

表紙

日本農芸化学会中四国支部第 33 回講演会（例会）

# 講演要旨集

日時：2012 年 6 月 2 日（土）

場所：愛媛大学農学部

## 日本農芸化学会中四国支部第 33 回講演会（例会）

11：00～12：00 役員会

12：00～12：50 参与会

13：00～13：40 特別講演（農学部大講義室）

「難消化性デンプンの栄養・生理効果」

海老原 清（愛媛大学農学部）

座長：岸田 太郎（愛媛大学農学部）

13：40～14：10 B.B.B.論文賞受賞講演

「枯草菌のフラボノイド応答性転写制御系の生理的役割と分子認識」

広岡和丈、藤田泰太郎（福山大学生命工学部）

座長：岩本 博行（福山大学生命工学部）

「歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* は

ゲノム再編により高病原化する」

阿座上弘行<sup>1</sup>、山田和範<sup>1</sup>、松永哲郎<sup>1</sup>、

野杵由一郎<sup>2</sup>、恵比須繁之<sup>2</sup>、加藤昭夫<sup>1</sup>

（<sup>1</sup> 山口大学農学部、<sup>2</sup> 大阪大学大学院歯学系研究科）

座長：松井健二（山口大学大学院医学系研究科）

14：30～17：00 一般講演（農学部講義棟）

17：30～ 懇親会（愛媛大学農学部生協会館）

一般講演  
プログラム

## A 会場

(座長：丸山 雅史 愛媛大・農)

14:30 A - 1 . ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏線虫 (*Caenorhabditis elegans*) におけるポリアミン代謝異常の解析  
美藤友博, 藪田行哲, 河野強, 渡辺文雄  
(鳥取院・連合農学)

14:42 A - 2 . キサンテン系食用色素と食品成分との機能的相互作用  
小山玲雄那, 進裕子, 高野大, Qi Hang, 村田芳行, 中村宜督  
(岡大院・環境生命)

14:54 A - 3 . レンコン抽出物のアンジオテンシン 変換酵素阻害作用について  
相良剛史<sup>1</sup>, 西堀尚良<sup>1</sup>, 廣井 貴<sup>2</sup>, 澤口茉奈美<sup>2</sup>, 森田恭二<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>四国大学短期大学部, <sup>2</sup>四国大学)

15:06 A - 4 . ホウレンソウ抽出物の脱顆粒抑制効果に関する研究  
石田萌子<sup>1</sup>, 西甲介<sup>1</sup>, 渡辺久<sup>2</sup>, 菅原卓也<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大農, <sup>2</sup>愛媛農水研)

(座長：関 英治 ヤマキ(株))

15:18 A - 5 . ひしお味噌から分離した *Bacillus amyloliquefaciens* G-7 株が産生する抗真菌物質の  
精製と解析  
藤井友佳梨, 阿野嘉孝, 丸山雅史  
(愛媛大・農)

15:30 A - 6 . 3食制条件下におけるビートファイバーの摂取エネルギー低下効果  
柿原 文耶, 小原 祐香, 藤田 悠祐, 森 裕貴, 水重 貴文, 岸田 太郎,  
海老原 清  
(愛媛大農・応生科)

休憩 (15:42 ~ 15:54)

(座長：西甲介 愛媛大・農)

15:54 A - 7 . 各種の魚節だしによる吸物での減塩効果の可能性  
大島裕子, 藤原佳史  
(ヤマキ株式会社)

16:06 A - 8 . かつお節人工消化物に含まれるACE阻害ペプチドの定量分析  
渡邊 寿子, 関 英治  
(ヤマキ株式会社)

16:18 A - 9 . 高プロテアーゼ活性を保有する麹の製造技術開発と鰹節副産物の有効利用  
牧野泰之, 来島壮, 朝田仁  
(ヤマキ株式会社)

16:30 A - 10 . 黒麹菌による新規製麹手法およびその麹を利用しただし殻の調味料化  
来島壮, 牧野泰之, 朝田仁  
(ヤマキ株式会社)

16:42 A - 11 . 魚由来のコラーゲンペプチドがヒト正常皮膚線維芽細胞の増殖に与える影響  
安井知子<sup>1</sup>, 岡敬三<sup>2</sup>, 亀田健治<sup>2</sup>, 朝田仁<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>ヤマキ(株), <sup>2</sup>愛媛大・INCS)

## B 会場

(座長：阿野 嘉孝 愛媛大・農)

- 14 : 30 B - 1 . 酵母における異常タンパク質の発現によるオートファジー誘導  
樋口 健吾、興相 祐樹、加藤 昭夫、阿座上 弘行  
(山口大農・生物機能)
- 14 : 42 B - 2 . 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  
宮本昭弘、柳本敏彰、秦野琢之、松崎浩明  
(福山大・生命工・生物工)
- 14 : 54 B - 3 . 出芽酵母染色体の核内配置における *SSD1* の機能  
柳本敏彰、宮本昭弘、秦野琢之、松崎浩明  
(福山大・生命工・生物工)
- 15 : 06 B - 4 . 分裂酵母のゴルジ体膜に局在するコイルドコイルタンパク質の機能解析  
児子 隆英、田淵 光昭、田中 直孝  
(香川大・農・応用生物)
- 15 : 18 B - 5 . ゴルジ体膜結合型転写因子の切断に関与するロンボイドプロテアーゼの解析  
東 玲那、渋谷大介、田淵光昭、田中直孝  
(香川大・農・応用生物)

休憩 ( 15 : 30 ~ 15 : 42 )

(座長：秋田 充 愛媛大・農)

- 15 : 42 B - 6 . 酢酸菌グルコン酸酸化呼吸鎖におけるシアン耐性キノール酸化酵素の機能  
内藤朋子<sup>1</sup>、種場理絵<sup>2</sup>、丸山雅史<sup>1</sup>、薬師寿治<sup>2</sup>、松下一信<sup>2</sup>、阿野嘉孝<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大・農、<sup>2</sup>山口大・農)
- 15 : 54 B - 7 . ノビレチンの脂肪細胞分化抑制効果と脂質代謝に与える影響  
大田美和<sup>1</sup>、西甲介<sup>1</sup>、門田歩<sup>2</sup>、菅原卓也<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大・農、<sup>2</sup>伊方サービス(株))
- 16 : 06 B - 8 . アセチル化澱粉及びアセチル化リン酸架橋澱粉が腸内細菌叢に与える影響  
小島侑子<sup>1</sup>、立部誠<sup>2</sup>、岸田太郎<sup>1</sup>、海老原清<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大院・農・栄養科学、<sup>2</sup>松谷化学工業(株)研究所)
- 16 : 18 B - 9 . 乳酸脱水素酵素のマクロファージ活性化機構に関する研究  
大福美帆<sup>1</sup>、西甲介<sup>1</sup>、岡本威明<sup>2</sup>、菅原卓也<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大・農、<sup>2</sup>愛媛大教育)
- 16 : 30 B - 10 . メトキシクロルのアレルギー惹起に関する研究  
安永翔、西本壮吾、西甲介、菅原卓也  
(愛媛大・農)

## C 会場

(座長：森田 勇人 愛媛大・農)

- 14 : 30 C - 1 . イムノクロマト法による牡蠣中カドミウムの測定  
西 甲介<sup>1</sup>, 金 仁恵<sup>1</sup>, 板井啓明<sup>2</sup>, 菅原卓也<sup>1</sup>, 竹山春子<sup>3</sup>, 大川秀郎<sup>4</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大農, <sup>2</sup>愛媛大 CMES, <sup>3</sup>早大理工, <sup>4</sup>早大規範科学総研)
- 14 : 42 C - 2 . 酵母発現系を用いた植物病原菌 エフェクターの標的遺伝子の探索  
長谷川 純一、中川 智絵、田中 直孝、田淵 光昭  
(香川大・農・応用生物)
- 14 : 54 C - 3 . SLM1 過剰発現は Rho-Pkc-MAPK カスケードの過剰活性化を引き起こす  
津田遼平 田中直孝 田淵光昭  
(香川大学 農学研究科)
- 15 : 06 C - 4 . 膜タンパク質の可溶化合成条件の探索  
山下展弘<sup>1</sup>, 野澤彰<sup>2</sup>, 戸澤讓<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大院理工, <sup>1,2</sup>愛媛大無細胞セ)
- 15 : 18 C - 5 . マラリア原虫のミトコンドリア膜輸送体タンパク質遺伝子の探索  
藤本竜治<sup>1</sup>, 野澤彰<sup>2</sup>, 戸澤讓<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大院理工, <sup>1,2</sup>愛媛大無細胞セ)

休憩 (15 : 30 ~ 15 : 42)

(座長：戸澤 讓 愛媛大・無細胞セ)

- 15 : 42 C - 6 . Sequencing Analysis of Growth Hormone in Micro Mini Pig  
Kishor A S<sup>1</sup>, Abe S<sup>1</sup>, Morita E H<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biores. Fac. Agr., Ehime Univ.; <sup>2</sup>Venture Bus. Lab., Ehime Univ.)
- 15 : 54 C - 7 . Functional Analysis of N-terminal Sequence of Cyanobacterial Transcription Repressor SmtB from *Synechococcus* sp. PCC 7942  
Shelake R M<sup>1</sup>, H Hayashi<sup>2,3</sup>, S Abe<sup>1</sup>, E H Morita<sup>\*1,4</sup>  
(<sup>1</sup>Fac. Agri., Ehime Univ.; <sup>2</sup>Fac. Sci., Ehime Univ.; <sup>3</sup>CSTRC, Ehime Univ.; <sup>4</sup>Venture Bus. Lab., Ehime Univ.)
- 16 : 06 C - 8 . *Arabidopsis thaliana* テロメア結合タンパク質のテロメア DNA 配列結合活性における C 末端領域の構造機能相関解析  
越智ありさ<sup>1</sup>, 阿部俊之助<sup>1</sup>, 森田勇人<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大農, <sup>2</sup>愛媛大ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー)
- 16 : 18 C - 9 . 骨格筋特異的 GDE5 過剰発現マウスの速筋型筋萎縮の病態解析  
楊波<sup>1</sup>, 吉澤郁美<sup>1</sup>, 和田正信<sup>2</sup>, 加藤範久<sup>1</sup>, 矢中規之<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>広島大院・生物圏科学, <sup>2</sup>広島大院・総合科学)
- 16 : 30 C - 10 . 他のタンパク質源と比較した、魚肉タンパク質摂取による骨格筋重量増加の評価  
魚住圭佑<sup>1</sup>, 川端二功<sup>2</sup>, 辻智子<sup>2</sup>, 水重貴文<sup>1</sup>, 岸田太郎<sup>1</sup>, 海老原清<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大院・農・栄養科学, <sup>2</sup>日本水産(株)生活機能研)

## D 会場

(座長：村田 芳行 岡山大・環境生命)

