

年度計画管理番号：関連する番号を記載

平成 2 5 年 度 研 究 成 果 報 告 書
(自 己 評 価 報 告 書)

研究拠点プロジェクト名

《 植 物 健 康 基 礎 医 学 》



Kochi University

プロジェクトリーダー

曳地 康史

(所属 総合科学系生命環境医学部門)

平成 2 6 年 4 月 1 1 日

I. 本研究の背景（計画書の記載内容）

平成 19 年に環境省が検討した我が国の超長期ビジョンによると、「2050 年に実現されることが望ましい環境像・社会像」として、低炭素社会、循環型社会、自然共生社会、快適生活環境社会の実現が挙げられているが、植物の健全な生育なしにこれらの実現は不可能と言っても過言ではない。すなわち、温室効果ガスである CO₂ を吸収する植物を、そのライフサイクルの全ステージにおいて健全に生育させ（低炭素社会の実現）、安全な食料を生産する（快適生活環境社会の実現）とともに植物機能及び生産物・残さの高度利用を図り（循環型社会の実現）、地域社会の活性化を通じて健全な生活環境を構築する（自然共生社会の実現）ことが、これらのビジョンの実現に必須である。また、地球的規模でみると、生産可能な食料の約三分の一、8 億人分の食料が毎年植物の病気により失われていると言われており、食料の量的確保の面からも、植物の健全な生育環境の構築、病虫害の予防・診断・治療が不可欠である。

一方、高知県は、ナス、シシトウ、ミョウガ、ピーマン、キュウリ等の施設野菜収穫量が、常に全国でも上位にあり、日本各地へ安全な野菜を供給する基地として重要な責務を負っている。また、環境保全型農業の先進地域として、東・東南アジア諸国での資源循環型持続的農業の普及において先導的役割を果たす必要がある。このような現状の中で、植物に何らかの障害が発生した場合、高知県では、農業技術センターや普及センターが中心となって現場レベルでの対策を講じている。しかし、障害の発生メカニズムの解明や、新しい病虫害予防・診断・治療方法の開発、植物機能の高度利用や生産物・残さの高付加価値化に関する研究までは行われていないのが実情である。

以上のような背景から、特に高知県の特産作物を対象として、そのライフサイクルの全ステージにおいて健全な環境を実現し、同時に、植物の有する様々な機能や生産物・残さを高度利用するための研究拠点を形成し、それを通じて、人間にとっても健全な生存環境を創り出すことが必要と考えるに至った。

II. 本研究の目的・目標（計画書の記載内容）

本プロジェクトは、「地上部環境の改善」、「根圏環境の改善」、「生産物・残さの高度利用、高付加価値化」の 3 つの研究領域から構成する。

「地上部環境」領域は、「病害」（課題研究 1）と「虫害」（課題研究 2）に区分し、地上部での感染・発生が問題となる病害・虫害を扱う。「根圏環境」領域では、土壌病害、栄養障害等を取りあげる（課題研究 3）。両領域において、「予防・診断」と「治療」に関する研究テーマを設定し、事業を推進する。また、「生産物・残さの高度利用、高付加価値化」領域は、地域産物や生産残さなどの機能性・有用性を解明する研究テーマを取りあげ、植物機能の高度利用を推進する（課題研究 4）。さらに、6 年間のプロジェクトの最終的な目標として、「植物健康基礎医学研究センター」の設立を目指す。

III. 本研究の内容（計画書の記載内容）

課題研究 1 では、植物病害の予防・診断に役立つため、植物病原菌の病原性機構を解明し、それに基づく分子基盤型植物病害予防技術を確立する。病原微生物の高感度検出、植物含有酵素の活性を指標とした病気診断方法を確立する。また、新奇な生理活性物質の発見に挑戦する。一方、植物病害の治療のために、ストレス応答遺伝子群などの植物の潜在的能力を生かした免疫治療技術を開発する。

課題研究 2 では、虫害の予防・診断に貢献するため、土着天敵が維持され、虫害が生物的に防除された栽培環境の実現に関する研究を展開する。また、フェロモンを利用した害虫類の発生予察を可能にする。一方、虫害の治療のために、新規有望土着天敵を発掘して化学生態を明らかにし、それによる害虫防除技術を開発する。

課題研究3では、植物根圏の健全性を実現させるため、健全性の評価手法を確立したうえで、各種土壌消毒後や様々な栽培体系下の土壌に適用し、健全性評価手法の現場への応用を図る。また、植物が根圏から受ける様々なストレスを化学的に解析し、ストレス軽減技術に関する研究を行う。

課題研究4では、植物機能の高度利用を図るため、地域産物の化学的特性調査を広範囲に実施し、その機能性を解明するとともに、有用生理活性物質のスクリーニングと単離・精製を行い、産業利用に結びつける。

さらに、課題研究1～4の成果に基づき、分子基盤型の植物病害予防・診断・治療、土着天敵の活用と土着天敵資材の提供、新しい土壌環境診断・治療技術、植物生産物の高付加価値化、高度利用技術のそれぞれに関する研究と技術提供を行うセンターの設立を推進する。

以上のプロジェクトを通じて、「発芽⇒生育⇒開花⇒結実（生産物）⇒枯死（残さ）」という植物のライフサイクルのすべてのステージにおいて健全性を実現させ、同時に、植物の有する様々な機能や生産物・残さを高度利用できるようにすることが、人間にとっても健全な生存環境を創り出す」という理念を広く社会に普及させる。

IV. 本研究の成果（総括）

分析項目1）：プロジェクトの活動状況（特筆事項など）

本プロジェクトは、18名の研究者で構成した。研究成果は、学術論文38編（うち、**impact factor 2以上が12報**）、著書・総説18編、特許9件および学会招待発表等8件として発表し、外部資金獲得額（科研費、共同研究費、受託研究費、奨学寄付金、その他）は、56,197,350円であった。研究者1名あたり約2.11編の論文等を作成し、約3,122千円の外部資金を獲得したことになる。本プロジェクトでは、得られた成果が、国際的水準からみても優れたものであることを挙証するため、参画する研究者全員に対し、国際学術雑誌へ年間2報以上の成果掲載を求めているが、その目標を達成している。

分析項目2）：プロジェクトの研究成果（学術論文、著書・総説、学会等発表、外部

資金獲得額（科研費、共同研究費、受託研究費、奨学寄附金、その他）

課題研究1は、2名の研究者（研究代表者および分担者）により構成された研究組織である。平成25年度の本課題の成果は、学術論文8編、総説2編、招待学会発表1回、特許1件、外部資金額9,198,000円（内訳；科学研究費6,500千円、寄付金など2,698千円）であった。研究者1人あたり、4編の論文、4,599千円の外部資金を獲得した計算になり、当初の目標を十分に達成したと総括される。

課題研究2は、4名の研究者により構成された研究組織である。平成25年度の本課題の成果は、学術論文15編、著書・総説8編、特許1件、外部資金額17,653千円（内訳；科学研究費7,195千円、共同・受託研究費・寄付金など10,458千円）であった。研究者1人あたり、3.75編の論文、4,413千円の外部資金を獲得した計算になる。以上より当初の目標を十分に達成したと総括される。

課題研究3は、5名の研究者により構成された研究組織である。平成25年度の本課題の成果は、学術論文7編、総説著書・総説1編、招待学会発表1回、外部資金額2,370千円（内訳；科学研究費2,070千円、共同・受託研究費・寄付金など300千円）であった。研究者1人あたり、1.4編の論文、474千円の外部資金を獲得したことになる。研究者各人が土壌学、植物生育環境学、植物分子生物学、微生物遺伝学などの手法により、高知県に特徴的な栽培管理技術や植物による元素の吸収・蓄積に関する研究を展開している。研究者1人あたりの論文数は必ずしも高くないが、今後業績として発表しうる研究結果を蓄積しつつあり、当初の目標を達成していると総括される。

課題研究4は、7名の研究者により構成された研究組織である。平成24年度の本課題の成果は、学術論文8編、招待学会発表3回、特許7件、外部資金額26,976千円（内訳；科学研究費6515千円、共同・受託研究費・寄付金など20,461千円）であった。研究者1人あたり、1.1編の論文、3,854千円の外部資金を獲得したことに計算になる。研究者1人あたりの論文数は必ずしも高くないが、今後業績として発表しうる研究結果を蓄積しつつあり、外部資金の総額も4課題の中では最も多く獲得していることから、実用場面を想定した技術開発が期待でき、当初の目標を達成していると総括される。

プロジェクト活動の達成度をAA～Dで評価し、1つを選択して○で囲む。

AA 目標を上回る成果であった。

A 目標に十分に到達している。

B 目標におおむね到達しているが改善の余地もある。

C 目標にある程度到達しているが改善の余地がある。

D 目標への到達が不十分であり大幅な改善の必要がある。

V. 課題研究成果のまとめ

課題研究1 植物病害分子診断技術の開発（中課題責任者：木場章範）

本プロジェクトでは、植物病原菌の植物への感染過程に応じた病原性因子の特定、分子遺伝学的機能解析等を通じて、病原性機構の網羅的解析を実施し、とくに植物病原菌の発病機構を解明する。さらに、植物病原菌の病原性機構に基づく分子基盤型植物病害予防技術システムの開発を行い、その技術を現場で検証する。また、病原菌感染により誘導される植物免疫に関わる植物因子を特定し、RNA干渉を用いた機能解析を通じて、植物の潜在的能力を生かした免疫誘導の網羅的解析・病原因子との相互作用・信号伝達系を解明する。そして、植物の潜在的能力を生かした免疫治療技術を開発し、現場で検証するとともに、それを用いた病害防除システムを構築し、植物の地上部環境の健全性の実現に貢献する。

課題番号 1A 「植物病原菌の病原性機構の解明と分子基盤型植物病害予防技術の確立」

曳地康史（総合科学系生命環境医学部門、教授）

1. 概要

〔目標〕

分子遺伝学的手法と分子進化学的手法を用いて、植物病原の病原性とその適応進化について網羅的な解明を行う。対象とする病原は、青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*)、とトバモウイルスで、いずれの病原についてもゲノム解析を独自に行い、それらの情報を活用し、感染成立過程において機能する病原の病原性関連遺伝子とそれらの発現プロファイルに関するインベントリーの作成とともに、それらの機能解析を網羅的に行い、病原性メカニズムと病原性分化のメカニズムの解明を行う。これらの病原性関連遺伝子の遺伝情報を基に、予防診断技術の確立のための分子診断技術を確立し、テーラーメイド型の分子診断技術の開発を行う。

1. 概要

1) 青枯病菌

青枯病菌は、ナス科作物を含む 200 以上の植物種に、萎凋症状をもたらし、多大な被害を生じさせる世界的な重要病害である。土壤中に生息する青枯病菌は、植物根からの分泌物を認識し、その走化性により根の傷口より細胞間隙に侵入する。細胞間隙で植物細胞と相互作用を行い、その結果、植物の自然免疫を抑制し、増殖し、コロニー化することができるようになると考えられている。しかし、細胞間隙でのコロニー化の詳細については明らかになっていない。そこで、我々は、GFPラベル青枯病菌のトマト細胞間隙での挙動解析および走査型電子顕微鏡観察から、細胞間隙のトマト細胞表面に青枯病菌が固着後、増殖し、菌体外多糖を産生した結果、バイオフィーム形成を行うことを明らかにした。さらに、バイオフィームから離脱した青枯病菌が自ら分泌するポリガラクトジュロナーゼの作用により、導管壁孔を分解し、導管内に侵入することを示唆した。これまでに、導管に侵入した青枯病菌は著しい増殖を行い、菌密度が 10^7 cfu/ml 以上になった青枯病菌ではクオラムセンシングにより活性化された PhcA タンパク質が、菌体外多糖の生産を誘導するとされていた。そして、この菌体外多糖類により導管の通水能が低下し、青枯病菌が感染した植物は萎凋症状を呈すると考えられてきた。しかし、我々の観察結果から、青枯病菌は細胞間隙で菌体外多糖産生を行い、それが細胞間隙でのバイオフィーム形成に関わることを明らかにした。さらに、細胞間隙抽出液で培養した青枯病菌は高いバイオフィーム形成能を示すが、導管抽出液で培養した青枯病菌のバイオフィーム形成能は低いことが明らかとなった。すなわち、これまで考えられてきた菌体外多糖の青

