

平成15年度日本農芸化学会西日本支部、中四国支部、日本栄養・食糧学会西日本支部、
日本食品科学工学会西日本支部鹿児島合同大会およびシンポジウム
<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/jsbba-west>

日時： 平成15年9月19日（金）、20日（土）

会場： 鹿児島大学工学部共通棟および稲盛会館（鹿児島市郡元1-21-40）

合同大会実行委員長： 竹田靖史（鹿児島大学農学部）

【19日】一般公演 9:00～17:00

会場： 鹿児島大学 工学部共通棟

【19日】懇親会 会場： いわさきホテル・ザビエル450

鹿児島市 東千石町12-22（天文館電停前）Tel： 099-239-3336

【20日】シンポジウム

会場： 鹿児島大学稲盛会館

特別シンポジウム 10:00～12:30 「生体制御に関わる新しい物質と機構」

一般シンポジウム 14:30～16:30 「21世紀の食の機能と健康—かごしまからの発信」

[シンポジウムプログラム]

特別シンポジウム「生体制御に関わる新しい物質と機構」

外因性ステロール代謝異常の遺伝的背景 今泉 勝己（九大院農）

新規脂肪酸結合タンパク質とその機能 岡 達三（鹿大農）

分裂酵母の減数分裂過程を制御する新たな因子 川向 誠（島根大生）資

食品機能成分のシグナル伝達と遺伝子制御 侯 徳興（鹿大農）

放線菌の低分子ホルモン A-ファクターによる形態分化、二次代謝の制御ネットワーク
堀之内末治（東大院農）

一般シンポジウム「21世紀の食の機能と健康—かごしまからの発信」

乳と骨の健康 青木 孝良（鹿大農）

ウイルス発癌の化学予防—緑茶ポリフェノールによるHTLV-I抑制

園田 俊郎（鹿大医・鹿大地域共同セ）

食品とアレルギー 辻 英明（岡山県立大保健福祉）

食と免疫 山田 耕路（九大院農）

座長一覧

	A1	A2	A3	A4	B1	B2	D1	D2
am1	望月 聡	岡 達三	貞包治夫	藤田修二	有馬一成	南 雄二	中山二郎	阿座上弘行
am2	大分大	鹿児島大	尚綱短大	佐賀大	鹿児島大	鹿児島大	九州大	山口大
am3								
am4		白畑寛隆	宮本敬久					
am5	西山和夫	九州大	九州大	寺原典彦	米澤弘夫	木村吉伸		
am6	宮崎大			南九州大	鹿児島大	岡山大	芦内 誠	浴野圭輔
am7			H.R.ｲﾌﾞﾗﾐ				高知大	崇城大
am8		境 正	鹿児島大					
am9	窄野昌信	宮崎大			山上 健	澤 嘉弘	—	
am10	宮崎大		井越敬司	受田浩之	九州大	島根大		
am11			九州東海大	高知大			神田康三	牟田滋
am12		照屋輝一郎					佐賀大	九州大
am13	柳田晃良	九州大	松富直利		平良東紀	内木場哲也		
am14	佐賀大		山口大		琉球大	鹿児島大		
am15								
				C1				
pm1	福田亘博	永尾晃治	太田英明	岡崎百年	麻生陽一	稲垣賢二	榊原陽一	廣瀬 遵
pm2	宮崎大	佐賀大	中村短大	愛媛大	九州大	岡山大	宮崎大	宮崎大
pm3								
pm4			北原兼文					
pm5	西園祥子	高畑京也	鹿児島大	山内聡	河野智謙	片倉喜範		
pm6	長崎シ大	岡山大		愛媛大	北九大	九州大	関 清彦	酒井謙二
pm7			和田浩二				佐賀大	大分大
pm8			琉球大					
pm9	田中一成	秋 庸裕		山田直隆	石川孝博	松元俊彦		
pm10	長崎シ大	広島大		九州大	島根大	崇城大	神崎 浩	
pm11			吉元誠				岡山大	
pm12			九冲農研					
pm13	関谷敬三	井上祐一		金 哲史	角田佳充	今野晴義		
pm14	九冲農研	鹿児島大		高知大	九州大	岡山大	山浦 泉	
pm15			大庭理一郎				崇城大	
pm16			崇城大	吉川博道				
pm17		叶内宏明		九共大	石原昌信	田村 隆		
pm18		川崎医大			琉球大	岡山大		
pm19								
pm20								

[一般講演プログラム] 発表時間10分、質疑応答2分、OHPによる講演

A1 <201 教室 栄養・食品・分析>

- | | | |
|------|-------|--|
| am1 | 9:00 | 「健康日本21」と野菜の摂取状況について ○陶山敦子 1)、宮崎貴美子 1)、矢野治江 2) (1)香蘭女子短大、2)中村学園大・栄・栄養科学) |
| am2 | 9:12 | スイゼンジノリの培養および機能性食品としての可能性 ○梶田聖孝、岡本智伸、井越敬司、小林弘昌、小野政輝、増岡智加子、伊東保之 (九州東海大・農) |
| am3 | 9:24 | 奄美スモモの食品機能性について ○柳田崇至、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・農) |
| am4 | 9:36 | 落花生の生体調節機能性 大庭理一郎 1)、○千々松陽成 1)、石坂智 2)、西村賢了 3) (1)崇城大・応微工、2)熊本煎豆、3)熊本県工技セ) |
| am5 | 9:48 | 新規高圧気密釜製法による釜炒り茶の生理機能 ○安田みどり 1)、近藤道男 1)、尊田民喜 2)、江口勝平 3)、江口亜由美 3) (1)西九大・健福、2)西九大院・健福、3)茶乃芽園) |
| am6 | 10:00 | 鯉節血合いタンパク質結合鉄の生体利用性について ○松本淳一 1)、森 奈保美 1)、吉村憲和 1)、土居幹治 1)、岸田太郎 2)、海老原 清 2) (1)マルトモ、(株)2)愛媛大・農・栄養科学) |
| am7 | 10:12 | 動物骨コラーゲン由来アンギオテンシン変換酵素阻害ペプチド ○吉原慎二郎 1)、上島良介 1)、河原 聡 1)、山内 清 1)、中出浩二 2)、沼田正寛 2)、中村豊郎 2)、六車 三治男 1) (1)宮崎大・農・食品機能化学、2)伊藤ハム(株)中央研究所) |
| am8 | 10:24 | 食餌制限食、タンパク欠乏食、食餌制限及びタンパク欠乏食により誘発する骨粗鬆症の比較 ○孫麗曼 1)、石丸哲二 2)、大田豊 3)、勝山直文 3)、玉城一 1)、知念功 1) (1)琉球大農、2)大分県武蔵中学、3)琉球大農) |
| am9 | 10:36 | カルシウム欠乏食により誘発する骨粗鬆症の特徴 ○石丸哲二 1)、孫麗曼 2)、大田豊 3)、勝山直文 3)、玉城一 2)、知念功 2) (1)大分県武蔵中学校、2)琉球大・農、3)琉球大・医) |
| am10 | 10:48 | ザクロエキスの抗関節炎効果 ○渡辺 祐子、大森 敬之、小杉 信彦、水谷 宏、中田 悟、小西 宏明 (メナード化粧品・総研) |
| am11 | 11:00 | ラット肝および小腸におけるクロロゲン酸の加水分解 ○太田千穂、古賀信幸、石井利直、太田英明 (中村学園大・栄養科学) |
| am12 | 11:12 | コーヒーおよびその成分摂取がアポリポタンパク質 E 欠損マウスにおける動脈硬化症の進展に及ぼす影響 ○浅野間将志、佐藤匡央、今泉勝己 (九州大・農・栄養化学) |
| am13 | 11:24 | SHRSP ラットの寿命に及ぼす硬化大豆油成分の影響 ○長曾俊郎、市育代、佐藤匡央、池田郁男、今泉勝己 (九州大・農・栄養化学) |
| am14 | 11:36 | 食餌レクチンによるラットのコレステロール代謝への影響 ○萱島知子、片山徹之 (広島大院・教育学) |
| am15 | 11:48 | コレステロール7 α 水酸化酵素 mRNA の合成に対する食事時間およびインスリンの影響 ○酒匂麻紀子 1)、海老原綾子 2)、立野美和 3)、川崎智子 4)、吉田みゆき 5)、猿渡りえ 6)、瀬戸口賀子 4) (1)天辰病院、2)三州病院、3)横山病院、4)鹿児島純心女子大・健康栄養、5)立石食品、6)厚生連病院) |
| pm1 | 13:00 | Theasinensin による COX-2 遺伝子発現の制御について ○益_ 智子、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・農) |
| pm2 | 13:12 | 烏龍茶成分による COX-2 遺伝子発現の制御 ○村上亜希子、侯 徳興、橋本文雄、坂田祐介、藤井 信 (鹿児島大・農) |
| pm3 | 13:24 | 低分子化アルギン酸ナトリウムのラット脂質代謝に及ぼす影響」 ○富永香織、徳田奈緒子、前浜祥子、牧野 望、西園祥子、田中一成 (県立長崎シーボルト大・看護栄養・栄養化学) |
| pm4 | 13:36 | ラット血清成分などへの影響を指標とした柑橘中のオーラブテン生理活性解析 ○赤星亜朱香 1)、金田尚子 1)、下田亜沙子 1)、工藤康文 2)、菅野道廣 1) (1)熊本県立大環境共生、2)熊本県食品加工所) |
| pm5 | 13:48 | リゾホスファチジルイノシトールの分子種分析とその生理活性 ○岩脇 大、盛重純一、村上薫、田中 保、里内 清 (福山大・生命工・応用生物) |

pm6	14:00	ウコギ葉熱水抽出物による抗肥満作用 ○村上 薫 1)、村上 蘭 1)、田中 保 1)、菊田安至 1)、吉積一真 2)、辻 智子 2)、里内 清 1) (1)福山大・生命工・応用生物、2)ファンケル中研)
pm7	14:12	大豆イソフラボンは脂肪細胞を小型化させる ○関谷敬三 (独) 農研機構・近中四農研)
pm8	14:24	共役リノール酸の抗肥満・抗高脂血症作用に関する研究 ○井上奈穂、永尾晃治、王玉明、柳田晃良 (佐賀大・農・応生科)
pm9	14:36	持久性トレーニングによる筋肉でのケトン体および酢酸利用の増加 ○山下広美、金行孝雄 1)、西江知子、辻岡智子、伊月あい、木本真順美、比江森美樹、辻英明 (岡山県大・保健福祉・栄養、1)くらしき作陽大・栄養)
pm10	14:48	ニシヨモギの血糖値低下作用に関する研究 ○鎌田靖弘、豊川哲也、照屋正映、市場俊雄 (沖縄県工技センター)
pm11	15:00	マウスの摂食・摂水日内リズムに及ぼす香辛料の影響ー糖尿病マウスと正常マウスの比較ー ○大和孝子、青峰正裕 (中村学園大・栄養科学)
pm12	15:12	発酵乳ケフランケフィアの抗糖尿病効果 ○奥田聡子 1)、照屋輝一郎 1,2)、藤島沙織 1)、田中稔一 2)、片倉喜範 1,2)、徳丸千之助 3)、徳丸浩一郎 3)、D.Barnes4)、白畑實隆 1,2) (1)九大院生資環・遺資工、2)九大院システム生命・生命工学、3)日本ケフィア(株)、4)MDI Bio Lab.)
pm13	15:24	1、5-D-アノヒドロフルクト - スの抗う蝕作用 ○藤末真実 1)、安部淳一 2) (1)日本澱粉工業(株)、2)鹿児島大・農)
pm14	15:36	タマネギ外皮抽出物の糖質代謝酵素阻害活性について ○瀬部和美、進藤直文 (西九州大 健康栄養)
pm15	15:48	ラット小腸粘膜微絨毛によるセロビオースの水解活性とその機序 ○中村禎子、奥 恒行 (県立長崎シーボルト大・院・人間健康科学研究科)
pm16	16:00	にんにく卵黄の血液流動性改善効果 ○塩月千賀 1)、田中幸子 1)、侯 徳興 2)、藤井 信 2) (1)健康家族(株)、2)鹿児島大・農・食品機能化学)
pm17	16:12	ローヤルゼリーの抗アトピー性皮膚炎誘導マウスに対する効果 ○渋谷 孝、谷口美文、河野恵三、岩城完三、池田雅夫、福田 恵温、栗本 雅司 (林原生化研・天瀬研究所)

A2 <202 教室 栄養・食品・分析>

am1	9:00	植物化合物による癌細胞のアポトーシス誘導： 活性酸素とアポトーシスについて ○竹下 徹、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・農)
am2	9:12	Gossypol はミトコンドリアの傷害を介して癌細胞のアポトーシスを誘導する ○宇都拓洋、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・連合農学)
am3	9:24	香辛料中の Echinosystic acid による HL-60 細胞のアポトーシス誘導機構の解析 ○童 旭輝、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・連合農学)
am4	9:36	HL-60 細胞における Ampelopsin のアポトーシス誘導機構の解析 ○久保真弓、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・農)
am5	9:48	中国生薬・食材の抗酸化能および抗癌能の解析 ○城野千尋、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・農)
am6	10:00	大黃レインは活性酸素非依存的なミトコンドリアの傷害による HL-60 細胞のアポトーシスを誘導する ○林 世剛、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・連合農学)
am7	10:12	ウコンによる細胞形質転換の抑制および癌細胞のアポトーシスの誘導 ○若松美香、侯 徳興、藤井 信 (鹿児島大・農)
am8	10:24	プロアントシアニジンによる HL-60 細胞のアポトーシス誘導および作用機構の解析 ○森下暁子、侯 徳興、橋本文雄、坂田祐介、藤井 信 (鹿児島大・農)
am9	10:36	フコイダン混合食品のガン抑制効果 ○前村基子 1)、立川大介 1)、2)、中溝公次 1)、高尾秀樹 1)、侯 徳興 3)、藤井 信 3) (1)NPO 法人フコイダン研究所、2)松崎記念病院、3)鹿児島大・農・食品機能化学)
am10	10:48	黒酢の抗腫瘍機能 ○益満隆宏 1)、飯迫仁志 2)、小橋孝章 3)、侯 徳興 3)、藤井 信 3)、長野正信 4) (1)鹿児島大・農学連大、2)鹿児島大・農学研究科、3)鹿児島大・農・食品機能化学、4)坂元醸造(株))

am11	11:00	焼酎粕の生理機能：抗酸化能および抗腫瘍能 ○桐野智美 1)、大迫美穂 2)、吉留朋尚 2)、池田浩二 2)、吉元 誠 3)、倉田理恵 3)、侯 徳興 1)、藤井 信 1) (1)鹿児島大・農学研究科、2)田苑酒造(株)、3)農研機構・九州沖縄農研・畑作研究部)
am12	11:12	Baked Sweet Potato Induced Apoptosis and Suppressed Cell Transformation ○イセルモ ウレド ラバ 1)、笹平智子 2)、小峰修一 2)、鮫島吉廣 2)、橋本文雄 1)、侯 徳興 1)、藤井 信 1) (1)鹿児島大連合農学研究科、2)薩摩酒造(株))
am13	11:24	ヒトNK細胞株、Y T細胞の細胞傷害能に対する黒酢の効果 ○飯迫仁志 1)、益満隆宏 2)、侯 徳興 1)、藤井 信 1)、長野正信 3) (1)鹿児島大・農学研究科、2)鹿児島大農学連大、3)坂元醸造(株))
am14	11:36	白血病ガン細胞においてミトコンドリア経路のアポトーシスを誘導する新規細胞損傷タンパク質 ○天野浩未 1)、山際雅詩 1)、赤尾哲之 2)、水城英一 2)、大庭道夫 3)、酒井 裕 1) (1)岡山大・自然科学、2)福岡県工技セ、3)九州大院・農)
am15	11:48	シアニジン-3-β-D-グルコシド(C3G)を主成分とする黒大豆種皮抽出物のアポトーシス誘導作用 馬信貞、三浦由恵、多田幹郎 1)、羽田尚彦 2)、高畑京也 3) (1)岡山大・自然科学研究科、2)備前化成、3)岡山大・農学部)
pm1	13:00	乳癌細胞の増殖に及ぼすビタミン B6 の効果 ○福田あゆみ 1)、島田 大 1)、叶内宏明 2)、松元光春 1)、川崎安亮 1)、岡 達三 1) (1)鹿児島大・農・獣医、2)川崎医科大・医・生化学)
pm2	13:12	リソソーム崩壊を伴った 10trans, 12cis 共役リノール酸によるアポトーシス誘導効果 ○山崎正夫 1, 2)、農新介 2)、立花宏文 1)、山田耕路 1) (1)オーム乳業・開発部、2)九大院・生機科)
pm3	13:24	培養癌細胞増殖に対する機能性食品の抑制効果 ○坂口悦基、船越崇行 (九州看護福祉大・看護)
pm4	13:36	電解還元水-白金コロイド系によるガン細胞の増殖抑制 ○荒巻真介 1)、浜崎武記 1)、小松生明 1)、照屋輝一郎 2)、片倉喜範 2)、大坪一道 3)、森澤新勝 3)、白畑寛隆 2) (1)九大院・生資環・遺資工、2)九大院システム生命科学、3)株式会社日本トリム)
pm5	13:48	活性酸素による白血病細胞 U937 の増殖抑制に対する抗酸化性物質の影響 ○古谷千晴 1)、竹内文乃 1)、三浦由恵 1)、金子孝夫 2)、中島修平 1)、馬場直道 1) (1)岡山大農、2)東京都老人総合研究所)
pm6	14:00	ニガウリのメタノール抽出画分がハムスターの血清および肝臓脂質成分に及ぼす影響 ○G.V.K. Senanayake 1)、丸山美鶴 1)、窄野昌信 1)、福田亘博 1)、森下敏郎 2)、柚木崎千鶴子 2)、河野幹雄 2)、太田英明 3) (1)宮崎大・農・応用生物科学、2)宮崎県食品開発センター、3)中村学園大・食物栄養学)
pm7	14:12	台湾産シジミ抽出物がラットの肝機能に及ぼす影響 ○望月 聡 1)、宮木寛子 1)、山田亜希子 1)、千々松武司 2)、秦 政博 2) (1)大分大・教育福祉、2)株式会社自然食研)
pm8	14:24	DDT摂取ラットにおける肝臓および血清脂質含量と薬物代謝酵素活性に対するイノシトール異性体の影響 ○岡崎由佳子、片山徹之 (広島大院・教育学)
pm9	14:36	香草、香辛料によるヒスタジン脱炭酸酵素阻害活性 ○川口 洋、松田知子、山下美沙子 (くらしき作陽大・食文化)
pm10	14:48	緑茶カテキンのヒスタミン放出抑制活性におけるミオシン軽鎖の関与 ○梅田大介、立花宏文、清原祐子、山田耕治 (九大院・農・生機科)
pm11	15:00	高親和性 IgE 受容体発現抑制活性を指標とした野菜・果物抽出物の抗アレルギー性評価 ○矢野知美、立花宏文、山田耕治 (九大院・農・生機科)
pm12	15:12	Epigallocatechin-3-O-gallate の高親和性 IgE 受容体発現抑制作用への細胞膜マイクロドメイン"脂質ラフト"の関与 ○藤村由紀、立花宏文、山田耕路 (九大院・農・生機科)
pm13	15:24	スギアレルギー Cry1 の多糖修飾によるマスキング 臼井将勝、○西島範章、青木理恵子、阿座上弘行、加藤昭夫 (山口大・生物機能化学)
pm14	15:36	ホヤ発症抗原 DIIIa の主要アレルギー ○重田征子、脇坂武利、秋庸裕、小埜和久 (広島大・院・先端研・分生化)

pm15	15:48	キノコ子実体の Immunomodulatory protein の分布 ○長崎寛規、八木史郎 (鹿児島大・農・生命機能化学)
pm16	16:00	植物 N-グリカンの細胞性免疫調節活性 松田史子 1)、前田恵 2) 木村万里子 3)、岡野光博 4)、○木村吉伸 1、2) (1)岡山大・農・生物資源化学、2)岡山大院・自然科学研究科、3)くらしき作陽大・フードシステム、4)岡山大院・医歯学総合)
pm17	16:12	クローン病モデルラットにおける腸間膜リンパ節 (MLN) リンパ球の機能変化 ○南 久則、河野 慶子、馬場 昌子、鈴木 千賀、北野 旭美 (熊本県立大・環境共生)
pm18	16:24	豆乳およびイソフラボンの継続摂取がヒト唾液 IgA 濃度に及ぼす影響 ○西村和子、一ノ瀬史香、赤星亜朱香、菅野道廣 (熊本県立大環境共生)
pm19	16:36	アスコルビン酸誘導体のサイトカイン産生に及ぼす影響 ○松下一史、松村拓大、田井章博、山本 格 (岡山大・薬)
pm20	16:48	霧島の関平鉱泉水はナチュラルキラー活性を亢進する。 ○和田純孝 1)、音川国昭 1)、侯 徳興 2)、藤井 信 2) (1)鹿児島県牧園町役場、2)鹿児島大・農・食品機能化学)

A3 <301 教室 栄養・食品・分析>

am1	9:00	加圧カーボネーション法による Bacillus 属細菌胞子の殺菌 ○松井宏夫 1)、松浦タ子 2)、井倉則之 3)、下田満哉 3)、早川 功 3) (1)九大院・生資環、2)九大・農・生資環、3)九大院・農)
am2	9:12	サルモネラ及びカンピロバクターの低温高圧殺菌 ○廣 紀彦 1)、井倉則之 2)、下田満哉 2)、早川 功 2) (1)九大院・生資環、2)九大院・農)
am3	9:24	自動化蛍光顕微鏡装置による生乳中の生菌数迅速測定法 ○村田泰子 1)、宮本敬久 2)、上門英明 3)、青木史樹 3)、野田直広 4)、丸山 幸治 5)、飯尾雅嘉 2) (1)九大院・生物資源環境科学府・生物機能科学、2)九大院・農・生物機能科学、3)明治乳業(株)、4)(株)富士電気総合研究所、5)日東電工(株))
am4	9:36	コーヒーの持つ抗菌性についての検討 ○貞包治夫 (尚絅短大・専攻科・食物栄養)
am5	9:48	ヤムイモ塊茎由来の抗菌タンパク質の精製と諸性質 ○荒田真知子、南雄二、田寺謙次郎 (鹿児島大・農・生命機能化学)
am6	10:00	リポソーム法による食品用機能性マイクロカプセルの開発 ○下田佳裕、石川洋哉 1)、松本 清 1) (九大院生資環、1)九大院農)
am7	10:12	脂肪酸エステルをマトリックスとした親水性物質包含カプセルの調製 ○目崎智子、田口佳成、田中真人 (新潟大・工)
am8	10:24	逆相エマルション系を利用した油性フレーバー包含マイクロカプセルの調製 ○石倉庸子、田口佳成、田中真人 (新潟大・工)
am9	10:36	希少糖D-プシコースで修飾した卵白の加熱形成ゲルのレオロジー特性 ○孫 媛霞 1)、早川 茂 2)、石田智之 3) (1)香川県産業支援財団、2)香川大・農・食糧化学、3)香川大・農・生命機能科学)
am10	10:48	乳カゼイン添加による卵白加熱ゲルの改善、その分子機構の解明 ○森脇裕美、松富直利 (山口大・農・生物機能化学)
am11	11:00	魚肉すり身加圧および加熱ゲルの物性と微細構造の比較 ○木村淳子 1)山田愛 2)、吉岡慶子 2)、池内義英 3) (1)中村学園大・院、2)中村学園大・栄養科学、3)九大院・農・生物機能科学)
am12	11:12	リン酸塩存在下での乾燥加熱による卵白タンパク質のリン酸化—リン酸基の結合様式について— ○李_ 鵬 1)、Hisham R. Ibrahim2)、杉元康志 1)、青木孝良 2) (1)鹿児島大・院連農、2)鹿児島大・農・食品機能化学)
am13	11:24	スイゼンジノリを添加したチーズの試作およびそのタンパク分解 ○井越敬司、小林弘昌、栴田聖孝、岡本智伸、小野政輝、伊東保之、増岡智加子 (九東海大・農)
am14	11:36	鹿児島黒豚の SLA-DRB1 遺伝子の同定および系統解析 ○竹下温子 1)、村岡雍一郎 1)、瀬戸口賀子 2) (1)鹿児島大・教・家政、2)鹿児島純心女子大・健康栄養)
am15	11:48	パンおよびドーナツ中のマロンジアルデヒド含量および貯蔵中の変動 ○境 正 1)、浅田真理絵 1)、D.M.S.ムナシハー2) (1)宮崎大・農・生物機能科学、2)鹿児島農学連大)

pm1	13:00	小麦澱粉の老化特性 ○田幸正邦 1)、花城 勲 2)、竹田靖史 2) (1)琉球大・農・糖鎖科学、2)鹿児島大・農・生命高分子化学)
pm2	13:12	サツマイモ葉肉における同化デンプンの分子構造変化 ○内野孝之、北原兼文、菅沼俊彦 (鹿児島大・農・生命機能化学)
pm3	13:24	傷害さつまいものフラノテルペン類生成とその性質について ○馬場正樹・藤沢洋一・北原兼文・菅沼俊彦 (鹿児島大・農・生資化)
pm4	13:36	超高感度化酵素 - HPLC 法による植物食品中ピリドキサル (ビタミン B6) の定量 ○永野さやか、Ann Kurai Chan、横地 奈菜、八木 年晴 (高知大・農・生物資源)
pm5	13:48	市販レトルト食品の脂肪酸組成 ○古賀民穂 1)、石井利直 2)、太田英明 2) (1)中村学園大短期大 2)中村学園大・栄養科学部)
pm6	14:00	ポリメトキシフラボノイドを指標とするシークワシャー果汁の識別 ○石井利直 1)、古賀信幸 1)、塚野希 1)、當銘由博 2)、和田浩二 3)、矢野昌充 4)、太田英明 1) (1)中村学園大・栄養科学、2)沖縄経済連、3)琉球大・農・生物資源、4) (独) 農業研究機構・果樹研)
pm7	14:12	ポラパック Q を用いた焼酎中の遊離脂肪酸定量 狩行 勲、北原兼文、○菅沼俊彦 (鹿児島大・農・生資化)
pm8	14:24	Chemical and Sensory Characteristics of Low Molecular Weight Fractions Present in Indonesian Soy Sauce ○ Hanifah Nuryani LIOE1), Anton APRIYANTONO2), Dedi FARDIAZ2), Budiatman SATIAWIHARDJA2), Masaaki YASUDA1) (1)Dept. Biosci. Biotech., Univ. Ryukyu, 2)Dept.Food Tech. Human Nutr., Bogor Agric. Univ., Indonesia)
pm9	14:36	本格焼酎香気成分の機能性 境田博至 1)、榊原陽一、○桐明沙織、水野貴之、西山和夫、中原徳昭 1)、甲斐孝憲 1)、水光正仁 (宮崎大・農・応生、1)雲海酒造研究開発)
pm10	14:48	蒸し煮魚の揮発性成分にみる赤身魚の特徴 ○笠原賀代子 (ノートルダム清女大・人間生活)
pm11	15:00	焙煎条件がコーヒー抽出液の内容成分に及ぼす影響 ○太田英明 1)、石井利直 1)、塚野希 1)、古賀民穂 2) (1)中村学園大・栄養科学、2)中村学園大・短大部)
pm12	15:12	桑果汁を用いた乳酸菌飲料製造方法 大庭理一郎 1)、○魚住慎吾 1)、三枝敬明 1)、野口保彦 1)、阿曾田清 2) (1)崇城大. 工. 応微工、2)JA うき)
pm13	15:24	新揚水方式による甌島海洋深層水の汲上とその特性 ○今田 克、吉原 進、前田広人、1)歌津洋一、2)橋本真幸、3) (1) 鹿児島大地域共同セ 同工学部 同水産学部 2)前田建設㈱ 3) 積水化学㈱)
pm14	15:36	茶殻を用いた水中の重金属の捕集除去 ○尾_ 加奈 1)、安田みどり 2)、尊田民喜 1) (1)西九大 院・健福、2)西九大・健福)
pm15	15:48	サツマイモ焼酎粕から生理機能を有する新規飲料の開発. 1 サツマイモ焼酎粕から飲料を製造する技術の開発 池田 浩二 1)、○吉留 朋尚 1)、大迫 美穂 1)、藤井 信 2)、侯 徳興 2)、吉元 誠 3)、倉田 理恵 3) (1)田苑酒造株式会社、2)鹿児島大・農・生資化、3)農研機構・九州沖縄農研・畑作研究部)
pm16	16:00	サツマイモ焼酎粕から生理機能を有する新規飲料の開発. 2 製造した飲料の成分及び機能性の解析 池田 浩二 1)、吉留 朋尚 1)、○大迫 美穂 1)、藤井 信 2)、侯 徳興 2)、吉元 誠 3)、倉田 理恵 3) (1)田苑酒造株式会社、2)鹿児島大・農・生資化、3)農研機構・九州沖縄農研・畑作研究部)
pm17	16:12	サツマイモ焼酎粕から生理機能を有する新規飲料の開発. 3 飲料製造時におけるフェノール成分の変化 ○吉元 誠 1)、倉田 理恵 1)、池田 浩二 2)、吉留 朋尚 2)、大迫 美穂 2)、藤井 信 3)、侯 徳興 3) (1) 農研機構・九州沖縄農研・畑作研究部、2)田苑酒造株式会社、3)鹿児島大・農・生資化)
pm18	16:24	サツマイモ焼酎粕から生理機能を有する新規飲料の開発. 4 カフェ酸誘導体含有農産副産物からカフェ酸の酵素的製造 吉元 誠 1)、○倉田 理恵 1)、池田 浩二 2)、吉留 朋尚 2)、大迫 美穂 2)、藤井 信 3)、侯 徳興 3) (1)農研機構・九州沖縄農研・畑作研究部、2)田苑酒造株式会社、3)鹿児島大・農・生資化)

A4	<302 教室 栄養・食品・分析>	
am1	9:00	ムラサキムギ穎果のアントシアニンに関する研究 ○神山紀子 （（独）農研機構・近中四農研）
am2	9:12	赤ジャガイモの新規アシル化アントシアニン色素の構造と機能性 ○寺原典彦 1)、林 一也 2)、森 元幸 3)、小野 裕嗣 4) （1)南九大・健康栄養、2)和田製糖・開発研究、3)北海道農業研究センター、4)食総研・状態分析研）
am3	9:24	菱の皮の抗酸化作用 ○熊川景子 1)、安田みどり 1)、尊田民喜 2)、近藤道男 1) （1)西九大・健福、2)西九大院・健福）
am4	9:36	黒酢の抗酸化性 ○鄭志兵、橋永文男 （鹿児島大・農・生物利用科学）
am5	9:48	<i>Dunaliella salina</i> の有する抗酸化能の評価 ○武藤浩剛 1)、受田浩之 1)、竹中裕行 2)、沢村正義 1) （1)高知大・農・生物資源、2)マイクロアルジェコーポレーション (MAC))
am6	10:00	<講演中止>
am7	10:12	ニガナの LDL 抗酸化能 ○前田 剛希 1)、広瀬 直人 1)、藤野 哲也 2)、稲福盛雄 2) （1)沖縄県農業試験場、2)琉球バイオリソース開発）
am8	10:24	食品素材の脂質ヒドロペルオキシド還元消去作用、TLCプロットによる活性評価 ○高原啓吾、檜田美緒、田口恵子、寺尾純二 （徳島大・医・栄養）
am9	10:36	発酵乳ケフィランケフィアの抗酸化活性及び DNA 修復増強活性 ○廣瀬真奈美 1)、森美希 2)、照屋輝一郎 1,2)、片倉喜範 1,2)、徳丸千之助 3)、徳丸浩一郎 3)、D.Barnes4)、白畑實隆 1,2) （1)九大院生資環・遺資工、2)九大院システム生命・生命工学、3)日本ケフィア(株)、4)MDI Bio Lab.)
am10	10:48	抗酸化応答配列活性を制御する食品機能成分の分子機構の解析 ○谷川 俊祐、侯 徳興、藤井 信 （鹿児島大・農）
am11	11:00	ワサビ 6-MITC による抗酸化応答配列の転写制御 ○福田良絵、侯 徳興、藤井 信 （鹿児島大・農）
am12	11:12	フキのポリフェノール酸化酵素について エリーネ ンキヤ、河野千絵、韓 雲哲、李 英杰、林 信行、○藤田修二 （佐賀大・農・応生）
am13	11:24	サツマイモ茎葉の酵素的褐変に及ぼすポリフェノールとポリフェノールオキシダーゼの影響 ○石黒浩二、吉元誠 （農研機構・九州沖縄農研・畑作研究部）
am14	11:36	活性水素供与対および活性酸素消去剤としての白金ナノコロイドの機能解析 ○今田敏文1)、浜崎武記1)、照屋輝一郎2)、片倉喜範2)、大坪一道3)、森澤紳勝3)、白畑實隆2) （1)九大院・生資環・遺資工、2)九大院システム生命科学、3)株式会社日本トリム）
C1	<302 教室 天然物・有機化学>	
pm1	13:00	<i>Drosophila melanogaster</i> における産卵抑制物質の検討とTBH活性測定法の構築 ○カ石恵美子 1)、松下学 1)、平島明法 2)、桑野栄一 2) （1)九大院・生資環、2)九大院・農）
pm2	13:12	<i>Plodia interpunctella</i> における calling 行動阻害物質及び性フェロモン生合成阻害物質の探索 ○茂田陽子 1)、木水めぐみ 2)、平島明法 3)、桑野栄一 3) （1)九大院・生資環、2)九大・農、3)九大院・農）
pm3	13:24	6-メチル-3-ピリジルエーテル化合物(EMP)の抗幼若ホルモン活性 ○藤田雄大 1)、石黒英恵 1)、山田直隆 2)、桑野栄一 2) （1)九大院・生資環、2)九大院・農）
pm4	13:36	抗幼若ホルモン活性物質 EMP 類縁体の合成と早熟変態誘起活性 ○古田賢次郎 1)、白橋浩光 2)、山田直隆 3)、桑野栄一 3) （1)九大院・生資環、2)九大・農、3)九大院・農）
pm5	13:48	土壌自活線虫 (Diplogastridae) に対する GABA アンタゴニストの殺線虫活性 ○栗山理彦 1)、佐藤忠章 2)、小池一男 2)、二階堂保 2)、尾添嘉久 1) （1)島根大・生資科・生命工、2)東邦大・薬）

pm6	14:00	5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thiol および 4-amino-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol の phenylalanine anmoniyase 阻害活性 ○洪淳星 1)、山田直隆 2)、桑野栄一 2) (1)九大院・生資環、2)九大院・農)
pm7	14:12	ABA 様活性を持つ 1,2,4-Oxadiazole 誘導体の合成と生物活性 ○梅光 順平 1)、八坂 武 1)、市来 弥生 1)、田村 廣人 2)、吉川 博道 1) (1)九共大工環境化学科 2)名城大農応用生物化学科)
pm8	14:24	キサントフィルエステルの光安定性 ○有田慎 1)、大崎健一 1)、村田芳行 2)、下石靖昭 2)、多田幹郎 1) (1)岡山大院・自・生物機能化学、2)岡山大・農・生物情報化学)
pm9	14:36	リンゴ酸を不斉源とした Cyanobacterin の合成研究 ○二宮康弘、芳我靖、岡崎百年、首藤義博 (愛媛大農・応生化)
pm10	14:48	ベンゾフラン型生理活性物質の合成研究 ○岡崎百年、首藤義博 (愛媛大農・応生化)
pm11	15:00	アルキル 2-オキソシクロヘキシルアセテートの酵母還元生成物の光学純度の見直しとその利用 ○森俊二、平井良夫、山内聡 (愛媛大・農)
pm12	15:12	ベンジル位に水酸基を持つジベンジルテトラヒドロフラン型リグナンの合成 ○林良雅、山内聡 (愛媛大・農)
pm13	15:24	酸化型フロフランリグナン類の合成と抗酸化活性 ○山内聡 1)、伊奈知子 1)、桐木平拓也 2)、増田俊哉 2) (1)愛媛大・農、2)徳島大・総合科学部)
pm14	15:36	未同定菌 <i>Penicillium</i> .sp. 菌の生産物 Gliotoxin 類縁体の構造と植物活性 ○林亜紗実 1)、大高美由紀 1)、杉山靖正 2)、木村靖夫 1) (1)鳥取大・農、2)静岡県大・食品)
pm15	15:48	<i>Ageratum</i> 属植物抽出物に含まれる成分およびその誘導体の殺線虫活性 ○高石和人、長野庸一、河津一儀、馬場直道、中島修平 (岡山大・農)
pm16	16:00	ツマグロヨコバイ耐虫性水稻 <i>Lepe-dumai</i> に含まれるツマグロヨコバイ摂食阻害物質 ○角田 大輔、黒田 育宏、手林 慎一、金 哲史 (高知大農・生資)
pm17	16:12	OVIPOSITION DETERRENTS FROM BITTER GOURD LEAVES, MOMORDICA CHARANTIA TO A LEAF MINING FLY, LIRIOMYZA TRIFOLII ○Daniel M. Bisrat, Takehiro Kashiwagi, Shin-ichi Tebayashi, Chul-Sa Kim (Fac.of Agr., Kochi University)
pm18	16:24	クスノキに含まれるアオスジアゲハの摂食・産卵刺激物質 ○西山 佳秀、池野 靖典、手林 慎一、金 哲史 (高知大農・生資)

B1 <303 教室 生物化学>

am1	9:00	Wx 遺伝子を導入した糯種イネの胚乳澱粉の分子構造 ○倉富裕樹 1)、花城 勲 1)、伊藤紀美子 2、3)、竹田靖史 1) (1)鹿児島大・農・生命機能化学、2)新潟大・院・自然研、3)新潟大・超域研究機構)
am2	9:12	STARCH PROPERTIES OF SOME LOCAL RICE SPECIES GROWN IN NIGERIA ○Terna Gaffa and Yasuhito Takeda (Fac. Agri., Kagoshima Univ.)
am3	9:24	イネ胚乳プルラナーゼの性質および微生物由来プルラナーゼとの比較 ○岩本博行 1)、作田郁恵 1)、新元芳彦 1)、廣瀬順造 1)、久保亜希子 2)、中村保典 2) (1)福山大・生命工・応用生物科学、2)秋田県大・生資科・生物生産科学)
am4	9:36	電気溶出法による植物の細胞外タンパク質の調製とその解析 ○矢野原泰士 1)、趙紅業 2)、藤好飛鳥 3)、中村考志 4)、岡本繁久 5)、松尾友明 1)3) (1)鹿児島大・連大・植物生産、2)鹿児島大・農・食糧生産化、3)鹿児島大・農・食糧生産化、4) 京都府大・人間環境・食保健、5)鹿児島大・農・作物生産)
am5	9:48	PH 応答性(メチルセルロース/ポリアル)系複合膜の調製 大河原洋介、田口佳成、○田中真人 (新潟大・工)
am6	10:00	単一重合度 ϵ -Poly-L-lysine の調製 ○川合隆博、窪田高秋、和泉好計 (鳥取大・工・生物応用工学)
am7	10:12	海藻由来のブロモベルオキシダーゼの基質(ハロゲン) 特異性改変-クロル化活性も示す変異酵素 ○大城 隆 1)、飯田保明 1)、小林拓史 1)、Esther Garcia-Rodriguez2)、Jennifer Littlechild2)、和泉好計 1) (1)鳥取大・工・生物応用、2)イギリス・エクセター大)

am8	10:24	昆虫キチナーゼ阻害物質生産系状菌由来のキチナーゼ 仁戸田照彦、○亀山貴正、臼木博一、神崎 浩 (岡山大・農)
am9	10:36	ガジュマル由来キチナーゼの抗真菌活性 ○下地真紀子、大泊敦子、平良東紀、石原昌信 (琉球大・農・生物資源科学)
am10	10:48	アメフラシ科タツナミガイのラミナリナーゼの解離・会合 ○上野 泰照、辻 陽一、松元 俊彦、山浦 泉 (崇城大・応微工)
am11	11:00	市販酵素標品(セルロシン A.P.)中の β -1,4-マンナナーゼの部分一次構造 ○野田 武政、上野 泰照、松元 俊彦、山浦 泉 (崇城大・応微工)
am12	11:12	ニンジン培養細胞からの β -ガラクトシダーゼ/エキソ-ガラクタナーゼの諸性質と細胞壁多糖の分解 ○今野晴義、中戸孝子 (岡山大・資源生物科学研)
am13	11:24	酸性下でのキビ種子の発芽時における β -アミラーゼに関する研究 ○山崎 良樹 (岡山大・資生研)
am14	11:36	コバルトイオンによって活性化される植物 α -マンノシダーゼの精製と性質 ○原晋太郎 1)、北村久美子 2)、木村吉伸 1、2) (1)岡山大・自然科学研究科 2)岡山大・農・生物資源化学)
am15	11:48	精製ヒマシ油中の毒蛋白質リシンの存在の有無に関する検討 ○小田達也 1)、田村忠士 1)、山口健一 1)、秋田政継 2)、浜口隆司 2) (1)長崎大・水・海洋生化、2)伊藤製油(株))
pm1	13:00	<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>sotto</i> 沖縄株の力幼虫に対する選択的殺虫活性 ○大串 彰 1)、和佐野直也 2)、志佐倫子 1)、斎藤浩之 2)、水城英一 2)、前田 稔 3)、大庭道夫 1) (1)九大院農、2)福岡県工業技術センター、3)九州メディカル(株))
pm2	13:12	<i>Bacillus thuringiensis</i> 由来新規クリスタルタンパク質の白血病ガン細胞に対する細胞損傷能の解析 常国健太 1)、山際雅詩 1)、武部 聡 2)、駒野 徹 2)、酒井 裕 1) (1)岡山大・自然科学、2)近畿大・生物理工)
pm3	13:24	シンナムアルデヒドのガン細胞増殖抑制 篠山優也、○金丸 芳、小山保夫、林 弘三 ((徳島大・総合科・生命科学))
pm4	13:36	細胞老化における MAP キナーゼカスケードの関与 今田悠介 1)、片倉喜範 1,2)、藤木司 1)、吉崎嘉一 1)、白石裕士 1)、白畑寛隆 1,2) (1)九大院・生資環、2)九大院・システム生命科学)
pm5	13:48	サイトカインシグナルに対する pentagalloyl glucose の作用 ○中山和子、立花宏文、宮瀬敏男 1)、山田耕治 (九大院・農・生機科、1)静岡県立大薬)
pm6	14:00	体外免疫により誘導されるヒト抗体可変領域遺伝子の解析 野口絵理 1)、松本信英 2)、山下万貴子 1)、片倉喜範 1,2)、相葉佳洋 2)、照屋輝一郎 1,2)、白畑寛隆 1,2) (1)九大院・生資環、2)九大院・システム生命科学)
pm7	14:12	抗酸化物質による <i>ras</i> 形質転換細胞の増殖抑制 ○丸山数馬、荒巻文香、榊原陽一、水光正仁、西山和夫 (宮崎大・農)
pm8	14:24	酸化的 DNA 損傷修復活性測定系開発の試み ○竹下温子 1)、竹内 亨 2)、瀬戸口賀子 3)、村岡雍一郎 1) (1)鹿児島大・教・家政、2)鹿児島大・歯学総合・環境医学、3)鹿児島純心女子大・健康栄養)
pm9	14:36	ER ストレス誘導下における過塩素酸可溶性タンパク質の発現 ○叶内宏明 1)、松尾綾 2)、山田耕路 3)、岡達三 4)、刀祢重信 1)、湊川洋介 1) (1)川崎医大・生化学、2)高知県工業技術センター、3)九大院・生資環・生物)
pm10	14:48	タバコ培養細胞における希土類イオンによる活性酸素の生成の誘導 ○河野智謙、角野貴志 (北九州市立大・院・国際環境工学)
pm11	15:00	タバコ培養細胞におけるアルミニウム誘導活性酸素生成とカルシウム情報伝達経路の攪乱 ○角野貴志 1)、古市卓也 2)、武藤尚志 2)、河野智謙 1) (1)北九州市立大・院・国際環境工学、2)名古屋大・院・生命農学)
pm12	15:12	ハードニング処理したクロレラ由来グルコース 6-リン酸脱水素酵素(G6PDH)の精製 ○三村綾乃 1)、本城賢一 2)、中尾実樹 2)、矢野友紀 2)、宮本敬久 2)、波多野昌二 3)、飯尾雅嘉 2) (1)九大院・生物資源環境科学・生物機能科学、2)九大院・農・生物機能科学、3)西九州大院・健康福祉)

- pm13 15:24 コイ由来タウリン合成系酵素遺伝子のクローニングおよび酵母での発現－耐凍性付与の試み ○松浦香苗 1)、西孝太郎 1)、本城賢一 2)、中尾実樹 2)、矢野友紀 2)、坂井隆敏 1)、石川洋哉 2)、松本 清 2)、宮本敬久 2)、飯尾雅嘉 2) (1)九大院・生物資源環境科学府・生物機能科学、2)九大院・農・生物機能科学)
- pm14 15:36 植物細胞の環境ストレス応答に及ぼす細胞内レドックスの影響 ○森本ゆかり、黒瀬郁子、澤 嘉弘、柴田 均、重岡 成 1)、石川孝博 (島根大・生物資源・生命工、1)近畿大・農・食栄)
- pm15 15:48 DNA マイクロアレイによる *Nicotiana glutinosa* 葉 TMV 感染誘導遺伝子の網羅的検索 ○波田一誠、林毅、堤優介、阿部真澄、木村誠 (九大院・生資環)
- pm16 16:00 タバコ葉傷誘導遺伝子のモデル植物を用いたプロモーター解析 ○阿部真澄、堤 優介、平川英樹、田代康介、久原 哲、木村 誠 (九大院・生資環)
- pm17 16:12 細胞質型 APX を過剰発現させたシロイヌナズナの H₂O₂ 代謝と環境ストレス応答性 ○木村嘉宏、川原田宗則、澤 嘉弘、柴田 均、重岡 成 1)、石川孝博 (島根大・生物資源・生命工、1)近畿大・農・食栄)
- pm18 16:24 ダイズ光独立栄養培養細胞 SB-P におけるホスホリパーゼ D の光応答性に関する研究 ○西村浩二 1)、江口大介 1)、榮 容子 1)、影山和昭 1)、地阪光生 1)、長屋 敦 1)、横田一成 1) (1)島根大・生物資源科・生命工学)
- pm19 16:36 運動が H S P 70 および B 6 酵素活性に与える影響について ○岡田美津子・氏昌未、桐野智美、田嶋千恵、芋生(竹下)桂子、大倉(加来)志保子 ((熊本県大・環境))
- pm20 16:48 可視光照射下でのアンチモンポルフィリン光触媒の殺菌作用 ○河内岳志、廣瀬 遵、白上 努、保田昌秀、横井春比古 (宮崎大・工・物質環境化学)

B2 <401 教室 生物化学>

- am1 9:00 カイコ体液キモトリプシンインヒビター (CI-3)の精製と性質 ○趙 巧玲 1)、何 寧佳 2)、藤井 博 3)、伴野 豊 3)、山本幸治 3)、麻生陽一 4) (1)中国農科院・蚕研、2)中国湖南師範大・生科院、3)九大・農院・昆虫遺伝子資源、4)九大・農院・遺伝子機能制御)
- am2 9:12 カイコのプロテオーム解析：リボポリサッカライド注射に対する応答 ○王 永強 1)、張 平波 2)、藤井 博 2)、伴野 豊 2)、山本幸治 2)、麻生陽一 3) (1)中国浙江農科院、2)九大・農院・昆虫遺伝子資源、3)九大・農院・遺伝子機能制御)
- am3 9:24 カイコのフリン遺伝子に関する研究 ○岩下 節 1)、山本幸治 2)、藤井 博 2)、伴野 豊 2)、山上 健 1)、石野良純 1)、麻生陽一 1) (1)九大・農院・遺伝子機能制御、2)九大・農院・昆虫遺伝子資源)
- am4 9:36 エリ蚕脂肪体でバクテリアにより誘導される遺伝子の検索とクローニング ○鮑艶原、妻鹿 恵子、山野 好章、森嶋 伊佐夫 (鳥取大・農・応用生命)
- am5 9:48 カイコ・ジヒドロリポアミド脱水素酵素の大腸菌による発現 ○入江寿朗 1)、山本幸治 2)、藤井 博 2)、何 寧佳 3)、伴野 豊 2)、山上 健 1)、石野良純 1)、麻生陽一 1) (1)九大・農院・遺伝子機能制御、2)九大・農院・昆虫遺伝子資源、3)中国湖南師範大・生科院)
- am6 10:00 分裂酵母において減数分裂を誘導する Sla1 と相互作用する因子 Aco1 の解析 ○西井理恵、田邊香、中川 強 1)、田中克典、松田英幸、川向 誠 (島根大・生資、遺伝子 1))
- am7 10:12 タバコのアスコルビン酸合成系酵素の発現 ○小野宏樹 1)、江坂宗春 1) (1)広島大・院・生物圏科学研究科)
- am8 10:24 Serine-rich ペプチド融合リゾチームの酵母発現系での分泌とその性質 ○徐小華、鹿嶋織江、阿座上弘行、加藤昭夫 (山口大・生物機能化学)
- am9 10:36 特異な性質を示すハブ膵臓由来トリプシノーゲン ○岩切泰貴 1)、有馬一成 1)、内木場哲也 2)、服部正策 3)、米澤弘夫 1) (1)鹿児島大・理・生命化学、2)同・総合研究博物館、3)東京大・医科研)
- am10 10:48 ハブ膵臓由来キモトリプシノーゲンの精製とその性質 ○西田裕二 1)、有馬一成 1)、内木場哲也 2)、服部正策 3)、米澤弘夫 1) (1)鹿児島大・理・生命化学、2)同・総合研究博物館、3)東京大・医科研)

am11	11:00	西表島産海浜植物の生物資源化研究—フクギ葉部のチロシナーゼ阻害活性物質— 増田俊哉 1)、2)、○山下泰輝 1)、武田美雄 1)米盛重友 2)、前川智美 3) (1)徳島大・総合、2)琉球大・熱生研西表、3)大阪市大・技術)
am12	11:12	クマザサの抗インフルエンザウイルス活性 ○持田 恭 (島根県保健環境科学研)
am13	11:24	「コーヒー成分の GABAA 受容体応答への効果」 ○フセイン、 S. J.1)、 青島均 1)、好田裕史 2)、木曾良信 2) (1) 山口大 理、2) サントリー 健康科学研)
am14	11:36	共役リノール酸 (CLA) は脂肪酸合成を阻害する ○Sawitree Wongtangtintharn1)、 屋 宏典 2)、岩崎公典 2)、戸田隆義 3) (1)鹿児島大院・農、2)琉球大・遺セ、3)同・医・臨検)
am15	11:48	ムクキッコウグサ由来の選択的細胞毒性成分の特性 ○宮平華子 1)、岩崎公典 2)、豊川哲也 3)、鎌田靖弘 3)、花城薫 4)、吉田安彦 4)、 屋 宏典 2) (1)琉球大・農、2)同・遺セ、3)沖縄工技、4)トロピカルテクノセンター)
pm1	13:00	リボソームタンパク質 L5 の 5S rRNA 結合活性における RNP1 領域のアミノ酸残基の重要性 ○山口洋生、岩崎研太、木村誠 (九大院・生資環)
pm2	13:12	リボソームタンパク質 L5 の 5S rRNA 結合活性における Lys33 の役割 ○岩崎研太、角田佳充、寺田敦、木村誠 (九大院・生資環)
pm3	13:24	プロテオーム解析のためのインゲル消化最適化条件の検討 ○高井良安希子、鳥潟隆雄、荒木朋洋 (九州東海大・農・バイオ)
pm4	13:36	リゾチームのループ領域 (Asp101-Met105)のアミノ酸置換による活性変動と構造変化 ○仁平幸恵、衛藤 仁、河村俊介、荒木朋洋、鳥潟隆雄 (九州東海大・農)
pm5	13:48	ガンマ線照射のリゾチームへの影響 ○瀬戸口綾子・西雅仁・北原兼文・菅沼俊彦 (鹿児島大・農・生資化)
pm6	14:00	超好熱古細菌 (<i>Pyrococcus horikoshii</i>) タンパク質 ph1932p の SELEX 法による標的シスエレメントの検索 ○湯通堂紀子 1)、岡田有意 2)、伊藤啓 2)、田中勲 2)、木村誠 1) (1)九大院・生資環、2)北大院・理)
pm7	14:12	超好熱古細菌 (<i>Pyrococcus horikoshii</i>) リボヌクレアーゼ P タンパク質 ph1877p の触媒活性に関与するアミノ酸残基の検索 ○渡辺円俊、沼田倫征、高木久徳、角田佳充、木村誠 (九大院・生資環)
pm8	14:24	新規 DNA 複製開始因子の探索 ○吉永 亜耶、山上 健、麻生陽一、石野良純 (九大・農院・遺伝子機能制御)
pm9	14:36	超好熱性アーキア <i>Pyrococcus furiosus</i> 由来 DNA ligase の性質解析 ○高山 耕平、藤兼亮輔、山上 健、麻生陽一、石野良純 (九大・農院・遺伝子機能制御)
pm10	14:48	DNA 複製因子 PCNA-RFC 間の機能的相互作用解析 ○服部 辰彦、山上 健、麻生陽一、石野良純 (九大・農院・遺伝子機能制御)
pm11	15:00	ビタミン B6 代謝酵素 Pyridoxal 4-dehydrogenase の構造及び結晶化 ○横地 奈菜 1)、吉金 優 1)、大西 浩平 2)、八木 年晴 1) (1)高知大・農・生物資源、2)同・遺伝子実)
pm12	15:12	イネ培養細胞グライコミクス：結合型 N-グリカンのグリコフォーム ○前田恵 1)、木村万里子 2)、西村秀希 3)、笠毛邦宏 3)、木村吉伸 1、4) (1) 岡山大院・自然科学研究科、2) くらしき作陽大・フードシステム、3) 岡山大・資生研、4) 岡山大・農・生物資源化学)
pm13	15:24	昆虫糖蛋白質に存在する beta1-3 ガラクトース含有 N-グリカンの構造特性 ○宮本真毅 1)、木村万里子 2)、沖原清司 3)、杉本広之 3)、山田英生 3)、木村吉伸 1,4) (1) 岡山大院・自然科学研究科、2) くらしき作陽大・フードシステム、3) 山田養蜂所(株)、4) 岡山大・農・生物資源化学)
pm14	15:36	チオレドキシン還元酵素 C 末端配列の量子酵素化学 ○田村 隆、堀江敬一、田中英彦、稲垣賢二 (岡山大・農・生物資源化学)
pm15	15:48	ヒト肺由来チオレドキシン還元酵素の発現における大腸菌宿主へのレアコドン添加効果 ○堀江敬一、田村 隆、田中英彦、稲垣賢二 (岡山大・農・生物資源化学)
pm16	16:00	KPase によるグリセリン、ミオイノシトールへの糖転移 ○渡邊 光、西本 友之、山本 拓生、阿賀 創、久保田 倫夫、福田 恵温、栗本 雅司、辻阪 好夫 (林原生化学研・天瀬研究所)

