

学会創立100周年記念  
日本農芸化学会中四国支部第67回講演会

# 講演要旨集

日時：2024年1月27日（土）13時10分開会

場所：米子コンベンションセンター



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 67 回講演会（例会）

会場：米子コンベンションセンター（ビッグシップ）

日時：2024 年 1 月 27 日（土）

11:00～12:00 幹事打合せ (第 1 会議室)

12:10～13:00 支部参与会 (第 7 会議室)

13:10～13:30 受賞講演 (国際会議室)

2023 年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞

「培養法とメタゲノム法を駆使した糖質分解酵素の探索」

松沢智彦（香川大・農）

13:30～14:50 シンポジウム「22 世紀への農芸化学「SDGs のその先へ」  
(国際会議室)

「食生活で変わる子どもの未来」

竹森久美子（近畿大・農）

「植物プランクトンに感染するウイルスの研究～水産学的な役割を探る～」

外丸裕司（水産機構・水技研）

「一次生産を担う微生物を応用した資源循環型バイオものづくり」

加藤淳也（産総研・機能化学）

15:00～17:36 一般講演 (第 1～7 会議室, 国際会議室)

18:00～19:30 懇親会 (レストラン ル・ポルト)

**一般講演 会場一覧表**

会場		講演番号	分類
A	第1会議室 (3階)	A1 ~ A12	遺伝子・ゲノム・酵素・タンパク質1・ 環境・新技術・その他
B	第2会議室 (3階)	B1 ~ B12	酵素・タンパク質2
C	第3会議室 (3階)	C1 ~ C12	動物・食品1
D	第4会議室 (5階)	D1 ~ D11	食品2
E	第5会議室 (5階)	E1 ~ E13	微生物1
F	第6会議室 (5階)	F1 ~ F13	微生物2
G	第7会議室 (6階)	G1 ~ G13	植物
H	国際会議室 (2階)	H1 ~ H11	有機化学・天然物化学・食品3

一般講演 座長一覧表

会場	講演番号	座長
A	A1 ~ A4	岩崎 崇 (鳥取大・農)
	A5 ~ A8	藪田行哲 (鳥取大・農)
	A9 ~ A12	原田尚志 (鳥取大・工)
B	B1 ~ B4	渡辺誠也 (愛媛大院・農)
	B5 ~ B8	鈴木宏和 (鳥取大・工)
	B9 ~ B12	前田 恵 (岡山大・農)
C	C1 ~ C3	美藤友博 (鳥取大・農)
	C4 ~ C6	室田佳恵子 (島根大・生資科)
	C7 ~ C9	河野 強 (鳥取大・農)
	C10 ~ C12	山中 明 (山口大・理)
D	D1 ~ D4	上野 聡 (広島大・生物生産)
	D5 ~ D8	中村俊之 (岡山大院・環境生命)
	D9 ~ D11	小川雅廣 (香川大・農)
E	E1 ~ E4	有馬二郎 (鳥取大・農)
	E5 ~ E7	片岡尚也 (山口大院・創成科学)
	E8 ~ E10	阿座上弘行 (山口大・中高温微研セ)
	E11 ~ E13	金尾忠芳 (岡山大院・環境生命)
F	F1 ~ F4	岡本賢治 (鳥取大・工)
	F5 ~ F7	大城 隆 (鳥取大・工)
	F8 ~ F10	石原 亨 (鳥取大・農)
	F11 ~ E13	神崎 浩 (岡山大院・環境生命)
G	G1 ~ G4	宗正晋太郎 (岡山大院・環境生命)
	G5 ~ G7	丸田隆典 (島根大・生資科)
	G8 ~ G10	肥塚崇男 (山口大院・創成科学)
	G11 ~ G13	小田賢司 (岡山県農総セ・生科研)
H	H1 ~ H3	田村純一 (鳥取大・農)
	H4 ~ H7	一柳 剛 (鳥取大・農)
	H8 ~ H11	田井章博 (徳島大・生物資源)

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、時間厳守で進行をお願いします。

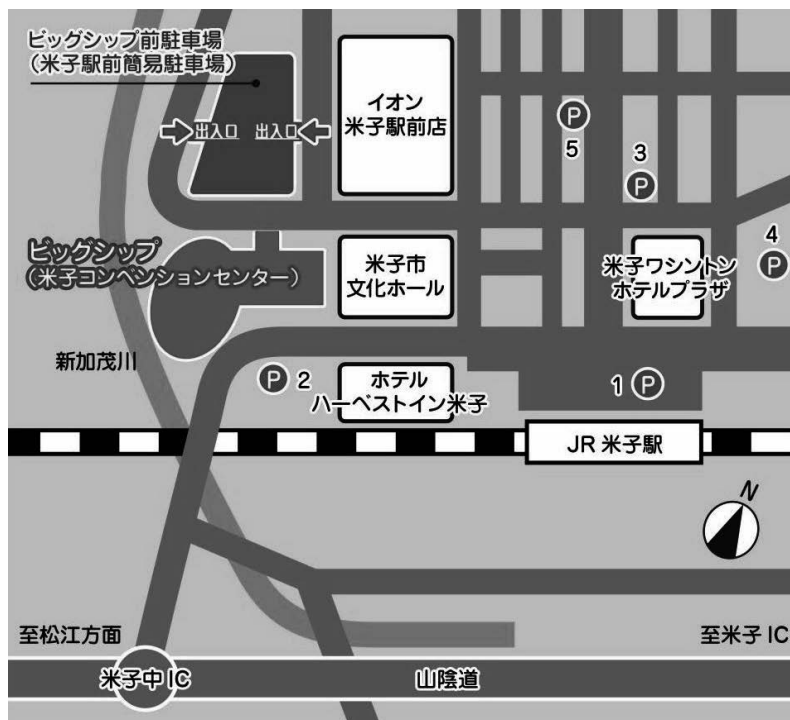
## 支部講演会（例会）会場案内 米子コンベンションセンター（ビッグシップ）

(〒683-0043 鳥取県米子市末広町 294)

受付	2階 国際会議室前 玄関ホール
受賞講演・シンポジウム会場	2階 国際会議室
一般講演 A会場	3階 第1会議室
B会場	3階 第2会議室
C会場	3階 第3会議室
D会場	5階 第4会議室
E会場	5階 第5会議室
F会場	5階 第6会議室
G会場	6階 第7会議室
H会場	2階 国際会議室
幹事打合会場	3階 第1会議室
支部参与会場	6階 第7会議室

クロークは受付横にございます。休憩室は設けませんが、ロビーや各階踊り場付近に飲み物を置きますのでご利用ください。

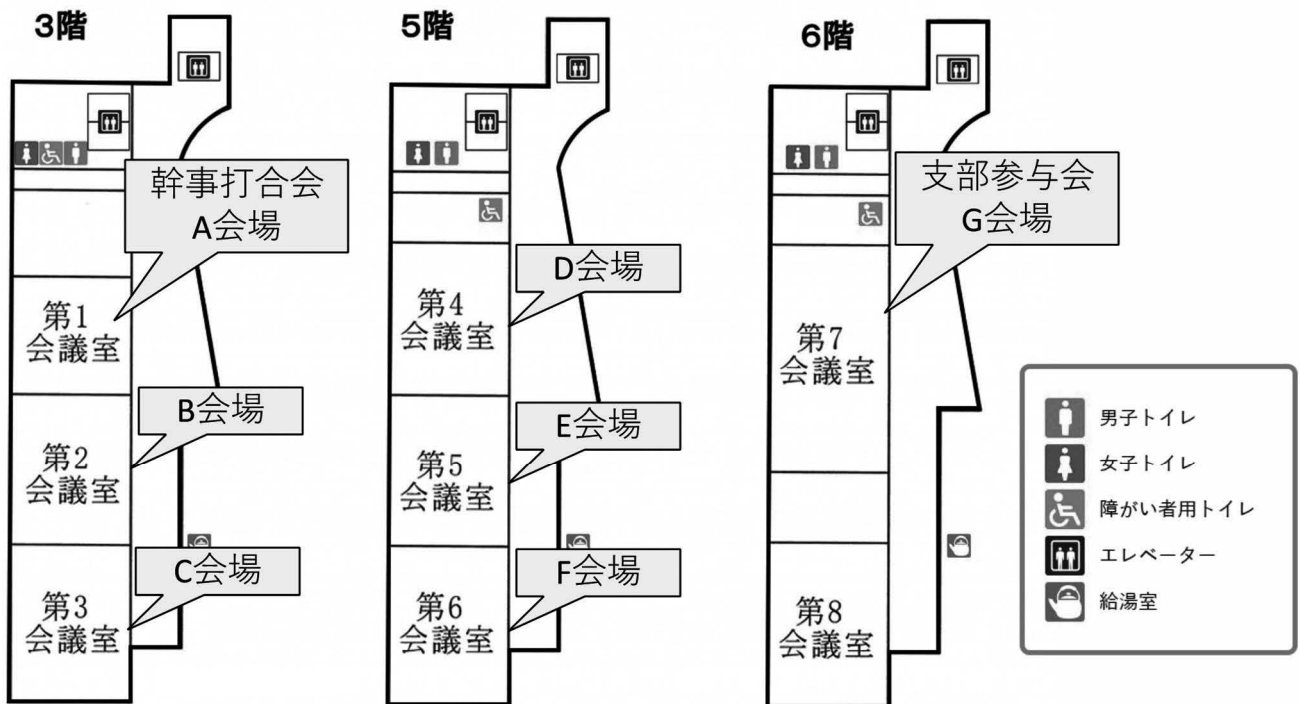
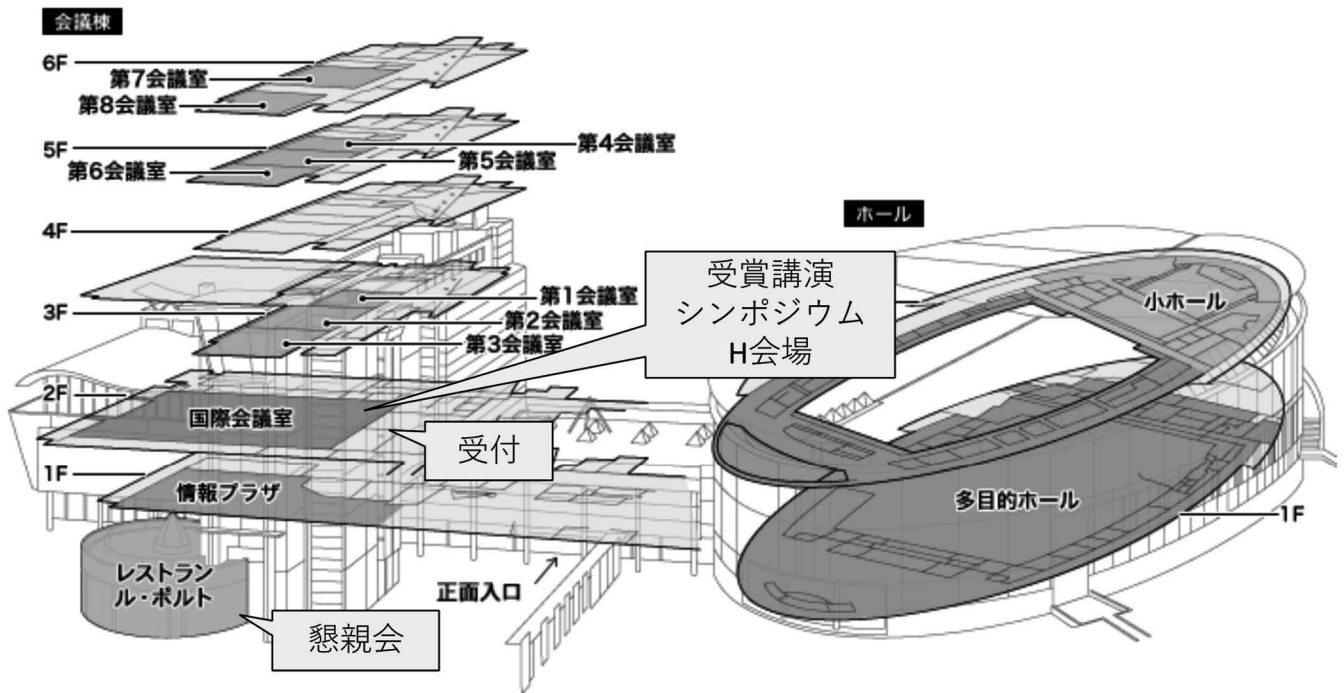
### アクセスマップ



交通アクセスの詳細と駐車場は以下のサイトをご利用ください。

<https://www.bigship.or.jp/bigship/guest/15/>

# 会場見取り図







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 67 回講演会（例会）**  
**プログラム**

会場：米子コンベンションセンター（ビッグシップ）

日時：2024 年 1 月 27 日（土）

- |             |                                    |                   |
|-------------|------------------------------------|-------------------|
| 11:00～12:00 | 幹事打合せ                              | （第 1 会議室）         |
| 12:10～13:00 | 支部参与会                              | （第 7 会議室）         |
| 13:10～13:30 | 受賞講演                               | （国際会議室）           |
|             | 2023 年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞              |                   |
|             | 「培養法とメタゲノム法を駆使した糖質分解酵素の探索」         |                   |
|             | 松沢智彦（香川大・農）                        |                   |
|             | 座長 田中直孝（香川大・農）                     |                   |
| 13:30～14:50 | シンポジウム「22 世紀への農芸化学「SDGs のその先へ」     | （国際会議室）           |
|             | 「食生活で変わる子どもの未来」                    |                   |
|             | 竹森久美子（近畿大・農）                       |                   |
|             | 座長 八木寿梓（鳥取大・工）                     |                   |
|             | 「植物プランクトンに感染するウイルスの研究～水産学的な役割を探る～」 |                   |
|             | 外丸裕司（水産機構・水技研）                     |                   |
|             | 座長 原田尚志（鳥取大・工）                     |                   |
|             | 「一次生産を担う微生物を応用した資源循環型バイオものづくり」     |                   |
|             | 加藤淳也（産総研・機能化学）                     |                   |
|             | 座長 鈴木宏和（鳥取大・工）                     |                   |
| 15:00～17:36 | 一般講演                               | （第 1～7 会議室，国際会議室） |
| 18:00～19:30 | 懇親会                                | （レストラン ル・ポルト）     |

## ◇ 一般講演プログラム

### A会場（第1会議室）「遺伝子・ゲノム・酵素・タンパク質1・環境・新技術・その他」

- A-1 15:00 海洋性珪藻における Cas13d を利用した episome 導入型 RNA 編集  
○内山琴音, 小山菜々子<sup>1</sup>, 松田祐介<sup>2</sup>, 原田尚志<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・工, <sup>2</sup>関学大・生命環境)
- A-2 15:12 ポリシストロニック遺伝子間の連結配列が下流遺伝子の発現効率に及ぼす影響  
○大崎南美, 大城 隆<sup>1,2</sup>, 鈴木宏和<sup>1,2</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・工, <sup>2</sup>鳥取大・GSC)
- A-3 15:24 *Geobacillus thermodenitrificans* K1041 のアルギン酸資化に関わる未知遺伝子の探索  
○原 功弥, 大城 隆<sup>1,2</sup>, 鈴木宏和<sup>1,2</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・工, <sup>2</sup>鳥取大・GSC)
- A-4 15:36 好酸性従属栄養細菌 *Acidiphilium cryptum* JF-5 株を宿主とした組換え発現系の構築  
○小銭真実, 根本理子, 田村 隆, 金尾忠芳  
(岡山大院・環境生命)
- A-5 15:48 インドキシル硫酸は AhR/c-Myc 経路を介して大腸がん細胞の増殖と EGF 感受性を亢進させる  
○一坂 優, 矢野彰三<sup>1</sup>, 丹羽利充<sup>2</sup>, 清水英寿  
(鳥根大院・自然科学, <sup>1</sup>鳥根大・医, <sup>2</sup>修文大)
- A-6 16:00 リソソーム集積型抗体を利用した選択的エクソソーム除去技術の開発  
○山田翔太, 河野 強, 岩崎 崇  
(鳥取大院・持社創生)
- A-7 16:12 タンパク質性足場 CutA1 循環置換体の設計と特性評価  
○佐々木統也, 今村維克<sup>1</sup>, 今中洋行<sup>1</sup>  
(岡山大・工, <sup>1</sup>岡山大院・環境生命)
- A-8 16:24 CutA1 を利用したタンパク質性分子認識素子の設計と静電的相互作用モデル評価  
○光成麻弥, 渡邊滉大, 今村維克, 今中洋行  
(岡山大院・環境生命)

- A-9 16:36 LED シグナル光照射による微細藻類ユーグレナの獲得形質と大量培養技術についての研究  
○宮腰峻平, 山中虎太郎, 山本海星, 白石純也<sup>1</sup>, 前田淳史, 梶山博司<sup>1</sup>  
(徳島文理大・理工, <sup>1</sup>徳島文理大院・工)
- A-10 16:48 シグナル光照射による植物の生育および代謝コントロールの研究  
○白石純也<sup>1</sup>, 漆原華保<sup>2</sup>, 川島真文<sup>2</sup>, 前田淳史<sup>2</sup>, 梶山博司<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>徳島文理大院・工, <sup>2</sup>徳島文理大・理工)
- A-11 17:00 低温アクアポニックスの構築と溪流魚飼育への応用  
○松本拓己, 清水克彦<sup>1</sup>, 有馬二郎<sup>2</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・CoRE, <sup>2</sup>鳥取大・農)
- A-12 17:12 熱帯・亜熱帯作物病害のバイオコントロールを目的としたローカル微生物資源の探索  
○富田百合子, 伊藤通浩<sup>1</sup>, 新里尚也<sup>1</sup>, 伊禮 信<sup>2</sup>, 有江 力<sup>3</sup>, 木戸一孝<sup>4</sup>,  
児玉基一朗<sup>4</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>琉球大・熱生研, <sup>2</sup>沖縄農研セ, <sup>3</sup>農工大院・農,  
<sup>4</sup>鳥取大・農)

## B会場（第2会議室）「酵素・タンパク質2」

- B-1 15:00 単細胞紅藻ガルデリアが産生する糖タンパク質の *N*-グリカン構造  
○古賀優子<sup>1</sup>, 周 柏峰<sup>2</sup>, 宮城島進也<sup>2</sup>, 木村吉伸<sup>3,4</sup>, 前田 恵<sup>1,4</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大・農, <sup>2</sup>国立遺伝研・遺伝形質, <sup>3</sup>くら作大・食文, <sup>4</sup>岡山大院・環境生命)
- B-2 15:12 ENGase 欠損トマト果実を用いた植物 *N*-グリカンに結合するタンパク質の同定  
○児玉怜央<sup>1</sup>, 木村吉伸<sup>1,2</sup>, 前田 恵<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命, <sup>2</sup>くら作大・食文)
- B-3 15:24  $\beta$ 1,2-キシロース転移酵素と  $\alpha$ 1,3-フコース転移酵素を欠損したシロイヌナズナの遊離糖鎖構造解析  
○山本恭子<sup>1</sup>, 梶浦裕之<sup>2</sup>, 三崎 亮<sup>2</sup>, 藤山和仁<sup>2</sup>, 木村吉伸<sup>3,4</sup>, 前田 恵<sup>1,4</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大・農, <sup>2</sup>阪大・国際交流セ, <sup>3</sup>くら作大・食文, <sup>4</sup>岡山大院・環境生命)
- B-4 15:36 *Flavobacterium* sp. SW 菌株由来の新規フコイダン脱硫酸化酵素  
○堀井悠暉, 藤田太洋<sup>1</sup>, 八木寿梓<sup>2</sup>, 鈴木宏和<sup>2</sup>, 大城 隆<sup>2</sup>  
(鳥取大・工, <sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大院・工)
- B-5 15:48 放線菌 *Cellulosimicrobium* 属由来キチナーゼが持つ Carbohydrate Binding Module family 5 の機能解析  
○仁木大輔, 益江広稀<sup>1</sup>, 美藤友博<sup>2</sup>, 清水克彦<sup>3</sup>, 有馬二郎<sup>2</sup>  
(鳥取大院・連農, <sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大・農, <sup>3</sup>鳥取大・CoRE)
- B-6 16:00 *p*-Nitrophenyl *N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide 資化性菌 *Enterococcus* sp. MK26 株が生産する陰イオン交換クロマトグラフィーの溶出位置が異なる 4 種類の  $\beta$ -*N*-acetylglucosaminidase  
○森岡京平<sup>1</sup>, 小野はるか<sup>2</sup>, 小出麻奈<sup>1</sup>, 菅沼笙子<sup>1</sup>, 仁戸田照彦<sup>1,2</sup>, 神崎 浩<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命, <sup>2</sup>岡山大・農)
- B-7 16:12 L-2-Keto-3-deoxyfuconate 4-dehydrogenase における基質特異性の構造基盤の解明  
○赤樫実結, 渡辺誠也<sup>1</sup>  
(愛媛大院・農, <sup>1</sup>愛媛大・沿岸環境科研セ)
- B-8 16:24 Functional insights of allosteric and non-allosteric control of chloroplastic glutathione peroxidase like-1 in *Euglena gracilis*  
○Topu Raihan, Takahiro Ishikawa<sup>1</sup>  
(UGSAS, Tottori Univ., <sup>1</sup>Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Shimane Univ.)

- B-9 16:36 *Saccharolobus solfataricus* P2 由来 L-グルタミン酸デヒドロゲナーゼが示す基質特異性の温度依存的変化  
○岡部 樹, 平野将司<sup>1</sup>, 大森勇門<sup>2</sup>, 瀬川美菜子<sup>2</sup>, 米田一成<sup>1</sup>, 大島敏久<sup>2</sup>, 櫻庭春彦  
(香川大院・農, <sup>1</sup>東海大・農, <sup>2</sup>大工大・工)
- B-10 16:48 ピロリン-5-カルボン酸レダクターゼの触媒機構の解明  
○伊澤命吹, 林 順司<sup>1</sup>, 川上竜巳<sup>1</sup>, 金丸 芳<sup>1</sup>, 大島敏久<sup>2</sup>, 櫻庭春彦<sup>3</sup>  
(徳島大院・生物, <sup>1</sup>徳島大・生物, <sup>2</sup>大工大・工, <sup>3</sup>香川大・農)
- B-11 17:00 新規二機能型融合酵素ジアミノピメリン酸脱炭酸酵素/アスパラギン酸キナーゼに関する研究  
○山田萌加, 林 順司<sup>1</sup>, 川上竜巳<sup>1</sup>, 金丸 芳<sup>1</sup>, 大島敏久<sup>2</sup>, 櫻庭春彦<sup>3</sup>  
(徳島大院・生物, <sup>1</sup>徳島大・生物, <sup>2</sup>大工大・工, <sup>3</sup>香川大・農)
- B-12 17:12 Novozym435<sup>(R)</sup>を用いた大豆由来ホスファチジルコリンと魚油とのエステル交換反応におけるアルブミン添加の影響  
○池田和弥, 山本幸弘<sup>1</sup>  
(県広大院・総合学術, <sup>1</sup>県広大・生物資源)

## C会場（第3会議室）「動物・食品1」

- C-1 15:00 柿葉茶とマメ茶が食事由来脂質及び糖質の消化吸収に及ぼす影響  
○松本敏也<sup>1</sup>, Bhuiya Mohammad Ariful Islam<sup>2</sup>, 劉 天歌<sup>1</sup>, 鶴永陽子<sup>3</sup>,  
室田佳恵子<sup>1,2,4</sup>  
(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>鳥取大院・連農, <sup>3</sup>島根大・人間科学, <sup>4</sup>島根大・生資料)
- C-2 15:12 ブラジル産グリーンプロポリス由来経皮酸誘導体の門脈系/リンパ系輸送比の検証  
と代謝物の比較  
○山家雅之, 谷 央子, 室田佳恵子<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>(株)山田養蜂場・健康科研, <sup>1</sup>島根大・生資料)
- C-3 15:24 腸管免疫グロブリン A 誘導における CpG オリゴ DNA と微生物構成成分の相乗効果  
とその機構の解析  
○川井光瑠, 鈴木卓弥, 山本祥也  
(<sup>1</sup>広島大院・統合生命)
- C-4 15:36 ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏がリパーゼ活性に及ぼす影響  
○永野修次, 小松豪太, 藪田行哲, 渡邊文雄, 美藤友博  
(<sup>1</sup>鳥取大・農)
- C-5 15:48 ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏が誘発する早期老化状態が線虫 *C. elegans* の運動機能に及ぼす影響  
について  
○小川拓郎, 大田千夏, 山本 葵, 藪田行哲, 渡邊文雄, 美藤友博  
(<sup>1</sup>鳥取大・農)
- C-6 16:00 ペルオキシソーム欠損細胞における極長鎖脂肪酸毒性とオレイン酸による毒性解除  
○砂川佳吾, Hanif Ali, 山西百音, 小林美佑, 公門瑞希, Rumana Yesmin Hasi,  
栗飯原睦美, 田中 保  
(<sup>1</sup>徳島大院・生物資源)
- C-7 16:12 ジャコウアゲハ幼虫の表現型可塑性について  
○梅津颯太<sup>1</sup>, 手嶋穂香<sup>1</sup>, 北沢千里<sup>2</sup>, 山中 明<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>山口大・理, <sup>2</sup>山口大・教育, <sup>3</sup>山口大院・創成科学)
- C-8 16:24 ゴマダラチョウの季節型発現における環境要因の検討  
○田中星丞<sup>1</sup>, 北沢千里<sup>2</sup>, 山中 明<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>山口大・理, <sup>2</sup>山口大・教育, <sup>3</sup>山口大院・創成科学)



- C-9 16:36 ルリタテハ成虫の季節型発現調節機構について  
○田中宏明<sup>1</sup>, 北沢千里<sup>2</sup>, 山中 明<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>山口大・理, <sup>2</sup>山口大・教育, <sup>3</sup>山口大院・創成科学)
- C-10 16:48 線虫 *Caenorhabditis elegans* の休眠を制御する短鎖神経ペプチド FLP-1 と受容体 FRPR-1 の機能解析  
○有年梨沙子<sup>1</sup>, 能勢雅代<sup>1</sup>, 小野真弘<sup>2</sup>, 白石 慧<sup>3</sup>, 佐竹 炎<sup>3</sup>, 岩崎 崇<sup>1,2</sup>, 河野 強<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大院・連農, <sup>3</sup>サントリー生命財団)
- C-11 17:00 線虫 *Caenorhabditis elegans* の幼虫休眠／生育を制御する短鎖神経ペプチド FLP-11 の機能解析  
○上垣莉瑚, 能勢雅代, 岩崎 崇, 河野 強  
(鳥取大院・持社創生)
- C-12 17:12 線虫 *Caenorhabditis elegans* の幼虫休眠を制御する短鎖神経ペプチド FLP-11 受容体の探索と機能解析  
○前賀 翔<sup>1</sup>, 上垣莉瑚<sup>1</sup>, 小野真弘<sup>2</sup>, 白石 慧<sup>3</sup>, 佐竹 炎<sup>3</sup>, 岩崎 崇<sup>1,2</sup>, 河野 強<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大院・連農, <sup>3</sup>サントリー生命財団)

## D会場（第4会議室）「食品2」

- D-1 15:00  $\alpha$ -トコフェロール代謝物による生体内抗酸化作用の増強効果  
○西尾友花, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之  
(岡山大院・環境生命)
- D-2 15:12 フラボノイド類の培地中での安定性評価  
○森田凌世, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之  
(岡山大院・環境生命)
- D-3 15:24 アルデヒドの定量を基盤としたアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性評価法の確立  
○永富稜汰, 村田芳行, 宗正晋太郎, 中村俊之, 中村宜督  
(岡山大院・環境生命)
- D-4 15:36 フェノールカルボン酸の細胞保護作用における構造と活性の相関  
○中村宜督, 本山綾乃, Liu Tiansihan, 石倉亜希, Li Kexin, 村田芳行, 宗正晋太郎,  
中村俊之  
(岡山大院・環境生命)
- D-5 15:48 米ぬかワックスを用いた安定なオレオフォームの作製  
○山添多希緒, 小泉晴比古, 上野 聡  
(広島大・生物生産)
- D-6 16:00 実用化に向けたひまわりワックスオレオゲルの最適条件の探索  
○三上春菜, 小泉晴比古<sup>1</sup>, 上野 聡<sup>1</sup>  
(広島大・生物生産, <sup>1</sup>広島大・統合生命)
- D-7 16:12 コオロギの筋肉から回収した塩溶性タンパク質の熱的挙動  
○藤田 武, 石井統也<sup>1</sup>, 小川雅廣<sup>1</sup>  
(香川大院・農, <sup>1</sup>香川大・農)
- D-8 16:24 乳酸菌を活用したヒスタミン非蓄積マグロ魚醤油の開発  
○藤光洋志, 若田幸秀, 根平美沙, 長崎稔拓, 加藤 愛, 小谷幸敏, 斉尾 訓<sup>1</sup>  
(鳥取産技セ・食品, <sup>1</sup>(株)丸綜)

- D-9 16:36 特徴的なアルコール飲料醸造のためのローカル酵母の探索  
○田宮光香子, 青木優佳, 居山日菜乃, 川崎裕香子, 藤井遥花, 下田絵美子,  
児玉基一郎  
(鳥取大・農)
- D-10 16:48 ニホンナシ由来ポリフェノール類の品種間差異  
○河野優花, 秋山結香<sup>1</sup>, 山本博昭, 竹村圭弘, 石原 亨, 児玉基一郎  
(鳥取大・農, <sup>1</sup>鳥取大院・持社創生)
- D-11 17:00 ニホンナシに由来するポリフェノール類の特性と機能性  
○秋山結香, 美藤友博<sup>1</sup>, 藪田行哲<sup>1</sup>, 石原 亨<sup>1</sup>, 下田絵美子<sup>1</sup>, 児玉基一郎<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)

## E 会場（第5会議室）「微生物1」

- E-1 15:00 コリネ型細菌を宿主とした2-ヒドロキシグルタル酸生産とその輸送体に関する研究  
○片岡尚也<sup>1,2</sup>, 松下一信<sup>2,3</sup>, 薬師寿治<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>山口大・研究推進, <sup>2</sup>山口大・中高温微研セ, <sup>3</sup>山口大・農)
- E-2 15:12 グルコノバクター属酢酸菌において外膜ポーリンがペリプラズム代謝と生育に及ぼす影響  
○上田貴樹, 片岡尚也, 松下一信, 薬師寿治  
(山口大院・創成科学)
- E-3 15:24 耐熱菌由来の熱ショックタンパク質による大腸菌のストレス耐性強化  
○佐藤 悠, 岡野憲司<sup>1</sup>, 本田孝祐<sup>2,3</sup>  
(山口大・中高温微研セ, <sup>1</sup>関西大・化生工, <sup>2</sup>阪大・生工国交セ, <sup>3</sup>阪大・先導的学際研)
- E-4 15:36 Comparative analysis of secondary metabolite profiles through overexpression of the SARP-type transcriptional activators  
○Yang Liu, Yuya Misaki, Kenji Arakawa  
(Grad. Sch. Integr. Sci. Life, Hiroshima Univ.)
- E-5 15:48 藍染液中のインジゴ還元におけるリグニンの役割  
○大畑陽花, 中川香澄<sup>1</sup>, 竹内道樹<sup>2</sup>, 阪本鷹行<sup>3</sup>, 櫻谷英治<sup>3</sup>  
(徳島大院・創成科学, <sup>1</sup>岐阜大・応用生物, <sup>2</sup>京大院・農, <sup>3</sup>徳島大院・社会産業)
- E-6 16:00 南極ユキドリ営巣跡から分離した微生物からのバイオフィルム阻害物質のスクリーニング  
木下 颯<sup>1</sup>, 濱本登羽<sup>1</sup>, Siddiqa Ayesha<sup>1</sup>, 林 昌平<sup>2</sup>, ○阿座上弘行<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>山口大・農, <sup>2</sup>島根大・生資科, <sup>3</sup>山口大・中高温微研セ)
- E-7 16:12 納豆菌由来のグラム陰性菌に対する抗細菌物質の解析  
○山根若菜, 欄所美友, 森本日向, 柿田明音, 丸山雅史  
(愛媛大・農)
- E-8 16:24 エタノール存在下における *Fructilactobacillus fructivorans* の生育特性の解析  
○山本祥也, 井本翔太, 加藤 節, 井川 武<sup>1</sup>, 三本木至宏  
(広島大院・統合生命, <sup>1</sup>広島大・両生研)

