

支部創立20周年記念  
日本農芸化学会中四国支部第62回講演会

# 講 演 要 旨 集

日時：2022年6月4日（土）13時00分開会  
オンライン開催（島根大學生物資源科学部）



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 62 回講演会（例会）

オンライン開催（Zoom）（島根大学生物資源科学部）

開催日：2022 年 6 月 4 日（土）

10:00～11:00 幹事打合会

11:10～12:00 支部参与会

13:00～13:20 受賞講演

2022 年度日本農芸化学会 女性企業研究者賞

「微生物酵素を用いた新規有用糖質素材の創出」

安田亜希子 ((株) 林原)

13:30～14:50 特別講演

「無細胞タンパク質合成系を用いた脂質修飾タンパク質の網羅的探索と機能解析」

内海俊彦（山口大・農）

「昆虫科学 断章 一カイコ盛衰・世紀をまたいでー」

東 政明（鳥取大・農）

15:00～17:00 一般講演

(A～D 会場)

## 会場一覧表

| 会場 | 講演番号       | 分類・発表部屋名                |
|----|------------|-------------------------|
| A  | A-1 ~ A-10 | 微生物                     |
| B  | B-1 ~ B-8  | 植物                      |
| C  | C-1 ~ C-9  | 有機化学・天然物、食品             |
| D  | D-1 ~ D-7  | 遺伝子・ゲノム、酵素・タンパク質、動物、その他 |

## 一般講演 座長一覧表

| 会場 | 講演番号       | 座長    |           |
|----|------------|-------|-----------|
| A  | A-1 ~ A-3  | 仲宗根薰  | (近畿大・工)   |
|    | A-4 ~ A-7  | 松尾安浩  | (島根大・生資科) |
|    | A-8 ~ A-10 | 田淵光昭  | (香川大・農)   |
| B  | B-1 ~ B-4  | 丸田隆典  | (島根大・生資科) |
|    | B-5 ~ B-8  | 藪田行哲  | (鳥取大・農)   |
| C  | C-1 ~ C-3  | 佐藤正資  | (香川大・農)   |
|    | C-4 ~ C-6  | 大渡康夫  | (島根県産技セ)  |
|    | C-7 ~ C-9  | 室田佳恵子 | (島根大・生資科) |
| D  | D-1 ~ D-4  | 有馬二郎  | (鳥取大・農)   |
|    | D-5 ~ D-7  | 石川孝博  | (島根大・生資科) |

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. 一番目の講演を 15:00 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 62 回講演会（例会）

### プログラム

オンライン開催（Zoom）（島根大学生物資源科学部）

開催日：2022 年 6 月 4 日（土）

10:00～11:00 幹事打合会

11:10～12:00 支部参与会

13:00～13:20 受賞講演

2022 年度日本農芸化学会 女性企業研究者賞

「微生物酵素を用いた新規有用糖質素材の創出」

安田亜希子 ((株) 林原)

座長：稻垣賢二（岡山大院・環境生命）

13:30～14:50 特別講演

「無細胞タンパク質合成系を用いた脂質修飾タンパク質の網羅的探索と機能解析」

内海俊彦（山口大・農）

座長：薬師寿治（山口大院・創成科学）

「昆虫科学 断章 一カイコ盛衰・世紀をまたいでー」

東 政明（鳥取大・農）

座長：塩月孝博（島根大・生資科）

15:00～17:00 一般講演

(A～D 会場)

## ◇ 一般講演プログラム

### A会場「微生物」

A-1 15:00 分裂酵母のリン脂質合成欠損における硫化物の過剰蓄積の解析

○直塚豪氣, 川向 誠, 松尾安浩  
(島根大・生資科)

A-2 15:12 分裂酵母  $\Delta ura4$  株の細胞溶解現象と細胞壁合成及び代謝経路との関連

○永松蒼太朗, 松尾安浩<sup>1</sup>, 川向 誠<sup>1</sup>  
(島根大院・自然科学, <sup>1</sup>島根大・生資科)

A-3 15:24 GPI (グリコシルホスファチジルイノシトール) リモデリングに関する新規遺伝子の同定

○花岡和樹, 池田敦子, 船戸耕一  
(広島大院・統合生命)

A-4 15:36 青枯病菌由来リポペプチド化合物の大腸菌における異種発現系の構築

○横山みなみ, 森重堪太, 田中直孝, 田淵光昭  
(香川大・農)

A-5 15:48 イネ苗立枯れ病原菌の生産する植物毒素トロポロン生産制御の解析

○仲宗根薫, 内海龍太郎<sup>1</sup>  
(近畿大・工, <sup>1</sup>阪大・産研)

A-6 16:00 泡盛酵母の  $\beta$ -フェネチルアルコール高生産株の単離

○秋田文利, 仲宗根薫  
(近畿大・工)

A-7 16:12 *Komagataeibacter* 属酢酸菌の遺伝子操作法の開発

○山下璃貢, 片岡尚也, 松谷峰之介<sup>1</sup>, Gunjana Theeragool<sup>2</sup>, 松下一信, 薬師寿治  
(山口大院・創成科学, <sup>1</sup>東農大・ゲノム, <sup>2</sup>Kasetsart 大・理)

A-8 16:24 低温硝化細菌叢のアクアポニックスへの応用

○松本拓己, 清水克彦<sup>1</sup>, 有馬二朗<sup>2</sup>  
(鳥取大院・持社創成, <sup>1</sup>鳥取大・CoRE, <sup>2</sup>鳥取大・農)

A-9 16:36 分裂酵母 *S. japonicus* の CoQ 生合成のキノン骨格修飾に関する遺伝子の相補性の解析

○石神夏萌<sup>1</sup>, 榎原拓之<sup>1</sup>, 戒能智宏<sup>1,2</sup>, 川向 誠<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科)

A-10 16:48 分裂酵母 *S. pombe* の *coq6* および *coq7* 破壊株へのキノン骨格類縁体添加による CoQ 合成への影響

○上西倫大朗<sup>1</sup>, 堀 知葉<sup>1</sup>, 松本早代<sup>1</sup>, 戒能智宏<sup>1,2</sup>, 川向 誠<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科)

## B会場「植物」

B-1 15:00 アミノ酸置換によるシロイヌナズナ転写因子 CPC の機能解析

○井戸川 新, 秦 東, 富永るみ

(広島大院・統合生命)

B-2 15:12 茶の MYB 転写因子 CsCPC に関する研究

○若松寿衣, 山本実奈, 田中若奈, 富永るみ

(広島大院・統合生命)

B-3 15:24 FTIR ケモメトリックスと化学的分画によるコムギの高温応答プロファイリング

○竹田佳生, Salma O.M.Osman<sup>1,2</sup>, 只野翔太<sup>1</sup>, 深内百合子, 山崎裕司<sup>3</sup>,

Abu Sefyan I. Saad<sup>2</sup>, Izzat S.A. Tahir<sup>2</sup>, 辻本 壽<sup>3</sup>, 明石欣也

(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大院・連農, <sup>2</sup>スーダン農業研究機構,

<sup>3</sup>鳥取大・乾燥地研)

B-4 15:36 スイカうるみ果の物理化学的分析と判別法の開発

○渡辺紗衣, 浅尾悠介<sup>1</sup>, 麻木聖也<sup>1</sup>, 山藤歩乃佳, 只野翔大<sup>2</sup>, 明石欣也

(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取県園芸試験場, <sup>2</sup>鳥取大院・連農)

B-5 15:48 光呼吸由来の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>誘導性細胞死における葉緑体型グルタミン合成酵素の役割

○石橋可菜<sup>1</sup>, 丸田隆典<sup>1,2,3</sup>, Amna Mhamdi<sup>3</sup>, Frank Van Breusegem<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科, <sup>3</sup>Plant Systems Biol., VIB-Ghent Univ.)