pm17	16:12	ペルスルフィド形成能を有するタンパク質の探索 ○加藤 伸一郎 1)、大西 浩平 1)、永田 信治 2)、味園 春雄 2) (1)高知大・遺伝子実験施設、2)高知大・農)
pm18	16:24	オボインヒビターの多頭修飾による高機能化 ○Shamima Begum、斎藤章、阿座上弘行、加藤昭夫 (山口大・生物機能化学)
pm19	16:36	ニワトリ卵白のリゾホスホリパーゼ D による生理活性リン脂質の産生 ○徳村 彰、藤近加奈子、福澤健治 (徳島大・薬・衛生化学)
D1	<402 教室 遺伝子・微生物>	
am1	9:00	<i>Brevibacillus choshinensis</i> 新規蛋白質 CatA による hEGF 生産の改善 ○田中亮一、石橋松二郎、徳永廣子、徳永正雄 (鹿大・農)
am2	9:12	Antioxidant activity of thermotolerant, fermentative yeasts from traditional alcohol-starters of some Asian countries ○Win Aung, Zheng Zhi Bing, Yuka Watanabe, and Fumio Hashinaga (Dept. Biochem. Sci. Technol., Fac. Agr., Kagoshima Univ.)
am3	9:24	鉄酸化細菌は鉄酸化系を使用せずに硫黄を酸化する ○上村一雄 1)、菊本愛生 1)、篠原久美 2)、若井 暁 1) (1)岡山大院・自然科学、2)岡山大・農・微生物機能)
am4	9:36	根粒菌 <i>Mesorhizobium loti</i> のピリドキシンオキシダーゼ破壊株の調製 ○吉金 優 1)、横地 奈菜 1)、大西 浩平 2)、八木 年晴 1) (1)高知大・農・生物資源、2)同・遺伝子実)
am5	9:48	<i>Monascus pilosus</i> 培養液中の抗菌物質 ○河野勇人 1)、姫野国夫 2) (1)岡山県工業技術センター、2)姫野醸造食品研究所)
am6	10:00	バイオリアクターシステムによるアミノ酸液からの醤油様調味料の製造 ○末崎 文、江嶋記久子、神田康三、加藤富民雄 (佐賀大・応生科)
am7	10:12	選抜放線菌を用いた種菌自動返送山脈形成式堆肥製造装置の機能 ○田中研実 1)、田中米實 1)、吉田美裕紀 1)、加藤富美雄 2) (1、福岡生物産業開発研究所、2)佐賀大・応用生物化学)
am8	10:24	選抜放線菌を用いた畜産排出物堆肥の野菜種子における発芽・生育・栄養成分の評価 ○田中米實 1)、田中研実 1)、吉田美裕紀 1)、加藤富美雄 2) (1)福岡生物産業開発研究所、2)佐賀大・応用生物化学)
am9	10:36	食用油脂含有排水処理の微生物処理における実排水適用試験と培養条件の検討 ○黒住悟 1)、2)、北村卓也 1)、和泉好計 2)、坪田順一 2)、倉根隆一郎 3) (1)旭産業、2)鳥取大工・生応工、3)クボタ技開本部)
am10	10:48	イツリン高生産細菌 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> UTK 変異株の取得と微生物農薬への利用 ○内田泰 1)、中原芳雄 1)、三浦康之 1)、関 清彦 1)、石橋博明 2) (1)佐賀大・農・応用生物科学、2)アヅマ(株))
am11	11:00	レクチン様機能をもつ抗生物質 Benanomycin A を用いた酵母多糖の調製 ○奥田智恵 1)、小林秀光 1)、五味修一 2)、田代まゆみ 3)、白石 淳 3) (1)九州女子大・家政、2)明治製菓・薬品総研、3)福岡女子大・人間環境)
am12	11:12	Triton X 分解細菌の同定と分解メカニズムについて ○市来 弥生 1)、西尾 恵里子 1)、田村 廣人 2)、吉川 博道 1) (1)九共大工環境化学科 2)名城大農応用生物化学科)
am13	11:24	Ca ²⁺ 耐性を示す出芽酵母破壊株の網羅的スクリーニング ○石田理人、水沼正樹、平田大、宮川都吉 (広島大 先端物質科学研究科)
am14	11:36	<i>Bacillus thuringiensis</i> A1470 株が産生するクリスタルタンパク質の哺乳動物細胞に対する作用 ○奥村史朗 1)、斎藤浩之 1)、樋口和彦 1)、石川智之 1)、赤尾哲之 1)、水城英一 1)、井上國世 2) (1)福岡県工技セ、2)京大院農・食生科)
am15	11:48	微生物由来のアフラトキシン生合成阻害物質 ○作野えみ 1)、木村織恵 1)、白井麻衣子 1)、矢部希見子 2)、中島廣光 1) (1)鳥取大・農、2)食総研)
pm1	13:00	<i>Bacillus subtilis</i> IM-94 株由来のフィブリン分解酵素の精製と性質 ○丸山雅史、木場洋次郎 (愛媛大・農・応用生命化学)

pm2	13:12	Purification and Characterization of Aminopeptidase from <i>Bacillus</i> sp. ○Somkid Deej ing1), Kazuaki Yoshimune2), Saisamorn Lumyong1) and Mitsuki Moriguchi2) (1)Chiang Mai University, 2)Oita University)
pm3	13:24	<i>Bacillus stearothermophilus</i> 由来の α -cyclodextrinase 遺伝子の構造と酵素の諸性質 ○関川昌之 1)、松本友子 1)、安部淳一 2)、浄原法蔵 3)、滝澤昇 3) (1)岡山理大院・工・応化、2)鹿児島大・農・生命高分子化学、3)岡山理大・工・応化)
pm4	13:36	<i>Bacillus thuringiensis</i> が産生する双翅目昆虫特異的殺虫タンパク質 Cry11A の機能解析 ○坂川浩平、山際雅詩、酒井 裕 (岡山大院・自然科学)
pm5	13:48	放線菌由来 cyclo (Leu-Phe)脱水素酵素の性状解析 神崎 浩、○森本篤史、池田万里、仁戸田照彦 (岡山大・農)
pm6	14:00	Cyclo(Leu-Phe)から albonoursin への酵素変換反応の解析 神崎 浩、○武田周大、森本篤史、仁戸田照彦 (岡山大・農)
pm7	14:12	Production and partial purification of a free radical scavenging substance released by <i>Actinomyces</i> sp. ○Rashid M. H.1), M. R. Gazi2), K. Kanda2) and F. Kato2) (1)Dept. Biochem., Bangladesh Agriculture Univ., 2 Dept. Appl. Biol. Sci., Saga Univ.)
pm8	14:24	Purification and some properties of free radical scavenger from <i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO2373 ○Gazi M. R.1), M. H. Rashid2), K. Kanda1) and F. Kato1) (1)Dept. Appl. Biol. Sci., Saga Univ., 2) Dept. Biochem., Bangladesh Agriculture Univ.)
pm9	14:36	Denitrification activity of a moderately halophilic bacterium <i>Pseudomonas stutzeri</i> ASM-2-3 isolated from Ariake Sea tideland ○H. R. Karimniaae-Hamedani, K. Kanda and F. Kato (Dept. Appl. Biol. Sci., Saga Univ.)
pm10	14:48	ピリドキシン資化菌 <i>Microbacterium luteolum</i> 由来 4-Pyridoxolactonase ○舟見 淳一 1)、小林 倫 1)、吉金 優 1)、横地 奈菜 1)、大西 浩平 2)、八木 年晴 1) (1)高知大・農・生物資源、2)同・遺伝子実)
pm11	15:00	酵母 <i>Pichia pastoris</i> において発現した <i>Aureobasidium pullulans</i> 由来キシラナーゼの分泌シグナルのプロセッシングと分泌酵素の諸性質 ○田中秀典、奥野智子、六車三治男、太田一良 (宮崎大・農・応生科)
pm12	15:12	ポリ- γ -グルタミン酸分解酵素の効率生産系の構築及び酵素科学的特徴 ○中村尚明 1) 成 文 喜 2) 左右田健次 2) 味園春雄 1) 芦内 誠 1) (1)高知大・農・生物資源 2) (株)バイオリーダーズジャパン)
pm13	15:24	接合菌 <i>Phycomyces blakesleeanus</i> の生産するキチンデアセチラーゼの精製 ○岩崎純也 1)、松井亜衣子 1)、関 清彦 1)、宮崎 厚 2)、村山肇子 3)、光富 勝 1)、内田泰 1) (1)佐賀大・農・応用生物科学、2)東北大院・生命科学研究科、3)関東学院大・工・基礎科目)
pm14	15:36	大腸菌グルコース脱水素酵素の結合型キノンの役割 ○中村さつき、MD Elias、伊藤綾子、右田たい子、山田守 (山口大・農・生物機能化学)
pm15	15:48	高度好塩性古細菌由来 nucleoside diphosphate kinase(NDK)の refolding に対する MgCl ₂ の効果 ○石橋松二郎、荒川 力 1)、徳永 正雄 (鹿大・農、1)Alliance Protein Labs.)
pm16	16:00	水素発酵菌 <i>Clostridium</i> sp. E-73 の生成する α -アミラーゼの特性 藤井英樹 ○吉野史章、廣瀬 遵、林 幸男、横井春比古 (宮崎大・工・物質環境化学)
pm17	16:12	焼酎麹の耐酸性 α -アミラーゼについて ○瀬口ひろみ、北原兼文、菅沼俊彦 (鹿児島大・農・生資化)
D2	<403 教室	遺伝子・微生物>
am1	9:00	<i>Trichoderma viride</i> 由来 2 種のラミナリナーゼ遺伝子のクローニング ○野邊理花、榊原陽一、小川喜八郎、水光正仁 (宮崎大・農・応生)
am2	9:12	<i>Desulfotobacterium</i> sp. Y51 における PCE 脱塩素化能欠損株の解析 ○二神泰基 1)、坪井良徳 1)、陶山明子 2)、古川謙介 1) (1)九大生資環、2)東和科学)

am3	9:24	<i>Pichia kluyveri</i> IFO 1165 のシトロネロール添加培養時における差次的発現遺伝子群 ○古賀 倫子、岡 拓二、後藤 正利 1)、古川 謙介 1) (九大院・生資環・生機科、1)九大院・農院・生機科)
am4	9:36	糸状菌 <i>Aspergillus nidulans</i> の O-型糖鎖の機能解析 ○岡拓二、野中真由子、後藤正利、古川謙介 (九大院・生資環)
am5	9:48	接合トランスポゾン <i>bph-sal</i> element のビフェニル資化菌における分布と構造 及びインテグラーゼについて ○今林由希、香川裕、入江弘樹、古川謙介 (九大院・生資環)
am6	10:00	<i>Fusobacterium mortiferum</i> の β -1,4-マンナナーゼ遺伝子のクローニング ○三浦 隆志、田口 久貴、松元 俊彦、赤松 隆、山浦 泉 (崇城大・応微工)
am7	10:12	枯草菌の薬剤耐性に関与する可能性のある転写制御因子の制御ターゲットの探索 ○松岡浩史、多木陽平、吉田健一、藤田泰太郎 (福山大・生命工学・生物工学)
am8	10:24	<i>B. cereus</i> 孢子形成初期における <i>pbp3</i> および <i>pbp4</i> 遺伝子の転写制御 ○奥園敦子 1)、宮本敬久 2)、本城賢一 2)、飯尾雅嘉 2) (1)九大院・生物資源環境・生物機能科学、2)九大院・農・生物機能科学)
am9	10:36	<i>Salmonella enteritidis</i> の加熱損傷・回復時の遺伝子の発現と機能 ○橋本佳和 1)、小林弘司 1)、元松 藍 2)、宮本敬久 3)、本城賢一 3)、飯尾雅嘉 3) (1)九大院・生物資源環境科学府・生物機能科学、2)九大・農・生物資源科学、3)九大院・農・生物機能科学)
am10	10:48	コレラ菌逆転写酵素遺伝子の機能解析 ○橋元礼子・松尾真介・島本 整 (広島大・院生物圏・食品衛生学)
am11	11:00	歯周病原性細菌 <i>Eikenella corrodens</i> から分離したプラスミドの解析 ○阿座上弘行、秋道宏美、臼井将勝、加藤昭夫 (山口大・農・生物機能)
am12	11:12	発現を指標とする放線菌遺伝子クローニング用ベクターpTRA502 の構築 ○山本さや香、田村隆、田中英彦、稲垣賢二 (岡山大・農・生物資源化学)
am13	11:24	<i>S. azureus</i> 溶原性ファージ SAt2 の部位特異的組換え機構に関する研究 ○平山直樹 1)、山田修司 1)、緒方靖哉 2)、土居克実 1) (1)九大院・農・遺資工、2)崇城大・工・応微工)
am14	11:36	<i>S. azureus</i> の DNA 転移に機能する遺伝子の時空間特異的発現機構 ○土居克実 1)、大山由紀子 1)、小島美樹 1)、木久山礼憲 1)、緒方靖哉 2)、 (1)九大院・農・遺資工、2)崇城大・工・応微工)
pm1	13:00	DGGE 法と T-RFLP 法による微生物群集構造の解析 ○金 亨、山根隆正、柴田 均、澤 嘉弘 (島根大・生資・生命工)
pm2	13:12	かつお節の製造に関するかびの分離と 18 S rRNA 遺伝子を用いたかびの同定 ○林 葉子 1)、植崎真由 2)、吉川 毅 3)、坂田泰造 3)、瀬戸口賀子 4) (1)阿多病院、2)野口病院、3)鹿児島大・水産・資源利用科学、4)鹿児島純心女子大・健康栄養)
pm3	13:24	糠床中に棲息する優勢菌の分子生態学的解析 ○田中英俊 1)、中山二郎 2)、安藤瑞起 1)、大上和敏 3)、酒井謙二 3)、森口充暲 3)、園元謙二 2) (1)九大院生資環・生機科、2)九大農院・生機科、3)大分大工)
pm4	13:36	ステビア抽出液の低 pH 値を与える乳酸菌の同定およびその無菌種子に対する効果 ○岡本啓湖 1)、山口澄華 2) (1)福岡県立福岡農高専攻科、2)化学物質評価研究機構)
pm5	13:48	Antimicrobial Activity of Lactoperoxidase System against <i>Salmonella enteritidis</i> in Associated Food Products ○Touch Visalsok、早川 茂、山田 聡、金子創一 (香川大・農・食糧化学)
pm6	14:00	<i>Lactococcus lactis</i> QU5 株が生産するバクテリオシン ○富士田浩二 1)、一政士郎 1)、古賀祥子 1)、善藤威史 1)、中山二郎 2)、園元謙二 2) (1)九大院生資環・生機科、2)九大農院・生機科)
pm7	14:12	ランチビオティック nukacin ISK-1 自己耐性機構の解析 Nguyen Thi Bich Phuong1)、○麻生祐司 1)、金政庸平 1)、永尾潤一 1)、古賀華子 1)、奥田賢一 1)、中山二郎 2)、園元謙二 2)、 (1)九大院生資環・生機科、2)九大農院・生機科)

- pm8 14:24 福山壺酢の仕込み方法と発酵過程における遊離アミノ酸の変化 ○相生衣理 1)、岩下祥子 2)、大田由美子 3)、橋口和典 4)、長野正信 4)、瀬戸口賀子 5) (1)鹿児島放送、2)伊敷保育園、3)鹿児島純心女子短大・食物栄養、4)坂元醸造(株)・福山研究所、5)鹿児島純心女子大・健康栄養)
- pm9 14:36 福山壺酢の発酵過程における微生物の分離と同定 (I) ○木原由代 1)、元山奈緒子 2)、柳田由希子 3)、二川真由 4)、橋口和典 5)、藤井 暁 5)、長野正信 5)、吉川 毅 6)、坂田泰造 6)、瀬戸口賀子 1) (1)鹿児島純心女子大・健康栄養、2)鹿児島純心女子短大・食、3)鶴陽会 特養老ホームあけぼの、4)中山クリニック、5)坂元醸造・福山研究所、6)鹿児島大・水産・資源利用科学)
- pm10 14:48 福山壺酢の発酵過程における微生物の分離と同定 (II) —特に乳酸菌について— ○小牧真悠子 1)、橋口和典 2)、藤井 暁 2)、長野正信 2)、吉川 毅 3)、坂田泰造 3)、木原由代 4)、瀬戸口賀子 4) (1)鹿児島純心女子短大専攻科・食物栄養、2)坂元醸造(株)・福山研究所、3)鹿児島大・水産・資源利用科学、4)鹿児島純心女子大・健康栄養)

S1-1

外因性ステロール代謝異常の遺伝的背景

九州大学大学院農学研究院

今泉 勝己

食事に含まれるコレステロールや植物ステロール（カンペステロールや β -シトステロール）等に対して高応答を示す個体とそうでない個体とがあり、その差異は遺伝的な背景に基づくと考えられている。しかし、どのような遺伝的変異があるのかについては明らかでない。これら外因性のステロールに対して高い応答を示すヒトは多くはないと見積もられているが、高ステロール血症等、体内での蓄積は動脈硬化症やその他の疾患の発症と密接に関係する可能性が指摘されている。従って、これら外因性のステロールによって惹起される高ステロール血症の遺伝的背景とその発症を修飾できる環境要因を明らかにすることが必要である。そのためには、ヒトでの研究と併行して適切な実験動物での検討が欠かせない。本シンポジウムでは、外因性ステロール血症について得られているヒトならびに実験動物での知見について紹介する。

（１）外因性高コレステロール血症：コレステロール含量が高い鶏卵等の摂取に対して高い或いは低い応答を示すヒトがいる。この場合、吸収・異化・分泌系の応答の違いが想定されているが、その詳細は明らかでない。SD系ラットから分離された外因性高コレステロール血症（E x HC）ラットは食事コレステロールに鋭敏に反応し、血清コレステロール濃度が上昇する。このラットの代謝的並びに遺伝的背景を追求す

るため、脂質代謝の特徴から候補遺伝子を探索する方法と、連鎖解析によって染色体上で変異領域を絞り込む方法とを試みた。E x HCラットは脂肪酸合成酵素の発現量や活性が低く、そのために、血中での異化が遅いコレステロールエステルに富むリポタンパク質を多く分泌していた。なお、本ラットにおける脂肪酸合成酵素遺伝子上流域と各種転写因子との相互作用はSD系ラットとは異なっているようであった。一方、連鎖解析の結果、第5と第14番染色体にロッド値 5.4 および 5.8 の場所が検出された。これらの領域をホモに持つ個体の血清コレステロール値は、ヘテロに持つ個体や全く持たない個体のそれと比較して、顕著に増加した。

（２）高植物ステロール血症：稀な遺伝疾患である植物ステロール血症患者では、体内に植物ステロールが蓄積する。この患者では家系解析の結果、ABC-タンパク質に遺伝子変異があることが判明している。植物ステロール体内蓄積機構を精査する目的で、血清植物ステロール濃度が高い系統として、SHRSP や WKY ラットを見いだした。これらのラットでは ABCG5 のアミノ酸配列に変異が見いだされ、それが植物ステロールの高吸収と肝臓からの排泄抑制に関与する可能性が示唆された。なお、SHRSP ラットに一定レベル以上の β -シトステロールを摂取させると、寿命が短縮した。

S1-2

新規脂肪酸結合タンパク質とその機能

鹿児島大学農学部 岡

達三

可塩素酸可溶性タンパク質 (Perchloric acid-soluble protein(PSP)) はラット肝臓から単離された分子量 14,000 の新規なタンパク質である。その一次構造は機能未知の YER057c/YJGF ファミリーと高い相同性を示し、大腸菌からヒトまで進化的に高度に保存されていることから、細胞内における機能の重要性が示唆されている。また PSP は *in vitro* でタンパク質合成を阻害するが、その分子機構として PSP が mRNA に特異的な RNase であることが明らかにされている。一方、本タンパク質の発現は分化度の高い細胞で高く、逆にガン細胞のような分化度の低い増殖時の細胞では低い。すなわち発生過程のラット胎児腎臓において分化した尿細管のみにその発現が認められること、また PSP 遺伝子を培養細胞に導入して大量発現させると細胞の増殖が抑制されることから PSP が細胞の増殖や分化に関与していると考えられている。

一方、PSP のタンパク質としての性質は、①分子量が 14,000、②N 末端がアセチル化されている、③細胞質に局在している等であり、脂肪酸結合タンパク質のそれと良く似ている。PSP を温和な方法で精製し、有機溶媒で抽出した後 TLC で展開すると遊離の脂肪酸が検出され、GCL や GCMS によって、パルミチン酸を主としてステアリン酸やオレイン酸が結合していることが明らかにされた。またスキャッチャード解析により、パルミチン酸に対して 6×10^6 の解離定数

を示し、PSP 1 分子あたり脂肪酸が 1 個結合していた。脂肪酸結合タンパク質の特徴としてペルオキシソーム増殖剤による誘導が知られているが、PSP mRNA もベザフィブレート投与後、2.5 倍誘導された。更に細胞内における PSP の分布を免疫電子顕微鏡によって検討した結果、PSP はペルオキシソームと小胞体に分布していた。また、PSP と GFP の融合遺伝子を細胞内に導入しても PSP は、ペルオキシソームと小胞体に分布した。これらの結果は、PSP が細胞内でペルオキシソームと小胞体に局在していることを示唆しており、これまで知られている脂肪酸結合タンパク質とは異なった細胞内局在を示した。一方、高脂肪食を投与したラット小腸における細胞内分布を検討した結果、PSP は小胞体やペルオキシソーム以外にもキロミクロンにも局在していることが明らかにされた。

PSP は、胚や胎児などの初期発生において、細胞の分化や増殖を調節するが、成熟動物では脂肪酸結合タンパク質として機能すると考えられる。しかも脂肪酸担体としての標的は、ミトコンドリアでなくペルオキシソームや小胞体であり、既知の脂肪酸結合タンパク質とは異なる機能を有することを示唆している。

S1-3

分裂酵母の減数分裂過程を制御する新たな因子

島根大学生物資源科学部

川向 誠

分裂酵母は栄養源が枯渇し、相手方のフェロモンが存在すると G1 期で細胞周期を停止させ、異なった接合型の細胞は接合し減数分裂過程を経て胞子形成する。これらの一連の有性生殖過程へ入る段階を制御するシグナル伝達経路として、cAMP 経路、ストレス応答性 MAP キナーゼ経路、Ras-MAP キナーゼ経路の 3 つの経路が主に存在する。前者の二経路は栄養源のシグナルにより制御されているが、Ras-MAP キナーゼ経路はフェロモンのシグナルにより制御されている¹⁾。

この Ras-MAP キナーゼ経路を制御する新たな因子の検索を行うため、*ras1* 欠損株の胞子形成不能を回復させる変異株を単離した。ある劣性変異株より原因遺伝子をスクリーニングし、14-3-3 ホモログをコードする *rad25* を得た。14-3-3 はリン酸化されたタンパク質に結合し、結合タンパク質の機能制御を行う真核生物に広く保存されたタンパク質である。分裂酵母内には 2 種類の 14-3-3 タンパク質(Rad24, Rad25)が存在し、チェックポイントコントロールや減数分裂に関与している。その後の解析により Rad24 と Rad25 の 1 つの作用点は Byr2 (MAPKKK)で、Byr2 の膜への移行のタイミングを制御することにより Byr2 を負に制御することを見いだした²⁾。Byr2 の変異体の解析から 14-3-3 は少なくとも Byr2 の 2 箇所位置で結合し、Byr2 を不活性型に維持しているのではないかと考えている。

一方 *ras* 欠損株の優性変異株よりゲノムライブラリーを構築し、それを用いて減数分裂過程に関わる新たな因子 Sla1 を発見した。Sla1 はヒトの自己免疫疾患の抗原タンパク質として知られている La タンパク質の分裂酵母ホモログで、RNA 結合タンパク質としても知られている。これまでの研究により La は mRNA の安定性や tRNA のプロセッシングに関与することが報告されているが、詳細な役割については不明な点が多い。今回我々が発見した Sla1 の機能はこれまでに報告されている RNA 結合タンパク質としての機能ではなく、減数分裂を強制的に誘導するもので、まったく新しい機能を持つものであった。Sla1 の減数分裂誘導には短い領域のみで十分であり、細胞質に局在していることが必要である。Sla1 は減数分裂の制御因子である Pat1 キナーゼを作用点として、減数分裂の鍵となる Mei2RNA 結合タンパク質の制御を行っている結果を得ている³⁾。分裂酵母内で Sla1 が減数分裂に果たす役割について考察したい。

- 1) 川向 誠、農化、73:1147-1153 (1999)
- 2) Ozoe, F., & Kawamukai, M. et al. Mol. Cell. Biol. 22: 7105-7119 (2002)
- 3) Tanabe, K., & Kawamukai, M. et al. Eukaryotic Cell (in press)

S1-4 食品機能成分のシグナル伝達と遺伝子制御

鹿児島大学農学部 侯 徳興

食品は様々な構造が異なる成分を含んでいる。これらの成分は、消化吸収後多彩な細胞シグナル伝達系を通して多くの遺伝子発現を制御し、生体に影響を与えていると考えられる。動物実験を始め多くの研究結果、食品は栄養・嗜好機能だけではなく、生体調節機能を持つことがわかってきた。食品の生体調節機能を明らかにするためにはその機能成分の細胞シグナル伝達および遺伝子発現制御の解明が欠かせない。本シンポジウムでは、「食と癌予防」というコンセプトに基づき、癌発生過程に関わるいくつかの遺伝子マーカーを用いて食品機能成分の細胞シグナル伝達および遺伝子発現制御について我々の研究結果と知見を下記の3つの面から紹介する(図)。

1) 食品機能成分による抗酸化応答配列 (ARE) の転写制御

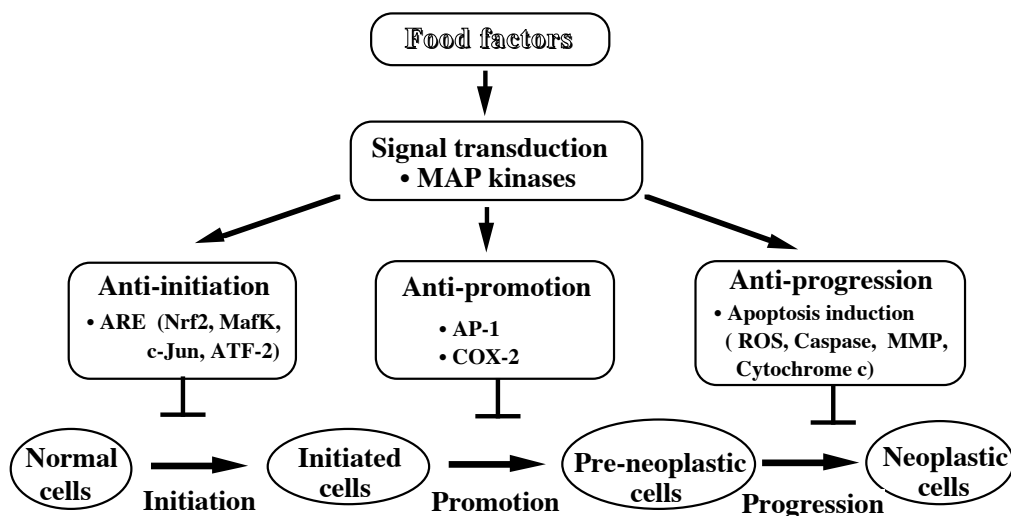
抗酸化応答配列は肝臓解毒系酵素 (QR や GST 等) 遺伝子のプロモーターに存在するシスエレメントである。食品機能成分が異なる MAPK 系を経て ARE に結合する転写因子 Nrf2, MafK, c-Jun や ATF-2 等の転写因子を介し、肝臓第二解毒酵素 QR の発現を制御する。

2) 食品機能成分による AP-1, COX-2 遺伝子発現の制御

AP-1 は癌原遺伝子とも呼ばれており、細胞トランスフォーメーション等に重要な役割をしている。COX-2 (Cyclooxygenase-2) はサイトカインや発癌プロモーター等の刺激により、マクロファージや癌細胞などで誘導され、炎症反応や発癌に強く関与している。食品成分が異なる MAPK 系と転写因子を介して AP-1 や COX-2 の発現を制御する。

3) 食品機能成分による癌細胞アポトーシス誘導の分子機構

アポトーシスは生理条件下で細胞自らが積極的に引き起こす細胞死である。食品成分が癌細胞のアポトーシス誘導が出来れば、癌の予防と繋がると考えられている。食品成分が細胞内の活性酸素、ミトコンドリア機能やカスパーゼ活性化を影響し、癌細胞のアポトーシスを誘導する。



S2-5

放線菌の低分子ホルモン A-ファクターによる形態分化、二次代謝の制御ネットワーク

東京大学大学院農学生命科学研究科

堀之内 末治

抗生物質や生理活性物質の大半を生産する放線菌は、発酵微生物として重要であることは言うまでもないが、菌糸状に生育し最終的に珠玉状の胞子を着生する複雑な形態分化を示すために多細胞の原核生物の分化のモデル生物となっている。形態的にカビ状に生育するために、放線菌は「境界微生物」

(boundary microorganism) と呼ばれる。放線菌を研究対象とした最近の研究から、形態のみならず形態分化に関わる調節機構も「真核生物」的な要素が色濃く残っており、このような制御は土壤中で菌糸状に生育する放線菌にとっては必要不可欠であると想像される。本講演では、放線菌の形態分化、二次代謝に関わる「真核生物型」制御のうち、低分子化学調節物質 A-ファクターの制御ネットワークを中心に紹介する。

ストレプトマイシン生産菌である *Streptomyces griseus* において、基底菌糸から気中菌糸への分化、ストレプトマイシン (Sm) を含むすべての二次代謝産物の生合成はともに自身の生産する極低濃度の A-ファクターによりスイッチ・オンされる。A-ファクター欠損株は形態分化も二次代謝も起こらないが、外から 1 nM の A-ファクター添加でこれらの形質が復帰する。「A-ファクターはいかに二次代謝、形態分化の引き金を引くか」というシグナル伝達経路の全貌が明らかになりつつあり、A-ファクターはまさに真核生物におけるホルモンと言える。一方、原核生物である放線菌の二次代謝、形態分化は、真核型セリン/スレオニン、チロシンキナーゼを介する情報伝達経路によっても制御されている。A-ファクター制御カスケードとの cross-talk についても簡単に述べる。

[日本語の総説]

1. 大西康夫、堀之内末治：微生物ホルモンによる放線菌の二次代謝・形態分化開始の制御機構、蛋白質核酸酵素、**44**: 1552-1561 1999.
2. 堀之内末治：有用物質生産の場としての放線菌、バイオサイエンスとインダストリー、**59**: 526-529, 2001.
3. 大西康夫、堀之内末治：A-ファクターによる放線菌の二次代謝・形態分化の開始機構、化学と生物、**40**: 185-190, 2002.
4. 堀之内末治：原核と真核の境界微生物としての放線菌の形態分化、日本農芸化学会誌、**76**: 937-939, 2002.
5. 堀之内末治：放線菌の真核型キナーゼは飾りではなく生育必需品、バイオサイエンスとインダストリー、**61**: 330-331, 2003.

S2-1 乳と骨の健康

鹿児島大学農学部 青木

孝良

乳はカルシウムなどのミネラルやタンパク質含量が高い。各種動物のカルシウムとタンパク質含量を調べてみると、カルシウム含量とタンパク質含量との間には高い正の相関がある。また、成長の速い動物種ほどカルシウムとタンパク質含量が高いことから、乳のカルシウムとタンパク質は成長に重要な成分であるということを裏付けている。

人の寿命が 50 年であった時代には骨粗鬆症は問題ではなかったが、高齢化社会に向かいつつある日本では、骨粗鬆症およびそれに伴う骨折は「寝たきり」や「痴呆」につながり社会問題になっている。骨粗鬆症は、老化に伴って現われる骨疾患であり、コラーゲンなどの骨基質とカルシウムなどの骨塩の両者が減少し、骨に鬆が入った症状を呈する。骨量は 30 歳代後半から 40 歳頃にピークに達し、その後減少する。骨量の減少は、男性より女性の方が大きく、50 歳を越えると顕著になる。特に女性は、閉経後エストロジェンの減少とともに急速に骨量の減少が起きるため、骨粗鬆症になるリスクが高い。骨は、絶えず代謝しており、骨形成と骨吸収（骨破壊、骨塩溶出）が行われている。骨には骨芽細胞、破骨細胞および骨細胞が存在し、骨形成と骨吸収が行われている。成長期では骨形成が骨吸収を上回り、成人ではこのバランスがほぼ維持され、老齢期ではこのバランスは骨吸収の方が大きくなる。成長期のカルシウムの摂

取量が減少すると骨量の形成が十分に行われなくなり、老齢期では骨の減少が大きくなる。骨粗鬆症を予防には、骨量の減少を抑制することが重要であるが、若い時期の最大骨塩量を出来るだけ高めておくことも重要である。

日本人のカルシウムの所要量は成人では 1 日 600mg であるが、飽食日本にあってカルシウムは不足する唯一の栄養素である。牛乳 100ml には 100mg のカルシウムが含まれており、その含量が高いばかりでなく、その生体利用性にも優れていると言われている。牛乳中のカルシウム吸収促進因子として、乳糖、カゼイン（乳の主要タンパク質）、ビタミンDが挙げられる。カゼインの消化過程で生ずるカゼインホスホペプチド（CPP）は、消化管内でカルシウムが沈殿するのを阻止し、カルシウムの吸収を促進することが明らかにされている。

牛乳中のカルシウムの約 2/3 は、カゼインミセルと呼ばれるコロイド粒子中にミセル性リン酸カルシウム（MCP）として存在している。MCP は乳に特異的な存在形態であり、我々は、MCP もカルシウムの生体利用性を高める因子であることを明らかにしているので、本シンポジウムではその結果についても紹介する。最近、乳中に骨形成促進および骨吸収抑制活性を有する塩基性タンパク質（MBP）が見いだされているので、MBP の骨に対する作用についても紹介する。

S2-2 ウイルス発がんの化学予防-

緑茶ポリフェノールによる

HTLV-I 抑制

鹿児島大学地域共同研究センタ

ー 園田 俊郎

ヒトに癌を起こす原因には化学物質や放射線のほかに細菌やウイルスによる慢性炎症の関与が知られている。化学物質や放射線は細胞直に接作用して遺伝子の変異をおこし細胞を癌化させるが、細菌やウイルスでは持続感染による慢性炎症で活性酸素や窒素酸化物のフリーラジカルを発生させ、これらが細胞の脂質、蛋白、核酸に作用して多面的な障害をひきおこす。ピロリ菌による胃がん、B/C 型肝炎ウイルスによる肝臓がん、EB ウイルスによる上咽腔がん、パピローマウイルスによる子宮がん、ヒトレトロウイルスの一種 (HTLV-I) による成人 T 細胞白血病 (ATL) などでは活性酸素や窒素酸化物の関与が注目されている。HTLV-I は現生人類がアフリカの誕生したときからヒト集団に棲息し特定の遺伝系統 (民族) に持続感染してきた。南西九州には HTLV-I 感染キャリアが多く ATL を多発させているが、日本人の寿命が短かった時代には ATL を問題視にする必要はなかった。なぜならば、HTLV-I の初感染から ATL の発症までには 50 - 60 年の潜伏期間を要するからである。この潜伏したウイルスに対して宿主 (患者) は絶えず生体反応を起こしている。事実、HTLV-I に対する抗体産生は幼少時の初感染から成人キャリアに至るまで不変であり、また HTLV-I ウイルス抗原に対するキラー T 細胞の活性はキャリアの末梢リンパ球中に常時検出される。このことから、生体内では免疫細胞の増殖とサイトカインの放出、貪食細胞の誘導などで炎症が持続してい

ることがわかる。炎症局部では活性酸素や窒素酸化物のフリーラジカルが大量に産生され、細胞の死滅と再生、老化と発癌のプロセスが進行する。ヒトの生体内では尿酸、血清脂質、血清蛋白、スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) が動員され、有害なフリーラジカルを取り除く自浄作業が行われているが、ここで外来性の抗酸化物質 (ビタミン C、トコフェロール、ポリフェノールなど) を摂取すれば、炎症にともなうフリーラジカルの産生がおさえられ、発癌のリスクが低められると思われる。我々は、HTLV-I 感染と慢性炎症によるフリーラジカルの産生と発がん作用に着目して、緑茶ポリフェノールの抗酸化作用とアポトーシス誘導作用による ATL 発症の予防対策を検討してきた。本演題では、HTLV-I キャリアの免疫応答と炎症細胞の実体を明らかにし、緑茶ポリフェノールによる HTLV-I 抑制作用と ATL 予防介入の最近の知見を紹介する。

S2-3

食品とアレルギー

岡山県立大学保健福祉学部

辻 英明

今日、食物アレルギー患者は増加しつつあり、依然として深刻な社会問題となっている。多くの研究者が凌ぎを削ってこの課題に挑戦し、多くの成果が得られているものの、その解決の道のりは険しい、ここでは、食品とアレルギーのかかわりについて述べる。

食物を摂取したとき、異常現象を示すことがあるが、食物アレルギーはその一つであり、免疫の一種である。免疫は本来私たちの身体を防御するシステムのはずであるが、そのシステムのうち、個体にとって好ましくない反応現象がアレルギーとよばれる。アレルギーは I 型から IV 型の 4 種類のタイプが知られているが、食物アレルギーは主として IgE 抗体が関与する I 型の即時型過敏症である。I 型に属する食物アレルギーにおいては、アレルギーの原因となるアレルゲンを含む食品を経口摂取したとき、その一部が体内に取り込まれ、体内でアレルゲンに特異的な IgE 抗体が産生される。IgE 抗体はその後皮下や粘膜に広く分布する肥満細胞や血中に存在する好塩基球などの細胞表面に存在する IgE 抗体受容体と結合し、IgE 抗体-受容体複合物を形成する。この状態がいわゆる感作された状態であるが、再度そのアレルゲンを含む食品を摂取すると上述の複合物における IgE 抗体にアレルゲンが結合し、そのことにより細胞内に信号が送られ、細胞内に蓄えられているヒスタミンなどの化学メディエーターが放出されてアレルギー症状を呈する。現在、アレルギー発症の仕組みはこのように考えられてい

る。この仕組みに基づいて、食品学的な立場から、アレルギーを防ぐポイントは、(1) IgE 抗体の産生の抑制、(2) 肥満細胞などからの化学物質の放出の抑制ならびに (3) 化学メディエーター作用の抑制などであり、このような 3 つのアプローチから活発に研究が行われている。

わが国においては、アレルギー患者が感受性を示す食品の頻度は卵、牛乳、小麦、そば、エビ、ピーナッツの順である。アレルギーが解明されていない今日、アレルギー患者が安心して食生活を営める現実的な対策として、昨年 4 月より、エビを除く上述のアレルギー食品素材を含むことに関する表示が義務付けられた。食物アレルギーの診断は問診、患者血清における特異的 IgE 抗体の存在、二重盲検負荷試験などにより行われている。現在でも、上述のアレルギー食品を含めて、新しいアレルゲンは次々と見出されており、アレルゲンの全体像はより複雑な様相を示している。しかしながら、最近注目されているラテックス・フルーツシンドロームの研究を端緒として徐々に整理される方向にある。

食物アレルギーの予防は現在、3 つの切り口から行われている。すなわち (1) 除去食による方法、(2) 低アレルゲン化食品の利用、ならびに (3) 抗アレルギー作用を有する食品などの利用がある。3 番目の抗アレルギー作用を有する食品は今後アレルギーの予防に対して大きく期待されており、抗アレルギー作用を有する機能性成分に関する研究が活発に展開されている。

S2-4 食と免疫

九州大学大学院農学研究院

山田 耕路

食品中には種々の体調調節因子が含まれており、多彩な生理活性を示します。なかでも、免疫調節機能は微生物やウイルスなどの感染からわれわれの体を守るだけでなく、アレルギーの発症にも関係する点で重要です。また、がん細胞の排除にも働くので、正常な免疫系を保持することは種々の疾病の予防に役立ちます。

免疫には抗体が関与する液性免疫と免疫細胞が関与する細胞性免疫があり、いずれも食品成分による調節を受けます。液性免疫には、IgA、IgE、IgG、IgM などの抗体が関与しており、IgA は微生物やアレルゲンなどの生体異物の侵入を妨げます。IgG や IgM は生体内に侵入した異物の排除に働きますが、IgE は食物アレルギーや花粉症の発症に導きます。したがって、IgE の産生を抑制し、その他の抗体の産生を促進することは、アレルギーの発症を抑えるとともに、生体防御機構の活性化につながります。脂質過酸化物は IgE の産生を促進し、その他の抗体の産生を抑制するので、アレルギー促進的に働きますが、ビタミン E や茶ポリフェノールなどの抗酸化成分は IgE 産生を抑制することにより抗アレルギー効果を発現します。また、ある種の食物繊維や不飽和脂肪酸は IgA や IgG の産生を促進し、免疫機能を増強することが明らかとなっています。食物繊維の抗体産生増強効果は若齢ラットでは強く認められますが、加齢ラットでは発現が低下します。人間でも、加齢に伴い免疫機能が低下することが知られており、若年時の食生活が免疫機能の維持に重要であると思われる。

花粉症などの I 型アレルギーの発症にはヒスタミンやロイコトリエンなどのケミカ

ルメディエーターの放出が引き金となりますが、抗酸化成分やある種の不飽和脂肪酸はケミカルメディエーターの放出抑制を通じてアレルギー反応を抑制します。ロイコトリエンはエイコサノイドと呼ばれる脂肪酸代謝物の一種ですが、その仲間であるプロスタグランジンにはがん細胞の増殖を抑制するものがあり、エイコサノイドの産生調節は制がん作用の発現にもつながります。

細胞性免疫では、ナチュラルキラーT 細胞（NK 細胞）と呼ばれる細胞が細菌類やがん細胞の排除に働いています。食品中には NK 細胞を活性化する因子も含まれており、免疫機能の活性化に寄与しています。このような抗体産生の調節や NK 細胞の活性化にはサイトカインと呼ばれる免疫調節タンパク質が関与しますが、種々の食品成分が免疫関連細胞のサイトカイン産生を調節することも明らかとなっています。食品成分の抗体産生調節機能もサイトカイン産生の調節を通じて発現するものと思われます。

食品中には種々の体調調節因子が存在しており、その共同作業により健康が維持されています。特定の体調調節因子に依存することは副作用の発現につながりますので、健全な食生活を送るためには体調調節因子を含む食品を幅広く摂取することが肝要です。

「健康日本21」と野菜の摂取状況について

A1-am1 ○陶山敦子¹⁾、宮崎貴美子¹⁾、矢野治江²⁾ (1) 香蘭女子短大、2) 中村学園大・栄・栄養科学)

【目的】生活習慣病の一次予防を策定目標に「健康日本21」では野菜1日350g以上の摂取を勧めている。そこで野菜1日350g以上摂取の達成方法及び抗酸化栄養素の野菜による充足のための方法を検討した。

【方法】調査時期はH14.8～11及びH15.5～7で、対象者はF市内及び近郊に勤務する栄養士129名。精度を高くするために栄養士を対象とした。調査内容は食物頻度調査票によるアンケート調査及び秤量法による3日間の野菜摂取量調査である。

【結果】対象者の1人1日平均の野菜摂取量は324±122g、野菜料理の皿数は5.8±1.6皿、野菜の11.6±3.5回であった。野菜350gを充足する野菜料理の皿数は6皿、野菜の出現数は14回であった。1日野菜350g以上摂取者の摂取量はV.A:1145±352μg RE、V.E:8.4±2.1mg、V.C:119±39mg、いずれも平均所要量を充足していた。更に食物消費構造の検討も行った。

スイゼンジノリの培養および機能性食品としての可能性

A1-am2 ○梶田聖孝、岡本智伸、井越敬司、小林弘昌、小野政輝、増岡智加子、伊東保之 (九州東海大学・農)

【目的】日本固有種淡水産ラン藻・スイゼンジノリは、江戸時代から高級郷土料理の素材として珍重されていた。しかし、国指定天然記念物「スイゼンジノリ発生地」は、現在、壊滅状態であり、その復元が強く求められている。本種は、分布範囲が極めて限定され、その生理・生態や培養法さらには食素材としての機能性等に関する報告は少ない。そこで、本種の生化学的知見に注目した研究を行った。

【方法及び結果】本学裏にある休耕田に、スイゼンジノリ屋外培養池を設置し、水量・水質や日照管理等を行い培養した結果、最盛期には、1ヶ月で約4倍に増殖した。本種の成分分析・同定はHPLC、NMR等により行った。その結果、天然の構成糖としては極めて珍しい2,4-di-O-methylfucoseの存在を明らかにした。また、凍結乾燥したスイゼンジノリのメタノール抽出エキ스는、BHAやα-トコフェロールよりも強い抗酸化能を示し、α-グルコシダーゼ活性阻害は緑茶には及ばなかったものの活性を示した。さらに、ヒアルロニダーゼ活性阻害試験でもトラニラストや緑茶のメタノールエキスよりも約3倍強い活性を示した。これらの結果より、本種は、伝統食品としてのみでなく、機能性食品としても活用できる可能性が示唆された。

奄美スモモの食品機能性について

(鹿児島大・農) ○柳田 崇至、侯 徳興、藤井 信

【目的】奄美スモモは主に青果として出荷されているが、出荷の時期とサイズ規格の制限で利用されていないものが多い。本研究は、その利用開発の一環として奄美スモモに多く含まれているアントシアニンを着目し、その抗酸化能、ラジカル消去能、抗炎症効果及びガン細胞へのアポトーシス誘導能について調べた。

【方法】種子を除去した奄美産スモモを凍結乾燥し、メタノール抽出を行った。抽出液をHP20カラムに通し、アントシアニンを単離した。抗酸化能はヒアルロン酸の酸化分解抑制法で、ラジカル消去能はDPPH法で行った。抗炎症効果はLPS誘導性COX-2及びiNOSのタンパク発現への抑制で調べた。ガン細胞アポトーシス誘導能はDNA断片化より解析した。

【結果】スモモのアントシアニン抽出液は、強い抗酸化能とラジカル消去能を示した。抗炎症のバイオマーカーとして用いたCOX-2及びiNOSを濃度依存的に抑制した。また、HL-60細胞の細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導した。以上のことより、奄美スモモは抗炎症及びガン予防効果を持つことが明らかになった。

落花生の生体調節機能性

A1-am4 大庭 理一郎¹⁾、〇千々松 陽成¹⁾、石坂 智²⁾、西村 賢了³⁾、¹⁾崇城大・応微工、²⁾熊本煎豆、³⁾熊本県工技セ

【目的】近年注目されている生体調節機能性の一つに抗酸化能があり、様々な食品が抗酸化能を有していることが確認されている。しかし、落花生についてはほとんど研究がなされておらず、生体調節機能性についても明らかではない。本報では、産(熊本煎豆組合)・官・学共同で落花生の新規用途開発を目的とし、加工された落花生の生体調節機能性について検討した。

【方法】落花生は、生、揚げ、脱脂落花生の3種類を用いた。また、落花生の70%アセトン、80%EtOH、MeOH、温水抽出物をそれぞれ調製し、生体調節機能性の試験を行った。生体調節機能性試験として活性酸素消去能を1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)を用いた分光測定法より、油脂の抗酸化能をβ-カロテン褪色法より測定し、異なる抽出溶媒が及ぼす抗酸化能への影響を比較評価した。

【結果】2つの抗酸化能試験において脱脂落花生は、全ての抽出物で生、揚げ落花生と同等の強い活性を有していた。このことから、脱脂落花生が水溶性および脂溶性の抗酸化物質を有していると思われる、それらの成分が相互作用して落花生の強い抗酸化能を発揮すると推定した。

新規高圧気密釜製法による釜炒り茶の生理機能

A1-am5 (1) 西九大・健福、2) 西九大院・健福、3) 茶乃芽園) ○安田みどり 1)、近藤道男 1)、尊田民喜 2)、江口勝平 3)、江口亜由美 3)

【目的】日本に最初に伝わった緑茶の製法は釜炒り製法であったが、機械化が遅れたこと等が原因でしだいに衰退し、現在では蒸し製法が主流となってきている。最近、密閉釜で圧力をかけ、短時間で高温加熱を行うという釜炒り茶（江口式釜炒り茶）製造装置が開発された。これにより、酸化酵素の完全失活が可能となり、生理機能が高まることが予測される。そこで、茶の製法の違いが茶葉の成分や生理機能にどのように影響を及ぼすのかについて検討を行った。

【方法および結果】茶葉は、原料が同じで製法が異なる蒸し茶、従来式の釜炒り茶、江口式釜炒り茶を用いた。ミネラルの定量は原子吸光光度法、カテキン、アミノ酸の定量は HPLC 法を用いてそれぞれ行った。抗酸化力の測定は、リノール酸の酸化に伴う酸素消費量を指標とした酸素電極法により行った。ミネラルやアミノ酸についてはそれほど大きな違いはみられなかったが、カテキン含量は、江口式釜炒り茶に多く含まれていることがわかった。抗酸化力も江口式釜炒り茶が最も高いという結果が得られた。

鯉節血合いたんぱく質結合鉄の生体利用性について(1)マルトモ 2)愛媛大・農・栄養科学)○松本淳一 1)、森 奈保美 1)、吉村憲和 1)、土居幹治 1)、岸田太郎 2)、海老原 清 2)

A1-am6

【目的】鯉節の血合い部分に含まれる鉄が生体内で高い利用性を示すことを一昨年報告した。一方、血液由来ヘム鉄の利用率は低かった。たんぱく質には鉄の利用率を高めるという報告もある。今回、鯉節血合い部分に含まれるたんぱく質の効果について検討するため、2つの実験を行った。

【方法】(実験①) 貧血状態のウイスター系雄ラットに、硫酸第一鉄（以下C群）、鯉節の血合い部分に鉄を吸着させた鉄素材「商品名：ポニロン」（以下DB+F群）、ヘム鉄抽出物（以下HE群）、鯉節血合い鉄（以下DB・HE群）を2週間投与し、ヘモグロビン回復率等について比較した。(実験②) 胃に与える影響を調べるため、硫酸第一鉄、ポニロンをラットに投与し、一定時間経過後、胃に与える影響について調べた。

【結果】(実験①) 体重増加量はHE群で有意に低くなっていた。ヘモグロビン回復率は、C群、DB+F群でHE群、DB・HE群に比べ有意に高くなっていた。(実験②) 鉄源として硫酸第一鉄を経口投与した群では、80%のラットに出血帯がみられたが、鉄源としてポニロンを投与した群には、異常がなかった。

動物骨コラーゲン由来アンギオテンシン変換酵素阻害ペプチド

A1-am7 1) 宮大・農・食品機能化学、2) 伊藤ハム(株)

○吉原慎二郎 1)、上島良介 1)、河原 聡 1)、山内 清 1)、中出浩二 2)、沼田正寛 2)、中村豊郎 2)、六車三治男 1)

【目的】動物の骨はボーンエキスとして調味料やスープの原料に用いられているが、その生体調節機能を追及した研究はほとんど見当たらない。さきに演者らは動物骨抽出物中にアンギオテンシンⅠ変換酵素（ACE）阻害活性を有する物質が存在することを明らかにした。今回は骨抽出物の酵素消化物中に存在する ACE 阻害ペプチドの単離・精製を行った。【方法】実験材料として牛、豚、鶏の骨の熱水抽出物およびそれらの酵素消化物を用いて ACE 阻害活性を測定した。さらに酵素消化物中の ACE 阻害ペプチドの単離・精製を行った。ACE 阻害活性は Cushman と Cheung の方法に準じて測定した。【結果】骨抽出物およびその酵素消化物において ACE 阻害活性が認められた。それらの中で活性の高い牛骨抽出物の α -キモトリプシン消化物と鶏骨抽出物のトリプシン消化物中の ACE 阻害ペプチドを各種クロマトグラフィーを用いて精製し、アミノ酸配列の決定を行った。その結果、牛骨由来 ACE 阻害ペプチドは GLPGTAGLPGM（ $IC_{50}=5.2 \mu M$ ）で、鶏骨由来 ACE 阻害ペプチドは GFPGERG（ $IC_{50}=8.0 \mu M$ ）と決定された。それらはコラーゲン由来の新たな ACE 阻害ペプチドであった。

食餌制限食、タンパク質欠乏食、食餌制限・タンパク質欠乏食により誘発する骨粗鬆症の比較

A1-am8

(1) 琉球大学・農、2) 大分県武蔵中学校、3) 琉球大学・医) ○孫麗曼 1)、石丸哲二 2)、大田豊 3)、勝山直文 3)、玉城一 2)、知念功 2)

【目的】骨粗鬆症の予防治療上から、タンパク質欠乏食および食餌制限食により誘発する骨粗鬆症の特徴を比較した。

【方法】7週齢の Wistar 系雌ラットに食餌制限食、タンパク質欠乏食、食餌制限・タンパク質欠乏食を3週間投与し、骨に及ぼす影響を調べた。

【結果】食餌制限食、タンパク質欠乏食、食餌制限・タンパク質欠乏食を投与すると大腿骨の破断エネルギー、骨密度が有意に減少し、X線写真の透過度が著しく高くなり、骨粗鬆症症状を呈した。Ⅰ型の骨粗鬆症のマーカーのデオキシピリジノリンは食餌制限食と食餌制限・タンパク質欠乏食を投与したラットの尿で高くなった。Ⅱ型の骨粗鬆症のマーカーのアルカリホスファターゼ活性値はタンパク質欠乏食と食餌制限・タンパク質欠乏食を投与したラットの尿で高くなった。食餌制限食摂取により誘発する骨粗鬆症はⅠ型の骨粗鬆症に類似し、タンパク質欠乏食摂取により誘発する骨粗鬆症はⅡ型の骨粗鬆症に類似した。食餌制限・タンパク質欠乏食を摂取することにより誘発する骨粗鬆症はⅠ型とⅡ型の混合型に相当した。

カルシウム欠乏食摂取により誘発する骨粗鬆症の特徴

A1-am9 (1)大分県武蔵中学校、2)琉球大学・農、3)琉球大学・医)○石丸哲二1)、孫麗曼2)、大田豊3)、勝山直文3)、玉城一2)、知念功2)

【目的】食餌制限食及びタンパク質欠乏食により誘発する骨粗鬆症と比較するためにカルシウム欠乏食により誘発する骨粗鬆症の特徴を研究した。

【方法】7週齢のWistar系雌ラットにAIN-93G調製食(1群)、カルシウム欠乏食(2群)、エストロゲン、活性ビタミンDおよびビタミンKを添加したカルシウム欠乏食(3群)、繊維の代わりに2%の蔞酸を添加した蔞酸添加食(4群)、蔞酸に富むホウレンソウを繊維の代わりに添加したホウレンソウ食(5群)を2週間投与し、骨に及ぼす影響を調べた。

【結果】1. 2-4群は大腿骨の破断エネルギーと骨密度が減少し、X線写真の透過度が高くなり、骨粗鬆症症状を呈した。2. 5群は骨粗鬆症にはならなかった。3. I型骨粗鬆症の治療薬エストロゲン、II型骨粗鬆症の治療薬活性ビタミンDとビタミンKはカルシウム欠乏食により誘発する骨粗鬆症に対しては予防効果を示さなかった。4. カルシウム欠乏食摂取により誘発したラットでは、血中のエストラジオール濃度、子宮の重量及び尿中のアルカリホスファターゼは正常で、尿中のデオキシピリジノリン濃度は異常で高くなり、尿中のカルシウム濃度が極端に低下する特徴があった。

ザクロエキスの抗関節炎効果 (メナード化粧品・総研)

A1-am10 ○渡辺 祐子、大森 敬之、小杉 信彦、水谷 宏、中田 悟、小西 宏明

【目的】高齢化社会を迎えている我が国において、関節炎の予防対策は重要な課題である。我々は、様々な天然物の抗関節炎効果について検討したところ、ザクロエキ스에優れた効果を見出し、その有効成分の1つがエラグ酸であることを明らかにしたので報告する。

【方法・結果】ゼラチンゼイモグラフィを用いて、軟骨を破壊する酵素の1つであるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP-2)の活性抑制を調べたところ、ザクロエキ스에強い効果があることが分かった。次に、mycobacterium butyricumを5週齢のSD雄性ラットに注射してアジュバント関節炎ラットを作成し、ザクロエキスを3週間経口投与したところ、2.0 g/kg体重で関節炎軽減効果を示すことが分かった。また、ザクロエキスを経口投与2週間目で関節炎誘発因子であるTNF- α およびIL-6を測定したところ、これらのサイトカインの上昇はザクロエキスによって抑制された。ザクロエキスの有効成分を特定する目的で、成分の1つであるエラグ酸のMMP-2活性およびアジュバント関節炎に対する影響を検討したところ、いずれもザクロエキスより低濃度で効果を示した。

【考察】以上の結果より、ザクロエキスはMMP-2活性および関節炎誘発因子(TNF- α 、IL-6)を抑制することで優れた抗関節炎効果を示し、その有効成分の1つとしてエラグ酸が関与していることを明らかにした。

ラット肝および小腸におけるクロロゲン酸の加水分解

A1-am11 (中村学園大・栄養科学) ○太田千穂、古賀信幸、石井利直、太田英明

【目的】フェニルプロパノイド類をはじめとした植物成分は活性酸素による生体成分の酸化傷害を抑える効果があるとされており、なかでもその関連物質の一つとしてクロロゲン酸(5-CQA)の報告が比較的多い。しかしながら、5-CQAをはじめフェニルプロパノイド類の生体内変化についての詳細は不明である。そこで、本研究では、フェニルプロパノイド関連物質5-CQAのin vitro代謝、特にカフェ酸(CA)への加水分解反応につき、ラット肝および小腸を用いて、検討した。

【方法】肝ミクロゾーム(Ms)および小腸9000xg上清の調製: Wistar系雄性ラットを用い、未処理群あるいはフェノバルビタール(PB)または3-メチルコラントレン(MC)前処理群に分けた。なお、前処理群についてはそれぞれの薬物を3日間腹腔内投与した。最終投与日の翌日、常法により肝Msと小腸9000xg上清を調製した。加水分解活性: 5-CQAを肝Msまたは小腸9000xg上清とともに、37°Cで60分間インキュベートした。CAを含む代謝物はHPLCで分析した。

