

日本農芸化学会中四国支部創立 10 周年記念

日本農芸化学会中四国支部大会（第 34 回講演会）

講演要旨集

日時：2012 年 9 月 21 日（金）～22 日（土）

場所：山口大学 工学部

日本農芸化学会中四国支部

シンポジウム「中四国の農芸化学 これまでの 10 年 これからの 10 年」

9 月 21 日(金) 15:00～18:30 C11 教室

座長 赤田倫治

15:00 はじめに 農芸化学会会長 太田明徳

座長 星田尚司

15:10 S1 島根県の農芸化学分野の活動
○川向 誠 (島根大学・生資・生命工)

15:30 S2 鳥取のバイオ資源を活用する -バイオマスリファイナリー研究展開-
○築瀬英司 (鳥取大院工・生応工)

座長 松井健二

15:50 S3 岡山の農芸化学 これまでの 10 年これからの 10 年
○神崎浩 (岡山大院・環境生命科学)

16:10 S4 農芸化学中四国支部香川県地区のこれまでの 10 年の特徴とこれから
○合谷祥一 (香川大農・応生科)

16:30-16:40 休憩

座長 内海俊彦

16:40 S5 徳島大学での農芸化学的研究と大腸菌 O157 に関する研究の今後
○横井川久己男 (徳島大学院・SAS 研究部)

17:00 S6 新しい中四国支部の未来 -若人が農芸化学に夢をもてる場に！-
○江坂宗春 (広島大学 院 生物圏科学)

座長 阿座上 弘行

17:20 S7 中四国支部の高知県～高知大学を中心とした活動の 10 年と未来～
○永田 信治 (高知大学・総合科学系・生命環境医学部門)

座長 山田 守

17:40 S8 酢酸菌研究から高温発酵系開発へ -伝統・継承・発展- 地方大学に求められるもの
○松下一信 (山口大農・生物機能)

受賞講演

9 月 21 日(金) 13:00～13:30 A 会場(D21)

座長 赤田 倫治

奨励賞 清酒成分及び清酒醸造副産物の生理機能の解明

○伊豆 英恵 (酒総研)

懇親会

9 月 21 日(金) 19:30～21:30 国際ホテル宇部

支部幹事会

9 月 21 日(金) 12:00～13:00 工学部会議棟 第 1 会議室

参与会

9 月 22 日(土) 12:30～13:30 工学部会議棟 第 1 会議室

一般講演 プログラム

1 日目(9 月 21 日(金))

A 会場(D21 教室)

- 13:30 A1-1 清酒老香の主成分 Dimethyl trisulfide の生成に影響を与える製造条件の探索
○佐々木慧^{1,2}, 藤井力^{1,2}, 西堀奈穂子¹, 金井宗良¹, 山田修¹, 後藤奈美^{1,2}
(¹酒総研, ²広大院生物圏)
- 13:42 A1-2 下面発酵ビール酵母における倍数体間の接合
○横山 亮¹, 星田尚司¹, 尾形智夫², 赤田倫治¹
(¹山口大・医系・応用分子生命, ²アサヒビール醸造研)
- 13:54 A1-3 混合培養麹における酵素活性の変化と醸造特性
○佐藤由可衣¹, 許斐隼¹, 二宮純子¹, 森田洋²
(¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)
- 14:06 A1-4 コエンザイム Q と Cysteine が分裂酵母の酸化ストレス感受性に及ぼす影響
○竹内佳奈, 古田奈々, 中川 強¹, 戒能智宏, 川向 誠
(島根大・生物資源・生命工, ¹島根大・総科技センター)
- 14:18 A1-5 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* の交配育種
○中川貴皓¹, 村重 卓², 志手勇樹², 村上允唯², 鎗水 透², 星田尚司², 赤田倫治²
(¹山口大・工・応用化学, ²山口大院・医・応用分子生命)
- 14:30 A1-6 Improvement of *Kluyveromyces marxianus* strains for ethanol fermentation under stress condition.
○Sukanya Nitiyon¹, Noppon Lertwattanasakul^{2,3}, Akihiro Oguchi², Katsushi Hirata¹, Tomoyuki Kosaka², Savitree Limtong³, Mamoru Yamada^{1, 2}
(¹Grad. Sch. Med. Yamaguchi Univ., ²Fac. Agr. Yamaguchi Univ., ³Fac. Sci. Kasetsart Univ.)
- 14:42 A1-7 A simple *KanMX*-insertion approach for searching genes related to glucose repression in thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus*
○Suprayogi¹, Nadchanok Rodrussamee¹, Noppon Lertwattanasakul^{2,3}, Masayuki Murata¹, Savitree Limtong³, Tomoyuki Kosaka², Mamoru Yamada^{1,2}
(¹Grad. Sch. Med. Yamaguchi Univ., ²Fac. Agr. Yamaguchi Univ., ³Fac. of Sci. Kasetsart Univ.)

B 会場(D22 教室)

- 13:30 B1-1 シロイヌナズナにおいて COPII 被覆構成因子の欠損が及ぼす花粉の異常と遺伝子発現パターンの変化
○田中優史, 三宅君果, 中川強
(島根大・総科セ・遺伝子)
- 13:42 B1-2 シロイヌナズナ細胞質型 *APX* 変異体の強光ストレス応答解析
○大森瑤子¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(¹島根大・生資科・生命工, ²近畿大・農・バイオ)
- 13:54 B1-3 シロイヌナズナにおける熱ショック転写因子(Hsf)シグナリングネットワークの解析

○薮田行哲¹, 野坂亮太², 林秀樹², 池田美穂³, 高木優³, 重岡成²
(¹鳥取大農・生資環, ²近畿大院農・バイオ, ³産総研・生物プロセス)

14:06 B1-4 葉緑体由来の酸化シグナリングに関する新規転写因子の機能解析
○丸田隆典¹, 大和開¹, 問田英里², 松田峻², 野志昌弘², 澤嘉弘¹, 吉村和也³, 高木優⁴, 石川孝博¹, 重岡成²
(¹島根大・生資科・生命工, ²近畿大・農・バイオ, ³中部大応生・食栄, ⁴産総研・生物プロセス)

14:18 B1-5 *Euglena* におけるアスコルビン酸生合成の光調節機構
○山口由貴¹, 松原まどか¹, 丸田隆典¹, 澤嘉弘¹, 重岡成², 石川孝博¹
(¹島根大・生物資源・生命工, ²近畿大・農・バイオ)

14:30 B1-6 気孔閉口を制御するジャスモン酸メチル情報伝達
○宗正晋太郎¹, 中村宜督¹, 森泉¹, 村田芳行¹
(¹岡山大院・農生命科学)

14:42 B1-7 Reactive carbonyl species induce programmed cell death in tobacco cells
○Md. Sanaullah Biswas¹ and Jun'ichi Mano^{1,2}
(¹ Grad. School Agriculture, Yamaguchi Univ., ² Science Research Center, Yamaguchi Univ.)

C 会場 (D23 教室)

13:30 C1-1 ローズマリー成分カルノシン酸の神経細胞保護作用とその作用機序
○柴田紗知¹, 萱島知子², 松原主典¹
(¹広島大院・教育, ²佐賀大・文化教育)

13:42 C1-2 SOD1 欠損線維芽細胞を用いた抗酸化物質の新規評価系の開発
○井内良仁¹, 柳井彩¹, 井料由香里¹, 藤井順逸²
(¹山口大農・生物機能, ²山形大院医・生命環境)

13:54 C1-3 線虫 *C. elegans* のインスリン様ペプチド INS-6 の機能解析
○藤森 匠¹, 小松真希¹, 松永洋平², 岩崎 崇^{1,2}, 河野 強^{1,2}
(¹鳥取大院・農, ²鳥取大院・連農)

14:06 C1-4 クルマエビアレルゲン *Pen j 1* の熱安定性獲得機構
○臼井将勝, 佐藤裕一, 千葉瑞樹, 西大杏里, 花岡研一, 阿座上弘行¹
(水大校・食品科学, ¹山口大農・生物機能)

14:18 C1-5 B 型肝炎ワクチン開発に向けた酵母におけるウイルス表面タンパク質の発現解析
○富吉啓介¹, 中村美紀子², 星田尚司³, 赤田倫治³
(¹山口大・工・応化, ²山口大・産学公連携, ³山口大院・医系・応用分子生命)

14:30 C1-6 ヒト細胞由来無細胞タンパク質合成系を用いたタンパク質脂質修飾の解析
○福重大地¹, 高光恵美¹, 守屋康子¹, 内海俊彦¹
(¹山口大院・医・応用分子生命)

14:42 C1-7 無細胞タンパク質合成系を用いた N-ミリスチル化された膜貫通タンパク質の同定
○福永和貴¹, 飯尾雄介¹, 乗安義美¹, 高光恵美¹, 守屋康子¹, 内海俊彦¹

(¹山口大院・医・応用分子生命)

2 日目(9 月 22 日(土))

A 会場(D21 教室)

- 9:00 A2-1 枯草菌での銅イオンホメオスタシスに関わる 2 つの転写制御因子 YcnK と CsoR の様々な金属イオンに対する応答性
広岡和丈, ○枝廣貴成, 木村晃輔, 藤田泰太郎
(福山大生命工・生物工)
- 9:12 A2-2 納豆菌より見いだされた新規染色体外 DNA 維持機構: ポリ-γ-グルタミン酸生合成因子 PgsE と鞭毛形成因子 FilF の必須性
○芦内 誠^{1,2}, 山本健人¹, 山城大典²
(¹高知大・農, ²愛媛大院・連合農)
- 9:24 A2-3 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* の病原因子のトランスポゾン解析
○松浦やよい, Karim Minnatul, 加藤昭夫, 阿座上弘行
(山口大農・生物機能)
- 9:36 A2-4 酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* IFO 3283 株の高温適応育種
○松本奈実, 松谷峰之介, 薬師寿治, 松下一信
(山口大農・生物機能)
- 9:48 A2-5 耐熱性および育種耐熱化 *Corynebacterium glutamicum* の解析
○大西康貴¹, 鶴岡史也¹, Nawarat Nantapong², 薬師寿治¹, 松下一信¹
(¹山口大農・生物機能, ²Suranaree University of Technology)
- 10:00 A2-6 比較ゲノム解析による酢酸菌の耐熱化機構解明に向けたアプローチ
○松谷峰之介¹, Wichai Soemphol¹, 平川英樹², 薬師寿治¹, 松下一信¹
(¹山口大農・生物機能, ²かずさ DNA 研・植物ゲノム研究部)
- 10:12 A2-7 *Zymomonas mobilis* 株間の耐熱性およびゲノム遺伝子の比較
○久野圭祐¹, 山下舞¹, 中島康之¹, 入江陽¹, 高坂智之², 山田守^{1,2}
(¹山口大院医・応用分子, ²山口大農・生機)
- 10:24 A2-8 出芽酵母における高温ストレス適応に関わる Slm 下流経路制御機構の解析
○津田遼平, 田中直孝, 田淵光昭
(香川大学・農・応用生物)
- 10:36 A2-9 酵母ミトコンドリアキャリアータンパク質の機能解析
○岡田有右¹, 野澤彰², 戸澤譲²
(¹愛媛大院・理工, ²愛媛大・無細胞セ)
- 10:48 A2-10 酵母及びヒト細胞における *Helicobacter pylori* 病原因子 CagA の解析
○佐藤仁美¹, 山崎笑美子¹, 中村美紀子², 赤田純子², 星田尚司¹, 赤田倫治¹
(¹山口大院・医系・応用分子生命, ²山口大・産学公連携センター)
- 11:00 A2-11 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
○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)
- 11:12 A2-12 ヒノキ木粉の生分解性を向上させる白色腐朽菌の探索

○小島豪, 光永均¹, 時本景亮², 西野直樹, 仁戸田照彦, 神崎浩
(岡山大院環境生命科学, ¹岡山大農, ²日本きのこセ菌蕈研)

- 11:24 A2-13 白色腐朽菌 *Trametes versicolor* によるデンプンからの直接的エタノール生産
○綱島彩子, 内井敦史, 築瀬英司, 岡本賢治
(鳥取大院工・生応工)
- 11:36 A2-14 褐色腐朽菌 *Neolentinus lepideus* のラクトース発酵特性
○中川紗季, 金涌龍一, 築瀬英司, 岡本賢治
(鳥取大院工・生応工)

B 会場(D22 教室)

- 9:00 B2-1 高温性水素資化性メタン生成菌からの凝集能の低下した変異株の取得
○高坂智之¹, 澄川佳奈², 山田守^{1,2}
(¹山口大農, ²山口大院医)
- 9:12 B2-2 耐熱性 *Zymomonas mobilis* による L-乳酸発酵生産
村田正之¹, 嘉松初¹, 入江陽¹, 中島康之¹, 高坂智之², 山田守^{1,2}
(¹山口大院医・応用分子, ²山口大農・生機)
- 9:24 B2-3 水素資化性メタン生成菌のメタン生成におけるプロピオン酸酸化共生菌のべん毛の影響
○井上真菜美¹, 高坂智之², 山田守³
(¹山口大院・農, ²山大・農, ³山大院・医)
- 9:36 B2-4 混合液体麹によるグルコアミラーゼ生産性の増強
○許斐隼¹, 佐藤由可衣¹, 二宮純子¹, 森田洋²
(¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)
- 9:48 B2-5 固体培養における均一培養とその酵素生産
○伊藤一成¹, 五味勝也², 狩山昌弘³, 三宅剛史¹
(¹岡山県工技セ, ²東北大院農・生物産業創成, ³フジワラテクノアート)
- 10:00 B2-6 Purification and characterization of autoinducer-2 inactivating enzyme in periodontopathogenic bacterium *Eikenella corrodens*
○Mansur Jasin, Karim Minnatul, 長尾章子, 加藤昭夫, 阿座上弘行
(山口大農・生物機能)
- 10:12 B2-7 カラギーナン分解酵素の探索と同定
○高橋亮¹, 大西浩平²
(¹高知大農・遺, ²高知大総研セ・遺)
- 10:24 B2-8 NADPH 依存(Z)-3-ヘキセナールレダクターゼの精製とその酵素的特徴
○志岐和美, 松井健二
(山口大院医)
- 10:36 B2-9 酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* SKU1108 のアルコール脱水素酵素の性質
○松本翔児, 薬師寿治, 松下一信
(山口大学農学部)
- 10:48 B2-10 高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 のジスルフィド異性化酵素システム

○田村 隆, 吉田隆真, 稲垣賢二
(岡山大院・環境生命)

11:00 B2-11 Identification of key residues essential for the activity and substrate affinity of L-carnitine dehydrogenase
Mohamed M. Eltayeb, Jiro Arima, Isam A. Mohamed Ahmed, Nobuhiro Mori
(Faculty of Agriculture, Tottori University)

11:12 B2-12 TMSCl を用いたアスパラギン酸のエステル化反応における位置選択性
○城戸裕喜, 城戸健史, 中島修平, 泉 実
(岡山大院・環境生命)

11:24 B2-13 タンパク質の固相 PEG 化反応に及ぼす充填剤構造の影響
○飯盛 遊, 吉本則子, 山本修一
(山口大学・工)

11:36 B2-14 細管内層流速分布を利用した拡散係数の測定と分子形状の解析
○大島翔平, 吉本 則子, 山本 修一
(山口大学・工)

C 会場 (D23 教室)

9:00 C2-1 葉緑体工学による有用植物の開発
○中平洋一¹, 鹿島康浩², 椎名 隆³, 戸澤 譲^{1,4}
(¹愛媛大・VBL, ²(株)耐熱性酵素研究所, ³京都府大・生命環境, ⁴愛媛大・無細胞センター)

9:12 C2-2 Deficiency in green leaf volatiles attenuates Arabidopsis early defense response against *Pseudomonas syringae*
○Mugo Cynthia Nyambura¹, Alessandra Scala², 松井健二¹, 高林純示³, Robert C. Schuurink²
(¹山口大院医, ²アムステルダム大, ³京大生態研)

9:24 C2-3 ジャコウアゲハの帯糸の黒色化機構の解析
○山中明¹, 林友萌子¹, 林絵里¹, 北沢千里², 落合正則³
(¹山口大理・生物, ²山口大教育・理科教育, ³北大・低温研)

9:36 C2-4 ワタアブラムシの一次寄主植物から二次寄主植物への移動を、一次寄主植物であるムクゲに含まれる季節的な変化のみられる化学物質は刺激するの
か?
○山本 優, 川崎陽平, 金 哲史
(高知大学・農)

9:48 C2-5 ヤマトシロアリ兵隊アリが有する抗酸化物質の単離・同定の試み
○田崎英祐, 赤壁義彦, 井内良仁
(山口大・農・生物機能)

10:00 C2-6 オカボノアカアブラムシの寄生によるイネ根部での代謝産物変動
○手林慎一, 大西信太郎, 及川 彰^{1,2}, 佐々木亮介², 斉藤和季^{2,3}, 上手麻希⁴, 間世田英明⁴, 石原 亨⁵
(高知大,¹山形大,²理研,³千葉大院,⁴徳島大,⁵鳥取大)

10:12 C2-7 Synthesis of isothiazolol antagonists that act on insect GABA receptors
○Genyan Liu, Kenjiro Furuta, Izumi Ikeda, Yoshihisa Ozoe

(Dept. Biol. Sci. Biotechnol., Shimane Univ.)

