

日本農芸化学会中四国支部
第18回講演会

講演要旨集

日時:2007年5月12日(土) 13時開会

場所:県立広島大学広島キャンパス

日本農芸化学会中四国支部

日本農芸化学会中四国支部第18回講演会(例会)

受賞講演・特別講演 (13:00～14:55、2143 大講義室)

2007 年度農芸化学奨励賞受賞講演(13:00～13:30)

「光合成生物におけるアスコルビン酸ペルオキシダーゼの発現調節機構と生理機能の解明」 石川 孝博 (島根大学生物資源科学部)

座長 江坂 宗春 (広島大院・生物圏科学研究科)

2007 年度支部奨励賞授与式(13:30～13:40)

2007 年度支部奨励賞受賞講演(13:40～14:25)

1. 「線虫の休眠・寿命制御機構に関する化学生物学的研究」

河野 強 (鳥取大学農学部)

座長 森 信寛 (鳥取大院・連合農学研究科)

2. 「植物糖タンパク質糖鎖の代謝機構とアレルギー糖鎖の構造・機能解析」

前田 恵 (川崎医科大学衛生学)

座長 稲垣 賢二 (岡山大院・自然科学研究科)

3. 「*Bacillus* 属細菌由来の新規環状五糖生成酵素に関する研究」

渡邊 光 ((株) 林原生物化学研究所研究センター糖質研究部門)

座長 福田 恵温 ((株) 林原生物化学研究所)

特別講演(14:25～14:55)

「木本植物からの生理活性物質の分離」

黒柳 正典 (県立広島大学生命環境学部)

座長 新美 善行 (県立広島大学生命環境学部)

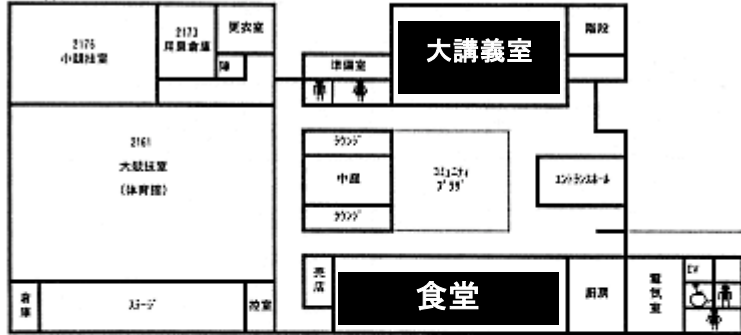
一般講演(15:15～17:30)

(A 会場 : 2313 中講義室、B 会場: 2317 中講義室、C 会場: 2321 中講義室)

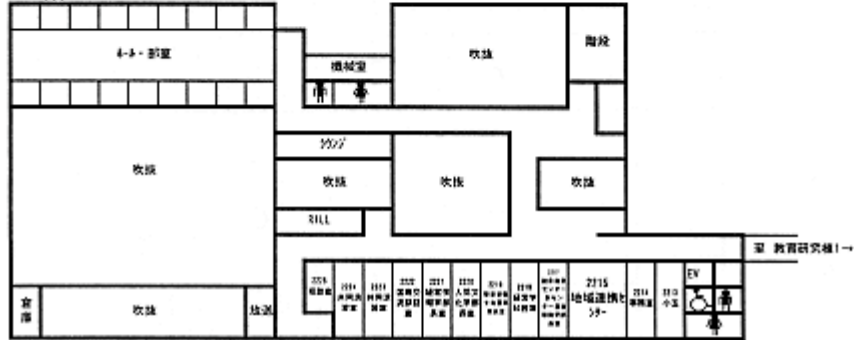
懇親会(17:45～19:00、会場: 県立広島大学広島キャンパス食堂)

広島キャンパス 教育研究棟 2

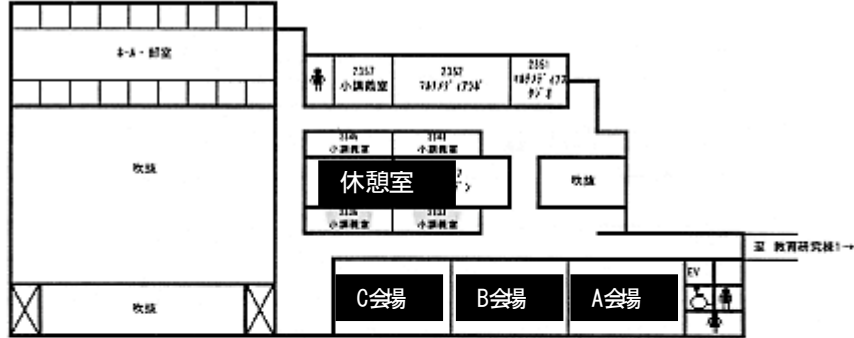
1階



2階



3階



4階



- 受賞講演・特別講演・評議員会・・・2143 大講義室
- 一般講演
 - A会場・・・2313 中講義室
 - B会場・・・2317 中講義室
 - C会場・・・2321 中講義室
- 懇親会・・・・・・・・・・・・・食堂
- 役員会・・・・・・・・・・・・・教育研究棟1(2階) 1212 会議室

一般講演プログラム (発表 10 分, 質疑 2 分)

<A 会場 : 2313 中講義室>

座長 仲宗根 薫 (近畿大工・生化)

15:15～

A 1 *Vibrio cholerae* ゲノムのレトロン領域における多様性と新規 msDNA の構造解析

○井上 旬美子¹、野邑 美歩¹、石田 洋二郎¹、篠田 純男²、島本 整¹

(¹広島大院・生物圏・食品衛生, ²岡山理大・理・臨床生命)

15:27～

A 2 好熱菌由来ビオチン生合成系酵素に関する研究 -*Thermus thermophilus* 由来 KAPA 合成酵素の遺伝子探索と酵素活性検出-

○窪田 高秋、下野 惇平、和泉 好計

(鳥取大工、生応工)

15:39～

A 3 微生物におけるセレン酸還元に関与する遺伝子の探索と解析

門脇 由希子、濱田 尚吾、○阪口 利文

(県立広島大・環境科学)

15:51～

A 4 *Acidithiobacillus ferrooxidans* の主要なポーリンをコードする遺伝子 *omp40* の発現に及ぼす環境因子の影響

○モハम्मド マンシュル、金尾忠芳、杉尾 剛、上村一雄

(岡山大院・自然・バイオ)

座長 阪口 利文 (県立広島大・環境科学)

16:03～

A 5 Functional Role of Domain III of Cry Insecticidal Proteins from *Bacillus thuringiensis*

○Mohammad Tofazzal Hossain Howlader, Yumiko Ishida, Akiko Nakaguchi, Keiko Oka, Kouji Ohbayashi, Masashi Yamagiwa, Tohru Hayakawa, and Hiroshi Sakai

(Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University)

16:15～

A 6 *Shewanella violacea* シトクロム *c₅* におけるジスルフィド結合の役割

○竹中 聖、三本木 至宏

(広大院生物圏)

16:27～

A 7 分裂酵母の複数膜貫通タンパク質局在におけるステロールの重要性

岩城 知子、○竹川 薫

(香川大・農・応用生物)

16:39～

A 8 出芽酵母における *CEN5-HIS3* 間の部位特異的組換えの効率上昇変異株の解析

○柳本 敏彰、松崎 浩明、秦野 琢之

(福山大・生命工・生物工)

座長 島本 整 (広島大院・生物圏・食品衛生)

16:51～

A 9 日本海深海環境からの有用微生物の分離

福本 健浩、○仲宗根 薫

(近畿大工・生化工)

17:03～

A 10 高度好塩古細菌 *Haloarcula japonica* RNA ポリメラーゼ全サブユニットの大量発現及びサブユニット間相互作用の解析

○松味 弘也、福本 寛明、仲宗 根薫

(近畿大工・生化)

<B会場：2317 中講義室>

座長 佐々木 健 (広島国際学院大学 バイオ・リサイクル学科)

15:15～

B 1 キウイフルーツにおける細胞壁代謝にかかわる酵素阻害タンパク遺伝子の菌エリシター応答

○橋本 和憲、入船 浩平
(県立広島大・生命環境)

15:27～

B 2 気孔の発達に関わるシロイヌナズナ遺伝子の発現制御領域の解析

○赤坂 裕也¹、川向 誠²、中川 強¹
(¹島根大・総科センター、²生物資源)

15:39～

B 3 キャピラリー型定量PCR装置による遺伝子組換えトウモロコシの定量条件の検討

○豊田 安基江¹、穂山 浩²、杉村 光永¹、坂田 こずえ²、古井 聡³、橘田 和美³、
江坂 宗春⁴、米谷 民雄²
(¹広島県立総技研保環セ、²国立衛研、³食総研、⁴広島大院生物圏科学)

座長 入船 浩平 (県立広島大・生命環境)

15:51～

B 4 シロイヌナズナにおけるアブシジン酸、ジャスモン酸メチル誘導気孔閉口シグナル伝達経路—プロテインホスファターゼ 2Aの役割—

○齋藤 直毅、中村 宜督、下石 靖昭、村田 芳行
(岡山大学大学院自然科学研究科)

16:03～

B 5 Antioxidant defense mechanisms of proline and glycinebetaine in tobacco suspension cells against salt stress-induced oxidative damage

○Md. Anamul Hoque, Mst. Nasrin Akhter Banu, Eiji Okuma, Katsumi Amako*, Yoshimasa Nakamura, Yasuaki Shimoishi, Yoshiyuki Murata
Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, *Faculty of Nutrition, Kobe Gakuin University)

16:15～

B 6 植物のプロリン生合成・代謝経路の解明と耐塩性獲得に関する研究

○高橋 裕昭、植地 洋子、立石 能子、江坂 宗春
(広大院・生物圏科学研究科)

16:27～

B 7 タバコにおけるアスコルビン酸生合成経路と生理機能の解明

○坂本 真吾、福永 一成、江坂 宗春
(広大院・生物圏科学研究科)