【結果】肝Msおよび小腸9000xg上清により、いずれの場合にも5種類の代謝物(M1~M5)が生成された。このうち、代謝物M3は5-CQAが加水分解されてできたCAと保持時間が一致した。また、CAの生成活性に対する薬物(PBあるいはMC)の影響を調べてみたところ、肝ではCon群およびMC群に比べてPB群で約6.1倍と有意に高い活性を示した。一方、小腸では各群とも同程度の強さで有意な差はみられなかった。

コーヒーおよびその成分摂取がアポリポタンパク質E欠損マウスにおける動脈硬化症の進展に及ぼす影響 ○浅野間将志、佐藤匡央、今泉勝己 九大院・農・栄養化学

【目的】コーヒーはクロロゲン酸などの抗酸化物質を多く含み、その摂取により動脈硬化発症に関わっているLDL酸化の抑制が期待される。そこで本研究ではコーヒーおよびクロロゲン酸が、ヒトとよく似た動脈硬化病変を形成するアポリポタンパク質E欠損(apoE^{-/-})マウスの動脈硬化発症に及ぼす影響を検討した。

【方法】apoE^{-/-}マウスに1.1%のコーヒーおよびそれに相当するクロロゲン酸を含んだ混合飼料を自由摂食させ、2ヶ月間飼育した。大動脈と大動脈根の病変面積を測定することによって、動脈硬化の程度を評価した。血清、肝臓脂質濃度および脂質過酸化の指標である尿中のイソプロスタノール濃度を測定した。

【結果】血清脂質濃度にはコーヒーおよびクロロゲン酸摂取の影響が認められなかったが、脂肪組織重量や肝臓トリグリセリド濃度はコーヒー摂取で有意に減少した。クロロゲン酸を摂取させた群ではコントロール群に比べて尿中のイソプロスタノール濃度が有意に低下し、コーヒーを摂取させた群でもその傾向があった。しかし、クロロゲン酸およびコーヒー摂取は、このモデル動物における動脈硬化病変の程度に影響しなかった。

SHRSP ラットの寿命に及ぼす硬化大豆油成分の影響

A1-am13 ○長曾俊郎、市育代、佐藤匡央、池田郁男、今泉勝己（九大・農・栄養化学）

硬化大豆油および菜種油は大豆油と比較して脳卒中易発症性自然発症高血圧(SHRSP)ラットの寿命を短縮させるという報告がある。その理由として、硬化大豆油ではトランス型脂肪酸含量が、菜種油では植物ステロール含量が原因と考えられている。そこで本研究では、SHRSP ラットに、硬化大豆油、超臨界二酸化炭素抽出硬化大豆油(低圧抽出油、高圧抽出油と抽出残渣)を与え、0.5%食塩水を自由摂水させ、それぞれの寿命短縮効果について検討を行った。硬化大豆油と低圧抽出油群において寿命が短くなる傾向が見られたが、各群間に有意な差は見られなかった。今後、それぞれの群の脳・心臓・腎臓などの病理解剖を行い、寿命短縮効果との関連性を検討していく予定である。

食餌レクチンによるラットのコレステロール代謝への影響

A1-am14

広島大院・教育学○萱島知子、片山徹之

【目的】レクチンは、実験動物において栄養素の吸収抑制や成長阻害作用が報告されており、抗栄養素因子として知られている。本研究ではコレステロール(Chol)摂取ラットにおいて比較的低レベルの食餌レクチンがChol代謝に及ぼす影響について検討した。【方法】10%牛脂添加の20%カゼイン食を基本食とし、Chol添加食は0.50%Cholと0.13%コール酸ナトリウムを、レクチン添加食は0.34%コンカナバリンAを添加した。Wistar系雄ラットを2週間飼育後、血液と肝臓を採取して脂質成分を測定した。また飼育終了直前5日間で糞を採取し中性ステロールと胆汁酸濃度を測定した。【結果】0.34%食餌レクチンはラットの成長と食餌摂取量に対して有意な影響を与えなかった。Cholを負荷した場合、レクチン添加食群において血清と肝臓Chol濃度の上昇が抑制され、さらに糞中Chol濃度の増加が確認された。Cholを負荷しない場合、レクチン添加の効果は認められなかった。以上の結果より、レクチンの血中Chol濃度低下作用はChol吸収抑制によることが推察された。小腸のChol吸収に関連する酵素活性の測定については現在検討中である。

コレステロール7 α 水酸化酵素 mRNA の合成に対する食事時間およびインスリンの影響

(1)天辰病院、2)三州病院、3)横山病院、4)鹿純女大・健栄、5)立石食品、6)厚生連病院)○酒匂麻紀子 1)、海老原綾子 2)、立野美和 3)、川崎智子 4)、吉田みゆき 5)、猿渡りえ 6)、瀬戸口賀子 4)

A1-am15

【目的】Cholesterol 7 α -hydroxylase は、コレステロールから胆汁酸が生合成される際の初発酵素である。その遺伝子発現には、夜間は高く昼間は低いという日内リズムがあるが、摂食により影響を受けることが知られている。この現象がインスリンに因るものか、さらに、その後の反応に関与する 12 α -hydroxylase 及び 5 β -reductase も同様の現象が生じるか調べることを目的とした。

【実験方法】家兔に7日間自由摂食させ、その後20日間は8時から14時に摂食制限、21日目は摂食なしに8時にヒトインスリン2単位を皮下注射した。その後、9時から経時的に採血し、肝臓を摘出してRNAの調製を行い、Northern blottingにより各酵素のcDNAをプローブとして、mRNAの合成量を比較した。

【結果】Cholesterol 7 α -hydroxylase はインスリン投与後3時間が最も高いレベルを示し、その後徐々に低下した。12 α -hydroxylase 及び 5 β -reductase も 7 α -hydroxylase ほど顕著な差ではないが同様の結果が得られた。

Theasinensin による COX-2 遺伝子発現の制御について

A1-pm1（鹿児島大・農）○益智子、侯徳興、橋本文雄、坂下祐介、藤井信

【目的】Cyclooxygenase-2 (COX-2) は、アラキドン酸から炎症および発癌等に関与する prostaglandin H2 の合成反応を触媒する酵素である。我々は、COX-2 遺伝子をマーカーとして抗炎症作用及び抗癌機能をもつ食品成分の検索を進めている。本研究では、紅茶や烏龍茶に含まれる theasinensin 類に着目し、COX-2 遺伝子発現の抑制効果及び分子機構について解析を行った。

【方法】マウスマクロファージ RAW264 細胞は、10%FBS を含む DMEM で培養した。COX-2 の誘導は、LPS を用いて行った。各種タンパク質の発現は、それぞれ特異的な抗体を用いてウェスタンブロッティング法で検出した。COX-2 遺伝子プロモーターの転写活性は、ルシフェラーゼレポーター遺伝子法で測定した。

【結果】スクリーニングの結果、theasinensin A~E の中に A と D が COX-2 のタンパク発現を強く抑制した。Theasinensin A を用いて、シグナル伝達系 MAPK(JNK,ERK,P38)、転写因子及び、COX-2 プロモーター転写活性の解析も行ったので、その結果をもあわせて報告する。

烏龍茶成分による COX-2 遺伝子発現の制御について

A1-pm2 (鹿児島大・農) ○村上亜希子、侯徳興、橋本文雄、坂田祐介、藤井信

【目的】 炎症性疾患、さらに発癌にも関与する酵素として、プロスタグランジン合成酵素であるシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) が知られている。本研究は、烏龍茶の抗癌・抗炎症機能を解析するために、COX-2 遺伝子を用いて烏龍茶成分による COX-2 発現の抑制効果及びその作用機構を細胞・分子レベルで解析した。

【方法】 ヒト肺癌上皮細胞 A549 は、FBS5% を含む RPMI1640 培地で培養した。COX-2 の誘導には IL-1 β を用いた。COX-2 タンパク質、MAPK 及び転写因子の活性化は、特異的抗体を用いてウェスタンブロッティング法により検出した。

【結果】 烏龍茶成分は、IL-1 β 誘導性 COX-2 発現を時間および濃度依存的に抑制した。また、分子レベルで解析した結果、烏龍茶成分は MAPK の一つである p38 と転写因子 ATF-2 のリン酸化、さらに NF- κ B の活性化を抑制することが明らかになった。これより烏龍茶成分は p38 及び NF- κ B の活性化をブロックすることによって IL-1 β 誘導性 COX-2 の発現を抑制すると考えられる。

低分子化アルギン酸ナトリウムのラット脂質代謝に及ぼす影響

A1-pm3 ○富永香織、徳田奈緒子、前浜祥子、牧野 望、西園祥子、田中一成 (県立長崎シーボルト大・看護栄養・栄養化学)

【目的】 昆布などの褐藻類に含まれるアルギン酸は、粘性が極めて高く溶解性が低いことから食品素材としての利用は限られている。本研究では、低分子化して粘性や溶解性を改善した低分子アルギン酸ナトリウムの脂質代謝への影響をラットを用いて検討した。

【方法】 食物繊維源として、セルロース (Cel)、水溶性食物繊維の寒天 (Agr)、分子量数 10 万から 200 万のアルギン酸ナトリウム (Alg) および分子量約 5 万の低分子化アルギン酸ナトリウム (Low-alg) を用いた。初体重 100g 前後の SD 系雄ラットにこれら食物繊維を 5% 含み、0.5% コレステロール (Chol) および 0.125% コール酸ナトリウムを添加し AIN-93 に従って調製した飼料を 4 週間自由摂食させた。絶食後断頭屠殺し、血清と肝臓の脂質パラメーターを測定した。

【結果】 Alg および Low-alg は血清トリグリセリド (TG) 濃度を低下させた。Alg を低分子化すると肝臓 Chol 濃度は上昇した。Alg は肝臓 TG 濃度を低下させたが、これは肝臓脂肪酸合成酵素活性の低下によるものであると考えられた。Low-alg も肝臓 TG 濃度を低下させた。以上の結果より、Low-alg は Alg と同様に血清および肝臓中性脂肪を低下させることが明らかとなった。

ラット血清成分などへの影響を指標とした柑橘中オーラプテンの生理活性分析

A1-pm4 (1) 熊科大・環境共生, 2) 熊本食加研) ○赤星亜朱香 1), 金田尚子 1), 下田亜沙子 1), 工藤康文 2), 菅野道廣 1)

【目的】 オーラプテン (Aur) は特定の柑橘果皮に局在し、その生理作用として発ガンや活性酸素生成の抑制が知られている。本研究では Aur の生理作用をより詳しく知るため、ラットを用いた摂食実験を行った。【方法および結果】《実験 1》柑橘果皮乾燥物を用い、Aur を 0.01% レベルで含む甘夏群、Aur をほとんど含まないボンカン群および対照群 (セルロース) を設けた。飼料組成は AIN-93G に準じ、28 日間飼育した。その結果、肝臓重量および血清グルコース濃度は甘夏群およびボンカン群で有意な低下が見られ、また腎臓重量および血清 TNF- α 濃度は甘夏群で有意な上昇が見られた。《実験 2》甘夏果皮より調製した Aur 濃縮物を用い、Aur を 0.04% レベルで含む群と対照群を設け、26 日間飼育した。Aur 群で摂食量および腎臓重量が有意に高く、血清トリグリセリド濃度は有意に減少した。血清 TNF- α 濃度は、Aur 群で高い傾向が見られたが、有意ではなかった。一方、脾臓リンパ球の NK 活性は有意ではないものの Aur 群で低い傾向にあった。【結論】 実験 1 と 2 に共通して Aur 摂取による血清 TNF- α 濃度の上昇傾向が観察され、また白色脂肪組織重量や血清インスリン濃度の減少傾向、血清トリグリセリド濃度の有意な減少など脂肪組織における脂肪酸代謝や血清脂質像の改善など脂質代謝に好ましい影響が認められた。

リゾホスファチジルイノシトールの分子種分析とその生理活性

A1-pm5 (福山大・生命工・応用生物) ○岩脇 大、盛重純一、村上 薫、田中保、里内 清

【目的】 リゾリン脂質の中には細胞間メディエーター分子として機能するものが存在し、数種のリゾリン脂質受容体が見出されている。我々は、多価不飽和脂肪酸 (PUFA) 含有リゾホスファチジルイノシトール (LPI) が細胞内カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 上昇を誘導することを見出したので報告する。

【方法】 動物、植物由来の PI にホスホリパーゼ A₁ あるいは A₂ を作用させ、アラキドン酸 (75.2%)、リノール酸 (66.9%) あるいはステアリン酸 (73.4%) を豊富に有する LPI を調製した。LPI が誘導する $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は Swiss3T3 細胞を用いて調べた。ラット組織の LPI は飛行時間型質量分析計、ガスクロマトグラフィーにより分析した。

【結果・考察】 ステアリン酸を有する LPI やアラキドン酸を有するリゾホスファチジルコリンはほとんど活性を示さなかったがリノール酸、アラキドン酸といった PUFA を有する LPI は数 μ M で $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を誘導した。この作用は、脱感作が起こる事より何らかの受容体を介しているものと思われた。また、ラット脳、肝臓、腎臓にはグラムあたり数 nmol の LPI が存在し、主要な分子種はステアロイル型とアラキドノイル型であった。

ウコギ葉熱水抽出物による抗肥満作用

A1-pm6 (1) 福山大・生命工・応用生物、2) フ
アンケル中央研) ○村上 薫¹⁾、村上 蘭¹⁾、
田中 保¹⁾、菊田 安至¹⁾、里内 清¹⁾、
吉積 一真²⁾、辻 智子²⁾

【目的】ウコギは、五加と呼ばれ、古くから薬用、食用とされている植物である。我々は、*in vitro* において、ウコギ葉熱水抽出物が、膵臓リパーゼ活性を阻害することを見出している。今回は、*in vivo* での抗肥満作用について検討した。【方法】脂肪吸収抑制実験は、SD ラットにコーン油エマルジョンあるいはこのエマルジョンにウコギ葉熱水抽出物を添加したものを経口投与し、経時的に血中トリグリセリド(TG)を測定した。さらに ICR 系マウスに、高脂肪食あるいはこの高脂肪食にウコギ葉熱水抽出物を添加したものを摂取させ、体重および摂餌量、糞便中の TG を測定し、長期摂取における有効性を検討した。【結果】脂肪吸収抑制実験において、ウコギ葉熱水抽出物添加群では、非添加群に比べ、投与後 3~5 時間後の血中 TG の上昇が抑えられた。また、ウコギ葉熱水抽出物の長期摂取により、高脂肪食供与群に比べ体重の増加が抑制された。以上より、ウコギ葉熱水抽出物は抗肥満作用を示すことが示唆された。本研究の一部は、農林水産省平成 14 年度国産農産物利用食品産業技術開発支援事業の補助を受けた。

大豆イソフラボンは脂肪細胞を小型化させる

A1-pm7 ○関谷 敬三 (独) 農研機構・近中四農
研)

【目的】拡大した脂肪細胞からは PAI-1、TNF α 、脂肪酸などが多く分泌されることからインスリン抵抗性が現れ糖尿病、高血圧などの生活習慣病の原因になることが指摘されている。そこで、脂肪細胞を小型化する(肥満防止)目的で脂肪分解を促進する食品成分について検討した。【方法及び結果】脂肪細胞としては 3T3-L1 前駆脂肪細胞を脂肪細胞へと分化させて用いた。脂肪細胞分化は 10%牛胎児血清を含む DME 培地、5%CO₂ 下で培養し密集状態に達した前駆脂肪細胞をインスリン、メルイブ、フルキサソ、デキサメタゾン¹⁾の混合物を培地に添加して処理することで行った。脂肪細胞への分化が形態的にも明らかになる約 10 日後に培地にサンプルを添加して培地中に遊離してくるグリセロールを脂肪分解の指標として測定した。大豆に含まれるイソフラボンはマイクロモル濃度から濃度依存的に脂肪分解を促進することがわかった。なかでもダイゼインの効果が最も高く 0.3 μ M の濃度から脂肪分解が認められた。イソフラボンの作用は長時間必要なことよりカテコールアミンなどとは別の機序によると考えられる。

共役リノール酸の抗肥満・抗高脂血症作用に関する研究

A1-pm8 佐賀大・農・応生科
○井上 奈穂、永尾晃治、王玉明、柳田 晃
良

【目的】共役リノール酸 (CLA) は、ヒトや様々な実験動物を用いた研究により抗ガン作用・抗動脈硬化作用および抗肥満作用などの栄養生理作用が報告されている。本研究では、肥満/糖尿病モデル動物である OLETF ラットの病態発症に及ぼす CLA の影響について検討を行った。

【方法】5 週齢の雄 OLETF ラットに 6.5%サフラワー油を含む対照食(対照群)またはサフラワー油を 1% もしくは 2%の CLA で置き換えた CLA 食(1% CLA 群、2% CLA 群)を 4 週間自由摂食させた。最終日に 8 時間絶食後、腹部大静脈採血により屠殺を行い、肝臓および脂肪組織を摘出し分析に供した。

【結果】飼育終了後、摂食量、肝重量に群間で差は見られなかったが、対照群に比べ CLA 食群で終体重および脂肪組織重量が有意に減少した。また CLA 摂食により血清・肝臓のトリグリセリド(TG)濃度および血清レプチン濃度の低下が認められた。CLA による血清 TG 濃度低下の作用機序としては、肝臓におけるリポタンパク質合成・分泌への関与が示唆されるミクロソーム TG 転送タンパク質活性の低下が認められた。

持久性トレーニングによる筋肉のケトン体および酢酸利用の増加

A1-pm9 (岡山県大・保健福祉・栄養、1) くら
しき作陽大・栄養) ○山下広美、金行孝雄¹⁾、
西江知子、辻岡智子、伊月あい、木本眞
順美、比江森美樹、辻英明

[目的]約 1 ヶ月の持久性トレーニングをラットに施し、筋肉のケトン体および酢酸利用活性について調べた。

[方法] 4 週齢の雄ラットに電動回転カゴを用いて速度 17.7m/min での運動を毎日 1 時間課し、約 1 ヶ月間継続した。実験期間中の体重および摂食量を記録した。運動群および対照群のラット 3 匹ずつを解剖し、肝臓、心臓および骨格筋からミトコンドリアを単離し、 β -ヒドロキシ酪酸を基質とした呼吸活性および β -ヒドロキシ酪酸脱水素酵素(HBD)活性を測定した。さらに HBD およびアセチル-CoA 合成酵素(ACS2)遺伝子発現を調べるためにノザンプロットを行った。

[結果] 運動群における心臓ミトコンドリアの呼吸活性は、対照群と比較して有意に増加していた。心臓および骨格筋における HBD 活性についても運動群で増加していた。心臓および骨格筋ではケトン体利用活性が上昇していることが示唆された。ノザンプロット解析の結果、心臓において HBD および ACS2 遺伝子の発現が有意に増加していた。

ニシヨモギの血糖値低下作用に関する研究

A1-pm10

沖縄県工業技術センター、○鎌田靖弘、
豊川哲也、照屋正映、市場俊雄

【目的】ニシヨモギは沖縄ではフーチバーという方言名で、雑炊や山羊汁の薬味として日常的に食されてきた。そこで本研究では、ニシヨモギの血糖値低下作用を検討した。

【方法】ニシヨモギを乾燥粉末化し、50% EtOH 及び熱水抽出を行った。*in vitro* 試験では、各種消化酵素阻害活性を測定し、*in vivo* 試験では、Ⅱ型糖尿病マウス(KK-Ay)に熱水抽出物を8週間投与し、2週毎の空腹時血糖値等を測定した。

【結果】ニシヨモギの50% EtOH 抽出液における α -アミラーゼ阻害活性は阻害率23.9%、 α -グルコシダーゼ阻害活性は阻害率52.2%であった。次に動物試験では、対照群と比較し、ニシヨモギ群の血糖値は投与後、全ての測定点で低値を示し、投与後1、3および5週目で有意($P<0.05$)に低下した。また、投与後7週目での血中糖化ヘモグロビン値は低下傾向を示した。これらの結果より、ニシヨモギは、Ⅱ型糖尿病の空腹時血糖値を低下させ、糖尿病予防も期待できた。

マウスの摂食・摂水日内リズムに及ぼす
香辛料の影響 - 糖尿病マウスと正常マウスの比較 -

A1-pm11

(中村学園大学・栄養科学部) ○大和孝子、青峰正裕

【目的】代表的な香辛料の唐辛子とシナモンが糖尿病マウスの摂食・摂水量にどのような影響を及ぼすのかについて調べ、正常マウスのそれと比較した。【方法】実験動物として、雄性の正常マウス(BB群)と自然発症糖尿病マウス(KK群)を使用した。使用した香辛料は唐辛子の辛味成分カプサイシンとシナモンの精油成分シナムアルデヒドである。投与方法は1日に1香辛料1濃度のみの腹腔内投与とし、対照として生食水を投与した。摂食・摂水量の測定は、12時間周期の明暗室において摂食・摂水測定装置を用い午前9時から5分毎に24時間行なった。【結果および考察】1日の摂食・摂水量はいずれの香辛料においても両群ともにほとんど変化はなかったが、1日の摂食量を明期と暗期で比較してみると、BB群では明期で減少、暗期で増加傾向を示した。一方、KK群では変化がみられなかった。摂食リズムに関しては、生食水によりBB群は投与直後に大きなピーク、11、21時間前後に小さなピークがみられたが、両香辛料の投与により大きなピークは抑制され、11時間前後のピークは増大する傾向にあった。しかし、KK群では生食水および両香辛料のいずれの投与においてもBB群ほど判然としなかった。体重は、両香辛料投与で両群とも減少した。

1,5 - D - アンヒドロフルクトースの抗う蝕作用

A1-pm13

(1) 日本澱粉工業(株)、2) 鹿児島大・農)
○藤末真実¹⁾、安部淳一²⁾

【目的】哺乳類の口腔内で *Streptococcus mutans* が生産する不溶性グルカンや乳酸がう蝕発生の大きな因子である。我々は1,5 - D - アンヒドロフルクトース(1,5 - AF)の様々な微生物に与える効果を調べている最中に、1,5 - AFにう蝕生成の原因となる不溶性グルカンと乳酸生成を強く妨げる効果があることを見出したので発表する。

【方法】*S. mutans* GS5株とMT8148株を1,5 - AF存在下に培養し、乳酸と不溶性グルカン合成酵素(GTase)量を調べた。また、GTaseに対する1,5 - AFの阻害作用を調べた。

【結果】1,5 - AFの抗う蝕のメカニズムは以下の三点に基づくことを明らかにした。① *S. mutans* GTaseの生産阻害 - 培地へ1,5 - AFを1%添加することにより、*S. mutans*によるGTaseの生成が強く妨げられた。② *S. mutans* GTaseの反応の阻害 - ショ糖を基質とするGTaseの活性測定系に1,5 - AFを0.5%添加すると反応はほぼ完全に阻害され、不溶性グルカンが生じなかった。③ *S. mutans*の糖代謝の変化 - 1,5 - AFを培地に添加することで *S. mutans*は乳酸生成量が減少することを認めた。培地に0.5% AFを加えることにより、生成した乳酸は無添加時の44%に低下し、その結果、培地のpHの低下は抑制された。

タマネギ外皮抽出物の糖質代謝酵素阻害活性について

A1-am14

西九州大・健康栄養
○瀬部和美、進藤直文

【目的】タマネギ外皮の赤褐色薄皮の水抽出液からこれまでに数種のDPPHラジカル消去能を持つフェノール化合物を単離した。ポリフェノール類には血糖上昇抑制作用があるとの報告がある。そこで、今回はこの抽出液の糖質代謝酵素阻害活性及び外皮に含まれるフェノール化合物との関係について検討した。

発酵乳ケフランケフィアの抗糖尿病効果

A1-pm12

(1) 九大院・遺資工、(2)九大院システム生命、(3)日本ケフィア(株)、(4)MDI Bio Lab) ○奥田聡子 1)、照屋輝一郎 1,2)、藤島沙織 1)、田中稔一 2)、片倉喜範 1,2)、徳丸千之助 3)、徳丸浩一郎 3)、D.Barnes4)、白畑實隆 1,2)

【目的】インスリン非依存型糖尿病は、標的臓器におけるインスリンシグナルの機能不全によるインスリンの感受性の低下がその発症原因となっている。これまで発酵乳ケフランケフィアがラット由来多核筋細胞(L6)及びマウス脂肪細胞(3T3/L1)におけるグルコース取り込みに対して増強効果を示すことを明らかにしてきた。本研究では 3T3/L1 細胞における発酵乳ケフランケフィアのインスリン抵抗性改善効果に関して検討を行った。

【方法及び結果】ケフランケフィア水溶性画分を限外濾過により分子量分画し、グルコース取り込みを増強する画分は分子量 30,000 以上であることが確認された。脂肪細胞へ分化誘導した 3T3/L1 細胞に 25mM グルコース、100nM インスリン処理を 24 時間行い、インスリン抵抗性状態を誘導した。ケフランケフィア水溶性画分は、インスリン抵抗性を示す 3T3/L1 細胞に対しインスリン感受性改善効果を示すことがわかった。またその効果はインスリン抵抗性治療薬トログリタゾンと同程度であった。

ラット小腸粘膜微絨毛膜によるセロビオースの水解活性とその機序

A1-pm15

県立長崎シーボルト大・院・栄養科学 ○中村禎子、奥 恒行

セロビオースはセルロースを特殊な酵素で加水分解して得られる二糖で、ブドウ糖 2 分子が β -1,4 結合した構造をしており、人の消化酵素で消化されないかきわめて消化されないと考えられている。しかし、その消化性や水解機序は明かでない。そこで、ラット小腸粘膜微絨毛膜を用いてセロビオースの消化性を観察してみた。

通常の固形飼料(MF、オリエンタル酵母)で飼育した Wistar 系雄ラット(体重約 300g)から Kessler らの方法で小腸粘膜微絨毛膜を調製し、二糖類水解酵素標本として用いた。二糖類水解活性は Dahlqvist らの方法に準じて行い、生成されたブドウ糖は Glucose oxidase を用いて測定した。セロビオース並びに乳糖に対する比活性はそれぞれ 0.17 と 0.63 μ moles hydrolyzed substrates/mg protein/h で、セロビオースの水解活性は乳糖の約 1/4 であった。一方、乳糖とセロビオースの等モル共存下では乳糖の水解が抑制されたので、セロビオースの水解は β -1,4 結合をもった乳糖の水解酵素であるラクターゼによって行われるものと考えられる。

にんにく卵黄の血流流動性改善効果

A1-pm16

1) 健康家族(株)、2)鹿児島大・農・食品機能化学) ○塩月千賀 1)、田中幸子 1)、侯徳興 2) 藤井信 2)

【目的】にんにく卵黄は古くから九州南部地方に伝わる伝統食品であり、健康食品として広く嗜好されている。にんにくは抗癌作用、抗血小板凝集作用など様々な生理作用を持つことが報告されている。そこで我々は、にんにくと卵黄の混合物にんにく卵黄が血液流動性に及ぼす効果について MC-FAN を用い血液通過時間を測定することで評価した。

【方法】社内の健康な男性 6 名、女性 17 名の計 23 名を被験者とした。摂取の 3 週間前よりサプリメントを摂取することを中止した。摂取は 1 日に 3 粒とし、毎食後 1 粒づつ摂取した。摂取開始前、3 週間摂取後に採血を行った。採血は全て午前 10 時前後に行い、直ちに全血通過時間の測定を行った。測定方法は血液流動性測定装置 MC-FAN を用いて菊地らの方法に従った。

【結果】にんにく卵黄を摂取することで、23 名中 15 名で血液流動性の改善効果が見られ、特に通過時間が遅かった 2 名において顕著な改善効果が見られた。そこで、次にラット血液に直接にんにく卵黄抽出物を添加して流動性改善効果を検討し、どのように流動性が改善されるかを検討している。

ローヤルゼリーのアトピー様皮膚炎誘導マウスに対する効果

A1-pm17

(林原生化研) ○渋谷 孝、谷口美文、河野恵三、岩城完三、池田雅夫、福田恵温、栗本雅司

【目的】ローヤルゼリー(RJ)は、働き蜂の唾液腺から分泌される乳白色のクリーム状物質で、蛋白質、脂質、ビタミンなどが豊富に含有されており、動脈硬化の予防、血清コレステロールの低下や精力の増進など種々の生理作用が報告されている。今回、我々は RJ のアトピー様皮膚炎誘導マウスに対する影響を調べた。

【方法及び結果】5 週齢の雌 NC/Nga マウスの背部に塩化ピクリルを週 1 回塗布してアトピー様皮膚炎を誘導させた。RJ は 6 週間 30 回経口投与し、経時的に皮膚炎の症状を点数化し、試験群間で比較した。その結果、RJ 投与群の皮膚症状スコアは、対照群(PBS 投与)と比較して、初回感作 35 日以後に有意に低いことが分かった。この RJ の作用メカニズムとしては IFN- γ の産生抑制と iNOS の発現増強が考えられた。また、陽性対照として用いたステロイド軟膏投与群と比較すると、RJ の作用は弱いと体重低下が認められなかったことより、副作用は低いと考えられた。

植物化合物による癌細胞のアポトーシス
誘導： 活性酸素とアポトーシスについて
A2-am1 (鹿児島大・農) ○竹下 徹、侯 徳
興、 藤井 信

【目的】 多くの植物化合物が癌細胞内の活性酸素を高め、アポトーシスを誘導することが知られているが、その作用機構はまだ明らかにされていない。本研究は、代表的な4種類の植物化合物を用いて HL-60 細胞のアポトーシス誘導と、活性酸素との関連性を解析してみた。

【方法】 HL-60 細胞は 10%FBS を含む RPMI 培地で培養した。植物化合物で処理した細胞から DNA およびタンパク質を抽出した。DNA 断片化はアガロースゲル電気泳動で、タンパク質はウェスタンブロットで検出した。抗酸化剤による癌細胞活性酸素の産生やミトコンドリア膜電位の変化は特異的プローブを用いてフローサイトメーターで測定した。

【結果】 4 種類の植物化合物がすべてアポトーシスを誘導したが、抗酸化剤によるアポトーシスの阻害はそれぞれ異なる挙動をした。活性酸素を同定した結果、3 種類の化合物は異なる活性酸素を産生し、ミトコンドリア膜電位を低下させ、シトクロム *c* が細胞質へ放出されたことが認められた。一方、活性酸素を産生しなかった化合物はそのような変化が認められなかった。これらの結果により、この4つの化合物のアポトーシス誘導はそれぞれ異なる分子メカニズムによるものと考えられた。

Gossypol はミトコンドリアの障害を介して癌細胞のアポトーシスを誘導する
A2-am2 (鹿児島大・院・連合農学)
○宇都 拓洋、侯 徳興、藤井 信

【目的】 Gossypol (Gos) は綿実に含まれるセスキテルペン類の化合物である。抗菌作用、殺虫作用および避妊作用等の機能性が知られている。本研究では、ヒト前骨髄性白血病細胞 (HL-60) を用いて Gos のアポトーシス誘導能およびその作用機構を解析した。

【方法】 HL-60 細胞は 10%FBS を含む RPMI1640 培地で 24 時間培養後、各種濃度の Gos を添加し一定時間または経時的に細胞を回収した。細胞生存率は MTT 法で測定した。DNA 断片化はアガロースゲル電気泳動で、タンパク質はウェスタンブロッティング法で検出した。活性酸素およびミトコンドリア膜電位変化は特異的な蛍光プローブを用いてフローサイトメーターで検出した。

【結果】 Gos は濃度依存的にアポトーシスを誘導した。その分子機構を解析した結果、Gos 処理によってミトコンドリア膜電位が変化し、シトクロム *c* がミトコンドリアから細胞質へ放出されたことが明らかになった。これにより Caspase 系の活性化及び PARP 切断が認められた。以上の結果、Gos がミトコンドリアの障害を介してアポトーシスを誘導すると考えられた。

香辛料中の Echinocystic acid による HL-60
細胞のアポトーシス誘導機構の解析
A2-am3

(鹿児島大・院・連合農学) ○童 旭輝、
侯 徳興、藤井 信

【目的】 Echinocystic acid (EA) はテルペン類化合物であり、多くの香辛料に含まれている。最近、その抗ガン作用が注目されている。しかし、その抗癌作用の分子メカニズムはほとんど明らかにされていない。本研究はヒト急性前骨髄白血病細胞 (HL-60) を用いて EA によるアポトーシスの誘導およびその分子機構の解析を行った。

【方法】 HL-60 細胞は 10%FBS を含む RPMI 培地で 24 時間培養した後、各種濃度の EA を培地に添加した。経時的に HL-60 細胞を回収し、DNA およびタンパク質を抽出した。細胞増殖の測定は MTT 法で行った。DNA の断片化はアガロース電気泳動で検出した。断片化した DNA の定量はフローサイトメーターで解析した。タンパク質はウェスタンブロットで検出した。

【結果】 EA は濃度および時間依存的に HL-60 細胞にアポトーシスを誘導した。その誘導機構を解析した結果、EA は ROS を介さずミトコンドリア膜電位に影響し、シトクロム *c* を細胞質に放出させ、Caspase-3 などを活性化することによって、アポトーシスを引き起こすことが明らかになった。

HL-60 細胞における Ampelopsin のアポト
ーシス誘導機構の解析
A2-am4 (鹿児島大・農) ○ 久保 真弓、侯 徳
興、 橋本 文雄、坂田 雄介、藤井 信

【目的】 広く植物界に存在するフラボノイドは、抗酸化作用や抗腫瘍作用で知られている。本研究はフラバノールのアグリコン構造物の一種で、ノブドウ属に含まれる Ampelopsin を用いて HL-60 細胞におけるアポトーシス誘導を試み、さらにその分子メカニズムを解析した。

【方法】 ヒト前骨髄性白血病細胞 (HL-60) は、10% FBS を含む RPMI 培地で培養した。細胞生存率は、MTT assay 法で測定した。DNA の断片化は、アガロースゲル電気泳動で、タンパク質は、ウェスタンブロッティング法で検出した。ROS、GSH およびミトコンドリア膜電位変化の測定は特異的なプローブを用いてフローサイトメーターにより測定した。

【結果】 Ampelopsin は HL-60 細胞において、時間及び濃度依存的に DNA 断片化を誘導した。その誘導機構を解析した結果、Ampelopsin は細胞内活性酸素を上昇させ、Caspase 類を活性化し、アポトーシスを誘導した。抗酸化剤を用いた結果、そのアポトーシス誘導を阻害した。これにより、Ampelopsin によるアポトーシス誘導は活性酸素を介したものであると考えられる。さらに、ミトコンドリア膜電位の変化、細胞質へのシトクロム *c* の放出についても調べたのでその結果もあわせて報告する。

中国生薬・食材の抗酸化能および抗癌能の解析

A2-am5 (鹿児島大・農) ○城野 千尋、侯 徳興、
藤井 信

【目的】 食と健康への関心が高まる今、漢方薬として病気の治療に用いられてきた中国生薬が、健康食品としても注目され始めている。その評価の一環として本研究では 11 種類の中国生薬・食材についてそれらのポリフェノール含量、抗酸化能、細胞癌化抑制能および癌細胞アポトーシス誘導能の解析を行った。

【方法】 ポリフェノール含量は Folin-Ciocalteu 法で測定した。ラジカル消去能は DPPH を用いて、抗酸化能はヒアルロン酸を用いて測定を行った。細胞増殖抑制能は MTT 法を用いた。細胞癌化抑制能はマウス JB6 細胞を用いて colony assay 法で行った。癌細胞アポトーシス誘導能は DNA 断片化より解析した。

【結果】 11 種類の中国生薬・食材はポリフェノール含量により多、中、少の 3 つのグループに分けられた。含量の多かったビルベリー、ブドウの皮と種、トチュウ、ショウマおよびオウゴンが高いラジカル消去能、抗酸化能、細胞癌化抑制能およびアポトーシス誘導能を示した。このことから中国生薬・食材中のポリフェノールが抗酸化能、抗癌能に関与していると考えられる。

大黄レインは活性酸素非依存的なミトコンドリアの傷害による HL-60 細胞のアポトーシスを誘導する

A2-am6 (鹿児島大・院・連合農学) ○林 世剛、侯 徳興、藤井 信

Rhein is an anthraquinone compound enriched in the rhizome of rhubarb, a traditional Chinese medicine herb showing anti-tumor promotion function. In this study, we first reported that rhein could induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells (HL-60), characterized by caspase activation, poly(ADP)ribose polymerase (PARP) cleavage and DNA fragmentation. The efficacious induction of apoptosis was observed at 100 μ M for 6 hr. Mechanistic analysis demonstrated rhein induced the loss of mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$), cytochrome *c* release from mitochondrion to cytosol, and cleavage of Bid protein. Rhein also induced generation of reactive oxygen species (ROS), and the phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase (JNK) and p38 kinase. However, these actions seem not to be associated with the apoptosis induction because antioxidants including *N*-acetyl cysteine (NAC), Tiron and catalase did not block rhein-induced apoptosis although they could block the generation of ROS, and the phosphorylation of JNK and p38 kinase. Our data demonstrate that rhein induces apoptosis in HL-60 cells via a ROS-independent mitochondrial death pathway.

ウコンによる細胞形質転換の抑制および癌細胞のアポトーシスの誘導

A2-am7 (鹿児島大・農) ○若松美香、侯 徳興、
藤井 信

【目的】 ウコンは肝機能の強化作用など健康食品として広く用いられ、近年では癌の予防や治療にも効果が期待されている。本研究では細胞形質転換のモデル系であるマウス JB6 細胞を用いて、秋ウコン、春ウコンおよび紫ウコンの細胞形質転換抑制効果を調べた。また、ヒト白血病細胞 HL-60 を用いて、3 種類のウコンによる癌細胞アポトーシス誘導能を調べた。

【方法】 細胞増殖の測定は MTT 法で行った。細胞形質転換抑制の測定は、コロニーアッセイ法で発癌プロモーターTPA とウコンを含む寒天培地に細胞を重層し 14 日間培養後形成されたコロニーをカウントして求めた。癌細胞のアポトーシス誘導能は DNA 断片化より解析した。

【結果】 各種ウコンは、細胞形質転換を濃度依存的に抑制した。また、HL-60 細胞の DNA 断片化は紫ウコンを除いて誘導されたが、誘導濃度および時間は異なった。各種ウコンの成分を分析した結果、クルクミン含量が大きく異なり、ウコンのクルクミン含量と細胞形質転換抑制効果および癌細胞アポトーシス誘導能の強さは一致した。これらのことから、ウコンのこれらの効果はクルクミンによるものであると考えられる。

A2-am8

プロアントシアニンによる HL-60 細胞のアポトーシス誘導および作用機構の解析
(鹿児島大・農) ○森下暁子、侯徳興、
橋本文雄、坂田祐介、藤井信

【目的】 プロアントシアニンは、ブドウやお茶等に存在し、その食品機能性として注目されている。本研究では、ヒト前骨髄性白血病細胞 (HL-60) を用いたアポトーシス誘導を指標として、プロアントシアニンの抗腫瘍効果および、その作用機構を解析した。

【方法】 ヒト前骨髄性白血病細胞 (HL-60) は、10% FBS を含むRPMI1640培地で培養し、細胞生存率はMTT assayにより測定した。DNA断片化はアガロースゲル電気泳動で、タンパク質はウェスタンブロッティング法で検出した。活性酸素およびミトコンドリア膜電位変化は、蛍光プローブを用いてフローサイトメーターで測定した。Caspases類の活性は、特異的な蛍光基質を用いて測定した。

【結果】 10種類のプロアントシアニンのうち、9種類がHL-60細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導した。構造とアポトーシス誘導能との関係が見られた。また、作用機構を解析した結果、Prodelphinidin B-2はHL-60細胞に活性酸素を上昇させ、Caspases類を活性化し、DNA断片化を引き起した。このことより、Prodelphinidin B-2によるアポトーシスの誘導は活性酸素の産生誘導を介していると考えられた。

フコイダン混合食品のガン抑制効果
 (1)NPO 法人フコイダン研究所、2)松崎記念病院、3)鹿児島大・農・食品機能化学
 A2-am9 ○前村基子 1)、立川大介 1,2)、中溝公次 1)、高尾秀樹 1)、侯徳興 3)、藤井信 1,3)

【目的】近年、食品の健康維持効果、特にガン予防効果について社会的関心が高い。我々は海藻の硫酸化多糖類であるフコイダンの機能に注目している。そこで今回はフコイダン混合食品の持つガン抑制効果について報告する。

【方法】サルコーマ 180 ($2 \times 10^5/0.2\text{ml}$) を 5 週令 BALB/c マウスの皮下に移植し、フコイダン混合食品を 20 日間摂取させた。飼育実験終了後、皮下に形成された腫瘍を摘出し、重量を測定した。また、脾臓中の NK 細胞活性をターゲット細胞である YAC-1 を用いて、その細胞障害率より求めた。ヒトへの臨床応用としては、癌患者に投与し、その効果を評価した。

【結果・考察】ガン移植マウスにフコイダン混合食品を摂取させたところ、腫瘍重量は対照区マウスと比較して有意に減少した。またこの時の脾臓中 NK 細胞活性は高い値を示した。即ち、NK 細胞活性の亢進によってガン細胞の増殖が抑制されたと示唆される。現在、フローサイトメトリーによる血液中の各種リンパ球数などの評価も検討中である。さらにガン患者の適用例では、ガン組織の減少および腫瘍マーカー低下などの治療効果が認められた。

黒酢の抗腫瘍機能 (1) 鹿児島大・農学連大、2) 鹿児島大・農学研究科、3) 鹿児島大・農・食品機能化学、4) 坂元醸造(株))
 A2-am10 ○益満隆宏 1)、飯迫仁志 2)、小橋孝章 3)、侯 徳興 3)、藤井 信 3)、長野正信 4)

「目的」 鹿児島で古くから製造されている米を原料とした壺酢(黒酢)は健康増進機能があるとして広く愛用されてきた。我々は黒酢の健康維持効果について検討しており、移植腫瘍細胞の増殖抑制とナチュラルキラー(NK)の活性増加を認めた。「方法」 黒酢は減圧濃縮後、ゲルろ過に供し、画分を得た。マウスのリンパ腫由来のサルコーマ 180 をあらかじめ腹腔培養後、マウスの腰部皮下に 1.05×10^5 /マウス投与し、20 日間飼育し、解体、腫瘍組織重量の測定を行った。それらのマウスより脾臓を得、脾臓中の NK 活性の測定を、ターゲットとして YAC-1 を用い、適当な混合比で培養し、破壊されて溶出した LDH 活性を Promega 社の CytoTox 96 キットで測定した。

「結果と考察」 黒酢を Sephadex G-25 でゲルろ過すると、NK 活性亢進能は素通り画分に見られた。この画分をさらに Sephacryl 300 でゲル濾過したところ 2 画分が得られ、それぞれについて NK 活性は有意に上昇した。NK 活性亢進能を示した Sephadex G-25 画分 I には、多糖が多く含まれており、現在その構成糖について検討中である。

焼酎粕の生理機能

: 抗酸化能および抗腫瘍能

A2-am11 (1) 鹿児島大学・農学研究科、2) 田苑酒造(株)、3) 九州沖縄農研・畑作研究部) ○桐野智美 1)、大迫美穂 2)、吉留朋尚 2)、池田浩二 2)、吉元 誠 3)、倉田理恵 3)、侯 徳憲 1)、藤井 信 1)

【目的】発酵食品が持つ健康維持機能が注目されており、発酵産物である焼酎粕にも健康増進能を持つ成分が多量に存在することが報告されている。今回、焼酎粕の抗酸化能、抗腫瘍能について検討した。

【方法】実験①: 抗酸化能は DPPH ラジカル消去能、ヒアルロン酸粘度法で測定した。実験②: BALB/c 雄性マウスにサルコーマ 180 を皮下に移植し、対照群と焼酎粕投与群に分け 20 日間飼育した。対照群は生理食塩水を、焼酎粕投与群は焼酎粕溶液を、それぞれ強制給餌により摂取させた。抗腫瘍能は腫瘍重量により評価した。ナチュラルキラー(NK)細胞活性効果は脾臓より調整したリンパ球浮遊液をマウスリンパ腫細胞株 YAC-1 と共培養し、フローサイトメーターを用いて評価した。また、Sephadex G-25 を用いて画分 I ~ IV に分画し、各画分についても検討中である。

【結果】①各画分に抗酸化能が認められ、特に画分 II に抗酸化成分が多く含まれていることが示唆された。②サルコーマ移植マウスに焼酎粕各画分を投与した際の腫瘍の増殖抑制能および NK 細胞活性については検討中である。

Baked Sweet Potato Induced Apoptosis and Suppressed Cell Transformation
 A2-am12 1) 鹿児島大連合農学研究科、2) 薩摩酒造(株) ○イセルモ ウレド ラバ 1)、笹平智子 2)、小峰修一 2)、鮫島吉廣 2)、橋本文雄 1)、侯徳興 1)、藤井 信 1)。

We attempted to elucidate the biological effects of baked sweet potato (BSP) extract. BSP extract was obtained from SATSUMA SHUZO Ltd. Co, as a resource of black beer. This extract was prepared by baking of white roots sweet potato and then extracted with boiled water for 1 h. The extract was fractionated by Sephadex G-25 column chromatography to four fractions (I, II-a, II-b and III). The fractions II-a and III significantly suppressed TPA-induced cell transformation of JB6 cells, and showed the cytotoxicity of HL-60 cells via apoptosis. The antioxidant activity of these fractions was evaluated for their potential to scavenge the stable DPPH radical, and for protection of the damage of 2-deoxyribose by hydroxyl radical. The activity was correlated with the content of polyphenol. The active component was purified by column chromatographies with several gel types. The purity was judged by TLC. The partial structure was analyzed by NMR measurements. One active compound was isolated. It showed some properties of polyphenol. Further study on the active components is under work.

ヒトNK細胞株、Y T細胞の細胞傷害能に対する黒酢の効果
A2-am13 (1)鹿児島大・農学研究科、2) 鹿児島大農学連大、3) 坂元醸造(株) ○飯迫仁志 1)、益満隆宏 2)、侯 徳興 1)、藤井信 1)、長野正信 3)

【目的】黒酢は米と麴と水だけをアマンつぽと言われるつぽに入れ、1 年以上温暖な気候の下で発酵・熟成されたもので、天然のアミノ酸、ミネラル、有機酸を豊富に含んでいる。現在、健康食品として広く用いられている。本研究では、ヒトNK細胞株、Y T細胞を用いて細胞傷害能に対する黒酢の効果を調べた。

【方法】黒酢をエバポレーターで濃縮しG-25 で分画した。細胞増殖の測定は MTT 法で行った。細胞傷害能の測定は、ターゲット細胞にK 5 6 2 を用い、Y T細胞がターゲット細胞を攻撃する際に放出されるLDH量を測定し、これを細胞傷害能とした。

【結果・考察】分画して得られた黒酢(I, II, III)をY T細胞に添加すると増殖が促進した。特に画分IIで著しい増殖を示した。黒酢画分で処理したY T細胞の細胞傷害能が上昇した。なかでも高い活性をしめした画分IIをさらにG-10、DEAE-Cで分画し、細胞傷害能を測定した結果、両方とも画分II-①で高い活性が見られた。以上の結果より黒酢中、特に画分IIにY T細胞傷害能を活性化する成分が含まれていると考えられる。

白血球ガン細胞においてミトコンドリア経路のアポトーシスを誘導する新規細胞損傷タンパク質
A2-am14 (1)岡大院自然、2)福岡工技セ、3)九大院・農) ○天野浩未 1)、山際雅詩 1)、赤尾哲之 2)、水城英一 2)、大庭道夫 3)、酒井 裕 1)

【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、活性型分子である 29 kDa ポリペプチドを精製した。続いて、29 kDa ポリペプチド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 細胞におけるアポトーシス誘導過程について検討した。

【結果】29 kDa ポリペプチド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た。29 kDa ポリペプチドを投与した Jurkat 細胞では、ミトコンドリアからシトクロム c 及び Smac/DIABLO の遊離、カスパーゼ 9 及びカスパーゼ 3 の活性化、染色体 DNA の断片化が認められ、ミトコンドリア経路のアポトーシスが誘導されていることが強く示唆された。

シアニジン-3-グルコシド (C3G) を主成分とする黒大豆種皮抽出物のアポトーシス誘導作用
A2-am15 (1)岡山大・自然科学研究科 2) 備前化成 3) 岡山大・農学部 ○馬信貞 1)、三浦由恵 1)、多田幹郎 1) 羽田尚彦 2)、高畑京也 3)

【目的】シアニジン-3-グルコシド(C3G)は黒大豆などに含まれる代表的なアントシアニン系色素であり、配糖体の形で吸収され、生体内ではプロトテキユ酸へ代謝される。C3G には大腸癌の発癌抑制作用が既に報告されているが、癌細胞に対する増殖抑制効果は報告されていない。本研究では、C3G を主成分とする黒大豆種皮エキスをを用いてヒト急性白血病細胞である HL-60 細胞に対する増殖抑制効果をアポトーシス誘導の観点より検討した。

【方法】1. 細胞増殖抑制効果の測定：トリパンブルー染色法で細胞生存率を検討した。2. カスパーゼ-3 活性の測定：蛍光基質 DEVD-MCA を用いて測定した。3. DNA 断片化の測定：断片化したDNA を抽出し、2%アガロースゲルを用いて電気泳動を行った。

【結果】C3G を主成分とする黒大豆種皮エキスにより、HL-60 細胞の増殖抑制効果が見られた。この増殖抑制効果は、カスパーゼ-3 の活性の上昇および DNA 断片化の発生を伴うことによりアポトーシスであることが示唆された。

乳癌細胞の増殖に及ぼすビタミン B₆ の効果
A2-pm1 (1) 鹿大・農・獣医、2) 川崎医大) ○福田あゆみ 1)、島田 大 1)、叶内宏明 2)、松元光春 1)、川崎安亮)、岡 達三 1)

【目的】我々は、これまでに DMBA 誘発乳癌モデルラットを用いて、食餌中のビタミン B₆ (B₆) が乳癌の発症を抑制することを報告してきた。今回はネコ乳癌細胞である FRM 細胞の増殖に及ぼす B₆ の効果を検討した。

【結果】FRM 細胞を培養している培地に 5 mM のピリドキシン (PN) を加えると細胞の増殖は完全に抑制された。B₆ 化合物の中でも PN とピリドキサルが細胞増殖抑制効果を示した。B₆ によって増殖の抑制された細胞は、培地を置換して B₆ を除いても再び増殖はしなかった。一方、B₆ によって増殖の抑制された細胞を電子顕微鏡で観察した結果、多くの脂肪滴が観察され、あたかも泌乳期の乳腺上皮細胞と似た構造を示したが、細胞核は濃縮していた。B₆ による細胞増殖抑制の機構について考察する。

リソソーム崩壊を伴った 10*trans*, 12*cis* 共役リノール酸によるアポトーシス誘導効果 ○山崎正夫 1、2)、農新介 2)、立花宏文 1)、山田耕路 1) (1) オーム乳業・開発部、2) 九大院・生機科)

＜背景＞これまでにわれわれは、10*trans*, 12*cis* 型共役リノール酸 (10*t*, 12*c*-CLA) 型がラット肝癌細胞にアポトーシス誘導を介した、強い細胞致死効果を有することを明らかとした。今回 10*t*, 12*c*-CLA の作用経路としてリソソームおよびミトコンドリアを介したシグナル伝達の関与を検討した。

＜方法＞細胞はラット肝癌細胞株 dRLh-84 を用い 1% FBS 添加 DMEM で各時間培養を行った。BAX、チトクロム c (cyt.c) の検出はウエスタンブロット法、リソソームの色素漏出試験としてアクリジンオレンジ (AO) 染色法を用いた。

＜結果、考察＞10*t*, 12*c*-CLA 処理による細胞毒性効果は 1 μ M から認められ、caspase-3、9 の活性化および細胞質画分への cyt.c の放出が認められた。10*t*, 12*c*-CLA 処理によって BAX のミトコンドリアの集積が認められた。また、10*t*, 12*c*-CLA 処理により AO のリソソームからの漏出が認められた。以上の結果から、10*t*, 12*c*-CLA により誘導されるアポトーシスはミトコンドリアを介するもので、同時にリソソーム崩壊が誘導されることが示された。

機能性食品培養癌細胞に対する機能性食品の抑制効果
A2-pm3 ○坂口悦基、船越崇行 (九州看護福祉大・看護)

【目的】ヒト培養癌細胞の増殖に対するプロポリス、アガリクス、メシマコブ等機能性食品の抑制効果について検討し、5-フルオロウラシルやシスプラチン等の制癌剤と比較する。

【方法】用いた癌細胞は COLO201 (大腸癌細胞) 及び ABC-1 (肺腺癌細胞) で JCRB より入手し、それぞれ RPMI 1640 培地及びイーグル MEM 培地を用いて培養した。癌細胞数が 6000~10000 個/300 μ l に増殖したところで、96 well plate に癌細胞液を 270 μ l ずつ播種した。これに各濃度の機能性食品や制癌剤を 30 μ l ずつ各々添加し、混和した。これらを更に、上記と同じ条件で 72 時間培養した後、位相差顕微鏡下での写真撮影、ビデオ録画、目視による癌細胞の観察及び細胞数の測定を行った。【結果及び考察】上記機能性食品は制癌剤と同様に両癌細胞の増殖に対し、強く抑制することが明らかとなった。また、癌細胞の培養上清の酵素活性を検討した結果、各種プロテアーゼ活性には著明な変化は認められなかったが、アポトーシス誘導のマーカー酵素といわれる Caspase 3/7/8 活性は上記機能性食品の濃度に依存して上昇した。一方、制癌剤存在下では活性の上昇は認められなかった。

電解還元水-白金コロイド系によるガン細胞の増殖抑制

A2-pm4 (1) 九大院・生資環・遺資工、2) 九大院システム生命科学、3) 株式会社日本トリム) ○荒巻真介 1)、浜崎武記 1)、小松生明 1)、照屋輝一郎 2)、片倉喜範 2)、大坪一道 3)、森澤新勝 3)、白畑實隆 2)

【目的】近年、ガン細胞の悪性形質維持機構において活性酸素が重要な役割を果たしているとの報告がなされている。電解還元水中に存在する nm サイズのコロイド状白金は、触媒化学の分野では効果的な還元触媒として広く知られている。そこで本研究では、その還元力が活性酸素を駆動力とするガン細胞株に与える影響を検討することを目的とした。

【方法】超純水および電解還元水にて作成した培地に合成白金コロイドを添加した。それらに対数増殖期にある種々のガン細胞株および正常細胞株に処理し、増殖およびその他の形質に与える影響を調べた。

【結果】電解還元水-白金コロイド系による種々のガン細胞の増殖抑制が観察された。また、前もって白金コロイド含有培地で生育したガン細胞株が、それに続く電解還元水のみでの処理によって同様に増殖抑制されることから、培地中の白金コロイドは活性を維持した状態で細胞内に安定的に取り込まれていることが示唆された。

活性酸素による白血病細胞 U937 の増殖抑制に対する抗酸化性物質の影響
A2-pm5 ○古谷千晴 1)、竹内文乃 1)、三浦由恵 1)、金子孝夫 2)、中島修平 1)、馬場直道 1) (1) 岡山大農、2) 東京都老人総合研究所)

【目的】白血球の刺激によって生成する活性酸素種は外来細菌や癌細胞の攻撃種となる。本研究では、活性酸素種が癌細胞に作用する際の食品由来抗酸化性物質の影響について報告する。

【方法】本研究ではヒト白血病細胞 U937 を使用した。H₂O₂ と Fe²⁺との反応により RPMI1640 培地内に OH ラジカルを発生させ、16 時間培養後の細胞生存率を比較した。この系に食品由来抗酸化性物質を更に添加し比較した。また、この結果を確認するため、ESR 測定を行った。

【結果と考察】H₂O₂ と Fe²⁺の添加により約 80% の増殖抑制が観察された。この時、培地中の既存の鉄のみでも増殖抑制が起こった。この系に Vit. C、E 等の抗酸化性物質を更に添加して同じ条件で培養したところ、何れも増殖抑制からの回復は観察されなかった。だが、Vit. C と Fe²⁺を同時添加したところ、増殖抑制からの顕著な回復が観察された。この確認の為に ESR 測定を行った。H₂O₂ の存在下、Vit. C と Fe²⁺を添加しても OH ラジカル由来のシグナルは観察されなかった。以上の結果は不明であるが、人工的酸化ストレスとしてしばしば登用された Vit. C/Fe 系の再考を示唆している。

A2-pm6 ニガウリのメタノール抽出画分がハムスターの血清および肝臓脂質成分に及ぼす影響 ○G.V.K. Senanayake1)、丸山美鶴 1)、窄野昌信 1)、福田亘博 1)、森下敏郎 2)、柚木崎千鶴子 2)、河野幹雄 2)、太田英明 3) 1) 宮崎大・農・応用生物科学、2) 宮崎県食品開発センター、3) 中村学園大・食物栄養学)