- 10:24 C2-8 トビイロウンカ probing 行動刺激物質の単離、構造解析
○占 志恵, 金 哲史
(高知大学・農)
- 10:36 C2-9 セジロウンカに含まれる殺卵誘導物質の探求
○Yang JeongOh, 中山直哉、金 哲史
(高知大・農)
- 10:48 C2-10 殺卵物質 Benzyl benzoate はセジロウンカを特異的に殺す？
○中山直哉、YangJeong-Oh、金哲史
(高知大・農)
- 11:00 C2-11 カロライナジャスミン水可溶部に含まれる抗線虫活性成分
○長尾俊克、小林教代、泉実、中島修平
(岡山大院・環境生命)
- 11:12 C2-12 植物生長抑制活性を有する D-アロース誘導体の構造活性相関
○橋谷矩史、柳田亮、川浪康弘
(香川大・農)
- 11:24 C2-13 D-アロース脂肪酸エステル of 血管新生阻害活性
○原内勇樹¹, 川浪康弘¹, 吉村麻衣¹, 塚本郁子²
(¹香川大農, ²香川大医)
- 11:36 C2-14 D-グロース脂肪酸エステル of 合成と植物生長抑制活性
○内藤まどか、柳田亮、川浪康弘
(香川大・農)

D 会場 (D24 教室)

- 9:00 D2-1 *Aptenia cordifolia* から単離されたネオリグナン、Apteniol 類の合成
○西川耀, 野下俊朗¹, 大内秀一², 木立由美², 齊藤安貴子³
(県立広島大院・生命, ¹県立広島大・生命環境, ²青森大・薬, ³大阪電
通大・工)
- 9:12 D2-2 カヤ(*Torreya nucifera*)に含まれる機能性成分の探求
○白木香奈¹, 永易千明¹, 前川穎司², 金 哲史¹
(¹高知大農・²前川種苗(株))
- 9:24 D2-3 ゴマ種子に含まれる anthrasesamone F に関する研究 (1)
○西本潔司、古本敏夫
(香川大農)
- 9:36 D2-4 トマト果実におけるアスコルビン酸蓄積機構の解明
○志村智美¹, Badejo A. Adebajo¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石
川孝博¹
(¹島根大・生資科・生命工, ²近畿大・農・バイオ)
- 9:48 D2-5 ミオグロビンに対するポリフェノールのプロオキシダント作用とその制御
○稲井美由紀¹, 藤本彩¹, 増田晃子², 山内聡³, 増田俊哉¹
(¹徳島大院・総合, ²四国大・生活, ³愛媛大・農)
- 10:00 D2-6 カヤ果皮抽出物が示すスーパーオキシドアニオン消去活性

○柏木丈弘¹, 相原房代¹, 西岡寛美¹, 金哲史¹, 島村智子¹, 受田浩之¹,
前川 穎司²
(¹高知大・農, ²(株)高知前川種苗)

10:12 D2-7 ビタミン B12 アルキルアミン誘導体の生物活性について
○美藤友博¹, 安井麻里子², 大塚賢二¹, 藪田行哲¹, 一柳剛¹, 河野強¹,
山地亮一², 乾博², 中野長久³, 渡辺文雄¹
(¹鳥取大・農, ²阪府大・生命環境科学, ³大阪女子短期大学)

10:24 D2-8 ビタミン B12 が線虫 (*C. elegans*) の体内葉酸レベルに及ぼす影響
○今井恵美¹, 前川由紀奈¹, 美藤友博¹, 松永洋平¹, 河野強¹,
藪田行哲¹, 渡辺文雄¹
(鳥取大・農)

10:36 D2-9 ハマチ内臓残渣由来魚油のラット耐糖能および脂質代謝に及ぼす影響
水重 貴文^{1,2}, ○岸田 太郎¹, 菅原 卓也¹, 海老原 清¹
(¹愛媛大農, ²京都大院農)

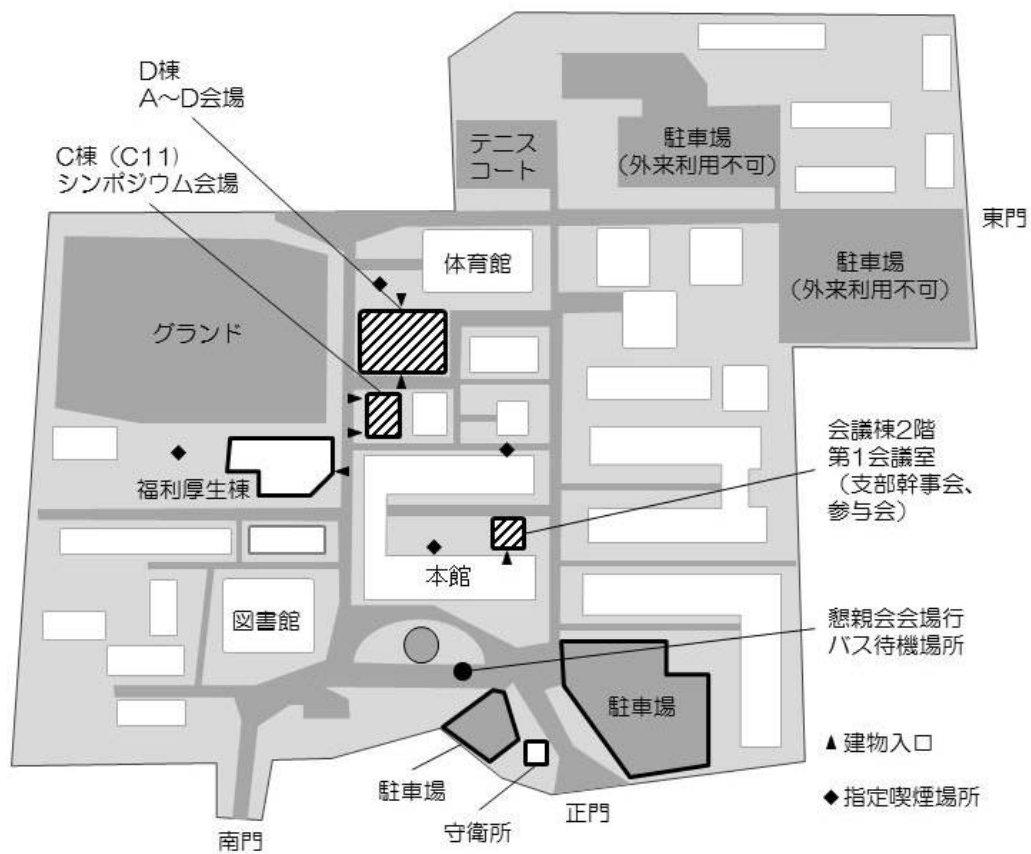
10:48 D2-10 トレハロースのメタボリックシンドローム予防への可能性
溝手晶子、山田未佳、松本洋介、新井千加子、宮田学、新井成之、三鼓仁
志、太田恒孝、福田恵温
(株)林原 研究開発本部)

11:00 D2-11 糖転移ヘスペリジンによるビタミン C 維持作用の *in vitro* 解析
○遠藤伸, 松本洋介, 三鼓仁志, 太田恒孝, 久保田倫夫, 福田恵温
(株)林原 研究開発本部)

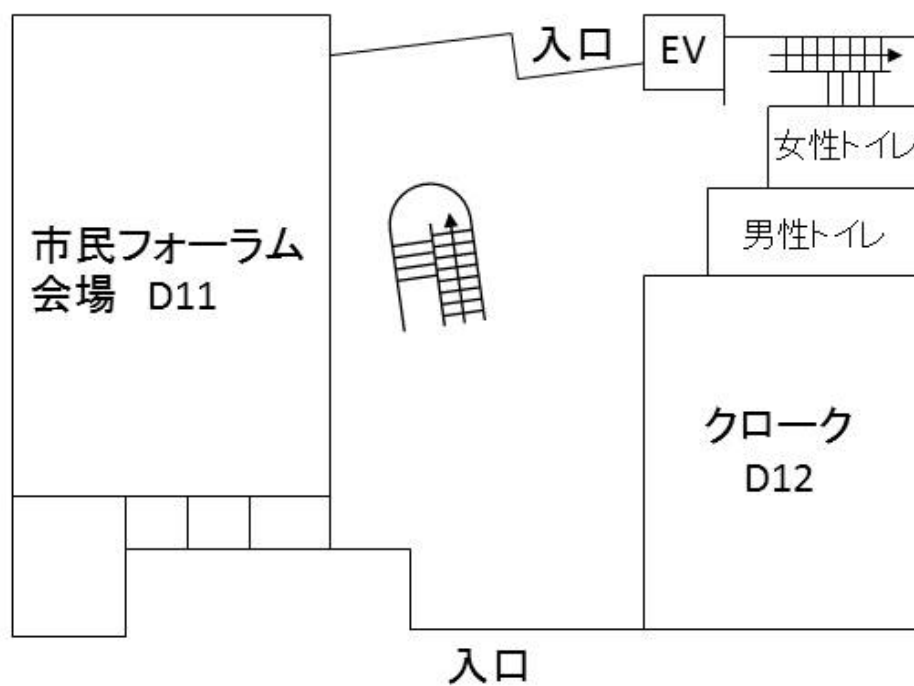
11:12 D2-12 *p*-ニトロフェニル基を有する糖質誘導体の合成
○篠塚早紀, 中島修平, 泉 実
(岡山大院・環境生命)

11:24 D2-13 果実・野菜の乾燥における前処理効果
○La Choviya Hawa, Suriah Binti Ali, 藤井幸江、吉本則子、
山本修一
(山口大学・工)

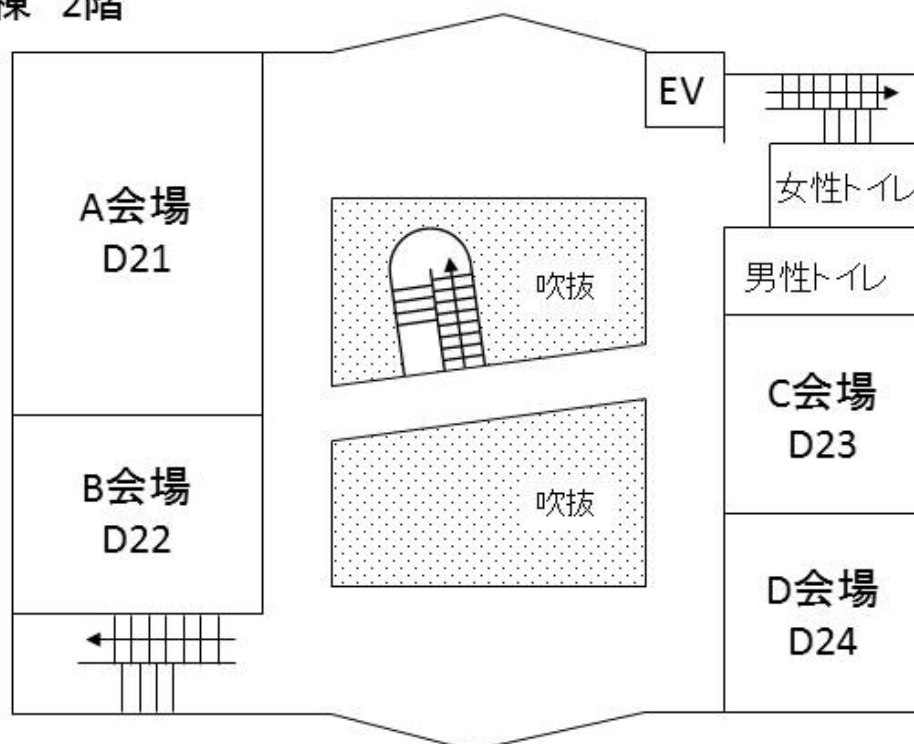
会場案内



D棟1階



D棟 2階



シンポジウム

中四国の農芸化学

これまでの 10 年 これからの 10 年

S1 島根県の農芸化学分野の活動
○川向 誠 (島根大学・生資・生命工)

島根県内の農芸化学会の会員は、島根大学生物資源科学部、島根県産業技術センター、県内企業（アルファ食品（株））に所属している。島根大学の農芸化学分野の研究は生命工学科に所属する分子細胞生物学、応用微生物学、化学生物学、生物化学研究グループと総合科学研究支援センターの遺伝子機能解析分野に所属する教員によって推進されている。代表的なテーマとしては、1) 細胞内シグナル伝達と生理活性脂質（エイコサノイド）に関する分子細胞生物学的研究、2) 分裂酵母の細胞分化や減数分裂を制御する cAMP 経路、Ras 経路、RNA 結合タンパク質の分子メカニズム、3) 神経伝達物質受容体（G タンパク質共役型 GABA レセプター）の分子薬理学、4) アミノ酸代謝酵素（グルタミン合成酵素アデニリル化調節系、アスパラギン酸脱水素酵素）の構造と機能、5) アスコルビン酸の生合成と光合成生物の抗酸化機構、6) 植物遺伝子導入用 Gateway ベクター系の開発、7) 脂質過酸化代謝酵素リポキシゲナーゼの構造と機能、8) ニコチン性アセチルコリンレセプターに作用する生理活性物質の分子設計と合成、9) コエンザイム Q の生合成と代謝制御機構、が挙げられる。島根県産業技術センターでは機能性食品の創出、アルファ食品（株）ではアルファ化米の商品開発に取り組んでいる。これら島根県内の活動の一端を本シンポジウムでは紹介させていただき、これからの 10 年の活動を考えて見たい。

S2 鳥取のバイオ資源を活用するーバイオマスリファイナリー研究展開ー
○築瀬英司 (鳥取大院工・生応工)

鳥取県のバイオ資源は、日本海の豊かな水産資源と中国山地とその裾野に広がる地域からの農林産資源が対象となる。鳥取大学、米子高専、鳥取県産業技術センターを主体とする農芸化学に携わる研究者は、これまでに鳥取に特徴的なバイオ資源活用の研究を展開してきた。その成果は、文部科学省都市エリア産学官連携促進事業～米子・境港エリア～「染色体工学技術等による生活習慣病予防食品評価システムの構築と食品等の開発」、鳥取大学グローバル COE「乾燥地科学拠点の世界展開」、さらに鳥取大学グローバル COE「持続性社会構築に向けた菌類きのこ資源活用」として地域のみならず、世界にむけて発信している。特に、菌類きのこ資源活用研究では農芸化学分野の研究者が研究推進リーダーとなり、生態系保全技術や環境負荷軽減技術の開発とともに、菌類きのこ由来の多様な生理活性物質の同定とともにその安定した生産技術の開発に取り組んでいる。また、中国山地に眠る大量の林産資源も重要なバイオ資源となる。講演者らは、木質系バイオマスに注目したバイオマスリファイナリー技術の開発とその活用から地域産業の活性化を目指しており、その一端を紹介したい。

S3 岡山の農芸化学 これまでの10年これからの10年
○神崎浩（岡山大院・環境生命科学）

岡山の農芸化学会一般会員は、10大学、2県立研究機関、18企業と多くの機関に所属する人たちの集団となっている。そのアクティビティを2010年から2012年の本大会一般講演で見えてみると、岡山大学、岡山理科大学、岡山県生物科学研究所、岡山県立大学、(株)林原、岡山県工業技術センターの順になっており、大学、公立研究機関、企業と多くの機関からの発表がなされている。大学も国立、県立、私立という異なる経営母体からの構成となっており、岡山大学も農学部だけでなく、工学部、薬学部、環境理工学部、植物研等幅広い所属からの発表が見られる。また県立研究機関からも発表がされているのは注目され、(株)林原の研究型企業としての発表も特筆すべき存在である。このような多様な機関からの発表の存在は、農芸化学の学問領域の幅広さを良く表していると解析できる。

農芸化学は応用を基本に考える学問であり、それ故、産官学のつながりが特徴である。中四国9県には大学、公立研究機関が少なくとも1つずつは存在し、地方色豊かな企業も存在する。大企業との共同研究も魅力的で重要であるが、中四国各県から農芸化学色豊かな産官学研究がこれから生まれてくることを期待しており、本発表では私が関与した産官学研究に加えて、産官学コーディネートについても紹介する。

S4 農芸化学中四国支部香川県地区のこれまでの10年の特徴とこれから
○合谷祥一（香川大農・応生科）

香川県地区の農芸化学のこの10年の歩みを見るため、学術論文検索サイトの Scopus を用いて、勤務地が香川県下の農芸化学学会員の報文を、2001年から2011年において検索した。なお、連名であっても各執筆者に対して1報とした。研究者の研究分野は、微生物・生物化学、化学、食品及び希少糖とした。希少糖の研究は前述の3分野に当然分けることもできるが、香川県の特徴と考えられるのであえて別項目とした。

Scopus で検索できる報文数の全体では、2001年は20程度であったが、2011年には70以上に成り、この10年で著しく増大した。研究分野別では微生物・生物化学分野で6から30程度まで増大した。希少糖分野は、2003年以降、特に2004年から大きく増大し、2008年に31とこの10年で最大を示し、2009年以降は15前後で定常的である。香川県では2002年から5年間知的クラスター事業「希少糖を主体とする糖質バイオ産業クラスター」が採択されその影響が報文数に反映したと考えられる。

演者も大福餅や羽二重餅の原料である求肥餅の物性に対するプシコースの影響について調べ、プシコースを添加した求肥は砂糖やトレハロースを添加したものと比べて、糊化しやすく老化しにくいという、興味ある結果を得ており、これについても報告する。

徳島大学での農芸化学的研究と大腸菌 O157 に関する研究の今後

S5 ○横井川久己男（徳島大学院・SAS 研究部）

【概要】 徳島大学に農学部はないが、農芸化学的な研究は各学部の研究室単位で行われてきた。また、部局を超えた研究プロジェクトの構築により、農学的な研究の推進も行われている。このような状況のもと、私の腸管出血性大腸菌 O157 に関する研究について、これまでと今後について概説する。

大腸菌 O157 は、胃の酸性バリアーを容易に通過し、腸内の各種有機酸にも高い耐性を有するため、僅かな細胞数でも経口感染する。また、腸内でベロ毒素を産生し、出血性大腸炎や溶血性尿毒症症候群を引き起こして、感染者が死に至ることもある危険な病原体である。感染者に対する抗生物質の使用は、ベロ毒素遺伝子の活性化や細胞の死滅に伴う細胞内ベロ毒素の放出により、病態が悪化する場合も報告されている。そこで、食品や調理方法による大腸菌 O157 の穏やかな抑制を目的とした研究を進めてきた。数種の香辛料から単離同定した精油成分が、細胞内と細胞外の二種類のベロ毒素（VT1 と VT2）の量を共に低下させること、並びに食事の直前に汎用される電子レンジのマイクロ波は、本菌の酸耐性やベロ毒素生産性を抑制すること等を見いだしてきた。これまで、二種類のベロ毒素を細胞内と細胞外共に低下させる物質は報告がなく、本研究成果が最初の例である。今後は純培養系だけでなく、腸内細菌叢の中での病原体として混合培養系等も考えたい。

新しい中四国支部の未来 -若人が農芸化学に夢をもてる場に！-

S6 ○江坂宗春（広島大学 院 生物圏科学）

日本農芸化学会の中四国支部は多難の末に設立された。当初は、支部事務局をどこに置かなくてはならず、また、他支部からの理解もなかなか得られなかった。しかし、支部事務局を2年ごとに中四国9県でローテーションすることでまとめ、2001年度中四国支部が発足した。

この10年間、中四国支部は、毎年、支部大会1回、例会・講演会2回、市民フォーラム、若手シンポ・研究者交流会、サイエンスカフェ、高校生模擬授業等を開催し、活発に活動した。2004年には広島での中四国支部初の全国大会を成功させた。種々の表彰制度も作った。

さて、これからの中四国支部、どう発展させていくのか。農芸化学は、幅が広い。生命、食、環境のサイエンス。基礎から応用、学際・融合領域もある。産業との関わりも強い。

たこ壺的な教育に限界がでてきた今、学生が他大学の学生と触れ合い、ディスカッションすることは重要で、若い人たち、特に大学院生・学部生が活躍できるような体制を構築することが必要であろう。例会・講演会に大学院生・学部生が集う場を設けたり、一般講演の座長は、大学院生がする。若手研究者交流会の中に大学院生の交流会も入れこむ等、工夫が必要である。

食品産業や医薬品産業等の地盤産業の活性化につなげることも重要である。企業が宣伝できる場を設け、そこは、学生の就職活動の場にもする。さらに高校生も参加できる場を提供する。新しい支部であることからこそ、形にこだわらない革新的な支部として発展すべきであろう。

■高知県の活動は、高知大学農学部を中心として、高知県立大学（旧・高知女子大学）、高知工科大学などの教育組織、高知県工業技術センターなどの公的試験機関、発酵醸造や食品に関連する様々な企業の構成員の活動と支援によって支えられています。■大学の組織改革で研究環境が変化した20年前、学会員の多くが所属する農芸化学科は、他学科の生物工学系を取り込んで生物資源科学科になりました。そして10年前に中四国支部が設立され、国立大の独立法人化を経て、5年前の教育組織改革では、学科の垣根をなくした一学科制（農学科）の中で、食料科学コースや生命化学コースを構成する集団として、絆の強い連携と視野を広げた活動を維持しました。■近年、大学の研究組織が改革されて、農学部の教員は、自然科学系農学部と、総合科学系生命環境医学部門に分かれました。地域社会との連携をさらに推進して、大学の研究活動が一層地域貢献に寄与する研究成果を生み出すためです。それは、環境保全型の農業と食品生産を目指して、「環食同源」と言う造語を商標登録にした「環食同源プロジェクト」で始まりました。そして今は、生物資源の生育環境の維持・改善から、生物資源の高度利用や高付加価値化を目指した、「植物健康基礎医学研究プロジェクト」が進んでいます。これは、高知大学の特化研究プロジェクトとして、農芸化学会員の多くが関わり、今後新しい研究組織の構築や、新しい教育プログラムの開発を目指しています。■大学の研究予算の削減が進み、外部資金導入が推奨され、地域の教育や産業に対する社会貢献の評価が高まって、私達の業務が大きく変化しました。学会活動と共同研究が主たる学外活動であった時代から、小中高生の学習意欲と学力の向上を目指した連携教育（SSHやPPP、出前授業や進路ガイダンス）、地域社会に大学の研究成果を公表して、研究環境を提供する公開活動（一日公開、オープンキャンパス、ホームカミングデイ、ビジネスフェア）、社会ニーズに応える実力と適応性を持つ人材を育成するインターンシップや企業と協働した商品開発、地域産業に貢献できる研究成果を生むための社会人向け講義、地域素材の生産・加工・販売を実践して、地域産業に貢献するフード・ビジネス・クリエイターの育成など、大学の活動が激変激増した時代の実態を紹介します。

山口大学の「農芸化学」は1967年に始まり、未だ45年しか経っていません。その意味で、他大学に比べて、伝統は少ないと言えます。しかし、開設当初から「ジュースの濁りの浄化」、「緑茶の香り」、「酢酸菌の酸化発酵」などの研究を中心に地道な研究が続けられてきました。内部では地方大学特有の「学閥」的環境の中で切磋琢磨しながら、「香りの化学から化学生態学的研究」、「機能性食品から腸管免疫系研究」「タンパク質の脂質修飾からその医学的利用研究」などいくつかのユニークな研究が大きく発展してきました。

