

# 生物工学科 2021 年研究業績

## A. 研究発表

### 1. 論文

- (1) Identification of a novel gene controlling homothallism in the yeast *Kazachstania naganishii* isolated in Japan

Kousuke Toyomura, Taisuke Hisatomi, Nanami Yokoyama, Akira Miyamoto  
*Yeast*, 38, 72–80 (2021)

A novel gene controlling homothallic life cycle was identified in the yeast *Kazachstania naganishii* isolated in Japan. This gene was isolated by means of complementing a mutation, *mti1*, which had led to heterothallism from original homothallism in the yeast. The configuration of original mutation in *MTI1* gene revealed that a truncated product is formed due to occurrence of a stop codon by a nucleotide insertion. When the gene was disrupted with a marker, the disruptant spore clone was haploid and stably heterothallic. Disfunction of the gene caused inability to self-diploidize due to defect of mating-type interconversion. The gene *MTI1* (for Mating Type Interconversion) is a weak homolog of the *Saccharomyces cerevisiae* *VID22/ENV11*, which has been reported to function in vacuolar protein processing. *K. naganishii* has a gene representing significant homology with the *HO* gene of *S. cerevisiae* on chromosome V, which has not been clarified to be involved in regulation of life cycle in *K. naganishii*. The *MTI1* gene defined in this study is located on *K. naganishii* chromosome IV and does not represent significant homology to the above *ScHO*-like gene and any other genes concerning life cycles of yeasts. From the viewpoint of gene evolution, it is extremely interesting that the *MTI1* gene is a new type of gene controlling homothallism in addition to an *HO*-type gene, leading to discovery of an unknown mechanism regulating life cycles in yeasts.

- (2) Postzygotic reproductive isolation among three *Saccharomyces* yeast species

Kousuke Toyomura, Taisuke Hisatomi  
*Yeast*, 38, 326–335 (2021)

We have previously isolated heterothallic haploid strains from original homothallic

diploids of two yeast species in the family *Saccharomycetaceae*. In this study, heterothallic haploid strains were isolated from an original homothallic diploid of *Saccharomyces kudriavzevii* type strain, followed by investigation of sexual interactions among these yeast strains, in addition to *S. cerevisiae* laboratory strains. It has been shown that prezygotic reproductive isolation was observed between *Kazachstania naganishii* and *S. cerevisiae* with  $\alpha$ -factor mating pheromones representing crossaction with each other beyond the genus boundary. Using heterothallic strains, postzygotic reproductive isolation system was shown to reside in the genus *Saccharomyces* by mass mating and cell–cell contact experiments. In mass mating experiments, crossaction of  $\alpha$ -factor and a-factor mating pheromones and sexual agglutination effectively occurred beyond species boundaries among *S. kudriavzevii*, *S. paradoxus*, and *S. cerevisiae*. When the fates of cell–cell pairs from these *Saccharomyces* yeast species were systematically chased one by one, interspecific F1 hybrids were effectively produced, while sporulations were partially prohibited, with spore germination perfectly blocked in the hybrids. These results indicated that postzygotic reproductive isolation definitively resides among these *Saccharomyces* yeast species and that disorder of chromosome organization had to some extent occurred in interspecific F1 hybrids.

- (3) Isolation, identification, and characterization of wild budding yeasts from rose flowers in Fukuyama city, Hiroshima, Japan, and their application in bread and wine production

Taisuke Hisatomi, Kousuke Toyomura

*Mycoscience*, 62, 382–389 (2021)

We have previously isolated heterothallic haploid strains from original homothallic diploids of two yeast species in the family *Saccharomycetaceae*. In this study, heterothallic haploid strains were isolated from an original homothallic diploid of *Saccharomyces kudriavzevii* type strain, followed by investigation of sexual interactions among these yeast strains, in addition to *S. cerevisiae* laboratory strains. It has been shown that prezygotic reproductive isolation was observed between *Kazachstania naganishii* and *S. cerevisiae* with  $\alpha$ -factor mating pheromones representing crossaction with each other beyond the genus boundary. Using heterothallic strains, postzygotic reproductive isolation system was shown to reside in the genus *Saccharomyces* by mass mating and cell–cell contact experiments. In mass mating experiments, crossaction of  $\alpha$ -factor and a-factor mating pheromones and sexual agglutination effectively occurred

beyond species boundaries among *S. kudriavzevii*, *S. paradoxus*, and *S. cerevisiae*. When the fates of cell–cell pairs from these *Saccharomyces* yeast species were systematically chased one by one, interspecific F1 hybrids were effectively produced, while sporulations were partially prohibited, with spore germination perfectly blocked in the hybrids. These results indicated that postzygotic reproductive isolation definitively resides among these *Saccharomyces* yeast species and that disorder of chromosome organization had to some extent occurred in interspecific F1 hybrids.

