

ミッション5：「高品位生存圏」

5-1) 人の健康・環境調和

1. 研究組織

サブミッション代表者：高橋けんし、杉山暁史

研究課題代表者：渡邊隆司、矢崎一史、杉山暁史、梅澤俊明、上田義勝、宮越順二、篠原真毅、高橋けんし、矢吹正教

2. サブミッションの研究概要

本サブミッションでは、「生存圏の新領域開拓」で実施してきたテーマのうち「バイオマス由来の生体防御物質」「電磁場の生体影響」「大気質の安心・安全」に関係する研究を高品位生存圏の実現に向け発展的に継続し、人の健康ならびに環境との調和に資することを目的として研究を行ってきた。2020年度で「電磁場の生体影響」の研究を終了し、2021年度から新たに所内公募を経て「環境調和に向けた微細気泡水の利用」の課題に取り組んだ。

3. 研究課題ごとの成果

3.1 バイオマス由来の生体防御物質

3.1.1 植物バイオマスからの生理活性物質の生産（代表：渡邊隆司）

【研究概要】

本研究では、未利用バイオマスから薬効成分・生理活性物質を生産し、人の健康や安全な生活に貢献することを目的とする。本年度は、木材やサトウキビバガスを、様々な触媒反応で分解し、抗ウイルス活性物質、抗腫瘍物質を分離し、その化学構造や作用機序を解析した。

【研究の背景と目的】

本研究では、未利用バイオマスから薬効成分・生理活性物質を生産し、人の健康や安全な生活に貢献することを目的とする。人為的に木質バイオマスを分解し、強い抗ウイルス活性物質や抗腫瘍物質を生産する条件を探索するとともに、活性物質を同定することにより、健康で安全な生活に資する未利用バイオマスの新しい有効利用法を開拓する。

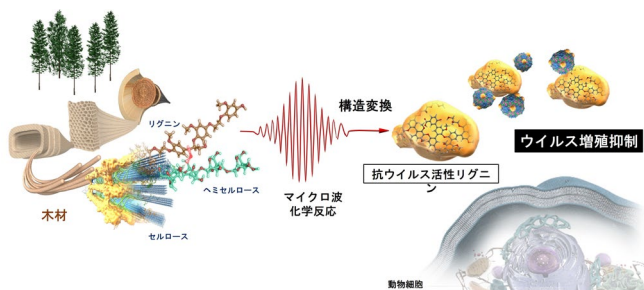


図1 木材をマイクロ波反応で分解し、ウイルスの増殖を抑制する物質を生産

【研究の結果および考察】

木材のマイクロ波分解物から、抗ウイルス物質や抗腫瘍物質を生産する研究を、京都府立医大と連携して実施した。本年度、木材から

分離したマイクロ波グリセロリシスリグニンが、エンベロープおよびノンエンベロープウイルスに対して抗ウイルス活性をもつことを明らかにした。さらに、木材からマイクロ波ソルボリシスによる抗多剤耐性菌活性物質の創出を試み、多剤耐性菌に対し高い活性を示すソルボリシスリグニンを獲得した。

【成果発表】

学会発表・講演

1. 岡部由美、扇谷えり子、松田修、渡辺隆司、木質バイオマス由来マイクロ波ソルボリシスリグニンの抗多剤耐性菌活性、第73回日本木材学会大会（福岡大会）、2023年3月14-16日、福岡市

【今後の展開】

スギ材やユーカリ材のバイオマスのマイクロ波分解物から、抗ウイルス物質を生産する研究を、京都府立医大と連携して実施している。また、マイクロ波ソルボリシスリグニンやミルドウッドリグニン、サルファイトリグニンの抗腫瘍活性などの生理活性を解析する研究を実施している。リグノセルロースから生理活性物質や機能化学品を生産する産学連携研究を発展させる。

【共同研究者】岡部由美、火ノ川開都、岡野啓志、Sadat M. R. Khattab、西村裕志（京大生存研）、應田涼太（北大医学研究院）、呉成旭、藤田尚志（京大・ウイルス再生医科学研究所）、松田修、扇谷えり子、（京都府立医大・医学研究科）