座長 森永 力 (県立広島大・生命環境)

16:39～

B 8 超好熱アーキア *Sulfolobus tokodaii* strain7 由来 L-アスパラギン酸オキシダーゼの X
線結晶構造解析

○浅井 一作¹、米田 一成¹、櫻庭 春彦¹、大島敏久²
(¹徳島大院・ソシオテクノサイエンス研究部、²九州大院・農学研究院)

16:51～

B 9 鉄鋼スラグを用いた光合成細菌による水質浄化と珪酸塩の溶出

○細川 雄一、川本 佑太、竹野 健次、佐々木 健、遠藤 敏郎
(広島国際学院大学 バイオ・リサイクル学科)

17:03～

B 10 発光微生物固定化チップを用いたオンサイト BOD 計測

○溝口 宏明、山崎 真博、阪口 利文
(県立広島大・環境科学)

17:15～

B 11 カキ殻アクアボールによる余剰活性汚泥の減容

遠藤 睦巳¹、竹野 健次¹、佐々木 健¹、楠 敏明²
(¹広島国際学院大学 バイオ・リサイクル学科；²(有) アクアテクノス)

<C会場：2321 中講義室>

座長 長尾 則男 (県立広島大・生命環境)

15:15～

C1 鶏卵白アルブミンのS化(熱安定化)機構の解明

○石丸 隆行、伊藤 一成、松富 直利
(山口大・農・生物機能)

15:27～

C2 L-Methionine γ -Lyaseの活性中心残基Cys116への変異導入による基質特異性の改変

○工藤 大蔵、田村 隆、岬 真太郎*、瀧本 明生*、稲垣 賢二
(岡山大院・自然科学、*塩野義製薬)

15:39～

C3 ヒト大腸癌細胞株における粘膜ムチンMUCの発現に及ぼす食品抽出液の影響

白神 俊幸
(ノートルダム清心女子大・人間生活・食品栄養)

座長 吉野 智之 (県立広島大・生命環境)

15:51～

C4 特異的細胞損傷蛋白質MM29kDの作用機構——受容体及び細胞内応答の探索——

○松村 祐介、小塚 昌弘、武部 聡¹、千 菊夫²、早川 徹、酒井 裕
(岡山大院・自然科学、¹近畿大・生物理工、²信州大・農)

16:03～

C5 食餌性ビタミンB6により大腸組織において発現変動する因子の網羅的探索

○鳥家 圭悟、大畑 智美、神田 真弓、矢中 規之、加藤 範久
(広島大院・生物圏科学)

16:15～

C6 DHA結合型リン脂質の抗血小板活性化因子(PAF)作用

○金田 輝之、久山 徹、羽田 尚彦
(備前化成株)

座長 矢中 規之 (広島大院・生物圏科学)

16:27～

C7 フードポリフェノールの薬物代謝酵素の作用に及ぼす影響

○木村 友香、伊東 秀之、波多野 力
(岡山大院・医歯薬)

16:39～

C 8 ポリフェノール類の消化管吸収動態と抗酸化活性発現の評価

○原本 真里、野地本 和孝¹、生駒 智子¹、武藤 徳男
(県立広島大院・総合学術、¹広島県大・生物資源)

16:51～

C 9 清酒醸造時に観察される酵母ミトコンドリアの形態変化の意義の解析

○北垣 浩志¹、荒木 義雄¹、船戸 耕一²、下飯 仁¹
(¹(独)酒総研、²広大院生物圏科学研究科)

17:03～

C 10 微生物変換によるオリーブ二次代謝産物の高機能化

○神崎 浩、原田 嘉広*、小林 久美*、仁戸田 照彦
(岡山大院自然, *岡山大農)

受賞講演・特別講演

講演要旨

光合成生物におけるアスコルビン酸ペルオキシダーゼ
の発現調節機構と生理機構の解明

島根大学生物資源科学部生命工学科 石川孝博

酸素発生型の光合成を行う植物や藻類は、細胞内酸素濃度が非常に高く活性酸素種 (ROS) が容易に生成する。そのため光合成生物は独自の ROS 代謝系としてアスコルビン酸/グルタチオンサイクルを発達させ、ROS 濃度を厳密に調節している。アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) は、このサイクルの鍵酵素として細胞内 H_2O_2 代謝の中心的役割を担っている。本研究では光合成生物の APX を遺伝子レベルで解析を進め、その生理機能の解明を行った。以下にその概要を述べる。

1. APX のクローン化と光合成生物間での分布

ユーグレナ APX に対するモノクローナル抗体をプローブとして植物と藻類から APX のクローン化に成功し、光合成生物における APX の分布を遺伝子発現レベルで明らかにした。植物では葉緑体、ミクロボディ、細胞質にアイソザイムが局在するのに対し、藻類ではアイソザイムは存在せずユーグレナやクロレラでは細胞質に、クラミドモナスでは葉緑体のストロマのみに局在が限られていた。APX の分布は、光合成生物間における H_2O_2 代謝機構の違いと密接に関係していることが明らかになった。

2. 選択的スプライシングによる葉緑体型 APX 発現調節機構の発見

ホウレンソウ葉緑体に局在するチラコイド膜結合型 APX (tAPX) およびストロマ可溶性 APX は、3' 末端領域の選択的スプライシングにより発現調節を受けることを発見した。遺伝子 (APX1I) 上の選択的スプライシングに関わるシス領域同定に成功するとともに、トランス因子との相互作用解析から、この選択的スプライシングは光合成組織特異的な tAPX の産生に機能していることを解明した。

3. 形質転換植物を用いた APX アイソザイムの生理機能評価

tAPX 過剰発現タバコ (TpTAP-12) は顕著な光・酸化ストレス耐性を示した。野生株との比較により、光・酸化ストレス障害の初期要因は葉緑体中のアスコルビン酸含量の低下と葉緑体型 APX の失活にあることを提唱し、TpTAP-12 の耐性能はストレス初期段階で失活した葉緑体型 APX の相補により獲得されたことを明らかにした。

細胞質型 APX の生理機能についても新たな知見を得た。APX 活性を野生株の約 75% まで低下させた細胞質型 APX 発現抑制タバコ培養細胞は、熱や塩処理による環境ストレスに対して著しい耐性能の増強が認められた。その要因はレドックス応答性キナーゼの活性化およびストレス応答性遺伝子群の発現上昇にあることから、細胞質型 APX は細胞内レドックスシグナル調節を介したストレス応答性にも機能していることを提唱した。

2007 年度支部奨励賞受賞講演

線虫の休眠・寿命制御機構に関する化学生物学的研究

鳥取大学農学部 河野 強

【背景と目的】線虫 *Caenorhabditis elegans* は生育環境の悪化に応答して一時的に生育を停止し、幼虫期で休眠する。環境要因の1つとして、線虫が分泌する休眠誘導物質が知られている。また、TGF- β 様シグナルならびにインスリン様シグナルがこの幼虫休眠を制御することが明らかになっている。さらに、このインスリン様シグナルは成虫寿命を制御することが判明しており、現在ではインスリン様シグナルによる寿命制御は動物種に共通であることが知られている。

我々は、線虫が産生する物質を機軸として休眠・寿命制御の「入力機構」を明らかにすることを目的として、インスリン様分子の同定・機能解析を行うと共に、休眠誘導物質の化学的・生物学的特性を明らかにした。

【インスリン様分子の同定】我々は、進行中のゲノムプロジェクト情報よりインスリン様遺伝子の配列を抽出し、RACE 法により全長 cDNA のクローニングを行った (Ceinsulin-1, -2, -3)。さらに、推定アミノ酸配列より高次構造をモデリングし、哺乳動物のインスリン、IGF-I との高次構造と比較した。受容体認識面の比較により、線虫のインスリン様分子と哺乳動物のものとは交叉活性がないことなどを示唆した。

【機能解析】RNA 干渉ならびに遺伝子破壊により上記インスリン様遺伝子の機能解析を行った。休眠誘導物質 (下記参照) 存在下における休眠率ならびに寿命延長条件下での成虫寿命を測定し、上記インスリン様分子はアンタゴニストとして受容体シグナルを減少させ、休眠ならびに寿命延長を誘導する可能性を示した。これは、インスリン様分子がアンタゴニストとして機能することを示した最初の例である。また、living GFP 法により時空間的発現パターンの変動を解析し、最も強力なアンタゴニストである Ceinsulin-1 の腹部神経細胞に於ける発現が寿命制御に重要である可能性を示した。さらに、Ceinsulin-1 の腹部での発現は DAF-16 (FOXO 転写因子) に依存することを示した。

【休眠誘導物質の特性】我々は、線虫が体外に分泌する休眠誘導物質の精製を進める過程で、分泌物中に成虫寿命延長活性を見出した。活性物質は分子量 1,000 程度の高極性水溶性物質であると推定される。本粗精製物は休眠誘導活性のみならず寿命延長活性を有しており、その寿命延長活性は DAF-16 に依存することを明らかにした。

植物糖タンパク質糖鎖の代謝機構とアレルゲン糖鎖の構造・機能解析

川崎医大・衛生 前田 恵

分化成長中の植物細胞には、遊離型のアスパラギン結合型糖鎖 (*N*-グリカン) が μM 濃度で存在することが知られている。本研究では、これら遊離 *N*-グリカンの機能解明研究の一環として、(1) イネ培養細胞中の遊離 *N*-グリカン及び糖蛋白質糖鎖の構造特性解析、(2) 糖鎖遊離を司るエンド- β -*N*-アセチルグルコサミニダーゼ (ENGase) の機能特性解析、遺伝子の同定と発現系の構築、細胞内及び組織分布解析を行った。また、植物アレルゲンに結合する抗原性 *N*-グリカンの免疫活性を明らかにする目的で、アレルゲン糖鎖の構造特性解析と細胞性免疫に関わる生理活性についての検索を行った。

