

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2019～2023

課題番号：19H05638

研究課題名(和文)植物細胞の脂質分泌の鍵をにぎるバルク輸送マシナリーの分子基盤

研究課題名(英文)Molecular basis of bulk transport machinery playing key roles in lipid secretion in plant cells

研究代表者

矢崎 一史 (Yazaki, Kazufumi)

京都大学・生存圏研究所・教授

研究者番号：00191099

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 127,400,000円

研究成果の概要(和文)：植物は生理活性の高い数多くの二次代謝産物を特定の細胞から細胞外に分泌し、アポプラスト(細胞外スペース)に蓄積する。本研究では、謎の多い脂溶性物質の細胞外分泌にかかわる輸送メカニズムの分子機構を明らかにすることを目的とした。脂溶性の赤色素であるシコニンと、それを細胞当たり10%も分泌するムラサキの培養細胞および毛状根をモデルとして、ENTH/VHS、Epsin-2といった膜ダイナミクス系タンパク質や、G-typeのABC輸送体(ABCG)などを同定し、これらをシロイヌナズナやタバコといったヘテロな植物種に発現させることでその機能を分子レベルで解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今から4億5千万年前、植物が地上に進出し種の繁栄を達成できたのは、大気中で自らの体を乾燥から守る、という新機能であった。それはワックスやスベリンといった脂溶性ポリマーで細胞表面を覆うことで、水の蒸散を防ぐ機能の獲得である。また植物は香り成分や抗癌成分などを生産するが、それら低分子の機能性成分の多くはやはり脂溶性で、細胞外で蓄積するものが多い。しかしその分泌メカニズムは謎に包まれていた。本研究では、こうした脂溶性物質の細胞外分泌に焦点を当て、分泌過程にかかわる膜交通系タンパク質や輸送体、またマトリックス脂質分子を同定し、その実態に迫った。

研究成果の概要(英文)：Plants secrete a variety of secondary metabolites with different biological activities from specific cell types or specialized tissues into the extracellular space, where they accumulate in the apoplast. The aim of this study was to elucidate the molecular mechanisms of the transport events involved in extracellular secretion, especially for the enigmatic lipid-soluble substances. In this study, we used the lipid-soluble red pigment shikonin and the cultured cells and hairy roots of *Lithospermum erythrorhizon* (gromwell, Boraginaceae), which secrete 10% of it per cell, as models. We identified several proteins relevant for membrane dynamics, such as ENTH/VHS and epsin-2, and G-type ABC transporters (ABCG) as membrane transporters that would be important for the secretion of lipid-soluble metabolites. We then elucidated their functions at the molecular level in heterologous plant species.

研究分野：植物細胞生化学

キーワード：植物細胞 脂質分泌 バルク輸送 ABCトランスポータ 膜ダイナミクス シコニン

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

われわれ人間の生活は、植物の生産する代謝産物に支えられている。一次生産者である植物は、光合成並びに共生窒素固定を通じて、地上生物の炭素並びに窒素栄養循環の根源を成している。植物はさらに、100万種を超える極めて多様な二次代謝産物を生産している。これら天然の低分子有機化合物は、その高い化学構造多様性と生物活性の多様性を生かして、天然色素、芳香成分（スパイス、化粧品）、医薬品原料、機能性食品、嗜好品など、人間生活の多方面で生活の質（Quality of life: QOL）の維持向上に欠くべからざるものとして、社会に深く浸透している。

地上植物は現在約45万種が知られるが、こうした植物の多様性の起点となっているのが、約4.5億年前に起こった、「水棲生物であった植物の陸上へ進出」である。この植物界の最も大きな進化イベントに必須だったのが、大気中で自らの体を乾燥から守る、という新機能であった。それは取りも直さず、脂質で細胞表面を覆うことで水の蒸散を防ぐ機能の獲得である。その脂質はワックスやクチンといったポリマー成分であり、コケ類などではトリアシルグリセロールが同様の役割を担うこともある。植物は、進化に伴ってトリアシルグリセロールを資化可能な貯蔵脂質として細胞内に蓄積し、水の蒸散を防ぐためには主にワックスなどポリマー脂質が使うようになってきた。そして、こうした水の蒸散を防ぐ細胞はもっぱら、植物表面の表皮細胞に特化した役割となっている。

2000年以降、シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的な研究から、ワックスの生合成に関わる遺伝子は次々に同定されてきた。その分泌に関しては、G-タイプのABCトランスポーターが関わるとの報告が数多くなされているが、膜輸送体であるABCトランスポーターが固体であるワックスやクチンを運べるはずはなく、この膜タンパク質がどうワックス・ロードなどに関わっているか、その生化学的かつ分子レベルの機構は全く分かっていない。しかし、応募者が2017年のCellに報告したように、実際に植物の地上進出を代表するゼニゴケのゲノムには、ワックス輸送に関係するとされるABCG遺伝子のコピー数が急増加していることがわかっている。さらには、香氣成分のモノテルペンや抗癌剤のピンクリスチンやパクリタキセルなど脂溶性低分子化合物も、ほとんどの場合、油腺や分泌キャピティー（空隙）といった細胞外の空間に分泌されて高蓄積している。しかしながら、水に溶けない低分子化合物が、どのようにして生産細胞から外に分泌され、細胞外空間（アポプラスト）で蓄積できるのか、その機構に関してはほとんど解明されていないのが現状である。そしてこの蓄積能力こそが、生合成酵素など代謝能力に加えて真の物質生産の成立のために必須なのである。

