

日本農芸化学会 中四国支部大会（松江 2002）

第1日目：9月19日（木）

- ◇シンポジウム（13：00—15：40）
- ◇受賞講演（16：00—17：20）
会場：島根県民会館（松江市殿町158、0852-24-0109）
- ◇懇親会（18：00—20：00）
会場：サンラポーむらくも（松江市殿町369、0852-21-2670）

第2日目：9月20日（金）

- ◇一般講演 午前の部（9：00—12：00）
午後の部（13：45—16：45）
会場：島根大学教養講義室棟
- ◇評議員会（12：00—12：50）
会場：島根大学大学会館3階
- ◇支部奨励賞授賞式（13：00—13：20）
会場：島根大学大学会館3階
- ◇支部奨励賞講演（13：30—13：45）
会場：島根大学教養講義室棟

参加費：一般 2,000 円，学生無料

懇親会費：一般 7,000 円，学生 4,000 円

（当日 一般 8,000 円，学生 4,000 円）

中四国支部第1回若手シンポジウム

9月20日（金）17:30—21:00 会場：島根大学大学会館3階

中四国支部第2回市民フォーラム

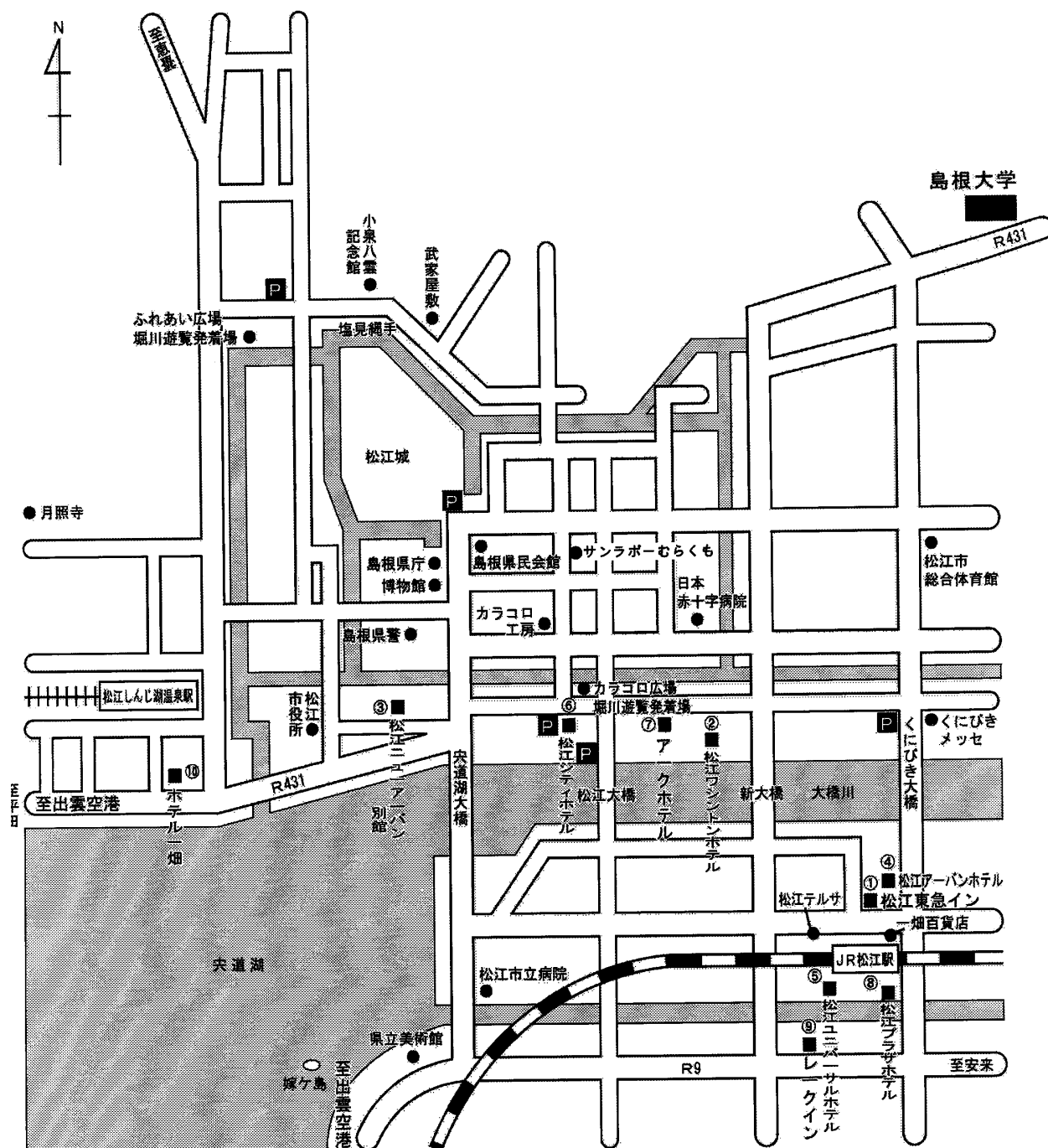
9月21日（土）13:00—16:40 会場：松江テルサ（JR松江駅前）

会場周辺案内

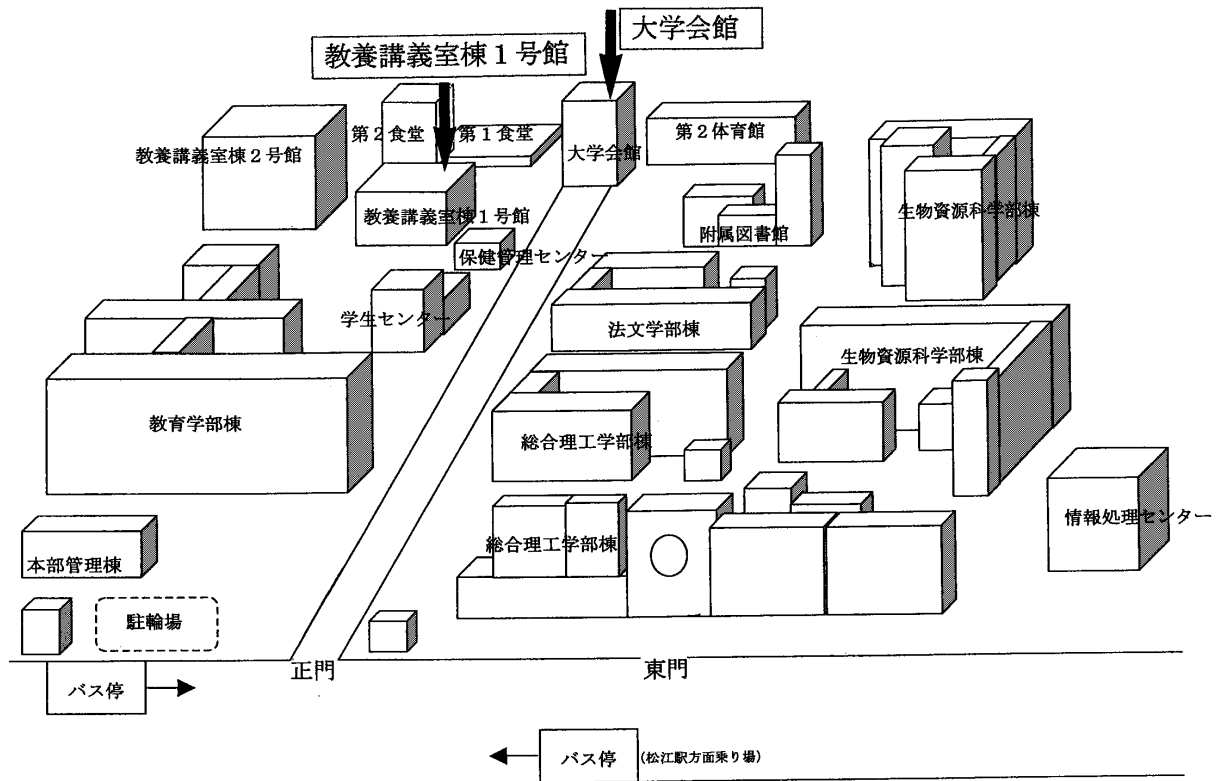
＊島根県民会館へは松江駅より島根民会館経由のバスあるいは北循環バス（外回り）に乗って約15分です。

＊サンラポーむらくもは島根県民会館より東に歩いて5分です。

＊島根大学へは松江駅より北循環バス（内回り）に乗って約20分です。県民会館前からもバスに乗って約20分です。

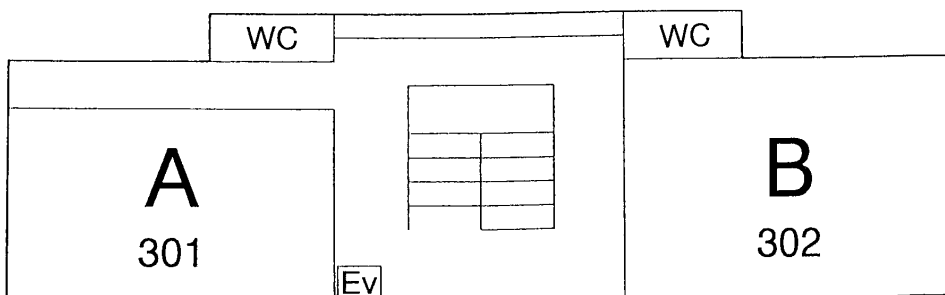


島根大学構内図

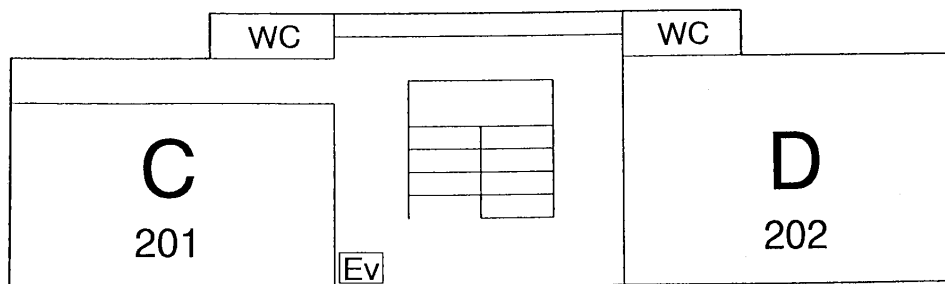


一般講演会場案内図 (島根大学教養講義室棟1号館)

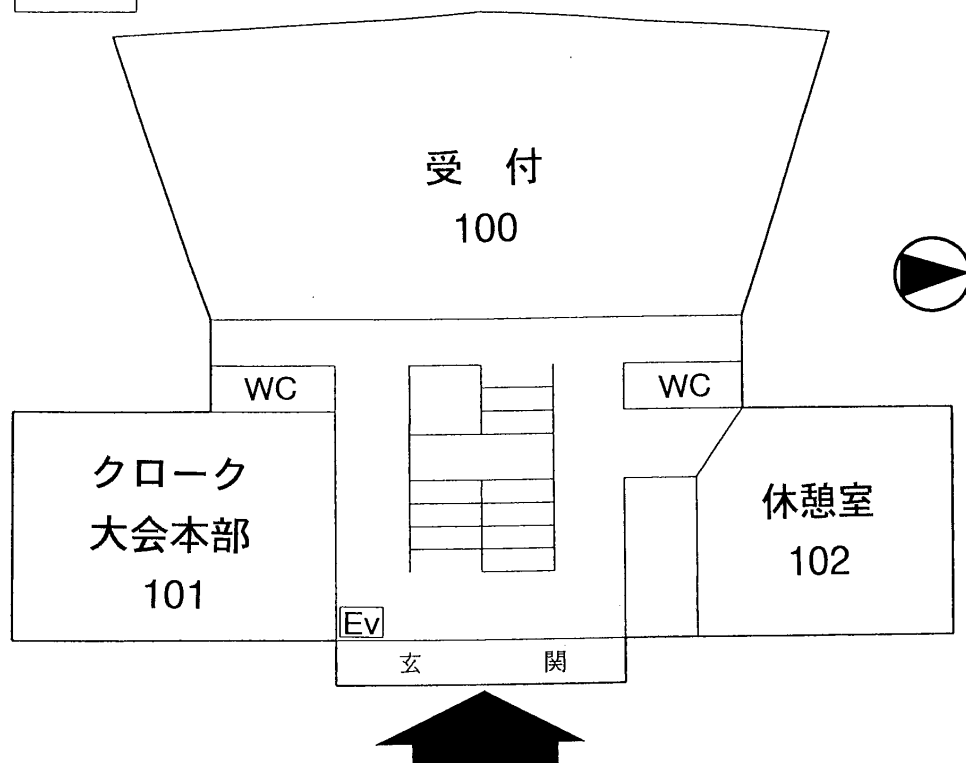
3 階



2 階



1 階



参加者へのご案内とお願い

1 参加章：

氏名と所属をご記入の上，期間中は必ずご着用下さい。お手数ですが，ネームホルダーは学会終了後受付にご返却下さい。

2 懇親会：

9月19日（木）18時よりサンラポーむらくもにて行います。
事前申込の方に加えて，当日申込も受け付けております。奮ってご参加下さい。

3 クローク：

9月19日：サンラポーむらくものクローク
9月20日：島根大学教養講義室棟の1階（地図参照）

4 昼 食：

島根大学の第1，第2食堂が営業しております。

5 喫 煙：

シンポジウム・特別講演会の会場内は禁煙です。喫煙は喫煙場所をお願いします。
一般講演会場の島根大学教養講義室棟は禁煙です。

6 休憩室：

一般講演会場の1階に休憩室を設けます。但し禁煙です。

7 携帯電話：

講演進行の妨げになりますので，会場内では必ず電源をOFF にして下さい。廊下など建物内では電話をお使いにならないようにお願いします。

8 駐車場：

シンポジウム・懇親会・一般講演会場には自家用車の駐車スペースがありませんので，公共の交通手段でお越し下さい。

座長・講演者へのお願い

当日は，各会場入口付近に，「座長，講演者一覧」を表示しますので，ご来場の時に，到着確認のチェックをご記入下さい。

座長および演者は30分前には会場にお越し下さい。

一般講演の講演時間は1題12分（口演10分，討論2分）で，8分で1鈴，10分で2鈴，12分で3鈴となります。活発な討論とともにプログラムの進行にもご協力下さい。

講演は全てOHPで行っていただきます。映写の補助者をご準備いただきますとプログラムがスムーズに進行すると思われるのでご協力をお願いいたします。

2002年度 日本農芸化学会中四国支部奨励賞のお知らせ

日本農芸化学会中四国支部では支部若手教官の学会英文誌*Biosci. Biotech. Biochem.* への投稿を促し、農芸化学研究の活性化を図ると共に日本農芸化学会の一層の発展に貢献すべく中四国支部奨励賞を創設いたしました。この度2002年度の受賞者が下記の3氏に決定しました。

なお、授賞式・受賞講演会を下記の予定で行いますので、多数ご参集下さい。

日本農芸化学会中四国支部長 田中英彦

記

受賞者および受賞題目

金 哲史 氏 (高知大学農学部)

「昆虫行動を制御する植物成分に関する研究」

外山博英 氏 (山口大学農学部)

「酸化発酵に関わる微生物と酵素の生化学的、分子生物学的研究」

中島伸佳 氏 (岡山県立大保健福祉学部)

「未利用生物資源由来酵素の新規な触媒機能の探索とさらなる応用」

授賞式

9月20日(金) 午後1時より

大学会館3階にて

受賞講演

9月20日(金) 午後1時半より

金 哲史 氏 (高知大学農学部)

A会場にて

外山博英 氏 (山口大学農学部)

B会場にて

中島伸佳 氏 (岡山県立大保健福祉学部) D会場にて

第1日目 プログラム

<シンポジウム> 「遺伝子・たんぱく質解析の最先端と生物資源の高度利用」

開会の挨拶 13:00 松田英幸（島根大・生物資源）

1. 13:05 ～ 13:30 座長 高畑京也（岡山大・農）
動物リポキシゲナーゼの構造と生理機能 地阪光生（島根大・生物資源）

2. 13:30 ～ 14:05 座長 横田一成（島根大・生物資源）
小胞体におけるタンパク質の品質管理 裏出令子（京都大院・農）

3. 14:05 ～ 14:30 座長 江坂宗春（広島大・生物生産）
高等植物における活性酸素消去酵素の発現制御とストレス耐性獲得への利用
石川孝博（島根大・生物資源）

4. 14:30 ～ 15:05 座長 藤田泰太郎（福山大・生命工）
Bacillus thuringiensis が産生する特異的細胞損傷蛋白質
酒井 裕（岡山大・工）

5. 15:05 ～ 15:40 座長 川向 誠（島根大・生物資源）
遺伝子・蛋白質解析の物質生産研究への応用
久我哲郎（協和醗酵（株）・生産研）

閉会の挨拶 15:40 川向 誠（島根大・生物資源）

休憩 15:40 ～ 16:00

<受賞講演>

1. 16:00 ～ 16:40 座長 宮川都吉（広島大院・先端物質）
2002年度日本農芸化学会功績賞
「海産無脊椎動物の初期発生に関する化学生物学的研究」
池上 晋氏（広島大・生物生産）

2. 16:40 ～ 17:20 座長 松田英幸（島根大・生物資源）
2002年度農芸化学技術賞
「新規機能性を付加した加工米の開発研究」
○森山信雄・金山功・篠崎 隆・矢富伸治（アルファー食品（株））

第2日目 プログラム

<一般講演 9:00~16:45>

<A会場>

午前の部 (9:00~12:00) 有機化学・天然物化学

- 9:00 A-1 不飽和アルデヒド基を結合するグリセロリン脂質及びコレステロールエステル合成と生体関連求核試薬との反応
○Arnold N. Onyango, 金子孝夫*, 松尾光芳**, 清水 昌***, 中島修平, 馬場直道 (岡山大・農, *東京都・老人研, **甲南大・理, ***京大院・農・応生化)
- 9:12 A-2 Benzofuran型リグナン類の合成研究
○岡崎百年, 首藤義博 (愛媛大・応化)
- 9:24 A-3 フロフラン型リグナンである(+)-アプトシモンの合成研究
○山口宗利, 山内 聡 (愛媛大・農)
- 9:36 A-4 炎症作用関連物質である(5*R*)及び(5*S*)-HETEの酵母還元を利用した合成研究
○木下義浩, 山内 聡 (愛媛大・農)
- 9:48 A-5 炎症作用関連物質である(*R*)及び(5*S*)-6,7-dihydro-5-HETEの酵母還元を利用した合成
○山内 聡, 武田健司, 我那覇誠, 木下良郎 (愛媛大・農)
- 10:00 A-6 ムリカタシニアナログの合成研究
今野博行, ○日浦直樹, 矢鳴千草, 堀 均 (徳島大・工・生物)
- 10:12 A-7 システインプロテアーゼ阻害活性を有するMiraziridine Aの全合成研究
今野博行, ○戸城恵美, 青山幸代, 小出隆規, 堀 均 (徳島大・工・生物)
- 10:24 A-8 Positive and negative modulation of *Bombyx mori* adenylate cyclase by derivatives of biogenic amines
○Md. Anwar Arfien Khan, Toshiya Nakane, Hiroto Ohta, Yoshihisa Ozoe (Dept. Life Sci. Biotechnol., Shimane Univ.)
- 10:36 A-9 ニ置換二環式リン酸エステルの合成とGABAレセプターにおける構造活性相関
○房崎明香, 菱沼広行, 尾添嘉久 (島根大・生資・生命工)
- 10:48 A-10 ミオスミン誘導体の合成と昆虫ニコチン性アセチルコリン受容体における構造活性相関
池田 泉, ○宇都宮毅, 貞光美貴, Israt Sultana, 尾添嘉久, 持田和男 (島根大・生資・生命工)
- 11:00 A-11 クヌギ樹液に含まれるオオスズメバチ行動制御成分の分析
中島修平, ○三木秀二, 馬場直道, 市川俊英* (岡山大・農, *香川大・農)
- 11:12 A-12 ピーマンのマメハモグリバエに対する抵抗性因子
○柏木丈弘, Daniel Bisrat Mekuria, 手林慎一, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農)
- 11:24 A-13 ジャスモン酸によって誘導されるマメハモグリバエに対するピーマンの抵抗性因子
○三輪えりこ, 堀端 陽, 手林慎一, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農)
- 11:36 A-14 Ovipositional deterrent from bitter melon leaves, *Momordica charantia* to a leaf miner fly, *Liriomyza trifolii*
○Daniel Bisrat, Kashiwagi Takehiro, Tebayashi Shin-ichi, Chul-Sa Kim and Horiike Mitio (Fac. Agr., Kochi Univ.)
- 11:48 A-15 セイタカアワダチソウに含まれるミナミキイロアザミウマの摂食阻害物質
○高橋 司, 矢野英子, 金 哲史, 手林慎一, 堀池道郎 (高知大・農)

午後の部 (13:30~15:45) 有機化学・天然物化学

- 13:30 受賞講演 「昆虫行動を制御する植物成分に関する研究」
金 哲史 (高知大学農学部)
- 13:45 A-16 ケブカサシガメの摂食行動刺激物質
○河原卓也, 手林慎一, 西 明紀*, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農, *東京農工大)
- 13:57 A-17 イネに含まれるタイワンツマグロヨコバイのProbing行動刺激物質
○鈴田昭子, 金 哲史, 手林慎一, 堀池道郎 (高知大・農)
- 14:09 A-18 インド型栽培ビエに含まれるウンカ類摂食阻害物質
○松本 幸, 林 彰人, 手林慎一, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農)
- 14:21 A-19 ツマグロヨコバイ抵抗性水稻Lepe-dumaiに含まれるツマグロヨコバイ摂食阻害物質
○黒田育宏, 執 行亨, 金 哲史, 手林慎一, 堀池道郎 (高知大・農)

- 14:33 A-20 大豆レシチン熱変性物質の生成因子
○笠原淳仁, 坂本成史朗, 濱口展年*, 園 良治*, 手林慎一, 金 哲史, 高 行植*, 堀池道郎 (高知大・農, *辻製油 (株))
- 14:45 A-21 ウドに含まれる抗菌物質
○田中克佳, 園村嘉伸, 手林慎一, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農)
- 14:57 A-22 セイヨウミツバチ由来新規抗菌ペプチドの精製と構造解析
○犬伏順也, 前田拓也, 高麗寛紀 (徳島大・工・生物工)
- 15:09 A-23 Chlamydocin 類縁体のイネ矮化活性ー第3報ー
○谷 央子, 藤井雄三*, 本間 環, 中島廣光 (鳥取大・農, *米子高専)
- 15:21 A-24 ゴマの根に含まれるキノン系化合物 (2)
○野曾原友一郎, 古本敏夫, 福井宏至 (香川大・農・生資・食化)
- 15:33 A-25 西表島産海浜植物の生物資源化研究ーミズガンビからのガロイルフラボノイドの単離と抗酸化関連活性ー
○増田俊哉**, 入谷久美子*, 小山保夫*, 米盛重友**, 武田美雄* (*徳島大・総科, **琉球大・熱生圏セ)

<B会場>

午前の部 (9:00~12:00) 微生物

- 9:00 B-1 *Zymomonas mobilis*内での *Ruminococcus albus*由来 β -glucosidaseの細胞内局在性
○野崎浩司, 渡辺博哉, 岡本賢治, 築瀬英司 (鳥取大・工・生応工)
- 9:12 B-2 NaClに応答する鉄酸化細菌の外膜タンパク質Omp40の解析
○上村一雄, 山門光孝, 杉尾 剛 (岡山大院・自然)
- 9:24 B-3 硝酸態窒素の微生物による除去
○大塚淳弘, 川原宗司, 用貝さと子, 村田芳行, 神崎 浩, 下石靖昭 (岡山大・農)
- 9:36 B-4 *Agrobacterium*属細菌の凝集促進活性を有する微生物細胞外多糖の性状解析
神崎 浩, ○新納 愛, 仁戸田照彦 (岡山大・農)
- 9:48 B-5 飢餓状態にある食中毒細菌に及ぼす殺菌処理の影響
○前田拓也, 高麗寛紀 (徳島大・工・生物工)
- 10:00 B-6 Valencene, Nootkatone, Dihydronootkatone, Dehydronootkatoneの微生物変換
野間義明, ○古澤 舞, 橋本敏弘*, 浅川義範* (徳島文理大・家政, *徳島文理大・薬)
- 10:12 B-7 微生物によるラセミ体Bicyclo[3.3.1]nonane-2,6-dioneの光学分割
野間義明, ○高橋裕司, 橋本敏弘*, 浅川義範* (徳島文理大・家政, *徳島文理大・薬)
- 10:24 B-8 枯草菌 *sigY*オペロンの転写と機能の解析
○東條繁郎, 吉田健一, 藤田泰太郎 (福山大・生命工・生物工学)
- 10:36 B-9 枯草菌窒素代謝制御TnrAレギュロンの構成遺伝子の検索
○木根原匡希, 吉田健一, 山口弘毅, 中浦嘉子, 藤田泰太郎 (福山大・生命工・生物工学)
- 10:48 B-10 *Bacillus subtilis*におけるフィブリン分解活性とキシラン分解物の関連性
○西原理恵, 丸山雅史, 木場洋次郎 (愛媛大・農・応生化)
- 11:00 B-11 *Bacillus thuringiensis*が産生する特異的殺虫タンパク質の膜結合特性の解析
○安田幸生, 津田梢子, 山際雅詩, 酒井 裕 (岡山大・工・生物)
- 11:12 B-12 双翅目昆虫特異的殺虫タンパク質Cry4Aにおけるチャネル形成ドメインの機能解析
○三輪大輔, 山際雅詩, 酒井 裕 (岡山大・工・生物)
- 11:24 B-13 双翅目昆虫特異的殺虫タンパク質Cry11Aのプロセッシング産物とその動態
○坂川浩平, 山際雅詩, 酒井 裕 (岡山大・工・生物)
- 11:36 B-14 *Bacillus thuringiensis*が産生する特異的細胞損傷タンパク質による白血病ガン細胞のアポトーシス誘導
○天野浩未, 山際雅詩, 赤尾哲之*, 水城英一*, 大庭道夫**, 酒井 裕 (岡山大・工・生物, *福岡県工技セ, **九州大・農)
- 11:48 B-15 新規*Bacillus thuringiensis*菌株の白血病ガン細胞に対する細胞損傷能の解析と活性型分子の探索
○小谷洋介, 山際雅詩, 武部 聡*, 駒野 徹*, 酒井 裕 (岡山大・工・生物, *近畿大・生物理工)

午後の部 (13:30~16:33) 微生物・遺伝子

- 13:30 受賞講演 「酸化発酵に関わる微生物と酵素の生化学的、分子生物学的研究」
外山博英 (山口大学農学部)
- 13:45 B-16 大腸菌グルコン酸代謝に関わるGntI系遺伝子群のGntII系アクティベーターによる発現抑制
○恒富亮一, 伊豆英恵, 山田 守 (山口大・農・生物機能)
- 13:57 B-17 Inverse PCR法によるカイコキチナーゼのプロモータ領域の遺伝子解析
○米田茂之, 岩瀬 穰, Babiker M. A. Abdel-Banat, 古賀大三 (山口大・農)
- 14:09 B-18 ヤマイモキチナーゼE遺伝子の微生物細胞における高発現
○香川 隆, 野黒美俊介, 秦 淳也**, 田中克典, 中川 強*, 川向 誠, 古賀大三***, 松田英幸 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子, ***山口大・農, **山陰建設)
- 14:21 B-19 遺伝子組換え清酒酵母の香氣成分生成能
○宮川敬史*, 河本織江*, 加藤麗奈**, 上東治彦**, 永田信治*, ***, 加藤伸一郎***, 味園春雄*, ***, (*高知大・生物資源, **高知県・工技セ, ***高知大・遺伝子)
- 14:33 B-20 アウレオバシジウムによるβグルカン生成
○池上裕倫*, **, 山崎香織**, 永田信治*, ***, 加藤伸一郎***, 味園春雄*, ***, (*高知大・生物資源, **ソフィ, ***高知大・遺伝子)
- 14:45 B-21 グリコシル化シグナル配列導入リゾチームの酵母*Pichia pastoris*での発現分泌
○斎藤章, 左古幸一, 加藤昭夫 (山口大・応用生化)
- 14:57 B-22 出芽酵母におけるEBP2(EB Virus Nuclear Antigen 1-Binding Protein 2)の機能解析
○白井千春, 業合正信, 三本木至宏, 水田啓子 (広島大院・生物圏)
- 15:09 B-23 出芽酵母における*CEN5-HIS3*間の部位特異的組換えの効率上昇変異株の解析
○松崎浩明, 福井作蔵, 秦野琢之 (福山大・生命工・生物工)
- 15:21 B-24 HOG経路の欠損株が示すCa²⁺感受性を抑圧する変異株の解析
○山口敏良, 下向敦範, 平田 大, 宮川都吉 (広島大院・先端研)
- 15:33 B-25 分裂酵母の液胞形態形成に重要な遺伝子の機能解析
竹川 薫, ○大澤 文, 竹内秀俊, 岩城知子, 田中直孝 (香川大・農・生命機能)
- 15:45 B-26 分裂酵母のエンドサイトーシスに関与する遺伝子の機能解析
○岩城知子*, **, 竹川 薫** (*旭硝子ASPEX, **香川大・農・生命機能)
- 15:57 B-27 分裂酵母のO-グリコシド結合型糖鎖付加に関与する遺伝子の機能解析
○藤田康子*, **, 田中直孝**, 竹川 薫** (*旭硝子ASPEX, **香川大・農・生命機能)
- 16:09 B-28 分裂酵母のユビキノン生合成経路に関わるcoq7遺伝子破壊株の解析
○三木里沙, 西岐良一, 宮本和慶, 松田英幸, 中川 強*, 川向 誠 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)
- 16:21 B-29 シイタケESTデータベースの構築
○水津拓三, 矢木一弘, 田中克典, 中川 強*, 松田英幸, 川向 誠 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)

<C会場>

午前の部 (9:00~11:48) 栄養・食品

- 9:00 C-1 ヒト胃細胞に対するモズク由来フコイダンの効果
○川本仁志*, **, 三木康成*, 田中克典**, 中川 強***, 川向 誠**, 松田英幸** (* (株) 海産物のきむらや, **島根大・生資・生命工, ***島根大・遺伝子)
- 9:12 C-2 島根県産食材の抗ウイルス活性
○持田 恭 (島根保環研)
- 9:24 C-3 低亜硝酸塩濃度における植物抽出液の抗ボツリヌス作用
○内田正徳, 松村朱美, 中野宏幸 (広島大院・生物圏・食品衛生)
- 9:36 C-4 2-O-置換型アスコルビン酸誘導体の 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl に対するラジカル捕捉機構について
○竹林 純, 田井章博, 山本 格 (岡山大・薬)
- 9:48 C-5 シュウ酸の天然抗酸化剤としての有効性
○萱島知子, 片山徹之 (広島大院・教育)
- 10:00 C-6 グルタルアルデヒドのアミンとの反応: TBPEを指示薬とした四級アンモニウム塩の検出
○松浦理太郎, 小原由紀, 受田浩之, 沢村正義 (高知大・生物資源)