B-6 16:00 強光条件の葉緑体におけるアスクルビン酸再生の生理学的重要性

○濱田あかね<sup>1</sup>, 小川貴央<sup>1,2</sup>, 石川孝博<sup>1,2</sup>, 丸田隆典<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科)

B-7 16:12 シロイヌナズナにおける L-トレオニン酸代謝酵素の同定

○山本虎次郎<sup>1</sup>, 山下千乃<sup>2</sup>, 小田垣尚哉<sup>2</sup>, 小川貴央<sup>1,2</sup>, 石川孝博<sup>1,2</sup>, 丸田隆典<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>島根大・生資科, <sup>2</sup>島根大院・自然科学)

- B-8 16:24 Targeted expression of cDNA for *bagel23-D* (*bgl23-D*), a dominant negative mutation allele of *ATCSLD5* (*Arabidopsis thaliana* Cellulose Synthase-Like D5), alters cytokinesis in stomata development, exine structure in pollen formation, and plant growth in *Arabidopsis thaliana*
- Md. Firoze Hossain, Amit Kumar Dutta, Sumie Ishiguro<sup>1</sup>, Takushi Hachiya,  
Tsuyoshi Nakagawa  
(Dept. Mol. Func. Gen. Int. Cen. Sci. Res., Shimane. Univ., <sup>1</sup>Grad. Sch. Bioagr. Sci., Nagoya. Univ.)

## C会場「有機化学・天然物、食品」

- C-1 15:00 バイオサーファクタント・サーファクチンの自己集合特性への対カチオン種の違いによる影響  
○柳澤恵広<sup>1,2</sup>, 平 敏彰<sup>3</sup>, 仁戸田照彦<sup>1</sup>, 神崎 浩<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命, <sup>2</sup>(株)カネカ, <sup>3</sup>産総研)
- C-2 15:12 オオムギ由来モノガラクトシルモノリノレノイルグリセリドの全合成と絶対立体配置の決定  
○北山慎太郎, 馬越 葵, 石原 亨<sup>1</sup>, 一柳 剛<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)
- C-3 15:24 L,D-ヘプトース 6,7 位へのグリコシル化における位置選択性  
○赤井佑衣, 西川紗也香<sup>1</sup>, 一柳 剛<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)
- C-4 15:36 希少糖 D-arabinose の線虫成長阻害活性とその作用メカニズム  
○棚次祐介, 小山麻里子, 三好紗那, 花木祐輔, 佐藤正資  
(香川大・農)
- C-5 15:48 レモン(*Citrus limon*)に含まれる微量成分の生育過程における変化  
○本間美穂, 原田俊英<sup>1</sup>, 永野なおみ<sup>1</sup>, 山本幸弘<sup>2</sup>  
(県広大院・総合学術, <sup>1</sup>県広大・保健福祉, <sup>2</sup>県広大・生物資源)
- C-6 16:00 鰹節由来カテプシン阻害ペプチド  
○関 英治  
(ヤマキ(株))
- C-7 16:12 Caco-2 細胞におけるフロロタンニンの透過と透過物の抗アレルギー性  
○杉浦義正, 臼井将勝, 宮田昌明  
(水大校・食品)
- C-8 16:24 日本酒に含まれる美肌成分「 $\alpha$ -EG」高含有パウダーの開発とその活用  
○大渡康夫, 上野祐美, 牧野正知, 秋吉渚月, 渡部 忍, 森井康隆<sup>1</sup>, 寺戸史浩<sup>1</sup>  
(島根県産技セ, <sup>1</sup>奥出雲酒造(株))

C-9 16:36 Effects of dietary GABA and its degrading inhibitor on appetite regulation

○Thanutchaporn Kumrungsee, 長尾知香<sup>1</sup>, 矢中規之

(広島大院・統合生命, <sup>1</sup>広島大・生物生産)

## D会場「遺伝子・ゲノム、酵素・タンパク質、動物、その他」

- D-1 15:00 慢性腎不全に伴う大腸がん進展に対するインドキシリ硫酸の作用メカニズムの解析  
○一坂 優<sup>1</sup>, 矢野彰三<sup>2</sup>, 丹羽利充<sup>3</sup>, 清水英寿<sup>1,4</sup>  
(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・医看系, <sup>3</sup>修文大・医療, <sup>4</sup>島根大・生資科)
- D-2 15:12 2-Methylbenzimidazole誘導体のカイコ幼虫の成長に及ぼす影響  
○逸見周平<sup>1</sup>, 末吉歩夢<sup>1</sup>, 塩月孝博<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科)
- D-3 15:24 *Klebsiella pneumoniae* 40b 由来 Polyol dehydrogenase の精製及び諸性質の検討  
○山本菜帆, 吉原明秀<sup>1</sup>  
(香川大院・農, <sup>1</sup>香川大・国際希少糖)
- D-4 15:36 *Enterobacter cloacae* 由来組換えトランスアルドラーゼ A の酵素学的諸性質の検討  
○富野舜介, 神鳥成弘<sup>1,2</sup>, 吉原明秀<sup>2</sup>  
(香川大院・農, <sup>1</sup>香川大・医, <sup>2</sup>香川大・国際希少糖)
- D-5 15:48 ナンノクロロプロシス類を用いた RNP 導入によるゲノム編集系の開発  
○坪内俊介, 米村茉穂<sup>1</sup>, 藤江 誠  
(広島大院・統合生命, <sup>1</sup>広島大・工)
- D-6 16:00 遺伝子発現レベルから分析する MCS の機能  
○櫻木桂子, 池田敦子, 船戸耕一  
(広島大院・統合生命)
- D-7 16:12 尿酸代謝調節に着目した超長寿命昆虫ヤマトシロアリの生存戦略の解析  
○梶原由貴, 木村洋貴, 中筋勇希, 藤崎 翼<sup>1</sup>, 田崎英祐<sup>2</sup>, 井内良仁  
(山口大院・創成科学, <sup>1</sup>山口大・農, <sup>2</sup>新潟大・理)

受 賞 講 演

---

講 演 要 旨



## 2022 年度日本農芸化学会女性企業研究者賞受賞講演

### 微生物酵素を用いた新規有用糖質素材の創出

安田亜希子 ((株) 林原、現長瀬産業 (株))

微生物酵素は、澱粉を低分子化するだけでなく、グルコース同士の結合様式を変換する役割を持ち、酵素の組合せ方しだいで多種多様な分子サイズと結合様式をもつ糖質を作り出すことが可能である。本研究では、以下の 2 つの素材の創出を試みた。

#### 1. 老化しない高分子デキストリンの開発<sup>1)</sup>

デキストリンは、粉末化基材、粘度を活かした物性のコントロールの他、エネルギー源としても広く活用されるが、食品中の老化が課題となることが多い。我々は、土壤分離菌 *Paenibacillus alginolyticus* PP710 が產生する  $\alpha$ -グルコシルトランスフェラーゼを重量平均分子量 (Mw)  $1 \times 10^6$  のワキシコーンスターの部分加水分解物 (WS-1000) に作用させて修飾高分子デキストリン (MWS-1000) をパイロットスケールで製造することに成功した。MWS-1000 は、原料澱粉のアミロペクチンのグルコース鎖の非還元末端に  $\alpha$ -1,6 分岐が導入された構造をしており、Mw は  $1 \times 10^6$ 、デキストロース当量は 1 未満と極めて低かった。MWS-1000 は、30% (w/w) 水溶液を冷蔵保存、あるいは凍結解凍を繰り返しても濁度が上昇せず、粘度も低下しないことから、老化耐性が優れていることがわかった。生体内において、MWS-1000 は消化吸収されてエネルギー源となるため、流動食、介護食、スポーツ用途の食品などへの配合も可能である。MWS-1000 は、新しい物性や用途の食品設計に貢献できることが期待される。

#### 2. 環状四糖水飴テトラリング<sup>®</sup>の開発<sup>2)</sup>

市販されている一般的な食物纖維は分子量が大きく食品物性に大きな影響を及ぼすこと、また食品加工のプロセスにおいて作業性が悪いことなどの課題に着目し、分子量が小さく、水飴形態で作業性の良い食物纖維素材の開発を目指した。環状四糖の一一種、環状ニゲロシルニゲロース (CNN, cyclo- {→6)- $\alpha$ -D-GlcP-(1→3)- $\alpha$ -D-GlcP-(1→6)- $\alpha$ -D-GlcP-(1→3)- $\alpha$ -D-GlcP-(1→}) は、最も分子量の小さい食物纖維のひとつである。我々は、*Bacillus globisporus* N75 由来の 6- $\alpha$ -グルコシルトランスフェラーゼと 3- $\alpha$ -イソマルトシルトランスフェラーゼからなる CNN 生成酵素と、*B. stearothermophilus* TC-91 由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ、*Pseudomonas amyloferamosa* 由来イソアミラーゼを組み合わせて、澱粉から工業スケールで CNN 水飴を製造することに成功した。

本水飴は、CNN を主成分とし、分岐 CNN や直鎖の  $\alpha$ -1,3 あるいは  $\alpha$ -1,6 グルコシル残基からなる糖質から構成され、食物纖維が 76% (酵素-HPLC 法)、Mw が 807 と小さく、適度な甘味 (甘味度 ; 25) を示した。本水飴の最大無作用量は、男性で 0.88 g/kg 体重、女性で 0.89 g/kg 体重であった。本水飴のエネルギー換算係数は、CNN が 0 kcal/g であることと、CNN 以外の部分は消化吸収されることから 2 kcal/g であると算出された。さらに、CNN 水飴は種々の食品に添加しても元々の食品物性にほとんど影響を及ぼさず、食物纖維を強化することができた。CNN のガラス転移温度は直鎖四糖よりも高いことが特徴的であり、既存の水飴とは異なる新しい用途の発見が今後期待される。これらの成果を受け 2021 年 6 月に、本水飴はテトラリング<sup>®</sup>の製品名で上市するに至り、おいしさと人々の健康増進への貢献を目指している。

#### 【関連文献】

- 1) Yasuda A et al., *Biosci Biotechnol Biochem.*, **85**, 1737–45 (2021).
- 2) Yasuda A et al., *Biosci Biotechnol Biochem.*, Advance online publications. DOI: 10.1093/bbb/zbac046.



