伝子に特異的な、定量性の著しく高い 70bp DNA マイクロアレーシステムを独自に開発した。このマイクロアレーとタカラバイオ作成の 300bp マイクロアレーの性能を比較するとともに、定量 RT-PCR による詳細な発現解析によりマイクロアレーの精度と感度を詳細に解析した。その結果、70bp DNA マイクロアレーシステムが遺伝子特異的な細胞壁遺伝子群の発現プロファイル解析に十分有用であることを実証した。

#### B. 細胞壁遺伝子群の発現解析

この遺伝子群を特異的な DNA マイクロアレー遺伝子特異的な細胞壁遺伝子群の発現プロファイルアレーを用いた包括定量解析法により、a) シロイヌナズナ花茎の細胞伸長中、伸長後にそれぞれ発現の高まる細胞壁遺伝子群の特定、b) 根の伸長過程に関与する細胞壁遺伝子群の特定、c) 細胞伸長の制御に関わる種々のシグナルに応答する細胞壁遺伝子群の特定を行った。これらの包括的解析の結果、30 ファミリーの各メンバーは、いずれも、厳密な発現組織特異性・シグナル応答特異性を示すことが明らかとなった。この結果を基にして、花茎、胚軸、根の各器官の伸長や軸形成において中心的役割を担う候補遺伝子を絞り込み、それぞれの遺伝子について機能解析を進め、これまでに、以下の成果を得た。

##### 1) 根の細胞伸長に関与する細胞壁遺伝子群

(i) AtXTH17, AtXTH18, AtXTH19, AtXTH20 の 4 つの遺伝子は、根で特異的な発現様式を示し、進化的にも近縁である。これらの遺伝子のプロモーター領域内に、良く保存されている塩基配列が根特異的発現を促すシス活性を持つことをプロモーター解析により見いだした。これら 4 遺伝子は、根の中での発現組織やシグナル応答性において、それぞれ異なる発現特性を示し、異なる役割を分担していることが示唆された。

##### 2) 維管束細胞壁の形成に関わる遺伝子機能

(i) AtXTH27 が葉の維管束形成過程において、発生段階依存的な発現パターンを示すことを見いだした。pAtXTH27::GUS の発現解析から、この遺伝子は葉の維管束、特に前形成層細胞に特徴的な発現パターンを示した。この遺伝子の欠損した変異体 (xth27-1, xth27-2) では、ロゼット葉の維管束の形成不全および機能不全をおこし、葉の間抹消維管束周辺の葉肉組織の壊死および三次維管束の篩部機能不全を伴った。

(ii) 花茎の支持組織の構築/再編に関わる遺伝子群の探査により、16 種の細胞壁遺伝子を特定した。これらの中の一つの遺伝子は、その欠損変異が、道管形成不全を示し、花茎の枯死を引き起こすことを明らかにした。この遺伝子の発現パターン、道管形成不全の分子過程については目下解析中である。

##### 3) イネの節間成長に関わる遺伝子の同定。

(i) シロイヌナズナとイネのゲノム情報を利用した、両者の細胞壁遺伝子群に関する包括的な *in silico* 比較ゲノム解析を行った。

(ii) イネ OsXTH ファミリー29 遺伝子の包括的な発現解析により、OsXTH19 のみがイネ地上部(葉と節間)の伸長組織で特異的かつ顕著な発現を示すことを明らかにした。また、GA に応

答する OsXTH 遺伝子を 3 種同定し、それらの転写に関わるシス領域を推定した。現在、RNAi により、これらの遺伝子機能の実証を進めている。

#### 4) 細胞壁の再生時に特異的に発現するタンパク質群

また、DNA マイクロアレー解析と並行して、シロイヌナズナの培養細胞を用いた細胞壁サブプロテオーム解析により、プロトプラスト上での細胞壁再生時に特異的に発現するタンパク質群を特定した。

#### (9-4) 導入遺伝子発現制御技術の開発 (奈良先端科学技術大学院大学・新名教授、加藤助教)

物質生産機能をはじめとした植物機能は、多様なタンパク質・酵素が決まった部位・時期に必要な量存在することによって発揮される。これは、有用遺伝子を植物へ導入し、植物機能の改良および新たな代謝経路を創設する場合にも同様である。目的とする工業原料を合目的にまた効率良く生産させるために、導入した外来遺伝子(群)を量的に制御できる基盤技術の研究開発を行なった。

##### A. プロモーター領域のクロマチンおよびヌクレオソーム構造の解析

遺伝子の転写制御は、高次染色体(クロマチン)レベルでの制御とプロモーター及びターミネーターによる局所制御に大きく分けることができる。植物へ導入した有用遺伝子を効率よく発現させるためには、これらの制御を考慮した発現ユニットを構築する必要がある。そこで本項では、植物の高次染色体構造が導入遺伝子の発現にどの程度影響するかを評価した。

##### 「平成14年度～17年度」

染色体は凝集し転写レベルで不活性なヘテロクロマチンと活性な弛緩したユークロマチン構造を形成している。まず、この転写に影響を与える高次染色体の凝集度合いを評価するために、シロイヌナズナ培養細胞の単離核に対して DNaseI 感受性試験を行なった。これは、DNaseI という DNA 分解酵素の DNA への接近性を調べるもので、弛緩した染色体は消化されやすく、凝集した染色体は消化されにくいこととなる。発現様式の異なる約 30 遺伝子を含む 500 bp の連続する 163 種類の DNA をプローブとしてサザン解析を行った結果、DNaseI 感受性に違いは認められなかったが、DNaseI 超感受性に由来すると思われるシグナルが認められた。これは、別途解析した 4 種類のモデル遺伝子、熱誘導性(*HSP18.2* 遺伝子)、細胞周期依存性(*PCNA* 遺伝子、*H4* 遺伝子)、ホルモン誘導性(*ADH* 遺伝子)、構成性(*ATPase* 遺伝子)についても同様の結果であった。*HSP18.2* 遺伝子については、上流 (*VIP2-like*) および下流 (unknown) の遺伝子を含む 500 bp の連続する 16 種類 (TH94～TH109) をプローブとしてサザン解析を行った結果について、おおよその泳動距離から推測した染色体上での DNaseI 超感受性部位の位置を図 14-4 に矢印(↓)で示す。

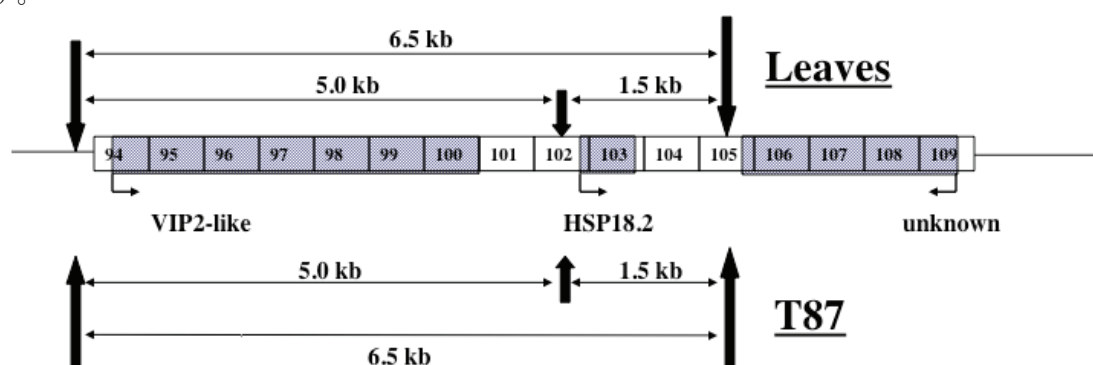


図 14-4 シロイヌナズナの *HSP18.2* 遺伝子領域における DNaseI 超感受性部位  
上段が葉のデータ、下段が培養細胞のデータ

今回対象とした 5 遺伝子領域 (*HSP18.2*, *PCNA1*, *PCNA2*, *H4*, *ATPase*) に存在する DNaseI 超感受性部位は、試験したすべての遺伝子領域で葉と培養細胞において同一の位置に存在してい

た。これら超感受性部位が遺伝子発現制御（転写活性化因子および RNA ポリメラーゼのプロモーター領域への接近性）と関連することは容易に想像できる。一方で、*ADH* 遺伝子に関しては、葉由来の DNA において超感受性部位が認められなかった。*ADH* 遺伝子は、根や培養細胞ではアブシジン酸により誘導されるが、葉では誘導されないことから、今回認められた超感受性部位がプロモーターのポテンシャルを規定している可能性も考えられる。また、超感受性部位は、解析したほぼすべての遺伝子の両端に存在していた。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

次に、植物へ導入した外来遺伝子の発現量と染色体上での挿入位置の関係を調べた。多くの植物種で認められるように、導入した遺伝子がかんりの頻度で発現せず、発現していた植物でも次世代では必ずしも発現しない（サイレンシング）。その要因として、導入遺伝子のコピー数、反復・欠失構造や導入された遺伝子周辺の染色体構造の影響（位置効果）などが想定されていた。そこで、バイナリーベクター pBI121 を導入した遺伝子導入個体を注意深く解析した結果、完全なシングルコピー遺伝子導入個体では、染色体への挿入部位に関わらずほぼ同程度の発現を示し、後代でも安定に発現した（図 1 4 - 5）。

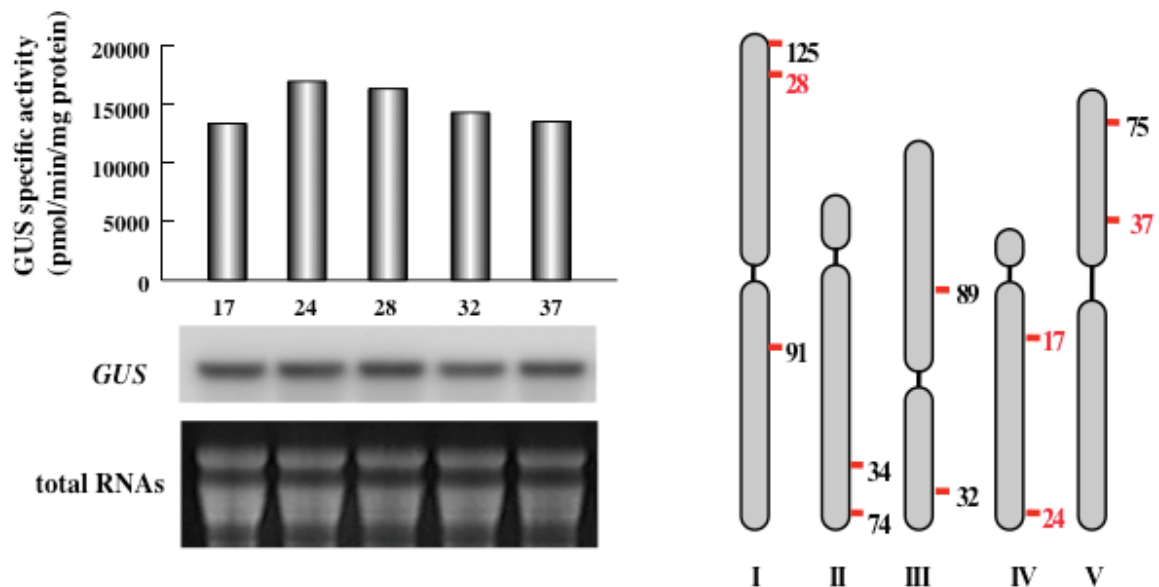


図 1 4 - 5 シロイヌナズナの完全シングルコピー導入個体での GUS 遺伝子の発現  
GUS 活性値、蓄積 mRNA 量および染色体上での挿入位置

このことは、位置効果がサイレンシングの主要因でないことを意味している。一方、多コピーの個体では十分な発現もしくは安定な発現が認められなかった。これら結果は、植物の染色体は、セントロメアやテロメアなど特殊な DNA 領域を除き、ほぼユークロマチン構造を形成しており、高次染色体構造が導入した遺伝子の発現に及ぼす影響は小さいことを示している。言い換えると、局所制御、即ち導入する発現ベクターの構造が重要だと言える。

また、これらシングルコピー導入個体を掛け合わせ、コピー数を人為的に増加させると、6 コピー以上で導入遺伝子が発現しなくなった。このサイレンシングは生育過程（プロモーターを含む領域で DNA メチル化頻度も増大）で見られ、異なるすべての遺伝子座にある導入遺伝子がサイレンシングされることから、何らかの分子の量が閾値を超え、サイレンシングを引き起こしたと考えられる。

## B. 核マトリクスと相互作用する DNA 領域の探索と機能解析

遺伝子の発現に影響する染色体構造の一つに核マトリクスと相互作用する DNA 領域 (MAR) が挙げられる。そこで、MAR の分布および遺伝子発現との関連を調べた。

### 「平成 14 年度～17 年度」

シロイヌナズナ培養細胞由来の単離核を DNaseI で消化した後、核マトリクスと挙動を共にしたゲノム DNA (沈殿画分) および精製した全ゲノム DNA を  $^{33}\text{P}$  でラベルし、約 3 kb のブリッジクローンからなる 14 Mb のゲノムアレイ (かずさ DNA 研基盤研究室より供与) を用いてサザン解析を行った。全ゲノム DNA の場合と比較して、核マトリクス濃縮ゲノムで顕著にシグナルが強かったスポットを MAR (Matrix Attachment Region) 候補領域として 50 ヶ所取得した。その一部分を図 1 4 - 6 に示す。

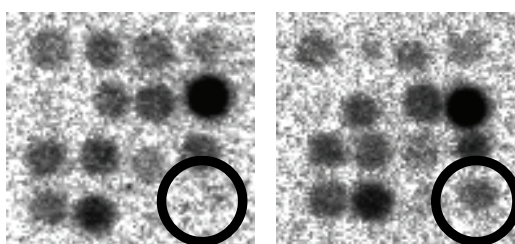
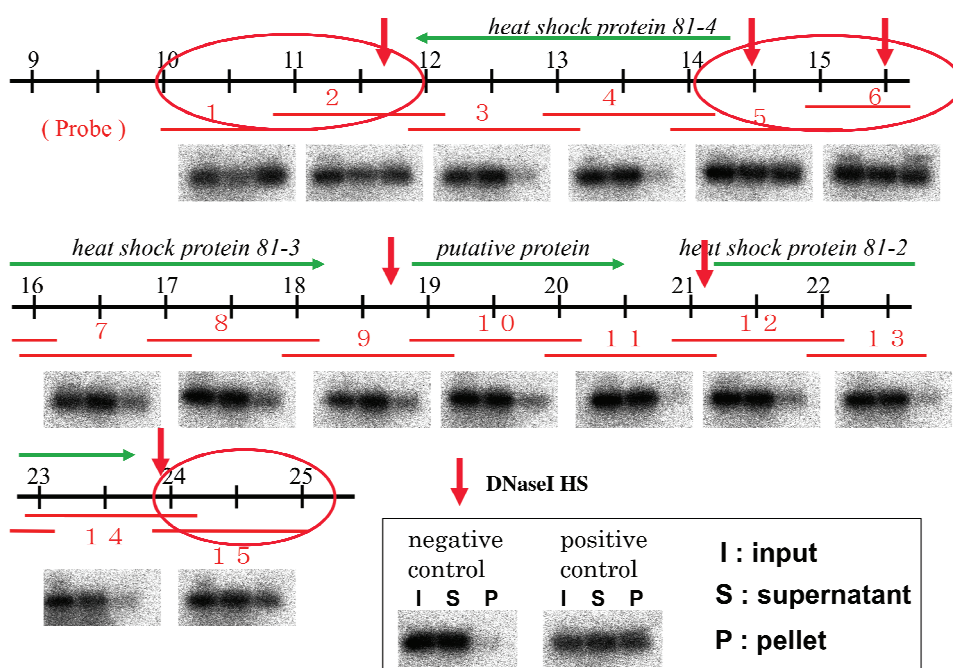


図 1 4 - 6 14 Mb のゲノムアレイを用いたサザン解析の結果  
左) 全ゲノム、右) 核マトリクス濃縮ゲノム

### 「平成 18 年度～21 年度」

候補とした 50 ヶ所について、単離核より調製した核マトリクスを用いた結合実験により、完全な同定と相互作用する DNA 領域の絞り込み (500 bp 程度) を行った。その結果の一部を図 1 4 - 7 に示す。



その結果、  
図 1 4 - 7 シロイヌナズナの核マトリクスとの結合実験の結果を示した、前述の候補領域の一つ HSP90 ファミリー遺伝子領域での結果

DNaseI 超感受性の位置とも一致していた。MAR の存在する遺伝子のポリ A 付加部位の収束率が高いことから、これら MAR が効率的な転写終結に関わっている可能性が高いと考えられる。このように遺伝子の 3' 領域も特徴的なクロマチン構造（超感受性部位と MAR の存在）を形成していることが明らかになったため、平成 19 年度より遺伝子のターミネーター領域の解析を開始した。

### ターミネーターの重要性

ターミネーターは遺伝子発現に重要であり、この領域は単に転写終結だけでなく、3'末端プロセッシングとそれに伴う RNA ポリメラーゼの DNA からの解離に関わるため、もし不完全なターミネーターを用いた場合には、導入した遺伝子の正味の発現量の低下だけでなく、リードスルーにより下流遺伝子の発現量の低下（転写干渉）をもたらす危険性がある。現在、広く用いられている遺伝子発現カセットには、アグロバクテリウム由来のノパリン合成酵素遺伝子（NOS）やオクトピン合成酵素遺伝子の転写終結領域が用いられているが、これらは決して効率の良いものではなく、転写が正確に終結せず顕著な転写干渉が起こる。そこで、NOS ターミネーターに代わる効率の良いターミネーターの探索を行なった。シロイヌナズナ由来の 10 種類のターミネーターを NOS ターミネーターと置換し、レポーター遺伝子の発現量をシロイヌナズナ培養細胞由来のプロトプラストを用いた一過性発現実験により比較したところ、*HSP18.2* 遺伝子のターミネーターを用いた場合、導入遺伝子の発現が 2.5~5 倍上昇することを見いだした（図 1 4 - 8）。

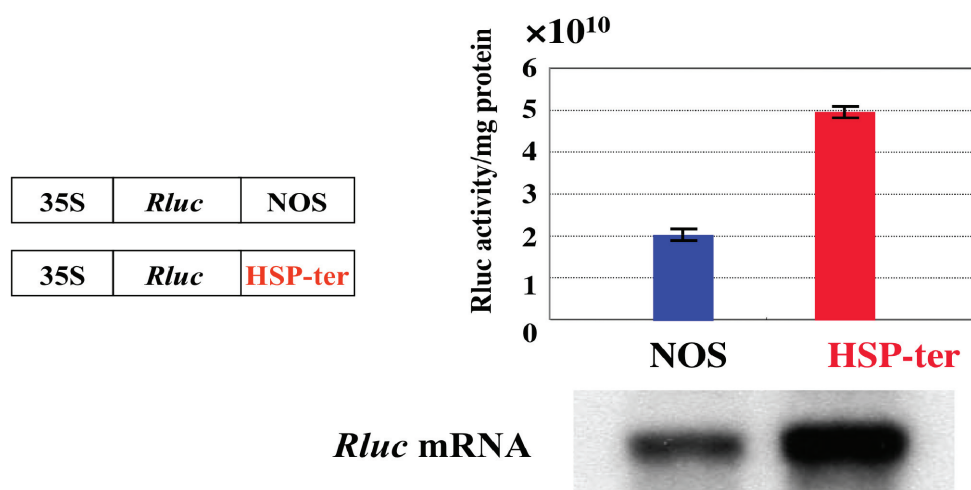


図 1 4 - 8 HSP ターミネーターと NOS ターミネーターの比較  
レポーター Rluc 遺伝子の発現量（活性値と蓄積 mRNA 量）

また、*HSP18.2* ターミネーターを用いた場合、NOS ターミネーターで認められた転写干渉が緩和された。これらの結果から、*HSP18.2* ターミネーターは効率の良いターミネーターであり、単に導入した遺伝子の発現レベルを上昇させるだけでなく、下流に位置する遺伝子の発現を保証することが可能である。この性能は、特に多重遺伝子発現において有用と考えられる。

この新規 HSP ターミネーターについては、複数の参加企業に提供するとともに、(株)タカラバイオへ技術および試料の提供を行い、これらが搭載された植物用発現ベクター（バイナリーベクター）が発売された（pRI 201-AN, pRI 201-ON, pRI 201-AN-GUS, pRI 201-ON-GUS、平成 22 年 1 月 25 日）。

### C. 導入遺伝子の発現を転写後レベルで制御する技術の開発

有用遺伝子を構成的に、もしくは器官および時期特異的に高いレベルで発現させようとするれば、強力な転写活性を持つプロモーターまたは特異的なシスエレメントの制御下に目的遺伝子を置くことが適当な方法と考えられ、盛んに研究が行われている。しかし、既存のプロモーターの転写活性をさらに50倍、100倍と高めることは、現実問題として限界があり、高転写活性であることに加え、翻訳効率を高め、転写物を有効に利用することが重要と考えられる。

#### 「平成14年度～17年度」

開始コドン近傍配列は翻訳効率に影響を与える要因の一つである。そこで、最適な近傍配列を調べるために、*GUS* 遺伝子をレポーターとして、開始AUGコドンの上流-1, -2, -3位をすべての組み合わせで改変したベクターを構築し(64種類)、プロトプラスト化したシロイヌナズナおよびイネ培養細胞にPEG法によって導入し、GUS活性を測定した(図14-9)。

**A**

-2	A				U				G				C				
-1	A	U	G	C	A	U	G	C	A	U	G	C	A	U	G	C	
-3	A	2.1*	1.8*	2.3*	1.8*	1.9*	1.4*	1.9**	1.8*	2.0*	1.6*	1.7**	1.7*	1.9*	1.4*	1.9**	1.8*
	U	1.2*	0.7*	1.2*	0.7*	1.0*	0.7*	0.9*	0.9*	1.1*	0.7*	0.8*	0.6*	1.4*	1.3*	1.4*	1.5*
	G	2.1**	1.9*	2.2*	1.7*	1.7*	1.5*	1.7*	1.7*	1.6*	1.4*	1.2*	1.3*	1.7**	1.5**	1.5*	1.5*
	C	1.6*	1.0*	1.4*	1.4*	1.2**	1	1.2**	1.4**	1.1*	1.0*	1.1*	0.7*	1.8*	1.1**	1.4*	1.2**

**B**

-2	A				U				G				C				
-1	A	U	G	C	A	U	G	C	A	U	G	C	A	U	G	C	
-3	A	0.6**	1.3*	1.8*	0.8*	1.1**	1.7*	1.6**	2.2*	0.8**	2.2*	2.1*	2.8*	1.3***	1.2***	1.6**	2.4**
	U	0.6*	0.5*	2.2*	1.2*	0.8*	0.7*	1.2*	1.8*	0.5***	1.0**	0.8*	0.7***	1.1**	1.1**	1.1**	2.4**
	G	0.6***	1.6**	1.7***	1.6**	0.9**	1.7*	1.7*	2.2*	0.7**	1.3*	1.9*	1.6*	1.1**	1.9**	2.2**	1.9***
	C	0.9*	1.0**	1.2*	1.3***	0.7**	1	1.1**	1.9**	0.5*	0.6*	0.6**	0.6*	1.2**	0.9**	1.4**	1.7**

図14-9 開始コドン近傍-3位から-1位が翻訳効率に与える影響

開始コドン近傍配列「CUU」に対する各近傍配列の相対値を示す。

A; シロイヌナズナ培養細胞プロトプラス、B; イネ培養細胞プロトプラスト

その結果、シロイヌナズナでは最も高い効率を示した「AAG」は最も低い「UGC」の約4倍であった。また、(A/g)(a/c)(a/g)AUGの配列が比較的高い翻訳効率であり、データベースを基に推定されているシロイヌナズナの開始コドン近傍配列のコンセンサス配列 A(A/C)aAUG と大きな違いは認められなかった。イネでは6倍程度の差が認められ、最適配列の傾向はシロイヌナズナと異なっていた。

### 「平成 18 年度～21 年度」

開始コドン近傍配列に加えて、翻訳エンハンサーは翻訳効率に影響を与える大きな要因である。そこで、先行する「植物利用エネルギー使用合理化工業原料生産技術開発 (ICPj)」で行った (高効率の翻訳に寄与する 5'UTR の単離および機能解析) の結果を踏まえ、新規翻訳エンハンサーの単離を試みた。先行開発研究では、タバコから単離したアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子の 5' 非翻訳領域 (NtADH-5' UTR) が翻訳エンハンサーとして機能することを明らかとしている。しかし、NtADH-5' UTR は単子葉のイネでは効果的ではなかった。単子葉植物でも機能する翻訳エンハンサーを単離するため、タバコ ADH 遺伝子のシロイヌナズナおよびイネホモログ遺伝子の 5' UTR を連結したレポーター *GUS* 遺伝子を構築し、プロトプラストを用いた一過性発現実験を行なった (表 1 4 - 1 0)。

	BY2	T87	Os
pBI221	220 ± 34 (1)	810 ± 200 (1)	4,000 ± 320 (1)
NtADH NF	24,000 ± 3,800 (110)	72,000 ± 9,900 (88)	3,600 ± 780 (1)
AtADH NF	34,000 ± 15,000 (150)	71,000 ± 12,000 (87)	8,400 ± 610 (2)
OsADH NF	10,000 ± 3,900 (45)	39,000 ± 5,700 (48)	35,000 ± 3,700 (9)

表 1 4 - 1 0 各 5' UTR の翻訳エンハンサー活性

GUS 活性をコントロールである pBI221 を 1 とした時の相対活性値、  
BY2 ; タバコ培養細胞、T87 ; シロイヌナズナ培養細胞、Os ; イネ培養細胞

その結果、シロイヌナズナ ADH-5' UTR (AtADH NF) は、タバコ ADH-5' UTR (NtADH NF) と同等の能力を示したが、同じくイネでは機能しなかった。一方、イネ ADH-5' UTR (OsADH NF) はイネで約 10 倍の翻訳エンハンサー活性を示した。この新規翻訳エンハンサーについては、複数の参加企業に提供するとともに、(株) タカラバイオへ技術および試料の提供を行い、これらが搭載された植物用発現ベクター (バイナリーベクター) が発売された (pRI 101-AN, pRI 101-ON、平成 20 年 12 月 8 日)。

この翻訳エンハンサーは近傍配列とは独立して翻訳効率に影響することから、両者を組み合わせることで更なる高発現化が期待できる。

#### ストレス下での翻訳活性

植物の生育環境には高温、浸透圧、栄養飢餓、塩といった様々なストレスが存在する。こうした環境ストレスに曝された細胞では、mRNA からタンパク質への翻訳過程が著しく阻害される。例えば、シロイヌナズナ培養細胞 T87 株を熱ストレス (37°C/10 min)、塩ストレス (200 mM NaCl/10 min)、浸透圧ストレス (300 mM Mannitol/10 min) に曝した時の翻訳状態の変化をポリソーム解析によって調べたところ、ポリソーム画分に存在する mRNA の大幅な減少と非ポリソーム画分での増大が認められる。このことは、植物へ導入した有用遺伝子の発現も環境ストレス下において翻訳レベルで抑制される危険性があることを意味している。



一方で、このような環境ストレス下でも一部 mRNA からの翻訳は維持されることが報告されている。これまでに T87 株で熱ストレス (22°C から 37°C/10 min) による各 mRNA の翻訳状態の変化を、ポリソーム解析とマイクロアレイ解析によって網羅的に調べた。その結果、熱ストレスで翻訳の抑制を受けない mRNA 種を特定するとともに、環境ストレスに応答した翻訳レベルでの変化が、mRNA 種によって抑制される/抑制されないというデジタル的なものではなく、連続的なものである様子が明らかとなった (図 1 4-11 左側)。

また、個別遺伝子を対象とした複数の研究から、環境ストレス下における mRNA の翻訳状態を規定する重要な要因は 5'非翻訳領域 (5'UTR) であることがこれまでに明らかとなっている。そこで、ポリソーム/マイクロアレイ解析の結果を基に、翻訳が抑制されない遺伝子および顕著に抑制される遺伝子の 5'UTR をレポーター (ルシフェラーゼ遺伝子) に連結した mRNA を *in vitro* で合成し、T87 株プロトプラストに導入する一過性発現実験を行なった。通常条件 (22°C/20 min) および熱ストレス条件 (37°C/20 min) でのルシフェラーゼ活性を測定したところ、由来する遺伝子と同様な翻訳特性を示した (図 1 4-11 右側)。

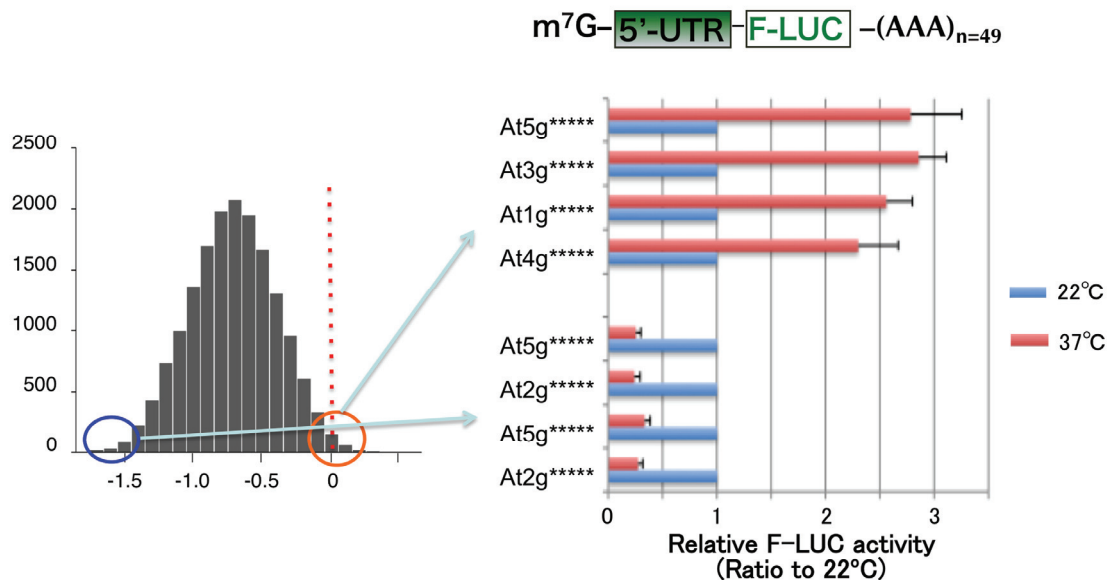


図 1 4-11 5'UTR がストレス下での翻訳特性に与える影響

左側；ポリソーム/マイクロアレイの結果に基づいた各 mRNA のストレス下での翻訳状態、グラフの左方向に分布している程ストレスにより翻訳が抑制されていることを表す。右側；一過性発現実験で試験した 5'UTR の翻訳特性。

次に各 5'UTR を連結したレポーター *GUS* 遺伝子を植物に導入し、得られた安定形質転換細胞を用いて、熱ストレスの有無 (22°C、37°C/10 min) による翻訳特性を調べたところ、やはり由来する遺伝子と同様な翻訳特性を示した。また、塩ストレス (200 mM NaCl/10 min) についても調べたところ、熱ストレス時と同じ結果となった。ここで得られたストレス下でも翻訳が抑制されない 5'UTR は、今後実用形質転換植物を作出する上で有用な発現ツールの一つとなることが期待される。

最後に、植物へ導入した有用遺伝子 (群) を量的に制御できる基盤技術として開発した 2 つの要素 (翻訳エンハンサー、転写を効率的に終結させる新規ターミネーター) について、これら要

素を付加した発現カセットを構築し、シロイヌナズナ植物体に導入した。得られた形質転換体から完全にシングルコピーで導入された個体を選抜し、GUS タンパク質の蓄積量を調べた (図 1 4-12)。

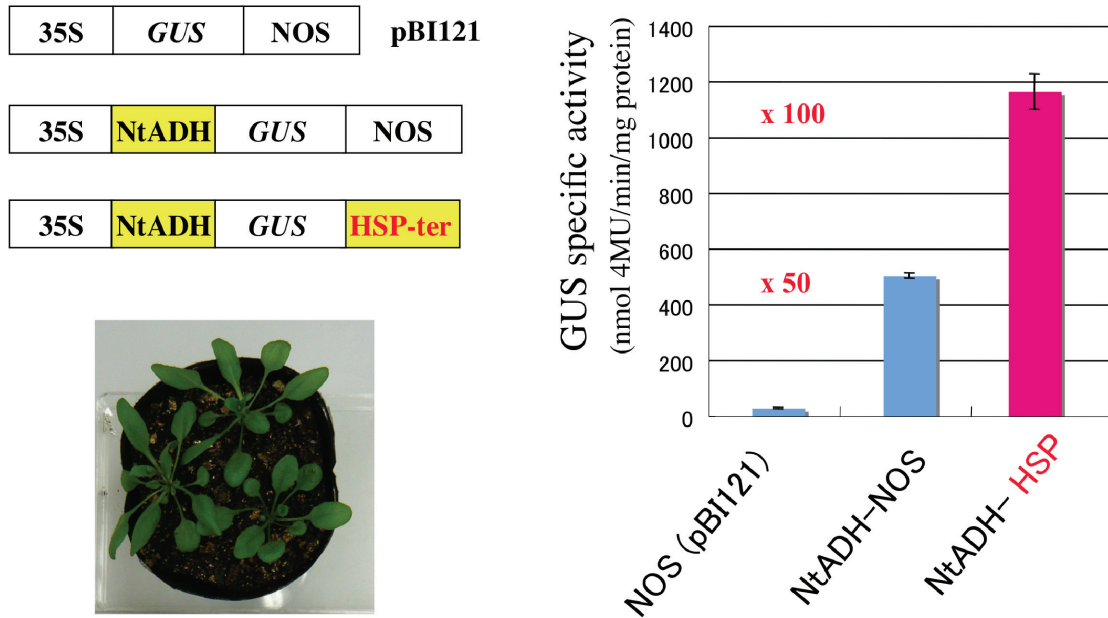


図 1 4-12 各発現要素の効果

翻訳エンハンサー (NtADH-5'UTR) および HSP ターミネーターを付加した発現カセットをシロイヌナズナ植物体に導入した時の GUS タンパク質の蓄積量。

その結果、翻訳エンハンサー (NtADH-5'UTR) の効果により約 50 倍の発現量の上昇が認められ、HSP ターミネーターの効果により最終的に 100 倍以上増加した。この時、GUS タンパク質は全可溶性タンパク質の 1%以上の蓄積となった。以上の結果から、実際の有用遺伝子組換え植物を作出する上で、今回開発した要素の活用が大いに期待される。

## (9-5) フェニルプロパノイド代謝系の制御に関わる転写調節因子遺伝子群の解析

(東京農工大学・小関教授)

### A. プロモーター・シスエレメントの同定

「平成 14 年度～17 年度」

シロイヌナズナのゲノム・データベースをスクリーニングした結果、シロイヌナズナには PAL 遺伝子が 3 つ (*AtPAL1*, *AtPAL2*, *AtPAL3*)、*C4H* 遺伝子が 1 つ (*AtC4H*)、*4CL* 遺伝子が 3 つ (*At4CL1*, *At4CL2*, *At4CL3*) 存在していた。そこで開始メチオニンコドンの A を +1 部位として、その上流について TATA-box および CAAT 様配列を探索するとともに、多くの植物種の PAL 遺伝子プロモーター領域に見いだされている発現制御に重要な役割を果たすと考えられている P-box、A-box、L-box に類似した配列、およびニンジン *PAL* 遺伝子において我々が初めて見いだした GCC-box 配列を GENETYX を用いてスクリーニングした。その結果、P-、L-box はすべての遺伝子のプロモーター中に、A-box は *AtPAL1*, *AtC4H*, *At4CL3* のプロモーター中に若干相同性が低いものの類似した配列が見いだされ、これらはすべて上流 -415 までの領域に存在した。これに対し、GCC-box は、*AtPAL3*, *AtC4H*, *At4CL3* プロモーター中に存在し、-372 ~ -1 までの領域に存在することがわかった。また、P-box、L-box と GCC-box を欠失させた変異プロモーターを作成し、これにレポーター遺伝子としてルシフェラーゼ遺伝子を結合させたコンストラクトをニンジン・プロトプラストに導入して一過的発現を調べたところ、L-box および GCC-box を欠失するとプロモーター活性が低下するという loss of function の結果が得られ、この L-box および GCC-box がフェニルプロパノイド合成系遺伝子の発現に重要なシスエレメントであることが明らかになった。

「平成 18 年度～21 年度」

L-box に結合してその発現制御を司っている *Dcmyb1* 遺伝子のプロモーターについて同様に解析を行ったところ、-138 ~ -97 の領域を欠失させると病原菌感染、紫外線照射、浸透圧ショックなどのストレスがなくともプロモーター活性が上昇するという gain of function の結果が得られたことから、その発現抑制を引き起こすシスエレメントが存在することを明らかにした。

### B. フェニルプロパノイド代謝系遺伝子プロモーターのシスエレメントに結合する転写調節因子の探索

「平成 14 年度～17 年度」

*DcPAL3* 遺伝子の GCC-box に対し、酵母 one-hybrid 法を用いてスクリーニングを行ったところ、分化状態の異なるニンジン培養細胞から調製した cDNA ライブラリーから GCC-box に結合する新規の ERF ファミリーに属する転写調節因子 cDNA を 2 種類 (DcERF1, DcERF2) 得ることに成功した。ゲル・シフト法により、これらの ERF cDNA が GCC-box に特異的に結合すること、さらに酵母内 *in vivo* においても GCC-box に特異的に結合することを明らかにした。また L-box に結合する転写調節因子について、酵母 one-hybrid 法によってスクリーニングを行ったところ、ニンジン培養細胞から調製した cDNA ライブラリーから *Myb* 相同遺伝子 cDNA である *Dcmyb1* を得た。*Dcmyb1* について、ゲル・シフト法において L-box に対する塩基配列特異的結合が見いだされ、また酵母においては塩基配列特異的結合能とともに転写活性化能が見いだされた。さらに L-box に結合する新たな転写調節因子をクローニングするため、酵

母 one-hybrid 法によって、アントシアニン合成を行っているニンジン培養細胞由来の cDNA ライブラリーからスクリーニングを行ったところ、*Dcmyb36* が得られた。これは *Dcmyb1* と比較すると、DNA 結合領域のアミノ酸配列においては非常に高い相同性を有しているものの、DNA 結合領域以外のアミノ酸配列においては 17.1% の相同性しか見られず、全く異なる転写調節因子であることがわかった。そこでこれらの DNA 結合領域のアミノ酸配列情報をもとに、アントシアニン合成時に特異的に発現している mRNA を濃縮して作成した subtracted cDNA ライブラリーから myb cDNA をクローニングしたところ、*Dcmyb2*、*Dcmyb3-1*、*Dcmyb3-2*、*Dcmyb4* が得られた。そこで、これらについて酵母内における L-box への結合活性を調べたところ、*Dcmyb3-1*、*Dcmyb3-2* が結合することがわかった。さらに、酵母を用いた結合実験においては、*Dcmyb2*、*Dcmyb3-1*、*Dcmyb3-2*、*Dcmyb4* も L-box に結合することが明らかになった。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

L-box を bait として酵母 one-hybrid 法によって、恒常的にアントシアニンを合成しているニンジン培養細胞から *Dcmyb5* cDNA が得られ、これも酵母内において L-box に結合していることが明らかになった。しかし、ニンジン・プロトプラスト内における一過性発現系を用いた実験において、これら MYB のうち、*Dcmyb3-1* および *Dcmyb5* のみが L-box に強く結合すること、さらに後者の転写活性化能は前者の約 3 倍高いことが明らかになった。このことから、1 つの L-box に対してこれら複数の MYB が作用して *PAL* 遺伝子の発現を制御している可能性が明らかになった。

さらに *Dcmyb1* プロモーター上に発現抑制を引き起こすシスエレメントである -138 ~ -97 の領域を bait として酵母 one-hybrid 法によって、浸透圧ストレスをかけたニンジン培養細胞由来の cDNA ライブラリーからスクリーニングを行ったところ、これに結合する転写調節因子として、シロイヌナズナの *ETHYLENE-INSENSITIVE3 (EIN3)* と高い類似性を有した *DcEIN3* cDNA が得られた。そこでこの *DcEIN3* 遺伝子の発現について、ニンジン培養細胞にストレスとして希釈効果およびエリシターを与えた細胞における発現のところ、*DcEIN3* はこれらのストレスによって誘導されることなく、ほぼ一定の発現量を示したことから、*DcEIN3* は翻訳後修飾もしくはタンパク質分解による制御が行われている可能性が明らかになった。

### C. 転写調節因子の異所発現および機能改変によるフェニルプロパノイド化合物生産制御技術の開発

#### 「平成 14 年度～17 年度」

得られた転写調節因子 cDNA の配列から、シロイヌナズナの全ゲノム配列に対して *in silico* スクリーニングを行なった。その結果、*DcERF1* についてはカウンターパート候補遺伝子として 6 種類、*DcERF2* について 6 種類、*Dcmyb1* について 3 種類がシロイヌナズナのゲノムに存在することが見いだされた。そこで、これらシロイヌナズナの ERF および myb の全長 cDNA 合計 15 種についてクローニングし、*A. tumefaciens* GV3101 を用いて、dip 法によりシロイヌナズナ植物体に導入した。その結果、形質転換選択培地プレート上での発芽個体数は 6 ~ 92 個体とコンストラクトごとに大きくばらついたが、すべてから抗生物質耐性を持った T1 形質転換植物体が、コントロールの 35S-GUS も含め、合計 469 ライン得られた。さらにその中から 8 種のコンストラクトに対し合計 76 ラインについて、T2 世代の種子が得られた。

T1 世代植物体において、6 種のコンストラクトのいくつかにおいて、著しい矮性を示す個体、矮性を示し赤黒い個体、茎の上部まで赤黒い個体、早い段階で矮性を示し、主軸が伸びる時期が遅い個体、さらにこれが赤くなった個体のような形態異常を示す変異体を得られた。そこで、ある特定の転写調節因子 cDNA を強制発現させた時、7 個体中 4 個体において著しい矮性を示す植物体について、DNA チップ解析を行った。その結果、これら植物体においては、低温、乾燥、塩などのストレス応答に関連する遺伝子の発現が上昇していることが明らかになった。さらに DNA アレイの結果をかずさ DNA 研究所の Kazusa Pathway Viewer で解析した結果、フェニルプロパノイド合成系の下流にあるリグニン合成系の遺伝子群の発現が弱いながらも上昇する傾向が見られるという知見が得られた。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

Dcmyb1 の C 末側に存在する活性化ドメインを欠失させたドミナント・ネガティブ効果が期待される変異 *Dcmyb1* コンストラクトを作成し、これを日本製紙から導入した技術を用いてポプラに遺伝子導入し、形質転換体を 30 個体以上得て、そのうち生長の良い 4 系統についてその発現解析を行った。その結果、3 系統において高い変異 *Dcmyb1* の発現が見られた。それらについてポプラの内生 *PAL* 遺伝子である *PALG2B* 遺伝子の発現を解析したところ、1 系統において *PALG2B* 遺伝子発現抑制が見られ、また若い茎において維管束のリグニン蓄積が抑制されていることが明らかになった。

## (9-6) モデル植物を用いた細胞壁形成及び心材形成の代謝プロファイリング(～H17FY)

(京都大学・梅澤教授)

### A. 代謝産物の分析法確立

まず、代謝プロファイリング用内部標準物質の合成を行った。すなわち、ケイヒ酸モノリグノール経路及び心材形成の代謝中間体の重水素標識体および対応する非標識体の化学合成を行った。合成数は、合計 42 化合物である。

次に、代謝プロファイリング標的化合物の分析条件の決定を行った。すなわち、上記で合成した重水素標識体および非標識体と GC-MS および LC-MS を用いた、ケイヒ酸モノリグノール経路及び心材形成の代謝中間体を同時定量するための、安定同位体希釈分析法を確立した。

さらに、確立された安定同位体希釈分析法に同位体標識体投与を組合せ、動的代謝プロファイリング法を確立した。

確立された動的代謝プロファイリング法の有効性を確認するため、まず、この手法をケイヒ酸モノリグノール経路及び心材形成の代謝、特にリグニン及びリグナン合成が変動するモデル系(シヤクとベニバナ)に適用した。その結果、本法が複雑な代謝経路の特定に極めて有効であることを確認した。すなわち、従来基盤の目状のさまざまな平行経路の可能性の中から生理的に主要な代謝ルートを決めることは、きわめて困難であったが、本プロジェクトで確立されたプロファイリング法を用いることにより、心材リグナン合成経路とケイヒ酸モノリグノール経路における基盤の目状の経路の中から生理的ルートを決めることに成功した。この成果により、心材リグナンであるとともに抗がん剤原料である抗腫瘍性リグナン(ポドフィロトキシン)の生合成前駆体であるヤテインの生合成経路がはじめて確定され、ポドフィロトキシンのバイオテクノロジーカルな産生に向けた基盤が確立された。また、細胞壁成分であるリグニンと心材成分であるリグナンとで、ケイヒ酸モノリグノール経路における基盤の目状の経路うちの生理的ルートが異なることがはじめて示された。この成果は、今後のケイヒ酸モノリグノール経路の代謝工学に対する重要な基盤となる知見である。

また、本システムは、心材成分(ノルリグナン)の合成酵素遺伝子のクローニングとキャラクターゼーションにも有効に用いられた。

さらに、リグニンの定性定量分析法のハイスループット化を行なった。

### B. モデル植物(シロイヌナズナ、ミヤコグサ、アカシア)及びその形質転換培養細胞の代謝産物プロファイリング

A. で確立した分析条件を、種々の植物およびかずさ DNA 研究所 NEDO 基盤研究室において作成されたシロイヌナズナ培養細胞 T87 株とその形質転換体に適用し、フェニルプロパノイド代謝産物プロファイリングによる代謝フロー解析を行った。その結果、C3H の発現を増強したシロイヌナズナ形質転換細胞では、コントロールとしての非形質転換細胞と比べ、ケイヒ酸モノリグノール経路の代謝中間体含量が上昇している傾向が示された。また、シロイヌナズナの持つリグニンの芳香核構造とは異なる芳香核を持つフェニルプロパノイドモノマーが顕著に検出された。本結果は、定説に依拠して検出できる核構造の化合物だけを検討してきた従来の個別的研究方法では認められなかったものであり、本プロジェクトにおいて、代謝産物プロファイリングにより網羅的解析を行うことによって初めて得られた知見である。

T87 株がグアヤシルリグニンのみを産生することを確認し、T87 株が被子植物に特徴的なシリ

ンギルリグニン合成の代謝スイッチ制御機構の解明に有効であることを示した。

さらに、かずさ DNA 研究所 NEDO 基盤研究室において確立された、遺伝子共発現ネット解析をリグニン合成系に適用した。そこで得られたリグニン合成系調節因子の候補遺伝子の発現を制御したシロイヌナズナ培養細胞 T87 株を作成し、上記の代謝産物プロファイリング系とリグニンの定性定量分析系を用いて解析することによって、シリルリグニン合成系の調節因子の単離を行なった。

なお、得られたプロファイリングデータは、かずさ DNA 研究所のデータベースに送付され、KAZUSA PATHWAY VIEWER 構築に利用された。

## (9-7) モデル植物における P450 依存の生体成分合成・分解機能の網羅的解析

(大阪府立大学・太田教授)

### A. P450 ファミリー遺伝子の同時導入

#### 「平成 14 年度～17 年度」

- ・ NEDO 基盤研究室が保有するシロイヌナズナ TAC クローンをスクリーニングし、P450 パラログ遺伝子を含む領域をカバーするクローンを同定した。
- ・ これらの TAC クローンは、8 種の P450 遺伝子ファミリーに属する 50 個の P450 遺伝子に相当する。これら 50 個の P450 遺伝子は染色体上の特定の部位に集中して座乗しており、11 個の TAC クローンでこれらの遺伝子のすべてを網羅した。
- ・ これらの 11 種の TAC クローンでシロイヌナズナ T87 培養細胞とタバコ BY2 培養細胞を形質転換し、継代維持している。これらの細胞を随時メタボロミクス分析 (NEDO 基盤研, 大阪府立大 FTMS) に供試することを可能にした。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

- ・ 平成 17 年度までに達成した P450 ファミリー遺伝子導入した細胞と植物体を供試し、以降の機能解析実験を実施した。

### B. P450 遺伝子の機能解析と新規代謝フローの探索

#### 「平成 14 年度～17 年度」

non-A type P450 遺伝子 17 種と A-type P450 遺伝子 11 種の合計 28 種の P450 に関して、すべて cDNA クローニングした。これらの 28 種の遺伝子に関して、植物形質転換用ベクターを構築し、NEDO 基盤研にて T87 細胞の形質転換と BY2 細胞の形質転換を行った。同時に、昆虫細胞・バキュロウイルス系での発現のための組換えウイルス作製を終了した。P450 モノオキシゲナーゼ酵素機能解析に供試することを可能にした。さらにシロイヌナズナ植物体の形質転換も実施し、各遺伝子に関しての過剰発現体を取得した。同時に、目的とした P450 遺伝子に関する T-DNA 挿入変異系統を入手した。

- ・ 4 種のアブシジン酸代謝 P450 遺伝子機能を同定した  
Plant Physiology 2004 134 : 1439-1449
- ・ 植物ミトコンドリアの新規 P450 電子伝達鎖を発見した  
Plant Mol Biol 2003 52 : 817-830
- ・ P450 還元酵素の多様性と生理機能について新たな知見を報告した  
Frontiers in Bioscience 2004 9:1587-1597

#### 「平成 18 年度～21 年度」

平成 17 年度までに取得あるいは樹立した遺伝子組換え系統と遺伝子導入細胞を、次の研究項目 C 代謝産物プロファイリング実験プラットフォーム構築:(バイオ組合との共同研究)を基盤とした代謝研究に供し、以下に記載する P450 遺伝子機能を同定した。

- ・ 4 種のステロール生合成関連の P450 遺伝子を同定した。  
Plant Cell. 2006 18:1008-22



Biochem Soc Trans. 2006 34:1202-1205

Planta. 2009 229:1311-22

- ・ 新規ブラシノステロイド代謝 P450 遺伝子を同定した。

Phytochemistry. 2006 17:1895-906

- ・ 新規脂肪酸代謝 P450 遺伝子を同定した。

Plant Biotechnology. 2009 26:175-182

- ・ 合計 20 種類の P450 遺伝子機能を解明することに成功。

CYP78A5, CYP78A7, CYP78A10, CYP86C3, CYP86C4, CYP98A8, CYP98A9, CYP710A1, CYP710A2, CYP710A3, CYP710A4, CYP710A1, CYP710A13, CYP710A14, CYP707A1, CYP707A3, CYP707A4

CYP81F4, CYP98A34, CYP714B1 の解析に関する論文発表を準備中。

- ・ P450 関連成果の一つとして、植物 P450 の多様性に関する総説を発表した。

Annual Review of Plant Biology.

Diversification of P450 Genes During Land Plant Evolution (in press)

### C. 代謝産物プロファイリング実験プラットフォーム構築 (バイオ組合との共同研究)

#### 「平成 14 年度～17 年度」

- ・ イオンスペック社の 7 テスラ FTMS 装置を用いて、一斉解析による代謝プロファイリングを可能にした。
- ・ イオンスペック社製 FTMS 装置本体の操作プログラムコードを独自に書き換え、連続データ取り込みとデータダウンロードを可能にした。
- ・ イオンスペック社製 FTMS の ESI イオン源 (アナリティカ社製) を改造し安定的な測定を可能にした。
- ・ 1 日 8 時間の FTMS の稼動で～50 検体からスペクトル取得し、1 週間でプロファイリングが可能となった。
- ・ かずさ DNA 研 NEDO 基盤研と奈良先端大金谷重彦教授 (本プロジェクト再委託先) との共同研究で FTMS データ解析プログラム (Dmass) を開発し、FTMS 装置で取得したスペクトルデータのピークマッチング、統計処理、多変量解析を可能にした。
- ・ このメタボローム解析では、遺伝子変異あるいは薬物による代謝の攪乱をメタボローム・スナップショットとして類型化し、機能未知の遺伝子の生理機能探索が可能である。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

平成 17 年度までの研究開発成果を論文発表するとともに、さらに発展させて新規のメタボロミクス手法を開発した。

新規の物質同定メタボロミクスを目指して、各種データベースから 6,928 個の酵素反応基質と生成物ペアのリストを作成し、代謝パスウェイ予測手法を金谷教授と完成させた。生化学的・有機化学的な整合性を基にして、メタボロミクスによって発見された新規化合物の生合成経路を推定することが可能になった。新規メタボロミクス手法として論文発表する。ツールは奈良先端大 (金谷教授) から公開する。

これらのメタボロミクスツール開発と成果を下記論文に発表した。

Plant Physiol. 2006 142:398-413.

Planta. 2007 227:57-66.

Anal Bioanal Chem. 2007 389:1469-75.

Anal Bioanal Chem. 2008 391:2769-2782.

Curr Opin Biotechnol. 2010 Feb 18. [Epub ahead of print]

(9-8) テルペノイド類二次代謝系の代謝制御に関わる生理活性物質の機能解明と網羅的解析  
に必要な基盤情報の整備 (東京工業大学・太田教授)

A. ジャスモン酸類応答性遺伝子の網羅的解析とカタログ化

「平成 14 年度～17 年度」

本目標に関してはすでに初期の目標をほぼ達成した。すなわち、シロイヌナズナ 22,000 遺伝子とミヤコグサ 18,144 遺伝子に関して、ジャスモン酸類による遺伝子発現応答のカタログ化をほぼ終了した。その結果から以下のことが明らかになった。

得られたジャスモン酸類応答遺伝子群の中から、特に代謝反応を担うと考えられる遺伝子群に着目したところ、ジャスモン酸生合成遺伝子群やトリプトファン生合成遺伝子群、インドールグルコシノレート生合成、硫黄同化、グルタチオン生合成、およびアスコルビン酸の代謝に関わる遺伝子群の発現がジャスモン酸類により誘導されることが明らかになった。また、これらの経路によって合成される代謝産物の定量や酵素活性の測定から、ジャスモン酸類が実際にこれらの代謝経路を活性化していることが示された。

グルタチオン生合成・アスコルビン酸生合成・アスコルビン酸-グルタチオンサイクルといった代謝経路は生体内での活性酸素除去に重要であることが知られている。そこで、ジャスモン酸類の生合成を欠損した変異体である *opr3* にオゾンストレスを与えたところ、葉に壊死病斑を形成した。一方同条件下においた野生株の表現型に変化は見られなかった。

このことから活性酸素ストレス下において、ジャスモン酸類の情報伝達が抗酸化物質の生合成経路を活性化することにより植物がストレスへの抵抗性を獲得している可能性が示された。また、インドールグルコシノレートは含硫二次代謝産物であり、植物の防御応答に関わる化合物であると考えられているが、ジャスモン酸類はこれらの化合物の基本骨格であるトリプトファン生合成に加えて、含硫アミノ酸の生合成の制御にも関与していることが明らかになった。今回我々が同定したこれらの経路は、ジャスモン酸類によって協調的に制御され、傷害など植物の種々のストレス応答におけるジャスモン酸類の機能に関与していると考えられる (図 14-7)。以上の結果は、Sasaki-Sekimoto et al. *Plant J* 2005, Taki et al *Plant Physiol.* 2005 にまとめた。

B. 主要ジャスモン酸類応答性遺伝子の機能解析

1) ジャスモン酸類による遺伝子発現制御にかかわる制御因子の同定

「平成 14 年度～17 年度」

上記のようにジャスモン酸類により制御される代謝系の全体像がほぼ明らかになり、そのジャスモン酸の機能との関係が解明された。他方、これらの代謝系がジャスモン酸類を介してどのような形で制御されているかを明らかにすることが、代謝系の改変を考える上で極めて重要である。そこでシロイヌナズナに関しては、ジャスモン酸類による遺伝子発現応答に関わる転写因子群の絞り込みを行った。ジャスモン酸類に応答する転写因子は先の結果から 100 個程度見つかったが、この情報だけではジャスモン酸類による代謝系の制御にかかわる主要転写因子の同定は困難である。そこで、今回我々が同定したジャスモン酸類に応答する遺伝子群を、データベースから取得した様々なマイクロアレイによる各種ストレス応答時における遺伝子発現データの相関性からクラスタリングした。その結果、ジャスモン酸類に応答する遺伝子群を発現プロファイルの相関性から 11 個のグループに分類することができた。そのうち 1 個のグループはジャスモン酸類により

制御されることの明らかになった主要代謝経路関連遺伝子のグループであり、さらにその中にジャスモン酸による遺伝子発現応答に関わる既知の転写因子や機能未知の転写因子がいくつか含まれていた。発現プロファイルの高い相関性から、これらの機能未知の転写因子がジャスモン酸類による代謝経路の制御にかかわる転写因子であると期待される。これらの遺伝子群について、NEDO基盤研究室と共同で過剰発現株の作成解析を開始した。また、ノックアウト体の検索を始めており、これらの機能の解析を行う。

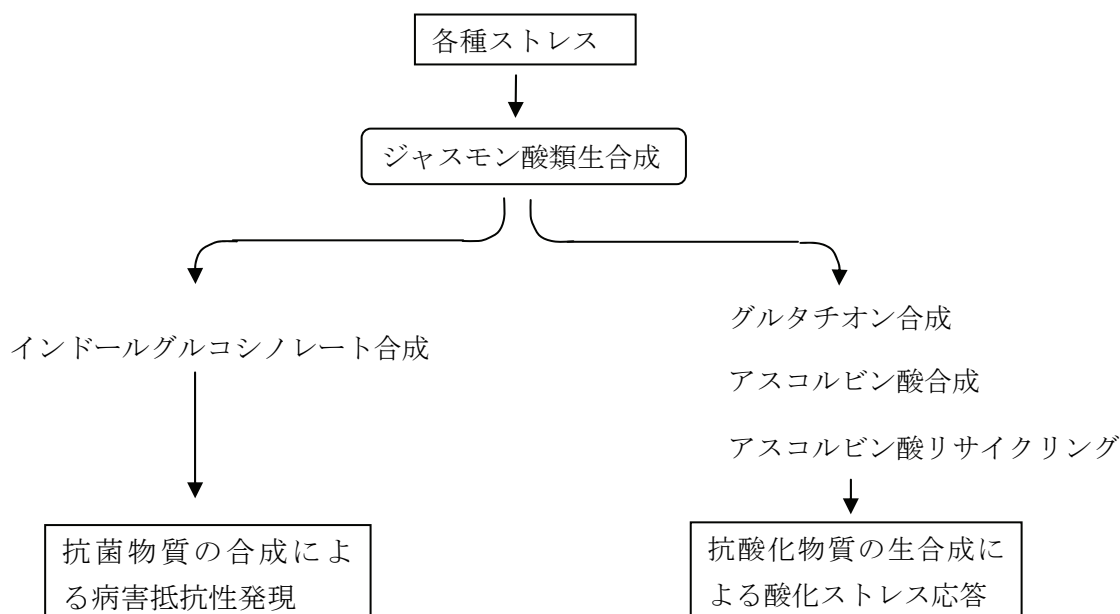


図 1 4 - 7 ジャスモン酸類より制御される代謝経路とその役割

#### 「平成 18 年度～21 年度」

平成 17 年度までに同定した制御因子の中から、ジャスモン酸の下流にある主要代謝系遺伝子と共発現する転写因子として INU1, INU2 を選抜した。INU1, INU2 の発現を詳細に調べたところ、INU1 が、早期に、INU2 が後期に応答する転写因子であることが分かった。INU1 が早期応答することから代謝系制御のより上流に位置すると考え、その後の解析のターゲットとして着目した。T-DNA 変異体 (inu1-1) を単離し、そのジャスモン酸応答を野生株と比較した。その結果、inu1-1 では、フラボノイド関連遺伝子の発現増大、アントシアンの蓄積等が認められ、INU1 の制御により、フラボノイド代謝系の改変が可能であることが示された。また、INU1 の Two Hybrid 法による解析から、INU1 がジャスモン酸の情報伝達の中心因子である JAZ ファミリータンパク質と直接相互作用をしていること、12 個の JAZ ファミリータンパク質のうち、特に強い相互作用が認められるのは、JAZ1, JAZ3, JAZ9 であり、これらの結果から JAZ との相互作用が、ジャスモン酸情報伝達の中心転写因子である MYC2 と極めて良く似ていることが分かった。これらのことから、INU1 は MYC2 と同様、ジャスモン酸情報伝達の中心に位置する転写因子であると考えられる。

#### 2) 種々のジャスモン酸類が持つ異なる機能の解明とそれを利用した代謝系の改変

### 「平成 14 年度～17 年度」

先の A の研究から、ジャスモン酸生合成中間体である OPDA がジャスモン酸、メチルジャスモン酸とは異なる遺伝子群の発現を制御する脂質シグナルとして機能していることを解明した。すなわち、シロイヌナズナで、OPDA に応答し、ジャスモン酸、メチルジャスモン酸には応答しない 170 個の遺伝子を見出した。また、これらの遺伝子が傷害時にも発現応答すること、さらに、OPDA がこれら OPDA 特異的応答遺伝子の傷害時の発現にシグナルとして機能していることを証明した。我々はこれらジャスモン酸や OPDA に関わる一連の知見から種々のジャスモン酸類が植物においてそれぞれ異なるストレス応答系、代謝系を制御する分子スイッチとして機能していると考えており、これらジャスモン酸類の生合成系や情報伝達を制御することでジャスモン酸類に制御される代謝系の制御を行うことができると考えている。

### 「平成 18 年度～21 年度」

平成 17 年までのジャスモン酸応答遺伝子のカタログ化の研究から、ジャスモン酸により、脂質代謝系の遺伝子の発現が大きく変動することが明らかになってきた。そこで、ジャスモン酸に応答する遺伝子の中から、有用代謝系に関与する候補遺伝子として、特に脂質代謝系遺伝子に着目し、さらに新規遺伝子の探索を行った。その結果、酵母で脂質代謝の鍵酵素と考えられている Lipin 遺伝子（ホスファチジン酸ホスファターゼ）のホモログがジャスモン酸に応答していることを見出した。そこでこの遺伝子とそのアイソザイム(atPAH1, atPAH2)が、酵母の欠損変異体を相補するかどうかを調べたところ、シロイヌナズナ遺伝子の導入によって、両者とも欠損体で見られた脂質含量の低下が相補され、脂質量が回復した。

さらにこれらの遺伝子のシロイヌナズナ変異体を取得した。変異体は単独のノックアウトでは顕著な表現型を示さなかったが、二重変異体 (*pah1pah2*) は、リン欠乏時に顕著な生育阻害を示すことがわかった。この二重変異体では、通常条件では野生型と大きくは変わらないが、リン欠乏培地に移植後生長が停止し、本葉がほとんど展開しない。また、植物体をリン欠乏に置いたときに見られるリン脂質の分解が起こらず、それと同時に起こる糖脂質含量の増加が抑制された。また、チラコイド膜の発達の指標となる糖脂質 MGDG の含量にも低下が見られた。このことは、この PAH1,2 がリン欠乏時の葉緑体の発達に大きく関わる主要な遺伝子であることを示している。

PAH1,2 の機能に関してより詳細に明らかにするため、PAH の細胞内局在性の解析を行った。まず、細胞分画による活性測定を行い、主に葉緑体外の可溶性画分に高い活性が存在することを明らかにした。また、PAH1-GFP のキメラ遺伝子を発現させ、融合タンパク質の大部分が可溶性画分に顕著に見られることも分かった。また、<sup>14</sup>C 標識したグリセロールを用いてリン脂質 (PC) と糖脂質 (MGDG) への野生型と変異体での取り込みの違いから PAH1,PAH2 が真核型脂質合成経路に関わるホスファチジン酸ホスファターゼであることを証明した。以上の結果を Nakamura et al *PNAS* 2009 にまとめた。

さらに、PAH1,PAH2 が真核型脂質合成経路に関わることが分かったので、これらの酵素が、膜脂質の合成だけでなく、貯蔵脂質の合成にも関与する可能性を考え、葉での貯蔵脂質を調べた。その結果、変異体は葉の貯蔵脂質含量が、野生型の 40%程度に低下することが分かった。さらに、種子での貯蔵脂質含量を調べたところ、二重変異体では、種子の貯蔵脂質含量も低下していた。このことから、PAH1,PAH2 が貯蔵脂質の合成に関わるホスファチジ

ン酸ホスファターゼであることが明らかになった。これまで、貯蔵脂質合成に関わるホスファチジン酸ホスファターゼは全く知られておらず、PAH1/2 は種子貯蔵脂質合成に関与することが明らかになった初めてのホスファチジン酸ホスファターゼである。

### C. シロイヌナズナ遺伝子発現情報のデータベース化

#### 「平成 14 年度～17 年度」

既に当研究室でデータベースを作成し、情報の開示を開始した。

(<http://www.atted.bio.titech.ac.jp/>)。このデータベースはすでに一般公開も始めており、月に 300 件程度のアクセスのある利用頻度の高いデータベースとして本プロジェクトメンバーを始め多くの研究者に利用されている。本データベースはある遺伝子の発現と相関性の高い遺伝子のリストを検索できる機能を持つ。この機能は特定の代謝系に関係する未知の代謝遺伝子、制御遺伝子の検索に格好の手法であり、プロジェクト内外の研究者から高い評価を受けている(Obayashi et al *Nuc Acids Res.* 2007)。また、これらの成果を用いて、遺伝子発現プロモーターの網羅的解析、そのデータベース化を計画している。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

上記データベース ATTED-II の更新を行った(Obayashi et al *Nuc Acids Res.* 2009)。現在、当データベースは月 30,000 件から 50,000 件に及ぶ極めて高頻度で使用されるデータベースになっており、本プログラムを始め多くの研究者に利用されている。

## (9-9) パラゴムノキのシスプレニルトランスフェラーゼとその活性化因子の解析

(東北大学・古山教授)

### A. 活性化因子および重合促進因子の同定

パラゴムノキのラテックスの超遠心沈殿画分にシスプレニルトランスフェラーゼの活性化因子、および、ゴム分子の重合促進因子の存在は確認できているが、新鮮なラテックスの入手が困難なため、その単離、同定には至っていない。

しかし、ラテックスの超遠心分離後の低分子量ゴム粒子画分中に新規なゴム合成酵素活性が存在することを見出した。このゴム合成酵素活性はパラゴムノキのシスプレニルトランスフェラーゼを添加してもゴム合成酵素活性の活性化は認められないので、低分子量ゴム粒子に直接重合して、ゴムの重合促進効果を示す活性のみを示すものと考えている。

### B. *in vitro* での高効率化天然ゴム合成系の再構築

大腸菌細胞内で発現させた HRT1 および HRT2 ともシスプレニルトランスフェラーゼにはプレニルトランスフェラーゼ活性は見出されなかったが、酵母細胞内での発現系では、酵母のデヒドロドリキルニリン酸合成酵素 RER2 の温度感受性変異株の表現型を相補することが判り、*in vitro* アッセイでデヒドロドリキルニリン酸合成酵素と同等な酵素活性を示し、本来酵母が有しているデヒドロドリキルニリン酸合成酵素より長鎖長のプレニル鎖の生成物が合成されることを明らかにした。

### C. モデル植物におけるパラゴムノキのシスプレニルトランスフェラーゼ遺伝子の機能解析

モデル植物 *Arabidopsis thaliana* 培養細胞にパラゴムノキのシスプレニルトランスフェラーゼ遺伝子を導入したところ、その発現系での *in vitro* 解析ではポリプレニル鎖長が C80 から C95 の生成物を合成することが判った。この結果は HRT1 および HRT2 ともパラゴムノキのデヒドロドリキルニリン酸合成酵素として機能できることを示している。現在、培養細胞および実際の植物での形質転換体におけるメタボローム解析を試みているところである。

## (9-10) ステロール化合物の高産生植物の研究開発 (石川県立大学・大山教授)

### 「平成 14 年度～17 年度」

#### A. スクアレンオキシド及びシクロアルテノールの調査

コスミドベクターによるゲノムライブラリー及び pSPORT プラスミドによる cDNA ライブラリーは構築済みで、その評価もゲノムライブラリーについてはほぼ完了した。培養系を用いて、ステロールおよびトリテルペノイド化合物の蓄積を GC/MS による分析を行った。EST の作成の開発。現在構築済みの cDNA ライブラリーはユーホルビアの幼葉及び幼茎の混合部位よりポリ A-RNA を単離し作成したものである。約 10,000 個の EST を目標にその塩基配列の決定と遺伝情報解析を終了した。

#### B. オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の単離

オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子のクローニングに成功した。発現抑制用ベクター開発した。オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の発現抑制用ベクターとして、RNAi コンストラクトを構築した。オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の発現抑制の研究が可能になった。

#### C. シクロアルテノールシクラーゼ遺伝子の単離

シクロアルテノールシクラーゼ遺伝子の全長遺伝子及び完全長 cDNA を取得した。シクロアルテノールシクラーゼ遺伝子の完全長 cDNA 配列の大腸菌へのクローニングが困難と判明したため、スクアレンシクラーゼ遺伝子をもちいて研究を行った。スクアレンシクラーゼ遺伝子をバイナリーベクター pBR121、pCAMBIA1300 にクローニングし 35S プロモータによるステロール過剰発現ベクターを構築した。スクアレンシクラーゼ過剰発現ベクターによる形質転換体系をカルス培養細胞で確立した。

#### D. ユーフォルビア形質転換系開発 (18 年度以降実施)

ユーフォルビアの細胞培養化、ユーホルビアディスク細胞からの植物体の再分化に成功した。2重形質転換体作成のための基礎技術開発を開発する (18～21 年度)。

### 「平成 18 年度から平成 21 年度」

#### A. スクアレンオキシド及びシクロアルテノールの調査

ユーホルビアのステロール・トリテルペン・セスキテルペン化合物を GC/MS により同定しリスト化した (表 1)。

#### B. オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の単離

オキシドスクアレンシクラーゼ遺伝子の RNAi コンストラクトをユーフォルビア培養細胞に導入しハイグロマイシン選抜により形質転換体を得た。また、組織培養法によるトリテルペン合成抑制技術を新規開発し、ユーフォルビアのフリーステロールにコンタミするトリテルペン相対値を 14 分の 1 に減少させることに成功した (表 15-1)。



表 15-1 植物体からのカルス形成に伴うフリーステロール相対量の変動

Compounds <sup>a</sup>	Callus1	Callus2	Callus3	Plant1	Plant2	Plant3
Campesterol (a400)	2.12	-	0.888	1.06	0.196	-
A426	-	-	-	0.792	53.2	0.666
Euphol (B426)	3.92	-	1.85	25.6	0.379	45.5
Stigmasterol (b412)	34.3	5.94	30.3	-	-	-
414 (N.I.)	2.65	-	0.190	-	-	-
C426	-	-	-	2.03	15.9	-
D426	-	-	-	7.38	15.0	11.4
β-sitosterol (c414)	8.87	2.93	10.7	14.4	-	-
416 (N.I.)	5.85	0.310	6.24	-	-	-
Isofucosterol (d412)	26.3	90.3	20.7	-	-	-
428 (N.I.)	-	-	-	10.6	5.97	-
E426	-	-	-	1.80	1.08	4.36
β-Amyrin (F426)	2.40	-	10.1	6.15	1.76	10.5
Cycloartenol (e426)	6.01	-	13.6	-	-	-
G426	-	-	-	4.25	0.824	2.13
Lupeol (H426)	-	0.443	-	-	-	-
Glutinol (I426)	-	-	-	17.1	4.34	15.9
408 (N.I.)	-	-	-	4.23	0.294	1.20
24-Methylenecycloartanol (f440)	1.98	0.0191	2.93	-	-	-
424 (N.I.)	-	-	-	0.851	-	2.47
J426	-	-	-	0.532	0.182	0.897
410 (N.I.)	1.16	-	0.685	-	-	-
412 (N.I.)	2.20	-	0.773	-	-	-
K426	-	-	-	0.832	0.191	-
L426	-	-	-	2.14	0.600	4.84
410 (N.I.)	2.05	-	0.739	-	-	-
Total of triterpenoid- and triterpenoid-like compounds with a TIC [M <sup>+</sup> ] of 426	6.32	0.443	12.0	68.6	93.8	96.2
Total sterols, which include cycloartenol	79.6	99.2	79.1	15.5	0.196	-

<sup>b</sup> Means of total amounts	Calli	Plants
Triterpenoid- and triterpenoid-like compounds with a TIC [M <sup>+</sup> ] of 426	6.25 ± 4.72	86.2 ± 12.5
Sterols	86.0 ± 9.36	5.23 ± 7.26

a 全ピーク面積総和に対する検出ピーク面積のパーセントを示す。[M<sup>+</sup>]= 426 の化合物をトリテルペノイド・トリテルペノイド様化合物とし 426 (= [M<sup>+</sup>])の前に大文字アルファベットを付して表示、ステロール化合物は[M<sup>+</sup>]値の前に小文字アルファベットを付して表示した。N. I., not identified; -, undetectable。シクロアルテノール(MW: 426) はトリテルペン・トリテルペン様化合物に含めない。

b Means of percentages ( ± SD.) (n= 3).

### C. シクロアルテノールシンターゼ遺伝子の単離の研究

培養細胞によるスクアレンシンターゼ過剰発現形質転換体を G418 選抜により単離した。植物ステロール絶対値を GC/MS 解析した結果、最大で 80%以上の増加を確認した (表 15-2)。

#### D. ユーフォルビア形質転換系開発

形質転換体を上記2種の薬剤で選抜した。また、組織培養法によるトリテルペン合成抑制法（上記項目 B）の開発にともない、この条件下で上記研究項目 C を遂行し、高純度植物ステロールの増加を確認した（表 15-2）。

#### E. 遺伝子資源・有用二次代謝産物データベース構築（平成 19 年度に追加）

ユーフォルビアのステロール 6 種、トリテルペン 12 種の化合物を GC/MS 検出し主要 m/z パターンとともに記載した（表 15-1）。また、セスキテルペン 5 種を同定した（表 15-3）。16 種のステロール・テルペノイド合成酵素遺伝子ホモログを単離後代謝地図への書き込み（表 4）、3 酵素遺伝子（スクアレノエポキシダーゼ（図 15-1）・スクアレノシンターゼ（図 15-2）・ベータアミリンシンターゼ（図 15-3））の機能を同定した。

表 15-2. スクアレノ合成酵素の過剰発現培養細胞株の植物ステロール絶対量

Major sterol	野生型	形質転換体1	形質転換体2
Squalene	4.88 (0.61)	9.25 (2.7)	5.90 (2.1)
Cycloartenol	55.3 (19)	3.32 (1.9)	2.93 (0.96)
24-Methylene -cycloartenol	21.6 (4.0)	9.55 (2.4)	11.0 (2.7)
Isofucosterol	72.2 (28)	140 (24)	74.2 (36)
$\beta$ -Sitosterol	102 (17)	83.5 (18)	63.6 (14)
Stigmasterol	25.5 (10)	173 (32)	110 (13)
Campesterol	4.38 (1.6)	10.6 (2.2)	4.06 (0.95)
Phytosterols	214 (49)	390 (84)	263 (75)

(micrograms per 100 mg DW)

野生型と形質転換体 2 ラインをサンプリングし凍結乾燥、インターナルスタンダード [25, 26, 26, 26, 27, 27, 27-2H7]cholesterol を添加、全ステロール成分を抽出し GC/MS 解析をおこなった。各数値は 4 サンプルの平均値、カッコ内はその標準誤差を示す。DW: 乾燥重量。

表 15-3. 野生型植物地上部に検出されたセスキテルペン

Compound	検出量 (ng/g FW)	
	実験1	実験2
$\alpha$ -Copaene	trace	trace
$\beta$ -Cubebene	0.4196	trace
$\beta$ -Caryophyllene	4.154	0.9526
GermacreneD	N.D.	0.8339
$\alpha$ -Muurolol	N.D.	trace

実験 1, 2 はそれぞれ湿重量 89g, 32g より抽出した。 $\alpha$ -コパエン、 $\beta$ -クベベン、 $\beta$ -カリオフィレン、ゲルマクレン D,  $\alpha$ -ムウロロールの HP-5MS カラムでの C9-C22 *n*-alkanes に対するリテンションインデックスはそれぞれ、1375, 1390, 1419, 1481, 1641。インターナルスタンダードは *n*-tetradecane。

表 15-4. 野生型培養細胞の EST 解析で検出したホモログ遺伝子群

	EST number	homologs	species	Identity (amino acids)
①	ETC010D09	<i>β-amyrin synthase (OSC)</i>	<i>Panax ginseng</i>	71%
②	ETC031B10	<i>cycloartenol synthase</i>	<i>Panax ginseng</i>	82%
③	ETC000A12	<i>acetyl-CoA C-acetyltransferase</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	81%
④	ETC013G06	<i>HMG-CoA synthase</i>	<i>Brassica juncea</i>	89%
⑤	ETC039G10	<i>mevalonate kinase</i>	<i>Hevea brasiliensis</i>	73%
⑥	ETC017F04	<i>isopentenyl pyrophosphate isomerase</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	85%
⑦	ETC015B08	<i>geranyl diphosphate synthase</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	76%
⑧	ETC033F09	<i>farnesyl diphosphate synthase</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	70%
⑨	PTA.227.C1	<i>sterol 24-C-methyltransferase</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	90%
⑩	ETC045H03	<i>sterol 14-demethylase</i>	<i>Oryza sativa</i>	81%
⑪	ETC032C09	<i>C-4 sterol methyl oxidase</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	65%
⑫	ETC034C09	<i>3-oxo-5-α-steroid 4-dehydrogenase</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	69%
⑬	ETC006F04	<i>putative steroid sulfotransferase</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	43%
⑭	ETC038G10	<i>20-β-hydroxysteroid dehydrogenase</i>	<i>Sus scrofa</i>	48%
⑮	ETC020F02	<i>putative oxysterol binding protein</i>	<i>Oryza sativa</i>	68%
⑯	ETC035F01	<i>sterol O-acyltransferase</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	81%

ユーフォルビアカルスから抽出した mRNA を用いて cDNA ライブラリー作成、9,301 クローン を EST 解析、4,959 の非重複クローンを得た。その中から検出したステロール合成酵素ホモログをリストした。

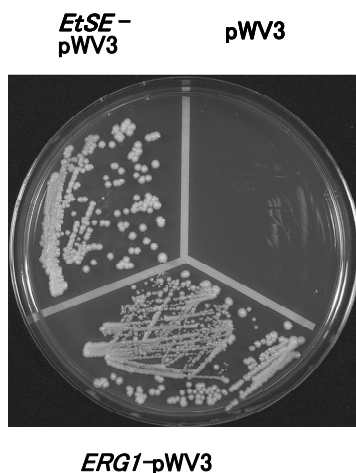


図 15-1. *E. tirucalli* squalene epoxidase 遺伝子によるステロール要求性酵母の相補.

ユーフォルビアスクアレンエポキシダーゼを発見ベクターにクローニングしたプラスミド (EtSE-pWV3)、野生型酵母スクアレンエポキシダーゼを同様にクローニングしたプラスミド (ERG1-pWV3)、ベクターのみのプラスミド (pWV3)、それぞれを突然変異体ホストに導入した。形質転換体は選抜培地で 2 回ストリークし、エルゴステロール抜き YPD 培地にストリークした。

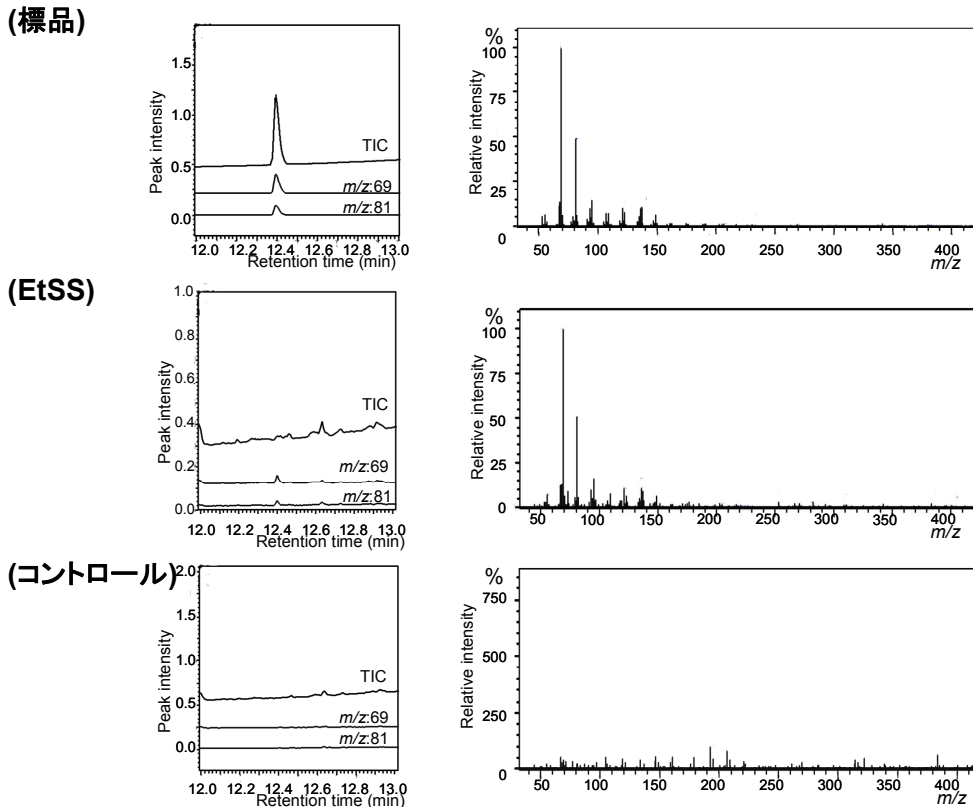


図 15-2..大腸菌で発現させた *E. tirucalli* squalene synthase 遺伝子の *in vitro* 酵素活性.

左：全イオンクロマトグラム(TIC)とマスクロマトグラム( $m/z = 69$ , or  $81$ )、右：12.4分のそれぞれのピークのマススペクトル。上から順にスクアレン標品、チオレドキシシタグ付きユーフォルビアスクアレンシンターゼ反応産物、チオレドキシシタグの対照。

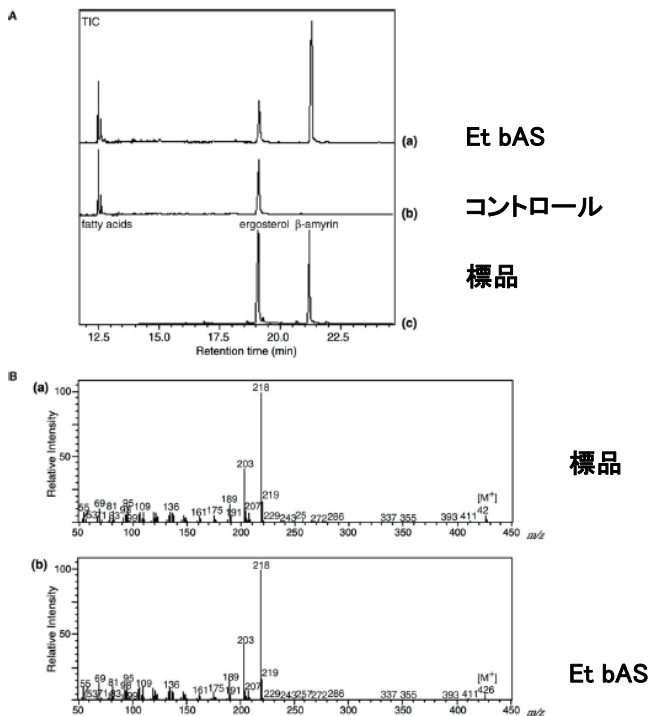


図 15-3. 酵母で発現させた *E. tirucalli* beta-amyrin synthase 遺伝子の *in vivo* 酵素活性.

