

日本農芸化学会中四国支部第29回講演会
日本ビタミン学会中国・四国地区第1回講演会
合同講演会

講演要旨集

日時：2011年1月22日（土）

場所：徳島大学薬学部

日本農芸化学会中四国支部
日本ビタミン学会中国・四国地区

日本農芸化学会中四国支部第 29 回講演会
日本ビタミン学会中国・四国地区第 1 回講演会
合同講演会

会場：徳島大学薬学部

1 月 22 日（土）

11:00～12:00 役員会（薬学部 1 階電算室）

12:10～12:50 評議員会（薬学部 1 階電算室）

13:00～14:30 特別講演（A 会場）

座長：徳村彰（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 衛生薬学分野）
「天然資源からの治療薬創製研究 ―抗 HIV 薬，多剤薬剤耐性腫瘍克服薬創薬を
めざして―」

柏田良樹（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 生薬学分野）

座長：武田英二（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 臨床栄養学分野）
「脂溶性ビタミンの代謝活性化と生理活性発現機構」

岡野登志夫（神戸薬科大学薬学部衛生化学研究室）

14:40～17:40 一般講演（A 会場、B 会場、C 会場、D 会場）

一般講演はすべて口頭発表で行います。発表時間および質疑の時間はそれぞれ 10 分
および 2 分です。発表は OHC（書画カメラ）を使用します。発表原稿を A4 用紙にプ
リントアウトしたものをご用意下さい。発表の際、原稿の取り替え要員はおりません
のでご承知置き下さい。

18:00～20:00 懇親会

会場：徳島大学病院 西病棟 11 階
レストラン「ウエルカ」

懇親会について

会場

眺めのいいレストランウエルカ

徳島大学病院 西病棟 11階

tel: 088-633-9393

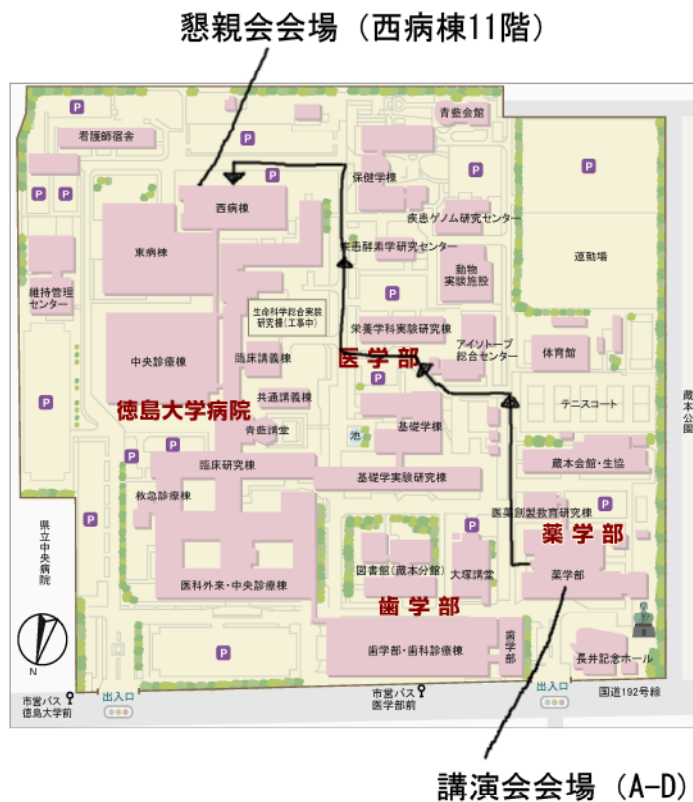
* 当日は病院医科外来・中央診療棟玄関（北玄関）は施錠されております。西病棟玄関（南玄関）から建物にお入り頂き、ロビー奥のエレベーターをご利用下さい（下図）。

日時

1月22日 18:00-20:00

会費

一般 5,000円 学生 3,000円



一般講演プログラム

A 会場

【植物・食品】

14:40～

A-01 トマト複合型N-グリカンの代謝に関わる α -Fucosidaseの遺伝子同定と発現系構築

○藤重誠¹, 小野奈津子², 中村浩介³, 木村吉伸^{1, 2}
(¹岡山大・農, ²岡山大・院・自然, ³カゴメ(株))

14:52～

A-02 植物複合型 N-グリカンの代謝に関わる β -xylosidase の精製と発現系構築

○横内大輔¹, 小野奈津子², 中村浩介³, 木村吉伸^{1, 2}
(¹岡山大農, ²岡山大・院・自然, ³カゴメ(株))

15:04～

A-03 植物 ERAD で機能する糖鎖遺伝子の機能解析

○江原愛美¹, 中村浩介², 木村吉伸¹ (¹岡山大院自科, ²カゴメ株式会社)

15:16～

A-04 ローヤルゼリー糖タンパク質に結合する T-抗原ユニット含有糖鎖の生合成に関わる GalT と GalNAcT の発現

○金澤雅人¹, 阪村翔¹, 一宮智美², 西原祥子², 木村吉伸¹
(¹岡山大院自, ²創価大)

15:28～

A-05 植物エンドグリコシダーゼの糖転移活性と部位特異的変異導入による活性残基同定

○岡本尚子¹, 前田恵², 木村吉伸¹ (¹岡山大院自科, ²川崎医大衛生)

15:40～

A-06 エンドファイト由来の斑点米カメムシ忌避物質

○澤佑治, 石原亨, 中島廣光 (鳥取大農)

15:52～

A-07 チコリにおける花成制御遺伝子FTホモログの解析

○横山直明, 尾堂順一, 猪口雅彦 (岡山理大・理・生物化学)

16:04～

A-08 Physiological Functions of Methylglyoxal in *Arabidopsis*

○Tahsina Sharmin Haque, 裏地美杉, Mohammad Anowar Hossain,
中村宜督, 村田芳行 (岡大院・自然)

16:16～

A-09 植物ビタミンC生合成に関わるVTC2/5遺伝子の発現調節機構解明

増澤拓也¹, 高用順¹, 柴田均¹, 澤嘉弘¹, 丸田隆典², 重岡成², ○石川孝博¹
(¹島根大生資科・生命工, ²近畿大院農・バイオ)

16:28～

A-10 ダイズ油脂へのガンマ線照射による影響

○南育子¹, 等々力節子², 中村宜督¹, 村田芳行¹ (¹岡大院・自然, ²食総研)

16:40～

- A-11 L6 筋管細胞におけるエネルギー代謝に及ぼす酢酸の影響
○田中あや, 丸田ひとみ, 我如古菜月, 木本眞順美, 辻英明,
高橋吉孝, 山下広美 (岡山県立大学大学院・保健福祉・栄養)

16:52～

- A-12 かりかりよさこい桃の食品科学的特性について
○大西智予¹, 吉金優², 樋口慶郎², 森山洋憲³, 大西平八¹, 沢村正義²
(¹大西農園, ²高知大土佐 FBC, ³高知工技セ)

17:04～

- A-13 希少糖D-ブシコースのゲル状デザート食品への利用
○勝部智子, 早川茂, 小川雅廣 (香川大学院・農)

17:16～

- A-14 固相抽出フローインジェクション分析による微量鉛の高感度定量法の開発
○銀叶, 大島光子, 本水昌二, 村田芳行 (岡大院・自然)

B 会場

【酵素・有機・天然物】

14:40～

- B-1 2 α -メチルビタミンD₃及び25-ヒドロキシ-2 α -メチルビタミンD₃の合成研究
○末長努, 藤島利江 (徳島文理大香川薬)

14:52～

- B-2 β -N-Acetylglucosaminidase阻害物質pochonicineとその類縁体の培養生産
○山田あさ美¹, 豊岡実穂¹, 臼木博一^{2,3}, 奥田徹⁴, 神崎浩¹, 仁戸田照彦¹
(¹岡山大院自然科学, ²岡山生物研, ³JSPS-PD, ⁴玉川大学学術研)

15:04～

- B-3 膜面液体培養による生理活性環状ジペプチド類の生産
○今宮亮, 仁戸田照彦, 神崎浩 (岡山大院自然科学)

15:16～

- B-4 機能的タンパク質固定化技術を利用したNF κ B(p50)阻害性ペプチドの探索
○宮原徹也, 今中洋行, 今村維克, 近藤英作, 中西一弘 (岡山大院自)

15:28～

- B-5 放線菌 *Streptomyces* sp.590 由来 L-メチオニン脱炭酸酵素の性質検討
○前村知美¹, 内富久美子¹, 日下知香¹, 稲垣純子², 田村隆¹, 左右田健次³,
稲垣賢二¹ (¹岡大院自然科学, ²岡大院医歯薬, ³京大名誉教授)

15:40～

- B-6 糸状菌由来 L-リシン α -オキシダーゼの遺伝子クローニングと異種発現系の検討
○望月雄介¹, 中田春香¹, 田村隆¹, 稲垣純子², 山下伸雄³, 日下部均⁴,
稲垣賢二¹ (¹岡山大院・自然科学, ²同・医歯薬, ³白鶴酒造, ⁴エンザイムセンサ)

15:52～

- B-7 ヒト由来セレノリン酸合成酵素アイソザイムSPS1/SPS2の相互作用解析
○奥河内貴大, 田村隆, 稲垣賢二 (岡山大院・自然科学)

16:04～

- B-8 殺蚊トキシンCry4Aaをオーダーメイド化する試み ―ランダム変異を導入した変異体ライブラリーの構築―
○小野雄佑, 有吉育子, Mohammad T.H. HOWLADER, 早川徹, 酒井裕 (岡山大・院・自然科学)

16:16～

- B-9 酸触媒を用いたグリコシル多価アルコールの合成及びその特性
○江村直¹, 有賀修¹, 吉本雄大 (¹高知工科大学・環境理工学群)

16:28～

- B-10 *Photorhabdus luminescens* の発光
○小川あかね¹, 恵良真理子², 田部井陽介², 森田洋²
(¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)

16:40～

- B-11 新規製膜法を用いたアルギン酸の光触媒担体としての利用と殺菌効果
○伊勢田弘太郎¹, 石野靖浩¹, 恵良真理子², 田部井陽介², 森田洋²
(¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)

16:52～

- B-12 *Aspergillus*属菌と*Rhizopus*属菌の混合液体麹を用いたグルコアミラーゼ生産
○佐藤貴裕¹, 福田翼², 森田洋¹ (¹北九大院・国際環境工, ²水大校・食品科学)

C 会場

【動物】

14:40～

- C-1 ベンジルイソチオシアネートによる細胞生存経路の活性化
○清水朋美, 横部新太郎, 村田芳行, 中村宜督 (岡大院・自然科学)

14:52～

- C-2 イソチオシアネート代謝の修飾による生理活性の増強
○片山晴美, 筒井千春, 村田芳行, 中村宜督 (岡山大院・自然科学)

15:04～

- C-3 フロキシシンB誘導光細胞毒性に対するアスコルビン酸の効果
○呉倩, 启航, 村田芳行, 中村宜督 (岡大院・自然科学)

15:16～

- C-4 All-transレチノイン酸による腸管リン吸収への影響とそのメカニズム
○増田真志¹, 山本浩範¹, 香西美奈¹, 竹井悠一郎¹, 中橋乙起¹, 池田翔子¹, 大谷彩子¹, 竹谷豊¹, 宮本賢一¹, 武田英二¹ (¹徳島大臨栄, ²徳島大分栄)

15:28～

- C-5 鶏卵白アルブミン(OVA)をモデルとしたserpinopathyの研究
○石丸隆行, 田中俊平, 松富直利¹ (山口大・農, ¹宇部フロンティア大)

15:40～

- C-6 LRATファミリーに属するヒト新規脂質代謝酵素群の機能解析
○宇山徹¹, 篠原尚樹^{1,2}, 金星華¹, 坪井一人¹, 藤内武春³, 芳地一²,
上田夏生¹ (¹香川大医, ²香川大医病・薬剤部, ³国立病院機構善通寺病院)

15:52～

- C-7 マウスマクロファージ様培養細胞RAW264におけるグルタチオン合成系に対するβ-カロテンの影響
○赤星哲平, 山西倫太郎 (徳島大学大学院HBS研究部・食品機能学分野)

16:04～

- C-8 DAO gene therapy sensitizes glioma cell selectively to anti-glycolytic effect of 3-bromopyruvate
○Salah M. El Sayed, R. M. El-Magd, Y. Shishido, S-P. Chung, K. Yorita, T. Sakai, and K. Fukui (Inst. for Enz. Res., Univ. Tokushima)

16:16～

- C-9 D-セリン代謝産物ヒドロキシピルビン酸の細胞死誘導活性
○鄭丞弼, 宋瑩, 朴煥琦, 頼田和子, 宍戸裕二, 坂井隆志, 福井清
(徳島大学疾患酵素学研究センター・病態システム酵素学研究部門)

16:28～

- C-10 リン酸捕獲試薬を用いた簡易リゾホスファチジン酸分析法の食品への適用
○盛重純一¹, 瓜倉真衣², 葛西彩香³, 田中保³, 徳村彰³, 小池透⁴, 里内清²
(¹福山大・RCGS, ²福山大・生命工, ³徳島大院・HBS, ⁴広島大院・医歯薬)