- 14 : 30 D - 1 . ユーグレナチオレドキシンペルオキシダーゼの生理機能解明  
玉木峻、丸田隆典、澤嘉弘、石川孝博  
(島根大・生資科・生命工)
- 14 : 42 D - 2 . ダイゼインの雌特異的飼料摂取量抑制作用は CCK-1 レセプター欠損により消失しない。  
村上 聖、山内 佳也、本永 芳恵、梶原 秀平、山内 聡、岸田 太郎、海老原 清  
(愛媛大・農)
- 14 : 54 D - 3 . 植物リグナンのエストロゲン様作用について  
梶原秀平、本永芳恵、山内佳也、村上聖、山内聡、岸田太郎、海老原清  
(愛媛大・農)
- 15 : 06 D - 4 . クサカゲロウ由来の麻痺活性物質  
松浦茉佑、西脇寿、原有助、菅原卓也、山内聡、首藤義博  
(愛媛大・農)
- 15 : 18 D - 5 .  $\beta$ -N-Acetylglucosaminidase 阻害剤 pochonicine の GC-MS 分析及び新規類縁体の確認  
土田彩<sup>1</sup>、安井あゆみ<sup>1</sup>、奥田徹<sup>2</sup>、神崎浩<sup>1</sup>、仁戸田照彦<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命、<sup>2</sup>玉川大・学術研)

休憩 (15 : 30 ~ 15 : 42)

(座長：西脇 寿 愛媛大・農)

- 15 : 42 D - 6 . Effects of Depletion of Glutathione on Abscisic Acid- and Methyl Jasmonate-Induced Stomatal Closure in Arabidopsis  
Nasima AKTER(1)、 Muhammad Abdus SOBAHAN(1)、 Misugi URAJI(1)、 Wenxiu YE(1)、 Izumi C. MORI(2)、 Yoshimasa NAKAMURA(1)、 Yoshiyuki MURATA(1)  
(1)Div. of Biosci., Okayama Univ., (2)IPSR, Okayama Univ.
- 15 : 54 D - 7 . Allyl isothiocyanate induces stomatal closure accompanied by peroxidase-mediated reactive oxygen species production in Arabidopsis thaliana  
Mohammad Shakhawat HOSSAIN、 Md Atiqure Rahaman KHOKON、 Taniya RAHMAN、 Wenxiu YE、 Eiji OKUMA、 Yoshimasa NAKAMURA and Yoshiyuki MURATA  
Div. of Biosci., Okayama Univ.
- 16 : 06 D - 8 . アスコルビン酸の位置特異的な配糖化を触媒する *Aspergillus niger* 由来  $\alpha$ -グルコシダーゼを用いたアスコルビン酸 6- $\beta$ -グルコシドの合成  
寺坂美紀、早川有美、仁戸田照彦、神崎 浩  
(岡山大院・環境生命)
- 16 : 18 D - 9 . L-グルタミン酸オキシダーゼより作成した基質特異性変換酵素 L-アルギニンオキシダーゼの精製と性質  
中井 隆一郎<sup>1</sup>、日下部 均<sup>2</sup>、田村 隆<sup>1</sup>、稲垣 賢二<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命科学、<sup>2</sup>(株)エンザイムセンサ)
- 16 : 30 D - 10 . ヒドロキシプロピル化タピオカスターチの消化管機能への影響  
山本松平<sup>1</sup>、立部誠<sup>2</sup>、岸田太郎<sup>1</sup>、海老原清<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大・農、<sup>2</sup>松谷化学工業(株)研究所)

特別講演



## 難消化性デンプンの栄養・生理効果

愛媛大学農学部・海老原清

従来、摂取した各種デンプンは小腸で完全に消化されるものと考えられてきたので、デンプンは単にエネルギー源としてのみ評価されてきた。しかし、Englystらは、デンプンの一部は消化されずに下部消化器官に流れ込むことをつきとめ、この難消化性デンプンをレジスタントスターチ (resistant starch: RS) と名付けた。その後、食品には種々のタイプのRSが存在することが明らかにされ、現在、RSとは、「健常人の小腸腔内において消化吸収されることのないデンプンおよびデンプンの部分水解物の総称」と定義され、4タイプに分類されている。RSには食物繊維と類似した栄養・生理機能のあることが明らかになり、RS-type 2 (高アミロース含量デンプン) およびRS-type 3 (老化デンプン) の栄養・生理機能についての研究はかなり進んだが、RS-type 4 (化学修飾デンプン) についての研究はほとんど進んでいない。

RS-type 4は天然デンプンに化学修飾を施したデンプンである。化学修飾とは、デンプンを構成するグルコース鎖を化学的に修飾し、グルコースのC2、C3およびC6位の水酸基に様々な官能基を付加、導入したり、デンプン分子間や分子内に架橋を導入したものである。現在、化学修飾デンプンは11種類許可されており、食品添加物の範疇に入るが、使用基準はなく、安全性についても食品安全委員会より問題なしと判断されている。化学修飾デンプンは増粘剤、安定剤、乳化剤、老化防止剤として食品加工の場で長年用いられている。化学修飾の様式により、物理的特性は大きく変化し、その変化は化学修飾デンプンに種々の栄養・生理機能と密接に関係している。

化学修飾デンプンは、1) 各種のデンプン製品に利用可能なので、無理なく量的に多く摂取できる、2) 食物繊維よりも食品加工特性が優れていることなどから、食品への応用が容易であり、食物繊維の代替えとして近年注目されてきている。

ここでは、1) 化学修飾デンプンの小腸および大腸での消化性、2) 化学修飾デンプン摂取後の血糖およびインスリン分泌応答、3) 化学修飾デンプンの糖尿病発症抑制効果、4) 化学修飾デンプンのエネルギー量についての研究結果を紹介する。

また、難消化性デンプンの消化管免疫に及ぼす影響について、化学修飾デンプンおよび高アミロース含量デンプンについて、発酵産物の関与の面から得られた最近の知見について紹介する。

**B.B.B . 論文賞受賞講演**

## 枯草菌のフラボノイド応答性転写制御系の生理的役割と分子認識

広岡和丈、藤田泰太郎（福山大学生命工学部生物工学科）

枯草菌はその名の通り枯れ草に多く生息し、また植物根圏の土壌中でも普遍的に見出される。根圏の枯草菌は、有機酸やシデロフォアを分泌することで植物の鉄イオン吸収を助け、また根周辺でバイオフィルムを形成することで病原菌の増殖を防いでいる。このように枯草菌は、植物と直接共生関係にはないものの植物の生育促進に作用する有用根圏微生物（**plant-growth promoting rhizobacteria**、PGPR）であるといえる。根圏周辺には植物から浸潤するフラボノイドが豊富に存在し、それらを枯草菌が根圏環境を認識して遺伝子発現応答するためのシグナル分子として利用すると考え、フラボノイド応答性転写制御系の研究を進めている。これまで3つの転写制御系がフラボノイド応答性を示すことを明らかにしており、これらの転写制御因子と標的遺伝子群の機能解析とともに、新奇制御系をさらに探索することでフラボノイドを介した枯草菌と植物、あるいは枯草菌と他の根圏微生物間のシグナル伝達ネットワークの解明につなげていくことを目指している。受賞論文では、フラボノイド応答性が見出された QdoR 転写因子について、フラボノイド認識・応答に重要なアミノ酸残基をその立体構造に基づいて予測し、各残基をアラニン置換した各種変異体を作製し、それらの DNA 結合能と種々のフラボノイド応答性を *in vitro* と *in vivo* の両方の系で特性解析を行ったことを報告している。解析の結果、Phe87、Trp131、および Phe135 の3つの芳香族アミノ酸残基がフラボノイドを誘導物質として認識・応答するのに重要であることが示され、これらがフラボノイドを収容するための疎水性ポケットを形成すると示唆された。また *in vivo* 解析で使用した、*qdoR* 遺伝子と、標的遺伝子プロモーターに連結した *lacZ* レポーター遺伝子をタンデムに配置した構築は、野生型 *qdoR* 遺伝子の代わりにフラボノイド応答特異性が変化した各種変異型 QdoR をコードする遺伝子を組換えることで、様々なフラボノイド（あるいはそれらの誘導体）を感知するバイオセンサーに応用できるのではないかと期待される。

歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* はゲノム再編により高病原化する

阿座上弘行<sup>1</sup>、山田和範<sup>1</sup>、松永哲郎<sup>1</sup>、野杵由一郎<sup>2</sup>、恵比須繁之<sup>2</sup>、加藤昭夫<sup>1</sup>  
(山口大学農学部生物機能科学科<sup>1</sup>、大阪大学大学院歯学系研究科歯科保存学教室<sup>2</sup>)

*Eikenella corrodens* は歯周病関連細菌の一つで、その菌体表層のレクチンが本菌の病原性に大きく関与する。我々は臨床分離株の一つ(1073株)から線状ファージに由来するプラスミド pMU1 を発見し、それにコードされたリコンビナーゼ遺伝子を標準株(23834株)に導入することにより、線毛遺伝子領域を含むゲノムが大きく再編されることを報告した。さらに、このゲノム再編により、線毛の消失に伴うコロニー形状の変化が見られ、またレクチン活性、バイオフィルム形成能、溶血活性、増殖速度、炎症性サイトカイン誘導能などの本菌の病原性の各指標が上昇することも明らかにした。ゲノム再編が起こった株の線毛遺伝子領域の塩基配列を解析したところ、ある臨床分離株(VA1株)とほぼ同じであったことから、このようなゲノム再編による高病原化が口腔内で頻繁に起こっている可能性が示唆された。そこで、本菌のゲノム再編による高病原化が口腔内において普遍的に起こり得るのか、またゲノム再編のメカニズムについて調べた。

国内外から分離された臨床分離株7株に pMU1 由来のリコンビナーゼ遺伝子を導入した。その結果、4株にゲノム再編が見られたが、残りの3株では変化は認められなかった。また、ゲノム再編の見られた4株全てにおいて、線毛の消失に伴うコロニー形状の変化が見られ、レクチン活性、バイオフィルム形成能、溶血活性、増殖速度、サイトカイン誘導能が上昇していた。しかし、ゲノム再編が見られなかった3株では、これらの変化は見られなかった。したがって、ゲノム再編による高病原化がファージ感染などによって口腔内で頻繁に起こっている可能性が示唆された。また、ゲノム再編が見られた株は全てゲノム中に線状ファージ(pMU1)の配列を含んでいたことから、かつてファージ感染を受けた株が再度感染を受けることによって高病原化する可能性が示唆された。さらに、株が分離された地域性によって組換え株の検出頻度が異なっていたことから、ファージの感染により広がったことも示唆された。

一般講演  
講演要旨

## ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏線虫 (*Caenorhabditis elegans*) におけるポリアミン代謝異常 講演番号 の解析

A - 1

美藤友博, 藪田行哲, 河野強, 渡辺文雄  
(鳥取院・連合農学)

【目的】ビタミン B<sub>12</sub>(B<sub>12</sub>) 欠乏哺乳動物では神経機能を調節するポリアミン代謝異常が報告されているが B<sub>12</sub> 欠乏性神経障害との関与は明らかでない。そこで全ゲノム情報・ヒト疾患原因遺伝子と相同性の高い遺伝子群の存在など生命機能の情報が豊富なヒトのモデル生物として広く用いられている線虫 (*Caenorhabditis elegans*) に着目し、B<sub>12</sub> 欠乏が線虫のポリアミン代謝に及ぼす影響について検討した。