# 特別講演

## 講演要旨



## 特別講演

### 無細胞タンパク質合成系を用いた脂質修飾タンパク質の網羅的探索と機能解析

内海俊彦（山口大・農）

タンパク質の脂質修飾は、脂肪酸、イソプレノイド、リン脂質といった脂質がタンパク質に共有結合する翻訳後修飾である。これらの脂質修飾は、多くの場合、タンパク質を細胞膜に結合させる膜アンカーとして機能し、細胞情報伝達をはじめとする様々なタンパク質の機能発現過程において重要な役割を担っている。我々は細胞質で起きる主要な脂質修飾であるタンパク質アシル化とタンパク質プレニル化に注目して解析を行ってきた<sup>1-5)</sup>。本講演ではアシル化タンパク質の一種であり、我々が過去30年以上に亘って継続して解析を行ってきたヒトN-ミリストイル化タンパク質に関する、ヒト細胞内における機能の全貌解明を目的とした網羅的探索と機能解析について紹介する。

タンパク質N-ミリストイル化は、タンパク質合成の過程でタンパク質のN末端Gly残基が脂肪酸であるミリストチン酸により修飾される翻訳後修飾であり、1980年代初頭に見出され、がん遺伝子産物p60<sup>src</sup>に生じ、その発がん活性にこの修飾が必須であることが明らかにされ注目を集めた脂質修飾である。またその後の研究からこの脂質修飾が、アポトーシス過程でカスパーゼにより切断されたカスパーゼ基質の切断断片にも生じアポトーシスの進行に深く関与すること、さらにはがん以外にも神経変性疾患、感染症といった疾患にこの修飾が直接関与することが明らかにされた<sup>1-5)</sup>。しかしヒト細胞内に存在する全N-ミリストイル化タンパク質の網羅的解析は、その簡便な解析手法の確立の遅れからこれまで進んでいなかった。我々は、タンパク質N末端に存在しN-ミリストイル化を指令するN-ミリストイル化モチーフの解析やアポトーシス過程で生じる翻訳後N-ミリストイル化の解析の過程で、無細胞タンパク質合成系を用いた代謝標識実験がN-ミリストイル化の検出法として優れていることを見出した<sup>6-8)</sup>。また、cDNAリソースやタンパク質データベースに収集されたN末端アミノ酸配列情報をもとに、無細胞タンパク質合成系を用いた代謝標識実験により新規のN-ミリストイル化タンパク質を同定する手法を開発し、この手法をUniProtに収集されたヒト全タンパク質に適用した結果、これまで150個程度と考えられてきたヒトN-ミリストイル化タンパク質が、300個以上存在することを明らかにした<sup>3,5,9-15)</sup>。これまでN-ミリストイル化は細胞質に存在する可溶性タンパク質に生じ原形質膜への可逆的な結合を介して主として細胞情報伝達に機能すると考えられてきた。しかし、網羅的解析から新たに見出されたN-ミリストイル化タンパク質の細胞内局在を解析した結果、驚いたことにこれらのタンパク質の多くが小胞体、ミトコンドリア、lipid dropletといったオルガネラに存在し、しかもその多くが膜タンパク質であることが明らかになった。さらにN-ミリストイル化を阻害した変異体を用いた解析から、これらのタンパク質の細胞内局在やオルガネラ形成やオルガネラ機能における機能発現にN-ミリストイル化が極めて重要な役割を果たすことが示された<sup>3,5,9-15)</sup>。

本講演では、無細胞タンパク質合成系を用いたN-ミリストイル化タンパク質の網羅的探索手法の確立に至る過程と、その解析から明らかになったこれまで知られていなかったN-ミリストイル化タンパク質が担う多彩な生命現象について紹介する。

#### [参考文献]

- 1)内海俊彦 実験医学**22**,1252(2004) 2)生化学**82**,799(2010) 3)化学と生物**54**,484(2016) 4)医学のあゆみ**271**,20432(2019) 5)蚕糸・昆虫バイオテック**89**,59(2020) 6)Utsumi 他 *J Biol Chem*,**276**, 10505(2001) 7)Utsumi 他 *FEBS Lett*,**539**,37(2003) 8)Sakurai 他 *J Biol Chem*,**281**,1428(2006) 9)Suzuki 他 *Proteomics*,**10**, 1780(2010) 10)Moriya 他 *PLoS One*,**8**, e78235(2013) 11)Takamitsu 他 *PLoS One*,**10**, e0136360(2015) 12)Saito 他 *New Phytol*,**218**,1504(2018) 13)Utsumi 他 *PLoS One*,**13**,e0206355(2018) 14)Kinoshita-Kikukta 他 *Sci Rep*,**10**,16273(2020) 15)Utsumi 他 *Sci Rep*,**11**, 19233 (2021)

## 特別講演

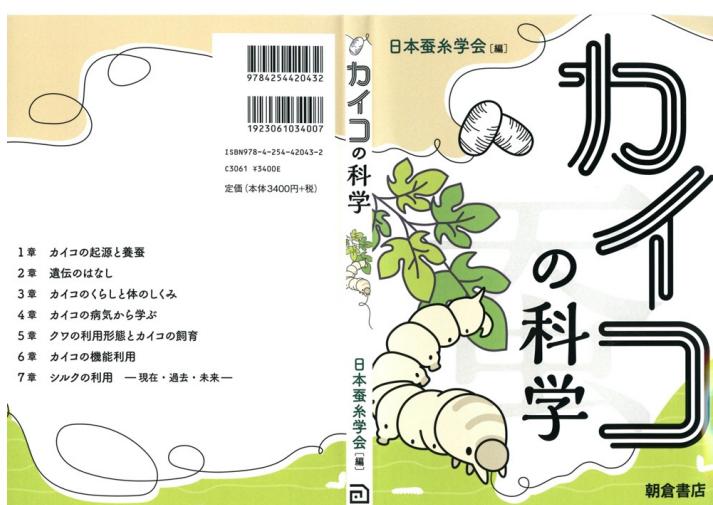
### 昆虫科学 断章 一カイコ盛衰・世紀をまたいでー

東 政明（鳥取大・農、日本蚕糸学会長）

『昆虫の不思議』とか『昆虫はスゴイ』というようなフレーズが巷でよく聞かれるように、世間では生物としての卓越した柔軟性・適応性・多様性が広く知られている。しかし、(i) どのようにスゴイのか、(ii) なぜ、そのような「スゴイ」しくみを持つのか、という本質にアプローチを試みようすると研究の領域に入ってくる。また、(i) や (ii) などは、どうでもよくて、(iii) ソレって何の役に立つのですか？（←社会実装が展望できますか） というような手厳しい質問を受けることもある。成果を求める社会から、研究志向の強い大学関係者へは（若手の先生がたにとどても）悩ましい現実が、いま突き付けられている。