(1) イネ培養細胞に存在する遊離 *N*-グリカンの構造特性解析

還元末端に GlcNAc1 残基有するハイマンノース型糖鎖が μM 濃度で細胞内に存在する一方、還元末端に GlcNAc2 残基を有する植物複合型糖鎖とハイマンノース型糖鎖が nM 濃度で細胞外に分泌されていることを明らかにした。このことは、二種類の糖鎖遊離酵素 (ENGase と PNGase) が局在場所と生理的意義を異にして糖鎖代謝に関与することを示すものであった。

(2) イネ ENGase の機能特性、遺伝子同定、細胞内及び組織分布解析

イネ培養細胞から ENGase を精製後、ESI-MS 分析により内部アミノ酸配列を決定し、その配列情報をもとに本酵素と高い相同性を有する機能未知遺伝子産物を割り出した。該当遺伝子を *E. coli* により発現させたところ、ENGase 活性を確認することができ、植物 ENGase 遺伝子を同定することに成功した。一方、免疫組織染色法により ENGase がイネ実生胚軸中の分裂組織の細胞質内に強く発現していることを明らかにした。以上の結果は、新生タンパク質の品質管理系における ENGase の重要な生理機能を示唆するものと思われる。

(3) 植物アレルゲンに結合する抗原性 *N*-グリカンの免疫活性

スギ花粉アレルゲン (Cry j 1, Jun a 1) に結合する抗原性糖鎖の構造特性と植物抗原性糖鎖の免疫活性についての解析を行った。その結果、これら花粉アレルゲンにはライス a エピトープを有する植物抗原性糖鎖が結合することを明らかにするとともに、植物抗原性糖鎖が Th2 細胞の IL-4 産生を有意に抑制することを見出した。

本研究を行うにあたりご指導頂いた岡山大学大学院自然科学研究科教授 木村吉伸先生、岡山大学大学院医歯薬総合研究科准教授 岡野光博先生、くらしき作陽大学講師 木村万里子先生、そして現在の上司である川崎医科大学教授 大槻剛巳先生に感謝申し上げます。その他多くの共同研究者の方々にもこの場をお借りしてお礼申し上げます。

2007 年度支部奨励賞受賞講演

Bacillus 属細菌由来の新規環状五糖生成酵素に関する研究

株式会社林原生物化学研究所・研究センター・糖質研究部門
渡邊 光

澱粉から酵素的に生成する新規オリゴ糖を検索する過程で、未知オリゴ糖を生成する活性を土壌由来細菌 *Bacillus circulans* AM7 株の培養上清中に見出した。未知オリゴ糖を単離し、構造を決定したところ、マルトペンタオースが α -1,6 結合で環状化した新規環状五糖、 $cyclo\{-\rightarrow 6\)-\alpha\text{-D-Glcp}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-Glcp}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-Glcp}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-Glcp}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-Glcp}\text{-}(1\rightarrow)\}$ であった。本糖質をイソサイクロマルトペンタオース (ICG5) と命名した。

ICG5 生成に関与する酵素を精製し、諸性質を調べた。本酵素は分子量 106.3 kDa (SDS-PAGE)、最適 pH 4.5~8.0、最適温度 50~55°C、pH 安定性 4.5~9.0、温度安定性 35°C まで (1 mM Ca^{2+} 存在下で 40°C まで) で、重合度 3 以上のマルトオリゴ糖や澱粉に作用し ICG5 を生成した。本酵素のマルトヘプタオースへの作用を経時的に観察したところ、反応初期から ICG5 の生成 (環状化反応) とともにマルトオリゴ糖単位の再配列反応 (分子間転移反応) がみられた。これらの結果から本酵素は新規なグルカノトランスフェラーゼであることが明らかとなり、イソサイクロマルトオリゴ糖グルカノトランスフェラーゼ (IGTase) と命名した。

IGTase の一次構造を明らかにするため、本酵素遺伝子をクローニングし塩基配列を決定した。本酵素遺伝子は 2,985 bp からなり、シグナルペプチド 35 残基を含む 995 アミノ酸からなるタンパク質 (分子量 105.9 kDa) をコードしていることがわかった。本酵素のアミノ酸配列中には α -アミラーゼやサイクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ (CGTase) などの間で保存されている 4 ヶ所の共通領域が存在し、本酵素は“ α -アミラーゼファミリー”に属することが示唆された。

澱粉部分分解物 15 kg から純度 99.3% の ICG5 を 2.7 kg 調製し、*in vitro* 消化性、加熱安定性、メイラード反応性などを調べた。その結果、本糖質は非還元性でメイラード反応を示さず、耐熱性に優れた難消化性糖質であることがわかった。また、環状構造をもつ本糖質は、サイクロデキストリンと同様に低分子化合物の包接作用を有しており、特に酢酸に対する包接能に優れていた。このような特徴を有する ICG5 は、新規素材として多方面での用途が期待される。

特別講演

木本植物からの生理活性物質の分離

県立広島大学生命環境学部 黒柳 正典

古くから植物はハーブあるいは生薬として人類の生活や疾病治療に広く用いられてきた。それは植物が多彩な2次代謝産物を生合成し植物体内に蓄積しているからである。現在用いられている医薬品も植物起源であったり、生理活性植物成分から誘導されたものが用いられている例が多い。合成医薬品も植物の生理活性成分をリード化合物として開発されたものが少なくない。そんな生理活性植物成分の研究は、草本植物が中心に行われてきており、木本植物に対する研究が比較的少ないのが現状である。しかしながら、含有成分の生理活性物質としての可能性には両者で基本的に差がないと考えられる。そこで、広島県を中心として採集した木本植物から生理活性成分の分離と構造研究を行った。

その結果、カヤ *Torreya nucifera*、ネズコ *Thuja standishii*、サワラ *Chamaecyparis pisifera*、トドマツ *Abies sachalinensis* からはグラム陽性細菌である黄色ブドウ球菌や枯草菌に対して抗菌活性を有するジテルペン誘導體や骨格転移したラノスタン誘導體を、チャボガヤ *Torreya nucifera* var. *radicans* からは、虫歯や歯周病の原因と考えられている口腔細菌に対して抗菌活性を持つジテルペン誘導體を分離した。

発ガンの2番目のステップであるプロモーション段階を抑制する物質をスクリーニングするために、発ガンプロモーターによりガン細胞に形質転換する BJ6 細胞を用いた抗発ガンプロモーター活性試験を指標として活性成分の分離を行った結果、カリン *Chaenomeles sinensis* からはリグナン配糖体及びトリテルペン誘導體を、エゴノキ *Styrax japonica* およびシロモジ *Lindera triloba* からはリグナン誘導體を活性成分として分離した。

強い抗酸化活性を示したハンノキ *Alnus japonica* からはビフェニルヘプタノイドが抗酸化物質として分離され、分子中のカテコール構造が活性に重要であることが明らかになった。

PC12 細胞に対する神経突起伸張活性を指標とするスクリーニングでヒノキ *Chamaecyparis obtusa* に強い活性が認められ、分離されたリグナン誘導體の一部に強い活性が認められると共に、リグナンとセスキテルペンの縮合体にも強い活性が認められた。

以上の結果、生理活性物質探索のための素材として木本植物に期待が持てることが明らかになった。

一 般 講 演
講 演 要 旨

A 1 *Vibrio cholerae* ゲノムのレトロン領域における多様性と新規 msDNA の構造解析

○井上 旬美子¹、野邑 美歩¹、石田 洋二郎¹、篠田 純男²、島本 整¹

(¹広島大院・生物圏・食品衛生, ²岡山理大・理・臨床生命)

【目的】細菌の逆転写酵素は、細胞内で multicopy single-stranded DNA (msDNA) と呼ばれる特殊な RNA-DNA 複合体の合成に必須であるが、その生理的意義は明らかになっていない。msDNA をコードする領域 (*msr-msd*) と逆転写酵素遺伝子 (*ret*) は、レトロンと呼ばれるある種の可動性遺伝因子を構成している。これまでの研究で、*Vibrio cholerae* のレトロン-Vc95 は、流行性コレラの原因菌である血清型 O1/O139 株には存在し、病原性の低い non-O1/non-O139 株には稀にしか存在していないことが明らかになっている。また、non-O1/non-O139 株のレトロン領域には、レトロンの代わりに菌株ごとに異なる長さの DNA 断片が挿入されており、多くは約 100 bp の繰り返し配列を持つことが明らかになっている。このことから、*V. cholerae* のレトロン領域は組換えのホットスポットである可能性が示唆されている。本研究では、*V. cholerae* ゲノムにおいて多様性が見られるレトロン領域に着目し、研究を行った。

【結果と考察】non-O1/non-O139 株のレトロン領域の塩基配列を決定し、O1/O139 株と比較することでレトロンのゲノム上の挿入位置を明らかにした。さらに、non-O1/non-O139 株のうち 1 株から新規の msDNA とレトロンを発見し、Maxam-Gilbert 法によって msDNA の構造を明らかにした。また、レトロンの塩基配列解析の結果、新規のレトロンは、*Salmonella* のレトロン-St85 と遺伝子構成や塩基配列も類似していることが明らかになった。そして、新たなレトロンもこれまでに知られているレトロン-Vc95 と同じ領域に挿入されていることがわかった。以上の結果は、レトロン領域が *V. cholerae* ゲノムの多様性に寄与していることを示唆している。

A 2 好熱菌由来ビオチン生合成系酵素に関する研究 -*Thermus thermophilus* 由来 KAPA 合成酵素の遺伝子探索と酵素活性検出-

○窪田 高秋、下野 惇平、和泉 好計 (鳥取大工、生応工)

【目的】ビオチンは各種カルボキシラーゼの補酵素として微生物だけでなく高等生物にとっても必須の生体内物質である。我々は最近、今まで全く報告の無い好熱菌のビオチン生合成酵素を見出した。今回、高度好熱菌 *T. thermophilus* HB8 株のゲノムデータベースでは Glycine acetyltransferase (GlyAcT) とアノテーションされている TTHA1582 がビオチン生合成系酵素の KAPA 合成酵素 (KAPA synthase) 活性を有していることを見出したので報告する。

