

学会創立100周年記念
日本農芸化学会中四国支部第65回講演会

講演要旨集

日時：2023年6月3日（土）13時10分開会
場所：宇部フロンティア大学



日本農芸化学会中四国支部

学会創立 100 周年記念

日本農芸化学会中四国支部第 65 回講演会（例会）

会 場：宇部フロンティア大学文京台キャンパス

開催日：2023 年 6 月 3 日（土）

- | | | |
|-------------|--|---------------------|
| 11:00～12:00 | 幹事打合せ | (B 棟 1 階 B101 講義室) |
| 12:10～13:00 | 支部参与会 | (B 棟 2 階 B203 講義室) |
| 13:10～13:20 | 中四国支部奨励賞授賞式 | (大講義室) |
| 13:20～14:05 | 受賞講演 | (大講義室) |
| | 2023 年度日本農芸化学会中四国支部奨励賞 「植物関連細菌の走化性に関する研究」 | 緋田安希子（広島大院・統合生命） |
| | 2023 年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞 「産業微生物における細胞内およびペリプラズムでの物質代謝に関わる生化学・生物工学研究」 | 片岡尚也（山口大・中高温微研セ） |
| 14:05～15:25 | 産学官連携シンポジウム | (大講義室) |
| | 「山口県の産学連携イノベーション活動と補助金紹介」 | 宮川英二（山口県産技セ・イノベ推進セ） |
| | 「酒造残渣および排水からのエタノール製造とグリーン電化技術の開発」 | 堀 亮真（旭酒造（株）） |
| | 「ヒト用 DNA ワクチン実用化時代に向けた大容量 PCR 技術・装置の確立」 | 藤本哲憲（（株）ヤナギヤ） |
| | 「高品質な乾燥食品の生産を実現させる新型高性能乾燥機の研究開発と製品化」 | 木原功一郎（（株）木原製作所） |
| 15:30～17:30 | 一般講演 | (B 棟各講義室) |
| 18:30～20:00 | 懇親会 | (国際ホテル宇部) |

一般講演 会場一覧表

| 会場 | | 講演番号 | 分類 |
|----|---------------|------------|------------------|
| A | B101 講義室 (1階) | A-1 ~ A-10 | 微生物 1 |
| B | B102 講義室 (1階) | B-1 ~ B-9 | 微生物 2 |
| C | B201 講義室 (2階) | C-1 ~ C-10 | 植物, 有機化学・天然物化学 |
| D | B202 講義室 (2階) | D-1 ~ D-10 | 酵素・タンパク質, 食品, 動物 |

一般講演 座長一覧表

| 会場 | 講演番号 | 座長 | |
|----|----------|------|--------------|
| A | A1 ~ A3 | 片岡尚也 | (山口大・中高温微研セ) |
| | A4 ~ A6 | 秋 庸裕 | (広島大院・統合生命) |
| | A7 ~ A10 | 阿野嘉孝 | (愛媛大院・農) |
| B | B1 ~ B3 | 上野 勝 | (広島大院・統合生命) |
| | B4 ~ B6 | 赤田倫治 | (山口大院・創成科学) |
| | B7 ~ B9 | 田中直孝 | (香川大・農) |
| C | C1 ~ C3 | 肥塚崇男 | (山口大院・創成科学) |
| | C4 ~ C6 | 赤壁善彦 | (山口大院・創成科学) |
| | C7 ~ C10 | 真野純一 | (山口大・総合科学セ) |
| D | D1 ~ D3 | 井内良仁 | (山口大院・創成科学) |
| | D4 ~ D6 | 塩月孝博 | (島根大・生物資源) |
| | D7 ~ D10 | 臼井将勝 | (水大校・食品科学) |

注意)

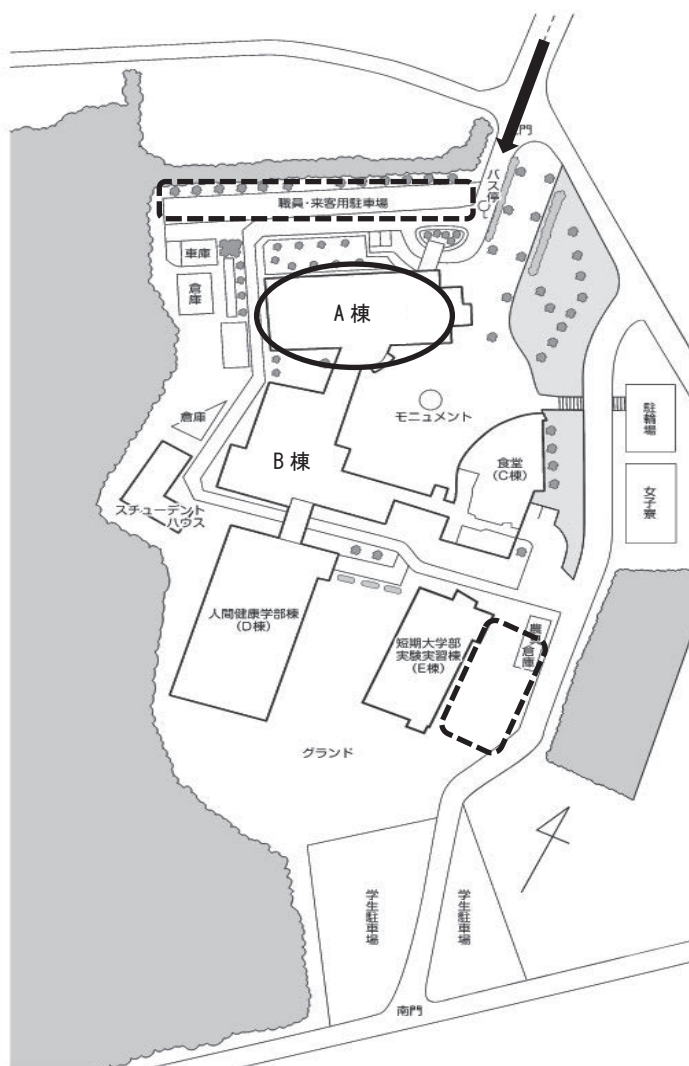
1. パソコンを用いた口頭発表にて行います。操作は各自でお願いします。
2. 一般講演は、発表 9 分、質疑応答 2 分、パソコン切替 1 分、時間厳守でお願いします。

支部講演会（例会）会場案内
宇部フロンティア大学文京台キャンパス

(〒755-0805 山口県宇部市文京台 2-1-1)

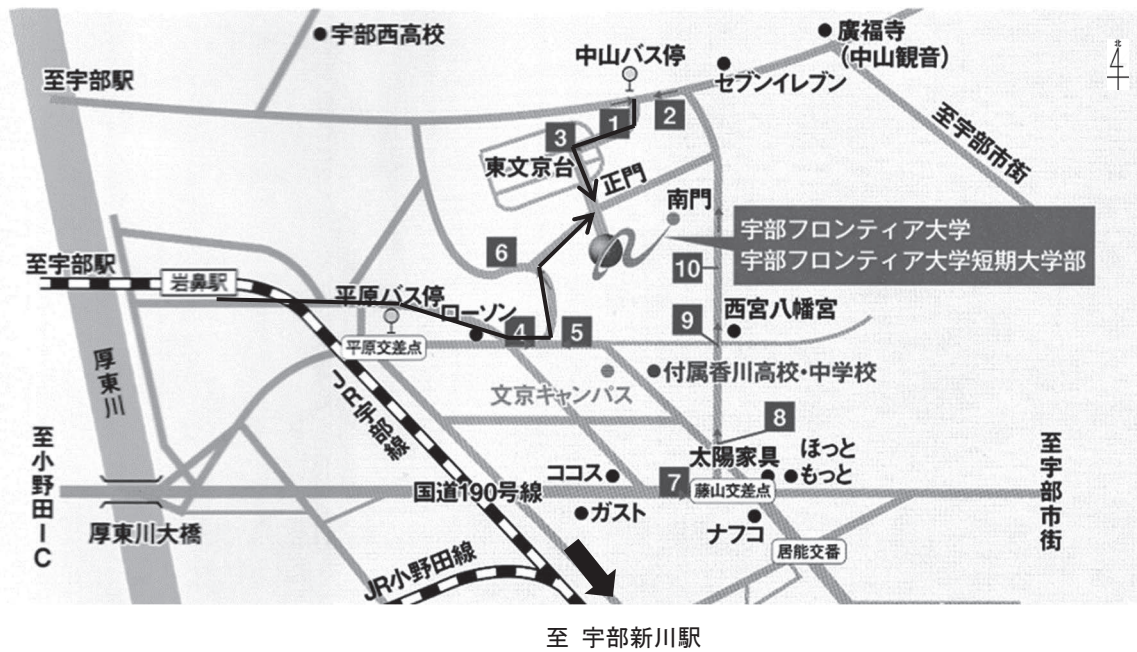
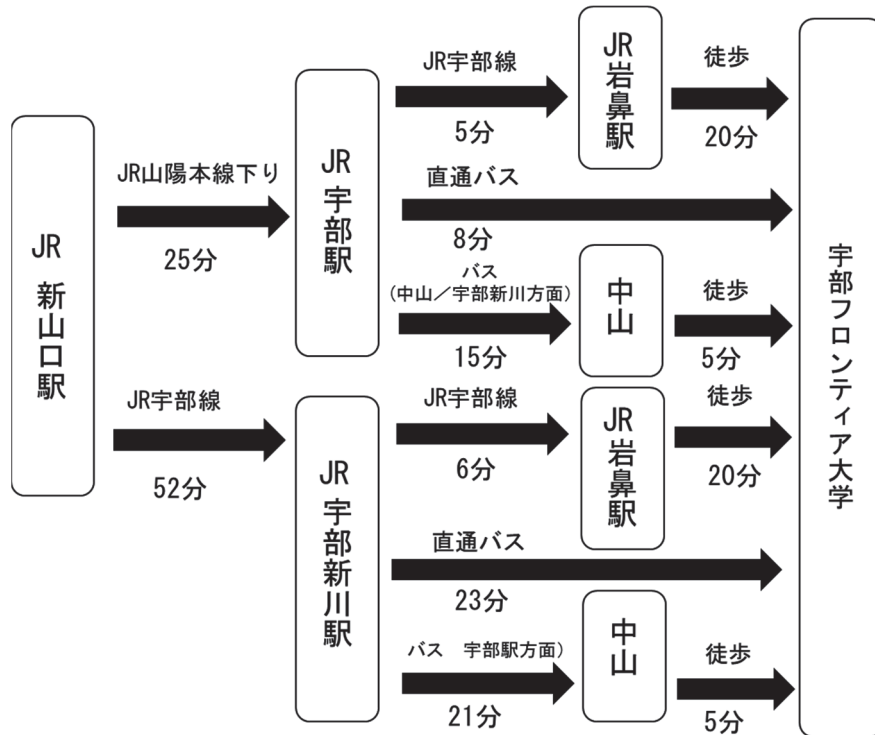
| | |
|---------------|---------------|
| 受付 | A棟1階 玄関ホール |
| 受賞講演・シンポジウム会場 | B棟2階 大講義室 |
| 一般講演 A会場 | B棟1階 B101 講義室 |
| B会場 | B棟1階 B102 講義室 |
| C会場 | B棟2階 B201 講義室 |
| D会場 | B棟2階 B202 講義室 |
| 幹事打合会会場 | B棟1階 B101 講義室 |
| 支部参与会会場 | B棟2階 B203 講義室 |
| 休憩室 | B棟3階 B303 講義室 |

校舎配置図



四角で囲ってある所が駐車場になります。50台程度駐車可能です。

新山口駅からのアクセス



宇部フロンティア大学行きの直通バス発着時間（JR 宇部駅及び宇部新川駅発）

| JR 宇部駅発 | | | JR 宇部新川駅発 | | |
|---------|----------|-----------------|-----------|----------|-----------------|
| 宇部駅発 | 経路 番号 | 宇部フロンティア 大学着 | 宇部新川駅発 | 経路 番号 | 宇部フロンティア 大学着 |
| 8:12 | 55 | 8:20 | 9:08 | 55 | 9:31 |
| 9:03 | 55 | 9:11 | 12:44 | 55 | 13:07 |
| 10:03 | 55 | 10:11 | 17:07 | 55 | 17:30 |
| 11:24 | 55 | 11:32 | 18:29 | 55 | 18:52 |
| 12:40 | 55 | 12:48 | | | |
| 18:15 | 55 | 18:23 | | | |

【ルート案内 行き】

- ① 新山口駅 9:29 発→ 宇部新川駅 10:05 着（宇部線）
→ 宇部新川駅 10:26 発→ 中山バス停 10:47 着（宇部駅行きバス）
- ② 新山口駅 10:12 発→ 宇部駅 10:35 着（山陽本線）
→ 宇部駅 11:24 発→ 宇部フロンティア大学 11:32 着（宇部新川行きバス 直通）
- ③ 新山口駅 12:09 発→ 宇部駅 12:32 着（山陽本線）
→ 宇部駅 12:40 発→ 宇部フロンティア大学 12:48（宇部新川行きバス 直通）

JR 宇部駅及び宇部新川駅行きの直通バス発着時間（宇部フロンティア大学発）

| JR 宇部駅行き | | | JR 宇部新川駅行き | | |
|-----------------|----------|---------|-----------------|----------|-----------|
| 宇部フロンティア 大学発 | 経路 番号 | JR 宇部駅着 | 宇部フロンティア 大学発 | 経路 番号 | JR 宇部新川駅着 |
| 17:30 | 55 | 17:42 | 18:24 | 55 | 18:50 |
| 18:53 | 55 | 19:05 | | | |

【ルート案内 帰り】

- ①宇部フロンティア大学 17:30（宇部駅行きバス 直通）→宇部駅 17:42 着
→宇部駅 18:06 発→ 新山口駅 18:29 着（山陽本線）
- ②中山バス停 18:00（宇部駅行きバス 直通）→宇部駅 18:12 着
→宇部駅 18:35 発→ 新山口駅 18:58 着（山陽本線）