3.1.2 生理活性物質の生産機構と生物学（代表：矢崎一史）

【研究概要】

脱化石資源社会における人間の健康維持や生活の質の維持向上にとって、植物の生産する多様な二次代謝産物は中心的な役割を果たすものとして大きな期待が寄せられている。特に、ヒトにとっての生理活性物質は、細胞膜を透過することが機能発揮に必須であるため、化合物の脂溶性が鍵である。そのため植物由来の脂溶性高付加価値化合物の生合成酵素の探索と、その蓄積メカニズムの解明は重要な研究テーマである。本年度は、メロテルペンのシコニン類やフェニルプロパノイド系オリゴマーのリトスペルミン酸といった、ユニークな生理活性物質を生産する薬用植物ムラサキを対象に、物質集積の面から重要な輸送体ファミリーである ATP 結合カセット（ABC）タンパク質の網羅的な解析を行い、論文にした。この成果を中心に報告する。

【研究の背景と目的】

植物の生理活性物質の多くは二次代謝産物である。生理活性の高い化合物は、一方でそれを生産する植物細胞にとっても生存リスクとなることから、植物はこうした代謝産物を安全に蓄積するため、液胞やプラスチド（特にクロモプラスト）の中に隔離する、あるいは細胞外に分泌し、油腺や腺鱗といった蓄積に特化した組織、あるいは細胞間隙に集積する戦略をとっている。しか

し主たる生合成の場合は細胞質領域であることから、特定のコンパートメントへの物質集積のためには、液胞や細胞膜を介した膜輸送の機構が必要となる。こうした二次代謝産物の輸送に関わる輸送体として、ABC タンパク質、MATE 型輸送体、Nitrate/peptide transporter family (NPF) などが知られる。その中でも ABC タンパク質は最大のファミリーサイズをもっている。ABC タンパク質は、膜貫通ドメイン1つに対し1つのヌクレオチド結合ドメインを有するハーフサイズのメンバーと、そのユニットがタンデムに2つ結合したフルサイズのものがある（図1）。後者は ATP 加水分解能を有するため、そのエネルギーを用いて物質を一次輸送することが知られている（図2）。本研究では、生理活性二次代謝産物を生産するムラサキの細胞において発現する ABC タンパク質を網羅的に解析するため、ムラサキのゲノム解析を行った。そして、ABC タンパク質を特徴付ける ABC signature 配列を目印に発現する全 ABC タンパク質のカタログを作ることとした。

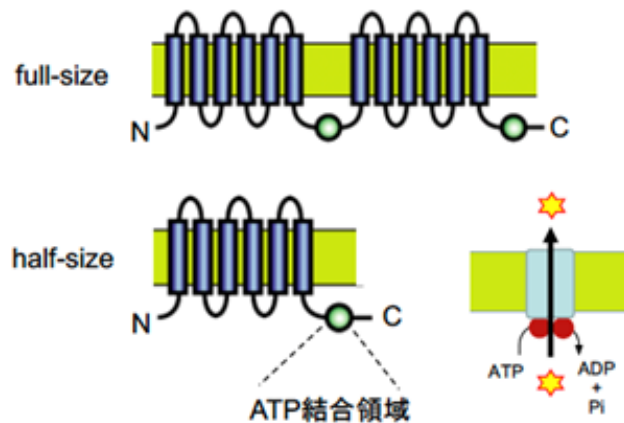


図2 典型的な ABC トランスポータのトポロジーと物質輸送

【研究の結果および考察】

ムラサキのゲノムは、公開データベース上にある、南京大学とパデュー大学のショート及びロングリードデータを利用し、5種類の異なったアセンブラーを利用してゲノムアセンブリを行なった。その結果、Wengan が最も高い BUSCO completeness を示したため、これを採用した。ABC タンパク質はヌクレオチド結合ドメインの中に、Walker A および Walker B と呼ばれる保存配列の間に ABC signature といわれる高度保存領域を有し、この存在が ABC タンパク質であることを規定している。この配列を目印にして、発現している ABC トランスポータ遺伝子を上記ゲノムとトランスクリプトームデータを組み合わせて網羅的に取得したところ、ムラサキにおいては少なくとも118個の ABC タンパク質が発現していることが判明した（図2）。詳細は Li, *et al.*, DNA Res. (2022) に記載しているが、その中にはメロテルペンやフェニルプロパノイドの輸送に関与することが期待されるサブファミリーメンバーが多く見出された。特に、脂溶性物質の輸送に関与することが期待される G-type のサブファミリー遺伝子の重複が顕著であることも、この植物種の持つ代謝能と高い整合性があると考えられた。

