

日本農芸化学会中四国支部第56回講演会（例会）

会場：愛媛大学 城北キャンパス

日時：2020年 1月25日（土）

11:00~12:00 幹事打合会 (工学部4号館2階 421講義室)

12:10~13:00 支部参与会 (工学部4号館1階 411講義室)

13:10~14:00 受賞講演 (工学部4号館2階 421講義室)

2019年度農芸化学女性研究者賞

「食品由来フラボノイドの生体利用性に関わる化学構造の特徴と生体内代謝物の同定」

室田佳恵子（島根大・生資科）

2019年度農芸化学技術賞

「新しい水溶性食物繊維イソマルトデキストリン（ファイバリクサ®）の開発」

渡邊 光，山本拓生，阿賀 創，西本友之（（株）林原）

14:00~14:50 特別講演 (工学部4号館2階 421講義室)

「天然物ケミカルバイオロジーによる新しい遺伝子発現制御機構の発見」

吉田 稔（理研・日本農芸化学会会長）

15:00～15:40 産学連携シンポジウム (工学部4号館2階 421講義室)

「イワシがトクホになるまでの開発秘話」

箴島克裕 (仙味エキス (株))

「地域乳業メーカーの経営戦略について」

三好晶夫（四国乳業（株））

16:00~18:00 一般講演 (工学部講義棟C 1階, 2階, 3階)

18:10～20:00 情報交換会 (愛媛大学生協食堂 (城北キャンパス))

一般講演 会場一覧表

会場		講演番号	分類
A	工学部講義棟C 1階EL13	A-1 ~ A-10	遺伝子, その他
B	工学部講義棟C 1階EL15	B-1 ~ B-9	動物, 環境・新技術
C	工学部講義棟C 2階EL21	C-1 ~ C-9	酵素・タンパク質
D	工学部講義棟C 2階EL23	D-1 ~ D-10	酵素・タンパク質
E	工学部講義棟C 2階EL22	E-1 ~ E-10	微生物
F	工学部講義棟C 2階EL24	F-1 ~ F-10	微生物
G	工学部講義棟C 2階EL26	G-1 ~ G-7	有機化学・天然物化学
H	工学部講義棟C 3階EL31	H-1 ~ H-10	食品
I	工学部講義棟C 3階EL33	I-1 ~ I-10	食品
J	工学部講義棟C 3階EL35	J-1 ~ J-9	植物, 食品

一般講演 座長一覧表

会場	講演番号	座長	
A	A-1 ~ A-3	根本理子	(岡山大院・環境生命)
	A-4 ~ A-6	大西浩平	(高知大・農林海洋)
	A-7 ~ A-10	秋山浩一	(愛媛大院・農)
B	B-1 ~ B-2	有馬二郎	(鳥取大・農)
	B-3 ~ B-5	水沼正樹	(広島大院・統合生命)
	B-6 ~ B-9	村田 希	(愛媛大院・農)
C	C-1 ~ C-3	村松久司	(高知大・農)
	C-4 ~ C-6	内海俊彦	(山口大院・創科)
	C-7 ~ C-9	渡邊康紀	(愛媛大院・農)
D	D-1 ~ D-3	前田 恵	(岡山大院・環境生命)
	D-4 ~ D-6	若松泰介	(高知大院・農)
	D-7 ~ D-10	渡辺誠也	(愛媛大院・農)
E	E-1 ~ E-3	渡邊 彰	(香川大・農)
	E-4 ~ E-6	田淵光昭	(香川大・農)
	E-7 ~ E-10	河田美幸	(愛媛大院・農)
F	F-1 ~ F-3	丸山雅史	(愛媛大・農)
	F-4 ~ F-6	薬師寿治	(山口大院・創科)
	F-7 ~ F-10	山田 守	(山口大院・創科)
G	G-1 ~ G-3	仁戸田照彦	(岡山大院・環境生命)
	G-4 ~ G-7	安部真人	(愛媛大院・農)

会場	講演番号	座長
H	H-1 ～ H-4	丸山広達 (愛媛大院・農)
	H-5 ～ H-7	福田 翼 (水大校・食品科学)
	H-8 ～ H-10	羽倉義雄 (広島大院・統合生命)
I	I-1 ～ I-3	石田萌子 (愛媛大院・農)
	I-4 ～ I-7	藤谷美菜 (愛媛大院・農)
	I-8 ～ I-10	石原 亨 (鳥取大・農)
J	J-1 ～ J-3	明石欣也 (鳥取大院・農)
	J-4 ～ J-6	梶山博司 (徳島文理大・理工)
	J-7 ～ J-9	米山香織 (愛媛大院・農)

注意)

1. パソコン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。

接続ケーブルはミニD-SUB15ピン端子のみです。MacもしくはHDMIケーブルをご使用になる方は変換ケーブルをご自身でお持ちください。

2. 発表 9分，質疑応答 2分，交代 1分，時間厳守でお願いします。

支部講演会（例会）会場案内

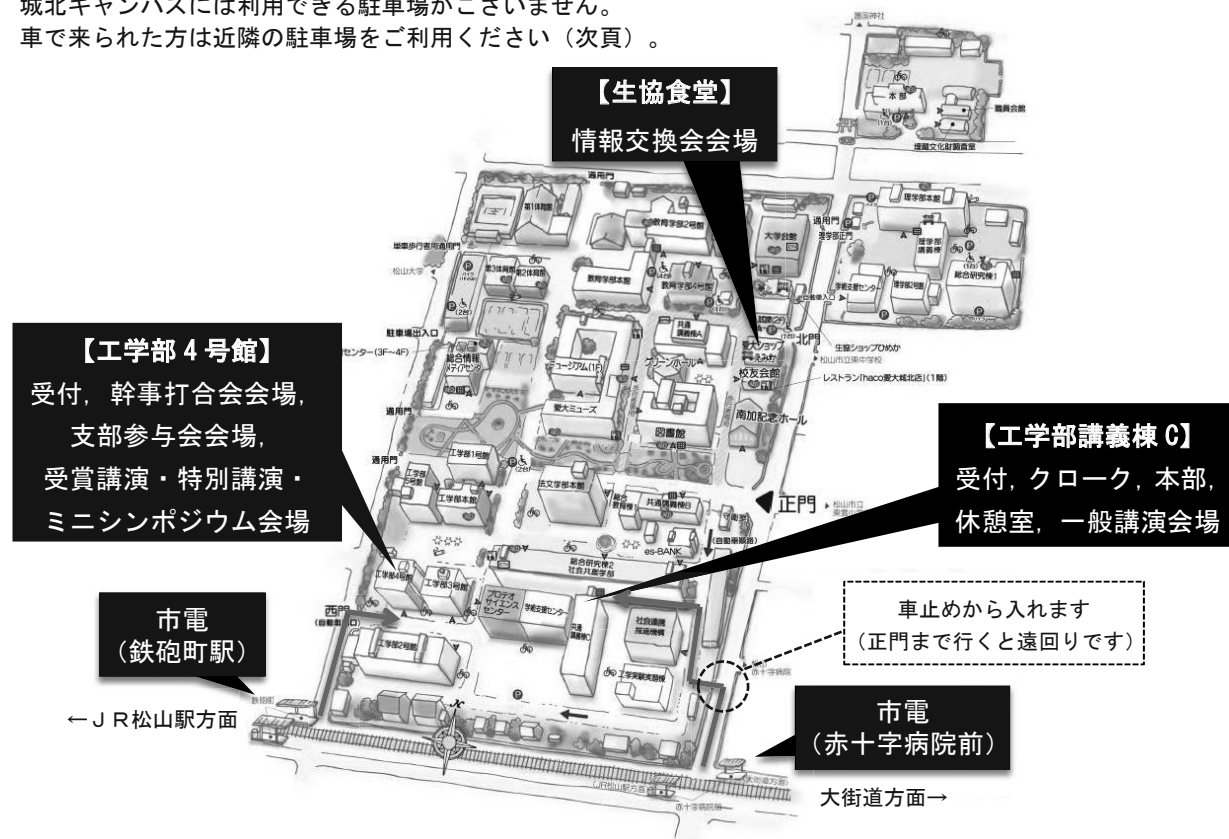
愛媛大学 城北キャンパス

(〒790-8577 愛媛県松山市文京町 3)

受付	工学部4号館 1階 工学部講義棟C 1階
受賞講演・特別講演・ミニシンポジウム会場	工学部4号館 2階421講義室
一般講演 A会場	工学部講義棟C 1階EL13
B会場	工学部講義棟C 1階EL15
C会場	工学部講義棟C 2階EL21
D会場	工学部講義棟C 2階EL23
E会場	工学部講義棟C 3階EL22
F会場	工学部講義棟C 3階EL24
G会場	工学部講義棟C 3階EL26
H会場	工学部講義棟C 3階EL31
I会場	工学部講義棟C 3階EL33
J会場	工学部講義棟C 3階EL35
幹事打合会会場	工学部4号館 2階421講義室
支部参与会会場	工学部4号館 1階411講義室
休憩室	工学部講義棟C 1階EL11, 2階EL25, 3階EL32
本部・クローク	工学部講義棟C 1階EL16
情報交換会会場	生協食堂

城北キャンパスには利用できる駐車場がありません。

車で来られた方は近隣の駐車場をご利用ください（次頁）。

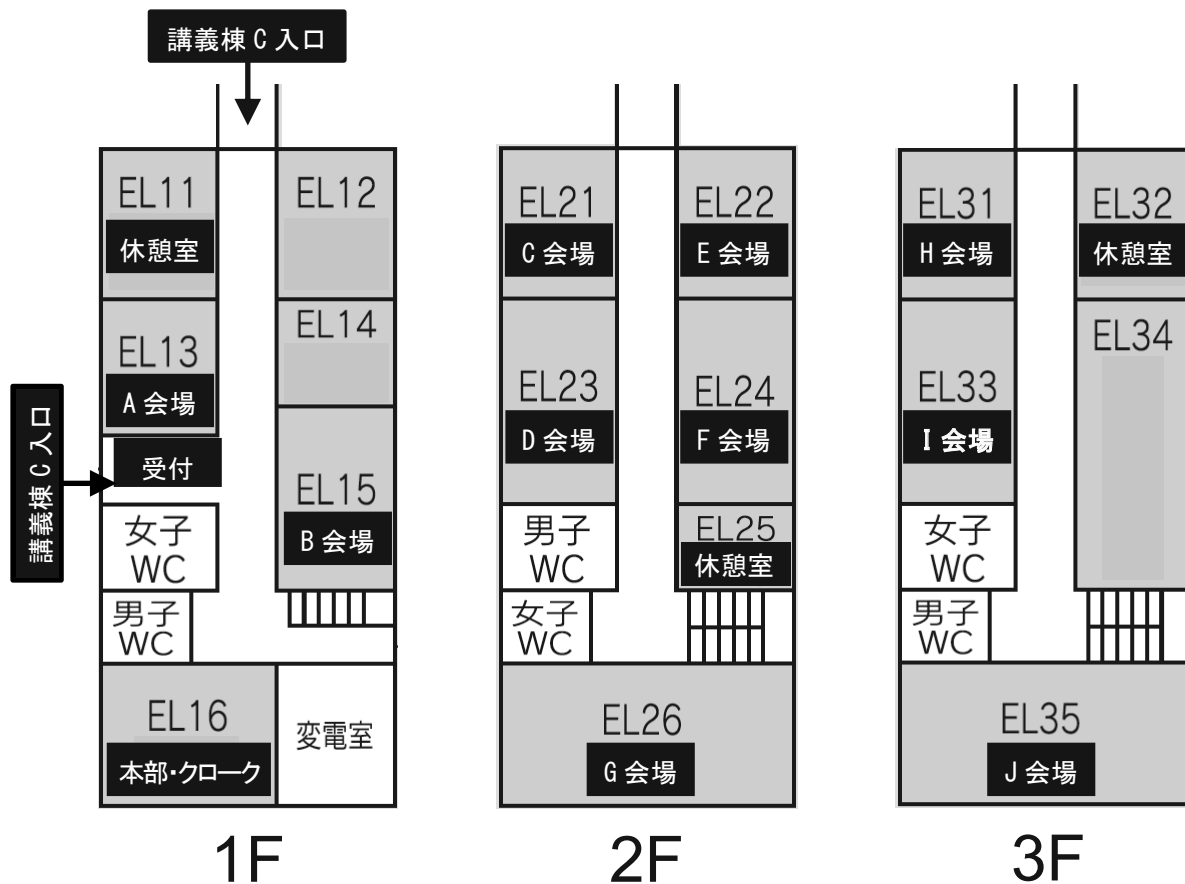


会場周辺の駐車場のご案内



松山 I. C.

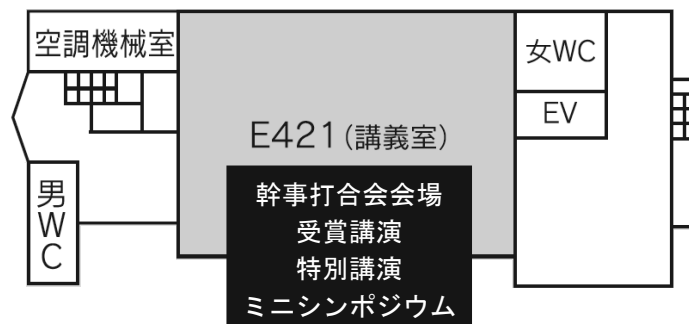
愛媛大学 城北キャンパス 工学部講義棟 C1 階・2 階・3 階
 (受付, クローク, 本部, 休憩室, 一般講演会会場 A~J)



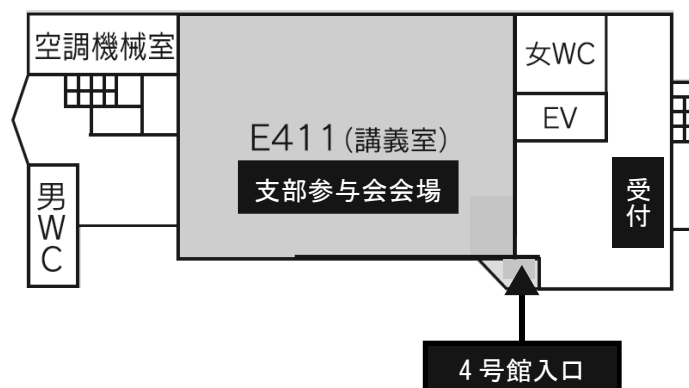
エレベーターはありません。階段の利用をお願いします。

愛媛大学 城北キャンパス 工学部 4 号館 1 階・2 階
(幹事打合会, 支部参与会, 受賞講演, 特別講演, ミニシンポジウム会場)

2F



1F

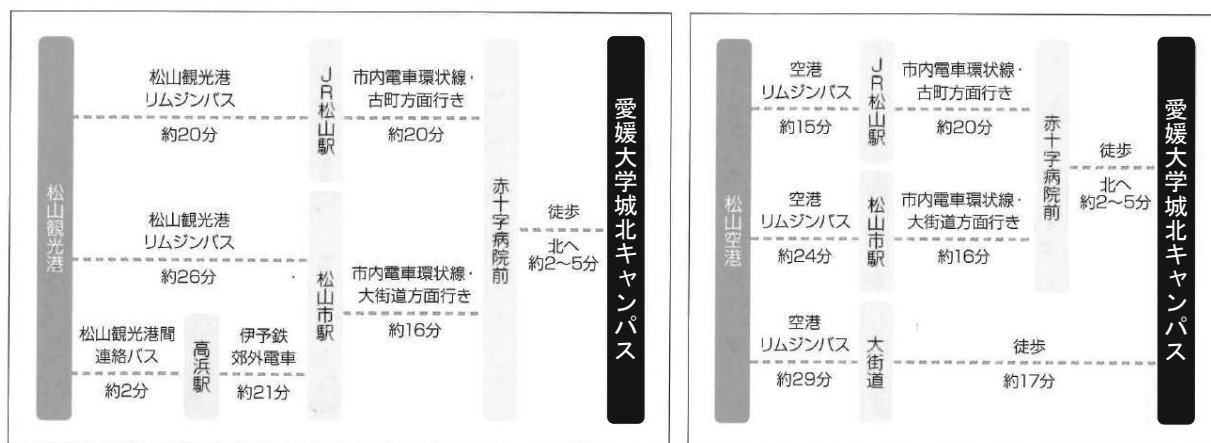


愛媛大学城北キャンパスへの交通案内

松山観光港・松山空港いずれからも、JR 松山駅あるいは松山市駅までいったん出て、市電でお越しいただくのが便利です。

【注意】愛媛大学農学部は城北キャンパスとは違う場所にあり、今回の会場ではありません。

お間違えのないようお願いします。



講

演

会

プ

ロ

グ

ラ

ム

日本農芸化学会中四国支部第56回講演会（例会）
プログラム

会場：愛媛大学 城北キャンパス

日時：2020年 1月25日（土）

11:00~12:00 幹事打合会 (工学部4号館2階 421講義室)

12:10~13:00 支部参与会 (工学部4号館1階 411講義室)

13:10~14:00 受賞講演 (工学部4号館2階 421講義室)

2019年度農芸化学女性研究者賞

「食品由来フラボノイドの生体利用性に関わる化学構造の特徴と生体内代謝物の同定」

室田佳恵子（島根大・生資科）

座長 石川孝博（島根大・生資科）

2019年度農芸化学技術賞

「新しい水溶性食物繊維イソマルトデキストリン（ファイバリクサ®）の開発」

渡邊 光，山本拓生，阿賀 創，西本友之（（株）林原）

座長 稻垣賢二（岡山大院・環境生命）

14:00～14:50 特別講演 (工学部4号館2階 421講義室)

「天然物ケミカルバイオロジーによる新しい遺伝子発現制御機構の発見」

吉田 稔（理研・日本農芸化学会会長）

座長 秋田 充（愛媛大院・農）

15:00~15:40 産学連携シンポジウム (工学部4号館2階 421講義室)

「イワシがトクホになるまでの開発秘話」

箴島克裕（仙味エキス（株））

「地域乳業メーカーの経営戦略について」

三好晶夫（四国乳業（株））

座長 菅原卓也（愛媛大院・農）

16:00~18:00 一般講演 (工学部講義棟C 1階, 2階, 3階)

18:10~20:00 情報交換会 (愛媛大学生協食堂 (城北キャンパス))

一般講演プログラム

A会場（1階 EL13 講義室）「遺伝子，その他」

- A-1 16:00 スフィンゴ脂質合成遺伝子と相互作用する *NNK1* 遺伝子の機能解析
○平松友貴，池田拓真，船戸耕一
(広島大院・生物圏)
- A-2 16:12 Regulation mechanism of two response regulators that regulate the expression of *hrpB*, a central transcriptional regulator for *hrp* regulon in *Ralstonia solanacearum*
○朱 超，曳地康史，木場章範，大西浩平
(高知大・農林海洋)
- A-3 16:24 Flagellar gene expression in *Ralstonia solanacearum* is differently regulated in vitro and in planta
○高毓蔚，曳地康史，木場章範，大西浩平
(高知大・農林海洋)
- A-4 16:36 珪藻種間の遺伝子比較解析およびプロテオーム解析に基づくシリカ細胞壁形成関連タンパク質の同定
○岩城沙弥子，小布施祈織，田村 隆，稲垣賢二，根本理子
(岡山大院・環境生命)
- A-5 16:48 植物病原菌 *Fusarium oxysporum* におけるオートファジー関連遺伝子 *atg15* の機能解析
○久賀夏子，河田美幸^{1,2}，関藤孝之¹，秋山浩一^{1,2}
(愛媛大・農，¹愛媛大院・農，²愛媛大・学術支援)
- A-6 17:00 嫌気条件下での基質誘導性遺伝子発現解析法を用いた海底下微生物由来機能性遺伝子の探索
○溝渕早紀，若松泰介，寺田武志¹，芦内 誠，諸野祐樹²
(高知大院・農，¹マリンワークジャパン，²海洋研究開発機構・高知コア)
- A-7 17:12 ウラギンシジミ幼虫の体色を決める環境要因とその調節
○大野瑠璃，前田瑞生¹，北沢千里²，小島 渉¹，山中 明¹
(山口大・理，¹山口大院・創科，²山口大・教育)

- A-8 17:24 ムラサキシジミ幼虫の赤色化に関する知見
○前田瑞生, 山本 響, 北沢千里¹, 小島 渉, 山中 明
(山口大院・創科, ¹山口大・教育)
- A-9 17:36 ハチミツ及び糖類の培養細胞に対する影響
○河野浩也, 田中健太, 山田芽吹, 山本和彦
(近畿大院・システム工)
- A-10 17:48 ハチミツの化学的・生物学的分析
○田中健太, 河野浩也, 山田芽吹, 山本和彦
(近畿大院・システム工)

B会場（1階 EL15 講義室）「動物、環境・新技術」

- B-1 16:00 モデル生物を用いた長寿に関わる代謝産物の探索
○青原 幸, 馬場真衣子, 久米一規, 水沼正樹
(広島大院・統合生命)
- B-2 16:12 代謝産物による酵母と線虫の寿命延長機構の解析
○馬場真衣子, 久米一規, 水沼正樹
(広島大院・統合生命)
- B-3 16:24 農医薬スクリーニング用途を指向した細胞凝集塊の凍結保存の可能性検討
○草加直幸, 信政郁弥¹, 滝澤 昇¹, 岩井良輔²
(岡山理大院・工, ¹岡山理大・工, ²岡山理大・フロンティア)
- B-4 16:36 スダチ果皮エキスの真皮線維芽細胞賦活効果の検討
○森川瑠美¹, 安部庄剛¹, 西谷真美¹, 下田毬絵², 金岡大樹², 湯浅恵造^{1,3}
(¹徳島大院・先端技術, ²松山油脂・研究開発, ³徳島大・生物資源)
- B-5 16:48 河内晩柑果皮食物繊維の摂取はラットのインスリン感受性を高め, 脂肪酸合成系因子の遺伝子発現を減少させる
○池田直人, 山崎翔悟¹, 福田直大², 永田洋子², 秀野晃大¹, 藤谷美菜¹, 岸田太郎¹
(愛媛大・農, ¹愛媛大院・農, ²愛媛県・産技研)
- B-6 17:00 銀鮭の閉鎖循環式陸上養殖に利用できる硝化細菌叢の構築
○長村治紀, 美藤友博¹, 清水克彦², 有馬二郎¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農, ²鳥取大・地域価値創造)
- B-7 17:12 窒素固定菌による初期酸素濃度が検出されるヒドリドイオン水から水素生成
○二矢川遼, 大上大稀, 及川栄作¹
(呉高専・本科, ¹呉高専・環境都市工)
- B-8 17:24 Comparison of salinity tolerance and antioxidant activities of a rice mutant and its parents
○Can Thu Huong, Tran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

- B-9 17:36 Effects of drought stress on phytochemical properties and momilactones A and B of rice
○Mohammad Ismael Haqani, Tran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

C会場（2階 EL21 講義室）「酵素・タンパク質-1」

- C-1 16:00 *N*-ミリスチル化タンパク質結合因子 UNC119A と FMNL2 との相互作用の解析
○岩本奈津子, 細川拓郎, 守屋康子, 内海俊彦
(山口大院・創科)
- C-2 16:12 *N*-ミリスチル化された SCF ユビキチンリガーゼ調節因子 DCUN1D3 に生じるカスパーゼ切断の解析
○西上美里, 大塚 葵, 守屋康子, 内海俊彦
(山口大院・創科)
- C-3 16:24 核タンパク質ラミン A/C アイソフォームに生ずる *N*-ミリスチル化の解析
○七田真由, 岩田春菜, 守屋康子, 内海俊彦
(山口大院・創科)
- C-4 16:36 新規アコニターゼ X の X線結晶構造解析と分子進化的考察
○村瀬陽介, 渡邊康紀, 渡辺誠也¹
(愛媛大院・農, ¹愛媛大・沿岸環境科研セ)
- C-5 16:48 酵母の L-ラムノース代謝経路に関与する L-2-keto-3-deoxyrhamnonate aldolase の基質特異性と立体選択性の構造基盤の解明
○福原将太, 渡邊康紀¹, 渡辺誠也^{1,2}
(愛媛大・農, ¹愛媛大院・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ)
- C-6 17:00 L-アラビノース 1-脱水素酵素の基質特異性の構造基盤の解析
○吉原健太郎, 渡邊康紀¹, 渡辺誠也^{1,2}
(愛媛大・農, ¹愛媛大院・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ)
- C-7 17:12 *Burkholderia* sp. HME13 のエルゴチオネイン代謝経路の解明: 3- (5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-4-イル) プロピオン酸代謝酵素遺伝子の同定
○間口洸樹, 村松久司, 原田泰輔, 長峰海斗, 柏木丈弘, 加藤伸一郎, 永田信治
(高知大・農)
- C-8 17:24 食品に含まれるイミダゾールジペプチドの酵素定量法の開発: *Pseudomonas* 属細菌の BapA タンパク質とヒスチジンアンモニアリアーゼの機能解析
○原田泰輔, 村松久司, 杉原大輝, 橋本佳怜, 小杉香南子, 島村智子, 永田信治
(高知大・農)

- C-9 17:36 シリカ粒子形成促進タンパク質“グラシン”のシリカ／シリコーンに対する吸着特性
○坂手勇斗，西美智佳¹，美藤友博，有馬二郎，清水克彦²
(鳥取大・農，¹鳥取大院・農，²鳥取大・地域価値創造)

D会場（2階 EL23 講義室）「酵素・タンパク質-2」

- D-1 16:00 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 が持つ様々なキチナーゼの性質
○長田晴季，東谷洗里¹，長瀬亜紀子，美藤友博，清水克彦²，有馬二郎
（鳥取大・農，¹鳥取大院・持社創生，²鳥取大・地域価値創造）
- D-2 16:12 水草から単離されたセルラーゼ生産菌の同定とその生産される酵素の生化学的解析
○浦田健司，渡邊康紀，渡辺誠也¹
（愛媛大院・農，¹愛媛大・沿岸環境科研セ）
- D-3 16:24 糸状菌 *Fusarium solani* D2 株由来オレイン酸水和酵素の機能解析
○村川直美，阪本鷹行，上野このみ，安藤晃規¹，岸野重信¹，相馬悠希²，
和泉自泰²，馬場健史²，小川 順¹，櫻谷英治
（徳島大院・生物資源，¹京大院・農，²九大・生医研）
- D-4 16:36 免疫活性測定を目的としたイモ類に含まれる貯蔵タンパク質の糖鎖構造解析
○蓮井泉帆¹，木村吉伸^{1,2}，前田 恵^{1,2}
（¹岡山大・農，²岡山大院・環境生命）
- D-5 16:48 新規人工糖鎖ポリマーによる植物複合型糖鎖結合タンパク質のスクリーニング
○田中創平¹，前田 恵^{1,2}，木村吉伸^{1,2}
（¹岡山大・農，²岡山大院・環境生命）
- D-6 17:00 緑藻ミル *Codium fragile* 由来レクチン(CFL) のホモオリゴマー構造について
○八塚真悟¹，竹内良太^{2,3}，前田 恵^{1,3}，木村吉伸^{1,3}
（¹岡山大・農，²一丸ファルコス，³岡山大院・環境生命）
- D-7 17:12 ホモログをモデルとした変異導入による *Shewanella violacea* 由来シトクロム *c'* の安定性向上
○坂口 陸，藤井創太郎¹，三本木至宏¹
（広島大・生物生産，¹広島大院・統合生命）
- D-8 17:24 アーキアにおける DNA ミスマッチ修復の分子機構の解明
○美濃部亜衣，福井健二¹，矢野貴人¹，芦内 誠，若松泰介
（高知大院・農，¹大阪医大・医）

D-9 17:36 大腸菌 BL21 (DE3)を用いた α -synuclein (AS)の多量発現と新たな精製方法の確立
○小坂将太¹, 前田 恵^{1,2}, 木村吉伸^{1,2}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命)

D-10 17:48 海洋性細菌由来キノン(CTQ)含有型 L-リシン ϵ -オキシダーゼの大腸菌発現系構築, 精製と性質検討
○横山大輝, 梶山雄輝, 赤地周作, 根本理子, 田村 隆, 稲垣賢二
(岡山大院・環境生命)

E会場（2階 EL22 講義室）「微生物-1」

- E-1 16:00 ランタノイドに応答した *Acidomonas* 属酢酸菌の遺伝子発現調節
○堀田靖人，宇都宮大貴，阿野嘉孝
(愛媛大院・農)
- E-2 16:12 植物葉上共生細菌 *Methylobacterium extorquens* AM1 のランタノイド依存型メタノール
デヒドロゲナーゼアイソザイムのレポーター遺伝子を用いた発現解析
○山下颯太，吉川友理，谷 明生¹，中川智行²，矢野嵩典，三井亮司
(岡山理大・理，¹岡山大・植物研，²岐阜大・応生科)
- E-3 16:24 転写因子 Mlm2 による Ypk1 の発現調節を介したスフィンゴ脂質代謝制御機構の解明
○小松楠於，石野裕子，谷元 洋¹，上野俊哉，田中直孝，田淵光昭
(香川大・農，¹九州大院・理)
- E-4 16:36 巨大菌のポリ γ グルタミン酸合成調節領域
○宮田真帆，白米優一，芦内 誠
(高知大・農林海洋)
- E-5 16:48 担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジー関連遺伝子 *Cc.atg8* 破壊株の解析
○今村友紀，麻田恭彦，渡邊 彰
(香川大・農)
- E-6 17:00 水素資化性メタン生成菌 *Methanothermobacter* sp. CaT2 の凝集形成と塩ストレス耐性
の関係性の解析
○山崎拓人¹，澄川佳奈²，山田 守^{1,2,3}，高坂智之^{1,3}
(¹山口大院・創科，²山口大院・医学系，³山口大・中高温微研セ)
- E-7 17:12 馬乳酒由来乳酸菌の特性解析
○森田翔太，滝澤 昇
(岡山理大・工)
- E-8 17:24 植物から分離された乳酸菌の特性：ラクターゼ活性とオリゴ糖の生成について
○清水あずさ，滝澤 昇
(岡山理大・工)