【方法と結果】*T. thermophilus* HB8 のゲノムにコードされている TTHA1582 はバイオインフォーマティクスにおいて GlyAcT (EC: 2.3.1.29) とアノテーションされているが、我々はビオチン生合成系酵素の KAPA synthase (EC: 2.3.1.47) に対しても高い相同性 (約 50%) を示すことを見出した。そこでこれを *E. coli* 内で組換えタンパク質として高発現させ精製し、特性解明を試みた。その結果、本酵素は GlyAcT 活性だけでなく、KAPA synthase 活性も検出でき、両活性を示す初めての例であった。その至適温度および熱安定性は既知酵素と比べて最も高い値を示した。

A3 微生物におけるセレン酸還元に関与する遺伝子の探索と解析

門脇 由希子、濱田 尚吾、○阪口 利文 (県立広島大・環境科学)

【目的】近年、産業活動より排出される重金属や金属様元素の汚染、回収が問題となっている。中でも環境中に放出されたセレンの回収が望まれており、微生物の酸化還元反応によるセレン回収法が注目されている。しかし、微生物のセレン酸に対する酸化還元機構については詳細な解明がなされていない。そこで、本研究では微生物のセレン酸の代謝に関する遺伝子を新規に単離したセレン酸還元菌から探索し、セレン酸に対するプロモーター性遺伝子、酸化還元に関与する遺伝子のクローニング、解析を行った。

【方法、及び結果】まず、セレン酸に対して応答能を示す遺伝子の探索を行うため、セレン酸還元菌株のゲノム DNA をランダムクローニング法によってレポーターベクターに組み込み、セレン酸の有無で発光もしくは呈色反応を比較することで、セレン酸の有無で変化のある大腸菌 1 株 (SeP-5) を獲得した。この株から遺伝子断片の解析を行ったところ、約 6.0kbp の挿入断片が確認され、少なくとも 2 つのオープンリーディングフレーム (ORF) が存在した。そのうちひとつの ORF 上流域にプロモーター配列と思われる領域が確認された。また、ORF では、いくつかのセレン酸還元菌においてセレン酸還元に関与が示唆されているモリブデン酵素と高い相同性が確認できた。

A4 *Acidithiobacillus ferrooxidans* の主要なポーリンをコードする遺伝子 *omp40* の発現に及ぼす環境因子の影響

○モハम्मド マンシュル、金尾 忠芳、杉尾 剛、上村 一雄 (岡山大院・自然・バイオ)

鉄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* は、好酸性の化学合成独立栄養細菌である。酸性環境にさらされている外膜は、環境変化への応答において重要であると考えられる。本菌の外膜の主要なポーリンとして *omp40* タンパク質が同定されている。このポーリンは、負に帯電したイオンチャンネルを形成し、リン酸飢餓条件下の細胞内でその含量が増加することが報告されているが、リン酸飢餓以外の外部環境の変化が、*omp40* の発現に及ぼす影響については検討されていない。

omp40 遺伝子の一部をプローブに用いて、塩濃度、リン酸飢餓、培地の pH 変化が *omp40* の発現に及ぼす影響をノーザン解析によって検討した。*omp40* の発現の活性化は、リン酸飢餓細胞以外に NaCl 存在下で培養した細胞でも観察された。KCl は発現を活性化したが Na₂SO₄ は影響を及ぼさないことから、NaCl による発現の活性化は Cl⁻ によるものと推測された。また、培地の pH が 2.5 よりアルカリ側になるとその発現が活性化されることが明らかとなった。

A 5 Functional Role of Domain III of Cry Insecticidal Proteins from *Bacillus thuringiensis*

○Mohammad Tofazzal Hossain Howlader, Yumiko Ishida, Akiko Nakaguchi, Keiko Oka, Kouji Ohbayashi, Masashi Yamagiwa, Tohru Hayakawa, and Hiroshi Sakai

(Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University)

Cry1C, one of lepidopteran-specific crystal proteins from *Bacillus thuringiensis* exhibits potent cytotoxicity against Sf9, an insect cell line from *Spodoptera frugiperda*. Cry1Aa and Cry4A which are lepidopteran- and dipteran-specific crystal proteins, respectively, exhibit no cytotoxicity towards Sf9 cells. When the domain III of Cry1C was replaced by the domain III of Cry1Aa or Cry4A, the resulting hybrid Cry1C proteins maintained the cytotoxicity to Sf9 cells, indicating that domain III of Cry1C can be functionally replaced from other Cry proteins which are closely or distantly related to Cry1C. It also suggested that domain III was not concerned with the specificity in recognizing Sf9 cells. Interestingly, insertion of a dipeptide Pro-Gly in between the domain II and domain III rendered cytotoxicity of the resulting Cry1C hybrid proteins markedly reduced or lost. This implied that domain III was involved in maintaining a functional structure of Cry1C.

A 6 *Shewanella violacea* シトクロム c_5 におけるジスルフィド結合の役割

○竹中 聖、三本木 至宏 (広大院生物圏)

【目的・背景】 本研究の目的は、表題菌シトクロム c_5 (SVcyt c_5) に存在する SS 結合の役割を明らかにすることである。SVcyt c_5 では、Cys-59 と Cys-62 が分子内で SS 結合を形成している。相同なシトクロム c は、他の *Shewanella* 属や *Azotobacter* 属にも見られ、同様に SS 結合を持っている。しかし、この SS 結合が蛋白質の安定性や機能にどのように影響するのかは未知である。

【方法・結果】 SVcyt c_5 の Cys-59 と Cys-62 をそれぞれ Ala に置換した C59A/C62A 変異体は大腸菌で発現させた。変異体の可視吸収、円二色性、および常磁性 NMR スペクトルは、野生体と一致した。さらに、変異体の酸化還元電位も野生体と一致したことから、SS 結合が除去されても、ヘム周辺の構造や機能に影響しないことが明らかになった。しかし、示差走査型熱量計を用いて熱安定性を測定したところ、変異体は野生体に比べて変性温度が 24°C 下がるなど、安定性が低下した。その原因はエンタルピーが減少したからであり、SS 結合を形成する Cys の硫黄原子の除去により、周辺のアミノ酸側鎖の結合数が減少していることが明らかになった。

A7 分裂酵母の複数膜貫通タンパク質局在におけるステロールの重要性

岩城 知子、○竹川 薫 (香川大・農・応用生物)

ステロールは真核生物に広く保存された膜の構成成分の1つで、細胞膜上のラフトと呼ばれる区画に高密度に存在している。エルゴステロールやスフィンゴ糖脂質などが高密度で局在するラフトが最近になって出芽酵母にも存在することが報告され、膜タンパク質を組み込んでオルガネラ間の輸送やシグナル伝達に関与している可能性が報告されている。一方、分裂酵母も主要なステロールはエルゴステロールであることがわかっているが、その生合成機構や生理的役割についてはほとんど知られていない。そこで分裂酵母ゲノムデータベースから出芽酵母のエルゴステロール合成系遺伝子(*ERG* 遺伝子)と相同性の高い遺伝子を同定し、遺伝子破壊株を取得して解析を行った。その結果、分裂酵母 *erg6*, *erg2* などの遺伝子破壊株は確かにエルゴステロールが検出されないことを確認した。分裂酵母 *erg6* 破壊株はシクロヘキシミドやスタウロsporinなどの薬剤には感受性を示すが、アンホテリシンBやナイスタチンなどのポリエーテル系抗生物質には高い耐性を示した。分裂酵母 *erg6* 破壊株は液胞タンパク質輸送やエンドサイトーシスなどには異常を示さないが、細胞膜局在 ATPase である Pma1 タンパク質やアミノ酸トランスポーターなどの細胞膜への局在が野生株とは異なることが明らかになった。この結果から分裂酵母細胞膜タンパク質もその局在にはエルゴステロールが重要な役割を果たしていることが示唆された。

A8 出芽酵母における *CEN5-HIS3* 間の部位特異的組換えの効率上昇変異株の解析

○柳本 敏彰、松崎 浩明、秦野 琢之 (福山大・生命工・生物工)

我々は、染色体の核内収納メカニズムを、*S. cerevisiae* の *CEN5-HIS3* 間の組換え効率が上昇した HCH6 変異株を用いて解明しようとしている。HCH6 変異株は、温度感受性で、染色体の核内配置と cell integrity に異常を示し、核内配置と細胞質内配置の間にクロストークが存在する可能性が示唆された。まず、HCH6 株の変異の原因遺伝子を解明するために cell integrity 経路で働く遺伝子の破壊株の温度感受性を調べた。その結果、*mpk1Δ*株、*ssd1Δ*株、および *bck1Δ*株の3株が温度感受性を示した。これら3株のうち、*ssd1Δ*株のみが HCH6 変異株と交雑しても温度感受性を回復しなかった。また、HCH6 変異株に野生型 *SSD1* 遺伝子を導入することで温度感受性が回復した。これらの結果から、*SSD1* が HCH6 株の変異の原因遺伝子であると考えられた。さらに、組換え効率は、HCH6 変異株に *SSD1* を導入した株では低下し、また、野生株で *SSD1* を破壊した株では上昇したことから、*SSD1* が核内配置にも関与していることが示唆された。今後、HCH6 変異株と *ssd1Δ*株における核内構造体の配置から *SSD1* の染色体核内配置への関与を明らかにしたい。

A 9 日本海深海環境からの有用微生物の分離

福本 健浩、○仲宗根 薫 (近畿大工・生化工)

過去 20 年間ほどの潜水艇の世界的な開発により、深海由来の様々なサンプルの入手が容易になり、それらサンプルから様々な微生物の分離が試みられている。本研究では、日本海奥尻海嶺の水深約 3500m からしんかい 6500 によって採取された深海底泥を用い、幾つかの有用微生物の分離を試みた。