- (4) DNA metabarcoding dietary analyses of the wood mouse *Apodemus speciosus* on Innoshima Island, Japan, and implications for primer choice  
Jun J. Sato, Yuya Ohtsuki, Naoki Nishiura, Kumi Mouri  
*Mammal Research*, 67:109–122. (2021)

We used DNA metabarcoding to assess the seasonal diets of the large Japanese wood mouse, *Apodemus speciosus* (Muridae, Rodentia), in forest edges adjacent to citrus orchards on Innoshima Island, Japan. We used one chloroplast and three mitochondrial DNA barcoding markers to determine mouse diets. Among the various plant and invertebrate diets, *A. speciosus* typically consumed Chinese cork oak (*Quercus variabilis*) in early spring (likely acorns preserved during winter) and gypsy moths (*Lymantria dispar*, a forest pest) in late spring and summer. In addition, we found that *A. speciosus* also preyed on orchard pests, including the gutta stink bug and other potentially harmful invertebrates. The season during which *A. speciosus* preyed on stink bugs corresponded with the harvest of orchard products. This study revealed several of the ecological roles of *A. speciosus* within the boundary zone between forest and human ecosystems. Furthermore, based on the performance of various mitochondrial markers in dietary profiling of invertebrate food items, we recommend the multi-locus DNA metabarcoding method to comprehensively assess the diet of *A. speciosus*.

- (5) Rapid recovery of phytic acid from rice brans using chitosan nanofiber-based porous hydrogels  
Sachiko Nitta, Hiroyuki Iwamoto  
*Biosci. Biotech. Biochem.*, 85(3):481–487. (2021)

Phytic acid (PA) is a new type of naturally occurring pharmaceutical for afflictions such as cancer, diabetes, and renal calculi. The efficient, low-cost extraction of PA from

biowaste is much sought after. Herein, highly pure PA was obtained from rice bran by adsorption at low pH onto porous chitosan nanofiber hydrogels. Due to the large surface area of the chitosan nanofiber-based porous hydrogels, the adsorption equilibrated within 60 min. Adsorption of PA was influenced by the buffer pH, temperature, and the ratio of chitosan in the hydrogel. PA was recovered by soaking the hydrogel in alkaline solution. After concentrating the solution and washing the residue with ethanol, highly pure sodium phytate was obtained with 32.2%-38.7% yield, as confirmed by Fourier transform infrared and high-performance liquid chromatography. To our knowledge, this is the first report on the recovery of pure PA in high yield without using toxic solvents.

(6) Draft Genome Sequence of NYR20, a Red Pigment-Secreting Mutant of *Saccharomyces cerevisiae*

Hiro Takahashi, Shin-Ichi Iwaguchi, Hisashi Kondo, Taichiro Motomura, Masataka Murase, Anna Takahashi, Shuichi Fukuyoshi, Chiyoko Machida, Shin Kanamasa, Satoru Yamamoto, Takayuki Yoshizaki  
*Microbiol. Resour. Announc.* 10, 1 (2021)

A *Saccharomyces cerevisiae* mutant strain, NYR20, produces a red pigment owing to adenine auxotrophy. Unlike other yeast adenine biosynthetic mutants, this strain not only produces but also secretes this pigment. Here, we report the NYR20 draft genome sequence, thereby advancing our understanding of pigment secretion mechanisms.

## 2. 報文

- (1) 海で味覚を失った哺乳類たち～アザラシやアシカの仲間～  
佐藤淳  
生物工学会誌, 99(4):210-212. (2021)

アザラシ、アシカ、セイウチといった主に海を生活の場とするこれらの哺乳類をまとめて鰭脚類(ききやくるい)と呼ぶ。いわゆるヒレ脚を持つ類の哺乳類である。哺乳類の祖先は陸上生活をしてたものと考えられるが、その進化の過程で何度か海へと生活の場を移したグループが存在する。中でも、肉を食べる哺乳類である食肉目 Carnivora の中から、海へと進出したグループが今回の主役の鰭脚

類である。アザラシの一種であるゴマフアザラシの写真を図1に示した。筆者らは、鰭脚類の味覚に関わる遺伝子を分析し、得られた遺伝情報に基づいて、アザラシの祖先とアシカ・セイウチの祖先が、独立に海に進出したのではないかという知見を得た1)。遺伝情報から哺乳類の進化を研究する筆者と、化石の記録から哺乳類の進化を研究するポーランド科学アカデミーのMieczyslaw Wolsan教授との国際共同研究が実った成果である。

(2) アシカとアザラシは別々に海に入った～遺伝情報に残された鰭脚類の進化と退化の痕跡～

佐藤淳

世界で一番美しいアシカ・アザラシ図鑑(水口博也 編著):140-142. (2021)

鰭脚類は単系統、つまりアシカとアザラシが共通の祖先をもつことが遺伝子の研究から明らかになった。しかし、より進んだ遺伝子研究は、アシカの仲間とアザラシの仲間がそれぞれ別々の機会に海に生活場所を移したことを鮮明に浮き彫りにした。