【今後の展開】

ムラサキのゲノム中の ABC タンパク質遺伝子の数が約 120 となったことは、シロイヌナズナやイネと比べて妥当であると思われる。今後、各メンバーの中から発現パターンの特徴などを指標に、どのような代謝産物が輸送基質となりうるかを推察し、解析すべきメンバーの優先順位づけをすることが必要となる。次の課題は、安定にこれら植物の ABC タンパク質を発現できる宿主生物／株の選択になる。膜タンパク質として安定に特定の膜に発現／局在させられれば、候補となる二次代謝産物を使った輸送能解析が進められ、生理活性物質の蓄積に対する分子レベルの知見が得られることが期待される。

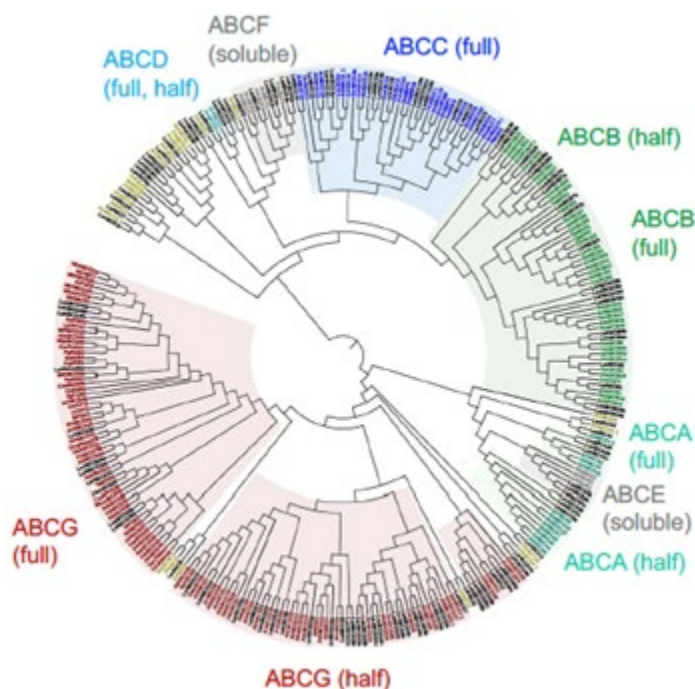


図 3 ムラサキを含む植物 ABC タンパク質の分子系統樹

【成果発表】

1. Tatsumi, K., Ichino, T., Isaka, N., Sugiyama, A., Moriyoshi, E., Okazaki, Y., Higashi, Y., Kajikawa, M., Tsuji, Y., Fukuzawa, H., Toyooka, K., Sato, M., Ichi, I., Shimomura, K., Ohta, H., Saito, K., Yazaki, K., Excretion of triacylglycerol as a matrix lipid facilitating apoplastic accumulation of a lipophilic metabolite shikonin, *J. Exp. Bot.*, 74 (1), 104 – 117, (2023). doi: 10.1093/jxb/erac405.
2. Li, H., Matsuda, H., Tsuboyama, A., Munakata, R., Sugiyama, A., Yazaki, K., Inventory of ATP-binding cassette proteins in *Lithospermum erythrorhizon* as a model plant producing divergent secondary metabolites, *DNA Res.*, 29 (3), 1-12 (2022). doi: 10.1093/dnares/dsac016
3. Kiyoto, S., Ichino, T., Awano, T., Yazaki, K., Improved chemical fixation of lipid-secreting plant cells for transmission electron microscopy, *Microscopy*, 71(4): 206-213 (2022). doi: 10.1093/jmicro/dfac018.
4. 棟方涼介、矢崎一史、合成生物学を利用したメロテルペン類とアルカロイドの微生物生産、植物の生長調節、Vol.57, No.2, 93-99, (2022).

