

学会創立90周年記念
日本農芸化学会中四国支部第41回講演会

講演要旨集

日時：2015年1月24日（土）13時10分開会
場所：水産大学校 講義棟

日本農芸化学会中四国支部

日本農芸化学会中四国支部第41回講演会（例会）

会 場： 水産大学校 講義棟

開催日： 2015年1月24日（土）

11:00～12:00 幹事打合せ (講義棟4階 セミナー室)

12:10～13:00 支部参与会 (講義棟4階 No. 41講義室)

13:10～13:35 2014年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞受賞講演
(講義棟4階 No. 43講義室)

「消化管のタイトジャンクション機能を制御する食品成分・生体内因子に関する
基礎的研究」

鈴木卓弥（広島大院・生物圏）

13:35～15:20 ミニシンポジウム「農芸化学によって拓かれる水産の未来」
(講義棟4階 No. 43講義室)

13:35～13:40 開会の挨拶
原田和樹（水大校・食品科学）

13:40～14:05 「伝統食品加工技術を応用した新たな水産発酵食品の開発」
福田 翼（水大校・食品科学）

14:05～14:30 「食用海藻の高付加価値化につながる抗アレルギー成分」
杉浦義正（水大校・食品科学）

14:30～14:55 「水産食品の安心・安全確保に向けた毒素検出法の開発」
池原 強（水大校・食品科学）

14:55～15:20 「攻めの水産業における香りの可能性」
赤壁善彦（山口大・農）

15:35～17:47 一般講演 (講義棟 No. 31-35, 41, 42講義室)

19:00～21:00 懇親会 (春帆楼本店)

一般講演 会場一覧表

会場		講演番号	分類
A	No. 41講義室	A-1 ~ A-11	微生物（遺伝子・機能解析）
B	No. 42講義室	B-1 ~ B-11	微生物（代謝・分離）
C	No. 35講義室	C-1 ~ C-11	酵素・タンパク質
D	No. 31講義室	D-1 ~ D-10	有機・天然物・動物
E	No. 32講義室	E-1 ~ E-10	植物
F	No. 33講義室	F-1 ~ F-11	食品
G	No. 34講義室	G-1 ~ G-10	細胞・生理

一般講演 座長一覧表

会場		講演番号	座長
A	No. 41講義室	A-1 ~ A-4	高坂智之（山口大・農）
		A-5 ~ A-7	田中直孝（香川大・農）
		A-8 ~ A-11	阿座上弘行（山口大・農）
B	No. 42講義室	B-1 ~ B-4	星田尚司（山口大院・医）
		B-5 ~ B-7	北村憲司（広島大・自然科学研セ）
		B-8 ~ B-11	片岡尚也（山口大・農）
C	No. 35講義室	C-1 ~ C-4	金尾忠芳（岡山大院・環境生命）
		C-5 ~ C-8	高田悟郎（香川大・農）
		C-9 ~ C-11	三本木至宏（広島大院・生物圏）
D	No. 31講義室	D-1 ~ D-3	松井健二（山口大院・医）
		D-4 ~ D-7	野下俊朗（県広大・生命環境）
		D-8 ~ D-10	前田 恵（岡山大院・環境生命）
E	No. 32講義室	E-1 ~ E-4	肥塚崇男（山口大・農）
		E-5 ~ E-7	手林慎一（高知大・農）
		E-8 ~ E-10	宗正晋太郎（岡山大院・環境生命）
F	No. 33講義室	F-1 ~ F-4	福田 翼（水大校・食品科学）
		F-5 ~ F-8	池原 強（水大校・食品科学）
		F-9 ~ F-11	和田律子（水大校・食品科学）
G	No. 34講義室	G-1 ~ G-3	杉浦義正（水大校・食品科学）
		G-4 ~ G-6	宮田昌明（水大校・食品科学）
		G-7 ~ G-10	前田俊道（水大校・食品科学）

注意)

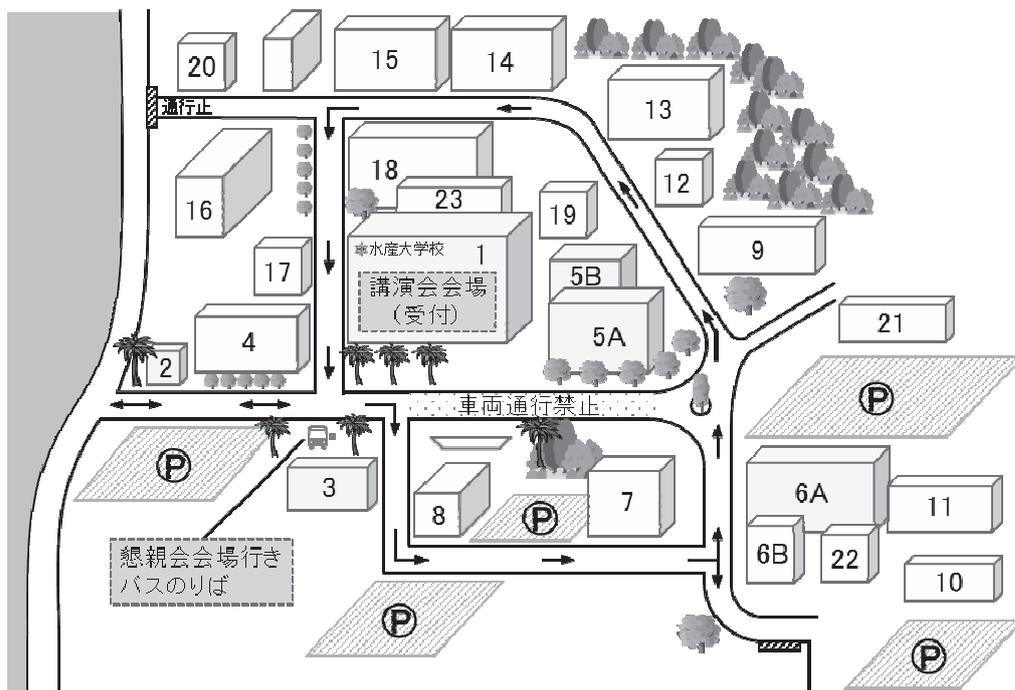
1. OHCを用いた口頭発表にて行います。操作は各発表者でお願いします。
2. 発表 9分，質疑応答 3分厳守で進行をお願いします。

支部講演会・ミニシンポジウム会場案内 水産大学校 講義棟

(〒759-6595 下関市永田本町 2-7-1)

受付	1階	ラウンジ
受賞講演・ミニシンポジウム会場	4階	No. 43 講義室
一般講演	A会場：4階	No. 41 講義室
	B会場：4階	No. 42 講義室
	C会場：3階	No. 35 講義室
	D会場：3階	No. 31 講義室
	E会場：3階	No. 32 講義室
	F会場：3階	No. 33 講義室
	G会場：3階	No. 34 講義室
幹事打合会場	4階	セミナー室
支部参与会場	4階	No. 41 講義室
休憩室	3階	No. 36 講義室

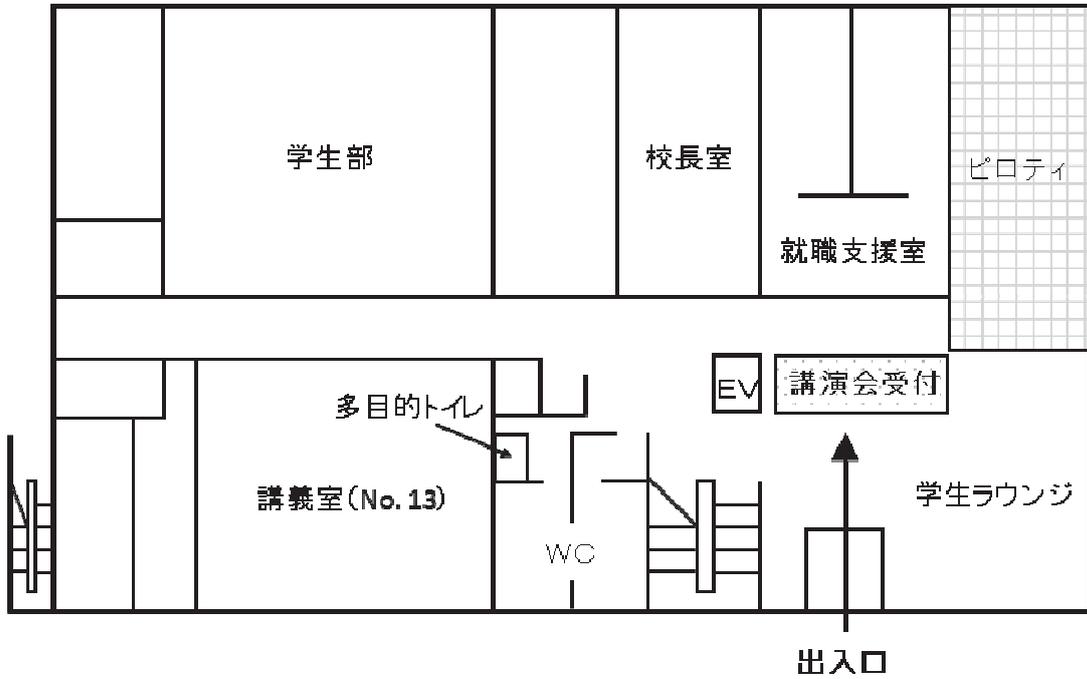
【構内案内図】



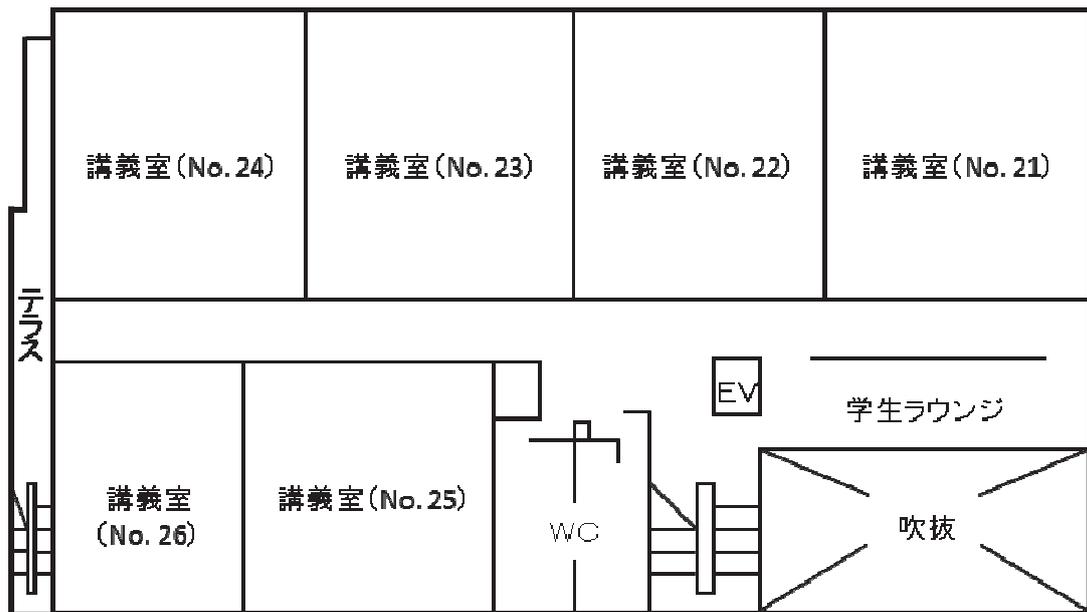
- | | | |
|-----------------|----------------|-----------------------|
| 1. 講義棟（講演会会場） | 9. 食品加工実習工場 | 17. 機械棟 |
| 2. 守衛所 | 10. 標本館 | 18. 三学科共用実験棟 |
| 3. 武道館 | 11. 水産生物飼育培養棟 | 19. マルチメディアネットワークセンター |
| 4. 本館 | 12. 水産情報館 | 20. 国際交流会館 |
| 5. 二学科共用実験棟 | 13. 船用機械総合実験棟 | 21. 学生合宿棟 |
| 6. 共同研究棟 | 14. 内燃・制御実験棟 | 22. 大型回流水槽棟 |
| 7. 図書館 | 15. 海洋機械工作実習工場 | 23. 海洋生産実験・教育棟 |
| 8. 学生コミュニティーホール | 16. 舟艇管理棟 | |

講義棟（講演会会場）

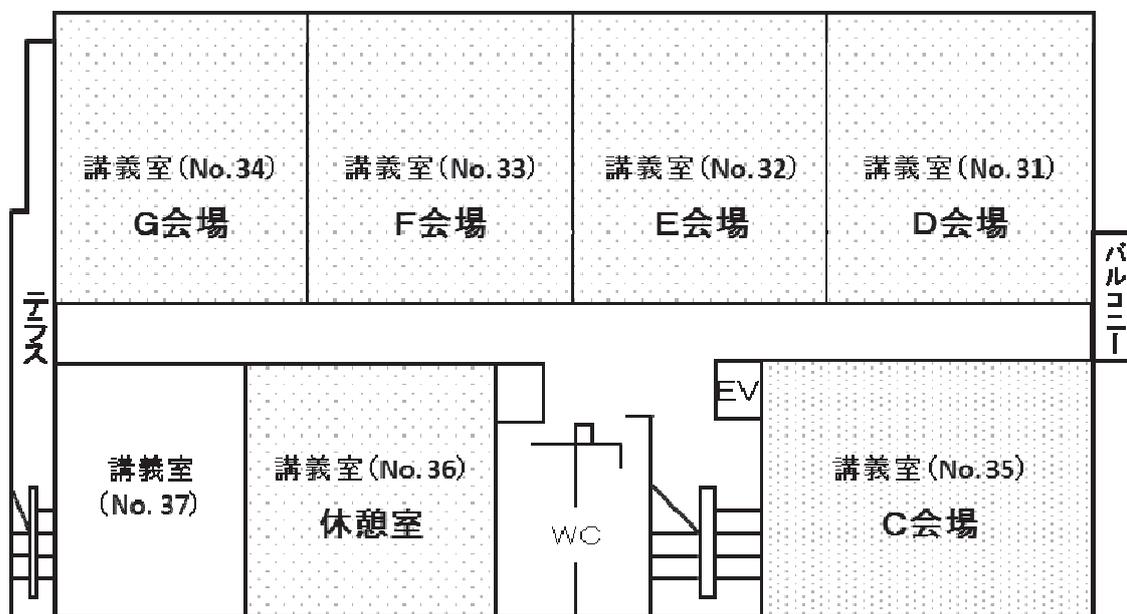
1階



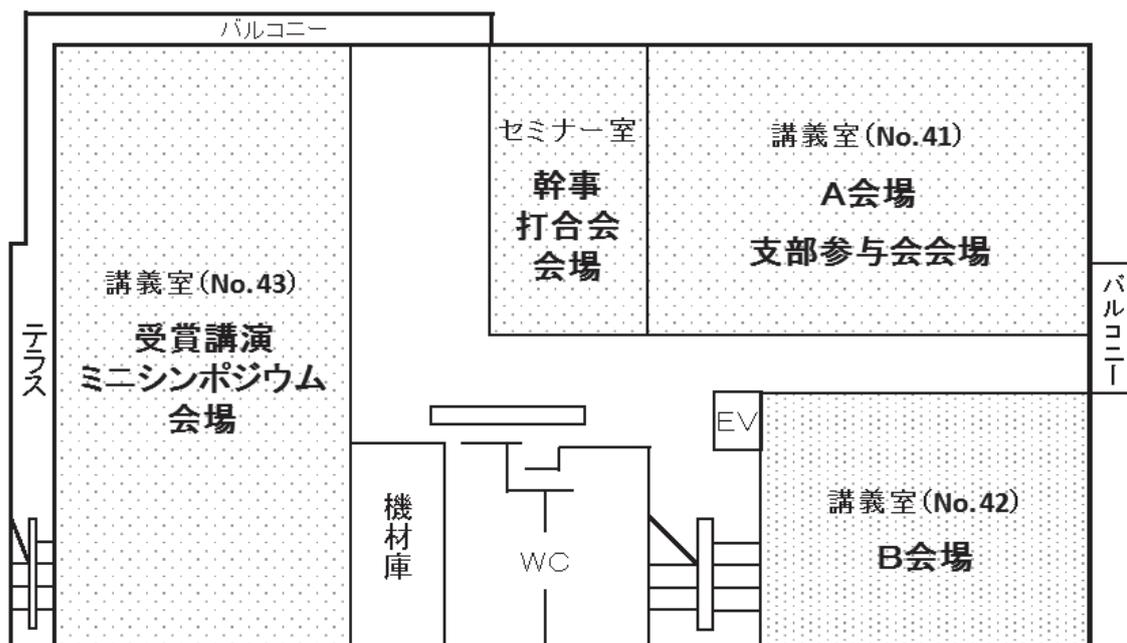
2階



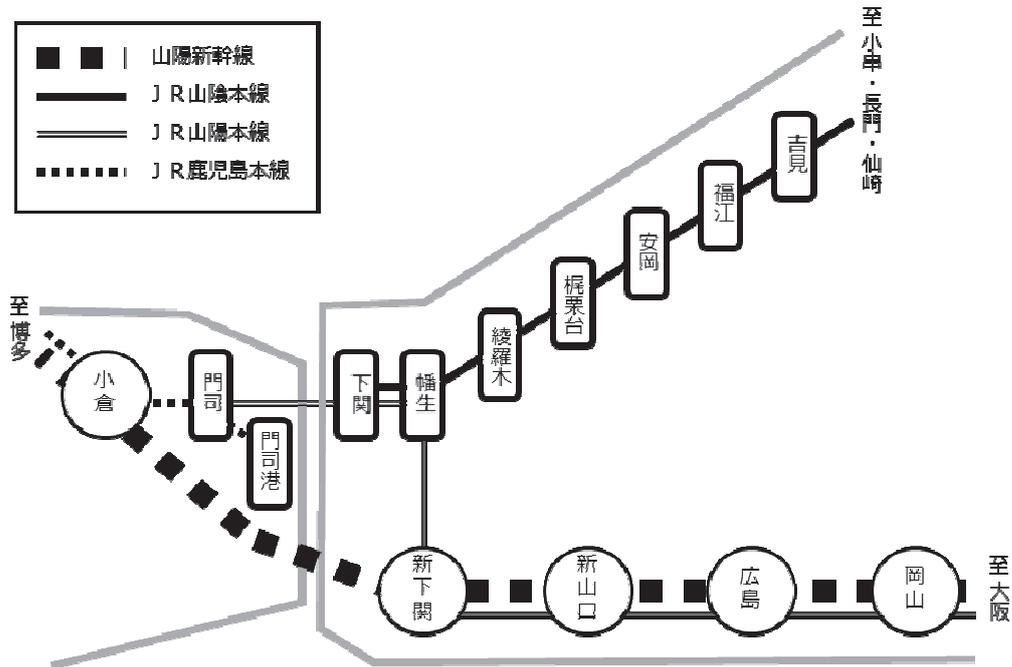
3階



4階



水産大学校への交通案内



(1) JR山陰本線

「吉見駅」下車。徒歩15分またはタクシー乗車5分。

(2) JR山陽本線

「幡生駅」にてJR山陰本線・小串または仙崎行に乗換え。その後は(1)参照。

(3) 山陽新幹線

A) 「新下関駅」下車。JR山陽本線「下関行」に乗換え、「幡生駅」下車後(2)参照。

(※「新下関駅」には、こだま、ひかり及びさくらの一部のみ停車。のぞみ、みずほは停車しないため注意)

B) 「小倉駅」下車。JR線「下関行」に乗換え、「下関駅」で下車後(1)または(4)参照。

C) 「新下関駅」下車。タクシー乗車20分。

(4) サンデン交通バス利用

下関駅前バスターミナル3番のりばにて「北浦線(吉母港または川棚温泉行き)」に乗車。「水産大学前」または「吉見永田」下車。徒歩5分。

(5) 山口宇部空港

高速バス「下関行き」乗車、「下関駅」下車。その後は(1)または(4)参照。

(6) お車でお越しの方

中国自動車道・下関ICより「川棚方面」へ。県道34号線を北上し「形山みどり町」交差点を左折。県道247号線を直進し「安岡」交差点を右折。国道191号線を北上し吉見駅を通過後3つ目の信号を左折(水産大学校または海上自衛隊下関基地隊の看板が目印)。直進後、突き当りを左折して水産大学校正門横駐車場へ。(守衛所にて駐車許可を得て下さい。誤って自衛隊基地に侵入しないようご注意ください。)



懇親会会場（春帆楼本店）

（〒750-0003 下関市阿弥陀寺町4-2 TEL：083-223-7181）

【交通のご案内】

① 懇親会行き送迎バス

乗り場：水産大学校武道館前 出発時刻：18：00

（懇親会終了後，下関駅および新下関駅まで行きます。）

② JR下関駅よりタクシー乗車（所要時間約10分）

③ JR下関駅よりサンデン交通バス（所要時間約10分）

④ 自家用車（講演会場受付にお知らせ下さい。別途ご案内致します。）

○JR吉見駅発下関方面 時刻表

☆ 18：08吉見駅発→18：32下関駅着

（一本前）17：32吉見駅発→17：59下関駅着

（一本後）19：00吉見駅発→19：25下関駅着

○JR下関駅よりサンデン交通バスをご利用の場合

【①番のりば】国道線（小月営業所行き）

18：18発→18：27赤間神宮前着

【①番のりば】員光線（新下関行き）

18：25発→18：34赤間神宮前着

【②番のりば】豊田関係線（御注連（みしめ）行き）

18：33発→18：42赤間神宮前着

☆ 【②番のりば】下関一字部線（宇部中央行き）

18：45発→18：54赤間神宮前着

【①番のりば】国道線（小月営業所行き）

18：50発→18：59赤間神宮前着

【懇親会場周辺施設】

日清講和記念館（春帆楼敷地内），赤間神宮（徒歩 約1分），

唐戸市場（徒歩 約5分），亀山八幡宮（徒歩 約6分），

カモンワーフ（徒歩 約7分），下関市立水族館 海響館（徒歩 約10分）

講 演 会

プ ロ グ ラ ム

日本農芸化学会中四国支部第41回講演会（例会）

プログラム

会 場： 水産大学校 講義棟

開催日： 2015年1月24日（土）

11:00～12:00 幹事打合せ (講義棟4階 セミナー室)

12:10～13:00 支部参与会 (講義棟4階 No. 41講義室)

13:10～13:35 2014年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞受賞講演
(講義棟4階 No. 43講義室)

「消化管のタイトジャンクション機能を制御する食品成分・生体内因子に関する
基礎的研究」

鈴木卓弥 (広島大院・生物圏)

座長 江坂宗春 (広島大院・生物圏)

13:35～15:20 ミニシンポジウム「農芸化学によって拓かれる水産の未来」
(講義棟4階 No. 43講義室)

13:35～13:40 開会の挨拶
原田和樹 (水大校・食品科学)

13:40～14:05 「伝統食品加工技術を応用した新たな水産発酵食品の開発」
福田 翼 (水大校・食品科学)
座長 片岡尚也 (山口大・農)

14:05～14:30 「食用海藻の高付加価値化につながる抗アレルギー成分」
杉浦義正 (水大校・食品科学)
座長 肥塚崇男 (山口大・農)

14:30～14:55 「水産食品の安心・安全確保に向けた毒素検出法の開発」
池原 強 (水大校・食品科学)
座長 高坂智之 (山口大・農)

14:55～15:20 「攻めの水産業における香りの可能性」
赤壁善彦 (山口大・農)
座長 前田俊道 (水大校・食品科学)

一般講演プログラム

A 会場 (No. 41 講義室) 「微生物 (遺伝子・機能解析)」

- A-1 15:35 分裂酵母における α -マンノシダーゼの液胞への輸送機構の解析
○井上貴博, 田淵光昭, 田中直孝
(香川大・農)
- A-2 15:47 分裂酵母ロンボイドプロテアーゼの推定切断モチーフを有する
PA-TM-RING タンパク質の機能解析
○出島健司, 東 玲奈, 田淵光昭, 田中直孝
(香川大・農)
- A-3 15:59 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* における外膜ポーリンによるオート
インデュースー 2 の不活化機構
○森重なつみ, Fariha Jasin Mansur, 阿座上弘行
(山口大・農)
- A-4 16:11 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* のバイオフィルムを阻害するきのこ
成分の精製と解析
○石田絵利子, 吉松采佐, 阿座上弘行
(山口大・農)
- A-5 16:23 *SulA* 依存性溶菌における *zwf* の役割
○藤山和也, 室龍之介, 高坂智之¹, 山田 守
(山口大院・医, ¹山口大・農)
- A-6 16:35 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* の還元型グルタチオン添加時の代
謝物変動の解析
○西田成輝, 高坂智之¹, 山田 守
(山口大院・医, ¹山口大・農)
- A-7 16:47 高温性プロピオン酸酸化共生菌におけるコハク酸酸化機構の解析
○石口貴之, 松下和生¹, 高坂智之¹, 山田 守
(山口大院・医, ¹山口大・農)