【方法・結果】M9 最小培地にて培養した大腸菌 *E. coli* (OP50 株) を B<sub>12</sub> 制限食餌とした。B<sub>12</sub> (100 μg/l) を添加した培地上で生育させた線虫をコントロール線虫とし、B<sub>12</sub> 欠乏線虫はコントロール線虫の卵を B<sub>12</sub> 無添加培地にて 5 世代継代的に生育させ調製した。ポリアミンとその合成に関与するオルニチンデカルボキシラーゼ (ODC) 活性は HPLC により測定した。

コントロール線虫と比較し B<sub>12</sub> 欠乏条件下の線虫では産卵数の減少、世代交代時間の増加、B<sub>12</sub> 依存性酵素であるメチルマロニル CoA ムターゼ活性とメチオニンシンターゼ活性が著しく減少した。さらにポリアミンの前駆体であるオルニチンレベルが顕著な増加を示した。しかし、オルニチンからポリアミンであるブトレスシンを合成する ODC 活性は顕著に増加した。現在、B<sub>12</sub> 欠乏とポリアミン代謝異常との関係性を分子レベルで検討している。

## 講演番号 キサンテン系食用色素と食品成分との機能的相互作用

A - 2

小山玲雄那, 進裕子, 高野大, Qi Hang, 村田芳行, 中村宜督  
(岡大院・環境生命)

【目的】キサンテン系食用色素である phloxine B (PhB) は、光照射条件下において過酸化水素を生成し、ヒト前骨髄性白血病由来 HL-60 細胞にアポトーシスを誘導するが、その分子機構にはまだ不明な点が多い。本研究では、細胞培養用培地における合成食用色素の反応機構を解明する目的で、PhB の光増感作用に影響を与える成分を探索した。

【方法・結果】細胞培養用 RPMI1640 培地において、光照射した PhB は過酸化水素生成量を顕著に増加させたのに対し、PBS では有意な変化を認めず、培地に特有の成分が Type I (電子移動) 反応の惹起に寄与することが示唆された。そこで、RPMI1640 培地に含まれる何れの成分が PhB と相互作用し、光依存的な過酸化水素の生成量を増加させるかを検討した結果、cysteine、methionine、tyrosine、tryptophan に、過酸化水素生成量を増加させる作用を認めた。さらに、これら 4 種のアミノ酸を組み合わせて反応させたところ、単独よりも相乗的に過酸化水素が増加すること、チオール基を持つ 2-メルカプトエタノールはシステインと同様に過酸化水素の生成量を増加させることを見出した。以上の結果から、これらのアミノ酸は PhB との電子の授受を介して、励起色素への一電子還元反応を増強している可能性が示唆された。

**講演番号** レンコン抽出物のアンジオテンシン 変換酵素阻害作用について

A - 3

相良剛史<sup>1</sup>, 西堀尚良<sup>1</sup>, 廣井 貴<sup>2</sup>, 澤口茉奈美<sup>2</sup>, 森田恭二<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 四国大学短期大学部, <sup>2</sup> 四国大学)

【目的】アンジオテンシン変換酵素 (ACE) は、アンジオテンシン I のアンジオテンシン II への変換を触媒し、高血圧症の発症に関連していることが知られている。したがって、本酵素の阻害物質は、高血圧症の予防もしくは治療に有効であると考えられることから、近年、種々の植物に含まれる ACE 阻害作用を有する物質の検索が盛んに実施されている。本研究では、農水産物の生産過程で排出される廃棄物に含まれる機能性成分の検索を目的として、レンコン未利用部分抽出物の ACE 阻害作用について検討した。

【方法・結果】レンコンの可食部と非可食部 (節部分) の冷水抽出液を試料とし、それぞれの ACE 阻害活性を測定したところ、両者ともに阻害活性が認められ、非可食部抽出液は、可食部抽出液と比較して約 5 倍の強い阻害を示した。その阻害様式は両者ともに競合的であり、95 °C で最長 45 分間の熱処理によっても阻害活性の低下は認められなかった。さらに、抽出液の阻害活性は透析により完全に消失した。このことから、レンコンの可食部および非可食部に含まれる ACE 阻害物質は同一の物質であり、両者の阻害活性の相違は、その含有濃度の差によるものと推察された。

**講演番号** ホウレンソウ抽出物の脱顆粒抑制効果に関する研究

A - 4

石田萌子<sup>1</sup>, 西甲介<sup>1</sup>, 渡辺久<sup>2</sup>, 菅原卓也<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 愛媛大農, <sup>2</sup> 愛媛農水研)

【目的】ホウレンソウは多様な保健機能成分を含有しているものの、抗アレルギー作用については報告例がない。本研究では、ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞に対するホウレンソウ抽出物の脱顆粒抑制効果とその作用メカニズムの解明を目的とした。

【方法・結果】抗 DNP-IgE で感作した RBL-2H3 細胞にホウレンソウ抽出物を作用させた後、DNP-BSA で抗原刺激することで脱顆粒を誘導した。その結果、ホウレンソウ抽出物は RBL-2H3 細胞の顆粒放出を細胞毒性なく濃度依存的に抑制した。その活性物質は分子量およそ 500 Da 以上 14 kDa 以下の比較的熱に安定で、トリプシン非感受性であることが推察された。さらに、ホウレンソウ抽出物は細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇を抑制したが、カルシウムイオノフォア A23187 誘導性の脱顆粒に対しては抑制効果を示さなかった。これらの結果から、ホウレンソウ抽出物は抗原抗体反応に特異的なシグナル伝達に参与して、細胞内への  $Ca^{2+}$  流入を阻害し、脱顆粒を抑制することが示唆された。シグナル伝達物質の活性化に及ぼす影響をウェスタンブロット法により検討した結果、ホウレンソウ抽出物は脱顆粒シグナルの上流に位置する Syk、及び PI3K のリン酸化を下方制御することで RBL-2H3 細胞の脱顆粒を抑制していることが示唆された。

**ひしお味噌から分離した *Bacillus amyloliquefaciens* G-7 株が産生する抗真菌物質の精製と解析**

A - 5

藤井友佳梨、阿野嘉孝、丸山雅史  
(愛媛大・農)

【目的】発酵食品は古くから食されてきた伝統食品であり、その製造には多くの有益な微生物が関わっている。本研究室で分離したひしお味噌由来 *B. amyloliquefaciens* G-7 株の培養液中に、病原性真菌に対する生育阻害活性を見出した。本研究では、G-7 株が産生する抗真菌物質の精製、解析をふまえ、本抗菌物質の利用に向けた新たな知見を得ることを目的としている。

【方法・結果】G-7 株の 7 日間培養上清液を、硫酸分画、エタノール分画、透析に続き Sep-Pak C18 カラムによる固相抽出を行った。続く逆相クロマトグラフィー (TSK gel ODS-120T カラム) により抗菌物質の単離を試みたところ、主要な 3 つのピークに抗真菌活性が見られた。各々を LC-MS を用いて分析した結果、 $[M+H]^+$  が各々 1056、1070、1084 であった。

有機溶媒に可溶であること及び分子量と合わせて既知の物質と照合し、うちひとつの物質については、MS/MS 解析により環状リポペプチド iturin A であることが推定された。iturin A は幅広い真菌に対して強い抗菌作用を示すことが知られる物質で、主に農業分野における生物制御剤として応用の検討がなされている。現在、新たな iturin A 利用の可能性について検討を行っている。

**3 食制条件下におけるビートファイバーの摂取エネルギー低下効果**

講演番号

A - 6

柿原 文耶、小原 祐香、藤田 悠祐、森 裕貴、水重 貴文、  
岸田 太郎、海老原 清 愛媛大農・応生科

【目的】ビートファイバー(BF)の摂取エネルギー低下効果の機構解明には脳での食欲関連遺伝子発現の変化が関わっていると考えた。食欲関連遺伝子の遺伝子発現はラットの行動に伴い随時変化している。そのためラットの個体差を抑え正確な遺伝子発現の変化を捉えるために、3 回の摂食に制限する 3 食制条件下で実験を行った。

【方法・結果】SD 系のオスラットを搬入後、馴化期間を設けた後、食餌性肥満飼料(25% 脂質、22% スクロース)で 33 日間飼育した。ラットは無繊維食を与える群(Control 群)とビートファイバーを 7% 添加した飼料を与える群(BF 群)に分けた。さらに Control 群、BF 群をそれぞれさらに 1 食目、2 食目、または 3 食目終了時に解剖する群に分けた。飼育終了後、飼育期間中の体重の増加量をもとに体重増加量の大きいもの上位 2/3 を肥満傾向性ラット、下位 2/3 を肥満抵抗性ラットと細分化し、データを解析した。摂取エネルギーは肥満傾向性ラット、肥満抵抗性ラット共に有意に減少し、特に 2 食目で顕著であった。またその際、脳の視床下部での Ob-Rb の遺伝子発現は肥満抵抗性ラットでのみ増加傾向が見られた。白色脂肪重量は肥満傾向性ラットにおいて BF 群で有意に減少した。



講演番号

各種の魚節だしによる吸物での減塩効果の可能性

A - 7

大島裕子, 藤原佳史

(ヤマキ株)

【目的】 調理において、だしには減塩の効果があることが多く報告されている。これら報告でのだしは、鰹荒節のだしによるものでその他の魚節だしに関する報告はない。そこで本研究では、調理によく利用される鰹荒節、鰹枯節、宗田鰹節、さば節の4種類の魚節だしを用いて、それぞれのだしにも減塩効果が認められるのかを検証した。

【方法・結果】 鰹荒節、鰹枯節、宗田鰹節、さば節からそれぞれ3.0%となるようにだしを熱水抽出した。各だしに、濃口醤油1.0%と食塩を添加し、塩分濃度0.8%の吸物を調製した。また濃口醤油1.0%と食塩を添加し、塩分濃度0.9%に調整した吸物を、だしの無い対象品とした。対象品と各だしの吸物について、塩味の強さを2点識別法により評価した。また、食塩濃度をそれぞれ0.8%に調整した対象品と各だしの吸物について、食塩水の標準間隔試料を用いた尺度により、塩味の強さを評価した。

2点識別法と尺度による評価の結果から、鰹荒節のだしには明確な減塩効果が認められた。鰹枯節のだしは、2点識別法では減塩効果が認められたが、尺度での評価では減塩効果は認められず、減塩効果を示唆するに留まった。さらに宗田鰹節とさば節のだしには減塩効果は認められず、鰹節だしにのみ減塩効果が認められることが示唆された。

講演番号

かつお節人工消化物に含まれるACE阻害ペプチドの定量分析

A - 8

渡邊 寿子, 関 英治

(ヤマキ株式会社)

【目的】 血圧降下作用の指標であるアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性を示すかつお節分解ペプチドがいくつか報告されているが<sup>(1)</sup>、今回はかつお節そのものの血圧降下作用について *in vitro* で検討した。