上段：pPICZA-EtAS をもつ酵母抽出物の全イオンクロマトグラム。ベクター対照、エルゴステロール (19.1 min) とベータアミリン (21.2 min) 標品の混合物。下段：検出されたピークのマススペクトル。ベータアミリン標品、pPICZA-EtAS をもつ酵母抽出物。411  $[M^+ - CH_3]$ ; 393  $[M^+ - H_2O - CH_3]$ ; 218 (C-ring fragment peak, Budzikiewicz et al., 1963); 203  $[m/z\ 218 - CH_3]$ .

(9-11) アカシアおよびカンゾウにおける組織培養・遺伝子導入系の開発

(千葉大学・三位教授)

A. 植物体再生系の開発

1) アカシア

「平成 14 年度～17 年度」

*Acacia mangium* において子葉切片から 20%程度の不定芽再生が可能となった。しかし不定芽の大部分は奇形で、ほとんど成長しなかった。一方、発芽 3-4 日後の実生の茎頂を BA(0.5～2.0mg/l)添加した WPM 培地で培養すると、5-10 本程度の多芽体が形成され、その大部分は 10 mg/l GA を添加した培地に移植することで正常な伸長を示した (図 16-1)。



図 16-1 *A.mangium* の発芽 3 日後の茎頂から形成された多芽体(培地 : WPM+0.5mg/l BA) (左) と WPM+2.0mg/l BA+10mg GA<sub>3</sub>培地移植後のシュートの伸長 (右)

*A. dealbata* に関しては、BA (0.1～2.0mg/l) , IBA(0～0.1mg/l)添加した WPM 培地に胚軸や子葉切片を置床すると 60%以上の頻度で nodular callus が誘導できた。このカルスは葉原基を分化しつつ増殖し、一部はシュートの伸長を示した。また低頻度ながら不定胚を経由して植物体になるものも見られた (図 16-2)。



図 16-2 *A.dealbata* の胚軸切片から誘導された embryogenic カルス (左) と不定胚 (右) (培地 : WPM+1.0mg/l BA)

*A. auriculiformis* は 1-2 mg/l TDZ と 0.25-0.5 mg/l IAA を添加した MS 培地で 20-40%程度の

不定芽分化率を示し、不定芽の伸長も同培地で見られたが、発根は困難であった。

その他のアカシア属植物においてカルス及び不定芽再生系を検討した結果、*A. cyclops*, *A. implexa* および *A. gonoclada* に関して、不定芽、不定胚形成能の高い nodular callus が誘導できた。

#### 「平成 18 年度～21 年度」

*A. mangium* について、再分化時のシュートは幼若期の葉を持ち、この状態のシュートは発根が困難であるが、継代に伴って成熟葉を生じる。この状態になった植物は以後植物ホルモン無添加の培地で発根し、容易に順化して通常の栽培環境に移すことを明らかにした（図 1 6-3）。試験管内での挿し木による大量増殖が可能であることを示した。これらの成果は今後、交配によって得られる優良個体や、有用遺伝子を導入した形質転換植物の大量増殖に利用できるものと考えられる。

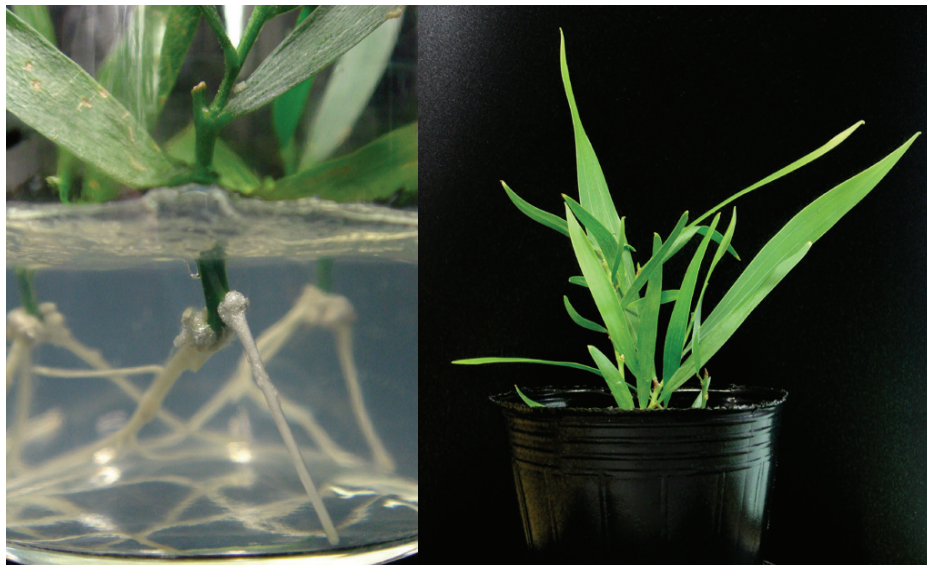


図 1 6-3 *A. mangium* の in vitro での発根と順化した幼植物

林木用のアカシアに関しては最近、*A. mangium* と *A. auriculiformis* の種間雑種が *A. mangium* よりも成長や材質等で優れているという報告があり、このような種間雑種数系統について茎頂培養を行った結果、長期間不定芽分化能を維持したカルスを誘導することができた。

## 2) カンゾウ

#### 「平成 18 年度～21 年度」

ウラルカンゾウ *Glycyrrhiza uralensis* において、実生の組織片から植物体再生が可能となった。播種後 1 か月目の実生胚軸を 1 mg/l TDZ、30 g/l sucrose、2.5 g/l gellan gum を含む MS 培地で培養し、不定芽分化能をもつカルスが得られた。このカルスは同培地で継代することにより、その後も不定芽分化能を維持しつつ増殖を続けたが、すべて膨潤化し伸長は見られなかった。このカルスを TDZ 濃度を 1 mg/l から 0.1 mg/l に下げ、炭素源を 3% sucrose から 3% maltose に変えることにより、膨潤化のない不定芽が得られた。さらに TDZ を除き、10 mg/l GA<sub>3</sub> を代わりに加えた培地に移したところ、正常な不定芽の伸長が見られた（図 1 6-4）。



図 16-4 胚軸由来カルスから再生したシュートと順化植物

## B. 形質転換法の開発

### 1) アカシア

「平成 14 年度～17 年度」

前年度で得られた *A. gonoclada* の不定芽を伸長させ、*in vitro* で植物体を再生することに成功し、その茎頂および葉でも GUS 発現を確認した (図 16-5)。しかし、*A. mangium* については形質転換カルスからの植物体再生ができず、*A. mangium* および *A. mangium* と *A. auriculiformis* の種間雑種で誘導した多芽体を対象に行った形質転換においても、形質転換体を得ることはできなかった。

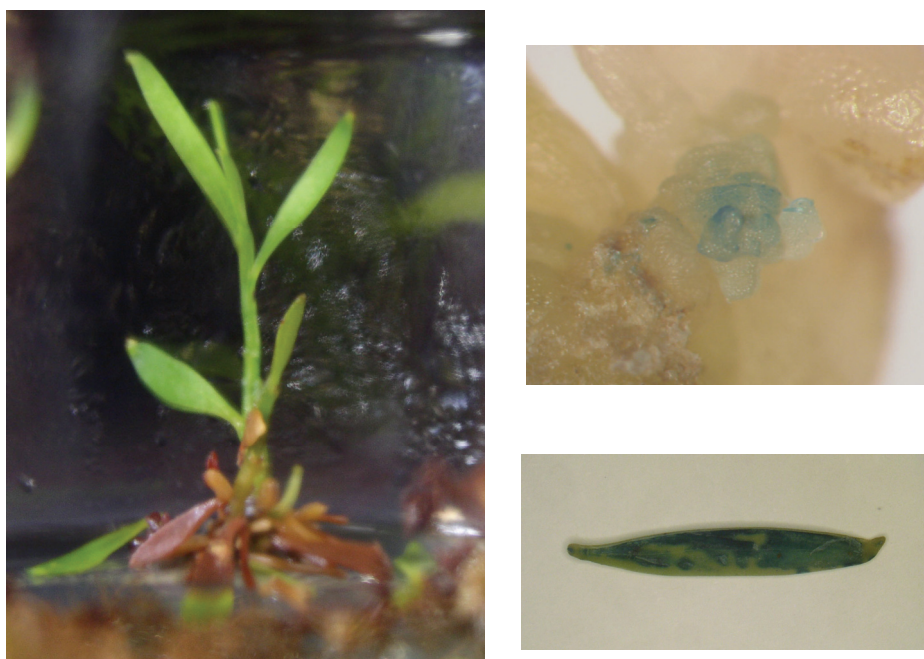


図 16-5 *A. gonoclada* の形質転換植物とその茎頂および葉における GUS 発現

「平成 18 年度～21 年度」

アカシア属の植物の中で植物体再生能力の高い種である *A. cyclops* および *A. gonoclada* を対

象として、誘導された embryogenic callus を用いて *A. tumefaciens* EHA101pIG121Hm による形質転換を試み、ハイグロマイシンによる選抜を行った。その結果、GUS 遺伝子を導入した耐性カルスを得ることが出来た (図 1 6 - 6)。さらに *A. gonoclada* では不定芽分化を確認した。

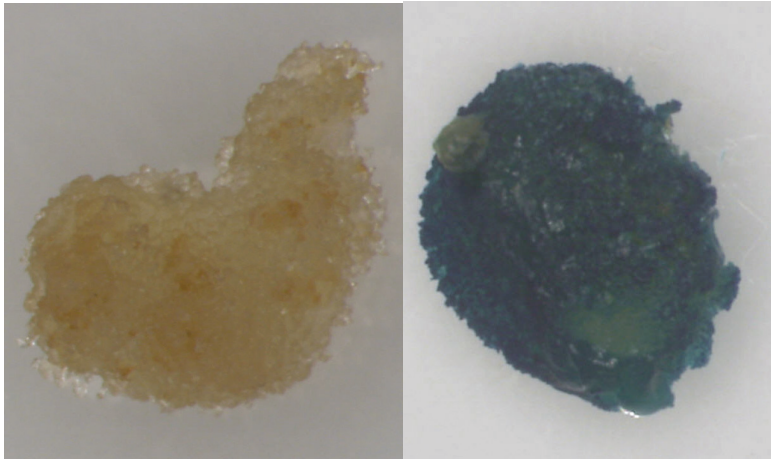


図 1 6 - 6 *A. gonoclada* のハイグロマイシン耐性カルスにおける GUS 発現  
左：非形質転換体、右：形質転換体

*A. mangium* においては、GUS 遺伝子を導入したカルスが得られた (図 1 6 - 7) もの、再分化は認められなかった。

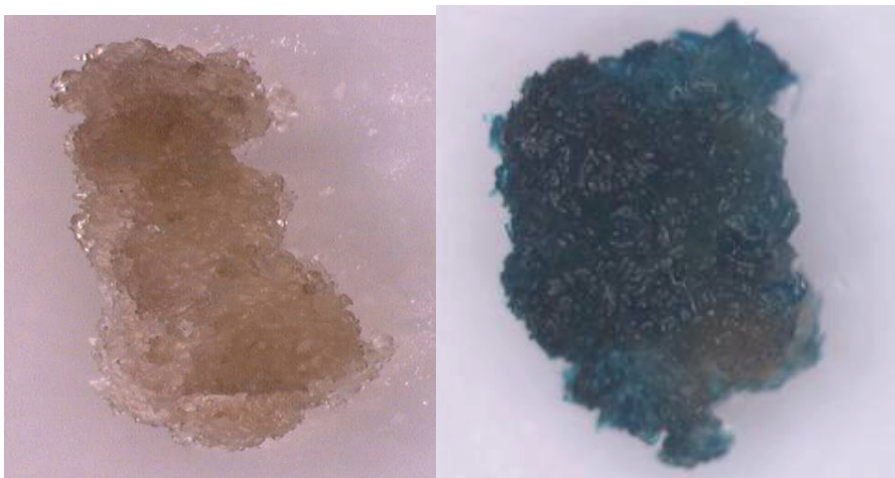


図 1 6 - 7 *A. mangium* のハイグロマイシン耐性カルスにおける GUS 発現  
左：非形質転換体、右：形質転換体

## 2) カンゾウ

「平成 18 年度～21 年度」

ウラルカンゾウ *Glycyrrhiza uralensis* の播種後 1 週間目の胚軸、子葉、根を用いて 2, 4-D 1.2 mg/l、BA 1 mg/l を含む MS 培地に置床しカルスを誘導した。このカルスを用いて *A. tumefaciens* EHA101 (pIG121Hm) による形質転換を試み、ハイグロマイシンによる選抜を行った。その結果、GUS 遺伝子を導入した耐性カルスを得ることができた。このカルスを TDZ を含む培地に移植し、継代を行っているが、再分化は見られていない。さらに  $\beta$  アミリン合成酵素と P450 を連結した



ベクターを導入した結果、nptIIの導入を確認できたカルスが得られた(図16-8)。

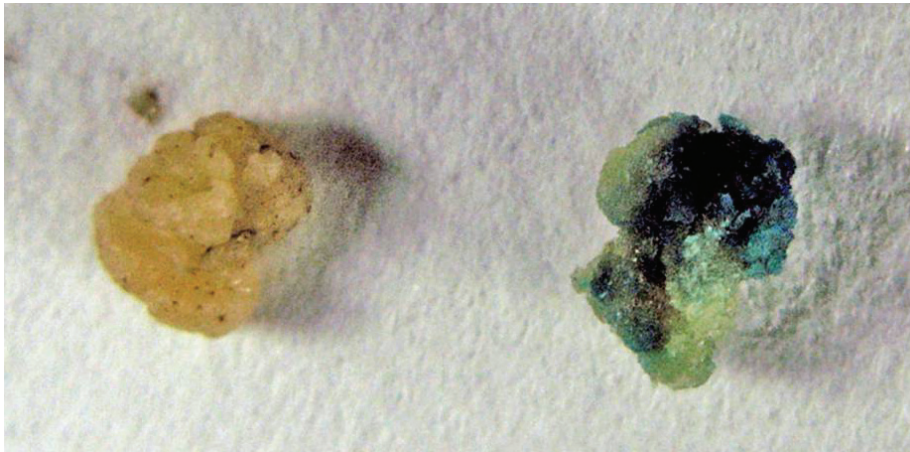


図18-8 ウラルカンゾウの形質転換カルスのGUS発現(左:非形質転換体、右:形質転換体)

2. 3 年度毎の特許、論文、外部発表等

特許、論文、外部発表等の件数（内訳）

区分 年度	特許出願			論文		その他外部発表	
	総数	外国 (内数)	PCT 出願 (内数)	査読付 き	その他	学会・講演 会発表等	プレス 発表等
H14FY	1 件	件	件	11 件	6 件	41 件	0 件
H15FY	3 件	0 件	0 件	23 件	5 件	125 件	1 件
H16FY	11 件	0 件	2 件	35 件	4 件	146 件	2 件
H17FY	15 件	4 件	3 件	38 件	10 件	176 件	0 件
H18FY	12 件	2 件	1 件	45 件	6 件	131 件	2 件
H19FY	6 件	0 件	1 件	46 件	4 件	136 件	6 件
H20FY	6 件	1 件	0 件	50 件	10 件	176 件	8 件
H21FY	6 件	1 件	0 件	72 件	14 件	111 件	11 件
合 計	60 件	8 件	7 件	320 件	59 件	1,042 件	30 件

注：H21FY にはプロジェクト終了(H22/2/26)後の発表を含む

## IV. 実用化の見通し

### 1. 事業全体の見通し

本プロジェクトの大目標は工業原料の生産に、過去の太陽エネルギーの産物である化石資源に依存せず、現在の太陽エネルギーの産物である植物資源を利用する技術開発である。既存の文明体系と工業技術体系の変革を目指すもので、その達成は巨大な既存技術の一部否定でもあり、容易ではない。しかし、具体的にはパルプ・ゴム資源の増産、パルプ・ゴム資源から新たな工業原料の生産、アミノ酸・ペプチド・タンパク質・カロテノイド・グリチルリチン・ステロイド・ヒアルロン酸などの機能性物質・生理活性物質等の生産とそれに付随したCO<sub>2</sub>削減は時代の要請でもあり、プロジェクト終了時点で実用化の目処が立ったものもある。化石資源にとって代わる植物による工業原料の生産が、一部でも実用化に成功すれば、その波及効果は大きく、多くの工業原料に影響を及ぼし加速的に促進されると期待している。原油価格の長期的な上昇傾向も、プロジェクト成果の実用化にプラスに作用するであろう。

これを実現するために、従来のピンポイント式の有用遺伝子の植物への導入ではなく、ポストゲノム時代に対応し、モデル植物でゲノム・転写物・代謝産物を網羅的解析し、論理的に鍵となる代謝反応を突き止め、これを実用植物に応用する体制を取り知的財産を確保に努めた。これには、植物の一次代謝の場である葉緑体での遺伝子発現、発現制御の網羅的解析と応用も含まれる。これらの基盤技術は食糧増産、バイオ燃料・機能性物質の生産に直接利用される可能性が十分ある。

但し、わが国の消費者は遺伝子組換え植物に対して依然として拒否反応を示しており、実用化における重要な阻害要因となっている。研究開発実施者は国民への説明を積極的に行うべきである。それには安全性を説くだけでは不十分で、まず情報公開が基盤となると認識し、プロジェクト開始2年目に前例のない市民講座を東京と大阪で開催するなど広報・普及活動も積極的に行った。また、環境・生態系への安全性試験も初期から取り組んで、安全性試験を終えた後には遺伝子組換え植物の栽培を行っている海外での実用化も視野に入れている。

### 2. 研究開発項目毎の見通し

#### ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

##### (1) 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析 (かずさDNA研究所)

かずさDNA研究所が受託している研究開発は、植物による物質生産に関わる基盤リソースの整備と植物物質生産機能の解析であり、その成果は直接的な事業化に繋がるものではない。しかし、本受託研究は、バイオ組合と共同で進めているので、得られた成果は、バイオ組合参画の組合員会社に提供することを共同研究契約で定めている。よって、本受託研究の成果は、それら参画会社での実用化研究とそれに引き続く事業化に貢献すると考えられる。

##### (2) 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)

光独立栄養条件下で栽培したシロイヌナズナのアミノ酸含量や網羅的遺伝子発現データはこれまでにないものであり、オリジナリティがあるだけでなく、実用作物の育種にとって有益な情報である。Gene Chipを用いた網羅的な遺伝子発現情報を取得しており、これらの情報は、他のテーマにおいても有用な情報であると考えられる。

アミノ酸の市場規模は、推定1兆円を超え拡大している。アミノ酸の製法は、糖糧作物の糖を

原料とする発酵法が主であるが、アミノ酸によっては合成法、抽出法なども利用されている。合成法は安価であるが DL 体の混合物であり分離が必要である。また、抽出法は動物由来タンパク質の分解によるなどの課題がある。したがって、作物で直接アミノ酸類が生産できると、石油エネルギーに依存しないアミノ酸生産方法の提供につながる。また、既存事業であるため、製法転換と、新製品開発の両面をもつ。競合他社、マーケットの状況から、アミノ酸の種類、用途により対象とする植物を選定し、重要性が見出された遺伝子の発現制御を行う。モデル植物での解析評価の後、実用作物での検証を実施し、特許化を進める。この時点で、自社開発、共同開発、ライセンスを判断する。

本研究は、アミノ酸、アミノ酸を出発物質とするペプチド、タンパク質、二次代謝産物の効率的な生産技術につながるだけでなく、効率的な転流技術は、成長の早い植物の育種にも応用できる。

### (3) 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発 (RITE)

本プロジェクトは、「1. 1 NEDO の関与することの意義」でも記述したとおり、国家の技術戦略上は重要な技術開発であるものの、実用化には、多くの技術的障壁や社会的障害が存在しており、現時点では、基礎的／基盤的研究開発と位置付けられる。

本プロジェクトの本来の出口は、石油などの化石資源を出発材料とする石油化学系化学産業に対して、光合成植物が生産するバイオマスを出発材料とする、いわばバイオマス系化学産業において、原料／燃料となるバイオマスを効率的に生産する植物種・品種を効率的に作り出すことを可能とする技術体系にある。この技術体系は、i) 改変対象となる物質生産プロセスの解析技術・データベース整備、ii) 物質生産プロセスを改変するのに必要な多様な遺伝子資源の確保と整備、iii) 生体内の複数の物質生産ステップを制御するための複数の遺伝子の効率的／安定的導入技術、iv) それらの遺伝子の機能の発現制御技術などの要素技術から構成される。

葉緑体における物質生産プロセスの解析及び制御基盤技術開発においては、葉緑体を対象に、これらの要素技術のうち、物質生産プロセスの解析（タンパク質、メタボローム）、葉緑体への遺伝子導入技術、遺伝子発現の翻訳／転写過程での制御、光合成産物であるソースをそれぞれの工業原料に対応するシンク部分に特化した形で流すための代謝改変手法の確立、データベース整備などの重要な要素技術を確実に開発対象として包含しており、出口に向かって必要なステップを構成している。

今までに、それぞれの要素技術において複数の課題解決に取り組み、その成果を結集し、本来は、プロジェクト後半期にならなければ困難と考えられていた、基幹代謝系改良モデル植物の作出に、前倒しで着手に至っており、総論として、実用化へのステップを着実に歩みつつある。

これらの先にあるのは、バイオマス系化学産業へのバイオマス系工業原料／燃料の供給であり、例えば、セルロース等製紙原料、植物油脂を原材料とする燃料、塗料、化粧品、メバロン酸系の制御による天然ゴム等の生産増大につながる。また、アルカロイド、フラボノイド等の生産を強化するように特化させれば、ファインケミカルズの増産が期待できる。

また、本研究開発の実施により、葉緑体における物質生産関連遺伝子情報、それら遺伝子の転写・翻訳過程での発現制御に関する情報、生産される各種物質の情報に関するデータベースを構築し、実際の産業分野での植物による物質生産機能を活用する際に活用できるよう整備する計画である。具体的には、すでに公開している葉緑体関連情報検索ポータルサイト (ChloroplastNet)

をベースに、本サブプロジェクトの成果を公表できる基盤が整っている。別に構築した研究成果の共有システムについては、閉じた研究機関内で十分研究を醸成したあと、まとまった成果を公開する際の研究土壌として有効に機能するものとする。すなわち、本研究開発の実用化のもう一面として、葉緑体の物質生産に関する知的基盤整備を通じての公共的貢献が挙げられる。

また、総論としての実用化へのステップ、つまり、バイオマス系工業原料生産技術体系および葉緑体の物質生産に関する知的基盤整備以外に、それぞれ個々の技術において、個別の実用化課題が存在しているが、その状況／見通しは以下の通りである。

本研究開発のキーテクノロジーの一つである葉緑体形質転換は、まだ黎明期にあるが、現在一般に行われている核ゲノムへの遺伝子導入の限界を超えた高い可能性を持つ新しい技術である。本研究で、葉緑体に導入した遺伝子の発現制御技術を開発することで、葉緑体形質転換体の産業利用は新しい段階に入ると期待される。すなわち、本プロジェクトの本来の目的である、生分解性ポリマーなどの工業原料生産機能はもちろん、それ以外に機能材料や医薬品の生産、特殊な代謝能を強化・導入したスーパー植物（光合成強化、ストレス耐性強化、窒素固定能強化、水素生産など）の作製、さらには、母性遺伝による導入遺伝子の隔離が可能であることから、環境汚染物質除去能を付加した植物を利用したファイトレメディエーションへの活用等、幅広い産業ニーズが期待される。

また、葉緑体形質転換技術の発展は、他のオルガネラであるミトコンドリアの形質転換や物質生産プロセス制御、機能改変という技術につながる可能性が高く、これは、植物体内でのエネルギー生産の制御や、雄性不稔性の制御など、葉緑体工学とは異なる特徴を持つ産業上の出口への突破口となると期待される。

さらに、物質生産に係る遺伝子の、転写過程・翻訳過程での発現制御技術は、植物における物質生産プロセスの制御に限らず、バイオマス系工業原料を材料とする下流工程である生物系物質変換プロセス（石油化学の基幹科学技術を石油系ポリマー化学とするなら、バイオマス系ポリマー化学と呼べるかもしれない）における、多様な反応制御技術の確立にも大きな貢献を果たすと考えられる。

#### **（４）遺伝子特異的cDNAマイクロアレイの開発および細胞特異的遺伝子発現解析技術の開発とデータベース化（タカラバイオ）**

平成17年度には、研究開発を終了し、商業ベースで高品質・低価格のDNAマイクロアレイを製造する体制を整え、受託サービス事業を開始した。

開発したDNAマイクロアレイは長い断片を共有結合でつけたユニークなアレイである。また、搭載遺伝子数でも検出遺伝子数でも国内で市販されているシロイヌナズナのDNAマイクロアレイの中で最高のものである。さらに、蓄積データの多いGeneChip®（アフィメトリックス社製）との相関性も高い。コスト面を比較するとGeneChip®はシステムなど初期投資が必要であり一度の比較実験に2枚使うが本アレイでは汎用的なスライドスキャナーを使用し1枚で比較実験ができることから、低価格でGeneChip®と同等の高精度なデータが得られるメリットがある。

なお、DNAマイクロアレイ技術に関しては、米国アフィメトリックス社（Affymetrix社、米国カリフォルニア州）が、スポットティング法によるDNAマイクロアレイの分野をもカバーする広範な世界特許群を保有しており、米国では成立している（日本にも出願されている）。本研究機関は、平成12年9月5日付で、アフィメトリックス社から、スポットティング法による研究用DNA

マイクロアレイを、全世界で開発・製造・販売する非独占的な権利を取得しており、研究開発、製造、販売に障害はない。

また、平成17年度には、遺伝子特異的フラグメント作製技術を応用したノックダウン植物作製受託事業も開始した。

#### **(5) 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析（産業技術総合研究所）**

本研究では、モデル植物シロイヌナズナにおいて、ゲノム情報を基にした転写因子遺伝子の同定、分子系統解析、発現プロファイル解析、cDNA エントリークローンの整備、転写因子の過剰発現あるいはキメラリプレッサー過剰発現によって作成した形質転換体における物質生産系、成長・分化、ストレス応答等の形質変化の解析等により、転写因子機能を利用した統括的な遺伝子発現制御による物質生産プロセス制御の基盤技術開発の情報基盤、技術基盤となるような知見を得た。このような知見は、特定の有用物質生産能を改良した実用植物の開発や植物の生産性向上に有用な形質を付与した基盤植物の開発に有用であると考えられる。特に実用植物における物質生産の生産性向上の共通基盤となるようなバイオマス生産性に関連する形質の制御に関する機能については、植物種間での汎用性が期待される。転写因子の機能は、種を超えて共通している可能性が高く、本研究のモデル植物での解析によって明らかにされた有用機能等を実用植物に適用するための技術開発は、比較的短期間に効率的に行うことが可能であると考えられる。したがって、企業等との間での共同研究や技術供与により実用植物への適用性の検証、実用植物での利用技術の開発等をさらに推し進めることで、実用化が加速されると期待される。特に脂質合成、バイオマス生産、ストレス耐性等の制御に関わる転写因子について、シロイヌナズナと同じアブラナ科であるナタネでの有用性の検討を進めることで、より早期の実用化が期待される。

### **②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発**

#### **(1) 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化（日本製紙）**

ユーカリは製紙用原材料として、世界中で広く使用されている。しかしながら、原材料確保のための森林伐採は地球温暖化の原因の一つとして取り上げられている。そのため、紙パ各社は、積極的に海外植林を行い、製紙原材料を天然木から植林木に切り替えている。製紙用原材料であるユーカリの生産性を改良し、原材料を効率的に確保するために、日本製紙が保有する技術シーズである遺伝子導入技術や組織培養技術を利用し、耐塩性当を付与した組換えユーカリの開発に成功している。また、組換えユーカリの実用化には隔離ほ場での生物多様性影響評価試験が必須であり、現在、筑波大学と共同で隔離ほ場試験を実施し、日本国内における環境アセスメント作りに貢献している。実用化に向け、野外での組換え樹木の試験植林候補地を調査中である。

#### **(2) 循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の開発（王子製紙）**

本研究を達成することにより得られる細胞壁成分合成並びに木繊維細胞形態形成に関与する遺伝子群の情報、およびそれらを統括的に制御する技術については基本特許を取得する。これらの情報を用いて得られた遺伝子組換えユーカリ新品種の特性として、高セルロース、低リグニン、細胞壁の厚いもの、薄いもの、繊維長の長いもの、短いもの等様々な量的かつ質的な変化が期待される。このような新しい品種をクローン植林により大規模に育成することによって、セルロースを核にしたバイオマスの安定的供給が可能となる。

本研究において木質バイオマスを安定的にかつ大規模に育成し、植林による循環を行うことによって、従来の原料としての活用に加え、バイオマス変換による石油代替エネルギー、さらにはセルロースあるいはヘミセルロースから新規なプラスチックを創出する（技術的には可能）ことも充分考えられる。さらに、木質バイオマスの普及は、エネルギーセキュリティや環境問題の解決策になると同時に、農林業を始め新たな産業の開発や就労機会の創出にもつながる。

究極の目標は、あくまでも現況の化石燃料を使わない物作りとエネルギー活用である。従って、これを達成するための

- 1) 本事業成果を活用した植林の実施
- 2) 木質バイオマスの大量供給を前提とした新しい工業生産技術の向上と新規開発を強く進めなければならない。

### (3) トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発（日立造船）

実用化の見通しとして、これらの代謝制御技術に関わる研究成果から工業原料製品素材エラストマーや樹脂)の用途開発により各産業等への応用が早期に期待される。ゴムは石油と同価値を持つ工業原料であり、更にゴム生産に関与するこの代謝制御遺伝子の組換え体作出することによって、様々な用途に適したゴム産生能力を有する植物を創製することが可能となる。すなわち、ゴムの用途に応じて分子量構成を編成した原料提供が可能となるばかりでなく、不純物の少ない原料を提供できるなど、加工エネルギーを削減することが可能となり産業上の有用性が向上する。また、ゴムを始めとする木質バイオマスは、化石燃料に頼ることなく地上部での炭素循環型生態系を構築するにおいて重要な意味を持っている。

トチュウのトランス型ゴム（トチュウゴム）については、大量確保が困難であるがゆえに用途開発が遅れており、シス型ゴムに比べると産業製品は少ない。しかし、一昨年、大量生産技術が開発に成功したことから、トチュウゴムの特性を生かした用途の拡大が期待される場所である。同時に関連した遺伝子等の工業所有権による原料の知財保護など、独創的な研究・開発が遂行できるメリットを有している。ポリ乳酸由来のポリマー素材が注目されると同様にトチュウゴムの利用をも高めまる戦略によって商品価値を高める情報を発信することが必須である。

本研究の成果から生じるシーズとして、トチュウゴムがある。温帯圏で純度 95%以上の天然ゴムを産出することが可能となり、不純物が極めて少ないことから工業原料用途以外に、ゴムリファイナー技術による高付加価値のファインケミカルの創製が期待される。また、本プロジェクトは基盤技術開発として早急に構築され応用される領域にメタボローム技術があげられる。これらシーズに関わる技術開発は植物の一次代謝と二次代謝について、関わる多くの化合物の代謝活動を全体的にとらえることが可能となる。すなわち複雑な生合成経路を網羅的に解析することが可能となり、薬粧類の生産、健康食品、ひいては農業生産までもが計画的に制御され、目的にあった有用成分や香味等の創出が可能となり、農業生産は食料生産と工業原料生産といった人類活動に必須な新規産業に発展すると考えられる。そして、近未来に実用化されると考えられるシーズとしては、植物が代謝する代謝産物を人為的にコントロールして目的の場所に蓄積する技術開発可能になると推察される。これは人類が住めない劣悪な環境下（半砂漠・乾燥地・塩地）に耐える植物を作り栽培することによって、炭素固定を行う炭素循環型社会システムを構築する事が可能になるであろう。しかも、石油に変わる炭素エネルギーを創成することに繋がる技術になると考えられる。

そして、実用植物を用いてトチュウゴムの代謝制御研究を行う意義は大きく、21世紀後半にはこの技術開発の利用によって石油資源が枯渇し産業革命以前の自然なライフスタイルを営みながらも、人類は現在より実直で明るい社会活動を営むことが可能と考えられる。

#### (4) パラゴムのゴム生産制御技術の開発 (ブリヂストン)

現在、アグロバクテリウム法により取得した形質転換細胞から形質転換個体を取得するプロセスの最適化を行っている。このシステムが完成した後は、インドネシアBPPTにおいて、機能確認に成功したビタミンEの生合成遺伝子など実用的な遺伝子を導入したパラゴムノキの形質転換体の作出に集中して実験を行う計画である。また、BPPTは隔離温室など形質転換体の評価試験に利用可能な設備が整っており、組換え植物に関するインドネシア国内法の制定に直接関わっている研究員も在籍している。形質転換体の評価試験から栽培申請に至るプロセスについては、BPPTとの連携を継続することにより、より有力なパートナーとして機能し、事業化をスムーズに進めることができると予想される。現在、インドネシアにおける法体系はかなり整備されており、研究および実用化において特に妨げになる要素は見当たらない。しかし、現段階で実栽培されている植物はなく、法整備や申請、認可の状況についてはBPPTの協力のもと、逐次、情報収集を行っていくことが重要と考えている。

天然ゴムは、現在全世界で年間 1,000 万トン程度が生産されているが、合成ゴムに比較して耐久性が高いことや石油資源の枯渇が懸念される中、その重要性はますます高まりつつある。タイ、マレーシアなど、他の主要生産国では、いずれも生産量の現状維持、あるいは微増を計画しているのに対し、インドネシアにおいては、2010年の生産量は約 300 万トンで世界第2位あるが、国策で 10 年後は 440 万トンと大幅増の計画が打ち出されており世界最大の生産国になると予想される。10 年間で約 1.5 倍の生産増を実現するために、農園管理技術や高収量クローンの普及、病害対策などが施される予定であるが、国内需要の急激な増加が必須であることから、従来の技術のみで需給のバランスを維持することは非常に困難になると考えられる。そのためには形質転換などの手法で開発された新しい品種を早期に実用化することが強く望まれるところである。形質転換による優良品種の実用化の対象国として、インドネシアは最も適した国であると考えられる。

形質転換体作製によりパラゴムノキの優良品種が開発できれば、作付け面積が少なくても、多くの収穫量あるいは高品質ラテックスが得られるため、多くの需要の見込まれる天然ゴムの将来の安定供給に寄与でき、天然ゴムの優れた特性を生かした天然ゴム適用製品の拡大を図ることができる。

天然ゴムの製造に要するエネルギー(約 15GJ/t)は合成ゴムの製造エネルギー(100~150GJ/t)に比べ、極めて少なく、パラゴムノキによる二酸化炭素固定と合わせ、地球環境改善への効果が期待できる。また、その開発のプロセスが論理的、科学的であり、開発の速度も従来の交配法に比べ、スピードアップされ、今後のさらなる品種改良においても、今回開発した技術が大きなマイルストーンとなることが見込まれる。

#### (5) 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発 (常磐植物化学研究所)

##### 1) 成果の実用化可能性と課題

甘草エキスは、全世界で年間 5 万トンが生産され、医薬品、食品などのファインケミカルズ工業原材料として重要なものであるが、近年、乱獲による品質低下(グリチルリチン含有率の低下)



と、自生地の砂漠化が大きな問題となっている。そのため、今後主産国中国からの輸出が禁止される可能性が高く、グリチルリチン抽出素材の安定した供給のため、高含量カンゾウ品種や新たなグリチルリチン供給源植物の作出、及びそれらの栽培技術の開発が不可欠となると予想される。実用化に向けての課題は、グリチルリチン生合成遺伝子の取得が最優先されるが、グリチルリチン生合成経路を制御する因子や、その蓄積に関わる遺伝子レベルのメカニズム解明もまた大きな課題である。

## 2) 実用化までのシナリオ

本プロジェクトで目標としていた4個のグリチルリチン生合成関連遺伝子のうち、2個が単離・機能同定され、1個もほぼ単離・機能同定された。残る1個の遺伝子については、プロジェクト終了後も引き続き大学等との共同研究により単離・機能同定を行い、続く生合成制御因子の取得と代謝産物蓄積機構の解明につなげる。カンゾウへの遺伝子導入及び再分化技術については、引き続き大学等との共同研究を行い、3年以内の技術確立を目指す。ダイズによるグリチルリチン生産技術の実用化にあたっては、ソヤサポニン生合成遺伝子の発現抑制が必須であるが、現時点では全ての遺伝子は明らかになっていない。昨年、ダイズの全ゲノムが解読されたことから、数年内にはソヤサポニン生合成遺伝子が単離されることが予測されるため、その報告を待ってから実用化研究を進めることとする。

抽出素材としてのカンゾウ乾燥根の世界市場は年間約40億円と推定されているが、カンゾウエキスやグリチルリチンなどの付加価値を高めた素材市場は数百億円と推測される。カンゾウやグリチルリチンは古くから使用される成分であるため、市場規模の急激な変動は無いと考えられるが、環境保全の問題から、野生品採取から栽培化への流れは急速に進むと予想される。

## 3) 波及効果

近年、生薬製剤や食品の品質安定化やトレーサビリティへの要求が高まっており、グリチルリチン高含有率品種の作出と栽培化は、コストダウンのみならず品質保証の面からも、医薬品及び食品化学産業に対する波及効果が大きいものと思われる。また、本プロジェクトで公開したカンゾウEST情報は、トリテルペンサポニン生合成研究全般に寄与し、これを推進するものと考えている。

## (6) ステロイド生産制御技術の開発 (植物工学研究所)

代表的なステロールであるコレステロールは、現在、主として羊毛由来のラノリンを原料として供給されている。また、中間物質のスクワレンは鮫油を原料として生産されている。これらは動物原料のため供給が不安定であり、最近のBSE問題などイメージ的な面から動物由来原料は敬遠される傾向にある。そこで、アマ等の植物でスクワレンやコレステロールの高生産系を確立することにより、これら原材料の安全で安定的供給が可能になる。これに加え、生理活性を有するステロール関連物質の高生産系確立などの波及効果が期待される。最近酵母で、医薬用ステロイドを単純な糖源から生産できる可能性が示され、自己完結系としてはよりすぐれている植物での生産系確立が待ち望まれている。

本研究開発ではまず工業作物アマの効率良い形質転換系の確立に成功し、次いでHMGRの過剰発現によりアマ種子油中の総ステロール含量を1.5倍に増加させることに成功した。また同時にコレステロール含量も増加させることができた。このように実用植物での有用ステロール生産プロセス開発の端緒を開くことには成功したが、当面の目標である「コレステロールを種子油中

に 5%含むアマの開発」のためには、さらなる定量的改変と定性的改変を Step wise に組み合わせていかねばならない。

本研究で決定したカイコ由来遺伝子が *Fucoesterol epoxide lyase* 遺伝子であることが確認できれば、昆虫の植物ステロール変換酵素遺伝子を世界で最初に単離したことになる。この代謝経路は植物を捕食する昆虫や線虫に特異的に存在すると考えられているので、この酵素の阻害剤をターゲットとした新規農薬開発への道が開ける。

#### (7) カロテノイド生産制御技術の開発 (キリンホールディングス(～H19fy海洋バイオ研究所))

$\beta$ -クリプトキサンチンは $\beta$ -カロテンからゼアキサンチンの中間代謝物であるので、基本的にはすべての植物で生合成されているが、すぐに次の代謝物に変換されていくので、 $\beta$ -クリプトキサンチンを蓄積するものはほとんど無い。唯一の例外はウンシュウ(温州)ミカンであるが、ここにおいても蓄積量が少なく、多量に供給することは困難である(100～200 g の $\beta$ -クリプトキサンチン純品を生産するために5,000万円程度のコストがかかる)。したがって、本研究開発により植物の油性組織で高生産すること[1 mg/g(湿重量)以上]により初めて、安価で多量に $\beta$ -クリプトキサンチンを供給することが可能になる。 $\beta$ -クリプトキサンチンのように片方に極性基が導入されたカロテノイドは、最高レベルの非線形性を有することがすでに明らかにされており、次世代の光通信、光記録、及び、光論理回路用の光機能素材として競争力のある大きな産業に育つ可能性を秘めている。

アスタキサンチンは、オキアミ、カニ、エビ等の海洋生物に含まれる他、酵母 *Phaffia rhodozyma*、緑藻 *Haematococcus pluvialis*、海洋細菌 *Paracoccus* 属 N81106 株等によって生合成されることが知られている。また我々は、食用酵母 *Candida utilis* に *crtZ* と *crtW* 遺伝子等を導入・発現させ、アスタキサンチンを生合成することに成功している(Y. Miura et al, *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 1226-1229, 1998)。しかし、これらの生物により生産されるアスタキサンチン量は十分でなく、安価で多量に供給できないのが現状である。たとえば、高生産 *Phaffia* 変異株でも 4 mg/g 乾重量程度、湿重量換算では 0.6 mg/g 湿重量程度である。また、平成 12 年頃から富士化学工業(株)は高生産 *H. pluvialis* 株によりアスタキサンチンの商業生産を開始した。この場合、アスタキサンチンの生産レベルは 60 mg/g 乾重量(6%)とかなり高いが、生育速度が遅く 光照射が必要など 培養コストがかかるため、アスタキサンチン 1 g あたり 1,000 円の製造コストであった。一方、植物においては、アスタキサンチンを蓄積するものは無い(わずかに Adonis という植物の花に含まれるという報告あり)。アスタキサンチンは、養殖魚飼料や健康食品素材として有用性がはっきりしておりニーズが高いが、前述したように、従来の生物資源では製造コストがかかるため、天然物の供給量は全体の 5%程度であり、残りは化学合成品である。ただし、化学合成品は合成中間体や副産物等の不純物を含むため 養殖用飼料等に使用用途が限定されている(10%含有アスタキサンチンの販売コストは 1 kg あたり 12,300 円程度)。

本研究開発により植物の油性組織で高生産すること[1 mg/g(湿重量)以上]を通して、安価(1 g 当たり数百円の販売コスト)で多量に $\beta$ -クリプトキサンチンやアスタキサンチン等の有用カロテノイド色素(天然物)を供給することができれば、世界で年間 200 億円以上の市場に有利に参入することが可能になるだけでなく、強力な抗過酸化添加剤としての工業用油脂への適用等、新たな工業的用途開発も期待される。

我々は本研究開発を通して、1 mg/g(湿重量)以上の有用カロテノイド(アスタキサンチン

または  $\beta$ -クリプトキサンチンを主成分) を蓄積するトランスジェニック・ナタネ (またはアマ) の作出を目標に、最大 7 個の多重遺伝子からなるカロテノイド代謝鍵遺伝子発現用プラスミドをナタネに導入し、1 mg/g (湿重量) 以上の有用カロテノイドを蓄積するトランスジェニック・ナタネの作出を行うことができた (現存する作物の中ではトップレベルの生産量)。カロテノイド組成としては、アスタキサンチンの生産量は多くなかったが、ケトカロテノイドであるエキネノンやカンタキサンチンが主要カロテノイドとして合成されていた。また、ケトカロテノイド以外にも、 $\beta$ -クリプトキサンチン、 $\beta$ -カロテン、 $\alpha$ -カロテン、ルテイン等の有用カロテノイドがバランスよく含まれていた。さらに、当初計画には無かったが、アスタキサンチン (58  $\mu$ g/g 湿重量; 全カロテノイドの 38% に相当) を主成分として産生する葉緑体形質転換 (トランスプラストミック) レタスの作出にも成功した。たとえば、この葉緑体形質転換レタスを健康食品として利用する場合、1 日当たり 6 mg のアスタキサンチンを摂取することが推奨されているので、本形質転換体の生産レベルだと 1 日 100 g (湿重量) のレタスを食べればよい計算になる。薬剤マーカー (スペクチノマイシン) による選抜を繰り返して、アスタキサンチンの生産量をさらに数倍上げて、実用に使う母本としたい。

最後に実用化への展望を述べると、ナタネ種子は、アスタキサンチンの効率的生産には向かないようだが、いろいろな有用カロテノイド (マルチカロテノイド) を同時に生産する手段として有用な宿主であると考えられ、アスタキサンチンの効率的生産には、レタス等の青菜が適していると考えられる。アスタキサンチン産生レタスを隔離室内で製造して販売する場合、食品としての安全性試験を行う必要があるが、カルタヘナ法第一種使用の環境影響評価試験を行う必要がないので、その分実用化が早いと考えられる。一年以内に母本の作出を行うことができれば、早ければ平成 25 年頃に商業栽培が可能になると考えられる。トランスジェニック・ナタネの場合は早くとも さらに 3 年間、実用化が後になるものと思われる。

#### (8) 外来糖質生産植物の研究開発 (東洋紡)

ヒアルロン酸は、化粧品素材、医薬品原料として長年利用されているが、近年、食品分野においても注目され、健康食品としての需要も急増している。現在、国内の年間生産量は 10 トンを超え、市場は拡大している。現在、ヒアルロン酸は、鶏冠からの抽出、微生物を用いた醗酵法により生産されている。一方、光合成により糖質を大量に合成できる植物は、ヒアルロン酸のような糖質の生産にふさわしい生産系であり、安全性、低コスト、低環境負荷等の面から産業上の利用価値は高いと考えられる。

本研究では、ヒアルロン酸の市場価格と作物栽培コストを基に、生産コストに見合ったヒアルロン酸の生産性を算出し、生産性の目標値を湿重量当たり 0.1% と設定した。

これまでに、植物の糖質合成経路を活用し、植物細胞内でヒアルロン酸合成酵素 (HAS) を発現させることにより、植物に存在しないヒアルロン酸合成経路を構築し、植物におけるヒアルロン酸の生産を可能にした。さらに、ヒアルロン酸合成に関わる糖ヌクレオチド代謝酵素を HAS 遺伝子と共発現させることにより、タバコ形質転換体の葉におけるヒアルロン酸生産量は目標レベルの湿重量当たり 0.1% を達成した。これらの知見を基に、実用植物として選定したジャガイモの塊茎においてヒアルロン酸が効率的に生産可能なことも検証された。植物によるヒアルロン酸の大量生産が可能になれば、コスト面や安全面から、新たな需要が広がり、市場全体 (化粧品、医療、食品等) の活性化等の波及効果が期待される。

## (9) 総合調査研究 (バイオ組合)

総合調査研究はプロジェクト運営の円滑化・効率化を行うものであり、それ自身での実用化は想定していない。再委託テーマの基盤技術としての有益性や進歩性について以下に示す。

### (9-1) 植物代謝産物に関する統合データ解析ならびデータマイニング

(奈良先端科学技術大学院大学・金谷教授)

GC-TOF-MS, FT-MS などの分析機器から得られるスペクトルデータ全体を比較するバイオインフォマティクス技術開発は、装置の開発に比べて非常に遅れており、本プロジェクトで世界に先駆けて独自に開発した FT-MS におけるマススペクトル生データからのピーク検出アルゴリズムならびに複数のスペクトルデータの比較を行い行列表現をするアルゴリズムは事業化の可能性はある。また、生物-メタボライトの関係に注目したデータベースシステムは、今のところ皆無であるため、植物の二次代謝を解析するためのボトルネックとなっており、本研究で開発を進めているデータベースによりこのボトルネックを解消できることとなり、現在公開している Web サイトへのアクセス回数から見ても、植物メタボライトに関わる研究者がいかにより必要としているかが伺える。今後、メタボライトに対する生物活性などのアノテーション技術を強化することにより、測定からピーク解釈に至る過程を通じた実用化につながる基盤的データベースになると考えられ、事業化の可能性もある。

本プロジェクトで権利化を目指している FT-MS スペクトラムからメタボライトの推定法アルゴリズムは、メタボローム解析の基盤技術として普及・実用化の可能性が大である。

マススペクトラム解析システムと発現プロファイルを統合する解析は、健康食品から医薬品、農医工学にわたる産業における市場があり、これらの分野に向けた事業化を進める。

### (9-2) ミヤコグサの細胞・器官培養系を用いた代謝物解析 (日本大学・綾部教授)

代謝成分の生合成を対象としたポストゲノム研究や新規遺伝子の解析には、二次代謝物を多く含み効率的な形質転換と凍結保存が可能な培養系が必要である。今後の検討が期待される。一方、本研究で誘導法を検討した毛状根は、大規模な解析のためには誘導のスループットをさらに上げる必要があるが、ポストゲノム代謝研究の材料として有力な選択肢の一つと考えられる。

### (9-3) DNA マイクロアレイによる細胞壁関連遺伝子群の発現プロファイル解析

(東北大学・西谷教授)

これまでの細胞壁関連遺伝子群の発現プロファイルから、細胞壁の新規機能の作出の可能性を秘めた有用な遺伝子特性に関する知見が得られている。これらの細胞壁成分の合成・分解に関わる転写因子および細胞壁タンパク質の機能改変を、ユーカリやポプラなどを用いた、形質転換樹木で進めることにより、高性能パルプの作出など、製紙産業において、求められてきた、高性能木質素材の新規創出に繋がる可能性が考えられる。

### (9-4) 導入遺伝子発現制御技術の開発 (クロマチン構造を介した新規発現ユニットの開発)

(奈良先端科学技術大学院大学・新名教授 (加藤助教))

染色体高次構造と遺伝子発現の関係は、ヒストンタンパク質の保存性等から鑑みて、特異的シ

エレメントと転写因子の関係に比べ、植物種特異性が低いことが予想される。このことから、開発した新規発現ユニットは、広範囲の実用植物での応用が期待できる。また、翻訳効率の異なる 5'UTR のカタログ化は、モデル植物であるシロイヌナズナだけでなく、実用植物を対象としても進める予定としており、目的とする工業原料を合目的にまた効率良く生産させるために開発される任意の遺伝子産物発現量が期待できる発現系は、代謝産物製造だけでなく、付加価値の高い単一ペプチドを生産する有用遺伝子組換え植物の分子育種などにも幅広い利用が期待できる。

#### (9-5) フェニルプロパノイド代謝系の制御に関わる転写調節因子遺伝子群の解析

(東京農工大学・小関教授)

フェニルプロパノイド合成系を改変することによって植物が生産する様々な工業原料、医薬品や染料剤原料として期待されるベンゼン環化合物の生産性の向上や、リグニン合成系を改変することでパルプ化におけるコストダウンと省エネルギー化が期待されている。シロイヌナズナを用いてフェニルプロパノイド合成に関わる酵素遺伝子の発現制御に関わると推定される転写調節因子 cDNA を 15 個得て、それらを過剰発現させるコンストラクトを作成してシロイヌナズナに導入して組換え植物体を得た。その結果、フェニルプロパノイド合成系に続く代謝系によって合成されるアントシアニンの蓄積が見られる個体、またリグニン合成系の遺伝子群の発現に変化の見られる形質転換体が見いだされた。さらに 1 つの転写調節因子 cDNA について、転写活性化領域を欠失させた cDNA をポプラに導入したところ、ドミナント・ネガティブ効果によってリグニン蓄積量の低下した形質転換体が見いだされた。このことから、1 つの転写調節因子を遺伝子導入することで、フェニルプロパノイド合成系の発現を人為的に制御することが樹木のモデル植物であるポプラにおいて可能であることが示され、~~≒~~この成果がその他の実用樹木植物において生かしていくことが期待される。

#### (9-6) モデル植物を用いた細胞壁形成及び心材形成の代謝プロファイリング

(京都大学・梅澤教授)

代謝工学的に植物代謝を改変し、有用工業原料を産生する植物を分子育種するためには、当該代謝に関わる遺伝子や代謝フローの特性化が必須であるが、従来基盤の目状のさまざまな平行経路の可能性の中から生理的に主要な代謝ルートを決定することは、きわめて困難であった。本プロジェクトで確立された、安定同位体標識体の投与とそれに引き続く代謝プロファイリング、すなわち動的メタボリックプロファイリングは、このような複雑な平行経路から生理的経路を特定するために極めて有用であり、機能ゲノム科学時代の植物代謝科学に対し、きわめて有用な一つの基盤技術を与えた。

また、本手法を用いることにより、質量分析計を用いたメタボローム解析において常に大きな問題となる、イオンサプレッションなどに起因する定量性の欠如の問題を回避することができる。よって、本手法は今後のメタボローム解析に対する有用な基盤技術となる。

#### (9-7) モデル植物における P450 依存の生体成分生合成・分解機能の網羅的解析

(大阪府立大学・太田教授)

本研究においてクローニングした P450 遺伝子の完全長 cDNA は、ABRC や理化学研究所 RAFL などの公的遺伝子資源リソースには存在しない。すなわち、これらの P450 機能解析

は大規模機能ゲノム科学プロジェクトでは網羅できない。

研究ターゲットとした P450 遺伝子の中から、すでにアブシジン代謝、ブラシノステロイド代謝、膜ステロール生合成、脂肪酸水酸化、グルコシノレート生合成に参与する新規の植物 P450 機能を解明した。これらの P450 遺伝子は、新規生体成分の生物工学的製造への応用が期待される。

Dmass と名付けた FTMS によるメタボローム解析システムの開発によって、メタボローム解析の高速化を実現した。Dmass プログラムは FTMS 分析結果（超精密質量値と分子式）をダイレクトにメタボライトデータベース KNApSAcK（奈良先端大）で検索し物質同定を可能にする技術を確立した。

メタボロミクス研究の最難関である物質同定を目的とした新規の解析手法を開発した。本方法では、元素の含有比率をプロットし（例：C/H 比と C/O 比）、元素組成比較の二次元マップを作成する。次に、実在する代謝産物の元素組成変化、すなわち酵素反応の基質と生成物の対応関係を網羅的に記載することで、マップ上に代謝経路が再構成できる。KNApSAcK データベースに格納されたメタボライト群から 6,928 個の酵素反応基質・生成物ペアのリストとして整備した。これらは、18 種類の酵素反応に分類される。FTMS メタボロミクスによって取得したメタボローム情報から代謝パスウェイ予測プログラムを奈良先端大（金谷重彦教授）から公開する。生化学的・有機化学的な整合性を基にして、メタボロミクスによって発見された新規化合物の生合成経路を推定することが可能になった。

#### （9-8）テルペノイド類等二次代謝系の代謝制御に関わる生理活性物質の機能解明と網羅的解析に必要な基盤情報の整備（東京工業大学・太田教授）

ジャスモン酸類等の生理活性物質は高等植物で二次代謝産物の合成制御を始め、老化促進、病害応答、形態形成など様々な生理機能を有しており、その機能の解明は、植物の代謝経路や生理機能を自在に制御する可能性を持つ。このように得られた成果および作成されるデータベースの波及効果、産業への影響等は非常に大である。

#### （9-9）パラゴムノキのシスプレニルトランスフェラーゼとその活性化因子の解析 （東北大学・古山教授）

低分子量ゴム粒子画分に見出されたゴム合成酵素の活性化因子様タンパク質遺伝子のクローニングを進め、天然ゴム生産に必要な遺伝子を植物系で過剰発現させることにより、天然ゴムの効率的生産系が確立すれば、有用バイオマス生産につながるばかりでなく、抗ラテックスアレルギー等の特性を備えた新規な天然ゴムなどの生産系の開発につながることを期待される。

#### （9-10）ステロール化合物の高産生植物の研究開発（石川県立大学・大山教授）

現在ステロール原料は、ステロイド化合物の生産増大によりその需要が増えつつあり、さらに、動物性のステロールの供給は BSE により、より安全な植物性ステロールの供給へと変化している。また将来的にもより高純度なステロールの大規模供給が可能である。基盤技術として、植物の持つ代謝系を遺伝子工学的に制御することにより、植物が本来持たない有益性や進歩性を付与できる。

#### （9-11）アカシアにおける組織培養・遺伝子導入系の開発（千葉大学・三位教授）

アカシア属には本研究で用いた林木、観賞用、薪炭やタンニンなどの二次代謝産物採取用など

多様な用途を持った植物が多数存在する。*Acacia mangium* や *A. auriculiformis* の材質や心材の腐朽などを改良するために、遺伝子組換えによる短期間の改良がますます望まれる状況になっている。またその他のアカシア類は多くがやせた乾燥地に自生するために、その遺伝的な改良を通して、耕作不適格地域の生物生産に大きく貢献できるものと期待される。本研究において確立されつつある広範なアカシア属植物を対象とした遺伝子組換え技術は、アカシア類を遺伝的に大きく改良する手段を提供するものであり、熱帯地域の農林業の発展や自然植生維持に大きな実用的貢献をするものと期待できる。

一方、カンゾウに関しては、国内におけるグリチルリチンの高含量系統の作出が早急に求められており、遺伝子組換え技術の適用がますます重要となっている。また、本プロジェクトにおいて、グリチルリチン合成系の重要な遺伝子が多数単離されていることから、本研究で確立されつつある遺伝子組換え技術は、近い将来、カンゾウを遺伝的に飛躍的に改良する手段となりうるはずである。その成果はカンゾウの国内生産はもとより、栽培適地である原産地での生産向上にも大きな貢献をするものと期待できる。

# イノベーションプログラム 基本計画

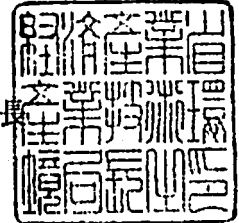
平成 21 年 4 月  
経 済 産 業 省



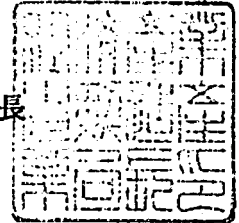
# 経済産業省

平成21・03・24産局第1号  
平成21年4月1日

経済産業省産業技術環境局長



経済産業省製造産業局長



環境安心イノベーションプログラム基本計画の制定について

上記の件について、イノベーションプログラム実施要領（平成16・07・27産局第1号）第4条第1項の規定に基づき、別添のとおり制定する。

## 環境安心イノベーションプログラム基本計画

### 1. 目的

資源制約を克服し、環境と調和した持続的な経済・社会の実現と、安全・安心な国民生活を実現するため、革新的な技術開発や低炭素社会の構築等を通じた地球全体での温室効果ガスの排出削減、廃棄物の発生抑制（リデュース）、製品や部品の再使用（リユース）、原材料としての再利用（リサイクル）推進による循環型社会の形成、バイオテクノロジーを活用した環境に優しい製造プロセスや循環型産業システムの創造、化学物質のリスクの総合的な評価及びリスクを適切に管理する社会システムの構築を推進する。

### 2. 政策的位置付け

第3期科学技術基本計画（2006年3月閣議決定）及び分野別推進戦略（2006年3月総合科学技術会議）における国家的・社会的課題に対応した研究開発の重点推進分野である環境分野及び国の存立にとって基盤的であり国として取り組むことが不可欠な研究開発の推進分野であるエネルギー分野に位置付けられるものであるほか、次のとおり位置付けられている。

○ 新産業創造戦略2005（2005年6月経済産業省）

先端的新産業分野として揚げられた戦略7分野の一つの「環境・エネルギー・機器・サービス」及び「健康・福祉・機器・サービス」に該当し、「技術戦略マップ」を活用し、効果的な研究開発を促進することが今後の取組として指摘されている。

○ 「新・国家エネルギー戦略」（2006年5月経済産業省）

省エネルギーフロントランナー計画において省エネルギー技術開発の一層の推進を図ることとしている。

○ 経済成長戦略大綱（2006年7月財政・経済一体改革会議）

「環境と経済の両立を図るため、金融面からの環境配慮を進めるとともに、環境技術の開発、3Rイニシアティブやアジア環境行動パートナーシップ構想による優れた技術・制度の国際的な普及と標準化等に向けた取組を進める」との方針が示されている。

○ イノベーション25（2007年6月閣議決定）

イノベーション立国に向けた政策ロードマップ—社会システムの改革戦略—早急に取り組むべき課題「環境・エネルギー等日本の科学技術力による成長と国際貢献」において、「環境・資源・エネルギー等の世界的制約となる課題の解決に貢献し、技術開発や環境整備を通じて持続可能な産業体系・社会基盤・生活を実現することにより世界と日本の経済成長の原動力とするエコイノベーションを実現すべきである。」との方針が示されている。

イノベーション立国に向けた政策ロードマップ—技術革新戦略ロードマップ「世界的課題解決に貢献する社会—ものづくり技術分野」の中で「3R型設計・生産・メンテナンス技術、製品の設計・製造段階でのリサイクル阻害物質の使用排除を可能とする技術、製品中の有用・有害物質管理技術の開発・標準化」が資源を有効利用し、環境に配慮したものづくり技術として位置づけられている。

○ 21世紀環境立国戦略（2007年6月閣議決定）

今後1、2年で重点的に着手すべき八つの戦略の中で「3R関連法制度等の充実や技術開発の支援を通じて、製品のライフサイクル全体での天然資源投入量の最小化や

再生資源の高付加価値製品への利用を促進し、資源生産性の更なる向上と環境負荷の低減を図る」との方針が示されている。

同じく、今後1、2年で重点的に着手すべき八つの戦略のうち「環境・エネルギー技術の中核とした経済成長—環境技術・環境ビジネスの展開」において「環境重視・人間重視の技術革新・社会革新を図る「エコイノベーション」というコンセプトの下、我が国の強みである「ものづくり」と「環境・省エネ」の技術力を梃子に、持続可能な生産システムへの転換、ゼロエミッション型社会インフラ整備、環境価値を重視した持続可能な生活の実現に向けた技術革新と社会システム改革を一体的に推進し、その成果をOECD等を通じて世界に発信する。」との方針が示されている。

- 「地球温暖化対策技術研究開発の推進について」（2003年4月総合科学技術会議）  
総合科学技術会議重点分野推進戦略専門委員会に設置された温暖化対策技術プロジェクトチームでまとめられた上記報告書における研究開発推進戦略に対応するものである。
- 京都議定書目標達成計画（2005年4月閣議決定）  
目標達成のための対策と施策のうち地球温暖化対策技術開発の推進に位置づけられるものである。
- Cool Earth—エネルギー革新技術計画（2008年3月経産省公表）  
重点的に取り組むべきエネルギー革新技術「21」を含むものである。
- 低炭素社会づくり行動計画（2008年7月閣議決定）  
「低炭素社会を目指し、長期目標を実現するために重要な革新的技術開発の推進及び既存先進技術の普及促進を行う。」とされている。
- 産業構造審議会廃棄物・リサイクル小委員会基本政策ワーキンググループ報告書（2008年1月）  
「近年、安定供給が懸念されているレアメタルの中には、使用製品からの回収・再利用技術が確立していないものもあることから、回収された使用済製品から効率的に抽出するための新たな技術の開発にも取り組むべきである。」とされている。
- バイオマス・ニッポン総合戦略（2006年3月閣議決定）  
バイオマスの変換に関する戦略として、経済性の向上、革新的な変換技術の開発に取り組むこととしている。
- ドリームBTジャパン（2008年12月BT戦略推進官民会議取りまとめ）  
バイオテクノロジー（BT）を活用して、環境に優しい低炭素社会の実現と環境修復のための技術開発と実用化支援を行うこととしている。

### 3. 達成目標

#### I. 地球温暖化防止新技術

- (1) 世界全体の温室効果ガス排出量を現状に比して2050年までに半減するという長期目標を達成するため、経済成長と温室効果ガスの排出削減の双方を同時に達成できる革新的技術を開発するとともに、低炭素社会モデル構築に向けた取り組みを推進。

【目標】 世界全体の温室効果ガス排出量を現状に比して2050年までに半減

- (2) 「京都議定書」で課せられた温室効果ガス削減目標の達成

（「京都議定書目標達成計画」に示された各部門の目安としての目標（基準年比）は以下のとおり）

【目標】

- ① エネルギー起源CO<sub>2</sub>： +1.3～2.3%
- ② 非エネルギー起源CO<sub>2</sub>： ▲0.04%
- ③ メタン： ▲0.9%

- ④ 一酸化二窒素：▲0.6%
- ⑤ 代替フロン等3ガス：▲1.6%

(※)「京都議定書目標達成計画」とは、「地球温暖化対策の推進に関する法律」に基づき、「京都議定書」の▲6%削減約束を確実に達成するために必要な措置を定めるものをいう(平成17年4月閣議決定、平成18年7月一部改定、平成20年3月全部改定)。

## II. 資源制約克服／3R

「第2次循環型社会形成推進基本計画(平成20年3月閣議決定)に基づき、2015年度までに以下の目標の達成を図る。

- ① 資源生産性：約42万円/トン(2000年度：約26万円/トン)
- ② 循環利用率：約14～15%(2000年度：約10%)
- ③ 最終処分量：約23百万トン(2000年度：約57百万トン)

(備考)

- 資源生産性=(GDP)/(天然資源等投入量)
- 循環利用率=(循環利用量)/(循環利用量+天然資源等投入量)

## III. 環境調和産業創造バイオ

バイオプロセスによって有用物質を生産し、廃棄物や汚染物質を発酵等により処理又は再資源化するという、循環型の産業システムを実現するために必要な技術基盤の構築を図るとともに、遺伝子組換え体の産業利用における安全性管理の充実を図る。具体的には、工業プロセスにバイオテクノロジーを導入することや、微生物や植物機能等を活用したモノ作り技術の開発、バイオマス利用、及びバイオ技術による産業廃水等処理技術の開発等を通して、環境調和型産業の創出に資する。

## IV. 化学物質総合評価管理

化学物質のリスクの総合的な評価を行いつつ、リスクを評価・管理するための技術体系を構築する。そのために、化学物質のリスクに係る国民の理解増進のための基盤、事業者が自らリスクを判断する手段及び国が規制等の施策を講ずる際の手段として、化学物質のライフサイクルにわたるリスクの総合的な評価管理を行うための手法を確立するとともに、リスクの削減に資するプロセス、手法の開発、さらには知的基盤を整備する。

## 4. 研究開発内容

### I-1. CO2固定化・有効利用技術

地球温暖化対策のため、排出される二酸化炭素を分離回収・固定化することや、有用物質に変換する技術を開発し、低炭素社会の構築に資する。

#### (i) 共通技術開発等

##### (1) プログラム方式二酸化炭素固定化・有効利用技術開発

###### ①概要

二酸化炭素の固定化・有効利用技術開発は、現時点においては基礎的な段階に属する研究が多く、長期的観点からの取り組みが必要不可欠。このため本事業では将来において実現可能性の高い二酸化炭素固定化・有効利用技術に関する革新的な技術シーズを発掘し、実現可能性を確認した上で、基盤技術として確立する。

###### ②事業期間

1999年度～2011年度

###### ③実施形態

適切な研究課題等を選定して研究開発を実施。

(2) 地球環境国際研究推進事業

①概要

地球温暖化問題の解決に向け、CTI（気候変動技術イニシアティブ）等の国際的な枠組みを活用し、諸外国の先進的取組との研究協力や、発展途上国への技術普及を進めることにより、世界的な温暖化問題への取り組みを強化する。

②事業期間

2002年度～2011年度

③実施形態

諸外国との連携のもと、テーマ毎に適切な体制を構築し実施。

(ii) 二酸化炭素回収・貯留（CCS）に関する技術開発

(1) 分子ゲート機能CO<sub>2</sub>分離膜の技術研究開発

①概要

二酸化炭素回収・貯留（CCS）の実用化に向け、最大の課題のひとつであるCO<sub>2</sub>分離回収コストの大幅低減を目指し、圧力を有するガスからのCO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>の分離用に期待されている膜分離技術の実用化のため、分子ゲート機能CO<sub>2</sub>分離膜の高圧下におけるCO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>選択性の向上、分離膜モジュールの大型化等に取り組む。

②技術目標及び達成時期

2015年頃において、石炭ガス化複合発電（IGCC）等で発生する圧力ガスから従来の3分の1程度（1,500円/t-CO<sub>2</sub>程度）のコストでCO<sub>2</sub>を分離回収することを可能とする膜分離技術の確立を目指す。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2) 二酸化炭素貯留隔離技術研究開発

①概要

二酸化炭素回収・貯留（CCS）（地中貯留及び海洋隔離）の実用化に向け、CCS実施における安全性評価・社会的信頼醸成に必要な基盤技術や手法の開発に重点的に取り組む。本事業の実施にあたっては、国内外で実施される実証事業等と必要な連携をしながら取り組む。

また、本事業で獲得した安全性評価等に関する知見を活用し、CCS事業を計画する上での基礎情報である、貯留隔離ポテンシャルの調査を行う。

②技術目標及び達成時期

貯留した二酸化炭素のモニタリング技術、挙動予測手法、環境・生物影響評価、安全性評価手法の開発、及び全国貯留層賦存量調査を行う。

③研究開発期間

フェーズ1：2000年度～2004年度

フェーズ2：2005年度～2012年度

注) 本事業は、平成20年度までの「二酸化炭素地中貯留技術研究開発」（うち実証試験を除く）と「二酸化炭素の海洋隔離に伴う環境影響予測技術開発」を統合したもの。

(参考：「二酸化炭素海洋隔離に伴う環境影響予測技術開発」の研究開発期間)

フェーズ1：1997年度～2001年度

フェーズ2：2002年度～2006年度

フェーズ3：2007年度～2011年度※

※当初単独事業として2011年度まで実施する予定であったが、2009年度

より地中貯留技術研究開発と事業統合。海底下帯水層への地中貯留等に係る、安全性評価・環境影響評価等にこれまでの成果を活用する。

(3) 二酸化炭素削減技術実証試験委託費

①概要

二酸化炭素回収・貯留（CCS）技術の実用化に向けた実証試験を行う。具体的には、火力発電所等の大規模発生源から分離回収したCO<sub>2</sub>を年間約10万トン規模で地下帯水層（地下1,000m程度）等へ貯留する技術を実証するとともに、長期挙動予測可能な二酸化炭素挙動予測シミュレーション技術、モニタリング技術等の基盤技術の確立を行う。

②技術目標及び達成時期

2015年度までに、CCS技術の本格導入となる、100万トン/年規模での地中貯留を実現するために必要な基盤技術を確立する。

③研究開発期間

2008年度（補正）～2013年度

(iii) 環境調和型製鉄プロセス技術開発（運営費交付金）

①概要

高炉ガスからの効率的な二酸化炭素分離と中低温排熱の有効活用及び水素を炭素（コークス）の一部代替として鉄鉱石を還元する革新的製鉄プロセスの開発を行う。

②技術目標及び達成時期

最終的な技術開発目標として製鉄プロセスにおけるCO<sub>2</sub>排出量を30%削減することを目指し、2050年までに実用化する。

③研究開発期間

2008年度～2017年度

(iv) 大規模植林

(1) バイオ技術活用型二酸化炭素大規模固定化技術開発

①概要

バイオエタノール化に適した樹木への環境耐性付与を遺伝子技術により実施し、これら原料樹木の不良環境下での効率的な植林技術を開発する。

②技術目標及び達成時期

事業4年目までに、未利用の不良環境地でも生育できる高セルロース樹木を遺伝子技術により開発し、実証植林を行う。

③研究開発期間

2008年度～2011年度

I-2. 脱フロン等技術

代替フロンの排出量を抑制するため、代替フロンを削減する技術（脱フロン等技術）を開発する。

(1) 革新的ノンフロン系断熱材技術開発（運営費交付金）

①概要

エネルギー需給構造の高度化を図る観点から行うものであり、住宅・建築物の省エネルギーという社会適用性に応えるため超微細発泡等による断熱性能の向上のための技術開発を行う。

②技術的目標及び達成時期

既存のノンフロン断熱材では達成できていない断熱性能を実現し、更には従来のフ

ロン断熱材の断熱性能を超える高断熱性能を実現する断熱材を2012年頃を目途に開発する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(2) ノンフロン型省エネ冷凍空調システムの開発（運営費交付金）

①概要

エネルギー需給構造の高度化を図る観点から行うものであり、家庭用・業務用及び運輸用エアコン及びショーケース等に使用可能なノンフロンかつ高効率を達成でき、安全性についても配慮された新たな冷凍システムの開発を行う。

②技術的目標及び達成時期

2009年度までに、ノンフロン（自然冷媒等）型省エネ冷凍・空調システムを開発する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

II. 資源制約克服／3R

(i) 金属資源等3R対策

(1) 希少金属等高効率回収システム開発（再掲）

①概要

小型電子・電気機器にはベースメタルや、金、銀等の貴金属の他、インジウム、ニッケル等の希少金属等を含有している。現状では、これらの機器が廃棄された後は、非常に高温で処理する乾式製錬技術を用いてリサイクル・処理されているため、多大なエネルギーを消費するばかりか、回収可能な金属が銅、金、銀等に限定されており、その他の希少金属等は回収できずに廃棄処分されている。このため、湿式製錬技術を活用した高効率な最適技術の開発等を通じて、回収工程の省エネルギー及び希少金属等の回収率向上を図る。

②技術目標及び達成時期

- ・従来方法（乾式製錬）で処理する場合に比べて、大幅な省エネルギーの実現（省エネルギー効果：原油換算で約78万kl/年削減）
- ・廃小型電子・電気機器、廃超硬工具等中に含まれる希少金属等の回収率の向上（インジウム0%→90%、ニッケル50%→95%、コバルト0%→95%、タンタル0%→80%、タングステン90%→95%、レアアース0%→80%）

③研究開発期間

2007年度～2010年度

(2) 希土類金属等回収技術研究開発

①概要

今後、普及拡大が見込まれる製品の製造工程において排出されるレアアースを含む不要物など技術的・経済的に抽出が困難なレアアース含有物について、レアアース等有用金属のリサイクル技術の研究開発を行う。

具体的には、液晶パネル用ガラス、ハードディスク用ガラスの製造工程等で使用された低品位状態のレアアースについて高品位化し再利用するための技術開発を実施する。

②技術目標及び達成時期

液晶パネル用ガラス、ハードディスク用ガラスなどの精密な表面処理が必要な製品の研磨に使用されているセリウム等のレアアースを含有する研磨剤について、

研磨廃滓中のレアアース成分と不純物の分離に新たな低温での化学的・物理的プロセスを確立・導入（具体的には低温での効率的な化学処理や、研磨剤成分ではなく不純物を物理的に分離する回収プロセスに変更する等）することでレアアース回収プロセスの低コスト化及びエネルギー使用合理化を目標とする。

③研究開発期間

2008年度（補正）～2012年度

(3) 希少金属代替材料開発プロジェクト（再掲）

①概要

希少金属は、特殊用途において希少な機能を発揮する一方で、その希少性・偏在性・代替困難性から、市場メカニズムが必ずしもうまく機能せず、その供給停止は川下の経済成長の制約要因となりうるリスクを伴っている。近年、「コンピュータによる材料設計」、「ナノテクによる微細構造制御」等が飛躍的に向上した結果、従来できなかった、「コンピュータによる最適制御設計による候補元素系の探索」、「結晶粒界、界面の制御等マイクロ構造の制御」等が可能となりつつあることから、こうした最先端技術を用いることで、希少金属の新たな代替／使用量低減技術を開発する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに、以下希少金属元素の使用原単位について現状と比較して以下の低減ができる製造技術を開発し、ユーザー企業、大学等の外部機関に対して機能評価のためにラボレベルで提供できる（試料提供）水準に至るまでの技術を確立することを目標とする。また、製品の機能や製造コストは現状と同等を少なくとも維持することを前提とする。

- ・透明電極向けインジウム（In）：現状から50%以上低減
- ・希土類磁石向けディスプロシウム（Dy）：現状から30%以上低減
- ・超硬工具向けタングステン（W）：現状から30%以上低減

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(ii) 水資源制約克服

(1) 環境調和型水循環プラント実証事業（運営費交付金）

①概要

我が国が強みを持つ、膜技術を始めとする水処理技術を活用し、省水型・環境調和型の水循環システムを開発するとともに、海外展開等を支援する。

②技術目標及び達成時期

2013年度までに省水型・環境調和型の水循環システムを確立し、以降、国内外の水不足が深刻な地域へ当該水循環システムを順次普及させる。

③研究開発期間

2009年度～2013年度

(2) 環境調和型水循環技術開発（運営費交付金）（再掲）

①概要

我が国が強みを持つ、膜技術を始めとする水処理技術を強化し、省水型・環境調和型の水循環システムの開発に資する省エネ・省水型の要素技術を開発する。

②技術目標及び達成時期

2013年度までに、以下の技術を開発する。

- 革新的膜分離技術の開発：  
従来法に比べ膜透過加圧エネルギー等を50%以上削減。



- 省エネ型膜分離活性汚泥法（MBR）技術の開発：  
従来法に比べ膜洗浄の曝気（空気気泡）エネルギー等を30%以上削減。
- 有用金属・有害物質の分離・回収技術の開発：  
従来法に比べ汚泥の削減により汚泥処理・処分エネルギーを80%以上削減。
- 高効率難分解性物質分解技術の開発：  
従来法に比べ窒素処理に係るエネルギーを50%以上削減。  
オゾン酸化法等のエネルギーを50%以上削減。

③研究開発期間

2009年度～2013年度

Ⅲ. 環境調和産業創造バイオ

(1) 植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発

(i) 植物利用エネルギー使用合理化工業原料生産技術開発（運営費交付金）

①概要

現在の化学工業プロセスに代わる、植物の有する有用物質生産能を活用した省エネルギー・低環境負荷型の工業原料生産プロセスへの変換を促進する。具体的には、工業原料の生産に関わる重要な物質生産プロセスに関する代謝系をゲノム情報に基づき解析するとともに、有用物質生産制御に必要な一連の代謝遺伝子群の発現を統一的に制御する技術の開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、工業原料として有望なバイオマスとしてイソプレノイド、油脂などの有用物質生産に関わる代謝経路とその調節メカニズム及び生産物質の蓄積・移動に係るメカニズムの解析を行い、関連遺伝子情報を整備するとともに、統括的発現制御技術を開発する。

③研究開発期間

2002年度～2009年度

(ii) 植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発

①概要

動物や微生物による物質生産と比較して、安全性が高い、生産コストが低い、省エネルギーで環境調和型といった特徴を有する植物を活用した高機能タンパク質等の高付加価値物質生産（モノ作り）の基盤技術を開発するために、有用物質を高効率に高生産させる組換え植物の基盤技術を開発するとともに、閉鎖型人工環境下での高効率な栽培技術の開発を一体的に進める。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、実用植物において実用可能なレベルまで有用物質を効率的に高生産・高蓄積させる組換え植物を開発するとともに、目的有用物質を安定かつ均一に生産・蓄積させる栽培技術を確立し、その生産の実用性を閉鎖型人工環境下において確認する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2) 微生物機能を活用した環境調和型製造基盤技術開発（再掲）

(i) 微生物機能を活用した高度製造基盤技術開発（運営費交付金）

①概要

エネルギー需給構造の高度化を図る観点から行うものであり、省エネルギーかつ環境負荷が少ないといった特徴を有する微生物機能を活用した有用物質の革新的な生産プロセス（モノ作り）の技術を構築するため、産業用途に必要な機能既知遺伝子で構成されたゲノムを持ち、物質生産性向上につながる性能を備えた高

性能宿主細胞の創製や、微生物反応の多様化・高機能化技術を開発するとともに、バイオマスを原料として有用物質を体系的かつ効率的に生産する（バイオリファイナリー）ための基盤技術を開発する。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、物質生産性向上につながる性能を備えた高性能宿主細胞を創製するとともに、バイオプロセスの実用化適用範囲の拡大のための微生物反応の多様化・高機能化技術の開発を行う。バイオリファイナリー技術については、バイオマスを高効率で糖化し、糖から高効率で各種化成品の基幹物質を生産するバイオプロセス体系を構築する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(ii) 微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発（運営費交付金）

①概要

エネルギー需給構造の高度化を図る観点から行うものであり、従来エネルギー多消費・廃棄物多排出型であった廃水・廃棄物処理において、微生物群の構成及び配置等を人為的に制御（デザイン化）することで、その処理効率を大幅に向上させ、省エネルギーで廃棄物も少ない高効率型廃水、廃棄物処理の基盤技術を確立する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに、特定有用微生物群を人為的に安定導入・維持もしくは人為的に空間配置・優先化させる等のデザイン化技術を開発し、従来の廃水、廃棄物処理に比べより高効率で省エネルギーな処理技術を開発するとともに、実用化に資するための実証可能なテストプラント規模にて評価する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(3) バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発（再掲）

①概要

食料と競合しないセルロース系バイオマスからバイオ燃料を製造する革新的技術の開発を軸に、バイオ燃料生産に有用な遺伝子組み換えによる植物・微生物の開発等、バイオ燃料のコスト競争力強化に資するバイオリファイナリーの一環として、ブタノール、プロピレン等の製造技術の実用化を目指した開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2013年度までに、セルロース系バイオマスを原料とし、バイオ燃料製造の従来技術に比べて画期的に優れた効率や低コスト化を可能とする糖化・発酵等の基盤技術を開発するとともに、バイオマス利用に資する微生物の利用基盤技術の開発を行う。さらに、プロパノール等の高効率取得のための触媒開発等により、化成品製造の実用化を目指した技術開発を行い、バイオマスに関する燃料分野と化成品分野の融合・連携を図る。

③研究開発期間

2007年度～2013年度

IV-1. 化学物質総合評価管理

(1) 化学物質の最適管理をめざすリスクトレードオフ解析手法の開発（運営費交付金）

①概要

化学物質のリスクを共通指標で比較、検討し、事業者等における代替物質の選択の際に、リスクの相互比較が可能となるリスク評価手法及び社会経済分析等リスクトレードオフ解析手法を構築する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに、代表的な化学物質用途群につき、化学物質のライフサイクルに応じたあらゆる暴露を考慮した排出量推計手法や室内暴露評価手法等環境動態解析手法を構築する。さらに、用途群内の物質間でのリスクトレードオフ解析手法を開発する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(2) ナノ粒子の特性評価手法開発（運営費交付金）（再掲）

①概要

ナノ粒子のキャラクタリゼーション、計測技術の確立とともに、生体影響等評価手法、暴露評価手法及びナノテクノロジーによるリスク不安に対処したリスク管理手法を開発する。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、生体影響等評価手法、暴露評価手法及びリスク評価手法を開発し、ナノ粒子のリスク評価及び管理の考え方の提言を行う。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(3) 構造活性相関手法による有害性評価手法開発（運営費交付金）

①概要

従来動物実験による反復投与毒性試験に代わり、*in silico* や類推等を用いた予測・評価を可能とするため、既知の毒性情報を整備したデータベースを基に、よりの確に効率よく毒性を評価可能とする有害性評価支援システムを構築する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに、公開されている反復投与毒性試験データや毒性作用機序情報が搭載されたデータベース、肝臓における代謝産物・代謝経路を予測する手法、及び対象とする化学物質の標的臓器・症状やその毒性の強さの範囲等を予測する手法を開発する。さらに、それらを統合して毒性判断に必要な情報を効率的に抽出する有害性評価支援システムを構築する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(4) 石油精製物質等簡易有害性評価手法開発（運営費交付金）（再掲）