- A-8 16:59 耐熱性 *Zymomonas mobilis* を用いた遺伝子導入によるアラニン高温発酵生産の試み
○鬼石智子, 中島康之, 村田正之, 高坂智之¹, 山田 守
(山口大院・医, ¹山口大・農)
- A-9 17:11 大腸菌膜結合型グルコース脱水素酵素における膜貫通領域のアミノ酸残基の機能解析
○船橋稔孝, 山崎理恵子, 高坂智之¹, 山田 守
(山口大院・医, ¹山口大・農)
- A-10 17:23 エタノール生産性ザイモモナス菌 CP4 株の高温適応変異株における生理学的・遺伝学的解析
○白丸優貴, 山下舞子¹, 村田正之¹, 松谷峰之介, 高坂智之, 山田 守¹
(山口大・農, ¹山口大院・医)
- A-11 17:35 大腸菌における長期定常期生存に有利な変異とその表現型
○脇 義賢, 川口純平¹, 村田正之¹, 松谷峰之介, 高坂智之,
山田 守¹
(山口大・農, ¹山口大院・医)

B会場 (No. 42 講義室) 「微生物 (代謝・分離)」

- B-1 15:35 海藻又は海草を分離源としたアルギン酸資化性菌
○藤瀬麻紗子, 八木寿梓¹, 鈴木宏和, 大城 隆
(鳥取大院・工, ¹鳥取大・工)
- B-2 15:47 海洋性細菌由来新規アルギン酸分解酵素の探索
○八木寿梓, 藤瀬麻紗子¹, 森川祐未¹, 鈴木宏和¹, 大城 隆¹
(鳥取大・工, ¹鳥取大院・工)
- B-3 15:59 紅藻類オゴノリ科海藻の培養藻体に付着する微生物の特徴
○垣田浩孝, 小比賀秀樹, 上嶋 洋
(産総研・健康工)
- B-4 16:11 大腸菌における好気条件下で機能する 1-ブタノール合成代謝経路の構築
○片岡尚也, Vangnai Alisa S.¹, 薬師寿治, 松下一信, 加藤純一²
(山口大・農, ¹Chulalongkorn Univ., ²広島大院・先端)
- B-5 16:23 *Acetobacter* 属酢酸菌の有機溶媒耐性におけるスクアレンーホペン環化
酵素の役割
○那須裕介, Soemphol Wichai¹, 松谷峰之介, 片岡尚也, 薬師寿治,
松下一信
(山口大・農, ¹コンケン大)
- B-6 16:35 *Corynebacterium glutamicum* における耐熱化と活性酸素種
○村田龍太郎, 大西康貴, Nawarat Nantapong¹, 松谷峰之介, 片岡尚也,
薬師寿治, 松下一信
(山口大・農, ¹スラナリー工科大)
- B-7 16:47 酢酸発酵における酢酸菌の膜結合型アルデヒド脱水素酵素 AldFGH の
役割
○福成聖也, 新納 俊, 児玉知大, 松谷峰之介, 片岡尚也, 薬師寿治,
ガンジャンティエーラグール¹, 松下一信
(山口大・農, ¹カセサート大・理)
- B-8 16:59 出芽酵母の小胞輸送を制御する脂質に関する研究
○辛島健文, 船戸耕一
(広島大院・生物圏)

- B-9 17:11 分裂酵母 *S. pombe* の細胞外オリゴペプチド利用制御
○北村憲司, 藤本菜奈¹
(広島大・自然科学研セ, ¹広島大・工)
- B-10 17:23 酵母亜鉛感受性プロモーターによるタンパク質高発現と亜鉛濃度依存的な誘導発現
○新村翔太, 星田尚司, 赤田倫治
(山口大院・医)
- B-11 17:35 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* による高温発酵に必要な栄養成分の解析
○中川貴皓, 星田尚司, 赤田倫治
(山口大院・医)

C会場 (No. 35 講義室) 「酵素・タンパク質」

- C-1 15:35 アスコルビン酸生合成の光制御に関わるシロイヌナズナ VTC2 タンパク質の機能解析
種子田隼人, 安本彩花, 丸田隆典, 澤 嘉弘, 吉村和也¹, ○石川孝博
(島根大・生資科, ¹中部大・応生)
- C-2 15:47 *Rhizobium* sp. S10 株由来 D-グルコシド-3-デヒドロゲナーゼによるゲンチオビオースから新規二糖の生産
○野村彩希, 寺見優司¹, 上地敬子², 森本兼司², 高田悟郎²
(香川大・農, ¹愛媛大院・連農, ²香川大・希少糖セ)
- C-3 15:59 ハイマンノース型遊離糖鎖のタンパク質リフォールディング促進機能
○田中達也, 藤崎尚樹¹, 前田 恵, 二見淳一郎², 阿部義人¹,
植田 正¹, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命, ¹九州大院・薬学府, ²岡山大院・自然科学)
- C-4 16:11 インフルエンザ・シアリダーゼ阻害剤の開発: ニフッ化シアル酸
○清田洋正, Christopher J. Vavricka, 泉 実, 田中皓祐¹,
鈴木康夫², 大類 洋³, George F. Gao⁴
(岡山大院・環境生命, ¹東北大院・農, ²中部大・生命健康,
³横浜薬科大, ⁴中国科学アカデミー)
- C-5 16:23 鉄硫黄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* の異なる生育基質におけるタンパク質の解析
○田原奈津美, 上村一雄, 金尾忠芳
(岡山大院・環境生命)
- C-6 16:35 鉄酸化細菌のチオ硫酸デヒドロゲナーゼの性質
○秋田康裕, 金尾忠芳, 上村一雄
(岡山大院・環境生命)
- C-7 16:47 Purification and properties of thiosulfate dehydrogenase from marine *Acidithiobacillus thiooxidans*
○Sultana Sharmin, Tadayoshi Kanao, Kazuo Kamimura
(Grad. Sch. Environ. Life Sci. Okayama Univ.)

- C-8 16:59 深海及び浅瀬由来シトクロム *c* のアミノ酸レベルでの安定性比較
○政成美沙, 三本木至宏
(広島大院・生物圏)
- C-9 17:11 新規酵素 GDE4 および GDE7 は, LPC および lysoPAF を分解し, LPA および alkyl-LPA の産生に関与する
工藤尊裕, 大嶋紀安¹, 山下洋祐, Stefania Mariggio², 加藤範久,
Daniela Corda², 和泉孝志¹, ○矢中規之
(広島大院・生物圏, ¹群馬大院・医, ²National Research Council, Italy)
- C-10 17:23 IAN family に属する small G タンパク質 AIG1-11 の機能解析
○上野可南子, 久場 遥, 玉栄空輝, 塩田真友¹, 高坂智之¹,
内海俊彦, 山田 守
(山口大院・医, ¹山口大・農)
- C-11 17:35 バラハタ (*Variola louti*) 肝臓中のシガトキシン (CTX) 酸化酵素の検出
○別當博志, 池原 強, 大城直雅¹, 安元 健²
(水大校・食品科学, ¹国立衛研, ²日本食品分析セ)

D会場 (No. 31 講義室) 「有機・天然物・動物」

- D-1 15:35 オルト位に塩素原子を有するシアノバクテリン類縁体の合成と PSII 阻害活性
○檜皮恭平, 下山翔輝, 西脇 寿, 首藤義博
(愛媛大・農)
- D-2 15:47 スルフィドの新規イミド触媒的 NaOCl 酸化反応の開発と医薬品候補化合物への応用
○福田直弘, 澤井泰宏, 山崎 健, 湊 幸雄, 佐川隆司, 稲垣敦士, 浦山真一, 池本朋己
(武田薬品工業(株)・CMC 研究セ)
- D-3 15:59 Hindsilactone A の合成研究
○野下俊朗, 曾田綾乃, 西川 耀¹, 大内秀一²
(県広大・生命環境, ¹県広大院・生命システム, ²近畿大・薬)
- D-4 16:11 *N*-グリカン結合糖鎖ポリマーの効率的な作製方法の確立
○竹田直人, 前田 恵, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命)
- D-5 16:23 オリーブ葉二次代謝産物 oleuropein aglycon から reduced oleuropein aglycon への反応を触媒する *Saccharomyces cerevisiae* 由来酵素の同定
○森 吉弘, 仁戸田照彦, 守屋央郎¹, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・異分野コア)
- D-6 16:35 Reduced oleuropein aglycon から hydroxytyrosol と reduced elenolic acid への変換
○古賀まり子, 高津綾香, 原田嘉広, 徐 恵美¹, 菊地敬一¹, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命, ¹日本オリーブ(株))
- D-7 16:47 ヒト腸内細菌を用いた *C*-配糖体 mangiferin からアグリコン norathyriol への効率的変換反応
○角南里美, 桑原浩誠¹, 奥田 洋¹, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命, ¹丸善製薬(株))

- D-8 16:59 酵母 *Kluyveromyces marxianus* のキシロース代謝関連遺伝子の解析
○豊田賢徳, 藤井比呂志, 星田尚司, 赤田倫治
(山口大院・医)
- D-9 17:11 ベニシジミ成虫の毛状鱗粉の環境応答性
○安部成美, 益本祐希, 北沢千里¹, 山中 明²
(山口大・理, ¹山口大・教育, ²山口大院・医)
- D-10 17:23 モンシロチョウ成虫の毛状鱗粉と季節型との関連性
○勇村悠介, 上田貴志¹, 北沢千里², 山中 明³
(山口大・理, ¹東京大院・理, ²山口大・教育, ³山口大院・医)

E会場 (No. 32 講義室) 「植物」

- E-1 15:35 植物由来の貯穀害虫に対する成長阻害活性物質の探索
○瀬尾晃平, 廣島 恵¹, 手林慎一¹, 福田達哉¹, 佐藤正資²,
秋光和也², 何森 健³
(高知大院・農, ¹高知大・農, ²香川大・農, ³香川大・希少糖セ)
- E-2 15:47 酸性 PNGase 遺伝子欠損 *A. thaliana* 植物体の構築
○秋山 剛, 前田 恵, 藤山和仁¹, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命, ¹大阪大・生物学国際交流セ)
- E-3 15:59 シロイヌナズナにおける光誘導性気孔開口への細胞質型グリセルアル
デヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼの関与
○山上明浩, 敖登図雅, 宗正晋太郎, 中村宜督, 森 泉, 村田芳行
(岡山大院・環境生命)
- E-4 16:11 孔辺細胞細胞質遊離 Ca^{2+} 濃度の上昇がアリルイソチオシアネート
(AITC) による気孔閉口には必要であるが, AITC による光誘導気孔開
口の阻害には必要ではない
○叶 文秀, 大熊英治¹, 宗正晋太郎¹, 中村宜督¹, 森 泉¹,
村田芳行¹
(学振特別研究員, ¹岡山大院・環境生命)
- E-5 16:23 サンショウ葉の香気成分とセスキテルペン合成酵素に関する研究
○藤田芳勸, 飯島陽子¹, 鈴木秀幸², 松井健二³, 肥塚崇男
(山口大・農, ¹神奈川工科大・応用バイオ, ²かずさ DNA 研・産業基
盤, ³山口大院・医)
- E-6 16:35 ゼニゴケ油細胞はビスビベンジル類とセスキテルペン類を特異的に集
積する
○田中摩耶, 木原弘友, 江崎剛史¹, 升島 努¹, 兼目裕充²,
浅川義範², 肥塚崇男³, 松井健二
(山口大院・医, ¹理研・生命システム, ²徳島文理大・薬, ³山口大・
農)
- E-7 16:47 トマト葉は組織内代謝に依存して揮発性有機化合物を吸収する
○村本祥子, 松原弥生¹, 肥塚崇男¹, 松井健二
(山口大院・医, ¹山口大・農)

- E-8 16:59 根こぶ病菌, *Plasmodiophora brassicae* の発芽誘導物質同定のためのバイオアッセイ系の確立
○望月智史, 田中秀平¹, 肥塚崇男¹, 松井健二
(山口大院・医, ¹山口大・農)
- E-9 17:11 シロイヌナズナの腐生菌感染応答シグナル生成には GDSL リパーゼが関与する
○荒井紀梨子, 松田一彦¹, 肥塚崇男, 松井健二²
(山口大・農, ¹近畿大・応用生命化学, ²山口大院・医)
- E-10 17:23 ゼニゴケアラキドン酸由来炭素数8揮発性化合物の代謝経路
○木原弘友, 田中摩耶, 大和勝幸¹, 山田晶示¹, 喜多沙也加¹, 石崎公庸², 河内孝之³, 赤壁善彦⁴, 肥塚崇男⁴, 松井健二
(山口大院・医, ¹近畿大・生物理工, ²神戸大院・理, ³京都大院・生命科学, ⁴山口大・農)

F会場 (No. 33 講義室) 「食品」

- F-1 15:35 軟骨魚類に含まれるコンドロイチン硫酸の含有量と組成分析
○武田尚子, 上田健人¹, 問田棕介¹, 入江有美¹, 木戸口望美¹,
君野大介¹, 後藤尚也¹, 高田博哉¹, 田村純一¹
(学振特研 PD, ¹鳥取大・地域)
- F-2 15:47 卵殻膜を用いた食品劣化防止剤の開発
○田中美樹, 谷藤尚貴
(米子高専・物質工学)
- F-3 15:59 色素成分が示すチロシナーゼ阻害活性
○大江ひかる, 谷藤尚貴
(米子高専・物質工学)
- F-4 16:11 卵殻膜をプロトン伝導膜として用いた DMFC の開発
○小西那奈, 谷藤尚貴¹
(米子高専・電気情報工学, ¹米子高専・物質工学)
- F-5 16:23 ロスマリン酸は AMPK-SIRT1-PGC1 α を介して筋細胞の脂肪酸酸化を
促進する
○阿部大吾, 齋藤 武, 野方洋一
(農研機構・近中四農研)
- F-6 16:35 ワイン醸造中の無機元素の挙動とその応用
○大田美優, 小山和哉¹, 西堀奈穂子¹, 奥田将生¹, 後藤奈美¹
(広島大院・生物圏, ¹酒総研)
- F-7 16:47 低利用魚を用いて試作した魚醤の特性
○衛藤知子, 木原玲菜, 崎村祥太郎, 鈴木秀得, 福田 翼, 和田律子,
原田和樹
(水大校・食品科学)
- F-8 16:59 発酵技術を活用した笹蒲鉾魚醤の研究開発
○鈴木秀得, 衛藤知子, 崎村祥太郎, 福田 翼, 和田律子,
佐々木悦郎¹, 原田和樹, 前田俊道
(水大校・食品科学, ¹阿部蒲鉾店)

- F-9 17:11 味覚センサーによる蒲鉾製品の味の客観的評価
○奥村世理香，池原 強，高良 亮¹
(水大校・食品科学，¹トロピカルテクノプラス)
- F-10 17:23 味覚センサーを用いた明太子の味の数値化と品質管理への応用
○木下 翼，池原 強，高良 亮¹
(水大校・食品科学，¹トロピカルテクノプラス)
- F-11 17:35 大豆味噌製造法を応用したオキアミ味噌開発
○大関美咲，藤澤和貴，及川克敏¹，古下 学，芝 恒男，前田俊道，
原田和樹，福田 翼
(水大校・食品科学，¹(株)小野万)

G会場 (No. 34 講義室) 「細胞・生理」

- G-1 15:35 Benzyl isothiocyanate の抗アレルギー作用とその分子機構
○内藤 翔, Tang Yue, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
(岡山大院・環境生命)
- G-2 15:47 ベンジルイソチオシアネートの細胞増殖阻害作用におけるアミノ酸輸送経路の関与
○國末成美, 安部奈緒美, 宗正晋太郎, 村田芳行, 守屋央朗¹, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・異分野コア)
- G-3 15:59 ベンジルイソチオシアネートによる細胞生存経路活性化の分子機構
○鷹野千暁, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
(岡山大院・環境生命)
- G-4 16:11 環状染色体の形成および維持に必要な遺伝子
田中大樹, 杉原あさみ, ○上野 勝
(広島大院・先端物質)
- G-5 16:23 ヒト培養細胞の亜鉛誘導性プロモーターの開発
○高橋克典, 中村美紀子¹, 星田尚司, 赤田倫治
(山口大院・医, ¹山口大・産学公セ)
- G-6 16:35 マウスへのアルコール投与またはストレス負荷による胃粘膜環境異常モデルの作製
○新井健太, 伊豆原実沙, 山角 愛, 上西紀彰, 千葉瑞樹, 宮崎泰幸, 松下映夫, 臼井将勝
(水大校・食品科学)
- G-7 16:47 リアルタイム PCR 法による褐藻サガラメ由来フロロタンニン濃縮物の抗アレルギー性の検討
○布施美保子, 百合野瑛子, 野元つかさ, 杉浦義正, 宮田昌明
(水大校・食品科学)

- G-8 16:59 ELISA 法による褐藻サガラメ由来フロロタンニン濃縮物の抗アレルギー性の検討
○百合野瑛子，布施美保子，野元つかさ，杉浦義正，宮田昌明
(水大校・食品科学)
- G-9 17:11 脂肪性肝疾患モデルである *Fxr* 欠損マウスの脂質代謝における魚油摂取の影響
○木下佑一，兵頭玄喜，藤本康太，杉浦義正，宮田昌明
(水大校・食品科学)
- G-10 17:23 脂肪性肝疾患モデルである *Fxr* 欠損マウスの脂質代謝におけるフコキサンチン投与の影響
○高岩琢磨，木下佑一，新野耕平，杉浦義正，宮田昌明
(水大校・食品科学)

受 賞 講 演

講 演 要 旨

消化管の上皮細胞は、外界と生体内を隔てるために極めて重要であり、多様な生理機能を有している。その1つとして、上皮細胞が形成する間隙（細胞間経路）は、カルシウム（Ca）などの栄養素の吸収経路として必須であるとともに、外来異物の侵入（透過）を制限するバリア機能の観点からも重要である。この上皮バリア機能を担う構造が細胞間接着構造タイトジャンクション（TJ）である。TJは、occludinやclaudinなどの複数の分子から構成される巨大なタンパク質複合体であり、TJバリアの損傷は、異物の侵入による炎症を惹起し、多くの疾患に要因となる。TJバリアの機能制御には、生体内の液性因子が中心的な役割を持つ一方で、消化管の上皮細胞は高頻度に管腔内の食品成分に曝されることから、食品成分による調節も受けることが十分に考えられる。このような背景から、私たちは動物個体および消化管上皮細胞を用いて、消化管の TJ 機能を制御する食品成分および生体内因子に関する研究を進めている。本講演では、一連の研究の中から、消化管の TJ バリア機能を増強・保護するポリフェノールについて紹介させていただく。

植物界に広く分布するポリフェノール類は、生体内シグナル分子に相互作用し、多彩な生体調節機能を示すことが知られている。消化管の TJ バリア機能も種々の細胞内シグナルによる制御を受けることから、ポリフェノール類などの食品成分が TJ バリア機能を調節しうると推測し、研究を開始した。ヒト消化管上皮 Caco-2 細胞を用いた実験により、ポリフェノールなどの食品成分の一部に消化管 TJ バリア調節作用が確認され、なかでもタマネギ等に多く含まれるポリフェノール、ケルセチンに強いバリア機能増強・保護作用が見出された。ケルセチンを摂取したラットにおいても、小腸と大腸での細胞間透過マーカーの透過速度が低下し、TJ バリア機能が高まった。このケルセチンによるバリア機能増強作用は、TJ タンパク質 ZO-2, occludin, claudin-1 の TJ への局在促進と claudin-4 の発現増加によることが明らかになった。またこの作用には、occludin 自体のリン酸化の亢進や、細胞内 protein kinase C δ (PKC δ) の活性抑制が重要な役割をもつことも示された。さらに、大腸炎マウスにケルセチンを摂取させたところ、大腸 TJ バリアの保護、および大腸炎症状の緩和が認められた。一連の実験により、ポリフェノール類の1つ、ケルセチンによる消化管バリアの増強・保護作用の分子機構の一部が解明され、消化管の恒常性維持に貢献しうることが提案された。

最後に、近年、消化管 TJ 構造の重要性とその分子基盤が明らかになりつつあり、基礎から臨床研究まで大きな注目を集めている。しかしながら、TJ 機能制御における食品成分の役割は十分には解明されておらず、疾病予防や食品科学の発展の観点からも、さらなる研究が必要と考えられる。今後も、食品成分の新たな生体調節機能を探索し、人の健康維持に貢献する基礎的研究に取り組んでいきたい。

ミニシンポジウム
「農芸化学によって拓かれる水産の未来」

講 演 要 旨

シンポジウム講演

伝統食品加工技術を応用した新たな水産発酵食品の開発

福田 翼（水大校・食品科学）

伝統食品は、保存性・嗜好性に優れた加工食品であり、古くは紀元前より製造されている。伝統食品加工技術の1つである発酵は、微生物に働きを利用した伝統技術であり、現代の日常生活においても必要不可欠となっている。近年、未利用資源の有効利用手法として発酵が注目されている。

水産物は、魚体加工時に内臓、骨、および頭部などが水産廃棄物として排出される。さらに、カマボコなどの加工業者からも排出され、水産廃棄物の発生量は年間約370万トン前後であると推定されている。これらの水産廃棄物は、再利用される場合、家畜や魚類の飼料、肥料、医薬品、さらには食品の加工原料として利用される。しかしながら、これらの大半が有効利用されず、埋め立てまたは焼却処理されているのが現状である。したがって、水産廃棄物が食品素材として利用可能になれば非常に有意義である。

近年、低・未利用水産資源の有効利用を目的に、発酵を利用した魚醤に関する研究が行われている。また、伝統的な製造法だけではなく、大豆醤油製造法を応用した新たな製造手法に関する研究も盛んである。しかしながら、魚醤以外の水産発酵食品に関する研究は少ない。そこで、魚醤とは異なった新たな水産発酵食品の創生を目指し、伝統食品加工技術を応用した研究開発を行ってきた。本シンポジウムでは、国外における伝統食品加工技術の応用例を中心に紹介する。

テンペはインドネシアの伝統食品であり、*Rhizopus* 属菌を用いて大豆を発酵させる。そこで、カマボコ廃棄物を発酵基質とし、テンペ様発酵食品製造を試みた。その結果、アンモニアなどの不快臭が強く、嗜好性の低い発酵食品となった。これは、カマボコ廃棄物はタンパク源が主要成分であり、香り成分を形成するデンプン源が少ない事に起因する。そこで、デンプン源が主要成分であるコメを添加した結果、芳香性成分は多種多様となり、嗜好性の高い発酵食品となった。

チャンジャは韓国の伝統食品であり、塩蔵したタラの内臓をコチュジャン（唐辛子味噌）に漬けて発酵させる。一般的な内臓廃棄物は、破断強度が弱く、遊離アミノ酸量が低いなどの観点から嗜好性が乏しく食品に適さない。そこで、日本で最も養殖されている養殖ブリの内臓廃棄物を対象に、チャンジャ様発酵食品の製造を試みた。その結果、塩蔵による内臓廃棄物の破断強度が向上し、一般生菌数の増加も抑制された。さらに、コチュジャン利用により脂質酸化抑制および遊離アミノ酸の増加が確認され、テンペ様発酵食品と同様、嗜好性の高い発酵食品となった。

これらの研究成果、すなわち伝統食品加工技術の応用は、新たな水産発酵食品の創生を示唆している。現在、上記の研究以外にも、低利用水産資源であるオキアミを利用した魚味噌、カマボコ廃棄物を利用したカマボコ醤油、豆腐様発酵食品なども試みている。

シンポジウム講演

食用海藻の高付加価値化につながる抗アレルギー成分

杉浦義正（水大校・食品科学）

近年、日本国民の1/3から1/2が何らかのアレルギー症状を有するようになり、アレルギーは社会的問題となっている。そのため、医療分野におけるアレルギー治療だけでなく、食品科学の分野でもアレルギー予防や緩和を目的とした課題解決は、重要性を増している。

このような社会的背景において、演者が以前所属していた食品メーカーで本研究テーマ（海藻由来成分の抗アレルギー効果）を立ち上げた（2000年頃）。当初は会社の事業方針により、水産物と食品機能性に関する研究テーマの立ち上げを指示されていた。当時は、陸上農産物由来のフェノール性化合物（カテキン類やフラボノイド、タンニン類など）による抗アレルギー効果に関する多くの知見はあったが、水産物に関しては、機能性多糖類（フコイダンなど）を除いて抗アレルギー効果に関する報告例は殆ど無かった。そこで、水生植物＝海藻に着目し、合わせて学生時代、免疫に関するテーマに取り組んでいたことから、「海藻成分の抗アレルギー効果」をテーマとして、三重大学との共同研究により研究を進めることとなった。