【懇親会に参加された方】

懇親会会場から新山口駅まで直通バスが出ます。

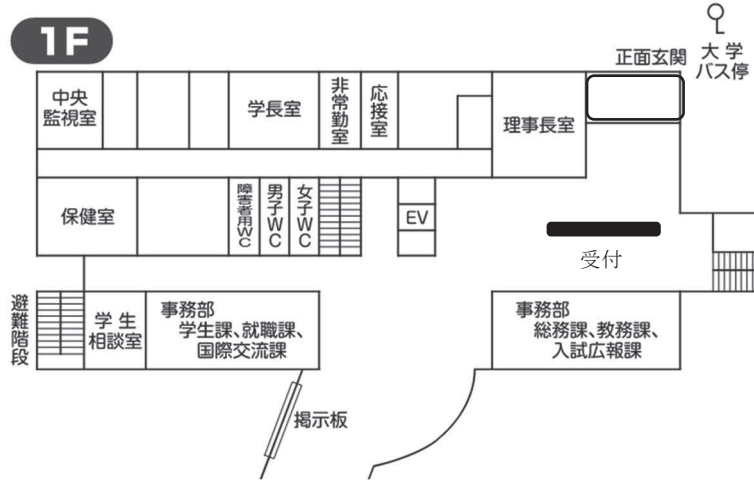
国際ホテル宇部 20:30 発 → 新山口駅 21:10 着

電車で新山口駅までお帰りの場合

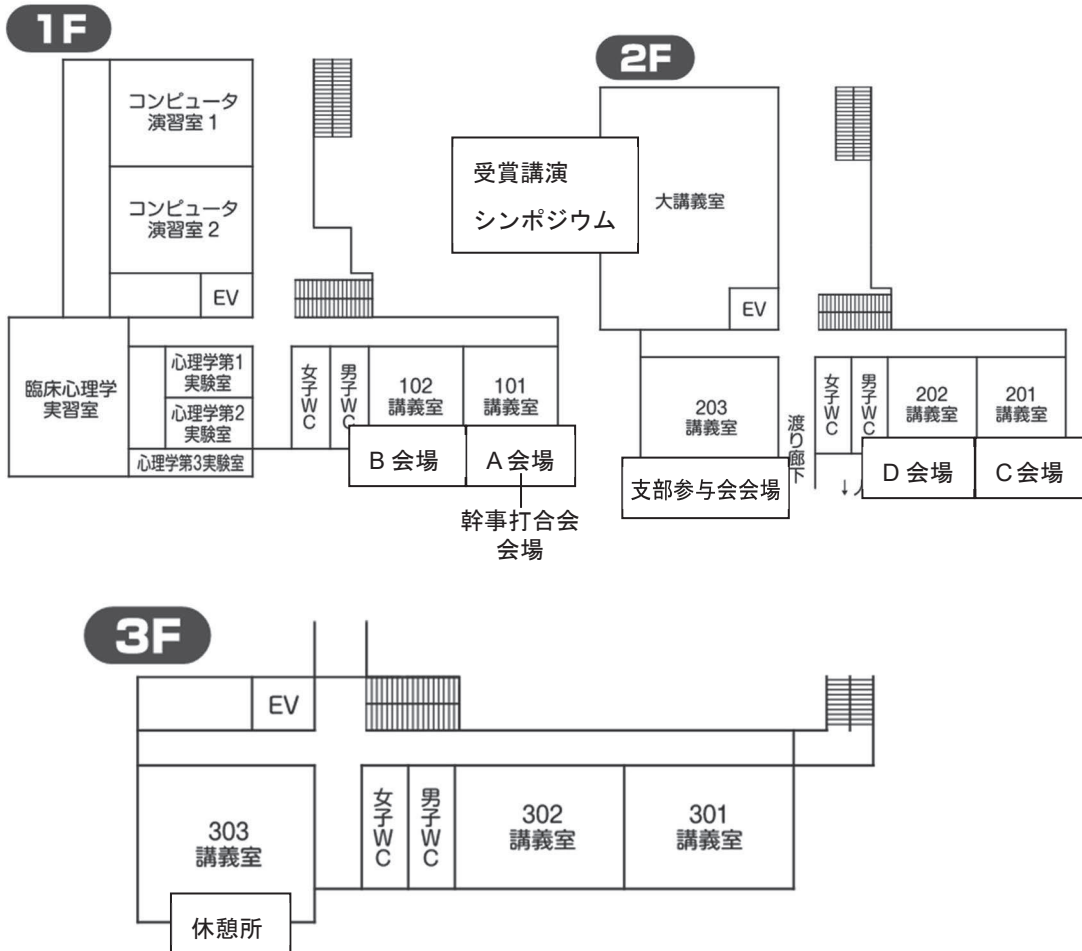
- ① 宇部新川駅 19:38 発→新山口駅 20:36 着（宇部線）
→新山口駅 21:19 発 岡山行き（新幹線 こだま）
- ② 宇部新川駅 19:56 発→宇部駅 20:07 着（宇部線）→宇部駅 20:23 発
→新山口 20:47 着（山陽本線）→ 新山口駅 21:19 発 岡山行き（新幹線 こだま）

宇部フロンティア大学文京台キャンパス学内図

A棟 管理・研究棟



B棟 講義棟



懇親会会場へのアクセス

懇親会会場：国際ホテル宇部

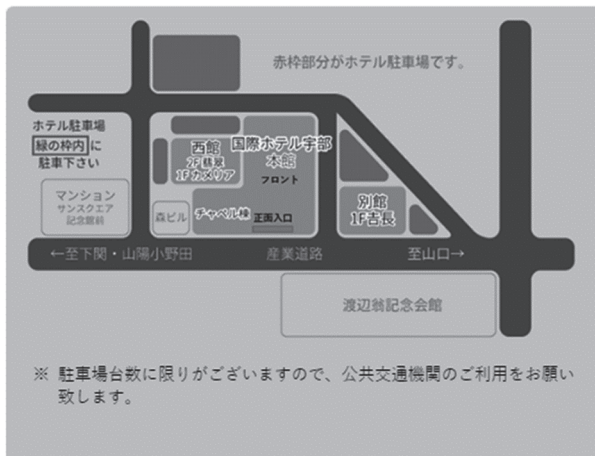
〒755-0047 山口県宇部市島 1-7-1 (TEL:0120-37-5931)



電車でお越しの方は 17:40 に宇部フロンティア大学から懇親会会場までのバスがでます。
(本学バス乗り場から出ます)

車でお越しの方は国際ホテル宇部に駐車場がございます。
(台数に限りがあります)

駐車場ご案内



講 演 会

プ ロ グ ラ ム

学会創立 100 周年記念
日本農芸化学会中四国支部第 65 回講演会（例会）
プログラム

会 場：宇部フロンティア大学文京台キャンパス
開催日：2023 年 6 月 3 日（土）

11:00～12:00 幹事打合せ (B 棟 1 階 B101 講義室)
12:10～13:00 支部参与会 (B 棟 2 階 B203 講義室)

13:10～13:20 中四国支部奨励賞授賞式 (大講義室)

13:20～14:05 受賞講演 (大講義室)

2023 年度日本農芸化学会中四国支部奨励賞

「植物関連細菌の走化性に関する研究」

緋田安希子（広島大院・統合生命）

座長：秋 庸裕（広島大院・統合生命）

2023 年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞

「産業微生物における細胞内およびペリプラズムでの物質代謝に関わる生化学・生物工学研究」

片岡尚也（山口大・中高温微研セ）

座長：井内良仁（山口大院・創成科学）

14:05～15:25 産学官連携シンポジウム (大講義室)

座長：薬師寿治（山口大・中高温微研セ）

「山口県の産学連携イノベーション活動と補助金紹介」

宮川英二（山口県産技セ・イノベ推進セ）

「酒造残渣および排水からのエタノール製造とグリーン電化技術の開発」

堀 亮真（旭酒造（株））

「ヒト用 DNA ワクチン実用化時代に向けた大容量 PCR 技術・装置の確立」

藤本哲憲（（株）ヤナギヤ）

「高品質な乾燥食品の生産を実現させる新型高性能乾燥機の研究開発と製品化」

木原功一朗（（株）木原製作所）

15:30～17:30 一般講演 (B 棟各講義室)

◇ 一般講演プログラム

A会場 (B101 講義室) 「微生物1」

- A-1 15:30 *Aurantiochytrium* 属の遊走子の形成およびその走化性に関する研究
○立田 光, 新井萌子, 渡邊研志, 秋 庸裕
(広島大院・統合生命)
- A-2 15:42 植物病原細菌はホウ酸を標的として植物体内に侵入する
○藤川晃太郎, 緋田安希子, 田島誉久, 加藤純一
(広島大院・統合生命)
- A-3 15:54 *Acetobacter pasteurianus* の NADH 脱水素酵素群と過酸化との関係
桂木恵利佳¹, 柚山泰成¹, 高橋志帆¹, ○阿野嘉孝^{1,2}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大院・食研セ)
- A-4 16:06 *Acetobacter* 属酢酸菌に見られる特異なクエン酸回路と CoA 転移酵素による酢酸代謝
○村上果穂¹, 片岡尚也^{1,2}, 松下一信^{1,2}, 松谷峰之介³, 薬師寿治^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³東京農大・ゲノムセ)
- A-5 16:18 安定性強化を目指した酢酸菌グリセロール脱水素酵素の機能改変
○金田梨沙¹, 平野成菜¹, 数井彩加¹, 阿野嘉孝^{1,2}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大院・食研セ)
- A-6 16:30 *Gluconobacter* 属酢酸菌における細胞表層酸化系の役割
○吉富 宙¹, 平田花織¹, 片岡尚也^{1,2}, 松下一信^{1,2}, 薬師寿治^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ)
- A-7 16:42 *Gluconobacter japonicus* の持つ膜結合型キノプロテイン PQQ5 の機能解析
○竹内 秀¹, 片岡尚也^{1,2,3}, 松下一信^{2,3}, 薬師寿治^{1,2,3}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・農, ³山口大・中高温微研セ)
- A-8 16:54 *Gluconobacter* 属酢酸菌 CHM43 株における 2-ケトグルコン酸還元酵素の役割
○中島さくら¹, 片岡尚也^{1,2}, 松谷峰之介³, Gunjana Theeragool⁴, 松下一信^{1,2},
薬師寿治^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³東京農大・ゲノムセ,
⁴カセサート大・理)

A-9 17:06 歯周病菌 *Eikenella corrodens* のクオラムセンシングが自己凝集に及ぼす影響
○清弘峻吾¹, 坂口直子¹, 濱治百々子¹, 阿座上弘行^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ)

A-10 17:18 Effects of mushroom extract on biofilm of *Streptococcus mutans*
○Siddiqa Ayesha¹, 濱治百々子², 坂口直子², 石丸隆行³, 阿座上弘行^{1,2,4}
(¹鳥取大院・連農, ²山口大院・創成科学, ³宇部フロ短大・食物栄養,
⁴山口大・中高温微研セ)

B会場 (B102 講義室) 「微生物 2」

- B-1 15:30 担子菌 *Coprinopsis cinerea* におけるオートファジー関連タンパク質の動態解析
○北原昂希, 高野早矢¹, 村口 元², 麻田恭彦¹, 渡邊 彰¹
(香川大院・農, ¹香川大・農, ²秋田県立大・生物資源)
- B-2 15:42 スフィンゴ脂質マスター転写因子 Com2 の発現制御機構の解析
○松本康生, 上野俊哉, 白井里樹, 坂田健太郎¹, 田中直孝¹, 田淵光昭¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- B-3 15:54 病原因子エフェクターHopAII により明らかとなった CWI-MAPK カスケードの新規な
下流経路
○和氣由尚, 山田涼華, 佐々奈於美, 田中直孝¹, 田淵光昭¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- B-4 16:06 分裂酵母を用いたアグマチン誘導性分子機構の解析
○中川知寛, 石井友惟¹, 田淵光昭¹, 田中直孝¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- B-5 16:18 分裂酵母のレクチン様タンパク質 Emp43 とそのリガンド解析
○今村伊織, 若杉春香, 川西詩音¹, 神谷勇樹, 田淵光昭¹, 田中直孝¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- B-6 16:30 Study of the role of Bqt4 on the regulation of nucleolus position and movement in fission yeast
○Wang Kaiyu, 上野 勝
(広島大院・統合生命)
- B-7 16:42 DIM が分裂酵母の核膜を損傷する機構の解析
Wang Kaiyu, 永井英翔¹, ○上野 勝
(広島大院・統合生命, ¹広島大・工)
- B-8 16:54 *Kluyveromyces marxianus* における糖の種類と C 末配列によって局在変化する糖トラン
スポーターの解析
○香川智哉¹, 星田尚司^{1,2,3}, 赤田倫治^{1,2,3}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³山口大・生命医工セ)

B-9 17:06 大腸菌で複数のプラスミド DNA を同時利用するための複製領域の解析

○山下真穂¹, 加藤颯晟¹, 星田尚司^{1,2,3}, 赤田倫治^{1,2,3}

(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³山口大・生命医工セ)

C会場 (B201 講義室)「植物, 有機化学・天然物化学」

- C-1 15:30 植物性バイオマス含有糖有効利用のための水蒸気蒸煮前処理効果検討
○榎谷侑太郎, DINH GIA TIHEN, 浅田元子, 中村嘉利
(徳島大院・創成科学)
- C-2 15:42 FTIR 計量化学手法と化学的分画によるコムギ葉の高温ストレス応答の解析
○竹田佳生¹, Salma O.M.Osman^{2,3}, 只野翔大², 山崎友渡¹, Abu Sefyan I. Saad³,
Izzat S.A. Tahir³, 山崎裕司⁴, 辻本 壽⁴, 明石欣也^{1,2}
(¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大院・連農, ³スーダン農業研究機構,
⁴鳥取大・乾燥地研)
- C-3 15:54 植物の塩ストレス耐性における根での活性カルボニル消去の重要性
○真野純一^{1,2}, Most Sharmin SULTANA²
(¹山口大・総合科学セ, ²鳥取大院・連農)
- C-4 16:06 ゼニゴケ油体への代謝物輸送に関わる ABC トランスポーターの機能
○川口智子, 森脇佑太, 金澤建彦¹, 松井健二
(山口大院・創成科学, ¹基生研)
- C-5 16:18 野生タバコ(*Nicotiana sylvestris*)におけるベンゼノイド配糖化酵素の機能解析
○仲保亜子, 西原昌宏¹, 肥塚崇男
(山口大院・創成科学, ¹岩手生工研セ)
- C-6 16:30 ペチュニア由来ベンズアルデヒド脱水素酵素の機能解析
○伊東花梨, 北島佐紀人¹, 古田 巧², 柘植知彦³, 肥塚崇男
(山口大院・創成科学, ¹京工繊大・応用生物, ²京薬大, ³京大・化研)
- C-7 16:42 ペチュニアにおける新規花香生成制御因子の探索
○肥塚崇男, 伊東花梨, 仲保亜子, 北島佐紀人¹
(山口大院・創成科学, ¹京工繊大・応用生物)
- C-8 16:54 ミカン科植物クロウエアにおけるクマリン類の分析と生合成酵素の機能解析
○岡本惇之介, 渡辺文太¹, 肥塚崇男
(山口大院・創成科学, ¹東京慈恵医大)

- C-9 17:06 青竹の香気について
○浦手秋穂, 植松真央¹, 赤壁善彦
(山口大院・創成科学, ¹山口大・農)
- C-10 17:18 オイスターアルコールの単離・同定
○江副史朗, 上田健司, 赤壁善彦
(山口大院・創成科学)

D会場 (B202 講義室) 「酵素・タンパク質, 食品, 動物」

- D-1 15:30 キチン分解放線菌 *Cellulosimicrobium* 属細菌が生産する GH family 19 chitinase の機能解析
○仁木大輔, 益江広稀¹, 美藤友博², 清水克彦³, 有馬二郎²
(鳥取大院・連農, ¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大・農, ³鳥取大・CoRE)
- D-2 15:42 L-2-keto-3-deoxyfuconate 4-dehydrogenase の補酵素と基質複合体の X 線結晶構造解析
○赤樫実結¹, 渡邊誠也^{1,2}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ)
- D-3 15:54 *Klebsiella pneumoniae* 40bXX 由来 D-アラビノースの酵素学的諸性質の検討
○綿貫花菜, 望月 進^{1,2}, 吉原明秀^{1,2}
(香川大院・農, ¹香川大・農, ²香川大・国際希少糖)
- D-4 16:06 *Thermus thermophilus* HB8 由来トランスアルドラーゼを用いた D-グリセロ-D-アルトロ-オクツロース生産
○三好恵梨佳, 望月 進^{1,2}, 花木祐輔^{1,2}, 神鳥成弘^{2,3}, 何森 健^{1,2}, 吉原明秀^{1,2}
(香川大院・農, ¹香川大・農, ²香川大・国際希少糖, ³香川大・医)
- D-5 16:18 レスベラトロールによる低グルコース誘導軟骨細胞死の抑制および分化促進効果
○張 睿, 神吉けい太
(岡山理大院・工)
- D-6 16:30 Phloroglucinol の抗アレルギー効果に関する研究
○杉浦義正, 白井将勝, 宮田昌明
(水大校・食品科学)
- D-7 16:42 食用トノサマバッタの健康機能性
○岡本翔太, 藤田晃大, 栗林宏美, 菅原亮平¹, 樋口智之¹, 井内良仁
(山口大・農, ¹弘前大・農)
- D-8 16:54 コクヌストモドキの Takeout タンパク質 TO2 および TO4 の機能解析
○塩月孝博, 山中一輝, 西本 涉
(島根大・生資科)

