

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580134

研究課題名(和文)植物ホルモンの新規な代謝酵素の同定と機能解析

研究課題名(英文) Identification and functional analysis of novel metabolizing enzymes of plant hormones

研究代表者

松井 博和 (Matsui, Hirokazu)

北海道大学・・・名誉教授

研究者番号：90109504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ジャスモン酸(JA)は病傷害ストレス応答、生長などに関与する植物ホルモンである。本研究ではJAシグナルの不活性化に働くと推定したCYP94D1、CYP94D2およびILL6の機能解析を行った。CYP94D1については遺伝子発現量の調整により表現型の変化が認められた。すなわち、遺伝子欠損株ではJAへの感受性の低下、過剰発現体ではJAの水酸化物の誘導体ツベロン酸グルコシドの蓄積が見られた。

研究成果の概要(英文)：Jasmonate (JA) is a plant hormone regulating abiotic and biotic stress responses and growth. In this study, we analyzed the physiological and biochemical functions of CYP94D1, CYP94D2, and ILL6 proteins, which were predicted to inactivate the JA signal. In the analysis of mutant plants with higher and lower expression levels of CYP94D1 than wild type plant, we observed phenotypic differences. The transgenic plants lacking CYP94D1 showed higher resistance to external JA. The overexpressing plants of CYP94D1 accumulate higher level of tuberonic acid glucoside than wild type.

研究分野：生物化学

キーワード：ジャスモン酸 シトクロムP450 ツベロン酸

## 1. 研究開始当初の背景

ジャスモン酸 (JA) は  $\alpha$ -リノレン酸からオクタデカノイド経路により生合成される化合物であり、病傷害ストレス応答、生長などに関与する植物ホルモンである。JA による遺伝子発現促進機構については近年急速に理解が進んできており、数ある代謝物の中でイソロイシンとの接合体 (JA-Ile) が応答遺伝子の発現を促進することが明らかにされている。JA-Ile は、COI1 タンパク質との会合を介して SCF ユビキチン E3 リガーゼ複合体を形成し、JA ZIM ドメインタンパク質 (JAZ) をユビキチン化して 26S プロテアソームによる分解へと導く。JAZ は、転写因子 MYC2 の遺伝子発現を抑制するため、JAZ が分解されることにより MYC2 に制御される遺伝子の発現が促進される。一方、JA シグナルの不活性化については、JA-Ile を水酸化するモノオキシゲナーゼ P450 (CYP94B3) 遺伝子を過剰発現させたシロイヌナズナが JA シグナル不全となること、JA の水酸化物であるツベロン酸 (TA) が JA 誘導遺伝子の発現を抑制することから、JA あるいは JA-Ile が水酸化されることにより引き起こされると考えられている。JA-Ile の水酸化を触媒する酵素は明らかにされており、生成機構が判明しているが、TA の生成機構は不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、TA の生合成メカニズムを解明することである。TA の生成経路として、JA の水酸化による直接的生成と TA-Ile の加水分解による間接的経路を予想した。本研究では、これら 2 つの生成経路のキー酵素、すなわち、JA を水酸化するモノオキシゲナーゼと TA-Ile の加水分解酵素の同定を目指した。本研究では、CYP94B3 と高い配列同一性を示すが機能未知タンパク質である CYP94D1 および CYP94D2、インドール酢酸-アスパラギン酸接合体加水分解酵素と配列同一性を示すが本接合体への活性を持たないことが知られている機能未知タンパク質 ILL6 をターゲットとして機能解析を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) CYP94D1, CYP94D2 および ILL6 の酵素活性の確認