2. 研究の目的

植物は表皮細胞において、ワックスやクチン、あるいはスベリンといった脂溶性ポリマーを生合成し、その全てを細胞外に分泌する。またパクリタキセルのような抗癌剤やモノテルペンなど、高い脂溶性を示す低分子代謝産物も、それぞれ特異的な細胞で生合成された後、細胞外に輸送分泌され細胞外スペース（アポプラスト）に蓄積する。しかし、50年以上知られる本現象の分子メカニズムは依然として未知のままであり、現在のサイエンスをもってしても詳細は不明な大きなブラックボックスなのである。一体、水に溶けない物質を含む脂質-重膜油滴がどのようなメカニズムで、水を主とするサイトゾルを細胞膜に向けて移動し、細胞を殺すことなく分泌されるのか？本研究でモデル系とするムラサキ細胞では、細胞あたり10%以上の大量の脂溶性物質シコニン分泌するが、それを支える「脂質輸送機構」の本体とは何か？これが本研究の学術的な「問い」である。

本研究では、上記の学術的「問い」に対して、解答を与えられるモデル系として、ムラサキの培養細胞におけるシコニン分泌系を用いる。重量ベースで10%を超える脂溶性物質のシコニンを細胞外に分泌するという応募者のユニークな細胞系を用いて、応募者は植物細胞からの脂質のバルク輸送を司る輸送マシナリーの構成メンバーの同定と、輸送メカニズムの分子機構を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では以下のA~Fの6項目の実験を計画した。

A. 膜ダイナミクスに関わるメンバーの絞り込み

ムラサキのインタクトな根に加え、培養細胞と毛状根においてシコニンの生産の有無を制御した材料を6種類用い、マルチオミックスを利用して、脂溶性物質の分泌に必要な「輸送カーゴ」の構成メンバーの候補遺伝子をリストする。

B. Virus-induced gene silencing (VIGS) による機能解明

安定形質転換体の作成が容易ではないムラサキのため、実用植物の代謝研究に用いられることのあるウイルス誘導生遺伝子サイレンシングシステムの構築を行う。この方法は、候補遺伝子の一次スクリーニングとしての適性が高いため、シコニンの細胞外分泌が遮断される遺伝子の絞り込みに役立つ。

C. 毛状根形質転換系を用いた遺伝子機能解析

VIGSは一過的な系であり、遺伝子機能のスクリーニングには向くが、各タンパク質の細胞内膜局在やシコニンとの共局在などの微細な解析には向かない。そのため、毛状根誘導系を介した安定形質転換も並行して進める。ここでは、大臣承認の不要な国産の *Rhizobium (Agrobacterium) rhizogenes* A13 株を用いた高効率の形質転換系の確立と、ゲノム編集技術の適用を行う。また、誘導性プロモータを有するベクターの導入も検討する。

D. 脂質分泌時における膜のダイナミクスの解明

シコニンの分泌に関するタンパク質分子としては、これまでに LeDI2 が同定されている。このタンパク質が分子内に有する 8 つの Cys に着目し、部位特異的変異導入してその細胞内挙動を追跡することで、どのようにシコニンの分泌に関与しているかを詳しく追跡する。

E. タンパク質-タンパク質相互作用の解析

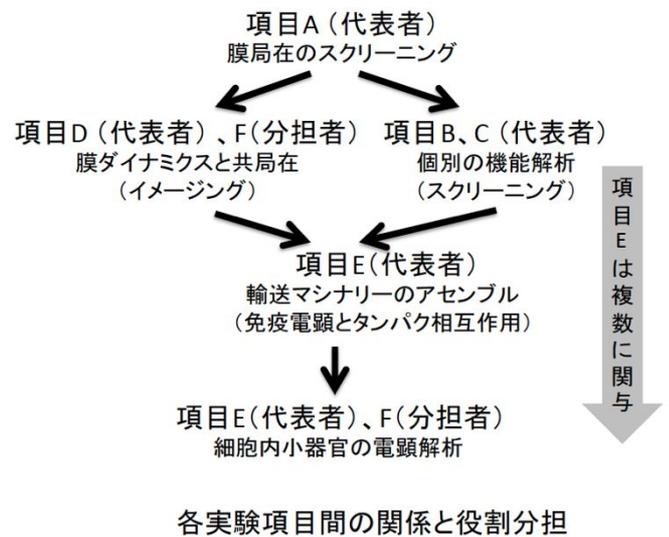
脂質の細胞外輸送は単一の輸送タンパク質によるものでなく、複数タンパク質からなる輸送マシナリー複合体によるイベントであると考えられる。その複合体の全体像を明らかにするため、下記の項目 F とリンクさせ、タンパク質-タンパク質相互作用を生化学的に解析する。

F. 高圧凍結置換固定法を用いた脂質輸送に関わる細胞内小器官の電顕解析

脂質輸送に関与する膜系の細胞小器官およびマシナリー複合体の構造を明らかにするため、高圧凍結置換固定法を用いて細胞を固定し、電子顕微鏡で詳細に観察する。

役割分担

電顕解析における高圧凍結置換固定法は、細胞を瞬時に物理的に凍結固定するため、従来の化学固定法と比べて膜系の保存が極めて良く、物質の移動や化学修飾が少ないため、細胞内膜構造の見え方には歴然とした差がある上、特異抗体を用いた免疫細胞化学的検出にも適している。しかし専門性が高く、経験値の高い専門家の協力が必要であり、本方で豊富な経験を持つ本学農学研究科の栗野達也博士のこの項目 F を分担者として全面的に担当する体制となっている。なお、実際の作業にあたってはポストク 1 名を雇用し、推進力の増強を図った。