まず初めに、三重県沿岸部に生息している海藻（42種）を採取し、有用素材のスクリーニングに取り掛かった。各海藻抽出物について、培養細胞系におけるヒスタミン放出抑制効果を指標として有効性を確認したところ、7種の褐藻抽出物に有効性が認められ、食経験のあるサガラメ（一般名：アラメ）を研究素材として選抜した。因みにサガラメは、三重県南部の伊勢・志摩地域で「アラメ」として古来より食されている褐藻である。

抗アレルギー素材としての褐藻サガラメについて、食品利用への可能性を高めるため、アレルギーモデル動物（Brown Norway ラット）を用いた *in vivo* 実験を行った。血清中の抗体量や脾臓中のサイトカイン量を調べた結果、抗アレルギー様の免疫調節作用が見出された。

更に、培養細胞を用いた実験や、炎症関連酵素の活性阻害実験より、サガラメのメタノール／クロロフォルム（M/C）抽出物に有効性が認められたため、M/C 抽出物中の有効成分の単離同定を行った。逆相系的高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によるピーク分取および精製の後、質量分析（MS）や核磁気共鳴（NMR）によりスペクトル解析した結果、6種の海藻ポリフェノール（フロロタンニン）が有効成分として同定された。

その他、上記6種フロロタンニンについて抗アレルギー効果に関する詳細な検証を行ったこと、サガラメを用いた抗アレルギー食品の製品化の事例、サガラメ以外の褐藻類（クロメなど）の抗アレルギー性の検討などについても詳細に述べる。

シンポジウム講演

水産食品の安心・安全確保に向けた毒素検出法の開発

池原 強（水大校・食品科学）

貝毒や魚毒を含めた自然毒による食品及び海洋環境汚染は世界の多くの国や地域にみられ、これら有毒物質の検出法の開発、毒性機序の解明は、我々の生活の安全を確保するために重要な研究テーマとなっています。国内では、ほとんどの魚介毒の検出・定量にマウス毒性試験が用いられているのに対し、欧米では、動物愛護に加えて、高特異性、高感度、迅速化を目指した代替法が検討され、実用性の実証が進められています。本シンポジウムでは、二枚貝成分の下痢性貝毒と魚類のシガテラ毒の検出・定量法について紹介します。

シガテラは世界最大規模の自然毒食中毒であり、年間2~6万人の被害が推定されています。我が国では沖縄県で多く発生し、近年は他県での発生も増加しており、食品衛生上の問題となっています。原因毒のシガトキシン類（CTXs）は、渦鞭毛藻によって生産され、食物連鎖によって移行するので、個体変化と地域差が大きく、有毒魚の蒐集も困難でした。魚肉中含量が ppb 以下でも食中毒を引き起こすことから、感度と特異性の高い分析法が要求されています。しかし、分析法の策定や普及に必要な CTXs 標準品が入手困難であることが、食中毒防止対策の障害となっていました。そこで、LC/MS 分析法に必要な標準毒の作製を目的として、有毒魚の毒組成の解明、CTXs の抽出・精製及び精製した標準毒の生物学的特性について明らかにしたので、その詳細について紹介します。

下痢性貝毒の検出法については、酵素活性阻害法を利用した方法について紹介します。海水中の有毒プランクトンを捕食した二枚貝が原因となって起こる下痢性貝中毒の原因物質であるオカダ酸（OA）や、湖沼または汽水域の藍藻が生産する肝臓毒であるマイクロシスチン（MC）は、タンパク質セリン・スレオニン脱リン酸化酵素の一つであるプロテインホスファターゼ 2A（PP2A）の酵素活性を強力かつ特異的に阻害することが知られています。この阻害活性を利用することによって、これら有毒成分を簡便に検出することが可能です。従来のウサギ骨格筋やヒト血球などの動物組織から精製された PP2A に代わり、大量供給が可能で、安定した酵素活性を有した組換え酵素（リコンビナント PP2A；rPP2A）を利用した簡易測定キットを開発しました。今回は、その詳細：（1）PP2A の大量生産技術の開発、（2）リコンビナント PP2A を利用した下痢性貝毒、藍藻毒測定キットの開発、（3）下痢性貝毒、藍藻毒分析標準品の開発について紹介いたします。

攻めの水産業における香りの可能性

赤壁善彦（山口大・農）

海岸の塩溜まりをみても、驚くほど多くの生物が観察され、海水という媒体下、そこにはケミカルコミュニケーションが示唆される。このような「海洋化学生態学」に関する研究分野は未開拓な部分が多いため、我々は、海藻から放出され、藻食性生物および海藻間で機能するケミカルコミュニケーションの存在を発見し、その標的化合物を単離、構造決定し、その類縁体も含めて有機合成を達成し、その応用（水産養殖業）への礎を築くことを目的としている。また、このような基礎研究から得た成果を応用して、香りに注目した水産物の商品開発も行っている。本シンポジウムでは、これまでの我々の香りに関する基礎から応用の成果の一部を紹介したい。

1) 過酸化脂肪酸を経由する香気成分の分析

海産緑藻における長鎖アルデヒド(C15, C17)、海産ケイ藻の草食性小動物に対しての化学防御物質といわれている中鎖アルデヒド類(C10)、褐藻における短鎖アルデヒド(C6, C9)、および“オーシャンスメル”を有する褐藻の性フェロモンである炭化水素類(C11)および関連化合物のこれら香り成分は、各脂肪酸の特定の位置への酸素添加、次いで開裂酵素の作用により生合成されると推定される。その生合成機構解明のためには、中間体の過酸化脂肪酸の検出が必須と考え、HPLC, GC, GC-MS などの汎用分析機器の利用ならびに比較的安価な誘導化剤を用いた分析手法を確立した。

2) 新規マリンノートの開発

緑藻アナアオサは、特有の磯様香気を有しているため、精油を調製して分析したところ、特徴的な成分が認められ、C15, C17の長鎖アルデヒドであることが分かった。そこで、合成してニオイを確認したところ、アオサ様、磯様の特徴的香気を有していることが判明した。また、紅藻ミツデソゾは、アオサとは異なる特有の磯様香気を有しており、同様に精油を調製して分析したところ、主要な成分が含まれており、単離構造決定したところ、debromolaurinterol であることが明らかとなった。また、この化合物の類縁体を合成し、ニオイ構造相関に関する情報を得た。これら香気成分は、これまで知られているマリンノートも含め、その利用法を検討している。

3) 香りに注目した「柑味鮎（かんみあゆ）」の開発

一般に、川魚は特有の生臭さがあると言われており、香魚、キュウリウオと呼ばれる鮎も同様なイメージがもたれている。そこで、嗜好性の高い鮎の開発を目指して、柑橘を飼料に混ぜて育てたところ、生や塩焼きで食べると、口の中いっぱい、柑橘の風味が広がる鮎の開発に成功し、「柑味鮎（かんみあゆ）」と名付け、山口のブランド鮎として生産を始めた。現在、「フルーツ魚」として、全国的に知名度も高まった。

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 分裂酵母における α -マンノシダーゼの液胞への輸送機構の解析 ○井上貴博, 田淵光昭, 田中直孝 (香川大・農)

出芽酵母では細胞質のタンパク質を液胞内へ輸送する経路として、窒素飢餓で非選択的に輸送するオートファジーと、恒常的に α -マンノシダーゼ (Ams1) やアミノペプチダーゼ 1 (Ape1) を輸送する Cvt (Cytoplasm-to-Vacuole Targeting) 経路がある。分裂酵母では Cvt 経路の存在は不明であるため、Ams1-GFP が栄養条件に応じて局在が変化するか蛍光顕微鏡で観察した。その結果、栄養条件では出芽酵母と異なり、液胞内ではなく細胞質に局在し、一部がドット状に観察されたことから分裂酵母では Cvt 経路が存在しない事が示唆された。興味深い事に窒素飢餓では 3 時間後に液胞中で線状構造として現れ、さらに数時間後には液胞の直径よりも長く伸長した様子が観察された。Ams1 は窒素飢餓時に液胞内へ局在を変えたことから、オートファジーにより運ばれているかどうかを確認した。各種 *atg* 遺伝子破壊株において、Ams1-GFP は液胞に輸送されず細胞質に拡散し、線状構造は観察されなかった。また、出芽酵母 Ape1 (Ams1 と複合体を形成し Cvt 経路によって液胞へ輸送される) と 29% の相同性を示す Aap1 を欠損させた場合、Ams1-GFP の効率的な液胞輸送に支障をきたすことが分かった。よって、分裂酵母の Ams1 は Cvt 経路ではなくオートファジーにより、Aap1 と共に液胞内へ運ばれている事が分かった。さらに、オートファジックボディー分解の阻害 (*isp6* Δ) や、液胞内酸性化を阻害 (*vma1* Δ) した場合は線状化が見られないことから、オートファジックボディーが分解され、Ams1-GFP が酸性の環境にさらされる条件が線状構造形成に必要である事が考えられた。

A-2 分裂酵母ロンボイドプロテアーゼの推定切断モチーフを有する PA-TM-RING タンパク質の機能解析 ○出島健司, 東 玲奈, 田淵光昭, 田中直孝 (香川大・農)

【目的】当研究室では分裂酵母において、ゴルジ体局在を示すロンボイド Rob1, Rob2 (Rhomboid) の解析を進めている。今回、推定膜貫通領域が 2 つ存在し、Rob1, Rob2 に認識される推定切断モチーフを C 末端側の推定膜貫通領域に有する SPAC57A7.09 を分裂酵母データベース (PomBase) で確認した。この SPAC57A7.09 の中間領域には機能についてほとんど知見がない PA ドメイン (Protease Association Domain) が存在しており、C 末端側にはリングフィンガードメインが存在していることから、保存ドメインのそれぞれの頭文字をとって遺伝子名を *pzr1*⁺ と名付けた。また、真核生物において、このように PA ドメインとリングフィンガードメインの両方を保存するタンパク質は近年報告されたばかりで、機能についてはほとんど分かっていない。そこで、Pzr1 が Rob1, Rob2 に切断される基質であるかの確認と Pzr1 の解析によって、PA-リングフィンガータンパク質の新たな機能を見出すことを目的とした。

【方法・結果】Pzr1 が Rob1, Rob2 に切断される基質であるか確認するために、野生株, *rob1* Δ 株, *rob2* Δ 株に Pzr1-GFP を形質転換し、タンパク質を抽出後、ウエスタンブロッティング法を行った。すると、野生株と *rob2* Δ 株では GFP 単体のバンド (約 27 kDa) が検出されたが、*rob1* Δ 株では検出されなかった。このことから Rob1 が Pzr1 の切断に何らかの形で関係していることが示唆された。また、野生株において通常 Pzr1 は液胞内で多く観察されるが、PA ドメインを削除すると膜近傍にドット状で観察されたことから、PA ドメインは Pzr1 が適切な局在を示すために必要なドメインであることが予想された。

A-3 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* における外膜ポーリンによるオートインデューサー 2 の不活化機構
○森重なつみ, Fariha Jasin Mansur, 阿座上弘行 (山口大・農)

【目的】バクテリアはオートインデューサーと呼ばれるシグナルを使うことで、同種間、異種間のコミュニケーションを行っている。歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* は AI-2 というオートインデューサーを使ってコミュニケーションしながらその病原性を調節している。最近、*E. corrodens* 1073 株が対数増殖期で AI-2 を大量に生産するが、定常期に入ると急激に減少することがわかった。そこで、本菌の培養上清から DEAE および Q-Sepharose イオン交換クロマトグラフィーにより AI-2 を分解または不活化する因子の精製を行ったところ、約 40 kDa の単一なタンパク質が精製された。本研究では、このタンパク質による AI-2 不活化機構について解析を行った。

【方法・結果】AI-2 の不活化因子として精製されたタンパク質の N 末端アミノ酸シーケンスを行った結果、*E. corrodens* 23834 株の外膜ポーリンのものと一致した。そこで、外膜ポーリンをコードする遺伝子 *porA* の欠損株を作成し、AI-2 の生産量を調べた。AI-2 の生産量は *Vibrio harveyi* BB170 をセンサー株として測定した。その結果、野生株で見られた定常期における AI-2 の著しい減少が *porA* 欠損株では見られなかった。このことから、外膜ポーリンが AI-2 の不活化に関与していることが示唆された。また、野生株では定常期において培養上清中ならびにメンブレンベシクル画分中の外膜ポーリンの量が増加していたことから、*E. corrodens* は定常期にメンブレンベシクルの形で菌体外膜からポーリンタンパク質を放出し、それによって AI-2 を不活化している可能性が示唆された。

A-4 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* のバイオフィルムを阻害するきのこ成分の精製と解析
○石田絵利子, 吉松采佐, 阿座上弘行 (山口大・農)

【目的】歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* は単一でもバイオフィルムを形成することが報告されている。6 種の食用きのこ（シイタケ、たもぎたけ、ヤマブシタケ、ナラタケ、エノキ、シメジ）の子実体を水やメタノールで抽出し、*E. corrodens* のバイオフィルムを抑制する成分の検索を行った。その結果、シイタケのメタノール抽出物、ヤマブシタケの水抽出物にバイオフィルム抑制が見られた。また、バイオフィルム形成を抑制する濃度では、これらの抽出物は *E. corrodens* の増殖に影響を与えなかった。本研究では、シイタケメタノール抽出物およびヤマブシタケ水抽出物に含まれるバイオフィルム抑制因子について、精製を試みた。

【方法・結果】シイタケのメタノール抽出物をさらにヘキサンで抽出したところ、ヘキサン抽出相にバイオフィルム抑制が見られた。そこで、ヘキサン抽出物をシリカゲル薄層クロマトグラフィーにかけ、いくつかのフラクションに分画した。その結果、ある画分からバイオフィルム抑制効果が見られた。また、この画分は逆相クロマトグラフィーにより単一なピークが見られたことから、この物質がバイオフィルム阻害因子であると示唆された。

また、ヤマブシタケの水抽出物を DEAE トヨパールおよび Q セファロースによるイオン交換クロマトグラフィーにかけた。これらの精製画分のバイオフィルムへの効果を調べたところ、約 60 kDa のタンパク質がバイオフィルム抑制因子である可能性が示唆された。

A-5 SulA 依存性溶菌における *zwf* の役割
○藤山和也, 室龍之介, 高坂智之¹, 山田 守 (山口大院・医, ¹山口大・農)

【目的】細菌の細胞集団維持機構において、アポトーシスに類似する細胞死(溶菌)機構が重要な役割を果たしている可能性がある。大腸菌は DNA 傷害を受けた際、*sulA* の発現により FtsZ の作用を阻害して細胞分裂を停止させるが、我々の研究により、*sulA* の過剰発現下でグルコース(Glc)を添加すると活性酸素種(ROS)が蓄積し、溶菌が亢進することが示されている。本研究では、SulA による溶菌機構を明らかにするため、ROS により誘導される遺伝子レギュレーター SoxS とその制御下にある *zwf* が溶菌に果たす役割を解析した。

【結果】*soxS* の過剰発現と同時に Glc を添加すると溶菌が観察されたが、*soxS* 破壊株は *sulA* の過剰発現と同時に Glc を添加しても溶菌を示さなかった。これによって SoxS が SulA による溶菌を仲介していることが示唆された。SoxS は様々な遺伝子のレギュレーターであり、*zwf* の発現を制御している。*zwf* はペントースリン酸経路で働くグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼをコードしており、反応において NADPH を生成する。そこで、*zwf* の過剰発現株を作製し、溶菌への関与を検証した。その結果、過剰発現株では菌体が数珠状に連結し、Glc を添加することによって溶菌が誘導された。また、細胞内に NADPH が蓄積していることも確認された。これらのことから、*zwf* の発現が溶菌に関与していることが示唆された。一方で、Zwf は細胞外致死因子 (EDF) の前駆体であることから、*zwf* の発現により NADPH と EDF が蓄積し溶菌が起こると推察される。

A-6 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* の還元型グルタチオン添加時の代謝物変動の解析
○西田成輝, 高坂智之¹, 山田 守 (山口大院・医, ¹山口大・農)

【目的】耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* は様々な炭素源を利用できることに加え、45°C という高温においてもエタノール生産をできることから、現在エタノール生産に用いられている *Saccharomyces cerevisiae* に代わる酵母として注目されている。しかしながら、どのような機構で *K. marxianus* の耐熱性が達成されているかは未だ明らかとなっていない。当研究室で行った *K. marxianus* のトランスクリプトーム解析の結果では、30°C と比較して 45°C で、TCA 回路や呼吸鎖の一部の遺伝子の発現が低下し、ミトコンドリアではグルタチオン関連遺伝子の発現が上昇していた。そこで本研究では、高温条件下における *K. marxianus* の代謝物の変動を分析するとともに、還元型グルタチオン (GSH) の影響を解析した。

【結果】30°C と比較して 45°C では、*K. marxianus* の生育およびエタノール生産速度は低下し、培養開始 12 時間後以降において、培養液中のエタノール濃度の低下と酢酸の蓄積が確認された。加えて、細胞内では ROS 量が増加しており、酸化型グルタチオンの量が増加していた。酢酸の高温における影響を調べたところ、*K. marxianus* は 45°C において 0.2% 酢酸存在下では生育できないことが明らかとなった。一方、GSH の影響を解析したところ、5 mM GSH により 45°C でのエタノール生産速度が増加し、酢酸生産が抑制されることが明らかとなった。

A-7 高温性プロピオン酸酸化共生菌におけるコハク酸酸化機構の解析
○石口貴之, 松下和生¹, 高坂智之¹, 山田 守 (山口大院・医, ¹山口大・農)

【目的】高温メタン発酵(55°C付近)におけるプロピオン酸蓄積の問題を解決するためには、プロピオン酸分解菌の代謝機構を理解することが重要と考えられる。我々は、高温性プロピオン酸酸化菌 *Pelotomaculum thermopropionicum* SI におけるプロピオン酸酸化経路において、エネルギー的に最も困難な反応であるコハク酸酸化機構の解析を試みている。本研究では、高温嫌気条件下でのコハク酸酸化反応における膜電位の寄与とその反応に係る酵素について解析した。

【方法・結果】SI には2つのコハク酸デヒドロゲナーゼ(SDH I 及び SDH II) 遺伝子がゲノム上に存在しており、SDH I は膜で電子をキノンに受渡していると考えられているが、細胞質に存在する SDH II の電子受容体は不明である。まず、膜電位を消失させる脱共役剤(CCCP)を添加し、コハク酸酸化の副産物である水素の放出量の変化を調べたところ、100 μM CCCP 添加によって、コハク酸酸化に伴う水素放出が低下したが、時間の経過とともに水素放出が回復したことから、膜電位非依存的なコハク酸酸化の存在が示唆された。次に、2つのコハク酸デヒドロゲナーゼの存在を確認するため、細胞破碎物を可溶性画分と膜画分に分画し、それらのコハク酸酸化活性を調べたところ、両画分においてコハク酸酸化活性を検出した。さらに、電子受容体としてユビキノ-1を用いたところ、膜画分ではユビキノ-1還元活性が確認されたが、可溶性画分では活性が確認されなかったことから、細胞内に異なるコハク酸デヒドロゲナーゼが存在することが示唆された。

A-8 耐熱性 *Zymomonas mobilis* を用いた遺伝子導入によるアラニン高温発酵生産の試み
○鬼石智子, 中島康之, 村田正之, 高坂智之¹, 山田 守
(山口大院・医, ¹山口大・農)

【目的】高温発酵による有用物質生産は冷却コストの低減などのメリットが期待されるが、高温発酵により如何なる問題が生じるのかを理解することは重要である。そこで、本研究では耐熱性を有するエタノール生産性細菌 *Z. mobilis* に外来遺伝子としてアラニン脱水素酵素遺伝子を導入し、高温発酵によるアラニン生産を試みた。

【方法・結果】*B. subtilis* 由来のアラニン脱水素酵素をコードしている *alaD* 遺伝子を、大腸菌-ザイモナス菌シャトルベクターに導入することで、*alaD* 発現ベクターを作製した。これを耐熱性 *Z. mobilis* へ導入し、静置培養におけるアラニン生産量の比較を行った結果、40°Cでも30°Cと同程度のアラニンの生産を確認した。しかし、アラニンの生産量が理論収率の約1/60と非常に少なかったため、導入酵素の酵素化学的特徴を解析したところ、導入酵素の至適pHが9であり、基質であるピルビン酸に対する K_M 値は0.5 mMであることが分かった。また、エタノール合成経路に関与するピルビン酸デカルボキシラーゼの活性を弱める目的で補酵素であるチアミンの要求株を作製し、チアミン要求株におけるアラニンの生産性を検討した。

A-9 大腸菌膜結合型グルコース脱水素酵素における膜貫通領域のアミノ酸残基の機能解析
○船橋稔孝, 山崎理恵子, 高坂智之¹, 山田 守 (山口大院・医, ¹山口大・農)

【目的】大腸菌の膜結合型グルコース脱水素酵素は、5回の膜貫通配列をもつN末側膜貫通領域とグルコースの酸化を担うC末側触媒領域の2つの機能領域をもつ。Friedrichらの研究により、N末側膜貫通領域が電子受容体であるバルクキノンと相互作用する可能性が示唆される (*FEBS Lett.* 265, 37-40, 1990)。そこで本研究では、N末側膜貫通領域においてバルクキノンと相互作用するアミノ酸残基を特定するため、幾つかのアミノ酸をアラニンへと置換し、その影響を解析した。

【結果】アラニン置換変異体の内、82番目のグルタミン酸と93番目のアルギニンをそれぞれアラニンに置換した変異体 (E82A, R93A) において膜サンプルおよび精製サンプルで酵素活性の低下が確認された。加えて、R93Aの酵素化学的解析により、野生型と比べてユビキノン-2に対する親和性が低下していることを見出した。また、精製酵素からの抽出キノン量もR93Aの方が1.3倍多いことも明らかとなった。そこで、E82およびR93の側鎖の電荷と長さのいずれかがキノンとの相互作用に重要であるかを明らかにするため、新たなアミノ酸置換変異体を構築し酵素活性を測定したところ、それぞれの側鎖の電荷が酵素活性に関与していることが示唆された。

A-10 エタノール生産性ザイモナス菌 CP4 株の高温適応変異株における生理学的・遺伝学的解析
○白丸優貴, 山下舞子¹, 村田正之¹, 松谷峰之介, 高坂智之, 山田 守¹
(山口大・農, ¹山口大院・医)

【目的】高温発酵は省エネ化や低コスト化の観点から産業への応用が期待されている手法の一つであり、バイオエタノール生産においてもその応用が進められているが、高温発酵には高温で安定に生育する耐熱性株の開発が不可欠である。これまでの研究で、耐熱化メカニズムを解明するために、比較的耐熱性の強いザイモナス菌の耐熱化を実施し、生理学的および遺伝的特徴を明らかにしてきた。本研究では、微生物の普遍的な耐熱化機構を解明するため、常温性ザイモナス菌を対象に獲得した耐熱化株の生理学的および遺伝的解析を行った。

【方法・結果】37°Cが生育限界温度である *Zymomonas mobilis* CP4 を親株に、独立した4サンプルの培養温度を段階的に上昇させながら80回継代培養を実施することで獲得した4つの耐熱化株は、39°C及び40°Cにおいて親株よりも良好な生育とエタノール生産を示した。これらの耐熱化株は生育限界温度が2°C高温側にシフトしていた。さらに、耐熱化株は高温条件下において細胞の伸長が親株と比較して抑制されていた。一方、30°Cにおいて過酸化水素および高濃度グルコースに対する耐性を解析したところ、株により耐性が異なっていた。これら耐熱化株の遺伝的変化を明らかにするため、ドラフトゲノム解析およびサンガー法によって変異の確認を行った。変異遺伝子の機能を解析したところ、すべての変異株に共通する変異遺伝子は存在しなかったが、外膜タンパク質のシャペロンやトランスポーター、そして膜構造に関与する遺伝子の変異が確認された。

A-11 大腸菌における長期定常期生存に有利な変異とその表現型
○脇 義賢, 川口純平¹, 村田正之¹, 松谷峰之介, 高坂智之, 山田 守¹
(山口大・農, ¹山口大院・医)

【目的】 細菌にとって栄養飢餓は極めて重大なストレスの 1 つである。そのような栄養飢餓状態において、多くのグラム陰性菌は休眠することなく飢餓に適応する機構により生存していると考えられている。大腸菌は、遅滞期、対数増殖期、定常期、死滅期を経て、長期定常期に入ることが既に知られているが、栄養飢餓状態にある長期定常期における生存機構についてはほとんど明らかになっていない。本研究では、その生存機構の解明を目的に、長期定常期において生存に有利な変異とその変異株の表現型を解析した。