本深海底泥より、プロテアーゼ生産菌、アミラーゼ生産菌、またそれら両方の特徴を有する微生物、さらに *Paenibacillus* 属細菌(窒素固定菌)微生物を単離し、それら性質について実験を行った。単離された微生物の相対的酵素活性(8°C、16°C、30°C、37°C、50°C等)、顕微鏡観察、世代時間の測定(0°C、5°C、10°C、20°C、30°C、37°C、45°C)を行い、これら微生物を低温細菌(好冷菌、耐冷菌)や中温細菌への分類を試みた。現在 16SrRNA 遺伝子を指標とした微生物の遺伝子解析も行い、得られた遺伝子情報に基づいた系統樹を作成し、分離菌株の系統関係について解析中であり、これら結果についても併せて報告する。

A 10 高度好塩古細菌 *Haloarcula japonica* RNA ポリメラーゼ全サブユニットの大量発現及びサブユニット間相互作用の解析

○松味 弘也、福本 寛明、仲宗根 薫、(近畿大工・生化)

高度好塩古細菌 *Haloarcula japonica* TR-1 株は、生育の至適塩濃度が 20%の *Haloarcula* 属に分類される古細菌である。一般的に好塩微生物の持つ遺伝子は、高濃度の塩存在下で制御される遺伝子群が示唆されているものの、その詳細な研究例は少ない状況にある。このような背景から、好塩微生物の遺伝子発現機構の解明、また遺伝子発現システムの応用として耐塩性・好塩性酵素の生産を目指し、そのスタートとして RNA ポリメラーゼの全サブユニット遺伝子のクローニングを開始した。

本菌株のサブユニット数は、真核生物と同程度で、10 種以上のサブユニット遺伝子により構成されていることが明らかとなり本研究では、まず本菌株 RNA ポリメラーゼ試験管内再構成を目的とし、全サブユニット遺伝子の高発現ベクターの構築を行い、大腸菌における高発現実験を行った。RNA ポリメラーゼサブユニット高発現ベクターの構築においては、His-tag 精製が可能で、タンパク質発現にコールドショックを利用する pCold ベクターを用い、目的タンパク質の高発現実験を行い、Ni²⁺カラムにより精製を行った。RNA ポリメラーゼの試験管内再構成のための情報とすべく、大腸菌を用いた Two-hybrid 法により、サブユニット間相互作用を解析した。本大会では、その相互作用についても併せて報告する。

B 1 キウイフルーツにおける細胞壁代謝にかかわる酵素阻害タンパク遺伝子の菌エリシター応答

○橋本 和憲、入船 浩平(県立広島大・生命環境)

植物細胞壁の硬軟化は生長分化に伴う重要な生理現象である。ペクチンは一次細胞壁及び中層に存在し、その代謝は細胞間の接着に関わる現象に深く関わっている。ペクチンメチルエステラーゼ (PME) は、この代謝の鍵酵素として働くが、これを強く阻害するタンパク因子 (PME inhibitor; PME I) がキウイフルーツ果実より近年単離された。我々は、このタンパクの細胞壁代謝に関わる機能を明らかにするため、PME I 遺伝子を単離し、その動態を分子生理学的に解析することを試みた。これまで PME I 遺伝子のプロモーター領域を単離し、この配列中に菌エリシターに応答する配列を見いだしている。そこで本研究では、キウイフルーツ病原菌 2 種から調整したエリシター液に対する PME I 及びこれまでエリシター応答性の報告のあるポリガラクトツロナーゼインヒビター遺伝子 (PGI) を用いてリアルタイム PCR 法によりこれら遺伝子の発現応答を調べた。その結果、PME I 遺伝子の発現は、本実験で用いた 2 種のエリシターに対する応答において、両者とも明らかな誘導は観察できず、対照区との差異は認められなかった。また、これまでに病原菌エリシターに反応すると報告されている PGI では、明らかな発現増加が見られ、PGI 遺伝子の病原菌エリシターに対する誘導性がキウイ葉においても確認された。これより本実験系においては、PME I は病原菌に対する明確な応答性は発揮していないと示唆された。

B 2 気孔の発達に関わるシロイヌナズナ遺伝子の発現制御領域の解析

○赤坂 裕也¹、川向 誠²、中川 強¹ (¹島根大・総科センター、²生物資源)

気孔は植物のガス交換における重要な働きをしている。気孔は 2 個の孔辺細胞で形成されるが、シロイヌナズナにおいて気孔の分布や配置、孔辺細胞の形態に関する変異体が単離され、解析が進められている。それらのうち *TOO MANY MOUTHS (TMM)*、*STOMATAL DENSITY AND DISTRIBUTION 1 (SDD1)*、*MC79* 遺伝子はいずれも孔辺細胞系譜(メリステモイド-孔辺母細胞-孔辺細胞)で発現するものの発現タイミングは異なっており、これらの発現制御機構に興味をもたれる。そこで本研究では、孔辺細胞の発達ステージにおいてこれらの発現調節がどのようになされているのか調べるために、シス領域の同定を試みた。上記の遺伝子についてプロモーター領域のデリーションを行い、プロモーター::GFP, GUS の手法を用いて解析を行った。その結果、*TMM* では開始コドン上流 200bp のコンストラクトに到るまでメリステモイドにおける発現が観察され、*SDD1* では開始コドン上流 250bp に到るまで孔辺母細胞における発現が観察され、*MC79* では開始コドン上流 0.5kbp に到るまで各組織における発現が観察された。この領域内にシス配列が存在すると考えられた。

B3 キャピラリー型定量PCR装置による遺伝子組換えトウモロコシの定量条件の検討

○豊田 安基江¹、穂山 浩²、杉村 光永¹、坂田 こずえ²、古井 聡³、橘田 和美³、江坂 宗春⁴、米谷 民雄² (¹広島県立総技研保環セ、²国立衛研、³食総研、⁴広島大院生物圏科学)

【目的】キャピラリー型定量PCR装置(LightCycler[®]system; Roche, 以下LCS)は、ブロック型定量PCR装置とは異なり、空気を媒体として温度変化を行い、専用のキャピラリーチューブを使用する装置である。これまでにLCSによる遺伝子組換え(GM)トウモロコシの定量分析において、他の装置と有意に異なる分析結果が得られる問題点が指摘されていた¹⁾。本研究においては、抽出DNAに超音波処理と制限酵素処理の前処理を伴ったLCSによるGMトウモロコシ定量法の改良を行った。【方法】GMトウモロコシ(MON810)を試料とし、QIAGEN Genomic-tip20/GによりDNA抽出を行った。抽出DNAを超音波洗浄槽により処理を行った後、*EcoR* I 処理を行った。定量PCR反応条件は厚生労働省通知法に従い、温度条件は、前変性で95°C10分間保持後、1サイクルを95°C15秒(1°C/秒)、59°C30秒(20°C/秒)で50サイクルとした。【結果及び考察】抽出DNAと標準プラスミドDNAのそれぞれのPCR効率間で有意差が認められていたが、抽出DNAを超音波処理と制限酵素処理で前処理した結果、PCR効率間で有意差は示されなかった。従って、トウモロコシ抽出DNAの高次構造が定量値に影響を与える可能性が示唆された。抽出DNAに前処理操作を加え、確立した条件により、擬似混合粉体試料および標準試料の混入率測定を行ったところ、真度および精度の良好な測定値が得られた。1) 渡邊ら 食衛誌, 47,15-27(2006)

B4 シロイヌナズナにおけるアブシジン酸、ジャスモン酸メチル誘導気孔閉口シグナル伝達経路—プロテインホスファターゼ2Aの役割—

○齋藤 直毅、中村 宜督、下石 靖昭、村田 芳行 (岡山大学大学院自然科学研究科)

植物は乾燥ストレスにさらされると、アブシジン酸(ABA)産生が誘導される。そして、このABAは孔辺細胞内で、活性酸素種(ROS)の産生、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇、アニオンチャネルの活性化などを引き起こし、気孔閉口を誘導する。Kwakら(2002)によって、ヘテロ三量体Ser/Thrタンパク質脱リン酸化酵素(PP2A)の調節AサブユニットのRCN1がABA誘導気孔閉口シグナル伝達のポジティブレギュレーターとして、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇よりも上流で機能していることが示された。一方、ABAと同様に気孔閉口を誘導することが知られているジャスモン酸メチル(MJ)は、ABA誘導気孔閉口シグナル伝達経路のROS産生より上流でクロストークしていることが報告された。そこで、本研究ではABA、MJ誘導気孔閉口シグナル伝達におけるRCN1の役割をさらに解明することを目的とし、シロイヌナズナのRCN1遺伝子ノックアウト変異体である*rcn1*変異体を用いて実験を行った。*rcn1*変異体は、以前の報告通り気孔閉口に関してABAに非感受性を示した。また、MJにも非感受性を示すことが分かった。さらに、ROS産生量の測定により、*rcn1*変異体はABA、MJによって孔辺細胞内でROSを産生しないことが分かった。これらのことから、RCN1はABA、MJ誘導気孔閉口シグナル伝達経路においてROS産生の上流で機能していることが示唆された。

B 5 Antioxidant defense mechanisms of proline and glycinebetaine in tobacco suspension cells against salt stress-induced oxidative damage

○Md. Anamul Hoque, Mst. Nasrin Akhter Banu, Eiji Okuma, Katsumi Amako*, Yoshimasa Nakamura, Yasuaki Shimoishi, Yoshiyuki Murata

Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, *Faculty of Nutrition, Kobe Gakuin University)

Plants accumulate proline and glycinebetaine to mitigate damaging effects of salt stress. We investigated effects of proline and glycinebetaine on the growth, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in tobacco BY-2 suspension cells under salt stress. Both proline and glycinebetaine mitigated the inhibition of growth of BY-2 cells which was accompanied by an increased accumulation of proline and glycinebetaine under salt stress, and the mitigating effect of proline was more than that of glycinebetaine. Salt stress increased lipid peroxidation and decreased superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities. Exogenous proline or glycinebetaine reduced lipid peroxidation, and alleviated the reduction in catalase and peroxidase activities but not superoxide dismutase activity under salt stress. Furthermore, proline was found to be effective in reducing lipid peroxidation and alleviating the inhibition of catalase and peroxidase activities under salt stress. Neither proline nor glycinebetaine had any direct protective effect on NaCl-induced antioxidant enzyme activity. It is concluded that proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than glycinebetaine because of its superior ability to increase the activities of antioxidant enzymes and to reduce lipid peroxidation.

