

支部創立20周年記念
日本農芸化学会中四国支部第59回講演会

講演要旨集

日時：2021年6月12日（土）13時00分開会
オンライン開催（広島大学大学院統合生命科学研究科）



日本農芸化学会中四国支部

支部創立20周年記念
日本農芸化学会中四国支部第59回講演会（例会）

オンライン開催（広島大学大学院統合生命科学研究科）

開催日：2021年6月12日（土）

10:00~11:00 幹事打合会 (Zoom)

11:10~12:00 支部参与会 (Zoom)

13:00~13:15 2021年度中四国支部奨励賞 授賞式 (Zoom)

13:15~13:55 受賞講演 (Zoom)

2021年度中四国支部奨励賞

「腎臓におけるAryl Hydrocarbon Receptor Repressorの機能に関する研究」

清水英寿 (島根大・生資科)

「地域資源・未利用資源からのチロシナーゼ酵素阻害物質の探索」

美藤友博（鳥取大・農）

13:55～14:20 受賞講演 (Zoom)

2021年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞

「ヒスチジン含有機能性ペプチドの探索, および応用研究」

Thanutchaporn Kumrungsee (広島大院・統合生命)

15:00~17:35 一般講演 (A~D会場, Zoom)

一般講演 会場一覧表 (Zoom)

会場	講演番号	分類・発表部屋名
A	A1 ~ A10	遺伝子・ゲノム, 酵素・タンパク質
B	B1 ~ B13	微生物
C	C1 ~ C9	植物, 有機化学・天然物化学
D	D1 ~ D9	動物, 食品

一般講演 座長一覧表

会場	講演番号	座長
A	A1 ~ A3	緋田安希子 (広島大院・統合生命)
	A4 ~ A7	渡邊研志 (広島大院・統合生命)
	A8 ~ A10	藤井創太郎 (広島大院・統合生命)
B	B1 ~ B4	久米一規 (広島大院・統合生命)
	B5 ~ B8	船戸耕一 (広島大院・統合生命)
	B9 ~ B13	渡邊研志 (広島大院・統合生命)
C	C1 ~ C5	冨永るみ (広島大院・統合生命)
	C6 ~ C9	田中若奈 (広島大院・統合生命)
D	D1 ~ D3	鈴木卓弥 (広島大院・統合生命)
	D4 ~ D6	矢中規之 (広島大院・統合生命)
	D7 ~ D9	山本祥也 (広島大院・統合生命)

注意)

1. Zoomのブレイクアウトルームの機能を用いた口頭発表にて行います。各演者が共有機能を用いて発表を行います。
2. 一番目の演題を 15:00～開始いたします。
3. 発表 9分, 質疑応答 2分, 交代 1分を目安として進行いたします。

講

演

会

プ

ロ

グ

ラ

ム

支部創立20周年記念
日本農芸化学会中四国支部第59回講演会（例会）
プログラム

オンライン開催（広島大学大学院統合生命科学研究科）

開催日：2021年6月12日（土）

10:00~11:00 幹事打合会 (Zoom)

11:10~12:00 支部参与会 (Zoom)

13:00～13:15 2021年度中四国支部奨励賞 授賞式 (Zoom)

13:15～13:55 受賞講演 (Zoom)

2021年度中四国支部奨励賞

「腎臓におけるAryl Hydrocarbon Receptor Repressorの機能に関する研究」

清水英寿（島根大・生資科）

座長：塩月孝博（島根大・生資科）

「地域資源・未利用資源からのチロシナーゼ酵素阻害物質の探索」

美藤友博（鳥取大・農）

座長：有馬二郎（鳥取大・農）

13:55~14:20 受賞講演 (Zoom)

2021年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞

「ヒスチジン含有機能性ペプチドの探索, および応用研究」

Thanutchaporn Kumrungsee (広島大院・統合生命)

座長：水沼正樹（広島大院・統合生命）

15:00~17:35 一般講演 (A~D会場, Zoom)

◇ 一般講演プログラム

A会場「遺伝子・ゲノム，酵素・タンパク質」

- A-1 15:00 *Aurantiochytrium* 属のゲノム育種による脂質生産性の向上
○新本佳子，長谷川真輝，渡邊研志，秋 庸裕
(広島大院・統合生命)
- A-2 15:12 酵母の遺伝子改変における選択マーカーへのビアラホス耐性遺伝子 (*bar*) の適用
○野村諭史¹，北村憲司^{1,2}
(¹広島大院・統合生命，²広島大・自然科学研セ)
- A-3 15:24 分裂酵母におけるアグマチナーゼホモログ遺伝子 *agm1⁺*，*agm2⁺*の機能解析
○飯田健斗，田中寛大，石井友惟，青木克幸，田中直孝，田淵光昭
(香川大院・農)
- A-4 15:36 Cloning, overexpression and purification of a NADP-dependent malic enzyme with unusual thermostability from psychrophile *Shewanella livingstonensis* Ac10
○羅宮臨風，神田拓己¹，田島誉久¹，藤井創太郎¹，三本木至宏¹，緋田安希子¹，加藤純一¹
(広島大院・先端物質，¹広島大院・統合生命)
- A-5 15:48 ジケトピペラジン合成を志向した D-アミノ酸アミド加水分解酵素の機能改変
○江良祐一，有馬二郎¹
(鳥取大院・持社創生，¹鳥取大・農)
- A-6 16:00 好熱菌 *Thermus thermophilus* 由来シトクロム *c'*の熱安定化機構の解明
○吉見太佑，三本木至宏，藤井創太郎
(広島大院・統合生命)
- A-7 16:12 超好熱菌 *Thermotoga maritima* 由来アスパラギン酸キナーゼに関する研究
○西野祥平，櫻庭春彦
(香川大院・農)
- A-8 16-24 *Thermus thermophilus* HB8 由来ジスルフィド異性化酵素を用いたタンパク質の高温再生法
○岡村華依，平島史崇，根本理子，金尾忠芳，稲垣賢二，田村 隆
(岡山大院・環境生命)

- A-9 16:36 *Thermus thermophilus* HB8 由来組換えトランスケトラーゼを用いた七炭糖生産
○高松陽太, 吉田裕美^{1,2}, 神鳥成弘^{1,2}, 何森 健², 吉原明秀²
(香川大院・農,¹香川大・総合生命,²香川大・国際希少糖)
- A-10 16:48 Purification and characterization of the membrane-bound aldehyde dehydrogenase AldFGH of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5.
○Miah, R.¹, Nina S.¹, Kataoka, N.^{1,2}, Matsutani, M.³, Matsushita, K.^{1,2}, Yakushi, T.^{1,2}
(¹Grad. Sch. Sci. Tech. Innov.,²RCTMR, Yamaguchi Univ.,³Tokyo Univ. Agric)

B会場「微生物」

- B-1 15:00 分裂酵母の核-細胞質間輸送システムによる核サイズ制御機構の解析
○藤本堯玄, 水沼正樹, 久米一規
(広島大院・統合生命)
- B-2 15:12 分裂酵母の CoQ 生合成に関与する転写因子の探索と遺伝子高発現による影響の解析
○高塚こまち¹, 角 陽香², 松浦啓太², 柳井良太², 西原昇瑚², 戒能智宏^{1,2,3},
川向 誠^{1,2,3}
(¹島根大院・自然科学, ²島根大・生資科, ³島根大・農生命系)
- B-3 15:24 メチオニン代謝産物による寿命制御機構の解析
○古原優希, 小川貴史, 金井宗良¹, 曾我朋義², 水沼正樹
(広島大院・統合生命, ¹酒総研, ²慶應大・先端生命)
- B-4 15:36 転写制御因子による COP II 小胞輸送の制御機構の解明
○中里光希, 加藤萌伊, 金井宗良¹, 池田敦子, 船戸耕一
(広島大院・統合生命 ¹酒総研)
- B-5 15:48 出芽酵母における転写制御を介したスフィンゴ脂質代謝制御機構の解明
○白井里樹, 小松楠於, 石野裕子, 間嶋 淳, 田中直孝, 田淵光昭
(香川大・農)
- B-6 16:00 出芽酵母エイソソーム機能解明のための *sde* 変異株の単離と原因遺伝子の同定
○吉澤昂志郎, 坂田健太郎, 田中直孝, 田淵光昭
(香川大・農)
- B-7 16:12 *Acidovorax cirulli* 推定エフェクターAave_4606 の機能解析
○兔子尾真菜, 藤原祥子, 田中直孝, 田淵光昭
(香川大・農)
- B-8 16:24 *Aurantiochytrium* 属によるリグノセルロース系バイオマスからの脂質生産
○西嶋美保, 渡邊研志, 黛 新造¹, 秋 庸裕
(広島大院・統合生命, ¹出光興産(株))
- B-9 16:36 ゲノム編集によるナンノクロプシスの増殖能力向上の試み
○喬 侑, 川崎 健, 藤江 誠
(広島大院・統合生命)

- B-10 16:48 ウシグソヒトヨタケ 1-オクテン-3-オール生成能欠損体の菌食者抵抗性の評価
○府内里紗, 手嶋 琢, Pattana Kakumyan¹, 内海俊彦, 向井裕美², 村上柳太郎,
肥塚崇男, 中沢威人³, 本田与一³, 松井健二
(山口大院・創科, ¹メーファーラン大・理, ²森林総研, ³京大院・農)
- B-11 17:00 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* のクオラムセンシングが自己凝集性に及ぼす影響
○坂口直子, 谷口彰吾, 阿座上弘行¹,
(山口大院・創科, ¹山口大・中高温微研セ)
- B-12 17:12 複合試料を用いた *Ralstonia solanacearum* の走化性センサーの特性化
○東口海斗, 緋田安希子, Asmaa Ali Ahmed Ibrahim, 田島誉久, 加藤純一
(広島大院・統合生命)
- B-13 17:24 アガロース加水分解物を認識する細菌走化性センサーの特性化
○才崎周平, 加藤純一, 田島誉久, 緋田安希子
(広島大院・統合生命)

C会場「植物，有機化学・天然物化学」

- C-1 15:00 窒素欠乏ストレスに対するアスコルビン酸代謝の応答と機能
○岩上拓己，小川貴央，石川孝博，丸田隆典
(島根大院・自然科学)
- C-2 15:12 シロイヌナズナ Nudix hydrolase による細胞内ピリジンヌクレオチド代謝の生理的意義
○植木ももこ，丸田隆典，石川孝博，吉村和也¹，重岡 成²，小川貴央
(島根大院・自然科学，¹中部大・応生，²近畿大・附属農場)
- C-3 15:24 植物におけるフラビン輸送体の探索と機能解析
○桑田日佳里，杉本琢隼，丸田隆典，石川孝博，吉村和也¹，重岡 成²，小川貴央
(島根大院・自然科学，¹中部大・応生，²近畿大・附属農場)
- C-4 15:36 植物のフラビン代謝調節に関する新規転写因子の生理機能解析
○原田美帆，難波純也，丸田隆典，石川孝博，吉村和也¹，重岡 成²，小川貴央
(島根大院・自然科学，¹中部大・応生，²近畿大・附属農場)
- C-5 15:48 ラズベリー様香気物質の効率的生産を目指した植物フェニルプロパノイド経路の合理的代謝工学
○財田幸歩，肥塚崇男，藤井浩也，杉山暁史¹，矢崎一史¹，西原昌宏²，松井健二
(山口大院・創科，¹京大・生存研，²岩手生工研)
- C-6 16:00 茶の若葉と成熟葉における CPC 様遺伝子の発現
○若松寿衣，田中若奈，藤井創太郎，三本木至宏，富永るみ
(広島大院・統合生命)
- C-7 16:12 シロイヌナズナの根毛形成に関与する MYB 転写因子の機能解析
○長尾幸祐，富永るみ
(広島大院・統合生命)
- C-8 16-24 柑橘類スダチ果皮抽出液による EGFR-ERK 経路を介した表皮角化細胞の増殖・分化の制御
○安部庄剛，下田毬絵¹，金岡大樹¹，新居佳孝²，山崎博子¹，湯浅恵造
(徳島大院・先端技術，¹松山油脂(株)，²徳島工技セ)

C-9 16:36 麹菌固体培養による杜仲葉二次代謝産物の微生物変換

○村上 響，奥川日菜乃，山下秀行¹，三木翔平¹，仁戸田照彦，神崎 浩
(岡山大院・環境生命，¹樋口松之助商店)