【方法・結果】 大腸菌の細胞集団は、長期定常期においてコロニー形成数が増減することが知られている。このコロニー形成数の変動の各頂点にある細胞集団は生存に有利な変異を獲得していると考え、頂点近くの細胞から DNA を回収し、次世代シーケンサーによるゲノム変異解析を行った。その結果、培養開始後 468 時間（頂点の 1 つ）で生育できる細胞（K468）は *ndk* と *spoT* に変異が入っていることが確認された。次に、これらの遺伝子の変異が生育に与える影響を解析するため、K468 と親株との表現型を比較したところ、K468 は親株よりも細胞濁度が低く、細胞が小さくなっていることが明らかとなった。また、これらの遺伝子変異が細胞内での ppGpp 蓄積に関わっていると考え、細胞内 ppGpp 濃度が低下する変異を K468 に導入したところ細胞の伸長が見られたことから、K468 の表現型に ppGpp 量が関与していることが示唆された。

B-1 海藻又は海草を分離源としたアルギン酸資化性菌
○藤瀬麻紗子, 八木寿梓¹, 鈴木宏和, 大城 隆 (鳥取大院・工,¹鳥取大・工)

【目的】海藻表面のヌメリ成分の一つで粘質多糖類であるアルギン酸は、海藻成分中の 10~50%を占めており単純な構造を持つことからバイオマスとしての利用が期待できる。本研究ではアルギン酸分解酵素を産生する菌株をさまざまな海藻を分離源としてスクリーニングし、菌の培養方法の最適化後、得られた菌株のアルギン酸分解について検討した。

【方法】アルギン酸分解酵素を産生する菌株のスクリーニングは、鳥取県の海岸で採集した海藻を分離源とし、アルギン酸を単一炭素源とする培地を用いて集積培養を行い、単一コロニー化した。得られた菌株について培養温度、振とう数、塩濃度等の培養方法の最適化を行った。超音波破碎によって調製した無細胞抽出液を酵素サンプルとして用いて酵素反応を行い、アルギン酸の分解で生じる分解産物の炭素-炭素二重結合の増加を 232 nm における吸光度の経時変化から求め、酵素活性を測定した。さらに、分解酵素によるアルギン酸の低分子化は TLC, HPLC により確認した。

【結果】10 種類の海藻と海草（ピリヒバ、ウミウチワ、ジュズモ、ウミトラノオ、アマモ、マクサ、ナラサモ、オキツノリ、オニコンプ、オオシオグサ）を分離源としてスクリーニングを行い、ウミウチワより 2 株、アマモより 2 株、菌株をモノコロニー単離した。アルギン酸を単一炭素源とする培地で生育が最も速いウミウチワから得られた菌株の酵素活性測定を行い、アルギン酸の低分子化と 232 nm の吸光度増加からリアーゼ活性を有していることが確認され、アルギン酸資化性菌の単離に成功した。

B-2 海洋性細菌由来新規アルギン酸分解酵素の探索
○八木寿梓, 藤瀬麻紗子¹, 森川祐未¹, 鈴木宏和¹, 大城 隆¹
(鳥取大・工,¹鳥取大院・工)

【目的】アルギン酸は、藻類の細胞間粘質多糖成分の一つで、特に褐藻類では乾燥重量の約 30%を占める。食資源である海藻を除いてもアルギン酸は豊富に存在し、海藻バイオマスとしての利用が期待されているが、バイオマスとして利用するためにはアルギン酸を分解する必要がある。本研究では、海水からアルギン酸分解酵素を産生する菌株をスクリーニングし、今までに報告例のない新規アルギン酸分解酵素を探索すること目的としている。

【方法】アルギン酸分解酵素を産生する菌株のスクリーニングは、鳥取県の海岸で採集した海水を分離源とし、アルギン酸を単一炭素源とする培地を用いて集積培養を行い、単一コロニー化した。得られた菌株の培養条件の最適化を行い、酵素活性について検討した。超音波破碎によって無細胞抽出液を調製し、アルギン酸ナトリウムを基質とした酵素反応を行い、分光光度計により酵素活性を測定した。さらに、分解酵素によるアルギン酸の低分子化は HPLC を用いて確認した。

【結果】海水からのスクリーニングを行い、得られた菌株のアルギン酸分解に関する酵素活性測定を行った結果、リアーゼ活性を示す 232 nm の吸光度の増加が見られた。また HPLC 測定からアルギン酸が低分子化していることも確認でき、本菌株はアルギン酸分解酵素を有していることがわかった。培養条件の検討から、20°C 培養菌体において酵素活性が最大になった。本菌株はグルコース最小培地でも生育するが酵素活性が見られなかったことから、本酵素は誘導的に産生されることがわかった。

B-3 紅藻類オゴノリ科海藻の培養藻体に付着する微生物の特徴 ○垣田浩孝, 小比賀秀樹, 上嶋 洋 (産総研・健康工)

【目的】付着微生物はある種の海藻の成長促進や病気誘発に関与する。一方, 日本産紅藻類オゴノリ科海藻は寒天原藻であり, 有用な食糧海藻の一つである。しかし, 日本産オゴノリの付着微生物について詳細な報告がない。そこで徳島県で採取したオゴノリの付着微生物を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】徳島県で採取した天然海藻を洗浄後, 滅菌した海水で培養して培養海藻を得た。培養海藻 5 g を滅菌した食塩水溶液 45 mL と混合し付着微生物試料を調製した。試料を寒天平板に塗抹し, 20°C で 14 日間培養し出現した微生物の形態及び色素でグループ分けした。寒天培地として Marine Agar 2216, 1/10 濃度 ORI, CAM 及び CVT の 4 種類を用いた。本研究では CVT の希釈溶媒として純水の代わりに滅菌海水を使用した。各分離微生物について形態観察及び生理学的性状試験を行い絵面らの方法により分類した (Ezura *et al.* 1988)。微生物の塩要求性は 3 種類の塩濃度の異なる培養条件 (塩無添加, 1%食塩添加及び海水添加) での生育状況から判断した。また 16S rRNA gene sequence による遺伝子学的分類も実施した。優勢に生育した単離微生物として 8 株を得た。最も優勢に生育した株は, Marine Agar 2216 で生育した株で *Flavobacterium sp.* - *Cytophaga sp.* と同定された。その他に *Moraxella sp.* が 3 株, *Flavobacterium sp.* - *Cytophaga sp.* が 1 株, *Alcaligenes sp.* が 2 株及び *Pseudomonas sp.* が 1 株であった。遺伝子学的分類の結果は最も優勢に生育した株が *Flavobacteriaceae* 科に属していることを支持していた。

B-4 大腸菌における好気条件下で機能する 1-ブタノール合成代謝経路の構築 ○片岡尚也, Vangnai Alisa S.¹, 薬師寿治, 松下一信, 加藤純一² (山口大・農, ¹Chulalongkorn Univ., ²広島大院・先端)

【目的】1-ブタノールは, ガソリンと性質が類似している等の特性を持つため, 近年バイオ燃料として注目されている化合物である。これまでに, 大腸菌を宿主として, *Clostridium* 属の持つ嫌気的な 1-ブタノール代謝経路を基盤とした合成代謝経路を構築する試みが数多く行われてきた。しかし, 好気条件下で機能する 1-ブタノール合成代謝経路に関する報告はほとんど存在しない。そこで本研究では, 好気条件下での 1-ブタノール生産を可能にする合成代謝経路の構築を目的に設定し, 研究に着手した。

【方法・結果】我々は, ポリヒドロキシ酪酸合成経路と 1-ブタノール代謝経路を組み合わせた合成代謝経路を大腸菌に賦与することで, 1,3-ブタンジオールを好氣的に生産することに成功している。そこで, 本経路を基盤にした改変 1-ブタノール合成代謝経路を設計し大腸菌に賦与することで, 好氣的に 1-ブタノール生産が可能であるか検証した。生産宿主は, *Escherichia coli* BW25113 Δ ldhA lacI^R を用いた。改変 1-ブタノール合成代謝経路は, *Ralstonia eutropha* 由来 phaAB, *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* 由来 bld, *Treponema denticola* 由来 ter, *Aeromonas caviae* 由来 phaJ 及び内性アルコール脱水素酵素で構成されている。本合成代謝経路での 1-ブタノール生産を評価すべく, 酸素供給及び pH を最適化するとともに, 最適条件下で流加培養を行った。その結果, 46 時間の培養により 116 mM (8.60 g/L) の 1-ブタノールを生産した。これは, 本研究で設計した改変 1-ブタノール合成代謝経路が効率的に機能したことを示している。

B-5 Acetobacter属酢酸菌の有機溶媒耐性におけるスクアレン-ホペン環化酵素の役割
○那須裕介, Soemphol Wichai¹, 松谷峰之介, 片岡尚也, 薬師寿治, 松下一信
(山口大・農, ¹コンケン大学)

【目的】酢酸菌は、細胞膜に多種多様な膜結合型酵素を保有しており、その働きにより様々な基質を酸化する。この能力は、基質を選択することで医薬品原料生産への応用の可能性を持つ。しかし、医薬品原料の多くは疎水性物質であり、毒性を持つものが多いため、効率的生産を達成するには、この点が障害になると考えられる。そこで本研究では、酢酸菌を疎水性有用物質の生産に応用するべく、タイの果実より単離された酢酸菌 *Acetobacter tropicalis* SKU1100 の有機溶媒耐性機構の解明を目的とした。

【方法・結果】これまでに、*Zymomonas mobilis* を含む多くの菌株で、ステロール様化合物であるホパノイドがエタノールに代表される毒性物質に対する耐性に関与することが報告されている。そこで、*A. tropicalis* SKU1100 のドラフトゲノムを活用し、ホパノイド生合成に関与する遺伝子の有無を探索した。その結果、*A. tropicalis* SKU1100 も *Z. mobilis* と同様に、ホパノイドの前駆体であるホペンの生合成に関与する酵素群をコードするオペロンを持つことが明らかになった。そのオペロンの中でも、ホペン合成に直接関与するスクアレン-ホペン環化酵素 (Sql) に着目し、更なる解析を行うことにした。 Δsql 株を作製し、有機溶媒である 2-ブタノンの存在下における生育を野生株と比較したところ、顕著に生育が阻害された。また、ここで観察された生育の阻害は、*sql* の相補により解消された。このことから、*A. tropicalis* SKU1100 の有機溶媒耐性にスクアレン-ホペン環化酵素が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

B-6 *Corynebacterium glutamicum* における耐熱化と活性酸素種
○村田龍太郎, 大西康貴, Nawarat Nantapong¹, 松谷峰之介, 片岡尚也,
薬師寿治, 松下一信 (山口大・農, ¹スラナリー工科大)

【目的】*Corynebacterium glutamicum* はグルタミン酸などのアミノ酸生産菌であり、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。本研究では、ゲノムレベルでの耐熱化機構の解明と活性酸素種(ROS)との関係という2つのアプローチで研究を進めている。

【方法・結果】標準株である *C. glutamicum* KY9002 を高温適応育種することにより、その生育限界温度が 39°C から 41°C に上昇した耐熱化株 C-2D 株が得られた。親株及び耐熱化株のドラフトゲノム解析及び確認のための PCR シークエンスの結果、6箇所の変異と 33.8 kb の大規模欠損が確認された。これらの変異解析から、複製・転写・翻訳などに関与するエネルギー消費の節約が耐熱化に寄与していると示唆された。また、生育時の ROS を測定したところ、親株に比べ耐熱化株でその発生量が低下していることがわかった。しかし、*C. glutamicum* の ROS 除去系の酵素として機能する superoxide dismutase と catalase の発現量に大きな変化はみられなかった。現在、これらの酵素の欠損株及び高発現株を構築し、耐熱化との関連について研究を進めている。

B-7 酢酸発酵における酢酸菌の膜結合型アルデヒド脱水素酵素 AldFGH の役割
○福成聖也, 新納 俊, 児玉知大, 松谷峰之介, 片岡尚也, 薬師寿治,
ガンジヤナティーラグール¹, 松下一信 (山口大・農,¹カセサート大・理)

酢酸発酵は酢酸菌によるエタノールの酸化によっておこなわれる。生化学的な解析から、この過程は酢酸菌の細胞質膜に存在する2つの膜結合型酵素であるアルコール脱水素酵素(ADH)とアルデヒド脱水素酵素(ALDH)によって触媒される連続的な酸化反応によると考えられている。すなわち、ADHによってエタノールがアセトアルデヒドに酸化され、ALDHによってアセトアルデヒドが酢酸に酸化されると考えられるが、遺伝学的な証拠は乏しい。酢酸菌のALDHは3つのサブユニットによって構成されている。サブユニットI(AldH)は脱水素活性を担い、サブユニットII(AldF)とサブユニットIII(AldG)は電子伝達を担っている。

私たちは以前、ALDHの遺伝学的解析を行うために、*Acetobacter pasteurianus* SKU1108株のaldH遺伝子破壊株(Kodama-1株)を構築した。この株は酢酸発酵能が大幅に低下していたが、エタノールを含まない培地での生育も野生株より悪かった。本研究では、改めてaldH破壊株を構築した。新しく構築したaldH破壊株(Δ aldH株)はエタノールなしの培地において対照株と同様の生育を示した。エタノールを含む酢酸発酵条件下での生育が悪く、酢酸の生成が著しく低下した。aldH相補によって、生育や酢酸発酵能は回復した。 Δ aldH株の細胞懸濁液でのオキシダーゼ活性は対照株と差がなく、膜でのオキシダーゼ活性は、 Δ aldH株は対照株に比べわずかに低下していたのみだった。Kodama-1株と今回作製した Δ aldH株との差違は、遺伝子破壊株の構築過程で生じたコロニー形態の差違と関連していることが示唆された。

B-8 出芽酵母の小胞輸送を制御する脂質に関する研究
○辛島健文, 船戸耕一 (広島大院・生物圏)

細胞が正しく機能するためには、細胞内で合成されたタンパク質が機能するオルガネラまで輸送される必要がある。輸送の手段の一つに小胞輸送がある。小胞輸送は膜の構造変化を伴うプロセスであることから、膜の主成分である脂質が小胞輸送を制御している可能性がある。しかし、小胞輸送における脂質の役割については明らかとなっていない。小胞体からゴルジ体への小胞輸送はCOP II小胞輸送と呼ばれている。以前の解析から、SLC1遺伝子の破壊はCOP II小胞輸送の初期ステップに関わる遺伝子SEC12の変異株(sec12変異株)の高温での表現型を抑圧することが明らかとなった。Slc1はリゾリン脂質アシル化転移酵素の一つであり、リゾ体のグリセロリン脂質からグリセロリン脂質を作る酵素である。小胞輸送はSEC12以外にも、コートタンパク質の形成に関わる遺伝子、輸送小胞の融合に関わる遺伝子など様々な遺伝子が関与している。そこで今回、SLC1の欠損による影響がsec12変異株に特異的であるか調べるため、SEC12以外の小胞輸送関連遺伝子の温度感受性変異株の表現型に対するSLC1破壊の影響を解析した。

B-9 分裂酵母 *S. pombe* の細胞外オリゴペプチド利用制御
○北村憲司, 藤本菜奈¹ (広島大・自然科学研セ, ¹広島大・工)

【目的】 細胞外栄養の感知と有効利用は、微生物の生存に不可欠である。*S. pombe* の Ubr11 ユビキチンリガーゼはペプチド輸送体発現と細胞外オリゴペプチドの利用に必要なが、具体的な作用は謎だった。Ubr11 の基質候補蛋白質の同定とペプチド利用における役割について調べた。

【方法・結果】 *ubr11* 株の欠損形質を抑圧する突然変異の解析から、DNA 結合蛋白質をコードする Upa1(Utilization of peptides and amino acids)を同定した。Upa1 蛋白質量は *ubr11* 株で増加しており、*ubr11* 形質の抑圧には Upa1 の機能喪失が必要だった。Upa1 蛋白質量とペプチド輸送体遺伝子の発現量は逆相関し、野生型株でも Upa1 を過剰発現するとペプチド輸送体遺伝子の発現が抑制されペプチド利用効率が悪くなった。輸送体の発現抑制には Upa1 の DNA 結合領域が必要であると共に、標的である輸送体遺伝子プロモーター上の結合候補配列を変えると、Upa1 による阻害が緩和された。

Ubr11 は、基質蛋白質の不安定性が基質自身の N 端アミノ酸で決まる N 末端側蛋白質分解経路で働いている。N 端側を欠失させた Upa1 蛋白質を用いて調べたところ、Ubr11 による分解は Upa1 の N 端側は不必要で N 末端側には依存しなかったが、N 末端側分解活性を阻害するジペプチドや、一部の単量体アミノ酸が細胞外に存在すると、Upa1 蛋白質量が減りペプチド輸送体の発現量が上昇した。感知の具体的な仕組みの解明は今後の課題だが、Ubr11-Upa1 はジペプチドやアミノ酸量に応じて細胞膜上の輸送体量を正にフィードバック制御して細胞外からの取込み促進と有効利用を調節している。

B-10 酵母亜鉛感受性プロモーターによるタンパク質高発現と亜鉛濃度依存的な誘導発現
○新村翔太, 星田尚司, 赤田倫治 (山口大院・医)

【目的】 誘導発現プロモーターは遺伝子発現制御やタンパク質高生産において非常に重要である。現在酵母において誘導的高発現プロモーターとしてガラクトース誘導性プロモーターが知られているが、このプロモーターはガラクトース濃度依存的な発現量を示すわけではない。誘導因子による濃度依存的な発現調節ができ、かつ高発現を示すプロモーターが望まれている。そこで、亜鉛トランスポーターをコードする遺伝子 *ZRT1* に注目し、このプロモーターを利用して亜鉛濃度依存的に誘導を示す高発現プロモーターの開発とその誘導条件を調べた。

【方法・結果】 酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において *ZRT1* は亜鉛の濃度により発現変化することが知られている。このプロモーターの下流に赤色蛍光タンパク質をコードする RFP を発現させるように、マルチコピープラスミドにクローニングした。この酵母で *ZRT1* プロモーターは、高発現として知られる *TDH3* プロモーターよりも亜鉛が少ない条件では高い発現を示すことが分かった。また、*ZRT1* プロモーターの亜鉛濃度依存性を調べたところ、亜鉛が少ないほど高発現を示すことが分かり、一方では、亜鉛を過剰投与すると発現を抑えられることが分かった。この時、培養する条件を変えることで、各条件下での亜鉛濃度依存的な発現を示すことができた。

B-11 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* による高温発酵に必要な栄養成分の解析
○中川貴皓, 星田尚司, 赤田倫治 (山口大院・医)

【目的】細胞の代謝は栄養や環境が変わることで変化する。栄養には炭素源, 窒素源, ミネラル, ビタミン, 環境には栄養や温度, pH, 好気, 嫌気などがあり, これらの変化によって代謝が影響を受ける。産業的には生産に最適な発酵条件を探し出すことが求められているが, どのような栄養素がどの程度発酵に寄与しているか等, 分かっていないことが多い。そこで本研究では発酵を制御することを目指し, バイオエタノール生産へ利用される酵母の発酵に必要な栄養と環境の解明を行った。

【方法・結果】耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* を用いて既存の合成培地を元に栄養成分を変化させることで発酵量を調べた。発酵量測定にはファーモグラフを用い, 40°C, 20 ml の培養液での CO₂ 発生量を測定した。まず YPD 培地と増殖に優れた合成培地において発酵を比較したところ, 合成培地では途中で発酵が停止した。そこで発酵停止要因を調べるために Yeast Nitrogen Base を添加したところ YPD と同等な発酵を示した。そこで Yeast Nitrogen Base 中の成分を調べたところ CaCl₂ を加えたときに発酵量が上昇した。次に CaCl₂ を添加した培地で窒素源をアミノ酸と硫酸アンモニウムで比較したところ, 硫酸アンモニウムのとき発酵が低下した。硫酸アンモニウムでは発酵後の pH が 2.6 と低い値となったためリン酸緩衝液で pH を 6.8 に調整すると発酵後の pH が上昇し発酵を上昇させた。したがって, 硫酸アンモニウムでは pH の安定化が必要であると分かった。さらに改良した合成培地を用い, ビタミン等の量を変化させ, 発酵に必要な成分を調べている。

C-1 アスコルビン酸生合成の光制御に関わるシロイヌナズナ VTC2 タンパク質の機能解析
種子田隼人, 安本彩花, 丸田隆典, 澤 嘉弘, 吉村和也¹, ○石川孝博
(島根大・生資科, ¹中部大・応生)

維管束植物の葉中アスコルビン酸レベルは光照射下で増加し, 暗条件下では減少するといった日周変動性を示す。これまでには我々はモデル植物のシロイヌナズナを用いた研究から, 1) 光応答時にはアスコルビン生合成の主要経路である D-マンノース/L-ガラクトース (D-Man/L-Gal) 経路構成酵素遺伝子群の中でも, GDP-D-Man ホスホリラーゼをコードする VTC2 遺伝子の発現レベルおよびその酵素活性が最も顕著に変動すること, 2) エストロゲンによる一過的発現誘導系において, VTC2 遺伝子を発現誘導した場合にのみ葉中アスコルビン酸量の増加が認められること, を報告しており, アスコルビン酸生合成の光制御には遺伝子レベルでの VTC2 発現制御が重要であることを明らかにしてきた。今回, アスコルビン酸生合成の光制御機構の詳細を明らかにすることを目的に, これまでの VTC2 遺伝子レベルでの解析に加え, VTC2 タンパク質の機能解析を行った。VTC2 タンパク質の細胞内局在性を調べるために, GFP との融合タンパク質発現用コンストラクトを作製し, シロイヌナズナおよびシロイヌナズナ懸濁培養細胞に形質転換した。共焦点レーザー顕微鏡による解析の結果, VTC2 タンパク質は細胞質以外に核にも局在することが確認された。現在, VTC2 との相互作用タンパク質を調べるため, プルダウンにより得られたタンパク質の nanoLC-ToF/MS 分析を進めるとともに, 組換え体 VTC2 のホスホリラーゼ活性についても評価を行っている。

C-2 *Rhizobium* sp. S10 株由来 D-グルコシド-3-デヒドロゲナーゼによるゲンチオビオースから新規二糖の生産
○野村彩希, 寺見優司¹, 上地敬子², 森本兼司², 高田悟郎²
(香川大・農, ¹愛媛大院・連農, ²香川大・希少糖セ)

【目的】

希少糖とは自然界にほとんど存在しない単糖とその誘導体と定義されている。現在, 機能的な研究が進められている希少糖 D-アロースは, 抗酸化作用, 癌細胞増殖抑制作用など様々な生理機能を有することがわかっている。D-グルコシド-3-デヒドロゲナーゼは D-グルコースの炭素第 3 位の酸化を触媒する酵素で, 生産物の 3-デヒドロ-D-グルコースをおだやかに還元すると希少糖 D-アロースを生産することができる。本研究では新たに単離した根粒菌の生産する本酵素を用いて, ゲンチオビオースから 3-デヒドロ二糖を生産し, さらに, 新規の二糖に転換することを目的とした。

【方法・結果】

まず, D-グルコシド-3-デヒドロゲナーゼを生産する根粒菌を土壌から単離した。得られた根粒菌 S10 株を培養し粗酵素を抽出後, 各種クロマトグラフィーにより, 精製を行った。D-グルコースを構成糖とするゲンチオビオースを基質とし, 本菌由来の精製酵素と電子受容体であるフェナジンメトサルフェートを用いて酵素反応を行った。ゲンチオビオースの炭素第 3 位を酸化後, 水素化ホウ素ナトリウムによって還元することにより, 新規の二糖を得た。

C-3 ハイマンノース型遊離糖鎖のタンパク質リフォールディング促進機能
○田中達也, 藤崎尚樹¹, 前田 恵, 二見淳一郎², 阿部義人¹,
植田 正¹, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命,¹九州大院・薬学府,²岡山大院・自然科学)

【目的】分化・成長中の植物組織には遊離型 N-グリカン (FNGs) が μM 濃度で存在し, それら FNGs の *in vivo* での生理機能に興味を持たれている。最近, 我々は既存の FNGs 生成機構では説明できない構造の植物複合型 FNGs (GN1-FNGs)を見出し [1], ハイマンノース型 FNGs がタンパク質フォールディングの場である小胞体中に存在する可能性を示唆した。そこで, 本研究ではアミロイドーシスの原因タンパク質の 1 つである免疫グロブリン L 鎖可変領域ドメイン変異体(3Hmut Wil : 非糖タンパク質)をモデルタンパク質として用いて, FNGs のタンパク質フォールディング誘導活性を解析した。

【方法・結果】3Hmut Wil の変性条件下(30°C, pH 2.0)において, トラムメから調製したハイマンノース型 FNG(Man8GlcNAc2)を添加し, Trp 蛍光強度変化追跡及び¹H-¹⁵N NMR (HSQC-NMR)によりタンパク質構造解析を行なった。次いで FNG のアミロイド繊維形成への影響をアミロイド繊維と相互作用する蛍光プローブ(チオフラビン T)を指標として解析した。その結果, ハイマンノース型 FNG 濃度依存的に Trp 蛍光強度が低下し, 15 mM 量の FNG 存在下で HSQC-NMR スペクトルが正常にフォールディングした 3Hmut Wil のものへと近似した。また, アミロイド繊維形成が 5 mM FNG 添加により 50%程度抑制されたことから, FNG 添加によりタンパク質リフォールディングが促進され, 変性タンパク質間の凝集によるアミロイド繊維形成が阻害されたことが示唆された。

[1] Maeda, M., Kimura, M., and Kimura, Y. *J. Biochem.* 148, 681-692 (2010).