- 10:12 C-7 タマネギに存在する機能性成分の化学的解明-抗酸化活性と抗発癌プロモーター活性成分について-
○星野尾麻子, 古本敏夫, 諸隈正裕, 長谷川晴, 福井宏至 (香川大・農)
- 10:24 C-8 環状四糖の含水物及び無水物の調製と特性
○工藤尚樹, 奥 和之, 黒瀬真弓, 久保田倫夫, 福田恵温, 栗本雅司, 辻阪好夫 (林原・生化学)
- 10:36 C-9 エストロゲン欠乏誘導高コレステロール血症に及ぼす油脂の影響
○海老原 清, 岸田太郎, 館森恵子, 小川 博* (愛媛大・農, *近畿大・医)
- 10:48 C-10 DDT摂取ラットにおける脂質代謝および薬物代謝酵素活性の変動に対する食餌フィチン酸の影響
○岡崎由佳子, 片山徹之 (広島大院・教育)
- 11:00 C-11 焼酎粕の乳酸菌醗酵による抗ストレス作用物質生成の可能性の検討
○青島 均, S. J. フセイン, 横山定治*, 平松順一*, 高橋康次郎** (山口大・理, *宝酒造(株)・酒類・食品研, **宝酒造(株)技術・供給本部)
- 11:12 C-12 麹菌のユビキノン生産量に及ぼす有機酸の効果
○土佐典照, 杉中克昭, 松田英幸* (島根県・産技セ・浜田, *島根大・生資・生命工)
- 11:24 C-13 小夏(*Citrus Tamurana*)成分の癌細胞アポトーシス誘導活性
○佐塚正樹, 市川裕康, 伊勢村 護*, 向畑恭男 (高知工科大・物環, *静岡県大・食品栄養)
- 11:36 C-14 香辛料成分によるガン細胞増殖阻害
○金丸 芳, 津田貴美, 谷本桃代 (徳島大・総合科学・生命科学)

午後の部 (13:45~16:45) 動物・生物工学

- 13:45 C-15 乳癌細胞MCF-7に対するカプサイシンおよびそのDHA誘導体(Dohevanil)の影響
○拓 亜, 馬場直道, 多田幹郎, 高畑京也 (岡山大・農)
- 13:57 C-16 リソゾーム指向性塩基性薬剤によるアポトーシスにおけるリソゾーム酵素の関与
○佐々木洋子, 石坂瑠美, 内海俊彦 (山口大・農・生機化)
- 14:09 C-17 N-ミリスチル化蛋白質の過剰発現によるアポトーシス誘導
○中尾清香, 中野賢吾, 内海俊彦 (山口大・農・生機化)
- 14:21 C-18 Madin-Darbyイヌ腎臓上皮培養細胞株におけるホルボールエステルとノルジヒドログアイアレチン酸により誘導されるアポトーシスに対する外因性および内因性プロスタグランジンF_{2α}の抑制効果
○瀬戸山 努, 西村浩二, 津曲寛文, 森岡麻未, 羽田野陽子, Shan Lu, 地阪光生, 長屋 敦, 横田一成 (島根大・生資・生命工)
- 14:33 C-19 ストレスによるラット脳組織におけるMC4R遺伝子の発現変動
○吉岡正信, 山野好章, 掃部里央, 森嶋伊佐夫, 茶木茂之*, 戸田喜久*, 忍田祐一* (鳥取大・農・応用生命, *大正製薬(株)・医薬研)
- 14:45 C-20 簡便なPCR法による稀少鳥類の雌雄判別
○穴井直博*, 永田信治**, ***, 加藤伸一郎***, 味園春雄*** (**のいち動物公園, **高知大・生物資源, ***高知大・遺伝子)
- 14:57 C-21 ブタ卵胞液中のSODの生化学的性質と卵母細胞への保護効果
○奥田拓郎, 建本秀樹*, 高野めぐみ, 武藤徳男 (広島県大・生物資源, *琉球大・農)
- 15:09 C-22 Analysis of the mutants with altered drug specificity of the multidrug resistance ABC transporter Pdr5 in yeast.
○Andreea C. Cunita, 見越 淳, 水沼正樹, 平田 大, 宮川都吉 (広島大院・先端研)
- 15:21 C-23 *Pichia pastoris* による鶏卵白アルブミンの発現とその分子特性
○伊藤一成, 平原伸悟, 松富直利 (山口大・生機科)
- 15:33 C-24 マウス8S-リボキシゲナーゼの二次反応における基質の立体選択性
○地阪光生, 岩永千歳, 西村浩二, 長屋 敦, 横田一成 (島根大・生資・生命工)
- 15:45 C-25 リボキシゲナーゼ欠損大豆よりのリパーゼ阻害蛋白質
○里内 清, 村上 薫, 田中 保, 岩本博行 (福山大・生命工・応生科)
- 15:57 C-26 寄生虫抽出物によるイムノグロブリンイソタイプ誘導について
○加地弘明*, 川田雅彦*, 神崎 浩**, 田井章博*, 山本 格* (*岡山大・薬, **岡山大・農)
- 16:09 C-27 スギ花粉アレルゲンの多糖化による抗原構造の低減化
○臼井将勝, 西島範章, 加藤昭夫 (山口大・応用生化)

- 16:21 C-28 脂質過酸化バイオマーカー の8-*iso*-プロスタグランジンF_{2α}に対する単クローン抗体の作製と固相化酵素免疫測定法の開発及び生体試料への適用
○上石勇二*, 西村浩二*, Shan Lu**, 地阪光生*, 長屋 敦*, 山田 智***, 船田 正***, 横田一成* ** (*島根大・生資・生命工, **鳥取大院・連農, ***日本油脂・ライフサイエンス研)
- 16:33 C-29 脂肪細胞のライフサイクルの変化に伴うアラキドン酸シクロオキシゲナーゼ系反応経路の遺伝子発現の誘導
○岸守美絵*, Shan Lu**, 西村浩二*, 地阪光生*, 長屋 敦*, 横田一成* ** (*島根大・生資・生命工, **鳥取大院・連農)

<D 会場>

午前の部 (9:00~11:24) 植物

- 9:00 D-1 UV-B照射量の増加に対する遮蔽化合物の蓄積による順応
○田中智之, 米村 健*, 澤 嘉弘, 石川孝博, 柴田 均 (島根大・生資・生命工, *近畿中四農業研究センター)
- 9:12 D-2 ヤマイモ科担根体中のアラントインの定量分析
○仁宮章夫, 村田芳行, 多田幹郎, 下石靖昭 (岡山大・農)
- 9:24 D-3 大豆アレルゲンGly m Bd 28Kの前駆体タンパク質の代謝
○伊藤仁美, 比江森美樹, 木本真順美, 山下広美, 西澤けいと*, 内海 成*, 辻 英明 (岡山県大・保健福祉・栄養, *京大院農・農)
- 9:36 D-4 高等植物気孔形成の突然変異体*shabondama400*の解析
○黒瀬高章, 田中克典*, 川向 誠*, 松田英幸*, 中川 強 (島根大・遺伝子, *島根大・生資・生命工)
- 9:48 D-5 Mid-temperature dependent petal oscillation in tulip
○Abul Kalam Azad, Yoshihiro Sawa, Takahiro Ishikawa, Hitoshi Shibata (Dept. Life Sci. Biotechnol., Shimane Univ.)
- 10:00 D-6 植物形質転換用Gateway Binary Vectorの開発とその応用
黒瀬高章, 渡辺守, 田中克典*, 川向 誠*, 松田英幸*, ○中川 強 (島根大・遺伝子, *島根大・生資・生命工)
- 10:12 D-7 ジャガイモのアレンオキシド合成酵素のクローニング
○Darika Kongrit, Kohji Nishimura, Tsutomu Nagaya, Kazushige Yokota, Mitsuo Jisaka (Dept. Life Sci. Biotechnol. Shimane Univ.)
- 10:24 D-8 Post-transcriptional regulation of *Euglena* ascorbate peroxidase in response to light.
○Rapolu Madhusudhan, Takahiro Ishikawa, Yoshihiro Sawa, Shigeru Shigeoka*, Hitoshi Shibata (Dept. Life Sci. Biotechnol., Shimane Univ., *Dept. Food Nutri., Kinki Univ.)
- 10:36 D-9 細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼを過剰発現させたシロイヌナズナの解析
○木村嘉宏, 中濱恭子, 澤 嘉弘, 重岡 成*, 柴田 均, 石川孝博 (島根大・生資・生命工, *近畿大・農・食栄)
- 10:48 D-10 タバコ培養細胞における細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ発現抑制の影響
○森本ゆかり, 村上和弘, 澤 嘉弘, 重岡 成*, 柴田 均, 石川孝博 (島根大・生資・生命工, *近畿大・農・食栄)
- 11:00 D-11 タバコのアスコルビン酸生成酵素遺伝子の発現解析
○高岡孝彦, 宮原克典, 江坂宗春 (広島大・生物園科)
- 11:12 D-12 転写因子Dofタンパク質の植物における機能解析
○森保 亮, 梅村 佳美, 江坂 宗春 (広島大・生物園科)

午後の部 (13:30~16:21) 酵素

- 13:30 受賞講演 「未利用生物資源由来酵素の新規な触媒機能の探索とさらなる応用」
中島伸佳 (岡山県大保健福祉学部)
- 13:45 D-13 シュードモナス属細菌のフェニルセリン脱水素酵素オペロン
○上島左久子*, 永田信治* **, 加藤伸一郎**, 味園春雄* ** (*高知大・生物資源, **高知大・遺伝子)
- 13:57 D-14 放線菌由来環状ジペプチド脱水素酵素系を利用するcyclo(Phe-Pro)脱水素体の合成
神崎 浩, ○池田万里, 森本篤史, 仁戸田照彦 (岡山大・農)
- 14:09 D-15 放線菌由来cyclo (Leu-Phe)脱水素酵素の精製と諸性質の検討
神崎 浩, ○森本篤史, 池田万里, 仁戸田照彦 (岡山大・農)
- 14:21 D-16 ラン藻由来γ-グルタミルシステイン合成酵素のクローニング
○星 春佳, 芦田裕之*, 澤 嘉弘, 柴田 均 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)

- 14:33 D-17 高度好熱性細菌 *Thermus thermophilus* 由来アラニンラセマーゼの性質検討
○白神智行, 田村 隆, 田中英彦, 稲垣賢二 (岡山大・農)
- 14:45 D-18 Modifying the substrate specificity of alanine racemase by DNA shuffling
○Jiansong Ju, Kouhei Ohnishi, Haruo Misono (Fac. Agr., Kochi University)
- 14:57 D-19 *Pseudomonas putida* 由来の抗がん酵素 L-メチオニン γ -リアーゼのランダムミューテーションによる機能改変
○遠藤祐一, 田村 隆, 山下真生, 田中英彦, 稲垣賢二 (岡山大・農)
- 15:09 D-20 ラン藻グルタミン合成酵素のアデニリル化改変
○山根隆正, 戸田雄一郎, 芦田裕之*, 石川孝博, 柴田 均, 澤 嘉弘 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)
- 15:21 D-21 ラン藻アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの耐熱化機構の解析
○金 亨, 芦田裕之*, 石川孝博, 柴田 均, 澤 嘉弘 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)
- 15:33 D-22 低障壁水素結合の分子軌道計算におけるハミルトニアン(AM1, PM3, PM5)の検討
○田村 隆, 田中英彦, 稲垣賢二 (岡山大・農)
- 15:45 D-23 糸状菌によるアルキルベンゾチオフェン類の酸化
○松井徹, 尾中利光, 丸橋健司, 倉根隆一郎* ((財) 国際石油交流センター, * (株) クボタ)
- 15:57 D-24 *Pseudomonas putida* によるスチレンの分解
岡本賢治, ○生澤真樹, 築瀬英司 (鳥取大・工・生応工)
- 16:09 D-25 *Helicobacter pylori* 付着糖鎖切断酵素の検索
○宮脇仁志, 三浦豊和, 岡本賢治, 築瀬英司 (鳥取大・工・生応工)

日本農芸化学会中四国支部
第 1 回 若 手 シ ン ポ ジ ウ ム

主 催：日本農芸化学会中四国支部，日本農芸化学会中四国支部大会実行委員会

日 時：2002年9月20日（金）

会 場：島根大学大学会館3階

進 行：中川 強（島根大・遺伝子）、石川孝博（島根大・生資）

<プログラム>

○シンポジウム（17:30 - 19:00）

1)「環境保全と生物農薬－Btトキシンによる害虫防除－」

（岡山大学工学部）山際雅詩

2)「内分泌攪乱物質が哺乳類の精子形成関連遺伝子の発現に与える影響」

（鳥取大学農学部）山野好章

3)「植物に活性窒素代謝系は存在するか？」

（広島大学大学院理学研究科）坂本 敦

○交流会（ポスターセッション&ミキサー）（19:00 - 21:00くらいまで）

日本農芸化学会中四国支部大会主催
第 2 回 市 民 フ ォ ー ラ ム

生命・食糧・環境の科学とバイオテクノロジー
－ 生活の質的向上を探求する農芸化学 －

日 時：平成14年9月21日（土） 13時から16時40分まで

会 場：松江テルサ（松江勤労者総合福祉センター）4階大会議室

所在地：〒690-0003 松江市朝日町478-18（JR松江駅のすぐ西）電話：0852-31-5550

<プログラム>

- 13:00 ～ 13:05 「はじめに」 （島根大学生物資源科学部）松田英幸
1. 13:05 ～ 13:45 座長 横田一成（島根大・生資）
「食品の特質は何か？ 先端科学と伝統技術から探る」
（島根県産業技術センター客員，前島根大学生物資源科学部）滝波弘一
2. 13:45 ～ 14:25 座長 中川 強（島根大・遺伝子）
「いのちを生み，育む食」 （島根大学生物資源科学部）松田英幸
- 14:25 ～ 14:35 休憩
3. 14:35 ～ 15:15 座長 川向 誠（島根大・生資）
「毛髪の科学：蘇る不思議」 （資生堂ライフサイエンスセンター）岸本治郎
4. 15:15 ～ 15:55 座長 持田和男（島根大・生資）
「赤潮・貝毒はなぜ起こる？ －海洋生態系におけるミクロの脅威－」
（独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所）山口峰生
5. 15:55 ～ 16:35 座長 澤 嘉弘（島根大・生資）
「活性酸素はすべて悪玉か？」 （島根大学生物資源科学部）柴田 均
- 16:35 ～ 16:40 「おわりに」 （島根大学生物資源科学部）尾添嘉久

座長および会場責任者一覧表

1 シンポジウム及び受賞講演

	演 者	座 長
シンポジウム 1 シンポジウム 2 シンポジウム 3 シンポジウム 4 シンポジウム 5	地阪光生（島根大・生物資源） 裏出令子（京都大院・農） 石川孝博（島根大・生物資源） 酒井 裕（岡山大・工） 久我哲郎（協和醗酵（株）・生産研）	高畑京也（岡山大・農） 横田一成（島根大・生物資源） 江坂宗春（広島大・生物生産） 藤田泰太郎（福山大・生命工） 川向 誠（島根大・生物資源）
受賞講演 1 受賞講演 2	池上 晋（広島大・生物生産） 森山信雄（アルファー食品（株））	宮川都吉（広島大院・先端物質） 松田英幸（島根大・生物資源）

会場責任：川向 誠

2 一般講演及び支部奨励賞受賞講演

A会場	責任者 長屋 敦（島根大）	B会場	責任者 芦田裕之（島根大）
1～5 6～10 11～15 受賞講演 16～17 18～21 22～25	今野博行（徳島大） 山内 聡（愛媛大） 岡崎百年（愛媛大） 中島修平（岡山大） 中島修平（岡山大） 前田拓哉（徳島大） 金 哲史（高知大）	1～5 6～10 11～15 受賞講演 16～17 18～20 21～24 25～29	山田 守（山口大） 山際雅詩（岡山大） 吉田健一（福山大） 酒井 裕（岡山大） 酒井 裕（岡山大） 水田啓子（広島大） 永田信治（高知大） 宮川都吉（広島大）
C会場	責任者 地阪光生（島根大）	D会場	責任者 石川孝博（島根大）
1～5 6～10 11～14 15～19 20～24 25～29	受田浩之（高知大） 山本 格（岡山大） 内海俊彦（山口大） 青島 均（山口大） 中野宏幸（広島大） 高畑京也（岡山大）	1～4 5～8 9～12 受賞講演 13～16 17～21 22～25	西村浩二（島根大） 江坂宗春（広島大） 村田芳行（岡山大） 稲垣賢二（岡山大） 稲垣賢二（岡山大） 築瀬英司（鳥取大） 神崎 浩（岡山大）

シンポジウム

「遺伝子・たんぱく質解析の最先端と生物資源の高度利用」

講演要旨

リポキシゲナーゼ (LOX) は、多価不飽和脂肪酸に分子状酸素を位置及び立体特異的に導入し、脂肪酸ヒドロペルオキシドを生成する酵素で、動植物に広く分布する。動物LOXは、主にアラキドン酸を基質とし、これをヒドロペルオキシエイコサテトラエン酸 (HPETE) へと変換する。動物LOXは、ヒドロペルオキシ基を付加する位置により5-, 8-, 12-, 15-LOXに分類される。導入されるヒドロペルオキシ基は通常は*S*配置だが、12-LOXの中には*R*配置で反応するものもある。各LOXはまたHPETEとも反応できる場合が多い。5-LOXによる5*S*-HPETEからのロイコトリエンの生成、5-LOX及び12-LOXまたは15-LOXとの共同作用によるリポキシンの生成などである。このように、LOXは、シクロオキシゲナーゼ系とは異なる、アラキドン酸の大きな代謝系を構成している。

LOXは、多数の β -シートからなるバレル構造を持つN末ドメイン及び α -ヘリックスに富むC末端側の触媒ドメインからなる。活性中心となる非ヘム鉄は、強く結合する4個のリガンド (3個のHis及びC末端のIle) 及び弱く結合する5番目のリガンドで保持される。この第5リガンドの位置には、多くのLOXがAsnまたはHisを有するが、マウス8-LOX及びそのヒトホモログである15-LOX-2のみは例外的にSerを有する。第5リガンドのAsnは、LOXの反応過程で鉄原子に着脱することで鉄原子の配位数を変化させることが示唆されている。動物LOXの進化系統樹では、LOXの分類とこの第5リガンドのアミノ酸の分類が一致するため、各LOXに付与される反応特性に応じてリガンドアミノ酸が選択されていることが予想される。

各動物LOXを様々な応用するためには、各LOXに固有な特徴を解明する必要がある。そのような特徴として、アラキドン酸に対する反応位置の特異性があげられる。LOXでは、基質の結合様式が未だ不明であるため、一次構造の類似した酵素間での比較検討が行われてきた。12-LOX及び15-LOXが先ず詳細に検討された結果、予想される基質結合部位の底に位置するアミノ酸側鎖のかさ高さに応じて基質がシフトし、これが両者の特異性の違いを生じると結論された。一方、演者らは、8-LOX及び15-LOX-2の反応位置特異性の違いが、予想される基質結合部位に近い連続する2個のアミノ酸の違いによる基質の結合方向の逆転によるものであることを強く示唆した。

LOX関連代謝生成物の生理機能に関しては、近年、その受容体レベルでの解析が進んできている。気管支平滑筋の収縮や炎症細胞の遊走等の明確な生理機能が古くから知られているロイコトリエン類には、各ロイコトリエンに特異的な細胞膜受容体が解明されてきた。一方、ロイコトリエンB₄には、さらに、核内受容体としてペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 α (PPAR α) が作用することも明らかにされている。LOXの一次反応生成物では、他に、15-HETE及び8-HETEが各々PPAR γ 及びPPAR α を活性化することが明らかにされた。15-LOX-2は、ヒトの前立腺癌の悪性化に伴い消失すること、さらに、前立腺癌の培養細胞系において細胞の増殖を抑制することが報告された。一方、8-LOXは、もともと発癌プロモーターの塗布により表皮で誘導されるLOXとして発見、解析されたが、このLOXもまた、マウス表皮の腫瘍の悪性化に伴って減少あるいは消失することが報告されている。腫瘍細胞の増殖を抑制する作用と先の多様な受容体との関わりは、現在活発に解析が進められている分野の一つである。

小胞体におけるタンパク質の品質管理 —小胞体内腔タンパク質ER-60の多機能性—

京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻 裏出令子

酵母及び動植物などの真核細胞の分泌タンパク質や膜タンパク質は、粗面小胞体で生産される。小胞体におけるタンパク質の生産は、複雑かつ精緻な過程であり、リボソーム上で生合成されたポリペプチド鎖は、N型糖鎖付加、フォールディング（折り畳み）、ジスルフィド結合形成、サブユニット会合などを経て高次構造が形成され機能タンパク質となる。高次構造が正常に形成されたタンパク質は、小胞体を出てゴルジ体を経由して最終目的地へ輸送される。一方、高次構造が形成されなかったタンパク質は小胞体に留められ、最終的に分解により除去される。これらの過程はタンパク質の品質管理機構と呼ばれ、小胞体膜及び内腔に局在する多種類の分子シャペロン及び酵素の協同作業により正確かつ円滑に進行すると考えられている。小胞体におけるタンパク質の品質管理機構は、小胞体で生合成されるタンパク質の生産に必須の基盤的知識であり、関与タンパク質の同定、各タンパク質の機能解析、タンパク質間相互作用解析など多面的な研究が展開されているが、その分子メカニズムについては不明な点が多い。

動物細胞の小胞体内腔に局在する水溶性タンパク質の1つであるER-60は、小胞体におけるタンパク質のフォールディング及び品質管理において重要な役割を担う多機能タンパク質であることが明らかとなってきた。ER-60は、プロテアーゼ活性、プロテインジスルフィドイソメラーゼ活性及びトランスグルタミナーゼ活性を有し、これらの機能がそれぞれ小胞体において重要な役割を担っていると推定されている。演者は、ER-60の構造と機能との相関を明らかにすることにより、その生理的役割の解明を目指してきた。ER-60には特徴的な2組のCGHCモチーフが存在するが、このモチーフに含まれるC末端側のシステイン残基がプロテアーゼ活性に必須であることをヒトER-60の部位特異的変異タンパク質を用いて明らかにした。即ち、2組のCGHCモチーフのC末端側のシステイン残基をアラニンに換えるとER-60のプロテアーゼ活性が消失した。また、同じ部位のシステイン残基をセリンに換えた変異ER-60にはセリンプロテアーゼ阻害剤に感受性のプロテアーゼ活性が検出され、2組のCGHCモチーフの各々のC末端システイン残基が独立して活性を担い得ることが明らかとなった。さらに、ER-60は小胞体において新しく生合成された変異リゾチームやアポリポプロテインBと会合し、これらの分解に関わっている可能性があることを明らかにした。また、ER-60は小胞体内腔でBiPとも会合していることを見出した。BiPはアンフォールドしたタンパク質と結合して、それらの小胞体内腔へのトランスロケーション、フォールディング、サブユニット会合などを介助する汎用性分子シャペロンである。*in vitro*の実験系を用いて、ER-60とBiPが協同的にアンフォールドしたタンパク質のフォールディングを行うことを明らかにした。

S-3 高等植物における活性酸素消去酵素の発現制御とストレス耐性獲得への利用

島根大学 生物資源科学部 石川孝博

高等植物は強光や乾燥などの様々な環境ストレスに曝されると、最終的に活性酸素種（AOS）に由来する酸化ストレスによって細胞障害を引き起こす。高等植物の細胞内酸素濃度（250 μM 以上）は、動物細胞のミトコンドリア内の濃度（約 0.1 μM ）と較べても非常に高いため、AOS が容易に生成しやすい状況にある。特に葉緑体は、光合成による酸素生成系と電子伝達系が共存するため、植物細胞にとって最も主要なAOSの発生源となる。移動の自由を持たない高等植物は、酸化ストレスによる細胞障害から身を守るための巧妙な抗酸化防御系を発達させている。アスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）は植物細胞内に多量に存在するアスコルビン酸（AsA）を特異電子供与体とする抗酸化酵素であり、AsA再還元系（AsA-グルタチオンサイクル）の構成酵素として、植物における酸化ストレス防御系の中心的役割を担っている。APXは葉緑体のストロマおよびチラコイド膜、細胞質、ミクロボディ、ミトコンドリアにアイソザイムが存在している。演者らはハウレンソウおよびタバコからストロマおよびチラコイド膜に局在する2つの葉緑体型 APX（sAPX, tAPX）が選択的スプライシングにより転写後調節されることを見いだした。葉緑体型APXアイソザイムは13個のエキソンから構成される単一の遺伝子（*APXII*）にコードされており、選択的ポリアデニレーションと選択的スプライシングにより 3'側の構造が異なる3種類の sAPXをコードするmRNA（sAPX-I, -II, -III）および1種類のtAPXをコードするmRNA（tAPX-I）が生成し、それぞれのmRNAからsAPXおよびtAPXタンパク質が合成されていた。この選択的スプライシングによるsAPXおよびtAPXの発現制御は、イントロン12のアクセプター部位上流に存在するシス配列（SRE; splicing regulatory element）とSREに相互作用するタンパク質因子の発現量によって組織特異的に行われていることが示された。葉緑体におけるAOSの生成部位はチラコイド膜上であることから、光酸化ストレス耐性の付与を目的に tAPX過剰発現タバコを作製した。野生株に較べtAPX活性が37倍に増加した過剰発現株（TpTAP-12）は、50 μM のパラコート噴霧後、光照射下（300, 1,600 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）において有意に耐性を示した他、低温ストレス（4°C, 1,000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）条件下でも抵抗性を示した。葉緑体内の抗酸化酵素の発現量を増加させることにより、AOS防御系の能力が向上し、光酸化ストレスに対する耐性が上昇することが示された。一方、演者らは最近APXの過剰発現体だけでなく、APX発現抑制体においても環境ストレス耐性能が增強されることを見いだした。タバコ培養細胞の細胞質型 APX発現を酵素活性レベルで約1/4にまで減少させたAPX発現抑制細胞（cAPX-S1）は、50°Cの高温ストレスに対して高い抵抗性を示した。AOSは、環境ストレス応答時の初期シグナル分子として作用することから、APX活性が抑制された結果、細胞内酸化状態が上昇し、定常状態においても高温ストレス応答機構が誘導されたためだと考えられる。AOS消去系の環境ストレス耐性への応用を考えると、植物細胞内での発現部位や発現量などのバランスをストレス状況に応じて制御することが重要であると言える。

S-4 *Bacillus thuringiensis* が産生する特異的細胞損傷タンパク質

岡山大学 工学部 生物機能工学科 酒井 裕

グラム陽性土壌細菌である *Bacillus thuringiensis* (Bt) はカイコの卒倒病の病原菌として1901年に日本で始めて発見された。Btには多くの亜種があり、害虫を含む多様な昆虫の幼虫に対して強い特異的殺虫効力を示すものが多く知られている。したがって、これらは農林業害虫及び衛生害虫の防除に用いることが出来る。

Btは、孢子形成時にクリスタルと呼ばれるタンパク質封入体を形成する。Btの亜種の中には、特異的殺虫効力あるいは特異的ガン細胞破壊活性を示すタンパク質を含むクリスタルを産生するものが多く知られている。前者は、昆虫の中腸上皮細胞を、また後者は特定のガン細胞を認識・破壊する活性を有している。特異的細胞損傷タンパク質とは、その全体を意味する。これらは、クリスタルタンパク質、Cryタンパク質、 δ -エンドトキシンなどとも呼ばれる。Btの特異的細胞損傷タンパク質及びそれらの遺伝子は貴重な生物資源であり、今後は新規なBtの探索とともに作用機構の詳細を解明することによって、いっそうの有効利用が望まれる。

Btが産生する各種の殺虫タンパク質は、それぞれ限られた種類の昆虫の幼虫に対して強い殺虫効力を示し、それ以外の昆虫にはほとんど影響を及ぼさない。すなわち殺虫作用が強力で、特異性が高いことが特徴であり、欧米では30年余りに渡って害虫の防除に用いられてきた。その作用過程は、およそ次のように進行すると考えられている。すなわち、クリスタルが植物の葉などの餌とともに昆虫の幼虫に摂食されると、消化管（中腸）に達し、そのアルカリ性条件下で可溶化される。さらに、Cry蛋白質は消化液に含まれるプロテアーゼによるプロセッシングを受けて活性型分子を生成する。この活性型分子は、中腸上皮細胞に結合し、いくつかの段階を経て細胞膜に小孔を形成する。そのために細胞内外の浸透圧バランスが崩壊し、細胞が膨張・破壊され、標的昆虫は死に至ると考えられている。

今回は、*B. t. subsp. israelensis* (Bti) が産生するCry4A及びCry11Aの作用機構及び利用について述べる。Btiは、蚊やブヨなどの双翅目昆虫の幼虫に対して特異的殺虫効力を有する3種類のタンパク質、すなわちCry4A、Cry4B及びCry11Aからなるクリスタルを形成する。Cry4Aは、分子質量130kDaのタンパク質であり、蚊の幼虫（ボウフラ）に摂食されると中腸内でプロセッシングを受け、20kDa及び45kDaの小断片を生成する。これらは会合して60kDa複合体を形成し、これがCry4Aの活性型分子であると考えられる。また、Cry11Aは、分子質量70kDaのタンパク質であり、ボウフラに摂食されるとプロセッシングを受けて36kDa及び32kDaの小断片が生成する。両者は会合し、ボウフラに対して殺虫効力を有する複合体を形成する。これらのCry4A及びCry11A殺虫タンパク質分子の性状と、標的細胞の認識・結合過程における動態について述べる。さらに、*cry4A* 遺伝子を導入したラン藻の作製と、ボウフラに対する殺虫効力を検討した結果についても紹介する。

古くから発酵工業においては、目的に合致した発酵特性を持つ微生物を天然界からスクリーニングに寄り取得し活用してまいりました。その後、栄養要求性変異株やアナログ耐性変異株を活用した代謝制御発酵技術が開発されました。このような時代には、遺伝物質である核酸を直接扱っていた訳ではありませんが、遺伝子資源の探索と遺伝子の改変技術を産業として活用していたと言えます。一方、1970年代後半から始まった遺伝子組換え技術の時代から最近のゲノム解析の時代になりますと、旧来の研究とは方法論として全く異なる時代となりました。本報では、1980年以降の研究事例をご紹介します、今後の「遺伝子・蛋白質解析の物質生産研究への応用」への展望を議論致します。

