

支部創立20周年記念
日本農芸化学会中四国支部第61回講演会

講演要旨集

日時：2022年1月22日（土）13時00分開会
オンライン開催（高知大学農林海洋科学部）



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 61 回講演会（例会）

オンライン開催（Zoom）（高知大学農林海洋科学部）

開催日：2022 年 1 月 22 日（土）

10:00～11:00 幹事打合せ

11:10～12:00 支部参加会

13:00～13:10 特別講演

「日本農芸化学会のダイバーシティ推進の現状とこれから」

野尻秀昭（日本農芸化学会ダイバーシティ推進委員会委員長）

13:10～13:35 受賞講演

2021 年度日本農芸化学会農芸化学技術賞

「河内晩柑の機能性を活かし中高年者の認知機能維持に貢献する果汁飲料の開発」

首藤正彦（（株）えひめ飲料）、古川美子（松山大・薬）、

伊賀瀬道也（愛媛大・医）、福田直大（愛媛県経済労働部）

13:35～14:00 受賞講演

2021 年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞

「植物環境順応におけるアスコルビン酸と活性酸素種の相互作用に関する研究」

丸田隆典（島根大・生資科）

14:00～15:20 産官学連携シンポジウム「酒国土佐のフロンティア魂」

「高知が生んだ世界初の「宇宙深海酒」」

上東治彦（高知県酒造組合）

「オール高知が生んだ日本ワイン「TOSA」の誕生」

梶原英正（井上ワイナリー（株））

「高知の地場資源で輝くクラフトビール「TOSACO」とその未来」

瀬戸口信弥（高知カンパーニュブルワリー）

「高知の新しい酒米「土佐麗」と異端児酵母「CEL24」の今」

甫木嘉朗（高知工技セ・食品開発）

15:30～18:18 一般講演

（A～F 会場）

会場一覧表

会場	講演番号	分類・発表部屋名
A	A1 ～ A14	微生物
B	B1 ～ B13	微生物, 遺伝子・ゲノム
C	C1 ～ C10	酵素・タンパク質
D	D1 ～ D10	植物, その他
E	E1 ～ E13	有機化学・天然物, 食品, 動物, その他
F	F1 ～ F12	食品

一般講演 座長一覧表

会場	講演番号	座長
A	A1 ～ A6	村松久司 (高知大・農)
	A7 ～ A10	河田美幸 (愛媛大院・農)
	A11 ～ A14	阪本鷹行 (徳島大・生物資源)
B	B1 ～ B5	大西浩平 (高知大・農)
	B6 ～ B9	鈴木宏和 (鳥取大・工)
	B10 ～ B13	渡邊 彰 (香川大・農)
C	C1 ～ C6	若松泰介 (高知大・農)
	C7 ～ C10	川上竜巳 (徳島大・生物資源)
D	D1 ～ D3	梶山博司 (徳島文理大・理工)
	D4 ～ D6	丸田隆典 (島根大・生資科)
	D7 ～ D10	大西浩平 (高知大・農)
E	E1 ～ E4	韓 力 (高知大・土佐 FBC)
	E5 ～ E8	荒川賢治 (広島大院・統合生命)
	E9 ～ E13	金 哲史 (高知大・農)
F	F1 ～ F4	柏木丈拵 (高知大・農)
	F5 ～ F8	富 裕孝 (高知大・土佐 FBC)
	F9 ～ F12	小泉晴比古 (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 15:30 から開始いたします。
3. 発表 9 分, 質疑応答 2 分, 交代 1 分を目安として進行致します。

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 61 回講演会（例会）

プログラム

オンライン開催（Zoom）（高知大学農林海洋科学部）

開催日：2022 年 1 月 22 日（土）

10:00～11:00 幹事打合せ

11:10～12:00 支部参与会

13:00～13:10 特別講演

「日本農芸化学会のダイバーシティ推進の現状とこれから」

野尻秀昭（日本農芸化学会ダイバーシティ推進委員会委員長）

13:10～13:35 受賞講演

2021 年度日本農芸化学会農芸化学技術賞

「河内晩柑の機能性を活かし中高年者の認知機能維持に貢献する果汁飲料の開発」

首藤正彦（（株）えひめ飲料）、古川美子（松山大・薬）、

伊賀瀬道也（愛媛大・医）、福田直大（愛媛県経済労働部）

座長：岸田太郎（愛媛大・農）

13:35～14:00 受賞講演

2021 年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞

「植物環境順応におけるアスコルビン酸と活性酸素種の相互作用に関する研究」

丸田隆典（島根大・生資科）

座長：塩月孝博（島根大・生資科）

14:00～15:20 産官学連携シンポジウム「酒国土佐のフロンティア魂」

座長：永田信治（高知大・農）

「高知が生んだ世界初の「宇宙深海酒」」

上東治彦（高知県酒造組合）

「オール高知が生んだ日本ワイン「TOSA」の誕生」

梶原英正（井上ワイナリー（株））

「高知の地場資源で輝くクラフトビール「TOSACO」とその未来」

瀬戸口信弥（高知カンパニユブルワリー）

「高知の新しい酒米「土佐麗」と異端児酵母「CEL24」の今」

甫木嘉朗（高知工技セ・食品開発）

15:30～18:18 一般講演

（A～F 会場）

◇ 一般講演プログラム

A会場「微生物」

- A-1 15:30 *Acidomonas* 属酢酸菌に特有なランタノイドによるグリセロール生育抑制と機能未知 PQQ 酵素
○稗田莉奈, 堀田靖人, 宇都宮大貴, 阿野嘉孝
(愛媛大院・農)
- A-2 15:42 リピドーム解析から見えてきた小胞輸送の脂質代謝制御
○中里光希, 池田敦子, Isabelle Riezman¹, Howard Riezman¹, 船戸耕一
(広島大院・統合生命, ¹ジュネーブ大・理)
- A-3 15:54 出芽酵母におけるスフィンゴ脂質による液胞の形態制御機構
○花岡和樹, 池田敦子¹, 船戸耕一¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)
- A-4 16:06 微細藻類ユーグレナの増殖過程に及ぼす光照射条件と pH 依存性
○三好航輝¹, 太田健志郎², 藤村亮佑², 三輪浩平², 木村祐太², 前田淳史¹, 谷川浩司^{1,2}, 松田和典^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大・理工, ²徳島文理大院・工)
- A-5 16:18 微細藻類ユーグレナの増殖過程に及ぼす光照射条件の影響
○太田健志郎¹, 藤村亮佑¹, 三輪浩平¹, 木村祐太¹, 三好航輝², 前田淳史², 谷川浩司^{1,2}, 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)
- A-6 16:30 液胞塩基性アミノ酸蓄積における分裂酵母 *Vsb1p* の役割について
○大西祥太¹, 山本祐介¹, 秋山浩一^{1,2}, 関藤孝之^{1,3}, 河田(河野)美幸^{1,2,3}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・学術支援セ, ³愛媛大・プロテオセ)
- A-7 16:42 *Bacillus* 属細菌による抗菌活性薬剤 Iturin 生産に関する研究
○吉崎万莉¹, 井上朋美², 高野りの², 阪本鷹行^{1,2}, 櫻谷英治^{1,2}
(¹徳島大院・先端技術, ²徳島大・生物資源)
- A-8 16:54 油糧微細藻 *Thraustochytrid* の変異育種による脂肪酸組成改変
中村悠嗣¹, ○江口主馬², 阪本鷹行^{1,2,3}, 櫻谷英治^{1,2,3}
(¹徳島大院・先端技術, ²徳島大院・創成科学, ³徳島大・生物資源)

- A-9 17:06 担子菌における子実体形成関連遺伝子の探索
○北口直樹¹, 楠 真緒², 木内かなえ³, 阪本鷹行^{1,2,3}, 櫻谷英治^{1,2,3}
(¹徳島大院・創成科学, ²徳島大院・先端技術, ³徳島大・生物資源)
- A-10 17:18 環状染色体を持つ分裂酵母の生育における *gsk3* と *gsk31* の関与の解析
○福田将太, 上野 勝¹
(広島大・工, ¹広島大院・統合生命)
- A-11 17:30 Fission yeast nuclear membrane protein Bqt4 is important for the regulation of nucleolus movement in the nucleus
Koki Ito, ○Masaru Ueno
(Grad. Sch. Integr. Sci. Life, Hiroshima Univ.)
- A-12 17:42 奄美群島長寿者腸内細菌叢における二次胆汁酸産生菌の *in silico* 解析
○今里研仁, 永田岳史¹, 高橋雅行¹, 藤田安彦², 大平はる香¹, 武原正明¹, 荒川健佑, 松浦甲彰², 浦元智司², 上山泰男², 森田英利
(岡山大院・環境生命, ¹全薬工業(株), ²医療法人徳洲会)
- A-13 17:54 プラズマベースイオン注入法に用いるサンプルプレートの導電性の違いが *Geobacillus stearothermophilus* 芽胞の損傷に与える影響について
○梅本章矢¹, 河野隆史², 田中 武³, 角川幸治^{1,2}
(¹広工大院・生命, ²広工大・生命, ³広工大院・電気)
- A-14 18:06 吟醸酒醸造のためのリンゴ酸高生産性高知酵母の育種
○河野佑芽, 甫木嘉朗¹, 畠中菜美季, 工藤溪汰, 小椋梨花, 村松久司, 上東治彦², 永田信治
(高知大・農, ¹高知県工技セ, ²高知県酒造組合)

B会場「微生物、遺伝子・ゲノム」

- B-1 15:30 比較ゲノム解析によるオリーブ立枯病菌の特異的因子の解明
○兔子尾真菜, 藤原祥子, 生咲 巖¹, 氏家章雄¹, 松本英治¹, 増中 章²,
市村和也, 田淵光昭
(香川大・農, ¹香川県農試, ²農研機構西日本農研セ)
- B-2 15:42 出芽酵母 Eisosome 機能欠損株における SDS 感受性の原因の解析
○吉澤昂志郎, 坂田健太郎, 田中直孝, 田淵光昭
(香川大・農)
- B-3 15:54 転写因子 Com2 による転写制御を介したスフィンゴ脂質代謝制御機構の解析
○白井里樹, 小松楠於, 間嶋 淳, 田中直孝, 田淵光昭
(香川大・農)
- B-4 16:06 22C-Trick 変異による R460X 飽和変異 *rpoB* の構築とシネフンギンの増産効果
○長谷川広夢, 山形 遙, 小川沙織, 金尾忠芳, 根本理子, 稲垣賢二, 田村 隆
(岡山大院・環境生命)
- B-5 16:18 好熱菌トランスポゾンベクターの性能評価
○小原未愛, 大城 隆¹, 鈴木宏和¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・工)
- B-6 16:30 グルコノバクター属酢酸菌 CHM43 株の 2-ケトグルコン酸代謝に関する研究
○落合将伍¹, 片岡尚也^{1,2}, 松谷峰之介³, 松下一信^{1,2}, 薬師寿治^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³東京農大・ゲノムセ)
- B-7 16:42 サブユニット欠失変異体を用いたグルコノバクター属酢酸菌の膜結合型アルコール
脱水素酵素の解析
○谷岡和也, Nittaya Pitiwittayakul¹, 松下一信², 薬師寿治², 片岡尚也²,
松谷峰之介³
(山口大院・創成科学, ¹Rajamangala Univ. Technol. Isan, ²山口大・中高温微研セ,
³東京農大・ゲノムセ)
- B-8 16:54 2,4,6-トリクロロアニソール生成能の低い麹菌変異株の取得
○遠藤路子, 伊藤 蓮, 伊勢綾加, 植田真矢, 山村萌衣, 上原由梨奈, 藤井雄三,
神田涼子¹, 藤田晃子¹, 磯谷敦子¹, 藤井 力², 山田 修¹
(米子高専・物質, ¹酒類総研, ²福島大・食農)

- B-9 17:06 担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジーを誘導する条件
○北原昂希, 今村友紀, 麻田恭彦, 渡邊 彰
(香川大・農)
- B-10 17:18 Non-*Saccharomyces* 酵母変異株の探索とそれらを利用した簡易ビール醸造試験
○高崎 廉¹, 佐野壮平¹, 岡久修己², 阪本鷹行^{1,3}, 櫻谷英治^{1,3}
(¹徳島大院・創成科学, ²徳島県工技セ, ³徳島大・生物資源)
- B-11 17:30 微生物によるデオキシコール酸代謝機構の解析
○埴淵滉貴¹, 前田竜瑚², 阪本鷹行^{1,2}, 櫻谷英治^{1,2}
(¹徳島大院・創成科学, ²徳島大・生物資源)
- B-12 17:42 油糧微生物ラビリンチュラ類の変異によるアスタキサンチン高生産株の育種
○増田成穂¹, 池田雄祐², 久米いずみ³, 阪本鷹行^{1,2,3}, 櫻谷英治^{1,2,3}
(¹徳島大院・創成科学, ²徳島大院・先端技術, ³徳島大・生物資源)
- B-13 17:54 New evaluation method of *Ralstonia solanacearum* infection on ginger using aseptically regenerated ginger plants
○Mehbub Hasan, Akinori Kiba¹, Yasufumi Hikichi¹, Kouhei Ohnishi¹
(UGAS, Ehime Univ., ¹Agric. Marine Sci., Kochi Univ.)

C会場「酵素・タンパク質」

- C-1 15:30 α -synuclein の簡易調製法の確立と遊離 N-グリカンのアミロイド線維形成抑制活性
○小坂将太, 前田 恵, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命)
- C-2 15:42 緑藻ミル *Codium fragile* 由来レクチン (CFL) の一次構造解析
○八塚真悟¹, 竹内良太^{1,2}, 山本千晴¹, 前田 恵¹, 木村吉伸¹
(¹岡山大院・環境生命, ²一丸ファルコス)
- C-3 15:54 ダイズ由来 L-メチオニン γ -リアーゼ GmMGL1, 2, 3 の大腸菌発現系構築, 精製と性質検討
○横山大輝, 大川敦司, 手嶋 琢¹, 松井健二¹, 田村 隆, 稲垣賢二
(岡山大院・環境生命, ¹山口大院・創成科学)
- C-4 16:06 Cyclo(Leu-Phe) oxidase の幅広い基質特異性の定量的評価 ―天然の電子受容体を用いた活性測定と人工の電子受容体を用いた活性測定の比較―
○坂口幸士朗, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命)
- C-5 16:18 二次構造が異なるシトクロム *c'* の構造及び熱安定性の比較研究
○吉見太佑, 藤井創太郎, 井川 武¹, 三本木至宏
(広島大院・統合生命, ¹広島大院・両生研)
- C-6 16:30 好熱菌 *Geobacillus kaustophilus* に存在する二種類の L-アラニンデヒドロゲナーゼの X 線結晶構造解析
○額田大輝, 大森勇門¹, 大島敏久¹, 櫻庭春彦
(香川大院・農, ¹大阪工大・工)
- C-7 16:42 黒麹菌アミダーゼの機能解析
○湯場亮太^{1,2}, 柿菌ダララット¹, 西堀奈穂子¹, 山田 修¹, 向井伸彦¹, 正木和夫^{1,2}
(¹酒類総研, ²広島大院・統合生命)
- C-8 16:54 *Flavobacterium* sp. SW 由来の特性の異なる 2 つのフコイダン低分子化酵素
○新宮由奈子, 荒井良仁¹, 八木寿梓¹, 鈴木宏和¹, 大城 隆¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大院・工)

C-9 17:06 フラビン依存性ホモ型オピン脱水素酵素の X 線結晶構造解析

○吉原健太郎¹, 渡辺誠也^{1,2}, 渡邊康紀³

(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ, ³山形大・理)

C-10 17:18 *Serratia marcescens* HasA の分泌機構の解明

○中井美邑, 湯浅恵造¹

(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)

D会場「植物, その他」

- D-1 15:30 窒素飢餓条件下におけるアスコルビン酸代謝の応答と生理学的重要性
○岩上拓己, 小川貴央, 石川孝博, 丸田隆典
(島根大院・自然科学)
- D-2 15:42 葉緑体におけるグルタチオン依存アスコルビン酸再生系の重要性
○濱田あかね, 小川貴央, 石川孝博, 丸田隆典
(島根大院・自然科学)
- D-3 15:54 光呼吸由来の酸化ストレス誘導性細胞死の分子制御機構
○石橋可菜¹, 丸田隆典^{1,2}, Amna Mhamdi², Frank Van Breusegem²
(¹島根大院・自然科学, ²Plant Systems Biol., VIB-Ghent Univ.)
- D-4 16:06 遊離 N-グリカンとオーキシンの相互作用
○堀口 星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-5 16:18 酸性 PNGase/細胞質 PNGase 欠損 *Arabidopsis thaliana* の遊離糖鎖構造解析
○奥村 陸¹, 白井佐保子², 前田 恵^{1,2}, 梶浦裕之³, 三崎 亮³, 藤山和仁³, 木村吉伸^{1,2}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命, ³阪大・国際交流セ)
- D-6 16:30 標的細胞・オルガネラへの代謝活性化を利用したオーキシンドリバリー制御系の構築
○田中佑佳¹, 江田智彬², 前田雅志², 古川 毅², 福井康祐^{1,2}, 三井亮司^{1,2}, 林謙一郎^{1,2}
(¹岡山理大院・理, ²岡山理大・生物化学)
- D-7 16:42 点滅光照射によるレタスの生育促進効果 1 ―照射時間依存性―
○木村祐太¹, 三輪浩平¹, 太田健志郎¹, 藤村亮佑¹, 谷川浩司^{1,2}, 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 國本 崇^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)
- D-8 16:54 点滅光照射によるレタスの生育促進効果 2 ―波長依存性―
○三輪浩平¹, 木村祐太¹, 太田健志郎¹, 藤村亮佑¹, 谷川浩司^{1,2}, 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 國本 崇^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

D-9 17:06 タデ藍の生育に及ぼす点滅光照射の影響

○谷川浩司^{1,2}, 木村祐太¹, 三輪浩平¹, 太田健志郎¹, 藤村亮佑¹, 前田淳史¹,
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)

D-10 17:18 スジアオノリの生育過程に及ぼす光照射条件の影響

○藤村亮佑¹, 太田健志郎¹, 三好航輝², 白石純也², 松田優輝², 前田敦史²,
三好真千², 谷川浩司^{1,2}, 木村祐太¹, 三輪浩平¹, 松田和典^{1,2}, 箕田康一^{1,2},
梶山博司^{1,2}

(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

E会場「有機化学・天然物，食品，動物，その他」

- E-1 15:30 放線菌が生産するアゾキシアルケン化合物の生合成メカニズムの解析
○田中 悠¹，達川綾香²，岸本拓也²，國武博文²，福本 敦³，安齊洋次郎³，
荒川賢治^{1,2}
(¹広島大院・統合生命，²広島大院・先端研，³東邦大・薬)
- E-2 15:42 計算機予測による抗腫瘍活性向上を目指した単環式 lankacidin 誘導体の酵素合成
○西浦菜摘，Rukman Muslimin，手島愛子，Kiep Minh Do¹，児玉 猛¹，
森田洋行¹，Cody Wayne Lewis²，Gordon Chan²，Ahmed Taha Ayoub³，荒川賢治
(広島大院・統合生命，¹富山大・和漢研，²Univ. Alberta，³Heliopolis Univ.)
- E-3 15:54 *Mycobacterium smegmatis* に対する Fagaramide 誘導体の抗菌活性と構造活性相関
○高木風月，塚本沙恵香，BUXTON Thomas，柏木丈拵，IDOLA Desmila，
村松久司，島村智子，金 哲史
(高知大・農)
- E-4 16:06 インドネシア産薬用植物 *Baekkea frutescens* が示す結核菌類縁菌 *Mycobacterium smegmatis* JCM 6386^T に対する抗菌活性
○飯田桃子，IDOLA Desmila，BUXTON Thomas，柏木丈拵，塚本沙恵香，
村松久司，島村智子，金 哲史
(高知大・農)
- E-5 16:18 カワラヨモギが生産するハマウツボ種子発芽刺激物質
○後藤由祐，古本敏夫¹
(香川大院・農，¹香川大・農)
- E-6 16:30 オガタマを寄主とするミカドアゲハの産卵刺激物質の探求
○南 悠花，金 哲史，本田計一¹
(高知大院・農，¹西条生態研)
- E-7 16:42 ナガサキアゲハの蛹体色調節機構の解析
○上野翔也，山城友孝¹，小島 渉，北沢千里²，山中 明
(山口大院・創成科学，¹山口大・理，²山口大・教育)
- E-8 16:54 米の抗酸化活性に寄与する成分の評価
○郭 穎楠，Wu Hongyan，藤田明子¹，中村俊之，宗正晋太郎，村田芳行，中村宜督
(岡山大院・環境生命，¹(株) サタケ)

- E-9 17:06 エタノール毒性に対する枸杞子ポリフェノールの細胞保護作用とその作用機構
○木俣実乃里, 明神 匠, 中村俊之, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
(岡山大院・環境生命)
- E-10 17:18 玄米抽出物の細胞保護作用へのフェルラ酸の寄与
○松本莉歩, Wu Hongyan, 郭 穎楠, 藤田明子¹, 宗正晋太郎, 村田芳行,
中村俊之, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹(株) サタケ)
- E-11 17:30 ベンジルイソチオシアネートの細胞増殖抑制作用におけるグルタチオン S-トランス
フェラーゼの役割
○瀬戸将之, 中村俊之, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
(岡山大院・環境生命)
- E-12 17:42 β' 型チョコレートの開発に関する研究
○黄 杰, 小泉晴比古, 田口 健¹, 上野 聡
(広島大・統合生命, ¹広島大・先進理工)
- E-13 17:54 抗悪性腫瘍薬ブスルファン曝露によるセルトリ細胞障害の解析
○小瀬木碧, 樋口雅司, 西村 亮¹, 山野好章
(鳥取大・獣医生化, ¹鳥取大・獣医繁殖)

F会場「食品」

- F-1 15:30 廃用性筋萎縮からの回復を促進する 8-プレニルナリンゲニンがアミノ酸動態に与える影響について
○田中寛人, 堤 理恵¹, 大江健一², 卯川裕一², 向井理恵
(徳島大・生物資源, ¹徳島大院・代謝栄養, ²(株)ダイセル)
- F-2 15:42 魚介類のセレン源であるセレノネインの肝脂質代謝への影響
○松下功暉, 進藤龍之介, 杉浦義正, 世古卓也¹, 山下倫明, 宮田昌明
(水大校・食品科学, ¹水産機構水技研)
- F-3 15:54 食用種子由来植物 *N*-グリカンの腸内細菌増殖活性について
○吉松杏那, 前田 恵, 山本 勇¹, 笹田歩佳¹, 木村万里子¹, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命, ¹神戸女大院・食物栄養)
- F-4 16:06 かつお節由来成分の血中中性脂肪の低下作用機序
○関 英治, 山根拓也¹, 大久保岩男²
(ヤマキ(株)・商品開発部, ¹阪大, ²天使大)
- F-5 16:18 ジャパニーズ・クラフトジンの製造条件と香りの品質の関連性
○谷中駿一^{1,2}, 長船行雄², 磯谷敦子^{1,2}, 向井伸彦²
(¹広島大院・統合生命, ²酒類総研)
- F-6 16:30 O次(早期)分析に基づいた清酒醸造特性の米品種間差解析
○高橋 圭^{1,2}, 奥田将生^{1,2}, 上用みどり¹, 沼田美子代¹, 包 紅彬¹, 河野弘美¹
(¹酒類総研, ²酒米研究会)
- F-7 16:42 Controlling crystallization behavior of tropical oil by using ultrasound stimulation
○Kaicong Hong, Haruhiko Koizumi, Satoru Ueno, Ken Taguchi¹
(Grad. Sch. Integr. Sci. Life, Hiroshima Univ., ¹Grad. Sch. Adv. Sci. Eng., Hiroshima Univ.)
- F-8 16:54 O/W エマルション中の油相の結晶化における鎖長の異なる乳化剤の添加効果
○史 聰松, 小泉晴比古, 上野 聡, 田口 健¹
(広島大院・統合生命, ¹広島大院・先進理工)