- D-9 17:06 赤色型のジャコウアゲハ幼虫が生じる環境要因の検討
手嶋穂香¹, 北沢千里^{2,3}, ○山中 明^{1,4}
(¹山口大・理, ²山口大・教育, ³山口大院・東アジア, ⁴山口大院・創成科学)
- D-10 17:18 伝統的製造法におけるアユ粕漬けの粕添加効果
○福田 翼, 宮本蓮斗, 辰野竜平, 古下 学
(水大校・食品科学)

受 賞 講 演

講 演 要 旨

植物関連細菌の走化性に関する研究

緋田安希子（広島大院・統合生命）

運動性細菌は周囲に存在する物質の濃度勾配を感知して、好ましい物質には集まり、嫌いな物質からは逃げる、走化性と呼ばれる性質を有する。走化性の主な役割は栄養源の探索や有害物質からの逃避とされてきたが、近年では共生や感染といった生物間相互作用においても重要な役割を担うことが多数報告されており、走化性の詳細を解明することは、その細菌の環境中での挙動を知るひとつの手がかりになると考えられる。私はこれまで植物関連細菌に着目し、植物-細菌相互作用に関わる走化性について主に研究を行ってきた。植物の根からは多くの物質が滲出しており、土壌中の植物関連細菌はそれらを走化性標的として根に集積・定着し、植物へ作用する。この機構の詳細を解明し、得られた知見を応用することで、有益な細菌はより集まるように、有害な細菌はより集まりにくくなるように走化性を制御できれば、植物に与える影響も制御できるのではないかと考えている。本講演では、後者について、植物病原細菌である青枯病菌を対象に行った研究成果について紹介する。

青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* species complex は土壌伝染性の植物病原細菌であり、世界中で甚大な農作物被害をもたらしている。研究開始当初は、青枯病菌の植物感染に走化性が寄与することは報告されていたが、その具体的な標的物質は特定されていなかった。そこでまずは、本細菌の走化性について基礎的解析を行った。走化性は細胞膜上に存在する走化性センサータンパク質（MCP）に化合物が結合することで生じるため、個々の物質に対する走化性を個別に解析していくには、まず各走化性物質に対する MCP の特定が必要となる。ゲノム情報より青枯病菌は 22 種類の MCP を保有すると推定された。植物根より多量に滲出し、かつ青枯病菌の強い走化性誘引物質であることが判明した各種アミノ酸、リンゴ酸、クエン酸について、22 *mcp* の破壊株ライブラリを用いて解析を行ったところ、アミノ酸センサーMcpA、L-リンゴ酸センサーMcpM、クエン酸センサーMcpC/McpP の特定に成功した。これら *mcp* 破壊株と宿主であるトマトを用いた感染試験により、各走化性の植物感染における重要性を評価したところ、*mcpM* 破壊株において植物体への定着率および青枯病の発症率が低下することが確認された。これにより、本病原細菌はトマト根より分泌される L-リンゴ酸を標的として植物根へと接近、定着し、感染することが明らかとなった。

そこで次に、この知見を応用した青枯病菌の感染防除を試みた。走化性は濃度勾配を感知して生じるため、周囲に L-リンゴ酸が均一に存在すれば、植物根から放出される L-リンゴ酸の濃度勾配がキャンセルされ、植物根に対する走化性が低下するのではないかと考えた。走化性測定条件下で菌懸濁液に L-リンゴ酸を均一に添加し、同様の状況を再現してみたところ、確かに標的の L-リンゴ酸に対する走化性が大幅に低下することが確認された。そして実際に、L-リンゴ酸をトマト栽培系に均一に添加したところ、青枯病の発症が抑制されることが明らかとなった。L-リンゴ酸は青枯病菌の増殖基質であることから、L-リンゴ酸を添加した栽培系では青枯病菌が多く存在し通常よりも感染が成立しやすい状況であると思われるが、そのような状況下でも感染が抑えられたことから、植物体へ辿り着きにくくなっているものと考えられ、感染に重要な走化性の攪乱が青枯病防除のひとつの手段となりえることが示された。

産業微生物における細胞内およびペリプラズムでの
物質代謝に関わる生化学・生物工学研究

片岡尚也（山口大・中高温微研セ）

微生物による物質生産は、発酵に代表されるように人類が古くから利用してきた技術の一つである。近年では、石油化学工業に取って代わるバイオリファイナリー技術としての側面も見出され、多種多様な化合物の微生物での生産が可能になってきている。微生物での物質生産を考えると、その対象は主に物質代謝になる。我々は、産業微生物である大腸菌、酢酸菌、コリネ型細菌を材料に、各微生物に特徴的な物質代謝の生化学的解析および物質生産への応用に焦点を当て研究に取り組んできた。本講演では、これまでの研究成果の中でも、酢酸菌に関連するもの（主にペリプラズムでの物質代謝に関連するもの）を中心にその概要を紹介する。

酢酸菌は、細胞膜のペリプラズム側に多種多様な膜結合型脱水素酵素を保有しており、その働きにより、様々な糖質やアルコール類を不完全に酸化する酸化発酵と呼ばれる物質代謝を営む。本発酵系は、ビタミンC生産におけるソルボース発酵や食酢醸造における酢酸発酵など、古くから産業の場で利用されてきた。我々は、代表的な酢酸菌の中でも特に糖質の酸化に特化する *Gluconobacter* 属を材料に、ケトグルコン酸発酵を対象に研究を進めてきた。

ケトグルコン酸発酵は、*Gluconobacter* 属に保存された発酵系であり、グルコースを出発基質に複数種の膜結合型脱水素酵素が連続的に機能して成立している。興味深い点として、株間で最終生成物が異なる点が挙げられ、生成物としては2-ケトグルコン酸、2,5-ジケトグルコン酸、5-ケトグルコン酸が知られている。本発酵系を構成する酵素遺伝子の同定は、各ケトグルコン酸生産技術の開発や改良に重要な役割を持つ。そこでまず、未同定であった2-ケトグルコン酸の2,5-ジケトグルコン酸への変換を触媒する2-ケトグルコン酸脱水素酵素遺伝子とその活性を有する菌株のゲノム情報を活用することで同定した。次いで、同定遺伝子を遺伝子工学的に2-ケトグルコン酸を高生産するよう改変された *Gluconobacter* 属で高発現させることで、定量的に2,5-ジケトグルコン酸を生成しうる組換え体の構築を報告した。さらに、本研究で同定したタンパク質輸送シグナルに関する情報を活用することで、細胞内酵素であるII型デヒドロキナ酸脱水素のペリプラズムへの局在による *Gluconobacter* 属でのキナ酸の3-デヒドロキシミ酸への高速変換に代表されるタンパク質の局在改変を鍵としたペリプラズミック代謝工学といった、新たな研究領域を開拓した。

ケトグルコン酸発酵による生成物で、酒石酸生産の前駆体としての用途を持つ5-ケトグルコン酸は、微生物の中でも *Gluconobacter* 属が特に生成能力が優れていることが知られている。しかし、その生産に関しては、検討が不十分であった。そこで、これまでに明らかにされているペリプラズムでの物質代謝を5-ケトグルコン酸に向かうべく改変するとともに、5-ケトグルコン酸およびグルコン酸の資化を抑制する遺伝子工学を施した。加えて、鍵酵素の活性維持に有効である培養液中のカルシウムイオン濃度を検討した。その結果、グルコースを定量的に5-ケトグルコン酸に変換可能な技術の開発に成功した。

ここまで述べてきたように我々は、酢酸菌の持つ特徴的な物質代謝であるペリプラズムでの酸化を対象に、その反応を司る膜結合型脱水素酵素遺伝子の同定およびその生物工学的利用を実験的に実証してきた。今後は、これまでの物質代謝に関する研究に、膜結合型脱水素酵素と呼吸鎖電子伝達系の共役（キノン・キノールを介してこれら二つはリンクしている）に関する研究に代表されるエネルギー代謝の視点も加えて研究を行うことで、酢酸菌の生理学理解や産業利用の可能性向上に向けてさらなる研究の発展を図っていきたい。

産学官連携シンポジウム

講 演 要 旨

産学官連携シンポジウム

山口県の産学連携イノベーション活動と補助金紹介

宮川英二（山口県産技セ・イノベ推進セ）

1. 山口県の成長産業における「やまぐち産業イノベーション戦略」(2018年～)

山口県は重点成長産業9分野（基礎素材型産業，輸送用機器関連産業，医療関連産業，環境・エネルギー関連産業，航空機・宇宙産業，水素エネルギー産業，バイオ関連産業，ヘルスケア産業，IoT等関連産業）の更なる発展に向けて県内企業のニーズ・シーズの発掘から事業化に至るまでの研究開発プロジェクトの推進を支援しています。

2. 山口県産業技術センター内にイノベーション推進センターを設置(2014年～)

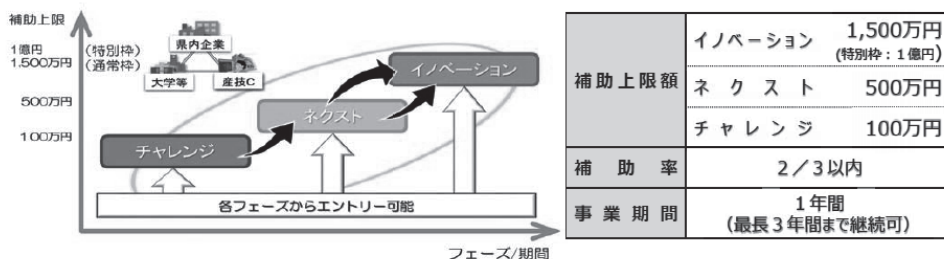
イノベーション推進センターではコーディネータを配置し，特に次世代成長産業3分野（①環境・エネルギー分野，②医療関連分野，③バイオ関連分野）での県内中堅・中小企業の研究開発プロジェクトの推進のため，大学シーズとのマッチング，事業化に向けてプロジェクト進捗管理，外部資金の獲得等を支援しています。

3. やまぐち産業イノベーション促進補助金創設(2015年～)

更なる次世代成長産業3分野での県内中堅・中小企業で研究開発プロジェクトの推進のため，やまぐち産業イノベーション促進補助金を創設し県内中堅・中小企業の研究開発プロジェクト推進を強化し現在に至っています。今回の産学官連携シンポジウムではバイオ関連分野でやまぐち産業イノベーション促進補助金を活用され山口大学，山口県産業技術センター支援のもと実施された以下の事例を企業から紹介させていただきます。

- 1) 「酒造残渣および排水からのエタノール製造とグリーン電化技術の開発」
堀亮真（旭酒造(株)・製造部）
- 2) 「ヒト用DNAワクチン実用化時代に向けた大容量PCR技術・装置の確立」
藤本哲憲（(株)ヤナギヤ）
- 3) 「高品質な乾燥食品の生産を実現させる新型高性能乾燥機の研究開発と製品化」
木原功一朗（(株)木原製作所）

4. 令和5年度やまぐち産業イノベーション促進補助金について



*やまぐち産業イノベーション促進補助金関連問合せ先

- ・山口県 産業労働部 イノベーション推進課次世代産業班 Tel 083-933-3150
- ・(独法) 山口県産業技術センター・イノベーション推進センター Tel 0836-53-5061

酒造残渣および排水からのエタノール製造とグリーン電化技術の開発

堀 亮真（旭酒造（株））

弊社の清酒製造工程においては大量の酒造残渣(焼酎粕, 1,000 ton/年)及び排水(150~200 m³/day)が発生しており, その処理に膨大なコストが発生している。本事業では, 廃棄物である焼酎粕, 洗米排水を用いてエタノールを発酵し, そのエタノールを水素に改質し発電を目的とした。一般的なエタノール発酵は 30℃近辺で実施されるが, 発酵が発熱反応であるためチラー(冷水)を用いた冷却が必要である。本事業では山口大学が長年研究してきた高温発酵技術を応用し, 冷却コスト削減が可能な 40℃前後で発酵を実施した。それによりチラーを作るための高価な冷凍設備が不要となる。更に高温発酵を行う事で発酵操作に不可欠な雑菌混入に伴う滅菌操作が本事業の原料では不要であり, 発酵槽の費用を含め大幅なコスト削減となる。一般的には発酵後蒸留等によりエタノール濃縮が実施されている。本事業では発酵液の蒸発成分のような低濃度アルコールでも運転可能なエンジン(日立製作所製)を導入し発電を計画した。ただしエンジンのスタートアップ用に少量の高濃度エタノールが必要であるため, 膜によるエタノール濃縮技術も併せて確立し, 自立分散電源として運用を目指した。なおここで得られる高濃度エタノールは消毒用アルコールとしての展開も可能である。

本事業では継続的なエタノール生産が必要となってくるため, 実機 (3,000 Lスケール) 3基を用いて, 連続発酵を試みた。2基目以降は1ロット前の発酵液 100 Lを前培養液として用いた。発酵条件の検討によってエタノール濃度を高めるとともにスケールアップを進め, 最終的に連続発酵によって3基ともに目標値である7%エタノールを達成した。また, エタノール濃縮に必要なシリカライト膜の検討を行い, 目標値のエタノール濃縮をほぼ達成した。しかし透過流速が経時的に減少した。膜の焼成によって性能の回復が見られたことから吸着による透過阻害が推測された。発電システムはエンジン発電機に発酵液を一次蒸留して得られたエタノールを変換した水素を燃料ガスとすることで発電を行う。回収しきれなかったエタノールも気化させてエンジンへ供給する。発生した排水や排熱は冷却水や発酵液の二次乾燥の熱源として利用される。現時点では水素発生機の性能試験までを行っている。

発電試験は小型エンジンを用いて実施した。今後エンジンの排熱や改質反応ガスの余熱を利用し燃料の気化, 乾燥機の熱源として利用する予定である。

産学官連携シンポジウム

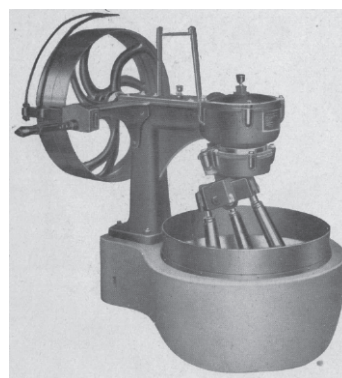
ヒト用 DNA ワクチン実用化時代に向けた大容量 PCR 技術・装置の確立

藤本 哲憲 ((株) ヤナギヤ)

(株)ヤナギヤは事業上の最古の記録が残っている 1916 年(大正 5 年)を創業年としております。創業当時は蒲鉾製造販売を生業にしており、その後食堂経営へと事業拡張し、昭和の初めに蒲鉾製造工程の中でも重労働であった「播潰(魚肉を練り混ぜる工程)」作業用の機械を開発致しました。第二次世界大戦前後の企業統合等を経て、機械製造部門が独立し、現在に至っております。このような成り立ちですので、(株)ヤナギヤは水産練り製品業界をメインユーザーとする自社機械メーカーとして存続してきました。