C-4 インフルエンザ・シアリダーゼ阻害剤の開発 : ニフツ化シアル酸
○清田洋正, Christopher J. Vavricka, 泉 実, 田中皓祐¹, 鈴木康夫²,
大類 洋³, George F. Gao⁴ (岡山大院・環境生命,¹東北大院・農,²中部大・
生命健康,³横浜薬科大,⁴中国科学アカデミー)

新規なインフルエンザ治療薬の開発は, パンデミックに備えるために重要な課題である。ウィルスの出芽段階で機能するシアリダーゼを標的として, リレンザ, タミフル等が上市されてきたが, 頭痛, めまい, 異常行動などの副作用や抵抗性株の出現が問題となっている。

1. インフルエンザ・シアリダーゼの酵素触媒機構 (二重反転 (保持) 機構) の解明

アジアインフルエンザ・シアリダーゼの活性中心部にある Tyr406 の OH 基が, 糖鎖加水分解において求核的に働く二重反転 (保持) 機構を 3'-sialyllactose をアナログ基質とした酵素反応実験により解明した[1]。

2. 共有結合形成による阻害剤 {2 α ,3 α -difluorosialic acid (1)} の開発

Tyr406 の OH 基を標的に共有結合形成による阻害剤 **1** を設計した[2]。2 位 F 基は良い脱離基, 3 位 F 基は中間体オキソニウムカチオンの不安定化を図ったものである。酵素との共結晶 X 線解析から, Tyr406 と 2 位 C 原子との共有結合形成が確認された。

3. シアリダーゼ阻害試験 (タミフル耐性株に有効)

インフルエンザウィルスのシアリダーゼ阻害活性試験を行った。**1** は, B 型ウィルスではリレンザ・タミフルと同等, タミフル耐性株に対しても阻害活性を示した。相当する β 異性体には殆ど活性はなかった。

[1] C. J. Vavricka *et al.*, *Nat. Commun.* 4, 1491 (2013). [2] M. Ferdanda Amaya *et al.*, *Structure.* 12, 775 (2004).

C-5 鉄硫黄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* の異なる生育基質におけるタンパク質の解析
○田原奈津美, 上村一雄, 金尾忠芳 (岡山大院・環境生命)

【目的】 鉄硫黄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* は好酸性化学合成独立栄養細菌である。本菌は二価鉄や還元型無機硫黄化合物を酸化する能力を持つため、低品位鉱石から銅などの有用な金属を溶出させる技術であるバクテリオリーチングや、酸性鉱山廃水処理において重要な役割を果たしていると考えられる。本菌の代謝経路を解明しこれらの技術を向上させるため、本研究では *A. ferrooxidans* の異なる生育基質におけるタンパク質の解析を行った。

【方法・結果】 まず本菌の還元型無機硫黄化合物代謝において重要な中間代謝物であるチオ硫酸を唯一のエネルギー源として用いた本菌の簡易的な培養方法の確立を試みた。培地中のテトラチオン酸及びチオ硫酸濃度は HPLC を用いて測定を行い、培地中の pH 変化及び菌数測定を行った。その結果、培地の pH を上げ、植菌量をコントロールすることで本菌のチオ硫酸を生育基質とした時の良好な生育を確認した。次にテトラチオン酸、チオ硫酸、元素硫黄、二価鉄の異なる生育基質を用いて本菌の培養を行い、それぞれ cell free 画分、可溶性画分、膜画分、ペリプラズム画分を調製し、発現タンパク質を SDS-PAGE により比較した。それぞれの生育基質で特異的に見られたバンド及び過剰に見られたバンドのシーケンスを行い、タンパク質を同定した。また硫黄代謝における重要な酵素に対する抗体を用いて、各生育菌体タンパク質画分に対して Western Blot 解析を行った。

C-6 鉄酸化細菌のチオ硫酸デヒドロゲナーゼの性質
○秋田康裕, 金尾忠芳, 上村一雄 (岡山大院・環境生命)

【目的】 鉄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* は、二価鉄および還元型無機硫黄化合物を唯一のエネルギー源として生育する好酸性の化学合成独立栄養細菌である。本菌はバイオリーチング（有用金属を溶出させる技術）において主要な働きをする微生物として、二価鉄や還元型無機硫黄化合物の酸化について、多くの研究がなされてきた。本菌のエネルギー代謝機構が確立され、鉄代謝経路および硫黄化合物代謝経路の制御メカニズムを明らかにすることが出来れば、硫黄化合物代謝の誘導的もしくは構成的高発現により、バイオリーチングにおける飛躍的なリーチング効率の上昇が期待される。本菌の硫黄化合物代謝においてチオ硫酸よりテトラチオン酸を合成するチオ硫酸デヒドロゲナーゼ (Tsd) が精製された。Tsd は遺伝子解析の結果、溶質結合タンパク質 (ModA) と複合体を形成しているものと推測されたが、詳細は明らかになっていない。そこで本研究では Tsd の構造とその機能解析を目的とする。

【方法・結果】 *Acidithiobacillus ferrooxidans* の部分精製酵素を Native-PAGE に供し、Tsd 活性染色を行った所 2 つのバンドが検出された。このことから Tsd は複合体を形成していることが示唆された。さらに、抗 Tsd 抗体、抗 ModA 抗体を用いてウエスタンブロッティングを行った結果、前者では、活性バンドと重なる 2 つのバンドが検出されたのに対して、後者は、活性バンドと反応しなかった。また、2次元電気泳動およびゲルろ過クロマトグラフィーによる分子量推定の結果、Tsd は 4 量体もしくは 2 量体として存在していることが示唆された。

**C-7 Purification and properties of thiosulfate dehydrogenase from marine
*Acidithiobacillus thiooxidans***
O Sultana Sharmin, Tadayoshi Kanao, Kazuo Kamimura
(Grad. Sch. Environ. Life Sci. Okayama Univ.)

Acidophilic sulfur-oxidizing bacteria that are tolerant to NaCl or require NaCl for growth may be useful in developing remedial technologies for salt-containing environments contaminated with heavy metals. An obligately chemolithotrophic sulfur-oxidizing bacterium strain SH was isolated from Seto Inland Sea and identified as *Acidithiobacillus thiooxidans* on the basis of 16S rRNA gene sequence. The principle objective of the present investigation is to purify thiosulfate dehydrogenase, a key enzyme of sulfur oxidation. The enzyme activity measured using ferricyanide as the electron acceptor was detected in the membrane of strain SH grown on thiosulfate or tetrathionate. The enzyme solubilized from membrane of thiosulfate-grown strain SH was purified by two-step procedure using Q-Sepharose anion exchange and gel filtration column chromatographies. The procedure resulted in 116-fold purification. The final preparation was electrophoretically homogeneous by SDS-PAGE and resolved into a single major band with molecular mass of 44 kDa. The molecular mass of the native enzyme was estimated to be about 75 kDa, indicative of two subunits of equal molecular mass. The optimum pH and temperature of the enzyme were 4.0 and 40°C respectively. The enzyme reacted with thiosulfate as substrate. At pH 4.0, the K_m for thiosulfate was 0.4 mM. The genetic analyses of the enzyme are now in progress.

C-8 深海及び浅瀬由来シトクロム *c* のアミノ酸レベルでの安定性比較
O 政成美沙, 三本木至宏 (広島大院・生物圏)

【背景・目的】深海は高圧力環境である。蛋白質は高圧力によって変性するため、深海に生息する微生物は深海に適応して安定性の高い蛋白質を生産していると考えられる。しかし、安定化の分子機構はまだ分かっていない。本研究では、深海（深度 5,110 m）に生息する *Shewanella violacea* と、浅瀬に生息する *Shewanella livingstonensis* 由来のシトクロム *c*（以下それぞれ SV, SL）の安定性を比較し、深海由来シトクロム *c* のアミノ酸レベルでの安定化機構に迫る。

【方法・結果】SV および SL は大腸菌を用いて異種発現し、各種イオン交換クロマトグラフィーを用いて精製した。また、他の *Shewanella* 属細菌由来シトクロム *c* を含めてアミノ酸配列を比較し、深海由来と浅瀬由来で特徴的なアミノ酸を見出した。それぞれのアミノ酸について相互に入れ替える変異体を作成し、安定性を測定した。熱安定性の測定には示差走査熱量計（DSC）を、変性剤耐性の測定には分光光度計を使用した。その結果、深海由来の SV は、浅瀬由来の SL よりも高い安定性を示した。変異体については、浅瀬由来である SL の安定性が上昇するような変異はまだ見つかっていない。

【考察・展望】コンピュータ上での 3D 構造シミュレーションより、変異導入した部位で立体障害が起きている可能性があることが分かった。そこで、現在は立体障害を起こすアミノ酸残基も共に変異導入した二重変異体の作成、安定性の測定を進めている。また、結晶構造解析を行い、より詳細なアミノ酸レベルでの安定化機構に迫る。

C-9 新規酵素 GDE4 および GDE7 は、LPC および lysoPAF を分解し、LPA および alkyl-LPA の産生に関与する 工藤尊裕, 大嶋紀安¹, 山下洋祐, Stefania Mariggio², 加藤範久, Daniela Corda², 和泉孝志¹, 〇矢中規之 (広島大院・生物圏, ¹群馬大院・医, ²National Research Council, Italy)

glycerophosphodiester はリン脂質の 2 つの acyl 基が切断されることによって生じる水溶性の細胞内物質であり、phosphatidylcholine から生じる glycerophosphocholine (GroPCho) や phosphatidylinositol から生じる glycerophosphoinositol (GroPIIns) などは、それぞれ浸透圧ストレス調節や、細胞増殖、細胞分化などに深く関与する細胞内シグナル伝達物質として知られている。glycerophosphodiester の分解酵素として知られる GDE (glycerophosphodiesterase) ファミリーには 6 種類存在し、それぞれ GroPCho や GroPIIns を選択的に分解することで、細胞内濃度の調節を担うことが示されている。本研究では GDE ファミリーの酵素活性領域のアミノ酸配列を指標にゲノム配列に対して virtual に探索し、新規酵素 GDE4、および GDE7 を単離した。両酵素の酵素活性についての組換え精製タンパク質を用いて解析を行ったところ、GroPCho や GroPIIns に対する分解活性は示さず、phosphatidylcholine の 2 位の acyl 基が切断された lysophosphatidylcholine (LPC) に対する lysophospholipase D 活性を有することで、lysophosphatidic acid (LPA) を産生することが明らかとなった。さらに、GDE4、および GDE7 は、platelet-activating factor (PAF) の lyso 体である lyso-PAF に対しても lysophospholipase D 活性を有し、alkyl-LPA を産生することが明らかとなり、GDE4、および GDE7 は LPC や lyso-PAF の代謝を担うと考えられた。以上の結果から、GDE4、および GDE7 は LPA や alkyl-LPA の新規合成系として機能することで情報伝達を担う新規酵素としての可能性が示された。

C-10 IAN family に属する small G タンパク質 AIG1-11 の機能解析
〇上野可南子, 久場 遥, 玉栄空輝, 塩田真友¹, 高坂智之¹, 内海俊彦, 山田 守 (山口大院・医, ¹山口大・農)

【目的】

IAN family は、細胞内シグナル伝達に関与する GTP 結合タンパク質の一群である。一般的に、GTP 結合タンパク質は通常時またはストレス状況下での生育や分化の制御に関与していることが知られているが、IAN family は機能がほとんど解明されていない。シロイヌナズナには 14 個の IAN family 遺伝子 (*AIG1-1* ~ *14*) が存在し、このうち、*AIG1-1* は病原菌感染時に発現誘導されることが知られているが、他の AIG 遺伝子の機能等についてはまったく不明である。本研究では *AIG1-11* に焦点を当て、データベースに基づいたアミノ酸配列や遺伝子発現情報の解析及び欠損株の表現型観察を行い、機能解明を試みた。

【方法・結果】

AIG 遺伝子の遺伝子座を調べた結果、*AIG1-11* のみ遺伝子クラスターを形成せず単独で 2 番染色体上に存在していることが分かった。このことから、*AIG1-11* は AIG 遺伝子の中でも特有の機能をもっていることが予想され、アミノ酸配列と遺伝子発現情報を解析したところ、それを裏付けるように *AIG1-11* は唯一 PP2 ドメインをもっており、その遺伝子転写量は低温ストレス条件時に根で増加することが分かった。そこで、*AIG1-11* 欠損株の表現型を調べたところ、害虫の存在下で矮小であること、さらに、低温条件で野生株よりも根の伸長が抑制されることが明らかとなった。以上の結果から、*AIG1-11* は害虫への防御応答と低温ストレス応答の 2 つのシグナル伝達に関与していることが示唆された。

C-11 バラハタ (*Variola louti*) 肝臓中のシガトキシン (CTX) 酸化酵素の検出
○別當博志, 池原 強, 大城直雅¹, 安元 健²
(水大校・食品科学, ¹国立衛研, ²日本食品分析セ)

【目的】シガテラは主に熱帯及び亜熱帯海域に生息する魚類に起因する自然毒食中毒で、世界的な水産物流通の拡大・多様化によって発生地が拡大し、推定患者数は毎年2~6万人に達している。しかし、原因毒のシガトキシン類 (CTXs) は多種類かつ超微量であるため分析に必要な標準毒の確保が難しく、その毒化機構は解明されていない。そこでシガテラ魚の毒化機構を明らかにするために、シガテラ魚のバラハタを用いて、肝臓中のCTX酸化酵素を検出することを目的とした。

【方法・結果】沖縄産バラハタ肝臓から肝組織抽出液を作製し、CTX酸化反応に使用した。肝組織抽出液に天然試料から精製したCTX4A/4Bを基質として添加し、37℃で60分間反応させた。反応停止後、濃縮し、LC-MSの分析試料とした。LC-MS分析の結果、酸化型のCTXs (CTX1B, 52-epi-54deoxy CTX1B, 54-deoxy CTX1B) が検出された。この結果から、バラハタの肝臓中にCTX酸化酵素の存在が示された。また、これまでに報告されているバラハタ生体内の毒組成と今回の *in vitro* 酸化反応によって得られた酸化物の組成が同じだったことから、バラハタ魚生体内での酸化反応を *in vitro* で再現可能な実験系が構築できたと言える。今回はヒトCYP3A4による実験プロトコルを基に反応系を構築したが、魚の生体内での環境を考慮し、酸化反応の温度条件を検討することによって、反応効率を向上させることが可能であると考えられる。今後は、酸化酵素の精製を進め、酵素の同定を行うと共に、他のシガテラ魚肝臓を用いて酸化酵素の活性を検出し、CTX酸化酵素の活性プロファイルを作成する予定である。

D-1 オルト位に塩素原子を有するシアノバクテリン類縁体の合成と PSII 阻害活性
○檜皮恭平, 下山翔輝, 西脇 寿, 首藤義博 (愛媛大・農)

【目的】 シアノバクテリンは淡水中のラン藻 *Scytonema hofmanni* の二次代謝産物であり, 他のラン藻類に対する殺藻性が報告されている。また, PSII の電子伝達を阻害することで高等植物に対しても生長阻害活性を示すことが確認されている。芳香環上のクロロ基の存在がこの阻害活性に重要であることがこれまでに明らかにされているものの, その置換位置が生理活性におよぼす影響については検討されていない。本研究では, 塩素原子の置換位置と阻害活性の相関関係を調べることを目的として, オルト位に塩素原子を導入した類縁体を合成し, その PSII 阻害活性を測定した。

【方法・結果】 ピペロナールをドブナー法とそれに続く水素添加によってカルボン酸へと導き, 塩化スルフリルとメタノールを用いてメチルエステル化するとともにオルト位を塩素化し中間体を得た。もう一方の中間体は, アニスアルデヒドから調製したアルキンとイソブチリルクロライドとの縮合により得た。NaHMDS を用いて 2 つの中間体を縮合した後, 水酸化ナトリウムによりエステルを加水分解し, 最後に硝酸銀を用いて環化することで目的化合物を含む混合物を得た。それらをキラルカラムによって分離し, ホウレンソウから調製したクロロフィルを用いて PSII 阻害活性を評価した。

D-2 スルフィドの新規イミド触媒的 NaOCl 酸化反応の開発と医薬品候補化合物への応用
○福田直弘, 澤井泰宏, 山崎 健, 湊 幸雄, 佐川隆司, 稲垣敦士, 浦山真一,
池本朋己 (武田薬品工業 (株)・CMC 研究セ)

【目的】 当社では, 細胞死抑制作用や, マクロファージ遊走阻止因子に結合する能力を有し, さらに心不全症候群などに対する予防治療用医薬となることが期待される化合物の研究開発が進められている [1]。その開発の過程で, 毒性試験および製剤検討用原薬供給のため, キログラムスケールでの製造が可能なプロセスの開発が求められた。目的化合物の構造中に存在するスルホンは一般的にスルフィドの酸化によって得られるため, スケールアップ可能かつ安全なスルフィドの酸化方法の開発を中心に研究を行った。

【方法・結果】 目的化合物の鍵となる合成中間体として 2-シアノ-5-スルホニルピリジンを設定し, 2-シアノ-5-スルフェニルピリジンの酸化検討を行った。その結果, 次亜塩素酸ナトリウムを用いたイミド触媒的スルフィド酸化反応を見出し, 大量合成に適用可能であることを確認した。本触媒的酸化システムは廃棄物が主に NaCl と水であるため環境調和性の高い反応系であると言える。また, スルフィドの新規酸化反応について詳細な検討を行い, 種々のスルフィド化合物の酸化に適用可能であることを確認した [2]。

[1] Kajino, M., Kawada, A., Nakayama, Y., Kimura, H., Tawaraishi, T. PCT Int. Appl. WO2003 020719 A1 20030313 (2003).

[2] Fukuda, N., Ikemoto, T., *J. Org. Chem.* 75, 4629 (2010).

D-3 Hindsilactone A の合成研究

○野下俊朗, 曾田綾乃, 西川 耀¹, 大内秀一²

(県広大・生命環境, ¹県広大院・生命システム, ²近畿大・薬)

【目的】Hindsilactone A はニシキギ科の *Celastrus hindsii* (和名: ダイブツルウメドキ) から単離され, (CA 命名によれば) 11-hydroxy-12-methoxy-5,14-dioxatricyclo[13.2.2.1^{9,13}]icosane-1(18),7,9(20),10,12,15(19),16-heptaene-6-one と構造が決定された,天然には例の少ないジアリールエーテルオキシネオリグナンマクロライドである。本化合物はヒトがん細胞 HCT116 などに細胞毒性を示すことが報告されているものの全合成は未だ達成されていない。そこで本研究では hindsilactone A の全合成を目的とした。

【方法及び結果】まず hindsilactone A の dehydroxy 体の合成を検討した。ジアリールエーテルの構築は汎用される Buchwald-Hartwig クロスカップリング法よりも Ullmann エーテル合成法が良い結果を与えることが判明したため本法を用いて合成を行うことにした。イソバニリンと *p*-ブロモベンズアルデヒドをカップリングしジアルデヒドとしたのち HWE 反応で増炭しジエステルとした。このジエステルを還元しジオールとし一方の水酸基を保護した。一方の遊離の水酸基をカルボン酸に酸化した後, ラクトン化し次いで α 位に phenylselenenyl 基を導入, 脱離することで二重結合を導入する予定である。

Hindsilactone A の合成にあたってはまず, 没食子酸から得られる methyl 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzoate と *p*-ブロモベンズアルデヒドとのカップリングを検討した。種々条件を検討した結果, 溶媒を *N,N*-dimethylacetamide とし, 過剰の銅粉をもちいる条件でのみジアリールエーテルが生成した。現在得られた化合物の変換を検討中である。

D-4 *N*-グリカン結合糖鎖ポリマーの効率的な作製方法の確立

○竹田直人, 前田 恵, 木村吉伸 (岡山大院・環境生命)

【背景】花粉アレルゲンの多くは, α 1-2 キシロースと β 1-3 フコースを有する植物特異的な抗原性 *N*-グリカン (糖鎖) が結合した糖タンパク質である。植物抗原性糖鎖の骨格構造 ($\text{Man}_3\text{Fuc}_1\text{Xyl}_1\text{GlcNAc}_2$) は, スギ花粉症患者 Th2 細胞のスギ花粉アレルゲン Cry j1 刺激による細胞増殖と IL-4 の産生を抑制する。植物抗原性 *N*-グリカンが有する免疫活性の作用機序を明らかにする研究の一環として, 本研究では糖鎖結合糖鎖ポリマーを作製し, それらの細胞性免疫活性を明らかにすることを目的とした。【方法】糖鎖ポリマー骨格には, L 体 γ ポリグルタミン酸 (γ PGA) を用いた。また, 糖鎖構造による免疫活性の違いを解析するため, 動物および植物細胞が共通に発現するハイマンノース型糖鎖 ($\text{Man}_{5,9}\text{GlcNAc}_2$), ほ乳動物が発現する複合型糖鎖 ($\text{NeuAc}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$) についても糖鎖ポリマーの作製を試みた。アスパラギン結合糖鎖 (Asn-糖鎖) は, 植物抗原性糖鎖を銀杏種子貯蔵糖タンパク質から, ハイマンノース型糖鎖を虎豆貯蔵糖タンパク質から, 動物複合型糖鎖を卵黄より調製した。糖鎖ポリマーの合成は, γ PGA と Asn-糖鎖を脱塩水に溶解後, 縮合剤の DMT-MM を添加し, 室温で 4 時間攪拌した。反応後, ゲルろ過と逆相 HPLC により糖鎖ポリマーを精製した。 γ PGA に対する Asn-糖鎖の結合率は, 糖鎖ポリマー中のアスパラギン酸とグルタミン酸のモル比から算出した。【結果】銀杏種子貯蔵タンパク質 (21 g) から 37 mg, 虎豆貯蔵タンパク質 (33 g) から 32 mg, 卵黄 (6 個) から 39 mg の Asn-糖鎖を精製し, それぞれの糖鎖ポリマーは γ PGA1 分子における糖鎖修飾率が 15.4, 8.6, 11.1%であった。

D-5 オリーブ葉二次代謝産物 oleuropein aglycon から reduced oleuropein aglycon への反応を触媒する *Saccharomyces cerevisiae* 由来酵素の同定

○森 吉弘, 仁戸田照彦, 守屋央郎¹, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命,¹岡山大・異分野コア)

【目的】我々はオリーブ葉二次代謝産物 oleuropein aglycon (化合物 A) が乾燥パン酵母を用いた酵素反応により reduced oleuropein aglycon (化合物 B) へ変換されることを見出してきた。パン酵母の数多くの酵素から、この反応を触媒する酵素を同定することは非常に興味深い。我々は *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 (野生株) に出芽酵母の持つ遺伝子のうち任意の遺伝子を過剰発現させた株を 6000 種類作製しており、今回これらの株で酵素反応を行い、化合物 A から化合物 B への変換反応を触媒する酵素の同定を試みた。

【方法・結果】化合物 B は化合物 A のアルデヒドがアルコールへと還元された化合物である。このことから、化合物 B への変換反応には alcohol dehydrogenase 等の酵素が関与していることが予想された。そこで、*Saccharomyces cerevisiae* 遺伝子のデータベースにおいて alcohol dehydrogenase としての機能が予想される遺伝子を野生株に過剰発現させ、その株で化合物 B への変換反応を行った。その結果、alcohol dehydrogenase 6 (ADH6) をコードする *adh6* 遺伝子を過剰発現した株において、野生株よりも効率的な化合物 B への変換が確認された。また、*adh6* 遺伝子をノックアウトした株では、野生株を用いたときと比較して化合物 B への変換はわずかしこ進行していなかった。このことから、化合物 B への変換反応を触媒する酵素は複数存在し、ADH6 がそのうちのひとつであることが明らかとなった。さらなる研究の結果、ADH6 と同様に alcohol dehydrogenase としての機能が報告されている *sfa1* (sensitive to formaldehyde1) 遺伝子がコードする酵素が化合物 B への変換反応を触媒していることも明らかとなった。

D-6 Reduced oleuropein aglycon から hydroxytyrosol と reduced elenolic acid への変換

○古賀まり子, 高津綾香, 原田嘉広, 徐 恵美¹, 菊地敬一¹, 仁戸田照彦, 神崎 浩 (岡山大院・環境生命,¹日本オリーブ (株))