16:40～

- C-11 メディエーターリン脂質による抗消化性潰瘍効果
○木下正文¹, 足立美佳¹, 葛西彩香¹, 大本真弓¹, 盛重純一², 瓜倉真衣²,
近藤宏樹², 里内清², 田中保¹, 徳村彰¹ (¹徳島大薬, ²福山大生命工)

16:52～

- C-12 種々の食材中の創傷治癒性リン脂質含量
○葛西彩香¹, 木下正文¹, 足立美佳¹, 盛重純一², 瓜倉真衣², 里内清²,
柏田良樹¹, 今林潔¹, 高石喜久¹, 田中保¹, 徳村彰¹ (¹徳島大薬, ²福山大生命工)

D会場

【微生物】

14:40～

- D-1 ユズ種子の発酵促進機構に関する基礎的検討
○木下絢賀, 松元信也 (高知工科大 物質・環境)

14:52～

- D-2 ニンニク添加系における微生物の発酵特性に及ぼす諸因子の影響
○水間寛, 松元信也 (高知工科大 物質・環境)

15:04～

- D-3 ビワ種子添加発酵系における発酵温度と酵母の発酵特性の関係
○喜田和亨, 松元信也 (高知工科大学 物質・環境)

15:16～

- D-4 バイオエタノールの省エネルギー的高効率発酵システムの開発 (7)
細菌による通気式アルコール発酵システムに関する基礎的検討
○梶原秀一, 松元信也 (高知工科大学 物質・環境)

15:28～

- D-5 微生物の発酵特性に対するエゴマ種子の作用
○西澤和展, 松元信也 (高知工科大学 物質・環境)

15:40～

- D-6 酵母の発酵特性に対するサンショウの作用
○藤原誠, 高橋永, 松元信也 (高知工科大学 物質・環境)

15:52～

- D-7 *Vibrio fischeri*における硫黄依存型発光性
○田部井陽介, 恵良真理子, 小川あかね¹, 森田洋
(北九大・国際環境工, ¹北九大院・国際環境工)

16:04～

- D-8 *Vibrio fischeri*の固定化と発光性
○恵良真理子¹, 田部井陽介¹, 小川あかね², 森田洋¹
(¹北九大・国際環境工, ²北九大院・国際環境工)

16:16～

- D-9 酵母の発酵力に対するD-システインの影響
○浮田健太郎, 新井公誉, 横井川久己男 (徳島大院総科)

16:28～

- D-10 出芽酵母における染色体からのセントロメアDNAの切り出しによる細胞死の誘導
○松崎浩明, 宮本昭弘, 柳本敏彰, 秦野琢之 (福山大・生命工・生物工)

16:40～

- D-11 分裂酵母テロメア結合蛋白質Pot1とヘリケースRqh1のテロメアにおける機能解析
○上野勝, 高橋克典 (広島大学・院・先端物質)

16:52～

D-12 納豆菌の *pgsE* 遺伝子産物は亜鉛イオン存在下で機能するポリ- γ -グルタミン酸増産因子である

○芦内誠, 山城大典, 吉岡恵 (高知大院・農)

17:04～

D-13 UBR ユビキチンリガーゼによる酸化ストレス応答制御

○北村憲司 (広島大・自然科学研究セ・遺伝子)

一般講演 座長一覧表

会場	
A	01-04 村田芳行(岡山大院・自然科学)
	05-08 石川孝博(島根大・生物資源科学)
	09-11 吉金優(高知大・土佐 FBC)
	12-14 山下広美(岡山県立大院・保健福祉学)
B	01-04 田村隆(岡山大院・自然科学)
	05-08 今中洋行(岡山大院・自然科学)
	09-12 仁戸田照彦(岡山大院・自然科学)
C	01-03 山西倫太郎(徳島大院 HBS・食品機能)
	04-06 中村宜督(岡山大院・自然科学)
	07-09 竹谷豊(徳島大院 HBS・臨床栄養)
	10-12 頼田和子(徳島大・疾患酵素学研セ)
D	01-03 上野勝(広島大院・先端物質科学)
	04-06 松崎浩明(福山大・生命工学)
	07-09 松元信也(高知工科大・物質環境システム工学)
	10-13 横井川久己男(徳島大院・総合科学教育)

特別講演

講演要旨

天然資源からの治療薬創製研究

L-01

— 抗 HIV 薬, 多剤薬剤耐性腫瘍克服薬創製を目指して —

柏田良樹 (徳島大薬)

様々なアプローチで医薬品開発が行われているが, 近年承認された小分子医薬品の 6 割以上が天然物由来成分, 若しくはそれらの誘導体又はそれらをモチーフとしたものであることが報告されている。私どもは天然物からの生物活性成分探索を基盤とした各種疾患治療薬創製を目的とした研究を行っている。その中から, シラカバ樹皮及び花粉成分をもとにした抗 HIV 薬並びに多剤耐性腫瘍克服薬創製を目指した研究を中心に紹介する。

我々は, *Syzygium claviflorum* (Myrtaceae) 葉から抗 HIV 活性成分として betulinic acid 見出し¹⁾, それをリードとした研究により極めて強力な抗 HIV 活性 ($EC_{50} < 0.00035 \mu\text{M}$; $TI > 20,000$ in H9 cell) を示す bevirimat を創製した²⁾。本化合物は既存の AIDS 治療薬と異なる新奇メカニズムの抗 HIV 薬であり, 現在米国で臨床試験中 (Phase IIb) である。この発見をもとに, 我々はシラカバ樹皮に多量に含まれる betulin に注目した。シラカバ樹皮の白色は betulinic acid と極めて類似した構造の betulin に由来するものであり, その含量は 25~30%もあることから, betulin をリードとした抗 HIV 薬創製研究を展開している。この研究において, *in vitro* の試験で bevirimat よりも強力な種々抗 HIV betulin 誘導体類 (e.g. $EC_{50} 2.0 \times 10^{-5} \mu\text{M}$; $TI 1.12 \times 10^6$ in H9 cell)³⁾ や bevirimat-AZT ハイブリッド等を創製した。

一方, 我々の多剤薬剤耐性克服薬探索研究において, シラカバ花粉の MeOH エキスに多剤薬剤耐性腫瘍細胞 (colchicine 耐性 KB cells: KB-C2) に対する抗腫瘍剤の作用を回復させる活性を見出し, その活性成分探索研究により dammarane 型トリテルペンの methyl papyriferate が多剤薬剤耐性回復作用成分として知られる verapamil に近い活性を示すことを発見した⁴⁾。また, この作用が多剤薬剤耐性腫瘍細胞の p-糖タンパク機能阻害に基づくものであることを明らかにした⁵⁾。この発見をもとに, シラカバ花粉成分である papyriferic acid をリードとした多剤薬剤耐性回復作用成分の探索研究により, 強力な多剤耐性回復作用を示す誘導体 (185 times reversal effect at $5 \mu\text{g/mL}$) 等⁶⁾を創製した。

薬用としてあまり利用されていない植物資源においても, 含有成分の新たな生物活性の発見とそれをリードとした創薬を目指した研究により, 新たな薬用天然資源の可能性を示すことができると考えている。

References:

- 1) Fujioka, T.; Kashiwada, Y.; Lee, K.H. et al., *J. Nat. Prod.*, **1994**, *57*, 243-247; 2) Kashiwada, Y.; Lee, K.H. et al., *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 1016-1017; 3) Kashiwada, Y.; Lee, K.H. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 5851-5853; 4) Kashiwada, Y. et al., *J. Nat. Prod.*, **2007**, *70*, 623-627; 5) Sekiya, M.; Kashiwada, Y. et al., *Planta Medica*, **2007**, *73*, 1558-1562; 6) Xiong, J.; Kashiwada, Y. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 2964-2975.

脂溶性ビタミンの代謝活性化と生理活性発現調節機構

L-02

○岡野登志夫（神戸薬科大学衛生化学研究室）

脂溶性ビタミンは、その発見の歴史と生理作用に由来する A, D, E, K の 4 つのアルファベットで区別される必須栄養素である。いずれも総称名であり、類似の生理作用をもつ複数の同族体が天然に存在する。環構造の部分に一本の比較的長い飽和あるいは不飽和の側鎖が結合した構造が共通の特徴であり、体内で未変化体のまま、あるいは代謝的活性化を受けて生理作用を現わす。近年の科学技術の著しい進歩により、脂溶性ビタミンの多数の代謝物が発見・同定され、吸収・分布・代謝さらには生理活性発現調節機構の詳細が分子レベルで明らかにされ、臨床的にも創薬の分子標的として注目を集めている。

最近、演者らはビタミン D の代謝活性化酵素である 1α 水酸化酵素 (CYP27B1) の遺伝子欠損マウスを作出し、ビタミン D 受容体 (VDR) 遺伝子欠失マウスとの比較により、ビタミン D が VDR シグナルを介する経路以外の経路で軟骨細胞分化を調節することを明らかにした。また、我々が普段に食事から摂取するビタミン K はフィロキノン (PK またはビタミン K_1) である。しかし、ヒトを含めて哺乳類の組織内に存在するビタミン K の大部分はメナキノン-4 (MK-4 またはビタミン K_2) である。これは、体内で PK が MK-4 に変換され、蓄積するからである。興味あることに、PK のみならず細菌由来のメナキノン類 (MK-n) はみなメバロン酸経路で生成するゲラニルゲラニル-2-リン酸を側鎖源として MK-4 へ変換される。このため、コレステロール合成阻害薬スタチンや骨粗鬆症治療薬ビスホスホネート製剤は組織におけるビタミン K 生合成に影響を及ぼす可能性がある。我々は、最近、マウス脳内でのビタミン K 変換機構を科学的に証明した。さらに、この変換反応を担う酵素が大腸菌 *MenA* のヒトホモログ UBIAD1 であることを明らかにした。UBIAD1 はほぼ全組織に存在しており、その発現量は組織中 MK-4 濃度と高い相関性を示す。UBIAD1 はコレステロール代謝異常を伴う SCD (Schnyder Corneal Dystrophy) の原因遺伝子として発見されたが、その生理機能は不明であった。UBIAD1 が MK-4 生合成酵素であることが明らかになったことより、脂質代謝におけるビタミン K の生理的役割が予想される。

本講演では、脂溶性ビタミンの代謝的活性化機構およびホルモン作用の多様性に関する研究の最近の動向について、我々の研究結果と臨床応用への取り組みをまじえて紹介する。

- 1) Nakagawa K, Okano T, et al. *Nature*. 2010;**468**:117-121.
- 2) Suhara Y, Okano T, et al. *Bioorg Med Chem*. 2010;**18**:3116-24.
- 3) Okano T, et al.: *J Biol Chem*. 2008;**283**:11270-9

一般講演

講演要旨

トマト複合型 *N*-グリカンの代謝に関わる α -Fucosidase の遺伝子同定と発現系構築

A-01

○藤重 誠¹, 小野 奈津子², 中村 浩介³, 木村 吉伸^{1, 2}
(¹岡山大・農, ²岡山大・院・自然, ³カゴメ(株))

【目的】糖タンパク質糖鎖の代謝は植物の分化・成長に重要な影響を及ぼすことが知られており、糖鎖代謝酵素の発現変動が果実成熟に大きな影響を与えることが明らかになりつつある。しかしながら、植物複合型 *N*-グリカン (PCNG) に特異的に作用する植物 α -fucosidase (α -Fuc'ase) については、機能特性解析や遺伝子同定が進んでいない。そこで本研究ではトマト果実を材料として用い、PCNG に作用する α -Fuc'ase 遺伝子の同定を試みた。【方法・結果】*Arabidopsis thaliana* の α -Fuc'ase 1 (PCNG に対する活性は不明) の遺伝子情報を基に相同性検索を行い、3 つの候補配列を見つけた。この配列を基に RT-PCR を行った。未成熟のトマト m-RNA からは SGN-U564815 クローンと相同な配列が、成熟期のトマト m-RNA からは SGN-U565730 クローンと相同な配列が検出できた。このことからトマト α -Fuc'ase には数種のコモログが存在し、果実の成熟段階によって異なる基質特性を有する α -Fuc'ase が発現している可能性が示唆された。現在 3' RACE 法、5' RACE を用いた全長配列決定と酵母での発現系構築を目指している。

植物複合型 *N*-グリカンの代謝に関わる β -xylosidase の精製と発現系構築

A-02

○横内大輔¹, 小野奈津子², 中村浩介³, 木村吉伸^{1, 2}
(¹岡山大農, ²岡山大・院・自然, ³カゴメ(株))

【目的】植物細胞壁中でヘミセルロース代謝に関与するキシロシダーゼ (Xyl'ase) については、遺伝子同定やノックアウト株の作成が行われ、Xyl'ase 活性が植物成長に重要な機能を担っていることが明らかになっている。しかしながら、植物糖タンパク質に結合する複合型 *N*-グリカン (PCNG) に特異的に作用する β -xylosidase (β -Xyl'ase) については、機能特性解析や遺伝子同定が進んでいない。そこで本研究では、PCNG からのキシロース残基遊離を司る β -Xyl'ase の機能特性解析を目的として、トマト果実からの酵素精製と、酵素遺伝子の同定を試みた。