E-9 17:36 岡山産自然派ワインからの酵母の分離・同定とその特性

○下田寧々，滝澤 昇

(岡山理大・工)

E-10 17:48 キチン含有廃棄物を用いたキチン分解菌 *Cellulosimicrobium* sp.NTK2 の培養

○東谷洸里，長田晴季¹，美藤友博¹，清水克彦²，有馬二郎¹

(鳥取大院・持社創生，¹鳥取大・農，²鳥取大・地域価値創造)

F会場（2階 EL24 講義室）「微生物-2」

- F-1 16:00 *Gluconobacter* 属酢酸菌のシアン耐性呼吸鎖の生理的意義
○三由綾香, 阿野嘉孝
(愛媛大院・農)
- F-2 16:12 *Gluconobacter* 属酢酸菌の 5-ケトグルコン酸輸送体と資化制御因子
○和田征太郎, 阿野嘉孝
(愛媛大院・農)
- F-3 16:24 中温性 *Acetobacter* 属酢酸菌の実験室進化で観察されたトレードオフ高温適応
松本奈実¹, 松谷峰之介², 東 慶直³, 片岡尚也^{1,4,5}, ○薬師寿治^{1,4,5},
松下一信^{1,4,5}
(¹山口大院・創科, ²東京農業大・ゲノム, ³近畿大・生物理工,
⁴山口大・微研セ, ⁵山口大・農)
- F-4 16:36 三角フラスコを用いた製麹法の検討
○遠藤路子^{1,2}, 上原由梨奈², 藤井雄三², 山田 修³, 藤田晃子³, 磯谷敦子³,
神田涼子³, 藤井 力^{1,4}
(¹広島大院・生物圏, ²米子高専・物質, ³酒総研, ⁴福島大・食農)
- F-5 16:48 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* による再生パルプを用いた高温での並行複発酵
○原真璃乃¹, Pumin Nutaratat², 村田正之¹, 高坂智之^{1,3}, 山田 守^{1,3}
(¹山口大院・創科, ²Fac. Sci., Kasetsart Univ., ³山口大・中高温微研セ)
- F-6 17:00 Adaptive improvement of xylose-fermenting yeast isolated from Laos
○Koudkeo Phommachan¹, Chansome Keo-oudone², Mochamad Nurcholis³,
Somchanh Bounphanmy², Tomoyuki Kosaka^{1,4}, Mamoru Yamada^{1,4}
(¹Grad. Sch. Sci. Tech. Innov., Yamaguchi Univ., ²Fac. Sci, Nat. Univ. Laos,
³Fac. Agri. Tech., Univ. Brawijaya, ⁴Res. Cen. TMR, Yamaguchi Univ.)
- F-7 17:12 愛媛産植物性乳酸菌の探査およびそれらを用いた発酵食品の検討
○塩崎里枝, 金子茉由, 早瀬伸樹, 森永弘志¹, 宮部真司¹, 中川克彦
(新居浜高専・生物応用, ¹(株)大愛)
- F-8 17:24 くさや発酵液の抗菌性に関する性状試験
○三城慶佳, 内藤温貴, 岡野紗季, 丸山雅史
(愛媛大・農)

F-9 17:36 納豆菌が産生するバクテリオシンの精製と性状

○黒田侑夏子，三浦太輝，岡野紗季，丸山雅史
(愛媛大・農)

F-10 17:48 シカ糞便由来チーズスターター好適乳酸菌の選抜と同定

○福島 渉，黒岡紗季，坂本夏帆，安藤悠佳，森田英利，荒川健佑
(岡山大院・環境生命)

G会場（2階 EL26 講義室）「有機化学・天然物化学」

- G-1 16:00 イミダゾリジン環エチレン部位にジメチル基を有するイミダクロプリド類縁体の立体選択的合成およびイエバエに対する殺虫活性の評価
○山村円香, 山内 聡, 西脇 寿
(愛媛大院・農)
- G-2 16:12 ナイセリア属細菌が産生するリポオリゴ糖の中性コア糖鎖の合成研究
○一柳 剛, 大谷直輝¹, 成木裕文, 後久保春花
(鳥取大・農, ¹鳥取大院・持社創生)
- G-3 16:24 カロライナジャスミンの花弁に含まれる PTP1B 阻害活性物質の探索
○垣添佑介, 野下俊朗, 田邊 聖¹, 大内秀一², 田井章博³
(県広大・生命環境, ¹県広大院・生命シ, ²近畿大・薬, ³徳島大・生物資源)
- G-4 16:36 *Pochonia suchlasporia* の固体培養により生産される糸状菌胞子発芽阻害物質(第2報)
○片岡智範, 神崎 浩, 仁戸田照彦
(岡山大院・環境生命)
- G-5 16:48 Antioxidant and anti-tyrosinase activities of the invasive weed *Andropogon virginicus* L.
○La Hoang Anh, Nguyen Van Quan, Tran Dang Xuan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)
- G-6 17:00 Bioactive potentials of root extracts from tall goldenrod *Solidago altissima*
○Nguyen Van Quan, Tran Dang Xuan, La Hoang Anh
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)
- G-7 17:12 Utilization of momilactones in rice for functional foods
○Tran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

H会場（3階 EL31 講義室）「食品-1」

- H-1 16:00 IV型チョコレートの開発とその安定性に関する研究
○趙 蘭萱, 上野 聡
(広島大院・統合生命)
- H-2 16:12 チョコレートにおける油脂移行速度評価のための拡散係数および接触角の測定
○河野菜穂, 上野 聡, 本同宏成¹
(広島大・生物生産, ¹静岡県立大・食品栄養科学)
- H-3 16:24 流量変化を利用した粒子分散系食品の粒子計測
○三次薫乃子, 川井清司¹, 羽倉義雄¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)
- H-4 16:36 キャパシタンス測定による高温フライ油中の分散水の検出
○田仲 翼, 川井清司¹, 羽倉義雄¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)
- H-5 16:48 アイスグレーズ食品のグレーズ氷の機械的分離
○許 政, 川井清司, 羽倉義雄
(広島大院・統合生命)
- H-6 17:00 くさび型治具および二山形治具の応力集中を用いた縦割り切断加工の提案～治具形状による载荷安定性～
○廣本好美, 佐藤允郎¹, 村山文仁¹, 川端康之亮¹, 前川貴浩¹, 川井清司², 羽倉義雄²
(広島大院・生物圏, ¹(株)極洋・塩釜研, ²広島大院・統合生命)
- H-7 17:12 衝撃荷重測定による杵つき餅の加工程度の連続測定
○庄司優衣, 川井清司¹, 羽倉義雄¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)
- H-8 17:24 リン脂質結合型DHAの結合位置の違いが消化吸収性に及ぼす影響の検討
○山浦凜子¹, 渡辺 嘉², 室田佳恵子^{1,3}
(¹島根大院・自然科学, ²大阪産技研・森之宮セ, ³島根大・生資科)

H-9 17:36 さつま砂糖漬け製法に使用する魚種が品質に及ぼす影響
○小林聡子, 横山文二, 辰野竜平, 古下 学, 福田 翼
(水大校・食品科学)

H-10 17:48 エビ及びカニに含まれるビタミン B₁₂ 量と B₁₂ 化合物の特性について
○岡本奈穂¹, 濱口菜摘², 美藤友博^{1,2}, 渡邊文雄^{1,2}
(¹鳥取大院・連農, ²鳥取大・農)

I 会場（3 階 EL33 講義室）「食品-2」

- I-1 16:00 精製ココナツ油の胃内投与はラットの脳ケトン体レベルを上昇させる
○近藤奨太，藤谷美菜，岸田太郎
(愛媛大院・農)
- I-2 16:12 ビートファイバー摂取は摂取エネルギーを低下させ，消化管管腔内の胆汁酸量および回腸粘膜プレプログルカゴン遺伝子発現を増加させる
○前野元希，長森公寛，越智博介，藤原啓士郎，藤谷美菜，岸田太郎
(愛媛大院・農)
- I-3 16:24 多価不飽和脂肪酸 DHA の代謝物の抗アレルギー効果
○金山佳毅，In-Hae Kim，菅原卓也，西 甲介
(愛媛大院・農)
- I-4 16:36 温州ミカン葉水溶性抽出物の *in vitro* における抗炎症効果
○伊藤誉子，石田萌子，門田 歩¹，西 甲介，菅原卓也
(愛媛大院・農，¹伊方サービス (株))
- I-5 16:48 河内晩柑果皮の認知機能障害改善作用の解析
○奥山 聡，澤本篤志，中島光業，古川美子
(松山大・薬)
- I-6 17:00 ハーブ茶葉熱水抽出物からのチロシナーゼ活性阻害物質の探索
○浅野諒太，平井遥香¹，梅林志浩²，藪田行哲¹，有馬二郎¹，石原 亨¹，
渡邊文雄¹，美藤友博¹
(鳥取大院・持社創生，¹鳥取大・農，²鳥取県産技・農産食品)
- I-7 17:12 ラットにおけるヒシエキス投与後の加水分解性タンニンの生体内挙動に関する基礎研究
○森 彩夏，細川夏菜乃，鈴木勝一，上村知広¹，伊東秀之
(岡山県大院・保福，¹林兼産業)
- I-8 17:24 脱脂アマニの摂取はラットの血清および肝臓中脂質を減少させる
○稲田真子，池田直人¹，滝澤萌子，山崎翔悟，冠野由依，福光 聡²，
藤谷美菜¹，岸田太郎¹
(愛媛大院・農，¹愛媛大・農，²(株) 日本製粉)

- I-9 17:36 エノキタケを栽培した針葉樹菌床の水抽出物が示す脂肪蓄積抑制効果
○畑本梨衣, 永谷直哉, 仁戸田照彦, 畑生俊光, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命)
- I-10 17:48 タウリンのコレステロール低下作用における FXR シグナルの役割
○宮田昌明, 高橋一帆, 田中知幸, 杉浦義正
(水大校・食品科学)

J会場（3階 EL35 講義室）「植物，食品-3」

- J-1 16:00 植物の生育に及ぼす暗期パルス光照射の影響
○三輪浩平²，木村祐太¹，武田真樹¹，上田愛巳¹，宇山裕貴¹，米村彩乃¹，
間島莉夢²，山田裕一²，谷川浩司²，前田淳史²，松田和典^{1,2}，梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工，²徳島文理大・理工)
- J-2 16:12 蓼藍の生育と代謝に及ぼす夜間パルス光照射の影響
○間島莉夢²，木村祐太¹，武田真樹¹，三輪浩平²，上田愛巳¹，米村彩乃¹，
宇山裕貴¹，谷川浩司²，前田淳史²，松田和典^{1,2}，梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工，²徳島文理大・理工)
- J-3 16:24 微弱光合成による農作物生育促進効果
○木村祐太¹，武田真樹¹，三輪浩平²，上田愛巳¹，宇山裕貴¹，米村彩乃¹，
間島莉夢²，山田裕一²，谷川浩司²，前田淳史²，松田和典^{1,2}，梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工，²徳島文理大・理工)
- J-4 16:36 Citrus mosaic virus を検出するウサギモノクローナル抗体の作製
三好省吾，徳永 聡，小澤龍彦¹，竹田浩之，青野光男²，三好孝典²，岸 裕幸¹，
村口 篤¹，清水伸一²，○野澤 彰，澤崎達也
(愛媛大・プロテオセ，¹富山大院・医薬，²愛媛県・果樹研セ)
- J-5 16:48 乾燥ストレス下における野生種スイカのメタボロームおよびシトルリン代謝遺伝子の発現挙動
○西岡拓哉¹，只野翔大²，金谷潤宏³，辻本 壽^{1,2,4}，明石欣也^{1,2,3,4}
(¹鳥取大院・持社創生，²鳥取大院・連農，³鳥取大院・農，⁴鳥取大・乾地研)
- J-6 17:00 葯・花粉発達における COP II 小胞輸送因子 AtSec23 の機能解析
○柴原 葵，Aboulela Mostafa，蜂谷卓士，中川 強
(島根大・総科セ)
- J-7 17:12 アブシジン酸信号伝達における活性カルボニル種の標的因子の役割
○佐永田達也，中村俊之，宗正晋太郎，中村宜督，村田芳行
(岡山大院・環境生命)
- J-8 17:24 Evaluation of phytochemicals and antioxidant activity of some new Vietnamese rice lines
○Bodipo Sorizo Gerardo, Tran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

- J-9 17:36 Antioxidant and α -amylase inhibitory activities of *Clausena indica* fruits
○ Nguyen Thi Dieu Thuy, Tran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

受 賞 講 演

講 演 要 旨

食品由来フラボノイドの生体利用性に関わる化学構造の特徴と生体内代謝物の同定

室田佳恵子（島根大・生資科）

フラボノイドはジフェニルプロパン構造を基本骨格とするポリフェノール化合物であり、植物性食品に豊富に含まれている。フラボノイドは2つのフェニル基に挟まれたC環の構造により、フラボン、フラボノール、フラバノン、フラバン-3-オール（カテキン）、イソフラボン、アントシアニン、カルコンなどに分類され、さらに分子内水酸基の数と位置の違いにより、その化学構造は多岐に渡る。我々は食事由来フラボノイドの消化・吸収・代謝動態の解明を目指して研究を行っており、中でも化学構造の違いが及ぼす吸収代謝への影響に注目している。

植物性食品中のフラボノイドは、様々な糖と結合した配糖体、あるいは有機酸と結合した形態を取っており、これらの化学修飾はフラボノイドの生体利用性を大きく左右することが知られている。多くの先行研究により、フラボノイド配糖体はそのままではほとんど吸収されないことが示されており、細胞へ取り込まれる主な形態は腸管粘膜の酵素あるいは腸内細菌の作用により糖鎖が加水分解されて生じるフラボノイドアグリコンである。アグリコンは、小腸あるいは大腸粘膜に発現しているグルクロン酸転移酵素 (UGT)、あるいは硫酸転移酵素 (SULT) によって抱合体に変換される。カテコール構造を分子内にもつフラボノイドの場合は、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT) によって一部はメトキシフラボノイドへと変換される。小腸や大腸で産生されたフラボノイド代謝物は肝臓においてさらなる二次代謝を受け、末梢血中では複数の抱合化を受けた代謝物として存在する。なお小腸で吸収されなかったフラボノイド配糖体は腸内細菌の作用を受けると、配糖体からアグリコンが生じるだけでなく、C環の開裂が起こることによってさまざまなフェノール酸が生じることが知られている。

我々はこれまでに異なる糖鎖を有するケルセチン配糖体の吸収性について、培養細胞、実験動物、ヒト試験のレベルで比較を行ってきた。ヒトボランティアに粉末化したフラボノイドを水とともに空腹時に摂取させた場合、アグリコンよりもグルコース配糖体の方が高い吸収性を示し、糖鎖部分を酵素修飾により α -オリゴグルコシル化すると、さらに吸収性が高くなった。一方で二糖類が結合した配糖体であるルチンは、摂取後6hまでの間はほとんど吸収が見られなかった。摂取1.5h後の主な血中抱合代謝物の構造をLC-MS/MSにて調べたところ、糖鎖構造が異なってもヒト血漿中代謝物の種類は同様であった。動物実験においては、フラボノイドの吸収経路についても検討するため、リンパカニュレーションを施したラットを用いてケルセチンアグリコンとケルセチン-3-グルコシドの吸収代謝性を比較した。その結果、配糖体として投与したケルセチンもアグリコンと同様、主に抱合代謝物として血中ならびにリンパ液へ輸送されること、しかし血漿とリンパ液中に現れる個々の抱合代謝物の濃度（代謝物パターン）はアグリコンか配糖体かという投与分子の化学構造の違いにより異なることが示された。フラボノイドの基本骨格が吸収性に及ぼす影響については、ケルセチンと他のフラボノイドをヒト腸管細胞モデルとして汎用されているCaco-2細胞培養系を用いて比較したところ、水酸基の数やC環の構造などが抱合代謝されやすさや代謝物の輸送の方向などに影響することを見出した。特に、B環の結合位置が異なるイソフラボン類は、ケルセチンと比べて抱合されにくくアグリコンのまま細胞層下側へ輸送されるものが多かった。ケルセチンとイソフラボンについては、さらにヒトにおける吸収代謝性を比較した。ケルセチン摂取源としてタマネギソテーを、イソフラボン摂取源として豆腐を試験食としたヒトボランティア試験において、それぞれを単独で摂取する場合と同時に摂取する場合で、ケルセチンとイソフラボンそれぞれから生じる血中代謝物のパターンが異なることを示した。

我々は日常的に食品から様々なフラボノイドを摂取している。それらの化学構造が生体利用性に与える影響をさらに調べ、フラボノイドの機能性研究に今後も貢献していきたい。

新しい水溶性食物繊維イソマルトデキストリン（ファイバリクサ®）の開発

渡邊 光, 山本拓生, 阿賀 創, 西本友之（(株) 林原）

食物繊維は第六の栄養素とも呼ばれ、生活習慣病の予防に重要な役割を果たすことが知られている。一方で、野菜、果物、海藻やきのこなどの食事から推奨される量を摂取することは容易ではなく、慢性的な食物繊維不足となっている。従って、食品や飲料に無理なく配合し食物繊維を補給できる素材のニーズはこれまで以上に高まると考えられた。このような状況の中、我々は林原の基幹技術である微生物酵素を用いて、澱粉から食物繊維として機能する新しい糖質素材の開発を試みた。

その結果、土壌由来微生物の一菌株 *Paenibacillus alginolyticus* PP710 の培養上清中に、澱粉から消化酵素耐性の糖質を生成する活性を見出した。この糖質の構造を決定したところ、 α -1,6 結合、 α -1,3 結合および α -1,3,6 結合を含む、多分岐の α -グルカンであることがわかった。我々は本糖質をイソマルトデキストリン(IMD)と命名した。IMD は基質である澱粉に比べ枝分かれ構造が増加しており、そのため消化酵素に耐性を示すと考えられた。なお、IMD の食物繊維含量は酵素-HPLC 法により約 80%であった。PP710 株の培養上清から IMD の生成に関与する酵素を精製したところ、6- α -グルコシルトランスフェラーゼと α -アミラーゼの 2 種の酵素が見出され、IMD の生成にはこれら 2 種の酵素が協同的に作用する必要があることが分かった。我々はこれら 2 種の酵素を利用して IMD の工業製造プロセスの開発を行い、食品原料としての販売に耐えうるプロセス開発に成功した。

IMD は温和な条件の酵素反応で製造されるため、製品粉末の白度が高い点が大きな特徴である。また、甘さはほとんどなく（砂糖の 20 分の 1 程度）、水に良く溶けながらもその粘度は低いため、配合される食品や飲料の本来のテクスチャーに影響を与えにくい。また、安定性にも優れており、熱、酸、レトルト、冷凍などの食品加工上の様々なストレスに対しても非常に安定である。さらに、生理作用に関しても多くの検討が行われており、腸内細菌叢改善作用、便秘改善作用、血糖上昇抑制作用、食後中性脂肪上昇抑制作用などの知見が明らかとなっている。

IMD は食品加工上の物性・安定性や生理作用の観点から他の水溶性食物繊維にはない価値を提供できる素材として、2015 年 11 月より販売を開始している(商品名：ファイバリクサ®)。現在、色、におい、味の観点から飲料、製菓、乳製品、主食、調理加工品などのあらゆる食品に食物繊維補給や糖質低減目的で IMD の配合が検討されている。また、生理作用を活用した健康訴求目的での配合も可能な素材と考えており、「機能性表示食品制度」にも対応できる素材として鋭意開発を行っている。2019 年 11 月 19 日時点で、IMD を配合した機能性表示食品が 13 件受理されており、今後も受理件数の増加が期待される。

水溶性食物繊維の世界市場は今後も成長していくことが見込まれている。日本でも同様の成長が見込まれ、将来性の高い市場であると考えられる。これからも IMD の独自機能を明らかにしていくことで、更なる市場拡大を実現し、世界中の人々の食と健康に貢献していきたい。

本成果は株式会社林原の多くの方々のご指導とご協力によって得られたものであり、関係したすべての皆様に心より御礼申し上げます。

特 別 講 演

講 演 要 旨

特別講演

天然物ケミカルバイオロジーによる新しい遺伝子発現制御機構の発見

吉田 稔（理研・日本農芸化学会会長）

自然界に生息する微生物・植物・動物が生産する天然の生理活性物質は、自然が人類に与えてくれた貴重な宝物であると言えます。その複雑で美しい構造は有機合成化学者を、その特異的な作用機序は生命科学者を、そしてその優れた薬効は医学者の心を捉えてきました。演者は微生物の生産する各種生理活性物質の分子レベルでの作用機序に魅せられて長年格闘してきました。その結果、幸運にもいくつかの化合物について、これまで知られていなかった標的に遭遇しました。例えば、初めての特異的なヒストン脱アセチル化酵素の阻害剤であることがわかったトリコスタチン A は、エピジェネティクス研究の興隆を先導し、標的分子が当時機能不明の CRM1 だったレプトマイシン B は、タンパク質核外輸送研究を切り開きました。また、スプライソスタチン A はスプライシングと翻訳制御のつながりを解明するための貴重なツールとなりました。これらの標的分子は、いずれも真核生物における遺伝子発現制御機構の重要な因子であると同時に新しい創薬標的として注目されるに至っています。本講演では、生理活性物質の作用機序解明の方法論から実際の解析例、さらには標的分子の生物学上の重要性について解説したいと思います。

産学連携シンポジウム

講演要旨

イワシがトクホになるまでの開発秘話

箴島克裕（仙味エクス（株））

弊社は愛媛県大洲市に本社・工場を置き、主に業務用のエクス調味料を製造販売している中小企業です。

新鮮な天然原料を酵素分解による独自の製造方法によってエクス化・濃縮・精製して、現在、製品は水産練り製品をはじめ、冷凍食品や各種総菜、たれ・つゆ・ドレッシングなどあらゆる加工食品の味・風味付けに利用されており、全国の商品メーカーと取引があります。約30年前から原料の機能性研究を手がけ、愛媛大学や九州大学との共同研究の成果を商品化して、特定保健用食品（トクホ）原料として販売しています。

本日は、イワシを原料にそのペプチドでトクホを取得し、世に出すまで、研究・製造・販売の3つの壁をどう乗り越えてきたかの開発経緯をご紹介します。

＊第一の壁「研究開発」

弊社の機能性研究は、調味料である水産練り製品用エクスの保水性・食感向上効果の裏付けを検討する中から始まり、各種魚介類を酵素分解したペプチドが様々な生活習慣病対策に有効であるという知見が得られ、イワシのペプチドがACE阻害活性による血圧抑制作用を持つことに着目して、機能性食品原料としての関与ペプチドの同定、酵素分解条件、有効性の確認などを進めました。

＊第二の壁「製品開発」

その後、全国的に機能性食品研究が盛んになり、研究成果を工業化するための分離精製技術開発の農水省プロジェクトに参画して工業生産するための条件を検討しました。そのプロジェクト成果により品質的には商品化のめどが立ったものの、最大の難関はコストであり、ラボレベルの製造条件から工業的生産レベルへのコストダウンに苦労しましたが、九州大学や関連企業との共同研究で水処理用樹脂による分離精製技術を確立し、ヒト試験を実施できるようになりました。

＊第三の壁「製品販売」

最後の壁はいかに商品として販売し、世の中に広げていくかということですが、特定保健用食品（トクホ）制度の普及と共にトクホ取得という明確な目標のおかげで挫折することなく継続することができ、また、トクホ制度も順次改善されて、現在ではトクホ原料の製造に専念し、販売は大手製薬メーカー、食品メーカーに任せております。

これら一連の商品開発における具体的なエピソードをお話しますので、中小企業の商品展開例として参考にして頂ければ幸いです。

地域乳業メーカーの経営戦略について

三好晶夫（四国乳業（株））

- 1 近年の乳業情勢は、TPP や欧州 EPA 等による乳製品の輸入増や国内酪農基盤の弱体化、少子化による牛乳消費の減少など厳しい環境にあり、地域の乳業メーカーは経営戦略の立て直しに迫られている。
- 2 国や県、酪農団体の出資により、昭和 43 年に設立された四国乳業㈱は、農協系プラントメーカーとして四国一円から生乳を集め、「らくれん」ブランドの牛乳・乳製品を製造し、中四国・関西を中心に販売しており、平成 30 年度の売り上げは 185 億円で、年商規模別では全国 185 社の乳業メーカーの上位に位置するが、競争激化の中でさらなる企業力向上を図るため、平成 27 年に 2020 年を目標とする「成長戦略」を打ち出した。
- 3 その骨子は、
 - 全国への販路拡大により、年商 200 億円を目指す
 - 愛媛素材を活用した機能性商品を軸としたオンリーワン企業
 - 産学官連携のチーム愛媛による新商品開発
 - 地域の酪農振興と地方創生の 4 点を掲げ、高度な研究開発力と鮮度の高い地域の生乳を扱う強みを発揮しながら、全国にらくれんブランドを浸透させ、業績拡大と地域貢献に努める。
- 4 特に、機能性商品の柱となる「8020 ヨーグルト」は、広島大学と共同開発したもので、歯周病や虫歯予防などお口の健康に効果がある乳酸菌「L8020 菌」を使用し、2018 年には消費者庁から、口腔内分野では国内初となる「機能性表示食品」に認められた。
- 5 また、「Nプラスドリンクヨーグルト」は、愛媛大学農学部菅原教授と共同開発したもので、県産柑橘のポンカン果皮に含まれるノビレチンを配合し、ヨーグルトが本来持つβラクトグロブリンとの相乗効果により、花粉症などのアレルギー症状を緩和する効果があり、現在、消費者庁への届出準備を進めている。
- 6 こうした産学連携や地域素材の活用による付加価値の高いオンリーワン商品を軸に、他社にはない優位性を発揮しながら経営向上に取り組んでおり、現在は、愛媛大学や松山大学と共同で、河内晩柑のオーラプテンを活用した認知症の予防効果が期待できる商品などを開発中である。
- 7 また、愛媛県内のすべての小中学校に給食牛乳を供給する強みから、児童生徒の食育普及や体力向上に寄与するとともに、本年 8 月には本社工場のブリック充填設備の全面更新、10 月には、食品安全基準としては世界最高峰の国際規格 FSSC22000 を認証取得しており、企業の信頼度を高めながら、コンビニのカップ乳飲料 PB の全国展開など、高収益の確保を図りながら、「食卓に健康をお届けする」食品産業として、地域の負託に応えられるよう成長戦略の実現に取り組んで参りたい。

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 スフィンゴ脂質合成遺伝子と相互作用する *NNK1* 遺伝子の機能解析
○平松友貴, 池田拓真, 船戸耕一 (広島大院・生物圏)

【目的】スフィンゴ脂質は、それ自身が情報伝達因子として働くとともに、脂質ラフトの構成因子としての働きも担っており、生体にとって極めて重要な役割を担う生体膜脂質である。したがって、その合成と恒常性維持は厳密に調整されていると考えられるが、その制御機構は十分に理解されていない。これまでの当研究室の解析により、スフィンゴ脂質合成遺伝子と遺伝的に相互作用する遺伝子として *NNK1* が取得された。*NNK1* がコードするタンパク質 Nnk1 はリン酸化酵素であることから、Nnk1 によるタンパク質のリン酸化によってスフィンゴ脂質の合成が調整されている可能性が考えられる。しかし、Nnk1 がスフィンゴ脂質の合成に関与するかどうかは不明である。そこで、本研究では、*NNK1* のスフィンゴ脂質の合成における役割について解析を行った。

【方法・結果】*NNK1* がスフィンゴ脂質の合成に関与しているかどうかを調べるため、 $[^3\text{H}]$ myo-inositol を用いてスフィンゴ脂質の合成量を調べた。その結果、*nnk1* Δ では野生株と比べ、複合スフィンゴ脂質であるイノシトールリン酸セラミドの量が増加することが分かった。次に、*NNK1* がスフィンゴ脂質合成のどの過程に関与しているかについて調べるため、放射能標識したスフィンゴイド塩基 dihydrosphingolipid (セラミドの前駆体) を用いて解析を行った。その結果、*nnk1* Δ では野生株と比べ、セラミドの量が増加することが分かった。これらのことより、*NNK1* がセラミドの合成を制御していることが示唆された。

A-2 Regulation mechanism of two response regulators that regulate the expression of *hrpB*, a central transcriptional regulator for *hrp* regulon in *Ralstonia solanacearum*
○朱 超, 曳地康史, 木場章範, 大西浩平 (高知大・農林海洋)

[Objective] *Ralstonia solanacearum* uses a type III secretion system (T3SS) for infection and disease development. The genes in the *hrp* regulon encode the constituent proteins of T3SS. A central transcriptional regulator HrpB regulates the entire *hrp* regulon. The expression of *hrpB* is regulated by two homologous response regulators, HrpG and PrhG. The *hrpG* expression is directly regulated by PrhJ and the *prhG* expression is regulated by PrhKLM and PrhN. The objective of this study is to elucidate a detail regulation mechanism of the *hrpG* and *prhG* expression.

