

# 生物工学科 2013 年研究業績

## A. 研究発表

### 1. 論文

- (1) Expression of *kinA* and *kinB* of *Bacillus subtilis*, necessary for sporulation, is under positive stringent transcription control  
Shigeo Tojo, Kazutake Hirooka, and Yasutaro Fujita  
*J. Bacteriol.*, **195**, 1656–1665 (2013)

*Bacillus subtilis* cells were exposed to decoyinine to trigger stringent transcription control through inhibition of GMP synthase; amino acid starvation results in the same control through inhibition of GMP kinase by 5'-diphosphate 3'-diphosphate guanosine. The positive and negative transcription control of the stringent genes involves adenine and guanine at the transcription initiation sites, whereby they sense an increase and a decrease in the *in vivo* ATP and GTP pools, respectively. Decoyinine also induces sporulation in minimum medium. DNA microarray analysis revealed that decoyinine induced two major sensor kinase genes, *kinA* and *kinB*, involved in the phosphorelay leading to spore formation. *lacZ* fusion experiments involving the core promoter regions of *kinA* and *kinB*, whose transcription initiation bases are adenines, indicated that decoyinine induced their expression. This induction was independent of CodY and AbrB. When the adenines were replaced with guanines or cytosines, the induction by decoyinine decreased. The *in situ* replacement of the adenines with guanines actually affected this decoyinine-induced sporulation as well as massive sporulation in nutrient medium. These results imply that operation of the positive stringent transcription control of *kinA* and *kinB*, which is mediated by an increase in the ATP pool, is likely a prerequisite for the phosphorelay to transfer the phosphoryl group to Spo0A to initiate sporulation.

- (2) Cell death caused by excision of centromeric DNA from a chromosome in *Saccharomyces cerevisiae*  
Akihiro Miyamoto, Toshiaki Yanamoto, Takehiro Matsumoto, Takushi Hatano, and Hiroaki Matsuzaki  
*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1841–1847 (2013)

If genetically modified organisms (GMOs) are spread through the natural environment, it might affect the natural environment. To help prevent the spread of GMOs, we examined whether it is possible to introduce conditional lethality by excising centromeric DNA from a chromosome by site-specific recombination in *Saccharomyces cerevisiae* as model organism. First, we constructed haploid cells in which excision of the centromeric DNA from chromosome IV can occur due to recombinase induced by galactose. By this excision, cell death can occur. In diploid cells, cell death can also occur by excision from both homologous chromosomes IV. Furthermore, cell death can occur in the case of chromosome V. A small number of surviving cells appeared with excision of centromeric DNA, and the diploid showed greater viability than the haploid in both chromosomes IV and V. The surviving cells appeared mainly due to deletion of a recombination target site (RS) from the chromosome.

- (3) Evolutionary history of the sable (*Martes zibellina brachyura*) on Hokkaido inferred from mitochondrial *Cytb* and nuclear *Mc1r* and *Tcf25* gene sequences. Kotaro Ishida, Jun J. Sato, Gohta Kinoshita, Tetsuji Hosoda, Alexey P. Kryukov, and Hitoshi Suzuki  
*Acta Theriol.*, **58**, 13-24 (2013)

We examined sequence variation in mitochondrial and nuclear genes of seven species of the genus *Martes* (Mustelidae, Carnivora): *Martes americana* (American marten), *Martes flavigula* (yellow-throated marten), *Martes foina* (beech marten), *Martes martes* (pine marten), *Martes melampus* (Japanese marten), *Martes pennanti* (fisher) and *Martes zibellina* (sable), focusing on the phylogenetic history of the Hokkaido subspecies of the sable, *Martes zibellina brachyura*. Nucleotide sequence analysis of the mitochondrial cytochrome *b* gene confirmed the view that the Hokkaido sable population has lower genetic diversity. In contrast, network analysis of a nuclear gene related to coat colour, melanocortin-1 receptor (*Mc1r*), revealed two different haplogroups for this population: one shared with that of Russian sables and the other specific to this population but with a close relationship with the American and Japanese martens, implying that these endemic haplotypes are composed of uncharacterised ancestral lineages of a past population. We also examined the sequence variation in a neighbouring nuclear gene, transcription factor 25 (*Tcf25*), located about 5 kb upstream from the *Mc1r* gene, and found similar trends. The sable genome leaves the impression that Hokkaido hosted ancient marten lineages,

with subsequent recent migrations from the continent. The validity of a candidate *Mclr* mutation for the entirely yellow coat observed on Hokkaido sables was also discussed.

(4) Incorporation of amphotericin B into self-assembled hydrophobized Kollicoat IR nanoparticles

Shigefumi Yamamoto, Yoshiharu Kaneo, Takashi Ishizu, Yasunori Yamaguchi, and Hiroyuki Haraguchi

*J. Drug Del. Sci. Tech.*, **23**, 591-596 (2013)

Kollicoat IR (KOL) is a new poly(ethylene glycol)-poly(vinyl alcohol) graft copolymer that is a promising material for medical applications because of its biocompatibility and hydrophilic nature. Amphotericin B (AmB) is a broad-spectrum fungicidal antibiotic used primarily in the treatment of life-threatening systemic fungal infections. However, AmB is limited in clinical use because of its poor water solubility. In this study, we synthesized AmB-loaded hydrophobized KOL nanoparticles for the first time. These self-assembled, stable nanoparticles exhibited a high AmB content. Among the hydrophobized KOL nanoparticles, a cholesterol-grafted KOL nanoparticle reduced AmB toxicity with respect to hemolysis and effectively increased the overall water solubility of AmB. Furthermore, a relatively high retention of AmB in the plasma was demonstrated in vivo in an animal experiment at early time after injection, suggesting that the cholesterol-grafted KOL nanoparticles could enable new pharmaceutical applications for AmB.

## 2. 報文

(1) 出芽酵母において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

宮本昭弘、柳本敏彰、秦野琢之、松崎浩明

福山大学生命工学部研究年報 (12), 1-16 (2013)

遺伝子組換え生物の野外での拡散を防ぐため染色体からセントロメア DNA を切り出して細胞死を誘導することで遺伝子組換え生物に条件致死性質や不稔性質を付与することが効果的であると考えられる。そこで、我々は、*Saccharomyces cerevisiae* をモデル生物として部位特異的組換えを利用して特定の条件下で染色体からセン

トロメア DNA を切り出して細胞死を誘導することを検討している。一倍体細胞において第 IV 番染色体上のセントロメア DNA の両側に組換え標的部 (RS) を挿入し、ガラクトースによってセントロメア DNA の切り出しが誘導される株を作製した。この細胞で、切り出しを誘導することによって生存率が大きく低下し、細胞死を起こすことができる。しかし、プレート上で僅かな数のコロニーが出現するので、生存細胞が出現する原因を解析した。生存細胞の 5 個のクローンについてセントロメア DNA 近傍の PCR 解析から 1 個で切り出しが起こっており、他の 4 個では切り出しが起こっていない。シーケンス解析から切り出しの起こらなかった 4 個では、全てのクローンで 2 個の RS のうち 1 個が染色体から欠失していることが判明した。RS の欠失を抑制することで生存率をさらに低下できる可能性が示唆された。

### 3. 学会発表

(1) Stringent transcription control of carbon metabolism and sporulation initiation in *Bacillus subtilis*

Yasutaro Fujita, Shigeo Tojo, and Kazutake Hirooka

7th International Conference on Gram-Positive Microorganisms (17th International Conference on Bacilli), Montecatini Terme, Tuscany, Italy, Abstracts, p.28 (2013-6)

In *B. subtilis* cells, the GTP level decreases and the ATP one increases upon stringent response. This reciprocal concentration change of the substrates of RNA polymerase affects the rate of transcription initiation of certain stringent genes depending on the purine species of their transcription initiation sites. The positive and negative transcription control of the numerous stringent genes involves adenine and guanine at the transcription initiation sites, whereby they sense an increase and a decrease in the *in vivo* ATP and GTP pools, respectively. DNA microarray analysis suggested that many stringent genes including ones involved in carbon catabolism might be subject to this kind of stringent transcription control. We actually found that *ptsGHI* and *pdhABCD* operons encoding the glucose-specific phosphoenolpyruvate:sugar phosphotransferase system and the pyruvate dehydrogenase complex as well as *rrn* encoding rRNAs were negatively regulated upon stringent response, whereas the *pycA* gene encoding pyruvate carboxylase and the *alsSD* operon for synthesis of acetoin from pyruvate as well as *ilv-leu* encoding the enzymes for synthesis branched-chain amino acids were positively

regulated (1).

*B. subtilis* cells were exposed to decoyinine to also trigger stringent transcription control through inhibition of GMP synthase. The DNA microarray analysis also revealed that decoyinine induced two major sensor kinase genes, *kinA* and *kinB*, involved in phosphorelay leading to spore formation. *lacZ*-fusion experiments involving the core promoter regions of *kinA* and *kinB*, whose transcription initiation bases are adenines, indicated that decoyinine induced their expression. This induction was independent of CodY and AbrB. When the adenines were replaced with guanines or cytosines, the induction by decoyinine decreased. The *in situ* replacement of the adenines with guanines actually affected this decoyinine-induced sporulation as well as massive sporulation in nutrient medium. These results imply that operation of the positive stringent transcription control of *kinA* and *kinB*, which is mediated by an increase in the ATP pool, is likely a prerequisite for the phosphorelay to transfer the phosphoryl group to Spo0A to initiate sporulation (2).

1. Tojo S, Kumamoto K, Hirooka K, Fujita Y. 2010. Heavy involvement of stringent transcription control depending on the adenine or guanine species of the transcription initiation site in glucose and pyruvate metabolism in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 192: 1573-1585.