- F-9 17:06 ツノナシオキアミペースト製造条件の検討
○福田 翼, 辰野竜平, 古下 学
(水大校・食品科学)
- F-10 17:18 高知県地産生鮮青果物の GABA 含有量の調査－GABA 高含有生鮮食品の機能性表示食品の届出－
○瀬尾彩萌, 山本博志¹, 韓 力², 柏木丈弘, 島村智子
(高知大・農, ¹くだものの山長, ²高知大・土佐 FBC)
- F-11 17:30 シシトウ非辛味系統の特性評価
○森 大地, 松本直也, 鍋島怜和^{1,2}, 尾崎 耕¹, 柏木丈弘, 島村智子
(高知大・農, ¹高知農技セ, ²高知県農業振興部)
- F-12 17:42 科学的分析による各種シシトウの特徴の可視化
○松本直也, 森 大地, 柏木丈弘, 島村智子
(高知大・農)

受 賞 講 演
講 演 要 旨

河内晩柑の機能性を活かし中高年者の認知機能維持に貢献する果汁飲料の開発

首藤正彦（(株) えひめ飲料）、○古川美子（松山大・薬）、
伊賀瀬道也（愛媛大・医）、福田直大（愛媛県経済労働部）

愛媛県特産柑橘の河内晩柑は、果皮にオーラプテン（auraptene; AUR）を特異的に多量に含有し、搾汁過程で一部の AUR は果汁に移行する。AUR は、これまで報告されていた末梢組織のみならず、脳においても炎症反応を抑制し脳保護効果を示す。これらの松山大学薬学部約 10 年に亘る基礎研究から得られた成果をもとに、愛媛県の産官学は共同で、「AUR 高含有河内晩柑果汁飲料」を創出した。近年、認知症等多くの疾患に共通する基盤病態のひとつは体内で長期間くすぶり続ける慢性炎症であると考えられており、実際この果汁飲料を摂取した中高年者では認知機能の一部である記憶力の維持が認められた。

ヒトにおいて認知機能維持が図れる河内晩柑果汁の量は、病態モデルマウスを用いた実験結果から 1 日 500 mL 程度と試算された。しかしカロリー過多を防ぐには 1 日 1 パック（125 mL）程度が望ましい。そこで、AUR 等の機能性成分を高める栽培貯蔵技術を愛媛県農林水産研究所みかん研究所において、最適な搾汁/加工技術を愛媛県産業技術研究所食品産業技術センターにおいてそれぞれ検討した結果、AUR 濃度を高めるためには果皮を利用することが効果的と示唆された。しかし果皮を利用するには、①硬い果皮を細かく砕くのが難しい；②粗い果皮は舌触りが悪い；③果皮に多く含まれる苦味物質が果汁を苦くする等の問題点があった。これらの課題は、コミトロールを用いて微細化処理を行い、熱水処理及び水晒しで脱苦味処理を行うことで解決した。作出した AUR 高含有河内晩柑果汁飲料は舌触りやのど越しが格段に改善され、河内晩柑特有の爽やかで心地よい苦味を有し、従来の河内晩柑とは一味違う味わいを楽しむことができるものとなった。最終的にホモジナイザーによる均質化処理・脱気・濾過・除塵・殺菌・冷却を行った後、125 mL の白無地紙容器に無菌充填し試験飲料（6 mg AUR 含有）とした。本飲料の安全性は、受託研究機関においてマウスを用いた単回投与毒性試験及び 28 日間反復投与毒性試験・細菌を用いた復帰突然変異試験を行うことにより、愛媛県衛生環境研究所において薬物相互作用・残留農薬による影響を解析することにより確認した。本飲料の安定性は、5℃又は 25℃で 6 ヶ月保管しても機能性成分の減少がほぼないことにより確認した。動物実験レベルでの有効性は、一過性脳虚血モデルマウスに投与して期待通り脳における炎症反応抑制効果を見出し確認した。ヒト介入臨床試験は愛媛大学医学部附属病院抗加齢・予防医療センターにおいて、平均年齢 71 歳の健康な 82 名の被験者（認知症でない方）の協力のもと二重盲検法で実施した。被験者には本果汁飲料あるいは対照飲料（0.1 mg AUR 含有）を 6 ヶ月摂取していただいた。摂取期間前後に軽度認知障害スクリーニングテスト「あたまの健康チェック」（(株) ミレニア）で用いる「10 単柑橘語想起テスト」を行った結果、本飲料摂取群で有意な効果が認められた。以上の成果をもとに、2018 年に機能性表示食品の消費者庁届出を行い、9 月に受理され、12 月に機能性表示食品「POM アシタノカラダ河内晩柑ジュース」の販売が開始された。

本商品は、機能性成分の宝庫である柑橘果皮の利活用の道を開いた。これまで果汁を搾った後の柑橘果皮残渣は廃棄されその処理に多大な費用が必要であったのに対し、これを利活用すれば逆に農家の収入アップを図ることができる。本商品は、認知機能の維持をヘルスクレームにした機能性表示食品のうち、最終製品で臨床試験を行ったサプリメント形状ではない初めての食品である。認知症を完治させる治療法がない現在、進行を遅らせる・発症を事前に予防するしかなく、本商品は毎日の食生活に認知症予防を取り入れることを容易にする。本商品の機能性関与成分 AUR は、伝承的に体によい食品や疫学調査から有効とされる食品から見出されたものではなく、基礎研究結果から見出された。今後の食と脳に関する研究発展が、本商品創出により加速することを願って止まない。

植物環境順応におけるアスコルビン酸と活性酸素種の相互作用に関する研究

丸田隆典（島根大・生資科）

移動の自由を持たない植物は常に環境変化（ストレス）に曝されている。ストレス条件では光合成などの一次代謝が攪乱され、その結果として活性酸素種（ROS）の生成が高まり、酸化障害の引き金となる。一方、ROS は環境順応を制御するシグナルとしても重要な機能をもつ。ROS の細胞毒性作用とシグナル機能のバランスは抗酸化システムによって精密に制御されており、特に中心的な役割を果たすのが主要抗酸化剤のアスコルビン酸である。植物は独自のアスコルビン酸生合成、利用および再生機構を進化過程で獲得することにより、当該抗酸化剤の高蓄積とレドックスバッファーとしての利用を可能にしてきた。アスコルビン酸代謝を介した ROS 作用のバランス制御は植物の環境順応の根幹を担っており、その分子機構の解明は食糧増産や環境問題解決にも繋がると期待される。そこで、アスコルビン酸代謝の分子機構や生理学的意義について、特に同代謝による ROS 作用のバランス制御の観点から幅広く研究を進めてきた。今回は、アスコルビン酸代謝と他の防御機構の協働が作り出す酸化ストレス防御の頑健性について紹介させていただく。

アスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）は光合成真核生物に特異的な H_2O_2 消去酵素である。高等植物には複数の APX アイソフォームが存在し、それらは細胞質、ペルオキシソーム、ミトコンドリアおよび葉緑体のストロマ（sAPX）とチラコイド膜（tAPX）に局在する。光照射下では光合成がもっとも主要な ROS の発生源となりうる。それに関わらず、葉緑体型 APX は極めて不安定であり、厳しい環境ストレス条件では容易に失活する。この「敵前逃亡」とも言える奇妙な特性のために、葉緑体型酵素は植物の光環境順応のアキレス腱であり、その遺伝的な欠損は致命的な影響をもたらすと信じられていた。しかし驚くべきことに、シロイヌナズナの sAPX および tAPX の単独および二重欠損株は野生株と同じように健康に成長し、野生株レベルの強光ストレス耐性を示した。さらなる検証のため、エストロゲン誘導性 RNAi 法によるコンディショナルな tAPX の発現抑制系をシロイヌナズナで構築し、tAPX 発現抑制前後のさまざまなタイミングで強光ストレスを付与したが、それでも耐性能力には影響がなかった。一方、tAPX の発現抑制は数百の核コード遺伝子の発現に影響した。これらは酸化ストレス防御とは直接関連しない遺伝子であったため、抑制株の高いストレス耐性を説明できる結果ではなかったが、tAPX の「 H_2O_2 シグナルの調節因子」としての可能性は強く示唆された。

葉緑体型 APX は酸化ストレス防御酵素としては重要ではないのだろうか？最近、光合成の制御による ROS 生成の抑制機構の重要性が明らかになってきた。例えば、光照射に伴うチラコイド膜内腔（ルーメン）の酸性化は光合成電子伝達系のフラックスを低下させることで、末端で生じる ROS 生成を強く抑制する。この仕組みには、Proton Gradient Regulation 5（PGR5）タンパク質が関与している。APX と ROS 生成抑制機構との相互関係を明らかにすることを目的に、葉緑体型 APX と PGR5 の全てを欠損させたシロイヌナズナ三重変異株を作出した。その結果、それぞれの単独欠損株と比較して、三重変異株では顕著なレドックス異常を伴う著しい細胞死が生じることが明らかになった。これらの事実から、葉緑体の ROS レベルは生成および消去の両段階で極めて精密に制御されていることがわかってきた。すなわち、植物の光ストレス防御機構は複数のシステムの協働によって極めて頑健に構成されており、その基盤として葉緑体型 APX は重要な役割を担っていることが明らかになった。この例のように、アスコルビン酸の利用および再生についても植物は極めて頑健かつ柔軟な仕組みを発達させてきたことが、我々の研究によって明らかになってきた。現在は、アスコルビン酸代謝の農作物育種への応用を目指して、アスコルビン酸と「ROS シグナル」の関係性について詳細な研究を進めている。

産官学連携シンポジウム

講演要旨

高知が生んだ世界初の「宇宙深海酒」

上東治彦（高知県酒造組合）

土佐酒は国内のランキング（全国市販酒類調査）では普通酒から吟醸酒まで甘辛度による辛さとアミノ酸度の低さは連年5位以内、酸の高さは吟醸酒では5位以内と、全国で最も辛口で、酸味がしっかりあって、飲みごたえがあり、雑味が少なく、後口がきれいな味が特徴である。鯉のような脂の乗った肴に最もマッチした味で、地域の食、気候、風土によって培われてきた味である。この特徴ある酒質のため、地酒占有率は80%と地域の人々に愛されてきた酒である。

2005年土佐酒の美味しさを全国に方に知ってもらおうと、土佐宇宙酒を開発した。高知酵母6種類をバイコンヌール基地からソユーズで国際ステーションに運び、宇宙飛行士と同じ空間の高度400 Kmで、10日間増殖して帰ってきた。同時に高知の酒米も宇宙旅行をさせ、この酵母と米を使って県内の全18酒造場が宇宙酒を醸造した。世界初の宇宙酒として全国のメディアで大きく報道され、土佐酒の名前を全国に広めることができた。

更に14年後、海洋開発研究機構の協力を得て、宇宙酵母を無菌パックに充填し、深海6000 mまで沈め、生還してきた酵母で宇宙深海酒を造ろうという試みが行われた。初回は2019年3月に海底探査装置「江戸っ子1号」により南鳥島周辺海域5,540 mと5,770 mの深海、600気圧、水温1℃に設置され、1年後に帰還した。顕微鏡下では酵母菌体は確認できたが、シャーレ上での酵母の生存は確認できず、全滅していた。予備試験では数時間の高圧処理では完全に死滅しないことを確認していたが、高圧で1年という過酷な条件に加え、当初水温は4℃と聞かされていたため、増殖に伴うCO₂ガスの発生によるパックの破裂を危惧し、充填する酵母数を抑えていたこと、更に宇宙で生まれ、14年間冷凍保存してきた酵母菌体を活性化せず、そのまま投入したことも原因であったが、圧力の怖さを改めて認識させられた。そこで食品加工用の高圧処理装置「まるごとエキス」を用いて酵母菌体に12%エタノールまたは45%グルコース存在下で、30℃で70 MPaの圧力を4日間かけ、生存してきた株を培養後、再度圧力をかけるという操作を7～14回繰り返し行い、圧力耐性酵母を取得した。取得した耐圧株の中には圧力耐性が親株の50倍に高められた株も得られた。また、これらの耐性株はYM培地を用いた6回の継代培養後も耐圧性を維持しており、耐圧性は遺伝子レベルで決定される形質であると考えられた。しかし、耐圧株でも4日間の高圧処理後の生存率は数%～数十%であり、数か月単位の深海設置での生存は相当厳しい条件であった。但し、高圧処理時の温度を1℃とすると生存率が格段あがることも実験で確認しており、一縷の望みもあった。宇宙酵母をはじめ県内での常用酵母より取得した耐圧株とそれらの親株を含め108株を選抜し、2日間振とう培養した培養液3 mlずつを無菌パックに充填し、2021年1月に茨城県沖200 Km、6225 mの深海に再び設置され、4か月後の5月に帰還した。帰還した酵母懸濁液をシャーレに塗布して培養した結果、108株中11株の生存が確認されたが、その際の生存率は0.0000002～0.0002%と非常に厳しいものであった。12 g仕込み試験での1次スクリーニング、150 g仕込み試験での2次スクリーニングを経て、清酒醸造が可能な有望株を選抜し、R3酒造年度に県内8酒造場で宇宙深海酒、深海酒の醸造を行った。得られたお酒はいずれも宇宙のように果てしなく広がり、深海のように奥深い味わいのお酒に仕上がった。高低差406 Kmで生まれ育ち、耐え抜いた世界初の真核生物で醸された宇宙深海酒の誕生である。 問い合わせ先 高知県酒造組合 sakagura@io.ocn.ne.jp

オール高知が生んだ日本ワイン「TOSA」の誕生

梶原英正（井上ワイナリー（株））

弊社は、高知県南国市稲生に本社を置く井上石灰工業株式会社を母体とするワイナリーとして2016年に設立。石灰を扱う企業がワイン事業を手掛ける事を不思議に思われますが、井上石灰工業は果樹類で主に使用される農薬「IC ボルドー」を製造販売し、国内の生食・醸造用のブドウ栽培において基幹薬剤として普及しており、ブドウ栽培やワインに関する距離は想像されるよりも遠くはありません。また、ブドウ栽培の歴史において「ボルドー液」は重要な役割を果たしてきました。私達は、設立に先立ち2012年4月より醸造用ブドウの栽培試験を開始し、高温多湿な高知の条件下でも、高品質で特徴のあるブドウを収穫するための栽培方法・肥培管理を調査し、高知らしさを表現できる品種の選択に取り組んできました。

醸造面では、2017年8月より4年間、山梨県勝沼町のワイナリーへ高知で育てたブドウを持ち込んでワイン醸造に関する知識と技術を学ぶと共に、日本ワインのこれまでの歴史と、先哲のワイン造りへの熱い思想を知ることが出来ました。

ワインにおいて「テロワール」の意味のひとつとしてブドウ畑を取り巻く自然環境要因があり、ワインの味を決める重要な要素です。高知でのチャレンジに驚かれる方も多いですが、高知の自然環境を想像してみてください。県土の約8割を占める自然豊かな山、そこを源流として流れる水質に富んだ川、その川が注ぎ黒潮が流れ込む綺麗な海を持つ環境は全国的にみても誇れる地域が多く、畑を取り巻く自然環境としては非常に特徴的で恵まれたテロワールではないでしょうか？しっかりと凝縮感や長期熟成に向けたブドウを栽培することは厳しいかもしれませんが、甘味、辛味、酸味、渋味などの味のバランスが良く、飲みやすく飽きの来ない高知らしいワインづくりを目標に、高知の食に合わせたワイン醸造を行い、カツオのたたき、四万十うなぎ、鮎、土佐あかうし、山菜など、山・川・海の幸のそれぞれの食材に対して、これやき！というような合わせ方ができる造りを目指しています。

高知の郷土料理である皿鉢料理が振舞われる宴会は「おきやく」と言い、大皿料理を囲んで楽しむ独自の宴席の文化があります。ワインで可杯（べくはい）や、菊の花を行うと怒られるかもしれませんが、お酒を食事と共に大勢で楽しむという素晴らしい文化が高知にはあります。ワインというと少しよそ行きな感じで高級感を感じられることも重要な要素ですが、土佐人らしく気取らず大勢で大きな声を上げて、あーだ、こーだと、くだを巻きながらも飲むよう、ワインを身近な存在に感じてもらえるような活動を行います。

販売は醸造所併設のショップをはじめ自社オンラインショップや、畑のある地域の酒屋さんを中心にTOSAワインの関係人口を増やしつつ、高知が生んだ日本ワインとして、地元の方々の誇りになるようブドウ栽培・醸造に試行錯誤しながら高知でのワイン造りに真摯に取り組んで参ります。

醸造所兼ショップ：2022年4月29日（金）グランドオープン予定

オンラインショップ URL：<https://www.tosawine.com/>

高知の地場資源で輝くクラフトビール「TOSACO」とその未来

瀬戸口信弥（高知カンパニーブルワリー）

2018年の開業以来、一次産業王国たる高知県の多種多様な素材を活かしてクラフトビール造りを行ってきた。そこには高知の食、自然、人が好きになり、ついに移住して醸造所を起こした創業者の「高知だからこそ造ることのできるビール」への想いがある。

柚子や土佐文旦といった全国的にも知名度のある高山柑橘や、冷涼な山間部でとれる美味しい食用米を使ったものなど、3種類のビールを皮切りに、現在では常時14種類を製造し、国際的なビール審査会でも受賞した実績がある。

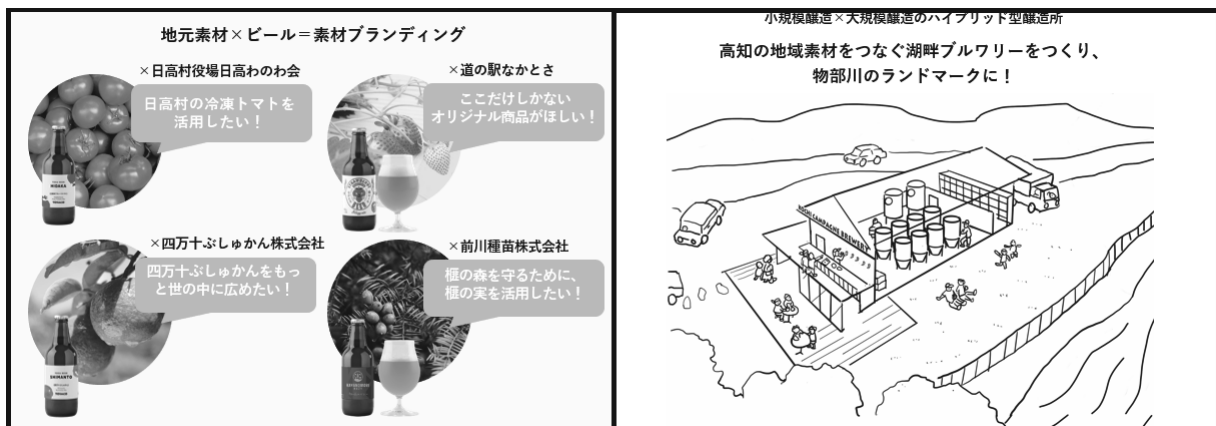
この当社の多品種生産を支えるのが、一仕込み120Lの小規模醸造設備である。生産性の低さ、品質管理の難しさはあるものの、小ロットならではの強みと、小規模農家の魅力的な素材が集まりやすい高知の強みを掛け合わせて、多種多様な地域発のビール造りを行なっている。また、個性のある美味しいビールを作り、消費者に喜んでいただくことは当然のことながら、地域や生産者からの様々な要望に応えることを目指している（画像1）。

「収穫期にたくさんできた作物を冷凍して保管しているが使ってくれないか」「この作物を皆にもっと知ってほしい」「地域の素材でオリジナルビールを作ってほしい」

これらの声に応えながら行なってきた当社のビール造りの様子は、自社からも記事にして発信している。是非ご覧いただきたい。（https://note.com/campagne_brewery/）

普段から生産者とながらってビール造りをするなかで、生産者の高齢化の現実を感じる。いくら美味しい素材でも、生産者にとって続けられない理由がある。生産者に支えられた当社の事業にとっても重大な問題であり、やがては事業をとおしてより本質的な活動を行ないたい。

当社では現在新工場への移行計画を進めており、2022年内の稼働を目指している。この計画は上述したこれまでの活動をより強く推進するとともに、生産面ではこれまでの10倍量の醸造設備も導入して、大小設備のハイブリットで生産の最適化、品質の飛躍的向上を目指すものである。これまではできなかった工場併設の直営店運営をとおして、お客様との直接的な関係を構築することも計画している。新工場予定地の物部川地域は、ファミリーや観光客が多く訪れる。風景をいかしたカフェや温泉、宿泊施設が展開。多種多様な職人も多数いる。高知市や空港、インターチェンジからも近い。そこに地域素材をつなぐ醸造施設をつくり、地域のランドマークとして地域イノベーションの中心になるのが本事業の目的である（画像2）。生産者たちとのコラボレーションイベントをとおし、お客様にこの地域の独自の食体験・交流体験を促していく。例えば、「青空ビアガーデン」や「日曜マルシェ」を立ち上げ、地元生産者やクラフト作家、キッチンカーが出店するイベントを開催する。これらをとおして地域の魅力を可視化するとともに、生産者同士の交流により地域に小さなイノベーションが出来ていくことを目指す。



高知の新しい酒米「土佐麗」と異端児酵母「CEL24」の今

甫木嘉朗（高知工技セ・食品開発）

令和元年度の高知県製造品出荷額によると、高知県の酒類関連製造品出荷額は飲料・飼料全体の40%を占めている。また、高知県を訪れる旅行客の楽しみの1つに『食の豊かさ』があげられることも多く、誘客の観点からも土佐酒の知名度が産業振興に寄与していると考えている。現在、県内には酒造メーカーが18社、焼酎専門メーカーが2社、ワイナリーが3社、クラフトビールブルワリーが3社あり、その他にも15地域が濁酒やリキュール、果実酒の構造改革特別区域として認定されている。高知県工業技術センター食品開発課では、数十年前から酒類製造業を支援するための研究や研修、依頼分析・技術指導を通じて、県産酒類の品質向上に尽力してきた。