【目的】酸や酵素によって oleuropein aglycon は hydroxytyrosol と elenolic acid へ変換され、hydroxytyrosol は化粧品素材に応用されている。我々はオリーブ葉抽出物をパン酵母で反応させると oleuropein aglycon のアルデヒド基が還元されて reduced oleuropein aglycon へと変換されることを見出してきた。今回 reduced oleuropein aglycon を 20%EtOH 溶液に保存すると、hydroxytyrosol と新たな化合物 (MK-1) を生成することが判明したため、MK-1 の構造解析と reduced oleuropein aglycon からの MK-1 生成の検討を行った。

【方法・結果】MK-1 を精製後、MS, NMR に供し構造解析を行った。MS の結果から MK-1 は elenolic acid よりも 2 大きい分子量をもつと分かった。また ¹H-NMR スペクトルにヒドロキシメチル基由来と考えられるシグナルが検出され、さらに全てのシグナルが reduced oleuropein aglycon の hydroxytyrosol 部分を除いた構造に矛盾なく帰属された。よって、MK-1 は elenolic acid のアルデヒド基が還元された構造を持つ reduced elenolic acid であると判明した。また MeOH を用いた精製過程で MK-1 に似たクロモフォアを有する化合物が生成され、MS と NMR の結果より MK-1 のメチルエステルと分かった。次に、精製した reduced oleuropein aglycon の MeOH 水溶液 (0.11 mg/mL) を室温と 4°C にて 4 ヶ月間保存した。その結果、reduced oleuropein aglycon は 4°C 保存では比較的安定であったが、室温保存では 2 ヶ月後に約 90% がエステル加水分解を受け、それに応じて hydroxytyrosol と MK-1 が生成された。また、MK-1 は水の濃度が高いほど生成量が多く、MK-1 のメチルエステルは MeOH 濃度が高いほど生成量が多いことが判明した。

D-7 ヒト腸内細菌を用いた C-配糖体 mangiferin からアグリコン norathyriol への効率的変換反応

○角南里美, 桑原浩誠¹, 奥田 洋¹, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命,¹丸善製薬(株))

【目的】Mangiferin はペルーの伝承的薬草エルカンブーレに豊富に含まれる C-配糖体である。そのアグリコン norathyriol は mangiferin と異なり血糖降下作用などの生理活性を持つことから、mangiferin を分解して効率的に norathyriol を生産することが望まれる。一方で C-グリコシド結合は O-グリコシド結合と比べ分解されにくく、その分解の報告例は mangiferin を含め幾つかあるのみである。またアグリコンの生産に焦点を当てた研究は少ない。よって我々は mangiferin から norathyriol への効率的な変換反応を目指した。

【方法・結果】Mangiferin 1.0 mM に、ヒト糞便を水に懸濁し綿濾過して調製したヒト腸内細菌懸濁液を添加し、37°C、30 h、嫌気条件下 (アネロパウチを含むアネロパック (三菱ガス化学社製) 使用) で反応させ、HPLC 分析を行った。その結果、嫌気条件下 ($O_2 < 0.1\%$ (アネロパウチ・ケンキ)) では既報通り反応が進行し、その変換率は菌体量に伴い増加した。次に様々な酸素濃度条件下 ($O_2 < 0.1\%$, 6~12% (アネロパウチ・微好気), 15% (アネロパウチ・ CO_2), 20% (アネロパウチ不使用)) での反応を試みたところ、好気条件 (O_2 20%) でも反応の進行を確認することができた。これまでに酸素存在下での反応進行例は報告されていないが、菌体量を嫌気条件の3倍量 (糞便 9.99 mg 由来) に増やすと mangiferin 1 mM をほとんど変換することができた。更に10倍量の mangiferin 10 mM であっても嫌気条件の8倍の菌体量 (糞便 26.6 mg 由来) によって90%以上を変換することに成功した。以上の結果より、通常酸素条件下においても、ヒト腸内細菌を用いた mangiferin から norathyriol の効率的生産が可能であることが分かった。

D-8 酵母 *Kluyveromyces marxianus* のキシロース代謝関連遺伝子の解析

○豊田賢徳, 藤井比呂志, 星田尚司, 赤田倫治 (山口大院・医)

【目的】酵母 *K. marxianus* はグルコースやガラクトースといった糖からエタノールを生産できる有用な生物である。しかし、キシロースやセロビオースを資化して増殖するがエタノールは生産できない。そこで、キシロースからのエタノール生産を目指しキシロース代謝に必要な遺伝子を解析した。

【方法・結果】始めにキシロース資化時の遺伝子発現に着目した。そこで、赤色蛍光タンパク質 RFP をレポーターとして代謝経路遺伝子のプロモーター活性を調べると、グルコースと比べ、キシロース培養時にキシロース代謝に必要な *XKSI* や多くの解糖系遺伝子で発現量が低いことが分かった。

そこで、この発現量が低い遺伝子を過剰発現させることでキシロースからのエタノール生成を調べた。まず、*XKSI* は必須であると考え、*XKSI* を過剰発現させた株を作製し、その株に他の遺伝子を過剰発現させていった。これらの株をキシロース合成培地で培養、集菌し5%キシロース液に懸濁してキシロースの消費とエタノール生成を調べた。その結果、WT ではエタノールを生成しないが、*XKSI* と同時に *ENO1* を過剰発現させたときにキシロースからエタノールを生成した。また培養時の培地をグルコースやエタノールに変化させた場合には、エタノールが生成しないことが分かった。一方、グリセロールで場合は生成することが分かった。

D-9 ベニシジミ成虫の毛状鱗粉の環境応答性
○安部成美, 益本祐希, 北沢千里¹, 山中 明²
(山口大・理,¹山口大・教育,²山口大院・医)

【目的】ベニシジミの成虫は、季節的な環境の変化に伴い表現形質を変化させる季節型を持つチョウである。本種成虫の翅の色彩パターンには春型と夏型の季節型がある。翅の夏型化には、蛹の脳からの夏型ホルモンの分泌が必要である。本種の持つ表現型多型は、翅の色彩パターン以外に、蛹の体色も日長・温度の違いで表現型を変化させることが知られている。本研究では、ベニシジミ成虫の脚の毛状鱗粉に着目して、毛状鱗粉と日長・温度との関係および毛状鱗粉形成の内分泌調節機構を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】ベニシジミ幼虫を、短日および長日条件で飼育し、羽化した成虫の脚の腿節部に生えている毛状鱗粉の本数・長さを計測した。また、幼虫を短日 23℃条件下で飼育し、蛹化 0 日目の蛹に、ヒメアカタテハ蛹の脳より調製した夏型ホルモン活性物質を含む 2% NaCl 粗抽出液を投与し、羽化した成虫の毛状鱗粉の変化を調べた。その結果、短日日長・低温度下で毛状鱗粉の本数・長さ共に増加し、脳粗抽出液投与個体において本数・長さ共に減少した。以上より、本種の毛状鱗粉の環境応答性が認められ、さらにその形成過程に夏型ホルモンが関与する可能性が示唆された。

D-10 モンシロチョウ成虫の毛状鱗粉と季節型との関連性
○勇村悠介, 上田貴志¹, 北沢千里², 山中 明³
(山口大・理,¹東京大院・理,²山口大・教育,³山口大院・医)

【目的】モンシロチョウ成虫には休眠蛹から羽化する春型と非休眠蛹から羽化する夏型の 2 つの季節型が存在する。季節型の違いは背側前・後翅の黒色紋（黒色鱗粉数）に生じるが、この黒色紋で季節型を明確に分類するのは難しい。今回、成虫の脚の腿節部に形成される毛状鱗粉に注目し、季節型との関連性を調べることを目的とし、日長・温度による毛状鱗粉の数および長さの変化を調査した。また、山口市内で採集した個体の毛状鱗粉においても季節的な変化が生じているのかを検討した。

【方法・結果】モンシロチョウ幼虫を長日 (16L:8D) 14℃, 20℃および 23℃条件下ならびに短日 (8L:16D) 12℃と、20℃および 23℃条件下で飼育し、成虫を得た。野外採集個体は 4 月から 11 月にかけて山口市内で採集した。飼育および採集個体群の毛状鱗粉の本数と長さを計測した。成虫の各脚（前・中・後）を計測した結果、両群ともに短日と低温を経験した個体で本数が多く、長さが長くなることがわかった。採集個体においても、月ごとの日長・温度の変化に対し、毛状鱗粉の本数および長さに変化が生じていた。以上より、脚に存在する毛状鱗粉は黒色紋よりも明瞭な季節型を示すことが示唆された。

E-1 植物由来の貯穀害虫に対する成長阻害活性物質の探索

○瀬尾晃平, 廣島 恵¹, 手林慎一¹, 福田達哉¹, 佐藤正資², 秋光和也²,
何森 健³ (高知大院・農,¹高知大・農,²香川大・農,³香川大・希少糖セ)

【目的】植物は害虫に対して抵抗性を示すために、殺虫物質や忌避物質、成長阻害物質などを生産・蓄積している。このような化学物質は農薬や医薬品の開発に応用できるため、分子レベルでの解明が期待されている。そこで本研究では様々な植物から貯穀害虫に対する成長阻害活性物質を探索した。

【方法・結果】国内外の植物 48 種を収集し、地上部(48 種)と地下部(38 種)に分けてメタノールで浸透抽出することで粗抽出物を調製した。成長阻害活性試験は植物抽出物を含有させた飼育餌でスジコナマダラメイガ(*Ephestia kuehniella*)を飼育することで行った。即ち、植物抽出物 1 g 相当量を小麦全粒粉 (5%エビオス含有) 0.5 g に混合し、乾燥器(60°C)を用いて溶媒を留去した。これと全粒粉 4.5 g を混合することで昆虫飼育餌 1 g 中に抽出物 0.2 g 相当量が含まれる試料を調製した。飼育餌 1 g にスジコナマダラメイガ卵 14 個を接種し、全暗中 25°C で 4 週間飼育した後、孵化・成長した幼虫の虫体数および生体重を計測した。その結果、地上部 25 種、地下部 9 種に成長阻害活性が確認された。その中で 70%以上の高い成長阻害活性を示したものは 15 種(地上部 9 種、地下部 6 種)、70~40%の阻害活性を示したものは 16 種(地上部 13 種、地下部 3 種)、40%以下の阻害活性を示したものは 3 種(地上部のみ)確認された。阻害活性を示す種は地下部よりも地上部に多く見られたが、阻害活性を示した植物に分類的な偏りは見られなかった。これらの中でコバノズイナ(*Itea virginica*)葉の抽出物をメタノール可溶部と不溶部に分離すると両面に活性が確認され、現在はメタノール不溶部の活性物質の解明を進めている。

E-2 酸性 PNGase 遺伝子欠損 *A. thaliana* 植物体の構築

○秋山 剛, 前田 恵, 藤山和仁¹, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命,¹大阪大・生物工学国際交流セ)

【背景・目的】植物組織にはマイクロモル濃度の遊離アスパラギン結合型糖鎖 (free *N*-glycans, FNGs) が存在している。FNGs には還元末端に GlcNAc を 1 残基有する GN1 タイプ (GN1-FNGs) と *N*-アセチルキトビオースを有する GN2 タイプ (GN2-FNGs) の 2 種類が存在し、それぞれ Endo- β -*N*-acetylglucosaminidase (ENGase) と Peptide: *N*-glycanase (PNGase) により生成すると考えられる。我々は、植物の分化や生長に関わる FNGs の生理機能解明研究の一環として、FNGs の産生に関わる全ての酵素遺伝子をノックアウトした植物体の構築を開始した。まず植物に特徴的な 2 種の酸性 PNGase (aPNGase) 推定遺伝子 (*At3g14920*, *At5g05480*) をノックアウトした *A. thaliana* 植物体について FNGs の構造解析と酵素活性測定を行うことを目的とした。【方法・結果】aPNGase 遺伝子の *At3g14920* は、我々が既に同定したトマト aPNGase (aPNGase-Le) 遺伝子と高い相同性を示した[1]。2 種の aPNGase 遺伝子をそれぞれノックアウトした *A. thaliana* 変異株を用いて、ゲルろ過、アフィニティークロマトグラフィー、RP-HPLC で FNGs を精製した後、糖鎖マッピング、ESI-MS、酵素消化により構造解析を行った。また、卵黄糖ペプチドを基質として用い、遊離した FNGs を定量することで aPNGase 活性測定を行った。*At3g14920* と *At5g05480* それぞれのシングルノックアウト株からは、植物複合型 FNGs 及び aPNGase 活性が検出された。ことから、植物複合型 FNGs を完全消失させるためにはダブルノックアウト体の構築が必要であると考えられた。

[1] Hossain, A., et al., *J. Biochem.* 147, 157-165 (2010).

E-3 シロイヌナズナにおける光誘導性気孔開口への細胞質型グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼの関与

○山上明浩, 敖登図雅, 宗正晋太郎, 中村宜督, 森 泉, 村田芳行
(岡山大院・環境生命)

植物の葉には一組の孔辺細胞で囲まれた気孔と呼ばれる小孔が存在する。光により誘導される気孔開口は、根からの養分の吸収や光合成のためのガス交換に深く関与しており、植物の成長にとって極めて重要である。光は、受容体を介して、孔辺細胞原形質膜のプロトンポンプ (H^+ -ATPase) を活性化する。その結果、孔辺細胞外に H^+ が汲出され、原形質膜が過分極され、孔辺細胞原形質膜の電位依存性内向き整流性カリウムイオン (K^+_{in}) チャネルを介した孔辺細胞内への K^+ の流入が促進される。この K^+ の流入は孔辺細胞の膨張を引き起こし、気孔開口を誘導することから、 H^+ -ATPase と K^+_{in} チャネルは光誘導気孔開口の信号伝達経路における重要な要素であると考えられている。

グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) は、グリセルアルデヒド 3-リン酸と 1,3-ビスホスホグリセリン酸との変換を触媒する解糖系酵素である。動物において、GAPDH は解糖系酵素以外の機能を持つ多機能性酵素であると知られており、この機能の中には GAPDH 活性を必要としないものもある。一方植物において、GAPDH は細胞質と色素体に局在しており、GAPDH の多機能性についての報告はほとんどされていないが、シロイヌナズナの細胞質型 GAPDH 欠損変異体を用いた最近の報告により、細胞質型 GAPDH は気孔応答に関与する可能性が示されている。

本研究では、シロイヌナズナの細胞質型 GAPDH 欠損変異体を用いて、細胞質型 GAPDH の光誘導性気孔開口への関与について調べた。

E-4 孔辺細胞細胞質遊離 Ca^{2+} 濃度の上昇がアリルイソチオシアネート (AITC) による気孔閉口には必要であるが、AITC による光誘導気孔開口の阻害には必要ではない

○叶 文秀, 大熊英治¹, 宗正晋太郎¹, 中村宜督¹, 森 泉¹, 村田芳行¹ (学振特別研究員, ¹岡山大院・環境生命)

孔辺細胞は、葉の表皮にある気孔を形成し、乾燥、傷および病原菌の侵入など様々な非生物的または生物的刺激に応答する。イソチオシアネートは、作物であるアブラナやモデル植物であるシロイヌナズナのようなアブラナ科植物に存在するグルコシノレートの分解産物であり、主に葉などが損傷したときに生成する。シロイヌナズナにおいて、アリルイソチオシアネート (AITC) は、孔辺細胞の細胞質遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_{cyt}$) 上昇および気孔閉口を誘導する。しかし、AITC による $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇のメカニズムおよび AITC が誘導する気孔運動における $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇の役割は十分に解明されていない。本研究では、シロイヌナズナを材料として、AITC が誘導する気孔運動における $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇について精査した。

AITC は、濃度依存的に気孔閉口を誘導し、また、光誘導気孔閉口を阻害した。 Ca^{2+} のキレート剤 (グリコールエーテルジアミン四酢酸)、原形質膜 Ca^{2+} チャネル阻害剤 (La^{3+}) および環状アデノシン二リン酸リボース合成阻害剤 (ニコチンアミド) は、AITC が誘導する孔辺細胞 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇および気孔閉口を阻害したが、光誘導気孔閉口は阻害しなかった。AITC は孔辺細胞原形質膜 Ca^{2+} 透過性カチオンチャネルを活性化した。以上の結果から、1) AITC は、細胞外から Ca^{2+} の流入を引き起こし、そして孔辺細胞 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ の上昇を誘導すること、ならびに、2) AITC による気孔閉口には $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇が必要であるが、AITC による光誘導気孔閉口阻害には必要ではないことが示された。

E-5 サンショウ葉の香気成分とセスキテルペン合成酵素に関する研究
○藤田芳勸, 飯島陽子¹, 鈴木秀幸², 松井健二³, 肥塚崇男
(山口大・農,¹ 神奈川工科大・応用バイオ,² かずさ DNA 研・産業基盤,³ 山口
大院・医)

【目的】サンショウ葉は特徴的な香気寄与成分であるシトロネラルを含むテルペン類を多く含むことが知られている。しかしながら、香気成分の局在性や生合成酵素に関してはほとんど報告がない。そこで本研究では、サンショウ葉の部位別、特に油胞内に蓄積している香気成分を分析するとともに、それら生合成酵素遺伝子の単離・機能解析を目的とした。

【方法・結果】サンショウ葉の油胞を針で潰し、油胞内に蓄積している香気成分をヘッドスペース SPME 法で抽出して GC/MS 測定した結果、モノテルペンやセスキテルペン、メチルケトン類など 10 種類を越える化合物が検出された。一方で、無傷の葉ではシトロネラルを除くほとんどの化合物が検出されなかったことから、サンショウ葉の香気成分の多くは油胞に局在していることが示唆された。他方、サンショウ主要香気成分であるセスキテルペンに着目し、サンショウ葉の遺伝子データベースを BLAST 検索したところ、ブドウのカリオフィレン合成酵素と 50%、ラフレモンのエレメン合成酵素と 73% のアミノ酸相同性を持つ 2 つの遺伝子 *ZpsTPS 1*, *ZpsTPS 2* が見つかった。そこで、これら 2 つの全長遺伝子を単離し、アグロバクテリウムを介した形質転換法によりタバコ (*Nicotiana benthamiana*) の葉で一過的に過剰発現させ、タバコ内在性基質を利用した代謝物変換を行った。その結果、感染後 7 日目のタバコ葉でカリオフィレンとゲルマクレン D が検出された。このことから、*ZpsTPS 1*, *ZpsTPS 2* はそれぞれカリオフィレンとゲルマクレン D を生成するセスキテルペン合成酵素をコードすることが明らかとなった。

E-6 ゼニゴケ油細胞はビスビベンジル類とセスキテルペン類を特異的に集積する
○田中摩耶, 木原弘友, 江崎剛史¹, 升島 努¹, 兼目裕充², 浅川義範²,
肥塚崇男³, 松井健二
(山口大院・医,¹ 理研・生命システム,² 徳島文理大・薬,³ 山口大・農)

コケ植物の苔類は、進化の過程で最初に陸上に進出した植物から、最も早い段階で分岐した植物群と考えられている。このことから苔類は、植物の進化適応過程解明に適した研究対象である。苔類は「油体」と呼ばれる細胞内小器官をもっており、野外のゼニゴケ葉状体には油体を高度に蓄積した異形細胞(油細胞)が散在している。化石研究から、苔類の祖先も油細胞を持っており、この細胞は草食動物の忌避に寄与していたと示唆されている。また、ゼニゴケ油細胞にはテルペノイド生合成酵素が局在しているという報告もあり、油細胞に何らかの防御物質が蓄積しており、ゼニゴケの防御に寄与することはほぼ共通認識となっている。しかし、これまで油細胞内容物の分析はほとんど行われておらず、この仮説を決定づける証拠は提示されていなかった。

そこで本研究では、ゼニゴケ油細胞の内容物をマイクロマニピュレーション技術を用いて採取し、一細胞ダイレクト質量分析と GC-MS 分析を行うことで油細胞内の成分を調査した。一細胞ダイレクト質量分析では、油細胞を突いたキャピラリーを直接用いて内容物をイオン化し、質量分析計(Orbitrap)で測定した。GC-MS 分析では、採取した油細胞内容物を有機溶媒に溶かして測定を行った。その結果、ゼニゴケの油細胞にはビスビベンジル類とセスキテルペン類が局在していた。これらの物質は抗菌、抗虫活性を持つことが知られている。二つの分析方法を用いた本調査により、ゼニゴケの油細胞に化学防御物質が高濃度で蓄積されていることが明らかとなった。

E-7 トマト葉は組織内代謝に依存して揮発性有機化合物を吸収する
○村本祥子, 松原弥生¹, 肥塚崇男¹, 松井健二 (山口大院・医, ¹山口大・農)

【目的】植物はストレスにより、揮発性有機化合物 (VOCs) を放出する。VOCs は大気中で酸化分解され、揮発性活性カルボニル化合物 (RCSs) へと変換される。RCSs は光化学スモッグ、エアロゾルの原因物質であり、大気環境に影響を与えていると考えられている。私達は「RCSs を効率よく吸収し、大気環境を浄化できる植物の作成」を目的として研究を行っている。植物が空気中の RCS を吸収できることは知られているが、その吸収機構については明らかにされていない。私達は VOC 吸収が植物内の化合物代謝に依存すると考えた。本研究ではモデル植物であるトマトを用いて、揮発性有機化合物吸収能の確認と植物内に吸収された化合物の代謝産物の分析を行った。

【方法・結果】実験では、RCS としてメタクロレイン (MAC) を用いた。密閉容器内でトマトに MAC 蒸気を曝露したところ、容器内の MAC 濃度が減少した。また、MAC 曝露したトマトでの MAC 代謝産物を分析した際、MAC 由来化合物がトマトの組織内、組織外の両方で検出された。また、MAC とグルタチオン (GSH) の抱合体 (MAC-GSH) とその還元体も組織内で検出された。これらの結果より、トマトには MAC 吸収能があり、吸収された MAC はアルコールへの還元や GSH 抱合体化によって別の化合物へと代謝されることが分かった。トマトによる MAC の吸収機構として、取り込まれた MAC がトマト組織内の代謝によって他の化合物へと変換されることで植物細胞表面での気液界面平衡が組織内へと偏り続けることが要因の一つであると考えられた。

E-8 根こぶ病菌, *Plasmodiophora brassicae* の発芽誘導物質同定のためのバイオアッセイ系の確立
○望月智史, 田中秀平¹, 肥塚崇男¹, 松井健二 (山口大院・医, ¹山口大・農)

根こぶ病はアブラナ科植物特有の病気で、*Plasmodiophora brassicae* によって引き起こされる。この病原体は絶対寄生性で、生活環も未だ十分に解明されていない。アブラナ科植物にはハクサイやキャベツ、食用油やバイオエタノールの原料になるセイヨウアブラナなど、産業的に重要な作物が多い。根こぶ病に感染すると、根にこぶができることで、植物体の萎凋や枯死を引き起こし、収量が減少する。根こぶ病は世界のアブラナ科植物栽培面積の 10% に影響を与えている。*P. brassicae* は休眠胞子の状態で、感染能力を持ったまま少なくとも 7 年ほど土壌中に存在することが報告されている。この休眠胞子は植物の根を認識して発芽し、遊走子を放出して根毛に感染する。また防除が難しい病気で、既存の方法では完全に防除できず、さらに防除にコストや時間がかかることが問題となっている。

私達は、新たな防除策開発のために休眠胞子の発芽誘引物質同定を目的としている。休眠胞子と比べて発芽後の遊走子の寿命は数日と短いので、植物を植える前にこの発芽誘引物質を施用すれば、土壌中の病原体数を減らすことができる。そこで本研究ではまず *P. brassicae* 休眠胞子発芽を検証するバイオアッセイ系を確立することを目的として研究を行った。休眠胞子と水耕栽培から得た根の浸出液を混合し発芽を観察したが、根から調製した休眠胞子の発芽率が低く、他の微生物混入のために発芽テストに適していないことが分かった。そこでパーコールを用いた密度勾配遠心を行い、微生物混入が少なく発芽能の高い休眠胞子のみを収集することができた。

E-9 シロイヌナズナの腐生菌感染応答シグナル生成には GDSL リパーゼが関与する
○荒井紀梨子, 松田一彦¹, 肥塚崇男, 松井健二²
(山口大・農,¹近畿大・応用生命,²山口大院・医)

【目的】植物は病傷害ストレスを受けた時に、全身的な応答（システミック応答）を行うことが知られており、その応答にはシステミックシグナルが関与する。しかしながらシステミックシグナルはこれまでに数例しか同定されていない。シロイヌナズナ葉は腐生菌 *Alternaria brassicicola* に感染した時に、GDSL リパーゼの発現を介して、システミックシグナルを伝達することが報告されている。本研究では、このシステミック応答に関する移動性シグナルの単離・同定を目的とした。