B 6 植物のプロリン生合成・代謝経路の解明と耐塩性獲得に関する研究

○高橋 裕昭、植地 洋子、立石 能子、江坂 宗春（広大院・生物圏科学研究科）

プロリン (Pro) は植物では塩・乾燥などのオスモティックストレス下において細胞内に大量に蓄積し、浸透圧調節を行う適合溶質として機能している。Pro は、グルタミン酸 (Glu) から中間体である Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate (P5C) を経て合成されるが、P5C synthetase (P5CS) と P5C reductase (P5CR) という酵素が触媒している。一方、Pro の代謝経路も知られており、Pro から Glu へと分解される際に proline dehydrogenase (ProDH) と P5C dehydrogenase (P5CDH) という酵素が働いている。また、Glu からの合成系の他に、オルニチン (Om) からの Pro 合成経路が存在しており、Ornithine- δ -aminotransferase (δ -OAT) という酵素が触媒し、P5C へと合成され Pro が合成される。

本研究では、タバコおよびイネ培養細胞を用いて研究を行った。タバコ培養細胞の ProDH 遺伝子を RNAi 法により抑制すると Pro 含量が増加した。Pro 高含量形質転換タバコ培養細胞は、塩およびオスモティックストレスに対して耐性を示すとともに、細胞分裂が活性化され増殖速度も増大した。この結果により、適合溶質である Pro の蓄積が塩およびオスモティックストレス耐性の獲得につながるということが明らかとなり、加えて細胞成長の促進にもつながる可能性が示された。単子葉モデル植物であるイネ培養細胞において Pro 添加時に ProDH が、NaCl 添加時に P5CR がそれぞれ発現増加した。一方、 δ -OAT、P5CDH については Pro または NaCl 添加時に発現変動はしなかった。

B7 タバコにおけるアスコルビン酸生合成経路と生理機能の解明

○坂本 真吾、福永 一成、江坂 宗春 (広大院・生物圏科学研究科)

植物におけるアスコルビン酸について、生合成経路や生理機能の解明にむけて様々な研究が行われてきているが、現在においても未解明な部分が多い。本研究で生理機能について、植物の主要アスコルビン酸生合成最終酵素である L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase(GalLDH)の発現抑制と過剰発現のそれぞれの形質転換BY-2を用い、形態学的観察を行った。その結果、過剰発現株においては細胞同士の凝集が見られ、発現抑制においては細胞形態の伸長が観察された。さらに、アスコルビン酸を培地に添加することで発現抑制株の細胞伸長が抑制される傾向がみられた。このことから、植物においてアスコルビン酸は、細胞分裂や細胞伸長といった植物の成長に影響を及ぼすこと可能性が示唆された。

次に生合成経路に関して、近年キウイから新規にクローニングされた L-galactose-1-phosphate phosphatase(GPPase)について、タバコの cDNA クローニングを行った。その結果キウイやシロイヌナズナの GPPase と高い相同性がみられ、また Inositol monophosphatase(IMP)モチーフを有していることが分かった。また懸濁培養BY-2ではアスコルビン酸と GPPase 発現とに相関が見られ、さらに GPPase 発現抑制株を解析したところアスコルビン酸含量の低下傾向がみられた。したがって GPPase はアスコルビン酸含量を制御する可能性が示唆された。

B8 超好熱アーキア *Sulfolobus tokodaii* strain7 由来 L-アスパラギン酸オキシダーゼの X 線結晶構造解析

○浅井 一作、米田 一成、櫻庭 春彦 (徳島大院・ソシオテクノサイエンス研究部)、大島 敏久 (九州大院・農学研究院)

【目的】NAD は生物が生育する上で必須の補酵素であり、その生合成経路は生物界に広く存在する。しかしながら原核生物の *de novo* NAD 生合成経路の関連酵素については構造や反応の詳細が未だ明らかにされていないものが多い。例えば、この経路の第一段階に位置する L-アスパラギン酸オキシダーゼ(LAO)は、大腸菌のみでしか構造が解かれておらず構造情報が乏しい。我々は、高い熱安定性を示す LAO が超好熱菌に存在することを既に明らかにしているが、その耐熱性に寄与する特徴は不明である。本研究では、超好熱アーキア *Sulfolobus tokodaii* strain7 に見出した耐熱性 LAO の X 線結晶構造解析を行ったので報告する。

【方法・結果】*S. tokodaii* strain7 由来 LAO 遺伝子の大腸菌における発現系を構築した。産物を、熱処理、Butyl TOYOPEARL カラムクロマトグラフィーにより精製し、シッティングドロップ蒸気拡散法で結晶化させた。X 線結晶構造解析を行い、重原子同形置換法を用いて 2.09 Å の分解能で構造決定に成功した。これは超好熱菌由来 LAO としては初めての構造解析例である。大腸菌由来の LAO と比較し、耐熱性に寄与すると考えられる特徴を解析した。

B 9 鉄鋼スラグを用いた光合成細菌による水質浄化と珪酸塩の溶出

○細川 雄一、川本 佑太、竹野 健次、佐々木 健、遠藤 敏郎
(広島国際学院大学 バイオ・リサイクル学科)

製鉄所から排出される鉄鋼スラグの有効利用のために、鉄鋼スラグを多孔質化、再焼成を行い、排水処理に用いられる光合成細菌、*Rhodobacter sphaeroides* S の凝集性変異株 (S I S) 株を用いて、アルギン酸を補助的に使用して固定化し、まず水質浄化を試みた。また、海域の藻場育成のために、栄養塩の溶出の検討を行なった。約 1x3cm の多孔質鉄鋼スラグ 5-25 個を 1L 容の容器に入れ、人工下水 800mL を注入して、通気 (1vvm) しつつ、浄化を行なった。スラグ 25 個注入したものは、約 4 日の浄化で COD は約 90% 除去された。リン及び硝酸態窒素も約 70-80% 除去された。一方、鉄鋼スラグのみ場合は、COD は約 50% しか除去されず、リンや窒素もほとんど除去されなかった。鉄鋼スラグと光合成細菌の組み合わせで、水質浄化が可能ながことが明らかとなった。さらに、海水での水質浄化機能と栄養塩溶出による藻場の育成などを念頭に、鉄鋼スラグ 5-10 個を用いて、同じように光合成細菌を固定化したものを用いて、人工海水での栄養塩の溶出を検討した。その結果、4 日で、光合成細菌固定化のスラグからは COD やリン酸塩の溶出が認められた。特に珪酸塩は鉄鋼スラグ多孔質そのものからも溶出し、光合成細菌固定化で溶出はさらに増大することが明らかとなり、鉄鋼スラグと光合成細菌の固定化担体が、高濃度に汚れた水の水質浄化ばかりでなく、比較的きれいな海域での栄養塩の供給にも効果がある可能性が認められた。

B 10 発光微生物固定化チップを用いたオンサイト BOD 計測

○溝口 宏明、山崎 真博、阪口 利文 (県立広島大・環境科学)

【目的】今日、環境浄化が社会的要望の高い技術として産業界から認知されている。環境浄化の効率的な実行、把握には汚染現場の迅速なセンシングやモニタリング技術が不可欠である。演者らは、これまで微細加工技術と発光細菌を用いた微生物アレイチップの作製を行い、BOD 計測に適したチップシステムの開発をおこなってきた。本研究では、更に同チップシステムを用いたオンサイトにおける有機汚濁 (BOD) の迅速な検出について検討し、実環境における迅速な BOD 計測の実行、公定法による値との比較を行った。

【方法、及び結果】アクリル板 (3cm x 7cm) に直径 1000 μ m (深さ 100 μ m) のホールを加工し、発光細菌をアルギン酸ゲルで固定化した。チップからの生物発光は市販のデジタルカメラなどを利用したオンサイト対応型簡易測定システムを開発し、チップからの発光を撮影した。また、ScionImage によるグレイスケール解析で発光強度を数値化し、BOD 値を決定した。このシステムを実際に様々なオンサイト環境に持ち込み、BOD 計測を行ったところ、河川や汚水処理施設など実環境 (オンサイト) での迅速な BOD 測定が可能であることが確認できた。また、公定法である BOD₅ 法による値との比較では 5% から 20% 内の誤差に留められ、公定法と同様な結果が得られた。

B 11 カキ殻アクアボールによる余剰活性汚泥の減容

遠藤 睦巳¹、竹野 健次¹、佐々木 健¹、楠 敏明²

(¹広島国際学院大学 バイオ・リサイクル学科；² (有) アクアテクノス)

活性汚泥法処理において、多量に排出される余剰汚泥の処理が問題となっている。低コストで簡便なシステムで余剰汚泥を減らす技術の開発が望まれている。一方、カキの殻は水質浄化効果があるということが経験的に知られている。本研究では、活性汚泥処理の際にカキ殻を砕き焼き固めたボール（アクアボール）を添加した場合、微生物がカキ殻ボールに吸着し、あるいは何らかの成分の作用により、活性化することによって汚泥分解を促進し、活性汚泥が減容化する可能性を検討した。4 Lの活性汚泥処理槽を試作して、人工下水を用いて、対照、カキ殻アクアボールを4個、8個添加した条件で、2週間活性汚泥を馴養化した後、汚泥減容（MLSS）と好気性微生物の比率を検討した。MLSSは対照に比べてカキ殻ボールを入れたほうが、入れる個数に対応して、約2-3割減少した。処理効率はカキ殻ボールのあるなしには影響されなかった。活性汚泥の呼吸速度を比較したところ、対照に比べてカキ殻ボールを入れた汚泥が高い呼吸速度を示した。また、活性汚泥中の一般細菌について、好気条件や嫌気条件で培養したところ、カキ殻ボールを入れたほうが、好気性で増殖する細菌が多く検出された。カキ殻ボールを入れることで、なんらかの成分が好気性細菌の優先的増殖をうながし、好気性分解により二酸化炭素に多く有機物を変換することで、余剰汚泥減容効果が向上する傾向が観察された。