一方、国税庁の調査によると、少子高齢化や人口減少等の人口動態の変化や若年層のアルコール飲料忌避傾向により、清酒の課税移出数量は昭和48年度のピーク時（177万KL）から令和元年度には3割以下の46万KLまで減少している。しかし、純米酒及び純米吟醸酒については平成20酒造年度の8.2万KLから令和元年度酒造年度は10.1万KLと23.2%増加している。また、清酒製造業の出荷金額の単価は上昇し、出荷金額も平成24年から増加基調にある。これらは、より高付加価値の商品の需要の高まりを表すものと考えられる。

清酒の原料は、酒税法により米、麴、水、（清酒粕、醸造用アルコール）と定められており、主原料である米の品質が商品に及ぼす影響は大きく、また、地酒原料として考えると県産米使用率が低いことは県外・海外への販売において弱点となる。そういった背景から、工業技術センターでは県産米の使用率を向上させるために高知県農業技術センターと共同で酒造に適した性質を持つ酒米品種の開発に取り組んできた。酒米には、食用にも使用される「一般米」と醸造により適した性質を持つ「酒造好適米」の2種類がある。醸造に適した性質には、大粒で心白があること、タンパク質が少ないこと、精米性・吸水性・消化性が良いことがあげられる。これまで県独自の酒米品種として、1994年に早生品種の一般米「土佐錦」、1997年に中山間地域で主に栽培される中生品種の酒造好適米「吟の夢」、2000年に平地地域で主に栽培される早生品種の酒造好適米「風鳴子」を開発してきた。それ以来、「吟の夢」の使用量は増加していったが、「風鳴子」は心白が大きく精米時に割れやすいこと、「土佐錦」は収穫時の脱粒性があることから使用量は低迷していた。そこで、業界から強い要望のあった「風鳴子」に代わる早生品種の酒造好適米として、2019年に「土佐麗（とさうらら）」を開発した。「土佐麗」は「風鳴子」の心白の大きさを改善した品種であり、精米時の割れやすさはなくなり、「風鳴子」と同等の醸造適性は保持している。2019年に26ton、2020年に36tonと順調に使用量が増加しており、県産米使用率の向上に貢献している。今回は、この新品种「土佐麗」について酒造適性等を報告する。

次に、清酒の酒質を決定する一番大きな要因となる清酒醸造用酵母について紹介する。工業技術センターでは長年にわたり清酒酵母の育種を行ってきており、高知県オリジナル清酒酵母を多数有することが本県酒造業界の強みとなっている。県内酒造メーカーは、発酵力の強弱やカブロン酸エチル、酢酸イソアミルといった吟醸香の量とバランスを考慮して理想とする酒質にマッチする酵母を選択している。代表的なオリジナル酵母として、カブロン酸エチルを高生産する「CEL11」、「CEL19」、「CEL24」、「CEL66」や酢酸イソアミルを高生産する「A14」、「AA41」、酢酸イソアミルとカブロン酸エチルの両方を高生産する「AC17」、「AC26」、「AC95」などがある。なかでも「CEL24」は全国でも類をみないカブロン酸エチルの生産力を持っているうえに、発酵力が控えめで甘めの低アルコール酒に仕上がりがやすいこと、リンゴ酸を生産しやすく爽やかな酸味があることから、今まであまり清酒を飲んでいなかった層から支持を得ている。また、中国を筆頭に輸出量も拡大傾向であり、同酵母を使った商品は国内外で人気を博している。

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 *Acidomonas* 属酢酸菌に特有なランタノイドによるグリセロール生育抑制と機能未知 PQQ 酵素
○稗田莉奈, 堀田靖人, 宇都宮大貴, 阿野嘉孝 (愛媛大院・農)

【背景・目的】メタノール資化性酢酸菌 *Acidomonas methanolica* は、ランタノイド (Ln) 存在下では、グリセロールでの生育を抑制する、PQQ 依存性アルコール脱水素酵素の発現を抑制する、という特有な細胞応答を示す。酢酸菌にとって良好な炭素源での生育を抑制する、主要なエネルギー代謝酵素の発現を抑制する、というこれらの応答は、酢酸菌の生理学的に非常に興味深い。本研究ではこの細胞応答および生理的意義を理解することを目指して、グリセロール生育時の Ln に対する遺伝子発現挙動と、Ln との関与が疑われる機能未知 PQQ 酵素の関係を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】まず、その一次構造から Ln との関与が疑われる Pqq6 を精製し特徴付けを行ったが、期待に反してグリセロール酸化活性は確認できなかった。次に、*pqq6* 遺伝子破壊株を作製し、その生育挙動を調査すると、Ln 存在下でもグリセロール培地で旺盛な生育を示したことから、*pqq6* は酵素としてではなくグリセロール代謝の調節に機能することが考えられた。ゲノム上の *pqq6* 周辺には Ln 応答性 *xoxF* とそれとともに機能する *cytA* が存在したことから各遺伝子破壊株も作製し生育を観察したところ、こちらでもグリセロール生育抑制が解除されていた。一方、Ln 存在下でも良好な生育をする変異株を取得し、Ln 存在下での *pqq6*・*xoxF* の遺伝子発現量を調査すると、野生株に比べ大幅に *pqq6*・*xoxF* の発現が抑制されていた。以上から、*pqq6* が存在する遺伝子領域の発現が、Ln 存在下でのグリセロール生育を抑制している要因の一つであることを明らかにした。

A-2 リピドーム解析から見てきた小胞輸送の脂質代謝制御
○中里光希, 池田敦子, Isabelle Riezman¹, Howard Riezman¹, 船戸耕一
(広島大院・統合生命, ¹ジュネーブ大・理)

細胞膜やオルガネラはそれぞれ固有のタンパク質と脂質組成を有しており、それらが正しく維持されて細胞は正常に機能する。タンパク質の局在や脂質組成の維持には合成された場所から目的の場所へ正確に運ばれる必要があるが、それらに重要な役割を果たしているのが小胞輸送を中心とする細胞内ロジスティクス、中でも分泌経路の入り口としての役目を果たす小胞体からの COPII 小胞を介した輸送である。生体膜を構成する脂質やその前駆体の多くは小胞体で合成されることから、脂質のホメオスタシスに COPII 小胞輸送が重要な役割を果たしていることが推察されるが、具体的な役割は不明である。

本研究では、COP II 小胞輸送が高温で障害を受ける温度感受性変異株 *sec12-4* とそのコントロール株 (野生株) のグリセロリン脂質とスフィンゴ脂質の質量分析法によるリピドーム解析を行なった。解析の結果、野生株と *sec12-4* 変異株の間で、グリセロリン脂質とスフィンゴ脂質の全量には大きな違いは認められなかった。しかし、構造の異なるスフィンゴ脂質の量に違いが認められた。このことにより、COP II 小胞を介した小胞輸送はスフィンゴ脂質組成の恒常性維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

A-3 出芽酵母におけるスフィンゴ脂質による液胞の形態制御機構
○花岡和樹, 池田敦子¹, 船戸耕一¹ (広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)

スフィンゴ脂質の主要な代謝産物として *phytosphingosine*(PHS)や *dihydrosphingosine*(DHS)などのスフィンゴイド塩基やセラミドが存在する。スフィンゴ脂質は細胞の大きさや生育速度, 細胞死を調節するシグナル伝達物質として機能し, 細胞の生存に非常に重要な分子種である。出芽酵母において, 細胞外の PHS は細胞に取り込まれるとリン酸化を受け PHS-1P となる。その後, 小胞体まで運ばれた後, 脱リン酸化を受け PHS に変換されることで, セラミドや複合スフィンゴ脂質の前駆体として利用される。

当研究室のこれまでの解析から, 細胞外部から PHS を添加すると, 液胞が断片化を引き起こすことが明らかにされた。本研究では PHS 添加による液胞断片化の原因が, PHS か PHS-1P もしくはその他スフィンゴ脂質の代謝産物であるかを調べることを目的とした。PHS のリン酸化酵素(*Lcb4/5*)と脱リン酸化を(*Lcb3*)をそれぞれもしくは同時に欠損させた *lcb4Δ5Δ*, *lcb3Δ*, *lcb3Δ4Δ5Δ*株に PHS を添加し, 液胞の断片化の程度を観察した。*lcb4Δ5Δ*および *lcb3Δ4Δ5Δ*では野生株と同程度の液胞断片化を引き起こした。一方で *lcb3Δ*では液胞断片化がほとんど見られなかった。また, 液胞断片化の原因が PHS から合成されるセラミドである可能性についても調べた。セラミド合成酵素の *Lag1* と *Lac1* を欠損させた *lag1Δlac1Δ*の液胞を PHS 存在下で観察した結果, PHS による液胞の断片化は抑制されなかった。これらの結果から, 細胞外からの PHS 添加による液胞断片化の原因は PHS-1P やセラミドでなく, PHS であることが示唆された。

A-4 微細藻類ユーグレナの増殖過程に及ぼす光照射条件と pH 依存性
○三好航輝¹, 太田健志郎², 藤村亮佑², 三輪浩平², 木村祐太², 前田淳史¹, 谷川浩司^{1,2}, 松田和典^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大・理工, ²徳島文理大院・工)

【背景と目的】ユーグレナは, 水田や池などに生息している微細藻類である。ユーグレナからバイオ燃料の原料であるワックスエステルを得られるので, 脱炭素化社会の切り札として注目されている。レタスなどの作物では, 微弱な点滅光により生育と二次代謝物質生産が促進するとの報告がある^[1,2]。本研究では, ユーグレナの増殖に及ぼす微弱点滅光と pH が増殖に及ぼす影響を明らかにする。

【方法】培養は, 白色 LED 蛍光灯を 12 時間連続照射し, 消灯後に点滅光を 4 時間照射した。培養期間は 2 週間であった。光合成有効光量子束密度 (以下, PPFD) は, 白色蛍光灯は $85 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, 点滅光は $0.01 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, 中心波長は 443 nm であった。培養液の pH 濃度を 2.5, 4.5, 7.0 に調整したもので試験を行った。

【結果】pH 7.0 では, ユーグレナは増殖したが, ワムシとクロレラも存在していた。pH 4.5 では, ユーグレナとクロレラが共存していたが, ワムシは認められなかった。pH 2.5 では, ユーグレナは数日間急速に増殖したが, その後急激に減少した。ワムシは確認できなかった。

以上をまとめると, ユーグレナの増殖には pH 4.5-7.0 の範囲が適していることが明らかになった。

[1]三輪ら, 日本農芸化学会中四国支部台 56 回講演会, J-1, 2020 年 1 月, 愛媛大学。

[2]谷川ら, LED 総合フォーラム 2022 論文集, P-25, 2022 年, 1 月, 徳島大学。

A-5 微細藻類ユーグレナの増殖過程に及ぼす光照射条件の影響

○太田健志郎¹, 藤村亮佑¹, 三輪浩平¹, 木村祐太¹, 三好航輝², 前田淳史²,
谷川浩司^{1,2}, 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)

【背景と目的】ユーグレナ(和名:ミドリムシ)は、水田や池などに生息している微細藻類である。ユーグレナからバイオ燃料の原料であるワックスエステルを得られるので、脱炭素化社会の切り札として注目されている。本研究では、微弱な点滅光がユーグレナの増殖に及ぼす影響を明らかにする。

【方法】培養条件は、白色 LED 蛍光灯を 12 時間連続照射し、消灯後に点滅光を 2 時間または 4 時間照射した。培養液の pH は 4.5 に調整した。試験は 2 週間行ったが、その後も継続して白色 LED 光を照射した。点滅光の有りと無しの条件で培養し、それぞれを、試験区とコントロール (CNT) とした。光合成有効光量子束密度 (以下, PPFD) は、白色 LED 蛍光灯は $85 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, 点滅光は $0.01 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ に設定した。点滅光の中心波長は 443 nm であった。点滅光の照射時には、点滅光と同程度の PPFD 値のアンビエント光も照射した。PPFD 値が 0.01 程度の光では、ほとんど成長しない。^[1,2] 点滅光の影響は、細胞密度の変化から評価した。

【結果・考察】試験区は CNT に対して、細胞密度は点滅光 2 時間照射で約 1.5 倍, 4 時間照射では約 0.80 倍であった。以上のことから、点滅光照射は光合成が促進する効果があり、それにより細胞分裂速度が向上したと考えられる。

[1]三輪ら, 日本農芸化学会中四国支部第 56 回講演会, J-1, 2020 年 1 月, 愛媛大学.

[2]谷川ら, LED 総合フォーラム 2022 論文集, P-25, 2022 年, 1 月, 徳島大学.

A-6 液胞塩基性アミノ酸蓄積における分裂酵母 Vsb1p の役割について

○大西祥太¹, 山本祐介¹, 秋山浩一^{1,2}, 関藤孝之^{1,3}, 河田 (河野) 美幸^{1,2,3}

(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・学術支援セ, ³愛媛大・プロテオセ)

栄養豊富条件において、酵母の液胞には細胞全体量の約 70~90%もの塩基性アミノ酸が蓄積されている。この塩基性アミノ酸蓄積には複数の液胞アミノ酸トランスポーターが関与することが分かっている。我々は以前、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* Avt1, Ypq1, Ypq2, および Ypq3 が *in vitro* における塩基性アミノ酸取込み活性に関与することを示した (Manabe *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2016)。しかし *in vivo* においては、これら遺伝子の 4 重破壊株でも依然として塩基性アミノ酸が液胞内に蓄積していたことから、塩基性アミノ酸蓄積に対する他のトランスポーターの寄与が示唆されていた。

我々は昨年, *in vivo* において液胞内塩基性アミノ酸蓄積に関わる出芽酵母液胞膜タンパク質 Vsb1 を報告した (Kawano-Kawada *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2021)。本研究では、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* において見出した出芽酵母 VSB1 ホモログ, SPAC24H6.11c (*vsb1*⁺) について、その機能解析を行った。C 末端に GFP を付加した Vsb1p は分裂酵母液胞膜に局在し, *vsb1Δ* 株では野生株と比較して塩基性アミノ酸の液胞内量が顕著に減少した。さらに、出芽酵母 Vsb1 のアミノ酸配列との比較から、推定膜貫通領域内に保存されたアスパラギン酸残基 D174 残基を見出し、そのアラニン置換変異体を作製した。*vsb1*^{D174A} 発現株においては液胞内塩基性アミノ酸量が著しく減少していた。以上の結果は、Vsb1p が分裂酵母における液胞内塩基性アミノ酸蓄積に深く関与し、Vsb1p D174 残基がその活性に関わる重要アミノ酸残基であることを示唆する。

A-7 *Bacillus* 属細菌による抗菌活性薬剤 Iturin 生産に関する研究
○吉崎万莉¹, 井上朋美², 高野りの², 阪本鷹行^{1,2}, 櫻谷英治^{1,2}
(¹徳島大院・先端技術, ²徳島大・生物資源)

【目的】

両親媒性環状リポペプチドは *Bacillus* 属細菌により生産され、大きく 3 つのファミリーに分けられる。特に Iturin は広い抗菌特性を示し、エルゴステロールに直接作用する機序により耐性菌が発生しにくいことが知られている。そのため、化学合成農薬の代替品として生物農薬は高い注目を集めている。本研究では、生物農薬としての利用を目的として、抗菌特性の高い新たな有用微生物の探索を試みた。

【方法・結果】

植物病原菌 *Botrytis cinerea* に対して抗菌活性を示す有用菌株を対峙培養による一次スクリーニング法により選抜した。次に、さらに高い抗菌活性を示す培養上清を用いてスクリーニングを行った。これらの方法を用いて評価した結果、植物病原菌に耐性を示し、広い阻止帯を形成する株を取得した。強い抗菌活性を示したこれら菌株の 16S rDNA 配列を用いて菌種同定を行った結果、いずれも *Bacillus* 属細菌であることが示唆された。さらに、高速液体クロマトグラフィーにより環状リポペプチド生産性を評価した。

A-8 油糧微細藻 *Thraustochytrid* の変異育種による脂肪酸組成改変
中村悠嗣¹, ○江口主馬², 阪本鷹行^{1,2,3}, 櫻谷英治^{1,2,3}
(¹徳島大院・先端技術, ²徳島大院・創成科学, ³徳島大・生物資源)

【目的】 ドコサヘキサエン酸 (DHA; 22:6 ω 3) やエイコサペンタエン酸 (EPA; 20:5 ω 3) などの ω 3 脂肪酸は、心血管疾患のリスク軽減や脳機能発達補助などの機能性が報告されている。現在、これらの機能性脂質の主な供給源は魚油であるが、1 人当たりの摂取量や漁獲量そのものの低減から、魚油に代わる ω 3 脂肪酸供給源の確保が希求されている。海洋性微細藻である *Thraustochytrid* は DHA の生産性が高く、大量培養が容易であることから、新たな ω 3 脂肪酸供給源として注目されている。そこで、本研究では DHA 高生産性 *Thraustochytrid* に対して変異処理を行い、 ω 3 脂肪酸生産能がより向上した変異株の探索を試みた。

【方法・結果】 マングローブの落葉などから単離した微生物に対して、ガスクロマトグラフィーを用いた脂肪酸組成分析を行った結果、約 400 株の DHA 生産菌の中から最も高い DHA 生産性を示す SE-1U 株を選抜した。次に、変異誘導剤であるニトロソグアニジンを用いて SE-1U 株を変異処理した結果、MUSE-351 株において n-6 ドコサペンタエン酸 (DPA; 22:5 ω 6) の減少と EPA 生産の増加が確認された。MUSE-351 株の変異点解析を行った結果、約 3,600 箇所の変異点の中から、多価不飽和脂肪酸合成酵素サブユニット B および C へのミスセンス変異を確認した。

A-9 担子菌における子実体形成関連遺伝子の探索
○北口直樹¹, 楠 真緒², 木内かなえ³, 阪本鷹行^{1,2,3}, 櫻谷英治^{1,2,3}
(¹徳島大院・創成科学, ²徳島大院・先端技術, ³徳島大・生物資源)

【目的】キノコとは糸状菌が形成する目視可能な子実体の総称であり、様々な種が食用として栽培されている。しかし、いずれのキノコにおいても子実体形成メカニズムに関しては不明な点が多い。子実体形成はキノコの生活環において特徴的な形態変化であり、特異的な遺伝子発現挙動が生じていると考えられる。これら遺伝子の転写やシグナル伝達経路を解明することで、キノコの栽培および品種改良技術開発への貢献が期待される。本研究では自然界から採取したキノコ A において RNA-seq 解析を行い、子実体特異的な発現遺伝子の探索を行った。さらに、モデル担子菌であるシイタケ (*Lentinula edodes*) の子実体において、キノコ A で選抜した子実体特異的な発現遺伝子のホモログ遺伝子を転写解析し、異種間で共通する子実体形成関連遺伝子の解析を試みた。

【方法と結果】キノコ A における RNA-seq 解析の結果、シグナル伝達関連因子、転写制御関連因子、細胞分化関連因子などの遺伝子群において、子実体特異的な転写量の増加が確認された。さらに、これらから選抜した遺伝子群について、シイタケ子実体でも同様にホモログ遺伝子の転写量増加が確認された。今後は、発現挙動が一致した候補遺伝子についてシイタケの分子育種による機能解析を検討している。

A-10 環状染色体を持つ分裂酵母の生育における *gsk3* と *gsk31* の関与の解析
○福田将太, 上野 勝¹ (広島大・工, ¹広島大院・統合生命)

【目的】分裂酵母の Pot1 はテロメアの末端を保護するタンパク質で、Pot1 を失うとテロメアが分解され、染色体が環状化した株が生き残る。ある種の腫瘍細胞において環状染色体を持つ細胞が高頻度で確認されているため、環状染色体はがん治療のターゲットになり得る。前任者の研究からヒト Gsk3 阻害剤が環状染色体を持つ分裂酵母の生育を阻害することがわかった。このことからヒト Gsk3 阻害剤が分裂酵母の Gsk3 の機能を阻害したとすると、分裂酵母の Gsk3 は環状染色体の維持に必要なのではないかと考えられる。そこで分裂酵母において Gsk3 をコードする *gsk3* と *gsk31* という遺伝子が環状染色体を持つ分裂酵母の生育にどのように関与するかの解析を行った。

【方法・結果】*pot1gsk3gsk31* を欠損させた三重変異株を用いてスポットアッセイを行ったところ、この株が合成致死となることを発見した。この原因を調べるために前任者が作成した温度によって *gsk31* 遺伝子の機能をコントロールできる株 *gsk31ts* を用いて、*pot1 Δgsk3 Δgsk31ts* 株の G2 期初期の細胞を集め、細胞周期の進行を解析した。その結果、制限温度である 36℃において、2 核の細胞がほとんど確認されなかったため、G2 期または M 期の初期で細胞周期が止まっていることが示唆された。また、半許容温度である 34℃や制限温度である 36℃において核の位置が異常な細胞が一定数存在することがわかった。

A-11 Fission yeast nuclear membrane protein Bqt4 is important for the regulation of nucleolus movement in the nucleus
Koki Ito, OMasaru Ueno (Grad. Sch. Integr. Sci. Life, Hiroshima Univ.)

The movement of the components in the nucleus is also important for its function. However, the mechanism and biological significance of these movements are not fully understood. In fission yeast, the centromere clusters near the spindle pole body (SPB) on the nuclear membrane and oscillates in a microtubule dependent manner. The nucleolus is a structure where massive rRNAs are transcribed from rDNA repeats by RNA polymerase I. In fission yeast, the nucleolus attaches to the nuclear membrane. Bqt4 localizes to nuclear membrane and acts to tether telomeres to the nuclear membrane. The function of fission yeast Bqt4 beyond telomere attachment is not well studied.

In this study, we analyzed the movements of SPB and nucleolus in fission yeast through observations of the nucleolus marker, Gar2 and SPB marker, Sid4. We found that the MSD calculated from the distance between SPB and nucleolus center was decreased by deletion of *bqt4+*. SPB movement was not affected by deletion of *bqt4+*. These results suggest that nucleolus movement is increased by deletion of *bqt4+*. The Bqt4 orthologue of filamentous fungus *Aspergillus nidulans* is required for the proper nucleolar architecture. This fact and our results suggest that roles of Bqt4 on the regulation of nucleolar architecture and movement are conserved between fission yeast and filamentous fungus.