【共同研究者】

杉山暁史（京都大学 生存圏研究所）、棟方涼介（京都大学 生存圏研究所）、渡辺文太（京都大学 化学研究所）、高梨功次郎（信州大学）、アラン ヘーン（ロレーヌ大学 INRA）、フレデリック ブルゴー（PAT フランス）、山本浩文（東洋大学 生命科学部）、松井健二（山口大学大学院創成科学研究科）、肥塚崇男（山口大学大学院創成科学研究科）

3.1.3 抗腫瘍性リグナンの生物生産に向けた単位反応の構築（代表：梅澤俊明）

【研究の背景と目的】

リグナンとは二分子のフェニルプロパン単量体が C8 同士で結合した化合物の総称であり、様々な有用生理活性を有している。抗腫瘍性リグナンであるポドフィロトキシンは、同化合物を産生する植物の希少さから、安定した生物生産系の確立が望まれている。ポドフィロトキシンの生合成経路は植物種によって異なっており、近年、同生合成経路上の複数の酵素遺伝子がヒマラヤハッカクレン (*Podophyllum hexandrum*) やシャク (*Anthriscus sylvestris*) などの植物から単離されているが、未だいくつかの反応段階に関与する酵素遺伝子は同定されていない。

シャクのポドフィロトキシン生合成経路においては水酸化及び環化の反応段階に関与する酵素遺伝子が未同定である。本年度の研究では、ヤテインからデオキシポドフィロトキシンへの環化反応を触媒する 2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ (2ODD) の反応の立体化学特性について解析を進め、その成果について論文投稿した。また、シャクなどのポドフィロトキシン産生植物のリグナン OMT の比較解析を進め、その成果を論文で公表した。



図 4 シャク (*Anthriscus sylvestris*)

【研究の結果および考察】

基質のエナンチオマーに関する選択性の検証について、As2ODD は(-)-yatein を(-)-deoxypodophyllotoxin へ変換することが示され、さらに反応の速度論解析を行った。基質特異性について、反応を試みた yatein 以外のいずれのリグナン基質に対しても As2ODD の酵素活性は検出されなかった。さらに反応機構をヒマラヤハッカクレンの対応する酵素、Ph2ODD、と比較しその結果について論文投稿した。また、yatein の生合成に関わる O-methyltransferase について、シャク、ヒマラヤハッカクレン、及びヒノキアスナロ (*Thujopsis dolabrata* var. *hondae*)から得られる酵素についてアミノ酸配列相同性、反応の基質特異性等を総合的に解析した。その結果、シャクとアオモリヒバの酵素 (AsSNYOMT および TdSNYOMT) については、平行進化により同様の機能を獲得したことが示された。さらにその他のリグナン OMT も含めて解析することにより、リグナン生合成系は各植物に於いて系統特異的に進化していることが示された。

【今後の展開】

シャクにおけるポドフィロトキシン生合成経路については、水酸化の反応段階に関与する酵素遺伝子が同定されていないため、今後はこれら酵素遺伝子の同定を行い、合成生物学的なポドフィロトキシン産生への基盤を構築する。

【成果発表】

1. 小林慶亮, 山村正臣, 小埜栄一郎, 白石慧, 佐竹炎, 梅澤俊明, 「シャクにおける yatein の環化に関与する 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase (As2-ODD) の機能解析」, 第 39 回日本植物バイオ

テクノロジー学会(堺)大会 2022 年 9 月 11 日(日)～13 日(火)