(3) Editorial

Jun J. Sato

*Mammal Study*, 46 (1): 1-2. (2021)

I am honored to serve as Editor-in-Chief of *Mammal Study* from September 2020 to September 2022. Successive editors-in-chief have improved the submission and editorial systems as well as the internationality and accessibility of this journal. Consequently, *Mammal Study* has become a remarkable research platform for mammalogy studies worldwide, especially in Asia. My goal is to continue to improve the quality of *Mammal Study* and continue to attract readers who are interested in mammals in any way. Readers can see the new editorial board members on the back cover of this issue and may notice that they are from diverse geographical areas (Asia, Africa, Australia, Europe, North America, and South America). We will also cover wide areas of mammalian research (ecology, genetics, morphology, anatomy, physiology, histology, paleontology, conservation biology, invasion biology, zoonosis control, systematics, evolutionary biology, etc.). Mammalia constitute a fascinating animal group, with marked diversity and countless issues remaining to be resolved. I hope that the mammalogists of the world will use our journal as an effective way to record their mammal studies for posterity.

### 3. 学会発表

#### (1) 枯草菌宿主でのフラボノイドで誘導可能なハイブリッド型タンパク質高発現系の開発

藤田紘人、萩原利幸、広岡和丈

日本農芸化学会 2021 年度大会（仙台）、大会講演要旨集 on line (2021-3)

【目的】安全性が認められている枯草菌を宿主として、植物由来低毒性物質であるフラボノイドを誘導物質とするタンパク質高発現系を構築し、評価を行なった。

【方法・結果】枯草菌のケルセチン 2,3-ジオキシゲナーゼ (QdoI) の遺伝子を含む *qdoI-yxaH* オペロンのプロモーター (*PqdoI*) は、2つの転写因子 (LmrA と QdoR) によって負に制御され、特定のフラボノイドで脱抑制される<sup>1)</sup>。また、*yIbP* 遺伝子の SD 配列が高効率であるという知見があり<sup>2)</sup>、加えてコアプロモーターの上流域 (UP) を *rrnB* 遺伝子のものでの変型 (UP<sub>NB</sub>) に置換することで転写活性が向上することが報告されている<sup>3)</sup>。これらの情報をもとに、*qdoI* 上流制御領域の UP を UP<sub>NB</sub> に、SD 配列を *yIbP* のものに置換し、さらにコアプロモーター活性の向上のために、LmrA と QdoR の結合配列に影響を及ぼさないように -35 と -10 配列を保存配列に変換したハイブリッド型発現誘導系 (UP<sub>NB</sub>-*PqdoIoyIbP*) を構築した。これを EGFP 遺伝子と融合させて染色体中に導入した枯草菌株を作製し、フラボノイド添加・未添加の LB 培地で培養して蛍光強度を測定した。その結果、フィセチンまたはケルセチン添加によって明確な蛍光強度の誘導が確認され、フィセチンを用いた方が誘導効果が持続した。これは QdoI の基質特異性に起因すると考えられた。

In *Bacillus subtilis*, the *qdoI-yxaH* operon includes the gene encoding quercetin 2,3-dioxygenase (QdoI), and this operon's promoter (*PqdoI*) is repressed by two transcriptional factors (LmrA and QdoR) and derepressed by specific flavonoids<sup>1)</sup>. It is reported that the *yIbP* gene's SD sequence and the region upstream of the *rrnB* gene's promoter with modification (UP<sub>NB</sub>) are highly efficient<sup>2),3)</sup>. The hybrid-type protein expression system comprising UP<sub>NB</sub>, the modified *PqdoI* with the optimized core promoter, and the *yIbP*'s SD showed the distinct expression level inducible by the flavonoids such as quercetin and fisetin in *B. subtilis*.

- 1) Hirooka K, Fujita Y. Biosci Biotechnol Biochem. 2011;75:1325-1334.
- 2) Hirooka K, Tamano A. Biosci Biotechnol Biochem. 2018;82:1942-1954.
- 3) Zhou C, Ye B, Cheng S, et al. Microb Cell Fact. 2019;18:111.

(2) 酵母 *Saccharomyces cerevisiae* へのセルラーゼ生産能の付与

松崎浩明、渡邊翔介、志波勇介、今久保友則、藤田雄大、秦野琢之  
日本農芸化学会 2021 年度大会 (仙台)、大会講演要旨集 on line (2021-3)