①概要

石油の生産及び流通の合理化を図る観点から、石油製品等に含まれる化学物質によるリスクを把握し、必要な対策を適切に行うことを可能とするため、*in vitro* 培養系技術等の活用により遺伝子組換え細胞等を用いた *in vitro* 系簡易有害性予測手法、また、トキシコゲノミクスを活用した短期動物試験結果と相関する遺伝子発現データセットを開発する。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、遺伝子導入技術、幹細胞分化誘導技術、生物発光技術等を適用した培養細胞を用いて、試験期間1ヶ月程度、発がん性、催奇形性及び免疫毒性を予測評価できる試験手法を開発し、また、遺伝子発現解析技術を短期動物試験に適用し、28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットを完成させる。また、標準的な試験プロトコルを策定する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

#### IV-2. 化学物質リスク削減技術開発

アスベスト含有建材等回収・処理等技術開発事業（運営費交付金）

##### ①概要

今後、大量の排出が予測されるアスベスト含有建材等の廃棄物を対象として、そのアスベスト含有状況について簡易かつ確実な探知・分析を可能とし、安全性、信頼性の高い回収・処理を実現する関連機器・システムの技術開発を行う。

##### ②技術目標及び達成時期

2009年度までに、アスベスト含有製品の使用時、解体・回収・廃棄時においてオンサイト方式で検出感度0.1wt%超レベルに検出できる計測技術を確立し、アスベストを含む建材等の回収・除去現場におけるアスベストの飛散及びばく露を最小化し、回収・除去の安全性及び信頼性等を確保する技術を確立する。また、アスベスト含有廃棄物の無害化処理における安全性、効率性に優れた技術を確立する。

##### ③研究開発期間

2007年度～2009年度

#### V. その他

エコイノベーション推進・革新的温暖化対策技術発掘・実証プログラム（運営費交付金）

##### ①概要

エコイノベーション（環境重視・人間重視の技術革新・社会革新）の創出および、低炭素社会の構築のため、それに資するテーマを公募し、その実現可能性調査や地域実証試験を実施する。発掘された技術シーズや実証された有望な社会システムモデルは広く国民に示し、民間におけるエコイノベーション推進や低炭素社会構築に関する研究や取組を加速させる。

##### ①技術目標及び達成時期

FS結果や実証モデルから生み出された公的機関の実施する研究開発件数や民間主導の取り組みモデル件数を事業のアウトカムとしてモニタリングする。

また、OECDにおいて、エコイノベーション・ロードマップとともに、その進捗を測る指標の2010年を目処にした作成が検討されているところ。こうした指標を参考とし、エコイノベーションが進展する度合いの数値化を可能にした上で調査段階でこれらの指標を設定し国際比較を行う。

##### ②研究開発期間

2008年度～2012年度

#### 5. 政策目標の実現に向けた環境整備（成果の実用化、導入普及に向けた取組）

##### 【導入普及促進】

- 排出量の多い品目・業種や処理困難物を中心にリサイクルシステムなどの実証・市場化対策に関するフィージビリティ・スタディを実施する。
- サプライチェーングループを対象に、部品等の仕様と原材料の使用・副産物の発生状況等に関する診断を実施し、製品設計及び製造プロセスの同時改善の方向性に関する提案、指導を行うとともに、取組事例を分析・評価し、資源投入量の抑制効果の高い優良な事例を公開する。
- 商品選択に資するわかりやすい3R配慮情報（省資源性や再生資源・部品の使用状況等）を消費者に提供し、環境配慮型製品の市場拡大を推進するため、指標の策定や、情報提供手法の確立、製品の情報検索が可能なシステムの検討・開発を行う。
- 3R対策が講じられている製品等の市場開拓を促進するため、政府が環境物品等を率先購入することを定めたグリーン購入法について、同法の判断基準が引き続き3R対策

を適切に反映するようにしていく。

- 化学物質の有害性評価、暴露分析、リスク評価等のデータベースの構築を図るとともに、それらの手法の各種活動（事業者の自主管理活動、事業者、地方自治体等が国民とリスクコミュニケーションを図る活動等）等への導入を図る。
- 公害防止設備に対する優遇税制等の支援を行う。

#### 【法規制・制度改革】

- 二酸化炭素回収・貯留（CCS）の国内での本格実施に必要な法規制・制度の整備等に関して検討を行う。
- 資源有効利用促進法等のリサイクル関連法制度によるスキームを活用して、3R対策を網羅的に講じることにより、循環型社会の構築を図る。
- 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（カルタヘナ法）に基づく立入検査で査収した生物が遺伝子組換え生物であるか否かを判断するための基盤的な技術の高度化や収去方法を確立すること等により、的確な法律の執行体制を整備する。

#### 【ガイドライン】

- 事業者による自主的取組を促進する観点から、産業構造審議会において策定している「業種別・品目別廃棄物処理・リサイクルガイドライン」（自主的な目標の設定）について、3R対策を加速する観点から適宜フォローアップを行い、改定を行う。

#### 【基準・標準化】

- 各プロジェクトや民間における技術開発等で得られた成果のうち、標準化すべきものについては、適切な標準化活動（国際規格（ISO/IEC）、日本工業規格（JIS）、その他国際的に認知された標準の提案等）を実施する。
- CO<sub>2</sub>回収・貯留後のモニタリング、植林等によるCO<sub>2</sub>固定化量の計算、バイオマス利用時のCO<sub>2</sub>排出削減量の評価、環境影響や安全性評価手法など、CO<sub>2</sub>固定化・有効利用を推進するに当たって標準化が必要となる事項については、研究・開発状況や社会情勢を常に意識しながら計画的に標準化を推進する。
- リサイクル品などの3R配慮製品に対する需要の創出・拡大を図るため、「環境JIS策定促進のアクションプログラム」に基づき、リサイクル品等の品質基準及び試験評価方法の規格（環境JIS）の策定を引き続き推進する。
- バイオマス由来プラスチックにおけるバイオマス含有量測定の標準化を推進するとともに、生分解性プラスチックに係る微生物嫌気分解試験方法の国際標準化を着実に実施する。
- 石油精製物質等簡易有害性評価手法開発については、開発された簡易有害性評価手法等を2014年度を目途に経済開発協力機構（OECD）にテストガイドラインとして提案することを検討し、国際標準化を推進する。

#### 【調達促進】

- バイオマス由来プラスチック等、生物機能を用いた生産プロセスにより生産された製品について、グリーン購入法に基づく調達品目として位置付けられるべく検討を行う。

#### 【広報・啓発】

- 研究開発プロジェクトの成果について広く普及啓発を図るため、シンポジウム等を行う。
- 3Rの普及・促進を図るため、毎年10月を「3R推進月間」とし、この期間を中心として、3R活動への関係者の取組を促すための「3R推進功労者等表彰」や、循環ビジネス振興のための「資源循環技術・システム表彰」等の普及啓発活動を実施する。

#### 【知的基盤整備】

- 国内外との共同研究等を通じ、革新的な温暖化対策技術や方策についての情報交換に資する、情報ネットワークの構築等を行う。
- 物質生産用に関与された汎用宿主細胞や取得した生物遺伝資源は、独立行政法人製品

評価技術基盤機構に整備し、社会に幅広く提供する。

- 独立行政法人製品評価技術基盤機構の化学物質管理センターにて事業者・国民・公的機関の化学物質管理に関する冷静な対話（科学的知見の共有）を促進するための知的情報基盤整備を図る。

#### 【国際協力】

- 生物多様性条約に基づく遺伝子資源へのアクセス促進事業において、日本のバイオ関連企業の遺伝子資源保有国（途上国）の遺伝子資源に対するアクセスを促進するための技術的環境整備及び遺伝子資源へのアクセス実施の調整を行う。

#### 【他省庁との連携】

- 総合化学技術会議が推進する科学技術連携施策群の「食料・生物生産研究」及び「総合的リスク評価による化学物質の安全管理・活用のための開発技術」、ライフサイエンスPT、社会還元プロジェクトの下での関係府省間における適切な連携の実施。

#### 【プロジェクト等間の連携】

- CO<sub>2</sub>固定化・有効利用技術のロードマップに基づき、技術シーズ発掘型技術開発事業成果のプロジェクトへの取り込みや、プロジェクト間の連携により、低炭素社会モデルの構築に資する効果的なCO<sub>2</sub>固定化・有効利用システムの実現を図る。
- 植物機能を活用したモノ作り基盤技術開発に係る2つのプロジェクト間での、遺伝子高発現技術やモデル植物での基盤技術及び実用作物への技術展開に関する情報交換を推進する。

### 6. 研究開発の実施に当たっての留意事項

- ・事業の全部又は一部について独立行政法人の運営費交付金により実施されるもの（事業名に（運営費交付金）と記載したものは、中期目標、中期計画等に基づき、運営費交付金の総額の範囲内で当該独立行政法人の裁量によって実施されるものである。
- ・プログラム目標等については、京都議定書目標達成計画の評価・見直しプロセスに伴う対応を行う。
- ・各プロジェクトを横断的観点からマネジメントする体制を整備し、技術の進捗状況や社会情勢等を踏まえた適切な資源配分、技術成果のレビュー、普及施策の検討、実施すべき技術開発テーマ・領域・分野等の検討等を実施する。

### 7. 改訂履歴

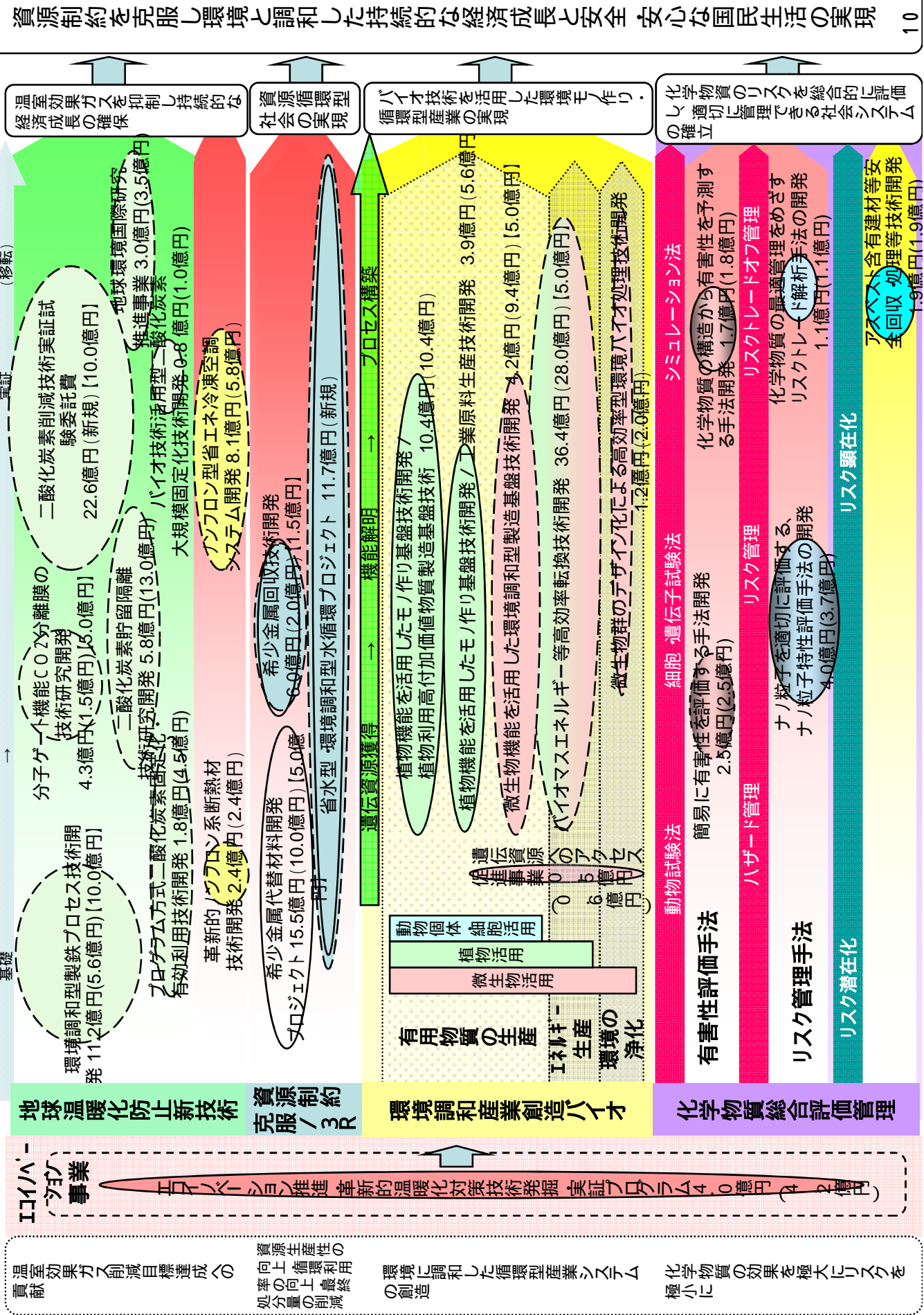
- (1) 平成12年12月28日付け、生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画、化学物質総合評価管理プログラム基本計画制定。
- (2) 平成14年2月27日付け、生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画制定。生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画（平成12・12・27工総第15号）は、廃止。平成14年2月28日付け、革新的温暖化対策技術プログラム基本計画、3Rプログラム基本計画、化学物質総合評価管理プログラム基本計画制定。化学物質総合評価管理プログラム基本計画（平成12・12・27工総第14号）は、廃止。
- (3) 平成15年3月10日付け制定。革新的温暖化対策技術プログラム基本計画（平成14・02・25産局第16号）、3Rプログラム基本計画（平成14・02・25産局第13号）、生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画（平成14・02・25産局第5号）、化学物質総合評価管理プログラム基本計画（平成14・02・25産局第7号）は、廃止。
- (4) 平成16年2月3日付け制定。革新的温暖化対策技術プログラム基本計画（平成15・03・07産局第18号）及びエネルギー環境二酸化炭素固定化・有効利用プログラム基本計画（平成15・03・07産局第19号）は、革新的温暖化対策技術プログラム基本計画に統合することとし、廃止。3Rプログラム基本計画（平成15・03・

- 07産局第6号)、生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画(平成15・03・07産局第3号)、化学物質総合評価管理プログラム基本計画(平成15・03・07産局第8号)は、廃止。
- (5)平成17年3月31日付け制定。地球温暖化防止新技術プログラム基本計画(平成16・02・03産局第13号)、3Rプログラム基本計画(平成16・02・03産局第5号)、生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画(平成16・02・03産局第15号)、化学物質総合評価管理プログラム基本計画(平成16・02・03産局第3号)は、廃止。
- (6)平成18年3月31日付け制定。地球温暖化防止新技術プログラム基本計画(平成17・03・25産局第8号)、3Rプログラム基本計画(平成17・03・29産局第1号)、生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画(平成17・03・25産局第2号)、化学物質総合評価管理プログラム基本計画(平成17・03・25産局第10号)は、廃止。
- (7)平成19年4月2日付け制定。地球温暖化防止新技術プログラム基本計画(平成18・03・31産局第9号)、3Rプログラム基本計画(平成18・03・31産局第10号)、生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画(平成18・03・31産局第3号)、化学物質総合評価管理プログラム基本計画(平成18・03・31産局第11号)は、廃止。
- (8)平成20年4月1日付け、環境安心イノベーションプログラム基本計画制定。地球温暖化防止新技術プログラム基本計画(平成19・03・19産局第6号)、3Rプログラム基本計画(平成19・03・19産局第5号)、生物機能活用型循環産業システム創造プログラム基本計画(平成19・03・16産局第2号)、化学物質総合評価管理プログラム基本計画(平成19・03・20産局第2号)は、本イノベーションプログラム基本計画に統合することとし、廃止。
- (9)平成21年4月1日付け制定。環境安心イノベーションプログラム基本計画(平成19・03・25産局第7号)は、廃止。

# 5. 環境安心イノベーションプログラム

[平成21年度予算額：165億円]

各プロジェクト毎の予算額は21年度予算(20年度予算)[20年度補正予算]





P 0 2 0 0 1

(環境安心イノベーションプログラム・エネルギーイノベーションプログラム/  
植物機能を活用した高度モノづくり基盤技術開発)  
「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」基本計画

バイオテクノロジー・医療技術開発部

## 1. 研究開発の目的・目標・内容

## (1) 研究開発の目的

「環境安心イノベーションプログラム」は、資源制約を克服し、環境と調和した持続的な経済・社会の実現と、安全・安心な国民生活を実現するため、革新的な技術の開発等を通じた地球全体での温室効果ガスの排出削減、廃棄物の発生抑制（リデュース）、製品や部品の再使用（リユース）、原材料としての再利用（リサイクル）推進による循環型社会の形成、バイオテクノロジーを活用した環境に優しい製造プロセスや循環型産業システムの創造、化学物質のリスクの総合的な評価及びリスクを適切に管理する社会システムの構築を推進するものである。本プロジェクトは上記プログラムの一環として、植物による物質生産系構築のための基盤技術を構築する。

生物機能を利用したバイオプロセスは、循環型の産業システムを実現する上で極めて重要であると考えられている。平成13年9月に取りまとめられた総合科学技術会議の分野別推進戦略においても、「近年急速に蓄積されつつあるゲノム情報や目覚ましい進展を見せているゲノム関連技術を活用し、生物の持つ多様な機能を高度に活用することによって、有用物質の効率的な生産技術や環境汚染物質の分解を行うなど環境対応型の産業技術を開発する」ことの重要性が指摘されている。また、平成18年3月に策定された総合科学技術会議の分野別推進戦略においても、「微生物・動植物を用いた有用物質生産技術開発」が重要な研究開発課題として選定されている。

生物機能を利用したバイオプロセスの構築のため、微生物や植物に遺伝子組換え等を行い、有用物質を生産させる技術の開発が従来より行われてきた。植物に関しては、多重遺伝子を導入する技術を開発している段階にまで発展してきたが、優良な工業原料を合目的に効率よく生産する遺伝子組換え植物を作成するには、植物の物質生産系の制御技術が必要である。

幸いなことに、植物についても、近年、ゲノム情報の解析・整備が進み、これらの研究開発を行う技術的背景が整いつつあり、植物を用いたバイオプロセス構築のための基盤技術を開発し、我が国が植物バイオテクノロジー分野で国際的優位を確立する上でも、今が好機であると判断される。

本プロジェクトでは、植物による物質生産系を構築する上でのモデルとなる植物の代謝関連酵素・遺伝子の特定、物質生産調節機能の解析、それらを統合するデータベースを構築するとともに、構築したデータベースを活用することによって、実際に物質生産を行わせる実用植物が有する目的物質生産系を解析し、工業原料の効率的生産が可能となる見通しを確認することで、植物を利用した優良な工業原料を効率的に生産する基盤技術を開発することを目的とする。

本技術の確立により、植物を利用した物質生産分野を中心に、バイオテクノロジーが利用される共通基盤技術の形成が見込まれるとともに、バイオマス利用の拡大による大幅な省エネルギー効果が期待される。

## (2) 研究開発の目標

(最終目標：平成21年度)

モデル植物と特定の実用植物を用い、物質生産系を解析し（cDNA 取得・解析、物質生産経路・機能解析、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析）、作成した統合データベースを活用して、目的とする工業原料を、適当な部位・時期に、適当な量を効率的に生産させる技術基盤を構築する。

（中間目標：平成17年度）

モデル植物を用いた物質生産系の解析では、cDNA の整備を進め、主要な物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する機能の解析を行い、実用植物の目的物質生産系の解析に資する統合データベースを構築できる見通しを得る。

実用植物を用いた物質生産制御技術の開発では、cDNA の整備を進め、モデル植物で得られる知見を活用しながら、特定の目的物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する機能の解析を行い、主要遺伝子を見極める。

### （3）研究開発の内容

上記目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を実施する。

#### ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

- 1) cDNA の取得及び解析
- 2) 物質生産系の経路と機能の解析
- 3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析
- 4) 統合データベースの作成

#### ②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

- 1) cDNA の取得及び解析
- 2) 物質生産系の経路と機能の解析
- 3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析
- 4) 目的物質生産に関する遺伝子等の解析
- 5) モデル植物や実用植物を用いた確認試験

## 2. 研究開発の実施方式

### （1）研究開発の実施体制

本研究開発は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（以下、「NEDO技術開発機構」という。）が選定する企業、研究組合、公益法人、独立行政法人、大学等が、NEDO技術開発機構が指名する研究開発責任者（プロジェクトリーダー）奈良先端科学技術大学院大学客員教授 新名惇彦氏の下で、それぞれの研究テーマの達成目標を設定し、それらの目標を実現すべく研究開発を実施する方式を採用する。

この場合において、各委託先は、企業、大学、民間研究機関、あるいは独立行政法人等単位であることを原則とする（以下、「企業単位等」という）。ただし、複数の企業単位等が結集して研究体を構成し、集中的な管理体制を構築する場合も、当該研究体を委託先として認めるものとする。

### （2）研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDO技術開発機構は、経済産業省及び研究開発責任者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて、NEDO技術開発機構に設置する技術審議委員会及び技術検討会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じてプロジェクトの進捗について報告を受けること等を行う。

### 3. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は、平成14年度から平成21年度までの8年間とする。

### 4. 評価に関する事項

NEDO技術開発機構は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義ならびに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成17年度、事後評価を平成22年度に実施する。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

### 5. その他重要事項

#### (1) 研究開発成果の取扱い

##### ①共通基盤技術の形成に資する成果の普及

得られた研究開発のうち、下記共通基盤技術に係る成果については、NEDO技術開発機構、実施者とも普及に努めるものとする。

- a) 植物の物質生産に関するcDNA情報
- b) 物質生産系情報
- c) 物質生産調節機能関連情報

##### ②知的基盤整備事業又は標準化等との連携

得られた研究開発の成果については、知的基盤整備または標準化等との連携を図るため、データベースへのデータの提供、標準情報（TR）制度への提案等を積極的に行う。

##### ③知的財産権の所属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については、「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、すべて受託者に帰属させることとする。

#### (2) 基本計画の変更

NEDO技術開発機構は、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済的状況、内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、第三者の視点からの評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

#### (3) プロジェクトの根拠法

本プロジェクトは、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1項第2号に基づき実施する。

### 6. 基本計画の改訂履歴

(1) 平成14年3月、制定。

(2) 平成15年3月、2.(1) 研究開発実施体制にプロジェクトリーダー名を追記。

(3) 平成16年3月、独立行政法人移行に伴い、法人名、略称、根拠法等に関する記述、及び評価の実施時期を改訂。

(4) 平成18年3月、プロジェクト名を(生物機能活用型循環産業システム創造プログラム)「植物機能利用工業原料生産技術開発/植物利用エネルギー使用合理化工業原料生産技術開発(生産プロセス制御等技術開発)」から(生物機能活用型循環産業システム創造プログラム・省エネルギー技術開発プログラム/植物機能を活用した高度モノづくり基盤技術開発)「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」に変更。

- (5) 平成20年3月、1.(1) 研究開発の目的に最新の情勢の変化を追記。プロジェクトリーダーの所属を変更。
- (6) 平成20年7月、イノベーションプログラム基本計画の制定により、「(1) 研究開発の目的」の記載を改訂。

## (別紙) 研究開発計画

### 研究開発項目①「モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析」

#### 1. 研究開発の必要性

実用植物に目的とする物質を効率的に生産させるためには、実用植物が有する代謝経路を解明した上で、制御することが必要である。実用植物における代謝経路や関連する遺伝子を解明するためには、ゲノム情報の蓄積が進み、実験系なども確立されているモデル植物を選定し、モデル植物の代謝経路や関連する遺伝子を解析しデータベース化した上で、実用植物とのゲノム比較等の手法により解析することが最も効率的である。このため、モデル植物のcDNAを取得、解析し、物質生産系の経路を解析するとともに、代謝に関連する遺伝子や調節遺伝子の機能を解析した上で、統合的なデータベースを構築することが必要である。

#### 2. 研究開発の具体的内容

##### (1) cDNAの取得及び解析

関連する知見を得る必要がある部位やステージを対象に、cDNAを取得し、既存のデータベース等を参照し、既知のものではない場合、また、データが不足している場合には、塩基配列の決定やバイオインフォマティクス等を活用した機能の解析を行い、物質生産機能の解析に必要なcDNAクローンを整備するとともに、その塩基配列や機能に関するデータベースを作成する。

##### (2) 物質生産系の経路と機能の解析

関連する知見を得る必要がある部位やステージを対象に、組織や細胞内で生産されている物質を同定、定量するとともに、既存のcDNAに関する情報や上記(1)で得られた情報等を活用して、物質生産経路の解析等を行う。さらに、cDNA及びその情報等を活用した遺伝子組み換え等の手法や、ミュータントラインによる手法等を用い、cDNAつまり関与する遺伝子の機能、ひいては、物質生産経路に関与する酵素の特定と機能の解析を行う。

##### (3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析

上記(2)で解明された物質生産経路において生産の調整に関与している調節遺伝子の塩基配列と機能の解析、さらに、これら調節遺伝子に関与して転写を調節する転写因子とその遺伝子の塩基配列と機能の解析を行う。

##### (4) 統合データベースの作成

上記(1)(2)(3)で得られた成果を基に、下記②の実用植物での解析等を円滑にし、ひいては、目的とする物質を、植物を用いて、適当な部位に、適当な時期に、効率的に生産する物質生産プロセスを構築するために不可欠な、植物の物質生産系に関する統合データベースを作成する。

#### 3. 達成目標

##### (最終目標)

モデル植物の、物質生産系を解析し(cDNA取得・解析、物質生産経路・機能解析、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析)、実用植物における物質生産系解析を効率よく進めうる統合データベースを構築する。

##### (中間目標)

cDNAの整備を進め、主要な物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する機能の解析を行い、実用植物の目的物質生産系の解析に資する統合データベースのプロトタイプを作成する。

## 研究開発項目②「実用植物を用いた物質生産制御技術の開発」

### 1. 研究開発の必要性

実用植物に目的とする物質を効率的に生産させるためには、目的とする物質に関連して実用植物が有する代謝経路を解明した上で、合目的に制御することが必要である。このため、実用植物のcDNAを取得した上で、モデル植物における解析データを参照しつつ、物質生産系の経路を解明するとともに、生産や調節に関連した遺伝子の機能を解析することが必要である。また、外部遺伝子を導入する場合は、導入する遺伝子の機能を解析した上で、実際に遺伝子改変等を行うことにより、確認試験を行うことが必要である。

### 2. 研究開発の具体的内容

特定の目的物質を実用植物に生産させるプロセスを念頭に置き、以下の項目の研究を行う。

#### (1) cDNAの取得及び解析

目的物質の生産に関連する知見を得る必要がある部位やステージを対象に、cDNAを取得し、塩基配列を決定するとともに、上記①のモデル植物で得られた知見等を参照しながら、機能の解析を行う。

#### (2) 物質生産系の経路と機能の解析

目的物質の生産に関連する知見を得る必要がある部位やステージを対象に、組織や細胞内で生産されている物質を同定、定量するとともに、取得されたcDNAの情報等を活用した遺伝子組み換え等の手法等を用い、cDNAつまり関与する遺伝子の機能、ひいては、物質生産経路に関与する酵素の特定と機能の解析を行う。

#### (3) 物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析

上記(2)で解明された物質生産経路で生産の調整に関与している調節遺伝子の塩基配列と機能の解析、さらに、これら調節遺伝子に関与して転写を調節する転写因子とその遺伝子の塩基配列と機能の解析を行う。

#### (4) 目的物質生産に関する遺伝子等の解析

目的物質を生産させるために組み込むことになる遺伝子等に関し、組み換えによる宿主への導入や発現を円滑に行うために必要と考えられる知見を得るための解析を行う。

#### (5) モデル植物や実用植物を用いた確認試験

上記(1)～(4)及び研究開発項目①のモデル植物で得られた知見を基に、植物による目的物質の生産が可能となる見通しが得られたかどうかを、モデル植物や実用植物の遺伝子改変等を行い、確認する。

### 3. 達成目標

#### (最終目標)

実用植物の物質生産系を解析し(cDNA取得・解析、物質生産経路・機能解析、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析)、モデル植物で作成した統合データベースを活用して、植物の物質生産系を制御して、目的とする工業原料の合目的な生産技術を開発する。

#### (中間目標)

対象とする物質生産系が機能している特定の器官・組織において発現している遺伝子の解析を進め、モデル植物で得られる知見を活用しながら、特定の目的物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する機能の解析を行い、物質生産プロセス制御に必要な主要遺伝子を同定する。

生物機能活用技術分野の技術マップ(2/6)

1-2. 生物機能を活用した物質生産【植物を活用した物質生産】

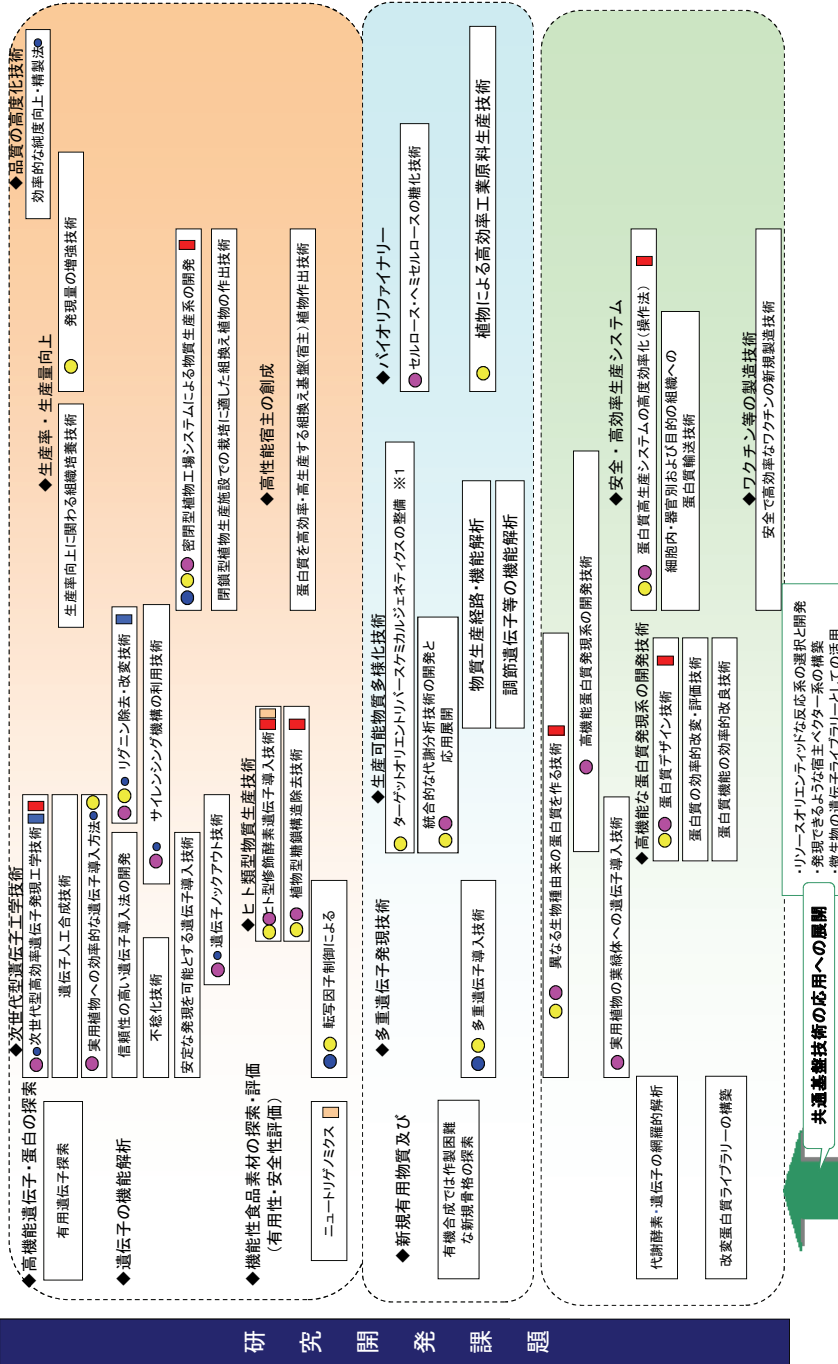
研究開発フェーズ

探索

機能解明・機能性向上・最適化

製造プロセスの確立

大量生産・製品化



生物機能を活用した高度モノ作り社会・循環型産業システムの創造

全生産物共通

化学品

蛋白質

共通基盤

整備環境

※1 ターゲットオリエンテッドな反応系は、植物に作らせたい物質Aに對して、始発点である生体内の基質から最終産物であるAが合成されるまでに關与するすべての代謝系に關与する酵素・遺伝子を特定する。この合成の全体像がわかると、生体外で物質の合成が可能となる。

※2 ノトハイオート(Gnotobiotics)とは、無菌又は無菌であった動物をいふが、微生物叢が存在する場合はその構成菌が完全にわかっている動物のこと。

発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
1 東北大学生命科学 研究科	Kim, G-T., Shoda, K., Tsuge, T., Cho, K-H., Uchimiya, H., Yokoyama, R., Nishitani, K. Tsukaya, H	○	2002	The ANGUSTIFOLIA gene of Arabidopsis, a plant CtBP gene, regulates leaf-cell expansion, the arrangement of cortical microtubules in leaf cells and expression of a gene involved in cell-wall formation.	EMBO J. 21: 1267-1279
2 名古屋市立大学等	Hasegawa, K., Y. Yukawa, M. Sugita and M. Sugiura	○	2002	Organization and transcription of the gene family encoding chlorophyll a/b-binding proteins in Nicotiana sylvestris.	Gene, 289:161-168
3 東北大学生命科学 研究科	Nishitani, K.	○	2002	Genome-based approach to study the mechanism by which cell-wall type is defined and constructed by means of collaborative actions of wall-related enzymes.	J. Plant Res. 115: 303-307
4 名古屋市立大学等	Miyamoto, T., J. Obokata, M. Suigura	○	2002	Recognition of RNA editing sites is directed by unique proteins in chloroplasts: biochemical identification of cis-acting elements and trans-acting factors involved in RNA editing in tobacco and pea chloroplast.	Mol. Cell. Biol. 22, 6276-6734
5 東北大学生命科学 研究科	Nishitani K.		2002	New Directions to Post-genomic Cell Wall Research.	Plant Cell Physiol (Editorial). 43:1397
6 名古屋大学	Matsuo, M. and Obokata, J.	○	2002	Dual roles of photosynthetic electron transport in Photosystem I biogenesis: Light induction of mRNAs and a chloromatic regulation at post-mRNA level.	Plant Cell Physiol. 43:1189-1197
7 東北大学生命科学 研究科	Rose, J. K.C. Braam, J., Fry, S. C. and Nishitani, K.	○	2002	The XTH family of enzymes involved in xyloglucan endo-transglucosylation and endohydrolysis: current perspectives and a new unifying nomenclature	Plant Cell Physiol.43 : 1421-1435
8 名古屋市立大学等	Mathieu, O., Y. Yukawa, M. Sugiura, G. Picard and S. Tourmente	○	2002	5S rRNA genes expression is not inhibited by DNA methylation in Arabidopsis.	Plant J., 29, 313-323
9 名古屋大学等	Nakamura, M., Tsunoda, T. and Obokata, J.	○	2002	Photosynthesis nuclear genes generally lack TATA boxes: a tobacco PhotosystemI gene responds to light through an initiator.	Plant J. 29:1-10
10 名古屋大学等	Sherameti, I., Nakamura, M., Yamamoto, Y.Y., Pfannschmidt, T., Obokata, J. and Oelmueller, R.	○	2002	Polyribosome loading of spinach mRNAs for photosystem I subunits is controlled by the photosynthetic electron transport: A crucial cis-element in the spinach Psad gene is located in the 5'-untranslated region.	Plant J., 32: 631-639
11 名古屋市立大学等	Yukawa, Y., J. Matousek, M. Grimm, L. Vrba, G. Steger, M. Sugiura, H. Beier	○	2002	Plant 7SL RNA and tRNATyr genes with inserted antisense sequences are efficiently expressed in tobacco nuclear extract.	Plant Mol. Biol., 50: 713-723
12 海洋バイオ テクノロジー研究 所	Fraser, P.D., Romer, S., Shipton, C.A., Mills, P.B., KianoI, J.W, Misawa, N., Drake, R.G., Schuch, W., Bramley, P.M.	○	2002	Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner	Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 99, 1092-1097 (2002)
13 名古屋市立大学	杉浦 昌弘		2002	RNAエディティングに関するタンパククロロプラストの例	生体の科学 53: 124-130
14 東北大学生命科学 研究科	西谷和彦		2002	組織形成における細胞壁関連遺伝子群の役割	蛋白質・酵素・核酸 増 刊号「植物の形づくり」 Vol. 47: 1611-1615
15 名古屋市立大学	湯川 泰、杉浦 昌弘		2002	植物のin vitro 転写系	蛋白質核酸酵素 47: 583- 589
16 名古屋大学	小保方 潤一		2002	葉緑体から核へ移った遺伝子—新しい発現制御系はどのように生まれたか?	遺伝 7: 73-77



	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
17	東北大学生命科学 研究科	西谷和彦		2002	XTH遺伝子ファミリーと細胞壁の多様性 「植物オルガネラの分化と多様性」	細胞工学別冊「植物細胞 工学シリーズ」17 秀潤 社 pp. 164-172
18	名古屋市立大学等	Atanassova, A., M. Sugita, M. Sugiura, T. Pajpanova, I. Ivanov	○	2003	Molecular cloning, expression and characterization of three distinctive genes encoding methionine aminopeptide in cyanobacterium Synechocystis sp. Strain PCC6803	Arch. Microbiol., 180: 185-193
19	東北大学多元物質 科学研究所	A. Takaya, Y.-W. Zhang, K. Asawatreratanakul, D. Wititsuwannakul, R. Wititsuwannakul, S. Takahashi, and Koyama	○	2003	Cloning, Expression and Characterization of a Functional cDNA Clone Encoding Geranylgeranyl Diphosphate Synthase of Hevea brasiliensis	Biochim. Biophys. Acta, 1625 (2) 214-220 (2003)
20	東北大学生命科学 研究科	Zenko C, Komatu K, Yokoyama R, Nishitani K, Kamisaka S.	○	2003	Effect of hypergravity stimulus on XTH gene expression in Arabidopsis thaliana.	Biol. Sci. Space. 17: 259-260.
21	東北大学多元物質 科学研究所	Kasem Asawatreratanakul, Yuan-Wei Zhang, Dhirayos Wititsuwannakul, Rapepun Wititsuwannakul, Seiji Takahashi, Atiya Rattapittayaporn and Tanetoshi Koyama	○	2003	Molecular Cloning, Expression and Characterization of cDNA Encoding cis-Prenyltransferases from Hevea brasiliensis A key factor participating in natural rubber biosynthesis	Eur. J. Biochem. 270, 4671-4680 (2003)
22	名古屋市立大学等	Hasegawa, K., Y. Yukawa, J. Obokata and M. Sugiura	○	2003	A tRNA <sup>Leu</sup> -like sequence located immediately upstream of an Arabidopsis clock-regulated gene is transcriptionally active: efficient transcription by an RNA polymerase III-dependent in vitro transcription system.	Gene, 307: 133-139
23	名古屋市立大学	Yukawa, Y. and M. Sugiura	○	2003	In vitro transcription system from BY-2 cells.	In "Biotechnology in Agriculture and Forestry", vol. "BY-2 cells" (T. Nagata, S. Hagezawa and D. Inze eds), Springer, Heidelberg, pp.256-282
24	名古屋市立大学等	Kapoor, S., M. Sugita and M. Sugiura		2003	In vitro characterization of plastid NCII promoter element by using plastid transcription extracts from tobacco BY-2 cultured cells.	In "Molecular Insight in Plant Biology" (P. Nath et al., eds), Science Publishers, Inc., UK, pp. 85-95
25	産業技術総合研究 所	鈴木馨、進士秀明		2003	植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解 析	J Biosci Bioeng. 99: 208-215
26	大阪大学大学院工 学研究科	Fukusaki, E., T. Ikeda, D. Suzumura, and K. Akio	○	2003	A facile transformation of Arabidopsis thaliana using ceramic supported propagation system.	J. Biosci. Bioeng., 96(5): 503-505. (2003)
27	東京農工大学	Ozeki, Y., Chikagawa, Y., Kimura, S., Soh, H.-c., Maeda, K., Pornsiriwong, W., Kato, M., Akimoto, H., Oyanagi, M., Fukuda, F., Koda, T., Itoh, Y., Yamada, A., Davies, E., Ueno, H. and Takeda, J.	○	2003	Putative cis-elements in the promoter region of the carrot phenylalanine ammonia-lyase gene induced during anthocyanin synthesis	J. Plant Res., 116: 155-159
28	名古屋市立大学等	Sasaki, T., Y. Yukawa, T. Miyamoto, J. Obokata, M. Sugiura	○	2003	Identification of RNA editing sites in chloroplasts transcripts from the maternal and paternal progenitors of tobacco (Nicotiana tabacum): comparative analysis shows the involvement of distinct trans-factors for ndhB editing.	Mol. Biol. Evol., 20: 1028-1035
29	京都大学	N. Sakakibara, S. Suzuki, T. Umezawa, & M. Shimada	○	2003	Biosynthesis of yatein in Anthriscus sylvestris	Org. Biomol. Chem., 1, 2474 - 2485 (2003).

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
30	名古屋市立大学	M. Sugiura	○	2003	History of chloroplast genomics.	Photosynthesis Res. (Historical Highlights of Photosynthesis Research, Part 2), 76: 371-377
31	東北大学生命科学研究科	Nakamura, T., Yokoyama, R., Tomita, E. and Nishitani, K.	○	2003	Two azuki bean XTH genes, VaXTH1 and VaXTH2, with similar tissue-specific expression profiles, are differently regulated by auxin.	Plant Cell Physiol. 44: 16-24
32	名古屋市立大学等	Nakamura, T., Y. Furuhashi, K. Hasegawa, H. Hashimoto, K. Watanabe, J. Obokata, M. Sugita and M. Sugiura	○	2003	Array-based analysis on tobacco plastid transcripts: preparation of a genomic microarray containing all genes and all intergenic regions.	Plant Cell Physiol., 44: 861-867
33	京都府立大学	25) Hayashi, K., Shiina, T., Ishii, N., Iwai, K., Ishizaki, Y., Morikawa, K., Toyoshima, Y.	○	2003	A role of the -35 element in the initiation of transcription at psbA promoter in tobacco plastids.	Plant Cell Physiol. 44 334-341
34	日本大学	Akashi, T., Sawada, Y., Shimada, N., Sakurai, N., Aoki, T., Ayabe, S.	○	2003	cDNA cloning and biochemical characterization of S-adenosyl-L-methionine: 2,7,4'-trihydroxyisoflavanone 4'-O-methyltransferase, a critical enzyme of the legume isoflavonoid phytoalexin pathway.	Plant Cell Physiology 44(2): 103-112.
35	名古屋市立大学	Hasegawa, K., Y. Yukawa, M. Sugiura	○	2003	In vitro analysis of transcription initiation and termination from the Lhcb1 gene family in Nicotiana sylvestris: detection of transcription termination sites.	Plant J., 33: 1063-1072
36	名古屋市立大学等	Plader, W. and M. Sugiura	○	2003	The Shine-Dalgarno-like sequence is a negative regulatory element for translation of tobacco chloroplast rps2 mRNA: an additional mechanism for translational control in chloroplasts.	Plant J., 34: 377-382
37	名古屋市立大学等	Cloix, C., Y. Yukawa, S. Tutois, M. Sugiura and S. Tourmente	○	2003	In vitro analysis of the sequences required for transcription of the Arabidopsis thaliana 5S rRNA genes.	Plant J., 35: 251-261
38	大阪府立大学	Takubo, K., Morikawa, T., Nonaka, Y., Mizutani, M., Takenaka, S., Takabe, K., Takahashi, M., Ohta, D.	○	2003	Identification and Molecular Characterization of Mitochondrial Ferredoxins and Ferredoxin Reductase from Arabidopsis	Plant Mol Biol 52:817-830
39	東北大学生命科学研究科	Hyodo, H., Yamakawa, S., Takeda, Y., Tsuduki, M., Yokota, A., Nishitani, K. and Kohchi, T.	○	2003	Active gene expression of a xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase gene, XTH9, in inflorescence apices is related to cell elongation in Arabidopsis thaliana.	Plant Mol. Biol. 54: 473-482
40	日本大学	Shimada, N., Aoki, T., Sato, S., Nakamura, Y., Tabata, S., Ayabe, S.	○	2003	A cluster of genes encodes the two types of chalcone isomerase involved in the biosynthesis of general flavonoids and legume-specific 5-deoxy(iso)flavonoids in Lotus japonicus.	Plant Physiology 131(3): 941-951
41	名古屋大学	Nagao, I. and Obokata, J.	○	2003	Poly(U) motif in the 5' untranslated region enhances the translational efficiency of the b-glucuronidase mRNA in transgenic tobacco.	Plant Sci., 165: 621-626
42	日立造船 大阪大学	Koichi Ute, Saori Yoshida, Tatsuki Kitayama, Takeshi Bamba, Ei-ichiro Fukusaki, Akio Kobayashi, Hiroyoshi Minakuchi		2003	Separation of Oligomer Homologs by Supercritical Fluid Chromatography using Monolithic Silica Column	Proceedings of Pacific Polymer Conference, Bangkok, Thailand, pp.1-3 on CD-ROM, 2003. 11
43	京都大学	T. Nakatsubo, L. Li, V.L. Chiang, T. Hattori, M. Shimada, & T. Umezawa	○	2003	Basic studies towards elucidation of heartwood formation mechanisms.	Wood Research, No.90 5-6 (2003)

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
44	東北大学生命科学 研究科	井本桂子・横山隆亮・西谷 和彦		2003	オリゴDNAマイクロアレーによる植物の形 作りの包括的解析	化学と生物 41:9-11
45	東北大学多元物質 科学研究所	高橋征司、古山 種俊		2003	プレニル鎖延長酵素の遺伝子解明研究か ら見た天然ゴム生合成の分子解析	日本ゴム協会誌 76 (12) 446-452 (2003)
46	東北大学生命科学 研究科	Nishitani K., Yokoyama R., and Imoto K.		2004	Comprehensive analysis for cell-wall related genes involved in plant morphogenesis as regulated by gravity signal	Space Utilization Symp. 20: 129-131
47	石川県立大学生物 資源工学研究所	Masataka KAJIKAWA, Katsuyuki T. YAMATO, Yoshito KOHZU, Ryoko SAKATA, Hideya FUKUZAWA, Hidenobu UCHIDA and Kanji OHYAMA	○	2004	Expressed sequence tags from callus of Euphorbia tirucalli: a resource for genes involved in triterpenoid and sterol biosynthesis.	Plant Biotechnology 21, 349-353
48	大阪府立大学	Saito S, Hirai N, Matsumoto C, Ohgashi H, Ohta D, Sakata K, Mizutani M	○	2004	Arabidopsis CYP707As encode (+)- abscisic acid 8'-hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of abscisic acid.	Plant Physiol. 134:1439-1449
49	大阪大学大学院工 学研究科	Hasunuma, T., S. Kuwabata, E. Fukusaki, and A. Kobayashi	○	2004	Real-time quantification of methanol in plants using a hybrid alcohol oxidase-peroxidase biosensor.	<i>Anal Chem</i> , 76(5): 1500- 6. (2004)
50	日立造船 大阪大学	福崎英一郎, 馬場健史, 小 林昭雄		2004	植物メタボロミクスの可能性と技術的問 題	BIO INDUSTRY, 21, 55-68 (2004)
51	大阪大学大学院工 学研究科	福崎英一郎, 馬場健史, 小 林昭雄	○	2004	植物メタボロミクスの可能性と技術的問 題	BIO INDUSTRY, 21巻, 55- 68 (2004年)
52	大阪大学大学院工 学研究科	Mekkriengkrai, D., T. Sando, K. Hirooka, J. Sakdapipanich, Y. Tanaka, E. I. Fukusaki, and A. Kobayashi	○	2004	Cloning and Characterization of Farnesyl Diphosphate Synthase from the Rubber-Producing Mushroom Lactarius chrysorrheus.	Biosci Biotechnol Biochem, 68(11): 2360- 2368. (2004)
53	日立造船 大阪大学	Hirooka, K., Izumi, Y., An, C.-I., Nakazawa, Y., Fukusaki, E.-i., and Kobayashi, A.	○	2004	Functional analysis of two solanesyl diphosphate synthases from Arabidopsis thaliana	Biosci Biotechnol Biochem, 69(3): 592- 601. (2005)
54	日立造船 大阪大学	Ei'ichiro Fukusaki, Shinya Takeno, Takeshi Bamba, Hiroshi Okumoto, Hiroko Katto, Shin'ichiro Kajiyama, Akio Kobayashi	○	2004	Biosynthetic pathway for the C45 polyprenol, solanesol, in tobacco	Biosci. Biotechnol. Biochem., 68, 1988- 1990, (2004)
55	東北大学生命科学 研究科	Yokoyama, R., Tanaka, D. Fujino, T., Itoh, T. and Nishitani, K		2004	Cell wall dynamics in tobacco BY-2 cells.	Biotechnology in Agriculture and Forestry, (Springer) Vol. 53, pp. 217-230
56	海洋バイオ テクノロジー研究 所	Misawa, N., Teramoto, M., Choi, S.-K., and Adachi, K.	○	2004	Development of technologies for controlling the production of carotenoids in plants -Introduction of NEDO project for plant biotechnology-	Carotenoid Science, 7, 57-59 (2004)
57	京都大学	S. Suzuki, M. Yamamura, M. Shimada & T. Umezawa	○	2004	A heartwood norlignan, (E)- hinokiresinol, is formed from 4- coumaryl 4-coumarate by a <i>Cryptomeria japonica</i> enzyme preparation	Chem. Commun., 2838 - 2839 (2004)
58	東京工業大学	T. Obayashi, T. Okegawa, Y. Sasaki-Sekimoto, H. Shimada, T. Masuda, E. Asamizu, Y. Nakamura, D. Shibata, S. Tabata, K. Takamiya, H. Ohta	○	2004	Distinctive Features of plant organs characterized by global analysis of gene expression in Arabidopsis.	DNA Res. 11, 11-25
59	日本大学	Kouchi, H., Shimomura, K., Hata, S., Hirota, A., Wu, G., Kumagai, H., Tajima, S., Suganuma, N., Suzuki, A., Aoki, T., Hayashi, M., Yokoyama, T., Ohyama, T., Asamizu, E., Kuwata, C., Shibata, D., and Tabata, S.	○	2004	<i>Large-Scale Analysis of Gene Expression Profiles during Early Stages of Root Nodule Formation in a Model Legume, Lotus japonicus</i>	DNA Research 11(4): 263 - 274

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
60	名古屋大学等	Nakamura, M., Tsunoda, T., Yoshitsugu, T. and Obokata, J.	○	2004	Core promoter diversity and photosynthesis gene regulation.	Endocytobiosis Cell Res., 15: 300-308
61	名古屋市立大学等	Tsudzuki, J., T. Tsudzuki, T. Wakasugi, K. Kinoshita, T. Kondo and M. Sugiura	○	2004	Comparative analysis of the whole chloroplast genomes from rice, maize and wheat.	Endocytobiosis Cell Res., 15: 339-344
62	名古屋大学	Nagao, I., Masuyama, K. and Obokata, J.	○	2004	In vitro evolution of translational regulatory cis-elements.	Endocytobiosis Cell Res., 15: 385-389
63	名古屋市立大学等	Sugiyama, Y., Y. Watase, M. Nagase, A. Hirai and M. Sugiura	○	2004	Timing of tRNA gene transfer from chloroplast to mitochondrion revealed by genomic analysis of dicotyledonous plant mitochondria.	Endocytobiosis Cell Res., 15: 77-86
64	関西学院大学	Mochizuki, T., Onda, Y., Fujiwara, E., Wada, M., Toyoshima, Y.	○	2004	Two independent light signals cooperate in the activation of the plastid psbD blue light-responsive promoter in Arabidopsis.	FEBS Lett. 571, 26-30
65	大阪府立大学	Ohta D, Mizutani M.	○	2004	Redundancy or flexibility: molecular diversity of the electron transfer components for P450 monooxygenases in higher plants.	Front Biosci. 9:1587-1597
66	名古屋市立大学等	Hirose, T., T. Miyamoto, J. Obokata and M. Sugiura	○	2004	In vitro RNA editing systems from higher plant chloroplasts.	In "RNA Interference, Editing and Modification" (J. M. Cott ed), Humana Press, Totowa, USA, pp.333-344
67	大阪大学大学院工学研究科	Kim, J.K., T. Shiraishi, E. Fukusaki, and A. Kobayashi	○	2004	Quantitation of formate by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry utilizing a [13C]formate internal standard.	J Chromatogr A, 986(2): 313-7. (2003)
68	日立造船 大阪大学	Fukusaki, E. i., K. Harada, T. Bamba, and A. Kobayashi	○	2004	An isotope effect on the comparative quantification of flavonoids by means of methylation-based stable isotope dilution coupled with capillary liquid chromatograph/mass spectrometry. Spectrometry.	J. Biosci. Bioeng., 99(1): 75-77. (2005)
69	奈良先端科学技術 大学院大学バイオ エンジニアリング研究科	Satoh, J., Kato, K., and Shinmyo, A.	○	2004	The 5'-untranslated region of the tobacco alcohol dehydrogenase gene functions as an effective translational enhancer in plant.	Journal of Bioscience and Bioengineering, 98,1-8(2004)
70	東北大学多元物質 科学研究所	Dhirayos Wititsuwannakul, Atiya Rattanapittayaporn, Tanetoshi Koyama, and Rapepun Wititsuwannakul	○	2004	Involvement of Hevea Latex Organelle Membrane Proteins in the Rubber Biosynthesis Activity and Regulatory Function	Mocromolecular Bioscience, 4 (3) 314-323 (2004)
71	名古屋市立大学等	Hirose, T. and M. Sugiura	○	2004	Multiple elements required for translation of plastid atpB mRNA lacking the Shine-Dalgarno sequence.	Nucl. Acids Res., 32: 3503-3510
72	石川県立大学生物 資源工学研究所	Hidenobu UCHIDA, Osamu NAKAYACHI, Motoyasu OTANI, Masataka KAJIKAWA, Yoshihito KOHZU, Katsuyuki T. YAMATO, Hideya FUKUZAWA, Takiko SHIMADA and Kanji OHYAMA	○	2004	Plant regeneration from internode explants of Euphorbia tirucalli L.	Plant Biotechnology, 21, 397-399
73	東北大学生命科学 研究科	Yokoyama, R. and Nishitani K.	○	2004	Genomic Basis for Cell-Wall Diversity in Plants. A Comparative Approach to Gene Families in Rice and Arabidopsis.	Plant Cell Physiol. 45: 1111-1121
74	名古屋市立大学等	Hirose, T. and M. Sugiura	○	2004	Functional Shine-Dalgarno-like sequences for translational initiation of chloroplast mRNAs.	Plant Cell Physiol., 45: 114-117
75	名古屋市立大学等	Inada, M., T. Sasaki, M. Yukawa, T. Tsudzuki and M. Sugiura	○	2004	A systematic search for RNA editing sites in pea chloroplasts: an editing event causes the diversification from the evolutionarily conserved amino acid sequence	Plant Cell Physiol., 45: 1615-1622

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
76	地球環境産業技術 研究機構	T. Shimaoka, M. Ohnishi, T. Sazuka, N. Mitsuhashi, I. Hara-Nishimura, K. Shimazaki, M. Maeshima, A. Yokota, K. Tomizawa, & T. Mimura	○	2004	Isolation of Intact vacuoles and proteomic analysis of tonoplast from suspension-cultured cells of <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Plant Cell Physiol. 45(6):672-683
77	京都府立大学	27) Baba, K., Schmidt, J., Espinosa-Ruiz, A., Villarejo, A., Shiina, T., Gardstrom, P., Sane, A.P., Bhalerao, P.	○	2004	Organellar gene transcription and early seedling development are affected in the rpoT:2 mutant of <i>Arabidopsis</i> .	Plant J. 38, 38-48
78	海洋バイオ テクノロジー研究 所	Ralley, L., Enfissi, E.M., Misawa, N., Schuch, W., Bramley, P.M., and Fraser, P.D.	○	2004	Metabolic engineering of ketocarotenoid formation in higher plants	Plant J., 39, 477-486 (2004)
79	東京工業大学	Matsumoto, F., Obayashi, T., Sasaki-Sekimoto, Y., Ohta, H., Takamiya, K., and Masuda, T.	○	2004	Gene expression profiling of the tetrapyrrole metabolic pathway in <i>Arabidopsis thaliana</i> with a mini- array system.	Plant Physiol. 135, 2349-2391
80	東北大学生命科学 研究科	Yokoyama, R., Rose, J.K.C. and Nishitani, K.	○	2004	A surprising diversity and abundance of XTHs (xyloglucan endotransglucosylase/hydrolases) in rice: classification and expression analysis.	Plant Physiology 134: 1088-1099
81	京都府立大学	26) Tsunoyama Y, Ishizaki Y, Morikawa K, Kobori M, Nakahira Y, Takeba G, Toyoshima Y, Shiina T.	○	2004	Blue light-induced transcription of plastid-encoded psbD gene is mediated by a nuclear-encoded transcription initiation factor, AtSig5.	PNAS, 101, 3304-3309
82	名古屋市立大学等	Miyamoto, T., J. Obokata and M. Sugiura	○	2004	A site-specific factor interacts directly with its cognate RNA editing site in chloroplast transcripts.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101: 48-52
83	日立造船 大阪大学	福崎英一郎, 馬場健史, 小 林昭雄		2004	植物メタボロミクス研究の展望	日本農芸化学学会誌, 78, 973-976 (2004)
84	王子製紙	日尾野隆	○	2004	ストレス耐性樹木の創出と地球環境保全	林木の育種, 213, 1-7 (2004)
85	大阪大学大学院工 学研究科	Hirooka, K., Y. Izumi, C.I. An, Y. Nakazawa, E. Fukusaki, and A. Kobayashi	○	2005	Functional Analysis of Two Solanesyl Diphosphate Synthases from <i>Arabidopsis thaliana</i> .	<i>Biosci Biotechnol Biochem</i> , 69(3): 592- 601. (2005)
86	日立造船 大阪大学	Jae Kwang Kim, Kazuo Harada, Takeshi Bamba, Ei-ichiro Fukusaki, Akio Kobayashi	○	2005	Stable isotope dilution-based accurate comparative quantification of nitrogen-containing metabolites in <i>Arabidopsis thaliana</i> T87 cells using in vivo <sup>15</sup> N-isotope enrichment	Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 69, 1331- 1340 (2005)
87	関西学院大学	Toyoshima, Y., Onda, Y., Shiina, T., Nakahira, Y.	○	2005	Plastid transcription in higher plants.	Crit. Rev. Plant Sci. 24, 59-81
88	海洋バイオ テクノロジー研究 所	Tsuchiya, T., Takaichi, S., Misawa, N., Maoka, T., Miyashita, H., and Mimuro, M.	○	2005	The cyanobacterium <i>Gloeobacter violaceus</i> PCC 7421 uses bacterial- type phytoene desaturase in <u>carotenoid biosynthesis</u>	FEBS. Lett., 579, 2125- 2129 (2005)
89	京都府立大学	Shiina, T., Tsunoyama, Y., Nakahira, Y., Khan, M.S	○	2005	Plastid RNA polymerases, promoters and transcription regulators in higher plants.	Int. Rev. Cytology 244, 1-68
90	千葉大学、かずさ DNA研究所	Hirai MY, Klein M, Fujikawa Y, Yano M, Goodenowe DB, Yamazaki Y, Kanaya S, Nakamura Y, Kitayama M, Suzuki H, Sakurai N, Shibata D, Tokuhsa J, Reichelt M, Gershenzon J, Papenbrock J, Saito K	○	2005	Elucidation of gene-to-gene and metabolite-to-gene networks in <i>arabidopsis</i> by integration of metabolomics and transcriptomics.	J Biol Chem 280: 25590- 25595
91	大阪大学大学院工 学研究科	Bamba, T., Fukusaki, E., Minakuchi, H., Nakazawa, Y., and Kobayashi, A.	○	2005	Separation of polyprenol and dolichol by monolithic silica capillary column chromatography.	J Lipid Res, 46, 2295- 8(2005).
92	大阪大学大学院工 学研究科	Fukusaki, E. and Kobayashi, A.	○	2005	Plant metabolomics: its potential on practical operation	<i>J. Biosci. Bioeng.</i> , 100(4), 347-354. (2005).

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
93	千葉大 奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科, かずさ DNA研究所	Masami Yokota Hirai, Marion Klein, Yuuta Fujikawa, Mitsuru Yano, Dayan B. Goodenowe, Yasuyo Yamazaki, Shigehiko Kanaya, Yukiko Nakamura, Masahiko Kitayama, Hideyuki Suzuki, Nozomu Sakurai, Daisuke Shibata, Jim Tokuhisa, Michael Reichelt, Jonathan Gershenzon, Jutta Papenbrock, and Kazuki Saito	○	2005	Elucidation of gene-to-gene and metabolite-to-gene networks in Arabidopsis by integration of metabolomics and transcriptomics	J. Biol. Chem., 280, 25590- 25595 (2005)
94	日立造船 大阪大学	Ei-ichiro Fukusaki, Kazuo Harada, Takeshi Bamba, Akio Kobayashi	○	2005	An isotope effect on the comparative quantification of flavonoids by means of methylation-based stable isotope dilution coupled with capillary liquid chromatograph/mass spectrometry	Journal of Bioscience and Bioengineering, 99, 75-77 (2005)
95	日本大学	Shimada, N., Sasaki, R., Sato, S., Kaneko, T., Tabata, S., Aoki, T., Ayabe, S	○	2005	A comprehensive analysis of six dihydroflavonol 4-reductases encoded by a gene cluster of the Lotus japonicus genome	Journal of Experimental Botany, 56: 2573-2585.
96	日本大学	Ryujiro Imaizumi, Shusei Sato, Nanako Kameya, Ikuo Nakamura, Yasukazu Nakamura, Satoshi Tabata, Shin-ichi Ayabe, Toshio Aoki	○	2005	Activation tagging approach in a model legume, Lotus japonicus.	Journal of Plant Research, 118(12): 391- 399.
97	海洋バイオ テクノロジー研究 所	Choi, S.-K., Nishida, Y., Matsuda, S., Adachi, K., Kasai, H., Peng, X., Komemushi, S., Miki, W., and Misawa, N.	○	2005	Characterization of b-carotene ketolases, CrtW, from marine bacteria by complementation analysis in Escherichia coli	Marine Biotechnol., 7, 515-522 (2005)
98	名古屋市立大学等	Sugiyama, Y., Y. Watase, M. Nagase, N. Makita, S. Yagura, A. Hirai and M. Sugiura	○	2005	The complete nucleotide sequence and multipartite organization of the tobacco mitochondrial genome: comparative analysis of mitochondrial genomes in higher plants	Mol. Gen. Genet., 272: 603-615
99	日本大学	Nakatsukasa-Akune, M., Yamashita, K., Shimoda, Y., Uchiumi, T., Abe, M., Aoki, T., Kamizawa, A., Ayabe, SI., Higashi, S., Suzuki, A	○	2005	Suppression of root nodule formation by artificial expression of the TrEnodDR1 (coat protein of white clover cryptic virus 1) gene in Lotus japonicus.	Molecular Plant-Microbe Interactions, 18: 1069- 1080.
100	京都府立大学	17) Umeda, T., Nakahira, Y., Takeba, G. and Shiina, T.		2005	The plastid targeted GTP-binding protein, AtOBG1 is essential for embryo development in Arabidopsis.	Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives 680-682
101	関西学院大学	Yayoi Onda*, I, Yusuke Yagil, Takateru Mochizuki1, Yuichi Tsunoyama2, Yoshinori Toyoshima		2005	Promoter preference and light- responsive transcription of plastid factors in Arabidopsis.	Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives 702-704
102	関西学院大学	Takateru Mochizuki1, Yayoi Onda1, Masamitsu Wada2, Yoshinori Toyoshima*		2005	Two independent light signals cooperating on the activation of psbD blue light-responsive promoter in Arabidopsis.	Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives 707-709
103	京都府立大学	15) Nozoe, M., Ishizaki, Y., Tsunoyama, Y., Tsubokura, Y., Kato, K., Shinnmyo, A., Nakahira, Y., Shiina, T.		2005	Characterization of a plastid sigma factor AtSIG5 responsible for psbD light-responsive transcription.	Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives 731-733
104	京都府立大学	16) Ishizaki, Y., Tsunoyama, Y., Hatano, K., Ando, K., Kato, K., Shinmyo, A., Nakahira, Y. and Shiina, T.		2005	A nuclear-encoded sigma factor, AtSig6, plays a key role in early chloroplast development in cotyledons.	Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives 733-735
105	石川県立大学生物 資源工学研究所	Masataka KAJIKAWA, Katsuyuki T. YAMATO, Hideya FUKUZAWA, Yasuyoshi SAKAI, Hidenobu UCHIDA and Kanji OHYAMA	○	2005	Cloning and characterization of a cDNA encoding $\beta$ -amylin synthase from petroleum plant Euphorbia tiurucallii L.	Phytochemistry 66, 1759-1766

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
106	東北大学生命科学 研究科	Nishitani, K.	○	2005	Division of roles among members of the XTH gene family in plants.	Plant Biosystems 139: 98-101
107	かずさDNA研究所	Yano K, Dansako T, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D	○	2005	KATANA: A web-based guide to public databases for Arabidopsis genomic information.	Plant Biotechnology 22: 225-229
108	東北大学生命科学 研究科	Kwon, H-K., Yokoyama, R. and Nishitani K.	○	2005	A Proteomic Approach to Apoplastic Proteins Involved in Cell Wall Regeneration in Protoplasts of Arabidopsis Suspension Cultured Cell.	Plant Cell Physiol 46: 843-857
109	東北大学生命科学 研究科	Vissenberg, K., Oyama, M., Osato, Y., Yokoyama, R., Verbelen, J-P and Nishitani, K.	○	2005	Differential expression of AtXTH17, -18, -19 and -20 genes in Arabidopsis roots. Physiological roles in specification in cell wall construction.	Plant Cell Physiol.46: 192-200
110	奈良先端科学技術 大学院大学バイオ エンス研究科	Nagaya, S., Ninomiya, Y., Horie, R., Sekine, M., Yoshida, K., Shinmyo, A. and Kato, K	○	2005	Expression of randomly integrated single complete copy transgenes does not vary in <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Plant Cell Physiology ,46, 438-444(2005)
111	名古屋大学等	Matsuo, M., Ito, Y., Yamauchi, R. and Obokata, J.	○	2005	Rice nuclear genome continuously integrates, shuffles and eliminates the chloroplast genome to cause chloroplast-nuclear DNA flux.	Plant Cell, 17: 1-11
112	東京工業大学、財 団法人かずさDNA 研究所	Sasaki-Sekimoto Y, Taki N, Obayashi T, Aono M, Matsumoto F, Sakurai N, Suzuki H, Hirai MY, Noji M, Saito K, Masuda T, Takamiya K, Shibata D, Ohta H	○	2005	Coordinated activation of metabolic pathways for antioxidants and defence compounds by jasmonates and their roles in stress tolerance in Arabidopsis.	Plant J 44: 653-668
113	東北大学生命科学 研究科	Matsui, A., Yokoyama, R., Ito, T., Seki, M., Shinozaki, K., Takahashi, T., Komeda, Y., Nishitani, K.	○	2005	AtXTH27 plays an essential role in cell wall modification during the development of tracheary elements.	Plant J. 42: 525-534
114	京都府立大学、奈 良先端科学技術大 学院大学バイオ エンス研究科	Ishizaki, Y., Tsunoyama, Y., Hatano, K., Ando, K., Kato, K., Shinmyo, A., Kobori, M., Takeba, G., Nakahira, Y. and Shiina, T.	○	2005	A nuclear-encoded sigma factor, Arabidopsis SIG6, recognizes sigma-70 type chloroplast promoters and regulates early chloroplast development in cotyledons.	Plant J.42, 133-144(2005)
115	東北大学生命科学 研究科	Imoto, K., Yokoyama, R. and Nishitani, K.	○	2005	Comprehensive approach to genes involved in cell wall modifications in Arabidopsis thaliana.	Plant Mol. Biol. 58: 177-192
116	東京農工大学	Maeda, K., Kimura, S., Demura, T., Takeda, J. and Ozeki, Y.	○	2005	DcMYB1 acts as a transcriptional activator of the carrot phenylalanine ammonia-lyase gene (DcPAL1) in response to elicitor treatment, UV-B irradiation and the dilution effect.	Plant Mol., Biol., 59: 739-752 (2005)
117	かずさDNA研究 所、千葉大、大 阪府立大学、東京 工業大学、海洋バ イオテクノロジー研 究所、京都大学	Tokimatsu T, Sakurai N, Suzuki H, Ohta H, Nishitani K, Koyama T, Umezawa T, Misawa N, Saito K, Shibata D	○	2005	KaPPA-view: a web-based analysis tool for integration of transcript and metabolite data on plant metabolic pathway maps.	Plant Physiol 138: 1289-1300
118	東京工業大学、か ずさDNA研究所	Taki N, Sasaki-Sekimoto Y, Obayashi T, Kikuta A, Kobayashi K, Aina T, Yagi K, Sakurai N, Suzuki H, Masuda T, Takamiya K, Shibata D, Kobayashi Y, Ohta H	○	2005	12-oxo-phytodienoic acid triggers expression of a distinct set of genes and plays a role in wound-induced gene expression in Arabidopsis.	Plant Physiol 139: 1268-1283
119	日本大学	Akashi, T., Aoki, T., Ayabe, S.	○	2005	Molecular and biochemical characterization of 2-hydroxyisoflavanone dehydratase. Involvement of carboxyesterase-like proteins in leguminous isoflavone biosynthesis.	Plant Physiology, 137(3), 1-10

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
120	日本大学	Chen, R., Tsuda, S., Matsui, K., Fukuchi-Mizutani, M., Ochiai, M., Shimizu, S., Sakuradani, E., Aoki, T., Imaizumi, R., Ayabe, S., Tanaka, Y	○	2005	Production of gamma-linolenic acid in <i>Lotus japonicus</i> and <i>Vigna angularis</i> by expression of the Delta 6-fatty-acid desaturase gene isolated from <i>Mortierella alpina</i> .	Plant Science, 169: 599-605.
121	東北大学生命科学研究科	Nishitani K., Yokoyama R., and Imoto K.		2005	Comprehensive analysis for cell-wall related genes involved in plant morphogenesis as regulated by gravity signal	Space Utilization Symp. 20: 129-131
122	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科、かずさDNA研究所、千葉大	Nakamura, Y., Shinbo, Y., Asahi, H., Md. Altaf-Ul-Amin, Kurokawa, K., Oikawa, A., Kimura, A., Ogura, T., Morishita, Y., Sakurai, N., Suzuki, H., Nishi, T., Hirai, Y.M., Yano, M., Saito, K., Ohta, D., Shibata, D., Kitayama, M., Kanaya, S.	○	2005	"METABOLIX: Metabolome profiling system based on mass spectrometry."	Sulfur transport and assimilation in plants in the post genomic era, 179-182
123	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科、かずさDNA研究所、千葉大	Shinbo, Y., Nakamura, Y., Md. Altaf-Ul-Amin, Asahi, H., Kurokawa, K., Suzuki, H., Sakurai, N., Oikawa, A., Kitayama, M., Yana, M., Hira, MY., Saito, K., Ohta, D., Shibata, D., Kanaya, S.	○	2005	"KNapSack: Natural product database system for searching relationships between metabolites and species."	Sulfur transport and assimilation in plants in the post genomic era, 191-194
124	日立造船 大阪大学	Ei-ichiro Fukusaki, Kanokwan Jumtee, Takeshi Bamba, Takehiro Yamaji, Akio Kobayashi	○	2005	Metabolic fingerprinting and profiling of <i>Arabidopsis thaliana</i> leaf and its cultured cells T87 by GC/MS	Z Naturforsch [C], 61(3-4): 267-72. (2006)
125	産業技術総合研究所	I7 Iwase A, Aoyagi H, Ohme-Takagi M, Tanaka H.	○	2005	Development of a novel system for producing ajmalicine and serpentine using direct culture of leaves in <i>Catharanthus roseus</i> intact plant	化学・バイオ つくば財団ニュース 56: 4-5
126	京都大学、かずさDNA研究所	青木考、柴田大輔		2005	cDNAを活用した植物機能ゲノミクス	バイオテクノロジージャーナル、5(5): p. 634-636, 羊土社
127	東北大学多元物質科学研究科	高橋征司, 古山 種俊		2005	イソプレノイド生合成酵素の分子解析	化学と生物 43 (5) 296-304 (2005)
128	京都大学	梅澤俊明		2005	リグナン、リグニンおよびノルリグナンの生合成	化学と生物, 43, 461-467 (2005)
129	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎, 小林昭雄	○	2005	質量分析計を用いたメタボロミクスの現状と可能性	化学工業, 2005年9月号 724頁-733頁 (2005)
130	王子製紙	佐藤茂		2005	ゲノム時代の樹木バイオテクノロジー	月刊バイオインダストリー22巻, No. 8 39-44
131	王子製紙	日尾野隆	○	2005	紙パルプ原料の増産、改質に関する研究	紙パルプ技協誌、59巻、88-93 (2005)
132	京都大学	梅澤俊明	○	2005	抽出成分に関する研究の現状と展望	木材学会誌, 51, 48-49 (2005)
133	大阪大学大学院工学研究科	Harada, K., Fukusaki, E., Bamba, T., Sato, F. and Kobayashi, A.	○	2006	In vivo (15)n-enrichment of metabolites in suspension cultured cells and its application to	<i>Biotechnol Prog</i> 22(4): 1003-1011. (2006)
134	東北大学生命科学研究科	倉澤香澄・横山隆亮・西谷和彦		2006	植物細胞壁構造の多様性と動態 - ゲノム情報からのアプローチ	「プラントミメティックス-植物に学ぶ」第1章 細胞壁と細胞 第一節 pp. 272-278
135	海洋バイオテクノロジー研究所	Choi, S. -K., Matsuda, S., Hoshino, T., Peng, X., and Misawa, N.	○	2006	Characterization of bacterial b-carotene 3,3'-hydroxylases, CrtZ, and P450 in astaxanthin biosynthetic pathway and adonirubin production by gene combination in <i>Escherichia coli</i>	Appl. Microbiol. Biotechnol., 72, 1238-1246 (2006)
136	日本大学	Nukui, N., Minamisawa, K., Ayabe, S., Aoki, T.	○	2006	Expression of l-aminocyclopropane-l-carboxylic acid deaminase gene requires symbiotic nitrogen-fixing regulator gene nifA2 in <i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099.	Applied and Environmental Microbiology, 72(7): 4964-4969.
137	大阪府立大学	Morikawa T, Mizutani M, Ohta D	○	2006	Cytochrome P450 subfamily CYP710A genes encode sterol C-22 desaturase in plants.	Biochem Soc Trans. 2006 34:1202-1205.