D会場「動物，食品」

- D-1 15:00 糖尿病性骨格筋萎縮モデルマウスの STZ 投与方法と病態解析
○宮田賢周, Tolulope Peter Saliu¹, 富永ひかる, 八澤菜央¹, 橋本孝太郎¹,
亀沢実音, Thanutchaporn Kumrungsee¹, 矢中規之¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)
- D-2 15:12 動物を用いた OGTT 経口糖負荷試験による DPPIV 阻害性 AW および WV の活性型
GLP-1 とインスリン濃度の変化
○関 英治, 山根拓也¹, 薩 秀夫², 大久保岩男³
(ヤマキ (株), ¹阪大・工, ²前工大院・工, ³三笠総合病院)
- D-3 15:24 糖尿病性腎症マウスに与える糖転移ヘスペリジンの予防効果
○亀沢実音, 八澤菜央¹, 橋本孝太郎¹, 富永ひかる, 石橋真紀², 遠藤 伸²,
Thanutchaporn Kumrungsee¹, 矢中規之¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命, ²(株) 林原)
- D-4 15:36 ビタミン B₁₂ 欠乏症とアルツハイマー病の発症の関連性について
○谷本圭祐, 山本 葵¹, 藪田行哲, 渡邊文雄, 美藤友博
(鳥取大・農, ¹鳥取大院・持社創生)
- D-5 15:48 炎症抑制効果を発揮する火落菌の探索
○山口智史, 尾原 英, 鈴木卓弥, 山本祥也
(広島大院・統合生命)
- D-6 16:00 発酵デーツ残渣エキス混合物による自然免疫応答の増強機構の解析
○服部圭優, 三本木至宏, 藤井創太郎, Thanutchaporn Kumrungsee, 長谷川桃子¹,
吉田充史¹, 鈴木卓弥, 山本祥也
(広島大院・統合生命, ¹オタフクソース (株))
- D-7 16:12 好塩基球の脱顆粒に及ぼすスタチンの効果に関する研究
○渡邊愛子, 石田萌子, 西 甲介, 菅原卓也
(愛媛大院・農)
- D-8 16-24 電気物性を用いた米の吸水過程の計測
○奥 歩実, 川井清司, 羽倉義雄
(広島大院・統合生命)

- D-9 16:36 二次元応力センサーを使用したレトルトパウチ内容物の非破壊的品質評価
○山路 愛, 川井清司, 羽倉義雄
(広島大院・統合生命)

受

賞

講

演

講

演

要

旨

腎臓における Aryl Hydrocarbon Receptor Repressor の機能に関する研究

清水英寿（島根大・生資科）

慢性腎不全の進行促進に関わるインドキシル硫酸は、健常者においても加齢と共に血中に蓄積され、腎機能低下と優位な負の相関関係があると報告されている。インドキシル硫酸は、Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR) のリガンドであり、AHR と結合後、Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator (ARNT) とヘテロダイマーを形成し、最終的に腎機能の低下を導く。また腎臓では、低酸素ストレスによって活性化が導かれる Hypoxia Inducible Factor (HIF)、特に HIF-2 α は、HIF-1 β とヘテロダイマーを形成し、赤血球産生を制御する造血ホルモン、エリスロポエチンの発現誘導に寄与する。これら 2 つの経路に存在する ARNT と HIF-1 β は、異なる分子のような印象があり誤解を受けることが多いが、実際はヘテロダイマーを形成する分子に応じて名称に違いが生じる同一の分子である。そこで、AHR の活性化によって発現誘導され、ARNT/HIF-1 β を捕捉し AHR に対するネガティブフィードバック機構に関与する Aryl Hydrocarbon Receptor Repressor (AHRR) が、HIF の転写活性にも影響を与えるのか確認を行った。低酸素刺激の代替として用いられる塩化コバルトで細胞を処理した結果、予想通り、AHRR は HIF の応答配列である Hypoxia Response Element の活性化を阻害した。よって、AHRR は、腎機能だけでなく、造血機能にも影響を与えることが示唆された。

次に、東アジア人の男性不妊、小陰茎、子宮内膜症のリスクと関連する AHRR の Single Nucleotide Polymorphism (SNP) の 1 つである Pro189Ala に着目し、この SNP が腎機能と造血機能に影響を与えるのか、人間ドックを受診している 3013 人の日本人を対象に解析を行った。参加者の内容として、男女の比率は 52.5 : 47.5、平均年齢は 51.47 歳、平均 BMI は 23.38 kg/m²、腎機能の指標となる血中クレアチニン値と推算糸球体濾過量 (Estimated glomerular filtration rate : eGFR) はそれぞれ 0.72 mg/dL と 77.05 mL/min/1.73m²、赤血球数の指標となる赤血球中のタンパク質であるヘモグロビン値が 14.01 g/dL、であった。また、非喫煙者、過去に喫煙経験のある非喫煙者、喫煙者の比率は、58.7 : 26.5 : 14.7 となっていた。遺伝子型に関しては、AHRR の 189 番目のアミノ酸が、プロリン/プロリン (Pro/Pro) である参加者は 1072 名、プロリン/アラニン (Pro/Ala) である参加者は 1296 名、アラニン/アラニン (Ala/Ala) である参加者は 407 名であった。統計解析の結果として、腎機能を示す eGFR に関しては、遺伝子型に Ala のアレルが増えるごとに、また遺伝子型に Ala のアレルが存在すると、その値が有意に上昇していた。一方、赤血球数を示すヘモグロビン値に関しては、遺伝子型に Ala のアレルが増えるごとに有意に低下、遺伝子型に Ala のアレルが存在すると低下傾向を示していた。したがって、AHRR は、AHR シグナルに作用することで腎機能の保護に働く一方、HIF シグナルに作用することで造血機能を低下させる可能性が示された。

最後に、健常ラット (9 匹) と慢性腎不全モデルラット (8 匹) との間で、腎臓における AHRR の発現量に違いが生じるのか検証を行った。まず、慢性腎不全の進行に伴い血中で濃度上昇し、かつ AHRR の発現誘導への関与が想定されるインドキシル硫酸の血清濃度を確認したところ、健常ラットでは 0.08 mg/dL だったのに対し、慢性腎不全モデルラットでは 0.52 mg/dL と上昇していた。腎臓における AHRR の発現量を免疫組織染色にて比較したところ、慢性腎不全モデルラットで約 3 倍の発現増加が認められた。これら結果より、慢性腎不全合併症の 1 つである腎性貧血に対して、インドキシル硫酸による AHRR の発現誘導に関与する可能性が確かめられた。

以上の結果から、腎機能の保護および貧血予防には腎臓での AHRR の発現誘導を抑え込むことが有効であると考えられる。したがって、AHR に対してアンタゴニスト効果を有する食成分は、腎機能および造血機能の低下を遅延させる上で有効であることが示唆された。

地域資源・未利用資源からのチロシナーゼ酵素阻害物質の探索

美藤友博（鳥取大・農）

西洋や我が国において、『美白』は古くから現代に至るまで人類の大きな関心の対象であり、これまでに数多くの美白作用を示す化合物の探索や開発が行われてきた。美白作用のターゲットとしてメラニン生成酵素群のチロシナーゼ（EC 1.14.18.1）が着目されている。本酵素はチロシンからドーパキノンへの律速となる反応を触媒し、シミやソバカス、皮膚がんの原因であるメラニンの生成に関与している。近年のナチュラル志向の高まりにより、化粧品分野では天然素材由来の安心・安全なチロシナーゼの阻害物質の探索の需要が高まっている。

我が国では少子高齢社会の他に、地域から都市部への人口移動が問題として挙げられる。この問題の解決に向けて、地域住民の生活を支える地域資源を用いて地域活性化を目指す取り組みの社会的意義が大きくなっている。これまでの研究において、地域の特産品や未利用資源の有効活用の観点から、美容・健康分野で利活用できる機能性因子を規格外の食品などから探索し、その機能性因子の作用を分子レベルで解析してきた。特に、チロシナーゼに対する阻害物質を単離・同定し、その酵素阻害機構や細胞内での作用メカニズムについて明らかにしてきたので、以下にその研究内容を示す。

鳥取県の特産品である二十世紀梨の規格外品とラッキョウの加工品である黒ラッキョウからチロシナーゼ阻害物質として、5-hydroxymethyl-2-furaldehyde ならびに cycloalliin を同定した。両化合物は食品を加熱加工する際に生産または増加する既知の化合物であったが、チロシナーゼの拮抗阻害物質として機能することをはじめて見出した。また、マウス由来 B16 メラノーマ細胞を用いた実験より、両化合物は細胞毒性を示さない低濃度で、細胞内のチロシナーゼの mRNA 発現量と酵素タンパク質量を著しく抑制することを明らかにした。チロシナーゼはメラノサイト刺激ホルモンにより活性化された cAMP シグナル経路を通じリン酸化を受けた転写因子 MITF に発現誘導を受けることが知られている。B16 メラノーマ細胞内において 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde および cycloalliin は、活性化された cAMP シグナル経路を部分的に阻害することでチロシナーゼの mRNA 発現ならびにタンパク質量を低下させた。

また、鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝学資源研究センターが保有するきのこライブラリーの中からマツオウジとハタケシメジに含有されるチロシナーゼ阻害物質として、

1,3-dihydroisobenzofuran-4,5,7-triol および 6-hydroxy-L-tryptophan を同定した。

1,3-dihydroisobenzofuran-4,5,7-triol に関しては、B16 メラノーマ細胞におけるチロシナーゼの mRNA 発現とタンパク質発現量の両方を低下させることを明らかにした。今後も、これら地域の特産品や未利用資源の有効活用に関する研究を進展させ、地域経済の活性化に貢献したい。

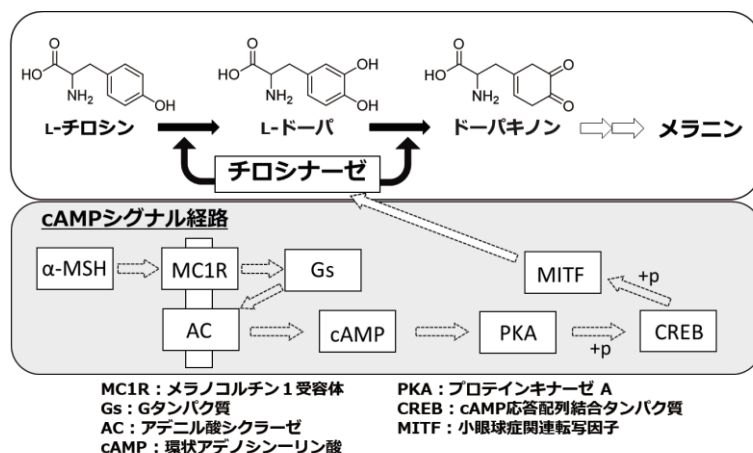


図. チロシナーゼの作用ならびに発現誘導機構

ヒスチジン含有機能性ペプチドの探索, および応用研究

Thanutchaporn Kumrungsee (広島大院・統合生命)

ペプチドは生体内において多様な生理機能を有しており, 天然界には機能未知のペプチドが数多く存在する。さらにその作用機序においても未解明な部分が多く, 天然由来のリソースとして貴重であるのみならず, 新たな創薬活動に対しても有用な情報を与えるものである。発表者は新規ペプチドの探索とその生理機能の解明に焦点を当てて研究を邁進してきた。

1. 血圧低下を指向した新規ペプチドの単離と分子機序の解明

血管内の Ca^{2+} シグナル伝達は血管収縮における主要な経路であり, 発表者は Ca^{2+} シグナリングの阻害活性を有するペプチドを探索する中で, 魚肉由来の新規機能性ペプチドである Trp-His, 大豆由来ペプチド His-Gly-Lys, および小麦胚芽由来 Trp-Val, および Trp-Ile を発見した。特に Ca^{2+} シグナルに対して強力な阻害活性を示した Trp-His の分子メカニズムとして, 血管収縮に関与する Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II (CaMK II) への阻害活性を示すことを明らかにした。*in silico* 分析により, Trp-His が Ca^{2+} -CaM 複合体形成の阻害に基づく新しい機序を有する CaM 阻害剤であることから, CaM が発症に関与する様々な疾患をターゲットとして新規薬剤の開発への利用が期待される。

2. イミダゾールジペプチドであるカルノシンファミリーを増加させる栄養因子の発見

カルノシンファミリーは, 動物の骨格筋や脳に豊富に存在する His 含有ジペプチドであるが, β -アラニン (β -Ala) と His で構成されるカルノシンは, 骨格筋に存在するジペプチドであり, 抗酸化作用などの抗ストレス作用効果を有する。骨格筋において重要な生理機能を担うと考えられており, 現在では, 機能性食品素材としても期待されている。

発表者は, 古くから栄養素として研究が行われているビタミン B_6 の食餌への添加により, 心臓においてカルノシンのみならず, ホモカルノシン (γ -アミノ酪酸 (GABA) -His) などのイミダゾールジペプチド量が顕著に増加する興味深い研究成果を得た。この研究成果は, ビタミン B_6 がイミダゾールジペプチドを調節することによって栄養機能を担う点のみならず, 従来から知られているビタミン B_6 摂取の心臓保護効果の分子機序の一端を示した点で極めて新規性の高いものである。さらにこの研究成果は, イミダゾールジペプチド量の調節においては合成基質である β -Ala, あるいは GABA の供給量の増加が極めて有効であることを示すものである。

ホモカルノシンは脳に豊富に存在するが, 骨格筋では極めて含量の低いイミダゾールジペプチドである。上記研究成果を基に, 食餌への GABA の添加は骨格筋においてホモカルノシン量を増加させることを明らかにした。以上の研究成果は, 骨格筋におけるイミダゾールジペプチド量の調節しうる新しい食環境を提案するだけでなく, 骨格筋機能を強化する手法としても有用であると期待される。