【方法・結果】 かつお節は消化管プロテアーゼのペプシン、トリプシン、およびペプシン・トリプシン・キモトリプシン処理したものを供試し、ACE阻害活性の測定とACE阻害ペプチドの定量分析を行った。その結果、消化管プロテアーゼ処理したかつお節はACE阻害活性を示した。しかし既知のACE阻害ペプチド Leu-Trp<sup>(2)</sup>と Trp-Leu<sup>(3)</sup>はペプシン処理、トリプシン処理したかつお節ではほとんど検出されず、ペプシン・トリプシン・キモトリプシン処理したかつお節では検出された。以上の結果より、かつお節はペプシン・トリプシン・キモトリプシンで消化されると血圧降下作用を示す可能性が示唆された。

(1)Yokoyama K et al., Biosci. Biotech. Biochem., 56, 1541(1992)

(2)Sato M et al., J. Agric Food Chem., 50, 6245(2002)

(3)Kuba M et al., Biosci. Biotech. Biochem., 67, 1278(2003)

講演番号

A - 9

## 高プロテアーゼ活性を保有する麹の製造技術開発と鰹節副産物の有効利用

牧野泰之，来島壮，朝田仁  
(ヤマキ株式会社)

【目的】鰹節製造工程では「頭」や「内臓」といった副産物が発生するが、これらの高付加価値利用はあまり検討されていない。また、だし抽出後に発生する鰹節抽出残渣(だし殻)についても、肥飼料としての利用法以外に有効な利用はほとんど行われていない。我々はこれらの有効利用の一貫としてだし殻を基質とした麹を調製し、鰹節製造時に発生する副産物の分解調味液を開発した。今回の研究ではより分解効率の高い麹の調製を目的に麹の基質について検討を行った。

【方法・結果】従来の方法では、麹の基質として「乾燥だし殻」を使用していたが、基質を「脱脂大豆」、「小麦」、「小麦フスマ」、「米糠」、「大麦糠」、「脱脂ゴマ」に置換して製麹を行った。それぞれの麹のプロテアーゼ活性を測定したところ、「脱脂ゴマ」、「大麦糠」を基質にした麹において従来の麹より高いプロテアーゼ活性を有し、それぞれ従来の麹の1.1倍、1.8倍ほどの活性を示した。これらを利用したラボスケールによる鰹節製造時の副産物分解調味料は、窒素分が高く、専門パネラーによる官能評価でも良好な評価であった。また、工業化サイズによるスケールアップ検討でもラボスケールでの検討結果を再現することができ、工業化の可能性が示唆された。

講演番号

A - 10

## 黒麹菌による新規製麹手法およびその麹を利用しただし殻の調味料化

来島壮，牧野泰之，朝田仁  
(ヤマキ株式会社)

【目的】鰹節からだしを抽出後、大量に副生される抽出残渣(だし殻)の有効利用を目的に、このだし殻を麹で分解した調味液を開発した。発酵食品に一般的に用いられる黄麹は、製造工程中での発酵制御が難しく、雑菌汚染、品質劣化を引き起こしやすい。そこで、プロテアーゼ活性を有したまま、一般汚染細菌の抑制が容易な麹の製麹手法を検討した。

【方法・結果】酸性域のpHにおいても生育良好な黒麹菌 *Aspergillus saitoi* R-3813 株を種麹とし、だし殻に鰹煮汁エキスを添加した培地で、製麹試験を行った。その結果、小スケールでは酸性プロテアーゼ活性を十分に保有し、一般汚染細菌の少ない麹を得ることができた。さらに、コマーシャルプラント設備において、製麹のスケールアップ試験を実施した。本研究の製麹工程では、一般生菌数は従来の黄麹による製法と差異のない結果となったが、プロテアーゼ活性は確保できた。また、この麹を鰹節のだし殻を基質に発酵させたところ、良好に基質分解された諸味となり、搾液して調味液を得ることができた。本研究で作成した調味液は、従来の麹分解調味料と比較しても色調およびヒスタミン含量の点から良好な品質のものであり、副産物の高度利用という点からも有効な効果が期待される。

講演番号  
A - 11

### 魚由来のコラーゲンペプチドがヒト正常皮膚線維芽細胞の増殖に与える影響

安井知子<sup>1</sup>, 岡敬三<sup>2</sup>, 亀田健治<sup>2</sup>, 朝田仁<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>ヤマキ(株), <sup>2</sup>愛媛大・INCS)

【目的】 コラーゲンペプチド (CP) は、摂取により肌質感向上が認められる美容成分である。近年ではより安全・安心な素材として魚由来の CP が注目されているが、一方で効果に有効なペプチドを特定した報告は少なく、その作用機序は不明な点が多い。そこで本研究ではヒト正常皮膚線維芽細胞の増殖に与える影響を評価した。線維芽細胞の活性化は肌質感向上に関する研究で最も多い評価系の一つである。

【方法・結果】 試験に用いた CP は、ティラピアの鱗から熱水抽出したゼラチンを酵素分解して生成した。得られた CP を 0.01 ~ 4.0% (w/v) の濃度で溶解した 0.5%BSA-MEM 培地をヒト正常皮膚線維芽細胞に処理し、7 ~ 10 日後に生細胞数を測定した。本実験系では CP を含まない対象群での細胞の増殖ならびに死滅は認められなかった。

本研究の結果、処理濃度に依存して線維芽細胞数の増加が認められた。一方で CP と同組成のアミノ酸混合溶液では増殖が認められなかった。このことから、魚由来 CP は線維芽細胞の増殖促進因子として特異的に作用していることが示唆された。この増殖促進作用は少なくとも本研究で用いた重量平均分子量の異なる CP (約 3.0 ~ 9.4kDa) で差はなかった。また、人工的に消化分解した CP によっても細胞増殖作用は認められた。

講演番号  
B - 1

### 酵母における異常タンパク質の発現によるオートファジー誘導

樋口 健吾、興相 祐樹、加藤 昭夫、阿座上 弘行  
(山口大農・生物機能)

【目的】生物にはタンパク質のフォールディング状態を監視し、正しく構造形成されなかったものは分解する品質管理機構が備わっている。哺乳動物において小胞体内でミスフォールドしたタンパク質が分解除去される仕組みとして 2 通りの分解機構が知られている。ユビキチン・プロテアソーム (UPS) 系とオートファジー・リソソーム (ALS) 系である。本研究ではモデルタンパク質として鶏卵白リゾチームを酵母で発現させ、2 つの経路がどのように使い分けられているかを調べた。

【方法・結果】種々の構造安定を示す変異型リゾチームを酵母 *Pichia pastoris* で発現させ、その分泌に対するオートファジー阻害剤ウォルトマンニンの効果を調べた。不安定型リゾチームを発現させた酵母ではオートファジーの誘導が見られたが、ウォルトマンニンの添加により抑制された。また、オートファジーは凝集性の高いアミロイド型変異リゾチームを発現させた酵母で強く誘導された。さらに、ウォルトマンニンの添加により不安定型リゾチームの分泌量が増加したことから、酵母のタンパク品質管理に ALS 系も関わっていることが示唆された。また、凝集性の強い変異リゾチームほど、ALS 系の関与が大きいことも示唆された。

**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**  
**講演番号 の誘導**

B - 2

宮本昭弘，柳本敏彰，秦野琢之，松崎浩明  
(福山大・生命工・生物工)

【目的】遺伝子組換え生物の野外での拡散を防ぐため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ことが効果的であると考えられる。そこで、我々は酵母 *S. cerevisiae* をモデル生物として部位特異的組換えを利用して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】一倍体細胞において第 IV 番染色体上のセントロメア DNA の両側に組換え部位配列を挿入し、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。この細胞の生存率は、ガラクトースによってセントロメア DNA の切り出しを誘導することで大きく低下し、細胞死を起こすことができた。しかし、プレート上で僅かな数の生存コロニーが出現するので、生存原因を解析することにした。生存細胞 5 株について、染色体 DNA のパルスフィールドゲル電気泳動法による解析およびセントロメア領域 DNA の PCR による解析の結果、5 株のうち 4 株は切り出しが起きておらず、1 株はセントロメア DNA が切り出された後、第 IV 番染色体上の異なる部位に組み込まれた可能性が示唆された。さらに、シーケンシングにより切り出しが起きていなかった 3 株では 2 個の組換え部位配列のうち片方が欠失していることが示唆された。

**出芽酵母染色体の核内配置における *SSD1* の機能**  
**講演番号**

B - 3

柳本敏彰，宮本昭弘，秦野琢之，松崎浩明  
(福山大・生命工・生物工)

我々は、*S. cerevisiae* 染色体の核内収納メカニズムを、*CEN5-HIS3* 間の部位特異的組換えの効率が野生株に対して約 2.5 倍上昇した HCH6 変異株を用いて解明しようとしている。この変異株は、セントロメアの核内配置が異常であることが示唆され、さらに温度感受性で細胞極性の消失や低浸透圧感受性を示すことから、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 株の温度感受性の原因遺伝子を解明しようとした。相補性検定で *ssd1* 変異のみが HCH6 株の変異を相補せず、HCH6 株への *SSD1* の導入で温度感受性や細胞極性が回復した。従って、*SSD1* が原因遺伝子であると考えられた。さらに、組換え効率は *ssd1* の破壊で上昇し、この時 *CEN5* 座の SPB 付近への局在が失われていた。*SSD1* による染色体の核内配置への関与が示唆され、核内配置と細胞質内配置との間に Ssd1p を介したクロストークが存在すると考えられる。Ssd1p は主に細胞質に局在する。Ssd1p の核内配置への関与を解析するため、Ssd1p-GFP 融合タンパク質を発現させて局在を解析したところ、HCH6 株の *ssd1* の発現で合成される変異 Ssd1p は野生型 Ssd1p とは異なり、核に移行して核内で機能している可能性が示唆された。今後、*SSD1* の機能をさらに詳細に検討することで、染色体の核内収納メカニズムを解明していきたい。

**講演番号** 分裂酵母のゴルジ体膜に局在するコイルドコイルタンパク質の機能解析

B - 4

児子 隆英、田淵 光昭、田中 直孝  
(香川大・農・応用生物)

【目的】ゴルジ体は真核生物に見られるオルガネラの1つであり、一定の間隔で扁平な袋状の膜構造を形成し、タンパク質の糖鎖修飾や選別輸送の機能を有している。ゴルジ体の層板間にはゴルジマトリックスタンパク質と呼ばれるコイルドコイルを含んだタンパク質が存在し、ゴルジ体の構造保持や輸送機能に重要であることが知られているが、不明な部分が多い。分裂酵母のゴルジ体を精製し TOF-MS 解析により当研究室で取得された機能未知のコイルドコイルタンパク質 Gmp1 (SPCC569.01c)が同定され、機能解析を行った。

【方法・結果】Gmp1 は膜貫通領域やシグナルペプチドがなく、ゴルジ体膜に局在するタンパク質に見られる GRAB や GRIP 領域が存在しないが、N 末端側のコイルドコイルが局在に重要であることがわかった。Gmp1 は相同組換えによる遺伝子破壊で破壊株を取得できず、致死遺伝子の可能性が考えられた。そこでプロモーターをチアミン誘導性プロモーター nmt81 に置換した結果、発現抑制及び過剰発現ともに分泌タンパク質インベルターゼの糖鎖修飾に影響を及ぼすことがわかった。温度・金属イオン及び薬剤に対する感受性を調べた結果、アミノ糖系抗生物質であるハイグロマイシン B に対して感受性を示すことがわかった。