A-12 奄美群島長寿者腸内細菌叢における二次胆汁酸産生菌の *in silico* 解析
○今里研仁, 永田岳史¹, 高橋雅行¹, 藤田安彦², 大平はる香¹, 武原正明¹,
荒川健佑, 松浦甲彰², 浦元智司², 上山泰男², 森田英利
(岡山大院・環境生命,¹全薬工業(株),²医療法人徳洲会)

【目的・実験方法】95歳以上の奄美群島民(以下,長寿者)の糞便から細菌ゲノムの塩基配列を用いて二次胆汁酸産生菌を含む *Parabacteroides* 属について *in silico* 解析を行った。本研究は,徳洲会グループ共同倫理委員会(TGE00876-018),全薬工業株式会社生命倫理委員会(2017-02)と岡山大学生命倫理審査委員会(研1612-031,研1612-032)の承認に基づく合意を得た上で長寿者43名の糞便由来細菌ゲノムの16S rRNA 遺伝子配列のV3-V4領域について Qiime2 (ver.2019.7)を用いて細菌叢解析を行った。その長寿者の健康状態を,経口摂取が可能で歩行が可能,摂食状態が経口摂取(自力/介助)で歩行が不能,摂食状態が経管栄養で歩行が不能の3グループに分類し腸内細菌叢との相関についても検討した。

【結果・考察】健康状態の悪化に伴い,腸内細菌として有用であることがよく報告されている *Bifidobacterium* 属, *Akkermansia* 属, *Faecalibacterium* 属, *Prevotella* 属の占有率の低下が確認された。最近,二次胆汁酸産生菌の産生するイソアロリトコール酸の抗菌性が長寿に貢献しているのではないかと報告がなされた(Sato *et al.*, Nature, 2021)。そこで,二次胆汁酸産生菌を含む *Parabacteroides* 属について *in silico* 解析を行った結果,健康状態との相関は認められなかったが,1名を除く長寿者42名(98%)の腸内細菌叢において *Parabacteroides* 属は検出限界以上であったことから,本研究においても二次胆汁酸産生菌の保有は長寿であるために有用であるという先の論文と同じ結果を導き出すことができた。

A-13 プラズマベースイオン注入法に用いるサンプルプレートの導電性の違いが
Geobacillus stearothermophilus 芽胞の損傷に与える影響について
○梅本章矢¹, 河野隆史², 田中 武³, 角川幸治^{1,2}
(¹ 広工大院・生命, ² 広工大・生命, ³ 広工大院・電気)

【目的】プラズマベースイオン注入 (PBII) 法は加熱殺菌技術に代わる, 新たな非加熱殺菌技術になると期待し, 研究を行っている。以前の研究結果より, 酸素ガス並びにガラスシャーレを併用した PBII 処理において *Geobacillus stearothermophilus* 芽胞表面に大きな形態変化が起こることを確認した。そこで, 本研究では, PBII 法において, 導電性の異なるシャーレ材質の変更により *G. stearothermophilus* の芽胞の損傷がどの様に変化するか確認することを目的とした。

【方法】*G. stearothermophilus* を TYEA 培地で 55℃・10 日間培養を行い, 芽胞を形成させた。回収した芽胞を 1.0×10^8 CFU/ml に調製し, これを殺菌試料とした。その後, プラズマ殺菌装置によりプラズマ殺菌を行った。本実験では, 酸素ガスを用いて, RF 出力: 48 VA, 印加電圧: -1 kV~5 kV, 処理時間: 10 min の条件下でプラズマ殺菌を行った。処理後のサンプルは走査型電子顕微鏡により観察を行った。

【結果】導電性の高いステンレスシャーレを用いた処理後の芽胞表面は, ガラスシャーレと比較して, より多くの傷を確認でき, 無数の穴が開いていることが確認できた。これは, ステンレスシャーレから発生する二次電子により, 酸素ガスのプラズマ化起こり, より多くのイオンが芽胞に衝突することで, 大きな形態変化を引き起こしたのではないかと考えられる。殺菌効果において新たな実験上の課題ができたことにより, 芽胞損傷のメカニズム解明と合わせて現在調査を行っている。なお, 本研究は, JSPS 科研費 JP19K05903 の助成を受けたものです。

A-14 吟醸酒醸造のためのリンゴ酸高生産性高知酵母の育種
○河野佑芽, 甫木嘉朗¹, 畠中菜美季, 工藤溪汰, 小椋梨花, 村松久司,
上東治彦², 永田信治 (高知大・農, ¹ 高知県工技セ, ² 高知県酒造組合)

【目的】平成 19 年に演者らは, 吟醸酒の主要香気成分であるカプロン酸エチルと酢酸イソアミルをバランスよく高生産する高知酵母 AC-95 を育種した。AC-95 を用いた吟醸酒は市販酒品評会でも高い評価を得ているが, 醸造中に著量のピルビン酸が残存することによって, オフフレーバーを生成しやすいことが問題になっている。演者らは醸造初期にチアミンを添加することによって, 醸造中のピルビン酸量を効果的に低減できることを報告したが, 同時に酸度の低下を引き起こすことも明らかになった¹⁾。本研究では, 高知県内の酒蔵で使用されている AC 系 4 株を親株として, チアミン添加を想定したリンゴ酸高生産性清酒酵母の育種を試みた。

【方法・結果】香気成分をバランスよく高生産する高知酵母 AC-95, AC-85, AC-31, AC-17 の 4 株を用いた。15 µg/mL エチルメタンスルホン酸を用いて変異処理した酵母を, 1 mg/L シクロヘキシミドもしくは 200 mg/L 2-デオキシグルコースを含む寒天培地に塗布して, 耐性株を分離した。さらに, 親株よりも酸度の高い耐性株を滴定によって簡易に選抜した。選抜した耐性株を用いて小仕込み試験を行い, 清酒の一般成分, 香気成分, 有機酸を分析した。シクロヘキシミド耐性株と 2-デオキシグルコース耐性株を合わせて, 計 1146 株の中から酸度の高い耐性株を 125 株選抜した。小仕込み試験の結果, リンゴ酸を高生産し吟醸酒醸造に使用可能な耐性株を分離できた。

文献 1) 上東ら, チアミンの吟醸酒醸造に及ぼす影響, 醸協, 109, (4), 310 - 317, (2014)

B－１ 比較ゲノム解析によるオリーブ立枯病菌の特異的因子の解明
○兔子尾真菜，藤原祥子，生咲 巖¹，氏家章雄¹，松本英治¹，増中 章²，
市村和也，田淵光昭
(香川大・農，¹香川県農試，²農研機構西日本農研セ)

【目的】オリーブ立枯病は平成 29 年日本国内において初めて香川県で発見された。症状としては、枝や幹の導管部周辺の変色，葉枯，急速な萎凋枯死を示す。この病気に感染したオリーブから分離された原因菌はオリーブ立枯病菌と名付けられ，遺伝子解析の結果，ナスやトマトなどの青枯病の原因菌である *Ralstonia solanacearum* であることが判明した。本研究では，なぜナス科植物などの草本植物に感染する青枯病菌が樹木であるオリーブに感染できるようになったのかを解明することを目的として，オリーブ立枯病菌と青枯病菌の比較ゲノム解析を行った。

【方法・結果】多くの病原性を有するグラム陰性細菌は，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タンパク質性の病原因子エフェクターを注入することで宿主の免疫応答を攪乱し，感染を成立させている。オリーブ立枯病菌 2 菌株から得られた全ゲノム解析情報をもとにオリーブ立枯病菌とトマトなどから分離された青枯病菌が保持するエフェクターレパートリーを比較したところ，オリーブ立枯病菌は RipBE₁，RipBK，RipBQ の 3 つエフェクターを特異的に保有していた。また，その他日本各地で分離されたオリーブ立枯病菌がこれらの特異的なエフェクターを保持していることが明らかとなり，青枯病菌の宿主域とエフェクターレパートリーの間に何らかの相関性があることが示唆された。現在，更に日本各地で分離されたオリーブ立枯病菌 7 菌株について比較ゲノム解析および病原性試験について解析することで宿主域拡大に関連した特異的な病原因子の探索を行っている。

B－２ 出芽酵母 Eisosome 機能欠損株における SDS 感受性の原因の解析
○吉澤昂志郎，坂田健太郎，田中直孝，田淵光昭（香川大・農）

【目的】酵母形質膜上に存在するマイクロドメイン Eisosome は，膜が内側に陥入した構造をもつ。Eisosome に存在する BAR ドメインタンパク質である Pil1 と 6 種類の 4 回膜貫通タンパク質 (6-Tsp) を全て欠損した *pil1Δ 6-tspΔ* 株は Eisosome 構造が崩壊しており，界面活性剤である SDS に対して著しい感受性を示すことが見出された。本研究では *pil1Δ 6-tspΔ* 株における SDS 感受性の原因の解析を行うことで，Eisosome を介した膜ストレス応答制御の解明を目的としている。

【方法・結果】本研究では，*pil1Δ 6-tspΔ* 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*) 変異株を多数取得し，解析を行った。その結果，*sde* の原因遺伝子のほとんどが，形質膜ストレス応答に必須な TORC2-Ypk1 経路の変異であった。そのため，*pil1Δ 6-tspΔ* の SDS 感受性は TORC2-Ypk1 経路の過剰活性化が原因であることが示唆された。また，興味深いことに *sde2* の原因遺伝子としてエンドサイトーシスに機能する *RVS161* が同定されたことから，膜ストレスとエンドサイトーシスの関連性が示唆された。*RVS161* と複合体を形成してエンドサイトーシスに機能する *RVS167* を同時に欠損させた二重欠損株でも同様に *pil1Δ 6-tspΔ* 株の SDS 感受性を抑圧した。また，*pil1Δ 6-tspΔ* の SDS 感受性は TORC2-Ypk1 経路の主要な下流経路であるスフィンゴ脂質代謝とは関係ないことからエンドサイトーシスに関連した異なる経路であることが示唆された。

B－3 転写因子 Com2 による転写制御を介したスフィンゴ脂質代謝制御機構の解析
○白井里樹, 小松楠於, 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】 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 *P_{YPK1}*, *P_{LCB1}* の下流に挿入したプラスミドを作製し、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* それぞれで β -Gal 活性が Com2 発現抑制時と比較して増加した。また、この発現増加はそれぞれのプロモーター上の Com2 結合配列(CBS)に依存していた。Com2 は *YPK1* および *LCB1* の発現を制御することでスフィンゴ脂質代謝を制御することが示唆されたため、*P_{YPK1}-CBS Δ* , *P_{LCB1}-CBS Δ* 株を作製し、Myr 処理による生育アッセイを行った。その結果、*P_{YPK1}-CBS Δ* , *P_{LCB1}-CBS Δ* 各単独変異株および二重変異株は、*com2* Δ 株より強い Myr 感受性を示さなかった。よって、*LCB1* 以外に Com2 依存的に発現制御されるスフィンゴ脂質代謝に関わる遺伝子が存在することが考えられた。

B－4 22C-Trick 変異による R460X 飽和変異 *rpoB* の構築とシネフンギンの増産効果
○長谷川広夢, 山形 遙, 小川沙織, 金尾忠芳, 根本理子, 稲垣賢二, 田村 隆
(岡山大院・環境生命)

(目的)*Streptomyces incarnatus* NRRL8089 は、抗コロナ SARS ウイルス, 抗カンジダ, 抗マラリア原虫活性を持つ核酸系抗生物質シネフンギンを生産する。シネフンギン生産能を強化するために、RNA ポリメラーゼ b-サブユニットをコードする *rpoB* 遺伝子への多重変異導入効果を検討した。(方法・結果)抗生物質の増産効果が報告された b-サブユニットの標的残基, D447, S453, H457, R460 の中で報告数が豊富な R460X の飽和変異を、22C-Trick 変異により構築する。22C-Trick 変異では、変異を導入した3種類のプライマーを特定の割合で混合し PCR を用いた部位特異的変異導入を試みることで、理論上は、ほぼ均等な割合で 20 種類のアミノ酸変異が獲得できる。PCR におけるアニーリング温度の条件検討を試みたところ、アニーリング温度により変異導入されるアミノ酸に偏りがあった。アニーリング温度が低いほど、GC 対を多く含むアミノ酸が変異導入されることが確認できた。22C-Trick 変異により獲得した変異導入プラスミドを大腸菌-放線菌属間接合伝達-相同組み換えによる *Streptomyces incarnatus* の *rpoB* 遺伝子のゲノム改変を行い、HPLC によりシネフンギン生産性の改善効果を検討した。

B-5 好熱菌トランスポゾンベクターの性能評価
○小原未愛, 大城 隆¹, 鈴木宏和¹ (鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・工)

【目的】トランスポゾンベクターはランダム遺伝子破壊などに利用できるが、好熱菌の高温培養下で機能するトランスポゾンベクターは報告がない。これまでの研究で我々は、*Geobacillus* 属好熱菌で機能する転位因子 (*ISGka3*) を発見し、それを基盤としたトランスポゾンベクター (pGKE118-*venus*) を構築した。本研究では、*G. thermodenitrificans* K1041, *G. thermodenitrificans* OS27, *G. kaustophilus* MK244, および *Parageobacillus thermoglucosidasius* DSM2542 において pGKE118-*venus* が機能するかを評価した。

【方法・結果】pGKE118-*venus* は、*venus* 領域を転位させることができる。これを各好熱菌に導入し、選択圧下で液体培養した後、プラスミドの消失のために非選択圧下でコロニー化させた。得られたコロニーにおける *venus* 転位を調べたところ、K1041 株における転位が最も低頻度かつ高いランダム性を示した。転位が低頻度であることから、arbitrary PCR を用いた挿入先解析も容易である。より実践的な性能評価を行うために、K1041 株のグリセロール感受性を引き起こす遺伝子を pGKE118-*venus* を用いて探索した。本ベクターによって構築した変異ライブラリから、グリセロール耐性株を 13 株取得した。サザンブロット解析ならびに挿入先解析から、重要な *venus* 挿入は 2 ヶ所に絞られ、そのうちの 1 ヶ所は細胞分裂制御に関わる遺伝子の周辺だった。詳細なメカニズムは解析中だが、得られたグリセロール耐性株は他有機溶媒に対する耐性も向上していたことから、細胞分裂の不具合による細胞密集化がグリセロール耐性の原因になっているのかもしれない。

B-6 グルコノバクター属酢酸菌 CHM43 株の 2-ケトグルコン酸代謝に関する研究
○落合将伍¹, 片岡尚也^{1,2}, 松谷峰之介³, 松下一信^{1,2}, 薬師寿治^{1,2}
(¹山口大院・創成科学, ²山口大・中高温微研セ, ³東京農大・ゲノムセ)

【目的】細胞表層に存在する膜結合型脱水素酵素を用いたペリプラズム酸化系は、酢酸菌の重要な特徴である。野生型 *Gluconobacter* sp. CHM43 株は、グルコースを基にする培地で生育すると、pH が低下し、その後上昇することが観察された。HPLC を用いた定性・定量解析により、この pH の変化は、グルコン酸と 2-ケトグルコン酸の生成とその後の消費によるものと考察された。さらに、グルコン酸から 5-ケトグルコン酸を生成できない Δ sldBA 株、グルコン酸から 2-ケトグルコン酸を生成できない Δ gndFGH 株、 Δ sldBA Δ gndFGH 株、野生株を用いた解析から、2-ケトグルコン酸が代謝されることが明らかとなった。*Gluconobacter* 属における 2-ケトグルコン酸の代謝経路は明確にされていなかったため、これを解明した。

【方法・結果】*Gluconobacter oxydans* 621H 株の 2-ケトグルコン酸還元酵素 GOX0417 とアミノ酸配列の相同性がそれぞれ 70% の GLF0478 と 48% の GLF1777 をコードする遺伝子の欠損株を作製した。遺伝子破壊用プラスミドは、カナマイシン耐性遺伝子を挿入して作製した。GLF0478 の遺伝子のみを欠損させた株は、親株と比較して成長速度、pH の変動やグルコン酸、2-ケトグルコン酸、酢酸の生成、およびグルコースと 2-ケトグルコン酸の消費の様子に変化はみられなかった。現在、アミノ酸の相同性が 48% である、GLF1777 を欠損させた株を用いて比較を行なっている。

B-7 サブユニット欠失変異体を用いたグルコノバクター属酢酸菌の膜結合型アルコール脱水素酵素の解析

○谷岡和也, Nittaya Pitiwittayakul¹, 松下一信², 薬師寿治², 片岡尚也²,
松谷峰之介³ (山口大院・創成科学, ¹ Rajamangala Univ. Technol. Isan,
² 山口大・中高温微研セ, ³ 東京農大・ゲノムセ)

酢酸菌によるエタノールからの酢酸発酵は、膜に結合したアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH) とアルデヒドデヒドロゲナーゼの2つの連続した反応によって行われる。ADH は、酢酸生成の第一段階を触媒するもので、AdhA, AdhB, AdhS の3つのサブユニットから構成されている。本研究では、機能未知である AdhS サブユニットを始めとしたサブユニットレベルの機能を解析するために、*Gluconobacter oxydans* NBRC 3293 から接合法を用いて遺伝子破壊株 ($\Delta adhB$, $\Delta adhS$, $\Delta adhBS$) を構築し、活性 (フェリシアニド還元活性, ユビキノン(Q)還元活性, O₂消費活性) の測定と SDS-PAGE を行った。 $\Delta adhB$ は、pH 5.0 条件下のフェリシアニド還元活性のみを示し、その他の活性は示さなかった。1週間かけての酵素の安定性を調べたところ急激に失活した。よって、AdhB が酸化耐性を担う機能を保持している事が確認できた。また、 $\Delta adhS$ ではすべての活性を確認できたが、野生株と比較して各活性の減少が確認出来た。しかし、活性の種類によって減少の度合いが異なっていた。 $\Delta adhBS$ においてはいかなる活性も確認することが出来なかったため、活性発現には AdhB か AdhS のいずれかが必要であることが分かった。また、ヘム染色で AdhA サブユニットのバンド強度が弱かった。AdhA サブユニットのみを発現させると ADH は不安定になってしまう事が示唆された。これらの事から、AdhS サブユニットには ADH の分子シャペロンのような機能を果たしている事が示唆された。

B-8 2,4,6-トリクロロアニソール生成能の低い麹菌変異株の取得

○遠藤路子, 伊藤 蓮, 伊勢綾加, 植田真矢, 山村萌衣, 上原由梨奈, 藤井雄三,
神田涼子¹, 藤田晃子¹, 磯谷敦子¹, 藤井 力², 山田 修¹
(米子高専・物質, ¹ 酒類総研, ² 福島大・食農)

【目的】清酒にカビ臭があると、品質が著しく損なわれる。カビ臭の主な原因物質は2,4,6-トリクロロアニソール (TCA) であり、TCA は清酒製造の製麹工程において麹菌が前駆体の2,4,6-トリクロロフェノール (TCP) をO-メチル化することで生じる。TCP は麹菌を含む菌類の増殖を抑えるが、TCA は増殖を抑えないため、TCP を TCA に変換できない株は培地中の TCP に対する感受性が高いと考えられる。我々は、遺伝子破壊実験により麹菌 O-メチルトランスフェラーゼ遺伝子 (*omtT*) が TCA 生成に関与することを報告しており、本研究では、*omtT* 破壊株の TCP 存在下での生育を指標としてカビ臭を生成しにくい麹菌を取得することを目的とした。

【方法・結果】麹菌 RIB40 株の *omtT* 破壊株を用いて TCP 存在下での生育を観察したところ、寒天培地では対照株と比べて差が見られなかったが、液体培地では TCP 0.5 μ g/mL で遅れが見られた。この株は低濃度の TCP に対して感受性が高かったことから、*omtT* は液体培養において TCP の変換 (無毒化) に関与していることが示唆された。そこで、麹菌 RIB40 株に紫外線を照射して変異誘導し、TCP を含む液体培地で培養を行った。生育が遅れた株を用いて TCP 添加寒天培地での培養と製麹試験を行い、親株より TCA 生成能が低い麹菌3株を選抜した。これらの変異株を用いて造った米麹は親株の米麹と遜色ない酵素活性を有していたが、TCA 生成量は親株の米麹の32~52%と低かった。

B－9 担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジーを誘導する条件
○北原昂希, 今村友紀, 麻田恭彦, 渡邊 彰 (香川大・農)

当研究室では、これまで、モデル担子菌 *Coprinopsis cinerea* (ウシグソヒトヨタケ) を用いて、担子菌におけるオートファジーの生理的役割について解析と考察を行ってきた。オートファジーとは、真核生物における膜を介したバルクな細胞内分解システムであり、飢餓応答だけでなく、近年、細胞内品質管理、発生や分化などの様々な生命現象にも密接に関わることが明らかとなってきた。そこで本研究では、担子菌 *C. cinerea* のオートファジーについて、その誘導する条件の面から解析を行った。

誘導条件の解析には、*C. cinerea* のオートファジー関連遺伝子 *atg8* (*Cc.atg8*) の上流 1 Kb をプロモーター領域として、その下流に緑色蛍光タンパク質である AcGFP1 と *Cc.Atg8* の融合タンパク質を効果的に発現する構造を持つベクターを導入したオートファジー可視化株を用いて行った。蛍光顕微鏡を用いた解析の結果、この株では、窒素源飢餓条件、糖源飢餓条件、リン酸源飢餓条件に加え、EDTA の添加条件においても液胞での緑色蛍光の蓄積が観察された。そこで次に、EDTA の添加条件での緑色蛍光の観察について、合成培地を用いてさらに解析を行ったところ、少なくとも硫黄源飢餓および亜鉛源飢餓の条件において液胞に緑色蛍光が蓄積されることが観察された。また、培地中への過酸化水素の添加条件においても液胞に緑色蛍光の蓄積が観察され、これらの条件は *C. cinerea* においてオートファジーの誘導を示唆するものである。

B－10 Non-Saccharomyces 酵母変異株の探索とそれらを利用した簡易ビール醸造試験
○高崎 廉¹, 佐野壮平¹, 岡久修己², 阪本鷹行^{1,3}, 櫻谷英治^{1,3}
(¹徳島大院・創成科学, ²徳島県工技セ, ³徳島大・生物資源)

【背景・目的】 ビール醸造において、酵母が生産する副産物はビールの香りや味を大きく左右する。それ故、香り豊かなビール醸造には、香氣成分生産能に優れた酵母の育種開発が求められる。近年では、従来の *Saccharomyces* 属酵母では微量な代謝産物を多く生産する non-*Saccharomyces* 酵母が注目されている。そこで、本研究では自然界から選抜した non-*Saccharomyces* 酵母を親株とした香氣成分高生産性変異株の育種を試みた。

【方法・結果】 花や果実から単離した野生酵母を麦汁培地で発酵培養し、エタノール生産性を示す菌株を選抜した。次に、これらの株について簡易的ビール醸造試験を行った結果、選抜株はビール酵母 *S. cerevisiae* Safale US-05 と似た香氣成分を示し、乳酸を多く生産することが明らかになった。また、選抜株は Safale US-05 よりもアルコール生産性が低いことがわかった。

選抜株の 2 株はサワービール醸造に利用される乳酸生産性の高い *Lachancea* 属酵母 (*L. thermotorelans* と *L. fermentati*) であることがわかった。そこで、これらの株に対して薬剤変異処理により香氣成分生産性が異なる変異株の探索を試みた結果、*L. thermotorelans* からオフフレーバーであるジアセチルの生産性が低下した株を 2 株、*L. fermentati* から酢酸エチルおよび酢酸イソアミル高生産株を 1 株取得することに成功した。

B-11 微生物によるデオキシコール酸代謝機構の解析
○埴淵晃貴¹, 前田竜瑚², 阪本鷹行^{1,2}, 櫻谷英治^{1,2}
(¹徳島大院・創成科学, ²徳島大・生物資源)

【背景と目的】

コレステロールは肝臓で一次胆汁酸へ代謝され、さらに腸内細菌によって様々な二次胆汁酸へ変換される。一部の二次胆汁酸は肝機能改善薬として利用されている。一方、微生物における二次胆汁酸の代謝経路は不明な点が多い。特に、二次胆汁酸であるデオキシコール酸 (DCA) は細胞毒性が強く、微生物による DCA 代謝経路は明らかにされていない。そこで、本研究では DCA を効率よく資化する微生物を探索し、その代謝産物を同定することで微生物による DCA 代謝経路を考察することとした。

【方法と結果】

DCA を主要な炭素源とした培地で集積培養を行い、得られた菌株を簡易同定した。得られた単離株の中でも *Stenotrophomonas maltophilia* L 1-3-5 株は最も効率よく DCA を資化することがわかった。L 1-3-5 株の凍結乾燥菌体を用いた菌体反応によっていくつかの DCA 中間代謝物を確認した。そこで、高速液体クロマトグラフィーにより主要な 3 つの中間代謝物を精製し、ガスクロマトグラフィー質量分析に供した結果、いずれの代謝物も DCA 構造中の側鎖が切断され、かつ、ステロイド骨格にカルボニル基と 2 つの二重結合を有する代謝産物であることが示唆された。

B-12 油糧微生物ラビリンチュラ類の変異によるアスタキサンチン高生産株の育種
○増田成穂¹, 池田雄祐², 久米いずみ³, 阪本鷹行^{1,2,3}, 櫻谷英治^{1,2,3}
(¹徳島大院・創成科学, ²徳島大院・先端技術, ³徳島大・生物資源)

【目的】

カロテノイドは植物や藻類、菌類の酸化ストレス耐性に関連する脂溶性色素である。アスタキサンチン (AST) はカロテノイドの中でも特に抗酸化活性に優れており、食品、化粧品、医薬品分野において需要が高まっている。現在供給されている AST のほとんどは独立栄養性微細藻に由来しているが、培養期間が長いことや培養設備の確保などが課題となっている。一方、ラビリンチュラ類は従属栄養性であり、生育速度が速く、光照射も必要としないため培養が容易である。また、本研究室ではこれまでにラビリンチュラ類の培養にエタノールを添加すると AST 生産量が高くなることを明らかにした。本研究では、エタノール添加培養による AST 高生産性ラビリンチュラ類の探索と変異処理による AST 生産向上株の取得を試みた。

【方法・結果】

沖縄県沿岸のマングローブの落葉をサンプリングし、マツ花粉釣菌法を用いてラビリンチュラ類の単離を行った。得られた単離株のうち *Aurantiochytrium* sp. O5-1-1 株は、エタノール添加培養により 2 mg/L 以上の AST 生産性を示した。さらに、本菌株についてニトロソグアニジンを用いた変異誘導処理を 3 回行い、AST 生産性向上変異株の取得に成功した。

- B – 13 New evaluation method of *Ralstonia solanacearum* infection on ginger using aseptically regenerated ginger plants
OMehbub Hasan, Akinori Kiba¹, Yasufumi Hikichi¹, Kouhei Ohnishi¹
(UGAS, Ehime Univ., ¹Agric. Marine Sci., Kochi Univ.)