3. 実験動物を用いて非侵襲的に食品機能を試験する方法の確立

実験動物を研究に利用することは動物愛護の観点から大きな社会問題となっており, その動物実験数の削減を含めた 3R が提唱されている。3R の一つとして動物に対して痛みを伴わない非侵襲的な試験方法の開発が求められているが, 発表者は luciferase による化学発光を利用した *in vivo* imaging を機能性試験に利用することを考え, 急性期タンパク質である Serum amyloid A3 遺伝子プロモーター領域に luciferase 遺伝子を連結させたキメラ遺伝子を有するトランスジェニックマウスを開発した。同マウスを利用して, アデニン食により形成される腎臓結石による腎症を化学発光により評価する新しい手法を確立した。さらに, 化学発光を指標とした食品因子のスクリーニングにより, アデニン腎症を予防するポリフェノール類の探索にも成功し, 今後の他疾患モデルを用いた非侵襲的な試験方法としての展開が大きく期待される。

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 *Aurantiochytrium* 属のゲノム育種による脂質生産性の向上
○新本佳子, 長谷川真輝, 渡邊研志, 秋 庸裕 (広島大院・統合生命)

【目的】ラビリンチュラ類 *Aurantiochytrium* (オーランチオキトリウム) 属は様々な有用脂質を著量生産し, 多様な産業分野での利用が期待される。当研究グループはその酢酸資化性に着目して, 酢酸生成菌と組み合わせた 2 段階発酵系による未利用バイオマスや廃ガスを原料とした脂質生産システムの構築に取り組んでいる。本研究では, オーランチオキトリウム属株を酢酸を炭素源として培養した時の遺伝子発現および代謝物プロファイルの解析結果をもとに, 脂質生産性の向上に資することが期待される代謝系を標的として分子育種を試みた。

【方法・結果】トリグリセリド高生産性の *Aurantiochytrium limacinum* SR21 株において, 酢酸培養時には脂肪酸生産系の補酵素である NADPH の生成が抑制されていることが推定されたため, NADPH を供給するリンゴ酸デヒドロゲナーゼの SR21 株における相同遺伝子 (*ALME*) を単離し, 伸長因子 1 α プロモーターの制御下においた構成発現プラスミドを SR21 株に導入した。*ALME* 高発現の脂肪酸収量は対照株と比較して酢酸培養時に最大 38%, グルコース培養時に最大 115% 向上した。また, SR21 株のオミクス解析から脂肪酸の β 酸化系が酢酸培養条件下で活性化されることが推測されたため, その活性化因子である AMP-activated protein kinase の相同遺伝子 (*ALSnf1-3*) を CRISPR-Cas9 システムで破壊した。*ALSnf1-3* 破壊株の脂肪酸含有量は野生株と比較して培養後期に概ね高くなり, β 酸化系の活性化を抑制した可能性が考えられた。

A-2 酵母の遺伝子改変における選択マーカーへのビアラホス耐性遺伝子(*bar*)の適用
○野村諭史¹, 北村憲司^{1,2} (¹広島大院・統合生命, ²広島大・自然科学研セ)

【目的】遺伝子組み換え実験で使われるマーカー遺伝子は, 多重ノックアウトなどにより複数同時利用することも多いが, 利用可能な遺伝子は限られており, 種類の増加が望まれる。ビアラホスはトリペプチド様の抗生物質で, グルタミン合成を阻害する放線菌由来の抗生物質である。本研究では, 酵母において遺伝子ノックアウトやプラスミド保持などの遺伝子組み換え体を選択するために, 放線菌のビアラホス耐性遺伝子 *bar* を適用することを目的とした。

【方法・結果】ビアラホスの活性本体は細胞内で部分的に分解されて生じるグルホシネートであり, 選択薬剤としてグルホシネートを主成分とする安価な除草剤の利用を目指した。酵母のグルホシネート感受性は培地成分, 特に窒素源に大きく影響を受けたが, 窒素源がアスパラギン酸の合成培地を使うと, 分裂酵母 *S. pombe* を宿主にした *bar* 遺伝子の人為的発現によって効果的に遺伝子組換え体を選択できることがわかり, *bar* 遺伝子と既存の他の薬剤耐性マーカーを同時に使って, 染色体遺伝子の五重ノックアウト株が作成できた。ゲノム編集へも適用するため, *bar* 遺伝子がマーカーの Cas9・ガイド RNA 発現プラスミドを作成して試したところ, 目的の変異を起こすことができた。現在, 実用菌株を含む出芽酵母 *S. cerevisiae* に対しても *bar* 遺伝子の適用を試みている。

A-3 分裂酵母におけるアグマチナーゼホモログ遺伝子 *agm1*⁺, *agm2*⁺ の機能解析
○飯田健斗, 田中寛大, 石井友惟, 青木克幸, 田中直孝, 田淵光昭
(香川大院・農)

【目的】生理活性物質であるポリアミンの合成経路は 2 つ存在しており, オルニチンを介した経路が一般的な経路とされている。アグマチンを介した経路については詳細な存在意義が明らかになっていない。分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)はアルギニンデカルボキシラーゼを有していないが, 推定アグマチナーゼを 3 種類有していることからアグマチンを代謝する能力を有している可能性がある。本研究ではアグマチナーゼをコードする遺伝子をそれぞれ *agm1*⁺, *agm2*⁺, *agm3*⁺ とした。先行研究において *Agm3* が各アグマチナーゼの中で最も機能的であることが示唆されたが *Agm1*, *Agm2* については研究が進んでいない。そこで *Agm1*, *Agm2* の機能解析を進め, 最終的にアグマチンを経由するポリアミン生合成経路の存在意義を解明することを目的としている。

【方法・結果】各 *agm* 破壊株において pH 6.4, 5 mM のアグマチンを添加した合成培地では *agm3* Δ 株の生育が著しく低下した。さらに *Agm3* はアグマチンによって発現が誘導され, ゴルジ体において機能していることも明らかになった。しかし *Agm1*, *Agm2* においてはアグマチナーゼとして機能していない可能性があるためアグマチン存在下で発現するように *agm3*⁺ プロモーターの下流に *agm1*⁺ 及び *agm2*⁺ を挿入したプラスミドを作製した。このプラスミドを用いて *Agm3* の表現型が得られた pH 6.4 の合成培地に 5 mM のアグマチンを添加した培地において生育を確認したところ *agm2*⁺ で形質転換した *agm3* Δ 株の生育を回復させたことから *Agm2* はアグマチナーゼとしての機能を有している可能性が示唆された。

A-4 Cloning, overexpression and purification of a NADP-dependent malic enzyme with unusual thermostability from psychrophile *Shewanella livingstonensis* Ac10
○羅宮臨風, 神田拓己¹, 田島誉久¹, 藤井創太郎¹, 三本木至宏¹, 緋田安希子¹
加藤純一¹ (広島大院・先端物質, ¹ 広島大院・統合生命)

Background: NADP-dependent malic enzyme (NADP-ME) catalyzes a reversible oxidative decarboxylation of L-malate to pyruvate using NADP(H) as a cofactor with the help of Mg²⁺. It is widely distributed among many organisms, playing various roles. However, there are few reports on NADP-ME from psychrophile even though it is an important provider of NADPH which is a vital ingredient for membrane phospholipids synthesis.

Methods & results: In the present research, a NADP-ME with unusual thermostability from psychrophile, *Shewanella livingstonensis* Ac10, was characterized. The active *S. livingstonensis* Ac10 NADP-ME formed 100 kD homodimer in solution. It was active at a very wide range of temperatures from 4°C to 80°C and remained stable at 60°C for 3 hours. Its thermostability was verified through circular dichroism measurement, the mid-point of thermal transition (T_m) value of *S. livingstonensis* Ac10 NADP-ME being 71.9°C, which was significantly higher than that of mesophilic counterpart, *Escherichia coli* MaeB (64.6°C). It was also found that *S. livingstonensis* Ac10 NADP-ME had a more stable overall structure than the mesophilic one. Our results strongly suggested that not all proteins in psychrophile need to be cold-adapted. The fact that the psychrophilic NADP-ME was more active at higher temperatures also suggested that the NADP-ME may be involved in response to temperature changes.

A-5 ジケトピペラジン合成を志向した D-アミノ酸アミド加水分解酵素の機能改変
○江良祐一, 有馬二郎¹ (鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農)

【目的】

Streptomyces sp. 82F2 由来 D-体特異的アミド加水分解酵素 (DAH) は, Ser ペプチダーゼに属しており, アミノリシス反応を触媒してペプチドを生成する。DAH は D-アミノ酸に対して高い反応性を有するため, D-アミノ酸含有生理活性ペプチドの生産ツールとしての利用や, 生成ジペプチドの分子内環化を組み合わせたジケトピペラジン合成への応用を検討している。先行研究において, DAH の活性部位ポケットの一部の空間を埋める変異により, Ac-D-Phe-OMe と Trp を基質とした際に, 大幅なアミノリシス活性の増加が確認された。そこで本研究では, 野生型及び A267F DAH を用いて, 機能性を有するジケトピペラジンである Cyclo(D-Pro-L-Arg)合成を行い, 反応性の詳細や生産性について比較した。

【方法・結果】

D-Pro エステル体及び Arg-OEt を, それぞれ生成ジペプチドの前及び後ろに来るアミノ酸に設定し, D-Pro のエステル構造が及ぼすアミノリシス活性, 生産性への影響を野生型酵素及び A267F DAH を用いて評価した。アミノリシス活性については, 野生型酵素を用いるとエステル体を変化させても活性に大幅な変化が確認されなかった。一方で, A267F DAH では D-Pro-OBzl を用いた際に活性が大幅に増加する結果となった。生産性については, 野生型酵素を使用し, D-Pro-OMe を用いた時と A267F DAH を使用し, D-Pro-OBzl を基質として用いた際に高い生産性を示すことが明らかとなった。

A-6 好熱菌 *Thermus thermophilus* 由来シトクロム *c*' の熱安定化機構の解明
○吉見太佑, 三本木至宏, 藤井創太郎 (広島大院・統合生命)

【目的】シトクロム *c*' はグラム陰性細菌から見い出されるヘム蛋白質であり, ヘムを介して一酸化窒素などの二原子ガスを特異的に結合することから, 新たなガスセンサーとしての応用が期待できる。好熱菌 *Thermus thermophilus* 由来のシトクロム *c*' (TTCP) は他のシトクロム *c*' と比較すると熱に安定であり, TTCP の熱安定化機構はガスセンサー設計において重要な知見となる。本研究では, 常温菌 *Methyrococcus capsulatus* (Bath) 由来のシトクロム *c*' (MCCP) を比較対象として, TTCP の熱安定化に寄与する構造的特徴を解明する。

【方法】X 線結晶構造解析より TTCP と MCCP の構造を比較したところ, 両者はダイマーであり, TTCP ではサブユニット間, ヘム周辺の疎水性相互作用を強化するアミノ酸残基が MCCP よりも多く配置していた。特にサブユニット間の Phe-13, ヘム周辺の Ile-38 が TTCP 安定性に寄与すると考えられたため, それぞれのアミノ酸を MCCP の対応するアミノ酸に置換した変異体 F13S, I38V を作製し, 円偏光二色性 (CD) スペクトルを指標にそれらの熱安定性を測定した。

【結果・考察】CD 測定の結果, TTCP の変異体 F13S, I38V それぞれの変性中点温度は TTCP 野生型よりも低く, 両者の変異体の熱安定性は TTCP 野生型よりも低下していることが明らかとなった。この結果より, TTCP はサブユニット間, およびヘム周辺の疎水性相互作用を強化することによって熱安定性を向上させていると考えられる。

A-7 超好熱菌 *Thermotoga maritima* 由来アスパラギン酸キナーゼに関する研究
○西野祥平, 櫻庭春彦 (香川大院・農)

必須アミノ酸であるメチオニンやスレオニン, イソロイシンは植物や微生物にのみ存在するアスパラギン酸経路によってアスパラギン酸から生合成される。本経路では, アスパラギン酸がアスパラギン酸キナーゼ (AK) により, β -アスパルチルリン酸へ変換され, これがアスパラギン酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼによりアスパラギン酸セミアルデヒド (Asa) へと変換される。Asa はホモセリンデヒドロゲナーゼ (HseDH) によりメチオニン, スレオニン, イソロイシンの前駆体であるホモセリンへと変換される。植物や細菌, アーキアでは一番目の AK と三番目 HseDH が融合し, 二機能性酵素 (AK/HseDH) として働く酵素と, それぞれが単独で機能する酵素が存在することが知られている。本研究で単独機能型 AK の機能, 構造解析を目的とする。

ベクターに pET11a を用いた発現用プラスミドを大腸菌に導入し, 発現誘導を行った。精製は熱処理 (80℃, 20 分間), 陰イオン交換クロマトグラフィー (DEAE 650 M), 疎水性クロマトグラフィー (Butyl 650 M), ゲルろ過クロマトグラフィー (Superdex 200 pg), の 4 段階で行った。活性測定を行ったところ, 崔風精製酵素の比活性は 74.9 U/mg であった。また, 本酵素は L-Lys に対して強い感受性を持っており, L-Lys によって阻害を受けることが分かった。精製酵素を用いて結晶化を行った所, Crystl screen 2-23 の条件で微小ながらも結晶を得ることができた。今後は単独機能型 AK の酵素科学的諸性質及び構造を解明するとともに, 本酵素の結晶化条件の検討を行う予定である。