2. Tojo S, Hirooka K, Fujita Y. 2013. Expression of *kinA* and *kinB* of *Bacillus subtilis*, necessary for sporulation initiation, is under positive stringent control. *J. Bacteriol.*, 195: 1656-1665.

(2) Symposium “Small carnivores in space and time”

Emmanuel Do Linh San, Jun J. Sato, Jerrold L. Belant, and Michael J. Somers  
The 11th international Mammalogical Congress, Queens University, Belfast,  
Northern Ireland, United Kingdom, Abstracts, p.26 (2013–8)

In comparison with large carnivores (order Carnivora), small carnivores are generally considered as less charismatic, and with the exception of a few social species (e.g. meerkats, European badger), they have been subjected to proportionately less research work. However, small carnivores play important roles in ecosystem function (e.g. seed dispersal), predator–prey dynamics, and relation to people (e.g. hunting, disease). At the same time, a wide variety of anthropogenic threats (e.g. harvest, habitat loss and fragmentation, climate change) demonstrably effect small carnivore species adversely. This symposium aims at bringing together contributions dealing with several aspects

of small carnivore evolution, ecology, and conservation biology related to spatial and/or temporal factors/scales (niche differentiation, space use, activity and movement patterns, distribution, phylogeography, etc.). The species of interest predominantly include badgers, martens, otters and allies (Mustelidae), civets, genets and allies (Viverridae), mongooses (Herpestidae), raccoons (Procyonidae), and skunks (Mephitidae).

(3) Molecular Systematics of the caniform Carnivora

Jun J. Sato, and Mieczyslaw Wolsan

The 11th international Mammalogical Congress, Symposium “Small Carnivores in Space and Time”, Queens University, Belfast, Northern Ireland, United Kingdom, Abstracts, p.26 (2013–8)

Recent advancements in phylogenetic resolution at higher taxonomic level within the mammalian order Carnivora have been stimulated by increasing application of nuclear DNA sequences that are less homoplastic than the mitochondrial DNA sequences and therefore better suited for studying deep-level relationships. The recent immense progress in sequencing various nuclear and mitochondrial genes from carnivoran species resulted in unprecedented accumulation of DNA sequence data in publicly available databases. This has provided a wealth of opportunity to elucidate phylogenetic relationships at every taxonomic level. Here we review the recent results related to molecular systematics of the carnivoran suborder Caniformia. We present the most up-to-date evolutionary picture of this clade in the light of phylogeny, chronology, and historical biogeography, and reveal still unsolved issues that require further examination.

(4) The phylogenetic, ecological, and geological impacts on the carnivoran faunal assemblages in Japan

Jun J. Sato

The 11th international Mammalogical Congress, Symposium “Small Carnivores in Space and Time”, Queens University, Belfast, Northern Ireland, United Kingdom, Abstracts, p.26 (2013–8)

History and ecology are both important facets to explain the mechanisms of the community assembly and faunal organization. Currently, the exploration of evolutionary distinctiveness and ecological adaptation of organisms are considered requisites in conservation biology. The Japanese archipelagos have received influxes of Eurasian

continental lineages via land bridges formed during the Pleistocene and isolated them differentially in each biogeographic region through the complicated geological events, possessing various levels of endemic organisms. There are 13 extant terrestrial carnivoran species in Japan, showing different biogeographic patterns of their distributions and diverse endemism. Here I reviewed the recent molecular phylogenetic and feeding ecological studies to clarify the phylogenetic, ecological, and geological impacts on the faunal assemblages of the carnivoran species in the Japanese archipelagos, especially focusing on the family Mustelidae (weasels, martens, badgers, otters, and allies), the most successfully diversified family of the order Carnivora.

- (5) Concentrations of radiocesium and urinary 8-OHdG of the large Japanese field mouse, *Apodemus speciosus*, after the Fukushima nuclear accident  
Morihiro Tomozawa, Shinsuke Sakamoto, Jun J. Sato, and Fumio Yamada  
The 11th international Mammalogical Congress, Queens University, Belfast, Northern Ireland, United Kingdom, Abstracts, p.132 (2013-8)

The impact of the Fukushima nuclear accident to wild mammals is a major concern for the local residents and the global community. However, the genetic effect of low-dose irradiation and the monitoring methods are not fully understood. One pathway of the genetic effects is oxidations of DNA bases by active oxygen produced by irradiation. To detect the effect of environmental radioactive contamination on wild mammals, we examined the concentrations of radiocesium in skeletal muscles including bones and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) in urine of *Apodemus speciosus*. We obtained samples from four localities with different contamination levels. The cesium concentration correlated to the contamination levels (air-dose rates), while the 8-OHdG concentrations did not. The both radiocesium and urinary 8-OHdG concentrations varied among individuals within each locality, and did not show significant correlations with each other. These results suggest that the low-dose irradiation has less effect on the urinary 8-OHdG concentrations of this species.

- (6) The systematics and taxonomy of the badger species of the world- A Review  
Jun J. Sato (Invited speaker)  
The 1st International Badger Symposium, University of Alberta, Edmonton, Canada, Abstracts, p.14 (2013-10)

Few organisms in superfamily Musteloidea (Carnivora, Caniformia) have provided more controversial systematic relationships than the badgers. There are 6 genera encompassing 12 species dubbed 'badger': *Arctonyx* (*A. collaris*, the hog badger), *Meles* (*M. leucurus*, the Asian badger; *M. meles*, the European badger; and *M. anakuma*, the Japanese badger), *Mellivora* (*M. capensis*, the honey badger), *Melogale* (*M. everetti*, the Bornean ferret-badger; *M. personata*, the Burmese ferret-badger; *M. moschata*, the Chinese ferret-badger; and *M. orientalis*, the Javan ferret-badger), *Mydaus* (*M. javanensis*, the Sunda stink badger; *M. marchei*, the Palawan stink badger), and *Taxidea* (*T. taxus*, the American badger). They have mostly been classified into the family Mustelidae, while *Mydaus* is a member of Mephitidae. Recent molecular phylogenetic studies using the multiple genetic loci, mostly from the nuclear genome, have contributed to the clarification of the higher taxonomic relationships. In the inferred phylogeny of the family Mustelidae, the presence of eight major lineages were clarified and each lineage was regarded as a different subfamily: Guloninae (*Eira*, *Gulo*, *Martes*, and *Pekania*), Helictidinae (*Melogale*), Ictonychinae (*Galictis*, *Ictonyx*, *Lyncodon*, *Poecilictis*, *Poecilogale*, and *Vormela*), Lutrinae (*Aonyx*, *Enhydra*, *Hydriectis*, *Lontra*, *Lutra*, *Lutrogale*, *Pteronura*), Melinae (*Arctonyx* and *Meles*), Mellivorinae (*Mellivora*), Mustelinae (*Mustela* and *Neovison*), and Taxidiinae (*Taxidea*). The Bayesian chronological analyses have indicated that the diversification among major mustelid lineages was characterized by the rapid radiation event that occurred in a limited time span of the Middle Miocene period just after the mid-Miocene Climate Optimum (~17–15 MYA). Furthermore, historical biogeographic analyses implied that Asia is a central place for the adaptive radiation among eco-morphologically different subfamilial lineages, producing diverse polyphyletic badger lineages. Taxidiinae branched off from the other mustelid lineages firstly. Melinae or Mellivorinae diverged secondly. Helictidinae showed the close affinity with the clade comprised of Ictonychinae, Lutrinae, and Mustelinae. *Mydaus* was included in the clade of the different family Mephitidae. The inferred polyphyletic phylogenetic relationships of the badgers suggest that eco-morphological characteristics (well-developed claws, head stripes and markings) shared by 'badgers' might have independently evolved multiple times in the lineages of the Musteloidea. Alternatively these features might have been ancestral traits maintained in the badger lineages. Recent biogeographic studies examining the intra-specific variation of each badger species have also provided important insights into the taxonomy of the badgers. On the basis of mostly the mitochondrial DNA loci, it has been demonstrated that there are 4 species in the genus *Meles* in the different geographic regions, *M. anakuma* (Japan), *M. canescens*

(Southwestern Asia), *M. leucurus* (Central to East Asia), and *M. meles* (Europe). In addition, a lineage corresponding to new species of *Melogale*, *M. cucphuongensis*, was found in Vietnam. Furthermore, a recent morphological study suggested three species in the *Arctonyx* (*A. albogularis*, *A. collaris*, and *A. hoevenii*). A decade of progress in higher and lower levels of systematic relationships of the superfamily Musteloidea needs to be reflected in the current classification system.