【方法、結果】成熟トマト果実の抽出物から、イオン交換クロマト、疎水性クロマト、ゲルろ過等を組み合わせることで、 β -Xyl'ase 精製を試みた。酵素活性は、pNP- β -Xyl 及び蛍光標識糖鎖 Man1Xyl1Fuc1-PA (MFX) を基質に用いて測定した。一方、トマトの β -Xyl'ase 候補遺伝子として報告されている *LeXYL1*、*LeXYL2* について機能解析を行うため、これら 2 つの遺伝子のクローニングと酵母系での遺伝子発現を行っている。

植物 ERAD で機能する糖鎖遺伝子の機能解析

A-03 ○江原愛美¹, 中村浩介², 木村吉伸¹ (¹岡山大院自科, ²カゴメ株式会社)

【目的】糖タンパク質から生じる遊離アスパラギン型糖鎖 (遊離 *N*-グリカン) は、植物の成長に関わる新しいクラスのシグナル分子であると推定されており、胚軸伸長促進活性や果実熟成促進活性が推定されている。これらの遊離 *N*-グリカンのうち、ハイマンノース型糖鎖は新生糖タンパク質の品質管理機構 (ERAD) で生じることが明らかになっている。我々はこれまでに熟成変異トマトでは遊離 *N*-グリカンに顕著な量的・質的変動が生じていることを見出し、果実熟成と糖タンパク質糖鎖の代謝機構に深い相関があることを明らかにしつつある。本研究では糖タンパク質糖鎖代謝と果実熟成の相関解析の一環として糖鎖代謝に関連するタンパク質群の遺伝子同定と熟成に伴う活性及び発現変動解析を行った。

【方法及び結果】可食トマト及び熟成変異トマト (*nor, rin, Nr, alc*) の抽出液から陰イオン交換及び疎水クロマトにより糖鎖代謝酵素の部分精製を行い、それらの酵素活性及び発現の変動を調べた。一方、我々が既に明らかにしている糖鎖代謝関連遺伝子 (ENGase, PNGase, α -Man'ase, β -Hex'ase 等) の遺伝子情報を基に、可食トマト及び変異トマト果実中に発現されている mRNA 量を Real Time PCR 法により定量した。その結果、可食トマトと熟成変異トマトでは糖鎖代謝関連酵素の活性及び遺伝子発現量が顕著に異なることを確認した。

Ehara, M., *et al.* 15th European Carbohydrate Symposium, Abstract p 472, Vienna, (2009).

A-04 ローヤルゼリー糖タンパク質に結合する T-抗原ユニット含有糖鎖の生合成に関わる GalT と GalNAcT の発現

○金澤雅人¹, 阪村翔¹, 一宮智美², 西原祥子², 木村吉伸¹ (¹岡山大院自, ²創価大)

【目的】ローヤルゼリー (RJ) には、多彩な生理機能を有する糖タンパク質成分が多く含まれている。当研究室ではこれまでに RJ に含まれる生理活性糖タンパク質に結合する糖鎖に、腫瘍抗原の一つである T-抗原ユニット (Gal β 1-3GalNAc) を有する新規構造 *N*-グリカンを発見している。本研究では、抗 T-抗原糖鎖抗体の作成を目的とした糖ペプチド調製法の確立と T-抗原の酵素合成法の確立を目指した糖転移酵素遺伝子の同定を行った。

【方法・結果】ローヤルゼリー凍結乾燥標品の Actinase E 消化物から Dowex 50X 2 と順相 HPLC を組み合わせることで、糖鎖構造の差に基づいた T-抗原含有糖ペプチドの大量精製法を確立した。糖鎖構造はヒドラジン分解後、蛍光標識法で確認した。一方、ミツバチ由来の糖転移酵素遺伝子 (GalT, GalNAcT) については、FlyBase 遺伝子情報から候補遺伝子を探索し、それらを酵母発現系およびバキュロウイルス発現系で発現させ糖転移活性を測定した。その結果、T-抗原合成に関与する新規 Gal T 遺伝子の発現系構築に成功した。

植物エンドグリコシダーゼの糖転移活性と部位特異的変異導入による活性残基同定

A-05 ○岡本尚子¹, 前田恵², 木村吉伸¹ (¹岡山大院自科, ²川崎医大衛生)

【目的】微生物由来の Family 85 ENGase (Endo-M、Endo-A)は糖転移活性を有しており、Family 85 に属する植物 ENGase も糖転移活性を持つことが示唆される。本研究ではイネ ENGase (rEndo-OS) を用い、糖転移活性の確認と触媒アミノ酸残基の同定を試みた。

【方法と結果】ハイマンノース型糖ペプチド及びキトオリゴ糖を使用して、組換え ENGase (rEndo-OS) の糖転移活性を検出した。反応終了後、2-アミノピリジン (-PA) により糖鎖を蛍光標識し、HPLC により生成物を分析した。糖鎖転移産物の有無については、Endo-H による消化法を併用して確認した。その結果、rEndo-OS はキトトリオースに対して強い転移活性を示した。一方、GH Family 85 間のホモロジー解析及び微生物酵素 (Endo-A、-M) の情報を基に数種の点変異体を調製し、蛍光標識糖鎖を基質として用い加水分解活性を測定した。その結果、E191D、E191A はともに加水分解活性が著しく低下したことから、GH Family 85 中に常に保存されている E (191)が Endo-OS においても触媒残基として重要な機能を担っていることが明らかになった。また、植物 ENGase 間において高度に保存されている W(296)及び T(259)を変異導入により他のアミノ酸に変換しても、酵素活性には影響しないため、これらの残基は酵素活性発現には直接関与していないことが明らかになった。

エンドファイト由来の斑点米カメムシ忌避物質

A-06 ○澤 佑治, 石原 亨, 中島廣光 (鳥取大農)

【目的】近年、斑点米カメムシ類による斑点米の被害が急増している。本研究ではエンドファイトの代謝産物に着目し、イネ科植物からエンドファイトを分離し、その代謝産物中に斑点米カメムシ類に対する有効な忌避物質を検索した。

【方法・結果】シラホシカメムシ (*Eysarcoris ventralis*) は低温状態で暗く、狭い場所に集合し、定着する。この習性を利用した忌避活性試験を用いた。鳥取大学構内でイネ科植物を採集し、そこからエンドファイトを分離した。エンドファイトを麦芽培地上で培養し、培養ろ液を酢酸エチルで抽出、この抽出物について忌避活性試験を行った。ホソムギ (*Lolium perenne*) から分離したエンドファイト (Sm-7-b 菌) の抽出物に活性が認められたので、抽出物を忌避活性を指標に各種クロマトグラフィーで精製し、化合物 1 を単離した。化合物 1 について各種機器分析を行い、化学構造を決定した。この類縁化合物の忌避活性も調べた。

チコリにおける花成制御遺伝子 *FT* ホモログの解析

A-07

○横山直明, 尾堂順一, 猪口雅彦 (岡山理大・理・生物化学)

【目的】 高等植物の普遍的な花成制御遺伝子と考えられている *FLOWERING LOCUS T (FT)* のホモログをキク科のチコリ (*Cichorium intybus*) から単離し、その発現特性を解析した。

【方法・結果】 既知の *FT* の相同配列に基づいた degenerate PCR によりチコリ cDNA から増幅された断片を元に、RACE 法を用いて全長配列を取得した。この配列中の ORF は他の *FT* ホモログと高い相同性を示したが、チコリ *FT* では上流に別の開始コドンが存在し、ORF が 5' 側に 84 bp 延長されていた。他の *FT* と相同な ORF 領域のみを用いて分子系統樹を作成した結果、チコリ *FT* は他のキク科植物のものに最も類似することが示された。

次に、チコリの花成条件である長日 (16 時間明期) 条件下と非花成条件である短日 (8 時間明期) 条件下で生育させた植物体のロゼット葉から mRNA を抽出し、チューブリン配列を対照として定量的 RT-PCR を行い、4 時間毎の *FT* 発現量を調査した。その結果、長日条件下では明期の終わりに顕著な発現の上昇が見られたのに対し、短日条件下ではその様な経時的変動は示さなかった。さらに、花成条件下の植物体の器官別の発現量を調査した結果、特に花茎や花茎葉などの生殖生長器官で高かった。以上より、チコリ *FT* も花成制御に関与することが示唆された。

Physiological Functions of Methylglyoxal in *Arabidopsis*

A-08

○Tahsina Sharmin Haque, 裏地美杉, Mohammad Anowar Hossain,
中村宜督, 村田芳行 (岡大院・自然)

Methylglyoxal (MG) is a reactive α -oxoaldehyde and a physiological metabolite of glycolysis. Due to high reactivity, aldehydes are believed to act as toxic molecules at high concentrations and as signaling molecules at low concentrations for inducing stress defense genes. To clarify the physiological functions of MG in plant, we investigated effects of MG on stomatal movement, reactive oxygen species (ROS) production, cytosolic free Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$) oscillation, seed germination and root growth of *Arabidopsis thaliana* L. ecotype Columbia. MG induced stress responses including stomatal closure, ROS accumulation and cytosolic Ca^{2+} elevation in guard cells in a dose-dependent manner. Interestingly, plant developmental processes like seed germination and root elongation were unaffected by lower doses of MG but were strongly inhibited by higher doses of MG. These results suggest that MG at low concentration can function like growth regulator and be regarded as a signaling component in spite of its cytotoxic effect at higher levels.

植物ビタミンC生合成に関わるVTC2/5遺伝子の発現調節機構解明

A-09 増澤 拓也¹, 高用順¹, 柴田 均¹, 澤 嘉弘¹, 丸田隆典², 重岡 成²,
○石川 孝博¹ (¹島根大生資科・生命工, ²近畿大院農・バイオ)

植物のビタミンC (AsA, アスコルビン酸) は、動物とは異なりD-マンノースおよびL-ガラクトース(L-Gal)を代謝中間体とする経路により生合成される。GDP-L-GalからL-Gal 1Pの生成反応を触媒するGDP-L-Galホスホリラーゼは、この経路の鍵酵素として中心的役割を担っており、シロイヌナズナには同酵素をコードする相同遺伝子が2つ存在する(VTC2およびVTC5)。今回、植物AsA生合成調節機構の解明を目的に、光応答時におけるVTC2とVTC5遺伝子の発現調節機構について解析した。定常条件下(12時間明暗、100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)で生育したシロイヌナズナ葉のAsA含量は日周変動を示した。この時VTC2およびVTC5の各遺伝子は、AsAレベルの変動と相関して、光照射6時間までに一過的に発現上昇を示した。しかし、VTC5遺伝子の発現レベルは常にVTC2の1/100程度であった。ルシフェラーゼによるVTC2およびVTC5プロモーター活性の評価もこれらの結果を支持しており、AsA生合成の光調節にはVTC2がドミナントに機能していることが強く示唆された。遺伝子銃による一過的発現系を用いて、長ネギ表皮細胞およびシロイヌナズナ葉でVTC2およびVTC5とGFPとの融合タンパク質を発現させ、VTC2およびVTC5の細胞内局在性を検討したところ、両タンパク質は細胞質と核の両方に局在することが示された。

ダイズ油脂へのガンマ線照射による影響

A-10 ○南育子¹, 等々力節子², 中村直督¹, 村田芳行¹ (¹岡大院・自然, ²食総研)

食品照射は、腐敗や変質による食品の損耗の低減、食品が媒介する病気の原因となる微生物等の制御を目的とした、電離放射線照射を用いる食品処理方法である。日本では、馬鈴薯の発芽防止にのみ使用が許可されているが、世界の多くの国々で多数の食品原材料、加工食品にその使用が許可されており、今後も使用品目および処理量の増加が予想される。

食品成分の中で脂質は比較的照射により分解を受けやすく、酸素存在下では脂質の酸化分解が進む。不飽和脂肪酸の割合の高い油脂ではさらにこの傾向が強いため、不飽和脂肪酸が豊富に含まれ、世界の各地域において主要な穀物であるダイズと、さらにダイズ油へのガンマ線照射による影響を調べた。

ダイズおよびダイズ油にガンマ線を照射し、その脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーにて分析した。大気条件下でダイズ油に高線量を照射した場合は脂肪酸組成が大きく変化した。ダイズの場合は許可線量及び高線量照射でも組成に大きな変化は見られず、トランス脂肪酸への異性化も殆ど見られなかった。総じてダイズ油脂へのガンマ線照射の影響は小さいことが示された。

L6 筋管細胞におけるエネルギー代謝に及ぼす酢酸の影響

A-11 ○田中あや¹, 丸田ひとみ¹, 我如古菜月¹, 木本眞順美¹, 辻英明¹,
高橋吉孝¹, 山下広美¹ (¹岡山県立大学大学院・保健福祉・栄養)

【目的】肥満は脂肪組織、骨格筋、肝臓において過剰な脂肪蓄積を引き起こす。我々は酢酸を摂取した2型糖尿病モデル動物において顕著な抗肥満、抗糖尿病効果を示すことを報告した。AMPKは脂肪酸酸化や糖の取り込みの促進など種々の代謝調節に関与する。酢酸の経口摂取は、肝臓でのAMP/ATP比の上昇によってAMPKを活性化し、脂肪合成系遺伝子の発現を抑制する。本研究では、骨格筋における酢酸の影響についてL6筋管細胞を用いて検討した。

【方法】L6筋管細胞は10%FBS/DMEM培地で増殖させた後、2%FBS/DMEM培地にて分化誘導し、分化誘導後11日目まで培養し実験に用いた。L6筋管細胞からタンパク質、核酸、mRNAを抽出し、Western blot、逆相HPLC、Real time PCR法にて解析を行った。