	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
138	奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科	Y. Shinbo, Y. Nakamura, MdAlt af-UL- Amin, H. Asahi, K. Kurokawa, M. Arita, K. Saito, D. Ohta, D. Shibata, S. Kanaya	○	2006	KBApSack: A Comprehensive specis- Metabolite Relationship Database	Biotechnol. Agric. Forest ry, 57, 165-181 (2006)
139	奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科	MD・ALTAF-UL-AMIN, Yoko Shinbo, Kenji Mihara, Ken Kurokawa, and Shigehiko Kanaya	○	2006	Development and implementation of an algorithm for detection of protein complexes in large interaction networks	BMC Bioinformatics, vol. 7, no. 2006, pp207.1-207.13, Apr. 2006
140	東北大学多元物質 科学研究所	S. Takahashi and T. Koyama	○	2006	Structure and Function of cis-Prenyl Chain Elongation Enzymes	Chem. Rec., 6 (4) 194- 205 (2006).
141	東北大学多元物質 科学研究所	Y. Kharel, S. Takahashi, S. Yamashita, and T. Koyama. Y. Kharel, S. Takahashi, S. Yamashita, and T. Koyama	○	2006	Manipulation of prenyl chain length determination mechanism of cis- prenyltransferases	FEBS Journal, 273 (3) 647-657 (2006)
142	日本大学	Akashi, T., Koshimizu, S., Aoki, T., Ayabe, S.	○	2006	Identification of cDNAs encoding pterocarpan reductase involved in isoflavan phytoalexin biosynthesis in Lotus japonicus by EST mining	FEBS Letters, 580: 5666-5670
143	名古屋市立大学等	Dieci, G., Y. Yukawa, M. Alzapiedi, E. Guffanti, R. Ferrari, M. Sugiura and S. Ottonello	○	2006	Distinct modes of TATA box utilization by the RNA polymerase III transcription machineries from budding yeast and higher plants.	Gene, 379: 12-25
144	かずさDNA研究所	Tokimatsu T, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D	○	2006	KaPPA-View: A tool for Integrating Transcriptomic and Metabolomic Data on Plant Metabolic Pathway Maps.	In K Saito, RA Dixon, L Willmitzer, eds, Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol 57. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp 155-163
145	奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科	Hirokazu Nishio, MD・ ALTAF-UL-AMIN, Ken Kurokawa, and Shigehiko Kanaya	○	2006	Spherical SOM and arrangement of neurons using helix on sphere," IPSJ Trans. Math. Modelling and Its Applications	IPSJ Trans. Math. Modelling and Its Applications, vol. 47, pp56-60, 2006
146	奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科	Hijiri Maeno, MD・ALTAF- UL-AMIN, Yoko Shinbo, Ken Kurokawa, Naotake Ogasawara, Shigehiko Kanaya	○	2006	Elucidating conservation of genes in multiple genomes based on graphs configured by bidirectional best-hit relationships	IPSJ Transactions on Bioinformatics, vol. 1, no. No. SIG17 (TBI01), pp1-11, 2006
147	東北大学生命科学 研究科	Suzuki H, Takahashi S, Watanabe R, Fukushima Y, Fujita N, Noguch A, Yokoyama R, Nishitani K, Nishino T, Nakayama T.	○	2006	An isoflavone conjugate-hydrolyzing $\beta$ -glucosidase from the roots of soybean (Glycine max) seedlings. Purification, gene cloning, phylogenetics and cellular localization.	J Biol Chem 281: 30251 - 30259
148	かずさDNA研究所	Sakurai N and Shibata D	○	2006	KaPPA-View for integrating quantitative transcriptomic and metabolomic data on plant metabolic	J Pesticide Science 31: 293-295
149	東北大学生命科学 研究科	Osato, Y. Yokoyama, R. Nishitani, K.	○	2006	A principal role for AtXTH18 in Arabidopsis thaliana root growth - a functional analysis using RNAi plants	J Plant Res. 119: 153- 162
150	東北大学生命科学 研究科	Yokoyama, R. Nishitani, K.	○	2006	Identification and characterization of Arabidopsis thaliana genes involved in xylem secondary cell walls	J Plant Res. 119: 189- 194
151	名古屋市立大学等	Mutsuda, M. and M. Sugiura	○	2006	Translation initiation of cyanobacterial rbcS mRNAs requires the 38 kDa ribosomal protein S1 but not the Shine-Dalgarno sequence: Development of a cyanobacterial in vitro translation system.	J. Biol. Chem., 281: 38314-38321
152	大阪大学大学院工 学研究科	Harada, K., E. Fukusaki, and A. Kobayashi	○	2006	Pressure-Assisted Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry using a Combination of Polarity Reversion and Electroosmotic Flow for the Metabolomics Anion Analysis.	J. Biosci. Bioeng. : 101(5): 403-409. (2006)

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
153	奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科	Md. Altaf-Ul-Amin, Hisashi Tuji, Ken Kurokawa, Hiroko Asahi, Yoko Shinbo, and Shigehiko Kanaya	○	2006	DPCLUS: A density-periphery based graph clustering software mainly focused on detection of protein complexes in interaction networks	J. Comput. Aided Chem., vol. 7, pp150-156, 2006
154	奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科	Yoko Shinbo, Shun-ichi Sagkakaguchi, Yukiko Nakamura, MD・ALTAF-UL- AMIN, Ken Kurokawa, Kimito Funatsu, and Shigehiko Kanaya	○	2006	Species-metabolite database (KNAPsACK): Elucidating diversity of flavonoids	J. Comput. Aided Chem., vol. 7, pp94-101, 2006
155	産業技術総合研究 所	Nakano, T., Suzuki, K., Ohtsuki, N., Tsujimoto, Y., Fujimura, T., Shinshi, H	○	2006	Identification of genes of the plant- specific transcription-factor families cooperatively regulated by ethylene and jasmonate in Arabidopsis thaliana.	J. Plant Res. 119: 407- 413
156	奈良先端科学技術 大学院大学ハ <sup>イ</sup> イ エンス研究科	Kato, K., Ishikura, K., Kasai, S. and Shinmyo, A.	○	2006	Efficient translation destabilizes transcripts in the chloroplasts of <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> .	Journal of Bioscience and Bioengineering, 101, 471-477 (2006)
157	大阪府立大学	Ohta D		2006	Metabolic phenotyping and marker metabolite identification using Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry	JOURNAL OF PESTICIDE SCIENCE 31 (4): 489-492 2006
158	名古屋市立大学等	I Yukawa, M., T. Tsudzuki and M. Sugiura	○	2006	The chloroplast genome of <i>Nicotiana sylvestris</i> and <i>Nicotiana tomentosiformis</i> : Complete sequencing confirms that the <i>Nicotiana sylvestris</i> progenitor is the maternal genome donor of <i>Nicotiana tabacum</i> .	Mol. Gen. Genomics, 275: 367-373
159	奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科	Nevan J. Krogan, (40 persons), MD・ALTAF-UL- AMIN, Shigehiko Kanaya, (8 persons), Andrew Emili, and Jack F. Greenblatt	○	2006	Global landscape of protein complexes in the yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Nature, vol. 440, pp637- 643, 2006
160	理化学研究所 奈良先端科学技術 大学院大学情報科 学研究科	Yoshikazu Hasegawa, (10 persons), Shigehiko Kanaya, (3 persons), and Teturo Toyoda, “	○	2006	A flexible representation of omic knowledge for thorough analysis of microarray data	Nature, vol. 440, pp637- 643, 2006
161	王子製紙	Takayoshi Koyama, Naoki Kato, Takashi Hibino, Tetsu Kawazu, Tetsuya Kimura, Kazuo Sakka	○	2006	Isolation and expression analysis of phosphate transporter genes from <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Plant Biotechnology 23, 215-218 (2006)
162	奈良先端科学技術 大学院大学ハ <sup>イ</sup> イ エンス研究科、かず さDNA研究所	Kodama, Y., Nagaya, S., Sakurai, N., Shibata, D., Shinmyo, A. and Kato, K.	○	2006	Analysis of chromatin condensation states by DNase I sensitivity assay at 500-base resolution in <i>Arabidopsis</i> .	Plant Biotechnology, 23, 451-457 (2006)
163	日本大学	Shimada, N., Nakatsuka, T., Nishihara, M., Yamamura, S., Ayabe, S., Aoki, T.	○	2006	Isolation and characterization of a cDNA encoding polyketide reductase in <i>Lotus japonicus</i>	Plant Biotechnology, 23: 509-513.
164	東京農工大学	Maeda, K. and Ozeki, Y.	○	2006	Self-interaction of DcMYB1 involved in stress-inducible DcPAL1 expression.	Plant Biothechnol., 23: 219-225 (2006).
165	東京農工大学	Maeda, K., Kimura, S., Noma, W. and Ozeki, Y.	○	2006	A promoter analysis of the DcMYB1 gene that encodes the transcriptional activator of the stress-inducible carrot PAL gene (DcPAL1).	Plant Biothechnol., 23: 203-209 (2006)
166	東北大学生命科学 研究科	Yoshida K, Imaizumi N, Kanakano S, Kawagoe Y, Tagiri A, Tanaka H, Nishitani K, Komae K.	○	2006	Carbohydrate binding module of a rice endo- $\beta$ -1,4-glucanase OsCel8-1 expressed in auxin-induced lateral root primordial is posttranslationaly truncated.	Plant Cell Physiol. 47: 1555-1571
167	日本大学、かずさ DNA研究所	Sawai S, Akashi T, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, Ayabe S, Aoki T	○	2006	Plant lanosterol synthase: divergence of the sterol and triterpene biosynthetic pathways in eukaryotes	Plant Cell Physiol., 47(5):673-7

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
168	日本大学、かずさDNA研究所、大阪府立大学	Morikawa T, Mizutani M, Aoki N, Watanabe B, Saga H, Saito S, Oikawa A, Suzuki H, Sakurai N, Shibata D, Wadano A, Sakata K, Ohta D	○	2006	Cytochrome P450 CYP710A encodes the sterol C-22 desaturase in Arabidopsis and tomato.	Plant Cell, 18(4):1008-1022
169	名古屋市立大学等	Sasaki, T., Y. Yukawa, T. Wakasugi, K. Yamada and M. Sugiura	○	2006	A simple in vitro RNA editing assay for chloroplast transcripts using fluorescent dideoxynucleotides: Distinct types of sequence elements required for editing of ndh transcripts.	Plant J., 47: 802-810
170	味の素	Igarashi D, Tsuchida H, Miyao M, Ohsumi C.	○	2006	Glutamate:glyoxylate Aminotransferase (GGAT) Modulates Amino Acid Contents during Photorespiration.	Plant Physiol. 2006 Nov 142(3) 901-910
171	大阪府立大学、かずさDNA研究所、奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科	Oikawa A, Nakamura Y, Ogura T, Kimura A, Suzuki H, Sakurai N, Shinbo Y, Shibata D, Kanaya S, Ohta D	○	2006	Clarification of pathway-specific inhibition by Fourier transform ion cyclotron resonance/mass spectrometry-based metabolic phenotyping studies.	Plant Physiol., 142(2):398-413
172	産業技術総合研究所	T.Nakano, K.Suzuki, T.Fujimura and H.Shinshi.	○	2006	Genome-Wide Analysis of the ERF Gene Family in Arabidopsis and rice.	Plant Physiol. 140, 411-432
173	日本大学	Satoru Sawai, Tamotsu Shindo, Shusei Sato, Takakazu Kaneko, Satoshi Tabata, Shin-ichi Ayabea and Toshio Aoki	○	2006	Functional and structural analysis of genes encoding oxidosqualene cyclases of Lotus japonicus.	Plant Science. 170: 247-257.
174	東北大学生命科学研究科	Nishitani K, Vissenberg K.	○	2006	Roles of the XTH protein family in the expanding cell	The Expanding Cell ed. by Jean-Pierre Verbelen pp. 89-116
175	東北大学生命科学研究科	Nishitani K.		2006	A brief history of the XTH gene family	The Plant Cell Wall ed. Hayashi, T. Universal Publishers pp. 148-1
176	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科	Hisashi Tuji, MD・ALTAFL-UL-AMIN, Masanori Arita, Hirokazu Nishio, Yoko Shinbo, Ken Kurokawa, and Shigehiko Kanaya	○	2006	Comparison of protein complexes predicted from PPI networks by DPPlus and Newman clustering algorithms	vol. 47, no. SIG17 (TBIO 1), pp31-41, 2006
177	大阪大学大学院工学研究科	Fukusaki, E., K. Jumtee, T. Bamba, T. Yamaji, and A. Kobayashi	○	2006	Metabolic fingerprinting and profiling of Arabidopsis thaliana leaf and its cultured cells T87 by GC/MS.	Z Naturforsch [C], 61(3-4): 267-72. (2006)
178	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	加藤 晃、長屋 進吾		2006	植物における効率的な有用遺伝子発現を目指して	バイオサイエンスとインダストリー, 64, 332-333(2006)
179	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎	○	2006	質量分析を用いた定量的メタボローム解析に関する技術的問題	細胞工学, 25, (12), 1415-1420 (2006)
180	東北大学生命科学研究科	西谷和彦		2006	植物細胞壁の構造と機能 -比較ゲノムからのアプローチ	植物の生長調節 41:34-45
181	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎	○	2006	メタボロミクスの可能性と技術的問題	生物工学, 84巻, 231-234 (2006)
182	大阪府立大学	及川 彰・中村由紀子・金谷重彦・太田大策		2006	FT-ICR MSを用いたメタボローム解析	生物工学会誌 84: 219-222
183	かずさDNA研究所	櫻井望、鈴木秀幸	○	2006	植物栄養学研究へのゲノム科学のインパクト 植物科学におけるトランスクリプトームとメタボローム研究の新展開	日本土壤肥科学雑誌 第77巻 第2号、p. 219-230
184	大阪府立大学、奈良先端科学技術大学院大学、かずさDNA研究所	Ohta D, Shibata D, Kanaya S	○	2007	Metabolic profiling using Fourier-transform ion-cyclotron-resonance mass spectrometry.	Anal. Bioanal. Chem. 389, 1469-75
185	海洋バイオテクノロジー研究所	Choi, S.-K., Harada, H., Matsuda, S., and Misawa, N.	○	2007	Characterization of two b-carotene ketolases, CrtO and CrtW, by complementation analysis in Escherichia coli	Appl. Microbiol. Biotechnol., 75, 1335-1341(2007)

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
186	日立造船 大阪大学 九州大学	Ren Chen, Sachiko Namimatsu Yoko Nakadozono, Takeshi Bmaba, Yoshihisa Nakazawa, and Koichiro Gyokusen	○	2007	Efficient Regeneration of <i>Eucommia ulmoides</i> Oliver Plant from Hypocotyl Explant	<i>Biologia Plantarum</i> 52(4): 713-717 (2008)
187	地球環境産業技術 研究機構	Adachi T, Takase H, Tomizawa K.	○	2007	Introduction of a 50 kbp DNA fragment into the plastid genome.	<i>Biosci Biotechnol Biochem.</i> 71(9):2266-73
188	海洋バイオ テクノロジー研究 所	Maruyama, T., Kasai, H., Choi, S. -K., Ramasamy, A. K., Inomata, Y., and Misawa, N.	○	2007	Structure of a complete carotenoid biosynthesis gene cluster of marine bacterium <i>Paracoccus</i> sp. strain N81106	<i>Carotenoid Sci.</i> , 11, 50-55 (2007)
189	海洋バイオ テクノロジー研究 所	Ramasamy, A. K., Choi, S. -K., Udayasuriyan, V., and Misawa, N.	○	2007	Structure of a carotenoid gene cluster from <i>Pantoea</i> sp. strain C1BIY and characterization of b-carotene hydroxylase ( <i>crtZ</i> ) gene by functional complementation in <i>Escherichia coli</i>	<i>Carotenoid Science</i> , 11, 10-15 (2007)
190	名古屋市立大学等	Plader, W., Y. Yukawa, M. Sugiura and S. Malepszy	○	2007	The complete structure of the cucumber ( <i>Cucumis sativus</i> L.) chloroplast genome: its composition and comparative analysis.	<i>Cell. Mol. Biol. Lett.</i> , 12: 584-594
191	日本大学	Shimada, N., Sato, S., Akashi T., Nakamura, Y., Tabata, S., Ayabe, S., Aoki, T.	○	2007	Genome-wide analyses of the structural gene families involved in the legume-specific 5- deoxyisoflavonoid biosynthesis of <i>Lotus japonicus</i>	<i>DNA Research</i> , 14: 25- 36.
192	東京工業大学	Nakamura Y and Ohta H	○	2007	The diacylglycerol forming pathways differ among floral organs of <i>Petunia hybrida</i> .	<i>FEBS Lett.</i> 581, 5475- 5479.
193	海洋バイオ テクノロジー研究 所	三沢 典彦		2007	カロテノイド生合成遺伝子とバイオテ クノロジー (Carotenoid biosynthesis genes and biotechnology) (総説)	<i>FFI Journal</i> , 212, 532- 538 (2007)
194	西北農林科技大学	Qiang Zhang, YinQuan Su, FabgXia Yang, JinNian peng, XiuHong Li, RungCang Sun	○	2007	Antioxidative activity of water extracts from leaf, male flower, raw cortex and fruit of <i>Eucommia ulmoides</i> . Oliv	<i>Forest products journal</i> Vol. 57, No.12 74-78 (2007)
195	日立造船 西北農林科技大学	Peng Jinnian, Su Yinquan, Sun Qishi, Yue Jie, Yoshihisa Nakazawa Sun Runcang	○	2007	Content and molecular-weight distribution of EU rubber <i>Eucommia ulmoides</i> leaves	<i>Forest products journal</i> Vol. 57, No.5 65-67 (2007)
196	名古屋市立大学等	Yukawa, Y., T. Mizutani, K. Akama and M. Sugiura	○	2007	A survey of expressed tRNA genes in the chromosome I of <i>Arabidopsis</i> using an RNA polymerase III-dependent <i>in vitro</i> transcription system.	<i>Gene</i> , 392: 7-13
197	大阪大学大学院工 学研究科	Kim, J. K., Bamba, T., Harada, K., Fukusaki, E. and Kobayashi, A	○	2007	Time-course metabolic profiling in <i>Arabidopsis thaliana</i> cell cultures after salt stress treatment.	<i>J Exp Bot</i> 58(3): 415- 424. (2007)
198	京都府立大学	Khan MS, Hameed W, Nozoe M, Shiina T	○	2007	Disruption of the <i>psbA</i> gene by the copy correction mechanism reveals that the expression of plastid- encoded genes is regulated by photosynthesis activity.	<i>J Plant Res.</i> 120, 421- 430
199	東京工業大学	Nakamura Y., Tsuchiya M., Ohta, H.	○	2007	Plastidic phosphatidic acid phosphatases identified in a distinct subfamily of lipid phosphate phosphatase with prokaryotic origin.	<i>J. Biol. Chem.</i> 282, 29013-29021
200	京都大学	Suzuki, S., Umezawa, T.	○	2007	Biosynthesis of lignans and norlignans	<i>J. Wood Science</i> , 53, 273-284 (2007)
201	奈良先端科学技術 大学院大学ハ イ エンス研究科	Kato, K., Marui, T., Kasai, S. and Shinmyo, A.	○	2007	Artificial control of transgene expression in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> chloroplast using the lac regulation system from <i>Escherichia coli</i> .	<i>Journal of Bioscience and Bioengineering</i> , 104, 207-213(2007)
202	常磐植物化学研究 所 千葉大学	Jinwei Li-Yang, Jun- ichiro Nakajima, Nobuhiko Kimura, Kazuki Saito and Shujiro Seo	○	2007	Oleanane-type Triterpene Glycosides from <i>Glycyrrhiza uralensis</i>	<i>Natural Product Communications</i> , 2, 1-6

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
203	東京工業大学、かずさDNA研究所	Obayashi T, Kinoshita K, Nakai K, Shibaoka M, Hayashi S, Saeki M, Shibata D, Saito K, Ohta H	○	2007	ATTED-II: a database of co-expressed genes and cis elements for identifying co-regulated gene groups in Arabidopsis.	Nucleic Acids Res. 35 (Database issue), D863-9
204	京都大学	Sakakibara, N., Nakatsubo, T., Suzuki, S., Shibata, D., Shimada, M., Umezawa, T.	○	2007	Metabolic Analysis of the Cinnamate/Monolignol Pathway in <i>Carthamus tinctorius</i> Seeds by a Stable-Isotope-Dilution Method	Org. Biomol. Chem., 5, 802-815 (2007)
205	名古屋市立大学等	Sugita, C., K. Ogata, M. Shikata, H. Jikuya, J. Takano, M. Furumichi, M. Kanehisa, T. Omata, M. Sugiura and M. Sugita	○	2007	Complete nucleotide sequence of the freshwater unicellular cyanobacterium <i>Synechococcus elongatus</i> PCC 6301 chromosome: gene content and organization.	Photosynthesis Res., 93: 55-67
206	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Kodama, Y., Nagaya, S., Shinmyo, A. and Kato, K.	○	2007	Distinct DNase I hypersensitive sites are absent from promoters of transcriptionally incompetent genes in Arabidopsis.	Plant biotechnology, 24, 383-392(2007)
207	日本大学、財団法人かずさDNA研究所	Shimamura M, Akashi T, Sakurai N, Suzuki H, Saito K, Shibata D, Ayabe S, Aoki T	○	2007	2-Hydroxyisoflavanone dehydratase is a critical determinant of isoflavone productivity in hairy root cultures of <i>Lotus japonicus</i> .	Plant Cell Physiol. 48, 1652-1657
208	かずさDNA研究所	Aoki K, Ogata Y, Shibata D	○	2007	Approaches for extracting practical information from gene co-expression networks in plant biology.	Plant Cell Physiol. 48, 381-390
209	名古屋市立大学等	Kuroda, H., H. Suzuki, T. Kusumegi, T. Hirose, Y. Yukawa and M. Sugiura	○	2007	Translation of psbC mRNAs starts from the downstream GUG, not the upstream AUG, and requires the extended Shine-Dalgarno sequence in tobacco chloroplasts.	Plant Cell Physiol., 48: 1374-1378
210	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Kodama, Y., Nagaya, S., Shinmyo, A. and Kato, K.	○	2007	Mapping and characterization of DNase I hypersensitive sites in Arabidopsis chromatin.	Plant Cell Physiology, 48, 459-470(2007)
211	海洋バイオテクノロジー研究所	Suzuki, S., Nishihara, M., Nakatsuka, T., Misawa, N., Ogiwara, I., and Yamamura, S.	○	2007	Flower color alteration in <i>Lotus japonicus</i> by modification of the carotenoid biosynthetic pathway	Plant Cell Rep., 26, 951-95 (2007)
212	産業技術総合研究所	Mitsuda N, Iwase A, Yamamoto H, Yoshida M, Seki M, Shinozaki K, Ohme-Takagi M	○	2007	NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of Arabidopsis.	Plant Cell. 19: 270-280.
213	名古屋市立大学	Nakamura, M. and M. Sugiura	○	2007	Translation efficiencies of synonymous codons are not always correlated with codon usage in tobacco chloroplasts.	Plant J., 49: 128-134
214	名古屋市立大学	Yukawa M., H. Kuroda and M. Sugiura	○	2007	A new in vitro translation system for non-radioactive assay from tobacco chloroplasts: effect of pre-mRNA processing on translation in vitro.	Plant J., 49: 367-376
215	日本大学	Takahashi, R., Githiri, S. M., Hatayama, K., Dubouzet, E. G., Shimada, M., Aoki, T., Ayabe, S., Toda, K., Matsumura, H.	○	2007	A single-base deletion in soybean flavonol synthase gene is associated with magenta flower color	Plant Molecular Biology, 63: 125-135.
216	東北大学多元物質科学研究所	A. Phatthiya, S. Takahashi, N. Chareonthiphakorn, T. Koyama, D. Wititsuwannakul, and R. Wititsuwannakul	○	2007	Cloning and expression of the gene encoding solanesyl diphosphate synthase from <i>Hevea brasiliensis</i>	Plant Science, 172 (4), 824-831
217	石川県立大学生物資源工学研究所	Hidenobu UCHIDA, Ryuji SUGIYAMA, Osamu NAKAYACHI, Miho TAKEMURA, Kanji OHYAMA	○	2007	Expression of the gene for sterol-biosynthesis enzyme squalene epoxidase in parenchyma cells of the oil plant, <i>Euphorbia tirucalli</i> .	Planta 226, 1109-1115
218	大阪府立大学、奈良先端科学技術大学院大学、かずさDNA研究所	Nakamura Y, Kimura A, Saga H, Oikawa A, Shinbo Y, Kai K, Sakurai N, Suzuki H, Kitayama M, Shibata D, Kanaya S, Ohta D	○	2007	Differential metabolomics unraveling light/dark regulation of metabolic activities in Arabidopsis cell culture.	Planta 227, 57-66

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
219	理化学研究所植物 科学センター、か ずさDNA研究所	Hirai MY, Sugiyama K, Sawada Y, Tohge T, Obayashi T, Suzuki A, Araki R, Sakurai N, Suzuki H, Aoki K, Goda H, Nishizawa OI, Shibata D, Saito K	○	2007	Omic-based identification of Arabidopsis Myb transcription factors regulating aliphatic glucosinolate biosynthesis.	Proc. Natl Acad. Sci. USA 104, 6478-6483
220	京都大学	Suzuki, S., Yamamura, M., Hattori, T., Nakatsubo, T., Umezawa, T.	○	2007	The subunit composition of hinokirsinol synthase controls geometrical selectivity in norlignan formation	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104, 21008-21013 (2007)
221	日立造船 大阪大学 九州大学	Takeshi Bamba, Ei-ichiro Fukusaki, Yoshihisa Nakazawa, Koichi Ute, Tatsuki Kitayama, Akio Kobayash	○	2007	Analysis of ployprenols by supercritical fluid chromatography	Proseeding of The 2nd International Symposium on Eucommia ulmoides Vol.1 No.1, 103-108 (2007)
222	日立造船 大阪大学 九州大学	Takehi Bamba, Ei-ichiro Fukusaki, Yoshihisa Nakazawa, Akio Kobayashi	○	2007	<i>In situ localization of polyisoprene in Eucommia ulmoides Oliver</i>	Proseeding of The 2nd International Symposium on Eucommia ulmoides Vol.1 No.1, 109-111 (2007)
223	日立造船 大阪大学 九州大学	Yoko Nakadozono, Takeshi Bamba, Ren Chen, Sachiko Namimatsu, Yoshihisa Nakazawa, Koichiro Gyokusen	○	2007	Induction and Analysis of Polyploid in Eucommia ulmoides Oliver	Proseeding of The 2nd International Symposium on Eucommia ulmoides Vol.1 No.1, 112-115 (2007)
224	日立造船 大阪大学 九州大学	Ren Chen, Sachiko Namimatsu, Yoko Nakadozono, Yoshihisa Nakazawa Koichiro Gyokusen	○	2007	Efficient Regeneration of Eucommia ulmoides Oliver Plant from Hypocotyl Explant.	Proseeding of The 2nd International Symposium on Eucommia ulmoides Vol.1 No.1, 75-77 (2007)
225	日立造船 大阪大学、 九州大学 西北農林科技大学	Xuehong Li, Jie Yue, Qinghua Shi, Takeshi Bamba, Yoshihisa Nakazawa, Akio Kobayashi, Eichiro Fukusaki, Yinquan Su, Xihan Ma	○	2007	<i>Trans-polyisoprene Content and its Molecular-weight Distribution in Various Cultivars of Eucommia ulmoides</i>	Proseeding of The 2nd International Symposium on Eucommia ulmoides Vol.1 No.1, 91-93 (2007)
226	日立造船 大阪大学 九州大学	Takeshi Bamba, Ei-ichiro Fukusaki, Hiroshi Minakuchi, Yoshihisa Nakazawa, Akio Kobayashi	○	2007	Separation of ployprenols by monolithic silica column in high- performance liquid chromatograh	Proseeding of The 2nd International Symposium on Eucommia ulmoides Vol.1 No.1, 97-102 (2007)
227	日立造船 大阪大学 九州大学	Sachiko Namimatsu, Takeshi Bamba, Ren Chen, Yoko Nakadozono, Yoshihisa Nakazawa, Koichiro Gyokusen	○	2007	Development of root culture system of Eucommia ulmoides Oliver for the evaluation of polyisoprene biosynthesis	Proseeding of The 2nd International Symposium on Eucommia ulmoides Vol.1 No.1, 94-96 (2007)
228	日立造船 大阪大学、 九州大学 西北農林科技大学	Takeshi Bamba, Tomoki Sando, Asuka Miyabashira, Koichirou Gyoksen, Yoshihisa Nakazawa, Yinquan Su, Ei-ichiro Fukusaki Akio Kobayashi	○	2007	Potential of Periploca sepium for rubber production	Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung 62, 579-82, (2007)
229	かずさDNA研究所	柴田大輔、櫻井望		2007	植物バイオテクノロジーとメタボロミク スの重要性.	バイオサイエンスとイン ダストリー 65: 199-202
230	大阪大学大学院工 学研究科	福崎英一郎, 原田和生	○	2007	植物メタボロミクス技術の新展開	バイオサイエンスとイン ダストリー, 65巻, 10 号, 498-504 (2007)
231	王子製紙	佐藤茂	○	2007	材質改良に向けた育種戦略	紙パルプ技協誌、61巻、 79-83
232	京都大学	梅澤俊明、和田将平、榊原 紀和、山村正臣、鈴木史 朗、服部武文、幸田みどり		2007	森林バイオマス評価分析システムにおけ るリグニン分析プロトコール	生存圏研究, 3, 73-75 (2007)
233	大阪府立大学	太田大策		2007	Genomics, Proteomics, and Metabolomics	日本農薬学会誌 32 supplement

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
234	奈良先端科学技術 大学院大学情報科学 研究科、大阪府 立大	Takahashi, H, Kai, K., Shinbo, Y., Tanaka, K., Ohta, D., Oshima, T., Md. Altaf-Ul-Amin, Kurokawa, K., Ogasawara, N., Kanaya S	○	2008	Metabolomics approach for determining growth-specific metabolites based on fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry	Anal. Biolanal. Chem., 391, 2769-2782, (2008)
235	東北大学多元物質 科学研究所	T. Ambo, M. Noike, H. Kurokawa, and T. Koyama	○	2008	Cloning and functional analysis of short-chain cis-prenyltransferases	Biochem. Biophys. Res. Commun., 375, 436-440 (2008)
236	京都大学	梅澤俊明、鈴木史朗	○	2008	リグニンの改変技術	Bioindustry, 25, 50-60 (2008)
237	ブリヂストン 大阪大学	山東智紀, 武野真也, 渡辺 訓江, 奥本寛, 葛山智久4 山下敦士、服部正平, 小笠原 直毅, 福崎英一郎 小林昭雄	○	2008	Cloning and characterization of non- mevalonate pathway genes in natural rubber producing plant, Hevea brasiliensis	Bioscience, Biotechnolog y, Biochemistry, 72, 2903-2917 (2008)
238	大阪大学 奈良先端科学技術 大学院大学 他	山東智紀, 高岡千賀 向由起 夫 山下敦士, 服部正平, 小 笠原直毅, 福崎英一郎1 小 林昭雄	○	2008	Cloning and characterization of mevalonate pathway genes in natural rubber producing plant, Hevea brasiliensis	Bioscience, Biotechnolog y, Biochemistry, 72. 2049-2060 (2008)
239	かずさDNA研究所	Ogawa Y, Suzuki H, Sakurai N, Aoki K, Saito K, Shibata D	○	2008	Cryopreservation and metabolic profiling analysis of Arabidopsis T87 suspension-cultured cells.	Cryo Letters. 29 (5), 427-36
240	名古屋市立大学	Sugiura, M.		2008	RNA editing in chloroplasts.	In "RNA Editing" (H. U. Goring, ed), Springer, pp. 125-144
241	大阪大学大学院工 学研究科	Harada, K., Ohyama, Y., Tabushi, T., Kobayashi, A. and Fukusaki, E.	○	2008	Quantitative analysis of anionic metabolites for Catharanthus roseus by capillary electrophoresis using sulfonated capillary coupled with electrospray ionization-tandem mass spectrometry.	J Biosci Bioeng 105(3): 249-260. (2008)
242	日立造船 大阪大学	Takeno, S., Bamba, T., Nakazawa, Y., Fukusaki, E., Okazawa, A. and Kobayashi, A.	○	2008	Quantification of trans-1,4- polyisoprene in Eucommia ulmoides by fourier transform infrared spectroscopy and pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry.	J Biosci Bioeng 105(4): 355-359. (2008)
243	日立造船 大阪大学	Bamba, T., Shimonishi, N., Matsubara, A., Hirata, K., Nakazawa, Y., Kobayashi, A. and Fukusaki, E.	○	2008	High throughput and exhaustive analysis of diverse lipids by using supercritical fluid chromatography- mass spectrometry for metabolomics	J Biosci Bioeng 105(5): 460-469. (2008)
244	大阪大学大学院工 学研究科	Kajiyama, S., Joseph, B., Inoue, F., Shimamura, M., Fukusaki, E., Tomizawa, K. and Kobayashi, A.	○	2008	Transient gene expression in guard cell chloroplasts of tobacco using ArF excimer laser microablation.	J Biosci Bioeng 106(2): 194-198. (2008)
245	日立造船 大阪大学	Takeno, S., Bamba, T., Nakazawa, Y., Fukusaki, E., Okazawa, A. and Kobayashi, A.	○	2008	A high-throughput and solvent-free method for measurement of natural polyisoprene content in leaves by Fourier transform near infrared spectroscopy.	J Biosci Bioeng 106(6): 537-540. (2008)
246	地球環境産業技術 研究機構、大阪大 学大学院工学研究 科	Hasunuma T, Takeno S, Hayashi S, Sendai M, Bamba T, Yoshimura S, Tomizawa K, Fukusaki E, Miyake C.	○	2008	Overexpression of 1-Deoxy-D-xylulose- 5-phosphate reductoisomerase gene in chloroplast contributes to increment of isoprenoid production.	J Biosci Bioeng. 105(5):518-26.
247	大阪大学大学院工 学研究科	Juntee, K., Bamba, T., Okazawa, A., Fukusaki, E. and Kobayashi, A.	○	2008	Integrated metabolite and gene expression profiling revealing phytochrome A regulation of polyamine biosynthesis of Arabidopsis thaliana.	J Exp Bot. 59 (6): 1187-1200 (2008)
248	京都大学	Nakatsubo, T., Mizutani, M., Suzuki, S., Hattori, T., Umezawa, T.	○	2008	Characterization of Arabidopsis thaliana Pinorexinol Reductase, a new type of enzyme involved in lignan biosynthesis	J. Biol. Chem., 283, 15550-15557 (2008)
249	海洋バイオ テクノロジー研究 所	Fujisawa, M., Watanabe, M., Choi, S. -K., Teramoto, M., Ohyama, K., and Misawa, N.	○	2008	Enrichment of carotenoids in flaxseed (Linum usitatissimum) by metabolic engineering with introduction of bacterial phytoene synthase gene crtB.	J. Biosci. Bioeng., 105:636-641 (2008)

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
250	東京農工大学	Kimura, S., Chikagawa, Y., Kato, M., Maeda, K. and Ozeki, Y.	○	2008	Upregulation of the promoter activity of the carrot phenylalanine ammonia-lyase gene (DcPAL3) was caused by new members of the transcriptional regulatory proteins, DcERF1 and DcERF2, which bound to the GCC-box homolog and acted as an activator to the DcPAL3 promoter.	J. Plant Res., 121: 499-508
251	日立造船 大阪大学	松原惇起, 下西成人, 中澤慶久, 平田收正, 小林昭雄, 福崎英一郎, 馬場健史		2008	超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析による脂質プロファイリング	Jasco Report SFC特集号 9-15 (2008)
252	奈良先端科学技術 大学院大学 <sup>ハ</sup> バイオ エンス研究科	Sugio, T., Satoh, J., Matsuura, H., Shinmyo, A. and Kato, K.	○	2008	The 5' -Untranslated Region of the <i>Oryza sativa</i> Alcohol Dehydrogenase Gene Functions as a Translational Enhancer in Monocotyledonous Plant Cells.	Journal of Bioscience and Bioengineering, 105, 300-302 (2008)
253	奈良先端科学技術 大学院大学 <sup>ハ</sup> バイオ エンス研究科	Matsuura, H., Shinmyo, A. and Kato, K.	○	2008	Preferential translation mediated by the Hsp81-3 5' -UTR during heat shock involves a ribosome entry at the 5' -end rather than an internal site in <i>Arabidopsis</i> suspension cells	Journal of Bioscience and Bioengineering, 105, 39-47 (2008)
254	東京工業大学	Obayashi T, Hayashi S, Saeki M, Ohta H, Kinoshita K.	○	2008	ATTED-II provides coexpressed gene networks for <i>Arabidopsis</i>	Nuc Acids Res. Jan;37 (Database issue) :D987-91
255	かずさDNA研究 所、千葉大学	Suzuki H, Sasaki R, Ogata Y, Nakamura Y, Sakurai N, Kitajima M, Takayama H, Kanaya S, Aoki K, Shibata D, Saito K.	○	2008	Metabolic profiling of flavonoids in <i>Lotus japonicus</i> using liquid chromatography Fourier transformation cyclotron resonance mass spectrometry.	<i>Phytochemistry</i> , 69, 99-111
256	大阪府立大学	Kosuke Kai, Hiroko Hashidzume, Kazuya Yoshimura, Hideyuki Suzuki, Nozomu Sakurai, Daisuke Shibata, Daisaku Ohta	○	2008	Metabolomics for the characterization of cytochromes P450-dependent fatty acid hydroxylation reactions in <i>Arabidopsis</i>	Plant Biotech. (2009) 26:175-182
257	東洋紡績	Shigeo Shibatani and Hiroaki Kitazawa	○	2008	Genetic engineering of hexosamine with L-glutamine D-fructose-6-phosphate amidotransferase genes in plants	Plant Biotechnol., 26: (2009)
258	王子製紙	Takashi Hibino	○	2008	"Post-genomics" research of <i>Eucalyptus</i> in near future	Plant Biotechnology 26, 109-113, (2009)
259	王子製紙、 京都大学	Tetsuya Sonoda, Hisako Koita, Shiho Nakamoto-Ohta, Keiko Kondo, Tazuko Suezaki, Tomohiko Kato, Yoko Ishizaki, Kana Nagai, Nanae Iida, Shigeru Sato, Toshiaki Umezawa, Takashi Hibino	○	2008	Increasing fiber length in transgenic tobacco plants containing a gene encoding the <i>Eucalyptus camaldulensis</i> HD-Zip II transcription factor driven by a CaMV35S promoter	Plant Biotechnology 26, 115-120, (2009)
260	王子製紙	Tomohiko kato and Takashi Hibino	○	2008	Isolation and expression analysis of Agamous-like genes from <i>Eucalyptus grandis</i>	Plant Biotechnology 26, 121-124, (2009)
261	ブリヂストン	林 泰行	○	2008	Production of Natural rubber from Para rubber tree	Plant Biotechnology Vol.26(1) (2009.3)
262	奈良先端科学技術 大学院大学 <sup>ハ</sup> バイオ エンス研究科	Shinmyo, A	○	2008	(Overview) A key technology in the 21st century	Plant Biotechnology, 25, 211-212 (2008)
263	奈良先端科学技術 大学院大学 <sup>ハ</sup> バイオ エンス研究科	Aida, R., Narumi, T., Ohtsubo, N., Yamaguchi, H., Kato, K., Shinmyo, A. and Shibata, M.	○	2008	Improved translation efficiency in <i>chrysanthemum</i> and <i>torenia</i> with a translational enhancer derived from the tobacco alcohol dehydrogenase gene.	Plant Biotechnology, 25, 69-75 (2008)
264	筑波大学	Mohammad Sayyar Khan, Xiang Yu, Akira Kikuchi, Masashi Asahina, Kazuo N. Watanabe.	○	2008	Genetic engineering of glycine betaine biosynthesis to enhance abiotic stress tolerance in plants	Plant Biotechnology, 26:125-134 (2009)



	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
265	日本製紙 筑波大学	Xiang Yu, Akira Kikuchi, Etsuko Matsunaga, Yoshihiko Morishita, Kazuya Nanto, Nozomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Daisuke Shibata, Teruhisa Shimada, Kazuo N. Watanabe	○	2008	Establishment of the Evaluation System of Salt Tolerance on Transgenic Woody Plants in the Special Netted-house	Plant Biotechnology, 26:135-141(2009)
266	日本製紙 筑波大学	Takayoshi Shimazaki, Akira Kikuchi, Etsuko Matsunaga, Kazuya Nanto, Teruhisa Shimada, Kazuo N. Watanabe	○	2008	Establishment of a homogenized method for environmental biosafety assessments of transgenic plants	Plant Biotechnology, 26:143-148(2009)
267	京都大学、かずさ DNA研究所	Umezawa T, Suzuki S, Shibata D	○	2008	Tree Biotechnology of Tropical Acacia	Plant Biotechnology., 25, 309-313
268	かずさDNA研究所	Y. Nakamura, S. Kanaya, N. Sakurai, Y. Iijima, K. Aoki, K. Okazaki, H. Suzuki, M. Kitayama and D. Shibata	○	2008	A tool for high-throughput prediction of molecular formulas and identification of isotopic peaks from large-scale mass spectrometry data.	Plant Biotechnology., 25, 377-380
269	かずさDNA研究所	Sano R, Suzuki H, Ogawa Y, Dansako T, Sakurai N, Okazaki K, Aoki K, Saito K, Shibata D	○	2008	Suppression of carotenoid synthesis in transgenic Arabidopsis cultured cells over-expressing the AHL29/SOB3 gene	Plant Biotechnology., 25, 573-577
270	かずさDNA研究所	Sano R, Ogata Y, Suzuki H, Ogawa Y, Dansako T, Sakurai N, Okazaki K, Aoki K, Saito K, Shibata D	○	2008	Over-expression of transcription associated factor genes co-expressed with the genes of mevalonate pathway, upstream of isoprenoid biosynthesis, in Arabidopsis cultured cells.	Plant Biotechnology., 25, 583-587
271	東京農工大学	Kimura, S., Oyanagi, M., Fukuda, T., Ohno, Y., Hongo, C., Itoh, Y., Koda, T. and Ozeki, Y.	○	2008	Role of miniature inverted repeat transposable elements inserted into the promoter region of a carrot phenylalanine ammonia-lyase gene and	Plant Biotechnol., 25: 473-481
272	かずさDNA研究所	Ogawa Y, Dansako T, Yano K, Sakurai N, Suzuki H, Aoki K, Noji M, Saito K, Shibata D	○	2008	Efficient and high-throughput vector construction and Agrobacterium- mediated transformation of Arabidopsis thaliana suspension- cultured cells for functional genomics.	Plant Cell Physiol., 49 (2), 242-50
273	キリンホールデイ ングス	Makino, T., Harada, H., Ikenaga, H., Matsuda, S., Takaichi, S., Shindo, K., Sandmann, G., Ogata, T., and Misawa, N.	○	2008	Characterization of Cyanobacterial Carotenoid Ketolase CrtW and Hydroxylase CrtR by Complementation Analysis in Escherichia coli.	Plant Cell Physiol., 49: 1867-1878 (2008)
274	奈良先端科学技術 大学院大学ハ イサイ エンス研究科	Ichikawa, K., Miyake, C., Iwano, M., Sekine, M., Shinmyo, A. and Kato, K.	○	2008	Ribulose 1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Large Subunit Translation is Regulated in a Small Subunit-Independent Manner in the Expanded Leaves of Tobacco.	Plant Cell Physiology, 49, 214-225(2008)
275	京都府立大学	Nomura H, Komori T, Kobori M, Nakahira Y, Shiina T.	○	2008	Evidence for chloroplast control of external Ca <sup>2+</sup> -induced cytosolic Ca <sup>2+</sup> transients and stomatal closure.	Plant J. 53, 988-98
276	地球環境産業技術 研究機構	Hasunuma T, Miyazawa S, Yoshimura S, Shinzaki Y, Tomizawa K, Shindo K, Choi SK, Misawa N, Miyake C.	○	2008	Biosynthesis of astaxanthin in tobacco leaves by transplastomic engineering.	Plant J. 55(5):857-868.
277	産業技術総合研究 所	Matsui K, Umemura Y, Ohme-Takagi M.	○	2008	AtMYBL2, a protein with a single MYB domain, acts as a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis.	Plant J. 55: 954-967.
278	大阪府立大学	Moriawa T, Saga H, Hashidzume H, Ohta D	○	2008	CYP710A genes encoding sterol C22- desaturase in Physcomitrella patens as a molecular evidence for the evolutionary conservation of sterol biosynthetic pathway in plants	Planta. 2009 229(6):1311-1322.
279	味の素	Daisuke Igarashi · Yoshihiro Izumi · Yuko Dokiya · Kazuhiko Totsuka · Eiichiro Fukusaki · Chieko Ohsumi	○	2008	Reproductive organs regulate leaf nitrogen metabolism mediated by cytokinin signal	Planta. 2009 Feb;229(3):633-44

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
280	名古屋市立大学	Yukawa, M. and M. Sugiura	○	2008	Termination codon-dependent translation of partially overlapping ndhC-ndhK transcripts in chloroplasts.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105, 19550-19554
281	常磐植物化学研究所、千葉大学 日本大学 理化学研究所 他	Hikaru Sek, Kiyoshi Ohyama, Satoru Sawai, Masaharu Mizutani, Toshiyuki Ohnishi□, Hiroshi Sudo, Tomoyoshi Akashi, Toshio Aoki, Kazuki Saito, and Toshiya Muranaka	○	2008	Licorice b-amyirin 11-oxidase, a cytochrome P450 with a key role in the biosynthesis of the triterpene sweetener glycyrrhizin	Proceedings of the National Academy of Sciences, 105, 14204 - 14209
282	キリンホールディングス	Shindo, K., Hasunuma, T., Asagi, E., Sano, A., Hotta, E., Minemura, N., Miyake, C., and, Maoka, T., and Misawa, N.	○	2008	4-Ketoantheraxanthin, a novel carotenoid produced by the combination of the bacterial enzyme $\beta$ -carotene ketolase CrtW and endogenous carotenoid biosynthetic enzymes in higher plants.	Tetrahedron Lett., 49: 3294-3296 (2008)
283	京都大学、かずさDNA研究所	Nakatsubo T, Kitamura Y, Sakakibara N, Mizutani M, Hattori T, Sakurai N, Shibata D, Suzuki S, Umezawa T	○	2008	At5g54160 gene encodes Arabidopsis thaliana 5-hydroxyconiferaldehyde O-methyltransferase	The Japan Wood Research Society 54:312-317
284	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎		2008	メタボロミクスの定量性とデータマイニング	ぶんせき, 2008年10号, 530頁 - 535頁 (2008)
285	京都府立大学	野添 et al		2008	葉緑体シグマ因子の機能分担と進化	化学と生物, 45, 300-303
286	九州大学 ブリヂストン	玉泉幸一郎、渡辺訓江、山東智紀 他	○	2008	形質転換ペリプロカにおけるビタミンE生合成遺伝子の発現量の測定	九州森林研究No. 61, 121-123(2008)
287	常磐植物化学研究所	須藤 浩		2008	グリチルリチン生合成遺伝子の探索と安定供給	月刊フードケミカル(食品化学新聞社) 2009年1月号
288	日本製紙	松永悦子		2008	遺伝子組換えによる耐塩性ユーカリの開発	紙パ技協誌63(4)p2-6(2009)
289	王子製紙	河津哲	○	2008	製紙産業におけるバイオテクノロジーの開発と活用	森林科学、第54号 55-61(2008)
290	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎		2008	メタボロミクスの基礎技術開発と応用	生産と技術, 60巻, 2号, 1頁-3頁 (2008)
291	キリンホールディングス	三沢 典彦		2008	バイオメディア, $\beta$ -カロテンを強化した遺伝子組換え作物(解説)	生物工学会誌, 86, 629(2008)
292	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢 典彦		2008	II 発酵と微生物 3.4 代謝工学 (3) カロテノイド; 渡邊 信, 西村和子, 内山裕夫, 奥田 徹, 加来久敏, 広木幹也 編(著書)	微生物の事典, 朝倉書店, pp. 163-166 (2008)
293	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢 典彦		2008	II 発酵と微生物 2.5 食品関連分野 (5) カロテノイド色素; 渡邊 信, 西村和子, 内山裕夫, 奥田 徹, 加来久敏, 広木幹也 編(著書)	微生物の事典, 朝倉書店, pp. 136-137 (2008)
294	大阪大学大学院工学研究科	Izumi, Y., Okazawa, A., Bamba, T., Kobayashi, A., and Fukusaki, E.	○	2009	Development of a method for comprehensive and quantitative analysis of plant hormones by highly sensitive nanoflow liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap mass	Anal Chim Acta 648(2): 215-225. (2009)
295	京都府立大学	Bang WY, Hata A, Jeong IS, Umeda T, Masuda T, Chen J, Yoko I, Suwastika IN, Kim DW, Im CH, Lee BH, Lee Y, Lee KW, Shiina T, Bahk JD.	○	2009	AtObgC, a plant ortholog of bacterial Obg, is a chloroplast-targeting GTPase essential for early embryogenesis.	Plant Mol Biol. 71, 379-190
296	味の素	Takashi Ishizaki Chieko Ohsumi Kazuhiko Totsuka Daisuke Igarashi	○	2009	Analysis of glutamate homeostasis by overexpression of Fd-GOGAT gene in Arabidopsis thaliana	Amino Acids. 2010 Mar;38(3):943-950
297	かずさDNA研究所	Ogata Y, Sakurai N, Suzuki H, Aoki K, Saito K, Shibata D	○	2009	The prediction of local modular structures in a co-expression network based on gene expression datasets.	Genome Inform. 23 (1), 117-27
298	大阪大学大学院工学研究科	Jumtee, K., Okazawa, A., Harada, K., Fukusaki, E., Takano, M. and Kobayashi, A.	○	2009	Comprehensive metabolite profiling of phyA phyB phyC triple mutants to reveal their associated metabolic phenotype in rice leaves.	J Biosci Bioeng 108(2): 151-159. (2009)

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
299	産業技術総合研究所	Iwase A, Hiden A, Watanabe K, Mitsuda N, Ohme-Takagi M.	○	2009	A chimeric NST repressor has the potential to improve glucose productivity from plant cell walls.	J Biotechnol. 142: 279-284
300	大阪大学大学院工学研究科	Matsubara, A., Bamba, T., Ishida, H., Fukusaki, E. and Hirata, K.	○	2009	Highly sensitive and accurate profiling of carotenoids by supercritical fluid chromatography coupled with mass spectrometry.	J Sep Sci 32(9): 1459-1464. (2009)
301	キリンホールディング、かずさDNA研究所	Fujisawa M, Takita E, Harada H, Sakurai N, Suzuki H, Ohyama K, Shibata D, Misawa N	○	2009	Pathway engineering of Brassica napus seeds using multiple key enzyme genes involved in ketocarotenoid formation.	J. Exp. Bot. 60 (4) , 1319-32
302	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Tachiki, K., Kodama, Y., Nakayama, H. and Shinmyo, A.	○	2009	Determination of the in vivo distribution of nuclear matrix attachment regions using a polymerase chain reaction-based assay in Arabidopsis thaliana.	Journal of Bioscience and Bioengineering, 108, 11-19(2009)
303	かずさDNA研究所	Ogata Y, Suzuki H, Shibata D.	○	2009	A database for poplar gene co-expression analysis for systematic understanding of biological processes, including stress responses	Journal of Wood Science, 55 (6), 395-400
304	東京工業大学	Shimajima, M., Nakamura, Y. and Ohta, H.	○	2009	Biosynthesis of Chloroplast Lipids.	Lipids in Photosynthesis: Essential and Regulatory Functions eds by Wada, H. and Murata, N. Springer
305	大阪大学大学院工学研究科	Takagi, K., Okazawa, A. Wada, Y., Mongkolchaiyaphruek, A., Fukusaki, E., Yoneyama, K., Takeuchi, Y. and Kobayashi, A.	○	2009	Unique phytochrome responses of the holoparasitic plant Orobanche minor.	New Phytol 182(4): 965-974. (2009)
306	キリンホールディングス	Misawa, N	○	2009	Pathway engineering of plants toward astaxanthin production.	Plant Biotechnol., 26: 93-99 (2009)
307	日立造船 大阪大学 九州大学 西北農林科技大学	Yoshihisa Nakazawa, Takeshi Bamba, Tuyoshi Takeda, Hirotaka Uefuji, Yoko Harada, Xuehong Li, Ren Chen, Sumihiro Inoue, Masafumi Tutumi, Toru Shimizu, Yin-Quan Su, Koichiro Gyokusen, Eiichiro Fukusaki, and Akio Kobayashi	○	2009	Production of Eucommia-rubber from Eucommia ulmoides Oliv. (Hardy Rubber Tree)	Plant Biotechnology 26(1) 71-79 (2009)
308	かずさDNA研究所	Ara T, Sakurai N, Tange Y, Morishita Y, Suzuki H, Aoki K, Saito K, Shibata D.	○	2009	Improvement of the quantitative differential metabolome pipeline for gas chromatography-mass spectrometry data by automated reliable peak selection	Plant Biotechnology 26, 445-449
309	かずさDNA研究所	Ogata Y, Suzuki H, Shibata D.	○	2009	A gene co-expression database for understanding biological processes in soybean.	Plant Biotechnology 26, 503-507
310	京都府立大学	37) Shiina, T., Ishizaki, Y., Yagi, Y. Nakahira, Y	○	2009	Function and evolution of plastid sigma factors.	Plant Biotechnology 26, 57-66
311	産業技術総合研究所	Naito, Y., Tsujimoto-Inui, Y., Nakano, T., Shinshi, H., Suzuki, K.	○	2009	A batch processing protocol for construction of expression vector plasmids from a cDNA collection and Agrobacterium-mediated transformation of suspension-cultured cells of Arabidopsis.	Plant Biotechnology 26: 415-419
312	大阪大学大学院工学研究科	Kazuo Harada and Eiichiro Fukusaki	○	2009	Profiling of primary metabolite by means of capillary electrophoresis-mass spectrometry and its application for plant science	Plant Biotechnology, 26 (1), 47-52 (2009)

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
313	常磐植物化学研究所、千葉大学 かずさDNA研究所、 理化学研究所 他	Hiroshi Sudo, Hikaru Seki, Nozomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Daisuke Shibata, Atsushi Toyoda, Yasushi Totoki, Yoshiyuki Sakaki, Osamu Iida, Toshiro Shibata, Mareshige Kojoma, Toshiya Muranaka, Kazuki Saito	○	2009	Expressed sequence tags from rhizomes of <i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Plant Biotechnology, 26, 105-107
314	京都大学	Sonoda, T., Koita, H., Nakamoto-Ohta, S., Kondo, K., Suezaki, T., Ishizaki, Y., Nagai, K., Iida, N., Sato, S., Umezawa, T., Hibino, T.	○	2009	Increasing fiber length and growth in transgenic tobacco plants containing a gene encoding the <i>Eucalyptus camaldulensis</i> HD-Zip class II transcription factor driven by a CaMV35S promoter	Plant Biotechnology, 26, 115-120 (2009)
315	日本製紙株式会社、筑波大学、かずさDNA研究所	Yu X, Kikuchi A, Matsunaga E, Morishita Y, Nanto K, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, Shimada T, Watanabe K.N.	○	2009	Establishment of the Evaluation System of Salt Tolerance on Transgenic Woody Plants in the Special Netted-house	Plant Biotechnology, 26, 135-141
316	産業技術総合研究所、かずさDNA研究所	Tsujimoto Inui Y, Naito Y, Sakurai N, Suzuki H, Sasaki R, Takahashi H, Ohtsuki N, Nakano T, Yanagisawa S, Shibata D, Uchimiya H, Shinshi H, Suzuki K.	○	2009	Functional genomics of the Dof transcription factor family genes in suspension-cultured cells of <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Plant Biotechnology, 26, 15-28
317	タカラバイオ株式会社、かずさDNA研究所	Ohba T, Suzuki K, Oura T, Ando T, Noda H, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, Asada K, Kato I.	○	2009	ARTRA: a new database of the <i>Arabidopsis</i> transcriptome and gene-specific sequences for microarray probes and RNAi triggers	Plant Biotechnology, 26, 161-165
318	奈良先端科学技術大学院大学、大阪大学、かずさDNA研究所	Oishi T, Tanaka K, Hashimoto T, Shinbo Y, Jumtee K, Bamba T, Fukusaki E, Suzuki H, Shibata D, Takahashi H, Asahi H, Kurokawa K, Nakamura Y, Hirai A, Nakamura K, Altaf-Ul-Amin Md, Kanaya S.	○	2009	An approach to peak detection in GC-MS chromatograms and application of KNApSAcK database in prediction of candidate metabolites	Plant Biotechnology, 26, 167-174
319	大阪府立大学、かずさDNA研究所	Kai K, Hashidzume H, Yoshimura Y, Suzuki H, Sakurai N, Shibata D, Ohta D.	○	2009	Metabolomics for the characterization of cytochrome P450-dependent fatty acid hydrolyation reactions in <i>Arabidopsis</i>	Plant Biotechnology, 26, 175-182
320	かずさDNA研究所	Ogata Y, Shibata D	○	2009	Practical network approaches and biologic interpretations of co-expression analysis in plants.	<i>Plant Biotechnology</i> , 26, 3-8
321	地球環境産業技術研究機構	Hasnuma T, Kondo A, Miyake C	○	2009	Metabolic pathway engineering by plastid transformation is a powerful tool for production of compounds in higher plants	Plant Biotechnology, 26, 39-46
322	キリンホールディング、かずさDNA研究所	Harada H, Fujisawa M, Teramoto M, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, and Misawa N.	○	2009	Simple functional analysis of key genes involved in astaxanthin biosynthesis using <i>Arabidopsis</i> cultured cells	Plant Biotechnology, 26, 81-92
323	常磐植物化学研究所、岩手医科大学	Hiroaki Hayashi, Hiroshi Sudo	○	2009	Economic importance of licorice	Plant Biotechnology, 26, 101-107(2009)
324	名古屋市立大学	Nakamura, M. and M. Sugiura	○	2009	Selection of synonymous codons for better expression of recombinant proteins in tobacco chloroplasts.	Plant Biotechnology, 26: 53-56
325	産業技術総合研究所	Iwase, A., Matsui, K., Ohme-Takagi, M.	○	2009	Manipulation of plant metabolic pathways by transcription factors	Plant Biotechnology. 26: 29-38
326	奈良先端科学技術大学院大学、かずさDNA研究所	Daisuke Shibata, Atsuhiko Shinmyo	○	2009	(Overview) An eight-year government supported project investigating the control of industrial plant material production process via genetic engineering in Japan	Plant Biotechnology., 26, 1-2
327	かずさDNA研究所	Yano K., Aoki K., Suzuki H., Shibata D.	○	2009	DAGViz: a directed acyclic graph browser that supports analysis of Gene Ontology annotation	Plant Biotechnology., 26, 9-13(2009)

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
328	かずさDNA研究所	Ogata Y, Sakurai N, Aoki K, Suzuki H, Okazaki K, Saito K, Shibata D	○	2009	KAGIANA: an excel-based tool for retrieving summary information on Arabidopsis genes.	Plant Cell Physiol. 50 (1), 173-7
329	大阪大学大学院工学研究科	Ogawa, T., Ishikawa, K., Harada, K., Fukusaki, E., Yoshimura, K. and Shigeoka, S	○	2009	Overexpression of an ADP-ribose pyrophosphatase, AtNUDX2, confers enhanced tolerance to oxidative stress in Arabidopsis plants.	<i>Plant J</i> 57(2): 289-301. (2009)
330	理化学研究所植物科学センター、かずさDNA研究所	Urano K, Maruyama K, Ogata Y, Morishita Y, Takeda M, Sakurai N, Suzuki H, Saito K, Shibata D, Kobayashi M, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K.	○	2009	Characterization of the ABA-regulated global responses to dehydration in Arabidopsis by metabolomics.	Plant J. 57 (6), 1065-78
331	産業技術総合研究所	Matsui K, Ohme-Takagi M.	○	2009	Detection of protein-protein interactions in plants using the transrepressive activity of the EAR motif repression domain. <i>Plant J.</i>	Plant J. 61: 570-578
332	大阪府立大学、奈良先端科学技術大学院大学、かずさDNA研究所	Y. Sawaki, S. Iuchi, Y. Kobayashi, T. Ikka, N. Sakurai, M. Fujita, K. Shinozaki, D. Shibata, M. Kobayashi and H. Koyama	○	2009	STOP1 regulates multiple genes that protect arabidopsis from proton and aluminum toxicities	Plant Physiol, 150, 281-294
333	国際農林水産業研究センター、理化学研究所植物科学センター、かずさDNA研究所	Maruyama K, Takeda M, Kidokoro S, Yamada K, Sakuma Y, Urano K, Fujita M, Yoshiwara K, Matsukura S, Morishita Y, Sasaki R, Suzuki H, Saito K, Shibata D, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K	○	2009	Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A.	Plant Physiol. 150 (4), 1972-80
334	大阪大学大学院工学研究科	Ishikawa, K., Ogawa, T., Hirose, E., Nakayama, Y., Harada, K., Fukusaki, E., Yoshimura, K. and Shigeoka, S.	○	2009	Modulation of the poly(ADP-ribosylation) reaction via the Arabidopsis ADP-ribose/NADH pyrophosphohydrolase, AtNUDX7, is involved in the response to oxidative stress.	Plant Physiol. 151, 741-754 (2009)
335	大阪大学大学院工学研究科	Igarashi, D., Izumi, Y., Dokiya, Y., Totsuka, K., Fukusaki, E. and Ohsumi, C.	○	2009	Reproductive organs regulate leaf nitrogen metabolism mediated by cytokinin signal.	Planta 229(3): 633-644. (2009)
336	大阪大学大学院工学研究科	Izumi, Y., Kajiyama, S., Nakamura, R., Ishihara, A., Okazawa, A., Fukusaki, E., Kanematsu, Y. and Kobayashi, A.	○	2009	High-resolution spatial and temporal analysis of phytoalexin production in oats.	<i>Planta</i> 229(4): 931-943. (2009)
337	石川県立大学生物資源工学研究所	Hidenobu UCHIDA, Hirofumi YAMASHITA, Masataka KAJIKAWA, Kiyoshi OHYAMA, Osamu NAKAYACHI, Ryuji SUGIYAMA, Katsuyuki T. YAMATO, Toshiya MURANAKA, Hideya FUKUZAWA, Miho TAKEMURA, Kanji OHYAMA	○	2009	Cloning and characterization of a squalene synthase gene from a petroleum plant, <i>Euphorbia tirucalli</i> L.	Planta 229, 1243-1252
338	日立造船 ブリヂストン 大阪大学	Tomoki Sando, Tatsushi Hayashi, Tsuyoshi Takeda, Yasunori Akiyama, Yoshihisa Nakazawa*, Eiichiro Fukusaki, Akio Kobayashi	○	2009	Histochemical study of detailed laticifers structure and rubber biosynthesis related protein localization in <i>Hevea brasiliensis</i> using spectral confocal laser scanning microscopy	Planta 230(1) 215-225 (2009)
339	東京工業大学	Nakamura Y, Koizumi R, Shui G, Shimojima M, Wenk MR, Ito T, and Ohta H.	○	2009	Arabidopsis lipins mediate eukaryotic pathway of lipid metabolism and cope critically with phosphate starvation.	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 106, 20978-20983.
340	キリンホールディングス	三沢 典彦		2009	遺伝子組換え植物によるカロテノイドの生産 (総説)	オレオサイエンス, 9: 385-391 (2009)
341	キリンホールディングス	藤澤 雅樹、三沢 典彦		2009	ナタネ等の作物におけるカロテノイド生産制御技術の開発	バイオインダストリー, 5: 28-35 (2009)
342	かずさDNA研究所	鈴木秀幸、柴田大輔		2009	メタボロミクスと植物バイオテクノロジーの新展開 『第二世代バイオ燃料の開発と応用展開』	バイオインダストリー, 26巻, 5月号 p. 47-54(2009)
343	常磐植物化学研究所	須藤 浩		2009	カンゾウの市場と分子育種へのチャレンジ	バイオインダストリー, 26巻, 5月号, 36-42(2009).

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
344	王子製紙	日尾野隆		2009	遺伝子組換えによるユーカリ新品種の開発	バイオインダストリー26巻、No.5 14-21 (2009)
345	日本製紙	松永悦子、島田照久		2009	遺伝子組換えユーカリの開発	バイオインダストリー26巻、No.5 22-27(2009)
346	キリンホールディングス (石川県立大学)	梅野太輔、古林真衣子、三沢典彦		2009	第3章 カロテノイドの生合成、宮下和夫監修，“カロテノイドの科学と最新応用技術”	バイオインダストリー26巻、No.5 27-37 (2009)
347	日立造船	中澤慶久		2009	工業原料としてのトチュウゴム	バイオインダストリー26巻、No.5 54-59 (2009)
348	かずさDNA研究所	鈴木秀幸、柴田大輔		2009	物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析	バイオインダストリー26巻、No.5 8-13(2009)
349	東洋紡績	柴谷滋郎、三澤修平、北澤宏明		2009	植物によるヒアルロン酸生産技術の開発	バイオインダストリー5月号(2009.5)
350	ブリヂストン	渡辺訓江		2009	天然ゴム生産とバイオテクノロジー	バイオインダストリー5月号,49-52(2009.5)
351	かずさDNA研究所	鈴木秀幸	○	2009	ハイスループット物質生産遺伝子マイニング	ファルマシア 45 (9) 、887-892
352	ブリヂストン	山東智紀		2009	パラゴムノキにおける天然ゴムの生合成と蓄積に関する研究	大阪大学 学位論文
353	大阪大学大学院工学研究科	原田和生、福崎英一郎	○	2009	「光合成研究法」第3章 単離・精製・活性測定, (1) 代謝産物の定量, (a) CE/MSを用いた陰イオン性代謝産物の定量	低温科学, 第67巻163-168 (2009)
354	大阪大学大学院工学研究科	蓮沼誠久、原田和生、三宅親弘、福崎英一郎	○	2009	「光合成研究法」第3章 単離・精製・活性測定, (1) 代謝産物の定量, (b) 安定同位体標識を利用した動的代謝物プロファイリング,	低温科学, 第67巻169-174 (2009)
355	ブリヂストン	奥村暁、加藤信子、林泰行	○	2009	生化学・分子生物学から見た天然ゴム	日本ゴム協会誌10月号 424-429(2009)
356	大阪府立大学	甲斐 光輔, 太田 大策		2009	van Krevelen diagram を用いた新規メタボローム解析手法	日本化学会情報化学部会誌 Vol. 27 (2009), No. 2
357	大阪大学大学院工学研究科	馬場健史、福崎英一郎		2009	メタボロミクスの実際の運用に向けてーメタボロミクスの技術動向と可能性ー	未来材料, 9巻, 2号, 52頁 - 59頁 (2009)
358	大阪大学大学院工学研究科	Ishikawa, K., Yoshimura, K., Harada, K., Fukusaki, E., Ogawa, T., Tamoi, M. and Shigeoka, S.	○	2010	AtNUDX6, an ADP-ribose/NADH pyrophosphohydrolase in Arabidopsis, positively regulates NPR1-dependent salicylic acid signaling.	Plant Physiol. Epub ahead of print on 2010/02/24
359	大阪府立大学	Masaharu Mizutani, Daisaku Ohta	○	2010	Plant Cytochrome P450 genes diversity	Annual Review of Plant Biology 2010 61:291-315
360	かずさDNA研究所	Ogata Y, Suzuki H, Sakurai N, Shibata D	○	2010	CoP: a database for characterizing co-expressed gene modules with biological information in plants	Bioinformatics, 26(9):1267-8
361	日立造船 大阪大学	Takeno, S., Bamba, T., Nakazawa, Y., Fukusaki, E., Okazawa, A. and Kobayashi, A.	○	2010	High-Throughput and Highly Sensitive Analysis Method for Polyisoprene in Plants by Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry	Biosci Biotechnol Biochem. 74(1): 13-17 (2010)
362	石川県立大学生物資源工学研究所	Hidenobu UCHIDA, Hirofumi YAMASHITA, Toyooki ANAI, Toshiya MURANAKA and Kanji OHYAMA	○	2010	Agrobacterium-mediated transformation of Euphorbia tirucalli callus	Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74, 851-853
363	大阪府立大学	Daisaku Ohta, Hideyuki Suzuki	○	2010	Application of Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometry to metabolic profiling and metabolite identification	Current Opinion in Biotechnology 2010 21(1):35-44.
364	キリンホールディングス	Misawa, N.	○	2010	Carotenoids, In Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology; Mander, L., Lui, H.-W., Eds.	Elsevier: Oxford, volume 1, pp. 733-753 (2010)
365	地球環境産業技術研究機構	Hasunuma T, Harada K, Miyazawa S, Kondo A, Fukusaki E, Miyake C.	○	2010	Metabolic turnover analysis by a combination of in vivo 13C-labelling from 13CO2 and metabolic profiling with CE-MS/MS reveals rate-limiting steps of the C3 photosynthetic pathway in Nicotiana tabacum leaves.	J Exp Bot. 61(4):1041-1051.

	発表会社 ・研究機関	発表者	査読付	発表 年度	題名	発表雑誌等
366	奈良先端科学技術 大学院大学バイオイ ェンス研究科	Sugio, T., Matsuura, H., Matsui, T., Matsunaga, M., Noshio, T., Kanaya, S., Shinmyo, A. and Kato, K.	○	2010	Effect of the Sequence Context of the AUG Initiation Codon on the Rate of Translation in Dicotyledonous and Monocotyledonous Plant Cells.	Journal of Bioscience and Bioengineering, 109, 170-173(2010)
367	日立造船 九州大学	Ren Chen, Mayumi Gyokusen, Yoshihisa Nakazawa, and Koichiro Gyokusen	○	2010	Selection of Housekeeping Genes for Transgene Expression Analysis in Eucommia ulmoides Oliver Using Real- Time RT-PCR	Journal of Botany. Volume 2010, Article ID 230961, 7 pages
368	京都大学、かずさ DNA研究所	Suzuki S, Suda K, Sakurai N, Ogata Y, Hattori T, Suzuki H, Shibata D, Umezawa T	○	2010	Analysis of expressed sequence tags in developing secondary xylem and shoot of Acacia mangium	Journal of Wood Science, inpress
369	キリンホールディ ィングス	Fujisawa, M., Misawa, N.	○	2010	Enrichment of carotenoids in flaxseed by introducing a bacterial phytoene synthase gene. In "Plant Secondary Metabolism Engineering, Methods in Molecular Biology 643", ed. by Fett- Neto, A.G.	Methods in Molecular Biology 643, 201-211, Humana Press (2010)
370	京都大学	Yamamura, M., Suzuki, S., Hattori, T., Umezawa, T.	○	2010	Subunit composition of hinokiresinol synthase controls enantiomeric selectivity in hinokiresinol formation	Org. Biomol. Chem., 8, 1106-1110 (2010)
371	京都大学	Umezawa, T.	○	2010	The cinnamate/monolignol pathway	Phytochemistry Reviews, 9, 1-17 (2010)
372	石川県立大学生物 資源工学研究所	Hidenobu UCHIDA, Kiyoshi OHYAMA, Masashi SUZUKI, Hirofumi YAMASHITA, Toshiya MURANAKA and Kanji OHYAMA	○	2010	Triterpenoid levels are reduced during Euphorbia tirucalli L. callus formation.	Plant Biotechnol. 27, 105-109
373	日立造船 九州大学	Ren Chen, Mayumi Gyokusen, Yoshihisa Nakazawa, and Koichiro Gyokusen	○	2010	Establishment of an Agrobacterium- mediated transformation system for Periploca sepium Bunge	Plant Biotechnology in press
374	かずさDNA研究所	Ogawa T, Ara T, Aoki K, Suzuki H, Shibata D	○	2010	Transient increase in salicylic acid and its glucose conjugates after wounding in Arabidopsis leaves	Plant Biotechnology, 27, 205-209
375	東京農工大学	Miyahara, T., Satoh, S., Maeda, K., Kimura, S., Sasaki, N. and Ozeki, Y.	○	2010	Isolation of Daucus carota ethylene insensitive3-like (DcEIL) involved in stress-inducible DcMYB1 expression in suspension-cultured carrot cells.	Plant Biotechnol., 27(1): 91-97
376	東京農工大学	Wako, W., Kimura, S., Chikagawa, Y. and Ozeki, Y.	○	2010	Characterization of MYB proteins acting as transcriptional regulatory factors for carrot phenylalanine ammonia-lyase gene (DcPAL3).	Plant Biotechnol., 27(2) : 131-139
377	奈良先端科学技術 大学院大学バイオイ ェンス研究科	Nagaya, S., Kawamura, K., Shinmyo, A. and Kato, K.	○	2010	The HSP terminator of Arabidopsis thaliana increases gene expression in plant cells.	Plant Cell Physiology, 51, 328-332(2010)
378	奈良先端科学技術 大学院大学バイオイ ェンス研究科	Matsuura, H., Ishibashi, Y., Shinmyo, A., Kanaya S. and Kato, K.	○	2010	Genome-wide analyses of early translational responses to elevated temperature and high salinity in Arabidopsis thaliana.	Plant Cell Physiology, 51, 448-462(2010)
	奈良先端科学技術 大学院大学バイオイ ェンス研究科	Shinmyo A, Kato K:	○	2010	Production of Drugs and Vaccines in Higher Plants.	J. Antibiotics Online publication 30 June 2010
379	名古屋市立大学等	Zoschke, R., Nakamura, M., Liere, K., Sugiura, M., Börner, T. and C. Schmitz-Linneweber	○	2010	An organellar maturase associates with multiple group II introns.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107, 3245-3250

## プロジェクト主催シンポジウム等

### 1. 市民講座「植物がつくる21世紀の豊かな社会」

東京：平成16年10月2日 ARK フォーラムアカデミーホール

大阪：平成16年10月23日 WTCホール

主催：独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO 技術開発機構)

後援：経済産業省、農林水産省、バイオテクノロジー開発技術研究組合

#### プログラム

開催の挨拶

本城 薫 (NEDO 技術開発機構)

基調講演「石油のなくなる日」

加藤 尚武 (鳥取環境大学学長)

「プロジェクトの概要：植物が築く持続可能な社会」

新名 惇彦(奈良先端科学技術大学院大学)

「紙パルプ原料、ユーカリの増産」

日尾野 隆 (王子製紙(株))

「天然ゴムの生産増大」

中澤 慶久 (日立造船(株))

「植物をタンパク質の大量生産工場に利用する」

富澤 健一 (R I T E)

「暮らしを豊かにする植物バイオテクノロジー」

柴田 大輔 (かずさDNA研究所)

特別講演「不可能を可能にした青いバラ誕生物語」

田中 良和 (サントリー(株))

総合討論

下線はプロジェクトメンバー



## 2. 国際ワークショップ「工業原料生産のための植物バイオテクノロジー」

平成 18 年 9 月 14 日 大阪大学中ノ島センター、佐治敬三メモリアルホール

主 催： 独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO)

共 催： バイオテクノロジー開発技術研究組合、バイオジャパン 2006 組織委員会  
プログラム

開会の辞 本城 薫(NEDO)、Machi Dilworth (米国科学財団)

基調講演 Scientific issues associated with the development of biofuels

Chris Somerville (Carnegie Institution, USA)

セッション 1 植物メタボロミックス

L1 Integration of transcript and metabolite data on plant metabolic pathway maps

柴田大輔 (かずさDNA研究所)

L2 Profile of chloroplast gene expression and metabolic engineering of chloroplast

富澤健一(RITE)

L3 Integrating Functional and Structural Genomics for Metabolic Engineering in the  
Flavonoid Pathway

Richard A. Dixon (Samuel Roberts Noble Foundation, USA)

L4 Innovation in commercial crop development: the role of metabolomics

Richard Trethewey (Metanomics GmbH & Co, Germany)

L5 Metabolomics-based functional genomics highway in plants

斉藤和季 (千葉大/理研植物科学センター)

セッション 2 植物による工業原料生産

L6 Natural rubber from plants: Interspecific comparisons and metabolic  
engineering strategies

Colleen McMahan (USDA, USA)

L7 Manipulating carotenoid biosynthesis during tomato fruit ripening;

effects on colour and nutritional content Paul D. Fraser (London University, UK)

セッション 3 METI, NEDO プロジェクト紹介

S1 The search for key genes that regulate amino acid metabolisms 五十嵐大亮(味の素)

S2 Discovery of genes involved in glycyrrhizin biosynthesis from *Glycyrrhiza uralensis* using  
expressed sequence tags (ESTs) 須藤 浩 (常磐植物化学研究所)

S3 For developing flax plants that produce astaxanthin

三沢典彦 (海洋バイオテクノロジー研究所)

S4 Production of hyaluronic acid in tobacco plants and BY-2 cells 柴谷滋郎 (東洋紡)

S5 Expression profiling of the Eucalyptus cell wall biosynthesis genes 日尾野隆 (王子製紙)

S6 For commercialization of transgenic Eucalyptus 海老沼宏安 (日本製紙)

S7 Improvement in rubber tree using genetic engineering 秋山節夫 (ブリヂストン)

S8 Production of trans-polyisoprenoid by Eucommia (Hardy rubber tree) 中澤慶久 (日立造船)

16:40 総合質疑

L8 Closed-plant-factory-system for plant made pharmaceuticals

松尾幸毅 ((独) 産業技術総合研究所)

閉会の辞

新名惇彦 (奈良先端科学技術大学院大学)

下線は本プロジェクトメンバー

### 3. 「植物による工業原料生産技術の開発」シンポジウム

「植物機能改変技術実用化開発」プロジェクト(NEDO)との合同シンポジウム

平成 15 年 6 月 13 日 京都テルサ

主催：日本学術振興会第 160 委員会、バイオテクノロジー開発技術研究組合

後援：新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO)

#### プログラム

開会の挨拶	磯貝 彰 (奈良先端技術大学院大学)
植物による工業原料生産技術の開発プロジェクト概要	<u>新名 惇彦 (奈良先端技術大学院大学)</u>
多重遺伝子導入技術の開発	幸田 勝典 (豊田中央研究所)
ユーカリの形質転換とストレス耐性の付与	河津 哲 (王子製紙)
ポリアミンによるサツマイモの複合ストレス耐性の改良	春日部芳久 (東洋紡総合研究所)
大豆による高度不飽和脂肪酸の生産を目指して	田中 良和 (サントリー)
植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発	<u>柴田 大輔 (かずさDNA研究所)</u>
	<u>下線</u> が本プロジェクトメンバー

### 4. 2009 年度日本農芸化学会大会シンポジウム

「遺伝子組換え技術を駆使した植物による有用物質生産の体系化」

「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発」プロジェクト(経済産業省)との合同シンポジウム

平成 21 年 3 月 29 日 福岡国際会議場

主催：社団法人日本農芸化学会 共催：バイオテクノロジー開発技術研究組合

後援：経済産業省、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO)

#### プログラム

- ① モデル植物から実用植物へ：植物代謝統合データベースの構築とその役割  
(かずさDNA研究所・柴田大輔)
  - ② 杜仲ゴムの生合成機構の解析と増産策  
(日立造船・中澤慶久)
  - ③ 分子育種による工業原料に適したユーカリ新品種の開発  
(王子製紙・日尾野隆)
  - ④ 非拡散植物ウイルスベクターの開発  
(産総研・福澤徳穂)
  - ⑤ 完全人工環境下での植物栽培技術  
(千葉大学・後藤英司)
  - ⑥ 機能性イチゴの開発  
(北海三共・田林紀子)
- 下線が本プロジェクトメンバー

## 5. バイオシンポジウムにおける本プロジェクトに関する成果発表および招待講演

主催：バイオテクノロジー開発技術研究組合

後援：経済産業省、独立行政法人産業技術総合研究所、

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構、財団法人バイオインダストリー協会

協賛：財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所

第20回バイオシンポジウム 平成14年11月5日、虎ノ門パストラル

講演：植物物質生産プロセス制御基盤技術開発 柴田 大輔 (かずさ DNA 研究所)

第21回バイオシンポジウム 平成15年11月11日、虎ノ門パストラル

招待講演：Industrialised metabolite profiling as a discovery tool for plant biotechnology

Dr. Richard Trethewey(Metanomics GmbH, Germany)

ポスターセッション

(財)かずさディー・エヌ・エー研究所、(独)産業技術総合研究所、味の素(株)、タカラバイオ(株)  
日本製紙(株)、王子製紙(株)、日立造船(株)、(株)ブリヂストン、(株)常磐植物化学研究所、  
(株)植物工学研究所、(株)海洋バイオテクノロジー研究所、(株)東洋紡総合研究所

第22回バイオシンポジウム 平成16年11月4日、虎ノ門パストラル

講演：シロイヌナズナの全遺伝子規模の新規 DNA マイクロアレイ開発とその利用

大場 利治 (タカラバイオ(株))

ポスターセッション

(財)かずさディー・エヌ・エー研究所、(独)産業技術総合研究所、味の素(株)、タカラバイオ(株)  
日本製紙(株)、王子製紙(株)、日立造船(株)、(株)ブリヂストン、(株)常磐植物化学研究所、  
(株)植物工学研究所、(株)海洋バイオテクノロジー研究所、(株)東洋紡総合研究所

第23回バイオシンポジウム 平成17年11月22日、虎ノ門パストラル

招待講演：The Current Status and Future Trend of Plant Biotechnology in the United States.