枯病菌の病原性に関わる役割には誤りがあると推察された。

そこで、我々は、活性化 PhcA タンパク質により産生が制御されている二次代謝物質プロファイルを作成し、それらの中に、新奇のラルフラノン類化合物を見出した。昨年度行ったプロテオーム解析から、活性化 PhcA により発現が制御される遺伝子の中に、ラルフラノン類化合物産生の最終段階に関わると想定される *ralA* を見出している。*ralA* 欠損によりラルフラノン類化合物の産生能は喪失した。さらに、*ralA* 欠損により、菌体外多糖産生能、細胞間隙でのバイオフィーム形成および病原力が低下した。興味深いことに、バイオフィーム形成能力が高い培養条件下ではラルフラノン産生能が高く、バイオフィーム形成能力が低い培養条件下ではラルフラノン産生能が低いことが明らかとなった。すなわち、ラルフラノンは、細胞間隙でのバイオフィーム形成に関わる菌体外多糖産生のポジティブな制御因子であると推察された。今年度の結果は、青枯病菌の宿主植物における挙動と病原性機能の既成概念を覆すものである。これらの確証を得るためにも、今後、青枯病菌の病原性に関するメタボローム解析による網羅的に解明することが必要である。

2) トバモウウイルス

トウガラシ植物には、トバモウウイルスに対する抵抗性遺伝子座 *L* が存在する。*L* 遺伝子座には、5 つの遺伝子それぞれが座乗する。いずれの *L* 遺伝子も CC-NBS-LRR 型の膜貫通型受容体タンパク質をコードしており、トバモウウイルスのウイルス粒子の構造タンパク質である外被タンパク質を認識することにより、トバモウウイルス抵抗性を発動することを明らかにしてきた。多くの植物病害抵抗性遺伝子と同様に、*L* 遺伝子の中で、*L*¹ 遺伝子、*L*² 遺伝子、*L*³ 遺伝子および *L*⁴ 遺伝子それぞれによるトバモウウイルス抵抗性は 28°C 以上の高温では機能しなくなる。一方、*L*^{1a} 遺伝子による抵抗性は Tobacco mild green mosaic virus 日本株 (TMGMV-J) などの P₀ 型トバモウウイルスに対して 28°C 以上の高温でも機能する。我々は、*Nicotiana benthamiana* をモデル植物として、*Agrobacterium tumefaciens* を用いた一過的発現系により、*L*^{1a} 遺伝子がコードする膜受容体タンパク質の 903 番目と 977 番目のアミノ酸がその高温機能性に関与することを明らかにした。さらに、TMGMV-J の外被タンパク質の *L*^{1a} 抵抗性誘導に関わる高温機能性領域を特定した。興味深いことに、この領域は TMGMV-J のウイルス粒子形成に関わっており、高温 *L*^{1a} 抵抗性誘導活性を失った外被タンパク質を有する TMGMV はウイルス粒子を形成することができないことを明らかにした。これまでに、他の *L* 抵抗性とは異なり、*L*^{1a} 抵抗性を打破する TMGMV は農業現場で分離された報告はない。今回の結果から、*L*^{1a} 抵抗性の高温機能性の解明の糸口が明らかになったとともに、*L*^{1a} 抵抗性が耐久性あることが実証された。地球温暖化に伴い、高温機能性の病害抵抗性の農業現場への導入が強く望まれている。このことに関して、*L*^{1a} 抵抗性の高温機能性解明の果たす役割は大きいと期待される。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 3 編) *引用度の高いものは IF を記入

1. Mizumoto, H., Morikawa, Y., Ishibashi, K., Kimura, K., Matsumoto, K., Tokunaga, M., Kiba, A., Ishikawa, M., Okuno, T., and Hikichi, Y. 2014. Functional characterization of the mutations in *Pepper mild mottle virus* overcoming tomato *tm-1*-mediated resistance. *Molecular Plant Pathology*, in press, DOI: 10.1111/mpp.12107 (IF= 3.877).
2. Chen, L., Shiota, M., Zhang, Y., Kiba, A., Hikichi, Y., and Ohnishi, K. 2013. Involvement of HLK effectors in *Ralstonia solanacearum* disease development in tomato. *Journal of General Plant Pathology* **80**, 79-84 (IF=0.893).
3. Zhang, Y., Chen, L., Yoshimochi, T., Kiba, A., Hikichi, Y., and Ohnishi, K. 2013. Functional analysis of

Ralstonia solanacearum PrhG regulating a *hrp* regulon in host plants. *Microbiology* **159**, 1695–1704 (IF=2.852).

(2) 総説 (計2編)

1. Ullah Md Wali・水本祐之・大西浩平・木場章範・曳地康史. 2013. 多犯性植物細菌 *Pseudomonas cichorii* の病原力の多様性. *緑膿菌感染症研究会講演記録集* **47**, 9-15.
2. Hikichi, Y., Wali, M.U., Mizumoto, H., Ohnishi, K., and Kiba, A. 2013. Mechanism of disease development caused by a multi-host plant bacterium, *Pseudomonas cichorii*, and its virulence diversity. *Journal of General Plant Pathology* **79**, 379-389 (IF=0.893).

(3) 著書 (計0編)

なし

- (4) 学会発表
- | | |
|------|---------------|
| 国際学会 | 招待講演 (計 0 回) |
| | 一般講演 (計 0 回) |
| 国内学会 | 招待講演 (計 0 回) |
| | 一般講演 (計 10 回) |

(5) 特許 (計1件)

1. 小林括平・富田麗子・坂本勝・村井淳・曳地康史・鈴木一実. 2014. トバモウイルス抵抗性遺伝子及びその用途. 特許第 5445823 号.

(6) 受賞等 (計0件)

なし

(7) 報道 (計0件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 7,508,000 円)

1. 科学研究費補助金 (基盤 B) (日本学術振興会) 代表者 曳地康史, 青枯病感受性誘導機構の解明と青枯病感受性感知システムの開発, 4,810,000 円.
2. 大学発新産業創出拠点プロジェクト (文部科学省) 分担者 曳地康史, アグリ・グリーンイノベーションを実現する生分解性抗菌ナノ粒子による農業用抗菌剤の研究開発, 1,273,000 円.
3. 受託研究 (社団法人日本植物防疫協会) 代表者 曳地康史, 新農薬実用化試験, 525,000 円.
4. 奨学寄附金 (住友化学株式会社) 代表者 曳地康史, 植物病原菌の感染機作に関する研究, 600,000 円.
5. 奨学寄附金 (株式会社石黒製薬所) 代表者 曳地康史, 植物細菌病に対する防除方法開発研究, 300,000 円

(9) その他

1. 高知大学・AVRDC – The World Vegetable Center 合同セミナー (平成 25 年 9 月 9 日、AVRDC – The World Vegetable Center)
2. 高知大学・中興大学合同セミナー (平成 25 年 9 月 11 日、中興大学)
3. 高知大学・台湾大学合同セミナー (平成 25 年 9 月 13 日、台湾大学)

1. 概要

1) 青枯病菌

青枯病菌は、ナス科作物を含む 200 以上の植物種に、萎凋症状をもたらし、多大な被害を生じさせる世界的な重要病害である。青枯病菌は土壤中に生息するため薬剤防除は困難である。さらに、有用な抵抗性品種も存在しないことから、防除が非常に困難となっている。そのような背景から、青枯病の新たな防除方法の確立が急務の課題となっている。そこで、我々はウイルス誘導ジーンサイレンシング法によって一過的な遺伝子のノックダウン植物を作製し、スクリーニングした結果、青枯病耐性を示す植物体を DS1 (Disease suppression 1) 植物を見いだした。DS1 植物の耐病性に関わる遺伝子を同定したところ、リン脂質の 1 種であるフォスファチジン酸を脱リン酸関するフォスファチジン酸フォスファターゼ遺伝子であることを明らかにした。DS1 植物では青枯病の感染に伴い、植物ホルモンであるジャスモン酸や活性酸素を介した免疫応答の活性化が認められた。本研究の成果から、植物免疫応答を人為的にコントロールすることによる青枯病の防除へつなげるために、さらなる研究が必要である。

2) ジャガイモ疫病

ジャガイモ疫病は青枯病とともに世界的な重要病害である。そこで、我々はウイルス誘導ジーンサイレンシング法によって一過的な遺伝子のノックダウン植物を作製し、スクリーニングした結果、疫病耐性を示す植物体を DS2 (Disease suppression 2) 植物を見いだした。DS1 植物の耐病性に関わる遺伝子を同定したところ、アミノ酸代謝に関わるアミノアシラーゼ遺伝子であることを明らかにした。DS2 植物では疫病の感染に伴い、活性酸素や自己細胞死を介した免疫応答の活性化が認められた。本研究の成果から、植物免疫応答を人為的にコントロールすることによる疫病の防除へつなげるために、さらなる研究が必要である。

3) タバコ野火病

タバコ野火病はタバコ用葉に黄化～壊死を引き起こすことから、タバコ栽培における重要病害となっている。タバコ野火病は本菌の生産する細菌毒素であるタブトキシンによって引き起こされる。そこで、我々はウイルス誘導ジーンサイレンシング法によって一過的な遺伝子のノックダウン植物を作製し、スクリーニングした結果、タブトキシン耐性を示す植物体を 2 種見出した。タブトキシン耐性に関わる遺伝子を同定したところ、低分子熱ショックタンパク質 70 およびアデニル酸シクラーゼであった。本研究の成果から、発病を人為的にコントロールできる可能性があるものと考えられる。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 4 編) *引用度の高いものは IF を記入

1. Nakano, M., Nishihara, M., Yoshioka, H., Ohnishi, K., Hikichi, Y., and Kiba, A. 2014. Silencing of DS2 aminoacylase-like genes confirms basal resistance to *Phytophthora infestans* in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Signaling & Behavior* **9**, e28004 (IF=2.000).
2. Ito, M., Takahashi, H., Sawasaki, T., Ohnishi, K., Hikichi, Y., and Kiba, A. 2014. Novel type of adenylyl cyclase participates in tabtoxinine- β -lactam-induced cell death and occurrence of wildfire disease in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Signaling & Behavior* **9**, e27420 (IF=2.000).
3. Ito, M., Yamamoto, Y., Kim, C-S., Ohnishi, K., Hikichi, Y., and Kiba, A. 2014. Heat shock protein 70 is required for tabtoxinine- β -lactam-induced cell death in *Nicotiana benthamiana*. *Journal of Plant*

Physiology **171**, 173-178 (IF=2.699)

4. Nakano, M., Nishihara, M., Yoshioka, H., Takahashi, H., Sawasaki, T., Ohnishi, K., Hikichi, Y., and Kiba, A. 2013. Suppression of DS1 phosphatidic acid phosphatase confirms resistance to *Ralstonia solanacearum* in *Nicotiana benthamiana*. *Plos One* **8**: e75124 (IF=3.730).
5. Gupta, M., Yoshioka, H., Ohnishi, K., Mizumoto, H., Hikichi, Y., and Kiba, A. 2013. A translationally controlled tumor protein negatively regulates the hypersensitive response in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell & Physiology* **54**, 1403-1414 (IF=4.134).

(2) 総説 (計0編)

なし

(3) 著書 (計0編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計0回)

一般講演 (計1回)

国内学会 招待講演 (計1回)

一般講演 (計5回)

1. 木場 章範・大西 浩平・曳地 康史. フォスファチジン酸合成と植物免疫. 第87回日本細菌学会総会 ワークショップ「植物と動物の自然免疫に関する類似と相違 ―細菌はいかにして自然免疫を回避するのか―

(5) 特許 (計0件)

なし

(6) 受賞等 (計0件)

なし

(7) 報道 (計0件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計1,690,000円)

1. 科学研究費補助金 (基盤 C) (日本学術振興会) 代表者 木場章範, 植物のフォスファチジン酸合成の人為的コントロールによる耐病性付与に関する研究, 1,690,000円.