**講演番号** ゴルジ体膜結合型転写因子の切断に関するロンボイドプロテアーゼの解析

B - 5

東 玲那、渋谷 大介、田淵光昭、田中直孝  
(香川大・農・応用生物)

【目的】ロンボイドプロテアーゼ (ロンボイド)は、膜内プロテアーゼファミリーに属するセリンプロテアーゼであり、基質である膜タンパク質の膜貫通領域を切断する。分裂酵母には、ロンボイドと相同性の高い遺伝子が4つ存在しており、2つがミトコンドリア局在、2つがゴルジ体局在である。このうち、ゴルジ体局在のロンボイドは、真核微生物において解析が行われていない。そこで、分裂酵母を用いて、ゴルジ体膜に局在しているロンボイド (Rob1, Rob2 (Rhomboid))の機能を解析することを目的とした。

【方法・結果】破壊株を単離し、種々の表現型を確認した結果、Rob1 は亜鉛・コバルトの恒常性や、液胞タンパク質の選別輸送への関与が示唆され、それぞれの表現型の違いから、Rob1 と Rob2 はゴルジ体において異なる機能を有していることが分かった。また、ロンボイドの基質認識モチーフを有する膜タンパク質の一つである Sre2 (膜結合型転写因子)の細胞内局在を確認した結果、rob1 株のみで核への移行遅延が見られた。さらに、Sre2 の基質認識モチーフに部位特異的変異導入を行った結果、P1 位に変異導入した GFP-Sre2 S705P のみが核には局在していなかった。このことから、Sre2 の P1 位を Rob1 が切断することで、Sre2 の転写因子領域がゴルジ体から遊離している可能性があることが分かった。

講演番号  
B - 6

### 酢酸菌グルコン酸酸化呼吸鎖におけるシアン耐性キノール酸化酵素の機能

内藤朋子<sup>1</sup>、種場理絵<sup>2</sup>、丸山雅史<sup>1</sup>、薬師寿治<sup>2</sup>、松下一信<sup>2</sup>、阿野嘉孝<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大・農、<sup>2</sup>山口大・農)

【目的】*Gluconobacter* 属酢酸菌は、有用物質生産に重要で特徴的な呼吸鎖をもっている。本菌のグルコン酸酸化呼吸鎖における初発脱水素酵素には、グリセロール脱水素酵素 (GLDH) とグルコン酸脱水素酵素 (GADH) の2つが存在し、それぞれグルコン酸を5-ケトグルコン酸 (5KGA)、2-ケトグルコン酸 (2KGA) に酸化する。一方、末端酸化酵素には、シアン感受性のシトクロム  $bo_3$  型キノール酸化酵素 (Cyt. $bo_3$ ) が機能しているが、近年シアン耐性キノール酸化酵素 (CIO) の存在が明らかとなった。本研究では、産業的に有効なグルコン酸酸化呼吸鎖における CIO の機能を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】*G. oxydans* NBRC 12528 の野生株、CIO 欠損株、CIO 過剰発現株の発酵によるケトグルコン酸生産能を比較した。その結果、CIO 欠損株では野生株よりも生育しなかったが、培地中の 5KGA 蓄積量が増加していた。一方、休止菌体反応による 5KGA 生産能は、CIO 欠損株では高く、CIO 過剰発現株では低かった。呼吸阻害剤を用いた試験では、野生株の 2KGA 生産能は比較的耐性を示したが、5KGA 生産は完全に阻害された。以上より、グルコン酸酸化呼吸鎖において、初発脱水素酵素 (GLDH および GADH) から末端酸化酵素 (Cyt. $bo_3$  および CIO) には選択的な電子伝達反応が存在することが示唆された。

講演番号  
B - 7

### ノビレチンの脂肪細胞分化抑制効果と脂質代謝に与える影響

大田美和<sup>1</sup>、西甲介<sup>1</sup>、門田歩<sup>2</sup>、菅原卓也<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大農、<sup>2</sup>伊方サービス(株))

【目的】近年問題となっているメタボリックシンドロームとは内臓脂肪の増加、高血圧、高血糖等の特徴とする。ポリメトキシフラボノイドによる抗メタボリックシンドローム作用として、血糖値上昇抑制、血圧上昇抑制などが報告されている。柑橘類に含まれるポリメトキシフラボノイドであるノビレチンには、これまでに抗炎症作用、抗ガン作用など、様々な生理機能が報告されている。そこで本研究では、ノビレチンの脂肪細胞分化抑制効果、及び *in vivo* での脂質代謝に対する効果を検討した。

【方法・結果】マウス由来前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞を、インスリン、デキサメタゾン、イソブチルメチルキサンチンで分化誘導すると同時にノビレチンを作用させ、分化誘導後7日目に油滴量を測定した結果、コントロールと比較して濃度依存的な油滴蓄積抑制が確認された。また、脂肪細胞分化の指標とされる遺伝子の発現が抑制されており、ノビレチンにより分化誘導が抑制されることが明らかとなった。オス7週齢 C57BL/6 マウスに高脂肪食を自由摂食させ、2 mg/kg/day または 10 mg/kg/day のノビレチンを27日間単回経口投与し、生体内におけるノビレチンの影響を検討した。その結果、ノビレチンが肝臓での脂質代謝を促進させる働きを持つことが示唆された。

講演番号 **アセチル化澱粉及びアセチル化リン酸架橋澱粉が腸内細菌叢に与える影響**

B - 8

小島侑子<sup>1</sup>, 立部誠<sup>2</sup>, 岸田太郎<sup>1</sup>, 海老原清<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>愛媛大院・農・栄養科学, <sup>2</sup>松谷化学工業(株)研究所)

【目的】食物繊維は生活習慣病改善に有用である。しかし、目標量の摂取は困難である。難消化性澱粉タイプ4(RS4)は食物繊維と類似した生理機能を有しながら、加工特性にも優れ、加工食品を通して量的にも摂取が可能であるため、食物繊維の代替えが期待される。従って、RS4の栄養・生理機能を調べることは重要である。そこで、本研究の目的はRS4のひとつであるアセチル化澱粉(AS)とアセチル化リン酸架橋澱粉(AD)の栄養・生理機能を検討することである。

【方法・結果】

実験 7週齢 Wistar 系雄ラットに3種類の試験食(TS飼料:澱粉源を $\alpha$ -タピオカ澱粉としたAIN93G飼料、AS飼料:TS飼料の澱粉源の8%をASに置き換えた飼料、AD飼料:TS飼料の澱粉源の8%をADに置き換えた飼料)のひとつを与え、28日間飼育した。

結果 AS飼料及びAD飼料の摂取により盲腸内容物中の有機酸量の増加、pHの低下、盲腸内細菌叢の変化が観察された。また、AS飼料及びAD飼料の摂取により盲腸内容物中の免疫グロブリンA(IgA)の増加も確認された。

講演番号 **乳酸脱水素酵素のマクロファージ活性化機構に関する研究**

B - 9

大福美帆<sup>1</sup>, 西甲介<sup>1</sup>, 岡本威明<sup>2</sup>, 菅原卓也<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>愛媛大農, <sup>2</sup>愛媛大教育)

【目的】これまでに、解糖系の酵素の一つである乳酸脱水素酵素(LDH)がリンパ球に対して免疫促進活性を示すことを *in vitro*、および *in vivo* において明らかにしてきた。LDHをマクロファージ様細胞株 J774.1 細胞に作用させたところ、IL-6、および TNF- $\alpha$  の産生量が増加した。そこで本研究では、LDHのマクロファージ活性化機構について検討した。

【方法・結果】LDHを添加した培地で J774.1 細胞を培養した後、上清を回収した。培養上清中の IL-6、および TNF- $\alpha$  を酵素抗体法(ELISA)にて測定した。その結果、LDHは J774.1 細胞の IL-6、および TNF- $\alpha$  産生を増加させることが明らかとなった。LDHがマクロファージを活性化する作用機構を明らかにするため、ウエスタンブロット法にて検討を行った。その結果、LDHによって MAPK の一つである JNK のリン酸化が亢進されることが確認された。また、LDHによる IL-6、TNF- $\alpha$  の産生促進作用が JNK 阻害剤 SP600125 によって濃度依存的に抑制されることが明らかとなった。さらに、LDHは J774.1 細胞内の NF- $\kappa$ B の核内への移行を増加させていることが示唆された。これらのことから、LDHは JNK のリン酸化と NF- $\kappa$ B の核内移行促進により、J774.1 細胞のサイトカイン産生を活性化していることが示唆された。

## 講演番号 B - 10

### メトキシクロルのアレルギー惹起に関する研究

安永翔、西本壮吾、西甲介、菅原卓也  
(愛媛大農)

【目的】メトキシクロルは殺虫剤として使用される有機塩素化合物であり、その代謝物にはエストロゲン様活性があり、内分泌攪乱作用を示すことが報告されている。メトキシクロルは環境残留性が高いことから、新規残留性有機汚染物質 (POPs) 候補として指定されている。本研究では、メトキシクロルのアレルギー誘発に及ぼす影響について検討した。

【方法・結果】ラット好塩基球様細胞株 RBL-2H3 細胞、及びマウス骨髄由来初代マスト細胞 BMMC を用い、これら細胞の脱顆粒応答を指標として即時型アレルギーへの影響を評価した。その結果、両細胞の顆粒放出がメトキシクロルにより促進された。しかし、カルシウムイオノフォアにより誘導される抗原非依存的脱顆粒応答には影響しないことから、メトキシクロルは、Fc R における抗原抗体反応に依存的な顆粒放出を促進していることが推察された。そこで、作用メカニズムを明らかにするため、Fc R 下流のシグナル伝達因子のリン酸化レベルを解析したところ、PI3K、および Syk のリン酸化が増大していることが確認された。さらにアレルギー性皮膚炎モデルマウスへのメトキシクロル経口投与の影響を検討した結果、血中 IgE と IgG1 レベルの上昇に加え、脾臓リンパ球のインターロイキン 4 産生の促進が認められ、生体内におけるアレルギー惹起が示唆された。

## 講演番号 C - 1

### イムノクロマト法による牡蠣中カドミウムの測定

西甲介<sup>1</sup>、金仁恵<sup>1</sup>、板井啓明<sup>2</sup>、菅原卓也<sup>1</sup>、竹山春子<sup>3</sup>、大川秀郎<sup>4</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大農、<sup>2</sup>愛媛大 CMES、<sup>3</sup>早大理工、<sup>4</sup>早大規範科学総研)

【目的】牡蠣は重金属の Cd を蓄積しやすいため、牡蠣の Cd 含量のモニタリングはヒトの健康を確保する上で重要である。牡蠣の Cd 含量は通常 ICP-MS 等の機器分析によって測定されるが、高コストである。そこで、安価なイムノクロマト法による牡蠣中 Cd 測定の可能性および実用性を、ICP-MS による測定結果との比較によって検証した。