日本には、昆虫を実験材料として研究する学術団体・学協会がいくつもあり、それらの昆虫関連に携わる学会の協力関係を維持し、世界の研究者への窓口として【日本昆虫科学連合】という大きな組織を形成している。私は、その一翼を担っている日本蚕糸学会の中で、これまで活動してきた。この学会は、カイコを中心として、昆虫機能の学術研究とその応用展開をめざす学会で、設立されてから 90 年余の歳月が流れた。日本人研究者のアイデアと努力で、カイコを使って明らかにされた多くの昆虫種が具備する普遍的なしくみも数多く特定されてきた。いま、昆虫科学をコンパクトな 1 冊の成書で語ることは、ほぼ不可能である。同じようにカイコの学問：蚕糸科学 (Sericultural Science) についても裾野がたいへん広い。2020 年に、広く一般への啓蒙書として『カイコの科学』というコンパクト本を、蚕糸学会会員を中心にして出版した。20 世紀に、当時の研究者が見いだした現象の理解把握から始めて、発せられた疑問や驚きに対し、その問題解決と原因究明へと紐解く努力は今も続いている。蚕糸科学は特定の学術領域を指す印象を持たれるが、モデル昆虫、さらにはモデル生物としてのカイコの有用性・汎用性はまだまだエンドレスである。単純な体制なのに、どのようにして、からだ全体を統合し、調整・調和させているのか、興味は尽きない。

昆虫はしくみが単純で、侵入微生物に対して突破と破壊が容易な印象がある。陸上を主たる生活圏としている昆虫は、動植物から様々な方法で栄養摂取しており、食性によって塩分 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) や水分の過不足が生じる。消化吸收や排泄を通じてからだのイオンと水バランスが維持されることによって、個体の脱水や乾燥も回避される。昆虫は開放血管系の単純な組み立ての下、上皮細胞の单層で内外を隔て、原形質膜を介した輸送機構（ポンプ・キャリヤー・チャネル）を駆動させる。これらの方向性のある溶質輸送による pH 調節や水分管理は、古くから昆虫生理学のコアテーマの一つとして取り組まれてきた。ここでは、私が関わってきた昆虫細胞の分子基盤（V-ATPase とアクアポリン）について、カイコを中心に追究してきた概要を紹介する。



# — 般 講 演

---

## 講 演 要 旨



A－1 分裂酵母のリン脂質合成欠損における硫化物の過剰蓄積の解析  
○直塚豪氣, 川向 誠, 松尾安浩 (島根大・生資科)

膜の構成成分であるリン脂質のうちグリセロリン脂質は、酵母では、ホスファチジルセリン(PS)からホスファチジルエタノールアミン(PE)を介して、ホスファチジルコリン(PC)が合成される。分裂酵母で、PS合成欠損株(*pps1*Δ株)及びPE合成欠損株(*psd1*-3Δ株)は、細胞生育と細胞形態に異常を示し、この表現型はエタノールアミンの添加によって抑圧される。*pps1*Δ株及び*psd1*-3Δ株を栄養培地にエタノールアミンを添加して培養していた際、細胞増殖が進むにつれ、培養液で異臭が感じられた。この異臭の原因を解析したところ、*pps1*Δ株及び*psd1*-3Δ株で硫化物の過剰蓄積が見られた。そこで、*pps1*Δ株及び*psd1*-3Δ株での硫化物の過剰蓄積を解析していくことで、リン脂質合成経路と硫化物の代謝機構の関係性を解明することを目的とした。

これまでの研究で、CoQ合成欠損株と硫化物代謝欠損株が硫化物の過剰蓄積を示す。*pps1*Δ株及び*psd1*-3Δ株は、CoQ合成に大きな異常がなかったが、培養時にシステインを添加すると硫化物の過剰蓄積が抑圧された。この結果から*pps1*Δ株及び*psd1*-3Δ株では、システイン合成に異常があることが示唆された。システイン合成欠損株は、呼吸欠損の表現型を示すため、*pps1*Δ株及び*psd1*-3Δ株でも同じ表現型が見られるか解析を行った。結果として、*pps1*Δ株及び*psd1*-3Δ株では、酸素消費量が有意に低下しており、非発酵性培地での生育が低下していた。以上のことから、リン脂質PSとPEの合成酵素が、システイン合成を介した硫化物代謝と酸素消費に関する呼吸に寄与することが示唆された。

A－2 分裂酵母*Δura4* 株の細胞溶解現象と細胞壁合成及び代謝経路との関連  
○永松蒼太朗, 松尾安浩<sup>1</sup>, 川向 誠<sup>1</sup>  
(島根大院・自然科学, <sup>1</sup>島根大・生資科)

**【目的】**これまでに、分裂酵母の*ura4* 遺伝子破壊株 (*Δura4* 株) はYPD培地で培養した時に、劇的な細胞溶解を誘導し、*Δura4* 株では反応の前駆体である Orotidine-5-monophosphate (OMP) が蓄積すること、OMP の蓄積が起こらない*Δura4Δura3* 株などでは細胞溶解は誘導されないことを報告している<sup>1,2)</sup>。この細胞溶解現象の仕組みをさらに明らかにすることを目的とし、細胞溶解を抑圧する変異体の解析を進めた。

**【結果】**一連の解析の中で、*ade6* 変異体が*Δura4* 株の細胞溶解を抑圧することを見出した。そこで、*de novo* IMP 合成経路に関わる種々の*ade* 遺伝子に変異を入れた*Δura4* 株の解析を進めた。その結果、*ade6* 変異体と *ade7* 変異体が細胞溶解の抑圧効果を示し、他の*ade* 変異体は示さなかつた。種々の*ade* 遺伝子に変異を入れた*Δura4* 株の代謝物を抽出して定量解析を行ったところ、すべての変異株において OMP の蓄積が見られており、赤色のコロニーを形成する*ade6* 遺伝子及び*ade7* 遺伝子に変異を有する*Δura4* 株は OMP が蓄積しているにも関わらず細胞溶解現象を抑圧していた。この結果は、OMP の低下を原因としない抑圧メカニズムを示唆している。上記の*ade6* 変異株とは別に細胞溶解を抑圧する株として単離した *Sup7* 株は細胞が正常に分離せず、細胞壁に異常が観察される性質を有していた。細胞壁の合成酵素の 1 つであるベーター1,3 グルカン合成酵素の発現が細胞溶解を抑圧する結果も合わせると、細胞壁 (特に隔壁) の脆弱性と細胞溶解は関連すると考えている。*Sup7* 株と野生株の 2 倍体細胞は細胞溶解することから、変異の原因是劣性 (潜性) であった。*Sup7* 株のゲノム解析を進めたところ、少なくとも 2 つの遺伝子 *rpn8* と *spac12G12.16c* に変異を見出しあが、それぞれ遺伝子を *Sup7* 株で高発現させることでは、*Sup7* 株は細胞溶解を起こさなかつたことから、抑圧メカニズムは複合的な要因であることを示唆している。1) Matsuo *et al.*, PLoS ONE (2013) 2) Nishino *et al.*, PLoS ONE (2015)

#### A-3

#### GPI(グリコシルホスファチジルイノシトール)リモデリングに関する新規遺伝子の同定 ○花岡和樹, 池田敦子, 船戸耕一(広島大院・統合生命)

GPI(グリコシルホスファチジルイノシトール)はホスファチジルイノシトール(PI)やイノシトールリン酸セラミド(IPC)といった脂質にオリゴ糖鎖が結合した糖脂質の一種である。GPIを介して膜に繋ぎ止められているタンパク質をGPIアンカー型タンパク質と呼び、細胞表層におけるシグナル伝達などに重要な役割を果たしている。

最近我々は、GPIのPIをIPCへ変換する脂質(セラミド)リモデラーゼCwh43がGPIアンカー型タンパク質の選別輸送に関与していることを明らかにした(Cell Reports, 2022)。しかしその重要性にもかかわらず、Cwh43をコードする遺伝子は非必須遺伝子であり、破壊しても酵母は生育できる。このことは、CWH43と同じ機能を持つ重複遺伝子あるいは下流で機能する未知の遺伝子が存在している可能性を示唆する。

そこで本研究では、酵母の遺伝学に基づくバイオ情報を駆使して、脂質リモデリングに関する新規遺伝子の探索を行った。その結果、CWH43と同じ遺伝学的相互作用を示す2つの遺伝子を見出すことに成功した。本発表会では、それら2つの遺伝子のGPIリモデリングにおける役割について解析した結果を報告する。

#### A-4

#### 青枯病菌由来リポペプチド化合物の大腸菌における異種発現系の構築 ○横山みなみ, 森重堪太, 田中直孝, 田淵光昭(香川大・農)

【目的】青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)は200種類以上の宿主を持つ重大な植物病原菌である。2016年、青枯病菌の二次代謝産物であるRalstoninが新たに発見され、Ralstoninは青枯病菌の植物病原性に重要なことが示唆されている。しかし、青枯病菌におけるRalstoninの生産量は非常に少なく、Ralstoninの詳細な機能解析は困難である。そこで、我々はRalstoninの大量生産、Ralstonin合成遺伝子の解析、非常に巨大な酵素・化合物の異種発現が可能であることを実証するために、大腸菌を宿主としたRalstoninの異種発現系を構築することを目的として研究を行っている。