近年、エネルギー消費量の増大により化石燃料の枯渇が危惧されている。そこで、我々は遺伝子導入によりアルコール発酵酵母 *Saccharomyces cerevisiae* にセルラーゼ生産能を付与し、セルロース系バイオマスからバイオエタノールを生産することを目指している。本研究では、まず細菌 *Cellulomonas fimi* 由来のエンド型セルラーゼ (*cenA*) とエキソ型セルラーゼ (*cex*) および酵母 *Saccharomycopsis fibuligera* 由来の $\beta$ -グルコシダーゼ (*BGL1*) の3種類の酵素の生産能を付与することを検討した。*cenA* と *cex* の分泌発現プラスミド pHM1061 は、*cenA* と *cex* を *GAP* プロモーターと *MEL1* 分泌シグナル配列の下流に連結して構築した。また、*BGL1* 分泌発現プラスミド pHM1062 は、*BGL1* を *GAP* プロモーターに連結して構築した。これらのプラスミドを導入した *S. cerevisiae* 二重形質転換体は、コンゴレッド染色、MUC 発色法、および *p*-NPG 活性から3種類の酵素の分泌生産が確認できた。しかし、エンド型セルラーゼ活性 (*cenA* の活性) は低いと考えられた。次に、酵母 *Cryptococcus flavus* 由来のカルボキシメチルセルラーゼ遺伝子 *CMC1* (cDNA) の分泌発現プラスミド pSC7 を導入した三重形質転換体は、エンド型セルラーゼ活性を強化でき、紙をある程度分解できた。さらに、紙の分解を向上させるためセロビオヒドロラーゼの生産を検討している。

Recently, it is apprehensive to run out of the fossil fuel by expansion of energy consumption. We aim for production of bioethanol from cellulosic materials by breeding of cellulase-producing *Saccharomyces cerevisiae* using genetic engineering. In this study, we investigated production of three types of heterologous cellulolytic enzymes, endoglucanase *cenA*, exoglucanase *cex*, both from the *Cellulomonas fimi*, and  $\beta$ -glucosidase from the *Saccharomycopsis fibuligera* in *S. cerevisiae*. We constructed a plasmid pHM1061 for co-expression of *cenA* and *cex* with the *MEL1* signal sequence for secretion under the control of the *GAP* promoter. A plasmid pHM1062 for

expression of *BGLI* under the control of the *GAP* promoter was also constructed. A double transformant of *S. cerevisiae* with these plasmids was produced and secreted three types of cellulolytic enzymes. However, the activity of endocellulase (the *cenA* activity) was low. The activity of endocellulase was improved by introducing a plasmid pSC7 for expression of the carboxymethylcellulase gene, *CMCI*, from the *Cryptococcus flavus* into the double transformant, and papers were partly degraded. We examine production of cellobiohydrolase.

(3) キトサンナノファイバーヒドロゲルを用いた米糠からのフィチン酸の迅速回収  
Rapid recovery of phytic acid from rice bran using chitosan nanofiber-based porous hydrogels

岩本博行、新田祥子

日本農芸化学会 2021 年度大会（仙台）、大会講演要旨集 on line (2021-3)

【目的】フィチン酸（PA、イノシトール 6 リン酸）はキレート能が高く、鉄や亜鉛等と結合して腸管でのミネラル吸収を阻害する一方、抗酸化能を持ち、癌、糖尿病、腎結石などの疾患に効果を示すサプリメントとしても市販されている。PA は米糠や豆類の主要成分であり、米糠の約 6% を占める。本研究ではキトサンナノファイバーヒドロゲルを用いて、農業廃棄物である米糠からシンプルで低コストかつ有機溶媒を用いない PA の回収法を開発することを目的とした。

【方法】本実験で用いたヒドロゲルは、比表面積が大きく水中での分散性が良いウォータージェット製法のキトサンナノファイバー（スギノマシン社製）を、PEG で架橋したキトサンナノファイバーヒドロゲルを用いた。PA を低 pH でキトサンナノファイバーヒドロゲルに吸着させたあと遊離させ、得られた PA の純度を FT-IR や HPLC で確認した。

【結果】米糠を懸濁させた水溶液にヒドロゲルを浸漬して PA を吸着させたところ、キトサンナノファイバーヒドロゲルは多孔質で表面積が大きいため、吸着は 60 分以内に平衡化に達した。PA の吸着は、緩衝液の pH、温度、およびヒドロゲル中のキトサン含量に依存した。ヒドロゲルをアルカリ性溶液に浸漬することで PA を遊離させ、濃縮後エタノールで洗浄した。FT-IR および HPLC で確認した所、高純度のフィチン酸ナトリウムを収率 32.2-38.7% で得る事ができた。以上より、米糠から有機溶媒等を使用せずに高純度の PA を高収率で回収する方法が確立できた。



Phytic acid (PA) is a new type of naturally occurring pharmaceutical for afflictions such as cancer, diabetes, and renal calculi. The efficient, low-cost extraction of PA from biowaste is much sought-after. Herein, highly pure PA was obtained from rice bran by adsorption at low pH onto porous chitosan nanofiber hydrogels. Due to the large surface area of the chitosan nanofibers-based porous hydrogels, the adsorption equilibrated within 60 min. Adsorption of PA was influenced by the buffer pH, temperature, and the ratio of chitosan in the hydrogel. PA was recovered by soaking the hydrogel in alkaline solution. After concentrating the solution and washing the residue with ethanol, highly pure sodium phytate was obtained with 32.2-38.7% yield, as confirmed by FT-IR and HPLC. To our knowledge, this is the first report on the recovery of pure PA in high yield without using toxic solvents.