- E-9 16:36 放線菌が生産するバイオフィルム形成阻害物質のスクリーニング  
○角川幸治<sup>1,2</sup>, 苗井秀太<sup>1</sup>, 森 一心<sup>2</sup>, 中條佐保<sup>1</sup>, 木下 颯<sup>3</sup>, 濱本登羽<sup>3</sup>,  
Siddiqa Ayesha<sup>3</sup>, 阿座上弘行<sup>3,4</sup>  
(<sup>1</sup>広島工大・生, <sup>2</sup>広島工大院・工, <sup>3</sup>山口大・農, <sup>4</sup>山口大・中高温微研セ)
- E-10 16:48 放線菌 *Streptomyces incarnatus* のセレン含有型ギ酸脱水素酵素の発現解析  
○趙 小卉, 久保真緒, 根本理子, 金尾忠芳, 田村 隆  
(岡山大院・環境生命)
- E-11 17:00 *Streptomyces thermolineatus* JCM6307 が保有するキチン分解系タンパク質の発現解析  
○枝並研一郎, 益江広稀, 有馬二郎<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)
- E-12 17:12 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 のカニ殻分解に寄与するタンパク質の解析  
○益江広稀, 溝尻怜史, 有馬二郎<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)
- E-13 17:24 キチン分解菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 における結晶性キチンの認識と分解  
○溝尻怜史, 益江広稀, 有馬二郎<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)

## F 会場（第 6 会議室）「微生物 2」

- F-1 15:00 液胞アミノ酸トランスポーターAvt3 と Avt4 の比較解析  
○八木新葉, 岡崎真士, 河田 (河野) 美幸<sup>1,2,3</sup>, 関藤孝之<sup>1,2</sup>  
(愛媛大・農, <sup>1</sup>愛媛大院・農, <sup>2</sup>愛媛大・PROS, <sup>3</sup>愛媛大・ADRES)
- F-2 15:12 液胞にアミノ酸を取り込むトランスポーターAvt1 の調節とその意義について  
○御供 遥, 佐藤明香音, 八木新葉<sup>1</sup>, 岡崎真士<sup>1</sup>, 河田 (河野) 美幸<sup>1,2,3</sup>,  
関藤孝之<sup>1,2</sup>  
(愛媛大院・農, <sup>1</sup>愛媛大・農, <sup>2</sup>愛媛大・PROS, <sup>3</sup>愛媛大・ADRES)
- F-3 15:24 分裂酵母の haploid meiosis を誘導する変異体の解析  
○佐々木洗輔, 藤原麻衣, 南 はつね, 中川太介, 松尾安浩, 川向 誠  
(島根大・生資科)
- F-4 15:36 分裂酵母のエノラーゼ遺伝子の解析  
○天野統幾<sup>1</sup>, 南口瑛鞠<sup>1</sup>, 松尾安浩<sup>1,2</sup>, 川向 誠<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>島根大・生資科, <sup>2</sup>島根大院, 自然科学)
- F-5 15:48 *Saccharomyces cerevisiae* BA11 を利用した効率的バイオエタノール生産  
○榎谷侑太郎, 浅田元子, 中村嘉利  
(徳島大院・創成科学)
- F-6 16:00 野生酵母によるワイン醸造とその解析  
○北岡鮎美, 赤尾 健<sup>1</sup>, 金子明裕<sup>2</sup>  
(岡山理大院・理工, <sup>1</sup>酒総研, <sup>2</sup>岡山理大・ワイン発酵科セ)
- F-7 16:12 ワインパミスの麹菌固体培養による微生物変換 -培養基材と麹菌種の比較検討-  
○岡 深雪<sup>1</sup>, 藤田彩楓<sup>1</sup>, 奥川日菜乃<sup>2</sup>, 三宅剛史<sup>3</sup>, 伊藤一成<sup>3</sup>, 山下秀行<sup>4</sup>,  
中川拓郎<sup>4</sup>, 平野幸司<sup>5</sup>, 深野夏暉<sup>2</sup>, 仁戸田照彦<sup>1,2</sup>, 神崎 浩<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大・農, <sup>2</sup>岡山大院・環境生命, <sup>3</sup>岡山県工技セ, <sup>4</sup>樋口松之助商店,  
<sup>5</sup>果実工房)
- F-8 16:24 オリーブ葉を基材とする麹菌固体培養における培養法と培養温度の影響  
○木村光喜<sup>1</sup>, 辰巳七海<sup>1</sup>, 伊藤一成<sup>2</sup>, 谷野有佳<sup>2</sup>, 竹内赴登<sup>2</sup>, 山下秀行<sup>3</sup>,  
吉田靖弘<sup>4</sup>, 徐 恵美<sup>4</sup>, 菊地敬一<sup>4</sup>, 深野夏暉<sup>5</sup>, 仁戸田照彦<sup>1,5</sup>, 神崎 浩<sup>1,5</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大・農, <sup>2</sup>岡山県工技セ, <sup>3</sup>樋口松之助商店, <sup>4</sup>日本オリーブ,  
<sup>5</sup>岡山大院・環境生命)

- F-9 16:36 フザリウム属糸状菌による様々な植物油からの水酸化脂肪酸への変換条件の検討  
○葎田 快, 阪本鷹行<sup>1</sup>, 杉森大助<sup>2</sup>, 櫻谷英治<sup>1</sup>  
(徳島大院・創成科学, <sup>1</sup>徳島大院・社会産業, <sup>2</sup>福島大・共生理工)
- F-10 16:48 植物の生長を制御する真菌由来のmVOCの同定  
○久保裕一朗, 三輪佳蓮<sup>1</sup>, 那須久瑠光, 上田晃弘<sup>1</sup>  
(広島大・生物生産, <sup>1</sup>広島大・統合生命)
- F-11 17:00 ゲノム編集を用いた担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジー関連遺伝子 *Ccatg4* 破壊の取り組み  
○北原昂希, 刑部敬史<sup>1</sup>, 渡邊 彰<sup>2</sup>  
(香川大院・農, <sup>1</sup>徳島大・生物資源, <sup>2</sup>香川大・農)
- F-12 17:12 *Peniophora* 属担子菌が植物果実との培養で特異的に生産する物質  
○遠嶋詩織, 杉田莉沙, 桑田涼香, 岡本賢治  
(鳥取大・工)
- F-13 17:24 食用きのこ *Flammulina velutipes* による有用物質生産  
○安竹貴斗, 糺 和也, 高橋晶子, 岡本賢治  
(鳥取大・工)

## G 会場（第7会議室）「植物」

- G-1 15:00 植物におけるグリコシルイノシトールホスホセラミドの分布とその分解酵素の解析  
○松本尚子, 高井誠道, 藤田智帆, Majidul Islam, Rumana Yesmin Hasi, 栗飯原睦美,  
田中 保  
(徳島大院・生物資源)
- G-2 15:12 セリ科植物におけるフェニルプロペンの位置選択的メチル化反応制御機構に関する  
研究  
○肥塚崇男, 渡辺文太<sup>1</sup>, 高坂智之, 小崎紳一  
(山口大院・創成科学, <sup>1</sup>東京慈恵医大・化学)
- G-3 15:24 ショウブの芳香族香気成分フェニルプロペンの生成に関わる酵素の機能解析  
○青野巧暉, 鈴木史朗<sup>1</sup>, 渡辺文太<sup>2</sup>, Bolortuya Ulziibat<sup>3</sup>, 岡澤敦司<sup>4</sup>, 肥塚崇男  
(山口大院・創成科学, <sup>1</sup>岐阜大・農, <sup>2</sup>東京慈恵医大・化学, <sup>3</sup>モンゴル大・生物研,  
<sup>4</sup>大阪公立大・農)
- G-4 15:36 野生タバコの花香およびその配糖体の生成機構に関する研究  
○仲保亜子, 西原昌宏<sup>1,2</sup>, 肥塚崇男  
(山口大院・創成科学, <sup>1</sup>福井県大・生物資源, <sup>2</sup>岩手生工研)
- G-5 15:48 トマトにおける灰色かび病感染特異的揮発性化合物マーカーの探索  
○柴崎悠史, 松井健二  
(山口大院・創成科学)
- G-6 16:00 白花のモモに見出されるアントシアニン欠損変異の多様性  
久保田朗晴, 原 美由紀, 田村勝徳, 鶴木悠治郎<sup>1</sup>, ○小田賢司  
(岡山県農総セ・生科研, <sup>1</sup>岡山県農総セ・農研)
- G-7 16:12 気孔の開閉運動の調節に関わるカルシウムイオンチャネルの機能解析  
○井上泰熙, Akter Rojina, 升本沙織<sup>1</sup>, 三俣好令, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行,  
宗正晋太郎  
(岡山大院・環境生命, <sup>1</sup>岡山大・農)
- G-8 16:24 気孔の開閉運動の制御にかかわる機能未知膜タンパク質の機能解析  
○堀川昂暉, 田中優梨<sup>1</sup>, 川内歩季<sup>1</sup>, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行, 宗正晋太郎  
(岡山大院・環境生命, <sup>1</sup>岡山大・農)



- G-9 16:36 Roles of reactive carbonyl species in isothiocyanate-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*  
○Sumaiya Farzana, Toshiyuki Nakamura, Shintaro Munemasa, Yoshimasa Nakamura, Jun'ichi Mano<sup>1,2</sup>, Yoshiyuki Murata  
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ., <sup>1</sup>Grad. Sch. Agric., Yamaguchi Univ., <sup>2</sup>Sci. Res. Center, Yamaguchi Univ.)
- G-10 16:48 Salt stress mitigation *via* suppression of apoplastic flow by chitosan in rice  
○Md. Asadulla Al Galib, Maoxiang Zhao, Toshiyuki Nakamura, Shintaro Munemasa, Izumi C. Mori<sup>1</sup>, Yoshimasa Nakamura, Yoshiyuki Murata  
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ., <sup>1</sup>Inst. Plant Sci. Resources, Okayama Univ.)
- G-11 17:00 細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼを介した酸化ストレス誘導性細胞死の分子機構  
○佐藤沙月, 菊樂香奈, 三富 弦, 石川孝博, 丸田隆典  
(島根大・生資科)
- G-12 17:12 酸化ストレス誘導性細胞死に必要な遺伝子の探索と機能解析  
○藤本七海<sup>1</sup>, 丸田隆典<sup>1,2</sup>, Amna Mhamdi<sup>2</sup>, Frank Van Breusegem<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>島根大・生資科, <sup>2</sup>VIB-UGent・PSB)
- G-13 17:24 シロイヌナズナにおけるフラビン輸送体の機能解析  
○柴田 類<sup>1</sup>, 桑田日佳里<sup>2</sup>, 丸田隆典<sup>1,2</sup>, 石川孝博<sup>1,2</sup>, 小川貴央<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>島根大・生資科, <sup>2</sup>島根大院・自然科学)

## H 会場（国際会議室）「有機化学・天然物化学・食品 3」

- H-1 15:00 オリーブを食べると何故オリーブアナアキゾウムシの寿命が延びるのか? その2  
○杉田皓紀, 吉住彩乃<sup>1</sup>, 金治風香<sup>1</sup>, 増田亜衣莉<sup>1</sup>, 柏木丈扨<sup>1</sup>, 金 哲史<sup>1,2</sup>,  
中島修平<sup>2</sup>, 市川俊英<sup>2</sup>  
(高知大院・農, <sup>1</sup>高知大・農, <sup>2</sup>(株) KINP)
- H-2 15:12 *Caenorhabditis elegans* を用いた褐藻の機能性評価  
○中川明日実<sup>1</sup>, 藪田行哲<sup>2</sup>, 大城 隆<sup>1,3</sup>, 八木寿梓<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>鳥取大・工, <sup>2</sup>鳥取大・農, <sup>3</sup>鳥取大・未利用セ)
- H-3 15:24 脂質吸収阻害を有する褐藻の脂肪細胞への効果  
○小林成海, 大城 隆<sup>1,2</sup>, 八木寿梓<sup>1,2</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・工, <sup>2</sup>鳥取大・未利用セ)
- H-4 15:36 3-*O*-Dodecyl-L-ascorbic acid の抗アレルギー作用  
○川原直晃, 前 史織<sup>1</sup>, 古賀武尊<sup>2</sup>, 伊東秀之<sup>3</sup>, 岩岡裕二<sup>3</sup>, 田井章博<sup>1,2</sup>  
(徳島大院・創成科学, <sup>1</sup>県広島大・生命環境, <sup>2</sup>徳島大・生物資源,  
<sup>3</sup>岡山県大・保健福祉)
- H-5 15:48 ケラタン硫酸オリゴ糖の化学合成  
○服部 怜, 岩間千明, 植村優那, 武田(奥田)尚子, 田村純一  
(鳥取大・農)
- H-6 16:00 マトリグリカンオリゴ糖の合成とクラスター化  
○小寺康太<sup>1</sup>, 田村敬裕<sup>2</sup>, 望月楽斗<sup>3</sup>, 田村純一<sup>1,2,3</sup>  
(<sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大院・連農, <sup>3</sup>鳥取大・農)
- H-7 16:12 養殖銀鮭に含まれるグリコサミノグリカンの組成と含有量  
○北井悠仁, 田村純一  
(鳥取大・農)
- H-8 16:24 Changes in chondroitin sulfate/dermatan sulfate profiles during 3T3-L1 adipocyte differentiation and its potential in controlling adipogenesis  
○Danang Dwi Cahyadi, 割田克彦, 武田(奥田)尚子<sup>1</sup>, 田村純一<sup>1</sup>, 保坂善真<sup>2</sup>  
(鳥取大院・共同獣医, <sup>1</sup>鳥取大・農, <sup>2</sup>九大院・農)

- H-9 16:36 バナバ (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.) 葉の機能及び関与成分に関する研究  
○片山果咲<sup>1,2,3</sup>, 宮地 諒<sup>2,3</sup>, 富 裕孝<sup>3</sup>, 柏木丈拵<sup>1</sup>, 島村智子<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>高知大・農林海洋, <sup>2</sup>(株)小谷穀粉, <sup>3</sup>高知大・土佐 FBC)
- H-10 16:48 3T3-L1 細胞に対する本わさび成分 6-MSITC の脂肪蓄積抑制作用の検証  
○比嘉真美, 清水英寿  
(島根大院・自然科学)
- H-11 17:00 タデアイ葉アルカリ (重曹) 抽出物にみられるフラボノール配糖体の抗酸化能  
○石田美紀<sup>1,2</sup>, 木村英人<sup>1</sup>, 石原朋恵<sup>1</sup>, 平林 侑<sup>1</sup>, 地阪光生<sup>2,3</sup>, 室田佳恵子<sup>2,3</sup>  
(<sup>1</sup>寿製菓, <sup>2</sup>島根大院・自然科学, <sup>3</sup>島根大・生資科)



受 賞 講 演

---

講 演 要 旨



## 培養法とメタゲノム法を駆使した糖質分解酵素の探索

松沢智彦（香川大・農）

植物が合成する多糖類は地球上で最も豊富に存在する生物由来資源の一つであり、構成する糖の種類と結合様式によって多種多様である。複雑な構造を有する多糖類の分解には作用機序の異なる酵素が協調的に働くことが不可欠であり、微生物は複数の酵素を組み合わせることで巧みに多糖類を分解している。本発表では、これまでに我々が培養法とメタゲノム法によって見出した糖質分解酵素とその機能について紹介する。

微生物は環境中に存在する多糖類の種類に応じて適切な糖質分解酵素を生産する。培養法では微生物を培養し、そこから得られる各種情報に基づいて酵素を探索する。我々は麹菌 *Aspergillus oryzae* が生産するキシログルカン分解酵素群の探索と機能解析を進めてきた。キシログルカンは植物の細胞壁や種子に含まれている多糖類であり、 $\beta$ -1,4-グルカン主鎖に規則的にキシロースが枝分かれした構造を基本とし、植物毎に側鎖に付加する糖の種類や頻度が異なっている。キシログルカンを分解するためには $\beta$ -1,4-グルカン主鎖を切断する酵素や側鎖を切断する酵素など、作用機序の異なる様々な酵素が必要である。

まず、我々はキシログルカンオリゴ糖の非還元末端からイソプリメベロース（グルコースとキシロースから成る2糖）を遊離する酵素（IpeA）をコードする遺伝子を同定した。IpeA はキシログルカンオリゴ糖の側鎖構造を認識する特徴的な構造を有しており、側鎖構造に富んだキシログルカンに高度に適応した酵素であることが明らかになった。また、IpeA をコードする遺伝子はキシログルカンオリゴ糖存在下において発現が誘導されることを見出した。そこで、IpeA 遺伝子と同様にキシログルカンオリゴ糖存在下において誘導される遺伝子を探索した結果、IpeA と協調的にキシログルカンを分解する $\beta$ -ガラクトシダーゼや $\alpha$ -キシロシダーゼなどの同定に至った。

環境中に存在する微生物の大部分は難培養・未培養微生物であり、培養法による酵素探索に利用することができない。メタゲノム法は環境サンプル中の微生物群集から直接ゲノム DNA（メタゲノム）を抽出し、遺伝子資源として利用する。我々は大腸菌を宿主としたメタゲノムのファンクショナルスクリーニングによって植物由来多糖類を分解する（もしくは分解を促進する）複数の酵素を単離した。これらの酵素の中には、高い糖転移活性を有する酵素など、ユニークな性質の酵素も含まれていた。

培養法にもメタゲノム法にも一長一短あるが、いずれも微生物が有する酵素の奥深さと緻密さを感じることができる。

最後に、本研究は多くの先生にご指導いただき、また、多くの共同研究者に支えられながら進めてきました。心より感謝申し上げます。





シ ン ポ ジ ウ ム

---

講 演 要 旨



## 食生活で変わる子どもの未来

竹森久美子（近畿大・農）

### DOHaD 説

「成人後の健康や特定の疾患へのかかり易さが胎児期や生後早期の環境の強い影響下に決定される」とする DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) 説が提唱されている。DOHaD 説は 1980 年代後半から 1990 年代にかけて発表された疫学研究に端を発するものであり、Barker らによる低出生体重児として生まれてきた人々に対する解析、第二次世界大戦末期におけるドイツの経済的封鎖によるオランダの冬の飢餓 (Dutch famine) を経験した妊婦から産まれた人々を対象にした集団の解析、ヘルシンキ大学に残されていた分娩記録によるコホート研究、この 3 つの代表的研究が知られている。

### 日本における低出生体重児の割合の推移

妊娠前からの母体の健康なからだづくりや適切な食習慣の形成が重要であることを踏まえ、2021 年 3 月に厚生労働省「自然に健康になれる持続可能な食環境づくりの推進に向けた検討会」が実施された。第 2 回議事録・資料によると、わが国は先進国の中で低出生体重児の割合が飛び抜けて高く、約 10 名に 1 人が 2500 g 以下で生まれる状況が続いている。その背景には若い女性の「やせ」願望がある。妊婦が低栄養状態であると、胎児は栄養摂取が不足がちな出生後の栄養環境を予測し、省エネルギー体質を獲得するが、出生後は飽食時代の過剰な栄養摂取により生活習慣病などを発症するハイリスク群になると考えられている。

### 日本人型 DOHaD モデル作製と食生活による病態発症の予防・発症遅延効果の検証

動物実験モデルを用いた基礎研究が急速に発展し、その膨大な研究成果によっても DOHaD 説は支持されている。DOHaD 研究のモデルとしてマウスやラット、ヒツジ、ブタ、サルなどが用いられており、妊娠中の動物に与える栄養を制限する。栄養制限の方法としては、総エネルギー摂取量、タンパク質摂取量などの制限が用いられる。日本では若年女性の摂取エネルギー量は厚生労働省が設定している推定エネルギー必要量の 85%程度にとどまっていることを踏まえ、我々は日本人女性の妊娠前から緩やかに継続的な低栄養状態を再現したラットモデルを作製した。このモデルラットから出生した仔は、一部の形態発達に遅延が見られるものの、神経系に優先的に栄養供給されることで正常な神経細胞形成と記憶・学習能を獲得することを明らかにした (J Clin Nutri Diet 2023 9;(3:186) 1-2)。一方で、これらの仔は、FOXO-1 活性化によるタンパク質分解を介する骨格筋重量の低下、および Akt リン酸化減弱によるインスリンシグナル伝達異常と糖の取り込み不良により、糖代謝異常を発症するリスクが高まることを報告した (Biosci Biotechnol Biochem. 2022;86(7):875-883)。このリスクを食生活改善によって軽減するため、我々はその一例とし炎症を引き起こし糖尿病の発症をもたらす DPP-IV (Dipeptidyl peptidase-4) に対する阻害活性を有するカツオ動脈球由来エラスチンペプチドを低栄養モデルラットから出生した仔に継続的に摂取させた。すると白血球の炎症関連因子の発現を抑制し、骨格筋インスリンシグナル伝達の改善をもたらすことを見出した。本研究で用いたモデル動物が、今後の先制医療・予防医療の進歩を食生活の面から支え、その発展に貢献しうることを期待している。

## シンポジウム講演

### 植物プランクトンに感染するウイルスの研究～水産学的な役割を探る～

外丸裕司（水産機構・水技研）

#### 【はじめに】

“ウイルス”と言えば、新型コロナウイルスに代表されるように、病気を引き起こす悪い奴！というイメージが強いかもしれませんが。風邪、おたふく、水ぼうそう、ノロウイルス、インフルエンザ等々、皆さんもきっと相当やられてきたに違いありません。ところが、人間社会の価値観ではなく、環境中には一体どのようなウイルスが存在しているのか？といった視点で眺めてみると、これまで誰も知らなかったことが沢山あることに気がきます。海水の中にも様々なウイルスがいるのですが、今回は演者が長年続けてきた「珪藻」という植物プランクトンに感染する「ウイルス」の研究について、水産学的な一面を紹介したいと思います。

#### 【珪藻という生き物】

珪藻とは、細胞の周りにガラス成分主体の殻を持つ植物プランクトンの一種で、池、川、湖、海など水がある場所には必ずと言って良いほど存在しています。珪藻は栄養豊富で増殖がとても速く、海洋環境中でも大増殖を繰り返すため、動物プランクトンや二枚貝の重要なエサとなっています。日本の沿岸には魚介類が豊富に存在していますが、もとを正せば珪藻の生産力に寄るところが大きいのです。「珪藻」は日本の水産業を土台から支えている重要な植物プランクトンと言えるでしょう。

#### 【珪藻に感染するウイルス】

「珪藻」に感染するウイルスの存在が報告されたのは2004年のことで、ウイルス研究の歴史からすると比較的最近の発見です。自然環境から分離した珪藻ウイルスを、フラスコ内の元気な珪藻培養に入れると、わずか数日で珪藻は全滅します。ウイルス感染死した珪藻の細胞からは、1細胞あたり1万個以上のウイルス粒子が生産され、再び海水中に放出されます。また、このウイルスは感染する相手が決まっていて、特定の珪藻以外を死滅させないことも分かりました。

#### 【ウイルスの生態学的機能は？】

それでは、フラスコ内と同じように自然環境でも珪藻がウイルス感染で死んでいたら、珪藻は海から消えてしまうのでしょうか？演者らの研究グループでは、海洋環境における珪藻とウイルスの量的関係を調べてみました。その結果、ウイルスの存在は珪藻個体群の挙動を決定づける主要因にはなっていない可能性が推察されました。また、室内実験の結果、増殖が遅い珪藻個体群ではウイルス接種によって劇的な細胞数の減少が観察されましたが、増殖が早くなるほどウイルス感染による死滅率は低下しました。「走り続ける珪藻だけがウイルス感染から逃れられる」という関係が示唆されたのです。限られた資源を用いて増殖を繰り返している珪藻個体群としては、分裂が遅くなった、または出来なくなった細胞は、ウイルス感染→分解→栄養塩として個体群に回帰させた方が合理的かもしれません。珪藻が大増殖を起こしている期間、ウイルスは珪藻個体群の若返りを支援する機能を果たしていると解釈できるかもしれません。

#### 【最後に】

まだ謎の多い「珪藻とウイルス」の関係ですが、自然環境では珪藻がウイルスと上手く付き合える能力を持つからこそ、私たちは水産物の恩恵を受ける事が出来るものと演者は考えています。皆さんの食卓に並べられたお刺身も、そのような微生物の攻防の上にあることを頭の片隅に入れておいて頂けると幸いです。

## 一次生産を担う微生物を応用した資源循環型バイオものづくり

加藤淳也（産総研・機能化学）

化石資源は、エネルギーとして、また化成品原料として重要な資源である。化石資源の恩恵を生かし、人類は産業革命に端を発した著しい発展を成し遂げた。しかしながら、化石資源は有限であり、今後 100 年ももたないと言われている。つまり、遅くとも 22 世紀中には化石資源は枯渇するため、21 世紀に生きる我々の使命の 1 つは、化石資源に依存しない産業基盤を構築することである。

SDGs では持続可能な社会に向けて国際的な行動目標を掲げている。持続可能な社会の鍵の 1 つは、いかに有限の資源を無駄なく活用し、さらには循環しながら利用するか、であろう。本講演では、特に炭素資源の循環利用について、バイオ技術を用いたものづくりによる解決策を議論したい。

地球上の炭素循環を生物の視点から見ると、要となるのは一次生産である。一次生産とは、二酸化炭素 ( $\text{CO}_2$ ) から有機物を合成することと定義される。私たち人間を含め多くの生物は、この有機物を摂取することでエネルギーを得て生きており、利用された有機物は最終的に  $\text{CO}_2$  として排出される。一次生産を担う植物や微生物は、このいわば「燃えかす」である  $\text{CO}_2$  を、光や化学エネルギーといった自然エネルギーを取りこむことで、再び固定化し有機物を作り出している。ゆえに、資源循環型ものづくりのかたちの 1 つは、一次生産の仕組みを取り入れた技術ではないだろうか。

演者はこれまで、有機物を必要とせず化学エネルギーを使って生育する独立栄養微生物に着目して研究を行ってきた。酢酸生成菌と呼ばれる嫌気性微生物の一群は、水素 ( $\text{H}_2$ ) や一酸化炭素 ( $\text{CO}$ ) を酸化するエネルギーを用いて  $\text{CO}_2$  を固定化し、最終的に酢酸へと変換して生育する。このような、ガス資化性微生物によるものづくり技術は、様々な炭素資源の活用へと展開可能である。排ガスなどの  $\text{CO}_2$  を利用できるのみならず、例えばバイオマスを経由して熱化学処理によりガス化すると  $\text{CO}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$  の混合ガス（合成ガス）となる。ガス化を介すれば、糖化による利用が難しい部位も含め、広汎な種類の有機物を一元化して利用・再利用することができる（図 1）。

酢酸生成菌が保有するガスの代謝経路も、他の代謝と同様に酵素反応により担われている。つまり、遺伝子組み換え技術を用いて代謝改変を施せば、酢酸の代わりにエタノールやアセトンといった、現在は石油化学に依存している燃料や化成品原料を生産させることができ、資源循環型ものづくりの基盤微生物を創製できる。ただし改変の際の課題は、代謝全体の機能をさまたげない、合理的な設計である。代謝設計の鍵は 2 つあり、代謝を支える細胞エネルギーの生産と、代謝全体の酸化還元バランスである。このような設計技術、およびそれを反映した微生物創製の研究例を紹介する。

最後に、生産プロセスを俯瞰してコストや環境負荷を抑えたプロセスを構築することも、持続的な産業の確立には必要である。好熱性の酢酸生成菌を使って低沸点の化合物を生産することで実現が可能な、簡易型プロセスについても紹介する。

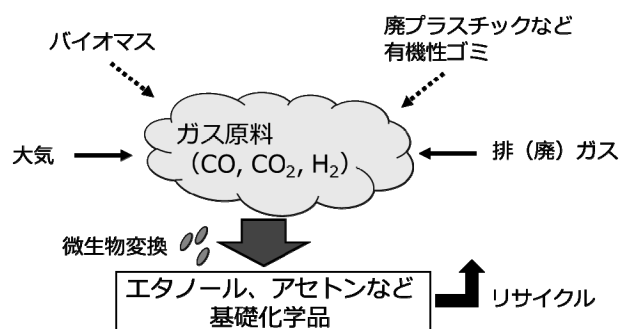


図 1 ガスを原料とする微生物によるものづくり



一 般 講 演

---

講 演 要 旨





A-1 海洋性珪藻における Cas13d を利用した episome 導入型 RNA 編集  
○内山琴音, 小山菜々子<sup>1</sup>, 松田祐介<sup>2</sup>, 原田尚志<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生,<sup>1</sup>鳥取大・工,<sup>2</sup>関学大・生命環境)

【目的】 珪藻類は地球の全一次生産の約 20%を占める重要なカーボンシンクであり、海洋のモデル微細藻類として注目されている。珪藻の遺伝子工学技術はゲノムが解明された 2000 年代中盤以降急速に発展し、核ゲノムへの遺伝子導入、ゲノム編集によるノックアウト技術、および RNAi によるノックダウン技術などが開発された。CRISPR-Cas13 は、RNA 切断活性を持つ Cas13 リボヌクレアーゼを利用した RNA 編集技術であり、RNAi よりもオフターゲット効果が低いノックダウン法である。本研究では海洋性珪藻 *Phaeodactylum tricornutum* を対象として、CRISPR-Cas13 による特異的かつ一過的な episome 導入型 RNA 編集技術の開発を目的とした。

【方法・結果】 グラム陽性細菌 *Eubacterium siraeum* (Es)または *Ruminococcus flavefaciens* XPD3002 (Rfx)由来の Cas13d およびガイド RNA を発現する episome 導入型珪藻 RNA 編集ベクターを構築し、大腸菌との接合伝達を介して珪藻細胞に導入した。予め大腸菌由来の  $\beta$ -glucuronidase (GUS)遺伝子 (*uidA*)を核ゲノムに保持する珪藻株における *uidA* ノックダウン効果の検証を行った結果、転写レベルで最大 67%、活性レベルで最大 43%の抑制効果が観察され、珪藻における RNA 編集を初めて実証した。また、他の生物種と同様に珪藻においても、RfxCas13d は EsCas13d と比較して転写・翻訳レベル共に優れた抑制効率を示した。

A-2 ポリシストロニック遺伝子間の連結配列が下流遺伝子の発現効率に及ぼす影響  
○大崎南美, 大城 隆<sup>1,2</sup>, 鈴木宏和<sup>1,2</sup>  
(鳥取大院・持続創生,<sup>1</sup>鳥取大・工,<sup>2</sup>鳥取大・GSC)

【目的】微生物の代謝工学において、複数の遺伝子を同時に効率よく発現させることが、しばしば求められる。本研究では、大腸菌のポリシストロニック遺伝子群を参照しながら、複数遺伝子を効率よく発現させられる遺伝子間の連結配列を探索した。