Dr. Machi F. Dilworth(NSF, USA)

講演：トランス型ゴム工業原料植物のゴム生産制御技術の開発 中澤 慶久 (日立造船(株))

ポスターセッション

(財)かずさディー・エヌ・エー研究所、(独)産業技術総合研究所、味の素(株)、タカラバイオ(株)  
日本製紙(株)、王子製紙(株)、日立造船(株)、(株)ブリヂストン、(株)常磐植物化学研究所、  
(株)海洋バイオテクノロジー研究所、東洋紡績(株)

第24回バイオシンポジウム 平成18年11月21日、虎ノ門パストラル

講演：植物の窒素化合物生産プロセスの解析 五十嵐 大亮 (味の素(株))

ポスターセッション

(財)かずさディー・エヌ・エー研究所、(独)産業技術総合研究所、味の素(株)、  
日本製紙(株)、王子製紙(株)、日立造船(株)、(株)ブリヂストン、(株)常磐植物化学研究所、  
(株)海洋バイオテクノロジー研究所、東洋紡績(株)

第 25 回 バイオシンポジウム 平成 19 年 11 月 6 日、虎ノ門パストラル

招待講演：遺伝子組換え花きの開発～研究から販売まで 田中 良和 (サントリー (株))

講演：遺伝子組換え油糧作物による有用カロテノイド生産

三沢 典彦 ((株)海洋バイオテクノロジー研究所)

ポスターセッション

(財)かずさディー・エヌ・エー研究所、(独)産業技術総合研究所、日本製紙(株)、王子製紙(株)、日立造船(株)、(株)ブリヂストン、(株)常磐植物化学研究所、(株)海洋バイオテクノロジー研究所、東洋紡績(株)

第 26 回 バイオシンポジウム 平成 20 年 11 月 6 日、虎ノ門パストラル

講演：ストレス耐性組換えユーカリの開発 松永 悦子 (日本製紙(株))

ユーカリ細胞壁形成を制御する転写遺伝子の同定と遺伝子組換えによる

材質改良効果について

日尾野 隆 (王子製紙(株))

ポスターセッション

(財)かずさディー・エヌ・エー研究所、(独)産業技術総合研究所、日本製紙(株)、王子製紙(株)、日立造船(株)、(株)ブリヂストン、(株)常磐植物化学研究所、キリンホールディングス(株)、東洋紡績(株)

第 27 回 バイオシンポジウム 平成 21 年 11 月 5 日、秋葉原コンベンションホール

招待講演：花成の制御機構と応用展開について 島本 功 教授 (奈良先端科学技術大学院大学)

講演：植物によるヒアルロン酸生産技術の開発

柴谷 滋郎 (東洋紡績(株))

薬用植物カンゾウの遺伝子探索と組換え植物による生理活性物質生産

須藤 浩 ((株)常磐植物化学研究所)

ポスターセッション

(財)かずさディー・エヌ・エー研究所、(独)産業技術総合研究所、日本製紙(株)、王子製紙(株)、日立造船(株)、(株)ブリヂストン、(株)常磐植物化学研究所、キリンホールディングス(株)、東洋紡績(株)

発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
1 名古屋市立大学	Sugiura, M.	Symposium on the Biogenesis of Cell Organelles, Munich, Germany	2002/04/11	Biochemical identification of <i>cis</i> -elements and <i>trans</i> -acting factors for the RNA editing of <i>psbE</i> and <i>pet B</i> mRNAs. Symposium on the Biogenesis of Cell Organelles (invited)
2 名古屋市立大学等	Sugiura, M., T. Sasaki, Y. Yukawa, T. Miyamoto and J. Obokata	Symposium on the Biogenesis of Cell Organelles, Munich, Germany	2002/4/11-13	Identification of RNA editing sites in chloroplast transcripts from three <i>Nicotiana</i> species (poster session)
3 名古屋市立大学等	Sugiura, M., T. Sasaki, Y. Yukawa, T. Miyamoto, J. Obokata and Y. Sugiyama	6 <sup>th</sup> International Congress on Plant Mitochondria. Perth, Australia	2002/7/9-14	<i>Cis</i> elements for mitochondrial RNA editing deduced from those defined in plastid editing: <i>in vitro</i> RNA editing systems from plastids.
4 名古屋市立大学等	Sugiyama, Y., Y. Watase, M. Nagase, A. Hirai and M. Sugiura	6 <sup>th</sup> International Congress on Plant Mitochondria. Perth, Australia	2002/7/9-14	Genome organization of tobacco mitochondria revealed by the DNA sequencing
5 名古屋市立大学等	Plader, W, T. Ideue and M. Sugiura	Gordon Research Conference on "Mitochondria & Chloroplasts". Oxford, UK	2002/8/25-30	The Shine-Dalgarno-like sequence is a repressor for translation of chloroplast <i>rps2</i> mRNA: an additional mechanism for translation initiation in chloroplasts (poster session)
6 名古屋市立大学	Sugiura, M.	Gordon Research Conference on "Mitochondria & Chloroplasts". Oxford, UK	2002/08/29	Chloroplast RNA editing in higher plants: <i>cis</i> -elements and <i>trans</i> -acting factors identified by <i>in vitro</i> systems (invited)
7 名古屋大学	小保方潤一	日本植物学会第66回大会 シンポジウム「多様性に見いだす一様性～研究素材としての藻類の魅力～」	2002/09/01	クラミドモナスをモデルとしたオルガネラ間相互作用の解析 (招待講演)
8 名古屋市立大学等	渡瀬雄介、長瀬正和、平井篤志、杉浦昌弘、杉山康雄	第75回日本生化学会大会	2002/10/14-17	タバコミトコンドリアのサブゲノム構造 (ポスター)
9 京都大学	榎原紀和、梅澤俊明、島田幹夫	リグニン討論会	2002/11/01	「ケイヒ酸モノリグノール経路のメタボローム解析に用いる重水素標識モノリグノールの合成」
10 名古屋市立大学等	山内亮、伊藤有紀、近藤鋭治、木下邦則、松尾充啓、長谷川桂子、中邨真之、小保方潤一、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	イネ核ゲノムに存在する光合成関連遺伝子群の網羅的解析 (ポスター)
11 名古屋市立大学等	伊藤有紀、孫崇榮、木下邦則、近藤鋭治、小保方潤一、續伯彦、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	葉緑体成分遺伝子群に関するアノテート・ステーションの構築に向けて (ポスター)
12 名古屋市立大学等	小川知之、伊藤有紀、山内亮、長谷川桂子、松尾充啓、中邨真之、湯川泰、近藤鋭治、木下邦則、小保方潤一、續伯彦、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	イネ葉緑体ゲノムデータベース: Chloroplast Netの構築 (ポスター)
13 名古屋市立大学等	湯川泰、續伯彦、近藤鋭治、木下邦則、伊藤有紀、小川知之、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	シロイヌナズナおよびイネ tRNA 遺伝子のゲノムワイド転写解析 (ポスター)
14 名古屋市立大学等	長谷川桂子、湯川泰、伊藤有紀、小保方潤一、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	イネの光化学系遺伝子 <i>Lhc</i> ファミリーにおけるコアプロモーター配列の解析 (ポスター)
15 名古屋市立大学等	松尾充啓、伊藤有紀、山内亮、近藤鋭治、木下邦則、杉浦昌弘、小保方潤一	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	イネ核ゲノム中に存在する葉緑体DNA様配列 (ポスター)
16 名古屋大学等	宮本徹也、小保方潤一、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	葉緑体におけるRNAエディティング部位の認識には特異的なタンパク質が関わっている (ワークショップ)
17 名古屋市立大学等	渡瀬雄介、長瀬正和、茂森舞、軸屋博之、福井俊文、本川修、高野純、平井篤志、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	タバコミトコンドリアのゲノムは複数のサブゲノムから成る (ポスター)
18 名古屋市立大学等	長瀬正和、渡瀬雄介、茂森舞、軸屋博之、福井俊文、本川修、高野純、平井篤志、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	タバコミトコンドリアのゲノム・遺伝子解析とデータベースの構築 (ポスター)

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
19	名古屋市立大学等	佐々木忠将、湯川泰、宮本徹也、小保方潤一、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	<i>Nicotiana</i> 属葉緑体mRNAにおけるRNAエディティング部位の比較解析。(ポスター)
20	名古屋市立大学等	稲田美智、湯川眞希、續伯彦、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	エンドウとイネの葉緑体ゲノム一次転写産物におけるRNAエディティング部位の同定。(ポスター)
21	名古屋市立大学等	湯川眞希、佐々木忠将、續伯彦、杉浦昌弘	第25回日本分子生物学会年会	2002/12/11-14	<i>Nicotiana</i> 属植物葉緑体における比較ゲノム解析。(ポスター)
22	名古屋大学	菊池正也、中邨真之、小保方潤一	第25回日本分子生物学会年会、横浜	2002/12/11-14	イネにおける上流調節領域とコアプロモーター型との適合性
23	名古屋大学	中邨真之、菊池正也、小保方潤一	第25回日本分子生物学会年会、横浜	2002/12/11-14	植物遺伝子のコアプロモーター類型と上流調節領域との間にみられる適合性
24	名古屋大学	Obokata, J.	Gordon Research Conference of RNA editing	2003/01/23	Chloroplast RNA editing in higher plants: <i>cis</i> -elements and <i>trans</i> -acting factors identified by <i>In vitro</i> systems (invited)
25	王子製紙	山田奈々江、佐藤茂、日尾野隆	日本植物生理学会	2003/03/27	細胞伸長と細胞壁合成に異常を示すアラビドプシ温度感受性 $acw4, 5, 6$ 変異体の解析
26	関西学院大学	望月堂照、恩田弥生、角山雄一、大庭篤、椎名隆、和田正三、豊島喜則	日本植物生理学会2003年度年会	2003/3/27-29	sig5遺伝子の転写誘導に関わる青色光受容体の同定
27	京都府立大学	角山雄一、安田浩之、椎名隆	日本植物生理学会2003年度年会	2003/3/27-29	イネ葉緑体転写酵素PEPのシグマ因子Sig5の発現解析
28	関西学院大学	山田尚吾、恩田弥生、岩田達也、椎名隆、豊島喜則	日本植物生理学会2003年度年会	2003/3/27-29	葉緑体形質転換によるPsbLサブユニットの機能解析
29	名古屋大学等	大谷将人、吉次友昭、長谷川桂子、湯川泰、杉浦昌弘、小保方潤一	日本植物生理学会2002年度年会	2003/3/27-29	<i>In vitro</i> 転写系を用いた植物転写開始シグナルの包括的解析 (ポスター)
30	名古屋市立大学等	湯川眞希、續伯彦、杉浦昌弘	日本植物生理学会2002年度年会	2003/3/27-29	タバコ属植物葉緑体における比較ゲノム解析II (ポスター)
31	名古屋市立大学等	小川知之、伊藤有紀、山内亮、長谷川桂子、松尾充啓、中邨真之、湯川泰、近藤純治、木下邦則、小保方潤一、續伯彦、杉浦昌弘	日本植物生理学会2002年度年会	2003/3/27-29	イネ葉緑体遺伝子発現ナビゲーター (ポスター)
32	名古屋市立大学等	杉山康雄、長瀬正和、渡瀬謙介、茂森舞、軸屋博之、平井篤志、杉浦昌弘	日本植物生理学会2002年度年会	2003/3/27-29	タバコミトコンドリアのゲノム解析とデータベースの構築 (ポスター)
33	名古屋市立大学等	湯川泰、小川知之、續伯彦、杉浦昌弘	日本植物生理学会2002年度年会	2003/3/27-29	バイスループット <i>in vitro</i> 転写系を用いたシロイヌナズナ及びイネ核tRNAのゲノムワイド解析 (ポスター)
34	東京農工大学	前田和寛、木村惣一、近川幸恵、竹田淳子、植野洋志、小関良宏	日本植物生理学会	2003/03/28	ストレス誘導性 PAL 遺伝子の発現制御に関与する転写調節因子のスクリーニング
35	東京農工大学	木村惣一、近川幸恵、加藤雅之、前田和寛、小関良宏	日本植物生理学会	2003/03/28	アントシアニン合成時に誘導される PAL 遺伝子の発現制御に関与する転写調節因子のスクリーニング
36	東京工業大学	多木希、関本(佐々木)結子、大林武、相内孝幸、小林雄一、浅水恵理香、中村保一、増田建、島田裕士、高宮建一郎、柴田大輔、田畑哲之、太田啓之	日本植物生理学会2003年度年会(大阪)	2003/03/28	ジャスモン酸生合成中間体 12-オキソ-フィットジェン酸に反応する遺伝子群の網羅的解析
37	東京工業大学	関本(佐々木)結子、多木希、大林武、相内孝幸、小林雄一、浅水恵理香、中村保一、黒森崇、平山隆志、篠崎一雄、増田建、島田裕士、高宮建一郎、柴田大輔、田畑哲之、太田啓之	日本植物生理学会2003年度年会(大阪)	2003/03/28	メチルジャスモン酸生合成変異体を用いたメチルジャスモン酸特異的遺伝子発現応答の解析
38	日立造船、大阪大学	福岡 英一郎、武野 真也、馬場 健史、奥本 寛、甲藤 裕子、梶山 慎一郎、小林 昭雄	日本農芸化学会2003年度大会(東京)	2003/04/02	タバコ植物におけるC45ポリプレノール(ソラネソール)の生合成経路
39	名古屋市立大学	Sugiura, M., M. Sasaki, T. Miyamoto and J. Obokata	FEBS advanced course on origin and evolution of Mitochondria and Chloroplasts.	2003/4/5-10	Molecular mechanism of RNA editing in higher plant chloroplasts. (invited)

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
40	名古屋市立大学	Sugiura M.	VI International Consultative Council of Agrobio Institute	2003/5/3-5	Protein synthesis in tobacc chloroplasts (invited)
41	名古屋市立大学	Sugiura M.	International Conference "Biosafety in Biotechnology Research, Trials and Applications"	2003/5/6-8	Environmentally friendly biotechnology: case study -protein synthesis in tobacco chloroplasts (invited)
42	日立造船、大阪大学	右手 浩一, 吉田 早織, 北山辰樹, 馬場 健史, 福崎 英一郎, 小林 昭雄, 水口 博義	第52回高分子学会年次大会(名古屋)	2003/05/28	シリカロッドカラムを用いた超臨界流体クロマトグラフィーによるポリマーの分離
43	名古屋市立大学	Sugiura, M., C. Sugita, K. Ogata, H. Jikuya, J. Takano, T. Tsudzuki, and M. Sugita	The 2nd German/Japanese Binational Symposium "Functional Genomics in Cyanobacteria, Beyond Genome Sequences"	2003/5/31-6/5	The genome of <i>Synechococcus</i> PCC 6301 (invited).
44	京都府立大学	椎名隆	文科省私立大学学術研究高度化推進事業シンポジウム「高等植物のオルガネラゲノム工学」	2003/06/01	葉緑体の形質転換から見える世界：タンパク質の合成から分解
45	日立造船、大阪大学	馬場健史, 中澤慶久, 奈良明司, 安保寿一, 福崎英一郎, 小林昭雄	2003年度サーモニコレージャパンユーザーズミーティング(大阪)	2003/06/13	顕微FT-IR分光分析を用いたトチュウポリイソプレノイドの組織内局在解析
46	名古屋市立大学等	Sugiura, M., T. Miyamoto, and J. Obokata	7th International Congress of Plant Molecular Biology	2003/6/23-28	<i>Cis</i> -acting elements and <i>trans</i> -acting factors for the RNA editing of chloroplast mRNAs.
47	名古屋市立大学等	Tsudzuki, J., T. Tsudzuki, M. Inada, and M. Yukawa, M. Sugiura	7th International Congress of Plant Molecular Biology	2003/6/23-28	RNA editing site in pea chloroplast transcripts.
48	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Shingo Nagaya, Ko Kato, Yuka Ninomiya, Kazuya Yoshida, Masami Sekine, Atsuhiko Shinmyo.	Barcelona, Spain. (7th International Congress of Plant Molecular Biology)	2003/6/23-28	Expression of single transgene in <i>Arabidopsis thaliana</i> .
49	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Yuichi Kodama, Singo Nagaya, Ko Kato, Atsuhiko Shinmyo.	Barcelona, Spain. (7th International Congress of Plant Molecular Biology)	2003/6/23-28	Chromatin structure and HSP18.2 gene expression in <i>Arabidopsis</i> suspension cells.
50	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Ko Kato, Junko Satoh, Atsuhiko Shinmyo.	Barcelona, Spain. (7th International Congress of Plant Molecular Biology)	2003/6/23-28	The 5'-UTR of the Tobacco BY2 alcohol dehydrogenase gene functions as an effective translational enhancer in dicotyledonous and monocotyledonous plants.
51	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Katsuhiko Ichikawa, Ko Kato, Masami Sekine, Atsuhiko Shinmyo.	Honolulu, USA. (Plant Biology 2003)	2003/7/25-30	The relationship between the expression of <i>rbcs</i> and <i>rbcl</i> genes in tobacco plant.
52	京都府立大学	Ohba, A., Shiina, T., Yasuda, H., Tsunoyama, Y.	Plant Biology 2003	2003/7/25-30	Functional analysis of a blue light induced plastid sigma factor, Sig5
53	京都府立大学	Wakamatsu, H., Ishizaki, Y., Yamashita, H., Takeba, G., Shiina, T.	Plant Biology 2003	2003/7/25-30	Developmental and light-dependent regulation of wheat mitochondrial gene expression
54	京都府立大学	Ishizaki, Y., Tsunoyama, Y., Hatano, K., Takeba, G., nakahira, Y., Shiina, T.	Plant Biology 2003	2003/7/25-30	Knock-out of the plastid sigma factor SIG6 in <i>Arabidopsis</i> : effects on transcription of plastid-encoded genes
55	名古屋大学	Nakamura, M., Yoshitsugu, T., Kikuchi, M., Hasegawa, K. and Obokata, J.	Plant Biology 2003, Honolulu, Hawaii	2003/07/27	Core promoter Requirement of Photosystem I Genes is quite different from that of the Majority of Plant Nuclear Genes.
56	タカラバイオ	大場利治、山下 英俊、鈴木健介、大浦 智紀、浅田 起代蔵、加藤 郁之進	第21回日本植物細胞分子生物学会	2003/08/07	「シロイヌナズナ公開配列のクラスタリングとアセンブルを利用した新規DNAマイクロアレイのプロープ配列設計と閲覧ビューワの開発」
57	日本大学	嶋田典基, 青木俊夫, 佐藤修正, 中村保一, 田畑哲之, 綾部真一.	第20回日本植物細胞分子生物学会大会, 高松	2003/8/7-8	ミヤコグサのフラボノイド系遺伝子のクラスター構造
58	日本大学	澤田有司, 明石 智義, 青木俊夫, 綾部 真一	第20回日本植物細胞分子生物学会大会, 高松	2003/8/7-8	イソフラボン骨格合成酵素の反応特異性を決める鍵残基の同定と分子進化
59	日本大学	澤井学, 綾部真一, 佐藤修正, 金子貴一, 田畑哲之, 青木俊夫	第20回日本植物細胞分子生物学会大会, 高松	2003/8/7-8	ミヤコグサのオキシドスクアレン閉環酵素遺伝子の構造と機能
60	日本大学	佐々木亮介, 嶋田典基, 青木俊夫, 佐藤修正, 中村保一, 田畑哲之, 綾部真一	第20回日本植物細胞分子生物学会大会, 高松	2003/8/7-8	ミヤコグサのジヒドロフラボノール還元酵素の機能解析

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
61	日本大学	明石智義, 青木俊夫, 綾部真一	第20回日本植物細胞分子生物学会大会, 高松	2003/8/7-8	2-ヒドロキシイソフラボン脱水酵素をコードするcDNAのクローニングと機能解析
62	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢 典彦, 寺本 真紀, 崔 善江, 足立 恭子	第17回カロテノイド研究談話会(釜石)	2003/09/04	「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発ーカロテノイド生産制御技術の開発」
63	日立造船、大阪大学	福崎 英一郎, 馬場 健史, 小林 昭雄	日本生物工学会2004年度大会シンポジウム(メタボローム解析の現状と展望)(名古屋)	2003/09/22	植物メタボロミクスの可能性と技術的問題
64	日立造船、大阪大学	池田 達彦, 福崎 英一郎, 山地 武広, 馬場 健史, 小林 昭雄	日本生物工学会2004年度大会(名古屋)	2003/09/23	多変量解析手法と自己組織化マッピングのメタボロミクスへの適用
65	日立造船、大阪大学	原田 和生, 福崎 英一郎, 馬場 健史, 小林 昭雄	日本生物工学会2004年度大会(名古屋)	2003/09/23	シロイヌナズナ培養細胞における代謝物の in vivo 15 N-標識とメタボロミクスへの応用
66	名古屋大学	小保方潤一	日本植物学会第67回大会 シンポジウム 「シンビオジェネシスー葉緑体はどうやって生まれたか?」(札幌)	2003/09/26	葉緑体から核への遺伝子転移:どのように転移し、どのように発現したのか?
67	日本大学	嶋田典基, 佐々木亮介, 伊藤圭介, 原田久也, 綾部真一, 青木俊夫	日本植物学会第67回大会, 札幌	2003/9/26-28	ミヤコグサフラボノイド生合成変異体の遺伝子発現解析
68	日本大学	佐々木 亮介, 嶋田 典基, 青木 俊夫, 綾部 真一	日本植物学会第67回大会, 札幌	2003/9/26-28	ミヤコグサのアントシアニン・縮合型タンニン生合成の生化学的解析
69	日本大学	今泉隆次郎, 亀谷七七子, 中村郁郎, 綾部真一, 青木俊夫	日本植物学会第67回大会, 札幌	2003/9/26-28	ミヤコグサのアクティブーションタグラインの解析
70	日本大学	青木 俊夫, 明石 智義, 綾部 真一	日本植物学会第67回大会シンポジウム『二次代謝産物の多様な生理作用と二次代謝の多様な制御機構』, 札幌	2003/9/26-28	植物成分の多様性をもたらす分子機構への比較機能ゲノム学的アプローチ
71	産業技術総合研究所	中野年継, 鈴木馨, 藤村達人, 進士秀明	日本植物学会第67回大会	2003/09/27	シロイヌナズナゲノムにおけるAP2/ERF遺伝子ファミリーのin silico解析
72	東京農工大学	小関良宏	日本植物学会	2003/09/28	二次代謝の key enzyme である PAL 遺伝子の転写制御機構
73	名古屋市立大学	Sugiura, M., T. Sasaki, T. Miyamoto and J. Obokata	Joint Japanese-Swiss Scientific Seminar "Biogenesis, Function and Acclimation of the Photosynthetic Apparatus"	2003/9/29-10/3	Chloroplast RNA editing in higher plants (invited).
74	名古屋大学	Obokata, J.	Joint Japan-Swiss Scientific Seminar "Biogenesis, Function and Acclimation of the Photosynthetic Apparatus" Kurashiki	2003/09/30	Core promoter architecture characteristic of photosynthesis nuclear genes (invited)
75	京都府立大学	椎名隆	育種学会2003年度年会シンポジウム「オルガネラゲノム工学の新しい展開」	2003/10/01	緑体形質転換ー転写制御研究からの提案ー
76	財団法人 かずさDNA研究所	鈴木秀幸, Richard A. Dixon, 浦野晶子, 森下宣彦, 斉藤和季, 柴田大輔	第五回ミヤコグサワークショップ: Kisarazu, Chiba	2003/10/10	マメ科植物のメタボロミクス研究とは何か 総合的ファンクショナルゲノミクス研究への可能性
77	日本大学	青木俊夫, 今泉隆次郎, 綾部真一	植物微生物研究会第15回研究会, 東京	2003/10/11-13	ミヤコグサのアクティブーションタグラインの作成と配布計画
78	名古屋市立大学等	Sugiyama, Y., S. Yagura, N. Makita, S. Tsukamoto, A. Hirai, and M. Sugiura	第76回日本生化学会大会	2003/10/15-18	Analysis of genome organization and RNA editing site in tobacco mitochondria.
79	日本大学	澤井学, 綾部真一, 佐藤修正, 金子貴一, 田畑哲之, 青木俊夫	第14回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 仙台	2003/11/6-7	ミヤコグサのオキシドスクアレン閉環酵素遺伝子の解析
80	日本大学	綾部真一, 明石智義, 青木俊夫	第14回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 仙台	2003/11/6-7	イソフラボン生合成経路と遺伝子の完全解明
81	日立造船、大阪大学	右手浩一, 吉田早織, 北山辰樹, 馬場健史, 福崎英一郎, 小林昭雄, 水口博義	第8回高分子分析討論会(東京)	2003/11/14	モノリス型シリカカラムを用いた超臨界流体クロマトグラフィーによるポリマーおよびオリゴマーの分離
82	名古屋市立大学	Miyamoto, T., Wakasugi, T. and Obokata, J.	RNA 2003 Kyoto "The Frontier of RNA Science"	2003/11/24	Recognition of RNA editing sites is directed by unique proteins in chloroplasts



	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
83	名古屋大学	Nagao, I., Masuyama, K. and Obokata, J.	RNA 2003 Kyoto "The Frontier of RNA Science"	2003/11/24	Systematic Enrichment of Translational Regulatory Elements (SETRE).
84	日立造船、大阪大学	Koichi Ute, Saori Yoshida, Tatsuki Kitayama, Takeshi Bamba, Ei-ichiro Fukusaki, Akio Kobayashi, Hiroyoshi Minakuchi	The 8th Pacific Polymer Conference (Bangkok, Thailand, November 24-27, 2003, Poster session 25th)	2003/11/24-27	Separation of Oligomer Homologs by Supercritical Fluid Chromatography using Monolithic Silica Column
85	タカラバイオ	吉川良恵、大場利治、伊豆博幸、巽容子、大門尚志、浅田起代蔵、加藤 郁之進	第26回日本分子生物学会	2003/12/10	「cDNAマイクロアレイとオリゴマイクロアレイの比較」
86	名古屋大学等	宮本徹也、小保方潤一、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	葉緑体RNAエディティングにおけるエディティング部位認識機構 (口頭発表)
87	名古屋市立大学	平井克明、湯川泰、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	植物 <i>in vitro</i> 転写系によるtRNA遺伝子の転写開始点の同定 (ポスター)
88	名古屋市立大学等	杉田千恵子、緒方是嗣、軸屋博之、高野純、続伯彦、杉浦昌弘、杉田護	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	単細胞性ラン藻 <i>Synechococcus</i> PCC6301株ゲノムの全塩基配列決定 (ポスター)
89	名古屋市立大学等	大谷将人、吉次友昭、長谷川桂子、湯川泰、杉浦昌弘、小保方潤一	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	<i>in vitro</i> 転写系を用いた転写開始シグナルの包括的解析 (ポスター)
90	名古屋市立大学	河野恒賢、中村崇裕、湯川眞希、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	タバコ葉緑体 non-coding RNAの探索 (ポスター)
91	名古屋市立大学	長谷川桂子、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	葉緑体におけるグループIイントロンを含むRNAのスプライシング機構の解析 (ポスター)
92	名古屋市立大学等	中郷真之、小川知之、伊藤有紀、近藤鋭治、木下邦則、小保方潤一、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	イネ葉緑体・光合成関連遺伝子データベース (Chloroplast Net) (ポスター)
93	名古屋市立大学等	小川知之、湯川泰、続伯彦、近藤鋭治、木下邦則、小保方潤一、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	イネ低分子RNAの予測手法の開発 (ポスター)
94	名古屋市立大学等	松尾充啓、伊藤有紀、山内亮、近藤鋭治、木下邦則、杉浦昌弘、小保方潤一	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	核に転移した葉緑体DNAの解析 (ポスター)
95	名古屋市立大学等	佐々木忠将、稲田美智、続伯彦、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	イネ葉緑体におけるRNAエディティング部位の解析 (ポスター)
96	名古屋市立大学等	続伯彦、湯川泰、小川知之、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	イネおよびシロイヌナズナからのsnRNAの <i>in silico</i> 探索 (ポスター)
97	名古屋市立大学等	湯川泰、続伯彦、小川知之、杉浦昌弘	第26回日本分子生物学会年会	2003/12/10-13	イネおよびシロイヌナズナの新規snRNAの <i>in vitro</i> 探索 (ポスター)
98	京都府立大学	中平洋一、野添幹雄、椎名隆	第26回分子生物学会年会	2003/12/10-13	ルシフェラーゼ遺伝子を用いた葉緑体遺伝子発現モニタ系の開発
99	京都府立大学	小堀麻紀、椎名隆、竹葉剛	第26回分子生物学会年会	2003/12/10-13	葉緑体形質転換法を用いたグルタミン合成酵素過剰発現植物体の作製
100	京都府立大学	角山雄一、石崎陽子、安田浩之、大庭篤、小堀麻紀、竹葉剛、椎名隆	第26回分子生物学会年会	2003/12/10-13	葉緑体psbD青色光応答性プロモーターの活性を制御する核コードシグマ因子Sig5
101	京都府立大学	石崎陽子、角山雄一、幡野燕子、小堀麻紀、竹葉剛、中平洋一、椎名隆	第26回分子生物学会年会	2003/12/10-13	核コードのシグマ因子AtSig6は葉緑体分化の初期段階で光合成遺伝子の転写を制御する
102	京都府立大学	Shiina, T.	International NIBGE-COMSTECH (CPC) organized workshop: Advanced Techniques in Biotechnology	2004/01/01	Two types of plastid RNA polymerase sigma factors in Arabidopsis
103	王子製紙	山田奈々江、佐藤茂、日尾野隆	The Plant and Animal Genome XII	2004/01/15	GENE EXPRESSION PROFILING IN ELONGATING CELLS AND WOOD FORMATION
104	名古屋大学	小保方潤一	第1回名古屋大学遺伝子実験施設シンポジウム	2004/03/15	植物ゲノムのダイナミズムとプロモーターの新生
105	株植物工学研究所	林泰行、中島麻恵、渡辺美生、早川孝彦	植物生理学会	2004/03/27	A Comparative Study of Sterol Metabolism Between Plant, Yeast and Animal <towards application for practical use>
106	東京工業大学	関本 (佐々木) 結子、多木希、大林 武、櫻井 望、鈴木 秀幸、青野 光子、野路 征昭、齊藤 和季、高宮 建一郎、柴田 大輔、太田 啓之	植物生理学会	2004/03/27	cDNAマイクロアレイにより同定されたジャスモン酸類応答性代謝遺伝子群とそれらの経路で合成される代謝産物の解析

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
107	産業技術総合研究所	中野年継、辻本弥生、内藤由紀、鈴木馨、藤村達人、進士秀明	第45回日本植物生理学会年会	2004/03/27	シロイヌナズナおよびイネにおけるERFファミリーのゲノムワイドな解析
108	地球環境産業技術研究機構、奈良女子大学、CREST、奈良先端科学技術大学院大学	嶋岡 泰世、大西 美輪、三橋 尚登、横田 明徳、富澤 健一、三村 徹郎	日本植物生理学会	2004/03/27	「シロイヌナズナ培養細胞から純化した液胞膜のプロテオーム解析」
109	王子製紙	佐藤茂、山田奈々江、中元志穂、日尾野隆	日本植物生理学会	2004/03/27	オリゴマイクロアレイによるアラビドプシスの細胞伸長に関与する遺伝子群の網羅的解析
110	名古屋市立大学	中村崇裕、杉浦昌弘	第45回日本植物生理学会	2004/3/27-29	プラスチドRNAの翻訳制御配列の広域的な解析(口頭発表)
111	名古屋市立大学等	湯川泰、Markus Englert, Martha Felis, Stojanov Michael, 杉浦昌弘、Hildburg Beier	第45回日本植物生理学会	2004/3/27-29	植物7SLRNA遺伝子の <i>in vitro</i> 転写解析(口頭発表)
112	名古屋市立大学等	杉山康雄、矢倉聡一、牧田尚之、杉浦昌弘	第45回日本植物生理学会	2004/3/27-29	植物ミトコンドリアゲノムにコードされる遺伝子のRNA編集部位の解析(口頭発表)
113	名古屋市立大学等	佐々木忠将、湯川泰、続伯彦、若杉達也、杉浦昌弘	第45回日本植物生理学会	2004/3/27-29	葉緑体RNAエディティング部位の認識機構(ポスター)
114	名古屋市立大学等	松尾充啓、伊藤有紀、山内亮、近藤鋭治、木下邦則、杉浦昌弘、小保方潤一	第45回日本植物生理学会	2004/3/27-29	イネ核ゲノムに見いだされる葉緑体ゲノム様配列の包括的解析(ポスター)
115	名古屋市立大学等	小川知之、中野真之、湯川泰、續伯彦、伊藤有紀、近藤鋭治、木下邦則、小保方潤一、杉浦昌弘	第45回日本植物生理学会	2004/3/27-29	イネ葉緑体・光合成関連遺伝子および低分子RNA遺伝子データベースの構築
116	京都府立大学	小堀麻紀、椎名隆、竹葉剛	第45回日本植物生理学会年会	2004/3/27-29	葉緑体形質転換による葉緑体局在型グルタミン合成酵素の大量発現
117	京都府立大学	石崎陽子、角山雄一、幡野恭子、小堀麻紀、竹葉剛、中平洋一、椎名隆	第45回日本植物生理学会年会	2004/3/27-29	シロイヌナズナ葉緑体シグマ因子AtSig6の機能解析
118	京都府立大学	中平洋一、野添幹雄、竹葉剛、椎名隆	第45回日本植物生理学会年会	2004/3/27-29	ルシフェラーゼを利用した葉緑体の遺伝子発現モニター系
119	日本大学	青木俊夫、澤井学、綾部真一	第45回日本植物生理学会年会シンポジウム『植物比較機能ゲノム学の新展開～植物ステロール/トリテルペンの生理学的意義と代謝工学の可能性』、東京	2004/3/27-29	ミヤコグサのオキシドスクアレン閉環酵素遺伝子の機能と構造の解析
120	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	児玉悠一、長屋進吾、加藤晃、新名惇彦	日本植物生理学会年会、東京	2004/3/27-29	シロイヌナズナにおけるクロマチン構造と遺伝子発現
121	日本大学	澤井学、綾部真一、佐藤修正、金子貴一、田畑哲之、青木俊夫	日本薬学会第124年回、大阪	2004/3/27-29	ミヤコグサにおけるオキシドスクアレン閉環酵素遺伝子の解析
122	かずさDNA研究所	小川洋一、浦野晶子、森久美子、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/28	ハイスループットな遺伝子機能解析に向けたシロイヌナズナ培養細胞の超低温保存法の確立
123	かずさDNA研究所	時松敏明、櫻井望、Srinesh Kundu、古江基樹、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/28	メタボロームとトランスクリプトームを統合する植物代謝パスウェイデータベース
124	かずさDNA研究所	小川洋一、浦野晶子、森久美子、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/28	ハイスループットな遺伝子機能解析に向けたシロイヌナズナ培養細胞の超低温保存法の確立
125	かずさDNA研究所	時松敏明、櫻井望、Srinesh Kundu、古江基樹、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/28	メタボロームとトランスクリプトームを統合する植物代謝パスウェイデータベース
126	かずさDNA研究所	鈴木秀幸、浦野晶子、森下宣彦、櫻井望、峠隆之、斉藤和季、柴田大輔	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/28	シロイヌナズナ培養細胞のメタボローム解析
127	かずさDNA研究所	櫻井望、森谷佳奈美、藤井文子、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/28	シロイヌナズナ培養細胞のトランスクリプトーム解析
128	名古屋市立大学	杉浦昌弘	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/28	<i>In vitro</i> 系の開発による植物遺伝子発現機構の研究(受賞講演)
129	財団法人 かずさDNA研究所	西田寛、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/29	cDNAマイクロアレイを用いたミヤコグサ培養細胞に関する遺伝子応答の網羅的解析

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
130	財団法人 かずさDNA研究所	矢野健太郎、櫻井望、西田寛、生井潔、酒井雄志、鈴木秀幸、浅水恵理香、田畑哲之、斎藤和季、柴田 大輔	第45回植物生理学会年会・東京	2004/03/29	ミヤコグサ完全長cDNA ライブラリーの作製と大規模解析
131	東京農工大学	前田和寛、木村惣一、近川幸恵、竹田淳子、植野洋志、小関良宏	日本植物生理学会	2004/03/29	ストレス誘導性 PAL 遺伝子の発現制御に関与する MYB 転写調節因子
132	東京農工大学	木村惣一、近川幸恵、加藤雅之、前田和寛、小関良宏	日本植物生理学会	2004/03/29	アントシアニン合成時に誘導される PAL 遺伝子の発現制御に関与する転写調節因子 DcERF1, DcERF2
133	日立造船、大阪大学	金載光、福崎英一郎、馬場健史、原田和生、小林昭雄	日本農芸化学会2005年度大会	2004/03/29	<i>in vivo</i> 15N同位体標識法を用いた植物培養細胞における塩ストレス応答解析
134	日立造船、大阪大学	原田和生、福崎英一郎、馬場健史、小林昭雄	日本農芸化学会2005年度大会	2004/03/29	<i>in vivo</i> 15N同位体標識法を用いた植物培養細胞における窒素代謝の光応答解析
135	東京工業大学	太田啓之	農芸化学会 シンポジウム	2004/03/29	栄養条件、植物ホルモンに応答した代謝ネットワークの変動と環境適応
136	日本大学	綾部真一、澤田有司、明石智義、青木俊夫	日本薬学会第124年会シンポジウム「ダイバーソザイムP450の反応機構と機能の多様性を考える」、大阪	2004/3/29-31	イソフラボノイド合成P450の構造、機能、および分子進化
137	日立造船、大阪大学	福崎 英一郎、原田 和生、馬場 健史、梶山 慎一郎、小林 昭雄	日本農芸化学会2004年度大会(広島)	2004/03/30	安定同位体希釈法による定量メタボローム解析システムの開発 -メチル化同位体標識によるフラボノイド類の定量-
138	日立造船、大阪大学	Ei-ichiro Fukusaki, Pongsuwan Wipawee, Tsutomu Yonetani, Takeshi Bamba, Akio Kobayashi	日本農芸化学会2005年度大会	2004/03/30	Determination of quality of green tea, <i>Camellia sinensis</i> , by metabolic profiling using GC/MS
139	日立造船、大阪大学	福崎 英一郎、金 載光、蓮沼 誠久、原田 和生、小林 昭雄	日本農芸化学会2005年度大会(広島)	2004/03/30	安定同位体希釈法による定量メタボローム解析法の開発(2)-15N標識による含窒素化合物群の相対定量法-
140	日立造船、大阪大学	福崎英一郎、馬場健史、小林昭雄	日本農芸化学会2004年度大会シンポジウム(広島)	2004/03/31	植物メタボローム解析研究の展望
141	海洋バイオテクノロジー研究所	崔 善江、松田 諭、西田 康宏、志津里 芳一、池永 裕、三沢 典彦	第7回マリンバイオテクノロジー学会大会(北海道大学)	2004/06/02	海洋細菌由来の各種 $\beta$ -carotene ketolase 遺伝子(crtW)の導入による大腸菌でのastaxanthin生産性の評価
142	日立造船、大阪大学	Kazu Harada, Ei-ichiro Fukusaki, Kim Jae Kwang, Kanokwan Jumtee, Takeshi Bamba and Akio Kobayashi	Third International Congress on Plant Metabolomics (Iowa, June 3-6, 2004)	2004/6/3-6	<i>In vivo</i> 15N-enrichment of metabolites in <i>Arabidopsis</i> cultured cell T87 and its application for metabolomics.
143	かずさDNA研究所	Hideyuki Suzuki, Akiko Urano, Yoshihiko Morishita, Ryohsuke Sasaki, Nozaomu Sakurai, Takayuki Tohge, Dishuke Shibata and Kazuki Saito	第3回国際植物メタボロミクス学会:アメリカ	2004/06/04	High throughput metabolite profiling of the suspension-cultured <i>Arabidopsis thaliana</i> T87 cells by combination of various mass spectrometric technologies
144	名古屋大学	Obokata, J.	14th International Congress on Photobiology, Jeju, Korea, Symposium "Photosynthesis: Evolutionary Aspects"	2004/06/13	Chloroplast-nuclear DNA flux and evolution of photosynthesis gene systems (invited)
145	王子製紙	佐藤茂、山田奈々江、中元志穂、日尾野隆	International Conference on Arabidopsis Research 2004	2004/07/12	Comprehensive oligo-microarray analysis of gene expression profiles during cell elongation
146	海洋バイオテクノロジー研究所	丸山 高廣、三沢 典彦	第18回カロテノイド研究談話会(神戸薬科大学)	2004/07/31	海洋細菌 <i>Paracoccus</i> sp. N81106 株のカロテノイド合成遺伝子群の構造と機能
147	京都大学	鈴木史朗、山村正臣、島田幹夫、梅澤俊明	日本木材学会	2004/08/03	「(E)-hinokiresinol 合成酵素について」
148	京都大学	榊原紀和、鈴木史朗、中坪朋文、島田幹夫、柴田大輔、梅澤俊明	日本木材学会	2004/08/03	「メタボリックプロファイリングによるケヒ酸/モノリグノール経路の解析」
149	名古屋大学	小保方潤一	日本進化学会第6回大会ワークショップ「シンピオジェネシス:真核生物オルガネラの誕生と進化のメカニズム」東京	2004/08/06	葉緑体から核へ向かうDNAフラックスと真核ゲノムのもつプロモーター新生能
150	東京農工大学	前田和寛、木村惣一、近川幸恵、竹田淳子、植野洋志、小関良宏	日本植物細胞分子生物学会	2004/08/09	ニンジンにおけるストレス誘導性 PAL 遺伝子の発現制御に関与する転写調節因子 DcMYB1 の機能解析

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
151	東京農工大学	木村惣一, 近川幸恵, 加藤雅之, 前田和寛, 小関良宏	日本植物細胞分子生物学会	2004/08/09	ニンジンにおけるアントシアニン合成時に誘導される PAL 遺伝子の発現制御に関する転写調節因子 DcERF1, DcERF2 の機能解析
152	日本大学	明石智義, 石崎雅之, 青木俊夫, 綾部真一	第21回日本植物細胞分子生物学会大会, 秋田	2004/8/9-10	アヤマ属植物組織培養でのイソフラボノイドの蓄積と生合成
153	日本大学	青木俊夫, 伊藤圭介, 嶋田典基, 川崎信二, 原田久也, 綾部真一	第21回日本植物細胞分子生物学会大会, 秋田	2004/8/9-10	ミヤコグサの縮合型タンニン生合成突然変異体の解析
154	タカラバイオ	大場利治, 速水祥子, 吉川良恵, 安藤達哉, 野田英之, 巽容子, 大門尚志, 浅田起代蔵, 加藤郁之進	第22回日本植物細胞分子生物学会	2004/08/10	「シロイヌナズナの全遺伝子規模DNAマイクロアレイ開発とその応用」
155	石川県立大学生物資源工学研究所	大山莞爾, 梶川昌孝, 甲津嘉人, 大和勝幸, 福澤秀哉	第22回日本植物細胞分子生物学会 講演要旨集 p149, 秋田市	2004/08/10	ステロール化合物の高産生植物の開発 (1) ユーフォルビア (Euphorbia tirucalli) のステロール生合成遺伝子群のEST解析とcDNAクローニング
156	石川県立大学生物資源工学研究所	内田英伸, 大谷基泰, 中谷内修, 島田多喜子, 梶川昌孝, 甲津嘉人, 大和勝幸, 福澤秀哉, 大山莞爾	第22回日本植物細胞分子生物学会 講演要旨集 p150, 秋田市	2004/08/10	ステロール化合物の高産生植物の開発 (2) ユーフォルビア (Euphorbia tirucalli) カルスへのステロール生合成遺伝子の導入
157	名古屋市立大学	Sugiura, M.	The 14th FESPB Congress	2004/8/23-27	Structure and expression of the chloroplast genome: mechanism of RNA editing (plenary lecture).
158	名古屋市立大学等	Tsudzuki, J., T. Tsudzuki, T. Sasaki, M. Inada, M. Yukawa and M. Sugiura	The 14th FESPB Congress	2004/8/23-27	RNA editing sites in rice and pea chloroplast transcripts: comparison of editing sites among angiosperms (poster).
159	名古屋市立大学等	Plader, W., Y. Yukawa, M. Sugiura and S. Malepszy	The 14th FESPB Congress	2004/8/23-27	The sequencing and analysis of cucumber chloroplast genome (poster).
160	京都府立大学	16) Ishizaki, Y., Tsunoyama, Y., Hatano, K., Ando, K., Kato, K., Shinmyo, A., Nakahira, Y. and Shiina, T.	The 13th International Congress of Photosynthesis	2004/8/30-9/2	A nuclear-encoded sigma factor, AtSig6, plays a key role in early chloroplast development in cotyledons.
161	京都府立大学	15) Nozoe, M., Ishizaki, Y., Tsunoyama, Y., Tsubokura, Y., Kato, K., Shinmyo, A., Nakahira, Y., Shiina, T.	The 13th International Congress of Photosynthesis	2004/8/30-9/2	Characterization of a plastid sigma factor AtSIG5 responsible for psbD light-responsive transcription.
162	京都府立大学	17) Umeda, T., Nakahira, Y., Takeba, G. and Shiina, T.	The 13th International Congress of Photosynthesis	2004/8/30-9/2	The plastid targeted GTP-binding protein, AtOBG1 is essential for embryo development in Arabidopsis.
163	関西学院大学	Yayoi Onda*, I. Yusuke Yagi1, Takateru Mochizukil, Yuichi Tsunoyama2, Yoshinori Toyoshima	The 13th International Congress of Photosynthesis	2004/8/30-9/2	Promoter preference and light-responsive transcription of plastid factors in Arabidopsis.
164	関西学院大学	Takateru Mochizukil, Yayoi Onda1, Masamitsu Wada2, Yoshinori Toyoshima*	The 13th International Congress of Photosynthesis	2004/8/30-9/2	Two independent light signals cooperating on the activation of psbD blue light-responsive promoter in Arabidopsis.
165	京都府立大学	Yoichi Nakahira*, I. Go Takeba1, Takashi Shiina1	The 13th International Congress of Photosynthesis	2004/8/30-9/2	Firefly luciferase as a vital reporter for gene expression in tobacco chloroplasts.
166	日立造船、大阪大学	山地 武広, 馬場健史, 福崎英一郎, 小林昭雄	日本分析化学会第53年会 (東京)	2004/09/03	メタボロミクスにおけるクロマトグラムのパターン認識の新手法
167	日本大学	貫井憲之, 南澤 究, 青木俊夫, 綾部真一	植物微生物研究会第14回研究会, 広島	2004/9/6-8	ミヤコグサ根粒菌ACC deaminaseの根粒形成における効果
168	地球環境産業技術研究機構	富澤 健一, 嶋岡泰世	日本植物学会	2004/09/10	「高等植物のプロテオミクス」
169	東京工業大学	関本 (佐々木) 結子, 太田啓之	日本植物学会第68回大会 (藤沢) シンポジウム酸化ストレスとシグナル伝達	2004/09/11	酸化ストレス応答におけるジャスモン酸の役割
170	名古屋市立大学	Sugiura, M., M. Yukawa, T. Sasaki, J. Obokata and T. Miyamoto	Endocytobiology IX, International Society of Endocytobiology	2004/9/11-16	Origin of the amphidiploid <i>Nicotiana tabacum</i> plastid genome and alternation of the genomic information by RNA editing (plenary lecture).
171	名古屋大学	Obokata, J.	The 9th International Congress on Endocytobiology and Symbiosis. Jena, Germany	2004/09/13	Chloroplast-nuclear DNA flux and promoter biogenesis (invited)

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
172	日本大学	Satoru Sawai, Tamotsu Shindo, Shusei Sato, Takakazu Kaneko, Satoshi Tabata, Shin-ichi Ayabe and Toshio Aoki	German-Japan Seminar on Molecular Regulation of Plant Secondary Metabolism, Kisarazu, Japan	2004/9/20-23	Functional and structural analysis of genes encoding oxidosqualene cyclases of <i>Lotus japonicus</i>
173	日本大学	Norimoto Shimada, Ryohsuke Sasaki, Shusei Sato, Takakazu Kaneko, Satoshi Tabata, Toshio Aoki and Shin-ichi Ayabe	German-Japan Seminar on Molecular Regulation of Plant Secondary Metabolism, Kisarazu, Japan	2004/9/20-23	Molecular characterization of dihydroflavonol 4-reductases encoded by a tandem gene cluster of a model legume <i>Lotus japonicus</i>
174	日本大学	Tomoyoshi Akashi, Toshio Aoki and Shin-ichi Ayabe	German-Japan Seminar on Molecular Regulation of Plant Secondary Metabolism, Kisarazu, Japan	2004/9/20-23	A carboxylesterase-like protein dehydrates 2-hydroxyisoflavanone in the last step of leguminous isoflavone biosynthesis
175	日本大学	Toshio Aoki, Keisuke Ito, Norimoto Shimada, Shinji Kawasaki, Kyuya Harada and Shin-ichi Ayabe	German-Japan Seminar on Molecular Regulation of Plant Secondary Metabolism, Kisarazu, Japan	2004/9/20-23	Analysis of a mutant of <i>Lotus japonicus</i> deficient in condensed tannin biosynthesis
176	日本大学	Shin-ichi Ayabe, Toshio Aoki, Tomoyoshi Akashi, Yuji Sawada, Norimoto Shimada, and Satoru Sawai	German-Japan Seminar on Molecular Regulation of Plant Secondary Metabolism, Kisarazu, Japan	2004/9/20-23	Evolutionary aspects of isoflavonoid and triterpenoid biosynthesis in the Leguminosae
177	かずさDNA研究所	Toshiaki tokimatsu, Nozaomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Kazuki Saito, Dishuke Shibata	Germany-Japan Seminar on Molecular Regulation of Plant Secondary Metabolism :kisarazu, chiba	2004/09/21	Kazusa Pathway Viewer:Plant Metabolic Pathway Viewer for integration of Metabolome and Transcriptome Data
178	かずさDNA研究所	櫻井望、柴田大輔	平成16年度日本生物工学会シンポジウム・名古屋	2004/09/21	次世代工業植物の作製戦略(PMプロジェクト紹介)
179	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎, 馬場健史, 小林昭雄	日本生物工学会第56回大会、名城大学	2004/09/22	植物メタボロミクスの可能性と技術的問題
180	東京工業大学	Nozomi Taki, Yuko Sasaki-Sekimoto, Takeshi Obayashi, Akihiro Kikuta, Takayuki Ainai, Yuichi Kobayashi, Nozomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Ken-ichiro Takamiya, Daisuke Shibata and Hiroyuki Ohta	18th International Plant Growth Substances Conference (Sept. 20- 24, 2004 Canberra, Australia)	2004/09/23	12-oxo-phytodienoic acid triggers expression of a distinct set of genes from jasmonic acid, and plays another role other than the intermediate of jasmonate biosynthesis
181	大阪大学大学院工学研究科/ジェエルサイエンス/日立造船株式会社	池田達彦, 福崎英一郎, 山田武広, 馬場健史, 小林昭雄	日本生物工学会第56回大会、名城大学	2004/09/23	多変量解析手法と自己組織化マッピングのメタボロミクスへの適用
182	大阪大学大学院工学研究科/日立造船株式会社	原田和生, 福崎英一郎, 馬場健史, 小林昭雄	日本生物工学会第57回大会、名城大学	2004/09/23	シロイヌナズナ培養細胞における代謝物の <i>in vivo</i> 15N-標識とメタボロミクスへの応用
183	大阪大学大学院工学研究科/日立造船株式会社/ジェエルサイエンス	Kanokwan JUMUTEEI, Ei-ichiro FUKUSAKI, Takeshi BAMBA, Takehiro YAMAJI, Akio KOBAYASHI	日本生物工学会第58回大会、名城大学	2004/09/23	A Rapid Comparison of Large-scale GC-MS Data for Metabolomics
184	東京工業大学	Yuko Sasaki-Sekimoto, Nozomi Taki, Takeshi Obayashi, Tatsuru Masuda, Nozomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Mitsuko Aono, Masami Hirai, Masaaki Noji, Kazuki Saito, Ken-ichiro Takamiya, Daisuke Shibata, Hiroyuki Ohta	18th International Plant Growth Substances Conference (Sept. 20- 24, 2004 Canberra, Australia)	2004/09/24	Activation of metabolic pathways for ascorbate and glutathione by jasmonates and the importance for the response to ozone stress.
185	東京工業大学	Sasaki-Sekimoto, Nozomi Taki, Takeshi Obayashi, Tatsuru Masuda, Nozomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Mitsuko Aono, Masami Hirai, Masaaki Noji, Kazuki Saito, Ken-ichiro Takamiya, Daisuke Shibata & Hiroyuki Ohta	The 6th International Symposium on Plant Responses to Air Pollution and Global Changes	2004/10/21	Analysis of jasmonate responsive antioxidant metabolic pathways in <i>Arabidopsis</i>
186	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎, 原田和生, 馬場健史, 小林昭雄	植物化学調節学会第39回大会、秋田	2004/10/28	植物培養細胞における代謝物の <i>in vivo</i> 15N-標識とメタボロミクスへの応用

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
187	東京工業大学	太田啓之	シロイヌナズナワークショップ, 東京大学・本郷キャンパス	2004/11/04	ジャスモン酸類の機能的多様性をアレイを用いて解析する
188	京都府立大学	椎名隆・石崎陽子・野添幹雄・中平洋一・角山雄一	大阪大学蛋白研セミナー「葉緑体：構築と分解のダイナミクス」	2004/11/11	葉緑体シグマ因子の機能分担と転写制御
189	京都府立大学	中平洋一・竹葉剛・椎名隆	大阪大学蛋白研セミナー「葉緑体：構築と分解のダイナミクス」	2004/11/11	タバコ葉緑体遺伝子のin vivo発現モニター系の開発
190	京都府立大学	添添雄・石崎陽子・角山雄一・坪倉由記・中平洋一・椎名隆	大阪大学蛋白研セミナー「葉緑体：構築と分解のダイナミクス」	2004/11/11	psbD光応答転写に関わる色素体σ因子AtSIG5の機能解析
191	京都府立大学	梅田哲也・竹葉剛・中平洋一・椎名隆	大阪大学蛋白研セミナー「葉緑体：構築と分解のダイナミクス」	2004/11/11	シロイヌナズナが持つバクテリア必須遺伝子obgホモログの葉緑体における機能解析
192	日本大学	小池史朗, 川崎博史, 平野久, 高岡素子, 梶原英之, 原田久也, 青木俊夫	第55回日本電気泳動学会, 東京	2004/11/12-13	マメ科植物ミヤコグサ種子タンパク質の二次元電気泳動による分離と質量分析を用いた同定(予報)
193	名古屋大学	小保方潤一	第228回細胞工学研究会セミナー、第120回遺伝子機能解析分野セミナー、健康長寿社会を創出するための医工農連携プロジェクトセミナー、島根大学生物資源科学部	2004/11/18	ゲノム進化の舞台裏を探るーゲノムの流動性とプロモーターの発生
194	名古屋大学	小保方潤一	DNA研究会 第235回例会 東海大学交友会館	2004/11/25	ゲノムの流動性とプロモーターの発生
195	名古屋大学	Obokata, J	第20回国際生物学賞記念シンポジウム「真核細胞ーその起源、進化、多様性ー」日本学士院	2004/12/01	Chloroplast-Nuclear DNA flux and Biogenesis of Eukaryotic promoters (invited)
196	味の素	○土屋屋祐子、五十嵐大亮、石渡裕、チュンペイイン、晴峰賢一、大住千栄子	日本分子生物学会	2004/12/01	レポーター遺伝子を用いた植物のアミノ酸代謝関連遺伝子発現解析
197	味の素	五十嵐大亮 石渡裕 ○大住千栄子	日本分子生物学会	2004/12/01	植物におけるアミノ酸と遺伝子発現の網羅的な解析
198	京都府立大学	梅田哲也, 中平洋一, 竹葉剛, 椎名隆	第27回日本分子生物学会	2004/12/8-11	シロイヌナズナの色素体に局在する単量体GTP結合タンパク質AtOBG1は植物体の発達に必須である
199	京都府立大学	野添幹雄, 石崎陽子, 角山雄一, 坪倉遊記, 加藤晃, 新名惇彦, 中平洋一, 椎名隆	第27回日本分子生物学会	2004/12/8-11	葉緑体シグマ因子AtSIG5の過剰発現体による解析
200	京都府立大学	Nakahira, Y., Takeba, G., Shiina, T.	第27回日本分子生物学会	2004/12/8-11	Firefly luciferase as a useful vital reporter for monitoring gene expression in tobacco chloroplasts
201	名古屋市立大学	長谷川桂子、河野恒賢、中村崇裕、杉浦昌弘	第27回日本分子生物学会年会	2004/12/8-11	タバコ葉緑体ゲノムに存在するnon-codingRNA (ポスター)
202	名古屋市立大学	中村崇裕、杉浦昌弘	第27回日本分子生物学会年会	2004/12/8-11	色素体mRNAの翻訳制御配列のアレイ解析 (ポスター)
203	名古屋市立大学等	牧田尚之、杉山康雄、杉浦昌弘	第27回日本分子生物学会年会	2004/12/8-11	<i>Nicotiana tomentosiformis</i> におけるミトコンドリアゲノム構造の解析 (ポスター)
204	名古屋市立大学等	中邨真之、小川知之、伊藤有紀、近藤悦治、木下邦則、小保方潤一、杉浦昌弘	第27回日本分子生物学会年会	2004/12/8-11	ChloroplastNet-葉緑体・光合成関連遺伝子データベース (ポスター)
205	名古屋市立大学等	湯川泰、続伯彦、小川知之、杉浦昌弘	第27回日本分子生物学会年会	2004/12/8-11	植物tRNA遺伝子の転写開始点予測 (ポスター)
206	名古屋市立大学	鶴飼聖子、中邨真之、中村崇裕、杉浦昌弘	第27回日本分子生物学会年会	2004/12/8-11	タバコ葉緑体ゲノムの転写物の詳細な解析 (ポスター)
207	名古屋市立大学等	杉山康雄、杉浦昌弘	第27回日本分子生物学会年会	2004/12/8-11	高等植物における葉緑体ゲノムからミトコンドリアゲノムへ移行したtRNA遺伝子の移行時期の解析 (ポスター)
208	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	長屋進吾、加藤晃、二宮由佳、吉田和哉、新名惇彦	日本分子生物学会年会、神戸	2004/12/8-11	シロイヌナズナにおけるジーンサイレンシング：導入遺伝子の多様性を排除した解析
209	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	児玉悠一、長屋進吾、加藤晃、新名惇彦	日本分子生物学会年会、神戸	2004/12/8-11	シロイヌナズナにおけるDNaseI高感受性部位と遺伝子発現ポテンシャル
210	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	野添幹雄、石崎陽子、角山雄一、坪倉由記、加藤晃、新名惇彦、中平洋一、椎名隆	日本分子生物学会年会、神戸	2004/12/8-11	葉緑体シグマ因子AtSIG5の過剰発現体による機能解析

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
211	名古屋大学	小保方潤一	第27回日本分子生物学会 年会ワークショップ「タンパク質の多様性獲得戦略」、神戸	2004/12/10	植物遺伝子の生成と発現レベルでの多様性獲得機構
212	財団法人 かずさDNA研究所	西田寛、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔	ミヤコグサ・ダイズバイオリソースワークショップ・宮崎	2004/12/16	エリシター処理したミヤコグサ培養細胞における代謝物解析と遺伝子応答の網羅的解析
213	日本大学	青木俊夫	ミヤコグサ・ダイズバイオリソースワークショップ、宮崎	2004/12/16-17	ミヤコグサの植物リソース-アクセションの収集と変異体の作出
214	王子製紙	佐藤茂、山田奈々江、中元志穂、日尾野隆	The Plant and Animal Genome XIII	2005/01/15	EXPRESSION PROFILING THE Eucalyptus transcription factors in differentiating xylem tissues
215	王子製紙	佐藤茂、山田奈々江、中元志穂、日尾野隆	The Plant and Animal Genome XIII	2005/01/15	Functional Analysis of the Eucalyptus Transcription Factors Using the Modified Yeast One-hybrid System
216	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Shingo Nagaya, Yuka Ninomiya, Kazuya Yoshida, Atsuhiko Shinmyo, Ko Kato	Nara, Japan. (NAIST 21th Century Bio-COE Program International Symposium)	2005/1/17-19	Progressive increase of transgene copies cause gene silencing in Arabidopsis thaliana.
217	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Yuichi Kodama, Singo Nagaya, Atsuhiko Shinmyo, Ko Kato	Nara, Japan. (NAIST 21th Century Bio-COE Program International Symposium)	2005/1/17-19	DNase I hypersensitive site and gene expression potential in Arabidopsis.
218	名古屋大学	Obokata, J	Gordon Research Conference of RNA editing, Ventura, USA	2005/01/24	Cis and trans-acting factors for RNA editing in chloroplasts (invited)
219	常磐植物化学研究所		日本薬学会125年会	2005/03/01	カンゾウのイソプレノイドを中心とする二次代謝成分生産の網羅的解析
220	京都大学	榎原紀和、中坪朋文、島田幹夫、柴田大輔、梅澤俊明	日本木材学会	2005/03/16	「動的メタボリックプロファイリングによるケイヒ酸/モノリグノール経路の解析」
221	京都大学	鈴木史朗、服部武文、山村正臣、中坪朋文、島田幹夫、梅澤俊明	日本木材学会	2005/03/16	「アスバラガスshinokiresinol synthase の精製とその遺伝子クローニング」
222	京都大学	山村正臣、中坪朋文、鈴木史朗、島田幹夫、梅澤俊明	日本木材学会	2005/03/16	「アスバラガスshinokiresinol synthase 組換え酵素の発現とキャラクタリゼーション」
223	王子製紙	佐藤茂、山田奈々江、中元志穂、日尾野隆	日本植物生理学会	2005/03/24	ユーカリ木部分分化組織における転写制御因子の発現解析
224	王子製紙	佐藤茂、山田奈々江、中元志穂、日尾野隆	日本植物生理学会	2005/03/24	ユーカリ木繊維形成関連遺伝子発現制御解析システムの確立
225	王子製紙、かずさDNA研究所	加藤友彦、佐藤修正、田畑哲之、日尾野隆	日本植物生理学会	2005/03/24	植物GCN 関連遺伝子の発現と機能解析
226	京都府立大学	野添幹雄、石崎陽子、角山雄一、坪倉由記、中平洋一、椎名隆	2005年度日本植物生理学会	2005/3/24-26	葉緑体形質転換法を用いた葉緑体シグマ因子AtSIG5の機能解析
227	京都府立大学	小堀麻記、椎名隆、竹葉剛	2005年度日本植物生理学会	2005/3/24-26	GS2を大量発現する葉緑体形質転換タバコの特異性解析
228	京都府立大学	中平洋一、椎名隆	2005年度日本植物生理学会	2005/3/24-26	生物発光レポーターを用いた葉緑体遺伝子発現モニター系の開発
229	京都府立大学	梅田哲也、中平洋一、竹葉剛、椎名隆	2005年度日本植物生理学会	2005/3/24-26	葉緑体に局在する単量体GTP結合タンパク質AtOBGは植物体の発達に必須である
230	名古屋市立大学等	湯川泰、Martha Felis、Markus Englert、Michael Stojanov、Jaroslav Matousek、Hildburg Beier、杉浦昌弘	第46回日本植物生理学会年会	2005/3/24-26	植物の7SLRNA遺伝子のプロモーター解析。
231	名古屋市立大学	湯川真希、黒田洋詩、杉浦昌弘	第46回日本植物生理学会年会	2005/3/24-26	E G F Pレポーター遺伝子を利用した改良型葉緑体 <i>in vitro</i> 翻訳系
232	名古屋市立大学	佐々木忠将、若杉達也、湯川泰、杉浦昌弘	第46回日本植物生理学会年会	2005/3/24-26	葉緑体RNAエディティング部位の認識機構に関する解析
233	大阪大学大学院工学研究科	岡澤教司, Chitra TRAKUNALEMSAI, 福崎英一郎, 小林昭雄	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター	2005/3/24-26	シロイヌナズナ葉肉細胞プロトプラストでの全寄生植物ヤセウツボ由来フィトクロムAの一過性発現
234	日本大学	今泉隆次郎、亀谷七七子、中村郁郎、綾部真一、青木俊夫	第46回日本植物生理学会年会、新潟	2005/3/24-26	ミヤコグサ(Lotus japonicus)を用いた アクティベーションタグラインの作製

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
235	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科、かずさDNA研究所、千葉大学	中村由紀子、真保陽子、旭弘子、Md. Altaf-Ul-Amin、黒川颯、平井優美、矢野美弦、及川彰、森下宜彦、櫻井望、鈴木秀幸、西達也、斉藤和季、太田大輔、柴田大輔、北山雅彦、金谷重彦	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター(新潟市)	2005/3/24-26	「質量分析を基盤としたメタボローム解析システムと植物代謝物質データベースの構築」
236	奈良先端科学技術大学院大学ハイクイーンズ研究科	長屋進吾、二宮由佳、吉田和哉、新名惇彦、加藤晃	日本植物生理学会年会、新潟	2005/3/24-26	シロイヌナズナにおけるジーンサイレンシング：コピー数の増加によるサイレンシングの誘導
237	奈良先端科学技術大学院大学ハイクイーンズ研究科	児玉悠一、長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	日本植物生理学会年会、新潟	2005/3/24-26	シロイヌナズナにおけるDNaseI高感受性部位と遺伝子発現ポテンシャル
238	奈良先端科学技術大学院大学ハイクイーンズ研究科	松浦秀幸、佐藤淳子、新名惇彦、加藤晃	日本植物生理学会年会、新潟	2005/3/24-26	熱ストレス条件下でも翻訳されるheat shock protein (HSP81-3) 遺伝子の5' UTRの特性
239	奈良先端科学技術大学院大学ハイクイーンズ研究科	市川雄彦、新名惇彦、加藤晃	日本植物生理学会年会、新潟	2005/3/24-26	rbcS mRNAを時期特異的に減少できるタバコでのRubisCO量の解析
240	かずさDNA研究所	時松敏明、櫻井望、太田啓之、西谷和彦、古山種俊、梅澤俊明、三沢典彦、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	植物代謝パスウェイビューアーの改良とビューアーを用いた代謝解析
241	かずさDNA研究所	小川洋一、森久美子、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	遺伝子機能解析のためのハイスループットなシロイヌナズナ培養細胞の形質転換法と凍結保存超低温保存法の確立
242	かずさDNA研究所	櫻井望、小川洋一、森谷佳奈美、藤井文子、森下宜彦、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	トランスクリプトームおよびメタボローム解析による凍結保存シロイヌナズナ培養細胞の評価
243	かずさDNA研究所	矢野健太郎、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	シロイヌナズナ統合データベースKATANA (Kazusa Arabidopsis thaliana Annotation Abstract)
244	かずさDNA研究所	鈴木秀幸、佐々木亮介、森下宜彦、柴田大輔、斉藤和季	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	フラボノイド化合物を中心としたミヤコグサのメタボローム解析
245	かずさDNA研究所	西田寛、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	ミヤコグサ培養細胞における遺伝子応答と代謝産物解析
246	かずさDNA研究所	作田千代子、矢野健太郎、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	超微量 (0.5 ng total RNA) からの高品質cDNAライブラリ作製とレーザーマイクロダイセクションへの応用
247	かずさDNA研究所	團迫智子、小川洋一、長谷川真由美、松浦典志、森久美子、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	シロイヌナズナ代謝関連遺伝子の大規模機能解析
248	かずさDNA研究所	竹田みぎわ、佐々木亮介、森下宜彦、櫻井望、峠隆之、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	PAP1形質転換培養細胞でのトランスクリプトーム、メタボローム解析
249	かずさDNA研究所	鈴木秀幸、佐々木亮介、森下宜彦、柴田大輔、 斉藤和季	第46回日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ、新潟、	2005/03/25	フラボノイド化合物を中心としたミヤコグサのメタボローム解析
250	ブリヂストン、大阪大学、北里大学、奈良先端科学技術大学院大学	山東智紀、福崎英一郎、山下敦士、服部正平、小笠原直毅、渡辺訓江、小林昭雄	2005年度日本農芸化学会大会	2005/03/29	「シス型ゴム産生植物パラゴムノキ (Hevea brasiliensis) の EST 解析」
251	大阪大学大学院工学研究科	原田和生、福崎英一郎、馬場健史、小林昭雄	日本農芸化学会2005年度大会、札幌コンベンションセンター	2005/03/29	in vivo 15N 同位体標識法を用いた植物培養細胞における窒素代謝の光応答解析
252	大阪大学大学院工学研究科	金載光、福崎英一郎、馬場健史、原田和生、小林昭雄	日本農芸化学会2005年度大会、札幌コンベンションセンター	2005/03/29	in vivo 15N 同位体標識法を用いた植物培養細胞における塩ストレス応答解析



	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
253	大阪大学大学院工学研究科/京都大学大学院農学研究科	梶山慎一郎, ○和泉自泰, 石原亨1, 広実慶彦, 福岡英一郎, 小林昭雄 阪大院・工・応生, 1京大院・農・応生科	日本農芸化学会2005年度大会、札幌コンベンションセンター	2005/03/29	レーザー1細胞サンプリングによるエンバク感染応答反応の解析
254	日本大学	明石智義, 青木俊夫, 綾部真一	日本薬学会第125年会, 東京	2005/3/29-31	カルコンポリケチド還元酵素のレトロカルコン合成への関与
255	東洋紡総合研究所	柴谷滋郎, 三澤修平, 北澤宏明, 曾我部敦, 猪原 泉	日本農芸化学会2005年度大会	2005/03/30	「タバコ培養細胞におけるヒアルロン酸の生産」
256	東北大学多元物質科学研究所	Yugesh Kharel, Seiji Takahashi, Satoshi Yamashita, Tanetoshi Koyama	TERPNET 2005, The Netherlands, Wageningen	2005/04/22	Manipulation of Prenyl Chain Length Determination Mechanism of cis-Prenyltransferases
257	名古屋市立大学	Sugiura M.	International Congress on Plant Mitochondrial Biology	2005/5/28-6/2	Organelle cross-talk.
258	名古屋市立大学等	Makita, M., M. Sugiura, Y. Sugiyama	International Congress on Plant Mitochondrial Biology	2005/5/28-6/2	Comparison of three Nicotiana mitochondrial genomes
259	名古屋市立大学等	Sugiyama, Y., S. Yagura, N. Makita, M. Sugiura	International Congress on Plant Mitochondrial Biology	2005/5/28-6/2	Analysis of post-transcriptional processing of tobacco mitochondrial transcripts.
260	奈良先端科学技術大学院大学ハ イサイエンス研究科	Yuichi Kodama, Singo Nagaya, Atsuhiko Shinmyo, Ko Kato	Madison, WI, USA (16th International Conference on Arabidopsis Research)	2005/6/15-19	Distinct DNaseI hypersensitive sites are located at transcriptionally-competent gene promoters in uniformly-condensed Arabidopsis euchromatin.
261	大阪府立大学	Akira Oikawa, Atsuko Kimura, Yukiko Nakamura, Yoko Shinbo, Nozomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Kazuki Saito, Daisuke Shibata, Shigehiko Kanaya, Daisaku Ohta	The First Annual Meeting of the Metabolomics Society (鶴岡)	2005/6/21-23	Metabolic Fingerprinting and Biomarker Identification towards Understanding Plant Metabolic Pathway Inhibition
262	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科、かずさDNA研究所、千葉大学	Yoko Shinbo, Yukiko Nakamura, Md. Altaf-Ul-Amin, Hiroko Asahi, Ken Kurokawa, Hideyuki Suzuki, Nozomu Sakurai, Akira Oikawa, Masahiko Kitayama, Mitsuru Yano, Masami Yokota Hirai, Kazuki Saito, Daisaku Ohta, Daisuke Shibata and Shigehiko Kanaya	The First International Conference of the Metabolomics Society, 慶応義塾大学(鶴岡市)	2005/6/21-23	"KNApSack: search tool for species-specific diversity of metabolite"
263	東北大学多元物質科学研究所	Yugesh Kharel, Seiji Takahashi, Satoshi Yamashita, Tanetoshi Koyama	BIOTRANS2005, The Netherlands, Delft	2005/07/05	Manipulation of Full-stop Mechanism of cis-Prenylchain Elongating Enzymes
264	奈良先端科学技術大学院大学ハ イサイエンス研究科	長屋進吾, 新名惇彦, 加藤晃	イネ・シロイヌナズナ合同ワークショップ、奈良	2005/7/6-7	クロマチン構造が導入遺伝子発現に与える影響? -完全シングルコピー形質転換体を用いた解析-
265	奈良先端科学技術大学院大学ハ イサイエンス研究科	児玉悠一, 長屋進吾, 新名惇彦, 加藤晃	イネ・シロイヌナズナ合同ワークショップ、奈良	2005/7/6-7	Distinct DNaseI hypersensitive sites are located at transcriptionally-competent gene promoters in uniformly-condensed Arabidopsis euchromatin.
266	奈良先端科学技術大学院大学ハ イサイエンス研究科	松浦秀幸, 新名惇彦, 加藤晃	イネ・シロイヌナズナ合同ワークショップ、奈良	2005/7/6-7	熱ストレス条件下でも翻訳されるheat shock protein遺伝子の5' -UTRの特性
267	奈良先端科学技術大学院大学ハ イサイエンス研究科	立木賢介, 長屋進吾, 児玉悠一, 新名惇彦, 加藤晃	イネ・シロイヌナズナ合同ワークショップ、奈良	2005/7/6-7	Identification of matrix attachment regions in Arabidopsis genome.
268	タカラバイオ	大場利治, 梅田香穂子, 安藤達哉, 西村真理子, 佐藤仁彦, 伊豆博幸, 高山正範, 北川正成, 浅田起代蔵, 加藤郁之進	イネ・シロイヌナズナ合同ワークショップ	2005/07/07	シロイヌナズナのブラシノステロイド応答:MPSSによるゲノムワイドな発現解析
269	奈良先端科学技術大学院大学ハ イサイエンス研究科	Kato Ko, Nagaya Shingo, Shinmyo, Atsuhiko	Seattle, USA. (Plant Biology 2005)	2005/7/15-20	Expression of randomly integrated single complete copy transgenes does not vary in Arabidopsis thaliana.
270	奈良先端科学技術大学院大学ハ イサイエンス研究科	Matsuura Hideyuki, Shinmyo Atsuhiko, Kato Ko	Seattle, USA. (Plant Biology 2005)	2005/7/15-20	The properties of the 5' untranslated region of Arabidopsis Hsp81-3 mRNA that is efficiently translated under heat stress condition.

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
271	大阪府立大学	Tomomi Morikawa, Akira Oikawa, Hirohisa Saga, Daisaku Ohta	The Annual Meeting of the American Society of Plant Biologists (Seattle, WA)	2005/7/16-20	Cytochromes P450 involved in sterol biosynthesis in Arabidopsis
272	大阪府立大学	Daisaku Ohta, Akira Oikawa, Atsuko Kimura, Yukiko Nakamura, Yoko Shinbo, Nozomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Daisuke Shibata, Shigehiko Kanaya, Kazuki Saito	The Annual Meeting of the American Society of Plant Biologists 2005 (Seattle, WA)	2005/7/16-20	Metabolic Fingerprinting towards Understanding Plant Metabolic Pathway Inhibition
273	海洋バイオテクノロジー研究所	Choi, S. -K. and Misawa, N.	14th International Symposium on Carotenoids (Edinburgh, Scotland)	2005/07/17	Characterization of bacterial b-carotene ketolases and b-carotene hydroxylases needed for astaxanthin production.
274	名古屋市立大学	Sugiura, M.	The 17th International Botanical Congress	2005/7/17-23	Plastid genomics and gene expression.
275	名古屋市立大学	Sugiura, M., M. Yukawa, M. Nakamura, H. Kuroda	The 17th International Botanical Congress	2005/7/17-23	Sequences affecting translation of plastid mRNAs.
276	東洋紡績	柴谷滋郎、北澤宏明、曾我部敦	第23回日本植物細胞分子生物学会	2005/08/04	「タバコ培養細胞およびタバコ植物体におけるヒアルロン酸の生産」
277	かずさDNA研究所	柴田大輔、小川洋一、森久美子、松浦貴志、長谷川真由美、森谷佳奈美、藤井文子、森下宜彦、佐々木亮介、團迫智子、竹田みぎわ、矢野健太郎、時松敏明、櫻井望、齊藤和季、鈴木秀幸	第23回日本植物細胞分子生物学会、京都大会	2005/08/05	物質生産プロジェクトNEDO基盤研究の紹介とシロイヌナズナ培養細胞の超低温保存法の確立
278	かずさDNA研究所	松浦貴志、小川洋一、團迫智子、森久美子、長谷川真由美、櫻井望、鈴木秀幸、齊藤和季、柴田大輔	第24回日本植物細胞分子生物学会、京都大会	2005/08/05	遺伝子機能解析のためのハイスループットなシロイヌナズナ培養細胞の形質転換法の確立
279	かずさDNA研究所	森下宜彦、佐々木亮介、森谷佳奈美、藤井文子、櫻井望、鈴木秀幸、齊藤和季、柴田大輔	第25回日本植物細胞分子生物学会、京都大会	2005/08/05	シロイヌナズナ培養細胞のトランスクリプトーム、メタボローム解析
280	かずさDNA研究所	櫻井望、時松敏明、鈴木秀幸、齊藤和季、柴田大輔	第26回日本植物細胞分子生物学会、京都大会	2005/08/05	メタボロームとトランスクリプトームを統合する植物代謝パスウェイデータベース
281	かずさDNA研究所	森谷佳奈美、櫻井望、藤井文子、森下宜彦、佐々木亮介、鈴木秀幸、齊藤和季、柴田大輔	第27回日本植物細胞分子生物学会、京都大会	2005/08/05	メチルジャスモン酸処理したシロイヌナズナ培養細胞のトランスクリプトーム、メタボローム解析
282	かずさDNA研究所	佐々木亮介、森下宜彦、鈴木秀幸、柴田大輔、齊藤和季	第28回日本植物細胞分子生物学会、京都大会	2005/08/05	フラボノイド化合物を中心としたミヤコグサのメタボローム解析
283	かずさDNA研究所	西田寛、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔	第29回日本植物細胞分子生物学会、京都大会	2005/08/05	ミヤコグサ培養細胞のエリシター処理によるトランスクリプトーム、メタボローム解析
284	東京農工大学	前田和寛、木村惣一、竹田淳子、植野洋志、小関良宏	日本植物細胞分子生物学会	2005/08/05	ニンジンにおけるストレス誘導性 PAL 遺伝子の発現制御に関与する転写調節因子 DcMYB1 の転写活性化機構の解析
285	東京農工大学	若生達矢、木村惣一、近川幸恵、小関良宏	日本植物細胞分子生物学会	2005/08/05	ニンジンPAL遺伝子 (gDcPAL3) の発現制御に関与する転写調節因子MYB 8、10、12、14、36の機能解析
286	大阪府立大学	及川彰、小倉知典、木村篤子、中村由紀子、真保陽子、櫻井望、鈴木秀幸、齊藤和季、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	第23回日本植物細胞分子生物学会 (京都)	2005/8/5-6	メタボリックフィンガープリンティングによる代謝解析とその応用
287	大阪府立大学	木村篤子、及川彰、和田野晃、櫻井望、鈴木秀幸、齊藤和季、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	第23回日本植物細胞分子生物学会 (京都)	2005/8/5-6	FT-ICR MS分析によるメタボローム・フィンガープリンティング
288	日本大学	澤井学、佐藤修正、金子貴一、田畑哲之、綾部真一、青木俊夫	第23回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム、京都	2005/8/5-6	ミヤコグサ由来オキシドスクアレン環環酵素の機能解析
289	タカラバイオ	大場利治、梅田香穂子、西村真理子、安藤達也、浅田起代蔵、加藤郁之進	第23回日本植物細胞分子生物学会	2005/08/06	ブラシノステロイドに応答する新規なリングフィンガータンパク質(BRR1)遺伝子の解析
290	産業技術総合研究所	内藤由紀、辻本弥生、中野年継、大槻並枝、鈴木馨、進士秀明	日本植物細胞分子生物学会	2005/08/06	転写因子による統括的な遺伝子発現制御機能の解析I - シロイヌナズナにおける代謝系制御機能の包括的な解析
291	産業技術総合研究所	辻本弥生、内藤由紀、大槻並枝、中野年継、鈴木馨、進士秀明	日本植物細胞分子生物学会	2005/08/06	転写因子による統括的な遺伝子発現制御機能の解析II - シロイヌナズナDOFファミリーの解

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
292	産業技術総合研究所	中野年継、辻本弥生、内藤由紀、大槻並枝、藤村達人、鈴木馨、進士秀明	日本植物細胞分子生物学会	2005/08/06	転写因子による統括的な遺伝子発現制御機能の解析III - シロイヌナズナERFファミリーの解析
293	京都大学	山村正臣、鈴木史朗、中坪朋文、服部武文、島田幹夫、梅澤俊明	日本植物細胞分子生物学会	2005/08/06	アスパラガスhinokiresinol synthase組換え酵素のキャラクタリゼーション
294	京都大学	梅澤俊明、Li, L., 中坪朋文、和田将平、榑原紀和、鈴木史朗、V.L. Chiang	日本植物細胞分子生物学会	2005/08/06	リグナンの位置選択的メチル化触媒する新規O-methyltransferaseのcDNAクローニング
295	京都大学	榑原紀和、中坪朋文、和田将平、北村 悠、服部武文、島田幹夫、柴田大輔、梅澤俊明	日本植物細胞分子生物学会	2005/08/06	ベニバナ登熟中種子におけるケイヒ酸モノリグノール経路の代謝解析
296	日立造船 大阪大学、九州大学	Yoko Nakadozono, Takeshi Bamba, Ren Chen, Sachiko Namimatsu, Yoshihisa Nakazawa, Koichiro Gyokusen	The 2nd International Symposium on Eucommia ulmoides (Yangling, China)	2005/8/6-7	Polyploid induction of <i>Eucommia ulmoides</i> and comparison of its metabolite with diploid
297	日立造船、大阪大学 西北農林科技大学	Xuehong Li, Jie Yue, Qinghua Shi, Takeshi Bamba, Yoshihisa Nakazawa, Ei-ichiro Fukusaki, Akio Kobayashi, Yinquan Su, Xihan Ma	The 2nd International Symposium on <i>Eucommia ulmoides</i> (Yangling, China)	2005/8/6-7	Trans-polyisoprene content and its molecular-weight distribution in various cultivars of <i>Eucommia ulmoides</i> Oliver
298	日立造船、大阪大学 西北農林科技大学	Xihan Ma, Lina Du, Xuehong Li, Takeshi Bamba, Yoshihisa Nakazawa	The 2nd International Symposium on <i>Eucommia ulmoides</i> (Yangling, China)	2005/8/6-7	A study on the differences of EU rubber obtained from different ways
299	京都大学	Umezawa, T., Li, L., Sakakibara, N., Nakatsubo, T., Wada, S., Suzuki, S., and V.L. Chiang	6th International Wood Science Symposium	2005/08/29	First cDNA cloning of a lignan O-methyltransferase catalyzing regioselective methylation of matairesinol
300	京都大学	Yamura, M., Suzuki, S., Nakatsubo, T., Hattori, T., Shimada, M., and T. Umezawa	6th International Wood Science Symposium	2005/08/29	The characterization of <i>Asparagus hinokiresinol</i> synthase-The first molecular cloning of norlignan synthase-
301	京都大学	Nakatsubo, T., Li, L., Chiang, V.L., Shimada, M., and T. Umezawa	6th International Wood Science Symposium	2005/08/29	The functions of <i>Carthamus tinctorius</i> CoAOMT and AldOMT
302	海洋バイオテクノロジー研究所	寺本真紀、鈴木秀幸、柴田大輔、三沢典彦	第19回カロテノイド研究談話会(東京大学山下会館)	2005/09/09	シロイヌナズナ培養細胞T87を用いたカロテノイド合成鍵遺伝子と代謝物の解析
303	日本大学	嶋田典基、佐藤修正、金子貴一、中村保一、田畑哲之、青木俊夫、綾部真一	植物微生物研究会第15回研究交流会	2005/9/10-12	ミヤコグサにおけるマメ科特異的フラボノイド合成酵素遺伝子の構造
304	日本大学	貫井憲之、南澤究、綾部真一、青木俊夫	植物微生物研究会第15回研究交流会	2005/9/10-12	ミヤコグサ根粒菌の共生状態における1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase遺伝子(acdS)の発現制御
305	日本大学	澤井学、佐藤修正、金子貴一、田畑哲之、綾部真一、青木俊夫	植物微生物研究会第15回研究交流会	2005/9/10-12	ミヤコグサの新規オキシドスクアレン閉環酵素の同定
306	東京工業大学	太田啓之	Regulatory Oxylipins, Lausanne	2005/09/15	Distinctive features of JA and OPDA signaling revealed by global analysis for gene expression in <i>Arabidopsis</i>
307	名古屋市立大学	湯川泰、杉浦昌弘	日本植物学会第69回大会	2005/9/20-23	BY-2由来のin vitro遺伝子解析系
308	産業技術総合研究所	中野年継、辻本弥生、大槻並枝、内藤由紀、藤村達人、鈴木馨、進士秀明	日本植物学会第69回大会	2005/09/22	メンブレンオリゴDNAアレイを用いたシロイヌナズナ転写因子遺伝子の発現解
309	産業技術総合研究所	辻本弥生、内藤由紀、大槻並枝、鈴木馨、進士秀明	日本植物学会第69回大会	2005/09/22	シロイヌナズナDOF転写因子ファミリーの統括的な遺伝子発現制御機能の解析
310	石川県立大学生物資源工学研究所	内田英伸、竹村美保、中谷内修、大山莞爾	日本植物学会第69回大会講演要旨集p182、富山市	2005/09/23	石油植物ユーフォルビアのステロール合成遺伝子のクローニングと遺伝子導入
311	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢典彦	第2回カロテノイド研究者若手の会(氷見)	2005/09/24	日本発のカロテノイド合成遺伝子
312	石川県立大学生物資源工学研究所	Kanji Ohyama, Hidenobu Uchida, Miho Takemura	3rd Japanese-German Joint Symposium, Abstract pp24, Kanwazawa	2005/09/28	Toward to terpenoid and sterol production in <i>Euphorbia tirucalli</i> L.
313	石川県立大学生物資源工学研究所	Hidenobu Uchida, Miho Takemura, Kanji Ohyama	3rd Japanese-German Joint Symposium, Abstract pp41, Kanwazawa	2005/09/28	A model plant, <i>Euphorbia tirucalli</i> L., for gene manipulation aiming at triterpenoid- and sterol-production, revealed by EST analysis and Agrobacterium-mediated transformation.