【結果・考察】L6筋管細胞に酢酸を添加すると有意にAMP量が増加し、AMP/ATP比が増加した。また、酢酸添加により、ミオグロビンおよびGLUT4の遺伝子発現量が増加し、リン酸化AMPKおよびリン酸化ACCのタンパク質レベルが増加した。

以上のことから、L6筋管細胞において酢酸はAMPKを活性化し、脂質代謝を亢進することが示唆された。

かりかりよさこい桃の食品科学的特性について

A-12 ○大西智予¹, 吉金 優², 樋口慶郎², 森山洋憲³, 大西平八¹, 沢村正義²
(¹大西農園, ²高知大土佐FBC, ³高知工技)

【目的】‘かりかりよさこい桃’ (KY桃) は、高知県香美市大西農園で育種された品種で、とくに肉質が硬いことに特徴がある。今後、地域の特産品として、青果出荷および加工品への展開を目指している。しかし、これまでKY桃の食品科学的特性に関する研究報告はみられない。商品展開をしていく上で、まず、特徴を数値化し、客観的なデータの把握が必要とされる。したがって、本研究では、従来より市場で一般的な桃と比較しつつ、KY桃の食品科学的特性を把握することを目的とした。

【方法・結果】‘白鳳’、‘大糖領’、‘ゴールデンピーチ’を供試品種として用い、クリープメータを用いて果皮破断強度および果肉硬度を測定した。KY桃の果皮破断強度および果肉硬度は、供試品種と比べ、それぞれ4~7、9~13倍高かった。この硬度は、リンゴ(‘さんつがる’)と比べても約2倍の硬さであった。この要因としてKY桃では、軟化に伴い増加するとされる水溶性ペクチン含量が低いこと、光学顕微鏡による観察から細胞同士が密に接着した果肉組織を有することなどが考えられる。また、KY桃は冷蔵(8℃)保存すると、少なくとも3週間はその硬度を保持していた。その他、いくつかの果汁成分についても分析を行い、その結果もあわせて報告する。

希少糖 D - プシコースのゲル状デザート食品への利用

A-13

○勝部智子, 早川茂, 小川雅廣 (香川大学院・農)

【目的】スクロース(Suc)は一般的な甘味料として食品に使用されているが、過剰摂取は肥満や糖尿病の原因になる。スクロースの 70%の甘味を持つノンカロリーシュガーの希少糖 D-プシコース(Psi)は血糖値の上昇を抑え、糖尿病予防効果、抗肥満効果を有することから健康機能を高めた食品への利用が期待できる。本研究ではデザート食品中の Suc を Psi に置きかえた際の影響を調べることを目的とした。

【方法と結果】ババロアの材料の一部である牛乳とゼラチンを使ってミルクゼリーを作製し、破断強度と粘弾性を測定した。結果、糖濃度 20%以上では Suc ゼリーと Psi ゼリーのレオロジーに違いが見られ、Suc ゼリーと比べて Psi ゼリーの破断応力と粘性率の値が低くなった。このことから、粘り気の少ない柔らかいゲルが形成されることが示された。次に糖濃度 10%、15%のババロアを作製し、破断強度と粘弾性を測定した。結果、Suc ババロアと Psi ババロアの破断強度と粘弾性において値に優位差がないことが示された。次に糖濃度 10%、15%のババロアの官能評価を行った。結果、糖濃度 15%の Psi ババロアは糖濃度 10%の Suc ババロアと同様、嗜好的に好まれることが分かった。以上のことから、Psi ババロアは Suc ババロアと比較して遜色のないものができることが分かった。

固相抽出フローインジェクション分析による微量鉛の高感度定量法の開発

A-14

○銀叶, 大島光子, 本水昌二, 村田芳行 (岡大院・自然)

自然環境における鉛の動態把握はきわめて重要である。鉛の慢性毒性が確認され、特に水中の鉛は、存在量こそ非常に微量であるが、これを摂取する生物に対して影響が極めて大きいことから、微量鉛を高感度に測定する方法が必要とされている。

そこで、本研究では、分析操作の簡略化、迅速化、再現性向上、コストの省力化と、高感度で鉛を検出できることを考慮し、フローインジェクション分析法(FIA)による鉛定量法の開発を試みた。

FIA 法では河川水中の鉛を直接定量することができないため、本研究では、自動前処理装置として自動前濃縮装置(Auto-Pret)を用いた。Auto-Pret/FIA System を用いて行った高感度化実験の結果から、Auto-Pret により鉛イオンを選択的に捕集でき、また、少量の溶離液を用いた濃縮ができた。濃縮倍率は、試料溶液 2.5 mL を用いたとき約 3 倍、20 mL を用いたとき約 15 倍となった。0 ~ 8×10^{-8} M の Pb^{2+} の濃度範囲で描いた検量により相関係数は 0.9917 の良好な直線が得られた。さらに、本法を河川水に適用し、座主川には 0.90 ± 0.01 ppb の鉛が存在していることが分かった。また試料液に Pb^{2+} を添加し、回収実験を試みた結果、回収率はほぼ 100%と良好であった。

2 α -メチルビタミン D₃ 及び 25-ヒドロキシ-2 α -メチルビタミン D₃ の合成研究

B-01

○末長 努, 藤島 利江 (徳島文理大香川薬)

【目的】 25-ヒドロキシビタミン D₃ (1) は血中に最も多く存在するビタミン D₃ 代謝物であり、1 α , 25-ジヒドロキシビタミン D₃ (2) の前駆体として知られる。1 α , 25-ジヒドロキシビタミン D₃ (2) は、特異的核内受容体であるビタミン D 受容体 (VDR) を介し、カルシウムホメオスタシスを担うセコステロイドホルモンとして機能する。25-ヒドロキシビタミン D₃ (1) の血中濃度は(2)の約 1000 倍であり、VDR 親和性は(2)の約 1000 分の 1 であることから、受容体認識における 1 α 位水酸基の重要性は注目されてきた。しかし、高濃度で存在する (1) の生理的機能、及びその誘導体はほとんど知られていない。そこで、ビタミン D₃ 代謝物の活性発現に関わる受容体・酵素群への影響を調べるために、まずは VDR 親和性を上昇させるモチーフとして、2 α 位メチル基を有するビタミン D₃、及び 25-ヒドロキシビタミン D₃ 新規誘導体を設計した。

【方法・結果】 2 α -メチルビタミン D₃ (3)、及び 25-ヒドロキシ-2 α -メチルビタミン D₃ (4) の合成は、A 環部前駆体エンイン (5) をパラジウム触媒存在下、側鎖部を含む CD 環部とカップリングする収束的方法を用いた。(5) における 2 α 位置換基は、A 環 3 β 位に相当する水酸基を足がかりにメチルカルボキシ基として導入し、還元反応により得られる 2 α 位ヒドロキシメチル基を、スルホン酸エステルを経由したヒドリド置換反応により目的のメチル基に導いた。結果、3-ブテン-1-オールを出発原料にして得られる既知物質のエポキシドより 12 工程にて A 環部前駆体 (5) を得た。CD 環部合成法、及びカップリング反応の詳細について発表する。

β -N-Acetylglucosaminidase 阻害物質 pochonicine とその類縁体の培養生産

B-02 ○山田あさ美¹, 豊岡実穂¹, 臼木博一^{2,3}, 奥田徹⁴, 神崎浩¹, 仁戸田照彦¹
(¹岡山大院自然科学, ²岡山生物研, ³JSPS-PD, ⁴玉川大学学術研)

【目的】我々は、キチン分解酵素の 1 つである β -N-acetylglucosaminidase (GlcNAcase) 阻害物質の探索を行い、糸状菌 *Pochonia suchlasporia* が強力な GlcNAcase 阻害物質 pochonicine¹⁾ とその類縁体を生産することを明らかにした。Pochonicine の生産には押し麦固体培地が適しているものの、pochonicine 類縁体の生産性は低く、その生産量は pochonicine と比較して 1/10 以下である。Pochonicine 類縁体の単離には、類縁体生産性の向上が必要である。そこで、固体培地基材の検討による pochonicine およびその類縁体の生産性向上を試みた。

【方法・結果】 Pochonicine の母骨格であるピロリジジン環を有する化合物を含有することが報告されているものなど、10 種類の植物材料を培地基材として固体培地を調製した。これらの固体培地で *P. suchlasporia* を培養して得られた培養物の MeOH 抽出液をハスモンヨトウ蛹 GlcNAcase 阻害試験と GC-MS 分析に供し、GlcNAcase 阻害物質生産性と pochonicine およびその類縁体生産性を比較した。従来の pochonicine 生産固体培地の基材である押し麦にオーツヘイ細断物を添加した混合固体培地を用いたときに、高い GlcNAcase 阻害物質生産性がみられ、従来の押し麦固体培地を用いたときと比較して pochonicine 類縁体の生産量が 3~5 倍に増加した。^{1) Bioorg. Med. Chem., 17 (20), 7248-7253, (2009)}

膜面液体培養による生理活性環状ジペプチド類の生産

B-03

○今宮亮, 仁戸田照彦, 神崎浩 (岡山大院自然科学)

【目的】 環状ジペプチド類 (cyclic dipeptides, CDPs) には多様な誘導体が存在し, 生理活性を示すものもある。我々は特に側鎖の α , β 位が脱水素された脱水素型 CDPs が強力な細胞分裂阻害活性を示すことを明らかにしてきた。¹⁾ 今回, 酵素や二次代謝産物の生産に優れ, 添加培養が容易である膜面液体培養²⁾に着目し, 本培養法を用いた微生物変換による脱水素型 CDPs の生産と本培養法の大型化を図った。

【方法・結果】 *Streptomyces albulus* により生産される CFL oxidase は多くの CDPs の脱水素反応を触媒する。膜面液体培養を用いて培養した *S. albulus* の培養液中へ cyclo (His-Phe) (CFH) を添加し, 24 時間培養後に抽出した。HPLC 分析により, 抽出液中に CFH の脱水素体を確認できたことから, 膜面液体培養を利用した CDPs の微生物変換が可能であることが明らかとなった。膜面液体培養には液体培地上に多孔質膜を保持する支持体と培養容器を滅菌状態に保つフタが必要である。大型化にあたり, 支持体に PP 製メッシュ, フタに通気性を有する膜素材を用いることで様々な大きさの容器において培養が可能になり, *Aspergillus ustus* による生理活性環状ジペプチド phenylahistin の生産を確認した。

1) Kanzaki *et al.*, *J.Antibiot.*, **55**, 1042 (2002) 2) Nakanishi *et al.*, *Biocat. Biosep.*, 1706 (1999)

機能的タンパク質固定化技術を利用した NF κ B(p50) 阻害性ペプチドの探索

B-04

○宮原徹也, 今中洋行, 今村維克, 近藤英作, 中西一弘 (岡山大院自)

【目的】 我々のグループでは, これまでに親水性ポリスチレン(PS)プレート及び PS 高親和性ペプチドタグ(PS-tag)を用い, タンパク質の配向や構造を制御可能な固定化技術を開発し, タンパク質間相互作用を高感度に検出することに成功してきた。そこで, 本研究では, この固定化技術を利用した新規ペプチド薬剤スクリーニング法による, 炎症, 細胞増殖関連の転写因子である NF κ B(p50)機能阻害性ペプチドの探索を目的とした。

【方法・結果】 標的として NF κ B(p50)の DNA 結合ドメインである Rel Homology Domain (RHD)に着目した。この RHD を PS-tag 融合タンパク質として発現し, まずタンパク質-DNA 間相互作用の検出について, 親水性 PS プレートを用いた ELISA によって調べた。その結果, 高感度にタンパク質-DNA 間相互作用が検出できた。続いて, 構築した T7 phage library を用いたバイオパニングにより, RHD 親和性ペプチドを提示する phage クローンを約 80 個単離した。各 phage クローンのペプチドコーディング領域の塩基配列を決定すると共に, phage ELISA, inhibition assay による特性解析を行った。その結果, 単離した phage クローンの多くが RHD に高い特異性を示すことが分かった。

放線菌 *Streptomyces* sp.590 由来 L-メチオニン脱炭酸酵素の性質検討

B-05 ○前村知美¹, 内富久美子¹, 日下知香¹, 稲垣純子², 田村隆¹, 左右田健次³,
稲垣賢二¹(¹岡大院自然科学, ²岡大院医歯薬, ³京大名誉教授)

【目的】L-メチオニン脱炭酸酵素はL-メチオニンの脱炭酸反応を触媒し、補酵素としてピリドキサーール 5'-リン酸を持つビタミンB6酵素である。本酵素を保有する生物として報告されているのはこの放線菌を除いてはシダ、鞭毛藻の2種のみであり、発見されてから40年以上経過しているにも関わらず、未だ遺伝子レベルでの解析例は一例もなくその生理的意義に興味を持たれる。そこで本酵素の諸性質の解明、そして類縁他種との比較を目的として、今回は本酵素を精製し、諸性質の検討を試みた。