【方法・結果】実験モデルとして *lacZ* 遺伝子と *gfp* 遺伝子を様々な配列で連結した発現プラスミドを構築し、大腸菌 JM109 株に導入した。発現誘導下で培養し、細胞中に産生された LacZ 量と GFP 量を確立された手法によって定量した。*lacZ* の終止コドンと *gfp* の開始コドンが重なるように連結したところ、低い効率だが GFP が生産された。その際の GFP 生産量は、*gfp* を単独で発現させた場合の 7%であった。本結果から、シャイン・ダルガノ (SD) 配列は翻訳に必須ではないと言える。*lacZ* の終止コドンと *gfp* の開始コドンを SD 配列で連結した場合は、5%の効率で GFP が生産された。さらに SD 配列の下流に 6 塩基を挿入すると、GFP 生産量は 70%に向上した。よって SD 配列と開始コドン間の距離が重要であると考え、これらを異なる塩基長のポリ U 配列 (DNA 上ではポリ T 配列) で連結した。1~3 塩基の挿入では *gfp* 発現効率は低く、4~6 塩基の挿入では高かった。それ以上の長さでは、*gfp* 発現効率は低くなった。この結果は、SD 配列に固定されたりボソームにおいて、その P サイトと mRNA 上の *gfp* 開始コドンが適切に配置された場合に、*gfp* の翻訳が効率良く起こせる可能性を暗示する。また同時に本結果は、SD 配列と開始コドン間の距離によって下流遺伝子の翻訳量を大まかに調節できる可能性も示唆する。

### A-3 *Geobacillus thermodenitrificans* K1041 のアルギン酸資化に関わる未知遺伝子の探索

○原 功弥, 大城 隆<sup>1,2</sup>, 鈴木宏和<sup>1,2</sup>

(鳥取大院・持続創生,<sup>1</sup>鳥取大・工,<sup>2</sup>鳥取大・GSC)

【目的】既知のアルギン酸資化性菌は、リアーゼによりアルギン酸を分解する。*Geobacillus thermodenitrificans* K1041 はアルギン酸を資化できるが、そのゲノム中にはアルギン酸リアーゼ遺伝子が見出されない。よって本菌には、既知のものとは異なるアルギン酸分解系があると考えられる。本研究では、好熱菌トランスポゾンベクター (pGKE118v) を用いた遺伝学的アプローチによって、K1041 株のアルギン酸資化に関わる遺伝子の同定を試みた。

【方法・結果】pGKE118v を K1041 株に導入し、マーカー遺伝子を転位させた。得られたライブラリの部分標品 (10<sup>6</sup> 細胞) をアルギン酸最少培地でコロニー化させ、小さめのコロニーを形成するクローンをスクリーニングに供した。スクリーニングでは、各クローンをアルギン酸最少培地とデンプン最少培地で生育させ、アルギン酸最少培地における生育が遅いものを選択した。アルギン酸資化性に関係なく増殖性が低下した株が数多く得られたが、3 株はアルギン酸資化性が明確に低下していた。それら陽性株のマーカー挿入数は、サザンブロット法で解析した。マーカー挿入位置は、arbitrary PCR 法を用いて解析した。1 株については、3ヶ所すべてのマーカー挿入位置を決定できた。2ヶ所は、*rimI* 内と *yitT* 内への挿入だった。残り 1ヶ所は、*parA* 上流への挿入だった。これら遺伝子と周辺遺伝子に、アルギン酸資化に明確に関連付けられるものはなかった。今後は、どの遺伝子がアルギン酸資化に関わるのか、遺伝子破壊や転写解析によって調べる予定である。

### A-4 好酸性従属栄養細菌 *Acidiphilium cryptum* JF-5 株を宿主とした組換え発現系の構築

○小銭真実, 根本理子, 田村 隆, 金尾忠芳 (岡山大院・環境生命)

【目的】*Acidithiobacillus ferrooxidans* は、酸性条件下で二価鉄や還元型無機硫黄化合物を酸化してエネルギーを得る化学合成独立栄養細菌である。これらの代謝に関わる酵素は、主に内膜の外側からペリプラズム域や外膜に局在する。このため細胞膜を透過後、酸性条件下で成熟して活性を持つ酵素として機能するものがあり、これらの遺伝子を大腸菌など中性で生育する宿主を利用した組換え発現を行った場合、封入体を形成し不活化するという問題がある。本研究では、酸性条件下で良好な生育を示す好酸性従属栄養細菌 *Acidiphilium cryptum* JF-5 株を宿主とした外来遺伝子発現系を構築することにより、酸性条件下での組換え発現で *At. ferrooxidans* の鉄・硫黄代謝に関わる酵素を、直接活性型で獲得することを目指した。この発現系の構築には、*Ap. cryptum* JF-5 株における内在性の高発現プロモーターである glycerol 3'-phosphate dehydrogenase promoter (P2 promoter) と、外来遺伝子として *gfp* 遺伝子および *At. ferrooxidans* ゲノム上のテトラチオン酸ハイドロラーゼ遺伝子 (*Af-tth*) を用いた。また、酸性環境で比較的安定なクロラムフェニコールを薬剤マーカーとして選択し、新たな発現ベクターの構築と外来遺伝子発現を目的に実験を行った。【方法・結果】広宿主域プラスミドである pBBR122 に、JF-5 株の P2 promoter の支配下に外来遺伝子として *gfp* または *Af-tth* 遺伝子を挿入して、発現ベクター-pBBR122-P2\_ *gfp* および pBBR122-P2\_ *Af-tth* を構築した。これらのプラスミドをエレクトロポレーションにより *Ap. cryptum* JF-5 株にそれぞれ導入した。得られた形質転換体は、グリセロールを炭素源とした生育時に前者は強く緑色蛍光を発し、*Af-tth* 遺伝子保有菌株の後者からはテトラチオン酸加水分解活性が検出された。

#### A-5 インドキシル硫酸は AhR/c-Myc 経路を介して大腸がん細胞の増殖と EGF 感受性を亢進させる

○一坂 優, 矢野彰三<sup>1</sup>, 丹羽利充<sup>2</sup>, 清水英寿  
(島根大院・自然科学,<sup>1</sup>島根大・医,<sup>2</sup>修文大)

【目的】近年、日本では生活習慣病患者の増加に伴い、慢性腎臓病患者が増加している。慢性腎臓病は、成人の約 8 人に 1 人に当たる約 1,330 万人の患者がいるとされ、合併症として動脈硬化などを引き起こすことが知られている。また最近では、慢性腎臓病患者において大腸がんの悪性化リスクが上昇することが疫学的解析により明らかになっている。しかし、その悪性化メカニズムの詳細は、未だ不明な点が多い。これまでに当研究グループでは、慢性腎臓病の進行促進、およびその合併症の発症・進展に、トリプトファン由来腸内細菌代謝産物から生じるインドキシル硫酸が関与していることを報告している。そこで本研究では、他の合併症と同様にインドキシル硫酸が大腸がんの悪性化に関与すると予想し、大腸がん細胞に対するインドキシル硫酸の作用効果およびメカニズムを解析することを目的とした。

【方法・結果】ヒト大腸がん HCT-116 細胞に対するインドキシル硫酸の作用効果について、タンパク質レベルおよびそのリン酸化レベルをウェスタンブロット法、細胞増殖率は CCK-8 法を用いて解析を行った。インドキシル硫酸は、その受容体として知られる Aryl hydrocarbon receptor (AhR) を介してがん原遺伝子である c-Myc の発現量を増加させ、AhR/c-Myc 経路により細胞増殖を導いた。また、AhR/c-Myc 経路は大腸がんの予後不良と関連している Epidermal growth factor receptor (EGFR) の発現上昇を導き、Epidermal growth factor (EGF) に対する感受性を亢進させた。以上から、慢性腎臓病により血中に蓄積したインドキシル硫酸は、大腸がんの悪性化を導く要因であることが示唆された。

#### A-6 リソソーム集積型抗体を利用した選択的エクソソーム除去技術の開発

○山田翔太, 河野 強, 岩崎 崇  
(鳥取大院・持社創生)

エクソソームは様々な疾患と密接に関連している。特に、乳がんの中でも悪性が高い HER2 陽性乳がん細胞から分泌される『HER2 陽性エクソソーム』は、抗体医薬と結合することで薬効を阻害することが問題視されている。この問題を解決するためには、血中の HER2 陽性エクソソームを選択的に除去する方法が効果的である。これまでに我々が開発した細胞膜透過ペプチド『ポリヒスチジン(PolyHis)』は高い細胞膜透過を示すペプチドであり、さまざまな分子をリソソームに輸送することができる。そこで本研究では、PolyHis を HER2 陽性エクソソームに選択的に修飾することで、HER2 陽性エクソソームを細胞内リソソームに輸送し、選択的に分解誘導する技術『選択的エクソソーム除去技術』の開発を試みた。PolyHis を融合発現した抗 HER2 抗体-PolyHis は、HER2 陽性エクソソームと選択的に結合し、さまざまな培養細胞内に HER2 陽性エクソソームを輸送することが確認された。同時に、抗 HER2 抗体-PolyHis は培養上清中の HER2 陽性エクソソーム量を選択的に減少させることも確認された。さらに、抗 HER2 抗体-PolyHis によって細胞内輸送された HER2 陽性エクソソームはリソソームに局在し、経時的に分解されることを確認した。以上の結果から、PolyHis を利用した『選択的エクソソーム除去技術』の基盤構築に成功した。

A-7 タンパク質性足場分子 CutA1 循環置換体の設計と特性評価  
○佐々木統也, 今村維克<sup>1</sup>, 今中洋行<sup>1</sup>  
(岡山大・工, <sup>1</sup>岡山大院・環境生命)

【目的】

タンパク質性足場の特定部位に異なるタンパク質やペプチドを連結・挿入させたキメラ分子は、バイオセンシングの感度向上、ターゲット治療薬の開発、再生医療や合成生物学への応用など幅広い技術展開が期待できる。本研究では、タンパク質・ペプチドの連結・挿入部位の改変を狙い、高い構造安定性を有する超好熱菌由来タンパク質 CutA1 の循環置換体(cpCutA1)を各種設計し、特性評価を行った。

【方法・結果】

CutA1 野生型配列の N 末端と C 末端をリンカー配列で連結し、これを基に設計した循環置換体の構造を AlphaFold2 により網羅的に解析した。順位付けされた各構造に対する PAE 値データの解析結果を参照し、4 種類の cpCutA1 を設計した。発現・精製した各種 cpCutA1 の熱安定性を評価した結果、構造精度予測結果との相関がみられた。さらに、cpCutA1 の C 末端に SpyCatcher を連結したキメラタンパク質の調製を試みたところ、全て可溶化発現が確認できた。これらを、あらかじめ挿入していた PS-tag を介して親水性 PS マイクロプレート上に配向固定化後、SpyTag 連結 Esterase を添加し、Esterase の活性を指標に相互作用量を評価した。その結果、野生型 CutA1 の場合と比較して、いずれの cpCutA1 も標的分子の最大捕捉量が増加することが分かった。これにより、循環置換による CutA1 の機能拡張の可能性が示された。

A-8 CutA1 を利用したタンパク質性分子認識素子の設計と静電的相互作用モデル評価  
○光成麻弥, 渡邊滉大, 今村維克, 今中洋行 (岡山大院・環境生命)

【目的】

生体分子間相互作用を細胞内外で再現・検出する際、標的分子を特異的に捕捉する分子認識素子が必要である。本研究では高い構造安定性を有する超好熱菌由来タンパク質 CutA1 を足場とした汎用性の高い新規タンパク質性分子認識素子の創出を試みた。

【方法・結果】

CutA1 構成アミノ酸残基間の相互作用エネルギー情報の網羅的解析によりペプチド挿入候補サイトを選抜し、複数箇所へ荷電性・長さの異なるリガンドペプチドを挿入した各種変異型 CutA1 を調製した。これらの分子認識素子としての機能拡張性を探るべく、静電的相互作用をモデルとした相互作用特性評価を行った。リガンドに各種変異型 CutA1、アナライトとして荷電性の異なるポリペプチドを連結した Esterase (EstAf) を用いて ELA を行ったところ、酸性ペプチドを挿入した CutA1 と塩基性ペプチド間のモデル静電的相互作用が検出された。EstAf への塩基性アミノ酸 (R) の連結数に応じた相互作用能の違いも見られた。また CutA1 への酸性アミノ酸残基挿入数が同等 (8 残基) でも、複数箇所へ分散して挿入することで、より感度良く相互作用が検出されたことから、アナライト分子の特異的捕捉に効果的なペプチド挿入サイトおよび多点相互作用の重要性を見出した。以上の結果より、新規人工抗体様分子認識素子の開発において CutA1 が有効なタンパク質性足場であることが示された。



#### A-9 LED シグナル光照射による微細藻類ユーグレナの獲得形質と大量培養技術についての研究

○宮腰峻平, 山中虎太郎, 山本海星, 白石純也<sup>1</sup>, 前田淳史, 梶山博司<sup>1</sup>  
(徳島文理大・理工,<sup>1</sup> 徳島文理大院・工)

【背景と目的】微細藻類ユーグレナ(和名:ミドリムシ)からはバイオ燃料の原料が得られるため, 脱炭素化社会の切り札として注目されている。本研究では, 微弱 LED シグナル光(以下, EDL)を利用したユーグレナの増殖に及ぼす影響を明らかにすると共にユーグレナの大量培養技術の開発を目指す。

【方法】ユーグレナの初期細胞密度を  $2.0 \times 10^4$  (cell/ml) に調整した培養液に白色 LED 蛍光灯(以下, 白色光)を 12 時間, 消灯後に EDL を 4 時間照射, 消灯 8 時間のサイクルでの培養(試験区)を 7 日間行い EDL を照射しないもの(CNT)との増殖効果の比較をした(Phase 1)。次に, Phase 1 が終了した培養液を Phase 1 の初期細胞密度に希釈し, 試験区 CNT 共に白色光 12 時間のみ照射した培養を 7 日間行い増殖効果の比較をした(Phase 2)。なお, EDL, 白色光の光合成有効光量子束密度(以下, PPF)はそれぞれ  $0.01$  ( $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ ),  $180$  ( $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ ) に設定し, EDL のピーク波長は  $443\text{nm}$  であった。

【結果・考察】Phase 1 では, 培養 7 日目の試験区の細胞密度は CNT と比べ約 1.5 倍増加し増殖促進効果が見られた。さらに Phase 2 では EDL の照射を行っていないにも関わらず培養 7 日目には試験区は CNT と比べ約 1.35 倍の増加が見られた。したがって, 我々は外的環境の変化による獲得形質が起きたと考えている。遺伝子解析等に着手していないため詳細はまだ分かっていないが, 今後の研究でこの EDL による培養技術がユーグレナの生産性向上技術につながることを期待できる。

#### A-10 シグナル光照射による植物の生育および代謝コントロールの研究

○白石純也<sup>1</sup>, 漆原華保<sup>2</sup>, 川島真文<sup>2</sup>, 前田淳史<sup>2</sup>, 梶山博司<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup> 徳島文理大院・工, <sup>2</sup> 徳島文理大・理工)

【目的】シグナル光は一般的に使われている光源とは違い短い周期で発光, 消灯を繰り返す特殊な光である。光合成有効光量子束密度(以下, PPF)が光合成の起きないとされる光補償点以下の微弱な光であるにもかかわらず, 植物の生育や二次代謝促進効果があることがこれまでの研究で分かった。原因としてグルコースの増加及びその分配比率の変化が推測されたが, 光ストレスとの関係性は未だ解明されていない。そこで本研究ではゲノム解析が終了しているモデル生物シロイヌナズナを用いることでこれらのメカニズムを DNA レベルで解明し, 農作物の安定生産と機能成分の増加を目標としている。ここでは, 生育と代謝産物へのシグナル光の影響を報告する。

【方法】使用したシグナル光の波長は, 生育促進効果のあった① $443\text{nm}$  と二次代謝成分の増加した② $630\text{nm}$  を用い, これまでと同様の結果が得られるかを調査した。照射時間は, 白色 LED 蛍光灯はシロイヌナズナの適正な長日条件とされている PPF: $60\text{ }\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  の 16 時間の照射とし, 消灯 4 時間前からシグナル光を  $0.01\text{ }\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  で 8 時間照射した。また, LED シグナル光照射有りと無しの条件で栽培し, シグナル光の影響を調べた。

【結果】①ではコントロールに比べ試験区において花芽が早期に形成された個体が多く, 芽茎の成長が促進されたと考える。現在, ②の条件下での栽培観察と植物内のいくつかの成分濃度を調べており, 一次代謝と二次代謝の流れに及ぼすシグナル光の影響を調べている。

## A-11 低温アクアポニックスの構築と溪流魚飼育への応用

○松本拓己, 清水克彦<sup>1</sup>, 有馬二郎<sup>2</sup>

(鳥取大院・持社創生,<sup>1</sup>鳥取大・CoRE,<sup>2</sup>鳥取大・農)

【目的】硝化細菌の最適生育温度は25~30℃であり、銀鮭稚魚の養殖場をはじめとする低水温環境下では硝化能が極端に低い。当研究室では、上記問題点の解決に向けた取組みの過程で、低温で働く硝化細菌叢を獲得した。本研究では、得られた低温硝化細菌叢の更なる応用に向け、水温15℃のアクアポニックスシステムを構築し、換水無しで溪流魚を長期飼育できる低温での魚飼育システムの構築を目的とした。

【方法・結果】低温硝化細菌叢付着担体を微生物濾過槽に添加した総水量27Lの飼育システム2つを準備し、水温15℃でホトケドジョウを8匹ずつ飼育した。一方の魚飼育槽でリーフレタス4株の水耕栽培を行い、リーフレタスの有無で水質の変化を比較した結果、リーフレタス無しでは硝酸が蓄積したが、リーフレタス有りでは硝酸蓄積量が減少し、水産用水基準値以下の濃度で維持することができた。そこで、総水量150Lに飼育システムをスケールアップして溪流魚のヤマメを5匹飼育し、飼育21日目にリーフレタス12株を植物栽培槽に導入した。リーフレタスの導入前後で水質の変化を比較した結果、リーフレタス導入前は硝酸が蓄積したが、リーフレタス導入後は硝酸蓄積量が減少し、換水無しで硝酸濃度を維持することに成功した。また、縄張りにより個体差が生じたものの、ヤマメの平均体重と平均体長はともに増加しており、リーフレタスも写真での比較において、成長を確認することができた。今後はスケールアップとともに、複数の植物栽培槽を設置することで、リーフレタスの水質浄化能の維持と収穫を可能にするシステムの構築を目指す。

## A-12 熱帯・亜熱帯作物病害のバイオコントロールを目的としたローカル微生物資源の探索

○富田百合子, 伊藤通浩<sup>1</sup>, 新里尚也<sup>1</sup>, 伊禮 信<sup>2</sup>, 有江 力<sup>3</sup>, 木戸一孝<sup>4</sup>, 児玉基一郎<sup>4</sup> (鳥取大院・持社創生,<sup>1</sup>琉球大・熱生研,<sup>2</sup>沖縄農研セ,<sup>3</sup>農工大院・農,<sup>4</sup>鳥取大・農)

【目的】環境に優しい農業を指向した病害防除法として、バイオコントロール(生物防除)が注目されている。また、化学農薬の使用が経済的・技術的に困難である熱帯、亜熱帯地域を含む多くの発展途上国では、バイオコントロールの重要性が高い。世界規模で大きな問題となっている *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) によるバナナパナマ病は、日本国内の南西諸島地域でも発生が報告されている。本病やサトウキビ黒穂病など、熱帯・亜熱帯作物における重要病害のバイオコントロールに適応可能な微生物の探索と活用を目的として、国内各地の圃場から分離した各種細菌株の本病原菌に対する抑制活性を検討した。

【方法・結果】沖縄県を含む国内各地の圃場から分離した各種細菌株に関して、Focおよびサトウキビ黒穂病菌 (*Sporisorium scitamineum*)、また比較としてアブラナ科植物黒すす病菌 (*Alternaria brassicicola*) などの培地上における菌糸伸長および孢子発芽に対する影響を調査した。その結果、*Paenibacillus terrae*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Ps. fluorescens* など、Foc, *S. scitamineum* および *A. brassicicola* に対して、強い菌糸伸長・孢子発芽抑制活性を有する細菌株を見出した。これらの細菌株の中には、すでに種々の植物病に対して生物防除活性を有することが報告されている細菌種も含まれている。以上の結果より、今回分離された細菌株は、熱帯・亜熱帯作物における重要病害のバイオコントロールに活用出来る可能性が示唆された。

**B-1 単細胞紅藻ガルデリアが産生する糖タンパク質の N-グリカン構造**  
○古賀優子<sup>1</sup>, 周 柏峰<sup>2</sup>, 宮城島進也<sup>2</sup>, 木村吉伸<sup>3,4</sup>, 前田 恵<sup>1,4</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大・農, <sup>2</sup>国立遺伝研・遺伝形質, <sup>3</sup>くら作大・食文,  
<sup>4</sup>岡山大院・環境生命)

【目的】真核生物は糖タンパク質糖鎖 (N-グリカン) を発現しており, ハイマンノース型構造や複合型構造を有する。複合型構造は, 多細胞生物間で構造の多様性が大きく, 生物の進化と関わりがあると考えられている。進化の初期に出現した真核生物の単細胞紅藻イデユコゴメ類のガルデリアは, 組換えタンパク質の生産への利用などに注目されているが, その N-グリカンの生合成経路の存在は明らかにされていない。そこで本研究ではモデル生物としてガルデリアを用い, その糖タンパク質の糖鎖構造解析を行うことを目的とした。【方法・結果】液体培養された単細胞紅藻 *Galdieria partita* を, 5%ギ酸中で, ペプシン消化し (37°C), ペプシン消化物を濃縮後, 脱塩水に対して透析した。その外液を濃縮して陽イオン交換 (Dowex50×2) に供し, 0.5%ギ酸により非吸着画分を洗浄後, 0.1 N NH<sub>3</sub>aq により糖ペプチドを含む吸着画分を溶出し, 濃縮後, ゲルろ過により低分子を除去した。糖ペプチドはヒドラジン分解後, N-アセチル化し, 陽イオン交換 (Dowex50×2) を行い, 遊離糖鎖を 2-アミノピリジン (PA) によって蛍光標識した。その後, ゲルろ過により余剰の PA を除去して, PA 糖鎖を調製した。更に, ヒドラジン分解のピーリング反応による副生成物を除去するため, RP-HPLC (COSMOSIL 5C<sub>18</sub>-AR-II) に供し, PA 糖鎖を精製した。その後, SF-HPLC (Shodex Asahipak NH2P-50) によりハイマンノース型糖鎖 (Man1-9GlcNAc2) の溶出位置と比較した。Endo-H 消化により, 一部のピークが消失したことから, ハイマンノース型糖鎖の存在が示唆された。現在, α-マンノシダーゼ消化及び MS, MS/MS により糖鎖構造解析を行っている。

**B-2 ENGase 欠損トマト果実を用いた植物 N-グリカンに結合するタンパク質の同定**  
○児玉怜央<sup>1</sup>, 木村吉伸<sup>1,2</sup>, 前田 恵<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命, <sup>2</sup>くら作大・食文)

【目的】ハイマンノース型遊離糖鎖はトマト果実の成熟とともに増加するため, 細胞質のハイマンノース型遊離糖鎖とレクチンが相互作用し, 果実の成熟を制御していると予想した<sup>[1]</sup>。そこで, 植物 N-グリカンに結合するレクチンを同定するため, 糖ペプチドを多数結合させたアフィニティカラムを用いて ENGase 欠損トマト果実<sup>[2]</sup>に存在するレクチンのスクリーニングを行った。【方法・結果】ロイヤルゼリーからハイマンノース型糖鎖含有糖ペプチド (460.3 mg), コカナダモから植物複合型糖鎖含有糖ペプチド (372.5 mg) を調製し, 臭化シアン活性化法を用いて Sepharose CL-4B に糖ペプチドを結合させた。ENGase 欠損トマト果実 (赤 27.8 g, 緑 25.0 g) を液体窒素中で破碎し, 50 mM Tris-HCl (pH 8.3) /0.1 M NaCl 中でタンパク質を抽出した。抽出液は遠心し, その上清を 20 mM Tris-HCl (pH 8.3) /0.1 M NaCl に対して透析した。透析内液は遠心し, 上清を粗タンパク質溶液として回収した。粗タンパク質溶液は糖ペプチド結合樹脂 (ハイマンノース型・植物複合型) に供した後, 20 mM Tris-HCl (pH 7.8) /0.1 M NaCl で素通り画分を洗浄した。その後, 20 mM Tris-HCl (pH 7.8) /0.5 M NaCl, 0.1 M グリシン-HCl (pH 2.5), 20 mM Tris-HCl (pH 7.8) /4 N グアニジン塩酸塩を用いて吸着画分を溶出させた。得られた各画分に含まれるタンパク質は還元条件で SDS-PAGE を行った。その結果, 複数のタンパク質のバンドが検出された。現在, これらのタンパク質を同定するため, ペプチドシーケンサーにより N 末端アミノ酸配列分析を行っている。 [1] Nakamura K., *et al.*, *B. B. B.*, **72**, 2936–2945 (2008); [2] Okamoto, N., *et al.*, *Plant Physiol. Biochem.*, **190**, 203-211(2022)

**B-3**  $\beta$ 1,2-キシロース転移酵素と  $\alpha$ 1,3-フコース転移酵素を欠損したシロイヌナズナの遊離糖鎖構造解析  
○山本恭子<sup>1</sup>, 梶浦裕之<sup>2</sup>, 三崎 亮<sup>2</sup>, 藤山和仁<sup>2</sup>, 木村吉伸<sup>3,4</sup>, 前田 恵<sup>1,4</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大・農, <sup>2</sup>阪大・国際交流セ, <sup>3</sup>くら作大・食文, <sup>4</sup>岡山大院・環境生命)

【目的】 $\beta$ 1,2-キシロース転移酵素と  $\alpha$ 1,3-フコース転移酵素は植物複合型 *N*-グリカンの生合成に関わる。これらの酵素のうち  $\beta$ 1,2-キシロース転移酵素を欠損したイネでは生育阻害が起こることが知られている<sup>[1]</sup>。また、 $\beta$ 1,2-キシロース転移酵素と  $\alpha$ 1,3-フコース転移酵素の両方を欠損した *A. thaliana* では、野生株に比べて塩ストレス条件下で生育阻害をより強く受けることが知られている。しかし、これらの酵素の欠損による表現型への影響のメカニズムは明らかになっていない。当研究室では、細胞外空間に植物複合型遊離 *N*-グリカン (PCT-FNGs, M3FX) の存在を見出すとともに、M3FX がインドール-3-酢酸と相互作用することを確認したことから、FNGs がオーキシン機能や輸送に関与する可能性を想定している。本研究では、PCT-FNGs の生理機能解明研究のために  $\beta$ 1,2-キシロース転移酵素と  $\alpha$ 1,3-フコース転移酵素を欠損した *A. thaliana* の遊離糖鎖構造解析を行った。【方法・結果】*A. thaliana* 地上部 (野生株 30.7 g, 欠損株 34.1 g) を液体窒素中で破碎後、0.2 N NH<sub>3</sub> aq 約 30 mL を加え、オリゴ糖鎖を抽出した。抽出液は 0.1 N NH<sub>3</sub> aq 3 L に対して透析後、透析外液を濃縮し、陽・陰イオン交換、ゲルろ過に供し、中性糖鎖を調製した。中性糖鎖は蛍光標識 (PA 化) 後、ゲルろ過、ConA アフィニティカラムに供した。その後、RP/SF-HPLC により溶出パターンを分析した。その結果、欠損株では、GN2 型 FNGs について野生株では検出されない溶出位置にピークが検出された。これらの *N*-グリカンについて  $\beta$ -GlcNAc'ase,  $\alpha$ -Man'ase 消化および MS, MS/MS により構造解析を行っている。[1] Sho Takano, *et al.*, *Plant Science*, **236**, 75-88(2015)

**B-4** *Flavobacterium* sp. SW 菌株由来の新規フコイダン脱硫酸化酵素  
○堀井悠暉, 藤田太洋<sup>1</sup>, 八木寿梓<sup>2</sup>, 鈴木宏和<sup>2</sup>, 大城 隆<sup>2</sup>  
(鳥取大・工, <sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大院・工)

【目的】褐藻類に含まれるフコイダンは、様々な生理活性を有していることから医薬、健康食品などの分野で注目を浴びている。しかし、高分子量かつ不規則・不均一な構造であることから構造と生理活性の関係性は定かではないため、酵素的な低分子化を利用した構造決定が期待されている。当研究室では、オキナワモズクフコイダン資化性菌として単離された *Flavobacterium* sp. SW 株ゲノム上から既知フコイダン低分子化酵素のホモログとして、ガゴメコンブフコイダン低分子化酵素 Swfcn2 を見いだした。本研究では、swfcn2 の周辺遺伝子に着目し、フコイダン分解に関与する酵素遺伝子を探索し、評価した。

【方法・結果】swfcn2 の周辺には糖質分解酵素や sulfatase と推定される遺伝子が合計 6 個見出された。その中で、sulfatase と推定される 2 種の遺伝子の PCR 増幅を行い、pET-21a ベクターに導入した大腸菌を用いて異種生産を行ったところ、Swsu4 と命名した分子量 67 kDa のタンパク質が、Swfcn2 のガゴメコンブフコイダンに対する低分子化活性を促進することが明らかとなった。なお、もう一方の遺伝子産物は酵素活性を示さなかった。さらに、Swsu4 は、ガゴメコンブフコイダン、オオウキモフコイダンに対し脱硫酸化活性を有しており、前者を基質にした場合の遊離硫酸基量は後者からの 2 倍だった。また、酸加水分解により 2 種のフコイダンに含まれる全ての硫酸基量を求めたところ、ガゴメコンブフコイダン、オオウキモフコイダンが有する硫酸基含量はどちらも約 26% (重量比) と同程度であった。



**B-5 放線菌 *Cellulosimicrobium* 属由来キチナーゼが持つ Carbohydrate Binding Module family 5 の機能解析**

○仁木大輔<sup>1</sup>, 益江広稀<sup>1</sup>, 美藤友博<sup>2</sup>, 清水克彦<sup>3</sup>, 有馬二郎<sup>2</sup>

(鳥取大院・連農,<sup>1</sup> 鳥取大院・持社創性,<sup>2</sup> 鳥取大・農,<sup>3</sup> 鳥取大・CoRE)

【目的】キチナーゼは、難分解性であるキチンを分解することが出来、その分解物は医療・食品分野で利用される。そのため、産業利用に向けたキチナーゼの研究が盛んに行われている。多くの細菌由来 Glycoside Hydrolase (GH) family 19 キチナーゼは熱や pH に対し幅広い安定性を持つことが報告されている。しかし、触媒ドメインである GH family 19 domain 及び基質結合に関わる Carbohydrate Binding Module family 5 (CBM5)との関係性については未解明な点が多い。我々はこれまでに、キチン分解放線菌が生産する GH family 19 domain のみ有する Chitinase class I-2 (Chi I-2)と GH family 19 domain 及び CBM5 を有する Chitinase class I-3 (Chi I-3)に焦点を当てた研究を進めている。先行研究では、Chi I-3 の CBM5 を Chi I-2 に付与した Chi I-2+CBM, Chi I-3 の CBM5 を欠損させた Chi I-3 ΔCBM を新たに構築し、CBM5 が基質特異性や基質親和性を改善することを明らかにした。本発表では、CBM5 によるキチナーゼの基質結合能への影響及びキチンオリゴ糖分解能への影響を調べた。