A-8 *Thermus thermophilus* HB8 由来ジスルフィド異性化酵素を用いたタンパク質の高温再生法
○岡村華依, 平島史崇, 根本理子, 金尾忠芳, 稲垣賢二, 田村 隆
(岡山大院・環境生命)

【目的】複数のジスルフィド架橋を持つタンパク質は, 組換えタンパク質として発現が困難である。高度好熱性細菌 *Thermus thermophilus* HB8 のジスルフィド架橋異性化酵素 Tth-PDI は, ペリプラズム空間に局在して分泌タンパク質の S-S 架橋形成に関わる。本研究では Tth-PDI を触媒として PCR 装置を用いた高温再生技術 (Protein Thermal Refolding) の温度プログラムを検討した。【方法と結果】タンパク質の再生を経時的に追跡するために緑色蛍光タンパク質 sfGFP に 2 本のジスルフィド架橋を導入したフォールディング基質 sfGFP-2SS を作製した。sfGFP-2SS を塩酸グアニジンと DTT の存在下で煮沸して変性させ, 過酸化水素で酸化させて蛍光が完全消失した変性 sfGFP-2SS を作製した。Tth-PDI は, pET39b ベクター上の大腸菌シグナルペプチド配列を利用して大腸菌ペリプラズム空間に組換え Tth-PDI として発現させて His-tag による精製を行った。緑色蛍光を読み取る qRT-PCR 装置を用いて, 蛍光消失した変性 sfGFP-2SS を基質, Tth-PDI を触媒とする反応系に対する昇温/降温処理を行った。高温 $\leftrightarrow$ 低温の往復サイクルにおいて高温側の 70℃ から 60℃ に導き低温側は 25℃ に固定した。蛍光回復は高温側の条件設定に強く依存することが示された。最適化した温度プログラムにおいて熱変性した sfGFP-2SS からの再生収率は 12.5% と見積もられた。

A-9 *Thermus thermophilus* HB8 由来組換えトランスケトラーゼを用いた七炭糖生産
○高松陽太, 吉田裕美^{1,2}, 神鳥成弘^{1,2}, 何森 健², 吉原明秀²
(香川大院・農,¹香川大・総合生命,²香川大・国際希少糖)

【目的】トランスケトラーゼはペントースリン酸経路内で作用する酵素で、リン酸化糖に作用することが確認されている。先行研究では、*Arthrobacter globiformis* M30 由来組換えトランスケトラーゼの酵素反応で七炭糖である D-セドヘプツロースの生産が確認された。本研究では、*Thermus thermophilus* HB8 由来トランスケトラーゼに着目し、本酵素を用いた七炭糖生産を目的とし実験を開始した。

【方法・結果】*T. thermophilus* HB8 由来組換えトランスケトラーゼを高発現する組換え大腸菌を培養し、粗酵素を調製した。得られた粗酵素液は各種カラムクロマトグラフィーに供し、酵素を精製した。精製酵素の SDS-PAGE の結果、分子量は 73 kDa であり、ゲルろ過クロマトグラフィーの結果からは 150 kDa の分子量が確認されたことから *T. thermophilus* HB8 由来トランスケトラーゼはホモ二量体を形成していることが分かった。精製酵素の比活性は 7.76×10^{-2} U/mg で、精製度は 23.6 倍まで向上した。酵素の最適 pH は pH 9.5 で、各 pH で 24 時間保存したとき最も残存活性が高かったのは、pH 7.0 のリン酸ナトリウム緩衝液で保存した時だった。最適温度は 85℃であり、10 分間の熱処理では 90℃まで、1 時間の熱処理では 70℃まで安定であった。基質として L-エリスルロースと全てのアルドペントースを酵素反応に用いたところ、D-リボース、L-リボース、D-リキソース、L-リキソース、D-キシロースの 5 つのアルドペントースを用いたとき七炭糖と思われる生産物が確認された。

A-10 Purification and characterization of the membrane-bound aldehyde dehydrogenase AldFGH of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5.
OMiah, R.¹, Nina S.¹, Kataoka, N.^{1,2}, Matsutani, M.³, Matsushita, K.^{1,2}, Yakushi, T.^{1,2}
(¹Grad. Sch. Sci. Tech. Innov., ²RCTMR, Yamaguchi Univ., ³Tokyo Univ. Agric)

Acetic acid fermentation is carried out by two-step oxidation of ethanol to acetic acid with the membrane-bound alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) of acetic acid bacteria. ALDH oxidizes acetaldehyde to acetic acid, coupled to the reduction of ubiquinone in the membrane. Then, the reducing equivalents link to the respiratory chain to reduce molecular oxygen to water. Structure and molecular mechanism of ALDH are not systematically studied yet. Therefore, some issues regarding the roles as well as chemical nature of prosthetic groups associated with ALDH remained a matter of debate (1). Recently, we reported that AldFGH, one of ALDHs, in *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 plays the major role in acetic acid fermentation and require a form of molybdopterin but not PQQ for ALDH activity through reverse genetic study (2). In the present study, we attempted to purify intact AldFGH complex using constructed triple deletion derivative $\Delta aldSLC \Delta adhAB \Delta PQQ$ of PAL5 that had lost the genes for AldSLC an ALDH, ADH, and the biosynthetic pathway of pyrroloquinoline quinone for biochemical analysis. Previous report failed to detect ubiquinone reduction activity of purified ALDH from wild-type PAL5 strain with acetaldehyde (1) but we succeeded to detect it using ubiquinone-2 (Q2) that is a short variant of artificial ubiquinone analog. We will attempt to identify the prosthetic group of ALDH and study molecular mechanism of ALDH systematically.

(1) Gomez-Manzo *et al.* (2010) *J Bacteriol* **192**, 5718-5724; (2) Miah R *et al.* (2021) *Appl Microbial Biotechnol* **105**, 2341-2350.

B-1 分裂酵母の核-細胞質間輸送システムによる核サイズ制御機構の解析 ○藤本 堯玄, 水沼正樹, 久米一規 (広島大院・統合生命)

【目的】真核生物の核サイズは細胞サイズと比例関係にあり、核と細胞の体積比（以下 N/C 比）がある一定値をとるように厳密に制御されている。また、がん細胞や老化細胞では核肥大化が観察されることから、核サイズ制御の重要性が示唆されている。しかし、核サイズ制御の仕組みやその重要性については不明な点が多い。分裂酵母の N/C 比は 0.08 を示し、細胞周期を通して一定である。私たちのこれまでの解析から、核-細胞質間輸送の適切な制御が N/C 比を 0.08 で維持するうえで重要であることがわかってきた。本研究では、核-細胞質間輸送システムによる核サイズ制御機構を明らかにするために、核外輸送に着目して解析を行った。

【方法・結果】出芽酵母において、核外輸送に重要なアミノ酸配列（核外輸送シグナル/NES）に GFP を連結した NES-GFP を過剰発現すると増殖悪化を引き起こす (Sci. Rep., 2016)。そこで分裂酵母において NES-GFP を過剰発現させたところ、増殖悪化を示した。さらに NES-GFP を過剰発現した細胞では、核の肥大化が観察され、N/C 比が顕著に増加していた。これらの結果から、細胞増殖における核サイズ制御の重要性が示唆された。現在 NES-GFP の過剰発現による核肥大化のメカニズムの解析を進めている。

B-2 分裂酵母の CoQ 生合成に関与する転写因子の探索と遺伝子高発現による影響の解析

○高塚こまち¹, 角 陽香², 松浦啓太², 柳井良太², 西原昇瑚², 戒能智宏^{1,2,3}, 川向 誠^{1,2,3} (¹島根大院・自然科学, ²島根大・生資科, ³島根大・農生命系)

【目的】コエンザイム Q (CoQ) は呼吸鎖電子伝達系の必須因子である。これまでに CoQ 生合成酵素遺伝子の解析が進められているが、その制御機構については不明である。当研究室では、分裂酵母の転写因子の遺伝子破壊株を用いてスクリーニングを行い、野生株と比較して CoQ₁₀ 量が約 0.2 倍に減少した *php2* 破壊株を得た。*Php2* は *Php3*, *Php5* と *Php* 複合体を形成し、CCAAT 配列結合型転写因子として機能するが、CoQ 生合成経路との関連性は不明である。そこで本研究では、*Php* 複合体が CoQ 生合成に与える影響についての解析を目的に、各々の *php* 遺伝子を過剰発現させた株の CoQ₁₀ 量の定量を行った。

【方法・結果】まず、野生株に *php2*, *php3*, *php5* 各々の遺伝子を単独過剰発現させ、CoQ 生合成への影響について解析を行った。*php2*, *php5* 遺伝子を単独過剰発現させると、CoQ₁₀ 量は増加していたが、コントロール株と比較して生育遅延が生じた。一方で、*php3* を単独過剰発現させても CoQ₁₀ 量は増加せず、生育遅延もおこらなかった。次に、*php2*, *php3*, *php5* を同時に過剰発現させると CoQ₁₀ 量が約 2.0 倍になったが、生育遅延は完全には抑えられなかった。生育遅延がおこっていない過剰発現株では、CoQ₁₀ 量はいずれもコントロールと比較して変化が無かったため、*php* 遺伝子の過剰発現による細胞数当たりの CoQ 量の増加は、生育遅延による影響であることが示唆された。また、*php2*, *php3*, *php5* 破壊株では、いずれの株でも CoQ 生合成量が低下するが、前駆体の PHB を添加するとその合成量が回復することを見出した。

B-3 メチオニン代謝産物による寿命制御機構の解析
○古原優希, 小川貴史, 金井宗良¹, 曾我朋義², 水沼正樹
(広島大院・統合生命,¹酒総研,²慶應大・先端生命)

【目的】我々は、出芽酵母を用いた解析から s-アデノシルメチオニン(SAM)の合成促進は食餌制限を模倣し寿命延長する、これまでにないメカニズムを提唱した。このことは SAM の拮抗阻害物質・s-アデノシルホモシステイン(SAH)を酵母に作用させるだけで再現された。そこで、SAH による寿命延長メカニズムの解明を目的に解析を行った。

【方法・結果】まず、SAH の遺伝子発現への影響を調べるためマイクロアレイ解析を行った。その結果、翻訳関連遺伝子の発現が多数低下したことから mTORC1(mammalian target of rapamycin)の機能低下が予想された。そこで、SAH による mTORC1 経路の活性に対する影響を調べたところ、SAH を野生株に作用させると Sch9 のリン酸化レベルが低下したことから、mTORC1 の活性低下が確認された。次に、オートファジーへの影響を調べたところ、SAH によるオートファジーの活性化が観察された。そこで、mTORC1 不活化のメカニズムのひとつとして、mTORC1 の活性化に関与する PP2A ホスファターゼに着目したところ、SAH 添加で PP2A の不活化が示唆された。このことから、SAH による mTORC1 の機能低下は PP2A の不活性化を介していることも分かった。現在、SAH による効果を多細胞モデル線虫でも検証している。

B-4 転写制御因子による COP II 小胞輸送の制御機構の解明
○中里光希, 加藤萌伊, 金井宗良¹, 池田敦子, 船戸耕一
(広島大院・統合生命,¹酒総研)

【目的】遺伝子発現は、シグナル伝達経路と連動して、細胞の増殖、分化、運動、生存などの細胞の運命決定に深く関与している。細胞の運命に応じて、細胞内小器官の量や状態も厳密に制御されていることが考えられる。そのため、細胞小器官のホメオスタシスは転写によって調節されていると推察されるが、そのメカニズムは明らかになっていない。本研究室の先行研究から分泌経路の入り口の役割を果たす小胞体における輸送小胞(COPII小胞)の形成に関与する Sec12 の変異株の表現型が転写因子である Ino2 と Ino4 の遺伝子の破壊により抑圧されることがわかった。このことは Ino2/Ino4 によって転写制御されている因子により COP II 小胞輸送が制御されていることを示唆している。そこで本研究では、この因子を同定することを目的に、網羅的な解析を行った。

【方法・結果】Ino2/Ino4 により転写が調節されている遺伝子をマイクロアレイ解析により探索した。その結果、発現が 2 倍以上減少した遺伝子が 175、反対に 2 倍以上増加した遺伝子が 47 個あった。減少した遺伝子の中に COP II 小胞輸送を負に制御している因子があると推察される。そのため、175 個の遺伝子を過剰発現させ、酵母の生育を阻害する遺伝子を探索した。その結果、生育を悪化させた遺伝子が 8 種類 (BAP2, GGC1, FET3, TRF5, MSG5, YIP3, DSE4, YOR338W) 見出された。現在、それらの遺伝子が COPII 小胞輸送に関与しているか解析中である。

B-5 出芽酵母における転写制御を介したスフィンゴ脂質代謝制御機構の解明
○白井里樹, 小松楠於, 石野裕子, 間嶋 淳, 田中直孝, 田淵光昭 (香川大・農)

【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 Ypk1 が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 Com2 が *YPK1* およびスフィンゴ脂質合成の初発酵素をコードする *LCB1* 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を見出し、その詳細の解明を目的とした。