事例1) HTLV-Iの血清診断用抗原の生産：C型レトロウイルスであるHTLV-Iは、成人T細胞白血病の原因ウイルスです。1983年にHTLV-I 遺伝子のクローニングが報告され、感染者検出の為に血清診断用ウイルス抗原の生産研究を行いました。大腸菌と酵母を宿主とした内部抗原、表面抗原、内部抗原と表面抗原の融合蛋白質の生産システムの概要を紹介します。

事例2) G-CSF誘導体の造成：顆粒球増殖因子（G-CSF）は、造血幹細胞から種々の血液細胞への分化・増殖過程において好中球前駆細胞に特異的に作用して分化・増殖を促進し、成熟好中球の機能を亢進させる作用を持つ造血因子であり、抗癌剤の骨髄毒性の緩和や骨髄移植治療への応用が期待されていました。我々は、ヒトG-CSFの構造活性相関を明らかにし、比活性・物性の面で優れた性質を持つ誘導体の造成をめざして、欠失、挿入、置換などの方法により、100種類以上の誘導体を造成し個々の誘導体の活性を評価して、安定性が増大し、ヒト好中球上のG-CSFレセプターに対する親和性が向上して比活性が高い誘導体を得ました。この誘導体は、N末端から1, 3, 4, 5, 17番目の5個所のアミノ酸が置換されたものです。この誘導体は蛋白質のX線結晶解析に成功し、一次配列の変異が立体構造の変化を引き起こしていることが示されています。

上記2例は1980年代の研究事例で、今となっては一昔前の遺伝子・蛋白質の解析研究の事例です。1990年代に入りますと、生物学研究にエンジニアが積極的に関与してきたこと等によりデータ生産量が飛躍的に増大したこと、情報科学の活用による大量データ処理・活用が可能となったこと等により、根本的に研究手法が変貌を遂げ、所謂ゲノム解析時代を迎えました。最後にゲノム解析時代の事例を紹介し、今後の遺伝子・蛋白質解析研究の展望を議論します。

受 賞 講 演

講 演 要 旨

受賞講演 1 海産無脊椎動物の初期発生に関する化学生物学的研究

広島大学生物生産学部 現、広島大学機器分析センター 池上 晋

農芸化学の歴史において、多数の陸上生物種の発生・生理現象が分子のレベルで明かにされ、その知見をもとに特定種属の増殖を制御する化学的手法が開発されてきた。しかし、これまで、海産生物が研究対象にされることは稀であった。地球上の動物種の95%以上が無脊椎動物であり、その多くは沿岸域の海中に棲息している。沿岸生態系を保全することは重要であるが、そのためには、そこで棲息する動物種の生殖・胚発生の分子機構を明らかにする必要がある。私は沿岸海域に棲息する無脊椎動物のうちで、とくに生態系を支配する重要種、棘皮動物キヒトデとイトマキヒトデについて、生殖・胚発生過程を化学生物学的に解析してきた。以下に、研究の概要を述べる。

1. 精子形成 - ヒストン二量化 -

イトマキヒトデ精子は凝縮した核を有し、鞭毛を動かして遊泳する。本研究で精子核にヒストンH2BとH4が ϵ -(γ -Glutamyl)lysyl 架橋したヘテロ二量体p28が存在することが明らかになった。ヒストン二量体の存在はTransglutaminaseによるTransamidation 反応が生細胞内で生起することを示した初めての事例である。ヒトデの精子では、ヒストン二量化によってクロマチンをコンパクトにまとめあげていると推定される。

2. 卵形成 - 核小体タンパク質の生成とリン酸化 -

一次卵母細胞には卵核胞（核）が存在し、この中に一個の核小体が存在する。核小体はリボソーム合成の場であり、ここで、胚発生に必要なタンパク質の合成に見合う母性リボソームを大量に生産する。核小体の主要タンパク質NAAPを単離し、cDNAとアミノ酸配列を決定した。NAAPの核移行には双節型核移行シグナルが、核小体移行にはC末端領域が必要であることが明らかになった。

ヒトデの卵は神経組織のペプチド性生殖腺刺激物質(GSS)が卵巣に作用することによって体外に放出される。GSSは卵巣内の濾胞細胞に作用して卵成熟誘起物質1-Methyladenine (1-MeAde)を産生・分泌させることによって、放卵と卵成熟を誘起する。しかし、キヒトデの卵母細胞は濾胞細胞層に包まれたまま海水中に置くと、自然に成熟することが知られている。私たちは、卵巣中の”自然成熟”阻止物質が卵巣Asterosaponin-4であることをあきらかにし、その化学構造を20 α -Hydroxy-6 α -O-{6-deoxy- β -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)-[6-deoxy- β -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)-6-deoxy- β -D-glucopyranosyl]-3 β -sulfo-oxy-5 α -cholesta-9(11),24-dieneと決定した。生殖腺刺激物質が到達すると本サポニンによる抑制が克服されて1-MeAdeを生じ、卵が成熟し、放卵する。1-MeAdeが卵に作用すると、成熟促進因子(MPF)が活性化され、卵が成熟し、核小体が崩壊する。MPFはcdc2キナーゼであり、卵の成熟過程でNAAPの特定のSer残基がリン酸化され、これにともなって多数の核小体タンパク質が離脱することがあきらかになった。

3. 受精 - 卵-精子融合と賦活 -

成熟卵に精子が貫入すると卵が賦活される。イトマキヒトデ、バフンウニの受精を阻害するが卵の賦活を阻害しない新規化合物JaspisinをJaspis属一海綿動物種に見出し、その構造を3,4-Dihydroxystyryl sulfateと決定した。Jaspisin中で受精させると卵と精子の細胞膜融合が抑制され、精子は卵中に侵入できない。しかし、受精膜が形成されるので、精子貫入は卵の賦活に必須ではないと結論された。JaspisinはMatrix metallo-endoproteinase (MMP) 活性を阻害するが、Astacin型Metallo-endoproteinase, ThermolysinなどのMetallo-endoproteinase, その他のProteinase活性に影響を与えなかった。本研究でMMPが細胞膜融合に係わると結論された。

4. 胚発生 - 発生阻害物質による分子過程の解析 -

受精卵はDNA複製を伴う卵割を繰返し、8~9回目の卵割で胞胚期に達する。本研究で真菌*Cephalosporium aphidicola*や*Harziella entomophila*が生産するジテルペンテトラオール、Aphidicolinが染色体DNA複製に係わるDNA polymerase α , δ , ϵ 活性を選択的に阻害することを明らかにした。イト

マキヒトデ受精卵をAphidicolin存在下で飼育すると卵割が繰返されるが、胞胚に達することなく死に至った。Aphidicolin処理胚では染色体が複製されないで、“無染色体分裂”が行われる。また、枯草菌が生産する細胞膜硬化物質Iturine A-2 を受精卵に与えると、卵割が阻害されるが核分裂は正常に進行し、多核単一細胞胚を生ずる。しかし、対照胚が胞胚形成する時期にクロマチンが融合し、死に至った。胞胚形成には一核一細胞であることが必要となる。以上のことから、胞胚形成では核、細胞質、細胞膜がそれぞれ勝手にふるまうことが許されなくなり、それらは相互に依存し合い、一つの細胞としての統一性が生ずると結論された。

胞胚形成後、胞胚期中期から後期にかけてp28合成が始まり、原腸胚期にかけてp28の合成が進行する。p28は精子に存在するが卵と初期胚には存在せず、中期胞胚期以後の胚、幼生、卵巣を除くすべての成体組織に出現した。すなわち、p28が存在しないのは盛んに細胞増殖を繰返す初期胚に限られ、分裂速度が低下する中期胞胚期から出現するが、これはこの時期から細胞核中にTransglutaminaseが生成されることによってもたらされることが明らかになった。この核型Transglutaminaseの遺伝子配列を決定したところ、核移行シグナル配列が見いだされた。このようなヒストン二量化と核型Transglutaminaseの存在が明らかになっている生物種はヒトデ以外に知られていない。以上の知見から、未分化で原始的な胚細胞が種属としての個性を発揮し始める時期は胞胚期であることが結論された。

5. 海洋中における浮遊胚・幼生の発生とその免疫学的検出

イトマキヒトデはキヒトデとともに日本各地の沿岸海域に多産し、生態系のキーストーン種として生物多様性を維持する役割を果たしている。しかし、沿岸生態系にはヒトデの発生を妨げる物質を含有する動物種も棲息している。ヒトデの発生に影響を与える海綿抽出物をスクリーニングしたところ、胞胚形成期以前に発生を停止させる活性、胞胚形成を可逆的に停止させる活性、不可逆的に停止させる活性、さらに、原腸形成直前で不可逆的に発生停止させる活性が見いだされた。これらの活性を担う化合物を単離し、同定、または構造決定を行った。これらの発生阻害物質の多くは培養ヒトがん細胞系にも増殖阻害活性を示すものであったが、なかにはヒトがん細胞系には作用しないでヒトデ胚発生特異的に作用する化合物も見いだされた。このタイプの物質として*Ancorina* 属一海綿種から新規化合物、Ancornioside Aが単離され、構造が決定された。本化合物は胚を構成する細胞同士の接着を妨げ、個体としての統一性を損なうものであった。このように、個々の海洋生物種の生殖と発生を阻害する化合物の特徴を把握し、陸上生物には見られない海洋生物細胞の分子的特性を理解することは、海洋生態系を損なわずに海洋生物を利用する上で必要であると考えられる。

イトマキヒトデの存在量を推定する技術を確立することは生態系における本種の動態を把握するうえで有用である。イトマキヒトデの卵、胚、幼生に種特異的に反応するモノクローナル抗体を作製し、これを用いた免疫学的手法で各海域のプランクトン中のイトマキヒトデの遊泳胚・幼生数を算出した。この手法はまた、種の形態学的相違が判然とせず、分類学的同定が困難な海中の卵や胚について、的確な種同定を可能にさせることが明らかになった。

本研究は34～37年前、東京大学農学部農産物利用学講座（現、生物有機化学研究室）と東京大学海洋研究所生物生理学部門で行った学位論文研究、ヒトデの放卵・卵成熟の化学的研究を継続し、展開したものである。ご指導戴いた東京大学名誉教授田村三郎先生と元国立基礎生物学研究所長故金谷晴夫先生に厚く御礼申し上げます。また、本研究は金谷研究室白井浩子博士（現、岡山大学理学部）、田村研究室神谷勇治博士（現、理化学研究所植物科学研究センター）、岡岡桂樹博士（現、秋田県立大学）、東京大学医学部長野 弘博士（現、山之内製薬）、東北大学理学部故平井説郎博士、味の素株式会社柴井博四郎博士（現、信州大学農学部）、同宮代重誠博士、同高山誠司博士（現、奈良先端科学技術大学院大学）、富山大学理学部小松美英子教授、東京大学農学部別府輝彦教授（現、日本大学生物資源科学部）、同吉田 稔博士（現、理化学研究所）、東京工業大学大学院生命理工学研究科浜口幸久教授、大阪大学下西康嗣教授（現、長浜バイオ大学設立準備財団）、同高尾敏文博士、広島大学機器分析センター太田伸二博士との共同研究である。これらの方々と広島大学生物生産学部とともに研究を進めた学生、院生、教官諸氏に感謝する。

受賞講演2 新規機能性を付加した加工米の開発研究

アルファード株式会社	代表取締役社長	森山信雄
同	代表取締役専務	篠崎 隆
同	取締役工場長	金山 功
同	営業企画部課長	矢富伸治

日本人にとって米は主食であり、農林水産省の平成10年度食料需給統計によると、国民1人当たり年間66.7kgを消費しており、依然として日本人の食生活の中で「コメ」は一つの大きな位置を占めているといえる。しかしながら、厚生労働省による国民栄養調査によると1980年以降、総エネルギー摂取量が減少傾向を示すなかで、動物性の蛋白質や脂肪の摂取量が増加傾向にあり、その一方で米類などの炭水化物の摂取量が年々減少傾向にあることが指摘されている。特に同省による平成9年度の国民栄養調査では、この20年間で主に成人男性において、朝食欠食率の増加とそれに並行して、夕食における「揚げ物」などをはじめとした動物性の蛋白や脂肪の摂取量の増加が大きな問題として取り上げられている。さらに、食の洋風化の一つの指標と考えられる、動物性脂肪と植物性脂肪の摂取割合についても動物性脂肪の摂取が増加し、動物性と植物性の比率は、ほぼ1:1にまでなっている。このような状況のもと、例えば、日本人の血中コレステロール値に関して、この10年間で10~20mg/dl上昇していることも報告されている。この血中コレステロールについては、心臓・脳血管障害などの生活習慣病との関連がこれまでも指摘されており、その予防など健康上の観点からも、食生活や運動習慣を含めた生活習慣の改善が一つの大きな課題となっている。

一方、米の搗精により得られる糠及び胚芽部分には人体にとって非常に有効な物質が多く含まれている事が、近年の諸研究により明らかになってきた。たとえば、その代表的なものが、γ-アミノ酪酸、イノシトール、γ-オリザノールといわれており、その他にもセラミドやトコトリエノールやステロール等も注目されている。

しかしながら、このような機能的な価値ある物質を含む玄米が体に良いと周知されながら、精白米の方が圧倒的に多く食されているのが現況の事実であり、その主要因は単純に「おいしくない」ためからであることが判明した。そこで、我々は精白米のように「おいしく」かつ糠・胚芽部分に含まれている機能性物質を多く含む「お米」、すなわち健康的かつ安全で、官能的にも優れている加工米を開発コンセプトとして研究を行ったので、以下に、その研究の経過と概要を述べる。

1. 玄米に対する意識調査

近年、いわゆる健康食ブームの中で、「玄米」の機能性についても、テレビなどのマスメディアを通して周知される話題となってきた。我々は1999~2000年にかけて健康フェアの来場者、東京・大阪のドラッグストア来店者、主婦が中心となったホームページサイトのアクセス者、合計2,712人に対して、玄米に対する意識調査を行った。

その結果、「これまで玄米を食べたことがありますか」という質問に対して、74%が「YES」という回答であり、その「玄米食」の理由の81%が、何らかの健康を意識しての玄米の摂取であることも判明した。

しかしながら、この74%の内、毎日玄米を食べている人はわずかに0.9%で、75%が月に4回以下の「玄米食」という結果であり、その理由として79%が「おいしくないから」、「毎日は食べられないから」等の官能的なものが大半であることが集計結果として得られた。

この調査結果のまとめとして、健康に対する意識は想像以上に高く、「玄米が体に良い」と多くの人に認識しており、4人に3人は「玄米食」の経験があることが判った。さらに、「玄米が体に良い」と認識しながらも「おいしくない」ということを理由に、日常は「精白米」を食べている人がほとんどであるという結論に至った。

そこで、我々は「おいしい玄米」を開発すれば、「健康に良い普段のごはん」として、米の消費拡大に繋がるのではと考え以下の研究に取り組んだ。

2. 玄米の有効性

玄米成分の特徴あるものとして、ビタミンB1、B6、E、ナイアシン、マグネシウム等のミネラル、オレイン酸等の脂質が上げられるが、我々はこれらの機能性成分の内、近年、機能性に関しての特に多く学術論文、学会報告がなされているγ-オリザノール、イノシトール、γ-アミノ酪酸の三つの成分に着目した。

γ-オリザノールの機能性としては更年期障害、自律神経失調症などの抗ストレス作用、抗コレステロール作用、皮膚の老化防止など抗酸化作用があることが基礎的にも臨床的にも注目されている。また、イノシトールは人間の初乳に非常に多く含まれ、乳児に欠かせない重要物質として考えられており、抗脂肪肝作用として日本薬局報に記載され、動脈硬化予防、カルシウム吸収促進などの作用の他に、最近の欧米からの報告ではIP6と同様、抗ガン、抗ウィルス効果なども認められている。そして、γ-アミノ酪酸は通称GABAと呼ばれ、血圧降下作用、肝機能改善降下作用の他に精神安定作用などの作用が基礎的、臨床的に認められており、最近では発芽玄米に多く含まれているとして話題になっている。

3. 玄米の機能性を活かした加工米の開発

開発当初、玄米エキスのものを米に添加する方法を考えたが、玄米に含まれる不飽和脂肪酸が炊飯・保温により酸化され、アルデヒドが発生し、香りの好ましくない玄米エキス加工米が生まれた（食味も同様の結果）。

そこで、次に不飽和脂肪酸をほとんど含有しない玄米抽出物そのもの（玄米由来のγ-オリザノール、イノシトール、γ-アミノ酪酸）を米に添加する方法を検討した。この結果として、「ごはんの香り」という意味では全く問題なかったが、γ-オリザノールとγ-アミノ酪酸を添加した加工米には、玄米独特のえぐみを強くした違和感のある食味、イノシトールを強化した加工米には砂糖のようなものと米と一緒に炊き込んだごはんのような食味があり、これらを強化した加工米は当初の目的である「おいしい玄米」には、ほど遠い加工米となり、失敗に終わった。

しかしながら、「これら三種の玄米エキスを混合添加すれば」という研究員の偶発的な発想で場面は大きく変化した。この発想から、試しに玄米エキス三種を混合添加した加工米を開発したところ、これら三種の玄米エキスのおおのからは全く想像出来ない食味が完成した。つまり、当初の開発目的である食味をはじめとする官能評価が精白米と同等以上の「おいしい玄米」がここに誕生した。

さらに、この完成度を上げるため、玄米エキス三種の混合比率、米に添加する方法を試行錯誤し、最終的にγ-オリザノール、イノシトール、γ-アミノ酪酸をある一定比率で混合した物が最も官能的に良いことが確認された。また、添加方法として我々が持つアルファー化米の製造方法を応用することにより、全く添加物を使用することなく、いわゆるナチュラルに玄米エキスを強化した「おいしい玄米」の開発成功に至った。

この偶発的な発想は、後の特許出願においても、特許出願から登録認証まで、わずか7ヶ月という我々にとっては最速の認証期間であり、これまでに類似をみない全く新規性のある発明であったことを裏付ける結果となった（特許第3072102号）。

4. 臨床研究と機能性

我々は、以上の研究結果による玄米エキス添加加工米の機能性を確認するため島根難病研究所と島根医科大学の協力を得て臨床研究（シングルブラインド方式によるランダム化ドブスタディーにより健康な日本人男女96名に本製品を1～2ヶ月間摂取し、血液学的検査値の変動を検討した：文献健康・栄養食品研究3（1）45～53，55～64，2000）を行った。

この結果、本製品摂取により脂質系の効果として、総コレステロール、LDLコレステロール、リン脂質値ならびβ-リポタンパク値は有意に低下し、軽微ながらもHDL-コレステロールは有意な上昇を示し、動脈硬化指数も有意に低下した。さらに、肝機能系における総タンパクとアルブミン、グリコアルブミン、

コリンエステラーゼおよびアルカリフォスファターゼ値の上昇と総ビリルビン値の低下は肝機能亢進作用を示唆し、ヘモグロビンA1c、ヘモグロビンA1値の低下は糖尿病に対する有用性を示唆した。また、本製品摂取による安全性についても全く問題なく、日常の「ごはん食」を通じて、このような結果が得られたことは、単に「おいしい玄米」というだけでなく、健康にも大きく寄与する可能性があることを十二分に確認した。

5. 応用開発に向けて

我々は「健康であること」、「安全であること」そして「美味しいこと」を開発コンセプトとして、さらなる応用開発の研究を行った。

一例ではあるが、美肌効果があり化粧品としても使用されているセラミドは、食物として吸収した方が皮膚に対して良いという研究結果から、玄米セラミドを強化した加工米の開発にも成功した。

6. おわりに

米は世界食糧生産の中で小麦に続く第二位生産量

であり、近未来において地球温暖化、砂漠化の中で小麦やトウモロコシよりも生産量の増加が期待出来る重要な農産物である。特に東アジアを中心とするモンスーン地帯で米の生産量が大きく増加している中、食糧自給率が低い日本において、米の生産量、消費量が減少していることは単に国内の農業政策だけでなく、世界的食糧事情からも杞憂するものがある。

また、低インシュリンダイエットや低脂肪食の面

からも日本食の良さが欧米に認められる一方で、日本人の米由来のカロリー摂取量の低下と動物性脂肪摂取量の上昇は成人病へと繋がるおそれもあり医療的にも問題かと考えられる。

我々は、本研究開発が単に健康ブームの中での一つの製品としてではなく、本当に食品として良いもの（健康、安全、おいしさ）として、また米の消費拡大、さらには日本食の向上に微力ながらも一助になることを切に願うものである。

謝 辞

最後に本研究を行うに当たり、多大なるご指導ご鞭撻を頂きました東京農業大学荒井綜一教授、高野克己教授、島根大学松田英幸教授、静岡大学新井映子教授、財団法人島根難病研究所亀井勉研究部長、財団法人日本健康・栄養食品協会石田幸久部長またオリザ油化株式会社村井弘道専務をはじめ多くの先生方、協力関係者に深謝申し上げます。

支部獎勵賞講演

講演要旨

支部奨励賞 1 昆虫行動を制御する植物成分に関する研究

—イネに含まれるウンカ・ヨコバイ類の寄主認識物質の場合—

高知大・農・生資 金 哲史

トビイロ、セジロ、ヒメトビの3種ウンカと2種のツマグロおよびタイワンツマグロヨコバイはいずれもイネ科植物を寄主とするが、それぞれの寄主範囲は異なる。パラフィルム膜法による生物検定を指標にそれぞれの種のprobing行動刺激物質をイネより単離・同定した。イネのみを寄主とするタイワンツマグロではイネ特有のフラボノイド配糖体（FG）を含む8種類のFGを、イネと数種のイネ科雑草を寄主とするセジロ、ヒメトビではイネ科に広く分布するFGを含む数種のFGを、イネ科植物を幅広く寄主とするツマグロはイネ科植物に幅広く含まれるFG 1種類のみが活性物質であった。既に報告のあるトビイロの場合とをあわせて考えると、より厳格な寄主認識が必要な種は特異的な物質を、広い寄主範囲をもつ種は一般的な物質を必要としていることから、これらの物質がウンカ・ヨコバイ類の寄主認識に関与していると考えられる。

支部奨励賞 2 酸化発酵に関わる微生物と酵素の生化学的、分子生物学的研究

山口大学農学部生物機能科学科 外山博英

酢酸菌のペリプラズムには酸化発酵に関わる膜結合型脱水素酵素が多数存在している。種々の膜結合型脱水素酵素を精製し、生化学的性質を決定した。それらは広範な基質を酸化し、不可逆であった。細胞質内の酵素は比較的基質特異性が高く可逆的で、基質の酸化反応よりも還元反応でより高い活性を示した。膜結合型酵素が酸化発酵に寄与し、細胞質内の酵素は生じた生産物を同化するために働くと考えられた。

酢酸菌の酢酸資化能力は、酢酸に長い間さらされていると発現してくる。この時クエン酸回路に属する一連の酵素活が上昇すること、特にホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性が顕著に増大することを見出した。*Pseudomonasputida*HK5のアルコール酸化に関わるアズリンの、炭素源による発現量の違いを調べさらに構造遺伝子をクローニングした。

支部奨励賞 3 未利用生物資源由来酵素の新規な触媒機能の探索とさらなる応用

岡山県大・院・保健福祉 中島伸佳

演者らは以下のような「酵素の触媒機能の応用」に関する研究を行っている。

1. ミミズプロテアーゼの触媒機能の応用、2. 天然生理機能物質の配糖化による機能改変、3. 植物色素の安定化と高機能化、4. 腸内細菌の食物繊維分解酵素によるオリゴ糖生産、5. 微生物の酸化還元能を利用した有用物質合成と環境浄化への応用、6. 真珠貝の酸化ストレスによる病変過程の解明。今回の支部奨励賞受賞講演においては、1, 2, 3を中心に報告する。

1. 高活性で安定なミミズプロテアーゼの特性を解明し、クローン化による遺伝子の高発現を始めとして、食品、医薬、化学、環境等の分野への本酵素の応用を可能にした。2. ユーカリ培養細胞の糖転移酵素を用いて、生理機能成分（ヒノキチオール、コウジ酸、イソフラボン等）の機能向上を目指した配糖化法を開発した。3. リパーゼのエステル交換能を利用して、芳香族酸によりアシル化した安定な植物色素を創造し、ラジカル消去能や安定化機構を解明した。

一 般 講 演

講 演 要 旨

『注：本要旨における題目・発表者名・所属は発表
申込時のものを記載させていただいております』

A-1 不飽和アルデヒド基を結合するグリセロリン脂質及びコレステロールエステルの合成と生体関連求核試薬との反応

○Arnold N. Onyango, 金子孝夫*, 松尾光芳**, 清水 昌***, 中島修平, 馬場直道 (岡山大・農, *東京都・老人研, **甲南大・理, ***京大院・農・応生化)

ジェナール末端を有する炭素鎖が結合するホスファチジルコリンとコレステロールを始めて合成した。合成のキーステップは、 α -リノレン酸の大豆リポキシゲナーゼによる過酸化、その過酸化物の二価鉄による炭素結合のホモリテックな解列、および得られた末端ジェナール脂肪酸とリゾホスファチジルコリンまたはコレステロールのDCC/DMAPを介するエステル結合の生成からなる。これらのエステル分子中の不飽和アルデヒドはリジンの ε -アミノ基とマイケル付加反応及びシッフ塩基生成を容易に起こすことが明らかとなった。

A-2 Benzofuran型リグナン類の合成研究

○岡崎百年, 首藤義博 (愛媛大・応化)

【目的】 Benzofuran骨格を持つリグナン類の包括的な合成法の構築

【方法・結果】還元型benzofuran骨格を持つ dehydrodiconiferyl alcohol (DCA) の合成は、原料である *o*-methoxyphenolより得られるキラル補助素子を持つブromoフェニル酢酸に Evansの不斉アルドール縮合を行い、これを還元の後、水素添加による脱保護と脱水閉環を同時に行うことで benzofuran骨格へと変換。最後にホルミル化、不飽和エステル化の後、DIBALH還元を経て(+)-DCAを16行程で全収量16%、光学収率>99%eeで合成することに成功した。また酸化型の grossamideはアルドール体の保護基のTMS-Iによる脱保護に伴う脱水閉環反応により benzofuran骨格を構築し、Heck反応を経て光学収率98%eeの(+)-grossamideを17工程、全収率14%で合成することに成功した。

A-3 フロフラン型リグナンである(+)-アプトシモンの合成研究

○山口宗利, 山内 聡 (愛媛大・農)

【目的】 L-グルタミン酸を出発物質として、抗酸化作用の他、様々な生理活性が期待される、(1*S*,4*S*,5*S*,8*S*)-4,8-bis(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan-2-one(アプトシモン)の合成を目的とした。

【方法・結果】 L-グルタミン酸から調整したラクトン、(3*R*)-3-[(*R/S*)-(3,4-methylenedioxyphenyl)(triisopropylsilyloxy)methyl]-4-butanolideとピペロナールとのKHMDsを用いたアルドール縮合により、エリスロ体アルドール縮合物を選択的に得た。さらに、SN1環化反応を鍵反応とする5工程で(2*S*,3*R*,4*R*)-3-hydroxymethyl-4-[(*S*)-(methoxymethoxy)(3,4-methylenedioxyphenyl)]methyl-2-(3,4-methylenedioxyphenyl)tetrahydrofuranを立体収束的に得、続いて、酸化、脱保護を含む3工程で(+)-アプトシモンへ導いた。

A-4 炎症作用関連物質である(5*R*)及び(5*S*)-HETEの酵母還元を利用した合成研究

○木下義浩, 山内 聡 (愛媛大・農)

【目的】ラセミ体の methyl (2-oxocyclopentyl)acetate の酵母還元を行うことによって得られる 99%ee の methyl (1*R*,2*S*)-(2-hydroxycyclopentyl)acetate **1** 及び (1*S*,5*S*)-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-one をそれぞれ出発物質とし, (5*R*) 及び (5*S*)-HETE の重要合成中間体である (*R*) 及び (*S*)-ethyl 5-benzoyloxy-5-formylpentanoate **2** の合成を目的とした。

【方法・結果】**1** の α-ヒドロキシル化, バイヤビリガー酸化などを鍵反応とし (5*R*,6*S*) 及び (5*R*,6*R*)-6-methoxymethoxy-7-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)-5-heptanolide を得た。これの, エタノリシス, ベンゾイル化により, (5*R*,6*S*) 及び (5*R*,6*R*)-ethyl 5-benzoyloxy-6-methoxymethoxy-7-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)heptanoate **3** をそれぞれ 99%ee で得た。6*S* 及び 6*R*-**3** の脱保護, 過ヨウ素酸酸化等を行う事により *R*-**2** を得た。

A-5 炎症作用関連物質である(*R*)及び(*S*)-6,7-dihydro-5-HETEの酵母還元を利用した合成

○山内 聡, 武田健司, 我那覇誠, 木下良郎 (愛媛大・農)

【目的】ラセミ体の methyl 2-oxocyclopentylacetate の酵母還元によって得られる methyl (1*R*,2*S*)-2-hydroxycyclopentylacetate **1** 及び (1*S*,5*S*)-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-one **2** から, (*R*) 及び (*S*)-6,7-dihydro-5-HETE を合成する。

【方法・結果】**1** 及び **2** から立体保持で進行する Baeyer-Villiger 酸化を鍵反応として, (5*R*) 及び (5*S*)-7-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)-5-heptanolide をそれぞれ得た。エタノリシスの後, 光学純度を測定したところ, それぞれ 99% 及び 95%ee であった。さらに, 脱シリル化の後, アルデヒドへの増炭, Wittig 反応等によって, (*R*) 及び (*S*)-6,7-dihydro-5-HETE のラクトン体の合成に成功した。

A-6 ムリカタシンアナログの合成研究

今野博行, ○日浦直樹, 矢鳴千草, 堀 均 (徳島大・工・生物)

【目的・方法】バンレイシ科アセトゲニンハ, バンレイシ科植物より単離されているポリケチド化合物群である。主な生物活性として細胞毒性, 抗腫瘍活性などが知られている。そこで, 本研究ではより強い活性を得るために構造活性相関を行うことを目的としている。具体的には, ヘテロ原子に変化をもたせたアナログの合成法を確立させるためにアセトゲニン類の合成中間体として知られるムリカタシンのアナログの合成を検討した。

【結果】ヘプタデセエステルに対し, 不斉導入に Sharpless 法を用い, 次に窒素を縮合反応により, また硫黄を Lawesson 試薬を用いてそれぞれ導入することに成功した。現在, ラクタム形成及びチオラクトン形成を検討している。

A-7 システインプロテアーゼ阻害活性を有するMiraziridine Aの全合成研究

今野博行, ○戸城恵美, 青山幸代, 小出隆規, 堀 均 (徳島大・工・生物)

【目的】海綿動物*Theonella mirabilis*より単離されたmiraziridine Aは*in vitro*においてcysteine proteaseであるcathepsin Bを阻害し, 4つの異常アミノ酸を含有する直鎖状のペンタペプチドである。本研究では, miraziridine Aを構成する異常アミノ酸の効率的な合成法を確立し, アナログ合成にも柔軟に耐えうるペンタデプシペプチドの合成法を開発する事を目的とする。

【方法と結果】Miraziridine Aを構成する5つのアミノ酸の合成法を検討した。アジリジンジカルボン酸に関しては, 酒石酸エステルより5工程を経て合成した。α-アミノブチル酸はEvans法を, ビニルアルギニン はWittig反応を経て導く事ができた。現在, 種々の還元剤を用いて, (2*S*, 3*S*) 体を選択的, 並びに短工程で得るスタチンの合成法を検討している。

A-8 Positive and negative modulation of *Bombyx mori* adenylate cyclase by derivatives of biogenic amines

○Md. Anwar Arfien Khan, Toshiya Nakane, Hiroto Ohta, Yoshihisa Ozoe (Dept. Life Sci. Biotechnol., Shimane Univ.)