【方法・結果】Ralstoninは $rmyA$ (約27 kb)と $rmyB$ (約18 kb)の2つの巨大な遺伝子にコードされたPKS-NRPS(ポリケチド合成酵素融合型非リボソーム依存性ペプチド合成酵素)によって合成されることが報告されている。しかし、これらの遺伝子とPKS-NRPSの機能の活性化に重要なPPTase(Phosphopantetheinyl transferases)を大腸菌内で発現させた所、Ralstoninの合成は見られなかった。我々は、 $rmyA/B$ と共にRalstonin遺伝子クラスターを形成する3つの機能未知遺伝子、 $RSp0638$ ~ $RSp0640$ もRalstoninの合成に重要なのではないかと考え、これら遺伝子の欠損株を作製したところ、本次損株ではRalstoninの合成は見られなかった。以上のことから、 $RSp0638$ ~ $RSp0640$ もRalstoninの合成に必要であると考えられた。そこで、 $rmyA/B$ 、PPTaseに加え、 $RSp0638$ ~ $RSp0640$ も大腸菌で共発現させた。その結果、バイオアッセイにより大腸菌においてRalstonin合成を示唆するデータが得られた。

A-5 イネ苗立枯れ病原菌の生産する植物毒素トロポロン生産制御の解析  
○仲宗根薰, 内海龍太郎<sup>1</sup> (近畿大・工, <sup>1</sup>阪大・産研)

イネ苗立枯病原菌 *Burkholderia plantarii* は、本菌が生産する植物毒素トロポロンによりイネ苗の生育に必要な鉄分が奪われ枯死すると考えられている。本菌株のトロポロン生産制御ネットワークの詳細を定量的に解析し、この植物毒素生産を停止させる阻害薬剤の探索法が確立できれば、微生物を死滅させず耐性菌の出現を防ぐことが可能となる。これまで我々は、この制御には二（三）成分制御システム(TCS)が関与(*troR1-troK-troR2* 遺伝子群)することを明らかにしてきた(1)が、この生合成には、TCS 制御系のみが関与しているのではなく、クオラムセンシング(QS)シグナル伝達機能(AHL 合成酵素遺伝子(*luxI*)および転写調節遺伝子(*luxR*)), 定常期に働くシグマ因子(*rpoS*)等がトロポロンの產生に関与することも報告されており、複雑なネットワークにより制御されている事が認識されている。

本研究では、この制御系のより正確な理解を目的として、上記遺伝子群に対して遺伝子破壊による解析結果を報告することを主眼とした。さらにトロポロン生合成遺伝子群を予測し、体系的な遺伝子破壊実験についてもその研究戦略を解説し、本菌株のトロポロン生産制御ネットワークの詳細を報告したい。

【参考文献】

- 1) Miwa *et al.*, Identification of the Three Genes Involved in Controlling Production of a Phytotoxin Tropolone in *Burkholderia plantarii*, *J. Bacteriol.*, Vo.198, p1604-1609 (2016)

A-6 泡盛酵母の β-フェネチルアルコール高生産株の単離  
○秋田文利, 仲宗根薰 (近畿大・工)

醸造発酵過程で酵母により生成される芳香成分は酒質の重要な要素の一つであり、その品質や付加価値を高めるポイントとなる。芳香成分を高生産する酵母の育種研究はこれまで清酒酵母を中心に行われ、その芳香成分に対応する日本酒が製造されてきた。このような背景から、新しい泡盛を特徴づける芳香成分としてバラ様の香りを有する β-フェネチルアルコールに着目し、その高生産泡盛酵母の単離を試みた。本物質は芳香族アミノ酸生合成経路であるシキミ酸経路での生合成に由来し、またフィードバック阻害を受けるため、酒中では微量である。清酒酵母における β-フェネチルアルコール高生産株は、ARO3, ARO4, TYR1 遺伝子に由来する酵素のフィードバック阻害解除株の取得による育種が行われてきた。本研究でもこれに倣い、泡盛酵母の上記遺伝子産物のフィードバック阻害解除株を、遺伝子のアミノ酸置換変異を導入することで、β-フェネチルアルコール高生産泡盛酵母の単離を行った。

本研究では泡盛酵母の β-フェネチルアルコール高生産株の単離を目的とし、専用のベクター (pAUR) を用いたアミノ酸置換変異株作成用プラスミドの構築および、これらプラスミドを用いた泡盛酵母に対する形質転換を行い、セルフクローニングを利用したアミノ酸置換変異株の取得についての発表を行う。また、取得した変異株に対し、シキミ酸経路内で生合成されフィードバック阻害を起因するフェニルアラニン、チロシンのアミノ酸アナログである PFP, OFP を用いたスクリーニングによる耐性株の単離について報告したい。

## A-7

### *Komagataeibacter* 属酢酸菌の遺伝子操作法の開発

○山下璃貢, 片岡尚也, 松谷峰之介<sup>1</sup>, Gunjana Theeragool<sup>2</sup>, 松下一信,  
薬師寿治 (山口大院・創成科学, <sup>1</sup>東農大・ゲノム, <sup>2</sup>Kasetsart 大・理)

酢酸菌は高濃度の糖やアルコールを様々な糖酸、有機酸に酸化的に変換して高濃度で蓄積する能力を有する。*Komagataeibacter* 属酢酸菌は高濃度の酢酸を生産し、それに対する高い耐性能を持つ。それゆえ、工業的な食酢の生産に用いられている。同時に、ナタデココを生産するナタ菌とも呼ばれ、高いセルロース産生能を持つ有用微生物である。私たちは、*Komagataeibacter medellinensis* NBRC3288 株を用いて遺伝子操作を試みてきたが、ゲノム DNA にマーカー遺伝子を残さない組み換え株の構築には至っていなかった (Kataoka et al. (2022), Front Microbiol., in press)。本研究では、遺伝子操作を行うことができる *Komagataeibacter* 属酢酸菌を探索するところから開始した。研究室が保有する *Komagataeibacter* 属酢酸菌の薬剤耐性能を基に、広宿主域プラスミドを用いた接合法による形質転換能を調べた。以降の実験には、形質転換を比較的容易に行う事ができた *Komagataeibacter xylinus* MSKU12 (Naloka et al. (2020), Int J Biol Macromol. 150:1113) を用いた。スーサイドベクターのゲノム挿入には選択圧として tetracycline 耐性を、ゲノムからの脱落には sucrose 感受性を与える *sacB* 遺伝子、あるいは 5-fluorocytosine 感受性を与える *codBA* 遺伝子を用いたカウンターセレクションを利用した。この方法により、レバンスクラーゼ遺伝子 (*lsc*) の破壊を行うことができた。*lsc* 破壊株は sucrose を用いたカウンターセレクションを容易に行うことができ汎用性が高い。広宿主域プラスミドを用いて *lsc* 遺伝子を破壊株に導入し、レバン様物質の生産能を相補することができた。

## A-8

### 低温硝化細菌叢のアクアポニックスへの応用

○松本拓己, 清水克彦<sup>1</sup>, 有馬二朗<sup>2</sup>  
(鳥取大院・持社創成, <sup>1</sup>鳥取大・CoRE, <sup>2</sup>鳥取大・農)

【目的】硝化細菌の最適生育温度は 25~30°C であり、銀ザケ稚魚の閉鎖型淡水養殖等における低水温環境下では硝化能が極端に低い。当研究室では、上記問題点の解決に向けた取組みの過程で、低温で働く硝化細菌叢を獲得した。本研究では、得られた低温硝化細菌叢の更なる応用に向け、低温での魚飼育における菌叢の硝化能や魚への安全性、魚の飼育による菌叢の変化を確認し、渓流魚アクアポニックスを志向した低温での魚飼育システムの構築を目的とした。