【方法・結果】フードプロセッサーでホモジナイズした牡蠣に 10 倍量の 0.1 N 塩酸を加えた懸濁液中の Cd 量と、酸分解した同一の牡蠣試料中の Cd 量を ICP-MS で測定した結果、同等であった。牡蠣懸濁液を陰イオン交換カラムに添加後、0.1 N 塩酸で洗浄して溶出液を得た結果、牡蠣懸濁液に含まれる Mn、Fe、Cu、Zn を 95% 以上除去可能であった。イムノクロマト法 (カドミエール、住化分析センター社製) で溶出液中の Cd 量を測定した結果、ICP-MS の測定結果と同等であった。次に、牡蠣懸濁液に既知量の Cd を添加後、イムノクロマト法で測定した結果、理論値とほぼ同等量の Cd を検出した。更に、三ヶ所の異なる産地の牡蠣中の Cd 量を数個ずつイムノクロマト法と ICP-MS の両方で測定した。その結果、両者の測定値間に良好な相関が見られた ( $r^2 = 0.97$ )。以上の結果から、イムノクロマト法による牡蠣中 Cd の正確な測定は可能であり、実用的な測定法であることが実証された。



講演番号

C - 2

酵母発現系を用いた植物病原菌 エフェクターの標的遺伝子の探索

長谷川 純一、中川 智絵、田中 直孝、田淵 光昭

(香川大・農・応用生物)

【目的】多くの病原菌は、型又は型などの分泌装置を用いて、エフェクターと呼ばれる病原性に関わるタンパク質を宿主細胞に注入することで感染を成立させている。本研究では酵母発現系を用いて青枯病菌エフェクターの機能解析を行い、青枯病菌の宿主植物への感染メカニズムを分子レベルで解明することを目的とする。

【方法・結果】青枯病菌ゲノム情報を元に得られたエフェクター遺伝子 38 個を酵母細胞内で発現させたところ、5 つのエフェクターにおいてその発現により酵母の増殖抑制が見られた。これらの増殖抑制を持つエフェクターの酵母細胞内局在を、GFP を指標として解析したところ、特徴的なものでは RSc0608 が娘細胞の細胞膜、RSp0323 が細胞内小胞への局在を示した。また、現在、比較的強い増殖抑制を持つ RSp1022 を 4800 株からなる酵母遺伝子破壊株ライブラリーに形質転換し、網羅的な遺伝学的解析により標的遺伝子の探索を行っている。これまでに MAP キナーゼカスケードに欠損を持つ変異株において強い増殖抑制が見出されている。RSp1022 についてモチーフ検索を行ったところ、様々な生物種に保存された ChaC ドメインを有することが判明した。現在、共通に保存されたアミノ酸について変異体を作製し、エフェクターの機能解析を行なっている。

講演番号

C - 3

SLM1 過剰発現は Rho-Pkc-MAPK カスケードの過剰活性化を引き起こす

津田遼平 田中直孝 田淵光昭

(香川大学 農学研究科)

【目的】出芽酵母において PI4,5P<sub>2</sub> によって形質上に局在化され、Tor 複合体 2 によってリン酸化される Slm1/2 は、スフィンゴ脂質代謝、カルシニューリンそして Rho-Pkc1-MAPK カスケードなどの制御を通して、最終的にアクチン細胞骨格を制御している。しかし、Slm1/2 によるこれら下流経路の制御機構に関してはほとんど明らかになっていない。そこで本研究では Slm1/2 による下流経路制御機構の解明を目的としている。

【方法・結果】我々は Tet-off プロモーターを用いてドキシサイクリンの有無により GFP-Slm1 の発現を調節できる株を作製した。本株を解析する過程で、GFP-Slm1 の過剰発現は酵母に高温感受性を付与することを見出した。この高温感受性は過剰発現による Slm1 の局在異常に起因していることが考えられた。そこで、GFP 蛍光を指標として局在解析を行ったところ、過剰発現された GFP-Slm1 は野生株と同様にエイソソームと呼ばれる形質膜上の構造に局在していたことから、局在異常が高温感受性の原因ではないことが考えられた。次に、Slm1 の下流経路の 1 つである Rho-Pkc1-MAPK カスケードについて解析を行ったところ、熱ストレスに依存して活性化される MAPK である Slt2 が GFP-Slm1 の過剰発現により恒常的に活性化されていた。以上の結果から、GFP-Slm1 の過剰発現による下流経路のバランスの乱れが高温感受性の原因であることが示唆された。

**講演番号** 膜タンパク質の可溶化合成条件の探索

C - 4

山下展弘<sup>1</sup>, 野澤彰<sup>2</sup>, 戸澤謙<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>愛媛大院理工, <sup>1,2</sup>愛媛大無細胞セ)

【目的】膜輸送体などの多くの膜タンパク質は、組換えタンパク質合成が困難であるため、機能構造解析が他の可溶性酵素などに比べ遅れている。コムギ無細胞翻訳系は、膜タンパク質の合成系としても有用であるため、我々は、7回膜貫通領域を有する好塩菌由来のバクテリオロドプシンをテストタンパク質として、機能型膜タンパク質の新たな可溶化合成条件の探索を進めている。

【方法・結果】バクテリオロドプシンはレチナールをクロモフォア形成に必要とするため、無細胞タンパク質合成の反応液にはレチナールを添加した。これまでに機能型バクテリオロドプシンの合成に有効であることを確認している CHAPS/Fos-Choline の混合ミセル添加条件を再検証するとともに、CHAPS 類似化合物である CHAPSO についても検討を進めた。その結果、CHAPS および CHAPSO のいずれの界面活性剤も長鎖の Fos-Choline の共存により、機能型バクテリオロドプシンの合成効率を向上させることに加え、新たに、CHAPS と比較して CHAPSO の Fos-Choline との混合ミセル添加条件の方がやや合成効率が良いことを確認することが出来た。

**講演番号** マラリア原虫のミトコンドリア膜輸送体タンパク質遺伝子の探索

C - 5

藤本竜治<sup>1</sup>, 野澤彰<sup>2</sup>, 戸澤謙<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>愛媛大院理工, <sup>1,2</sup>愛媛大無細胞セ)

【目的】ミトコンドリアキャリアー(MC)タンパク質は、ミトコンドリア内膜に存在し、多様な分子の輸送を行うトランスポーターである。MC は真核生物のトランスポーターでは最大のファミリーを形成しているが、半数以上の MC についてはまだ輸送基質が明らかにされていない。我々は、マラリア原虫ゲノムに存在する 12 種の MC タンパク質の機能を明らかにするために、コムギ無細胞系を基盤とした MC タンパク質の機能解析系の構築を目的として実験を行った。

【方法・結果】データベースより抽出したマラリア原虫の MC タンパク質遺伝子候補を cDNA ライブラリーよりクローニングし、配列解析を進めた。その結果、データベースに登録されている cDNA 予測の一部には予測の誤りが存在し、幾つかの遺伝子についてはイントロンが残された状態で機能予測されていることが判明した。これまでに 1 種類についてはタンパク質合成および機能解析を完了しており、現在、他の 11 種のマラリア原虫 MC タンパク質について cDNA の配列決定中で、正しいエキソン配列を確認したこれらの遺伝子のタンパク質合成および機能解析を進めている。

講演番号  
C - 6

### Sequencing Analysis of Growth Hormone in Micro Mini Pig

Kishor A S<sup>1</sup>, Abe S<sup>1</sup>, Morita E H<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Dept. Biores. Fac. Agr., Ehime Univ.; <sup>2</sup>Venture Bus. Lab., Ehime Univ.)

**Purpose-** Pig has almost the same physiological systems as those for human and in some aspects, pig is the better laboratory animal than mouse. However, mini pig grows up to 30Kg and this is the large obstacle to the animal experiment. At now, micro mini pigs (MMPs) those grow up to 15Kg were developed. To standardize the MMP as experimental animal for next generation, we have to clear the molecular mechanism with which the size of MMP remains small. On the database of the *Sus scrofa*, there are two variants for the amino acid sequences of growth hormone (GH). One was found as DRP-GH from genomic sequence and another as ERA-GH from mRNA sequence. To clear whether this variant also is in MMP or not, we analyze the genomic sequence of MMP around GH.

**Methods and Results- Genomic DNA Extraction, PCR and sequencing-** Genomic DNA was extracted with the use of Qiagen DNeasy Kit from the hair of a male Micro Mini Pig (MMP). Forward and Reverse Primers of GH gene was designed based on available NCBI database sequence. The whole GH gene was amplified with the PCR method using KOD-Plus Neo polymerase and genomic DNA as the template. The PCR reactions were done in the Applied Biosystems thermocycler which was programmed to perform 40 cycles at 94° (2 min), 98° (30 sec), and 68° (1 min) to complete the reactions. The amplified DNA fragments were purified and sequenced using BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. **Results-** Analysis for the genomic DNA sequence showed that, in MMP only ERA-GH was expressed.

### Functional Analysis of N-terminal Sequence of Cyanobacterial Transcription Repressor SmtB from *Synechococcus* sp. PCC 7942

講演番号  
C - 7

Shelake R M<sup>1</sup>, H Hayashi<sup>2,3</sup>, S Abe<sup>1</sup>, E H Morita<sup>\*1,4</sup>

(<sup>1</sup> Fac. Agri., Ehime Univ.; <sup>2</sup>Fac. Sci., Ehime Univ.; <sup>3</sup>CSTRC, Ehime Univ.; <sup>4</sup>Venture Bus. Lab., Ehime Univ.)

**Purpose-**Elucidation of the function of the N-terminal flexible region (29 a.a.) of SmtB in *smt* locus of *Synechococcus* PCC 7942 responsible for tolerance of heavy metal ions such as Zn<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup>.

**Methods and Results- Generation of SmtB mutants-** Mutants of SmtB (Delta 7- truncated for 18 bp; Delta 14- truncated for 42 bp in N-terminal flexible region) were generated using normal *smtB* gene as a PCR template with the appropriate primers. Designed DNA fragments were cloned in pET-21d vector and transformed in *E. coli* JM 109 cells. Constructions of these plasmids were confirmed with DNA sequencing analysis. **Overexpression of mutant SmtBs-** Mutated SmtBs were overexpressed in *E. coli* BL21 (DE3)/pLysS cells transformed with the corresponding pET-21d based plasmid. To stabilize and improve the target-protein expression efficiency, rifampicin was used to suppress the intrinsic protein expression of *E. coli* and, the concentration of it was optimized in each case. **Purification-** Cells were disrupted by sonication and cell debris were subsequently removed by centrifugation. From the supernatant, partially purified target proteins were obtained with the 0.5 % PEI treatment followed by the ammonium sulphate (65 %) precipitation. Precipitated proteins were dissolved and dialyzed overnight against the potassium phosphate buffer, and further purified with ion-exchange and size exclusion chromatography.