【方法・結果】本酵素の精製はDEAE-トヨパール、Phenyl-トヨパールと Sephacryl S-300 カラムクロマトグラフィーにより行った。ゲルろ過クロマトグラフィーと SDS-PAGE の結果から、本酵素は分子量 60 kDa のホモダイマーであることが確認された。部分精製酵素を用いた実験により、最適温度は 45°C、最適 pH は 7.0 であった。多くのアミノ酸脱炭酸酵素は高い基質特異性を有しているが、本酵素の基質特異性は低いことが確認された。また、精製酵素のN末端アミノ酸配列を行ったところ、18 残基のアミノ酸配列を明らかにすることができた。この配列を用いて相同検索を行ったが相同性の認められるタンパク質は得られず、本酵素が新規性の高いタンパク質であることが推定された。

糸状菌由来 L-リシン α-オキシダーゼの遺伝子クローニングと異種発現系の検討

B-06 ○望月雄介¹, 中田春香¹, 田村隆¹, 稲垣純子², 山下伸雄³, 日下部均⁴,
稲垣賢二¹(¹岡山大院・自然科学²同・医歯薬³白鶴酒造⁴エンザイムセンサ)

【目的】糸状菌 *Trichoderma viride* 由来 L-リシン α-オキシダーゼはL-リシンの酸化脱アミノ反応を触媒する FAD 依存性のアミノ酸オキシダーゼの一種である。本酵素は非常に安定であり基質特異性が厳格であることから、L-リシンの定量や検出に好適な酵素である。また、本酵素は顕著な抗腫瘍性を持つことが報告されている。今後の本酵素の研究のため、本酵素遺伝子のクローニングと異種宿主での発現系の構築を目的とした。

【方法】活性測定はL-リシンを基質とし、酵素反応により産生されたα-ケトグルタル酸を定量する MBTH 法を用いて行った。5' -RACE 法を用いて、L-リシン α-オキシダーゼの遺伝子クローニングを行った。クローニングにより得られた本酵素の cDNA をもとに、大腸菌 *E. coli* 等の異種での発現系の構築を試みた。

【結果】クローニングにより全長 2119 bp の cDNA を獲得した。予測 ORF は 615 アミノ酸残基からなる 845 bp であった。N 末端アミノ酸配列解析のから、本酵素はシグナルペプチドを含み、成熟タンパク質は 541 アミノ酸残基からなることが考えられた。大腸菌を宿主として行った発現系の検討では発現しない、または活性を持たない封入体として発現したため、麹菌 *Aspergillus oryzae* を宿主とした発現系を検討している。

ヒト由来セレノリン酸合成酵素アイソザイム SPS1/SPS2 の相互作用解析

B-07

○奥河内貴大, 田村隆, 稲垣賢二 (岡山大院・自然科学)

【目的】

微量必須元素セレンの生理機能は、セレノシステイン(Sec)残基を持つセレン蛋白質の触媒能に基づいて発揮される。セレノリン酸はセレン蛋白質合成の代謝中間体であり、セレノリン酸合成酵素(SPS)によって供給される。哺乳類には2つのアイソザイム(SPS1, SPS2)が存在する。SPS2はそれ自身が活性中心にSecを持つセレン酵素であり、セレノリン酸合成活性を有すが、SPS1は活性中心にThrを持ち、SPS活性を示さず、その生理的意義が不明である。本研究では、これらアイソザイムの生理的意義を解明することを目的とした。

【方法】

SPS1とSPS2の相互作用を酵母TwoHybrid実験で検討した。また、SPS1, SPS2共発現用ベクターを構築し、大腸菌を用いた*in vivo*アッセイ系を構築した。

【結果・考察】

SPS1, SPS2の酵母TwoHybrid実験よりSPS1とSPS2の間で相互作用が確認できた。また、SPS1, SPS2共発現実験により、SPS1がSPS2の活性を抑制することが示唆された。これらの実験結果よりSPS1はSPS2に結合してその機能を抑制している可能性が示唆された。

殺蚊トキシン Cry4Aa をオーダーメイド化する試み —ランダム変異を導入した変異体ライブラリーの構築—

B-08

○小野雄佑, 有吉育子, Mohammad T.H. HOWLADER, 早川徹, 酒井裕
(岡山大・院・自然科学)

土壌細菌 *Bacillus thuringiensis* が産生する Cry トキシンは昆虫特異的なスペクトルを示す殺虫タンパク質である。Cry トキシンは3つのドメイン(I~III)で構成される構造を持ち、ドメインIIの分子表面に露出するループ構造(ループ1~3)を介して感受性昆虫幼虫の中腸上皮膜上に存在する受容体に結合すると考えられている。実際、鱗翅目昆虫(蛾)特異的なトキシンである Cry1A では、ループ2を介して受容体のカドヘリン様タンパク質に結合することが示されている。

本研究では双翅目昆虫(蚊)特異的な Cry4Aa の受容体結合部位を明らかにする目的で、ループ置換やアラニンスキヤニングなど様々な Cry4Aa 変異体の構築を通して解析を進め、Cry4Aa ドメインIIのループ構造を改変しても基本的な殺虫活性が損なわれないことを示した。これはCry4AaがドメインIIのループ構造を介さずに受容体結合する新しいタイプのトキシンであることを示唆する。一方、Cry4AaはCry1Aと極めて類似する3D構造を持つため、Cry4Aaのループ2も受容体結合部位として機能できる可能性がある。ここではCry4Aaのループ2をランダムな配列に置換した変異体ライブラリーを効率よく構築する方法とそこから新しい活性を持つ変異体の選抜する試みに関する報告を行う。

酸触媒を用いたグリコシル多価アルコールの合成及びその特性

B-09

○江村直¹, 有賀修¹, 吉本雄大¹(¹高知工科大学・環境理工学群)

【目的】グリコシル多価アルコールは、糖と多価アルコールがグリコシル結合した化合物であり、ビフィズス菌の増殖促進やヒトの補体系の活性化などの有用性が報告されている。本研究では、グリコシル多価アルコールを簡易的に合成し、その諸特性について調べた。

【方法】糖（ガラクトースなどの単糖）と多価アルコール（グリセロール, エチレングリコール）を 1:50 のモル比で混合し、酸触媒としてリン酸を添加した後、約 110℃で所定時間反応させた。その後、活性炭と溶媒としてエタノールを用いて、精製を行った。薄層クロマトグラフィと HPLC を用いて合成物の確認を行った。合成物の諸特性として、熱安定性、メイラード反応性および α -アミラーゼ活性に対する影響を調べた。

【結果】ガラクトシルグリセロール (Gal-G) の合成において、HPLC クロマトグラムから単一のピークが確認でき、質量分析においても、ガラクトースとグリセロールの合成物と同一の分子量である事が確認できた。しかし、TLC において多重展開を行ったところ、数種の異性体が混在している事が分かった。Gal-G の熱安定性 (160℃、1h) を pH7.0 で比較した結果、加熱後、Gal-G の残存率に変化は認められず、Gal-G の熱安定性は極めて高い事が分かった。また、Gal-G を添加すると、ブタ由来の α -アミラーゼ活性が高まる事が分かった。

Photorhabdus luminescens の発光

B-10

○小川あかね¹, 恵良真理子², 田部井陽介², 森田洋²
(¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)

【目的】*Vibrio fischeri* は海洋性発光バクテリアとして知られており、迅速簡便な毒性評価等のバイオアッセイに広く利用されている。*V. fischeri* は、発光バクテリアの中でも比較的容易に発光量を高めることが可能なことから広く用いられているが、生育に 3 %程度の NaCl を必要とする。一方、淡水性発光バクテリアである *Photorhabdus luminescens* は、生育に NaCl を必要としないものの、発光量の低いことが課題であった。そこで本研究では、*P. luminescens* の発光性増大を目的として、培地中の無機塩類が発光量に与える影響について検討を行った。

【方法および結果】検定菌には、*P. luminescens* ATCC 29999 を用いた。培養法は、*P. luminescens* の推奨培地である Nutrient broth 培地および無機塩類 5 種類 (KCl, CaCl₂, MgCl₂・6H₂O, NaHCO₃, MgSO₄・7H₂O) をそれぞれ添加した培地を使用し、30 °C、70 rpm、18 h 培養を行った。その後、ルミノメータを用いて 5 min 間の積算値で 1 mL 中の発光量を算出し、評価を行った。その結果、Nutrient broth 培地および無機塩類 5 種類の全てを添加した培地で培養した *P. luminescens* は、Nutrient broth 培地のみで生育させたものに比べて、高い発光量を示した。

新規製膜法を用いたアルギン酸の光触媒担体としての利用と殺菌効果

B-11 ○伊勢田弘太郎¹, 石野靖浩¹, 恵良真理子², 田部井陽介², 森田洋²
(¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)

【目的】本研究では従来のアルギン酸塩の製膜法で問題となっていた高濃度可溶性カルシウム塩溶液でのアルギン酸塩の製膜法について検討し、アルギン酸ゲルが有する網目構造と表面の親水性について着目し、光触媒担体としての検討を行った。また、光触媒を担持したアルギン酸について、コーティング剤への応用を検討した。さらに本製膜法を用いた光触媒担持アルギン酸について殺菌効果を検討した。

【方法および結果】低濃度と高濃度の塩化カルシウム水溶液を二段階でアルギン酸ナトリウムに接触させることで、ひずみのないフィルムを作製することが可能となり、従来の製膜法と比べ高い強度を有していることが確認された。また、本製膜法で作製したフィルムの接触角は 40° 以下であり親水性のフィルムを作製することができた。さらに本製膜法を利用し、アルギン酸ゲルに光触媒 (S-TiO₂+Cu) を担持したところ、大腸菌に対して高い殺菌機能性 (1700 lx, 3 h, 7 オーダーの殺菌効果) を付加することが可能となった。この殺菌効果は光未照射条件下では発揮しなかったことから、光触媒反応によるものであることが示唆された。

Aspergillus 属菌と Rhizopus 属菌の混合液体麹を用いたグルコアミラーゼ生産

B-12 ○佐藤貴裕¹, 福田翼², 森田洋¹
(¹北九大院・国際環境工, ²水大校・食品科学)

【目的】清酒製造で使用される麹菌 (*Aspergillus oryzae*) は蒸米表面で培養 (固体培養) されることで、糖化酵素であるグルコアミラーゼ (GA) を高生産する。一方で、液体培地で麹菌を培養することで得られる液体麹は、培養コントロールが容易であり、酒質制御の面で非常に有効である。しかし液体麹は GA 生産性が著しく低いため、原料の糖化が速やかに進行しない欠点がある。そこで本研究では、液体培養においても GA を高生産する *Rhizopus* 属菌を *A. oryzae* と混合培養することで GA 活性の高い液体麹の作製を試みた。

【方法】*A. oryzae* IFO 5238, *R. cohnii* P5 を使用菌株として選抜した。生米粉を基質とした液体培地に両菌株の孢子懸濁液を同時に添加し、30 °C, 200 rpm で振とう培養した。GA 活性は培養液 1 ml が 1 分間に 1 μg のグルコースを遊離した時を 1 U として定義した。

【結果】*R. cohnii* に対する *A. oryzae* の添加孢子数の比を変化させることが GA 活性に大きく影響を与えることが分かった。特に添加孢子数を *A. oryzae* : *R. cohnii* = 44:1 の比で接種した場合で GA 活性が最大となり、培養 48 時間で 720 U/ml であった。このことから、生米粉を基質に用いた場合においても、本混合液体麹を用いることにより短時間で GA 活性の高い液体麹の作製が可能であることが示唆された。

ベンジルイソチオシアネートによる細胞生存経路の活性化

C-01 ○清水朋美, 横部新太郎, 村田芳行, 中村宜督 (岡大院・自然科学)

【目的】 パパイヤ由来のベンジルイソチオシアネート (BITC) は、がん細胞選択的にアポトーシスを誘導することが報告されている機能性食品成分である。その一方で、BITC は細胞生存経路を活性化し、アポトーシスを抑制するという報告もなされているが、その作用機構はほとんど解明されていない。そこで本研究では、BITC による細胞生存経路の活性化に関与する因子を同定し、この経路を制御することで BITC の抗がん作用を飛躍的に増強することを目的とした。

【方法・結果】 ヒト大腸がん細胞 (HT-29、HCT-116) に対する上皮成長因子 (EGF)、インスリン、インスリン様成長因子 (IGF-1) の影響を、細胞生存率、DNA の断片化、細胞生存・増殖に関わる因子のリン酸化、タンパク質チロシンホスファターゼ (PTP) の活性をそれぞれ測定・検出することで評価した。BITC との組み合わせ処理により、細胞生存率は有意に増強され、アポトーシスが顕著に抑制された。また、各因子のシグナル伝達に共通して活性化される Akt のリン酸化も BITC により有意に増加し、一方 PTP 活性は抑制された。以上の結果は、Akt の上流に位置する因子が BITC による細胞生存経路の活性化に寄与することを示唆している。

イソチオシアネート代謝の修飾による生理活性の増強

C-02 ○片山晴美, 筒井千春, 村田芳行, 中村宜督 (岡山大院・自然科学)

【目的】 アブラナ科野菜に豊富に含まれ、辛味成分として知られるイソチオシアネート (ITC) 類は、薬物代謝酵素の発現誘導をはじめとした様々な生理作用を誘導することが知られている。一方、細胞内に取り込まれた ITC 類は、速やかにグルタチオン (GSH) を付加され、ABC トランスポーター等を介して排出されることが報告されている。本研究では、前半の GSH 抱合に関与するグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) に注目し、GST 阻害剤であるエタクリン酸 (EA) 及びエタクリン酸ブチルエステル (EABE) を用いて、ITC 代謝の修飾が生理活性に与える影響を調査した。