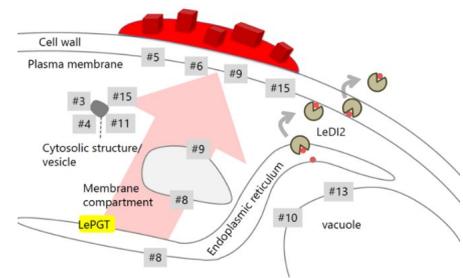


4. 研究成果

研究計画に記載の実験項目に沿って報告する。

A. 膜ダイナミクスに関わるメンバーの絞り込み

マルチオミックスを利用して、ムラサキのRNA-seqデータからシコニン生産とのリンクから脂質分泌に関わることが期待される遺伝子を16種類絞り込み、それぞれにGFPを融合したコンストラクトを作成して、*Nicotiana benthamiana* に発現させ、細胞内局在を調べた。その結果、2つが液胞に局在すること、また発現レベルの高さを指標にして、極めて発現量の低いものを除き 8 種の候補遺伝子を絞り込んだ。それぞれの遺伝子産物の細胞内局在をマップとしたのが右図である。



GFP 融合タンパク質による候補遺伝子の細胞内局在

いずれも膜局在型のタンパク質であり、2つが細胞膜局在型の膜輸送体で、うち1つはABC-Gタイプのタンパク質であった。それ以外は、SYPに属するタンパク質が多く、小胞体、ゴルジ装置、また小さな小胞に分泌するものが認められた。LeDI-2 についても細胞内ではER局在であるものの、細胞外にも分泌されることが見出された。

3	ENTH/VHS family	膜小胞の被覆?
4	Myosin heavy chain	細胞骨格
5	ABCG16	ABCG/WBC
6	NPF4.3/NRT1	NPF family
8	SVP32	SNARE (cis-Golgi)
9	SYP61	SNARE (TGN)
11	Epsin-2	膜小胞の被覆?
15	ENTH/ANTH/VHS family	膜小胞の被覆?

B. Virus-induced gene silencing (VIGS) による機能解明

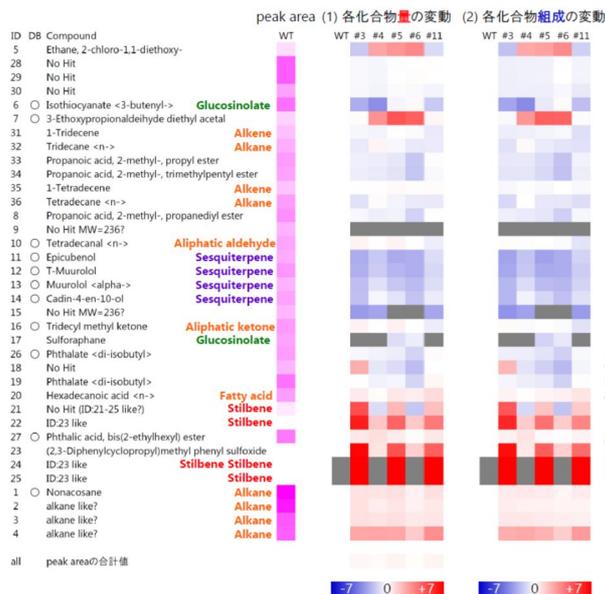
VIGSに関しては、キュウリモザイクウイルス (CMV) とリンゴ小球形潜在ウイルス (ALS) を利用したベクター系で、ムラサキの感染とシコニン生産に与える影響を評価した。当初予定していたTRVは、感染効率が悪い上に、シコニン生産を強く抑制するために、本研究の目的には適さないと判断した。結果として、感染病徴を示さないALSがムラサキには適当であると判断された。実際にムラサキの *phytoene desaturase (PDS)* 遺伝子をモデルに、ALSベクターを用いたサイレンシングを行った (右図)。その結果、ALSを用いてVIGSによる目的遺伝子のサイレンシングができることが判明した。成果は論文として発表した。その後感染効率にばらつきが大きく、候補遺伝子の数も上記の研究で8個ほどに絞られたことから、安定形質転換体の実験を優先することとした。



ムラサキPDS遺伝子のサイレンシング

C. 毛状根形質転換系を用いた遺伝子機能解析

VIGSは一過的な系であり、一次スクリーニングには適しているが、細胞内におけるイベントを詳細に解析するには向かないため、毛状根形質転換系の効率化を図ることとした。そこで、国産のA13株を用いて実験系の抜本的な見直しを行い、遺伝子導入効率を飛躍的に上げることができ、導入効率 50 ~ 70% を達成できた (Tatsumi, et al., 2020)。しかし、この株は遺伝子の組み合わせによりコンストラクトを脱落させることが後に明らかとなったため、大臣承認の実験となってしまいが、米国産の *Agrobacterium rhizogenes* ATCC15834 を使うことにした。さらに、毛状根はクローンによってシコニン生産性にばらつきが生じるため、解析遺伝子の機能をより効率よくかつ正確に評価するため、発現誘導系のベクターを構築した。対象とする遺伝子のコピー数が多い場合には今後、このベクター系と高効率の遺伝子導入系を用いたRNAiコンストラクトを導入して loss-of-function の実験を行った。並行して、よりクリアな結果を得られるゲノム編集技術を、実用植物であるムラサキにおいて確立した (Nakanishi, et al., 2024)。これにより比較的短時間でゲノム編集ラインが得られるようになった。これは、さらなる研究の継続に役立つものとして新たなクローン作出に使っている。