これまでに、宮崎産ニガウリ品種「こいみどり」のメタノール抽出画分(MF)が、ラットの血清および肝臓脂質濃度を低下させることを報告した。今回MFがハムスターの血清および肝臓脂質濃度に及ぼす影響について検討した。コレステロール無添加食および添加食にMFを0.5%および1.0%添加し4週間摂食させた。血清および肝臓のトリグリセリドおよびコレステロール濃度は、コレステロールの添加により有意に増加した。コレステロール添加の有無にかかわらずMF添加により体重増加は抑制されたが、飼料効率に差異は見られなかった。コレステロール無添加食群において肝臓総コレステロール濃度は、MF添加により低下する傾向が見られ、同時にコレステロールエステル濃度も低下した。コレステロール添加食群において血清トリグリセリド、コレステロールおよび肝臓のトリグリセリド濃度は、MF添加により有意に低下した。その低下は添加量依存的であった。今回の実験においてMFの明確な脂質低下作用は、ハムスターでも追認できた。

A2-pm7 台湾産シジミ抽出物がラットの肝機能に及ぼす影響 ○望月 聡 1)、宮木寛子 1)、山田亜希子 1)、千々松武司 2)、秦 政博 2) (1) 大分大・教育福祉、2) ㈱自然食研)

【目的】古来よりシジミは肝臓によいといわれているが、これを科学的にかつ具体的に明らかにした研究は少ない。そこで我々は、台湾で養殖された淡水シジミ(*Corbicula fluminea*)の熱水抽出物が種々の肝機能に及ぼす影響についてラットを用いて検討を行った。

【方法】シジミ抽出物は、原貝から可食部を分離し、2倍量の水を加えて加熱した抽出濾過液を噴霧乾燥により粉末化した。ラットにシジミ抽出物を添加した飼料を与えることによって肝機能への影響を検討した。実験1: オロチン酸誘発脂肪肝に対する影響を検討した。実験2: 大量のエタノールを急性投与したときの影響を検討した。実験3: ガラクトサミン投与によって引き起こされる肝炎に対する影響を検討した。

【結果】オロチン酸誘発脂肪肝に対して防止効果は認められなかった。エタノールの急性投与時の肝臓脂質量が減少した。ガラクトサミン投与による肝炎に対して予防効果を示した。以上の結果から、シジミ抽出物はエタノールやガラクトサミンによって引き起こされた肝機能の低下に対して改善効果を有し、経験的に「シジミは肝臓によい」といわれていることの一部は動物実験のレベルで確認することができた。

A2-pm8	DDT 摂取ラットにおける肝臓および血清脂質含量と薬物代謝酵素活性に対するイノシトール異性体の影響 広島大院・教育学○岡 由佳子、片山徹之
--------	--

【目的】生体異物をラットに摂取させると、肝臓や血清の脂質含量およ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。我々は、食餌 myo-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、その他のイノシトール異性体が DDT 摂取ラットの肝臓と血清の脂質含量および薬物代謝酵素活性におよぼす影響について、myo-イノシトールの影響とあわせて検討した。

【方法】3 週齢の Wistar 系雄ラットを 0.07%DDT 添加群、0.07%DDT および 0.2%myo-、D-chiro-、L-chiro-、scyllo-および muco-イノシトール添加群の 6 群に分け、14~15 日間飼育した。飼育終了後、肝臓と血清の脂質含量および肝臓の薬物代謝酵素活性を測定した。薄層クロマトグラフィーにより肝臓のホスファチジルイノシトールを分離、定量した。

【結果】DDT 摂取ラットの肝臓の総脂質量および中性脂肪量は、myo-イノシトール添加群において減少する傾向を示し、D-chiro-および scyllo-イノシトール添加群においては、増加する傾向を示した。肝臓のホスファチジルイノシトール量と薬物代謝酵素活性および血清の脂質含量は、本食餌組成による影響を受けなかった。

A2-pm9 香草、香辛料によるヒスチジン脱炭酸酵素阻害活性
(くらしき作陽大・食文化)○川口 洋、松田知子、山下美沙子

サバ、サンマ、イワシなどに *Proteus morganii* などのアミノ酸脱炭酸酵素をもつ細菌が付着することにより、ヒスチジンが脱炭酸されてヒスタミンを生じる。そのため腐敗した魚を摂取することにより、ヒスタミンによるアレルギー様食中毒が起こる。現在では流通や保冷技術の発達により新鮮な魚の供給が容易になったが、ヒスタミン様食中毒に対する関心は依然として高い。そこで、生の魚に供される香草類や香辛料を対象として、ヒスチジン脱炭酸酵素阻害剤の検索を行った。ヒスチジン脱炭酸酵素活性の測定は、ヒスタミンの生成により pH がアルカリ性側にシフトする性質を利用した 4-ニトロフェノールによる 412 nm の吸光度の変化を測定することにより行った。香草類 21 種、香辛料 26 種の酢酸エチルおよび水抽出物を用いて阻害活性を調べた結果、香草ではパセリの酢酸エチル抽出物に、香辛料ではフェヌグリーク、ローズマリー、タイム、セージの酢酸エチル抽出物に強い阻害活性が見られた。

緑茶カテキンのヒスタミン放出抑制活性
におけるミオシン軽鎖の関与
A2-pm10 (九大院・農・生機科) ○梅田大介、
立花宏文、清原祐子、山田耕路

【目的】カテキンは緑茶成分の 10~20% を占め、多様な生理活性を有することが報告されている。その生理活性の中でも近年注目を集めているのが抗アレルギー作用である。これまでに、緑茶カテキンがヒト好塩基球様細胞株 KU812 からのヒスタミン放出を抑制することを明らかにしてきたが、その抑制機構は不明である。ヒスタミン放出はミオシン軽鎖 (myosin light chain : MLC) のリン酸化によって惹起される。そこで本研究では、カルシウム導入剤誘導性の MLC リン酸化に及ぼす緑茶カテキンの影響について検討した。

【方法及び結果】 各種緑茶カテキンで処理した KU812 細胞を、カルシウムイオノフォア A23187 で処理した後、ウエスタンブロット法により MLC のリン酸化レベルを検討した。その結果、ヒスタミン放出抑制活性を示す緑茶カテキンは MLC のリン酸化レベルを低下させること、その効果はヒスタミン放出抑制活性の強さと相関することが明らかとなった。以上の結果は、緑茶カテキンは MLC のリン酸化レベルの低下を通じてヒスタミン放出抑制活性を発現することを示唆している。

高親和性 IgE 受容体発現抑制活性を指標
とした野菜・果物抽出物の抗アレルギー
性評価
A2-pm11 (九大院・農・生機科) ○矢野知美、立
花宏文、山田耕路

【目的】日常摂取する食品（野菜や果物）から抗アレルギー作用を有する成分を検索するため、ヒト好塩基球様細胞株 KU812 を用いて高親和性 IgE 受容体 Fc[RI 発現に及ぼす野菜・果物抽出物の影響について検討した。

【方法・結果】 22 種類の野菜・果物にエタノールを加えて破碎し、吸引ろ過した後、凍結乾燥させエタノールで再溶解した。KU812 細胞を調製した野菜・果物抽出物で 12 時間培養を行い、フローサイトメトリー解析により Fc[RI の細胞表面発現量を測定した。22 種類のサンプルのうち、ザクロの皮抽出物において細胞表面における Fc[RI 発現量の低下が観察された。そこで、Fc[RI を構成する α 、 β 鎖の mRNA を RT-PCR で、また、タンパク質レベルにおける影響をイムノブロット法にて検討した。その結果、Fc[RI α および β 鎖の mRNA レベルに影響はなかったが、タンパク質レベルにおける低下が認められた。

Epigallocatechin-3-O-gallate の高親和性 IgE
受容体発現抑制作用への細胞膜マイクロ
ドメイン"脂質ラフト"の関与
A2-pm12 (九大院・農・生機科) ○藤村由紀、
立花宏文、山田耕路

【目的】 高親和性 IgE 受容体 Fc[RI は IgE を介したアレルギー反応の引き金となる細胞膜分子であり、これまでに、緑茶カテキンの Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) がヒト好塩基球様細胞株 KU812 の Fc[RI 発現を抑制することを見出してきた。今回はその Fc[RI 発現抑制作用を細胞膜相互作用の観点から明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】 EGCG と KU812 細胞間の物理的相互作用を表面プラズモン共鳴解析により検討した結果、EGCG が細胞表面へ結合し、さらに、細胞膜上のコレステロールおよびスフィンゴ脂質の豊富な細胞膜マイクロドメイン“ラフト”に高レベルで存在することを HPLC 法を用いて明らかにした。また、EGCG の Fc[RI 発現抑制には、Extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) の活性化阻害が関与することをフローサイトメトリーおよびウエスタンブロット解析により見出した。さらに、ラフトの機能的阻害は EGCG の Fc[RI 発現抑制作用ならびに ERK1/2 の活性化抑制作用を低減させたことから、EGCG の Fc[RI 発現抑制シグナル発信の場として、ラフトが重要な役割を果たすことが示唆された。本研究は生研機構の援助によるものである。

スギアレルゲン Cryj1 の多糖修飾によるマ
スキング
A2-pm13 臼井将勝、○西島範章、青木理恵子、阿座
上弘行、加藤昭夫 (山口大・生物機能化
学)

【目的】 これまでにスギ花粉の主要アレルゲン蛋白質である Cryj1 をメイラード反応により、ガラクトマンナンを用い、多糖修飾することで IgG に対する抗原性が低減化したことを報告している。今回は human の血清を用い、実際にアレルギー応答を引き起こす IgE との抗原性について調べ、多糖化 Cryj1 がスギ花粉症の免疫寛容原となりうるかどうかについて検討した。

【方法】 天然のスギ花粉からすでに報告されている手法により Cryj1 を分離・精製し、乾燥重量で Cryj1 に対して 4 倍量のガラクトマンナンを加え、60℃、65%RH の条件下で 14 日間多糖修飾を行った。

【結果】 1. SDS-PAGE により、多糖修飾 Cryj1 は高分子化していることが確認された。2. 1 g G による Western blot 及び拮抗 ELISA の結果、多糖修飾 Cryj1 は 1 g G に対する抗原性を低減化するが、残存することが示された。3. 一方、3 名の患者血清を用い、拮抗 ELISA、及びイムノブロットにて human IgE に対する抗原性をみたところ、全ての血清に対して抗原性はほとんど失われていた。これは多糖化 Cryj1 が IgE エピトープをマスクされた有用な免疫寛容原となりうることを示している。

ホヤ喘息発症抗原 DIIIa 中の主要アレルゲン
A2-pm14 広大・院・先端研
○重田征子、脇坂武利、秋庸裕、小埜和久

【目的】ホヤ喘息はカキのむき身作業員が養殖カキに付着したホヤの体液を吸入することで発症する職業性アレルギーである。この発症抗原画分は DIIIa とよばれる分子量 10kDa 程度の糖タンパク質である。この研究の目的は DIIIa 中の主要抗原を検索し、構造を決定することである。

【方法】DIIIa の主要アレルゲンを Pro-G と固定化した Anti-alpha モノクローナル抗体（ホヤ抗原に共通のエピトープを認識する）を用いて精製した。

【結果】精製した主要抗原は分子量 10kDa で測定した全てのホヤ喘息患者血清 IgE と強く反応した。又、皮内反応は DIIIa と同等の強さであり、一人の患者で結膜反応も観察された。N-末端アミノ酸シーケンスを決定し、それからプライマーを作製して、3'-RACE と 5'-RACE PCR を行い全アミノ酸配列を決定した。コードしていた DNA は 7907bp で 76 アミノ酸残基に相当した。N-グリコシド型糖鎖モチーフ 1、O-グリコシド型糖鎖モチーフ 1 を有し、fatty acid binding protein と強い相同性を有していた。このアレルゲンは Sty p 1 と名付けられた。

キノコ子実体の Immunomodulatory protein の分布
A2-pm15 鹿児島大・農・生命機能化学
○長崎寛規、八木史郎

【目的】キノコのレクチンの中には免疫機能を変化させるタンパク質、Immunomodulatory protein が報告されている。本研究では Immunomodulatory protein であるエノキタケレクチンの抗血清を用いて、キノコにおけるこのタンパク質の分布を調べた。

【方法】精製エノキタケレクチンを抗原とし、ウサギに免疫し抗血清を得た。各種キノコ子実体より粗抽出液を調製し、SDS-PAGE 後、Western blotting を行い、ECL(化学発光法)で検出した。また抗血清を用いて血球凝集活性の阻害を調べた。

【結果】60 種のキノコ粗抽出液のうち、13 種は、抗血清と反応した。それらは、帽菌亜綱のハラタケ目とヒダナシタケ目に属し、それ以外の目には認められなかった。なかでもアンズタケ、キアシグロタケは、抗血清に強く反応した。また、反応したキノコ粗抽出液のうち、タマアセタケ、マントカラカサタケは赤血球凝集活性を示さなかった。反応した粗抽出液のうち、殆どの陽性バンドが 15kDa 以下の分子量であったが、クロアワビタケ、アンズタケの陽性バンドは大きな分子量を示した。抗血清で血球凝集活性が阻害されないものもあった。

植物 N-グリカンの細胞性免疫調節活性
A2-pm16 1)岡大・農、2)岡大院・自然科学、3)作陽大・フード、4)岡大院・医歯学 松田史子
1)、前田恵 2)、木村万里子 3)、岡野光博 4)、
○木村吉伸 1、2)

【目的】我々は既に植物複合型糖鎖のみでは IgE の主要なエピトープとはなり得ない事を示している。そこで本研究では、抗原性植物 N-グリカンの細胞性免疫活性について調べるとともに、抗原性糖鎖をコンジュゲートさせたネオ糖タンパク質の合成を行った。

【方法及び結果】まず、遊離型抗原性 N-グリカンの細胞性免疫活性測定を行った。その結果、抗原性糖鎖がヘルパーT 細胞からの種々サイトカインの分泌を促進あるいは抑制することを見いだした。特に、IL4 産生を抑制することから、植物 N-グリカンは B 細胞の活性化を抑制することが示唆された。次に、抗原性糖鎖を多価数有するネオ糖タンパク質の合成を目的として、銀杏種子糖タンパク質から、ヒドラジン分解により植物 N-グリカンを調製後、HPLC により糖鎖を精製した。ネオ糖タンパク質の調製においては、まず反応条件（pH、反応時間、反応温度）の検討を行い、最適反応条件の下で、糖鎖と Polylysine のカップリング反応を行った。現在、合成した多価の抗原性糖鎖を用いた細胞性免疫活性の検討を行っている。

クローン病モデルラットにおける腸間膜リンパ節（MLN）リンパ球の機能変化
A2-pm17 熊本県立大学環境共生学部
○南 久則、河野 慶子、馬場 昌子、
鈴木 千賀、北野 旭美

【目的】インドメタシン（Indo）投与による小腸傷害ラット（クローン病モデルラット）では、腸管粘膜傷害と粘膜透過性の亢進が認められる。一方、成分栄養剤（ED）で飼育した場合には傷害は生じない。腸管粘膜透過性亢進時には、管腔内抗原の体内進入が増大し、免疫機能が変動していると考えられる。そこで、Indo 投与時の腸間膜リンパ節（MLN）と脾臓リンパ球サブセットの変動を観察した。【方法】固形食あるいは ED を自由摂食させた雄性ラットに Indo を投与し、小腸粘膜傷害を惹起させた。リンパ球のサブセットはフローサイトメーターを用いて解析した。【結果】固形食摂食時には、Indo 投与により粘膜透過性の亢進と腸管傷害が生じた。MLN リンパ球では全 T 細胞と CD4 細胞の割合が減少し、B 細胞の増加が認められた。脾臓リンパ球サブセットは変化しなかった。ED 飼育ラットでは MLN、脾臓ともにリンパ球サブセットの変動は認められなかった。【結論】クローン病モデルラットでは、抗原の体内進入の亢進に起因し、腸管局所の免疫機能が変動するが、ED は腸管免疫機能の変動を防止することが示された。

A2-pm18 豆乳及びイソフラボンの継続摂取がヒト唾液 IgA 濃度に及ぼす影響
(熊本大・環境共生) ○西村和子, 一ノ瀬史香, 赤星亜朱香, 菅野道廣

【目的】大豆中に含まれる生理活性成分の中でイソフラボンは骨粗鬆症やガン予防など免疫機能への影響が期待できるが、免疫グロブリン産生に及ぼす影響に関する報告は少ない。本実験では、ヒトでも比較的容易に実験を行うことができる唾液について、イソフラボンや大豆タンパク質（豆乳）の継続摂取が唾液 IgA などに与える影響を検討する。【方法】豆乳およびイソフラボン錠剤を 7 日あるいは 10 日間継続摂取した場合の唾液 IgA およびタンパク質濃度、一定時間当たりの IgA 分泌量の変化を測定した。【結果】唾液 IgA 濃度は、豆乳を摂取した場合、継続摂取に伴い摂取 5 時間後の濃度が上昇する傾向にあったが、イソフラボン錠剤の摂取による影響は見られなかった。一定時間当たりの IgA 分泌量は、豆乳摂取により摂取期間の延長に伴って増加した。イソフラボンを摂取した場合には一過的な増加を示したが、摂取期間の延長に伴う変化は認められなかった。豆乳では継続的な摂取により、唾液および IgA の分泌が促進され、その作用は摂取 5 時間後までは維持されることが確認された。これらのことから、唾液 IgA の分泌はイソフラボンにより上昇し、さらに大豆タンパク質によりその効果が維持される可能性が示唆された。

A2-pm19 アスコルビン酸誘導体のサイトカイン産生に及ぼす影響
(岡山大・薬) ○松下一史, 松村拓大, 田井章博, 山本 格

当研究室ではすでに安定型アスコルビン酸 (AA-2G) の開発に成功している。そして、AA-2G が、*in vitro* 抗原 (OVA) 特異的抗体産生を増強し、作用本体がアスコルビン酸 (AA) であることを明らかにしている。最近、我々はより効率的な AA 供給源の開発を目的として AA-2G の AA 側 6 位の水酸基に種々の直鎖及び分岐鎖脂肪酸を導入した一連の親油性アスコルビン酸誘導体 6-sAcyl-AA-2G (直鎖型) 及び 6-bAcyl-AA-2G (分岐型) を開発した。今回、これら直鎖型及び分岐型アシル誘導体を用いて OVA で刺激したマウス全脾細胞における IFN- γ IL-2, IL-4, IL-10 及び IgM (OVA 特異的) 産生を AA-2G と比較検討した。その結果、これらアシル誘導体は各種サイトカイン及び IgM 産生を AA-2G よりも低濃度で増強し、分岐型は直鎖型よりも低濃度で効果を現した。これらの知見は、AA-2G の AA を介するサイトカイン及び抗体産生増強作用が、アシル誘導体により効果的に発揮することを示すものである。

A2-pm20 霧島の関平鉱泉水はナチュラルキラー活性を亢進する (1) 鹿児島県牧園町役場、2) 鹿児島大・農・食品機能化学) ○和田純孝 1)、音川国昭 1)、侯 徳興 2)、藤井 信 2)

【目的】江戸時代末期に発見された関平鉱泉は、外傷・胃潰瘍などに対する有効性が広く言い伝えられてきたが、実験的に実証されたデータはない。本研究では、関平鉱泉水の生理機能を明らかにするため、生体防御能として重要なナチュラルキラー (NK) 活性に対する亢進能を検討した。

【方法】健康なボランティア (牧園町役場職員) に関平鉱泉水を毎日 1 リットルを 1 ヶ月間あるいは 3 ヶ月間飲用させ、一定期間毎に採血し、末梢血中の NK 活性を測定した。採血は日本健康クラブ鹿児島支部に依頼し、血液性状および NK 活性については (株) クリニカルパソロジーラボラトリーで行った。さらにマウスを用いて移植ガン細胞の増殖抑制効果についても検討した。

【結果・考察】関平鉱泉水の飲用を続けることで NK 活性は明らかに上昇し、被験者を代えた 2 回目の投与実験でも同様の効果が認められた。NK 活性は早期誘導免疫として重要な役割を果たしていると考えられているため、関平鉱泉水の飲用により抗ガン能亢進の一助となる可能性が示唆された。さらにマウスにこの鉱泉を飲用させ、移植サルコーマ腫瘍に対する抑制効果およびその時の NK 活性の変動についても検討中である。

A3-am1 加圧カーボネーション法による *Bacillus* 属細菌胞子の殺菌
(1) 九大院・生資環、2) 九大・農・生資環、3) 九大院・農) ○松井宏夫 1)、松浦夕子 2)、井倉則之 3)、下田満哉 3)、早川功 3)

Bacillus 属の胞子は高い耐熱性を有していることから、これら胞子の殺滅には食品の品質にとって過酷な熱処理条件を適用せざるをえない。よって耐熱性胞子の生残が問題となる食品では、熱エネルギーのみに依存しない殺菌法の適用が期待されている。そこで *Bacillus subtilis* 胞子を加圧カーボネーション (HPC) 処理に供し、その殺菌挙動を検討した。また HPC 処理に供した胞子の耐熱性低下を明らかにするために、HPC 処理後の胞子を 80°C、15 分の加熱処理に供した。

滅菌水に懸濁した胞子 (約 10^5 CFU/ml) を温度 40~85°C、圧力 7.5、15、25 MPa の HPC 処理に供したところ、60°C 以下の温度ではすべての処理圧力において、ほとんど殺菌効果が認められなかった。70~85°C では殺菌効果が認められ、70°C と 75°C では 7.5 MPa より 15 及び 25 MPa の方が殺菌速度は大きかった。40~75°C の HPC 処理に供した胞子の耐熱性は全ての処理圧力で低下したが、特に 15 及び 25 MPa における耐熱性の低下が顕著であった。以上より HPC 処理における殺菌効果及び HPC 処理後の胞子の耐熱性喪失は加圧溶解させた CO₂ の濃度に依存することが明らかとなった。

サルモネラ及びカンピロバクターの低温
高圧殺菌 ○廣 紀彦 1)、井倉則之 2)、下
A3-am2 田満哉 2)、早川 功 2) (1)九大院・生
資環、2)九大院・農)

【目的】 高圧殺菌は食品の品質を維持したまま殺菌
することが可能な技術として注目されている。本研究
ではサルモネラ及びカンピロバクターの懸濁液、及び
カンピロバクターを接種した生肉を低温下で高圧処理
し、その殺菌効果について検討することを目的とした。

【方法及び結果】 供試菌株として *Salmonella*
typhimurium と 2 種の *Campylobacter* 属菌を使用した。
供試菌を培養後、生理食塩水に懸濁し約 10^7 CFU/ml の
菌液とした。*Campylobacter* 属の菌液を生肉（鶏もも肉）
に接種したものを接種肉（約 10^6 CFU/g）とした。
S.typhimurium の菌液に 0, 5, 10 °Cの温度条件下で加圧
処理（50～200 MPa、0～60 分間）を行った結果、殺菌
効果は処理温度の低下に伴い増大した。0 °C, 200 MPa
処理では全ての保持時間において 7 オーダー以上の減
少を確認した。次に *Campylobacter* 属の菌液及び接種肉
に 0 °Cの温度条件下で同様の加圧処理を行った結果、
接種肉よりも菌液において高い殺菌効果が得られた。
菌液の 200 MPa 処理では 12 分以上の保持時間で 7 オー
ダー以上の減少を確認した。

自動化蛍光顕微鏡装置による生乳中の
生菌数迅速測定法

A3-am3 (1) 九大院・生資環、2) 九大院・農、3) 明
治乳業(株)、4) (株)富士電機総合研究所、
5) 日東電工(株))
○村田泰子 1)、宮本敬久 2)、上門英明
3)、青木史樹 3)、野田直広 4)、丸山幸治
5)、飯尾雅嘉 2)

[目的] 本研究では、蛍光染色した菌体の蛍光顕微鏡像
より生菌数を測定する生菌センサーを用いた簡易・迅
速な生乳の生菌数測定法の開発を試みた。

[方法および結果] 生菌の持つ菌体内のエステラーゼで
carboxyfluorescein diacetate (CFDA) が加水分解されて生
じるフルオレセインにより生菌は蛍光染色される。こ
の蛍光顕微鏡画像をコンピューターに取り込み、自動
的に生菌数を算出する生菌センサーによる生菌数測定
法の確立を試みた。*B. cereus*、*E. coli*O157:H7、*L. lactis*、
P. fragi、*S. aureus* について生菌センサーにより得られ
る生菌数と平板培養法による生菌数との相関を調べた。
その結果、菌種により染色率が異なったが相関は高
かった。また、生乳を試料とし、EDTA および
TritonX-100 で処理した後に本法で測定した生菌数は、
従来の培養法による値と近いものであった。

コーヒーの持つ抗菌性についての検討

A3-am4 尚綱短大 家政科・専攻科 食物栄養専
攻 貞包治夫

（目的）コーヒーの持つ抗菌性について検討するため、家庭で使用され
るドリップ式的方式を用いて比較することとし、生豆、シナモンロース
ト、シティーロースト、イタリアンローストなど焙煎度の違いが抗菌性
にどのような影響を及ぼすかを平板培地における抗菌スペクトルで比較す
ることとした。

（方法）ドリップ式的方式で抽出した焙煎度の違うコーヒー抽出液をロ
ーターリーエバポレーターにて 70 倍に濃縮し、それを種々の濃度に希釈
して、ペーパーディスクに染みこませた後、大腸菌などを殖菌した平板
状に置き、35 °Cで 16 時間培養して、ペーパーディスクの周りに形成
された阻止円の直径を測定した。

（結果）コーヒーの抗菌性は豆の種類によるものではなく、むしろ焙煎
度の違いによって発揮されることが判明した。コーヒー豆はキリマンジ
ャロ、コロンビア、グアテマラ、モカ、ブルーマウンテン、市販ブレ
ンドなどを比較したが、同じ条件で焙煎した時は豆の種類による抗菌性
にはほとんど差が見られなかった。それぞれを生豆、シナモンロースト、
シティーロースト、イタリアンローストなど焙煎度を種々変えて抗菌性
を比較すると、生豆では全く見られなかった抗菌性が焙煎度が高くなる
ほど、すなわち、コーヒーの味が深くなるほど抗菌性が増大する結果が
得られた。インスタントコーヒーや缶コーヒーでも同様の傾向が観察さ
れた。コーヒーは焙煎度が高くなるほどアミノカルボニル反応が進行
することが知られているため、抗菌性を持つとされているレダクトン類
やオゾン、フルフラール類などが蓄積される結果であると考えられる。

ヤムイモ塊茎由来の抗菌タンパク質の精
製と諸性質

A3-am5 ○荒田真知子、南雄二、田寺謙次郎
（鹿児島大・農・生命機能化学）

【目的】 抗菌タンパク質は、昆虫、両生類、植物な
どに広く存在する生体防御物質である。本研究では、
ヤムイモ塊茎の抗菌タンパク質を単離、精製し、諸性
質について検討した。 【方法】 51 系ヤムイモ
(*Dioscorea alata*)塊茎のアセトン粉末から、イオン交
換、ゲルろ過、逆相 HPLC などのクロマトグラフィを
用いて、抗菌タンパク質 Da-AMP を精製した。分子量
は SDS ゲル電気泳動法、等電点はゲル焦点電気泳動法、
アミノ酸組成は Pico-Tag、アミノ酸配列は自動分析機を
使用して、物理化学的諸性質を分析した。また、植物
病原菌に対する生育阻害活性は、マイクロプレート
を利用した濁度検定法によって測定した。 【結果およ
び考察】 Da-AMP は、分子量約 36kDa、pI 約 6.5 のタ
ンパク質であり、病原性糸状菌よりも病原性細菌に対
して強い生育阻害活性を示した。アミノ酸組成分析か
ら、酸性アミノ酸が全体の約 30%を占め、セリン、ア
ルギニン、ロイシンの含量も高いことがわかった。現
在、Da-AMP のアミノ酸配列について検討中である。

リポソーム法による食品用機能性
マイクロカプセルの開発

A3-am6 下田佳裕、石川洋哉¹⁾、松本清¹⁾
(九大院生資環、1) 九大院農)

【目的】機能性食品成分の生体内への効率的デリバリーを目的として、リポソームカプセルの開発を進めてきた。本研究では卵黄及び大豆レシチンを用いてカプセルを作製し、モデル物質牛血清アルブミン(BSA)の包接挙動を詳細に検討した。

【方法】Proliposome法：レシチン250 mgにEtOH200 mlを添加後60℃で5 min攪拌した。続いて、BSA溶液500 mlを加えた後、10 mMリン酸塩緩衝液(pH 7.0)20 mlを滴下した。2℃で1晩放置後リポソーム懸濁液を得た。Dehydration-rehydration(DR)法：レシチン250 mgをEtOHに溶解後、溶媒を留去した(薄膜形成)。薄膜を脱イオン水に再懸濁後、BSA溶液10 mlを加え5 min攪拌した。溶液を凍結乾燥後、10 mMリン酸塩緩衝液(pH 7.0)に再溶解させリポソーム懸濁液を得た。

【結果】種々検討した結果、Proliposome法で大豆レシチンを用いた場合のみ、効率的なBSAの包接が可能であることが明らかとなった。本法では緩衝液滴下速度の最適化により、約40%の包接率が得られた(滴下速度1.5 ml/min)。さらに、トレハロースの添加により包接率の増加が認められた(包接率約60%)。

脂肪酸エステルをマトリックスとした親水性物質包含カプセルの調製

A3-am7 (1)新潟大・院・自、2)新潟大・工)
○目崎智子¹⁾、田口佳成²⁾、田中真人²⁾

【要旨】生理活性物質である水溶性固体粉末を芯物質とし、脂肪酸エステルを壁材とするカプセルをO/W分散系を利用して調製した。すなわち、親水性物質の一般食品への応用を念頭におき、壁材に可食性疎水材料であるトリパルミチンを採用し、壁材と芯物質のバインダーとして大豆レシチンを、さらに壁材の添加剤として種々の脂肪酸エステルを添加してカプセルを調製した。これらの調製条件が、主として芯物質の含有率及び水への浸出率に及ぼす影響を検討した。これと並行して、各種添加剤を混合した壁材の耐水性を、滴下接触角測定法により評価した。

バインダーである大豆レシチンを添加することで壁材の耐水力は低下するが、壁材に添加剤を加えることで再び耐水力の発現が可能であることが示唆された。一方、バインダーのみを添加したカプセルに比べ、さらに添加剤を加えて調製したカプセルは芯物質の含有率が向上し、また添加剤種により芯物質の浸出率の経時変化に異なる影響を与えることが示唆された。

逆相エマルジョン系を利用した油性フレーバー包含マイクロカプセルの調製(1)新潟大・院・自、2)新潟大・工)○石倉庸子¹⁾、田口佳成²⁾、田中真人²⁾

A3-am8

【要旨】逆相エマルジョン系を利用した油性フレーバー包含マイクロカプセルの調製について、シェル材水溶液からなる液滴と、ゲル化剤水溶液からなる液滴との合一を利用したカプセル調製法の可能性を検討した。すなわち、壁材としてメチルセルロースを、ゲル化剤としてタンニン酸を、油性フレーバーとしてリモネンをそれぞれ用い、各調製条件が粒径やカプセル化効率に及ぼす影響を検討した。カプセル調製時の攪拌速度による影響として、速度が増加するほど粒径が小さくなる傾向があり、逆に速度が減少するほどカプセル化効率が高くなることが明らかとなった。また、リモネンとメチルセルロース水溶液の重量比による影響として、リモネン：メチルセルロース水溶液=1：1、1：3、1：5で調製したカプセルでは、1：3のカプセルが最も高いカプセル化効率を示した。以上のことから、逆相エマルジョン系における液滴合一を利用したマイクロカプセル調製の可能性が示唆された。

希少糖D-ブシコースで修飾した卵白の加熱形成ゲルのレオロジー特性

A3-am9 (1)香川県産業支援財団、2)香川大・農・食糧化学、3)香川大・農・生命機能科学)
○孫 媛霞¹⁾、早川 茂²⁾、石田智之³⁾

【目的】食品加工におけるメイラード反応生成物は、様々な機能特性を持ち、食品分野で広く利用されている。微生物酵素を用いて生産された希少糖D-ブシコースをメイラード反応により糖付加修飾した卵白タンパク質の加熱形成ゲルのいくつかのレオロジー特性について調べた。

【方法と結果】鶏卵白タンパク質はD-ブシコースあるいは二つの対照糖(D-フルクトース、D-グルコース)と乾燥状態で55℃、相対湿度35%で保温し、メイラード反応生成物の残存遊離アミノ基量、重合体形成、褐変化、蛍光強度、XTT還元性及び加熱形成ゲル挙動を調べた。その結果、残存アミノ基量の変化はメイラード反応進行程度とほとんど関連していなかった。3つの還元糖のうちではD-ブシコースにより修飾した卵白タンパク質において、保温日数の経過に伴う褐変化、蛍光強度およびXTT還元性がいずれも高い値であった。また、D-ブシコース付加卵白の加熱ゲルの粘弾性、破断強度及び保水力は他の糖付加のものに比べて著しく高くなり、D-ブシコースを用いて修飾した卵白はより優れたゲルレオロジー特性を有することが認められた。

乳カゼイン添加による加熱卵白ゲルの改善、その分子機構の解明

A3-am10 (山口大・農・生物機能化学)

○森脇裕美、松富直利

【目的】卵白はテクスチャ改良剤として広く利用されているが、加熱により不溶化し、白濁ゲル化する。演者らは、乳カゼイン (α -CN) 添加で卵白加熱ゲルが強化され透明化することを見つけたので、その改質ゲルの分子機構について検討した。

【方法・結果】 α -CN は卵白加熱ゲルの強度、透明性、保水性を増大した。乾燥卵白(DEW)の加熱不溶化成分は、ovotransferrin(OT)、ovalbumin(OA)、lysozyme(LZ)であることから、 α -CN はこれらの蛋白成分と相互作用していることが考えられた。そこで、OT、OA-LZ 混合系と α -CN の相互作用を解析した。加熱相互作用は 80℃、20 分の加熱条件で行い、濁度、SDS-PAGE、Native-PAGE で精査した。結果、 α -CN は非共有的な結合で卵白蛋白質と相互作用し、卵白蛋白質の加熱凝固を抑制していることが分かった。また、 α -CN のホスファターゼ処理で抑制能力が低下することから、この凝固抑制は α -CN のリン酸基を介して起こることが示唆された。また、 α 、 β 、 κ -CN を比較したところ、 $\alpha > \beta > \kappa$ の順に強い抑制能力を示した。

魚肉すり身加圧および加熱ゲルの物性と微細構造の比較

A3-am11

(1) 中村学園大・院、2) 中村学園大・栄養科学、3) 九大院・農・生物機能科学)
○木村淳子 1)、山田愛 2)、吉岡慶子 2)、池内義英 3)

【目的】介護食としての水産練り製品のソフト化を目的として、すり身加圧および加熱ゲルを調製し、各ゲルの物性値、タンパク質塩溶解性の測定および微細構造観察を行い、ゲル形成能について比較検討した。

【方法】凍結アジフィレーを解凍後すり身とし、すり身：水=1:0.5、1:1 の割合で混合した後、0、1.5%食塩を添加して攪拌し、沸騰水溶液中で 10 分間加熱または加圧試験機で 400 MPa、20 分間加圧した。クリープメーターを用いてすり身ゲルの破断強度測定、およびクリープ解析を試みた。ゲルの塩溶解性の違いを SDS-PAGE、western-blotting で調べた。さらに各ゲルの微細構造を SEM で観察した。

【結果・考察】1.5%食塩添加加圧すり身の破断応力は加熱ゲルよりも高値を示した。各ゲルは 6 要素フオークト粘弾性模型で解析され、加圧により保形性のあるゲルが形成されることが示唆された。ゲル塩溶解性に加圧と加熱とで差異が認められた。加熱では集合した粒子の凝集が、加圧では網目構造が SEM で観察された。食塩添加で加熱ゲルは緻密化し、加圧ゲルはさらに多孔質の緻密なゲルを形成した。以上から、加水・加圧処理は高齢者や咀嚼困難者のための新しい介護食への利用が期待される。

リン酸塩存在下での乾燥加熱による卵白タンパク質のリン酸化—リン酸基の結合様式について—

A3-am12

(1) 鹿大・院連農、2) 鹿大・農・食機化) ○李 灿 鵬 1)、Hisham R. Ibrahim 2)、杉元康志 1)、青木孝良 2)

【目的】我々は先に、リン酸塩存在下食品タンパク質を乾燥加熱してリン酸化すると、卵白タンパク質(EWP)はカゼインやホエータンパク質よりリン酸化されやすいことを報告した。EWP がリン酸化されやすい理由として糖鎖を結合していることが考えられた。そこで本研究では、EWP と糖鎖を持たないリゾチーム (Lz) のリン酸化を行い、そのリン酸基の性質を調べた。

【方法および結果】EWP と Lz を pH 3~7 のリン酸緩衝液に 2%濃度で溶解して、凍結乾燥後、85℃で 1~5 日間乾燥加熱してリン酸化した。ピロリン酸塩の存在下で、pH 4、85℃、5 日間乾燥加熱した EWP の有機リン (Po) 含量は 1.1%、Lz の Po 含量は 1.2%で、水酸基以外にもリン酸が結合する可能性が示唆された。ピロリン酸の存在下でリン酸化した EWP のリン酸基は pH 2-10 で安定であったが、0.5 N HCl、37℃、24 時間処理すると、45.2%が脱リンし、0.5 N NaOH で処理すると 32.5%が脱リンした。同条件におけるリン酸化 Lz の脱リン率は酸とアルカリ処理でそれぞれ 58.4%と 16.3%であった。リン酸化 EWP をアルカリ性ホスファターゼで処理すると、43.1%が脱リンし、EWP をキモトリプシンで消化してから脱リンしても、脱リン率は 61.3%であった。³¹P-NMR の分析結果からも、乾燥加熱により、リン酸エステル以外の結合様式が示唆された。

スイゼンジノリを添加したチーズの試作およびそのタンパク分解

A3-am13

九東海大・農 ○井越敬司、小林弘昌、栴田聖孝、岡本智伸、小野政輝、伊東保之、増岡智加子

【目的】我々は日本人の嗜好に適し、地域特産物を生かしたチーズの開発を目指している。今回、熊本特産食品スイゼンジノリを添加したチーズを試作し、チーズの組織形成、風味発現に重要なタンパク分解について調べた。

【方法】チーズはゴーダタイプチーズを常法に従って製造し、4 ヶ月まで熟成させた。なお、スイゼンジノリは牛乳に 0.01%添加した。熟成率はケルダール法、チーズのカゼインの分解は電気泳動、生成した低分子ペプチドは HPLC、遊離アミノ酸はアミノ酸分析機でそれぞれ分析した。

【結果】スイゼンジノリの添加と無添加のチーズのタンパク分解を比較した。その結果、チーズの化学成分は両チーズでほとんど差はなかったが、添加チーズは無添加チーズに比較して、熟成率は低く、カゼインの分解は抑制されていた。また、生成したペプチドは少なく、遊離アミノ酸も低かった。これら結果から添加チーズはスイゼンジノリにより熟成中のタンパク分解が抑制されたものと考えられた。製造された添加チーズは風味は乏しく、脆弱な組織であった。

鹿児島黒豚の SLA-DRB1 遺伝子の同定および系統解析

A3-am14 (1) 鹿大・教・家政、2) 鹿児島純心女子大・健康栄養○竹下温子 1)、村岡雅一郎 1)、瀬戸口賀子 2)

【目的】鹿児島黒豚は奄美の島豚と鹿児島在来の黒豚に英国のパークシャー種を交配し、明治時代から改良し築き上げてきた「鹿児島パークシャー」といわれる本県特産の系統である。本研究では鹿児島黒豚の遺伝系統を SLA-DRB1 遺伝子の塩基配列から明らかにすることを目的とした。

【実験】鹿児島黒豚の検体は、鹿児島畜産試験場の種豚の中から、11 頭を選び、ヘパリン加採血し、リンパ球を分離した後、高分子 DNA を常法にて抽出、PCR 特異プライマーで SLA-DRB1 遺伝子を増幅し、TA クローニングを行った。単離 DNA の塩基配列を Forward と Reverse の両方から 3 回ずつ Sequencing し、それぞれの塩基配列を決定した。

【結果】塩基配列に基づいて、SLA-DRB1*KB01、SLA-DRB1*KB02、SLA-DRB1*KB03、SLA-DRB1*KB04、SLA-DRB1*KB05 の 5 系統の DNA が分類できた。これらの SLA-DRB1 遺伝子近縁関係を解析した結果、鹿児島黒豚には 3 つの系統があることが判った。

【研究協力者】園田俊郎、屋敷伸治、李洪川、(鹿大医・ウイルス) 永野保任、富元幹夫、福留憲浩、福島仁司 (鹿児島県畜産試験場)

パンおよびドーナツ中のマロンジアルデヒド含量および貯蔵中の変動

A3-am15 ○境正 1)、浅田真理絵 1)、D. M. S. ムナシンハー2)、1) 宮大・農、2) 鹿大農連大)

【目的】パンは風味や口当たりを良くする為に原材料に油脂が使用される。そこで、パンの脂質過酸化を解明するためにマロンジアルデヒド (MA) 含量の測定を行った。

【方法】ベーカリーショップで焼きたてのパン (フランスパン、食パン、クロワッサン) を購入し、4 日目まで定期的に MA の測定を行った。

【結果】全ての試料において焼きあがり直後から MDA が検出され、2 日目までに増加し、4 日目までに大きな変化はなかった。このことから、パンは製造過程で脂質過酸化が進行し、保存中も酸化が進行することが明らかになった。油脂を豊富に含むクロワッサンの MA 含量が最も多く、フランスパン、食パンと続いた。油脂を使用していないフランスパンの MA 含量が油脂を使用している食パンよりも有意に高かった。

小麦澱粉の老化特性

○田幸正邦 1)、花城 勲 2)、竹田靖史 2)
A3-pm1 (1) 琉球大・農・糖鎖科学、2) 鹿児島大・農・生命高分子化学

【目的】

演者らは先に、小麦澱粉の糊化機構を分子レベルで提出した。本研究ではローゼラ小麦澱粉の非ニュートン流動と動的粘弾性を同軸二重円筒回転振動型のレオゴニオメーターを使用して測定し、レオロジー解析を行い、小麦澱粉の老化機構を検討した。

【方法】

小麦澱粉は 105℃で 30 分間加熱し、溶解後、糊液を 25℃および 4℃で 24 時間保存して粘性及び動的粘弾性を測定した。

【結果】

ローゼラ小麦澱粉水溶液の流動曲線は 3.0、4.0%で擬塑性流動を示し、5.0%では塑性流動を示した。動的弾性率は温度の上昇に伴いわずかに減少した。小麦澱粉水溶液を保存すると動的弾性率が増大し、低温 (4℃) で保存すると著しく増大した。尿素を添加 (4M) して保存すると動的弾性率が増大した。NaOH (0.005M) に小麦澱粉を溶解して保存すると、動的弾性率が増加した。以上の結果から小麦澱粉の老化機構を分子レベルで提出した。

サツマイモ葉肉における同化デンプンの分子構造変化

A3-pm2 (鹿児島大・農・生命機能化学)
○内野孝之、北原兼文、菅沼俊彦

【目的】植物は、一般に葉の同化器官と種子や根などの貯蔵器官でデンプンを合成する。これまで貯蔵デンプンについては多くの研究がなされているが、葉で合成される同化デンプンについてはあまり研究されていない。本研究では、サツマイモの葉の同化デンプンについて、分子構造とその昼夜における変化を調べた。

【方法】サツマイモ (コガネセリ) の葉は時間毎に 2 日間にわたって採取した。デンプン含量はグルコアミラーゼ消化性炭水化物として求めた。デンプン及びアミロペクチンの分子量分布はゲルろ過により調べ、枝切り後の単位鎖は高速液体クロマトと高性能陰イオン交換クロマトにより分析した。

【結果】葉のデンプン含量は、夜明け前を最小、夕方を最大とする概日リズムが認められた。同化デンプンは、分子量分布や鎖長分布、短鎖分布において、塊根のものとは明らかに異なっていた。また、分子量分布は、昼間に高分子側に移行し、日没から明け方にかけて低分子側に移行した。さらに、アミロース含量は昼に低いこと、一方、アミロペクチンの短鎖単位鎖分布は昼夜において変動がないことを明らかにした。

傷害さつまいものフラノテルペン類生成
とその性質について

A3-pm3 (鹿児島大・農・生資化)

○馬場正樹、藤沢洋一、北原兼文、
菅沼俊彦

【目的】さつまいもは、感染などの外的刺激に対し、二次代謝物としてイポメアマロン (Ip) などのフラノテルペン類を生成する。病害虫などによりフラノテルペン類が蓄積したさつまいも試料に加熱処理などを施したときの挙動や、微生物の生育に対する影響を探った。【方法および結果】0.1%塩化水銀処理したコガネセンガンスライス 5kg から、クロロホルム・メタノール溶媒でフラノテルペン類を抽出し、逆相クロマトなどにより Ip 312mg を精製した。精製 Ip を用いて、安定性を調べた。1時間の煮沸では分解しなかったが、酸・アルカリで 80℃加熱すると分解され GLC で新たなピークが現れた。120℃、1時間の乾燥でほぼ完全に揮発した。フラノテルペン類が蓄積したさつまいも試料を水蒸気蒸留すると、他のフラノテルペン類より効率よく Ip が除去されることが分かった。酵母に対する Ip の生育阻害活性は、前駆体ファルネソールより弱かった。

超高感度化酵素 - HPLC 法による植物食品
中ピリドキサル (ビタミン B₆) の定
量

A3-pm4

(高知大・農・生物資源)

○永野さやか、Ann Kurai Chan、横地奈菜、
八木年晴

【目的】種々のビタミンB₆の定量法が開発されているものの、食品中の B₆ 分析は依然として微生物定量法が用いられており、B₆の分別定量法は確立されていない。我々は、ピリドキサル (PL) から蛍光性の高い 4-ピリドキソラクトン (4-PAL) を生成するピリドキサル 4-デヒドロゲナーゼ (PLDH) 反応と HPLC 法を組合わせた PL の超高感度定量法を開発した。今回、本定量法の感度を更に改良し、植物食品の分析を可能にした。

【方法及び結果】植物食品として生のニンジンを用い、分析試料の調製法を検討した。可食部を電子レンジで加熱処理後、ペースト状にし、約 1g に 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (SPB) 10 ml を加えホモジナイズし、遠心して上清を得た。この一部を除タンパクし、サンプルとした。PLDH 反応は、40 mU PLDH、1 mM NAD⁺ を含む 50 mM SPB (pH 8.0) 中に行い、HPLC に供した。ポストカラム液の pH を 10.8 にし、分析カラムの長さを 25 cm にすると、4-PAL は 10 fmol 以上において、励起波長 360 nm、蛍光波長 430 nm で検出できた。PL は 100 fmol 以上で良好に測定でき、従来法に比べ約 100 倍高感度で測定できた。本法によりニンジン中の PL を定量できた。

市販レトルト食品の脂肪酸組成

(1)中村学園大・短大、2)中村学園大・栄
養科学)

A3-pm5

○古賀民穂 1)、石井利直 2)、太田英明 2)

【目的】レトルト食品は 1969 年世界に先駆けて市販されてから顕著な増加を示し、日本人の食生活に深く関わっている食品である。平成 4 年に市販レトルト食品 6 種 22 品目の脂肪酸組成を調査したが、消費者のグルメ志向および栄養所要量が最近のレトルト食品の脂肪酸組成にどのような影響を与えたか 12 年および一部 15 年の市販品を調査・比較した。【試料および方法】12 年 5 月～12 月および 15 年 5 月に福岡市内で前回の試料と同一製品を出来るだけ探し、分析に供した。脂肪は C:M (2:1) で抽出し、総脂肪は重量法、TG はアセチルアセトン法、CHOL は CBPI-S25-050 カラムにて GLC で測定した。【結果および考察】分析試料 (H 12 群) の総脂肪量は平均 7.0g で前回の試料 (H 4 群) より微増していた。脂肪酸組成はどの製品もオレイン酸志向型で、S:M:P 比は各々の年度の推奨値より不飽和脂肪酸が少なく、n-3 系脂肪酸が微量であった。トランス酸は麻婆豆腐以外のどの製品にも検出され、シチューでは天然型トランス酸の増加が伺われた。現在、加工食品で 1 年以上市販に残るのは 5%以下だと言われるが、分析試料の 26%が 10 年以上販売されており驚きであったが、特記すべき大きな変化はなかった。

ポリメトキシフラボノイドを指標とするシークワシャ
ー果汁の識別

A3-pm6

(1)中村学園大・栄養科学、2)沖縄経済連、
3)琉球大・農、4)(独)農研機構・果樹研)
○石井利直 1)、古賀信幸 1)、塚野希 1)、
當銘由博 2)、和田浩二 3)、矢野昌充 4)、
太田英明 1)

【目的】シークワシャー加工品の真正評価を目的に、原料・果汁加工品中のポリメトキシフラボノイド(PMF)成分を調査し、化学的指標としての可能性を検討した。【方法】沖縄県大宜味・屋部両地区産シークワシャー果実から搾汁した果汁(沖縄県農業試験場名護支場)を対照に、市販シークワシャー加工品、フィリピン産カンキツ、カラマンシーとダランタン果汁、ならびに市販他種カンキツ果汁試料について調べた。試料を水-EtOH (4:6) にて抽出後、代表的 PMF 成分ノビレチン、タンゲレチン、シネンセチンの各含有量を HPLC で測定した。また、糖度、酸度、pH、測色値についても調べた。【結果】原料果実中の PMF 成分は、果皮部に局在していた。対照果汁中の PMF 含量を調べたところ、果肉部よりも高い値を示し、果皮部からの移行が考えられた。次に、市販品 10 種類(100%と表記)を調べた結果、糖度、酸度、pH、測色値では大差は認められなかった。しかし、当該 PMF 成分含量が対照品の 20~50%と低値を示す製品が数点認められた。一方、フィリピン産カンキツ果汁の PMF 含量は両者とも対照品の 30%程度であり、さらにダランタン果汁からはシネンセチンが全く検出されなかった。また、市販の他種果汁にはノビレチン・タンゲレチンはほとんど含まれなかった。

ポラパック Q を用いた焼酎中の遊離脂肪酸定量
A3-pm7 (鹿児島大・農・生資化)
狩行 勲、下野明子、北原兼文、
○菅沼俊彦

【目的】本格焼酎中の脂肪酸エステルはよく研究されているが、遊離脂肪酸 (FFA) に関しては余りない。そこで、HPLC で FFA を分離定量し、製造過程の FFA の挙動を調べた。【方法】甘藷や麦の焼酎中に含まれる FFA をポラパック Q を用いて濃縮し、アダム試薬でプレラベルして C-8 カラムを用いる HPLC で分離定量した。【結果】飽和 FFA については C6 から C18 の 7 種、不飽和 FFA については C18:1 から C18:3 の 3 種の計 10 種を同時定量できた。まず、市販甘藷焼酎 4 種中の FFA の平均総量は約 17nmole/ml であった。そのうち C10 より短い鎖長の中級 FFA の割合は 70%以上あり、高級 FFA よりはるかに多く含まれることが分かった。一方、市販麦焼酎製品では、上記 FFA の総量は約 2nmole/ml と市販甘藷製に比べかなり少なかった。常圧蒸留の甘藷焼酎の場合、FFA の総量並びに高級 FFA は初留から中留にかけて減少し、後留で再び増加する凹型の変化を示した。一方、減圧蒸留の麦焼酎の場合、初留が比較的少なく蒸留が進むにつれて単調に増加した。また、その総量は市販麦焼酎に比べて圧倒的に多く、特に中級 FFA は甘藷焼酎並に含まれていた。

CHEMICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF
LOW MOLECULAR WEIGHT FRACTIONS PRESENT
A3-pm8 IN INDONESIAN SOY SAUCE
¹Univ. of the Ryukyus ²Bogor Agric. Univ., Indonesia
○ H. N. Lioe¹, A. Apriyantono², D. Fardiaz², B.
Satiawihardja², M. Yasuda¹

Both chemical and sensory characteristics of low molecular weight fractions in moromi of Indonesian soy sauce has been investigated. The moromi was prepared by fermenting yellow soybean using *Aspergillus oryzae* as the starter at the first step and 20 % brine solution at the next step of the fermentation. Ultrafiltration stepwise using membranes with molecular weight cut-offs of 10,000, 3,000 and 500 Da was conducted to obtain fraction with molecular weight less than 500 Da (Fraction MW<500). This fraction was then separated into four fractions (F1 - F4) by gel filtration chromatography on Sephadex G-25 SF column. Analysis of soluble peptides, NaCl content, amino acid composition and free glutamic acid content were performed for each fraction. Salty taste as well as umami taste intensities of each fraction were also evaluated. Soluble peptides were found in the four fractions, while NaCl was only present in F2. After chromatography separation, the amino acids of Fraction MW<500 were mainly divided into F1 and F2. Glutamic acid was the most dominant amino acid of both fractions, but free glutamic acid content of F1 was relatively much higher than that of F2. However, F2 had the highest umami taste intensity as well as salty taste intensity.