CYP94D1 と CYP94D2 についてはメタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* において NADPH-シトクローム P450 レダクターゼとそれぞれ共発現させた。すなわち、CYP94D1 と CYP94D2 のシグナルペプチドを除いた成熟タンパク質部分を pPICZA ベクターにそれぞれ組込み、予め NADPH-シトクローム P450 レダクターゼ遺伝子を導入した *P. pastoris* に導入した。培地に 0.02 mM JA あるいは JA-Ile を添加し、CYP94D1 と CYP94D2 遺伝子の発現を 0.5 % v/v メタノールにより誘導した。誘導培養 4 日後の培養上清を UPLC-MS/MS により解析した。

ILL6 についてはグルタチオン S-トランス

フェラーゼ (GST) との融合蛋白質として大腸菌により生産した。pET42a に ILL6 遺伝子を導入した発現プラスミドを作製し、大腸菌 BL21 (DE3) に導入した。0.1 mM イソプロピル  $\beta$ -チオガラクトシドにより組換えタンパク質の発現を誘導し、誘導培養を 18°C にて 20 時間行った。得られた菌体から得られた無細胞抽出液を 400  $\mu$ M JA-Ile または TA-Ile と室温で 24 時間反応させた。反応緩衝液として 4 mM ジチオスレイトールと 4 mM MgCl<sub>2</sub> を含む 40 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.6) を用いた。得られた反応液を UPLC-MS/MS により解析した。

### (2) CYP94D1 および CYP94D2 の過剰発現シロイヌナズナの作出

カリフラワーモザイクウイルス CaMV35S プロモーターの下流に CYP94D1 および CYP94D2 をそれぞれ連結した pBI121 由来発現プラスミドを作成し、アグロバクテリウム法によりシロイヌナズナ (エコタイプ コロンビア) を形質転換した。得られた T3 世代の種子を用いて実験に使用した。

### (3) 植物ホルモン内生量の測定

各種処理後の植物体の地上部を回収し、植物ホルモンを抽出して UPLC-MS/MS により定量した。

## 4. 研究成果

### (1) CYP94D1, CYP94D2 および ILL6 の酵素活性の確認

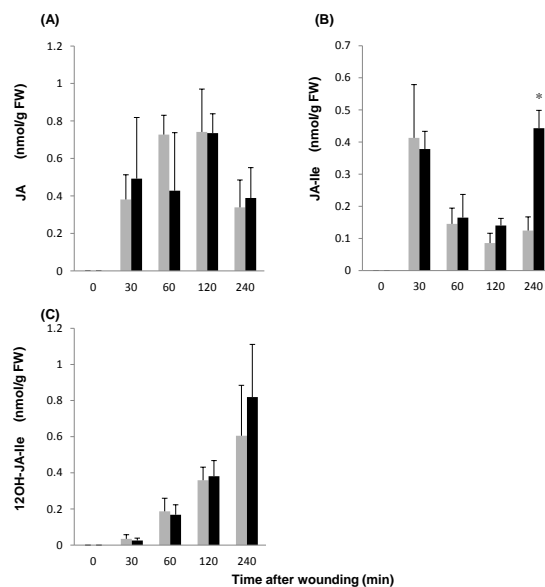
CYP94D1 および CYP94D2 の JA-Ile および JA への活性を調べるため、これらをコードする遺伝子をそれぞれ *P. pastoris* において NADPH-シトクローム P450 レダクターゼとそれぞれ共発現させた。組換えタンパク質の生産培養において、導入した各遺伝子の発現はいずれの場合も RT-PCR により確認されたが、JA-Ile および JA への水酸化活性は得られなかった。酵母の無細胞抽出液を用いてウエスタンブロッティング (ターゲット遺伝子に付加したヒスチジンタグへの抗体により検出) を行ったところ、いずれの場合も組換えタンパク質の生産が認められなかった。すなわち、CYP94D1 および CYP94D2 は *P. pastoris* により生産されておらず、酵素活性が評価できていないことが考えられた。

ILL6 の JA-Ile および TA-Ile 加水分解活性を調べるため、ILL6 を GST 融合蛋白質として大腸菌で発現させた。組換え ILL6 は可溶性タンパク質として生産された。大腸菌形質転換体の無細胞抽出液を JA-Ile および TA-Ile に作用させたが、いずれの場合も加水分解活性は検出されなかった。