[Methods and results] We used a reporter strain RK5050 of a wild-type OE1-1 to monitor the expression of *popA-lacZ* in *hrp*-inducing media with or without tobacco seedlings. The expression of *popA* is regulated by HrpB. The *popA-lacZ* expression level was much higher in the media with seedlings than without seedlings. The deletion mutants of *prhJ*, *prhKLM*, and *prhN* showed the different decrease of the expression levels between with or without seedlings. Either *hrpG* or *prhG* was deleted from RK5050 and *hrpG* or *prhG* with different sizes of promoter regions were put back on the chromosome, respectively, to measure β -galactosidase activity. The *popA-lacZ* expression was dropped at three steps by deleting the promoter region of *hrpG*. By comparison with *prhJ* mutants with the same genetic background, we assumed that two molecules of PrhJ bind to the different sites and an unidentified protein could bind to the proximal region. The *popA-lacZ* expression was dropped at one step by deleting the promoter region of *prhG*. We assumed that PrhN does not bind to the *prhG* promoter.

A－3 Flagellar gene expression in *Ralstonia solanacearum* is differently regulated in vitro and in planta

○高毓蔚, 曳地康史, 木場章範, 大西浩平 (高知大・農林海洋)

Swimming motility is a flagellum-dependent form of movement. Although a plant pathogen *Ralstonia solanacearum* belongs to the beta-proteobacteria, it carries the almost same flagellar gene set as *Escherichia coli* and *Salmonella*, which belong to the gamma-proteobacteria. The flagellar regulon is composed of three classes, class 1, class 2 and class 3. We constructed a promoter fusion to monitor flagellar operon expression. Promoter regions of class 1 *flhD*, class 2 *flgA*, *flgB*, *fliL*, *fliE*, *fliF*, and *flhB*, and class 3 *motA* and *fliC*, were fused to a *lacZ* reporter gene on the chromosome. At the same time, a deletion mutation of transcriptional regulator genes, *flhDC*, *fliA*, and *flgM*, and a flagellar basal body component gene *flhF*, was introduced to the reporter strains. Mutations in the master regulator *flhDC* and *fliA* encoding the sigma factor for class 3 operons reduced the expression of classes 2 and 3 operons and class 3 operons, respectively. Mutation in *flgM* encoding an anti-sigma factor against FliA increased the class 3 operon expression. Mutation in *flhF* decreased class 3 operon expression because the incomplete basal body increased the FlgM concentration. All these results are consistent with a regulation mechanism of a flagellar regulon in *E. coli* and *Salmonella*. On the other hand, the expression of class 3 operon *fliC* was not influenced by mutations in *flhDC*, *fliA*, and *flhF* in planta. It has been known that a two-component system PehSR positively regulates the flagellar regulon via *flhDC* in *R. solanacearum*. While an *R. solanacearum* OE1-1 *pehR* mutant was motile in vitro, it lost motility in plant leaves.

A－4 珪藻種間の遺伝子比較解析およびプロテオーム解析に基づくシリカ細胞壁形成関連タンパク質の同定

○岩城沙弥子, 小布施祈織, 田村 隆, 稲垣賢二, 根本理子
(岡山大院・環境生命)

【目的】珪藻はシリカ(SiO₂)を主成分とし、複雑で種特異的な構造の細胞壁を形成する。微細な多孔構造を持つ珪藻の細胞壁は、ナノテクノロジー分野への応用が期待されている。これまでに報告されている細胞壁形成関連タンパク質は、主に、モデル珪藻 *Thalassiosira pseudonana* から同定されたものであり、細胞壁形成メカニズムはいまだ完全に解明されていない。本研究では、異なる珪藻種間で遺伝子配列の網羅的比較解析を行い、珪藻に普遍的に存在している細胞壁形成関連タンパク質を同定することを目的とした。さらに、*Nitzschia* 属珪藻の細胞壁局在タンパク質のプロテオーム解析を行った。

【方法・結果】*Nitzschia* 属, *Achnanthes* 属, *Pseudoleyanella* 属珪藻の3種についてRNA-シーケンス解析を行い、トランスクリプトームデータを取得した。さらにゲノムが解読された5種の珪藻の遺伝子情報と共に、相同性検索による遺伝子配列の比較を行った。その結果、珪藻のみに保存されており、小胞体輸送シグナル配列をコードする、74個の遺伝子を同定した。この中にはLysのメチル化酵素ドメインであるSETドメインを持つタンパク質をコードする遺伝子が7個含まれていた。また、*Nitzschia* 属珪藻の細胞壁からタンパク質を抽出し、プロテオーム解析を行った。その結果、小胞体輸送シグナル配列を持ち、繰り返し配列を有する新規タンパク質が同定された。同定された新規タンパク質は、遺伝子配列の比較解析で見出された、珪藻のみに保存されている74遺伝子の1つにコードされていた。さらに、細胞壁形成に伴い、遺伝子の発現量が増加したことから、細胞壁形成への関与が示された。

A-5 植物病原菌 *Fusarium oxysporum* におけるオートファジー関連遺伝子 *atg15* の機能解析
○久賀夏子, 河田美幸^{1,2}, 関藤孝之¹, 秋山浩一^{1,2}
(愛媛大・農,¹愛媛大院・農,²愛媛大・学術支援)

【目的】オートファジーは、細胞質内のタンパク質をはじめとする様々な成分を、液胞を介して分解・リサイクルする機構として出芽酵母においてよく研究されている。カビにおいてもオートファジー機構が存在し、いくつかの植物病原性のカビにおいて、出芽酵母オートファジー関連遺伝子のホモログを破壊した株の病原性が低下したことが報告されている。カビにおけるオートファジーの機構および、オートファジーと病原性の関係を明らかにするため、キュウリに立枯れ病を引き起こす植物病原性のカビ *Fusarium oxysporum* における出芽酵母 *ATG15* ホモログ遺伝子の機能解析を行った。出芽酵母 *ATG15* 遺伝子は液胞内でオートファジックボディーの分解に関与してるリパーゼと考えられている。

【方法・結果】*F. oxysporum* の遺伝子破壊はスプリットマーカ法により行った。形質転換は *F. oxysporum* (MAFF#712053) を使って PEG 法により行った。目的の遺伝子が破壊されていることをサザンハイブリダイゼーションにより確認した。野生株と *atg15* 遺伝子破壊株の増殖および病原性を比較した。

寒天培地におけるコロニーの増殖能および気中菌糸の生育能が *atg15* 破壊株において低下した。また、キュウリ幼苗の根に *atg15* 破壊株の胞子を感染させた後、約4週間生育させたキュウリの葉の大きさは、野生株の胞子を感染させたものと比べて大きかった。これらの結果から、*F. oxysporum* の *atg15* 遺伝子は *in vitro* 及び植物内における増殖に重要な役割を持っていることが示唆された。

A-6 嫌気条件下での基質誘導性遺伝子発現解析法を用いた海底下微生物由来機能性遺伝子の探索
○溝渕早紀, 若松泰介, 寺田武志¹, 芦内 誠, 諸野祐樹²
(高知大院・農,¹マリンワークジャパン,²海洋研究開発機構・高知コア)

【目的】地球表面積の七割を占める海底下には 10 の 29 乗細胞もの膨大な数の微生物が存在する。しかし、それら海底下微生物の大半は未培養系統に属し、性状未知である。またそのゲノム情報の解読は困難を極めており、海底下微生物がどのような機能性遺伝子を持ち、海底下で生残しているのかは未だ不明である。そこで本研究では、海底下微生物由来機能性遺伝子の探索のため、現場環境条件から導き出される基質誘導をアクセスの扉とする基質誘導性遺伝子発現解析法 (SIGEX 法) を適用した。

【方法・結果】日本海上越沖、および下北半島沖のそれぞれから海底下 0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm と 0-5 cm, 20-25 cm の堆積物を用いてゲノム DNA を抽出し、*evoglow* をレポーター遺伝子とした総挿入遺伝子断片長 >2 Gbp の SIGEX ライブラリーをそれぞれ作製した。海底下地層環境を代表するメタン、酢酸ナトリウム、D-アミノ酸を基質に用い、好気並びに嫌気条件下で発現誘導を行い、比較を行った所、嫌気条件下においてより多数のクローンで応答が見られた。嫌気条件下で基質誘導を行い、クローンの単離を行ったところ、計 14 の基質応答クローン (メタン:7, 酢酸ナトリウム:5, D-システイン:2) を取得した。次に基質応答クローンの挿入塩基配列を決定し、配列解析を行った。RNAfold や Blastp 検索の結果、推定上リボスイッチ配列、酸化還元酵素遺伝子、トランスポーター遺伝子、HdrA 遺伝子、機能未知蛋白質遺伝子などと相同性を示す配列であることが明らかとなった。本発表では基質誘導、および得られた配列の詳細について発表する。

A－7 ウラギンシジミ幼虫の体色を決める環境要因とその調節
○大野瑠璃, 前田瑞生¹, 北沢千里², 小島 渉¹, 山中 明¹
(山口大・理, ¹山口大院・創科, ²山口大・教育)

【目的】ある種のチョウは、幼虫期にその体色を周囲の環境に合わせて変化させる。シジミチョウ科のウラギンシジミの幼虫体色は緑色や赤紫色を呈するが、その発現調整のしくみは不明である。本研究では、本種の幼虫の体色変化を引き起こす環境要因を検討するとともに、緑色型および赤紫色型幼虫の色素沈着の差異を解剖学的に比較した。

【方法・結果】孵化した幼虫は、長日 18℃、25℃および短日 18℃条件下で飼育し、エサとしてフジの葉のみを与えた個体群と、フジ、クズあるいはハギの花のみを与えた個体群を用意し、各齢期の幼虫体色と日長・温度条件およびエサとの関係を調査した。その結果、葉を与えた個体群において、長日 25℃条件下の幼虫の 60%以上が緑色型となったのに対し、長日および短日 18℃条件下の幼虫は、いずれも 80%以上が赤紫色型となった。一方、花を与えた個体群において、日長・温度に関わらずほぼ全ての幼虫が赤紫色型となった。つまり、幼虫の体色は日長の影響を受けず、温度および可食部位の影響を受けることが示唆された。次に、長日 25℃条件下で葉を与えた個体群で生じた緑色型と赤紫色型幼虫の内部組織を比較したところ、真皮組織における色素沈着の違いが各体色型を決定していることが判明した。以上のことから、幼虫期に経験する低温刺激が摂食した可食部に含まれる赤色色素の量依存的に赤色色素の真皮組織への沈着を促進している可能性ならびに摂食により取り込まれた赤色色素がある閾値を超える温度によらず真皮組織へ赤色色素を沈着させる機構が存在する可能性が示唆された。

A－8 ムラサキシジミ幼虫の赤色化に関する知見
○前田瑞生, 山本 響, 北沢千里¹, 小島 渉, 山中 明
(山口大院・創科, ¹山口大・教育)

【目的】シジミチョウ科のムラサキシジミ幼虫の体色は緑色型と赤色型の 2 型が存在する。幼虫期に経験する温度が、本種の体色発現調節に関与する主たる環境要因と考えられるが、その詳細は不明である。本研究では、幼虫の温度感受期の特定ならびに体色の赤色化をもたらす色素に関する検討を行った。

【方法・結果】前蛹に達するまでの幼虫期間において日長・温度条件を変化させて本種を飼育し、幼虫体色の赤色化をもたらす環境要因の再検討を行った。高温を経験した個体は緑色型の割合が多くなり、低温を経験した個体は 5 齢期で赤色型の割合が多くなることが再確認された。次に、卵および幼虫期の温度入れ替え実験により温度感受期の特定を試みた。その結果、卵期の温度は幼虫の体色に影響を及ぼさなかった。一方、3 齢最終日から 4 齢 0 日目までの 24 時間だけ高温を経験した個体は、4 齢期において緑色型ではなく赤色型幼虫になる割合が増加した。従って、本種の幼虫の赤色型は幼虫期に経験する低温刺激により誘導され、特に 3 齢眠から 4 齢脱皮の間に経験した温度刺激が赤色化を誘導することから、この期間が温度感受期であることが示唆された。一方、本種の幼虫はアラカシの葉を食べることから、幼虫および葉に含まれる赤色色素との関係を調べるため、色素を抽出し比較した。その結果、TLC により葉のアントシアニンと幼虫の赤色色素の移動度がほぼ等しかったことから、幼虫の赤色色素は食草由来の可能性が示唆された。

A-9 ハチミツ及び糖類の培養細胞に対する影響
○河野浩也, 田中健太, 山田芽吹, 山本和彦 (近畿大院・システム工)

【目的】 近年, 先進国では糖尿病や高血圧などを原因とするメタボリックシンドロームが重大な問題となっており, その予防のためにも食生活の見直しが重要であると考えられている。糖尿病患者はスクロース(Suc)やフルクトース(Fru)を含め, 糖質の制限が求められているが, ハチミツは 80%と高い糖含量に係わらず, 同量の糖摂取と比較し悪影響が出ないと言われている。花蜜には主として Suc が含まれているが, ハチミツには Suc は少なく, 分解され Fru とグルコース(Glc)が多く含まれる。Fru を多く含む市販清涼飲料水は心筋梗塞の発症を有意に高めることが知られており, その要因は甘味料として用いられる Fru に拠ると言われている。一方, 同じ Fru を多く含むハチミツには, その様な悪影響は少ないとなど矛盾する内容が報告されている。この様にハチミツは古来より医薬品・健康食品として利用されているが生理的な役割など不明な点が多い。本研究では細胞内の代謝やその制御機構を調べることで, これらの矛盾点を明らかにすることを目的とする。【方法・結果】 ヒト肝癌由来細胞株 (HepG2) 細胞, チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株 (CHO) 細胞などを用い, ハチミツや各種糖の濃度を変え影響を調べている。糖の取り込みに働くグルコーストランスポーター (GLUT)や糖代謝に係わる遺伝子群, 糖代謝関連遺伝子の転写に働く低酸素誘導因子(HIF-1 α)などの遺伝子の発現を RT-PCR 法で比較検討した。GLUT5 は Fru の輸送体として知られているが, ハチミツ存在下では HepG2 のみ発現が確認でき, 組織による Fru の利用のされ方が異なることが示唆された。

A-10 ハチミツの化学的・生物学的分析
○田中健太, 河野浩也, 山田芽吹, 山本和彦 (近畿大院・システム工)

【目的】 ハチミツは医薬品の規格基準書である「日本薬局方」にも, 一般医薬品として外用用薬・滋養強壮保健薬として登録されている。一般に, ミツバチは巣箱の 3 km 圏内の蜜源植物の蜜を集めるとされる。蜜源によりその色, 香りや風味が異なり, その中でもレンゲ, ニセアカシア, ミカンなど様々な蜜源植物由来の商品が消費者に好まれている。ハチミツの薬効成分は蜜源植物に大きく依存している。また, ハチミツの風味も, 蜜源植物の香気成分によるところが大きく, 嗜好性につながる重要なパラメーターである。現在, ハチミツの蜜源推定法として, ハチミツと同様にミツバチにより集められる花粉団子に含まれる花粉の形態から予想されているが, あまり行われていない。花粉の DNA 解析などから蜜源植物を推定する方法も研究されているが, 実用化には至っていない。そこで, ハチミツに含まれる香気成分を分析することによる蜜源植物同定法の確立を目的とする。同時に, ハチミツの成分分析, さらに蜜源植物由来の生理機能に対する有効成分や有用微生物・酵素の探索・同定を行う事を目的とする。

【方法・結果】 入手した様々なハチミツと有機溶媒を混合し, 固相マイクロ抽出法 (SPME:solid-phase microextraction) – GCMS を用いて, 主に精油成分および香気成分を対象に解析を行った。またハチミツ等から有用微生物の単離を試みた。単離した菌の 16S rDNA を PCR により増幅した。PCR 産物のグルコシダーゼやペルオキシダーゼなどの酵素活性は, それぞれの酵素に対する特異基質や酵素阻害剤を用い種類別, 濃度別, 時間別に測定した。

B-1 モデル生物を用いた長寿に関わる代謝産物の探索
○青原 幸, 馬場真衣子, 久米一規, 水沼正樹 (広島大院・統合生命)

【目的】 これまでに我々は、酵母を使った研究から、メチオニン代謝産物そのものが寿命延長することを発見したことから、代謝産物による寿命制御に着目して研究を行っている。そこで本研究では、代謝産物による寿命延長メカニズム解明を行うために、1次スクリーニングでは、線虫の長寿マーカー遺伝子の発現の活性化を指標に代謝産物の探索を実施した。さらに、2次スクリーニングでは、それらが実際に線虫の寿命を延長させる代謝産物かどうか、評価することにした。

【方法・結果】 まず代謝産物スクリーニングを行うため、*DAF16-A::GFP* あるいは *gst-4::GFP* の L4 幼虫をプレートにそれぞれ移動させ、翌日、卵を生んだことを確認し、親は取り除いた (20°C)。翌日 1 mM, 10 mM に調整した代謝産物を 100 μ l ずつ撒いたプレートにそれぞれ 15 匹ずつ乗せた。翌日, young adult となった線虫に FUdR (産卵抑制剤) を 20 μ l ずつスポットし、3 日間蛍光の比較観察を行った。その結果、共に活性が増加した代謝産物は 15 種、*DAF16-A::GFP* のみに活性が増加した代謝産物は 27 種、*gst-4::GFP* のみに活性が増加した代謝産物は 20 種であった。次に、スクリーニングにより活性が増加した代謝産物について、実際に野生株 N2 を用いて寿命測定を行った。その結果、寿命延長した代謝産物も実際に存在した。

B-2 代謝産物による酵母と線虫の寿命延長機構の解析
○馬場真衣子, 久米一規, 水沼正樹 (広島大院・統合生命)

老化・寿命制御機構の解析は、生物学的老化の理解だけでなく、ヒトの健康維持・寿命延長の実現のために重要なテーマである。

メチオニン代謝経路において、S-アデノシルメチオニン(SAM)は、メチル基供与体としてタンパク質、核酸、リン脂質などさまざまな生体物質のメチル化反応に利用される。SAM はメチル基を供与後、S-アデノシルホモシステイン(SAH)となる。SAH は SAM の構造アナログでありメチル化反応を競合阻害するため、SAH 水分解酵素 *SAHI* によって速やかに分解される。これまでに出芽酵母を用いた実験から、*SAHI* 遺伝子に変異を有する *sahl* 変異株が、顕著な増殖遅延と短命を示すことを見出した。そこで、*sahl* 変異株の増殖遅延の抑圧を指標にスクリーニングを行い、その抑圧変異株 *SSGI*(Spontaneous Suppressor of Growth-delay in *sahl*)を取得した。*sahl* 変異株の増殖遅延は *SSGI* 変異により抑圧され、期待通り経時的寿命 (定常期以降、分裂を停止した酵母が限られた栄養下で生存できる期間) が延長した。また、SAM 合成が *Snf1* (酵母における長寿遺伝子 AMPK) の活性を促進し、寿命を延長することを発見し、さらにメチオニン代謝産物そのものが寿命延長することも見出した。そこで、これらの結果が多細胞生物でも同じことが観察されるかどうか線虫を用いて検証中である。

B-3 農医薬スクリーニング用途を指向した細胞凝集塊の凍結保存の可能性検討
○草加直幸, 信政郁弥¹, 滝澤 昇¹, 岩井良輔²
(岡山理大院・工, ¹岡山理大・工, ²岡山理大・フロンティア)

【背景と目的】培養細胞を用いた農医薬スクリーニング試験の高感度・効率化のために、ミニ臓器とも呼ばれる生体組織に近似した高い機能性を有する多細胞からなる 3 次元細胞凝集塊の利用が有効と考えられているが、その実用化には、(1) 細胞凝集塊を均一かつ大量に作製し (2) 高い生存率で長期保存可能な凍結法の開発が求められている。我々は、細胞の自己凝集化誘導技術 (Cell self-Aggregation inducible Technology: CAT) を開発した。CAT 用のポリマーの塗布表面に細胞懸濁液をドット滴下すると、液滴内の細胞は接着して細胞単層を形成した後、一晚足らずの培養の間に一体凝集化を生じて液滴の径にて制御された均一な細胞凝集塊をドット滴数分だけ得ることができる。本研究では、CAT を用いた量産性に優れる細胞凝集塊の作製法において培養皿ベースでの凍結保存が可能であるかを検討することとした。

【方法と結果】CAT 用のポリマーを全面に塗布した培養皿の表面に、5 μ L のヒト骨髄由来間葉系幹細胞の懸濁液 (5.0×10^6 cells/mL) を滴下し 4 時間培養することで、液滴内の細胞は培養表面に沈降、接着して隙間のない円形の細胞単層を形成した。ここで、市販の細胞凍結保護剤を細胞単層が浸る程度の量に加え -20℃ で 1 時間、-80℃ で 24 時間凍結した後、培養液を加えて解凍し 24 時間培養すると、細胞単層は外周から自発的に剥離すると同時に凝集化を生じて単一の球形細胞凝集塊が形成した。LIVE/DEAD 分析にて凝集塊中の細胞は 95% 以上生存していることが分かった。即ち、細胞接着段階で培養皿ごと凍結処理することにより、解凍するだけの ready to use で生きた細胞凝集塊を量産できる可能性が示唆された。

B-4 スダチ果皮エキスの真皮線維芽細胞賦活効果の検討
○森川瑠美¹, 安部庄剛¹, 西谷真美¹, 下田毬絵², 金岡大樹², 湯浅恵造^{1,3}
(¹徳島大院・先端技術, ²松山油脂・研究開発, ³徳島大・生物資源)

【目的】皮膚に紫外線などの酸化ストレスが加わると細胞内では活性酸素種 (ROS) が産生・蓄積され、MAPK ファミリーなどの経路を介してマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の発現が誘導される。MMP によって皮膚真皮構造を支えているコラーゲンなどが分解され、これが肌のしわやたるみ (皮膚老化) の原因の一つになっている。近年、植物に含まれるポリフェノール類が皮膚老化抑制効果を示すことが報告されている。徳島県原産のスダチの果皮にもヘスペリジンなどのポリフェノール類が多く含まれており、本研究では、スダチ果皮エキスによる真皮線維芽細胞賦活効果の検討を行った。

【方法・結果】酸化ストレスとして過酸化水素 (H_2O_2) を用い、ヒト真皮線維芽細胞における ROS 産生量を調べた。 H_2O_2 刺激により ROS 産生量は増加したが、スダチ果皮エキスの前処理によって、その産生は抑制された。次に、MMP の 1 つである MMP-1 の発現に及ぼす影響を調べた結果、 H_2O_2 によって誘導された MMP-1 の発現量がスダチ果皮エキスによりコントロールレベル近くまで減少することが明らかとなった。そこで、続いて MAPK 経路に対してスダチ果皮エキ스가どのように作用するのか検討した。 H_2O_2 により ERK, p38 および JNK のいずれも活性化されたが、p38 のみがスダチ果皮エキスによって有意に抑制され、スダチ果皮エキスは p38 経路に作用することが示唆された。以上の結果より、スダチ果皮エキスは ROS 産生および MMP-1 発現の抑制を介して皮膚老化抑制効果を発揮する可能性が示唆された。

B－5 河内晩柑果皮食物繊維の摂取はラットのインスリン感受性を高め、脂肪酸合成系因子の遺伝子発現を減少させる
○池田直人, 山崎翔悟¹, 福田直大², 永田洋子², 秀野晃大¹, 藤谷美菜¹, 岸田太郎¹ (愛媛大・農,¹愛媛大院・農,²愛媛県・産技研)

河内晩柑搾汁残渣（果皮）には食物繊維が豊富に含まれており、健康志向の食品としての利用が期待されている。我々は先の研究で脂質代謝改善作用について検討し、河内晩柑果皮およびそのエタノール・トルエン不溶性画分の摂取がラットの肝臓中性脂肪量を減少させることを見出した。本研究では作用機構を推測するため、5週齢の雄性SD系ラットに無繊維高スクロース飼料または、これに河内晩柑果皮3%を添加した飼料を14日間自由摂取させ、肝臓脂質代謝関連因子の遺伝子発現および血中インスリン濃度を測定した。河内晩柑果皮摂取により肝臓中性脂肪量が有意に減少した。この際、肝臓脂肪酸合成系酵素とそれらの転写制御因子SREBP1c遺伝子発現の減少がみられ、河内晩柑果皮摂取により脂肪酸合成が低下し、肝臓中性脂肪蓄積が抑制されることが示唆された。さらに、果皮摂取により血中インスリン濃度および血糖値の有意な低下、肝臓インスリン受容体基質2(IRS-2)遺伝子発現の増加傾向がみられた。先行研究で血中インスリン濃度の高い状態が続くと、肝臓でIRS-2の転写が抑制されることによりインスリンの糖新生抑制作用は減弱されるが、SREBP1cの転写促進を介した脂肪酸合成促進作用は減弱されないことが報告されている。河内晩柑果皮摂取は高スクロース飼料の摂取による血中インスリン濃度の上昇を抑制することで、肝臓でのIRS-2の転写抑制、SREBP1c転写促進とそれに伴う脂肪酸合成を抑制し、肝臓中性脂肪量を減少させると推測させる。

B－6 銀鮭の閉鎖循環式陸上養殖に利用できる硝化細菌叢の構築
○長村治紀, 美藤友博¹, 清水克彦², 有馬二郎¹
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・農,²鳥取大・地域価値創造)

【目的】近年の養殖業において、生産性が高く場所を選ばない等の理由から閉鎖循環式陸上養殖に注目が集まっている。魚の生育には水温や水質維持が重要であり、閉鎖循環式での養殖における水質維持には特に硝化細菌群の働きが必須とされる。しかし、鮭などの冷水性魚類は生育に低温条件(13～18℃)が必要であり、低水温では微生物による硝化能は低いことが問題として挙げられる。これまでの研究により、低温でのアンモニア酸化細菌群の構築・維持と菌叢解析が行われた。本研究では、低温下で働く亜硝酸除去細菌叢の構築と、それらの菌叢を利用した低温でのアンモニア除去を試みた。

【方法と結果】鮭の養殖場の微生物槽から微生物固着用プラスチック材を採取し、亜硝酸酸化に特化した培地(NaNO_2 2 mM)を使用して15℃・好気条件で集積培養した結果、3日で亜硝酸を完全に除去できる細菌群が構築された。菌叢解析の結果、亜硝酸酸化細菌であるNitrosprales目に属する細菌と窒素循環に関わる細菌が存在することが判明した。続いてアンモニア酸化細菌群と亜硝酸酸化細菌群を混合して集積培養を開始した。淡水養殖の微生物槽を想定し、カラムに多孔質シリカ担体と牡蠣殻を詰め、種菌として両細菌群が付着したプラスチック材を添加し、無機栄養培地を15℃で循環させた。これを数サイクル繰り返したところ、1サイクル目ではアンモニアの除去に約40日要したが、数サイクル繰り返すうちに約2日で硝化が完了するようになり、硝化細菌叢が熟成されたと考えられた。現在は、カラム内の担体上で培養に伴い形成された付着物の細菌叢解析を行っている。

B－7 窒素固定菌による初期酸素濃度が検出されるヒドリドイオン水から水素生成
○二矢川遼，大上大稀，及川栄作¹（呉高専・本科，¹呉高専・環境都市工）

【目的】窒素固定菌のニトロゲナーゼ酵素は酸素に弱く，酸素濃度が認められる条件では，不活化することが知られている。また，ニトロゲナーゼは大気中の窒素 N_2 と水素陽イオン H^+ からアンモニア NH_3 を生成すると同時に，水素 H_2 を生成することができる。窒素 N_2 がない条件では，水素 H_2 のみを生成する。このため，燃料電池への応用が期待されている。当研究室では，これまで金属水素化物 CaH_2 や TiH_2 を溶かして作製した，水素陰イオン（ヒドリド H^- ）水へ，予め培養した窒素固定菌を集菌した上で，菌体溶液を透析膜に入れたままで投入した場合に，溶存水素 DH が生成されることを報告している。この度は， H^- イオン水から窒素固定菌の水素生成に関わる溶存酸素濃度 DO ，酸化還元電位 ORP ， pH の測定結果を報告する。【方法】使用した菌株は，蔵王山の湧き水から分離した窒素固定菌株および H^- イオン水生成菌株と，対照として *B. japonicum* NBRC -14792 株，*M. loti* NBRC-14779 株を用いた。 H^- イオン水は， CaH_2 を用いる方法，珊瑚焼成水素吸蔵セラミックボール(TAANE)を用いる方法，および H^- イオン水生成菌を用いる方法により，それぞれ 500 mL 容ビーカーで 400 mL 作製した。これらの各 H^- イオン水へ，スキムミルクで懸濁した窒素固定菌溶液を透析膜へ入れたまま投入した。このビーカーを 30℃のウォーターバスに静置し，その後，1 時間おきに 2 日～4 日間溶存 DH ， DO ， ORP ， pH を測定した。【結果】窒素固定菌によるアルカリ性の H^- イオン水からの水素生成は，初期に酸素濃度が検出されても，自らが酸度濃度を水に変えて無くすと考えられ， pH を 6 程度まで下げ， ORP を -500 mV 程度以下へ下げた後に生成されることが示された。

B－8 Comparison of salinity tolerance and antioxidant activities of a rice mutant and its parents
○Can Thu Huong, Tran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

Objectives

This study was implemented to examine salinity tolerance and antioxidant properties of mutated progeny KD18/TBR1 and its parents, KD18 and TBR1 varieties.