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
314	ブリヂストン, 大阪大学	山東智紀, 福崎英一郎, 小林昭雄, 渡辺訓江	日本農芸化学会関西支部大会	2005/09/30	「シス型ゴム産生植物バラゴムノキ(Hevea brasiliensis)の EST 解析」
315	大阪大学大学院工学研究科/京都モノテック/日立造船株式会社	馬場健史, 福崎英一郎, 水口博義, 中澤慶久, 小林昭雄	日本農芸化学会大会2005年度 関西・中四国・西日本支部合同大会、大阪大学	2005/09/30	モノリス型シリカカラムを用いたクロマトグラフィーによるポリプレノール類の分離
316	海洋バイオテクノロジー研究所	鈴木 栄、三沢典彦、山村三郎、西原昌宏、中塚貴司、萩原 勲	園芸学会平成17年秋季大会(東北大学)	2005/10/01	海洋細菌由来カロテノイド生合成遺伝子によるミヤコグサの花色改変
317	大阪大学大学院工学研究科/京都大学大学院農学研究科	梶山慎一郎, 和泉自泰, 石原亨, 福崎英一郎, 小林昭雄	日本農芸化学会大会2005年度 関西・中四国・西日本支部合同大会、大阪大学	2005/10/01	レーザー1細胞サンプリングによるエンバクファイトアレキシンの分析
318	大阪大学大学院工学研究科, 地球環境産業技術研究機構	梶山慎一郎, Benesh JOSEPH, 井上文秀, 嶋村正樹, 福崎英一郎, 富澤健一, 小林昭雄	日本農芸化学会大会2006年度 関西・中四国・西日本支部合同大会、大阪大学	2005/10/01	レーザーアブレーションを用いた植物細胞への遺伝子導入一葉緑体形質転換の試み一
319	名古屋市立大学	Sugiura, M.	The 8th International Consultative Council of AgroBio Institute	2005/10/1-5	Introduction to plant genomics in Japan - a topic on increasing grain productivity in rice.
320	京都大学	中坪朋文, Laigeng Li, Vincent L. Chiang, 服部武文, 梅澤俊明	リグニン討論会	2005/10/20	MROMT に相同性の高い新規フラボノイドOMTについて
321	地球環境産業技術研究機構	足立崇, 高瀬尚文, 富澤健一	第15回 関西光合成研究会	2005/11/01	「葉緑体ゲノムへの長鎖DNA断片の導入」
322	京都大学	Yamamura, M., Suzuki, S., Nakatsubo, T., Hattori, T., Shimada, M., and T. Umezawa	IUFRO tree Biotechnology 2005	2005/11/9-10	cDNA cloning of Asparagus officinalis hinokiresinol synthase
323	京都大学	Umezawa, T., Li, L., Sakakibara, N., Nakatsubo, T., Wada, S., and Suzuki, S., Chiang, V.L.	IUFRO tree Biotechnology 2005	2005/11/9-10	A novel lignan O-methyltransferase catalyzing regioselective methylation of matairesinol
324	京都大学	Umezawa, T., Li, L., Sakakibara, N., Nakatsubo, T., Wada, S., and Suzuki, S., Chiang, V.L.	IUFRO tree Biotechnology 2005	2005/11/10	Metabolic profiling of the cinnamate/monolignol pathway by the use of stable-isotope-dilution method
325	日本大学	澤井学, 佐藤修正, 金子貴一, 田畑哲之, 綾部真一, 青木俊夫	第15回天然薬物の開発と応用シンポジウム	2005/11/10-11	植物にもラノステロール合成酵素が存在する
326	奈良先端科学技術大学院大学バイオインフォマティクス研究科	真野佳子, 児玉悠一, 長屋信吾, 新名惇彦, 加藤晃	日本生物工学会年会、つくば	2005/11/15-17	ターミネター領域の改変による導入遺伝子の高発現化
327	奈良先端科学技術大学院大学バイオインフォマティクス研究科	播川幸亮, 松浦秀幸, 杉尾肇俊, 新名惇彦, 加藤晃	日本生物工学会年会、つくば	2005/11/15-17	シロイヌナズナにおけるIRESの探索
328	奈良先端科学技術大学院大学バイオインフォマティクス研究科	津田貴子, 松浦秀幸, 新名惇彦, 加藤晃	日本生物工学会年会、つくば	2005/11/15-17	熱ストレス条件下でも翻訳されるHSP81-2, HSP81-3遺伝子の5' -UTRの特性
329	日立造船 大阪大学	福崎英一郎, 金載光, 馬場健史, 原田和生, 小林昭雄	日本生物工学会2005年度大会(つくば)	2005/11/16	超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析(SFC/MS)の脂質メタボロミクスへの応用
330	日立造船 大阪大学	福崎英一郎, 下西成人, 馬場健史, 小林昭雄	日本生物工学会2005年度大会(つくば)	2005/11/16	超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析(SFC/MS)の脂質メタボロミクスへの応用
331	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎, 金載光, 馬場健史, 原田和生, 小林昭雄	日本生物工学会2005年度大会(つくば)	2005/11/16	植物培養細胞における塩ストレス応答のメタボローム解析
332	大阪大学大学院工学研究科	原田和生, 福崎英一郎, 小林昭雄	日本生物工学会2005年度大会(つくば)	2005/11/16	メタボローム解析に資する新規キャピラリー電気泳動質量分析(CE/MS)法の開発
333	大阪大学大学院工学研究科/日立造船	福崎英一郎, 下西成人, 馬場健史, 小林昭雄	日本生物工学会2005年度大会(つくば)	2005/11/16	超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析(SFC/MS)の脂質メタボロミクスへの応用
334	京都大学	Nakatsubo, T., Sakakibara, N., Hattori, T., Li, L., Chiang, V.L., Shimada, M., and Umezawa, T.	International Symposium on Wood Science and Technology 2005	2005/11/28-29	The functions of Carthamus tinctorius CoAMT and AldOMT
335	京都大学	Yamamura, M., Suzuki, S., Nakatsubo, T., Hattori, T., Shimada, M., and Umezawa, T.	International Symposium on Wood Science and Technology 2005	2005/11/28-29	cDNA cloning of Asparagus officinalis hinokiresinol synthase
336	京都大学	Umezawa, T.	International Symposium on Wood Science and Technology 2005	2005/11/29	Biosynthesis of lignans and norlignans

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
337	味の素	○土器屋 祐子 石崎貴志 晴峰賢一 五十嵐 大亮 大住千栄子	日本分子生物学会	2005/12/7	レポーター遺伝子を用いた植物のアミノ酸代謝関連遺伝子発現解析(2)
338	味の素	○石崎 貴志 五十嵐 大亮 土器屋 祐子 大住 千栄子	日本分子生物学会	2005/12/7	シロイヌナズナGLU1/ASN過剰発現・抑制株の解析
339	地球環境産業技術研究機構	足立崇、高瀬尚文、三宅親弘、富澤健一	第28回日本分子生物学会年会	2005/12/07	「葉緑体ゲノムへの長鎖DNA導入技術の開発」
340	海洋バイオテクノロジー研究所	梅基直行、高野雅代、竹下大学、間宮幹士、三沢典彦、戸栗敏博	第28回日本分子生物学会年会(福岡ヤフドーム)	2005/12/07	カロテノイド合成遺伝子を用いた園芸花卉の花色改変
341	名古屋市立大学	黒田洋詩、湯川真希、杉浦昌弘	第28回日本分子生物学会年会	2005/12/7-10	改良型葉緑体in vitro翻訳系を用いた葉緑体翻訳開始機構の解析
342	名古屋市立大学等	小宮正明、平賀朝子、湯川泰、杉浦昌弘、赤間一仁	第28回日本分子生物学会年会	2005/12/7-10	シロイヌナズナ核tRNA-Lys遺伝子の転写活性の比較解析
343	名古屋市立大学等	小林優介、松尾亮啓、宮本徹也、山田恭二、杉浦昌弘、若杉達也、小保方潤一	第28回日本分子生物学会年会	2005/12/7-10	葉緑体RNAエディティングに関与する部位特異的なトランス因子群の比較解析
344	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	日本分子生物学会年会、福岡	2005/12/7-10	シロイヌナズナにおけるジーンサイレンシング-CaMV35S-GUS遺伝子は6コピーでサイレンシングする
345	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	立木賢介、長屋進吾、児玉悠一、新名惇彦、加藤晃	日本分子生物学会年会、福岡	2005/12/7-10	ゲノムアレイを用いたMARsの探索
346	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	松浦秀幸、新名惇彦、加藤晃	日本分子生物学会年会、福岡	2005/12/7-10	熱ストレス条件下におけるheat shock protein (Hsp81-3) 遺伝子の5' -UTRを介したキャップ構造非依存的な翻訳の解析
347	タカラバイオ	梅田香穂子、大場利治、西村真理子、安藤達哉、浅田起代蔵、加藤郁之進	第28回日本分子生物学会年会	2005/12/09	ブラスチステロイドに応答する新規なリングフィンガー蛋白質(BRR1) 遺伝子の解析
348	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Yuichi Kodama, Singo Nagaya, Atsuhiko Shinmyo, Ko Kato	Nara, Japan. (NAIST 21th Century Bio-COE Program International Symposium)	2005/12/15-16	DNaseI hypersensitive sites and transcriptional regulation in Arabidopsis.
349	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Matsura Hideyuki, Shinmyo Atsuhiko, Kato Ko	Nara, Japan. (NAIST 21th Century Bio-COE Program International Symposium)	2005/12/15-16	Analysis of efficient translation under heat stress condition via 5' untranslated region of Arabidopsis hsp90 mRNA.
350	東北大学多元物質科学研究所	古山 種俊	International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005, U. S. A, Honolulu, Hawaii	2005/12/16	Molecular mechanisms of cis-prenyl chain elongating enzymes.
351	京都大学	Umezawa, T., Suzuki, S., Yamamura, M., Nakatsubo, T., Hattori, T., and M. Shimada	International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005	2005/12/20	Biosynthesis of norlignans
352	海洋バイオテクノロジー研究所	Ramasamy, A. K., Choi, S., -K., Misawa, N., and Udayasuriyan, V.	International Conference on Biotechnology Approaches for Alleviating Malnutrition and Human Health (Bangalore, India)	2006/01/09	Cloning of carotenoid gene cluster from a new isolate of Patoea sp.
353	王子製紙	佐藤茂、山田奈々江、小坂久子、中元志穂、日尾野隆	The Plant and Animal Genome XIV	2006/01/15	Characterization of the Gene Expression Profiles Making Good-Quality Wood Fibers
354	日立造船 大阪大学	馬場健史、下西成人、福崎英一郎、小林昭雄	日本生物工学会脂質工学研究部会第4回講演会(京都)	2006/01/20	超臨界流体クロマト質量分析による脂質メタボロミクス
355	京都大学	梅澤俊明	日本材料学会第260回木質材料部門委員会定例研究会	2006/01/30	二次木部形成におけるフェニルプロパノイド代謝の役割
356	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科、かずさDNA研究所、千葉大学	Yoko Shinbo, Yukiko Nakamura, Hiroko Asahi, Md. Altaf-Ul-Amin, Ken Kurokawa, Hirokazu Kobayashi, Masayoshi Wada, Shunichi Sakaguchi, Kazuaki Natsuhara, Toshiaki Tokimatsu, Masanori Arita and Shigehiko Kanaya	台湾大学、The Fourth Asia Pacific Bioinformatics Conference	2006/2/12-16	" Search Tool for Relationship between Metabolites and Species"

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
357	味の素 かずさDNA研究所	○五十嵐大亮、大住千栄子、鈴木秀幸 柴田大輔	植物生理学会	2006/03	高等植物の光呼吸系で働くペルオキシソーム型GGAT遺伝子の過剰発現によるアミノ酸類の代謝系の改変
358	地球環境産業技術 研究機構	蓮沼誠久、川崎智美、山本宏、高瀬尚文、武野真也、馬場健史、福岡英一郎、小林昭雄、富澤健一	日本農芸化学会	2006/03	「ラン藻 <i>Synechocystis</i> sp.由来デオキシキシルロースリン酸レダクトイソメラーゼを導入した葉緑体形質転換タバコの作出」
359	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢典彦	モデル海洋生物シンポジウム(北海道大学水産学部・大講義室)	2006/03/17	海洋細菌のアスタキサンチン合成遺伝子の解析と利用
360	かずさDNA研究所	櫻井望、鈴木秀幸、中村由紀子、草野都、斉藤和季、柴田大輔、金谷重彦	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	GC-MSによる代謝産物分析データを複数試料間で比較するためのピークアラインメントツールの開発
361	かずさDNA研究所	佐野亮輔、尾形善之、櫻井望、青木考、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	イソプレノイド合成経路の制御系の解明にむけた発現相関のネットワーク解析
362	かずさDNA研究所	西田寛、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	ミヤコグサ培養細胞における代謝産物解析
363	かずさDNA研究所	大野隆史、尾形善之、櫻井望、青木考、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	シロイヌナズナ遺伝子発現相関を利用した細胞壁形成関連遺伝子のネットワーク解析
364	かずさDNA研究所	尾形善之、鈴木秀幸、柴田大輔	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	トランスクリプトームへのネットワーク解析の適用によるシロイヌナズナ遺伝子の効率的な共発現予測
365	かずさDNA研究所	團迫智子、鈴木秀幸、櫻井望、青木考、斉藤和季、柴田大輔	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	硫黄代謝経路の遺伝子発現制御に寄与する転写因子の探索
366	かずさDNA研究所	竹田みぎわ、佐々木亮介、鈴木秀幸、櫻井望、青木考、斉藤和季、柴田大輔	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	PAP1形質転換培養細胞を用いたアントシアニン合成関連遺伝子およびアントシアニン蓄積の解析
367	かずさDNA研究所、千葉大学、大阪府立大学、奈良先端技術大学、理化学研究所植物科学センター、愛媛女子短期大学	中村由紀子、真保陽子、旭弘子、Md. Altaf-Ul-Amin、黒川顕、及川彰、木村篤子、森下宜彦、櫻井望、鈴木秀幸、平井優美、矢野美弦、斎藤和季、太田大策、柴田大輔、北川雅彦、金谷重彦	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	FT-ICR/MS分析におけるメタボロームプロファイリング：メタボローム解析システムと植物代謝物質検索システムを用いた代謝産物解析
368	財団法人 かずさDNA研究所、千葉大学、理化学研究所植物科学センター	杉山健二郎、平井優美、尾形善之、櫻井望、青木考、澤田有司、峠隆之、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/03/19	アミノ酸代謝系遺伝子群の発現相関ネットワーク解析
369	日本大学	澤井学、明石智義、綾部真一、青木俊夫	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/3/19-21	植物はラノステロールを必要としているのか？
370	日本大学	明石智義、嶋田典基、青木俊夫、綾部真一	第47回日本植物生理学会年会、筑波大学、つくば	2006/3/19-21	ミヤコグサにおけるイソフラバンファイトアレキシン合成の最終段階を触媒する酵素の同定
371	大阪府立大学	及川彰、木村篤子、中村由紀子、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	第47回日本植物生理学会(筑波)	2006/3/19-21	FT-ICRMS分析によるメタボリックプロファイリング解析～問題点と応用～
372	大阪府立大学	及川彰、小倉知典、木村篤子、中村由紀子、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	第47回日本植物生理学会(筑波)	2006/3/19-21	メタボリックプロファイリング解析による代謝解析とその応用
373	大阪府立大学	森川智美、水谷正治、青木望、渡辺文太、嵯峨寛久、斎藤茂樹、及川彰、鈴木秀幸、櫻井望、柴田大輔、和田野晃、坂田完三、太田大策	第47回日本植物生理学会(筑波)	2006/3/19-21	代謝プロファイリングによるステロール側差不飽和化酵素(CYP710A)の同定と機能解析
374	名古屋市立大学	黒田洋詩、湯川真希、杉浦昌弘	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	葉緑体in vitro翻訳系を用いた葉緑体翻訳開始機構の解析
375	名古屋市立大学	中郷真之、杉浦昌弘	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	葉緑体におけるコドン使用頻度と翻訳効率についての解析
376	名古屋市立大学等	小林優介、坂本康司、宮本徹也、松尾充啓、山田恭司、杉浦昌弘、若杉達也、小保方潤一	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	葉緑体RNAエディティングには多様な部位特異的因子が関与する
377	京都府立大学	野村裕也、小堀麻紀、角山雄一、岩岸瑛里子、中平洋一、椎名隆	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	葉緑体局在タンパク質CASは気孔閉鎖運動を制御する
378	京都府立大学	梅田哲也、増田隆之、石崎陽子、秦晶、中平洋一、椎名隆	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	原核および真核生物に保存された単量体GTP結合タンパク質Obgの植物ホモログ( <i>AtObg1</i> )は葉緑体に局在する

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
379	京都府立大学	中平洋一、矢田和正、椎名隆	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	プラスチド核様体に関連するSWIBドメイン蛋白質の解析
380	京都府立大学	石崎陽子、尾園加奈子、竹中智佳子、角山雄一、中平洋一、田中寛、金丸研吾、華岡光正、椎名隆	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	葉緑体シグマ因子に重変異体(sig2sig6)はアルピノになる
381	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	松浦秀幸、新名惇彦、加藤晃	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	heat shock protein (Hsp90) 遺伝子の5' UTRを介した熱ストレス条件下における効率的な翻訳の解析
382	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	児玉悠一、長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	シロイヌナズナにおけるDNaseI高感受性部位、ヒストンの修飾状態と遺伝子発現制御
383	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	立木賢一、長屋進吾、児玉悠一、新名惇彦、加藤晃	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	シロイヌナズナにおけるMatrix attachment regionの同定
384	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	CaMV35S-GUS遺伝子は6コピーでサイレンシングする
385	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	市川雄彦、新名惇彦、加藤晃	第47回日本植物生理学会年会	2006/3/19-21	RuBisCOのsmall-subunit量の減少がrbcLの発現に与える影響
386	かずさDNA研究所	山本直樹、前田ふみ、津金胤昭、須田邦裕、柴田大輔	第47回日本植物生理学会年会	2006/03/20	他植物ゲノム環境でのシロイヌナズナゲノム遺伝子の定量的な発現解析
387	産業技術総合研究所	鈴木馨、辻本弥生、中野年継、内藤由紀、大槻並枝、進士秀明	第47回日本植物生理学会年会	2006/03/20	植物の物質生産プロセス制御のための転写因子機能解
388	産業技術総合研究所	皆我部祐介、中野年継、進士秀明、鈴木馨、山口和男、西内巧	第47回日本植物生理学会年会	2006/03/20	シロイヌナズナのマクロアレイを用いた傷による初期応答遺伝子の発現解析
389	タカラバイオ	梅田香穂子、大場利治、西村真理子、安藤達哉、浅田起代蔵、加藤郁之進	第47回日本植物生理学会年会	2006/03/20	ブラスチドに反応する新規なリングフィンガー蛋白質 (BRR1) 遺伝子の解析
390	王子製紙	小坂久子、佐藤茂、山田奈々江、中元志徳、日尾野隆	第47回日本植物生理学会年会	2006/03/20	ユーカリ木繊維形成に関わる遺伝子群の発現制御機構の解析
391	王子製紙	加藤友彦、島村友絵、日尾野隆	第47回日本植物生理学会年会	2006/03/20	ユーカリ花芽形成に関わるMADS-box遺伝子の解析
392	東京工業大学	太田啓之	植物生理学会 シンポジウム、レドックス制御が支配する生命現象、その分子メカニズムと生理	2006/03/21	植物の酸化ストレス応答とオキシリピンシグナリング
393	石川県立大学生物資源工学研究所	内田英伸、竹村美保、中谷内修、大山莞爾	第47回日本植物生理学会年会、2006年3月19-21日講演要旨集p281、つくば市	2006/03/21	石油植物ユーフォルビアのステロール合成遺伝子のクローニングと遺伝子導入
394	大阪府立大学	太田大策	日本農芸学会シンポジウム(農業バイオサイエンスのフロンティア)	2006/03/23	フリーエ変換イオンサイクロトロン質量分離装置によるメタボローム解析
395	東京工業大学	太田啓之	Lipid signaling and membrane traffic, 4th Tokyo Tech Bio-Lipid Forum (Yokohama)	2006/03/24	Distinctive features of JA and OPDA signaling revealed by global analysis for gene expression in Arabidopsis
396	大阪大学大学院工学研究科/地球環境産業技術研究機構	蓮沼謙久、川崎智美、山本宏、高瀬尚文、武野真也、馬場健史、福崎英一郎、小林昭雄、富澤健一	日本農芸化学会2006年度大会、京都	2006/03/26	ラン藻Synechosystis sp.由来デオキシキシルロースリン酸レダクトイソメラーゼを導入した葉緑体形質転換タバコの作出
397	ブリヂストン、大阪大学、BPPT	山東智紀、福崎英一郎、小林昭雄、渡辺訓江、N. Haska	日本農芸化学会大会	2006/03/26	「シス型ゴム産生植物バラゴムノキにおけるポリイソブレン合成経路関連酵素遺伝子群の機能解析」
398	ブリヂストン、大阪大学、BPPT	山東智紀、福崎英一郎、小林昭雄、渡辺訓江、T. Tajuddin	日本農芸化学会大会	2006/03/26	「シス型ゴム産生植物バラゴムノキにおける非メバロン酸経路関連酵素遺伝子群の機能解析」
399	大阪府立大学	及川彰、木村篤子、中村由紀子、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	日本農芸化学会2006年度大会(京都)	2006/3/26-28	FT-ICRMS分析によるメタボリックプロファイリング解析1. 分析条件の検討
400	大阪府立大学	及川彰、小倉知典、中村由紀子、櫻井望、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	日本農芸化学会2006年度大会(京都)	2006/3/26-28	FT-ICRMS分析によるメタボリックプロファイリング解析2. 代謝解析への応用

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
401	大阪府立大学	嵯峨寛久, 森川智美, 水谷正治, 青木望, 渡辺文太, 斎藤茂樹, 及川彰, 鈴木秀幸, 櫻井望, 柴田大輔, 和田野晃, 坂田完三, 太田大策	日本農芸化学会2006年度大会(京都)	2006/3/26-28	代謝プロファイリングによる植物ステロール側鎖不飽和化酵素の同定と機能解析
402	大阪大学大学院工学研究科/大阪大学/京都大学大学院農学研究科	梶山慎一郎, 和泉自泰, 石原亨, 中村亮介, 兼松泰男, 福崎英一郎, 小林昭雄	日本農芸化学会2006年度大会、京都	2006/03/27	励起・蛍光時間マトリクスと1細胞サンプリングによるエンパク感染応答反応の解析
403	東洋紡績	北澤宏明, 柴谷滋郎, 曾我部敦	日本農芸化学会2006年度大会	2006/03/27	「グルタミン:フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ(GFAT)遺伝子を導入したタバコ培養細胞の解析」
404	海洋バイオテクノロジー研究所	崔善江, 松田諭, 星野貴行, 彭学, 三沢典彦	日本農芸化学会大会(京都女子大学)	2006/03/27	各種β-carotene hydroxylaseのastaxanthin生産性の評価
405	京都大学	北村悠, 中坪朋文, 榊原紀和, 水谷正治, 柴田大輔, 服部武文, 梅澤俊明	日本農芸化学会大会(京都女子大学)	2006/03/27	Arabidopsis thaliana CALdOMTの機能について
406	かずさDNA研究所	櫻井望, 時松敏明, 青木考, 鈴木秀幸, 斎藤和季, 柴田大輔	4th International Conference on Plant Metabolomics, Reading, UK,	2006/4/7-10	Improvements of the web-based analysis tool KaPPA-View for integration of metabolome and transcriptome data on plant pathway maps
407	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科、かずさDNA研究所、千葉大学	Yoko Shinbo, Yukiko Nakamura, Hiroko Asahi, Md. Altaf-Ul-Amin, Ken Kurokawa, Hirokazu Kobayashi, Masayoshi Wada, Shunichi Sakaguchi, Kazuaki Natsuhara, Toshiaki Tokimatsu, Masanori Arita and Shigehiko Kanaya	Wokefield Park, Reading UK 4th International Conference on Plant Metabolomics	2006/4/7-10	KNapSAcK:Search Tool for Relationship between Metabolites and Species
408	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科、かずさDNA研究所、千葉大学	Nakamura, Y., Shinbo, Y., Asahi, H., Md. Altaf-Ul-Amin, Kurokawa, K., Oikawa, A., Kimura, A., Ogura, T., Morishita, Y., Sakurai, N., Suzuki, H., Nishi, T., Hirai, Y.M., Yano, M., Saito, K., Ohta, D., Shibata, D., Kitayama, M., Kanaya, S.	Wokefield Park, Reading UK 4th International Conference on Plant Metabolomics	2006/4/7-10	Metabolome analysis of Arabidopsis based on FT-MS spectra by using high-throughput comprehensive analyzing systems
409	産業技術総合研究所	岩瀬 哲, 光田 展隆, 小山 知嗣, 平津 圭一郎, 新井崇, 井上康則, 青柳秀紀, 田中秀夫, 高木 優	IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and FAOBMB Congress	2006/06/20	Functional analyses of an Arabidopsis transcription factor that is involved in callus formation
410	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Matsuura Hideyuki, Shinmyo Atsuhiko, Kato Ko	Seattle, USA. (RNA 2006)	2006/6/20-25	Preferential Translation Via 5' untranslated Region of HSP90 gene During Heat Stress in Arabidopsis.
411	大阪府立大学	Daisaku Ohta, Masaharu Mizutani, Tomomi Morikawa	8th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology	2006/07/23	Cytochrome P450 CYP710A Encodes the Sterol C-22 Desaturase in Plants.
412	大阪府立大学	Daisaku Ohta, Masaharu Mizutani, Tomomi Morikawa	8th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology	2006/7/23-27	Identification and characterization of CYP710A as the sterol C-22 desaturase in plants
413	京都大学	Nakatsubo, T., Kitamura, Y., Sakakibara, N., Mizutani, M., Shibata, D., Hattori, T., Umezawa, T.	ICOB-5 & ISCNP-25 IUPAC International Conference on Biodiversity and Natural Products	2006/7/23-28	FUNCTIONS OF ARABIDOPSIS CALdOMT
414	京都大学	中坪朋文, Li, L., Chiang, V.L., 服部武文, 梅澤俊明	第24回日本植物細胞分子生物学会	2006/7/29-30	リグナンOMTに相同性の高い新規フラボノイドOMTについて
415	日本大学	嶋田典基, 近藤健太郎, 佐藤修正, 中村保一, 田畑哲之, 綾部真一, 青木俊夫	第24回日本植物細胞分子生物学会(つくば)大会・シンポジウム	2006/7/29-30	ミヤコグサのフラボノール生合成酵素遺伝子
416	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	加藤晃, 長屋進吾, 新名博彦	第24回日本植物細胞分子生物学会	2006/7/29-30	植物における効率的な有用遺伝子発現を目指して
417	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	児玉悠一, 長屋進吾, 新名博彦, 加藤晃	第24回日本植物細胞分子生物学会	2006/7/29-30	シロイヌナズナにおけるクロマチン構造の凝集度合いと遺伝子発現について



	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
418	常磐植物化学研究所、岐阜薬科大、かずさDNA研究所、千葉大 他	須藤浩(常磐植物化学研究所) 他12名	第24回日本植物細胞分子生物学会	2006/07/30	カンゾウのトリテルペン生産遺伝子探索について、主にメガソート解析法による現状を紹介した。
419	理化学研究所、常磐植物化学研究所、岐阜薬科大、かずさDNA研究所、千葉大 他	關光(理研) 他12名	第24回日本植物細胞分子生物学会	2006/07/30	カンゾウのトリテルペン生産遺伝子探索について、EST整備の現状とP450の機能解析について報告した。
420	岐阜薬科大、常磐植物化学研究所、千葉大 他	林宏明(岐阜薬科大) 他6名	第24回日本植物細胞分子生物学会	2006/07/30	カンゾウの地下茎を用いたトリテルペン合成遺伝子の発現調節解析法について報告した
421	産業技術総合研究所	内藤由紀、中野年継、大槻並枝、鈴木馨、進士秀明	第24回日本植物細胞分子生物学会	2006/07/30	シロイヌナズナにおけるMYBファミリー遺伝子の解析
422	産業技術総合研究所	中野年継、鈴木馨、大槻並枝、辻本弥生、藤村達人、進士秀明	第24回日本植物細胞分子生物学会	2006/07/30	エチレン・ジャスモン酸に応答する植物特異的転写因子遺伝子の同定
423	財団法人 かずさDNA研究所	櫻井望、時松敏明、鈴木秀幸、青木考、斉藤和季、柴田大輔	第24回日本植物細胞分子生物学会大会、筑波	2006/07/30	KaPP-Viewの改良: 遺伝子相関解析が可能な植物の代謝パスウェイデータベース・ツール
424	財団法人 かずさDNA研究所、千葉大学、理化学研究所植物科学センター	杉山健二郎、平井優美、尾形善之、櫻井望、青木考、澤田有司、峠隆之、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第24回日本植物細胞分子生物学会大会、筑波	2006/07/30	シロイヌナズナ遺伝子発現相関を利用したアミノ酸代謝関連遺伝子群の共発現ネットワーク解析
425	大阪府立大学	Daisaku Ohta	The 11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry	2006/08/09	Metabolic phenotyping and biomarker identification through FT-ICR MS-based metabolomics studies
426	京都大学	北村悠、中坪朋文、榊原紀和、水谷正治、柴田大輔、服部武文、梅澤俊明	日本木材学会	2006/08/09	Arabidopsis thaliana CALDOMTの機能について
427	京都府立大学	Ishizaki et al	8th International congress of plant molecular biology	2006/8/20-25	Functional coordination of plastid sigma factors during plant development
428	京都府立大学	Nomura et al	8th International congress of plant molecular biology	2006/8/20-25	External Ca <sup>2+</sup> -induced stomatal closure is mediated by chloroplast localized CAS
429	名古屋市立大学	Sugiura, M., Yukawa, M., Nakamura, M. and Kuroda, H.	The 8th International Congress of Plant Molecular Biology	2006/8/20-25	Identification of cis-elements required for translation of plastid mRNAs using an improved chloroplast in vitro translation system.
430	名古屋市立大学等	Tsudzuki, J., Yukawa, M., Tsudzuki, T. and Sugiura, M.	The 8th International Congress of Plant Molecular Biology	2006/8/20-25	Comparative analysis of the chloroplast genome from Nicotiana tabacum, Nicotiana sylvestris and Nicotiana tomentosiformis.
431	京都府立大学	新村修一他	日本植物学会第70回大会	2006/8/20-25	Evolution of psbD light-responsive promoters in chloroplasts
432	京都府立大学	竹中智佳子、有信真、尾園加奈子、石崎陽子、権名隆	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/8/20-25	シロイヌナズナ色素体遺伝子の組織別発現パターンの解析
433	地球環境産業技術研究機構	連沼 誠久、川崎 智美、新崎由紀、山本 宏、三宅 親弘、福崎 英一郎、富澤 健一	第20回 カロテノイド研究談話会	2006/09/01	葉緑体形質転換技術を用いたカロテノイド代謝改変植物の作出
434	海洋バイオテクノロジー研究所	Seon-Kang Choi、松田 諭、丸山高廣、Soon-Yeong Cho、三沢典彦	第20回カロテノイド研究談話会(ホテルムーンビーチ)	2006/09/09	Crt0型のβ-カロテノクトラーゼはβ-クリプトキサンチンやゼアキサンチンを基質としてアスタキサンチンを合成できない
435	大阪府立大学	及川彰、金谷重彦、中村由紀子、柴田大輔、太田大策	日本生物工学会シンポジウム	2006/9/11-13	フーリエ変換イオンサイクロトロン質量分析 (FT-ICR/MS)による代謝フェノタイピングと代謝産物同定
436	大阪大学大学院工学研究科	原田和生、福崎英一郎、小林昭雄	日本生物工学会第58回大会、大阪大学	2006/09/12	キャピラリー電気泳動/質量分析計 (CE/MS) を用いたアニオン性代謝産物プロファイリング法の開発
437	石川県立大学生物資源工学研究所	内田英伸、竹村美保、中谷内修、大山莞爾	日本植物学会第70回大会、2006年9月13-16日、熊本市	2006/09/13	石油植物ユーフォルビアのスクアレンエポキシダーゼ遺伝子のクローニングと機能解析
438	産業技術総合研究所	中野年継、大槻並枝、内藤由紀、辻本弥生、鈴木馨、進士秀明	日本植物学会第70回大会	2006/09/14	シロイヌナズナERFファミリーのグループIIに属する遺伝子の解析
439	名古屋市立大学	湯川眞希、中邨真之、黒田洋詩、杉浦昌弘	日本植物学会第70回大会	2006/9/13-16	葉緑体の翻訳開始機構

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
440	日本大学	近藤健太郎, 嶋田典基, 佐藤修正, 中村保一, 佐々木亮介, 櫻井望, 柴田大輔, 田畑哲之, 綾部真一, 青木俊夫	日本植物学会第70回大会, 熊本	2006/9/14-16	ミヤコグサのフラボノール生合成に関与する2-オキソグルタル酸要求性ジオキシングナーゼ
441	日本大学	嶋田典基, 近藤健太郎, 猪俣弘樹, 角彩果, 綾部真一, 青木俊夫	日本植物学会第70回大会, 熊本	2006/9/14-16	ミヤコグサの水酸化様式が異なるフラボノイドの器官特異的蓄積
442	日本大学	青木俊夫, 明石智義, 内山寛, 綾部真一	日本植物学会第70回大会, 熊本	2006/9/14-16	マメ科特異的イソフラボノイド生合成遺伝子の機能・構造・分子進化
443	石川県立大学生物資源工学研究所	Hideobu Uchida, Miho Takemura, Osamu Nakayachi and Kanji Ohyama	The 10th Japanese-Swiss Meeting on Biotechnology and Bioprocess Development. September 19-20, Kanazawa	2006/09/19	cDNA cloning of triterpenoid- and sterol-biosynthesis genes and transformation for a petroleum plant Euphorbia tirucalli L
444	名古屋市立大学等	小宮正明, 平賀朝子, 湯川泰, 杉浦昌弘, 赤間一仁	日本遺伝学会第78回大会	2006/9/25-27	アグロバクテリウムを介した遺伝子導入法に基づく植物核tRNA発現解析系の確立
445	京都大学	梅澤俊明	第55回生存圏シンポジウム	2006/10/20	木質代謝ネットワークの解析とその樹木バイオテクノロジーへの展開
446	大阪大学大学院工学研究科・薬学研究科	Kanokwan JUMTEE, 馬場健史, 岡澤敦司, 福崎英一郎, 小林昭雄	植物化学調節学会41回大会, 大阪府立大学	2006/10/31	Analysis of phytochrome A-regulated metabolite profiles of Arabidopsis thaliana
447	大阪大学大学院工学研究科	原田和生, 福崎英一郎, 小林昭雄	植物化学調節学会41回大会, 大阪府立大学	2006/10/31	極性反転と電気浸透流を利用したCE-ESI-MS/MSによるアニオン性代謝産物プロファイリング法の開発
448	大阪大学大学院工学研究科	和泉自泰, 福崎英一郎, 梶山慎一郎, 小林昭雄	植物化学調節学会41回大会, 大阪府立大学	2006/10/31	ナノスプレイヤー一体型カラムを用いた低拡散 nano flow LC-ESI-MS による高感度分析系の確立とその応用
449	京都大学	梅澤俊明	第4回生存基盤科学研究ユニット学際交流セミナー	2006/11/20	熱帯早生樹の分子育種に対する研究基盤構築
450	味の素	○石崎 貴志 五十嵐 大亮 土器屋 祐子 戸塚 一彦 大住 千栄子	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/01	シロイヌナズナのフェレドキシン依存型グルタミン酸合成酵素 (Fd-GOGAT) 過剰発現株の解析
451	東京農工大学	佐藤俊介, 前田和寛, 木村惣一, 野間和香奈, 佐々木伸大, 小関良宏	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/06	ニンジン PAL 遺伝子 (DcPAL1) の発現制御を行う転写調節因子 DcMYB1 のプロモーター解析
452	名古屋市立大学	中邨真之, 杉浦昌弘	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	タバコ葉緑体in vitro翻訳系を用いたコドン使用頻度と翻訳効率の比較解析
453	名古屋市立大学	黒田洋詩, 杉浦昌弘	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	葉緑体in vitro翻訳系を用いた葉緑体翻訳開始に関与するシス領域とトランス因子の解析
454	名古屋市立大学等	續伯彦, 近藤鋭治, 杉浦昌弘	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	クロロプラストネット上の高精度遺伝子地図描画機能
455	名古屋市立大学	中井雅之, 杉浦昌弘, 湯川泰	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	高等植物のnon-RI in vitro転写解析系の開発
456	名古屋市立大学等	湯川泰, 續伯彦, 杉浦昌弘	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	シロイヌナズナのtRNA遺伝子群転写のin vitro大規模解析
457	名古屋市立大学	鈴木純, 湯川眞希, 湯川泰, 杉浦昌弘	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	Nicotiana sylvestris rbcS遺伝子におけるイントロンの構造比較
458	名古屋市立大学	湯川眞希, 杉浦昌弘	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	改良型葉緑体in vitro翻訳系を用いたndhK mRNA翻訳開始点の解析
459	名古屋市立大学	鈴木晴香, 黒田洋詩, 杉浦昌弘, 湯川泰	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	葉緑体in vitro翻訳系の改良: 異なる蛍光タンパク質の利用
460	名古屋市立大学等	陸田径典, 杉浦昌弘	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	ラン藻のin vitro翻訳系の開発とrbcS mRNAの特異な翻訳開始機構
461	名古屋市立大学	岡田敏浩, 杉浦昌弘, 湯川泰	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	シロイヌナズナの新規低分子RNAの機能解析
462	名古屋市立大学	長谷川桂子, 杉浦昌弘	日本分子生物学会2006フォーラム	2006/12/6-8	葉緑体in vitroスプライシング系の開発
463	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	立木賢介, 長屋進吾, 新名惇彦, 加藤晃	日本分子生物学会年会, 名古屋	2006/12/6-8	Matrix attachment regionの分布
464	大阪府立大学	太田大策	佐藤了メモリアルシンポジウム	2006/12/16	植物P450研究の現状と今後の展望
465	財団法人 かずさDNA研究所	尾形善之, 櫻井望, 青木考, 斉藤和季, 柴田大輔	Plant & Animal Genome XV, Town & Country Hotel, サンディエゴ, USA	2007/01/14	A methodology for extraction of Arabidopsis coexpressed genes using gene-to-gene correlation networks

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
466	財団法人 かずさDNA研究所	尾形善之、櫻井望、青木考、斉藤和季、柴田大輔	Plant & Animal Genome XV, Town & Country Hotel, サンディエゴ, USA	2007/01/15	A novel algorithm for prediction of coexpressed genes using gene-to-gene correlation networks
467	京都大学	梅澤俊明	シンポジウム森を取り戻すために	2007/1/26	実用樹木バイオテクノロジーの研究開発基盤
468	京都大学	Umezawa, T.	The 69th RISH Symposium -Tropical Tree Biotechnology Initiative-	2007/2/28	Roadmap for Tropical Tree Biotechnology
469	京都大学	梅澤俊明	65回生存圏シンポジウム	2007/3/15	実用樹木バイオテクノロジーの研究開発基盤
470	東京工業大学	太田啓之	International Conference in Quantum Bio-Informatics Center, Tokyo University of Science, Noda	2007/03/17	Application of Large-Scale mRNA Expression Data Sets for Comprehensive Analysis of Plant Hormone Signaling
471	京都大学	梅澤俊明	70回生存圏シンポジウム	2007/3/20	熱帯早生樹分子育種に対する研究基盤
472	名古屋市立大学	Sugiura, M.	The 2nd International Conference on Plant Molecular Breeding	2007/3/23-27	Mechanisms of protein synthesis in chloroplasts: how to design translatable mRNAs in chloroplasts.
473	ブリヂストン	秋山節夫	日本化学会	2007/03/25	高品質シスポリイソプレングム
474	大阪大学大学院工学研究科/大阪大学/京都大学大学院農学研究科	和泉自泰, 福崎英一郎, 梶山慎一郎, 兼松泰男1, 中村亮介, 石原亨, 小林昭雄	日本農芸化学会2007年度大会、東京農業大学	2007/03/25	シングルセル代謝分析に基づいた植物感染応答反応の動的解析
475	海洋バイオテクノロジー研究所	藤澤雅樹、渡辺美生、松田論、原田尚志、三沢典彦	日本農芸化学会2007年度大会(東京農業大学)	2007/03/25	土壌細菌Pantoea ananatis由来crtB遺伝子の導入による油糧作物アマのカロテノイド生成機能改変
476	大阪府立大学	辰巳舞、甲斐光輔、太田大策	日本農芸化学会2007年度大会(東京)	2007/3/25-27	FT-ICR/MSメタボロミクスによる新規酵素反応の探索
477	大阪府立大学	森川智美、嵯峨寛久、太田大策	日本農芸化学会2007年度大会(東京)	2007/3/25-27	ヒメツリガネゴケにおけるステロール側鎖不飽和化酵素CYP710Aの同定
478	大阪府立大学	嵯峨寛久、森川智美、太田大策	日本農芸化学会2007年度大会(東京)	2007/3/25-27	C22不飽和ステロールが担う植物細胞生理機能に関する研究
479	大阪大学大学院工学研究科	原田和生、田伏 哲也、福崎英一郎、小林昭雄	日本農芸化学会2007年度大会、東京農業大学	2007/03/26	ニチニチソウのメチルジャスモン酸応答に関するメタボローム解析
480	大阪大学大学院工学研究科・薬学研究科	岡澤敦司, Kanokwan JUMTEE, 馬場健史, 福崎英一郎, 小林昭雄	日本農芸化学会2007年度大会、東京農業大学	2007/03/26	シロイヌナズナにおいてフィトクロムAによって制御されている一次代謝物の同定
481	王子製紙、かずさDNA研究所	加藤友彦、中村保一、浅水恵理香、田畑哲之、日野野隆	日本植物生理学会	2007/03/26	ユーカリ花芽形成時に発現するmicro RNAの探索
482	大阪大学大学院工学研究科・薬学研究科	岡澤敦司, Kanokwan Junte, 馬場健史, 福崎英一郎, 小林昭雄	第48回日本植物生理学会年会、愛媛大学城北キャンパス	2007/03/28	シロイヌナズナにおいてフィトクロムA によって制御されている一次代謝物のプロファイリング(ポスター発表)
483	大阪大学大学院工学研究科	原田和生、田伏哲也、福崎英一郎、小林昭雄	第48回日本植物生理学会年会、愛媛大学城北キャンパス	2007/03/28	ニチニチソウのメチルジャスモン酸応答に関するメタボローム解析
484	かずさDNA研究所	大野隆史、尾形善之、櫻井望、青木考、岡崎孝映、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第48回日本植物生理学会年会、愛媛	2007/03/28	シロイヌナズナ遺伝子共発現相関解析から予測された細胞壁形成関連遺伝子の機能解明
485	かずさDNA研究所	佐野亮輔、尾形善之、櫻井望、青木考、岡崎孝映、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第48回日本植物生理学会年会、愛媛	2007/03/28	イソプレノイド合成経路の制御系の解明に向けた転写産物・代謝産物の包括的解析
486	かずさDNA研究所	櫻井望、山崎清、尾形善之、青木考、岡崎孝映、大林武、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第48回日本植物生理学会年会、愛媛	2007/03/28	遺伝子発現解析が可能な植物の代謝パスウェイデータベース・ツールKaPPA-View2
487	かずさDNA研究所	山本直樹、櫻井望、青木考、岡崎孝映、柴田大輔	第48回日本植物生理学会年会、愛媛	2007/03/28	シロイヌナズナとトマトの網羅的な遺伝子発現プロファイル比較

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
488	かずさDNA研究所、千葉大学、大阪府立大学、奈良先端技術大学、理化学研究所植物科学センター、愛媛女子短期大学	中村由紀子、櫻井望、飯島陽子、青木考、岡崎孝映、青木考、太田大策、北川雅彦、金谷重彦、柴田大輔	第48回日本植物生理学会年会、愛媛	2007/03/28	液体クロマトグラフィーフリーエ変換質量分析(LC/FT-ICR-MS)による代謝産物分析データの連続解析システムの構築
489	産業技術総合研究所	松井 恭子、高木 優	日本植物生理学会年会	2007/03/28	シングルMYBドメイン転写因子、AtMYBL2のフラボノイド生合成制御に関する研究
490	大阪府立大学	甲斐光輔、辰巳舞、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	第48回日本植物生理学会(松山)	2007/3/28-30	FT-ICR MS メタボロミクスによる桂皮酸モノグルノール経路の多段階酵素反応の同時解析
491	大阪府立大学	森川智美、嵯峨寛久、太田大策	第48回日本植物生理学会(松山)	2007/3/28-30	ヒメツリガネゴケ(Physcomitrella patens)におけるステロール側鎖不飽和化酵素CYP710Aの同定
492	京都府立大学	野村裕也他	第48回日本植物生理学会年会	2007/3/28-30	葉緑体局在カルシウム結合タンパク質CASによる気孔閉鎖運動の制御
493	京都府立大学	Suwastika他	第48回日本植物生理学会年会	2007/3/28-30	Plant Olg and Era homologues targeted to different organelles of Arabidopsis.
494	京都府立大学	竹中智佳子他	第48回日本植物生理学会年会	2007/3/28-30	シロイヌナズナ染色体遺伝子の組織別発現パターン解析
495	京都府立大学	尾園加奈子他	第48回日本植物生理学会年会	2007/3/28-30	相補性解析によるシロイヌナズナ色素シグマ因子の機能分担に関する研究
496	かずさDNA研究所	尾形善之、櫻井望、青木考、岡崎孝映、斎藤和季、柴田大輔	第48回日本植物生理学会年会、愛媛	2007/03/30	共発現ネットワーク解析アルゴリズムの構築とシロイヌナズナ遺伝子への適用
497	ブリヂストン、九州大学	玉泉幸一郎、渡辺訓江、山東智紀	日本森林学会	2007/4	バリアカへのビタミンE生合成関連遺伝子の導入によるゴムの性質改変
498	ブリヂストン、大阪大学	山東智紀、秋山泰律、渡辺訓江、ほか	日本ゴム協会	2007/05	天然ゴム産出パラゴムノキの詳細な乳管構造解析
499	東北大学多元物質科学研究所	T. Koyama, P. Rojruhai, J. Sakdapipanich, S. Takahashi, L. Hyejin, T. Ambo, M. Noike, and Y. Tanaka	TERPNET 2007, France, Strasbourg	2007/05/03	<i>cis-Prenyltransferases for Natural Rubber Biosynthesis in Hevea brasiliensis Latex</i>
500	奈良先端科学技術大学院大学バイオインフォマティクス研究科	Kawamura Kazue, Harikawa Kosuke, Ishibashi Yu, Shinmyo Atsuhiko, Kato Ko	Carry-le-Rouet, France. (6th symposium on Post Transcriptional Regulation of Plant Gene Expression)	2007/5/10-13	Search IRES element of the cellular mRNA in Arabidopsis.
501	名古屋市立大学	中野真之、杉浦昌弘	第71回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム	2007/05/19	葉緑体ゲノムにおけるコドン使用頻度と翻訳効率率は必ずしも一致しない
502	名古屋市立大学	黒田洋詩、杉浦昌弘	第71回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム	2007/05/19	タバコ葉緑体のSD様配列のないmRNAの翻訳開始に必要なシス領域とトランス因子の解析
503	名古屋市立大学	黒田洋詩、鈴木晴香、久寿米木幸寛、廣瀬哲郎、湯川泰、杉浦昌弘	日本光合成研究会・公開シンポジウム	2007/5/25-26	光化学系IIサブユニットCP43をコードするタバコ葉緑体psbCの翻訳開始点はGUGである
504	海洋バイオテクノロジー研究所	Misawa, N., Choi, S.-K.	日韓ワークショップ(マリンバイオテクノロジー学会)(山形大学)	2007/05/26	Marine bacterial crtW and crtZ genes for predominant astaxanthin production
505	王子製紙	佐藤茂、飯田奈々江、小坂久子、園田哲也、日尾野隆	IUFRO TREEBIOTECH2007	2007/06/06	Expression profiling of Eucalyptus transcription factors in xylem
506	王子製紙	小坂久子、佐藤茂、飯田奈々江、園田哲也、日尾野隆	IUFRO TREEBIOTECH2007	2007/06/06	Characterization of the Eucalyptus transcription factors in fiber development
507	京都大学	T. Umezawa1,2, S. Wada1, Y. Ogata3, N. Sakurai3, N. Sakakibara1, T. Nakatsubol, S. Suzuki2,	10th ICBPPI	2007/6/10-15 (6/11)	Characterization of Transcription Factors Controlling the Cinnamate/Monolignol Pathway by Gene-Coexpression Network Analysis of Microarray Data Sets
508	財団法人 かずさDNA研究所	荒武、櫻井望、飯島陽子、中村由紀子、青木考、岡崎孝映、斎藤和季、柴田大輔	Metabolomics Society 3rd Annual Conference, The University of Manchester, マンチェスター、イギリス	2007/6/11-14	A metabolome data management system in the Kazusa plant metabolomics group
509	王子製紙、かずさDNA研究所	加藤友彦、中村保一、浅水恵理香、田畑哲之、日尾野隆	ASPB Annual Meeting 2008	2007/06/20	Analysis of micro RNAs in flower development of Eucalyptus
510	産業技術総合研究所	岩瀬 哲、光田 展隆、小山 知嗣、平津圭一郎、新井崇、井上康則、高木 優	INTERNATIONAL CONFERENCE ON ARABIDOPSIS RESEARCH	2007/06/20	Functional analyses of an Arabidopsis transcription factor involved in callus formation
511	名古屋市立大学等	Sugiura, M., M. Nakamura and Y. Sugiyama	International Congress on Plant Mitochondrial Biology	2007/6/25-29	In silico analysis of translation initiation and termination sites in the tobacco mitochondrial genome.

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
512	産業技術総合研究所	岩瀬 哲、光田 展隆、桜井望、甲斐光輔、太田大策、柴田大輔、高木 優	Gordon Research Conference	2007/07/14	Metabolome analysis of Arabidopsis defective in secondary wall formation
513	京都大学	Shiro Suzuki, I. 2, Masaomi Yamamural, Takehumi Hattori, Tomoyuki Nakatsubol and Toshiaki Umezawa, 2	PSNA 2007	2007/7/21-25 (7/24)	Subunit Composition of Hinokiresinol Synthase Controls Geometrical Selectivity in Hinokiresinol Formation
514	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	松浦秀幸、新名惇彦、加藤晃	日本RNA学会、名古屋	2007/7/28-31	シロイヌナズナHsp81-3 5' UTRを介した熱ストレス時の翻訳には、IRESではなくキャップ構造を含む5' 端へのリボソームエントリーが重要である
515	理化学研究所、常磐植物化学研究所、千葉大 他	關光(理研)他8名	第25回日本植物細胞分子生物学会	2007/08/08	薬用植物カンゾウのグリチルチン生成に関わるP450遺伝子のクローニング
516	東洋紡績	柴谷滋郎、北澤宏明、曾我部敦	第25回日本植物細胞分子生物学会	2007/08/08	「タバコ培養細胞の生産するヒアルロン酸の精製」
517	財団法人 かずさDNA研究所	櫻井望、荒武、飯島陽子、中村由紀子、青木考、岡崎孝映、斉藤和季、柴田大輔	第25回日本植物細胞分子生物学会、千葉	2007/08/08	有用物質生産へ向けた植物代謝産物の解析基盤システムの開発
518	財団法人 かずさDNA研究所	松浦貴志、櫻井望、青木考、岡崎孝映、斉藤和季、柴田大輔	第25回日本植物細胞分子生物学会、千葉	2007/08/08	工業原材料植物におけるUPLC-Q-TOF-MSを用いた代謝産物プロファイル解析
519	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	立木賢介、長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	日本植物分子細胞生物学会、千葉	2007/8/8-9	熱ストレスに伴うheat shock protein genesの核マトリクスへの結合
520	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	日本植物分子細胞生物学会、千葉	2007/8/8-9	CaMV35S-GUS遺伝子は6コピーでサイレンシングする
521	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	加藤晃、長屋進吾、真野佳子、加藤綾子、村形慶法、新名惇彦	日本植物分子細胞生物学会、千葉	2007/8/8-9	転写終結領域改変による導入遺伝子高発現化の試み
522	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	間寛太郎、鳴海貴子、大坪憲弘、山口博康、加藤晃、新名惇彦、柴田道夫	日本植物分子細胞生物学会、千葉	2007/8/8-9	キク及びトレンニアにおけるタバコADH-5' UTRの翻訳エンハンサー効果
523	東京農工大学	佐藤俊介、前田和寛、木村惣一、野間和香奈、佐々木伸大、小関良宏	日本植物細胞分子生物学会	2007/08/09	ニンジン培養細胞におけるストレス誘導性DeMYB1 遺伝子の発現制御に関与する転写調節因子の解析
524	地球環境産業技術研究機構	蓮沼誠久、宮澤真一、吉村智美、三沢典彦、三宅親弘	第21回カロテノイド研究談話会	2007/09/01	主要カロテノイドとしてアスタキサンチンを生産する葉緑体形質転換植物の作出
525	海洋バイオテクノロジー研究所、かずさDNA研究所、石川県立大学	藤澤雅樹、渡辺美生、崔善江、原田尚志、瀧田英司、櫻井望、柴田大輔、大山莞爾、三沢典彦	第21回カロテノイド研究談話会(大阪市立大学)	2007/09/06	遺伝子組換えナタネ・アマ種子による有用カロテノイド生産
526	海洋バイオテクノロジー研究所	牧野拓也、原田尚志、松田諭、Gerhard Sandmann、緒方武比古、三沢典彦	第21回カロテノイド研究談話会(大阪市立大学)	2007/09/06	シアノバクテリア由来のカロテノイドオキシゲナーゼCrtWの触媒機能の比較解析
527	海洋バイオテクノロジー研究所、地球環境産業技術研究機構	蓮沼誠久、宮澤真一、吉村智美、三沢典彦、三宅親弘	第21回カロテノイド研究談話会(大阪市立大学)	2007/09/06	主要カロテノイドとしてアスタキサンチンを生産する葉緑体形質転換植物の作出
528	石川県立大学生物資源工学研究所	中谷内 修、内田 英伸、竹村美保、大山 莞爾	日本植物学会第71回大会、野田市	2007/09/07	石油植物ユーフォルビアのスクアレンシンターゼ遺伝子の機能解析
529	産業技術総合研究所	中野年継、大槻並枝、内藤由紀、進士秀明、鈴木馨	日本植物学会第71回大会、野田市	2007/09/08	B-box型zinc fingerファミリーの解析
530	名古屋市立大学	Sugiura, M.	10th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis	2007/9/10-13	Mechanisms of protein synthesis in higher plant chloroplasts.
531	名古屋市立大学	Nakamura, M. and M. Sugiura	10th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis	2007/9/10-13	Analysis of translation efficiencies between synonymous codons in tobacco chloroplasts with the aid of in vitro translation system.
532	名古屋市立大学	杉浦昌弘、中郷真之	日本遺伝学会第79回大会	2007/9/19-21	葉緑体同義コドン間の翻訳効率
533	大阪大学大学院工学研究科	原田和生、大山陽子、田伏哲也、小林昭雄、福岡英一郎	日本生物工学会第59回大会、広島大学	2007/09/25	スルホン化キャピラリーを用いたキャピラリー電気泳動/質量分析計によるアニオン性代謝産物プロファイリング法の開発
534	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	立木賢介、長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	日本生物工学会年会、東広島	2007/9/25-27	シロイヌナズナにおけるMARの結合モデル

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
535	かざさDNA研究所	Sakurai, N. and Shibata, D.	International Symposium on Plant Science for Biomass and Food Production in Acid Soil, Hokkaido,	2007/09/26	Metabolic pathway analysis with KaPPA-View, a web-based tool for integration of transcriptome and metabolome data on plant pathway maps
536	ブリヂストン、九州大学	玉泉幸一郎、渡辺訓江、山東智紀	日本森林学会九州支部	2007/10/01	形質転換ベリブカにおけるビタミンE生合成遺伝子の発現量の測定
537	京都大学	Toshiaki Umezawa <sup>1,2)</sup> , Shiro Suzuki <sup>2)</sup> , and Daisuke Shibata <sup>3)</sup>	第8回コロキウム「植物バイオテクノロジーの最前線」(JSPS- Sweden (SI) / Japan (NAIST))	2007/10/4	Tree Biotechnology of Tropical Acacia
538	ブリヂストン、大阪大学、BPPT	福崎英一郎、小林昭雄、山東智紀 ほか	植物化学調節学会	2007/10/29	天然ゴム産出植物パラゴムノキにおける乳管組織のイメージング
539	日立造船大阪大学	武田強、中澤慶久、馬場健史、福崎英一郎、小林昭雄	植物化学調節学会年大会(静岡)	2007/10/29	トチュウにおけるトランス型ポリイソプレンの組織内局在解析
540	日立造船大阪大学	林達史、中澤慶久、山東智紀、福崎英一郎、小林昭雄 ほか	植物化学調節学会年大会(静岡)	2007/10/29	天然ゴム産出植物パラゴムノキにおける乳管組織のバイオイメージング
541	大阪大学大学院工学研究科	福崎 英一郎	第2回メタボロームシンポジウム、東京大学	2007/11/5-6	代謝物フィンガープリンティングの技術開発と応用
542	京都大学	Safendri Komara Ragamustari、鈴木史朗、北村悠、山村正臣、小基栄一郎、服部武文、梅澤俊明	第52回リグニン討論会、宇都宮	2007/11/14-15(14)	Isolation of <i>Anthriscus sylvestris</i> O-methyltransferase cDNAs
543	大阪大学大学院工学研究科	Kazuo HARADA and Eiichiro FUKUSAKI	Green Sustainable Biological and Chemical Processes (アーヘン工科大学-大阪大学合同セミナー)、大阪大学	2007/11/16	In vivo 15N-enrichment of metabolites in suspension cultured cells and its application to metabolomics
544	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	加藤晃	第23回ユウグレナ研究会、大阪	2007/11/17	クラミドモナス葉緑体での外来遺伝子発現
545	京都大学	Toshiaki Umezawa	THE FIRST KYOTO UNIVERSITY - LIPI SOUTHEAST ASIAN FORUM:SUSTAINABLE HUMANOSPHERE IN INDONESIA, Jakarta	2007/11/26-27 (27)	Tree Biotechnology of Tropical Acacia
546	京都大学	梅澤俊明、服部武文	第81回生存圏シンポジウム 全国・国際共同利用合同シンポジウム、宇治、京都	2007/12/6	森林バイオマス評価分析システム
547	海洋バイオテクノロジー研究所、かざさDNA研究所、石川県立大学	藤澤雅樹、渡辺 美生、崔晋江、原田尚志、瀧田英司、櫻井望、柴田大輔、大山莞爾、三沢典彦	日本分子生物学会2007年度年会	2007/12/11	カロテノイド生産制御技術の開発 - 遺伝子組換えナタネ・アマ種子による有用カロテノイド生産
548	名古屋市立大学等	黒田洋詩、鈴木晴香、久寿米木幸寛、廣瀬哲郎、湯川泰、杉浦昌弘	第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会	2007/12/11-15	葉緑体のpsbC mRNAの翻訳は上流のAUGではなく下流のGUGから始まる
549	名古屋市立大学	中邨真之、杉浦昌弘	第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会	2007/12/11-15	葉緑体mRNAのタンパク質コード領域に存在する翻訳調節領域の探索
550	名古屋市立大学	黒田洋詩、杉浦昌弘	第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会	2007/12/11-15	SD様配列を持たない葉緑体mRNAの翻訳開始機構の解析
551	名古屋市立大学	岡田敏浩、杉浦昌弘、湯川泰	第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会	2007/12/11-15	シロイヌナズナの新規低分子RNAの機能解析
552	名古屋市立大学	中井雅之、杉浦昌弘、湯川泰	第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会	2007/12/11-15	高等植物由来のin vitro mRNAスプライシング解析系確立の試み
553	名古屋市立大学	鈴木晴香、黒田洋詩、杉浦昌弘、湯川泰	第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会	2007/12/11-15	葉緑体in vitro翻訳系を用いたatpE遺伝子の翻訳機構の解析
554	名古屋市立大学	岩田真也、杉浦昌弘、湯川泰	第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会	2007/12/11-15	シロイヌナズナ培養細胞核由来のin vitro転写系の開発

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
555	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	立木賢介、長屋進吾、新名博彦、加藤晃	日本分子生物学会年会、名古屋	2007/12/11-15	シロイヌナズナにおけるHSP遺伝子の転写と核マトリクスの関係
556	京都大学	梅澤俊明	生存基盤科学研究ユニットシンポジウム レフォレストーションの基盤科学	2008/1/25	熱帯アカシアのバイオテクノロジー
557	名古屋市立大学	Sugiura, M., M. Yukawa, H. Kuroda and M. Nakamura	The XVI Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology	2008/2/17-22	Unique mechanisms of translation in higher plant chloroplasts.
558	京都大学	鈴木史朗、梅澤俊明	第90回生存圏シンポジウム未来を拓く樹木バイオテクノロジー、横浜	2008/2/18	熱帯アカシアのバイオテクノロジー
559	京都大学	Toshiaki Umezawa	92nd RISH Symposium Towards Establishment of Sustainable Humanosphere, Cibinong, Indonesia	2008/2/23	Tree Biotechnology of Tropical Acacia
560	地球環境産業技術研究機構	蓮沼誠久、原田和生、大山陽子、宮澤真一、福崎英一郎、三宅親弘	第49回日本植物生理学会年会	2008/03	13C02エンリッチメントによる代謝ターンオーバー解析
561	ブリヂストン、大阪大学	山東智紀	日本植物生理学会	2008/03	天然ゴム産出植物パラゴムノキにおける乳管組織のバイオイメージング
562	地球環境産業技術研究機構	蓮沼誠久、宮澤真一、吉村智美、新崎由紀、富澤健一、三沢典彦、三宅親弘	日本農芸化学会大会	2008/03	葉緑体形質転換技術を用いたアスタキサンチン生産
563	京都大学	梅澤俊明	バイオマス研究会 草本系バイオマスの収集・保管・前処理を中心として、東京	2008/3/12	イネリグニン生合成の代謝工学
564	京都大学	中坪朋文、水谷正治、鈴木史朗、服部武文、梅澤俊明	第58回日本木材学会大会、つくば	2008/3/17-19(18)	Arabidopsis thaliana のリグニン生合成酵素遺伝子の機能解析
565	京都大学	山村正臣、鈴木史朗、梅澤俊明	第58回日本木材学会大会、つくば	2008/3/17-19(18)	ヒノキレジノールの立体化学に関する研究
566	日立造船大阪大学	武田強、中澤慶久、馬場健史、岡澤敦史、福崎英一郎、小林昭雄	植物生理学会年大会(札幌)	2008/03/20	スペクトルレーザー顕微鏡を用いたトチュウにおけるトランス型ポリイソプレンの細胞内局在
567	日立造船大阪大学	林達史、中澤慶久、山東智紀、福崎英一郎、小林昭雄ほか	植物生理学会年大会(札幌)	2008/03/20	天然ゴム産出植物パラゴムノキにおける乳管組織のバイオイメージングと遺伝子発現解析
568	東京工業大学	森一晃、陳静、大林武、佐々木(関本)結子、櫻井望、青木考、鈴木秀幸、柴田大輔、太田啓之	第49回日本植物生理学会年会	2008/03/20	ジャスモン酸情報伝達におけるCOI1依存的及び、非依存的な遺伝子発現応答の解析
569	東京工業大学	小泉遼太、中村友輝、下嶋美恵、増田真二、太田啓之	第49回日本植物生理学会年会	2008/03/20	シロイヌナズナにおける新規phosphatidate phosphataseの機能解析
570	石川県立大学生物資源工学研究所	内田 英伸、中谷内 修、竹村美保、梶川 昌孝、大山 莞爾	第49回日本植物生理学会年会、2008年3月20-22日、札幌市	2008/03/20	石油植物ユーフォルビア(Euphorbia tirucalli)のスクアレンシンターゼ遺伝子のクローニングと機能解析
571	かずさDNA研究所	大野隆史、尾形善之、櫻井望、青木考、岡崎孝映、鈴木秀幸、齊藤和季、柴田大輔	第49回日本植物生理学会年会、札幌、北海道	2008/03/20	シロイヌナズナ細胞壁形成関連遺伝子と共発現相関のある転写因子に関する機能解析
572	かずさDNA研究所	尾形善之、櫻井望、青木考、岡崎孝映、鈴木秀幸、齊藤和季、柴田大輔	第49回日本植物生理学会年会、札幌、北海道	2008/03/20	シロイヌナズナ共発現ネットワークに基づいた生物プロセスの予測データベース
573	京都府立大学	Suwastika I N., Denawa M., Ohniwa, R. L. Shiina, T., Takeyasu, K.	第30回日本分子生物学会年会	2008/3/20-22	Small GTPases Obg-HflX and TrmE-Era super family, targeting to various organelles in plant cells.
574	名古屋市立大学	杉浦昌弘、中邨真之	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	タバコ葉緑体の同義コドン間の翻訳効率の測定
575	名古屋市立大学	中邨真之、杉浦昌弘	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	葉緑体mRNAの翻訳調節におけるタンパク質コード領域の影響
576	名古屋市立大学	黒田洋詩、鈴木晴香、湯川泰、杉浦昌弘	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	葉緑体in vitro翻訳系を用いたatpE mRNA翻訳開始機構の解析
577	名古屋市立大学	湯川真希、杉浦昌弘	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	タバコ葉緑体ndhC-K mRNAにおける翻訳開始機構に関する研究

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
578	名古屋市立大学	鈴木純、湯川真希、杉浦昌弘、湯川泰	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	U snRNAタイププロモーターを持ったイネの新規低分子RNA遺伝子
579	京都府立大学	野村裕也、小森禎子、植村周平、中平洋一、椎名隆	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	CASは暗処理が引き起こす葉緑体ストロマ内のCa <sup>2+</sup> 濃度上昇に関する
580	京都府立大学	八木祐介、石崎陽子、椎名隆	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	植物特異的葉緑体タンパク質pTAC3の機能解析
581	京都府立大学	小森禎子、野村裕也、椎名隆	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	ストレスシグナルに応答した葉緑体ストロマCa <sup>2+</sup> 濃度の一過の上昇
582	京都府立大学	新村修一、野添幹雄、椎名隆	第49回日本植物生理学会年会	2008/3/20-22	葉緑体光応答プロモーターpsbD LRPの進化
583	大阪府立大学	甲斐光輔、山田勇雄、高橋弘喜、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	第49回日本植物生理学会年会(札幌)	2008/3/20-22	FT-ICR/MS メタボロミクスによる花芽特異的に発現する転写調節因子およびシトクロム P450 遺伝子の機能解析
584	ブリヂストン、大阪大学、BPPT	福崎英一郎、小林昭雄、山東智紀 ほか	日本植物生理学会	2008/3/20-22	パラゴムノキにおけるビタミンE 生合成関連遺伝子群のクローニングと発現解析
585	ブリヂストン	秋山泰律	日本植物生理学会	2008/3/20-22	パラゴムノキヨギム生合成関連タンパクの発現解析
586	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	松浦秀幸、石橋融、新名惇彦、加藤晃	日本植物生理学会、札幌	2008/3/20-22	シロイヌナズナ培養細胞の翻訳段階における熱ストレス応答のゲノムワイド解析
587	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	日本植物生理学会、札幌	2008/3/20-22	シングルコピー遺伝子の増加により誘導されるサイレンシング
588	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	村形慶法、長屋進吾、真野佳子、加藤綾子、新名惇彦、加藤晃	日本植物生理学会、札幌	2008/3/20-22	転写終結領域と導入遺伝子発現
589	東京工業大学	乾薫、佐々木(関本)結子、大林武、櫻井望、青木孝、鈴木秀幸、柴田大輔、太田啓之	第49回日本植物生理学会年会	2008/03/21	ジャスモン酸および傷害で誘導されるシロイヌナズナ転写因子INU1はフラボノイド生合成系を負に制御する
590	大阪大学大学院工学研究科/地球環境産業技術研究機構	蓮沼誠久、原田和生、大山陽子、宮澤真一、福崎英一郎、三宅親弘	第49回日本植物生理学会年会	2008/03/22	13C02エンリッチメントによる代謝ターンオーバー解析
591	大阪府立大学	辰巳舞、甲斐光輔、太田大策	日本農芸化学会2008年度大会(名古屋)	2008/3/26-29	ヒメツリガネゴケにおける桂皮酸モノリグノール経路遺伝子 HCT の同定
592	大阪府立大学	北野真也、甲斐光輔、太田大策	日本農芸化学会2008年度大会(名古屋)	2008/3/26-29	FT-ICR/MSによる代謝産物一斉解析法の最適化
593	大阪府立大学	山田勇雄、甲斐光輔、高橋弘喜、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	日本農芸化学会2008年度大会(名古屋)	2008/3/26-29	FT-ICR/MSメタボロミクスによる花芽特異的に発現する転写調節因子およびシトクロムP450遺伝子の機能解析
594	大阪府立大学	野山晋平、嵯峨寛久、太田大策	日本農芸化学会2008年度大会(名古屋)	2008/3/26-29	シトクロムCYP710Aサブファミリー一遺伝子の発現解析
595	王子製紙、かずさDNA研究所	加藤友彦、中村保一、浅水恵理香、田畑哲之、日尾野隆	日本植物生理学会	2008/03/27	ユーカリマイクロRNAの発現とターゲット遺伝子の解析
596	王子製紙	小坂久子、佐藤茂、園田哲也、土肥敬悟、末崎たづ子、飯田奈々江、日尾野隆	日本植物生理学会	2008/03/27	ユーカリ木繊維形成に関わるHD-ZIP II型転写因子EcHB1の機能解析
597	大阪大学大学院工学研究科/地球環境産業技術研究機構	原田和生、大山陽子、蓮沼誠久、宮澤真一、三宅親弘、小林昭雄、福崎英一郎	日本農芸化学会2008年度大会(名古屋)	2008/03/27	CE / MS を用いた一次代謝物の安定同位体標識率モニタリング法の開発
598	大阪大学大学院工学研究科	和泉自泰、岡澤 敦司、福崎英一郎、小林昭雄	日本農芸化学会2008年度大会(名古屋)	2008/03/27	植物ホルモン類の網羅的高感度LC-ESI-MS/MS分析
599	海洋バイオテクノロジー研究所、地球環境産業技術研究機構	蓮沼誠久、宮澤真一、吉村智美、新崎由紀、富澤健一、三沢典彦、三宅親弘	日本農芸化学会2008年度大会(名城大学)	2008/03/27	葉緑体形質転換技術を用いたアスタキサンチン生産
600	産業技術総合研究所	岩瀬 哲、光田 展隆、小山 知嗣、平津圭一郎、新井剛史、井上康則、青柳秀紀、田中秀夫、高木 優	日本植物生理学会年会	2008/03/28	植物細胞のカルス形成に関するシロイヌナズナ転写因子の機能解析
601	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	間寛太郎、鳴海貴子、大坪憲弘、山口博康、長屋進吾、加藤晃、新名惇彦、柴田道夫	日本育種学会、川崎	2008/3/28-29	キクにおける植物由来の翻訳エンハンサーとターミネーターを利用した外来遺伝子発現の向上
602	京都大学	樺澤俊明、鈴木史朗	日本農芸化学会2008年度大会シンポジウム 未来型バイオリファイナリーの新展開	2008/3/29	木質バイオマスの改良技術



	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
603	京都大学	梅澤俊明、鈴木史朗	蕨田セミナー (日本農芸化学会) バイオマスデザインとリファイナリー-競合から共存へ-	2008/5/9	リグニンの代謝制御による木質バイオマスの改良
604	かずさDNA研究所	Nozomu Sakurai, Yukiko Nakamura, Yoko Iijima, Takeshi Ara, Yoshiyuki Ogata, Ken-ichi Tanaka, Koh Aoki, Koei Okazaki, Hideyuki Suzuki, Daisaku Ohta, Shigehiko Kanaya, Kazuki Saito and Daisuke Shibata.	56th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Denver, Colorado, USA,	2008/6/1-5	A software suite for comprehensive detection, annotation and comparison of peaks detected by LC-FTICR-MS
605	京都大学	Toshiaki Umezawa	1st International Conference on Plant Secondary Metabolism, Kunming, China	2008/6/8-11 (10)	The Subunit Composition of Hinokiresinol Synthase Controls Both Geometric and Enantiomeric Selectivities in Hinokiresinol Formation
606	京都大学	Toshiaki Umezawa	2008 Phytochemical Society of North America Annual Meeting, Pullman, USA	2008/6/25-29 (27)	Arabidopsis thaliana <i>pinoresinol reductases</i> control enantiomeric compositions of <i>lariciresinol</i>
607	キリンホールディングス、かずさDNA研究所、石川県立大学	Fujisawa, M., Watanabe, M., Cho, S.K., Teramoto, M., Harada, H., Takita, E., Sakurai, N., Shibata, D., Ohyama, K., Misawa, N.	The 15th International Symposium on Carotenoids, Okinawa (Carotenoid Sci., 12, 175, 2008)	2008/06/26	Engineering of carotenoid production in flaxseed and rapeseed by introduction of bacterial genes
608	キリンホールディングス	Misawa, N.,	The 15th International Symposium on Carotenoids, Okinawa (Carotenoid Sci., 12, 65, 2008)	2008/06/26	Pathway engineering of oil crops for carotenoid production
609	大阪大学大学院工学研究科	Takeshi Bamba, Naruto Shimonishi, Atsuki Matsubara, Kazumasa Hirata, Yoshihisa Nakazawa, Akio Kobayashi, Eiichiro Fukusaki	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	High throughput and exhaustive analysis of diverse lipids by using supercritical fluid chromatography mass spectrometry for metabolomics
610	大阪大学大学院工学研究科	Tesuro Minura, Miwa Ohnishi, Aya Anegawa, Akira Oikawa, Kazuo Harada, Eiichiro Fukusaki, Yuko Sugiyama, Mami Yamazaki, Koh Aoki	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	Post genome analysis of vacuolar function and control of plant metabolism
611	大阪大学大学院工学研究科	Yohko Ohyama, Tomohisa Hasunuma, Kazuo Harada, Chikahiro Miyake, Akio Kobayashi, Eiichiro Fukusaki	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	Development of analytical system to monitor metabolic turnover in plant leaves using in vivo isotope dilution from $^{13}C_2$ (poster presentation)
612	大阪大学大学院工学研究科	Yoshihiro Izumi, Atsuki Okazawa, Akio Kobayashi, Eiichiro Fukusaki	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	Comprehensive plant hormones profiling using high sensitive LC-ESI-MS/MS (poster presentation)
613	大阪大学大学院工学研究科	Atsuki Matsubara, Hiroki Ishida, Kazuo Harada, Kazumasa Hirata, Eiichiro Fukusaki, Takeshi Bamba	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	Application of supercritical fluid technology to hydrophobic metabolite profiling (poster presentation)
614	大阪大学大学院工学研究科	Takuya Hashimoto, Takahi Ohishi, Tatsuhiko Ikeda, Shunsuke Hayashi, Takeshi Bamba, Shigehiko Kanaya, Eiichiro Fukusaki	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	Algorithm development for automated identification and quantitative of GC/MS Data. (poster presentation)
615	大阪大学大学院工学研究科	Takashi Ohishi, Takuya Hashimoto, Tatsuhiko Ikeda, Takeshi Bamba, Md. Altaf-Ul-Amin, Eiichiro Fukusaki, Shigehiko Kanaya	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	Peak identification algorithm based on correlation of the intensity in neighbor peak in retention time of chromatography mass spectrometry. (poster presentation)
616	大阪大学大学院工学研究科	Kanokuwan Jumtee, Atsuki Okazawa, Kazuo Harada, Eiichiro Fukusaki, Makoto	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	A metabolomic perspective of phytochrome regulation of primary metabolism in rice. (poster presentation)
617	大阪大学大学院工学研究科	Miwa Ohnishi, Aya Anegawa, Kazuo Harada, Akira Oikawa, Chizuko Shichijo, Hdehiro Fukaki, Yuko Sugiyama, Patrick, G., Eiichiro Fukusaki, Akio Kobayashi.	5th International conference on plant metabolomics, Pacifico Yokohama	2008/07/15	A metabolomic perspective of phytochrome regulation of primary metabolism in rice. (poster presentation)

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
618	大阪府立大学	Kosuke Kai, Hiroki Takahashi, Nozomu Sakurai, Hideyuki Suzuki, Daisuke Shibata, Shigehiko Kanaya, Daisaku Ohta	5th International Conference on Plant Metabolomics (横浜)	2008/7/15-18	RECONSTITUTION OF METABOLIC ACTIVITIES ON A VAN KREVELEN DIAGRAM WITH THE AID OF ACCURATE MASS MEASUREMENT
619	かざさDNA研究所	Ara T, Sakurai N, Motegi T, Hiruta A, Suzuki H, Okazaki K, Aoki K, Saito K and Shibata D.	5th International Conference on Plant Metabolomics, Yokohama, Japan	2008/7/15-18	Development of bioinformatics resources for plant metabolomics research
620	かざさDNA研究所	N. Akimoto, D. Nakajima, Y. Iijima, N. Sakurai, K. Aoki, K. Okazaki, H. Suzuki, D. Shibata	5th International Conference on Plant Metabolomics, Yokohama, Japan	2008/7/15-18	Annotation of Flavonoids Based on MS/MS Patterns Obtained from LC- FT/ICR -MS Analysis.
621	かざさDNA研究所	Nozomu Sakurai, Yukiko Nakamura, Takeshi Ara, Yoko Iijima, Takeshi Motegi, Atsushi Hiruta, Koei Okazaki, Hideyuki Suzuki, Koh Aoki, Kazuki Saito and Daisuke Shibata	5th International Conference on Plant Metabolomics, Yokohama, Japan	2008/7/15-18	Construction of a database for metabolite annotations.
622	かざさDNA研究所	T. Ara, N. Sakurai N, T. Motegi, A. Hiruta, H. Suzuki, K. Okazaki, K. Aoki, K. Saito and D. Shibata	5th International Conference on Plant Metabolomics, Yokohama, Japan	2008/7/15-18	High-throughput prediction of molecular formulas from the large-scale metabolite data obtained by liquid chromatography Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer
623	かざさDNA研究所	T. Ogawa, K. T. Sekine, H. Suzuki, K. Aoki, H. Takahashi and D. Shibata	5th International Conference on Plant Metabolomics, Yokohama, Japan	2008/7/15-18	METABOLIC PROFILING OF TRANSGENIC ARABIDOPSIS LINES WHICH OVER-EXPRESS THE CMV (Y) RESISTANT GENE RCY1.
624	京都大学	梅澤俊明1,2、鈴木史朗2、服部武文1	生存基盤科学研究ユニット 成果報告会、京都	2008/7/16	熱帯早生樹の分子育種に対する研究基盤構築
625	産業技術総合研究所	岩瀬哲、甲斐光輔、櫻井望、松井 恭子、光田 展隆、柴田大輔、太田大策、高木 優	International conference of plant metabolomics	2008/07/17	Manipulation of plant metabolic pathway by transcription factors
626	理化学研究所、常磐植物化学研究所、千葉大 他	関光(理研)他9名	7th US-Japan Seminar on the Biosynthesis of Natural Products Enzymology, Structural Biology, and Drug Discovery	2008.7.22-28	Licorice $\beta$ -amyryn 11-oxidase, a cytochrome P450 committed in the biosynthesis of the triterpene sweetener glycyrrhizin
627	京都府立大学	Ishizaki, Y., Takenaka, C., Ozono, K., Kin, S., Arinobu, M., Watanabe, A., Yagi, Y., Nakahira, Y., Shiina, T.	19 <sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research Montreal, Canada	2008/7/23-27	Transcriptome analysis of plastid expression in Arabidopsis.
628	京都府立大学	Nomura, H., Uemura, S., Komori, T., Nakahira, Y., Shiina, T.	19 <sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research Montreal, Canada	2008/7/23-27	Possible involvement of CAS in Ca <sup>2+</sup> communication between cytoplasm and chloroplasts in Arabidopsis
629	京都府立大学	Komori, T., Nomura, H., Shiina, T.	19 <sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research Montreal, Canada	2008/7/23-27	Biotic and abiotic stress-induced stroma Ca <sup>2+</sup> transients in chloroplasts
630	王子製紙、かざさDNA研究所	加藤友彦、中村保一、浅水恵理香、田畑哲之、日尾野隆	XVI Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology	2008/08/17	Analysis of microRNA expression and their target transcripts in Eucalyptus
631	産業技術総合研究所	中野年継、内藤由紀、大槻並枝、進士秀明、鈴木馨	第26回日本植物細胞分子生物学会大会	2008/08/25	シロイヌナズナB-box型zinc finger遺伝子による植物の環境適応機能の改良
632	京都大学	Toshiaki Umezawa, Tomoyuki Nakatsubo	Ferulate 08, Minneapolis/St. Paul, USA	2008/8/25-27 (26)	A novel 5-hydroxyconiferaldehyde/5-hydroxyconiferyl alcohol O-methyltransferase formonolignol synthesis
633	大阪大学大学院工学研究科	和泉 自泰, 岡澤 敦司, 小林 昭雄, 福崎 英一郎	日本生物工学会第60回大会	2008/08/28	植物ホルモン類の網羅的高感度LC-ESI-MS/MS 分析
634	大阪大学大学院工学研究科/奈良先端科学技術大学院大学	橋本 卓哉, 大石 貴史, 池田 達彦, 林 俊介, 馬場 健史, 金谷 重彦, 福崎 英一郎	日本生物工学会第60回大会	2008/08/28	GC/MS分析における代謝物同定のためのアルゴリズム開発
635	大阪大学大学院工学研究科・薬学研究科	松原 惇起, 石田 洋基, 原田 和生, 平田 收正, 福崎 英一郎, 馬場 健史	日本生物工学会第60回大会	2008/08/28	超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析を用いた脂溶性代謝物の高速・精密分析

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
636	日本製紙、かずさDNA研、筑波大学	松永悦子	植物細胞分子生物学会(大阪大学)	2008/9/1	耐塩性組換えユウカリ・グロビュラスの開発と野外試験
637	日立造船大阪大学、九州大学	中澤慶久、武田強、林達史、原田陽子、上藤洋敬、馬場健史、陳任、玉泉幸一郎、岡澤敦史、福崎英一郎、小林昭雄	植物細胞分子生物学会(大阪)	2008/9/1-2	工業原料植物トチュウのゴム生産機構の解析
638	日立造船大阪大学、九州大学	陳任、中澤慶久、馬場健史	植物細胞分子生物学会(大阪)	2008/9/1-2	トチュウ根の形質転換型の確率
639	日立造船大阪大学、九州大学	陳任、原田陽子、井上純大、中澤慶久、馬場健史、玉泉幸一郎	植物細胞分子生物学会(大阪)	2008/9/1-2	トチュウ根へのポリイソプレン生合成関連遺伝子の導入
640	日立造船大阪大学、九州大学	原田陽子、上藤洋敬、馬場健史、陳任、中澤慶久、馬場健史、玉泉幸一郎、福崎英一郎、小林昭雄、平田收正	植物細胞分子生物学会(大阪)	2008/9/1-2	タバコを用いたT P L 遺伝子の機能解析
641	日立造船大阪大学、九州大学	上藤洋敬、蛭間かおり、平田收正、馬場健史、中澤慶久、馬場健史、福崎英一郎、小林昭雄	植物細胞分子生物学会(大阪)	2008/9/1-2	トチュウ由来トランスポリイソプレン生合成酵素の細胞内局在
642	日立造船大阪大学、九州大学	原田陽子、上藤洋敬、馬場健史、陳任、中澤慶久、馬場健史、玉泉幸一郎、福崎英一郎、小林昭雄、平田收正	植物細胞分子生物学会(大阪)	2008/9/1-2	ゴム産生植物トチュウのトランスクリプトーム解析：トランスポリイソプレン生合成関連遺伝子群の探査
643	理化学研究所、常磐植物化学研究所、千葉大 他	關光(理研) 他9名	第26回日本植物細胞分子生物学会	2008/9/1-2	薬用植物カンゾウのグリチルリチン生合成に関わるP450遺伝子のクローニング
644	大阪府立大学	山田勇雄、甲斐光輔、鈴木秀幸、櫻井望、柴田大輔、太田大策	第26回日本植物細胞分子生物学会(大阪) 大会	2008/9/1-2	花芽特異的に発現するシトクロム P450 遺伝子および転写制御因子の機能解析
645	大阪府立大学	北野真也、甲斐光輔、高橋弘喜、金谷重彦、太田大策	第26回日本植物細胞分子生物学会(大阪) 大会	2008/9/1-2	FT-ICR/MS による代謝産物一斉解析法の最適化
646	大阪府立大学	野山晋平、嵯峨寛久、太田大策	第26回日本植物細胞分子生物学会(大阪) 大会	2008/9/1-2	シトクロム CYP710A サブファミリー遺伝子の低温条件下における発現解析
647	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	加藤晃、長屋進吾、中西太朗、新名惇彦	日本植物分子細胞生物学会、大阪	2008/9/1-2	導入遺伝子発現と転写終結領域
648	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	長屋進吾、新名惇彦、加藤晃	日本植物分子細胞生物学会、大阪	2008/9/1-2	シングルコピー遺伝子の増加により転写および転写後サイレンシングが誘導される
649	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	松浦秀幸、武波慎也、石橋融、新名惇彦、加藤晃	日本植物分子細胞生物学会、大阪	2008/9/1-2	高温及び塩ストレスに応答した翻訳制御のゲノムワイド解析
650	東洋紡績	柴谷滋郎、北澤宏明	第26回日本植物細胞分子生物学会	2008/09/02	「タバコ植物体の生産するヒアルロン酸の精製」
651	かずさDNA研究所	鈴木秀幸、櫻井望、青木考、岡崎孝映、尾形善之、佐野亮輔、大野隆史、荒武、瀧田英司、秋元奈弓、中村由紀子、森下宜彦、松浦貴志、森谷佳奈美、森久美子、藤井文子、浅見結貴、丹下喜恵、茂木岳、蛭田敦、斎藤和季、柴田大輔	第26回日本植物細胞分子生物学会大会、大阪大学、大阪	2008/09/02	かずさDNA研究所での物質生産プロジェクトの進捗状況及び高機能リソース整備の紹介
652	かずさDNA研究所	森下宜彦、尾形善之、荒武、松浦貴志、森谷佳奈美、森久美子、藤井文子、浅見結貴、岡崎孝映、櫻井望、青木考、鈴木秀幸、斎藤和季、柴田大輔	第26回日本植物細胞分子生物学会大会、大阪大学、大阪	2008/09/02	GC-TOF-MSを用いた代謝物ネットワーク解析での高発現シロイヌナズナT87培養細胞系統のスクリーニング
653	かずさDNA研究所	松浦貴志、藤井文子、森下宜彦、森久美子、浅見結貴、森谷佳奈美、佐野亮輔、尾形善之、岡崎孝映、櫻井望、青木考、鈴木秀幸、斎藤和季、柴田大輔	第26回日本植物細胞分子生物学会大会、大阪大学、大阪	2008/09/02	転写因子(Myb12)の高発現シロイヌナズナT87培養細胞の網羅的フラボノイド分析とDNAアレイの統合解析
654	かずさDNA研究所	中村由紀子、櫻井望、飯島陽子、鈴木秀幸、岡崎孝映、青木考、金谷重彦、柴田大輔	第26回日本植物細胞分子生物学会大会、大阪大学、大阪	2008/09/02	LC-FTICR-MSで検出された代謝産物の高速計算処理
655	かずさDNA研究所	櫻井望、山崎清、鈴木秀幸、斎藤和季、柴田大輔	第26回日本植物細胞分子生物学会大会、大阪大学、大阪	2008/09/02	植物代謝パスウェイツールKaPPA-View3の新機能