2. Masaomi Yamamura, Masato Kumatani, Akira Shiraishi, Yu Matsuura, Keisuke Kobayashi, Ayano Suzuki, Atsushi Kawamura, Honoo Satake, Safendri Komara Ragamustari, Shiro Suzuki, Hideyuki Suzuki, Daisuke Shibata, Shingo Kawai, Eiichiro Ono, Toshiaki Umezawa, Two *O*-methyltransferases from phylogenetically unrelated *Anthriscus sylvestris* and *Thujopsis dolabrata* var. *hondae* as a signature of lineage-specific evolution in aryltetralin lignan biosynthesis, The 61st Annual Meeting of the Phytochemical Society of North America(PSNA), Blacksburg, VA, US, July 24-28, 2022
3. Masaomi Yamamura, Masato Kumatani, Akira Shiraishi, Yu Matsuura, Keisuke Kobayashi, Ayano Suzuki, Atsushi Kawamura, Honoo Satake, Safendri Komara Ragamustari, Shiro Suzuki, Hideyuki Suzuki, Daisuke Shibata, Shingo Kawai, Eiichiro Ono, Toshiaki Umezawa, Two *O*-methyltransferases from Phylogenetically Unrelated Cow Parsley (*Anthriscus sylvestris*) and Hinoki-asunaro (*Thujopsis dolabrata* var. *hondae*) as a Signature of Lineage-specific Evolution in Lignan Biosynthesis, Plant and Cell Physiology, in press

【共同研究者】

小林慶亮、飛松裕基、梅澤俊明（京大・生存研）、小埜栄一郎（サントリーグローバルイノベーションセンター（株））、白石慧、佐竹炎（（公財）サントリー生命科学財団）、山村正臣（徳島大）

3.1.4 生理活性物質の輸送体の同定と有用物質生産への応用（代表：杉山暁史）

【研究概要】

植物細胞等を用いた生理活性成分の生産を効率的に生産するために、輸送体を同定し、生合成系遺伝子と組み合わせて異種発現系に導入することを目指す。これまでに、ダイズ根から分泌されるイソフラボンやソヤサポニンに着目し、トランスクリプトーム解析により、生合成系遺伝子との共発現から輸送体候補遺伝子を選抜した。イソフラボンの根圏への分泌に関与することが示唆されたアポプラスト局在の β -グルコシダーゼについてダイズ変異体を用いた解析を行った。

【研究の目的】

ダイズのイソフラボン分泌に関与する遺伝子の同定と機能解析

【研究の結果および考察】

トランスクリプトーム解析の結果から、イソフラボン分泌への関与が示唆された ABC タンパク質遺伝子とアポプラスト局在 β -グルコシダーゼ（ICHG: isoflavone conjugate-specific β -glucosidase）の解析を行っている。ABC タンパク質遺伝子に関しては、タバコ植物体を用いた輸送解析を試みたが、形質転換体において ABC タンパク質の発現が確認できなかったため、輸送解析を行うホストを酵母細胞に変更して、解析を試みている。ICHG に関しては、ダイズ変異体ライブラリーから *ichg* 変異体をスクリーニングし、2 系統の変異体を得た。変異体の戻し交雑と自殖により得られたホモ接合型の *ichg* 変異体と ICHG 野生型個体を用いて、各種の解析を行った。水

耕栽培でのイソフラボン分泌、蓄積量への影響を調べるとともに、窒素欠乏用件・十分条件に設定したポットを用いた栽培で、トランスクリプトーム解析、マイクロバイオーム解析、代謝物蓄積量の解析を行った。さらに、圃場環境においてもトランスクリプトーム解析、マイクロバイオーム解析、代謝物蓄積量の解析を行った。以上のデータを基に、ICHG 変異によるイソフラボン分泌への影響を解析し ICHG がダイズ根圏のイソフラボン蓄積に関与することを明らかにした。輸送体を介した分泌と、ICHG を介した分泌がダイズ生育環境によってどのように変化するかについて考察している。

【今後の展開】

トランスクリプトーム解析により得られた候補遺伝子（ABC 輸送体）を用い生理活性物質の輸送体を同定する。

【成果発表】

1. 松田 陽菜子、山崎 由実、森吉 英子、中安 大、山崎 真一、青木 裕一、高瀬 尚文、岡崎 伸、永野 惇、加賀 秋人、矢崎 一史、○杉山 暁史 「ダイズ根圏のイソフラボン蓄積に関与する β -グルコシダーゼの解析」 日本農芸化学会 2023 大会 2023 年 3 月 14 日（発表予定）