- (7) Application of *Solidago Canadensis* extract to phytomonitoring of polychlorinated biphenyl congeners in the transgenic *Arabidopsis* plants carrying the recombinant guinea pig aryl hydrocarbon receptor-mediated  $\beta$ -glucuronidase reporter gene expression system

S. Shimazu, M. Ohta, and H. Asida

The 33rd International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants and POPs, Daegu, Republic of Korea (2013-8)

- (8) 枯草菌の銅イオン取り込みに関与する *ycnKJI* オペロンを直接制御する YcnK 転写因子の構造と機能

広岡和文、枝廣貴成、木村晃輔、藤田泰太郎

第7回ゲノム微生物学会（長浜）、要旨集、p. 59 (2013-3)

細胞内銅イオンの厳密なホメオスタシスは重要な生理機能の1つである。枯草菌では、CsoR 転写因子が *copZA* オペロンを制御しており、銅イオン過剰条件でオペロンを脱抑制し、銅イオンを排出する CopZA タンパク質が生産される。一方、YcnK 転写因子は *ycnKJI* オペロンを制御しており、銅イオン飢餓でオペロンを脱抑制し、銅イオンを取り込む YcnJ タンパク質が生産される。また、CsoR もこのオペロンの制御に CopZA と YcnK を介して間接的に関与することも明らかとなった。YcnK は溶液中で二量体を形成し、*in vitro*系で *ycnK* 上流域に存在する 16 bp のダイレトリピートを認識して特異的に結合した。また、YcnK の DNA 親和性は銅イオン特異的キレート剤で低下し、その効果は銅イオンをさらに添加することで消失し、YcnK の銅イオン応答性が示された。YcnK は DeoR ファミリーに属する。これまで報告のある DeoR ファミリー転写因子は、N 末側の DNA 結合ドメインと C 末側のリン酸化糖結合ドメインで構成され、糖およびヌクレオシド異化に関わる遺伝子群の制御を司るのに対し、YcnK では C 末端部分が銅シャペロンの1つである NosL タンパク質と相同性を示した。また、オルソログ解析から *ycnKJI* オペロンが *Bacillus* 属の狭いサブグループでのみ存在しており、これらの YcnK オルソ

ログで保存された Cys 残基に富む 3 つのモチーフが見出され、これらが一価銅イオンへの配位に重要であると予想された。これまで細菌の銅イオン排出機構に関しては多く研究されているが、取り込みに関する研究はほとんどなく、本研究は銅などの重金属で汚染された土壌の浄化への応用が期待される。

#### (9) 植物の生育促進への利用に資する、枯草菌の転写応答機構の研究

広岡和丈

日本農芸化学会 2013 年度大会（仙台）、2013 年度農芸化学奨励賞受賞者講演、受賞者講演要旨集、p. 29（2013-3）

はじめに

枯草菌はその名が示す通り枯れ草に多く生息し、植物根圏の土壌中にも普遍的に見出されるグラム陽性細菌である。根圏枯草菌は、有機酸やシデロフォアと呼ばれるキレート化合物を分泌することで植物の鉄イオン取り込みを助け、またバイオフィルムを形成することで根での病原菌の増殖を防いでいる。根周辺の枯草菌には葉の気孔から病原菌が侵入するのを防ぐ効果があることも見出されている。このように枯草菌は、直接共生関係にはないものの植物の生育促進に作用する有用根圏微生物であるといえる。根圏土壌には、糖やフラボノイド等、様々な有機化合物が植物から浸潤して豊富に存在する。グラム陰性細菌である根粒菌は、マメ科植物由来のフラボノイドに応答して根粒形成遺伝子群を誘導することが知られている。筆者は、枯草菌も根圏環境を認識するためのシグナル分子としてフラボノイドを利用するのではないかと考え、フラボノイドで誘導される遺伝子群の探索を行い、3 つの転写制御系を見出した。これらの転写因子と共に標的遺伝子群の機能解析を進めることで、フラボノイドを介した枯草菌と植物、あるいは他の根圏微生物との相互作用機構の解明を目指した。加えて、枯草菌での鉄や銅といった金属イオンの取り込み機構についての研究を行い、フラボノイド応答機構の知見と共に植物の生育促進あるいは土壌環境浄化への応用につなげることを目指した。

1. LmrA/QdoR による二重制御系：バシラス属で初めてのフラボノイド応答性転写制御系の発見

LmrA は TetR ファミリーに属する転写因子であり、その遺伝子はリンコマイシン等の薬剤への耐性に関わる多剤排出ポンプをコードする *lmrB* とオペロンを成し、このオペロンの発現を抑制するがその誘導物質は LmrB が排出する薬剤ではなく、その時点では明らかではなかった。*lmrA* 破壊株を用いた DNA マイクロアレイ解析から LmrA の別の標的遺伝子群として *qdoI-yxaH* オペロンが見出され、*qdoI* がケ

ルセチンのC環開裂反応を触媒する酵素をコードすることから、LmrAの誘導物質がケルセチン等のフラボノイドであると予想した。各種フラボノイドを添加した条件下でのDNA結合実験とレポーター実験を用いて検証した結果、LmrAによる抑制がケルセチンを含む幾つかのフラボノイドによって解除されることが明らかとなった。*qdoI-yxaH*近傍上流に位置する*qdoR*はLmrAパラログをコードし、QdoRもLmrAと同じシス配列に結合して標的遺伝子群を抑制し、LmrAと同様にケルセチン存在下で脱抑制するが、そのフラボノイド応答特異性はLmrAとは部分的に異なっていた。*qdoR*自身もLmrA/QdoRによって制御され、合計5つの標的遺伝子群が明らかとなった。この制御系がバシラス属で初めて見出されたフラボノイド応答性制御系となった。

*LmrA*と*qdoR*の両遺伝子を破壊した枯草菌株をケルセチンに曝すと野生株に比べて著しい感受性を示したが、その原因が過剰なQdoI活性によるケルセチン分解中間体の急激な蓄積であることが判明し、LmrA/QdoRの二重制御は細胞死につながらないように*qdoI*発現を厳密に調節するためにあると考えられた。このことと*LmrB*発現が排出薬剤と構造的に無関係なフラボノイドで誘導されることを合わせると、枯草菌はこの機構を用いてフラボノイドから根圏環境を感知し、*qdoI*発現を必要なレベルだけ誘導して抗菌活性のあるフラボノイドを分解・解毒し、また同時に*LmrB*発現を誘導して薬剤耐性能を高めることで抗生物質を産生する他の根圏微生物群に対抗するという根圏適応モデルが考えられた。

QdoRに関して、その立体構造と同ファミリーに属する他の転写因子のリガンド複合体の立体構造をもとに、QdoR内でフラボノイド認識・応答に重要なアミノ酸残基を幾つか予想し、各々をアラニン置換した変異型QdoRを構築した。それらを用いたDNA結合実験とレポーター実験によって、DNA結合とフラボノイド応答に重要な3つの芳香族アミノ酸残基を同定することができた。

枯草菌FadRもLmrA/QdoRと同じTetRファミリーの転写因子であるが、これについてもそのレギュロン構成と応答特性を解析し、FadRが脂肪酸β酸化に関わる酵素群をコードする5つのオペロンを負に制御し、長鎖アシルCoAに応答して脱抑制することを明らかにした。大腸菌FadRは脂肪酸分解系と合成系の両方の遺伝子群の制御に関与するのに対し、枯草菌FadRは分解系遺伝子群のみの制御を担っており、両者で大きく異なることが示された。

2. YetL制御系とFur制御系：DNAマイクロアレイ解析で見出された新たなフラボノイド応答性制御系

DNAマイクロアレイ解析を用いてフラボノイドで誘導される新たな遺伝子群を探索した結果、推定モノオキシゲナーゼをコードする*yetM*遺伝子はその候補として見出された。枯草菌ゲノム上で*yetM*遺伝子の近傍上流にMarRファミリーに属す

る転写因子をコードする *yetL* 遺伝子が逆向きで存在しており、YetL の標的が *yetM* であると予想した。DNA 結合実験とレポーター実験の結果、YetL が *yetM* 遺伝子だけでなく自身をコードする *yetL* 遺伝子も各々のシス配列に結合することで抑制し、LmrA/QdoR とは異なるフラボノイド応答特異性で脱抑制することが示された。また YetL の応答特性と YetM の推定機能から、この制御系がフラボノイド分解に関わることが予想された。

DNA マイクロアレイ解析の結果からは、鉄イオン応答性転写抑制因子として知られる Fur が、本来のエフェクターである鉄イオンだけでなく、フラボノイドに対しても応答することも示唆された。Fur は Fur ファミリーに属し、通常は鉄イオン取り込みに関わる 40 余りの遺伝子群を各シス配列に結合することで抑制し、鉄イオン欠乏に応答して脱抑制する。DNA 結合実験とレポーター実験の結果、鉄イオン濃度に依存せずにフィセチン等で Fur による抑制が部分的に解除されることが示された。Fur の標的にはシデロフォア合成遺伝子群も含まれ、植物はフラボノイドを介して枯草菌のシデロフォア生産を促し、自身の鉄イオンの取り込みに利用するというフラボノイドの新たな生理的役割が見出された。鉄イオン取り込みの向上で鉄含有光合成タンパク質等の生産が増し、生育促進につながる。同時に植物から土壤に放出される栄養分も増すので、植物と枯草菌はこの制御系によって互いに利益を高めているといえる。また、鉄欠乏条件で栽培した植物がフラボノイド分泌を誘導することも示唆されており、植物は能動的にフラボノイドを分泌することで根圏微生物を操作して鉄イオン取り込みに利用するのかもしれない。

### 3. YcnK 制御系：枯草菌がもつユニークな銅イオン取り込み制御系

鉄イオンと共に銅イオンも生命活動に必須の金属イオンである。一方で、過剰の銅イオンは細胞毒性を及ぼすので、そのホメオスタシスは重要な生理機能の 1 つある。枯草菌では、CsoR 転写因子が銅イオン排出系をコードする *copZA* オペロンを負に制御しており、銅イオン過剰条件でこれを脱抑制する。一方、筆者らがその制御機構を明らかにした YcnK 転写因子は *ycnKJI* オペロンを抑制し、銅イオン飢餓で脱抑制して銅イオンを取り込むための YcnJ が生産される。また、CsoR もこのオペロンの制御に CopZA と YcnK を介して間接的に関与することも明らかにした。これまで細菌の銅イオン排出機構に関する研究は多いが、取り込みに関する研究はほとんどなく、また *ycnKJI* オペロンはバシラス属の狭いサブグループでのみ保存されている。YcnK は DeoR ファミリーに属するが、これまで報告のある同ファミリーの転写因子とは異なる特徴的な構造をとり、合わせて YcnK 制御系のユニークさを際立たせている。YcnK および CsoR 制御系を改変して取り込み能を高めることで、土壤を汚染する銅等の重金属を枯草菌細胞内に隔離し、植物の生育