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
656	東京農工大学	佐藤俊介、前田和寛、木村惣一、野間和香奈、佐々木伸大、小関良宏	日本植物細胞分子生物学会	2008/09/02	ニンジン培養細胞においてフェニルプロパノイド合成系を制御する DcMYB1 遺伝子の発現抑制に係わる転写調節因子の解析
657	名古屋市立大学	杉浦昌弘、湯川真希	日本遺伝学会第80回大会	2008/9/3-5	葉緑体ndhK遺伝子の翻訳開始点
658	名古屋市立大学	岩田真也、杉浦昌弘、湯川泰	日本遺伝学会第80回大会	2008/9/3-5	シロイヌナズナ培養細胞核由来のin vitro転写系の開発
659	奈良先端科学技術大学院大学バイオインフォマティクス研究科	Hideyuki Matsuura, Yu Ishibashi, Shinya Takenami, Shinmyo Atsuhiko, Kato Ko.	Okazaki, Japan. (The 55th NIBB Conference Arabidopsis Workshop 2008)	2008/9/13-15	Genome-wide comparison of translational control in Arabidopsis response to elevated temperature and high salinity.
660	常磐植物化学研究所、千葉大学、岩手医科大学、日本大学、理化学研究所、かずさDNA研究所 他	関光(理研)他19名	日本生薬学会第55回年会	2008/9/19-20	甘草グリチルリチン生合成遺伝子の同定(1) ESTライブラリーの構築と遺伝子マイニング
661	常磐植物化学研究所、千葉大学、岩手医科大学、日本大学、理化学研究所、かずさDNA研究所 他	関光(理研)他19名	日本生薬学会第55回年会	2008/9/19-20	甘草グリチルリチン生合成遺伝子の同定(2) 酵母発現系を用いた遺伝子機能同定
662	奈良先端科学技術大学院大学バイオインフォマティクス研究科	Kato Ko.	St. Paul, USA. (BTI/NAIST Research Collaboration Symposium 2008)	2008/09/22	Development of useful gene expression system in plant cells.
663	石川県立大学生物資源工学研究所	内田 英伸、中谷内 修、竹村美保、大山 莞爾	日本植物学会第72回大会、2008年9月24日-27日、高知市	2008/09/25	石油植物ユーフォルビア(Euphorbia tirucalli)のスクアレンシンターゼ遺伝子のクローニングと機能解析
664	名古屋市立大学	杉浦昌弘、中野真之	日本植物学会第72回大会	2008/9/25-27	葉緑体の特異な翻訳機構:コード領域内の必須配列
665	産業技術総合研究所	中野年継、内藤由紀、大槻並枝、進士秀明、鈴木馨	日本植物学会第72回大会	2008/09/27	シロイヌナズナB-box型zinc fingerファミリー遺伝子の環境適応制御機能の解析
666	大阪大学大学院工学研究科	Bamba, T., Matsubara, A., Hirata, K., Nakazawa, Y., Kobayashi, A., Fukusaki, E.	The 2nd Annual International Conference on Supercritical Fluid Chromatography (SFC 2008), ETH, Zurich	2008/10/1-2	Application of supercritical fluid chromatography to analysis of hydrophobic metabolites. (Poster)
667	名古屋市立大学	Kuroda, H., M. Yukawa, H. Suzuki, Y. Yukawa and M. Sugiura	International Symposium "The Ins and Outs of Chloroplasts"	2008/10/14-15	An active in vitro translation system from chloroplasts: a powerful tool to study mechanism of translation in chloroplasts.
668	奈良先端科学技術大学院大学バイオインフォマティクス研究科	Hideyuki Matsuura, Shinya Takenami, Yu Ishibashi, Shinmyo Atsuhiko, Kato Ko	日仏植物科学会議「Genome-Wide Omics Analysis in Plant Sciences」	2008/10/19-22	Genome-wide analysis of translational control in Arabidopsis subjected to heat stress.
669	筑波大学	Xiang Yu, Akira Kikuchi, Elijah K. Lelmen, Dawood Ahmad, Etsuko Matsunaga, Teruhisa Shimada, Kazuo N. Watanabe	The 10th International Symposium on Biosafety of Genetically Modified Organisms	2008/11/19	Environmental biosafety assessments of transgenic Eucalyptus conferring salt tolerance in Japan
670	大阪大学大学院工学研究科	Takato Uchikata, Atuki Matubara, Takuji Nakamura, Eiichiro Fukusaki, Takeshi Bamba	4th Korea-Japan Workshop on Combinatorial Bioengineering, at Kookmin University, Korea	2008/11/22	Lipid Profiling of Soybean by Using Supercritical Fluid Chromatography/mass spectrometry. (Poster)
671	石川県立大学生物資源工学研究所	内田英伸・中谷内修・竹村美保・大山莞爾	石川・富山県立大学合同シンポジウムin氷見 2008年11月28日~29日、氷見市	2008/11/29	石油植物ユーフォルビア(Euphorbia tirucalli)のステロール合成酵素遺伝子の解析
672	名古屋市立大学	黒田洋詩、杉浦昌弘	第31回日本分子生物学会年会	2008/12/9-12	葉緑体mRNAの翻訳開始に必要なシス配列とトランス因子
673	名古屋市立大学	岩田真也、杉浦昌弘、湯川泰	第31回日本分子生物学会年会	2008/12/9-12	シロイヌナズナ培養細胞核由来のin vitro転写系の開発
674	名古屋市立大学	西田満帆、杉浦昌弘、湯川泰	第31回日本分子生物学会年会	2008/12/9-12	イネ新規non-coding RNAの探索
675	名古屋市立大学	足達由佳、黒田洋詩、杉浦昌弘、湯川泰	第31回日本分子生物学会年会	2008/12/9-12	葉緑体psbD-psbC翻訳機構の解析

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
676	名古屋市立大学	湯川真希、杉浦昌弘	第31回日本分子生物学会年会	2008/12/9-12	タバコ葉緑体ndhC-ndhK mRNAにみられる翻訳終結に依存した翻訳開始機構
677	名古屋市立大学	中郷真之、杉浦昌弘	第31回日本分子生物学会年会	2008/12/9-12	葉緑体mRNAのタンパク質コード領域に存在する翻訳調節領域の解析
678	名古屋市立大学	杉浦昌弘、黒田洋詩	第31回日本分子生物学会年会	2008/12/9-12	葉緑体rps2 mRNAの翻訳に必要なシス配列
679	キリンホールディングス、かずさDNA研究所、石川県立大学	藤澤雅樹、原田尚志、瀧田英司、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔、大山莞爾、三沢典彦	第31回日本分子生物学会年会 第81回日本生化学会大会 合同大会	2008/12/10	多重遺伝子導入による形質転換ナタネ種子のカロチノイド生合成経路改変
680	産業技術総合研究所	岩瀬 哲、秀野 晃大、渡邊圭司、光田 展隆、高木 優	日本分子生物学会	2008/12/10	A chimeric repressor improves glucose productivity from lignocellulose
681	大阪大学大学院工学研究科/地球環境産業技術研究機構	連沼誠久、原田和生、三宅親弘、福岡英一郎	BMB2008シンポジウム：最新メタボロミクス事情と植物科学への貢献	2008/12/12	13C02を用いた同位体標識による葉内代謝物質のターンオーバー解析
682	キリンホールディングス	Misawa, N.	The 1st International Conference on Health and Longevity Sciences (静岡県立大学)	2008/12/19	Carotenoid biofortification of oil crops, rape and flax plants
683	王子製紙、かずさDNA研究所	加藤友彦、中村保一、浅水恵理香、田畑哲之、日尾野隆	The Plant and Animal Genome XVII	2009/01/15	Identification of microRNAs and their target genes in Eucalyptus
684	味の素 大阪大学	五十嵐大亮 戸塚一彦、大住千栄子、和泉自泰 福岡 英一郎	植物生理学会	2009/03/01	サイトカニンシグナルを介したソースシンク間での窒素代謝制御の解析
685	九州大学、ブリヂストン	玉泉幸一郎、渡辺訓江	日本森林学会	2009/3/1	REFプロモーターで導入されたGFP遺伝子のペリプロカにおける発現様式
686	九州大学、ブリヂストン	玉泉幸一郎、渡辺訓江	日本森林学会	2009/03	ペリプロカへのトコトリエノール生合成遺伝子の導入
687	かずさDNA研究所	尾形善之、櫻井望、鈴木秀幸、岡崎孝映、青木考、斉藤和季、柴田大輔	第59回日本木材学会大会、松本、長野	2009/03/17	植物遺伝子の機能推定のための共発現データベース
688	東洋紡績、奈良先端科学技術大学院大学、かずさDNA研究所	柴谷 滋郎、濱田 衣美、長屋進吾、柴田 大輔、新名 惇彦、加藤 晃	第50回日本植物生理学会年会	2009/03/21	「タバコ培養細胞におけるヒアルロン酸生産能の向上」
689	石川県立大学生物資源工学研究所	内田 英伸、山下 博史、中谷内 修、竹村 美保、大山 莞爾	第50回日本植物生理学会年会 2009年3月21日～24日、名古屋市	2009/03/21	石油植物ユーフォルビア(Euphorbia tirucalli)のスクアレンシンターゼ遺伝子のクローニングと機能解析
690	大阪大学大学院工学研究科、味の素	五十嵐大亮、和泉自泰、戸塚一彦、福岡英一郎、大住千栄子	第50回日本植物生理学会年会(名古屋大学)	2009/03/21	サイトカニンシグナルを介したソースシンク間での窒素代謝制御の解析(ポスター発表)
691	かずさDNA研究所	櫻井望、中村由紀子、飯島陽子、尾形善之、茂木岳、蛭田敦、青木考、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第50回日本植物生理学会年会、名古屋、愛知	2009/03/21	LC-FT-ICR-MS分析における代謝産物ピークのアノテーションソフトPowerFTの開発とアノテーションデータベースKOMICSの構築
692	かずさDNA研究所	尾形善之、藤井文子、森下宜彦、松浦貴志、森久美子、浅見結貴、丹下喜恵、茂木岳、蛭田敦、佐野亮輔、大野隆史、荒武、秋元奈弓、中村由紀子、櫻井望、岡崎孝映、青木考、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第50回日本植物生理学会年会、名古屋、愛知	2009/03/21	シロイヌナズナ培養細胞を用いた発現制御ネットワーク予測への大規模アプローチ
693	産業技術総合研究所	中田 克、瀧口 裕子、光田 展隆、高木 優	日本植物生理学会	2009/03/21	ジャスモン酸シグナル伝達に関わる転写因子のスクリーニング
694	王子製紙、かずさDNA研究所	加藤友彦、中村保一、浅水恵理香、田畑哲之、日尾野隆	日本植物生理学会	2009/03/21	ユーカリmicroRNAの発現とそのターゲット遺伝子の同定
695	名古屋市立大学	黒田洋詩、足達由佳、湯川泰、杉浦昌弘	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	葉緑体mRNAの5'非翻訳領域の切断と翻訳効率
696	名古屋市立大学	黒田洋詩、杉浦昌弘	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	葉緑体翻訳開始に関与するトランス因子
697	名古屋市立大学	中郷真之、杉浦昌弘	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	同義コドンの選択によるコード領域の翻訳効率の変化について
698	名古屋市立大学	湯川真希、杉浦昌弘	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	タバコ葉緑体 ndhC-K mRNA における終止コドンに依存した翻訳開始機構
699	名古屋市立大学	黒田洋詩、足達由佳、湯川泰、杉浦昌弘	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	葉緑体mRNAの5'非翻訳領域の切断と翻訳効率
700	名古屋市立大学	大羽祐衣、湯川真希、杉浦昌弘、湯川泰	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	タバコ葉緑体翻訳反応における5'非翻訳領域とコード領域の適合性検証

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
701	京都府立大学	小森禎子、野村裕也、椎名隆	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	植物の病害・環境ストレス応答と葉緑体Ca <sup>2+</sup> シグナル
702	京都府立大学	野村裕也、小森禎子、植村周平、吉岡美樹、吉岡博文、中平洋一、椎名隆	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	病害・ストレス応答における葉緑体タンパク質CASの役割
703	京都府立大学	植村周平、野村裕也、小森禎子、中平洋一、椎名隆	第50回日本植物生理学会年会	2009/3/21-24	CAS変異体における病害応答遺伝子群の発現解析
704	大阪府立大学	嵯峨寛久、甲斐光輔、露口恵太郎、芹生友希、鈴木秀幸、柴田大輔、太田大策	第50回日本植物生理学会年会(名古屋)	2009/3/21-24	カマレキシン生合成を制御する新規転写調節因子の機能解析
705	大阪府立大学	甲斐光輔、北野真也、安田周平、高橋弘喜、庄條昌之、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	第50回日本植物生理学会年会(名古屋)	2009/3/21-24	van Krevelen diagramを用いた新規メタボローム解析ツールの開発
706	大阪府立大学	甲斐光輔、南加容、露口恵太郎、北野真也、高橋弘喜、庄條昌之、櫻井望、鈴木秀幸、柴田大輔、金谷重彦、太田大策	第50回日本植物生理学会年会(名古屋)	2009/3/21-24	van Krevelen diagramを用いたメタボローム解析による遺伝子機能の探索
707	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	長屋進吾、三河周平、新名惇彦、加藤晃	日本植物生理学会、名古屋	2009/3/21-24	転写終結領域が遺伝子発現に与える影響
708	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	柴谷 滋郎、濱田 衣美、長屋進吾、柴田 大輔、新名 惇彦、加藤 晃	日本植物生理学会、名古屋	2009/3/21-24	タバコ培養細胞におけるヒアルロン酸生産能の向上
709	産業技術総合研究所	中野年継、内藤由紀、大槻並枝、進士秀明、鈴木馨	第50回日本植物生理学会年会	2009/03/22	シロイヌナズナBZF1の過剰発現による灌水効率の向上
710	財団法人かずさDNA研究所	大野隆史、尾形善之、櫻井望、青木考、岡崎孝映、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第50回日本植物生理学会年会、名古屋、愛知	2009/03/22	代謝産物ネットワーク解析を利用したzinc fingerドメインをコードする遺伝子の解析
711	産業技術総合研究所	光田 展隆、高木 優	日本植物生理学会	2009/03/24	二次壁形成を制御する転写制御ネットワーク
712	千葉大院薬、横浜市大・木原生物学研究所、理化学研究所、常磐植物化学研究所	石森雅人他	日本薬学会129年会	2009/03/26	カンゾウ属植物におけるグリチルリチン生合成に関わるP450遺伝子の多様性
713	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	柴谷 滋郎、濱田 衣美、長屋進吾、柴田 大輔、新名 惇彦、加藤 晃	日本農芸化学会、福岡	2009/3/27-29	タバコ培養細胞におけるヒアルロン酸生産能の向上
714	大阪府立大学	池田華奈、山田勇雄、甲斐光輔、太田大策	日本農芸化学会2009年度大会(福岡)	2009/3/27-29	花芽特異的に発現するシトクロムP450遺伝子の生理機能解明
715	大阪府立大学	南加容、甲斐光輔、北野真也、露口恵太郎、高橋弘喜、庄條昌之、金谷重彦、鈴木秀幸、櫻井望、柴田大輔、太田大策	日本農芸化学会2009年度大会(福岡)	2009/3/27-29	van Krevelen diagramを用いたメタボローム解析による遺伝子機能の探索
716	大阪府立大学	安田周平、甲斐光輔、北野真也、高橋弘喜、庄條昌之、金谷重彦、太田大策	日本農芸化学会2009年度大会(福岡)	2009/3/27-29	FT-ICR/MS分析とvan Krevelen diagramによる代謝動態変化の包括的解析
717	大阪大学大学院工学研究科・薬学研究科/作物研究所	内方 崇人、松原 惇起、中村卓司、福崎 英一郎、馬場 健史	日本農芸化学会2009年度大会	2009/03/28	超臨界クロマトグラフィー/質量分析を用いた大豆の脂質プロファイリング(ポスター発表)
718	筑波大学	K.E. レッルメン、于 翔、菊池 彰、渡邊 和男	日本育種学会第115回講演会	2009/03/28	耐塩性遺伝子組換えユウガリの土壌微生物相に及ぼす影響
719	大阪大学大学院工学研究科/奈良先端科学技術大学院大学	馬場 健史、大石 貴史、池田達彦、林 俊介、金谷 重彦、福崎 英一郎	日本農芸化学会2009年度大会	2009/03/28	GC-MS分析における代謝物同定のためのアルゴリズム開発(ポスター発表)
720	東洋紡績、奈良先端科学技術大学院大学、かずさDNA研究所	柴谷 滋郎、濱田 衣美、長屋進吾、柴田 大輔、新名 惇彦、加藤 晃	日本農芸化学会2009年度大会	2009/03/29	「タバコ培養細胞におけるヒアルロン酸生産能の向上」
721	キリンホールディングス、かずさDNA研究所、石川県立大学	Fujisawa, M., Takita, E., Harada, H., Watanabe, M., Choi, S. K., Sakurai, N., Suzuki, H., Ohyama, K., Shibata, D., Misawa, N.	TERPNET2009(東京大学弥生講堂)	2009/05/25	Pathway engineering of carotenoid biosynthesis in oilseed crops
722	大阪大学大学院工学研究科	Takeshi Bamba, Atsuki Matsubara Eiichiro Fukusaki	57th ASMS Conference on Mass Spectrometry, Philadelphia, PA	2009/06/02	Application of supercritical fluid technologies to profiling of various lipophilic metabolites.

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
723	産業技術総合研究所	松井恭子、高木 優	Plant Biology	2009/06/20	Detection of protein-protein interactions in plants using the transrepressive activity of the EAR motif repression domain
724	産業技術総合研究所	中田 克、岩瀬 哲、松井 恭子、光田 展隆、高木 優	Gordon Research Conference	2009/07/14	Identification of Arabidopsis transcription factors that are involved in metabolic pathway
725	名古屋市立大学	Sugiura, M. and Yukawa, M.	ASPB Plant Biology 2009	2009/7/18-22	Novel termination-dependent translation in chloroplasts.
726	名古屋市立大学	Nakamura, M. and Sugiura, M.	ASPB Plant Biology 2009	2009/7/18-22	Correlation between codon usage and translation efficiencies of synonymous codons in tobacco chloroplasts.
727	名古屋市立大学	Sugiura, M. and Yukawa, M.	ASPB Plant Biology 2009	2009/7/18-22	Novel termination-dependent translation in chloroplasts.
728	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	Hideyuki Matsuura, Atsuhiko Shinmyo, Ko Kato	Honolulu, Hawaii. (Plant Biology 2009)	2009/7/18-22	Genome-wide analysis of translational control in Arabidopsis thaliana response to heat and salt stresses.
729	日立造船 大阪大学、九州大学	Uefuji Hirotaka, Nakazawa Yoshihisa, Bamba Takeshi, Chen Ren, Inoue Sumihiro, Li Xuehong, Gyokusen Koichiro, Fukusaki Eiichiro, Kobayashi Akio, Hirata Kazumasa	Joint annual meeting s of the American Society of Plant Biologists and the Phycological Society of America	2009/7/18-22	Functional analysis of an Eucommia trans-1,4-polyisoprene synthase in tobacco plants
730	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	加藤晃、長屋進吾、松浦秀幸、新名惇彦	日本植物分子細胞生物学会、藤沢	2009/7/30-31	外来遺伝子を高発現させる新規ベクターの開発
731	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	長屋進吾、三河周平、新名惇彦、加藤晃	日本植物分子細胞生物学会、藤沢	2009/7/30-31	HSPターミネーターによる遺伝子発現の増加
732	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	加藤晃、武波慎也、榎木智恵、松浦秀幸	日本植物分子細胞生物学会、藤沢	2009/7/30-31	環境ストレスを考慮した導入遺伝子発現系
733	石川県立大学生物資源工学研究所	山下博史・下村昌也・鈴木宗典・村中俊哉・内田英伸・大山莞爾	植物細胞分子生物学会第27回大会、藤沢市	2009/07/31	石油植物ユーフォルビアのテルペノイド・ステロール合成遺伝子の解析
734	財団法人 かずさDNA研究所	櫻井望、中村由紀子、飯島陽子、尾形善之、茂木岳、蛭田敦、青木考、鈴木秀幸、柴田大輔	第27回日本植物細胞分子生物学会年会、藤沢、神奈川	2009/07/31	代謝産物アノテーションデータベースKOMICSの構築と高速液体クロマトグラフィー-精密質量分析のためのピーク解析ソフトPowerSuiteの開発
735	財団法人 かずさDNA研究所	尾形善之、櫻井望、鈴木秀幸、青木考、斉藤和季、柴田大輔	第27回日本植物細胞分子生物学会年会、藤沢、神奈川	2009/07/31	複数のモデル植物における共発現解析データベース
736	キリンホールディングス、かずさDNA研究所、石川県立大学	原田尚志、藤澤雅樹、寺本真紀、櫻井 望、鈴木秀幸、大山莞爾、柴田大輔、三沢典彦	日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム (日本大学生物資源学部・湘南)	2009/07/31	シロイヌナズナT87培養細胞を用いたアスタキサンチン生合成関連遺伝子と代謝物の解析
737	日本製紙、かずさDNA研究所、筑波大学	松永悦子	日本大学 (植物細胞分子生物学会)	2009/07/31	ストレス耐性組換えユウカリ・グロビュラスの開発と野外試験
738	日立造船 大阪大学、九州大学	中澤慶久、堤雅史、魯婷、原田陽子、李雪紅、馬場健史、小林昭雄、岡澤敦司、福崎英一郎、蘇印泉、清水徹	日本杜仲研究会第4回定期大会	2009/08/01	トチュウバイオマスからのトチュウゴム生産技術の開発
739	日立造船 大阪大学、九州大学	上藤洋敬、櫻井望、藤井文子、尾形善之、藤本真梨子、原田陽子、井上純大、陳任、李雪紅、平田收正、玉泉幸一郎、馬場健史、福崎英一郎、小林昭雄、鈴木秀幸、柴田大輔、中澤慶久	日本杜仲研究会第4回定期大会	2009/08/01	トランスポリイソプレン生合成の遺伝子発現プロファイリング
740	大阪大学大学院工学研究科	福崎 英一郎	第34回日本医用マスマスベクトル学会年会 (近畿大学)	2009/09/11	メタボリックフィンガープリンティングの高解像度表現型解析への応用
741	キリンホールディングス	三沢 典彦	第5回アスタキサンチン研究会 (東京海洋大学品川)	2009/09/18	アスタキサンチン生合成酵素の機能と植物生産への応用
742	産業技術総合研究所	鈴木 馨、辻本 弥生、内藤 由紀、中野 年継、大槻 並枝、進士 秀明	日本植物学会第73回大会	2009/09/19	シロイヌナズナDOFファミリー遺伝子の過剰発現体の解析
743	石川県立大学生物資源工学研究所	山下博史・下村昌也・鈴木宗典・村中俊哉・内田英伸・大山莞爾	日本植物学会第73回大会、山形市	2009/09/19	石油植物ユーフォルビアのテルペノイド・ステロール合成遺伝子の解析

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
744	名古屋市立大学	Sugiura, M. and Yukawa, M.	Leopoldina-Symposium "Molecular Genetics of Chloroplasts and Mitochondria"	2009/9/20-23	Unique mechanisms of translation in chloroplasts.
745	名古屋市立大学	Nakamura, M. and Sugiura, M.	Leopoldina-Symposium "Molecular Genetics of Chloroplasts and Mitochondria"	2009/9/20-23	Translation efficiencies of chloroplast mRNAs are modulated by the selection of synonymous codons.
746	京都府立大学	I Nengah SUWASTIKA 他	LEOPOLDINA -SYMPOSIUM 2009	2009/09/22	Genome-wide and Sub-Cellular Localization Analysis of Ogb/Era-related GTPase Family Proteins in Arabidopsis thaliana
747	京都府立大学	八木祐介他	LEOPOLDINA -SYMPOSIUM 2009	2009/09/22	ELUCIDATION OF MECHANISM FOR ACTIVATION OF THE PLASTID TRANSCRIPTION BY BY PLANT SPECIFIC DNA BINDING PROTEIN PTAC3
748	京都府立大学	植村周平他	LEOPOLDINA -SYMPOSIUM 2009	2009/09/22	CAS is Chloroplast Protein Implicated in flg22-Induced Stomatal Closure and Defense Response in Plant
749	大阪大学大学院工学研究科	JaeWon Lee, Takato Uchikata, Atuki Matubara, Takuji Nakamura, Eiichiro Fukusaki, Takeshi Bamba	第61回日本生物工学会大会	2009/09/24	Application of supercritical fluid chromatography/mass spectrometry (SFC/MS) to lipid profiling of soybean
750	大阪大学大学院工学研究科	山本 隆士, 内方 崇人, 福崎 英一郎, 馬場 健史	第61回日本生物工学会大会	2009/09/24	超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析を用いた脂質プロファイリングにおける誘導体化法の検討
751	日立造船 大阪大学、九州大学	陳任, 原田陽子, 井上純大, 李雪紅, 上藤洋敬, 中澤慶久, 馬 健史, 福崎 英一郎, 玉泉幸一郎	第61回日本生物工学会大会	2009/09/24	トチュウのトランス型ポリイソプレン生合成系関連遺伝子の特定と発現
752	日立造船 大阪大学、九州大学	原田陽子, 上藤洋敬, 馬場健史, 陳任, 井上純大, 李雪紅, 玉泉幸一郎, 福崎英一郎, 小林昭雄, 平田收正, 中澤慶久	第61回日本生物工学会大会	2009/09/24	タバコを用いたトチュウ (Eucommia ulmoides Oliver) 由来トランスポリイソプレン合成酵素の機能解析
753	日立造船 大阪大学、九州大学 かざDNA研究所	上藤洋敬, 櫻井望, 藤井文子, 尾形善之, 藤本真梨子, 原田陽子, 井上純大, 陳任, 李雪紅, 平田收正, 玉泉幸一郎, 馬場健史, 福崎英一郎, 小林昭雄, 鈴木秀幸, 柴田大輔, 中澤慶久	第61回日本生物工学会大会	2009/09/24	トランスポリイソプレン生合成のトランスクリプトーム解析
754	かざDNA研究所	荒武、櫻井望、茂木岳、蛭田敦、丹下喜恵、鈴木秀幸、斉藤和季、柴田大輔	第4回メタボロームシンポジウム、横浜、神奈川	2009/11/18	大規模メタボロームデータベースMassBaseの構築
755	かざDNA研究所	秋元奈弓、荒 武、櫻井 望、鈴木秀幸、柴田大輔	第4回メタボロームシンポジウム、横浜、神奈川	2009/11/18	二次代謝産物フラボノイド類の高精度多段階質量分析データベースの構築
756	ブリヂストン	秋山泰律	日本ゴム協会 エラストマー討論会	2009/12/01	パラゴムノキにおけるゴム生合成関連タンパクの免疫電顕観察
757	名古屋市立大学	山本裕子、湯川真希、杉浦昌弘、湯川泰	第31回日本分子生物学会年会	2009/12/9-12	タバコ培養細胞由来細胞質in vitro翻訳系の開発
758	名古屋市立大学	黒田洋詩、杉浦昌弘	第31回日本分子生物学会年会	2009/12/9-12	葉緑体c1pP1 mRNAの翻訳開始機構の解析
759	名古屋市立大学	二村博、杉浦昌弘、湯川泰	第31回日本分子生物学会年会	2009/12/9-12	シロイヌナズナ新規低分子RNA欠損株のオーキシン応答性
760	名古屋市立大学	柴田恵利、大谷美沙都、杉山宗隆、杉浦昌弘、湯川泰	第31回日本分子生物学会年会	2009/12/9-12	シロイヌナズナにおけるUSE結合転写因子複合体の単離解析
761	名古屋市立大学	大羽祐衣、湯川真希、杉浦昌弘、湯川泰	第31回日本分子生物学会年会	2009/12/9-12	葉緑体mRNAの5' 非翻訳領域とタンパク質コード領域の適合性検証
762	名古屋市立大学	湯川真希、杉浦昌弘	第31回日本分子生物学会年会	2009/12/9-12	新しい終止コドン依存型翻訳
763	名古屋市立大学	中郷真之、杉浦昌弘	第31回日本分子生物学会年会	2009/12/9-12	タバコ葉緑体rps2 mRNA とrps16 mRNAの翻訳効率の比較
764	名古屋市立大学	岩田有加、杉浦昌弘、湯川泰	第31回日本分子生物学会年会	2009/12/9-12	高等植物mRNAスプライシングのin vitro解析
765	かざDNA研究所	Y. Ogata, F. Fujii, Y. Morishita, T. Matsuura, K. Mori, Y. Asami, Y. Tange, T. Motegi, A. Hiruta, R. Sano, T. Ohno, T. Ara, N. Akimoto, Y. Nakamura, N. Sakurai, K. Okazaki, K. Aoki, H. Suzuki, K. Saito, D. Shibata	第32回日本分子生物学会年会、横浜	2009/12/14	An integral approach to reveal gene expression and metabolite accumulation systems using Arabidopsis cultured cells



	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
766	王子製紙	日尾野隆、園田哲也、近藤啓子、末崎たづ子、石崎陽子	The Plant and Animal Genome XVIII	2010/01/12	Creation of "super transgenic Eucalyptus" introduced with gene encoding Eucalyptus camdulensis transcription factors
767	産業技術総合研究所	中田 克、松井 恭子、岩瀬 哲、光田 展隆、高木 優	Plant and Animal Genome Conference	2010/01/13	Hunting of Transcription Factors that Regulate Metabolic Pathways
768	名古屋市立大学	黒田洋詩、足達由佳、湯川 泰、杉浦昌弘	第51回日本植物生理学会年会	2010/3/18-21	光合成関連遺伝子の翻訳開始に必要なmRNA上のシス配列
769	名古屋市立大学	中邨真之、杉浦昌弘	第51回日本植物生理学会年会	2010/3/18-21	タバコ葉緑体mRNAにおける同義コドンと翻訳効率
770	京都府立大学	植村周平他	第51回日本植物生理学会年会	2010/3/18-21	葉緑体タンパク質CASはPAMP誘導の気孔閉鎖運動に関与する
771	京都府立大学	野村裕也他	第51回日本植物生理学会年会	2010/3/18-21	植物の免疫応答における葉緑体タンパク質CASの関与について
772	京都府立大学	八木 祐介他	第51回日本植物生理学会年会	2010/3/18-21	シロイヌナズナCITRX(cf-9 interacting thioredoxin)は、葉緑体に局在する
773	京都府立大学	I Nengah SUWASTIKA 他	第51回日本植物生理学会年会	2010/3/18-21	<i>Evolution of plant Obg-Era genes in view of phylogenetic and subcellular localization analyses</i>
774	大阪府立大学	太田大策、嵯峨寛久、木原洋輔、鈴木秀幸、柴田大輔	第51回日本植物生理学会年会(熊本)	2010/3/18-21	グルコシノレート生合成を調節するMYB転写因子の発現制御に関与する新規転写調節因子の同定
775	大阪府立大学	嵯峨寛久、木原洋輔、鈴木秀幸、柴田大輔、太田大策	第51回日本植物生理学会年会(熊本)	2010/3/18-21	カマレキシン生合成を制御する新規転写調節因子の機能解析
776	大阪府立大学	露口恵太郎、岩城俊雄、太田大策	第51回日本植物生理学会年会(熊本)	2010/3/18-21	ナス科植物体の青枯病菌Ralstonia solanacearum感染時におけるメタボローム解析
777	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	櫻木智恵、武波慎也、久保佑喜、松浦秀幸、加藤晃	日本植物生理学会、熊本	2010/3/18-21	環境ストレス下での翻訳制御における5' UTRの重要性
778	奈良先端科学技術大学院大学バイオエクス研究科	長屋進吾、三河周平、山口雅利、新名惇彦、加藤晃、出村拓	日本植物生理学会、熊本	2010/3/18-21	HSPターミネーターが遺伝子発現に与える影響
779	東京工業大学	小泉遼太、中村友輝、下嶋美恵、太田啓之	第51回日本植物生理学会年会	2010/03/19	シロイヌナズナ可溶性phosphatidate phosphataseの脂質合成経路における役割
780	かざさDNA研究所	尾形善之、鈴木秀幸、柴田大輔	第60回日本木材学会大会、宮崎、宮崎	2010/03/19	CoP: 大量オミクス情報を用いた植物遺伝子機能推定データベースの新たな展開
781	キリンホールディングス(石川県立大学)	三沢 典彦	日本農芸化学会2010年度大会(東京大学 駒場)	2010/03/30	カロテノイド色素を強化した遺伝子組換え植物の作出
782	キリンホールディングス(石川県立大学)	三沢 典彦	the 2010 International Meeting of the Microbiological Society of Korea (MSK) (Hanwha Resort Baegam Spa, City of Uljin, Korea)	2010/05/06	Functional analysis in Escherichia coli of biosynthesis genes for isoprenoids, carotenoids and sesquiterpenes, and their production with higher plants

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
1	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	日本農学会シンポジウム	2002/7/28	持続可能な社会を目指す植物バイオテクノロジー
2	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	International Seminar Series, Biotechnology Institute in University of Minnesota, ミネソタ大学、ミネアポリス、米国	2002/8/1	招待講演「Plant Biotechnology for a Sustainable World」
3	産業技術総合研究所	鈴木 馨	「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」プロジェクト発足記念講演会	2003/2/13	植物の遺伝子発現に関する研究動向
4	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	(財)化学技術戦略推進機構 講演会、東京	2003/5/27	持続可能な社会を目指す植物バイオテクノロジー
5	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢典彦	岩手県生物工学研究センター (講演)	2003/8/22	カロテノイド生産制御技術の開発
6	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	University of Minnesota/NAIST Joint Symposium、ミネソタ大学、ミネアポリス、米国	2003/10/1	特別講演「Development of Multi-gene Ligation and Control of Gene Expression」
7	かずさDNA研究所	鈴木秀幸	理研PSCセミナー、横浜	2003/11/19	マメ科モデル植物のメタボロミクス
8	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	Taiwan-Japan Science and Technology Forum、台北、台湾	2003/12/1	招待講演「Plant Biotechnology for Establishment of Sustainable World」
9	かずさDNA研究所	櫻井 望	平成15年度 京都大学木質科学研究所リーダーシッププロジェクト報告会・京都	2004/2/2	マイクロアレイとメタボロミクス-モデル植物における次世代リソースの整備
10	かずさDNA研究所	鈴木秀幸	第2回新品種育成強化促進会議 (千葉県育種研究所)	2004/3/18	作物育種におけるメタボローム解析の応用
11	かずさDNA研究所	Hideyuki Suzuki	Tomato workshop, Kisarazu, Chiba	2004/3/23	High throughput metabolite profiling of the model plant by combination of mass spectrometry
12	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	JSPS Seminar: Plant Science & Biotechnology for Sustainable World マヒドン大学、バンコク、タイ	2004/6/1	招待講演「Plant biotechnology for establishment of sustainable world」
13	大阪大学大学院工学研究科/ハイトカルチャ株式会社	Ei-ichiro FUKUSAKI, Daisuke SUZUMURA and Akio KOBAYASHI	Third International Congress on Plant Metabolomics, A Plant Science Institute Symposium at Iowa	2004/6/3	A CERAMICS SUPPORTED SOIL-LESS CULTIVATION SYSTEM FOR ARABIDOPSIS THALIANA AND ITS APPLICATION FOR METABOLOMICS
14	大阪大学大学院工学研究科/ジエールサイエンス	Kanokwan JUMTEE, Ei-ichiro FUKUSAKI, Takeshi BAMBA, Takehiro YAMAJI and Akio KOBAYASHI	Third International Congress on Plant Metabolomics, A Plant Science Institute Symposium at Iowa	2004/6/3	THE EFFECT OF GROWING SYSTEMS ON METABOLITE VARIATIONS OF ARABIDOPSIS THALIANA
15	大阪大学大学院工学研究科	Kazuo HARADA, Ei-ichiro FUKUSAKI, Takeshi BAMBA and	Third International Congress on Plant Metabolomics, A Plant Science Institute Symposium at Iowa	2004/6/6	IN VIVO 15N-ENRICHMENT OF METABOLITES IN ARABIDOPSIS CULTURED CELL T87 AND ITS APPLICATION FOR METABOLOMICS
16	日立造船	馬場健史	第39回天然物化学談話会 (徳島)	2004/7/23	トチュウの産生するポリソプレノイドに関する化学的研究
17	かずさDNA研究所	Hideyuki Suzuki	2nd Canadian Plant Genomics Workshop, Quebec, Canada	2004/8/30	Metabolomics of cell cultures of Arabidopsis and Lotus by combination of various mass spectrometric technologies
18	かずさDNA研究所	Hideyuki Suzuki	German-Japan Seminar on Molecular Regulation of Secondary Metabolism, kisarazu, Chiba	2004/9/22	Metabolomics of cell cultures of Arabidopsis and Lotus by combination of various mass spectrometric technologies
19	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	加藤晃	第13回近畿バイオインダストリー振興会議技術シーズ公開会、大阪	2005/2/15	植物における高効率導入遺伝子発現系(新規翻訳エンハンサーの活用)
20	かずさDNA研究所	矢野健太郎	東京大学農学部データベース講習会、東京大学農学部、	2005/3/4	シロイヌナズナ遺伝子情報統合データベースKATANA (Kazusa Arabidopsis thaliana Annotation Abstract)
21	かずさDNA研究所	時松敏明	東京大学農学部データベース講習会、東京大学農学部、	2005/3/5	代謝関連遺伝子と代謝産物を統合するソフトKaPPA-Viewの紹介
22	かずさDNA研究所	矢野健太郎	日本植物生理学会大会データベース講習会、新潟コンベンションセンター、	2005/3/26	主要なシロイヌナズナ遺伝子情報サイトを統合したデータベースKATANA (Kazusa Arabidopsis thaliana Annotation Abstract)
23	かずさDNA研究所	時松敏明	日本植物生理学会大会データベース講習会、新潟コンベンションセンター、	2005/3/26	代謝関連遺伝子と代謝産物を統合するソフトKaPPA-Viewの紹介

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
24	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	日本農芸化学会シンポジウム	2005/3/30	植物の遺伝子組換え技術による工業原料の増産
25	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	2005 Spring Annual Meeting of KSB、中春、韓国	2005/4/16	招待講演「Bio-based Technology Development Plan」
26	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	Fifth International Symposium on Industrial microbiology and	2005/6/1	特別講演「Plant Biotechnology for Establishment of Sustainable World」
27	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	JSPS Plant Biotechnology Workshop、バンコク、タイ	2005/8/1	基調講演「Plant Biomass: Green Gold in the 21st Century」
28	大阪大学大学院工学研究科	福崎英一郎、小林昭雄	第23回日本植物細胞分子生物学会 シンポジウム	2005/8/6	In vivo 15N標識と安定同位体希釈による動的メタボロミクス
29	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	The 2nd International Symposium on "Eucommia ulmoides" 西北農林科技大学、西安、中国	2005/8/7	基調講演「Plant Biomass: Green Gold in the 21st Century」
30	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	Bio Japan 2005 横浜	2005/9/8	NEDO Project: Increase of Industrial Materials by Plants
31	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	Ishikawa International Forum、石川県立大、石川	2005/9/26	特別講演「Plant biomass is a major resource in 21st century. METI-NEDO Plant Project, Japan」
32	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	7th Northeastern Asia Symposium on Biotechnology、慶州、韓国	2005/11/1	特別講演「Plant biomass is a major energy source in 21st century」
33	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	JSPS, NAIST/DAR International Symposium、ポツワナ農業大、ポツワナ共和国	2005/11/17	招待講演「Plant Saves the Earth and the Life」
34	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	第1回 横幹連合コンファレンス、JA長野県ビル、長野	2005/11/26	植物バイオマス活用技術が21世紀の日本を支える
35	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	NAIST/Mahidol Univ. Joint Work shop、マヒドン大学、バンコク、タイ	2006/1/9	特別講演「Plant biomass is a major energy source in 21st century」
36	かずさDNA研究所	矢野健太郎	第3回データベース講習会、筑波大学	2006/3/18	シロイヌナズナ遺伝子情報サイトの統合データベースKATANAとトマトデータベースMiBASE
37	かずさDNA研究所	櫻井望	第3回データベース講習会、筑波大学	2006/3/18	代謝関連遺伝子と代謝産物の統合ソフトKaPPA-View
38	かずさDNA研究所	尾形善之	第3回データベース講習会、筑波大学	2006/3/18	遺伝子共発現ネットワーク解析支援ツールKAGIANA
39	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢 典彦	特別セミナー(琉球大学理学部)	2006/6/15	細菌のカロテノイド生合成遺伝子の単離・機能解明・利用
40	京都大学	梅澤俊明	第45回生存圏シンポジウム	2006/6/30	ケイヒ酸モノリグノール経路の網羅解析
41	大阪府立大学	太田大策	第45回生存圏シンポジウム ポストゲノム時代の森林バイオマスの評価・分析	2006/6/30	応用生命科学におけるメタボロミクス研究
42	京都大学	Umezawa, T.	The 11th International Association for Plant Tissue Culture and Biotechnology Congress	2006/8/13-16	Lignan and Norlignan Biosynthesis and Biotechnology
43	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクト)	新名 惇彦	International Seminar "Current Status and Prospect of Modern Agricultural Biotechnology"、インドネシア農務省、ボゴール、インドネシア	2006/8/23	招待講演「Enhancement and Control of Transgene Expression in Higher Plants」
44	日本大学	青木俊夫	21世紀COEプログラム『微生物共生系に基づく新しい資源利用開発』公開シンポジウム-地球と共に生きる微生物たち-その多様性と未来	2006/9/1	マメ科植物フラボノイドの生合成と根粒菌共生
45	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢 典彦	学術フロンティアセミナー(近畿大学農学部)	2006/9/28	細菌のカロテノイド色素生合成遺伝子の単離・機能解明・利用
46	京都大学	梅澤俊明	第55回生存圏シンポジウム	2006/10/20	木質代謝ネットワークの解析とその樹木バイオテクノロジーへの展開
47	京都大学	梅澤俊明	第4回生存圏科学研究ユニット学際交流セミナー	2006/11/20	熱帯早生樹の分子育種に対する研究基盤構築
48	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢 典彦	九州大学大学院農学研究院(古川謙介教授研究室) セミナー	2006/11/24	細菌のカロテノイド色素生合成遺伝子の単離・機能解明・利用
49	東京工業大学	太田啓之	第43回植物化学シンポジウム「植物代謝の多様性と生態機能」東京大学・薬学部	2006/12/1	ジャスモン酸類の転写制御の全体像から見えてくる機能的多様性
50	日本大学	青木俊夫	第43回植物化学シンポジウム「植物代謝の多様性と生態機能」	2006/12/1	マメ科モデル植物を用いた生態機能物質の代謝研究
51	京都大学	梅澤俊明	シンポジウム森を取り戻すために	2007/1/26	実用樹木バイオテクノロジーの研究開発基盤
52	京都大学	Umezawa, T.	The 69th RISH Symposium -Tropical Tree Biotechnology Initiative-	2007/2/28	Roadmap for Tropical Tree Biotechnology
53	海洋バイオテクノロジー研究所	三沢 典彦	富山県立大学 生物工学研究センター セミナー	2007/3/12	オキシゲナーゼ反応を鍵とする難化学合成化合物(カロテノイド及び芳香族化合物)の合成

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
54	京都大学	梅澤俊明	65回生存圏シンポジウム	2007/3/15	実用樹木バイオテクノロジーの研究開発基盤
55	京都大学	梅澤俊明	70回生存圏シンポジウム	2007/3/20	熱帯早生樹分子育種に対する研究基盤
56	大阪府立大学	Daisaku Ohta	The 3rd JSOL Tomato Workshop	2007/3/20-21	Cytochromes P450 in Plant Sterol Biosynthesis.
57	王子製紙	日尾野隆	日本化学会	2007/3/25	遺伝子組換えユーカリの研究開発
58	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	Bogor Agricultural University, ボゴール農業大学、ボゴール、インドネシア	2007/3/29	特別セミナー「Plant biotechnology is a key technology in the 21st century」
59	京都府立大学	椎名隆	第17回関西光合成研究会 兵庫	2007	葉緑体転写装置とプロモーターの進化
60	京都府立大学	椎名隆	高等植物のオルガネラゲノム工学 京都	2007	環境応答と細胞分化における葉緑体転写装置の制御とその進化
61	大阪府立大学	Daisaku Ohta	8th International Meeting: Biosynthesis and Function of Isoprenoids in Plants, Microorganisms and Parasites	2007/4/30-5/4	Plant cytochromes P450 involved in the biosynthesis of D22-sterols
62	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	岡山大学市民講座、ピュアリティまきび、岡山	2007/5/19	21世紀の基幹技術植物バイオテクノロジー
63	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	Sixth International Symposium on Industrial Microbiology & Biotechnology, MIT, ボストン、米国	2007/8/1	特別講演「Enhancement and control of transgene expression in higher plants」
64	かざさDNA研究所	Daisuke Shibata	The 4th Solanaceae Genome Workshop 2007, Jeju Island, Korea	2007/9/9-13	Tomato metabolomics.
65	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	JSPS- Sweden (SU)/Japan (NAIST) Colloquium on Frontiers of Plant Biotechnology, スtockホルム大、スウェーデン	2007/10/1	特別講演「Plant biotechnology: a key technology in the 21st century」
66	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	UM/NAIST Joint Symposium, ミネソタ大学、ミネアポリス、米国	2007/10/10	招待講演「Enhancement and control of transgene expression in higher plants」
67	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	BioAsia 2007, バンコク, タイ	2007/11/7	招待講演「Role of Plant Biotechnology for Establishment of Sustainable World」
68	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	第11回関西科学技術セミナー、大阪	2007/11/27	バイオマスエネルギー生産の上流から下流まで
69	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	The First Korea-Japan Biomass Symposium "Frontier Technology for Biomass Utilization", ソウル、韓国	2007/12/1	特別講演「Stop the Global Warming by Biotechnology」
70	奈良先端科学技術大学院大	新名 惇彦	第224回熊本RISTフォーラム、熊本	2007/12/20	21世紀、植物バイオテクノロジーへの期待
71	奈良先端科学技術大学院大学バイオインテグレーション研究科	加藤晃	サントリー生物有機科学研究所セミナー	2008/1/22	植物へ導入した外来遺伝子の発現、問題点と解決法
72	日本製紙	松永悦子	京都大学生存圏研究所	2008/1/29	耐塩性遺伝子を導入した遺伝子組換えユーカリの作出と耐塩性について
73	日本製紙	松永悦子	横浜理化学研究所	2008/2/18	耐塩性遺伝子を導入した遺伝子組換えユーカリの作出と耐塩性について
74	筑波大学	渡邊和男	横浜理化学研究所	2008/2/18	耐塩性ユーカリの生物多様性影響評価試験について
75	ブリヂストン	奥村 暁	第90回生存圏シンポジウム	2008/2/18	天然ゴムを産出するパラゴムノキの分子育種に向けて
76	千葉大学	三位正洋	第90回生存圏シンポジウム 理化学研究所	2008/2/18	アカシアの植物体再生および遺伝子組換えに関する研究成果
77	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	Korea University-KRIBB-NAIST Joint Symposium "Sustainable Biotechnology" 奈良先端科学技術大学院大学、奈良	2008/3/1	特別講演「Biotechnology for Protect the Global Warming」
78	かざさDNA研究所	柴田大輔	ちばバイオクラスター交流会、千葉	2008/3/4	精密質量分析によるメタボロミクス
79	京都府立大学	野村裕也、小森禎子、椎名隆	日本植物学会第27会大会 高知	2008	葉緑体と細胞内Ca <sup>2+</sup> シグナル
80	かざさDNA研究所	柴田大輔	藪田セミナー「バイオマスデザインとリファイナリー-競合から共存へ」、神戸	2008/5/9	メタボロミクスと植物バイオテクノロジーの新展開
81	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	日本農芸化学会 藪田セミナー、神戸大学、神戸	2008/5/9	急がれる植物バイオマスの増産
82	かざさDNA研究所	櫻井望	ミヤコグサ・ダイズシンポジウム・ワークショップ、横浜理研・PSC	2008/5/15	ミヤコグサ完全長cDNAリソースの基盤整備
83	奈良先端科学技術大学院大学バイオインテグレーション研究科	加藤晃	バイオウィークIN SAPPORO 2008、札幌	2008/6/3-4	植物における導入遺伝子発現の問題点と新規発現ベクター

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
84	大阪府立大学	Daisaku Ohta	9th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology (フランス)	2008/6/8-12	FT-ICR/MS-based metabolomics towards identification of novel plant P450 functions
85	王子製紙	園田哲也	第75回紙パルプ研究発表会	2008/6/26	ユーカリ材質制御遺伝子の同定と材質改良効果
86	かずさDNA研究所	柴田大輔	科学技術未来戦略ワークショップ、東京	2008/7/5	最新メタボローム解析技術と今後の開発課題
87	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	石川県立大公開講座、石川	2008/7/9	経済産業省 工業原料生産植物の分子育種プロジェクト概要
88	かずさDNA研究所	Daisuke Shibata	5th International Conference on Plant Metabolomics, Yokohama, Japan	2008/7/15-18	(Plant) Metabolome Databases in Kazusa DNA Res. Inst.
89	東京工業大学	Ohta H., Kobayashi K., Nakamura Y.	18th International Symposium on Plant Lipids, Bordeaux, France	2008/7/21	Biosynthesis of galactolipids and their substrate supply
90	奈良先端科学技術大学院大学バイオインテグレーション研究科	加藤晃	“先進バイオインダストリー集団研修”(財)バイオインダストリー協会、奈良	2008/7/22	Development of useful gene expression system in plant cells
91	大阪大学大学院工学研究科	和泉自泰, 岡澤敦司, 小林昭雄, 福崎英一郎	日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム	2008/9/1	植物ホルモン類の網羅的高感度LC-ESI-MS/MS分析
92	かずさDNA研究所	鈴木秀幸	第26回日本植物細胞分子生物学会、大阪	2008/9/1	植物二次代謝産物の生合成に関する遺伝子の機能ゲノム学 -マメ科モデル植物を中心として-
93	大阪大学大学院工学研究科	Jumtee Kanokwan, 馬場健史, 岡澤敦司, 福崎英一郎, 小林昭雄	日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム	2008/9/2	Integrated metabolic profiling and gene expression profiling revealing phytochrome A regulation of polyamine biosynthesis of Arabidopsis thaliana
94	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	日本学術振興会産学協力研究委員会 第160委員会市民講座「植物バイオで宇宙船地球号をレスキュー」、メルパルク京都、京都	2008/9/13	植物・バイオ燃料増産の切り札、植物の遺伝子組換え技術
95	東京工業大学	太田啓之	植物学会シンポジウム「細胞小器官のはたらきを脂質の視点で捉える」高知	2008/9/25	プラスチドの膜糖脂質構築と個体の形作り
96	かずさDNA研究所	柴田大輔	奈良先端大学院大学、奈良	2008/9/29	高速演算処理によるメタボローム解析とデータベース構築の意義
97	日本製紙	松永悦子	東京大学(森林総研主催公開シンポジウム)	2008/9/29	耐塩性組換えユーカリの開発
98	かずさDNA研究所	柴田大輔	東京大学農学部、東京	2008/10/8	メタボロームデータベース構築とその意義
99	日本製紙	松永悦子	名古屋国際会議場(紙パ年次大会)	2008/10/9	遺伝子組換えによる耐塩性ユーカリの開発
100	日本製紙	松永悦子	パシフィコ横浜(BioJapan2008)	2008/10/15	耐塩性組換えユーカリの開発と野外試験の開始
101	キリンホールディングス	三沢 典彦	BioJapan 2008, パシフィコ横浜	2008/10/15	遺伝子組換え油糧作物によるカロテノイド色素生産 Production of carotenoid pigments by genetically modified oil crops
102	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	BioJapan 2008、横浜	2008/10/15	特別講演「Early Establishment of Oil-free Civilization: Japanese National Project of Industrial Material Production Technologies by Plants」
103	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	奈良先端科学技術大学院大学公開講座、奈良	2008/10/18	食料・エネルギー危機を救う植物バイオテクノロジー
104	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	関西資源リサイクルシステムセンター講演会、大阪	2008/10/24	バイオフィューエル開発の最新動向と関西の取り組み
105	奈良先端科学技術大学院大学バイオインテグレーション研究科	加藤晃	第38回学術フロンティアセミナー、奈良	2008/10/24	植物へ導入した有用遺伝子の効率的な発現(汎用されているバイナリーベクターの問題点)
106	かずさDNA研究所	柴田大輔	第10回RIBSバイオサイエンス・シンポジウム「食糧・バイオマス生産性の飛躍的向上に向けて」、岡山	2008/10/31	代謝基盤リソース整備と生産性向上を目指したオミックスの統合
107	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	NPO法人近畿バイオインダストリー振興会議「バイオプラスチック講演会」、大阪大学、大阪	2008/11/10	急がれる石油からバイオへの素材の転換
108	かずさDNA研究所	Daisuke Shibata	Toward a comprehensive annotation of metabolites, Busan, Korea	2008/11/17-19	Plant Metabolomics as a Tool For Functional Genomics
109	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	2nd Meeting of International Society for Environmental Bio-Resources 大阪大学	2008/12/5	基調講演「Strategy for replacement of diesel by bio-diesel in the world」
110	かずさDNA研究所	柴田大輔	福山大学、広島	2008/12/8	オミックス研究：データベースの中に見える生物

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
111	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	バイオテック情報普及会、東京	2008/12/8	植物バイオテクノロジーが作る持続可能な社会～遺伝子組み換え植物が可能にする地球環境の持続可能性
112	かずさDNA研究所	鈴木秀幸	BMB2008第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会、神戸	2008/12/12	植物培養細胞を用いた大規模メタボローム解析から見えてくる情報とは何か?
113	東京工業大学	Ohta H.	Gordon Research Conference on Plant Lipids: Structure, Metabolism and Function, Galveston, USA	2009/2/5	Lipid Turnover during phosphate stress.
114	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	環境ビジネスKANSAIプロジェクト「第8回環境ビジネスコア創出セミナー」、大阪	2009/2/17	バイオ燃料は石油の代替となりうるか
115	かずさDNA研究所	柴田大輔	Nissan Science Foundation, "Woody Plants Biotechnology Symposium" Tokyo	2009/2/26	Omics approaches for industrial uses of woody plants
116	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	日産財団 樹木バイオテクノロジー国際シンポジウム、Science Hall in the Science Museum, 東京	2009/2/26	特別講演「Development from Plant Science to Plant Biotechnology for Establishment of Sustainable World」
117	かずさDNA研究所	柴田大輔	第112回京都大学生存圏シンポジウム、京大農学部、京都	2009/3/18	オミクス：データベースのなかに棲む生物
118	大阪府立大学	太田大策	第112回生存圏シンポジウム メタボロミクスに基づく人類の生存基盤構築	2009/3/18	化合物元素組成変化を酵素反応に帰属するための新規 FT-ICR/MS メタボロミクス
119	王子製紙	日尾野隆	日本森林学会	2009/3/26	分子育種によるユーカリ新品種の開発～ゲノム解析から分子育種、荒地の緑化とバイオマス生産への挑戦～
120	奈良先端科学技術大学院大学バイオインテグレーション研究科	加藤晃	日本育種学会、つくば	2009/3/26-28	形質転換植物での遺伝子発現の現状と効率的な発現
121	筑波大学	菊池 彰、渡邊 和男	日本育種学会第115回講演会	2009/3/28	GM植物の研究目的第一種使用の現状と課題
122	かずさDNA研究所	柴田大輔	日本農芸化学会2009年度大会 シンポジウム、福岡国際会議場、福岡	2009/3/29	モデル植物から実用植物へ：植物代謝統合データベースの構築とその役割
123	大阪大学大学院工学研究科	福崎 英一郎	第57回質量分析総合討論会2009大阪、シン	2009/5/14	メタボリックフィンガープリンティングの技術開発と高解像度表現型解析への応用
124	大阪大学大学院工学研究科/三菱生命研究所	大竹敦子, 大黒	第57回質量分析総合討論会2009大阪	2009/5/15	低拡散ナノカラムを用いたナノLC-FL-MSによる微量物質分析法の開発
125	大阪大学大学院工学研究科・薬学研究科	松原惇起, 石田	第57回質量分析総合討論会2009大阪	2009/5/15	超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析によるカロテノイド類代謝プロファイリング
126	大阪大学大学院工学研究科	和泉自泰, 岡澤敦司, 馬場健史, 小林昭雄, 福崎英一郎	第57回質量分析総合討論会2009大阪	2009/5/15	ナノフロー液体クロマトグラフィー/イオントラップ型質量分析計による植物ホルモン類の網羅的定量分析
127	キリンホールディングス	三沢典彦	第12回マリンバイオテクノロジー学会大会 (早稲田大学西早稲田キャンパス)	2009/5/30	微細藻類や細菌由来のアスタキサンチン生合成酵素の機能と植物生産への応用
128	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	(財)化学技術戦略推進機構 (JCII) 資源分科会、東京	2009/7/17	地球温暖化防止の切り札 ～植物バイオテクノロジー～
129	かずさDNA研究所	鈴木秀幸	第27回日本植物細胞分子生物学会 (藤沢) 大会シンポジウム、日本大学、神奈川	2009/7/30	メタボロミクス：植物機能ゲノミクスとバイオテクノロジーにおける役割
130	かずさDNA研究所	荒武	第27回日本植物細胞分子生物学会 (藤沢) 大会 植物ポストゲノムデータベース講習会、日本大学、神奈川	2009/7/30	植物メタボロームデータベースの現状
131	かずさDNA研究所	Daisuke Shibata	JST Workshop Argentina-Japan "Bioscience and Biotechnology for the promotion of Agriculture and Food Production, Argentina	2009/8/3	Metabolomics approaches for Agro-Biotechnology
132	奈良先端科学技術大学院大(フロンティア)	新名 惇彦	Argentine-Japan Biotechnology Workshop、ベノスアイレス、アルゼンチン	2009/8/3	基調講演「Plant biotechnology: a key technology in the 21st century」
133	奈良先端科学技術大学院大学バイオインテグレーション研究科	Ko Kato	Kyoto, Japan. (The Fourth Japan-Korea Joint Seminar)	2009/8/24-25	Development of new transformation vector for high expression of transgene in plant cells.
134	キリンホールディングス	三沢典彦	第26回和漢医薬学会学術大会 (千葉 幕張メッセ国際会議場)	2009/8/29	テトラテルペン (カロテノイド) を始めとするテルペン系生合成遺伝子群の解明および遺伝子組換え作物の作出と展望
135	常磐植物化学研究所	須藤浩	和漢医薬学会	2009/8/30	甘草の市場と分子育種
136	京都府立大学	椎名隆	LEOPOLDINA -SYMPOSIUM ベルリン	2009/9/22	Biotic and abiotic stress-induced transient increase in stromal Ca <sup>2+</sup> in chloroplasts

	発表会社・研究機関	発表者	発表場所	発表日	発表内容
137	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	ABIC2009 in Bangkok、バンコク、タイ	2009/9/23	招待講演「Global warming cannot be protected without increase of plant biomass.」
138	大阪大学大学院工学研究科	福崎 英一郎	第61回日本生物工学会大会シンポジウム(ポストトランスクリプトミクス研究の最前線)(メタボロミクス研究部会共催)	2009/9/25	メタボリックフィンガープリンティングの高解像度表現型解析への応用
139	キリンホールディングス	三沢 典彦	北陸3県大学シーズプレゼンセッション2009(ANAクラウンプラザホテル金沢)	2009/9/30	生薬資源生産のための遺伝子組換え技術を利用した作物育種
140	かずさDNA研究所	柴田大輔	平成21年度第二回ちばバイオテクノロジーセミナー、千葉	2009/10/20	網羅的解析プラットフォームの重要性
141	かずさDNA研究所	櫻井望	平成21年度 第2回ちばバイオテクノロジーセミナー、かずさアカデミアパーク、千葉	2009/10/20	超精密質量分析データの情報処理技術
142	かずさDNA研究所	秋元奈弓	平成21年度 第2回ちばバイオテクノロジーセミナー、かずさアカデミアパーク、千葉	2009/10/20	6,800種類のフラボノイドの分析
143	かずさDNA研究所	Daisuke Shibata	2th Asia-Pacific International Molecular Biology Network (A-IMBN) Conference, Oct 27-28, 2009, Golden Sand Resort, Penang, Malaysia	2009/10/27	Plant Biotechnology Researches for Production of Industrial Materials in Japan
144	奈良先端科学技術大学院大学バイオインテグレーション研究科	加藤晃	岩手生物工学研究所セミナー、北上	2009/10/27	形質転換植物での導入遺伝子発現の現状(問題点と効率的発現の試み)
145	大阪大学大学院工学研究科	和泉 自泰, 岡澤 敦司, 梶山 慎一郎, 馬場 健史, 小林 昭雄, 福崎 英一郎	第4回メタボロームシンポジウム	2009/11/18	ナノフロー液体クロマトグラフィー/質量分析計による植物代謝産物の高感度定量分析
146	かずさDNA研究所	柴田大輔	第3回連携大学院セミナー京都「平成21年度戦略的連携支援事業」、京都府職員研修・研究支援センター、京都	2009/11/25	特別講演「バイオテクノロジーの最先端技術：メタボローム解析」
147	奈良先端科学技術大学院大学バイオインテグレーション研究科	加藤晃	第3回連携大学院セミナー京都、京都	2009/11/25	導入遺伝子を高発現させる新規ベクターの開発
148	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	(社)関西経済連合会 関西文化学術研究都市推進機構2009年度 第2回特別フォーラム、大阪	2009/11/26	地球温暖化防止の切り札 ～植物バイオ～
149	かずさDNA研究所	柴田大輔	2009年植物科学シンポジウム、コクヨホール、東京	2009/12/1	科学技術研究における基盤研究の位置づけ
150	かずさDNA研究所	尾形善之	第5回ミヤコグサ・ダイズシンポジウム・ワークショップ、かずさアカデミアパーク、千葉	2009/12/2	ダイズ遺伝子共発現解析データベース
151	東京工業大学	太田啓之	バイオテクノロジー開発技術研究組合講演会 工業原材料としての植物油脂	2010/1/13	植物の油脂生産と代謝について
152	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	神戸大学・京都大学・大阪大学連携シンポジウム「バイオテクノロジーによる持続可能な社会の構築」大阪国際会議場大阪	2010/1/20	低炭素社会実現の切り札は植物バイオマスの増産
153	産業技術総合研究所	鈴木 馨、中野 年継、内藤 由紀、辻本 弥生、大槻 並枝、及川 鉄男、進士 秀明	H21 Ls-Bt合同研究発表会	2010/2/4	植物の物質生産プロセス制御の基盤技術開発のための転写因子機能の解析
154	日立造船	中澤慶久	平成21年度第3回ちばバイオテクノロジーセミナー「環境を考慮したバイオマス確保戦略」ホテルグリーンタワー幕張	2010/2/5	トチュウによる黄土高原の退耕還林と炭酸ガス削減効果
155	ブリヂストン	林 泰行	平成21年度第3回ちばバイオテクノロジーセミナー「環境を考慮したバイオマス確保戦略」ホテルグリーンタワー幕張	2010/2/5	天然ゴム資源の戦略資源としての重要性
156	奈良先端科学技術大学院大(プロジェクトリーダー)	新名 惇彦	近畿バイオインダストリー振興協議会 低炭素社会実現のためのバイオマスの位置づけ千里ライフサイエンスビル	2010/2/26	低炭素社会実現のためのバイオマスの位置づけ
157	日立造船	中澤慶久	近畿バイオインダストリー振興協議会 低炭素社会実現のためのバイオマスの位置づけ千里ライフサイエンスビル	2010/2/26	黄土高原におけるトチュウゴムバイオマスの生産
158	キリンホールディングス	三沢 典彦	千葉大学スタートアップCOEプログラム代謝変換プログラムの生体制御への応用(千葉大学 けやき会館)	2010/3/10	アスタキサンチン生合成経路を導入した遺伝子組換え作物の作製
159	かずさDNA研究所	秋元奈弓	第228回液体クロマトグラフィー研究懇談会、島津製作所東京支社、東京	2010/3/17	6,800種類のフラボノイド分析技術の開発
160	日本製紙	松永悦子	Crop Functional Genomics 2010	2010/4/15	Development of genetically engineered Eucalyptus with salt-tolerance

	会社・研究機関	掲載物	掲載日	内容
1	ブリヂストン	日経バイオテク	2003/11/24	ブリヂストン天然ゴム原料を産出するパラゴムノキの分子育種に着手
2	石川県立大学	日経産業新聞	2003/12/8	テクノエリア金沢の紹介記事。ユーフォルビアによるステロイドの原料生産
3	東京工業大学	日刊工業新聞	2004/8/3	植物DNAチップ解析とその応用
4	ブリヂストン	日経バイオジャーナル	2006/4/26	ゴムノキ改良の基盤技術を確立
5	味の素	日経産業新聞	2006/11/30	植物を用いたアミノ酸生産
6	味の素	日経産業新聞	2006/12/13	植物を用いたアミノ酸生産
7	理化学研究所植物科学センター、千葉大学、かずさDNA研究所	毎日新聞	2007/4/10	「がん予防食品」開発に道
8	理化学研究所植物科学センター、千葉大学、かずさDNA研究所	日刊工業新聞	2007/4/10	アブラナ科野菜に新規遺伝子
9	京都府立大学	朝日新聞	2008/2/21	植物の気孔開閉、支配たんぱく確認
10	京都府立大学	サンケイ新聞	2008/2/21	植物の気孔運動 「CAS」が制御
11	京都府立大学	京都新聞	2008/2/21	気孔運動とCAS
12	常磐植物化学研究所、理化学研究所 他	朝日新聞	2008/9/9	グリチルリチン生合成遺伝子CYP88D6の発見に関する
13	常磐植物化学研究所、理化学研究所 他	日本農業新聞	2008/9/10	グリチルリチン生合成遺伝子CYP88D6の発見に関する
14	常磐植物化学研究所、理化学研究所 他	化学工業日報	2008/9/10	グリチルリチン生合成遺伝子CYP88D6の発見に関する
15	常磐植物化学研究所、理化学研究所 他	日刊工業新聞	2008/9/10	グリチルリチン生合成遺伝子CYP88D6の発見に関する
16	常磐植物化学研究所、理化学研究所 他	フジサンケイビジネスアイ	2008/9/10	グリチルリチン生合成遺伝子CYP88D6の発見に関する
17	常磐植物化学研究所、理化学研究所 他	産経新聞	2008/9/10	グリチルリチン生合成遺伝子CYP88D6の発見に関する
18	名古屋市立大学	中日新聞	2008/11/18	有用タンパク質の大量生成へ前進 葉緑体に新メカニズム
19	理化学研究所植物科学センター、千葉大学、かずさDNA研究所	日経プレスリリース	2009/1/19	植物の乾燥ストレス応答にかかわるメタボロームを網羅的に同定
20	理化学研究所植物科学センター、千葉大学、かずさDNA研究所	科学新聞	2009/1/30	植物の乾燥ストレス応答：関与メタボロームを網羅的同定
21	日立造船	日経バイオBP	2009/4/3	天然ゴム新製法の発見
22	筑波大学・日本製紙	筑波大学新聞	2009/9/1	塩水に強いユーカリ
23	日本製紙・筑波大学	BusinessEYE Autumn, 2009	2009/9/1	塩水に耐えるユーカリ
24	日立造船	NEDOフォーカス	2009/9/1	トチュウゴム
25	東京工業大学	化学工業日報	2009/11/10	リン欠乏応答に関わる遺伝子発見ー施肥不要の植物に期待
26	東京工業大学	日経産業新聞	2009/11/18	リン欠乏応答に関わる遺伝子発見ー施肥不要の植物に期待



27	日本製紙・筑波大学	エコプロダクツ2009 日本製紙リーフレット	2009/12/11	耐塩性組換えユーカリの写真
30	東京工業大学	サイエンスニュースオン デマンド（インターネット 配信による科学ニュー ス番組） <a href="http://www.science-news.jp/news/science/20091228_02.html">http://www.science- news.jp/news/science/20 091228_02.html</a>	2009/12/28 から 2010/2/28	肥料がなくても育つ？植物の成長に 関わる遺伝子発見！
28	奈良先端科学技術大学院 大学情報科学研究科	読売新聞	2010/2/10	植物の含有成分データベース化
29	日立造船	日経バイオBP	2010/3/1	ゴム生産遺伝子

## 2. 分科会における説明資料

次ページより、プロジェクト推進・実施者が、分科会においてプロジェクトを説明する際に使用した資料を示す。

—環境安心イノベーションプログラム—

# 植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発

事後評価

2002年度～2009年度(8年間)

## プロジェクトの概要

公開

NEDO

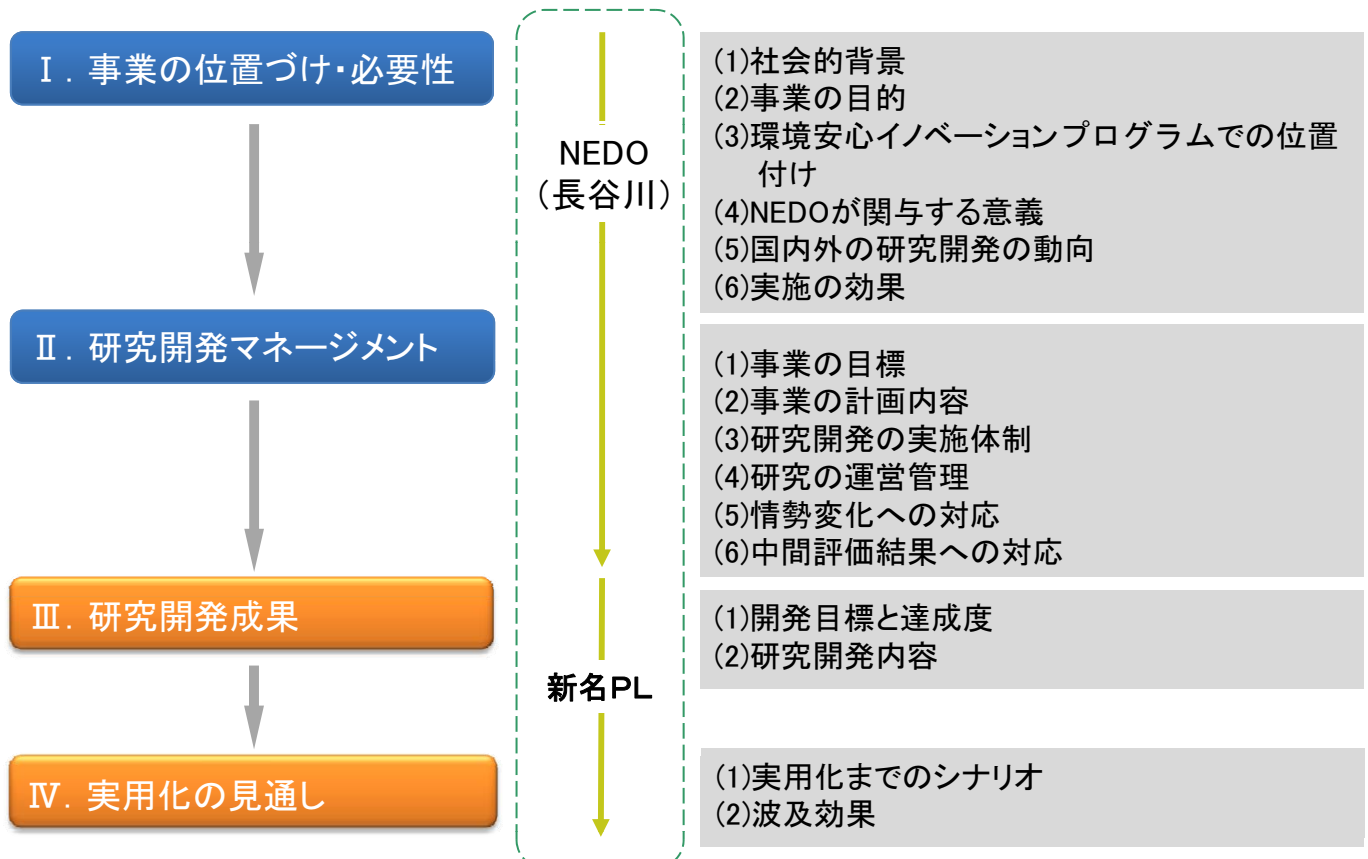
バイオテクノロジー・医療技術部

2010年 8月 18日

01 / 52

発表内容

公開



02 / 52

## 社会的背景(1)

### ・ 総合科学技術会議の分野別推進戦略 (平成13年9月)

「近年急速に蓄積されつつある**ゲノム情報**や目覚ましい進展を見せている**ゲノム関連技術**を活用し、**生物の持つ多様な機能を高度に活用**することによって、**有用物質の効率的な生産技術**や**環境汚染物質の分解**を行う等、**環境対応型の産業技術を開発**する」

## 社会的背景(2)

### ・ 総合科学技術会議の分野別推進戦略 (平成18年3月)

「**微生物・動植物を用いた有用物質生産技術開発**」が重要な研究開発課題として選定された。

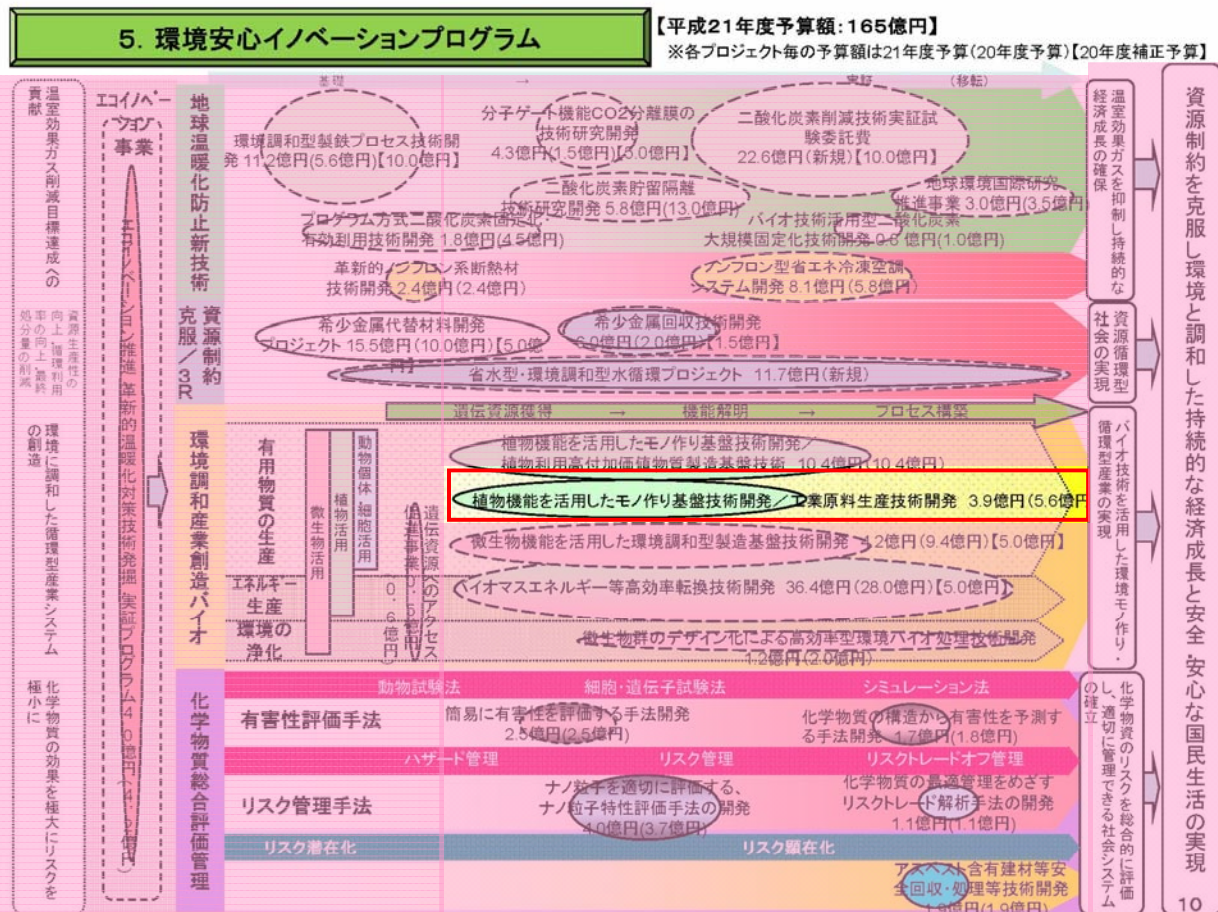
# 事業の目的

化石資源に  
依存した化学工業を  
始めとする生産システム

生産プロセスに関連した  
バイオテクノロジー技術基盤を構築

植物を用いたバイオプロセス  
構築のための  
基盤技術開発

環境調和型  
循環産業システム



## NEDOが関与する意義

### <植物を利用した工業原料ソースの抜本的変換を目指す>

- 化石資源・燃料の使用削減
- 循環型社会構築に貢献
- 農業とは異なった新しい植物利用産業の創造
- 国家戦略上重要



NEDOがもつこれまでの知識、実績を活かして推進すべき事業

## 実施の効果

### ■短期的視点から

(プロジェクト総予算62億円)

#### 1. 経済効果(市場規模)

アミノ酸	1兆円	広葉樹パルプ	4,200億円(日本)
トリテルペン	7,000億円	天然ゴム	1兆円
アスタキサンチン	200億円	ヒアルロン酸	100億円

**計 約3兆円/年**

#### 2. 植物の基礎・応用科学への貢献

研究開発用リソースの整備、DNAマイクロアレイ、遺伝子発現制御の新知見  
植物代謝機能の統合データベース(継続的バージョンアップが重要)

### ■長期的視点から

各種植物の応用分野(食品、医薬品等)へ波及

化石資源からバイオマス資源への変換、地球温暖化防止、  
地球環境の保全(二酸化炭素吸収効果)、持続的発展の達成

**21世紀の人類の課題**

京都議定書  
削減目標 = 1億6,800万トン

## 海外の研究開発の動向(1)

### 世界の遺伝子組換え作物栽培状況(2008年)



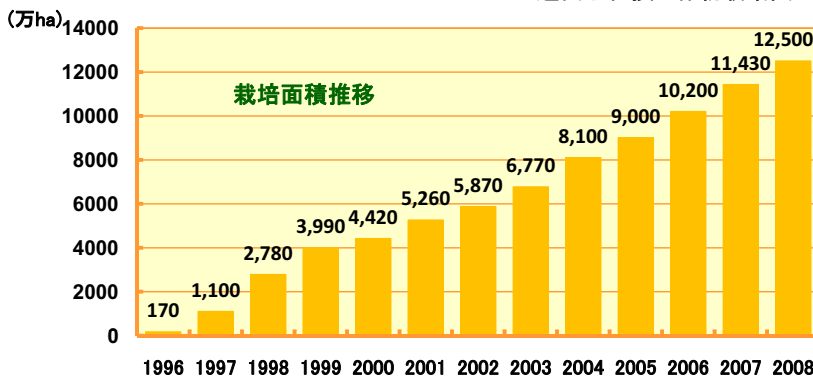
**栽培国: 25カ国**  
**栽培面積: 12,500万ha**  
**(対前年9.4%増)**

### 植物遺伝子組換え開発

農作物



**機能性食品、  
 エネルギー作物  
 (バイオ燃料)**



## 海外の研究開発の動向(2)

### 1. 植物ゲノム解読の進展

米国: 省庁横断(USDA,DOE,NIH,NSF,OSTP,PMB)の先端植物ゲノム  
 国家プロジェクト (National Plant Genome Initiative: 1998~2013,5年単位)など

2002 時点  
**シロイヌナズナ**



**イネ、トウモロコシ、ポプラ、ソルガム、タルウマゴヤシ、トマト、  
 ミヤコグサ、コムギ、ブドウ、ダイズ、ジャガイモ、ブラキポディウム**

**日本が貢献**

**ギガシーケンサーでさらに加速**

### 2. メタボローム解析、トランスクリプトーム解析の進展

米国、ドイツ等の民間企業(種苗大手、ベンチャー)による大量資金投入→解析加速

### 3. 対象植物、導入形質の拡大(野外試験栽培)の拡大

遺伝子組換え樹木: ポプラ、**ユーカリ**、マツ、リンゴ、パパイヤ、サクラ など  
 (FAO資料(2004)で229例/日本国内は3例)

導入形質: 乾燥耐性コムギ(アフリカ、豪)、栄養価向上(ゴールデンライスなど)  
 医薬品(ワクチン(Dowなど))、工業原料(アミロペクチン(製紙用、BASF))  
 品質向上(高糖含量ライグラス)、増収 など

## 事業の目標(2009年)

### 最終目標(2009年度)

モデル植物と特定の実用植物を用い、物質生産系を解析し(cDNA取得・解析、物質生産経路・機能解析、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析)、作成した統合データベースを活用して、目的とする工業原料を、適当な部位・時期に、適当な量を効率的に生産させる技術基盤を構築する。

### 中間目標(2005年度)

モデル植物を用いた物質生産系の解析では、cDNAの整備を進め、主要な物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する機能の解析を行い、実用植物の目的物質生産系の解析に資する統合データベースを構築できる見通しを得る。

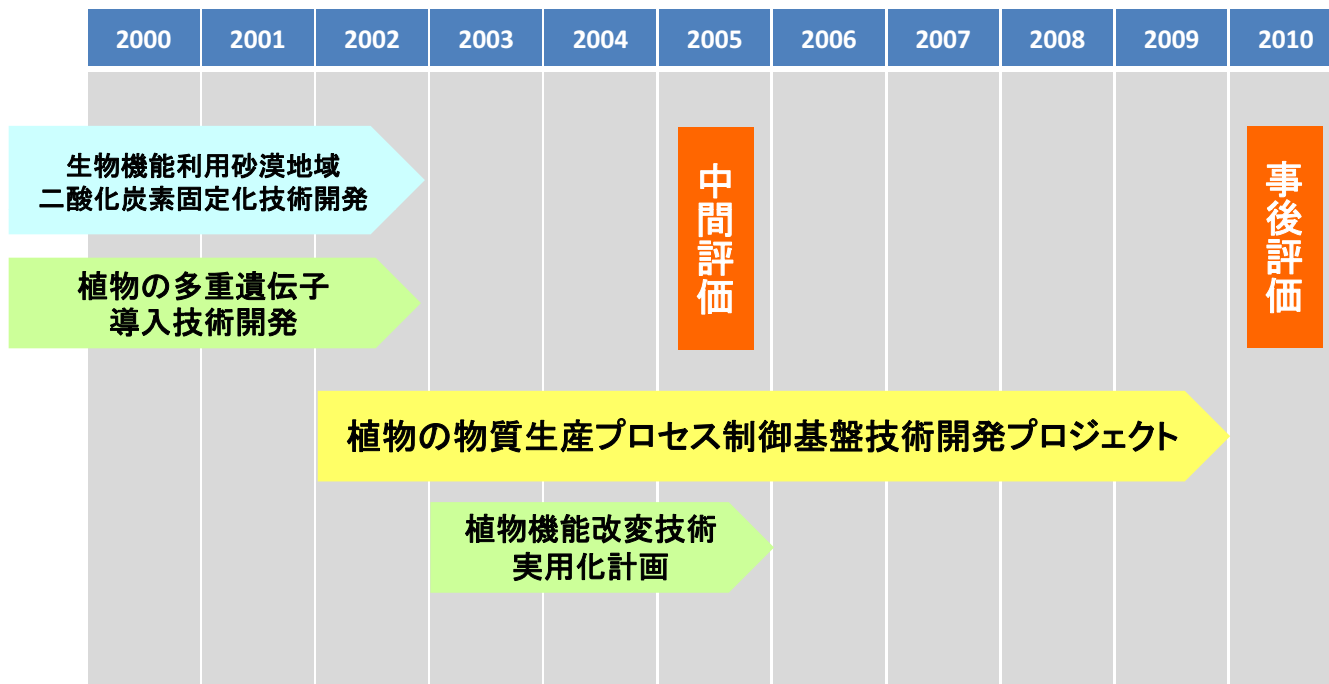
実用植物を用いた物質生産制御技術の開発では、cDNAの整備を進め、モデル植物で得られる知見を活用しながら、特定の目的物質生産系の生成物や経路、関与する酵素や遺伝子、これらを調節する機能の解析を行い、主要遺伝子を見極める。