ここでは、私がかかわってきた酢酸菌研究から始まった、研究室の枠、学部の枠、大学の枠、国の枠を超えた共同研究の広がり、その中で生まれてきた「耐熱性発酵微生物と高温発酵系の開発」についてのプロジェクト研究の展開について紹介したい。

私達はタイとの共同研究の中でいくつかの有用な耐熱性を有する発酵微生物に出会い、それらを利用する高温発酵系の開発を進めてきました。その間、学内での共同研究を通じて、急速に発展してきたゲノム科学の利用が可能になり、耐熱性発酵微生物の育種とその耐熱性原理の解明が大きく進展しました。

中四国の各農芸化学は、多かれ少なかれ中規模大学に存在し、統廃合の非常に厳しい環境にさらされています。しかし、これは私達にとって、逆に、共同研究の推進や農芸化学的境界領域の開拓などへの契機とみれば、展望が見えてくるかもしれません。

受賞講演

清酒成分及び清酒醸造副産物の生理機能の解明

○伊豆 英恵（酒総研）

演者らはこれまでに清酒成分及び清酒醸造副産物の様々な生理機能の解明を目的とし、以下の研究を行ってきたので、その成果を本講演で報告する。

1) 清酒成分及び清酒醸造副産物による肝障害抑制効果の解明

清酒濃縮物 (CS) 及びアミノ酸、有機酸、糖を主成分とする清酒画分濃縮物のマウスへの投与は D-ガラクトサミン (GalN) 誘発肝障害抑制に有効であり、清酒に肝障害抑制成分が含まれることを示した。この中で清酒特異的な糖成分である α -エチルグルコシド (α -EG) に着目し、その GalN 誘発肝障害抑制効果を示した。 α -EG は構造類似体である α -メチルグルコシド、 β -エチルグルコシドよりも効果が高く、GalN が誘導する IL-6 産生抑制を介して肝障害を抑制すると示唆された。また、マウスへの CS と α -EG の投与が慢性アルコール性肝障害を抑制した。この他、清酒酵母の急性アルコール性肝障害抑制効果をマウスで調べた。エタノール投与による肝臓 S-アデノシルメチオニン (SAM) 減少及び血漿ホモシステイン増加が清酒酵母投与で抑制され、急性アルコール性肝障害を抑制した。SAM を蓄積した清酒酵母 (SAM 酵母) を作製して摂取させたところ、清酒酵母よりも低用量で SAM 酵母は急性アルコール性肝障害を抑制した。また、酒粕は清酒酵母を含むため、酒粕がマウスで GalN 誘発肝障害を抑制することも示した。

2) 清酒の生理的嗜好性に関わる清酒成分の解明

マウス及びラット二瓶選択試験で清酒銘柄によって嗜好差が観察された。嗜好差と生理的変化の関連を検討するため、嗜好差のある清酒を投与後、血糖値、ケトン体、血中遊離脂肪酸をマウスで測定した。その結果、ケトン体や血中遊離脂肪酸レベルに差が観察され、摂取後に生体恒常性が保たれやすい清酒において生理的嗜好性が高いことを明らかにした。また、清酒成分と生理的嗜好の関係を順位相関解析及び CE-TOFMS による一斉成分分析で調べ、嗜好性の上昇及び低下に関与する成分を推定し、影響を調べた。

3) 清酒成分の酔いへの影響の解明

エタノールは GABA_A 受容体などの神経受容体活性へ作用し、酔いに影響を及ぼすと考えられている。アフリカツメガエル卵母細胞に発現した GABA_A 受容体において、清酒のエタノール以外の成分の GABA_A 受容体活性に与える影響を検討した。清酒をイオン交換クロマトグラフィーで分画し、得られた有機酸画分存在下で GABA_A 受容体活性測定を行った。その結果、有機酸画分には GABA が含まれないにもかかわらず、GABA 活性が存在し、GABA_A 受容体を活性化する成分の存在が示された。さらに画分を CE-TOFMS による一斉成分分析で調べ、画分に含まれる GABA 様物質を明らかにした。

一般講演

1 日目

9 月 21 日(金)

- 清酒老香の主成分 Dimethyl trisulfide の生成に影響を与える製造条件の探索
A1-1 ○佐々木慧^{1,2}, 藤井力^{1,2}, 西堀奈穂子¹, 金井宗良¹, 山田修¹, 後藤奈美^{1,2} (¹酒総研, ²広大院生物圏)

【目的】清酒では貯蔵の過程で Dimethyl trisulfide (DMTS) を主成分とする劣化臭(老香)が生じるが、清酒における DMTS の生成機構には未だ不明な点が多い。そこで、清酒製造場に協力を依頼し、上槽直後の清酒、及び製造条件等の提供を受け DMTS の生成に関連のある製造条件の探索を行った。

【方法・結果】提供された清酒について 70℃1 週間の貯蔵後に生じる DMTS 濃度 (DMTS 生成ポテンシャル) を GC-MS にて測定した。提供された製造条件のうち、今回は定量データ以外の項目について統計解析を行い、DMTS 生成ポテンシャルに影響を与える製造条件の抽出を試みた。その結果、アルコール添加の有無など、熟成や劣化への影響が経験的に言われている項目が抽出されたほか、上槽方法など、これまでに知られていない製造条件も抽出することができた。

- 下面発酵ビール酵母における倍数体間の接合
A1-2 ○横山 亮¹、星田尚司¹、尾形智夫²、赤田倫治¹
(¹山口大・医系・応用分子生命、²アサヒビール醸造研)

【目的】下面発酵ビール酵母 *Saccharomyces pastorianus* とは、ラガービールを生産する際に用いられている酵母で *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) 由来の染色体と、*Saccharomyces bayanus* (Sb) 由来の染色体を持つ異型 4 倍体である。しかし、このビール酵母の接合は困難であるため、ビール酵母の育種ができない原因となっている。そこで、ビール酵母による接合可能性を調べ、品種改良を行うことを目指している。

【方法・結果】ビール酵母孢子分離体と *S. cerevisiae* の研究室酵母の a 型及び α 型の 1 倍体のテスター株を用いて接合可能株を単離した。その結果 5 株の α 型株を単離することができたが、a 型株は単離することができなかった。そこで、MAT 遺伝子周辺を PCR で調べた結果、Sc または Sb 由来のどちらかの 3 番染色体が欠失していた。また、ビール酵母接合体の染色体がどのような状態になっているかを調査するためにフローサイトメトリーを行なったところ染色体量が減少していた。染色体の有無を調査するためにビール酵母特異的なプライマーを製作し PCR を行った結果、染色体が 1 本または 2 本、抜け落ちている株があるということが確認された。この結果から、交配したビール酵母は染色体が不安定で、染色体が欠失してしまう可能性があることがわかった。

混合培養麴における酵素活性の変化と醸造特性.

A1-3 ○佐藤由可衣¹, 許斐隼¹, 二宮純子¹, 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】 麴菌が生産するデンプンの糖化酵素（グルコアミラーゼ）と液化酵素（ α -アミラーゼ）の活性比は清酒モロミの発酵速度に大きな影響を及ぼすことがわかっている。清酒の酒質向上のためにはグルコアミラーゼ活性が高い麴菌の育種が極めて重要とされているが、一般的に清酒製造に麴菌として用いられる *Aspergillus* 属のカビはグルコアミラーゼ活性に比べて α -アミラーゼ活性が高いことが問題点として挙げられる。そこで、本研究ではグルコアミラーゼ生産性の高い *Rhizopus* 属のカビを混合して麴を造ることにより、麴のグルコアミラーゼ活性をより高め、新たな醸造特性を引き出すことを目的とする。

【方法・結果】 HI-G (*Aspergillus oryzae*) と *Rhizopus oryzae* IFO4716 の孢子数を制御して、原料米（精米率 70 % の山田錦 100 g）に同時接種し、小スケールで麴を作製した。その結果、それぞれの菌の純粋培養時よりも、混合培養時においてグルコアミラーゼ活性が大幅に増強し、45 時間の培養で力価として 233 U/g もの活性が得られた。これより、混合培養によりグルコアミラーゼ活性が増強される可能性が示唆された。今後は、培養スケールを大きくした際にも同等の結果が得られるのか等、更なる培養条件の確立を行うことが課題となる。

コエンザイム Q と Cysteine が分裂酵母の酸化ストレス感受性に及ぼす影響

A1-4 ○竹内佳奈、古田奈々、中川 強¹、戒能智宏、川向 誠
(島根大・生物資源・生命工、島根大・総科技センター¹)

【目的】 分裂酵母のコエンザイム Q (CoQ) 非生産株は、酸化ストレス感受性、最少培地での生育遅延といった表現型を示す。CoQ 非生産株に含硫アミノ酸で抗酸化能を持つ Cysteine を添加すると、表現型の抑制が見られることから、CoQ 非生産株における表現型の抑制に Cysteine が大きく貢献していることが推定されている。そこで本研究では、酸化ストレス時の Cysteine の抗酸化物質としての効果を解析した。

【方法・結果】 過酸化水素(H_2O_2)とパラコート(PQ)を用いて酸化ストレス感受性試験を行ったところ、分裂酵母 CoQ 非生産株は感受性を示し、同じ濃度の場合では PQ に対してより強い感受性を示した。さらに、Cysteine synthase をコードする *cys1a* の破壊株は、CoQ 非生産株よりも強い酸化ストレス感受性を示した。この感受性は培地への Cysteine の添加によって抑圧され、Cysteine の代謝物である Glutathione の添加ではより顕著な抑圧がみられた。次に、CoQ 非生産株と $\Delta cys1a$ 株を用いて酸化ストレスを付与したときの細胞内の ROS 量の測定を行った。 $\Delta cys1a$ 株では、酸化ストレス付与後の時間、濃度依存的に細胞内の ROS が増加する傾向が見られた。また、Cysteine を培地内に添加した場合には ROS 発生が抑制された。

耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* の交配育種

- A1-5 ○中川貴皓¹, 村重卓², 志手勇樹², 村上允唯², 鎗水 透², 星田尚司², 赤田倫治² (¹山口大・工・応用化学, ²山口大院・医・応用分子生命)

【目的】耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* は高温条件下で増殖、エタノール発酵が可能であり、耐熱性酵母を用いた工業的エタノール生産では冷却コストの削減が期待できる。そこで、交配育種によりさらに有用な株の取得が可能であると考え、*K. marxianus* の種々の株間での交配能力を調べた。

【方法・結果】*K. marxianus* の野生株 20 種の性質を比較すると耐熱性、糖資化、糖耐性、凝集性などが株によって異なっていた。したがって、これらの性質を組み合わせることでより有用な株が得られることが期待できる。まずこれらの *K. marxianus* 株を交配させるために UV 変異により栄養要求性株の取得を行った。その結果、13 株で *ura3⁻* と 6 株で *ura5⁻* の変異株を取得できた。この要求性株を交配させることで 35 株の組み合わせで Ura⁺ である接合株を取得できた。中でも NCYC587 と NBRC1777 は比較的、種々の株と交配を行いやすいと分かった。得られた接合株の 45℃、47.5℃、48℃の増殖を調べたところ、48℃において NCYC587 と NBRC0273 の接合体と NCYC587 と NBRC0277 の接合体は両野生株より増殖したのに対し、47.5℃において NCYC2791 と NBRC0277 の接合体は両野生株よりも増殖の低下がみられた。

Improvement of *Kluyveromyces marxianus* strains for ethanol fermentation under stress condition.

- A1-6 ○Sukanya Nitiyon¹, Noppon Lertwattanasakul^{2,3}, Akihiro Oguchi², Katsushi Hirata¹, Tomoyuki Kosaka², Savitree Limtong³ Mamoru Yamada^{1,2}
(¹Grad. Sch. Med. Yamaguchi Univ., ²Fac. Agr. Yamaguchi Univ., ³Fac. Sci. Kasetsart Univ.)

[Introduction] Thermotolerant *Kluyveromyces marxianus* is an alternative yeast species for ethanol production because of its ability to utilize several carbon sources as a fermentation substrate including pentoses at high temperature. In present, waste water and agricultural residual, which contain several toxic compounds such as pesticide and heavy metal, are expected as an alternative substrate for ethanol production.

[Methods and results] To improve yeast strains for ethanol production under stress conditions and to study the role of genes related to stress resistance, two *K. marxianus* strains were treated under different conditions and one mutant was obtained from the each parent strain. These two mutants exhibited different morphology from the corresponding parent strain. Moreover, they acquired more tolerance under various stress conditions than that of the parent strain. The mutation points in the genomes of the two mutants were predicted by a next generation sequencing and were confirmed by direct nucleotide sequencing.

- A1-7 A simple *KanMX*-insertion approach for searching genes related to glucose repression in thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus*
O Suprayogi¹, Nadchanok Rodrussamee¹, Noppon Lertwattanasakul^{2,3},
Masayuki Murata¹, Savitree Limtong³, Tomoyuki Kosaka², Mamoru
Yamada^{1,2} (¹Grad. Sch. Med. Yamaguchi Univ., ²Fac. Agr. Yamaguchi
Univ., ³Fac. of Sci. Kasetsart Univ.)

[Introduction] The glucose repression as an intrinsic system inhibits the metabolism of alternative carbon sources. Glucose-repression-free mutants are useful for mixed sugars and elucidation of the molecular mechanism of the catabolite repression.

[Methods and results] To obtain glucose-repression-free mutants, we introduced PCR-amplified DNA fragments of a *KanMX* cassette into *Kluyveromyces marxianus* cells using the Lithium/Acetate method and incubated on YP plates containing xylose (YPXyl), galactose (YPGal) or glycerol (YPGly) with G418. Next the colonies were re-streaked on YPXyl, YPGal or YPGly with 2-deoxyglucose (2-DOG). As a result, 19 glucose-repression-free mutants were obtained and the insertion sites of the cassette were determined by TAIL-PCR followed by nucleotide sequencing. All of mutants were found to have the *KanMX* insertion at different positions on their chromosomes. Some mutants exhibited different growth on YPD agar plates and broth.

- B1-1 シロイヌナズナにおいて COPII 被覆構成因子の欠損が及ぼす花粉の異常と
遺伝子発現パターンの変化
○田中優史, 三宅君果, 中川強 (島根大・総科セ・遺伝子)

【目的】

真核細胞において小胞体膜上で合成されたタンパク質は分泌経路を経て細胞外などへ運搬される。分泌経路の初発である小胞体からゴルジ体への輸送は被覆タンパク質をもつ COPII 小胞が担っている。その被覆は低分子量 GTP 結合タンパク質である Sar1 と 2 種類のタンパク質複合体(Sec23/Sec24 複合体, Sec13/Sec31 複合体)から構成される。これらのうち、Sec13/Sec31 複合体は積荷の濃縮と膜の湾曲を促進している。COPII 被覆の研究は出芽酵母や動物細胞を用いて盛んに行われているが、植物では器官・個体レベルでの機能は知られていない。そこで、本研究では COPII 被覆タンパク質の遺伝子破壊株を単離し、それらの遺伝子欠損が植物の高次生命活動にどのように影響するのかを調べた。

【方法・結果】

本研究ではシロイヌナズナの Sec31 ホモログ(ATSEC31A)の遺伝子破壊株を単離し、花粉の表層構造の異常による雄性不稔を示すことを見出した。また、マイクロアレイ解析により破壊株における転写産物の発現量の変化を解析した。その結果、ER ストレスなどで発現が誘導される BIP3 の発現上昇が見られた。

シロイヌナズナ細胞質型 APX 変異体の強光ストレス応答解析

B1-2 ○大森瑤子¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(¹島根大・生資科・生命工, ²近畿大・農・バイオ)

光合成生物固有の過酸化水素代謝酵素アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) は、細胞内レドックス調節の中心的役割を果たしており、アイソザイムの中でも細胞質型 APX が特に重要である。本研究では、強光ストレス応答時の細胞内レドックス状態と細胞応答におよぼす細胞質型 APX の影響を明らかにすることを目的に、シロイヌナズナ細胞質型 APX (APX1) 過剰発現体 (cAPX-OE) および破壊株 (cAPX-KO) を用いて解析した。cAPX-OE ラインおよび cAPX-KO の定常状態における APX 活性は、野生株に比較してそれぞれ約 300-600%および約 30%であった。48 時間暗適させた各植物体に、 $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の強光ストレス処理を行い、葉中過酸化水素レベルを測定したところ、強光照射 1 時間までに野生株と比較して、cAPX-KO では顕著な蓄積が観察されたのに対し、cAPX-OE では蓄積の抑制が認められた。強光ストレス後の cAPX-OE では *HsfA2* や *HSP18.1* などレドックス応答性遺伝子の転写レベルが有意に発現抑制されていた。また二次元電気泳動法により、強光ストレス応答時の cAPX-OE と cAPX-KO の発現タンパク質について調べたところ、いくつかのタンパク質がリン酸化修飾の影響を受けることが示唆された。

シロイヌナズナにおける熱ショック転写因子 (Hsf) シグナリングネットワークの解析

B1-3 ○薮田行哲¹, 野坂亮太², 林秀樹², 池田美穂³, 高木優³, 重岡成²
(¹鳥取大農・生資環, ²近畿大院農・バイオ, ³産総研・生物プロセス)

【目的】シロイヌナズナには 21 もの熱ショック転写因子 (Hsf) ホモログが存在する。その中でもクラス A1 Hsf (*HsfA1a*, *HsfA1b*, *HsfA1d*, *HsfA1e*) がその他の Hsf の発現を制御することから、クラス A1 Hsf が Hsf シグナリングのマスターレギュレーターであり、各 Hsf は単独でストレス応答に関わっているのではなく、Hsf ファミリーが協調して種々のストレス応答にあたっていることが明らかとなった。しかしながらクラス A1 Hsf の標的遺伝子は遺伝子の機能重複の問題により十分には解析されていない。そこで、機能重複する複数の転写因子に優先して標的遺伝子の発現を抑制するキメラリプレッサー過剰発現株 (CRES-T 法) を用いて各クラス A1 Hsf の標的となっている Hsf ホモログを検索した。

【方法・結果】クラス A1 Hsf それぞれの CRES-T ライン (DN-*HsfA1a*, DN-*HsfA1b*, DN-*HsfA1d*, DN-*HsfA1e*) を作製し、熱ストレス (37°C, 30 min) に対する各 Hsf ホモログの応答を転写レベルで解析した。その結果、*HsfA2* の熱応答は DN-*HsfA1a* および DN-*HsfA1b* と比較し、DN-*HsfA1d* および DN-*HsfA1e* で顕著に抑制されていた。本公演ではその他の Hsf ホモログの応答についても報告する。

- 葉緑体由来の酸化的シグナリングに関与する新奇転写因子の機能解析
B1-4 ○丸田隆典¹, 大和開¹, 問田英里², 松田峻², 野志昌弘², 澤嘉弘¹, 吉村和也³, 高木優⁴, 石川孝博¹, 重岡成², 所属 (¹島根大・生資科・生命工, ²近畿大・農・バイオ, ³中部大応生・食栄, ⁴産総研・生物プロセス)

【目的】最近我々は、葉緑体由来の H₂O₂ がシグナリング因子としてストレス応答に重要であることを報告した (*J. Biol. Chem.*, 287: 11717-11729)。本研究では、葉緑体由来の酸化的シグナリングの分子機構の解明を目的に、葉緑体 H₂O₂ に応答性を持つ遺伝子群の破壊株ラインから酸化的ストレス感受性変異株を同定し、その原因遺伝子の機能解析を試みた。

【方法・結果】上述の変異株ラインより、パラコート高感受性または非感受性変異株（それぞれ *pss* および *psi*）を複数選抜した。それらの中で、*pss7* はサリチル酸やエリシター処理にも高感受性を示すこと、*PSS7* の発現は酸化的ストレス、サリチル酸およびエリシター処理によって抑制されることが分かった。*PSS7* は転写抑制因子をコードしていた。野生株および *pss7* を用いてマイクロアレイ解析を行ったところ、95 遺伝子の発現が変異株で特異的に誘導されていた。それらには、ストレスホルモンとして知られるアブシジン酸の生合成酵素が含まれていたことから、*PSS7* はアブシジン酸生合成の負の調節因子として機能すること、そして葉緑体 H₂O₂ は *PSS7* の発現抑制によりアブシジン酸生合成を促進する可能性が示唆された。