に適した土壤環境に改善するといった応用が期待される。

おわりに

これまで根粒菌等のグラム陰性細菌では1つの菌種がフラボノイド応答性転写制御系を複数もつことが報告されていたが、グラム陽性細菌においてはここで紹介した枯草菌での事例が初めてとなる。現段階で3つのフラボノイド応答性制御系が見出されているが、これら以外にも存在するか否か、枯草菌で更なる探索と解析を進めると同時に、見つかった系を手がかりに他のグラム陽性細菌にも対象を広げたい。また、実際に植物と共培養した際のこれらの制御系の応答と、植物の生育に与える影響についても解析を進めていきたい。枯草菌の銅イオン取り込み制御系はこれまで類を見ないものであり、他の細菌の銅イオンホメオスタシス機構と比較する上で重要であるばかりでなく、銅等の重金属で汚染された土壤環境を植物の生育に適したものに改善することへの応用が期待され、重金属を含む土壤で植物と共存させる方法で今後調べたいと思っている。

本研究は、福山大学生命工学部生物工学科ゲノム科学研究室にて行われました。終始ご指導賜りました同研究室の藤田泰太郎先生に心より感謝申し上げます。また、一緒に研究に取り組んでくれた学生諸君、スタッフの方々、ならびに研究を進めるにあたりご助言いただいた吉田健一先生（現・神戸大学）に深く感謝申し上げます。学生のとよりご指導いただいている東北大学大学院工学研究科の西野徳三先生と中山亨先生、博士研究員として所属して以来ご指導いただいている大阪大学大学院工学研究科の小林昭雄先生と福崎英一郎先生に深く感謝申し上げます。両研究室のスタッフの方々、当時の学生の方々にも大変お世話になりました。最後に、本賞にご推薦下さいました日本農芸化学会中四国支部長の山田守先生ならびにご支援賜りました諸先生に厚く御礼申し上げます。

(10) 枯草菌におけるラムノース異化に関わる遺伝子群の発現制御機構の解析

広岡和丈、枝廣貴成、木村晃輔、藤田泰太郎

日本農芸化学会 2013 年度大会（仙台）、大会講演要旨集 on line (2013-3)

【目的】枯草菌は植物根圏の土壤中で普遍的に存在し、植物と直接共生関係にはないがその生育促進に作用する有用根圏微生物であることが知られている。我々は、植物から浸潤するフラボノイドを枯草菌が根圏環境を認識するためのシグナル分子として感知し、それに適応するために遺伝子発現制御を行うと考え、フラボノイド応答性転写制御系の研究を進めてきた。植物が生産するフラボノイドの多くは、グルコースやラムノース等で配糖化されている。枯草菌において、これ

まで明らかにされていなかったラムノース異化に関わる酵素群とその発現制御を担う転写因子をコードする遺伝子群 (*yuxG-yu1BCDE*) が見出され、その解析を行うことで根圏土壌中での枯草菌の炭素代謝調節機構の一端を知ることが目的とした。

【実験・結果】ノザンプロットおよびプライマー伸長解析によって、*yuxG-yu1BCDE* がオペロンを成すことと、その転写開始点を明らかとした。また、このオペロンの発現が炭素源としてラムノースを培地に添加することで誘導されることも示された。*yu1B* は DeoR ファミリーに属する転写因子をコードし、これを大腸菌で大量発現させて調製した組換えタンパク質と、*yuxG* 上流制御領域に対応した DNA プローブを用いて DNase I フットプリント解析を行った結果、Yu1B がダイレクトリピートを含む領域に結合することが示された。また、この制御領域にはカタボライト制御を司る CcpA の認識配列である CRE が含まれていたため、CcpA とその活性化に必要な P-Ser-HPr の組換えタンパク質を用いて、同様のフットプリント解析を行い、CcpA 複合体が CRE に結合することを示した。しかし、Yu1B と CcpA 複合体の結合領域は部分的に重複しており、両制御因子を添加した条件でのフットプリント解析では、CcpA 複合体の CRE への結合は認められなかった。また、組換え Yu1B タンパク質と *yuxG* 制御領域の DNA プローブを用いたゲルシフト解析では、Yu1B の DNA 結合はラムノースによって阻害されなかった。一方、*yuxG* 制御領域と *IacZ* との連結を保持した枯草菌株を用いたレポーター解析では、グルコースを炭素源に用いた培地で生育させたときに比べ、ラムノースを用いた場合に  $\square$ -Gal 活性の著しい上昇がみられたが、グルコースとラムノースの両方を添加した条件ではラムノースの誘導効果はグルコースが消費されるまで抑制された。以上の結果から、*yuxG-yu1BCDE* オペロンは Yu1B によって抑制され、他の DeoR ファミリーの転写因子の場合と同様に、ラムノースが加えられるとその代謝中間体であるリン酸化糖が誘導物質となって脱抑制されるが、グルコースが存在すると CcpA によってカタボライト抑制を受けることが推測された。

(11) 油脂 (triacylglycerol) を分泌する酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 変異株の解析

藤井洋紀、松崎浩明、秦野琢之

日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台)、大会講演要旨集 on line (2013-3)

【目的】油脂生産微生物のほとんどは、産物油脂を細胞内に蓄積する。我々は、油脂を細胞外へ分泌生産する微生物の育種実験を行ってきた。産物油脂を細胞外に排出させることにより、生産能の強化と抽出コストの削減を目指している。こ

れまで2種の酵母 (*Trichosporon* sp. および *Saccharomyces cerevisiae*) の triacylglycerol (TG) 分泌変異株を材料として、TG の細胞外排出機構の解析を行ってきた。今回は *S. cerevisiae* で得られた知見について報告する。

【方法・結果】*S. cerevisiae* の STG1 変異株は、TG を菌体外に漏出する。STG1 株の TG 分泌 (Halo<sup>+</sup>) 形質は1遺伝子変異に由来し、野生型遺伝子により相補される。また細胞凝集性が強く、遺伝子クローニングの障壁ともなってきた。変異遺伝子を特定するため、Yeast-Knock-Out collection (YKO、約 4800 株) より TG 分泌の表現型を示す株をスクリーニングした。得られた候補株について、STG1 株との交配試験並びに菌体外 TG の検出を行った。その結果、*SPC72* 遺伝子が TG 分泌抑制に関与していることが強く示唆された。親株 (YP1) の *SPC72* を破壊した (YP1/*SPC72*Δ) ところ、菌体外に TG が検出されるようになった。一方 *spc72* 株は、細胞内油滴 (Lipid droplet) の形態・配位に異常を生じ、また油滴タンパクの分子種にも変動が起こっていることが明らかとなった。Spc72p は 622 アミノ酸で構成され coiled-coil 構造を有し、SPB の outer-plaque に局在する。その機能として、細胞質微小管や星状体微小管の形成・安定に関わることが示されている。変異遺伝子 *spc72* の塩基配列を親株のそれと比較した結果、ORF の上流 124 塩基から下流 58 塩基までに変異点は存在しなかった。今後発現の有無や強弱の解析を進め、*SPC72* の変異が TG 分泌にどのように関与するかについて明らかにしていきたい。

(12) 出芽酵母における染色体からのセントロメア DNA の切り出しによる細胞死の誘導  
—生存細胞の生存原因の解析—

宮本昭弘、柳本敏彰、秦野琢之、松崎浩明

日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台)、大会講演要旨集 on line (2013-3)

近年、医薬品や酵素の製造および農業などにおいて多数の遺伝子組換え生物が利用されている。しかし、遺伝子組換え生物が野外で拡散した場合に環境へ及ぼす影響が危惧される。そこで、遺伝子組換え生物の拡散防止策の一つとして遺伝子組換え生物に条件致死性質や不稔性質を付与することが重要である。これらの付与は、部位特異的組換えを利用して特定の条件下や時期に染色体からセントロメア DNA を切り出し、細胞死を誘導することで可能であると考えた。そこで、出芽酵母 *S. cerevisiae* をモデル生物として pSR1 プラスミドの部位特異的組換えを利用したセントロメア DNA の切り出しにより細胞死を誘導することを検討している。

一倍体細胞において第 IV 番染色体上のセントロメア DNA の両側に組換え部位配

列を挿入し、さらにレコンビナーゼ発現プラスミドを導入した株を作製した。レコンビナーゼ遺伝子は、*GALI* プロモーターの制御下にあり、ガラクトース培地で培養することでセントロメア DNA が切り出される。切り出しの誘導で生存率が大きく低下し、細胞死を起こすことに成功した。また、第 V 番染色体からの切り出しによっても細胞死を起こすことができた。しかし、第 IV 番と第 V 番染色体の両方において、切り出しを誘導してもプレート上で僅かな数の生存コロニーが出現した。そこで、生存細胞の生存原因を解析することにした。第 IV 番染色体からの切り出しにおける生存細胞 5 株について染色体 DNA のパルスフィールド電気泳動解析およびセントロメア近傍 DNA の PCR 解析を行った。その結果、5 株のうち 4 株で切り出しが起きておらず、1 株でセントロメア DNA が切り出された後に、第 IV 番染色体上の他の部位に組み込まれた可能性が示唆された。さらに、シーケンシング解析から、切り出しが起きていなかった 4 株のうち、全てにおいて 2 個の組換え部位配列のうち片方が欠失していた。また、欠失した塩基配列は同じであった。

このような現象を抑制することで生存率をさらに低下させ、細胞死誘導の効率を改善することを検討している。

(13) 出芽酵母における染色体からのセントロメア DNA の切り出しによる細胞死の誘導  
— 二倍体細胞における細胞死の検討生存細胞の生存原因の解析 —

柳本敏彰、宮本昭弘、秦野琢之、松崎浩明

日本農芸化学会 2013 年度大会（仙台）、大会講演要旨集 on line (2013-3)