C1 鶏卵白アルブミンのS化(熱安定化)機構の解明

○石丸 隆行、伊藤 一成、松富 直利 (山口大・農・生物機能)

[目的] 鶏卵白アルブミン (OVA) はアルカリ高温処理で熱安定型 (S 型) になり、変性転移点が約7°C上昇することが知られている。しかし、そのメカニズムはいまだよくわかっていない。最近、OVA はアルカリ処理 (S 化) の際に 164, 236, 320 位の Ser が D 型へ転換することが報告されている。そこで、Ser 残基を Ala に変異させ、S 化の検証を試みた。また、糖鎖やリン酸基の影響も調べた。

[操作・結果] まず、糖鎖及びリン酸基の S 化へ関与について調べた。酵母及び大腸菌発現系からの OVA (糖鎖の有無の影響)、及び卵白 OVA の脱リン酸化 OVA は、S 化で共に熱安定化していたことから、糖鎖やリン酸基は S 化の要因ではないと考えられた。次に Ser の D 型への転換に注目し、Ala に置換した S164A, S320A, S164/320 を大腸菌で発現させ、それらの S 化への変換を精査した。いずれの変異体も、その構造や変性転移は、Wild-type に匹敵していた。しかし、S 化で、Wild-type では変性転移点が9°C上昇したが、S164A や S320A では4.8°Cの上昇のみであった。一方 S164/320A の変性転移点は上昇しなかった。以上の結果から、OVA の S 化は、糖鎖やリン酸基の有無ではなく、Ser 164 及び 320 の D 型への転換が主要因であると考えられた。

C2 L-Methionine γ -Lyaseの活性中心残基Cys116への変異導入による基質特異性の改変

○工藤 大蔵、田村 隆、岬 真太郎*、瀧本 明生*、稲垣 賢二
(岡山大院・自然科学、*塩野義製薬)

【目的】 *Pseudomonas putida* 由来 L-メチオニン γ -リアーゼの立体構造が完全に解明されたことにより、活性中心のコンホメーションに関するより詳細な知見が得られるようになった。本酵素はピリドキサル5'-リン酸 (PLP) 依存性酵素で γ -ファミリーに属し、一般酸触媒能を示す Tyr114 を有している。活性中心においてさらに Cys116、隣接サブユニット由来の Lys240 及び Asp241、Arg61 残基を含む水素結合ネットワークを構成している。Cys116 への 19 種類の変異導入を行ったところ、新規基質特異性を獲得した変異酵素 C116H を得た。そこで、本変異酵素の機能についての詳細な検討を行った。【方法及び結果】 Cys116 に対して部位特異的にランダムに変異導入を行った。粗酵素抽出液を用い、 γ -脱離基質である L-メチオニン及び L-ホモシステイン、 β -脱離基質である L-システインについてその脱離活性を比較検討した。C116H は野生型と比較して L-メチオニンに対する分解活性が著しく減少し、新たに L-システインに対する活性を獲得した。また、精製酵素を用いて速度論解析を行ったところ、C116H の L-システインに対する k_{cat}/K_m 値が野生型に対して約7倍も上昇した。これは、ヒスチジン変異による活性中心の静電的環境の変化が惹起されたことが原因であると考えられた。

C3 ヒト大腸癌細胞株における粘膜ムチン MUC の発現に及ぼす食品抽出液の影響

白神 俊幸 (ノートルダム清心女子大・人間生活・食品栄養)

粘膜上皮に発現するムチン (MUC) は多くの分子種から成る糖たん白質群である。分泌型と膜結合型があり、粘膜の潤滑保護やシグナル伝達などに関わる。大腸癌における MUC 遺伝子群やそのたん白質の発現に関する過去の研究から、MUC の過剰発現 (MUC1) や発現低下 (MUC2,3,4) が癌の発症や進展に関与することが示唆された。従って、これらの発現制御が大腸癌の発症進展予防に重要であると考えられる。

近年、野菜などの食品やその成分が注目され、癌を含む生活習慣病に対する予防効果の可能性が多く報告されている。また、納豆、モロヘイヤなどのネバネバ成分に含まれるムチンは胃腸の粘膜保護に効果があると言われており、これら食品由来成分による内因性粘膜ムチンへの影響も推測される。そこで本研究では、ヒト大腸癌由来細胞株を用いて、食品抽出液が内因性ムチンの遺伝子発現に対してどのような影響を与えるか RT-PCR 法により検討した。

その結果、モロヘイヤや納豆のような粘性成分を含む抽出液のほか、ニンジンやトマトの抽出液も MUC1 や MUC3 の mRNA レベルに影響を与えることが明らかとなった。腸管ムチンの発現制御は、大腸癌などの予防・進展予防につながる可能性があるため、今後さらに多くの野菜抽出画分を検討し、その成分を同定するとともに、詳細な作用機序を調べる必要があると考えられる。

C4 特異的細胞損傷蛋白質 MM29kD の作用機構 ——受容体及び細胞内応答の探索——

○松村 祐介、小塚 昌弘、武部 聡¹、千 菊夫²、早川 徹、酒井 裕

(岡山大院・自然科学、¹近畿大・生物理工、²信州大・農)

土壌細菌 *Bacillus thuringiensis* は、菌体内に結晶性蛋白質封入体(クリスタル)を形成する。最近このようなクリスタルの中からヒトの癌細胞に損傷活性を示す蛋白質が発見され、その作用機構に関心がもたれている。

MM29kD は *B.thuringiensis* MM50G2 株が産生するクリスタルに由来する 29kDa の蛋白質であり、ヒト白血病癌細胞に対して損傷活性を示す。本研究では Jurkat 細胞の MM29kD に対する受容体と細胞内応答を探索することで MM29kD の作用機構を解明しようと試みている。

Jurkat 細胞の膜蛋白質を二次元ゲル電気泳動(2D-PAGE)によって分離し、リガンドプロット解析した結果、MM29kD と結合する複数の膜蛋白質が同定された。一方、Jurkat 細胞を PI-PLC 処理することで MM29kD に対する感受性の減少が見られたことから、Jurkat 細胞の GPI アンカー蛋白質を回収し GST ビーズに結合した MM29kD と共沈させたところ 35kDa、pI4.6~4.8 の GPI アンカー蛋白質が検出された。

また MM29kD を投与した Jurkat 細胞の細胞質画分蛋白質の経時的な変化を 2D-PAGE で解析した結果、特異的な変化を示す蛋白質が認められた。

C5 食餌性ビタミンB6により大腸組織において発現変動する因子の網羅的探索

○鳥家 圭悟、大畑 智美、神田 真弓、矢中 規之、加藤 範久(広島大院・生物圏科学)

【目的】以前、我々はビタミン B6 (B6) 摂取の増加が大腸腫瘍の発現を顕著に抑制することを見出し、さらに最近、B6 は NF- κ B や PPAR γ などの転写因子に作用し、その標的遺伝子の発現に影響を与える可能性を示した。そこで本研究では、B6 による大腸腫瘍抑制の機序の解明を目的として、食餌性 B6 が大腸における遺伝子発現に与える影響を DNA microarray 法を用いて解析し、発現量が変動する遺伝子を網羅的に探索した。【方法、および結果】4 週齢の雄性ラットに食餌性 B6 として、pyridoxine HCl を 1mg/kg、35mg/kg、および 500mg/kg を含む実験食を 5 週間自由摂取させた。抽出した大腸組織由来の mRNA 発現を DNA microarray (Agilent 社)解析を行った。食餌性 B6 によって発現量が低下する因子として、Reg4(regenerating islet-derived family, member 4)などの癌のマーカー遺伝子や、Fabp1(fatty acid binding protein 1)など脂肪代謝に関わる遺伝子を単離した。一方、6 週齢の雄性ラットに B6 欠乏食を 21 日間自由摂取させた後、35mg/kg の pyridoxine HCl を含む実験食を 4 日間自由摂取させ、同様に大腸組織由来 mRNA 発現を解析した。その解析結果についても併せて報告する。

C6 DHA 結合型リン脂質の抗血小板活性化因子(PAF)作用

○金田 輝之、久山 徹、羽田 尚彦 (備前化成株)

【目的】海洋生物であるイカには、sn-1 位に脂肪酸がアルキル結合し、sn-2 位には主にドコサヘキサエン酸(DHA)がアシル結合しているリン脂質が含まれていることが知られている。魚油にはトリグリセリドとして DHA が多く含まれており、魚油の機能性の研究は進んでいる。一方、DHA の結合したリン脂質についての研究は非常に少ない。そこで我々は、イカに含まれる DHA 結合型リン脂質に着目し、PAF の作用に対する影響について検討した。

【方法・結果】原料のスルメイカを凍結乾燥後、裁断し、エタノールで抽出を行った。さらにこの抽出物をクロロホルム：メタノール：水(80:40:30)で液々分配し、最終的にリン脂質含量 68.8%のサンプルを調製した。イカ由来リン脂質は 200 μ g/mL の濃度で PAF の受容体結合阻害活性(63%)を示した。また、PAF 惹起による血小板凝集能の抑制については 1000 μ g/mL の濃度で 55%の凝集阻害活性を示した。この結果より、イカ由来リン脂質は PAF 受容体に対して拮抗作用があることがわかった。マウスを用いた、PAF 投与による致死性の抑制についてもイカ由来リン脂質は対照物と比べて致死率の抑制効果を示した。DHA 結合型リン脂質は *in vitro* および *in vivo* においても抗 PAF 作用を有することがわかった。

C7 フードポリフェノールの薬物代謝酵素の作用に及ぼす影響

○木村 友香, 伊東 秀之, 波多野 力 (岡山大院・医歯薬)