本格焼酎香気成分の機能性
境田博至 1)、榊原陽一、○桐明紗織、
A3-pm9 水野貴之、西山和夫、中原徳昭 1)、
甲斐孝憲 1)、水光正仁
宮崎大・農・応生、1) 雲海酒造研究開発

【目的】本格焼酎は種々の香りや味の成分を含有し、これらの化合物は健康に有用な様々な機能性を持つことが期待されている。我々はこれまでに本格焼酎より 68 種類の香気成分を同定した。今回、本格焼酎の機能性を網羅的に解明する目的で、これらの香気成分の抗変異原作用および抗酸化作用について検討した。

【方法および結果】抗変異原試験はラット肝臓の S-9 画分を代謝活性化に使用し、変異原物質として Trp-P-1 を用いた Ames 試験により行った。さらに、我々の研究室で考案したリコンビナント硫酸転移酵素を用いた第二相反応を考慮した抗変異原試験によっても検討した。抗酸化作用は、DPPH 法を用いてラジカル消去活性を測定することで検討した。これらの実験の結果、高級脂肪酸エステルであるミリスチン酸エチルやリノール酸エチルなどが強い抗変異原作用を示した。また抗酸化作用を検討した結果、*p*-クレゾールが他の成分に比べ強いラジカル消去能を示した。

これらの結果より、本格焼酎は我々の健康に有益な様々な機能性成分を有することが明らかとなった。

蒸し煮魚の揮発性成分にみる赤身魚の特徴
A3-pm10 ノートルダム清女大・人間生活
○笠原賀代子

【目的】各種魚介類の蒸し煮揮発性成分を比較して赤身魚の特徴を明らかにすることを目的とした。

【方法】赤身魚としてマイワシ、サバ、マグロ、カツオの 4 種、白身魚としてサワラ、スズキ、マダイ、ヒラメ、カレイの 5 種、その他の魚介類としてアジ、サケ、エビ、イカ、タコ、カキ、アカガイ、アワビの 8 種の計 17 種を取り上げた。これらの各 35 g から蒸し煮ヘッドスペース・ペーパーを調製し、GC-MS 分析して、標準品と MS および TIC の t_R を比較し各成分を同定し、主要成分のピーク面積を比較した。

【結果】4 種の赤身魚から主要成分としてエタナールが、またマイワシとサバからはプロパナールも大きく検出、同定された。エタナールはすべての魚介類に共通して検出、同定されたのでピーク面積を比較したところ、赤身魚では白身魚よりもはるかに多かった。中間的存在のアジでは白身魚と同様に少なく、アスタキサンチンを含むサケでは赤身魚よりも少ないものの、比較的多かった。エビ、イカ、タコ、貝類でもエタナール面積は白身魚と同様に少なかった。以上の結果、赤身魚の特徴としてエタナールが多く検出されることが挙げられた。

焙煎条件がコーヒー抽出液の内容成分に及ぼす影響

A3-pm11 (1)中村学園大学・栄養科学、2)中村学園大学・短大)
○太田英明 1)、石井利直 1)、塚野希 1)、古賀民穂 2)

【目的】焙煎の影響を明らかにする一環として、焙煎度がコーヒー抽出液の内容成分と豆・粉砕豆の脂肪量に及ぼす影響を調査した。【材料および方法】試料：コロンビア豆を熱風焙煎法と炭焼焙煎法で、ミディアム（M）、ハイ（H）、シティ（C）、フレンチ（F）ローストの4段階に焙煎した豆と生豆の計9種類を用い、カリタ製ミル（中挽き：3.5）で粉砕、蒸留水（95℃）を用いクワイエットドリップ法によって抽出した液を試料とした。実験方法：pH、褐変度（OD420nm）、測色値（L,a,b値）、無機成分（Mg・K・Ca・Na）を測定した。クロロゲン酸類とカフェイン・トリゴネリンはHPLC分析で求めた。脂肪量は、ジエチルエーテルで抽出し重量法で求め、その組成はGC分析した。【結果】焙煎の進行に伴い、pHは上昇し酸味の減少と対応し、かつL値は減少し抽出液は濃色になった。無機成分含量の変化は僅かであり、一定の傾向はみられなかった。同定可能なクロロゲン酸類6種類ともに焙煎度に応じて低下していた。熱風焙煎と炭焼焙煎の相違は、豆表面の脂肪量（脂肪酸組成）と抽出液のトリゴネリン量で観察され、脂肪量は熱風焙煎のFローストで大きく、トリゴネリン量は炭焼焙煎で顕著に減少した。

新揚水方式による甌島海洋深層水の汲上とその特性

A3-pm13 (1)鹿児島大 地域共同セ 同工学部 同水産学部 2) 前田建設(株) 3)積水化学(株) ○今田克、吉原進、前田広人 1)、歌津洋一 2)、橋本真幸 3)

海洋深層水は新海洋資源として、冷温、清浄、富栄養の特性を有し、冷熱源や食品素材、農水産資源として期待され、食品、医薬、化粧品、健康産業等から注目されてきた。しかし、水深200m以深の海底からの揚水は鎧装管を長距離敷設するため建設費が高額で、産業利用が限られてきた。本報告は、配管にポリエチレン管（PE）管を採用し、その最適工法で施工することにより、建設費を抑制した鹿児島県下甌島の実例を紹介し、取得海水の特性を他例と比較し、さらに利用に関し検討したものである。結果は以下の通りである。1）揚水管は新素材の第3世代定尺PE管（管径150mm）を現地で電熱融着により長尺管とした。管の敷設はPE管の特徴を活かした浮遊曳航台船方式を採用、洋上で接続、沈設した。管の波浪保全のため、水深60mまでの浅海部は埋設により防護した。60m以深は、管にウエイトを取り付けて海底に固定し、全長4km、水深375mまで敷設した。2）汲上海水は水温約16℃、微生物群は少なく、一般分析では標準海水に準じた。ウイルスについても分析検討している。3）産業利用では、海水単価が安価なため水産養殖用として利用が可能と判断され、具体化を検討している。

A3-pm12

桑果汁を用いた乳酸菌飲料製造方法
大庭理一郎¹⁾、○魚住慎吾¹⁾、三枝敬明¹⁾
野口保彦¹⁾、阿曾田清²⁾
¹⁾崇城大・工・応微工、²⁾JA うき

(目的)近年、国内での養蚕産業の衰退により、桑の新たな利用方法が求められている。桑の実は生体調節機能性を有するアントシアニンを多量に含んでおり、健康補助食品の開発が期待される。本報では、桑果汁を用いた乳酸菌飲料の製造方法の確立と生体調節機能性の検討を行なった。
(方法)乳酸菌の検討には8菌株を用いた。乳酸菌飲料の色調は色差計を用いて測定した。生体調節機能性は活性酸素消去能を1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)を用いた分光測定法とβ-カロテン褪色法より測定し、評価した。
(結果)乳酸菌飲料作製は原料として桑果汁：脱脂粉乳溶液：前培養乳酸菌の割合を30：50：20とし、また、殺菌条件は果汁を90℃、30分、脱脂粉乳溶液を90℃、10分とした。乳酸菌飲料の色調において*Lac.helveticus*(B-1)菌株と*Lac.acidophilus*(L-54)菌株が類似した値を示し、他の2菌株に比べ高い色調を保持した。4菌株を用いた飲料の抗酸化能テストにおいて、β-カロテン褪色法では大きな差異は見られなかった。DPPH法では、B-1菌株を用いた飲料が最も高い抗酸化能を

茶殻を用いた水中の重金属の捕集除去

A3-pm14 (1)西九大院・健福、2)西九大・健福)
○尾加奈 1)、安田みどり 2)、尊田民喜 1)

【目的】健康志向の高まりに伴い、緑茶が見直され、よく飲用されるようになった。その反面、大量の茶殻が廃棄されており、環境面においても茶殻の再利用が望まれている。緑茶中のカテキンやタンニンは、金属イオンと錯形成することが知られている。そこで、今回茶葉及び茶殻を用いて水中の金属の除去能力について検討を行った。

【方法および結果】茶葉試料は、市販の嬉野産釜炒り茶（以下茶葉）、及び茶葉を1～5回熱水抽出し、乾燥させたもの（以下茶殻）を用いた。金属標準溶液（pH6）に茶葉試料1gを加え、30分間攪拌後、濾過し、濾液中の金属の濃度を原子吸光度計にて測定し、捕集除去率を算出した。まず、銅標準溶液を用いて実験を行った結果、茶葉、茶殻のそれぞれに銅の除去効果がみられた。また、抽出回数が多いもの、つまり、出がらしの茶殻であるほど重金属の除去効果が高いという結果が得られた。他の金属についても茶殻による捕集除去効果が認められた。

A3-pm15 サツマイモ焼酎粕から生理機能を有する新規飲料の開発. 1. サツマイモ焼酎粕から飲料を製造する技術の開発
池田浩二¹⁾、○吉留朋尚¹⁾、大迫美穂¹⁾、藤井信²⁾、侯徳興²⁾、吉元誠³⁾、倉田理恵³⁾ 1) 田苑酒造(株)、2) 鹿大・農・生資化、3) 九州沖縄農研・畑作研究部

【目的】サツマイモ焼酎粕の食品化への問題点としてサツマイモ焼酎粕は固形分が多く粘性も高いため食品への応用が遅れている。これらの問題点を改善し、サツマイモ焼酎粕から飲料を製造する技術の検討を行った。

【方法】サツマイモ焼酎粕の固液分離性と固形分の減量化を向上させるためにセルラーゼ系酵素剤の選抜を行った。各種酵素剤を添加し得られた飲料中に遊離してくる還元糖を HPLC(ポストカラム誘導体化法)によって測定した。

【結果】34 種類のセルラーゼ系酵素剤の中から固液分離性の向上や固形分の減量化を促進させる酵素剤を確認した。酵素剤の添加で固液分離性は向上したが、実用規模では濾液の SS 濃度が増加した。酵素剤と米麹を同時に添加することで SS 濃度の低い濾液を得ることができた。酵素剤の微生物起源によって固液分離性の変化が見られ、飲料中に遊離してくる還元糖も組成が変わっていた。

本課題以下 4 課題は、農林水産省総合食料局から平成 14 年度 食品リサイクル促進技術開発事業の補助を受けて行った成果の一部である。

A3-pm16 サツマイモ焼酎粕から生理機能を有する新規飲料の開発. 2. 製造した飲料の成分及び機能性の解析
池田浩二¹⁾、吉留朋尚¹⁾、○大迫美穂¹⁾、藤井信²⁾、侯徳興²⁾、吉元誠³⁾、倉田理恵³⁾ 1) 田苑酒造(株)、2) 鹿大・農・生資化、3) 九州沖縄農研・畑作研究部

【目的】芋焼酎粕中にはクエン酸などの有機酸やアミノ酸、サツマイモ由来のポリフェノールなどの成分が含まれている。芋焼酎粕から製造した飲料の栄養成分及び機能性成分について検討した。

【方法】ガン抑制能はマウスの皮下にサルコーマ 180 を投与し、飲料の凍結乾燥物を 2%含む飼料を与え、腫瘍の重量と NK 活性を測定した。

【結果】有機酸は飲料 100ml 中に 1080mg と豊富で、そのうち 920mg はクエン酸であった。飲料のポリフェノール含量及びラジカル消去能とも芋焼酎粕液や市販の醸造酢に比べて優れていた。ガン抑制能試験の結果、飲料の摂取により腫瘍重量の増加は抑制され、NK 活性も高い値を示した。またこの飲料は、通常細胞の増殖には影響を与えず、癌細胞の増殖を抑制することが分かった。これらの結果より製造された飲料は健康食品としてかなり期待できるものと思われる。

A3-pm17 サツマイモ焼酎粕から生理機能を有する新規飲料の開発. 3. 飲料製造時におけるフェノール成分の変化
○吉元誠¹⁾、倉田理恵¹⁾、池田浩二²⁾、吉留朋尚²⁾、大迫美穂²⁾、藤井信³⁾、侯徳興³⁾ 1) 九農研・畑作、2) 田苑酒造(株)、3) 鹿大・農・生資化

【目的】サツマイモ焼酎粕の新用途開発の一環として、食品素材としての利用が試みられている。本報告では、焼酎粕加工時におけるフェノール類の変化について検討した。

【方法】サツマイモ、米、麦焼酎粕にセルラーゼ(セルロシン T 2) 及び麹菌 (*Aspergillus awamori* mut.) を作用させた試料について、フェノール含量及びラジカル消去能について検討した。フェノール成分については HPLC により分析した。

【結果】麹菌で処理した焼酎粕ではフェノール含量が有意に増加した。ポリフェノール含量及びラジカル消去能とも市販の醸造酢に比べて優れていた。フェノール類はカフェ酸であることが同定された。焼酎粕中のポリフェノール類は添加した麹菌によりカフェ酸に分解されることが確認された。これらの結果から、サツマイモ焼酎粕の麹菌処理により、カフェ酸を高含量に含む食品素材が製造可能なことが明らかとなった。

A3-pm18 サツマイモ焼酎粕から生理機能を有する新規飲料の開発. 4. カフェ酸誘導体含有農産副産物からカフェ酸の酵素的製造
○倉田理恵¹⁾、吉元誠¹⁾、池田浩二²⁾、吉留朋尚²⁾、大迫美穂²⁾、藤井信³⁾、侯徳興³⁾ 1) 九農研・畑作、2) 田苑酒造(株)、3) 鹿大・農・生資化

【目的】サツマイモ焼酎粕の麹菌処理により、ポリフェノール類がカフェ酸に分解されることが観察された。本報告では、精製されたモノ、ジ、トリカフェオイルキナ酸に対する麹菌の影響について検討した。

【方法】サツマイモ葉から精製されたクロロゲン酸、3,4-, 3,5-, 4,5-ジカフェオイルキナ酸、3,4,5-トリカフェオイルキナ酸に対する麹菌(*Aspergillus awamori* mut.)の影響を HPLC で分析した。

【結果】供試された全てのカフェ酸誘導体がカフェ酸とキナ酸に分解されていることが推察された。サツマイモ葉以外にゴボウ及びヨモギの葉についても検討したが、同様の結果が得られた。カフェ酸は吸着クロマトグラフィにより容易に精製出来た。これらの結果は、カフェ酸誘導体を含む作物及びその副産物を麹菌で処理することにより、これまで化学的に合成されていたカフェ酸を容易に製造することが可能なことを示している。

ムラサキムギ穎果のアントシアンに関する研究

A4-am1 (独) 農研機構・近中四農研) ○神山紀子

【目的】モチ性裸麦の中には、収穫期になると穂や茎に紫色の色素を蓄積するムラサキムギがあり、一部の地域で栽培されている。このムラサキムギの色素を有効活用を図るため、穎果における色素の特性および成分を調べた。

【方法】収穫期のムラサキムギ穎果を穎および子実に分け、凍結乾燥後秤量した。子実切片を顕微鏡観察した。穎及び子実を 0.1% HCl-MeOH で抽出し、Sephadex LH-20 カラムまたは Shodex EDS-1 を用いて粗アントシアニン画分を得、pH特性、色価を調べた。また、HPLCで分析・精製した。

【結果と考察】子実の色素は種皮に局在しているが、子実よりも穎から多くの粗アントシアニン画分が得られた。穎は非可食部であり、色素源として有望である。粗アントシアニン画分は酸性で赤色から赤紫色を呈し、アルカリ性では黄褐色に変色した。クエン酸緩衝液(pH3)中で515-520nmに極大吸収をもち、色価 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ は50以上であった。穎及び子実由来の粗アントシアニン画分は、8種類のアントシアニン化合物を主成分としており、その1つはシアニジン-3-グルコシドであった。

赤ジャガイモの新規アシル化アントシアニン色素の構造と機能性

A4-am2 (1) 南九大、2) 和田製糖、3) 北海道農研セ、4) 食総研) ○寺原典彦¹⁾、林一也²⁾、森元幸³⁾、小野裕嗣⁴⁾

【目的】赤ジャガイモ“金時”塊茎中のアシル化アントシアニン色素に着目し、その有効利用のために単離色素の構造決定と安定性試験および抗酸化試験を行う。

【方法】“金時”塊茎中の酢酸抽出液中の8色素(1~8)のうち、各種カラム精製により2色素(1、2)を単離し、化学分析および高分解能ESI-FTICRMS、NMRなどの機器分析により構造決定を行った。また、中性水溶液中での安定性試験とDPPHラジカル消去能による抗酸化活性を評価した。

【結果】色素1、2はペラルゴニジン3-ルチノシド-5-グルコシド(Pg3R5G)を基本骨格にもち、それぞれラムノース4-位OHにp-クマル酸およびフェルラ酸が結合したアシル化アントシアニンであることが判明した。色素1、2は相当する非アシル体Pg3R5Gに比較して、中性水溶液中で高い色調安定性をもち、さらに抗酸化性も高いことから、結合芳香族有機酸による安定化効果および抗酸化性増強効果が見られた。このように、赤ジャガイモ“金時”塊茎中のアシル化アントシアニン色素は機能性素材としての有用性が示された。

菱の皮の抗酸化作用

(1) 西九大・健福、2) 西九大・健福)
A4-am3 ○熊川景子 1)、安田みどり 1)、尊田民喜 2)、近藤道男 1)

【目的】佐賀県の特産品である菱は、その実を食用、皮をお茶として飲用され、昔から癌、胃腸病、婦人病などに効くと言われている。これまでの我々の研究では菱の皮に抗酸化能があると分かっている。そこで、菱の皮に多く含まれているポリフェノール物質を分取し、その物質の抗酸化力の評価および化学構造についての検討を行った。

【方法および結果】乾燥し、粉碎した菱の皮に60%メタノール-5%酢酸水溶液を加え、超音波にて1時間抽出した。その抽出溶液をさらに酢酸エチルにて液-液抽出を行い、3つの抽出溶液(A,B,C)を得た。そこで得られた抽出溶液の抗酸化力の評価を行った結果、抽出溶液Bに最も高い抗酸化力があることが分かった。その抽出溶液B中に多く含まれる物質(B1~B4)をHPLCにて分取した。分取した物質(B1~B4)の抗酸化の評価を行った結果、これらの物質には抗酸化能があることが分かった。さらに、これらの物質の化学構造を現在、検討中である。

黒酢の抗酸化活性

A4-am4 (鹿児島大・連合農学)
○鄭志兵、橋永文男

【目的】黒酢は疲労回復、酒酔いの軽減、動脈硬化の予防などの効果があるといわれている。これらの酢の機能を解明するために、酢のDPPHラジカル捕捉率とスーパーオキシド消去能を測定した。【方法】酢の原液を使ってHatanoらの方法でフリーラジカルの捕捉率を測定した、また、NBTの方法でスーパーオキシド消去活性を測定した。さらにFolin-Ciocalteu法で総フェノール含量を測定した。【結果】黒酢はフリーラジカル捕捉率、スーパーオキシド消去能が極めて高いことが分かった。また、酢の総フェノール含量を測定した結果、黒酢の中に総フェノールが多く含まれていることが明らかになった。黒酢の抗酸化能が疲労回復、酒酔いの軽減、動脈硬化の予防、などの要因の一つと思われる。

Dunaliella salina の有する抗酸化能の評価

A4-am5 1) 高知大・生物資源、2) マイクロアルジェ
エコーポレーション(MAC) ○武藤浩剛
1)、受田浩之 1)、竹中裕行 2)、沢村正義 1)

【目的】*D. salina* はβ-カロテンを生成する好塩性のマ
イクロアルジェである。本研究では、β-カロテン以外の
機能性成分の検索を目的に、*D. salina* の水、及びエタノ
ール抽出物が有する抗酸化能の評価を行った。

【方法】乾燥重量当たり、β-カロテン含量が 1.12%(Low)
と 4.79%(High)の 2 種類の藻体を用いて、各々水、及び
80%エタノールで抽出し、ろ過後、試料液とした。各抽
出液を DPPH ラジカル消去活性、WST-1 法及び電子ス
ピン共鳴(ESR)法によるスーパーオキシドアニオン消去
活性(SOSA)、さらにヒドロキシルラジカル消去活性の
測定に供した。

【結果】DPPH ラジカル消去活性は両方の藻体に認めら
れたが、その活性は強くなかった。さらにヒドロキシル
ラジカル消去活性は両試料で認められなかった。
これに対して、各抽出液は WST-1 法及び ESR 法の両法
で SOSA を示した。

特に High の水抽出液では SOD 等価活性として 7260
units/g-dry extract と嗜好性飲料に匹敵する活性が認めら
れ、*D. salina* にはβ-カロテン以外にも有望な機能性
成分が存在することが示唆された。

A4-am6

<講演中止>

ニガナの LDL 抗酸化能

A4-am7 (1) 沖縄県農業試験場、2) 琉球バイ
オリソース開発) ○前田 剛希 1)、広瀬 直
人 1)、藤野 哲也 2)、稲福盛雄 2)

【目的】ニガナ(和名: ホソバワダン, 学名: *Crepidiastrum
lanceolatum* Nakai) は沖縄の伝統的な野菜であり、風邪、
胃腸の病気、心臓病に効果を示すといわれている。こ
れまでの研究でニガナはポリフェノールに富み、強い
抗酸化能を示す野菜であることを明らかにした。また、
主な抗酸化成分については構造を解析した¹⁾。本研究で
はニガナの LDL 抗酸化能を調べ、特に発酵が及ぼす影
響を検討した。

【方法】発酵前、発酵後のニガナ粉末から 80%エタノ
ール抽出液を調製し、総ポリフェノール含量をフォー
リン・デニス法で、DPPH ラジカル消去能をマイクロブ
レートリーダー法で、LDL 抗酸化能を共役ジエン法で、
それぞれ分析した。発酵前後の成分変化を LC/MS を用
いて分析した。

【結果】ニガナは発酵により総ポリフェノール含量、
DPPH ラジカル消去能は低下したが、LDL 抗酸化能は
発酵前後でほぼ同等の強さであった。発酵によりフェ
ニルプロパノイド類とルテオリン配糖体は減少し、ル
テオリンが増加した。

1) 前田ら, 平成 14 年日本栄養・食糧学会西日本支部大会(2003)

食品素材の脂質ヒドロペルオキシド還元 消去作用 : TLC プロットによる活性評価

A4-am8 徳島大・医・栄養 ○高原啓吾、檜田美
緒、
田口恵子、寺尾純二

【目的】生体内や食品中に発生する脂質ヒドロペルオ
キシド(LOOH)はラジカル連鎖反応や毒性カルボニル
化合物生成の原因となり、生体機能や食品の品質に大
きな影響を及ぼす。一方、グルタチオン(GSH)に依
存する LOOH の還元消去系は生体内のレドックス制御
において重要な役割を果たしている。今回我々は簡便
かつ特異的な LOOH の検出法である diphenyl-1-
pyrenylphosphine (DPPP)-TLC プロット法を用い、食
品素材のもつ LOOH 還元消去能の評価を行った。【方
法】GSH 添加あるいは非添加下でリノール酸ヒドロペ
ルオキシド(LAOOH)またはホスファチジルコリンヒ
ドロペルオキシドを各種の食品素材ホモジネートとイ
ンキュベートした後、脂質を抽出した。TLC により脂
質を分離し、DPPP-TLC プロット法により LOOH を検
出した。【結果および考察】各種の食品素材ホモジネ
ートについて LOOH 還元消去能の TLC プロット解析を行
ったところ、万能ネギに強い活性が見出された。HPLC
による LAOOH 解析の結果、GSH 非添加下で一部分解
を受けるのに対し、GSH 添加下では完全に LAOOH が
その還元型であるヒドロキシ体へと変換されることが
確認された。

発酵乳ケフランケフィアの抗酸化活性及び DNA 修復増強活性

A4-am9 (1)九大院・遺資工、2)九大院・システム生命 3)日本ケフィア(株)、4)MDI Bio Lab)○廣瀬真奈美 1)、森美希 2)、照屋輝一郎 1,2)、片倉喜範 1,2)、徳丸千之助 3)、徳丸浩一郎 3)、D.Barnes4)、白畑實隆 1,2)

【目的】紫外線照射は活性酸素種の生成やチミンダイマーの生成により細胞の DNA に損害を与え、遺伝子の突然変異や細胞死を生じさせる。これまでに抗ガン・免疫増強・抗ストレス効果に関して有効性が示されてきた発酵乳ケフランケフィアについて検討を行ったところ、紫外線照射によるアポトーシス抑制効果・細胞内チミンダイマー除去促進が確認された。本研究では、培養動物細胞における紫外線照射による発酵乳ケフランケフィアの抗酸化活性及び DNA 修復増強活性について検討した。

【方法・結果】ヒト正常線維芽細胞 TIG-1 およびヒト前骨髄性白血病細胞 HL-60 に対して紫外線照射による細胞内酸化状態を DCFH-DA を用いて測定した。またケフィアのアポトーシス抑制能及び DNA 修復増強能を詳細に検討するため細胞の不定期 DNA 合成活性を指標に修復能の検討を行った。その結果、ケフィアの水溶性画分は紫外線照射による細胞内酸化ストレスを軽減することができた。また、紫外線照射後の不定期 DNA 合成活性は、ケフィア水溶性画分添加によりコントロールに比べ増加した。

抗酸化応答配列を制御する食品機能成分の分子機構の解析

A4-am10 (鹿児島大・農) ○谷川俊祐、侯徳興、藤井信

【目的】抗酸化応答配列 (ARE) は、肝臓解毒酵素群の遺伝子プロモーターに存在し、解毒酵素の誘導を制御している。多くの化合物は解毒酵素発現を誘導するが、その分子メカニズムはまだ明らかではない。本研究は、食品成分をはじめ、誘導機能型に分類された化合物を五つ用いて、キノンレダクターゼ (QR) をマーカーとし、それらの分子機構を検討した。

【方法】QR 酵素活性は Prochaska らの方法で測定した。ARE の転写活性は、ARE-Luc プラスミドを用いて Dual-light Gene Assay System で測定した。MAPK のリン酸化は特異的抗体を用いてウェスタンブロット法で検出した。

【結果】各サンプルは、濃度依存的に QR 酵素活性を誘導し、ARE プロモーター活性を促進した。シグナル伝達経路を検討した結果、各サンプルは異なる MAPK または、その下流の転写因子群をリン酸化して、QR の発現を制御していることが明らかになった。以上より同じ機能型に分類された誘導物質でも、その誘導分子機構が異なるため、誘導機能型分類と分子機構は必ずしも一致しないことがわかった。

ワサビ 6-MITC による抗酸化応答配列の転写制御
A4-am11 (鹿児島大・農) ○福田 良絵、侯 徳興、藤井 信

【目的】我々はワサビの生体調節機能およびその分子作用機構について解析している。その中、ワサビの主要成分 6-methylsulfinylhexyl isothiocyanate(6-MITC)が肝臓第二相解毒酵素キノンレダクターゼ (QR) の遺伝子発現および酵素活性を誘導することを見いだした。本研究では、6-MITC による QR 遺伝子のプロモーターに存在する抗酸化応答配列 (ARE) の転写制御をシグナル伝達系および転写因子の面から解析を行った。

【方法】QR 酵素活性は Prochaska らの方法で測定した。ARE の転写活性は、ARE-Luc プラスミドをリポフェクション法で HepG2 細胞に導入し、6-MITC 処理後その転写活性を Dual-light Gene Assay System によって測定した。また、6-MITC による MAPK および転写因子のリン酸化はそれぞれの特異的抗体を用いてウェスタンブロット法で検出した。

【結果】6-MITC は、濃度かつ時間依存的に QR 酵素活性および転写活性を促進した。シグナル伝達系および転写因子を解析した結果、6-MITC は MAPK (ERK, JNK, p38) をすべてリン酸化したが、MAPK inhibitor を用いた実験により、6-MITC は促進役の ERK と JNK、抑制役の p38 と協調的な平衡を保つことによって QR の発現を制御していると考えられた。

フキのポリフェノール酸化酵素について

A4-am12 (佐賀大・農・応生) エリーネ ンキャ、河野千絵、韓 雲哲、李 英杰、林信行、○藤田修二

【目的】フキは日本の食卓で親しまれている野菜のひとつである。フキ等の野菜では酵素的褐変がいわゆるアクの原因となっている。この引き金となる PP0 に関して、その褐変防止等の目的で、これまでに多くの野菜、果物について研究されているが、フキ PP0 についての詳細な報告はほとんど行われていない。そこで本研究ではフキ PP0 を精製し、その性質などを検討した。

【方法】フキの抽出液について、硫酸分画、イオン交換クロマト、疎水クロマト、次いでゲル濾過を行い、PP0 を精製した。PP0 活性は差スペクトル法及び比色法により測定した。

【結果】前記の操作により、フキ PP0 を電気泳動的に均一にした。本酵素は最終的に 28 倍に精製され、回収率は 12 %であった。本酵素は o-ジフェノール類であるクロロゲン酸とエピカテキンを強く酸化した。本酵素の最適は pH 6 付近に認められ、pH 4~10 の範囲で安定であった。また最適温度 30℃付近に認められ、50℃、30 分の加熱処理に対して安定であった。本酵素活性に及ぼす阻害剤等の種々化合物の影響についても報告する。

サツマイモ茎葉の酵素的褐変に及ぼすポリフェノールとポリフェノールオキシダーゼの影響
A4-am13 (農研機構・九州沖縄農研・畑作研究部)
○石黒浩二、吉元誠

【目的】茎葉部を利用するサツマイモ新品種「すいおう」が育成され、料理や飲料、パウダーやペーストなどの一次加工品としての利用が検討されている。本研究では、加工時に問題となる酵素的褐変について調査した。

【方法】「すいおう」茎葉部の葉身、茎及び葉柄部について、ポリフェノール含量、ポリフェノールオキシダーゼ (PPO) 活性を測定し、抽出液の褐変度との関係を調べた。ポリフェノール含量は Folin-Ciocalteu 法及び HPLC で定量し、粗酵素液の PPO 活性はクロロゲン酸を基質として 325nm の吸光度の減少により測定した。褐変度は一定時間放置した抽出液の色差 ($\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$) により求めた。

【結果】ポリフェノール含量は葉>茎>葉柄、PPO 活性は茎>葉柄>葉の順で高かった。水溶液の褐変度は葉>茎>葉柄の順であり、ポリフェノール含量による影響が大きかった。褐変後は各ポリフェノール成分量が減少し、それに伴って DPPH ラジカル消去能は減少した。PPO の耐熱性は茎>葉柄>葉の順で優れていたが、各部位とも 80℃で 30 分間加熱することにより、ほぼ完全に失活した。

活性水素供与体及び活性酸素消去剤としての白金コロイドの機能解析
A4-am14 (1)九大院・生資環・遺資工、2)九大院・システム生命、3) (株)日本トリム ○今田敏文 1)、濱崎武記 1)、照屋輝一郎 2)、片倉喜範 2)、大坪一道 3)、森澤紳勝 3)、白畑實隆 2)

【目的】nm サイズの白金コロイド (白金ナノコロイド) は溶液中に安定に長期間分散できることが知られている。近年、その様々な作用がナノテクノロジーの分野で注目されている。しかし、生体との関わりについての報告はほとんどされていない。一方、活性酸素種 (ROS) は生体内で様々な疾病の原因、または増悪因子であることが明らかになった。我々はこれまで白金ナノコロイドが *in vitro* で ROS (過酸化水素、ヒドロキシラジカル、スーパーオキシド) の消去剤として機能することを報告した。本研究では白金ナノコロイドによる ROS 消去反応機序の解明と活性水素供与体としての白金ナノコロイドについて検討を行った。

【方法及び結果】脱気後、水素ガスを通気することにより高濃度溶存水素水を作成した。この高濃度溶存水素水に白金ナノコロイドを添加することにより DPPH ラジカルが消去された。また、ROS 消去能については電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いて検討した。これらの結果から白金ナノコロイドが活性水素供与体として ROS を消去するだけでなく、酵素的な触媒機能により ROS を消去することが示唆された。

Wx 遺伝子を導入した糯種イネの胚乳澱粉の分子構造

B1-am1 (1) 鹿児島大・農、2) 新潟大・院・自然研、3) 新潟大・超域研究機構) ○倉富裕樹 1)、花城 勲 1)、伊藤紀美子 2) 3)、竹田靖史 1)

【目的】 Wx 遺伝子は粒結合型澱粉合成酵素 (GBSS) をコードし、アミロースの合成に関与している。本研究ではジャポニカ種の糯種イネにインディカ種イネ Labelle の Wx 遺伝子を導入し、胚乳澱粉の分子構造における変化を調べた。

【方法】 胚乳澱粉をアミロースとアミロペクチンに分別し、蛍光標識・ゲル濾過 HPLC によりその分子構造を調べた。

【結果】 Wx 遺伝子を導入したイネでは 15.5~19.1% のアミロースが合成されていた。これは Labelle のアミロース含量 (15.1%) に近い割合であった。アミロペクチン分子にも変化が認められ、Labelle にはほとんど存在しない重合度 100 以上の長い単位鎖 (LC) が 7~8% 程度形成されることがわかった。一方、重合度 100 以下の単位鎖については、鎖長分布に変化は認められず、アミロペクチンのクラスター構造はほぼ同じであると考えられた。これらのことから糯種イネで発現させた GBSS はアミロースを合成するだけでなく、アミロペクチンの LC の生成にも関与することが明らかになった。

Starch Properties of some Local Rice species grown in Nigeria
B1-am2 Terna Gaffa, Yasuhito Takeda
Dept. Biochem. Sci. and Tech., Fac. Agric., Kagoshima University

Some Nigerian local rice starches were examined in their properties. Isolation of starches and fractionation into amylose and amylopectin was by methods already reported. The iodine affinity (IA, g/100 g) (1.05-3.29) of both short and long grain rice starches increased (2.52-4.82) after defatting, indicating all the starches contain amylose/lipid complex. The apparent amylose content was 12.6-24.0%. Actual amylose content (%) based on IA determination ranged from 12.5-21.0 among the long grain varieties. Amylose IA for 'Election', 'Dantara' and 'Shendam' were 17.8, 18.8 and 18.3, respectively, while their amylopectins IA ranged from 0.18- 2.09. Further studies into the properties of amylose and amylopectin of both short and long grain varieties are continuing.

イネ胚乳プルラナーゼの性質および微生物由来プルラナーゼとの比較

B1-am3 (1) 福山大・生命工、2) 秋田県大・生資科) ○岩本博行 1)、作田郁恵 1)、新元芳彦 1)、廣瀬順造 1)、久保亜希子 2)、中村保典 2)

【目的】 高等植物に存在する澱粉枝切り酵素は、澱粉の分解ばかりでなくアミロペクチンのクラスター構造形成に関与していることが明らかにされつつある。この働きは主にイソアミラーゼが担っているとされるが、プルラナーゼも相補的な役割を持つと推定されている。本研究では、イネ胚乳由来プルラナーゼの酵素化学的・反応速度論的性質を調べ、微生物由来のプルラナーゼと比較した。

【方法・結果】 酵素は、登熟期のイネ種子から精製した。酵素活性はプルランを基質とし、還元力の増加を Park-Johnson 法で測定した。酵素は pH が 5.5 から 7.5 の間で最大活性を示したので、以後 50 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.6) 中で活性を測定する事とした。次に至適温度を調べたところ、50℃付近で活性が最大となった。イネプルラナーゼの K_m (ミカエリス定数) および k_{cat} (モル活性) や、シクロデキストリンによる阻害物質定数 (K_i) は、微生物 *Klebsiella* 由来プルラナーゼとよく似た値を示した。一方、マルトオリゴ糖 (アルコール) との相互作用では、イネ酵素と *Klebsiella* 由来酵素の間に違いが見られ、両酵素で基質結合部位の構造が異なることが示唆された。

電気溶出法による植物の細胞外タンパク質の調製およびその解析 ○矢野原泰士 1)、趙紅業 2) 藤好飛鳥 2)、中村考志 3)、岡本繁久 4)、松尾友明 1、2) 1) 鹿大・連農・生産、2) 鹿大・農・資源、3) 京府大・人環・食保、4) 鹿大・農・生産

【目的】 従来、植物の導管や細胞壁、細胞間隙に存在する細胞外タンパク質の調製法として様々な方法が用いられている。本実験では新たに電気溶出法を考案し、その有効性について検討した。

【方法】 発芽してから5週間経過したアサガオを試料とした。試料の入った 5ml のガラス管を泳動槽中に立てた状態で電圧をかけ、分子量排除限界 3500 のメンブレン上にタンパク質を調製した。そして、タンパク質量・タンパク質組成などを調べ、適切な調製条件を決定した。

【結果】 一定のタンパク質の調製が可能であり、SDS-PAGE で明確なタンパクバンドが検出される 5mA/tube で6時間溶出する条件が適していると推測された。茎の調製液を二次元電気泳動法で分析した結果、等電点 pH 6.0~7.0 付近の分子量 1 万から 3 万のタンパク質が多く存在し、細胞破碎液と比較してタンパク質組成が明らかに異なっていた。また、葉の調製液からは RuBisCO の位置のタンパクバンドは、ほとんど検出されなかった。

PH 応答性 (メチルセルロース/ポリアル) 系複合膜の調製

B1-am5 (新潟大・工) 大河原洋介、田口佳成、○田中真人

【要旨】 食品容器内の液状食品の腐敗に伴う刺激 (液体の PH 変化) を感知し、可逆的に変色する機能を有した [メチルセルロース (MC)/ポリビニルアルコール (PVA) /染料] 複合膜を調製した。PH 応答性染料を分散溶解させたメチルセルロースあるいはポリビニルアルコール水溶液から、キャスト法により調製した乾燥膜を架橋した複合膜の PH 応答性や膨潤性に及ぼす調製条件の影響を検討した。メチルセルロースと染料からなる MC 複合膜は、PH 応答性は発現されたものの、水膨潤性や染料溶解離脱性が顕著となった。

ポリビニルアルコールと染料からなる PVA 複合膜は、水膨潤性や染料の溶解離脱性は抑制されたものの、PH 応答性を発現しなかった。

これに対して、メチルセルロース、ポリビニルアルコール、染料を溶解した水溶液から、キャスト法により調製した複合膜を、MC、PVA の順番で架橋することにより調製した複合膜は、染料の溶解離脱を防止し、かつ染料が PH 変化に応答して変色しうることが明らかになった。

単一重合度 ϵ -Poly-L-lysine の調製

(1) 鳥取大・工・生物応用、2) チッソ(株)
B1-am6 ○川合隆博 1)、窪田高秋 1)、和泉好計 1)

【目的】 ϵ -Poly-L-lysine (ϵ -PL) は放線菌の一種である *Streptomyces albulus* の培養液から得られるポリアミノ酸で、25~35 個の L-リジンが ϵ 位のアミノ基と α 位のカルボキシル基が結合したユニークな直鎖状の構造をしている。 ϵ -PL は細菌などに対する増殖抑制効果を示すことから、現在食品保存料として広く用いられている。

ϵ -PL は重合度が 8 以下では増殖抑制効果はなく、また最近では、重合度分布が異なる ϵ -PL を生産する菌がスクリーニングされるなど、重合度とその生理学的意義や機能についても興味を持たれている。従来 ϵ -PL の重合度を知る方法としては化学合成した ϵ -PL を分子量マーカーとして用い HPLC 分析により算出してきたが、化学合成は非常に手間や費用がかかる。そこで本研究では、市販の ϵ -PL の加水分解物から単一重合度の ϵ -PL を精製し、HPLC 分析用の分子量マーカーを調製することを目的とした。

【方法及び結果】 ϵ -PL を酸加水分解し、HPLC により分取した。そして再度 HPLC による解析を行うことで、ほぼ単一重合度の ϵ -PL であることを確認した。そして MALDI-TOF MS により正確な分子量及び重合度を決定した。

B1-am7 海藻由来のプロモペルオキシダーゼの基質（ハロゲン）特異性改変-クロル化活性も示す変異酵素
(1) 鳥取大・工・生物応用、(2) イギリス・エクセター大)○大城隆 1)、飯田保明 1)、小林拓史 1)、Esther Garcia- Rodriguez 2)、Jennifer Littlechild 2)、和泉好計 1)

[目的] 海藻 *Corallina pilulifera* 由来のプロモペルオキシダーゼ (BPO) は熱や有機溶媒に対する耐性が高く、ハロゲン化や酸化反応への応用が期待される酵素である。我々は BPO にクロロペルオキシダーゼ (CPO) 活性を付与させるべく検討を行ったところ、Arg³⁹⁷ のアミノ酸置換が有効であることを見出している。そこで、CPO 活性を有する変異酵素について比較検討を行った。

[方法と結果] Arg³⁹⁷ を他のアミノ酸へ置換した結果、最も高い CPO 活性を示したのは芳香族アミノ酸へ置換した R397W、R397F であり、次いで R397E が高い活性を示した。精製した変異酵素 R397E の CPO 活性は 7.9 units/mg となり、野生型酵素 (0.32 units/mg) の 25 倍、R397F (39.1 units/mg) の 1/5 であった。

昆虫キチナーゼ阻害物質生産系状菌由来のキチナーゼ
B1-am8 仁戸田 照彦、○亀山 貴正、臼木 博一、神崎 浩 (岡山大・農)

【目的】我々はハスモンヨトウガ蛹キチナーゼ阻害試験を用いて糸状菌由来の昆虫キチナーゼ阻害物質の探索を行い、活性菌株 5 菌株を取得した*。今回、これらのうちの 2 菌株が昆虫キチナーゼ阻害物質とともにキチナーゼを生産することが明らかとなった。そこで、これらの菌株が生産するキチナーゼの性質について検討を行った。

【方法と結果】昆虫キチナーゼ阻害物質生産系状菌 5 菌株のキチン資化能、*p*-nitrophenyl tri-*N*-acetyl- β -chitotrioside 分解活性を調べたところ、TNPT116-Gz 株と F77 株がキチナーゼ生産性を有していた。これら 2 菌株はともに静置培養条件下でキチナーゼと昆虫キチナーゼ阻害物質を生育の同時期に菌体外に生産することが明らかとなった。培養液レベルでの性質検討において、これら 2 菌株が生産するキチナーゼはともに最適 pH4.0、最適温度 40℃を示した。また、TNPT116-Gz 株の菌体内には、菌体外とは異なるキチン分解系が存在することが明らかとなった。TNPT116-Gz 株が生産するキチナーゼと昆虫キチナーゼ阻害物質との関係は現在検討中である。**J. Pesticide Sci.*, **28**, 33-36 (2003)

ガジュマル由来キチナーゼの抗真菌活性
(琉球大・農・生物資源科学)
B1-am9 ○下地真紀子、大泊敦子、平良東紀、石原昌信

【目的】我々はこれまでにガジュマルラテックスのキチンカラム吸着画分より抗真菌性クラス I キチナーゼ (FMLC-B) を単離し、その性質を明らかにしている。本研究ではガジュマルラテックスのキチンカラム非吸着画分より新たに抗真菌性キチナーゼ (FMLC-C) を単離し、その性質を調べると共に FMLC-B と FMLC-C の抗真菌活性について比較検討した。

【方法】酵素は熱帯樹木ガジュマル (*Ficus microcarpa*) のラテックスより調製した。抗真菌活性は *Trichoderma viride* を用いた固体培養系における菌糸伸長阻害測定法と液体培養系における菌糸生育阻害測定法により調べ、抗真菌活性に及ぼすイオン強度の影響についても検討した。

【結果】FMLC-C の分子量は SDS-PAGE により 27,000 と算出された。N 末端アミノ酸配列解析の結果、FMLC-C はクラス II キチナーゼに分類されることが示唆された。固体培養系では FMLC-B は低イオン強度、高イオン強度のいずれにおいても強い抗真菌活性を示したが、FMLC-C はイオン強度の上昇に伴い活性が減少した。一方、液体培養系では低イオン強度においては FMLC-C が FMLC-B よりも強い抗真菌活性を示し、高イオン強度では両酵素共に活性が著しく減少した。

アメフラシ科タツナミガイのラミナリナーゼの解離・会合
B1-am10 (崇城大・応微工) ○上野 泰照、辻 陽一、松元 俊彦、山浦 泉

【目的】我々はタツナミガイの胃内容物画分に存在するラミナリナーゼを精製し、その諸性質を報告した¹⁾。本研究ではこのラミナリナーゼの解離・会合の現象について調べた。

【方法および結果】酵素の精製は胃内容物画分から硫酸分画、各種クロマトを用いて行った。解離・会合は、SDS-PAGE 及び pH6.9 と pH10 における高速ゲル濾過カラムによって調べた。精製した酵素標品は SDS-PAGE で 1 本のバンドを与え、その分子量は約 200kDa であった。pH6.9 で高速ゲル濾過を行ったところ、分子量約 600kDa のところにメインピークが溶出され、本酵素が主に三量体として存在していることが推察された。

一方、pH10 で高速ゲル濾過を行ったところ、本酵素はマーカークログロブリン (約 670kDa) より前に溶出され、本酵素がさらに大きな会合体として存在することがわかった。

1) 2001 年度 日本農芸化学会 関西・西日本・中四国支部合同大会要旨集 P-89

市販酵素標品(セルロシン A.P.)中の β -1,4-マンナナーゼの部分一次構造
B1-am11 (崇城大学・応微工)○野田 武政、上野 泰照、松元 俊彦、山浦 泉

【目的】セルロシン A.P.は *Aspergillus niger* を用いて製造された市販セルラーゼ標品である。我々はこの標品中に存在する β -1,4-マンナナーゼを精製し、その諸性質を報告した¹⁾。本研究では本酵素の構造を更に明らかにするため、アミノ酸配列決定を試みた。

【方法及び結果】本酵素の分子量は 38KDa であり、アミノ酸分析の結果、約 340 個(システインを除く)のアミノ酸残基をもつことがわかった。本酵素を還元ピリジルエチル化後、トリプシン消化、V8 プロテアーゼ消化及び臭化シアン分解によって断片化した。逆相 HPLC によって各ペプチドを分離し、気相シーケンサーによる配列分析を行った。逆相 HPLC によって配列決定に適当なトリプシンペプチド 15 ケ、V8 ペプチド 9 ケ、臭化シアンペプチド 7 ケを得、これらのペプチドのアミノ酸配列を決定し、他起源の酵素のものと比較・検討した。

1)日本農芸化学会 1993 年度大会講演要旨集 p-266

ニンジン培養細胞からの β -ガラクトシダーゼ/エキソ-ガラクタナーゼの諸性質と細胞壁多糖の分解
B1-am12 岡山大・資源生物研 ○今野晴義、中戸孝子

【目的】植物細胞壁ペクチンは酸性多糖骨格と中性多糖側鎖(β -1,4-ガラクトンや α -1,5-アラビナン)からなっている。近年これらの側鎖は根の伸長と関係があることが示唆された。そこでガラクトンの代謝を明らかにするために、ニンジン細胞の β -ガラクトシダーゼ(β -Gal)について検討した。

【方法と結果】ムラシゲ・スコーグ培地にて 25℃、暗所で 20 日間、懸濁培養したニンジン培養細胞から細胞壁イオン結合型の β -Gal を可溶化した。引き続き、イオン交換カラム、ゲル濾過、調製用電気泳動にて精製した。本酵素は、分子量 50kDa、等電点 6.5、グリシンやフェニルアラニンに富む糖蛋白質であり、最適 pH4.4、活性は 1mM の Mg、Ag、Hg イオンや Gal-1,4-ラクトンによって著しく阻害された。PNP- β -Gal に対する Km 値は 0.77mmol、Vmax 値は 0.32mmol/mg pro./hr であった。本酵素は、柑橘ガラクトンやガラクトースに富むニンジンペクチン画分にもエキソ型で作用することから、 β -ガラクトシダーゼ/エキソ-ガラクタナーゼであることが明らかになった。また、生長に影響を与える Ca 欠乏下で培養した細胞では経時的な酵素活性の変化が見られた。

Journal of Plant Physiology 159: 1-8 (2002)

酸性下でのキビ種子の発芽時における $\square$ -アミラーゼに関する研究
B1-am13 (岡山大・資生研) ○山崎良樹

【目的】酸性雨の植物への被害が問題になっている。一方、穀物種子の発芽には澱粉分解酵素が重要な役割を演じ、発芽時にはそれらの酵素活性は急激に上昇する。そこで、キビ種子を酸性下で発芽させたときの澱粉分解酵素の挙動について検討した。その結果、 $\square$ -アミラーゼに最も大きな変化が見られた。

【方法および結果】キビ種子を酢酸緩衝液 (pH3.5) で 28℃、3 日間発芽 (発芽率; 33.6%) させ、発芽種子と未発芽種子とに分離した。それらを 0.5M 食塩を含む 50mM 酢酸緩衝液 (pH 5.3) 中でホモゲナイズ後、上澄液を集め、それらの澱粉分解酵素活性について比較検討した。その結果、両者の中の $\square$ -アミラーゼでは最適 pH が異なっていたが、他の澱粉分解酵素には差異が見られなかった。それらの差異についてさらに検討するため、上記粗酵素液を CM セルロフアインカラムクロマトグラフィーで部分精製した。その結果、発芽種子由来 $\square$ -アミラーゼの pI4.62、未発芽種子由来 $\square$ -アミラーゼの pI6.04 であり、両者は等電点を異にする蛋白質であることを明らかにした。

コバルトイオンによって活性化される植物 α -マンノシダーゼの精製と性質 ○原晋太郎 1)、北村久美子 2)、木村吉伸 1、2) (1) 岡大院・自然科学 2) 岡大・農・生資化)

【目的】遊離型 N-グリカンが植物の生長に際して重要な役割を担っている可能性が示唆されている。我々は既に、糖鎖遊離を司るエンドグリコシダーゼの機能特性、遺伝子クローニングを終えている。本研究では、遊離糖鎖の分解に関与すると考えられる α -マンノシダーゼの機能特性解明を目的とした。【方法・結果】今回は、糖タンパク質糖鎖および遊離型 N-グリカンの構造解析やエンドグリコシダーゼの機能解析を終えているイチョウをモデル植物として用いた。イチョウ種子から各種クロマトにより α -マンノシダーゼを単一に精製した。 α -マンノシダーゼは pH 5.5 付近に至適 pH を有し、至適温度は 37℃付近であった。また、分子量はゲルろ過で 287 KDa、SDS-PAGE では 130 kDa であった。N-末端 20 残基のアミノ酸配列による相同性検索の結果からは、既知 α -マンノシダーゼに相同性を示すものは存在しなかった。本酵素は、還元末端に GlcNAc 2 分子を有するハイマンノース型糖鎖よりも、GlcNAc 1 分子を有するハイマンノース型糖鎖に対して強い活性を示した。更に、本酵素はコバルトイオンにより、基質特異性が制御されることが明らかとなった。

精製ヒマシ油中の毒蛋白質リシンの存在の有無に関する検討

B1-am15 (1) 長崎大・水・海洋生化、2)伊藤製油(株) ○小田達也 1)、田村忠士 1)、山口健一 1)、秋田政継 2)、浜口隆司 2)

【目的】ヒマ種子から得られるヒマシ油は、その脂肪酸の90%が ricinoleic acid で、ユニークな性状を有するため、現在、種々の工業製品、化粧品、医薬品等に広く利用されている。一方、ヒマ種子には、猛毒である毒蛋白質 ricin が含まれている。安全性の確認及び高感度 ricin 検出法確立との観点から、精製ヒマシ油中の ricin 存在有無を種々の生化学的手法により検討した。

【方法】ricin 分子の検出は特異抗体を用いた ELISA 及び western blotting により、また、その生物活性は Vero 細胞を用いたコロニー形成阻害による細胞毒性、³H-Leu を用いた蛋白質合成阻害活性により調べた。

【結果及び考察】ELISA でのリシンの検出限界は 0.1 ng であったが、工業用及び高純度精製ヒマシ油のずれにおいても ricin は検出されなかった。細胞毒性では 0.1 ng/ml(絶対量で 0.05 ng)の ricin 検出が可能で、最も感度が高いことがわかった。工業用ヒマシ油は 5%添加でわずかに細胞増殖を抑制したが、その作用は熱安定であったことから、ricin の混入ではなく、ヒマシ油自身の細胞への作用と推定された。

Bacillus thuringiensis serovar sotto 沖縄株の力幼虫に対する選択的殺虫活性

B1-pm1 (1) 九大院農、2)福岡工技セ、3) (株)九州メディカル) ○大串彰 1)、和佐野直也 2)、志佐倫子 1)、齋藤浩之 2)、水城英一 2)、前田稔 3)、大庭道夫 1)

力幼虫に対して強い殺虫活性を示す *Bacillus thuringiensis* serovar sotto 96-OK-85-24 株の parasporal inclusion (PI) の性状について調査した。双翅目幼虫に対する活性スペクトルを調査したところ、ネッタシマカおよびハマダラカに強い選択毒性を示し、その LC₅₀ 値はそれぞれ 40ng/ml および 1μg/ml であった。精製 PI を SDS-PAGE で検討した結果、60-80 kDa 間と 33 kDa のポリペプチドで構成されており、それぞれのタンパク質のN末端アミノ酸配列は双翅目毒性タンパク質として知られる Cry4 および Cry10 のそれと高い相同性を示した。また、可溶性後プロテアーゼにより活性化した PI はヒツジ赤血球に対して溶血活性を示さず、Cyt タンパク質の存在は認められなかった。96-OK-85-24 株の PI タンパク質抗体を用いて、既知の双翅目毒性菌株の産生する PI と比較を行ったが、有意な免疫学的関係は認められなかった。以上のことから、本菌株の新規性が確認された。

Bacillus thuringiensis 由来新規クリスタルタンパク質の白血病ガン細胞に対する細胞損傷能の解析

B1-pm2 (1)岡大院・自然科学、2)近畿大・生物理工) ○常国健太 1)、山際雅詩 1)、武部 聡 2)、駒野 徹 2)、酒井 裕 1)

【目的】ヒト白血病ガン細胞 Jurkat に対して高い細胞損傷能を有する新規 *Bacillus thuringiensis* 菌株である TK-E6 のクリスタルタンパク質から活性型分子として 29 kDa ポリペプチドが同定されている。本研究ではこの 29 kDa ポリペプチドの機能解析を目的とした。

【方法】29 kDa ポリペプチドと GST (グルタチオン-S-トランスフェラーゼ) との融合蛋白質 GST-MM29kD の大腸菌における発現系を構築した。精製した GST-MM29kD の Jurkat 細胞及び HEK293 細胞に対する細胞損傷能を MTT assay により解析した。またそれぞれの細胞より膜画分を調製し、GST-MM29kD との結合特性を Ligand blotting により解析した。

【結果】融合蛋白質 GST-MM29kD は Jurkat 細胞に対して非常に強い細胞損傷活性を示したが、HEK293 細胞に対しては活性は著しく弱かった。Jurkat 細胞膜画分から約 40 kDa の GST-MM29kD 結合タンパク質が検出されたが、HEK293 細胞からはそのようなタンパク質は検出されなかった。よって Jurkat 細胞に特異的受容体の存在が示唆された。

シンナムアルデヒドのガン細胞増殖抑制

B1-pm3 (徳島大・総合科・生命科学) 篠山優也、○金丸 芳、小山保夫、林 弘三

【目的】シナモンの主成分である Cinnamaldehyde (CA) が、ヒト白血病細胞株 K-562 やヒト大腸ガン細胞株 CACO-2 に対して強い増殖抑制を示すことを確認している。そこで今回、その増殖抑制と細胞周期について検討した。

【方法】K-562 細胞の培養は、10%FBS 添加 RPMI 培地で CO₂ 5%、37℃で行った。その条件下で、CA による増殖抑制を検討し、Ethidium bromide(EB)染色により、生死の判定を行った。また、Cell cycle は、0.1% TritonX-100, 3mM EDTA, 100 μM Propidium Iodide, 0.05mg/ml RNaseA で固定と DNA 染色を行って検討した。また、細胞周期の分裂中期での同調には Nocodazole を用いた。測定は Flow cytometer (CytoACE-150, Jasco) で行った。

【結果】Cinnamaldehyde は 50 μM で、3日間 K-562 の増殖を阻止したが、細胞を致死させる程度は低かった。また、100 μM では細胞致死の増加がみられた。その時の Cell cycle を見てみると、50 μM では G₂/M 期の細胞が増加していた。一方、100 μM では G₂/M 期の細胞の増加は見られなかった。50 μM では、M 期で細胞周期を阻止することにより増殖抑制を示しているものと考えられる。

細胞老化における MAP キナーゼカスケードの関与

B1-pm4 (1) 九大院・農、2) 九大院・生資環)
○今田悠介 2)、片倉喜範 1)、藤木司 2)、
吉崎嘉一 2)、白石裕士 2)、白畑實隆 1)

【目的】様々なストレスに対して活性化される細胞内因子の一つに MAP キナーゼがあげられる。これまで当研究室において、MAP キナーゼカスケードの上流キナーゼである MAPKKK の一つである TAK1 が、ヒト肺癌細胞株 A549 に対し、老化様形態を誘導しうることを明らかにしてきた。本研究では、ヒト正常繊維芽細胞株 TIG-1 を用いて、TAK1 による細胞老化誘導の分子メカニズムについて、さらに詳細に明らかにすることを目的とした。

【方法及び実験】 TAK1/TAB1 の老化誘導能をアデノウイルス発現系により検証した。その結果、TAK1/TAB1 を強発現させた TIG-1 において、老化マーカーの発現上昇、増殖抑制、さらに細胞周期停止 (Go/G1 期停止) が観察された。また同時に、TAK1/TAB1 の強発現により、MAP キナーゼ p38, ERK の活性化が観察された。以上の結果より、TAK1/TAB1 は、MAP キナーゼカスケードを介し正常繊維芽細胞に老化を誘導しうるということが明らかとなった。

サイトカインシグナルに対する Pentagalloyl glucose の作用

B1-pm5 (九大院・農・生機科、*静岡県立大薬)
○中山和子、立花宏文、*宮瀬敏男、
山田耕路

【目的】我々は Pentagalloyl glucose (PGG) が IL-4 シグナルを阻害することにより IgE 産生を抑制することを見出した。そこでこの PGG によるサイトカインシグナル阻害効果が IL-4 に特異的であるのかについて検討した。

【方法、結果】 PGG による IL-4 シグナル阻害効果が観察されたヒト成熟 B 細胞株 DND39 は今回用いたサイトカインに応答性を示さなかった。そこでヒト肝癌細胞株 HepG2、およびマウス胎児由来腺維芽細胞株 NIH-3T3 を用いて各サイトカインシグナルにおよぼす PGG の影響を、サイトカインによって誘導される転写因子 STATs のリン酸化を指標とし、ウェスタンブロット解析により検討した。その結果、PGG は IL-4 同様、IgE 産生を誘導する IL-13 シグナルを阻害した。しかし、PGG は IFN- γ シグナルおよび IL-6 シグナルは阻害しなかった。このことから、PGG による阻害効果はアレルギー発症に関与するサイトカインに選択的である可能性が示唆された。

体外免疫法により誘導されるヒト抗体可変領域遺伝子の解析

B1-pm6 (1) 九大院・農、2) 九大院・生資環)
○野口絵理 2)、松本信英 2)、山下万貴子 2)、片倉喜範 1)、相葉佳洋 2)、照屋輝一郎 1)、白畑實隆 1)

【目的】本研究室では、様々な抗原に対する完全なヒト抗体作製法の確立を目指し、ヒト末梢血リンパ球に対し、抗原特異的抗体産生応答を誘導する体外免疫法を開発した。本研究では、ヒト抗体可変領域遺伝子取得の効率化を行う目的で、体外免疫による各抗体可変領域遺伝子ファミリーの発現変動の解析を行った。

【方法および結果】感作抗原としてはダニ抽出物を用い、体外免疫を行った。まず、ナイーブリンパ球および体外免疫後のリンパ球から調製した RNA を鋳型として、IgM および IgG 特異的プライマーを用いて cDNA 合成を行った。次に抗体可変領域遺伝子ファミリー増幅用プライマーを用い PCR を行い、各ファミリーの発現を解析した。その結果、体外免疫を行ったリンパ球においては、ナイーブリンパ球よりも、明らかに抗体遺伝子の発現量が増えていた。また、発現する抗体遺伝子ファミリーも、体外免疫後リンパ球とナイーブリンパ球間では、変化が見られた。

抗酸化物質による *ras* 形質転換細胞の増殖抑制

B1-pm7 ○丸山数馬、荒巻文香、榊原陽一、
水光正仁、西山和夫 (宮崎大・農)

【目的】ガン遺伝子 *ras* で形質転換した細胞は、活性酸素の一種であるスーパーオキシドを生成して異常な増殖をすることが明らかにされている。本研究では *ras* 形質転換細胞の増殖に対する抗酸化物質の影響について検討した。

