

平成26年度 研究成果の概要

1. 研究成果の概略

テーマ1

- 1) シロイヌナズナのキチン免疫応答におけるPBL27の役割 (川崎)
 - a) シロイヌナズナのキチン受容体 CERK1 と PBL27 の相互作用
 - b) PBL27 変異体を用いた免疫応答の解析
 - c) PBL27 の病害抵抗性反応の解析
 - d) CERK1 による PBL27 のリン酸化反応の解析
 - e) PBL27 を介したキチン応答のモデル
- 2) 植物における環境ストレス応答機構および光合成炭素代謝を制御する分子機構の解明 (重岡)
 - a) 葉緑体 H2O2 応答性 basic Helix-Loop-Helix 転写因子 (bHLH101) の機能解析
 - b) シロイヌナズナのアスコルビン酸再生系に関わる酵素群の包括的な機能解析
 - c) 一過的発現系を用いたシロイヌナズナNADH加水分解酵素 (AtNUDX6および7) の生理的意義の解明
 - d) シロイヌナズナ熱ショック転写因子HsfA1dの転写活性化機構の解明
- 3) TCS ネットワークを構成するHK, RR, コネクターの機能解析とそれらの分子を標的にした阻害剤の作用機構解明と植物病原菌の病原性発現抑制効果ならびに植物病害防除効果について、(内海)
 - a) コネクター分子SafAによるPhoQ, センサーキナーゼ活性化機構
 - b) Hbox 阻害剤、waldiomycin の HK に対する作用機構

テーマ2

- 1) 植物キチナーゼの新規活性測定法および阻害剤の開発、結晶構造と加水分解/糖転移との関連について (深溝)
 - a) キチンナノファイバーを用いた新規キチナーゼ活性測定法の開発
 - b) コケ由来ファミリーGH19キチナーゼ (BcChiA) の新規阻害剤の開発
 - c) ソテツ由来ファミリーGH18キチナーゼの結晶構造と糖転移活性
- 2) 植物による天然殺虫成分の生合成調節および糸状菌が生産する昆虫制御物質について (松田)
 - a) 除虫菊によるピレスリン生合成に関わる遺伝子同定に向けたオーミクス解析
 - b) ピレスリン生合成に寄与するリパーゼの結晶化と阻害剤の開発
 - c) 植物因子に誘導されて糸状菌が生産する殺虫性物質に関する研究
- 3) 汎アレルギーの検出・定量・変動解析及びアレルギー性評価方法の高度化、植物成分の有益な細胞機能性の探索 (森山)
 - a) 植物汎アレルギーの検出・定量系構築とリスク変動解析
 - b) 人工消化系と腸管細胞透過性を組み合わせた新規アレルギー性評価法の開発
 - c) 植物由来分子の細胞機能性の探索と利用 (エラグ酸やアレルギータンパク質の生理機能性)

2. 主な原著論文および総説 (原著論文 27 件、総説 16 件)