【目的】近年、セルフメディケーションの観点から身近な食品による健康増進への新たな効能が注目されてきているが、一方でグレープフルーツとCa拮抗薬の例に挙げられるように食品成分と医薬品との相互作用により副作用が生じる問題も起きている。同様に、クランベリージュースも医薬品との相互作用が報告されているが、我々は先にその特徴的な成分のひとつであるAタイプのProanthocyanidin構造を含む高分子ポリフェノールが、*in vitro*系においてCYP2C9およびCYP3A4阻害活性を有することを報告している。今回さらに高分子ポリフェノールの代謝物である低分子フェノール酸類およびその他のフードポリフェノールについて*in vitro*によるCYP2C9およびCYP3A4阻害活性の評価を行った。

【方法】CYP阻害活性は、基質としてCYP2C9にはDiclofenac, CYP3A4にはTestosteroneを用い、それぞれの基質に各被験物質を加え、NADPH産生系存在下、37°Cで1時間インキュベーションを行った。反応溶液についてHPLC分析を行い、阻害率を算出し評価を行った。

【結果】ポリフェノールの代謝物である低分子ポリフェノール類にはほとんど阻害活性がみられなかったが、(+)-Catechin, (-)-Epicatechin, Proanthocyanidin A2, およびフラボノール類に比較的強いCYP阻害活性が認められた。

C8 ポリフェノール類の消化管吸収動態と抗酸化活性発現の評価

○原本 真里, 野地本 和孝¹, 生駒 智子¹, 武藤 徳男
(県立広島大院・総合学術、¹広島県大・生物資源)

【目的】近年、食物由来の抗酸化物質として各種ポリフェノールが注目されているが、これらポリフェノールの生体内における生物活性の評価は未だ十分に行われていない。本研究では、各種ポリフェノール類の消化管および血中における動態を検討し、生体内における生理作用の評価を行った。

【方法】ポリフェノールとして、ロスマリン酸、シアニジン 3-グルコシド、(+)-カテキンを用いた。Wistar系ラットへの胃内投与後、経時的に採血し、血清中濃度をHPLCで測定した。血中の抗酸化活性はFRAP法を用いて測定した。また、インビトロ試験における抗酸化活性はDPPHラジカル消去活性で評価した。

【結果】ロスマリン酸(100 mg/kg)や(+)-カテキン(50 mg/kg)投与において、それぞれの未変化体はラット血中に数 μ Mの濃度でしか検出されず、その吸収効率は極めて低いと推定された。このとき、FRAP法による血中抗酸化活性は上昇する傾向が認められ、ロスマリン酸より(+)-カテキン投与でより強い血中抗酸化活性がみられた。また、シアニジン 3-グルコシド(400 mg/kg)についても、その吸収効率は極めて低く、さらにアグリコンも検出されなかった。これらの結果から、ポリフェノール類の生体内における直接的な抗酸化活性への寄与は低いと示唆される。

C9 清酒醸造時に観察される酵母ミトコンドリアの形態変化の意義の解析

○北垣 浩志¹、荒木 義雄¹、船戸 耕一²、下飯 仁¹

(¹ (独) 酒総研、² 広大院生物圏科学研究科)

清酒醸造は高糖濃度、低酸素というミトコンドリアが発達しない条件であるため、これまで清酒醸造において酵母のミトコンドリアは観察されないとされてきた。しかし我々が酵母のミトコンドリアを GFP によって可視化し清酒醸造における存在・形態を観察したところ、酵母ミトコンドリアは清酒醸造の末期まで明確に観察され、またその形態は清酒醸造の中期で激しく分裂することが明らかとなった¹⁾。ミトコンドリアは呼吸を司るだけでなく各種物質の代謝やアポトーシスなどの細胞内イベントにおいても中心的な役割を持つため、清酒醸造におけるその役割を解明すれば清酒の醸造に多様な応用が期待できる。

そこで我々は酵母ミトコンドリアの分裂が清酒醸造においてどのような役割を持っているかを解析している。哺乳類においてミトコンドリアの分裂はアポトーシスの前兆であることが報告されているため、ミトコンドリアの分裂が清酒醸造においてもアポトーシスの前兆であるとの仮説を立て、酵母にエタノールを加えて各種アポトーシスマーカーを調べた。その結果、確かにいくつかのアポトーシスに典型的な表現型を示した²⁾。従って、清酒醸造において酵母はエタノールの作用によりミトコンドリアの分裂を生じ、それによってアポトーシスを起こすと考えられた。

1) 北垣ら、2007 年度日本農芸化学会講演要旨集 2) Kitagaki et al., submitted

C10 微生物変換によるオリーブ二次代謝産物の高機能化

○神崎 浩、原田 嘉広^{*}、小林 久美^{*}、仁戸田 照彦 (岡山大院自然、^{*}岡山大農)

【目的】高脂血症治療薬 Pravastatin や、我々が酵素合成した新規抗腫瘍活性物質 Dehydrophenylahistin のように、微生物酵素変換により、生理活性が増強する二次代謝産物が知られている。一方、植物中にもさまざまな二次代謝産物が含まれていることから、これらもわずかな構造変換によって高機能化されることが期待される。そこで今回小豆島、岡山牛窓地区で生産されているオリーブに注目し、その葉に含まれる二次代謝産物の微生物変換による高機能化を試みた。

【方法と結果】微生物としては供給が容易な乾燥酵母 2 種類 (パン酵母・ビール酵母) を用いた。オリーブとしてはルッカー種の葉を用い、そのエタノール抽出物の酢酸エチル可溶画分を基質として用いた。休止菌体反応 (37°C, 24 時間) により変換反応を行い、反応液の酢酸エチル抽出物を薄層クロマトグラフィーで分析したところ、パン酵母で処理した抽出物に顕著な微生物変換が認められた。この反応の詳細を ODS-HPLC で追跡し、本反応の基質と生成物をそれぞれ確認した。これら両化合物をともに分取 HPLC にて精製し、各種機器分析により構造を決定した。その結果、基質は、オリーブ中に含まれる事が知られている二次代謝産物オレウロペイン(oleuropein)の加水分解により得られる化合物であり、生成物は、その還元により生じる新規化合物であることが判明した。

日本農芸化学会中四国支部 維持会員

- (株) アプロサイエンス
天野エンザイム (株)
アルファー食品 (株)
(株) 井ゲタ竹内
池田糖化工業 (株)
(株) えひめ飲料
(株) 大愛
(株) 大熊
大塚化学 (株)
大塚器械 (株)
大塚製薬 (株)
岡山県酒造組合連合会
社団法人岡山県農業開発研究所
小田象製粉株式会社
片山化学工業(株)岡山営業所
カバヤ食品 (株)
(株) カワニシ
機能性食品開発研究所
杏林予防医学研究所
協和発酵工業 (株) 防府工場
キリンビール (株) 岡山工場
近畿日本ツーリスト (株)
久保田商事 (株)
高知酒造 (株)
酒井酒造 (株)
(株) サカタ
(株) 佐竹製作所
サッポロワイン (株) 岡山ワイナリー
山陰建設工業株式会社
(株) 四国総合研究所
四国乳業 (株) 研究所
新青山 (株)
神協産業 (株)
(株) 酔心山根本店
諏訪酒造 (株)
正晃 (株)
仙味エキス (株)
(株) ソフィ
大興産業 (株)
大山乳業農業協同組合
大山ハム (株)
大洋香料(株)
高木酒造 (株)
高塚薬品 (株)
(有) タグチ
- 中国ケミー (株)
中国醤油醸造協同組合
(株) 千代田テクノル
帝國製薬 (株)
東和科学 (株)
土佐鶴酒造 (株)
鳥取科学器械 (株)
(有) 友田大洋堂
日東酵素 (株)
日本オリーブ (株)
日本食研 (株)
(株) 日本総合科学
白牡丹酒造 (株)
(株) 林原生物化学研究所
(株) ビー・シー・オー
備前化成
ひまわり乳業 (株)
(株) 氷温研究所
広島和光 (株)
(株) ヒロセイ
富士産業 (株)
(株) 扶桑理化
プロテノバ株式会社
ペロリ
ホシザキ電機 (株)
マナック (株)
マルキン忠勇 (株)
丸善製薬 (株)
マルトモ (株)
三島食品 (株)
(株) 無手無冠
ヤスハラケミカル (株)
(株) やまだ屋
(株) 山田養蜂場
山本薬品 (株)
(有) 山本理化
両備バス (株)
ルナ物産 (株)
湧永製薬 (株)
- (五十音順)

日本農芸化学会中四国支部第 18 回講演会

代表世話人：武藤 徳男

連絡先：県立広島大学生命環境学部

Tel & Fax : 0824-74-1795

E-mail : muto@pu-hiroshima.ac.jp

支部からのお知らせ

詳しくは支部ホームページ (<http://web-mcb.agr.ehime-u.ac.jp/jsbbacs/index.html>) を御覧下さい。

○日本農芸化学会中四国支部第19回講演会（中四国支部・西日本支部合同大会）・シンポジウム

開催日：2007年9月14日（金）・15日（土）

場 所：山口大学農学部および大学会館

世話人：松下一信（山口大学農学部）

Tel：083-933-5858, Fax：083-933-5859

E-mail：kazinobu@agr.yamaguchi-u.ac.jp

○日本農芸化学会中四国支部第10回市民フォーラム

開催日：2007年9月22日（土）

場 所：高知市文化プラザかるぼーと 小ホール

世話人：沢村正義（高知大学農学部）

Tel：088-864-5184, Fax：088-864-5200

E-mail：sawamura@kochi-u.ac.jp

○日本農芸化学会中四国支部第20回講演会（例会）

開催日：2008年1月26日（土）

場 所：徳島大学

世話人：寺尾純二（徳島大学院・HBS 研究部）

Tel：088-633-7087, Fax：088-633-7089

E-mail：terao@nutr.med.tokushima-u.ac.jp

日本農芸化学会中四国支部
〒680-8553 鳥取市湖山町南4-101
鳥取大学農学部内

2007年（平成19年）5月12日発行