- Euglena* におけるアスコルビン酸生合成の光調節機構
B1-5 ○山口由貴¹, 松原まどか¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹ (¹島根大・生物資源・生命工, ²近畿大・農・バイオ)

Euglena は植物同様 mM オーダーの高濃度でアスコルビン酸 (AsA) を含んでいるが、その生合成経路は植物とは異なり D-ガラクトツロン酸を代謝中間体として L-ガラクトノ-1,4-ラク톤を最終前駆体とするガラクトツロン酸経路により生合成される。本研究では、*Euglena* における AsA 生合成調節機構を明らかにすることを目的に、光の AsA 生合成におよぼす影響について検討した。

暗黒条件下で定常期まで培養した *Euglena* 野生株(WT)および葉緑体欠損変異株 (SM-ZK)について、42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の光照射を行ったところ WT および SM-ZK いずれの細胞も光照射 6 時間までに AsA の有意な増加が観察された。AsA 生合成に関わる作用スペクトルを調べた結果、WT および SM-ZK とともに 440 nm 付近の青色光に対して特異的に応答することが示された。ユーグレナ EST データベースより、シロイヌナズナの青色光受容体フォトトロピン(*Phot*)と類似性を示した 4 つの *Phot* 様遺伝子 (*EgPhot1-4*) について、二本鎖 RNA 導入によるサイレンシングの影響を検討した。その結果、*EgPhot3* および *EgPhot4* 発現抑制細胞において、青色光に対する応答性が顕著に抑制されたことから、これら *Phot* 様タンパク質の AsA 生合成光調節機構への関与が強く示唆された。

気孔閉口を制御するジャスモン酸メチル情報伝達

B1-6 ○宗正晋太郎¹, 中村宜督¹, 森泉¹, 村田芳行¹
(¹岡山大学院・農生命科学)

【目的】 植物の葉の表皮に存在する気孔は、一組の孔辺細胞と呼ばれる細胞から形成された孔であり、開閉運動を行うことによって二酸化炭素の吸収や蒸散による水分放出を調節する重要な場所である。傷害や病害に対する防御応答を制御する植物ホルモンであるジャスモン酸メチルは、気孔閉口の誘導する働きを持つことが知られているが、その誘導メカニズムは不明であった。本研究ではモデル植物であるシロイヌナズナを用いて、気孔閉口を制御するジャスモン酸メチル情報伝達の解析を行った。

【方法・結果】 シロイヌナズナの変異体を用いた実験によって、気孔閉口を制御するジャスモン酸メチル情報伝達に関与する因子をいくつか同定した。また、ジャスモン酸メチルとアブシジン酸との間で気孔閉口を制御する情報伝達クロストークが存在することが明らかとなった。

Reactive carbonyl species induce programmed cell death in tobacco cells

B1-7 ○Md. Sanaullah Biswas¹ and Jun'ichi Mano^{1,2} (¹ Grad. School Agriculture, Yamaguchi Univ., ² Science Research Center, Yamaguchi Univ.)

【Purpose】 Reactive oxygen species (ROS) are produced via many biological reactions in every compartment of the cell and involved in oxidative signaling such as the induction of programmed cell death (PCD). However, the mechanisms of ROS action to start signaling events have been largely unknown. Lipid peroxide-derived reactive carbonyl species (RCS), formed downstream of ROS, has been recently suggested to mediate oxidative signaling because they can modify proteins and nucleic acids. In this study, we tested the possibility that RCS induce PCD in plant cells.

【Results】 When tobacco BY-2 cells were treated with 0.3 mM acrolein, an endogenous RCS, typical PCD events (DNA laddering and TUNEL-positive nuclei) were observed in 20 h of treatment. RCS scavengers, carnosine and pyridoxamine, suppressed the acrolein-induced PCD. This is the first demonstration for plant cells that RCS induce PCD. Hydrogen peroxide (H₂O₂) at 2.5 mM or higher concentration could induce PCD. Thus acrolein appears to be a more potent PCD inducer than H₂O₂. Here also the H₂O₂-induced PCD was suppressed by RCS scavengers. Therefore, acrolein or other RCS, which can be formed downstream of H₂O₂, are likely involved in the H₂O₂-induced PCD.

ローズマリー成分カルノシン酸の神経細胞保護作用とその作用機序

C1-1 ○柴田紗知¹, 萱島知子², 松原主典¹
(¹広島大院・教育、²佐賀大・文化教育)

【目的】 シソ科のハーブであるローズマリーの主な機能成分として知られているカルノシン酸には、抗酸化作用や細胞の Keap1-Nrf2 系を介する酸化ストレス生体防御機能活性作用が報告されている。我々は、カルノシン酸の新規機能として、血管新生抑制作用を明らかにしている。血管新生抑制作用はガンとの関係がよく知られているが、近年脳疾患のリスク低下との関連性が注目されている。そこで本研究では、カルノシン酸の酸化ストレスと飢餓に対する神経細胞保護作用とその作用機序について検証した。

【方法・結果】 実験には、ヒト神経芽細胞腫由来の SH-SY5Y 細胞を用いた。酸化ストレス、飢餓に対するカルノシン酸の細胞保護効果を、発色試薬による細胞数測定法で評価した。その結果、酸化ストレスと飢餓において保護作用を示した。また、その作用機序について主要な細胞情報伝達系リン酸化酵素に対する阻害剤を用いて検討したところ、カルノシン酸の保護作用が消失した。従って、カルノシン酸によるこれらの情報伝達系タンパク質のリン酸化が重要であることが示された。さらに、オートファジー誘導による保護効果の可能性について検討を進めたところ、カルノシン酸は SH-SY5Y 細胞のオートファジーを誘導し、そのことが細胞保護につながっている可能性が示唆された。

SOD1 欠損線維芽細胞を用いた抗酸化物質の新規評価系の開発

C1-2 ○井内良仁¹, 柳井彩¹, 井料由香里¹, 藤井順逸²
(¹山口大農・生物機能, ²山形大院医・生命環境)

【目的】 抗酸化物質の評価に用いられるアッセイには、体内の O_2 濃度約 2% に比して高酸素濃度である 20 % O_2 濃度下での培養細胞系が一般的に利用される。このような条件下で選別される抗酸化物質は、強すぎる抗酸化活性を有し生体に副作用を及ぼす可能性も考えられるため、より生体内に近い条件で抗酸化物質を検出するアッセイ系を開発する必要がある。近年、抗酸化酵素スーパーオキシドディスムターゼ 1 の遺伝子欠損 (SOD1-KO) マウスから単離した線維芽細胞 (MEF) が、生体内の酸素濃度に近い約 1 % では生存できるが、通常酸素濃度 (20%) を酸化ストレスとして認知し、死滅することを見いだした。本研究では、生体内に近い条件での有効な抗酸化物質の検出系を確立することを目的とする。

【方法・結果】 まず SOD1-KO MEF が死滅する 20 % 酸素濃度下で細胞増殖するかを指標に、既知のモデル化合物を用いて検討した。その結果、アスコルビン酸添加により細胞増殖が観察された。グルタチオン、カテキン、コエンザイム Q10 の添加群でも細胞死の抑制が観察された。このことから、酸化ストレスに脆弱な SOD1-KO MEF の維持増殖が可能な抗酸化物質が存在することがわかり、今後、未知な抗酸化物質の評価に応用可能なことが示された。

線虫 *C. elegans* のインスリン様ペプチド INS-6 の機能解析

C1-3 ○藤森 匠¹, 小松真希¹, 松永洋平², 岩崎 崇^{1,2}, 河野 強^{1,2}
(¹鳥取大院・農,²鳥取大院・連農)

【目的】線虫 *C. elegans* の幼虫休眠・成虫寿命はインスリン様シグナルによって制御される。本研究では、RNAi スクリーニングにより寿命への関与が示唆されたインスリン様ペプチド INS-6 の機能解析を個体レベル・細胞レベルで行うことを目的とした。

【方法・結果】*ins-6* 遺伝子破壊線虫の表現型を観察したところ、予想通り成虫寿命の延長が認められた。また、フェロモン誘導性の幼虫休眠率には変動が認められなかったが、高温誘導性幼虫休眠率の上昇が認められた。以上の結果から、INS-6 はアゴニストとして機能すると推定された。そこで、DAF-16::GFP を構成的に発現する TJ356 株の初代培養細胞を用いて、より明確な INS-6 の機能解析を行った。インスリン様シグナルが亢進すると、転写因子 DAF-16 は核内から細胞質に移行する。組換え INS-6 を調製し、TJ356 初代培養細胞に添加したところ、核内に局在する DAF-16::GFP が細胞質に移行した。このことから、INS-6 はアゴニストとして機能すると結論付けた。

クルマエビアレルゲン *Pen j 1* の熱安定性獲得機構

C1-4 ○臼井将勝, 佐藤裕一, 千葉瑞樹, 西大杏里, 花岡研一, 阿座上弘行¹
(水大校・食品科学,¹山口大農・生物機能)

【目的】甲殻類の主要アレルゲンであり熱安定アレルゲンとして知られるトロポミオシンが、どのようにして熱安定抗原構造を獲得しているのかを明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】加熱によるクルマエビアレルゲン (*Pen j 1*: トロポミオシン) の構造の変化を調査するために、冷凍クルマエビを用いて非加熱条件下にて分離精製を行った。すなわち、低温条件化において、等電点沈殿、硫酸塩析、イオン交換クロマトグラフィーにより精製を行った。精製した *Pen j 1* は SDS-PAGE において 37 kDa 付近に単一のバンドを示した。また精製 *Pen j 1* を PBS に溶解し沸騰浴中での 10 分間加熱処理した結果、この前後で電気泳動パターンおよび吸光度 (280 nm) に変化は見られなかった。円二色性分散計による構造解析では、加熱に伴い *Pen j 1* の構造は容易に崩壊したが、加熱処理したのち放冷した *Pen j 1* のスペクトルは、未加熱のものと同様であった。この結果より、*Pen j 1* の加熱・冷却による構造変化は可逆的であることが明らかとなった。また親水性アミノ酸を豊富かつバランス良く配列に含み、さらにシステインを含まないことから、構造崩壊時に疎水相互作用などによる熱凝集を起こし難いことが予想された。以上の結果より、可逆性と高い水溶性の併有によって熱に安定な抗原構造を獲得していると考察された。

B 型肝炎ワクチン開発に向けた酵母におけるウイルス表面タンパク質の発現解析

C1-5

○富吉啓介¹, 中村美紀子², 星田尚司³, 赤田倫治³ (¹山口大・工・応化,
²山口大・産学公連携, ³山口大院・医・応用分子生命)

【目的】B型肝炎ウイルス感染は、肝炎の最大の原因である。B型肝炎ウイルス感染を予防できるワクチンとして、B型肝炎ウイルスの表面タンパク質(HBsL)を酵母で発現生産させた組換えタンパク質製剤が知られている。しかし、他のウイルスのワクチン生産は酵母でほとんど実用化されておらず、何らかの問題があると考えられる。そこで、その原因を調べるために、HBsLに緑色蛍光タンパク質(GFP)を融合させ、酵母でのHBsLの発現を調べた。

【結果】酵母 *S. cerevisiae* の BY4742 株に *GAL10p-yEGFP-HBsL* を導入し、ガラクトース誘導下で GFP 融合 HBsL を発現する酵母を作製した。蛍光顕微鏡下で HBsL の発現を観察したところ、ガラクトースを添加してから 6 時間後には HBsL の発現が観察されたが、24 時間後には発現が消失していた。このことから、酵母では、HBsL が時間経過とともに分解されるということが明らかになった。そこで、我々は、HBsL のどの領域が分解に関わっているのかを明らかにするため、C 末端側から塩基配列を短くし、分解に必要な領域を調べた。その結果、HBsL の塩基配列、871~1005 が分解に関与していることが示された。

ヒト細胞由来無細胞タンパク質合成系を用いたタンパク質脂質修飾の解析

C1-6

○福重大地¹, 高光恵美¹, 守屋康子¹, 内海俊彦¹
(¹山口大院・医・応用分子生命)

【目的】N-ミリスチル化およびプレニル化は主要なタンパク質脂質修飾であり、種々の細胞情報伝達機構において重要な役割を果たしている。本研究では、ヒト細胞由来無細胞タンパク質合成系における代謝標識を用いて、2種のタンパク質脂質修飾の解析を試みた。

【方法・結果】既知の N-ミリスチル化タンパク質、プレニル化タンパク質として tActin、RhoC を用い、その野生型および変異体の C 末端、あるいは N 末端に tag を付加した cDNA を作成した。これをウサギ網状赤血球由来あるいはヒト細胞由来の無細胞タンパク質合成系における代謝標識により、N-ミリスチル化、プレニル化を検討した。その結果、tActin、RhoC ではそれぞれ効率の良い N-ミリスチル化、プレニル化が検出され、G2A 変異および C to A 変異では、脂質修飾が認められなかった。ヒト細胞由来無細胞タンパク質合成系における脂質修飾のアミノ酸配列要求性を検討することを目的とし、プレニル化を指令する CAAX モチーフのアミノ酸 X の要求性を、モデルプレニル化タンパク質 tGelsolin-CAAX を用いて検討した。その結果、アミノ酸 X が A、S、C、V、L、I、Q、M、F の場合プレニル化が検出され、これまでに報告されたアミノ酸要求性と一致したことから、タンパク質脂質修飾の検出におけるヒト細胞由来無細胞タンパク質合成系の有用性が確認された。

- C1-7 無細胞タンパク質合成系を用いた N-ミリスチル化された膜貫通タンパク質の同定
○福永和貴¹、飯尾雄介¹、乗安義美¹、高光恵美¹、守屋康子¹、内海俊彦¹
(¹ 山口大院・医・応用分子生命)

【目的】タンパク質 N-ミリスチル化は、真核細胞で生ずる脂質修飾の一種であり、細胞情報伝達において重要な機能を担っている。本研究では、ヒト cDNA リソースに含まれるヒト cDNA から、バイオインフォマティクスによる手法と無細胞タンパク質合成系による代謝標識法を組み合わせ、新規な N-ミリスチル化された膜貫通タンパク質の同定を試みた。

【方法・結果】かずさ DNA 研究所ヒトタンパク質発現クローン(Flexi ORF clones) 約 4,500 個のうち、N 末端に Met-Gly 配列を持つ cDNA 341 個を選択した。このうち、2 種の N-ミリスチル化予測プログラムを用いた予測、および Uniprot 等によるタンパク質修飾のデータベース検索により、新規 N-ミリスチル化タンパク質候補として 38 クローンを選択した。その N 末端 10 アミノ酸を含む融合タンパク質の cDNA、および全長 cDNA のセットを構築し、これらの N-ミリスチル化を、昆虫細胞由来無細胞タンパク質合成系における [³H] ミリスチン酸標識により検討した。その結果、38 個の cDNA クローン中に 19 個の新規な N-ミリスチル化タンパク質が同定され、このうち 1 つのタンパク質 P2RX5 が、小胞体膜に特異的に局在する 1 回膜貫通型の膜タンパク質であることが示された。

一般講演

2 日目

9 月 22 日(土)

枯草菌での銅イオンホメオスタシスに関わる 2 つの転写制御因子 YcnK と
A2-1 CsoR の様々な金属イオンに対する応答性
広岡和文, ○枝廣貴成, 木村晃輔, 藤田泰太郎 (福山大生命工・生物工)

【目的】細胞内銅イオンの厳密なホメオスタシスは重要な生理機能の 1 つである。枯草菌では、CsoR 転写因子が *copZA* オペロンを制御しており、銅イオン過剰条件でオペロンを脱抑制し、銅イオンを排出する CopZA タンパク質が生産される。一方、YcnK 転写因子は *ycnKJI* オペロンを制御しており、銅イオン飢餓でオペロンを脱抑制し、銅イオンを取り込む YcnJ タンパク質が生産される。また、CsoR もこのオペロンの制御に関与することが示唆されている。本研究では、銅を含めた様々な金属イオンに応答した YcnK と CsoR による標的遺伝子群の発現制御機構を解析した。【方法・結果】*in vitro* 系の実験で、YcnK が *ycnKJI* 上流のダイレトリピートを認識して特異的に結合することを明らかにした。また、YcnK の DNA 親和性は、銅イオン特異的キレート剤で低下し、その効果は銅イオンのさらなる添加で消失した。レポーター解析で、YcnK と CsoR による *ycnK* および *ycnL* プロモーターの制御に対する各種金属イオンの影響を調べたところ、銅イオン存在下では YcnK が活性化して *ycnKJI* オペロンを抑制し、CsoR は CopZA と YcnK を介して間接的にこのオペロンを制御することがわかった。YcnK は *ycnL* 発現の抑制にも寄与することが示された。また、YcnK と CsoR の存在条件で Ni^{2+} および Zn^{2+} に *ycnK* プロモーターの抑制効果がみられた。

納豆菌より見いだされた新奇染色体外 DNA 維持機構：ポリ- γ -グルタミン酸
A2-2 生合成因子 PgsE と鞭毛形成因子 FliF の必須性
○芦内 誠^{1,2}, 山本健人¹, 山城大典² (¹高知大・農, ²愛媛大院・連合農)

【目的】ポリ- γ -グルタミン酸 (PGA) は納豆ネバの主成分としてよく知られている。PGA の生合成には少なくとも 4 つのタンパク質因子が関連するとされているが、そのうちの PgsE に関しては PGA 増産のほか、プラスミドに代表される染色体外 DNA の維持 (EDM) にまで影響するという驚きの報告がなされた。ただし、PgsE はわずか 55 アミノ酸残基の小型タンパク質であったことから、EDM のような複雑な生命現象を単独で支配しているかについては検討する必要がある。そこで、本研究では PGA の生合成と表現型効果の点で関連性があるとされる遺伝子群の納豆菌 (枯草菌) 変異株を用い、EDM 機能発現への影響を追跡することで該協働因子候補の検索と同定を目指した。

【方法・結果】各種変異株は奈良先端大より入手した。まず、*comA*・*degU*・*degQ*・*degS*・*swrA* の各変異株を宿主に PgsE 発現による EDM 効果を調べたところ、*swrA* 変異株でのみ EDM 効果は消滅した。*swrA* は鞭毛形成／走化性 (*fla/che*) を支配するが、168 実験室株のように *swrA* に自然変異を持つ株では *sigD* が補償している。*sigD* 変異の影響を見たとところ、実験室株では顕著、対して野生株では皆無に等しかった。そこで、*fla* オペロンに注目し、変異解析を進めた結果、FliF の必須性とその単独相補による EDM 機能回復が認められた。

歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* の病原因子のトランスポゾン解析

A2-3 ○松浦やよい, Karim Minnatul, 加藤昭夫, 阿座上弘行
 (山口大農・生物機能)

【目的】 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* の病原性には、菌体表層レクチンが大きく関与することが報告されている。また、本菌のバイオフィーム形成能はデンタルプラーク形成において重要な働きをすることが示唆されている。さらに、本菌は溶血因子を有し、その病原性との関わりも示唆されている。そこで、本菌にトランスポゾンを導入し、これらの病原因子（レクチン、バイオフィーム関連因子、溶血因子）の同定、解析を試みた。

【方法・結果】 *E. corrodens* 1073 株に EZ-Tn5<R6Kori/KAN-2>Tnp Transposome Kit を用いてトランスポゾンを導入し、トランスポゾンライブラリーを作成した。この中から、バイオフィーム形成が促進される株、抑制される株を得ることができた。また、兔保存血を用いた赤血球凝集アッセイにより、レクチン活性が低下する株も得ることができた。以前の研究で、本菌のバイオフィーム形成には菌体表層レクチンが関与することが示唆されているが、今回両スクリーニングで引っかかってきた株には共通性は見られなかった。さらに、羊赤血球に対する溶血アッセイにより、溶血活性が低下する株も得ることができた。現在、トランスポゾンが導入された位置を特定し、それぞれの病原因子の特定を試みている。

酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* IFO 3283 株の高温適応育種

A2-4 ○松本奈実, 松谷峰之介, 薬師寿治, 松下一信
 (山口大農・生物機能)

【目的】 酢酸菌は、グラム陰性の偏性好気性菌で、様々な糖やアルコールを酸化する能力を持っている。「酢酸発酵」は、酢酸菌の典型的な酸化発酵であり、食酢の製造に産業的に利用されている。この産業的な酢酸発酵は、一般に 25・30℃で行われているが、発酵熱によって生じる温度上昇を抑える為に冷却が必要である。そこで、耐熱性を有する酢酸菌の開発は、冷却コストの大幅な削減に貢献できると期待される。本研究は、国内で分離され完全ゲノムの明らかな *Acetobacter pasteurianus* IFO3283 株を用いて高温適応育種を行い、得られた耐熱化株の変異箇所をゲノム解析によって特定することで、耐熱化に関わっている遺伝子を解明することを目的とした。

【方法・結果】 本菌を生育限界温度、酢酸発酵条件下で継代培養し、その生育速度が安定したところで、コロニーの単離を行った。この育種を 37℃で開始し、耐熱化株が得られるごとに育種温度を 0.5℃あるいは 1℃ずつ 6 段階上昇させていき、最終的に 40℃で生育可能な耐熱化株を取得した。この方法で育種された耐熱化株は、親株よりも生育限界温度での生育が良く、高温で単離した耐熱化株ほど耐熱性および高温での酢酸発酵能が優れていることが示された。今後、ゲノム解析によって変異箇所の解析を行う予定である。

耐熱性および育種耐熱化 *Corynebacterium glutamicum* の解析

A2-5 ○大西康貴¹, 鶴岡史也¹, Nawarat Nantapong², 薬師寿治¹, 松下一信¹
¹ (山口大農・生物機能、² Suranaree University of Technology)

【目的】 *Corynebacterium glutamicum* は培養条件によって様々なアミノ酸を培地中に蓄積することが知られている。このため、産業的なアミノ酸発酵に広く利用されている。このアミノ酸発酵には温度維持に多大な冷却コストが必要となるため、耐熱性を有する菌株の育種とその耐熱化の機構の解明が必要とされている。我々はタイで分離された *C. glutamicum* 株からの耐熱性株の探索や標準 *C. glutamicum* 株を用いた高温適応育種を進めている。

【方法・結果】耐熱性遺伝子同定に必要な耐熱性株を得るために、ジャーファーメンターを用いて標準株である *Corynebacterium glutamicum* KY9002 を高温で継代培養し、41℃で生育可能な耐熱化した株が得られた。また、タイで分離された菌株の中に類似の高温で生育し、且つグルタミン酸の生産可能な耐熱性株も見つかった。これらの菌株を用いた解析は、*C. glutamicum* の耐熱性機構に関与する情報を与えると考えられる。まず、菌の耐熱性に大きく影響を与えることが知られている脂質合成に注目し、脂肪酸合成を行うアセチル CoA カルボキシラーゼの補欠分子族であるビオチン濃度別にこれらの菌株の培養を行った。その結果、高温での生育はビオチン濃度に依存して改善されることがわかった。

比較ゲノム解析による酢酸菌の耐熱化機構解明に向けたアプローチ

A2-6 ○松谷峰之介¹, Wichai Soemphol¹, 平川英樹², 薬師寿治¹, 松下一信¹
¹ 山口大農・生物機能、² かずさ DNA 研・植物ゲノム研究部)

【目的】酢酸菌は、糖やアルコールを糖酸や有機酸に酸化的に変換し培地中に蓄積することが知られている。このため食酢の醸造（酢酸発酵）などに古くから利用されてきた。酢酸発酵は工業的に 25-30℃において行われ、発酵時の温度維持に多大なコストを必要とするため、耐熱化機構解明が必要とされている。我々は酢酸菌の耐熱機構解明のために、2つの異なるアプローチにより耐熱遺伝子の推定を行った。

【方法・結果】トランスポゾンを用いたランダム変異および SKU1100 株の概要ゲノム配列情報を用いて *Acetobacter tropicalis* SKU1100 株の 24 の耐熱性遺伝子を同定した。その結果、ストレス応答、膜生合成系の遺伝子などが耐熱性に寄与していることが明らかとなった。また極めて近縁でかつ耐熱性が異なる常温性および耐熱性酢酸菌 (*Acetobacter pasteurianus*) の概要ゲノム配列を決定し、比較ゲノム解析をおこなった。その結果、高温感受性株において特にアミノ酸変異が蓄積している遺伝子群を同定した。ストレス応答、膜生合成系の遺伝子などに変異の蓄積がみられ、このうちのいくつかについてはトランスポゾン変異により見いだされた耐熱性遺伝子とオーバーラップがみられた。これらの結果から、これらの遺伝子群に蓄積した変異が耐熱性に寄与していることが示唆された。

Zymomonas mobilis 株間の耐熱性およびゲノム遺伝子の比較

A2-7 久野圭祐¹, 山下舞¹, 中島康之¹, 入江陽¹, 高坂智之², 山田守^{1,2}
(¹山口大院医・応用分子, ²山口大農・生機)

【目的】高温条件下でのエタノール発酵は、発酵時の冷却コストの削減や、発酵操作の簡便化などの利点がある。通性嫌気性グラム陰性菌 *Zymomonas mobilis* は至適温度 25℃～30℃ のエタノール生産菌として知られており、Entner-Doudoroff 経路によりエタノール発酵を行うため、酵母などよりも速くエタノールを生産することが可能である。この高エタノール生産性を利用し、高温条件下でバイオエタノール生産や有益物質の生産を行わせるため、タイで単離された耐熱性 *Z. mobilis* と近縁種間で耐熱性を比較すると共にドラフトゲノム配列を決定し保有する遺伝子群の比較を試みた。

【方法・結果】*Z. mobilis* の耐熱性株 (TISTR405 株、TISTR548 株、TISTR550 株) と標準株 (ZM4 株、LMG457 株、NCIMB11163 株) をそれぞれ 30、36、34、38、39℃ で培養し、耐熱性を比較した結果、548 株が最も耐熱性が高く、LMG457 株が最も低かった。また、TISTR405 株、TISTR548 株、TISTR550 株、LMG457 株のドラフトゲノム配列を決定し、それぞれの株の遺伝子を抽出した。この情報を基に *Z. mobilis* ゲノム間で遺伝子群の相違を比較した結果について紹介する。

出芽酵母における高温ストレス適応に関わる Slm 下流経路制御機構の解析

A2-8 ○津田遼平¹, 田中直孝¹, 田淵光昭¹ (¹香川大学・農・応用生物)

【目的】出芽酵母において PI4,5P₂ により形質膜上に局在化され、Tor 複合体 2 (TORC2) 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、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 によるこれらの下流経路制御メカニズム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メカニズム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 Slm1 の発現量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が確認された。GFP-Slm1 過剰発現による局在への影響はなかったため、Slm 下流経路への影響を検証した。その結果、GFP-Slm1 の過剰発現は *csg2Δ* 株でみられるカルシウム(Ca²⁺)感受性を回復させることが判明した。Csg2 はスフィンゴ脂質生合成系においてマンノシルホスホリルセラミド(MIPC)を形成するために必要なタンパクである。*csg2Δ* 株では MIPC の前駆物質であるイノシトールホスホセラミド(IPC)が蓄積することにより Ca²⁺感受性を示すことが知られている。この Ca²⁺感受性は IPC 合成経路より上流のスフィンゴ脂質代謝に異常のある株では回復するため、GFP-Slm1 過剰発現はスフィンゴ脂質合成に何らかの影響を与えていることが考えられた。

酵母ミトコンドリアキャリアータンパク質の機能解析

A2-9 ○岡田有右¹, 野澤彰², 戸澤謙²
(¹愛媛大院・理工, ²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局在するトランスポーターであり、多様な分子の輸送を担うタンパク質である。現在、ヒト、酵母およびシロイヌナズナのゲノムにはそれぞれ 52 個、35 個および 58 個の遺伝子の存在が予測されている。しかし、これら MC タンパク質の半数以上において輸送基質が明らかにされておらず、生体内での機能が不明のままである。本研究では、35 個の酵母 MC のクローニングを行い、コムギ胚芽無細胞翻訳系による合成および輸送機能の解析を目的とする。

【方法・結果】酵母 MC 遺伝子を、ゲノム DNA を鋳型にした PCR を用いて増幅し、特異的な制限酵素サイトを利用して無細胞発現用のプラスミドに組み込んだ。これまでに、34 個の酵母 MC 遺伝子のクローニングを完了した。これらのプラスミドを用いて *in vitro* 転写により調整した mRNA を鋳型として、コムギ胚芽無細胞翻訳系を用いてタンパク質の合成を行った。RI を用い放射標識した合成タンパク質を Autoradiography により確認したところ、クローニングできたすべての MC タンパク質を無細胞系にて合成できることが確認できた。今後はリポソーム膜へのタンパク質の再構成を行い、輸送機能の解析を進める予定である。

酵母及びヒト細胞における *Helicobacter pylori* 病原因子 CagA の解析

A2-10 ○佐藤仁美¹, 山崎笑美子¹, 中村美紀子², 赤田純子², 星田尚司¹, 赤田倫治¹(¹山口大・医系・応用分子生命, ²山口大・産学公連携センター)

【目的】*Helicobacter pylori* は近年胃潰瘍や萎縮性胃炎、胃がんなどの胃疾患を引き起こす病原性細菌であることが明らかになってきた。これらの胃疾患は、この細菌の分泌する CagA タンパク質が主な原因であると考えられているが、CagA タンパク質の機能は未だ詳しく解明されていない。

【方法・結果】GFP タンパク質と結合させた CagA タンパク質を酵母やヒトの細胞において発現させた。CagA タンパク質はヒト細胞でも酵母でも細胞膜付近に局在することが分かっている。そこでまず CagA タンパク質を酵母において発現させ、酵母において膜局在する配列を解析した。酵母での解析では、全長 1174 アミノ酸残基ある CagA タンパク質を 1-1140、1121-1174 アミノ酸残基までの長さに削除しても膜付近に局在したが、それ以上削除すると膜付近に局在しなくなった。そこで共通している 1121-1174 残基のみで発現させたが、この領域のみでは膜付近に局在はしなかった。膜付近に局在するためのより短い配列を特定するため、CagA1121-1174 残基に対して C 末側を削除した。すると 1121-1145 残基の長さまで削除しても膜付近に局在することが分かった。次にヒトの細胞においても同様の領域が膜局在に重要かどうかを調べるため GFP と結合させた CagA タンパク質を HEK293 細胞で発現させ、解析している。

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
A2-11 の誘導
○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）

遺伝子組換え生物の野外での拡散防止策として、条件致死性質や不稔性質の付与が効果的である。これら性質の付与は、部位特異的組換えを利用して特定の条件下や時期に染色体からセントロメア DNA を切り出し、細胞死を誘導することで可能と考えられる。そこで、出芽酵母 *S. cerevisiae* をモデル生物としてセントロメア DNA の切り出しによる細胞死の誘導を試みた。既に、一倍体細胞では第 IV 番染色体 1 本から、また、二倍体細胞では第 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。さらに、第 V 番染色体でも同様にできた。しかし、生存率は大きく低下したが 0 とはならず、二倍体細胞の生存率は一倍体細胞よりも高かった。そこで、実用化に向けてさらに生存率低下を目指した。まず、二倍体細胞で第 IV 番と第 V 番の複数の染色体から切り出したところ、生存率をさらに低下できた。次に、生存細胞の染色体 DNA のパルスフィールドゲル電気泳動法や PCR 法による解析から、組換え部位配列の欠失や切り出されたセントロメア DNA の染色体への組込みにより生存細胞が生じた可能性が示唆され、これらの現象の抑制によって生存率を低下できると考えられた。また、*SSD1* 遺伝子の欠損により *CEN5* 座-*HIS3* 座間の部位特異的組換えの効率が上昇するので *SSD1* の破壊で生存率の低下を検討している。

ヒノキ木粉の生分解性を向上させる白色腐朽菌の探索
A2-12 ○小島豪、光永均¹、時本景亮²、西野直樹、仁戸田照彦、神崎浩
（岡山大院環境生命科学、¹岡山大農、²日本きのこセ菌葦研）

【目的】岡山県北部ではヒノキの生産が盛んであり、生産する際の間伐材やおが屑はセルロース系バイオマスとして利用可能である。当研究室ではそれらの生分解性を向上させ家畜飼料として利用することを検討している。その方法として白色腐朽菌による処理が考えられるが、ヒノキ木粉を白色腐朽菌処理した例はほとんどなく、本研究では数十種類の白色腐朽菌の中からヒノキ木粉の生分解性を向上させる菌株の探索を行った。

【方法・結果】我々が保存している白色腐朽菌のうち食用キノコを中心とした数十種類を選抜し、ヒノキ木粉に米ぬかを添加した培地に植菌、培養をすることで白色腐朽菌処理を行った。処理後の木粉の生分解性評価は微生物由来セルラーゼを用いた糖化試験とウシ胃液を用いた消化試験で行った。まず糖化試験を行いグルコース生成量が多い処理木粉を選抜し、それらを消化試験に供し消化率を算出した。その結果、未処理のヒノキ木粉と比較してシハイタケによる処理によりグルコース生成量（木粉 100 mg あたり）が 7.2 mg から 30.5 mg に、消化率は 12.5%から 52.7%となり、シイタケによる処理ではグルコース生成量が 25.3 mg、消化率は 38.8%まで上昇した。以上からヒノキ木粉に対して白色腐朽菌処理が可能であり、今後処理条件を検討していくことでさらに生分解性が向上すると考えられる。

A2-13 白色腐朽菌 *Trametes versicolor* によるデンプンからの直接的エタノール生産
○綱島彩子, 内井敦史, 築瀬英司, 岡本賢治 (鳥取大院工・生応工)

【目的】バイオマスリファイナリーに貢献可能な微生物として、特徴的な木質分解能をもつ担子菌類に着目している。我々は、C 5 糖のみならず、多様な糖質に対して発酵性を示す担子菌を自然界から見出し、その特性把握ならびに機能解明に取り組んでいる。今回は、白色腐朽菌カワラタケ *Trametes versicolor* を対象に、デンプン発酵能についての検討を行った。

【方法・結果】当該担子菌はデンプンの成分であるグルコースやマルトースから、高収率でエタノールを生産した。とうもろこし、小麦、馬鈴薯、米由来の各種デンプンを炭素源として培養を行ったところ、どの区分においても大差なく、デンプンの速やかな分解と良好な収率でのエタノール変換を認めた。なお、4 種のデンプンを混合した培地でも、これらと同様の収率でエタノールを生産したことから、本菌は幅広いデンプンに対して有望な発酵性をもつと考えられる。さらに、デンプンを比較的多く含む小麦フスマを原料とした発酵試験においても直接的エタノール生産が可能であった。以上の結果から、カワラタケは、外部からアミラーゼ添加など何も前処理することなく、デンプン質原料に対して分解ならびにエタノール変換能力を有することが明らかとなった。

A2-14 褐色腐朽菌 *Neolentinus lepideus* のラクトース発酵特性
○中川紗季, 金涌龍一, 築瀬英司, 岡本賢治 (鳥取大院工・生応工)

【目的】森の分解者である担子菌は、自然界で木質資源の循環に重要な働きをしており、生理活性物質を生産することなどからも興味深い微生物である。我々は、担子菌の特徴的な物質変換能を応用したバイオマスリファイナリーの構築を目的に研究を進めている。多様な未利用資源からのエタノール生産を想定する上で、今回、褐色腐朽菌 *Neolentinus lepideus* が有するラクトースからのエタノール生産能に着目し、チーズホエーなどに対する発酵特性について検討を行った。

【方法・結果】ラクトースを唯一の炭素源とし、酵母エキスと無機塩の合成培地にて、pH が及ぼす発酵の影響を調べたところ、酸性条件下でもコントロールと同様のエタノール生産性を示した。また、培地中の酵母エキスを他の窒素源に代えても、それほど顕著な差異は認められなかった。そして、ラクトースを主成分とするチーズホエーに菌を接種して培養したところ、上述の合成培地の場合と同様の挙動を示し、直接的にエタノールへ変換した。さらに、高脂肪乳と低脂肪乳を用いた発酵試験の結果、脂肪の多少にかかわらず、ほぼ同じ収率で直接的にエタノールを生産可能であった。本菌は脂肪やタンパク質が混在する条件でも、有効なラクトース発酵能を維持できることが明らかとなった。

高温性水素資化性メタン生成菌からの凝集能の低下した変異株の取得

B2-1 ○高坂智之¹, 澄川佳奈², 山田守^{1,2}
(¹山口大農、²山口大院医)

【目的】嫌気環境においてメタンを生成するコンソーシアムではしばしば菌体の凝集現象が見られ、凝集可能なメタン生成菌が凝集の形成に重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、酢酸資化性メタン生成菌に比べ水素資化性メタン生成菌の凝集機構及びその機能はほとんど明らかとなっていない。そこで我々は、水素資化性メタン生成菌の凝集に関する知見を得るため、凝集可能な高温性水素資化性メタン生成菌 *Methanothermobacter* sp. CaT2 より、凝集能が低下した変異株の取得を試みた。

【方法・結果】凝集能の低下した CaT2 株由来の変異株を得る為に、まず、UV 及び EMS で CaT2 を処理した際に CaT2 株の菌数が半減する条件を決定した。次に、決定した条件で変異処理を行った後、フィルター濾過及び遠心分離を行い凝集能の低下した菌体を集積した。集積した培養液を 6 well プレート法でコロニー化し、変異株を分離培養した。そして、分離培養した菌株は菌体の沈降速度の違いを示す浮遊率を吸光度計により測定し、浮遊率が親株より上昇した菌株を選別した。この結果、親株である CaT2 株と比較して浮遊率が高く、かつ顕微鏡観察下で凝集能の低下が確認可能な変異株を 4 株取得した。

耐熱性 *Zymomonas mobilis* による L-乳酸発酵生産

B2-2 村田正之¹, 嘉松初¹, 入江陽¹, 中島康之¹, 高坂智之², 山田守^{1,2}
(¹山口大院医・応用分子、²山口大農・生機)

【目的】バイオプラスチックは、植物由来の炭素源を原料とするためカーボンニュートラルや、生分解性プラスチックとしての性質をもっており、地球温暖化や環境汚染の対策として注目されている。本研究では、耐熱性 *Zymomonas mobilis* 菌を用いてバイオプラスチックの原料となる L-乳酸の発酵生産を 30℃、35℃、37℃で試みた。

【方法・結果】*Z. mobilis* は D-乳酸脱水素酵素をもつが、L-乳酸脱水素酵素 (L-Ldh) をもたない。そこで外来の遺伝子を導入し、*Z. mobilis* による L-乳酸生産経路の獲得を目指した。*Lactobacillus plantarum* 由来 L-ldh 遺伝子を *Z. mobilis* で発現させるために、組換えプラスミドを構築し、これを耐熱性 *Z. mobilis* に導入したところ、導入株の乳酸生産量はコントロール株に比べて約 10 倍の増加を示した。また、L-ldh 遺伝子の発現を高めるためプラスミドのコピー数を上げたところ L-乳酸生産量が増加した。さらに、培地に炭酸カルシウムや硫酸マグネシウムを加えたところ、耐熱性 *Z. mobilis* の生育及び L-乳酸の生産性に改善が見られた。

- 水素資化性メタン生成菌のメタン生成におけるプロピオン酸酸化共生菌の
べん毛の影響
B2-3 ○井上真菜美¹, 高坂智之², 山田守³
(¹山口大院・農, ²山大・農, ³山大院・医)

【目的】*Pelotomaculum thermopropionicum* SI と *Methanothermobacter thermautotrophicus* ΔH は水素を介して共生することが知られている。また、SI の鞭毛のキャップタンパク質である FliD の組換え体が ΔH のメタン生成の立ち上がりを促進することが知られている。本研究では ΔH に対する SI の鞭毛の関与をさらに明らかにすることを目的とし、鞭毛をもつ SI の細胞でも同様に ΔH のメタン生成の立ち上がりが促進されるか否かを調べた。