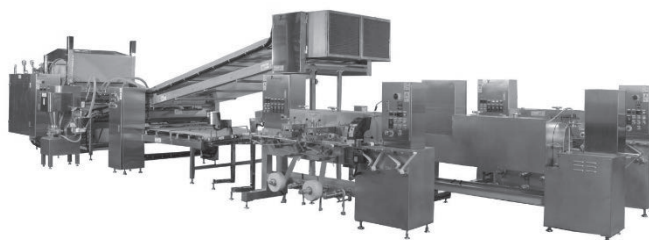
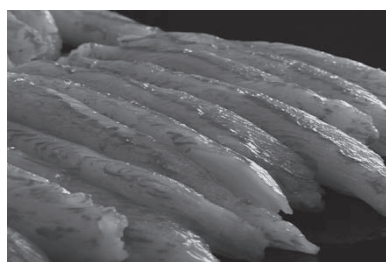


(創業当時のヤナギヤ)



(昭和初期の播潰作業用機械)

弊社をご存じの方のイメージは「カニ蒲鉾製造装置メーカー」ではないかと思えます。世界的なカニ蒲鉾ブームでの恩恵は受けましたが、カニ蒲鉾製造装置はあくまでも弊社業務の一部であり、全てではありません。ご多分に漏れず、バブル崩壊以降は厳しい時期が長く続くこととなります。



(現在のカニ蒲鉾製造装置)

その食品加工機械メーカーであるヤナギヤが、ヒト用 DNA ワクチンという医薬品分野、PCR 装置という理化学機器分野というまったく異なる業界の仕事に関わることになった経緯、ご助力頂きました各団体の方々との出会い、取り組み過程における戸惑い、現在の研究開発の概要および今後に向けての展望、派生してくる取り組み等についてお話をさせていただきます。



※画像は NHK 山口放送局「情報維新!やまぐち (2020.12.2)」より

(大容量 PCR 装置)

産学官連携シンポジウム

高品質な乾燥食品の生産を実現させる新型高性能乾燥機の研究開発と製品化

木原康博, 木原利昌, ○木原功一朗, 有馬秀幸¹, 山本修一²
((株) 木原製作所, ¹山口県産技セ, ²山口大院・創成科学/生医工セ)

農産物や食品加工に幅広く使用されている温風乾燥は、物質に熱・風を供給し対象物の水分を蒸発させる操作であり、工学的には熱と物質の同時移行操作と定義され、大変複雑なプロセスである。乾燥機構と乾燥時及び乾燥製品保持時の物性や品質の変化機構については、対象物質の種類と品質が多種多様であるため、統一した理論で解析することは非常に困難とされている。そのため、理論を基にして設計・操作するのではなく、ほとんどが（乾燥）経験に基づいて実施しているのが現状である。

一方、使用する乾燥機は乾燥庫内環境（温度・湿度）・乾燥時間を設定制御し、乾燥を進めていくものであり、乾燥物の乾燥過程において乾燥物自体の変化（データ）が抽出できないブラックボックス化したものでした。そのため対象物の品質にあった乾燥操作（乾燥プログラム）を設定するまでの時間・経費・食品ロスが莫大なものとなり、新規商品開発の足かせとなり、乾燥加工業界への新規参入者・起業者への参入壁が高くなってしまいう状況となっている。

そのような現状から、

1. 温風乾燥において乾燥庫内の温度・湿度の測定に加え、対象物のデータ（品温・重量・画像）を連続的に抽出可能なデバイスを搭載した乾燥装置の開発
2. 乾燥プログラムの設定を容易するための、乾燥物の減水状況を表すシミュレーション（モデル）の構築
3. 品質（色調・香味・残留成分）をできる限り保持した「最適乾燥プログラム」の開発が強く求められてきた。

2020年度から3年間、木原製作所、山口大学、山口県産業技術センターと共同研究開発を進めることにより、

- a 対象物のデータを抽出できるデバイスを搭載した研究用乾燥装置の開発（試作・製品化/展示会への出展・製品についてのヒアリング）
- b 乾燥挙動数値シミュレーションの構築
マルトデキキストリンの拡散係数と水分活性を用いた水分拡散モデルの構築
- c 「最適乾燥プログラム」を設定する上での方向性の示唆
を実施することができた。

本プロジェクトは、2020年度から2022年度まで3年間、山口県のやまぐち産業イノベーション促進補助金（通常枠・バイオ関連分野）の支援を受け実施。

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 *Aurantiochytrium* 属の遊走子の形成およびその走化性に関する研究
○立田 光, 新井萌子, 渡邊研志, 秋 庸裕
(広島大院・統合生命)

【目的】海洋性の油糧微生物ラビリンチュラ類 *Aurantiochytrium* 属は特定の条件下で遊走子を形成して放出する。遊走子の形成およびその走化性について理解することは、誘引物質による海洋環境からの新規株の収集、油脂発酵プロセスの効率化や、新たな海洋生態系保全手段の提案に寄与すると期待される。本研究では、遊走子の形成条件と各種化合物に対する走化性およびそれを規定する分子機構の解明を試みた。

【方法・結果】*Aurantiochytrium limacinum* SR21 株を、GPY 培地 (30 g/L グルコース, 2.0 g/L 酵母エキス, 6.0 g/L ハイポリペプトン, 20 g/L 人工海塩) で培養すると、観察される細胞の大半が栄養細胞であったが、栄養源を減らした培地 (2.0 g/L グルコース, 0.5 g/L 酵母エキス, 20 g/L 人工海塩) を使用した場合は、16 時間の培養によって多数の遊走子が生じた。また、フラスコの形状と攪拌速度を調整して通気を制限すると、遊走子数が増加した。従って、培地中の栄養源濃度と通気量が遊走子形成の重要な因子であることが分かった。次に、回収した遊走子について、キャピラリーアッセイ法によりアミノ酸や糖類など 85 種類の化合物に対する走化性を調べた。その結果、バリン, アラニン, システインやアスパラギンといったアミノ酸のほか、メトキシアミンやバニリンに有意な誘因応答を示した一方で、グルタミン酸および塩化アンモニウムには忌避応答を示した。バニリンについてはさらに、類似構造の化合物に対する走化性を解析して、最小必要構造を推定した。

A-2 植物病原細菌はホウ酸を標的として植物体内に侵入する
○藤川晃太郎, 緋田安希子, 田島誉久, 加藤純一
(広島大院・統合生命)

【目的】青枯病菌のガラスへの集積行動 (走化性) をきっかけとして、新規走化性物質であるホウ酸とそれに関わる走化性受容体 *McpB* が発見された。BLAST 解析により、*McpB* は植物病原細菌にのみ特異的に存在することが示唆されたことから、植物への感染に寄与するものと予想されたが、その詳細は不明であった。そこで本研究では、植物病原細菌の感染におけるホウ酸走化性の役割の解明を試みた。

【方法・結果】ホウ酸は植物体内に存在する物質であることから、「植物に傷がつくことで漏出し、植物病原細菌はそのホウ酸を侵入口の目印として、集積・侵入し、感染する」という仮説を立てた。本研究では、根から感染する青枯病菌よりも比較的容易に評価ができると考えられた葉から感染するタバコ野火病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605 を用いて上記仮説を検証した。傷口からの侵入を評価するために、タバコ葉に針で穴をあけ、その傷口上に菌懸濁液を滴下し 2 時間保持後、葉内部の菌数を測定した。その結果、ホウ酸走化性欠損株 $\Delta mcpB$ において、傷口からの侵入率が野生株よりも有意に低いことが確認され、タバコ野火病菌の傷口からの侵入にホウ酸走化性が寄与することが証明された。さらに、同様の手法で菌懸濁液ではなく超純水を滴下し、その液滴に含まれる元素を ICP-MS で分析したところ、傷口特異的におよそ 2 μ M のホウ素が漏出していることが確認された。タバコ野火病菌はこの濃度のホウ酸に対して十分に走化性を示すことが可能であると考えられ、本病原細菌は傷口特異的に漏出するホウ酸を標的として葉内部へと侵入することが示された。

A-3 *Acetobacter pasteurianus* の NADH 脱水素酵素群と過酸化との関係
桂木恵利佳¹, 柚山泰成¹, 高橋志帆¹, ○阿野嘉孝^{1,2}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大院・食研セ)

【目的】酢酸菌は細胞外で基質を酸化変換して環境中に蓄積するが、やがてその生成物を細胞内に取り込んで資化する「過酸化」を営むようになる。この代謝は自然界で生息する株にとって大きな意味をもつが、発酵樽という人工的環境に継代的に生息している株にとっては経験することができない営みと考えられる。本研究では、酢酸菌の物質生産系を構築する上で懸念点となる細胞内代謝「過酸化」に焦点を当て、過酸化について理解を深め制御因子を特定すること目的とした。

【方法・結果】食酢醸造に関わる *Acetobacter pasteurianus* について、分離環境の異なる株についてエタノール培地での生育を比較したところ、発酵環境から分離された NBRC 3285 は安定に酢酸を蓄積したが、自然環境から分離された SKU1108 はエタノールの完全酸化後速やかに細胞内資化を開始した。これらの株を含むゲノム公開株の情報を比較すると、生育必須遺伝子と環境応答遺伝子の間に塩基レベルでのギャップ頻度が異なっていることがわかった。酢酸の細胞内資化には NADH の再酸化が重要であるが、本菌に見いだされる 3 つの NADH 脱水素酵素 (NDH) にギャップ頻度に違いがみられたことから、生理機能に違いがあると予想して生育と過酸化ならびに NDH の関係を調査した。その結果、環境株では酢酸生成期から NDH 活性が潜在的に高く、過酸化期に Type I NDH 活性が誘導されるのに対し、発酵株では恒常的に NDH 活性が低く維持されていること、対照的に、NDH 発現は酢酸生成期に誘導されており過酸化には抑制されていることが明らかとなった。

A-4 *Acetobacter* 属酢酸菌に見られる特異なクエン酸回路と CoA 転移酵素による酢酸代謝
○村上果穂¹, 片岡尚也^{1,2}, 松下一信^{1,2}, 松谷峰之介³, 薬師寿治^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³東京農大・ゲノムセ)

【目的】酢酸菌にとって酢酸耐性は重要な特徴であり、酢酸の代謝、排出、膜構造などが関与している。AarC は、*Acetobacter pasteurianus* において acetic acid resistance C (*aarC*) gene として発見された遺伝子産物である。酢酸耐性に関与するだけでなく、酢酸：スクシニル CoA CoA 転移酵素であり、コハク酸とスクシニル CoA の間の変換を触媒する。本菌はスクシニル CoA シンテターゼを持たないため、AarC は TCA 回路を完成させるという重要な役割をも担う。本研究では *A. pasteurianus* SKU1108 株における AarC の役割を調べることを目的として行った。

【方法・結果】はじめに、*A. pasteurianus* SKU1108 株を親株に *aarC* 破壊株 ($\Delta aarC$ 株) を作製した。酢酸発酵条件下では、親株と比較して $\Delta aarC$ 株は生菌数の減少が観察された。したがって報告通り、*aarC* 遺伝子は酢酸耐性に重要な役割を果たしていることがわかった。酢酸塩を炭素源としたとき、 $\Delta aarC$ 株は短期間では生育不全を見せたが、96 時間の長時間培養後に生育を見せ、親株並みの速度で生育した。SKU1108 ゲノムには *aarC* のパラログ遺伝子 (仮に *aarC2* と呼ぶ) が存在するため、新たに $\Delta aarC \Delta aarC2$ 二重欠損株 ($\Delta\Delta$ 株) を作製した。酢酸塩培地で、 $\Delta\Delta$ 株は 10 日培養しても生育しなかった。したがって、AarC2 は $\Delta aarC$ 株で AarC の機能を部分的に補完することが示唆された。以上のように、 $\Delta\Delta$ 株は酢酸塩を炭素源とする培地で生育できなかったが、グリセロールを炭素源とする培地では良好に生育した。よって、AarC が酢酸の同化代謝に特異的に必須であることが示唆された。

A-5 安定性強化を目指した酢酸菌グリセロール脱水素酵素の機能改変
○金田梨沙¹, 平野成菜¹, 数井彩加¹, 阿野嘉孝^{1,2}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大院・食研セ)

【目的】*Gluconobacter* 属酢酸菌に特徴的にみられる細胞膜結合型グリセロール脱水素酵素(GLDH)は、ピロロキノリンキノン(PQQ)を補欠分子族とする「ゆるい基質特異性」をもった酵素で、さまざまな物質生産に関与している。GLDH は PQQ との結合に Ca^{2+} や Mg^{2+} などの 2 価の金属イオンを要求するが、他の PQQ 酵素に比べて EDTA などのキレート作用に感受性が高く、この性質は「ゆるい基質特異性」に基づいた本酵素反応の産業利用拡大の懸念となっている。本研究では、GLDH の PQQ および 2 価イオンの保持に関与するアミノ酸残基に着目し、活性および物質生産の安定性を強化することを目的とした。

【方法・結果】GLDH に相同性が高い PQQ 酵素で、EDTA への感受性が異なる細胞膜結合型グルコース脱水素酵素(GDH)を参考に GLDH の改変を行った。大腸菌由来 GDH は EDTA 感受性を示すが、酢酸菌由来 GDH は EDTA 存在下でも安定な活性を示す。GLDH の触媒サブユニット *sldA* から、EDTA 感受性の 大腸菌 GDH および GLDH に共通し、EDTA 耐性の酢酸菌 GDH で異なるアミノ酸残基を 17 箇所選抜して部位特異的置換を行い m1-m17 変異体を作製した。野生型酵素は細胞膜調製の過程で酵素活性が低下し PQQ および 2 価イオンの添加により 2 倍以上活性が上昇するが、未添加の状態でも高い活性を保持している m1 変異体を見出した。また、野生型酵素は 10 mM EDTA 添加により完全に失活するが、30 mM EDTA でも活性が安定に保持された m6 変異体を見出した。これらの変異体は酵素活性の安定性のみならず基質特異性にも影響しており、現在、物質生産に対する影響を調査しているところである。

A-6 *Gluconobacter* 属酢酸菌における細胞表層酸化系の役割
○吉富 宙¹, 平田花織¹, 片岡尚也^{1,2}, 松下一信^{1,2}, 薬師寿治^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ)

【目的】酢酸菌は、細胞表層での不完全酸化代謝を特徴的に営む。例えば、グルコースはグルコン酸へ、グリセロールはジヒドロキシアセトンへと細胞表層で酸化される。この代謝生産物は代謝を受けず培地に残されるか、場合によってはゆっくりと異化代謝される。したがってこの不完全な細胞表層酸化は、物質代謝にはほとんど貢献がなく、同化代謝を支えるエネルギー生産に貢献すると説明されてきた。しかし、そのような生理学的意義はこれまで実験的に検証されてはいない。本研究では、酢酸菌の特徴である細胞表層系の、本菌の細胞増殖における役割を明らかにすることを目的として行った。

【方法・結果】はじめに、酢酸菌 *Gluconobacter thailandicus* NBRC3255 の野生型株と、グリセロールとジヒドロキシアセトン (DHA) を代謝できない Gly⁻ DHA⁻株の生育挙動を調べた。この変異株は、グリセロール脱水素酵素 (GLDH) が細胞表層でグリセロールを酸化し DHA を生じるが、それ以降の代謝はできない。この変異株はグルコース単独の培地よりも、グリセロール共存培地の方が良好に増殖した。よって、細胞表層での酸化代謝が細胞内代謝に寄与していることが示唆された。この変異株はグルコース脱水素酵素 (GDH) がグルコースの細胞表層酸化を行うため、GDH を欠損させた Gly⁻ DHA⁻ ΔGDH 株を作製した。この菌株はグルコース単独の培地で生育することができなかったが、グリセロールが共存する培地では良好に増殖した。さらに、GLDH を欠損させた Gly⁻ DHA⁻ ΔGDH ΔGLDH 株を作製した。これらの細胞増殖の結果をもとに、本菌における細胞表層酸化系の役割を議論したい。