【方法及び結果】各キチナーゼの精製タンパクを用いて基質結合能を調べたところ、CBM5 がキチンやキトサンの結合に影響していた。一方、キチンオリゴ糖分解能を HPLC で検出した結果、CBM5 を持つ 2 つのキチナーゼ (Chi I-2+CBM, Chi I-3) は CBM5 を持たないキチナーゼ (Chi I-2, Chi I-3 ΔCBM) に比べ、(GlcNAc)<sub>4</sub> 分解活性が 65%以下であり、CBM5 ドメインの有無がキチンオリゴ糖分解能の低下に関与していることが示唆された。

**B-6 *p*-Nitrophenyl *N*-acetyl-β-D-glucosaminide 資化性菌 *Enterococcus* sp. MK26 株が生産する陰イオン交換クロマトグラフィーの溶出位置が異なる 4 種類の β-N-acetylglucosaminidase**

○森岡京平<sup>1</sup>, 小野はるか<sup>2</sup>, 小出麻奈<sup>1</sup>, 菅沼笙子<sup>1</sup>, 仁戸田照彦<sup>1,2</sup>, 神崎 浩<sup>1,2</sup> (1岡山大院・環境生命, 2岡山大・農)

【背景・目的】我々は、ハスモンヨトウ蛹 β-N-acetylglucosaminidase (GlcNAcase) に対する阻害剤として、非還元末端に *N,N,N*-trimethyl-β-D-glucosaminium (TMG) 残基を有する TMG-chitotriomycin を見出し、既知の GlcNAcase が TMG-chitotriomycin 感受性と非感受性に分類できることを明らかにしてきた<sup>1,2</sup>。また、そのアナログの *p*NP-TMG も試験したところ、TMG-chitotriomycin 感受性 GlcNAcase を阻害したが、TMG-chitotriomycin の方が阻害活性は数百倍高かった。一方、天然から単離した *p*NP-GlcNAc 資化性菌 MK26 株由来の無細胞抽出液中の GlcNAcase に対する TMG 化合物の阻害活性は、TMG-chitotriomycin 感受性のハスモンヨトウ蛹 GlcNAcase と異なり TMG-chitotriomycin と *p*NP-TMG の阻害活性がほぼ同じレベルであった。そこで、本菌株から GlcNAcase を精製し、その TMG 化合物に対する阻害特異性を検討した。

【方法・結果】*p*NP-GlcNAc 資化性菌 MK26 株由来の無細胞抽出液の GlcNAcase を、疎水性クロマトグラフィー、MonoQ 強陰イオン交換クロマトグラフィーで精製した。MonoQ カラムによる精製で、pH 6.0 および 7.0 の緩衝液では GlcNAcase は樹脂に保持されなかったが、さらに pH を上げた pH 8.5 の緩衝液条件で精製すると、GlcNAcase は樹脂に保持され、4 種に分かれて溶出したことから、等電点の異なる GlcNAcase の存在が示唆された。これら 4 種の GlcNAcase のうち 3 種は *p*NP-TMG によってサブミリモル濃度の IC<sub>50</sub> で阻害されたが、1 種は 2.5 mM においても 15%程度しか阻害されなかった。

1) H. Usuki *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 4146 (2008), 2) H. Shiota *et al.*, *Carbohydr. Res.*, **375**, 29 (2013)

B-7 L-2-Keto-3-deoxyfuconate 4-dehydrogenase における基質特異性の構造基盤の解明  
○赤樫実結, 渡辺誠也<sup>1</sup> (愛媛大院・農, <sup>1</sup>愛媛大・沿岸環境科研セ)

【目的】NAD<sup>+</sup>依存性 L-2-Keto-3-deoxyfuconate (L-KDF) 4-dehydrogenase (L-KDFDH) は、細菌のリン酸化を必要としない L-フコース代謝経路の 4 番目の反応を触媒する。基質である L-KDF は非環状の  $\alpha$ -ケト型であると考えられている一方で、本酵素の哺乳類ホモログである BDH2 は環状の *cis*-4-hydroxy-L-proline (C4LHyp) を基質とする。これらのユニークな基質特異性についての分子基盤を解明するため、我々はこれまでに L-KDFDH のアポ構造と NADH 複合体構造を X 線結晶回折法により明らかにしてきた (本支部第 64・65 回例会で発表)。そこで今回は、基質複合体構造の決定を行った。

【実験・結果】アポ結晶に L-KDF をソーキングした結晶の活性中心には明瞭な電子密度が観察された。驚いたことに、オミットマップには L-KDF の  $\alpha$ -furanosyl hemiketal が当てはまった。別のサブユニットではフラノース環は平面に近い構造を取っており、これはアポ結晶に低い占有率で含まれる NAD<sup>+</sup>と反応してできた生成物 (L-2,4-diketo-3-deoxyfuconate; L,2,4-DKDF) と考えられた。次に、アポ結晶を L-KDF と NAD<sup>+</sup>に短時間ソーキングした結晶を用いて、補酵素-基質複合体構造を決定した。L-KDF は L,2,4-DKDF として結合しており、その結合構造は基質複合体と同じく hemiketal 型だった。L,2,4-DKDF の C4 とニコチンアミド環の C4 の間の距離と角度は、プロトンを引き抜くのに適していた。L-KDF を含む 2-keto-3-deoxysugar acid は、すべて  $\alpha$ -ケト型として酵素に認識されていた。本研究は、単なる物理化学的性質に過ぎないと思われた水溶液中の hemiketal 型構造に初めて生理学的役割を与えるものである。

B-8 Functional insights of allosteric and non-allosteric control of chloroplastic glutathione peroxidase like-1 in *Euglena gracilis*  
○Topu Raihan, Takahiro Ishikawa<sup>1</sup>  
(UGSAS, Tottori Univ., <sup>1</sup>Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Shimane Univ.)

Plant chloroplasts have developed various antioxidant mechanisms, including ascorbate peroxidase (APX), to metabolize reactive oxygen species (ROS) generated during photosynthesis. The phytoflagellate *Euglena gracilis* does not have APX in its chloroplasts, so it is interesting to see how its ROS metabolic system works. According to our transcriptomic analysis, we have found a glutathione peroxidase (GPX)-like gene (EgGPXH-1) that is predicted to be distributed in chloroplasts. In this study, we analyze the physiological significance as well as biochemical properties of EgGPXH-1. Predicted EgGPXH-1 is a non-selenocysteine GPX homologue, and recombinant mature EgGPXH-1 cleaved at the putative transit signal exhibited peroxidase activity with thioredoxin as its electron donor, not GSH, as in plant GPX. The apparent  $V_{max}$  and  $K_m$  value for EgGPXH-1 were 3.03  $\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$  protein and 7.14  $\mu\text{M}$ , respectively during  $\text{H}_2\text{O}_2$  as substrate, whereas those during *t*-BOOH were 4.25  $\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$  protein and 8  $\mu\text{M}$ , respectively. Interestingly, the EgGPXH-1 showed allosteric type regulation during  $\text{H}_2\text{O}_2$  dependent enzymatic catalysis, while it showed non-allosteric type enzymatic regulation during *t*-BOOH as substrate. The suppression of *EgGPXH-1* gene did not induce any significant change in *Euglena* mutant cell lines when grown in both autotrophic and heterotrophic condition, under normal and high light condition.

## B-9 *Saccharolobus solfataricus* P2 由来 L-グルタミン酸デヒドロゲナーゼが示す基質特異性の温度依存的変化

○岡部 樹, 平野将司<sup>1</sup>, 大森勇門<sup>2</sup>, 瀬川美菜子<sup>2</sup>, 米田一成<sup>1</sup>, 大島敏久<sup>2</sup>, 櫻庭春彦 (香川大院・農,<sup>1</sup>東海大・農,<sup>2</sup>大工大・工)

【目的】超好熱アーキア *Saccharolobus solfataricus* P2 には, L-グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (GDH) ホモログをコードする遺伝子が 4 種類存在する。このうち, *SSO1457* 遺伝子を大腸菌で発現させ, 生成された酵素の性質を調べると, 本酵素は 75°C 以下の温度では L-ノルバリンに対して高い活性を示すが, 80°C 以上の温度では L-グルタミン酸に対する活性の方が高くなり, 温度依存的に基質特異性を変化させることが判明した。そこで, 本研究ではこのメカニズムを構造学的に明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】GDH (*SSO1457*) 精製酵素の結晶化を行い, X 線結晶構造解析により NAD/2-オキソ吉草酸結合型と NAD/2-オキソグルタル酸結合型の構造を決定した。次に, MD シミュレーションによって 80°C における酵素と基質の動きを調べた。その結果, 80°C において L-グルタミン酸側鎖と酵素間の相互作用は保持されるが, L-ノルバリン側鎖と酵素間の相互作用は弱まることが示唆された。そこで, L-ノルバリンと疎水性相互作用を形成する M93 をアラニンに変異させた変異酵素を作成したところ, L-ノルバリンに対する活性が消失することが判明した。これらの結果から, 60°C 前後の温度では, 主に L-ノルバリンと M93 の側鎖間で形成される疎水性相互作用により基質結合が安定し, L-ノルバリンに対して酵素の反応性が高くなる。これに対し高温では, L-ノルバリンの側鎖周囲の疎水性相互作用が弱まり, 基質結合が不安定になり, L-ノルバリンに対する活性が低下するが, L-グルタミン酸の側鎖と相互作用する水素結合は保持され, L-グルタミン酸に対する活性は維持されると考えられる。

## B-10 ピロリン-5-カルボン酸レダクターゼの触媒機構の解明

○伊澤命吹, 林 順司<sup>1</sup>, 川上竜巳<sup>1</sup>, 金丸 芳<sup>1</sup>, 大島敏久<sup>2</sup>, 櫻庭春彦<sup>3</sup>  
(徳島大院・生物,<sup>1</sup>徳島大・生物,<sup>2</sup>大工大・工,<sup>3</sup>香川大・農)

【背景と目的】ピロリン 5-カルボン酸レダクターゼ (P5CR) は, ピロリン 5-カルボン酸 (P5C) が L-プロリンとなる反応を触媒する酵素である。P5CR は腫瘍の形成・成長に関与しており, 抗がん剤の標的タンパク質として注目されている。そのため, ヒトや植物など多くの生物由来の P5CR の立体構造が解析されてきたが, 現時点で P5CR の触媒機構は分かっておらず, 触媒残基も特定されていない。本研究では, 超好熱アーキア *Pyrococcus furiosus* 由来 P5CR の立体構造から, 触媒残基の特定および触媒機構の解明を行う事を目的としている。

【方法と結果】先行研究において, *P. furiosus* P5CR (PfP5CR) の X 線結晶構造解析に成功している。PfP5CR とヒト由来 P5CR の構造比較により, 活性中心近傍のアミノ酸残基のうち触媒残基と予想される S163, T220, T225 を PfP5CR に見出した。これらのアミノ酸残基に部位特異的変異を導入し, アラニンに置換した変異酵素の作製を行った。Quick Change 法により各種変異酵素発現用プラスミドを作製し, 発現宿主である大腸菌 BL21(DE3)Codon plus-RIPL を形質転換した。アンピシリンを含む LB 液体培地にて培養した後, IPTG による発現誘導を行った。菌体を超音波破碎し, 遠心分離後の上清を粗酵素液とし, 疎水クロマトグラフィーにより各変異酵素 (S163A, T220A, T225A) を単一に精製した。さらに, P5CR 活性を測定するため, オルニチンアミノトランスフェラーゼを用いて P5C を合成し, P5CR 活性を測定することに成功した。現在, 野生型酵素と各変異酵素の活性を比較しており, その進展を報告する。

**B-11 新規二機能型融合酵素ジアミノピメリン酸脱炭酸酵素/アスパラギン酸キナーゼに関する研究**

○山田萌加, 林 順司<sup>1</sup>, 川上竜巳<sup>1</sup>, 金丸 芳<sup>1</sup>, 大島敏久<sup>2</sup>, 櫻庭春彦<sup>3</sup>  
(徳島大院・生物,<sup>1</sup> 徳島大・生物,<sup>2</sup> 大工大・工,<sup>3</sup> 香川大・農)

【背景と目的】二機能型融合酵素ジアミノピメリン酸脱炭酸酵素/アスパラギン酸キナーゼ(DPDC/AK)は植物病原菌 *Xanthomonas* 属に見出した酵素であるが、研究報告例はなく、機能や調節メカニズムなど一切不明である。また *Xanthomonas* 属は 100 種類以上の植物に対して病気を引き起こすが、有効な農薬や防除方法はない。AK や DPDC はヒトには存在しない遺伝子であり、DPDC/AK の機能や立体構造を解明することで、新規農薬や防除方法の開発に繋がる可能性がある。本研究では *Xanthomonas arboricola* 由来の DPDC/AK のクローニングを行い、大腸菌における発現系を構築し、酵素化学的特徴の解明および立体構造の解析を目的としている。

【方法と結果】*X.arboricola* のゲノム DNA を鋳型として目的遺伝子のクローニングを行い、pET-11a とライゲーションさせ、発現ベクターを作成した。発現ベクターを用いて、大腸菌 BL21(DE3)Codon plus-RIPL 株を形質転換させ、IPTG の添加により目的遺伝子を発現させた。菌体を超音波破碎し、遠心分離により得た上清を粗酵素液とした。5 段階のクロマトグラフィーによって DPDC/AK を精製し、AK 活性の酵素化学的諸性質を調べた。本酵素の熱安定性は 40°C、10 分間で 60% の残存活性を示した。また pH 安定性は pH 6.0 から 7.5 の範囲であった。AK 活性の最適温度と最適 pH はそれぞれ 45°C、pH 7.5 であった。今後、DPDC 活性の検出および酵素化学的諸性質の解明を行う。

**B-12 Novozym435<sup>(R)</sup>を用いた大豆由来ホスファチジルコリンと魚油とのエステル交換反応におけるアルブミン添加の影響**

○池田和弥, 山本幸弘<sup>1</sup> (県広大院・総合学術,<sup>1</sup> 県広大・生物資源)

【目的】大豆由来ホスファチジルコリン(PC)と魚油との酵素的エステル交換反応において、n-3 系多価不飽和脂肪酸(PUFA)含有 PC を高収率で得る方法について検討した。収率改善のため、添加剤として、反応系における水分量の調節が見込めるアルブミンの添加効果を検証した。

【方法】大豆 PC50  $\mu$ mol と魚油(PUFA 含有量 28.5%)をアシル基比が 10 となるようヘキサン 3 mL で溶解し、触媒として Novozym435<sup>(R)</sup>を 39 mg 添加した。さらにアルブミンを 0.5-50 mg 添加し、40°C、900 rpm で反応させた。得られた混合物を HPLC 及び GC に供し、リン脂質残存量と PUFA 導入率をそれぞれ算出した。反応における加水分解の程度を、酸価を調べることで評価した。

【結果・考察】まず、アルブミンの添加量を検討したところ、5.0 mg が最適量だった。経時変化を調べると、24 h で PUFA 導入率は最大の 9.6%に達し、この時の PC 残存量は 20.1  $\mu$ mol だった。一方、アルブミン無添加では、最大導入率は 120 h で 10.9%となり、この時の PC 残存量は 12.1  $\mu$ mol だった。この反応系において、基質の加水分解に与えるアルブミンの影響を調べたところ、無添加と比較して、アルブミンは PC の加水分解を促し、魚油に対しては大きな影響を与えなかった。したがって、アルブミンはエステル交換反応においてアルコール基質である LPC の生成を促すことで、PC 合成を進める作用があることが示唆された。同時に、アルブミンは、反応中の水を吸着することから、過剰な加水分解を抑え、PC 残存量が高く維持されたと考察した。



**C-1 柿葉茶とマメ茶が食事由来脂質及び糖質の消化吸収に及ぼす影響**  
○松本敏也<sup>1</sup>, Bhuiya Mohammad Ariful Islam<sup>2</sup>, 劉 天歌<sup>1</sup>, 鶴永陽子<sup>3</sup>,  
室田佳恵子<sup>1,2,4</sup> ( <sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>鳥取大院・連農, <sup>3</sup>島根大・人間科学,  
<sup>4</sup>島根大・生資料)

【目的】柿葉茶とマメ茶は山陰地方で古くから飲用される健康野草茶であり、脂肪吸収抑制効果などの生理活性が期待されている。本研究では、柿葉茶とマメ茶が有する食事由来脂質と糖質の消化吸収に及ぼす影響を検討した。

【方法・結果】柿葉茶、マメ茶、これらを異なる比率で混ぜた混合茶を用いて、消化酵素阻害活性を *in vitro* で評価した。脂質消化に対する影響は、ブタ膵臓由来リパーゼによりトリグリセリドから遊離する脂肪酸量を測定した。スクロース消化に対する影響は、ラット小腸粘膜ホモジネートをスクラーゼ溶液として用い、生成されるグルコース量を測定した。さらに、ラットに大豆油とスクロースを含む乳化液をゾンデ投与し、6 h までの採血を実施して食後血糖値と血中中性脂肪値を測定した。In vitro 実験の結果より、いずれのお茶もリパーゼ活性及びスクラーゼ活性を阻害したが、リパーゼ阻害活性は柿葉茶の方が有意に高く、スクラーゼ阻害活性はマメ茶の方が有意に高かった。混合茶の酵素阻害活性は、柿葉茶の比率が高いとリパーゼ阻害活性が、マメ茶の比率が高いとスクラーゼ阻害活性が高くなる傾向が見られた。先行実験により、ラットに大豆油と柿葉茶を同時投与すると血中中性脂肪上昇が抑制される傾向が、スクロースとマメ茶の同時投与により血糖値上昇が抑制される傾向が示された。そこで、大豆油とスクロースの混合乳化液を投与し血糖値と血中中性脂肪値がいずれも上昇する実験条件を確立した。現在混合茶がこれらの上昇を抑制できるか検討中である。

**C-2 ブラジル産グリーンプロポリス由来経皮酸誘導体の門脈系／リンパ系輸送比の検証と代謝物の比較**

○山家雅之, 谷 央子, 室田佳恵子<sup>1</sup>  
( (株) 山田養蜂場・健康科研, <sup>1</sup>島根大・生資料)

【目的】プロポリスはミツバチが作る樹脂状の物質で、ブラジル産のグリーンプロポリス (BGP) には、特徴成分としてアルテピリン C やドルパニン等の経皮酸誘導体が含まれている。これらはヘルパーT 細胞やNK 細胞を活性化することが報告されており、BGP の有効成分と期待される。これまで、BGP 投与後における経皮酸誘導体の血中への取り込みや代謝経路を、ヒトとラットで報告してきたが、リンパ系への輸送は検証できていない。そこで本研究では、リンパカニューレラットを用いて BGP 投与後の経皮酸誘導体のリンパ系への移行性と、リンパ液中の代謝物の構成を血中と比較することとした。

【方法・結果】Wistar/ST ラット (♂: 7-8 週齢) の胸部リンパ管及び胃にカニューレを挿入する手術を行い、一晩絶食後、BGP を胃内に投与した。投与前及び投与後 6 時間までのリンパ液と血漿を採取し、脱抱合酵素処理前後の検体を LC-MS/MS にて分析した結果、アルテピリン C とドルパニンのリンパ液中及び血中の濃度は、投与 30 分後にそれぞれ最高に達した。その時点のリンパ液中のドルパニン濃度は血中の 16%程度であったが、リンパ液中のアルテピリン C 濃度は血中の 72%にまで到達し、成分の構造により門脈系／リンパ系輸送比が異なることが示された。また、リンパ液中及び血中の代謝物比較を行った結果、アルテピリン C の主な抱合代謝物は、リンパ液中及び血中ともにグルクロン酸抱合体であった。一方、ドルパニンの主な抱合代謝物は、リンパ液中ではグルクロン酸抱合体であったのに対し、血中ではグルクロン酸抱合体の割合が低く、代謝物構成に違いが認められた。

C-3 腸管免疫グロブリン A 誘導における CpG オリゴ DNA と微生物構成成分の相乗効果とその機構の解析  
○川井光瑠, 鈴木卓弥, 山本祥也 (広島大院・統合生命)

【目的】粘膜において病原体の侵入を防止する免疫グロブリン A (IgA) を誘導する食品・医薬品の開発は、感染予防の観点から注目されている。我々の研究グループでは、粘膜ワクチンアジュバントとして期待されている細菌由来の CpG オリゴ DNA (CpG ODN) の内、Class A CpG ODN (CpG-A) がサルモネラ菌由来リポ多糖 (LPS) により誘導される IgA 産生を増強することを見出している。そこで本研究では、CpG ODN のユニークな免疫学的特性を活用した食品・医薬品の開発を目的に、Class A-C の CpG ODN と様々な微生物構成成分の組み合わせによる IgA 産生への影響の調査とその作用機序の解析を実施した。

【方法】 $5.0 \times 10^5$  cells/well のマウスパリエル細胞を 3  $\mu$ M の各種 CpG ODN と 10  $\mu$ g/mL Zymosan (TLR2/Dectin1-リガンド (L)), Pam3CSK4 (TLR2/1-L), Pam2CSK4 (TLR2/6-L), Poly(I:C) (TLR3-L), Imiquimod (TLR7-L), 5  $\mu$ g/mL LPS (TLR4-L) で 120 時間共培養した。その後、上清中の IgA と IgA 誘導関連サイトカイン (IL-6, IL-10, IL-12, IL-21, BAFF, TGF- $\beta$ 1) 産生量を ELISA により定量した。

【結果・考察】Zymosan を除く Pam3CSK4, Pam2CSK4, Poly(I:C), Imiquimod および LPS が CpG-A と共刺激することで IgA 産生を有意に増強した。また、CpG-A と共刺激した時、Pam3CSK4 は IL-6, Pam2CSK4 と LPS は IL-10, Poly(I:C) は IL-6 と IL-10, Imiquimod は IL-6 と BAFF の産生をそれぞれ有意に増強した。以上の結果から、CpG-A は細菌やウイルスに由来する構成成分が発揮する感染防御機能を相乗的に高める機能性素材であることが明らかとなった。

C-4 ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏がリパーゼ活性に及ぼす影響  
○永野修次, 小松豪太, 藪田行哲, 渡邊文雄, 美藤友博  
(鳥取大・農)

【背景】中性脂質の過剰な蓄積は肥満の原因であると共に、糖尿病や高血圧などの誘発要因であることが知られている。ビタミン B<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>) は生体内でメチルマロニル CoA ムターゼおよびメチオニンシンターゼの補酵素として機能し、奇数鎖脂肪酸及びリン脂質代謝に関与している。一方で、血清中の B<sub>12</sub> レベルと中性脂質レベルの負の相関を示す研究は複数あるが、直接的に B<sub>12</sub> と中性脂質の関係性を示す研究はほとんどない。そこで、本研究では線虫 *Caenorhabditis elegans* を用いて、B<sub>12</sub> 欠乏で中性脂質が蓄積する分子機構を解析することを目的にした。

【方法・結果】B<sub>12</sub> 供与線虫 (コントロール) と B<sub>12</sub> 欠乏線虫はそれぞれ B<sub>12</sub> 添加培地と B<sub>12</sub> 無添加培地で継代的に生育させ調製した。中性脂質の蓄積レベルとその蓄積を Oil Red O 染色で確認したところ、B<sub>12</sub> 欠乏線虫では特に腸管付近において脂肪滴の肥大化が観察された。続いて、中性脂質代謝に関与する遺伝子の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法で評価した結果、B<sub>12</sub> 欠乏において中性脂質の分解に強く関与するリパーゼならびにその酵素の活性化因子の mRNA 発現量が顕著に低下していた。そこで、リパーゼ活性を測定したところ、B<sub>12</sub> 欠乏ではコントロール線虫と比較して約 40% にリパーゼ活性が低下していた。リパーゼ活性を制御する cAMP/PKA 伝達経路を介したペリリピンのリン酸化機構を解析したが、コントロールと B<sub>12</sub> 欠乏では差異は認められなかった。現在は、B<sub>12</sub> 欠乏によって蓄積する奇数鎖脂肪酸がリパーゼ活性低下の要因になりうるかどうかを詳細に検討している。

C-5 ビタミンB<sub>12</sub>欠乏が誘発する早期老化状態が線虫 *C. elegans* の運動機能に及ぼす影響について  
○小川拓郎, 大田千夏, 山本 葵, 藪田行哲, 渡邊文雄, 美藤友博 (鳥取大, 農)

【目的】ビタミンB<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>) 欠乏症は運動機能障害や成長遅延などを引き起こすことが知られているが, その詳細な発症メカニズムには不明な点が多い。先行研究において, モデル生物である線虫 (*C. elegans*) を用いて, B<sub>12</sub> 欠乏線虫では早期からβガラクトシダーゼ活性上昇などの老化マーカーが上昇していることを見出した。そこで本研究では, 老化の指標で1つである運動機能に着目し, B<sub>12</sub> 欠乏で運動機能低下が早期から見られるのかどうか検討した。

【方法・結果】B<sub>12</sub> 供与線虫 (コントロール) と B<sub>12</sub> 欠乏線虫はそれぞれ B<sub>12</sub> 添加培地と B<sub>12</sub> 無添加培地で継代的に生育させ, 調製した。B<sub>12</sub> 欠乏で早期老化状態が確認されている日齢5日目において, 水中でのむち打ち運動回数を評価したところ, コントロールに比べ, B<sub>12</sub> 欠乏線虫では有意なむち打ち運動回数の低下を示した。また, 寒天培地上での運動機能についても水中同様の結果が得られた。続いて, 筋組織のファロイジン染色を行ったところ, B<sub>12</sub> 欠乏線虫ではコントロールと比較して筋組織の形態異常が多く観察された。現在, B<sub>12</sub> 欠乏により筋組織の恒常性のバランスが崩れている可能性を視野に入れ, 筋組織の分解に関与するプロテアソーム活性の評価の準備をしている。

C-6 ペルオキシソーム欠損細胞における極長鎖脂肪酸毒性とオレイン酸による毒性解除  
○砂川佳吾, Hanif Ali, 山西百音, 小林美佑, 公門瑞希, Rumana Yesmin Hasi, 粟飯原睦美, 田中 保 (徳島大院・生物資源)

【目的】炭素数20以上の飽和及びモノ不飽和脂肪酸は極長鎖脂肪酸 (Very Long-Chain Fatty acid ; VLCFA) と呼ばれ, 専らペルオキシソームで酸化消去される。そのため, この代謝に関わるタンパク質を欠損すると, VLCFA が蓄積し, 髄鞘の脱落などの組織変性が現れる。しかし, VLCFA の難溶性が障壁となっており, ペルオキシソーム病の病理は十分に解明されていない。我々は, 最近, VLCFA を可溶化する技術を開発した(1)。本研究では, VLCFA を取り込ませたペルオキシソーム欠損チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO-zp102) の脂質解析から, オレイン酸の毒性解除効果を見出したので報告する。

【方法・結果・考察】種々の VLCFA をアルブミン複合体として CHO 細胞に添加し, その毒性をトリパンブルー染色にて評価した。その結果, ペルオキシソーム欠損 CHO 細胞は野生型細胞と比較して, C24:0 や C26:0 といった VLCFA 毒性に感受性が高いことがわかった。この細胞毒性は VLCFA の蓄積量と相関していたが, 細胞脂質のオレイン酸の減少量とも相関していた。そこで, オレイン酸を細胞に添加した結果, オレイン酸は VLCFA の蓄積を抑制することなしに, 細胞死を回避させることがわかった。LC-MS を用いた解析から, 細胞脂質では, C24:0 の蓄積に伴い, 1位, 2位共にオレイン酸が結合したホスファチジルコリン (PC36:2) が顕著に減少することがわかった。この分子種はオレイン酸添加による細胞生存率の回復と共に, 元のレベルに回復することから, VLCFA 毒性の緩和に関与することが考えられた。

1) Hanif et al., Biochim. Biophys. Acta, 1868, 159259 (2023)

C-7 ジャコウアゲハ幼虫の表現型可塑性について  
○梅津颯太<sup>1</sup>, 手嶋穂香<sup>1</sup>, 北沢千里<sup>2</sup>, 山中 明<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>山口大・理, <sup>2</sup>山口大・教育, <sup>3</sup>山口大院・創成科学)

【目的】ジャコウアゲハの幼虫体色は、環境温の影響を受けてその体色変化させる表現型可塑性を示す。野外個体においては、春・秋季には黒色型幼虫が、夏季には赤色型幼虫が出現する。一方、室内飼育個体において赤色型幼虫を生じさせるには、脱皮前の齢期で高温の経験、かつその経験期間の長さ、また、日内の温度格差が重要であることが判明しているが、最終齢である5齢幼虫の赤色型幼虫を生じさせるには至っていない。今回、日内温度格差の影響を再検討し、さらにUV光照射の影響について検討した。

【方法・結果】今回、幼虫の発育過程における日内温度格差が、幼虫体色の変化にどのような影響を及ぼすかを再検討するため、孵化後の幼虫を、長日（明期16時間・暗期8時間）条件下におき、明期25℃・暗期18℃の日内温度格差をつけて飼育した。3齢0日目幼虫に達した幼虫は毎日、明期間に6時間の38℃の高温処理を与え続け、5齢幼虫の体色を判定した。その結果、室内飼育個体において、初めて赤色型の5齢幼虫が生じた。しかし、赤色型の5齢幼虫は、その後、過齢脱皮をし、6齢幼虫の体色は黒色型に変化した。次に、幼虫を長日25℃条件下で飼育し、3齢0日目から毎日6時間38℃の高温処理とUV光照射する実験を行った。その結果、5齢幼虫に赤色型が生じたが、その後、過齢脱皮をし、6齢幼虫の体色は黒色型に変化した。つまり、UV光は本種の幼虫体色の表現形質に影響を及ぼしている可能性は少ないことが示唆された。以上より、赤色型5齢幼虫の発現には、日内温度格差のある環境が必要で、過齢脱皮の結果も踏まえ、体内の幼若ホルモン濃度も影響していることが示唆された。

C-8 ゴマダラチョウの季節型発現における環境要因の検討  
○田中星丞<sup>1</sup>, 北沢千里<sup>2</sup>, 山中 明<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>山口大・理, <sup>2</sup>山口大・教育, <sup>3</sup>山口大院・創成科学)

【目的】ゴマダラチョウの成虫は、翅の色彩パターンとして、春型および夏型の季節型2型を示す。春型成虫の翅は夏型成虫のものとは比べ、前・後翅のいずれにおいても白色が目立つ色彩をしている。しかし、本種は幼虫で越冬するため、成虫の季節型発現調節に関する研究報告はない。今回、翅の季節型を決定する環境条件の検討、翅以外の部位において春型と夏型を明瞭に区別しうる表現形質を探索した。

【方法 結果】幼虫を長日25℃条件下で飼育した時、すべての羽化成虫の翅は夏型となった。短日18℃条件下において、ほとんどの幼虫は4齢脱皮後の14~40日目の間に越冬態に変化した。一部の幼虫は越冬態に変化することなく蛹化した。その一部は成虫となり、それらの翅はすべて春型となった。各条件下の羽化成虫を比較した結果、翅以外に腹部体色の黒色度合に顕著な差が認められた。越冬態幼虫を30日間の低温処理(5℃・暗所)をした後、長日25℃条件下で起眠させた。起眠幼虫を長日25℃及び18℃条件下で飼育し、成虫を得た。その結果、長日25℃飼育個体群の成虫の翅は夏型であったが、腹部は春型の表現形質が現れた。一方、長日18℃飼育個体群では翅、腹部ともに春型の表現形質が現れた。春型形質の発現には、若齢期の短日の経験と5齢期以降の低温が必要であることが分かった。また、5齢期に達した起眠幼虫を25℃から18℃条件下に入れ替えた場合のみ、羽化成虫の翅と腹部は春型となった。長日25℃飼育個体の除脳実験の結果、羽化成虫は腹部の形質のみが春型に変化した。つまり、本種成虫の表現形質の発現には、複数の内分泌因子が関与している可能性が示唆された。