【方法・結果】Com2 が *YPK1* および *LCB1* のプロモーター領域に結合していることを証明するために、 β -ガラクトシダーゼ (β -Gal) をコードするレポーター遺伝子 (*LacZ*) を *YPK1* および *LCB1* のプロモーターの下流に挿入したプラスミドを作製し、Com2 発現量が調節可能な *P_{tet-off}*-GFP-COM2 株を用いてレポーターアッセイを行った。その結果、Com2 過剰発現時に *P_{YPK1}*-*LacZ* および *P_{LCB1}*-*LacZ* において β -Gal 活性が Com2 発現抑制時と比較してそれぞれ 5 倍および 2 倍増加した。また、この Com2 依存的な発現増加はそれぞれのプロモーター上に存在する 6 塩基からなる Com2 結合配列に依存していた。以上の結果から、Com2 が *YPK1* および *LCB1* のプロモーター領域に結合し、*YPK1* および *LCB1* の転写・発現量の上昇に寄与することでスフィンゴ脂質代謝を転写レベルで制御することが示唆された。

B-6 出芽酵母エイソソーム機能解明のための *sde* 変異株の単離と原因遺伝子の同定
○吉澤昂志郎, 坂田健太郎, 田中直孝, 田淵光昭 (香川大・農)

【目的】出芽酵母形質膜上にはエイソソームと呼ばれるマイクロドメインが存在し、膜が内側に陥入した構造をもつ。エイソソームには 6 種類の 4 回膜貫通タンパク質 (6-Tsp) が存在するが、これらタンパク質のエイソソームにおける役割についてはほとんどわかっていない。我々は、同じくエイソソームに存在する BAR ドメインタンパク質である Pil1 と 6-Tsp の全て欠損した *pil1* Δ 6-*tsp* Δ 株が、界面活性剤である SDS に著しい感受性を示すことを見出した。本研究では *pil1* Δ 6-*tsp* Δ 株における SDS 感受性の原因の解明することで 6-Tsp を介したエイソソーム機能の解明を目的とした。

【方法・結果】本研究では、*pil1* Δ 6-*tsp* Δ 株の SDS 感受性を抑圧し、かつ温度感受性を示す Suppressor mutants for SDS sensitivity of eisosomal deletion mutant with temperature sensitivity (*sde*) 変異株を合計 93 株取得し、相補性試験により 6 つの相補群 (*sde1*~*sde6*) に分類した。これまでのところ、*TOR2*, *LST8*, *AVO3* が原因遺伝子として特定され、全て TORC2 複合体の構成因子の変異であった。よって *pil1* Δ 6-*tsp* Δ 株の SDS 感受性は、形質膜ストレス感知に必須な TORC2-Ypk1 経路の過剰活性化が原因であることが示唆された。しかしながら、*pil1* Δ 6-*tsp* Δ 株の SDS 感受性はスフィンゴ脂質合成阻害によって抑圧されないことから、既知の TORC2-Ypk1 経路の下流であるスフィンゴ脂質代謝の過剰活性化が原因でないことが考えられ、未知の下流因子の活性化が示唆された。現在、他の *sde* 変異遺伝子の特定を試みている。これにより TORC2-Ypk1 経路の未知下流経路が明らかになることが期待される。

B－7 *Acidovorax citrulli* 推定エフェクターAave_4606 の機能解析
○兔子尾真菜，藤原祥子，田中直孝，田淵光昭（香川大・農）

【目的】*Acidovorax citrulli* は、スイカ果実汚斑細菌病の原因菌であり、Ⅲ型分泌装置と呼ばれる注射針状の構造物を介して宿主細胞内にエフェクターと呼ばれるタンパク質性の病原因子を注入することで病原性を発現する。細胞内は抗酸化物質であるチオレドキシン(Trx)とグルタチオン(GSH)によってレドックス恒常性が維持されている。我々は、青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* エフェクターRipAY が宿主細胞内のTrxと結合することによりGSHを分解する酵素活性を獲得することを明らかにしている。*A. citrulli* が持つ推定エフェクターAave_4606 はRipAYのオルソログであることからRipAYと同様の反応を示すことが考えられた。そこで本研究では、Aave_4606の機能を解明することを目的とした。

【方法・結果】様々な植物由来の抽出液を組換えAave_4606タンパク質と反応させてGSHの分解酵素活性を指標にその活性化を調べたところウリ科植物ではスイカ抽出液においてのみ活性化し、ナス科植物では今回実験に用いた全ての植物抽出液で活性化が見られた。そこで実際に宿主植物体内でAave_4606が宿主Trxにより活性化し、宿主細胞内のGSHを分解するのか検証した。Aave_4606を欠損させた株(*aave_4606Δ*)及びⅢ型分泌装置を欠損させた株(*hrcVΔ*)を作製し、ナス葉へ接種を行ったところ、コントロールと比べて野生株を接種した葉のGSH量は大幅に減少したが*aave_4606Δ*株を接種した葉のGSH量では減少が見られなかった。このことから、Aave_4606はRipAYと同様に宿主細胞内のTrxを認識することで活性化し、宿主細胞内GSHを分解することが考えられた。

B－8 *Aurantiochytrium* 属によるリグノセルロース系バイオマスからの脂質生産
○西嶋美保，渡邊研志，黛 新造¹，秋 庸裕
(広島大院・統合生命，¹出光興産(株))

【目的】*Aurantiochytrium*（オーランチオキトリウム）属は従属栄養条件下で様々な有用脂質を著量生産する。その活用範囲を高付加価値品以外の幅広い産業分野へ向けて拡大するには、賦存量が高く、安価なリグノセルロース系バイオマスの原料化が望まれる。その効率的な酵素糖化には、酸やアルカリ、水熱等による前処理が必要だが、その際に微生物の生育を阻害する副産物が生成することが報告されている。本研究では、その副産物が*Aurantiochytrium* 属の生育や脂質生産に与える影響とその低減方法を検討し、脂質生産に適したバイオマス前処理法の確立を目的とした。

【方法・結果】水蒸気爆砕処理後のサトウキビバガスを酵素消化して調製した糖化液（グルコース濃度：8%）に窒素源と人工海塩を加えた培地で*Aurantiochytrium limacinum* SR21株を培養した結果、同濃度のグルコースを含む対照培地と比較して細胞収量は25%、脂肪酸収量は27%低かった。リグノセルロース系バイオマスの糖化前処理による生成が報告されているフラン類、フェノール類や有機酸類を添加してSR21株を培養したところ、フルフラールおよび5-ヒドロキシメチルフルフラールが細胞増殖と脂肪酸生成を顕著に抑制した。バガス糖化液の成分分析の結果、両物質が阻害作用濃度以上に含まれていたことから、生育阻害の原因物質と推測された。糖化液に含まれるフラン類は、活性炭処理により低減化できた。そこで、活性炭処理後の糖化液を含む培地でSR21株を培養したところ、対照培地と同等以上の細胞増殖と脂肪酸生産が認められた。

B-9 ゲノム編集によるナンノクロロプシスの増殖能力向上の試み
○ 喬 侑, 川崎 健, 藤江 誠 (広島大院・統合生命)

【目的】 ナンノクロロプシス類は海産性の単細胞藻類で、バイオディーゼル、EPA、カロテノイド等の有用物質の生産手段として近年注目されている。ナンノクロロプシス類で有用物質を生産するには、ゲノム編集技術が非常に重要であるが、必ずしも容易ではなかった。我々は、ナンノクロロプシス類での高効率ゲノム編集系を実現するために、sgRNAのプロモータ配列を検討し、all-in-one vectorの構築に成功している。藻類では増殖効率向上の手段として高濃度 CO₂の通気が試みられるが、高濃度すぎる CO₂通気下では培地が酸性化し、逆に効率は低下してしまう。この問題を解決するためにゲノム編集による carbonic anhydrase2 遺伝子(CA2)の破壊を試みた。

【方法・結果】 実験モデルとしては、*Nannochloropsis oceanica* NIES-2145 株を用いた。*N. oceanica* には、数個の carbonic anhydrase の遺伝子が存在するが、そのうち CA2 遺伝子に対する all-in-one vector (pNAN1006) を NIES-2145 株に形質転換して CA2 遺伝子破壊株を取得し、その増殖特性を野生株と比較した。破壊株は、f/2 培地で増殖可能であり、通常の培養条件では CA2 遺伝子は必須ではない事が示された。CO₂ 濃度 0.15% で前培養してから、0.15%, 3%, 5% の CO₂ 濃度で本培養した。0.15% CO₂ では、培養初期では野生株の増殖が速かったが、後期では野生株と破壊株で増殖速度は同程度であった。3% CO₂ では、両者の増殖速度は同程度であった。5% CO₂ では、培養初期では破壊株のほうが速かった。以上の結果より、CA2 遺伝子の破壊は、高濃度 CO₂ への耐性向上に有用である可能性が示唆された。

B-10 ウシグソヒトヨタケ 1-オクテン-3-オール生成能欠損体の菌食者抵抗性の評価
○ 府内里紗, 手嶋 琢, Pattana Kakumyan¹, 内海俊彦, 向井裕美²,
村上柳太郎, 肥塚崇男, 中沢威人³, 本田与一³, 松井健二
(山口大院・創科, ¹メーファーラン大・理, ²森林総研, ³京大院・農)

【背景・目的】 1-オクテン-3-オールはリノール酸への酸素添加・開裂により生成される菌類に普遍的な揮発性化合物で、無傷組織での生成量は低い組織破砕に伴って急激に生成される。組織破砕に伴う揮発性化合物の放散は植物ではみどりの香りが顕著で、植食者に対する防衛を担っていることから、菌類 1-オクテン-3-オールも同様に菌食者に対する防衛に寄与していると考えられている。この仮説の検証のため、私達はウシグソヒトヨタケで遺伝子破壊により 1-オクテン-3-オール生成能欠損体 (KO 体) を作成し、複数の菌食者を用いて 1-オクテン-3-オール生成の生理生態学的意義の解明を試みた。

【結果・考察】 遺伝子破壊体は野生体と比べて菌糸体の生育が良くなる傾向が観察されたが子実体形成能に変化は認められなかった。誘引性評価の選択試験でキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* 幼虫は KO 体よりも野生体に誘引され、この幼虫にとって 1-オクテン-3-オールが餌探索の鍵因子の一つであることが確認された。一方、フクレナガマドキノコバエ *Neoempheria dilatata* 幼虫の摂食量、ニセネグサレセンチュウ *Aphelenchus avenae* の繁殖率を評価すると KO 体と野生体で有意な差がみられなかった。これら菌食者は菌食に特化する過程で菌類による 1-オクテン-3-オールを用いた防衛に適応してきたことが示唆される。今後、より広食性な生物を用いたバイオアッセイを実施し、菌類が 1-オクテン-3-オールを生成する意義を明らかにしたいと考えている。

B-11 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* のクオラムセンシングが自己凝集性に及ぼす影響

○坂口直子, 谷口彰吾, 阿座上弘行¹
(山口大院・創科, ¹山口大・中高温微研セ)

【目的】一般に、病原細菌においては、クオラムセンシングによって毒素生産や抗生物質耐性、バイオフィルム形成など様々な病原性が制御されている。本研究では、歯周病原性細菌 *E. corrodens* のクオラムセンシングが本菌の凝集性に及ぼす影響を調べた。

【方法・結果】初めに、*E. corrodens* 1073 株（野生株）とオートインデューサーの合成に必須な *luxS* 遺伝子を欠損させた株（ $\Delta luxS$ 株）の自己凝集能を比較した。その結果、野生株では高い凝集性を示したが、 $\Delta luxS$ 株では凝集性が低下していた。さらに、野生株の高い凝集性は塩の添加により阻害された。次に、両株の凝集の差は何によって引き起こされているのかを調べることにした。野生株の自己凝集には菌体表面層の GalNAc 依存性のレクチンが関与することが知られている。そこで、GalNAc 添加時の凝集性を比較した結果、両株とも凝集性の低下がみられたため、両株の凝集にはどちらも GalNAc 依存性のレクチンが関与していることが示唆された。次に、両株の凝集性の差がレクチン活性の差によるものかどうかを調べるために、GalNAc 添加時の赤血球凝集活性を測定したが、両株間に赤血球凝集活性の差は見られなかった。しかし、野生株の自己凝集能は塩によって抑制されるため、両株の赤血球凝集活性に差が見られなかった可能性も示唆された。さらに、細胞表面疎水性による影響を調べたところ、野生株は、大腸菌や緑膿菌に比べて非常に高い表面疎水性を示したが、 $\Delta luxS$ 株では表面疎水性の低下が観察された。このことから、両株における凝集能の差は表面疎水性の違いによる可能性が示唆された。

B-12 複合試料を用いた *Ralstonia solanacearum* の走化性センサーの特性化

○東口海斗, 緋田安希子, Asmaa Ali Ahmed Ibrahim, 田島誉久, 加藤純一
(広島大院・統合生命)

【目的】走化性とは細菌がセンサータンパク質（MCP）により化合物を感知し、好ましい環境へと移動する性質である。環境細菌は複数のセンサーを保有するがその多くが機能未解明である。本研究で解析対象とした青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* の 22 センサーについても 8 つしか特性化されておらず、残りの 14 センサーについてはそもそも機能的であるかさえ不明である。そこで本研究では、多数の化合物を含む“複合試料”を用いることで、*R. solanacearum* の新たな走化性センサーの特性化を試みた。