【方法・結果】*pPDF1.2::GUS* レポーター系を有する形質転換シロイヌナズナに葉柄滲出液（PEX）を添加後、*PDF1.2* プロモーター活性を GUS 染色法によって観察した。*A. brassicicola* 感染させた *Col-0* から採取した滲出液はプロモーター活性を上昇させたが、*GDSL* リパーゼ遺伝子（At5g40990）T-DNA 挿入変異体シロイヌナズナ *glip1-1* に *A. brassicicola* 感染させて採取した滲出液はプロモーター活性を上昇させなかった。また、ジャスモン酸メチル（5, 2, 0.5, 0.1 mM）処理した *Col-0* から採取した滲出液もプロモーター活性化能を示したが、*glip1-1* では活性化が認められなかった。これにより *A. brassicicola* 感染およびジャスモン酸メチル処理後の *Col-0* PEX にはシステミック分子が含まれており、その生合成に GDSL リパーゼが関与していることが示唆された。

E-10 ゼニゴケアラキドン酸由来炭素数 8 揮発性化合物の代謝経路
○木原弘友, 田中摩耶, 大和勝幸¹, 山田晶示¹, 喜多沙也加¹, 石崎公庸²,
河内孝之³, 赤壁善彦⁴, 肥塚崇男⁴, 松井健二（山口大院・医,¹近畿大・生物
理工,²神戸大院・理,³京都大院・生命科学,⁴山口大・農）

【目的】植物や菌類は脂肪酸から生成される香りを有している。キノコなどの菌類やコケ植物、一部の高等植物は 1-オクテン-3-オールなどの炭素数 8 揮発性化合物（C8 化合物）を生成する。1-オクテン-3-オールは、アラキドン酸もしくはリノール酸から酸素添加酵素により生成される脂肪酸ヒドロペルオキシドが開裂されて生成すると考えられている。しかし、1-オクテン-3-オールを含む C8 化合物の生合成経路の詳細は明らかになっていない。私たちは C8 化合物代謝経路の解明を目的とし、モデル植物であり 1-オクテン-3-オールの生成が確認されているゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) を用いて研究を行った。

【方法・結果】相同組換えを利用し、アラキドン酸・エイコサペンタエン酸欠損ゼニゴケ株 (*des6^{KO}*) を作成した。この欠損株では C8 化合物は検出されず、ゼニゴケの有する C8 化合物はリノール酸からではなくアラキドン酸由来であることが示された。また、この欠損株に気化した 1-オクテン-3-オールを曝露すると、吸収・代謝を経て 1-オクテン-3-イルアセテートとして葉状体に蓄積した。ゼニゴケは葉状体に傷害を受けると 1-オクテン-3-イルアセテートを加水分解し 1-オクテン-3-オール、オクタン-3-オンを大気中に放出する。このことよりゼニゴケは、アラキドン酸代謝で生成した 1-オクテン-3-イルアセテートを組織内に蓄積し、傷害に備えていると考えられた。

F-1 軟骨魚類に含まれるコンドロイチン硫酸の含有量と組成分析
○武田尚子, 上田健人¹, 問田椋介¹, 入江有美¹, 木戸口望美¹, 君野大介¹,
後藤尚也¹, 高田博哉¹, 田村純一¹ (学振特研 PD, ¹鳥取大・地域)

【目的】コンドロイチン硫酸(CS)は、D-グルクロン酸とN-アセチル-D-ガラクトサミンの二糖単位の繰返し構造をもつ直鎖多糖である。CSは硫酸基の結合する位置や数によって、A型やE型など複数の種類が存在する。また、天然に存在するCSは単一の硫酸化パターンで構成されていないヘテロな構造である。幅広い生物にCSは存在しており、生物の種や部位によってCSの硫酸化パターンや含有量が異なっていることが知られている。CSは関節痛の緩和や角膜表皮の保護に有効であるため、サプリメントや医薬品などに利用されているが、多くの場合、サメを原料として用いている。サメは保護動物になりつつあり、将来的に安定した供給が困難となると予想される。今後サメと同等の機能をもつ代替生物が必要となるため、サメから得られるCSの硫酸化パターンを分子レベルで明らかにすることが急がれる。本研究では軟骨魚類であるサメとエイについて、CSの含有量と硫酸化パターンについて分析を行った。

【方法】軟骨魚類をヒレや背骨などの部位ごとに粉砕し、脱脂、プロテアーゼによるタンパク質分解を行った後、糖鎖をエタノールによって沈澱させた。沈澱した糖鎖をイオン交換樹脂により分離し、透析とゲルろ過を用いて精製し、白色綿状の精製糖鎖を得た。得られた精製糖鎖をコンドロイチナーゼABCなどによって二糖単位まで酵素分解し、HPLCを用いて糖鎖の硫酸化パターンを測定した。

F-2 卵殻膜を用いた食品劣化防止剤の開発
○田中美樹, 谷藤尚貴 (米子高専・物質工学)

【目的】日常生活において高品質で安全な食品の供給は常に求められているが、食品の流通・消費段階において特に生鮮食品の品質低下による可食部の廃棄は大きな課題となっている。食品の劣化を防ぐ手段として食品添加物が利用されているが、有害物質である可能性を指摘されるものも存在しており、安全性の高い添加物の開発が必要とされている。そこで本研究では、卵の殻の内皮(=卵殻膜)が持つ中身の生命を守るという機能を他の食材へも応用できないかと考え、加工した果肉において酵素的褐変による劣化の速く、加工品を市場に出しにくいアボカドを実験試料として劣化抑制を試みた。

【方法・結果】卵殻膜及び添加剤によるアボカドの褐変抑制機能の検証は次の方法で行った。水道水及び色素水溶液(青色1号, 青色2号, 緑色3号, 黄色4号, 黄色5号, 赤色3号, 赤色106号, クルクミン, ケルセチン)に浸漬させた卵殻膜にセラミック包丁でカットしたアボカド片をのせて、アボカドで最も色素の沈着する維管束付近を完全に覆ってシャーレ内へ入れた。これを、蛍光灯照明下の室内で果肉部に生じた色彩変化を未処理の果肉と比較しながら目視で観察した。その結果、アボカド果肉片を卵殻膜で覆った表面は無処理の切片で見られる速やかな色素沈着が抑制されていることが分かった。この際、膜には未処理のアボカド果肉上で見られる有色成分が沈着していた。そして、各色素を導入した卵殻膜で覆うと更に劣化抑制効果が強まった。特に、分子構造にフェノール性水酸基を持つ黄色4号, 緑色3号, クルクミン, ケルセチンを吸着させた膜において褐変は明確に抑制された。

F-3 色素成分が示すチロシナーゼ阻害活性 ○大江ひかる, 谷藤尚貴 (米子高専・物質工学)

【目的】食品を長期間保存するには冷却, 脱酸, 添加物の導入による方法が一般的であり, その中でも添加物を導入する方法は低コストでそのまま食することができるという利点が挙げられるが, 食したときの風味劣化や人体への危険性については未だ解決されていない。そこで本研究では, 普段食品添加物として用いられている食品色素の生理作用に注目し, チロシナーゼ阻害活性試験による性能評価を行い, 阻害率とチロシナーゼ酵素阻害を示した理由について考察を行った。

【方法・結果】チロシナーゼ酵素阻害活性試験の方法は, 食品色素として一般的に用いられている青色 1 号, 緑色 3 号等を 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M に調製して 1.0 mL 量りとり, 0.1 mol/L リン酸緩衝液 5.0 mL, L-DOPA 溶液 2.0 mL, DMSO 0.25 mL を加えて振とうし, 25°C で 15 分間保温後, チロシナーゼ酵素溶液 0.25 mL 加えて 25°C で 5 分間反応させた。その後, 直ちに分光光度計で吸光度(測定波長 475 nm)を測定し, この値をチロシナーゼ阻害活性測定(C)とした。チロシナーゼ活性測定(A)はリン酸緩衝液 6.0 mL, L-DOPA 溶液 2.0 mL, DMSO 0.25 mL, チロシナーゼ酵素溶液 0.25 mL, ブランク測定(B)はリン酸緩衝液 6.25 mL, L-DOPA 溶液 2.0 mL, DMSO 0.25 mL, 試料液測定(D)はリン酸緩衝液 5.25 mL, L-DOPA 溶液 2.0 mL, DMSO 0.25 mL, 試料液 1.0 mL をそれぞれ加えて振とうし, 吸光度を測定して阻害率を算出した。その結果, 緑色 3 号の溶液において明確な阻害活性を持ち, その他の色素分子においても分子構造にフェノール性水酸基を有するものには同様の傾向が見られた。

F-4 卵殻膜をプロトン伝導膜として用いた DMFC の開発 ○小西那奈, 谷藤尚貴¹ (米子高専・電気情報工学, ¹米子高専・物質工学)

【目的】次世代の発電装置として期待されている燃料電池において, 発電部位の要である電解質膜に関する新たな材料の提案として卵殻膜の応用を考案し, 膜の主成分であるタンパク質によるプロトン伝導性をを用いた発電が生じる現象の誘起を試みた。

【方法・結果】予備試験として, 白金コートされた部位にテスターを当てて, 片面へメタノールを滴下すると発電が生じた。これは白金により生じた化学反応で生じたプロトンが卵殻膜を介して反対側の白金面へ伝導したことを示唆する現象である。次に, 燃料電池セルの電極版に挟み込んだセルで発電性能を評価した際に, 当初は装置に物理的に生じる隙間に由来するクロスオーバーが出力の安定化の障害となったが, 両面導電テープによる燃料の横漏れと導電性を確保した結果, 開放電圧 700 mV で性能が安定化した。卵殻膜には水溶性の化合物に対する吸着能が有り, これを化学物質の添加手段として活用した結果, 有機色素分子や金属塩化物などの吸着後の卵殻膜では未処理の膜と比べると電流値の増加が見られた。これは, 添加物が卵殻膜のタンパク質へ吸着された部位がプロトン伝導部位として作用して, 本来卵殻膜で示していたプロトン伝導性を高める寄与を示したと予想され, その結果として燃料電池の発電性能の向上が繋がったと考えている。

F-5 ロスマリン酸は AMPK-SIRT1-PGC1 α を介して筋細胞の脂肪酸酸化を促進する
○阿部大吾, 齋藤 武, 野方洋一 (農研機構・近中四農研)

【目的】骨格筋において、過剰な脂肪酸はミトコンドリアストレスやインスリン抵抗性を引き起こし、メタボリックシンドロームの原因になることが報告されている。我々は脂肪酸酸化を促進することで過剰な脂肪酸の蓄積を抑制できると考えており、脂肪酸酸化を促進する食品成分としてロスマリン酸を見出している。本研究では、ロスマリン酸による脂肪酸酸化促進メカニズムの解析を行ったので、報告する。

【方法】定法により分化させた C2C12 筋管細胞を無血清培地で 4 時間インキュベート後、ロスマリン酸、L-カルニチン、パルミチン酸を添加した。6 および 20 時間後、細胞から total RNA およびタンパクを回収した。total RNA は逆転写により cDNA を合成し、リアルタイム PCR により発現量を分析した。タンパクはウエスタンブロット分析に用い、Dynabeads Protein G IP Kit により PGC1 α 免疫沈降を行った。LSD1 活性の測定には Cyclex SIRT1/Sir2 Deacetylase Fluorometric Assay Kit を用いた。

【結果および考察】ロスマリン酸は筋細胞の CaMKK を増加させ、下流の AMPK も活性化した。さらに SIRT1 および PGC1 α 発現を誘導し、SIRT1 活性が増加することにより、PGC1 α の脱アセチル化が促進されていた。またロスマリン酸は LSD1 を強く抑制することが明らかとなった。以上のことから、ロスマリン酸は AMPK-SIRT1-PGC1 α を介して筋細胞の脂肪酸酸化を促進することが明らかとなった。

F-6 ワイン醸造中の無機元素の挙動とその応用
○大田美優, 小山和哉¹, 西堀奈穂子¹, 奥田将生¹, 後藤奈美¹
(広島大院・生物圏,¹酒総研)

【目的】食品の原料品種や産地の偽装が社会問題になり、これらを判別する技術が種々開発されている。しかし、国内ではワインを対象とした産地判別の研究はまだ少ない。そこで本研究は、微量元素によるワインの産地判別に関する基礎的知見を得ることを目的とする。これは、偽造ワインの製造を抑制し、消費者や良心的な生産者を守ることに繋がる。また、ワイン醸造の各種要因が微量元素へ及ぼす影響についても発表する。

【方法・結果】方法：①産地品種の特徴：国産及び外国産ワイン 91 点について ICP-MS 及び ICP-OES により微量元素濃度を測定した。②醸造中の無機元素の挙動：メルローによるワイン醸造とその温度経過及び酵母の条件を変えたワイン醸造を行った。原料ブドウの部位別、醸造途中及び醸造後のワインについて ICP-MS 及び ICP-OES により微量元素濃度を測定した。

結果：91 点の国産及び外国産ワインの微量元素濃度による主成分分析を行ったところ、PC1 及び PC2 の説明率は悪かったものの、赤白ワイン・ブドウ品種・生産国ごとに特徴がみられた。判別分析では、主成分分析より赤白ワイン・ブドウ品種・生産国ごとにまとまっていた。特に、赤白ワインと生産国では明確に分類できることがわかった。また、ワイン中の微量元素濃度に及ぼす影響を明らかにするため、ブドウ品種の影響や醸造条件がワイン中の微量元素濃度に及ぼす影響についても解析を行った。

F-7 低利用魚を用いて試作した魚醤の特性

○衛藤知子, 木原玲菜, 崎村祥太郎, 鈴木秀得, 福田 翼, 和田律子, 原田和樹
(水大校・食品科学)

【目的】沖合底曳き網漁業では一度に多くの魚を獲ることができる反面, 目的外の魚や大きさが不揃いの魚など利用度の低い魚も獲れる。こうした低利用魚を有効利用し, 選別する手間を省くために複数の魚種を混ぜた魚醤を試作した。当研究室では部位および魚種の異なる魚醤を試作し, 特性に大きな違いがなかったことから添加していた醤油麴に着目した。本研究では添加する醤油麴の割合を変化させた魚種混合の魚醤を試作し, 手作り魚醤の特性について比較検討した。

【方法・結果】魚醤の原料は, 下関漁港で水揚げされた複数の魚種を使用し, 食塩と水と醤油麴を添加した。醤油麴と魚体の重さの合計を 1500 g とし麴の含量からすると, 麴を入れない試料が 0%, 500 g 入れた試料が 33%, 1000 g 入れ試料が 67% となり, 計 3 種類の魚醤を試作した。有用性の評価として, 塩分濃度, pH, 遊離アミノ酸量, 抗酸化能の H-ORAC 値の変化を n=3 で測定した。塩分濃度は, 全ての試料区で仕込み直後から 150 日目まで, 20~15% の間を推移した。pH について, 0% 試料区は 6.0~6.8 を推移し 33% 並びに 67% 試料区は 6.1 から 4.7 を推移した。遊離アミノ酸量について 30 日目では 67% 試料区は 0% 試料区のおよそ 6.1 倍, 33% 試料区の 1.4 倍であった。抗酸化能である H-ORAC 値は, 仕込み直後から 150 日後までに 33% 試料区では 3.3 倍, 67% 試料区では 3.1 倍に増大した。遊離アミノ酸総量では醤油麴の割合に比例して増加がみられ, H-ORAC 値では醤油麴を添加することで格段に抗酸化能が増加したが, 33% 試料区と 67% 試料区に大きな差はなかった。

F-8 発酵技術を活用した笹蒲鉾魚醤の研究開発

○鈴木秀得, 衛藤知子, 崎村祥太郎, 福田 翼, 和田律子, 佐々木悦郎¹,
原田和樹, 前田俊道 (水大校・食品科学, ¹阿部蒲鉾店)

【目的】東北の有名な笹蒲加工残渣の有効利用を目的に, 発酵技術を用いた新しい魚醤の開発を進めている。本発表では, 醤油用酵母の添加を行い, 醤油麴と米麴の麴添加割合を変化させ, 塩分濃度, pH, 抗酸化能を調べたので報告する。

【方法】笹蒲鉾試料は, 阿部蒲鉾店製の「笹かま千代」を用いた。発酵は, 蒲鉾に麴, 食塩, 水を加えたものをベースとした。麴は, 醤油麴と米麴の混合麴を使用した。混合割合は, 麴総量に対する醤油麴を 0%, 25%, 50% 及び 75% の 4 つの実験区とした。醤油用酵母を添加する場合, 最終濃度が 10⁴ CFU/mL となる様に調整した。発酵温度は 25°C とし, 発酵期間は 3 カ月とした。抗酸化能は H-ORAC 法を用いて定法に従って調べ, 単位は $\mu\text{mol TE}/100 \text{ ml}$ (以下, 単位略) で表した。

【結果】3 カ月間の発酵期間の変化としては, 4 つの実験区全てにおいて塩分濃度は殆ど変化せず, 約 11% であった。一方, pH に関しては, 上記実験区で 5.9~5.0 の範囲から 4.3~4.6 の範囲に減少した。抗酸化能を示す H-ORAC 値は, 発酵期間中, 上記実験区全てで上昇した。最も H-ORAC 値が高い値を示した実験区は, 醤油麴 75% の実験区であり, その値は約 4,600 であった。また, 最も H-ORAC 値が低かった実験区は, 醤油麴 0% の実験区であり, その値は約 3,000 であった。発酵後の H-ORAC 値は, 醤油麴の添加割合が高い程, 高い値を示した。以上の結果は, 笹蒲魚醤の抗酸化能には, 米麴よりも醤油麴の方が寄与していると推察した。

F-9 味覚センサーによる蒲鉾製品の味の客観的評価
○奥村世理香, 池原 強, 高良 亮¹
(水大校・食品科学,¹トロピカルテクノプラス)

【目的】本研究では、伝統的な水産加工食品である蒲鉾の味の数値化を試み、客観的な評価を行うことで、製品間の差異を示し、製品購入や新製品開発の際の指標作りを行うことを目的とした。

【方法・結果】 山口県内で流通している蒲鉾 20 種類各 50 g をホモジナイズ後、遠心分離し、上清をろ過して蒲鉾抽出液を作製した。蒲鉾抽出液をミリ Q 水で 5 倍希釈し、味覚センサーの分析試料とした。

味覚センサーによって 8 種類の味覚項目(酸味, 苦味雑味, 渋味刺激, 旨味, 塩味, 苦味, 渋味, 旨味コク)の分析を行った。分析の結果, 今回試料とした蒲鉾 20 種に関して, 酸味は基準液に対して「-44.03」という値を示したことから「無味」と判断され, 解析項目から除外された。残り 7 種の味覚項目の平均値は $-1.2 \pm 0.05 \sim 13.27 \pm 0.65$ の範囲を示し, 旨味の値が最も高かった。また, 相対標準偏差(RSD)の値は 5~130% の範囲で示され, RSD 値が最も高かった旨味コクに関して, 各試料間のバラツキが大きいと言える。製造方法や製造所の違いによる味の特徴を比較するため, 酸味を除いた 7 種の味覚項目の分析データから味の二次元マップを作成した。その結果, 今回分析した試料間では, 製造方法の違いによる味の特徴を示すことはできなかったが, 塩味の値を比較することによって, 製造所間の差異を示すことができた。これらの結果は, 味覚センサーによる味の数値化とそのデータによる二次元マップの作成によって, 商品間の比較が可能であり, 商品購入や新商品開発の際の指標作りが可能であると考えられる。今後は, 含有成分と味覚項目との関連を示し, 新たな製品開発のための指標作りを行う予定である。

F-10 味覚センサーを用いた明太子の味の数値化と品質管理への応用
○木下 翼, 池原 強, 高良 亮¹
(水大校・食品科学,¹トロピカルテクノプラス)

【目的】本研究では添加物あり明太子, 無添加明太子(以降明太子①, 明太子②と記す)それぞれの味の経時変化を味覚センサーで数値化・グラフ化し, 細かな味の変化を比較することを目的とした。

【方法・結果】それぞれの明太子(4℃保存)において実験開始初日, 開始 3 日後, 7 日後, 14 日後, 28 日後のものを各試料とし, それぞれ 50 g 秤量して 2 倍量のミリ Q 水を加えホモジナイズ後, 遠心分離し, 上清を濾過し試料抽出液とした。調製した試料抽出液をミリ Q 水で 5 倍希釈し味覚センサーを用いて 8 種の味覚項目(酸味, 苦味雑味, 渋味刺激, 旨味, 塩味, 苦味, 渋味, 旨味コク)について測定した。測定結果よりグラフ・近似曲線を作成したところ, 明太子①, ②それぞれの酸味のグラフの近似曲線の傾きは 0.196, 0.4466 となり苦味雑味では-0.0491, -0.0859, 渋味刺激では-0.0032, 0.0027, 旨味では-0.0049, -0.063, 塩味では-0.0123, -0.0423, 苦味では 0.0053, -0.0047, 渋味では 0.0039, 0.0024, 旨味コクでは 0.0089, 0.0067 となった。近似曲線の傾きから明太子②の味の時間単位当たりの変化は明太子①のものに比べ大きいということを見ることができた。これにより味覚センサーを用いることで時間経過における味の変化を視覚的にとらえ比較することが可能であることを明らかにした。

F-11 大豆味噌製造法を応用したオキアミ味噌開発
○大関美咲, 藤澤和貴, 及川克敏¹, 古下 学, 芝 恒男, 前田俊道,
原田和樹, 福田 翼 (水大校・食品科学,¹ (株)小野万)

【目的】ツノナシオキアミ (*Euphausia pacifica*) は、宮城県などの東北地方で漁獲される地域資源である。しかしながら、自身の持つプロテアーゼ活性が高く、身崩れなどの品質劣化を引き起こしやすいため、その利用法は限られている。一方、大豆味噌は、麴の持つ高いプロテアーゼ活性、さらに酵母や乳酸菌などの働きを利用した伝統食品である。本研究では、ツノナシオキアミの高付加価値化を目的とし、大豆味噌製造法を応用したオキアミ味噌製造を試み、塩分濃度および麴添加割合が及ぼす影響を調査した。

【方法・結果】ツノナシオキアミは、2014年2月から5月に気仙沼漁港（宮城県）に水揚げされ、冷凍保存されたものを利用した。オキアミ味噌は、塩蔵（最終塩分濃度：5-20%）したツノナシオキアミペーストと市販米麴（総量に対する麴添加割合：0-50%）を混合し、酵母 (*Zygosaccharomyces rouxii*) および乳酸菌 (*Tetragenococcus halophilus*) を添加し製造した。発酵温度は30℃とした。

オキアミ味噌の一般生菌数は、発酵期間中に減少したが、塩分濃度が高いほど増加し、麴添加割合25%条件下において、塩分濃度5%では 2.9×10^1 CFU/g、塩分濃度15%では 1.5×10^3 CFU/gであった（発酵1ヵ月後）。この時、pHも塩分濃度が高いほど上昇し、pHは塩分濃度5%では5.4、塩分濃度15%では6.0であった。乳酸菌数は塩分濃度5%では発酵0.5ヶ月後では 1.7×10^5 CFU/gであったが、発酵1ヶ月後では 2.5×10^2 CFU/gに減少していた。一方、塩分濃度15%では発酵0.5ヶ月後および発酵1ヶ月後では約 1.0×10^6 CFU/gと同程度であった。いずれのオキアミ味噌においても大豆味噌特有の香りがするものとなった。

G-1 Benzyl isothiocyanate の抗アレルギー作用とその分子機構
○内藤 翔, Tang Yue, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督 (岡山大院・環境生命)

【目的】 Benzyl isothiocyanate (BITC) はアブラナ科野菜に多く含まれる isothiocyanate (ITC) の一つである。BITC は glutathione *S*-transferase (GST) 等の第二相薬物代謝酵素を発現することから、間接的に抗酸化物質として機能すると考えられている。一方、酸化ストレスがヘルパーT細胞 (Th) の Th2 細胞への分化を促進し、interleukin (IL) -13 等の I 型アレルギーに関与する Th2 サイトカインを産生させると報告されている。そこで、本研究では BITC の抗アレルギー作用を、ヒトリンパ球性白血病由来 Jurkat 細胞を用いて評価し、その分子機構の解明を試みた。【方法・結果】 まず、過酸化水素による IL-13 発現に対して、BITC がどのような影響を与えるか RT-PCR 法にて調査した。その結果、BITC の前処理は IL-13 発現を有意に抑制した。次に、シグナル伝達の上流にある c-Jun N-terminal kinase (JNK) や c-Jun のリン酸化レベルを評価したところ、BITC は JNK のリン酸化レベルに影響を与えなかったが、c-Jun のリン酸化レベルを抑制した。κクラス GST アイソザイムの GSTP1 が JNK と protein-protein 相互作用し、c-Jun のリン酸化を阻害するというこれまでの報告から、GSTP1 の関与の可能性を検討した。BITC が GSTP1 のタンパク質レベルを増加させただけでなく、GSTP1 阻害剤処理により BITC の IL-13 発現抑制作用が中和された。以上の結果から、BITC は GSTP1 の誘導を介して c-Jun のリン酸化を阻害し、IL-13 発現を抑制することが示唆された。