【方法・結果】 GST 発現が顕著であるマウス肝がん細胞 Hepa1c1c7 を用いて、薬物代謝酵素の発現誘導、細胞内 ITC 蓄積量、GSH 量に対する GST 阻害剤の影響を調べた。その結果、EA 及び EABE の前処理によって薬物代謝酵素の発現及び細胞内 ITC 蓄積量が有意に増加した。続いて細胞内 GSH 量を定量したところ、30 分間の ITC 単独処理により GSH 量がコントロールと比較して有意に減少したが、EA 及び EABE は GSH 量に大きな影響を与えなかった。以上の結果から、GST 阻害剤は、細胞内 ITC 量を増加させることで ITC が誘導する生理活性を増強することが示唆された。

フロキシシン B 誘導光細胞毒性に対するアスコルビン酸の効果

C-03

○ 呉情, 启航, 村田芳行, 中村宜督 (岡大院・自然科学)

【目的】我々はこれまでに、食用タール色素である赤色 104 号 (フロキシシン B) が、過酸化水素の産生を介して光細胞毒性を誘導することを報告してきた。一方、アスコルビン酸は食品由来の水溶性抗酸化物質として著名であるだけでなく、条件によってはプロオキシダントとして作用することが知られている。そこで本研究では、フロキシシン B 誘導光細胞毒性に対するアスコルビン酸の効果、ヒト前骨髄性白血病細胞 HL-60 を用いて検討した。

【方法・結果】HL-60 細胞をフロキシシン B 及びアスコルビン酸の単独、或いは組み合せで処理し、その後 1 時間蛍光灯にて光照射した。細胞応答の指標として、細胞生存率、細胞内グルタチオン量、DNA 断片化、カスパーゼ 3 活性、リン酸化 MAP キナーゼの発現をそれぞれ測定し、アスコルビン酸の影響を評価した。その結果、アスコルビン酸は、フロキシシン B が誘導した光依存的なアポトーシスを相乗的に増強した。カスパーゼ 3 活性の増加だけでなく、細胞内酸化状態の指標である細胞内グルタチオン量の低下、JNK 及び p38 のリン酸化の増大が、DNA 断片化と同様にアスコルビン酸との共処理で顕著であった。以上の結果から、アスコルビン酸はフロキシシン B による酸化ストレスを相乗的に増強することで、アポトーシス誘導シグナル伝達を正に制御している可能性が示唆された。

All-trans レチノイン酸による腸管リン吸収への影響とそのメカニズム

C-04

○ 増田真志¹, 山本浩範¹, 香西美奈¹, 竹井悠一郎¹, 中橋乙起¹, 池田翔子¹, 大谷彩子¹, 竹谷豊¹, 宮本賢一¹, 武田英二¹ (¹徳島大臨栄, ²徳島大分栄)

【目的】我々は、ビタミン A 欠乏 (VAD) における高リン尿症の原因解明を行い、腎 II 型リン酸輸送担体 (Npt2a, Npt2c) 遺伝子の all-trans レチノイン酸 (ATRA) および核内受容体 RAR/RXR による転写調節機構を明らかにした (Masuda *et al.* Biochem. J. 2010)。しかしながら、ATRA による腸管リン吸収への調節機構は未だ不明である。そこで、本研究では VAD ラットを用い ATRA による腸管リン吸収調節機構の解明を行った。

【方法・結果】7 週齢 VAD ラットを作成し、それらに ATRA (1 mg/kg 体重) (VAD+ATRA 群) または生理食塩水 (VAD 群) を投与し、18 時間後に解剖した。その結果、VAD 群の糞中リン排泄量は Control 群と比して低下した。また、腸管におけるリン取込み活性および腸管 Npt2b 遺伝子発現は、VAD 群ラットにおいて増加し、VAD+ATRA 群では Control 群と同程度まで低下した。一方、腎 Npt2a および Npt2c 発現は ATRA 投与により上昇した。RAR/RXR を強発現させた NIH3T3 細胞を用いたルシフェラーゼアッセイの結果、Npt2b 遺伝子のプロモーター活性は ATRA および RAR 特異的アナログ TTNPB により濃度依存的に抑制された。以上のことより、ATRA は腸管および腎臓において Npt2 ファミリー遺伝子群の正または負の転写制御を介し生体リン恒常性を維持することが示唆された。

鶏卵白アルブミン(OVA)をモデルとした serpinopathy の研究

C-05 ○石丸隆行, 田中俊平, 松富直利¹ (山口大・農, ¹宇部フロンティア大)

【目的】セリンプロテアーゼインヒビター (serpin) の機能不全で惹起される疾病を serpinopathy と呼んでいる。その代表例として $\alpha 1$ -antitrypsin 欠損による肺気腫がある。Serpin の多くはその構造が類似し、相同性も高い。本実験では、serpin superfamily である OVA が serpinopathy 解明のモデル蛋白質として利用可能であるかを調べた。

【方法】 $\alpha 1$ -antitrypsin の Z 型変異体 (E342K) と Mheerlen 変異体 (P369L)、および neuroserpin の Portland 変異体 (S52R) をモデルとして、それぞれ OVA の E336K、P363L、および A33R 変異体を構築し、*P. pastoris* 及び *S. cerevisiae* で発現させた。

【結果】各 OVA 変異体の発現、分泌を *P. pastoris* 発現系で調べたところ、各変異体の分泌は観察できたが、野生型より著しく低下し、さらに発現量においても低下していた。*S. cerevisiae* 発現系でも同様の傾向であった。免疫染色法で細胞内局在を調べたところ、A33R、E336K は主に細胞質に、P363L は小胞体に蓄積していることが分かった。対照として、*E. coli* 発現系で各 OVA 変異体を発現させたところ、A33R および E336K は凝集しやすい傾向にあった。以上から、これら変異体は本来の変異型 serpin と同様の挙動を示し、OVA が Serpin のモデルタンパク質として利用できる可能性が示唆された。

LRAT ファミリーに属するヒト新規脂質代謝酵素群の機能解析

C-06 ○宇山徹¹, 篠原尚樹^{1,2}, 金星華¹, 坪井一人¹, 藤内武春³, 芳地一², 上田夏生¹ (¹香川大医, ²香川大医病・薬剤部, ³国立病院機構善通寺病院)

HRASLS ファミリーは癌抑制遺伝子群として以前に単離されていたが、その性状は不明であった。しかしながら、これらの一次構造がレチニルエステルを生成することでビタミン A の体内動態を制御するレチニン・レチノール・アシルトランスフェラーゼ (LRAT) に相同性を示すことから、脂質代謝酵素である可能性が考えられた。演者らは一連の研究により、ヒトで発現している同ファミリーの 5 種類のメンバーのうち、4 種類がリン脂質代謝酵素活性を示すことを明らかにしてきた。そこで本研究では、残された HRASLS-1 (別名 A-C1) のリン脂質代謝酵素活性について検討を行った。実験にはヒト HRASLS-1 の組換え体を COS-7 細胞で発現させ、精製した標品を用いた。その結果、ホスファチジルコリン (PC) に対するホスホリパーゼ A₁ および A₂ 活性が検出された。PC をアシル基供与体とするアシル基転移活性についても検討した結果、ホスファチジルエタノールアミン (PE) のアミノ基にアシル基を転移して N-アシル-PE を生成する活性と、リゾ PC にアシル基を転移して PC を生成する活性が検出された。一方、LRAT が示すようなレチニルエステル生成活性は検出されなかった。以上の結果から、HRASLS ファミリーの 5 種類すべてがリン脂質代謝酵素活性を保有していることが明らかになった。

マウスマクロファージ様培養細胞 RAW264 におけるグルタチオン合成系に対する β-カロテンの影響

○赤星哲平, 山西倫太郎 (徳島大学大学院 HBS 研究部 食品機能学分野)

【目的】

我々はこれまで、マウスマクロファージ様培養細胞 RAW264 に β-カロテンを添加すると、β-カロテンが細胞膜に蓄積すると共に、細胞内グルタチオン(GSH)レベルが上昇することを報告しているが、GSH 増加の詳細なメカニズムは明らかではなかった。そこで、本研究では RAW264 細胞の GSH 合成系を対象として、β-カロテンの影響を明らかにするための種々の検討を行った。

【方法・結果】

GSH 合成の律速酵素である glutamate-cysteine ligase (GCL) の modifier サブユニット(GCL m)と catalytic サブユニット(GCL c)の mRNA 発現を RT-PCR 法で定量し、タンパク質発現をウエスタンブロット法で測定した。その結果、β-カロテンによる RAW264 細胞内の GSH 量の増加は、タンパク質の発現誘導を伴うものであり、さらに、同細胞における GCL の mRNA 及びタンパク質の発現量の増加と正の相関を示した。このことから、培地に添加され RAW264 細胞に蓄積した β-カロテンは GSH 合成系の酵素発現を誘導した結果として、細胞内の GSH レベルを上昇させることが明らかとなった。

DAO gene therapy sensitizes glioma cell selectively to anti-glycolytic effect of 3-bromopyruvate

C-08

○Salah M. El Sayed, R. M. El-Magd, Y. Shishido, S-P. Chung, K. Yorita, T. Sakai, and K. Fukui (Inst. for Enz. Res., Univ. Tokushima)

Glioma tumors are refractory to conventional treatment. Glioblastoma multiforme is the most common and aggressive type of primary brain tumors in humans and constitutes a major proportion of childhood cancer. In this study, we introduce oxidative stress-energy depletion therapy (OSED) as a new suggested treatment for glioblastoma. OSED utilizes D-amino acid oxidase (DAO) which is a promising therapeutic protein that induces oxidative stress and apoptosis through generating H_2O_2 . OSED combines DAO with 3-bromopyruvate (BP), a hexokinase II (HK II) inhibitor that interferes with Warburg effect, a common metabolic alteration of most tumor cells which is characterized by enhanced aerobic glycolysis. Our data revealed that BP induced depletion of energetic capabilities of glioma cells which are essential for glioma survival and growth. Our data revealed that BP induced H_2O_2 production as a novel mechanism of its action. Our data revealed also that C6 glioma transfected with DAO and treated with D-serine together with BP sensitized glioma cells to the effect of BP and decreased markedly proliferation, clonogenic power, viability in a 3D tumor model and anchorage-independent growth of glioma cells with lesser effect on normal astrocytes. OSED therapy may be a promising therapeutic modality for glioma.

D-セリン代謝産物ヒドロキシピルビン酸の細胞死誘導活性

C-09 ○鄭丞弼, 宋瑩, 朴煥埼, 頼田和子, 宍戸裕二, 坂井隆志, 福井清
(徳島大学疾患酵素学研究センター 病態システム酵素学研究部門)

D-アミノ酸酸化酵素(DAO)はD型アミノ酸のみを基質とし、補酵素としてFADを必要とするフラビン酵素である。DAOの活性の上昇が、中枢神経におけるD-セリン濃度の低下を招き、NMDA受容体の機能不全に由来する様々な病気に関係することが提唱されている。本研究ではDAOによる細胞外D-セリンの代謝とその代謝産物である過酸化水素とβ-ヒドロキシピルビン酸(HPA)の作用に関する検討を行った。

その結果、DAO発現細胞で高濃度のD-セリンの添加による濃度依存的な細胞死誘導が観察された。さらにDAOを強制発現させたアストログリア細胞ではより低い濃度のD-セリンで細胞死が誘導された。そこで、D-セリンの代謝産物の細胞毒性に関して検討を行った結果、H₂O₂とともにHPAによる濃度依存的な細胞死が観察された。HPAによる細胞死はアストログリア細胞に顕著に認められ、この細胞死がアポトーシスの一形態であることが観察された。以上の結果から、脳内D-セリンの代謝にアストログリア細胞に局在するDAOが積極的に関与することが強く示唆された。さらに、D-セリンの過剰投与により惹起される細胞死に、過酸化水素とともにHPAも関与する可能性が示唆された。また、HPAによって誘導される細胞死は脳内アストログリア細胞に特異的に起こる可能性が示唆された。

リン酸捕獲試薬を用いた簡易リゾホスファチジン酸分析法の食品への適用

C-10 ○盛重純一¹, 瓜倉真衣², 葛西彩香³, 田中保³, 徳村彰³, 小池透⁴, 里内清²
(¹福山大・RCGS, ²福山大・生命工, ³徳島大院・HBS, ⁴広島大院・医歯薬)

【目的】創傷治癒因子のリゾホスファチジン酸(LPA)を多く含む食品は、抗潰瘍性食品としての利用が期待できるが、これまで食品中のLPA含量を調べるためには複雑な過程と時間が必要であった。本研究では、リン酸捕獲試薬、Phos-tagと質量分析法を用いてLPAを簡便に精製・分析する方法を開発し、LPA含量の高い食品の検索を行った。