[Objective] Ginger is an important spice crop that is vegetatively propagated through rhizomes. Bacterial wilt diseases caused by *Ralstonia solanacearum* hinder ginger production. The virulence is usually evaluated by infecting *R. solanacearum* cells directly into the stem in conventionally grown ginger. This study was aimed to develop a more effective infection method to evaluate the virulence using regenerated ginger plants.

[Methods and results] We used shoot tip and stem segments for *in vitro* callus formation. Addition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in culture medium successfully developed the callus. Regeneration of the whole ginger plants from the callus was not successful even with several combinations of hormones (1-naphthaleneacetic acid and 6-benzyladenine). Although the combination of 1-naphthaleneacetic acid (0.5 mg/L) and 6-benzyladenine (1 mg/L) started to grow plants, it was not satisfactory. We then used aseptically regenerated stem segments for ginger regeneration. A combination of 1-naphthaleneacetic acid (0.5 mg/L) and 6-benzyladenine (4.5 mg/L) regenerated the ginger plants *in vitro* in two months. Direct inoculation of a *R. solanacearum* ginger strain MAFF 211479 on the agar media with regenerated ginger plants caused plant death in two weeks. Yellowing of leaves was reproducible phenotype. The results indicated that *in vitro* infection method using regenerated ginger plants is suitable to evaluate the virulence of *R. solanacearum*. We are constructing mutants in *hrpB*, *hrpG*, *hrpY*, and *hrcJ*, which are involved in type III secretion system, to confirm the usefulness of the system.

C-1 α -synuclein の簡易調製法の確立と遊離 N-グリカンのアミロイド線維形成抑制活性
○小坂将太, 前田 恵, 木村吉伸 (岡山大院・環境生命)

【目的】真核生物の細胞内には、遊離 N-グリカン (FNGs) が遍在している。我々は既に、抗体 L 鎖可変部領域の変異体 (3Hmut.wil) をモデルタンパク質として用い、FNGs がタンパク質フォールディング促進活性及びアミロイド線維形成抑制活性を有することを報告している^[1]。本研究では、パーキンソン病発症に関与する α -synuclein (AS) をモデルタンパク質として用い、FNGs のアミロイド線維形成抑制活性の普遍性の検証を行った。【方法・結果】ベクター (pET21a- α -synuclein) を大腸菌 BL21 (DE3) に導入し、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、浸透圧ショック法^[2]による抽出が有効であるが、本研究でより簡便な凍結融解法を確立した。AS (560, 280 μ M) を 300 μ L に調製し、37°C、150 rpm の比較的強い振とう条件によりアミロイド線維形成を誘導した。Man8GlcNAc2 を主構造 (57.7%) とする FNGs はアズキ貯蔵糖タンパク質から精製した。このハイマンノース型 FNG (HMT-FNGs) を用いて、AS アミロイド線維形成抑制活性を検証したところ、5 mM で顕著な抑制活性を示した。それに対して、タンパク質安定化機能を有するトレハロースおよびスクロースでは、アミロイド線維形成抑制に高濃度 (1M) を必要とした。以上の結果から、HMT-FNGs が AS に対して特異的なアミロイド線維形成抑制能を有することが確認された。現在、複合型 FNGs のアミロイド線維形成抑制能についても解析を行っている。[1] Tanaka, T., et al., *Glycoconjugate J.*, **32**, 193 (2015) [2] Huang, C., et al., *Protein Expr. Purif.*, **42**, 173-177 (2005)

C-2 緑藻ミル *Codium fragile* 由来レクチン (CFL) の一次構造解析
○八塚真悟¹, 竹内良太^{1,2}, 山本千晴¹, 前田 恵¹, 木村吉伸¹
(¹岡山大院・環境生命, ²一丸ファルコス)

【目的】緑藻ミル *Codium fragile* 由来のレクチン (CFL) は、 α GalNAc 残基を有するヒト A 型赤血球抗原 (GalNAc α 1-3 (Fuc α 1-2) Gal-) や腫瘍関連糖鎖シアリル Tn 抗原 (NeuAc α 2-6GalNAc α -Ser/Thr) に特異的に結合する。また、CFL には齧蝕原因菌 *Streptococcus mutans* の歯面吸着を抑制する効果が確認されており、口腔ケアへの利用が期待されている。我々は CFL の糖鎖認識機構の解明に向けて、シアリル Tn 抗原結合アフィニティカラムによる簡易精製法を確立し^[1]、精製 CFL の N 末端 38 残基と一部の内部アミノ酸配列を決定した^[2]。N 末端配列は、緑藻ハネモ *Bryopsis plumosa* 由来のレクチン (BPL-3) とのみ相同性を示したが、CFL の一次構造の解明には至っていない。そこで本研究では、CFL の立体構造と糖鎖結合における分子機構の解明を目的として、全アミノ酸配列の決定を試みた。

【方法・結果】簡易精製法を用いて *C. fragile* (湿重量 1.2 kg) から CFL (凍結乾燥物 18.2 mg) を精製し、ESI-MS により分子量 12,309.9 と決定した。還元アルキル化した CFL はトリプシンやキモトリプシンに対して抵抗性を示したため、ペプシン消化、Lys-C 消化 (Triton X-100 存在下)、および希酸 (0.03 M HCl, 110°C, 5~12 時間) による限定加水分解でペプチドを調製し、逆相 HPLC で精製後、アミノ酸配列を分析した。その結果、現在までに約 75% のアミノ酸配列を決定した。また、還元条件下では赤血球凝集活性が低下したことから、糖鎖認識におけるジスルフィド結合の重要性が認められた。[1]川上ら 農芸化学会中四国支部例会 p.64 (2018 年 1 月 広島); [2]八塚ら 農芸化学会中四国支部例会 p.52 (2020 年 1 月 愛媛)

C-3 ダイズ由来 L-メチオニン γ -リアーゼ GmMGL1, 2, 3 の大腸菌発現系構築、精製と性質検討

○横山大輝, 大川敦司, 手嶋 琢¹, 松井健二¹, 田村 隆, 稲垣賢二
(岡山大院・環境生命, ¹山口大院・創成科学)

【目的】鞍掛青大豆は、煮ると磯の香のするダイズ(*Glycine max*)の品種の一つである。この磯の香前駆体は S-メチルメチオニン(SMM)であることや、この SMM を高蓄積する品種ではトランスポゾン挿入により L-メチオニン γ -リアーゼ(MGL)1 遺伝子の発現が抑制され、蓄積する L-Met が SMM に変換されていることが明らかとなった¹⁾。そこで *G. max* の L-Met 代謝に関与する MGL1, 2, 3 の発現系構築と精製を試み、その性質を検討した。【方法】構築した *G. max* MGL1, 2, 3 発現用プラスミドを用いて *E. coli* Rosetta(DE3) pLysS を形質転換した。発現した GmMGL は TALON metal affinity 等を用いて精製した。酵素活性は MBTH 法により、生産するケト酸量を定量し決定した。【結果と考察】発現系構築の結果、興味深いことに GmMGL2 と 3 はアミノ酸配列の相同性が 90%以上あるにも拘わらず、3 の発現量は微量で均一精製が困難であった。GmMGL1 と 2 は TALON カラムによりほぼ単一に精製が可能であった。精製した組換え GmMGL1, 2 は L-Met に対してそれぞれ約 1.7 U/mg, 0.5 U/mg の活性を有していた。また、GmMGL1, 2 は L-Met 以外に L-ホモシステイン、L-エチオニンに対して活性を示したが L-Cys に対する活性は確認できなかった。L-Met を基質とした反応の至適 pH は 7.0, 至適温度は 45℃であった。GmMGL1, 2, 3 の構造予測を行い *Pseudomonas putida* 由来 MGL と比較したところ、基質と相互作用する Arg, Tyr 残基は、保存されていたが、活性に重要な Cys 残基や Lys 残基は見られなかった。現在結晶化を行うと共に活性中心残基への変異導入による機能解析を試みている。¹⁾ Teshima T., *et al.*, *Plant Physiol.*, **183**, 943-956 (2020)

C-4 Cyclo(Leu-Phe) oxidase の幅広い基質特異性の定量的評価 ―天然の電子受容体を用いた活性測定と人工の電子受容体を用いた活性測定の比較―

○坂口幸士朗, 仁戸田照彦, 神崎 浩 (岡山大院・環境生命)

【目的・方法】当研究室では cyclo(Leu-Phe) (CFL) をその脱水素体である albonoursin に変換する CFL oxidase を *Streptomyces albulus* KO23 株から見出した。本酵素は環状ジペプチド類 (CDPs) に対して幅広い基質特異性を示し、約 70 種類の CDPs が変換されることをその脱水素体の生成により確認してきた。さらに CFL oxidase の反応初速度測定法として、人工電子受容体である phenazine methosulfate (PMS) と 2,6-dichloroindophenol (DCIP) を利用した PMS-DCIP 法と天然の電子受容体である酸素を利用した過酸化水素蛍光定量法の 2 つの測定法を確立した。今回、両測定法で CDPs に対する反応性を測定し、定量的に評価した。【結果】2 つの測定法のどちらにおいても標準基質 CFL の反応性に対して 1%程度の反応性の CDPs であっても正確に、かつ定量的にその反応初速度を測定することができた。Phe 含有 CDPs の脱水素においては、最初に Phe 残基側が脱水素されることが分かっているが、今回の結果では、同じ Phe 残基側の脱水素であるにも関わらず、両方法において Phe 残基と対になっているアミノ酸残基の種類によって Phe 残基側の脱水素の反応性が大きく異なっていた。このことから、Phe 含有 CDPs の Phe 残基側の脱水素において、対になっている残基も反応性に重要であることが示された。続いて過酸化水素蛍光定量法と PMS-DCIP 法において標準基質 CFL に対する反応性を 100%としたときの各種 CDPs の相対活性を比較したところ、ほとんどの CDPs では過酸化水素蛍光定量法を用いたときの相対活性の方が高い傾向を示したが、CDPs によっては PMS-DCIP 法の相対活性が高いものも確認された。

C-5 二次構造が異なるシトクロム *c'* の構造及び熱安定性の比較研究
○吉見太佑, 藤井創太郎, 井川 武¹, 三本木至宏
(広島大院・統合生命, ¹広島大院・両生研)

【目的】シトクロム *c'* はガス結合性のホモ二量体タンパク質であり, グラム陰性細菌から見いだされる。タンパク質の二次構造から, 4 ヘリックスバンドル型 (シトクロム *c'-α*) と β-シート型 (シトクロム *c'-β*) の二つに分類されるが, なぜ異なる二次構造のシトクロム *c'* が存在するのかは未知である。本研究では, シトクロム *c'-α* である *Hydrogenophilus thermoluteolus* (至適生育温度: 52°C) 由来のシトクロム *c'* (PHCP-α) と, シトクロム *c'-β* と予測される *Thermus thermophilus* (至適生育温度: 72°C) 由来のシトクロム *c'* (TTCP-β) を対象とし, シトクロム *c'* の進化的分岐が分子間相互作用や安定性に及ぼす影響を明らかにする。

【方法・結果】円偏光二色性スペクトルを用いた熱安定性測定の結果, PHCP-α と TTCP-β の変性中点温度 (T_m) はそれぞれ 87°C, 117°C であり, TTCP-β は PHCP-α よりも高い熱安定性を有していた。それぞれの X 線結晶構造を比較すると, PHCP-α, TTCP-β のサブユニット界面の面積はそれぞれ 932.3 Å², 1244.6 Å² であり, TTCP-β の方が水素結合や塩橋の数が多いことから, シトクロム *c'-β* の方がサブユニット間の安定化に有利な構造であることが示唆された。そして, ループ構造を安定化するプロリン残基の数が, TTCP-β が 10 個, PHCP-α が 1 個であった。これらの構造的な違いが, TTCP-β の熱安定性に寄与している可能性が示唆された。さらに, 好熱菌からはシトクロム *c'-β* しか見いだされず, 好冷菌からはシトクロム *c'-α* しか見いだされない。これらの結果は, シトクロム *c'-β* が高温環境適応のために最適化された構造であることを示唆する。

C-6 好熱菌 *Geobacillus kaustophilus* に存在する二種類の L-アラニンデヒドロゲナーゼの X 線結晶構造解析
○額田大輝, 大森勇門¹, 大島敏久¹, 櫻庭春彦 (香川大院・農, ¹大阪工大・工)

【目的】アラニンデヒドロゲナーゼ (AlaDH) は, アラニンのピルビン酸への酸化的脱アミノ反応を可逆的に触媒する。先行研究より胞子形成好熱菌 *Geobacillus kaustophilus* が 2 種類の異なる AlaDH 遺伝子 GK2752, GK3448 を有することが分かった。その産物である AlaDH-GK2752 はピルビン酸 1 mM 存在下で相対活性が 55% にまで低下することに対して, AlaDH-GK3448 は 91% までの低下にとどまることが確認され, GK2752 はピルビン酸による生成物阻害を強く受けることが判明した。本研究では 2 つの酵素の立体構造を比較し, 機能と構造の相関を明らかにすることを目的とした。

【結果・考察】最初の試みとして NAD, ピルビン酸と GK3448 との 3 者複合体の結晶構造解析を行い, 分解能 2.39 Å の構造を得た。活性中心には, NAD が確認されたが, ニコチンアミド部位の電子密度は見られなかった。*Phormidium lapideum* 由来の NAD 結合型 AlaDH の構造と比較すると, 本酵素では NAD のニコチンアミドリボース部位の相対的位置が異なっており, 基質結合部位から大きく離れていることが判明した。本来のニコチンアミドリボースの位置には Leu239 が存在しており, これは *P. lapideum* AlaDH のアポ型構造における同アミノ酸残基の位置とほぼ一致していた。我々のモデルでは酵素がオープン型になりきれず, NAD が適切な位置に結合できていない可能性が考えられる。現在, NAD と酵素およびピルビン酸と酵素の 2 者複合体の解析を進めている。

C-7 黒麹菌アミダーゼの機能解析

○湯場亮太^{1,2}, 柿園ダララット¹, 西堀奈穂子¹, 山田 修¹, 向井伸彦¹,
正木和夫^{1,2} (¹酒類総研, ²広島大院・統合生命)

【目的】 我々は、これまでに酵母および麹菌よりカルバミン酸エチル分解酵素（ウレタナーゼ）を単離し、その性質について報告している。今回は、新たに黒麹菌 *Aspergillus luchuensis* 由来アミダーゼの機能解析を行い、他のウレタナーゼとの特性比較を行った。

【方法・結果】 ウレタナーゼ活性を示す *Aspergillus oryzae* 由来のアミダーゼと配列相同性を示す酵素を黒麹菌ゲノムより探索した。その結果、いくつかの配列が見出されたので、それら遺伝子をクローニングし、*A. oryzae* で発現させたところ、そのうちの一つ（AmdS312 と名付けた）が、ウレタナーゼ活性を示した。そこで、この組換え AmdS312 の機能解析を行った。本酵素の推定分子量は 61 kDa であり、SDS-PAGE にて確認できた。また、活性は、カルバミン酸エチルなどの基質を分解した際に生成するアンモニアの量を測ることで求めた。*A. oryzae* の培養液から得られた組換え AmdS312 粗酵素の至適温度は 40°C、至適 pH は 7 を示した。さらに、エタノール耐性は、エタノール濃度 5% では、60% 程度の活性を示した。基質特異性を調べると、既知の酵母や麹菌のウレタナーゼ同様、アセトアミドやアクリルアミドなどのアミド系の基質に高い活性を示した。共存イオン・阻害剤による影響については、二価の銅イオン（1 mM）および 0.1% SDS によって阻害され、EDTA では阻害されなかった。また、これまでに我々が調べた上記のウレタナーゼは四量体であったが、本酵素は単量体で存在することが示唆された。現在、この組換え Amd312 の精製条件を検討しているところである。

C-8 *Flavobacterium* sp. SW 由来の特性の異なる 2 つのフコイダン低分子化酵素

○新宮由奈子, 荒井良仁¹, 八木寿梓¹, 鈴木宏和¹, 大城 隆¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大院・工)

【目的】 褐藻類に含まれるフコイダンは、抗ガン作用等の生理活性を有し、健康食品としての応用が期待されているが、構造が不規則であることなどの理由から、生理活性と構造の相関性解明は進んでいない。当研究室では、オキナワモズクフコイダンを分解する海洋細菌由来の酵素群の研究を進めており、既にフコイダン資化性菌 *Flavobacterium* sp. SW 株から低分子化酵素（Swfct）を精製し、その特性を解明している。今回、SW 株由来の Swfct とは特性の異なるフコイダン低分子化酵素について、研究を行った。

【方法・結果】 現在 Fucoidanase として登録されている GH107, GH168 の遺伝子情報をもとに、SW 株のドラフトゲノムより類似遺伝子を探索した結果、相同性の高い ORF が GH107 で 2 つ、GH168 で 3 つ見出し、それぞれ *swfcn1*, *swfcn2*, *swfun1*, *swfun2*, *swfun3* と命名した。これら遺伝子から、シグナル配列をコードすると考えられる塩基配列を除いた DNA 断片を発現ベクター pET-21a にクローニングし、大腸菌で発現させたところ、*Swfcn2*, *Swfun1* で可溶性画分に目的タンパク質の生産が確認された。得られた無細胞抽出液を用いて酵素反応を行ったところ、*Swfun1* はどのフコイダンに対しても活性を示さなかったが、*Swfcn2* ではコンブフコイダン、オオウキモフコイダンの低分子化が確認できた。この *Swfcn2* の酵素化学的性質を、酸性糖を電気泳動することで活性を評価する C-PAGE で検討したところ、Swfct は脱アセチル化したオキナワモズクフコイダンに対して活性を有するのに対し、*Swfcn2* はコンブフコイダン、オオウキモフコイダンにのみ活性を有していたことから、両酵素の特性は異なることが示唆された。

C-9 フラビン依存性ホモ型オピン脱水素酵素の X 線結晶構造解析
○吉原健太郎¹, 渡辺誠也^{1,2}, 渡邊康紀³
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ, ³山形大・理)

【背景・目的】ノパリンやオクトピンといったオピン類は、植物感染病原菌である *Agrobacterium tumefaciens* により植物細胞内の栄養分をもとに合成される。本菌はオピン脱水素酵素 (OpnDH) によりこれらを分解して栄養分にできるが、植物や他の微生物にはそれができない。これまでに知られている OpnDH は $\alpha\beta\gamma$ の 3 つのサブユニットからなるヘテロ型であり、FAD, FMN, 2 種類の鉄硫黄クラスターという複雑な補因子を含む。我々は最近、バイオインフォマティック解析により土壌細菌 *Aureimonas altamirensis* のゲノム上に、ヘテロ型の β -サブユニット (触媒サブユニット) に相当する単一サブユニットからなる新規ホモ型 OpnDH 遺伝子を発見した (AaOpnDH)。本酵素はノパリン特異的であり、補因子として FAD のみを含んでいた。そこで本研究では、フラビン依存性オピン脱水素酵素では世界初となる立体構造解析を行い、詳細な触媒反応機構を解明することを目的とした。

【方法・結果】セレノメチオニン置換体を用いた単波長異常散乱法により、1.5 Å 分解能で AaOpnDH の構造決定に成功した。全体構造は一次構造上相同性を示すグリシンオキシダーゼスーパーファミリーと類似しており、サブユニットは FAD と基質結合ドメインに分かれていた。一方で、このファミリーの他のメンバーの活性部位のほとんどは保存されていなかった。この空間の近くには結晶化条件に由来する PEG が結合していたことから、その近傍のアミノ酸残基のアラニン変異体を作成した。その結果、Trp45・Asn47・Arg312・His337・Ser338・Thr341 で活性が顕著に低下し、触媒機能に重要であること示唆した。

C-10 *Serratia marcescens* HasA の分泌機構の解明
○中井美邑, 湯浅恵造¹ (徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)