## C-9 ルリタテハ成虫の季節型発現調節機構について

○田中宏明<sup>1</sup>, 北沢千里<sup>2</sup>, 山中 明<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>山口大・理, <sup>2</sup>山口大・教育, <sup>3</sup>山口大院・創成科学)

【目的】タテハチョウ科のルリタテハ成虫の翅の色彩には夏型と秋型と呼ばれる季節型が存在する。夏型成虫の前・後翅の腹側の色彩は黄褐色を呈し、前翅には明瞭な白状紋が存在する。中・後脚は黄褐色の鱗粉で覆われる。一方、秋型成虫の両翅の腹側全体の色彩は黒みを帯び、前翅の白状紋は夏型に比べて小さい。また、中・後脚は黒い鱗粉で覆われる。実験室内で幼虫を長日 25°C条件下で飼育すると夏型成虫が、短日 18°C条件下で飼育すると秋型成虫が羽化する。これまで、成虫の翅に明瞭な季節型をもつ数種のチョウにおいて、季節型を夏型化させる夏型ホルモンが脳で産生され、体内に分泌されることによって、表現形質を変化させることが知られている。本研究では、本種の季節型発現調節にも、脳由来の内分因子が関与しているかを検討した。さらに、翅以外の部位における色彩変化を詳細に調べた。

【方法・結果】実験室内で孵化させた幼虫は長日 25°C条件下および短日 18°C条件下で飼育した。その結果、前者では夏型成虫が、後者では秋型成虫が羽化した。長日 25°C条件下で得られた蛹より脳を摘出し、脳から粗抽出液を作成したのち、短日 18°C条件下で得られた蛹化当日の蛹に 25 脳相当量を投与した。その結果、投与個体より羽化した成虫の翅の白状紋の面積は、対照群よりも大きくなり、夏型化した。さらに、成虫の各部位を詳細に検討した結果、中脚と後脚の鱗粉の色彩は脳粗抽出液投与群において黄褐色に変化し、夏型化した。以上より、ルリタテハ脳内には成虫の夏型化を促す夏型ホルモンが存在し、翅だけでなく脚の色彩変化をもコントロールしていることが明らかになった。

## C-10 線虫 *Caenorhabditis elegans* の休眠を制御する短鎖神経ペプチド FLP-1 と受容体 FRPR-1 の機能解析

○有年梨沙子<sup>1</sup>, 能勢雅代<sup>1</sup>, 小野真弘<sup>2</sup>, 白石 慧<sup>3</sup>, 佐竹 炎<sup>3</sup>, 岩崎 崇<sup>1,2</sup>, 河野 強<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大院・連農, <sup>3</sup>サントリー生命財団)

【背景・目的】モデル生物・線虫 *Caenorhabditis elegans* は生育環境の悪化（生育密度の上昇・餌の枯渇）に応答して一時的に生育停止し休眠する。環境因子は頭部感覚神経で受容され、下流の TGF- $\beta$  様シグナルならびにインスリン様シグナルを制御し、通常生育/幼虫休眠を決定する。発表者らは短鎖神経ペプチド FLPs (EMRFamide-Like Peptides) が受容体 FRPRs (EMRFamide-like Peptide Receptor) を介して下流のシグナルを制御すると推定した。本大会では、選出した FLP-1 ならびに受容体 FRPR-1 に関する最近の知見を紹介する。本研究では FLPs と受容体 FRPRs を介した生育/休眠制御の全容解明を目的とする。

【方法・結果】まず、生育/休眠に関与する *flp* 破壊株のスクリーニングを行った結果、*flp-1* 破壊が著しい幼虫休眠抑制を示すことなどを明らかにした。ついで、*frpr* 破壊株のスクリーニング、Database に基づく FRPR 発現細胞の検証、機械学習に基づく FLP-1/FRPRs のマッチングによる受容体選定などを行い、*frpr-1* に着目した。①*flp-1* 破壊のレスキュー・過剰発現を行い、*flp-1* の生育/休眠制御への関与を実証した。②生育密度、餌における環境応答を検証し、餌による FLP-1 の分泌量変動を実証した。③下流のホルモンシグナルとのエピスタシス解析（遺伝子的解析）を行い、*flp-1* のインスリン様シグナルへの関与を明らかにした。④FLP-1 はインスリン様シグナルの主要リガンド DAF-28 の産生・分泌を抑制し、幼虫休眠を促進することを実証した。⑤さらに、選別した FRPR-1 が FLP-1 と同様に、DAF-28 の産生・分泌を抑制することを明らかにした。以上の結果から、FRPR-1 が FLP-1 の受容体である、と結論付けた。

C-11 線虫 *Caenorhabditis elegans* の幼虫休眠/生育を制御する短鎖神経ペプチド FLP-11 の機能解析  
○上垣莉瑚, 能勢雅代, 岩崎 崇, 河野 強 (鳥取大院・持社創生)

【背景・目的】当研究室では、モデル生物・線虫 *Caenorhabditis elegans* の幼虫生育制御機構の解明を進めており、頭部感覚神経で産生される短鎖神経ペプチド FLPs (EMRFamide-Like Peptides) に着目した研究展開を図っている。これまでの研究から、FLP-1 など複数種の FLPs が下流に位置するインスリン様シグナル経路を介して幼虫生育を制御することを明らかにした。一方、下流の TGF- $\beta$  様シグナルを制御する FLPs は未同定であった。そこで本大会では、新たに同定した FLP-11 に関する最新の知見を紹介する。本研究では、TGF- $\beta$  様シグナルを介して幼虫生育/休眠制御を行う *flp-11* の分子機構の解明を目的とする。

【方法・結果】まず、遺伝子破壊により休眠率変動を示す *flp* 遺伝子を対象に、休眠抑制ホルモンである DAF-7 (TGF- $\beta$  様シグナル経路のリガンド分子)、ならびに、DAF-28, INS-35 (インスリン様シグナル経路の主要リガンド分子) の分泌変動を検証した。その結果、*flp-11* 遺伝子破壊株が DAF-7 のみの分泌変動を示したことから、同遺伝子を解析対象とした。次いで、① *flp-11* 破壊のレスキュー・過剰発現を行い、*flp-11* の生育/休眠制御への関与を実証した。②環境応答 (生育密度、餌) を検証し、FLP-11 の産生量変動を実証した。③下流のホルモンシグナルとのエピスタシス解析 (遺伝学的解析) を行い、*flp-11* の TGF- $\beta$  様シグナルへの関与を明らかにした。④ FLP-11 は幼虫生育/休眠を制御する TGF- $\beta$  様シグナルの唯一のリガンドである DAF-7 の産生・分泌を抑制し、幼虫休眠を促進することを実証した。以上の結果から、FLP-11 は TGF- $\beta$  様シグナルのリガンド DAF-7 を介して幼虫生育/休眠制御を行うことが明らかになった。

C-12 線虫 *Caenorhabditis elegans* の幼虫休眠を制御する短鎖神経ペプチド FLP-11 受容体の探索と機能解析  
○前賀 翔<sup>1</sup>, 上垣莉瑚<sup>1</sup>, 小野真弘<sup>2</sup>, 白石 慧<sup>3</sup>, 佐竹 炎<sup>3</sup>, 岩崎 崇<sup>1,2</sup>, 河野 強<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大院・連農, <sup>3</sup>サントリー生命財団)

【背景・目的】当研究室では、モデル生物・線虫 *Caenorhabditis elegans* の幼虫生育制御機構の解明を進めており、頭部感覚神経で産生される短鎖神経ペプチド FLPs (EMRFamide-Like Peptides) ならびに受容体 GPCR に着目した研究展開を図っている。これまでの研究から、FLP-11 が下流の TGF- $\beta$  様シグナルの唯一のリガンド DAF-7 (頭部神経細胞 ASI で発現) を介して幼虫生育/休眠制御を行うことなどを明らかにした。そこで、FLP-11 受容体を同定すべく、GPCR ファミリーの 1 つである NPRs (NeuroPeptide Receptors) に着目した研究展開を図った。本研究では、線虫 *C. elegans* の最大のペプチドファミリーの 1 つである FLPs と受容体 NPRs を介した幼虫生育/休眠制御の全容解明を目的とする。

【方法・結果】まず、休眠率変動を指標とした *npr* 破壊株のスクリーニング、Database に基づく NPR 発現細胞の検証 (ASI での発現の有無)、機械学習に基づく FLP-11/NPRs のマッチングなどを行い、*npr-22* に着目した。次いで、① *npr-22* 破壊のレスキューを行い、*npr-22* の幼虫生育/休眠制御への関与を実証した。② *flp-11* 過剰発現と *npr-22* 破壊とのエピスタシス解析 (遺伝学的解析) を行い、FLP-11 が NPR-22 に準じることを明らかにした。③ NPR-22 は FLP-11 と同様に、休眠制御に関わる TGF- $\beta$  様シグナルの唯一のリガンド DAF-7 の産生・分泌を制御することを実証した。④下流のホルモンシグナルとのエピスタシス解析を行い、*npr-22* の TGF- $\beta$  様シグナルへの関与を明らかにした。以上の結果から、NPR-22 が FLP-11 の受容体である、と結論付けた。現在、ASI 細胞での NPR-22 発現を検証している。

D-1  $\alpha$ -トコフェロール代謝物による生体内抗酸化作用の増強効果  
○西尾友花, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之  
(岡山大院・環境生命)

【目的】 $\alpha$ -トコフェロール ( $\alpha$ -T) は種実類や植物油に豊富に含まれるビタミンEである。摂取した  $\alpha$ -Tの一部は、肝臓においてシトクロム P450 による  $\omega$  酸化とそれに続く  $\beta$  酸化により、側鎖の短い  $\alpha$ -カルボキシメチルブチルヒドロキシクロマノール ( $\alpha$ -CMBHC) や  $\alpha$ -カルボキシエチルヒドロキシクロマン ( $\alpha$ -CEHC) へと代謝される。 $\alpha$ -T はフリーラジカル捕捉や一重項酸素消去といった直接的な抗酸化作用が広く知られているが、代謝物が生体内で抗酸化作用を発揮できるか否かについては不明な点が多い。そこで本研究では、 $\alpha$ -T,  $\alpha$ -CMBHC および  $\alpha$ -CEHC の抗酸化作用を複数のモデル実験で比較した。

【方法・結果】まず、DPPH ラジカル消去活性を評価した結果、 $\alpha$ -CMBHC および  $\alpha$ -CEHC は  $\alpha$ -T よりも低濃度でラジカル消去活性を示した。次に、これら化合物の過酸化水素消去能を調べたところ、いずれの化合物も同程度の弱い消去活性しか示さなかった。さらに、マウス由来肝がん細胞株 Hepa1c1c7 を用い、各化合物の Nrf2 レベルに及ぼす影響を評価した。その結果、 $\alpha$ -CEHC は、 $\alpha$ -T 同様、細胞内および核内の Nrf2 レベルを上昇させる傾向が見られ、 $\alpha$ -CMBHC は細胞内、核内ともに Nrf2 レベルを有意に上昇させた。以上の結果から、 $\alpha$ -CMBHC および  $\alpha$ -CEHC は直接的なラジカル消去に加え、Nrf2 細胞内シグナルを活性化させることで、親化合物よりも強い抗酸化活性を発揮することが示唆された。現在、Nrf2 の核内移行に伴う抗酸化酵素遺伝子発現の評価を行っている。

D-2 フラボノイド類の培地中での安定性評価  
○森田凌世, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之  
(岡山大院・環境生命)

【目的】野菜・果物に含まれるフラボノイド類は、様々な細胞内シグナル伝達を介して抗酸化や抗炎症作用を発揮することが示されている。一方、フラボノイド類の多くは水溶液中での安定性が低いことが示唆されており、培地成分や血清を含む細胞培養条件下においても安定性は高くないと考えられる。この不安定性が生理活性に大いに影響すると考えられるが、構造安定性と生理活性との相関については十分に理解されていない。そこで本研究では、フラボノール化合物であるガランギン (Gal), ケンフェロール (Kae), ケルセチン (Que) およびミリセチン (Myr) を用い、培地中での安定性を調査した。

【方法・結果】Gal, Kae, Que, Myr を培地 (Minimum Essential Medium  $\alpha$ ) に溶解し、37°C で 1, 3 および 6 時間保温後、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて各化合物の培地中の残存量を測定した。その結果、Gal および Kae は 6 時間後でも保温前と同程度の濃度で残存していた。一方、Que は保温 1 時間後には約 30% に、6 時間後には数% 程度にまで減少した。Myr の残存量は培地に溶解後ただちに減少し、3 時間後には検出限界以下となった。次に、抗酸化物質共存下における Que の安定性評価を行なった。アスコルビン酸ナトリウム (AsANa) 存在下での Que の残存量を測定したところ、保温 1 時間後で約 80% の Que が残存しており、AsANa 非存在下と比較して 5 倍程度残存していたが、3 時間後では AsANa 非存在下と同程度まで減少した。現在、構造安定性と生理活性の関係性について検討中である。

**D-3 アルデヒドの定量を基盤としたアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性評価法の確立**  
○永富稜汰, 村田芳行, 宗正晋太郎, 中村俊之, 中村宜督  
(岡山大院・環境生命)

【目的】アセトアルデヒド (AA) は、エタノールの代謝によって生成する毒性化合物である。アセトアルデヒドを含めたアルデヒドの定量には、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) -HPLC 法が汎用されている。また、アルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) 酵素活性は通常、還元型補酵素の定量により評価されているが、細胞内に蓄積した AA 量と ALDH 酵素活性との関係について詳細に検討した例は少ない。そこで本研究では、簡便な ALDH 活性評価法の確立を目標として、細胞培養用培地 (MEM $\alpha$ ) 及び細胞内の AA 量を DNPH-HPLC 法を用いて定量し、これらと ALDH 活性との関係を調査した。

【方法と結果】播種した細胞数の異なるマウス肝がん Hepal1c7 細胞に AA 処理し、3 時間後の培地に残存する AA 量を DNPH-HPLC 法により定量した。無細胞培地においては、AA 処理 3 時間後の AA 残存量は処理前の 50%以下にまで低下し、AA の処理濃度が高いほど AA 残存量は低下した。一方、細胞を播種した培地においては、細胞数に依存して培地中の AA 残存量が有意に減少した。さらに、AA 処理した細胞内にも AA が蓄積していることを確認した。次に、細胞のライセートが試験管内 AA 濃度に与える影響を調査したところ、時間依存的に AA 濃度が減少することが確認できた。以上の結果から、反応液中の AA を DNPH-HPLC 法を用いて直接定量することで ALDH 活性を測定できることが示唆された。現在、ALDH 活性-補酵素測定法との比較を検討中である。

**D-4 フェノールカルボン酸の細胞保護作用における構造と活性の相関**  
○中村宜督, 本山綾乃, Liu Tiansihan, 石倉亜希, Li Kexin, 村田芳行,  
宗正晋太郎, 中村俊之 (岡山大院・環境生命)

【目的】飲酒により摂取したエタノールは、吸収された後に肝臓でまずアセトアルデヒド (AA) に代謝され、さらにアルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) により酢酸へと変換されることで無毒化される。過剰な AA 蓄積は、顔面紅潮や頭痛といったフラッシング反応やアルコール依存性疾患の原因となるが、食品成分により総 ALDH 活性を増強できればこれらの予防に貢献できると考えられる。これまでにケルセチン配糖体腸内細菌代謝物のフェノールカルボン酸類が ALDH 活性の増強を介してアセトアルデヒドに対する細胞保護作用を示すことを報告してきた。本研究では、フェノールカルボン酸の構造類縁体に注目し、それらの細胞保護作用を評価するとともに、活性発現に必要な最小構造と分子機構を考察した。

【方法と結果】マウス肝がん由来 Hepal1c7 細胞に各種フェノールカルボン酸類を 6 時間処理し、総 ALDH 活性を測定した。細胞保護作用は各化合物の前処理が AA 誘導細胞毒性に与える影響を MTT アッセイにより評価した。カテコール構造を有する 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸やプロトカテキユ酸 (PCA) だけでなく、モノフェノールの 3-ヒドロキシフェニル酢酸、4-ヒドロキシ安息香酸 (OBnA) およびフェルラ酸も有意な ALDH 活性増強作用と細胞保護効果を示したが、フェノール性水酸基を有さない馬尿酸や安息香酸は ALDH 活性に影響を与えなかった。以上の結果から、ALDH 活性増強作用には少なくともモノフェノールカルボン酸構造が必要であり、水酸基の位置は影響を及ぼさないことが示唆された。現在、PCA や OBnA が ALDH 分子種の発現に与える影響を検討中である。



**D-5 米ぬかワックスを用いた安定なオレオフォームの作製**  
○山添多希緒, 小泉晴比古, 上野 聡  
(広島大・生物生産)

【目的】マーガリンなどの油脂食品では、健康リスクを高めるトランス脂肪酸や飽和脂肪酸の含有量が少なく、低カロリーな製品の開発が求められている。そのため、植物ワックスをゲル化剤として、液状油を硬化させた食用オレオゲルが注目されている。また、食品中に気泡を分散させて泡にすると、低カロリー化できるだけでなく、軽い食感、消化の良さを持たせることができる。そこで、オレオゲルに空気を抱き込ませた泡、オレオフォームを、米国食品医薬品局(FDA)によって安全性が認められた、米ぬかワックスをゲル化剤として作製することを試みた。オレオフォームを製品に応用させるために重要な、起泡性や保存安定性への米ぬかワックス濃度、液状油の種類の影響を明らかにすることを本研究の目的とした。

【方法・結果】まず、ゲル化剤として米ぬかワックスを、試料全量に対して5%、液状油としてオリーブ油を用いた。必要量の材料を遠沈管に入れ、80~100℃で湯煎し、20分間加熱攪拌したのちに冷却してオレオゲルを作製した。その後ビーカーに移して氷冷させながらハンドミキサーで60分間攪拌した。10分ごとに攪拌を止め、起泡性を示す値、オーバーラン測定を行ったところ、最大70%に達した。そこで、米ぬかワックス濃度を5%に固定し、オリーブ油と同様にキャノーラ油とひまわり油を用いてオレオフォームを作製した。それらのオレオフォームについてオーバーラン測定や、偏光顕微鏡を使った結晶形態、結晶量の観察を行い、発表当日は液状油の違いが起泡性や保存安定性に及ぼす影響についても報告する。

**D-6 実用化に向けたひまわりワックスオレオゲルの最適条件の探索**  
○三上春菜, 小泉晴比古<sup>1</sup>, 上野 聡<sup>1</sup>  
(広島大・生物生産, <sup>1</sup>広島大・統合生命)

【目的】マーガリン等の固体油脂を製造する技術として部分水素添加法が多く用いられてきた。しかし、この方法で製造された固体油脂には、動脈硬化のリスクを高めるとされているトランス脂肪酸が含まれる。そのため近年、部分水素添加法を用いない固体油脂の開発が進められており、その中でもオレオゲルの代替油脂としての可能性が注目されている。しかしながら、味の悪さから未だ実用化には至っていない。そのためより低濃度でのオレオゲル作製が必須であるが、低濃度オレオゲルの冷却速度の違いを比較した研究は無い。そこで本研究では冷却速度がオレオゲルに与える影響に着目し、安定性を評価することを目的とした。

【方法】100℃に加熱したひまわりワックスとキャノーラ油を攪拌し、3種類の冷却速度で20℃まで冷却し、オレオゲルを作成した。このオレオゲルを針入度測定で硬さを比較し、硬さの要因を結晶サイズ、結晶数、結晶量、結晶の歪みから考察するために偏光顕微鏡観察、DSC測定、及び放射光X線回折測定を行った。

【結果】針入度測定の結果より冷却速度が速いオレオゲルの方が硬くなることが分かった。偏光顕微鏡観察によって結晶サイズを比較したところ、冷却速度が速い方が結晶サイズは小さくなっているのが観察された。放射光X線回折測定では、冷却速度が速い方が結晶の歪みが小さくなることが分かった。また、示差走査熱量測定では冷却速度が速い方が結晶量が多くなることが分かった。これらの結果より、オレオゲル作製時の冷却速度はオレオゲルの硬さに影響を及ぼすことが分かった。

D-7 コオロギの筋肉から回収した塩溶性タンパク質の熱的挙動  
○藤田 武, 石井統也<sup>1</sup>, 小川雅廣<sup>1</sup>  
(香川大院・農, <sup>1</sup>香川大・農)

【目的】昆虫は畜肉に替わる持続的なタンパク質源として着目されている。畜肉や魚肉の塩溶性タンパク質 (actomyosin ; AM) は、加熱によりゲル化する性質を有しており、この性質はかまぼこやソーセージ等の製造に利用されている。本研究では、食用昆虫の代表格であるコオロギを使用し、昆虫の筋肉を構成する AM が、畜肉や魚肉と同様の熱的挙動を示すか調べた。

【方法・結果】実験材料には、フタホシコオロギ (*G. bimaculatus*) の胸部の筋肉およびニワトリの胸肉を使用した。筋肉から AM を抽出し、SDS-PAGE により myosin heavy chain や actin の分子量、円二色性 (CD) 測定により二次構造を調べた。また、加熱によるタンパク質の構造変化や凝集性を、それぞれ CD 測定と濁度測定により調べた。その結果、コオロギとニワトリの myosin heavy chain や actin, tropomyosin の分子量には、殆ど違いが見られなかった。また、コオロギ AM の二次構造はニワトリ AM と同様に、 $\alpha$ -Helix を多く含んでいた。コオロギ AM の熱変性温度は 47.4°C、ニワトリ AM の熱変性温度は 49.2°C であった。さらに、コオロギ AM の凝集物の存在を反映する濁度は、ニワトリ AM と同様に、60°C 付近で急激に増加した。これらの結果から、コオロギ AM の熱的挙動は、畜肉に近いことが示唆された。

D-8 乳酸菌を活用したヒスタミン非蓄積マグロ魚醤油の開発  
○藤光洋志, 若田幸秀, 根平美沙, 長崎稔拓, 加藤 愛, 小谷幸敏, 斉尾 訓<sup>1</sup>  
(鳥取産技セ・食品, <sup>1</sup>(株)丸綜)

【目的】鳥取県境港では夏季に毎年 1,300 トン以上の天然クロマグロが水揚げされる。特徴として、内臓を含んだまま水揚げされることが挙げられる。内臓は魚体重の約 14% を占め、その活用方法を検討した結果、鳥取県内の企業からマグロ魚醤油が製造販売された。魚醤油は発酵過程でアレルギー様食中毒の原因となるヒスタミンが蓄積することがある。魚醤油のヒスタミン濃度は、国内規制値はないものの海外では規制されている (CODEX 400 ppm 以下)。安全性の観点から、国内外を問わずヒスタミン濃度は低い方が望ましい。そこでヒスタミンを生成しない可能性が高い乳酸菌をスターターとして発酵初期に添加することで、ヒスタミン非蓄積マグロ魚醤油が製造できないか検討することを目的とした。

【方法・結果】(国研)水産研究・教育機構が分離したスターター乳酸菌 3 種 (*Tetragenococcus halophilus* 14-1, 14-3, 8-25 株) を用い、ヒスタミン蓄積抑制効果を実験室内での小規模試験、製造工場内での大規模試験で評価した。ヒスタミン蓄積の機序は、魚醤油の pH 低下に対する乳酸菌のストレス応答と考えられる。そこで発酵開始時の pH を変化させ、ヒスタミン蓄積を抑制できるか検証した。その結果 pH を変化させず発酵させることが有効であった。大規模製造試験においても、スターター乳酸菌を添加することでヒスタミン蓄積を抑制できることを確認した。また、原料の麴由来の乳酸菌の混入が結果に影響することも危惧され、その対策として麴添加前にスターター乳酸菌を加え、スターター乳酸菌が優占な状態にすることや、スターター乳酸菌の増殖を促すために糖類の添加などが有効ではないかと考察している。

D-9 特徴的なアルコール飲料醸造のためのローカル酵母の探索  
○田宮光香子, 青木優佳, 居山日菜乃, 川崎裕香子, 藤井遥花, 下田絵美子,  
児玉基一郎 (鳥取大・農)

【目的】発酵食品・飲料製造において中心的な役割を担っている酵母種は *Saccharomyces cerevisiae* であるが、従来活用が進んでいなかった *Lachancea* 酵母などの非サッカロマイセス酵母、いわゆる non-conventional yeasts (NCY, 非従来型酵母) に対する関心が世界的に高まっている。さらに近年、酒類に関しては、ノン(低)アルコール飲料が世界的なブームともなっている。本研究では、これまでに県内外の植物材料(花など)から分離した1,600株を超える酵母ライブラリー中のNCYについて、低アルコールなどの特徴的なアルコール飲料醸造のために活用できる酵母系統の探索を試みた。

【方法・結果】各酵母をYPDB培地に移植し、一晚振盪培養(30°C, 300 rpm)した後、一定濃度に調整した。各酵母液をそれぞれ96ウェルマイクロプレート中のYPDB培地、YPM(マルトース)B培地およびMalt extract (ME)培地に添加し静置培養(30°C)した。培養6, 24および48時間後のOD600測定に基づく増殖率検定により、各酵母の資化性を評価した。また、YPMB培地、5%ME培地および10%ME培地中で、ガストラップチップを添加した静置培養を行い、24および48時間後に経過観察し各酵母の発酵力を比較検討した。その結果、各種培地を用いた資化性試験において、YPMB培地およびME培地ともに標準株と比較して増殖率が低く、市販低アルコールビール醸造用酵母に類似した低マルトース資化性を示すNCY株が見出された。これらのNCY株は、低アルコールビール醸造のための候補株となる可能性が示唆された。

D-10 ニホンナシ由来ポリフェノール類の品種間差異  
○河野優花, 秋山結香<sup>1</sup>, 山本博昭, 竹村圭弘, 石原 亨, 児玉基一郎  
(鳥取大・農, <sup>1</sup>鳥取大院・持社創生)

【目的】鳥取県特産品であるニホンナシ‘二十世紀’の葉は、果実と比較して3,5-ジカフェオイルキナ酸(3,5-DCQ)、クロロゲン酸およびアルブチンなどのポリフェノール(PP)を多量に含有しており、これらのPPを“ナシPP”と呼称している。これらPPは高い抗酸化活性を有していることも明らかになっている。本研究では、農学部附属大塚農場で維持管理されているナシ遺伝資源を活用し、各ナシ品種葉におけるPPを定性・定量するとともに、その抗酸化活性の品種間差異について比較検討した。

【方法・結果】‘二十世紀’などのニホンナシ栽培品種、チュウゴクナシおよびセイヨウナシに属する各品種、また、ナシ属野生種などを含む合計128品種の成葉を使用し、エタノールを用いて抽出物を調製した。総PP含量をFolin-Ciocalteu法により評価するとともに、3,5-DCQ、クロロゲン酸およびアルブチン量をHPLC分析により比較解析した。抗酸化活性については、DPPH法およびSOD法により評価した。その結果、総PP量および各ナシPP含有量、また、抗酸化活性は品種間で明確な差異が認められた。特に、‘二十世紀’などいくつかの品種は、他と比較して、PP含量および抗酸化活性が有意に高いことが明らかとなった。これら品種の葉は、新規食品・飲料や化粧品開発における有益なリソースである可能性が示唆された。

#### D-11 ニホンナシに由来するポリフェノール類の特性と機能性

○秋山結香, 美藤友博<sup>1</sup>, 薮田行哲<sup>1</sup>, 石原 亨<sup>1</sup>, 下田絵美子<sup>1</sup>, 児玉基一郎<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生,<sup>1</sup>鳥取大・農)

【目的】鳥取県特産品であるニホンナシ‘二十世紀’の葉は、果実と比較して3,5-ジカフェオイルキナ酸(3,5-DCQ)、クロロゲン酸およびアルブチンなどのポリフェノール(PP)を多量に含有しており、これらのPPを“ナシPP”と呼称している。さらに、二十世紀ナシ葉抽出物は、高い抗酸化活性を有することも明らかとなっている。本研究では、二十世紀ナシ葉の化粧品・機能性食品素材としての有用性を検証するため、ナシPPの有するメラニン生成抑制活性や抗菌性など、各種機能性を検討した。

【方法・結果】凍結乾燥ナシ葉から、エタノールおよびブチレングリコールを用いて抽出物を調製した。ナシ葉抽出物、また、アルブチン、クロロゲン酸および3,5-DCQなどのナシPPを用いて、B16メラノーマ細胞におけるメラニン生成抑制活性、また、*Streptococcus mutans*に対する抗菌活性を検討した。その結果、ナシ葉抽出物および各ナシPPは、B16メラノーマ細胞のメラニン生成を阻害することが明らかとなった。ナシPPの中では、特に3,5-DCQが高い阻害活性を示した。また、ナシ葉抽出物および各ナシPPは、*Streptococcus mutans*の生存率や増殖率を低下させるとともに、乳酸生成も抑制することが明らかになった。これらの結果は、ニホンナシ葉が新規化粧品・機能性食品開発のための素材となり得る可能性を示している。



## E-1 コリネ型細菌を宿主とした 2-ヒドロキシグルタル酸生産とその輸送体に関する研究

○片岡尚也<sup>1,2</sup>, 松下一信<sup>2,3</sup>, 薬師寿治<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>山口大・研究推進, <sup>2</sup>山口大・中高温微研セ, <sup>3</sup>山口大・農)

【目的】2-オキシグルタル酸 (2-OG) は、クエン酸回路の中間体であり、産業上重要な化合物へと生物学的に変換可能な化合物である。しかしながら、2-OG からグルタミン酸を経由せず生成される化合物 (2-OG 派生物と呼ぶ) の発酵生産に関する報告は極めて限定的である。本研究では、2-OG 派生物の発酵生産におけるコリネ型細菌の有用性を 2-ヒドロキシグルタル酸 (2-HG) 生産をモデルに評価した。加えて、コリネ型細菌における 2-HG 排出担体の同定も試みたので、併せて報告する。

【方法】コリネ型細菌 *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 を生産宿主として用いた。2-HG は 2-OG から一段階の還元により生成される。本研究では、2-HG 脱水素酵素をコードする *Acidaminococcus fermentans* 由来の *hgdH* 遺伝子を用いた。*hgdH* 遺伝子を恒常的に発現可能なプロモーターの支配下に配置し、ゲノムに挿入した変異株 (2-HG 生産株) を作製した。培養は、ジャーファメンターを用いて行い、222 mM のグルコースを含む最小培地を用いた。

【結果】2-HG 生産株を 2-OG の蓄積を誘導する窒素源かつビオチン量を制限した培地 [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6 g/L, ビオチン 2.5 μg/L] で培養したところ、80.1 mM の 2-HG が培地中に蓄積した (0.390 mol/mol glucose)。加えて、2-HG 排出担体の同定を目的にグルタミン酸およびジカルボン酸の排出単体として知られる遺伝子 (*sucE*, *ynfM*, *yggB*) を標的とした逆遺伝学的な解析を行った。その結果、グルタミン酸排出担体 (YggB) を介して 2-HG が部分的に培地中に排出されていることが示唆された。

## E-2 グルコノバクター属酢酸菌において外膜ポーリンがペリプラズム代謝と生育に及ぼす影響

○上田貴樹, 片岡尚也, 松下一信, 薬師寿治 (山口大院・創成科学)

【目的】酢酸菌は好気性のグラム陰性菌として広く自然界に存在する。*Gluconobacter* 属酢酸菌は、多様な物質酸化反応をペリプラズムにおいて高効率で行うことが知られている。特に *Gluconobacter oxydans* NBRC3244 は、キナ酸からデヒドロキナ酸への酸化を触媒するキナ酸脱水素酵素 (QDH) を細胞質膜のペリプラズム側に保有するので、この酸化反応はペリプラズム代謝となる。本研究ではこのペリプラズムでのキナ酸酸化代謝に着目し、外膜の輸送体を高発現させることで反応場であるペリプラズムへの材料供給を保証し、デヒドロキナ酸の生産効率を上昇させることを目的とした。

【方法・結果】先行研究でキナ酸を輸送することが示唆されていた *Acinetobacter baylyi* ADP1 の外膜ポーリン (QuiX) を発現させた。生育を伴うキナ酸酸化を行うと、QuiX の発現により反応速度の上昇が見られた。しかし同時に生育も向上したので、細胞あたりの物質変換能の評価が難しかった。そこで、休止菌体反応系でキナ酸酸化能を定量したところ、QuiX の発現によりキナ酸の酸化速度が向上した。よって、外膜の輸送がペリプラズム代謝の律速段階の一つであることが示された。また、休止菌体反応系でのキナ酸酸化には、グリセロールが必要で、プロトノフォアである CCCP によって阻害された。これらの結果から、QuiX はプロトン駆動力をエネルギー源とする TonB 依存性トランスポーターであることが推測された。一方で、酢酸菌には *quiX* に似た遺伝子が QDH をコードする遺伝子の近傍に存在する。現在、この *quiX* ホモログの遺伝子破壊株を構築中であり、結果を合わせて報告する。

### E-3 耐熱菌由来の熱ショックタンパク質による大腸菌のストレス耐性強化

○佐藤 悠, 岡野憲司<sup>1</sup>, 本田孝祐<sup>2,3</sup>

(山口大・中高温微研セ,<sup>1</sup> 関西大・化生工,<sup>2</sup> 阪大・生工国交セ,

<sup>3</sup> 阪大・先導的学際研)

【目的】低分子量の熱ショックタンパク質 (sHSP) は, 細胞内でのタンパク質の凝集防止や他のシャペロンを伴うリフォールディングなどを促進し, 細胞内のタンパク質の恒常性に寄与している。これまでに中温性生物由来の sHSP を発現によるストレス耐性の向上が報告されており, 中には線虫由来の sHSP の発現により大腸菌の最高生育温度を上昇させた例[Ezemaduka et al. (2014) J. Bacteriol. ]もある。「より過酷な環境下で増殖可能な生物由来の sHSP であればストレス耐性をさらに強化できる」と考え, 本研究では高温で増殖可能な細菌由来の sHSP が大腸菌のストレス耐性に及ぼす影響を評価した。

【方法・結果】原核生物の生育温度データベース(<http://togodb.org/db/tempura>)を利用して, 大腸菌と系統的に近縁から遠縁まで多様な 13 種を選抜した。一部のバクテリアは複数の sHSP を有しており, 計 18 種類の sHSP を使用した。大腸菌にて異種発現させて SDS-PAGE により確認したところ, 可溶性画分にて 17 種類の sHSP の発現が確認でき, いずれも熱処理(70-80°C, 30 分)に耐えうる熱安定性を示した。これらの発現株を多様な条件[高温(52°C), 凍結融解, 酸性(pH3), アルカリ性(pH 11), 高浸透圧(10% NaCl)]に暴露し, 暴露前後の生菌数から生存率を算出した。その結果, 空ベクターを含むコントロール株と比較して, 全ての条件において各発現株の生存率の方が 1 桁から 3 桁ほど高いことが明らかとなった。また, 一部の発現株は長期の高温条件下(52°C, 5 日間)でも生存可能であることが示された。本成果により, 宿主のストレス耐性の向上に高温で増殖可能な耐熱菌の sHSP が有用であることが示された。

### E-4 Comparative analysis of secondary metabolite profiles through overexpression of the SARP-type transcriptional activators

○Yang Liu, Yuya Misaki, Kenji Arakawa

(Grad. Sch. Integr. Sci. Life, Hiroshima Univ.)