Methods and Results

Salinity tolerance of rice samples was evaluated by salt injury score (SIS) and survivability after three weeks of NaCl treatments at the seedling stage. Genotypes were identified by simple sequence repeat (SSR) markers linked to *Saltol* quantitative traits locus (QTL). Additionally, antioxidant capacities of rice under salty conditions were determined by DPPH and ABTS assays. The results showed that at the salt concentration of 12 dS.m⁻¹, the SIS of the mutant line KD18/TBR1 (5.83) was lower than that of its father (KD18, 7.17) but closer to that of the mother (TBR1, 5.17). The survivability of KD18/TBR1 (66.67%) was estimated as twice as that of KD18 (33.33%). Besides, by polymerase chain reaction (PCR), the mutant line was identified to possess female parent alleles without any male parent allele. Significantly, antioxidant activities of mutated rice were found to roughly reach the level of mother in both DPPH and ABTS measurements. The outcomes revealed that the mutant line KD18/TBR1 might possess a similar chemical response pathway to salinity stress as its mother (TBR1). However, the physiological correlation between *Saltol* QTL and antioxidant activity should be further formulated in the future.

- B — 9 Effects of drought stress on phytochemical properties and momilactones A and B of rice
OMohammad Ismael Haqani, Tran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

Objectives

This study was carried out to determine the influence of drought on phytochemical properties, momilactone contents, and antioxidant activities in rice (*Oryza sativa* L.).

Methods and Results

Six rice cultivars (K1-K6) were treated for drought tolerance, of which, drought periods of 3, 5 and 7 days were applied and 2 days of watering at each treatment interval. Total phenolic contents (TPC), total flavonoid contents (TFC) and antioxidant activities were determined in vitro. The ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (UPLC-ESI-MS) was used to identify momilactones A (MA) and B (MB). The results revealed that K4 was the most tolerant while K6 was the most susceptible to drought stress. At the 7 days treatment, both K4 and K6 showed the higher TPC, whereas TFC of K4 and K6 were lower than that of 3 days and 5 days treatments. Additionally, K4 displayed the strongest antioxidant activities with IC₅₀ values of 8.83, 11.61 and 11.68 mg/mL for DPPH, ABTS and reducing power assays, respectively. The MA and MB contents of K4 significantly increased when plants faced to water deficit at the 7 days treatment compared to those at other treatments. This study signifies that the accumulation of phenolics, momilactones (MA and MB) and antioxidants may play an important role in drought tolerance of rice via the chemical pathway.

C-1 *N*-ミリスチル化タンパク質結合因子 UNC119A と FMNL2 との相互作用の解析
○岩本奈津子, 細川拓郎, 守屋康子, 内海俊彦 (山口大院・創科)

【目的】*N*-ミリスチル化タンパク質結合因子 UNC119 は, *N*-ミリスチル化タンパク質のミリスチル基と結合し, それらの細胞内局在に影響することが報告されている。しかし, UNC119 とミリスチル基を介して相互作用するタンパク質がどれだけ存在するかは不明である。本研究では, UNC119 と相互作用する *N*-ミリスチル化タンパク質の同定法の確立を目的とし, UNC119A との相互作用が報告されている Src, FMNL3 と, 相互作用について未解析である FMNL2 の UNC119A との相互作用について検討した。

【方法・結果】 Src, FMNL2, FMNL3 及びそれらの *N*-ミリスチル化を阻害した G2A 変異体の C 末端に GFP を, UNC119A の C 末端に Flag-tag を付加した融合タンパク質 cDNA を作成し, これらを COS-1 細胞に遺伝子導入し共発現させ, GFP 蛍光観察と免疫染色により Src, FMNL2 及び FMNL3 の細胞内局在に対する UNC119A の影響を検討した。その結果, 原形質膜に局在する Src は既報通り UNC119A との共発現により細胞質へ移行すること, 原形質膜に局在し細胞形態変化を誘導する FMNL2 及び FMNL3 は, いずれも UNC119A との共発現により G2A 変異体と同様, 細胞質に局在し細胞形態変化は誘導しなかった。これらの結果から FMNL2 は Src, FMNL3 と同様, UNC119A と相互作用することが明らかになった。以上, 本研究で用いた手法により, UNC119 と相互作用する *N*-ミリスチル化タンパク質の同定が可能であることが示された。

C-2 *N*-ミリスチル化された SCF ユビキチンリガーゼ調節因子 DCUN1D3 に生じるカスパーゼ切断の解析
○西上美里, 大塚 葵, 守屋康子, 内海俊彦 (山口大院・創科)

【目的】タンパク質分解の制御不全が癌に関与することから, E3 ユビキリンリガーゼである SCF 複合体を治療標的とした研究が進行している。我々はこれまでに, ヒト *N*-ミリスチル化タンパク質の網羅的探索の結果, *N*-ミリスチル化されたユビキチン化関連タンパク質が多数存在することを見出した。

本研究では, SCF 複合体形成に関与する *N*-ミリスチル化タンパク質 DCUN1D3 に注目し, その機能制御機構の解析を目的として DCUN1D3 の *N*-ミリスチル化及び細胞内挙動について検討を行った。

【研究方法・結果】C 末端に Flag-tag を付加した DCUN1D3, 及び各種変異体を COS-1 細胞に遺伝子導入した。アルキルミリスチン酸を取り込ませ, クリック反応により *N*-ミリスチル化を, ウェスタンブロットによりタンパク質発現を検討した。細胞内局在は抗 Flag 抗体を用いた免疫染色により検討した。

その結果, DCUN1D3 は *N*-ミリスチル化され原形質膜に局在し, G2A 変異体は主に核に局在した。また, この核への局在に 280-283 位の配列が核移行シグナルとして働くことが示された。N 末端に生じる *N*-ミリスチル化の検出, 及び C 末端 Flag-tag の検出から, DCUN1D3 が一カ所で特異的に切断されること, 更にその切断部位の解析から, この切断は, カスパーゼ認識配列に依存し 160 位の Asp の C 末端側で特異的に生じることが示された。実際, アポトーシス誘導剤である thapsigargin により切断が生じ, カスパーゼ阻害剤である Z-VAD で切断が阻害されることが示された。以上, DCUN1D3 の機能発現に *N*-ミリスチル化, 及びアポトーシス過程におけるカスパーゼ切断が関与することが示唆された。

C-3 核タンパク質ラミン A/C アイソフォームに生ずる N-ミリスチル化の解析 ○七田真由, 岩田春菜, 守屋康子, 内海俊彦 (山口大院・創科)

【目的】 最近我々は、核タンパク質 Lamin A の isoform であるヒト Lamin A isoform 4 が N-ミリスチル化されていることを見出した。マウス Lamin A には N-ミリスチル化された isoform である Lamin A isoform C2 が存在する。本研究では、ヒト Lamin A isoform 4 に生ずる N-ミリスチル化と、その細胞内での挙動について検討し、マウス Lamin A isoform C2 や、Lamin A 変異体である Progerin と比較した。

【方法・結果】 Lamin A isoform A および Progerin には N 末端に、その他の Lamin A isoform には C 末端に Flag-tag を付加した cDNA を作成した。また、Lamin A isoform 4, マウス Lamin A isoform C2 については、N-ミリスチル化を阻害した G2A 変異体を作成した。これらの cDNA を COS-1 細胞へ遺伝子導入し、Click chemistry を用いて N-ミリスチル化及びファルネシル化を、免疫染色により細胞内局在および核の形態変化を検討した。その結果、Lamin A isoform 4 はファルネシル化されず、N-ミリスチル化され、この N-ミリスチル化に依存して、Progerin の発現で見られるような核の著しい形態変化を誘導した。この核の形態変化はマウス Lamin A isoform C2 では生じなかった。これらの結果から、Lamin A isoform 4 に生ずる N-ミリスチル化は、マウス Lamin A isoform C2 とは異なり、Progerin で生ずるような核の形態変化の誘導に重要な役割を果たしていることが示された。

C-4 新規アコニターゼ X の X 線結晶構造解析と分子進化的考察 ○村瀬陽介, 渡邊康紀, 渡辺誠也¹ (愛媛大院・農, ¹愛媛大・沿岸環境科研セ)

【背景・目的】 アコニターゼスーパーファミリーに属するアコニターゼ X (AcnX) はアミノ酸配列の相同性から、さらに Type I, II_a, II_b, II_c の 4 つのサブファミリーに分けられる。これまで AcnX の機能は不明であったが、最近 Type I および II_a は *cis*-3-ヒドロキシ-L-プロリン (C3LHyp) 脱水酵素, Type II_b は 5-ホスホメバロン酸 (MVA5P) 脱水酵素であることが明らかとなった (Watanabe et al., Sci. Rep. 2016, 6, 38720; Hayakawa et al., PNAS 2018, 115, 10034-10039)。そこで、本研究では AcnX の基質認識機構および反応触媒機構を解明することを目的として、Type I および Type II_b の X 線結晶構造解析を行った。

【方法・結果】大腸菌の系を用いて調製した *Agrobacterium tumefaciens* 由来 Type I (AtAcnX), *Thermococcus kodakaraensis* 由来 Type II_b (TkAcnX) についてそれぞれ結晶化に成功し、構造を決定した。TkAcnX の活性中心には [3Fe-4S] クラスターが配位していたのに対し、AtAcnX には予想外にも同タンパク質ファミリーには見られない [2Fe-2S] クラスターが配位していた。より詳細な反応触媒機構を明らかにするために、AtAcnX-C3LHyp 複合体および TkAcnX-MVA5P 複合体の共結晶を作製し、構造を決定した。C3LHyp および MVA5P の脱離する水酸基は AcnX の鉄硫黄クラスターの鉄原子に配位していた。両基質に共通するカルボキシ基と水酸基の認識に関与する残基、 α -プロトン引き抜きを担うセリン残基はよく保存されているのに対し、C3LHyp 特異的な窒素原子や、MVA5P 特異的なリン酸基の認識に関与する残基は保存されていなかった。アコニターゼスーパーファミリーの新たな分子進化シナリオについても考察する。

C-5 酵母の L-ラムノース代謝経路に関与する L-2-keto-3-deoxyrhamnonate aldolase の基質特異性と立体選択性の構造基盤の解明
○福原将太, 渡邊康紀¹, 渡辺誠也^{1,2}
(愛媛大・農,¹愛媛大院・農,²愛媛大・沿岸環境科研セ)

【背景・目的】L-ラムノースは、自然界では植物ペクチンの主要構成成分の 1 つであり、 α -ラムノシダーゼにより分解された後で微生物によりエネルギー源となる。*Scheffersomyces stipitis* (ピキア酵母) は、よく知られた細菌の経路とは異なる非リン酸化中間体を介して代謝する。L-2-keto-3-deoxyrhamnonate (L-KDR) aldolase は、L-KDR を L-ラクトアルデヒドとピルビン酸に分解するこの経路の最終段階 (4 番目) の反応を触媒する。本酵素はクラス I アルドラーゼであり、逆反応のアルドール縮合においてリシン残基 (Lys171) がピルビン酸と Schiff 塩基を形成する。これにより生じるメチレン基が、アルデヒドのカルボニル炭素の *Si* 面と *Re* 面のどちらから攻撃するかによって、2 種類の C4 エナンチオマーが生成する。野生型では *Si* 面選択性がきわめて高いが、Ser171 をスレオニンに置換した変異体では完全に *Re* 面選択性に変換することが分かっている。そこで、こうした性質を立体構造レベルで明らかにすることを研究の目的とした。

【方法・結果】本酵素は酵母由来の遺伝子だが大腸菌を宿主として十分発現し、N 末端付与したヒスチジンタグによるニッケル親和性クロマトグラフィーとゲル濾過で精製した。シッティングドロップ法で良質な結晶を得、SPRING-8 で X 線回折データを収集し分子置換法により最終的に 1.9Å 分解能で野生型酵素のアポ構造を、さらに共結晶化により野生型酵素とピルビン酸との複合体構造と、S171T 変異体のアポ構造も決定できた。これらの構造に基づいた立体特異性の現時点での解釈について発表する。

C-6 L-アラビノース 1-脱水素酵素の基質特異性の構造基盤の解析
○吉原健太郎, 渡邊康紀¹, 渡辺誠也^{1,2}
(愛媛大・農,¹愛媛大院・農,²愛媛大・沿岸環境科研セ)

【背景・目的】窒素固定細菌 *Azospirillum brasilense* 由来の L-アラビノース 1-脱水素酵素 (AbAraA) が属するタンパク質ファミリーには単糖を基質する脱水素酵素がいくつか含まれているが、それぞれの特異性は大きく異なっている。例えば AbAraA は L-アラビノースと 4 位のエピマーの関係にある D-キシロースに対しては約 790 倍も低い k_{cat}/K_m 値を示す。最近我々が決定した AbAraA のアポ構造と基質のドッキングモデルでは Asn173 が基質の C4-OH に最も近いが、上記の他のメンバーはこの位置に Tyr や His を持っている。そこで、この残基の基質特異性への関与の有無について検証することにした。

【方法・結果】8 種類の Asn173 部位特異的変異体を、野生型と同様に大腸菌の系で発現させて精製した。N173A・N173G・N173Q・N173S・N173V の L-アラビノースに対する比活性は野生型のそれぞれ 30%・50%・41%・30%・128%と十分残っていた。これらの変異体では L-アラビノースと D-ガラクトース間の活性の逆転が起きていたが、D-キシロースに対する高活性は観察されなかった。N173Y・N173H・N173D 変異体では L-アラビノースに対する活性が消失した。次に、野生型及び活性があった変異体における L-アラビノース、D-ガラクトース、D-フコースに対するカインティックパラメーターを測定した。野生型と比較すると、いずれの変異体においても L-アラビノースに対する K_m 値は大きく上昇し k_{cat} 値も大幅に減少したことから、Asn173 は基質結合と反応速度の両方に寄与することが分かった。一方、変異体間で見ると 3 種類の基質に対する選択性が変化していた。これらの原因を立体構造の観点から議論したい。

C-7 *Burkholderia* sp. HME13 のエルゴチオネイン代謝経路の解明：3-（5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-4-イル）プロピオン酸代謝酵素遺伝子の同定
○間口洸樹，村松久司，原田泰輔，長峰海斗，柏木丈弘，加藤伸一郎，永田信治
（高知大・農）

【目的】エルゴチオネイン（ERT）はヒスチジンベタイン構造を持ち，高い抗酸化能を有する含硫アミノ酸類縁体である。これまでに ERT を窒素源とする培地で，*Burkholderia* sp. HME13 によって誘導生成されるエルゴチオナーゼが ERT をチオウロカニン酸に変換し，さらにチオウロカニン酸をチオウロカニン酸ヒドラターゼが 3-（5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-4-イル）プロピオン酸に変換することを明らかにした。本研究では，*Burkholderia* sp. HME13 の ERT 代謝経路に関わる新たな酵素遺伝子の探索を試みた。

【方法】チオウロカニン酸ヒドラターゼ遺伝子上流にある機能未知遺伝子を，pET21a の *Nde* I-*Hind*Ⅲ部位に連結して *Escherichia coli* BL21(DE3) pLysS を形質転換した。アンピシリンとクロラムフェニコールを添加した LB 培地で 37℃，16 時間振とう培養後，1 mM IPTG を加えてさらに 3 時間培養した。培養菌体の超音波破碎後の粗酵素液から Ni-NTA アフィニティーカラムとトヨパール DEAE-650M カラムで酵素を精製した。また，3-（5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-4-イル）プロピオン酸と反応後の生成物を LC-MS 分析した。

【結果】精製酵素が 3-（5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-4-イル）プロピオン酸に作用して得られた生成物の分子量を LC-MS 分析した結果，171.9 であることを確認した。*Burkholderia* sp. HME13 を LB 培地と ERT 培地で培養して，機能未知遺伝子の発現量を比較したところ，ERT による発現量の増大が認められた。本酵素遺伝子は ERT 代謝に関与し，それにコードされた酵素は機能未知タンパク質ファミリーである DUF917 に属し，その機能解析が DUF917 ファミリーの機能を明らかにすると思われる。

C-8 食品に含まれるイミダゾールジペプチドの酵素定量法の開発：*Pseudomonas* 属細菌の BapA タンパク質とヒスチジアンモニアリアーゼの機能解析
○原田泰輔，村松久司，杉原大輝，橋本佳怜，小杉香南子，島村智子，永田信治
（高知大・農）

【目的】食肉や魚肉に含まれるイミダゾールジペプチドは，疲労軽減効果などの機能性を持つ食品成分として注目されている。イミダゾールジペプチドの酵素定量法の開発を目的として，本研究では *Pseudomonas putida* NBRC100650 由来の BapA タンパク質とヒスチジアンモニアリアーゼ（HAL）の酵素科学的諸性質を明らかにし，両酵素を用いたアンセリンやカルノシンの簡易定量法を検討した。

【方法】*bapA* 遺伝子と *hal* 遺伝子を pET21a の *Nde* I-*Hind*Ⅲ部位に連結し，Rosetta-gamiB(DE3)を形質転換した。培養菌体の超音波破碎後の粗酵素液から Ni-NTA アフィニティーカラムで酵素を精製した。BapA 活性は 5 mM D-Ala-pNA，0.1 M Tris-HCl 緩衝液（pH 8.0）の反応液の ABS₄₀₅ の変化で測定した。HAL 活性は 3.3 mM L-His，0.1 M Tris-HCl 緩衝液（pH 8.0）の反応液の ABS₂₇₇ の変化で測定した。さらに，0.1 mM カルノシン，またはアンセリンと 0.1 M Tris-HCl 緩衝液（pH 8.0）の反応液に両酵素を加えて ABS₂₇₇ の変化を測定した。

【結果】BapA は 55℃，pH 9.0 で最大の活性を示し，HAL は 45℃，pH 8.0 で最大の活性を示した。また，BapA は 50℃以下，pH 8.0～9.5 で安定であり，HAL は 45℃以下，pH 8.0～9.0 で安定であった。BapA 活性は Co²⁺，Ni²⁺，Cu²⁺存在下で上昇し，Zn²⁺によって阻害されたが，HAL 活性は Ni²⁺，Zn²⁺，EDTA によって阻害された。BapA と HAL を同時にカルノシンに作用させるとウロカニン酸の生成に起因する ABS₂₇₇ の増大が認められたが，アンセリンに作用させても ABS₂₇₇ は変化しなかった。50～100 μM のカルノシンに 30℃で 1 時間，両酵素を作用させて ABS₂₇₇ を測定した結果，十分な直線性を持つ検量線が得られることがわかった。

C-9 シリカ粒子形成促進タンパク質“グラシン”のシリカ／シリコーンに対する吸着特性
○坂手勇斗, 西美智佳¹, 美藤友博, 有馬二郎, 清水克彦²
(鳥取大・農, ¹鳥取大院・農, ²鳥取大・地域価値創造)

【目的】カイロウドウケツのシリカ骨格由来タンパク質グラシンは, His-Asp に富む領域 (HD 領域), Pro に富む領域 (P 領域), His-Thr に富む領域 (HT 領域) がスペーサーを挟んで 2 回繰り返されるタンデムリピート構造をなし, 室温・中性 pH 条件下でケイ酸からのシリカ形成を促進する。これまでに, グラシンをタグとしたタンパク質の簡易かつ精製不要なシリカ粒子への固定化に利用可能であることを示してきた。本研究では, グラシンの新たな性質として, シリカ表面への吸着に着目した。グラシンのグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質を用いて, グラシンのシリカへの吸着特性評価方法を確立し, さらに, グラシン中の各ドメインのシリカに対する吸着特性の解明を目指した。

【方法・結果】まず, グラシンと GST との融合タンパク質 (GST-グラシン) を調製し, 融合タンパク質のシリカへの吸着能について, GST をコントロールとし, pH を変化させ評価した。その結果, pH8~9 においてグラシンは, 特異的に吸着した。次に, 各領域の GST 融合タンパク質について, HD, P, HT の各領域は, 吸着力に差はあるが, いずれもシリカを特異的に吸着した。それぞれの領域のシリカへの吸着特性を明らかにするとともに, 各ドメインの有機シリコーンへの吸着についても報告する。

D-1 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 が持つ様々なキチナーゼの性質
○長田晴季, 東谷洸里¹, 長瀬亜紀子, 美藤友博, 清水克彦², 有馬二郎
(鳥取大・農,¹鳥取大院・持社創生,²鳥取大・地域価値創造)

【目的】キチンの分解物からは様々な生理機能が見つかっているが、キチンの分解には酸・アルカリ処理や物理的破碎等の多くの工程が必要であり、環境への負荷も大きい。現在、酵素による結晶キチンの分解も試みられているが、効率的な酵素分解は未だ報告がない。これまでに、結晶キチンを直接分解できる放線菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 が単離され、そのゲノム解析から本菌は 8 種のキチナーゼを持つことが明らかとなった。本研究ではこれらのキチナーゼの基質特異性等の諸性質について検討した。

【方法・結果】8 つのキチナーゼは、その配列やドメイン構造から、Chi A1, C1, C2, D, ExoChi (GH family 18), Chi I-1, I-2, I-3 (GH family 19) と命名された。それぞれの組換え酵素を含む無細胞抽出液をサンプルとして p-nitrophenyl-chitobiose ((GlcNAc)₂-pNP), キチンオリゴ糖 (COS), エチレングリコールキチン (EGC), キチンナノファイバー (CNF), キチンパウダー (CP) に対する反応性を調べた。その結果、(GlcNAc)₂-pNP に対する pNP 遊離活性は ChiD, ExoChi から観察され、COS の分解活性はそれに加えて、ChiA1, C1, I-2, I-3 から観察された。また、Chi I-1 及び I-2 以外の酵素からは全て EGC を基質として反応させた際に還元末端の増加が確認された。CNF を基質とした場合、ChiA1, D, I-3 でのみ還元末端が増加したが、CP ではほぼ活性が見られなかった。いずれの酵素も、EGC に対する反応性は高く、CP に対する反応性は低い結果となり、CP に 8 種のキチナーゼ全てを混合しても、完全な分解は確認されなかった。現在、効率的な分解条件を探るべく、各キチナーゼの反応に対する pH 等の影響を調べている。

D-2 水草から単離されたセルラーゼ生産菌の同定とその生産される酵素の生化学的解析
○浦田健司, 渡邊康紀, 渡辺誠也¹ (愛媛大院・農,¹愛媛大・沿岸環境科研セ)

【背景・目的】リグノセルロース系原料を用いたバイオエタノールの生産は、食料との競合や環境問題を引き起こさない一方で、酵素による低コスト且つ効率的な糖化方法の開発が望まれている。産業的に使われるのはほとんどが糸状菌 (*Trichoderma reesei*) 由来のものだが、多様な原料に適応していると言い難い点もある。そこで本研究では、国内淡水湖に異常繁茂する外来水草を原料として念頭に置き、そこからセルラーゼ生産細菌の単離・同定を行い、生産される酵素についての生化学的な解析を行った。

【方法・結果】これまでの実験で、サンプル(琵琶湖産の水草乾燥粉末)より菌の単離及び同定、生産する酵素の性質、N 末端のアミノ酸配列の決定に成功している。今回は、それを基にしてプライマーを設計しゲノム DNA を鋳型に遺伝子全長を PCR 後、pGEM-T ベクターに TA クローニングし塩基配列を決定した。また、ヒスチジンタグを付与できる pETDuet-1 ベクターにクローニングし、大腸菌を宿主に IPTG で発現誘導させ IMAC で精製し、活性測定を行った。N 末端のアミノ酸配列から予想されたように土壌細菌 *Paenibacillus elgii* の Endoglucanase (WP_063187418) と高い相同性があり、構造既知の *Bacillus agaradhaerens* 由来 Cel5A (1HF6) や *Bacillus subtilis* 由来 Cel5a (1LF1) とそれぞれ 67% と 66% の相同性があった。また、活性を見たところ、最適 pH は 5.0~6.0、最適温度は 50°C であることも分かった。1HF6 の立体構造をモデルに、触媒作用に関わると予測される残基について変異体 (F40Y, G69S, T229S) を作成した。発表では、これらの変異体の生化学的性質についても報告する。

D-3 糸状菌 *Fusarium solani* D2 株由来オレイン酸水和酵素の機能解析
○村川直美, 阪本鷹行, 上野このみ, 安藤晃規¹, 岸野重信¹, 相馬悠希²,
和泉自泰², 馬場健史², 小川 順¹, 櫻谷英治
(徳島大院・生物資源, ¹京大院・農, ²九大・生医研)

【背景・目的】 水酸化脂肪酸は分子内に水酸基とカルボキシ基を持つことから、化粧品や医薬品、ポリマーの原料として注目されている。乳酸菌やルーメン細菌などの嫌気性バクテリアにおいて、水酸化脂肪酸である 10-ヒドロキシステアリン酸[10(OH)-18:0, HYB]は、オレイン酸(18:1 ω 9)からオレイン酸水和酵素(Ohy)により合成されることが知られている。

一方、本研究室ではこれまでに、自然界から HYB を生産するユニークな糸状菌 *Fusarium solani* D2 株を単離した。本菌株が静置培養（微好気条件）でのみ HYB を生産したことから、バクテリアと同様の水和反応（酵素）を有することが推測された。ここでは D2 株における *ohy* ホモログ遺伝子のクローニングおよび精製酵素の機能解析について報告する。

【方法・結果】 まず既知のバクテリア由来 Ohy アミノ酸配列を基に、*F. solani* と近縁種のゲノムデータベースから *ohy* ホモログ遺伝子の相同性検索を行った。次に、得られた *ohy* ホモログ候補遺伝子について発現解析を行ったところ、HYB 生産条件において当該遺伝子が転写されていることを確認した。そこで、大腸菌を用いた異種発現によってタンパク質精製を行い、オレイン酸に対する水和活性を評価したところ、嫌気条件下において HYB への変換が確認された。さらに、酵素活性の至適条件についても検討した。

D-4 免疫活性測定を目的としたイモ類に含まれる貯蔵タンパク質の糖鎖構造解析
○蓮井泉帆¹, 木村吉伸^{1,2}, 前田 恵^{1,2} (¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命)

【目的】 日本スギ花粉アレルゲン (Cry j1) や日本ヒノキ花粉アレルゲン (Cha o1, Cha o3) は糖タンパク質であり、約半数はコア構造である M3FX (Man₃Xyl₁Fuc₁GlcNAc₂) の非還元末端にルイス a 抗原が結合した植物抗原性糖鎖を有する。M3FX が日本スギ花粉アレルゲン特異的 Th2 細胞からの IL-4 産生を抑制することが既に報告されているが、ルイス a 抗原がヒトのアレルギー反応に及ぼす影響については明らかとなっていない。これまでルイス a 抗原含有植物抗原性糖鎖の多量調製源としてオオカナダモを用いていたが、エンドトキシンが混入する可能性があり、免疫活性測定には適さない恐れがあった。そこで本研究では貯蔵タンパク質を多く含むイモ類に着目し、4 種類のイモから植物抗原性糖鎖含有糖ペプチドを調製し、糖鎖構造解析を行った。【方法・結果】 サトイモ（親芋および子芋）、サツマイモ、ナガイモの貯蔵タンパク質から、ペプシン消化、陽イオン交換、ゲルろ過により糖ペプチドを調製した。糖鎖構造を解析するため、糖ペプチドをヒドラジン分解後、遊離した N-グリカンに N-アセチル化し、ピリジルアミノ化 (PA 化) により蛍光標識した。RP-/SF-HPLC により PA 糖鎖を分離精製後、エンドおよびエキソグリコシダーゼを用いた逐次酵素消化法により構造解析を行った。その結果、いずれのイモ類についても主要構造は植物複合型であり、サトイモ（親芋および子芋）糖タンパク質糖鎖はルイス a 抗原含有植物抗原性糖鎖を有するオオカナダモの糖鎖プロファイルと類似していた。一方、サツマイモ、ナガイモ糖タンパク質糖鎖の主要構造はそれぞれ M3FX, GlcNAc₂M3FX であることが明らかとなった。

D-5 新規人工糖鎖ポリマーによる植物複合型糖鎖結合タンパク質のスクリーニング
○田中創平¹, 前田 恵^{1,2}, 木村吉伸^{1,2} (¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命)