【共同研究者】

荻田信次郎（県立広島大学）、土反伸和（神戸薬科大学）、青木裕一（東北大学）、永野惇（龍谷大学）



図 5 DASH 温室でのダイズの栽培試験

3.1.5 環境調和に向けた微細気泡水の利用（殺菌・洗浄）とその作用機序の解明（代表：上田義勝）

【研究概要】

我々はこれまでにファインバブル（FB）などの微細気泡技術を利用して、環境に優しい洗浄技術になりうる応用研究を行ってきている。今年度は、その研究事例として、過去に行った東日本

大震災での除染研究事例から発展し、除染効果・殺菌効果と微細気泡の特性を結びつけるための新規研究を行いつつある。

【研究の背景と目的】

微細気泡を利用した洗浄技術としては、気泡の圧壊による効果としての洗浄効率の向上や、過飽和状態で溶解された気体の効果など、いくつかの効果が考えられる。また、微細気泡水としての効果の他、添加する洗剤との相乗作用なども考えられる。我々は、特にFB処理したメタケイ酸ナトリウム水溶液(SMC)に着目し、2011年の東日本大震災における除染実験に用いた。SMCは、界面活性剤を含まないため、環境負荷が小さく、泡立ちも無いという特長を有する。また、硬水、軟水、海水に対して使用が可能である。また、洗浄特性としては有機溶剤等の溶解洗浄と異なる『剥離洗浄』であるため、気泡、噴流、高圧、超音波、スプレー洗浄に適している。SMCはFB処理する事で、通常のメタケイ酸ナトリウムとは違い、長期間結晶化しないという特徴があるが、その原理についてはまだ研究途上であるため、本テーマに於いて、その特性と作用機序を解明していく。

【研究の結果および考察】

SMCは、通常のメタケイ酸ナトリウム溶液と違い、長期間析出することなく洗浄効果を保持できる洗浄水である。過去の除染実験では効果が高く、また減容化の可能性もあることから、非常に有効な材料である。一方で、FB処理する事による効果については、共振式質量測定法(Archimedes, Malvern Panalytical)により本研究で初めてサブミクロンスケールで気泡と粒子を分離して計測し、その物性状態について確認する事ができた。メタケイ酸ナトリウムは、水和物として存在するが、周辺の水分子の状態が、微細気泡により変化している可能性もあるため、今後は京都大学複合原子力科学研究所と共に、基礎データを集めていきたい。

【今後の展開】

FB処理による効果の違いについて、気泡と粒子との関係の他、今後は水の特性も含めた相関など、詳細なデータを確認していきたい。

【成果発表】

著書

上田 義勝, 佐藤 岳彦, 高木 浩一, 高橋

克幸, 泡の生成・消泡の基礎と産業利用(第9章 ファインバブルを用いた殺菌・ウイルス不活化), ISBN 978-4-7813-1677-2, 2022

共振式質量測定法による
気泡と粒子の分離

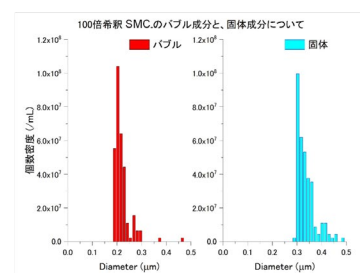
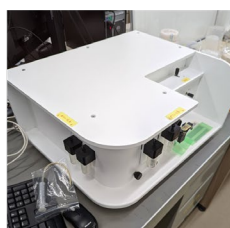


図6 FB処理した珪酸ナトリウム溶液の気泡・粒子分布

招待講演

1. 上田義勝, ファインバブルの基礎と応用 - 最新の研究事例について - ,[モノづくり力徹底強化検討会] 入門ファインバブルセミナー, モノづくり日本会議 (日刊工業新聞社), 2022 年 9 月 21 日
2. Hideaki Ohgaki, Yoshikatsu Ueda, Environment-friendly water treatment by fine bubbles, Aiming for Environmental Friendly and Carbon Neutral System of Desalination and Water Treatment, Japan Pavilion Seminar, COP27, Nov 8, 2022
3. 上田 義勝, 微細気泡 ファインバブル の多面的利用, グリーンエネルギーファーム産学共創パートナーシップ ランチセミナー, 2022 年 12 月 13 日