Production of secondary metabolites in *Streptomyces* species is regulated by various regulatory proteins, among which *Streptomyces* antibiotic regulatory proteins (SARPs) have been characterized as transcriptional activators for secondary metabolites. *Streptomyces rochei* 7434AN4 harbors 15 SARP genes, 3 of which are located on a giant linear plasmid pSLA2-L and others are on the chromosome.

A series of recombinant strains harboring SARP genes were constructed. To induce gene expression, we used the plasmid pIJ8600, a thiostrepton-inducible expression vector. The *S. rochei* SARP genes were cloned into pIJ8600, and the recombinants were cultivated. We used a non-antibiotic-producing strain KA20 that lacks the signaling molecule biosynthesis gene *srrX* as a host to analyze secondary metabolite production through induction by SARP proteins.

Then, the SARP gene recombinant of *SRO\_3163* accumulated a UV-active compound, YM3163-A, which was not detected in the parent strain and other SARP recombinants. In addition, the SARP gene recombinant of *SRO\_0732* accumulated a UV-active azoxyalkene compound KA57-A, which has been isolated by our group from the genetically engineered strain KA57.

## E-5 藍染液中のインジゴ還元におけるリグニンの役割

○大畑陽花, 中川香澄<sup>1</sup>, 竹内道樹<sup>2</sup>, 阪本鷹行<sup>3</sup>, 櫻谷英治<sup>3</sup>

(徳島大院・創成科学,<sup>1</sup> 岐阜大・応用生物,<sup>2</sup> 京大院・農,

<sup>3</sup> 徳島大院・社会産業)

【背景と目的】藍染の染料となるインジゴは非水溶性であるが、染液中では微生物により水溶性のロイコインジゴに還元されている。即ち、染液造りの簡便化や染色力の持続には藍染液中の微生物によるインジゴ還元メカニズムの解明が必須である。先行研究において、染液由来のインジゴ還元菌による *in vitro* 実験系を確立したが、実際の染液よりもインジゴの分散度が低かった。そこで、本研究では染液の原料であるタデアイ由来の高分子フェノール性化合物リグニンに着目し、インジゴ還元反応とリグニンとの関係性を精査した。

【方法と結果】インジゴ還元菌 *Alkalibacterium* sp. B3F-M6 株を 0.03% および 0.3% リグニンを含むインジゴ還元評価培地に植菌し、4 日間静置培養した後、染色試験およびサイクリックボルタンメトリー (CV) によるロイコインジゴ量測定に供した。その結果、0.03% リグニン添加により、染色力の向上とロイコインジゴ量の増加が確認された。一方、0.3% リグニン添加条件ではそれらの効果が低下したことから、過剰なリグニンはインジゴ還元を阻害することが示唆された。さらに、0.03% リグニンによるこれらの効果は、異なるインジゴ還元菌株においても確認された。また、それぞれの培養上清における再酸化インジゴの粒子径を測定した結果、0.03% リグニン添加条件でインジゴ粒子径は 24 nm と最も小さく、かつ均一な分散が確認された。これらのことから、リグニンとインジゴが会合し微粒子化することで、非水溶性のインジゴが水溶液中で分散していることが推測された。

## E-6 南極ユキドリ営巣跡から分離した微生物からのバイオフィーム阻害物質のスクリーニング

木下 颯<sup>1</sup>, 濱本登羽<sup>1</sup>, Siddiq Ayesha<sup>1</sup>, 林 昌平<sup>2</sup>, ○阿座上弘行<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup> 山口大・農, <sup>2</sup> 島根大・生資科, <sup>3</sup> 山口大・中高温微研セ)

【目的】19 地点の南極土砂サンプルから 7 綱 40 属に分類される細菌約 1500 株を単離・同定し、それらは南極微生物ライブラリーとして凍結保管した。その中のユキドリ営巣跡から単離された約 200 株について、病原菌のバイオフィーム形成への影響をスクリーニングした。

【方法】ライブラリーの菌株を 15°C, 10 日間または 25°C, 7 日間培養した後、培養上清を調整した。これらの培養液を緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 及びう蝕原性細菌 *Streptococcus mutans* UA159 の培養液に添加し、バイオフィーム形成量を定量した。

【結果】スクリーニングの結果、192 株中 10 株の培養液が *P. aeruginosa* に対して、6 株の培養液が *S. mutans* に対してバイオフィーム形成を 60% 以上阻害した。強い活性を示した株の半数以上が *Bacillus* 属に分類されるものであり、同じ営巣跡から分離されたものであった。*P. aeruginosa* に対して強い阻害を示した 10 株のうち 5 株を再培養してそれらの培養上清のバイオフィーム阻害を調べたところ、4 株において高い阻害活性が確認できた。その 4 株全てが 4% 濃度でも阻害が見られ、うち 1 株は 1% 濃度でも阻害が見られた。また、*S. mutans* に対して強い阻害活性を示した 6 株のうち 5 株を再培養してそれらの培養上清のバイオフィーム阻害を調べたところ、1 株において高い阻害活性が確認できた。その株は 4% 濃度でも阻害が見られた。さらに、この株の培養上清は *S. mutans* の増殖を阻害したことから、増殖阻害によるバイオフィーム阻害効果であることが示唆された。

E-7 納豆菌由来のグラム陰性菌に対する抗細菌物質の解析  
○山根若菜, 欄所美友, 森本日向, 柿田明音, 丸山雅史  
(愛媛大・農)

【目的】微生物汚染が医療や食品、畜産など様々な産業分野において深刻な社会問題となっている。特にグラム陰性菌は外膜構造により病原性が強く、薬剤透過性が低いとされるため、安全かつ効果的な微生物制御が求められている。枯草菌は多様な抗菌物質を生産することから、産業利用に向けた研究が進められている。そこで、枯草菌の変種である納豆菌の抗菌性を網羅的に調査した結果、納豆の起源や菌種を問わず普遍的に一定の抗菌性をもつことが確認され、そのスペクトルは培養条件により大きく変わることを明らかにした。本研究では、その中からグラム陰性菌に対する抗細菌物質の解析を試みた。

【方法・結果】YM培地で調製した宮城野株培養液の生育阻害活性について性状解析を行った結果、本物質は低分子でありpHや熱に対する安定性が高いと推定された。また、精製方法の確立に向けC18およびSPカラムにより吸着特性の検証を行ったところ、親水性が極めて高く弱電荷の物質であると推察された。現在Shodex SUGAR SH1821カラムにより得られた6つの活性画分についてMS分析を行い、納豆菌が生産する代表的な抗菌物質であるジピコリン酸、および新規物質の可能性も考慮しながら構造解析を試みている。一方、本物質は浮遊細胞下での液体培養物中には確認されず、バイオフィーム存在下で現れたことから、その生産にはクオラムセンシングおよび関連誘導因子が関係していると推察された。

E-8 エタノール存在下における *Fructilactobacillus fructivorans* の生育特性の解析  
○山本祥也, 井本翔太, 加藤 節, 井川 武<sup>1</sup>, 三本木至宏  
(広島大院・統合生命, <sup>1</sup>広島大・両生研)

【背景・目的】火落菌が清酒腐敗の原因となることは古くから知られている。火落酸要求性を特徴とする真性火落菌 *Fructilactobacillus fructivorans* は、エタノールが存在すると生育がよくなる「好エタノール性」を示し、細胞が伸長することが報告されている。本研究では、エタノール存在下における *F. fructivorans* の生育特性を解析することで、有機溶媒に対する火落菌の応答メカニズムを明らかにする。

【方法・結果・考察】*F. fructivorans* 標準株 JCM1117<sup>T</sup>、および酒類総合研究所より入手した H-1, H-42, S-14, S-35 株をエタノール添加の火落菌検出培地 (SI 培地) で 14 日間培養した。その結果、JCM1117<sup>T</sup> 株はエタノール無添加培地で最も速く増殖し、次いで 7 および 10% エタノール添加の順に増殖が遅くなった。一方、他の 4 株の増殖は、エタノール無添加培地よりも 7 および 10% エタノール添加培地の方が速く、「好エタノール性」を再現できた。次に、S-35 株を 7% エタノールで培養中にエタノール無添加培養に置き換えたところ、増殖が低下することを見出した。さらに、7% エタノール添加の S-35 株培養液を HPLC で定量し、エタノール無添加区と比べたところ、グルコース濃度は減少し、乳酸濃度が増加することを見出した。一方で、7% エタノール添加培地と比較して、エタノール濃度に変化はなかった。これらの結果は、S-35 株にはエタノール資化性はないが、エタノール添加によってグルコースから乳酸への代謝活性が上昇することを示唆する。本発表では、S-35 株のエタノール有無による細胞形態や遺伝子発現量の違いについても併せて報告し、*F. fructivorans* の「好エタノール性」について新知見を議論したい。



E-9 放線菌が生産するバイオフィーム形成阻害物質のスクリーニング  
○角川幸治<sup>1,2</sup>, 苗井秀太<sup>1</sup>, 森 一心<sup>2</sup>, 中條佐保<sup>1</sup>, 木下 颯<sup>3</sup>, 濱本登羽<sup>3</sup>,  
Siddiqa Ayesha<sup>3</sup>, 阿座上弘行<sup>3,4</sup>  
(<sup>1</sup>広島工大・生, <sup>2</sup>広島工大院・工, <sup>3</sup>山口大・農, <sup>4</sup>山口大・中高温微研セ)

【目的】放線菌は極めて多様な二次代謝産物を産生し、有用な抗生物質を産生することが知られている。放線菌は、一般的に土壌に生息しており、これまでに報告されている放線菌の多くが、土壌を分離源として取得されている。そこで、当グループでは、植物を分離源として放線菌の分離を行い、ライブラリーの構築を行った。そのライブラリーを用いて、病原菌のバイオフィーム形成へ影響を与える可能性のある放線菌のスクリーニングを行った。

【方法】広島工業大学周辺に自生している植物を分離源とし、シクロヘキシミドを添加した寒天培地を用いて放線菌のスクリーニングを行った。単離された放線菌については、ISP2 培地を用いて 30℃, 96 時間, 120 時間, 144 時間培養を行い、培養上清を調整した。これらの培養上清を緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 及びう蝕原性細菌 *Streptococcus mutans* UA159 の培養液に添加し、バイオフィーム形成量を定量した。

【結果】スクリーニングの結果、385 株の植物由来放線菌を取得した。この 385 株の培養液を用いてバイオフィーム形成阻害活性の調査を行った。その結果、16 株の培養液が *P. aeruginosa* に対して、21 株の培養液が *S. mutans* に対してバイオフィームの形成阻害活性を示した。うち 1 株は、どちらの株に対しても、強いバイオフィームの形成阻害活性を示した。培養時間については、120 時間培養後の培養上清の活性が最も強かった。また、*S. mutans* に対して低濃度で特異的に抗菌活性を示す培養液も見つかった。

E-10 放線菌 *Streptomyces incarnatus* のセレン含有型ギ酸脱水素酵素の発現解析  
○趙 小卉, 久保真緒, 根本理子, 金尾忠芳, 田村 隆  
(岡山大院・環境生命)

【目的】脱炭素社会の構築には安定性が高いCO<sub>2</sub>固定化触媒が有用である。セレン含有型ギ酸脱水素酵素(FDH)はCO<sub>2</sub>とギ酸の相互変換を触媒する酵素であるが、嫌気性細菌に広く分布するFDHの多くは酸素感受性が高い。放線菌は、抗生物質などの二次代謝産物を生産するグラム陽性の好気性細菌として知られているが、核酸系抗生物質シネフンギンを生産する*Streptomyces incarnatus* NRRL8089のゲノムを解読した結果、セレノシスチン(Sec)をコードするUGAコドンを含むfdh遺伝子がアノテーションされ、その近傍にSec翻訳に必要なselABCDクラスターも同定された。セレン含有型fdhの発現を解析するために嫌氣的/好氣的培養におけるfdh遺伝子の発現を解析した。【方法・結果】放線菌*S. incarnatus*をISP No.2培地にて30℃で振とう培養した。その前培養液を3本のISP No.2培地50 mlに植菌してゴム栓付バイアル瓶にて静置培養した(n=3)。嫌気培養では気相をArガスで置換して、対照(好気)実験では大気で置換した。嫌気度を目視で確認するために培養液に10 ppmレサズリンを添加した。経日的に培養液を抜き取り、遠心分離により集菌した菌体からRNAを抽出した後、ReverTra Aceを用いた逆転写反応に供した。内標準は16S rRNA遺伝子を指標とした。本菌のfdh遺伝子から107 bpの断片を生成するPCRプライマー対を設計してKOD SYBR qPCRmixを用いてStratagene Mx3005P装置にてCt値を測定した。fdh遺伝子は嫌気培養2日目以降で発現量が増加した。好気培養した対照実験区と比較すると本菌のfdhは嫌氣的条件で発現することを示唆した。

E-11 *Streptomyces thermolineatus* JCM6307 が保有するキチン分解系タンパク質の発現解析

○枝並研一郎, 益江広稀, 有馬二郎<sup>1</sup> (鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)

【目的】キチンは自然界ではセルロースに次いで多く生産され、その分解物から様々な生理活性が認められているため、次世代バイオマス資源として注目されている。一方で、分解には複雑な工程や環境負荷等が問題とされている。これらの問題解決のため、酵素による直接的な分解方法の開発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、*Streptomyces thermolineatus* JCM6307 (6307 株) から高度な  $\alpha$ -キチン分解能を見出した。また、6307 株をキチン入り培地で培養することで、複数のキチン分解系タンパク質(19, 29, 45 kDa) の分泌が観察された。本研究では、6307 株の全ゲノム解析を行い、本菌が保有するキチン分解系タンパク質を網羅すると共に、培養条件と発現との関係性を評価した。

【方法・結果】6307 株の全ゲノムを解析した結果、6 種の Chitinase (29, 31, 40, 55, 59 及び 60 kDa) と 2 種の Lytic polysaccharide mono-oxygenases (LPMO) (32 及び 19 kDa) を保有することが明らかとなった。6307 株をキチン入り培地で培養し、7 日目の培養上清のウエスタンブロッティングを行った結果、3 つの Chitinase (29, 40 及び 55 kDa) と 1 つの LPMO (19 kDa) の発現が確認された。また、2 つの Chitinase (31 及び 60 kDa) と 1 つの LPMO (32 kDa) については小分子量のバンドが確認され、発現はしているが断片化されていることが考えられた。現在、性質の異なるキチン基質を用いて培養し、培養日数に応じたキチン分解系タンパク質の発現の動向を調査している。

E-12 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 のカニ殻分解に寄与するタンパク質の解析

○益江広稀, 溝尻怜史, 有馬二郎<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)

【目的】キチンを産業利用するにあたって化学的分解が主流となっているが、コストや環境負荷が課題となっている。そこで、キチンを豊富に含むカニ殻の温和な環境での生物学的分解を試みて本研究室では、カニ殻堆肥からキチンを直接分解できるキチン分解菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 (NTK2 株) を単離した。本研究では、NTK2 株のカニ殻添加条件での培養の挙動やキチン分解活性の確認に加え、実際に NTK2 株の生育やキチン分解に寄与するタンパク質の解析を目的とした。

【方法・結果】カニ殻を添加した ISP1 液体培地で NTK2 株を 7 日間培養し、その培養上清を用いて様々なキチン基質に対する活性試験を行ったところ、カニ殻添加条件のみで活性が確認された。そこで NTK2 株のゲノム情報から確認されている 10 種類のキチン分解系タンパク質の一次抗体を用いてウエスタンブロッティングを行ったところ、全てのキチン分解系タンパク質の発現が確認された。しかし、培養上清のみではカニ殻の効率的な分解が困難であったため、NTK2 株の細胞の存在の有無がキチン分解に影響を及ぼしている可能性が考えられた。そこで菌体を破砕した沈殿物のタンパク質を比較し、カニ殻を添加して培養した細胞でのみ見られるタンパク質の N 末端アミノ酸配列解析とウエスタンブロッティングを行った結果、Chitinase C1 と GH Family 19 chitinase が確認された。現在は、その他のキチン分解系タンパク質の有無の確認と、生育に関わるキチン分解系タンパク質以外のタンパク質について解析を進めている。

E-13 キチン分解菌 *Cellulosimicrobium* sp.NTK2 における結晶性キチンの認識と分解  
○溝尻怜史, 益江広稀, 有馬二郎<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)

【目的】 *Cellulosimicrobium* sp.NTK2(NTK2 株)は、カニ殻コンポストから単離されたキチン分解放線菌であり、今後未利用キチンからの有用物質生産への活用が期待される。全ゲノム配列解析の結果、NTK2 株はゲノム中に 8 種類のチナーゼと 2 種類の多糖モノオキシゲナーゼを持つことが判明した。NTK2 株は多くのキチン分解系タンパク質を保有することで、効率的にカニ殻を分解している。しかし、培養後の上清を酵素サンプルとした場合では、短鎖のキチナーゼ基質に対する活性は確認できるものの、長鎖のキチナーゼ基質に対する分解能が非常に低いことが課題となっている。本研究では、NTK2 株による結晶性キチンの認識とその分解様式を検討した。

【方法・結果】 長鎖のキチン基質である Chitin azure を使用し、NTK2 株の培養上清と菌懸濁液で 24h 当たりの分解量を比較したところ、菌懸濁液から高い分解活性が確認された。また、キチンを添加して NTK2 株を培養し、培養中のキチンを SEM で観察したところ、NTK2 株がキチンに接着している様子が観察された。これらの結果から、NTK2 株はキチンを認識し接着することで、効率の良い長鎖のキチン分解が行われていることが示唆された。また、NTK2 株の生育が顕著に向上する Mg 添加条件において、長鎖のキチンに対する分解活性が向上した。以上の結果から、Mg の添加によりキチンの認識が活発になることが考えられた。今後は Mg の添加により発現が顕著に増加するタンパク質についてノックアウトを行い、発現タンパク質がキチンの認識・分解に及ぼす影響について詳細に調査する。

F-1 液胞アミノ酸トランスポーターAvt3 と Avt4 の比較解析  
○八木新葉, 岡崎真士, 河田(河野)美幸<sup>1,2,3</sup>, 関藤孝之<sup>1,2</sup>  
(愛媛大・農,<sup>1</sup>愛媛大院・農,<sup>2</sup>愛媛大・PROS,<sup>3</sup>愛媛大・ADRES)

【目的】出芽酵母液胞膜では多数のアミノ酸トランスポーターが重複して機能する。液胞から中性・塩基性アミノ酸を排出するトランスポーターAvt4 と非常に相同性が高い Avt3 は中性アミノ酸のみを排出する。本研究では液胞アミノ酸トランスポーターの機能分化について検討するために Avt3 と Avt4 の活性調節に焦点を当て解析を行なった。

【方法・結果】銅処理によって抽出した液胞内アミノ酸を自動アミノ酸分析計にて定量すると、*avt3* Δ株では栄養豊富条件で中性アミノ酸含量が野生株に比べ顕著に増加したのに対し、*avt4* Δ株では窒素飢餓条件で中性・塩基性アミノ酸含量が野生株よりも顕著に高いレベルで維持されていた。このことは栄養条件によってこれらトランスポーターの活性が変化することを示唆する。Avt4 は栄養豊富条件で TORC1 依存的にリン酸化され、窒素飢餓条件では細胞内レベルが増加するとともに脱リン酸化され活性化することが示唆されている。そこで Myc<sup>9</sup> タグを付加した Avt3 を発現させ抗 Myc 抗体を用いたウエスタンブロット解析により検出したところ、窒素飢餓条件で Myc<sup>9</sup>-Avt3 は細胞内レベルが低下し、リン酸化状態は維持されたままであった。また TORC1 阻害剤ラパマイシン存在下でも脱リン酸化されなかった。このことは Avt3 が Avt4 とは異なる調節を受けることを示唆する。Avt3 と Avt4 はともに3つの保存配列を含む約300 アミノ酸残基の長い親水性領域を有し、Avt4 ではこの領域が基質輸送を負に調節することが示唆されている。本発表ではN末端親水性領域を欠損した変異型 Avt3 の解析結果も併せて報告したい。

F-2 液胞にアミノ酸を取り込むトランスポーターAvt1 の調節とその意義について  
○御供 遥, 佐藤明香音, 八木新葉<sup>1</sup>, 岡崎真士<sup>1</sup>, 河田(河野)美幸<sup>1,2,3</sup>,  
関藤孝之<sup>1,2</sup> (愛媛大院・農,<sup>1</sup>愛媛大・農,<sup>2</sup>愛媛大・PROS,<sup>3</sup>愛媛大・ADRES)

【目的】液胞アミノ酸トランスポーターによる液胞内外へのアミノ酸輸送は細胞内アミノ酸ホメオスタシスに寄与することが示唆されている。本研究では、中性アミノ酸およびヒスチジンを液胞内へ取り込むトランスポーターである Avt1 の生理機能について、その活性調節からアプローチを試みた。

【方法・結果】液胞内へアミノ酸を取り込む Avt1 はアミノ酸ホメオスタシスに寄与するのであれば、栄養豊富条件で機能すると考えられる。しかし、その細胞内レベルは窒素飢餓条件で GATA 転写因子依存的に増加し、老化細胞が増加する定常期においても GATA 転写因子依存的に基底レベルが維持された。そこで以前報告された老化細胞におけるミトコンドリア機能維持への Avt1 の関与に着目し、ミトコンドリア機能不全に伴う鉄飢餓応答を野生株、Avt1 欠損株/過剰発現株の間で比較した。その結果、Avt1 による鉄飢餓応答抑制作用が示されたが、ミトコンドリア機能への影響はごく限定的と考えられた。そこで、窒素飢餓条件での Avt1 のリン酸化に着目した。複数のリン酸化部位を含む Avt1 N末端親水性領域を欠損させた変異型 Avt1 は脱リン酸化型が増加し、その発現株は液胞内アミノ酸量の増加と生育低下を示した。このことは、Avt1 の活性が N末端親水性領域を介して負に調節されていることを示唆する。さらに N末端欠損変異型 Avt1 は窒素飢餓条件で積極的に分解されていることも示唆されており、同条件で Avt1 は細胞内レベルが増加する一方でリン酸化等により不活化されているとの仮説を立て解析を進めている。



### F-3 分裂酵母の haploid meiosis を誘導する変異体の解析

○佐々木洸輔, 藤原麻衣, 南 はつね, 中川太介, 松尾安浩, 川向 誠  
(島根大・生資料)

【目的】分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)は通常, 一倍体で安定しており, 栄養源が豊富な条件下では体細胞分裂によって連続的に増殖している。しかし, 窒素源が枯渇すると, 一倍体の状態で有性生殖過程に移行し, 接合過程を経ずに減数分裂が開始され, 孢子形成まで至る haploid meiosis という現象を引き起こす。haploid meiosis を引き起こす Bioneer 社由来の TN1 や TN5 株では *mat1-h1* 領域が欠損しているが, それが単独原因ではないことがわかっている。同時に *pat1* にも 1ヶ所変異が入っていることがわかっている。本研究では haploid meiosis の原因遺伝子と *mat1-h1* 領域の関係性の解明を目的としている。

【方法・結果】haploid meiosis を引き起こすことがわかっている TN1 や TN5 株を野生株と掛け合わせることで *pat1* に 1ヶ所変異を持ち, *mat1-h1* 領域が正常な株を作製し, 窒素源枯渇条件下で顕微鏡観察を行い, haploid meiosis 率を算出した。その結果, *pat1* に 1ヶ所変異を持ち, *mat1-h1* 領域が正常な株では, haploid meiosis を引き起こさないことがわかった。過去の研究から *pat1* に変異を持たず, *mat1-h1* 領域を欠損している株では haploid meiosis を引き起こさないことが分かっている。これらの結果より, *pat1* に 1ヶ所変異を持ち, *mat1-h1* 領域を欠損していることが haploid meiosis を引き起こす原因ではないかと考えた。

### F-4 分裂酵母のエノラーゼ遺伝子の解析

○天野統幾<sup>1</sup>, 南口瑛鞠<sup>1</sup>, 松尾安浩<sup>1,2</sup>, 川向 誠<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>島根大・生資料, <sup>2</sup>島根大院・自然科学)

【目的】エノラーゼは 2-phosphoglycerate から phosphoenolpyruvate に変換する反応を触媒する解糖系酵素であり, *Schizosaccharomyces pombe* では *eno101*, *eno102* の二つの遺伝子でコードされている。*eno101* は有性生殖に関与する *Moc1*, *Moc3*, *Moc4* と相互作用することが報告されている。一方, *eno102* は有性生殖のシグナル伝達経路の一つの cAMP-PKA 経路で機能する *pkal* の破壊株で発現量が増加していることが報告されている。以上から, これら二つの遺伝子は *S.pombe* の有性生殖に関与していることが考えられ, 有性生殖とエノラーゼに着目して研究を進めた。

【方法・結果】*eno102* の遺伝子破壊株, *eno101*, *eno102* の GFP タギング株を作製した。*eno102* 遺伝子破壊株を孢子形成培地に播き, 接合・孢子形成率の算出を行ったところ, 孢子形成培地で *eno102* Δ株の接合・孢子形成率は野生株と同程度であった。*eno102* Δ株は YES 培地・低グルコース培地, 窒素源枯渇培地で生育遅延は見られず, KCl, TBZ 添加培地で感受性も示さなかったが, 経時寿命の延長は見られた。Eno102-GFP の発現量は低グルコース培地で増加し, 細胞質と核に局在することを観察した。*pkal* Δ株, 有性生殖を正に調節する *rst2* の破壊株でも低グルコース下で発現量の増加が見られた。Eno101-GFP は細胞内で明確な凝集体を形成していることを見出した。一方 Eno102-GFP の凝集体形成は見られなかった。二つのエノラーゼが独立に制御されていると推定している。

F-5 *Saccharomyces cerevisiae* BA11 を利用した効率的バイオエタノール生産  
○樫谷侑太郎, 浅田元子, 中村嘉利  
(徳島大院・創成科学)

【背景・目的】近年, 石油などの枯渇性エネルギーに代替しうる再生可能エネルギーとしてバイオエタノールが注目されている。トウモロコシやサトウキビなどの食糧と競合しないリグノセルロース系バイオマスを原料に用いるには, 脱リグニン前処理・糖化・発酵の過程が必要であり, その効率化が求められる。脱リグニン処理には熱を伴うことが多く, その排熱を利用し安定した糖化を行うために, 好熱性古細菌由来のセルラーゼを使用することとした。必須 3 種セルラーゼを大量発現させ取得し, その最適温度を決定した上で, 酵素糖化の効率化を図ることを目的とした。また, 本研究室保有の *S. cerevisiae* BA11 株は通常株では難しい 40°C 以上での発酵が可能であり, 雑菌の繁殖が抑制できる上に排熱を多段階で使用することができる。そのため, *S. cerevisiae* BA11 株の特性を明らかにすると共に, 耐熱アダプテーションを行い, 耐熱温度の上昇を試みることも目的とした。

【方法・結果】古細菌由来耐熱性セルラーゼ EG, BG, CBH を大腸菌を用い 5 種発現させ熱のみで精製し粗酵素を得た。これらを用いてセルロース糖化条件を検討し最適組合せを温度条件別に決定した。*S. cerevisiae* BA11 株を 44°C でアダプテーションを行い発酵実験を行うことで熱耐性の確認を行った。実際のバイオマスには糖以外 (酸やフルフラール等) も含有されているため, BA11 株での発酵阻害がどの程度引き起こされるかを確認した。今後はさらなる BA11 株の耐熱化アダプテーションを行うとともに, 酵素カクテルの活性向上のための添加割合による相乗効果を検討する予定である。