### (2) CYP94D1 および CYP94D2 の遺伝子欠損シロイヌナズナ変異株の解析

CYP94D1 および CYP94D2 の *P. pastoris* における発現実験において、タンパク質レベル

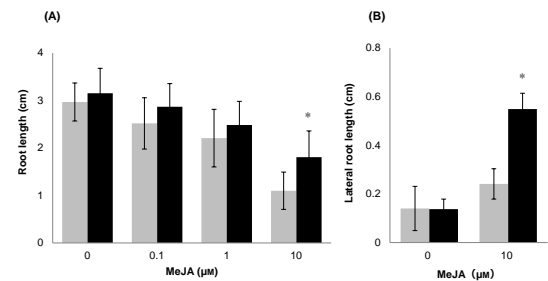
での生産が不良であり、機能解析ができなかったため、各ターゲット遺伝子を欠損したシロイヌナズナ変異株における植物ホルモン量を解析することとした。それぞれの遺伝子欠損株 (T-DNA 挿入変異体ライン) は GABI-KAT から入手した。入手した変異株を継代し、遺伝子欠損のホモ接合体の単離を試みた。CYP94D1 欠損変異体についてはホモ接合体が取得されたが、CYP94D2 についてはホモ接合体が取得できなかった。遺伝子発現データベース eFP ブラウザーにより CYP94D2 の発現部位を調査すると、本遺伝子は胚発生時に特異的に発現する遺伝子であることが判明した。このため、CYP94D2 は胚発生の必須因子であり、欠損は致死となると推察された。CYP94D2 については過剰発現体により機能を明らかにすることとし、CYP94D1 欠損変異株について解析を進めた。本欠損変異体は、発芽率、開花時期、種子の形成等については野生型と大きな変化は認められなかった。CYP94D1 欠損変異株と野生株に傷害処理を施し、継時的にサンプリングした植物の JA, JA-Ile および TA-Ile の内生量を測定した (Fig. 1)。その結果、CYP94D1 欠損株では水酸化物の内生量の低下が予想されたが、予想に反して欠損株の TA-Ile の蓄積量が野生型植物より高かった (傷害処理後 240 min)。ただし、本変異体では傷害処理後 240 分において JA-Ile の蓄積が過剰に見られており、TA-Ile 量の増加はこの JA-Ile の過剰蓄積に起因する可能性がある。



**Fig. 1. Accumulation patterns of jasmonates after mechanical wounding in leaves of WT and *cyp94d1* plants.**  
Endogenous amounts of JA (A), JA-Ile (B) and 12OH-JA-Ile (C) of wild type (gray bar) and the mutant (black bar) were measured. The error bars are mean  $\pm$  standard error for 3 independent experiments. Asterisks denote a significant difference between the mutant and wild type using Student's t-test. (\* $P < 0.05$ )

次に、野生型と欠損変異株のメチル JA による根の伸長阻害について比較した (Fig. 2)。10  $\mu$ M メチル JA を含むムランゲスクーグ培地で生育させたところ、CYP94D1 欠損変