【方法・結果】飼育する魚としてメダカ（最適飼育温度 25~28°C）またはホトケドジョウ（最適飼育温度 15~25°C）を採用し、菌叢の効果とアクアポニックスへの利用可能性を評価した。水温を 15°C に維持した水槽を 2 つ準備し、一方に低温硝化細菌叢が付着したポーラスリングを微生物槽に添加して両水槽でメダカを飼育した結果、菌叢を添加した水槽ではアンモニアの蓄積が見られず、効率的な硝化が確認された。同様の傾向は、より寿命が長く低水温を好むホトケドジョウでも観察された。続いてホトケドジョウ飼育 30 日目の時点で、ポトス 3 株を一方の水槽に導入し、ポトスの有無で水質の変化を比較した結果、ポトスが無い水槽では硝酸が蓄積し、ポトスを導入した水槽では、換水無しでも硝酸の蓄積が観察されなかつた。また、ここまで検討でサンプリングした微生物槽を次世代シークエンサーでアンプリコン解析し、魚の飼育前後での菌叢の変化や水槽間の菌叢の違いを確認した結果、魚飼育後の菌叢は硝化細菌が占める割合は小さくなつたが、そのうちの亜硝酸酸化細菌が占める割合は大きくなつた。

## A-9

### 分裂酵母 *S. japonicus* の CoQ 生合成のキノン骨格修飾に関する遺伝子の相補性の解析

○石神夏萌<sup>1</sup>, 榎原拓之<sup>1</sup>, 戒能智宏<sup>1,2</sup>, 川向 誠<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科)

【背景・目的】コエンザイム Q(CoQ)は、ミトコンドリア呼吸鎖の電子伝達系に必須の因子であり、抗酸化物質としても知られている。CoQ<sub>10</sub>を合成する分裂酵母 *S. pombe* の CoQ 合成酵素遺伝子破壊株は、CoQ 欠損となり、最少培地での生育遅延、sulfide の発生などの特徴的な表現型を示す。同じく分裂酵母種に属する *S. japonicus* は、ゲノム上に既知の CoQ 合成酵素遺伝子と相同な遺伝子を有しているにも関わらず、CoQ<sub>10</sub> 量は極微量である。これまでに、*S. japonicus* の CoQ 生合成酵素遺伝子のうち *Sjdps1*, *Sjdlp1*, *Sjpp1* の相補性は確認されているが、その他の遺伝子については未だ詳細な解析が行われていない。そこで本研究では、*S. pombe* の相同的な遺伝子破壊株を用いて、*S. japonicus* の *Sjcoq3*~*Sjcoq7* 遺伝子の相補試験を行い、ゲノム上の遺伝子が機能性を有しているかどうかを調べることを目的とした。

【方法・結果】*S. japonicus* の *Sjcoq3*~*Sjcoq7* 遺伝子をクローニングし、*S. pombe* のそれぞれの相同的な遺伝子の破壊株に導入し、最少培地での生育の観察と細胞内 CoQ<sub>10</sub> 量の定量を行った。*Sjcoq3*~*Sjcoq6* をそれぞれの相同的な遺伝子破壊株に導入した株は、最少培地での生育や細胞内 CoQ<sub>10</sub> 量が、野生株および *S. pombe* の CoQ 合成酵素遺伝子を戻したコントロール株と同程度まで回復していたことから、*S. pombe* の CoQ 合成酵素と同程度の機能性があることが示唆された。しかし、*Sjcoq7* を導入した株では、最少培地での生育の回復が弱く、細胞内 CoQ<sub>10</sub> 量は、野生株の約 0.1 倍と CoQ 合成は回復したもののが少なかったことから、相補性が低いことが示唆された。

## A-10

### 分裂酵母 *S. pombe* の *coq6* および *coq7* 破壊株へのキノン骨格類縁体添加による CoQ 合成への影響

○上西倫大朗<sup>1</sup>, 堀 知葉<sup>1</sup>, 松本早代<sup>1</sup>, 戒能智宏<sup>1,2</sup>, 川向 誠<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科)

【目的】コエンザイム Q(CoQ)は、ミトコンドリア呼吸鎖におけるエネルギー生産の必須因子である。真核生物の CoQ 合成の経路と遺伝子はまだ完全には解明されていない。出芽酵母 *S. cerevisiae* の CoQ 生合成のキノン骨格修飾に関する遺伝子の破壊株では、いずれも初発物質(HHB)が蓄積されるが、*coq8* 遺伝子の高発現により別の中間体が蓄積することが報告されている。一方、分裂酵母 *S. pombe* では破壊した遺伝子によって異なる中間体が蓄積することが明らかになっている。*S. pombe* の *Δcoq6* にキノン骨格類縁体の Vanillic acid を添加すると CoQ 生合成が回復することから、本研究では、*S. pombe* の *coq* 遺伝子破壊株において CoQ 合成が回復するキノン骨格類縁体の探索と、*coq8* 高発現の必要性について検討した。

【方法・結果】*coq8* を導入した *S. pombe* の *coq* 破壊株をキノン骨格類縁体を添加した最少培地で培養し、CoQ を抽出した後、HPLC および LC-MS によって解析した。

最少培地に 3,4-dihydroxy benzoic acid を添加した *Δcoq6* 株と、2,4-dihydroxy benzoic acid を添加した *Δcoq7* 株では最少培地での生育が回復し、*coq8* 遺伝子発現の有無に関わらず CoQ<sub>10</sub> の合成も回復していた。以上の結果から、破壊した遺伝子が関与する反応の直後の構造を持つ類縁体の添加により CoQ<sub>10</sub> 合成能が回復したことから、*S. pombe* では *S. cerevisiae* とは異なり、破壊した遺伝子以外の CoQ 合成経路は機能しており、*coq8* 高発現を必要としないことが示唆された。

B-1 アミノ酸置換によるシロイヌナズナ転写因子 CPC の機能解析  
○井戸川 新, 秦 東, 富永るみ (広島大院・統合生命)

根毛は、根の表皮細胞の一部が伸長して形成された器官であり、土壤中からの水分や養分の吸収に重要な役割を果たす。シロイヌナズナの MYB 転写因子 CAPRICE (CPC) は、根の表皮細胞間を移行して根毛の形成を促進すると考えられている。CPC のホモログ ETC1 は細胞間移行しないことがすでにわかっている。CPC のどの領域が細胞間移行に関わっているのかを解析するために、CPC と ETC1 で異なるアミノ酸配列を特異的に入れ替えた 3 種類のキメラコンストラクト (キメラ 6, 7, 8) を作製し、野生型のシロイヌナズナに形質転換した。作出した形質転換体について播種後 10 日目の根毛数とトライコーム数を数え、播種後 14 日目にタンパク質局在を観察した。

根毛数は、CPC 過剰発現体と比較してキメラ 6 と 7 は有意差がなく、キメラ 8 では有意に減少した。トライコームは全てのキメラ形質転換体で無くなった。GFP 蛍光により、タンパク質の局在を観察すると、キメラ 6 と 7 では全ての表皮細胞で蛍光が見られたが、キメラ 8 では一部の表皮細胞で蛍光が見られない部分があった。

以上の結果から、今回置換したキメラ 6 と 7 の 2箇所のアミノ酸は、細胞間移行に影響しないことが示唆された。一方、キメラ 8 で入れ替えたアミノ酸 (CPC の 24 番目のアミノ酸のシステインを ETC1 の 20 番目のアミノ酸セリンと置換) は ETC1 の配列に入れ替えると、根毛形成やタンパク質の細胞間移行になんらかの影響を与えることが示唆された。

B-2 茶の MYB 転写因子 CsCPC に関する研究  
○若松寿衣, 山本実奈, 田中若奈, 富永るみ (広島大院・統合生命)

茶は世界で広く消費されている飲料であり、緑茶に含まれるポリフェノール (カテキンやアントシアニンなど) には人にとって有用な物質が多く、近年では農業分野だけでなく医学、薬学分野でも注目されている。我々は先行研究においてチャ (*Camellia sinensis*. L.) の新規遺伝子 *CsCPC* を 6 つ同定した (*CsCPC-1*, *CsCPC-2*, *CsETC1-1*, *CsETC1-2*, *CsETC3*, *CsTRY*)。これらは、シロイヌナズナのトライコーム形成及びアントシアニン合成を抑制する転写因子 AtCPC のホモログであった。トライコームやアントシアニンは緑茶の品質を左右する重要なファクターである。本研究は、緑茶栽培で慣行されている遮光による品質向上と *CsCPC* 機能との関係を明らかにすることを目的とする。遮光条件において、*CsCPC* 遺伝子は発現変動すると予測し、成長段階ごとにリアルタイム PCR による *CsCPC* 遺伝子の発現解析を行った。その結果、6 つの *CsCPC* 遺伝子のうち *CsCPC-2*, *CsETC1-2*, *CsETC3* の 3 つの発現変化が確認された。特に、*CsETC1-2* の発現量が遮光条件において顕著に増加することがわかった。さらに、アントシアニン合成関連遺伝子 (*CHS*, *F3'H*, *LAR*, *FLS*, *DFR*, *LDOX*, *UFGT*) の発現量解析も行ったところ、ほとんどの遺伝子の発現が遮光により抑制されることが明らかになった。以上のことから、*CsETC1-2* はアントシアニン合成を抑制する働きを持つことが示唆された。今後は、さらに他の *CsCPC* 遺伝子の解析を継続し、*CsCPC* の機能と緑茶の品質との関係を明らかにしていく。