Nineteen 5-phenyloxazoles (5POs) were examined for their ability to modulate adenylate cyclase (AC) by measuring cAMP produced in head membrane homogenates of fifth instar larvae of the silkworm *Bombyx mori*. Among the compounds tested, 5-(4-methoxyphenyl)oxazole (MPO) and the 2,6-dichlorophenyl congener showed the highest activation of AC; both compounds produced approximately half the level of cAMP produced by the action of octopamine (OCT). OCT receptor antagonists attenuated MPO-stimulated cAMP production. In contrast, 5-(4-hydroxyphenyl)oxazole (HPO) and the 4-cyanophenyl congener attenuated both OCT-stimulated and basal cAMP production. A tyramine (TYR) receptor antagonist inhibited the negative effect of HPO. These findings indicate that the 5PO class of compounds includes both positive and negative modulators of AC in the heads of *B. mori* larvae, and that MPO and HPO are OCT and TYR receptor agonists, respectively.

A-9 二置換二環式リン酸エステルの合成とGABAレセプターにおける構造活性相関

○房崎明香, 菱沼広行, 尾添嘉久 (島根大・生資・生命工)

【目的】二環式チオリン酸エステルは, γ-アミノ酪酸 (GABA) レセプターの非競合的アンタゴニストである。本研究では, 3位と4位にフェニル基や長鎖アルキル基を導入した類縁体を合成し, そのレセプター親和性を検討した。

【方法】15種類の類縁体をマロン酸エステルまたはフェニル酢酸から合成し, ラット脳及びイエバエ頭部膜画分への³H]EBOBの特異的結合を阻害する活性を測定した。

【結果】イエバエレセプターで比較的高活性を示したのは4位*i*-ペンチル基を持つ化合物で, 炭素鎖を伸ばすとその活性は低下した。4位にフェニル基を導入したものは活性が低く, 3位にフェニル基を導入したものは活性を示さなかった。3D-QSAR解析の結果などから, イエバエGABAレセプターには, 枝分かれを持つ炭素数4~5の4位アルキル基がフィットし, 3位フェニル基を許容するスペースがないことが推察された。

A-10 ミオスミン誘導体の合成と昆虫ニコチン性アセチルコリン受容体における構造活性相関

池田 泉, ○宇都宮毅, 貞光美貴, Israt Sultana, 尾添嘉久, 持田和男 (島根大・生資・生命工)

【目的】当研究室では先にアナバセインの3位にベンジリデン基を導入すると昆虫ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) における^{[3]H}エピバチジン (EPI) 結合阻害活性が増大することを見出した。今回、アナバセインと構造が類似したミオスミンの3位にアリリデン基を導入し、その置換基効果について検討した。【方法】ミオスミンとアリルアルデヒドとのアルドール型縮合反応によりミオスミン誘導体を合成した。これら試験化合物の生物活性は、ワモンゴキブリ神経索膜画分に対する^{[3]H}EPI特異的結合阻害活性を測定することにより評価した。

【結果】ミオスミン誘導体のうち、芳香環上に電子供与基を有する化合物、特にpHXBmに比較的高い結合阻害活性が見られた。現在、アリリデン基の置換基効果についてより詳細に検討中であり、併せて報告する予定である。

A-11 クヌギ樹液に含まれるオオスズメバチ行動制御成分の分析

中島修平, ○三木秀二, 馬場直道, 市川俊英* (岡山大・農, *香川大・農)

【目的】クヌギ樹液には、鞘翅目・鱗翅目昆虫をはじめ多種多様の昆虫が訪れ、これらは樹液を好んで摂取する。膜翅目昆虫であるスズメバチ類も同様に樹液を好むが、オオスズメバチ *Vespa mandarinia japonica*だけは、止まってもすぐに飛び去ったり、樹液周辺を飛行するだけで止まらず離れてゆく行動が観察された。この現象には本種の行動に影響を与える何らかの化学的要因が関与すると考えられた。従って、本研究ではこのオオスズメバチ行動制御成分を検討した。

【方法と結果】クヌギ樹液を香川県高松市公測公園にて採取し、主としてGCMSを用いて成分を分析した。その結果、主要な成分として、エタノール、酢酸など数種が含まれることが明らかになった。また微量成分も多数認められ、現在低沸点成分を中心に分析をおこなっている。主要成分のオオスズメバチに対する作用についても現在検討中である。

A-12 ピーマンのマメハモグリバエに対する抵抗性に関する研究

○柏木丈弘, 堀端 陽, Daniel, B. M., 手林慎一, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農)

マメハモグリバエ (*Liriomyza trifolii*) は、その適応能力の高さから急速に分布域を拡大しており、ナス科、マメ科の農作物を中心に多大な被害を与える重要害虫である。本研究室では、結実期のピーマン (*Capsicum annuum*) の上位葉が本種に対して非常に強い抵抗性を示すことを見いだした。本研究ではこのピーマンの本種に対する抵抗性をその要因の解明を行った。

結実期のピーマンのMeOH抽出物を本種の寄主植物であるインゲンマメの初生葉に塗布し生物検定を行ったところ、本種の産卵行動を著しく押さえた。このMeOH抽出物を各種分画方法を用いて活性成分を追求した結果、結晶性の活性化合物を得た。各種機器分析に供したところ、この化合物は、フラボノイド配糖体であることが明らかとなった。この化合物は100ppmで産卵抑制活性を示した。

A-13 ジャスモン酸によって誘導されるマメハモグリバエに対するピーマンの抵抗性因子

○三輪えりこ, 堀端 陽, 手林慎一, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農)

【目的】近年ジャスモン酸などエリシターと呼ばれる物質を植物に処理することで抵抗性を発現させる試みがなされている。ピーマン幼苗は難防除害虫であるマメハモグリバエ (*Liriomyza trifolii*) に対して感受性であるが、ジャスモン酸を処理すると抵抗性が発現することを我々は見出した。

【方法・結果】ピーマン初生葉にジャスモン酸を処理しマメハモグリバエに与えると、産卵行動が有意に阻害された。HPLCにより処理葉の二次代謝産物の分析を行ったところ、顕著に増大しているピークが認められた。この化合物を単離し、構造解析を行ったところフェニルプロパノイド誘導体であった。詳細は検討中である。

本研究の一部は、稲盛財団研究助成金の援助により行われた。

A-14 Oviposition deterrent from Bitter melon leaves, *Momordica charantia* to a leaf miner fly, *Liriomyza trifolii*

○ Daniel Bisrat, Kashiwagi Takehiro, Tebayashi Shin-ichi, Chul-Sa Kim and Horiike Mitio (Fac Agr. Kochi Univ.)

Liriomyza trifolii is one of the leaf mining flies native to North America. This insect is well known as a typical polyphagous pest in the world, whose larva feeds on many economically important plants. During field study, we found that this insect fed and laid eggs on cucurbitaceous species but rarely attacked *M. charantia*. Only very few ovipositional marks were observed when kidney bean leaf was soaked in the methanol extract of *M. charantia* leaves and allowed the insect to oviposit on it. So in this study, we try to isolate and characterize the ovipositional deterrents of *L. trifolii* from *M. charantia*. The active methanol extract was then dissolved in water and partitioned with hexane, diethyl ether and butanol successively. Repeated column chromatography of the active butanol partition on silica gel eluting with ethyl acetate and methanol gradients and followed by HPLC led to isolation of four active triterpenoids.

A-15 セイタカアワダチソウに含まれるミナミキイロアザミウマの摂食阻害物質

○高橋 司, 矢野英子, 金 哲史, 手林慎一, 堀池道郎 (高知大・農)

【目的】ミナミキイロアザミウマ (*Thrips palmi*) は、キクをはじめ多種多様な農作物を加害するが、キク科のセイタカアワダチソウ (*Solidagoaltissima*) を加害しないことから、この抵抗性要因の解明を試みた。

【方法・結果】セイタカアワダチソウ生葉を用いて飼育試験を行うと強い生存抑制活性が認められた。また、本生葉のMeOH抽出物に摂食阻害活性が認められたことから、本種の抵抗性の要因は摂食阻害物質の存在に基づくものと結論づけた。活性成分を追求した結果、活性発現には複数の物質が関与しており、これらは各種機器分析の結果からフラボノイド配糖体とサポニン様物質であると考えられた。詳細構造については検討中である。

A-16 ケブカサシガメの摂食行動刺激物質

○河原卓也, 手林慎一, 西 明紀*, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農, *東京農工大)

性天敵であり, 貯穀害虫の総合防除への利用が期待される。本種の餌認識機構を解明するために, ヒラタコクヌストモドキ (*Tribolium confusum*) 終齢幼虫の抽出物を珪糸断片に塗布し本種に提示したところ Probing 行動を引き起こした。そこで抽出物をシリカゲルカラムで精製したところ, ヘキサンおよび 3% エーテル/ヘキサン (E/H) 画分に活性がみられ, 3% E/H 画分から活性化合物としてパルミチン酸メチル, ステアリン酸メチル, オレイン酸メチル, リノール酸メチルを同定した。さらに炭素数の異なる脂肪酸メチルエステルの標準物質を用いた生物試験の結果, 炭素数 8 から 18 までの脂肪酸メチルエステル類に活性が認められた。

本研究の一部は (財) 飯島記念食品科学振興財団の援助により行われた。

A-17 イネに含まれるタイワンツマグロヨコバイの Probing 行動刺激物質

○鈴田昭子, 金 哲史, 手林慎一, 堀池道郎 (高知大・農)

タイワンツマグロヨコバイ (*Nephotettix virescens* Distant) はイネを寄主とし, 吸汁により直接加害するだけでなく, ウイルス病を媒介するイネの重要害虫である。ヨコバイ類の摂食行動は, 口針挿入・吸汁部位探索 (Probing) と吸汁 (Sucking) の 2 つの過程からなり, 2 つの過程は異なった化学物質により制御されている。現在までにイネに含まれる 8 つの化合物がタイワンツマグロヨコバイの Probing 行動に関与していることを明らかにしており, これらのうち 2 つのフラボノイド配糖体の構造を既に同定した。本研究では更に 2 つのフラボノイドの構造決定を行ったのでこれを報告する。現在, 残る 4 化合物についても構造解析を行っている。

A-18 インド型栽培ビエに含まれるウンカの摂食阻害物質

○松本 幸, 林 彰人, 手林慎一, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農)

トビイロウンカ (*Nilaparvata lugens*) とセジロウンカ (*Sogatella furcifera*) の 2 種のウンカはいずれの種ともイネを寄主とするが, イネ科のインド型栽培ビエは寄主とし得ない。この現象は本種ヒエの水溶性画分に含まれる, 摂食阻害物質によることが明らかとなっている。

トビイロウンカ摂食阻害物質として, 3 種の有機酸と 2 種のシキミ酸由来の芳香族エステル化合物, 3 種のフラボノイド配糖体の計 8 種の酸性物質が単離されている。しかしながらこのうち 2 種類のフラボノイド配糖体の構造が今だ未同定であるため, 今回これらの精製と構造決定を行った。さらにこの酸性物質と合致することでセジロウンカに対して強い生存抑制を示す塩基性画分・両性画分に含まれる活性物質についても, 現在追求中である。

A-19 ツマグロヨコバイ抵抗性水稻Lepe-dumaiに含まれるツマグロヨコバイ摂食阻害物質

○黒田育宏, 執行亨, 金 哲史, 手林慎一, 堀池道郎 (高知大・農)

【目的】イネの重要害虫であるツマグロヨコバイは数種のインディカタイプのイネを寄主とし得ない。この要因として摂食阻害物質の存在がすでに明らかにされているが、その構造は未解明のままである。本研究では、強い抵抗性が認められるLepe-dumaiに含まれるツマグロヨコバイ摂食阻害物質の単離、構造解析を試みた。

【方法・結果】Lepe-dumai茎葉部の90%メタノール/水抽出物をヘキサンで脱脂して調製した水溶性画分を(イネ茎葉1g当量/ml, 含2%シュクロース), 本種2齢幼虫に与えると、植物体と同等の強い生存抑制活性が認められた。この活性成分は塩基性画分にのみ局在し、各種のクロマトで精製したところ、複数成分の混合により発現することがわかった。活性成分として数種のアミノ酸、ニコチンアミド系の化合物、ペプチドの存在が不可欠と考えられた。現在、その他の活性成分について構造解析を試みている。

A-20 大豆レシチン熱変性物質の生成因子

○笠原淳仁・坂本成史朗・濱口展年*・園 良治*・手林慎一・金 哲史・高 行植*・堀池道郎 (高知大・農, *辻製油(株))

ペースト大豆レシチンを加熱すると、著しい褐変に伴い350nmに極大吸収を生じることを見出し、このUV吸収増加起因物質である2,3-dihydro-1*H*-imidazo[1,2-*a*]pyridin-4-ylumを基本骨格とする4つの化合物A～Dの構造を明らかにした。これら化合物の生成メカニズムを追究するために脱糖レシチンのみを加熱したところ褐変およびUV吸収変化を示さなかった。一方、ジステアロイルフォスファチジルエタノールアミン(DSPE)を糖と共に加熱すると褐変に伴い脂肪酸組成の異なるものの350nmに極大吸収を示すA～Dの類似化合物が生じた。これらのことからA～DがいずれもPEと糖類との反応生成物であると結論づけた。現在、¹³Cで標識した糖とPEとの加熱などにより詳細な本反応機構の解明を試みている。

A-21 ウドに含まれ抗菌成分

○田中克佳, 園村嘉伸, 手林慎一, 金 哲史, 堀池道郎 (高知大・農)

【目的】ウド(*Aralia cordata*)のエタノール抽出物は(*Staphylococcus aureus*)に対して強い抗菌活性を示し、保存料として利用されている。この抽出物中の抗菌活性物質として(-)-pimara-8(11),15-dien-19-oic acidと(-)-15,16-dihydroxypimara-8(14)-en-19-oic acidの2つのジテルペンが主活性物質であることをすでに報告した。今回、さらに2つの活性成分を単離したので報告する。

【方法・結果】活性の見られた酸性画分をシリカゲルカラム及びHPLCで精製し、化合物A, Bを単離した。AはNMR, MSなど機器分析の結果から、(-)-16-hydroxy-17-(3-methylbutyryloxy)kauran-19-oic acidと決定した。BはNMRの測定結果からphenylpropanoid誘導体と考えられ、現在詳細を検討している。

A-22 セイヨウミツバチ由来新規抗菌ペプチドの精製と構造解析

○犬伏順也, 前田拓也, 高麗寛紀 (徳島大・工・生物工)

【目的】セイヨウミツバチ *Apis mellifera* の雄蛹は古くから生薬として知られている。我々は雄蛹(孵化20日後)抽出物中に抗菌活性を見出したことから、活性物質を精製し、その構造を明らかにすべく研究を行った。

【方法と結果】雄蛹のアセトン抽出物を濃縮乾固後、40%アセトニトリルを添加、遠心後、上清を逆相HPLCに供し、活性物質の単離、精製を行った。粗抽出試料は、MRSA, *Escherichia coli* などの他、特に *Staphylococcus aureus* に対して強い抗菌活性(MIC=73 μ g/ml)を示した。精製の結果、220nmに吸収極大を持つ2つのペプチドを単離することができた。アミノ酸組成分析を行ったところ、一方は Pro, Ala, Glx(Gln, Glu), 他方は Ile, Leu, Tyr を比較的多く含んでいた。現在、詳細な構造について検討している。

A-23 Chlamydocin 類縁体のイネ矮化活性—第3報—

○谷 央子, 藤井雄三*, 本間 環, 中島廣光 (鳥取大・農, *米子高専)

【目的】前回までの報告で chlamydocin 類縁化合物が示す矮化活性には、側鎖の酸素原子が関わるものと、側鎖の炭素鎖の長さが関わるものの2通りが存在することを明らかにした。これらの矮化作用と内生植物ホルモンとの関係について報告する。

【方法と結果】矮化活性に側鎖の酸素原子が関わるものとして天然物 **1** を、側鎖の炭素鎖の長さが関わるものとして **1** からの誘導体 **8** を用いた。これらの化合物をイネ幼鞘に与え、地上部に含まれる ABA と GA¹ 量を調べた。ABA 含量については抽出の際 *d*⁶ ABA を加え、LCMS による同定、定量を行った。この結果、ABA 含量は **1** を処理したイネで対照の4倍に増加していた。GA¹ 含量については GCMS により同定し、ELISA で定量を行った。この結果、GA¹ 含量は **1** と **8** を処理したイネで、それぞれ対照の20%と5%に減少していた。

A-24 ゴマの根に含まれるキノン系化合物 (2)

○野曾原友一郎, 古本敏夫, 福井宏至 (香川大・農・生資・食化)

【目的】ゴマ (*Sesamum indicum* L.) はゴマ科ゴマ属に属する1年生の草本である。近年、本研究室においてゴマ植物の根から植物成分としては珍しい塩素原子を含むナフトキノン系化合物 chlorosesamone とアントラキノン系化合物 2-chloro-1,4-dihydroxy-3-(4-methyl-3-pentenyl)anthraquinone (SIM5) が単離、構造決定された。これら塩素含有化合物の生合成経路を解明する研究の一環として SIM5 の推定前駆体の合成、およびゴマ植物体からの毛状根の誘導について報告する。

【方法と結果】1,4-Naphthoquinone と myrcene を用いて、二段階の反応により推定前駆体である 2-(4-methyl-3-pentenyl)anthraquinone を合成し、各種機器分析によって構造を確認した。また、ゴマ毛状根の液体培地における生育、およびキノン系化合物の生産性については現在検討中である。

A-25 西表島海浜植物の生物資源化研究—ミズガンピからのガロイルフラボノイドの単離と抗酸化関連活性—

○増田俊哉*, **, 入谷久美子*, 小山保夫*, 米盛重友**, 武田美雄* (*徳島大・総科, *
*琉球大熱生圏セ)

【目的】西表島の多様な植物を新しい生物資源として利用することを目指して、その含有有用成分を明らかにする。

【方法および結果】過剰光ストレス下にあると考えられる海浜性植物が有するであろう抗酸化性物質を明らかにするために、西表島の自然海浜で集めた植物の抗酸化スクリーニングにおいて、強力な活性が認められたミズガンピ（みそはぎ科）の葉部含有抗酸化成分の単離と構造決定を行った。ガイドアッセイ法として簡便なDPPH法を用い、最も活性が強かったメタノール抽出酢酸エチル可溶画分を、シリカゲルとH-20カラム、ODS-HPLCなどにより精製して、11個のフラボノール配糖体等を単離し、その構造を決定した。そのうち、特に活性が強く認められたものは、糖部分がガロイル化された配糖体であった。ガロイル化された配糖体について、脂質の酸化抑制活性や生細胞の酸化的細胞死抑制活性を測定した。その結果も含めて報告する。

B-1 *Zymomonas mobilis*内での*Ruminococcus albus*由来 β -glucosidaseの細胞内局在性

○野崎浩司, 渡辺博哉, 岡本賢治, 築瀬英司 (鳥取大・工・生応工)

【目的】未利用セルロース系バイオマスからの燃料用エタノール生産を目標としている。本研究では、酵母よりも優れたエタノール生産速度を示す*Zymomonas mobilis*にセロビオース発酵性を付与するために、*Z. mobilis*内での*Ruminococcus albus*由来 β -glucosidaseの分泌発現を検討した。

【方法と結果】*R. albus*由来 β -glucosidase遺伝子を*Z. mobilis*内に導入した結果、発現した β -glucosidaseの90%が細胞質内に局在していた。そこで、*Z. mobilis*ペリプラズム酵素、glucose-fructose oxidoreductase (GFOR)およびgluconolactonaseの分泌シグナルと β -glucosidaseとのキメラ酵素を構築し細胞内局在性を検討した。その結果、GFORのシグナルを付与したキメラ酵素では約30%の膜透過が認められた。現在、膜透過の際の分泌シグナル切断を検討している。

B-2 NaClに応答する鉄酸化細菌の外膜タンパク質Omp40の解析

○上村一雄, 山門光孝, 杉尾 剛 (岡山大院・自然)

【目的】本研究は、好酸性の化学合成独立栄養細菌である、鉄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans*のNaClに対する応答機構を分子レベルで解析することを目的としている。

【方法及び結果】種々の濃度のNaCl存在下で培養した鉄酸化細菌の外膜タンパク質をSDS-PAGEで分析した結果、30 kDa(Omp30)と40kDa(Omp40)のタンパク質の増加が観察された。N-末端アミノ酸配列の解析によって、Omp40は既に遺伝子解析されていたリン酸飢餓によって減少するタンパク質の配列と一致した。Omp40遺伝子の一部をプローブに用いて、種々の条件下でのOmp40-mRNAの発現をノーザン解析した結果、NaCl濃度の増加、リン酸飢餓およびpH2.5よりアルカリ側で活性化されることが明らかとなった。

B-3 硝酸態窒素の微生物による除去

○大塚淳弘, 川原宗司, 用貝さと子, 村田芳行, 神崎 浩, 下石靖昭 (岡山大・農)

【目的】下水道処理水が大量に閉鎖性水域に流入すると、その水域は富栄養化する。その原因の1つに硝酸態窒素が挙げられ、微生物による硝酸イオン除去が富栄養化の解消に役立つと期待される。本研究では硝酸イオンを除去する微生物の探索を行った。

【方法・結果】2% グルコース, 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ を含み、唯一の窒素源として硝酸塩を1 μM ~1 mMになるように添加し、pHを4.5と7.0に培地を調製し、微生物を植菌した。28°Cで48時間振盪培養後、培地中に残存する硝酸イオン濃度をFIA法により測定した。98菌株をスクリーニングして硝酸イオン除去能を持つ8菌株を得た。さらに、その8菌株について硝酸塩濃度を10, 20, 50, 80 μM の条件に変えて二次スクリーニングを行った。その結果、8菌株の内2菌株は各濃度において硝酸イオンを90%以上除去した。

B-4 *Agrobacterium*属細菌の凝集促進活性を有する微生物細胞外多糖の性状解析

神崎 浩○新納 愛, 仁戸田照彦(岡山大・農)

我々は, *Agrobacterium tumefaciens*に対し凝集活性を有する微生物細胞外酸性多糖(PS-1)を見出し, その接種方法の違いにより, 植物形質転換に対して促進的にも阻害的にも作用することを明らかにしてきた。この様な興味深い性質を持ったPS-1について, 更にその性状解析を行った。*A. tumefaciens*以外の菌株に対する凝集活性を調べたところ, PS-1に対して活性を示す株, 活性を示さない株, PS-1の有無に関係なく凝集する株の3種類に大別されることが判った。PS-1の*A. tumefaciens*に対する凝集活性は Ca^{2+} により阻害された。PS-1の凝集促進活性能を更に検討するため, バイオフィロキュラントの活性判定に用いられるカオリン粘土凝集試験を行ったところ, Ca^{2+} 存在下において, 低濃度では濃度依存的に凝集促進活性を示したが, 高濃度では逆に分散促進活性を示した。

B-5 飢餓状態にある食中毒細菌に及ぼす殺菌処理の影響

○前田拓也, 高麗寛紀(徳島大・工・生物工)

【目的】食中毒細菌は, 食品だけでなく広く環境中に存在しており, 人体への感染に至る前に必ずしも栄養豊富ではない様々な感染経路にあると考えられる。本研究は, このように飢餓状態に長期間保持されている食中毒細菌に及ぼす殺菌処理の影響を明らかにすることを目的とした。

【方法と結果】*Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*等の食中毒細菌を被検菌とした。前培養後, 滅菌蒸留水で洗浄, 懸濁, 4℃に数週間保ち飢餓状態とした後, 実験に用いた。プレートカウント法および直接生菌数測定法(DVC法)により生菌数の変動を調べたところ, 2週間の間に検出されなくなった *Staphylococcus aureus*を除き, ほとんど菌数に変化はみられなかった。現在, 酸や熱等による殺菌処理の影響を検討している。

B-6 Valencene, Nootkatone, Dihydronootkatone, Dehydronootkatoneの微生物変換

野間 義明, ○古澤 舞, 橋本 敏弘*, 浅川 義範*(徳島文理大・家政, *徳島文理大・薬)

【目的】セスキテルペノイドである Valencene(1), Nootkatone(2), Dihydronootkatone(3)および Dehydronootkatone(4)の各種微生物による変換反応について報告する。

【方法】かび類はCzapek-pepton培地, *Euglena*および*Chlorella*はそれぞれHutner培地, NaClを除いたNoro培地を用い生育させた後, 基質(1-4, 10-100mg)を添加し, 約7日間変換反応を行った。変換物は常法に従って精製し, 各種機器分析により同定した。

【結果】*C. pyrenoidosa*は1を特異的に2に変換した。*Botryosphaeria dothidea*は1および2を7-OH体および11,12-diol体に変換した。*A. cellulosa*や*F. culmorum*は3のカルボニル基を還元し2a-OH体(5)に, *E. gracilis* Zは2b-OH体(6)に, *B. d.*は非特異的に両者を等量づつ生成した。*A. phoenicis*は2-4を位置特異的に水酸化し, それぞれの11,12-diol体を生成した。化合物2-6にレタス種子に対する発芽および生育阻害活性が見られた。

B-7 微生物によるラセミ体Bicyclo [3.3.1] nonane-2,6-dioneの光学分割

野間 義明, ○高橋 裕司, 橋本 敏弘*, 浅川 義範* (徳島文理大・家政, *徳島文理大・薬)

【目的】興味あるアダマンタン類の合成中間体であるBicyclo[3.3.1]nonane-2,6-dione(**1**)の光学活性体を得るため、微生物による光学分割を試み、良好な結果を得たので報告する。

【方法】*Aspergillus phoenicis*をCzapek-pepton培地で30℃, 100rpmで2日間培養後、**1** (0.1-1g/200ml培地)を添加し、7日間変換反応を行った。ろ液のエーテル抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび再結晶化により生成物を単離し、GC-MS, 旋光度, NMR, x-線解析などの各種機器分析や合成した標品との比較により同定を行なった。

【結果】各種微生物は**1**を容易に還元し、2-hydroxybicyclo [3.3.1] nonan-6-one(**2**)とbicyclo[3.3.1]nonane-2,6-diol(**3**)を生成した。*A.p.*は**2**をエナンチオ選択的に還元し、*endo*, *endo*- (-)-**3** ([α]_D²⁰-64.5°)を生成した。このdiolは酸化により光学純度の高い(-)-**1** ([α]_D²⁰-209.3°)を与えた。

B-8 枯草菌*sigY*オペロンの転写と機能の解析

○東條 繁郎, 吉田 健一, 藤田 泰太郎 (福山大・生物工学)

【目的】枯草菌ゲノムの全配列が決定し、17個のσ因子を持つことが明らかになった。そのうち、機能未知のσ因子の殆どがECF(Extracytoplasmic function)ファミリーに属する。このECFファミリーに分類される*sigY*は我々のグループがゲノムシークエンスした領域に存在し、*sigY*遺伝子の発現制御系及び機能の解明を行ってきた。これまでの研究で*sigY*遺伝子は窒素源飢餓条件で強く発現誘導することを明らかにした。そこで、DNAマイクロアレイ解析により窒素源飢餓と*sigY*発現との関連性を追求した。

【方法・結果】枯草菌の野生株を用いて窒素源飢餓状態でのDNAマイクロアレイ解析により*sigY*オペロン(*sigY-yxlC-yxlD-yxlE-yxlF-yxlG*)の強い発現が確認できた。また、*sigY*遺伝子破壊株では、窒素源飢餓条件において野生株と比較して胞子を作りにくくなることを確認した。以上のことより、窒素源飢餓と胞子形成との関係を考える。

B-9 枯草菌窒素代謝制御TnrAレギュロンの構成遺伝子の検索

○木根原匡希, 吉田健一, 山口弘毅, 中浦嘉子, 藤田泰太郎 (福山大・生物工学)

枯草菌の窒素代謝系調節因子TnrAは窒素源制限条件下で種々の遺伝子の転写を促進する一方、不要な遺伝子を抑制する。しかしTnrAによって制御される遺伝子群(TnrAレギュロン)の構成は明確ではない。そこで、TnrAが機能する条件で*tnrA*変異株とその親株のトランスクリプトームをマイクロアレイ解析で比較し、顕著な発現変動を示す遺伝子を抽出してレギュロン構成遺伝子(転写単位)の候補を得た。しかし、これらには恐らく副次的影響によって変動を示したものが含まれる。そこでGRASP-DNAプログラムを用いTnrAが結合する可能性がある17bp配列(TnrA-site)をゲノムワイドに調査し、発現変動を示した遺伝子の転写単位の近傍にTnrA-siteが存在するものを更に選抜した。選抜候補のTnrA-site領域をプローブとしてTnrA結合をゲルシフト法により検出した結果、TnrAレギュロンに含まれることが報告、或いは推定されていた5つの転写単位を確認し、新規の12転写単位を見出すことに成功した。

B-10 *Bacillus subtilis*におけるフィブリン分解活性とキシラン分解物の関連性

○西原理恵, 丸山雅史, 木場洋次郎 (愛媛大・農・応生化)

【目的】リン酸加水分解して調製したキシラン分解物を含む培養液で*Bacillus subtilis*培養することにより、培養液中のフィブリン分解活性が高くなることが明らかとなった。今回は、この効果を及ぼすキシラン分解物中の有効因子とフィブリン分解活性の関連性を検討した。