**Arabidopsis thaliana テロメア結合タンパク質のテロメア DNA 配列結合活性における C 末端領域の構造機能相関解析**

C - 8

越智ありさ<sup>1</sup>、阿部俊之助<sup>1</sup>、森田勇人<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大農、<sup>2</sup>愛媛大ベンチャービジネス研究所)

【目的】シロイヌナズナ由来のテロメア反復結合タンパク質 AtTRP1 をコードしているシングルコピー遺伝子 *AtTRP1* は 5 番染色体に位置している。ゲルシフトアッセイ(EMSA)により 115 アミノ酸残基からなる Myb-like 結合モチーフ(60 アミノ酸)を含む C 末端領域タンパク質 C-AtMyb は、二本鎖植物テロメア DNA 配列との結合に重要であることが明らかにされている。一方、Myb 様領域につながった C 末端領域 (C-AtMyb) の構造と機能間での関連は未だに解明されていない。本研究では、AtTRP1 のテロメア DNA 配列認識能における C 末端領域の機能と構造の相関を解明することを目的とした。

【方法・結果】我々は C-AtMyb を異なる部位で切断した 11 の部分欠失タンパク質を作製した。各 C-AtMyb 部分欠失タンパク質のテロメア DNA 結合活性と構造安定性の相関を解明するために、これらの部分欠失タンパク質に対して EMSA を行うことによってテロメア DNA 結合活性を分析した。EMSA の分析結果より、AtTRP1 の Myb 様領域がテロメア DNA 配列結合能を持つ構造を維持するためには、C 末端領域のうち Myb 様領域に続く 24 アミノ酸残基が重要であると結論付けた。

**骨格筋特異的 GDE5 過剰発現マウスの速筋型筋萎縮の病態解析**

講演番号

C - 9

楊波<sup>1</sup>、吉澤郁美<sup>1</sup>、和田正信<sup>2</sup>、加藤範久<sup>1</sup>、矢中規之<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>広島大院・生物圏科学、<sup>2</sup>広島大院・総合科学)

近年の高齢化社会において、骨格筋萎縮は極めて重要な病態であり、予防法の開発が急務となっている。我々は以前に新規リン脂質代謝酵素である glycerophosphodiester phosphodiesterase 5 (GDE5) を単離し、GDE5 の骨格筋における生理的な役割に注目し、骨格筋特異的 GDE5 過剰発現マウス(GDE5Tg マウス)の作製を行った。GDE5Tg マウスは速筋型骨格筋の萎縮を呈することを観察している。本研究では GDE5Tg マウスの速筋型筋萎縮の病態の解析を通じて、筋萎縮の発症や評価系としての性質を検討した。

GDE5Tg マウスは大腿筋、および腓腹筋の重量が低下し、筋線維面積が低下していた。また、GDE5Tg マウスを高脂肪食下で飼育を行い、グルコーストレランステストを行った結果、野生型マウスと有意な差は認められなかった。遺伝子発現解析の結果、速筋型遺伝子の発現低下のみならず、glutathione S-transferase や HSP などのストレス応答が認められた。さらに、神経筋接合部を構成する因子群の遺伝子発現の上昇が認められた。α-bungarotoxin を用いた後シナプスの形態を観察した結果、シナプスの局在分布やシナプスのアセチルコリン受容体密度には大きな差異は認められなかった。神経筋接合部の因子群の発現誘導は骨格筋の機能低下に応答した代償的な発現誘導であると考えられた。

講演番号  
C - 10

### 他のタンパク質源と比較した、魚肉タンパク質摂取による骨格筋重量増加の評価

魚住圭佑<sup>1</sup>、川端二功<sup>2</sup>、辻智子<sup>2</sup>、水重貴文<sup>1</sup>、岸田太郎<sup>1</sup>、海老原清<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>愛媛大院・農・栄養科学、<sup>2</sup>日本水産(株)生活機能研)

【目的】これまでに肥満に対する効果を検討する中で、スケトウダラ魚肉タンパク質 (APP) を含む高脂肪飼料をラットに与え、8 週間摂取させたところ、カゼイン摂取と比較して骨格筋である腓腹筋および長趾伸筋重量が有意に増加し、ヒラメ筋重量には増加傾向が認められた。本研究では APP 摂取による筋肉への影響を評価するため、筋肉量を増加させると報告されているホエイタンパク質及び大豆タンパク質、またカゼイン同様にアミノ酸組成の整った卵白タンパク質を用いて筋肉の量的及び質的变化を比較した。

【方法・結果】6 週齢 SD 系ラットにタンパク質源としてそれぞれ APP、カゼイン、大豆タンパク質、牛乳由来ホエイタンパク質、卵白タンパク質を含む高脂肪飼料を与え、自由摂食下で 6 週間飼育した。APP 摂取によって主に Ⅱ型線維タイプである長趾伸筋重量はカゼイン、ホエイタンパク質摂取と比較して有意に増加した。ホエイタンパク質はタンパク質合成に関わるアミノ酸であるロイシンに富むが、運動負荷をかけない本実験条件下では筋肉重量の増加は観察されなかった。一方で APP 摂取は運動負荷をかけない条件においても筋肉重量を増加させると考えられた。また、腓腹筋の色調はカゼイン摂取と比較して APP 摂取で高い白色度が見られ、線維タイプを Ⅱ型へ変化させることが示唆された。

講演番号  
D - 1

### ユーグレナチオレドキシシニペルオキシダーゼの生理機能解明

玉木峻、丸田隆典、澤嘉弘、石川孝博

(島根大・生資料・生命工)

【目的】カタラーゼを持たないユーグレナ (*Euglena gracilis* Z) は、細胞質に局在するアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) が主要な過酸化水素代謝酵素として機能している。また EST データベースより、APX 以外にもグルタチオンペルオキシダーゼやチオレドキシシニペルオキシダーゼ (TPX、ペルオキシレドキシシニ) などのチオールペルオキシダーゼ相同遺伝子の存在も示唆されているが、その機能については未解明である。今回、ユーグレナ TPX に着目し、ユーグレナ TPX の生理機能の解明を試みた。

【方法・結果】ユーグレナ EST 情報に基づき、PCR により TPX1 および TPX2 の完全長 cDNA を単離した。膜貫通ドメイン予測プログラムの結果から、得られた TPX1 と TPX2 はそれぞれ細胞質と葉緑体に局在することが示唆された。組換え体 TPX1 および TPX2 を作製し、酵母由来チオレドキシシニ (Trx) /Trx 還元酵素系により活性測定した。組換え体 TPX1 および TPX2 はいずれも過酸化水素とアルキルヒドロペルオキシドに対して還元活性を示した。TPX1 と TPX2 の過酸化水素に対する  $K_m$  値は既知の TPX と比べて高く、触媒効率 (kcat/ $K_m$ ) はユーグレナ APX と比較して著しく低いことが示された。また TPX1 は、動植物由来 TPX で報告されているように、シャペロン活性も持つことが示された。

ダイゼインの雌特異的飼料摂取量抑制作用は CCK-1 レセプター欠損により消失しない。

講演番号  
D - 2

村上 聖 1) 山内 佳也 1) 本永 芳恵 1) 梶原 秀平 2) 山内 聡 1) 岸田 太郎 1) 海老原 清 1)

1) 愛媛大院 農 応生、2) 愛媛大 農 応生

【目的】ダイゼインは雌ラット特異的に飼料摂取量を減少させ、その腸内細菌代謝物であるエコール(Eql)が直接の作用成分であることが示されている。また、ダイゼイン摂取により小腸粘膜の CCK 遺伝子発現が上昇することが観察された。本研究では CCK の食欲抑制効果に関与しているのかを検討した。

【方法・結果】実験 1：CCK-1 レセプター欠損動物 OLETF ラットおよびその原生種である LETO ラットの雌に、卵巣摘出手術(OVX)または無処置(intact)を施した。その後、コントロール飼料(C)またはダイゼイン 0.015%添加飼料(D)で 5 週間飼育した。実験 2：実験 1 と同様のラットに C 飼料または Eql 0.015%添加飼料で 4 週間飼育した。実験 1、2 とともに飼育期間中の飼料摂取量と体重を毎日測定した。【結果】実験 1：週毎の飼料摂取量は、LETO/intact、LETO/OVX では C 群に比べて D 群で有意に低下した。OLETF/intact 群は 2、4 週目で D 群で有意に低下し、OLETF/OVX 群では全ての週で差がなかった。D 群の血中 Eql 濃度は 300~700 nM と、正常動物の 4 分の 1 程度であった。実験 2：週毎の飼料摂取量は、LETO/sham、OLETF/sham、OLETF/OVX では全ての週で Eql 群で有意に低下した。LETO/OVX は 4 週目でのみ Eql 群で有意な差が見られた。

植物リグナンのエストロゲン様作用について

講演番号  
D - 3

梶原秀平、本永芳恵、山内佳也、村上聖、山内聡、岸田太郎、海老原清  
(愛媛大・農・生資)

【目的】これまでに、大豆イソフラボン・ダイゼイン(D)の腸内代謝産物であるエコール(Eql)が雌ラット特異的に飼料摂取量を低下させること見出し、この効果とエストロゲン様作用との関連を検討してきたが、in vivo において、Eql にはエストロゲン様作用は認められなかった。リグナンは大豆イソフラボンと並び食品成分中の植物エストロゲンとして注目されている。本研究では食品中に比較的少量に含まれるリグナンについて、ラットの子宮重量に与える影響を指標にエストロゲン様作用を検証し、リグナン及びその代謝物の血中濃度、飼料摂取量への影響も調べた。【方法】卵巣摘出(OVX)と偽手術(sham)を施した 6 週齢 SD 系雄ラットに、0.02%~0.1%のセコイソラリシレジノール(SECO)、マタイレジノール(MAT)、ラリシレジノール(LARI)、ピノレジノール(PINO)を添加した AIN-93G 飼料を与え、3 週間飼育し、成長を観察した。試験期間終了後、血中リグナン及び代謝産物濃度、各組織重量を測定した。【結果】どのリグナンを食餌させても、活性成分と考えられていた ENL、END が血中に高濃度で存在していた。しかし、OVX により著しく低下した子宮重量をどのリグナン摂取させても、低下を抑制しなかった。飼料摂取量及び体重増加量は OVX により増加したが、どのリグナンを食餌させても変化は見られなかった。

## クサカゲロウ由来の麻痺活性物質

講演番号

D - 4

松浦茉佑, 西脇寿, 原有助, 菅原卓也, 山内聡, 首藤義博  
(愛媛大農)

【目的】吸汁性肉食昆虫であるニッポンクサカゲロウの幼虫は, アブラムシなどの小型昆虫を捕食する. 捕食されている昆虫に即効性の麻痺症状が認められることから, なんらかの麻痺活性成分が捕食時に利用されていると推測されるが, どのような物質であるのかは定かではない. そこで, クサカゲロウ幼虫から麻痺活性物質を単離することを目的とした.

【方法・結果】クサカゲロウ幼虫から採取した吐き戻し液に麻痺活性があるのか調べるために, 採取液をイエバエ成虫に注射投与して経時的に症状を観察したところ, イエバエは数分以内に麻痺し, そのまま致死することを確認した. この現象は, 投与液をバッファーで数百倍に希釈しても確認することができた. さらに, この麻痺活性成分は 10 kDa cut-off の限外ろ過膜を通過しないことや熱処理により失活することから, タンパク質性の物質であると推測した. 次に, この採取液にクサカゲロウと同じアミメカゲロウ目に属するクロコウスバカゲロウが有するタンパク質性毒素 ALMB-toxin が含まれているのか Western blot により確認したところ, ALMB-toxin の存在は認められなかった. 各種カラムクロマトグラフィーによる麻痺活性物質の精製を試みたところ, 数種の成分にまで絞り込むことができた.