B-3 FTIR ケモメトリックスと化学的分画によるコムギの高温応答プロファイリング  
○竹田佳生, Salma O.M. Osman<sup>1,2</sup>, 只野翔太<sup>1</sup>, 深内百合子, 山崎裕司<sup>3</sup>,  
Abu Sefyan I. Saad<sup>2</sup>, Izzat S.A. Tahir<sup>2</sup>, 辻本 壽<sup>3</sup>, 明石欣也 (鳥取大院・  
持社創生, <sup>1</sup>鳥取大院・連農, <sup>2</sup>スーダン農業研究機構, <sup>3</sup>鳥取大・乾燥地研)

【目的】地球温暖化に伴う気温上昇により、厳しい高温環境でも安定して生産できるコムギ品種の育成が求められている。そこで本研究では、圃場での分析が比較的容易であり、高分子の分析が可能である Fourier transform infrared (FTIR) 分光法をケモメトリックス手法と組み合わせることで、コムギにおける高温ストレス分子応答の学術的理解を深めることを目的とした。

【方法】コムギの標準系統である農林 61 号を人工気象器内で日中温度 22°C の条件で栽培し、第 3 葉展開時に日中温度 42°C の高温ストレスに 6 日間暴露した。コムギ葉を粉碎し KBr 錠剤を調製し、データ間隔 1 cm, 分解能 4 cm<sup>-1</sup>, 積算回数 16 回の条件で FTIR スペクトルデータを取得し、多変量解析に供した。

【結果・考察】コムギ葉の FTIR スペクトルを主成分分析に供したところ、ストレス条件とコントロール条件のスペクトルは部分的に重複したクラスターを形成し、ストレス条件に特異的なスペクトルは確認されなかった。そこでコムギ葉破碎物を 80%エタノールにより抽出し、可溶性および不溶性画分の FTIR スペクトルデータを機械学習による線形判別分析に供した結果、両画分において高温ストレスコムギとコントロールコムギの明瞭な識別に成功した。さらに 80%エタノール不溶性画分を 4 種の水溶液で段階的に抽出し、FTIR データの線形判別分析を行ったところ、ペクチンが主成分とされる 50 mM 酢酸ナトリウム (pH = 5) 可溶性画分において、900–1200 cm<sup>-1</sup> の指紋領域のスペクトル形状に明瞭な差異が認められた。これらの結果はコムギの高温応答が細胞壁ペクチン構造の変化を伴うことを示唆している。

B-4 スイカうるみ果の物理化学的分析と判別法の開発  
○渡辺紗衣, 淺尾悠介<sup>1</sup>, 麻木聖也<sup>1</sup>, 山藤歩乃佳, 只野翔大<sup>2</sup>, 明石欣也  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取県園芸試験場, <sup>2</sup>鳥取大院・連農)

【目的】うるみ果とは、スイカ特有のシャリシャリとした食感を保持しない障害果のことで、保持している正常果と比べ商品価値が低い。また、切断面の赤色彩度に違いはあるものの、非破壊での判別は確立していない。そこで、非破壊での判別法の開発と発生メカニズムの解明により、高付加価値スイカの栽培方法確立を目的とし、正常果とうるみ果を物理化学的な観点から比較分析した。

【方法・結果】本実験では、台木に“かちどき 2 号”，穂木に“筑波の香”を用い、鳥取県園芸試験場で 2021 年度に収穫された正常果とうるみ果のスイカを用いた。アミノ酸組成及び含有量は個体差が大きく、うるみ果に特徴的な傾向は見いだされなかった。ミネラル含有量では、うるみ果において Mn と Zn の有意な減少が見られ、根の機能低下との関係が示唆された。カルバゾール硫酸法による分析では、うるみ果では柔らかい食感との関係が報告される水溶性ペクチン画分の平均含有量が増加し、一方、硬い食感と関連する酸可溶性ペクチン画分の平均含有量が減少した。フェノール硫酸法によりうるみ果の水溶性ペクチン画分で全糖量が有意に減少したことから、この画分で单糖組成の変化が示唆された。可視光、近赤外および中赤外線の吸収スペクトルおよびそれらの主成分分析では、うるみ果を判別する特徴は見出だされなかったが、線形判別分析では両スイカが明瞭に判別された。そこで判別において貢献度が高い赤外波長での吸光度から重回帰分析を行い、うるみ果を識別する判別式を導いた。これらの赤外吸収はうるみに伴う物理化学的变化を反映していると思われ、うるみ果の非破壊判別に有用と期待される。

B－5 光呼吸由来の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>誘導性細胞死における葉緑体型グルタミン合成酵素の役割  
○石橋可菜<sup>1</sup>, 丸田隆典<sup>1,2,3</sup>, Amna Mhamdi<sup>3</sup>, Frank Van Breusegem<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科, <sup>3</sup>Plant Systems Biol., VIB-Ghent Univ.)

C<sub>3</sub>植物の葉において、ペルオキシソームにおける光呼吸の過程がもっとも主要な H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の発生源である。そのため、光呼吸が促進される大気 CO<sub>2</sub>および強光ストレス下では、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の生成が促進される。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>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。それに対して、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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>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、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>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、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>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、光呼吸フラックスの維持および光呼吸由来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。強光ストレス下の *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た一方で、二重欠損株ではその両方が顕著に回復した。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、*gln2* 単独欠損株でも明確な細胞死が見られ、二重欠損株で抑制された。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。

B－6 強光条件の葉緑体におけるアスコルビン酸再生の生理学的重要性  
○濱田あかね<sup>1</sup>, 小川貴央<sup>1,2</sup>, 石川孝博<sup>1,2</sup>, 丸田隆典<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科)

植物において、アスコルビン酸 (ASC) は主要なレドックスバッファーであり、種々の環境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デヒドロアスコルビン酸 (DHA) へと酸化されるが、グルタチオン (GSH) 依存的な非酵素反応または酵素反応 (DHA 還元酵素, DHAR) 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 遺伝子を全て欠損させた  $\Delta dhar$  三重欠損株と、GSH 欠乏変異株 *pad2* を掛け合わせた  $\Delta dhar pad2$  四重変異株を用いた解析から、GSH 依存的な酵素反応と非酵素反応の協働が、強光条件下のアスコルビン酸プールサイズの維持に不可欠であることを明らかにした。しかし、 $\Delta dhar$  では細胞質型 (DHAR1/2) と葉緑体型 (DHAR3) の両方が欠損しているため、どちらが重要であるかは未解明であった。そこで、異なる GSH 欠乏変異株 *cad2* を用いて、*dhar1/2 cad2* 三重変異株、*dhar3 cad2* 二重変異株、そして  $\Delta dhar cad2$  四重変異株を作出した。これらの株に強光を照射したところ、*dhar1/2 cad2* における ASC 蓄積は野生株レベルであったのに対し、この蓄積は  $\Delta dhar pad2$ 、 $\Delta dhar cad2$ 、そして *dhar3 cad2* ではほぼ完全に抑えられた。さらに、酸化ストレス誘発剤であるパラコート処理下における ASC レベルの低下が  $\Delta dhar pad2$ 、 $\Delta dhar cad2$  および *dhar3 cad2* のみで起った。これらの結果から、強光条件下における ASC 蓄積には葉緑体型 DHAR3 と GSH の協働が重要であることが明らかになった。

## B-7 シロイヌナズナにおけるL-トレオニン酸代謝酵素の同定

○山本虎次郎<sup>1</sup>, 山下千乃<sup>2</sup>, 小田垣尚哉<sup>2</sup>, 小川貴央<sup>1,2</sup>, 石川孝博<sup>1,2</sup>,  
丸田隆典<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>島根大・生資科, <sup>2</sup>島根大院・自然科学)