F-6 野生酵母によるワイン醸造とその解析  
○北岡鮎美, 赤尾 健<sup>1</sup>, 金子明裕<sup>2</sup>  
(岡山理大院・理工, <sup>1</sup>酒総研, <sup>2</sup>岡山理大・ワイン発酵科セ)

【目的】近年, 地域創成の一環として自然界の花や果実などから野生酵母を分離し, 特別感や独自性のある発酵食品の開発や研究が盛んに行われている。本研究では, 岡山県内の動植物からワイン醸造に適した野生酵母を単離し, ワイン醸造を行うことを目的とした。また, 糖資化性試験を実施し他の酒類への応用の可能性を探った。

【方法・結果】スクロース 22% を含む培地及びピロ亜硫酸塩 60 ppm (pH3.5) を含む培地を用いて, 岡山県内の植物や昆虫, 両生類, 爬虫類など計 369 サンプルから, 11% 以上のエタノール生産能を有し, 亜硫酸含有培地で生育してきた 178 株の菌を単離した。さらに高濃度の亜硫酸耐性試験と 26S rDNA の遺伝子解析を実施し, ユチャ(ツバキ)の花, ビワの花, ブドウの実から 5 株の *Saccharomyces cerevisiae* を単離した。また清酒酵母である K-7 株を参照配列として, 次世代シーケンサーによるゲノム配列解読結果から各菌株の SNP の位置を求め, 菌株間の塩基配列の不一致率(置換率)に基づいて系統樹を作成した。単離した酵母を用いて'マスカット・オブ・アレキサンドリア'ブドウから白ワインの醸造を行ったところ, 5 株ともアルコール度数 11% 以上のワインとなった。また, 糖資化性試験によりマルトース資化性を有する株が 3 株確認され, ビール醸造への応用の可能性が示唆された。

F-7 ワインパミスの麹菌固体培養による微生物変換 -培養基材と麹菌種の比較検討-  
○岡 深雪<sup>1</sup>, 藤田彩楓<sup>1</sup>, 奥川日菜乃<sup>2</sup>, 三宅剛史<sup>3</sup>, 伊藤一成<sup>3</sup>, 山下秀行<sup>4</sup>,  
中川拓郎<sup>4</sup>, 平野幸司<sup>5</sup>, 深野夏暉<sup>2</sup>, 仁戸田照彦<sup>1,2</sup>, 神崎 浩<sup>1,2</sup> (1岡山大学・農,  
2岡山大学・環境生命, 3岡山県工技セ, 4樋口松之助商店, 5果実工房)

【目的】我々は麹菌がワインパミス（搾りかす）上で良好に生育し、ワインパミス麹の MeOH 抽出物中のワインパミス成分や抗酸化活性に変化が観察されること、またそれらの変化は果皮と種子ごとに特徴的であることを報告してきた<sup>1-4)</sup>。そこで今回は、培養基材であるワインパミスから従来の果皮と種子を混合した状態で培養した混合培養麹、およびそれを果皮と種子に分別した分別果皮麹・分別種子麹に加え、果皮と種子を個別に培養した果皮培養麹・種子培養麹を新たに調製し、これら5種類の麹の成分変化を比較検討した。また、2種の異なる麹菌 *Aspergillus oryzae* 6001 株と *A. oryzae* 6020 株を上記の培養基材で生育させ、それらの成分変化を比較した。【方法・結果】麹菌固体培養で得られたワインパミス麹をそれぞれ MeOH 抽出し、それらについて総ポリフェノール量 (TPC) と抗酸化活性の測定、および UPLC による成分分析を行った。その結果、TPC と抗酸化活性、カテキン類量、プロシアニジン量については果皮と種子で独立した変化が観察され、果皮培養麹と分別果皮麹の間および種子培養麹と分別種子麹の間で違いがみられたが、菌株による違いは一部でしか見られなかった。しかし、全ての麹で malvidin-3-O-glucoside 量が 6001 株で有意に減少し、6020 株では培養終了まで含量が維持された。また、培養基材に含まれないコウジ酸は培養後期に 6001 株でのみ生産された。これらの結果から、培養基材や使用する麹菌株によって異なる機能性を持ったワインパミス麹を創生できる可能性が示唆された。

農化1) '21.3 仙台, 3C06-06, 2)三支部 '21.9 鹿児島, C-p06, 3) '22.3 京都, 2B02-04, 4) '23.3 広島, 2B07-05

F-8 オリーブ葉を基材とする麹菌固体培養における培養法と培養温度の影響  
○木村光喜<sup>1</sup>, 辰巳七海<sup>1</sup>, 伊藤一成<sup>2</sup>, 谷野有佳<sup>2</sup>, 竹内赴登<sup>2</sup>, 山下秀行<sup>3</sup>, 吉田靖弘<sup>4</sup>, 徐 恵美<sup>4</sup>, 菊地敬一<sup>4</sup>, 深野夏暉<sup>5</sup>, 仁戸田照彦<sup>1,5</sup>, 神崎 浩<sup>1,5</sup> (1岡山大学・農, 2岡山県工技セ, 3樋口松之助商店, 4日本オリーブ, 5岡山大学・環境生命)

【目的】我々はこれまでに、シャーレ培養法、無通風箱培養法（箱培養）、小型通気式固体培養装置を用いた培養法（機械培養）の3種の異なる方法でオリーブ葉を基材とした麹菌固体培養を行い、オリーブ葉成分の変化を報告してきた<sup>1-3)</sup>。従来は培養温度を 30℃で一定にして製麹していたが、本研究では醤油麹の製麹を参考に培養途中で温度を 25℃へ低下させる条件で箱培養を新たに行い、培養温度がオリーブ葉成分の微生物変換に与える影響を検討した。【方法】*Aspergillus oryzae* 6001 株をオリーブ葉に植菌し、30℃一定の箱培養と、培養途中で温度を 30℃から 25℃に低下させる箱培養を実施した。これらの培養で得られたオリーブ葉麹について各種酵素活性の測定と、MeOH 抽出物の総ポリフェノール量測定、抗酸化活性測定、UPLC による成分分析を行った。【結果】培養温度を途中で低下させた麹は、培養の後半における  $\alpha$ -amylase や  $\beta$ -glucosidase の活性の低下が、一定の温度で培養した麹よりも緩やかであった。MeOH 抽出物の分析結果からは、どちらの麹でも総ポリフェノール量や抗酸化活性をある程度維持しながら、オリーブ葉に含まれる主要なポリフェノール化合物の oleuropein が減少していること、flavone 類の構造変換が起きていることが確認されたが、こちらも温度を低下させた麹では変化が緩慢であった。箱培養の麹から得られた結果は機械培養のもの<sup>3)</sup>とも異なる傾向であったため、培養法と培養温度の調整によって麹の機能性を変化させられる可能性が示唆された。 1) 2021.3 農化大会（仙台）：3C06-07,

2) 2022.3 農化大会（京都）：2B02-05, 3) 2023.3 農化大会（広島）：2B07-06

## F-9 フザリウム属糸状菌による様々な植物油からの水酸化脂肪酸への変換条件の検討

○ 葭田 快, 阪本鷹行<sup>1</sup>, 杉森大助<sup>2</sup>, 櫻谷英治<sup>1</sup>

(徳島大院・創成科学,<sup>1</sup> 徳島大院・社会産業,<sup>2</sup> 福島大・共生理工)

【目的】 水酸化脂肪酸 (HFA) は炭素骨格に1つ以上の水酸基を有する脂肪酸であり, 化粧品, 医薬品, ポリマーなどの原料として幅広い分野で注目されている。しかし, HFA の多くは細胞毒性が高いため, 微生物による発酵生産は困難である。一方, 本研究室ではこれまでに HFA である 10-ヒドロキシステアリン酸 [10(OH)-18:0, HYB] や 10-ヒドロキシ-12-オクタデセン酸 [10(OH)c12-18:1, HYA] 生産能を有するユニークな糸状菌 *Fusarium* sp. D2 株を見出した。また, 本菌株は総脂肪酸の 40%に相当する HYB を蓄積する高い HFA 耐性を有しており, HFA 発酵生産育種株として期待される。しかし, D2 株の HYA・HYB 生産に関わる脂肪酸水和酵素は遊離脂肪酸を基質とするため, トリアシルグリセロールを主成分とする貯蔵脂質を利用した HFA 生産効率は低かった。そこで, 本研究では植物油を基質とし, 菌体外リパーゼ高生産性細菌 *Cedecea davisae* KK12.2 株による遊離脂肪酸生成と *Fusarium* sp. D2 株による遊離脂肪酸の水和反応を組み合わせた, 効率的な水酸化脂肪酸生産を試みた。

【方法と結果】 *C. davisae* KK12.2 株を2日間培養後, キャノーラ油やアマニ油などの植物油を添加し, さらに3日間培養することでリパーゼによる脂肪酸の遊離化を誘導した。次に, *C. davisae* KK12.2 株培養液をオートクレーブ滅菌した後, *Fusarium* sp. D2 株を植菌して4日間振盪培養後, 3日間または7日間静置培養した。培養後の菌体内脂肪酸をガスクロマトグラフィー分析に供したところ, HFA 生産性向上が確認された。

## F-10 植物の生長を制御する真菌由来のmVOCの同定

○ 久保裕一郎, 三輪佳蓮<sup>1</sup>, 那須久瑠光, 上田晃弘<sup>1</sup>

(広島大・生物生産,<sup>1</sup> 広島大・統合生命)

【目的】 植物の生長を促進させる微生物を Plant Growth Promoting Microbes (PGPM) と呼ぶ。接種した PGPM は, 直接植物に有益な物質を供給することで植物の生育を促進することが知られているが, 揮発性物質 (microbial Volatile Organic Compound, mVOC) を介した間接的な植物 - 微生物間相互作用機序の理解は進んでいない。本研究では間接的な植物生育促進作用を持つ真菌を単離し, 植物の生長制御能を持つ mVOC の同定や mVOC を用いた植物生長調整剤の開発の素地を構築することを目的とした。

【方法】 2分割シャーレ内の 1/2 濃度の MS 培地上でシロイヌナズナを, PDA 培地上で真菌を生育させて隔離共培養を行った。23℃, 連続光下で2週間栽培後, 真菌非接種区と比較してシロイヌナズナの乾燥重を 1.5 倍以上に増加させる真菌の一次選抜を行った。一次選抜後, 得られた真菌の二次選抜を行うことで植物生育促進効果の再現性を確認した。植物生育促進効果を持つ真菌については DNA を抽出し, PCR による ITS1 配列解析で菌種同定を行った。また, 真菌から放出される mVOC を固相マイクロ抽出法により捕集して GC-MS を用いた定性分析を行った。

【結果】 自然環境から単離した真菌 228 種を供試した結果, 植物生育促進効果を持つ真菌は一次選抜では 33 種, 二次選抜では 10 種, 選抜された。二次選抜で植物生育促進効果を示した 10 種類の真菌種の同定を行った結果, これらの真菌は *Phaeothecoidea melaleuca* や *Symmetrospora vermiculata* であることが分かった。これらの真菌は計 172 種類の mVOC を放出することが明らかとなった。



F-11 ゲノム編集を用いた担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジー関連遺伝子 *Ccatg4* 破壊の取り組み

○北原昂希, 刑部敬史<sup>1</sup>, 渡邊 彰<sup>2</sup>,  
(香川大院・農,<sup>1</sup>徳島大・生物資源,<sup>2</sup>香川大・農)

【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呼ばれる構造体が形成され、菌類では液胞と融合し、内容物は分解される。また、オートファジーは、飢餓適応の他、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も関与していることが報告されている。このようなオートファジーに関わるタンパク質のうち、Atg4 はオートファゴソーム膜の形成に重要な Atg8 のプロセッシングや脱脂質化を担うシステインプロテアーゼであることが知られている。本研究では、担子菌 *Coprinopsis cinerea* における *Ccatg4* の及ぼす影響を明らかにするため、CRISPR-Cas9 システムを用いる *Ccatg4* 破壊について取り組み、得られた株の解析を行った。【方法・結果】はじめに、宿主にハイグロマイシン B (HygB) 耐性を付与し、*Ccatg4* の標的配列を含む gRNA と Cas9 を発現するような pCcPef3\_126 ベクターを PEG 法を用いて宿主株に導入した。その結果、HygB 耐性を示す株を取得することができた。取得した HygB 耐性株の *Ccatg4* 標的配列周辺の解析を行った結果、複数の株において、ベクター由来の配列が挿入されており、*Ccatg4* が破壊されていることが確認された。そこで、これらの株を用いて以降の表現型の解析を行ったところ、菌糸成長の遅延、気中菌糸形成の不全、子実体不形成を示すことが観察された。現在、*Ccatg4* 破壊が及ぼす影響について、さらに解析を進めている。

F-12 *Peniophora* 属担子菌が植物果実との培養で特異的に生産する物質

○遠嶋詩織, 杉田莉沙, 桑田涼香, 岡本賢治  
(鳥取大・工)

【目的】国内で賄える未利用資源を対象にしたバイオマスリファイナリーの構築を目的に、我々はこれまで白色腐朽菌ならびに褐色腐朽菌に潜在する物質変換能力について明らかにしてきた<sup>1)</sup>。中でも、*Peniophora* 属担子菌は生育が比較的早く、多様な原料からエタノールやペプチドなどの有用物質生産が期待できる。本研究では、植物果実であるトチの実やぎんなんを用いた培養で特異的に検出される物質に着目し、その生産条件や性質について検討を行った。

【方法・結果】当研究室にて単離した *Peniophora* sp. YM5314 株を各種植物果実の粉末を含む液体培地(窒素源は無添加)で生育させた。経日的なサンプリングで得たる液中の成分を HPLC ならびに逆相 HPLC にて分析した。その結果、トチの実やぎんなんにおいてはある保持時間に顕著なピークが検出されたのに対し、マテバシイやクヌギでは認められなかった。また、麦芽エキス、酵母エキス、グルコースから成る MYG 液体培地や可溶性デンプンに酵母エキスを添加した培地で生育させた際に生産していなかった。一方、トチの実やぎんなんに酵母エキスを添加した培地の場合、この保持時間のピークが減少した。当該物質の主な性質を把握するため、逆相 HPLC からの分取濃縮物のスペクトル解析を行ったところ、210 および 250 nm 付近の 2 ヶ所に強い吸収を示した。植物果実に由来する成分の関連代謝物ではないかと推測し、芳香族化合物などを中心に逆相 HPLC での保持時間の比較を進めている。

1) K. Okamoto et al., *Fermentation*. 7(3), 116 (2021).

F-13 食用きのこ *Flammulina velutipes* による有用物質生産  
○安竹貴斗, 糺 和也, 高橋晶子, 岡本賢治  
(鳥取大・工)

【目的】自然界で木質資源等を分解し炭素の循環に重要な働きをしている担子菌は、様々な原料からエタノールならびに生理活性ペプチド等の有用物質生産能を有する<sup>1)</sup>。我々は、超高齢化社会において生活習慣病の予防や健康寿命の延伸へ貢献が期待される機能性物質の探索を進めている。本研究では、食用きのこのエノキタケ *Flammulina velutipes* に着目し、その有用物質生産について検討を行った。

【方法・結果】*F. velutipes* を無調整豆乳に接種し回転振盪培養した結果、良好な生育を観察した。経日的にサンプリングした培養ろ液中の DPP-4 阻害活性を測定した結果、培養 12 日目あたりまで阻害活性は上昇するが、その後は次第に減少した。この間にプロテアーゼ活性が上昇していたことから、DPP-4 阻害に働くペプチドの遊離とともにその分解も徐々に起こったことが示唆された。一般的にきのこにおいて生育ならびに有用物質生産は静置培養が適している場合が多いが、本菌は振盪培養でも良好な生育とペプチド生産が可能であった。次に、*F. velutipes* を米、小麦、牛乳、豆乳などを含む各培地に接種し、回転ならびに往復の 2 種類の振盪条件で培養し、そこから得たる液の抗酸化活性を DPPH 法で測定した。その結果、米や牛乳で経日的に活性が上昇する傾向を認めた。また、機能性評価の一環として、美白効果に関わるチロシナーゼ阻害活性についても調べたところ、回転と往復振盪による差はあったが双方のろ液中に阻害活性が存在していた。現在、*F. velutipes* 培養物中の他の生理活性の評価を進めている。

1) K. Okamoto *et al.*, *Dairy*. 2(3), 452-461 (2021).

## G-1 植物におけるグリコシルイノシトールホスホセラミドの分布とその分解酵素の解析

○松本尚子, 高井誠道, 藤田智帆, Majidul Islam, Rumana Yesmin Hasi, 粟飯原睦美, 田中 保 (徳島大院・生物資源)

【目的】グリコシルイノシトールホスホセラミド(GIPC)は植物界に存在するスフィンゴリン脂質である。この植物脂質は通常の脂質抽出法で抽出できないため知見に乏しく、その含量や代謝経路はほとんどわかっていない。我々は、GIPCの単離法を開発し、GIPCのDポジションを分解する酵素をアブラナ科植物に見出している。本研究では、種々の植物におけるGIPC含量や体内分布等を調べた。また、植物組織のホモジナイズに伴って活性化するGIPC分解代謝について解析を行った。

### 【方法・結果・考察】

種々の植物素材を蒸気で加熱することで内在性酵素を不活化した後、ホモジナイズを行い、ブタノール水分配により脂質を回収した。得られた脂質抽出物のアルカリ処理を行って、TLCイメージングによりスフィンゴ脂質を定量した。キャベツの葉、ニンジンの根、サツマイモのツルおよび葉、ミカンの皮、ダイコンの根には、約0.10~0.12  $\mu\text{mol/g}$ (湿重量)のGIPCが存在することがわかった。キャベツでは、外側の葉にGIPCが多い傾向が見られた。生のキャベツ、ブロッコリー、ニンジン、シロイヌナズナ、イネの種々の組織をホモジナイズすると、GIPCが減少し、フィトセラミド1-リン酸(PCIP)やフィトセラミド(PCer)が増加した。この変化は加熱処理した植物素材では生じなかった。以上より、植物にはGIPCのDポジションだけでなく、Cポジションを加水分解する酵素が存在している可能性が考えられた。

1) Rumana Yesmin Hasi, *et al.*, *FEBS Lett.* 596, 3024- (2022)

## G-2 セリ科植物におけるフェニルプロペンの位置選択的メチル化反応制御機構に関する研究

○肥塚崇男, 渡辺文太<sup>1</sup>, 高坂智之, 小崎紳一  
(山口大院・創成科学, <sup>1</sup>東京慈恵医大・化学)

【目的】 $C_6-C_3$ 構造を有するフェニルプロペン類は、ハーブやスパイスの特徴的な芳香族香気成分であり、プロペン側鎖( $C_3$ )の構造に加えて、ベンゼン環( $C_6$ )の官能基の種類やその位置により多様性が見られる。その生合成に関わる鍵酵素であるO-メチル基転移酵素(OMT)は、基質認識やベンゼン環パラ位のメチル化に高い特異性を示すが、その反応制御機構は未解明な点が多い。本研究では、フェニルプロペン生合成においてオルト位水酸基のメチル化反応を担うOMT遺伝子の単離・機能解析を目的とした。

【方法・結果】セリ科植物ディルにおいて、異なる生育段階の詳細な代謝物変動解析及びRNA-seq解析を行った。これら代謝物蓄積と遺伝子発現の相関を解析することにより、フェニルプロペンのオルト位を選択的にメチル化する酵素遺伝子(*AgOMT1*)を見出すことに成功した。次に、パラ位水酸基を特異的にメチル化するセリ科アニス由来の*PaAIMT*と*AgOMT1*の間で、ドメイン置換によるキメラ酵素の解析を行った。その結果、フェニルプロペンのメチル化の位置特異性に関与するアミノ酸残基を見出した。本発表では、植物が進化の過程でどのようにフェニルプロペンOMTが位置特異的修飾反応を機能進化させたのかについても議論する。



G-3 ショウブの芳香族香気成分フェニルプロペンの生成に関わる酵素の機能解析  
○青野巧暉, 鈴木史朗<sup>1</sup>, 渡辺文太<sup>2</sup>, Bolortuya Ulziibat<sup>3</sup>, 岡澤敦司<sup>4</sup>, 肥塚崇男  
(山口大院・創成科学,<sup>1</sup> 岐阜大・農,<sup>2</sup> 東京慈恵医大・化学,  
<sup>3</sup> モンゴル大・生物研,<sup>4</sup> 大阪公立大・農)

【目的】ショウブは特徴的な香気に加え、抗炎症作用やリラックス効果を示すことから生薬や端午の節句の菖蒲湯として利用されてきた。ショウブの主要香気成分は C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> 構造を基本骨格とするフェニルプロペン類であるが、その生成機構については不明な点が多く、特にシス型構造のフェニルプロペン類がどのような経路を経て生合成されるのかは未解明である。本研究では、ショウブの詳細な香気成分分析を行うとともに、RNA-seq 解析によりフェニルプロペン生合成遺伝子の単離・機能解析を目的とした。

【方法・結果】GC-MS によりショウブ葉の香気成分分析を行ったところ、シス型フェニルプロペンの(*Z*)-methylisoeugenol 及びβ-asarone が主要成分であることが判明した。一方、ショウブ葉の RNA-seq 解析から、フェニルプロペン生合成の鍵となる *O*-メチル化酵素ならびにフェニルプロペンの骨格形成に関わる酵素をコードする遺伝子を特定した。さらに、これら酵素の機能解析を行い、フェニルプロペン中間体の caffeic acid に対する *O*-メチル化活性、および、フェニルプロペンの一種である eugenol の生成活性を見出した。本発表では、得られた結果を基にシス型フェニルプロペンの推定生合成経路についても議論したい。

G-4 野生タバコの花香およびその配糖体の生成機構に関する研究  
○仲保亜子, 西原昌宏<sup>1,2</sup>, 肥塚崇男  
(山口大院・創成科学,<sup>1</sup> 福井県大・生物資源,<sup>2</sup> 岩手生工研)

【目的】開花とともに放散される花香は、受粉媒介者を誘引するための情報化学物質である。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の報告があるが、その生成機構や花香放散への影響は不明である。そこで我々は、揮発性ベンゼノイドを花香として産生する野生タバコ (*Nicotiana sylvestris*) に着目し、花香蓄積に寄与する配糖化酵素の単離・同定を目的に、異なる開花段階での花香配糖体の比較と配糖化酵素遺伝子の探索を行った。

【方法】タバコの異なる器官、開花段階での香気成分およびその配糖体の定量を GC-MS 分析により行った。また、候補配糖化酵素の解析には大腸菌発現系により組換えタンパク質を調製し、放射性標識した UDP-glucose を用いたアッセイ法により酵素活性を評価した。

【結果】はじめに、異なる器官、開花段階において香気成分配糖体を分析した結果、開花後の花冠で揮発性ベンゼノイドおよびその中間体である安息香酸の配糖体が高蓄積していた。この分析結果は花香蓄積に関わる配糖化酵素の同定に繋がると期待されたため、タバコの RNA-seq データから花冠特異的に発現する配糖化酵素様配列を探索し、候補遺伝子を 3 種単離した。大腸菌発現系を用いた解析の結果、候補遺伝子のうち 2 種は安息香酸に高い配糖化活性を示すことが判明した。現在、CRISPR-Cas9 を用いたゲノム編集も進めており、形質転換タバコの代謝物分析の結果についても議論する予定である。

G-5 トマトにおける灰色かび病感染特異的揮発性化合物マーカーの探索  
○柴崎悠史, 松井健二  
(山口大院・創成科学)

【目的】糸状菌灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*)の感染により引き起こされる灰色かび病は、様々な植物に重大な収量損失を引き起こす病気である。トマトの施設栽培において、灰色かび病は最重要病害の一つであり、早期に予察して対処することが必要である。そこで我々は、トマトが灰色かび病に感染した際に放出する揮発性有機化合物の変化に着目し、感染特異的な揮発性マーカー化合物の探索を行った。

【方法】トマト (*Solanum lycopersicum*, cv. Micro-Tom, または cv. 桃太郎) 幼植物の葉に、*B. cinerea* 分生子懸濁液を噴霧処理し、処理後 24 時間、高湿暗所で静置して感染成立させた。その後感染に伴って放出される揮発性化合物を Tenax カートリッジに捕集し、熱脱着装置を用いて GCMS 分析を行った。また、マーカー候補化合物の生合成に関わる遺伝子候補を RNASeq データベースから探索した。

【結果】Micro-Tom, 桃太郎の 2 品種で、感染株において、モノテルペン、セスキテルペンの一部の生成量が増加する傾向が認められ、その中でもセスキテルペンのコパエン生成量は有意に増加したため、コパエンが感染マーカーになりうると考えられる。またトマトで機能解析された 34 個のテルペンシンターゼ遺伝子 (TPS)のうち、TPS18, TPS28, TPS32, TPS48 の発現様式がコパエン放出量の増加と相関を示し、これら TPS 遺伝子発現が感染初期に誘導されることが示唆された。

G-6 白花のモモに見出されるアントシアニン欠損変異の多様性  
久保田朗晴, 原 美由紀, 田村勝徳, 鶴木悠治郎<sup>1</sup>, ○小田賢司  
(岡山県農総セ・生科研, <sup>1</sup>岡山県農総セ・農研)

【目的】モモは、人気の高い果物の一つであるが、品種間で形質の違いが乏しく、消費者の多様なニーズに対応できているとは言い難い。我々は、農業上の重要形質の一つである色に着目し、モモの育種に利用可能な遺伝子変異の解析を進めており、本研究では、赤色素アントシアニンの欠損形質を生み出す遺伝的多様性について調査した。

【方法・結果】アントシアニン欠損変異をもつモモは食用品種にはないが、花卉が白くなるという目につきやすい形質を示すため、観賞用に利用されてきた他、台木品種などにも容易に見出すことができる。そこで、白花を咲かせる日本の品種・系統を集め、アントシアニン欠損を引き起こす遺伝子変異を調べたところ、4 種類の変異を見出すことができた。アントシアニンはフラボノイド経路と呼ばれる多くの遺伝子が関わる経路を経て合成されるが、見出された変異はいずれも Glutathion S-transferase 遺伝子 (*GST*) の機能欠損変異であった。これまでに、海外品種でアントシアニン欠損変異が報告されているが、いずれも *GST* の機能欠損変異である。また、モモには花卉に白と赤が入り混じる絞り咲き品種も存在するが、そのような品種で白色が部分的に生じる原因を調べたところ、白花品種に見出された *GST* のトランスポゾン挿入変異が検出された。赤い細胞を濃縮したサンプルでは正常型に復帰した *GST* が検出されたことから、トランスポゾンの離脱が絞り咲きの原因と考えられた。見出された変異を利用することで、これまで市場になかった多様なモモの育成が可能になると期待される。

**G-7 気孔の開閉運動の調節に関わるカルシウムイオンチャネルの機能解析**  
○井上泰熙, Akter Rojina, 升本沙織<sup>1</sup>, 三俣好令, 中村俊之, 中村宜督,  
村田芳行, 宗正晋太郎 (岡山大院・環境生命, <sup>1</sup>岡山大・農)

植物の表皮には一対の孔辺細胞に囲まれた小孔である気孔が存在し、植物は気孔の開閉により蒸散や光合成に必要な二酸化炭素の吸収を調節している。気孔の開閉運動は、孔辺細胞におけるシグナル伝達によって制御されており、細胞質のカルシウムイオンは、気孔開閉運動の調節に関わるセカンドメッセンジャーとして機能することが知られている。例えば、乾燥ストレス下で生合成されるアブシシン酸によって孔辺細胞内のカルシウムイオン濃度の上昇が起こり、気孔閉口が誘導される。また、気孔閉口を誘導する青色光も、孔辺細胞内のカルシウムイオン濃度の上昇を引き起こすことが報告されている。しかしながら、孔辺細胞における細胞質カルシウムイオン濃度の調節機構は、現在ほとんど理解されていない。我々の研究室では、気孔開閉運動の調節に関わるカルシウムイオン輸送体の探索を進めている。環状ヌクレオチド作動性イオンチャネル (CNGC) は、動物において環状ヌクレオチドにより活性化するカルシウムイオン透過性イオンチャネルとして機能している。本発表では、これまでの研究によって同定した原形質膜カルシウムイオンチャネル候補遺伝子の1つである CNGC について、その解析結果を紹介する。実験には、モデル植物であるシロイヌナズナを使用した。光学顕微鏡を用いた気孔開度測定により、シロイヌナズナ遺伝子破壊変異体の気孔表現型を解析した。また、アフリカツメガエル卵母細胞を異種発現系として用いた二電極膜電位固定法により、CNGC のイオンチャネル活性を測定した。

**G-8 気孔の開閉運動の制御にかかわる機能未知膜タンパク質の機能解析**  
○堀川昂暉, 田中優梨<sup>1</sup>, 川内歩季<sup>1</sup>, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行,  
宗正晋太郎 (岡山大院・環境生命, <sup>1</sup>岡山大・農)

植物の葉の表皮に存在する気孔は、一対の孔辺細胞からなる通気口であり、開閉運動を行うことで光合成に必要な二酸化炭素の吸収や蒸散による水分放出を調節する重要な場所である。植物は、乾燥や塩、光など様々な環境刺激に応答して気孔の開度を最適化し、周囲の環境変化に適応している。気孔の開閉運動を制御する孔辺細胞シグナル伝達において、孔辺細胞原形質膜に存在する数多くの輸送体タンパク質やその活性制御因子が重要な役割を果たしている。これまでに当研究室では、モデル植物であるシロイヌナズナを用いた研究により、孔辺細胞シグナル伝達に関与する様々な新規因子を単離してきた。本発表では、その候補因子の一つである機能未知膜タンパク質についての解析結果について報告する。遺伝子欠損変異体の気孔表現型は、光学顕微鏡を用いた気孔開度測定と、赤外線カメラを用いた葉面温度測定により行った。植物ホルモンであるアブシシン酸や明暗処理に対する気孔応答を評価した。また、組織発現パターンを調査するために、GUS ( $\beta$ -グルクロニダーゼ) 染色実験を行った。

- G — 9      Roles of reactive carbonyl species in isothiocyanate-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*  
Osumaiya Farzana, Toshiyuki Nakamura, Shintaro Munemasa,  
Yoshimasa Nakamura, Jun'ichi Mano<sup>1,2</sup>, Yoshiyuki Murata  
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ., <sup>1</sup> Grad. Sch. Agric., Yamaguchi Univ., <sup>2</sup> Sci. Res. Center, Yamaguchi Univ.)

Isothiocyanates (ITCs) are enzymatically produced from glucosinolates in crucifers in response to mechanical damage, wounding, pathogen infection, and herbivore attack. ITCs such as allyl isothiocyanate (AITC), benzyl isothiocyanate (BITC), phenethyl isothiocyanate (PEITC), and sulforaphane (SFN) induce stomatal closure with the generation of reactive oxygen species (ROS) in *Arabidopsis thaliana* wild type. Reactive carbonyl species (RCS) function as an intermediate downstream of ROS production in abscisic acid (ABA) and methyl jasmonate (MeJA) signaling pathways in *Arabidopsis* guard cells. It is still unknown whether RCS is involved in the ITCs-induced stomatal closure. This study investigated the role of RCS in stomatal closure in response to ITCs using *Arabidopsis* rosette leaves. All these ITCs significantly induced stomatal closure. The application of RCS scavengers, carnosine and pyridoxamine, significantly inhibited the ITCs-induced stomatal closure. These results suggest that RCS is involved in ITCs-induced stomatal closure in *A. thaliana*.

- G — 10      Salt stress mitigation *via* suppression of apoplastic flow by chitosan in rice  
OMd. Asadulla Al Galib, Maoxiang Zhao, Toshiyuki Nakamura,  
Shintaro Munemasa, Izumi C. Mori<sup>1</sup>, Yoshimasa Nakamura, Yoshiyuki Murata  
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ., <sup>1</sup> Inst. Plant Sci. Resources,  
Okayama Univ.)