【方法と結果】ラット繊維芽細胞 3Y1 と 3Y1 細胞に *v-H-ras* 遺伝子で形質転換した 3Y1-*ras* 細胞を 10%ウシ胎児血清を添加した DMEM で培養した。3Y1-*ras* 細胞は 3Y1 細胞と比べて 2 倍以上の増殖速度を示した。抗酸化物質としてはリボ酸、N-アセチル-L-システイン (NAC)、グルタチオンエチルエステル (GSH) およびエピガロカテキンガレート (EGCG) を用い、2 種類の細胞の増殖への影響を比較した。今回調べた 4 種類の抗酸化物質はいずれも 3Y1-*ras* 細胞の増殖をより強く抑制した。リボ酸と NAC は 3Y1 細胞の増殖にほとんど影響を及ぼさない濃度で 3Y1-*ras* 細胞の増殖を約 50%抑制した。GSH の抑制作用はリボ酸、NAC に比べて弱かった。EGCG は他の化合物よりも強い増殖抑制作用を示したが、3Y1-*ras* 細胞に対する選択性が低かった。EGCG の増殖抑制活性は培地中にカタラーゼを添加することにより大きく低下したが、他の 3 種類の化合物はカタラーゼによる影響を受けなかった。

酸化的 DNA 損傷修復活性測定系開発の試み

B1-pm8 (1) 鹿大・教・家政、2) 鹿大・医歯学・環境医学、3) 鹿児島純心女大・健康栄養
○竹下温子 1) 竹内亨 2) 瀬戸口賀子 3)
村岡雍一郎 1)

【目的】DNA・遺伝子は生命の根幹をなす。よって DNA 損傷は多くの疾患の原因となる。酸化的 DNA 損傷を誘発する要因として、活性酸素は、重要である。一方、生体には、酸化的 DNA 損傷を修復する機構が備わっており、本研究では、酸化的 DNA 損傷修復酵素活性測定法の開発を試みた。

【実験】DNA にリボフラビン溶液を添加した後、紫外線を照射し、酸化的損傷を有する DNA を作成した。これを、大腸菌由来の酸化的 DNA 損傷修復酵素である Fpg を用いて、その活性を測定した。酸化的 DNA 損傷は 8 ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) を指標に HPLC-ECO で測定した。

【結果】リボフラビン濃度に依存し、8-OHdG が DNA に誘発された。この基質を用いた Fpg 活性の測定が可能であった。Fpg は基質の 8-OHdG の密度や、DNA 濃度に依存して、酸化的 DNA 損傷を修復することが判った。この時、除去された 8-OHG と DNA に残存する 8-OHdG との間には、ストイキオメトリーが成立した。また、制限酵素で切断された DNA は、若干、Fpg の活性を高めることが明らかとなった。

以上により、我々のシステムで Fpg による酸化的 DNA 損傷修復活性を測定することができた。現在は生体試料を用いて、酸化的 DNA 損傷修復活性の検討を行っている。

ER ストレス誘導下における過塩素酸可溶性蛋白質の発現 (1)川崎医・生化学、2)高知工技セ、3)九大院・生資環、3) 鹿大・農
○叶内宏明 1)、松尾綾 2)、山田耕路 3)、岡達三 4)、刀祢重信 1)、湊川洋介 1)

【目的】過塩素酸可溶性蛋白質 PSP は大腸菌からヒトに至るまで高度に保存されていることから、生理的に重要な蛋白質であると示唆されている。しかし依然として PSP の本質は解明されていない。本研究では PSP が小胞体 (ER) に分布することに着目し、ER ストレス誘導下における PSP の発現量および細胞内局在の変化について検討したので報告する。【方法】実験にはラット腎臓 NRK 細胞を用いた。ER ストレス誘導剤にはタブシガルギン (Tap)、ブレフェルジン A、ツニカマイシンを用い、PSP 蛋白質の検出はイムノブロットおよび免疫細胞化学的方法によって検討した。【結果】いずれの ER ストレス誘導剤も濃度依存的に PSP の発現量を増大させ、またその効果は Tap で顕著であった。さらに PSP 発現量は Tap 添加 3 時間後から増大が認められ、ER ストレス時に発現が増大する GRP78 蛋白質の発現誘導に先行した。一方、PSP の細胞内局在は Tap 添加 1 時間後から細胞核内にも認められるようになり、3 時間後には細胞核内に顕著に認められるようになった。【結論】PSP は ER ストレス誘導時に発現量および細胞内での局在が変化する蛋白質であることが示唆された。

タバコ培養細胞における希土類イオンによる活性酸素の生成の誘導

B1-pm10 (北九州市立大・院・国際環境工学)
○河野智謙、角野貴志

希土類イオンや Al イオンなど 3 価の金属カチオンは植物毒性をもつことが知られ、その毒性のメカニズムの一つとして酸化的ストレスによる細胞へのダメージが考えられている。本研究では、スーパーオキシド (O_2^-) の生成を指標に、タバコ培養細胞 (BY-2) における希土類イオンへの応答反応を解析した。希土類処理には YCl_3 , $LaCl_3$, $CeCl_3$, $PrCl_3$, $NdCl_3$, $SmCl_3$, $EuCl_3$, $GdCl_3$, $TbCl_3$, $DyCl_3$, $HoCl_3$, $ErCl_3$, $TmCl_3$, $YbCl_3$, $LuCl_3$ を用いた。 O_2^- の測定には、 O_2^- に特異的な化学発光基質 CLA を用いた。対数増殖期前半 (培養 1~3 日目) にある若い細胞では、希土類処理の直後に NADPH オキシダーゼ依存性の O_2^- 生成を示す発光が観察され、その後、ゆるやかな発光の減少が認められた。このエイジの細胞では 0.1~0.3 mM の低濃度の希土類処理で O_2^- 生成が最大となった。一方、エイジの進行した培養 5 日以降の細胞では、低濃度の希土類に対する感受性の低下が認められ、30 mM までの処理濃度の範囲で濃度に依存して O_2^- 生成量が増大し、飽和することが無かった。用いた希土類中、 O_2^- 生成の誘導活性が高かったのは、La, Pr, Ce, Nd, Sm, Eu であったが、細胞のエイジングによりどの希土類元素が最も強い反応を誘導するかに違いが見られた。

タバコ培養細胞におけるアルミニウム誘導活性酸素生成とカルシウム情報伝達経路の攪乱

B1-pm11 (1) 北九州市立大・院・国際環境工学、2) 名古屋大・院・生命農学) ○角野貴志 1)、古市卓也 2)、武藤尚志 2)、河野智謙 1)

アルミニウム (Al)、ランタン (La)、ガドミニウム (Gd) などの 3 価の金属カチオンは植物毒性をもつことが知られ、中でも Al イオンは、根における細胞分裂や細胞伸長を阻害する因子と考えられている。本研究では、スーパーオキシド (O_2^-) の生成と細胞質 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_c$) の変化を指標にして、エクオリン遺伝子を導入したタバコ培養細胞における Al への応答反応を解析した。 O_2^- と $[Ca^{2+}]_c$ の測定は、化学発光およびエクオリン発光により行った。Al 処理の直後に O_2^- の生成が観察され、その後、比較的ゆるやかな $[Ca^{2+}]_c$ の上昇がみられた。 O_2^- の生成は 6 mM の Al 処理で最大となり、 $[Ca^{2+}]_c$ の上昇は 1.25 mM の Al 処理で最大となった。また、高濃度の Al 処理では、 Ca^{2+} の流入阻害により $[Ca^{2+}]_c$ 上昇が観察されなかった。阻害剤等を用いた実験の結果、 O_2^- の生成は、NADPH オキシダーゼ依存性であること、また $[Ca^{2+}]_c$ 上昇は、Al により誘導された O_2^- が直接の引き金になることがわかった。これらのことから Al イオンは、処理濃度に依存し、 O_2^- 生成を介した Ca^{2+} の流入を誘導すると同時に、高濃度の Al 存在下では、直接 Ca^{2+} チャンネルを阻害し、 $[Ca^{2+}]_c$ ホメオスタシスを攪乱すると考えられる。

ハードニング処理したクロレラ由来グルコース 6-リン酸脱水素酵素の精製
B1-pm12 (1) 九大院・生機科、2) 九大・院・農、3) 西九大院・健康福祉)
○三村綾乃 1)、本城賢一 2)、中尾実樹 2)、矢野友紀 2)、宮本敬久 2)、波多野昌二 3)、飯尾雅嘉 2)

【目的】*Chlorella vulgaris* C-27 株は、低温（ハードニング）処理により凍結耐性を獲得する。その際の変化の一つとして、グルコース 6-リン酸脱水素酵素（G6PDH）の活性の上昇が報告されている。本研究ではクロレラの凍結耐性獲得における G6PDH の役割を明らかにするため、本酵素を精製し、その諸性質について検討した。

【方法および結果】ハードニング処理後の C-27 株から 2 種類の G6PDH（G6PDH₁ と G6PDH₂）を精製した。それぞれの分子量は約 200,000（単量体 58,000）および約 450,000（単量体 52,000）であり、4 量体、8 量体を形成すると推定された。次に酵素学的性質について検討した結果、異なる特徴を有することが示された。また、DTT 感受性試験および部分アミノ酸配列決定により、G6PDH₁ は細胞質局在型、G6PDH₂ は葉緑体局在型であると推定された。

コイ由来タウリン合成系酵素遺伝子のクローニングおよび酵母での発現
B1-pm13 — 耐凍性付与の試み —
(1) 九大院・生機科、2) 九大・院・農)
○松浦香苗 1)、西孝太郎 1)、本城賢一 2)、中尾実樹 2)、矢野友紀 2)、坂井隆敏 1)、石川洋哉 2)、松本 清 2)、宮本敬久 2)、飯尾雅嘉 2)

【目的】タウリン（NH₂・CH₂・CH₂・SO₃H）はほ乳類や魚介類の組織中に高濃度で存在し、浸透圧調節や抗酸化作用などに関与するとの報告がある。そこで、酵母や植物にタウリンを蓄積させることにより凍結時の脱水や酸化ストレスが緩和されと考え、まずタウリン添加培地中で培養した酵母においてその効果を評価した。さらにタウリン合成系酵素遺伝子をクローニングして酵母へ導入し、形質転換体についても検討した。

【方法および結果】タウリン添加培地で培養し、タウリンの蓄積を確認した酵母において、凍結耐性はおよそ 3.7 倍、過酸化水素耐性はおよそ 20 倍増加した。次に、コイ肝臓 cDNA よりタウリン合成酵素（cysteine dioxygenase および cysteine sulfinic acid decarboxylase）をコードする遺伝子をクローニングした。相同性検索の結果、目的とする遺伝子であると推定された。それらを酵母へ導入し、発現を確認した。現在、タウリン蓄積条件、および耐凍性について検討している。

植物細胞の環境ストレス応答に及ぼす細胞内レドックスの影響

B1-pm14 (1) 島根大・生物資源、2) 近畿大・農)
○森本ゆかり 1)、黒瀬郁子 1)、澤 嘉弘 1)、柴田 均 1)、重岡 成 2)、石川孝博 1)

活性酸素種はシグナル分子として作用し、環境ストレス応答を含む様々な生理作用の発現を引き起こすが、そのメカニズムの詳細については明らかではない。これまでに我々は、細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(cAPX)活性を 50%程度まで発現抑制したタバコ BY-2 細胞において、細胞内酸化レベルが恒常的に上昇することを明らかにしている。今回、この cAPX 発現抑制細胞のレドックス状態変化が、環境ストレス抵抗性にどのような影響を及ぼすのか検討した。

cAPX 発現抑制細胞は、400 mM NaCl、100 mM H₂O₂、37°C の熱ストレスに対して、顕著な抵抗性を示した。次にストレス応答関連遺伝子群の発現量を RT-PCR により検討した。その結果、通常培養条件下（25°C）において、cAPX 発現抑制細胞では、HSP などの熱ストレス耐性関連遺伝子群およびストレスシグナル伝達系に關与する NDPK、NPK-1 遺伝子の発現量に増加が認められた。cAPX 発現抑制細胞では、細胞内酸化レベルの上昇に伴いストレス応答遺伝子群がアップレギュレートされた結果、様々なストレスに対する耐性能を増加させていることが示唆された。

DNA マイクロアレイによる *Nicotiana glutinosa* 葉 TMV 感染誘導遺伝子の網羅的検索
B1-pm15 ○波田一誠、林毅、堤優介、阿部真澄、木村誠（九大院・生資環）

これまでに多くの植物環境ストレス応答遺伝子が同定されているが、一つの生物種における総合的な知見は乏しい。本研究では、DNA マイクロアレイを用いたタバコ(*Nicotiana glutinosa*)葉 TMV 感染誘導遺伝子の網羅的検索を試みた。

TMV 感染葉、健全葉からそれぞれ mRNA を抽出後、Oligo-capping 法により全長 cDNA を合成し、cDNA ライブラリーを構築した。得られた任意の 9600 クローン cDNA をマイクロアレイスポッター SPBIO により TMV 感染誘導遺伝子を網羅したマイクロアレイを作製した。プローブは健全葉由来 cDNA を蛍光色素 Cy5 で、TMV 感染葉由来 cDNA を蛍光色素 Cy3 で標識することにより調製した。これら 2 種の標識プローブを等量混合し、60°C・15 時間の条件下でマイクロアレイ上の cDNA とハイブリダイゼーションを行った。反応後、各 cDNA スポットの蛍光色素の強度は array vision を用いて測定した。

その結果、141 種の TMV 感染誘導遺伝子を検出し、塩基配列解析及び BLAST 検索により同定したところ、80 種の遺伝子は熱ショックタンパク質、LRR レセプターキナーゼ、プロテアーゼインヒビターなど機能既知タンパク質遺伝子と相同性を示し、30 種について機能未知タンパク質遺伝子と相同性を示した。また、これらの遺伝子の発現量を経時的に調べたところ、初期タイプ（10 分～4 時間）、後期タイプ（4 時間～72 時間）、また複数の発現を示すタイプの 3 つの遺伝子群に分類された。

タバコ葉傷誘導遺伝子のモデル植物を用いたプロモーター解析

B1-pm16 阿部真澄¹、堤優介¹、平川英樹²、田代康介²、久原哲²、木村誠¹ (¹九大院・生資環・生物機能、²九大院・生資環・遺資工)

既に、植物傷害誘導遺伝子の発現制御機構の全体像解明を目的として、256種のタバコ(*Nicotiana glutinosa*)葉傷害誘導遺伝子をDNAマイクロアレイ法とDifferential display法を用いて同定した。本研究では、植物傷害誘導遺伝子の5'-非翻訳領域を解析することにより、傷害誘導遺伝子の発現制御ネットワークの解明を試みた。

まず、256種のタバコ傷誘導遺伝子を発現パターンに基づいて、1)Early、2)Late、3)Multiの3つのグループに分類した。続いて、各グループのタバコ傷誘導遺伝子に関して、既にゲノム配列が明らかになっているシロイヌナズナの相同遺伝子を検索した結果、88種のシロイヌナズナ遺伝子を同定した。次に、これらのシロイヌナズナ遺伝子の5'-非翻訳領域(2 kbp)を共通配列検索アルゴリズム：MEME(Multiple Em for motif Elicitation)を用いてプロモーター解析を行った結果、各グループに既知のストレス応答モチーフやその他の共通配列を見つけることができた。また、転写因子との制御関係は明らかになっていないが、共通配列を上流配列に持つ被制御遺伝子群が確認され、これら遺伝子群の性質から新たな制御関係が推定できる可能性が示唆された。

細胞質型 APX を過剰発現させたシロイヌナズナの H₂O₂ 代謝と環境ストレス応答性

B1-pm17

(1) 島根大・生物資源、2)近畿大・農) ○木村嘉宏¹)、川原田宗則¹)、澤 嘉弘¹)、柴田 均¹)、重岡 成²)、石川孝博¹)

アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)は、高等植物の主要な H₂O₂ 消去酵素として、葉緑体、ミクロボディ、細胞質にアイソザイムが局在する。APX アイソザイムの中でも細胞質型 APX(cAPX)は、強光や塩などの環境ストレスに対して遺伝子レベルで発現応答することから、ストレス応答時における重要性が示唆されている。そこで cAPX の生理機能解明を目的に、シロイヌナズナを用いて cAPX 過剰発現体を作成し、H₂O₂ 量やストレス応答性に及ぼす影響を検討した。シロイヌナズナ APX1cDNA を pBI121 ベクターに導入し、浸潤法によりシロイヌナズナに形質転換した。得られた形質転換体のうち、野生型の約 5 倍および約 3/5 倍の APX 活性を示したラインをそれぞれ cAPX-3、cAPX-4 として解析に用いた。アスコルビン酸などの抗酸化物質量は、野生株と形質転換体で有意な差は認められなかった。定常状態における H₂O₂ 量を測定したところ、野生型に比べ cAPX-3 で恒常的な H₂O₂ 量の減少が認められた。現在、塩および強光ストレス時における H₂O₂ 量の変動およびストレス抵抗性について検討を行っている。

ダイズ光独立栄養培養細胞 SB-P におけるホスホリパーゼ D の光応答性に関する研究

B1-pm18

島根大・生物資源科・生命工学 ○西村浩二、江口大介、榮 容子、影山和昭、地阪光生、長屋 敦、横田一成

ホスホリパーゼ D (PLD) は、生体膜リン脂質に作用してホスファチジン酸(PA)と遊離頭部を生成する脂質加水分解酵素である。高等植物の PLD は植物の成長・老化・ストレスなど多くの生体内プロセスに関与することが報告されている。本研究では、光形態形成における PLD の関与を検討するために、ダイズ光独立栄養培養細胞 SB-P を用いて PLD 活性に対する光の効果を調べた。その結果、SB-P 細胞の生育条件を暗所から明所へシフトした場合、PLD 活性の一過的な上昇が認められた。また暗所から明所へのシフトに伴う細胞内クロロフィル含量の蓄積上昇は、PLD 経路阻害剤である 1-ブタノールの添加により抑制された。このとき光化学系の構成タンパク質や光合成色素合成酵素をコードする遺伝子の光発現誘導の抑制も認められた。以上から、SB-P 細胞において光合成関連遺伝子の光発現誘導に PLD が関与すること、さらに PLD の反応産物である PA は光情報伝達における脂質由来情報伝達因子であることも示唆された。

運動が HSP70 および B6 酵素活性に与える影響について

B1-pm19

(熊本県立大・環境) ○岡田美津子、氏昌未、桐野智美、田嶋千恵、芋生(竹下)桂子、大倉(加来)志保子

【目的】最近の研究で、熱ショックタンパク質(HSP)はストレスの緩和に作用していることがほぼ明らかになっている。しかし、詳細なメカニズムについては殆ど分からないのが現状である。我々はこれまでにアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)が運動により誘導されることを報告している。今回はラットに種類の異なる運動を負荷させることにより、HSPとAST活性がどのように変動するかを検討したので、報告する。

【方法と結果】幼若ラットを4群に分け、①対照群(Sc)、②疲労困ぱい群(Se)、③トレーニング群(Ec)、④トレーニング+疲労困ぱい群(Ee)とした。トレーニングは2週間18m/分、60分間の運動を課した。上記のラット各組織について、HSPとASTを測定したところ、それぞれの臓器で特徴ある変動を示した。さらに筋肉細胞の破壊の程度を知るためにCPK活性の測定を行った。それらの結果を総合すると、まだ複雑で不明のことも多いが、トレーニングはストレスをやわらげることに貢献していることが示唆された。

可視光照射下でのアンチモンポル
フィリン光触媒の殺菌作用
B1-pm20 (宮崎大・工・物質環境化学)
○河内岳志、廣瀬 遵、白上 努、
保田昌秀、横井春比古

【目的】 シリカゲルに担持したアンチモン(V)
テトラフェニルポルフィリン光触媒
(SbTPP/SiO₂)は、可視光の照射下において強い
酸化力を示すことから、新しい殺菌剤としての利用
が期待される。

本研究では、可視光照射下での SbTPP/SiO₂ の大腸
菌に対する殺菌作用について検討した。

【方法】 L-型試験管に SbTPP/SiO₂ 粒子と大腸菌
懸濁液を入れ、30℃恒温下で蛍光灯を照射して殺
菌試験を行い、反応液中の生菌数を計数して生菌
率を求めた。

【結果】 SbTPP/SiO₂ 存在下で蛍光灯を用いて可
視光を照射すると、大腸菌は速やかに殺菌され、
その殺菌力は二酸化チタンよりも優れていた。大
腸菌の死滅割合は、反応液に添加する SbTPP/SiO₂
の濃度や照射光の光強度が大きいほど高かった。
また、太陽光のような自然光照射下においても
SbTPP/SiO₂ は二酸化チタンよりも優れた殺菌活性
を示した。さらに、SbTPP/SiO₂ を充填したカラム
型リアクターでの可視光照射実験においても良好
な殺菌効果が得られた。

カイコ体液キモトリプシンインヒビター
(CI-3) の精製と性質
B2-am1 (1) 中国農科院, 2) 中国湖南師範大,
3) 九大・昆遺資, 4) 九大・遺機制)
○趙巧玲 1), 何寧佳 2), 藤井博 3), 伴野 豊
3), 山本幸治 3), 麻生陽一 4)

昆虫幼虫の体液には多種のプロテアーゼインヒビター
が存在し、その生理的意義に興味が持たれている。我々
は、従来からカイコ体液キモトリプシンインヒビター
(CI)の遺伝学・生化学的性質を調べてきた。今回は、*Ict-E*
遺伝子に支配される CI-3 を精製し、その性質を明らか
にした。血球を除いた体液を出発材料とし、硫酸分画、
ブチルトヨパール、DEAE セファロース、ヒドロキシ
アパタイトの各クロマトグラフィー、及び電気溶出法
によって、SDS 電気泳動的に均一な CI-3 を精製した。
CI-3 は、40 kDa、等電点 5.5 の酸性タンパク質であった。
安定性を調べたところ、pH 7.4、30 分の熱処理に対し
て、50℃まで安定であったが、60℃では完全に失活し
た。また、4℃では、24 時間、pH 6.9-10.6 の範囲で安定
であった。特異性を調べたところ、 α -キモトリプシンの
みならず、カイコ消化液プロテアーゼを強く阻害し、
トリプシン、V8 プロテアーゼ、及びパパインは阻害し
なかった。 α -キモトリプシンの阻害は、1:1 のモル比
であり、可逆的であった。

Proteome study in the silkworm, *Bombyx mori*.
Responses to injection of lipopolysaccharide
B2-am2 (1) Zhejiang Academy of Agric. Sci., 2)
Institute of Silkworm Genetic Resources,
Kyushu Univ., 3) Faculty of Agric., Kyushu
Univ.) Wang Y.Q. 1,2), Zhang P.B. 2), H.Fujii
2), Y.Banno 2), K.Yamamoto 2), Y.Aso 3)

An insect has different immune systems from mammalian:
humoral immune systems induced in response to microbial
infection. Although one of the systems has been recognized
the production of immune proteins, there is still insufficient
information on changes in the proteins. In this study, we
injected lipopolysaccharide to silkworm larvae and examined
time-dependent changes in resulting proteins in hemolymph,
fat body, and midgut. Two-dimensional electrophoresis with
pH 3-10 gradient strip and 15% SDS-PAGE separating gel
revealed that four proteins (21.8 kDa/pI 6.1, 15.0 kDa/pI 6.1,
22.5 kDa/pI 9.6, 22.3 kDa/pI 9.5) and a protein (15.0 kDa/pI
6.1) are induced in hemolymph and fat body, respectively,
and that almost no proteins are induced in midgut. The
induced proteins were furthermore examined by in-gel tryptic
digestion, MALDI-TOF mass spectrometry, and search using
the expressed sequence tag database of silkworm. The 22.5
kDa/pI 9.6-hemolymph protein was identified attacin: an
insect anti-bacterial protein. Other proteins matched poorly
with those in the database and are suggested to be novel.

カイコのフリン遺伝子に関する研究
(1) 九大・遺機制, 2) 九大・昆遺資)
B2-am3 ○岩下節 1), 山本幸治 2), 藤井博 2), 伴
野豊 2), 山上健 1), 石野良純 1), 麻生陽
一 1)

成長因子やペプチドホルモンなどの生理活性物質
の多くは、プロペプチドを有する前駆体として産
生された後、コンベルターゼ (PC: Protein
convertase) によって成熟化される。中でもフリン
についてよく研究されているが、昆虫については
ほとんど知見がない。本研究ではカイコ (*Bombyx
mori*) のフリン遺伝子について調べた。p50 系統
の受精卵から作製された cDNA ライブラリ
(Silkbase) とショウジョウバエ・フリン遺伝子を基
に検索した結果、相同性の高いオープンリーディ
ングフレームを見いだした。既報の結果を参考に
ドメイン構造を調べた結果、セリンプロテアーゼ
活性ドメイン、中間ドメイン、及び、自己切断ド
メインのアミノ酸配列が推測された。これらの結
果より、カイコフリンは PC7 に類似した構造であ
ることが予想された。さらに、5 令幼虫のいくつ
かの組織、及び受精卵についてノーザンハイブリ
ダイゼーション解析を行ったところ、各組織でフ
リン遺伝子が発現されている可能性が示唆され
た。

エリ蚕脂肪体でバクテリアにより誘導される遺伝子の検索とクローニング

B2-am4

鳥取大・農・応用生命 ○鮑艶原, 妻鹿恵子, 山野好章, 森嶋伊佐夫

[目的] 昆虫にバクテリアが感染すると一群の抗菌性タンパク質の合成が誘導されることが知られている。昆虫の生体防御反応には、この他にも様々な遺伝子が関与していると考えられるが、その詳細についてはまだ十分に理解されていない。本研究では、昆虫生体防御の全体像を明らかにすることを目的として、無菌的に飼育したエリ蚕(*Samia cynthia ricini*) 5 令幼虫を用いて、バクテリアによって誘導される遺伝子を suppression subtractive hybridization (SSH)法を用いて検索した。

[結果] エリ蚕免疫化脂肪体に特異的に発現する cDNA 断片を含む 64 個のクローンが得られた。これらの中には、peptidoglycan recognition protein (PGRP), leucocin, hemolin, アメリカシロヒトリで最初に見つかった機能不明の Hdd11 などバクテリアにより誘導されることが知られている遺伝子の他に、今まで免疫に関与するとは考えられていなかった遺伝子、および新規遺伝子がいくつか含まれていた。これらの DNA 断片を用いて、エリ蚕免疫化 cDNA ライブラリーのスクリーニングを行い、得られた全長 cDNA の塩基配列を決定し、その解析を進めている。

カイコ・ジヒドロリポアミド脱水素酵素の大腸菌による発現

B2-am5

(1)九大・遺機制, 2)九大・昆遺資, 3)中国湖南師範大) ○入江寿朗 1), 山本幸治 2), 藤井博 2), 何寧佳 3), 伴野豊 2), 山上健 1), 石野良純 1), 麻生陽一 1)

ジヒドロリポアミド脱水素酵素(E3)はフラビンタンパクであり、酵素複合体ジヒドロリポイル基の酸化を含めていくつかの酸化還元反応を触媒する。昆虫 E3 のタンパク化学的性質については、他起源のものに比べて、ほとんど報告がない。カイコ (*Bombyx mori*) E3 遺伝子がコードするアミノ酸配列はヒト E3 のそれと高い相同性を示し、前駆体型(pE3)と推定された。成熟型 E3 (mE3) の配列を予測し、pE3, mE3, および His タグを有する mE3 (mE3-His) をコードする遺伝子を pET21a 及び pET21d に組み込み、大腸菌 BL21-CodonPlus (DE3)-RIL 株を用いて発現させた。いずれも封入体として得られたが、mE3 と mE3-His では可溶性のものも同時に得られた。可溶性 mE3 をゲルろ過および陽イオン交換を用いて精製した。SDS-PAGE では、分子サイズ 55.6 kDa のポリペプチドから成ると推定された。ジヒドロリポアミドを基質にすると、至適 pH は 8 付近であった。活性は pH7.3~9.5, 4°C, 16 時間後、90%以上が残存した。pH8.4 の活性は 1 週間後、70%程度残存した。pH 7.0, 45~55°C, 30 分間の熱処理で活性は半減した。

分裂酵母において減数分裂を誘導する Sla1 と相互作用する因子 Aco1 の解析

B2-am6

○西井理恵、田邊 香、中川 強¹⁾、田中克典、松田英幸、川向 誠 (島根大・生資源、遺伝子¹⁾)

sla1⁺は分裂酵母におけるヒトの La タンパク質のホモログをコードする遺伝子として同定された。当研究室の一連の研究により Sla1 タンパク質の C 末端欠損型変異体(Sla1 ΔC)を発現させると Pat1 kinase (減数分裂の負の制御因子)を阻害することにより haploid meiosis と呼ばれる異常な胞子形成を行うことが分かっている。Sla1 ΔC と相互作用する因子をツーハイブリッド法でスクリーニングした結果アコニターゼ様タンパク質をコードする遺伝子が得られ、*aco1*⁺と命名した。Aco1 と Sla1 の相互作用をさらに調べた結果、Aco1 は C 末端領域(CT)を介して Sla1 ΔC と強く相互作用することが分かった。加えて Aco1-CT は Pat1 と Sla1 ΔC の結合を阻害することが分かった。また Aco1-CT と Sla1 ΔC をヘテロ一倍体(*h*)に共発現させると、haploid meiosis が抑制されていることが観察された。すなわち Aco1-CT は Sla1 ΔC の機能を抑える働きを持っていた。

また GFP 融合タンパク質を全長の Aco1 に融合させ局在を調べたところミトコンドリア様構造体にあることが分かった。

タバコのアスコルビン酸生成系酵素の発現

B2-am7

○小野宏樹¹⁾、江坂宗春¹⁾ (1) 広島大・院・生物圏科学研究科)

植物は移動の自由をもたないため、絶えず変化する環境に対してその場で適応しなければならない。植物が受けるストレスには、高温、低温、乾燥、傷、UV、オゾンや、病原菌の侵入等、様々なものがある。これらのストレスは、結果として植物体内で活性酸素を発生させる。この活性酸素を除去する働きをもつ物質がアスコルビン酸(ビタミンC)である。アスコルビン酸は活性酸素を除去するだけでなく、細胞分裂や細胞伸長にも関与しているとも言われている。

本研究では、植物におけるアスコルビン酸生成経路の酵素と考えられている3種類の酵素、GDP-D-Mannose epimerase、GDP-D-Mannose pyrophosphorylase、L-Galactono-1,4-lactone dehydrogenase について、タバコにおける発現様式を調べた。また、それらの発現様式とアスコルビン酸量との相関についても調べた。同時にアスコルビン酸を基質にして過酸化水素を無毒化する酵素 Ascorbate peroxidase の発現様式についても調べた。一方、L-Galactono-1,4-lactone dehydrogenase については、本酵素を過剰発現させた形質転換タバコを作成し、その解析も行った。

Serine-rich ペプチド融合リゾチームの酵母発現系での分泌とその性質

B2-am8 ○徐小華、鹿嶋織江、阿座上弘行、加藤昭夫（山口大・生物機能化学）

【目的】酵母 *Pichia pastoris* 発現系においてニワトリリゾチームのC末端にホスビチンの高度リン酸化ペプチド S 6 (Ser-Ser-Ser-Lys-Ser-Ser-Ser) を融合したリゾチームを分泌させ、その性質を検討した。

【方法】リゾチーム cDNA のC末端に S 6 ペプチドをコードするオリゴヌクレオチドを挿入するように分子設計し、*Pichia pastoris* 発現ベクターのアルコールオキシダーゼプロモーター下流に S 6 リゾチーム cDNA を挿入し、形質転換酵母を3日間培養した培養液からリゾチームをCMトヨパールに吸着させ、精製した。

【結果】1. S 6 リゾチームは野生型リゾチームの約 60% の分泌量で得られた。2. TOF-MS と N-末端アミノ酸配列の結果 S 6 が融合し、正しくプロセッシングされていることが示された。3. 野生型に比べ、S 6 リゾチームのCDスペクトラム、変性転移点の変化は少なく、また、溶菌活性の変化もなかった。4. 野生型リゾチームは大腸菌に対して抗菌性を示さないが、S 6 リゾチームは強い抗菌性を示した。5. S 6 リゾチームのフォスファターゼ処理によるPAGEパターンの変化から、リン酸化の可能性が示唆された。

特異な性質を示すハブ膵臓由来トリプシノーゲン

B2-am9 ○岩切泰貴 1)、有馬一成 1)、内木場哲也 2)、服部正策 3)、米澤弘夫 1)
(1) 鹿児島大・理・生命化学、2) 同・総合研究博物館、3) 東京大・医科研

ヘビ類は食物を咀嚼することなく丸呑みにすることから、消化管からの強力なプロテアーゼの分泌が予想される。ヘビ類の消化管プロテアーゼの性質を調べるために、当研究室では 2000 年に奄美大島産の毒ヘビであるハブの胃粘膜よりペプシノーゲンを単離し諸性質について報告した。今回新たにハブの膵臓よりトリプシノーゲンを単離し、ハブトリプシンの性質をウシトリプシンと比較した。

ハブトリプシノーゲンは 2 段階のクロマトグラフィーにより精製され、SDS-PAGE で分子量約 35,000 Da と推定された。またハブトリプシノーゲンの N 末端配列を他のトリプシノーゲンと比較した結果、活性化のための限定分解部位付近の構造が保持されていた。ハブトリプシンの至適温度および至適 pH は共にウシトリプシンよりやや高めであったが、pH 安定性は変わらなかった。また、ウシトリプシンは Ca^{2+} 非存在下では活性が数時間で大きく低下したが、ハブトリプシンは 48 時間後も大部分の活性を保持していた点で大きく異なった。

ハブ膵臓由来キモトリプシノーゲンの精製とその性質

B2-am10 ○西田裕二 1)、有馬一成 1)、内木場哲也 2)、服部正策 3)、米澤弘夫 1)
(1) 鹿児島大・理・生命化学、2) 同・総合研究博物館、3) 東京大・医科研

ヘビ類の消化酵素、特にプロテアーゼは強力な特殊な性質を持っていると考えられる。沖縄および南西諸島に生息する毒ヘビであるハブの膵臓中にトリプシン様、キモトリプシン様およびエラスターゼ様活性が認められた。摂食 22 時間後のこれらの酵素の分泌量は絶食時に比べ 2~4 倍に増加したことから、膵臓内の消化酵素の合成は摂食による分泌調節を受けている可能性がある。その中で今回我々は、キモトリプシン様の活性を持つプロテアーゼ前駆体の精製を行った。その結果、ハブ膵臓には少なくとも 2 種類の異なるキモトリプシン様プロテアーゼ前駆体の存在が明らかとなった。精製後の SDS-PAGE の結果、これらの酵素前駆体の分子量は共に約 23,000 Da であると推定され、N 末端 30 残基のアミノ酸配列はウシキモトリプシノーゲンと約 73% の相同性が示された。また、活性化後の酵素の基質特異性および安定性等の諸性質を調べ、ウシキモトリプシンと比較した。

西表島産海浜植物の生物資源化研究—フクギ葉部のチロシナーゼ阻害活性物質—

B2-am11 (1) 徳島大・総合、2) 琉球大・熱生研西表、3) 大阪市大・技術 増田俊哉^{1), 2)}, O 山下泰輝¹⁾, 武田美雄¹⁾, 米盛重友²⁾, 前川智美³⁾

【目的】多様な植生を有する西表島産植物の資源化を目的とした含有有用成分の解明研究の一環として、海浜自生植物の抗酸化活性ならびにチロシナーゼ阻害活性スクリーニングにより有効植物の選抜を行うとともに、その含有活性物質の特定を行う。

【方法および結果】西表島の自然海浜にて採集した植物 39 種の葉部のメタノール抽出物について、抗酸化活性測定の結果に加えて¹⁾、今回チロシナーゼ阻害活性を測定したところ、フクギ(*Garcinia subelliptica*)抽出物にいずれも強力な活性を認めた。その活性本体を明らかにするために、再度フクギの新鮮葉を入手、抽出し、チロシナーゼ阻害活性を指標に、溶媒分画、クロマト精製等を行い、2 種の物質を単離した。構造解析の結果、それらは 3 位 8 位間で結合したビフラボノイドであることがわかった。単離物質の構造解析ならびに抗酸化活性、チロシナーゼ阻害活性の詳細についても報告する。

1) T. Masuda et al. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1749 (1999)

B2-am12 クマザサの抗インフルエンザウイルス
活性

島根県保健環境科学研 ○持田 恭

【目的】インフルエンザ(流行性感冒)の病原体であるインフルエンザウイルスに対するクマザサの抗インフルエンザウイルス活性を検討したので報告する。

【材料と方法】2003 年、春に生育したクマザサ(葉の粉末)4g を 70%エタノール 80ml に入れ、2 昼夜、室温で放置後、濾過し得られた抽出液(芳香性のある黄色の液体)をエバポレータ(40℃)で減圧濃縮した。その後、この抽出液を真空凍結乾燥した。実験時には、得られた抽出物を蒸留水で一度溶解し濾過滅菌(0.45um)を行いウイルス実験に供した。なお、用いたインフルエンザウイルスは A 型(A/USSR/92/77 株、AH1N1 型)および B 型(B/島根/2/2002 株)の両型である。

【結果】クマザサのエタノール抽出物が、A 型および B 型インフルエンザウイルスの感染性を抑制した。そして、この抑制は A 型よりも B 型ウイルスに対して強い傾向が示唆された。

コーヒー成分の GABA_A 受容体応答への効果

B2-am13 (1) 山口大理、2) サントリー健康科学研)
○フセイン、S. J.1)、青島均 1)、好田裕史
2)、木曾良信 2)

嗜好飲料の成分は、直接脳内の神経伝達物質受容体に作用して、私たちの気分を変えていることが明らかにされてきた。最近アフリカツメガエル卵母細胞に発現させたGABA_A受容体の電気応答を、食品に含まれる芳香物質やカテキン類が活性化したり阻害することを見出した。そこで今回コーヒー成分のGABA_A受容体応答への効果を測定した。コーヒーのお湯による抽出液は応答を阻害したが、ジエチルエーテル抽出液は低濃度では活性化した。カフェイン誘導体のセオブロミン、セオフィリンは応答を阻害した。一方、芳香成分の1-オクテン-3-オールなどは応答を活性化した。コーヒーの芳香物質は嗅覚系を通じた作用だけでなく、直接脳内に取り込まれてカフェインの覚醒作用を和らげる可能性が考えられる。

B2-am14 (1) 鹿児島大院・農、2) 琉球大・遺セ、3) 同・医・
臨検) _Sawitree Wongtangintham 1)、屋 宏典2)、岩
崎公典2)、戸田隆義3)

【目的】共役リノール酸 (CLA) の生理機能のメカニズムについてはいくつか知られているが、脂肪酸生成系酵素への直接的な影響についてはこれまで報告がない。本研究では in vitro における脂肪酸生成系酵素活性に及ぼす CLA の影響を他の脂肪酸の場合と比較検討した。

【方法】6 週齢の Wistar 系雄ラットの肝臓をホモジナイズし、遠心分離後の上清を酵素源として用いた。各種脂肪酸存在下での脂肪酸生成系酵素活性(FAS, acetyl-CoA carboxylase, G6PDH, ATP citrate lyase, malic enzyme)を測定した。また乳ガン細胞における[¹⁴C]-酢酸の脂質への取り込みと遺伝子発現に及ぼす影響についても検討した。

【結果】ラット肝臓の脂肪酸生成に関与する酵素の中、脂肪酸合成酵素(FAS)活性が脂肪酸の種類に応じて最も大きく変動した。調べた脂肪酸の中では CLA が最も強い阻害を示し、阻害活性は c9,t11-異性体が t10,c12-よりも強かった。CLA は乳ガン細胞における[¹⁴C]-酢酸の脂質への取り込みを阻害した。DNA チップを用いた解析において脂肪酸生成酵素 mRNA の発現に影響が認められないことから、CLA は脂肪酸生成系酵素の阻害を通して脂肪酸合成を抑制することが示唆された。

ムクキコウグサ由来の選択的細胞毒性成分の特性

B2-am15 (1)琉球大・農、2)同・遺セ、3)沖縄工技、4)トロピカルテクノ
センター) _宮平華子1)、岩崎弘典2)、豊田哲也3)、鎌田博弘
3)、花城薫4)、吉田安彦4)、屋 宏典2)

【目的】沖縄県における長寿は、食文化によるところが大きいと考えられている。本研究ではこれまで亜熱帯性の植物および近海海藻類から、ガン細胞の増殖を特異的に抑制する活性(選択的細胞毒性)成分のスクリーニングを行ってきた。その結果、海藻の一種であるムクキコウグサにおいて強い活性が認められたため、活性成分の精製とその作用機構の解明を試みた。

【方法】活性測定は、正常及び腫瘍細胞株の培養液中にサンプルを添加し、腫瘍細胞株の増殖を特異的に阻害するものを選択的細胞毒性成分とした。ムクキコウグサの 50%エタノール抽出液は、分配クロマトの後、シリカゲルクロマトによる分画を行った。活性成分は DNA チップ解析に供し、正常、腫瘍細胞株における遺伝子発現を比較した。

【結果・考察】分配クロマトにより、エチルエーテル画分に強い活性を認めた。シリカゲルクロマトの結果、活性は完全に消失した。しかし、画分をすべて混合することで再び活性を回復したことから、本活性には複数の成分が作用していることが示唆された。遺伝子発現解析からは、細胞毒性の選択性は細胞周期の特異的な阻害に起因している可能性が示唆された。

リボソームタンパク質 L5 の 5SrRNA 結合活性における RNP1 領域のアミノ酸残基の重要性
B2-pm1 ○山口洋生、岩崎研太、木村誠 (九大院・生資環)

RNP ファミリーに属する RNA 結合タンパク質は $\alpha_1\alpha_2\alpha_3\alpha_4$ からなる RNP モチーフを形成し、 α_1 と α_3 に共通アミノ酸配列 RNP2(Leu-Phe-Val/Ile-Gly-Gly-Leu)、RNP1(Arg-Gly-Phe-Gly-Phe-Val-Xaa-Phe/Tyr)を持つことが知られている。5SrRNA 結合タンパク質 L5 は、RNP モチーフを持つことから RNP ファミリーに属しているが、RNP1 と RNP2 のアミノ酸配列が共通配列とは大きく異なっている。本研究ではタンパク質 L5 の RNP1 領域(Gly⁸⁶-Ala-Lys-Val- Thr-Leu-Arg-Gly⁹³)に着目し、各アミノ酸の 5SrRNA 結合活性への寄与を検討した。

まず L5 の RNP1 領域に無作為に変異を導入し、ファージミド pLUCK2000 を用いたファージ提示法により、RNA 結合能を維持した変異 L5 タンパク質を選択した。得られた変異体の塩基配列の確認を行った結果、Gly⁸⁶-Xaa-Xaa-Val- Xaa-Xaa-Arg-Gly⁹³ の共通配列が見出されたことから 5SrRNA への結合には Gly⁸⁶、Val⁸⁹、Arg⁹²、Gly⁹³ が重要であることが推定された。現在、各アミノ酸の 5SrRNA 結合活性への関与を詳細に解析するために、まず Arg⁹² の Ala への置換体 R92A を作製し、5SrRNA 結合活性を検討中である。

リボソームタンパク質 L5 の 5S rRNA 結合活性における Lys33 の役割
B2-pm2 ○岩崎研太、山口洋生、寺田敦、角田佳充、木村誠 (九大院・生資環)

リボソームタンパク質 L5 は、RNP モチーフを持つ 5S rRNA 結合タンパク質である。我々は既にタンパク質 L5 の部位特異的変異体を用いた実験により、Lys33 が 5S rRNA への結合に重要であることを示した。しかし、タンパク質 L5 と 5S rRNA との複合体の結晶構造から、Lys33 は 5S rRNA との結合に直接関与していないことが解った。本研究では、Lys33 のタンパク質 L5 の構造安定性への寄与について検討した。

Lys33 を Ala に置換した変異体 K33A の尿素およびグアニジン塩酸に対する安定性は円偏光二色性スペクトロメトリーにより、またプロテアーゼに対する感受性はトリプシンおよびキモトリプシンを用いて評価した。その結果、変異体 K33A は尿素およびグアニジン塩酸に対しては野性型 L5 と同程度の安定性を示したが、トリプシンおよびキモトリプシンに対する感受性は野性型に比べて著しく増加していた。特に、変異体 K33A の α_2 と α_3 間のループ構造に位置する Arg78 と Arg80 がトリプシンによって、また Phe77 がキモトリプシンによって優先的に切断されていることが明らかになった。以上の結果より、Lys33 は α_2 と α_3 に位置するアミノ酸残基と相互作用することにより、 α_2 - α_3 間のループ構造の安定化に関与し、このループ構造の安定化がタンパク質 L5 の 5S rRNA への結合に重要であることが示唆された。

プロテオーム解析のためのインゲル消化最適化条件の検討
B2-pm3 ○高井良安希子、鳥潟隆雄、荒木朋洋 (九州東海大・農・バイオ)

【目的】プロテオーム解析では、電気泳動で分離検出したタンパク質を酵素消化後、質量分析する方法が用いられている。これまでに、ゲル内消化が膜上消化よりペプチドの回収が高いこと、タンパク質の検出には Zinc 染色が適していることを明らかにしたが、酵素消化についての詳しい検討は行われていない。そこで、本研究は質量分析に供するためのゲル内消化に適した酵素消化条件を検討した。

【方法および結果】ゲル内での還元ピリジルエチル化においてアルキル化試薬を除去するための洗浄溶媒をアンモニア水、TFA、蒸留水の各溶媒で比較した結果、蒸留水が適していることがわかった。次に、アルキル化の効果を検討した結果、システインを含むペプチドは修飾され、酵素消化を受けやすくなっていることがわかった。また、変性剤存在下でアルキル化を行うとペプチドの回収が低下した。ペプチドの回収率はカルボキシメチル化、ピリジルエチル化、非アルキル化ともあまり差がなかったことからハイスルーブットなプロテオーム解析には非アルキル化処理、デノボシーケンスを用いた高精度分析にはアルキル化を行う方法が適していると考えられた。

リゾチームのループ領域 (Asp101-Met105) のアミノ酸置換による活性変動と構造変化
B2-pm4 九州東海大・農 ○仁平幸恵、衛藤 仁、河村俊介、荒木朋洋、鳥潟隆雄

【目的】リゾチームのサブサイト A - C 部位に位置するループ領域 (Asp101-Met105) は、基質結合に重要な役割を果たす。ニホンウズラ卵白リゾチーム (JQL) は、ニワトリ卵白リゾチーム (HEL) と比較して、本ループ領域に 2 つのアミノ酸の置換 (Gly102→Val, Asn103→His) を有し、N-アセチルグルコサミン (NAG) オリゴマーを基質とした活性では、HEL と異なる反応生成物パターンを示す。一方、HEL における部位特異的変異体 G102V/N103H では本活性を再現する。本研究では、変異体 G102V/N103H と (NAG)₃ との複合体を X 線解析し、ループ領域のアミノ酸置換が活性および構造に与える影響について検討した。

【結果】複合体では、ループ領域の主鎖構造が変化し、それに伴い Val102 の側鎖が A 部位方向へ突き出た配向を示し、その結果 (NAG)₃ が A - C 部位に優先的に結合する HEL とは異なり、B - D 部位に結合していた。これは (NAG)₃ との蛍光強度変化から算出した JQL の基質結合力の減少からも示唆された。また Asn103→His 置換によって側鎖と基質 B との相互作用にも変化が見られた。これら変異による基質結合様式の変化が、JQL の活性変動を惹起していると推察した。

ガンマ線照射のリゾチームへの影響

(鹿児島大・農・生資化)

B2-pm5 ○ 瀬戸口綾子、西 雅仁、北原兼文、
菅沼俊彦

【目的】現在、日本では食品照射としてはジャガイモの発芽防止に利用されているだけで、他の用途としてはその安全性の課題から認可されていない。そこで、構造や特性の解明が進んでいるリゾチームをモデル蛋白質としてガンマ線照射を行い、蛋白質に起こる変化を調べた。【方法と結果】リゾチーム溶液 (pH3.0-8.0) に笑気ガスを飽和させた後、GAMMA CELL 40 でガンマ線を 262.8Gy 照射した。結果、残存活性は中性よりも酸性およびアルカリ条件下で照射を受けたリゾチームが著しい低下を示す、という pH 依存性が見られた。また、照射後の残存 Trp 残基数をアルカリ添加スペクトルから算出すると、酸性およびアルカリ条件下では 6 残基ある Trp 残基数のうち 2 残基が壊れており、残存活性とほぼ比例する関係が得られた。したがって、照射により発生するヒドロキシラジカルが基質結合部位に存在する Trp62 を酸化し、失活が起きたと推定した。一方、Trp0Me と Tyr0Et の混合物では崩壊の顕著な pH 依存性は認められなかったため、上記照射効果の pH 依存性は、リゾチームの構造状態の pH 依存性によるものであると推定した。

超好熱古細菌(*Pyrococcus horikoshii*)タンパク質 Ph1932p の SELEX 法による標的シスエレメントの検索

B2-pm6

○湯通堂紀子¹、岡田有意²、伊藤啓²、田中勲²、木村誠¹ (¹ 九大院・生資環、² 北大院・理)

ゲノム情報に基づいた機能未知タンパク質の機能解明は、ポストゲノム科学の重要課題である。超好熱古細菌(*Pyrococcus horikoshii*)タンパク質 Ph1932p は、その一次構造の類似性から、大腸菌 Ars(arsenic-resistance)R ファミリーに属するタンパク質と推測されている。ArsR ファミリータンパク質は、金属イオン(Zn, Cd, As 等)の細胞外へのくみ出しに関与している ATPase の発現量を調節する転写因子群である。本研究では、Ph1932p の機能解明を目的として、Ph1932p の標的シスエレメントを SELEX (Systematic evolution of ligands by exponential enrichment)法により検索した。

まず、任意の 30ヌクレオチドを含む 74mer の鋳型 Random sequence と、45mer の Forward primer、24mer の Reverse primer を用いた PCR 法により二本鎖 DNA プールを作製した。Ph1932p は His タグつきで発現し、His Bind Resin に固定した。SELEX は、1)DNA プールのタンパク質への結合、2)タンパク質-DNA 複合体の溶出、3)結合した DNA の増幅、の各ステップを 12 回繰り返すことにより行った。選択後の DNA の塩基配列を決定したところ、共通配列 CTT(C/T)GT(T/G)(T/G)(T/C)G が見出された。そこで、これらの配列を *Phorikoshii* ゲノム配列中で検索したところ、transitional endoplasmic reticulum ATPase 遺伝子を含む 19 個の遺伝子上流に見出されたことから、Ph1932p がこれらのいずれかの遺伝子の発現調節に関与していることが推定された。

超好熱古細菌 (*Pyrococcus horikoshii*) リボヌクレアーゼ P タンパク質 Ph1877p の触媒活性に関与するアミノ酸残基の検索
○渡邊円俊、沼田倫征、高木久徳、角田佳充、木村誠 (九大院・生資環)

B2-pm7

超好熱古細菌 *Pyrococcus horikoshii* OT3 RNase P は、1 分子の RNA と 4 種の RNase P タンパク質サブユニット (Ph1481p, Ph1601p, Ph1771p, Ph1877p) から構成されている。我々は、Ph1877p の結晶構造を解析した結果、Ph1877p は 10 本の α -ヘリックスと 7 本の β -ストランドから構成され、 β α β モチーフの繰り返し構造を持つ α/β タンパク質であることを明らかにした。本研究では Ph1877p の酵素活性への寄与について検討することを目的とし、Ph1877p の触媒活性に関与するアミノ酸残基を検索した。

まず、分子表面の静電ポテンシャルと相同タンパク質間の保存性を考慮して、12 個のアミノ酸 (Lys42、Arg68、Arg87、Arg90、Asp98、Arg107、His114、Lys123、Lys158、Arg176、Asp180、Lys196) を並び、各々 Ala に置換した 12 種の部位特異的変異体を作製した。次に、これらの変異体を用いて RNase P の酵素活性を測定し、置換したアミノ酸の RNase P 酵素活性への寄与を評価した。その結果、Arg90、Arg107、Lys123、Arg176、Lys196 が RNase P 活性に関与していることが示唆された。現在、これらのアミノ酸を置換した変異体の RNase P RNA への結合活性を検討している。

新規 DNA 複製開始因子の探索

○吉永 亜耶、山上 健、麻生 陽一、
B2-pm8 石野 良純 (九大・農院・遺伝子機能制御)

DNA 複製の初期過程において、ORC 蛋白質と MCM 蛋白質は、複製開始複合体の重要な構成因子である。真核生物では、これらの蛋白質と相互作用する複製開始因子が次々と見つかる。一方、遺伝情報伝達系に関わる蛋白質の機能と構造が真核生物に類似している古細菌では、ORC、MCM 以外の複製開始因子がまだ見つからない。

本研究では古細菌での試験管内 DNA 複製系を確立するため、ORC または MCM と相互作用する因子を大腸菌および酵母を用いた Two-hybrid システムで検索した。検索用ライブラリーを作製するために、部分分解した *Pyrococcus furiosus* ゲノム DNA 断片を Target ベクターにライゲーションした後、大腸菌にトランスフォームした結果、大腸菌の系では 6.0×10^6 、酵母の系では 1.2×10^6 を有するライブラリーが得られた。*orc* および *mcm* 遺伝子を bait としてそれぞれのライブラリーをスクリーニングした結果、数個の陽性クローンが得られた。それらのクローン中の *P.furiosus* 由来の DNA 塩基配列を解析して、それをもとに相互作用する蛋白質候補を抽出していく予定である。

超好熱性アーキア *Pyrococcus furiosus* 由来
DNA Ligase の性質解析

B2-pm9 ○高山耕平、藤兼亮輔、山上健、麻生陽一、石野良純
(九大・農院・遺伝子機能制御)

DNA Ligase は2つの DNA 断片の末端を結合させるという働きを持ち、遺伝子組換え技術の中で不可欠な酵素である。また、DNA 複製機構において、DNA Ligase は岡崎フラグメントの連結に関与していることが知られている。真核生物において岡崎フラグメント連結に働いているのは DNA Ligase I である。DNA Ligase I はリング構造を形成する PCNA 分子上の疎水性部位に結合し、相互作用することで Ligase 活性は増加することが報告されている。我々はレプリソーム複合体内における DNA Ligase の構造機能活性相関をより詳細に理解するため、超好熱性古細菌の一種である *P. furiosus* の DNA Ligase の遺伝子クローニングおよび組換え大腸菌で産生させた DNA Ligase(*PfuLig*)タンパク質の精製を行った。^[32P]で放射標識したニックの入った二本鎖DNAを基質として用いて *PfuLig* の活性測定を行ったところ、PCNA の存在下で ligation の効率が增加することが観察された。現在、*PfuLig* と PCNA の相互作用についてさらに検討を進めている。

DNA 複製因子 PCNA-RFC 間の機能的相互作用解析

B2-pm10 ○服部辰彦、山上健、麻生陽一、石野良純 (九大・農院・遺伝子機能制御)

【目的】DNA 鎖上にロードされる際の PCNA の開環機構を分子レベルで解明するために PCNA および RFC に遺伝子工学的手法を用いて各々に変異を導入し相互作用を解析することを目的とした。

【方法】PCNA はインターループに相当する V46, V47, L48 を Ala に置換した変異体と PCNA 結合蛋白質中の PIP-box と相互作用する領域内の P245, R246 を Ala に置換した変異体を作成した。RFC は *E. coli* で提唱されているクランプローダー複合体のdサブユニットが有するレンチ機能にとって重要な疎水性アミノ酸残基に相当すると予想される RFCL の I97, L98 を Ala に置換した変異体と PIP-box の欠損体および RFCS の ATP 結合に関与していると推定される R160 を Ala に置換した変異体を作成した。

【結果および考察】RFC 野生型と RFC I97A/L98A のクランプローディング活性を Pol BI によるプライマー伸長活性測定で比較した結果、差が見られないことから *P. furiosus* では *E. coli* でのレンチモデルとは異なる様式でクランプの開環をしているのではないかと推察された。また RFC R160A 変異体は ATPase 活性が消失した。また PCNA 依存性の Pol BI による DNA 合成活性も促進しなかった。このことから RFCS 中の R160 は RFC のクランプローダーとしての機能にとって大変重要と考えさらなる解析を進めている。

ビタミン B6 代謝酵素 Pyridoxal 4-dehydrogenase の構造及び結晶化

B2-pm11 (1)高知大・農、2)同・遺伝子実)
○横地奈菜 1)、吉金 優 1)、大西浩平 2)、八木年晴 1)

【目的】Pyridoxal 4-dehydrogenase はビタミン B6 (ピリドキシン) 代謝経路の 2 番目の反応を触媒し、NAD⁺ を補酵素としてピリドキサルを 4-ピリドキソラクソンへと酸化する。我々は本酵素を *Microbacterium luteolum* より均一に精製し、その酵素化学的性質を明らかにした。また、本酵素の大量発現系を構築した。今回、本酵素の構造と反応機構の解明を目的とし、本酵素の一次構造の特徴、逆反応の解析、結晶化条件を検討した。【結果】一次構造の相同検索の結果、本酵素は *Agrobacterium tumefaciens*、*Mesorhizobium loti* 由来 D-threo aldose dehydrogenase と相同性を示し、また、アルドケトレダクターゼスーパーファミリー (AKR) に属することが分かった。しかし、本酵素と 40% 以上の相同性を示す既知の AKR はなく、本酵素は新規ファミリーをなすことがわかった。また、本酵素は逆反応が全く観察されず、分類としては AKR に属しながらも AKR の逆反応しか触媒しない。さらに、本酵素はゲルろ過により 2 量体であることが分かり、ほとんどが 1 量体である AKR の中でも立体構造的に非常に興味深い。本酵素はオクチルグルコース、DTT の添加により高濃度で安定化され、結晶を得ることができた

イネ培養細胞グライコミクス：結合型 N-グリカンのグリコフォーム

B2-pm12 1) 岡大院・自然科学、2) 作陽大・フード、3) 岡大院・資生研、4) 岡大・農
○前田恵 1)、木村万里子 2)、西村秀希 3)、笠毛邦宏 3)、木村吉伸 1、4)

【目的】植物細胞中にマイクロモル濃度で存在する遊離型 N-グリカンが植物の生長に際して重要な役割を担っている可能性が示唆されている。そこで本研究では (1)イネ培養細胞からのエンド- β -N-アセチルグルコサミニダーゼ(Endo-OS)の精製及び機能特性解析、(2) 遺伝子クローニング、(3)糖タンパク質糖鎖の構造・分布解析を行った。【方法・結果】イネ培養細胞から、各種クロマトにより Endo-OS を精製した。Endo-OS は pH6~6.5 に至適 pH を有し、Man α 1-2Man α 1-3Man α 1-構造を有するハイマンノース型糖鎖に強い活性を示した。精製酵素の内部アミノ酸配列情報を基に酵素遺伝子のクローニングを行った。相同性検索の結果、本酵素は機能未知の遺伝子にコードされていることが分かった。Endo-OS の基質検索を目的として、糖タンパク質糖鎖の構造解析を行った。その結果、可溶性糖タンパク質には、主として植物複合型糖鎖 (GN2M3FX (50%), GN1M3FX (25%), M3FX (25%)) が結合していることが分かった。この結果、Endo-OS は成熟糖タンパク質を基質としなことが示唆された。

昆虫糖蛋白質に存在する β 1-3 ガラクトース含有 *N*-グリカンの構造特性
B2-pm13 ○宮本真毅 1), 木村万里子 2), 中原清司 3), 杉本広之 3), 山田英生 3), 木村吉伸 1,4)
1) 岡大院・自然科学, 2) くらしき作陽大, 3) 山田養蜂場, 4) 岡大・農 生資化

【目的】ローヤルゼリー糖蛋白質における抗原性糖鎖存在の有無を明らかにする目的で、グリコフォーム解析を進めてきた。その途上、Gal β 1-3GlcNAc β 1-4Man1 ユニットを持つ複合型糖鎖が昆虫糖蛋白質に存在することを初めて証明した。1) 今回は、ローヤルゼリー糖蛋白質に結合するガラクトース含有糖鎖の構造特性と生合成に関与する β 1-4GlcNAc 転移酵素 (GnT-IV) の遺伝子クローニングについて報告する。

【結果】ローヤルゼリー糖蛋白質には、Gal β 1-3GlcNAc β 1-4Man ユニットを1本持つハイブリッド型構造とトリアンテナ複合型構造の他に、この構造ユニットを2本持つテトラアンテナ複合型構造が存在していた。次に、ヒト GnT-IVの遺伝子情報を基にして RT-PCR 法によりミツバチ GnT-IV遺伝子クローニングを行った。その結果、GnT-IVと推定される 578 bp の DNA 断片をクローニングすることに成功した。相同性検索の結果、得られた DNA 断片はミツバチの脳に存在す機能未知遺伝子の配列と約 40%の相同性を有していた。

1) Kimura, Y., et al, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* in press.