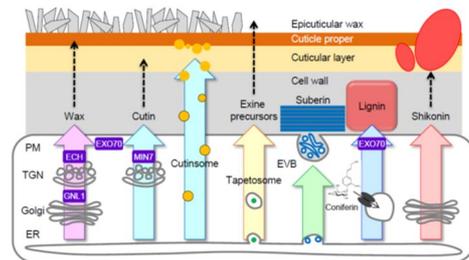


一方、遺伝子機能解析に当たり gain-of-function の実験は、ムラサキの上記候補遺伝子を、シロイヌナズナおよびタバコを宿主として安定形質転換体を作成し、それぞれの植物が組織表面に分泌するネィティブな脂溶性物質の分泌に与える影響を調べた。組織表面からの分泌性脂溶性物質のトラップにはクロロホルムディップ法にて行い、植物材料としては、シロイヌナズナは花柄を、タバコにおいては葉を用いた。また、化合物の網羅的分析には、GC-MSを用いた (前ページのヒートマップ図)。

その結果、シロイヌナズナでは、分泌系のセスキテルペン類は若干減少傾向が認められた一方で、スチルベン化合物においては、ENTH/VHS family の異所的発現により、20 ~ 72倍の分泌増加が認められた。また、タバコにおいては、ニコチンの分泌に影響が認められ、ENTH/VHS family の発現で2.6倍、Myosin heavy chain の発現では5.9倍の分泌促進効果が認められた。この成果は論文原稿にまとめている最中である。

D. 脂質分泌時における膜のダイナミクスの解明

シコニンの分泌に関するタンパク質分子として、過去にLeDI2が報告されているが、本研究の過程で、lipid transfer protein (LTP) のファミリーのメンバーとみなされることがわかった。そこで、保存される8つのCysに部位特基的突然変異導入をして細胞内局在を調べたところ、S-S結合の形成を阻害すると、小胞体(ER)ネットワーク上にドット構造を作らなくなることを見出した。また、種々のポーラー脂質を



The molecular components are rarely isolated

ER, endoplasmic reticulum
Golgi, Golgi apparatus
TGN, trans-Golgi network
PM, plasma membrane
EV, extracellular vesicle-tubular structure

植物の膜交通による脂溶性物質の分泌

用いたオーバーレイ実験を行ったところ、LeDI2は特定の膜脂質と結合する活性を有することが見出された。さらにLeDI2のゲノム編集ラインでは、シコニン類の減少に伴って、フォスファチジルイノシトール(PI)とアラキジン酸の著しい現象が見いだされた。ポーラー脂質がシコニン分泌に重要な役割を果たしていることが示唆される新奇データである。LTPは、脂質分子2つが結合される部位が中央にある。この分子に関しては、シコニン合成と輸送蓄積の両方において重要な役割を果たす分子であることが予想されている。シコニンを含む植物の脂溶性物質の分泌にかかわる分子と想定される輸送基質さらには最終産物を整理して(上図)、論文としてまとめた(Ichino et al., 2023)。

E. タンパク質-タンパク質相互作用の解析

脂質の細胞外輸送は、複数タンパク質からなる輸送マシナリー複合体(輸送カーゴ)により行われると考えているため、各候補遺伝子をGFPタグとHAタグを用いた融合タンパク質として発現するようベクターを構築し、これを*N. benthamiana*で発現させてタンパク質同士の相互作用を、抗タグ抗体を用いた免疫沈降によって行なった。様々な組み合わせで実験を行った結果、意外に相互作用するたんぱく質の組み合わせは多くなく、これまでに明確な相互作用が認められたのは、LeDI-2タンパク質とシコニン合成の鍵酵素であるゲラニル基転移酵素LePGTとの相互作用である。上記のようにLeDI-2の機能欠損毛状根では、シコニンの生産蓄積が低下することも見出ししており、この成果に関しては、論文執筆中であり、近日中に投稿できる見込みである。

F. 高圧凍結置換固定法を用いた脂質輸送に関わる細胞内小器官の電顕解析

ムラサキの細胞におけるシコニンの代謝と分泌をナノスケールで観察するため、透過電子顕微鏡(TEM)による観察を行なった。一般に、生物組織のTEM観察には自己分解、腐敗、変形を防ぐための固定処理が必須である。通常の化学固定法はグルタルアルデヒド前固定と、四酸化オスmium後固定の二段階処理からなる。しかし、この方法ではシコニンのような脂溶性物質が著しく流出する。脂質固定のための特別な処理として、グルタルアルデヒド前固定液にマラカイトグリーンを加える(MG法、Teichman et al. 1974. *Biology of Reproduction* 10:565-577)、四酸化オスmium後固定液にイミダゾールを加える(IMD法、Angermüller and Fahimi 1982. *Histochem J* 14:823-835)、後固定後に