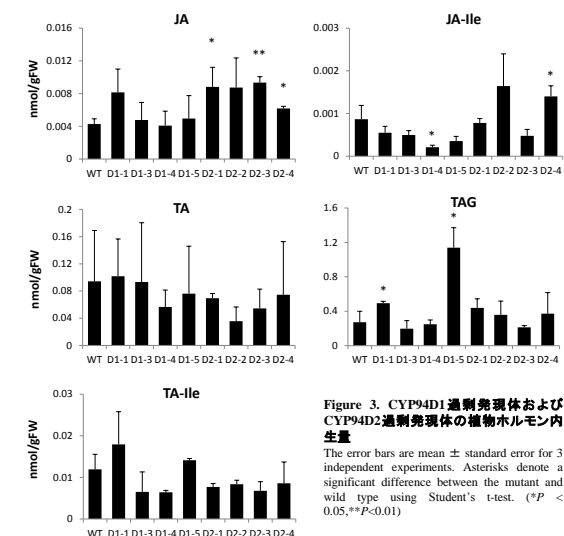
異体では、主根、側根共に野生型植物よりも長かった。すなわち本変異株のメチル JA に対する感受性は野生型植物よりも低かった。このことから CYP94D1 は JA 類の水酸化による JA シグナルの不活性化というよりも JA シグナルを負に制御する因子であることが示唆された。



**Figure 2. Root inhibition assay of WT and *cyp94d1* mutant.**  
(A) Root length. (B) Lateral root length. Root length of 5-day-old wild-type (gray bar) and *cyp94d1* (black bar) seedlings grown on MS plates containing various concentrations of MeJA(A) were measured. The error bars are mean  $\pm$  standard error for 15-20 independent experiments.

(3) CYP94D1 および CYP94D2 過剰発現シロイヌナズナの解析

CYP94D1 および CYP94D2 の過剰発現体を作成した。CYP94D1 過剰発現株では遺伝子発現量が 26-144 倍 (D1-1, 41 倍; D1-3, 26 倍; D1-4, 90 倍; D1-5, 144 倍) に、CYP94D2 過剰発現株では 1.9-2.2 倍 (D2-1, 2.2 倍; D2-4, 1.9 倍) に増加した組換え植物が得られた。CYP94D2 については遺伝子発現量が大幅に増加した形質転換体を得られなかった。得られた過剰発現体をそれぞれ生育させ、発芽後 4 週間の植物体の地上部より植物ホルモンを抽出し、定量した (Fig. 3)。その結果、CYP94D1 過剰発現体においては、JA および TA 量に野生型酵素との内生量の差は認められなかったが、CYP94D1 発現量が大きく向上したラインでは TA グルコシド (TAG) の内生量の増加が認められた。このことから、CYP94D1 は JA あるいは JA-Ile 水酸化活性を持つこと、CYP94D1 の作用による TA 量 (TA-Ile の加水分解も含む) の増加に伴い TAG 量が増加したことが推定された。一方、CYP94D2 過剰発現体においては JA 内生量の増加が認められたが、TA や TAG の内生量の変化は認められなかった。



**Figure 3. CYP94D1 overexpression and CYP94D2 overexpression plant hormone levels.**  
The error bars are mean  $\pm$  standard error for 3 independent experiments. Asterisks denote a significant difference between the mutant and wild type using Student's t-test. (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ )

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① N. Jaito, W. Saburi, R. Odaka, Y. Kido, K. Hamura, M. Nishimoto, M. Kitaoka, H. Matsui & H. Mori, Characterization of a thermophilic 4-O- $\beta$ -D-mannosyl-D-glucose phosphorylase from *Rhodothermus marinus*, Biosci. Biotechnol. Biochem., 78, 263-270 (2014) 査読有, DOI, 10.1080/09168451.2014.882760.
- ② T. Fujiwara, W. Saburi, H. Matsui, H. Mori & M. Yao, Structural insights into the epimerization of  $\beta$ -1,4-linked oligosaccharides catalyzed by cellobiose 2-epimerase, the sole enzyme epimerizing non-anomeric hydroxyl groups of unmodified sugars, J. Biol. Chem., 289, 3405-3415 (2014) 査読有, DOI, 10.1074/jbc.M113.531251.
- ③ M.H. Kim, S. Sato, K. Sasaki, W. Saburi, H. Matsui & R. Imai, COLD SHOCK DOMAIN PROTEIN 3 is involved in salt and drought stress tolerance in Arabidopsis, FEBS Open Bio, 3, 438-442 (2013) 査読有, DOI, 10.1016/j.fob.2013.10.003.
- ④ T. Sawano, W. Saburi, K. Hamura, H. Matsui & H. Mori, Characterization of *Ruminococcus albus* cellodextrin phosphorylase and identification of a key phenylalanine residue for acceptor specificity and affinity to the phosphate group, FEBS J., 280, 4463-4473 (2013) 査読有, DOI, 10.1111/febs.12408.
- ⑤ K. Hamura, W. Saburi, H. Matsui & H. Mori, Modulation of acceptor specificity of *Ruminococcus albus* cellobiose phosphorylase through site-directed mutagenesis, Carbohydr. Res., 379, 21-25 (2013) 査読有, DOI, 10.1016/j.carres.2013.06.010.
- ⑥ S. Wakuta, Y. Shibata, Y. Yoshizaki, W. Saburi, S. Hamada, H. Ito, S.K. Hwang, T.W. Okita & H. Matsui, Modulation of allosteric regulation by E38K and G101N mutations in the potato tuber ADP-glucose pyrophosphorylase, Biosci. Biotechnol. Biochem., 77, 1854-1859 (2013) 査読有, URL, [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/77/9/77\\_130276/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/77/9/77_130276/_article).
- ⑦ W. Saburi, N. Morimoto, A. Mukai, D.H. Kim, T. Takehana, S. Koike, H. Matsui & H. Mori, A thermophilic alkalophilic  $\alpha$ -amylase from *Bacillus* sp. AAH-31 shows a novel domain organization among glycoside hydrolase family 13 enzymes, Biosci. Biotechnol. Biochem., 77, 1867-1873 (2013) 査読有, URL, [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/77/9/77\\_130284/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/77/9/77_130284/_article).
- ⑧ T. Fujiwara, W. Saburi, S. Inoue, H. Mori, H. Matsui, I. Tanaka & M. Yao, Crystal structure of *Ruminococcus albus* cellobiose 2-epimerase: structural insights into epimerization of unmodified sugar, FEBS Lett., 587, 840-846 (2013) 査読有, DOI, 10.1016/j.febslet.2013.02.007.
- ⑨ T. Ojima, W. Saburi, T. Yamamoto, H. Mori & H. Matsui, Identification and characterization of cellobiose 2-epimerases from various aerobes, Biosci. Biotechnol. Biochem., 77, 189-193 (2013) 査読有, URL, [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/77/1/77\\_120742/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/77/1/77_120742/_article).
- ⑩ H. Sato, W. Saburi, T. Ojima, H. Taguchi, H. Mori & H. Matsui, Immobilization of a thermostable cellobiose 2-epimerase from *Rhodothermus marinus* JCM9785 and continuous production of epilactose, Biosci. Biotechnol. Biochem., 76, 1584-1587 (2012) 査読有, URL, [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/8/76\\_120284/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/8/76_120284/_article).
- ⑪ D.H. Kim, N. Morimoto, W. Saburi, A. Mukai, K. Imoto, T. Takehana, S. Koike, H. Mori & H. Matsui, Purification and characterization of a liquefying  $\alpha$ -amylase from alkalophilic thermophilic *Bacillus* sp. AAH-31, Biosci. Biotechnol. Biochem., 76, 1378-1383 (2012) 査読有, URL, [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/7/76\\_120164/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/7/76_120164/_article).
- ⑫ R. Kawahara, W. Saburi, Rei Odaka, H. Taguchi, S. Ito, H. Mori & H. Matsui, Metabolic mechanism of mannan in a ruminal bacterium, *Ruminococcus albus*, involving two mannoside phosphorylases and cellobiose 2-epimerase: discovery of a new carbohydrate phosphorylase,  $\beta$ -1,4-mannooligosaccharide phosphorylase, J. Biol. Chem., 287, 42389-42399 (2012) 査読有, DOI, 10.1074/jbc.M112.390336.