#### (4) 野生のネズミに学んだ遺伝学

佐藤淳、篠原明男、黒岩麻里、鈴木仁

日本哺乳類学会 2021 年度大会（東京農業大学オンライン開催）要旨集 p31.  
(2021-8)

1990年代、日本哺乳類学会に遺伝学の手法が浸透し始めてから約30年経った。その間、PCR やサンガー法、そして次世代シーケンス等の革新的技術が哺乳類研究にも導入され、日本の哺乳類学は大きく変わった。ネズミの研究についても例外ではない。いまや、野生のネズミの遺伝学研究は、多岐にわたる分野に展開されている。本自由集会では、4名の演者が、遺伝学的手法を用いた野生のネズミの研究の面白さをそれぞれの視点で紹介する。講演1では、DNA メタバーコーディング法に基づく野ネズミの食性に関する研究を紹介する。講演2では、ハムスターの腸内細菌叢と系統進化の関係 (Phylosymbiosis) について紹介する。講演3では、Y染色体を失ったアマミトゲネズミから明らかになった、Y染色体消失の過程と、性決定メカニズムの進化について紹介する。そして講演4では、日本列島における野ネズミの集団動態やハツカネズミのルーツを研究する面白さと残された課題について紹介する。本講演により若い研究者たちが刺激を受け、今後のネズミの遺伝学研究が発展していくことを期待したい。

講演1. 野ネズミの糞中 DNA から学んだ生態系 (福山大・佐藤淳)

講演2. ハムスターから学んだ腸内細菌叢の進化 (宮崎大・篠原明男)

講演 3. トゲネズミから学んだ Y 染色体の運命 (北大・黒岩麻里)

講演 4. 野ネズミと家ネズミに学んだ遺伝学 (北大・鈴木仁)

(5) 瀬戸内海島嶼におけるアカネズミの地理的遺伝構造

安田皓輝、森田奈々、大久保禎人、佐藤淳

日本哺乳類学会 2021 年度大会 (東京農業大学オンライン開催) 要旨集 p96.  
(2021-8)

本研究では、アカネズミの地理的遺伝構造から瀬戸内海の形成史を推定することを目的とした。瀬戸内海は日本列島形成史の中では最近に形成された内海であり、海水面が 120m 低下した最終氷期最盛期 (約 2 万年前) には、陸地であったと考えられている。これまで、瀬戸内海島嶼の形成史に関する地質学的な研究が行われてきたが、過去の堆積物や海底地形の複雑さから島嶼形成過程を探るのは困難であった。そこで、瀬戸内海島嶼に生息するアカネズミの遺伝情報から、島嶼および瀬戸内海の形成過程を理解できると考えた。2011 年から 2020 年にかけて、本州、瀬戸内海島嶼、四国で捕獲したアカネズミを対象に、ミトコンドリア DNA である *Dloop* 領域 (約 300 bp) および *Cytb* 遺伝子 (1140 bp) の塩基配列を決定し、近隣結合法により系統樹を推定した。その結果、瀬戸内海島嶼に生息するアカネズミは四国より本州と近縁であることが示された。このことは、瀬戸内海の形成過程において、初期に四国が分離した後で、島嶼が本州側から分離したことを示唆する。四国の分離には古代河川が関与した可能性がある。また、地理的に近い島嶼間でも遺伝的には遠縁である一方で、本州では地理的に遠い地点間でも遺伝的に近縁である傾向がみられた。このことは、島への隔離が遺伝的分化に影響を与えたことを示唆する。

(6) 積雪地域のハタネズミに冬季繁殖期をもたらす餌資源 : DNA メタバーコーディングによる解析

ムラノ千恵、佐藤淳、東信行

日本哺乳類学会 2021 年度大会 (東京農業大学オンライン開催) 要旨集 p99.  
(2021-8)

ハタネズミは本州に生息する小型哺乳類で、基本的に草本植物を餌とする。東北地方では冬季、積雪により草本植物の生長が抑制される一方で、気温低下に伴いエネルギー要求量が上昇するため、ハタネズミなどの小型哺乳類の生存率は低下すると考えられてきた。しかし近年、青森県の農地では、積雪期にハタネズミの

生存率は上昇し、積極的に繁殖を行って個体数を増加させていることが明らかになった。草本植物の生長が限定的な環境下において、個体数増加を支える餌資源を明らかにすることは、ハタネズミの冬季の生態を明らかにし、農地における個体数管理につながる重要な知見となる。

そこで多雪地域である青森県津軽地域のりんご園で11月から4月にハタネズミのフンを採取し、リボソーム DNA ITS2 領域をターゲットとした DNA メタバーコーディングによる食性解析を行った。