(9) その他

なし

課題研究2 「地域に産する動植物を利用した環境保全型虫害防除技術の確立」

(中課題責任者：荒川 良)

本課題は農作物の虫害の予防・診断に貢献するため、土着天敵が維持され、虫害が生物的に防除された栽培環境の実現に関する研究を展開することを主目的とするが、害虫と天敵の関係だけでなく、その根源となる農生態系における動植物の多様性と人との関わりについても幅広く研究を行っている。

課題番号 2A 「地域に産する天敵昆虫を利用した虫害の生物的防除環境の実現」

荒川 良 (総合科学系生命環境医学部門、教授)

1. 概要

高知県の施設園芸現場で利用されている、あるいは利用が期待されている土着天敵類について、昨年に引き続き、その生態学的特性を解明すると共に、大量増殖に向けて飼育方法の改善についての研究を行って来た。

広食性捕食者であるクロヒョウタンカスミカメについては、産卵基質としてこれまで利用してきた多肉植物のカラコエに変えて、サツマイモやジャガイモなどの芋類が有用であることを明らかにし、これらはカラコエよりも長期間基質として利用できることから、増殖時のコスト削減ができた。また、これまで有効性が分かっていなかったキュウリにおいても、クロヒョウタンカスミカメが重要害虫タバココナジラミの密度抑制をすることも明らかにした。高知大学と安芸郡芸西村との連携事業の関係で、芸西村でクロヒョウタンカスミカメの無償提供事業を引き続き行ってきたが、平成26年3月末で終了し、同年3月に高知大学発ベンチャーとして起業した(株)ベストバグがクロヒョウタンカスミカメの増殖、高知県内農家限定で販売を行うことになり、平成26年度より、共同研究を実施する予定である。

飼育個体群を維持している土着天敵にニッポンクサカゲロウ、メスグロハナレメイエバエについては、前者は高知県農技センターを中核機関とする「オオバに発生する病害虫の新規防除資材を活用した総合防除体系の確立」(農林水産技術会議, 新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業)に共同研究機関として引き続き参画し、ニッポンクサカゲロウ幼虫の餌としてショウジョウバエが利用可能であることを見出した。メスグロハナレメイエバエについては、「飛翔昆虫捕食性メスグロハナレメイエバエの生物的防除資材としての有効性に関する研究」の課題で平成25年度科学研究費補助金 基盤研究(C)に採択され、本種幼虫がブラインシュリンプ耐久卵を餌とすることで室内増殖が容易になり、異なる温度区での発育期間も明らかにして、増殖スケジュールを立てることができるようになった。

平成26年3月26日から28日に高知市で開催した第58回日本応用動物昆虫学会大会の運営委員長として、1000名を超える大会参加者を迎えて、大会の運営に当たった。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計0編)

なし

(2) 総説 (計2編)

1. 小川浩平・荒川良. 2013. 土着寄生バチによるイエバエ類の環境にやさしい防除. 養牛の友 446, 40-43; 615, 38-41; 530, 34-37.
2. 前菌剛・大賀教平・福田達哉・荒川良. 2013. 日本産ナガサキアゲハの色彩分化に関する研究. 昆

虫と自然 48 (6), 19-23.

(3) 著 書 (計 0 編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 0 回)

国内学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 2 回)

(5) 特 許 (計 0 件)

なし

(6) 受賞等 (計 0 件)

なし

(7) 報 道 (計 0 件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 8,498,000 円)

1. 荒川良：日本植物防疫協会，新農薬実用化試験に関する研究. ¥1,869,000
2. 荒川良：高知大学学長裁量経費，高知県における施設園芸の害虫防除のための土着天敵配布事業の展開. ¥1,500,000
3. 荒川良：農林水産技術会議，新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業,オオバに発生する病害虫の新規防除資材を活用した総合防除体系の確立. (分担者) (代表者 広瀬拓也(高知県農技センター)), 直接経費¥660,000, 間接経費¥190,000
4. 荒川良：科学研究費補助金 基盤研究(C), 飛翔昆虫捕食性メスグロハナレメイエバエの生物的防除資材としての有効性に関する研究, (研究代表者) 直接経費¥2,700,000, 間接経費¥810,000
5. 荒川良：平成25年度地域志向研究経費，高知県における土着天敵クロヒョウタンカスミカメの利用拡大のための増殖方法改善と適用作物拡大に関する研究, (研究代表者) ¥769,000

(9) その他

なし

課題番号 2B 「暖地性植物の葉面に生息する有用土着天敵の探索」

伊藤 桂 (総合科学系生命環境医学部門、准教授)

1. 概要

木本性果樹の重要害虫であるハダニ類に対する有用土着天敵を高知県内で探索した結果、柑橘園の近隣地帯に自生する常緑樹林（カシ・シイ類）のハダニ寄生葉において、ハダニカブリケシハネカクシが一年を通じて優占していることが明らかになった。本種はハダニの捕食量が多いことで知られるが、暖地の常緑樹林帯での発生については、林縁部の雑草上での動態を除き記録されておらず、本研究を通じて貴重な知見が得られた。

一方、これまで重要天敵とされてきたカブリダニ類は常緑樹林帯ではむしろ少なく、先に述べたハネカクシ類やハダニタマバエ類が優占していることがわかった。これらの昆虫天敵類について、本経費で購入した資材を用いて飼育を試みたものの生存率が低く、未だに安定供給できる状況にならない。今後はこれらの種の野外動態について調査を継続するとともに、実験室での維持方法について引き続き検討していく。

また、以上の研究と並行して、高知県土着のハダニ類における越冬パターンの遺伝的変異について調査を行い、休眠性の異なる系統が1つの集団に混在していることを明らかにした。本研究内容は論文として発表した(業績(1) - 1)。

本課題の成果の一部は2013年9/27-29に静岡市で開催された第22回日本ダニ学会大会で既に発表した。また、高知大学で2014年3/26-28に開催される第58回日本応用動物昆虫学会大会(大会長:荒川良、事務局長:伊藤桂)にて関連発表者とディスカッションを行う予定である。

また、しばしばハダニと同所的に発生する、葉面に生息するクモ類の天敵利用に向けて、日本蜘蛛学会第45回大会(開催場所・高知大学物部部キャンパス、運営事務局:伊藤桂)の大会シンポジウム『クモ類の地理的種分化と分散能力』(企画者:伊藤桂)を企画開催し、好評を得た。質疑も活発であり、「クモ類は同一種でも遺伝的分化を起こしており食性も多様化している」、「農業現場ではクモ類の積極的な活用と多様性管理が求められる」等の意見が交わされた。今後の環境保全型農業のあり方を考える上で、本シンポジウムは有意義な知見をもたらしたと考える。

2. 研究業績

(1) 原著論文(計4編) *引用度の高いものはIFを記入

1. Ito, K. 2014. Intra-population genetic variation in diapause incidence of adult-diapausing *Tetranychus pueraricola* (Acari: Tetranychidae). *Ecological Entomology* **39**(2), 186-194. (IF 1.95)
2. Takei, S., Yoshioka, K., Yamada, S., Hayakawa, H., Yokoyama, J., Ito, K., Tebayashi, S., Arakawa, R., and Fukuda, T. 2014. The length and density of prickles on *Zanthoxylum ailanthoides* (Rutaceae): a comparison of Japanese islands with different sika deer browsing pressures. *American Journal of Plant Science* **5**, 332-337.
3. Takei, S., Yoshioka, K., Yamada, S., Hayakawa, H., Yokoyama, J., Ito, K., Tebayashi, S., Arakawa, R. and Fukuda, T. 2014. Comparative morphology of prickles of *Rubus croceacanthus* H.Lév. (Rosaceae) in Kashima Island and its neighbor areas. *Journal of Plant Science* **3**, 96-102.
4. Hayakawa, H., Ohga, K., Miyata, H., Arakawa, R., Ito, K., Tebayashi, S., Ikeda, H. and Fukuda, T. 2013. Phylogenetic Background of a Glabrous Individual of *Spiranthes sinensis* var. *amoena* (Orchidaceae) Collected in Kochi Prefecture, Japan. *Journal of Phytogeography and Taxonomy* **61** (1): 45-50.

(2) 総説(計0編)

なし

(3) 著書(計0編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演(計0回)

一般講演(計0回)

国内学会 招待講演(計0回)

一般講演(計2回)

(5) 特許(計0件)

なし

(6) 受賞等(計0件)

なし

(7) 報道(計0件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 500,000 円)

1. 科学研究費補助金 (基盤 C・分担) (日本学術振興会) 代表者 齋藤裕, 生活型進化からみたハダニ類「属」分類の再検討と新系統仮説の構築, 500,000 円.

(9) その他

1. 福建省農業科学院シンポジウムにて講演 (2013 年 5 月 7~12 日、福建省農業科学院)
2. 日本蜘蛛学会第 45 回大会 (運営事務局長: 伊藤桂) (2013 年 8 月 24~25 日、高知大学物部キャンパス)
3. 第 58 回日本応用動物昆虫学会大会 (大会事務局長: 伊藤桂) (2014 年 3 月 26~28 日、高知市文化プラザかるぼーと・高知大学朝倉キャンパス)

課題番号 2C 「植物の有する潜在的形質の多様性解析」

福田達哉 (総合科学系生命環境医学部門、准教授)

1. 概要

高知県特有の環境に着目し、野生植物の環境適応に関する形態的变化を、多雨による増水に伴う河川沿い環境の攪乱に対する適応、亜熱帯要素を多く含む高知県南西部の海岸沿い環境に対する適応、そして高知県内で被害が報告されているシカの被食に対する植物の形態的適応といった観点から、植物の有する適応的形態を明らかにすることを目的として研究を行った。

河川沿い環境の攪乱に対する適応に関する研究として、本年度は系統的に比較的原始的なスミレ科植物のホコバスマレを用いて、狭葉化の細胞レベルでのメカニズムを明らかにした結果、細胞数の減少により狭葉化を成功していることが明らかとなった反面、細胞サイズには有意な変化が見られなかった。被子植物における派生的な植物群では細胞数の減少だけではなく細胞サイズも縮小させていることが明らかとなっているために、細胞サイズの変化は被子植物の比較的新しい分類群で獲得されたメカニズムであることが明らかとなった。

シカの高密度生息地域における植物の物理的防御の変化に関する研究として、本年度は愛媛県南宇和郡愛南町の鹿島や鹿児島県阿久根市の阿久根大島において、トゲ植物であるバラ科植物のホウロクイチゴとオオバライチゴ、そしてミカン科植物のカラスザンショウを用いて研究を行った結果、対岸のシカの低密度地域に比べて有意にトゲを発達させていることが明らかとなり、この物理的防御の発達が生かからの被食回避戦略として有効であることが示された。またトゲといった物理的防御戦略を保有しない植物の場合、側枝を発達させる盆栽化によって内部の葉の被食を回避する戦略が適応的であることが明らかとなった。

亜熱帯要素を多く含む高知県南西部の海岸沿い環境に対する適応に関する研究として、本年度は海岸地において多肉化している植物群の細胞サイズの比較を行った結果、表皮細胞、柵状組織、海綿状組織のすべてにおいて有意に大きくさせていることが示された。また海岸地における適応形態の一つである葉毛の発達に関して、気孔数との相関が明らかとなり、葉毛の増加が気孔数の減少を導き、海岸地の乾燥状態に対して、過度な蒸散が回避されていることが明らかとなった。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 11 編) *引用度の高いものは IF を記入

1. Takei, S., Yoshioka, K., Yamada, S., Hayakawa, H., Yokoyama, J., Ito, K., Tebayashi, S., Arakawa, R. and Fukuda T. 2014. Morphological study of *Glochidion obovatum* under heavy browsing pressure by sika deer under heavy browsing pressure by sika deer. *American Journal of Plant Science*, in press.
2. Nakayama, H., Fukushima, A., Fukuda, T., Yokoyama, J. and Kimura, S. 2014. Molecular phylogeny

- determined using chloroplast DNA inferred a new phylogenetic relationship of *Rorippa aquatica* (Eaton) EJ Palmer & Steyermark—Lake Cress. *American Journal of Plant Science* **5**, 48-54.
3. Hayakawa, H., Matsuyama, K., Nozaki-Maeda, A., Hamachi, H., Minamiya, Y., Ito, K., Yokoyama, J., Arakawa, R. and Fukuda, T. 2013. New Natural Hybrid of *Arisaema* (Araceae), distributed around Mt. Yatsuzura, in Shikoku, western Japan. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* **63**, 77-86.
 4. Matsuyama, K., Hayakawa, H., Muramatsu, Y., Ito, K., Tebayashi, S., Arakawa, R. and Fukuda, T. 2013. Variation of leaf number of *Arisaema iyoanum* Makino subsp. *nakaianum* (Kitag. et Ohba) H. Ohashi et J. Murata and *A. ovale* Nakai var. *ovale* (Araceae). *American Journal of Plant Science* **4**, 38-41.
 5. Yoshida, M., Hayakawa, H., Fukuda, T. and Yokoyama, J. 2013. Incongruence between morphological and molecular traits in *Viola violacea* (Violaceae) populations in Yamagata Prefecture, northern Honshu, Japan. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* **63**, 121-134.
 6. Sunami, T., Muroi, M., Ohga, K., Hayakawa, H., Yokoyama, J., Ito, K., Tebayashi, S., Arakawa, R. and Fukuda, T. 2013. Comparative analyses of hairless-leaf and hairy-leaf type individuals in *Aster hispidus* var. *insularis* (Asteraceae). *Journal of Plant Studies* **2**, 1-6.
 7. Takei, S., Ohga, K., Hayakawa, H., Yokoyama, J., Ito, K., Tebayashi, S., Arakawa, R. and Fukuda, T. 2013. Comparative analysis of the prickles on *Rubus sieboldi* (Rosaceae) between grazed and ungrazed areas in south-western Shikoku, Japan. *Journal of Plant Studies* **2**, 152-157.
 8. Kumekawa, Y., Miyata, H., Ohga, K., Hayakawa, H., Yokoyama, J., Ito, K., Arakawa, R. and Fukuda, T. 2013. Comparative analyses of stomatal size and density among ecotypes of *Aster hispidus* (Asteraceae). *American Journal of Plant Science* **4**, 524-527.
 9. Ohga, K., Muroi, M., Hayakawa, H., Yokoyama, J., Ito, K., Tebayashi, S., Arakawa, R. and Fukuda, T. 2013. Coastal adaptation of *Adenophora triphylla* (Thunb.) A.DC. var. *japonica* (Regel) H.Hara (Campanulaceae). *American Journal of Plant Science* **4**, 596-601.
 10. Matsui, R., Takei, S., Ohga, K., Hayakawa, H., Yoshida, M., Yokoyama, J., Ito, K., Arakawa, R., Masumoto, T and Fukuda, T. 2013. Morphological and anatomical variations in rheophytic ecotype of violet, *Viola mandshurica* var. *ikedaeana* (Violaceae). *American Journal of Plant Science* **4**, 859-865.
 11. Kumekawa, Y., Murjoko, A., Hayakawa, H., Ohga, K., Mori, M., Miyazaki, A., Ito, K., Arakawa, R. and Fukuda, T. Matanubun H, Yamamoto Y. 2013. Molecular analyses of folk varieties of the sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb) using the internal transcribed spacer (ITS) region and nuclear microsatellite DNA. *Sago Palm* **21**, 14-19.