[学会発表] (計 30 件)

- ① イネの傷害応答におけるサリチル酸グルコシド加水分解酵素の機能: 武田 遼介, 佐分利 亘, 姫野 奈美, 和久田 真司, 松浦 英幸, 今井 亮三, 松井 博和, 森 春英, 植物化学調節学会第 49 回大会, 京都大学 (京都府・京都市), 2014 年 10 月 18,

- 19日.
- ② イネのトレハロースにより誘導されるシステミックな病害抵抗性にはジャスモン酸が関与する：手塚 大介, 坂井 志帆, 和久田 真司, 加藤 英樹, 松浦 英幸, 佐分利 亘, 森 春英, 松井 博和, 今井 亮三, 植物化学調節学会第49回大会, 京都大学 (京都府・京都市), 2014年10月18, 19日
- ③ イネ由来スクロースシンターゼ3のスクレオチドニリン酸特異性に関わるアミノ酸残基の決定：岩藤 伸治, 佐分利 亘, 松井 博和, 今井 亮三, 森 春英, 日本応用糖質科学会平成26年度大会, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター (新潟県・新潟市), 2014年9月24日
- ④ *Halomonas* sp. H11株由来 $\alpha$ -グルコシダーゼの糖転移機構の解析：城戸 悠輔, 佐分利 亘, 小島 晃代, Xing Shen, 薦田 圭介, 姚 閔, 松井 博和, 森 春英, 日本農芸化学会 北海道・東北合同支部大会, 北海道大学 (北海道・札幌市), 2014年9月23日.
- ⑤ アクセプタ結合部位を改変した *Ruminococcus albus* 由来マンノシドホスホリラーゼの基質特異性と反応特性の解析, 尾高 伶, 佐分利 亘, 福士 江里, 西本 完, 北岡 本光, 松井 博和, 森 春英, 日本農芸化学会 2014年度大会, 明治大学 (神奈川県・川崎市), 2014年3月29日.
- ⑥ Characterization of a thermophilic 4-O- $\beta$ -D-mannosyl-D-glucose phosphorylase from *Rhodothermus marinus*: N. Jaito, W. Saburi, R. Odaka, Y. Kido, K. Hamura, M. Nishimoto, M. Kitaoka, H. Matsui & H. Mori, 日本農芸化学会 2014年度大会, 明治大学 (神奈川県・川崎市), 2014年3月29日.
- ⑦ *Halomonas* sp. H11株由来 $\alpha$ -グルコシダーゼ D274G 変異酵素の一価カチオンによる活性化機構の解析：城戸 悠輔, 佐分利 亘, 小島 晃代, 松井 博和, 森 春英, 日本農芸化学会 2014年度大会, 明治大学 (神奈川県・川崎市), 2014年3月28日.
- ⑧ Physiological analysis of OsTAGG2, a rice  $\beta$ -glucoside glucosidase with higher hydrolytic activity towards salicylic acid  $\beta$ -glucoside: R. Takeda, W. Saburi, N. Himeno, S. Wakuta, H. Matsuura, R. Imai, H. Matsui & H. Mori, 第55回植物生理学会年会, 富山大学 (富山県・富山市), 2014年3月19日.
- ⑨ イネ胚乳ADP-グルコースピロホスホリラーゼの酵素化学的諸性質：石塚 佐都子, 和久田 真司, 佐分利 亘, 今井 亮三, 森 春英, 日本農芸化学会 北海道支部講演会, 北海道大学 (北海道・札幌市), 2013年11月30日.