【目的】分化・生長中の植物細胞には、ハイマンノース型と植物複合型の遊離 *N*-グリカン (FNGs) が遍在している。植物複合型 FNGs は、主に成熟型の糖タンパク質から酸性ペプチド: *N*-グリカナーゼにより生成し、液胞や細胞外空間に存在している。我々は、植物複合型 FNGs を介した糖鎖シグナリングが植物の分化・生長を制御する仮説機構を想定しているが、植物複合型 FNGs と相互作用するタンパク質は報告例がない。本研究では、植物複合型 FNGs の生理機能を解明する研究の一環として、植物複合型糖鎖を多価に結合させた新規人工糖鎖ポリマーを合成し、それを用いて糖鎖結合タンパク質を同定することを試みた。【方法・結果】植物複合型糖鎖含有糖ペプチドは、オオカナダモ由来の糖タンパク質^[1]から、プロテアーゼ消化、ゲルろ過、逆相クロマト、親水性クロマトを組み合わせることにより調製・精製し、その構造は糖鎖構造解析 (RP-, SF-HPLC および MS 分析) により確認した。糖鎖ポリマーは糖ペプチドのアミノ基をポリ- γ -L-グルタミン酸 (γ -PGA) のカルボキシル基に縮合させ合成し、アミノ酸組成分析により、糖鎖結合率が 10% 程度 (γ -PGA1 分子当たり約 500 分子) であることを確認した。続いて、糖鎖結合タンパク質のスクリーニングを行うために、播種後 10 日目のトマト実生 (0.9 g) から Tris-HCl buffer (pH8.3)/0.1 M NaCl を用いて抽出を行った。得られた可溶性タンパク質 (1 mg) は糖鎖ポリマー (1 mg) と反応させ、ゲルろ過によりタンパク質-糖鎖ポリマー複合体の分離を行った。現在、SDS-PAGE により、ポリマーに結合したタンパク質の同定を試みている。[1] *Carbohydr Res.*, 435, 50-57 (2016)

D-6 緑藻ミル *Codium fragile* 由来レクチン (CFL) のホモオリゴマー構造について
○八塚真悟¹, 竹内良太^{2,3}, 前田 恵^{1,3}, 木村吉伸^{1,3}
(¹岡山大・農, ²一丸ファルコス, ³岡山大院・環境生命)

【目的】緑藻ミル *Codium fragile* 由来のレクチン (CFL) は、GalNAc 残基や、腫瘍関連抗原である Tn 抗原 (GalNAc α -Ser/Thr) や TF 抗原 (Gal β 1-3GalNAc α -Ser/Thr) に特異的に結合する。また、CFL はう蝕原因菌である *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成を競合阻害することが確認されており、虫歯予防剤としての利用が期待されている。しかしながら、CFL の糖鎖認識機構については未だ明らかではない。そこで本研究では、X 線結晶構造解析による糖鎖認識部位の解明を目的とした CFL の一次構造解析を試みた。【方法・結果】CFL は緑藻ミル *Codium fragile* (3 kg) のアセトン脱脂物から、25 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.3) /0.1 M NaCl によりタンパク質を抽出後、疎水クロマト、ゲル濾過に供して精製した。分子量が異なる赤血球凝集活性陽性画分 (F1, F2, F3) について、還元条件下で SDS-PAGE を行った結果、いずれも約 12 kDa の位置にバンドが検出され、ESI-MS で得られた単量体 CFL のモノアイソトピック質量 12309.9 と一致した。また、各画分の N 末端アミノ酸配列は全て同じであった。それぞれの UV スペクトルは 280 nm 付近に極大吸収を示したが、蛍光スペクトル (Ex. 280 nm) ではホモオリゴマー形成に伴う Trp 残基の埋め込みにより、顕著なレッドシフトが確認された。以上のことから、CFL は単量体に加えてホモ 2 量体やホモ 3 量体でも存在する事が明らかになった。また、CFL の内部アミノ酸配列情報を決定するため、5% ギ酸中でペプシン消化を行った後、逆相 HPLC で複数のペプチドを分取した。現在、それらペプチド断片のアミノ酸配列分析を進めている。

D-7 ホモログをモデルとした変異導入による *Shewanella violacea* 由来シトクロム *c'* の安定性向上
○坂口 陸, 藤井創太郎¹, 三本木至宏¹
(広島大・生物生産,¹広島大院・統合生命)

【背景・目的】シトクロム *c'* は, NO や CO などの二原子ガスを結合するヘムタンパク質である。*Shewanella violacea* のホモ二量体シトクロム *c'* (SVCP) の安定性は, 同属他菌株のホモログに比べて低い。本研究では, ホモログをモデルに SVCP を改変し熱安定性を上げたときのガス結合能の有無を調べた。

【方法・結果】比較対象としたシトクロム *c'* は, *Shewanella benthica* 由来の SBCP, *Shewanella livingstonensis* 由来の SLCP, 及び *Shewanella amazonensis* 由来の SACP である。合計 4 つの立体構造を比較したところ, ループ上, ヘム周辺, 及びダイマー間にあるアミノ酸残基間の相互作用により SVCP 以外のタンパク質は安定性を高めていると推定した。そこで SVCP のループ上の Gln-62, Val-87 をそれぞれ SBCP に見られる Pro, Lys に, ヘム周辺の Leu-89, Glu-70 をそれぞれ SACP に見られる Phe, Asp に, そしてダイマー間の His-22 を SLCP と SACP に見られる Tyr に置換した 1 残基置換体を作製した。またこれらの変異をすべて導入した 5 残基置換体も作製した。CD スペクトルの 222 nm を指標とした 25–100℃の昇温測定実験を行ったところ, Q62P, V87K, E70D, H22Y 変異体は野生型と比べて T_m の上昇が見られ, 特に 5 残基置換体は野生型と比べて変性温度が約 10℃上昇した。また, これらの変異体のガス結合能を調べたところ, 野生体同様に結合能を有していた。以上の結果から, SVCP を熱安定化してもガス結合能を保持できることを明らかにした。

D-8 アーキアにおける DNA ミスマッチ修復の分子機構の解明
○美濃部亜衣, 福井健二¹, 矢野貴人¹, 芦内 誠, 若松泰介
(高知大院・農,¹大阪医大・医)

【目的】真核生物や多くの真正細菌は, MutS1/MutL に依存した DNA ミスマッチ修復 (MMR) 系を用いて複製エラーにより発生するミスマッチ塩基対を修復する。しかしアーキアでは, MutS1/MutL に依存した MMR 系の存在を支持する実験的証拠はこれまでない。代わりに, 大部分のアーキアはミスマッチ特異的二本鎖 DNA 切断酵素 EndoMS を所有しており, アーキアでは EndoMS に依存した MMR 系が広く保存されていると考えられている。一方で, 一部のアーキアのゲノムには MutS1/MutL 遺伝子がコードされているが, それらの分子的機能は明らかになっていない。そこで, 本研究ではメタン生成アーキア *Methanosaeta thermophila* 由来組換え MutS1 (mtMutS1) と MutL の C 末端エンドヌクレアーゼドメイン (mtMutL CTD), クランプ蛋白質 (mtPCNA) を調製し, 生化学的機能解析を行った。

【方法・結果】pET-15b/*mtmutS1*, pET-15b/*mtmutL ctd*, pET-19b/*mtpcna* を大腸菌内で大量発現させ, 数種のカラムクロマトグラフィーにより各々の目的蛋白質を高純度で精製した。mtMutS1 の DNA に対する結合能をゲルシフトアッセイにより解析した結果, 一般的な MutS1 と同様に T 突出や GT ミスマッチ DNA に対する結合能が高いことが明らかとなった。更に, ATPase 活性も有していた。mtMutL CTD は金属イオン依存的なニッキングヌクレアーゼ活性を示し, その活性化には mtPCNA を必要としなかった。本結果より mtMutS1 と mtMutL は MMR に必須な分子的機能を有していることが明らかとなり, アーキアでも MutS1/MutL に依存した MMR 系が働いている可能性が示唆された。

D-9 大腸菌 BL21 (DE3) を用いた α -synuclein (AS) の多量発現と新たな精製方法の確立
○小坂将太¹, 前田 恵^{1,2}, 木村吉伸^{1,2} (¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命)

【目的】我々は、全身性アミロイドーシスの原因タンパク質である抗体 L 鎖可変部領域 v λ 6 の変異体 (3Hmut.wil) をモデルタンパク質として用い、分化成長中の植物細胞に遍在するハイマンノース型遊離 N-グリカン (HMT-FNGs) がアミロイド線維形成阻害活性を有することを明らかにしてきた^[1]。本研究は、HMT-FNGs のアミロイド線維形成抑制活性の普遍性を検証する研究の一環として、パーキンソン病発症に関与する AS のアミロイド線維形成に対する HMT-FNGs の阻害活性解析を目的とする。その過程で、大腸菌により発現させた AS の新たな簡易調製法を見いだしたので、今回はその詳細を報告する。

【方法・結果】プラスミド (pET21a- α -synuclein) を大腸菌 BL21 (DE3) に導入し、100 μ M IPTG 誘導 (37°C, 5h) により AS を多量発現させた。大腸菌で発現させた AS はペリプラズム空間に局在するため、既報の浸透圧ショック法^[2]で抽出を試みたが、AS はほとんど回収できず、菌体内に残存したままであった。そこで、菌体を一度 -20°C で凍結した後、氷上で融解させ、ボルテックス処理を加えることで、ペリプラズム空間から単一の AS を容易に回収することに成功した。その後、陰イオン交換により AS を精製した。得られた AS の精製度は、SDS-PAGE 及び N 末端配列分析により確認した。現在、本方法で得られた AS を用いて、アミロイド線維形成について条件検討を行っている。

[1] Tanaka, T., *et al.*, *Glycoconjugate J.*, **32**, 193 (2015)

[2] Huang, C., *et al.*, *Protein Expr. Purif.*, **42**, 173-177 (2005)

D-10 海洋性細菌由来キノン(CTQ)含有型 L-リシン- ϵ -オキシダーゼの大腸菌発現系構築、精製と性質検討
○横山大輝, 梶山雄輝, 赤地周作, 根本理子, 田村 隆, 稲垣賢二
(岡山大院・環境生命)

【目的】海洋性細菌 *Marinomonas mediterranea* 由来 L-リシン- ϵ -オキシダーゼ (以下 ϵ -LysOX) は L-リシンに対し厳格な基質特異性を示し、バイオセンサーや医薬原料製造、抗腫瘍性酵素等への応用が期待される。また本酵素はビルトイン型の補酵素システイントリプトフィルキノン(CTQ)を有する¹⁾が、その形成機構は明らかとなっていない。応用研究や CTQ 形成機構の解明のため、今回は大腸菌発現精製系の確立、また組換え酵素の性質検討を目的とした。【方法】 ϵ -LysOX 遺伝子 *lodA* と CTQ 形成に関与する *lodB* の両遺伝子を pET28a と pCold I に組み込んだプラスミドを構築し発現を試みた。精製は DEAE-Toyopearl とメタルアフィニティーカラムに供することで行った。 ϵ -LysOX 活性は酵素反応で生じる過酸化水素を 4-アミノアンチピリン法で定量することで測定した。【結果】pET28a を用いた系では発現が見られなかったが pCold I の系で発現が見られた。*M. mediterranea* はレアコドンが多いので発現宿主としては *E. coli* Rosetta (DE3) pLysS を用いて ϵ -LysOX の精製を行った。部分精製酵素を用いて性質検討を行ったところ、最適温度は 20°C、最適 pH は 4、熱安定性は 60°C まで安定であった。基質特異性を検討した結果、20 種のタンパク質構成アミノ酸中 L-リシンにのみ反応し、厳格な基質特異性を示した。また構造類似体では D-リシンや N^ε-アセチル-L-リシンには全く作用せず N^α-アセチル-L-リシンには L-リシンの 40% 程度の相対活性を示した。ラインウィーバー・バークプロットを用いた速度論解析により L-リシンに対する見かけの K_m 値は 0.5 mM、 k_{cat} は 20.2 s⁻¹ であった。

1) Okazaki, S., *et al.*, *J. Biochem.*, **154**, 233-236 (2013)

E-1 ランタノイドに応答した *Acidomonas* 属酢酸菌の遺伝子発現調節
○堀田靖人, 宇都宮大貴, 阿野嘉孝 (愛媛大院・農)

【目的】*Acidomonas* 属酢酸菌はメタノール資化能をもつ酢酸菌で、他のメタノール資化性細菌と同様に、ランタノイドの一つ La^{3+} に応答してメタノール代謝の初発反応に関わる PQQ 酵素を切替えていることがわかっている。本菌はこのランタノイド・スイッチに加え、 La^{3+} に応答して酢酸菌に特徴的な PQQ 依存性アルコール脱水素酵素 (ADH) の酵素活性の低下、グリセロール培地での顕著な生育抑制を示すことを確認している。本研究では、メタノール代謝と同様に、これらの細胞応答がランタノイドに応答した遺伝子発現調節によるものかを明らかにするために、定量 PCR による解析を行った。

【方法・結果】まず、グリセロール培養細胞から cDNA を調製し定量 PCR を行ったところ、 La^{3+} 存在下において ADH の発現が 90% 以上低下していたことから、 La^{3+} 存在下での ADH 活性の低下は発現量の抑制に起因するものであることを確認した。次に、 La^{3+} に応答して酵素活性が変化した PQQ 酵素遺伝子群の発現量を調査したところ、いずれの遺伝子でも発現量と酵素活性の挙動が一致する結果が得られた。さらに、グリセロール細胞内代謝に関わる遺伝子群を調査したところ、 La^{3+} 存在下で発現量が大幅に低下することを確認した。一方、グリセロール酸化物であるジヒドロキシアセトンの細胞内代謝関連遺伝子の発現量に違いは見られなかったことから、グリセロールの細胞内代謝特異的な抑制であることがわかった。以上より、*Ac. methanolica* では、メタノール代謝以外にもランタノイドに依存した遺伝子発現調節機構が存在することが明らかとなった。

E-2 植物葉上共生細菌 *Methylobacterium extorquens* AM1 のランタノイド依存型メタノールデヒドロゲナーゼアイソザイムのレポーター遺伝子を用いた発現解析
○山下颯太, 吉川友理, 谷 明生¹, 中川智行², 矢野嵩典, 三井亮司
(岡山理大・理, ¹岡山大・植物研, ²岐阜大・応生科)

【目的】*Methylobacterium* や *Methylobacterium* 属の細菌は植物より放出されるメタノールを利用して葉上共生することが知られている。これらの細菌はメタノールの初発代謝に関わるメタノールデヒドロゲナーゼ (MDH) を複数保持し、土壤に含まれるランタノイドや植物から供給される炭素源に応答して発現をコントロールしている。本研究ではランタノイド依存型の MDH である XoxF1 と F2 の発現調節に着目し、各アイソザイムの役割を推定することを目的とした。今回、モデル菌株である *M. extorquens* AM1 を用いて各 MDH プロモーターと融合させたレポーター遺伝子の発現を比較したので報告する。

【方法と結果】*xoxF1*, *xoxF2* のプロモーター領域に、*dsRed2* をレポーター遺伝子として融合させた赤色蛍光タンパク質発現プラスミドを構築した。このプラスミドを *M. extorquens* AM1 に形質転換し、培地中に添加する炭素源 (メタノールまたはコハク酸) と、 La^{3+} 濃度への発現応答を蛍光強度で比較した。その結果、単一炭素源としてメタノールを用いてもコハク酸を用いても XoxF1 は 1 μM から La^{3+} 濃度に応答して発現量が増加し、その発現量はメタノールよりもコハク酸を炭素源とした方が多いことが確認できた。一方、XoxF2 は、炭素源としてメタノールを用いた時のみ発現し、 La^{3+} の濃度が高濃度 (>30 μM) 下でのみ発現が確認された。以上のことから *M. extorquens* AM1 が植物の生育に伴う環境変化に応じて MDH を使い分けしている可能性が示唆された。現在、*xoxF2* 破壊株を用いて La^{3+} の濃度と生育の関係について検討を行っている。

**E-3 転写因子 Mlm2 による Ypk1 の発現調節を介したスフィンゴ脂質代謝制御機構の
解明**
○小松楠於, 石野裕子, 谷元 洋¹, 上野俊哉, 田中直孝, 田淵光昭
(香川大・農, ¹九大院・理)

【目的】出芽酵母はスフィンゴ脂質をはじめ、細胞膜に含まれる様々な脂質の量を精密に制御することで、高温ストレスなどの環境ストレスに適応している。しかし、スフィンゴ脂質代謝の制御機構の詳細は未だに不明な点も多い。スフィンゴ脂質代謝制御機構としては、Tor-kinase complex 2 (TORC2)-Ypk1 経路が知られている。TORC2-Ypk1 経路は、細胞膜においてスフィンゴ脂質量の低下を感知すると下流の Orm1/2 をリン酸化することで最終的にスフィンゴ脂質代謝を正に制御する。これまで我々は、機能未知転写因子 Mlm2 (Multi-copy suppressor for lip1-1-myriosin sensitivity 2)が Ypk1 の発現を制御することでスフィンゴ脂質代謝制御に関与することが示唆されたため、その詳細の解明を目的とした。

【方法・結果】スフィンゴ脂質代謝阻害剤である Myriocin (Myr)添加時、Mlm2 の発現量は上昇し、これに伴い Ypk1 の発現量も上昇した。さらに、Mlm2 欠損株ではこの Ypk1 の発現上昇の低下が見られた。また、*YPK1* プロモーターには推定の Mlm2 結合配列が存在したため、ゲノム編集技術を利用することで、この配列を欠損させた株 (MB Δ株)を作製したところ、MB Δ株は Wild-type と比較してスフィンゴ脂質合成量の低下に伴う Myr 感受性を示した。これらの結果から、スフィンゴ脂質量低下時に Mlm2 は *YPK1* の転写を介して、スフィンゴ脂質合成を促進させることが示唆された。一方、Myr 依存的な Mlm2 発現上昇は、TORC2-Ypk1 経路非依存的であったことから、酵母には未知のスフィンゴ脂質量感知システムの存在が示唆された。

E-4 巨大菌のポリ γ グルタミン酸合成調節領域
○宮田真帆, 白米優一, 芦内 誠 (高知大・農林海洋)

【目的】最近、巨大菌にジスプロシウムイオン (Dy^{3+}) を共存させることでポリ γ グルタミン酸 (PGA) の増産と対数増殖期における細胞増殖速度の加速という代謝促進現象が観察された。特に、遺伝子工学的手法を用いずに Dy^{3+} と共存させるだけで、非共存時に比較して約 2 倍の PGA 増産が図れる点は画期的な発見だった。レアメタルは我々の生活を支える重要な金属元素である一方、(微)生物との接点に多くの未解明領域を残す。従来考えられてきた微生物に対する重金属毒性とはまったく異なる視点から、微生物とレアメタルの接点を探っていく必要に迫られている。そこで、該メカニズムの詳細を解き明かすため、巨大菌同様に PGA 生産菌である納豆菌の PGA 合成オペロン含領域を比較・精査した。結果、巨大菌 PGA 合成オペロンの調節領域に、納豆菌にはない DegU 認識配列の存在が明らかになった。今回、主に DegU に焦点を当て、該因子に関与する可能性のある Dy^{3+} を含むレアメタルイオンの生化学的機能分析を行なう。

【方法・結果】DegU と、該因子のリン酸化に関わる DegS の両遺伝子配列を PCR 法によって取得し、各大腸菌クローン株を作製した。作製した各クローン株を大量培養し、DegS-U を精製するまでの迅速な工程を確立するまでに至った。精製済み DegS-U と標識化した該認識配列を含む調節領域、さらにレアメタルイオンを組み合わせてゲルシフトアッセイに供し、レアメタルイオン共存下での該因子挙動の変化を調査する。

E-5 担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジー関連遺伝子 *Cc.atg8* 破壊株の解析
○今村友紀, 麻田恭彦, 渡邊 彰 (香川大・農)

【目的】当研究室では、これまでに、担子菌 *Coprinopsis cinerea* が、栄養飢餓に応答して子実体形成および大規模な細胞内分解システムであるオートファジーを誘導することを示唆している。このことから、本研究では、*C. cinerea* のオートファジーに必須と考えられており、オートファゴソーム構成タンパク質 Atg8 をコードする遺伝子 *Cc.atg8* を破壊した株の構築およびその解析を行うことを目的とした。

【方法・結果】*C. cinerea* における *Cc.atg8* 遺伝子の破壊は、同菌の高頻度相同組換え株を宿主として、ハイグロマイシン (Hyg) 耐性を指標に、*Cc.atg8* の上流および下流 2000 bp を用いるダブルクロスオーバー組換えにより行った。得られた Hyg 耐性株の *Cc.atg8* 近傍の配列解析の結果、いくつかの *Cc.atg8* 破壊株を取得することができた。さらに、得られた *Cc.atg8* 破壊株の表現型解析を行ったところ、同破壊株は、宿主株に比べ、菌糸生長の遅延、気中菌糸の発達不良、分裂子生産能の低下、そして栄養飢餓条件下（窒素源飢餓状態および糖源飢餓状態）で観察される子実体原基と見られる構造体の形成が確認されなかった。また、Atg8 は糸状性真菌類間において高い配列類似性を有している。そこで、既存のイネいもち病菌 *Magnaporthe oryzae* 由来の Atg8 (MoAtg8) 抗体を利用したウェスタンブロッティング解析について検討したところ、宿主株においては *Cc.Atg8* の分子量に値するタンパク質が検出されたのに対して、*Cc.atg8* 破壊株では検出されず、MoAtg8 抗体を用いる *C. cinerea* オートファジーの直接的解析の可能性が考えられた。現在、*C. cinerea* オートファジーのタンパク質レベルでの解析について検討を進めている。

E-6 水素資化性メタン生成菌 *Methanothermobacter* sp. CaT2 の凝集形成と塩ストレス耐性の関係性の解析
○山崎拓人¹, 澄川佳奈², 山田 守^{1,2,3}, 高坂智之^{1,3}
(¹山口大院・創科, ²山口大院・医学系, ³山口大・中高温微研セ)

【目的】水素資化性メタン生成菌は水素やギ酸を資化しメタンを生成する。これらの生育基質をメタン発酵では水素生成細菌が供給しており、その共生的な関係がメタン発酵の安定性に重要である。この時、異なる微生物間の凝集形成を含む相互作用によってストレス耐性が向上すると考えられているが、単独培養と共培養でのストレス耐性の違いや凝集との関連性はあまり解析されていない。本研究では、凝集性を持つ水素資化性メタン生成菌 *Methanothermobacter* sp. CaT2 と水素生成細菌であるプロピオン酸酸化細菌 *Pelotomaculum thermopropionicum* SI を共培養した際の塩ストレス耐性と CaT2 の凝集形態の関係性を解析した。

【方法・結果】まず、CaT2 と SI のそれぞれの単独培養時での一価金属(K^+ , NH_4^+ , Na^+)への耐性を比較したところ、CaT2 は K^+ に対して感受性を示し、SI は NH_4^+ に対して感受性を示した。次に、プロパノールを基質に両菌株を共培養し、一価金属への耐性をメタン生成量および凝集形態によって比較した。その結果、共培養時に K^+ に対する耐性が向上し、凝集形態においては高 K^+ 濃度ほど大きなものを形成することが分かった。さらに、CaT2 の凝集形成能が低下した変異株 CLA160 と SI の共培養においては、 K^+ への耐性が低下することが示唆された。これらのことから、 K^+ に対して CaT2 と SI が共培養時に耐性が向上すること、そしてそれが CaT2 の凝集形成と関連することが示唆された。

E-7 馬乳酒由来乳酸菌の特性解析 ○森田翔太, 滝澤 昇 (岡山理大・工)

【目的】馬乳酒は古くから中央アジアなどで伝統的な製法で作られ続けてきた発酵乳の一つである。醸造酒に分類されるが、アルコール度数は 2.5% と低い。そのためモンゴルなどでは馬乳酒を重要な栄養源として飲用するだけでなく、疾病の治療を目的として幼児や子供にも飲用されている。また、馬乳酒は基本的に殺菌処理されないことからプロバイオティクスの効果も期待される。本研究では、馬乳酒から分離された乳酸菌 20 株を同定し、それらが持つ特性について調べ、他の発酵食品への応用が可能か検討を行った。

【方法・結果】本研究では、馬乳酒から分離された乳酸菌 20 株を用いた。初めに糖類発酵性を調べたところ、グルコース、フルクトース、ガラクトース、ラクトース、スクロースが炭素源として利用可能なことが確認された。16SrRNA 遺伝子の部分塩基配列の解析では、Blast 解析により分離した 20 菌株全てが *Lactobacillus harbinensis* に高い相同性が認められた。これらの菌株が乳酸発酵によって培養液中に生成した乳酸の生成量及びその旋光性について F-キットを用いて測定したところ、生成していたのはすべて L-型であった。今後、乳酸菌 20 株の中で良好な生育を示した菌株を選抜し、乳酸菌の他の発酵生産物の検出や発酵食品への応用について検討を行っていく。

E-8 植物から分離された乳酸菌の特性：ラクターゼ活性とオリゴ糖の生成について ○清水あずさ, 滝澤 昇 (岡山理大・工)

【目的】現在、植物性由来乳酸菌の一次産業（野菜工場など）での活用が進んでいる。植物由来乳酸菌は、種々の土壌菌と共生し、土壌の活性を図り作物の健康生育を果たしていると考えられている。しかしどのような乳酸菌が発育を促進するのかまだわかっていない。そのため本研究では先に植物から分離された乳酸菌について、その特性解析を行っている。今回ラクターゼ活性とオリゴ糖の生成について検討を行ったので報告する。

【方法・結果】乳酸菌にラクターゼ活性があるのかを簡易調査するため、X-Gal を含む培地で 3 日間培養した。その結果数種のコロニーが藍色を示し、また濃淡が見られたことから、これらの菌株には顕著なラクターゼが認められその活性の強さに差があることが分かった。次に、糖としてグルコース、ラクトース、フルクトースまたはガラクトースをそれぞれ 10% 含む YP 培地、及びグルコース 5% とガラクトース 5% を含む YP 培地で各乳酸菌を振盪培養し、培養液の遠心上清を TLC で展開したところ、ラクトースを用いた培養上清で、オリゴ糖と思われるスポットが数種確認された。そこで、その上清をグルコアミラーゼまたは β ガラクトシダーゼで処理し展開した。グルコアミラーゼ処理ではオリゴ糖と思われるいくつかのスポットが消失した。 β ガラクトシダーゼ処理ではオリゴ糖と思われるいくつかのスポットが消失した。これらの結果からオリゴ糖に α 1.4 結合と β 1.4 結合があることがわかった。

E-9 岡山県産自然派ワインからの酵母の分離・同定とその特性
○下田寧々，滝澤 昇（岡山理大・工）

【目的】化学肥料未使用のブドウ，少ない量の酸化防止剤，人工培養酵母を使わないため土地の良さがそのままワインに現れているという点から今，生育土壌，ブドウに付着している野生酵母を使用した自然派ワインが注目されている。しかし，使われている野生酵母の同定や特性が解析されていないものが多い。本研究では，野生酵母を利用したワインから酵母を単離し，その酵母の中での優良菌株の発見とその種の同定を行った。

【方法・結果】発酵中または抗発酵中のワイン 6 種類から酵母を単離し，コロニーの形によって分類した 22 サンプルについて糖資化性能，アルコール耐性，亜硫酸耐性，アルコール生産能，炭酸ガス生産能評価試験を行った。糖資化性能については 10 種類の糖がそれぞれ入った寒天培地と液体培地を用いて評価した。アルコール耐性，亜硫酸耐性，アルコール生産能，炭酸ガス生産能評価試験については YPD 液体培地で前培養したものを本培養液体培地に 1% 植菌をした。糖資化性について，ガラクトース資化性株 10 株，非資化性株 12 株に分かれた。4 つの評価試験の結果，すべての菌株は亜硫酸(25 ppm)耐性を持っていたが炭酸ガス，アルコール生産量，アルコール耐性についてはそれぞれに違いがみられた。以上のことにより少なくとも二種類以上の酵母に分けられると考え，現在，18srRNA 塩基配列相同性による種の同定を進めている。

E-10 キチン含有廃棄物を用いたキチン分解菌 *Cellulosimicrobium* sp.NTK2 の培養
○東谷洸里，長田晴季¹，美藤友博¹，清水克彦²，有馬二郎¹
（鳥取大院・持社創生，¹鳥取大・農，²鳥取大・地域価値創造）

キチンは GlcNAc からなる多糖で，強固な水素結合を形成しているため分解が困難である。一方で，キチンオリゴ糖（COS）や GlcNAc からは抗真菌活性やエリシター活性などの報告があり，機能物質として COS や GlcNAc の生産が望まれている。我々はこれまでに，カニ殻コンポストからキチンを高度に分解できる放線菌，*Cellulosimicrobium* sp. NTK2（NTK2 株）を単離した。NTK2 株は，キチンの添加で顕著に生育が促進され，それに伴い特異的に分泌されるタンパク質もいくつか同定されている。本研究では，NTK2 株のキチン廃棄物処理やキチン分解物生産への応用を目指し，キチン含有廃棄物であるカニ殻，イカ骨，シイタケの軸を用いて NTK2 株を培養し，タンパク質発現及びキチン分解活性を評価した。