国内学会

1. 上田 義勝, 徳田 陽明, 後藤 裕, 微細気泡を利用した洗浄技術について ケイ酸ナトリウムをマイクロバブル圧壊処理した洗浄剤の除染処理・減容化に関する研究, 第 10 回マイクロバブル学会学術総会 2022 年 12 月 11 日

【共同研究者】

徳田 陽明 (滋賀大学 教育学部), 谷垣 実 (京都大学 複合原子力科学研究所) 西崎 嘉浩, 後藤 裕 (株式会社 クレハトレーディング)

3.2 大気質の安心・安全 (代表: 高橋けんし、矢吹正教)

【研究概要】

人の健康に深くかかわる人間生活圏における大気質(air quality)の診断方法の開拓を目的として、車載型のライダー装置の開発、および、その検証実験を実際の都市域で実施したほか、cavity-attenuated phase shift 法による都市型大気汚染の観測を行った。

【研究の背景と目的】

大気微量成分、とりわけ、オゾンや窒素酸化物といった微量ガスや大気エアロゾル粒子は、大気環境への影響のみならず、ヒトへの健康影響も懸念される。我々は、人間生活圏および森林圏に近い大気の化学的動態を探索する新しい手法の開拓を目指している。

【研究の結果および考察】

大阪府堺市を調査地域として、都市大気汚染の動態探査を目的とした連続観測を、大阪公立大学との共同で実施した。LED 光源を用いた二酸化窒素(NO_2)センサーと超音波風向風速計を組み合わせることにより、渦相関法による NO_2 フラックスを計測した。その結果、 NO_2 フラックスは朝 4 時から増加し始め、10 時頃から 16 時頃まで高止まりし、その後減少するという特徴的な日変化を示すことが分かってきた。また、車載ライダーを用いて、関西圏から関東圏までのエアロゾル鉛直分布の移動観測を複数回実施した。

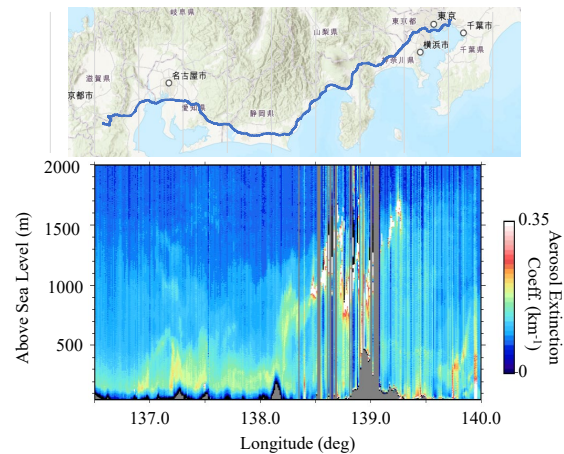


図 7 (上) 観測ルート (下) 車載ライダーで計測した道路上のエアロゾル鉛直分布 (2022 年 11 月 2 日 18:45~3 日 02:20 JST)

【成果発表】

1. 岡村沙南, 植山雅仁, 高橋けんし, 大阪府堺市の中心部における NO_2 フラックスの変動解明に関する渦相関観測, 第 63 回大気環境学会年会, 2022 年 9 月 14-16 日.
2. Yabuki, M., K. Miura, T. Mori, H. Hayami, and H. Kuze, A mobile vehicle lidar for observing aerosol spatial distributions with high-range resolutions, 12th Asian Aerosol Conference (AAC) 2022 (Taipei, Taiwan & Online) , 2022.6.12-6.16.
3. Yabuki, M., K. Miura, T. Mori, H. Hayami, and H. Kuze, Aerosol Spatial Distribution Observed by a Mobile Vehicle Lidar with Optics for Near Range Detection, 30th International Laser Radar Conference (ILRC-30) (Online), 2022.6.26-7.1.