G-2 ベンジルイソチオシアネートの細胞増殖阻害作用におけるアミノ酸輸送経路の関与
○國末成美, 安部奈緒美, 宗正晋太郎, 村田芳行, 守屋央朗¹, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・異分野コア)

【目的】 ベンジルイソチオシアネート (BITC) は、アブラナ科野菜に豊富なイソチオシアネート類の一つであり、抗酸化作用や糖代謝亢進などの多彩な生理活性を有する食品成分として注目されつつある。BITC はがん細胞選択的に細胞増殖阻害作用を示すが、その機構については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、真核モデル生物であり遺伝子操作の簡便な出芽酵母を用いて、BITC の細胞増殖阻害作用に影響を与える遺伝子の同定を試みた。

【方法・結果】 まず、酵母の全遺伝子を網羅するマルチコピープラスミドコレクションを出芽酵母に導入し、BITC 耐性に貢献する遺伝子のスクリーニングを行った。スクリーニングの妥当性を検討する確認実験により、分枝鎖アミノ酸輸送体 *BAP2*, *BAP2* を含む輸送体遺伝子の発現を正に制御する転写因子 *STP1* など、12 の遺伝子を BITC 耐性遺伝子として同定した。それらのうち *STP1* のノックアウトは、BITC に対する酵母の感受性を有意に増加させた。また BITC は、Stp1 タンパク質の発現レベルを増加させ、Bap2 タンパク質の細胞内局在に影響を与えた。以上の結果は、BITC がアミノ酸輸送体発現系に直接影響を与えることを示しており、BITC の細胞増殖阻害作用においてアミノ酸輸送体の機能調節が重要な役割を果たしていることと示唆する。

G-3 ベンジルイソチオシアネートによる細胞生存経路活性化の分子機構 ○鷹野千暁, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督 (岡山大院・環境生命)

【目的】ベンジルイソチオシアネート (BITC) は, がん細胞の増殖抑制や細胞死の誘導を引き起こす。その一方で, 我々のグループは BITC が細胞生存経路の一つである PI3K/Akt 経路を活性化することを報告してきた。この経路の活性化は, アポトーシス抑制や細胞増殖促進を誘導することから, BITC の持つ細胞増殖抑制作用を負に制御している可能性が考えられる。そこで本研究では, BITC の抗がん効果を改善する目的で, BITC が細胞生存経路において標的とする分子を探索した。

【方法・結果】各種実験にはヒト大腸がん由来 HCT-116 細胞株を用いた。トリパンプルー色素排除法で細胞生存率を評価した結果, PI3K の選択的阻害剤と BITC の共処理は, BITC 単独処理と比較して細胞増殖抑制作用を相乗的に高めた。次に, BITC による Akt のリン酸化をウェスタンブロッティング法により解析したところ, リン酸化 Akt は PI3K の阻害剤で減少し, プロテインチロシンホスファターゼである PTEN や PTP1B の阻害剤では逆に増加した。さらに, BITC は, PI3K/Akt 経路の上流に位置するインスリン受容体のインスリンによる自己リン酸化を増加させただけでなく, PTP1B の活性を低下させた。以上の結果から, BITC は, PTP1B の活性阻害と Akt の上流に位置するリン酸化酵素の活性を促進することで PI3K/Akt 経路の活性化を誘導することが示唆された。

G-4 環状染色体の形成および維持に必要な遺伝子 田中大樹, 杉原あさみ, ○上野 勝 (広島大院・先端物質)

【目的】ある種のがん細胞では高い頻度で環状染色体が見つかる。このようながん細胞において環状染色体の維持に必要な蛋白質を特異的に阻害することができれば, このようながん細胞を特異的に殺せる可能性がある。このことから環状染色体の維持に関係する蛋白質は, 抗がん剤の分子標的と成り得る。当研究室では, 分裂酵母をがん細胞の特徴を持たせたがん細胞ミミックモデル生物として用いて, がん細胞のあらたな脆弱性の発見を試みている。これまでに分裂酵母の DNA 修復に関係しているヘリケース Rqh1 が環状染色体の維持に必要なであることを発見している (南部ら, Mol. Cell. Biol. 2013. p1175)。本研究では, Rqh1 以外に環状染色体の形成や維持に必要な遺伝子産物の探索を試みた。

【方法・結果】分裂酵母のテロメア維持因子 *pot1* を破壊するとテロメアが分解される。その後染色体内で末端融合が起こった環状染色体を持った株が生き残る。環状染色体の形成および維持に必要な遺伝子は, *pot1* と合成致死になることが予想される。そこで *pot1* と合成致死になる遺伝子を探索した結果, DNA ダメージチェックポイントの活性化に必要な 9-1-1 複合体の一つである *rad9* が *pot1* と合成致死になることを発見した。さらに, この致死を抑圧する変異株を二種類取得した。また, 我々は, *pot1* と合成致死になる新規遺伝子を発見するために, ランダムミュータジェネシスによる変異株ライブラリーのスクリーニングを行った結果, 1-ホスファチジルイノシトール-4-キナーゼ酵素をコードした *pik1* の変異株が *pot1* と合成致死になることを発見した。本発表では, これらの解析結果について紹介したい。

G-5 ヒト培養細胞の亜鉛誘導性プロモーターの開発
○高橋克典, 中村美紀子¹, 星田尚司, 赤田倫治
(山口大院・医, ¹山口大・産学公セ)

【目的】ヒトを含む哺乳動物の培養細胞は病原性の解析やタンパク質の機能解析及び、有用タンパク質の生産などにも利用されているが、高発現プロモーターは CMV や EF1 プロモーター等しかない。特に誘導性発現プロモーターはテトラサイクリン応答する Tet プロモーターは知られているが、その他はほとんど開発されていない。そこで、金属イオン結合能を持ち金属イオンに反応するメタロチオネインのプロモーターを利用し誘導性発現プロモーターを開発することを目的とした。

【方法・結果】まず、酵母 *S. cerevisiae* の YEp 型プラスミドを用いて gap-repair 法によりメタロチオネイン遺伝子プロモーターをルシフェラーゼをコードする Gluc 遺伝子上流にクローニングした。これをテンプレートに直鎖状 DNA を PCR 法で増幅し HEK293 細胞に導入した。ここに各種金属イオンを加え、24 h 培養後の培養液の Gluc 活性を測定することで、誘導発現を評価した。

メタロチオネイン遺伝子 MT1F, MT1X, MT2A のプロモーターについて調べた結果、MT1X と MT2A のプロモーターで金属イオン誘導があり MT2A プロモーターの方が MT1X より誘導発現が高いことが分かった。そこで、両プロモーターの 5'側から領域を削除し解析を行った結果、MT1X プロモーターの -750 ~ -1 の領域に誘導発現に必要な配列があることが分かった。MT1X プロモーターを分割して EF1 α プロモーターの TATA の上流にエンハンサーとして付加し発現を調べると、MT1X プロモーター内の短い領域で誘導発現に必要な塩基配列があることが分かった。

G-6 マウスへのアルコール投与またはストレス負荷による胃粘膜環境異常モデルの作製
○新井健太, 伊豆原実沙, 山角 愛, 上西紀彰, 千葉瑞樹, 宮崎泰幸, 松下映夫,
臼井将勝 (水大校・食品科学)

【目的】エビ主要アレルゲンであるトロポミオシンは胃粘膜上皮細胞を介して体内に吸収されることが報告されていることから、胃炎や胃潰瘍などの胃粘膜環境の悪化によりバリア機構の破綻はエビアレルギー症状、または感作に影響をおよぼすことが予想される。そこで本研究では、BALB/c マウスを用いてアルコール性またはストレス性の急性胃炎の誘導を試み、各条件における胃粘膜の損傷状態を観察し、胃粘膜環境とエビアレルギーとの関係を調査するための病態モデルの作製を目指した。

【方法】アルコール性急性胃炎は一晩絶食させた BALB/c マウス (10-12 週齢, オス) に 100 μ l の 10%, 30%, 50%, 70% EtOH を強制経口投与して誘導した。ストレス性急性胃炎は 8 時間の水浸拘束ストレス負荷により行った。胃炎誘導の 2 時間後に胃を摘出、固定した。胃粘膜の状態は実体顕微鏡を用いて観察し、画像解析ソフトウェア (WinROOF 2013, 三谷商事) を用いて撮影・解析を行った。

【結果】すべての EtOH 投与マウスにおいて、胃粘膜上に発赤等の病変が確認され、EtOH 濃度の上昇に比例して重篤化した。70% EtOH 投与群では、胃壁の発赤に加えて出血の痕跡が確認された。50% EtOH 投与群では胃壁に高頻度で発赤が確認された。30%および 10% EtOH 投与群においても発赤等が確認されたが、個体間での症状の差が多く見られた。ストレス負荷群では、すべてのマウスに重篤な出血および胃壁全体の変色が確認された。以上の結果より、BALB/c マウスにおける急性胃炎誘導は、安定して中程度の急性胃炎症状が観察された 50% EtOH 投与群の条件が最適であると考えた。

G-7 リアルタイム PCR 法による褐藻サガラメ由来フロロタンニン濃縮物の抗アレルギー性の検討

○布施美保子, 百合野瑛子, 野元つかさ, 杉浦義正, 宮田昌明
(水大校・食品科学)

【目的】褐藻サガラメは「刻みアラメ」等の原料として三重県伊勢・志摩地区で古来より食品利用されている。これまでに、*in vitro* 試験でサガラメ由来の海藻ポリフェノール（フロロタンニン）が抗アレルギー成分であることを明らかにした。本研究では、フロロタンニンの動物個体における、免疫調節による抗アレルギー作用の機序を、リアルタイム PCR 法により調べた。

【方法】雌性 BALB/c マウス（4 週齢）を陰性対照群、陽性対照群および試験群に区分けした（各群 n = 4）。試験群には、サガラメからクロロフォルム/メタノール抽出して調製したフロロタンニン濃縮物を 21 日間経口投与（0.9 mg および 4.5 mg/day/body）し、各群とも 22 日目に全採血してから脾臓を得た。また、経口投与開始 7 日目と 14 日目に、陽性対照群および試験群に卵白アルブミン（OVA）を腹腔内投与して免疫負荷した。脾臓ホモジェネートを調製して mRNA を抽出し、脾臓中のサイトカイン mRNA レベル（IL-4, IL-10, IL-17, IFN- γ , TGF- β 1）をリアルタイム PCR 法で計測した。

【結果】IL-4, IL-17 および IFN- γ mRNA レベルは試験群（0.9 mg および 4.5 mg 投与群）では陽性対照群に比べて有意な低下が認められた。特に 4.5 mg 投与群の IL-17 と IFN- γ mRNA レベルは、陰性対照群に対しても有意に低下していた。一方、試験群において、IL-10 mRNA レベルは陽性対照群に比べて有意に低下、TGF- β 1 mRNA レベルは有意に上昇しており、何れも陰性対照群と同レベル（有意差なし）まで復調していた。

G-8 ELISA 法による褐藻サガラメ由来フロロタンニン濃縮物の抗アレルギー性の検討

○百合野瑛子, 布施美保子, 野元つかさ, 杉浦義正, 宮田昌明
(水大校・食品科学)

【目的】褐藻サガラメは「刻みアラメ」等の原料として三重県伊勢・志摩地区で古来より食品利用されている。これまでに、*in vitro* 試験でサガラメ由来の海藻ポリフェノール（フロロタンニン）が抗アレルギー成分であることを明らかにした。本研究では、フロロタンニンの動物個体における、免疫調節による抗アレルギー作用の機序を、ELISA 法（Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay）により調べた。

【方法】雌性 BALB/c マウス（4 週齢）を陰性対照群、陽性対照群および試験群に区分けした（各群 n = 4）。試験群には、サガラメからクロロフォルム/メタノール抽出して調製したフロロタンニン濃縮物を 21 日間経口投与（0.9 mg および 4.5 mg/day/body）し、各群とも 22 日目に全採血して血清を得た。また、経口投与開始 7 日目と 14 日目に、陽性対照群および試験群に卵白アルブミン（OVA）を腹腔内投与して免疫負荷した。各群の血清中の抗体量（IgG1, IgE, IgG2a）を ELISA 法により計測した。

【結果】①OVA 特異的抗体量：BALB/c マウス血清中の Th2 型細胞活性化に起因する OVA 特異的 IgE 量は試験群（4.5 mg 投与群）では陽性対照群に比べて、有意に低下した。一方、OVA 特異的 IgG1 量は、陽性対照群と試験群で有意差はみられなかった。Th1 型細胞活性化に起因する OVA 特異的 IgG2a 量は、試験群（0.9 mg および 4.5 mg 投与群）では陽性対照群に比べて低下傾向であった。②総抗体量：IgG1 および IgE レベルについては、陽性対照群に対して 0.9 mg 投与群は低下傾向であり、4.5 mg 投与群で有意に低下した。また、IgG2a レベルは試験群間で有意差は認められなかった。

G-9 脂肪性肝疾患モデルである *Fxr* 欠損マウスの脂質代謝における魚油摂取の影響
○木下佑一, 兵頭玄喜, 藤本康太, 杉浦義正, 宮田昌明 (水大校・食品科学)

【目的】近年, docosahexaenoic acid 等の多価不飽和脂肪酸を多く含む魚油は, 非アルコール性脂肪性肝疾患(non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD)の予防に有効であることが明らかとなった。しかし, 魚油の NAFLD 予防に対する機序に関しては, 十分には明らかになっていない。本研究では, NAFLD モデルである farnesoid X receptor (FXR)欠損マウスを用い, 魚油とコーン油摂取間での病態や脂質代謝への影響の違いを明らかにすることで魚油成分の NAFLD 予防に対する作用機序を解明することを目的とした。

【方法】8~10 週齢の雌性 *Fxr* 欠損マウスに 4 週間にわたり, 4%魚油含有精製飼料及び 4%コーン油含有精製飼料を与え, 血液と肝臓を採取した。血清中の ALT・ALP 活性, 肝内と血清の triglyceride (TG), free fatty acid (FFA), 及び total cholesterol (TC)濃度はそれぞれ市販のキットで測定した。肝内 mRNA レベルの測定は, SYBR Premix Ex Taq II を用いた定量 PCR で実施した。

【結果と考察】魚油群の肝内の TG, TC, 及び FFA レベルはコーン油群に比べ有意に低値を示し, 脂質合成に関与する酵素である *fatty acid synthase*, *stearoyl-CoA desaturase 1*, 及び *acetyl-CoA carboxylase 1* やコレステロール合成の律速酵素である *hydroxymethylglutaryl-CoA reductase* の肝内 mRNA レベルも低値を示した。魚油群では, 脂肪酸の β 酸化に関与する *acetyl-CoA carboxylase 2* や *carnitine palmitoyltransferase 2* の肝内 mRNA レベルの変動が認められた。これらの結果から魚油摂取は, *Fxr* 欠損マウスの肝脂質合成を低下させ, 脂肪酸分解を亢進させることで肝脂質レベルを低下させる可能性が示された。

G-10 脂肪性肝疾患モデルである *Fxr* 欠損マウスの脂質代謝におけるフコキサンチン投与の影響
○高岩琢磨, 木下佑一, 新野耕平, 杉浦義正, 宮田昌明 (水大校・食品科学)

【目的】フコキサンチンは, 褐藻類に含まれている主要なカロテノイドであり, 多くの生物学的機能を有するとされている。しかし, フコキサンチンの肝脂質代謝に及ぼす影響や非アルコール性脂肪性肝疾患(non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD)の改善効果に関しては, 十分には明らかになっていない。本研究では, NAFLD モデルであり, 肝内や血中の脂質レベルが高値を示す, *farnesoid X receptor (FXR)*欠損マウスを用い, フコキサンチンの病態時での脂質代謝に及ぼす影響を明らかにすることでフコキサンチンの NAFLD 改善効果を解明することを目的とした。

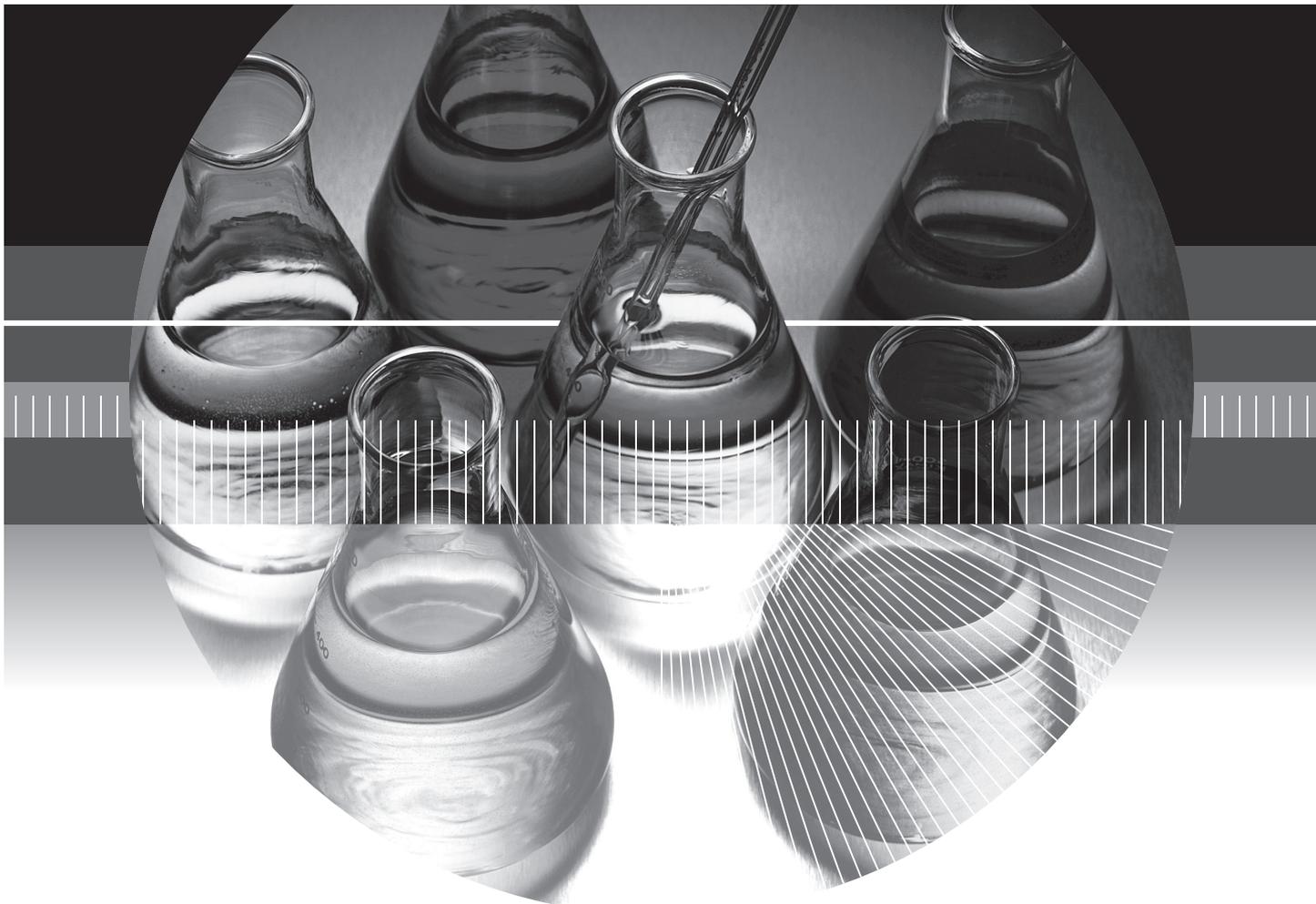
【方法】8~10 週齢の雄性 *Fxr* 欠損マウスにフコキサンチン 1 mg/kg を 2 日間と 4 週間, 50 mg/kg を 1 週間経口投与し, 血液と肝臓を採取した。血清中と肝内の脂質濃度は市販のキットで測定した。肝内 mRNA レベルの測定は, SYBR Premix Ex Taq II を用いた定量 PCR で実施した。

【結果と考察】フコキサンチン 1 mg/kg の短期・長期投与は, *Fxr* 欠損マウスの血清中, 肝内の脂質レベルを低下させなかったが, 50 mg/kg の投与ではむしろ, 血清 total cholesterol (TC)の有意な増加が認められた。フコキサンチン 50 mg/kg の投与によって, コレステロール代謝に関与する *hydroxymethylglutaryl-CoA reductase* や *low density lipoprotein receptor* の肝内 mRNA レベルの変動は認められなかった。現在フコキサンチン投与による消化管でのコレステロール吸収に及ぼす影響について検討中である。

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)
- ・アルファバイオ(株)
- ・(株)井ゲタ竹内
- ・池田糖化工業(株)
- ・(株)猪原商会 山口営業所
- ・OATアグリオ(株)
- ・(株)大熊
- ・大塚器械(株) 西条支店
- ・岡山県酒造組合
- ・(一)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)
- ・(株)機能性食品開発研究所
- ・杏林予防学研究所
- ・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
- ・(株)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)サンキ精機
- ・三栄源エフエフアイ(株)
- ・(株)四国総合研究所
- ・四国乳業(株)
- ・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)水温研究所
- ・広島和光(株) 岡山営業所
- ・(株)フジワラテクノアート
- ・(株)扶桑理化
- ・プロテノバ(株)
- ・盛田(株)小豆島工場
- ・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)
- ・(有)藍布屋
- ・ルナ物産(株)
- ・湧水製薬(株) 中央研究所 (五十音順)

2015年1月5日現在 69社



Think Perfection

お客様にとっての"パーフェクト"をめざして、正晃は常にユーザーの視点で考えています。



試薬
大学や官公立試験所、研究所をはじめ、各企業の研究に不可欠な試薬とそれに関連する最新の情報をタイムリーに提供しています。



診断薬
病院臨床検査室や検査センターなどに、豊富な専門知識をベースに、最適な診断薬を最新の情報・技術とともに提供しています。



理化学機器
大学・官公庁・企業の試験研究機関へ国内外一流メーカーの最先端機器の販売と関連情報の提供およびメンテナンスを行っています。



**医療機器
医療材料**
高度化が進む医療現場に、診断に必要とされる各種検査機器と治療用機器などを専門的にサポート。また医療消耗品も提供しています。



器材
大学・企業などの研究機関、病院・検査センターなどの医療機関での検体採取から保存までに必要な器材を扱っています。

ライフサイエンスをはじめとする科学技術は私たちの生活と未来を大きくリードし続けています。正晃は、医療・研究分野の総合会社として培ったノウハウをお客様にとっての"パーフェクト"を起点に多彩な分野へ柔軟な対応で貢献いたします。



www.seikonet.co.jp

本社 福岡市東区松島3丁目34番33号
〒813-0062
TEL : 092-621-8199(代)
FAX : 092-611-4415

事業所

福岡第一	福岡第二	北九州
久留米	大分	佐賀
山口	下関	熊本
沖縄	宮崎	鹿児島
東京	長崎	広島



**化粧品
電子材料**
産業や生活の幅広い分野で必要とされる化学工業製品や食品添加物およびIC生産に欠かせない洗浄剤・電子材料などを扱っています。



ITビジネス
医療や研究分野向けに画像診断・データベースソフトや検査業務支援システムなどを開発・提供し、最先端の研究を支援しています。



健康食品
「健康管理時代」のニーズに応じて、一般向けにオリジナルのフコイダン製品などの健康食品を開発・販売しています。



**コンピュータ
家電**
OA、AV機器、テレビや冷蔵庫からパソコン、デジカメなど、さまざまな一流メーカーの製品を取り扱っています。

日本農芸化学会中四国支部第41回講演会

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：原田 和樹

連絡先：水産大学校食品科学科

T E L：083-286-5111 (ext. 417)

E-mail：kazuki@fish-u.ac.jp

支部からのお知らせ

1. 支部創立15周年記念第42回講演会（例会）
開催日：2015年6月13日（土）
場 所：鳥取大学
内 容：受賞講演，一般講演
世話人：大城 隆（鳥取大学）
2. 第43回講演会（西日本・中四国支部合同大会）
開催日：2015年9月17日（木）～18日（金）
場 所：愛媛大学
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：柿沼喜己（愛媛大学）
3. 支部創立15周年記念第19回若手研究者シンポジウム
開催日：2015年5月15日（金）～16日（土）
場 所：岡山大学大学院自然科学研究科棟 大会議室
内 容：招待講演
世話人：宗正晋太郎・荒川健佑（岡山大学）

日本農芸化学会中四国支部事務局

〒700-8530 岡山市北区津島中 1-1-1
岡山大学大学院環境生命科学研究科
農生命科学専攻生物機能化学講座内
支部ホームページ：<http://jsbba-cs.jp>
E-mail：nouka_chushi@okayama-u.ac.jp