- Bacterial effector modulation of host E3 ligase activity suppresses PAMP-triggered immunity in rice. Ishikawa, K., Yamaguchi, K., Sakamoto, K., Yoshimura, S., Inoue, K., Tsuge, S., Kojima, C., and Kawasaki, T. (2014) *Nat. Commun.* 5: 5430.
- N. Selective regulation of chitin-induced defense response by the Arabidopsis receptor-like cytoplasmic kinase PBL27. Shinya, T., Yamaguchi, K., Desaki, Y., Yamada, K., Narisawa, T., Kobayashi, Y., Maeda, K., Suzuki, M., Tanimoto, T., Takeda, J., Nakashima, M., Funama, R., Narusaka, M., Narusaka, Y., Kaku, H., *Kawasaki, T., and *Shibuya (2014) *Plant J.*, 79: 56-66 *Co-corresponding authors.
- The crystal structure of the plant small GTPase OsRac1 reveals its mode of binding to NADPH oxidase. Kosami, K.I., Ohki, I., Nagano, M., Furutani, K., Sugiki, T., Kawano, Y., Kawasaki, T., Fujiwara, T., Nakagawa, A., Shimamoto, K., and Kojima, C. (2014) *J. Biol. Chem.*, 289: 28569-28578.
- Purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of a rice Rac/Rop GTPase, OsRac1. Kosami, K.I., Ohki, I., Hayashi, K., Tabata, R., Usugi, S., Kawasaki, T., Fujiwara, T., Nakagawa, A., Shimamoto, K., and Kojima, C. (2014) *Acta Crystallogr. F. Struct. Biol. Commun.* 70: 113-115.
- Maruta T., Miyazaki N., Nosaka R., Tanaka H., Padilla-Chacon D., Otori K., Kimura A., Tanabe N., Yoshimura K., Tamoi M. and Shigeoka S. A gain-of-function mutation of plastidic invertase alters nuclear gene expression with sucrose treatment partially via GENOMES UNCOUPLED1-mediated signaling. *New Phytologist*, in press
- Tanaka H., Maruta T., Tamoi M., Yabuta, Y., Yoshimura K., Ishikawa T., and Shigeoka S. (2015) Transcriptional control of Vitamin C defective 2 and Tocopherol cyclase genes by light and plastid-derived signals: the partial involvement of GENOMES UNCOUPLED 1. *Plant Sci.* 231, 20-29
- Yoshimura K., Ogawa T., Tsujimura M., Ishikawa K. and Shigeoka S. (2014) Ectopic expression of the human MutT-type Nudix hydrolase, hMTH1, confers enhanced tolerance to oxidative stress in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* 55, 1534-1543
- Maruta T., Noshi M., Nakamura M., Matsuda S., Tamoi M., Ishikawa T. and Shigeoka S. (2014) Ferulic acid 5-hydroxylase 1 is essential for expression of anthocyanin biosynthesis-associated genes and anthocyanin accumulation under photooxidative stress in Arabidopsis. *Plant Sci.* 219-220, 61-68
- Eguchi Y, Utsumi R. (2014) Alkali Metals in addition to acidic pH activate the EvgS histidine kinase sensor in Escherichia coli. *J. Bacteriol.* 196, 3140-3149.
- Eguchi Y, Utsumi R (2014) Two-component system in sensing and adaptation to acid stress in Escherichia coli in “Stress and environmental control of gene expression in bacteria” ed. By Frans J. de Bruijn, Wiley-Blackwell Publishers. Chapter 16.3 in press
- Umemoto N, Kanda Y, Ohnuma T, Osawa T, Numata T, Sakuda S, Taira T, Fukamizo T. Crystal structures and inhibitor binding properties of plant class V chitinases: the cycad enzyme exhibits unique structural and functional features. *Plant J.* 2015, in press
- Sirimontree P, Suginta W, Sritho N, Kanda Y, Shinya S, Ohnuma T, Fukamizo T. Mutation strategies for obtaining chitoooligosaccharides with longer chains by transglycosylation reaction of family GH18 chitinase. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2014;78(12):2014-21.