近年、多種多様な遺伝子組換え生物が開発されているが、遺伝子組換え生物が野外で拡散することにより環境へ及ぼす影響が懸念されている。遺伝子組換え生物の野外での拡散防止策として、遺伝子組換え生物に条件致死性質や不稔性質を付与することが効果的である。本研究では、部位特異的組換えを利用して特定の条件下や時期に染色体からセントロメア DNA を切り出し、細胞死を誘導することで条件致死性質や不稔性質を付与することを目指している。そこで、出芽酵母 *S. cerevisiae* をモデル生物として pSR1 プラスミドの部位特異的組換えを利用してセントロメア DNA を切り出し細胞死を誘導することを検討した。これまでに、一倍体細胞においてガラクトースによって第 IV 番染色体からのセントロメア DNA の切り出しが誘導される株を作製し、切り出しを誘導して細胞死を起こすことに成功している。今回は、二倍体細胞で細胞死の誘導を検討した。二倍体細胞において第 IV 番相同染色体の一方からセントロメア DNA を切り出しても生存率はあまり低下しなかったが、第 IV 番相同染色体の両方からセントロメア DNA を切り

出すことによって生存率が大きく低下し、細胞死を誘導できた。また、第 V 番相同染色体からの切り出しによっても細胞死を起こすことができた。しかし、第 IV 番と第 V 番の両方で、二倍体細胞の生存率は一倍体細胞よりも高かった。複数の染色体から切り出すことで生存率をさらに低下できるかを、第 IV 番と第 V 番の相同染色体の両方から切り出すことで検討した。二倍体において、第 IV 番と第 V 番の両方からセントロメア DNA を切り出した結果、生存率は一倍体とほぼ同じまで低下し、複数の染色体から切り出すことが有効であることが分かった。また、セントロメア領域は部位特異的組換えの効率が低く、核内配置が特殊であることが示唆されている。*SSDI* が染色体の核内配置、特にセントロメアの核内配置に関与していることが示唆されており、*SSDI* 遺伝子の破壊によって *CEN5* 座-*HIS3* 座間の部位特異的組換えの効率が上昇することが分かっている。*SSDI* の破壊によって生存率をさらに低下できる可能性を検討している。今後、実用化に向けてさらに生存率を低下させることを目指す。

(14) セイタカアワダチソウの PCB 同族体の取り込み・移行促進物質の探索

嶋津小百合、内山琢磨、太田雅也、芦田 均

日本農芸化学会2013年度大会（仙台）、大会講演要旨集 on line（2013-3）

【目的】セイタカアワダチソウ (*Solidago canadensis*) は PCB 同族体の高蓄積植物であることが知られているが、その機構については明らかにされていない。そこで、セイタカアワダチソウの葉茎部分から脂溶性成分と水溶性成分を抽出し、PCB 同族体の植物体への取り込み・移行に関与する物質の探索を行った。モニタリングは、これまでに構築した組換え型モルモット AhR (gAhR) /  $\beta$ -グルクロニダーゼ (GUS) レポーター系遺伝子導入シロイヌナズナを用いた PCB 同族体のアッセイ系を利用し、PCB126 誘導 GUS 活性を指標にして行った。

【方法】セイタカアワダチソウにエタノールを加えて抽出し、溶媒を留去して粗抽出物を得た。粗抽出物をフォルチ分配して脂溶性成分と水溶性成分に分けた。脂溶性成分はシリカゲルカラムクロマトグラフィーに供し、単純脂質、糖脂質およびリン脂質画分に分画し、糖脂質画分は、さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィーで、TLC 上で移動度の異なる 6 つの画分に分画した。分画した画分と PCB 同族体を添加したムラシゲ・スクーグ培地に組換え型 gAhR/GUS レポーター系遺伝子導入シロイヌナズナ XgD2V11-6 系統を播種して 2 週間培養した後、シロイヌナズナ植物体の GUS 活性を測定した。

【結果】PCB126 添加培地に単純脂質、糖脂質およびリン脂質画分を加えてアッセイを行ったところ、糖脂質画分を添加して培養したシロイヌナズナ植物体に

PCB126誘導GUS活性の増加が認められたことから、PCB同族体の吸収に関与している物質の存在が示唆された。そこで、糖脂質画分から得られた6つの画分について同様にアッセイを行ったところ、クロロホルム:メタノール=98:2 (v/v) と96:4 (v/v) で溶出された2画分の添加により、GUS活性の増加が認められた。現在、これらの画分の有効成分について検討中である。

- (15) 疎水化高分子を利用した難水溶性薬物の可溶化と運搬  
金尾義治、山本繁史、藤江良典、山口泰典、原口博行  
日本薬剤学会第28年回会（名古屋）、抄録集、p. 247（2013-5）

コリコート IR (KOL) は、1本のPEG鎖に2本のPVA鎖が結合した分子量45,000DaのPVA-PEGグラフトコポリマーである。KOLの水酸基に酸クロライドを反応させ疎水基を導入した。このKOLはアムホテリシンB (AmB) を最大15w/w%まで内包し、AmB内包疎水化KOLナノ粒子を水に溶解すると透明なコロイド溶液となり、22nmの粒子径を示した。また、疎水化KOLナノ粒子のcritical association concentrationは100 $\mu$ g/mLであった。AmBは著しい赤血球溶血性を示すが、ナノ粒子化することでその溶血性を格段に改善することができた。また、AmB内包疎水化KOLナノ粒子は、AmBデオキシコール酸ミセル製剤Fungizoneと同等の抗菌活性(MIC0.39 $\mu$ g/mL)を示した。

- (16) 植物の生育促進への利用に資する、枯草菌の転写応答機構の研究  
広岡和丈  
日本農芸化学会中四国支部第36回講演会（松江）、講演要旨集、p. 20  
（2013年度農芸化学奨励賞受賞講演）（2013-6）

根圏に生息する枯草菌は、直接共生関係にはないが植物の生育促進に作用する有用根圏微生物である。根圏土壌には、糖やフラボノイド等、様々な有機化合物が植物から浸潤している。根粒菌がフラボノイドに応答して根粒形成遺伝子群を誘導するという知見をもとに、枯草菌も根圏環境を認識するためのシグナル分子としてフラボノイドを利用すると考え、フラボノイドで誘導される遺伝子群を探索し、3つの転写制御系を見出した。これらの転写因子と共に標的遺伝子群の機能を解析することで、フラボノイドを介した枯草菌と植物、あるいは他の根圏微生物との相互作用機構の解明を目指した。加えて、枯草菌での鉄や銅といった金属イオンの取り込み機構についての研究を行い、フラボノイド応答機構の知見と共に植物の生育促進あるいは土壌環境浄化への応用につなげることを目指した。

LmrA/QdoR 制御系がバシラス属で初めて見出されたフラボノイド応答性転写制御系である。互いにパラログスな LmrA と QdoR は、自身を含む 5 つの標的遺伝子群の各制御領域内にある同じ配列を認識・結合して発現を抑制し、ケルセチン等の特定のフラボノイド存在下で脱抑制する。標的遺伝子群のうち *lmrB* は薬剤排出ポンプを、*qdoI* はケルセチン 2,3-ジオキシゲナーゼをコードしており、枯草菌は栄養豊富である一方で抗菌性のフラボノイドや他の微生物が産生する抗生物質が存在する根圏環境をフラボノイドを介して感知し、それらに対処すべくフラボノイド分解と薬剤耐性を強化すると考えられた。また、2 つの転写因子を不活化した枯草菌株はケルセチンに著しい感受性を示したが、その原因が過剰な QdoI 活性によるケルセチン分解中間体の急激な蓄積であると判明し、LmrA/QdoR の二重制御は *qdoI* 発現が致死レベルにならないよう厳密に調節するためにあると考えられた。

次いで、YetL 制御系が別のフラボノイド応答性制御系として見出された。この標的遺伝子群は、自身の遺伝子と推定モノオキシゲナーゼをコードする *yetM* で構成され、YetL のフラボノイド認識特異性は LmrA/QdoR とは全く異なるものであった。これらの転写制御系に加え、鉄イオン応答性転写抑制因子として知られる Fur が、本来のエフェクターである鉄イオンだけでなく、フィセチン等の特定のフラボノイドに対しても応答し、それによってシデロフォア合成系を含む 40 余りの標的遺伝子群が部分的に脱抑制されることが示された。これにより、植物はフラボノイドを介して枯草菌のシデロフォア生産を促し、自身の鉄イオンの取り込みに利用することが考えられた。

銅イオンは鉄イオンと共に生命活動に必須であるが、過剰になると細胞毒性を及ぼすので、そのホメオスタシスは極めて重要である。枯草菌では、CsoR と YcnK の 2 つの転写因子によって排出系と取り込み系のそれぞれの遺伝子群が抑制され、銅イオン過剰で排出系が、欠乏で取り込み系が脱抑制される。銅イオン取り込み系の制御機構の知見は、枯草菌を含めたグラム陽性菌では乏しく、本研究で解明した YcnK 制御系は以前の報告例とは異なるユニークなものであった。YcnK および CsoR 制御系を改変して取り込み能を高めることで、土壌を汚染する銅等の重金属を枯草菌細胞内に隔離する等の応用が期待される。

- (17) PVA-PEG グラフトコポリマーによるアムホテリシン B の可溶化と運搬  
金尾義治、山本繁史、藤江良典、山口泰典、原口博行  
第 29 回日本 DDS 学会学術集会（京都）、プログラム予稿集、p. 185（2013-7）