(2) 総説 (計5編)

1. 早川宗志, 濱地秀徳, 福田達哉, 池田浩明. 2013. F1 雑種ヒュウガコモウセンゴケ (モウセンゴケ科) にみられた花器形態の変異. *植生情報* **17**, 43-47.
2. 早川宗志, 松山佳那子, 大賀教平, 横山菜々子, 濱地秀徳, 南谷幸雄, 池田浩明, 福田 達哉. 2013. 5枚の葉を持つユキモチソウ (サトイモ科) の発見報告. *高知県の植物* **23**, 69-72.
3. 松山佳那子, 大賀教平, 齋藤倫広, 横山菜々子, 糸川義雅, 松井亮輔, 吉田紀亜, 早川宗志, 福田 達哉. 2013. 高知県におけるユキモチソウとアオテンナンショウの自然雑種と新産地報告. *高知県の植物* **23**, 73-75.
4. 宮田晴希, 早川宗志, 福田達哉. 2013. 高知大学農学部附属演習林西団地における植物相調査. *高知県の植物* **23**, 77-85.
5. 大賀教平, 早川宗志, 福田達哉. 2013. 高知県内におけるアキザキネジバナ (ラン科) の新報告. *高知県の植物* **23**, 87-88.

(3) 著 書 (計1編)

1. 土佐の植物 --秘めたる適応能力--. Lead 秋号

- | | | |
|----------|------|------------|
| (4) 学会発表 | 国際学会 | 招待講演 (計0回) |
| | | 一般講演 (計0回) |
| | 国内学会 | 招待講演 (計1回) |
| | | 一般講演 (計9回) |

(5) 特 許 (計0件)

なし

(6) 受賞等 (計2件)

1. 日本土壌動物学会・最優秀ポスター賞

糸川義雅・伊藤桂・早川宗志・三浦収・横山潤・荒川良・福田達哉. ニホンアカザトウムシの形態学および系統学的研究. 日本土壌動物学会・第36回大会・福岡・2013年 5月

2. 日本サゴヤシ学会・優秀発表賞

糸川義雅・Agustinus Murjoko・早川宗志・森牧人・宮崎彰・伊藤桂・荒川良・福田達哉・山本由徳・Hubertus Matanubun. インドネシア西パプア州ソロン県におけるサゴヤシ (*Metroxylon sagu* Rottb.) 林開発に伴う植物相変化に関する研究. 日本サゴヤシ学会・第22回大会・高知・2013年 6月

(7) 報 道 (計1件)

1. 土佐あかうしの現場. NHK 高知放送局「こうち情報いちばん」2013年4月24日放送

(8) 外部資金獲得 (計2,340,000円)

1. 科学研究費補助金 (基盤C) (日本学術振興会) 代表者 福田達哉, 溪流沿いと蛇紋岩地の狭葉化は相同か? : 異なる環境での類似形質の進化過程の解明, 2,080,000円
2. 科学研究費補助金 (基盤B) (日本学術振興会) 分担者 福田達哉 (代表者 横山潤), 従属栄養植物における植物-菌根菌-エンドファイトの三者系のダイナミクスの進化, 260,000円

(9) その他

なし

課題番号 2D 「地域産物を利用した環境保全型病害虫管理技術の開発」

手林慎一(自然科学系農学部門、准教授)

1. 概要

生物農薬資材との併用可能な害虫防除資材開発のために、精油、アルカロイド、農作物残渣発酵産物を用いた害虫防除技術のスクリーニングを継続的に実施したところ、農作物残渣発酵産物に新たなチョウ目害虫に対する防除可能なシーズの発見にいたった。このシーズをもとに共同研究を開始し外部資金（農商工連携等促進支援補助金：地域資源活用新事業展開支援事業）の獲得に成功している。現在は実用のために害虫の防除スペクトルの解明を中心に共同研究を継続し、今後の製品開発の課題調査を行っている。

また、高知県内の野生植物（約40種）を採集し害虫に対する成長阻害活性・殺虫活性をスクリーニングし、約25種に活性を見出すとともに3サンプルに強い活性を確認した。これらは今後の害虫防除資材の開発のシーズとして利用できるものと思われる。現在は活性物質の特定を行うとともに特許による知的財産の確保に向けた取り組みを行っている。

一方、甘トウガラシ葉由来のフラボノイドを用いた害虫防除技術に関する研究については、新たに、鹿児島大学および食品総合研究所と共同研究を開始し、実用化上の課題であった化学処理に因らないフラボノイド生産と精製方法の開発を開始した。現在はフラボノイドの易溶化を促進する微生物のスクリーニングを行うとともに、甘トウガラシ葉の収穫段階でのフラボノイド量の減少を防ぐための処理技術の開発を行っている。さらにピーマン産地との新たな連携の協議を行うとともに、フラボノイド高蓄積型栽培技術の改良と普及を行っている。これと同時に、製造開発戦略の策定をバイオ関連企業と協議しており、製品化後は生物農薬資材との併用可能な害虫防除資材として利用が可能と考えられる。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 0 編) *引用度の高いものは IF を記入

なし

(2) 総 説 (計 0 編)

なし

(3) 著 書 (計 0 編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 1 回)

国内学会 招待講演 (計 2 回)

一般講演 (計 3 回)

(5) 特 許 (計 1 件)

1. 特許 5335297 号 B T 剤の殺虫効果を低減化させる影響を回避する方法及び防除剤, 手林慎一ほか、平成 25 年 8 月 9 日登録

(6) 受賞等 (計 0 件)

なし

(7) 報 道 (計 0 件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 6,315,000 円)

1. 手林慎一: 科学研究費補助金 基盤研究(C)、アブラムシによる寄主植物の栄養条件改善機構の解明:アミノ酸の選択的蓄積. (研究代表者: 手林慎一, 総額 ¥1,040,000) . 直接経費: 300,000、間接経費¥90,000.

2. 手林慎一: 科学研究費補助金 基盤研究(C) (研究分担者)、エンドファイトが感染したマメ科植物に蓄積するアルカロイドの生理・生態学的役割. (研究代表者: 石原 亨, 総額 ¥2,600,000) . 直接経費: ¥350,000、間接経費¥105,000.

3. 手林慎一: 受託研究、日本植物防疫協会 新農薬実用化試験に関する研究 (研究代表者: 手林慎一, 総額 ¥3,505,000) ¥3,505,000.

4. 手林慎一: 受託研究、愛媛のかんきつ(みかん類)の酸性特性を活用した酸性炭化有機肥料試作品の成分分析と病害虫に対する忌避試験に関する研究(研究代表者: 手林慎一, 総額 ¥1,700,000) . 直接経費¥1,545,000, 間接経費¥155,000.

5. 手林慎一: 受託研究、JST A-step FS ステージ (探索タイプ) 健康食品成分を利用した保存加工食品の害虫防除技術の開発 (研究代表者: 手林慎一, 総額 ¥265,000) .直接経費¥205,000, 間接経費¥60,000.

(9) その他
なし

課題研究3 「根圏環境の評価と改善」(中課題責任者:田中壮太)

本プロジェクトでは、植物の「根圏環境の健全性評価」と「根圏環境におけるミネラルストレス」をテーマとして取り上げた。本年度は高知県の施設園芸土壌におけるリン酸集積の問題や、中山間地の耕作放棄地にとまなう土壌肥沃度への影響などを研究対象として取り上げ、根圏環境への影響評価に取り組んだ。一方、植物は、土壌病原菌などによる生物的ストレス以外にも、ミネラルストレスをはじめとする非生物的ストレスや根圏の化学的環境に由来する様々な影響を受けることから、そのメカニズムを解析し、健全な地上部生育に資するための研究を展開した。

課題番号3A「各種栽培管理技術による根圏環境への影響評価」(小課題責任者:田中壮太)

高知県のみならず、全国の中山間地では、耕作放棄地の増加が深刻な問題の一つと位置付けられ、その保全や再生利用が模索されている。従来、耕作放棄地土壌については、傾斜地保全や水源涵養機能の面から、主に放棄棚田を対象に土壌物理性への影響が調べられてきた。高知県嶺北地域では、一つの集落内に、棚田のほか、棚田からの転換畑やそれらの耕作放棄地がモザイク状に配置される状況となっている。また、同地域は、超塩基性岩や塩基性岩を母材とする比較的肥沃度の高い土壌が広く分布していることが特徴である。そこで、そのような土壌特性にも着目しながら、土壌肥沃度の現状、養分の移動や土壌微生物相を各種土地利用間で比較し、高知県中山間地の農耕地—特に耕作放棄地の実態や保全再生のための問題点を明らかにすることを試みた。

「中山間集落における各種土地利用下の土壌理化学性の評価」

田中壮太(総合科学系黒潮圏科学部門、教授)

1. 概要

本研究は、高知県長岡郡大豊町怒田集落において実施した。怒田集落は吉野川の支流である南大王川に接する山腹斜面上に位置する。基盤岩は御荷鉾緑色岩類が主であり、地すべり地帯として対策事業が実施されてきた。地下水が豊富なこともあり、緩斜面は棚田として利用されてきた。しかし、過疎高齢化に伴い、比較的容易に栽培できるユズへの転換や、耕作放棄される棚田が増加している。そこで、土壌学の観点から中山間地の現状を調べることを目的とし、様々な土地利用下にある土壌性質を比較検討した。

調査及び試料採取は、怒田集落の山腹斜面の標高380mから660mの6種類の土地利用区分(水田6地点、耕作放棄地6地点、ユズ畑4地点、人工林3地点、普通畑3地点、竹林3地点)について計25地点で行った。深さ0-15cmと15-30cmから土壌試料を採取し、理化学性分析に供試した。水田は全て棚田であり、耕作放棄地及びユズ畑はそれぞれ棚田放棄地と棚田からの転換畑であった。人工林、一般畑、竹林は自然斜面上に位置していた。

怒田集落の土壌の性質を高知県の農耕地土壌の定点調査の結果等と比較したところ、調査地の土壌は粘土含量が高く、土壌有機物に富み、そのためCECが高いことが重要な特徴であった。仮比重が低く、孔隙率が高いことから、土壌の団粒構造の発達が良いことが示唆された。しかし、本調査地は、緑色岩に由来する地滑り地帯で湧水に富むことから土壌水分が非常に多く、畑地としての利用では湿害への注意が必要であると考えられた。

標高差による土壌特性の変動を調べたところ、土壌有機物量など主要な性質に標高との関連は認められなかったが、水田、耕作放棄地及びユズ畑では、他の土地利用よりレキ含量は低く、標高が高いほどレキが少ない傾向がみられた。地すべり地帯であるため、レキが斜面下部に堆積していること、さらに、棚田土壌でレキが少ないのは、代かきによりレキが土壌深くに沈降したことや棚田造成時あるいは利用中にレキが取り除かれたことによるものと推察される。土地利用区分別の比較で

は、全炭素、全窒素量は竹林が最も高かったが、C/N比は竹林、人工林、普通畑で高かった。竹林や人工林では落葉由来の、普通畑では堆肥由来の比較的新鮮な有機物の寄与があるものと推察された。一方、交換性塩基や可給態リン酸は、普通畑とユズ畑で高かった。特に普通畑ではそれら養分量が非常に高く、マルチにより土壌表面が被覆されていたことから、養分の集積が進行しているものと考えられた。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 1 編) *引用度の高いものは IF を記入

1. Tanaka, S., Nakamoto, K., Sakurai, K., and Limin, SH. 2013. Characteristics of the contrasting soils on Kahayan River banks in Central Kalimantan, Indonesia. *Tropics* **22(3)**, 99-112.