## 研究開発目標と根拠

研究開発項目 (個別テーマ)	研究開発目標	根拠
①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析	モデル植物と特定の実用植物を用い、 <b>物質生産系を解析</b> し(cDNA取得・解析、物質生産経路・機能解析、物質生産系における調節遺伝子等の機能解析)、作成した <b>統合データベースを活用</b> して、目的とする工業原料を、適当な部位・時期に、適当な量を効率的に生産させる <b>技術基盤を構築</b> する。	実用植物に目的とする物質を効率的に生産させるためには、実用植物が有する代謝経路を解明した上で、制御することが必要である。 <b>実用植物における代謝経路や関連する遺伝子の情報は乏しく、あっても断片的であるため、ゲノム情報の蓄積が進み、実験系なども確立されているモデル植物を選定し、モデル植物の代謝経路や関連する遺伝子を解析しデータベース化した上で、実用植物とのゲノム比較等の手法により解析することが最も効率的である。</b> このため、モデル植物のcDNAを取得、解析し、物質生産系の経路を解析するとともに、 <b>代謝に関連する遺伝子や調節遺伝子の機能を解明した上で、統合的なデータベースを構築</b> することが必要である。
②実用植物を用いた物質生産制御技術の開発		実用植物に目的とする物質を効率的に生産させるためには、目的とする物質に関連して実用植物が有する代謝経路を解明した上で、合目的に制御することが必要である。このため、 <b>実用植物のcDNAを取得した上で、モデル植物における解析データを参照しつつ、物質生産系の経路を解明するとともに、生産や調節に関連した遺伝子の機能を解析</b> することが必要である。また、外部遺伝子を導入する場合は、導入する遺伝子の機能を解析した上で、実際に <b>遺伝子改変等を行う</b> ことにより、確認試験を行うことが必要である。



## 研究開発のスケジュール



## 研究項目と主たる実施機関

### ① モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

実施者	研究開発期間	基本計画上における実施項目			
		cDNAの取得及び解析	物質生産系の経路と機能の解析	物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析	統合データベースの作成
かずさDNA研	H14~21	○	○	○	○
味の素	H14~18	—	○	○	○
RITE	H14~21	—	○	○	○
タカラバイオ	H14~17	○	○	○	○
産総研	H14~21	○	○	○	○

### ② 実用植物を用いた植物の物質生産制御技術の開発

実施者	研究開発期間	基本計画上における実施項目				
		cDNAの取得及び解析	物質生産系の経路と機能の解析	物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析	目的物質生産に関する遺伝子等の解析	モデル植物や実用植物を用いた確認試験
日本製紙	H14~21	—	○	○	○	○
王子製紙	H14~21	○	○	○	○	○
日立造船	H14~21	○	○	—	○	○
ブリヂストン	H14~21	○	○	—	○	○
常磐植物化学研	H14~21	○	○	—	○	○
植物工学研究所	H14~16	○	○	—	○	○
海洋バイオ研	H14~21	—	○	—	○	○
キリンHD		—	○	—	○	○
東洋紡	H14~21	—	○	○	○	○
バイオ組合	H14~21	○	○	○	○	○

## 事業の開発予算(実績)

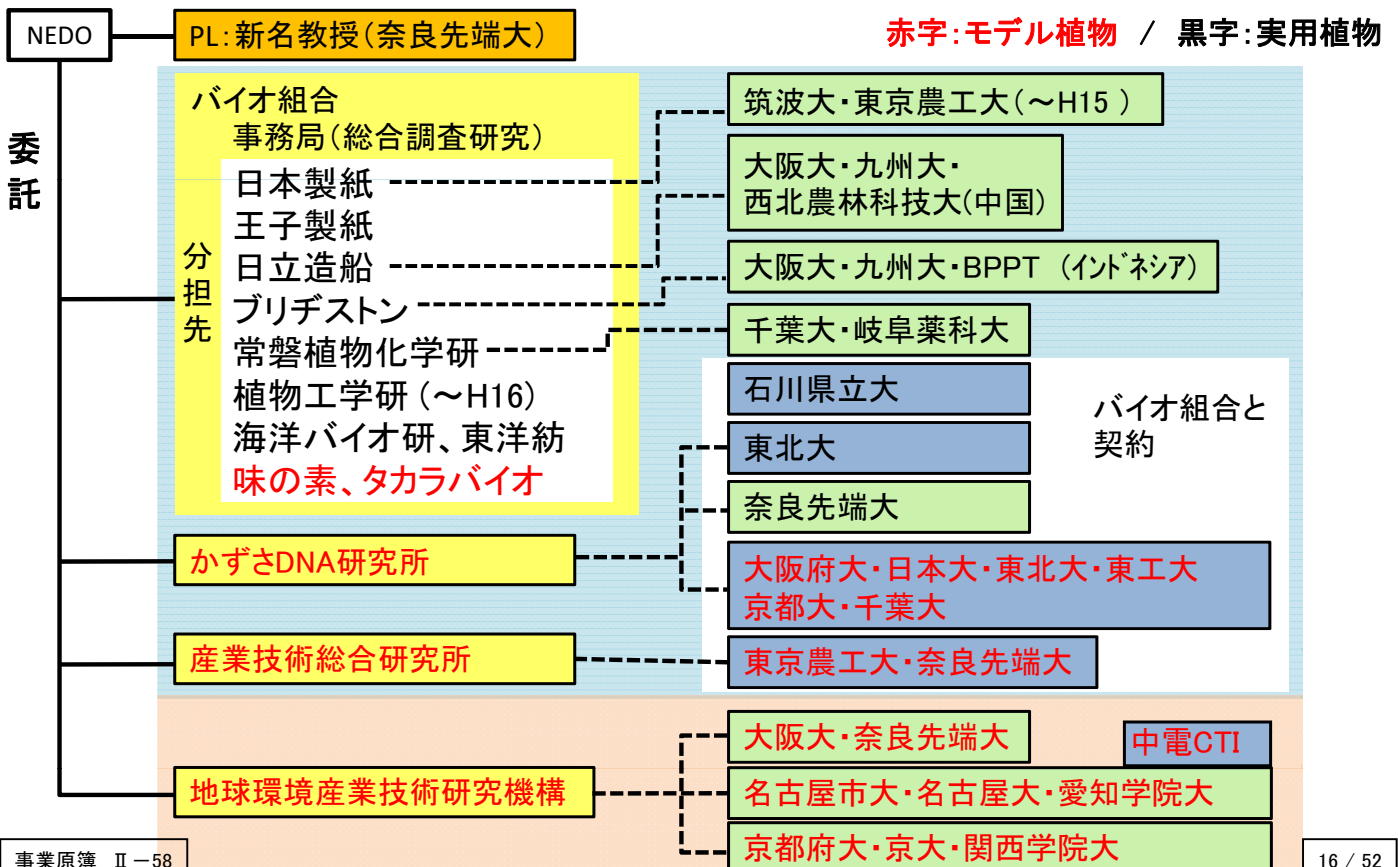
### ①計画内容

主な実施事項	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22
①モデル植物	←			中間評価	→				事後評価
②実用植物	←			中間評価	→				事後評価

### ②開発予算(実績) (単位:百万円)

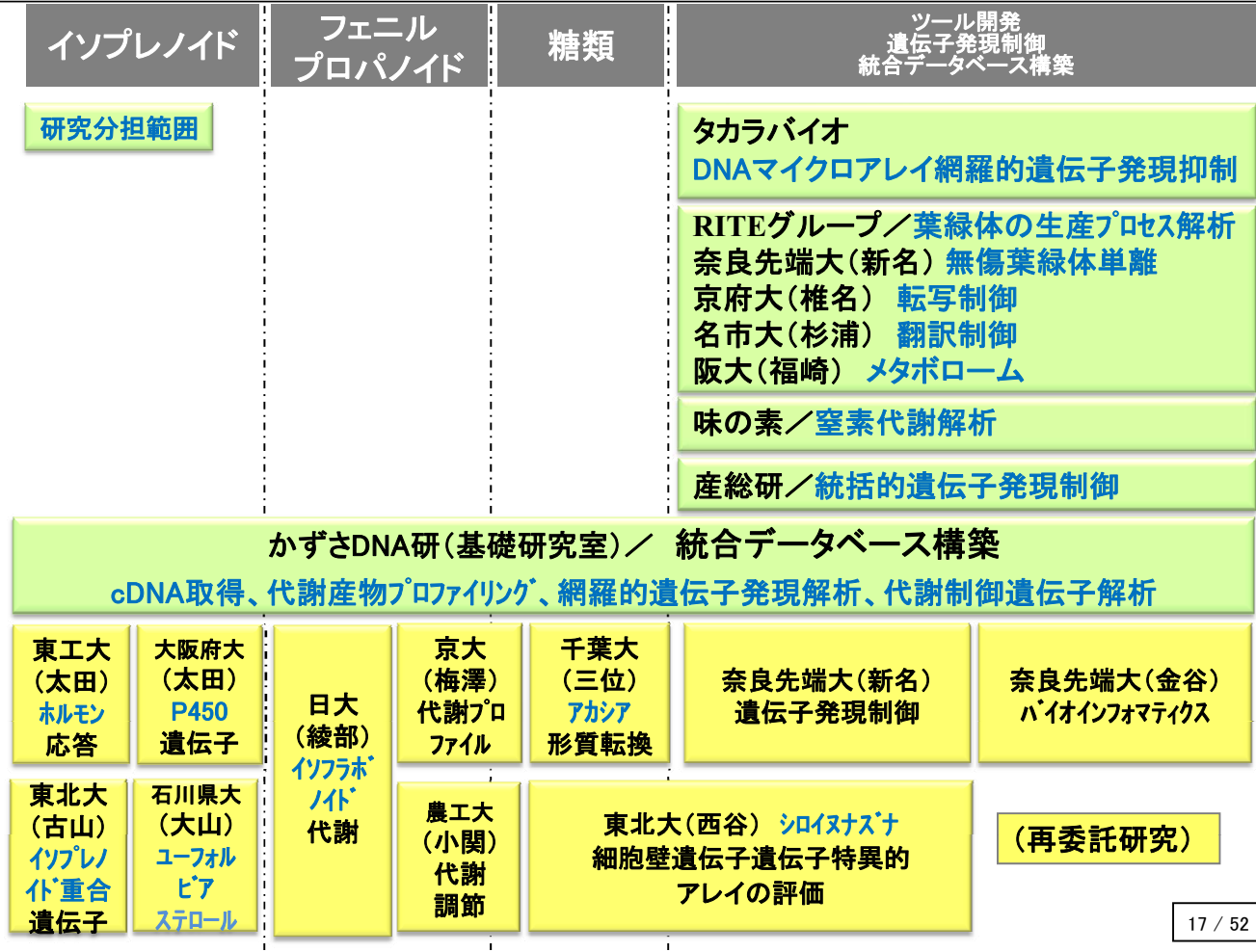
会計・勘定 (単位:百万円)	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	総額
特別会計	880	862	819	980	848	757	627		5,773
一般会計								427	427

## 事業体制



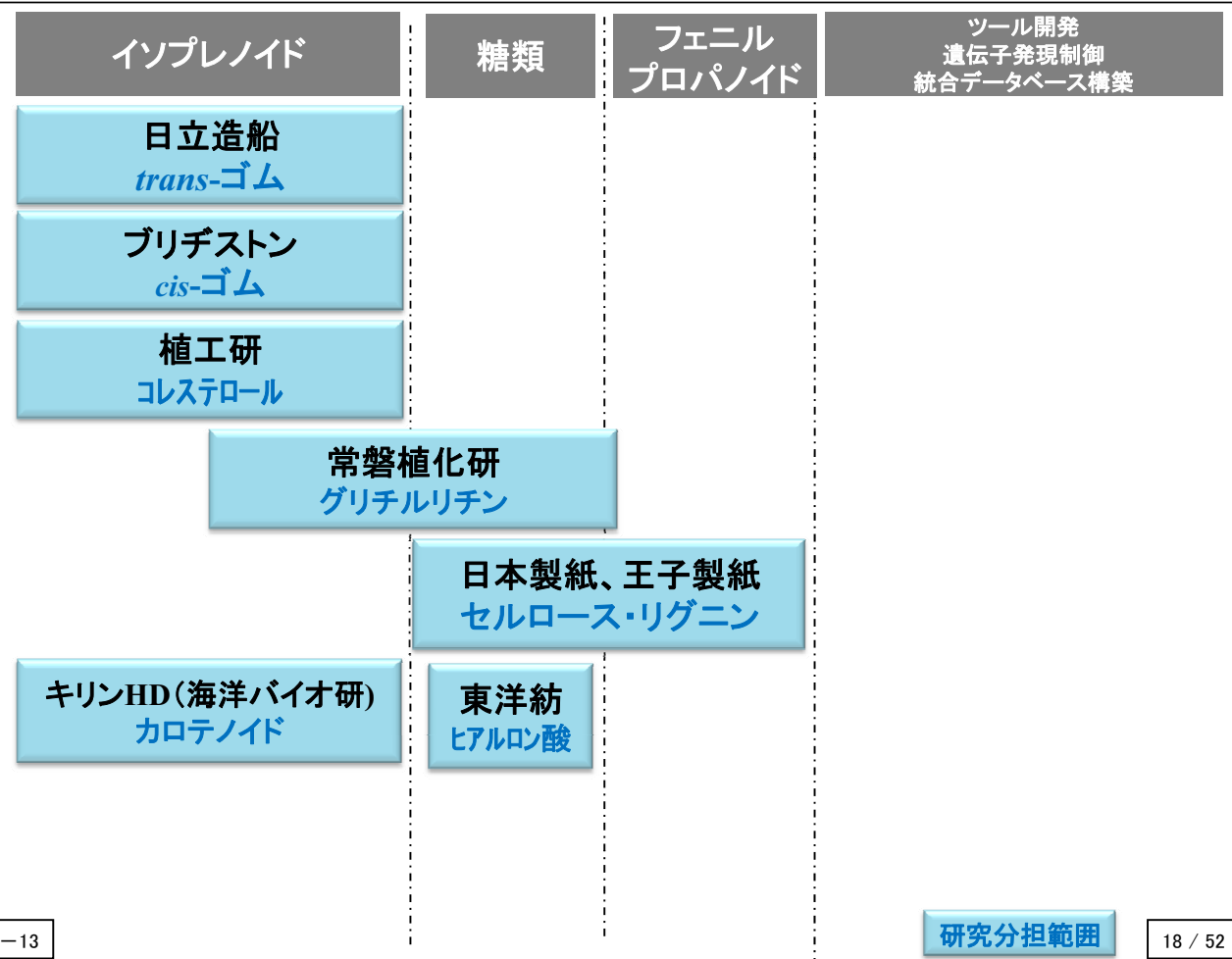
2. 研究開発マネジメントについて (1)NEDOの事業としての妥当性

① モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析



2. 研究開発マネジメントについて (1)NEDOの事業としての妥当性

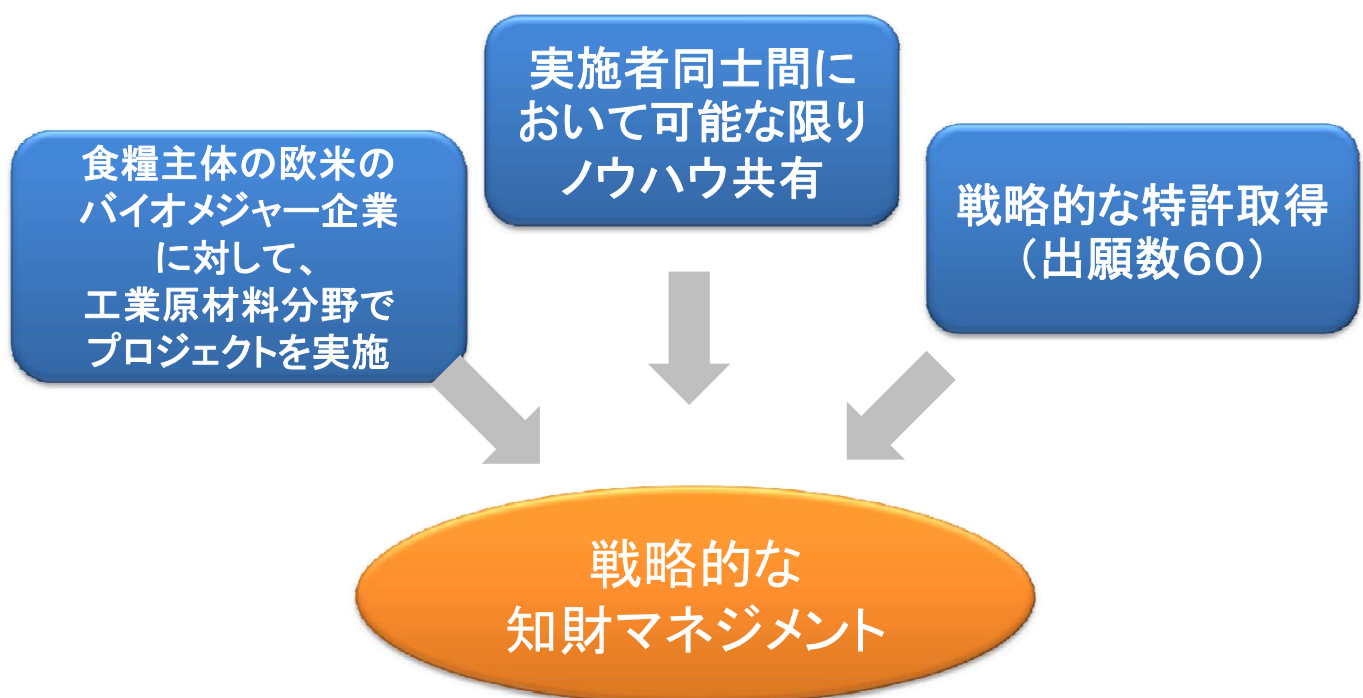
② 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発



## 事業体制の妥当性

- **NEDO**: 公募により、事業化可能な企業を含む研究チームを構成
  - ・代謝に共通する解析はかずさDNA研、産総研他で実施し、かずさDNA研にて統合データベースの構築を行った。これらの知見を活用して、連携しながら実用チームの研究を実施。 **<各機関の強みを活かした体制で推進>**
  - ・物質生産の場である葉緑体の特殊性を考慮して、RITE、名古屋市大、京都府大が共同して研究を実施。
    - <十分な情報交換を行い、重複を避け、効率的な研究を推進>**
- **NEDO**: 全体会議を定期的に行い、全体進捗を管理するとともに、日々の進捗をマネジメントした。
- **PL, SPL**: 全体を統括し、さらに、各企業(海外を含む)の実施場所を訪問して具体的な助言を行った。
- **各チーム**: 実用化シナリオに基づき、企業の特徴を活かし、知財のライセンス取得等を実施した。
- **バイオ組合**: 全実施者を包含する研究開発委員会を運営。また、大部分の実施者について、事務処理を行った。

## 知財マネジメント



## 情報変化等への対応

情 勢	対 応
急速な分析機器の進歩とカルタヘナ法への対応が迫られた。	(加速財源により、)分析機器の購入、GM植物栽培のための施設整備を行った。
キメラリプレッサーを用いた遺伝子発現制御技術が基礎研究段階から実用段階に適用可能になった。	産業技術総合研究所においてキメラリプレッサー技術を用いた植物物質生産に関与する転写因子の機能解析を開始した。
植物工学研究所が閉鎖、さらに、その一部を取り込んだ海洋バイオ研究所も閉鎖。	キリンホールディングスが継承した。

## 加速財源投入実績(新規技術)

- ・ 16年度、産総研で新規に開発されたキメラリプレッサーを用いた遺伝子発現制御技術を利用した植物物質生産に関与する転写因子の機能解明を開始した。
- ・ 19年度、王子製紙にユーカリマイクロRNAアレイによる新規な遺伝子発現プロファイル解析技術を導入した。
- ・ 20年度、産総研にヒアルロン酸分析システム他を導入、キメラリプレッサーによるヒアルロン酸生合成制御機能解析を促進した。

## 加速財源投入実績(分析機器整備)

- ・ 15年度、かずさDNA研に遺伝子発現機能解析装置を導入して、遺伝子機能解明の研究促進を図った。
- ・ 17年度、かずさDNA研に精密質量測定用質量分析装置(UPLC-Q-TOF-MS)を導入し、微量な二次代謝産物のハイスループットな検出を行った。その結果、テルペノイド化合物、カロテノイド化合物の同定が進んだ。
- ・ 17年度、常磐植物・ブリヂストンにカスタムアレイ、ブリヂストンにアレイスキャナーを導入し、実用植物の遺伝子解析を促進した。

## 加速財源投入実績(分析機器整備)

- ・ 18年度、かずさDNA研にUPLC用PDA(フォートダイオードアレイ)を導入し、代謝物同定をさらに進めた。
- ・ 19年度、日立造船にリアルスペクトル顕微鏡を導入、ゴムの生産機構解析を促進した。
- ・ 19年度、かずさDNA研に光散乱分子量測定器を導入し、遺伝子組換えにより合成されたヒアルロン酸の評価を行い、研究を促進した。

## 加速財源投入実績(カルタヘナ法対応設備の整備)

- ・ 17年度、筑波大に樹木用特定網室を導入し、カルタヘナ法対応研究を促進した。
- ・ 18年度、筑波大に隔離ほ場を設置し、カルタヘナ法に対応すべく野外栽培研究を促進した。
- ・ 20年度、石川県立大に特定網室等を導入し、カルタヘナ法対応研究を促進した。

↑  
10m  
↓



## 中間評価結果への対応(1)

→「概ね現行通り実施して良い。」との評価

下記は、主な指摘事項に対する対応

指摘	対応
目玉となる成果を早く提出できるように重点的なサポート	モデル植物グループの迅速な代謝産物解析及び実用植物グループの遺伝子発現解析に加速財源を投入した。 産総研の保有する独自技術であるCRES-T 法による技術開発を追加し、鍵遺伝子の制御に関する研究を行った。
物質生産の効率に希望が持てない課題があれば今後の資金投入を避けるべき	実用化を念頭に置いて、課題抽出及び達成の可能性をH17年度中に見極めた。 さらに国際的な重要性を評価し、H18年度以降、メリハリのある資金配分を実施した。
エネルギー需給の情勢も踏まえて、実用植物を用いた物質生産技術の開発を重点化	燃料及び工業原料として重要であり、省エネルギー、省資源となる実用植物についてトチュウやパラゴムノキでのゴム生産の開発を加速した。
国のリーダーシップのもと、国内各地の実証研究設備拡充や安全性を考慮した新たな実証プロジェクトの立案	加速財源により筑波大に特定網室、及び隔離ほ場を、石川県立大に特定網室を設置。経済産業省のプロジェクトとして、閉鎖型人工環境制御下での高付加価値物質生産を目的とした「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発」プロジェクトを立ち上げた。

## 中間評価結果への対応(2)

指摘	対応
安全性に関する啓発活動、技術的裏付けについても、専門家の観点から意識してさらに積極的に取り組む	パブリックアクセプタンスを目的とする活動を継続的に実施した。安全性に関する実験的証明とマスコミの活用を含めた広報活動(市民講座、国際ワークショップ)を実施した。本プロジェクトの成果、遺伝子組換え植物による植物育種の重要性と必要性についても広報を行った。
少量で付加価値の高い物質に関し、現行の製造プロセスに比べて、省エネルギー等、環境負荷軽減がもたらされる等の、ダウンストリーム全体を見た優位性を考慮すべき	少量で付加価値の高い物質について、製品化迄の全工程を考慮し、現行の製造プロセスと比較して省エネルギー、環境負荷軽減等優位性の有無をH17年度中に明確にし、H18年度以降にメリハリをつけた資金配分を行った。
省庁の壁を越え協力し、重複することなく協調して最大限の成果をあげる努力が重要	理研、及び農林水産省研究機関との間で共通の連携可能な課題に関して協調的に研究を実施した。
共同研究先・再委託先の研究を必要があれば取捨選択して統合し、事業目標に沿った研究として成果が得られるようにすべき	プロジェクト目標との整合性をH17年度中に、共同研究先・再委託先毎に評価し、H18年度以降の実施計画でテーマを取捨選択した。

## 研究開発委員会および分科会の開催

- ・ 全受託者及び外部学識経験者からなる研究開発委員会を設置・開催した。
- ・ 関連の深い課題を実施する受託者及び外部学識経験者による分科会を催し、効率的な情報交換を行った。

	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
研究開発委員会	2回	1回	1回	0回*	2回	3回	2回	2回
分科会	2回	3回	3回	5回	3回	2回	2回	2回

\* : 平成17年度は中間評価対応で全て分科会として詳細検討を実施した。



## 個別研究開発項目の目標と達成状況(1)

	研究開発項目	目標	成果	達成度	今後の課題
1)	cDNAの取得及び解析	cDNAクローンの整備及びデータベースの構築	モデル植物ミヤコグサでcDNAが取得され、部分塩基配列(EST)が解読され、代謝関連遺伝子に関しては完全長cDNAが解読された	◎	次世代シーケンサーによる実用植物のゲノム解読及びcDNAクローン取得
2)	物質生産系の経路と機能の解析	物質生産経路の解析及びそれに関与する酵素の特定等	モデル植物を中心とした遺伝子発現解析、メタボローム解析により代謝解析が進んだ	◎	次世代シーケンサーによる遺伝子発現解析技術、メタボロームの同定技術の発展が必要
3)	物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析	調節遺伝子及び転写因子の塩基配列と機能解析	代謝に関わる調節遺伝子の解析が進み、遺伝子過剰発現系統、抑制系統の整備が進んだ	◎	特定の調節遺伝子の解析が進んだが、全体像を明らかにするにはさらなる研究が必要
4)	統合データベースの作成	植物の物質の生産系に関する統合データベースを作成する	植物の代謝に関する世界最大級の統合データベースが構築された	◎	さらなる情報の集積と維持管理が必要である

## 個別研究開発項目の目標と達成状況(2)

	研究開発項目	目標	成果	達成度	今後の課題
1)	cDNAの取得及び解析	cDNAクローンの整備及びデータベースの構築	アカシア、ユーカリ、カンゾウ、トチュウ、パラゴムノキでのcDNAの取得と部分塩基配列解析が進んだ	◎	次世代シーケンサーによる網羅的なcDNA解析が必要
2)	物質生産系の経路と機能の解析	物質生産経路の解析及びそれに関与する酵素の特定等	実用植物での代謝経路の解析が進み、目的とする酵素が特定できた場合もあった	◎	次世代シーケンサーによる遺伝子発現解析、メタボロームの同定が必要
3)	物質生産系における調節遺伝子等の機能の解析	調節遺伝子及び転写因子の塩基配列と機能解析	ユーカリにおける転写調節遺伝子の解析が進んだ	◎	多くの実用植物では転写調節遺伝子の解析が必要
4)	目的物質生産に関する遺伝子等の解析	組換えによる宿主への導入や実用化に必要な知見を得るための遺伝子の解析	それぞれの実用研究チームが対象とする遺伝子に関する解析が進んだ	◎	統合データベースのさらなる活用による解析が必要
5)	モデル植物や実用植物を用いた確認試験	モデル植物や実用植物の遺伝子改変を行い、確認	対象とする実用植物での遺伝子導入技術が開発され、遺伝子導入効果が確認できた	◎	遺伝子導入の効率の改善が必要

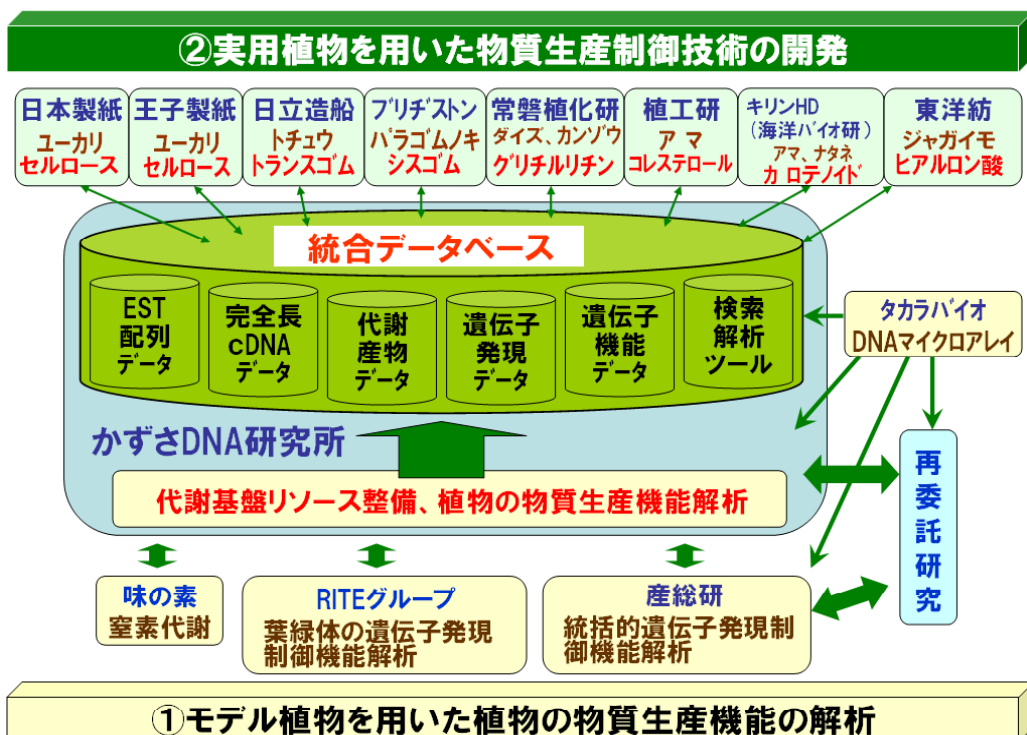
## 各個別テーマの成果

### ①モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析

- ① 物質生産プロセス基盤リソースの整備と植物の生産機能の解析 (かずさDNA研)
- ② 窒素化合物の物質生産プロセスの解析 (味の素)
- ③ 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術 (RITE)
- ④ 遺伝子特異的cDNAマイクロアレイの開発および  
遺伝子発現制御技術の開発とデータベース化 (タカラバイオ)
- ⑤ 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析 (産総研)

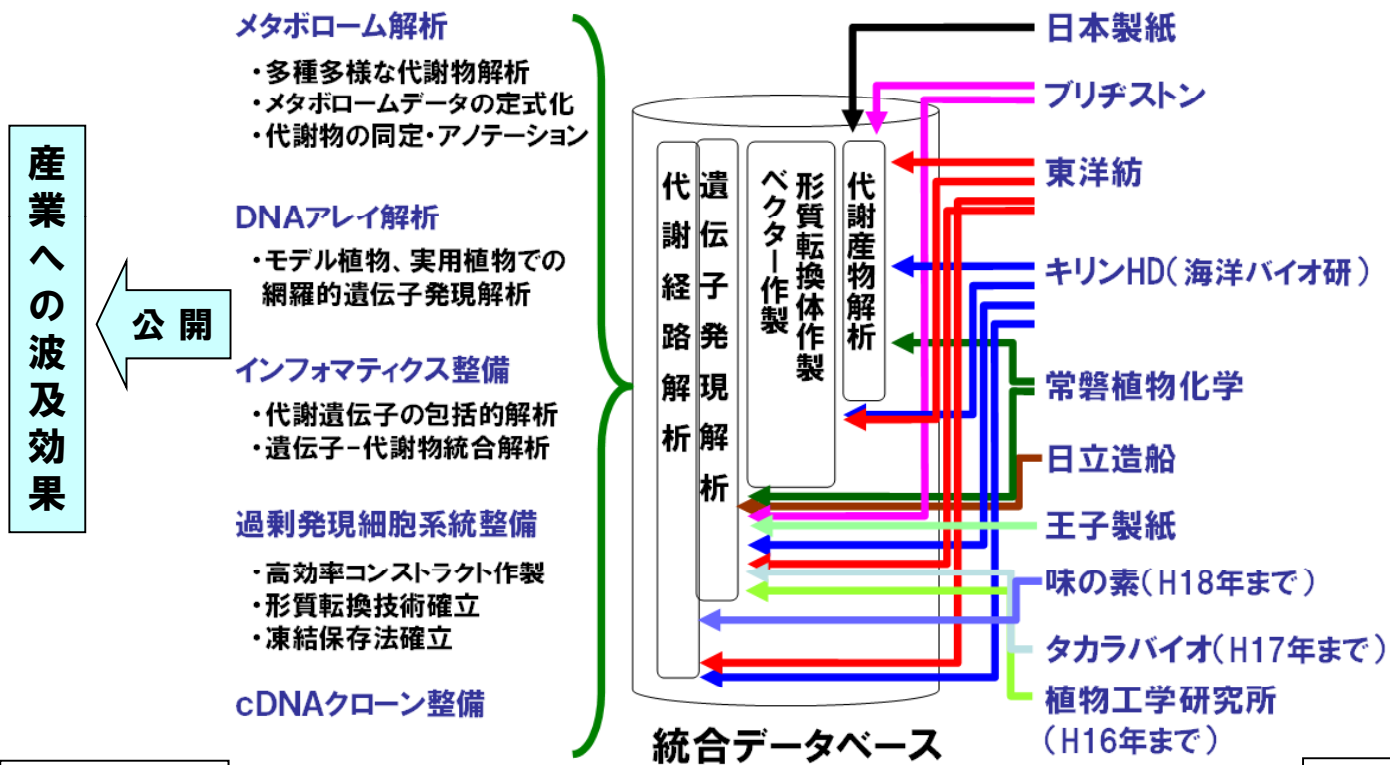
## モデル植物を用いた代謝基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析

### 統合データベースの構築によるプロジェクト推進に貢献

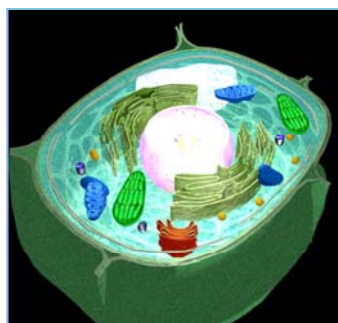


モデル植物を用いた代謝基盤リソースの整備と植物の物質生産機能の解析

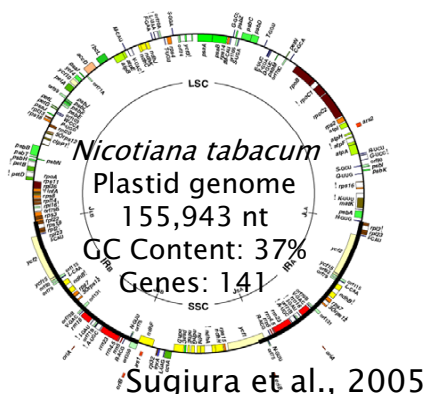
実用研究グループとの連携による研究開発の促進



葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発



- ・ 導入遺伝子の高発現が可能(核遺伝子組換えの20-30倍)
- ・ ジーンターゲティング(特定遺伝子の破壊、高発現)
- ・ 母性遺伝である(花粉による拡散がほとんどない)
- ・ ジーン・サイレンシングが無い



研究課題: 物質生産のための

- 葉緑体遺伝子発現の転写過程での制御
- 葉緑体遺伝子発現の翻訳過程での制御
- 基幹代謝系のプロテオミクス
- 基幹代謝系のメタボロミクス

# 葉緑体における物質生産プロセスの解析および制御基盤技術開発

## 成果の例 組織特異的な葉緑体プロモーターの同定(タバコ)

A. 葉での高発現	▷ <i>psbA, psaA</i>	根での特異的発現	▷ <i>accD</i>
B. 生殖細胞(葯、胚珠)	▷ <i>accD, clpP</i>		
C. 登熟最初期/終期	> <i>rpoB, rpoA</i>	登熟初期/中期	▷ <i>accD</i>

翻訳効率の異なる種々の5'-非翻訳領域(5'-UTR)の取得

既存分析法では難しかった糖リン酸化合物の高感度一斉検出系を確立  
CO<sub>2</sub>固定経路の主要化合物をほぼ全て分析

生葉におけるCO<sub>2</sub>固定、炭素代謝の速度を分単位で解析する技術を開発

**超微量高精度定量解析システムの開発**  
ホルモンの内生レベルが10<sup>-9</sup>~10<sup>-6</sup> M程度。高感度の分析手法はELISAが主流。しかし、類縁体による交差反応が問題。低拡散型ナノLCシステムとイオントラップ型質量分析を組み合わせ、安定同位体希釈により達成した。

# 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析

## (1) 転写因子遺伝子の過剰発現

ERF、DOF、BZF、MYBLを中心に分子系統解析等により対象遺伝子を選定  
→ 過剰発現シロイヌナズナT87培養細胞および植物体を作製して解析  
→ 渇水耐性・バイオマス生産、収穫後鮮度維持などに有用な遺伝子を取得

## 転写因子の過剰発現による栄養成長期の増大及び渇水耐性の向上



・栄養成長期の増大  
・渇水耐性の向上  
・灌漑水利用効率の向上

有用物質・バイオマス生産量の増大  
灌漑水消費・コストの低減  
渇水・旱魃による被害の低減

## 植物の統括的な遺伝子発現制御機能の解析

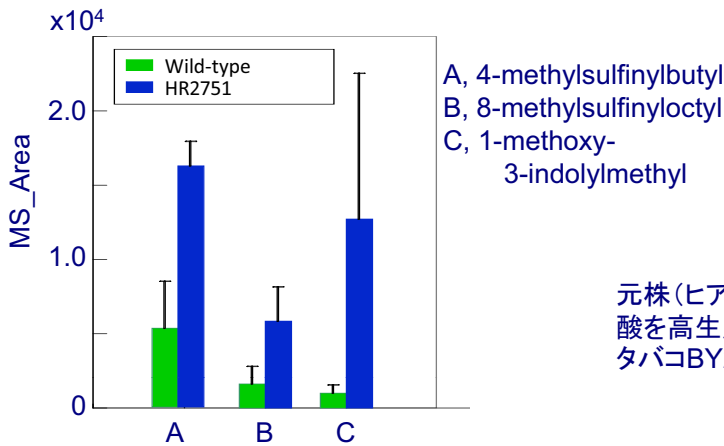
### (2) 転写因子のターゲット遺伝子群の発現抑制

種々の代謝遺伝子と発現パターンが類似する転写因子の遺伝子に着目

→ 転写因子をキメラリプレッサー化した遺伝子を導入し、ターゲット遺伝子群の発現を統括的に抑制

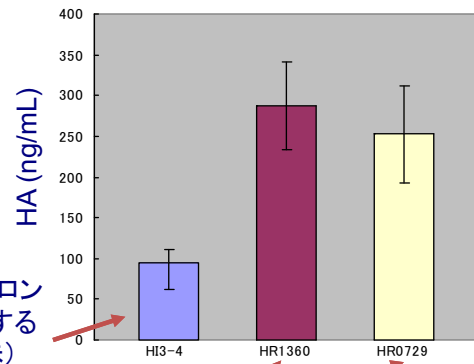
→ グルコシノレート、脂質、リグニン、ヒアルロン酸量などを向上、変化させる転写因子遺伝子の単離に成功

#### グルコシノレート生産量の増加



事業原簿 Ⅲ-63~65, 75, 76

#### ヒアルロン酸生産性の促進



元株(ヒアルロン酸を高生産するタバコBY2株)

ヒアルロン酸生成量が増加した2種類のキメラリプレッサー導入株

37 / 52

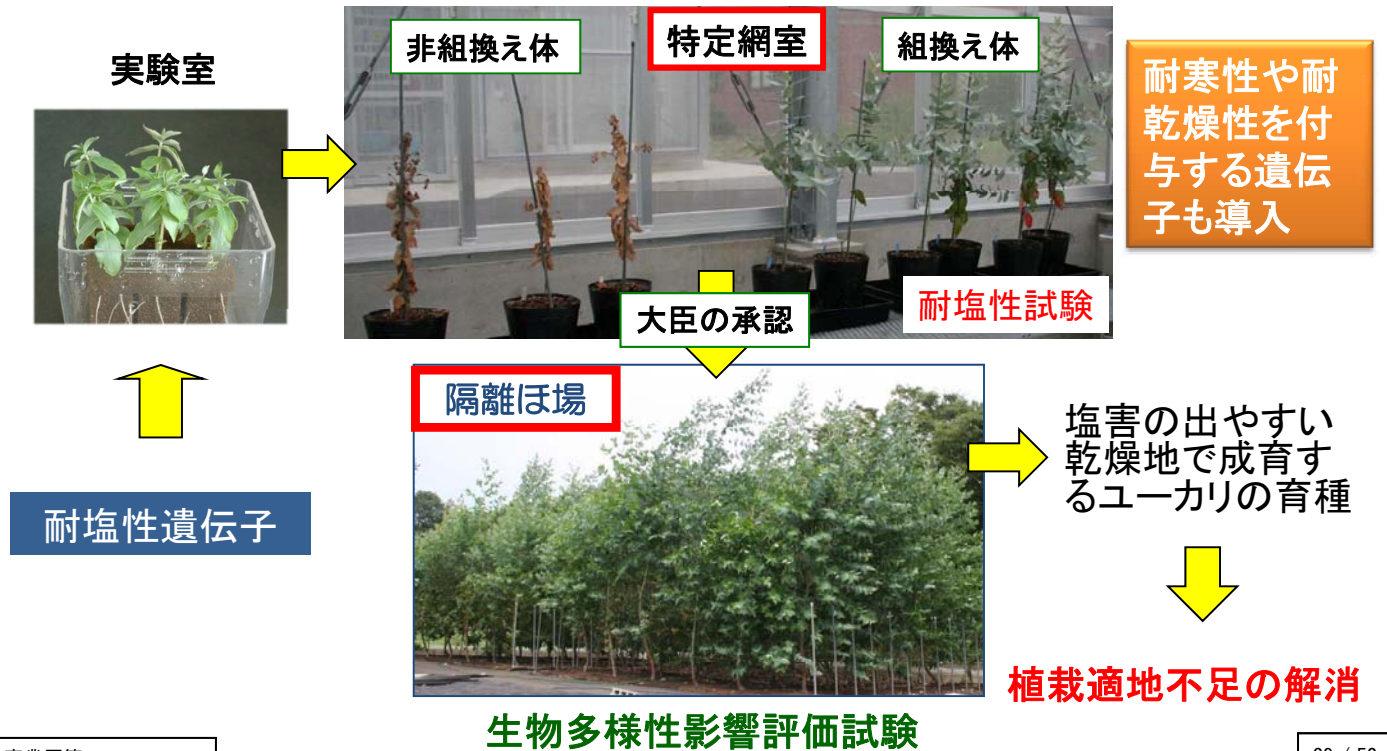
## 各個別テーマの成果

### ② 実用植物を用いた物質生産制御技術の開発

- ① 環境ストレス耐性ユーカリの作出と安全性評価 (日本製紙)
- ② パルプ原料のユーカリ繊維の改質と増産 (王子製紙)
- ③ トチュウゴムの生産制御 (日立造船)
- ④ パラゴムの生産制御 (ブリヂストン)
- ⑤ カンゾウのグリチルリチンの増産 (常磐植物化学研)
- ⑥ カロテノイド生産制御技術 (海洋バイオ研・キリンHD)
- ⑦ 植物によるヒアルロン酸の生産 (東洋紡)

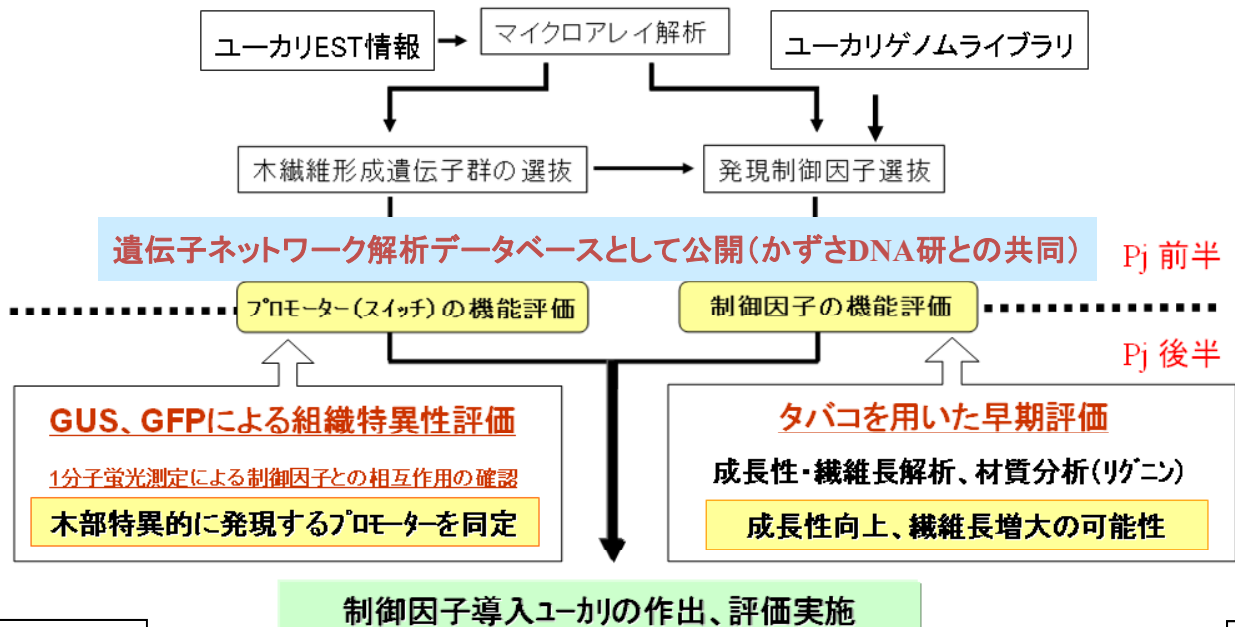
# 高バイオマス生産性樹木の開発と遺伝子発現制御システムの最適化

## 耐塩性組換えユーカリの作出に成功

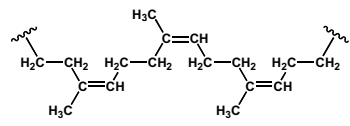
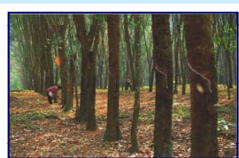






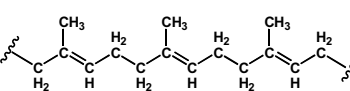

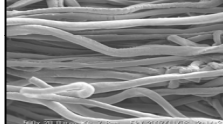



# 循環型工業原料木質バイオマス統括的生産制御技術の研究開発

**転写因子遺伝子: EcHB1を導入することにより、成長性、バイオマス特性(繊維長、セルロース含量)に優れたユーカリの開発に成功**



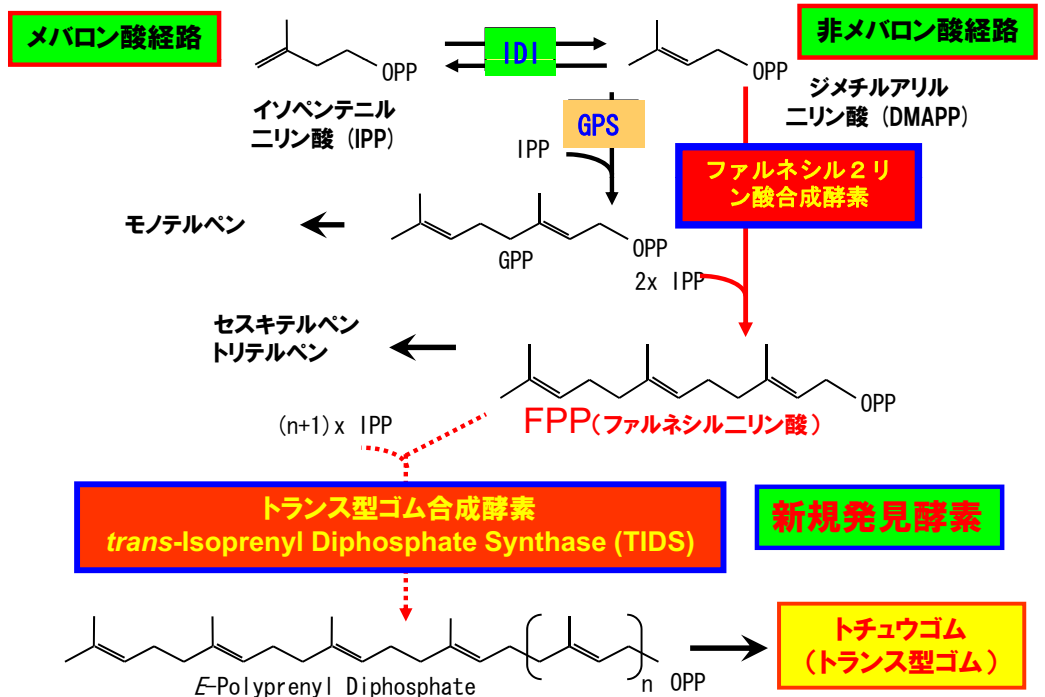
# 植物の産出する天然ゴム

分子構造	植物種	形状	生産量	製品
<p><b>シス型</b> <i>cis</i>-polyisoprene</p>  <p><b>パラゴムノキ</b> <i>Hevea brasiliensis</i></p> <p>その他, 2,000 種以上の植物</p>	 	 	1,000万トン	
<p><i>cis</i> 65% <i>trans</i> 35%</p> <p><b>サボジラ</b> <i>Achras sapota</i></p>		 		
<p><b>トランス型</b> <i>trans</i>-polyisoprene</p>  <p><b>トチュウ</b> <i>Eucommia ulmoides</i></p>	 		1,000トン (目標)	

## トチュウのトランス型ゴム生産制御技術の開発



樹皮



トチュウ培養根へのTIDS遺伝子導入により  
ゴム成分を6倍に増加させることに成功

トチュウのゴム成分は石油代替資源としての活用も可能

## パラゴムノキのゴム生産制御技術開発

## ゴム合成の鍵遺伝子や抗酸化成分遺伝子の単離に成功

学名: *Hevea brasiliensis*

ブラジル原産の熱帯木本植物

天然ゴムの年間生産量: 1,000万ト

(90%はタイヤ用途)

天然ゴムの特徴: 高強度、耐磨耗性、

接着性→複合材料、リサイクル容易性

**目的** 組織培養・形質転換技術開発、ラテックス生合成メカニズム解析、  
遺伝子発現・機能解析、形質転換体作出と機能解析

## 成果概要

① 代謝物・遺伝子・プロテオーム解析、組織観察技術の開発および遺伝子情報  
構築 → 特許化

② 天然ゴム、ビタミンE生合成鍵遺伝子の抽出 → 特許化

③ 再分化系の確立、形質転換カルス取得

形質転換体作出検討中

事業原簿 Ⅲ  
-119~132

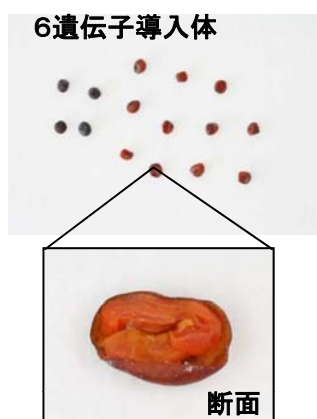
43 / 52

## カロテノイド生産制御技術の開発

## 世界で最高水準のカロテノイド生産に成功

アスタキサンチン(タイ、サケ、カニの赤色色素、強力な抗過酸化素材、健康食品素材)、  
 $\beta$ -クリプトキサンチン(ウンシュウミカンの黄色色素、光機能性分子、健康食品素材)を  
アマまたは ナタネの種子に多量生産させるための制御技術の開発。

## &lt;成果概要&gt;



種子の総カロテノイド含量  
は1.3~1.4mg/g 湿重量。  
野生型ナタネの 35~40倍  
になり、目標の1mg/g 湿  
重量以上を達成。



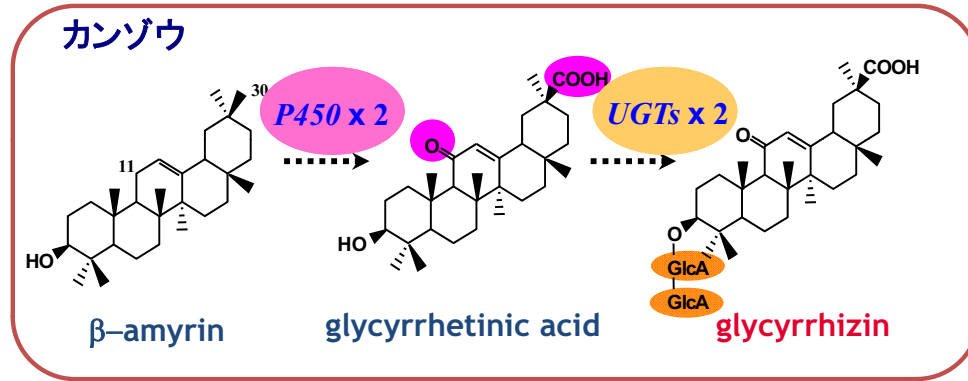
海洋性細菌の *crtZ*, *crtW* を  
葉緑体ゲノムに導入  
アスタキサンチン(5.13 mg/g-DW)を  
蓄積(世界記録)  
(RITEグループ)



## 生理活性物質等の有用物質生産制御技術の開発

### ダイズでのカンゾウ成分生産に成功

グリチルレチン酸までの生合成遺伝子を取得



カンゾウ  
(*Glycyrrhiza* spp.)



グリチルリチンの用途  
(医薬品・化粧品・食品)

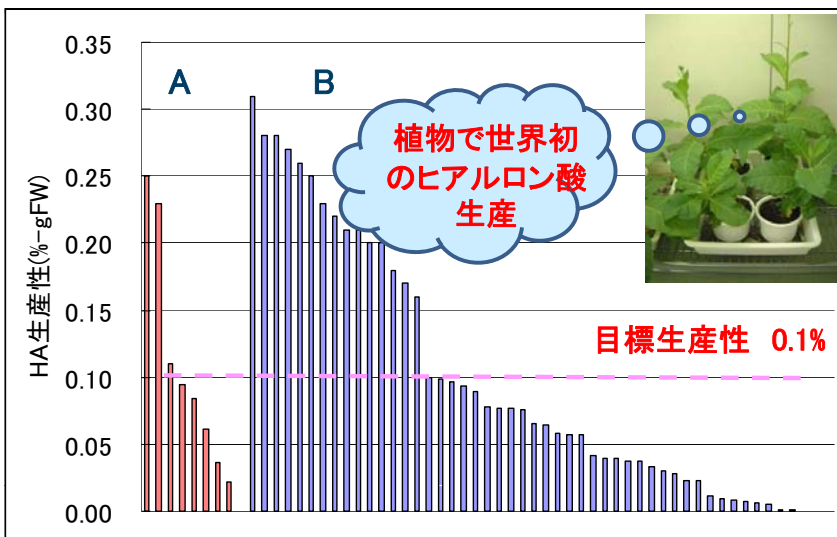
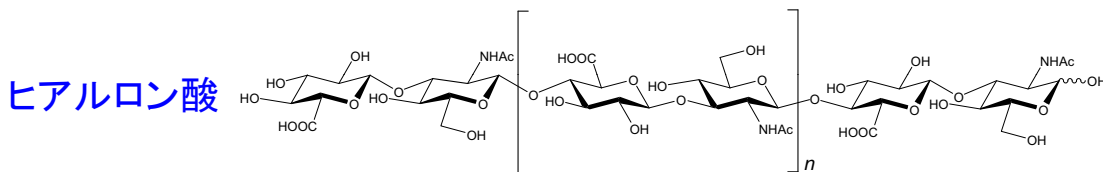
↓  
ダイズに導入



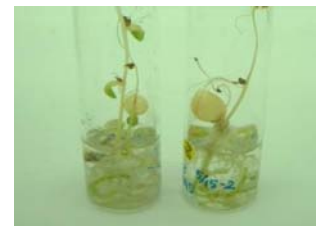
安定供給へ貢献

## 外来糖質生産植物の研究開発

タバコにヒアルロン酸合成酵素遺伝子に加え、前駆体のUDP-D-GlcA  
およびUDP-D-GlcNAc供給の鍵遺伝子導入により画期的増産に成功



ジャガイモによる  
ヒアルロン酸の生産



将来:ヒアルロン酸のコスト  
は大幅に低下

## 知的財産権、成果の普及

単位:件

	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	計
特許出願 (成立特許)	1	3	11 (1)	15	12 (2)	6	6	4	2	60 (3)
論文	17	28	39	48	51	50	60	64	22	379
学会等発表	37	103	115	150	91	106	118	62	0	782
シンポジウム 講演会発表	4	22	31	26	40	30	58	48	1	260
新聞報道等	0	1	2	0	2	6	8	11	0	30

平成22年度6月17日現在

## 広報活動

## &lt;主なプロジェクト主催シンポジウム等&gt;

平成16年10月 市民講座「植物がつくる21世紀の豊かな社会」  
(東京・大阪)

平成18年 9月 国際ワークショップ  
「工業原料生産のための植物バイオテクノロジー」(大阪)

平成18年 7月 新潮選書「植物力～人類を救うバイオテクノロジー」  
新名 惇彦(新潮社)

平成21年 3月 2009 年度日本農芸化学会大会シンポジウム  
「遺伝子組換え技術を駆使した植物による有用物質生産の  
体系化」(福岡)

(他8件)

## モデル植物における知的基盤構築の可能性と課題

ポストゲノム時代に対応し、物質生産プロセス制御の基盤技術開発の情報基盤、技術基盤となる知見を得た。

統合データベースの構築と公開により、植物科学の更なる進歩が見込まれるとともに、医薬品開発、食品開発、作物栽培技術への応用展開が期待される。

→ データベースの維持管理

企業等との共同研究や技術供与により実用植物への適用性の検証、利用技術の開発等を推進することで、実用化の加速が見込まれる。

葉緑体工学による効率的物質生産への展開が見込まれる。

→ 企業における植物バイオ事業の推進

## 実用植物における実用化の可能性と課題

本プロジェクトにおける実用化とは、

### 植物による工業原料の生産

#### 技術的課題

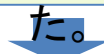
モデル植物で、転写物・代謝産物を網羅的に解析し、論理的に鍵となる代謝反応を突き止め、これを実用植物に応用する体制を取ってきた。



原料の安定供給かつ、持続可能な原料製造が可能となり、さらに、二酸化炭素削減効果が見込める。

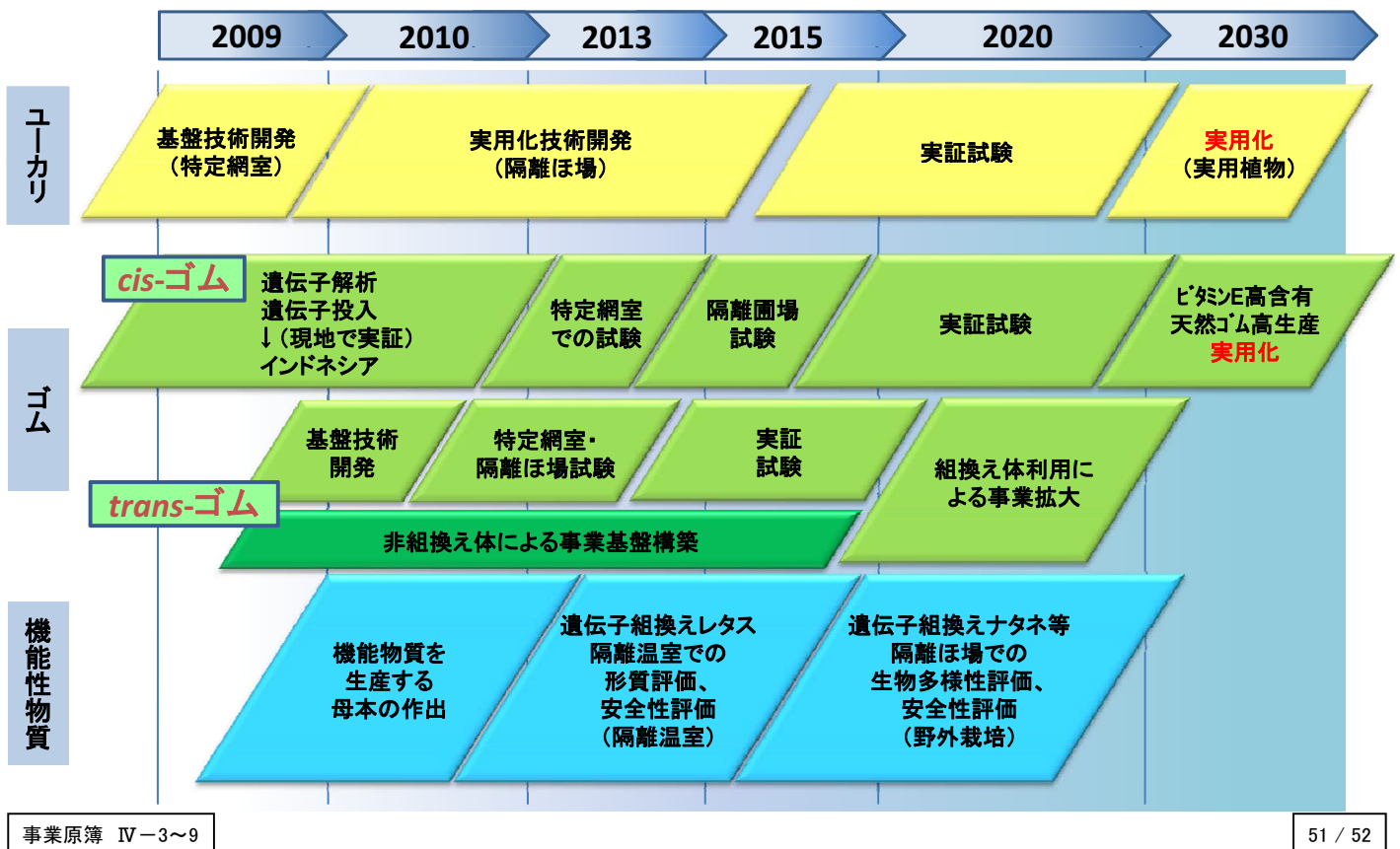
#### 社会的課題

遺伝子組換え植物への社会的受容が不十分であった。



広報・普及活動、環境・安全性試験へ取り組んだ。

## 実用化までのシナリオ



## 波及効果について

### 基本となる要素技術

- i) 改変対象となる物質生産プロセスの解析技術・データベース整備
- ii) 物質生産プロセスを改変するのに必要な多様な遺伝子資源の確保と整備
- iii) 生体内の複数の物質生産ステップを制御するための複数の遺伝子の効率的／安定的導入技術
- iv) それらの遺伝子の機能の発現制御技術

### 技術が波及した場合

バイオマス系化学産業への工業原料／燃料となるバイオマスの供給体制を確立

例) セルロース等製紙原料、植物油脂・糖質を原材料とする燃料・化成品、塗料、化粧品、メバロン酸系の制御による天然ゴム等の生産増大

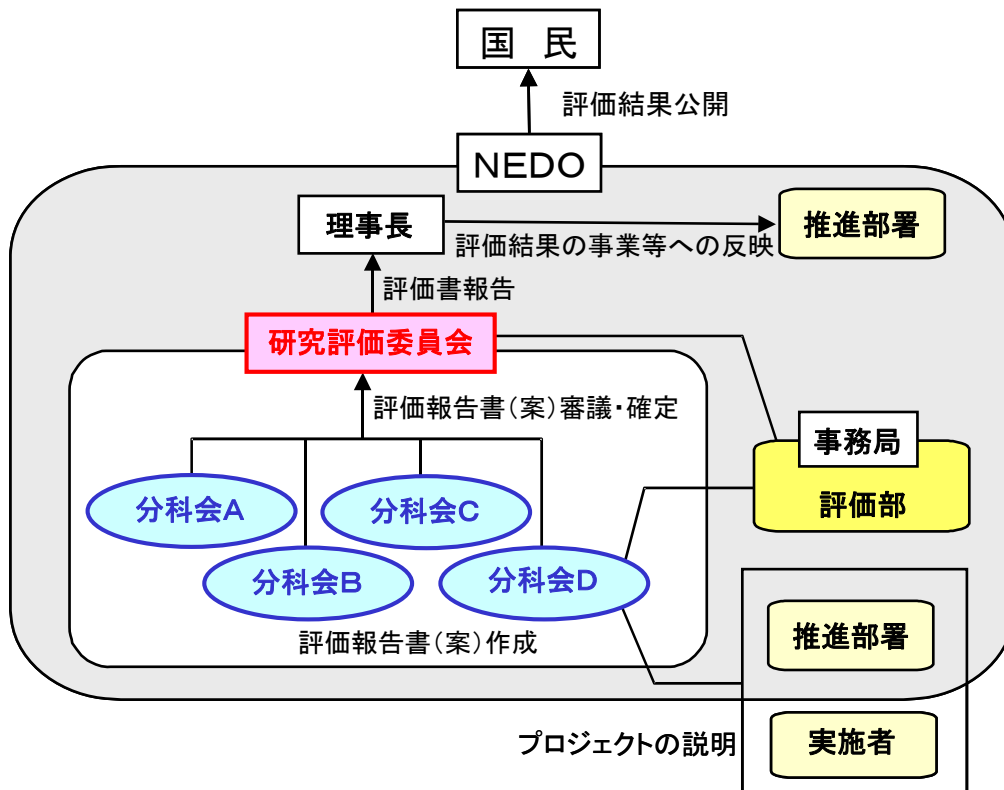
本プロジェクト

## 参考資料 1 評価の実施方法

本評価は、「技術評価実施規程」（平成 15 年 10 月制定）に基づいて研究評価を実施する。

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）における研究評価の手順は、以下のように被評価プロジェクトごとに分科会を設置し、同分科会にて研究評価を行い、評価報告書（案）を策定の上、研究評価委員会において確定している。

- 「NEDO 技術委員・技術委員会等規程」に基づき研究評価委員会を設置
- 研究評価委員会はその下に分科会を設置



## 1. 評価の目的

評価の目的は「技術評価実施規程」において。

- 業務の高度化等の自己改革を促進する
- 社会に対する説明責任を履行するとともに、  
経済・社会ニーズを取り込む
- 評価結果を資源配分に反映させ、資源の重点化及び業務の効率化を  
促進する

としている。

本評価においては、この趣旨を踏まえ、本事業の意義、研究開発目標・計画の妥当性、計画を比較した達成度、成果の意義、成果の実用化の可能性等について検討・評価した。

## 2. 評価者

技術評価実施規程に基づき、事業の目的や態様に即した外部の専門家、有識者からなる委員会方式により評価を行う。分科会委員選定に当たっては以下の事項に配慮して行う。

- 科学技術全般に知見のある専門家、有識者
- 当該研究開発の分野の知見を有する専門家
- 研究開発マネジメントの専門家、経済学、環境問題、国際標準、その他社会的ニーズ関連の専門家、有識者
- 産業界の専門家、有識者
- ジャーナリスト

また、評価に対する中立性確保の観点から事業の推進側関係者を選任対象から除外し、また、事前評価の妥当性を判断するとの側面にかんがみ、事前評価に関与していない者を主体とする。

これらに基づき、分科会委員名簿にある7名を選任した。

なお、本分科会の事務局については、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構評価部が担当した。

## 3. 評価対象

平成14年度に開始された「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」プロジェクトを評価対象とした。

なお、分科会においては、当該事業の推進部署から提出された事業原簿、プ

プロジェクトの内容、成果に関する資料をもって評価した。

#### 4. 評価方法

分科会においては、当該事業の推進部署及び研究実施者からのヒアリングと、それを踏まえた分科会委員による評価コメント作成、評点法による評価及び実施者側等との議論等により評価作業を進めた。

なお、評価の透明性確保の観点から、知的財産保護の上で支障が生じると認められる場合等を除き、原則として分科会は公開とし、研究実施者と意見を交換する形で審議を行うこととした。

#### 5. 評価項目・評価基準

分科会においては、次に掲げる「評価項目・評価基準」で評価を行った。これは、研究評価委員会による『各分科会における評価項目・評価基準は、被評価プロジェクトの性格、中間・事後評価の別等に応じて、各分科会において判断すべき者である。』との考え方に従い、第1回分科会において、事務局が、研究評価委員会により示された「標準的評価項目・評価基準」（参考資料 1-8 頁参照）をもとに改定案を提示し、承認されたものである。

プロジェクト全体に係わる評価においては、主に事業の目的、計画、運営、達成度、成果の意義や実用化への見通し等について評価した。各個別テーマに係る評価については、主にその目標に対する達成度等について評価した。



## 評価項目・評価基準

### 1. 事業の位置付け・必要性について

#### (1) NEDOの事業としての妥当性

- ・ 環境安心イノベーションプログラム・エネルギーイノベーションプログラムの目標達成のために寄与しているか。
- ・ 民間活動のみでは改善できないものであること、又は公共性が高いことにより、NEDOの関与が必要とされる事業か。
- ・ 当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか。

#### (2) 事業目的の妥当性

- ・ 内外の技術開発動向、国際競争力の状況、エネルギー需給動向、市場動向、政策動向、国際貢献の可能性等から見て、事業の目的は妥当か。

### 2. 研究開発マネジメントについて

#### (1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 具体的かつ明確な開発目標を可能な限り定量的に設定しているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断するための適切な指標が設定されているか。

#### (2) 研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマ毎の配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

#### (3) 研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 適切な研究開発チーム構成での実施体制になっているか。
- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 研究管理法人を経由する場合、研究管理法人が真に必要な役割を担っているか。

- ・ 全体を統括するプロジェクトリーダー等が選任され、十分に活躍できる環境が整備されているか。
  - ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携 and/or 競争が十分に行われる体制となっているか。
  - ・ 実用化シナリオに基づき、成果の受け取り手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、関与を求める体制を整えているか。
- (4) 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性
- ・ 成果の実用化につなげる戦略が明確になっているか。
  - ・ 成果の実用化につなげる知財マネジメントの方針が明確に示され、かつ妥当なものか。
- (5) 情勢変化への対応等
- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向に機敏かつ適切に対応しているか。
  - ・ 計画見直しの方針は一貫しているか（中途半端な計画見直しが研究方針の揺らぎとなっていないか）。計画見直しを適切に実施しているか。

### 3. 研究開発成果について

#### (1) 目標の達成度

- ・ 成果は目標値をクリアしているか。
- ・ 全体としての目標達成はどの程度か。
- ・ 目標未達成の場合、目標達成までの課題を把握し、課題解決の方針が明確になっているか。

#### (2) 成果の意義

- ・ 成果は市場の拡大或いは市場の創造につながることで期待できるか。
- ・ 成果は、世界初あるいは世界最高水準か。
- ・ 成果は、新たな技術領域を開拓することが期待できるか。
- ・ 成果は汎用性があるか。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
- ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。

#### (3) 知的財産権等の取得の取組及び標準化の取組

- ・ 知的財産権等の取扱（特許、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、または実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。

#### (4)成果の普及

- ・ 論文の発表は、研究内容を踏まえ適切に行われているか。
- ・ 成果の受取手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

### 4. 実用化の見通しについて

#### (1)成果の実用化可能性

- ・ 実用化イメージ・出口イメージが明確になっているか。
- ・ 実用化イメージ・出口イメージに基づき、開発の各段階でマイルストーンを明確にしているか。それを踏まえ、引き続き研究開発が行われる見通しは立っているか。

#### (2)波及効果

- ・ 成果は関連分野への波及効果（技術的・経済的・社会的）を期待できるものか。
- ・ プロジェクトの実施自体が当該分野の研究開発や人材育成等を促進するなどの波及効果を生じているか。

<以下は、①「モデル植物を用いた植物の物質生産機能の解析」の評価について>

\* 知的基盤・標準整備等の研究開発の場合

### 3. 研究開発成果について

#### (1)目標の達成度

- ・ 成果は目標値をクリアしているか。
- ・ 全体としての目標達成はどの程度か。
- ・ 目標未達成の場合、目標達成までの課題を把握し、課題解決の方針が明確になっているか。

#### (2)成果の意義

- ・ 成果は市場の拡大或いは市場の創造につながることを期待できるか。
- ・ 成果は、世界初あるいは世界最高水準か。
- ・ 成果は、新たな技術領域を開拓することが期待できるか。
- ・ 成果は汎用性があるか。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。

- ・ 成果は公開性が確保されているか。

### (3)知的財産権等の取得の取組及び標準化の取組

- ・ 研究内容に新規性がある場合、知的財産権等の取扱（特許、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、または実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。

### (4)成果の普及

- ・ 論文の発表は、研究内容を踏まえ適切に行われているか。
- ・ 成果の受取手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

## 4. 実用化の見通しについて

### (1)成果の実用化可能性

- ・ 整備した知的基盤についての利用は実際にあるか、その見通しが得られているか。
- ・ 公共財として知的基盤を供給、維持するための体制は整備されているか、その見込みはあるか。
- ・ 一般向け広報は積極的になされているか。

### (2)波及効果

- ・ 成果は関連分野への波及効果（技術的・経済的・社会的）を期待できるものか。
- ・ プロジェクトの実施自体が当該分野の研究開発や人材育成等を促進するなどの波及効果を生じているか。

## 標準的評価項目・評価基準（事後評価）

2010. 3. 26

### 【事後評価 標準的評価項目・評価基準の位置付け（基本的考え方）】

標準的評価項目・評価基準は、第25回研究評価委員会（平成22年3月26日付）において以下のとおり定められている。（本文中の記載例による1…、2…、3…、4…が標準的評価項目、それぞれの項目中の(1)…、(2)…が標準的評価基準、それぞれの基準中の…が視点）

ただし、これらの標準的評価項目・評価基準は、研究開発プロジェクトの事後評価における標準的な評価の視点であり、各分科会における評価項目・評価基準は、被評価プロジェクトの性格等に応じて、各分科会において判断すべきものである。

#### 1. 事業の位置付け・必要性について

##### (1) NEDOの事業としての妥当性

- ・ 特定の施策（プログラム）、制度の下で実施する事業の場合、当該施策・制度の目標達成のために寄与しているか。
- ・ 民間活動のみでは改善できないものであること、又は公共性が高いことにより、NEDOの関与が必要とされる事業か。
- ・ 当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか。

##### (2) 事業目的の妥当性

- ・ 内外の技術開発動向、国際競争力の状況、エネルギー需給動向、市場動向、政策動向、国際貢献の可能性等から見て、事業の目的は妥当か。

#### 2. 研究開発マネジメントについて

##### (1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 具体的かつ明確な開発目標を可能な限り定量的に設定しているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断するための適切な指標が設定されているか。

## (2)研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマ毎の配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

## (3)研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 適切な研究開発チーム構成での実施体制になっているか。
- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 研究管理法をを経由する場合、研究管理法が真に必要な役割を担っているか。
- ・ 全体を統括するプロジェクトリーダー等が選任され、十分に活躍できる環境が整備されているか。
- ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携 and/or 競争が十分に行われる体制となっているか。
- ・ 実用化シナリオに基づき、成果の受け取り手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、関与を求める体制を整えているか。

## (4) 研究開発成果の実用化、事業化に向けたマネジメントの妥当性

- ・ 成果の実用化、事業化につなげる戦略が明確になっているか。
- ・ 成果の実用化、事業化につなげる知財マネジメントの方針が明確に示され、かつ妥当なものか。

## (5)情勢変化への対応等

- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向に機敏かつ適切に対応しているか。
- ・ 計画見直しの方針は一貫しているか（中途半端な計画見直しが研究方針の揺らぎとなっていないか）。計画見直しを適切に実施しているか。

## 3. 研究開発成果について

### (1)目標の達成度

- ・ 成果は目標値をクリアしているか。（※）

（※事後評価前倒し実施の場合は、「成果は目標値をクリアする見込みか。」）

- ・ 全体としての目標達成はどの程度か。
- ・ 目標未達成の場合、目標達成までの課題を把握し、課題解決の方針が明確になっているか。

## (2)成果の意義

- ・ 成果は市場の拡大或いは市場の創造につながる事が期待できるか。
- ・ 成果は、世界初あるいは世界最高水準か。
- ・ 成果は、新たな技術領域を開拓することが期待できるか。
- ・ 成果は汎用性があるか。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
- ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。

## (3)知的財産権等の取得及び標準化の取組

- ・ 知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権や回路配置利用権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、または実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、得られた研究開発の成果に基づく国際標準化に向けた提案等の取組が適切に行われているか。

## (4)成果の普及

- ・ 論文の発表は、研究内容を踏まえ適切に行われているか。
- ・ 成果の受取手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

## 4. 実用化、事業化の見通しについて

### (1)成果の実用化可能性

- ・ 産業技術としての見極め（適用可能性の明確化）ができているか。
- ・ 実用化に向けて課題が明確になっているか。課題解決の方針が明確になっているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。

### (2)事業化までのシナリオ

- ・ NEDO後継プロジェクト、NEDO実用化助成、企業内研究等、プロジェクト終了後の事業化までの道筋は明確か。

- ・ 市場の規模や成長性、コストダウン、競合技術との比較、導入普及、事業化までの期間、事業化とそれに伴う経済効果等の見通しは立っているか。

### (3)波及効果

- ・ 成果は関連分野への波及効果（技術的・経済的・社会的）を期待できるものか。
- ・ プロジェクトの実施自体が当該分野の研究開発や人材育成等を促進するなどの波及効果を生じているか。



※基礎的・基盤的研究及び知的基盤・標準整備等の研究開発の場合は、以下の項目・基準による。

\*基礎的・基盤的研究開発の場合

## 2. 研究開発マネジメントについて

### (1)研究開発目標の妥当性

- ・内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・具体的かつ明確な開発目標を可能な限り定量的に設定しているか。
- ・目標達成度を測定・判断するための適切な指標が設定されているか。

### (2)研究開発計画の妥当性

- ・目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマ毎の配分を含む）となっているか。
- ・目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

### (3)研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・適切な研究開発チーム構成での実施体制になっているか。
- ・真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・研究管理法人を経由する場合、研究管理法人が真に必要な役割を担っているか。
- ・全体を統括するプロジェクトリーダー等が選任され、十分に活躍できる環境が整備されているか。
- ・目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携 and/or 競争が十分に行われる体制となっているか。
- ・実用化シナリオに基づき、成果の受け取り手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、関与を求める体制を整えているか。

### (4) 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性

- ・成果の実用化につなげる戦略が明確になっているか。
- ・成果の実用化につなげる知財マネジメントの方針が明確に示され、かつ妥当なものか。

#### (5)情勢変化への対応等

- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向に機敏かつ適切に対応しているか。
- ・ 計画見直しの方針は一貫しているか（中途半端な計画見直しが研究方針の揺らぎとなっていないか）。計画見直しを適切に実施しているか。

### 3. 研究開発成果について

#### (1)目標の達成度

- ・ 成果は目標値をクリアしているか。（※）  
（※事後評価前倒し実施の場合は、「成果は目標値をクリアする見込みか。」）
- ・ 全体としての目標達成はどの程度か。
- ・ 目標未達成の場合、目標達成までの課題を把握し、課題解決の方針が明確になっているか。

#### (2)成果の意義

- ・ 成果は市場の拡大或いは市場の創造につながる事が期待できるか。
- ・ 成果は、世界初あるいは世界最高水準か。
- ・ 成果は、新たな技術領域を開拓することが期待できるか。
- ・ 成果は汎用性があるか。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
- ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。

#### (3)知的財産権等の取得及び標準化の取組

- ・ 知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権や回路配置利用権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、または実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、得られた研究開発の成果に基づく国際標準化に向けた提案等の取組が適切に行われているか。

#### (4)成果の普及

- ・ 論文の発表は、研究内容を踏まえ適切に行われているか。
- ・ 成果の受取手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

## 4. 実用化の見通しについて

### (1) 成果の実用化可能性

- ・ 実用化イメージ・出口イメージが明確になっているか。
- ・ 実用化イメージ・出口イメージに基づき、開発の各段階でマイルストーンを明確にしているか。それを踏まえ、引き続き研究開発が行われる見通しは立っているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。

### (2) 波及効果

- ・ 成果は関連分野への波及効果（技術的・経済的・社会的）を期待できるものか。
- ・ プロジェクトの実施自体が当該分野の研究開発や人材育成等を促進するなどの波及効果を生じているか。

\* 知的基盤・標準整備等の研究開発の場合

## 2. 研究開発マネジメントについて

### (1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 具体的かつ明確な開発目標を可能な限り定量的に設定しているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断するための適切な指標が設定されているか。

### (2) 研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマ毎の配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

### (3) 研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 適切な研究開発チーム構成での実施体制になっているか。
- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 研究管理法人を経由する場合、研究管理法人が真に必要な役割を担っているか。

- ・ 全体を統括するプロジェクトリーダー等が選任され、十分に活躍できる環境が整備されているか。
  - ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携 and/or 競争が十分に行われる体制となっているか。
  - ・ 実用化シナリオに基づき、成果の受け取り手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、関与を求める体制を整えているか。
- (4) 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性
- ・ 成果の実用化につなげる戦略が明確になっているか。
  - ・ 成果の実用化につなげる知財マネジメントの方針が明確に示され、かつ妥当なものか。
- (5) 情勢変化への対応等
- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向に機敏かつ適切に対応しているか。
  - ・ 計画見直しの方針は一貫しているか（中途半端な計画見直しが研究方針の揺らぎとなっていないか）。計画見直しを適切に実施しているか。

### 3. 研究開発成果について

#### (1) 目標の達成度

- ・ 成果は目標値をクリアしているか。（※）  
（※事後評価前倒し実施の場合は、「成果は目標値をクリアする見込みか。」）
- ・ 全体としての目標達成はどの程度か。
- ・ 目標未達成の場合、目標達成までの課題を把握し、課題解決の方針が明確になっているか。

#### (2) 成果の意義

- ・ 成果は市場の拡大或いは市場の創造につながることが期待できるか。
- ・ 成果は、世界初あるいは世界最高水準か。
- ・ 成果は、新たな技術領域を開拓することが期待できるか。
- ・ 成果は汎用性があるか。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
- ・ 成果は公開性が確保されているか。

### (3)知的財産権等の取得及び標準化の取組

- ・ 研究内容に新規性がある場合、知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権や回路配置利用権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、または実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、得られた研究開発の成果に基づく国際標準化に向けた提案等の取組が適切に行われているか。

### (4)成果の普及

- ・ 論文の発表は、研究内容を踏まえ適切に行われているか。
- ・ 成果の受取手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

## 4. 実用化の見通しについて

### (1)成果の実用化可能性

- ・ 整備した知的基盤についての利用は実際にあるか、その見通しが得られているか。
- ・ 公共財として知的基盤を供給、維持するための体制は整備されているか、その見込みはあるか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。
- ・ J I S 化、標準整備に向けた見通しが得られているか。注）国内標準に限る
- ・ 一般向け広報は積極的になされているか。

### (2)波及効果

- ・ 成果は関連分野への波及効果（技術的・経済的・社会的）を期待できるものか。
- ・ プロジェクトの実施自体が当該分野の研究開発や人材育成等を促進するなどの波及効果を生じているか。

## 参考資料 2 評価に係る被評価者意見

研究評価委員会（分科会）は、評価結果を確定するにあたり、あらかじめ当該実施者に対して評価結果を示し、その内容が、事実関係から正確性を欠くなどの意見がある場合に、補足説明、反論などの意見を求めた。研究評価委員会（分科会）では、意見があったものに対し、必要に応じて評価結果を修正の上、最終的な評価結果を確定した。

評価結果に対する被評価者意見は全て反映された。

本研究評価委員会報告は、独立行政法人新エネルギー・産業技術  
総合開発機構（NEDO）評価部が委員会の事務局として編集して  
います。

平成22年11月

NEDO 評価部

部長 竹下 満

主幹 寺門 守

担当 山本 佳子

\*研究評価委員会に関する情報は NEDO のホームページに掲載していま  
す。

(<http://www.nedo.go.jp/iinkai/kenkyuu/index.html>)

〒212-8554 神奈川県川崎市幸区大宮町1310番地

ミュージア川崎セントラルタワー20F

TEL 044-520-5161 FAX 044-520-5162