コリコート IR (KOL) は、1 本の PEG 鎖に 2 本の PVA 鎖が結合した分子量 45,000Da

(PVA 75w/w%、PEG 25w/w%) の PVA-PEG グラフトコポリマーで、優れた水溶性を示し速放性のフィルムコーティング剤として利用される。疎水化 KOL は、疎水基を核として自己会合し、親水性高分子を外殻としたナノ粒子を形成した。難水溶性薬物 amphotericinB (AmB) を最大 15w/w%まで内包した。AmB 内包疎水化 KOL ナノ粒子を水に溶解すると透明なコロイド溶液となり、22nm の粒子径を示した。AmB は著しい赤血球溶血性を示すが、ナノ粒子化することでその溶血性を格段に改善することができた。一方、AmB 内包疎水化 KOL ナノ粒子は、AmB デオキシコール酸ミセル製剤 Fungizone と同等の抗菌活性(MIC0.39  $\mu$ g/mL)を示したことから、このナノ粒子は AmB の抗菌活性を維持しつつ、その生体内での毒性を減弱させる有効な方法として期待できる。

(18) サッカロミセス属酵母における接合後隔離

杉原千紗、園田 啓、大野直哉、久富泰資

日本進化学会第 15 回大会 (つくば)、講演要旨集、p. 94 (2013-8)

サッカロミセス属酵母は、エタノール発酵性が高い出芽酵母である。出芽酵母には二つの接合型が存在し、異なる接合型細胞を混合すると接合して二倍体細胞を生じ、栄養欠乏下で減数分裂・胞子形成を行う。しかしながら、自然界に生息する出芽酵母の多くはホモタリズムで自己二倍体化するため、種間における生殖隔離の実態を知ることが困難であった。

演者らは、サッカロミセス属酵母の中で比較的胞子形成率が高い *S. paradoxus*、*S. kudriavzevii* に着目し、その基準株のホモタリズム遺伝子を破壊してヘテロタリック株を作製した。さらに、*S. cerevisiae* を含む 3 種間における直接的な細胞接触を通して生殖隔離の実態を解析した。その結果、全ての種間雑種において、配偶子の不稔(胞子の発芽不能)が見られ、接合後隔離の存在が明らかとなった。この原因を探るため、親株及び種間雑種の電気泳動核型を解析したところ、種間雑種における染色体の不和合性(染色体の欠落や異常組換え)が配偶子不稔の一因であると示唆された。また、特定の種間の組み合わせにおいては、染色体の不和合性が胞子形成能を低下させることが示された。

(19) サッカロミセス属酵母における生殖隔離機構

久富泰資、園田 啓、大野直哉、杉原千紗

日本植物学会第 77 回大会 (札幌)、研究発表記録、p. 209 (2013-9)

エタノール発酵に用いられる *Saccharomyces cerevisiae* を含むサッカロミセス属

には、現在9種が記載されている。*S. cerevisiae*は分子生物学の実験材料として幅広く用いられているが、他のサッカロミセス属酵母に関しては詳細な研究が行われていない。演者らは、*S. paradoxus*と*S. kudriavzevii*の基準株のホモタリズム遺伝子を破壊し、ヘテロタリックな1倍体の相対する接合型細胞を単離している。

本研究では、これら3種のサッカロミセス属酵母を材料に用いて、どのような生殖隔離がはたらいっているのかを解析した。まず、3種間で、相対する接合型細胞を1対1で接触させ、種間雑種の形成と増殖、胞子形成、胞子の発芽を詳細に調べた。その結果、3種間においては、種間雑種は種内と同程度の頻度で形成・増殖したが、胞子形成頻度には多様性があった。いずれにしても、形成された胞子には全く発芽能がなかったことより、F1でのブロック（配偶子の不稔）つまり接合後隔離が明確に存在していることが明らかとなった。

次いで、これらの原因を探る目的で、種間雑種の染色体編成を電気泳動核型解析法で調べた。その結果、種間雑種における染色体の不和合性（染色体の欠落や異常組換え）が配偶子不稔の一因となることが示唆された。また、特定の種間の組み合わせにおいては、この染色体の不和合性が胞子形成能の低下に影響を与えていることを示すことができた。

(20) 枯草菌におけるラムノース異化に関わる *yuxG-yu/BCDE* オペロンの *Yu1B* と *CcpA* による制御機構

広岡和丈、藤田泰太郎

2013年度グラム陽性菌ゲノム機能会議（つくば）、要旨集、p.58（2013-9）

**【目的】** 枯草菌は植物根圏の土壤中で普遍的に存在し、植物と直接共生関係にはないがその生育促進に作用する有用根圏微生物であることが知られている。我々は、植物から浸潤するフラボノイドを枯草菌が根圏環境を認識するためのシグナル分子として感知し、それに適応するために遺伝子発現制御を行うと考え、フラボノイド応答性転写制御系の研究を進めてきた。植物が生産するフラボノイドの多くは、グルコースやラムノース等で配糖化されている。枯草菌において、これまで明らかにされていなかったラムノース異化に関わる酵素群とその発現制御を担う転写因子をコードする遺伝子群（*yuxG-yu/BCDE*）が見出され、その解析を行うことで根圏土壤中での枯草菌の炭素代謝調節機構の一端を知ることが目的とした。

**【実験・結果】** ノザンプロットおよびプライマー伸長解析によって、*yuxG-yu/BCDE* がオペロンを成すことと、その転写開始点を明らかとした。また、このオペロンの転写が培地中の炭素源としてラムノースを用いることで誘導されることも示さ

れた。*yu1B*はDeoRファミリーに属する転写因子をコードし、これを大腸菌で大量発現させて調製した組換えタンパク質と、*yuxG*上流制御領域に対応したDNAプローブを用いてDNase Iフットプリント解析を行った結果、Yu1Bが2つの異なるダイレクトリピートを含む領域に結合することが示された。また、この制御領域にはカタボライト制御を司るCcpAの認識配列であるCREが含まれていたため、CcpAとその活性化に必要なP-Ser-HPrの組換えタンパク質を用いて、同様のフットプリント解析を行い、CcpA複合体がCREに結合することを示した。しかし、Yu1BとCcpA複合体の結合領域は部分的に重複しており、両制御因子を添加した条件でのフットプリント解析では、CcpA複合体のCREへの結合は認められなかった。また、組換えYu1Bタンパク質と*yuxG*制御領域のDNAプローブを用いたゲルシフト解析では、Yu1BのDNA結合はラムノースによって阻害されず、他のDeoRファミリー転写因子の特性から類推すると、代謝中間体でリン酸基を有するラムヌロース-1-リン酸が直接の誘導物質であると予想された。一方、*yuxG*制御領域と*lacZ*との連結を保持した枯草菌株を用いたレポーター解析では、グルコースを炭素源に用いた培地で生育させた場合に比べ、ラムノースを用いた場合に $\beta$ -Gal活性の著しい上昇がみられたが、グルコースとラムノースの両方を添加した場合にはラムノースの誘導効果はグルコースが消費されるまで抑制された。また、リンゴ酸、キシロースをそれぞれ炭素源に用いた場合には $\beta$ -Gal活性の上昇はみられなかった。以上の結果から、*yuxG-yu1BCDE*オペロンはYu1Bによって抑制され、ラムノースが加えられるとオペロン内にコードされる酵素群による分解で生じたラムヌロース-1-リン酸が特異的にYu1BのDNA結合を阻害してオペロンの脱抑制を引き起こすが、グルコースが存在するとYu1BがDNAから解離したとしてもCcpA複合体が制御領域内のCREに結合することでカタボライト抑制が起こると考えられた。

(21) 短期・長期の隔離がアカネズミ集団の遺伝的多様性に与えた影響

佐藤 淳、田坂由里奈、高田靖司、植松 康、酒井英一、立石 隆、山口泰典  
第29回日本霊長類学会・日本哺乳類学会2013年度合同大会(岡山)、講演要旨集、  
p. 130 (2013-9)

生息地の隔離時間が生物集団の遺伝的多様性に与える影響を評価するために、短期の隔離モデルとして福山大学キャンパス内の孤立林、長期の隔離モデルとして瀬戸内海島嶼に着目し、アカネズミ集団の遺伝的多様性を調査した。福山大学においては、外縁部の森林地域と大学内部に隔離された二つの孤立林より採集したアカネズミを対象に、ミトコンドリアDNA D1oop領域の部分塩基配列(約300bp)を決定し、集団間の遺伝的多様性を比較した。その結果、連続した森林地域に生

息する外縁部集団よりも、大学内部に隔離された集団において、ハプロタイプ多様度、及び塩基多様度が低下していることが明らかとなった。一方、瀬戸内海島嶼の向島、因島、生口島、大三島、伯方島、大島、大崎上島、上蒲刈島、下蒲刈島と、対照区である四国の今治市、及び本州の尾道市より採集したアカネズミを対象として、同様に集団間の遺伝的多様性を比較した。その結果、それぞれの島嶼集団では異なる特定のハプロタイプが優占しており、対照区と比較して遺伝的多様性が著しく低下していることが示された。以上の結果から、大学の建造物による数十年という短期の隔離でも遺伝的多様性は低下し、瀬戸内海島嶼による約6000年という長期の隔離により著しい遺伝的多様性の低下が起こることが示唆された。長期間小集団が維持され、遺伝的浮動の影響が強くなることで、遺伝的多様性が低下したと推察される。さらに、向島と福山大学のアカネズミ集団を対象に、旨味受容体遺伝子 *Tas1r1* 第3エクソン領域の部分塩基配列を決定し、ヘテロ接合体の頻度を比較したところ、両アカネズミ集団の間に差はなく、共に高いヘテロ接合体頻度を維持していた。このことは、遺伝的浮動の影響の大きな小集団においても、適応的な平衡選択が働くことを示唆する。

(22) 福島第一原発事故後のアカネズミ尿中 8-OHdG 濃度について

友澤森彦、坂本信介、佐藤 淳、山田文雄、小泉 透

第 29 回日本霊長類学会・日本哺乳類学会 2013 年度合同大会 (岡山)、要旨集、p. 89 (2013-9)