その結果、積雪期にハタネズミが最もよく利用する植物は、ギシギシ等のスイバ属で、調査期間を通じてほぼ全ての個体が利用していた。スイバ属は、農地の主要栽培作物であるリンゴ属より多くの個体に利用されていた。一方、りんご園の下草で優占種となることが多いシロツメクサやイネ科草本の利用率は6割以下で、春が近づくに従いその利用率は低下した。スイバ属はロゼット葉と太い根茎を形成して越冬するため積雪下におけるバイオマス量が比較的大きく、ハタネズミにとって冬季の重要な餌資源になっていることが示唆された。

#### (7) 次世代シーケンサーによる SNP 解析と頭骨の形態解析によるコウベモグラの集団形成史の解明

角井建、木下豪太、原田正史、佐藤淳、加藤克、鈴木仁

日本哺乳類学会 2021 年度大会（東京農業大学オンライン開催）要旨集 p94.  
(2021-8)

日本の動物は第四紀の環境変動の影響を強く受けて現在の集団構造を成している。高度に地下適応したモグラ類は地形に依存した分散様式を持つと考えられ、そのことから日本における第四紀の氷期・間氷期サイクルの影響を探るうえで重要な研究対象である。コウベモグラ (*Mogera mogura*) は関東・北陸地方を北限とし、関西・中国・四国・九州地方、および隠岐・対馬・屋久島・種子島を含む周辺島に生息する。先行研究のミトコンドリア DNA 配列の解析から、琵琶湖南端と神戸を結ぶ I/II 境界と四国山地を横断する II/III 境界という 2 つの遺伝的境界によって 3 つの遺伝的集団 (I, II, III) が存在することが示されたが、これら遺伝的境界の形成要因は不明な点が多い。本研究は次世代シーケンサーによる核ゲノムの SNP 解析からコウベモグラの集団構造とその形成史の解明を試みた。その結果、集団 I/II 間の高度な遺伝的分化と集団 II/III 間の遺伝子流動を検出し、四国集団が比較的古い分岐を持つことが示唆された。また、頭骨（上顎・下顎）を対象に形態解析を行った。隠岐の個体群は同じ遺伝的集団に分類される中国地方の個体群とは異なる頭骨の形態を持ち、また雌雄によるサイズの差があることが示唆さ

れた。このような傾向はより分岐の古い屋久島や種子島の個体群では明確には示されないものであった。これら特徴的な集団構造から集団間の系統関係について考察する。

(8) 酵母 *Saccharomyces cerevisiae* へのセルラーゼ生産能の付与

松崎浩明、渡邊翔介、志波勇介、今久保友則、藤田雄大、秦野琢之

第 73 回日本生物工学会大会 (on line)、大会講演要旨集 p. 192 (2021-10)

近年、エネルギー消費の増大により化石燃料の枯渇が危惧されている。また、化石燃料の消費は大気中の二酸化炭素濃度を増加させ、地球温暖化を招く。一方、セルロース系バイオマスは地球上に豊富に存在し、カーボンニュートラルにより、脱炭素社会の実現に有効な資源であると考えられる。そこで、我々は、化石燃料の代替燃料として、遺伝子導入によりアルコール発酵酵母 *Saccharomyces cerevisiae* にセルラーゼ生産能を付与し、セルロース系バイオマスからバイオ燃料（現在の研究では、バイオエタノール）を生産することを目指している。古紙などの廃棄物を利用し、前処理を省き、手間やコストをできる限り削減しようとしている。本研究では、まず細菌 *Cellulomonas fimi* 由来のエンド型セルラーゼ (*cenA*) とエキソ型セルラーゼ (*cex*) および酵母 *Saccharomycopsis fibuligera* 由来の  $\beta$ -グルコシダーゼ (*BGL1*) の 3 種類の酵素の生産能を付与することを検討した。*cenA* と *cex* の分泌発現プラスミド pHM1061 は、*cenA* と *cex* を *GAP* プロモーターと *MEL1* 分泌シグナル配列の下流に連結して構築した。また、*BGL1* 分泌発現プラスミド pHM1062 は、*BGL1* を *GAP* プロモーターに連結して構築した。これらのプラスミドを導入した *S. cerevisiae* 二重形質転換体は、コンゴレッド染色、MUC 染色法、および *p*-NPG 活性から 3 種類の酵素の分泌生産が確認できた。しかし、エンド型セルラーゼ活性 (*cenA* の活性) は低いと考えられた。次に、酵母 *Cryptococcus flavus* 由来のカルボキシメチルセルラーゼ遺伝子 *CMCI* (cDNA) の分泌発現プラスミド pSC7 を導入した三重形質転換体は、エンド型セルラーゼ活性を強化でき、紙をある程度分解できた。さらに、紙の分解を向上させるためセロビオハイドロラーゼの生産を検討している。また、形質転換体による紙からのエタノールの生産を検討している。