【方法・結果】まず本解析に有効な複合試料の選定のために、特性化済みセンサー多重破壊株（PSD6）の漢方、果実飲料、豆乳、液体肥料への走化性を解析した。その結果、いずれの試料に対しても強い応答が確認され、どの試料も新たなセンサー解析に有効であると考えられた。ここでは構成成分が最もシンプルと予想された液体肥料を以降の解析対象とした。この液体肥料に対する応答は、PSD6 に 8 センサーを追加で破壊することで顕著に低下した。そこで、これら 8 センサーをそれぞれ再導入し解析すると、*mcp10* 導入株において応答が回復した。このことから、*Mcp10* が確かに走化性センサーとして機能しており、そのリガンドは液体肥料中に含まれることが明らかとなった。さらに想定される含有成分の解析でクエン酸などのカルボン酸が *Mcp10* のリガンドであることを突き止めた。しかし、*Mcp10* によるカルボン酸走化性は非常に弱く、HPLC での液体肥料の成分分析の結果、これらは検出されなかった。このことから *Mcp10* の真のリガンドは別であると考えられる。これについて現在さらなる解析を行っている。

B-13 アガロース加水分解物を認識する細菌走化性センサーの特性化
○才崎周平，加藤純一，田島誉久，緋田安希子（広島大院・統合生命）

【目的】走化性とは，運動性細菌がセンサータンパク質（MCP）により化合物を感知し，集積・忌避する性質である。走化性は，アガロースと試験物質の混合物を含ませたキャピラリーに集積する菌数を定量することで測定できる。この解析法において，あるセンサーを高発現させると本来なら応答を示さないはずの試料を含まない対照実験において有意な応答が確認された。この現象について解析を進めると，幅広い環境細菌に分布するアガロース加水分解物センサーの存在が明らかになった。しかし，その具体的なリガンドは解明されていない。本研究では，アガロース加水分解物センサーの特性化を試みた。

【方法・結果】*Pseudomonas protegens* CHA0 が保有するアガロース加水分解物センサー遺伝子 *mcp42* の異種相補株を用いて解析した。アガロースをトリフルオロ酢酸を用いて緩やかに分解したところ，分解時間と走化性応答強度の間に正の相関関係が見られた。この応答強度の違いの要因を探るべく，アガロース分解物を TLC で分画したところ，分解時間が長くなるほど特定の 2 ヶ所にスポットがシフトした。つまり，これらのスポットがリガンドである可能性が高いと考えられる。これらのスポットから成分を抽出し質量分析を行ったところ，ガラクトースとアンヒドロガラクトースが検出された。しかし，解析の結果，ガラクトースはリガンドではないことが分かった。一方，アンヒドロガラクトースについては純品が入手困難であったため，TLC 分画物を抽出し走化性測定を試みたが，菌体が静止してしまい解析が不可能であった。そこで，現在は HPLC でのアガロース分解物の分画を試みている。

C-1 窒素欠乏ストレスに対するアスコルビン酸代謝の応答と機能
○岩上拓己, 小川貴央, 石川孝博, 丸田隆典 (島根大院・自然科学)

【目的】アスコルビン酸およびグルタチオンは植物の主要なレドックスバッファであり、植物の成長・発達だけでなく、ストレス順応に不可欠である。植物のストレス順応・耐性におけるアスコルビン酸およびグルタチオン代謝の機能は多種多様な非生物学的ストレスに対して研究されてきたが、栄養欠乏下でのそれらの代謝調節および生理学的意義はほとんど知られていない。そこで本研究では、シロイヌナズナのアスコルビン酸およびグルタチオン代謝への栄養欠乏 (N, P, S または K) の影響を調査した。

【方法・結果】シロイヌナズナ野生株を通常または各栄養素を 10% まで低下させた MGRL 寒天培地で 2 週間成長させた。アスコルビン酸およびグルタチオンレベルは低 P および低 K 条件で影響を受けなかったが、グルタチオンレベルは低 S 条件で減少し、アスコルビン酸レベルは低 N 条件で増加した。また低 N 条件では、アスコルビン酸ペルオキシダーゼや再生酵素などの活性が有意に増加した。これらの酵素活性の増大は細胞質型アイソフォームの発現誘導に起因する可能性が示唆された。したがって、アスコルビン酸代謝は低 N 条件に対する順応に重要な役割を担うと考えられた。そこで、野生株およびアスコルビン酸欠乏株 (*vtc2*) を通常水耕液で 4 週間栽培し、N を含まない条件に移行した後に、さらに強光ストレスを付与した。その結果、通常条件で強光を照射した場合、*vtc2* で顕著なブリーチングが生じたが、興味深いことに、N 欠乏条件で強光を照射した場合には *vtc2* のブリーチングが緩和された。これは N 欠乏が *vtc2* においてストレス順応を引き起こした結果であると考え、現在さらなる解析を進めている。

C-2 シロイヌナズナ Nudix hydrolase による細胞内ピリジンヌクレオチド代謝の生理的意義
○植木ももこ, 丸田隆典, 石川孝博, 吉村和也¹, 重岡 成², 小川貴央
(島根大院・自然科学, ¹中部大・応生, ²近畿大・附属農場)

【目的】NAD(H)やNADP(H)などのピリジンヌクレオチドは、生物の多岐にわたる代謝反応に関与する必須な生体分子であり、その細胞内レベルは厳密に制御する必要がある。これまでに、シロイヌナズナ Nudix hydrolase の中で NADH 加水分解活性を有する細胞質局在型 AtNUDX6, 7 および、NADPH 加水分解活性を有する葉緑体局在型 AtNUDX19 が生物的/非生物学的ストレス応答や光合成、植物ホルモン応答などに関与することが明らかになっている。しかし、細胞内ピリジンヌクレオチドレベルがどのようにこれらのさまざまな細胞応答の制御に関与しているかは未だ不明である。本研究では、シロイヌナズナ Nudix hydrolase によるピリジンヌクレオチドの代謝調節が、種々の細胞応答に与える影響を明らかにするために、AtNUDX6, 7 および 19 の遺伝子破壊株を用いて解析を行った。

【方法・結果】各遺伝子破壊株を通常条件下で生育させた結果、*nudx7* はわずかな矮小化、*nudx6/nudx7* は著しい矮小化を示した。一方、*nudx19*, *nudx6/nudx19* の湿重量および葉面積は増加していた。さらに、ピリジンヌクレオチド定量を行った結果、*nudx6/nudx7* では NADH, NADPH の高蓄積および NADP(H) プールサイズの増加が認められた。また、中程度の強光ストレス条件下で生育させた植物体についても同様の解析を行なった結果、*nudx7* の矮小化および *nudx6/nudx7* の著しい矮小化が見られ、*nudx6*, *nudx19* の葉面積の増加が認められた。さらに、著しい矮小化を示した *nudx6/nudx7* では全てのピリジンヌクレオチドが高蓄積しており、NAD(H), NADP(H) プールサイズの顕著な増加が認められた。

C-3 植物におけるフラビン輸送体の探索と機能解析

○桑田日佳里, 杉本琢隼, 丸田隆典, 石川孝博, 吉村和也¹, 重岡 成²,
小川貴央 (島根大院・自然科学, ¹中部大・応生, ²近畿大・附属農場)

【目的】ビタミン B₂ (リボフラビン: RF)は FMN および FAD の前駆体であり, これらフラビン化合物は光合成/呼吸電子伝達系・脂肪酸酸化・光受容・DNA 修復に加え, 多くの二次代謝産物の生合成系にも関与する重要な分子である。植物において RF は葉緑体のみで合成されるが, フラビン化合物のオルガネラ間の輸送をはじめ, 細胞間, 組織間を含む植物のフラビン化合物輸送機構については全く不明である。purine permease (PUP)はプリン骨格を有するさまざまな化合物を能動輸送するタンパク質ファミリーであり, プリン骨格を有するフラビン化合物も PUP の基質となる可能性が考えられる。そこで本研究では, 植物のフラビン化合物輸送体候補としてシロイヌナズナ PUP (AtPUP)に注目し, AtPUP ファミリーのフラビン輸送活性について解析を行った。

【方法・結果】20 種類の AtPUP について, 低濃度 RF 添加培地では生育できない RF 要求性酵母 (rib5 Δ 株)を用いた相補試験を行なった。その結果, 2 種類の AtPUP 遺伝子発現株は低濃度 RF 添加培地において顕著な生育の回復を示した。また, これら 2 つの AtPUP の RF 取り込み活性を評価するために, RF 添加 12 時間後の酵母内 RF 量を定量した結果, 2 種類の AtPUP 遺伝子発現株における RF レベルの明らかな増加が認められた。したがって, これら 2 つの AtPUP は酵母においてフラビン化合物輸送体として機能することが示された。また, AtPUP-GFP 融合タンパク質を用いてシロイヌナズナ葉における細胞内局在性を解析した結果, これら 2 つの AtPUP は細胞膜局在であることが明らかになった。

C-4 植物のフラビン代謝調節に関する新規転写因子の生理機能解析

○原田美帆, 難波純也, 丸田隆典, 石川孝博, 吉村和也¹, 重岡 成², 小川貴央
(島根大院・自然科学, ¹中部大・応生, ²近畿大・附属農場)

【目的】ビタミン B₂ (RF:リボフラビン)を前駆体とするフラビンモノヌクレオチド (FMN) およびフラビンアデニンヌクレオチド (FAD) は, 植物において光合成/呼吸電子伝達系や多くの二次代謝産物の生合成系に関与するため, それらの細胞内フラビン化合物レベルは厳密に制御する必要がある。しかしながら, 植物におけるフラビン代謝系の調節機構についてはほとんど不明である。これまでに我々は, シロイヌナズナ葉を用いたトランスクリプトーム解析および遺伝子破壊株の解析から, フラビン代謝調節に関与する新規転写因子として FAD-responsive transcription factor 19 (FRTF19) を同定した。本研究では, 植物のフラビン代謝調節機構の解明を目的として, FRTF19 の生理機能について詳細に解析を行った。

【方法・結果】FRTF19 のエストロゲン (ES) 誘導型一過的過剰発現株を用いて解析した結果, ES 処理による FRTF19 の発現上昇にともなって, RF 合成系遺伝子群の発現と細胞内 RF レベルは顕著に増加した。また野生株において, アブシジン酸および低温処理により FRTF19 と RF 合成系遺伝子群の発現が上昇し, 細胞内 RF レベルも増加したが, FRTF19 遺伝子破壊株ではその増加が抑制されていた。これらの結果より, FRTF19 は種々の環境ストレス条件下において, 細胞内フラビン化合物レベルの調節に関与していることが強く示唆された。今後さらに FRTF19 の生理機能を詳細に解析するために, 現在 FRTF19 の恒常的過剰発現株の作出を行なっている。

C-5 ラズベリー様香気物質の効率的生産を目指した植物フェニルプロパノイド経路の合理的代謝工学

○財田幸歩, 肥塚崇男, 藤井浩也, 杉山暁史¹, 矢崎一史¹, 西原昌宏², 松井健二 (山口大院・創科,¹京大・生存研,²岩手生工研)

【目的】芳香族香気成分であるラズベリーケトン¹は、香粧品原料やフレーバー成分として注目されている。しかしながら、天然におけるラズベリーケトンの分布はラズベリーなど特定の植物種に限られており、その生成量は少ないため安定供給が求められている。そこで本研究では、ナス科のモデル植物であるタバコ (*Nicotiana tabacum*) において、色素成分であるアントシアニンへの代謝フローをラズベリーケトン生合成へとリダイレクトすることによりラズベリーケトンの効率的生産を行うことを目的とした。

【方法・結果】ラズベリーケトン合成酵素遺伝子 (*BAS* 及び *RZSI*) を 35S プロモーター下で過剰発現させた形質転換タバコでは、花色のアントシアニン量が減少し、野生株では見られないラズベリーケトンの生成が検出され、その多くは配糖体として蓄積していた。また、フェニルプロパノイド経路の転写因子 *PAP1* との共発現、並びにアントシアニン生合成に関わるカルコン合成酵素遺伝子 (*CHS*) 発現抑制体との交配により、ラズベリーケトン (0.93 µg/gFW) 及びその配糖体 (4.5 µg/gFW) の生成量が増加した。このことから、フェニルプロパノイド経路を改変したラズベリーケトンの生産には、代謝経路の分岐点に位置する内在性基質の増強が重要であり、他の芳香族化合物における代謝工学デザインにも有効であることが考えられた。

C-6 茶の若葉と成熟葉における CPC 様遺伝子の発現

○若松寿衣, 田中若奈, 藤井創太郎, 三本木至宏, 富永るみ (広島大院・統合生命)

茶 (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) は世界的に最も消費される飲料の一つであり、商業的価値の高い作物である。茶の葉における過剰なアントシアニン合成とトライコーム (毛状突起) 形成は、茶の風味を損なう原因になる。モデル植物であるシロイヌナズナの葉では、R3 MYB 転写因子である CPC 様遺伝子が、アントシアニン合成とトライコーム形成を抑制していることが明らかにされている。そこで本研究では、茶における CPC 様遺伝子を探索し、6 つのホモログを同定した。これら 6 つの遺伝子から生産されるタンパク質の三次元構造の表面は、シロイヌナズナの CPC タンパク質と同様に、それぞれ負に帯電していることがわかった。このことから、今回同定した茶の CPC 様遺伝子はシロイヌナズナの CPC タンパク質と似た機能を持ち、分子間相互作用を持つことが示唆された。さらに、この 6 つの茶 CPC 様遺伝子は、若葉と成熟葉において発現が異なり、3 つの遺伝子は若葉で相対的に高い発現を示し、3 つは成熟葉で高い発現を示した。茶葉のトライコーム数は成熟葉よりも若葉の方が多いため分かれている。これらのことから、今回茶から同定した 6 つの CPC 様遺伝子は、葉の成長段階においてトライコーム形成に関わっている可能性が示唆された。今回の発見は将来的に茶業界において有力な情報となりうる。