## $\beta$ -N-Acetylglucosaminidase 阻害剤 pochonicine の GC-MS 分析及び新規類

講演番号 緑体の確認

D - 5

土田彩<sup>1</sup>, 安井あゆみ<sup>1</sup>, 奥田徹<sup>2</sup>, 神崎浩<sup>1</sup>, 仁戸田照彦<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命, <sup>2</sup>玉川大・学術研)

【目的】我々は新規  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase 阻害物質 pochonicine を糸状菌 *Pochonia suchlasporia* 培養物中に見出した。<sup>1)</sup> 本菌株の培養物中には, pochonicine と水酸基の数が異なる類縁体も生産されるが, 微量であることから単離・構造決定のためには培養生産性の向上が望まれる. 培養生産性の評価には GC-MS 分析が有効であり, そのための誘導体化に従来はトリメチルシリル (TMS) 化を用いてきたが, TMS 化物は不安定で十分な再現性が得られなかったため, TMS 化に代わる誘導体化としてアセチル化の検討を行った.

【方法・結果】まず, pochonicine および類縁体の精製画分を用いて, ピリジン・無水酢酸との反応により, アセチル化物が得られることを GC-MS 分析にて確認した. TMS 化物は 2 日間室温保存すると GC-MS で検出不可能となるのに対し, アセチル化物は 9 日間室温保存してもピーク面積の減少はほとんど見られず, 十分な安定性を有することが分かった. さらに, *P. suchlasporia* の培養抽出物を陽イオン交換樹脂による固相抽出後, アセチル化・GC-MS 分析に供することで, 培養物レベルで pochonicine およびその類縁体の存在を確認できることが明らかとなった. 同時に, 培養物中に pochonicine の新規類縁体と考えられる化合物を見出した。<sup>1)</sup> *Bioorg. Med. Chem.*, **17** (20), 7248-7253, (2009)

**Effects of Depletion of Glutathione on Abscisic Acid- and Methyl Jasmonate-Induced Stomatal Closure in Arabidopsis**

講演番号 Nasima AKTER(1)、 Muhammad Abdus SOBAHAN(1)、 Misugi  
D - 6 URAJI(1)、 Wenxiu YE(1)、 Izumi C. MORI(2)、 Yoshimasa  
NAKAMURA(1)、 Yoshiyuki MURATA(1)

(1)Div. of Biosci., Okayama Univ., (2)IPSR, Okayama Univ.

Glutathione (GSH) negatively regulates abscisic acid (ABA)- and methyl jasmonate (MeJA)-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. Here, we examined the effects of GSH-decreasing chemicals, *p*-nitrobenzyl chloride (PNBC), iodomethane (IDM), and ethacrynic acid (EA) on ABA- and MeJA-induced stomatal closure in Arabidopsis. PNBC, IDM and EA decreased GSH contents in guard cells. PNBC and IDM enhanced ABA- and MeJA-induced stomatal closure and inhibition of light-induced stomatal opening by ABA, whereas EA did not enhance either of them. Depletion of GSH did not significantly affect production of reactive oxygen species (ROS), cytosolic alkalization, or cytosolic Ca<sup>2+</sup> oscillation in response to ABA and MeJA. These results indicate that depletion of GSH enhances ABA- and MeJA-induced stomatal closure without affecting ROS production, cytosolic alkalization, or cytosolic Ca<sup>2+</sup> oscillation in guard cells of Arabidopsis.

**Allyl isothiocyanate induces stomatal closure accompanied by peroxidase-mediated reactive oxygen species production in Arabidopsis thaliana**

講演番号 Mohammad Shakhawat HOSSAIN、 Md Atiqure Rahaman KHOKON、  
D - 7 Taniya RAHMAN、 Wenxiu YE、 Eiji OKUMA、 Yoshimasa  
NAKAMURA and Yoshiyuki MURATA

Div. of Biosci., Okayama Univ.

Isothiocyanates (ITCs) are degradation products of glucosinolates in crucifer plants and the degradation are catalyzed by myrosinases. Allyl isothiocyanates (AITC) is one of the degradation products in *Arabidopsis thaliana*. We investigated stomatal response to AITC in Arabidopsis. AITC induced stomatal closure in wild-type plants but not in *atrbohD atrbohF* mutants. The AITC-induced stomatal closure was inhibited by a hydrogen peroxide scavenger, catalase, and peroxidase inhibitors, salicylhydroxamic acid (SHAM) and sodium azide), and was slightly inhibited by an NADPH oxidase inhibitor, diphenyleneiodonium chloride. The AITC induced extracellular ROS production, intracellular ROS accumulation, NO production, and cytosolic free calcium concentration oscillation, which were inhibited by SHAM. These results suggest that AITC induces stomatal closure accompanied by ROS production mediated by cell wall peroxidases in *Arabidopsis*.



**アスコルビン酸の位置特異的な配糖化を触媒する *Aspergillus niger* 由来  
講演番号 -グルコシダーゼを用いたアスコルビン酸 6 グルコシドの合成**

D - 8

寺坂美紀, 早川有美, 仁戸田照彦, 神崎 浩  
(岡山大院・環境生命)

【目的】*Trichoderma* 属由来 -グルコシダーゼは糖転移反応によりアスコルビン酸(AA)配糖体を合成するが, その位置選択性は低く AA-2 Glucoside と AA-6 Glucoside (AA6 Glc)を同時に生成する。一方, 我々は *Aspergillus niger* -グルコシダーゼが AA に対して高い糖転移活性を有し, AA6 Glc と推測される化合物を位置特異的に合成することを明らかにしてきた。<sup>1)</sup> そこで本研究では *A. niger* -グルコシダーゼの位置特異的な反応を証明するため, 本化合物を酵素合成し, 構造決定した。さらにその性質について検討した。

【方法・結果】最適酵素合成反応条件下で, 各 0.15 M の AA とセロビオースを基質とし, *A. niger* 由来 -グルコシダーゼを用いて糖転移反応を行った。酵素反応液をジオール基結合カラムと強陰イオン交換カートリッジに供することで生成物を単離した。質量分析により本化合物の精密質量が AA6 Glc と一致することが示され, <sup>1</sup>H-NMR データと文献値との比較及び二次元 NMR 測定結果より, 本化合物を AA6 Glc と同定した。AA6 Glc は生成ラジカル消去活性を評価する DPPH 法による抗酸化活性測定において AA の 75%程度の活性を示し, 酸性及び中性条件下での温度安定性は AA より低いことが明らかとなった。

<sup>1)</sup> 早川・仁戸田・神崎, 日本農芸化学会中四国支部第 28 回講演会要旨集, p40 (2010)

**L-グルタミン酸オキシダーゼより作成した基質特異性変換酵素 L-アルギニン  
講演番号 オキシダーゼの精製と性質**

D - 9

中井 隆一郎<sup>1</sup>, 日下部 均<sup>2</sup>, 田村 隆<sup>1</sup>, 稲垣 賢二<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命科学, <sup>2</sup>(株)エンザイムセンサ)

【目的】L-グルタミン酸オキシダーゼは L-グルタミン酸の酸化的脱アミノ化反応を触媒する酵素である。本酵素は基質特異性が非常に厳格なため, L-グルタミン酸バイオセンサーへの活用が期待されている。我々は放線菌由来の本酵素の X 線結晶構造解析及びドッキングスタディーの結果から 305 番目のアルギニンが本酵素の基質認識に最も重要であることを明らかにした。また, 305 番目のアルギニンに部位特異的変異を導入することで基質特異性改変酵素が創出できることを見出した。今回は, そうして作成した基質特異性改変酵素の一つ L-アルギニンオキシダーゼ (R305D 変異酵素) の精製を行い, 性質検討を行った。

【方法】基質認識に関わる残基に部位特異的変異を導入し, 変異酵素を作成した。変異酵素は本酵素の発現ベクター pGOx-mall を有する *E. coli* JM109 の無細胞抽出液を硫酸分画後, アミロースカラム, イニオン交換カラムクロマトグラフィー, ハイドロキシアパタイトカラムクロマトグラフィー, ゲルろ過カラムクロマトグラフィーにより精製を行った。酵素活性は酵素反応性生物の -ケト酸を MBTH 法により定量することで測定した。

【結果】R305D 変異酵素は L-グルタミン酸にほとんど活性を示さない一方で, L-アルギニンに対し最も高い活性を示した。L-アルギニンを基質とした場合に酸素電極により酸素の吸収も確認され, R305D 変異酵素が酸化的に脱アミノ化反応を触媒していることが確認できた。以上の結果から, L-グルタミン酸オキシダーゼの R305D 変異酵素は新規な L-アルギニンオキシダーゼと言える。R305D 変異酵素の最適温度は 40 °C であり, 最適 pH は 8.5 であった。尚, 現在, 速度論解析を行っている。

講演番号  
D - 10

## ヒドロキシプロピル化タピオカスターチの消化管機能への影響

山本松平<sup>1</sup>, 立部誠<sup>2</sup>, 岸田太郎<sup>1</sup>, 海老原清<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>愛媛大学・農・生資、<sup>2</sup>松谷化学工業(株)研究所)

【目的】レジスタントスターチ(RS)はRS - 1 ~ RS - 4 までの4タイプに大きく分類され、食物繊維と類似した栄養・生理機能効果を有することが知られている。ある食物繊維の摂取は消化管との相互作用を通じ、抗原排出の主たる働きを行う免疫グロブリンA(IgA)の分泌を増進し免疫機能を亢進する。しかし現在RS - 4の消化管免疫機能に関する研究はほとんど報告されていない。本研究の目的はRS - 4の一種であり、食品加工の場で最も利用されているヒドロキシプロピル化タピオカスターチ(HPTS)の消化管機能への影響を、特に免疫機能・置換度(DS)との関係から検討することである。

【方法・結果】Wistar系ラット雄7週齢を搬入後、AIN-93G組成を基にしたコントロール飼料(TS)で1週間飼育し環境に馴化させた。その後TS飼料および、TS飼料にDSの異なる4種類のHPTSをそれぞれ5%置き換えた飼料で4週間飼育した後に解剖を行った。小腸においてHPTSはDSの増加にともないIgA分泌量を増進することが示唆された。しかし盲腸におけるHPTSのIgA分泌量への影響は小さかった。また盲腸内容物中のSCFA量、腸内細菌叢への影響をPCR-DGGE法で解析したところHPTSの影響はほとんど見られなかった。このことは呼気中水素量の測定からHPTSの資化性が非常に低いことと一致した。

## 賛助企業

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  
久保田商事（株）広島営業所  
高知酒造（株）  
寿製菓（株）  
（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  
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）  
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）  
ヤマキ（株）  
（株）やまだ屋  
山本薬品（株）  
両備ホールディングス（株）事業開発部  
ルナ物産（株）  
湧永製薬（株）中央研究所