【方法・結果】溶媒分配にはBligh-Dyer法(クロロホルム:メタノール:水=1:1:0.9, v/v)を用いた。溶媒のpHが中性やアルカリ性の場合、LPAは他の脂質と異なり下層(クロロホルム層)から殆ど回収されないが、Phos-tagと複合体を形成させるとクロロホルム層に分配されるようになった。この複合体化によるLPAの極性の変化を利用し、先ずアルカリ性条件下でBligh-Dyer法を行いLPA以外の夾雑脂質を除去し、その後Phos-tagを加えて再びBligh-Dyer法を行うことで、脂質混合物から特異的にLPAを単離できるようになった。更にLPAの検出にマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法を用いることで、高感度な定量分析が可能となった。この分析法を用いて穀類、豆類、飲料類などの食品のLPA含量を調べた結果、豆類で30 nmol/gと比較的高いことが明らかとなった。また、米糠に120 nmol/gと高含量のLPAが含まれていることも見出した。

メディエーターリン脂質による抗消化性潰瘍効果

C-11 ○木下正文¹, 足立美佳¹, 葛西彩香¹, 大本真弓¹, 盛重純一², 瓜倉真衣²,
近藤宏樹², 里内清², 田中保¹, 徳村彰¹ (¹徳島大薬, ²福山大生命工)

【目的】 リゾホスファチジン酸 (LPA) は創傷治癒に関与する増殖因子様リズリン脂質メディエーターであり、消化管管腔に投与した LPA がトリニトロベンゼンスルホン酸惹起性大腸炎を緩和することなどから、LPA が抗消化管障害効果を示す可能性が示唆されている。本研究では、経口摂取したリン脂質が胃内で LPA に変換される可能性と、種々のリン脂質の抗 NSAIDs 惹起性潰瘍効果を検討した。

【方法・結果】 絶食したマウスから胃洗浄液を調製して活性を測定すると、ホスファチジン酸 (PA) をよい基質とする比較的強力なホスホリパーゼ A₂ 活性が検出された。また、摘出胃中に PA (300 nmol / stomach) を投与しインキュベートすると、30分で26%がLPAへ変換されることが明らかになった。続いて種々のリン脂質が及ぼすNSAIDs潰瘍への効果を調べたところ、LPA、PA およびホスファチジルコリン (PC) が潰瘍の形成を抑制した。

【考察】 以前我々は、キャベツの咀嚼により活性化したホスホリパーゼ D (PLD) によって PC から PA が産生されることを報告した。本研究の結果より、キャベツを食べると PC に PLD と胃内の PLA₂ が連続的に作用して、結果的に LPA を産生して抗潰瘍効果を示す可能性が示唆された。

種々の食材中の創傷治癒性リン脂質含量

C-12 ○葛西彩香¹, 木下正文¹, 足立美佳¹, 盛重純一², 瓜倉真衣², 里内清²,
柏田良樹¹, 今林潔¹, 高石喜久¹, 田中保¹, 徳村彰¹
(¹徳島大薬, ²福山大生命工)

【目的】 リゾホスファチジン酸 (LPA) は細胞増殖因子様のメディエーターであり、抗消化性潰瘍作用を示す可能性がある。経口的に摂取したホスファチジン酸 (PA) は胃内のホスホリパーゼ A₂によってLPAへと変換されるため、PAも抗潰瘍作用を発揮する可能性がある。よって本研究では種々の食材中のPA含量を調べた。

【方法・結果】 各食材を乳鉢・乳棒を用いてすりつぶし、Bligh-Dyer法により脂質成分を抽出した。脂質抽出物を2次元TLCにより展開し、プリムリンによって発色させ発色強度を数値化した。総リン脂質中に占める各リン脂質の割合より、各リン脂質含量を求めた。40種の食材と16種の生薬を分析した結果、PA含量は肉・魚介類や果実類で200 nmol/g以下と低かったのに対し、キャベツは972 nmol/g、コマツナは686 nmol/gであり、全体として葉野菜で高かった。また、抗消化性潰瘍作用や下痢止め作用を持つと言われる生薬は高い値を示すものが多く存在し、例えばアカメガシワやキンミズヒキはそれぞれ809 nmol/g、475 nmol/gであった。

ユズ種子の発酵促進機構に関する基礎的検討

D-01

○木下絢賀, 松元信也 (高知工科大 物質・環境)

【目的】ユズ種子の示す発酵促進作用がどのような機構で起こるのかを明らかにする研究の一環として、ユズ種子を構成する固形分の作用を中心に基礎的検討を行なった。

【方法】i) 試料調製法：60℃で24時間処理したユズ種子の水懸濁液をメッシュにて分画し、固形分量の異なる7画分を得た。ii) 溶存炭酸ガス(DCO₂)放出力検定法：所定量の試料をビールに添加し、10分間に放出されたDCO₂量をコントロールのそれで除した値を放出力とした。iii) 発酵試験法：所定の培地に、種子換算で0.2%相当の試料及び酵母を添加し、28℃で静置発酵させた。発酵中は、経時的に炭酸ガス発生量を測定した。

【結果】①DCO₂放出力は固形分の多少などによって大きく異なった。即ち、固形分の極めて少ない0.45μm以下及び53μm以下の試料では放出力は認められなかったが、それ以上の大きさの固形分を含む試料では、固形分が大きく、多いほど放出力は大きかった。②発酵促進作用はすべての試料で認められ、その程度は大きくて、多量の固形分を含む試料ほど大であった。③DCO₂放出力と発酵促進度を比較検討した結果、ユズ種子の発酵促進作用はi) 固形分の示すDCO₂放出作用と、ii) 化学的成分の代謝活性亢進作用の二つの作用が関与して、酵母の増殖発酵活性を亢進することにより発現すると考えられた。

ニンニク添加系における微生物の発酵特性に及ぼす諸因子の影響

D-02

○水間 寛, 松元信也 (高知工科大 物質・環境)

【目的】ニンニクを添加して酵母を発酵させると、添加量が増すにつれて発酵は促進されるが、ある添加量を超えると抑制作用に転じる。この反転現象を誘起する添加量(臨海添加量)が発酵温度や微生物の種類によってどのように変化するのかを明らかにする。

【方法】発酵試験法：所定の培地に、所定量のおろしニンニクと酵母もしくはザイモモナス属細菌の培養液を加えて、混合、攪拌し、所定の温度で静置発酵させた。なお、ニンニクは生の鱗茎を洗浄し、摩り下ろしたものをそのまま用いた。発酵中は経時的に炭酸ガス発生量を測定し、発酵後はpH、総酸、アルコール、菌数などを分析した。

【結果】①発酵温度の影響：i) 発酵温度が高くなるに従って、ニンニク添加による発酵促進作用が抑制作用に反転する、いわゆる臨界添加量は低下する傾向にあった。ii) 従って、36℃もしくは38℃という高温発酵下での酵母の発酵促進を期待してニンニクを添加する場合は、添加量を慎重に検討する必要がある。②微生物の種類の影響：i) ザイモモナス属細菌の場合の1セル当りの臨界添加量は酵母の場合に比べて低かった。ii) 従って、ザイモモナス属細菌の発酵促進を期待してニンニクを添加する場合の添加量は、酵母の場合以上に、慎重に検討する必要がある。

ビワ種子添加発酵系における発酵温度と酵母の発酵特性の関係

D-03

○喜田和亨, 松元信也 (高知工科大学 物質・環境)

【目的】ビワ種子が酵母の発酵を促進するという有用な作用を、省資源化策の一つとして期待されている高温発酵法や酒質の多様化策に応用展開すべく、発酵温度と酵母の発酵特性の関係について検討した。

【方法】i) 発酵試験法：YPD 合成培地に、所定量のビワ種子粉碎物と酵母培養液を添加して、所定の温度で静置発酵させた。ii) 香気成分分析法：濾過処理された発酵終了液をヘッドスペースGC法で分析した。

【結果】①発酵速度：i) 34℃以上の高温発酵の場合も添加量依存的に発酵は顕著に促進された。ii) 38℃の高温発酵の場合、高温と生成したアルコールの両ストレスが相乗的に作用し、発酵成績は低下したが、発酵約 20 時間で約 4%のアルコールが生成した。iii) 従って、ビワ種子添加は省資源化策の一つとして期待されている高温発酵法及び高温・減圧発酵法の実用化に有用である可能性が示唆された。②香気成分生成特性：i) ビワ種子を添加して 38℃で発酵させた場合、香気成分生成量の増加度は、28℃に比べて小さかったが、添加量依存的に増大した。ii) 従って、種子の添加は発酵の省資源化策としてだけでなく、酒質の多様化策としても応用展開可能であることが示唆された。

バイオエタノールの省エネルギー的高効率発酵システムの開発 (7)

D-04 細菌による通気式アルコール発酵システムに関する基礎的検討

○梶原秀一, 松元信也 (高知工科大学 物質・環境)

【目的】ザイモモナス属に代表されるアルコール発酵細菌の特性を活用展開して構想した通気式アルコール発酵システムの運転操作に必要な諸条件のうち、通気条件と溶存炭酸ガス(DCO₂)放出作用及び増殖発酵特性の関係について検討を加えた。

【方法】①通気法：エアポンプとストーンを用いたノーマルバブル(LB)通気とマイクロ・ナノバブル発生装置を用いたマイクロバブル(MB)通気の2つの方法で行なった。②DCO₂放出力検定法：原ビール中のDCO₂濃度と所定の条件で5分間通気した後のビール中のDCO₂濃度との差をDCO₂放出量とし、その値を5分間静置(コントロール)した場合の放出量で除した値を放出力とした。③発酵試験法：RM培地にザイモモナス属細菌の培養液を添加し、28℃で所定の通気法もしくは静置法で発酵させた。発酵中は経時的に菌数、アルコールなどを測定した。なお、LBの場合は連続通気、MBの場合は間歇通気とした。

【結果】①通気した場合は、静置の場合の2~3倍の溶存炭酸ガス(DCO₂)放出力を示した。②マイクロバブル(MB)通気は、ノーマルバブル(LB)通気に比べて、DCO₂放出力が大であった。③LB連続、MB間歇通気法のいずれの場合も、静置発酵に比べて、ザイモモナス属細菌の発酵速度は速かった。

微生物の発酵特性に対するエゴマ種子の作用

D-05

○西澤和展, 松元信也 (高知工科大学 物質・環境)

【目的】演者らは微生物の増殖・発酵活性に対する種子類、球根類および茎葉類の作用とその応用に関する研究を展開しているが、ここではその研究の一環として、エゴマ種子の作用について検討を加えた。

【方法】①単行単式発酵試験法：培地に、所定量のエゴマ種子粉末と酵母、もしくはアルコール発酵細菌の培養液を添加して、28℃で静置発酵させた。培地としては、YPD 合成培地（酵母とザイモバクター属細菌）、RM 合成培地（ザイモモナス属細菌）、及びオレンジ果汁培地（細菌の場合は pH を 5.5 に調整）を用いた。発酵中は経時的に炭酸ガス発生量を測定し、発酵後は、アルコール、菌数などを分析した。②並行複式発酵試験法：所定量の生コーングリッツ、グルコアミラーゼ剤、水、エゴマ種子粉末及び酵母培養液を加えて、そのまま糖化発酵させる、いわゆる無蒸煮法で発酵させた以外は前記の方法に準じた。

【結果】①エゴマ種子を添加して発酵させると、培地の種類、微生物の種類、及び発酵方式などによって程度は異なるが、発酵は促進されることが示された。②従って、エゴマ種子の添加は飲料用並びに燃料用アルコールの発酵生産の高効率化策の一つとして極めて有用であると考えられた。

酵母の発酵特性に対するサンショウの作用

D-06

○藤原 誠, 高橋 永, 松元信也 (高知工科大学 物質・環境)

【目的】高知県越知町では、地域振興策の一環として、サンショウの栽培、加工が盛んである。そこで、ここでは、サンショウの微生物利用技術領域での新たな活用方法を見出す一環として、酒類醸造などで主役を演じている酵母の増殖、発酵に対して、サンショウがどのような作用をするのかを明らかにすべく検討した。

【方法】発酵試験法：YPD 合成培地に、所定量のサンショウの果実、もしくは果皮、もしくは種子の粉碎物と酵母培養液を添加して、28℃で静置発酵させた。なお、添加量は、初発モロミ容量当りの乾物換算濃度 (w/v) で表示した。発酵中は経時的に炭酸ガス発生量を測定し、発酵後は pH、総酸、アルコール、菌数などを測定した。

【結果】①サンショウの果実を添加した場合は、添加量が増すにつれて発酵は促進されたが、ある添加量より多くなると逆に発酵は抑制されることが知られた。②その相反する作用は、果皮部分を添加した場合は観察されたが、種子部分を添加した場合は、観察されず、添加量依存的に発酵は促進された。③従って、発酵促進を期待してサンショウを添加する場合は種子部分を使用するのが最適で、果実や果皮を使用する場合は、その使用目的が促進、抑制のいずれの場合も、添加量は慎重に決定する必要性のあることが知られた。

*Vibrio fischeri*における硫黄依存型発光性

D-07

○田部井 陽介, 恵良 真理子, 小川 あかね¹, 森田 洋
(北九大・国際環境工, ¹北九大院・国際環境工)

【目的】海産性発光バクテリア *Vibrio fischeri* は、細胞密度の増加とともに発光量の上昇が引き起こされ、その発光性は、主に Quorum Sensing によって制御されている。これまで、この発光性と Quorum Sensing に関しては、関連遺伝子の同定や情報伝達メカニズムなど多くの知見が蓄積されている一方、*V. fischeri* の生育環境である海水中に含まれる成分が発光量に与える影響に関してはほとんど解析されていなかった。そこで、本研究では人工海水中に含まれる成分と発光量の関係性を明らかにすることを目的とした。