C-7 シロイヌナズナの根毛形成に関与する MYB 転写因子の機能解析 ○長尾幸祐, 富永るみ (広島大院・統合生命)

表皮細胞は植物が外界に接する最前線であり、環境に応じて特殊な器官を形成するような進化を遂げてきている。根の表皮細胞の一部が伸長して形成される根毛という器官は、養水分の効率的な吸収に重要な役割を果たしている。シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)において、この根毛形成は多くの遺伝子群の働きによって制御されている。その遺伝子群のうち、MYB 転写因子をコードする CAPRICE(CPC)ファミリーは、7つのホモログ遺伝子から構成されている。

そこで本研究では、*cpc* 突然変異体にいずれかの MYB 転写因子を導入し、表現型にどのような影響をもたらすかを調べるレスキュー実験を通して、MYB 転写因子の機能を解析することを目的とした。

実験には、野生型 (Col-0), *cpc* 突然変異体, *pCPC::CPC:GFP in cpc*, *pCPC::TRY:GFP in cpc*, *pCPC::ETC1:GFP in cpc*, *pCPC::ETC2:GFP in cpc*, *pCPC::ETC3:GFP in cpc* 形質転換体を用いた。これらに対し、実体顕微鏡による表現型の観察および根毛数計測、共焦点レーザー स्क্যান顕微鏡による GFP 融合タンパク質の細胞内局在の観察を行なった。

表現型および根毛数に関しては、*pCPC::TRY:GFP in cpc* 以外の形質転換体では、野生型と同等かそれ以上の増加が見られた。GFP 融合タンパク質の細胞内局在に関しては、*pCPC::CPC:GFP in cpc*, *pCPC::ETC1:GFP in cpc*, *pCPC::ETC3:GFP in cpc* において核局在が確認できた。

C-8 柑橘類スダチ果皮抽出液による EGFR-ERK 経路を介した表皮角化細胞の増殖・分化の制御

○安部庄剛, 下田穂絵¹, 金岡大樹¹, 新居佳孝², 山崎博子¹, 湯浅恵造
(徳島大院・先端技術,¹松山油脂(株),²徳島工技セ)

【目的】徳島県特産物の柑橘類スダチ (*Citrus sudachi*) は、果皮に多くのフェノール化合物を含む有用天然資源である。搾汁の際に生じる果皮等の加工残渣は、ほとんどが廃棄されており、有効利用が望まれている。本研究では、スダチ果皮抽出液 (SPE) の表皮角化細胞に対する効果を検証するとともに、その作用機序を解明することを目的とした。

【結果】まず初めに、SPE のヒト表皮角化細胞株 HaCaT 細胞の増殖に対する影響を評価するために BrdU 細胞増殖アッセイを行った。その結果、HaCaT 細胞の増殖が SPE によって有意に抑制されることが明らかとなった。表皮角化細胞では、上皮細胞増殖因子 (EGF) がその受容体 (EGFR) に結合し、Raf-MEK-ERK シグナルを活性化することで細胞増殖や細胞遊走が誘導される。SPE は、EGF 処理によって惹起された EGFR および Raf, MEK1/2, ERK1/2 のリン酸化を有意に抑制した。さらに、SPE のターゲット候補を絞り込むために、TNF- α 刺激に対する効果を調べた。TNF- α は EGFR の活性化を介さず、ERK1/2 のリン酸化を誘導したが、SPE 処理により有意に抑制された。続いて、表皮角化細胞分化マーカーである keratin1 および keratin10, involucrin の mRNA レベルを測定し、SPE の表皮角化細胞の分化に対する効果を評価した。その結果、SPE は高カルシウムによって誘導される分化マーカーの mRNA レベルの増加を有意に増強した。以上の結果から、SPE が EGFR-ERK 経路の抑制を介して細胞増殖を抑制し、さらにカルシウム誘発性表皮角化細胞分化を増強することが示唆された。

C-9

麴菌固体培養による杜仲葉二次代謝産物の微生物変換

○村上 響, 奥川日菜乃, 山下秀行¹, 三木翔平¹, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命,¹樋口松之助商店)

【目的】麴菌は固体培養により様々な酵素を生産することが知られ、発酵食品の製造では米や豆などの穀物を基材として麴菌を固体培養した麴が用いられる。しかし、穀物以外を麴にした例や、二次代謝産物の微生物変換に麴菌固体培養を用いた例はほとんどない。そこで、当研究室でワインパミス（日本ワインぶどう絞り粕）¹⁾、オリーブ葉²⁾を用いて麴菌固体培養を行ったところ、植物二次代謝産物が微生物変換されることが明らかとなった。本研究では、杜仲葉の有効成分として知られているゲニポシド酸やクロロゲン酸などを麴菌固体培養により微生物変換することを目指した。【方法・結果】材料となる杜仲葉は25℃乾燥品、60℃乾燥品の2種類を用いた。麴菌は黄麴菌や黒麴菌など4種類を用い、固体培養を行った。その結果、どちらの材料においても全ての菌株で麴菌の生育が認められ、その生育は、ワインパミス、オリーブ葉を用いて行った麴菌固体培養と比較して良好であった。麴菌が生育した杜仲葉をMeOHで抽出し、HPLC-DAD-MS分析を行ったところ、UV吸収スペクトルとマスマスペクトルから、クロロゲン酸とその加水分解物であるカフェ酸が確認され、麴菌の菌株ごとにクロロゲン酸の加水分解の程度に違いが認められた。また、総ポリフェノール含有量と抗酸化活性に変化が認められ、その変化は菌株ごとに特徴的な傾向を示した。以上より、麴菌の固体培養によって杜仲葉成分の微生物変換が起こり、その変換は菌株ごとに特徴的であることが明らかとなった。¹⁾ 奥川, 山下, 仁戸田, 神崎ら 2021 農化大会（仙台）3C06-06, ²⁾ 橋本, 山下, 仁戸田, 神崎ら 2021 農化大会（仙台）3C06-07

D-1 糖尿病性骨格筋萎縮モデルマウスの STZ 投与方法と病態解析
○宮田賢周, Tolulope Peter Salu¹, 富永ひかる, 八澤菜央¹, 橋本孝太郎¹,
亀沢実音, Thanutchaporn Kumrungsee¹, 矢中規之¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)

【目的】糖尿病は先進諸国において罹患者の多い生活習慣病の一つであり、腎障害や骨格筋障害が合併症として問題となっている。その糖尿病合併症の予防や治療を指向した食品素材が探索されており、機能性試験においてはマウスに streptozotocin (STZ) を投与し、糖尿病を誘発するモデルが広く利用されている。しかし、マウス系統間での STZ に対する感受性の違いや高用量での STZ 投与による組織障害など、糖尿病合併症の評価における問題点が指摘されている。本研究では、高用量の STZ 投与、および低用量の STZ 繰り返し投与の異なる 2 つの糖尿病誘発モデルマウスにおける骨格筋の病態について解析することで病態の差異を検証し、最適な糖尿病性骨格筋障害モデルを提案することを目的とした。

【方法・結果】高用量 STZ 投与群では 8 週齢雄性 C57BL/6J マウスに 180 mg/kg の STZ を腹腔内投与し、正常食で 4 週間飼育した (高 STZ 群)。低用量 STZ 投与群では 8 週齢雄性 C57BL/6J マウスに高脂肪食 (カロリー比 45%) を 4 週間与え、50 mg/kg の STZ の腹腔内投与を 5 日間行った後、高脂肪食によりさらに 12 週間飼育した (低 STZ+HFD 群)。その結果、両糖尿病モデルにおいて骨格筋横断面積、および筋衛星細胞数の減少が認められたが、高 STZ 群においてより顕著であった。また、DNA microarray 解析の結果、高 STZ 群で apoptosis, および細胞外マトリックス分解に関わる遺伝子群、一方、低 STZ+HFD 群ではエネルギー代謝、および炎症関連遺伝子の発現変動が認められ、糖尿病の誘導方法によって骨格筋病態の差異が存在することから、機能性試験によって至適なモデルの選択が必要であると考えられた。

D-2 動物を用いた OGTT 経口糖負荷試験による DPP IV 阻害性 AW および WV の活性型 GLP-1 とインスリン濃度の変化
○関 英治, 山根拓也¹, 薩 秀夫², 大久保岩男³
(ヤマキ (株), ¹阪大・工, ²前工大院・工, ³三笠総合病院)

【目的】鯉節のプロテアーゼ酵素分解物にジペプチジルペプチダーゼ (DPP) IV 活性阻害が認められたことから成分の単離・同定を試みた。【方法及び結果】Sep-Pak C₁₈ カラムを用いて N5 から 10%エタノール溶出画分(N5-2 画分)(IC₅₀=73.71 μg/ml)を得た。N5-2 画分の収率は 19.63%, DPP IV 活性阻害力価の回収率は 100.15%であった。各ピークのアミノ酸配列を決定した Ala-Va-Phe, Gly-Val-Phe, Glu-Val-Phe は新規, Trp-Val (0.14%; Trp-Val 含量 15.24 mg/100 g N5-2 画分, DPP IV 活性阻害 IC₅₀ 値; 11.21 μg/ml)であった。5-2 画分の Caco-2 細胞膜上に 400 mg/ml の添加で約 20%の DPP IV 阻害活性が有意 (p<0.05) に認められヒト小腸上皮細胞において N5-2 画分が細胞膜上の DPP IV 活性阻害が示唆された。ICR マウス(n=8)を用いた N5-2 画分の糖負荷血糖上昇抑制試験(OGTT)を行い、グルコース投与前に N5-2 画分を投与(100 mg/kg), 続けて 1 g/kg BW のグルコースを投与、尾静脈より回収した血液の血糖値を測定し、血糖値の上昇は 30 分時点でコントロール群のマウスと比較して有意 (p<0.05) に抑制され、60 分以降でも N5-2 画分投与群のマウスはコントロール投与群と比較して血糖値が低くなる傾向がみられた。N5-2 画分は DPP IV 活性阻害を介して糖負荷血糖上昇抑制作用が推定される。K579 の OGTT における 0-30AUC 及び Δ0-30AUC は用量依存的低下傾向が認められた。Trp-Val の OGTT における用量 (100 mg, 300 mg, 1000 mg/kg) において 0-30AUC 及び Δ0-30AUC の低下が認められ、1000 mg 用量群で対照群に比べて 0-30AUC で 21%, Δ0-30AUC で 60%の低下, DPP IV 阻害性ペプチドの有効性が示された。

D-3 糖尿病性腎症マウスに与える糖転移ヘスペリジンの予防効果
○亀沢実音, 八澤菜央¹, 橋本孝太郎¹, 富永ひかる, 石橋真紀², 遠藤 伸²,
Thanutchaporn Kumrungsee¹, 矢中規之¹
(広島大・生物生産,¹ 広島大院・統合生命,² (株) 林原)

【目的】近年、糖尿病性腎症は糖尿病罹患者が増えている点や人工透析移行率の高さから注目されており、腎障害に対して予防効果を示す食品素材が求められている。ヘスペリジンは柑橘の果皮に存在するフラボノイドの一種であり、多様な生理作用を有している。現在、ヘスペリジンにグルコースを転移させ、水溶性を大幅に高めた糖転移ヘスペリジン(G-Hes)の機能性が期待されている。発表者らは以前、アデニン誘導性腎症モデルマウスにおいて G-Hes 摂取による予防効果を見出しており、本実験では臨床問題となっている糖尿病性腎症モデルマウスを用いて予防効果を検証した。

【結果、および考察】8 週齢雄性 C57BL マウスに 4 週間高脂肪食を与えた後、低容量である 40 mg/kg の streptozotocin(STZ)の腹腔内投与を 5 日間行い、その後高脂肪食を 8 週間負荷した (DN 群)。その結果、DN 群では血糖値の上昇や体重減少、および腎重量の増加が認められた。一方、STZ 投与後 1%の G-Hes を含む高脂肪食を 8 週間摂取させた G-Hes 群では血糖値や腎重量の改善、体重の回復が認められた。また、腎臓での糖再吸収に関与する *Slc5a2* 遺伝子の DN 群での発現量の低下は G-Hes 摂取により有意に回復した。さらに単球・マクロファージ細胞の組織浸潤に関わる chemokine である *Ccl2* 遺伝子の発現上昇を G-Hes 摂取により有意に低下させ、さらに炎症反応に関与する NF- κ B タンパク質量が DN 群で増加したが、G-Hes 群で減少傾向を示した。以上の結果より、糖尿病性腎症マウスに対して、G-Hes は血糖改善効果、および腎臓に対する臓器保護効果を有していると考えられた。