【方法及び結果】キシラン分解物によるこの効果は、様々な*Bacillus subtilis*の培養において一様に認められた。そこで、キシラン分解物の有効因子について糖分析カラムで分析した結果、X1～X5までのピークが得られた。回収した各ピークを用いて培養試験を行なったところ個々のピークでは効果はわずかであったが、すべてのピークをまとめると、もとの試料と同程度の活性が認められた。したがって、活性の増加はそれぞれの単糖、オリゴ糖の相乗的な影響と考えられる。

B-11 *Bacillus thuringiensis*が産生する特異的殺虫タンパク質の膜結合特性の解析

○安田幸生, 津田梢子, 山際雅詩, 酒井 裕 (岡山大・工・生物)

【目的】Btトキシンの殺虫特異性を決定する主要な機構の一つは中腸上皮細胞膜上に存在する受容体との結合過程であるとされてきたが、我々はカイコに対して殺虫活性を持たないCry4Aがカイコ中腸上皮細胞膜に結合することを明らかにし、Btトキシンの殺虫特異性は膜への結合のみでは必ずしも決定されないことを示唆した。本研究では殺虫効力の決定に至る過程を明らかにすることを目的とした。

【方法】ジゴキシゲニン標識したCry1Aa及びCry4Aのカイコの中腸上皮細胞刷子縁膜小胞 (BBMV) に対する結合特性を検討した。

【結果】Cry1Aa, Cry4AのカイコBBMVへの結合は互いに競合せず、両者は結合部位を共有しないことが示唆された。また、カイコに対して殺虫活性を持たないCry4Aは、殺虫活性を持つCry1Aaと同様に中腸上皮細胞膜に挿入されることが示唆された。

B-12 双翅目昆虫特異的殺虫タンパク質Cry4Aにおけるチャネル形成ドメインの機能解析

○三輪大輔, 山際雅詩, 酒井 裕 (岡山大・工・生物)

【目的】*Bacillus thuringiensis*が産生する特異的殺虫タンパク質は3つのドメインからなる構造をしている。そのうちドメインIは7つの α ヘリックスからなり、チャネル形成に関与すると考えられている。本研究では双翅目昆虫特異的殺虫タンパク質Cry4AにおけるドメインIの機能の解析を目的とした。

【方法】Cry4Aタンパク質のドメインIにおける変異体を構築し、それぞれGST (グルタチオン-S-トランスフェラーゼ) との融合タンパク質として大腸菌内で発現させ、精製した。つづいて精製タンパク質のアカイエカ幼虫にたいする殺虫活性を検討した。

【結果】Cry1ファミリーでチャネル形成に重要であるとされる α 4ヘリックスを欠失させたCry4Aタンパク質は野生型Cry4Aとほぼ同等の殺虫活性を保持していた。よって、Cry4Aのアカイエカ幼虫に対する殺虫活性の決定には α 4ヘリックスは不可欠の要素ではないことが示唆された。

B-13 双翅目昆虫特異的殺虫タンパク質Cry11Aのプロセシング産物とその動態

○坂川浩平, 山際雅詩, 酒井 裕 (岡山大・工・生物)

【目的】双翅目昆虫特異的殺虫活性を持つ72kDaのCry11Aは活性化プロセスにおいて、36kDaと32kDaの2つの断片を生じる。そこで本研究ではこの2つの断片の殺虫活性発現における機能の解析を目的とした。

【方法】両断片のGST（グルタチオン-S-トランスフェラーゼ）融合タンパク質及び32kDa断片については6×Hisタンパク質を構築し、大腸菌内にて発現させ精製を行った。精製融合タンパク質を用いて、アカイエカ幼虫に対する殺虫活性を調べ、両断片の相互作用についても検討した。

【結果】36kDaと32kDaの両断片は各々単独ではアカイエカ幼虫に対し、殺虫活性を全く示さなかった。また、36kDaのGST融合タンパク質は32kDa-Hisタンパク質と共沈したことから、両断片は会合して70kDaの複合体を形成することで殺虫活性を発現することが示唆された。

B-14 *Bacillus thuringiensis*が産生する特異的細胞損傷タンパク質による白血病ガン細胞のアポトーシス誘導

○天野浩未, 山際雅詩, 赤尾哲之*, 水城英一*, 大庭道夫**, 酒井 裕 (岡山大・工・生物, *福岡県工技セ, **九州大・農)

【目的】*Bacillus thuringiensis*亜種*coreanensis* A1519株の産生するクリスタル蛋白質は、ヒト白血病ガン細胞に対して細胞損傷能を持つ。本研究では、この新規な蛋白質の細胞損傷能の詳細な解析を目的とした。

【方法】プロテイナーゼKにより活性化を行ったA1519株クリスタル蛋白質をゲル濾過クロマトグラフィーに供し、29 kDaの活性型分子を精製した。続いて、29 kDa断片のヒト白血病ガン細胞Jurkatに対する細胞損傷活性をMTTアッセイにより解析し、さらに、活性型分子を投与後のJurkat細胞における染色体DNAの断片化とカスパーゼ3の活性化について検討した。

【結果】29 kDaの活性型分子はヒト白血病ガン細胞Jurkatに対して非常に強い細胞損傷活性を示し、投与後9時間でカスパーゼ3の活性化が最大となり、染色体DNAの断片化も同時に観察されたことからJurkat細胞に対してアポトーシスを誘導することが示唆された。

B-15 新規*Bacillus thuringiensis*菌株の白血病ガン細胞に対する細胞損傷能の解析と活性型分子の探索

○小谷洋介, 山際雅詩, 武部 聡*, 駒野 徹*, 酒井 裕 (岡山大・工・生物, *近畿大・生物理工)

【目的】新規*Bacillus thuringiensis*菌株であるTK-E6株が産生するクリスタル蛋白質の、ヒト白血病細胞MOLT-4に対する細胞損傷能の解析と、細胞損傷能を持つ活性型分子の探索を行った。

【方法】TK-E6株が産生するクリスタル蛋白質をショ糖密度勾配遠心法により精製し、ヒト白血病ガン細胞MOLT-4に対する細胞損傷能をMTTアッセイにより調べたところ、プロテイナーゼKにより活性化を行った場合に強い細胞損傷能がみられた。つづいて、プロテイナーゼK活性化クリスタル蛋白質より活性型分子種の分離同定を試みた。

【結果】TK-E6株が産生するクリスタル蛋白質の活性型分子種は約29 kDaの断片であることが強く示唆された。そのN末端アミノ酸配列は既知のクリスタル蛋白質と相同性がみとめられず新規な蛋白質であると思われる。

B-16 大腸菌グルコン酸代謝に関わる GntI系遺伝子群のGntII系アクティベーターによる発現抑制

○恒富亮一, 伊豆英恵, 山田 守 (山口大・農・生物機能)

大腸菌においてグルコン酸の取り込み及び異化には, GntI系とGntII系, 二つの*gnt*遺伝子群が関わっている。GntIに属するGntRはGntI遺伝子のリプレッサー, GntIIに属するGntHはGntII遺伝子のアクティベーターであると以前に示唆されている。この二つのレギュレーターは, DNA結合部位であるhelix-turn-helixにおいて高い相同性を有していることから, GntI, GntII間でのcross-regulationの存在が考えられ, GntI遺伝子発現のGntHによる制御を解析した。

*lacZ*オペロン融合体やRNAを用いた解析によって, GntRと同様にGntHによるGntI遺伝子発現の抑制が観察された。しかし, グルコン酸存在下での制御は, GntRとは異なっており, GntHによる抑制は, グルコン酸存在下での細胞生育期に沿ったGntIからGntIIへの発現の切り替えを行っていると思われる。

B-17 Inverse PCR法によるカイコキチナーゼのプロモーター領域の遺伝子解析

○米田茂之, 岩瀬 穰, Babiker M. A. Abdel-Banat, 古賀大三 (山口大・農)

私たちはこれまで昆虫脱皮機構を明らかにするためカイコキチナーゼの遺伝子配列の解析を行ってきた。本研究では, さらにカイコキチナーゼの誘導機構を調べるためInverse PCRを用いてキチナーゼのプロモーター領域の解析を行った。まず制限酵素で遺伝子进行处理し約2.3 kbpの未知の5'上流領域を含むDNA断片を得た。次に, このDNA断片をDNAリガーゼでつなげて環状にしてInverse PCRを行った。Inverse PCRプロダクトを大腸菌に入れてサブクローニングを行い, 挿入遺伝子のDNAシーケンスを行った。その結果, 未知の5'上流領域の約1.6 kbpの遺伝子配列を得ることができた。この遺伝子配列からTATAボックス等の位置が推測された。

B-18 ヤマイモキチナーゼE遺伝子の微生物細胞における高発現

○香川隆, 野黒美俊介, 秦淳也**, 田中克典, 中川強*, 川向誠, 古賀大三***, 松田英幸 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子, ***山口大・農, **山陰建設)

【目的】近年, 世界各国では化学農薬の代替農薬の開発が急速に進められているが画期的な防除技術を開発するには至っていない。ヤマイモの塊茎中には数種類のキチナーゼが存在しており, 3つのキチナーゼ(E,F,H1)は植物病原菌に対する強い溶菌活性を示した。そこで, ヤマイモキチナーゼE(Yam ChiE)を化学農薬に替わる「バイオ農薬」として用いることを目指した。本研究では微生物においてYam ChiEを大量生産することを目的とした。

【方法・結果】ヤマイモキチナーゼE遺伝子(Yam *chiE*)を大腸菌に導入しYamChiEの生産を試みたが, 大半は封入体になっておりYam ChiEを活性型で得ることはできなかった。そこでYam *chiE*を酵母*Pichia pastoris*に導入しYamChiEの生産を試みたところ50mg/lのYam ChiEを活性型で得ることに成功し, 更に発酵条件を検討中である。

B-19 遺伝子組換え清酒酵母の香気成分生成能

○宮川敬史*, 河本織江*, 加藤麗奈**, 上東治彦**, 永田信治*, ***, 加藤伸一郎***, 味園春雄*, *** (*高知大・生物資源, **高知県・工技セ, ***高知大・遺伝子)

【目的】清酒醸造ではカブロン酸エチルや酢酸イソamil等の香気成分量の調整と、アセトアルデヒドやジアセチルによる木香様臭やつわり香等の不快臭の原因となるピルビン酸量の調整が重要である。これらを生産する清酒酵母の特性を明らかにするために、特定の遺伝子を清酒酵母に導入して香気成分生成能の変化を解析した。

【方法と結果】組込型pAUR101と自律複製型pAUR123をベクターに用いて、酵母のアルコールアシルトランスフェラーゼ遺伝子、これに相同性がある2種の未同定遺伝子、酵母に存在しないアラニン脱水素酵素遺伝子を各種清酒酵母に導入した。組換え清酒酵母による小仕込試験の結果、アルコールアシルトランスフェラーゼに相同性のある未同定遺伝子の導入がカブロン酸エチル生成能を顕著に増大させ、アラニン脱水素酵素遺伝子の導入がアルコール発酵能に影響を与えることなくピルビン酸量を顕著に低減させた。

B-20 アウレオバシジウムによるβグルカン生成

○池上裕倫*, **, 山崎香織**, 永田信治*, ***, 加藤伸一郎***, 味園春雄*, *** (*高知大・生物資源, **ソフィ, ***高知大・遺伝子)

【目的】近年、ガン・高血圧・糖尿病等の生活習慣病の予防にβ-1,3-1,6-グルカンを含む機能性食品の摂取が有効とされ注目を浴びている。機能性食品の多くは担子菌類の構造多糖を利用して製造されているが、抽出効率が悪くて不快香も強い。一方、菌体外にプルランを生産し工業的にも広く利用されている *Aureobasidium pullulans* は、ある種の条件下で顕著にβ-1,3-1,6-グルカンを分泌する。本研究では、菌体外β-1,3-1,6-グルカンの生成能の強い *Aureobasidium* の培養方法とβグルカンの利用方法について検討した。

【方法と結果】*Aureobasidium* を種々の条件下で培養し、βグルカンの分泌生成能への影響を観察した。また、菌の形態変化を引き起こす因子と液体培養した場合のコロニー形成の条件について考察した。さらに、*Aureobasidium* 由来のβ-1,3-1,6-グルカンの物性と機能性を利用した食品・飲料への応用例を提示する。

B-21 グリコシル化シグナル配列導入リゾチームの酵母 *Pichia pastoris* での発現と分泌

○斎藤章, 左古幸一, 加藤昭夫 (山口大・応用生化)

【目的】本研究では酵母 *S.cerevisiae* でN-型グリコシル化シグナル配列を導入したリゾチームを発現させると、主としてマンノース約300個からなるリゾチームを分泌する事を報告している。今回は、酵母 *P.pastoris* におけるグリコシル化リゾチームの発現分泌を試み、その糖鎖付加の様式を検討した。

【方法及び結果】グリコシル化リゾチームは部位指定変異によりN-型グリコシル化配列Asn-X-Ser/Thrを19位(R21T), 49位(G49N), さらに19位と49位(R21T/G49N)両部位に導入することにより作製された。これらのcDNAを *Pichia* 発現ベクターpPICZαAに挿入し、*Pichia*X-33株へエレクトロポレーションにより形質導入した。*P.pastoris* でのグリコシル化リゾチームはおよそ30mg/l分泌され、SDS-PAGEとEndo-H処理からオリゴマンノシル化したものが確認された。TOF-MS分析からシングルの糖鎖はGlcNac₂Man₉₋₁₁であり、19位49位の両部位へ付加したものはGlcNac₂Man₂₇₋₃₂であった。CD解析よりいずれのタイプも2次構造を維持しており、熱変性よりグリコシル化したものはΔGが減少していた。

B-22 出芽酵母におけるEBP2(EB Virus Nuclear Antigen 1-Binding Protein 2)の機能解析

○白井千春, 業合正信, 三本木至宏, 水田啓子 (広島大院・生物圏)

EBウィルス由来のEBNA1と相互作用するヒトEbp2はウィルスDNAの分配に関与することが示唆されている。一方, 我々は出芽酵母Ebp2がリボソーム生合成に重要な機能をもつことを明らかにしてきた。酵母Ebp2とヒトEbp2が高い相同性を有し, おもに核小体に局在することから, 酵母Ebp2とヒトEbp2は機能的ホモログで, リボソーム生合成とDNA分配に関する2つの機能をもつ可能性があるかと推定した。そこでその手掛かりを得るために, 酵母Ebp2と相互作用する蛋白質をコードする遺伝子をTwo-hybrid法によりスクリーニングした。酵母ゲノムライブラリーから, SUMO-1 (small ubiquitin-related modifier) システムの核局在性E3と考えられるNfi1, およびダイナクチンの構成蛋白質であるJnm1をそれぞれコードする遺伝子が取得された。現在これらの蛋白質とEbp2の機能的関連について解析を行っている。

B-23 出芽酵母におけるCEN5-HIS3間の部位特異的組換えの効率上昇変異株の解析

○松崎浩明, 福井作蔵, 秦野琢之 (福山大・生命工・生物工)

*Saccharomyces cerevisiae*において染色体の核内配置が決定される要因を知るためにCEN5-HIS3間の部位特異的組換えの効率が上昇した変異株 HCH6について解析した。まず, CEN5座とHIS3座の距離およびCEN5座とSPBの距離を調べた結果, 変異株は野生株に比べCEN5座とHIS3座の距離が短く, CEN5座とSPBの距離は細胞間でかなりばらついた。したがって, 変異株はセントロメア部位の核内配置が異常であると考えられる。一方, 変異株は高温で増殖を停止する。高温で変異株は丸く大きな細胞となり, キチンとアクチンの局在が消失していた。この温度感受性は培地への浸透圧保護剤ソルビトールの添加で回復した。また, 温度感受性を部分的に回復する遺伝子としてMID2, PKC1, WSC2が単離された。これらの結果から, 変異株はcell integrityにも異常があると考えられ, 染色体の核内配置とcell integrityの関連が示唆された。

B-24 HOG1破壊株のCa²⁺感受性を抑圧する変異株の解析

○山口敏良, 下向敦範, 平田大, 宮川都吉 (広島大院・先端研)

浸透圧応答経路(HOG)とCa²⁺シグナル伝達経路はSwe1(細胞周期エンジンcdc28/Clbのインヒビター)を拮抗的に制御することにより G2/M期の移行を制御している。HOG経路とCa²⁺情報伝達経路による細胞増殖制御をさらに明らかにするために, hog1破壊株が示すCa²⁺感受性および異常形態を抑圧する変異株sghのスクリーニングを行った。得られたsgh4変異株は異常形態は抑圧するものの, G2期遅延を抑圧せず, G2/M期制御以外の機能に関与する変異と考えられた。クローニングの結果, sgh4はWHI3の変異である事が明らかとなった。Whi3タンパクはCLN3mRNAに結合してCLN3の機能を阻害することでCLN1,2によるG1/S期の移行を制御している。HOG及びCa²⁺シグナル伝達両経路とこの機構の関連性について解析を行っている。

B-25 分裂酵母の液胞形態形成に重要な遺伝子の機能解析

竹川 薫, ○大澤 文, 竹内秀俊, 岩城知子, 田中直孝 (香川大・農・生命機能)

分裂酵母野生株の液胞は出芽酵母とは異なり, 数十個のフラグメント化した形態を有する。これまでに分裂酵母において液胞が欠損した変異株に関する報告は全く無い。そこで我々は分裂酵母の液胞の機能を明らかにする目的で, 分裂酵母液胞欠損変異株の取得を試みた。出芽酵母においてクラス C *VPS* 遺伝子の変異により液胞が欠損することが知られている。そこで出芽酵母の *VPS33* クラス C 遺伝子と相同性の高い分裂酵母遺伝子 (SPBC1703.15c) の破壊を行った。本遺伝子破壊株は FM4-64 による液胞膜染色の結果, 液胞構造が認められないことがわかった。そこで本遺伝子破壊株の諸性質を解析したところ, 本株は各種イオン, 温度, 各種薬剤などに強い感受性を示すことがわかり, 分裂酵母においても液胞は様々な生理現象に重要な役割を果たすことが示唆された。

B-26 分裂酵母のエンドサイトーシスに関与する遺伝子の機能解析

○岩城知子*, **, 竹川 薫** (*旭硝子ASPEX, **香川大・農・生命機能)

分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* のタンパク質細胞内輸送経路, とりわけエンドサイトーシスに関する報告は数少ない。そこで出芽酵母のエンドサイトーシスに関与する遺伝子と相同性の高い分裂酵母遺伝子を検索して, 出芽酵母 *SLA2/END4* ホモログ *sla2* 破壊株と低分子量 GTPase 遺伝子 *ypt7* 破壊株を作製し, 機能解析を行った。両破壊株は蛍光色素ルシファーイエローをほとんど液胞内に蓄積しないことから, エンドサイトーシスに欠損があることがわかった。FM4-64 染色および CPY のコロニーブロット分析から, Ypt7p は液胞とエンドソームが融合する段階に関与し, Sla2p はエンドサイトーシスの初期の段階に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。また, Sla2p は細胞膜局在 M ファクター受容体 Map3p のエンドサイトーシスにも関与していた。本研究は NEDO プロジェクトの一環として実施された。

B-27 分裂酵母の O-グリコシド結合型糖鎖付加に関与する遺伝子の機能解析

○藤田康子*, **, 田中直孝**, 竹川 薫** (*旭硝子ASPEX, **香川大・農・生命機能)

分裂酵母の糖タンパクに付加される糖鎖には, Asn 残基に結合する N-結合型と Ser/Thr 残基に結合する O-結合型の 2 種類が存在する。しかし, 分裂酵母の O-結合型糖鎖の生合成過程や生理的役割についての解析は, 現在までほとんど行われていない。出芽酵母で O-結合型糖鎖付加の最初の過程に関与する *PMT* 遺伝子と相同性の高い遺伝子を, 分裂酵母ゲノムデータベースより検索したところ, 分裂酵母には 3 つの *PMT* ホモログ遺伝子 (*ogm1-3*) が存在した。これら 3 つの *ogm* 遺伝子の破壊株を作製したところ, 細胞の形態異常や温度感受性, 薬剤感受性, 胞子形成異常などの表現型を示した。これらの結果より, N-結合型のみならず O-結合型糖鎖が分裂酵母において非常に重要な役割を果たしていることが示唆された。本研究は NEDO プロジェクトの一環として実施された。

B-28 分裂酵母のユビキノン生合成経路に関わる*coq7*遺伝子破壊株の解析

○三木里沙, 西岐良一, 宮本和慶, 松田英幸, 中川強*, 川向誠 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)

ユビキノン (UQ) は原核細胞では原形質膜に, 真核細胞ではミトコンドリアに局在し, 電子伝達系の必須因子として機能し, 抗酸化物質としての機能も重要であることが認められている。最近, 線虫においてユビキノン生合成系遺伝子の一つである *coq7* のホモログ遺伝子 *clk-1* の変異体が, 前駆体である demethoxyubiquinone (DMQ) を蓄積し, 寿命の延長, 発達の遅延, 産卵頻度の低下などの表現型を示すことが報告され, UQと寿命, 老化との関連性が注目されている。そこで, 分裂酵母における *coq7* 破壊株の解析を行った。これまでの研究から, 分裂酵母の UQ非生産株は, 最少培地上での生育の遅延, 酸化ストレス感受性, 硫化水素発生という表現型を示すことが明らかになっている。*coq7* 破壊株を作製したところ, これまでに取得されたUQ非生産株と同様の表現型を示し, DMQと思われる物質の蓄積が見られた。

B-29 シイタケESTデータベースの構築

○水津拓三, 矢木一弘, 田中克典, 中川 強*, 松田英幸, 川向 誠 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)

【方法】*Lentinus edodes* (シイタケ) は担子菌類に属し, 酵母等と近縁種である。食用キノコとしても日本人である我々に非常になじみ深いシイタケはこれまでに抗ガン物質や難分解性物質分解酵素など注目すべき有用物質が含む事が知られてきた。一方で個々の遺伝子の解析はあまり進んでいない。そこで我々は cDNAライブラリーを作製し, そこに含まれる各遺伝子の網羅的な部分配列の取得を目的とした *L.edodes* EST (Expressed Sequence Tag) データベースの構築を行った。

【結果】これまでにキチン分解酵素であるキチナーゼ, RAS, ユビキチン, 低分子量Gタンパク質など相同性が認められる遺伝子162個を含む計424個の*L.edodes* ESTを構築した。

C-1 ヒト胃細胞に対するモズク由来フコイダンの効果

○川本仁志*, **, 三木康成*, 田中克典**, 中川 強***, 川向 誠**, 松田英幸** (* (株) 海産物のきむらや, **島根大・生資・生命工, ***島根大・遺伝子)

我々はモズク食品の安全性、機能性を調べるためオキナワモズク *Cladosiphon okamuranus* とイトモズク *Nemacystus decipiens* から得たフコイダンのヒト胃細胞に対する効果を調べた。

湿潤藻体の熱水抽出により粗フコイタンを得、第4級アンモニウム塩を用いて分子量200万から300万の精製フコイタンを得た。がん細胞GT3TKB, MKN45, 正常細胞Hs 677.Sttに対して増殖抑制作用をMTT法により調べたところ、モズク由来フコイタンはがん細胞の増殖を抑制し、正常細胞には影響をおよぼさなかった。ヒト胃細胞に対する抗がん剤5-FUの抗がん作用へのモズク由来フコイダンの影響を調べた結果、がんに対する5-FUの抗がん作用を抑制するような影響は見られなかった。さらにモズク由来フコイタンは正常細胞に対する抗がん剤5-FUの増殖阻害作用を抑制した。

C-2 島根県産食材の抗ウイルス活性

○持田 恭 (島根保環研)

島根県産食材に抗ウイルス活性があるのかについて、インフルエンザウイルスを用いて検討した。その結果、ワサビ、イチジク、ブルーベリー、柿などの農産物に抗インフルエンザウイルス作用が示唆された。さらに海藻類のフジスジモク、ヤツマタモク、クロキズクなどにも高い抗インフルエンザウイルス作用が示唆された。

C-3 低亜硝酸塩濃度における植物抽出液の抗ボツリヌス作用

○内田正徳, 松村朱美, 中野宏幸 (広島大院・生物圏・食品衛生)

消費者の健康指向により食肉への亜硝酸塩の添加量が低減化していることから、何らかのボツリヌス菌制御対策が望まれている。今回、低亜硝酸塩条件での植物抽出液の本菌発育抑制効果を検討した。まず、35種のハーブ抽出液について静菌作用の高いものを平板希釈法で選定したあと、亜硝酸塩と植物抽出液の併用効果を種々の条件下で調べた。その結果、St. John's Wort (SJW) のEtOH抽出液、食用ゼラニウム、ユーカリの熱水抽出液の効果が高かった。毒素型ではA, B型よりE, F型の方が感受性が高かった。試験培地の肉成分が多いと抗菌作用は低下した。微量の亜硝酸塩と植物抽出液の併用効果がみられ、例えばA型菌(芽胞液)の場合、Cooked Meat Broth (pH6.0, 0.3%NaCl)において亜硝酸NaのMICは64ppm(対照)から8ppm(0.02% SJW添加)に低下した。なお、抗菌性に及ぼす食塩の影響は低かった。

C-4 2-O-置換型アスコルビン酸誘導体の 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl に対するラジカル捕捉機構について

○竹林 純, 田井章博, 山本 格 (岡山大・薬)

我々は, AA-2G を含む種々の 2-O-置換型アスコルビン酸 (AA) 誘導体の 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) に対するラジカル捕捉反応について検討した。AA が DPPH と速やかに反応するのに対し, 2-O-置換型 AA 誘導体は緩やかにかつ持続的に反応した。2-O-置換型 AA 誘導体は, その置換基の種類により DPPH との反応速度に差が認められた。これは置換基の電子供与性の差異によると考えられる。反応速度が速かった AA-2G については, 最終的に AA 以上の量の DPPH を消去した。AA-2G と DPPH の反応溶液において, AA-2G と DPPH との付加体が検出された。このことから, AA-2G と DPPH との反応で生じた AA-2G ラジカルが, さらに DPPH と反応し付加体を形成したと考えられる。また, AA-2G 以外の幾つかの 2-O-置換型 AA 誘導体でも, DPPH との付加体形成が認められた。付加体形成反応が 2-O-置換型 AA 誘導体共通の反応であるかどうか, 現在検討中である。

C-5 シュウ酸の天然抗酸化剤としての有効性

○萱島知子, 片山徹之 (広島大院・教育)

【目的】植物に広く分布するシュウ酸は, キレート作用による無機質吸収阻害の可能性が指摘されている。本研究では, シュウ酸のキレート作用に着目し, その有効利用や生理的存在意義の考察を念頭に, 試験管内での抗酸化活性について検討した 1)。

【方法】ラット脳ホモジネートおよび肝臓ミクロソーム画分における過酸化脂質生成に対するシュウ酸の効果について TBA 値を指標として検討した。また, Cu^{2+} および H_2O_2 存在下でのアスコルビン酸酸化へのシュウ酸の効果についても検討を加えた。

【結果】ラット脳ホモジネートや肝臓ミクロソーム画分における過酸化脂質の生成およびアスコルビン酸酸化は, 植物中の存在濃度に近い 0.5 から 32 mM のシュウ酸添加により濃度依存的に抑制された。この効果は同じジカルボン酸であるリンゴ酸と比較して, 5 倍程度強力であった。

1) Biochim. Biophys. Acta, (2002), 印刷中

C-6 グルタルアルデヒドのアミンとの反応機構: TBPE を指示薬とした 4 級アンモニウム塩の検出

○松浦理太郎, 小原由紀, 受田浩之, 沢村正義 (高知大・農)

グルタルアルデヒド (GA) とアミンの反応において, 4 級アンモニウム塩であるピリジニウム塩の生成が報告されている。本研究は TBPE・H を指示薬とした 4 級アンモニウム塩の検出法を GA・*n*-ブチルアミン (BA) 反応物に適用し, その定量的な知見を得ることを目的とした。TBPE・H は高アルカリ pH でアミンの干渉なしに 4 級アンモニウム塩を選択的に検出できることを示した。GA・BA 反応において, TBPE・H による呈色が認められ, さらに還元によってその呈色が激減したことから, 4 級アンモニウム塩の生成が確認された。pH 9 以上のアルカリ領域において, 4 級アンモニウム塩の生成が著しく増大した。4 級アンモニウム塩生成において, BA 濃度よりも GA 濃度が大きな影響を与えることが明らかとなった。2 mM GA と 0.4 mM BA からおよそ 24 μM の 4 級アンモニウム塩生成が認められた。

C-7 タマネギに存在する機能性成分の化学的解明 —抗酸化活性と抗発癌プロモーター活性成分について—

○星野尾麻子, 古本敏夫, 諸隈正裕, 長谷川嚚, 福井宏至 (香川大・農)

【目的】タマネギ (*Allium cepa* L., ユリ科) は, 食用の歴史が古く, 日本でも主要な野菜の一つとなっている。その機能性については, コレステロール低下作用, 血圧降下作用, 血栓溶解作用, 血糖低下作用などが報告されている。本研究ではタマネギの機能性成分として, 抗酸化活性成分と抗発癌プロモーター活性成分の検索を目的とした。

【方法及び結果】抗酸化活性成分は電気化学検出器を用いる試験法, 抗発癌プロモーター活性成分はRaji細胞の形態変化を指標とする抗発癌プロモーター活性試験法により検索を行った。その結果, メタノール抽出物の酢酸エチル可溶部が両試験共に強い活性を示した。酢酸エチル可溶部を精製後, 各種機器分析に供し, 活性成分の一つをケルセチンと同定した。他の成分についても活性を検討中である。

C-8 環状四糖の含水物及び無水物の調製と特性

○工藤尚樹, 奥 和之, 黒瀬真弓, 久保田倫夫, 福田恵温, 栗本雅司, 辻阪好夫 (林原・生化研)

【目的】環状四糖(CTS)は, グルコース4分子が $\alpha-1,3$ 結合と $\alpha-1,6$ 結合とで交互に結合した環状オリゴ糖である。我々は, CTSの5含水結晶が乾燥条件によって, 1含水物や無水物に変わることを既に報告している。本試験では, 種々の相対湿度におけるCTS粉末の水分量と結晶形の変化について検討した。

【方法及び結果】1含水物はCTSの5含水結晶を130℃で常圧乾燥して, 無水物は80℃で真空乾燥して調製した。アモルファスはCTS水溶液を凍結乾燥して調製した。X線解析の結果, 1含水物及び無水物はそれぞれ5含水結晶とは異なる結晶形を含有していることがわかった。種々の相対湿度 (33~97%) において25℃で7日間放置したところ, 1含水物, 無水物及びアモルファスはいずれも75%以上の湿度ですばやく吸湿し5含水結晶に変化した。60%以下の湿度では徐々に吸湿したものの, それぞれ元のX線回折像を維持しており, 結晶形の変換は起こらないことがわかった。