-フェニレンジアミンを反応させる(PPD法、Ledingham and Simpson 1972. *Stain Technol* 5:239-243)などの方法が報告されている。そこで、これらの方法がシコニン固定に利用できるか検討した。

ムラサキのカルス培養細胞をMG法、IMD法、PPD法のいずれかで固定しTEM観察したところ、いずれの方法でもシコニンを含むと考えられる脂質粒が観察された。MG法、IMD法、PPD法は作用機序が異なるので、組み合わせによる相乗効果を期待し、すべての方法を適用してTEM観察した(MGIP法、下図)。細胞小器官がそれぞれ異なった電子密度で観察され(下図a、b)、細胞内のシコニンも高電子密度でその局在が可視化された(下図b、矢頭)。シコニンが細胞外へ分泌された際の分泌小胞も同様に高電子密度で観察された(下図c、矢頭)。また、シコニンが細胞壁を通過する際は、細胞質に存在するときよりも小さな粒径をとること(下図d、矢頭)、細胞質より外側に輸送される際に、細胞膜が内側に折りたたまれる様子が観察された(下図d、矢印)。本技術開発に関しては2022年に論文化しており(Kiyoto, et al.)、現在は続報として輸送阻害を起こした際にどのような細胞内・細胞外構造に変化が出るかの実験データを整理している。近々投稿できる予定である。

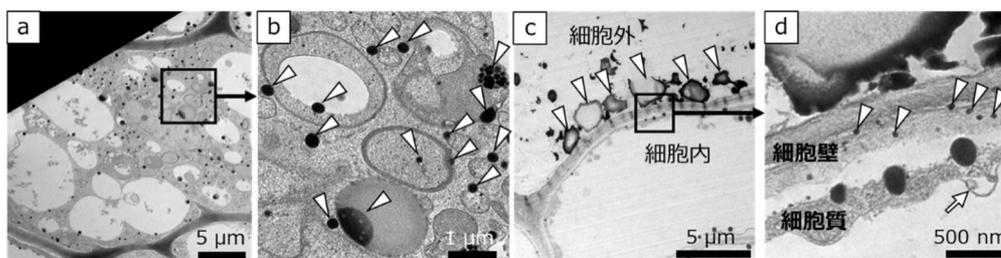


図 新規固定法 MGIP 法を用いて固定した、ムラサキ培養細胞の TEM 写真

これらの成果のほか、当初予見していなかった新たな展開として、シコニン顆粒と同時に観察される細胞外の繊維状ないしフレーク状のデブリがアラビノガラクトタンパク(AGP)の抗体と結合することが見出された。シコニンは小胞体で生合成が進むが、AGPも同じく小胞体で作られ、GPIアンカーとアラビノガラクトタンからなる多数の糖鎖で修飾され、その後細胞外に分泌される。その分泌過程には、膜ダイナミクスが関与することが知られる。今回の結果から、AGPの分泌経路と共通の経路でシコニンがバルク輸送されている可能性が浮上した。この可能性を検証することを今後の展望として研究展開につなげていきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計27件（うち査読付論文 27件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 17件）