福島第一原発事故によって放出された放射性物質の野生動物への影響は住民および国際社会の大きな関心事であるが、その遺伝的な影響や生理状態に及ぼす影響、またそれらのモニタリングの手法などについての情報は少ない。放射線被曝によって遺伝的な影響が生じる経路の一つとして細胞内の他の物質に放射線があたって生じた活性酸素が二次的にDNAを酸化することによる間接的経路がある。そこで本研究では環境中の放射性物質が野生動物集団に与える遺伝的影響を捉えるために、尿中の 8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) の濃度を計る事でDNAの酸化ダメージを計る事を試みた。8-OHdGは酸化ダメージを受けた核酸が修復される際に生じる代謝産物で、放射線被曝によって増加する事が示唆されている。2011年より福島県飯舘村、川内村および茨城県の北茨城市の3地点でアカネズミを捕獲し、尿中8-OHdGの濃度を比較した。その結果、幾つかの採集地点間で有意な差が見られたものの、空間線量率に応じた尿中8-OHdG濃度の増加は見られなかった。一方臼歯摩耗度から推定される個体の齢段階に応じて尿中8-OHdG濃度は高くなっていった。また個体ごとの筋肉中の放射性セシウム濃度と尿中8-OHdG濃度は同一地

点で捕獲された個体の間で大きくばらついており、両者の間には相関関係は見られなかった。以上の結果から、採集地点におけるアカネズミの尿中8-OHdG濃度に対する放射線被曝の影響は加齢などのその他の要因による影響よりも小さい事が示唆された。また実際のDNAの多型についてもミトコンドリアおよびマイクロサテライトを指標に現在解析中である。

(23) 第四紀の環境変動に伴ったクロテンの集団史と北海道を中心とした島嶼での多様性創出（ポスター最優秀賞）

木下豪太、佐藤 淳、細田徹治、鈴木 仁

第 29 回日本霊長類学会・日本哺乳類学会 2013 年度合同大会（岡山）、講演要旨集 p. 89 (2013-9)

クロテン (*Martes zibellina*) はユーラシア大陸北部に広く分布する森林性の小型食肉類であり、第四紀の環境変動に伴った植生変化に大きな影響を受けたと推測される。また、毛色など形態の多様性が高く、地域集団の分類も課題とされている。本研究では、ウラルから極東の大陸集団に加え、カムチャツカ半島やサハリン・北海道・南千島の島嶼に分布する辺縁部集団より収集した全279個体を対象に、ミトコンドリアDNA (mtDNA) のND2遺伝子の配列 (976 bp) を解読し、分布広域をカバーした集団史の推定を行った。合わせて、極東の島嶼と大陸集団における毛色関連遺伝子 *Mc1r* 全長 (909 bp) の配列を解読し、その多型と毛色との対応、及びハプロタイプの地理的分布の傾向を調べた。その結果、大陸集団からおおよそ30-40万年前に分岐した3つのmtDNA系統 (R1-R3) が確認され、いずれもウラルと沿海州で遺伝的多様性が高く、分布の東西で広く共有されていることが明らかとなった。一方、カムチャツカ半島ではR1系統の限られたハプロタイプのみが検出され、比較的近年の分布拡散による創始者効果の影響が示唆された。また、サハリン・北海道・南千島では、R1系統からおおよそ16万年前に分岐した島嶼固有の系統H1が分布している一方で、サハリンからはR2系統のハプロタイプも見つかった。*Mc1r* の解析からも、島嶼には大陸のクロテンと共通な系統と、ニホンテンやアメリカテンとも近縁な祖先系統が混在していることが判明し、大陸からの渡来が複数回あったことが示唆された。さらに、北海道からは全身黄色性をもたらす変異をもった *Mc1r* ハプロタイプも複数個体から見つかった。これらの結果から、クロテンは第四紀の環境変動による森林帯の分布変化により、ユーラシア大陸の広域で系統の分断化と拡散を経験した一方で、カムチャツカ半島へは近年の放散によって分布を確立したと考えられる。また、北海道を中心とした極東の島嶼は独自の系統分化と多様性創出の舞台となっていることが示された。

- (24) 出芽酵母における染色体からのセントロメア DNA の切り出しによる細胞死誘導  
松崎浩明、宮本昭弘、柳本敏彰、秦野琢之  
第 65 回日本生物工学会大会（広島）、講演要旨集、p. 22（2013-9）

遺伝子組換え生物が野外で拡散すると、環境へ及ぼす影響が危惧される。我々は、条件致死性質や不稔性質の付与によって遺伝子組換え生物の野外での拡散を防ぐことを目指している。それらの性質の付与には、部位特異的組換えを利用して特定の条件下や時期に染色体からセントロメアDNAを切り出し、細胞死を誘導する方法が考えられる。そこで、酵母 *S. cerevisiae* をモデル生物として pSR1 プラスミドの部位特異的組換えを利用してセントロメアDNAを切り出すことで細胞死を誘導することを検討した。セントロメアDNAの切り出しは、第IV番染色体のセントロメアDNAの両側に組換え部位配列（RS）を同じ方向に挿入し、ガラクトースによりレコンビナーゼの発現を誘導して行った。一倍体では第IV番染色体1本から切り出すことで、また二倍体では第IV番相同染色体の両方から切り出すことで、生存率が大きく低下し、細胞死を誘導できた。しかし、僅かな数の生存細胞が生じ、二倍体の生存率は一倍体よりも高かった。一倍体の生存細胞のセントロメア切り出しカセット領域の構造解析から、生存細胞が出現した原因は、主に染色体からRSが1個欠失し、切り出しが起こらなかったためと示唆された。RSの欠失の抑制により生存率を低下させることを検討している。さらに、拡散防止の実用化に適したレコンビナーゼ発現のプロモーターについて検討しようとしている。

- (25) 出芽酵母において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  
宮本昭弘、柳本敏彰、松崎浩明、秦野琢之  
第 36 回日本分子生物学会年会（神戸）、要旨 on line（2013-12）

今日、医薬品や酵素の製造および農業などにおいて多数の遺伝子組換え生物が利用されている。しかし、遺伝子組換え生物が野外で拡散した場合に環境へ及ぼす影響が危惧される。そこで、遺伝子組換え生物の拡散防止策の一つとして遺伝子組換え生物に条件致死性質や不稔性質を付与することが重要である。これらの付与は、部位特異的組換えを利用して特定の条件下や時期に染色体からセントロメア DNA を切り出し、細胞死を誘導することで可能であると考えた。そこで、出芽酵母 *S. cerevisiae* をモデル生物として pSR1 プラスミドの部位特異的組換えを利用したセントロメア DNA の切り出しにより細胞死を誘導することを検討してい

る。

一倍体細胞において第 IV 番染色体上のセントロメア DNA の両側に組換え標的部  
位 (RS) を挿入し、さらにレコンビナーゼ発現プラスミドを導入した株を作製し  
た。レコンビナーゼ遺伝子は、*GALI* プロモーターの制御下にあり、ガラクトース  
培地で培養することでセントロメア DNA が切り出される。切り出しの誘導で生存  
率が大きく低下し、細胞死を起こすことに成功した。しかし、第 IV 番染色体の  
切り出しを誘導してもプレート上で僅かな数の生存コロニーが出現した。そこで、  
細胞死誘導の効率を改善するために生存細胞の生存原因を解明することにした。  
プレート培養での第 IV 番染色体からの切り出しにおける生存細胞 51 株について  
染色体 DNA のパルスフィールドゲル電気泳動解析およびセントロメア近傍 DNA の構  
造解析を行った。その結果、大半が 2 個の RS の片方が欠失しており、これによ  
り切り出しが起こらなかったことが示唆された。また、その他の生存細胞の中  
には染色体パターンに変化が生じているものもあり、生存原因との関係を調べてい  
る。

今後は、これらの現象を抑制することで生存率をさらに低下させ、細胞死誘導の  
効率を改善する。

(26) 枯草菌の炭素代謝と孢子形成開始の緊縮転写制御

藤田泰太郎、東條繁郎、広岡和丈

第 36 回日本分子生物学会年会 (神戸)、講演要旨集 on line (2013-12)

枯草菌のアミノ酸飢餓などの対する緊縮応答により ppGpp が合成されると GMP キ  
ナーゼが阻害され、細胞内の GTP レベルが低下し、逆に ATP レベルが上がる。こ  
の RNA ポリメラーゼの基質 (ATP と GTP) の相反する濃度変動は、緊縮遺伝子の転  
写開始点のプリン塩基種に依存した転写開始速度に顕著に影響する。多くの緊縮  
制御遺伝子の正と負の緊縮転写制御には、これらの遺伝子の転写開始部位のアデ  
ニンとグアニン塩基種がそれぞれ関わっている。緊縮制御の DNA マイクロアレイ  
解析では、炭素代謝に関与する遺伝子など多くの緊縮遺伝子がこの種の緊縮転写  
制御を受けていることを示唆された。枯草菌に GMP 合成酵素の阻害剤であるデコ  
イニンを添加しても、この薬剤の GMP 合成酵素の阻害に伴い同様の緊縮転写制御  
が引き起こされる。デコイニンによる孢子形成の DNA マイクロアレイ解析では、  
デコイニンの添加が孢子形成に導くリン酸リレー系に関与する、2 種類の主たる  
センサーキナーゼ (*kinA* と *kinB*) を正に制御することが判明した。これらの遺  
伝子のコアのプロモーター領域を用いた *lacZ* 融合実験では、*kinA* と *kinB* 遺伝子  
の転写開始点の塩基種がアデニンであるがために、デコイニン添加による正の緊

縮転写制御が起こることを明らかにした。この正の転写制御は孢子形成に関与する AbrB あるいは CodY には依存しなかった。また、染色体上の *kinA* と *kinB* の転写開始点のアデニンをグアニンに置換すると、デオイニン添加で誘導される孢子形成のみならず栄養培地を用いた通常の孢子形成をも強く抑制することを示した。これらの結果から、ATP レベルの増加に起因する *kinA* と *kinB* の正の緊縮転写制御の作動が、リン酸リレー系による Spo0A へのリン酸と転移による孢子形成開始のための必要要件と考えられた。