通常，NTK2 株の培養には International Streptomyces Project 培地 1（ISP1）を用いるが，貧栄養下でのキチン添加による生育への影響を評価するため，なるべく単純な組成の培地を検討した。その結果，NTK2 株は 0.1%Yeast Extract（YE）の条件下でも生育可能であった。続いてキチン含有廃棄物を ISP1 と 0.1%YE に添加して本菌を培養したところ，いずれの培地においても菌の生育が促進され，カニ殻やイカ骨を添加して培養すると，特異的なタンパク質の分泌が確認された。また，特異的なタンパク質の分泌量は，ISP1 よりも 0.1%YE の方が多く，COS 分解活性も，0.1%YE にカニ殻やイカ骨を添加して培養したときに高い活性が確認された。特異的に分泌されるタンパク質はキチンの分解に関与していることが考えられるため，現在は，これらのタンパク質の N 末端解析を行っている。

F-1 *Gluconobacter* 属酢酸菌のシアン耐性呼吸鎖の生理的意義
○三由綾香, 阿野嘉孝 (愛媛大院・農)

【背景・目的】酢酸菌の酸化発酵は、物質生産に関わる細胞膜結合型脱水素酵素が呼吸鎖の初発酵素として機能し、基質からの電子を末端酸化酵素が酸素に受け渡して進行する。*Gluconobacter* 属酢酸菌には、2つの末端酸化酵素が知られており、プロトンポンプ能を持ちエネルギー生成に重要なシトクロム *bo3* 型キノール酸化酵素 (BO_3)と、エネルギー生成能がないシアン耐性キノール酸化酵素 (CIO)である。CIO はこれまでに、 BO_3 よりも 10 倍以上高い活性を持つことや酸素親和性が低いことが示されているものの、その生理的機能についての知見は未だ不十分である。本研究では、酢酸菌の CIO の生理的意義を明らかにすることを目的とした。

【結果・考察】これまでに、*G. oxydans* NBRC 12528 において、CIO が低 pH 環境下で機能することを明らかにしている。今回、CIO の機能及び生理的意義解明を目指し、CIO と酸化ストレスとの関係について調査した。その結果、CIO 破壊株 (ΔCIO)は過酸化水素に対して感受性を示し、グルコース培養条件下でのみカタラーゼ活性が亢進していた。このことから、CIO は低 pH 環境下での酸化ストレスに対して機能していることが示唆された。また、活性酸素種 (ROS)が多く発生する低 pH 条件下での ΔCIO の ROS 量は、野生株の 2 倍にのぼったことから、本菌の CIO は、低 pH 環境下で ROS の除去もしくは生成抑制に機能していることが示された。これらのことから、酢酸菌は、酸化発酵過程で形成される酸性環境下での生存を有利にするために、CIO を機能させていると考えられた。

F-2 *Gluconobacter* 属酢酸菌の 5-ケトグルコン酸輸送体と資化制御因子
○和田征太郎, 阿野嘉孝 (愛媛大院・農)

【目的】5-ケトグルコン酸 (5KGA) は汎用性の高い工業中間体であり、*Gluconobacter* 属酢酸菌の細胞外酸化系で生産される。一方、本菌は 5KGA を細胞内で資化することもでき、工業生産を目指す上で重要な制御点となる。本研究では、5KGA の細胞内への輸送・資化の理解を深めるため、本菌の 5KGA 輸送体および 5KGA 資化制御因子を探索し、その制御機構を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】まず、5KGA 輸送体候補分子として、5KGA 代謝酵素遺伝子 *gno* に隣接する推定グルコン酸パーミターゼ (*GntP*) に着目した。*gntP* 破壊株では、野生株でみられた 5KGA 資化能が失われ、*gntP* の相補により、資化能が回復した。このことから、*GntP* が 5KGA の取込みに関与することが強く示唆された。また、RT-PCR の結果から、*gntP* は隣接する *gno* とはオペロンを形成しておらず、独立して発現することが示された。次に、5KGA 資化制御因子として、他の細菌においてグルコン酸代謝制御因子である *GntR* に着目し、5KGA 生産条件で強く発現が誘導される *gntR4* を検出した。*gntR4* 破壊株では、野生株に比べて 5KGA 取込み速度が低下した。遺伝子発現量を比較すると、野生株では生育期に関係なく *gntP* の発現は一定であったが *gno* の発現が 5KGA 資化期で強く上昇していた。*gntR4* 破壊株では予想に反して、*gntP* の発現に野生株との差はみられなかったが、*gno* の発現が低下した。これらの結果から、5KGA の資化誘導には 5KGA 輸送体遺伝子 *gntP* よりも 5KGA 代謝酵素遺伝子 *gno* の発現誘導が重要であり、その独立した発現誘導に *gntR4* が機能していることが明らかとなった。

F-3 中温性 *Acetobacter* 属酢酸菌の実験室進化で観察されたトレードオフ高温適応
松本奈実¹, 松谷峰之介², 東 慶直³, 片岡尚也^{1,4,5}, O薬師寿治^{1,4,5},
松下一信^{1,4,5} (¹山口大院・創科, ²東京農業大・ゲノム, ³近畿大・生物理工,
⁴山口大・微研セ, ⁵山口大・農)

Acetobacter 属酢酸菌は、食酢の製造に利用されるグラム陰性の絶対好気性菌で、「酸化発酵」である酢酸発酵を営む。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。耐熱性を有する「耐熱化」酢酸菌の開発は、冷却コストの削減や、これまで発酵に不向きとされていた（亜）熱帯地域での発酵産業の発展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* NBRC3283 株を用いて高温適応育種を行い、高温で酢酸発酵を行うことのできる耐熱化株の取得と、得られた耐熱化株の比較ゲノム解析を行うことで、耐熱化に関わる遺伝子を特定し、そのメカニズム解明に迫っていくことを目的とした。

高温適応育種は、酢酸発酵条件下、37℃で開始し、耐熱化株が得られるごとに培養温度を上昇させていき、6 ステップを繰り返して、最終的に、親株が生育できない 40℃で酢酸発酵能力を持つ耐熱化株を取得した。さらに、取得した耐熱化株の生理学的性質を明らかにするために、生育、耐熱性、エタノール耐性、酢酸耐性、糖含量の比較を行い、ドラフトゲノム解析によってゲノムワイドに変異箇所を特定した。複製や翻訳に関わる因子、並びにいくつかの転写因子に変異が生じていた。高温適応株は中温域での生育と酢酸発酵能が野生株よりも低下していた。複製や翻訳を抑え細胞増殖を緩やかにすることで高温ストレスを回避できるようになり、引き替えに中温域での生育能が相対的に低下したと考察した。私たちは、進化過程のトレードオフ現象を実験室で再現できたと考えている。

F-4 三角フラスコを用いた製麴法の検討
O遠藤路子^{1,2}, 上原由梨奈², 藤井雄三², 山田 修³, 藤田晃子³, 磯谷敦子³,
神田涼子³, 藤井 力^{1,4}
(¹広島大院・生物圏, ²米子高専・物質, ³酒総研, ⁴福島大・食農)

【目的】清酒醸造における麴菌の製麴特性を解析する場合、シャーレ中で少量の蒸米に麴菌を培養するシャーレ法と呼ばれる培養法が標準的となっている。麴菌培養中に生成される揮発成分をターゲットとして解析するには、成分の揮発を抑制するとともに揮発成分による試料間でのコンタミがないよう密閉して培養する必要がある。しかし、シャーレ法による密閉培養では麴菌の生育や酵素活性に低下やバツキが生じるなどの問題がみられた。この原因として、シャーレ法では蒸米量に対して空隙が少ないため酸素の供給が不足したことが考えられた。そこで本研究では、麴菌が生成するカビ臭の原因物質である TCA（トリクロロアニソール）を揮発成分のターゲットとし、培養中の酸素供給の不足を解消するため三角フラスコを用いた製麴試験法を設定したので結果を報告する。【方法】200 mL 三角フラスコに α 米 20 g, 1.0×10^6 (個/ α 米 g) の麴菌孢子懸濁液及び TCP（トリクロロフェノール）を入れて混合し、アルミ箔で密栓して 35℃で培養し、経時的に TCA 生成量及び酵素活性を測定した。【結果】三角フラスコ培養法は、TCA の試料間でのクロスコンタミは確認されず、 α アミラーゼ活性や菌体増殖は酒造現場での標準的な製麴での値と差異がなかった。また、酸素供給のために行う製麴時の手入れ時間も検討し、 α アミラーゼ活性も高くハゼ落ちの少ない米麴を得る条件を明らかにした。以上、三角フラスコを用いた製麴法は、酵素活性及び増殖も良好であったことから、酸素量が確保された製麴法として揮発成分の解析だけでなくクオラムセンシング関係など様々な麴菌の製麴実験系に利用可能であると考えられた。

- F-5 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* による再生パルプを用いた高温での並行複発酵
○原真璃乃¹, Pumin Nutaratat², 村田正之¹, 高坂智之^{1,3}, 山田 守^{1,3}
(¹山口大院・創科 ²Fac. Sci., Kasetsart Univ., ³山口大・中高温微研セ)

【目的】現在、CO₂ 排出量の削減や輸送用燃料需要の増大等から、化石燃料に変わるエネルギーとして、特にセルロース系バイオマスからのバイオエタノールが注目されている。しかしながら、セルロースの糖化に係るセルラーゼが高価であることや生成物阻害等の問題点がある。そこで本研究では耐熱性酵母を使って高温で並行複発酵（SSF）を行うとともに、SSF と単行複発酵（SHF）と比較し、再生パルプを原料とする場合の高温での SSF のメリットを検証することを目的とした。

【方法・結果】まず、*Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042 の至適増殖温度を調べるために 30℃から 45℃までの生育速度を比較し、至適温度が 39℃付近であることを示した。次に、バイオマスからのエタノール生産を SHF と SSF で行い、比較した。コメを原料とした場合、この 2 つの方法によるエタノール生産量の違いは見られず、SSF によって時間短縮できることが示された。また、43℃までエタノール生産性がほぼ維持された。次にセルロース系バイオマスである再生パルプを原料とした。こちらも同様にエタノールの収量は同等となり、SSF によって時間短縮できることが分かった。また、生成物阻害の低減が示唆された。

- F-6 Adaptive improvement of xylose-fermenting yeast isolated from Laos
○Koudkeo Phommachan¹, Chansome Keo-oudone², Mochamad Nurcholis³, Somchanh Bounphanmy², Tomoyuki Kosaka^{1,4}, Mamoru Yamada^{1,4}
(¹Grad. Sch. Sci. Tech. Innov., Yamaguchi Univ., ² Fac. Sci, Nat. Univ. Laos, ³ Fac. Agri. Tech., Univ. Brawijaya, ⁴Res. Cen. TMR, Yamaguchi Univ.)

Bioconversion of xylose to ethanol is crucial for bioethanol production with lignocellulosic biomass, and utilization of such a biomass requires stress resistant strains for stable fermentation. In this study, a thermotolerant yeast strain isolated from Laos was applied for developing resistant strains to various stresses at high temperatures.

A *Candida tropicalis* strain that was selected as an efficient strain among isolated strains from Laos was repeatedly cultured while gradually raising the temperature, in YP medium containing a high concentration of glucose. Six adapted strains were then obtained. Adapted strains were found to be more resistance to acetic acid, furfural, ethanol and high glucose concentration than the parental strain. All adapted strains showed higher ethanol production than that of the parental strain when glucose was used as a carbon source. One of adapted strains showed higher ethanol production with xylose. Therefore, this adaptation procedure may be useful for development of stress resistant strains.

F-7 愛媛産植物性乳酸菌の探査およびそれらを用いた発酵食品の検討
○塩崎里枝, 金子茉由, 早瀬伸樹, 森永弘志¹, 宮部真司¹, 中川克彦
(新居浜高専・生物応用,¹(株)大愛)

【目的】近年の健康指向の高まりにより, 様々な健康食品が上市され, 日本の多種多様な発酵食品が注目されており, 特に, 過酷な環境に強く, 生きたまま腸に到達でき, 免疫賦活性が高いという特徴を持った植物性乳酸菌が注目されている。本研究では, 愛媛県産の花木, 山野草などの植物から新奇な植物性乳酸菌を探査, 分離, 同定し, 豆乳をプレーンヨーグルト状に発酵させる菌株の探査も行った。

【方法・結果】分離源として, 愛媛県東予地域に生息する植物の茎, 葉, 果物, 花を用いた。YPG, MRS 液体培地に分離源を滴量入れ, 嫌気条件下で 30℃, 20℃で培養し, その培養液を分離用 YPG, MRS 寒天培地へ植菌し, 嫌気条件下で 30℃, 20℃, 24~72 時間の培養を行った。寒天培地のコロニーについては顕微鏡観察, ハローの形状や色および BCP 加寒天培地の色変化を評価し, 液体培地の濁度および色変化は UV スペクトル, 酸性度は pH 計, 液体培養液の成分分析は, q-NMR 法によりその評価を行った。さらに分離精製した乳酸菌, 酵母菌は, グラム染色, 細胞の形態観察, カタラーゼ試験, 発酵による生成物の同定, MALDI-TOF MS, 16SrDNA 配列解析などの評価試験を行った。その結果, サクラの木から, CO₂ と EtOH の生成量が多い酵母菌が 2 株得られた。ヨモギは, 春から秋へ季節が移ると, 乳酸菌と酵母菌の種類やその比率が変化した。春の山野草である, タンポポ, オニタビラコ, カラスエンドウ (ヤハズエンドウ) から 3 株の乳酸菌が, 夏から秋の草花である, アサガオ, コスモス, ランタナから 3 株の乳酸菌が得られた。牛乳, 豆乳のプレーンヨーグルト発酵試験結果についても, 報告する。

F-8 くさや発酵液の抗菌性に関する性状試験
○三城慶佳, 内藤温貴, 岡野紗季, 丸山雅史 (愛媛大・農)

【目的】食品, 畜産, 養殖, 医療, 環境など様々な産業分野および人々の生活において, 微生物汚染やそれを起因とする疾病は深刻な問題である。抗菌物質は微生物制御における最も汎用的な手法の一つであり, 現在多くの抗生物質や化学合成剤が活用されている。しかしながら, これらは効果的である反面, 人体や環境に対する負の影響が問題となっており, それらを補完するかあるいは代替となる新たな物質が求められている。そこで我々は古来食されてきた発酵食品の保存性に着目し, それら食品成分や関与する発酵微生物から有用な物質が得られないか模索してきた。本報告では, 伊豆諸島で古くから製造されてきたくさや発酵液から抗菌活性を見出したので報告する。

【方法・結果】くさや発酵液を硫酸分画法またはアセトン沈殿法により処理し, それぞれの沈殿物および上清画分を得た。これを試料として一般汚染菌や食中毒菌, 病原菌およびそれらの類縁菌など多種多様な真菌類や細菌類に対して網羅的に生育阻害試験を行った結果, アセトン上清画分に顕著な阻害活性がみられた。阻害の程度に差はあるものの, *Bacillus* 属, *Enterococcus* 属, *Staphylococcus* 属などのグラム陽性細菌, *Escherichia* 属, *Pseudomonas* 属, *Serratia* 属, *Vibrio* 属などのグラム陰性細菌, *Aspergillus* 属, *Penicillium* 属, *Rhodotorula* 属の真菌類といった分類学的帰属を問わず広く阻害することを確認した。現在さらにその物質の性状について検討している。

F-9 納豆菌が産生するバクテリオシンの精製と性状
○黒田侑夏子, 三浦太輝, 岡野紗季, 丸山雅史 (愛媛大・農)

【目的】様々な産業分野において抗菌物質を利用した効果的な微生物制御が求められている。納豆は古来習慣的に食されてきた日本の伝統的発酵食品であり、その栄養価は言うまでもなく多様な生理活性が数多く紹介されている。本研究ではそれら生理活性の中から抗菌性に着目し調査した結果、近年注目されるペプチド性抗菌物質であるバクテリオシンを一般的な納豆菌株から見出した。その精製および性状と展望について報告する。

【方法・結果】試験には日本三大納豆菌株として知られる成瀬株, 高橋株, 宮城野株に加え全国的に広く食されている市販納豆から分離した3株を用いた。各種納豆菌株が様々な検定菌のコロニー形成を阻害するかどうか、その様子を寒天拡散法により網羅的に調査したところ、試験したすべての納豆菌株がグラム陽性菌に対して広く生育阻害したことに加え、一部のグラム陰性菌、真菌にもその活性が認められた。このことは菌体外に何らかの抗菌物質を分泌したことを示唆する。そこで宮城野株を取り上げ、その培養液から硫酸分画, SepPak C18, TSKgel Protein C4-300 の一連の精製操作により抗菌物質を単一にまで精製した。本物質は SDS-PAGE および TOFMS 分析から分子量約 3400 ダルトンであり、諸性質をふまえ総合的に検討した結果、バクテリオシンの一種である Subtilisin A であると結論づけた。既報にある通り酸性領域での高い安定性を確認したことに加え、今回新たに *B.cereus*, *S.aureus*, *E.faecalis* 等に対する生育阻害活性並びに、一部の株に対してバイオフィーム形成阻害活性を示すことを明らかにした。

F-10 シカ糞便由来チーズスターター好適乳酸菌の選抜と同定
○福島 渉, 黒岡紗季, 坂本夏帆, 安藤悠佳, 森田英利, 荒川健佑
(岡山大院・環境生命)

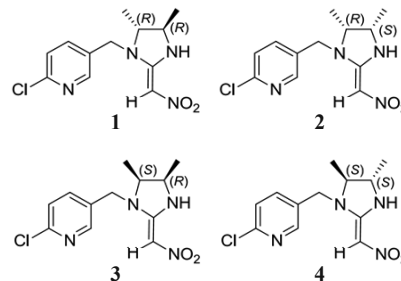
【目的】日欧 EPA の発効によって安価で高品質なチーズが大量流入することが予想され、国内畜産業においては、差別化を図るための国産チーズスターターの開発が急務になっている。そこで本研究では、岡山県で捕獲されたシカ糞便由来の乳酸菌からチーズスターターに好適な菌株を選抜することとした。

【方法】まず、供試 200 菌株の生育至適温度を調べた後に、低温 (15℃) での生育性を評価した。低温生育性のあった菌株は、還元脱脂乳 (RSM), グルコース添加 RSM, トリプトン添加 RSM およびグルコース・トリプトン添加 RSM (RSM-GT) にて培養し、ラクトース資化性とペプチド要求性を評価した。次に、RSM-GT に寒天を重層することによってガス生産性を、2.0% NaCl の添加によって耐塩性を試験した。ガス非産生かつ耐塩性の菌株については、リパーゼ活性試験、芳香物質生産性試験およびプロテアーゼ活性試験を行い、各試験からチーズスターター好適乳酸菌を選抜した。選抜菌株については、16S rRNA 遺伝子解析によって菌種を同定した後、薬剤感受性試験等によって安全性を評価した。

【結果】供試 200 菌株のうち低温生育性を示したのは 105 菌株で、うち 3 菌株は RSM-GT でも生育しなかったため以降の試験から除外した。残った 102 菌株はいずれも乳中ガス非産生株で、93 菌株は耐塩性を示した。次いで、リパーゼ活性試験、芳香物質産生試験およびプロテアーゼ活性試験を行い、各々で高い値を示した約 20 菌株を選抜した。選抜菌株は *Lactobacillus curvatus*, *Lb. plantarum* および *Pediococcus pentosaceus* であり、いずれもラクトース資化能を有していた。安全性については試験中である。

G-1 イミダゾリジン環エチレン部位にジメチル基を有するイミダクロプリド類縁体の立体選択的合成およびイエバエに対する殺虫活性の評価
○山村円香, 山内 聡, 西脇 寿 (愛媛大院・農)

【目的】ネオニコチノイド系殺虫剤であるイミダクロプリドのニトロメチレン体 (CH-IMI) のイミダゾリジン環エチレン部位に methyl 基をひとつ立体選択的に導入した類縁体に関して、イエバエに対する殺虫活性や共力剤の効果が methyl 基の置換位置によって異なることが明らかとなっている。イミダゾリジン環の 4 位と 5 位の両方にそれぞれ methyl 基を導入した dimethyl 体の生物活性は有用な知見を与えると考えられるため、本研究では 4 種の dimethyl 体 (1~4) を立体選択的に合成し、殺虫活性を評価した。

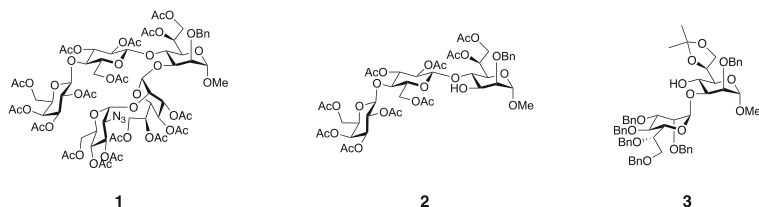


【方法・結果】Propanoyl chloride を出発原料として、オキサゾリジノン不斉補助基を導入したのち acetaldehyde と反応させて dimethyl 部位を立体選択的に構築し、1 および 4 を合成した。また、L-alanine methyl ester を (R)-(+)-methyl *p*-tolyl sulfoxide と反応させたのち、ZnBr₂ 存在下で DIBAL 還元することで、dimethyl 基を有する中間体を立体選択的に合成し、2 および 3 を合成した。次に、合成した類縁体をイエバエのメス成虫に注射投与し、1 時間後の症状を観察して 50% 効果薬量 ED₅₀ (pmol/fly) を求めた。dimethyl 基を導入することにより mono-methyl 体と比較して殺虫活性は低下し、特に 4*S*,5*R* 体 (2) の活性は大幅に低下した。また、piperonyl butoxide の共力効果は認められなかった。

G-2 ナイセリア属細菌が産生するリポオリゴ糖の中性コア糖鎖の合成研究
○一柳 剛, 大谷直輝¹, 成本裕文, 後久保春花
(鳥取大・農, ¹鳥取大院・持社創生)

我々は、ナイセリア属細菌が産生するリポオリゴ糖のコア糖鎖合成に取り組んでいる。本発表では、*trans*-ビシナルジオールから分岐した構造を持つコア 5 糖糖鎖の合成方法について報告する。

標的 5 糖 1 は L-グリセロ-D-マンノヘプトース (Hep) の 3,4 位が分岐し構造である。このような *trans*-ビシナル位で分岐した構造は立体混雑のため構築困難とされている。これまでの研究で、4 位に糖鎖を有する Hep 受容体 2 に対する 4-*O*-グリコシル化が 3 位に糖鎖を有する Hep 受容体 3 の 4 位水酸基へのグリコシル化よりも効率的であること、反応溶媒の選択が重要であることを見いだしている。今回、前者の経路による 3+1+1 の逐次合成および 3+2 のブロック合成を行い、合成効率を比較検討した。その結果、工程数、立体選択性、収率それぞれに長所、短所があることが明らかになった。



G-3 カロライナジャスミンの花弁に含まれる PTP1B 阻害活性物質の探索
○垣添佑介, 野下俊朗, 田邊 聖¹, 大内秀一², 田井章博³
(県広大・生命環境, ¹県広大院・生命シ, ²近畿大・薬, ³徳島大・生物資源)

【目的】カロライナジャスミン (*Gelsemium sempervirens*) は北米原産のマチン科ゲルセミウム属の常緑蔓性低木であり, 全草にゲルセミンなどの有毒なインドールアルカロイドを有している。これまでの予備試験の結果, カロライナジャスミンの花弁抽出物は PTP1B 阻害活性を示すことが明らかになった。本植物の花弁抽出物が PTP1B 阻害活性を有しているという報告はこれまでない。そこで, 本研究ではカロライナジャスミンの花弁に含まれる PTP1B 阻害活性物質の単離, 構造決定を目的とした。

【方法・結果】カロライナジャスミンの花弁を CHCl₃, MeOH で順次抽出し各抽出物を得た。各抽出物を用いて PTP1B 阻害活性試験を行ったところ CHCl₃抽出画分に強い阻害活性があることを確認した。そこで, 活性本体を解明するために, CHCl₃抽出画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィー及び *p*TLC によって精製を進めたところ, PTP1B 阻害活性を有する化合物を単離することができた。同化合物を各種機器分析により構造解析した結果, ウルソール酸と同定した。ウルソール酸が PTP1B 阻害活性を有していることの報告例は存在していることから, 本植物の PTP1B 阻害活性成分はウルソール酸であると結論づけた。*Gelsemium* 属植物の PTP1B 阻害活性に関する報告および *Gelsemium sempervirens* にウルソール酸が含まれているという報告はこれまでなく, 本報告が初めての報告である。

G-4 *Pochonia suchlasporia* の固体培養により生産される糸状菌胞子発芽阻害物質
(第2報)
○片岡智範, 神崎 浩, 仁戸田照彦 (岡山大院・環境生命)

【目的】当研究室ではこれまでに, 押し麦を培地とする固体培養において, 糸状菌 *Pochonia suchlasporia* が, β -N-acetylglucosaminidase 阻害物質 pochonidine¹⁾, asteltoxin 類縁体である殺虫活性物質 ET-1²⁾, および糸状菌胞子発芽阻害物質³⁾を生産することを見出してきた。Pochonidine および ET-1 には, 糸状菌胞子発芽阻害活性は認められなかったことから, 本研究では, 糸状菌胞子発芽阻害物質の構造決定に向けた精製および各種分析を行った。【方法・結果】*P. suchlasporia* 培養物の MeOH 抽出物を H₂O および EtOAc で溶媒分画したところ, H₂O 画分に胞子発芽阻害活性が認められた。この H₂O 画分を Oasis HLB カートリッジカラムに供したところ, 75% MeOH 溶出画分に胞子発芽阻害活性が認められ, 試料重量当たりの活性 (比活性) が大幅に上昇した。この画分を 10 kDa の限外ろ過に供したところ, 膜非透過画分に胞子発芽阻害活性が認められ, 比活性がさらに上昇した。本画分は数 μ g/mL の濃度で糸状菌 *Aspergillus niger* の胞子発芽を阻害し, タンパク質合成阻害剤 cycloheximide と同程度の活性を示した。本画分を NMR 分析に供したところ, アシルグリセロール類またはその類似化合物の存在が示唆され, TLC 分析の結果と合わせて, 本画分中には複数の構造類似化合物が含まれていることが示唆された。そこで, さらなる精製により活性化合物を単離し, 構造解析を行う予定である。¹⁾H. Usuki, M. Toyooka, H. Kanzaki, T. Okuda, T. Nitoda, *Bioorg. Med. Chem.*, **17**, 7248-7253 (2009), ²⁾Suminto ら, 2019 農化支部合同大会 (沖縄) A-a02, ³⁾片岡ら, 2019 農化大会 (東京) 3D5a13

- G — 5 Antioxidant and anti-tyrosinase activities of the invasive weed *Andropogon virginicus* L.
OLa Hoang Anh, Nguyen Van Quan, Tran Dang Xuan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

Objectives

Andropogon virginicus is an invasive weed which widely distributes in the southwestern Japan. This research aims to discover the beneficial constituents of *A. virginicus* extracts in terms of antioxidant and anti-freckle activities.

Methods and Results

Dried aerial parts of *A. virginicus* were extracted by methanol, ethanol, aqueous methanol and ethanol (80% and 50%) and distilled water. The defatted extracts were obtained and used for evaluating the contents of total phenolics (TPC), total flavonoids (TFC), antioxidant and anti-tyrosinase abilities. The highest TPC was found in the extract by 50% aqueous methanol (25.5 mg GAE/g DW). Whilst, the extract by 50% aqueous ethanol contained the highest TFC (50.0 mg RE/g DW). At the concentration of 0.5 mg/mL, all extracts displayed a remarkable lipid peroxidation inhibition by β -carotene bleaching model. The extract by 100% ethanol showed the strongest anti-radicals in both ABTS and DPPH assays (IC_{50} = 69.5 and 62.2 μ g/mL, respectively). Notably, the extract by 100% methanol displayed the most potential tyrosinase inhibition (IC_{50} = 5.5 mg/mL). The chemical constituents of *A. virginicus* were identified by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS). The findings suggest that aerial parts of *A. virginicus* are a promising source of antioxidants and tyrosinase inhibitors, which are prospectively utilized for the prevention of skin hyperpigmentation.

- G — 6 Bioactive potentials of root extracts from tall goldenrod *Solidago altissima*
ONguyen Van Quan, Tran Dang Xuan, La Hoang Anh
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

Objectives

Roots of the invasive plant *Solidago altissima* have been merely known to possess potent allelopathic activity. Herein, we focus on finding out the biological activities of the plant roots which can be potential for medicines.

Methods and Results

Fresh roots of *S. altissima* were extracted by a liquid-liquid phase separation used methanol, hexane and water. The acquired extracts consisting of FT, FH, FM and FW were used for examining antioxidant, anti-tyrosinase and anti- α -glucosidase activities. Results showed that FT, FM and FW extracts were the most powerful antioxidants, of which, FW exhibited the strongest activity through DPPH (IC_{50} = 0.30 mg/mL), ABTS (IC_{50} = 0.37 mg/mL) and β -carotene scavenging (LPI = 90.76%) assays. Additionally, the extracts displayed a considerable anti-tyrosinase activity with IC_{50} values of 15.33, 17.79 and 15.28 mg/mL for FT, FM and FW extracts, respectively. Notably, only FH extract had an inhibitory effect on α -glucosidase (IC_{50} = 0.71 mg/mL), a key enzyme linked to type 2 diabetes. The α -glucosidase inhibition of FH extract was 3.9 times greater than that of acarbose, a well-known diabetic inhibitor. Our findings concede that the roots of *S. altissima* have beneficial biological activities that can be utilized for producing cosmetics as well as anti-diabetic pharmaceuticals. The isolation of bioactive compounds and other medicinal properties from *S. altissima* roots should be further elaborated.