C-9 エストロゲン欠乏誘導高コレステロール血症に及ぼす油脂の影響

○海老原 清, 岸田太郎, 館森恵子, *小川 博 (愛媛大・農, *近畿大・医)

【目的】エストロゲン欠乏誘導高コレステロール血症に及ぼす各種油脂の影響を卵巣摘出高齢ラットにて検討した。

【方法と結果】ウイスター系10ヶ月齢卵巣摘出ラットに, バター脂, 高リノール酸サフラワー油, 高オレイン酸サフラワー油, パーム硬化油, シソ油, 魚油を脂肪源とする飼料のうち一つを28日間与えた。他群に比べ魚油群の血漿総コレステロール, LDLおよびHDLコレステロール濃度, ApoE濃度は有意に低かった。肝臓コレステロール濃度は他群に比べ魚油群で有意に高かった。肝臓総脂質濃度はバター脂群で高く, 高オレイン酸サフラワー油およびシソ油群で低かった。小腸内容物中胆汁酸量はバター脂および魚油群で多く, 糞中胆汁酸排泄量はバター脂, パーム硬化油および魚油群で増加した。

C-10 DDT摂取ラットにおける脂質代謝および薬物代謝酵素活性の変動に対する食餌フィチン酸の影響

○岡崎由佳子, 片山徹之 (広島大院・教育)

【目的】生体異物をラットに摂取させると、肝臓や血清の脂質及び薬物代謝酵素活性が増加する等の現象が知られている。著者らは、食餌ミオイノシトールがDDT摂取ラットの脂肪肝を抑制することを示した。本研究では、イノシトールのリン酸化誘導体であるフィチン酸が同様の効果を有するか否かについて、薬物代謝酵素活性への影響と合わせて検討した。

【方法】3週齢のWistar系雄ラットをコントロール群, 0.07%DDT添加群, 0.07%DDT及び1%フィチン酸ナトリウム添加群の3群に分けて14日間飼育した。飼育期間終了後、肝臓と血清の脂質含量、肝臓の脂肪酸合成関連酵素活性および薬物代謝酵素活性を測定した。

【結果】DDTは、肝臓及び血清の脂質含量、肝臓の脂肪酸合成関連酵素活性及び薬物代謝酵素活性を顕著に増加させた。食餌フィチン酸は、DDTによる肝臓の脂質含量及び脂肪酸合成関連酵素活性の増加を有意に抑制し、薬物代謝酵素系のPhase II 酵素活性の増加を促進させた。

C-11 焼酎粕の乳酸菌醗酵による抗ストレス作用物質生成の可能性の検討

○青島均, S. J.フセイン, 横山定治*, 平松順一*, 高橋康次郎** (山口大・理, *宝酒造(株)・酒類・食品研, **宝酒造(株)技術・供給本部)

【目的】焼酎粕を乳酸菌醗酵することにより抗ストレス活性(安らぎ効果)を増加させることができるか、ガンマアミノ酪酸(GABA)受容体への作用を検討した。

【方法】アフリカツメガエル卵母細胞に牛脳のcRNAを注入して、GABA受容体を発現させた。焼酎粕乳酸菌醗酵液によって引き起こされたGABA受容体電気応答および醗酵液のジエチルエーテル抽出成分のGABA受容体応答への効果を測定した。

【結果】焼酎粕を乳酸菌醗酵することによりGABA受容体電気応答が数百倍増加し、多量のGABAの合成が裏付けられた。またジエチルエーテル抽出成分について測定したところ、GABA受容体電気応答を昂進させる成分が増大した。以上のことから焼酎粕乳酸菌醗酵液はGABAおよびGABA受容体応答昂進物質を含み、抗ストレス活性(安らぎ効果)を持つと考えられる。

C-12 麹菌のユビキノン生産量に及ぼす有機酸の効果

○土佐典照, 杉中克昭, 松田英幸* (島根県・産技セ・浜田, *島根大・生資・生命工)

【目的】清酒や味噌などの発酵食品に用いられ安全性の確立されている麹菌を対象に、ユビキノン(UQ)の定量方法、および麹製造における有機酸添加のUQ生産性向上への効果について検討した。

【実験方法】*Aspergillus oryzae*, *A. sojae*, *A. niger*のUQの形態を調べた。また有機酸の製麹に対する影響を検討し、*A. oryzae*から得られたUQを精製して標準品とし、麹中のUQの定量を行った。

【結果】*A. oryzae*の主キノンは、UQ-10のイソプレノイド鎖の2カ所が水素により還元されている形態のもの、*A. sojae*, *A. niger*の主キノンはUQ-9であると確認した。また製麹において多量の有機酸は、麹の発育を阻害するなどの影響を及ぼした。UQ-10のH付加型ユビキノンの機能については検討中である。

C-13 小夏(*Citrus Tamurana*)成分の癌細胞増殖阻害活性

○佐塚正樹, 市川裕康, 伊勢村 護*, 向畑恭男 (高知工科大・物環, *静岡県大・食品栄養)

【目的】今回, 本研究では小夏抽出液の抗癌作用を検討して小夏の新たな機能性について発見することを目的とした。

【方法】皮むきした小夏の圧搾抽出液 (pHを中性にした抽出液: CCE 7) を添加した培地で一定期間, ヒト単核球系白血病細胞U937を培養後, 生細胞数と細胞形態変化を顕微鏡下で計測・観察して U937細胞増殖阻害活性をみた。CCE 7 添加培地で培養後のU937細胞からDNAを抽出してラダーの有無をアガロースゲル電気泳動で確認した。

【結果】CCE 7 を一定量添加した培地でU937細胞を培養すると細胞増殖が起きないことが確認された。細胞を顕微鏡で観察するとアポトーシス小体様の形態変化が見られた。現在, CCE 7 の分画物の細胞増殖阻害活性とHPLC分析について検討を行っている。

C-14 香辛料成分によるガン細胞増殖阻害

○金丸 芳, 津田貴美, 谷本桃代 (徳島大・総合科学・生命科学)

香辛料のローズマリー, セージ, オレガノに強いガン細胞増殖阻害を確認している。そこで今回, 香辛料に含まれている主な成分11種について阻害作用を検討した。増殖阻害は, 10%FBS添加RPMI培地にて37°C, CO₂ 5%で培養したヒト白血病細胞株 K562を用いて検討した。その結果, caffeic acidは50 μM, cinnamaldehydeは50~75 μMでほぼ増殖を阻止し, それ以上の濃度では細胞致死を示し, 検討した11種の成分の中では顕著な阻害力を有していた。また, caffeic acidの顕著な阻害力はフェノール性OH基を2つ持つことにより発揮されていると考えられた。また, caffeic acidの2量体であるrosmarinic acidはcaffeic acidより強い阻害を示した。さらに, ヒト大腸ガン細胞株 CACO-2に対しても caffeic acidおよびcinnamaldehydeは強い増殖阻害を示した。

C-15 乳癌細胞MCF7に対するcapsaicinおよびそのDHA誘導体(dohevanil)の影響

○拓亜, 馬場直道, 多田幹郎, 高畑京也 (岡山大・農)

【目的】唐辛子の辛味成分capsaicinおよびそのDHA誘導体(dohevanil)が各種の癌細胞において, アポトーシスを誘導することが判明してきている。特に, 辛味に少ない dohevanilの方がより強い作用を有することが明らかになってきている。またcapsaicinあるいはdohevanilによるアポトーシス誘導には, caspase-3の活性化が伴うことが判明している。そこで, caspase-3の活性化がcapsaicinあるいはdohevanilによるアポトーシス誘導に必須であるかどうかを検討するために, 今回, caspase-3が欠損している乳癌細胞MCF-7を用いて, capsaicinおよびdohevanilの作用を調べた。

【方法】細胞増殖はWST-1法により測定した。細胞死は遊離LDH活性により検出した。DNA 断片化は1.6%のアガロースを用いたゲル電気泳動法により検出した。

【結果】capsaicinおよびdohevanilはMCF-7細胞の増殖を濃度依存的に抑制し細胞死を引き起こした。またDNA の断片化が見られたことから, この細胞死はアポトーシスであることが示唆された。更に, 他の癌細胞と同様に, dohevanilがより強い作用を示した。

C-16 リソゾーム指向性塩基性薬剤によるアポトーシスにおけるリソゾーム酵素の関与

○佐々木洋子, 石坂瑠美, 内海俊彦 (山口大・農・生機化)

【目的】我々はこれまでに、ある種のアポトーシスにミトコンドリアから遊離するシトクロム cの他に、リソゾーム酵素が関与していることを明らかにした。本研究では、種々のリソゾーム指向性塩基性薬剤によるHL-60細胞のアポトーシスにおけるリソゾーム酵素の関与を検討した。

【方法と結果】1) HL-60細胞を種々のリソゾーム指向性塩基性薬剤 (塩化アンモニウム, クロロキン, モネンシン) で処理すると、濃度及び処理時間依存的に、カスパーゼ-3の活性化を伴うDNAの断片化が誘導された。2) このDNAの断片化は、システインプロテアーゼ阻害剤 E-64-dで濃度依存的に阻害された。3) この際、アクリジンオレンジ染色で検出される、リソゾームのアルカリ化と崩壊が見られた。以上の結果から、リソゾーム指向性塩基性薬剤による HL-60細胞のアポトーシスにリソゾームシステインプロテアーゼが関与することが示唆された。

C-17 N-ミリスチル化蛋白質の過剰発現によるアポトーシス誘導

○中尾清香, 中野賢吾, 内海俊彦 (山口大・農・生機化)

【目的】我々は膜局在性の制御による蛋白質の機能変換を目的としたこれまでの研究から、種々の脂質修飾シグナルの導入により、任意の標的蛋白質を種々のトポロジーで膜に局在化させ得ることを示した。本研究では脂質修飾に伴う蛋白質の細胞内挙動の変化についてN-ミリスチル化-EGFPを用いて検討した。

【方法と結果】1) EGFP に10アミノ酸から成るN-ミリスチル化シグナルを融合させた融合蛋白質をCOS-細胞で発現し、蛍光観察を行った結果、ER及びゴルジ体を中心とするオルガネラへの局在が認められた。2) このミリスチル化-EGFP の過剰発現に伴いCOS-細胞のアポトーシスが誘導されることがヘキスト染色により示された。3) このアポトーシス誘導はN-ミリスチル化の阻害により消失した。以上、N-ミリスチル化融合蛋白質の過剰発現により細胞のアポトーシスが誘導されることが明らかになった。

C-18 Madin-Darbyイヌ腎臓上皮培養細胞株におけるホルボールエステルとヌルジヒドログアイアレチン酸により誘導されるアポトーシスに対する外因性および内因性プロスタグランジンF_{2α}の抑制効果

○瀬戸山 努, 西村浩二, 津曲寛文, 森岡麻未, Lu Shan, 地阪光生, 長屋 敦, 横田一成 (島根大・生資・生命工)

我々は、Madin-Darbyイヌ腎臓 (MDCK) 細胞におけるホルボールエステル (TPA) 誘導性アポトーシスがリポキシゲナーゼ (LOX) 阻害剤ノルジヒドログアイアレチン酸 (NDGA) により相乗的に促進される事を報告した。今回TPAとNDGAにより誘導されるアポトーシスの制御機構及びアラキドン酸代謝の関与を調べた。TPAとNDGAで誘導されるアポトーシスはカスパーゼの活性化を伴い、NADPHオキシダーゼ阻害剤により部分的に抑制された。また、活性酸素が生成され、酸化ストレスの関与も示唆された。TPAによりシクロオキシゲナーゼ (COX) 経路は活性化されたが、LOX経路は活性化されなかった。カルシウムイオノフォアによりTPA誘導性アポトーシスは抑制され、MDCK細胞の主要PG代謝産物であるPGF_{2α}の添加では、TPAとNDGAにより誘導されるアポトーシスは抑制された。従ってPGF_{2α}はMDCK細胞では生存因子として機能する事が示唆された。

C-19 ストレスによるラット脳組織におけるMC4R遺伝子の発現変動

○吉岡正信*, 山野好章*, 掃部里央*, 森嶋伊佐夫*, 茶木茂之**, 戸田喜久**, 忍田祐一** (*鳥取大農・応用生命, **大正製薬(株)・医薬研)

【目的】動物のストレス負荷とMC4Rの活性化の関連が知られており, その拮抗薬が抗うつ, 抗不安作用のあることがわかっている。本研究ではストレス負荷ラットにおけるMC4RおよびPOMCの発現量の変動を調査し, ストレス応答機構を考察した。

【方法】ラットにそれぞれ1時間, および3時間の拘束ストレスを与え, 血中のコルチコステロン, ACTH濃度をRIA法で分析した。また, 視床下部, 扁桃体, 海馬, 脳下垂体からTotal RNAを調製し, MC4RおよびPOMC発現量をノーザン分析した。

【結果・考察】拘束ストレスにより, 血中コルチコステロン, ACTH濃度が上昇し, 動物のストレス負荷を確認した。ストレス負荷により全ての組織において, POMCの発現量が増加した。それに伴い, MC4R発現量は扁桃体ではPre-autoreceptorとして働き増加, 脳下垂体ではPost-autoreceptorとして働き減少したと考えられる。

C-20 簡便なPCR法による稀少鳥類の雌雄判別

○穴井直博*, 永田信治**, ***, 加藤伸一郎***, 味園春雄**, *** (*のいち動物公園, **高知大・生物資源, ***高知大・遺伝子)

【目的】外観的な性的特徴による雌雄判別が困難な稀少鳥類について, 遺伝子による正確な雌雄判別を行うことを目的として, 稀少鳥類の血液から抽出したDNAを用いたPCR法の有効性を検討し, その簡素化を試みた。【方法】アナホリフクロウとメンフクロウの新鮮血液20 μ lを採取して鋳型となる染色体DNAを調製した。Griffithsらの報告に基づいて, nested-PCR法を用いてchromodomain-helicase-DNA-binding protein(CHD)遺伝子の一部110bpのDNAを増幅し, そのPCR産物をDdeI, MboII, HaeIII等の制限酵素で処理後, アガロースゲル電気泳動でPCR産物の制限酵素による切断点の有無を確認した。さらにプライマーを改良して1度のPCRで雌雄判別が可能であるか試みた。【結果】CHD遺伝子に基づく野生鳥類の雌雄判別は可能であり, 1度のPCRによる簡便な判別法の有効性も示された。さらにフラミンゴやアフリカハゲコウについても検討した。

C-21 ブタ卵胞液中のSODの生化学的性質と卵母細胞への保護効果

○奥田拓郎, 建本秀樹*, 高野めぐみ, 武藤徳男(広島県大・生物資源, *琉球大・農)

【目的】体外培養時のブタ卵母細胞は酸化ストレス障害を受け易く, ブタ卵胞液(pFF)の添加はこれを効果的に防御する。今回, pFF中の防御成分の1つと考えられるスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)の生化学的性質およびその保護効果について検討する。

【方法】pFFは卵巣小卵胞(直径2-6 mm)から採取し, SOD活性は亜硝酸法やWST-1法で測定した。ブタ卵母細胞の培養は常法に従い, 活性酸素による細胞障害をコメット法で評価した。

【結果】pFFのSOD活性は牛胎児血清より約6倍高く, その大部分はKCN感受性であった。pFF中には低分子型(約32 kDa)とともに高分子型SODの存在が確認され, 両者の免疫学的性質等を比較した。卵母細胞の酸化ストレス障害に対するpFFの保護効果はSOD阻害剤ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウムの添加で低下し, その保護作用へのSODの関与が強く示唆された。

C-22 Analysis of the mutant Pdr5p ABC transporter with altered drug specificity in yeast

○ Andreea C. Cunita, 見越淳, 水沼正樹, 平田大, 宮川都吉 (広島大院・先端研)

Pdr5p, a drug transporter that belongs to ABC superfamily, mediates resistance to a broad range of compounds in yeast. However, the mechanism(s) by which Pdr5p recognizes, binds, and transports its substrates are poorly understood. In an attempt to identify amino acid residues important for Pdr5p function, we constructed mutants with altered substrate specificity and tested for their ability to confer resistance to various compounds. In addition, we found that wild type Pdr5p is involved in the import of some organic compounds, contrary to the "classic" concept of functioning of ABC transporters.

C-23 *Pichia pastoris* による鶏卵白アルブミンの発現とその分子特性

○伊藤一成, 平原伸悟, 松富直利 (山口大・生機科)

【目的】鶏卵白アルブミンは、卵白中のタンパク質の半分以上を占め、食品機能素材として広く利用されている。これを大腸菌で発現させた場合、翻訳後修飾が起らなかった。しかし、酵母で発現させれば構造的により卵白由来のものに近くなると予想される。本研究では、*Pichia pastoris*を用いて高発現させ構造、機能の解析を行なう事を目的とした。

【方法】鶏卵白アルブミンのcDNAをGAPプロモーターをもつ酵母発現ベクターpGAPZαAに組込み、エレクトロポレーション法により形質転換した。その後、発現誘導を行ない、陰イオン交換クロマトグラフィー等で精製し、解析を行なった。

【結果】鶏卵白アルブミンと同程度の分子量をもつ2成分が発現され、これらは、糖鎖付加の違いから生じるものであった。また、N末端アミノ酸分析結果から、グリシンはアセチル化されない事が分かった。

C-24 マウス8S-リポキシゲナーゼの二次反応における基質の立体選択性

○地阪光生, 岩永千歳, 西村浩二, 長屋 敦, 横田一成 (島根大・生資・生命工)

【目的】マウス8S-リポキシゲナーゼ (8LOX) は、先ずアラキドン酸の8S位に、次いでさらに15S位にヒドロペルオキシ基を特異的に導入する。本研究では、LOXと基質の相互作用を解明する一環として、8LOXの二次反応における基質の立体選択性を検討した。

【方法・結果】大腸菌で発現させた後、Ni-NTAアフィニティークロマトグラフィーにて精製した8LOXと、8-または15-HPETE及び各還元体 (HETE) との反応性を詳細に解析した。8SR-及び15SR-HPETEはいずれも速やかに8,15-diHPETEへと変換され、その反応効率は各S体及びR体で同等であった。8SR-HETEもHPETEに準じて良くdiH(P)ETEへと変換されたが、15SR-HETEはほとんど反応しなかった。各異性体で検討したところ、15S-HETEは特異的に8S,15S-diH(P)ETEへと変換されたが、15R-HETEは反応しなかった。このことより、15R-HETEは8LOXと強く結合し、その反応を阻害することが示唆された。

C-25 リポキシゲナーゼ欠損大豆よりのリパーゼ阻害蛋白質

○里内 清, 児玉圭史, 村上 薫, 田中 保, 岩本博行 (福山大・生命工・応生科)

【目的】大豆種子リポキシゲナーゼ(LOX)は微量でブタ臍臓リパーゼによる油脂の加水分解を阻害する。そこで、LOX欠損大豆を用いリパーゼ阻害活性を検索したところ、予想に反し、野生型大豆よりも弱いLOX欠損大豆抽出物はリパーゼを阻害した。今回は、LOX欠損大豆中のリパーゼ阻害タンパク質について報告する。【方法】リポキシゲナーゼ欠損大豆より脱脂、ゲルろ過およびDEAEイオン交換カラムによりリパーゼ阻害画分を得た。ペプチドは、2,5-ジヒドロキシ安息香酸をマトリックスとして用い、飛行時間型質量分析計で分析した。リパーゼ活性は、アラビアゴムで乳化した大豆油エマルジョンを基質とし、遊離する脂肪酸をダンカム法で求めた。アミラーゼ活性は、デンプンを基質とし、DNS法により求めた。【結果】単離したリパーゼ阻害タンパク質は、分子量 56.0kDaで、N-末端アミノ酸がブロックされていた。そこで、リシルエンドペプチダーゼで消化し、ペプチドマスフィンガープリンティングにより解析したところ、得られたペプチドはβ-アミラーゼが切断されて生じるペプチドの分子量と一致していた。さらに本リパーゼ阻害タンパク質は、アミラーゼ活性を示した。従って、少なくとも大豆種子リポキシゲナーゼとβ-アミラーゼの2つのタンパク質はリパーゼ阻害を示すことが明らかとなった。

C-26 寄生虫抽出物によるイムノグロブリンイソタイプ誘導について

○加地弘明*, 川田雅彦*, 神崎 浩**, 田井章博*, 山本 格* (*岡山大・薬, **岡山大・農)

寄生虫感染や抽出物の投与により IgE 産生が促進される事はよく知られた事実であり、我々も植物寄生虫であるマツノザイセンチュウ (*Bursaphelenchus xylophilus*) 抽出物が *in vivo* 及び *in vitro* 両系でマウス脾細胞 IgE 産生を増強させることを見出している。しかし IgE 産生促進作用が *in vivo* 及び *in vitro* 両方で確認できる寄生虫はほとんど知られていない。そこで我々はポリクローナルな IgE, IgM, IgG 産生に及ぼす本抽出物の影響について *in vivo*, *in vitro* 両系で検討を行った。その結果 *in vitro* では、無刺激下において培養七日目の IgE 産生には無影響であり IgM, IgG 産生は促進した。一方、LPS 及び IL-4 誘導性の IgE 産生は促進したが IgM, IgG 産生には無影響であった。*in vivo* の系では抽出物の腹腔投与で血清中 IgE 及び IgG 濃度が増加し、IgM 濃度はわずかに減少した。

C-27 スギ花粉アレルゲンの多糖化による抗原構造の低減化

○臼井将勝, 西島範章, 加藤昭夫 (山口大・応用生化)

【目的】Cryj I蛋白質はスギ花粉症の主要アレルゲンであり、単独でアレルギー応答を引き起こす事が知られている。本研究室において大豆アレルゲンを多糖で修飾する事により、その抗原性を低下させる事に成功しており、同様に天然のスギ花粉よりCryj I蛋白質の分離精製し、多糖修飾による抗原構造の低減化を試みた。

【方法】脱脂後のスギ花粉より重炭酸アンモニウムでCryj Iを抽出し、イオン交換クロマトグラフィーにより精製した。精製したCryj Iとガラクトマンナンを一定条件下で加熱し、CryjI-GM複合体を作製した。ウサギの抗Cryj I血清を用いてELISAにて、その抗原性を測定した。

【結果】SDS-PAGEにおいて高分子化したCryjI-GM複合体を確認した。ELISAにおいて、CryjIの抗原性は未修飾の物の10-20%に低下した。

C-28 脂質過酸化バイオマーカーの8-iso-プロスタグランジンF_{2α}に対する単クローン抗体の作製と固相化酵素免疫測定法の開発及び生体試料への適用

○上石勇二*, 西村浩二*, Shan Lu**, 地阪光生*, 長屋 敦*, 山田 智***, 船田 正***, 横田一成*, ** (*島根大・生資・生命工, **鳥取大院・連農, ***日本油脂・ライフサイエンス研)

8-iso-プロスタグランジン(PG)F_{2α}は、生体内で膜リン脂質のアラキドン酸が遊離ラジカルにより過酸化されて生成するPGF_{2α}様のイソプロスタノイド類の異性体のひとつである。これらのF₂-イソプロスタノイドは、生体内での酸化ストレスの指標として注目されている。今回、8-iso-PGF_{2α}に対する単クローン抗体の作製を試み、さらに、それを用いて固相化抗原を用いた酵素免疫測定法を開発した。この方法により、得られた最適条件において、1ウェルあたり0.23 pgから98.4 pgの範囲で測定できた。単クローン抗体の特異性を見ると、8-iso-PGF_{2α}に9.92%, そしてPGF_{2α}に0.75%の交差性を示した他は、いずれも0.1%以下の交差性であった。現在、この酵素免疫測定法をラット血中での測定に適用して、老化に伴う酸化ストレスの血中バイオマーカーの観点から、測定法の有用性や適用法を検討している。

C-29 脂肪細胞のライフサイクルの変化に伴うアラキドン酸シクロオキシゲナーゼ系反応経路の遺伝子発現の誘導

○岸守美絵*, Shan Lu**, 西村浩二*, 地阪光生*, 長屋 敦*, 横田一成*, ** (*島根大・生資・生命工, **鳥取大院・連農)

脂肪細胞の分化誘導や質的变化の中心的役割を果たす核内受容体のPPAR γ の内因性リガンドとしてプロスタグランジン(PG)J₂誘導体が想定されている。この生合成に、シクロオキシゲナーゼ(COX)とPGD合成酵素(PGDS)が関与する。今回、脂肪細胞への分化誘導能を有するマウス3T3-L1細胞を用いて、各生合成酵素のアイソフォームの遺伝子発現を解析した。

分化誘導期と成熟期の3T3-L1細胞のRNAを用いて、COX系生合成酵素のmRNAレベルを検出した。その結果、COX-2の発現レベルは、分化誘導の24時間後に著しく低下した。これは、mRNAの速い代謝回転を意味する。また、PGJ₂の前駆体の生合成に関わるアイソフォームとして、PGDS-Lのみが検出された。その転写量は、脂肪細胞の成熟の進行に伴い増加した。このことは、脂肪細胞でのPPAR γ の発現誘導と密接に関連してPPAR γ アゴニストの供給が行われていることを示唆する。

D-1 UV-B照射量の増加に対する遮蔽化合物の蓄積による順応

○田中智之, 米村 健*, 澤 嘉弘, 石川孝博, 柴田 均 (島根大・生資・生命工, *近畿中四農業研究センター)

【目的】太陽光のエネルギーを利用して独立栄養を営む植物は有害な UV-Bを含む日光を一日中浴び続けなければならない。UV-Bは植物に成育障害, 収量減少, 生体物質への損傷などの悪影響を与える。UV-Bの生物作用には, DNA損傷とともに, 活性酸素を生成する可能性も強く示唆されている。野外条件下で時々刻々観察されるUV-B照射量を2倍, 3倍に増加させて栽培したカリフラワーの葉を分析試料とした。

【結果】水溶性で低分子の遮蔽成分を含む画分をSep-Pak(Waters)により3分画した。それぞれの画分に存在する成分はUV-B照射量に対応して増加していた。アセトニトリルで溶出された増加成分はHPLC分析により, クロロゲン酸であると同定した。クロロゲン酸は近紫外線増感作用を示さず, 多種類の活性酸素種を消去できる。植物が遮蔽成分としてクロロゲン酸を蓄積することは極めて有効な戦略であると考察された。

D-2 ヤマイモ科担根体中のアラントインの定量分析

○仁宮章夫, 村田芳行*, 柏野節夫**, 多田幹郎, 下石靖昭* (岡山大自然科学研究科・*岡山農大・**岡山大理)

アラントインは植物中における窒素の貯蔵や輸送形態であり, 抗炎症・抗潰瘍作用などの薬理効果が知られている。ヤマイモ科担根体中にアラントインが含まれていることは報告されているが, その含有量の分析は正確とは言い難い。本研究では, 生鮮ヤマイモ科の4栽培種のアラントインおよびその類縁体であるアラントイン酸含有量をHPLCおよび分光光度法で定量し, 4栽培種間の差異を比較した。

その結果, 'ツクネイモ', 'ヤマトイモ', 'ナガイモ', 'ジネンジョ'のアラントインの含有量は, それぞれ, 2.6, 2.3, 0.48, 1.2 mg・g-FW⁻¹であった。なお, 各試料に含まれるアラントイン酸は無視できる量であった。

D-3 大豆アレルゲンGly m Bd 28Kの前駆体型タンパク質の代謝

○伊藤仁美, 比江森美樹, 木本眞順美, 山下広美, 西澤けいと*, 内海 成*, 辻 英明 (岡山県大・保健福祉・栄養, *京大院農・農)

【目的】大豆アレルゲンGly m Bd 28KはC末端側に分子質量23kDaのタンパク質 (23-kDaペプチド) を含む, プレプロプロテインとして生合成される。今回, Gly m Bd 28Kの前駆体型タンパク質の代謝に関する研究の一環として, 大豆種子の登熟過程におけるそれらタンパク質の発現並びにその存在部位について検討した。

【方法及び結果】Gly m Bd 28K及び23-kDa ペプチドの発現はノーザン及びウエスタンブロット法により検討した。開花後21日目から約1.6kbのプレプロプロテインに対する mRNAが検出された。さらに, そのmRNAの出現に伴い両タンパク質の発現も認められ, しかも, その発現量は登熟の進行に従って増加した。また, 免疫電子顕微鏡観察によりそれらタンパク質の大豆における局在部位は共にプロテインボディーの顆粒内であることが示された。

D-4 高等植物気孔形成の突然変異体*shabondama40*の解析

○黒瀬高章, 田中克典*, 川向誠*, 松田英幸*, 中川 強 (島根大・遺伝子, *島根大・生資・生命工)

植物の気孔を形成する孔辺細胞は, 原表皮細胞ムメリステモイドー孔辺母細胞ム孔辺細胞という段階を経て発達する。我々はシロイヌナズナの変異体を用いて孔辺細胞発達の分子メカニズムについて研究を進めている。*shabondama40*変異体は細胞質分裂が不完全な変異体で, 楕円形の孔辺細胞様細胞が観察される。マップベースクローニングにより, 出芽酵母のERでの小胞形成に関わるSEC31ホモログをコードする遺伝子に変異が見いだされた。植物細胞ではゴルジ体由来の小胞が赤道領域に集積し融合して細胞板となり, それが拡大成長することにより二分される。*shabondama40*変異体ではERからゴルジ体への小胞輸送が影響を受けることにより細胞板の発達が阻害され, 細胞質分裂が不完全な表現型になることが示唆された。

D-5 Mid-temperature dependent petal oscillation in tulip

○Abul Kalam Azad, Yoshihiro Sawa, Takahiro Ishikawa, Hitoshi Shibata (Dept. Life Sci. Biotechnol., Shimane Univ.)

Tulip petals oscillation, flower opening and closing is repeated at least two weeks and then petals fell down. We could produce this petal oscillation in the dark by changing the temperature accordingly. During oscillation, opposite petals' apertures were proportional to water content that is almost three times at 200°C compared to at 50°C. Ruthenium red, a Ca^{2+} channel blocker and BAPTA, a Ca^{2+} chelator inhibited petal opening and water movement at 200°C almost by 80 and 90% respectively. But they had no any effect on petal closing and water movement at 50°C. Phosphorylation of a 31 kDa membrane protein at serine and/or threonine site at mid-temperature by membrane associated CDPK, and its dephosphorylation at 50°C suggested its possible involvement in the tulip petal oscillation.