A-7 *Gluconobacter japonicus* の持つ膜結合型キノプロテイン PQQ5 の機能解析
○竹内 秀¹, 片岡尚也^{1,2,3}, 松下一信^{2,3}, 薬師寿治^{1,2,3}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・農, ³山口大・中高温微研セ)

【目的】*Gluconobacter* 属に代表される酢酸菌は、細胞質膜のペリプラズム側で様々な糖質やアルコール類を不完全に酸化する。この表層酸化に関わる膜結合型酵素の内のいくつかは未だ機能が明らかにされていない。本研究で着目するキノプロテイン PQQ5 はその代表の一つである。そこで本研究では、PQQ5 の基質や生理学的役割を詳細に解析することを目的とした。

【方法・結果】表層酸化に関わる 6 つの主要酵素を不活化させた *Gluconobacter japonicus* D6 を宿主とし、遺伝子工学によって PQQ5 過剰発現株を作製した。PQQ5 過剰発現株の膜画分を調製したのち、様々な基質に対する脱水素酵素活性を測定し、コントロール株と比較した。その結果、PQQ5 発現株でラセミ体の乳酸に対する顕著な活性の上昇が確認された。これを受けて、D, L 体の各乳酸に対する活性を測定したところ、D-乳酸にのみ活性が確認されたことから、D-乳酸が PQQ5 の基質であると結論づけた。さらに、酸素電極を用いて D-乳酸酸化活性を測定したところ、コントロール株と比較して PQQ5 発現株で約 10 倍高い酸化活性が確認され、キノンが電子受容体であることが示唆された。また、膜画分を用いて D-乳酸の変換実験を行ったところ、ピルビン酸の生成が確認された。以上のことから、PQQ5 は D-乳酸をピルビン酸に変換する酢酸菌に特徴的な膜結合型脱水素酵素であることが明らかになった。現在、PQQ5 の補欠分子族が PQQ であることを証明するとともに、PQQ5 の生理学的な役割を逆遺伝学的な手法により解析中である。

A-8 *Gluconobacter* 属酢酸菌 CHM43 株における 2-ケトグルコン酸還元酵素の役割
○中島さくら¹, 片岡尚也^{1,2}, 松谷峰之介³, Gunjana Theeragool⁴, 松下一信^{1,2},
薬師寿治^{1,2} (¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ,
³東京農大・ゲノムセ, ⁴カセサート大・理)

【目的】*Gluconobacter* 属酢酸菌 CHM43 株はそのペリプラズム空間での、ポリオールや糖類の不完全な酸化代謝を特徴とする。その酸化代謝は呼吸鎖に繋がり、エネルギー生産に貢献する。グルコースは PQQ 依存型グルコース脱水素酵 (GDH) によりグルコン酸に酸化され、続けて FAD 依存型グルコン酸 2-脱水素酵 (GADH)、あるいはグリセロール脱水素酵素 (グルコン酸の 5 位を酸化) により酸化され、2-ケトグルコン酸 (2KG) あるいは、5-ケトグルコン酸 (5KG) に酸化される。本菌株の特徴として、生成した 2KG を消費するが、酢酸菌における 2KG 代謝経路は明らかでない部分も多い。

【方法・結果】本研究では、2KG の分解を容易に観察するため、5KG を生産できない変異株を使用した。2-ケトグルコン酸還元酵 (2KGR) が 2KG 消費に関与すると考え、2KGR 遺伝子候補を探索した。我々が以前報告した NADPH 依存型 2KGR 遺伝子に 70%の同一性を持つ *GLF_0478* と 48%の同一性を持つ *GLF_1777* を見出した。そこで、*GLF_0478* と *GLF_1777* それぞれの単独遺伝子破壊株、ならびにこれらの二重遺伝子破壊株 ($\Delta\Delta$ 株) を構築した。 Δ *GLF_0478* 株と Δ *GLF_1777* 株は親株と同様に 2KG を消費した。しかし、 $\Delta\Delta$ 株では親株と同様に 2KG を生成するも消費せず、2KG を蓄積した。この結果から、CHM43 株では 2KG の消費に *GLF_0478* と *GLF_1777* の両方が関与していると示唆された。また、単独遺伝子破壊株は親株と同様に 2KG を消費したことから、*GLF_0478* と *GLF_1777* は互いが機能を補う可能性があると考えられた。

A-9 歯周病菌 *Eikenella corrodens* のクオラムセンシングが自己凝集に及ぼす影響
○清弘峻吾¹, 坂口直子¹, 濱治百々子¹, 阿座上弘行^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ)

一般に、病原細菌においては、クオラムセンシングによって毒素生産や抗生物質耐性、バイオフィルム形成など様々な病原性が制御されている。本研究では、歯周病関連細菌 *Eikenella corrodens* のクオラムセンシングが本菌の自己凝集性に及ぼす影響を調べた。初めに、*E. corrodens* 1073 株（野生株）とオートインデューサーの合成に必須な *luxS* 遺伝子を欠損させた株 (*ΔluxS* 株) の自己凝集能を比較した。その結果、野生株では高い凝集性を示したが、*ΔluxS* 株では凝集性が低下していた。さらに、野生株の高い凝集性は塩の添加により阻害された。次に、両株の凝集の差は何によって引き起こされているのかを調べることにした。野生株の自己凝集には菌体表層の N アセチルガラクトサミン (GalNAc) 依存性のレクチンが関与することが知られている。そこで、GalNAc 添加時の凝集性を比較した結果、両株とも凝集性の低下がみられたため、両株の凝集にはどちらも GalNAc 依存性のレクチンが関与していることが示唆された。次に、両株の凝集性の差がレクチン活性の差によるものかどうかを調べるために、GalNAc 添加時の赤血球凝集活性を測定したところ、野生株に高い赤血球凝集活性が見られた。さらに、細胞表面疎水性による影響を調べたところ、野生株は、大腸菌や緑膿菌に比べて非常に高い表面疎水性を示したが、*ΔluxS* 株では表面疎水性の低下が観察された。これらのことから、両株における凝集能の差はレクチン活性や表面疎水性の違いによる可能性が示唆された。現在、両株の表層タンパク質の発現の違いについて調査している。

A-10 Effects of mushroom extract on biofilm of *Streptococcus mutans*
○Siddiq Ayesha¹, 濱治百々子², 坂口直子², 石丸隆行³, 阿座上弘行^{1,2,4}
(¹鳥取大院・連農, ²山口大院・創成科学, ³宇部フコ短大・食物栄養, ⁴山口大・中高温微研セ)

Streptococcus mutans is considered as one of the most cariogenic microorganisms in dental biofilm. Therefore, removal and control of biofilm formation of *S. mutans* in the oral cavity is considered to be important for the prevention of dental caries. *Hericium erinaceum* (Yamabushitake) is an edible mushroom that has been reported to exhibit a variety of pharmacological actions, including neuroprotective, anti-inflammatory and antioxidant properties. Previously, we found that an yamabushitake extract inhibits biofilm formation of the periodontopathogenic bacterium *E. corrodens*.

In this study, we used *S. mutans* UA159 to observe its biofilm inhibition capability. Yamabushitake extract inhibited UA159 in the presence of sucrose. Since the extract did not inhibit the growth of *S. mutans*, we assumed that biofilm inhibition was not due to bactericidal activity against *S. mutans*. We also demonstrated the ability to inhibit glucan formation, which is involved in the cariogenic pathogenesis of *S. mutans*. *S. mutans* uses AI-2 as a signal (autoinducer) for quorum sensing, like many other oral bacteria. Addition of yamabushitake extract was also shown to affect AI-2 production in *S. mutans*. *S. mutans* uses 3 signals, AI-2, CSP, and XIP, for quorum sensing. To clarify the effect of AI-2 on biofilm inhibition by yamabushitake, we used *comC* and *comX* deletion strains, which are unable to synthesize CSP and XIP, respectively. As a result, we suggested that *S. mutans* biofilm formation by yamabushitake extract may be suppressed by reducing AI-2 production and affecting QS through CSP mediated by *comC*.

B-1 担子菌 *Coprinopsis cinerea* におけるオートファジー関連タンパク質の動態解析
○北原昂希, 高野早矢¹, 村口 元², 麻田恭彦¹, 渡邊 彰¹
(香川大院・農,¹香川大・農,²秋田県立大・生物資源)

【目的】オートファジーとは、真核生物が保存する細胞内のバルクな分解機構である。オートファジーが誘導されると、二重脂質膜によって細胞質成分を包み込んだオートファゴソームという構造体が形成され、この構造体が液胞（菌類）と融合し、内容物は分解される。近年、オートファジーが細胞内の恒常性維持、分化・発生といった様々な生命現象に関与していることが報告されてきている。そこで本研究では、担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジー誘導について明らかとするため、同菌のオートファジー関連遺伝子 *Ccatg9* の欠損株を用いて、CcAtg8（オートファゴソーム構成タンパク質）の細胞内局在およびプロセッシング解析を行った。【方法・結果】親株、*Ccatg9* 欠損株、そして *Ccatg9* 欠損株に *Ccatg9* を導入した相補株に対して、*Ccatg8* プロモーター制御下で CcAtg8 と緑色蛍光タンパク質（AcGFP1）を融合発現する株を構築し、窒素源飢餓条件下における CcAtg8-AcGFP1 の細胞内局在を解析を行った。その結果、*Ccatg9* 欠損株では液胞内に緑色蛍光が観察されなかったのに対し、親株および *Ccatg9* 相補株では液胞内に緑色蛍光の蓄積が観察された。そこで次に、上記条件下におけるオートファジーの進行について CcAtg8-AcGFP1 から遊離する AcGFP1 を指標にウェスタンブロッティング解析をしたところ、*Ccatg9* 欠損株では遊離した AcGFP1 が検出されなかったのに対し、親株および *Ccatg9* 相補株では遊離 AcGFP1 が検出された。現在、本推移を活用することにより担子菌 *C. cinerea* におけるオートファジーの進行について引き続き解析を進めている。

B-2 スフィンゴ脂質マスター転写因子 Com2 の発現制御機構の解析
○松本康生, 上野俊哉, 白井里樹, 坂田健太郎¹, 田中直孝¹, 田淵光昭¹
(香川大院・農,¹香川大・農)

【目的】出芽酵母において、細胞膜脂質の一つであるスフィンゴ脂質の感知・代謝制御機構として Tor-kinase complex 2 (TORC2)-Ypk1 経路が知られている。我々はスフィンゴ脂質代謝を阻害する Myriocin (Myr) を添加することで機能未知転写因子 Com2 の発現量が増加することを見出した。Myr 依存的な Com2 の発現上昇は TORC2-Ypk1 経路に依存せず、スフィンゴ脂質量を感知する未知のシステムの存在が示唆された。本研究ではスフィンゴ脂質量の低下による、COM2 発現制御機構の解明を目的とした。

【方法・結果】COM2 の開始コドンから上流約-500 bp のプロモーター領域もしくは ORF 領域を両末端側から削ったプラスミドを *com2* Δ 株に形質転換し、Myr 処理時の Com2 の発現量をウェスタンブロッティングにより調べた。プロモーター領域を削った場合、Com2 の Myr 依存的な発現上昇が確認されたため COM2 の Myr 依存的な発現誘導はプロモーター領域には依存しないことが明らかとなった。5' -末端側から 2-40 アミノ酸残基に相当する ORF 領域を削った場合、恒常的に高い Com2 の発現が見られた。プロモーターに依存せず、ORF 内の配列に依存することから、COM2 の発現は、mRNA の安定性による制御が関係する可能性が考えられた。そこで、mRNA 分解に関連する Ccr4-Not 複合体のなかでも中心的な役割を担う Ccr4 と Pop2 欠損株について、Com2 の発現量を調べたところ、野生株と比較して有意に Com2 発現量の上昇が見られた。これらの結果から COM2 のスフィンゴ脂質量に依存した発現制御は mRNA の安定性が少なくとも部分的に関与していることが示唆された。

B-3 病原因子エフェクターHopAI1により明らかとなった CWI-MAPK カスケードの新規な下流経路

○和氣由尚, 山田涼華, 佐々奈於美, 田中直孝¹, 田淵光昭¹
(香川大院・農,¹香川大・農)

【目的】我々は、キウイフルーツかいよう病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*)のエフェクターである HopAI1 がホスホスレオニンリアーゼ活性を有し、酵母において MAPK である Slt2 を標的としていることを明らかにしている。Slt2 は酵母生育に必須ではないが、HopAI1 を *GAL1* プロモーター下で酵母において過剰発現させると強い増殖阻害を示した。そこで、本研究では、HopAI1 による酵母増殖阻害の原因の解明を目的とした。

【方法・結果】HopAI1 の酵母増殖阻害を抑圧する酵母ゲノムライブラリー由来マルチコピーサプレッサーとして、ガラクトース代謝に関与する *PGM1*, *PGM2* および *TUP1* の C 末端が欠損した *tup1 ΔC* が取得された。そこで、HopAI1 発現酵母のガラクトース培地での表現型を確認したところ、SGal 培地でのみ増殖阻害を示すことが明らかとなった。また、同様に HopAI1 の標的である *slt2 Δ* 株も SGal 培地で増殖阻害を示し、この増殖阻害は *PGM2*, *tup1 ΔC* の過剰発現によって回復したことから、Slt2 の下流にガラクトース資化に関わる経路が存在することが示唆された。そこで、Slt2 と *PGM2* との関係性を明らかにするために、*SLT2* 欠損時の *PGM2* の発現量をレポーターアッセイにより確認したところ、ヒートショック時に *PGM2* の発現量が WT と比較して大きく低下した。このことから、*PGM2* の発現が Slt2 によって制御されている可能性が示唆された。現在、*PGM2* のプロモーター領域の欠失変異体の解析により、Slt2 依存的な応答エレメントを明らかにすることで、Slt2 の未知の下流因子の探索を行っている。

B-4 分裂酵母を用いたアグマチン誘導性分子機構の解析

○中川知寛, 石井友惟¹, 田淵光昭¹, 田中直孝¹
(香川大院・農,¹香川大・農)

【目的】遺伝子発現はプロモーターにより正・負に制御されており、特定の物質添加や除去により発現を人為的に制御できる誘導性プロモーターは利便性の高いツールとして認識されている。分裂酵母で発見されている *agm3⁺* プロモーターは、アグマチンの添加により下流遺伝子の発現を誘導するプロモーターである。アグマチンは生理活性物質であるポリアミンの前駆体であり、筋力トレーニング用の食品サプリメントとしても知られている。本研究では、アグマチン添加による *agm3⁺* プロモーターの発現誘導機構を明らかにすることを目的として解析を行った。

【方法・結果】推定プロモーター領域を段階的に除去した結果、上流 160 bp まで削った場合にアグマチンの有無に関係なく恒常的に発現した。この周囲の配列を確認したところ、転写開始点に関わる配列が 3 か所存在することが推定された。また、転写開始点が開始コドンの近くに位置するほど、アグマチンによる制御を受けず、発現量が恒常的に上昇した。このことから、5'UTR の適切な長さがアグマチン添加による発現誘導に関与することが考えられた。そこで、mRNA の発現について確認を行ったところ、興味深いことに野生株の *agm3⁺* mRNA はアグマチンの有無によらず恒常的に発現していた。したがって、*agm3⁺* の 5'UTR はアグマチンが添加されることによって翻訳抑制が解除され、下流遺伝子の発現を促進していることが考えられた。