1. 著者名 Li Hao, Matsuda Hinako, Tsuboyama Ai, Munakata Ryosuke, Sugiyama Akifumi, Yazaki Kazufumi	4. 巻 29
2. 論文標題 Inventory of ATP-binding cassette proteins in <i>Lithospermum erythrorhizon</i> as a model plant producing divergent secondary metabolites	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 DNA Research	6. 最初と最後の頁 1~12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/dnares/dsac016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tatsumi Kanade, Ichino Takuji, Isaka Natsumi, Sugiyama Akifumi, Moriyoshi Eiko, Okazaki Yozo, Higashi Yasuhiro, Kajikawa Masataka, Tsuji Yoshinori, Fukuzawa Hideya, Toyooka Kiminori, Sato Mayuko, Ichi Ikuyo, Shimomura Koichiro, Ohta Hiroyuki, Saito Kazuki, Yazaki Kazufumi	4. 巻 74
2. 論文標題 Excretion of triacylglycerol as a matrix lipid facilitating apoplastic accumulation of a lipophilic metabolite shikonin	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 104~117
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jxb/erac405	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Emi Ito, Ryosuke Munakata, Kazufumi Yazaki	4. 巻 64
2. 論文標題 Gromwell, a purple link between traditional Japanese culture and plant science	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 567~570
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 棟方涼介、矢崎一史	4. 巻 57
2. 論文標題 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	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 植物の生長調節	6. 最初と最後の頁 93~99
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kiyoto Shingo, Ichino Takuji, Awano Tatsuya, Yazaki Kazufumi	4. 巻 71
2. 論文標題 Improved Chemical Fixation of Lipid-Secreting Plant Cells for Transmission Electron Microscopy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 206 ~ 213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfac018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichino Takuji, Yazaki Kazufumi	4. 巻 66
2. 論文標題 Modes of secretion of plant lipophilic metabolites via ABCG transporter-dependent transport and vesicle-mediated trafficking	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Opinion in Plant Biology	6. 最初と最後の頁 102184 ~ 102184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pbi.2022.102184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimada Natsumi, Munekata Noriaki, Tsuyama Taku, Matsushita Yasuyuki, Fukushima Kazuhiko, Kijidani Yoshio, Takabe Keiji, Yazaki Kazufumi, Kamei Ichiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Active Transport of Lignin Precursors into Membrane Vesicles from Lignifying Tissues of Bamboo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 2237 ~ 2237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10112237	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koeduka Takao, Takarada Sachiho, Fujii Koya, Sugiyama Akifumi, Yazaki Kazufumi, Nishihara Masahiro, Matsui Kenji	4. 巻 13
2. 論文標題 Production of raspberry ketone by redirecting the metabolic flux to the phenylpropanoid pathway in tobacco plants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Metabolic Engineering Communications	6. 最初と最後の頁 e00180 ~ e00180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mec.2021.e00180	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 矢崎 一史	4. 巻 57
2. 論文標題 ムラサキ科植物におけるシコニン生合成研究の新潮流	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 705 ~ 709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14894/faruawpsj.57.8_705	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 2. Munakata, R., Olry, A., Takemura, T., Tatsumi, K., Ichino, T., Villard, C., Kageyama, J., Kurata, T., Nakayasu, M., Jacob, F., Koeduka, T., Yamamoto, H., Moriyoshi, E., Matsukawa, T., Grosjean, J., Krieger, C., Sugiyama, A., Mizutani, M., Bourgaud, F., Hehn, A., Yazaki, K.	4. 巻 118
2. 論文標題 Parallel evolution of UbiA superfamily proteins into aromatic O-prenyltransferases in plants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 e2022294118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2022294118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamamoto Hirobumi, Tsukahara Mika, Yamano Yumiko, Wada Akimori, Yazaki Kazufumi	4. 巻 61
2. 論文標題 Alcohol Dehydrogenase Activity Converts 3 -Hydroxy-geranylhydroquinone to an Aldehyde Intermediate for Shikonin and Benzoquinone Derivatives in Lithospermum erythrorhizon	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1798 ~ 1806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcaa108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Izuishi Yuki, Isaka Natsumi, Li Hao, Nakanishi Kohei, Kageyama Joji, Ishikawa Kazuya, Shimada Tomoo, Masuta Chikara, Yoshikawa Nobuyuki, Kusano Hiroaki, Yazaki Kazufumi	4. 巻 10
2. 論文標題 Apple latent spherical virus (ALSV)-induced gene silencing in a medicinal plant, Lithospermum erythrorhizon	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-70469-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oshikiri Haruka, Watanabe Bunta, Yamamoto Hirobumi, Yazaki Kazufumi, Takanashi Kojiro	4. 巻 184
2. 論文標題 Two BAHD Acyltransferases Catalyze the Last Step in the Shikonin/Alkannin Biosynthetic Pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 753 ~ 761
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.20.00207	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ueoka Hayato, Sasaki Kanako, Miyawaki Tatsuya, Ichino Takuji, Tatsumi Kanade, Suzuki Shiro, Yamamoto Hirobumi, Sakurai Nozomu, Suzuki Hideyuki, Shibata Daisuke, Yazaki Kazufumi	4. 巻 182