(2) 総説 (計 1 編)

1. Yokoyama, S., Hirota, I., Tanaka, S., Ochiai, Y., Nawata, E., and Kono, Y. 2014. A review of studies on swidden agriculture in Japan: cropping system and disappearing process. *Tropics* **22(4)**, 131-155.

(3) 著書 (計 0 編)

なし

- (4) 学会発表
- | | |
|------|--------------|
| 国際学会 | 招待講演 (計 0 回) |
| | 一般講演 (計 1 回) |
| 国内学会 | 招待講演 (計 0 回) |
| | 一般講演 (計 1 回) |

(5) 特許 (計 件)

なし

(6) 受賞等 (計 件)

なし

(7) 報道 (計 1 件)

1. THE こうちユニバーシティ CLUB2013 年 5 月 26 日放送 広報誌 Lead こぼれ話「焼畑」

(8) 外部資金獲得 (計 1,110,000 円)

1. 科学研究費補助金 (基盤研究 (B) (海外学術) (日本学術振興会) 代表者 櫻井克年, チーク植林による生態系修復過程 40 年の検証, 分担金 660,000 円
2. 科学研究費補助金 (基盤研究 (C)) (日本学術振興会) 代表者 岩崎貢三, ハノイの廃棄物処分場周辺農耕地土壌における水銀汚染の実態把握とその対策, 分担金 150,000 円
3. 黒潮講 (黒潮圏科学部門) 代表者 田中壮太, マレーシアにおける浜堤砂質土壌の農業利用に関する研究, 300,000 円

(9) その他

なし

「中山間集落における各種土地利用下の土壌微生物性の評価」

大西浩平 (総合科学系生命環境医学部門、教授)

1. 概要

中山間地域においては、かつて棚田として開発利用されていた土地の多くが耕作放棄されたり、他の用途に転用されている。異なる用途で利用されている土地における微生物相を解析し、その違いを知ることで、将来的に再び水田として利用する場合に最適な微生物相を再現することが可能とな

る。今回調査した高知県大豊町怒田地区の土地の利用形態は、棚田として整備され現在も使用されている水田、ユズ畑もしくは人工林に転換された元棚田、放棄田、および棚田として整備されたことのない畑である。標高 380m から 650m の範囲で水田と放棄田については近接した 6 点から、ユズ畑は 4 点から、放棄田と畑は 2 点から土壌を採取し、直ちに実験室に持ち帰り、使用するまで -80°C で保管した。0.5g の土壌から環境 DNA を抽出し、16SrDNA の部分配列を細菌のユニバーサルプライマーを用いて PCR 増幅し、細菌叢を解析した。解析には細菌叢全体の比較に適した DGGE 法とより詳細な細菌種の同定のための次世代 DNA シークエンサーを用いたアンプリコン解析法を利用した。16SrRNA の V3 領域を利用した DGGE 解析の結果、全体としての細菌叢に各種土壌間で大きな相違は見られなかったが、6 地点すべての水田土壌に特異的なバンドが少なくとも 2 本観察されたことから、水田特異的な細菌の存在が明らかとなった。特異的なバンドは標高の異なるすべての水田で見られたことから、人為的に移入されたものではなく、怒田一帯の土壌に存在していた細菌が棚田として利用される過程で優先化したものと考えられた。そこで、より詳細に細菌叢を調べるために 16SrRNA の V3-V4 領域を用いたアンプリコン解析を行った。細菌の多様性は土壌間で顕著な差異は見られず、いずれの土壌においてもアシドバクテリウム綱に属する細菌が優先種であった。水田土壌に特徴的な細菌としてクロロフレクサ門アナエロリネア綱、クロストリジウム目および未分類の細菌に属する細菌が検出された。前者 2 種の細菌はいずれも偏性嫌気性菌であり、土壌の採取時には灌水していなかったものの還元状態の強い水田に特徴的であった。なおこれら特徴的な種は 6 地点すべての水田土壌において共通であった。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 4 編) *引用度の高いものは IF を記入

1. Teramoto, M., Queck, S.Y. and Ohnishi, K. 2013. Specialized hydrocarbonoclastic bacteria prevailing in seawater around a port in the Strait of Malacca. *PLoS ONE* **8**(6): e66594 (Impact factor: 3.730).
2. Xue, Z., Hu, Y., Xu, S., Ohnishi, K., Ma, Y., Ju, J. and Zhao, B. 2013. Characterization and preliminary mutation analysis of a thermostable alanine racemase from *Thermoanaerobacter tengcongensis* MB4. *Extremophiles* **17**, 611–621 (Impact factor: 2.941).
3. Mugo, A.N., Kobayashi, J., Yamasaki, T., Mikami, B., Ohnishi K., Yagi, T. 2013. Crystal structure of pyridoxine 4-oxidase from *Mesorhizobium loti*. *BBA-Proteins Proteom.* **1834**(6), 953–963 (Impact factor: 3.635).
4. Hagiya, H., Ohnishi, K., Maki, M., Watanabe, N. and Murase, T. J. 2013. Clinical characteristics of *Ochrobactrum anthropi* bacteria. *Clin. Microbiol.* **51**(4), 1330-1333 (Impact factor: 4.153).

(2) 総説 (計 0 編)

なし

(3) 著書 (計 0 編)

なし

(4) 学会発表

国際学会	招待講演 (計 0 回)
	一般講演 (計 0 回)
国内学会	招待講演 (計 0 回)
	一般講演 (計 5 回)

(5) 特許 (計 0 件)

なし

(6) 受賞等 (計 0 件)

なし

(7) 報 道 (計 0 件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 3500 千円)

1. 基盤研究 (B) 「青枯病感受性誘導機構の解明と青枯病感受性感知システムの開発」 分担者、代表者：曳地康史 (高知大学) 200,000 円
2. 基盤研究 (C) 「植物のフォスファチジン酸生成の人為的コントロールによる耐病性付与に関する研究」 分担者、代表者：木場章範 (高知大学) 50,000 円
3. 基盤研究 (C) 「有害・有毒プランクトンへの高効率な新奇遺伝子導入系の開発」 分担者、代表者：足立真佐雄 (高知大学) 100,000 円

(9) その他

課題番号 3B 「根圏からの植物による物質吸収・蓄積機構の解析」 (小課題責任者：上野大勢)

本課題では植物が根圏から受けるミネラルストレスを軽減する技術を開発するため、まずハウス土壌の養分、特に過剰集積が問題となるリン酸の動態の把握に取り組む。また、植物の潜在能力の利用を目指し、イネが有する必須元素マンガンの高集積性を担う輸送システムの分子機構を解明する。さらに、鉱山跡地に自生するスズシロソウの有害元素カドミウムの超集積に関わるタンパク質の立体構造を明らかにする。以上の取り組みにより、植物根圏の健全性を実現するための技術開発に貢献する。

「農耕地土壌におけるリン酸集積の実態と対策」

岩崎貢三 (総合科学系生命環境医学部門、教授)

1. 概要

ハウス土壌では、しばしばリン酸をはじめとする各種養分の集積が問題となる。我々は、これまでに、高知県佐川町のイチゴハウス土壌を対象として、環境保全型農業導入前の 1983 年、導入後の 1995 年に調査を実施し、リン酸等の集積を報告した。近年、この地域でも高齢化に伴って、一部不耕起栽培が導入されるなど、土壌管理方法に変化が生じている。そこで本研究では、この地域のイチゴハウス土壌における養分集積状況を再度把握することを目的として調査を実施した。

イチゴ収穫後期にあたる 2013 年 5 月 23, 27, 30 日に、高知県佐川町佐川、斗賀野の全耕起栽培のハウス 12 地点と不耕起栽培のハウス 8 地点 (計 20 地点) において、表層土壌 (0-5 cm)、下層土壌 (10-15cm) を採取した。採取した土壌の一般理化学性、全リン酸、Truog リン酸、水溶性リン酸含量、マンガン、鉄、銅、亜鉛、カドミウム全量を分析した。

得られた分析結果について、耕作方法と土壌の深さを因子にとり二元配置分散分析を行ったところ、不耕起栽培土壌の C/N 比、全リン酸、水溶性リン酸含量は、全耕起栽培土壌よりも有意に低く、Truog リン酸含量も同様の傾向を示した。また、表層土壌のカドミウム全量は、下層よりも有意に高かった。全耕起、不耕起栽培土壌ともに、栽培年数と全リン酸、Truog リン酸含量との間に有意な正の相関関係が認められたが、水溶性リン酸との間には有意な相関関係は認められなかった。一方、表層土壌における Truog リン酸含量、カドミウム全量の栽培年数に伴う増加傾向は、1983, 1995, 2013 年の順に緩やかであることが確認された。また、表層土壌の亜鉛全量の平均値は、1995 年の結

果よりも有意に高かったが、栽培年数に伴う有意な増加は観察されなかった。

以上のように、不耕起栽培の導入による養分集積の増大は認められなかったが、依然、リン酸等の土壌蓄積が観察され、今後とも有機質資材の適正使用や効率的な施肥に関する検討が必要と考えられた。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 0 編) *引用度の高いものは IF を記入

なし

(2) 総 説 (計 0 編)

なし

(3) 著 書 (計 0 編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 0 回)

国内学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 1 回)

(5) 特 許 (計 0 件)

なし

(6) 受賞等 (計 0 件)

なし

(7) 報 道 (計 0 件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 0 円)

なし

(9) その他

なし

「植物による物質輸送の解析」

上野大勢 (総合科学系生命環境医学部門、准教授)

1. 概要

イネ(*Oryza sativa*)は還元状態の水田において高濃度に溶解出したマンガン(Mn)を吸収し、地上部に著しく高い濃度で集積することが知られているが、その分子機構に関する知見は乏しい。本研究ではこれまでに、イネの根から地上部への Mn 移行に関わると輸送体 OsMTP9、及びイネ地上部において液胞への排出により Mn の無毒化を担う OsMTP8.1 を同定している。本年度はまず、OsMTP9 欠損株で地上部への Mn 移行が妨げられる原因を探るために、放射性同位体である ^{54}Mn をラベルした Mn の欠損株の根における分布を調べた。その結果、OsMTP9 が局在する内皮と外皮において Mn の蓄積が認められ、OsMTP9 が Mn の細胞外への排出を担うことが裏付けられた。次に、OsMTP8.1 と高い相同性(68%)のある OsMTP8 について過剰発現によるマンガン集積・耐性への影響、及び組織局在と細胞内局在を解析し機能解明を試みた。アグロバクテリウム法により作成した MTP8 過剰発現株を水耕栽培した結果、マンガン過剰処理時に過剰発現株の根のマンガン濃度が野性株と比較

して15~41%上昇した。抗体染色により組織局在を調べたところ、OsMTP8は地上部葉身の表皮細胞で検出された。また、細胞内局在を明らかにするため地上部から調整したミクロソームをマグネシウム存在下でショ糖密度勾配遠心により分画し、ウエスタンブロッティングに供試したところ、OsMTP8は液胞膜マーカーのV-ATPaseと同じフラクションで検出された。さらに、タマネギの表皮細胞を用いてGFP融合タンパク質の一過性発現解析を行った結果、GFPの蛍光は核の内側を通るように細胞の外周に観察され、かつ液胞膜マーカーのSYP51と一致した。以上の結果は、OsMTP8が葉身の表皮に局在し液胞へのマンガンの排出に関与することを示唆している。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計1編) *引用度の高いものはIFを記入

1. Chen, Z., Fujii, Y., Yamaji, N., Masuda, S., Takemoto, Y., Kamiya, T., Yusuyin, Y., Iwasaki, K., Kato, S., Maeshima, M., Ma, J.F., Ueno, D. 2013. Mn tolerance in rice is mediated by MTP8.1, a member of the cation diffusion facilitator family. *Journal of Experimental Botany*, **64**, 4375-4387 (IF=5.242).