B-5 分裂酵母のレクチン様タンパク質 Emp43 とそのリガンド解析
○今村伊織, 若杉春香, 川西詩音¹, 神谷勇樹, 田淵光昭¹, 田中直孝¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)

【目的】 ヒト ERGIC-53 は ERGIC (ER-Golgi intermediate compartment) に局在する L 型レクチンであり, これまでに, 特定の糖タンパク質分泌経路においてカーゴ受容体として機能し, ER-ERGIC 間の効率的な輸送に関わることや, 一部のカーゴの輸送には Ca^{2+} 結合タンパク質である MCFD2 との複合体形成が必要なことが報告されている。本研究では分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) のヒト ERGIC-53 ホモログである Emp43 と MCFD2 のホモログである Ssp120, 及びそれらの推定カーゴの解析を通して, 細胞内輸送分泌経路で機能するレクチンのカーゴ認識メカニズムやカーゴの持つ機能の解明を試みた。

【方法・結果】 Emp43 および Ssp120 欠損株は Mg^{2+} 感受性を示した。過剰発現ライブラリーを用いた相補性試験の結果, アミラーゼホモログ Meu17 が Mg^{2+} 感受性を強く相補したことから, これを Emp43-Ssp120 の代表的なカーゴと予想して解析を行った。Meu17 の N-結合型糖鎖結合部位 N409 あるいは活性中心 D203 に変異を加えた場合, 相補性が弱くなることが確認されたため, これらのアミノ酸残基が感受性回復に重要なことが示唆された。また Meu17 は野生株においてセブタム (細胞分裂面), Emp43 欠損株ではドット状の局在を示すが, N409 または D203 に変異を加えた Meu17 は野生株でも局在がドット状に変化した。このことから, これらの部位が Emp43 からの認識にも関与する可能性が示唆された。

B-6 Study of the role of Bqt4 on the regulation of nucleolus position and movement in fission yeast
○Wang Kaiyu, 上野 勝 (広島大院・統合生命)

Objective: Nucleolus has already been reported as an important organelle that involved in the cancer and aging, not only function as ribosome generation. Other nucleolus-property-changes may induce some physiological and pathological alterations, such as movement status change. In *S. pombe*, inner-nuclear-membrane protein Bqt4 plays important role in attaching telomere to nuclear envelope. Besides that, data in Ueno lab strongly suggests the changed movement of nucleolus in *bqt4*Δ. We need to confirm this conclusion and try to elucidate the mechanism of changed nucleolus movement with the loss of Bqt4 in *S. pombe*.

Method and results: We use MSD (Mean square displacement) to quantify the movement of nucleolus with other organelles as the reference. We checked the movement of nucleolus in the cells with truncated Bqt4, NH_4Cl , MBC treatment and so on. These results shows that the already known function of Bqt4 such as telomere-NE attaching and DNA binding function loss may not be responsible for nucleolus movement change. C-terminal-domain of Bqt4 with known function might be responsible for nucleolus movement change. And nucleolus movement change in *bqt4*Δ is microtubule dependent.

B-7 DIMが分裂酵母の核膜を損傷する機構の解析
Wang Kaiyu, 永井英翔¹, 〇上野 勝
(広島大院・統合生命, ¹広島大・工)

【目的】多くの真核生物の核膜は、球状か楕円であるが、核が球状か楕円であることの意義はわかっていない。ジインドリルメタン(以降 DIM と呼ぶ)は、ブロッコリーなどのアブラナ科の野菜に豊富に含まれるインドール-3-カルビノールが胃の中で2量化した化合物である。DIM は、抗がん活性や、発がん抑制活性が示唆されている。DIM は、がん細胞においてアポトーシスやオートファジーを引き起こすことが報告されている。当研究室では、DIM が分裂酵母において核膜を変形させることを世界で初めて報告している(2021年 PLOS ONE)しかし、DIM が核膜を変形する分子機構は、全くわかっていない。そこで、本研究の目的は、DIM が核膜を変形する分子機構を解明することとした。

【方法・結果】DIM の感受性に影響を与える新規遺伝子を取得することで、DIM が核膜を変形する機構の解明を試みる。すでに複数の DIM 耐性株を取得し、次世代シーケンサーを用いて DIM 耐性株のゲノムシーケンシングを行なった結果、複数の候補遺伝子を得た。現在、どの遺伝子変異が DIM 耐性に関係しているかを解析中である。本発表ではこれらの結果に加えて、DIM 感受性の遺伝子についても紹介する。

B-8 *Kluyveromyces marxianus* における糖の種類と C 末配列によって局在変化する糖トランスポーターの解析
〇香川智哉¹, 星田尚司^{1,2,3}, 赤田倫治^{1,2,3}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³山口大・生命医工セ)

【目的】細胞膜で働くトランスポータータンパク質は栄養素などの基質分子の存在下では細胞膜に存在するはずであるが、基質分子がない場合には必要ないので分解されることや移動することが考えられる。そこでトランスポーターの局在挙動と基質分子との関係性について調べ、その調節機構を明らかにすることを目的とした。

【方法と結果】酵母 *Kluyveromyces marxianus* において、グルコーストランスポーター Hxt6 及び、セロビオーストランスポーター Stt1 の N 末に GFP を融合させて観察すると、Hxt6 はグルコース培地及びセロビオース培地で細胞膜局在を示した。一方、Stt1 はグルコース培地で GFP が液胞で見られ、セロビオース培地では細胞膜に局在した。このような糖依存的な局在変化にどの領域が関与しているかを調べるために、566 個のアミノ酸からなる Stt1 の C 末の削除解析を行ったところ、C 末の 4 アミノ酸 SLSV を削除するとグルコース条件下で Stt1 が細胞膜に残っていた。そこで、Stt1 の C 末と Hxt6 の C 末を組換えて局在を調べた。Hxt6 の C 末 4 アミノ酸を Stt1 の C 末 4 アミノ酸に置換したキメラタンパク質では、変化は見られなかった。一方、Stt1 の C 末 8 アミノ酸で置換したキメラタンパク質では、グルコース培地で今まで見られなかった液胞で蛍光が見られた。さらに、Stt1 の C 末 65 アミノ酸で置換したキメラタンパク質では今まで見られなかった ER の局在が現れた。このことから、細胞質側に出ていると考えられているトランスポーターの C 末配列が糖依存的な局在変化や ER の局在を決定づけていることが考えられる。

B-9 大腸菌で複数のプラスミド DNA を同時利用するための複製領域の解析
○山下真穂¹, 加藤颯晟¹, 星田尚司^{1,2,3}, 赤田倫治^{1,2,3}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³山口大・生命医工セ)

【目的】大腸菌には、独立して複製する環状のプラスミド DNA が複数種類存在することが知られている。その中でも pUC 系の複製配列を持つプラスミドは高コピー数となるので、プラスミド DNA の製造やタンパク質生産など幅広く用いられている。一方、他の複製配列はコピー数が低いことから、現在ではほとんど研究も利用もされていない。同じ複製配列を持つプラスミド同士は共存できないが、異なる複製配列を持つプラスミドは共存できることから、pUC とは異なる複製配列を再解析し、利用できるようにすれば、2 種類以上のプラスミド DNA の同時生産や複数種のタンパク質の同時生産ができると考えた。

【方法・結果】複製配列の異なる 4 種類のプラスミド DNA である pUC19, pACYC177, pJB655, および pSC101 の薬剤耐性遺伝子を変換し、大腸菌に導入すると、どの組み合わせでも 2 種類のプラスミド DNA を保持できた。これらの複製領域を部分的に削除し、複製に必要な領域を解析した。pJB655 と pACYC177 では、これまでの研究で複製に必要だと考えられていた領域よりも、より短い範囲でも複製できるとわかった。pSC101 では、これまで複製に必要だと考えられていた領域だけでは形質転換体を得られず、より広い領域の配列が複製に必要であることがわかった。この領域のさらに細かな削除解析により、複製に必要な配列を明らかにした。

C-1 植物性バイオマス含有糖有効利用のための水蒸気蒸煮前処理効果検討
○榎谷侑太郎, DINH GIA TIHEN, 浅田元子, 中村嘉利
(徳島大院・創成科学)

【目的】化石資源の代替となる再生可能資源とされる、リグノセルロース系バイオマスをエネルギー資源として用いるには、脱リグニン前処理・糖化・発酵の過程が必要である。これらの含有糖は、グルコースが最も多く、次にキシロースが多い。現状、バイオエタノール生産にはグルコースのみが利用されている。グルコースとキシロースの含有割合は植物種によって異なるが、この2つの糖を効率的にエタノール変換できれば、バイオマスのエネルギー変換率が上昇し生産コスト削減が期待できる。本研究では、種々の植物種の含有糖を利用するための脱リグニン前処理効果検討を目的とした。脱リグニン前処理の内、環境低負荷で短時間処理である水蒸気蒸煮装置(NK-2L型)を用いることとし、樹種による含有糖成分割合の前処理条件による変化を調べた後、酵素糖化し、その収率について検討した。

【方法・結果】植物試料ホロセルロース構成糖の割合について硫酸法を用いて成分分析をし、比較した。その中でキシロースを多く含有するコーンコブとオークに対し水蒸気蒸煮前処理(20, 30, 40 atm / 5 min)を施した後ミル処理(30 sec)により粉碎した。水蒸気蒸煮前処理試料と未処理試料(ミル1 min)を、セルラーゼおよびキシラナーゼを用いて酵素糖化を行い、糖化率を比較した。その結果、オークを用いた場合、未処理と比較してグルコース変換率は20 atmで70%以上、キシロース変換率は30 atmで90%以上高くなった。本研究により、セルロース、キシランを多く含有するリグノセルロース系バイオマスの前処理の有効性を明らかとした。

C-2 FTIR 計量化学手法と化学的分画によるコムギ葉の高温ストレス応答の解析
○竹田佳生¹, Salma O.M.Osman^{2,3}, 只野翔大², 山崎友渡¹, Abu Sefyan I.Saad³,
Izzat S.A.Tahir³, 山崎裕司⁴, 辻本 壽⁴, 明石欣也^{1,2} (¹鳥取大院・持社創生,
²鳥取大院・連農, ³スーダン農業研究機構, ⁴鳥取大・乾燥地研)

【目的】地球温暖化に伴う気温上昇により、厳しい高温環境でも安定して生産できるコムギ品種の育成が求められている。そこで本研究では、圃場での分析が比較的容易であり、高分子の分析が可能である Fourier transform infrared (FTIR) 分光法をケモメトリックス手法と組み合わせることで、コムギにおける高温ストレス分子応答の学術的理解を深めることを目的とした。

【方法】コムギ農林61号系統を人工気象器内で日中温度22℃の条件で栽培し、第3葉展開時に日中温度42℃の高温ストレスに6日間暴露した。コムギ葉を粉碎しKBr錠剤法によりFTIRスペクトルデータを取得し、多変量解析に供した。多糖画分の単糖組成はガスクロマトグラフィーにより分析した。

【結果】コムギ葉のFTIRスペクトルを主成分分析に供したところ、ストレス条件とコントロール条件のスペクトルは部分的に重複したクラスターを形成し、ストレス条件に特異的なスペクトルは確認されなかった。そこでコムギ葉破砕物を80%エタノールにより抽出し、さらに80%エタノール不溶性画分を4種の水溶液で段階的に抽出し、FTIRデータの線形判別分析を行ったところ、細胞壁ペクチンが主成分とされる50 mM酢酸ナトリウム(pH=5)可溶性画分において、900-1200 cm⁻¹の指紋領域のスペクトル形状に明瞭な差異が認められた。そこで同画分における単糖組成分析を行った結果、ペクチンを構成する単糖組成が熱ストレス下において対照葉と大きく異なることが見いだされ、高温ストレスに対するコムギ葉の応答は細胞壁の化学組成の変化を伴うことが示唆された。

C-3 植物の塩ストレス耐性における根での活性カルボニル消去の重要性
○真野純一^{1,2}, Most Sharmin SULTANA²
(¹山口大・総合科学セ, ²鳥取大院・連農)

【目的】植物が塩ストレスを受けると細胞で活性酸素レベルが増大し酸化ストレス障害により成長が阻害される。我々は、植物の塩ストレス障害には、膜脂質が酸化分解されて生じるアクロレインなどの α , β -不飽和カルボニル種（活性カルボニル種：RCS）が原因として関与することを明らかにしてきた。本研究では、塩ストレスによる根と葉の障害それぞれに関与するRCSを解明することを目指した。

【方法・結果】1/2MS培地（ショ糖入り）で栽培した6日齢シロイヌナズナに90mM NaClを添加（塩ストレス処理）すると、根の伸長阻害、葉の障害（光化学系IIの失活および白化）、生育阻害が認められた。RCS消去酵素2-アルケナルレダクターゼ（AER）を β エストラジオール（ β -ED）応答性プロモータで発現誘導する組換えシロイヌナズナCOS-AER株では、NaClと同時に β -EDを添加するとAER活性が約2倍に増大し、根の伸長阻害、葉の障害、生育阻害が軽減した。NaCl処理によって実生のROSレベルは増大したが、 β -ED添加によるAER過剰発現は、ROSレベルには影響しなかった。すなわち、過剰発現したAERがRCSを消去したことで、COS-AER株では塩ストレス障害が軽減したと考えられた。塩ストレスを受けた植物体の根ではアクロレイン、4-ヒドロキシノネナル（HNE）、4-ヒドロキシヘキセナル（HHE）などのRCS含量が増大したが、 β -ED添加したCOS-AER株ではこれらの増大は抑制されていた。一方、葉は根よりRCS含量が低く、塩ストレスによる増大も小さかった。高塩分条件でのストレス障害の主因は、根でのRCS増大であると考えられる。

C-4 ゼニゴケ油体への代謝物輸送に関わるABCトランスポーターの機能
○川口智子, 森脇佑太, 金澤建彦¹, 松井健二
(山口大院・創成科学, ¹基生研)

【目的】ゼニゴケは植食者に対する防御システムとして、抗菌作用などの生物活性を持った代謝物を合成する。ゼニゴケ葉状体には「油体細胞」が点在し、合成された化合物は油体細胞が持つ「油体」と呼ばれる細胞小器官に高度に蓄積される。ゼニゴケは防御化合物の油体細胞特異的な生合成、および細胞質から油体内への特殊な輸送システムを有していることが示唆されるが、それらの分子基盤は未だ解明されていない。そこで、本研究では防御化合物の油体への輸送システム解明を目的とした。

【方法・結果】油体形成を制御する転写因子MpCIHDZ, MpERF13の下流にあり、油体膜特異的に局在するMpABCG1に着目して研究を行った。その結果、MpABCG1ノックアウト株では、標準株と比べて葉状体のセスキテルペン、マルカンチン量が減少した。同時に脂溶性化合物特異的蛍光試薬を用いて蛍光観察したところ、遺伝子ノックアウト株で油体と思われる蛍光数に減少が見られた。しかし、この染色で検出された構造は必ずしもすべてが油体であると判断できなかった。そこで、MpABCG1ノックアウトによる油体分化、成長への影響を調べるために、油体膜局在タンパク質SYP12Bプロモーターとタンパク質コード領域に融合した蛍光マーカータンパク質を発現させた。蛍光顕微鏡を用いて油体数の変化を比較したところ、生育段階における一定面積当たりの油体数は、MpABCG1ノックアウト株で有意差は見られなかったものの、減少傾向が確認できた。

C-5 野生タバコ (*Nicotiana sylvestris*) におけるベンゼノイド配糖化酵素の機能解析
○仲保亜子, 西原昌宏¹, 肥塚崇男
(山口大院・創成科学, ¹岩手生工研セ)