- ⑩ シロイヌナズナ $\beta$ -グルコシダーゼ様タンパク質の生化学的機能解析：谷口 沙希, 佐分利 亘, 松浦 英幸, 今井 亮三, 松井 博和, 森 春英, 日本農芸化学会 北海道支部講演会, 北海道大学 (北海道・札幌市), 2013年11月30日.
- ⑪ セロビオース2-エピメラーゼの異性化反応機構の解明：藤原 孝彰, 佐分利 亘, 松井 博和, 森 春英, 田中 勲, 姚 閔, 日本応用糖質科学会 2013年度大会, 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市), 2013年9月25日.
- ⑫ *Bacillus* sp. AAH-31株由来 $\alpha$ -アミラーゼの一次構造の解析とN末端ドメインの機能解析：佐分利 亘, 森本 奈保喜, 向井 惇, Kim Dae Hoon, 竹花 稔彦, 小池 誠治, 松井 博和, 森 春英, 日本応用糖質科学会 2013年度大会, 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市), 2013年9月25日.
- ⑬ *Halomonas* sp. H11株由来 $\alpha$ -グルコシダーゼの一価陽イオンによる活性化機構の解析：城戸 悠輔, 佐分利 亘, 小島 晃代, 松井 博和, 森 春英, 日本応用糖質科学会 2013年度大会, 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市), 2013年9月25日.
- ⑭ シロイヌナズナ $\beta$ -グルコシダーゼ様タンパク質の生化学的機能解析：谷口 沙希, 佐分利 亘, 松浦 英幸, 今井 亮三, 松井 博和, 森 春英, 日本農芸化学会北海道支部 夏季シンポジウム, 旭川国際会議場 (北海道・旭川市), 2013年8月10日.
- ⑮ シロイヌナズナにおけるCYP94B2の機能解析：天野 就基, 北岡 直樹, 川出 洋, 谷口 沙希, 佐分利 亘, 松井 博和, 松浦 英幸, 日本農芸化学会 2013年度大会, 東北大学 (宮城県・仙台市), 2013年3月26日.
- ⑯ イネ由来ツベロン酸 $\beta$ -グルコシドグルコシダーゼアイソザイムのアグリコン認識メカニズムの解析：姫野 奈美, 佐分利 亘, 武田 遼介, 和久田 真司, 松浦 英幸, 鍋田 憲助, 森 春英, 今井 亮三, 松井 博和, 日本農芸化学会 2013年度大会, 東北大学 (宮城県・仙台市), 2013年3月26日.
- ⑰ イネ由来ツベロン酸 $\beta$ -グルコシドグルコシダーゼアイソザイム1の機能解析：武田 遼介, 姫野 奈美, 佐分利 亘, 和久田 真司, 森 春英, 松浦 英幸, 鍋田 憲助, 今井 亮三, 松井 博和, 日本農芸化学会 2013年度大会, 東北大学 (宮城県・仙台市), 2013年3月26日.
- ⑱ *Halomonas* sp. H11株由来 $\alpha$ -グルコシダーゼ組換え酵素の大腸菌による生産と諸性質：城戸 悠輔, 佐分利 亘, 小島 晃代, 森 春英, 松井 博和, 日本農芸化学会 2013年度大会, 東北大学 (宮城県・仙台市), 2013年3月26日.
- ⑲ COLD SHOCK DOMAIN PROTEIN 3 regulates salt and drought stress tolerance in Arabidopsis: S. Sato, M.H. Kim, K. Sasaki, W. Saburi, H. Matsui & R. Imai,