(2) 総説 (計0編)

なし

(3) 著書 (計0編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計1回)

一般講演 (計0回)

1. 上野大勢, 「Molecular Mechanisms of Mn Accumulation in Rice」, 農学先端研究国際フォーラム—
フایتジーンの可能性と未来 VI—, 10月28日

国内学会 招待講演 (計0回)

一般講演 (計2回)

(5) 特許 (計0件)

なし

(6) 受賞等 (計0件)

なし

(7) 報道 (計0件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計0円)

なし

(9) その他

なし

「重金属集積植物が有する重金属応答性遺伝子群の生理機能の解明」

加藤伸一郎 (総合科学系生命環境医学部門、准教授)

1. 概要

重金属は文字通り比重の大きな金属元素群に対する総称である。一般には鉱工業分野における生産活動に付随する形で、鉛、クロム、錫、ヒ素、カドミウム、亜鉛などの重金属を高濃度に含む副生成物が生じ、しばしば土壌汚染などの深刻な問題を引き起こす。高濃度の重金属は生体内において、タンパク質のシステイン残基を不可逆的に修飾して機能を阻害したり、鉄やカルシウムなどの

ホメオスタシスを乱すことにより、生物に対して深刻な毒性を示すことが広く知られている。これまでに生野鉦山廃坑跡地より見出されたスズシロソウ (*Arabis flagellosa*) が地上部にカドミウムと亜鉛を超集積することを見出しており、重金属処理後に発現量が増加する遺伝子を cDNA サブトラクション法で解析することで重金属応答性遺伝子群の同定と遺伝子産物の生理機能の解明に取り組んできた。なかでも plant defensin 1.3 (AfPDF1.3) は、カドミウム処理により特異的に発現誘導されたことから初期応答に大きく関わっていると考えられている。これまでにシステイン残基をアラニンに置換した七種の変異型タンパク質の発現系を構築し、重金属高感受性大腸菌株を用いて *in vivo* におけるシステイン残基の重要性を明らかにしてきたが、平成 25 年度は AfPDF1.3 の一次構造を元に分子モデリングプログラム (MODELLER ver. 9.13) を用いて精緻な立体構造の解明に取り組んだ。その結果、二つのシステイン残基 (Cys65、Cys76) が立体構造上、極めて近接した位置に存在するとともに特徴的なモチーフ構造を形成していることが明らかになった。そこで 65 番目以降の C 末端領域を欠いた断片型タンパク質 (N-AfPDF1.3) を重金属高感受性大腸菌株で発現させて生理機能を確認したところカドミウム耐性能を完全に失っていた。このことは、これらのシステイン残基を含む C 末端の領域が AfPDF1.3 の生理機能を発揮するうえで不可欠なものであることを強く示唆している。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 1 編) *引用度の高いものは IF を記入

1. Namikoshi, A., Nagata, S., Misono, H. And Kato, S. 2014. The effect of P205A mutation on the substrate specificity of *Escherichia coli* D-alanine-D-alanine ligase., *Enzyme Res.*, in press.

(2) 総 説 (計 0 編)

なし

(3) 著 書 (計 0 編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 0 回)

国内学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 0 回)

(5) 特 許 (計 0 件)

なし

(6) 受賞等 (計 0 件)

なし

(7) 報 道 (計 0 件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 910,000 円)

1. 平成 24 年度日本学術振興会科学研究費助成事業学術研究助成基金助成金 (若手研究 B), ビフィズス菌における含硫化合物生合成コンポーネントの探索と機能解析, 代表, ¥910,000 (直接経費 ¥700,000・間接経費 ¥210,000)

(9) その他

なし

課題研究4 生産物・残さの高度利用・高付加価値化（中課題責任者：金 哲史）

本課題では、地域産物の化学的特性を調査し、生理活性物質を探索するための幅広いスクリーニングを実施する。さらに、目的化学物質の効率的な抽出方法を確立し、単離・精製・構造決定を行うとともに、得られた物質の新規な生理活性を検索することで、生産物・残さの高度利用・高付加価値化を通して、地域社会へ貢献することを目指す。

課題番号 4A 「バイオマス由来の微生物機能の探索と産業利用」（小課題責任者：永田信治）

我が国における醗酵産業の総生産高は数十兆円にのぼると言われており、今や微生物醗酵は食品加工業、医薬品製造業、化学工業、環境浄化産業などには欠かせない技術となっている。これらの産業分野では、新しい機能や既存の特性を凌駕する機能を持った新しい微生物は技術革新に必須である。本課題では、食品加工や医薬品製造等の産業に活用できる有用微生物を、植物等のバイオマス資源やその醗酵物、草食動物の腸管系、および植物資源を取り巻く環境中などから分離し、微生物学、遺伝子工学およびタンパク質工学的手法等を用いて、その特性を分子レベルまたは細胞レベルで評価し、研究成果をもとにした特許化・実用化を目指している。

本年度の「食品素材や食品加工に有利な優良微生物の分離と特性評価」および「医薬品原料の製造に活用できる新奇微生物酵素の探索と特性評価」に関する研究成果としては、高い胃酸胆汁耐性を持ち、動物の消化管内において高い生存能力を有すると推定される乳酸菌株を見出したこと、高知県の植物性バイオマス素材から製パンに適した酵母を分離したこと、医薬品原料として有用なキラルアミンの不斉合成に利用できるアミン酸化酵素を持つ細菌を新たに分離したこと、エルゴチオネイン代謝に関与する新しい酵素を見出したこと、医薬品原料 *N*-メチル-*L*-アミノ酸発酵生産系の構成要素として重要なグルコース脱水素酵素の耐熱化に成功したことなどがあげられる。また、これまでの研究成果から、今年度、 β -1, 3-1, 6-グルカンの定量方法に関する特許を取得することができた。

「食品素材や食品加工に有利な優良微生物の分離と特性評価」

永田信治（総合科学系生命環境医学部門、教授）

1. 概要

1) 新たな食品加工や動物の健康維持に活用できる優良乳酸菌株の探索と利用

高知県四万十町産ムベ、高知県嶺北地区産ブルーベリー、イチゴなどの様々な地場資源を分離源として、0.1mg/l シクロヘキシミドを含む MRS 寒天培地を使って乳酸菌を分離した。2%のグルコースまたはグルコン酸ナトリウムを含む改変 MRS 培地を使ったガス産生試験に分離株を供したところ、全て通性ヘテロ乳酸発酵型であることがわかった。さらに糖資化性試験を行ったところ、ラクトースや複数のオリゴ糖に対する強い発酵力だけでなく、キシロースやアラビノース、ルテオースなど特徴的な糖類に対する資化性に差異がみられた。分離株からドクダミ青汁の発酵に適した乳酸菌を3菌株選抜し、人工胃酸・胆汁末耐性試験を行い、人工胃酸（5時間処理）、胆汁末（3時間処理）に耐性を持つ乳酸菌を2菌株選抜した。実験の結果からプロバイオティクス素材として期待できる2菌株の乳酸菌を利用して、ドクダミ青汁に黒糖を添加することによって、嗜好性の良好な乳酸菌飲料の作製が可能であることを明らかにした。

2) 製パン用酵母の探索と利用

高知県産のムベやドクダミをはじめとする地場資源を分離源として、100ppm クロラムフェニコールを含む YM 寒天培地（pH 5.0）を使って酵母の分離を試みた。その結果、ムベからは30菌株、

ムベ発酵液から 80 菌株、ドクダミから 100 菌株など、発酵力の高い酵母を分離できた。分離株の糖発酵力試験と生地膨張力試験を行った結果、ドクダミから分離した 3 菌株、ムベから分離した 2 菌株、ムベ発酵液から分離した 2 菌株の酵母が高い糖発酵力を持つことがわかった。分離株は 18S リボソーム DNA 解析により *Saccharomyces cerevisiae* と同定された。これらの野生酵母を用いて、ムベやドクダミを利用した発酵種の作製と製パンへの応用が可能であることを明らかにした。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 0 編)

なし

(2) 総 説 (計 0 編)

なし

(3) 著 書 (計 0 編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 0 回)

国内学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 4 回)

(5) 特 許 (計 1 件)

1. 永田 信治・村松 久司・池上 裕倫・宮脇 香織・尾仲 隆. 2014. β -1,3-1,6-グルカンの定量方法. 特許第 5467251 号.

(6) 受賞等 (計 件)

なし

(7) 報 道 (計 件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 3,774,000 円)

1. 永田信治：共同研究 (株式会社ソフィ)、「新規オーレオバシジウム単離株を用いた β -1,3-1,6-グルカンの生産と加工及び評価」、¥1,100,000
2. 永田信治：平成 25 年度特別教育研究経費「システム糖鎖生物学教育研究拠点」分担、¥600,000
3. 永田信治：奨学寄付金 (株式会社ソフィ)、学術研究助成金「黒酵母 β -1,3-1,6-グルカン生産菌に対する助成」、¥827,000
4. 永田信治：奨学寄付金 (株式会社ナガセコーポレーション)、学術研究助成金「廃水処理中に見出される機能性物質の分析に対する助成」、¥200,000
5. 永田信治：奨学寄付金 (株式会社赤穂化成)、学術研究助成金「海洋深層水に見出される有用微生物の分離と利用に対する助成」、¥50,000
6. 永田信治：奨学寄付金 (財団法人高銀地域振興奨励助成)、学術研究助成金「地域資源を在来微生物で付加価値を高める発酵法の開発」、¥200,000
7. 永田信治：平成 25 年度学部長裁量経費、「微生物発酵による地場資源の高付加価値化」、¥100,000
8. 永田信治：平成 25 年度補助金・地域志向研究経費、「地域の素材を生かして資源の付加価値を高める脳を育てる」、¥697,000

(9) その他

1. 「食と健康のための乳酸発酵の利用」サイエンスセミナー、2013 年 4 月 28 日、東京電機大学
2. 「身近な生活で知る古くて新しいバイオテクノロジーの世界」科学講演会、2013 年 5 月 9 日、

高知県立高知追手前高校芸術文化ホール

3. 「ヒトの暮らしと食生活から知る微生物の役割」公開市民講座、2013年6月27日、土佐町あじさいホール
4. 「食と健康を守る高知生まれの微生物」サイエンスセミナー、2013年8月8日、高知大学農学部
5. 「発酵と腐敗を区別する文化と生活！～米麴を糘と表す文化と生活」、公開講座、2013年10月4日、イオンモール高知
6. 「発酵と腐敗を区別する文化と生活！～健康に役立つ酵母と乳酸菌」、公開講座、2013年10月11日、イオンモール高知
7. 「微生物発酵を利用した地域資源の高付加価値化」、農林水産省主催アグリビジネス創出フェア2013、2013年10月23日、東京ビッグサイト
8. 「発酵と腐敗を区別する文化と生活！～野生酵母の発酵種による製パンと発酵茶な義基石茶で考える」公開講座、2013年11月3日、高知大学農学部
9. 「発酵王国～四国の発酵茶」日本農芸化学会主催サイエンス・カフェ、2013年11月3日、高知大学農学部
10. 「食と酒と水と」日本農芸化学会主催サイエンス・カフェ、2013年11月15日、佐川町ギャラリーほてい
11. 「地域資源を在来微生物で付加価値を高める発酵法の開発」、高知大学地域連携センター、土佐まるごと社中主催、地域志向研究発表会、2014年3月6日、高知県工業技術センター

「医薬品原料の製造に活用できる新奇微生物酵素の探索と特性評価」

村松久司(総合科学系生命環境医学部門、准教授)

1. 概要

1) 医薬品原料として有用なキラルアミンの発酵生産に利用できる新奇微生物酵素の探索

医薬品原料として有用なアミンの不斉合成に利用できる新奇微生物酵素を探索するために、キラルアミンを単一の窒素源、グルコースとグリセロールを炭素源、その他微生物の生育に必要と推定される微量元素等を含む培地を用いて、植物系バイオマス等に棲息する微生物を分離した。分離した微生物株を純粋培養し、氷上で細胞を超音波破碎して調製した無細胞抽出液を用いて、キラルアミン酸化酵素活性とキラルアミンアミノ基転移酵素活性を測定した。アミノ基転移酵素活性を持つ微生物株は分離できなかったが、酸化酵素活性を持つ微生物を6菌株分離することができた。キラルアミン酸化酵素活性を持つ微生物の16SリボソームDNAの塩基配列を解析したところ、*Pseudomonas* 属、*Bacillus* 属、*Enterobacter* 属と同定された。今後は、さらに高い酸化酵素活性を持つ微生物やアミノ基転移酵素活性を持つ微生物の分離を試みる予定である。

2) エルゴチオネイン代謝に関わる新奇酵素の機能解析

エルゴチオネイン(ERT)は麦角菌が麦に感染して形成される麦角から単離された抗酸化能を持つアミノ酸類縁体である。ERTは植物や動物など、様々な生物から検出されるが、ERTの生合成や分解が可能な生物は一部の微生物に限られている。近年、ERTとクローン病や慢性リウマチに関係があることが報告され、活発に研究が展開されている。しかし、これまでのところERTの生理機能や代謝経路については不明な点が多いのが現状である。本研究では、ERTの合成と分解に関与する酵素の機能解明と産業利用を目的としており、これまでの研究で、ERT分解の第一段階を触媒する