【目的】植物の花香は受粉媒介者を誘引するための重要な揮発性シグナル分子であり、開花期に合わせて放散される。近年、細胞内で生合成された花香の一部は配糖体として貯蔵されると報告されたが、その生成機構ならびに生理学的意義は不明である。本研究では、花香配糖体の生成機構の解明を目的として、野生タバコ (*Nicotiana sylvestris*) における花香配糖体の定量分析及び配糖化に関わる酵素遺伝子の単離、機能解析を行った。

【方法】タバコの異なる器官から香气成分並びにその配糖体を抽出し、後者については糖加水分解処理後、GC/MS 分析により定量を行った。また、野生タバコは昼夜の異なる時間帯で花香の生成量が異なることから花香配糖体の日周性変動についても測定した。さらに、タバコ葉および花から RNA を調製し、トランスクリプトーム解析を行い、花香蓄積に関わる配糖化酵素遺伝子の探索を行った。

【結果】異なる器官における香气成分配糖体を分析した結果、花冠でベンジルアルコールやベンジルサリシレートなど芳香族香气成分の配糖体が高蓄積していた。さらに、5-メトキシオイゲノール配糖体が夜間で多く蓄積していることが判明した。また、タバコの器官別トランスクリプトーム解析を行ったところ、花冠特異的に発現する配糖化酵素遺伝子 (*NsUGT73C-like*, *NsUGT74B-like*, *NsUGT74F-like*) を見出し、それら全長配列を単離することに成功した。大腸菌発現させた本組換え酵素は芳香族香气成分の中間体である安息香酸に高い配糖化活性を示すことが明らかとなった。

C-6 ペチュニア由来ベンズアルデヒド脱水素酵素の機能解析
○伊東花梨, 北島佐紀人¹, 古田 巧², 柘植知彦³, 肥塚崇男
(山口大院・創成科学, ¹京工繊大・応用生物, ²京薬大, ³京大・化研)

【目的】南米原産のペチュニアは、受粉媒介者であるガを誘引するために開花に伴い夜間特異的に揮発性ベンゼノイドを生成、放散する。これまでに多くの揮発性ベンゼノイドがフェニルアラニンから多段階の酵素反応により生合成されると報告されているが、共通の中間体である安息香酸の生合成に関わる酵素についての報告は未だ数少ない。本研究では、多様な揮発性ベンゼノイドの生成制御機構の全容解明を目的とし、ベンズアルデヒドから安息香酸への反応を触媒する酵素であるベンズアルデヒド脱水素酵素 (BALDH) の単離・機能解析を行った。

【方法・結果】揮発性ベンゼノイドを生成、放散するペチュニア花卉におけるトランスクリプトーム解析を行い、得られた遺伝子発現データを元に *BALDH* 候補遺伝子の探索を行った。その結果、オトギリソウ科のセイヨウキンシバイで報告されている *BALDH* とアミノ酸レベルで約 70%の相同性を示すホモログ遺伝子 (*PhBALDH*) を見出した。*PhBALDH* は揮発性ベンゼノイド量が高まる開花期に発現が高く、ペチュニア花香の生成量と正の相関が見られた。そこで次に、*PhBALDH* を大腸菌発現させ、組換え精製酵素を用いて脱水素酵素活性を測定した。その結果、*PhBALDH* は NAD^+ 及び NADP^+ どちらを補酵素とした場合でも、ベンズアルデヒドから安息香酸を生成する酵素活性を示し、その K_m 値は $92.7 \mu\text{M}$ であった。また、基質のベンゼン環上の水酸基の有無を識別する高い反応特異性を示すことが判明した。現在、花香生成への影響を調べるために *PhBALDH* の過剰発現及び発現抑制ペチュニアの作出を進めている。

C-7 ペチュニアにおける新規花香生成制御因子の探索
○肥塚崇男, 伊東花梨, 仲保亜子, 北島佐紀人¹
(山口大院・創成科学, ¹京工織大・応用生物)

【目的】ナス科植物のペチュニアは, 受粉媒介者を誘引するために花香成分である揮発性ベンゼノイドを夜間特異的に生成, 放散する。揮発性ベンゼノイドの生合成経路が判明してきた一方で, 植物細胞内で作られた香气成分がどのような制御過程を経て大気中へと放散されるのかは未だ明らかになっていない。そこで本研究では, 植物花卉における香气成分の生成放散制御機構を分子レベルで解明することを目的として, 花香成分の生合成, 蓄積, 輸送に関わる新たな生体分子の探索, 機能解析を行った。

【方法・結果】ペチュニアの異なる開花段階および昼夜の異なる時間帯の花 (計 13 サンプル, 39 検体) から RNA を抽出し, トランスクリプトーム解析を行った。その結果, 約 67,000 の unigene に関する発現データを取得することに成功し, その発現差解析から開花に伴い高発現する約 2,700 遺伝子を特定した。この中には, 既に報告されている花香成分である揮発性ベンゼノイドの生合成遺伝子の発現と同調する, 配糖体化酵素 (PhUGT) や ABC 輸送体, 脂質輸送タンパク質をコードする遺伝子が含まれていた。さらに, PhUGT を大腸菌発現させた組換え酵素はペチュニア花香成分であるオイゲノールやイソオイゲノール, バニリンに対して配糖体化活性を示した。このことから, 花香の生成, 放散には, 花香成分の生合成遺伝子の制御に加えて配糖体化による花香の蓄積や輸送担体を介した輸送に関わることが考えられた。

C-8 ミカン科植物クロウエアにおけるクマリン類の分析と生合成酵素の機能解析
○岡本惇之介, 渡辺文太¹, 肥塚崇男
(山口大院・創成科学, ¹東京慈恵医大)

【目的】クマリンを含む芳香族化合物は, 一般的にプレニル側鎖が付くことで修飾される前の母格化合物の生理活性が増強することが知られている。しかし, 多彩な生理活性を有するプレニル化クマリンの構造多様性及びその生合成酵素に関する知見は未だ数少ない。本研究では, 新たなプレニル化クマリンの供給源となる天然資源の探索とその生合成に関わるプレニル基転移酵素の機能解析を目的とした。

【方法・結果】本研究では, ミカン科植物クロウエアを実験材料として, GC-MS によりクマリン類を含めた香气成分の網羅的代謝物分析を行った。その結果, クロウエアの根特異的にクマリン骨格を持つと推定される m/z 値 284 の分子イオンピークを有する化合物を検出した。次に, クロウエアの根 (約 80 g) からシリカゲルカラムクロマトグラフィー, 分取薄層クロマトグラフィーにより, クマリン類縁体 (約 6 mg) を単離した。この単離したクマリン類縁体は NMR 分析により, プレニル化クマリンのタムノスミンであることが明らかとなった。一方, クロウエアの根から抽出した RNA を用いてトランスクリプトーム解析を行い, レモンで報告されているプレニル基転移酵素 CIPT1 とアミノ酸レベルで 65% の相同性を示す CsPT1 を単離することに成功した。この CsPT1 は N 末端領域にプラスチド移行シグナルをもち, 9 回の膜貫通ドメインを含んでいたことから, 植物二次代謝産物のプレニル化を担う, 膜結合型プレニル基転移酵素であることが推定された。現在, クマリンに対するプレニル化活性についての機能解析を進めている。

C-9 青竹の香気について
○浦手秋穂, 植松真央¹, 赤壁善彦
(山口大院・創成科学, ¹山口大・農)

【目的】 竹に関する香気の研究はこれまでも行われているが、青竹らしさを特定した研究は未だ行われていない。そこで本研究では、青竹らしい香気成分の特徴化を試みた。

【方法・結果】 2020年3月に企業から提供を受けた孟宗竹の稈のパウダーを使用し、SPME fiberを用いてGC-MSで分析した。

孟宗竹の稈のパウダーの香気をSPME-GC-MSで分析したところ、32成分を検出し、同定した。官能基別で見ると、モノテルペン炭化水素、炭化水素、脂肪族アルデヒド、ノルイソプレノイドの順であった。含有率が最も高い香気成分はモノテルペン炭化水素のlimonene(32.95%)であり、次いで、dodecane, 2-ethyl-1-hexanol, tetradecane, 6-methyl-5-hepten-2-oneの順であった。一方、キラルな香気成分のlimoneneの絶対配置ならびに光学純度をchiral GCで分析したところ、(R)-limonene(98.17±0.27%e.e.)と決定した。定量結果より、全体の香気に寄与する成分を特定し、再構成したところ、青竹特有の香気を再現することに成功した。

C-10 オイスターアルコールの単離・同定
○江副史朗, 上田健司, 赤壁善彦
(山口大院・創成科学)

【目的】 カキは、生または調理して一般的に食され、特徴的な風味を持つが、その特定には至っていない。そこで、本研究ではカキ特有の香気を特定することを目的とした。

【方法および結果】 まず、溶媒抽出法によりマガキ(*Crassostrea gigas*)から香気成分を得た。次に、SPME法により香気成分を採取し、GC-MS分析を行ったところ、主要な成分(31.2±3.2%)が確認され、そのマススペクトルから1,5-octadien-3-olであると推定した。そこで、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより抽出物から主要成分を単離し、¹H-および¹³C-NMRスペクトルの解析により(Z)-1,5-octadien-3-olと決定した。また、単離した(Z)-1,5-octadien-3-olをキラルGC-MS分析したところ、(R)-体(20.5±0.2%ee)であった。一方、(Z)-1,5-octadien-3-olの両鏡像体を合成して官能評価したところ、マガキ全体の香気に重要であると判断し、この化合物を「オイスターアルコール」と命名した。

D-1 キチン分解放線菌 *Cellulosimicrobium* 属細菌が生産する GH family 19 chitinase の機能解析

○仁木大輔, 益江広稀¹, 美藤友博², 清水克彦³, 有馬二郎²

(鳥取大院・連農,¹鳥取大院・持社創生,²鳥取大・農,³鳥取大・CoRE)

【目的】キチンの自然界での生産量は多く、その分解物は医療・食品分野で利用されるため、次世代のバイオマス資源として注目されている。一方、キチン分解には環境負荷などの問題が残されており、酵素等による分解法の確立が求められているが、未だ実現していない。我々はこれまでに、 α -キチンを直接分解する放線菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 を単離した。本菌が分泌するキチナーゼに、Glycoside Hydrolase (GH) Family 19 ドメインのみ有する Chitinase class I-2 (Chi I-2)と GH family 19 及び Carbohydrate Binding Module Family 5 (CBM5)ドメインを有する Chitinase class I-3 (Chi I-3)がある。本研究では、 α -キチンの酵素分解を目指し、上記の2つの GH family 19 Chitinase に焦点を当て、機能解析を行なった。

【方法及び結果】2つの GH family 19 Chitinase の大腸菌発現系を構築し、無細胞抽出液から GST カラムを使用して部分精製した組換えタンパク質を使用して性質を調べた。その結果、エチレングリコールキチンに対する分解活性は、pH 6.0 条件下で、Chi I-3 は Chi I-2 と比べて約 30 倍以上であった。また、キトサンに対する分解活性も確認され、Chi I-3 は Chi I-2 より約 20 倍以上の活性を示した。エチレングリコールキチンを用いて酵素反応速度を調べた結果、Chi I-3 は Chi I-2 よりも K_m 値が約 10 倍低く、CBM5 ドメインの有無が親和性に影響していることが考えられた。一方で、キチンオリゴ糖分解に対する分解活性は Chi I-3 は三糖に対する活性が低く、Chi I-2 は三糖から二糖への分解に優れており、2つの酵素の基質認識によるキチン分解での役割が位置づけられた。

D-2 L-2-keto-3-deoxyfuconate 4-dehydrogenase の補酵素と基質複合体の X 線結晶構造解析

○赤樫実結¹, 渡邊誠也^{1,2} (¹愛媛大院・農,²愛媛大・沿岸環境科研セ)

【目的】NAD⁺依存性 L-2-Keto-3-deoxyfuconate (L-KDF) 4-dehydrogenase (L-KDFDH) は、short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) タンパク質ファミリーに属しており、細菌のリン酸化を必要としない L-ブコース代謝経路の 4 番目の反応を触媒する。本酵素のホモログである哺乳類の BDH2 はシス-4-ヒドロキシ-L-プロリン (C4LHyp) 脱水素酵素として機能するが、その基質構造は L-KDF とまったく異なっている。本研究では、こうした L-KDFDH のユニークな触媒機構の分子基盤を明らかにすることを目的に、すでにアポ構造の決定に成功している (農芸化学会中四国支部第 64 回例会にて発表)。そこで、今回は補酵素と基質複合体構造の決定を試みた。

【実験・結果】アポ構造には大腸菌に由来する補酵素と思われる低い電子密度が見られていたが、今回アポ結晶を NADH にソーキングすることで、明瞭な結合様式を知ることができた。リボース環の 2' と 3' の水酸基と相互作用している Asp41 をアラニンに置換すると、活性が劇的に低下した。アポ構造の活性部位には結晶化条件に由来する硫酸イオンやリン酸イオンが強固に結合していたため、これを含まない条件で作製したアポ結晶に L-KDF や C4LHyp をソーキングした。その結果、硫酸イオンの入っていた Arg196 と Arg148 付近やそれ以外の活性部位の空間に、これまでのアポ構造には見られない電子密度が存在していた。発表では、これらの電子密度のリファインメントの結果について報告する。

D-3 *Klebsiella pneumoniae* 40bXX 由来 D-アラビノースの酵素学的諸性質の検討
○綿貫花菜, 望月 進^{1,2}, 吉原明秀^{1,2}
(香川大院・農,¹香川大・農,²香川大・国際希少糖)

【目的】D-アラビノースイソメラーゼ (D-AI) は D-アラビノースと D-リブロース間, L-フコースと L-フクロース間など, D-スレオ型のアルドースの異性を触媒する酵素であり, *Klebsiella pneumoniae* 40bXX 由来 D-AI が L-アルトロース生産に応用できることが報告されている。そこで本研究では *K. pneumoniae* 40bXX 由来 D-AI を大腸菌に組換え, さらなる効率化を図った。

【方法・結果】本酵素の活性測定では, 基質に D-アラビノースを用いて反応を行い, システインカルバゾール法により活性を算出した。*Klebsiella pneumoniae* 40bXX 由来 D-AI を高発現する組換え大腸菌を SB 培地で 12 時間培養し, 4 時間誘導を行った後, 菌体を回収して粗酵素を調製した。その後, His-Trap HP カラムを用いて精製を試みた結果, SDS-PAGE にて単一なバンドが見られ, その分子量は 60 kDa であった。精製酵素の比活性は 0.38 U/mg であり, 12 倍に精製され, その収率は 8.34% であった。得られた精製酵素を用いて, 酵素学的諸性質の検討を行った結果, pH 9.0 のグリシン水酸化ナトリウム緩衝液で最大の活性を示し, 最適反応温度は 50°C を示した。さらに, 40°C まで 45% の熱安定性を保持し, pH 7.5-8.9 のトリス塩酸緩衝液と pH 8.5-9.0 のグリシン水酸化ナトリウム緩衝液の存在下で 80% 以上の活性を保持した。また, マンガンイオン存在下で最大活性を示した。さらに, 8 種のアルドペントース, 16 種のアルドヘキソース, L-フコースの計 25 種を用いた基質特異性検討の結果, D-アラビノース, D-アルトロース, L-ガラクトース, L-フコースの 4 種類の基質で反応が確認された。

D-4 *Thermus thermophilus* HB8 由来トランスアルドラーゼを用いた D-グリセロ-D-アルトロ-オクツロース生産
○三好恵梨佳, 望月 進^{1,2}, 花木祐輔^{1,2}, 神鳥成弘^{2,3}, 何森 健^{1,2},
吉原明秀^{1,2} (香川大院・農,¹香川大・農,²香川大・国際希少糖,³香川大・医)