- (27) タイコブラ毒液中に含まれる  $\alpha$ 1-アドレナリン受容体結合物質の精製  
本屋敷敏雄、中村景子、太田雅也、Anthony T. TU、五郎丸 毅  
日本薬学会 133 年会 (横浜)、大会講演要旨集 on line (2012-3)
- (28) 出芽酵母において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  
宮本昭弘、柳本敏彰、秦野琢之、松崎浩明  
日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本ビタミン学会近畿・中四国・九州沖縄地区 2013 年度合同広島大会 (日本農芸化学会中四国支部第 37 回講演会 (広島)、講演要旨集、p. 55 (2013-9)
- (29) セイタカアワダチソウ抽出物を利用した組換え型 AhR/GUS レポーター遺伝子系導入シロイヌナズナによる PCB 同族体のファイトモニタリング  
嶋津小百合、太田雅也、芦田 均  
日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部2013年度合同広島大会 (広島)、講演要旨集、p. 122 (2013-9)
- (30) 油脂 (triacylglycerol) を分泌する酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 変異株の解析  
藤井洋紀、松崎浩明、秦野琢之  
日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本ビタミン学会近畿・中四国・九州沖縄地区 2013 年度合同広島大会 (日本農芸化学会中四国支部第 37 回講演会 (広島)、講演要旨集、p. 56 (2013-9)
- (31) 油脂 (triacylglycerol) を分泌する酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 変異株の解析  
藤井洋紀、松崎浩明、秦野琢之

- 第 31 回 YEAST WORKSHOP (鹿児島)、講演要旨集、p. 48 (2013-11)
- (32) 出芽酵母染色体の核内配置における *SSD1* の機能  
石川寛吏、内海花菜、秦野琢之、松崎浩明  
第 31 回 YEAST WORKSHOP (鹿児島)、講演要旨集、p. 49 (2013-11)
- (33) 糸状菌 *Penicillium decumbens* を用いた燃料アルカンの生産  
石元裕也、松崎浩明、秦野琢之  
第 31 回 YEAST WORKSHOP (鹿児島)、講演要旨集、p. 50 (2013-11)
- (34) 海産酵母の米糠に対する作用と米糠からの直接アルコール発酵の試み  
藤原 翼、松崎浩明、秦野琢之  
第 31 回 YEAST WORKSHOP (鹿児島)、講演要旨集、p. 51 (2013-11)
- (35) 福山産バラからの野生酵母の分離・同定と発酵能の検定  
花岡拓哉、杉原千紗、久富泰資  
第 31 回 YEAST WORKSHOP (鹿児島)、講演要旨集、p. 23 (2013-11)
- (36) 酵母 *Kazachstania naganishii* における動原体配列 (CEN) の特定  
天田沙織、沖田将悟、杉原千紗、久富泰資  
第 31 回 YEAST WORKSHOP (鹿児島)、講演要旨集、p. 24 (2013-11)
- (37) 酵母 *Kazachstania naganishii* の生活環を支配する遺伝子の解析  
脇本佑貴、杉原千紗、久富泰資  
第 31 回 YEAST WORKSHOP (鹿児島)、講演要旨集、p. 25 (2013-11)

## B. 総説

- (1) Phylogeographic and feeding ecological effects on the mustelid faunal assemblages in Japan.  
Jun J. Sato  
*Anim. Syst. Evol. Divers.*, **29**, 99-114 (2013)

Phylogeographic and feeding ecological studies of seven terrestrial mustelid species

(Carnivora, Mustelidae), the Japanese marten *Martes melampus*, the sable *Martes zibellina*, the Japanese badger *Meles anakuma*, the ermine or the stoat *Mustela erminea*, the Japanese weasel *Mustela itatsi*, the least weasel *Mustela nivalis*, and the Siberian weasel *Mustela sibirica*, representing four biogeographic patterns in the Japanese archipelagos (Hokkaido, Honshu-Shikoku-Kyushu, Tsushima, and Hokkaido-Honshu), were reviewed in order to clarify causes for the faunal assemblage processes of those mustelid species in Japan. Here, three main constraints were extracted as important factors on the mustelid assemblage. First, fundamental evolutionary differences maintained by niche conservatism in each ecologically diversified lineage (“evolutionary constraint”) would enable the species to co-occur without any major problem (coexistence among *Martes*, *Meles*, and *Mustela* species). Second, “ecological constraints” would force two closely related species to be allopatric by competitive exclusion (*Mu. itatsi* and *Mu. sibirica*) or to be sympatric by resource partitions (*Mu. erminea* and *Mu. nivalis*). Third and most importantly, “geological constraints” would allow specific species to be embraced by a particular geographic region, primarily deciding which species co-occurs. The allopatric distribution of two *Martes* species in Japan would have been established by the strong effect of the geological separation in Tsugaru Strait. Elucidating both phylogeny and ecology of co-existing species in a community assemblage is important to know which species possess distinct lineage and which ecological traits are adapted to local environments, fulfilling the requirement of the field of conservation biology that endemism and adaptation should both be considered. The Japanese archipelagos would, therefore, provide valuable insight into the conservation for small carnivoran species.

## C. 著書

- (1) 日本列島にみられる哺乳類の毛色多型と系統地理学からみえるその遺伝的背景  
布目三夫、友澤森彦、佐藤 淳、鈴木 仁  
種生物学会編「系統地理学 DNA で解き明かす生きものの自然史」第7章、文一総合出版、東京、pp. 183-212 (2013-6)

「色」という形質は、太陽が照らすこの地球上では、生物が生きていくうえで非常に重要な役割を果たしている。そして、我々研究者だけでなく、生物学に携わらない人々にとっても、観察が容易である「色」は興味を持ちやすい対象である。

この章では、まず初めに、動物の「色」が持つ役割と、哺乳類の体色決定にかかわる遺伝子について記す。そして日本の哺乳類を中心に分子系統地理学から見た毛色の進化についての研究を紹介する。1 つ目に、クマネズミにおける毛色関連遺伝子の変異と毛色多型とのかかわりを挙げ、続いてハツカネズミおよびアカネズミの毛色関連遺伝子に診られた特徴的な地理的分布の話題を提供し、そしてニホンウサギとニホンテンに見られる毛色の季節変化と遺伝的変異の不一致について述べる。

## D. その他

- (1) 哺乳類の多様性と食における環境適応  
佐藤 淳  
里内清教授 退職記念 グリーンサイエンス講演会（福山）（2013-3）
- (2) ゲノムから見た哺乳類の進化と絶滅  
佐藤 淳（招待講演）  
北海道高等学校理科研究会函館支部 平成 25 年度 総会・研究協議会（函館）  
（2013-6）
- (3) テンのすみかは研究室  
佐藤 淳  
中国新聞 2013 年 7 月 23 日 28 面福山 記事掲載（2013-7）
- (4) テンちゃんの紹介  
佐藤 淳  
広島テレビ 2013 年 7 月 26 日「テレビ派」出演（2013-7）
- (5) 意外に役立つ（？）植物を使って環境保全！  
太田雅也  
福山大学生命工学部 第 13 回公開授業（福山）（2013-7）
- (6) 遺伝的多様性の盛衰-野生哺乳類を例として-  
食肉目及び齧歯目哺乳類を対象とした進化遺伝学的研究  
佐藤 淳（招待講演）

第 11 回 因島種苗生産技術交流会 (2013-8)

- (7) 枯草菌でのラムノース異化に関わる遺伝子群の発現制御機構  
広岡和丈、藤田泰太郎  
第 24 回大学間交流会 (神戸)、要旨集、p.11 (2013-10)
- (8) 哺乳類の食における環境適応の解明  
佐藤 淳  
ひろしま産業振興機構「平成 25 年度第 3 回研究室訪問 (環境健康科学の研究拠点の形成事業主催)」-福山大学グリーンサイエンス研究センター訪問-、要旨集、p. 2 (2013-10)
- (9) ダイオキシン 様物質のバイオケミカルアッセイ  
太田雅也  
ひろしま産業振興機構「平成 25 年度第 3 回研究室訪問 (環境健康科学の研究拠点の形成事業主催)」-福山大学グリーンサイエンス研究センター訪問-、要旨集、p. 3 (2013-10)
- (10) 生物育種と組換え技術を活用した土壌環境の保全と浄化、-枯草菌 (納豆菌) の健康増進と植物の生育増強について  
藤田泰太郎  
ひろしま産業振興機構「平成 25 年度第 3 回研究室訪問 (環境健康科学の研究拠点の形成事業主催)」-福山大学グリーンサイエンス研究センター訪問-、要旨集、pp. 2-3 (2013-10)
- (11) 遺伝子組換え酵母の環境への拡散防止システム  
松崎浩明  
ひろしま産業振興機構「平成 25 年度第 3 回研究室訪問 (環境健康科学の研究拠点の形成事業主催)」-福山大学グリーンサイエンス研究センター訪問-、要旨集、pp. 3-4 (2013-10)
- (12) 遺伝子組換え酵母の野外環境への拡散防止  
松崎浩明  
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「環境健康科学の研究拠点の形成」第 4 回公開講演会「微生物の機能開発」-環境バイオの最前線-、講演要旨集、

pp. 4-5 (2013-12)

- (13) 枯草菌の根圏でのシグナル応答と植物栽培・土壌改良への応用  
広岡和丈  
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「環境健康科学の研究拠点の形成」第4回公開講演会「微生物の機能開発」-環境バイオの最前線-、講演要旨集、  
pp. 10-11 (2013-12)
- (14) 酵母菌を探って、より身近に！  
久富泰資  
福山大学発！リレー講座-これからの時代を生きるために-（福山）(2013-12)