(9) ワイン醸造に寄与する酵母種の検出とその解析

豊村晃丞、杉原隆太郎、原涼太郎、吉崎隆之、山本覚、行安稔、橋本悠汰、久富泰資

日本ブドウ・ワイン学会 2021 年度大会 (Web)、発表要旨、p. 80-81 (2021-12)

We have been making local wine with wild budding yeasts isolated from rose flower and grape berry cultivated in Fukuyama City, Hiroshima, Japan. Bingo Wine 2020 was made by using rose yeast FRY2915 and three grape yeasts, FGY10, FGY13, and FGY18. All of the yeasts belonged to *Saccharomyces cerevisiae* and could be distinguished by electrophoretic karyotyping. When winemaking was conducted using equal amounts of FRY2915, FGY10, FGY13, and FGY18 in large-scale tank fermentation, the abundance ratios of FRY2915 and FGY series were 22% and 56%, respectively, in the sample derived from crude wine fermented for 14 days. In this study, we found and classified four types of wild budding yeasts, BGW1, BGW2, BGW3, and BGW4, in the remaining 22% of whole yeasts used in winemaking. We suggest that these four yeast species were derived from wild budding yeasts residing on the grape berry (Muscat Bailey A) used to make Bingo Wine 2020, after comparing the electrophoretic karyotypes between yeasts in crude wine and those in original grape juice.

(10) Establishment of cell lines of CHO cell useful for highly efficient mass cultivation

山口泰典

第 44 回日本分子生物学会年会 (パシフィコ横浜) 3P-0300 (2021-12)

CHO cells are widely used in the production of useful bioactive proteins such as antibody drugs. The basic culture conditions for CHO cells are basal culture medium (mainly DMEM) + 10% fetal bovine serum (FBS), 37 ° C, 5% CO<sub>2</sub> / 95% air. CHO cells are adherently cultured in plasma-treated polystyrene (PS) vessels, whereas the CHO-S sub-strain obtained from CHO cells is cultured in suspended condition. In the mass culture of CHO cells at the industrial level where reduction of manufacturing cost is required, it is necessary to set efficient culture conditions. Then, the main hurdles are (1) FBS: expensive, lot difference, residual bovine-derived components, (2) plasma-treated PS container: relatively expensive, manufacturer difference, (3) 37 ° C culture: electrical energy consumption, (4) the survival rate decrease due to the stress by sub-cultivation. Therefore, the characteristics of CHO cells were modified by long-term acclimatization to prepare various CHO cell sub-strains that could be cultured even by combining a plurality of the following conditions.

1, Reduction of FBS: Neonatal bovine serum (CCS) 0.4%

- 2, Serum-free culture: DMEM + Opti PRO SFM (20% or 4%) cocktail culture
- 3, Inexpensive container: Untreated PS Petri dish (hydrophobic, super-hydrophobic)
- 4, Reduction of adhesive dependence: weak adhesiveness, floating property, spheroid
- 5, Decrease in culture temperature: 34° C, 32 ° C, 28.5 °C
- 6, Reduction of subculture density: 2 cells / cm<sup>2</sup>

As an example, in the case of "CHOSF20AzAdh sub-strain" that satisfies the conditions of "2, (20%) +3, (super-hydrophobic) +4, (weakly adhesive)", the subculture cost can be reduced to 1/3 or less as compared with the usual case, i.e., adhesive CHO cells in 10% FBS addition.

- (11) 福山大学オリジナルワインに関わる野生出芽酵母の解析  
原 涼太郎、杉原隆太郎、豊村晃丞、久富泰資  
第 38 回 YEAST WORKSHOP (Web)、講演要旨集、p. 14 (2021-11)
- (12) 酵母 *Kazachstania naganishii* の動原体機能に必須な配列の特定  
松原 巧、豊村晃丞、久富泰資  
第 38 回 YEAST WORKSHOP (Web)、講演要旨集、p. 15 (2021-11)
- (13) サッカロマイセス科酵母における生活環関連遺伝子群の解析  
三船晴生、豊村晃丞、久富泰資  
第 38 回 YEAST WORKSHOP (Web)、講演要旨集、p. 16 (2021-11)
- (14) 福山バラ酵母の特徴解析とマルトース高発酵性株の育種  
渡部 練、豊村晃丞、久富泰資  
第 38 回 YEAST WORKSHOP (Web)、講演要旨集、p. 17 (2021-11)
- (15) 出芽酵母における染色体からのセントロメア DNA の切り出し誘導時に出現する生存細胞の解析  
中村祐菜、有田優、三原佑介、秦野琢之、松崎浩明  
第 38 回 YEAST WORKSHOP (on line)、講演要旨集 p.127 (2021-11)
- (16) 酵母 *Saccharomyces cerevisiae* へのセルラーゼ生産能の付与  
石田健登、亀川颯人、秦野琢之、松崎浩明  
第 38 回 YEAST WORKSHOP (on line)、講演要旨集 p.128 (2021-11)