D-4 ビタミン B₁₂ 欠乏症とアルツハイマー病の発症の関連性について
○谷本圭祐, 山本 葵¹, 藪田行哲, 渡邊文雄, 美藤友博
(鳥取大・農,¹ 鳥取大院・持社創生)

【目的】 ビタミン B₁₂ (B₁₂) は生体内において、B₁₂ 依存性酵素であるメチルマロニル CoA ムターゼならびにメチオニンシンターゼの補酵素として機能している。近年、モデル生物である線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いた研究において、B₁₂ 欠乏は生体内のレドックス制御機構を破綻させ、著しい酸化ストレス障害を誘発することが明らかになった。また、B₁₂ 欠乏患者におけるアルツハイマー病の発症率の高さを示す知見は複数存在するが、B₁₂ 欠乏とアルツハイマー病発症の詳細な関連性は不明である。本研究はアルツハイマー病モデルの線虫を利用し、B₁₂ 欠乏症とアルツハイマー病の発症・進行の関連性について詳細に検討することを目的にした。

【方法・結果】アルツハイマー病モデルとして、線虫 GMC101 (25℃で生育させた際にヒトアミロイド β 1-42 が筋肉中に発現) を用いた。コントロールおよび B₁₂ 欠乏線虫はそれぞれ B₁₂ 添加および B₁₂ 無添加培地で 5 世代間生育させ調製した。コントロールと B₁₂ 欠乏線虫を比較すると、B₁₂ 欠乏線虫は早期に麻痺 (ヒトアミロイド β が発現した指標) を示した。ヒトアミロイド β 量をウェスタンブロット法で評価したところ、コントロールと B₁₂ 欠乏線虫でヒトアミロイド β 量に差異は見られなかった。しかし、ヒトアミロイド β を抗体染色法で蛍光標識したところ、B₁₂ 欠乏線虫では線虫の咽頭部と尾部にヒトアミロイド β が集中していることが明らかになった。これらの結果より、B₁₂ の欠乏はアミロイド β の凝集に関与していることが推察され、現在その詳細について検討している。

D-5 炎症抑制効果を発揮する火落菌の探索 ○山口智史, 尾原 英, 鈴木卓弥, 山本祥也 (広島大院・統合生命)

【目的】我々の研究室では、清酒の腐敗や腐造を引き起こす乳酸菌である火落菌の有効利用を目指し、その生体調節作用を探索している。種々の乳酸菌において抗炎症効果や抗アレルギー効果など免疫調節作用が多く報告されているが、火落菌には免疫調節作用に関する報告はない。そこで本研究では、マウス脾臓細胞培養系を用いて、8 菌株の火落性乳酸菌および 37 菌株の真性火落菌の計 45 菌株の火落菌によるリポ多糖 (LPS) 誘導性炎症応答の抑制効果を検証した。

【方法】マウス脾臓細胞を 1.0×10^6 cfu の各種火落菌死菌体で 3 時間処理後、1 μ g/mL の LPS を添加し、48 時間培養後、培養上清における TNF- α 産生量を ELISA 法により定量した。また、火落性乳酸菌および真性火落菌において、それぞれ最も強力に TNF- α 産生を有意に抑制した *Lactobacillus (Lb.) hilgardii* H-50 および *Lb. homohiochii* S-26 の前処理による IL-1 β および IL-6 産生量を ELISA 法により定量した。さらに、LPS 刺激 4 時間後の培養細胞における *Tnf- α* 、*Il-1 β* および *Il-6* mRNA 発現量を qPCR 法により測定した。

【結果・考察】LPS 単体刺激と比較して、*Lb. hilgardii* H-50 および *Lb. homohiochii* S-26 の前処理は、LPS 誘導性 TNF- α 産生量を有意に抑制した。また、*Lb. homohiochii* S-26 と比較して、*Lb. hilgardii* H-50 の前処理は、LPS 誘導性 TNF- α 、IL-1 β および IL-6 産生量と *Tnf- α* 、*Il-1 β* および *Il-6* mRNA 発現量をより強力に抑制した。以上の結果より、45 菌株の火落菌のうち、最も強力に炎症抑制効果を発揮する *Lb. hilgardii* H-50 の選抜に成功した。今後は、*Lb. hilgardii* H-50 の炎症応答抑制メカニズムの解明が必要である。

D-6 発酵デーツ残渣エキス混合物による自然免疫応答の増強機構の解析 ○服部圭優, 三本木至宏, 藤井創太郎, Thanutchaporn Kumrungsee, 長谷川桃子¹, 吉田充史¹, 鈴木卓弥, 山本祥也 (広島大院・統合生命, ¹オタフクソース (株))

【目的】我々は、ナツメヤシの果実であるデーツの残渣に食用グルタミン酸などを加え、次いで *Lactobacillus brevis* 1059^T 株で発酵させることにより、 γ -アミノ酪酸 (GABA) を大量に含む発酵デーツ残渣エキス混合物 (fDREM) の開発に成功した。さらに、マウス脾臓細胞を fDREM で刺激すると、未発酵のデーツ残渣エキス混合物 (DREM) での刺激と比較して、自然免疫応答に寄与する TNF- α 産生がより誘導されることを見出した。しかし、この増強作用における GABA の役割は分かっていない。そこで本研究では、fDREM による TNF- α 産生誘導作用と GABA との関連性を検証した。

【方法】Balb/c (6-8 週齢, ♀) マウスより脾臓細胞を調製し、GABA-A 受容体の阻害剤である (+) -ピククリン (BCC) 100 μ M で 3 時間処理後、1% (v/v) の DREM および fDREM で刺激した。また、脾臓細胞を 0.2 mM GABA および 1% (v/v) DREM で共刺激した。各反応液を 72 時間培養後、回収した培養上清の TNF- α 量を ELISA 法により定量した。

【結果と考察】BCC 処理により、DREM 誘導性の TNF- α 産生量は変化しなかったが、fDREM 誘導性の TNF- α 産生量は BCC 未処理と比較して有意に減少した。加えて、GABA および DREM の共刺激では、DREM あるいは GABA の単独刺激と比較して、TNF- α 産生量の有意な増加が認められた。以上の結果から、fDREM は GABA シグナリングを介して自然免疫応答を増強することが明らかになった。

D-7 好塩基球の脱顆粒に及ぼすスダチチンの効果に関する研究 ○渡邊愛子, 石田萌子, 西 甲介, 菅原卓也 (愛媛大院・農)

【目的】スダチチンは、スダチの果皮に特徴的に含まれるポリメトキシフラボンの一種であり、グルコースや脂質の代謝を改善する作用や抗炎症効果があることが報告されている。本研究では、好塩基球に対する脱顆粒抑制によるスダチチンの抗アレルギー効果の詳細について明らかにすることを目的とした。また、同様にポリメトキシフラボンであるノビレチンとの脱顆粒抑制効果の比較により、構造と活性の相関性について検討することを目的とした。

【方法・結果】ラット好塩基球様細胞株である RBL-2H3 細胞を用い、ヒスタミンとともに顆粒中に存在する β -ヘキソサミニダーゼの放出を指標としてスダチチンの脱顆粒抑制効果を評価した。細胞毒性の評価には WST-8 法を用いた。その結果、スダチチンは RBL-2H3 細胞の抗原誘導性脱顆粒を、細胞毒性なく濃度依存的に有意に抑制した。次に、脱顆粒に際し、抗原刺激により誘導される細胞内カルシウムイオン濃度の上昇に及ぼす影響を検討したところ、スダチチンはこれを抑制した。さらに、スダチチンは抗原誘導性の微小管形成を抑制した。これらの抑制作用は、いずれもノビレチンよりも強いことが明らかになった。その作用機序を明らかにするため、抗原刺激により惹起される脱顆粒シグナル伝達経路に及ぼす影響を検討した。その結果、スダチチンは、PI3K および Akt のリン酸化を抑制することが確認された。以上の結果より、スダチチンは好塩基球による脱顆粒応答を抑制し、その活性には、メトキシ基と水酸基の数や位置が重要であることが明らかになった。

D-8 電気物性を用いた米の吸水過程の計測 ○奥 歩実, 川井清司, 羽倉義雄 (広島大院・統合生命)

【目的】米は日本の主食であり、米飯加工食品としても様々な形態に加工され流通している。炊飯操作は、米を消化しやすく食事に適した米飯へと変えるための主要な操作である。この炊飯操作の前には、水への吸水（浸漬）操作が行われる。吸水操作は、米の中心部まで水分を行きわたらせることにより、加熱時に米を均一に糊化させるために行われる。吸水操作において米の浸漬時間が長くなると、米粒がもろくなることで割れが発生し、デンプンやアミノ酸などの成分が水中に溶出する。このような米は、炊飯後の食味や食感が低下する。そのため、米の浸漬時間を適切に設定することが重要になる。米の吸水過程を非破壊・非接触かつリアルタイムで計測することでできれば、米飯加工食品の用途に合わせた適切な吸水条件を設定することができる。本研究では、米の吸水過程の電気物性変化を連続的に測定し、米の吸水状態との関係を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】国内産うるち米（無洗米）と水道水を試料として用いた。トレー状容器に米と水を充填し、容器入りの測定試料とした。この試料を平行平板電極（ステンレス製）間に挿入し、LCR メータを用いて試料の電気物性を一定時間間隔で測定した。同時に、米の吸水量を測定し、電気物性変化と吸水量変化の関係を評価した。さらに、温度条件を変化させ、吸水温度が吸水過程に及ぼす影響を評価した。

その結果、電気物性（特に、キャパシタンス）と吸水量の間には、良好な相関関係があることが明らかになり、吸水過程の非破壊・非接触かつリアルタイムで計測の可能性が示唆された。

D-9 二次元応力センサーを使用したレトルトパウチ内容物の非破壊的品質評価
○山路 愛, 川井清司, 羽倉義雄 (広島大院・統合生命)

【目的】現在, 多くのレトルトパウチ入り介護用食品が商品化されている。これらの食品の製造工程では, 定期的に製品を抜き出し, これを開封し, 硬さ測定などの破壊検査を行うことにより物性を評価している。破壊検査では, 出荷する全ての製品の物性を評価することはできない。そこで, 全ての製品の非破壊手法を用いた物性評価が求められている。本研究ではその方法として, 二次元応力センサーを使用した非破壊手法による物性の評価方法を検討した。具体的には, 各試料に対し非破壊手法でヤング率を算出し, 得られたヤング率から硬さを推定する新たな測定方法を検討した。

【方法・結果】実験試料として, ニンジン・ダイコン・ジャガイモ・豚ロースを使用した。それぞれを成型後に加熱を行った。各試料に対し, 僅かな歪みを加える非破壊圧縮試験を行い, 応力変化を二次元応力センサーで記録した。応力-歪み測定の結果からヤング率を算出した。次に, 同一条件で調製した試料に対し, 硬さの測定(破壊試験)を行った。破壊試験では, ニンジン・ダイコン・ジャガイモには突き刺し試験を, 豚ロースには切断試験を行い, 各試料の硬さを測定した。

その結果, 破壊試験によって測定した試料の硬さと, 非破壊試験によって測定した試料のヤング率の間には良好な相関関係があることが明らかになった。これらの結果は, 食品の硬さを非破壊で推定できる可能性を示している。今後の課題としては複数の食材を入れたパウチ内の食材の硬さを同時計測する方法を確立することである。

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)エンザイム・センサ
- ・(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
- ・キリンビール(株) 岡山工場
- ・(株)近畿日本ツーリスト中国四国 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)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
- ・鳥取科学器械(株)
- ・(有)友田大洋堂
- ・日本オリーブ(株)
- ・(株)林原
- ・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)

2021年5月13日現在 51社

日本農芸化学会中四国支部第59回講演会

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：羽倉義雄

連絡先：739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

広島大学大学院統合生命科学研究科

T E L：082-424-7938

E-mail：hagura@hiroshima-u.ac.jp

支部からのお知らせ

1. 2021年度 西日本・中四国・関西支部合同大会（第60回 講演会）
開催日：2021年9月24日（金）～25日（土）
場 所：かごしま県民交流センター，鹿児島大学 郡元キャンパス
内 容：特別講演，シンポジウム，受賞講演，一般講演
一般講演申込締切：7月16日（金）
講演要旨提出締切：7月30日（金）
世話人：玉置尚徳（鹿児島大学）
2. 支部創立20周年記念 第61回 講演会（例会）
開催日：2022年1月22日（土）
場 所：高知大学 物部キャンパス
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：島村智子（高知大学）
3. 支部創立20周年記念 第38回 市民フォーラム
開催日：2021年8月21日（土）
場 所：香川大学 農学部
内 容：招待講演，高校生によるポスター発表
世話人：田淵光昭（香川大学）
4. 支部創立20周年記念 第39回 市民フォーラム
開催日：2021年8月28日（土）
場 所：島根大学 大学ホール
内 容：招待講演
世話人：室田佳恵子（島根大学）
5. 支部創立20周年記念 第32回 若手研究者シンポジウム
開催日：2021年7月30日（金）
場 所：Web開催（愛媛大学）
世話人：米山香織（愛媛大学）

日本農芸化学会中四国支部事務局

〒739-8530 広島県東広島市鏡山 1-3-1

広島大学大学院統合生命科学研究科内

支部ホームページ：<http://chushikoku.jsbba.or.jp/>

E-mail：chushikoku@jsbba.or.jp