【方法・結果】SI の細胞を ΔH に添加した後、基質である水素を加え、ガスクロマトグラフィーを用いてメタン生成の立ち上がりを測定した。その結果、ΔH からのメタン生成に特に優位な差は見られなかった。この結果を考察するため、ΔH の細胞調整方法と SI の鞭毛量の確認を行った。ΔH に関しては、メタン生成の立ち上がりが遅れる条件を設定できていなかったため、解析に適した調整方法を検討した。一方、SI の鞭毛は約 10 % の割合で細胞に結合していることが分かった。また培養日数が長くなるほど鞭毛量が増加することも明らかとなった。これらの結果から、メタン生成に変化が見られなかったのは両株の調整条件に問題があった可能性が示唆された。

- 混合液体麹によるグルコアミラーゼ生産性の増強
B2-4 ○許斐隼¹, 佐藤由可衣¹, 二宮純子¹, 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】 麹菌 (*Aspergillus* 属菌) は古来より日本の伝統的な発酵食品に用いられており、特に清酒醸造において米の糖化を促す酵素であるグルコアミラーゼ (GA) や α-アミラーゼ (α-A) を多く生産することで広く知られている。近年液体麹の醸造分野への応用に関心が高まっているが、液体麹の GA 生産性は固体麹よりも顕著に低下するため、GA 生産性の増強が求められている。そこで本研究では、液体麹において GA 生産性の高い *Rhizopus* 属菌と α-A 生産性の高い *Aspergillus* 属菌の混合培養による酵素生産性の増強について検討を行った。

【方法・結果】 *Rhizopus arrhizus* P20 と HI-G (*Aspergillus oryzae*) の初発添加胞子数を予め制御して改変 SLS 培地中に同時接種し、30 °C, 96 h, 200 rpm にて振とう培養を行った。その結果、*R. arrhizus* P20 の胞子数を増加するほど GA 活性は増強することが確認された。特に、培地中の窒素源 (酢酸アンモニウム) 濃度を 1.29 % に調製し、*R. arrhizus* P20 と HI-G の初発添加胞子数比を 1:1 で接種した場合に両酵素の生産性が最も効果的に増強し、酵素活性はそれぞれ GA 活性 ; 420 U/ml, α-A 活性 ; 3.60 U/ml であった。以上の結果より、本液体麹を利用した醸造技術構築の可能性が示唆された。

固体培養における均一培養とその酵素生産

- B2-5 ○伊藤一成¹, 五味勝也², 狩山昌弘³, 三宅剛史¹
(¹岡山県工技セ, ²東北大院農・生物産業創成, ³フジワラテクノアート)

【目的】固体培養法は伝統発酵食品の製造をはじめ、有用酵素や二次代謝産物の産業的生産にも広く利用されている。また、液体培養よりも酵素生産性が高いことが知られている。しかし従来の固体培養では、培養状態の不均一が生じやすく、再現性が低い上、培養環境の制御はほぼ不可能であるなどの問題から、液体培養が多く採用されているのが現状である。そこでこれらの問題を克服するために新規固体培養法（無通風箱培養法）を以前に考案した。本研究では本法と従来法の特性を比較した。

【方法・結果】小麦ふすまに麹菌 (*Aspergillus oryzae* AOK11 株) を接種後、蓋付き金属製トレイ（従来法）と無通風箱内において、それぞれ一定環境下で培養した。その結果、無通風箱培養法では水分状態・品温経過・ α -アミラーゼ活性において、培養状態の均一さを示すことができ、再現性も向上していた。また、様々な酵素活性を測定したところ、従来法と比べいずれも上昇していた。以上より、無通風箱培養法は従来の方法よりも優れた固体培養法であると考えられる。

Purification and characterization of autoinducer-2 inactivating enzyme in periodontopathogenic bacterium *Eikenella corrodens*

- B2-6 ○Mansur Jasin, Karim Minnatul, 長尾章子, 加藤昭夫, 阿座上弘行
(山口大農・生物機能)

【目的】 In our previous study, *Eikenella corrodens* was observed to secrete Autoinducer-2 (AI-2) signaling molecules during middle of a logarithmic growth phase to late exponential phase but after that AI-2 activity was remarkably decreased. The aim of this study was to purify the AI-2 inactivation factor and to characterize it

【方法・結果】 To purify AI-2 inactivation factor, ammonium sulfate precipitation was performed for the supernatant of the stationary phase of *Ec* culture and fractionated to 30%, 50% and 70%. AI-2 activity was decreased after incubating 30% ammonium sulfate precipitation fraction with MHF or purified AI-2. AI-2 activity was confirmed through AI-2 assay using *Vibrio harveyi* BB170 as a reporter strain. For further purification, DEAE chromatography and Q-Sepharose chromatography was performed. SDS-PAGE result suggests that AI-2 inactivating enzyme was purified completely. TLC and the RP-HPLC were performed after incubating MHF with AI-2 inactivation enzyme. TLC and RP-HPLC results suggest that MHF (AI-2 like compound) might be degraded or altered by proteinaceous compound of 30% ammonium sulfate fraction.

B2-7 カラギーナン分解酵素の探索と同定
○高橋亮¹, 大西浩平² (¹高知大農・遺, ²高知大総研セ・遺)

【目的】現在生産されているバイオ燃料の多くは食用作物を原料としており、食糧との競合が課題となっている。紅藻類が生産する硫酸基結合ガラクトースポリマー「カラギーナン」は、食糧と競合しないバイオ燃料生産の糖源として有望である。本研究ではカラギーナンを分解可能な微生物を環境中より単離し、カラギーナン分解酵素の同定および遺伝子の特定を行うことを目的とした。

【方法・結果】カラギーナンをゲル化させた固体培地を使用し、コンゴレッドによるハロ形成やゲルの分解を指標として、カラギーナン分解能を有する微生物の探索を行った。結果、固体培地上でハロの形成やゲルの陥没が見られる数種の糸状菌および細菌を単離した。このうち、16SrDNA の解析により *Bacillus* 属に分類された細菌を液体培地で培養し、上清より菌体外酵素群を得た。この酵素群から、SDS-PAGE やカラギーナンゲルを用いた活性染色によって、カラギーナン分解酵素と思われるタンパク質を特定した。その酵素の N 末端アミノ酸配列の解析を行い、また当細菌のドラフトゲノム解析の結果と照らし合わせた結果、当該酵素をコードする遺伝子領域を特定した。遺伝子産物は β -ガラクトシダーゼと部分的な相同性を有していた。現在遺伝子のクローニングと発現系の構築を行っている。

B2-8 NADPH 依存(Z)-3-ヘキセナールレダクターゼの精製とその酵素的特徴
○志岐和美, 松井健二
(山口大院医)

【目的】植物は「みどりの香り」の成分として、(Z)-3-ヘキセナールを含むアルデヒドを生成する。みどりの香りは病虫害等から傷害ストレスを受けた時に放出する揮発性化合物であり、直接防御や間接防御に関与している。しかし、アルデヒドは植物自身にとっても有毒であり、解毒する必要がある。解毒方法としてアルデヒドをアルコールに還元していると考えられる。そこで、キャベツから NADPH 依存的に(Z)-3-ヘキセナールを(Z)-3-ヘキセノールに還元する酵素を精製し、その特性を調べることを目的とした。

【方法・結果】キャベツから水溶性タンパク質を抽出し、硫酸分画、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、HPLC の 5 段階で精製した。その結果、この酵素は 40 kDa であった。基質特異性を見ると、炭素数が 4 以上の直鎖飽和アルデヒドを還元し、ケトンは還元しなかった。コファクターとして NADPH を使った時の(Z)-3-ヘキセナールの K_m 値は $97 \mu M$ で、活性の高かった他のアルデヒドの中で最も k_{cat}/K_m 値が高かった。また、活性は 1 mM の $CuSO_4$ と $ZnSO_4$ で阻害されたことから、活性中心には SH 基が関与していると考えられる。

酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* SKU1108 のアルコール脱水素酵素の性質
B2-9 ○松本翔児, 薬師寿治, 松下一信
(山口大学農学部)

【目的】酢酸菌はアルコールから酢酸を生成する酢酸発酵を行う。この発酵は通常の「発酵」と違い、呼吸反応に基づくものである。この呼吸鎖の初発で機能するのがアルコール脱水素酵素(ADH)で、細胞膜の外側に結合している。ADHは3つのサブユニットで構成され、サブユニットI(Sub I)には基質と直接反応する補酵素PQQとヘムc(I₁)があり、サブユニットII(Sub II)には3つのヘムc(II₁, II₂, II₃)と結合型キノン(Q₉)が含まれている。以前の研究から、本菌のADHは*Gluconobacter*属のADHとその構造は似ているものの、至適pH等の性質が違っていることが分かっている。本研究は、本菌のADHを精製し、酵素の立体構造や機能を*Gluconobacter*のADHと比較することで、酵素の構造と機能の相関を明らかにすることとした。

【方法・結果】*Acetobacter pasteurianus* SKU1108株を酢酸発酵条件下で培養し、その膜画分からそれぞれTritonX-100とn-dodecyl-β-maltoside(DM)でADHを可溶化・精製し、精製酵素の機能解析を行った。DM酵素は結合型キノンが検出されたが、Triton酵素は検出されなかった。両酵素ともferricyanide還元活性はpH3.5で、Q₂還元活性はpH4.0とpH5.0で最大となったが、DM酵素はQ₂還元活性がTriton酵素より約2倍高かった。

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 のジスルフィド異性化酵素システム
B2-10 ○田村 隆, 吉田隆真, 稲垣賢二
(岡山大学院・環境生命)

【目的】大腸菌などのグラム陰性細菌はペリプラズム空間に分泌した蛋白質に正しくジスルフィド架橋を形成するDsb酵素系を持つ。高度好熱性細菌*Thermus thermophilus* HB8のDsbA系ホモログとしてTthA0610とTthA1422を同定してその機能解析を行った。

【方法・結果】*E. coli* DsbA遺伝子のペリプラズム移行シグナル配列にTthA0610の遺伝子断片を連結して、大腸菌で成熟型TthA0610を発現させた。TthA1422も同様にペリプラズム蛋白質として発現させた。精製した組換え型TthA0610(32kDa)とTthA1422(12kDa)の酸化還元電位はそれぞれ-161, -157 mVであり、どちらもジスルフィド異性化酵素に相当する酸化還元電位を持つことが示された。変性RNaseを用いたリフォールディング活性を測定した結果、変性RNaseAの巻き戻しではTthA1422がTthA0610より1.8倍反応速度が高く、インスリン還元反応ではTthA0610がTthA1422よりも優れていた。また混合してRNaseの巻き戻しを行った場合TthA0610:TthA1422=9:1において最も高い効率が得られた。両蛋白質は、競合して働くより協調してペリプラズム蛋白質の正しい構造維持に機能すると考えられる。

- B2-11 Identification of key residues essential for the activity and substrate affinity of L-carnitine dehydrogenase
Mohamed M. Eltayeb, Jiro Arima, Isam A. Mohamed Ahmed, Nobuhiro Mori
(Faculty of agriculture, Tottori University)

Recently, we purified and characterized two L-Carnitine dehydrogenases (L-CDH) from soil isolates *Rhizobium* sp (Rs-CDH) and *Xanthomonas translucens* (Xt-CDH). Xt-CDH exhibits tenfold lower affinity toward L-Car than Rs-CDH. In order to identify essential residues for the affinity to substrate, we compared the primary structure of Xt-CDH and Rs-CDH with the recognized 3D structure of L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (PDB: 1F0Y), and then six residues were selected, which are varied between Xt-CDH and Rs-CDH. The Residues of Xt-CDH were replaced with that of Rs-CDH at the corresponding position and vice versa. All of Rs-CDH mutants retained 47–97% of wild type activity, whereas double mutant Rs-V187I/G188A was devoid. On the other hand, all Xt-CDH mutants showed different K_m (8.72–110 mM). Of them, Xt-F143Y caused higher increase in the K_m value. In addition, the kinetics parameters of 10 mutants at Xt-F143 and Rs-Y140 were investigated. All Rs-Y140X mutants, except Rs-Y140F, abolished the activity and alter substrate affinity. In the meanwhile, Xt-F143X variants showed significant reduction of the activity. Overall, our results suggest that Y140 of Rs-CDH and F143 of Xt-CDH are essential for the substrate recognition.

- B2-12 TMSCI を用いたアスパラギン酸のエステル化反応における位置選択性
○城戸裕喜, 城戸健史, 中島修平, 泉 実
(岡山大学院・環境生命)

【目的】ペプチド合成において、固相合成や Microwave を用いる手法など、簡便で効率的な手法がすでに報告されている。しかしながら、アミノ基やカルボキシ基などの官能基の選択的な保護や脱保護は依然として困難であり、特に酸性アミノ酸（アスパラギン酸とグルタミン酸）は側鎖のカルボキシ基を選択的に保護する必要がある。本研究では、クロロトリメチルシラン（TMSCI）を酸触媒として用い、アスパラギン酸のエステル化反応における位置選択性について検討を行った。

【方法・結果】種々のアルコール（MeOH、EtOH など）中、酸触媒として TMSCI を用いて、アスパラギン酸のエステル化反応を行った。自動合成装置 Nautilus 2400 を用いて、酸触媒の当量、反応時間、反応温度など種々条件の検討を行った結果、 β -モノエステル体と α, β -ジエステル体を作り分けることに成功した。反応はまず、 β -モノエステル体が生成し、その後に α, β -ジエステル体が生成していた。また、10 当量以上の TMSCI を用いることによって、 α, β -ジエステル体を得ることが出来た。それぞれのエステル体は Boc 化することによって、分液操作のみで簡便に精製できることも分かった。

B2-13 タンパク質の固相 PEG 化反応に及ぼす充填剤構造の影響
○飯盛 遊、吉本則子、山本修一 (山口大学・工)

【目的】PEG 化タンパク質は高い生体内安定性と低抗原性を持つ優れた医薬品である。しかし液相反応では複数の副生成物が生成する。このため精製に多段階の分離操作を要し、高い製造コストが問題となっている。その解決のため、我々はクロマトグラフィー担体を固相反応場として用い、反応と分離を連続的に行う固相反応操作(固相 PEG 化反応)を提案している。本実験ではその汎用性・効率を高めるためにタンパク質・カラムの種類を変更し固相 PEG 化反応を行った。

【方法・結果】液相反応は所定濃度のタンパク質・PEG 修飾剤溶液を試験管中で混合し進行させた。固相反応はタンパク質を吸着させたカラムに PEG 修飾剤を循環させ実施した。Cytochrome C(CytC)をモデルタンパク質として用いた場合、液相反応では副生成物が多数生成し、固相反応では希望成分のみ生成していた。これは CytC 中のリジン残基がカラム吸着に使われ、PEG 修飾が阻害されたためと考えられた。これらは LYS を用いた場合と同様の結果であり、LYS 以外のタンパク質についても固相 PEG 化反応は有用であることが確認された。また、LYS を用いて両性イオン交換体という特徴を持つアパタイトクロマトグラフィーでの固相反応を実施したところ、希望成分の収率が大幅に向上するという知見を得た。

B2-14 細管内層流速分布を利用した拡散係数の測定と分子形状の解析
○大島翔平、吉本 則子、山本 修一(山口大学・工)

【目的】細管内層流速分布を利用した Taylor 法は拡散係数の決定に良く用いられる。しかし、数 m の長い配管を用いた比較的液量を必要とする測定が多い。本研究では、精密な低流量ポンプを使用し、配管体積を $500\mu\text{L}$ 以下にマイクロ化した Taylor 法により、低分子量物質から測定が困難と言われている高分子量物質まで対応する拡散係数測定法の開発を行った。

【方法・結果】試料を細管にパルス状に注入し、応答曲線のピーク保持時間 t_R と時間基準の標準偏差 σ^2 から Taylor が導いた式により拡散係数 D_m を決定した。また、配管には $500\mu\text{L}$ 以下の peek tube を用い、制約条件([1]30 以上の理論段数の確保、[2]遠心力による混合効果が影響しないコイル径の設定 [3]死容積によるピーク分散 σ^2 に対する補正)にもとづき、測定流速、配管長さを決定した。また、死容積における分散を考慮して補正を行った。この結果、本研究で開発したマイクロ化 Taylor 法により、高分子量物質であるタンパク質についても、従来の文献値とほぼ同様の値の拡散係数を測定することができた。

また、拡散係数は、分子量ではなく分子形状(水力学的半径)により決定されるので、精密な測定により、溶媒環境における構造変化についての情報も得られる可能性がある。現在は PEG 化タンパク質における PEG 鎖の状態や DNA の構造変化についての解析も進めている。

葉緑体工学による有用植物の開発

- C2-1 ○中平 洋一¹, 鹿島 康浩², 椎名 隆³, 戸澤 譲^{1, 4} (¹愛媛大・VBL,
²(株)耐熱性酵素研究所, ³京都府大・生命環境, ⁴愛媛大・無細胞センター)

【目的】 従来の植物遺伝子組換え技術は、核ゲノムをターゲットとしており、組換えタンパク質の発現レベルは、細胞内全タンパク質の高々0.1%程度であった。これは、タンパク質生産工場として広く利用される組換え大腸菌には遠く及ばない。しかしながら、植物の葉緑体ゲノムを組換える「葉緑体工学」を用いると、細胞内全タンパク質の10%を超える発現が期待され、植物を宿主とした実用レベルの有用タンパク質生産が可能となる。我々は、この技術を活用することで、「植物バイオマスの利活用」や「養殖業の効率化」に役立つ植物の開発を進めている。

【方法・結果】 (1) 植物細胞壁の分解に資する「6種類の耐熱性糖化酵素」を、細胞内全タンパク質の10%以上のレベルで(個別に)大量発現する葉緑体形質転換タバコの作出に成功した。さらに、これらの植物を混合して適切な前処理を施すことで、発現させた耐熱性糖化酵素の働きにより、自己のセルロース系バイオマスの50%程度を可溶性の糖質(グルコースやキシロース等)として回収できることを確認した。(2) 高級魚であるマハタの養殖生産において最大の障害となる“ウイルス性神経壊死症”の予防に有効な「インターフェロン」を大量生産する葉緑体形質転換タバコの作出を試みている。

Deficiency in green leaf volatiles attenuates *Arabidopsis* early defense response against *Pseudomonas syringae*

- C2-2 ○Mugo Cynthia Nyambura¹, Alessandra Scala², 松井健二¹, 高林純示³,
Robert C. Schuurink² (¹山口大院医, ²アムステルダム大, ³京大生態研)

【目的】 Biotic and abiotic stresses on plants cause formation of a wide array of volatile compounds, such as green leaf volatiles (GLVs), jasmonates (JAs), salicylates (SAs), and so on. Here we compared the susceptibility of *Arabidopsis thaliana* ecotype *Landsberg erecta* (Ler) with the mutant *hydroperoxide lyase1* (*hpl1*) to *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. *hpl1* lacks the ability to form GLVs due to a mutation in the hydroperoxide lyase (HPL) gene. 【方法・結果】 The growth of DC3000 was found to be significantly higher in *hpl1* than in *Ler*. The higher bacterial growth in *hpl1* was associated to the lower amount of salicylic acid as compared to those in *Ler*. Trypan blue and aniline blue staining showed greater number of dead cells and lesser callose deposition in *hpl1*, respectively, while DAB staining showed earlier formation of H₂O₂ in *Ler* than in *hpl1*. Furthermore, the amount of (Z)-3-hexenal and (E)-2-hexenal were higher in *Ler* 24 h after infection. Therefore, we assume that lack of GLVs might weaken the early defense response of *Arabidopsis* against DC3000.