チオレドキシン還元酵素 C 末端配列の量子酵素化学
B2-pm14 岡山大・農・生物資源化学
○田村 隆, 堀江敬一, 田中英彦, 稲垣賢二

ヒトのチオレドキシン還元酵素(TrxR)のカルボキシル末端配列の酸化還元に伴うエンタルピー差を計算した。半経験的分子軌道計算 WinMOPAC 3.5Pro を用いてモデルペプチド *N*-Acetyl-Ser-Ile-Leu-Gln-Ala-Gly-X1-X2-Gly の生成熱を計算した。X1-X2 のアミノ酸配列は SeCys-Cys, Cys-SeCys, SeCys-SeCys, Cys-Cys として、それぞれの酸化状態と還元状態の生成熱から酸化還元に伴うエンタルピー差を求めた。ハミルトニアン AM1 と PM3 は同じ傾向の計算結果を示し、セレノスルフィドまたはジセレニドを形成するペプチドでは酸化状態がより安定なのに対して、Cys-Cys の配列を持つペプチドだけが還元状態の方が安定であることが示された。ほ乳類の TrxR のセレノシステイン SeCys498 を Cys498 に置換すると酵素活性は 1%程度まで低下することが報告されている。これは変異酵素が Cys497-Cys498 間でジスルフィド架橋を形成しにくいからと考察されていたが、今回の量子化学計算の結果はこの仮説を支持している。

ヒト肺由来チオレドキシン還元酵素の発現における大腸菌宿主へのレアコドン添加効果
B2-pm15 岡山大・農・生物資源化学
○堀江敬一, 田村 隆, 田中英彦, 稲垣賢二

【目的】ヒト正常肺細胞のチオレドキシン還元酵素(TrxR1)の構造と触媒機能を解明するために、大腸菌を用いた大量発現系を検討した。TrxR1 遺伝子には大腸菌レアコドンの aga/agg(Arg)が 12 個, ccc(Ile)が 8 個, ata(Pro)が 2 個存在する。そこで *E. coli* BL21 の CodonPlus RIL 株と pLysS 株を用いてレアコドン添加効果を検討した。

【方法・結果】本研究では、セレノシステインをコードする TGA を TGC (Cys)に置換した TrxR1-SeCys498Cys を用いた。*E. coli* BL21 の CodonPlus RIL 株と pLysS 株を宿主として、0.3mM IPTG 存在下で 18°C, 22h の誘導を行った。発現ベクター pET32a を用いたので TrxR1-SeCys498Cys はチオレドキシン (Trx)との融合蛋白質として細胞内可溶性画分に発現した。それぞれの細胞を超音波破碎した後、Ni-カラムによる精製を行い、エンテロキナーゼにより Trx タグを切断した。Trx との融合タンパク質量で比較すると CodonPlus RIL 株は pLysS 株の 1.6 倍高い発現量を示した。

KPase によるグリセリン、ミオイノシトールへの糖転移 (林原生化研) ○渡邊 光,
B2-pm16 西本 友之、山本 拓生、阿賀 創、久保田 倫夫、福田 恵温、栗本 雅司、辻阪 好夫

【目的】コージビオースホスホリラーゼ(KPase)は β -1,2-グルコシド結合を可逆的に加リン酸分解する酵素である。今回、グリセリン、ミオイノシトールへの糖転移を検討し、生成オリゴ糖の構造を決定した。

【方法】 β -G1P (1%) とグリセリン又はミオイノシトール (2%) の混合物に KPase (100u/g- β -G1P) を pH5.5、50°C の条件で 72h 作用させ、生成した転移糖を各種クロマトグラフィーで精製し、GLC 分析及び NMR 解析して構造決定した。

【結果】グリセリンの場合、9 成分の転移糖を検出した。低分子量の 2 成分を構造決定したところ、 β -グルコシル-(1 $\rightarrow$ 1)-グリセリン及び β -コージビオシル-(1 $\rightarrow$ 1)-グリセリンであり、KPase はグリセリンの 1 位水酸基に糖転移することがわかった。ミオイノシトールの場合、5 成分を検出し、4 成分を構造決定したところ、 β -グルコシル-(1 $\rightarrow$ 1)-ミオイノシトール、 β -グルコシル-(1 $\rightarrow$ 5)-ミオイノシトール、 β -コージビオシル-(1 $\rightarrow$ 1)-ミオイノシトール及び β -コージビオシル-(1 $\rightarrow$ 5)-ミオイノシトールであり、KPase はミオイノシトールの 1 位と 5 位水酸基に糖転移することがわかった。(本研究は、生研機構「新事業創出研究開発事業」による)

ペルスルフィド形成能を有するタンパク質の探索

B2-pm17 (1) 高知大・遺伝子、(2) 高知大・農
○加藤 伸一郎 1)、大西 浩平 1)、永田 信
治 2)、味園 春雄 2)

【目的】生体内にはチアミン、ビオチン、リボ酸など硫黄を含む補酵素が数多く存在している。しかしながら、これらの生合成機構に関しては未解明な点が残されている。近年、鉄-硫黄クラスターの形成にペルスルフィドが関与することが明らかになったが、他の含硫補酵素の生合成についてもペルスルフィドが関与している可能性がある。そこで本研究では、ペルスルフィドなどの活性型硫黄の転移に関与するタンパク質を網羅的に検出・同定するとともに、含硫補酵素の生合成機構を明らかにすることを目的とした。【結果・考察】大腸菌 MG1655 の無細胞抽出液に、クロラムフェニコールを添加しタンパク質合成を阻害させた。そして、L-[³⁵S]システインを加えた後 37°C でインキュベートし、還元剤を加えない条件下で SDS-PAGE に供して ³⁵S により標識されたタンパク質の検出を行った。その結果、70 kDa、40 kDa、25 kDa の分子質量のタンパク質において ³⁵S による標識が認められた。一方、DTT 存在下で SDS-PAGE を行い同様に解析したところ、これらの標識シグナルは消失していた。このことから、ペルスルフィドやトリスルフィドのような形で硫黄原子がこれらのタンパク質に保持されているものと考えられた。

オボインヒビターの多糖修飾による高機能化

B2-pm18 ○Shamima Begum, 斎藤章、阿座上弘行、
加藤昭夫 (山口大・生物機能化学)

【目的】卵白に存在するオボインヒビターはトリプシン、キモトリプシン、エラスターゼの阻害作用を有する多価のプロテアーゼインヒビターである。本研究ではオボインヒビターの産業的な用途を拡大するために多糖化が有効であることを示す。

【方法】卵白から得られたオボインヒビターをガラクトマンナンとメイラード型の複合体を作成した。この複合体の熱安定性、乳化性の測定を行った。

【結果】1. SDS-PAGE の結果から、卵白から調製したオボインヒビター (OVI) はグリコシル型と非グリコシル型からなり、OVI とガラクトマンナン (GM) 混合溶液を凍結乾燥すると、非グリコシル化 OVI は GM と不溶性凝集体となり、除去されることが示された。2. メイラード型 OVI-GM 複合体は高い乳化性を示し、乳化安定性は 5 倍増加した。3. OVI は 100°C に加熱するとプロテアーゼ阻害活性はなくなるが、メイラード型 OVI-GM 複合体の熱安定性は著しく改変し、100°C に加熱してもトリプシン阻害活性は 80% 保たれ、キモトリプシン活性は 60% 保たれ、エラスターゼ活性は 30% 保たれた。以上の結果から OVI-GM 複合体は乳化性、耐熱性の優れた多価のプロテアーゼインヒビターに変換できることが示された。

ニワトリ卵白のリゾホスホリパーゼ D による生理活性リン脂質の産生

B2-pm19 (徳島大・薬) 徳村 彰、藤近加奈子、
福澤健治

「目的」動物血清に含まれる増殖因子リゾホスファチジン酸 (LPA) は 4 種の G タンパク共役型受容体を介して多様な生理活性を発現する。血液中では、この生理活性リン脂質を産生する分泌性リゾホスホリパーゼ D が循環しており、我々は、これをエクトヌクレオチドピロホスファターゼの 1 種 autotaxin と同定した。また、最近、ニワトリ卵白が多価不飽和脂肪酸を持つ LPA を含むことを報告した。今回、卵白の LPA がリゾホスホリパーゼ D により産生される可能性を検討した。

「結果」生理食塩水で段階的に希釈したニワトリ卵白を 0.15 mM のリゾホスファチジルコリンと 37°C で 24 時間インキュベート後、生成コリン量を測定しリゾホスホリパーゼ D 活性を求めた。その結果、希釈度が増すにつれコリン産生活性 (nmol/ml/24h) の値が高くなることが明らかとなった。ニワトリ卵白のリゾホスホリパーゼ D 活性の基質特異性はヒト血漿のリゾホスホリパーゼ D/autotaxin の基質特異性と類似していたが、数種の金属イオンの添加により活性が増加することなど、autotaxin とは異なる性質も示した。

Drosophila melanogaster における産卵抑制機構の解明と TBH 活性測定法の構築

C1-pm1 (1) 九大院・生資環、(2) 九大院・農) ○
カ石恵美子 1)、松下学 1)、平島明法 2)、
桑野栄一 2)

【目的】キイロショウジョウバエでの tyramine- β -hydroxylase (TBH) 阻害候補化合物の阻害活性測定とその化合物の産卵への影響を調べた。

□【方法および結果】通常の培地に様々な化合物を混入した培地で処女雌を処理後、6 日間通常培地で交尾・産卵させ、その後 12 日間に羽化してくる次世代のハエを計数した。候補化合物を含む培地では、通常培地に比べ羽化数を 91% 減少させた。次に候補化合物とオクトパミン、候補化合物とノルアドレナリンをそれぞれ含む培地で処理したところ、前者には産卵抑制の回復がほぼ見られなかったが、後者にはある程度の回復が見られた。その機構の解明のため、TBH 活性測定では³H でラベル化されたチラミンを基質として用い、キイロショウジョウバエから抽出した粗酵素溶液と反応させることにより、活性検討を行っている。

Plodia interpunctella における calling 行動阻害物質及び性フェロモン生合成阻害物質の探索 1) 九大院・生資環、2) 九大・農、3) 九大院・農 ○茂田陽子 1)、木水めぐみ 2)、平島明法 3)、桑野栄一 3)

【目的】本研究で用いるノシメマダラメイガを含め多くの蛾の雌は、性フェロモンを放出して雄を誘引し、交尾に至る。(この性フェロモンを放出する行動を calling 行動という。)従来の害虫防除法は、殺虫という形で主に行われてきたが、より高い安全性の要求から、配偶行動などの行動制御による次世代の防除法が求められている。よって、性フェロモン生合成阻害剤の探索を目的とし、その一環として、性フェロモン生合成における生体アミンの影響を調べた。

【方法および結果】生物検定法は、*in vivo* においては供試化合物のメタノール溶液をフェロモン腺に局所施用し、calling 行動の有無を観察した。一方、*in vitro* においては放射性同位体 (^{14}C) を用い、生体アミン等による性フェロモン生合成量の変化を測定した。また、阻害活性の強い化合物の特徴を薬理作用団モデルとしてそれぞれ作成した。その結果、オクトパミンおよびチラミンは性フェロモン生合成阻害活性を示し、オクトパミンのアンタゴニストであるフェントールアミンを同時施用した時、共に阻害の打ち消しが起こった。

6-メチル-3-ピリジルエーテル化合物 (EMP) の抗幼若ホルモン活性
C1-pm3 1) 九大院・生資環、2) 九大院・農 ○藤田雄大 1)、石黒英恵 1)、山田直隆 2)、桑野栄一 2)

高薬量で幼若ホルモン (JH) 活性を示し、低薬量では抗 JH 活性を有する ethyl 4-[2-(*tert*-buthylCarbonyloxy) butoxy]benzoate (ETB) をリード化合物として合成探索を行い、ETB より強い抗 JH 活性を示す ethyl 4-[2-(6-methyl-3-pyridyloxy) buthyloxy]benzoate (EMP) を見出した。

抗 JH 活性の評価は、カイコ 3 齢及び 4 齢幼虫に対して、供試化合物のアセトン溶液を局所施用し、4 齢期に JH 欠乏により誘導される早熟蛹化と表皮の黒色化の有無により行った。

ETB は 3 齢 0 日幼虫に対し、 $10\mu\text{g}$ 処理で早熟変態を誘導したが、 $100\mu\text{g}$ では全く活性を示さなかった。一方、EMP は薬量依存的に早熟変態と表皮の黒色化を誘導した。ETB と EMP は 4 齢 0 日幼虫に対して、早熟変態誘導活性を示さなかった。EMP で誘導される早熟変態は 20-hydroxyecdysone では打ち消されず、JH アゴニストであるメソプレンで完全に打ち消された。

抗幼若ホルモン活性物質 EMP 類縁体の合成と早熟変態誘起活性
C1-pm4 (1) 九大院・生資環、2) 九大・農、3) 九大院・農 ○古田賢次郎 1)、白橋浩光 2)、山田直隆 3)、桑野栄一 3)

【目的】新規抗幼若ホルモン活性物質 ethyl 4-[2-(6-methyl-3-pyridyloxy)butyloxy]benzoate(EMP) を見いだしたので、その類縁体の合成を行い、カイコに対する早熟変態誘導活性を調べた。

【方法および結果】EMP 誘導体は 5-ヒドロキシ-2-メチルピリジンを α -ブロモエステル類と反応させ、LAH 還元およびトシル化させた後、4-置換フェノールと反応させることにより合成した。

生物検定は、カイコ 3 齢および 4 齢幼虫に供試化合物のアセトン溶液を局所施用し、4 齢期に JH 欠乏により誘導される早熟蛹化により評価した。アルキル期を長くすると活性は上昇したが、フェニル基では低下した。側鎖をイソプロピル基にした場合、4 齢に対しても早熟変態誘導活性を示したが、高薬量では活性は消失した。

土壌自活線虫 (Diplogastridae) に対する GABA アンタゴニストの殺線虫活性
C1-pm5 (1) 島根大・生資科・生命工、2) 東邦大・薬 ○栗山理彦 1)、佐藤忠章 2)、小池一男 2)、二階堂保 2)、尾添嘉久 1)

【目的】本研究では、様々な GABA アンタゴニストの土壌自活線虫 Diplogastridae に対する殺線虫活性について評価した。あわせて、天然物クアシノイド類の殺線虫活性が GABA アンタゴニスト活性によるものかどうかを検証する実験を行った。

【方法】Diplogastridae 浮遊水溶液に化合物を添加し、24 時間後に線虫致死率を求めた。SYBYL による分子構造解析を行った。常法に従って、ラジオレセプターアッセイを行った。

【結果】種々の GABA アンタゴニストの殺線虫活性を調べたところ、3 位にイソプロピル基を持つ一連の二環式チオリン酸エステル類縁体 (BPT) が高い活性を示した。殺線虫活性を示すクアシノイド・サマデリン B と BPT の間には構造類似性が見られた。BPT とサマデリン B に対する耐性線虫は、それぞれの化合物に交差抵抗性を示した。高線虫活性を示す BPT のトリチウム体を合成し、ラジオレセプターアッセイを行った結果についても報告する予定である。

5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thiol および 4-amino-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol の phenylalanine ammonia-lyase 阻害活性
C1-pm6 (1)九大院・生資環、(2)九大・農、○洪淳星 1)、山田直隆 2)、桑野栄一 2)

〔目的〕 Cinnamic acid 4-hydroxylase (CA4H) 阻害活性を示す 2-hydroxy-1-naphthoic acid が、phenylalanine ammonia-lyase (PAL) を阻害する事が報告されている。そこで、我々が見出した CA4H 阻害剤、5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thiol (1) および 4-amino-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol (2) の PAL 阻害活性について検討した。

〔方法および結果〕 市販の *Phodotorula glutinis* 由来の PAL を用い、阻害剤存在下で生成する cinnamic acid 量を測定することで PAL 阻害活性を検討した。CA4H 阻害活性が $I_{50}=0.80\mu\text{M}$ である化合物 1 は、PAL に対して $I_{50}=254\mu\text{M}$ の阻害活性を示した。化合物 1 のベンゼン環パラ位にフッ素原子を導入すると、PAL 阻害は著しく強くなり、その I_{50} 値は $9.3\mu\text{M}$ であった。一方、CA4H 阻害活性が $I_{50}=0.32\mu\text{M}$ である化合物 2 は、PAL に対して $I_{50}=545\mu\text{M}$ の阻害活性であった。

キサントフィルエステルの光安定性

C1-pm8 1)岡山大院・自 2)岡山大・農・
○有田慎 1)、大崎健一 1)、村田芳行
2)、下石靖昭 2)、多田幹郎 1)

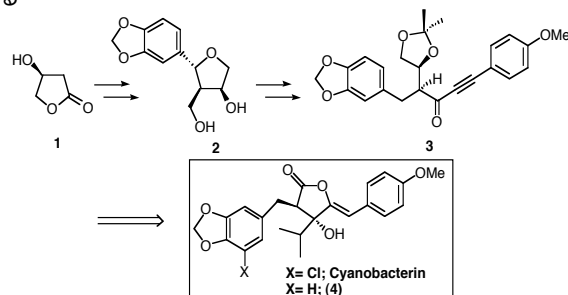
果実中に含まれるキサントフィルの大部分は脂肪酸とエステル結合していることが知られている。しかし、キサントフィルがエステル化する生物学的合目的性は未だ明らかにされていない。一般にカロテンよりも水酸化されたキサントフィルのほうが光や酸化に対して安定であり、さらに、水酸基がエステル化されることにより安定性を増すとされているが、この点も含めてカロテノイドの構造と光安定性の関係についての報告は少なく、結論はいまだ得られていない。本研究ではカロテノイドの構造と光安定性の関係についての知見を得るために、 β -カロテン、 β -クリプトキサンチン、ゼアキサンチン、及び β -クリプトキサンチンとゼアキサンチンの脂肪酸エステルを包埋させたリポソームを調製し、トリス塩酸緩衝液に分散させて UVA を照射し、分解速度定数を求めた。その結果、カロテンのヒドロキシ化はカロテノイドの光安定性に影響を与えなかった。さらに、ゼアキサンチンのエステル化はカロテノイドの光安定性に影響を与えなかったが、 β -クリプトキサンチンのエステル化は光安定性を減少させる傾向が認められた。

リンゴ酸を不斉源とした Cyanobacterin の合成研究

C1-pm9 (愛媛大農・応生化) ○二宮康弘、芳我靖、岡崎百年、首藤義博

〔目的〕 リンゴ酸を不斉源とした Cyanobacterin の合成を目的とする。

〔方法及び結果〕 L-リンゴ酸より得られるラクトン 1 とベンズアルデヒドとの縮合及び脱水閉環により調製されるジオール 2 に対し、接触水素添加、それに続く位置選択的フェニルアセチレンの導入によりケトン 3 を得ることができた。現在、イソプロピル基の立体選択的導入とそれに続くフラノン骨格の構築による cyanobacterin 脱塩素体 4 への変換について検討中である

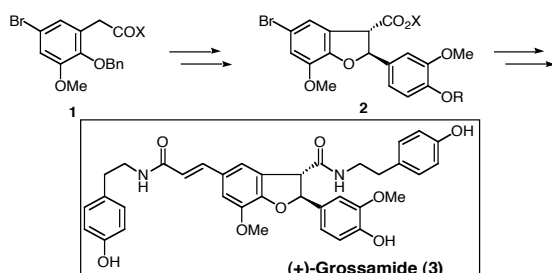


C1-pm7	ABA 様活性を持つ 1,2,4-Oxadiazole 誘導体の合成と生物活性 1) 九共大工環境化、2)名城大農応生化 ○梅光 順平 1)、八坂 武 1)、市来 弥生 1)、田村 廣人 2)、吉川 博道 1)
<目的> アブシジン酸 (ABA) は高等植物に存在する植物ホルモンである。過去に合成された 1,2,4-オキサジアゾール誘導体に ABA 様の活性がみられたことから、本研究では ABA 様活性を持つ 1,2,4-オキサジアゾール誘導体を見出すことを目的としてその合成と生物試験を行った。 <方法及び結果> ベンゾニトリル類を塩酸ヒドロキシルアミンと反応させ対応するアミドオキシムとした後、これをアルカンジカルボン酸無水物と反応させ、対応するオキサジアゾール環を持つカルボン酸を得た。このカルボン酸を Fisher 法により対応するエステルとした。また、アミドオキシムとエチルマロニルクロリドとの反応で 1,2,4-オキサジアゾール-5-酢酸エチルとした後、これを加水分解して 1,2,4-オキサジアゾール-5-酢酸を得た。 合成した化合物を用いて定法に従いクレス発芽生長試験、α-アミラーゼ誘導阻害試験、屈地性試験を行った。オキサジアゾール環とカルボキシル基の間に 1 もしくは 2 つのメチレン基を持つ化合物がクレス生長と α-アミラーゼの誘導を阻害した。	

C1-pm10 (愛媛大農・応生化) ○岡崎百年、首藤義博

【目的】ベンゾフラン型リグナンの包括的合成法構築を目的とする。

【方法及び結果】グアヤコールより得られるフェニル酢酸 **1** に、Evans の条件でベンズアルデヒドと不斉縮合を行い、さらに TMS-I で脱ベンジル保護基と同時に脱水閉環反応をすることで、レトロアルドール反応を起こすことなくベンゾフラン骨格を持つ 2-フェニルクマラン **2** を得た。更に **2** の置換基変換を行うことでシロアリの摂食阻害物質である (+)-grossamide (**3**) を合成することに成功した。



アルキル 2-オキシシクロヘキシルアセテートの酵母還元生成物の光学純度の見直しとその利用
愛媛大・農
○森俊二、平井良夫、山内聡

【目的】ラセミ体の methyl (2-oxocyclohexyl)acetate の酵母還元の結果得られる methyl (1*R*,2*S*)-(2-hydroxycyclohexyl)acetate (**1**) 及び methyl (1*S*,2*S*)-(2-hydroxycyclohexyl)acetate (**2**) の 1 位の立体構造の光学純度を調べる。

【方法、結果】酵母還元生成物 **1** 及び **2** をそれぞれ LiAlH₄ 還元、一級水酸基の TBDPS 保護、PCC 酸化、Baeyer-Villiger 酸化、メタノリシスした後、(-)-menthyl chloroformate と反応させ HPLC 分析を行った。その結果、**1** 及び **2** から得られた両方の化合物ともに 99% d.e. であった。このことから、**1** 及び **2** の 1 位の立体構造を基に合成される化合物は、高い光学純度を持つ事が明らかになった。そこで、メタノリシス生成物から *S* 体、*R* 体のエバンスの不斉補助基を利用して、(+) 及び (-)-dihydropinidine 塩酸塩と、(+) 及び (-)-epidihydropinidine 塩酸塩を合成した。さらにジャコウネコの分泌成分である (2*S*,6*S*)-(6-methyltetrahydropyran-2-yl)acetic acid の合成中である。

C1-pm12 愛媛大・農
○林良雅、山内聡

【目的】インドの薬用植物から単離された、抗酸化活性、薬理作用が期待される立体構造未知の 3-[(hydroxy)(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)tetrahydrofuran (**1**) の立体構造を決定するために 4 つの立体異性体の合成を目的とした。

【方法、結果】L-グルタミン酸から得られた 3-(4-benzyloxy-3-methoxybenzyl)-4-butanolide と 4-benzyloxy-3-methoxybenzaldehyde との KHMDS を用いた *erythro* 選択的アルドール縮合を利用して、3 位のベンジル位が *S* 体である (3*R*,4*R*)-**1** を得た。また、LDA を用いて得られた *threo* アルドール縮合物からは、3 位のベンジル位が *R* 体である (3*R*,4*R*)-**1** を得た。しかし、いずれの化合物も文献記載の NMR データと一致しなかった。そこで、エバンスの *anti* アルドール縮合を利用して得られた (2*R*,3*S*,4*S*)-2-(4-benzyloxy-3-methoxybenzyl)-4-(4-benzyloxy-3-methoxyphenyl)-3-pivaloyloxymethyl-4-butanolide から 3 位のベンジル位が *R* 体及び *S* 体の (3*S*,4*S*)-**1** の合成を行っている。

酸化型フロフランリグナン類の合成と抗酸化活性
C1-pm13 1) 愛媛大・農 2) 徳島大・総合科学部
○山内聡 1)、伊奈知子 1)、桐木平拓也 2)、増田俊哉 2)

【目的】天然から単離された有機化合物のうち、フェノール性水酸基を持つものは抗酸化活性を示す事が知られている。構造と抗酸化活性との関係については、フェノール基の周辺構造との関係についての報告はあるが、化合物の母構造との関係についての報告はない。そこで今回、母構造の酸化の程度が異なる 9 種類のフェノール性水酸基を持つフロフラン型リグナンを効率よく合成し、抗酸化活性を比較する事を目的とした。

【方法、結果】3-vinyl-4-butanolide から 3 工程で得られた (2*S**,3*R**,4*R**)-2-(4-benzyloxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-4-vinyltetrahydrofuran を共通の合成中間体として母構造の酸化の程度が異なる 9 種類のフロフラン型リグナンを得た。これらの化合物の脂質酸化の抑制活性を調べたところ、6-aryl-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan-2-one 及び 2,6-diaryl-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 型では、1 位の 3 級水酸基の存在によって大きく抗酸化活性が低下した。このことから、フロフラン環の 1 位の水酸基が抗酸化活性の大きさに影響を与える事が明らかになった。

未同定 *Penicillium* sp.菌の生産物:Gliotoxin
類縁体の構造と植物活性

C1-pm14 (1)鳥取大・農、2)静岡県大・食品)
○林亜紗実 1)、大高美由紀 1)、杉山靖正
2)、河野強 1)、木村靖夫 1)

【目的】微生物が生産する物質はその生理活性から多岐に渡り利用されている。さらに環境負荷が少ないという点でも優れている。このような観点から、生物活性を示し、かつ農業生産に有用な微生物由来物質を見い出すことには意義がある。将来的には新規植物成長調節剤、殺虫剤といった薬剤の開発にも役立つと考えられる。本研究ではレタス幼苗生育試験を指標として研究室保存菌から植物成長調節物質を生産する菌を選抜した。そこで活性物質を単離し、活性を解明することを目的とした。

【材料及び方法】レタスの根に阻害活性を示した S164 菌を麦芽培地 40L に接種し、暗所 24℃で 21 日間静置培養を行った。この培養濾液の酢酸エチル可溶性中性区を各種クロマトグラフィーにより精製した。生物活性試験はレタス、イネ、ヒエ、ダイコン、ハツカダイコン、ニンジン各種幼苗を用いて行った。

【結果及び考察】各種機器分析により、1,4-dimethyl-3- [(4'- γ , γ -dimethylallyloxyphenyl)-methyl] -3,6-bis(methylthio)-piperazine-2,5-dione のシス体、トランス体の 2 種類の化合物を単離した。植物によって生物活性にはそれぞれ違いがあり、種選択性が高いと考えた。また、異性体間でも活性に差が生じたことから、C-6 位の-SCH₃ 基が活性に影響を与えていることを示唆した。

Ageratum 属植物に含まれる成分およびその誘導体の殺線虫活性

C1-pm15 (岡山大・農)○高石和人、長野庸一、河津一義、馬場直道、中島修平

【目的】現在、日本における主要な木材資源であるマツは、マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* が引き起こす萎凋病（松材線虫病）により大きな被害を受けている。様々な方法で本病の予防が試みられているが現状では充分と言えず、より効果的で安全な防除対策を確立することが急務である。そこで、本研究では殺線虫活性成分の探索と、その構造と活性の関係を検討することを目的とした。

【方法と結果】綿球試験法により *Ageratum conyzoides* メタノール抽出物のヘキサン可溶部に殺線虫活性成分の存在が認められた。各種クロマトグラフィーによりその成分の単離・精製を行い、2 種の活性成分を得た。そのうち、より強い活性を示した coumarin について、数種の誘導体を用いて活性の検討を行った。その結果、メトキシ基が C-7 位および C-8 位に置換したものは活性がより強くなったが、C-4 位に置換したものは活性が失われた。また、C-7 位であってもヒドロキシ基が置換した場合は、その活性は失われた。

ツマグロヨコバイ耐虫性水稻
Lepe-dumai に含まれるツマグロヨ
コバイ摂食阻害物質

C1-pm16 ○角田 大輔、黒田 育宏、手林
慎一、金 哲史 (高知大農・生
資)

【目的】インディカタイプのツマグロヨコバイ耐虫性品種、Lepe-dumai はツマグロヨコバイに対して高度に抵抗性を示す。この抵抗性の要因が摂食阻害成分の存在に基づくことから、この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+2%シュクロース)、本種 2 齢幼虫に与えると、植物体上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するものの、数種のクロマトで精製したところ、複数画分を混合したときのみ強い摂食阻害活性が発現することがわかった。生物検定を指標に活性成分を追求したところ、活性発現には複数のアミノ酸、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。

OVIPOSITION DETERRENTS FROM BITTER
GOURD LEAVES, *MOMORDICA CHARANTIA* TO

C1-pm17 A LEAF MINER FLY, *LIRIOMYZA TRIFOLII*

Daniel Bisrat, Kashiwagi Takehiro, Tebayashi Shin-
ichi, and Chul-Sa Kim (Kochi Univ.)

The leaf miner, *Liriomyza trifolii*, is well characterized by its high degree of polyphagy whose larva feeds on many economically important plants such as cucumber, celery, tomato, melon, and lettuce.

Observation of the oviposition behavior of *L. trifolii* on *Momordica charantia* leaves demonstrated the presence of oviposition deterrents in this plant leaves. The methanol extract strongly deterred the females from laying egg on kidney bean leaves dipped in concentration of 1g leaf equivalent extract/ ml. In addition to Momordicine I and II as active compounds, our continuing investigation of the extract has now resulted in the isolation of three active triterpenoids. Of these, two triterpenoids were determined, as 7,23-dihydroxy-3-O-malonylcucurbita-5,24-dien-19-al (1) and 7-O- β -D-glucopyranosyl-3,23-dihydroxy-cucurbita-5,24-dien-19-al (2), respectively. The structure elucidation of the remaining one is still in progress. Each compound caused a significant reduction of the mean number of oviposition marks on kidney bean leaves

C1-pm18 クスノキに含まれるアオスジアゲハの摂食・産卵刺激物質
○西山 佳秀、池野 靖典、手林 慎一、金 哲史（高知大農・生資）

アオスジアゲハ族のアオスジアゲハ（*Graphium sarpedon*L）は、クスノキを主な食草としているものの、その食草選択に関与する化学因子の研究は殆ど行われていない。そこで、本研究ではアオスジアゲハの産卵行動に焦点を合わせて、産卵刺激物質の探求を試みた。野外で採取した雌個体の産卵行動には、ある程度広い空間が必要であることが判明した。また、クスノキ MeOH 抽出物を塗布した造花だけでは産卵しないものの、造花の付近にクスノキを接触できないように提示すると産卵行動が確認された。このことから産卵には嗅覚的要因も必要であることが判明した。さらに、MeOH 抽出物を液一液分配、逆相カラムクロマトグラフィーで分画すると活性画分は複数に分かれることが判明した。活性に関与している画分に含まれる物質を解析したところ、クロロゲン酸やフラボノイド配糖体の存在が確認された。また、クロロゲン酸には弱いながらも単独で産卵刺激活性が確認された。

Brevibacillus choshinensis 新規蛋白質 CatA による hEGF 生産の改善

D1-am1 （鹿大・農）○田中亮一、石橋松二郎、徳永廣子、徳永正雄

【目的】*Brevibacillus choshinensis*(*Bacillus brevis*)は高蛋白質分泌能を有し、組換え蛋白質生産の優れた発現システムである。しかし、大量発現を行うと一部ジスルフィド結合の架け違いが起こる。我々は *B.choshinensis* の thiol-disulfide oxidoreductase 遺伝子単離と *B.choshinensis* のジスルフィド結合形成効率を改善した異種蛋白質の大量発現系の確立を目的とした。【方法、結果】*B.subtilis*, *B.halodurans* のデータベース情報を利用し *B.choshinensis* 新規遺伝子 *catA* をクローニングした。*B.choshinensis* 発現系として *catA* 遺伝子を組込んだ pNCcatA plasmid を構築した。これを *B.choshinensis* に形質転換して、培地中の CatA について N 末端配列決定と酵素活性測定を行った。CatA が正しく分泌され、thiol-disulfide oxidoreductase 活性を有していることが明らかとなった。次に *B.choshinensis* 形質転換体と hEGF を用い hEGF 構造転換への関与を検討したところ、効果があることが確かめられた。さらに hEGF を分泌発現する pHT110 と pNCcatA の共発現を行った。native hEGF の分泌発現量が改善された。【結論】新規蛋白質 CatA は thioredoxin super-family に属し、共発現によって正しい構造をもつ有用蛋白質の大量生産に有効であることが示された。

D1-am2	Antioxidant activity of thermotolerant, fermentative yeasts from traditional alcohol-starters of some Asian countries (Fac. of Agri., Kagoshima Univ.) ○ Win Aung, Zheng Zhi Bing, Yuka Watanabe and Fumio Hashinaga
The objective of this work was to make comparative study of antioxidant activities among the strains isolated from alcohol-starters of some Asian countries. The results of screening 10 yeast strains showed that CS1-1, CS2-3, and NP3-2-1 produced more antioxidants. Radical scavenging activities of extracts of ethyl acetate were compared with BHA at 25 and 50-ppm concentrations using 1,1-diphenyl - 2-picrylhydrazyl (DPPH). The antioxidant capacities of extracts were determined by the formation of phosphomolybdenum complex method. Identification of yeast strains were carried out based on morphological characteristics, 18S rDNA and ITS1 gene analysis.	

鉄酸化細菌は鉄酸化系を使用せずに硫黄を酸化する

D1-am3 （1）岡山大院・自然科学、（2）岡山大・農・微生物機能 ○上村一雄 1）、菊本愛生 1）、篠原久美 2）、若井 暁 1）

鉄酸化細菌、*Acidithiobacillus ferrooxidans* NASF-1 株は、二価鉄と還元型硫黄化合物の酸化エネルギーを用いて増殖する独立栄養細菌である。本菌には、シトクローム酸化酵素を末端酸化酵素とする鉄酸化系が知られていたが、我々は、新たにユビキノール酸化酵素の存在を明らかにした。本酵素系の生理的意義を明らかにするため、呼吸阻害剤の酵素活性への影響を検討した。本菌の鉄酸化活性は、シトクローム酸化酵素の特異的阻害剤であるシアン、アザイドによって強く阻害されたが、ユビキノール酸化酵素の阻害剤である HQNO では顕著な阻害が認められなかった。一方、硫黄酸化活性は、シアンやアザイドで鉄酸化活性ほど阻害を受けず、HQNO によって強く阻害された。硫黄で増殖した菌体では、硫黄酸化活性は顕著に変化しないが、鉄酸化活性及シトクローム酸化活性が著しく減少した。一方、硫化水素酸化活性、ユビキノール酸化活性および硫化水素：キノール酸化還元酵素（SQR）活性が上昇した。これらの結果から、硫黄の一部は、SQR を介してユビキノール酸化酵素によって酸化されるものと推測された。

根粒菌 *Mesorhizobium loti* のピリドキシン
オキシダーゼ破壊株の調製

D1-am4 (1) 高知大・農、2)同・遺伝子実)
○吉金 優 1)、横地奈菜 1)、大西浩平 2)、
八木年晴 1)

【目的】 ビタミン B₆(ピリドキシン、PN) 代謝経路に含まれる酵素のアミノ酸配列相同検索により、根粒菌 *Mesorhizobium loti* がこれら酵素と高い相同性を示す遺伝子を持つことがわかった。このうち、本代謝経路の初発の反応を触媒する PN オキシダーゼと相同な遺伝子をクローン化し、大腸菌で発現させると本酵素活性を示した。また、*M. loti* の粗抽出液中に PN オキシダーゼ活性が認められ、本酵素が *M. loti* 中で発現されていることが分かった。今回、本酵素の生理機能を明らかにするため、本酵素の遺伝子破壊株を調製し、その性質を調べた。【方法及び結果】 テトラサイクリン耐性遺伝子を内部に組み込んだ PN 4-オキシダーゼ遺伝子を pK18mobsacB に挿入し、破壊プラスミドを構築した。これを大腸菌 S17-1 株に形質転換し、コンジュゲーションにより *M. loti* に破壊プラスミドを導入した。相同組み換えによって生ずる PN オキシダーゼ破壊株をテトラサイクリン抵抗性に基づいて選択した。得られた破壊株は PN オキシダーゼ活性を示さなかった。本研究の過程で *M. loti* が PN を C、N 源として資化することもわかった。破壊株の性質も検討し報告する。

Monascus pilosus 培養液中の抗菌物質

D1-am5 1)岡山工技セ、2)ひめの醸造食品研究所
○河野勇人 1)、姫野国夫 2)

【目的】 モナスカス属の紅麹菌を澱粉質原料に生育させた紅麹は、伝統的に食品素材として用いられているが、近年種々の機能性が見いだされている。紅麹の抗菌性については、これまでにその抗菌物質として、モナスカス色素やモノコリンが報告されている。ここでは、紅麹菌 *Monascus pilosus* IFO 4520 株の培養液中に、これまで報告されている抗菌物質とは異なる物質の存在が推定された結果について報告する。

【方法】 紅麹菌は *M. pilosus* IFO 4520 株を用いた。紅麹菌の培養には GSP 培地を用い、25℃で振とう(120rpm)培養した。抗菌性試験の被験菌には、*Bacillus subtilis* IFO 3009 株を用いた。また抗菌性はブイヨン平板培地を用い、被験菌の生育の有無で判定した。

【結果】 紅麹菌培養液の抗菌性について定性を行った結果、8日目以降の培養ろ液に抗菌性が認められた。またモノコリン K 含量については、16日目以降の培養ろ液に検出された。培養液をゲルろ過した結果、ジ・トリペプチドに相当する画分が得られた。この画分は、モナスカス色素やシトリニンの特徴は有していなかった。

バイオリアクターシステムによるアミノ
酸液からの醤油様調味料の製造

D1-am6 ○末崎 文、江嶋記久子、神田康三、加
藤富民雄(佐賀大・応生科)

目的 醤油の主発酵酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* は高塩存在下においてエタノールや醤油香気成分のひとつであるイソアミルアルコール(iAmOH)等の高級アルコールを生成する。当研究室で得られた *Z.rouxii* のアミノ酸アナログ耐性株 T1 は、iAmOH 高生成株である。安価な原料であるアミノ酸液に香気成分を付加できれば、現代の嗜好の多様化に対応した高香気性醤油様調味料ができると考えた。そこでバイオリアクターシステムを導入し、短時間での品質の改変を試みた。
方法と結果 *Z.rouxii* および T1 をそれぞれセラミックビーズに減圧固定して、これらをカラムに詰めてリアクターを構築した。補糖したアミノ酸液をリアクターに流速 4 ml/h で供し、それぞれの反応液をガスクロマトグラフィーで分析した結果、T1 は親株の 1.5 倍量の iAmOH が付加されていた。また市販の醤油に比べ、リアクター反応後もグルタミン酸等のアミノ酸含量が多かった。バイオリアクターシステムにより簡便な品質の改変が可能であることが確認できた。

選抜放線菌を用いた「種菌自動返送山脈
形成堆肥製造装置」の機能

D1-am7 (1)福岡生物産業開発研究所 2)佐大・応生
化)○田中研実 1)、田中米實 1)、吉田美
裕紀 1)、加藤富民雄 2)

【目的】 1999年“家畜排出物の管理と利用の促進に関する法律”が制定され、事業者の責任処理が急務となった。本報は、悪臭脂肪酸とH₂S及びハエ昆虫キチン質の分解能を併せ持つ放線菌に最適の装置と機能性に優れた堆肥製造法の開発を行った。

【方法及び結果】 牛・鶏の各排出物は、九州6地域から各々試料を採取し、選抜放線菌培養物¹⁾を種菌・水分調整剤として混合し山脈型堆積発酵を行った。予備試験を行い山脈型の高さと水分・生菌数・品温及び悪臭発生量等を測定した。その結果、放線菌の増殖や機能性の発揮に適した山脈型の高さは約60cmであった。次いで、この高さを基準に各畜産排出物の5t/日以上連続処理を目的として、長軸・短軸の2軸式でスクープ付自走攪拌機を装備した側壁を持つ施設を考案し、自動的且つ連続的に堆肥製造を行った。その結果、処理期間3週間でBOD及びNH₃-Nは3000ppm以下に低下し、一方NO₃-Nは1000ppm程度に達した。またハイポネックスを対照として、野菜種子の発芽・生育試験を行った結果、発芽率・生育率、及び栄養成分(GGN I)に優れた堆肥を製造することに成功した。

(参考文献) 1) 田中ら、2002 年度日本農芸化学会大会講演要旨集 p12

選抜放線菌を用いた畜産排出物堆肥の野菜種子
における発芽・生育・栄養成分の評価

D1-am8 (1)福岡生物産業開発研究所 2)佐大・応生化)○
田中米實 1)、田中研実 1)、吉田美裕紀 1)、加
藤富民雄 2)

【目的】平成13年5月、資源有効利用促進法が制定され、堆肥
の利用を促進するには適切な評価方法の確立が重要になってい
る。先に、堆肥の評価方法には野菜種子の発芽・生育に加えて
栄養を加算したGGNIを提案した¹⁾。本法では野菜のGrowthの
値を伸長と重量の利便性について、次いで処理中の成分変化と
GGNIについて検討した。

【方法及び結果】GGNI測定法¹⁾はハイポネックス1000ppm水
溶液を対照として、堆肥懸濁水に野菜種子30粒をシャーレに蒔
き、20℃、1,800Luxで7日間培養後、茎根の伸長または重量及
びV.Cとブドウ糖量を測定した。供試堆肥の製法及び分析法は
既報に従った。その結果、野菜のGrowth計測方法では、牛ふ
んにおいては重量値に対して伸長値が高い値を示し、徒長する
ことが示唆されたが、鶏・豚排出物では双方ともにほぼ同様の
傾向を示した。また、計測に要する時間は伸長に比較して、重
量は1/3に短縮された。一方、家畜排出物処理中の成分変化と
GGNIの関係については、BOD値10,000ppm及びNH₃-N 5,000ppm
以上ではいずれも阻害し、BOD 3,000ppm以下、NO₃-N 500～
3000ppmの堆肥では促進効果を示した。

(参考文献) 1) 田中ら、2002 年度 日本生物工学会九州支
部大会講演要旨 p21

食用油脂含有排水処理の微生物処理にお
ける実排水適用試験と培養条件の検討

D1-am9 ○黒住悟 1)、北村卓也 1)、和泉好計 2)、
坪田順一 2)、倉根隆一郎 3) (1)旭産業、
2)鳥取大工・生応工、3)クボタ技開本部

【目的】外食店厨房等における油脂含有排水の処理対
策は非常に遅れており、環境への負荷が大きな問題とな
っており、小型飲食店舗においても現実的に普及可
能な小型処理システムが強く求められている。本研究
では、油脂分解性微生物を用いた低コスト・高効率型
小規模排水処理システムの構築を目的としている。

【方法・結果】油脂分解性微生物として分離した
Burkholderia cepacia AIK 株は、サラダ油を含む合成排
水培地を用いた培養系処理法において、0.72 g-hex/g-
MLSS・day の油脂分解能を有しており、本菌株を用いて
簡易的に作成した微生物製剤を実際に稼働している処
理槽に 8 日間の添加を行い、油脂分解を経時的に観察
したところ、高い処理能力が維持されていることが確
認された。そこで、本菌株の大量培養条件を含む製剤
化方法に関する検討を行った結果、窒素源として硫酸
0.1%、炭素源としてグリセロール 1%を含む培地にコンス
ティール(CSL) 3%を加えた栄養培地において、これまでと
同等以上の分解活性を維持しながら、菌体濃度を従来比
約 4 倍にまで高めることが確認された。このことから、
製品あたりに係る製造コストを大幅に削減できる可能
性が示唆され、製剤自体の小型化による輸送性、保存
性の向上も期待できる。

イツリン高生産細菌 *Bacillus amylolique-*
faciens UTK 変異株の取得と微生物農薬へ
の利用

D1-am10 1) 佐大・農・応生科、2) アヅマ (株)
○内田 泰 1)、中原芳雄 1)、三浦康之 1)、
関 清彦 1)、石橋博明 2)

【目的】先に、我々は *Bacillus amyloliquefaciens* UTK
が植物病原真菌の増殖を顕著に阻害し、7 つの α -アミ
ノ酸と 1 つの β -アミノ脂肪酸から成る環状のリボペプ
チドの抗真菌物質、イツリンを生産することを見いだ
した。この抗菌性は非常に強く、熱にも安定で、抗菌
スペクトルは植物病原真菌に対して極めて広いため、
微生物農薬への利用が期待される。今回、イツリン高
生産変異株を取得したのでその結果と、微生物農薬と
して開発すべき問題点を報告する。

【方法と結果】UTK 野性株を各種変異剤で処理し、ス
トレプトマイシン耐性変異株を得た。この変異株をグル
コース、ペプトンから成るサブロー培地に、寒天ある
いはゲーランガムを誘導物質として、さらに塩化マン
ガンを添加した複合培地で振盪培養した時に、イツ
リンの高い生産性が得られた。これらの培養液を鉱物
資材のイソライトに吸着させ、UTK-イソライト複合体
を調製し、青森のリンゴ園で白紋羽病、紫紋羽病や腐
らん病など多くのカビに起因する植物病に対して微生
物農薬として試みたところ、その実用化が期待された。

レクチン様機能をもつ抗生物質
Benanomicin A を用いた酵母多糖の調製

D1-am11 (1)九女大・家政、2)明治製菓、3)福女大・
人間環境)○奥田智恵 1)、小林秀光 1)、
五味修一 2)、田代まゆみ 3)、白石 淳 3)

【目的】放線菌 *Actinomadura sporax* の培養液から得ら
れた抗真菌剤 Benanomicin A (以下、Bnm A と省略) は、
Ca イオンの存在下、真菌細胞壁のマノースと選択的
に結合した後、菌体内に取り込まれ殺菌作用を示す。
従って、この化合物(MW: 878)は機能的にレクチンと等
価と言える。今回は、病原性 *Candida albicans* 菌体より、
Bnm A を用いて細胞壁表層マンナンを単離精製し、そ
の抗原性と化学構造について調べた。【材料と方法】*C.*
albicans IFO 10108 株菌体の熱水抽出物に、0.2 (w/v)%
Bnm A/20 mM CaCl₂ を加えて遠心分離、洗浄後、沈澱
に 20 mM EDTA・2Na 溶液と 10 mM HCl を加えて遠心
分離、上清を中和、透析、濃縮してマンナンを調製し
た。Bn-M と抗 *Candida* 因子抗体を用いた ELISA によ
って抗原性、2 次元 NMR により化学構造を検討した。【結
果】Bnm A を利用して、菌体よりマンナンを迅速かつ収
率良く得ることが出来た。Bn-M の抗原パターンは *C.*
albicans の典型的な血清型(A および B)のものと異な
っていた。このマンナン構造は、血清型 A 特異的抗原お
よび血清型 B 特異的抗原のいずれもが欠損しているこ
とが示された。

Triton X 分解細菌の同定と分解メカニズムについて

D1-am12 ○市来弥生 1), 西尾恵里子 1), 田村廣人 2), 吉川博道 1)
1) 九共大工環化, 2) 名城大農応生化

【目的】工業用洗浄剤や乳化剤、あるいは農業補助剤として使用されている非イオン性界面活性剤 Triton X は、農耕地土壌中の微生物 (*Pseudomonas putida*) により、ポリエチレングリコール (PEG) 側鎖の短い OP2E0 や OP1E0 まで分解される。本研究では Triton X の PEG 側鎖ならびに芳香環を分解する微生物の探索、単離、同定を試みた。

【実験方法及び結果】102 ヶ所の農耕地土壌を 0.2 % Triton X を単一炭素源とする培地で集積培養した。芳香環分解活性を示す土壌 1 ヶ所、OP2E0 まで分解する土壌 14 ヶ所、OP1E0 まで分解する土壌 4 ヶ所を見出した。これらの集積培養液より PEG 側鎖分解菌 23 コロニー(主に *Pseudomonas* sp.) と、Triton X の芳香環を分解する微生物 MTV-27 と、PEG 側鎖の末端をカルボン酸に変換する微生物 MTV-45 を単離した。これら分解菌の 16S rDNA を用いた RFLP 解析及びシーケンス解析を行った結果、MTV-27 は *Citrobacter freundii* と、MTV-45 は *Serratia marcescens* とそれぞれ 98 % のホモロジーを示した。

Ca²⁺ 耐性を示す出芽酵母破壊株の網羅的スクリーニング

D1-am13

広島大 先端研 分子生命
石田理人, 水沼正樹, 平田 大, 宮川都吉

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* *zds1* 欠損株は、高濃度 Ca²⁺ を加えた培地で著しい増殖阻害を受け、このとき細胞周期 G₂ 期停止および芽の伸長(極性成長)が起こる。これは、Ca²⁺ シグナル伝達経路が活性化され、その結果細胞周期エンジン Cdc28p/Clnp を負に制御するキナーゼ Swe1p が活性化されるためである。Ca²⁺ による細胞周期制御機構の詳細を解明するために、1) Ca²⁺ による増殖阻害を抑圧する変異株の分離、および 2) Ca²⁺ による増殖阻害を抑圧する遺伝子破壊株のスクリーニングとその解析を行っている。今回は、2) について、Ca²⁺ 耐性を示す 4850 株の破壊株ライブラリーのスクリーニングを結果について報告する。

Bacillus thuringiensis A1470 株が産生するクリスタルタンパク質の哺乳動物細胞に対する作用 (1)福岡県工技セ、2)京大院農・食生科) ○奥村史朗 1)、斎藤浩之 1)、樋口和彦 1)、石川智之 1)、赤尾哲之 1)、水城英一 1)、井上國世 2)

D1-am14

【目的】*Bacillus thuringiensis* A1470 株が胞子を形成する時に産生するクリスタルタンパク質にはヒト培養ガン細胞である MOLT-4 細胞に対して細胞破壊活性を持つトキシシン (TX) が含まれている。MOLT-4 細胞に対する活性の本体として既に 28kDa の TX が報告されているが、A1470 株にはこの他に HeLa 細胞に対して破壊活性を持つ画分があり、細胞破壊のスペクトルが異なる TX の存在が示唆されている。今回は 28kDa の TX 以外の画分を対象に精製を行い、Jurkat 細胞に対する破壊活性について検討した。

【方法および結果】A1470 株のクリスタルタンパク質を炭酸ナトリウム緩衝液 (pH10.5) で可溶化後、protease K 処理により活性化し、陰イオン交換クロマトグラフィーにより分画した。イムノブロットにより既報の 28kDa TX を確認し、この TX が存在しないが MOLT-4 細胞に破壊活性のある画分について Jurkat 細胞に対する活性を測定したところ、活性のあるフラクションとないフラクションが存在した。これにより既報の TX 以外にさらに 2 種類の TX の存在が示唆された。各フラクションをゲル濾過クロマトグラフィーによりさらに分画し、活性本体を確認するとともにその TX の N 末配列を決定した。

微生物由来のアフラトキシン生合成阻害物質

D1-am15

1) 鳥取大・農、2) 食総研
○作野えみ 1)、木村織恵 1)、白井麻衣子 1)、矢部希見子 2)、中島廣光 1)

[目的]アフラトキシン(AF)は、一部のカビが生産する発癌性二次代謝産物である。AF による農作物汚染は深刻な問題となっており、早急な汚染防御策が必要とされている。そこで、AF 汚染防御法開発研究の一環として AF 生合成阻害物質を糸状菌の代謝産物中に検索した。

[方法と結果] AF 生合成阻害のターゲットとして、norsolorinic acid (NA)までの反応を選んだ。NA は AF 生合成上最初の安定な中間体で赤色色素である。NA 蓄積阻害の有無は、サンプルを含む培地に NA 蓄積変異株の胞子を接種し培養後、コロニーの色を観察することによって判定した。NA 蓄積が完全に阻害されるとコロニーは白くなり、阻害されないと赤くなる。この方法を用いて輸入ナッツから分離した糸状菌についてスクリーニングを行った。選抜された糸状菌 R-1e 菌を培養し菌体のアセトン抽出物から NA 蓄積阻害活性を持つ化合物を単離した。この化合物は FABMS や CIMS において m/z 185 に $[M+H]^+$ と思われるイオンピークを与えた。また、100 mg/L より高い濃度で NA 蓄積阻害活性を示したが 3000 mg/L では菌の生育を完全に阻害した。

Bacillus subtilis IM-94 株由来のフィブリン分解酵素の精製と性質

D1-pm1 愛媛大・農・応用生命化学
○丸山雅史、木場洋次郎

【目的】血栓症治療における有用な線溶系酵素の探索が行われている。本報告では、当研究室で分離した *B. subtilis* IM-94 株からフィブリン（血栓）分解酵素が確認されたので、酵素の精製を行い、性質について既存の酵素と比較検討した。

【結果】*B. subtilis* IM-94 株の培養液を酵素源として硫酸分画、Sephacryl S-300、Resource S によりフィブリン分解酵素を精製した。回収率 7.6%、活性 8814 units/mg protein で 5837 倍に精製された。本酵素の分子量は 29kDa で、45℃、pH 7.0 を至適とする中性プロテアーゼであった。PMSF により活性を阻害されること、N 末端から 12 残基のアミノ酸配列がズブチリシンやナットウキナーゼと完全に一致したことから、これらの酵素と同類のセリンプロテアーゼと思われる。しかしながら、ナットウキナーゼに比べ安定性が高いことや基質特異性についてもこれらの酵素と違いが見られることから、構造的な差異があることが推察された。また、本酵素はプラスミンと比較しても安定性が高かった。

Purification and Characterization of Amino-peptidase from *Bacillus* sp.