- Shinya S, Urasaki A, Ohnuma T, Taira T, Suzuki A, Ogata M, Usui T, Lampela O, Juffer AH, Fukamizo T. Interaction of di-N-acetylchitobiosyl moranoline with a family GH19 chitinase from moss, *Bryum coronatum*. *Glycobiology*. 2014 Oct;24(10):945-55.
- Ihara M, Sattelle DB, Matsuda K, Probing new components (loop G and the α - α interface) of neonicotinoid binding sites on nicotinic acetylcholine receptors. *Pestic Biochem Physiol* in press.
- Ihara M, Okajima T, Yamashita A, Oda T, Asano T, Matsui M, Sattelle DB, Matsuda K, Studies on an acetylcholine binding protein identify a basic residue in loop G on the β 1 strand as a new structural determinant of neonicotinoid actions. *Mol Pharmacol* 86,736-746 (2014)
- Furutani S, Nakatani Y, Miura Y, Ihara M, Kai K, Hayashi H, Matsuda K, GluCl a target of indole alkaloid okaramines: a 25 year enigma solved. *Sci Rep* 4, 6190 (2014)
- Furutani S, Ihara M, Nishino Y, Miki Akamatsu, Andrew K. Jones, Sattelle DB, Matsuda K, Exon 3 splicing and mutagenesis identify residues influencing cell surface density of heterologously-expressed silkworm (*Bombyx mori*) glutamate-gated chloride channels. *Mol Pharmacol* 86, 686-895 (2014).
- Yagami A, Suzuki K, Sano A, Iwata Y, Arima M, Moriyama T, Matsunaga K,(2015) Immediate allergy due to raw garlic (*Allium sativum*L.) *The Journal of Dermatology*, in press.
- Inomata N, Okazaki F, Moriyama T, Nomura Y, Yamaguchi Y, Honjoh T, Kawamura Y, Narita H, Aihara M ,(2014) Identification of peamaclein as a marker allergen related to systemic reactions in peach allergy, *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 112, 175-177.
- Iijima S, Tsunoda T, Moriyama T, (2014) Three Cases of oral allergy syndrome due to walnut: detection of IgE-binding walnut proteins. *Journal of environmental dermatology and cutaneous allergology* , 8(2), 95-102.
- Zaima N, Yoshimura Y, Kawamura Y, Moriyama T. (2014) Distribution of lyso-phosphatidylcholine in endosperm of *Oryza sativa* rice. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 28,1515-1520.

2. 主な招待講演・シンポジウム等 (全 25 件)

- Kawasaki, T. “Biological function of *Xanthomonas* effectors in suppression of plant immunity”. The 13th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Shanghai, China Jun 8-14, 2014
- 川崎 努：“*Xanthomonas*エフェクターによる宿主のユビキチン修飾系の制御” 植物細菌病談話、岡山 レスパール藤ヶ鳴2014年10月9-10日
- 山口公志：“植物免疫におけるMAPキナーゼカスケードの活性化メカニズムの解析” 日本植物病理学会関西西部会若手の会、富山 2014年9月26日
- 山口公志：“植物免疫シグナル伝達経路の解明と 耐病性植物の開発への展望” 第14回けいはんな地区植物科学懇談会、京都 2014年11月11日
- Masahiro Tamoi. Effects of improvement of photosynthetic carbon metabolism on plant productivity. Institute for Protein Research (IPR) International Seminar “Regulation and Environmental Adaptation of Photosynthesis: An Important Theme for Structural Life Science”. 2013年10月24日 (大阪大学)
- 田茂井政宏、重岡 成、栄養シグナルによる植物の代謝・形態形成制御機構、アグリバイオシンポジウム2014、2014年11月29日 (近畿大学)
- Utsumi R “Isolation and characterization of waldiomycin as a new antibiotic targeting bacterial