- (17) 油脂 (triacylglycerol) を分泌する酵母の育種  
橋本成矢、松崎浩明、秦野琢之  
第 38 回 YEAST WORKSHOP (on line)、講演要旨集 p.129 (2021-11)

## B. 総説

## C. 著書

## D. その他

- (1) 福山バラの酵母プロジェクト  
久富泰資  
FM ふくやま・小林史明の「あなたの出番です!」、2021 年 1 月 18 日、ラジオ放送  
(2021-1)
- (2) 日本産の酵母に未知の性転換遺伝子を世界で初めて発見!  
久富泰資  
プレスリリース、2021 年 2 月 12 日、情報発信 (2021-2)
- (3) 「ばら酵母」で福山の特産品を! 日本酒、パンに込められた郷土愛と”ローズ  
マインド”  
久富泰資  
テレビ新広島 (TSS)・ライク、2021 年 2 月 23 日、テレビ放映 (2021-2)
- (4) 「ばら酵母」で福山の特産品を! 日本酒、パンに込められた郷土愛と”ローズ  
マインド”  
久富泰資  
Yahoo!ニュース、2021 年 2 月 23 日、記事掲載 (2021-2)
- (5) ばら酵母の日本酒 3/1 発売  
久富泰資  
プレスシード、2021 年 2 月 26 日、記事掲載 (2021-2)

- (6) 福山のバラ酵母で日本酒 蔵元「天寶一」3000本販売  
久富泰資  
朝日新聞、2021年3月2日、記事掲載 (2021-3)
- (7) 大人の味！広島”ビア”物語  
久富泰資  
NHK ひろしま・広島かたすみ食堂、2021年3月12日、テレビ放映 (2021-3)
- (8) バラの酵母で日本酒 天寶一が福山大教授と協力 地元業者を元気づけたい  
久富泰資  
読売新聞、2021年3月22日、記事掲載 (2021-3)
- (9) 試行錯誤を重ねてついに誕生！ バラ酵母で仕込んだお酒に注目  
久富泰資  
ウイंक、2021年3月23日、記事掲載 (2021-3)
- (10) 富士スバルライン ネズミの移動妨害  
佐藤淳  
毎日新聞 2021年3月8日（月）山梨 地方面 22面. (2021-3)
- (11) 【特集】スバルラインが生息域分断か  
佐藤淳  
YBS 山梨放送 2021年4月6日（火）. (2021-4)
- (12) 酵母を使って、「種とは何か？」を解明！  
久富泰資  
プレスリリース、2021年5月6日、情報発信 (2021-5)
- (13) 真っ赤なばら由来の酵母が福山に希望を醸す！  
久富泰資  
リビングふくやま、2021年5月28日、記事掲載 (2021-5)
- (14) 酵母の性転換遺伝子を発見 世界初で米科学誌に掲載  
久富泰資



経済レポート、2021年6月20日、記事掲載（2021-6）

- (15) 「ひと」 バラ酵母で地産品に貢献  
久富泰資  
朝日新聞、2021年6月21日、記事掲載（2021-6）
- (16) 「ひと」 バラ酵母で地産品に貢献  
久富泰資  
Yahoo!ニュース、2021年6月21日、記事掲載（2021-6）
- (17) 大学徹底研究 広島県の大学へ行こう 福山大学 きらり名物教授  
佐藤淳  
中国新聞 2021年6月20日（日）16面.（2021-6）
- (18) 細胞培養用基材およびそれを用いた細胞培養方法、細胞培養器、並びに基材としての使用  
安藤晴菜、飯田慎、山口泰典  
特許番号 6739758.（2021-7）
- (19) 瀬戸内海の島をモデルに環境DNA分析で森海連環を実証する  
佐藤淳  
2021年度福山大学研究成果発表会.（2021-9）
- (20) キトサンナノファイバーを用いた米ぬかからのフィチン酸の効率的な回収  
岩本博行  
2021年度研究成果発表会、研究成果発表集 2021年度版、p. 34（2021-9）
- (21) 赤色色素分泌能を有する *Saccharomyces cerevisiae* NYR20 株のワイン醸造への応用  
吉崎隆之  
2021年度福山大学研究成果発表会、研究成果発表集 2021年度版、p. 35（2021）
- (22) T7 RNAポリメラーゼを利用した枯草菌宿主でのフラボノイド誘導型発現系の開発と評価  
是枝亜実、小林衿花、亀田那波、尾村優太、広岡和丈

令和3年度 大学間交流会（オンライン開催）（2021-11）

- (23) T7 RNA ポリメラーゼを利用した枯草菌宿主でのラムノース誘導型発現系の開発と評価

桑原佑奈、亀田那波、尾村優太、広岡和丈

令和3年度 大学間交流会（オンライン開催）（2021-11）

- (24) 広島の高木俊介パン科技振興財団 研究助成 35年で69件 商品化の例  
久富泰資

中国新聞、2021年12月4日、記事掲載（2021-12）