2. 論文標題 A Cytosol-Localized Geranyl Diphosphate Synthase from Lithospermum erythrorhizon and Its Molecular Evolution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 1933 ~ 1945
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.19.00999	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tatsumi Kanade, Ichino Takuji, Onishi Noboru, Shimomura Koichiro, Yazaki Kazufumi	4. 巻 37
2. 論文標題 Highly efficient method of Lithospermum erythrorhizon transformation using domestic Rhizobium rhizogenes strain A13	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 39 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.19.1212a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ueoka Hayato, Sasaki Kanako, Miyawaki Tatsuya, Ichino Takuji, Tatsumi Kanade, Suzuki Shiro, Yamamoto Hirobumi, Sakurai Nozomu, Suzuki Hideyuki, Shibata Daisuke, Yazaki Kazufumi	4. 巻 182
2. 論文標題 A Cytosol-Localized Geranyl Diphosphate Synthase from Lithospermum erythrorhizon and Its Molecular Evolution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 1933 ~ 1945
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.19.00999	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tatsumi Kanade, Ichino Takuji, Onishi Noboru, Shimomura Koichiro, Yazaki Kazufumi	4. 巻 37
2. 論文標題 Highly efficient method of <i>Lithospermum erythrorhizon</i> transformation using domestic <i>Rhizobium rhizogenes</i> strain A13	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 39 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.19.1212a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shitan Nobukazu, Yazaki Kazufumi	4. 巻 1862
2. 論文標題 Dynamism of vacuoles toward survival strategy in plants	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183127 ~ 183127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2019.183127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kusano Hiroaki, Li Hao, Minami Hiroshi, Kato Yoshihiro, Tabata Homare, Yazaki Kazufumi	4. 巻 10
2. 論文標題 Evolutionary Developments in Plant Specialized Metabolism, Exemplified by Two Transferase Families	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2019.00794	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Munakata Ryosuke, Takemura Tomoya, Tatsumi Kanade, Moriyoshi Eiko, Yanagihara Koki, Sugiyama Akifumi, Suzuki Hideyuki, Seki Hikaru, Muranaka Toshiya, Kawano Noriaki, Yoshimatsu Kayo, Kawahara Nobuo, Yamaura Takao, Grosjean Jeremy, Bourgaud Frederic, Hehn Alain, Yazaki Kazufumi	4. 巻 2
2. 論文標題 Isolation of <i>Artemisia capillaris</i> membrane-bound di-prenyltransferase for phenylpropanoids and redesign of artemisinin C in yeast	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-019-0630-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Munakata Ryosuke, Kitajima Sakihito, Nuttens Andreina, Tatsumi Kanade, Takemura Tomoya, Ichino Takuji, Galati Gianni, Vautrin Sonia, Berges Helene, Grosjean Jeremy, Bourgaud Frederic, Sugiyama Akifumi, Hehn Alain, Yazaki Kazufumi	4. 巻 225
2. 論文標題 Convergent evolution of the UbiA prenyltransferase family underlies the independent acquisition of furanocoumarins in plants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 2166 ~ 2182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nph.16277	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsuyama Taku, Matsushita Yasuyuki, Fukushima Kazuhiko, Takabe Keiji, Yazaki Kazufumi, Kamei Ichiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Proton Gradient-Dependent Transport of p-Glucocoumaryl Alcohol in Differentiating Xylem of Woody Plants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8900
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-45394-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakanishi Kohei, Li Hao, Ichino Takuji, Tatsumi Kanade, Osakabe Keishi, Watanabe Bunta, Shimomura Koichiro, Yazaki Kazufumi	4. 巻 in press
2. 論文標題 Peroxisomal 4-coumaroyl-CoA ligases participate in shikonin production in <i>Lithospermum erythrorhizon</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 kiae157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plphys/kiae157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oshikiri Haruka, Li Hao, Manabe Misaki, Yamamoto Hirobumi, Yazaki Kazufumi, Takanashi Kojiro	4. 巻 65
2. 論文標題 Comparative Analysis of Shikonin and Alkannin Acyltransferases Reveals Their Functional Conservation in Boraginaceae	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 362 ~ 371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcad158	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Munakata Ryosuke, Yazaki Kazufumi	4. 巻 in press
2. 論文標題 How did plants evolve the prenylation of specialized phenolic metabolites by means of UbiA prenyltransferases?	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Current Opinion in Plant Biology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計35件 (うち招待講演 16件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 薬効成分の生合成と蓄積の分子機構 シコニンを緒として
3. 学会等名 日本生薬学会第68回年会 (松山) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢崎一史、巽 奏、市野琢爾、清都晋吾、栗野達也、太田啓之、斉藤和季
2. 発表標題 ムラサキ培養細胞における脂溶性色素シコニンの生産とトリアシルグリセロールの分泌
3. 学会等名 第34回植物脂質化学シンポジウム (京都) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 植物フェノール類の生理活性向上の鍵を握る二次代謝系プレニル化酵素
3. 学会等名 第32回イソプレノイド研究会 (新潟) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 植物細胞における脂溶性物質の蓄積と分泌
3. 学会等名 第3回天然ゴム研究会（仙台）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 日本文化を支えた『紫』の染料植物