- histidine kinases in “Antibiotic alternatives for the new millennium” London, 5th-7th November, 2014
- 内海龍太郎： 第25回新薬創製談話会「細菌情報伝達阻害型薬剤の開発と応用」2014年9月9日（京都 嵐山）
- 内海龍太郎：平成26年度日本農芸化学会 “細菌分子標的剤開発にむけた微生物代謝工学”、シンポジウム “ゲノムからアプローチした微生物代謝工学” 2014年3月30日（明治大学）
- 内海龍太郎：バーミンガム大学バイオサイエンス学科、秋季セミナー講演：
Tamo Fukamizo: “Crystal structures and engineering of plant family GH18 chitinases”,
Biochemistry Special Lecture for Graduate Students, Suranaree University of Technology,
Nakhon Ratchasima, Thailand, Jun. 15-19, 2013
- 大沼貴之：キチンオリゴ糖の酵素合成を目指した植物キチナーゼのエンジニアリング、
第43回GRL静岡セミナー、2014年9月18日（静岡大学）
- 松田 一彦、温故知新：ピレスリンから学ぶ昆虫制御の原理、第17回中四国支部若手シンポジウム（第6回農芸化学の未来開拓セミナー）、2014年5月16日（岡山大学）
- 松田 一彦、ケミカルセンシングによる生命恒常性の維持と昆虫制御、日本学術振興会「日本におけるケミカルバイオロジー研究の新展開」、2014年6月14日（東京大学）
- Matsuda K, Structural determinants of selective and diverse target site actions of neonicotinoids, 2014 Nicotinic Acetylcholine Receptor, July 24, 2014 (University of Cambridge, UK)
- Matsuda K, Probing insect LGICs using selective ligands, 13th International Congress of Pesticide Chemistry, Aug 13, 2014 (San Francisco, USA)
- 松田一彦、ネオニコチノイドの選択性：メカニズムとレベル、東京農業大学農薬部会第96回セミナー、2014年12月5日（東京農業大学）
- 森山達哉：“クラス2食物アレルギーの現状とそのリスク変動解析”日本食品免疫学会（JAFI）第7回シンポジウム（東京）招待講演 2014年6月30日（東京）
- 財満信宏、森山達哉：“イメージングマススペクトロメトリーによる食品機能研究”第59回食品新素材研究会 特別講演 2014年9月4日（京都）
- 森山達哉：“穀類による食物アレルギー：大豆アレルギーを中心に”第29回ゴマ科学会大会招待講演 2015年10月4日（大阪）
- 森山達哉：“花粉症に関連する新しい食物アレルギーとその発症リスク変動”NPO食の安全と安心を科学する会（SFSS）食の安全と安心フォーラムVII 平成26年11月28日（大阪）
- 森山達哉：“食物アレルギーの現状と学校現場での対応について”近畿大学教員免許更新講習 2014年8月7日（大阪）
- 森山達哉：“大豆・豆乳のタンパク質栄養価に関する研究”日本豆乳協会講演 2014年8月8日（東京）
- 森山達哉：“農作物の健康機能性とアレルギー性”京都大学大学院農学研究科食品生物学専攻特別セミナー 2014年11月27日（京都）
- 森山達哉：“花粉症に関連する新しいタイプの食物アレルギー”ひと・健康・未来研究財団 第5回市民公開講座 2015年2月28日（名古屋）

4. 学会発表（123件）

日本農芸化学会大会	37 件
日本植物生理学会大会	15 件
日本ビタミン学会年会	9 件

日本植物病理学会大会	7 件
日本応用糖質科学学会大会	5 件
日本分子生物学会大会	5 件
ケミカルバイオロジー学会	2 件
キチン・キトサンシンポ	4 件
日本アレルギー学会	2 件
光合成学会	5 件
日本栄養食糧学会大会	2 件
国際学会	25 件
その他	5 件

合計 123 件

5. 特許

- 内海龍太郎 五十嵐雅之 “新規化合物 MK844-mF10 物質、その製造法及びその用途：特許第 5686981 号 登録日：平成 27 年 1 月 30 日
- 内海龍太郎 五十嵐雅之 “新規化合物ウオークマイシン、その製造法及びその用途：特許第 5636179 号 登録日：平成 26 年 10 月 24 日
- 内海龍太郎、余豊年、三沢典彦、岡本尚、原田尚志 “セスキテルペン変換酵素遺伝子及びそれを利用した酸化セスキテルペンの製造方法：特許第 5526381 号 登録日：平成 26 年 4 月 25 日