【目的】グラム陰性菌には type 1 secretion system (T1SS) と呼ばれるタンパク質分泌装置が備わっている。T1SS は 3 つのタンパク質 (ABC protein, MFP, OMP) から構成され、タンパク質を 1 ステップで菌体外に分泌することができる。*Serratia marcescens* は、Lip システム (LipB-LipC-LipD) と Has システム (HasD-HasE-HasF) の 2 つの T1SS を有しており、それぞれ LipA, HasA を選択的に分泌している。ABC protein が分泌タンパク質の C 末端を認識し、分泌制御を行っていることが報告されているが、その詳細は明らかにされていない。本研究では、*S. marcescens* HasA の分泌機構の解明を目指し、HasA 認識に関わる HasD 領域の同定を行った。

【方法・結果】まず、LipB と HasD を 5 つの領域に分け、それぞれの領域を組み合わせた 32 種類の mosaic ABC protein 発現プラスミドを作製し、HasA, LipC-LipD 遺伝子とともに大腸菌に導入した。得られた形質転換体を培養後、菌体および培養上清を回収し、HasA の分泌を調べた。いくつかの mosaic ABC protein のタンパク質発現は確認できなかったが、発現が確認できた mosaic ABC protein の結果から HasD の 115~259 番目のアミノ酸領域を含む mosaic ABC protein が HasA を分泌することが明らかとなった。続いて、その領域を細分化し、更なる領域の特定を試みた結果、HasD の 224~259 番目のアミノ酸領域が分泌に関わることが示された。現在、224~259 番目のアミノ酸領域の点変異体を各種作製し、HasA 認識に関わるアミノ酸残基の同定を試みており、併せて報告したい。

D-1 窒素飢餓条件下におけるアスコルビン酸代謝の応答と生理学的重要性 ○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ーであり、植物の成長・発達およびストレス順応に不可欠である。これらの代謝や機能は、多種多様な非生物学的ストレス条件下で深く研究されてきたが、栄養欠乏下での代謝調節および生理学的重要性は十分には理解されていない。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栄養欠乏培地 (各栄養素を 10% まで低下) で 2 週間生育させた。グルタチオンレベルは低 S 条件でのみ低下し、アスコルビン酸レベルおよびアスコルビン酸ペルオキシダーゼや再生酵素の活性は低 N 条件で有意に増加した。また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の窒素欠乏応答における重要性が考えられたが、低 N 条件下におけるアスコルビン酸欠乏株 (*vtc2*) の生育に野生株との差は見られなかった。次に、野生株および *vtc2* を 4 週間水耕栽培した後、N 欠乏条件に移し (3 日)、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* で顕著な葉のブリーチングが生じたが、驚くべきことに、N 欠乏条件で強光を照射した場合、*vtc2* のブリーチングが緩和された。これは事前の N 欠乏処理による *vtc2* へのプライミング効果の結果であると考え、現在さらなる解析を進めている。

D-2 葉緑体におけるグルタチオン依存アスコルビン酸再生系の重要性 ○濱田あかね, 小川貴央, 石川孝博, 丸田隆典 (島根大院・自然科学)

アスコルビン酸 (ASC) は植物の主要なレドックスバッファーであり環境ストレス応答に不可欠である。ASC は自身の抗酸化作用の結果として不安定な酸化型 (デヒドロアスコルビン酸, DHA) となるが、DHA はグルタチオン (GSH) 依存的な DHA 還元酵素 (DHAR) 反応または GSH による非酵素反応によって ASC へと再生される。最近、私たちはシロイヌナズナの全 3 つの *DHAR* 遺伝子をすべて欠損させた $\Delta dhar$ 三重欠損株と、GSH 欠乏変異株 (*pad2*) を掛け合わせた四重変異株を用いた解析から、強光下のアスコルビン酸蓄積には DHAR および GSH の協働が不可欠であることを示した。一方、この協働において細胞質型 (DHAR1/2) と葉緑体型 (DHAR3) のどちらが重要であるかは未解明であった。そこで本研究では、別の GSH 欠乏変異株アリル (*cad2*) と各々の DHAR 欠損株との多重変異株を作出した。

dhar1 dhar2 cad2 三重変異株、*dhar3 cad2* 二重変異株および $\Delta dhar cad2$ 四重変異株を作出した。これらの株に強光を照射した結果、前述の $\Delta dhar pad2$ 同様、 $\Delta dhar cad2$ においても ASC の蓄積がほぼ完全に抑制された。同様のアスコルビン酸蓄積阻害は、*dhar3 cad2* でも見られたが、*dhar1 dhar2 cad2* では見られなかった。さらに、酸化ストレスを誘発するパラコート処理下において、ASC レベルの顕著な低下は *dhar3 cad2* と $\Delta dhar cad2$ で起こったが、*dhar1 dhar2 cad2* は野生株と同等の ASC レベルを保持した。したがって、葉緑体型 DHAR3 と GSH の協働が酸化ストレス下における ASC 再生系に重要であることが明らかになった。

D-3 光呼吸由来の酸化ストレス誘導性細胞死の分子制御機構

○石橋可菜¹, 丸田隆典^{1,2}, Amna Mhamdi², Frank Van Breusegme²
(¹ 島根大院・自然科学, ² Plant Systems Biol., VIB-Ghent Univ.)

光呼吸ではグリコール酸酸化酵素 (GOX) 反応の副産物として H_2O_2 が生成される。そのため、光呼吸が促進される大気 CO_2 および強光ストレス下では、ペルオキシソームは H_2O_2 の主要発生源となる。 H_2O_2 はシグナル分子として重要であるが、その過剰蓄積は細胞の酸化損傷および細胞死を引き起こす。そのため、ペルオキシソームにはカタラーゼ (CAT) が高濃度に存在し、生成された H_2O_2 を速やかに消去する。シロイヌナズナの主要 CAT 欠損株 (*cat2*) は、光呼吸促進条件では H_2O_2 蓄積に依存した明確な細胞死の表現型を示す。これまでに、酸化ストレス誘導性細胞死の分子制御機構の解明を目的として、*cat2* で起こる細胞死が抑圧されたサプレッサー変異株を単離し、その原因遺伝子の一つが葉緑体型グルタミン合成酵素 (GS2) をコードする *GLN2* であることを見出した。GS2 は、グルタミン酸合成酵素 (Fd-GOGAT) との共役により、光呼吸過程で生じるアンモニアの再同化に不可欠な酵素である。より詳細な解析のために *cat2 gln2* 二重欠損株を作出した。強光照射下の *cat2* では、酸化型グルタチオンの蓄積と明確な細胞死が見られ、その両方が二重欠損株で顕著に回復することがわかった。また、同様の現象は Fd-GOGAT の欠損でも見られた。これらの結果から、葉緑体の GS-GOGAT サイクルを介した光呼吸フラックスの維持が *cat2* で起こる細胞死を促進することが明らかになった。興味深いことに、*cat2 gln2* は *gln2* 単独欠損株よりも強光ストレスに耐性を示した。このことから、GS2 欠損で生じる細胞死にも CAT2 が必要であると考えられた。

D-4 遊離 N-グリカンとオーキシンの相互作用

○堀口 星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)

【背景と目的】我々は、トマト導管液 (xylem sap) 中に植物型遊離 N-グリカン (FNGs, Man3Xyl1Fuc1GlcNAc2, M3FX) 及び種々グリコシダーゼ活性を見いだしている^[1]。これらの FNGs は、(1) 分泌型糖タンパク質の代謝分解過程で酸性 PNGase により産生された可能性と、(2) 小胞体中のグリコシル化過程で生じた FNGs がゴルジ装置中でのプロセッシングを経て細胞外に分泌された可能性が考えられる^[2]。一方、我々はハイマンノース型 (HMT) FNGs がミスフォールドタンパク質中の Trp 残基と相互作用しフォールディング促進活性を有することを見いだしている^[3]。それに対して、M3FX はシャペロン様活性を持たないものの変性タンパク質中の Trp 残基に結合することを蛍光分析により確認している。これらの事実から、我々は導管液 (あるいは師管液) 中の FNGs が、Trp と構造的な相関があるオーキシン類と特異的に相互作用し、オーキシン機能や輸送に関与する可能性を想定した。そこで本研究では FNGs の機能解明研究の一環として、FNGs とインドール環との相互作用を解析することにした。【方法・結果】FNGs はイチョウ種子 (M3FX) 及びアズキ種子 HMT 貯蔵糖タンパク質からプロテアーゼ消化により糖ペプチドを調製後、ヒドラジン分解、ゲルろ過、SF-HPLC によりそれぞれ精製した。FNGs と Trp あるいは IAA との相互作用を蛍光分析法で解析した。また、植物型 FNGs の分布を把握する目的で、可食植物抽出液中の FNGs 構造解析を行った。[1] Tsujimori, Y., *et al. B.B.B.*, 7, 1310 (2019), [2] Katsube, M., *et al., Front. Plant Sci.* 11, 619124 (2021). [3] Tanaka, T., *et al., Glycoconj. J.*, 32, 193 (2015).

D－5 酸性 PNGase/細胞質 PNGase 欠損 *Arabidopsis thaliana* の遊離糖鎖構造解析
○奥村 陸¹, 白井佐保子², 前田 恵^{1,2}, 梶浦裕之³, 三崎 亮³, 藤山和仁³,
木村吉伸^{1,2} (¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命, ³阪大・国際交流セ)

【目的】植物細胞のフォールド糖タンパク質は、液胞や細胞壁などの細胞外空間へと分泌される。役目を終えた糖タンパク質は、プロテアーゼにより糖ペプチドへと分解され、酸性ペプチド：*N*-グリカナーゼ (aPNGase) により還元末端側に GlcNAc を 2 残基有する遊離 *N*-グリカン (GN2-FNGs) を生成する。一方、ミスフォールド糖タンパク質は小胞体関連分解を受ける。その際に糖タンパク質上の糖鎖は細胞質ペプチド：*N*-グリカナーゼ (cPNGase) によって遊離し、還元末端側に GlcNAc を 2 残基有するハイマンノース型遊離 *N*-グリカン (GN2-HMT-FNGs) が生成する。さらに、エンド-β-*N*-アセチルグルコサミナーゼにより、還元末端側に GlcNAc を 1 残基有する GN1-HMT-FNGs が生成する。これらの FNGs は植物成長に関わるシグナル分子としての機能が推定されており、当研究室では、FNGs の生理機能解明研究の一環として aPNGase/cPNGase を二重欠損した *A. thaliana* を構築し、aPNGase と cPNGase 活性の消失を確認した^[1,2]。そこで本研究では、二重欠損体の GN2-FNGs の消失を確認するため、FNGs の構造解析を行った。【方法・結果】aPNGase/cPNGase 欠損 *A. thaliana* の地上部 19.17 g を液体窒素中で破碎後、0.1 N NH₃ aq 34 mL でオリゴ糖鎖を抽出した。抽出液は脱塩水 1 L に対して透析後、透析外液を濃縮し、陽・陰イオン交換、ゲルろ過に供し中性糖鎖を調製した。中性糖鎖は蛍光標識 (PA 化) 後、ゲルろ過、RP/SF-HPLC により精製した。PA 化糖鎖の構造は、各種酵素消化、MS、MS/MS により解析した。

[1] R. Uemura, *et al.*, *B. B. B.*, **82**, 1172-1175(2018).; [2] S. Shirai, *et al.*, *B. B. B.*, **85**, 1460-1463(2021).

D－6 標的細胞・オルガネラへの代謝活性化を利用したオーキシンドリバリー制御系の構築

○田中佑佳¹, 江田智彬², 前田雅志², 古川 毅², 福井康祐^{1,2}, 三井亮司^{1,2},
林謙一郎^{1,2} (¹岡山理大院・理, ²岡山理大・生物化学)

植物ホルモン・オーキシンのホルモン作用は、植物内の組織・細胞での濃度分布によって調節される。オーキシン生合成、輸送、代謝不活性化が協調してオーキシン (IAA) 濃度を制御することで、オーキシンの適切な濃度分布が形成される。しかしながら、細胞レベルでのオーキシン濃度分布と、オーキシンの生理応答の時空間的な関連性はいぜん不明な点が多く、オーキシンの濃度分布を人為的に制御する技術が待望されている。最近、オーキシンは核内受容体に結合して活性を示すことから、細胞内の小胞体、液胞や核などのオルガネラでのオーキシンの分布が、核に移行するオーキシンを調節するといったモデルも提唱されている。我々のグループは、植物体内でオーキシン濃度を 3 次元的に制御する技術を創出するため、全く新しいタイプのホルモンドリバリーシステムの開発に挑んだ。すなわちオーキシンプロドラッグ (代謝活性型ホルモンアナログ：オーキシン(IAA)-プロリン複合体) と、それを特異的に加水分解してオーキシンを遊離する微生物由来の加水分解酵素 IAP を探索し、代謝活性化によるオーキシンドリバリーシステムの構築に成功した。この GFP 融合 IAP 酵素 (GFP-IAP) を、シロイヌナズナで過剰発現させることに成功した。さらに GFP-IAP 酵素に、核移行シグナルや小胞体移行シグナルを付与し、それらオルガネラで特異的に発現する形質転換植物を作成した。大腸菌で発現させた GFP-IAP 酵素の諸性質を検討したところ、GFP-IAP は、IAA-Pro と NAA-Pro に同程度の親和性を示した。一方、2,4-D-Pro や IBA-Pro に対して高い親和性を示した。

D-7 点滅光照射によるレタスの生育促進効果 1 –照射時間依存性–

○木村祐太¹, 三輪浩平¹, 太田健志郎¹, 藤村亮佑¹, 谷川浩司^{1,2}, 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 國本 崇^{1,2}, 梶山博司^{1,2}

(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

【目的】レタスに点滅光を照射すると、収穫重量が増加すると報告されている^[1]。本研究では、レタスの収穫重量と点滅光の照射条件の関係を明らかにする。

【方法】レタスは水耕栽培方式で4週間栽培した。白色LED光を12時間連続照射し、消灯後に点滅光を8時間照射した。点滅光照射有りと無しの条件で栽培し、それぞれを、試験区とコントロール(以下, CNT)とした。光合成有効光量子束密度(以下, PPFD)は、白色LED光は100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 点滅光は0.05 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下に設定した。点滅光の照射時には、点滅光と同程度のPPFD値のアンビエント光も照射した。PPFD=0.05の光では光合成はほとんど起きない^[1,2]。点滅光の1回の点灯に含まれる光子数を固定し、点滅周期を100 μs までの範囲で変化させた。点滅光の効果は、収穫重量により定量化した。

【結果】光強度が時間的に変化しない連続光(PPFD=0.05)では、収穫重量の増加はなかった。一方、点滅光照射では、収穫重量は点滅周期が短くなるに伴い増加した。最も大きな生育効果は、点滅周期が20 μs , PPFDが0.05の時に得られた。点滅周期を20 μs に固定し、点滅光のPPFDを0.05と0.01で栽培したが、生育効果は同じであった。以上のことから、点滅光には光合成促進効果があるが、その効果の程度は光強度には依存しないことが明らかになった。

[1] 三輪ら, 日本農芸化学会中四国支部第56回講演会, J-1, 2020年1月, 愛媛大学.

[2] 谷川ら, LED総合フォーラム2022論文集, P-25, 2022年1月, 徳島大学.

D-8 点滅光照射によるレタスの生育促進効果 2 –波長依存性–

○三輪浩平¹, 木村祐太¹, 太田健志郎¹, 藤村亮佑¹, 谷川浩司^{1,2}, 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 國本 崇^{1,2}, 梶山博司^{1,2}

(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

【目的】レタスに波長450nmの点滅光を照射すると生育が促進することが報告されている^[1]。本研究では、点滅光の照射波長における生育効果と二次代謝成分(ビタミンC)の変化を明らかにする。

【方法】レタスは屋内水耕栽培で28日栽培した。白色LEDを12時間連続照射し、消灯後に点滅光を8時間照射した。点滅光照射有りと無しの条件で栽培し、それぞれを、試験区とコントロール(以下, CNT)とした。光合成有効光量子束密度(以下, PPFD)は、白色LEDは200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 点滅光は<0.05 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。点滅光の照射時には、点滅光と同程度のPPFD値のアンビエント光も照射した。レタスの光補償点のPPFDは20前後である。PPFD値が0.05以下の連続光では、光合成はほとんど起きない^[1,2]。レタスの全湿重量とビタミンC含有量と点滅光照射条件の関係を調べた。

【結果】点滅光の波長帯が620~640 nmと650 nm~670 nmのとき、ビタミンC含有量はCNTと同等であった。しかし、630 nm~780 nmの点滅光を照射すると、ビタミンC含有量はCNT比で1.3倍に増加した。以上のことから、670 nmより長波長の点滅光は、グルコースの2次代謝経路への分配比率を増加させることが明らかになった。

[1] 三輪ら, 日本農芸化学会中四国支部第56回講演会, J-1, 2020年1月, 愛媛大学.

[2] 谷川ら, LED総合フォーラム2022論文集, P-25, 2022年1月, 徳島大学.

D-9 タデ藍の生育に及ぼす点滅光照射の影響

○谷川浩司^{1,2}, 木村祐太¹, 三輪浩平¹, 太田健志郎¹, 藤村亮佑¹, 前田淳史¹, 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)

【目的】タデ藍はタデ科イヌタデ属の1年生植物であるが、抗炎症薬や染料の原料として有用である。

本研究では、タデ藍の生育と二次代謝物質生産に及ぼす点滅光照射の影響を明らかにする。

【方法】タデ藍は、屋内水耕栽培と屋外ハウス栽培で栽培した。水耕栽培では、蛍光灯を12時間連続照射し、消灯後に点滅光を8時間照射した。点滅光照射有りと無しの条件で栽培し、それぞれを、試験区とコントロール(以下、CNT)とした。ハウス栽培では、昼間は太陽光のみを照射し、日没後に点滅光を6時間照射した。光合成有効光量子束密度(以下、PPFD)は、蛍光灯は $130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、点滅光は $0.01 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ と $0.001 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。点滅光の照射時には、点滅光と同程度のPPFD値のアンビエント光も照射した。タデ藍やレタスでは、PPFD値が0.01程度の光では光合成はほとんど起きない^[1,2]。栽培終了後、1株あたりの全湿重量、葉湿重量、葉数を測定した。葉に含まれるインジゴ前駆体であるインジガンはHPLC法により定量分析した。

【結果・考察】試験区はCNTに対して、全湿重量と葉湿重量は1.7倍以上、単位重量あたりのインジガン重量は約1.3倍であった。インジガンは、グルコースとインドキシルの化合物である。以上のことから、点滅光は光合成を促進し、グルコースの転流経路と二次代謝経路への流入も促進すると結論した。

[1] 三輪ら, 日本農芸化学会中四国支部第56回講演会, J-1, 2020年1月, 愛媛大学。

[2] 谷川ら, LED総合フォーラム2022 in 徳島論文集, P-25, 2022年1月, 徳島大学。

D-10 スジアオノリの生育過程に及ぼす光照射条件の影響

○藤村亮佑¹, 太田健志郎¹, 三好航輝², 白石純也², 松田優輝², 前田敦史², 三好真千², 谷川浩司^{1,2}, 木村祐太¹, 三輪浩平¹, 松田和典^{1,2}, 箕田康一^{1,2}, 梶山博司^{1,2} (1 徳島文理大院・工, 2 徳島文理大・理工)

【目的】スジアオノリ(*Ulva prolifera*)は海上養殖が行われているが、環境に影響されやすい。本研究では、スジアオノリの収穫重量を増加出来る栽培技術が求められている。本研究では、スジアオノリの収穫重量に及ぼす点滅光照射の影響を明らかにする。

【方法】ハサミで直径5 mm程度に細断したスジアオノリをインキュベーター内で塩分濃度約3.0%, 水温約20°Cに維持し、白色LED蛍光灯を12時間連続で照射した後点滅光を4時間照射した栽培試験を6週間行った。点滅光照射有りと無しの条件をそれぞれ、試験区とコントロール(以下、CNT)とし、試験開始時に等量投入した。光合成有効光量子束密度(以下、PPFD)は、白色LED蛍光灯を $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 未満、点滅光を $0.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 未満に設定した。点滅光照射時には、点滅光と同程度のPPFD値のアンビエント光も照射した。タデ藍やレタスではPPFD値が $0.01 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 程度のアンビエント光ではほとんど成長しない。^[1,2]点滅光の影響は、収穫重量と本数の変化から評価した。

【結果・考察】試験区はCNTに対して、収穫重量は15%程度増加し、本数も増加している傾向があった。以上のことから、点滅光は光合成を促進させ、スジアオノリの本数を増加させる事で収穫重量増加を促進する効果があると考えられる。

[1]三輪ら, 日本農芸化学会中四国支部第56回講演会, J-1, 2020年1月, 愛媛大学。

[2]谷川ら, LED総合フォーラム2022論文集, P-25, 2022年1月, 徳島大学。

E-1 放線菌が生産するアゾキシアルケン化合物の生合成メカニズムの解析
○田中 悠¹, 達川綾香², 岸本拓也², 國武博文², 福本 敦³, 安齊洋次郎³,
荒川賢治^{1,2} (¹広島大院・統合生命, ²広島大院・先端研, ³東邦大・薬)

【目的】放線菌は抗生物質を含めた多種多様な二次代謝産物を生産し、ゲノム上には約 30 種類もの二次代謝生合成遺伝子群を有しているが、通常培養では 2 割程度しか生産しない。当研究室では *Streptomyces rochei* の休眠二次代謝の覚醒を目指し、主要二次代謝産物であるランカサイジン、ランカマイシンの生合成遺伝子および転写リプレッサー *srrB* に変異を加えた三重破壊株 KA57 を構築したところ、親株非生産のアゾキシアルケン化合物 KA57-A が得られた。本化合物のアゾキシ結合形成メカニズムは興味深く、さらに *Chromobacterium violaceum* の quorum sensing (青色色素ピオラセインの生産)を阻害することも明らかとなっている。一方で、これらアゾキシアルケン化合物の生合成機構は未解明なままである。そこで、KA57-A およびその構造類縁体である Maniwamycin のアゾキシ結合生合成メカニズムの解明および生理活性の向上を指向した構造リデザインを目指した。

【方法・結果】KA57-A 生合成遺伝子クラスター(*azx*)と他のアゾキシアルケン化合物 valanimycin (*vlm*) および maniwamycin (*mwm*) の生合成遺伝子クラスターを比較したところ、共通の遺伝子群を見いだすことができた。そこで、アゾキシ結合形成への関与が示唆される遺伝子の破壊株を構築し、代謝産物解析を行なったところ、キナーゼ、*vlmB* ホモログを含む 4 つの遺伝子の破壊株において KA57-A 生産が認められず、これら遺伝子の KA57-A 生産への関与が示唆された。また、標識アミノ酸の取り込み実験により、生合成起源のより詳細な解析を行った。

E-2 計算機予測による抗腫瘍活性向上を目指した単環式 lankacidin 誘導体の酵素合成
○西浦菜摘, Rukman Muslimin, 手島愛子, Kiep Minh Do¹, 児玉 猛¹,
森田洋行¹, Cody Wayne Lewis², Gordon Chan², Ahmed Taha Ayoub³, 荒川賢治
(広島大院・統合生命, ¹富山大・和漢研, ²Univ. Alberta, ³Heliopolis Univ.)