D-6 植物形質転換用Gateway Binary Vectorの開発とその応用

黒瀬高章, 渡辺守, 田中克典*, 川向誠*, 松田英幸*, ○中川 強 (島根大・遺伝子, *島根大・生資・生命工)

我々は植物形質転換用バイナリーベクターの操作性を向上させるため, ゲートウェイクローニング技術が利用できるGateway Binary Vector (pGWB)の開発を行った。ハイグロマイシン選択が可能なバイナリーベクターpABH-Hm1を用い, これにGatewayカセットを組み込んだ。さらに, ゲートウェイクローニングの拡張性を活かすため, GFP, 6His, FLAG, 3HA, 4Myc, 10Myc, 及びGSTの各種タグをN末あるいはC末端に付加するベクターの作製も行った。これらpGWBについてGUS遺伝子を用いたモデル実験を行った。GUSのN末あるいはC末端に各種タグを付加したコンストラクトを作製しタバコBY2細胞へ導入した。得られた形質転換BY2細胞を用いてGUS染色及びウエスタンブロット解析を行い, タグ付きGUSの発現を調べた。

D-7 Cloning of a novel allene oxide synthase from potato stolon

○Darika Kongrit, Kohji Nishimura, Tsutomu Nagaya, Kazushige Yokota, Mitsuo Jisaka
(Dept. Life Sci. Biotechnol. Shimane Univ.)

Allene oxide synthase (AOS) belongs to the family of CYP74. This enzyme is involved in the synthesis of plant biological active compounds. AOSs from various plant sources, which are found to be specific toward 13-LOX derived products, have been cloned. However, none of them has been reported to be 9-specific AOS except barley AOSs, which can use both of 13 and 9-LOX derived products as substrates. Potato stolon has been used as a plant material in order to clone 9-specific AOS because the presence of the enzyme activity in this tissue has been reported. Potato EST data base search as well as 3'RACE strategy were performed. Full-length fragment of about 1.5 kb was obtained. The sequencing data indicated that 3 closely related isoforms of the enzyme would exist. The amino acid sequence has approximately 55 and 50% identity to the known potato and barley AOSs, respectively.

D-8 Post-transcriptional regulation of *Euglena* ascorbate peroxidase in response to light

○Rapolu Madhusudhan, Takahiro Ishikawa, Yoshihiro Sawa, Shigeru Shigeoka*, Hitoshi Shibata (Dept. Life Sci. Biotechnol., Shimane Univ., *Dept. Food Nutri., Kinki Univ.)

To understand the regulation of ascorbate peroxidase (APX) in algae, we studied the induction of APX in *Euglena gracilis* Z. during light adaptation. When dark-resting *Euglena* cells were illuminated, both the activity and protein levels of cytosolic APX increased by nearly 4-fold in about 24 hours of illumination. However, Northern hybridization revealed a constant level of APX transcripts during the light adaptation. Cycloheximide almost completely inhibited the induction of APX where as actinomycin D, and α -amanitin did not have a significant effect on the induction, suggesting that the light induction of APX is post-transcriptionally regulated. The APX induction was abolished by norflurazon, an inhibitor of chlorophyll synthesis. Our results suggest that the post-transcriptional regulation of APX is dependent on the development of chloroplast.

D-9 細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼを過剰発現させたシロイヌナズナの解析

○木村嘉宏, 中濱恭子, 澤 嘉弘, 重岡 成*, 柴田 均, 石川孝博 (島根大・生資・生命工, *近畿大・農・食栄)

アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) は、細胞質、葉緑体、ミクロボディーにアイソザイムとして存在する。我々は各アイソザイムの発現機構や生理機能の検討を進めている。今回、細胞質型 APX 過剰発現の抗酸化能に及ぼす影響について報告する。シロイヌナズナ細胞質型 APX-I の cDNA を pBI121 に導入後、浸潤法によりシロイヌナズナに形質転換した。選抜を繰り返し、最終的にホモ接合性を示す T2 世代の cAPX-I 導入株 7 ライン (cAPX-1~7) を得た。cAPX-I 導入株は野性株と同様の表現型を示したが、cAPX-4 についてはロゼット葉展開後に葉の矮化および白化が認められた。cAPX 過剰発現株は野性株と比較して約 3~6 倍の cAPX タンパク質量および活性を示した。現在、抗酸化物質質量、過酸化水素含量など他のパラメーターおよびストレス抵抗性に及ぼす影響について検討している。

D-10 タバコ培養細胞における細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ発現抑制の影

○森本ゆかり，村上和弘，澤 嘉弘，重岡 成*，柴田 均，石川孝博（島根大・生資・生命工，*近畿大・農・食栄）

細胞質に局在するアスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）は，他のアイソザイムに比べ発現量が高く，光酸化ストレス応答性も顕著であるが，その生理機能は未だ不明瞭である。そこで我々は，タバコ培養細胞を用いて細胞質型APXを導入した形質転換体を作製した。ホウレンソウ細胞質型APXcDNAをpBI121に導入後，タバコBY-2細胞に形質転換した。その結果，過剰発現細胞は得られなかったが，APX活性が野生株の約1/4にまで減少した発現抑制株（cAPX-S1）が得られた。cAPX-S1は，カタラーゼとアスコルビン酸（AsA）再還元系関連酵素活性およびAsA含量に有意な変化は認められなかった。一方，TBARS値およびフルオレッセイン蛍光の増加が観察された。ストレス応答性を検討したところ，塩および酸化ストレスに対する抵抗性は認められなかったが，熱ストレスに対して顕著な耐性を示した。

D-11 タバコのアスコルビン酸生合成酵素遺伝子の発現解析

○高岡孝彦，宮原克典，江坂宗春（広島大・生物圏科）

本研究室では，これまで植物のアスコルビン酸（AsA）生合成経路において，最終酵素と考えられるL-ガラクトノ-1,4-ラクトン脱水素酵素（GalLDH）について解析を行ってきた。本研究では，AsA生合成の上流部で機能するGDP-Dマンノースピロホスホリラーゼ（GMPase）に着目し，タバコGMPaseのcDNAクローニングをおこなった。そして，本GMPasecDNAをタンパク質発現用ベクターに挿入し，大腸菌を用いてGMPaseタンパク質を発現させ，その部分精製標品を得ることを試みた。一方，タバコにおけるAsA含量を調べるとともに，GMPase，GalLDH遺伝子の発現様式を調べた。すなわち，植物体の各組織におけるAsA含量を調べるとともに，GMPase，GalLDHのmRNA発現量を調べた。また，両酵素の発芽や老化に伴う発現変動や，光の影響等についても調べた。

D-12 転写因子Dofタンパク質の植物における機能解析

○森保 亮，梅村 佳美，江坂 宗春（広島大・生物圏科）

カボチャのアスコルビン酸酸化酵素（AAO）遺伝子5'上流域に結合するタンパク質AOBPは，Dofドメインと呼ばれるDNA結合ドメインを持つ。Dofドメインは，GATA1やステロイドホルモンレセプターのZnフィンガーと類似したDNA結合ドメインであるが，一般のZnフィンガーが一タンパク質中に複数単位存在するのに対し，Dofドメインは一単位しか存在しておらず，植物にのみ認められるユニークなZnフィンガーである。

しかし，Dofタンパク質の一つであるAOBPが植物遺伝子の発現調節機構にどのように関わっているかは不明である。私は，単子葉モデル植物であるイネに着目し，AOBPホモログのcDNAをクローニングし，その発現様式をノーザンブロッティングにより解析した。また，大腸菌に発現させたDofタンパク質について，DNAへの結合能をゲルシフトアッセイにより解析した。

D-13 シュードモナス属細菌のフェニルセリン脱水素酵素オペロン

○上島左久子*, 永田信治*, **, 加藤伸一郎**, 味園春雄*, ** (*高知大・生物資源, **高知大・遺伝子)

【目的】 *Pseudomonas syringae* のD-フェニルセリン脱水素酵素(PSDH)は、D-スレオ-β-フェニルセリンの水酸基の酸化反応を触媒するNADP⁺依存性酵素であり、フェニルセリン存在下で誘導生成される。本研究ではその発現制御機構を明らかにすることを目的として、PSDH遺伝子(*psdh*)を含むオペロンの塩基配列の解析を行った。【方法と結果】 *psdh*を含む約9kbのゲノムDNAの塩基配列をIPCR法により解析した結果、*psdh*を含む4つの遺伝子がオペロンを形成していた。そのうち短鎖アルコール脱水素酵素に相同性が高遺伝子が大腸菌で発現させることによって、PSDHとは特異性の異なるフェニルセリン脱水素酵素がコードされていることが明らかになった。また、オペロンの上流に、転写活性化因子と相同性のあるタンパク質をコードするORFがオペロンとは逆向きに存在しており、この遺伝子が発現調節に関与している可能性が示唆された。

D-14 放線菌由来環状ジペプチド脱水素酵素系を利用する cyclo(Phe-Pro)脱水素体の合成

神崎 浩, ○池田万里, 森本篤史, 仁戸田照彦 (岡山大・農)

我々は環状ジペプチド(CDP)の脱水素反応を触媒する放線菌の酵素系を用いて、抗腫瘍剤として有望な dehydrophenylahistin を含む様々な脱水素型CDPを合成してきた。Proはイミノ酸であり他のアミノ酸と比べて立体構造上特異的であるため、それを含む CDP脱水素体の生理活性に興味をもたれた。今回 cyclo(Phe-Pro)(CFP)を基質として酵素反応を行なったところ、脱水素体の生成が確認された。CFP 50 mg を用いた反応液中に存在する生成物(1), (2)を分取ODS-HPLCにより精製し、それぞれ15.1 mg, 7.7 mg得た。各種機器分析の結果から、(1)をcyclo(Δ Phe-Pro), (2)をcyclo(Δ Phe-Δ Pro)と同定した。(1), (2)をウニ胚卵割阻害活性測定試験に供したところ、(2)は両側脱水素体であるにもかかわらず、片側脱水素体(1)と同様、ウニ胚卵割阻害活性を示さなかった。

D-15 放線菌由来cyclo (Leu-Phe) 脱水素酵素の精製と諸性質の検討

神崎 浩, ○森本篤史, 池田万里, 仁戸田照彦 (岡山大・農)

我々は *Streptomyces albulus* KO23株がcyclo (Leu-Phe)に二重結合を導入し albonoursin を生合成する酵素系を有すること、その酵素系を利用して様々な脱水素型環状ジペプチドが合成できることを明らかにしてきた。今回、PMS-DCIPを水素受容体とするcyclo(Leu-Phe)脱水素酵素の精製を試みた。本酵素は熱処理により精製されるが、処理後の標品を疎水性クロマトグラフィーに供したところ、回収率・精製度ともに低かった。一方、無細胞抽出液を熱処理せずに同じカラムに供したところ、高回収率で30倍に精製できたことから、本酵素は熱処理により表面の疎水性が変化することが判明した。さらに2段階のクロマトグラフィーにより電気泳動的に均一な標品を得ることができた。本酵素は25 kDaのサブユニットからなり、分子量600 kDaを超える巨大なホモポリマーを形成していた。現在、本酵素について諸性質の検討を行っている。

D-16 ラン藻由来 γ -グルタミルシステイン合成酵素のクローニング

○星 春佳, 芦田裕之*, 澤 嘉弘, 柴田 均 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)

【目的】 γ -グルタミルシステイン合成酵素 (GSH-I) は, グルタチオン生合成の第一反応 (L-glutamate + L-cysteine $\rightarrow$ γ -glutamylcysteine) を触媒する鍵酵素である。これまでラン藻からは, 第二反応を触媒するグルタチオン合成酵素 (GSH-II) の遺伝子構造が明らかにされているが, GSH-Iに関する情報はない。そこでラン藻 *Anabaena* sp. PCC7120 から GSH-I 遺伝子をクローニングし, 酵素化学的解析を行った。

【方法・結果】ラン藻 *Anabaena* sp. PCC7120 の塩基配列データベース (CyanoBase) より他生物種由来 GSH-I と相同性の高い ORF を検索し, PCR 法によりクローニングした。得られた遺伝子を His-tag 融合タンパク質として発現させ, アフィニティークラムを用いて精製したところ, GSH-I 活性が認められた。このことから, 目的遺伝子が GSH-I であることが示唆された。

D-17 高度好熱性細菌 *Thermus thermophilus* 由来アラニンラセマーゼの性質検討

○白神智行, 田村 隆, 田中英彦, 稲垣賢二 (岡山大・農)

【目的】*Thermus thermophilus* HB8 由来アラニンラセマーゼの大腸菌クローン株を用いた大量発現系の構築に成功した。そこから精製した本酵素の諸性質を調べ, 多種由来同酵素との性質を比較検討する事を目的とした。

【方法・結果】pUC 18 を用いて大腸菌でのアラニンラセマーゼ大量発現系を構築した。この発現系を用いて本酵素を, 加熱処理, 陰イオン交換カラム, ハイドロキシアパタイトカラムにより精製した。得られた酵素の諸性質をこれまでに良く研究されている *B. stearothermophilus* 由来同酵素と比較した。本酵素のサブユニット分子量は 38 kDa, 最適温度は 60°C, 最適 pH は 10 であった。また, 熱, pH に対する安定性では *T. thermophilus* 由来本酵素の方が *B. stearothermophilus* 由来同酵素より高温域, 塩基性領域での安定性が高かった。本酵素の分子形態を現在検討中である。

D-18 Modifying the substrate specificity of alanine racemase by DNA shuffling

○Jiansong Ju, Kouhei Ohnishi*, Haruo Misono (Dept. of Biores. Sci., *Res. Inst. Mol. Genet., Kochi Univ.)

Two alanine racemase genes in *E. coli* and *Salmonella*, *alr_{Ec}* and *alr_{Sl}*, were DNA shuffled. Shuffled genes were put into *E. coli* alanine racemase deficient mutants, TKL10 (*alr_{ts} dadX*) and MB2795 (*alr dadX*). Recombinant cells with functional *alr* genes grew without D-alanine in the media. We randomly picked 50 clones from each transformants. All clones contained chimeric *alr* genes between *alr_{Ec}* and *alr_{Sl}* and showed the intermediate racemase activities to both L-alanine and L-serine. To screen clones with higher serine racemase activity, shuffled genes were put into serine auxotroph stain UT5028 (*serB*). Three clones grew on minimal glucose with 5 mM D-serine. When the racemase activities were measured, none of three showed higher affinity to L-serine than parents. Instead their specific activities were much higher. His-tagged versions of these racemases, along with His-tagged two parents, were purified. The *K_m* and *V_{max}* of three clones were not much different from those of parents.

D-19 *Pseudomonas putida* 由来の抗がん酵素 L-メチオニン γ -リアーゼのランダムミューテーションによる機能改変

○遠藤祐一, 田村 隆, 山下真生, 田中英彦, 稲垣賢二 (岡山大・農)

【目的】我々はこれまでに*Pseudomonas putida* 由来の本酵素において大腸菌大量発現系の構築及びX線結晶構造解析に成功している。また本酵素には抗がん作用が確認されており, 新規抗がん剤としてすでに臨床実験段階にまで至っている。本研究ではerror-prone-PCRを利用したランダム変異導入を行い更に高活性な変異酵素を獲得することを目的としている。

【方法・結果】error-prone-PCRにより無作為に変異を入れた本酵素遺伝子をpUC18につなぎこみイソロイシン要求性変異株である*E.coli* JHM544に形質転換した。この宿主は導入された本酵素活性によってイソロイシン要求性が相補される。これを利用して本酵素活性に依存したスクリーニングを行った。そのようにして得られた変異株の活性測定を行った結果, 活性の高いものを数株確認することができた。

D-20 ラン藻グルタミン合成酵素のアデニル化改変

○山根隆正, 戸田雄一郎, 芦田裕之*, 石川孝博, 柴田 均, 澤 嘉弘 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)

【目的】大腸菌をはじめとする腸内細菌由来のグルタミン合成酵素 (GS)は, アデニル化修飾機構により活性調節を受けることが知られている。今回, GSアデニル化調節機構の分子進化の解明を目的として, ラン藻*Anabaena* 由来の非アデニル型GSをアデニル型GSへ変換することを試みた。

【方法・結果】GS分子中でアデニル化修飾を受けるTyr402付近のループを大腸菌型GSと同じになるように4箇所および7箇所置換したMut4, Mut7を作製した。さらに, サブユニット外縁部の突出ループを削除するために, Wild, Mut4およびMut7にAsn355の欠失変異を行った変異体 Wild-dN355, Mut4-dN355, Mut7-dN355を作製した。その結果, Mut7-dN355のみがSDS-PAGE, TOF-Massスペクトル分析で高度にアデニル化修飾されていることが確認された。

D-21 ラン藻アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの耐熱化機構の解析

○金 亨, 芦田裕之*, 石川孝博, 柴田 均, 澤 嘉弘 (島根大・生資・生命工, *島根大・遺伝子)

【目的】ラン藻*Phormidium lapideum*由来のアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼは, 80℃以上でもかなり安定な特徴を示す。今回, 我々は本酵素の耐熱化機構を解析するため, random mutagenesisを用いて得られた熱感受性変異体の熱力学的安定性の評価やその熱感受性変位部位に対する三次元構造から安定化機構の解析を行ったので報告する。

【方法と結果】Error-prone PCRにより作製されたランダムライブラリーから七つの熱感受性変異体 (Ts8, Ts3-8, Ts11-11, Ts15-25, Ts15-84, Ta16-80, Ts19-17) を選択した。熱感受性変異部位に対する部位特異的変異体 (V49A, E50K, E69K, R71G, N105S) や各変異を組み合わせた変異体の作製とその解析により, 本酵素の安定化への各変異部位の加算効果が認められた。各変異部位は直接あるいは間接的に PLP結合部位近傍の活性中心を安定化することで, 本酵素の全体的な安定化を図っていると考察した。

D-22 低障壁水素結合の分子軌道計算におけるハミルトニアン(AM1,PM3,PM5)の検討

○田村 隆, 田中英彦, 稲垣賢二(岡山大・農)

【目的】酵素分子内の酸塩基反応は水素結合のゆらぎという動的作用により触媒機構の中心的役割を担う。この反応を分子軌道計算で定量的に予測できれば、定量的な酵素の分子設計が可能になる。

【方法・結果】ほ乳類チオレドキシン還元酵素のセレノシステイン残基(Sec498)残基をCysに置換すると酵素活性は1%以下に低下する。これはチオール基(pKa8~9)がセレノール基(pKa5~6)よりも解離性が低いためである。そこでCys498に空間的に近いGln494を改変してチオール基の解離を促進すれば酵素活性が回復すると考えた。半経験的分子軌道計算WinMOPACを用いて、モデルペプチドN-Acetyl-Ser-Ile-Leu-Xaa-Ala-Gly-Cys-Cys-Gly(Xaa=Gln, His, Arg, Trp, Tyr, Glu, Asp)のXaa残基とCys残基間のプロトン授受反応の遷移状態と反応過程を計算して、水素結合の性質を定量的に予測した。ハミルトニアンAM1はすべての遷移状態を算出できたがPM3とPM5は含N複素環を塩基とする反応の予測が困難であった。

D-23 糸状菌によるアルキルベンゾチオフェン類の酸化

○松井 徹, 尾中利光, 丸橋健司, 倉根隆一郎* ((財)国際石油交流センター, * (財)クボタ)

【目的】ジベンゾチオフェン(DBT), ベンゾチオフェン(BT)等の石油に含まれる脱硫すべき硫黄化合物には多数のアルキル化体が存在しており、各種微生物の有機硫黄化合物変換に関する基質特異性を検討している。本報では、DBT酸化能が報告されている糸状菌*Cunninghamella elegans*を用いてアルキルBTの酸化を検討した。

【方法および結果】*C. elegans* var. *echinulata* ATCC36112を種々のアルキルBTを添加したSabraud Dextrose Mediumで培養した後、酸性条件下、酢酸エチルにより抽出し、GC/MS分析に供した。

得られた主要生成物はスルホキシド体であり、アルキル鎖が長くなり、疎水性が高くなるに従い、その生成量は減少した。また、BTを基質とした場合にはベンゾチオフェンスルホキシド、ベンゾチオフェンスルホンに加えて、4S型DBT脱硫細菌が脱硫可能なベンゾナフトチオフェンが生成していた。同様に2メチルベンゾチオフェンからはジメチルベンゾナフトチオフェンが生成していた。

D-24 *Pseudomonas putida*によるスチレンの分解

岡本賢治, ○生澤真樹, 築瀬英司(鳥取大・工・生応工)

【目的】環境保全上、揮発性有機化合物(VOC)の有効な除去技術の確立が急務とされている。スチレンは、合成ポリマー等の原料として大量に利用されている反面、人体にとって有害な物質である。本研究は、バイオプロセスによるVOC除去システムの確立の一環として、スチレン分解菌のスクリーニングならびに構築したバイオフィルターによるスチレン除去効果について検討を行った。

【方法と結果】化学工場周辺の土壌からスチレンを炭素源として資化可能な菌のスクリーニングを行い、生育および分解が最も安定していた細菌ST3株を単離した。本菌の形態学および生理学的性質から*Pseudomonas putida*と同定した。ST3株のスチレンに対する分解限界濃度は600 ppmであった。本菌を固定したバイオフィルターにおいて、スチレンガス90 ppmが除去可能であることを確認した。

D-25 *Helicobacter pylori* 付着糖鎖切断酵素の検索

○宮脇仁志，三浦豊和，岡本賢治，築瀬英司（鳥大・工・生応工）

【目的】胃ガン誘発の原因とされる *Helicobacter pylori* は，胃粘膜表層に分布する糖タンパク質中の糖鎖部分，Lewis^b-hexasaccharide の α -L-fucose 末端や酸性スフィンゴ糖脂質の sulfatide に付着することが報告されている。本研究では，*H. pylori* 接着阻害作用をもつ酵素製剤開発を目的として，sulfatide の受容体糖鎖切断酵素を検索した。

【方法と結果】牛脳のガングリオシド(BAP)，または豚の胃のムチン(PGM)を炭素源とした合成培地を用い，BAP 資化性菌やPCM 資化性菌を分離した。次に，分離菌の培養液上清を粗酵素液として sulfatase 活性を測定し，高い sulfatase 活性をもつ菌株を40株選択した。さらに，選択株から，sulfatide 分解活性を示すNo.69株を選択した。現在，No.69株の同定と関与する酵素を精製している。

中四国支部第1回若手シンポジウム

講 演 要 旨

土壌細菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt) が産生する Bt トキシンは高い殺虫特異性が特徴であり、ヒトを含めた他の動植物にはほとんど影響を与えない、また化学農薬に抵抗性を発達させた害虫へも有効であるなどの利点から生物農薬として最も成功を収めている殺虫蛋白質である。また近年では農作物に害虫抵抗性を付与するために Bt トキシン遺伝子が用いられ、遺伝子組み換え作物が実用化されている。しかし Bt トキシンの高い殺虫特異性は長所であると同時に欠点にもなっている。すなわち化学殺虫剤に比して Bt トキシンは防除効果が限定され、一種類の薬剤だけでは不十分な場合がある。そこで、Bt トキシンの殺虫特異性決定メカニズムを解明し殺虫スペクトラムを拡張した新規な Bt トキシンを作出することが望まれている。

Bt トキシンは不活性型の前駆体分子として産生され、標的昆虫に摂食されると中腸内のアルカリ条件下で可溶化、ただちに中腸内プロテアーゼによりプロセッシングを受け活性型分子となる。活性型 Bt トキシン分子は中腸上皮細胞膜上に存在する受容体分子と結合した後、構造変化を経て膜に挿入しチャンネルを形成すると考えられている。殺虫特異性の決定には中腸上皮細胞膜上の受容体分子への結合段階が重要だと考えられてきた。しかし、双翅目昆虫特異的な殺虫活性を有する Bt トキシン Cry4A は標的昆虫であるアカイエカ幼虫の中腸上皮細胞膜に対し、主には受容体分子を介さない非特異的な吸着により結合して殺虫活性を発現していること、殺虫活性が無いカイコの中腸上皮細胞膜に対しても結合すること、しかもその結合はカイコに対し殺虫活性を有する Cry1Aa と同じく、膜にトキシン分子全体が挿入していることが明らかになったことから、殺虫特異性決定メカニズムは、必ずしも受容体分子との相互作用のみでは説明できないことが強く示唆された。一方、鱗翅目昆虫特異的な殺虫活性を有する Cry1Aa は殺虫活性が無いアカイエカ幼虫の中腸上皮細胞膜には結合せず、Cry1Aa については受容体の有無によりその殺虫特異性が決定されていることが示唆された。また、鱗翅目昆虫特異的な殺虫活性を有しながら双翅目昆虫にも弱い活性を有する Cry1C はアカイエカ幼虫中腸上皮細胞膜上に存在する受容体分子を介して膜に結合していることが示唆されたことから、双翅目昆虫特異的な殺虫活性を有する Cry4A の膜結合特性は鱗翅目昆虫に活性を有するトキシンとは異なることが明らかになった。

Bt トキシンの殺虫特異性がどのように決定されているのかという問いに対してまだまだ明確な解答を得るにはほど遠いが、そのメカニズムは予想以上に複雑であるということは間違いないと思われる。今後さらに研究を重ねていきたい。

内分泌攪乱物質が哺乳類の精子形成関連遺伝子の発現に与える影響

鳥取大学農学部 山野好章

【目的】ダイオキシンによる影響は発ガン，免疫，生殖毒性などが知られているが，それぞれの毒性発現には濃度依存性がある。本研究ではごく微量のダイオキシン暴露により引き起こされると考えられる生殖毒性に関して検討した。

【方法】TCDDをラットの無毒性量の上限と考えられている10ng/Kg/回，皮下注射により5回（妊娠1，2週，出産直後，1，2週後）母体に投与した。生後3，6週齢ラットより各臓器を摘出し，形態観察した。続いて肝臓RNAを用いてCYP1A1遺伝子発現をノーザンブロットおよびRT-PCRにより明らかにし，また精巣に発現する種々の遺伝子についても同様に検討した。

【結果】妊娠ラット6匹にTCDDを投与したところ，4匹で出産が見られた。新生ラットは全部で42匹（雄：雌＝17：25）であった。性器奇形を含めて肉眼的に外表，内臓奇形は認めなかった。また，組織学的に精祖細胞，精母細胞の形態，数に異常を認めなかった。母体にTCDDを投与した3週齢ラットでは肝臓のCYP1A1遺伝子の発現がコントロールと比べて高値（約10倍）を示した。精巣inhibin/activinに関与する各サブユニットの遺伝子発現は3，6週齢とも正常と差を認めなかった。性成熟期精巣特異的に発現するSRF-1遺伝子^①はダイオキシン処理による有意な変動は見られなかった。

【結論】TCDDの体内への影響の指標として，肝臓のCYP1A1遺伝子発現を確認した。母体への極微量TCDDの投与でも，新生ラットにTCDDの影響が起きることが明らかとなった。精子機能に関連するエストロゲン受容体，アンドロゲン受容体などの発現についても検討中であり，TCDDの生殖系ターゲットを明らかにしたい。

【参考文献】

- (1) Y. Yamano, K. Ohyama, T. Sano, M. Ohta, A. Shimada, Y. Hirakawa, M. Sugimoto, I. Morishima. A Novel Spermatogenesis-Related Factor-1 Gene Expressed in Maturing Rat Testis. Biochem Biophys Res Commun, 289(4), 888-893, 2001
- (2) 第75回日本生化学会（平成14年度）講演要旨、母体への微量ダイオキシン投与により仔ラット生殖系の受ける影響

W-3 植物に活性窒素代謝系は存在するか？

広島大学大学院理学研究科 坂本 敦

ガス状ラジカル分子である一酸化窒素（NO）は、哺乳動物細胞において活性酸素分子種、ヘム酵素群、タンパク質を含めた生体チオール分子種などの標的分子と速やかに反応し、きわめて多彩な生理機能と病理活性を発揮することはすでに遍く知られている。植物においてもNOは、病原菌への防御応答の活性化シグナル分子として働き、おそらくその他の生理・発生プロセスをも調節していると考えられている¹⁾。しかしその一方でNOは、還元型グルタチオンとの自発反応により生成するS-ニトロソグルタチオン（GSNO）や、スーパーオキシドラジカルとの反応により生じるパーオキシナイトライト（ONOO⁻）などの反応性の高い活性窒素分子種（Reactive Nitrogen Species; RNS）を派生し、広範囲の生物において普遍的に細胞毒性をもたらすことが明らかになってきた²⁾。RNSによりもたらされるストレスは、活性酸素分子種（ROS）によりもたらされるOxidative stressの対語としてNitrosative stressとよばれている。RNSはROSと同様、細胞や生体にとっては両刃の剣であり、その生成は他律的のみならず自律的なストレス因子となる。細胞のNitrosative stressからの防御因子について、最近になり精力的に研究が進められるようになり、複数のRNS代謝酵素の存在が明らかにされつつある³⁻⁵⁾。本講演では、RNS消去に関与すると考えられるアラビドプシスの2つのタンパク質、S-ニトロソグルタチオン還元酵素とパーオキシナイトライト還元酵素について紹介する⁶⁾。このようなRNS代謝関連酵素の存在は、植物においてもNOやRNS代謝が活発に行われていること、またGSNOやONOO⁻のようなRNSに起因するNitrosative stressを回避する代謝経路が、広く生物を通じて進化の過程で共通に保存されていることを示唆している。NOとその派生化合物の代謝の基礎研究は、NOシグナリング機構の理解の深化に役立つのみならず、植物の窒素代謝の新局面をももたらす可能性がある。

1) Wendehenne *et al.* (2001) *Trends Plant Sci.* 6: 177-183; 2) Nathan & Shiloh (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 8841-8848; 3) Bryk *et al.* (2000) *Nature* 407: 211-215; 4) Liu *et al.* (2001) *Nature* 410: 490-494; 5) Hausladen *et al.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 14100-14105; 6) Sakamoto *et al.* (2002) *FEBS Lett.* 515: 20-24.