エルゴチオナーゼを発見し、分子機能と応用法について論文発表した。そこで、本年度は ERT 分解の第二段階を触媒する酵素の探索を試み、*Burkholderia* 属細菌から新奇酵素チオールウロカニン酸代謝酵素を発見した。チオールウロカニン酸代謝酵素を精製して、酵素反応速度論的手法により本酵素の熱や pH 変化に対する安定性、熱や pH の変化が酵素反応速度に及ぼす影響、各種化合物による反応への影響、基質特異性などを明らかにした。今後は、チオールウロカニン酸代謝酵素の反応生成物の決定、立体構造解析、ERT 分解の第三段階以降の反応を触媒する酵素の探索、ERT 合成酵素の遺伝子クローニングを試みる予定である。

3) 医薬品原料として有用な *N*-メチル-L-アミノ酸の発酵生産プロセスの改良

本研究では、*Pseudomonas putida* を由来とする DpkA (*N*-メチル-L-アミノ酸脱水素酵素活性を持つ) と *Bacillus subtilis* を由来とするグルコース脱水素酵素を組み合わせ、効率良い *N*-メチル-L-アミノ酸発酵生産プロセスを構築することを目的としている。これまでの研究で DpkA 耐熱性変異酵素 (V117M/Q302R) を取得した。そこで、今年度はより安定な *N*-メチル-L-アミノ酸発酵生産プロセスの構築を目指してグルコース脱水素酵素の耐熱化を試みた。部位特異的変異導入法で *B. subtilis* 由来グルコース脱水素酵素の 170 番目のグルタミン酸残基をリシンに、さらに 252 番目のグルタミン残基をロイシンに置換した変異酵素は野生酵素に比べて熱に対する安定性が向上することがわかった。今後、耐熱化した DpkA とグルコース脱水素酵素を組み合わせ、実際に *N*-メチル-L-アミノ酸を発酵生産して野生酵素と比較し、各酵素の耐熱化の有効性について検討する予定である。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 0 編) *引用度の高いものは IF を記入

なし

(2) 総 説 (計 0 編)

なし

(3) 著 書 (計 0 編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 0 回)

国内学会 招待講演 (計 0 回)

一般講演 (計 1 回)

(5) 特 許 (計 0 件)

なし

(6) 受賞等 (計 0 件)

なし

(7) 報 道 (計 0 件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 1,040,000 円)

1. 科学研究費補助金 (若手 B) (日本学術振興会) 代表者 村松久司, エルゴチオネイン代謝酵素群の分子機能、立体構造および生理機能の解析, 1,040,000 円.

(9) その他

なし

課題番号 4B 「有用植物の高付加価値化に関する研究」(小課題責任者: 金 哲史)

本課題では、主に、高知県産植物の機能性の解明とその機能性を有する生理活性物質の構造解析、加えて、植物・微生物由来化学成分の機能性開発に取り組んだ。

課題 4A,C では、昨年度行った高知県産植物約 300 種類の選定・スクリーニング結果を基に、イタドリから、高い抗酸化活性を有する物質の単離・構造解析を、碁石茶から脂肪細胞への分化を抑制する関与成分を三種、単離・同定し、ウバユリから、アンジオテンシン I 変換酵素阻害活性について検討を行い、水溶性の高い化学成分が活性に関与していることを明らかにした。また、チロシナーゼ阻害活性および抗ウイルス活性を有する植物からそれぞれ活性物質の単離・構造解析に成功した。

加えて、課題 4B,D,E では、植物由来のフラボノイドであるケルセチンがマウスの初期分割胚の低温保存中の生存性維持に効果があることを明らかにすると共に、微生物由来のポリ- γ -グルタミン酸 (PGA) を用いたプラスチック性 (易加工性) 機能を有する新素材「PGAIC」の開発に成功した。課題 4E では、PGA 合成能を有する膜タンパク質複合体の機能や構造の詳細を明らかにしつつある。

課題番号 4A 「植物由来の新規生理活性物質の単離と構造解析」

金 哲史 (総合科学系生命環境医学部門、教授)

1. 概要

1) 高知県産有用植物の高付加価値化に関する研究

高知大学、高知県立大学、高知工科大学、群馬大学、高知県工業技術センターが関与するプロジェクトで、高知県産植物約 300 種類を選定し、機能性成分の探索、分離・構造解析を目的とする。

現在、機能性としては、抗肥満活性、抗高血圧活性、抗酸化作用、抗ウイルス活性をそれぞれの研究機関が行い、活性の見られたものに関して、当研究室で活性成分の分離・精製、構造解析を行っている。

1-1 チロシナーゼ阻害剤

昨年度、高知県産のある植物 (植物名は特許性があるため非公開) 中に含まれる 3 つの化合物がチロシナーゼ阻害効果を示し、そのうちののひとつの構造を A と同定したことから、今年度は残りの 2 つの化合物の構造を明らかにすることを試み、それぞれの構造を B,C と同定した。

さらに、A にビタミン C を添加すると、相乗的にチロシナーゼ阻害活性が高まることを見いだした。現在、特許出願に向けて、準備中である。

1-2 抗ウイルス増殖阻害

高知県産のある植物 (植物名は特許性があるため非公開) に抗ウイルス増殖阻害があることを見だし、その単離に取り組んだところ、2 つの化合物が活性に関与していることが明らかとなり、そのうちの主要活性成分を *ent-Kaur-16-en-19-oic acid* と同定した。IC₅₀ は 42mg/ml と高かったものの公知の化合物であった。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 2 編) *引用度の高いものは IF を記入

1. Yang, J., Nakayama, N., Toda, K., Tebayashi, S. and Kim, C-S. 2013. , Elicitor(s) in *Sogatella furcifera* (Horváth) Causing the Japanese Rice Plant (*Oryza sativa* L.) to Induce the Ovicidal Substance, Benzyl Benzoate. *Biosci. Biotech. Biochem.* **77**, 1258-1261.
2. Yawson, G.K., Kim, C-S. and Owusu, E.O. 2013. Sources of Infestation, Biology, Damage by and

control of *Megaselia Ruifipese* Meigwn (Diptera:Phoridae) on oil palm Seeds, *J. Science and technology*, 23-33.

(2) 総説 (計0編)

なし

(3) 著書 (計0編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計0回)

一般講演 (計3回)

国内学会 招待講演 (計0回)

一般講演 (計0回)

(5) 特許 (計1件)

ACE阻害剤 P12494ZZ 金 哲史ら

(6) 受賞等 (計0件)

なし

(7) 報道 (計0件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計10,437,350円)

1.平成25年度産学官連携産業創出研究推進事業

「県産未利用有用植物の活用に向けた農商工医連携基盤の構築と事業化モデル」分担 3,639,300円

2.「緑豆由来の殺虫成分の同定」大韓民国農林振興庁 代表 4,378,050円

3.奨学寄付金 辻製油株式会社 2,420,000円

(9) その他

なし

課題番号 4B 「農林生産物に含まれる凍害保護物質の探索」

枝重圭祐 (総合科学系生命環境医学部門、教授)

1. 概要

哺乳動物胚を冷蔵輸送することができれば、凍結保存胚のように液体窒素で冷却する特殊容器が不必要となり、輸送コストを大幅に削減できる。そこで今年度は、植物内に多量に含まれ、臓器や組織の低温保存に有効な、ケルセチンを低温保存液に添加することによって、マウス胚の冷蔵保存後の生存性が向上するかどうかをしらべた。ICR系マウスの桑実胚を0℃の中性(pH6.8)の保存液で36時間保存すると生存率と胚盤胞への発生率は大幅に低下したが、やや酸性(pH 6.2)の保存液で保存すると生存率と発生率のいずれもが大きく向上した。しかしながら、保存液にケルセチンを添加してもほとんどは向上しなかった。ICR系マウスの2細胞期胚を0℃のやや酸性(pH 6.2)の保存液で24時間保存すると生存率と発生率は大きく低下した。ケルセチンを添加すると、胚の発生率には効果は見られなかったが、生存率はやや向上した。したがって、ケルセチンは初期分割胚の低温保存中の生存性維持に効果があると考えられた。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計1編) *引用度の高いものはIFを記入

1. Jin B., Higashiyama, R., Nakata, Y., Yonezawa, J., Xu, S., Miyake, M., Takahashi, S., Kikuchi, K.,

Yazawa, K., Mizobuchi, S., Niimi, S., Kitayama, M., Koshimoto, C., Matsukawa, K., Kasai, M. and Edashige, K. 2013. Rapid movement of water and cryoprotectants in pig expanded blastocysts via channel processes: its relevance to their higher tolerance to cryopreservation. *Biology of Reproduction* **89**, 1-12 (Impact factor: 4.027).

(2) 総説 (計0編)

なし

(3) 著書 (計2編)

- ・冷凍空調便覧 IV 巻 食品・生物編 第8章動物細胞および動物組織 8・2 動物精液 8・2・2 水産動物 332-333 頁、
- ・冷凍空調便覧 IV 巻 食品・生物編 第8章動物細胞および動物組織 8・3 動物胚と卵子 8・3・2 水産動物 338-339 頁

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計0回)

一般講演 (計1回)

国内学会 招待講演 (計0回)

一般講演 (計6回)

(5) 特許 (計0件)

なし

(6) 受賞等 (計0件)

なし

(7) 報道 (計1件)

朝日新聞 2014年2月24日 (月) 朝刊 33面 科学の扉 「生物を冷凍する」

(8) 外部資金獲得 (計¥3,900千円)

1. 枝重圭祐：平成24年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究B) 「内在性水チャンネルの人為的誘導と開閉による哺乳動物卵子の耐凍性向上」, 代表, ¥2,470,000 (直接経費¥1,900,000, 間接経費¥570,000)
2. 枝重圭祐：平成24年度日本学術振興会科学研究費補助金 (挑戦的萌芽研究) 「暑熱・寒冷による卵子・胚の傷害メカニズム：分子機構から産業応用へ」, 代表, ¥650,000 (直接経費¥500,000, 間接経費¥15,000)
3. 枝重圭祐：平成24年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究B) 「魚類の卵子と卵巣の凍結保存法の開発」, 分担, ¥650,000 (直接経費¥500,000, 間接経費¥150,000)
4. 枝重圭祐：平成23年度日本学術振興会科学研究費助成事業学術研究助成基金助成金 (挑戦的萌芽研究) 「生命現象の多様性を科学する新しい研究基盤の開発：日本固有齧歯類の実験動物化の試み」, 分担, ¥130,000 (直接経費¥100,000, 間接経費¥30,000)

(9) その他

なし

課題番号 4C 「農産資源の機能性の解明と機能性評価法の開発」

柏木丈弘 (総合科学系生命環境医学部門 准教授)

1. 概要

今年度はイタドリ、碁石茶、ウバユリといった高知県に特徴的な農産資源の機能性の解明に取り組んだ。イタドリについては、抗酸化性に関与する物質の追求を行い16%と言う高い寄与率を持つ

化合物を単離同定した。また、イタドリの各部位の持つ機能性についてスクリーニングを行い、新たにチロシナーゼ阻害活性及びヒアルロニダーゼ阻害活性を各部位より見いだした。来年度へ向けに関与物質の追及を行う予定である。碁石茶については、脂肪細胞への分化を抑制する活性について検討を行い、関与成分を三種同定した。ウバユリに関して、アンジオテンシンI変換酵素阻害活性について検討を行い、水溶性の高い化学成分が活性に関与していることを明らかにした。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計2編) *引用度の高いものはIFを記入

1. Kurita, S., Kashiwagi, T., Ebisu, T., Shimamura, T. and Ukeda, H. 2014. Content of Resveratrol and Glycoside and Its Contribution to the Antioxidative Capacity of *Polygonum cuspidatum* (Itadori) Harvested in Kochi. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, in press.
2. Moonrungssee, N., Shimamura, T., Kashiwagi, T., Jakmunee, J., Higuchi, K. and Ukeda, H. 2014. An automated sequential injection spectrophotometric method for evaluation of tyramine oxidase inhibitory activity of some flavonoids. *Talanta*, **122**, 257-263.