【目的】*Streptomyces rochei* 7434AN4 株は、二環式ポリケチド抗生物質 lankacidin C (LC)を生産する。我々は実験的に LC の微小管安定化作用を証明している(J. Med. Chem. 2016, 59, 9532-9540)。計算機シミュレーションによると、 δ -ラクトン構造(C1-C5)は抗腫瘍活性への影響が少ないことが予測された。そこで、新規の単環式化合物である LC 誘導体(lankacyclinone C と命名)を構築し、抗腫瘍活性などを評価した。

【方法・結果】LC は δ -ラクトン構造を有する二環式化合物であり、 δ -ラクトン構造の必要性を評価するため、これを有さない単環式化合物(lankacyclinone C)の化学酵素的合成を行なった。まず、24 位が水酸基である lankacidinol A を用い、 K_2CO_3 による脱炭酸反応を行い、lankacyclinol, 2-*epi*-lankacyclinol を取得した。その後、LC 生合成最終段階の酸化反応(lankacidinol $\rightarrow$ LC)を司る PQQ 要求性デヒドロゲナーゼ Orf23 を用いて lankacyclinol, 2-*epi*-lankacyclinol の水酸基をケトン基に変換し、lankacyclinone C, 2-*epi*-lankacyclinone C を取得した。本知見は Orf23 の寛容な基質特異性を示している。また、分子動力学計算によると、4 つ全ての単環式化合物の結合エネルギーは LC と非常に近い値であり、チューブリンに対する親和性が同程度である可能性が示唆された。さらに、単環式化合物は二環式の LC と比較して中程度の抗腫瘍活性を示した。本知見は計算機シミュレーションと相関性があり、LC における δ -ラクトン構造は抗腫瘍活性に直接的な影響は及ぼさないことが示唆された。

E-3 *Mycobacterium smegmatis* に対する Fagaramide 誘導体の抗菌活性と構造活性相関

○高木凜月, 塚本沙恵香, BUXTON Thomas, 柏木丈弘, IDOLA Desmila, 村松久司, 島村智子, 金 哲史 (高知大・農)

【目的】結核は主に結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) により引き起こされる HIV に次いで死亡者数の多い感染症である。近年, 薬剤耐性結核菌が多発し, 治療が困難となっている。そのため, 新たな抗菌活性物質に期待が寄せられている。当研究室では, ガーナ産の植物 *Zanthoxylum zanthoxyloides* に含まれる Fagaramide が結核菌類縁菌に対し強い抗菌活性を示すことを見出した。当研究では, Fagaramide の誘導体を合成し, 構造の変化による活性の変化の関わりと活性に必要な構造を探ることを試みた。

【方法】Fagaramide 誘導体は, EDCI・HCl を用いた脱水縮合により合成した。酸部分に桂皮酸の誘導体, 塩基部分に様々なアミンを用い 26 種の化合物を合成した。結核菌類縁菌である *M. smegmatis* を用いて合成物の MIC と静菌性, 殺菌性を確認して, 構造と活性の関係を調査した。

【結果・考察】酸部分を Fagaramide と同一とし, 塩基部分の構造を変更した結果, かさ高い置換基がアミド基上の窒素原子に結合することが活性の発現に重要であることが明らかとなった。さらに, アニリンを縮合した誘導体では活性が消失したことからアミン側の置換基は立体的な制約があると推察された。また, ベンゼン環に縮合した含酸素五員環を 2 つのメトキシ基に変えると活性は消失したことから, 縮合含酸素五員環の存在が活性の発現に重要であることが明らかとなった。また, 桂皮酸及び 3,4-ジフルオロ桂皮酸を用いたアミドでは Fagaramide と比べ大きく活性が低下したことから, ベンゼン環上の電子密度が抗菌活性に影響を与える可能性が示唆された。

E-4 インドネシア産薬用植物 *Baekkea frutescens* が示す結核菌類縁菌 *Mycobacterium smegmatis* JCM6386^T に対する抗菌活性

○飯田桃子, IDOLA Desmila, BUXTON Thomas, 柏木丈弘, 塚本沙恵香, 村松久司, 島村智子, 金 哲史 (高知大・農)

【目的】結核は結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) によって引き起こされる感染症である。特に発展途上国で罹患率・死亡率が高く, HIV 感染者死亡の第一原因ともなっている。現在複数の抗生物質を用いた薬剤療法が行われているが, 薬剤耐性菌の出現により治療が困難になり大きな問題となっている。そこで天然物由来の新たな抗菌物質の発見に期待が寄せられている。本研究では, インドネシア産のフトモモ科の植物 (*Baekkea frutescens*) に含まれる抗菌性物質の単離・同定を目的とした。

【方法・結果】強い活性を示す *B. frutescens* 葉の MeOH 抽出物を液液分配し, Hexane 層と水層に分画した。2 つの画分を終濃度 7.5 mg 当量/mL で活性を評価したところ, Hexane 層にのみ強い活性が認められた。Hexane 層を順相の中圧カラムクロマトグラフィーにより, 100% Hx, 10% AcOEt/Hx, 30% AcOEt/Hx, 100% MeOH で溶出し, それぞれの活性を評価した結果, 10% AcOEt/Hx 溶出画分に高い活性が認められた。10% AcOEt/Hx 溶出画分を ODS 中圧カラムクロマトグラフィーにより順次分画した結果, 60% EtOH 溶出画分に最も高い活性が認められた。この画分を HPLC に供し, 保持時間に従って Fr. A-I の 9 つの画分に分画した。これらの画分の活性を評価したところ, Fr. H に比較的高い活性が認められた。Fr. H は複数成分を含んでいたため, さらに分画し活性を評価したところ複数の画分を組み合わせただけで活性が認められた。現在, NMR 分析を行い活性成分の同定を行っている。

E-5 カワラヨモギが生産するハマウツボ種子発芽刺激物質
○後藤由祐, 古本敏夫¹ (香川大院・農, ¹香川大・農)

【目的】 *Artemisia capillaris* (カワラヨモギ) はキク科ヨモギ属の多年生植物で川原や海岸の砂地に自生しており, その根にはハマウツボ科の根寄生植物である *Orobanchae coerulea* (ハマウツボ) が寄生することが知られている。根寄生植物は, 発芽刺激物質と呼ばれる宿主由来の化学シグナルを認識することで初めて発芽するというユニークな特徴を持っているが, ハマウツボが認識する発芽刺激物質については未だ分かっていない。そこで我々は, カワラヨモギが生産・分泌しているハマウツボ種子発芽刺激物質について研究を進めることにした。

【方法・結果】 まず両者の寄生関係を確認するため, 温室でカワラヨモギとハマウツボ種子を共存させたところ, 確かにハマウツボ種子は発芽し, 生長, 開花した。一方, 実験室レベルにおいて *Striga hermonthica* や *O. minor* など他の根寄生植物は種子発芽試験法が確立されているが, ハマウツボを用いた実験例はほとんど報告されていない。そこで我々は, *O. minor* の発芽試験法を基に, ハマウツボ種子の発芽試験法を確立した。その後, ハマウツボ種子の発芽活性を指標に, 水耕栽培したカワラヨモギから得られた根分泌物をシリカゲルカラムで精製したところ, 複数のフラクションで発芽活性が確認された。さらに, 逆相 HPLC でも複数のフラクションで発芽活性が確認された。これらの結果から, カワラヨモギは多数のハマウツボ種子発芽刺激物質を生産・分泌していることが示唆された。

E-6 オガタマを寄主とするミカドアゲハの産卵刺激物質の探求
○南 悠花, 金 哲史, 本田計一¹ (高知大院・農, ¹西条生態研)

【目的】 アゲハ科チョウ類の食相進化と植物成分との関係解明のため, モクレン科のオガタマノキを寄主とするミカドアゲハ (*Graphium doson*) の摂食及び産卵刺激物質の探求を試みている。現在, オガタマの葉に含まれる, 糖類, 2 種のフラボノイド配糖体, 2 種のフェニルプロパノイド誘導体, セスキテルペンラクトンの計 6 つの化合物を摂食刺激物質として, 一方, フラボノイド配糖体とフェニルプロパノイド誘導体の計 2 つを産卵刺激物質として既に報告している。本研究では, さらなる産卵刺激物質の同定を目的とした。

【方法・結果】 サンプルを塗布したケント紙, 蒸留水のみを塗布したケント紙を産卵期の雌個体を入れたゲージの左右から提示し, 産卵行動を点数化して産卵刺激活性を評価した。活性の見られたオガタマの葉の MeOH 粗抽出物を液液分配に供し, 水層と Hexane+懸濁層を得た。水層を ODS-オープンカラムにより, H₂O 画分, 20%M/H 画分, 40%M/H 画分, MeOH 画分に分画した。それぞれの単独画分では活性を示さないものの, 全て合一したサンプルで高い産卵刺激活性が認められた。20%M/H 画分を除くと先の合一画分との間に有意差が認められないものの, 産卵刺激活性と産卵個体数の低下が認められた。20%M/H 画分に含まれるクロロゲン酸を加えたサンプルでは, 産卵刺激活性の上昇は認められたが, 産卵個体数の上昇は認められなかった。このことから, 20%M/H 画分には, 産卵刺激に関与する新たな成分が存在しているものと思われた。現在その成分を追跡中である。

E-7 ナガサキアゲハの蛹体色調節機構の解析
○上野翔也, 山城友孝¹, 小島 渉, 北沢千里², 山中 明
(山口大院・創成科学, ¹山口大・理, ²山口大・教育)

【目的】ナガサキアゲハの蛹体色は緑色および褐色型がある。先行研究で長日・長条件下では、粗面・滑面どちらでも緑色型になり、全暗かつ粗面条件下では褐色型になることが示唆された。本研究では、蛹化時の光の有無の影響および蛹化面の性状の違いが蛹の体色にどのような変化をもたらすか、さらに蛹体色変化を誘導する神経内分泌因子の関与について検討した。

【方法・結果】孵化した幼虫を、長日 25℃ (LD25) および短日 18℃ (SD18) の条件下で飼育した。ガットパーシ後の老熟幼虫を全明あるいは全暗条件下で直径および性状(粗滑)が異なる蛹化面を用いて、蛹体色を変化させる要因について調べた。その結果、LD25 飼育個体では、光の有無に関わらず蛹化面の直径が小さいまたは滑面であれば緑色型になる。しかし、全暗かつ粗面条件下において LD25 飼育個体は褐色型となった。一方で、SD18 飼育個体では、蛹化面の直径が小さいと緑色型になり、蛹化面の直径が大きい、または平面であると褐色型となった。蛹体色変化を誘導する神経内分泌因子の関与を検討するために、5 齢幼虫の Br-SG-TG₁ 連合体および TG_{2,3}-AG_{1,7} 連合体からアセトン画分、80% EtOH および 2% NaCl 画分を調製し、1 匹あたり 50 脳神経系相当量の粗抽出液を胸腹部間で結紮されたナガサキアゲハ短日前蛹に投与した。その結果、Br-SG-TG₁ 連合体および TG_{2,3}-AG_{1,7} 連合体の 80% EtOH 画分および 2% NaCl 画分の投与により結紮腹部が褐色化した。このことから、これら連合体には、蛹体色を変化させる因子が存在していることが示唆された。

E-8 米の抗酸化活性に寄与する成分の評価
○郭 穎楠, Wu Hongyan, 藤田明子¹, 中村俊之, 宗正晋太郎, 村田芳行,
中村宜督(岡山大院・環境生命, ¹(株)サタケ)

【目的】米は主要な栄養源であることに加え、 γ -オリザノールやフェルラ酸などの様々な抗酸化物質が含まれることが知られている。これまでに我々の研究グループは、白米および玄米のエタノール抽出物が DPPH ラジカル消去活性を示すことを報告してきた。しかし、米の抗酸化作用にどの成分がどの程度寄与しているか明らかではない。そこで本研究では、白米および玄米に含まれるビタミン E 類、 γ -オリザノールならびにフェルラ酸の含有量を測定するとともに、これら抗酸化物質が米抽出物の DPPH ラジカル消去活性にどの程度寄与しているのかを評価した。

【方法・結果】白米および玄米を粉碎後、50%エタノールまたは 100%エタノールに浸漬し、90 分間振盪した。その後、ろ過、減圧濃縮して得た抽出物に含まれる抗酸化物質を HPLC-UV および蛍光検出器を用いて測定した。100%エタノール抽出物からは白米、玄米ともにビタミン E 類および γ -オリザノールが検出されたが、フェルラ酸は検出限界以下だった。一方、50%エタノール抽出物ではビタミン E 類とフェルラ酸が検出されたものの、 γ -オリザノールは検出できなかった。次に、ビタミン E 類、 γ -オリザノールおよびフェルラ酸の標準品を用いて DPPH ラジカル消去活性を測定した結果、ビタミン E 類 > フェルラ酸 > γ -オリザノールの順に強力な DPPH ラジカル消去活性を示し、ビタミン E 類の中で α -トコフェロールが最も強い活性を示した。これら化合物の含有量をもとに米抽出物が示す DPPH ラジカル消去への寄与率を算出したところ、 γ -オリザノールの寄与率が最も高いことが示唆された。

E-9 エタノール毒性に対する枸杞子ポリフェノールの細胞保護作用とその作用機構
○木俣実乃里, 明神 匠, 中村俊之, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
(岡山大院・環境生命)

【目的】エタノールはアルコール脱水素酵素によりアセトアルデヒド (AA) に酸化され、さらにアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) により無毒な酢酸へと代謝される。AA の蓄積は頭痛や吐き気だけでなくアルコール性肝疾患をもたらす危険性を高める。当研究室ではこれまでに、マウス肝がん Hepalclc7 細胞株を用いて、東アジアの伝統的な生薬である枸杞子の抽出物が AA 誘導細胞死を抑制することを示してきた。そこで本研究は、枸杞子抽出物に多く含まれるポリフェノールであるケルセチンおよびクロロゲン酸が AA 誘導細胞死に及ぼす影響を調査し、その作用機構を解明することを目的とした。

【方法・結果】初めに、ケルセチンおよびクロロゲン酸が Hepalclc7 細胞株において AA 誘導細胞死に及ぼす影響を調査した結果、ケルセチン、クロロゲン酸ともに AA 誘導細胞死を濃度依存的に抑制した。次に、これらの化合物が細胞内の総 ALDH 活性、総グルタチオン量、ROS 量に及ぼす影響を調査した。その結果、ケルセチンは総 ALDH 活性および総グルタチオン量の両方を有意に増加させ、AA による ROS の増加を抑制した。一方、クロロゲン酸は総 ALDH 活性を増加させ、AA による ROS の増加を抑制したが、総グルタチオン量には影響を及ぼさなかった。さらに、ケルセチンが薬物代謝酵素に及ぼす影響を調査したところ、抗酸化酵素である HO-1、グルタチオン合成に関与する GCLC および xCT、ALDH 分子種の ALDH1a1 および ALDH3a1 の mRNA 発現量を増加させた。以上の結果から、AA 誘導細胞死の抑制に対する各因子の寄与は化合物によって異なることが示唆された。

E-10 玄米抽出物の細胞保護作用へのフェルラ酸の寄与
○松本莉歩, Wu Hongyan, 郭 穎楠, 藤田明子¹, 宗正晋太郎, 村田芳行,
中村俊之, 中村宜督 (岡山大院・環境生命, ¹ (株) サタケ)

【目的】我々の研究グループは、玄米抽出物が過酸化水素による毒性から細胞を保護すること、フェルラ酸 (FA) が玄米抽出物に含まれる主要なラジカル消去物質の一つであることをこれまでに明らかにしてきた。しかし、玄米抽出物の細胞保護作用に FA がどの程度寄与しているのかは不明のままである。そこで本研究は、FA を多く含む玄米 50%エタノール抽出物の第二相薬物代謝酵素の遺伝子発現誘導作用への FA の寄与率を求め、FA の細胞保護作用の分子機構を解明することを目的とした。

【方法】細胞生存率は MTT assay を用いて評価した。第二相薬物代謝酵素の遺伝子発現への影響は RT-PCR 法を用いて評価した。また、赤血球系転写因子 2 関連転写因子 2 (Nrf2) のタンパク質発現レベル、Akt, ERK, p38 MAPK, JNK のリン酸化レベルへの影響は Western Blotting 法を用いて評価した。

【結果・考察】FA は濃度依存的に第二相薬物代謝酵素の遺伝子発現を増強するだけでなく、過酸化水素誘導細胞死に対して保護効果を示した。第二相薬物代謝酵素のヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1) 遺伝子発現を有意に増加させる最小濃度は FA で 100 μ M、玄米抽出物で 0.1 mg/mL であり、0.1 mg/mL 玄米抽出物には 0.1 nmol/mL の FA が含まれていたことから、玄米抽出物の細胞保護作用への FA の寄与率は約 0.1% と非常に限定的であると見積もられた。しかし、FA は Nrf2 タンパク質発現および核内移行、Akt S473 および T308 のリン酸化レベルを増加させたことから、FA は PI3K/Akt シグナル伝達経路を介した Nrf2 発現の上方制御により第二相薬物代謝酵素の遺伝子発現を増強させ、細胞を保護することが示唆された。

E-11 ベンジルイソチオシアネートの細胞増殖抑制作用におけるグルタチオン S-トランスフェラーゼの役割
○瀬戸将之, 中村俊之, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督 (岡山大院・環境生命)

【目的】 ベンジルイソチオシアネート (BITC) は主にアブラナ科野菜に由来するイソチオシアネート類 (ITCs) の一つであり、様々ながん細胞に対して細胞増殖抑制作用を誘導することが報告されている。一般に生体異物はまず酸化・還元を含む第一相反応を受け、グルタチオン (GSH) 等の水溶性化合物との抱合化である第二相反応を受けた後、生体外へ排出される。一方、ITCs の代謝では第二相反応を担うグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) が律速酵素である。BITC はアポトーシス等を介した増殖抑制作用を誘導するが、高濃度では非特異的な細胞毒性を示すため、より低濃度の BITC を用いて効果的に生理作用を発揮させることが重要であると考えられている。そこで本研究では、BITC の代謝律速酵素である GST に注目し、その阻害剤が BITC の細胞内蓄積量と細胞増殖抑制作用に及ぼす影響を調査した。

【方法・結果】 まず、ヒト大腸がん由来 HCT-116 細胞において、GST 阻害剤のエタクリン酸 (EA) が GST 活性および細胞内 BITC 蓄積量に及ぼす影響を調査した。その結果、EA は濃度依存的に GST 活性を抑制するだけでなく、細胞内 BITC 蓄積量を有意に増加させた。続いて、細胞内総 GSH 量に及ぼす影響を調査したところ、EA は BITC による細胞内総 GSH 量の減少を増強した。さらに、EA は BITC が誘導する細胞増殖抑制作用を有意に増強したことから、EA は BITC 代謝の阻害を介して細胞内 BITC 蓄積量を増加させるため、EA の共存下ならより低濃度の BITC でも細胞増殖抑制作用を誘導できることが示唆された。また、GST は BITC の生理活性発現における潜在的な負の調節因子であることが推察された。

E-12 β' 型チョコレートの開発に関する研究
○黄 杰, 小泉晴比古, 田口 健¹, 上野 聡
(広島大・統合生命, ¹広島大・先進理工)

チョコレートの主な成分には、ココアバター (Cocoa Butter. 以下、CB と略記)、カカオマス、砂糖、乳脂などがある。このうち、チョコレートの品質を制御するうえで、最も必要な成分は CB である。CB には、I 型から VI 型までの 6 つの異なる結晶多形が存在する。I 型の融点が最も低く、VI 型の融点が最も高くなる。現在、V 型は理想的な多形であり、チョコレート製造で広く使用されている。しかし、V 型の結晶よりも融点が低い IV 型のチョコレートは、口の中でより速く溶ける。その為、IV 型の CB で作られたチョコレートの食感が V 型のチョコレートよりも良い可能性がある。本研究では、種結晶法を使用した IV 型チョコレートの作製およびその安定化方法の開発を目的とする。IV 型の CB の III 型および IV 型と結晶構造が似ている β' 型の油脂結晶を種結晶として加えることで、CB を IV 型で安定化させることを試みる。現在、CB を β' 型で安定化させるため、純度 68% の PSP (1,3-dipalmitoyl-2-stearoyl-*sn*-glycerol. 以下、68%PSP と略記) を種結晶として CB に加えた。5℃に保存し、急冷直後 (0 日) から 5 ヶ月後までの時間経過における多形転移挙動を調べた。CB の結晶多形および融点を観察するため、X 線回折法 (XRD) および DSC 測定を用いた。その結果、68%PSP を種結晶として添加した場合、冷却後の多形は、III 型と IV 型 (いずれも β' 型) であることが判明した。また、5 ヶ月を経て、68%PSP を添加した試料は CB 単体より多形転移が遅くなった。以上の結果より、68%PSP を CB の種結晶として添加した場合、CB の V 型への多形転移は抑制されることが示唆された。

E-13 抗悪性腫瘍薬ブスルファン曝露によるセルトリ細胞障害の解析
○小瀬木碧, 樋口雅司, 西村 亮¹, 山野好章
(鳥取大・獣医生化, ¹鳥取大・獣医繁殖)

【目的】ブスルファンはアルキル抗がん剤の一種であり, 若年性骨髄性白血病治療に用いられるが性成熟後の無精子症発症が問題となっている。しかし, ブスルファン曝露による精子形成不全発症機構は明確ではない。現在のところ, 精巣内セルトリ細胞が分泌する液性因子が精子細胞を刺激して精子形成が進行することがわかっている。そこで本研究ではマウスセルトリ細胞株である TM4 にブスルファンを曝露して精巣で発現するケモカインの発現を調査した。

【方法・結果】成熟期ラット組織において, ケモカイン関連遺伝子の一つである *Cxcl1* の発現を RT-PCR により分析したところ, 肺で強く, 精巣で微弱な発現を認めたことから CXCL1 が精巣においても何らかの機能を持っていることが推測された。続いて, TM4 にブスルファンを曝露したところ細胞の膨潤化や形態異常が認められ, さらに *Cxcl1* 遺伝子発現は曝露により有意に上昇した。また, 免疫細胞染色の結果, ブスルファン曝露により細胞質における CXCL1 の発現増強が認められた。一方, アポトーシスマーカー遺伝子の発現を調査したところ曝露による *Casp3* 遺伝子の発現影響は認められず, 曝露によるアポトーシス誘導の可能性は低いと考えられる。以上の結果より, ブスルファン曝露による精子形成不全の原因としてセルトリ細胞の細胞死ではなく, 細胞内 CXCL1 の過剰発現がその一因となっていると推測される。今後, 精子細胞における CXCL1 受容体発現の確認に加えてブスルファン曝露動物精巣においても CXCL1 の発現変動があるのかを検証することが必要である。

F-1 廃用性筋萎縮からの回復を促進する 8-プレニルナリンゲニンがアミノ酸動態に与える影響について

○田中寛人, 堤 理恵¹, 大江健一², 卯川裕一², 向井理恵
(徳島大・生物資源,¹ 徳島大院・代謝栄養,² (株) ダイセル)