G — 7 Utilization of momilactones in rice for functional foods
OTran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

Momilactones A and B have been known as phytoalexins and allelochemicals in rice. They can be found in rice organs such as leaves, stems, roots, root exudate, and husk. However, we have found that the two compounds show a much stronger correlation with tolerance to environmental stress such as drought and salinity than allelopathy in rice. On the other hand, our recent research has revealed that momilactones A and B are potential diabetic inhibitors by exerting strong α -glucosidase, α -amylase, and trypsin inhibitory activities. Momilactones A and B also express a remarkable anti-obesity activity. The in vitro enzymatic assays on pancreatic elastase and tyrosinase indicate that MA and MB were significant to relief skin wrinkles and freckles. In addition, both momilactones A and B also exhibit promising anticancer activities which need further investigation. The presence of momilactones A and B can be found in bran, essential oil, as well as white rice grain by advanced liquid chromatography techniques integrated with electrospray ionization and tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). Our findings indicate that rice grain and rice by-products with rich momilactones A and B are potent for the development of functional foods as well as cosmetics.

H-1 IV型チョコレートの開発とその安定性に関する研究 ○趙 蘭萱, 上野 聡 (広島大院・統合生命)

【背景・目的】チョコレートの主な成分はココアバターと糖及びカカオマスが挙げられる。ココアバターの物性を制御することはチョコレートの品質を大きく左右する。ココアバターには I 型から VI 型まで6種の結晶多形が知られている。I 型多形の融点が一番低く、VI 型多形の融点が一番高い。現在我々が食する市販のチョコレートは「V 型」多形であり、V 型多形の融点は体温直下約 33℃であり、口中で速やかに融解する。一方、IV 型多形は融点が V 型多形より低いと、より速やかな口溶け感が得られると考えられる。しかし、IV 型多形は不安定な結晶多形をとることが知られており、どのようにして安定化させるのかは知られていない。そこで、IV 型チョコレートの作製とその安定化法を開発することを目的として研究を行っている。

【方法】ココアバターを IV 型で安定化させるため、PSP などの β' 型油脂 (融点 58℃) とココアバターを混ぜた後融かし、60℃にて 10 分間以上十分に加熱した。その後、示差走査熱量測定 (DSC) 用のアルミパン及び X 線回折測定用の試料セルに充填して、5℃、10℃、15℃に急冷させ、急冷直後 (0 日)・1 日後・5 日後・2 週間後、1 ヶ月後の時間経過において多形転移挙動を調べた。放射光 X 線回折法及び DSC を用い、ココアバターの結晶多形及び融点を観察する。これらの測定を繰り返し、様々な PSP 含有量と冷却温度について測定を試みた。

【結果】PSP 添加量を 1%、2%、5% と添加させるにしたがって、ココアバターの β' 型から β 型への多形転移が遅くなったが、冷却温度を 5℃、10℃、15℃に上昇させるにしたがって β' 型から β 型への多形転移が速くなった。以上の結果より、PSP の添加によりココアバターの多形転移を制御することが可能であると判明した。

H-2 チョコレートにおける油脂移行速度評価のための拡散係数および接触角の測定 ○河野菜穂, 上野 聡, 本同宏成¹ (広島大・生物生産,¹ 静岡県立大・食品栄養科学)

【目的】チョコレートクッキーなどの油脂性複合菓子では、油脂移行によりチョコレート表面にブルームが生じ、品質劣化として問題となっている。油脂移行の駆動力として拡散と毛管力が提唱されている。近年、毛管力による移行が拡散を上回ることが理論的、実験的に示された。しかし、それぞれの速度の上限については未だ理論的に議論されていない。本研究では、油脂移行分析の新しい方法として干渉計を用い、油脂移行評価の指標となる拡散係数および接触角を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】拡散係数測定では、チョコレートの主成分であるココアバターとフィリング油の代替油脂としてキャノーラ油を用いた。測定用セルに、ココアバター結晶を入れキャノーラ油を充填し、ココアバターが溶出する様子を観察した。干渉計を用いた拡散現象の観察では、ココアバター結晶から溶け出した油脂分子がキャノーラ油中に拡散し、生じる濃度場を可視化することができる。本実験では、20、22、24℃における濃度勾配を観察した。別で求めたキャノーラ油中のココアバター溶液の屈折率の結果と合わせ、濃度勾配・屈折率・拡散係数の関係式から、キャノーラ油中のココアバターの拡散係数を $6.96 \times 10^{-12} \sim 1.12 \times 10^{-11} [\text{m}^2/\text{s}]$ と算出した。接触角測定では、25℃の温度調節ステージ上に干渉縞を映したココアバターの固体脂を置き、同温の液状ココアバターを 2 μL 滴下して、滴下前と滴下後の干渉縞を比較した。滴下後固体脂表面でわずかに干渉縞に変化がみられたことから、固体脂上に液油が広がったと考えられる。この干渉縞の微小な変化から、ココアバターにおける固体脂と液油の接触角を算出した。

H-3 流量変化を利用した粒子分散系食品の粒子計測
○三次薫乃子, 川井清司¹, 羽倉義雄¹
(広島大・生物生産,¹広島大院・統合生命)

【目的】 近年、コーンスープやトマトピューレなど、粒による食感やテクスチャーにこだわった粒子分散系食品が増えている。このような食品の粒子濃度や粒子サイズを定量的に評価することは、製品開発や加工プロセスの管理において重要であるが、インライン測定でこれらの流動特性を分析した研究は少ない。そこで本研究では、自作の管内流動特性測定装置を用い、粒子含有試料を流動させ、その際の流量変化を読み取ることで、流動中の粒子数のインライン計測を試みた。

【方法・結果】 粒子分散系食品のモデル試料を調製し、管内流動特性測定装置内で試料を流動させた。分散媒にはキサントガム水溶液、粒子にはアルギン酸ナトリウム粒子を用いた。粒子を含有する試料では、粒子が流量測定部を通過する際に流量が頻繁に変化するため、流動波形に複数のピークがみられた。本研究では、単位時間当たりの流速の振動回数を振動頻度と定義し検討を行った。異なる分散媒濃度の試料を一定の圧力で押し出し、流動波形を測定した。分散媒濃度の減少に伴い、単位時間当たりの振動頻度は増加し、各分散媒濃度において単位流量当たりの振動回数はほぼ一定の値となった。粒子濃度が異なる試料について、異なる粒子濃度の試料を用い、流速を変化させ流動波形を測定した。粒子濃度の増加に伴い振動頻度は増加する傾向が見られ、両者には良好な相関関係が認められた。しかし、流速が一定以上の条件では、粒子濃度と振動頻度との間の相関性は低下する傾向を示した。以上のことから一定の流速以下では、振動頻度を用いて流動中の粒子数を計測可能であることが明らかになった。

H-4 キャパシタンス測定による高温フライ油中の分散水の検出
○田仲 翼, 川井清司¹, 羽倉義雄¹ (広島大・生物生産,¹広島大院・統合生命)

【目的】 フライ調理は、脱水を伴う調理方法の一つであり、食品産業において幅広く利用されている。揚げ種に含まれる水は高温のフライ油で加熱され水蒸気として系外に排出されるが、その一部はフライ油に残存する。フライ油中に水が存在すると、油脂の加水分解などでフライ油の劣化が促進される。油中の水分を制御することでフライ油の劣化を抑え、油を長持ちさせることが可能になる。本研究では、高温のフライ油の静電容量を測定することで、油中の水分の検出を試みた。同時に、フライ操作時の油中に存在する水分の変動を明らかにした。また、カールフィッシャー水分計を用いて、油中の水分量を測定し、静電容量と水分量の関係を明らかにした。

【方法】 フライ油には菜種白絞油を使用した。揚げ種のモデル試料として、素焼きの板 (7.5 cm×7.5 cm×1.0 cm) に蒸留水 15 g を含浸させたものを使用した。電極には直径 5.0 mm、長さ 133.92 mm のステンレス丸棒を使用した。フライ操作の温度は 120, 150, 180, 200℃とした。

【結果および考察】 フライ操作中の油の静電容量を測定したところ、各温度で静電容量は特徴的な変化を示した。この変化は電極間の距離を変えても同様の傾向を示した。さらに、カールフィッシャー水分計を用いて油中の水分量を測定したところ、静電容量変化と類似した変化を示した。フライ操作終了後、静電容量は漸減し、一定値で安定した。このとき水分量は同様の傾向を示した。このことから、静電容量と水分量の間には高い相関性があり、静電容量の測定はフライ油の水分量管理に利用できる可能性がある。

H-5 アイスグレーズ食品のグレーズ氷の機械的分離 ○許 政, 川井清司, 羽倉義雄 (広島大院・統合生命)

【目的】冷凍状態で流通している魚介類には、表面にグレーズと呼ばれる薄い氷の膜が付けられ、貯蔵中の品質変化を防いでいる。アイスグレーズ処理は品質保持にとって有効な手段であるが、氷を完全に溶かさないと食品本体を無傷で取り出せない欠点がある。本研究では、解凍の段階で品質を低下させず、かつ鮮度及び栄養価の損失を少なくするために、アイスグレーズを機械的に分離する方法を検討した。

【試料及び方法】モデル凍結食品（魚肉ソーセージ、エビのミンチ）とグレーズ氷（純水氷）の材料力学物性を測定するため、円柱状の試験片（ $\phi 19.7 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$ ）を作成し、 $-70^{\circ}\text{C} \sim -20^{\circ}\text{C}$ の試験温度でそれぞれの物性を測定した。モデル凍結食品に純水氷のアイスグレーズを付けた試料（①純水氷グレーズソーセージ（ $\phi 19.7 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$ ）、②純水氷グレーズエビ（ $\phi 35 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ ））を作成した。各試験温度で割裂試験を行い、試験後の様子を目視で評価し、あわせて応力集中現象を用いた力学解析を行った。

【結果】割裂荷重を加えたアイスグレーズ食品について、グレーズ氷内で発生する最大発生応力がグレーズ氷の破壊応力に達した時点では、モデル食品内で発生する最大応力は食品の破壊応力に達していないことが明らかになった。これは、割裂荷重を加えることによって食品よりもグレーズ氷の方が先に破壊されることを示している。割裂試験後の様子进行评估したところ、全ての測定温度においてグレーズ氷が先に破壊し、食品を無傷で取り出すことができていた。応力集中現象により、アイスグレーズ食品のグレーズ氷を機械的に分離する可能性を示すことができた。

H-6 くさび型治具および二山形治具の応力集中を用いた縦割り切断加工の提案～治具形状による载荷安定性～ ○廣本好美, 佐藤允郎¹, 村山文仁¹, 川端康之亮¹, 前川貴浩¹, 川井清司², 羽倉義雄² (広島大院・生物圏,¹(株)極洋・塩釜研,²広島大院・統合生命)

【目的】凍結魚は漁獲直後から加工・流通の段階で凍結と解凍が繰り返され、その間に品質の低下が進む。凍結魚の切断には大型の電動鋸を用いるが、作業者の安全性や欠けた刃の混入などの問題がある。そこで刃物を使用しない凍結魚の切断法が求められている。演者らは、割裂荷重を用いた凍結魚の縦割りの切断加工方法を提案してきた。本報告では、縦割り切断加工にくさび型治具および二山型治具を用い、脊椎骨に沿った亀裂の発生・進展と割裂破断応力の低減について検討を行った。

【方法・結果】凍結カツオを流水解凍後、輪切り状に切断し、試験片（くさび型治具押込み試験：平均直径 $\phi 94 \text{ mm} \times$ 長さ 67 mm 程度、二山型治具押込み試験： $\phi 90 \text{ mm} \times 36 \text{ mm}$ 程度）を調製した。これを $-70 \sim -40^{\circ}\text{C}$ で凍結し、試験に供した。割裂試験には温度調節可能な材料試験機を用い、これに魚体の回転防止用のスリット溝加工（幅 $15 \text{ mm} \times$ 深さ $3 \text{ mm} \times$ 長さ 100 mm ）を施した加圧板を取りつけた。くさび型治具は上部加圧板のスリット溝に、二山型治具は上下の加圧板のスリット溝に固定し、割裂試験を行った。試験後、得られた荷重-変位曲線と目視による魚体の観察により評価を行った。その結果、くさび型治具では $-40^{\circ}\text{C} \sim -60^{\circ}\text{C}$ で、二山型治具では $-40^{\circ}\text{C} \sim -70^{\circ}\text{C}$ で縦割り切断が可能であった。くさび型治具を用いた -70°C の試験では魚体の剛性が強く治具の圧入が困難であった。二山型治具では全ての試験温度で魚体に対して安定した载荷・縦割り切断が可能であり、担鰭骨の分離も可能であった。さらにくさび型治具・二山型治具とも、縦割り切断が可能な温度範囲で、50～70%の割裂破断応力の低減効果が認められた。

H-7 衝撃荷重測定による杵つき餅の加工程度の連続測定
○庄司優衣, 川井清司¹, 羽倉義雄¹ (広島大・生物生産,¹ 広島大院・統合生命)

【目的】 餅は温度や外部から加わる力により伸びやコシといったテクスチャーが変化する食品である。ゆえに、同じ餅でもテクスチャーは、加工方法や加工の温度により異なってくる。従来の材料試験機を用いたテクスチャー評価は、測定のたびに試料を取り出す必要があり、加工中の連続的な物性変化の計測が困難であった。そこで本研究では、搗き操作に注目し、搗きながら餅のテクスチャー変化を連続的に測定・評価するインラインの計測方法を検討した。

【方法・結果】 国内産もち精米を使用した。50℃に温度調整した餅試料にロードセルを取り付けた杵を、所定の高さから自由落下させ、その時の杵が受けた衝撃力を、デジタル・オシロスコープで衝撃力波形として記録した。テクスチャープロファイルの測定には、小型の材料試験機を用いた。各搗き時間の試料を内径 52 mm のテフロンビーカーに高さ 10 mm になるよう充填し、直径 20 mm の円柱プランジャーを用いて、変形速度 1.0/sec で測定を行った。搗き時間と衝撃力波形の谷部の面積及び谷部の深さの関係は、どちらも搗き時間 2 分～10 分までは搗き時間の増加に伴い、値は増加傾向を示し、10 分以降は一定の値に落ち着いた。テクスチャープロファイルの測定では、ピーク荷重及び圧縮時の仕事量の関係は、どちらも搗き時間の増加に伴って減少する傾向を示した。テクスチャー測定と衝撃力波形測定の結果を比較すると、ピーク荷重と谷部の面積、圧縮時の仕事量と谷部の深さは良好な負の相関関係を示した。これにより、杵つき加工中の餅のテクスチャー変化を連続的に測定できる可能性が示唆された。

H-8 リン脂質結合型 DHA の結合位置の違いが消化吸収性に及ぼす影響の検討
○山浦凜子¹, 渡辺 嘉², 室田佳恵子^{1,3},
(¹ 島根大院・自然科学, ² 大阪産技研・森之宮セ, ³ 島根大・生資科)

【背景・目的】 DHA は脳や神経組織の正常な発達や機能維持に重要な必須脂肪酸である。これまでの研究で、ラットに魚油（トリグリセリド）を投与した時と比べて魚卵由来リン脂質投与時の方が吸収後にリンパ液に出現するリン脂質結合型 DHA が増加することを明らかにした。本研究では、DHA の結合位置が異なるリン脂質（1-DHA-PC および 2-DHA-PC）を用いて、消化性と吸収パターンの関係を明らかにすることを目的とした。【方法】 1-DHA-PC および 2-DHA-PC にホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) またはパンクレアチンを加え、37℃で 30 分インキュベートした。反応溶液中の全脂質を TLC を用いて分離し、ホスファチジルコリン (PC), リゾホスファチジルコリン (LPC), 遊離脂肪酸 (FFA) の各画分の脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーで分析した。また、リンパカニュレーションラットを用いて、吸収実験を行った。【結果・考察】 PLA₂ 消化では、どちらの PC から優先的に *sn*-2 位に結合している FA が遊離した。パンクレアチン消化では、同様に大部分の *sn*-2 位の FA が遊離したが、2-DHA-PC では *sn*-1 位の FA の遊離量が増加し、DHA が結合した LPC も少量確認された。1-DHA-PC の場合、2-DHA-PC よりも多くの DHA-LPC が消化産物として生成したが、吸収実験の結果、DHA は PC の再合成にはあまり使われていなかった。以上のことから、DHA 結合型リン脂質は小腸管腔内で消化された後、腸管細胞内代謝の際に、*sn*-1 位に結合した DHA は LPC から分解され TG の再合成に使われやすいが、*sn*-2 位に結合した DHA は分解されずにそのまま PC の再合成に使われやすいのではないかと考えられた。

H-9 さつま砂糖漬け製法に使用する魚種が品質に及ぼす影響
○小林聡子, 横山文二, 辰野竜平, 古下 学, 福田 翼 (水大校・食品科学)

【目的】さつま砂糖漬けは、江戸時代の料理集「鯛百珍料理秘密箱」(1785 年)に記載されている薩摩地方のタイ魚肉を用いた保存食である。さつま砂糖漬けは、二年以上発酵させた味噌(以下、三年味噌)への漬け込みの後、砂糖漬けを行うことにより製造される。本研究では、様々な魚種を用いてさつま砂糖漬けを製造し、その品質に及ぼす影響について調査した。

【方法・結果】さつま砂糖漬けは、「鯛百珍料理秘密箱」を参考にして製造した。本研究ではタイ・スズキ・カツオ・ブリを使用した。三枚おろしにした各魚肉に食塩をもみ込み、紙タオルを用い4℃で一晩保存した。その魚肉を1 cm 幅にスライスし、4℃で48 時間三年味噌に漬け込んだ(以下、味噌漬けと表記)。三年味噌に漬け込まないもの(以下、未処理と表記)は、スライスした魚肉をそのまま4℃で48 時間保存した。これらの魚肉を砂糖に漬け込み、20℃で3 ヶ月まで保存した。全ての魚種において、保存期間中の細菌数は味噌漬けの方が未処理よりも低かった。また、保存期間中の10%TCA 可溶性窒素量においても、味噌漬けの方が未処理よりも高かった。そこで、保存2 ヶ月目の総遊離アミノ酸量を調査したところ、タイとスズキでは味噌漬けの方が未処理よりも高かったが、カツオおよびブリでは未処理の方が味噌漬けよりも高かった。さらに味分析を行うとタイとスズキでは味噌漬けを行った方が旨味が強くなったが、カツオとブリでは未処理の方が旨味が強かった。すなわち、タイ・スズキである白身魚とカツオ・ブリである赤身魚では、さつま砂糖漬け製法が品質に及ぼす影響が異なることが示唆された。

H-10 エビ及びカニに含まれるビタミン B₁₂ 量と B₁₂ 化合物の特性について
○岡本奈穂¹, 濱口菜摘², 美藤友博^{1,2}, 渡邊文雄^{1,2}
(¹鳥取大院・連農, ²鳥取大・農)

【背景・目的】ビタミン B₁₂ (B₁₂) は主として動物性食品に含有されており、特に我が国においては魚介類が主要な B₁₂ 供給源とされている。しかし、アワビやサザエなどの巻貝ではヒトにおいて生理的に不活性なシュード B₁₂ が主要な B₁₂ 化合物であることを明らかにした (Bito *et al.*, Fish Sci, 84, 747-756, 2018)。一方、甲殻類であるエビやカニに含まれる B₁₂ 化合物に関する知見は少ない。本研究では4 種のエビ及びズワイガニに含まれる B₁₂ 量及び B₁₂ 化合物の特徴を詳細に検討した。

【方法】エビ及びカニを筋肉部と頭部内臓部に分け、各部位の B₁₂ 含量を五訂増補日本標準食品成分表で採用されている微生物学的定量法により測定した。さらに、LC/ESI-MS/MS 分析を行い各試料中の B₁₂ 化合物を精密に検討した。

【結果・考察】エビ及びカニの筋肉部の B₁₂ 含量は 2.5-4.8 µg/100 g、頭部内臓部では 12-33 µg/100 g と筋肉部よりも高い B₁₂ 含量を示した。LC/ESI-MS/MS 分析において、エビの筋肉部では B₁₂ のみが検出された。一方、エビ・カニの頭部内臓部には B₁₂ 以外に B₁₂ よりコリン環の質量が 1 及び 2 大きい化合物 A 及び B が検出された。それぞれ B₁₂ の酸加水分解物であり、化合物 A は B₁₂-d-モノカルボン酸と同定し、化合物 B は B₁₂-ジカルボン酸と推定し、現在検討中である。

Ⅰ－１ 精製ココナツ油の胃内投与はラットの脳ケトン体レベルを上昇させる ○近藤奨太，藤谷美菜，岸田太郎（愛媛大院・農）

【目的】アルツハイマー型認知症は脳神経細胞におけるグルコースの取り込み能低下が原因の一つと考えられている。中鎖脂肪酸トリグリセロール（MCT）を摂取すると胃酸やリパーゼにより中鎖脂肪酸が生成する。中鎖脂肪酸は肝臓に輸送され、グルコース代替エネルギー源であるケトン体に代謝される。アルツハイマー型認知症患者に MCT を摂取させることで、血清ケトン体濃度が増加し、記憶力の低下が抑制されるという報告があり、ケトン体が神経細胞のエネルギー源となることで記憶力の低下が抑制されるかもしれない。しかしながら、直接的な脳のケトン体レベルの測定はほとんど行われていなかった。そこで、本研究では MCT を豊富に含む精製ココナツ油を摂取させた場合の海馬および大脳皮質の総ケトン体濃度を測定した。【方法】9 週齢の雄性 SD ラットを 6 日間飼育し、ベースライン群（ $n=6$ ）、偽投与群、精製ココナツ油（CO）投与群、トリオレイン酸グリセロール（C18）投与群に分けた。各油脂を 10 g/kg 体重 で投与し、2, 4, 6 時間後に各群 6 匹ずつ尾静脈より採血した後、マイクロウェーブアップリケーターを用いて屠殺した。海馬、大脳皮質を採取し、ケトン体濃度を測定した。【結果】血清遊離脂肪酸、TG 濃度では CO 投与による有意な影響はみられなかった。一方で、血清総ケトン体濃度は CO 投与 4 時間後で有意に上昇し、海馬総ケトン体濃度、大脳皮質総ケトン体濃度も有意に上昇した。C18 投与群は血清 TG 濃度のみ偽投与群と比較して有意に上昇した。【考察】CO 由来の中鎖脂肪酸が肝臓でケトン体に代謝され、海馬および大脳皮質のケトン体濃度が上昇することが示唆された。

Ⅰ－２ ビートファイバー摂取は摂取エネルギーを低下させ、消化管管腔内の胆汁酸量および回腸粘膜プレプログルカゴン遺伝子発現を増加させる ○前野元希，長森公寛，越智博介，藤原啓士郎，藤谷美菜，岸田太郎 （愛媛大院・農）

【目的】我々は、高脂肪飼料で飼育したラットにビートファイバー(BF)を摂取させると、摂取エネルギー(EI)が低下することを見出し、その機構解明を目指している。先の研究で BF 摂取が胆汁酸腸肝循環量を増加させることを明らかにした。胆汁酸受容体 TGR5 の活性化が食欲抑制性消化管ホルモン GLP-1 の発現および分泌を促進することが報告されていることから、BF 摂取が小腸管腔内胆汁酸量を増加させることにより GLP-1 前駆体・プレプログルカゴン(PPG)の遺伝子発現量および GLP-1 分泌を増加させるかもしれないと考え、本研究で検討した。【方法】6 週齢の SD 系雄ラットを脂質含量 20% の高脂肪無繊維飼料およびこれに BF を 7% 添加した飼料で 14, 28, 42 日間飼育した($n=10$)。【結果・考察】BF 摂取により EI が有意に減少した。14, 28, 42 日間の BF 摂取により小腸管腔内胆汁酸量の有意な増加が確認され、回腸粘膜における PPG 遺伝子発現量の有意な増加がみられた。BF 摂取による EI の低下は小腸管腔内胆汁酸量の増加とそれに伴うプレプログルカゴン遺伝子発現および GLP-1 分泌の増加に起因するかもしれない。しかし、本研究では血漿総 GLP-1 濃度に BF 摂取による有意な影響はみられなかった。GLP-1 は主に求心性迷走神経を介して食欲を低下させることから、血漿中濃度だけではなく組織形態学的な解析が必要であると考えられる。

I - 3 多価不飽和脂肪酸 DHA の代謝物の抗アレルギー効果
○金山佳毅, In-Hae Kim, 菅原卓也, 西 甲介 (愛媛大院・農)

【目的】DHA を多く含む魚を摂取すると、アレルギー症状が改善されることが疫学研究で明らかになっている。しかし、その体内でのアレルギー改善に関する詳細な機構は未だ明らかになっていない。そこで本研究では、DHA およびその代謝物がアレルギー反応で重要な役割を果たす好塩基球とマスト細胞の脱顆粒反応に与える影響を検討し、DHA の体内での作用機構を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞およびマウス骨髄由来マスト細胞の抗原刺激誘導性脱顆粒応答に及ぼす DHA およびその体内代謝物の影響を検討した。その結果、DHA の代謝物の一つである DHEA (ドコサヘキサエノイルエタノールアミド) に強い脱顆粒抑制効果が見られた。次に、細胞内シグナル伝達経路に及ぼす DHEA の影響をウェスタンブロット法により解析した。さらにその下流で引き起こされる細胞内カルシウムシグナリングの解析は Fluo-4 を用いて行った。その結果、DHEA はチロシンキナーゼ Syk のリン酸化を阻害し、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を抑制することが明らかになった。さらに、生体に与える DHEA の抗アレルギー効果を調べるために、マウスを用いた受動皮膚アラフィラキシー試験を行った。その結果、DHEA の経口投与により、抗原抗体反応に基づく脱顆粒反応が抑制されることが明らかになった。以上の結果より、DHEA は、生体内においても脱顆粒反応を抑制することが確認された。

I - 4 温州ミカン葉水溶性抽出物の *in vitro* における抗炎症効果
○伊藤誉子, 石田萌子, 門田 歩¹, 西 甲介, 菅原卓也
(愛媛大院・農, ¹伊方サービス (株))

【目的】温州ミカンは国内で最も生産量の多い柑橘である。果皮には、フラボノイド類やカロテノイド類など多くの生理活性物質が含まれており、利用が進んでいる。一方、葉にも様々な生理活性物質が含まれており、その活用方法の開発が期待されている。我々は、温州ミカン葉の水溶性成分に抗炎症効果があることを見出し、研究を進めている。今回、リポ多糖 (LPS) 刺激したマクロファージに対する炎症性メディエーター産生および遺伝子発現の抑制機構について報告する。

【方法・結果】温州ミカン葉粉末を蒸留水に懸濁し、水溶性成分を抽出した。pH を 7.4 に調整した後、分画分子量 1,000 の膜で限外ろ過して得られたろ液を、温州ミカン葉水溶性抽出物 (UCLE) とした。LPS で炎症誘導したマウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞および腹腔マクロファージ (P-Mac) に対する UCLE の抗炎症効果を検討した。検討の結果、UCLE は細胞毒性を示すことなく RAW264.7 細胞と P-Mac のインターロイキン(IL)-6 および腫瘍壊死因子(TNF)- α の産生を抑制した。そこで、シグナル伝達因子に与える影響について検討したところ、UCLE は、MAPK 経路における JNK と p38 のリン酸化および NF- κ B 経路における NF- κ B の核内移行を抑制することが明らかになった。一方、UCLE はマクロファージの食食活性には影響しないことが明らかになった。以上の結果から、UCLE は食食活性を抑制することなく、MAPK 経路と NF- κ B 経路を介した細胞内シグナル伝達を下方制御することによって、マクロファージの炎症応答を抑制すると推察された。

I - 5

河内晩柑果皮の認知機能障害改善作用の解析

○奥山 聡, 澤本篤志, 中島光業, 古川美子 (松山大・薬)

【目的】これまでに我々は、愛媛県特産柑橘「河内晩柑」の果皮に含有される化合物が抗炎症作用、神経細胞死抑制作用、脳由来神経栄養因子産生促進作用、神経新生促進作用等の脳保護作用を示すことを明らかにしてきた。そこでこれらの作用が、河内晩柑果皮粉末についても認められるか検討を行った。