D1-pm2 _Somkid Deejing¹⁾, Kazuaki Yoshimune²⁾, Saisamorn Lumyong¹⁾ and Mitsuaki Moriguchi²⁾

¹⁾ Chaing Mai University, ²⁾ Oita University

Leucine aminopeptidase was purified by ammonium sulfate fractionation, DEAE-Toyopearl, Butyl-Toyopearl, Hydroxylapatite and Sephadex G-150 Chromatographies. The enzyme showed maximum activity at pH 7.6-7.8 and 60 °C. Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} and Ni^{2+} at 1 mM were inhibitory to the enzyme activity. The enzyme was inhibited by metal chelating agents (EDTA, *o*-phenanthroline and 2,2'-dipyridyl). The apoenzyme activity was restored by the addition of Co^{2+} . PCMB (0.1 mM), PMSF (1mM) and TPCK (1 mM) showed 72 %, 85 % and 102 % enzyme activities, respectively.

D1-pm3	<i>Bacillus stearothermophilus</i> 由来の α -cyclodextrinase 遺伝子の構造と酵素の諸性質 1)岡山理大院・工・応化、2)鹿児島大・農・生命高分子化学、3)岡山理大・工・応化 ○関川昌之 1)、松本友子 1)、安部淳一 2)、 浄原法蔵 3)、滝澤昇 3)
--------	--

【目的】Cyclodextrin（以下 CD）は 6～8 個のグルコース環状構造体であり、CDase は CD を加水分解する酵素である。本研究では *B. stearothermophilus* 由来 CDase 遺伝子の構造と酵素の諸性質の解析を行った。

【方法と結果】*B. stearothermophilus* K-12481 株よりクローン化された Cdase 遺伝子は 1767bp よりなり、588aa からなる。推定分子量約 69kDa のタンパク質をコードしていた。 α -Cdase の至適 pH は 5.0mM 酢酸バッファーを用いた時の pH5.5 であり、最適反応温度は 55℃であった。熱に対して比較的強く、65℃での 20 分間加熱しても約 80% の残存活性が認められた。 α -CD に対して高い活性を示し、重合度 3～7 のオリゴ糖に対しても活性を示した。しかし、デンプン及び β -CD に対してはほとんど活性を示さなかった。また、 α -CD を基質として反応させたときマルトテトラオースの生成が確認された。この現象についてはまだ未解明ではあるが、加水分解反応の逆反応として一時的に糖転移反応が起こっている可能性も考えられる。

Bacillus thuringiensis が産生する双翅目昆虫特異的殺虫タンパク質 Cry11A の機能解析

D1-pm4 (岡山大院・自然科学)

○坂川浩平、山際雅詩、酒井 裕

【目的】双翅目昆虫特異的殺虫活性を有する 70 kDa の Cry11A タンパク質はプロテアーゼによるプロセッシングを受けて、36 kDa と 32 kDa 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解析を目的とした。

【方法】36 kDa、32 kDa 断片及び、Cry11A 全長と GST（グルタチオン-S-トランスフェラーゼ）との融合蛋白質の大腸菌における発現系を構築した。また 32 kDa 断片については 6×His 融合蛋白質も構築した。それぞれの融合蛋白質を精製し、アカイエカ幼虫に対する殺虫活性を調べると共に、両断片間の相互作用についても検討した。

【結果】36 kDa、32 kDa 断片は各々単独ではアカイエカ幼虫に対して殺虫活性をまったく示さなかった。しかし、両断片を共存させると Cry11A 全長に匹敵する殺虫活性を示した。また、36 kDa の GST 融合蛋白質と 32 kDa の 6×His 融合蛋白質を用いた共沈実験において、両者は共沈したことから、36 kDa と 32 kDa 断片は会合し、協調して殺虫活性を発現することが示唆された。

放線菌由来 cyclo (Leu-Phe) 脱水素酵素の
性状解析

D1-pm5 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* K023 株が cyclo (Leu-Phe), CFL 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 CFL 脱水素酵素の詳細な性状解析を行った。本酵素は無細胞抽出液から 3 段階のクロマトグラフィーにより均一に精製した。本酵素の最適温度は 70°C, 最適 pH は 8 付近であった。また 414 nm 付近に特徴的な吸収を持つことからフラビン酵素であることが推測された。本酵素は CFL ($K_m = 0.50$ mM) 以外に CFF (1.67 mM), CFH (1.11 mM), CFW (1.42 mM), CMM (0.56 mM), CFP, CLY を基質とした際, PMS-DCIP への電子授受が観察されたが, C $\square$ FL ($\square$: dehydro-)では観察されず, CF $\square$ L ではわずかであった。しかし, これら片側脱水素体は本酵素により速やかに albonoursin に変換されることが HPLC 法で明らかとなり, *S. noursei* 由来の cyclic dipeptide oxidase が CFL から C $\square$ FL のみを経て albonoursin を生合成するのとは異なることが判明した。* *J. Biosci. Bioeng.*, **90**, 86. *J. Antibiot.*, **55**, 1042.

Cyclo(Leu-Phe)から albonoursin への変換反
応における水素受容体の影響

D1-pm6 神崎 浩, ○武田 周大, 森本 篤史,
仁戸田 照彦 (岡山大・農)

【目的】我々は, 放線菌 *Streptomyces albulus* K023 株が cyclo(Leu-Phe) (CFL) から albonoursin への脱水素反応を触媒する酵素を有すること, その反応が CF $\square$ L ($\square$: dehydro-)あるいは C $\square$ FL を介する 4 つの素反応から成ることを報告してきた。さらに CFL 脱水素反応は幾つかの水素受容体のうち, PMS により促進されること, PMS-DCIP を水素受容体とする方法で活性測定が可能であることを示してきた。そこで, 4 つの素反応全てが同じように PMS により活性化されるか検討を行った。

【方法と結果】CF $\square$ L, C $\square$ FL は CFL から *S. albulus* K023 株由来の酵素で合成し, HPLC 分取により精製した。CFL, CF $\square$ L, C $\square$ FL を基質とし, *S. albulus* K023 株の無細胞抽出液で反応を行い, ODS-HPLC で生成物の定量を行ったところ, PMS の添加により, Phe 残基を脱水素する素反応は 2 種とも活性化されたが, Leu 残基の反応はいずれも活性化されなかった。この結果に加えて, 我々が精製した CFL 脱水素酵素は 4 つの素反応をすべて触媒することが明らかになっていることを考慮すると, 本酵素が CFL 中の Leu, Phe 残基を別の活性部位で脱水素する可能性が示唆された。

Production and partial
purification of a free radical
scavenging substance released by
Actinomyces sp.

D1-pm7 Rashid M.H., K. Kanda and F. Kato
Dept. Appl. Biol. Sci. Saga Univ.

Suppression or elimination of the free radicals from foodstuff is desirable. Present bacterium was isolated from soil and its culture fluid was found to scavenge the DPPH radical efficiently. Influences of the different component of the culture medium (Emersion medium) on the production of radical scavenger by the bacterium were investigated. Optimum temperature and pH was found to be 30°C and 7 respectively. Glucose was found to be the best carbon source. For highest production optimum concentration of glucose, meat extract, yeast extract and peptone were found at the level of 1.5%, 1%, 1.5% and 3% respectively. Moreover, active substance was partially purified on TLC followed by gel filtration, ultra filtration and ion exchange chromatography.

Purification and some properties
of free radical scavenging
substance from *Saccharomyces*
cerevisiae IFO 2373

D1-pm8 Gazi M.R., K. Kanda and F. Kato
Dept. Appl. Biol. Sci. Saga Univ.

In this study, antioxidative substance was purified from *Saccharomyces cerevisiae* IFO 2373 culture broth and some properties were investigated. The culture supernatant was applied on DEAE-cellulofine A 500 column chromatography. The active fractions were pooled and applied on Sephadex G-15. The elute from the column was then separated by preparative Thin Layer Chromatography (TLC). A pale red color spot was isolated. The overall purification was 32 fold and had a specific activity of 441 U/mg. The sample substance had molecular mass of $M_{s/m/z}$ 195, $UV\lambda_{max}$ 320 after gel filtration. The stability of the active substance for pH was in between the range of 3.5-4.5 and for temperature was below 40°C, respectively.

D1-p m9

Denitrification activity of a moderately halophilic bacterium *Pseudomonas stutzeri* ASM-2-3 isolated from Ariake Sea tideland
○H. R. Kariminiaae-Hamedani, K. Kanda and F. Kato (Dept. Appl. Biol. Sci., Saga Univ.)

Denitrifiers exist in variety of environmental niche and threatened or polluted ecosystems. Despite the large amounts of nitrogen polluting streams introducing to Ariake Sea, Japan, the sea water has a low concentration of nitrogen due to bacterial purification mechanism of the sea. So far there is no report on the isolation of deitrifiers from Aiake Sea.

A new denitrifying bacterium ASM-2-3 was isolated from Ariake Sea tideland. The isolate had the capability to fully remove as high as 1000 mg nitrate/l. It grew in up to 10% salt containing medium. It was identified as *Pseudomonas stutzeri* from 16S rDNA sequencing analysis. The nitrate removal efficiency of the isolate was faster than that of the control strain *P. stutzeri* NBRC 14165. The enzymatic tests showed that the activities of enzymes responsible for the reduction of nitrate and nitrite in ASM-2-3, are 1.4 and 2.3 times higher than that of the control strain.

D1-p m10

ピリドキシン資化菌 *Microbacterium luteolum* 由来 4-Pyridoxolactonase
(1) 高知大・農、2)同・遺伝子実)
○舟見淳一 1)、小林 倫 1)、吉金 優 1)、横地奈菜 1)、大西浩平 2)、八木年晴 1)

【目的】ピリドキシン (PN) 資化菌 *Microbacterium luteolum* は 8 段階の反応からなる PN 分解経路 I をもつと考えられている。1、2 番目の反応を触媒する酵素は、すでに本研究室において均一精製され、一次構造が明らかにされた。今回、本経路の 3 番目の反応を触媒する 4-ピリドキソラクトナーゼの一次構造及び性質を決定することを目的とし、本酵素の均一精製を試みた。

【方法及び結果】本酵素活性が不安定なため、安定化剤の検討を試みた。その結果、本酵素は PMSF により阻害を受けること、0.01% Tween 40、10% Glycerol の添加により安定化されることがわかった。この安定化剤存在下、本酵素は疎水性、イオン交換、吸着、ゲルろ過の各カラムクロマトグラフィーにより、均一に精製することができた。本酵素は、SDS-PAGE で均一のバンドを示し、そのサブユニットの分子質量は約 31,000 Da であった。また、本酵素の N 末端アミノ酸配列は、他のラクトナーゼと相同性を示した。諸性質と合わせて報告する。

D1-pm11

酵母 *Pichia pastoris* において発現した *Aureobasidium pullulans* 由来キシラナーゼの分泌シグナルのプロセッシングと分泌酵素の諸性質
○田中秀典、奥野智子、六車三治男、太田一良 (宮崎大・農・応生科)

【目的】不完全菌 *A. pullulans* ATCC 20524 株の好酸性キシラナーゼは、アミノ酸 34 残基のプレプロ配列を持つ分泌シグナルにより菌体外に産生される。本報では、メタノール資化性酵母 *P. pastoris* GS115 株の異種タンパク質発現系による *A. pullulans* キシラナーゼ分泌シグナルのプロセッシングおよび分泌された成熟酵素の諸性質を検討した。【方法・結果】分泌シグナルを含むキシラナーゼ前駆体をコードする遺伝子 *xynI* の cDNA を発現ベクター pPIC3.5 に挿入し、*P. pastoris* の染色体上へ組み込んだ。この組換え体酵母は、液体培養により菌体外に少なくとも 40 mg/L のキシラナーゼを分泌した。本酵素は、*A. pullulans* 天然型分泌酵素と同様の酵素化学的諸性質を示した。また、決定した N 末端 7 残基のアミノ酸配列は、*A. pullulans* 天然型酵素と同一であったことから、*P. pastoris* による本酵素分泌シグナルの正常なプロセッシングが示唆された。さらに、そのシグナル配列から推定プロ配列 18 残基を欠失させても *P. pastoris* による分泌量に影響を及ぼさなかった。

D1-pm12

ポリ-γ-グルタミン酸分解酵素の効率生産系の構築及び酵素科学的特徴
(1) 高知大・農、2) BioLeaders-J Co.)
○中村尚明¹⁾、成 文喜²⁾、左右田健次²⁾、味園春雄¹⁾、芦内 誠¹⁾

【目的】ポリ-γ-グルタミン酸 (PGA) は生分解性と高吸水性を示すとされ、食品や環境バイオ産業をはじめ、幅広い分野で応用技術開発が進められている。本研究では、PGA 生分解の機構解明の一端として、納豆菌などが持つ PGA 分解酵素の効率生産系の構築及びその酵素科学的な特徴を調べた。【結果】納豆菌の染色体 DNA において、PGA 生合成に関わる *pgsBCA* 遺伝子群のすぐ下流に PGA 分解酵素をコードする *pgdS* 遺伝子が存在する。大腸菌を宿主に、*pgdS* 遺伝子の発現系を構築し、PGA 分解酵素の効率生産及び簡易精製に成功した。本酵素はエンド型ペプチダーゼ群に属するため、詳細な性状解析には新たな活性測定系の開発を要した。PGA は一分子に一つのアミノ基を持つことに注目した。すなわち、本酵素反応の進行に伴って増加するアミノ基数を算出し、酵素活性とした。1-fluoro-2,4-dinitrobenzene が検出試薬として有効であった。およそ 70% の D-グルタミン酸含有率を示す納豆菌 PGA を基質にしたところ、最適 pH は 6 付近、比活性は 0.182 $\mu\text{mole/min/mg}$ であった。チオール修飾剤添加で活性が失われた。基質選択性の実験から、本酵素は D-グルタミン酸をより多く含む PGA を良好な基質とすることが判明した。反応速度解析の結果は、本酵素が PGA 分子中の D-体の連続した領域を認識しこの間を切断することを示唆した。

接合菌 *Phycomyces blakesleeanus* の
生産するキチンデアセチラーゼの精製
D1-pm13 (1)佐賀大・農・応生科、2)東北大院・
生命科学、3)関東学院大・工・基礎科目)
○岩崎純也¹⁾、松井亜衣子¹⁾、関 清彦¹⁾、
宮崎 厚²⁾、村山肇子³⁾、光富 勝¹⁾、内田 泰¹⁾

【目的】 *Phycomyces blakesleeanus* は接合菌類であり、細胞壁にキトサンを含んでいることからキチンデアセチラーゼを生産していると考えられる。本研究では、本菌が生産するキチンデアセチラーゼの精製と本酵素活性に及ぼす酢酸の影響について検討を行った。

【方法と結果】本菌をキトサンを含む培地で、25℃、96 時間振盪培養した。菌体を回収後 Triton X-100 を加え破碎、抽出した。遠心分離後上清を回収し、得られた菌体抽出液から、透析、Phenyl Sepharose 6 Fast Flow による疎水性クロマトグラフィーを用いてキチンデアセチラーゼを精製した。本酵素に終濃度 5 mM から 200 mM になるように酢酸緩衝液を加え、30℃、1 時間酵素反応を行った。結果、本酵素は酢酸濃度 5 mM 以上で急激に阻害を受け、100 mM では全く活性を示さなかった。この性質は他の接合菌類である *Rizopus javanicus* や *Mucor rouxii* 由来のキチンデアセチラーゼと同様の性質であった。一方、本酵素は他の接合菌類由来のキチンデアセチラーゼとは異なり、膜結合型であることが示唆された。

大腸菌グルコース脱水素酵素：結合型キノンの発見とその役割
D1-pm14 山口大・農・生物機能化学
○中村さつき、MD Elias、伊藤紋子、右田
たい子、山田 守

大腸菌の PQQ 依存性膜結合型キノプロテイングルコース脱水素酵素 (mGDH) は、ペリプラズム側の C 末端領域がグルコースの酸化触媒を担い、電子を呼吸鎖内のユビキノン (UQ) に直接伝達する初発酵素として機能している。

本研究では、mGDH の分子内電子移動における UQ の役割を調べるため、野生株および UQ を生産できない変異株から精製した mGDH について UQ の定量や EPR 解析を行った。その結果、mGDH 分子中に結合型 UQ₈ が含まれていることが示された。さらに EPR 解析によって、野生型 mGDH にグルコースを添加すると、EPR シグナルは著しく増加し、このことから結合型 UQ₈ は還元された PQQ から電子を一つ受け取っていると予想される。

以上の結果及び阻害剤を用いた解析から、野生型 mGDH には、UQ との相互作用部位が 2ヶ所存在し、1 つは分子内の結合型 UQ₈ との結合に、もう一方は分子外の UQ プール中の UQ₈ との結合に関与するのではないかと予想している。

高度好塩性古細菌由来 nucleoside
diphosphate kinase (NDK) の refolding に対す
る MgCl₂ 効果 (1) 鹿大農・生資化、2) Alliance
Protein Labs.) 石橋 松二郎¹⁾、荒川 カ
2)、徳永 正雄¹⁾

【目的】高度好塩菌の生育には 2.5M 以上の塩が必須でその酵素は安定性と活性に高濃度の塩を必要とする。我々は *Halobacterium salinarum* から安定性と活性に塩を必要としない酵素 NDK を初めて見出した。我々は以前、高濃度の非イオン性物質である trimethylamine N-oxide (TMAO) が NaCl 同様 NDK を folding させた事を報告した。これは NDK が TMAO の疎水の相互作用を強くする効果のみで folding する事を示している。¹⁾今回我々は salting-in 効果を持つ MgCl₂ で folding する事を試みた。

【結果・考察】MgCl₂ で folding させたところ、1M で最大の folding 効果を示し、より高濃度では folding 効率が減少した。この事は MgCl₂ の疎水の相互作用を弱める (salting-in) 効果により、MgCl₂ のもう一つの効果であるタンパク表面の電荷をシールドする効果が打ち消された事を示した。

1) Ishibashi M. et al. *Protein Chem.*, in press (2003)

水素発酵菌 *Clostridium* sp. E-73 の
生成する α -アミラーゼの特性
D1- (宮崎大・工・物質環境化学)
pm16 藤井 英樹、○吉野史章、廣瀬
遵、林 幸男、横井春比古

【目的】低温条件下でも良好に澱粉から水素を生産できる耐低温性水素発酵菌 *Clostridium* sp. E-73 を用いて、本菌株の生成する α -アミラーゼの最適生産条件と、生成 α -アミラーゼの酵素的特性について検討した。

【方法】 *Clostridium* sp. E-73 を可溶性デンプンおよびペプトンを主成分とする培地で嫌氣的に培養した。培養液の上澄み液から、硫酸塩析、DEAE-Sephadex A-50 による陰イオン交換クロマトグラフィーおよび Sephacryl S-300HR によるゲルろ過クロマトグラフィーにより、 α -アミラーゼを電気泳動的に単一な状態まで精製した。

【結果】本菌株の α -アミラーゼと水素の生産には、培養温度 35℃、培養 pH5.5 の培養条件が最適であった。精製 α -アミラーゼの至適 pH は 4.0 であり、pH4.5~5.5 の pH 領域で安定であった。至適温度は 45℃であり、40℃以下の温度域において安定であった。また、0℃の低温条件下でも最大活性時の約 5% のアミラーゼ活性がみられた。本酵素の分子量は約 83kDa と推定された。

焼酎麹の耐酸性 α -アミラーゼについて
(鹿児島大・農・生資化)
D1-pm17 ○瀬口ひろみ、北原兼文、菅沼俊彦

【目的】南九州の本格焼酎造りでは、クエン酸を生成する河内白麹菌が使われる。もろみ中では pH3.5 付近の酸性条件下で、麹菌の耐酸性 α -アミラーゼが澱粉糖化を担っていると考えられる。市販種麹が生成する耐酸性 α -アミラーゼと、保存菌株 IFO4308 *A.kawachii* が生成する耐酸性 α -アミラーゼの相違について検討した。【方法と結果】37℃、60 時間培養後の市販種麹の米麹抽出液から耐酸性 α -アミラーゼをクロマトグラフなどにより精製し、電気泳動的に均質な酵素標品 (116kDa) を得た。その N 末端分析の結果は、IFO の塩基配列から推定される Kaneko らのアミノ酸配列と一致した。一方、C 末端をエンドペプチダーゼで分析したところ一致しなかった。また、市販種麹と保存菌株について、米麹培養と液体培養を行い、生成する耐酸性 α -アミラーゼを比較した。麹重量当たり、培養液あたりの活性は保存菌株は市販種麹に比べかなり低かった。しかし、両者ともクエン酸酸性の液体培養 4 日までは弱いながらも耐酸性 α -アミラーゼ活性があり、その後、培養 4 日から 7 日にかけて急に中性 α -アミラーゼ活性が上昇するという培養経過を示した。

Trichoderma viride 由来 2 種のラミナリナーゼ遺伝子のクローニング
D2-am1 ○野邊理花、榊原陽一、小川喜八郎¹、水光正仁 (宮崎大・農・応生、¹南九大・食品工)

【目的】糸状菌 *Trichoderma viride* は、基質特異性の異なる 3 つのラミナリナーゼを分泌する。我々はこれらの諸性質を検討し、lam AI と lam AII が β -1,3-グルカンに高い特異性を示すことを明らかとした。 β -1,3-グルカンは抗腫瘍活性を持ち、酵素処理により得られるオリゴ糖は、新規な機能性を持つ可能性が考えられる。そこで今回、これらの酵素の諸性質の検討とオリゴ糖生産への応用を目的とし、遺伝子クローニングを行った。【方法および結果】各酵素の N 末端および内部アミノ酸配列をもとにプライマーを作成し、RT-PCR を行った。PCR 産物の配列をもとに RACE 法を用いて、cDNA 配列を決定し、推定アミノ酸配列を得た。これらの 2 つの酵素のアミノ酸配列の相同性は 26.9%であり、サザンハイブリダイゼーションを行った結果、異なる遺伝子として存在することが判明した。アミノ酸配列を比較した結果、lam AI が bgn1 と 91%、lam AII が lam 13.1 と 76%と高い相同性を示した。bgn1 と lam 13.1 はともに Glycoside Hydrolase Family 55 に属することから、これら 2 つの酵素も同ファミリーに属すると考えられた。

Desulfitobacterium sp.Y51 における PCE 脱塩素化能欠損株の解析
D2-am2 (1) 九大院・生資環、2) 東和科学)
○二神泰基 1)、坪井良徳 1)、陶山明子 2)、古川謙介 1)

【目的】グラム陰性の偏性嫌気性細菌 *Desulfitobacterium* sp.Y51 は PCE デハロゲナーゼにより、環境汚染物質であるテトラクロロエチレン (PCE) をトリクロロエチレンを経由してシス-1,2-ジクロロエチレンへと還元的に脱塩素化する。Y51 株を液体培地で継代培養すると、PCE 脱塩素化能を欠損した株が出現した。本研究では、その原因の解明を目的とした。

【方法・結果】脱塩素化能欠損株は、その粗抽出液に対する抗 PCE デハロゲナーゼ抗体を用いたウェスタン解析により、PCE デハロゲナーゼを発現していないことが確認された。また、Y51 株のゲノム DNA に対して PCE デハロゲナーゼ遺伝子 *pceA* をプローブとしてサザン解析を行った結果、脱塩素化能欠損株には *pceA* を保持するものと保持しないものが存在した。前者について、そのゲノム DNA から *pceA* 上流の部分ライブラリーを作製して野生株の塩基配列と比較した結果、*pceA* の上流において野生株には存在する約 1.5kb の領域が欠失していた。野生株においてこの領域には、*pceA* のプロモーター配列と Transposase のホモログをコードする *orf*が含まれていた。

Pichia kluyveri IFO 1165 のシトロネロール添加培養時における差次的発現遺伝子群
D2-am3 ○古賀 倫子、岡 拓二、後藤 正利、古川 謙介 (九大院・生資環・生機科)

【目的】*Pichia kluyveri* IFO1165 はテルペン類アルコールに耐性を示し同アルコールを効率的にアセチル化する。本研究ではシトロネロール存在下、非存在下において差次的に発現している遺伝子群の解析を行った。

【方法・結果】シトロネロール添加培養菌体及び非添加培養菌体より全 mRNA をそれぞれ精製し、cDNA Subtraction によりシトロネロール添加培養時に強く発現している遺伝子を約 150 クローン得た。このうち無作為に選択したクローンについてシーケンス解析を行い既知遺伝子との相同性を検索した結果、薬剤排出に関与すると考えられるトランスポーター類などであった。よってシトロネロール添加培養時には毒性から細胞を保護するための遺伝子群が高発現していることが明らかとなった。

糸状菌 *Aspergillus nidulans* の O-型糖鎖の機能解析

D2-am4 1) 九大・院・農、2) 九大院・生機科
○岡拓二 2)、野中真由子 2)、後藤正利 1)、古川謙介 1)

【目的】O-マンノース型糖鎖合成は、プロテイン O-マンノシルトランスフェラーゼ (Pmt) によるペプチド鎖の Ser/Thr 残基へのマンノース転移に始まる。本報では、糸状菌 O-型糖鎖の機能を解明することを目的として O-マンノース型糖鎖合成の初発酵素をコードする糸状菌 *pmtA* 遺伝子の機能解析及びその遺伝子破壊株の解析を行った。

【方法及び結果】*A.nidulans* の *pmtA* 破壊株 (P3 株)は、その膜画分における Pmt 活性の低下が認められると共に、その表現型においては菌糸の途中が膨らむバルーン構造の形成や菌糸伸長能の低下など主に細胞壁形成に関する異常が認められた。そこで、P3 株の細胞壁構造を解析した結果、細胞壁骨格を形成するアルカリ不溶性画分が野生株の 80%にまで減少しており、骨格構造の隙間を埋めるアルカリ可溶性画分、及びキチン含量がそれぞれ、144%、130% にまで増加していることが明かとなった。以上の結果より、糸状菌の O-型糖鎖合成が細胞壁の正常な 3 次元構造の形成に必要であることが示唆された。

接合トランスポゾン *bph-sal element* のビフェニル資化菌における分布と構造及びインテグラーゼについて

D2-am5 ○今林由希、香川裕、入江弘樹、古川謙介 (九大院・生資環)

【目的】*Pseudomonas putida* KF715 株のビフェニルおよびサリチル酸分解遺伝子群をコードする接合トランスポゾン *bph-sal element* は、他のビフェニル資化菌においても広く分布している。しかし、KF715 株以外の *bph-sal element* 保持菌株は、同 *element* が存在するものの接合伝達能は確認されていない。本研究では、これらの菌株を比較し、*bph-sal element* の接合伝達に関与する因子を探索することを目的とした。【方法・結果】KF715 株、及び接合伝達が確認されていない KF707 株の RNA を抽出し、接合伝達において *element* の切り出しを行うと予想されるインテグラーゼに対して RT-PCR を行った結果、共に転写が確認された。そこで、KF715 株と接合伝達能のない菌株のゲノム DNA を抽出し、KF715 株の *element* 内部の配列をプローブとしてサザン解析を行い、*element* の構造を比較した。その結果、接合伝達能のない全ての菌株では *element* の上流及び下流の領域が存在しておらず、これらの領域に *bph-sal element* の接合伝達に関与する因子が存在するものと推察した。

Fusobacterium mortiferum の β -1,4-マンナナーゼ遺伝子のクローニング

D2-am6 ○三浦 隆志、田口 久貴、松元 俊彦、赤松 隆、山浦 泉 (崇城大・応微工)

【目的】ジャンボタニシ内臓より単離した *Fusobacterium mortiferum* JT-11 株の β -1,4-マンナナーゼのアミノ酸部分配列を既に報告した¹⁾。そこで本研究では、全一次構造決定のための遺伝子クローニングを目的とした。

【方法及び結果】部分アミノ酸配列の解析結果で相性の高かった *B.circulans* の遺伝子より、PCR プライマーを設計した。PCR により *F. mortiferum* の目的遺伝子の内部断片 (0.5kb) をクローン化し、塩基配列を決定した。本断片の推定アミノ酸配列が、既知部分配列と一致したことより、*F. mortiferum* のマンナナーゼ遺伝子断片と判断した。インバース PCR により外部断片 (2.1 kb) のクローン化を行い、塩基配列より全アミノ酸配列を推定した。残基数は、470 残基 (シグナルペプチドを含む) で、既知ペプチド配列の 92 残基と一致した。さらに PCR で本遺伝子全体をクローン化した。遺伝子全体を含むクローンで、マンナナーゼ活性が認められたことより、本遺伝子を *F. mortiferum* の β -1,4-マンナナーゼ遺伝子と断定した。

1)平成 10 年度 日本農芸化学会 西日本支部大会 講演要旨集 p-42

枯草菌の薬剤耐性に関与する可能性のある転写制御因子の制御ターゲットの探索

D2-am7 (福山大・生命工学・生物工学) ○松岡浩史、多木陽平、吉田健一、藤田泰太郎

【目的】MarR, MerR, TetR ファミリーの HTH 転写制御因子は薬剤耐性に関与する遺伝子を制御する例が多い。そこで、枯草菌のゲノムに見出された上記 3 ファミリーに属す合計 53 制御因子の制御ターゲットと認識結合配列を同定して薬剤耐性獲得の機構の解明に挑む研究に着手した。

【方法】我々の研究戦略は、1) 各制御因子の変異株と親株のトランスクリプトームを DNA microarray によって比較し、顕著な発現変動を示した遺伝子 (転写単位) をターゲット候補として選抜、2) ターゲット候補の転写開始点を推定し、それを含む DNA 断片をプローブとしてゲル移動度シフトアッセイによって制御因子との結合を評価、3) 認識結合配列を欠失解析や DNase I footprinting 解析によって同定し、さらに結合配列の特異性を計算機的に評価する。と言うゲノム・ワイドかつシステムティックなものである。

【結果】本発表では、多剤耐性を制御する LmrA (TetR ファミリー)の制御ターゲットと認識結合配列の同定に至るデータを例に示して研究遂行の実際を述べ、その他の因子については同様に示して見出された制御ターゲットや認識結合配列、また解析進行状況を紹介する。

B. cereus 胞子形成初期における *pbp3*

および *pbp4* 遺伝子の転写制御

D2-am8

(1)九大院・生資環、(2)九大院・農)

○奥園敦子 1)、宮本敬久 2)、本城賢一 2)、
飯尾雅嘉 2)

[目的]

ペニシリン結合タンパク質(PBP)は細菌の細胞壁やセプタの主成分であるペプチドグリカンの合成に関与する酵素群である。本研究では、*B. cereus* の胞子形成初期機構の機能解明を目的として、*pbp3* および *pbp4* 遺伝子の発現制御機構について検討した。

[方法および結果]

まず、対数期および胞子形成誘導後の *B. cereus* ts-4 菌体から経時的に RNA を調製し、RT-PCR およびサザンハイブリダイゼーションにより *pbp3* および *pbp4* 遺伝子転写量の変化を調べた。その結果、*pbp3* は胞子形成誘導後 2 時間目には転写量が減少したが、4 時間目以降一定量の転写産物が検出された。また、*pbp4* は 6~8 時間目に転写量が増加した。次に、各 *pbp* 遺伝子の転写制御因子を検出するため、胞子形成誘導後、経時的に *B. cereus* ts-4 菌体から抽出したタンパク質と各 *pbp* 遺伝子上流領域を含む DNA 断片を用いて、DNase I フットプリント法により分析した。その結果、各 *pbp* 構造遺伝子の約 250 bp までの上流部と特異的に結合する転写制御因子は認められなかった。今後、シグマ因子についても検討する予定である。

Salmonella enteritidis の加熱損傷・回復時の
遺伝子の発現と機能

D2-am9

(1) 九大院・生資環、(2)九大・農、(3)九大
院・農

○橋本佳和 1)、小林弘司 1)、元松藍 2)、
宮本敬久 3)、本城賢一 3)、飯尾雅嘉 3)

[目的] 食品中の細菌は、貯蔵および加工中に種々のストレスを受け損傷している。損傷菌は選択培地で増殖させることが出来ないため、検出する際には栄養豊富な非選択培地で十分培養し、損傷から回復させる必要がある。しかし、回復に時間がかかり、回復が不十分であると菌数を過小評価してしまう恐れがある。本研究では食中毒菌を迅速かつ確実に検出するため、*Salmonella enteritidis* (SE) の加熱損傷菌を用いて、回復機構について検討した。

[方法および結果] 非加熱、加熱直後、液体培地中で回復 1 時間目の菌体からそれぞれ調製した total RNA から、RT-PCR により *Escherichia coli* および *S. typhimurium* で知られている、42 種の加熱ストレス誘導遺伝子転写産物の検出を試みた。その結果、回復時に *clpB*, *dnaJ*, *mopA*, *fisJ*, *gapA* など、19 種の遺伝子の転写量が増加した。また、同様に 46 種の酸化ストレス誘導遺伝子についても検討した結果、回復時には *ahpC*, *grxA*, *katG*, *zwf*, *dinF* など 12 種の遺伝子の転写量が増加した。これらの結果と、同処理後の菌体から調製したタンパク質の二次元電気泳動パターンを比較した。

コレラ菌逆転写酵素遺伝子の機能解析

D2-am10

広島大・院・生物圏・食品衛生学

○橋元礼子、松尾真介、島本 整

【目的】細菌逆転写酵素は、msDNA (multicopy single-stranded DNA) と呼ばれる RNA-DNA 複合体の合成に必須の酵素である。*Vibrio cholerae* では、流行性コレラの原因となる血清型 O1 と O139 のコレラ菌にのみ逆転写酵素が存在している。このことは、*V. cholerae* の病原性と逆転写酵素の機能との間に何からの関係があることを示唆している。本研究では、逆転写酵素の機能を明らかにすることを目的として逆転写酵素欠損変異株を利用した解析を行った。【方法】95 種類の炭素源の資化能を同時に調べることでできる Biolog システムを利用して O139 コレラ菌の野生株と逆転写酵素欠損変異株との違いを調べた。また、differential display 法を利用して両者で発現量の異なる遺伝子を調べた。【結果と考察】逆転写酵素欠損変異株では、cis-aconitate の資化能が失われており、その他に D-alanine, D-galactose, L-histidine でも資化能の低下が見られた。これまでに differential display 法によって catalase/peroxidase 遺伝子や nitrogen regulatory protein PII 遺伝子などが変異株で発現量の低下する遺伝子として同定されている。現在、両者の関連性を調べている。

歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* から分離したプラスミドの解析

D2-am11

阿座上弘行、○秋道宏美、臼井将勝、加藤昭夫 (山口大・農・生物機能)

Eikenella corrodens は歯周病患者の病変部から頻繁に分離され、無菌動物への単一感染により歯周炎を惹起することが確認されている歯周病原性細菌である。本菌の病原性は菌体表層のレクチンによるものであるとされている。また、一般に本菌はその名の由来の通り、固体培地上で培地に食い込むような(corroding)コロニーを形成する。1073 株は重度歯周病患者から分離された株であるが、多くの株に比べ強いレクチン活性を有し、non-corroding なコロニーを形成する。本研究では、1073 株からプラスミド DNA が見つかったので、その解析を行い、病原性との関係について考察した。

1073 株から総 DNA を得て電気泳動にて観察したところ、プラスミド DNA の存在が確認された。この約 8 kb のプラスミド DNA を単離し、pMU1 と命名した。また、1073 株を含む 7 株から総 DNA を抽出し、pMU1 をプローブにサザン解析を行ったところ、H.U 株に pMU1 と相同なプラスミド DNA の存在が確認された。H.U 株は重度髄膜炎患者から分離された株である。pMU1 の全塩基配列を決定したところ、トマト青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* の病原性に関与するプラスミド pJTPS1 と類似していることがわかった。また、線毛遺伝子特異的に組換えを起こすリコンビナーゼに相同な遺伝子などが見つかった。

発現を指標とする放線菌遺伝子クローニングベクターpTRA502の構築
D2-am12 岡山大・農・生物資源化学
○山本さや香、田村 隆、田中英彦、
稲垣賢二

【目的】放線菌 *Streptomyces incarnatus* が生産するヌクレオシド系抗生物質シネフングインの生合成酵素の遺伝子クローニングを行うために、これまで pKU110 ベクターを用いてきた。しかし pKU110 のテオストレプトン耐性遺伝子(*tsr*)はメチラーゼを発現しており、メチル化阻害活性を示すシネフングインの発現ベクターとして不適切であったので *tsr* をネオマイシン耐性遺伝子 *aphI* に置換した新規プラスミドベクターの構築を行った。

【方法と結果】pKU110のクローニングサイトと大腸菌 *ori*を含む断片(約4.5 kb)と放線菌用ベクターpIJ680の *aphI*を含む断片(約3.5 kb)をそれぞれ調製し、ライゲーションを行った。これを *E.coli* DH5 α に形質転換し、得られた形質転換体からプラスミド抽出を行った。また、得られたプラスミドベクターの制限酵素地図の作成を行った。さらにこのプラスミドの大腸菌及び放線菌でのネオマイシン耐性について検討した結果、大腸菌ではネオマイシン耐性が示されず、*aphI* プロモーターが放線菌でのみ働くことが示された。

S. azureus 溶原性ファージ SAT2 の部位特異的組換え機構に関する研究⁽¹⁾ 九大院・農・遺資工、⁽²⁾ 崇城大・工・応微工)
D2-am13 ○平山直樹¹⁾、山田修司¹⁾、緒方靖哉²⁾、土居克実¹⁾

【目的】*S. azureus* 野生型株 PK0 の固体培地上で形成される自然誘発性 pock (S pock)中にはファージ SAT2 粒子が検出され、S pock 形成への関与が推察された。本研究は、SAT2 の宿主染色体中への組込み機構を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】S pock の発生している固体培養菌叢から SAT2 ファージを抽出した。次に、本ファージ DNA を抽出し、宿主である PK0 株の DNA とのサザンハイブリダイゼーションを行ったところ、宿主ゲノムに部位特異的に組込まれていた。次に、SAT2 の宿主域を検討したところ、*S. azureus* の他に *S. ambofasciens* に対して感染能を示した。さらに、組込み配列を保持する PK0 株に対しても感染能を有していたことから、SAT2 は免疫非感受性であると推定した。ファージ粒子より精製した SAT2 DNA は、全長約 55kb で 3' 突出末端を形成する *cos* 配列を有していた。また、本ゲノム上には *S. laurentii* のプラスミド pSLS の *int* と非常に高い相同性を示す *int* 遺伝子が座乗していた。

Yamada et al. (2003) Biosci. Biotech. Biochem., 67, 797-802

S. azureus の DNA 転移に機能する遺伝子の時空間特異的発現機構⁽¹⁾ 九大院・農・遺資工、⁽²⁾ 崇城大・工・応微工)
D2-am14 ○土居克実¹⁾、大山由紀子¹⁾、小島美樹¹⁾、木久山礼憲¹⁾、緒方靖哉²⁾

【目的】*S. azureus* の接合性プラスミド pSA1.1 上の *spi* は菌糸間伝達および孢子形成阻害に機能している。本遺伝子産物は DNA translocase に属し、その発現時期、局在性に特異性が推定された。本研究では、*spi* の発現制御機構を時空間的に解明することを目的とした。

【方法・結果】まず、*spi* の遺伝子量を調節し、リプレッサーによる制御の有無による発現量及び宿主生育に及ぼす影響を検討した。その結果、*spi* が多コピー存在し、リプレッサー非存在下では宿主の生育及び形態分化が著しく阻害された。一方、低コピーかつリプレッサー存在下では、阻害の程度は低かった。

次に *spi* の発現時期、発現箇所を、EGFP をレポーターとした共焦点レーザー顕微鏡観察および蛍光光度計によって検討した。この結果、*spi* は基底菌糸伸長時・気菌糸形成時より発現が開始され、宿主の生育を阻害し、セプタ形成時に次いで前孢子形成時に著しく発現量を増して孢子形成を阻害していると推定された。さらに、*spi* は菌糸内で均一に発現されるが、前孢子形成時には局所的に大量発現されて孢子形成を阻害することが示唆された。

DGGE 法と T-RFLP 法による微生物群集構造の解析
D2-pm1 ○金 亨、山根隆正、柴田 均、澤 嘉弘(島根大・生資・生命工)

【目的】近年、環境微生物の群集構造を評価するために、分子系統学的手法が盛んに用いられるようになってきた。分子系統学的手法として、DGGE 法(denaturing gradient gel electrophoresis)と T-RFLP 法(terminal restriction fragment length polymorphism)の二種がよく用いられているが、いずれの方法も問題があり、完全なものではない。本研究は、これら二種の方法をそれぞれ最適化後、比較併用することにより、微生物群集構造の評価を行うことを試みたものである。

【方法と結果】微生物群集構造解析のために、廃水処理における多段土壌のさまざまな土壌サンプルから MO BIO UltraClean Soil DNA kit を用いて DNA を抽出した。土壌微生物を含むさまざまな微生物種から 16S-rDNA のほぼ全領域をクローニングし、それぞれのクローン化 DNA をテンプレートとしてプライマーの設計、T-RFLP 法及び DGGE 法のための最適 PCR 条件、DGGE 法の泳動条件、T-RFLP 制限酵素の組合せなどの最適化条件を検討した。

かつお節の製造に関するかびの分離と 18 S rRNA 遺伝子を用いたかびの同定

D2-pm2 (1)阿多病院、2)野口病院、3)鹿大・水産・資利科、4)鹿純女大・健栄) ○林 葉子 1)、植崎真由 2)、吉川 毅 3)、坂田泰造 3)、瀬戸口賀子 4)

【目的】鹿児島県の的場水産(株)では、かつお節を製造する際、かび付けを3回行っている。そこで、かび付け段階ごとにかびを分離し、顕微鏡による観察を行い、18S rDNA 塩基配列を用いた分子系統解析によりかびを同定することを目的とした。

【実験方法】かび付け中のかつお節の表面に、フードスタンプ培地を軽く押し付け、付着しているかびを採取し、ポテトデキストロース培地で単離した。その後、得られたかびのDNAを精製する方法として、海砂-Proteinase-SDS法と液体窒素粉末法を用いて比較し、その18S rDNA 塩基配列によって分子系統解析を行った。

【結果】かびのDNAを2種類の方法で精製した結果、液体窒素粉末法の方が、海砂-Proteinase-SDS法に比べ、低分子化していないDNAが得られた。また、一番かび付けの段階で単離したかびについて18S rDNA 相同性検索を行ったところ、子囊菌類の *Eurotium herbariorum* と高い相同性を示した。

糠床中に棲息する優勢菌の分子生態学的解析 ○田中英俊 1)、中山二郎 2)、安藤瑞起 1)、大上和敏 3)、酒井謙二 3)、森口充暲 3)、園元謙二 2) (1)九大院生資環・生機科、2)九大農院・生機科、3)大分大工)

【目的】北部九州地方に伝わる小笠原藩ゆかりの糠床は、長期間その品質が安定している。過去の研究より、糠床中のバクテリオシン生産乳酸菌が菌叢の安定に関与していると推察されているが、これらの糠床中の細菌叢を網羅的に解析した報告はない。本研究では16S rDNA/RNA を培養せずに検出する方法であるPCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) および、FISH (fluorescence *in situ* hybridization) を用いて糠床中の細菌叢解析を行った。

【方法・結果】まず生糠に熟成糠床を5%添加し醗酵を開始した。4日毎にサンプリングを行い全細菌のゲノムDNAを抽出、PCR-DGGE法により熟成の経時変化をモニタリングした。その結果、12日以降に *Lactobacillus acetotolerans* と高い相同性を示すバンドが検出され、この細菌が糠床の熟成に関与していることが示唆された。この細菌は *L. acetotolerans* で報告される方法では培養できなかった。次に *L. acetotolerans* 特異的プローブを構築しFISH法を用いて検出を行った。その結果 *L. acetotolerans* 様細菌が糠床中で、優勢な細菌として存在することが示唆された。

ステビア抽出液の低 pH 値を与える乳酸菌の同定およびその無菌種子に対する効果

D2-pm4 福岡農業高・専攻科・微生物工
○岡本啓湖、山口澄華

[目的] *Stevia rebaudiana* Bertonii の茎を主原料にした熱水抽出発酵液(ステビア抽出液)は農業資材として利用され、梨の糸状菌による紋羽病に対する治療効果が農場で確認されている。本研究では低 pH 値を有するステビア抽出液に酸生成菌の存在が示唆されることから酸生成菌の分離・同定を試みた。また根の切片には酸成長が観察されることから、低 pH 値を有するステビア抽出液の種子に対する発根促進効果について調べた。具体的には、(1) GYP 白亜寒天培地を用いて酸生成菌の純粋分離を、生化学的特性試験、および16SrRNA 遺伝子全塩基配列により酸生成菌の同定を行う。(2)低 pH 値の種子に対する発根促進効果を以下の方法で調べる: 発根・発芽率が70%である月齢11ヶ月の滅菌グレートレーク種子を、低照度下でステビア抽出希釈液に0.8%寒天を加えた培地上での発根を対照の素寒天培地と比較する。[結果] (1) 酸生成菌は単一の乳酸菌で、*Lactobacillus pentosus* または *Lactobacillus plantarum* のいずれとも1塩基ずつ相違する新たな乳酸菌 *Lactobacillus sp* であることが判明した。(2)低 pH 値(pH4.68)の高月齢種子の発根・発芽率が対照(素寒天培地)に比べ143%に増加し、ステビア抽出液に酸成長効果が得られた。

Antimicrobial Activity of Lactoperoxidase System against *Salmonella enteritidis* in Associated Food Products
D2-pm5 (香川大・農・食糧化学) ○Touch Visalsok、早川 茂、山田 聡、金子創一

Lactoperoxidase was used to catalyze SCN^- in the presence of H_2O_2 as a component of antimicrobial system (OSCN/HOSCN) to inhibit the growth of microorganism. Purified lactoperoxidase from raw skim milk was determined the antimicrobial activity against *Salmonella enteritidis* in several foods, including carrot and tomato juices, UHT milk, liquid whole egg and chicken skin extract.

The antimicrobial effects of the system against the tested microorganism were found to be more effective in vegetable products than in animal products, at low pH than at nearby neutral pH, at higher temperatures than at lower temperatures, and stressed cells than non-stressed cells while being enhanced by chloride and polyphosphate salts. It is concluded that the lactoperoxidase system could be effectively used to prevent the growth and survival of *Salmonella* in minimally processed vegetable products, while a combination with other preservatives or treatments is necessary for the system to effectively inhibit their eventual growth and survival in animal products.

Lactococcus lactis QU5 株が生産するバクテ
リオシン (1) 九大院生資環・生機科、
D2-pm6 2) 九大農院・生機科) ○富士田浩二 1)、
一政士郎 1)、古賀祥子 1)、善藤威史 1)、
中山二郎 2)、園元謙二 2)

【目的】乳酸菌が生産するペプチド性抗菌物質である
バクテリオシンは安全な天然由来の食品保存料として
の利用が期待されている。本研究ではトウモロコシか
ら単離した乳酸菌が生産するバクテリオシンの精製お
よび構造解析を行った。

【方法と結果】バクテリオシンの検定菌として 12 種類
のグラム陽性細菌を用いた結果、様々な抗菌スペクト
ルを示す菌株が 14 菌株得られた。そのうち、広い抗菌
スペクトルを示した菌株について更なる研究を行っ
た。16S rDNA 配列により本菌株は *Lactococcus lactis* と
同定され、*L. lactis* QU5 株と命名した。本菌株が生産す
るバクテリオシンをアセトン沈殿、陽イオン交換クロ
マトグラフィー、逆相 HPLC により精製し、その分子
量は MALDI-TOF MS において 5942 であった。特に
Bacillus, *Enterococcus*, *Listeria* 属細菌に対して強い活性
を示す新奇バクテリオシンの可能性が示唆された。ア
ミノ酸配列決定のためにエドマン分解を行ったが、進
行しなかった。そこで、プロテアーゼおよび化学試薬
によって断片化し、そのアミノ酸配列を得ることを検
討している。

ランチビオティック nukacin ISK-1 自己耐
性機構の解析

D2-pm7 (1) 九大院・生機科、2) 九大農院・生機
科)
Nguyen Thi Bich Phuong 1)、○麻生祐司
1)、金政庸平 1)、永尾潤一 1)、古賀華子 1)、
奥田賢一 1)、中山二郎 2)、園元謙二 2)

【目的】*Staphylococcus warneri* ISK-1 はランチビオティ
ック nukacin ISK-1 を生産する。nukacin ISK-1 生合成遺
伝子群は *nukAMTFEG* および機能不明な *orf1*、*orf7* より
なると推定される。*orf7* は自己耐性タンパク質をコード
すると推察される *nukFEG* の下流に存在するとともに、
膜貫通ドメインを有するタンパク質をコードすること
から自己耐性への関与が推測される。そこで本研究で
は、*orf7* の機能解析を行った。

【結果】nisin 誘導型プロモーターにより発現を制御す
る nisin controlled expression (NICE) system を用いて
nukFEG-orf7、*nukFEG*、*orf7* をそれぞれ *Lactococcus lactis*
NZ9000 で発現させ、nukacin ISK-1 に対する耐性能の変
化を調べた。その結果、3 株の中で *nukFEG-orf7* を発現
させた株が最も高い耐性能を示した。よって *orf7* は
nukFEG と共に nukacin ISK-1 の自己耐性に関与するタン
パク質をコードしていると示唆された。現在は、他の
ランチビオティックである nisin や lactacin 481 の自己耐
性遺伝子と *orf7* を共発現させ、各ランチビオティック
に対する耐性能を調べることで、さらに詳細に *orf7* の
機能解析を行っている。

福山壺酢の仕込み方法と発酵過程におけ
る遊離アミノ酸の変化

D2-pm8 (1) 鹿児島放送、2) 伊敷保育園、3) 鹿純女
短・食、4) 坂元醸造(株)・福山研、5) 鹿
純女大・健栄) ○相生衣理 1)、岩下祥子 2)、
大田由美子 3)、橋口和典 4)、長野正信 4)、
瀬戸口賀子 5)

【目的】鹿児島県福山町にある坂元醸造(株)では、
温暖な気候と良質な水を利用し、1 つの壺の中で糖化、
アルコール発酵、酢酸発酵が自然に進行する伝統的な
手法で福山壺酢を製造している。この発酵過程で微生
物の総菌数と菌叢、グルコース量、エタノール量、酸
度、総窒素量および含有遊離アミノ酸がどのように変
化するか、秋仕込みと春仕込みの壺酢について比較す
ることを目的とした。

【実験方法】平成 11 年 10 月の秋仕込み、平成 12 年 5
月の春仕込みの壺酢を、それぞれ経日的に採取した。

【結果】総菌数については、仕込み後 30 日目に、秋仕
込み壺酢が春仕込みものの約 1.8 倍であった。また乳酸
菌は、春仕込みの壺酢は 30 日目まで、秋仕込みは 150
日目まで確認された。さらに秋仕込み壺酢の乳酸菌は
コロニー形状から、φ1mm(球)の A 群、φ2mm(桿)
の B 群 2 種類に分けられ、仕込み後 15、60 日目には A、
B 群共に確認されたが、90 日目以降は B 群のみであっ
た。含有遊離アミノ酸は 90 日目までは増加したが、そ
れ以降は一定の値を示した。

福山壺酢の発酵過程における微生物の分離と同
定 (1)

D2-pm9 (1) 鹿純女大・健栄、2) 鹿純女短・食、3) 特養
老ホームあけぼの、4) 中山クリニック、5) 坂元
醸造・福山研、6) 鹿大・水産・資利科) ○木原
由代 1)、元山奈緒子 2)、柳田由希子 3)、二川真
由 4)、橋口和典 5)、藤井 暁 5)、長野正信 5)、
吉川 毅 6)、坂田泰造 6)、瀬戸口賀子 1)

【目的】福山壺酢は米のみを原料とし、屋外に置いた
壺の中で発酵・熟成が進む、伝統的な壺造りの米酢で
ある。その発酵過程に従い微生物を分離し、16S、18S
rDNA の塩基配列を決定して多重整列相同性検索を行う
ことで、微生物の動態変化を調べることを目的とした。

【実験方法】平成 12、13 年の秋仕込み壺酢において、
壺酢を経日的に採取し、単離した微生物について 16S、
18S rDNA の塩基配列を決定して、相同性検索及び系統
樹の作成を行った。

【結果】相同性検索より、酵母は仕込み後 8~30 日
目に *Saccharomyces cerevisiae*、*Pichia membranifaciens* の 2
種、乳酸菌は 4~90 日目に *Lactobacillus plantarum*、
L. kefir、*L. lactis*、*Leuconostoc pseudomesenteroides* など
の 8 種、酢酸菌は 30~150 日目に *Acetobacter tropicalis*、
A. pasteurianus、*A. intermedius* など 5 種が同定された。

福山壺酢の発酵過程における微生物の分離と同定 (II) —特に乳酸菌について—

D2-pm10 (1)鹿純女短専攻・食、2)坂元醸造(株)・福山研、3)鹿大・水産・資利科、4)鹿純女大・健栄) ○小牧真悠子 1)、橋口和典 2)、藤井 暁 2)、長野正信 2)、吉川 毅 3)、坂田泰造 3)、木原由代 4)、瀬戸口賀子 4)

【目的】福山壺酢では仕込み当日から長期にわたり種々の乳酸菌が観察される。発酵過程に従い乳酸菌を分離し、動態変化を調べることを目的とした。

【実験方法】平成 14 年秋仕込み壺酢から、試料を経日的に採取し、単離した乳酸菌について糖類発酵性試験、ガス発生の有無、生育温度の違いから分類(BERGEY'S MANUAL 参照)し、16S rDNA 塩基配列の相同性検索及び系統樹の作成を行った。

【結果】糖類発酵性試験、ガス発生、生育温度及び 16S rDNA 相同性検索より、高頻度出現菌の動態変化を調べると、1 日目のみに *Pediococcus pentosaceus* 12/50 株(本菌株/分離菌株数)が観察され、14 日目は中温性 *L. plantarum* 10/24 株、広温性 *L. plantarum* 4/24 株、*L. amylophilus* 3/24 株、30 日目は中温性 *L. plantarum* 15/45 株、低温性 *L. plantarum* 6/45 株、*L. lactis* 4/45 株、60 日目は *L. paracasei* 26/35 株、*L. zae* 2/35 株、*L. plantarum* 1/45 株、90 日目は *L. paracasei* 10/39 株が観察された。

鹿児島合同大会 協賛会社一覧

アサヒビール（株）
味の素(株) 食品研究所
大塚製薬（株）
オーム乳業（株）
（株）紀文食品
キューピー(株) ファインケミカル部
熊本製粉 （株）
（株）健康家族
小鹿酒造協業組合
小城製粉 （株）
小正醸造 （株）
坂元醸造（株）
薩摩酒造（株）
サッポロビール飲料（株）
サントリー熊本工場
（株）三和化学研究所
（株）生物技術研究所 （株）イーエムアイ
関平鉱泉
（株） 大進
大鵬薬品（株）
大和製衡（株）九州営業所
タカラバイオ（株）
田苑酒造（株） 印刷所連絡スミ
鳥越製粉 （株）
ナチュラルウエイ（株）
NPO法人 フコイダン研究所
南薩食鳥（株）
日本澱粉工業 （株）
ネスレ科学振興会
（有）フジスペック
宝来化学薬品（株）
町田酒造（株）
（株）マルイ物産
南九州畜産興業（株）
南日本酪農協同（株）
明治製菓（株）
明治乳業（株）
（株）ヤクルト