ジャコウアゲハの帯糸の黒色化機構の解析

C2-3 ○山中明¹, 林友萌子¹, 林絵里¹, 北沢千里², 落合正則³
(¹ 山口大理・生物, ² 山口大教育・理科教育, ³ 北大・低温研)

【目的】ジャコウアゲハ幼虫は、蛹化する前、蛹を固定するための糸（帯糸）を絹糸腺より吐糸する。この帯糸の色は、黒色あるいは白色となることが知られている。本研究では、帯糸の黒色化機構についてフェノール酸化酵素（Phenol oxidase: PO）に着目して検討をした。

【方法・結果】帯糸の黒色化がメラニン形成によるものかを検討するため、L-ドーパの酸化によって生じるドーパクロムの 520 nm の吸収を指標に、定性的に PO 反応の有無を調べた。その結果、絹糸腺粗抽出液においてドーパクロムの生成が認められたので、L-ドーパを酸化する PO が絹糸腺中にも存在することが示唆された。次に、フェノール酸化酵素前駆体（proPO）が絹糸腺に存在するの確かめるため、カイコガ幼虫の proPO 抗体を用いたところ、絹糸腺粗抽出液中にカイコガ proPO 抗体と交差反応を示すタンパク質バンドが検出された。また、ジャコウアゲハ絹糸腺由来の cDNA を合成し、カイコガ血球細胞 *proPOI* 遺伝子のプライマーを用いて PCR を行った。その結果、PCR 産物のバンドは絹糸腺で認められた。以上のことから、ジャコウアゲハの帯糸の黒色化は、絹糸腺で合成された PO を介したメラニン形成によるものであることが示唆された。

C2-4 ワタアブラムシの一次寄主植物から二次寄主植物への移動を、一次寄主植物であるムクゲに含まれる季節的な変化のみられる化学物質は刺激するの
か？
○山本 優, 川崎陽平, 金 哲史（高知大学・農）

【目的】

ムクゲを一次寄主植物とするワタアブラムシ個体群は、季節ごとに寄主となる植物を変化させ、単為生殖と有性生殖という異なる生殖方法を用いるなど、非常に複雑な生活環を持つことが知られている。

「なぜワタアブラムシは寄主植物を季節ごとに換えなければならないのか？」という古来よりの謎に対して、ムクゲの葉に含まれる化学成分の季節的な質的・量的変化に着目し、そこからこの疑問の解決を試みた。

【方法・結果】

ムクゲの葉を抽出し、分取した水画分を HPLC で分析したところ、無翅虫数が最大となる数日前にウリジンの濃度が最大となることを、また、有翅虫が増加している間、フマル酸の濃度も増加することを見いだした。

さらに、ムクゲの葉に含まれる化学物質を様々に組み合わせ添加した人工飼料を、パラフィルム薄膜を通してワタアブラムシに与えたところ、フマル酸が高い濃度で含まれるときの組み合わせが次の世代に有翅虫を出現させる傾向が示唆された。

ヤマトシロアリ兵隊アリが有する抗酸化物質の単離・同定の試み

C2-5 ○田崎英祐、赤壁義彦、井内良仁
 (山口大・農・生物機能)

【目的】 酸素呼吸を行う生物の体内では常に活性酸素種(ROS)が発生しており、過剰なROSは酸化ストレスとなって老化や寿命短縮の原因になると考えられている。社会性昆虫であるシロアリは一般の昆虫と比べて非常に長い寿命を持っており、現在この寿命の差を酸化ストレスに対する防御システムに注目し比較検討している。その過程で、ヤマトシロアリの兵隊アリの可溶性抽出液が、他の昆虫より高いフリーラジカル消去能を有することを見いだした。このような報告は今まで無く、新規抗酸化物質である可能性が高いと考えている。本研究では、ヤマトシロアリのソルジャーが有するこの物質を昆虫由来の新たな抗酸化物質の一つとして応用することを目的として、単離・同定を試みた。

【方法・結果】ヤマトシロアリのカースト別に抗酸化酵素活性とフリーラジカル消去活性について検討したところ、ソルジャーは他と比べカタラーゼ活性、スーパーオキシドディスムターゼ活性が最も低かったにもかかわらず、最も高いフリーラジカル消去活性を示した。また、その活性は30分間の煮沸やプロテアーゼ処理に影響されないことからタンパク質ではないと考えられた。さらに、どの部分に存在するのか調べたところ、中腸・後腸を除く腹部に局在することが分かった。

オカボノアカアブラムシの寄生によるイネ根部での代謝産物変動

C2-6 ○手林慎一、大西信太郎、及川 彰^{1,2}、佐々木亮介²、斉藤和季^{2,3}、
 上手麻希⁴、間世田英明⁴、石原 亨⁵
 (高知大,¹山形大,²理研,³千葉大院,⁴徳島大,⁵鳥取大)

【目的】イネの茎葉部における病害虫に対する抵抗性についての研究は数多く行われているが、根部を対象とした研究はほとんど行われていない。本研究では農作物の根に寄生する農業害虫であるオカボノアカアブラムシ(*Rhopalosiphum rufiabdominalis*)がイネ根に寄生すると、その寄生部位が褐変することを見出した。そこでこの寄生部位の代謝産物の変動解析を行うことで、イネ根の害虫の加害に対する応答機構の推定を行った。

【方法・結果】イネは人工気象器(27±3℃, 16L:8D)で栽培し、播種後4日目の芽生えにアブラムシを寄生させ試験に供した。代謝産物の変動解析のために植物試料をメタノールで抽出し、水とヘキサンで液-液分配した後に得られた水層15nLをCE-MS(Agilent)で分析した。また遺伝子発現解析のために、RNeasy Plant Mini Kit(キアゲン)を用いてイネ幼根からTotalRNAを調整した後、cDNAの合成を行い分析に供した。その結果、アミノ酸や生体アミン、低分子有機酸の増加が確認され、特にトリプタミンやセロトニンの増加が確認された。これらの生体アミンと桂皮酸誘導体類の縮合化合物群は、細胞壁の取り込みによりイネの生体防御機構であることが提唱されていることから、アブラムシの寄生に対しても同様な反応機構が発現したものと考えられた。

- C2-7 Synthesis of isothiazolol antagonists that act on insect GABA receptors
 OGenyan Liu, Kenjiro Furuta, Izumi Ikeda, Yoshihisa Ozoe
 (Dept. Biol. Sci. Biotechnol., Shimane Univ.)

【Objective】 γ -Aminobutyric acid (GABA) mediates fast inhibitory neurotransmission by binding to ionotropic GABA receptors, which are the important targets for insecticides. No competitive antagonist (CA) has been exploited as insecticide to date, and no effective CA is known for insect GABA receptors. In the present study, we seek to identify effective competitive antagonists for insect GABA receptors and examine their insecticidal activities against insect pests.

【Methods and Results】 4-(3-Biphenyl)-5-(4-piperidyl)-3-isothiazolol was first synthesized as a lead compound, and seven 4-aryl- or 4-alkyl-substituted 5-(4-piperidyl)-3-isothiazolols were subsequently synthesized via ten-step reactions. The antagonistic activities of these analogues were investigated using fluorometric imaging plate reader membrane potential assay with *Drosophila* S2 cells stably expressing common cutworm and small brown planthopper GABA receptors. Three target compounds showed over 70% inhibition of GABA-induced response at 100 μ M and showed approximately 40% inhibition at 10 μ M against common cutworm GABA receptors. The other compounds exhibited weak activities against both insect GABA receptors.

- C2-8 トビイロウンカ probing 行動刺激物質の単離、構造解析
 ○占 志恵, 金 哲史
 (高知大学・農)

【目的】 ウンカ・ヨコバイ類の摂食行動は口針挿入(probing)と吸汁(sucking)という二つの異なる過程からなることが明らかとなっている。これらの過程は主としてイネの化学的因子によって制御されている。本研究ではいまだ明らかとなっていないトビイロウンカ, (*Nilaparvata lugens*) の probing 行動刺激物質の全容を明らかにすることを試みた。

【方法・結果】 出穂期直前のイネ(cv. Toyonishiki)の茎葉を 90%MeOH で抽出後 Hexane で三回脱脂し、粗水溶性層を得た。生物検定の結果、Probing 行動刺激物質が粗水溶性画分中に含まれていることを確認し、この粗水溶性層を ODS 中圧カラムを用いて、分画したところ 40%MeOH 画分で最も高い活性を確認した。この画分からは HPLC を用いて、最終的に 10 の活性物質を単離した。得られた化合物は LC-MS と NMR を用いて Neocarlinoside、Schafotoside、Isoorientin、Neoschafotoside、Isoorientin 2''-O-(6'''-(E)-feruloyl)glucoside、Isoorientin 2''-O-(6'''-p-(E)-coumaroyl)glucoside、Luteolin 7-O-glucoside、Isoscoparin 2''-O-(6'''-(E)-feruloyl)glucoside、Isoscoparin 2''-O-(6'''-p-(E)-coumaroyl)glucoside、Isovitexin 2''-O-(6'''-(E)-feruloyl)glucoside であるとそれぞれ同定した。

セジロウンカに含まれる殺卵誘導物質の探求

C2-9 OYang JeongOh, 中山直哉、金 哲史
(高知大・農)

【目的】 セジロウンカがある種の日本型水稻に産卵すると、産卵部位が褐変・湿潤化が生じるとともに

Benzyl benzoate (BB)の生産が誘導、蓄積され、このBBがセジロウンカ卵を殺すことが知られている。当研究室では、その誘導機構解明に取り組み、セジロウンカ雌成虫中のエリシターが、BBの生産を誘導すること、加えて、そのエリシターの一部を1,2-dilinoleoyl phosphatidycholine (DLPC、 $22.4 \mu\text{g}/20 \text{ females}$)であることを既に明らかとした。本研究では、更なるエリシターの単離・構造解析を行った。

【方法・結果】 BBの生産を誘導するセジロウンカメス成虫の80%MeOH抽出物は、逆相系のODSopen Columnで分画され、活性のある100%MeOH層{ $43.95 \mu\text{g}/\text{g}$ (frp)}とEtOH層{ $31.04 \mu\text{g}/\text{g}$ (frp)}を得た。最も高い活性を示したMeOH層から、更にHPLCを用いて分画し、3つの活性物質を単離した。3つの活性物質は、NMR、LC-MSおよびGC-MSを用いて1, 2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine ($3.32 \mu\text{g}/20 \text{ females}$)と1-palmitoyl-2-oleoyl-X-glycero-3-phosphoethanolamine ($7.96 \mu\text{g}/20 \text{ females}$)1、2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine ($5.12 \mu\text{g}/20 \text{ females}$)であると同定した。

殺卵物質 Benzyl benzoate はセジロウンカを特異的に殺す？

C2-10 O中山直哉、YangJeong-Oh、金哲史
(高知大・農)

【目的】

イネの重要害虫であるセジロウンカがある種の日本型水稻に産卵すると、セジロウンカにより分泌されたエリシターがイネに殺卵物質 Benzyl benzoate (BB)を誘導させること、そしてそのエリシターがリン脂質であることを既に明らかとした。本研究ではこのセジロウンカ卵のみを特異的に殺卵するこの現象の解明に取り組んだ。

【方法・結果】

稲の葉鞘部を針で傷をつけ、トビイロウンカならびにツマグロヨコバイ卵の80%MeOH抽出物を注入したところ、セジロウンカ卵抽出物同様BBが誘導されることを確認し、それぞれの卵にリン脂質が含まれていることを確認した。また、それぞれの種のBB抵抗性を調べたところ、トビイロウンカとツマグロヨコバイ卵はセジロウンカ卵の1000倍以上もBB抵抗性があることが確認された。

カロライナジャスミン水可溶部に含まれる抗線虫活性成分

C2-11 ○長尾俊克、小林教代、泉実、中島修平
(岡山大院・環境生命)

【目的】日本において重要な森林資源であるマツに関して、マツノザイセンチュウを原因とするマツ材線虫病による急激な枯損が問題となっている。対応策として樹幹注入剤などが用いられているが、このような薬剤は一般的に高価であり、薬剤耐性能をもつ個体の出現や環境への影響に配慮する必要がある。よって、新たにより安価で安全な防除対策の確立が求められている。本研究は効果的な植物由来抗線虫剤開発を目指して、熱帯産植物であるカロライナジャスミンに含まれる水溶性の抗線虫活性成分を単離・構造解析することを目的とした。

【方法・結果】カロライナジャスミンのエタノール抽出物をヘキサン可溶部、酢酸エチル可溶部、水可溶部に分画した。このうち、これまでの実験で抗線虫活性が確認されている水可溶部を順相および逆相のシリカゲルクロマトグラフィーなどを用いて精製し、数種の活性画分を得た。その内の1つの画分に含まれる活性成分がイリドイドの一種の **gelsemiol** であることを、 ^1H NMR や ^{13}C NMR などの分析機器を用いて明らかにした。さらに、その誘導体を調製し、抗線虫活性を調べた。他の活性成分については現在検討中である。

植物生長抑制活性を有する D-アロース誘導体の構造活性相関

C2-12 ○橋谷矩史、柳田亮、川浪康弘 (香川大・農)

【目的】リパーゼを用いて D-アロース 6 位の水酸基を位置選択的にアシル化した D-アロース脂肪酸エステルは、レタスやクレスに対し高い生長抑制作用を持つことを報告している。

また、3 位の水酸基は生長抑制作用において重要であることが示唆されている。今回、D-アロース 1 位の水酸基の生長抑制作用における効果を検討するため、1 位炭素をアセタール化したアルキル-D-アロシドを合成し、レタスとクレスの生長試験を行い、生長抑制における構造活性相関を検討した。

【方法・結果】アルキル-D-アロシドは、イオン交換樹脂を用いて D-アロースとアルコールを 60°C 、48h 反応させ合成した。レタス、クレスの活性試験は、ペトリ皿に試料溶液を入れ、Tween20 水溶液を 0.8 mL 加え、レタス、クレスの種 10 粒をまき 25°C の暗所で 48h 育成し、胚軸と根の長さを測定し、コントロールに対する生長率で検定した。レタスの活性試験において、アルキル基の炭素鎖数が 8 から 12 へと大きくなるにつれて強い生長抑制作用がみられ、ドデシル-D-アロシドは D-アロースドデカン酸エステルに比べ、胚軸に対して約 8 倍、根に対して約 5 倍と活性が高かった。クレスの活性試験においては、デシル-D-アロシドとドデシル-D-アロシドは同程度の強い生長抑制活性を示した。

D-アロース脂肪酸エステルの血管新生阻害活性

C2-13 ○原内勇樹¹, 川浪康弘¹, 吉村麻衣¹, 塚本郁子²
(¹香川大農, ²香川大医)

【目的】 癌の増大・転移に血管新生が重大な役割を果たしているという新しい概念が提唱されてからこれまで、この血管新生を標的とした抗癌剤の開発が盛んである。我々は既に、希少糖の1つであるD-アロースに血管新生阻害活性があることを明らかにしている。さらに、アロースのC-6位に疎水性の直鎖脂肪酸を導入することで、阻害活性が向上することを報告している。今回、さらなる阻害活性の向上を目指し、脂肪酸の炭素鎖の長さが活性に及ぼす影響を検討した。

【方法・結果】 デカン酸およびドデカン酸ビニルとリパーゼを用いて、THF中、45℃、48時間の条件下でD-アロースの6位水酸基が位置選択的にアシル化されたD-アロースデカン酸およびドデカン酸エステルの合成を行った。ヒト臍帯静脈内皮細胞を線維芽細胞と共培養した24ウェルプレートを用い、positive control VEGF-A 10ng/mLと各種濃度に調製した被験物質を添加した培地で培養した(37℃、5%-CO₂)。10日後に形成された管腔を染色して面積を測定した。D-アロースデカン酸およびドデカン酸エステルには、オクタン酸エステルと比較し、約2.7倍および3.5倍強い血管新生阻害活性が見られた。しかし、炭素鎖を長くすると阻害活性の向上だけでなく、細胞毒性も増加した。

D-グロース脂肪酸エステルの合成と植物生長抑制活性

C2-14 ○内藤まどか、柳田亮、川浪康弘(香川大・農)

【目的】 D-アロースなどの希少糖は、植物生長調節作用、癌細胞増殖抑制作用などの生理活性を持つことが明らかにされている。さらに親水性であるD-アロースに疎水性の直鎖脂肪酸を導入したD-アロースデカン酸エステルではレタスに対する生長抑制活性が向上することを報告した。今回、D-アロースの4位の水酸基の効果を検討するために、4位のエピマーであるD-グロースからリパーゼを用いた位置選択的エステル交換反応によりD-グロースデカン酸エステルを合成し、レタスとクレスに対する生長抑制活性を検討した。

【方法・結果】 D-グロースと反応溶媒としてTHF、リパーゼとしてNovozym435を用いて、D-グロースとデカン酸ビニルのエステル交換反応を行い、D-グロースデカン酸エステルの合成を行った。レタスとクレスの活性試験法は、0.05% tween20溶液で濃度調製した試料溶液をペトリ皿に加え、各種子10粒を25℃暗所で2日間育成させ、下胚軸と根を測定した。活性試験の結果、レタスに対するD-グロースデカン酸エステルの生長抑制活性はD-アロースデカン酸エステルの1/3となり、クレスに対する生長抑制活性は1/4となった。このように、D-アロースの4位エピマーであるD-グロースでは活性が下がったことから、生長抑制活性には4位の水酸基よりも3位の水酸基の向きが重要であると考えられる。

- D2-1 *Aptenia cordifolia* から単離されたネオリグナン、Apteniol 類の合成
○西川耀, 野下俊朗¹, 大内秀一², 木立由美², 齊藤安貴子³ (県立広島大
院・生命,¹ 県立広島大・生命環境,² 青森大・薬,³ 大阪電通大・工)

【目的】*Aptenia cordifolia* は南アフリカ原産の多肉植物であり、本植物から単離された apteniol 類は diaryl ether 型オキシネオリグナンである。Diaryl ether 構造を有する化合物は抗腫瘍活性や抗炎症活性、抗菌活性などの強い生物活性を持つものが多く報告されているが、apteniol 類については発芽抑制活性や抗菌活性の報告があるのみで、抗腫瘍活性や抗炎症活性については報告されていない。そこで、apteniol 類の生物活性評価を目的として、これらの化合物の合成を行った。

【方法・結果】基本骨格の diaryl ether は Ullmann エーテル合成により構築した。すなわち、*p*-bromo benzaldehyde と vanillin とのカップリングにより apteniol G を合成した。また、*p*-bromo benzaldehyde と *p*-hydroxy benzaldehyde とをカップリングさせ、得られたジアルデヒドを Horner-Wadsworth-Emmons 反応で増炭、ジエステルとした後、ジカルボン酸へ変換し apteniol A を合成した。同様の方法で、apteniol B 及び F を合成し、さらに、apteniol B のエステル化により apteniol C を合成した。合成した apteniol A、B、C、G の ¹H-NMR データは天然物のそれと一致したが、apteniol F については一致しなかったため、その構造について再度検討している。合成した apteniol 類の生物活性評価については現在検討中である。

- D2-2 カヤ(*Torreya nucifera*)に含まれる機能性成分の探求
○白木香奈¹、永易千明¹、前川穎司²、金 哲史¹
(¹ 高知大農・² 前川種苗(株))

【目的】イチイ科に属するカヤは本州、四国、九州に分布しており、雌雄異株の常緑針葉高木である。種子から採取される油は食用として、材は加工容易な良材で碁盤、将棋盤として賞用される。しかし、カヤの生長は極めて遅く、高さ 25m、直径 1m 以上になるには、300 年かかり、その間の間伐材などの多くは廃棄物として処分されている。そこで本研究では、これら廃棄物の有効利用を目的として、カヤに含まれる機能性成分を探求した。

【方法及び結果】カヤ根部、実、皮を MeOH で抽出・濃縮後、Hexane で分液し、それぞれの水層と Hexane 層を得た。これらの水層および Hexane 層を用い、①抗菌活性②抗酸化活性③抗ウイルス活性を調べたところ、根部水層に抗酸化活性、皮へキサン層に抗ウイルス活性が見られ、特に活性の強かった根部水層の抗酸化活性成分を調べた。まず、根部水層を ODS 中圧カラムにチャージし、4 つの画分に分画した。それらの抗酸化作用を調べたところ、100%MeOH 画分に活性が認められたため、60%、80%、100%MeOH を用い再び ODS カラム分画した。得られた画分のうち、80%MeOH 画分に最も強い活性が見られたため、この画分を逆相系の HPLC に供し保持時間により 3 画分(Fr.a~Fr.c)に分画した。現在、最も高い抗酸化活性を示した Fr.c から 2 種類の化合物の単離・同定中である。

ゴマ種子に含まれる anthrasesamone F に関する研究 (1)

D2-3 ○西本潔司、古本敏夫
 (香川大農)

【目的】本研究室ではゴマの根および毛状根に含まれるキノン類に関する研究を行なっている。最近、他の研究グループにより、根に含まれるアントラキノン類と同じ炭素骨格を有する anthrasesamone F (ASF) が黒ゴマ種子から単離・構造決定された。また、白ゴマ種子には ASF が含まれていないことも報告されている。¹⁾ 本研究ではゴマアントラキノン類生合成研究の一環として、種子の部位別 ASF 含有量と種皮色別 ASF 含有量を調査することを目的とした。

【方法・結果】実験材料として、2010 年に香川大学農学部内圃場で栽培、収穫した黒・金・白ゴマ種子を用いた。まず、黒ゴマ種子を種皮(外種皮と内種皮)と種皮以外(残存胚乳と子葉)の 2 つの部位に分け、それぞれの MeOH 抽出物に関し HPLC を用いて定量分析を行った。その結果、ASF は種皮に蓄積していることが明らかになった。次に、種皮色別(黒・金・白ゴマ種子)の定量分析を行った結果、ASF 含有量は黒ゴマで圧倒的に多かった(107 μ g/g 種子)。一方、微量ではあるが金ゴマ(5 μ g/g 種子)や白ゴマ(0.5 μ g/g 種子)種子にも ASF が含まれていることが今回、明らかになった。

1) Kim KS and Park SH, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72, 1626-1627 (2008).