(2) 総説 (計0編)

なし

(3) 著書 (計0編)

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計0回)

一般講演 (計0回)

国内学会 招待講演 (計0回)

一般講演 (計1回)

(5) 特許 (計1件)

1. 登録番号 5288347 ペクチン含有廃水の浄化方法 沢村 正義、柏木 丈拈

(6) 受賞等 (計0件)

なし

(7) 報道 (計0件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計1,475,000円)

1. 柏木丈拈: 平成24年度科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金) (基盤研究C) 「二段階発酵茶・碁石茶の暗黙知を科学的に解明する」、分担、¥275,000 (直接経費¥250,000, 間接経費¥75,000).
2. 柏木丈拈: 奨学寄付金 エコロジー四万十株式会社「植物精油類等の分析及び応用技術開発等の学術研究助成金」、代表、¥1,200,000 (直接経費¥1,200,000, 間接経費¥0)

(9) その他

課題番号 4D 「生分解性高分子の開発」(小課題責任者: 芦内 誠)

環境負荷低減戦略の一環として「生分解性高分子の実用材料化」が求められている。本プロジェクトでは、ナイロン様の基本骨格を備えた微生物バイオポリマー「ポリ- γ -グルタミン酸」に着目し、その安定供給とポリアミド系産業材料のバイオ合成法確立に求められる基盤的研究に取り組んだ。

ポリ- γ -グルタミン酸の実用材料化に資する機能改変・改質技術についても検討した。結果、ポリ- γ -グルタミン酸、及びその類縁高分子を対象とする「イオンコンプレックス化技術」の確立に至った。さらに、該技術を利用して創り出されたバイオプラスチック新素材の性能や用途性についても精査した。本課題研究を通じ、負荷低減目的材料だけに止まらない新たな機能性を備えた環境機能材料としての新応用展開の可能性が見えてきた。

「生分解性高分子の環境機能材料化」

芦内 誠 (総合科学系生命環境医学部門、教授)

1. 概要

納豆の糸の主成分として知られるポリ- γ -グルタミン酸 (PGA) は、生分解性や生体適合性といったバイオポリマー特有の性質に加え、保湿性、増粘性、ミネラル吸収促進作用など、産業上、多くの魅力的な性質も備えている。実際、コスメ分野ではバイオ保湿素材、食品分野ではミネラル吸収促進素材などに利用されはじめている。PGAのもう一つの特徴は主鎖構造が化成ナイロンと同一であるという点である。この事実はPGAから環境負荷低減の目的に適うバイオナイロン素材の開発を期待させるものとなったが、実際はPGAの過剰な水溶性や吸湿性が要因となって耐水性や有機溶媒耐性を備えた繊維性高分子やプラスチックの開発には到らないというのが現状であった。

そこで、本年度はPGAの過剰な親水性を簡便かつ効果的に制御する新技術の開発に取り組んだ。種々検討の結果、PGAの「イオンコンプレックス (IC) 化技術」の確立に至った。これにより生み出された新素材「PGA IC」には、期待通り、プラスチック性 (易加工性) が備わっていた。一方、予想を超える効果としては、黄色ブドウ球菌や緑膿菌などの食中毒細菌類、カンジダなどのヒト感染真菌類、並びにA型B型インフルエンザなどのウイルス群に対し、優れた殺菌/不活化能を示すことが判明した。PGAを基礎ポリマーとするPGA IC新素材には、様々な材料表面への接着性や被膜化能といったPGA特有の物性まで受け継がれていた。以上、PGA ICに見いだされた3つの特性は、公衆衛生/医療環境の向上に資する高機能性プラスチック素材を開発する上で重要な意味を持つと結論付けた。また、PGA ICのIC部分の構造を変換することで新たな機能性を生み出すことにも成功した。例えば、IC部をドーパミンに変換したドーパミルPGAの場合、プラスチックではなく自己修復性を備えたバイオゲルとしての性質が顕著になった。さらに、金属、なかでも2価カチオン種に優れた結合性とそれに伴う形状変化(イオノマー繊維化)まで認められ、例えば、ストロンチウムなどの有害金属の吸着除去、或いはコバルトやニッケルなどの有価 (レア) 金属の集積回収などにも役立つバイオ新素材であることが分かった。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計1編) *引用度の高いものはIFを記入

1. [Ashiuchi, M.](#), Yamashiro, D. and Yamamoto, K. 2013. *Bacillus subtilis* EdmS (formerly PgsE) participates in the maintenance of episomes. *Plasmid* **70**, 209-215 (IF = 1.276).

(2) 総説 (計3編)

1. Hamano, Y., Arai, T., [Ashiuchi, M.](#) and Kino, K.. 2013. NRPSs and amide ligases producing homopoly(amino acid)s and homooligo(amino acid)s. *Natural Product Reports* **30**, 1087-1097 (IF = 10.178).

2. [Ashiuchi, M.](#) 2013. Microbial production and chemical transformation of poly- γ -glutamate. *Microbial Biotechnology*, **6**, 664-674 (doi:10.1111/1751-7915.12072) (IF = 3.214).

3. 菅内 誠・福島賢三・大矢遥那・柴谷滋郎・白馬弘文. ポリ- γ -グルタミン酸イオンコンプレックスを基礎とする新規バイオプラスチック素材の抗菌性. 2013. 日本生物工学会トピックス集. 19-20.

(3) 著 書 (計2編)

1. 菅内 誠. 2014. 納豆菌の生態と利用. 環境と微生物の辞典 (編集: 日本微生物生態学会). 東京, 朝倉出版, 印刷中.
2. 菅内 誠. 2014. 納豆菌と炭疽菌の違い. 環境と微生物の辞典 (編集: 日本微生物生態学会). 東京, 朝倉出版, 印刷中.

(4) 学会発表 国際学会 招待講演 (計0回)

国際学会 一般講演 (計0回)

国内学会 招待講演 (計2回)

1. Ashiuchi, M., Fukushima, K., Oya, H., Shibatani, S., Hakuba, H. Antimicrobial activity of a poly- γ -glutamate ioncomplex-based bioplastic material. 第65回日本生物工学会大会トピックスワークショップ, 広島国際会議場, 2013.9.19.
 2. 菅内 誠. ポリ- γ -グルタミン酸の合成と改質、並びに応用例について. 日本農芸化学会年次大会シンポジウム「 γ -グルタミル化合物の魅力 ~そのユニークな生物学的意義と秘められた応用的価値~」, 明治大学, 2014.3.30.
- 国内学会 一般講演 (計7回)

(5) 特 許 (計4件)

1. 菅内 誠・福島賢三. 2013.5.31. PGAイオンコンプレックス. 特許第5279080号.
2. 山本周平・北川 優・鈴木道子・曾我部 敦・菅内 誠. 2013.6.6. ポリ- γ -L-グルタミン酸架橋体, その製造方法, 及び, それを含んでなるハイドロゲル. 特許第5317041号.
3. 柴谷滋郎・中森雅彦・白馬弘文・宝田 裕・菅内 誠. 2013.8.8. 抗真菌剤およびコーティング剤. 特願2013-165549.
4. 菅内 誠・妹尾香苗・白馬弘文・小林久人・柴谷滋郎・宝田 裕. 2014.1.30. ポリ(メタ)アクリル酸イオンコンプレックス. 特願2014-015341.

(6) 受賞等 (計0件)

なし

(7) 報 道 (計0件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計3,200,000円)

1. 科学研究費補助金(挑戦的萌芽研究)(日本学術振興会) 代表者 菅内 誠, ドーパミルポリ- γ -グルタミン酸の効率合成と環境応用への挑戦, 1,300,000円.
2. 「レアメタル戦略グリーンテクノロジー創出への学際的教育研究拠点の形成」事業(文部科学省特別経費プロジェクト) 代表者 菅内 誠, 超貧栄養外洋深海生命圏におけるメタルバイオロジー: 基質誘導型遺伝子発現解析法によるレアメタル関連機能遺伝子の探索, 1,800,000円.
3. 共同研究(東洋紡株式会社) 代表者 菅内 誠, バイオ新素材ポリグルタミン酸の量産化とバイオジェル吸水部材の応用研究, 100,000円.

(9) その他

1. 菅内 誠. ポリ- γ -グルタミン酸の先端機能材料化. 高知大学・グリーンサイエンス講演会「グリーン・バイオポリマーのフロンティア」(平成25年6月7日, 高知大学メディアホール).
2. 菅内 誠. 納豆の糸からプラスチックを創る!? ~ポリ- γ -グルタミン酸の制菌機能材料化~. 高知

「生分解性高分子の微生物／酵素合成」

若松泰介（総合科学系生命環境医学部門、講師）

1. 概要

ポリ- γ -グルタミン酸（PGA）は、様々な産業応用が期待されている生分解性高分子である。ただし、その合成はPGA産生微生物による発酵法に依存していること、従って、構造制御（立体規則性や分子量）が困難であることなど、本格的な実用段階に移るまでの課題も少なくない。

PGAは、納豆菌などの微生物が持つPgsA-PgsB-PgsC-PgsE膜タンパク質複合体により合成され、PgdSタンパク質で分解されることが解っている。Pgsタンパク質群のみからなる *in vitro* 再構成系の場合、立体規則性（基質である L-Glu と D-Glu の選択が可能のため）及び分子量分布の面で優れた高品質PGAの合成に期待が持てる。ただし、各々のタンパク質の大まかな機能は解っているが、詳細な役割や相互作用形態、立体構造は未だ解明されておらず、原子レベルでの反応機構については不明のままである。現在、Pgsタンパク質群の機能や構造の詳細を明らかにすることで、基質特異性（立体特異性や構造特異性）や反応機構に係る理解を深めようとする試みが進んでいる。同時に、これらの基質／反応特異性を改変した新規生分解性高分子合成酵素やより実用的な生分解性高分子産生微生物の開発にも大きな期待が寄せられている。

そこで、本年度は *in vitro* 再構成系では不要であるPGA細胞外輸出膜タンパク質と予想されるPgsCを除く4つのPgsタンパク質群について、大腸菌大量発現系の構築を試み、計画通り、目的のPgsタンパク質の生産に適う4種の組換えプラスミドDNAの作製を完了した。

2. 研究業績

(1) 原著論文（計2編） *引用度の高いものはIFを記入

1. Uemura Y., Nakagawa N., Wakamatsu, T., Kim, K., Montelione, G.T., Hunt, J.F., Kuramitsu, S., Masui, R. 2013. Crystal structure of the ligand-binding form of nanoRNase from *Bacteroides fragilis*, a member of the DHH/DHHA1 phosphoesterase family of proteins. *FEBS Letters* **587**, 2669-2674 (IF=3.582).
2. Mutaguchi, Y., Ohmori, T., Wakamatsu, T., Doi, K., Ohshima, T. 2013. Novel amino acid racemase, isoleucine 2-epimerase, from *Lactobacillus* species: Identification, purification and characterization. *Journal of Bacteriology*. **195**, 5207-5215 (IF= 3.177).

(2) 総説（計0編）

なし

(3) 著書（計0編）

なし

(4) 学会発表 国際学会 招待講演（計0回）

一般講演（計0回）

国内学会 招待講演（計1回）

一般講演（計4回）

(5) 特許（計0件）

なし

(6) 受賞等（計0件）

なし

(7) 報 道 (計 0 件)

なし

(8) 外部資金獲得 (計 3,150,000 円)

1. 高知大学教育研究活性化事業 (研究促進) 代表者 若松泰介, ポリ- γ -グルタミン酸代謝関連蛋白質群の構造機能解析, 350,000 円
2. 高知大学学長裁量経費学内拠点形成支援プログラム 代表者 若松泰介, 深海底堆積物に生息する微生物が有する難分解性物質分解酵素の探索と構造機能解析, 1,500,000 円
3. 「レアメタル戦略グリーンテクノロジー創出への学際的教育研究拠点の形成」事業 (文部科学省特別経費プロジェクト) 分担者 若松泰介, 超貧栄養外洋深海生命圏におけるメタルバイオロジー: 基質誘導型遺伝子発現解析法によるレアメタル関連機能遺伝子の探索 (代表者: 芦内 誠), 1,300,000 円.

(9) その他

なし

課題	研究者数	論文数 (>IF=2)	総説・著書	特許数	学会発表数 (国際学会+招待)	科学研究費 (千円)	共同・受託研究費・寄付金など (千円)	合計 (千円)
1A	1	3 (2)	2	1	10 (0+0)	4,810	2,698	7,508
1B	1	5 (4)	0	0	6 (1+1)	1,690	0	1,690
2A	1	0 (0)	2	0	2 (0+0)	3,510	4,988	8,498
2B	1	4 (0)	0	0	2 (0+0)	500	0	500
2C	1	11 (0)	6	0	10(0+1)	2,340	0	2,340
2D	1	0 (0)	0	1	6 (1+2)	845	5,470	6,315
3A	2	5 (4)	1	0	7 (1+0)	1,160	300	1,460
3B	3	2 (1)	0	0	4 (1+1)	910	0	910
4A	2	0 (0)	0	1	5 (0+0)	1,040	3,774	4,814
4B	2	3 (1)	2	1	10 (4+0)	3,900	10,437.35	14,337.35
4C	1	2 (0)	0	1	1 (0+0)	275	1,200	1,475
4D	2	3 (0)	5	4	14 (0+3)	1,300	5,050	6,350
合計	18	38 (12)	18	9	77 (8+8)	22,280	33,917.35	56,197.35