6. その他、学会賞、報道等

学会賞：

- Shoko Shinya, Young Author's Award at the 7th KIFEE International Symposium on Environment, Energy and Materials : Binding Mode of Chitosan Oligosaccharides to Novel Chitosan-Specific Carbohydrate-Binding Modules (CBM32) of a Chitosanase from *Paenibacillus* sp. IK-5, Kyoto, Japan, 16-19th Mar. 2014
- 新家粧子、第15回関西グライコサイエンスフォーラム口頭発表奨励賞：Paenibacillus sp. IK-5 キトサナーゼのCBM32キトサン結合モジュールリーガンド結合に関与するアミノ酸残基一、2014年5月24日（大阪市立大学）
- 北奥喜仁、第28会キチン・キトサンシンポジウム、ポスター賞：植物由来ファミリーGH18キチナーゼがもつLysMドメインの構造と機能、2014年8月7日（順天堂大学）
- Yoshihito Kitaoku, Excellent Poster Award at the Mie Bioforum 2014 Lignocellulose Degradation and Biorefinery, : Characterization of a GH18 chitin's containing a family 50 carbohydrate-binding module from a horsetail, *Equisetum arvense*, Poster presentation Mie, Japan, 18-21st Nov. 2014
- 北奥喜仁、日本農芸化学会関西支部例会（第487回講演会）支部賛助企業特別賞：LysMドメインの構造と機能：Receptor型LysMとCarbohydrate-Binding Module型LysMとの比較、2014年12月6日（神戸大学）

報道等：

- Ishikawa et al.のNature Communications誌への掲載に関する記事
- 新聞掲載：読売新聞、日刊工業新聞、奈良新聞、日本農業新聞、商経アドバイス、
財経新聞
- Web掲載：産経写真ニュース、産経新聞コラム、東京新聞、京都新聞、神戸新聞、

東北新聞、北海道新聞、静岡新聞、中日新聞、西日本新聞、山陽新聞
重岡 成 中日新聞「こどもウィークリー」“珍しい生物ミドリムシ”掲載 2014.12.13

テレビ放映：

重岡 成 朝日放送「キャスト」“ミドリムシの可能性”解説 2014.12.2放送

重岡 成 NHK「NEWS WEB」出演 2014.10.17放送

重岡 成 NHK総合（香川県域）「ゆう6かがわ」解説 2014.10.3放送

25年度 事業報告

第24回 アグリバイオ・セミナー

日時：平成26年7月25日(金)15:00～16:30

場所：312教室

講演者：山口 良弘先生、大阪市立大学・複合先端研究機構

演題：細菌の自殺制御遺伝子 toxin-antitoxin systemの最新知見

第25回 アグリバイオ・セミナー

日時：平成26年7月30日(水)15:00～16:30

場所：211教室

講演者：西田 生郎先生、埼玉大学大学院理工学研究科生命科学部門

演題：糖転流経路の原形質連絡形成と転流活性化に対する寄与

第26回 アグリバイオ・セミナー

日時：平成26年10月14日(火)13:00～14:30

場所：211教室

講演者：松浦 英幸准教授、北海道大学大学院農学研究院・応用生命科学部門

演題：傷害情報伝令物質としてのJA-Ile

第27回 アグリバイオ・セミナー

日時：平成26年10月17日(金)16:00～17:30

場所：211教室

講演者：浅尾 浩史先生、奈良県農業研究開発センター

演題：奈良県の植物バイオ研究

第28回 アグリバイオ・セミナー

日時：平成26年11月14日(金)16:00～17:30

場所：211教室

講演者：横井 彩子先生、農業生物資源研究所 ゲノム機能改変研究ユニット
(土岐 精一グループ)

演題：植物におけるゲノム編集技術

第29回 アグリバイオ・セミナー

日時：平成26年11月21日(金)17:30～18:30

場所：206教室

講演者：Prof. Vincent Eijsink、Norwegian University of Life Sciences

演題：The chitinolytic machinery of *Serratia marcescens* - a model system for enzymatic degradation of recalcitrant polysaccharides

第30回 アグリバイオ・セミナー

日時：平成26年12月11日(木)16:00～17:30

場所：304教室

講演者：木元 久先生、福井県立大学大学院 生物資源学研究科

演題：キチン・キトサン分解酵素の産業利用 ～次世代型農業資材の開発～

アグリバイオシンポジウム2014

日時：平成26年11月29日(土)13:00～17:30

講演者6名を招待。参加者88名

平成26年度研究成果報告会

日時：平成27年3月3日(火)13:00～17:00

場所：第一会議室