【背景・目的】骨格筋は健康寿命と関連するが、ギプス固定などで骨格筋への負荷が低下すると、廃用性筋萎縮が起こる。我々は、廃用性筋萎縮の予防・改善効果を有する食品成分として、ホップにごく微量含まれる 8-プレニルナリンゲニン (PN) が廃用性筋萎縮後の回復を促進することを明らかにした。この効果は、PN がアミノ酸動態に影響した結果ではないかと仮説を立て、本研究を実施した。

【方法・結果・考察】C57BL/6 マウスの右後肢にギプス固定を施した。固定の解除（骨格筋回復期の開始）にあわせて、Control 食あるいは PN 食（低含量と高含量を設定）で飼育した。20 日目に摘出した前脛骨筋をメタボローム解析に供したところ、特に低含量群でアミノ酸や核酸類の変動が検出された。そこで、同サンプルを用いてアミノ酸トランスポーターの発現量の変動をリアルタイム PCR 法で解析した。その結果、LAT1, LAT2, CAT1, PAT1 の発現が有意に増加した。続いて、血漿をメタボローム解析したところ、PN 含有食ではアミノ酸が有意に減少した。これらの結果から、骨格筋の回復期には PN がアミノ酸の動態に影響し、血中から骨格筋へのアミノ酸取り込みを促進したことが推察された。この結果が PN 単独の効果か、アミノ酸との相乗効果であるかを検討するため、マウス筋管細胞 (C2C12) を用いてアミノ酸トランスポーターの発現量を評価した。アミノ酸含有培地では PN によって 4F2hc, LAT1, CAT1 の発現が有意に増加した。アミノ酸不含培地では PN による 4F2hc 上昇は維持されたものの、LAT1 と CAT1 の発現上昇は消失した。この結果は PN の効果はアミノ酸との相乗効果であることを示すものである。

F-2 魚介類のセレン源であるセレノネインの肝脂質代謝への影響

○松下功暉, 進藤龍之介, 杉浦義正, 世古卓也¹, 山下倫明, 宮田昌明
(水大校・食品科学,¹ 水産機構水技研)

【目的】セレノネインはセレン化合物の一つでマグロ類、サバ類、ブリ類などの回遊魚に広く分布している。セレノネインは *in vitro* の研究により高い抗酸化作用を有することが示されており、生活習慣病やがんの予防効果があるのではないかと考えられている。肝臓に脂肪が蓄積する脂肪肝やさらに炎症、線維化が起こった脂肪性肝炎などの脂肪性肝疾患は生活習慣病の一つで近年患者が急増している。本研究では、脂肪性肝疾患モデルである farnesoid X receptor (FXR) 欠損マウスおよびオレイン酸/パルミチン酸 (OA/PA) 処理を行ったヒト肝由来の細胞 (HepG2) を用いてセレノネインによる病態時の肝臓の脂質代謝への影響を解析し、セレノネインが肝臓にどのように作用し、脂肪性肝疾患を改善させるのかを明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】4 か月齢の雄性 Fxr 欠損マウスにセレノネイン 0.3 ppm 含有食を 4 か月間自由摂取させた。HepG2 細胞は 1 mM の OA/PA (2:1) 含有培地で 24 時間培養し、同時にセレノネイン (0.1, 1.0 μ M) を処理した。セレノネイン処理の Fxr 欠損マウスの肝臓ではトリグリセリド (TG) レベルが有意に減少し、肝組織の H&E 染色で脂肪滴に由来する空胞の減少が認められた。セレノネイン処理で肝臓の脂肪酸合成に関与する遺伝子の mRNA レベルが有意に減少した。一方 OA/PA 処理をした HepG2 細胞では細胞内 TG の上昇が認められたが、セレノネインによる TG の低下は認められなかった。

F-3 食用種子由来植物 *N*-グリカンの腸内細菌増殖活性について
○吉松杏那, 前田 恵, 山本 勇¹, 笹田歩佳¹, 木村万里子¹, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命, ¹神戸女大院・食物栄養)

【目的】分泌型の植物糖タンパク質の多くには, α 1-3Fuc および β 1-2Xyl 残基が結合した Man3Xyl1Fuc1GlcNAc2 (M3FX) をコア構造とする植物抗原性糖鎖が結合している。一方, 乾燥種子貯蔵タンパク質にはハイマンノース型糖鎖が豊富に含まれている。我々はイチョウ種子貯蔵タンパク質とアズキ貯蔵タンパク質がこれらの機能的 *N*-グリカンの有用な供給源になることを既に報告している^[1,2]。*N*-グリカンの腸内細菌増殖活性については, アズキ貯蔵タンパク質から調製したハイマンノース型糖鎖含有糖ペプチドが4種のビフィズス菌の増殖を促進するという結果を報告した^[3]。そこで本研究では, 植物抗原性糖鎖のヒト腸内細菌増殖活性を明らかにすることを目的とした。【方法・結果】M3FX は, イチョウ種子貯蔵タンパク質からペプシンとアクチナーゼにより連続消化し, イオン交換, ゲルろ過により糖ペプチドを調製後, ヒドラジン分解により糖鎖を遊離させ SF-HPLC により精製した。一方, ハイマンノース型糖鎖 (Man8GlcNAc2) は, アズキ貯蔵糖タンパク質のペプシン消化物からイオン交換, ゲルろ過, 疎水クロマトにより糖ペプチドを調製後, ヒドラジン分解により糖鎖を遊離させ SF-HPLC により精製した。精製した遊離型 *N*-グリカンの *B. adolescentis*, *B. longum* subsp. *infantis*, *B. longum* subsp. *longum*, *B. pseudocatenulatum* 増殖に対するプレバイオティクス活性について報告する。[1] Takeda, N., *et al.*, *Int. J. Biol. Macromol.*, **147**, 1294-1300 (2020). [2] Katsube, M., *et al.*, 19th European Carbohydrate Symposium (Spain, July, 2017) Abstract p574. [3] 荒木作彩, 日本農芸化学会中四国支部会第 58 回講演会 (例会) (2021).

F-4 かつお節由来成分の血中中性脂肪の低下作用機序
○関 英治, 山根拓也¹, 大久保岩男²
(ヤマキ (株)・商品開発部, ¹阪大, ²天使大)

【目的】農水産加工未利用資源を利用する場合は原料や製品の価格の安定と利益の確保, 廃棄物処理費用の低減などが販売する上で有利に働く。5 年後の市場規模約 7,100 億円に対して市場獲得を目指し研究終了 5 年後の製品単年度売上を見込む。鰹だしから単離・同定と作用メカニズムの解明, 機能性表示食品の登録, 脂質異常症改善効果をして以下の実験を行った。【方法・結果】成分は UPLC を用いて AW と確定した。試験(1)腓リパーゼ活性阻害作用 鰹だしを腓リパーゼに反応させガスクロマトグラフを用いて検討した。試験(2)ヒト肝細胞への脂肪蓄積抑制作用 ヒト肝細胞 HepG2 細胞を培養し, 6 well プレートに播種する。無血清培地で 2 回洗浄した後, 200 μ M オレイン酸含有培地に交換し, 鰹だしを加え, 37°C, 5% CO₂ インキュベーター内で一晩培養した。上清を除去し, 無血清培地で 2 回洗浄した後, 蛍光色素を添加し, 37°C, 30 分間インキュベートする。蛍光顕微鏡にて観察, 撮影した。試験(3)ヒト肝細胞における脂肪分解・合成系に関与する遺伝子発現変化 ヒト肝細胞 HepG2 細胞を培養し, 24 well プレートに播種する。鰹だしを加え, 37°C, 5% CO₂ インキュベーター内で一晩培養する。上清を除去し, PBS にて洗浄した後, RNA を抽出し逆転写する。脂肪分解・合成系に関与する遺伝子の特異的プライマーを用いて定量 PCR を行うことにより, 鰹だしの脂肪分解・合成系への関与について検討した。試験(4)マウス脂肪細胞への脂肪蓄積抑制作用 マウス脂肪前駆細胞 3T3-L1 細胞を脂肪細胞へ分化させ, 鰹だしを添加。2 日おきに 8 日間添加した。試験 (1) ~ (4) において脂質異常症の改善効果が認められた。

F－5 ジャパニーズ・クラフトジンの製造条件と香りの品質の関連性
○谷中駿一^{1,2}, 長船行雄², 磯谷敦子^{1,2}, 向井伸彦²
(¹広島大院・統合生命, ²酒類総研)

【目的】 近年、日本でジンの製造が注目され様々なメーカーがジャパニーズ・クラフトジンを生産している。そのため、ジンの製造条件と品質についての研究を要望する声が多い。そこで、ジャパニーズ・クラフトジンに広く用いられており、香りの先行研究のある緑茶に注目した。緑茶を用いて様々な条件で蒸留試験を行うことで緑茶に特有な成分とジンの製造条件の関連性を調べることにした。

【方法・結果】 緑茶を市販のお茶パックに入れ所定のアルコール水溶液と共に遮光のメディウム瓶に入れて 30℃の恒温槽で浸漬を行った。浸漬後に茶葉と浸漬液をガラス製の蒸留器に入れ蒸留を行った。得られた留液について振動式密度計によりアルコール度数の測定を、SPME-GC-MS により、緑茶に特徴的な香気成分の分析を行った。分析対象の成分は DMS (dimethyl sulfide), linalool, β -ionone, *trans*-nerolidol とした。なお、留液は 3 回に分けて採取し、それぞれ画分 1～3 とした。製造条件として浸漬時間、茶葉濃度、浸漬液のアルコール度数を変化させ関連性を調べた。

浸漬時間が短いほどより多くの DMS が検出された。一方、その他の 3 成分は DMS と比較して顕著な傾向がみられなかった。茶葉濃度を高くすると緑茶に特徴的な香気成分の濃度が増加した。浸漬液のアルコール度数を変化させると画分ごとに留液のアルコール度数がそれぞれ変化した。DMS は画分が進むにつれて減少する傾向がみられた。また、その他の 3 成分は留液のアルコール度数が約 67 度付近でよく抽出されていることが分かった。

F－6 0 次（早期）分析に基づいた清酒醸造特性の米品種間差解析
○高橋 圭^{1,2}, 奥田将生^{1,2}, 上用みどり¹, 沼田美子代¹, 包 紅彬¹,
河野弘美¹ (¹酒類総研, ²酒米研究会)

【背景及び目的】 酒米の醸造特性解析は、米品種・栽培年・産地による清酒醸造への影響を見積もる上で重要である。しかし、酒米を複数年間、一定の手法で分析し、詳細に比較解析した報告は数が少なく知見は限られており、加えて 2000 年代になってからの報告は無いことから、現在流通している品種をある程度網羅した解析結果が求められている。そこで、酒米研究会が報告した酒米 0 次（早期）分析結果を解析し、米品種ごとに各分析項目における特徴を見出すことを目的とした。

【方法】 2002 年から 2019 年までの間に酒造用原料米の 0 次分析に供され得られたデータ（合計 897 点）のうち、5 年分以上のデータを有している米試料 30 品種（酒造好適米 23 品種、一般米 7 品種）、707 点について、酒米品種間の比較に焦点を当て統計解析を実施した。分析は酒造用原料米全国統一分析法に基づき、玄米千粒重及び白米（精米歩合 70%）の吸水率、消化性、粗タンパク質等の項目について実施した。

【結果】 千粒重は、「華吹雪」、「おくほまれ」、「兵庫北錦」で大きかった。20 分間吸水率は、東北地方の「京の華」や「出羽の里」で高く、次いで、静岡県の「誉富士」、高知県の「吟の夢」で高かった。デンプンの蒸米酵素消化性（Brix 値）は、「出羽の里」で高く、次いで、「京の華」、「誉富士」で高かった。粗タンパク質含量は、山形県の「雪女神」、「出羽の里」及び西日本を中心に広く栽培されている「山田錦」で低かった。以上から、酒米の清酒醸造特性における米品種間差を明らかにした。

- F－7 Controlling crystallization behavior of tropical oil by using ultrasound stimulation
 ○Kaicong Hong, Haruhiko Koizumi, Satoru Ueno, Ken Taguchi¹
 (Grad. Sch. Integr. Sci. Life, Hiroshima Univ., ¹Grad. Sch. Adv. Sci. Eng.,
 Hiroshima Univ.)

[Background & Purpose]

As a typical kind of tropical oil, cocoa butter has six polymorph forms, among them, form V is the most optimal. The traditional method to promote the formation of form V crystals is tempering, which usually costs much time, and the procedure is complex. Fortunately, however, previous study has shown that ultrasound and shear force applied separately can effectively promote the formation of form V of cocoa butter. The purpose of my study is to investigate the combined effect of these two stimuli on the crystallization of cocoa butter, and the experiments will evaluate the effect of stimulation in terms of morphology and polymorphic changes.

[Method & Result]

Experimental measurements such as X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, and polarizing light microscopy are used to observe the crystalline polymorphism, melting point, morphology of fat crystals, respectively, as well as crystallization behaviors and polymorphic transformation behaviors.

The result suggests that 5 or 10 seconds of ultrasound can obviously promote the polymorphic transfer of cocoa butter to form V by using my experimental sample cell and the stimulation time of ultrasound would depend on the volume of sample. As for shearing effect, there is a tendency that the higher the shearing frequency, the more form V crystals there are.

- F－8 O/W エマルション中の油相の結晶化における鎖長の異なる乳化剤の添加効果
 ○史 聡松, 小泉晴比古, 上野 聡, 田口 健¹
 (広島大院・統合生命, ¹広島大院・先進理工)

【研究の背景】エマルションは一種の準安定状態。一定時間が経過すると、最も安定した状態に変化するために乳化破壊が起こる。エマルション中の油相の結晶化は乳化破壊の要因であると同時に、品質制御の決め手でもある。鎖長異なる乳化剤の添加効果によっては乳化破壊を制御する効果があるかもしれません。

【目的】鎖長の異なる乳化剤を使って O/W エマルションを作製し、エマルションの安定性を調べると共に、乳化剤の添加効果を観察する。

【方法・結果】乳化剤として 3 種類のポリグリセリン脂肪酸エステル (PGFE) と 4 種類のポリソルベート (Tween) をそれぞれ用いて、水/n-ヘキサデカンエマルションを作製した。エマルションの安定性を観察するために示差走査熱量測定 (DSC) と粒径分布測定を行った。その結果、50 度インキュベータ内に 1 ヶ月保存したエマルションは、時間が経つにつれて部分的に乳化破壊が発生し、大部分が乳化状態を維持した。その後、試料の x 線回折測定により、温度低下に伴う n-ヘキサデカン結晶の結晶多型の変化を観測した。そのデータから、テンプレート効果による n-ヘキサデカン結晶の結晶化温度の上昇と、同様にテンプレート効果による n-ヘキサデカン結晶の多形転移を確認した。

F－9 ツノナシオキアミペースト製造条件の検討
○福田 翼, 辰野竜平, 古下 学 (水大校・食品科学)

【目的】ツノナシオキアミは、東北地方で漁獲される低利用水産物である。我々は、ツノナシオキアミの食品加工利用を目指し、ツノナシオキアミペースト製造法を検討してきた。本研究では、生原料および冷凍原料のツノナシオキアミを用い、ペースト製造における脱水工程が品質に及ぼす影響を検討した。

【方法・結果】生原料および冷凍原料のツノナシオキアミを塩漬け（最終塩分 15%）にした。このツノナシオキアミは、水切り機能を有していない容器（以下、コントロール条件）、水切り機能を有した容器（以下、水切り条件）、重石を利用した容器（以下、水切り＋重石条件）にて発酵させた。冷凍原料については、水切り条件のみ（以下、冷凍原料条件）を行った。発酵温度は 30℃ とした。発酵期間中の塩分は 15% となる様、適宜、加塩した。

発酵期間中の水分は、冷凍原料条件、コントロール条件、水切り条件および水切り＋重石条件の順に高く、水切り条件および水切り＋重石条件では差は見られなかった。発酵期間中の一般生菌数は、水切り条件および水切り＋重石条件の場合、発酵 0.5 ヶ月目以降、 10^1 CFU/g 程度であった。一方、コントロールの場合、発酵 0.5 ヶ月目は 10^4 CFU/g 程度となり、時間経過と共にさらに増加した。冷凍原料条件下では、発酵 0.5 ヶ月目には 10^6 CFU/g 程度に到達していた。10%TCA 可溶性窒素量は、冷凍原料を用いた水切り条件よりも生原料を用いた各製造条件の方が高かった。発酵 2 ヶ月目における遊離アミノ酸量は、コントロール、水切り条件および水切り＋重石条件は同程度であったが、冷凍原料条件は低かった。

F－10 高知県地産生鮮青果物の GABA 含有量の調査－GABA 高含有生鮮食品の機能性表示食品の届出－

○瀬尾彩萌, 山本博志¹, 韓 力², 柏木文弘, 島村智子
(高知大・農,¹くだものの山長,²高知大・土佐 FBC)

【目的】GABA (γ -aminobutyric acid, γ -アミノ酪酸) はアミノ酸の 1 種であり、脊椎動物の中樞神経系、特に海馬、小脳、大脳、脊髄などに存在し、主に抑制性神経伝達物質として機能している物質である。GABA には様々な生理機能を有することが知られている。近年、GABA を含む食品の摂取による様々な機能性効果が報告され、GABA 成分を配合した加工食品或いは生鮮食品が機能性表示食品商品として販売されている。GABA は発酵食品や微生物により生産されることが多いが、野菜や果物の中にも多く含まれていることも知られている。今回、高知県地産青果物中 GABA 含有量を調査し、マスクメロンの機能性表示食品の届出を行った。

【方法】高知市内青果物専門店、スーパーマーケットなどより高知県産（市町村名など産地情報が明記されたもの）青果物を購入し、2 日以内に搾汁・破碎し、水抽出を行った。その後、抽出液中の窒素含有成分を Fmoc-Cl (Fluorenylmethyloxycarbonyl Chloride) により蛍光物に変換し、HPLC により青果物中の GABA の定量分析を実施した。また、上述の分析方法を用いて、県産マスクメロンの季節及び生産者による GABA 含有量の変動を確認した。

【結果】合計 33 種、70 検体の県産青果物中の GABA 含有量を測定した結果、幾つかの高含有青果種の情報を得た。また、マスクメロンについて、年間としての GABA 含有量の変動の範囲を把握し、「ストレスを低減」と「睡眠の質を高める」2 種類の機能性表示食品届出を実現した。

F-11 シシトウ非辛味系統の特性評価

○森 大地, 松本直也, 鍋島怜和^{1,2}, 尾崎 耕¹, 柏木丈拵, 島村智子
(高知大・農,¹高知農技セ,²高知県農業振興部)

【背景】シシトウは高知県が全国一位の出荷量を誇る重要な地域資源である。通常、シシトウは辛味を呈さないが、栽培時のストレスなどが原因となり、時として強い辛味を呈する果実が生じる。この問題を解決するために高知県では、辛味成分を作る性質のない遺伝資源を掛け合わせることで辛味果を作らないシシトウの育種を行ってきた。本研究では、シシトウ非辛味系統の味パターン、香氣成分、機能性成分などを測定し、従来品種及び類縁農産物と比較することにより特性評価を行った。

【方法】シシトウ従来品種 3 種類、シシトウ非辛味系統 4 種類、ピーマン 3 種類、パプリカ 3 種類を試料とした。可食部 20 g に対して超純水 200 mL を添加し、電子レンジで 3 分間加熱後に粉碎し、ろ過したものを測定試料 (100 mg/mL) とした。測定項目は以下の通りとした：重量、色彩値、pH、Brix、遊離アミノ酸量、ポリフェノール量、味パターン、香氣成分、抗酸化活性。

【結果・考察】味認識装置による分析の結果、シシトウ非辛味系統の味パターンはピーマン、パプリカと明確に異なる一方で、シシトウ従来品種とは一致していた。香氣成分分析では、全検出化合物のうち FR 値 50 以上を示した 36 種類の化合物を対象に主成分分析を行った。その結果、シシトウ従来品種及び非辛味系統の香氣成分の特徴は類似していることが判明した。本結果は、シシトウ非辛味系統の風味特性が従来品種と一致していることを客観的に示すものであり、今後のシシトウの市場拡大に資する成果であると考えている。

F-12 科学的分析による各種シシトウの特徴の可視化

○松本直也, 森 大地, 柏木丈拵, 島村智子 (高知大・農)

【背景】シシトウは高知県が全国生産量 1 位を誇っており、冬期にハウス促成栽培、夏期に露地栽培を行うことで周年栽培が可能な作物である。本研究では、高知県産シシトウの味、香り、色、機能性、及び機能性成分含量を測定し、品種や収穫時期の影響について調べた。

【方法】産地、栽培農家、品種、収穫時期 (5, 6, 10 月) が異なるシシトウ計 18 種を分析に供した。可食部 20 g に対して超純水 200 mL を添加し、電子レンジで 3 分間加熱後に粉碎し、ろ過したものを測定試料 (100 mg/mL) とした。測定項目は下記の通りとした：重量、色彩値、pH、Brix、導電率、遊離アミノ酸量 (AQC 法)、味 (味認識装置)、香氣成分 (SPME 法, GC×GC-TOFMS)、ポリフェノール量 (FC 法)、抗酸化活性 (DPPH 法, WST-1 法)。

【結果・考察】味分析の結果、10 月に収穫したシシトウは 5 月、6 月のものと比べ、苦味、渋味、旨味において味強度が強い傾向にあった。香氣成分の分析結果については、FR 値 100 以上の香氣成分 68 種を対象として主成分分析を行った。その結果、10 月に収穫したシシトウと 5 月、6 月に収穫したものでは、香氣成分の特徴に違いがみられた。具体的には、6 月に収穫したシシトウには 5 月、10 月のものと比較して酢酸エチルが 15 倍以上含まれていた。遊離アミノ酸の総量は、5 月、6 月に収穫したシシトウで 1365 µg/g F.W. ~ 2127 µg/g F.W. であったのに対し、10 月のものは 1783 µg/g F.W. ~ 2805 µg/g F.W. と比較的多い傾向にあった。

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
- ・広島和光(株)
- ・(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12月15日現在 52社

日本農芸化学会中四国支部第61回講演会

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：島村智子

連絡先：783-8502 高知県南国市物部乙200

高知大学農林海洋科学部

T E L：088-864-5193

E-mail：tomokos@kochi-u.ac.jp

支部からのお知らせ

1. 支部創立20周年記念 第62回 講演会（例会）
開催日：2022年6月4日（土）
場 所：島根大学
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
講演申込締切：5月2日（月）
講演要旨締切：5月9日（月）
世話人：塩月孝博（島根大学）
2. 支部創立20周年記念 第63回 講演会（支部大会）
開催日：2022年9月21日（水）～ 22日（木）
場 所：香川大学
内 容：特別講演，シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：渡邊 彰（香川大学）
3. 支部創立20周年記念 第64回 講演会（例会）
開催日：2023年1月28日（土）
場 所：岡山県立大学
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：山本登志子（岡山県立大学）

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