トマト果実におけるアスコルビン酸蓄積機構の解明

D2-4 ○志村智美¹, Badejo A. Adebajo¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹ (¹島根大・生資科・生命工, ²近畿大・農・バイオ)

一般に果実は植物組織中でも高濃度のアスコルビン酸 (AsA) を含有しているが、その生合成調節機構は未解明である。本研究では果実のモデル植物としてトマト (*Solanum lycopersicum* L. cv. 'Micro-Tom') に着目し、果実成熟過程における AsA レベルと生合成経路との関連について調べた。トマト果実の AsA 含量は、Immature Green (IMG) から Red (RD) までの成熟過程で約 2 倍に増加した。緑葉に[6-¹⁴C]AsA を注入してトレーサー実験を行ったところ、IMG 果実に強いシグナルが観察され、葉中 AsA の未成熟果実特異的な転流機構の存在が示唆された。更に果実成熟過程におけるトマトの D-マンノース/L-ガラクトース経路構成酵素遺伝子の発現レベルは、AsA 量の増加に反して抑制される傾向が認められた。RD における AsA 蓄積機構を調べるため、種々の AsA 生合成前駆体の影響を検討したところ、D-ガラクトツロン酸 (D-GalUA) の添加により AsA 量の有意な増加が認められた。また D-GalUA 経路を構成する D-GalUA 還元酵素およびアルドノラクトナーゼ (ALase) 活性について調べた結果、いずれも果実の膜画分に有意な活性が検出され、特に RD 段階の ALase 活性は IMG の約 2 倍に増加していた。

D2-5 ミオグロビンに対するポリフェノールのプロオキシダント作用とその制御
○稲井美由紀¹, 藤本彩¹, 増田晃子², 山内聡³, 増田俊哉¹
(¹徳島大院・総合, ²四国大・生活, ³愛媛大・農)

【目的】我々の研究グループでは、ポリフェノールの様々な抗酸化関連機能を研究してきた。¹⁾ ところで、鮮やかな食肉の色であるオキシミオグロビンは、ミオクロビンのヘム部 [Fe(II)] にすでに酸素が配位しており、pH や脂質酸化物の作用により容易に酸化され、褐色のメトミオグロビン [Fe(III)] になる。一方、ポリフェノールには強い抗酸化作用が知られており、そのミオグロビン酸化に対する効果を検証した

【方法・結果】27 種のポリフェノールの効果を、市販のメトミオグロビンから還元調製したオキシミオグロビンで検討した。酸性条件のみならず、オキシミオグロビンが比較的安定な pH 7.4 の条件においても、いくつかのポリフェノールは、期待された抗酸化作用ではなく、メト化促進作用を示すことが明らかになった。メト化作用を示したポリフェノールは、一般に抗酸化性が強いとされるものであるため、この効果は、物質自身の反応性に由来するプロオキシダント作用と考え、その制御を試みた。結果、システインの共存によりその効果は強く抑えられ、また側鎖にアミノ基を有するアミノ酸によっても若干の防止効果が認められた。

1) 藤本, 増田: *New Food Industry*, 53, 28 (2011)

D2-6 カヤ果皮抽出物が示すスーパーオキシドアニオン消去活性
○柏木文弘¹, 相原房代¹, 西岡寛美¹, 金哲史¹, 島村智子¹, 受田浩之¹, 前川 穎司² (¹高知大・農, ²(株)高知前川種苗)

【目的】カヤ(*Torreya nucifera*)は、イチイ科カヤ属に属する雌雄異株の常緑高木で、高級な碁盤や将棋盤に加工され、その果実は、果実酒や、食用油の原料として一部の地域で利用されている。本研究では、このカヤ果皮 MeOH 抽出物が示す高いスーパーオキシドアニオン消去活性 (SOSA) に注目し、その関与成分の特定を試みた

【方法・結果】SOSA は SOD Assay Kit-WST (同仁化学研究所製) を用い、50%阻害濃度 (IC₅₀) を活性の指標とした。カヤ果皮 MeOH 抽出物を Hexane で液液分配して得られた水溶性画分の SOSA を測定したところ、非常に強い活性が認められた (IC₅₀ = 5.2 mg eq./mL)。そこで、この水溶性画分を ODS 中圧カラムクロマトグラフィーで極性に従い順次溶出した。その結果、20% MeOH 画分に最も高い活性が認められた (IC₅₀ = 31.5 mg eq./mL)。そこで 20% MeOH 画分を逆相系の HPLC に供し、5 つの画分に分画し活性を測定した。その結果、Fr. 1、Fr. 2 と Fr. 4 に活性が認められた。そこで、単一のピークで活性を示す Fr. 2 と Fr. 4 より、それぞれ化合物 A、B を単離し構造解析を行った。化合物 A は (*E*)-*p*-coumaryl alcohol 4-*O*-β-D-glucopyranoside (IC₅₀ = 0.41 mg/mL, 67.1 μg/果皮 1 g)、化合物 B は (*E*)-coniferyl alcohol 4-*O*-β-D-glucopyranoside (IC₅₀ = 0.45 mg/mL, 105.1 μg/果皮 1 g) と同定された。

ビタミン B₁₂ アルキルアミン誘導体の生物活性について

D2-7 ○美藤友博¹, 安井麻里子², 大塚賢二¹, 藪田行哲¹, 一柳剛¹, 河野強¹,
山地亮一², 乾博², 中野長久³, 渡辺文雄¹
(¹鳥取大・農, ²阪府大・生命環境科学, ³大阪女子短期大学)

【目的】ビタミン B₁₂(B₁₂)欠乏症の発症機構を解明するために食餌性 B₁₂ 欠乏ラットの調製が試みられているが調製法が煩雑である。そこで、内因子やトランスコバラミンとの結合能を有し、経口投与が可能な B₁₂ の特異的阻害剤を開発し、B₁₂ 欠乏動物の簡便な調製法を確立することを目的とし、既存の B₁₂ 酵素阻害剤である B₁₂[c-lactam]と比較検討を行った。

【方法・結果】B₁₂ アルキルアミン誘導体は McEwan らの方法に準じて調製した。B₁₂[c-lactam]は Bonnett らの方法を改良して調製した。サル腎臓由来培養細胞 Cos-7 への投与実験においては、OH-B₁₂ 及び OH-B₁₂ アルキルアミン誘導体ならびに OH-B₁₂[c-lactam]を添加し、B₁₂ 依存酵素活性に及ぼす影響を検討した。Cos-7 細胞の培地中に OH-B₁₂ アルキルアミンを添加した時、B₁₂ 依存酵素の活性は顕著に低下した。OH-B₁₂ アルキルアミン誘導体の阻害作用は既存の B₁₂ 阻害剤である OH-B₁₂[c-lactam]よりも強力であった。また、B₁₂ アルキルアミン誘導体を線虫に投与した結果、1 世代目(3 日)で B₁₂ 欠乏状態を示した。食餌性 B₁₂ 欠乏線虫の調製には 5 世代継代(15 日間)を必要とすることから、短期間に B₁₂ 欠乏動物を調製することが可能であると示唆された。

ビタミン B₁₂ が線虫 (*C. elegans*) の体内葉酸レベルに及ぼす影響

D2-8 ○今井恵美¹, 前川由紀奈¹, 美藤友博¹, 松永洋平¹, 河野強¹, 藪田行哲¹,
渡辺文雄¹ (鳥取大・農)

【目的】生体内でビタミン B₁₂ (B₁₂) と葉酸の 2 種類のビタミンは、メチオニン合成酵素の補酵素と基質として非常に深く関連している。しかし、両ビタミンの相互作用についての情報は少ない。ヒトのモデル生物である線虫 (*C. elegans*) において B₁₂ 依存性メチオニン合成酵素が重要な生理機能を有することが明らかとなった。そこで、B₁₂ と葉酸の相互作用を解明するために線虫を用いて検討した。

【方法・結果】低栄養培地である M9 最小培地に B₁₂ (100μg/L) を添加した培地と B₁₂ 無添加の培地にて 5 世代継代的に生育させた線虫をそれぞれ B₁₂ 供給線虫ならびに B₁₂ 非供給線虫として実験に用いた。また、栄養豊富な NGM 培地で生育した線虫をコントロール線虫とした。線虫体内の葉酸含量を微生物学的定量法で測定した結果、B₁₂ 供給線虫においてコントロール線虫、B₁₂ 非供給線虫と比較して葉酸レベルが有意に高かった。そこで、B₁₂ の供給が葉酸レベルに与える影響について検討するため、線虫において葉酸の腸管吸収に関与する受容体 (FOLT-1) のタンパク質レベルと mRNA レベルを検討した。その結果、B₁₂ 非供給線虫と比較して B₁₂ 供給線虫では、FOLT-1 タンパク質と mRNA の両方の発現レベルが上昇していることが明らかとなった。

ハマチ内臓残渣由来魚油のラット耐糖能および脂質代謝に及ぼす影響

D2-9 水重 貴文^{1,2}、○岸田 太郎¹、菅原 卓也¹、海老原 清¹ (¹愛媛大農、²京都大院農)

【目的】愛媛県南予エリアの養殖漁業において排出されるハマチ残渣は、その多くが産業廃棄物として処理されているが、これらには多くの機能性成分が潜在している。本研究では、ハマチ残渣より魚油成分を抽出し、耐糖能および脂質代謝に与える影響を調べた。

【方法・結果】ハマチ残渣のミンチを、105℃で 60 分間、蒸気加熱後遠心濾過し、上清の油脂を含む液状画分を回収した。液状画分を、高速遠心分離機を用いて 4℃で 10 分間、遠心分離し、上清の油脂画分を回収した。5 週齢オス SD 系ラットに AIN93 に準じた対照飼料を 24.5%までコーン油で油脂を強化した高脂肪対照飼料 (HF) を与えて 4 週間予備飼育した。その後群分けし、HF、HF の脂肪のうち 7 %をハマチ魚油、および市販のイワシまたはタラ魚油に置き換えた飼料をそれぞれ与え、5 週間飼育した。ハマチ魚油のエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸含量は、他魚種より高い値を示した。試験開始 4 週目に耐糖性試験を行ったところ、ハマチ魚油摂取群およびタラ魚油摂取群のグルコース濃度曲線下面積は、HF 群のそれと比較して、有意に減少した。ハマチ魚油摂取群の血清総コレステロール量は、HF 群のそれと比較して、有意に減少した。その減少は、Non-HDL コレステロール量の減少によるものだった。

トレハロースのメタボリックシンドローム予防への可能性

D2-10 溝手晶子、山田未佳、松本洋介、新井千加子、宮田学、新井成之、三鼓仁志、太田恒孝、福田恵温 ((株)林原 研究開発本部)

【目的】トレハロースはマウスを用いた動物実験において高脂肪食(HFD)摂取による腸間膜脂肪細胞の肥大化を抑制し、インスリン抵抗性の進行を抑制することが報告されている¹⁾。本作用がメタボリックシンドロームの予防に有効かどうかを調べるため、糖尿病モデルマウスを用いて検討した。

【方法・結果】KK/Ta マウス(♂、6 週齢)に餌として HFD、飲用水として水または濃度 0.15%(w/v)、1.25%(w/v)のトレハロース溶液を与えて飼育した。摂取開始後 3 週間目に糖負荷試験、4 週間目に内臓脂肪の組織学的評価、ならびに脂肪組織および筋組織の遺伝子発現解析を行った。トレハロースは体重や耐糖能には影響を及ぼさなかったが、HFD による腸間膜脂肪細胞の肥大化を有意に抑制した。また、トレハロースは精巣周囲脂肪組織における炎症性細胞の浸潤および炎症性サイトカイン PAI-1 の mRNA 発現亢進を抑制し、血漿中の PAI-1 量を低下させた。さらに HFD による脂肪組織や大腿筋におけるインスリン受容体基質 IRS の mRNA 発現低下をトレハロースは改善する傾向にあった。以上より、トレハロースは、HFD 摂取によるメタボリックシンドロームから糖尿病への進展を抑制することが示唆された。1) Arai C. *et al.*, *Nutr. Res.*, 30: 840-848, 2010.

糖転移ヘスペリジンによるビタミン C 維持作用の *in vitro* 解析

D2-11 ○遠藤伸, 松本洋介, 三鼓仁志, 太田恒孝, 久保田倫夫, 福田恵温
(株) 林原 研究開発本部)

【目的】我々はこれまでに糖転移ヘスペリジンがビタミン C (VC) 合成能欠如ラットの生体内 VC 量を維持すること、さらにそのアグリコンであるヘスペレチンがラット脾細胞内の VC 維持に寄与することを報告している¹⁾。本研究では、ラット脾細胞培養系を用い、ヘスペレチンによる VC 維持作用のメカニズムを解析した。

【方法・結果】6~12 週齢の雄性 SD ラットから調製した脾細胞にヘスペレチンを添加し、24 時間後に VC を添加した。その後、培養時間を変えて細胞内 VC 量の測定および遺伝子解析を行った。ヘスペレチン処理細胞では、細胞内の還元型 VC 量が無処理の細胞に比べて有意に上昇し、ヘスペレチンは細胞内 VC の還元作用に関与していることが示唆された。さらに、ヘスペレチン処理細胞は無処理細胞に比べて、細胞内 VC リサイクルに関連するチオレドキシンリダクターゼ 1 (TR1) およびデヒドロアスコルビン酸リダクターゼ (DHA-R) の mRNA 発現量がそれぞれ約 1.5 倍有意に上昇していた。以上の結果から、ヘスペレチンは、TR1 や DHA-R 発現を上昇させることによって、VC を酸化型から還元型に変換させ、細胞内 VC を維持することが示唆された。

1) 松本ら、日本農芸化学会 2011 年度大会要旨集、p. 54

p-ニトロフェニル基を有する糖質誘導体の合成

D2-12 ○篠塚早紀, 中島修平, 泉 実
(岡山大院・環境生命)

【目的】ガラクトフラノースは真菌や寄生虫に含まれるほか、結核菌類の細胞壁に大量に含まれている。強力な免疫原性を持っており、病原菌を選択的に排除する上で重要であると考えられている。そのため糖鎖関連化合物は抗炎症剤、抗感染薬、癌転移抑制あるいは免疫増強剤の誘導体として注目されている。しかし、生物にとって重要な機能を持つ糖鎖は天然には微量にしか存在せず、また多くの場合構造が不均一であるため、精密な機能解析が困難であることが多い。糖鎖の機能解明には糖に p-ニトロフェノール (pNP) がグリコシド結合した pNP 糖が用いられるが、ガラクトフラノースの pNP 糖は完全な合成法が確立されていると言えない。そこで本研究では、pNP-ガラクトフラノシドの合成を行った。

【方法・結果】窒素雰囲気下、ピリジン中で加熱を行い、ガラクトースの異性化を行った後、無水酢酸などを用いて水酸基のアセチル化を行った。アセチル体のアノマー位を臭化水素/酢酸を用いてブロモ化し、ついで pNP の銀塩とグリコシド化を行った。NMR などの機器測定や、ガラクトシダーゼを用いて検討した結果、六員環糖の pNP-ガラクトピラノシドが生成しており、五員環糖の pNP-ガラクトフラノシドの生成はごくわずかであった。異性化が十分に進行していなかったためと考え、異性化の条件を現在検討している。

果実・野菜の乾燥における前処理効果

D2-13 OLa Choviya Hawa, Suriah Binti Ali, 藤井幸江、吉本則子、山本修一
(山口大学・工)

【目的】 果実・野菜の品質を保持したままで乾燥することは長期保存・流通に関連して重要である。しかしながら、液状食品と比較して乾燥方法の検討は不十分である。本研究では特に前処理と乾燥速度および乾燥製品の形状の関係について検討した。

【方法・結果】 試料としてスライスしたポテト、ニンジンおよびレモンを使用した。前処理としては、水蒸気ブランチングと糖溶液(トレハロースあるいはマルトシルトレハロース)への浸漬を実施した。乾燥実験は比較的低温の 30–40℃で湿度を制御した熱風乾燥装置で行い、重量変化を測定した。また、乾燥中および乾燥後の試料の外観・形状について検討した。ブランチング処理についてはパーキシダーゼ活性の測定も実施した。

ポテトおよびニンジンの乾燥においてはブランチングとトレハロースあるいはマルトシルトレハロースの浸漬による前処理で乾燥時の変色と変形が抑制できた。また乾燥時間については、大きな変化は見られなかった。高湿度乾燥では変形は抑制できたが、長時間の乾燥が必要であった。レモンの乾燥速度は非常に遅く、またブランチングにより乾燥速度が大幅に増加した。レモン果汁の乾燥速度に比較しても、非常に遅く、レモン果実の構造が重要な役割を果たしていると考えられる。

日本農芸化学会中四国支部賛助企業（65 社）

天野エンザイム（株）岐阜研究所	マルキン忠勇（株）技術研究所
アルファー食品（株）	丸善製菓（株）
（株）井ゲタ竹内	マルトモ（株）
池田糖化工業（株）	三島食品（株）
（株）猪原商会 山口営業所	（株）宮田薬品
（株）大熊	（株）無手無冠
大塚アグリテクノ（株）	ヤスハラケミカル（株）
大塚器械（株）西条支店	ヤマキ（株）
岡山県酒造組合	（株）やまだ屋
社団法人岡山県農業開発研究所	山本薬品（株）
オハヨー乳業（株）	ルナ物産（株）
（株）海産物のきむらや	湧永製菓（株）中央研究所
片山化学工業(株)岡山営業所	（五十音順）
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中国四国岡山支店	
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）	
帝國製菓（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）	

支部からのお知らせ

- 第 35 回講演会（支部創立 10 周年記念例会）
開催日：2013 年 1 月 26 日（土）
場所：高知大学農学部
内容：一般講演
世話人：金 哲史（高知大学農学部）
- 第 36 回講演会（支部例会）
開催日：2013 年 6 月 8 日（土）
場所：島根大学生物資源科学部
内容：一般講演
世話人：川向 誠（島根大学生物資源科学部）
- 第 22 回市民フォーラム（支部創立 10 周年記念）
開催日：2013 年 1 月 26 日（土）
場所：高知大学農学部
内容：資源としての高知の植物の魅力（仮称）
世話人：金哲史（高知大学農学部）
- 若手研究者シンポジウム（支部創立 10 周年記念）
開催日：2012 年 10 月 27 日（土）
場所：徳島大学総合科学部
内容：「生物資源化学の新たな展開」
世話人：中村光裕（徳島大学大学院ソシオアートアンドサイエンス研究部）

日本農芸化学会中四国支部事務局

〒753-8515 山口市吉田 1677-1

山口大学農学部内

ホームページ：<http://jsbba-cs.jp/>