【方法・結果】老化促進モデルマウス SAMP8 (5ヶ月齢, 雄) に対して、河内晩柑果皮乾燥粉末 1%添加食を 9ヶ月齢まで自由摂食させた群を P8KB とした。また対照群として、サンプル非添加食を与えた SAMP8 を P8CON 群, 正常老化を示す SAMR1 マウスを R1 群とした。Passive avoidance test による記憶学習試験の評価では、獲得記憶に関しては各群に差は認められなかったが、保持記憶に関しては P8CON 群では R1 群に対し有意に低い結果であったのに対し、P8KB 群では改善される傾向にあった。脳海馬の解析において、脳内の免疫担当細胞であるミクログリアが、P8CON 群では R1 群に対し有意に活性化されたが、P8KB 群ではその活性化が有意に抑制された。また P8CON 群では R1 群に対し、神経細胞のリン酸化タウタンパク質の亢進が認められたが、P8KB 群ではその亢進が有意に抑制された。海馬歯状回においては、神経新生マーカーが P8CON 群では R1 群に対し有意に減少したが、P8KB 群ではこれらの減少が有意に抑制された。以上のことから、河内晩柑果皮は老化に伴う脳機能障害を抑制する可能性が示唆された。さらに全脳虚血モデルマウスや肥満・2型糖尿病モデル db/db マウスの脳内においても、河内晩柑果皮は抗炎症作用、タウリン酸化抑制作用、神経新生低下改善作用などを示すことを明らかにした。

I - 6

ハーブ茶葉熱水抽出物からのチロシナーゼ活性阻害物質の探索

○浅野諒太, 平井遥香¹, 梅林志浩², 藪田行哲¹, 有馬二郎¹, 石原 亨¹, 渡邊文雄¹, 美藤友博¹

(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農, ²鳥取県産技・農産食品)

【目的】天然資源の一つであるハーブは有用な機能を示す様々な化合物を含有しており、古くからスパイスや生薬など幅広い用途で使用されている。現在は、特に飲料水や化粧品の分野においてハーブの利用が高まっている。本研究では世界で愛飲される 58 種のハーブ茶葉からチロシナーゼ阻害活性を示す天然化合物を探索することを目的とした。

【方法・結果】各ハーブ乾燥茶葉から熱水抽出サンプルを調製した。チロシナーゼ活性阻害試験は、マッシュルーム由来チロシナーゼ溶液(50 U/mL)に基質(L-DOPA)と熱水抽出サンプルを混合し、475 nm における 5 分間の吸光度変化を測定した。チロシナーゼ活性阻害を示す化合物の精製・単離には、Sep-Pak C18 カラムと HPLC を使用し、化合物の同定には LC-MS 及び ¹H-NMR を用いた。58 種ハーブ茶葉の熱水抽出サンプルの内、特にヨモギ茶葉熱水抽出サンプルから高いチロシナーゼ阻害活性(IC₅₀=0.608 mg/mL)を見出した。またチロシナーゼ阻害活性を示す化合物はクロロゲン酸の異性体であるネオクロロゲン酸であることが明らかになった。本酵素に対する阻害様式を特定するために Lineweaver-Burk プロットを作製したところ、クロロゲン酸とネオクロロゲン酸はそれぞれ混合阻害と拮抗阻害を示した。マウス由来 B16 メラノーマ細胞に終濃度 10~100 μM のクロロゲン酸およびネオクロロゲン酸を添加した結果、ネオクロロゲン酸は濃度依存的にメラニン生成量を減少させる傾向を示した。現在はネオクロロゲン酸がメラニン生成に関与する遺伝子ならびにタンパク質発現に及ぼす影響を詳細に検討している。

I-7 ラットにおけるヒシエキスの加水分解性タンニンの生体内挙動に関する基礎研究
○森 彩夏, 細川夏菜乃, 鈴木勝一, 上村知広¹, 伊東秀之
(岡山県大院・保福,¹ 林兼産業)

【目的】 トウビシ (*Trapa bispinosa* Roxb.) は中国や東南アジアの湖沼や溜め池などに生息し、果実は民間薬や茶として飲用され、健胃、滋養強壮などの効能があるといわれている。我々はヒシの果皮抽出物に強い抗糖化活性があり、その活性を有する加水分解性タンニンが存在することを報告してきた。しかし、ヒシに含まれる加水分解性タンニンのバイオアベイラビリティについては報告がない。そこで、ラットにヒシエキスを経口投与後の加水分解性タンニンの生体内挙動に関する調査を行った。

【方法】 ヒシエキス 100 mg/kg を SD 雄性ラットに経口投与後 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 h の血液（下大静脈から採血）を採取した。また、投与後 72 h までの尿も経時的に採取した。採取した血漿および尿サンプルは脱脂後、酢酸エチルにより抽出し、分析用サンプルを調製した。調製したサンプルについて、uroolithin 類を含むエラジタンニン関連代謝物、ガロタンニンおよび関連代謝物を測定対象として、HPLC-LC-MS/MS 法により定量を行った。

【結果】 エラジタンニン代謝物は尿中への排泄が遅く、ガロタンニン代謝物は早く尿中へ排泄される傾向が見られた。血中動態についても最高血中濃度到達時間がエラジタンニン代謝物では遅く、ガロタンニン代謝物では早い傾向が認められた。以上の結果から、ヒシに含まれる加水分解性タンニン由来の代謝物のタイプによって、それぞれ特徴的な尿中排泄や血中動態のパターンを示すことが明らかになった。

I-8 脱脂アマニの摂取はラットの血清および肝臓中脂質を減少させる
○稲田真子, 池田直人¹, 滝澤萌子, 山崎翔悟, 冠野由依, 福光 聡²,
藤谷美菜¹, 岸田太郎¹ (愛媛大院・農,¹ 愛媛大・農,² (株) 日本製粉)

【目的】 アマニ食物繊維の摂取が脂質代謝を改善することが報告されているが、その作用機構はほとんどわかっていない。我々は食物繊維を豊富に含むアマニ搾油残渣をラットに摂取させ、脂質代謝改善作用の機構を検討してきたが、アマニ搾油残渣にわずかに含まれる脂質が効果に影響している可能性も考えられた。したがって、本研究ではアマニ搾油残渣をヘキサン脱脂した脱脂アマニを用いてアマニ食物繊維摂取による肝臓および血清脂質低下作用の機構を推測するため、肝臓の脂質代謝関連因子の遺伝子発現を測定した。【方法】 4 週齢 SD 系雄ラットを AIN-93G に基づく無繊維高スクロース飼料を与え 5 日間馴化させた。その後高スクロース無繊維飼料群、アマニ搾油残渣 10% 添加飼料群、脱脂アマニ 10% 添加飼料群の 3 群に分け (n=8), 14 日間飼育した。糞は解剖前 3 日間採取した。【結果・考察】 アマニ搾油残渣または脱脂アマニの摂取により、血清および肝臓中性脂肪濃度が有意に低下した。この際、肝臓の脂肪酸合成酵素遺伝子発現の有意な低下がみられ、脂肪酸合成が抑制されたことが示唆された。アマニ搾油残渣または脱脂アマニの摂取によって肝臓総コレステロール量は有意に減少し、糞中胆汁酸排泄は有意に増加した。胆汁酸合成の律速酵素であるコレステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ遺伝子発現はアマニ搾油残渣摂取により有意に増加し、脱脂アマニ摂取により増加傾向がみられた。一方、血清総コレステロール濃度の有意な減少は、アマニ搾油残渣摂取の場合にのみみられたことから、アマニ搾油残渣にわずかに含まれる脂質による効果であることが示唆された。

I-9 エノキタケを栽培した針葉樹菌床の水抽出物が示す脂肪蓄積抑制効果
○畑本梨衣, 永谷直哉, 仁戸田照彦, 畑生俊光, 神崎 浩 (岡山大院・環境生命)

【目的】当研究室では針葉樹未利用バイオマスの高機能化研究を行い、木粉を含むキノコ菌床が発酵混合飼料の素材として利用できる可能性を実証してきた¹⁾。より付加価値の高い有効利用法を探索するため、キノコ菌床が有する生理活性に着目した。キノコは木質中リグニンを低分子化合物に変化させる能力を有しており、これらが様々な生理活性を示すことが報告されているが、針葉樹木粉を含むキノコ菌床に含まれる成分の機能性については知られていないことから本研究を行った。【方法・結果】試料にはスギまたはヒノキの木粉を含む培地で栽培されたエノキタケの菌床を用いた。菌床を乾燥した後、乾燥物に対して10倍量の水で抽出し水抽出物を得た。活性評価にはマウス脂肪前駆細胞を脂肪細胞へ分化させて用い、細胞内脂質を染色した後に抽出し吸光度を測定することで評価した。栽培後の菌床水抽出物は $IC_{50}=9\mu g/mL$ 以下の非常に高い脂肪蓄積抑制活性を示し、栽培前と比較して約18倍高かった。一方で、広葉樹木粉を含む培地で栽培されたシイタケの菌床を同様に活性評価したところ活性は認められなかったことから、本活性は針葉樹木粉を含む培地でのエノキタケ栽培において特徴的であることが示唆された。続いて菌床水抽出物に含まれる活性成分の性状解析を行った。限外ろ過による分子量分画、MeOH、酢酸エチルでの抽出処理、95℃10分間の処理を行い、得られた各試料を活性試験に供した。その結果、本活性に関与する化合物が10 kDa以上の分子量を有し、MeOH、酢酸エチルに対して不安定であり熱処理により活性が低下する化合物であることが明らかとなった。1)永谷ら, Pacificchem (2015)ENVR904

I-10 タウリンのコレステロール低下作用における FXR シグナルの役割
○宮田昌明, 高橋一帆, 田中知幸, 杉浦義正 (水大校・食品科学)

【目的】タウリンは一部体内で合成されるがタコ、イカ、カキなどの魚介類に多く含まれ、多くは食事あるいは栄養ドリンク等により摂取される。タウリンは多くの生理作用を有し、コレステロールの低下作用等が知られているが、この作用機序は不明な点が多い。我々はタウリンが体内の胆汁酸代謝に影響を与えることで脂質代謝調節に関与する胆汁酸の核内受容体 farnesoid X receptor (FXR)シグナルを変化させ、コレステロール低下作用を誘起する可能性を考えた。本研究では胆汁酸と FXR シグナルに着目し、タウリンによるコレステロール低下作用のうちコレステロール異化 (CYP7A1) 調節を中心に解析した。

【方法・結果】C57BL/6N 雄性 8 週齢マウスに 1%コレステロール/0.2%コール酸を添加した NMF 飼料を与え、タウリン群として 2%タウリン含有水を 10 日間自由摂取させた。胆汁酸の組成は 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase カラムを用いた HPLC で測定した。mRNA レベルは、定量 PCR で測定した。タウリン群ではコントロール群に比べ肝内コレステロールレベルの有意な低下が認められた。肝臓、小腸内容物中の胆汁酸組成の解析により両群間で総胆汁酸量の有意な差異は認められなかったが、タウリン群の小腸内容物中で FXR のアンタゴニストのタウロ β ムリコール酸の有意な増加が認められ、肝臓においては FXR のアゴニストのタウロコール酸の有意な減少が認められた。FXR シグナルの指標となる標的遺伝子の肝臓 SHP mRNA レベルは変動しなかったが、小腸 FGF15, SHP mRNA レベルはタウリン群で有意に減少し、これらの因子を介して抑制的に発現調節される肝臓 CYP7A1 mRNA レベルの有意な増加が認められた。

J-1 植物の生育に及ぼす暗期パルス光照射の影響

○三輪浩平², 木村祐太¹, 武田真樹¹, 上田愛巳¹, 宇山裕貴¹, 米村彩乃¹,
間島莉夢², 山田裕一², 谷川浩司², 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

【背景, 目的】露地栽培は天候の影響を受けやすいことから, 今日は安定した周期栽培が可能な施設園芸や植物工場が注目されている。しかし, 人口光や空調設備などといった光熱費が掛かってしまう。そのため, 収穫回数を増やせる高速栽培技術が求められている。これまでの研究で暗期に植物の睡眠を妨げない程度の周期性のある弱い光を照射すると植物の生育促進が確認された。そこでパルス光の周期や強度を変えた時の植物の生育への影響について明らかにした。

【方法, 結果】レタスを屋内で水耕栽培し, 定植 4 週間後に収穫を行った。明期 12 時間は蛍光灯, 暗期 8 時間はパルス光を照射した。そこで PPFD を同じにした青色パルス光, 赤青色パルス光, 青連続光をそれぞれ暗期 8 時間に照射した。収穫後, 重量を測定するとコントロールに比べ, 青色パルス光, 赤青色パルス光, 青連続光では重量比が 1.6 倍, 1.1 倍, 0.97 倍となった。このことから, まず連続光ではほぼ変化がなく, 生育促進には周期をもったパルス光でないといけないことが分かる。また, 赤色が混ざっていると, 生育促進が抑制されていることも分かった。これまでの研究結果も含めると最も生育促進効果があるのは周期 13~20 μ s, Duty 比 0.08~0.10, PPFD=0.05 の規則正しい青色パルス光であることが分かった。また本研究と同様の技術で行ったイチゴの栽培試験では, コントロールと比べて暗期に青色パルス光を照射したものは糖度やクロロフィル量 (SPAD 値) が増加するという結果が得られている。

J-2 蓼藍の生育と代謝に及ぼす夜間パルス光照射の影響

○間島莉夢², 木村祐太¹, 武田真樹¹, 三輪浩平², 上田愛巳¹, 米村彩乃¹,
宇山裕貴¹, 谷川浩司², 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

【背景・目的】藍には, 発がんやアトピーの抑制作用があり, 染料以外に食用としての利用が考えられている。しかし人工染料の普及によって藍の生産量は減少傾向にある。そのため限られた農地での効率の良い生産が求められている。本研究では, パルス光照射を行い藍の生育を促進させ, 内在成分への影響を明らかにする。

【方法・結果・考察】屋内水耕栽培と屋外露地栽培の 2 通りを行った。水耕栽培では白色蛍光灯を 12 時間, 青色パルス光を 8 時間照射し, 露地栽培では日没後に青色パルス光を 6 時間照射した。光合成有効光量子束密度 (PPFD) は, 白色蛍光灯: 130 μ mol/m²s, 青色パルス光源: 0.05 μ mol/m²s を用いた。並行して露地栽培では, 葉の SPAD 値の測定を行った。栽培終了後, 重量, 葉に含まれるインジカン量を測定し, 得られた結果からコントロールとの比較を行った。水耕栽培, 露地栽培共に全重量と葉の重量がコントロールと比べ約 1.7 倍であった。このことから暗期にパルス光を照射することで藍においても生育促進効果があることがわかった。SPAD 値は増加の傾向が見られ, インジカン含有量は単位重量あたり約 1.3 倍であった。作付面積あたりインジカン量をコントロールと比べて 2 倍以上にすることが期待できる。暗期に微弱な光が当たることでクロロフィルが増加し, 明期の光利用効率を増加させていると考えた。グルコースはインジカンの生成に必須であり, パルス光照射によるインジカン含有量の増加は, 藍の代謝経路に影響を与えていると考えられる。

J-3 微弱光合成による農作物生育促進効果

○木村祐太¹, 武田真樹¹, 三輪浩平², 上田愛巳¹, 宇山裕貴¹, 米村彩乃¹,
間島莉夢², 山田裕一², 谷川浩司², 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

[背景・目的]年間を通じ安定した栽培が可能な施設園芸や植物工場が注目されている。施設園芸や植物工場では室温やCO₂濃度などを制御しているが、光合成の光利用効率を上げる試みはあまりされていない。本研究では、微弱な光合成がクロロフィルを増加する効果があることを明らかにする。さらに、クロロフィル増加により農作物の生育が促進され代謝産物が増加することを示す。

[方法・結果]実験対象をミニトマトとし、水耕方式で暗期微弱光照射の有無による生育の対照実験を90日間行った。蛍光灯を明期の光源として12時間照射した。実験区には、蛍光灯照射後の暗期に発光ピーク波長:449 nm, Duty比<0.2のパルス光を8時間照射した。光合成有効光量子束密度(PPFD)は、蛍光灯=130, パルス光<0.1であった。対照区のトマトの蕾や花、実の総数と糖度を測定し、得られた結果や外観を基準に暗期微弱光合成の効果を調べた。糖度は糖度屈折計のBrix%値から求めた。蛍光灯のみを照射した対照区と比べて、暗期に微弱な光合成を起こした実験区のトマトは高さが約1.5倍になり、蕾や花、実の総数は2倍近くまで増加した。糖度は平均1.5度高くなった。このことから、暗期微弱光合成には農作物の生育促進効果や、代謝産物の増加効果があると結論できる。また、本研究と同様に暗期に微弱な光合成を起こさせる方法でイチゴを栽培した対照実験では、対照区と比べて実験区のイチゴの糖度や葉のクロロフィル量(SPAD値)が増加するという結果が得られている。微弱光合成の生理学的な作用については今後の研究課題である。

J-4 Citrus mosaic virus を検出するウサギモノクローナル抗体の作製

三好省吾, 徳永 聡, 小澤龍彦¹, 竹田浩之, 青野光男², 三好孝典²,
岸 裕幸¹, 村口 篤¹, 清水伸一², 〇野澤 彰, 澤崎達也
(愛媛大・プロテオセ, ¹富山大院・医薬, ²愛媛県・果樹研セ)

【目的】Citrus mosaic virus (CiMV)は柑橘類に感染し、カンキツモザイク病を引き起こす病原ウイルスである。カンキツモザイク病を発病した樹木は、樹勢が衰弱し、果実の小玉化、糖度低下および収量低下を生じる。本研究ではカンキツモザイク病の防除体制を強化するために、農業現場でのCiMV感染診断を可能にするCiMV検出キットの構築に向けたウサギモノクローナル抗体の作製を試みた。

【方法・結果】本研究では、CiMVのAz-1株のコートプロテインスモールサブユニットの配列を基にしたペプチドを抗原としてウサギに免疫した。単一の抗体産生細胞から直接抗体コード遺伝子の単離を可能とするISAAC法を利用することで、33種の抗体遺伝子候補を取得できた。これらの遺伝子から培養細胞を用いて抗体を産生し、それらがCiMVコートプロテインスモールサブユニットを認識するかをAlphaScreen法により検討した。その結果、8種の抗体がCiMVコートプロテインスモールサブユニットを認識することが確認された。これらの抗体遺伝子の塩基配列(重鎖および軽鎖の可変領域)を決定したところ、3種の異なる抗体遺伝子が取得できたことが明らかになった。次にBiacoreを利用して、これらの抗体と抗原に用いたペプチド配列との親和性を解析した結果、これら3種の抗体は抗原に対し非常に高い親和性を有することが明らかになった。また、Dot-blot解析において、感染葉中のCiMVを検出できることが確認された。今後は、本研究で取得したCiMVに対するウサギモノクローナル抗体を利用しCiMV検出キットを作製したいと考えている。

J-5 乾燥ストレス下における野生種スイカのメタボロームおよびシトルリン代謝遺伝子の発現挙動
○西岡拓哉¹, 只野翔大², 金谷潤宏³, 辻本 壽^{1,2,4}, 明石欣也^{1,2,3,4}
(¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大院・連農, ³鳥取大院・農, ⁴鳥取大・乾地研)

【目的】野生種スイカはアフリカ南部のカラハリ砂漠に自生する乾燥・強光ストレス耐性の C3 型植物で、ストレス下で葉にシトルリンを高蓄積させる。しかしながら、野生種スイカにおける一次代謝の全容と、シトルリン代謝の制御機構については不明な点が多い。本研究では、乾燥ストレス下における野生種スイカのメタボロームおよびシトルリン代謝遺伝子の発現挙動を解析した。

【方法・結果】乾燥ストレスを付与した野生種スイカ葉のメタボロームを LC/MS/MS により解析した結果、ストレス日数の増加に伴い、シトルリンやアルギニンだけでなく多くの疎水性アミノ酸の含量が増加しており、また有機酸ではクエン酸含量が増加していた。一方、アスパラギン酸やピルビン酸含量は有意に減少しており、ストレス下の野生種スイカ葉においてシトルリン代謝だけでなく一次代謝全般のバランスが変化することが示唆された。シトルリン代謝経路の各酵素遺伝子の発現を RT-qPCR により解析した結果、乾燥ストレス下で酵素活性が増加すると以前に報告されているシトルリン生合成初発酵素の *N-acetylglutamate synthase* (NAGS)や、経路 2 段階目の *N-acetylglutamate kinase* (NAGK)は、その mRNA 蓄積量が乾燥ストレス前後で有意に変化しないことが示された。一方、乾燥ストレス下で酵素活性が減少するシトルリン分解酵素 *argininosuccinate synthase* (ASS)は、乾燥ストレス時に mRNA 蓄積量が有意に減少していた。これらのことから、乾燥時の野生種スイカにおけるシトルリンの高蓄積には、シトルリン関連酵素遺伝子の転写制御だけでなく転写後制御も関与する可能性が示唆された。

J-6 葯・花粉発達における COP II 小胞輸送因子 AtSec23 の機能解析
○柴原 葵, Aboulela Mostafa, 蜂谷卓士, 中川 強 (島根大・総科セ)

【背景・目的】植物の花粉の発達において小胞輸送が重要な役割を果たしていることが明らかになっている。シロイヌナズナには、7 種類の Sec23 ホモログ (AtSec23A~G) が存在しており、当研究室において AtSec23A 単独破壊株および AtSec23D 単独破壊株で花粉の表層構造であるエキシンの網目パターンが異常になること、また *atsec23ad* 二重破壊株ではエキシンやタペート細胞 (葯の最内層に位置し、花粉形成に働く) の発達が大きく阻害されることが見いだされ、AtSec23A および AtSec23D が花粉壁形成に必要な脂質およびタンパク質等の ER 排出を調節することによって花粉壁の発達およびエキシンのパターン形成の役割を担っていることが示唆された。本研究では他の Sec23 ホモログである AtSec23F について、単独あるいは二重破壊株を用いて花粉形成への影響を調べることにした。【方法・結果】AtSec23F の単独破壊では表現型が観察されなかった。次に AtSec23A との二重破壊株 *atsec23af* を調製して観察した。その結果、*atsec23a* に起因するエキシンパターン異常に加え、花粉がつぶれ葯からの放出が低下することが見いだされた。また、栽培温度の影響により表現型の程度が異なっていた。Sec23 ホモログのうち AtSec23A と AtSec23D の破壊でのみエキシンパターンが異常になる原因として、ホモログ間での発現パターンの違い、あるいはタンパク質構造・機能の違いが考えられた。*atsec23a* および *atsec23d* 単独破壊株を用いて *atsec23a* 単独破壊株に ProAtSec23A-AtSec23B~G コンストラクトを、*atsec23d* 単独破壊株に ProAtSec23D-AtSec23A~C, E, F, G コンストラクトを遺伝子導入し、花粉の表現型を調べた。その結果、これらのコンストラクトでは相補されず、AtSec23A と D 破壊でのみ花粉異常となる原因はホモログ間のタンパク質構造・機能の違いによるものであることが示唆された。

J-7 アブシジン酸信号伝達における活性カルボニル種の標的因子の役割
○佐永田達也, 中村俊之, 宗正晋太郎, 中村宜督, 村田芳行
(岡山大院・環境生命)

植物には一対の孔辺細胞に囲まれた気孔と呼ばれる小孔が存在する。気孔の開閉は、蒸散やガス交換の調節に関与しており、様々な植物ホルモンによって厳密に制御されている。乾燥ストレスによる気孔閉口は、植物ホルモンの一つであるアブシジン酸 (ABA) の信号伝達によって起こる。ABA が気孔閉口を誘導する信号伝達において、孔辺細胞内で過酸化水素などの活性酸素種 (ROS) の発生や細胞質 Ca^{2+} 濃度の上昇が起こる。活性カルボニル種 (RCS) は、 α , β -不飽和カルボニル構造を含む物質である。生体内では、ROS と生体膜の脂質が反応することで、アクロレインや 4-ヒドロキシ-(*E*)-ノネナールといった RCS が生成する。当研究室は、気孔閉口を誘導する ABA 信号伝達において RCS が Ca^{2+} 濃度上昇の上流で機能することを明らかにした。しかし、ABA 信号伝達における RCS の標的因子は不明であり、RCS による孔辺細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇の分子機構は解明されていない。そこで本研究では、ABA 信号伝達における RCS と ROS の孔辺細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇機構の違いを調べるために、RCS と ROS が誘導する孔辺細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇の変化を観察した。

実験には、 Ca^{2+} レポーター蛍光タンパク質である Yellow Cameleon 3.6 (YC3.6) を発現するシロイヌナズナ孔辺細胞を用いた。 Ca^{2+} 濃度の変化に反応して起こる YC3.6 の蛍光強度比の変化を測定することにより、無傷の孔辺細胞を用いて細胞質 Ca^{2+} の濃度変化をイメージングすることが可能となる。また、アクロレインを RCS として使用した。

J-8 Evaluation of phytochemicals and antioxidant activity of some new Vietnamese rice lines
○Bodipo Sorizo Gerardo, Tran Dang Xuan, Nguyen Van Quan
(Grad. Sch. Inter. Develop. Coope., Hiroshima Univ.)

Objectives

This study aims to determine the valuable phytochemical contents including phenolics and momilactones A (MA) and B (MB); and to evaluate the antioxidant activity of some new Vietnamese rice lines.

Methods and Results

Leaf and grain extracts of five new rice lines (K1-K5) were used for determination of DPPH and ABTS scavenging activities and phytochemicals comprising total phenolic content (TPC) and MA and MB. The ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (UPLC-ESI-MS) was used to identify and quantify MA and MB contents. The results showed that K2 grain exerted the strongest antioxidant activity in both DPPH ($\text{IC}_{50} = 0.18 \text{ mg/mL}$) and ABTS ($\text{IC}_{50} = 0.15 \text{ mg/mL}$) assays. K4 leaf exhibited the highest DPPH scavenging ability ($\text{IC}_{50} = 0.41 \text{ mg/mL}$) while K1 leaf performed the most potent ABTS elimination ($\text{IC}_{50} = 1.22 \text{ mg/mL}$). On the other hand, TPC was found to be highest in K3 leaf and K1 grain extracts which were 1.50 and 0.45 mg GAE/g DW, respectively. The highest MA content was quantified in leaves of K3 and K4 with the same amount of 1.64 $\mu\text{g/g DW}$ and K1 grain (0.24 $\mu\text{g/g DW}$). Meanwhile, MB was only detected in K3 (0.47 $\mu\text{g/g DW}$) and K4 (0.28 $\mu\text{g/g DW}$) leaves, and K1 grain (0.07 $\mu\text{g/g DW}$). This study suggests that new rice lines K1, K3 and K4 are potential in developing medicinal rice with high contents of antioxidants (total phenolics) and antidiabetic agents (MA and MB).

Objectives

The *Clausena indica* fruit is commonly used for food ingredients and traditional medicines in tropical countries, however, information about its biological activities and chemical profiles has been limited. This study was conducted to evaluate antioxidant and antidiabetic potentials; and investigate active components of *C. indica* fruits.

Methods and Results

A bio-guided fractionation of antioxidants and α -amylase inhibitors from ethyl acetate (ME) and hexane (MH) extracts of *C. indica* was carried out in vitro. Seventeen fractions from ME (T1-T17) and 11 fractions from MH (D1-D11) were obtained from column chromatography over silica gel, which were then examined for anti-radical capacity (DPPH and ABTS) and pancreatic α -amylase inhibition, a key enzyme linked to diabetes. Of isolated fractions, the fraction T4 showed the most potent anti-DPPH activity ($IC_{50} = 0.13$ mg/ml), whereas T2 exhibited the strongest ABTS scavenging ability ($IC_{50} = 0.31$ mg/ml). In the enzymatic assay, fractions T4 and D3 remarkably inhibited α -amylase reaction with IC_{50} values of 0.34 and 0.86 mg/ml, respectively. The active constituents from fractions were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). This study is the first to investigate antioxidant and anti- α -amylase activities of *C. indica* fruits. Findings suggested that *C. indica* fruits can be a promising source for the development of natural antioxidant and antidiabetic agents.

賛 助 企 業

- ・天野エンザイム(株)
- ・アルファー食品(株)
- ・池田糖化工業(株)
- ・(株)猪原商会 山口営業所
- ・エイチビィアイ(株)
- ・(株)えひめ飲料
- ・(株)大熊
- ・大塚器械(株) 西条支店
- ・岡山県酒造組合
- ・オハヨー乳業(株)
- ・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
- ・協和発酵バイオ(株)
山口事業所生産技術研究所
- ・麒麟ビール(株) 岡山工場
- ・(株)近畿日本ツーリスト中国四国 広島支店
- ・久保田商事(株) 広島営業所
- ・寿製菓(株)
- ・三栄源エフエフアイ(株)
- ・(株)サン・クロレラ
- ・(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
- ・正晃(株) 山口営業所
- ・(株)ソフィ
- ・(株)大愛
- ・大興産業(株)
- ・大山乳業農業協同組合
- ・大洋香料(株)
- ・(有)タグチ
- ・中国ケミー(株)
- ・鳥取科学器械(株)
- ・鳥取サイエンス(株)
- ・(有)友田大洋堂
- ・日本オリーブ(株)
- ・白牡丹酒造(株)
- ・(株)林原
- ・(有)ビーエムステーション
- ・備前化成(株)
- ・ひまわり乳業(株)
- ・(株)氷温研究所
- ・(株)フジワラテクノアート
- ・(株)扶桑理化
- ・プロテノバ(株)
- ・丸善製菓(株)
- ・マルトモ(株)
- ・(株)三ツワフロンテック
- ・宮下酒造(株)
- ・(株)宮田薬品
- ・ヤスハラケミカル(株)
- ・ヤマキ(株)
- ・(株)やまだ屋
- ・八幡物産(株) (五十音順)

2020年1月10日現在 55社