- 第54回日本植物生理学会年会, 岡山大学 (岡山県・岡山市), 2013年3月21-23日.
- ⑳ *Bacillus* sp. AAH-31株由来耐熱性アルカリ $\alpha$ -アミラーゼの高機能化に関する研究: 玉村 尚也, 向井 惇, 森本 奈保喜, 竹花 稔彦, 佐分利 亘, 森 春英, 小池 誠治, 松井 博和, 平成24年度日本農芸化学会北海道支部講演会, 北海道大学 (北海道・札幌市), 2012年11月2日.
- ㉑ ツペロン酸グルコシド加水分解酵素の基質認識機構の解明: 姫野 奈美, 和久田 真司, 武田 遼介, 佐分利 亘, 森 春英, 松浦 英幸, 鍋田 憲助, 今井 亮三, 松井 博和, 平成24年度日本農芸化学会北海道支部講演会, 北海道大学 (北海道・札幌市), 2012年11月2日.
- ㉒ 組換えツペロン酸グルコシドグルコシダーゼの酵素化学的諸性質の解析: 武田 遼介, 姫野 奈美, 佐分利 亘, 和久田 真司, 森 春英, 松浦 英幸, 鍋田 憲助, 今井 亮三, 松井 博和, 平成24年度日本農芸化学会北海道支部講演会, 北海道大学 (北海道・札幌市), 2012年11月2日.
- ㉓ イネの傷害時のSAGをdonorとしたTAに対する糖転移反応: 竹松 知紀, 宮沢 吉郎, 瀬戸 義哉, 和久田 真司, 佐分利 亘, 鍋田 憲助, 松井 博和, 松浦 英幸, 平成24年度日本農芸化学会北海道支部講演会, 北海道大学 (北海道・札幌市), 2012年11月2日.
- ㉔ セロピオース2-エピメラーゼを用いたエピラクトースの実用的酵素合成法の開発, 佐分利 亘, 小島 晃代, 佐藤 央基, 田口 秀典, 森 春英, 松井 博和, 応用糖質科学シンポジウム, 東京農工大学 (東京・府中市), 2012年9月21日.
- ㉕ *Ruminococcus albus* 由来セロピオース2-エピメラーゼ (RaCE) のX線結晶構造解析, 藤原 孝彰, 佐分利 亘, 井上 聡太, 森 春英, 松井 博和, 姚 閔, 田中 勲, 日本応用糖質科学会2012年度大会, 東京農工大学 (東京・府中市), 2012年9月20日.
- ㉖ *Ruminococcus albus* 由来セロデキストリンホスホリラーゼの諸性質とリン酸結合部位の解析, 澤野 達也, 佐分利 亘, 森 春英, 松井 博和, 日本応用糖質科学会2012年度大会, 東京農工大学 (東京・府中市), 2012年9月19日.
- ㉗ *Ruminococcus albus* NE1株由来マンノシルグルコースホスホリラーゼ (RaMP1) の一般酸触媒残基の解析, 尾高 伶, 佐分利 亘, 川原 良介, 森 春英, 松井 博和, 日本応用糖質科学会2012年度大会, 東京農工大学 (東京・府中市), 2012年9月19日.
- ㉘ シロイヌナズナ ADP-glucose pyrophosphorylase 遺伝子の発現制御因子の解析, 石塚 佐都子, 和久田 真司, 佐分利 亘, 今井 亮三, 松井 博和, 日本

応用糖質科学会2012年度大会, 東京農工大学 (東京・府中市), 2012年9月19日.

- ㉙ cellobiose phosphorylase の epilactose phosphorylase への改変: 羽村 健, 佐分利 亘, 森 春英, 松井 博和, 日本応用糖質科学会2012年度大会, 東京農工大学 (東京・府中市), 2012年9月19日.
- ㉚ Biochemical characterization of two mannosyl glucose phosphorylase isozymes from *Ruminococcus albus*, W. Saburi, R. Kawahara, H. Taguchi, H. Mori & H. Matsui, 26th International Carbohydrate Symposium, Madrid (Spain), 2012年7月22-27日.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

北海道大学大学院農学研究院 生物化学研究室

<http://www.agr.hokudai.ac.jp/biochem/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松井 博和 (MATSUI, Hirokazu)

北海道大学・名誉教授

研究者番号: 90109504

### (2) 研究分担者

佐分利 亘 (SABURI, Wataru)

北海道大学大学院農学研究院・助教

研究者番号: 00598089

松浦 英幸 (MATSUURA, Hideyuki)

北海道大学大学院農学研究院・准教授

研究者番号: 20344492