【目的】D-フルクトース 6-リン酸から D-エリスロース 4-リン酸に 3 炭素鎖を転移し D-セドヘプトロース 7-リン酸へ変換する反応を触媒するトランスアルドラーゼが, リン酸化していない単糖に作用することを見出した。これを利用し *Thermus thermophilus* HB8 由来のトランスアルドラーゼを用いて八炭糖の生産を目指した。

【方法・結果】*T. thermophilus* HB8 由来のトランスアルドラーゼを高発現する組換え大腸菌を終濃度 0.1 mg/mL のアンピシリンを含む SB 培地を用いて 30°C で培養し, 粗酵素液を調製した。本粗酵素を HisPrep FF16/10 カラムを用いて精製し, 得られた精製酵素についてアクセプターの基質特異性を検討した。基質にジヒドロキシアセトンと 8 種のアルドペントースを用いて反応を行い, HPLC 分析により転換率をそれぞれ算出した。結果から, D-キシロース, L-リキソース, D-リボース, L-アラビノース, D-アラビノース, D-リキソース, L-リボース, L-キシロースに対する転換率は, それぞれ 56%, 50%, 41%, 33%, 9%, 7%, 4%, 2% であった。さらに, 基質にジヒドロキシアセトンと D-リボースを用いて 50°C, 24 時間反応させた後に HPLC 分析を行った結果, 保持時間 16.9 分に生産物と思われるピークが確認された。この生産物を GL-P2611 カラムにて分離, 精製し得られた生産物について LC/MS 分析, ¹³C-NMR 分析を行った結果, D-グリセロ-D-アルトロ-オクツロースであることが示唆された。

D-5 レスベラトロールによる低グルコース誘導軟骨細胞死の抑制および分化促進効果
○張 睿, 神吉けい太 (岡山理大院・工)

【目的】軟骨再生医療では軟骨細胞を分化させ、三次元的に組織構築することで移植用の軟骨組織を作り出すことが試みられている。しかしながら脈管系を持たない細胞凝集体では低栄養、低酸素により内部で細胞死が起こりやすいという問題があり、細胞生存を高く維持する方法が必要である。我々はこれまでポリフェノール的一种であるレスベラトロール (RSV) が、栄養欠乏環境における細胞生存促進に有用であることを筋芽細胞で明らかにした。本研究では軟骨細胞を用い、RSV による低グルコース誘導軟骨細胞死の抑制および分化促進効果を検討した。【方法】ラット軟骨細胞を用い、低グルコース培養による細胞死誘導条件を検討した。低グルコース培養による細胞死誘導モデルに対し、RSV の細胞死抑制効果を Live/Dead アッセイにより検討した。さらに、RSV 処理による軟骨分化マーカー遺伝子の発現変化を定量的 PCR 法により検討した。【結果】低グルコース培養 (0.5 mg/ml) により軟骨細胞の経時的な生存低下が認められたが、RSV 50 μ M 処理により細胞生存は高く保たれた。TGF- β 1 刺激による軟骨分化モデルにおいて RSV 24h 前処理を施した場合、前処理なしに比べ軟骨マーカー遺伝子の発現が COL1A1 で 2 倍、COL2A1 で 4 倍、SOX9 で 47 倍にそれぞれ上昇した。【結論】軟骨細胞の生存、増殖にはグルコースが重要であり、RSV は低グルコース環境における軟骨細胞生存を維持できた。また RSV 処理により軟骨マトリクス因子の生産促進効果が示唆された。したがって軟骨組織構築に RSV 処理を応用することで、組織内部の細胞死を軽減し、より軟骨マトリクス蓄積を促す効果が期待できる。

D-6 Phloroglucinol の抗アレルギー効果に関する研究
○杉浦義正, 臼井将勝, 宮田昌明
(水大校・食品科学)

【目的】我々は、褐藻ポリフェノール (フロロタンニン) の抗アレルギー性について研究を進めてきた。代表的な成分として eckol, bieckol, dieckol, phlorofucofuroeckol-A があり、それらは phloroglucinol (PG) を基本骨格 (単量体) とするオリゴマーである。この PG の抗アレルギー性に関する報告例は少なく、オリゴマーに対して単量体の PG がその程度効果を有しているか、本研究で調査した。

【方法】PG は市販標品 (東京化成) を用いた。抗アレルギー性評価として、*in vivo* 実験では、ICR マウス (オス, 4 週齢) を用いた耳介浮腫抑制試験を行った。起炎剤はアラキドン酸 (AA), ホルボールエステル (TPA), オキサゾロン (OXA) の 3 種を用い、PG は経皮および経口投与した。*In vitro* 実験では、RBL-2H3 細胞を用いた脱顆粒抑制試験を行った。RBL 細胞を抗原抗体反応で刺激し、 β -hexosaminidase の放出量を指標として有効性を評価した。

【結果】経皮投与の場合、何れの起炎剤のアレルギー性炎症に対しても有効性がみられ、抑制率は約 35 ~ 54% だった。経口投与の場合は AA 誘発炎症で有効性がみられなかったが、TPA (抑制率: 15.0%) および OXA (抑制率: 21.7%) 誘発炎症に対してそれぞれ抑制が確認された。また、RBL 細胞の脱顆粒も抑制し、 IC_{50} 値は 182 μ M だった。このように PG にも抗アレルギー性が認められたが、過去の知見と照らし合わせるとオリゴマーよりも弱い傾向にあることが分かった。現在、アレルギー炎症関連酵素の活性に対する阻害も調査中である。

D-7 食用トノサマバッタの健康機能性
○岡本翔太, 藤田晃大, 栗林宏美, 菅原亮平¹, 樋口智之¹, 井内良仁
(山口大・農, ¹弘前大・農)

【目的】トノサマバッタ (*Locusta migratoria*) は脂肪蓄積抑制効果があるとされているアスタキサンチンを含むなど、食品機能性を持つと考えられる。本研究ではトノサマバッタを用いてマウスの食餌実験や培養細胞実験を行い、トノサマバッタが持つ食品機能性の評価を目的とする。

【方法・結果】はじめにマウスに高脂肪食と共にトノサマバッタを摂食させ、体重や臓器重量の変化を調べた。その結果、体重増加の抑制、脂肪蓄積の抑制、肝臓の肥大抑制がみられた。次に脂肪前駆細胞である 3T3-L1 細胞を用いて、トノサマバッタが持つ脂肪蓄積の抑制効果の作用機序を評価した。結果、トノサマバッタの水溶性抽出液を添加すると脂肪の蓄積が抑制され、脂肪生成に関連する遺伝子である PPAR γ , C/EBP α の発現量が抑制されていることがわかった。以上の結果から、トノサマバッタに含まれる水溶性成分は、脂肪生成関連因子を抑制することで肥満モデルマウスの脂肪蓄積を抑制している可能性があることをつきとめた。

D-8 コクヌストモドキの Takeout タンパク質 TO2 および TO4 の機能解析
○塩月孝博, 山中一輝, 西本 渉
(島根大・生資科)

【目的】Takeout (TO) タンパク質は、Tubular lipid-binding protein (TULIP) superfamily に属し、各昆虫種に約 20 種類の遺伝子が存在するものの相互の相同性は高くない。その機能として、昆虫種や分子種により、概日リズム、求愛行動、寿命、飢餓応答、行動相変異、薬剤耐性、幼若ホルモン輸送に関わるとする報告がある。一生物種の TO 遺伝子の機能を横断的に調べることで、新たな害虫制御剤の標的分子を発見する可能性が期待されるので、その中でコクヌストモドキの TO2 と TO4 の機能推定を試みた。

【方法・結果】コクヌストモドキでは 29 種の TO 遺伝子が存在し、本研究ではそのうち、キイロショウジョウバエ TO のアミノ酸配列に相同性が比較的高い TO4 と、低い TO2 を選定した。

6 齢幼虫期から成虫へ羽化後の遺伝子発現を調査したところ、TO4, TO2 のいずれも雌雄差がなく、TO4 は調べた全生育段階で発現していたのに対し、TO2 は蛹後期以外での発現が確認され、異なっていた。

各遺伝子について二本鎖 RNA(250 ng)を 7 齢 1 日目幼虫に注射し、生育や脱皮変態に与える影響を調べたところ、TO4 遺伝子の場合には僅かに致死効果と体重減少の傾向が認められた。一方、TO2 遺伝子の場合には、体重減少が有意であり、対照区が蛹化や羽化の時期に多くの個体が致死した。このことは TO2 遺伝子は蛹化・羽化の変態を阻害していることが考えられた。また、致死した個体の中には、虫体が凹み、中腸が肛門から外部へ飛び出している症状が観察され、消化器官へ影響を与えたものと推測された。

これらの結果から、TO2 の機能阻害による害虫制御技術の開発が期待される。

D-9 赤色型のジャコウアゲハ幼虫が生じる環境要因の検討

手嶋穂香¹, 北沢千里^{2,3}, ○山中 明^{1,4}

(¹山口大・理, ²山口大・教育, ³山口大院・東アジア, ⁴山口大院・創成科学)

【目的】ジャコウアゲハは多化性のチョウであり、本種の特徴として、幼虫体色および蛹体色が環境要因によって変化する表現型可塑性を示す。野外における4齢および5齢幼虫の体色は、黒色、赤色および中間色を生じる。今回、実験室内の飼育環境下において、赤色型体色を生じさせる環境要因を検討した。さらに、黒色および赤色型幼虫の皮膚組織を比較した。

【方法・結果】赤色型5齢幼虫の体色発現を決定する時期を推定のため、孵化後の幼虫を長日25℃で飼育し、4齢0, 1, 2, 3日目の1日だけ6時間38℃の高温処理をかけ、5齢2日目の幼虫体色を判定した。その結果、すべての個体の幼虫体色は黒色型と判定された。次に、高温を経験する期間の長さが幼虫体色に与える影響を調べた。4齢幼虫において、高温を経験する期間の長さに関係なく、脱皮前の幼虫期に高温を経験している、かつ、高温を経験する期間が長いという2つの条件が重なると、中間型の幼虫体色が生じる結果が得られた。さらに、一日に経験する温度の日内格差について検討した。幼虫を長日25℃および長日30℃条件下で飼育し、3齢から4齢の間の毎日6時間、38℃の温度を経験させ、日内格差13度と8度が幼虫体色の発現にどのような影響を与えるかを調査した。その結果、日内の温度格差の経験が、赤色型の体色を誘導する可能性が示唆された。また、体色の違いによる皮膚の色素沈着および形態を比較観察した。体色の違いに依らず、真皮細胞に赤色素沈着が確認され、一方、表皮におけるメラニン色素の沈着度合いは、黒色型と赤色型幼虫で明瞭に違いが観察された。

D-10 伝統的製造法におけるアユ粕漬けの粕添加効果

○福田 翼, 宮本蓮斗, 辰野竜平, 古下 学

(水大校・食品科学)

【目的】アユの粕漬けは、魚貝調味法集(1897年)に記載された保存食である。同集によれば、アユの粕漬けは、塩漬けしたアユを酒粕に漬け込んで製造される。さらに、同集には、みりん粕を利用したアユの小判漬けも記載されている。そこで本研究では、同集におけるアユの粕漬けの粕添加効果を明らかにするため、酒粕(以下、酒粕漬け)およびみりん粕(以下、みりん粕漬け)を用いたアユの粕漬けを製造し、保存期間中の微生物数変化および化学成分変化を調査した。

【方法・結果】アユの粕漬けは、魚貝調味法集に記載された方法を参考にした。すなわち、解凍した養殖アユを背開きにし、塩蔵を2回行った。これを水道水にて洗浄したものを粕漬け用試料とした。粕漬け条件は、酒粕漬け、みりん粕漬けおよび粕の漬け込みを行っていないもの(以下、未処理)とした。塩蔵および粕漬け温度は20℃とし、保存期間は40日間とした。

未処理、酒粕漬けおよびみりん粕漬けにおける一般生菌数は、保存期間中、 10^2 CFU/g以下で推移していた。同様に、いずれの粕漬け条件における乳酸菌数は、保存期間中、 10^2 CFU/g以下で推移していた。未処理、酒粕漬けおよびみりん粕漬けにおけるTCA可溶性窒素量は、時間経過に伴い、増加した。保存30日目における酒粕漬けのTCA可溶性窒素量は、未処理の3倍程度、みりん漬けの2倍程度、高かった。保存30日目における酒粕漬け総遊離アミノ酸量は、未処理の7倍程度、みりん漬けの5倍程度、高かった。

賛助企業

- ・アルファー食品(株)
- ・池田糖化工業(株)
- ・エイチビィアイ(株)
- ・(株)えひめ飲料
- ・(株)大熊
- ・大塚器械(株) 西条支店
- ・岡山県酒造組合
- ・オハヨー乳業(株)
- ・片山化学工業(株) 岡山営業所
- ・カバヤ食品(株)
- ・(株)機能性食品開発研究所
- ・協和発酵バイオ(株)
山口事業所生産技術研究所
- ・キリンビール(株) 岡山工場
- ・久保田商事(株) 広島営業所
- ・寿製菓(株)
- ・三栄源エフエフアイ(株)
- ・(株)四国総合研究所
- ・四国乳業(株)
- ・新青山(株)
- ・神協産業(株)
- ・(株)酔心山根本店
- ・(株)ソフィ
- ・(株)大愛
- ・大興産業(株)
- ・大山乳業農業協同組合
- ・大洋香料(株)
- ・鳥取科学器械(株)
- ・日本オリーブ(株)
- ・(株)林原
- ・備前化成(株)
- ・(株)氷温研究所
- ・広島和光(株)
- ・(株)フジワラテクノアート
- ・(株)扶桑理化
- ・プロテノバ(株)
- ・丸善製菓(株)
- ・マルトモ(株)
- ・(株)三ツワフロンテック
- ・宮下酒造(株)
- ・ヤスハラケミカル(株)
- ・ヤマキ(株)
- ・(株)やまだ屋
- ・八幡物産(株) (五十音順)

2023年5月1日現在 43社

日本農芸化学会中四国支部第65回講演会

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：石丸隆行

連絡先：〒755-0805 山口県宇部市文京台2-1-1

宇部フロンティア大学短期大学部食物栄養学科

T E L : 0836-37-5125

E-mail : isimaru@ube-c.ac.jp

支部からのお知らせ

1. 学会創立100周年記念 2023年度中四国支部・西日本支部合同大会（第66回講演会）
開催日：2023年9月21日（木）～9月22日（金）
場 所：高知県立県民文化ホールおよび高知県立大学
内 容：特別講演，受賞講演，一般講演
講演申込締切：8月1日（火）
講演要旨締切：8月8日（火）
世話人：大西浩平（高知大学）
2. 学会創立100周年記念 第67回 講演会（例会）
開催日：2024年1月27日（土）
場 所：米子コンベンションセンター
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：有馬二郎（鳥取大学）
3. 学会創立100周年記念 第46回 市民フォーラム
開催日：2023年10月14日（土）
場 所：岡山大学 資源植物科学研究所 会議室
内 容：招待講演
世話人：谷 明生（岡山大学）
4. 学会創立100周年記念 第38回 若手研究者シンポジウム
開催日：2023年7月1日（土）
場 所：高知大学（物部キャンパス）
内 容：招待講演，一般講演
世話人：若松泰介（高知大学）

日本農芸化学会中四国支部事務局

〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7

愛媛大学大学院農学研究科内

支部ホームページ：<http://chushikoku.jsbba.or.jp/>

E-mail：chushikoku@jsbba.or.jp