中四国支部第2回市民フォーラム

講 演 要 旨

1. 食品の3機能

食と健康の問題に対して昔から人類は深い関心を寄せてきた。近代科学の時代になり、食品科学の領域では食品の質に関して“栄養”と“嗜好”の2つの特性を考慮するようになったが、栄養特性が重視されヒトの身体形成と生命維持に要する必要量が強調され過ぎていた。この歴史的背景には、飢餓と貧困からの脱出そして体格の向上という目標が存在していたからである。近年、社会が経済的に豊かになるにつれ、食品の味、香、テクスチャ、色合など嗜好感覚に結びつく特性に関心が強くなり、味覚と食感に関する科学技術の発展を促して来ている。

他方、先端科学技術としての微量分析化学と分子生物学の著しい発展を基盤として、食品中には生体内の働きを調節する因子の存在することが明らかになって来ている。これらの物質・分子は微量で生体内生理活性を示すので、三大栄養素のタンパク質、脂質、糖質とは別の角度から区分されるものである。1984年より実施された文部省の特定・重点領域研究の成果に基づいて、“食品機能”(一次機能、二次機能、三次機能)という学術用語が定められ、従来の栄養と嗜好感覚の特性に生体調節の働きを加え、上記の3機能に区分体系化された。三次機能は食品の第3の機能として世界に先駆け日本で学術的に明確に定義された機能であり、わが国は食品機能論の確立と機能性食品の研究開発において先進的な役割を果たしている。

2. 実質的同等性/Substantial equivalence

1990年、OECDの18ヶ国より組換えDNA技術の専門家がパリに集まり、遺伝子組換え食品の安全性評価指針を策定するための会議が開かれた。このワーキング・グループは主要国持ち回りも含めて10回程の会合を重ね、1993年に報告書を作成した。この報告書では“実質的同等性”という考え方を基本概念としている。これは、遺伝子組換え食品の安全性を判断するには、比較できる既存の食品が存在し、その今まで食べていた食品と比べてリスクが大きくなっていない事を科学的に裏付ける方法論を示している。

食品は長い間の伝統と経験に基づく技術によって造り出されたものである。遺伝子組換え食品も含め新しく開発される食品に対して、人々は長い経験の中でその許容できる範囲を認識している。そして自ら食べる・食べないを決定する。

医薬の領域では、新薬の開発に最新の技術と多大の努力が注がれ、画期的な治療薬が追求されている。完成した新薬は法律に従い、専門家である医師と薬剤師の管理の下に一般人に対して使用される。食品の領域ではこのようなことは有り得ない。

3. 伝統技術を基盤とする食品開発

研究結果を紹介する。

日本は代表的な高齢化社会であり、生活習慣病もそれに伴い広がりを増しています。病に苦しむ高齢化社会では、十分な治療を受けるとしても長寿を楽しむことは容易ではありません。さらに健康を支える医療保険も財政上困難になりつつあります。食品成分の機能性を利用することによって、健康を守ることが出来たら誠に喜ばしいことです。

最近、栄養成分と共に健康に良いと言われる様々な機能性を有する食品など「いのちを支える食」について関心が寄せられています。また残留農薬や遺伝子組み換え作物の安全性や、高齢化や生活習慣病に伴う健康などに関する「いのちを育む食」なども注目されています。これらは地域を問わず老若男女全ての人と関わり合いがあり、身近な関心の高い問題といえましょう。

他方地球レベルでは深刻な食糧不足が指摘され、安定に豊富な食糧を生産供給することは人類にとって重要な課題です。

本講演では、「いのちを生み、育む食」に関して、最近の現状と展望について分かり易く、そして最後に我々の取り組んでいる研究の一部を紹介します。

01年秋の国連発表によりますと、世界の人口は61億3千万人、そのうち80%の人々は開発途上国国民で、慢性的かつ深刻な構造的食糧不足に悩まされているとされています。更に1日2ドル以下で生活している貧困層は約50%になるとされています。

特に飢餓に苦しむ人々の救済のため、優れた農作物を増産する研究が重要になっています。同年には、イネゲノムの全塩基配列が解読されました。遺伝子組換えを含む最先端の科学技術で、生態系への万全の安全を確保しつつ、耐病性、耐干ばつ作物、肥料の要らない植物、高収量・高栄養の食料、ノンアレルギー食品の開発などが一層発展することが期待されています。農作物の増産は光合成による炭酸ガス固定量を増やしますから地球温暖化防止にも寄与するでしょう。バイオサイエンスは、食の量の確保という人類が抱える困難な課題の解決に寄与する技術として期待されています。

2001年、厚生労働省は、食薬区分の規制を改正しました。その結果、食品成分の機能の重要性が再認識され、巨大な需要が生まれつつあります。食品にはそれぞれ特色ある優れた機能性があり、それらを強化あるいは複合化することにより例えば食べるワクチンのような形で、食の質の面でも改良が進むことが期待されています。

食の安全性の問題は最も重要な事です。

現在中国からの輸入野菜に残留農薬の問題が起きています。多くの作物は病気に弱く農薬が必要で、しばしば残留毒性の問題が起きます。しかし病気に強い植物もあります。我々は、病気に強い植物の生体防御機構に着目、その活性を遺伝子レベルで上手に活用して他の植物に利用することによって、安全な食べられる農薬開発に、文科省のミレニアム産学連携研究として挑戦しており、その一部を紹介します。

最近、再生医療が21世紀型医療として注目を集めています。骨髄から幹（かん）細胞と呼ばれる特別な細胞を利用して、たった一つの細胞から筋肉の細胞、肝臓の細胞、脳の神経細胞にまで分化、再生しうる報告が相次いだことなど記憶に新しいところです。ところが人間は元々、ほぼ一生を通じて、自己再生を繰り返しているユニークな器官を有しています。皮膚の付属器官である毛包です。毛包は主に毛幹(髪の毛)、毛幹を作る元になる毛包上皮細胞（毛母細胞）、毛包上皮細胞の増殖と分化をコントロールする細胞である毛乳頭細胞からなっています。ヒトの場合、数年の単位で発毛、伸長、退縮、休止、発毛を繰り返しています。いわゆる毛周期と呼ばれるものです。新たに発毛する仕組みは長らく謎に包まれていましたが、近年そのメカニズム解明の為に研究が急速に進み徐々に明らかになってきました。例えば以前から指摘されていた 1) 男性ホルモンの関与、2) 遺伝的背景、に加え 3) 毛包上皮幹細胞の存在、4) 幹細胞にシグナルを送る毛乳頭細胞の重要性、5) 細胞間に作用する分泌性のシグナル因子の関与、が細胞生物学や分子生物学的アプローチによって解明されつつあります。私達は毛包が再生するには毛包上皮幹細胞と毛乳頭細胞の2種類の細胞が必要なこと、これらの細胞間でシグナル因子のやり取りが重要であることなどを明らかにしてきました。特にこれまで謎に包まれていた毛乳頭細胞がパーシカンと呼ばれる巨大糖タンパク質分子を特異的に産生し、その存在が毛包の発生や毛周期の維持に重要な働きをする可能性を見出しています。これらの知見を応用して、移植を含めた脱毛治療や、毛包から派生すると考えられている皮脂腺、汗腺なども再生させたクオリティー・オブ・ライフに考慮した人口皮膚シートの開発などが今後期待されています。また、人体組織の最外部に位置する毛包は研究材料としても扱いやすい利点が挙げられ、広く再生医療研究への活用が期待されています。発生の段階では、毛包も他の臓器の多くも上皮系細胞と間葉系細胞の相互作用で器官形成が行われ、共通したシグナル因子の関与も明らかなることから、毛包再生研究で得られた知見は他の臨床的に重要な臓器の再生研究にも応用できる可能性が高いからです。再生研究のモデル器官としての毛包の魅力をお話しさせていただき、併せて、男性型脱毛と女性型脱毛の違い、遺伝に関わるこれまでの知見とヒトゲノム解析計画より期待される脱毛、発毛機構の解明の可能性についても紹介する予定です。

赤潮・貝毒はなぜ起こる？ —海洋生態系におけるミクロの脅威—

(独) 水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所 山口峰生

1. 赤潮・貝毒とは？

赤潮とは、植物プランクトンが異常増殖し、水が着色する現象である。赤潮による変色は必ずしも赤いわけではなく、プランクトンの種類によって褐色や緑色などいろいろであり、魚介類をへい死させ水産業に深刻な被害をもたらす有害なものもある。一方、貝類が有毒プランクトンを捕食してその体内に毒が蓄積され、その貝を食べた人間が中毒を起こす現象を貝毒と呼ぶ。貝毒には麻痺性、下痢性、記憶喪失性、神経性、シガテラなどの種類がある。有毒プランクトンの毒は、食物連鎖を通じて魚類、鯨やアザラシなどの海産ほ乳類、及び海鳥までもへい死させることがある。赤潮や貝毒の原因となる植物プランクトンの数は300種を越え、これは全植物プランクトン種の約7%に相当する。

2. 赤潮・貝毒の現状

近年、世界的規模で赤潮や貝毒の発生頻度の増加及び広域化が起こり、それに伴う被害や新たな有害・有毒種の出現などが問題となっている。国際的には赤潮と貝毒を総称してHarmful Algal Blooms (HAB：有害藻類ブルーム)と呼んでいる。HAB発生海域の拡大や発生頻度の増加要因として、1) HABに関する科学的な関心の増大、2) 養殖漁業による沿岸水域の利用拡大、3) 排水(家庭、産業、農業)による水域の富栄養化あるいは地球規模の気候変動による環境変化、4) HABの発生源となるシスト(高等植物の種子に相当)の他海域への移動、などがあげられている。

3. 赤潮・貝毒はなぜ起こる？

HAB原因プランクトンの生理・生態特性は種により異なり、さらに発生には海域の海洋特性も関わるため、HABは原因種と発生海域の両面において特異的な現象と言える。

HABの発生には、大きく分けて三つの段階があると考えられている。第一の段階はHABの発生源となる初期個体群の加入である。原因種の中には、生活史の一時期に栄養細胞とは異なる耐久型の細胞を形成し、海底泥中で休眠生活を過ごすものがある。適度な環境条件が与えられると、これらの耐久細胞から栄養細胞が発芽して分裂・増殖し、初期個体群が形成される。第二段階は、適度な環境下における栄養細胞の増殖である。シストから発芽した栄養細胞は、光、水温、塩分、栄養塩といった物理・化学的な環境要因がととのえば、二分裂により急速に細胞密度を増大させる。この際、競合する植物プランクトンや捕食生物(動物プランクトンなど)の存在も個体群の動態に大きく影響する。第三段階はブルームの集積と持続である。これには、走光性のような生物的な要因のみならず、海水の鉛直安定度、潮汐や風による流れなどが関与する。

4. 赤潮の生物学的防除に向けて

近年、海水中に存在する殺藻微生物(細菌やウイルス)を赤潮防除のための生物農薬として用いる研究が進められている。微生物を赤潮防除に用いる上で必要な条件としては、それらが標的となる赤潮生物のみを殺藻すること、生態系の他の生物に対して影響を与えないことなどが挙げられる。このような条件を考慮した場合、宿主特異性が高いウイルスは有望な材料であると考えられる。我々は、有害赤潮プランクトンを溶藻するウイルスの分離・培養に成功し、これらを用いた赤潮防除の実用化に向けて、「規模」、「コスト」、「安全性」といった問題点を克服するための基礎研究を進めている。

ヒトは1日に15,000-20,000リットルの空気を摂取しており、21%を占める酸素を呼吸とともに酵素反応の基質としても利用しているが、約3%が活性酸素に変換されていると試算されている。物理的、化学的、生物学的な要因により、我々の体内では毎日100リットル以上の活性酸素が生成していることになる。酸素を活用している呼吸系では活性酸素を生成させない巧妙精緻な戦略が備えられているが、完全無欠ではないようである。金属イオンを隔離しておくことも活性酸素を生成させない戦略である。

活性酸素を分解するために、生体には分解用の酵素系が存在している。さらには活性酸素との反応性が高い、いわゆる抗酸化成分が食餌成分から供給されているし、ある種の抗酸化成分は生体内で合成されている。このような生体が備えている活性酸素を分解できる能力を超えた場合、あるいは分解のネットワークを潜りぬけた活性酸素は生体を構成しているタンパク質、脂質、糖質のみならず、遺伝子などあらゆる成分と、非特異的に（無目的に）反応して、酸化（劣化）させる暴れん坊として挙動する。活性酸素が老化や感染症以外の多くの病気の原因とされる所以である。

食餌の違いに依存して、抗酸化の能力が異なってくるのは当然であるが、遺伝子に支配されている分解のための酵素と抗酸化成分を合成する能力は個々人により違いがある。さらに生物にはエラーを修復したり、酸化・劣化した成分を回収・更新する能力が備わっており、これらの能力も遺伝的に支配されている。今後、長寿の家系と抗酸化能力や修復・更新能力との関連性が明らかにされるであろう。

紫外線、放射線、加熱なども活性酸素の生成源となる。あらかじめ加熱処理しておいた微生物は、前処理しなかった対照群よりも、再度の加熱によって死滅しにくい。活性酸素を生成させる薬剤を用いて、あらかじめ低濃度で処理しておく、活性酸素に対する耐性が高等動物においても獲得される。「放射線ホルミシス」なる用語は、低線量の放射線がないと生物は正常に生命維持できないことを意味する。最近「放射線は少し浴びた方が健康によい」と題する論文が出された。これらを演者なりに解釈する。

活性酸素は常時生成している。酸素を取り入れる限り避けることが出来ない。大部分は分解用の酵素と、抗酸化成分により消去されているが、一部により生体成分が酸化・劣化を受けている。食餌からの抗酸化成分の摂取とともに、活性酸素を分解したり、劣化成分を回収更新する能力は遺伝的要因にも大きく左右されている。瞬時に大量に生成する活性酸素はもちろん毒ではあるが、僅かに積極的に活性酸素を生成させて、分解系や修復・更新系を誘導・活性化しておけば、活性酸素に強くなれる。室内で、息を潜めてTVゲームに興じるよりも、適度な運動により酸素摂取量を高め、適度な活性酸素に触れていれば、突発的な活性酸素の生成にも対処が可能となる。

外来異物、特に病原菌の侵入に際して、白血球が活性酸素を生成して攻撃用のミサイルとして活用していることも、明示しておきたい。

祝

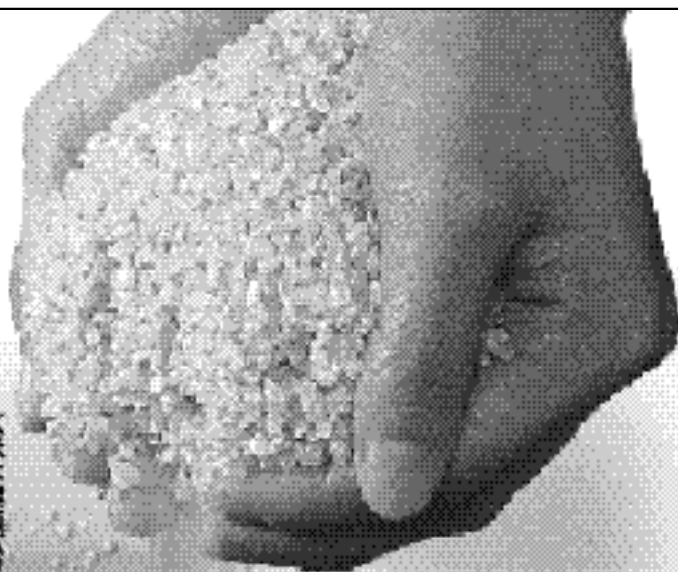
日本農芸化学会 中四国支部大会

株式会社海産物のきむらや
山陰建設工業株式会社
アルファー食品株式会社
株式会社井ゲタ竹内
合資会社キト研
大塚化学株式会社農薬肥料開発部
株式会社林原生物化学研究所天瀬研究所
島根県食品工業研究会
島根県酒造組合連合会
ホリエ・サケ・フーズ・アイ
湧永製薬株式会社
インビトロジェン株式会社
タイテック株式会社
株式会社レッチェ
株式会社医学生物学研究所
株式会社猪原商会
協和発酵工業株式会社防府工場
ホシザキ電機株式会社島根工場
有限会社友田大洋堂
小西医療器株式会社
ヤマノ株式会社
隠岐酒造株式会社
島根ワイナリー
アサヒビール株式会社島根支店
キリンビール株式会社島根支店
山陰中央ヤクルト販売株式会社
財団法人くにびきメッセ
松江市
島根県
島根大学生物資源科学部生命工学科 第3期卒業生一同

(順不同)

※協賛いただきました上記企業・団体に大会実行委員会より厚く御礼申し上げます。

玄米のイキイキ成分、閉じ込めました！



玄米は健康パワーの源であることは昔から知られています
ギャバ、イノシトール、γオリザノール、セラミド、
玄米に含まれるこれらの成分をたっぷりとり、凝縮したのが
白いお米の強化米、「げんじ」と「かがやき」です。
健康成分をおいしくお召し上がりいただきたいと
願いをこめました。

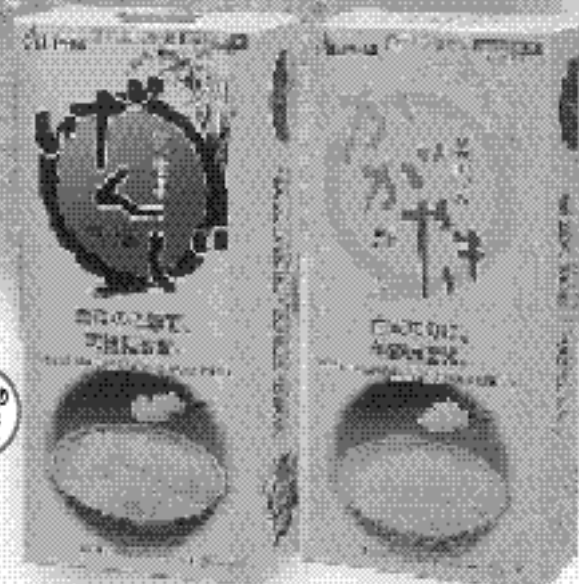
命田有光三郎、又「八一」番道三、左近衛下左衛門尉、京極へはたけ

健康源のあなたに

玄米加工入り
健康米
ばんじ

お肌ツルツル源のあなたに

五里セラミド入
美肌米
おひやき



豊前米げんじ(文庫)

雙肌果かがやき(調)

廣東化學
技術雜誌

2002年度農芸化学技術賞 受賞

玄米成分強化米

特許取崩済 3072102号

★アルファー食品株式会社

お客様相談室 ☎0120-53-2518

島根県簸川郡大社町北荒木645

<http://www.fd.alpha-come.co.jp/>



可能性への 挑戦

体外診断用医薬品

・ジーンカラーHLA-DR®

・ジーンカラーomega-spc

研究用試薬

・HLAタイプニング試薬

・ペロ毒素運伝子検出試薬

・ureA遺伝子検出試薬

・K-resコドン12変異検出試薬

21世紀を見据え、ワクナガはパイオ診断薬や創薬ベンチャーの分野にも果敢に挑戦し、医療の最前線で着実に実績を積み重ねてまいります。ワクナガは独自に蓄積した技術と発想により、人々の健康な未来に向けて、日々新たな地平を切り拓いてまいります。

お問合せ先

広島事業所 新事業開発部

電話（直通）・・・(0826)45-2334

ファックス・・・(0826)45-4624

製造元

ワクナガ製薬株式会社

大阪府淀川区宮原4丁目5-36

Gateway Technology for cloning and expression

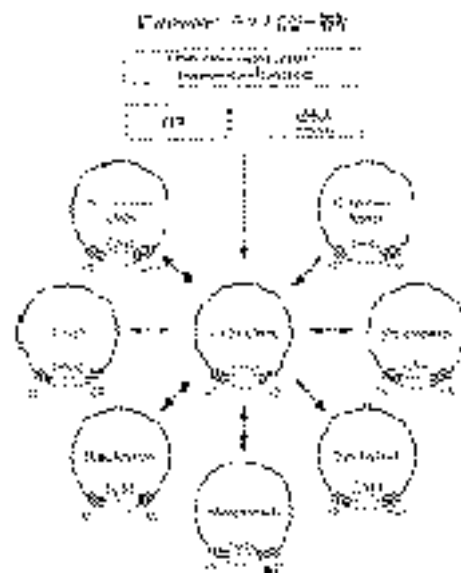
Access the possibilities



1. 2014年12月31日，甲公司“应付账款”科目贷方余额为100万元，其中明细科目贷方余额有80万元，借方余额有20万元；“预付账款”科目借方余额为20万元，其中明细科目借方余额有15万元，贷方余额有5万元。不考虑其他因素，甲公司12月31日资产负债表“应付账款”项目应填列的金额为（ ）万元。
 A. 80
 B. 100
 C. 105
 D. 120

0.8000 4 7 822 308254 0

- 「フューチャリアー」など未来派雑誌、なかの
「科学文庫」や「サイエンス・フィクション」の
1990年代の「ブレイク」期。
- 1980、90年代、SF小説の隆盛、おなじみの
読者の「フューチャー」の登場（「フューチャー」
はSF小説）。
- SF小説のブレイク（1990年代）の「フュー
チャー」の登場（「フューチャー」はSF小説）。



 Gateway®はNEDOプロジェクトで使われております。

001 10000717213 023

3437

Kevitrogen Corporation

51.7.25.2014

インテリジェンス株式会社

[illegible]

酵母の破碎

に最適の自動乳鉢

モルターグラインダー-RM100



■ 高い再現性

粉碎圧力を機械的に設定可能です。

■ 凍結粉碎が可能

蛋白質の分解を抑えられます。

■ 密閉型ハウジング

粉碎中の試料が飛散しません。

■ 微量から大量スケールまで

10～150mlまでの処理が可能です。

■ 国内納入先：島根大学、久留米大学、京都大学他

■ 海外納入先：The Scripps Research Institute(米),
ICRF, Clare Hall Laboratories(英),
MRC, University of Essex(英) 他

■ 本機を用いた主要参考文献

1. Cid 13 Is a Cytoplasmic Poly(A) Polymerase that Regulates Ribonucleotide Reductase mRNA

Shigeaki Saitoh, Andrei Chabes, W. Hayes McDonald, 他 "Cell" vol. 109, 2002

2. Mus81-Eme1 Are Essential Components of Holiday Junction Resolvase

Michael N. Boddy, Pierre-Henri L. Gaillard, W. Hayes McDonald 他 "Cell" vol. 107, 2001

細胞の破碎

には

ミキサーミルMM200

■ 検体とボールを入れた容器を水平方向に
高速で往復運動させ、試料を破碎します。

■ マイクロ遠心チューブを使えば、多検体
(10又は20個)を同時処理できます。



Retsch®

株式会社 レツチェ

<http://www.retsch.co.jp>

本社：〒106-0047 東京都港区南麻布2-10-2 シェラン南麻布 3F

Tel:03-5418-9631 Fax:03-5418-9632 info@retsch.co.jp

大阪：〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-3-32 第2新大阪ビル403

Tel:06-6101-0510 Fax:06-6101-0511 osaka@retsch.co.jp



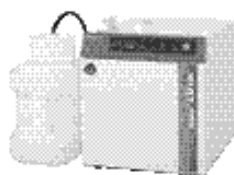
自然と人が調和した、豊かな未来のために。

ホシザキは、施設の衛生管理や環境保全型農業など、
様々な分野で電解機能水の有効利用を推進しています。

電解水生成装置

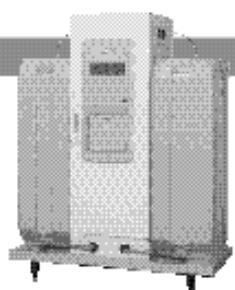
ROXシリーズ

ホシザキの
ROXシリーズは、
強アルカリ性電解水と
強酸性電解水を大量供給。
簡単な操作で使用できます。



ROX-20TA

強アルカリ性電解水約 **2.8t**/日
強酸性電解水約 **2.8t**/日

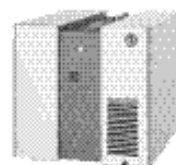


ROX-15SA

強アルカリ性電解水約 **2.2t**/日
強酸性電解水約 **2.2t**/日

調理用電解水生成装置

HOXシリーズ



HOX-60PA

アルカリ性水約 **2.0~6.0L**/分
酸性水 約 **2.0~6.0L**/分

ホシザキ電機株式会社

本社/〒479-1164愛知県豊田市長町東路5-16 電話0662-87-2111
●品管本社工場 ●第一工場 ●第二工場 ●第三工場 ●機油工場

坂本商事株式会社

本社/〒409-1168愛知県豊田市長町東路5-16 電話0662-87-2110
東京支店/〒105-0074東京都港区高輪2-20-52 電話03-5791-8021
大阪支店/〒542-0061大阪府中央区南船場4-10-10 電話06-6244-9901

全国約420ヶ所の販売拠点と、世界に広がるネットワーク。

●ホシザキ北海道株式会社

●ホシザキ東北株式会社

●ホシザキ北関東株式会社

●ホシザキ関東株式会社

●ホシザキ東海株式会社

●ホシザキ中国南株式会社

●ホシザキ北中国株式会社

●ホシザキ東海株式会社

●ホシザキ京浜株式会社

●ホシザキ関西株式会社

●ホシザキ中国南株式会社

●ホシザキ中国南株式会社

●ホシザキ北中国株式会社

●ホシザキ南中国株式会社

●ホシザキ中国南株式会社

●ホシザキ東海株式会社

●ホシザキアメリカ JNC

●ホシザキヨーロッパ LTD.

●ホシザキヨーロッパ B.V.

●ホシザキ北京事務所

祝「日本農芸化学会中四国支部大会」

ユーザーニーズに対応する
研究室の総合ディーラー

営業品目

バイオ・遺伝子・分子生物関連製品
クリーンルーム・研究設備
理化学機器・試薬・硝子器具など

有限
会社 友田大洋堂

本社 松江市鯉島町 13-34 TEL 0852-24-3456
〒690-0047 E-Mailアドレス : tomoda@de.mbn.or.jp FAX 0852-24-3461

鳥取営業所 鳥取市雲山 147-4 TEL 0857-22-4156
〒680-0862 E-Mailアドレス : ttomoda@bl.mbn.or.jp FAX 0857-22-4155

協賛メーカー

アプライドバイオシステムズジャパン(株)

タカラバイオ(株)

東京理化器械(株)

東洋紡績(株)

日本バイオ・ラッド ラボラトリーズ(株)

日本ミリポア(株)

抗体作製のご案内

MBL

ポリクローナル抗体/モノクローナル抗体

← 2-3ヶ月でご希望の抗血清をお届けします →

当社では、市販されていない抗体や特殊な蛋白質、ペプチドなどに対する抗体の作製を行っています。抗体メーカーとしての技術を活かし、細かなご要望にお応えできる体制をとっており、作製中も進行状況などすぐにお問い合わせいただけます。



ポリクローナル抗体の作製

・ウサギの他、多種動物ポリクローナル抗体作製も受託しております。
詳細はお問い合わせください。(マウス、ラット、モルモット、ハムスター)



モノクローナル抗体の作製

・マウスの他、ラットのモノクローナル抗体作製も受託しております。
詳細はお問い合わせください。



抗血清の加工 (FITC, HRP, Biotin)



合成ペプチドの作製

・抗原部位の検索サービス
・リン酸化等の各種ペプチド修飾
(抗体作製をご依頼いただく場合に限ります。)



リコンビナント抗原の作製

・発現系の構築 (大腸菌)
・リコンビナントタンパク質の発現・精製
(抗体作製をご依頼いただく場合に限ります。)

製造・発売元

MBL

(株)医学生物学研究所

URL : <http://www.mbl.co.jp>

〒460-0002 名古屋市中区丸の内3丁目5番10号 住友商事丸の内ビル5階

TEL(052)971-2081 FAX(052)971-2337

抗体作製のご用命・お問い合わせは

試薬推進部: TEL(052) 971-2089, Fax (052) 950-1073

e-mail : order@mbl.co.jp

MBLホームページから注文書をダウンロードできます。



「おだいじに」も。

人々の健康と豊かさです。

その願いは一つ、

製品はさまざまですが、

協和発酵の

とり戻すための医薬品など、

そして損なった健康を

楽しんでもらえる飲料、

健康だからこそ

健康に役立つ食品や

このように、

処方される協和発酵です。

病院や診療所で

高血圧のクスリ。

がんやアレルギーや

おいしい協和発酵です。

食べたり飲んだり、

ワイン、焼酎、梅酒。

たまごスープ、おかゆ、パン。

「めしあがれ」も、

**協和発酵**

東京都千代田区大手町1丁目6番1号 電話03-3282-0980

ホームページアドレス <http://www.kyowa.co.jp/>



山陰建設工業株式会社 バイオ事業部



● 100% 有機質
主成分 71% 以上
12 年 10 月 25 日現在
登録商標

バイオキトラン G-1

微生物肥料キトサン

バイオキトラン G-1 で抗菌力アップ

バイオキトラン G-1 は植物活性を高め、
病害に強い健やかな体力を育て栄養豊富な
野菜や果実作りのお手伝いを致します。

〒699-0822 島根県出雲市西沖町 2334-2
TEL 0853-43-3008 FAX 0853-43-1139

<http://www.sanin-ik.co.jp/>



Osake テラピー

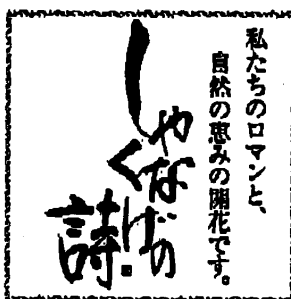
おいしく飲んで、美しく。

松江市袖師町 4 番 8 号

島根県酒造組合連合会

TEL 0852-26-5595

FAX 0852-26-5739



隠岐酒造株式会社

島根県隠岐郡西郷町大字原田 174
(08512) 2-1111 (代)



<<< 光学機器の総合商社 >>>

株式会社 猪原 商会

〒730-0001 広島市中区大手町3丁目6番1号

TEL 082(240)1400 FAX 082(240)1200

■web page http://www.inohara.co.jp

■営業所：岡山・山口・高松・徳山・沖縄



TAMATUBAKI

YAMANO



SHOYU



島根県安来市黒井田町8番地1

TEL 0854-22-2165

FAX 0854-22-4056

E-mail: aKaeya@ruby.ocn.ne.jp

生命の尊さを見つめて明日の医療に貢献する

 小西医療器株式会社

米子営業所	〒683-0845	米子市旗ヶ崎2219	Tel (0859)33-4671	FAX(0859)33-4744
鳥取営業所	〒680-0911	鳥取市千代水4丁目53	Tel (0857)28-7107	FAX(0857)28-7109
出雲営業所	〒693-0021	出雲市塩冶有原町5丁目59	Tel (0853)22-9255	FAX(0853)22-5738
松江営業所	〒690-0038	松江市平成町182番地32	Tel (0852)25-1590	FAX(0852)27-7116
浜田営業所	〒697-0005	浜田市上府町イ1835-4	Tel (0855)24-3533	FAX(0855)22-2846
山陰商品センター及びS P D事業部		山陰地区		
	〒690-0038	松江市平成町182番地32	Tel (0852)25-1590	FAX(0852)27-7116
本社	〒540-0031	大阪市中央区北浜東2番10号	Tel (06)6941-1363(代)	FAX(06)6944-0198
営業所	札幌・仙台・東京・名古屋・神戸・広島・福岡 工場:枚方			

お母さんみたいに やさしい味。



お母さんは
いつも家族の中心にいます。

お母さんのやさしい手。
お母さんの確かな目。

お母さんの手料理のように
あったかい食品を
海産物のきむらやから
お届けします。



株式会社 海産物のきむらや
鳥取県境港市渡町3307番地(〒684-0072)
TEL.0859-45-8555(代表)FAX.0859-45-8561