3. 学会等名 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（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中西浩平、李豪、市野琢爾、巽奏、刑部敬史、渡辺文太、下村講一郎、矢崎一史
2. 発表標題 ムラサキのシコニン生合成に関わる2つの4-coumaroyl-CoA ligaseの機能特性
3. 学会等名 第39回日本植物バイオテクノロジー学会（堺）大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 市野 琢爾，巽 奏，棟方 有桂，坪山 愛，森吉 英子，中安 大，高梨 功次郎，矢崎 一史
2. 発表標題 薬用植物ムラサキにおける2つのハーフサイズABCG輸送体の解析
3. 学会等名 第39回日本植物バイオテクノロジー学会（堺）大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 正木泰斗、市野琢爾、豊田健人、下村講一郎、矢崎一史
2. 発表標題 ムラサキ細胞のシコニン系脂溶性化合物の分泌における膜融合関連 タンパク質EX070の解析
3. 学会等名 第34回植物脂質化学シンポジウム（京都）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 市野 琢爾, 陽川 憲, 巽 奏, 晝間 敬, 中安 大, 高松 恭子, 森吉 英子, 棟方 有桂, 杉山 暁史, 渡邊 崇人, 下村 講一郎, 渡辺 隆司, 矢崎 一史
2. 発表標題 ムラサキにおける細胞外ナフトキノンと分泌型ペルオキシダーゼの生理的役割
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中西浩平、李豪、市野琢爾、巽奏、刑部敬史、渡辺文太、下村講一郎、矢崎一史
2. 発表標題 wo peroxisomal 4-coumaroyl-CoA ligases are involved in shikonin biosynthesis of Lithospermum erythrorhizon
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坪山 愛、李 豪、市野 琢爾、松田 陽菜子、棟方 涼介、杉山 暁史、矢崎 一史
2. 発表標題 二次代謝のモデル植物ムラサキのABCタンパク質の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度（京都大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 李 豪、市野 琢爾、中西 浩平、草野 博彰、刑部 敬史、下村 講一郎、矢崎 一史
2. 発表標題 シコニン関連遺伝子を標的としたムラサキのゲノム編集毛状根の評価
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度（京都大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 段 奈々子、上岡 颯人、李 豪、橘 頼之、杉山 暁史、棟方 涼介、矢崎 一史
2. 発表標題 揮発性テルペノイドの分泌に関わる候補因子の探索と基盤構築
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度（京都大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大塚 峻、市野 琢爾、吉村 和貴、李 豪、山本 浩文、矢崎 一史
2. 発表標題 シコニン/アルカニン生合成経路で働くデオキシシコニン水酸化酵素の機能解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度（京都大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中西 浩平、李 豪、市野 琢爾、巽 奏、刑部 敬史、渡辺 文太、下村 講一郎、矢崎 一史
2. 発表標題 ムラサキ代謝における4-coumaroyl-CoA ligaseの機能分担とシコニン生合成への関与
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度（京都大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 市野 琢爾、棟方(齊田) 有桂、大島 良美、金沢 香織、森吉 英子、巽 奏、光田 展隆、矢崎 一史
2. 発表標題 代謝産物の分泌能向上にむけたムラサキ由来脂質分泌遺伝子候補の異種発現
3. 学会等名 第38回日本植物バイオテクノロジー学会・つくば大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中西 浩平、李 豪、市野 琢爾、巽 奏、刑部 敬史、渡辺 文太、下村 講一郎、矢崎 一史
2. 発表標題 薬用植物ムラサキにおける4-coumaroyl-CoA ligaseの果たす役割
3. 学会等名 第38回日本植物バイオテクノロジー学会・つくば大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 市野 琢爾、棟方 有桂、大島 良美、金沢 香織、巽 奏、矢崎 一史
2. 発表標題 ムラサキにおけるシコニン分泌機構の解明と植物の輸送能力の改変にむけた利用
3. 学会等名 第33回植物脂質シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kohei Nakanishi, Hao Li, Keishi Osakabe, Bunta Watanabe, Kazufumi Yazaki
2. 発表標題 Characterization of 4-coumaroyl-CoA ligase (4CL) involved in shikoninbiosynthesis in Lithospermum erythrorhizon
3. 学会等名 11th Symposium of the International Society of Root Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清都晋吾、粟野達也、矢崎一史
2. 発表標題 マラカイトグリーン、イミダゾール緩衝オスミウム、p-フェニレンジアミンの組み合わせによる化学固定法の改良
3. 学会等名 第71 回日本木材学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 巽 奏、市野琢爾、東 泰弘、井坂夏海、上撫健太、梶川昌孝、福澤秀哉、豊岡公德、佐藤繭子、市 育代、斉藤和季、矢崎一史
2. 発表標題 脂溶性二次代謝産物シコニンの細胞外蓄積に関する分泌脂質分子の解析
3. 学会等名 第61 回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 植物における代謝産物の蓄積機構の制御技術の開発
3. 学会等名 BioJapan 2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 棟方涼介、高橋宏暢、肥塚崇男、Alain HEHN、矢崎一史
2. 発表標題 植物フェノール類プレニル化酵素の位置特異性を担う触媒機構の解明に向けて
3. 学会等名 第30回イソプレノイド研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 生合成工学と輸送工学を統合したプレニル化ポリフェノールの生合成リデザイン
3. 学会等名 新学術領域研究 生物合成系の再設計による複雑骨格機能分子の革新的創成科学、第6回公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 植物の脂溶性テルペン化合物の細胞外分泌
3. 学会等名 第2回天然ゴム研究会 / 理研シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 物質集積メカニズムの制御による高次物質生産技術 - 植物における代謝産物の蓄積機構の制御技術の開発 -
3. 学会等名 BioJapan 2019 NEDOセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 植物の鉄要求性を支える膜輸送体とその生理機能
3. 学会等名 第43回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会 シンポジウム2（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中西浩平、高野祐希、山本恭子、佐々木佳菜子、小原一朗、市野琢爾、巽 奏、李 豪、棟方涼介、山本浩文、刑部敬史、下村講一郎、杉山 暁史、高梨功次郎、矢崎一史
2. 発表標題 ムラサキのシコニン生産と同調して発現するポリフェノールオキシダーゼの機能解析
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 植物細胞が作る有用物質の宝箱 二次代謝
3. 学会等名 日本植物バイオテクノロジー学会・設立40周年記念市民公開シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 共同利用設備DASHシステムにおける大型遺伝子組換え温室とその応用
3. 学会等名 九州大学実験生物環境制御センターキックオフシンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 葉の歴史ー植物科学とのつながりを紐解く
3. 学会等名 植物バイオテクノロジー学会 第4回産学官協力セミナー(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 植物が支える日本の文化と人の健康 葉と色素としてのムラサキを例に
3. 学会等名 日本新薬 第6回山科植物資料館セミナー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 日本のムラサキに隠された秘密を先端科学から読み解く
3. 学会等名 加美町薬用植物研究会 講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢崎一史
2. 発表標題 プラネタリーヘルス～地球の健康を支える“植物”の力
3. 学会等名 2023年第7回京都クオリア塾（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 清都晋吾, 栗野達也, 市野琢爾, 矢崎一史
2. 発表標題 ムラサキ毛状根における脂質分泌膜系の透過電子顕微鏡観察
3. 学会等名 第74 回日本木材学会（京都）
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 矢崎一史 (編: 小泉 望、加藤 晃)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 184
3. 書名 植物バイオテクノロジーでめざすSDGs (担当: 第10章「薬の歴史 植物化学とのつながりを紐解く」)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

森林園遺伝子統御分野 矢崎研究室 https://www.rish.kyoto-u.ac.jp/lpge/ 森林園遺伝子統御分野 矢崎研究室 https://www.rish.kyoto-u.ac.jp/lpge/ 森林園遺伝子統御分野 矢崎研究室 http://www.rish.kyoto-u.ac.jp/lpge/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	粟野 達也 (Awano Tatsuya) (40324660)	京都大学・農学研究科・助教 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------