Salt stress is a major challenge in agriculture. Chitosan can help rice plants better cope with salt stress, making them more resilient to adverse environmental conditions. In rice, apoplastic flow plays a crucial role in the accumulation of Na<sup>+</sup> in the shoot. Trisodium-8-hydroxy-1,3,6-pyrenetrisulphonic acid (PTS), an apoplastic tracer, was used to study the effects of exogenous chitosan on apoplastic flow in rice plants under saline environments. Nipponbare (*Oryza sativa* L.), was hydroponically grown for 2 weeks and then subjected to salinity (25 mM NaCl) for 6 or 12 h. The PTS uptake by rice plants increased with increasing incubation time. Rice plants uptake more PTS under light conditions than under dark conditions. Under light conditions, the salt-treated rice plants took up more PTS than the non-stressed rice plants did. The exogenous application of chitosan decreased the PTS uptake in the salt-treated rice plants than in the non-stressed rice plants. Exogenous chitosan also reduced the Na<sup>+</sup> content of the salt-treated rice shoots but did not affect the K<sup>+</sup> content. However, chitosan had no significant effect on Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> content of the non-stressed rice shoots. These observations indicate that apoplastic transport increases in saline environments and plays a significant role in Na<sup>+</sup> uptake in rice. These results also suggest that exogenous chitosan suppressed the apoplastic flow to reduce Na<sup>+</sup> uptake in rice plants.



G-11 細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼを介した酸化ストレス誘導性細胞死の分子機構  
○佐藤沙月, 菊樂香奈, 三富 弦, 石川孝博, 丸田隆典 (島根大・生資科)

過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) はシグナル分子として植物の環境順応に重要な役割を担う。シロイヌナズナの主要カタラーゼの欠損株 (*cat2*) では、 $H_2O_2$  の増加が酸化型グルタチオン (GSSG) の蓄積を促し、その結果としてサリチル酸依存的な細胞死が生じる。興味深いことに、細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX1) の欠損は *cat2* で生じる細胞死を抑制することが報告されている。本研究では、酸化ストレス誘導性細胞死における細胞質 APX1 の役割について、多重変異株を用いて検証した。弱光から強光条件へのシフトにより、*cat2* では顕著な細胞死が起こったが、これは *apx1 cat2* 二重欠損株で緩和された。また、APX1 の欠損は *cat2* における GSSG の蓄積とアスコルビン酸の減少を有意に抑制した。これらの結果から、APX1 はグルタチオンの酸化に関与することが示唆された。RNA-seq 解析の結果、*apx1 cat2* では DNA 損傷応答が特異的に活性化されることが示された。APX1 はモノデヒドロアスコルビン酸還元酵素 (MDAR)、デヒドロアスコルビン酸還元酵素 (DHAR) およびグルタチオン還元酵素 (GR) との共役により、アスコルビン酸-グルタチオン経路を構成する。これらの細胞質型アイソフォーム遺伝子の欠損株にカタラーゼ阻害剤を処理したところ、APX1 および DHAR1/2 の欠損株のみで GSSG の蓄積が抑制され、DNA 損傷応答が活性化されることがわかった。これらの結果から、酸化ストレス誘導性細胞死において、APX1 と DHAR1/2 の共役が GSSG 蓄積を促し、DNA 損傷応答を抑制するモデルが考えられた。

G-12 酸化ストレス誘導性細胞死に必要な遺伝子の探索と機能解析  
○藤本七海<sup>1</sup>, 丸田隆典<sup>1,2</sup>, Amna Mhamdi<sup>2</sup>, Frank Van Breusegem<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>島根大・生資科, <sup>2</sup>VIB-UGent・PSB)

シグナル分子である過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) は環境ストレス条件での植物の生死決定に重要な役割を担うが、その作用機序の多くは不明である。カタラーゼは光呼吸依存的にペルオキシソームで生じる  $H_2O_2$  を消去する酵素であり、その欠損株 (*cat2*) は  $H_2O_2$  依存的な著しい細胞死の表現型を引き起こすため、酸化ストレスモデルとして有用である。これまでに我々は、酸化ストレス誘導性細胞死に関与する新規遺伝子を同定するために、変異源処理したシロイヌナズナ *cat2* プールから細胞死が抑制された変異株を単離してきた。本発表では、新規変異株における原因遺伝子の同定と機能解析について報告する。サプレッサー変異株 *182.1* では葉緑体型グルタミン合成酵素 (GS2) をコードする *GLN2* 遺伝子に変異が生じていた。GS2 はフェレドキシン依存性グルタミン酸合成酵素 (Fd-GOGAT) との共役により、光呼吸過程で生じるアンモニアを再同化する。*cat2 gln2* を新規に作出した結果、この株では *cat2* で生じるレドックス異常と細胞死の両方が抑制された。また、*cat2* で生じる細胞死は Fd-GOGAT の欠損によっても抑制された。さらに、GS2 の欠損は光呼吸フラックスを低下させることが確認された。これらの結果から、GS2/Fd-GOGAT は光呼吸フラックスを維持することで、*cat2* における  $H_2O_2$  の蓄積に寄与することが示された。また、もう一つのサプレッサー変異株 (*327.4*) のゲノムリシーケンスにより、原因遺伝子の候補が得られた。この遺伝子と *cat2* の二重欠損株により、短期間の強光照射、長期間の温和な光ストレス照射のいずれにおいても、*cat2* の細胞死が顕著に抑制された。

【目的】ビタミン B<sub>2</sub>(リボフラビン: RF)は FMN および FAD の前駆体であり, これらフラビン化合物は光合成/呼吸電子伝達系・脂肪酸酸化・光受容・DNA 修復に加え, 多くの二次代謝産物の生合成系にも関与する重要な分子である。植物において RF は葉緑体のみで合成されるが, フラビン化合物のオルガネラ間の輸送をはじめ, 細胞間, 組織間を含めた輸送機構は全く不明なままである。Purine permease (PUP)ファミリーは, サイトカイニン, カフェイン, ビタミン B<sub>6</sub>など多様な代謝産物の輸送に関与する。そこで我々は, シロイヌナズナの PUP (AtPUP) に注目し, RF 要求性酵母変異体を用いた解析により, 出芽酵母において *AtPUP-a* および *AtPUP-b* が RF 輸送活性を示すことを見出した。本研究では, 植物におけるフラビン化合物の輸送機構を解明することを目的として, *AtPUP-a* および *AtPUP-b* の機能解析を行った。

【方法・結果】播種後 2 週間のシロイヌナズナ *AtPUP-a*, *AtPUP-b* 過剰発現株を 1/2MS 液体培地 (Mock) および RF 添加 (50 μM)1/2MS 液体培地を染み込ませた濾紙上に静置し, 1,3,6 時間後に地上部と根に分けて回収した。回収した植物体を用いて細胞内フラビン化合物レベルを定量した結果, RF 処理後 1 時間後にはすべての植物体の地上部と根において RF 量の増加が認められ, 特に *AtPUP-a* 過剰発現株の地上部, 根における細胞内 RF 量はコントロールと比較して顕著に増加していた。これらの結果から, *AtPUP-a* はシロイヌナズナにおいてフラビン輸送体として機能することが示された。

H-1 オリーブを食べると何故オリーブアナアキゾウムシの寿命が延びるのか？ その2  
○杉田皓紀, 吉住彩乃<sup>1</sup>, 金治風香<sup>1</sup>, 増田亜衣莉<sup>1</sup>, 柏木丈拡<sup>1</sup>, 金 哲史<sup>1,2</sup>,  
中島修平<sup>2</sup>, 市川俊英<sup>2</sup>,  
(高知大院・農,<sup>1</sup>高知大・農,<sup>2</sup>(株)KINP)

【目的】日本土着昆虫であるオリーブアナアキゾウムシ (*Pimelocerus perforates*) は、日本においてオリーブを育てる上で最も障壁となる生物的要因である。本種にオリーブを摂食させると人工飼料のみで飼育したときに比べ寿命が20倍にも伸びる現象を見出した。この現象の起因に関して、その一翼を担う因子として、Olerupeinの関与をすでに報告したが、今回、更なる活性物質の探求を行った。

【方法・結果】オリーブの枝葉のMeOH抽出物やその分画画分を人工飼料(インセクターF-II)に混合し本種雄雌成虫計10匹に与え、それらの平均生育日数を比較した。寿命延長活性の認められたオリーブのMeOH粗抽出物をHexane, AcOEtを用いて液々分配を行ったところ、Olerupeinを多く含むAcOEt層とH<sub>2</sub>O層に強い寿命延長活性が認められた。このH<sub>2</sub>O層をODS中圧カラムで、極性に従い、分画したところ、H<sub>2</sub>O溶出部に主要な活性が認められた。ODS H<sub>2</sub>O溶出部をさらにイオン交換樹脂にて、酸性、中性、塩基性、両性画分に分画を行ったところ、中性画分のみ強い寿命延長活性が認められた。現在この画分に含まれる活性物質の構造を特定中である。

H-2 *Caenorhabditis elegans* を用いた褐藻の機能性評価  
○中川明日実<sup>1</sup>, 薮田行哲<sup>2</sup>, 大城 隆<sup>1,3</sup>, 八木寿梓<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>鳥取大・工,<sup>2</sup>鳥取大・農,<sup>3</sup>鳥取大・未利用セ)

【目的】海藻は健康に良い影響を与える生理活性物質を含んでいる。さらにこのような海藻には未利用・低利用資源であるものが多く、これらの付加価値を向上させることは水産業の発展にもつながることが期待される。我々は先行研究により、未利用・低利用の海藻の中から褐藻Aを選別し、特定の抽出時間・温度における水抽出物が脂質吸収阻害及び糖質吸収阻害効果を見出した。本研究では、さらなる褐藻A水抽出物の機能性を調べるために、モデル生物である*Caenorhabditis elegans*(線虫)の寿命・運動性への効果および、パーキンソン病モデル線虫(NL5901)を用いて、蓄積するタンパク質の凝集観察で検証した。

【方法・結果】褐藻A水抽出物は80℃, 3時間で得られた抽出液を凍結乾燥により粉末化したものを用いた。得られた褐藻A水抽出物を終濃度1%, 2%, 4%となるようにOP50培養液と混合して線虫(野生株N2)へ与えることで、寿命への効果を検証した(線虫の寿命は20日前後)。また、7, 10, 14日目において線虫の運動性を四段階に分けて計測し、運動能の効果も検証した。寿命測定の結果、Controlと比較して褐藻A水抽出物を添加すると生存率が高く維持され、10日目までは濃度依存的な傾向が見られた。NL5901によるタンパク質凝集観察においては、褐藻A添加の有無で線虫内の凝集体の形成が軽減されることが共焦点蛍光顕微鏡観察から示唆された。

以上から、褐藻A水抽出物には、多くの有用な機能性成分の存在が考えられ、多面的に健康増進に貢献することが期待される。



### H-3 脂質吸収阻害を有する褐藻の脂肪細胞への効果 ○小林成海, 大城 隆<sup>1,2</sup>, 八木寿梓<sup>1,2</sup> (鳥取大院・持社創生,<sup>1</sup>鳥取大・工,<sup>2</sup>鳥取大・未利用セ)

【目的】生活習慣病は、食事や運動、飲酒などの生活習慣が原因で発症する疾患であり、生活習慣を改善することで発症を抑制できる。中でも、糖尿病、高血圧症、心血管疾患などは肥満が原因となって発症する疾患であり、運動や適切な食生活が重要である。当研究グループは、様々な生理活性を有することで知られる褐藻類に着目した。本研究で用いた褐藻は、未利用・低利用の海藻である。先行研究により、褐藻水抽出物が脂質吸収阻害（リパーゼ活性阻害）効果を有することが分かっており、活用することで付加価値の向上にもつながる。しかし、肥満症の原因となる機構は、脂質吸収阻害だけではない。本研究では、褐藻が脂肪細胞への分化誘導の抑制作用を検証することを目的とした。

【方法・結果】褐藻水抽出物は 80°C、3 時間の条件で調製後、凍結乾燥により粉末化したものを用いた。12 well plate にマウス由来の脂肪前駆細胞 (3T3-L1 細胞) を播種 (15,000 cell/well) し、1 日前培養した後、培地を分化誘導培地に交換した。誘導培地への交換から 48 時間後に維持培地に変更し、120 時間培養した。褐藻水抽出物 (10-100 µg/mL) は、分化誘導開始時からと誘導終了後からの 2 通りに分けて添加した。培養後、Oil Red O 染色により、細胞内の脂肪滴含量を評価した。結果、分化誘導開始時から褐藻を含む場合に、脂肪細胞への分化誘導が抑制された。したがって、用いた褐藻には、リパーゼ活性阻害効果だけでなく、脂肪細胞への分化誘導抑制作用も示したことから、いずれの作用機序にも効果を発揮する生理活性物質の存在が示唆された。

### H-4 3-O-Dodecyl-L-ascorbic acid の抗アレルギー作用 ○川原直晃, 前 史織<sup>1</sup>, 古賀武尊<sup>2</sup>, 伊東秀之<sup>3</sup>, 岩岡裕二<sup>3</sup>, 田井章博<sup>1,2</sup> (徳島大院・創成科学,<sup>1</sup>県広島大・生命環境,<sup>2</sup>徳島大・生物資源, <sup>3</sup>岡山県大・保健福祉)

【目的】アスコルビン酸(AA)は優れた生理作用を有するが、熱や酸化に弱く、不安定である。そのため、安定型 AA 誘導体の開発が進められている。その中でも AA の 2 位, 3 位にアルキル基を導入した 2-O-alkylAA, 3-O-alkylAA はこれまでに抗酸化剤としての報告がある。しかし、抗アレルギー作用に関する報告はない。そこで本研究では、alkylAA の脱顆粒抑制作用を評価し、最も作用の強かった alkylAA の抗アレルギー作用を見出すことを目的とした。

【方法・結果】AA の 2 位, 3 位に炭素鎖数が 4, 8, 12, 16, 18 のアルキル基をそれぞれ導入した 2-O-alkylAA, 3-O-alkylAA を合成し、ラット好塩基性白血球細胞(RBL-2H3 細胞)を用いて脱顆粒抑制作用を評価した。その結果、3 位に炭素鎖数 12 のアルキル基を導入した 3-O-dodecylAA が最も強い抑制作用を示した。次に、3-O-dodecylAA の 6 位水酸基が脱顆粒抑制作用に及ぼす影響を見出すために、6 位水酸基をブロモ基、アジド基及びアミノ基に置換したものと 6 位デヒドロ体の 4 種類を合成し、その 4 種類の誘導体と 3-O-dodecylAA の脱顆粒抑制作用を比較した。その結果、3-O-dodecylAA が最も強い抑制作用を示した。最後に、AA 誘導体の中で最も強い脱顆粒抑制作用を示した 3-O-dodecylAA を用いて、マウスにおける受動皮膚アナフィラキシー(PCA)反応に対する抑制作用を検討した。その結果、3-O-dodecylAA は抗アレルギー剤である oxatamide と同程度の PCA 抑制作用を有することを見出した。本研究より、3-O-dodecylAA が今後抗アレルギー薬としての利用が期待できる。

## H-5 ケラタン硫酸オリゴ糖の化学合成 ○服部 怜, 岩間千明, 植村優那, 武田 (奥田) 尚子, 田村純一 (鳥取大・農)

ケラタン硫酸 (KS)はコンドロイチン硫酸と同様に, 神経軸索伸長阻害作用を持つことが知られている。KS は-3Gal  $\beta$  1 $\rightarrow$ 4GlcNAc  $\beta$  1-からなる二糖の繰り返し多糖である。KS の 6 位水酸基の硫酸化パターンやコアタンパク質との結合様式の違いにより構造多様性をもつ。このことが KS の構造活性相関の解明を困難にしている。

これまでに当研究室では, GlcNAc の 6 位水酸基のみが硫酸化されたビオチン化 KSL2 四糖の合成に成功している [1]。本研究では, 神経軸索伸長阻害活性を制御する KS オリゴ糖の微細構造を明らかにするため, 今回はすべての一級水酸基が硫酸化された最も硫酸化度の高い L4 型 KS 六糖を化学合成することにした。適切に保護された GlcNPhth 受容体と Gal 供与体を縮合し, 立体選択的に Gal  $\beta$  1 $\rightarrow$ 4GlcNPhth 二糖単位を得た。この二糖を相当する供与体と受容体に誘導し, 互いに縮合して四糖を得た。その際に複数の水酸基が遊離であっても所望の位置(Gal 3 位)に優勢に縮合できた。同様の操作を繰り返して糖鎖を伸長し, すべての一級水酸基を硫酸化し, 脱保護を経て, ビオチン化 KSL4 六糖の合成に成功した。

[1] N. Takeda-Okuda *et al.*, *Carbohydr. Res.*, **452**, 97-107 (2017).

## H-6 マトリグリカンオリゴ糖の合成とクラスター化 ○小寺康太<sup>1</sup>, 田村敬裕<sup>2</sup>, 望月楽斗<sup>3</sup>, 田村純一<sup>1,2,3</sup> (<sup>1</sup>鳥取大院・持社創生, <sup>2</sup>鳥取大院・連農, <sup>3</sup>鳥取大・農)

Core M3 *O*-mannosylglycan (MG)は, 骨格筋組織の維持に重要な役割を果たす糖鎖である (Fig. 1)。1997 年, 遠藤らによって *O*-MG が発見されて [1]以降, 複数の研究者によってその部分構造が報告されてきた。その後, 2017 年に金川らによってタンデムリピート構造が特定され, Core M3 *O*-MG の全体構造と生合成経路の全容が明らかとなった [2]。Core M3 *O*-MG は, 筋細胞膜上の糖タンパク質 (ジストログリカン) の修飾糖鎖であり, 細胞外マトリックスの構成成分であるラミニンと相互作用している。この相互作用は基底膜と筋細胞膜の連結を仲介し, 筋繊維の安定化に寄与している。また, Core M3 *O*-MG の生合成には基質特異性の高い複数の糖転位酵素が関与している。これらの酵素が遺伝的に欠失または変異した場合, 骨格筋組織の崩壊を伴う筋ジストロフィー症を発症する。

最近, 非還元末端に位置する  $\alpha$  Xyl- $\beta$  GlcA 二糖繰り返し多糖 (マトリグリカン) がラミニンと直接相互作用することが分かってきた。マトリグリカンの有機合成は, 筋ジストロフィー症の治療薬開発に繋がる可能性がある。今回, 我々はマトリグリカン直鎖 10 糖を合成した。また, 合成マトリグリカン 6 糖 [3]を用いて, そのクラスター分子の合成も行ったので報告する。

[1] T. Endo *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **272**, 2156-2162 (1997)

[2] K. P. Campbell *et al.*, *Nat. Commun.*, **13**, 3617 (2022)

[3] T. Tamura *et al.*, *Org. Biomol. Chem.*, **20**, 8489-8500 (2022)

H-7 養殖銀鮭に含まれるグリコサミノグリカンの組成と含有量  
○北井悠仁, 田村純一  
(鳥取大・農)

細胞外マトリックスや細胞表面に見られる巨大分子の一つであるプロテオグリカン(PG)は、コアタンパク質に複数のグリコサミノグリカン(GAG)が共有結合した構造を有している。近年の研究では、この GAG 分子が軟骨組織の保護、細胞シグナル伝達、ウイルス感染症に対する免疫応答などに関与することが明らかとなっている。我々はこの高機能性糖鎖を天然資源から効率的かつ簡単に単離精製し、医薬分野の発展に貢献することを目的としている。

コンドロイチン硫酸(CS)の代表的な原料として、ブタの気管やサメ軟骨、サケの鼻軟骨が挙げられる。サケ鼻軟骨は、鮭由来水産加工品の製造段階で排出される廃棄物から工業的に採集する手法が一般的である。一方で、鮭由来廃棄物の大部分を占める鼻軟骨以外の頭部や内臓、鱈類は十分に活用されていない。本研究では、サケ未利用部位に期待される生化学的な機能を明らかにし、新たな付加価値を与えるために、ギンザケの未利用部位に由来する GAG の部位特異的な構造多様性について調査した。

安定して供給可能な養殖銀鮭(*Oncorhynchus kisutch*)の鼻軟骨および鼻軟骨以外の頭部、内臓、鱈を部位ごとに細断し、脱脂乾燥した。プロテアーゼによる脱脂乾燥物のタンパク分解を行い、透析し、エタノールを加えて糖鎖成分を沈殿させた。得られた糖鎖は、酵素を用いて不飽和二糖に分解し、HPLC を用いて CS/デルマトン硫酸(DS)およびヒアルロン酸(HA)の硫酸化パターンや、含有濃度について分析を行った。その結果、各種部位における GAG の組成や分布が異なることが判明した。

H-8 Changes in chondroitin sulfate/dermatan sulfate profiles during 3T3-L1 adipocyte differentiation and its potential in controlling adipogenesis  
○Danang Dwi Cahyadi, 割田克彦, 武田(奥田)尚子<sup>1</sup>, 田村純一<sup>1</sup>, 保坂善真<sup>2</sup>  
(鳥取大院・共同獣医,<sup>1</sup>鳥取大・農,<sup>2</sup>九大院・農)

Chondroitin/dermatan sulfate (CS/DS) is a type of glycosaminoglycan (GAG) found in cells that have major types, including O, A, C, D, and E units, depending on the sulfation pattern in repeating disaccharide units of D-glucuronic acid (GlcA) or L-iduronic acid (IdoA) and N-acetyl-D-galactosamine (GalNAc). We aimed to analyze the profile of CS/DS in 3T3-L1 cells pre- and post-adipogenic induction. CS/DS content, composition, and molecular weight (Mw) were analyzed by using high-performance liquid chromatography. To investigate the biosynthesis, degradation, and sulfation of CS/DS, a gene expression analysis was conducted using RT-qPCR. We observed a significant reduction in CS/DS content and Mw of GAG in the differentiated (DI) group compared to the non-differentiated (ND) group. Furthermore, the DI group showed decreased expression of genes involved in CS biosynthesis, including *Csgalnact1*, *Csgalnact2*, and *Chpf*. In 3T3-L1 cells, the A unit was found to be the major CS/DS disaccharide. The DI group had higher levels of CS-A, consistent with the upregulation of *Chst12* associated with CS-A formation, resulting in a lack of O units. Based on our findings, it can be inferred that if the abundance of CS/DS is increased, it might have a controlling effect on the differentiation of adipocytes. To investigate the effect of CS on adipocyte differentiation, 3T3-L1 cells were treated with cartilaginous fish-derived CSs. It was revealed that CS substrates could inhibit lipid accumulation. This study provides evidence of the correlation between CS and adipocyte differentiation, as well as the potential of CS in adipogenesis inhibition.

H-9 バナバ (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.) 葉の機能及び関与成分に関する研究  
○片山果咲<sup>1,2,3</sup>, 宮地 諒<sup>2,3</sup>, 富 裕孝<sup>3</sup>, 柏木丈弘<sup>1</sup>, 島村智子<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>高知大・農林海洋, <sup>2</sup>(株)小谷穀粉, <sup>3</sup>高知大・土佐 FBC)

【背景と目的】近年、健康寿命への意識向上と共に、健康に寄与する食品の需要が高まっている。中でも茶は、消費者が毎日摂取できる健康対策として有望である。本研究では、高齢化に伴う生活習慣病のリスク低減に着目し、機能を有する有望な茶素材の選定と機能及び関与成分について研究を行った。

【方法】生活習慣病関連の活性（抗酸化、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害、リパーゼ阻害、アンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害) を評価し、有望素材を選定した。選定された素材については、メタボローム解析結果から関与成分の候補を選定し、HPLC による定量と活性評価結果に基づき活性への寄与率を求めた。

【結果】生活習慣病関連の活性評価の結果、ACE 阻害活性を有する有望素材としてバナバ葉が選定された。また、メタボローム解析及び先行研究の結果から、Chlorogenic acid, Caffeic acid, Ellagic acid が関与成分の候補として選定された。これら 3 成分について HPLC による定量及び活性評価を行い、ACE 阻害活性への寄与率を算出した結果、Ellagic acid が 3 成分の中で最も高い寄与率 21.5% を示した。以上の結果より、バナバ葉の ACE 阻害活性における主要関与成分は Ellagic acid であることが示唆された。バナバは東南アジア原産の植物で、血糖値上昇抑制機能を有する素材として、機能性表示食品の届出実績も多数ある。しかし、ACE 阻害活性や血圧上昇抑制に関する報告は無く、ACE 阻害活性の関与成分としてバナバ葉由来の Ellagic acid を報告したのは本研究が初めてである。今後、さらに研究が発展し、臨床試験により血圧上昇抑制機能が明らかとなれば、機能性素材としてのバナバ葉の有用性向上が期待できる。

H-10 3T3-L1 細胞に対する本わさび成分 6-MSITC の脂肪蓄積抑制作用の検証  
○比嘉真美, 清水英寿  
(島根大院・自然科学)

【目的】食の欧米化に伴い我が国では、20 歳以上の肥満人口の割合が、男性で 33.0%、女性で 22.3% と上昇している。肥満は生活習慣病の発症・進展要因であることから、肥満改善は健康寿命の延伸にも寄与する。本研究で着目する 6-Methylsulfinylhexyl Isothiocyanate (6-MSITC) は、本わさびの特有成分であり、これまでに酸化ストレスの軽減など様々な機能性が報告されている。そこで本研究では、脂肪細胞における脂肪蓄積の抑制に対する 6-MSITC の作用効果を検証することを目的とした。

【方法・結果】解析には、前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞を用いた。脂質蓄積は Oil Red O 染色、タンパク質量やそのリン酸化の評価はウェスタンブロッティングを用いて解析を行った。脂肪形成の段階は、増殖期、分化期、成熟期からなる。分化期のみでの 6-MSITC 添加は、脂肪蓄積の抑制に影響を与えなかった。一方、成熟期での 6-MSITC 添加は、脂肪蓄積を抑制した。その作用メカニズムを解析したところ、成熟期に添加した 6-MSITC は、5' adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) を活性化させた。さらに、AMPK の代表的な基質であり、かつ脂肪酸合成に関与するアセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC) についてもリン酸化が確認された。以上から、6-MSITC は成熟期にのみで脂肪蓄積抑制効果を発揮し、その作用メカニズムとして AMPK による ACC のリン酸化を介した脂肪酸合成能の低下が関与していることが示唆された。ACC は、アセチル CoA からマロニル CoA への代謝を通してパルミチン酸を合成することから、今後はパルミチン酸の含めた脂肪酸組成の解析も行う予定である。

H-11 タデアイ葉アルカリ(重曹)抽出物にみられるフラボノール配糖体の抗酸化能  
○石田美紀<sup>1,2</sup>, 木村英人<sup>1</sup>, 石原朋恵<sup>1</sup>, 平林 侑<sup>1</sup>, 地阪光生<sup>2,3</sup>, 室田佳恵子<sup>2,3</sup>  
(<sup>1</sup> 寿製菓, <sup>2</sup> 島根大院・自然科学, <sup>3</sup> 島根大・生資科)

【目的】タデアイの葉(藍葉)は主に染料として使用されてきたが,民間薬や食品としても利用されている。以前に我々は藍葉が3,5,4'-trihydroxy-6,7-methylendioxyflavone (TMF)配糖体を豊富に含むことを明らかにした。今回, TMF配糖体を高収率で回収する目的で抽出を行い, この抽出物の抗酸化活性と藍葉の主要なTMF配糖体に対するラット小腸β-グルコシダーゼの反応性を調べた。

【方法・結果】純水に替え, 重曹溶液を溶媒として抽出を行ったところ, 総ポリフェノール量は1.35倍に増加した。各抽出物の抗酸化能を調べたところ, 親水性酸素ラジカル吸収能(H-ORAC)法では重曹抽出物の方が, 一方, 1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジルラジカル(DPPH)ラジカル消去能およびβ-カロテン退色活性では純水抽出物の方が, それぞれ高い抗酸化能を示した。純水抽出物には, TMF-3-O-β-D-glucopyranoside, TMF-3-O-[6"-O-(3-hydroxy-3methyl-glutaryl)-β-D-glucopyranoside], TMF-3-O-[6"-O-(acetyl)-β-D-glucopyranoside], およびTMF-3-O-[2"-O-(acetyl)-β-D-glucuronide]が含まれていたのに対し, 重曹抽出物ではTMF-3-O-β-D-glucopyranosideが主要成分であった。β-カロテン退色法でTMF配糖体およびTMFの抗酸化能を調べたところTMFが最も高かった。一方, TMF配糖体に対するラット小腸β-グルコシダーゼの反応性を調べたところ, TMF-3-O-β-D-glucopyranosideに対する反応性が最も高く, TMFを最も多く生成した。したがって, 重曹抽出法は, より多くのポリフェノールが得られるうえ, その主要成分が小腸内でTMFに分解されやすいTMF-3-O-β-D-glucopyranosideとなる有用な方法である。



## 賛助企業

- ・アルファー食品(株)
- ・アルフレッサ篠原化学(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
- ・キリンビール(株) 岡山工場
- ・キリンホールディングス(株)  
R&D 本部 バイオプロセス技術研究所
- ・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)
- ・四国乳業(株)
- ・新青山(株)
- ・神協産業(株)
- ・(株)酔心山根本店
- ・(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)
- ・日進商事(株)
- ・日本オリーブ(株)
- ・(株)林原
- ・備前化成(株)
- ・(株)氷温研究所
- ・(株)フジワラテクノアート
- ・(株)扶桑理化
- ・プロテノバ(株)
- ・丸善製薬(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)
- ・八幡物産(株) (五十音順)

2024年1月1日現在 41社

日本農芸化学会中四国支部第67回講演会

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：有馬二郎

連絡先：〒680-8553 鳥取県鳥取市湖山町南4-101

鳥取大学農学部生命環境農学科

T E L：0857-31-5363

E-mail：arima@tottori-u.ac.jp



## 支部からのお知らせ

---

1. 学会創立100周年記念 第68回 講演会（例会）  
開催日：2024年6月1日（土）  
場 所：香川大学（三木町農学部キャンパス）  
内 容：受賞講演，特別講演，一般講演  
講演申込締切：2024年4月30日（火）  
講演要旨締切：2024年5月7日（火）  
世話人：田中直孝（香川大学）
2. 学会創立100周年記念 2024年度 中四国支部大会（第69回講演会）  
開催日：2024年9月19日（木）～20日（金）  
場 所：愛媛大学（樽味キャンパス）  
内 容：特別講演，産官学連携シンポジウム，一般講演  
世話人：菅原卓也（愛媛大学）
3. 学会創立100周年記念 第70回 講演会（例会）  
開催日：2025年1月25日（土）  
場 所：広島大学  
内 容：特別講演，一般講演  
世話人：秋 庸裕（広島大学）
4. 学会創立100周年記念 第47回 市民フォーラム  
開催日：2024年秋頃  
場 所：徳島大学（常三島キャンパス）  
内 容：招待講演  
世話人：浅田元子（徳島大学）
5. 学会創立100周年記念 第39回 若手研究者シンポジウム  
開催日：2024年6月2日（日）  
場 所：香川大学（三木町農学部キャンパス）  
内 容：招待講演  
世話人：松沢智彦，石井統也（香川大学）
6. 学会創立100周年記念 第40回 若手研究者シンポジウム  
開催日：2024年11月17日（日）（予定）  
場 所：島根大学  
内 容：招待講演  
世話人：丸田隆典（島根大学）

## 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](mailto:chushikoku@jsbba.or.jp)