【結果】培地中の栄養分が *V. fischeri* の発光量に与える影響を追跡したところ、栄養欠乏条件下（人工海水中）では増殖は見られないにもかかわらず、比較的高い発光性を有していた。このことから、人工海水中には Quorum Sensing とは独立した発光の制御を担う因子が存在することが示唆された。この因子の同定を試みたところ、人工海水中に含まれる MgSO₄ を除いた条件下でのみ発光量が大きく低下しており、人工海水中での発光に MgSO₄ 依存性があることが明らかとなった。さらに詳細に解析したところ、MgSO₄ のみならず、他の硫黄化合物でも発光の誘導が認められ、*V. fischeri* の発光性に硫黄源要求性があることが示唆された。

Vibrio fischeri の固定化と発光性

D-08

○恵良真理子¹, 田部井陽介¹, 小川あかね², 森田洋¹
(¹北九大・国際環境工, ²北九大院・国際環境工)

【目的】発光バクテリア *Vibrio fischeri* は海産性のグラム陰性桿菌であり、490nm 付近に極大を示す青緑色の光を発する。その発光量の変化を利用して毒性物質等の存在を検出するセンサーとしての利用がされているが、比較的高濃度の毒性物質が必要である点、発光阻害が可逆的である点などの問題があり、発光の安定化が求められている。我々は蚕繭からフィブロインを抽出し、得られた溶液を用いて不溶化フィブロイン膜を作成し、この膜が高い微生物付着能を有することを見出した。本研究ではこのフィブロイン膜に *V. fischeri* (ATCC 49387) を固定し、その発光と安定性を評価することを目的とした。

【方法・結果】蚕繭から得られたフィブロイン溶液にグリセロールを添加し、不溶化フィブロイン膜を作成した。このフィブロイン膜を用いて、発光バクテリア *V. fischeri* (ATCC 49387) の固定と発光性について評価を行った。*V. fischeri* は短時間でもフィブロイン膜への高い付着性を示し、SEM観察においても高い付着が確認された。特に、対数増殖後期の細胞で高い発光性が認められた。また、フィブロインの有無にかかわらず、*V. fischeri* の付着菌体数はほぼ一定であったことから、フィブロイン膜のコンディショニングフィルムとしての有用性が示唆された。

酵母の発酵力に対する D-システインの影響

D-09

○浮田健太郎, 新井公誉, 横井川久己男(徳島大院総科)

【目的】 D-アミノ酸は自然界における存在量が極めて少なく、かつては非天然型アミノ酸と考えられていた。しかし、近年になって、一部の動植物や食品にも D-アミノ酸の存在が報告されるようになり、生理的機能が注目されている。例えば、日本酒、ワイン、食酢などの身近な発酵食品にも多くの D-アミノ酸が存在することが明らかとなっている。しかし、酵母の増殖と発酵に対する D-アミノ酸の影響については調べられていない。そこで、本研究では、酵母の発酵力に対する D-アミノ酸の影響を検討した。

【方法・結果】 0.01%~0.2%の D-アミノ酸を含む YPG 培地に酵母細胞を加え、30°Cで 2 時間発酵させ、生成したエタノール量を酵素法を用いて測定した。

結果は、D-アミノ酸の中でも、特に D-システインを培地に加えた場合にエタノール生成量が増加する傾向が見られた。ビール酵母、清酒酵母、ワイン酵母の発酵力に対しても D-システインは発酵力を 10%程度増加させたが、著しい差は見られなかった。また、D-システインの添加量を検討したところ、0.01%からエタノール生成量の増大が見られ、濃度依存的に生成エタノール量が増大した。また、システインと構造類似の 2-メルカプトエチルアミンについても酵母の発酵力を増大させる傾向が見られた。

出芽酵母における染色体からのセントロメアDNAの切り出しによる細胞死の誘導

D-10

○松崎浩明, 宮本昭弘, 柳本敏彰, 秦野琢之(福山大・生命工・生物工)

【目的】 遺伝子組換え生物が野外で拡散すると、環境へ及ぼす影響が危惧される。野外での拡散を防ぐために遺伝子組換え生物に条件致死性質や不稔性質を付与する技術の開発が重要である。そこで、酵母 *S. cerevisiae* をモデル生物として pSR1 プラスミドの部位特異的組換えを利用して特定の条件下で染色体からセントロメア DNA を切り出して細胞死を誘導することを検討した。

【方法・結果】 酵母細胞で染色体のセントロメア配列の両側に組換え部位を挿入し、さらにレコンビナーゼ発現プラスミド (*GAL1* プロモーターで発現) を導入した株を作製した。この細胞をガラクトース培地で培養してセントロメア DNA の切り出しを誘導し、生育を調べた。まず、一倍体細胞で第IV番染色体からセントロメア DNA を切り出すことで細胞死を起こすことができた(プレート培養での生存率: 約 4×10^{-5})。次に、二倍体細胞で第IV番相同染色体の両方から切り出すことで細胞死を誘導できたが、生存率は一倍体よりも約 10 倍高かった。そこで、第IV番と第V番の相同染色体の全てから切り出した結果、生存率は一倍体と同程度に低下した。二倍体細胞で多数の染色体からセントロメア DNA を切り出すことで細胞死の効率を向上できた。

分裂酵母テロメア結合蛋白質 Pot1 とヘリケース Rqh1 のテロメアにおける機能解析
D-11

高橋克典, ○上野勝 (広島大学・院・先端物質)

我々は、分裂酵母テロメア結合蛋白質 Pot1 とヘリケース Rqh1 の二重変異株は、テロメア維持が阻害されるだけでなく、微小管阻害剤感受性になることを発見した。微小管阻害剤は抗癌剤として使用されているので、ヒトで同様のことが起これば、テロメア維持の阻害によって抗癌剤の作用を増強させる新しい技術の開発につながる可能性がある。そこで分裂酵母テロメア結合蛋白質 Pot1 とヘリケース Rqh1 の二重変異株が微小管阻害剤感受性になる原因の解明を本研究の目的とした。

【方法】分裂酵母 *pot1 rqh1* 二重変異株の染色体の構造や微小管阻害剤存在下での染色体分配異常を解析した。

【結果】分裂酵母 *pot1 rqh1* 二重変異株は、染色体末端を相同組換えで維持していることがわかった。しかもこの株は、組み換え中間体が染色体分配時にも蓄積していることがわかった。また、微小管阻害剤存在下では、染色体の分配異常が顕著に見られることがわかった。これらのことから、この株が微小管阻害剤感受性になる原因は、染色体分配時に存在している染色体末端の組換え中間体が、姉妹染色分体どうしを異常につなぎとめることで染色体分配が阻害されることであると考えられる。Mol. Cell. Biol. 2011. in press.

納豆菌の *pgsE* 遺伝子産物は亜鉛イオン存在下で機能するポリ- γ -グルタミン酸増産因子である
D-12

○芦内 誠, 山城大典, 吉岡 恵 (高知大院・農)

【目的】ポリ- γ -グルタミン酸 (PGA) は一万を超えるグルタミン酸分子が長大に連なったバイオポリマーである。主鎖構造が高性能ナイロン「ポリアミド4」と同等であることや超吸水ゲルの原料として有望であることが分かり、今日、バイオ新素材としての応用に大きな期待が寄せられている。その一方、PGA の効率生産系の確立や増産に繋がる新機能因子の同定は緊急を要する課題に挙げられるようになってきた。今回、納豆菌の PGA 合成オペロン内に存在する機能未知遺伝子 *pgsE* が PGA の増産に繋がる重要因子をコードしていることを見いだしたので報告する。【方法・結果】本 *pgsE* 遺伝子にはわずか 55 アミノ酸残基の小型タンパク質 PgsE がコードされている。本実験ではまず、納豆菌や戦国醬菌等、天然に存在する PGA 生産菌に PgsE 誘導ベクターを導入し、目的の組み換え株を作製した。PGA 生産性について調査したところ、亜鉛イオンを添加していない培養条件では野生株と組み換え株で差はなかったが、亜鉛イオン存在下では顕著となった。実際、細胞あたりの PGA 生産能は 3~6 倍まで増大した。この際の PgsE タンパク質の生産誘導はキシロースにより制御されているため、亜鉛イオンは PgsE タンパク質自体の機能発現に重要であると示唆された。以上、本機能を利用すれば、PGA の大幅な増産が望めることが分かった。

UBR ユビキチンリガーゼによる酸化ストレス応答制御

D-13

○北村憲司（広島大・自然科学研究セ・遺伝子）

【目的】 Ubr1 ユビキチンリガーゼはヒトの Johanson-Blizzard 症候群の原因遺伝子であり、類似遺伝子ノックアウトマウスの形質からも重要な機能が予想されているが、生理作用や基質蛋白質にはまだ不明点が多い。Ubr1, Ubr11 の二種のホモログを有する分裂酵母を使い、各遺伝子欠損株が示す様々な異常形質を手掛りに、Ubr 蛋白質の生理機能を検討した。

【結果】 分裂酵母の *ubr1* 欠損株では、一部の酸化ストレス応答遺伝子群が無ストレス条件でも発現亢進しており、酸化ストレスに耐性である事を見つけた。酸化ストレス応答遺伝子群の転写因子 Pap1 は常に核内外を出入りするが、無ストレス時には積極的に核外に出されている。標的が高発現している *ubr1* 株でも Pap1 の核への集積はなかったが、核内の Pap1 蛋白質は Ubr1 に依存して分解されるため非常に不安定であり、*ubr1* 株では分解されず核外に出るため Pap1 蛋白質量自体が増えている事がわかった。更に常時核局在する構成的活性型 Pap1 を人為的に発現すると、野生型株とは異なり *ubr1* 株は致死となった。Pap1 による標的遺伝子発現の持続は増殖を妨げる事が示唆され、活性化した Pap1 は、1) 核内での分解、2) 核外への移行のいずれかの方法で速やかに不活性化される必要がある事、Ubr1 が酸化ストレスのホメオスタシス制御に重要な役割を持つ事が明らかになった。

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) 岐阜研究所
アルファー食品 (株)
(株) 井ゲタ竹内
池田糖化工業 (株)
(株) 猪原商会 山口営業所
(株) 大熊
大塚アグリテクノ (株)
大塚器械 (株) 西条支店
岡山県酒造組合
社団法人岡山県農業開発研究所
オハヨー乳業 (株)
(株) 海産物のきむらや
片山化学工業(株)岡山営業所
カバヤ食品 (株)
機能性食品開発研究所
杏林予防医学研究所
協和発酵バイオ (株)
山口事業所生産技術研究所
キリンビール (株) 岡山工場
近畿日本ツーリスト (株)
久保田商事 (株) 広島営業所
高知酒造 (株)
寿製菓 (株)
(株) サカタ
(株) 四国総合研究所
四国乳業 (株)
(株) シマヤ
新青山 (株)
神協産業 (株)
(株) 酔心山根本店
諏訪酒造 (株)
正晃 (株) 山口営業所
仙味エキス (株)
(株) ソフィ
(株) 大愛
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)
高塚ライフサイエンス (株)
(有) タグチ
中国ケミー (株)
帝國製薬 (株)
鳥取科学器械 (株)
(有) 友田大洋堂
日本オリーブ (株)
(株) 日本総合科学
白牡丹酒造 (株)
(株) 林原生物化学研究所
備前化成 (株)
ひまわり乳業 (株)
(株) 氷温研究所
広島和光 (株) 岡山営業所
(株) 扶桑理化
プロテノバ (株)
ペロリ
(有) 丸浅苑
マルキン忠勇 (株) 技術研究所
丸善製薬 (株)
マルトモ (株)
三島食品 (株)
(株) 宮田薬品
(株) 無手無冠
ヤスハラケミカル (株)
(株) やまだ屋
山本薬品 (株)
両備ホールディングス (株)
ルナ物産 (株)
湧永製薬 (株) 中央研究所
(五十音順)

日本農芸化学会中四国支部第29回講演会
日本ビタミン学会中国・四国地区第1回講演会

実行委員長： 徳村 彰

連絡先： 徳島大学薬学部衛生薬学分野

Tel: 088-633-7248, Fax: 088-633-9572

E-mail: tokumura@ph.tokushima-u.ac.jp

日本農芸化学会中四国支部からのお知らせ

○ 日本農芸化学会中四国支部創立10周年記念 第30回講演会（例会）

開催日：2011年5月21日（土）

場 所：岡山大学一般教育棟

世話人：酒井 裕（岡山大学大学院自然科学研究科）

講演申込締切：2011年4月22日（金）

講演要旨締切：2011年4月28日（木）

Tel & Fax：086-251-8203

E-mail：sakahrsh@biotech.okayama-u.ac.jp

○ 日本農芸化学会西日本・中四国支部合同大会（中四国支部第31回講演会）

開催日：2011年9月16日（金），17日（土）

場 所：宮崎観光ホテル，宮崎大学

世話人：水光正仁（宮崎大学農学部）

Tel & Fax：0985-58-7215

E-mail：msuiko@cc.miyazaki-u.ac.jp

日本農芸化学会中四国支部事務局

〒761-0795

香川県木田郡三木町池戸2393

香川大学農学部内

<http://jsbba-cs.jp>

2011年（平成23年）1月22日発行