植物においてアスコルビン酸はもっとも主要な水溶性抗酸化剤であるが、過度な酸化ストレス条件や暗黒下では不可逆的に分解される。アスコルビン酸の分解は、その酸化型であるデヒドロアスコルビン酸(DHA)から始まり、最終的にシュウ酸やL-トレオニン酸などに変換される。L-トレオニン酸の代謝機構は長らく不明であったが、バクテリアにおいて同化化合物はL-トレオニン酸脱水素酵素(LtnD)を含む四つの酵素によりジヒドロキシアセトリン酸に変換されることが最近報告された。興味深いことに、そのうちの三つの酵素と相同なドメインがシロイヌナズナの単一の遺伝子(L-threonate metabolizing domains, LTD)にコードされており、L-トレオニン酸代謝との関連が示唆された。そこで本研究では、植物におけるL-トレオニン酸代謝機構の解明を目的として、LTD遺伝子の機能解析を試みた。まず、シロイヌナズナ葉のLtnD活性について検討した結果、Zn<sup>2+</sup>依存の活性が検出された。また、同活性はNAD<sup>+</sup>およびNADP<sup>+</sup>の両方を電子受容体として利用することができ、NAD<sup>+</sup>をより好む傾向が見られた。次に、シロイヌナズナを長期的な光遮断条件においていた結果、アスコルビン酸の分解が促進され、同時にLTD遺伝子の転写活性化が認められた。しかし、Zn<sup>2+</sup>依存のLtnD活性はほとんど一定であった。さらに、LTD遺伝子の破壊株を単離したが、この株におけるZn<sup>2+</sup>依存LtnD活性は通常および光遮断条件の両方で野生株と同程度であった。したがって、Zn<sup>2+</sup>依存LtnD活性はLTD由来ではないことが示唆された。現在、シロイヌナズナのLtnD活性に関するさらなる解析とLTDリコンビナント酵素の作製を進めている。

## B-8

Targeted expression of cDNA for *bgl23-D* (*bgl23-D*), a dominant negative mutation allele of *ATCSLD5* (*Arabidopsis thaliana* Cellulose Synthase-Like D5), alters cytokinesis in stomata development, exine structure in pollen formation, and plant growth in *Arabidopsis thaliana*

○Md. Firoze Hossain, Amit Kumar Dutta, Sumie Ishiguro<sup>1</sup>, Takushi Hachiya, Tsuyoshi Nakagawa

(Dept. Mol. Func. Gen. Int. Cen. Sci. Res. Shimane. Univ., <sup>1</sup>Grad. Sch. Bioagr. Sci. Nagoya. Univ.)

The *bgl23-D* is a newly found dominant mutation in *ATCSLD5* (*A. thaliana* cellulose synthase like-D5) gene reported to function in division of guard mother cells. In this study, we tried to use dominant character of *bgl23-D* as an inhibitor of cell division at specific cells/tissues. For this purpose, we tested stomata-, tapetum-, anther-, and lateral-organ specific promoters for expression of *bgl23* cDNA. *ProSDD1:bgl23-D*, *ProMUTE:bgl23-D* and *ProFAMA:bgl23-D* plants showed bagel-shaped stomata with cytokinesis defect. Bagel-shaped stomata were also found on the abaxial and adaxial side of leaf of *ProFIL:bgl23-D* plants. Pollen grains of *ProSP11:bgl23-D* and *ProATSP146:bgl23-D* were irregular and shrank with defective exine patterning. Furthermore, faster growth of primary root was observed in case of *ProATSP146:bgl23-D* plants. In addition, *bgl23-D* was found to be sensitive on salt and osmotic stress. Taken together, these findings suggest that the *bgl23-D* mutant could be a helpful genetic tool for manipulating the structure of specific organs or tissues.

## C-1 バイオサーファクタント・サーファクチンの自己集合特性への対カチオン種の違いによる影響

○柳澤恵広<sup>1,2</sup>, 平 敏彰<sup>3</sup>, 仁戸田照彦<sup>1</sup>, 神崎 浩<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>岡山大院・環境生命, <sup>2</sup>(株)カネカ, <sup>3</sup>産総研)

【目的】バイオサーファクタントの一種であるサーファクチン（SF）は、*Bacillus subtilis* により類縁体の混合物として発酵生産される。SFは2つのカルボキシ基を持つアニオン性の界面活性剤で、天然物ならではのユニークな構造から多様な自己集合特性を示す。一般にアニオン性界面活性剤の挙動に対カチオンが影響を与えることから、カネカの微生物培養・精製技術により大量生産が確立され製造販売される特定の類縁体構成比率のSFを用いて、その自己集合特性への対カチオン種の違いによる影響を確認した。

【方法・結果】SFのNa塩（SF-Na）水溶液に塩酸を加え、析出した非解離体（SF-H）をろ過により得た。これに2等量の各種塩基（KOH, モノ, ジ, トリエタノールアミン）の水溶液をそれぞれ添加した後、凍結乾燥することで各種SF塩を調製した（SF-K, SF-MEA, SF-DEA, SF-TEA）。これらの臨界凝集濃度をウィルヘルミー平板法により測定した結果、SF-Na ( $2.7 \times 10^{-5}$  M) よりも3~4倍高い値であった。また、CDスペクトル分析では、対カチオン種の疎水度の増加とともに $\beta$ -シート構造の形成による負の吸収が増大し、分子内及び分子間水素結合の形成が促進されると分かった（SF-MEA < SF-DEA < SF-TEA）。更に、SF-Naに長鎖アルキルを有するカチオン性界面活性剤である臭化アルキルアンモニウムを共存させた結果、1鎖長鎖アルキル型ではミセルを、2鎖長鎖アルキル型では二重膜構造のベシクルを形成することを確認した。

Taira T, Yanagisawa S, and Imura T, *Colloids Surf. A*, **626**, 126973 (2021)

## C-2 オオムギ由来モノガラクトシルモノリノイルグリセリドの全合成と絶対立体配置の決定

○北山慎太郎, 馬越 葵, 石原 亨<sup>1</sup>, 一柳 剛<sup>1</sup>

(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)

モノガラクトシルモノグリセリド(MGMG)はグリセロールにD-ガラクトースと脂肪酸が1分子結合した糖脂質である。オオムギ斑点病菌に感染したオオムギの代謝変動を調査した結果、脂肪酸部がリノレン酸であるMGMGの蓄積が確認された。しかし、単離したMGMGのグリセロール2位不斉炭素の絶対立体配置は決定出来ていなかった。本研究では、化学的手法によりグリセロール2位不斉炭素の立体配置が明確なMGMGを合成し、絶対立体配置を決定することを目的とした。合成上の課題は位置選択的リノレノイル化と脱保護反応時のリノレイル基の転移と脱離の防止である。Gal保護基には弱塩基性条件で除去できるクロロアセチル基を選択した。まず、Gal供与体と(S)-イソプロピリデングリセロールを縮合したところ、反応中でisop基が転移し、縮合物は収率61%で得られたものの、グリセロール2位炭素の立体配置が異なるエピマーが5%含まれていた。続いてisop基を除去し、ボリン酸存在化でグリセロールの1級水酸基を位置選択的にリノレノイル化して収率62%でMGMG保護体を得た。最後にクロロアセチル基をEt<sub>3</sub>N/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH(1:1)の条件でリノレノイル基が脱離、転移することなくS体の不斉炭素を持つMGMGを合成した(94%, 全収率32%, 4段階)。R体のMGMGはグリセロールの原料を(R)-イソプロピリデングリセロールに変更することで得た(全収率24%, 4段階)。しかし、エピマーの分離は全ての工程で困難であった。合成MGMGと天然物の<sup>1</sup>H NMRスペクトルを比較し、天然体のグリセロール2位の立体配置はS配置であると決定した。Bn基保護したグリセロールを用いて、エピマーを含まないMGMGも合成している。

C-3 L,D-ヘプトース 6,7 位へのグリコシル化における位置選択性  
○赤井佑衣, 西川紗也香<sup>1</sup>, 一柳 剛<sup>1</sup>  
(鳥取大院・持社創生, <sup>1</sup>鳥取大・農)

【目的】 グラム陰性細菌である大腸菌 (*E.coli*) は細胞外膜に O 抗原多糖およびオリゴ糖 (OS) が Lipid A に結合したリポ多糖 (LPS) と呼ばれる複合糖脂質を產生する。OS 内の構造変異が少ない領域糖鎖はコア糖鎖と呼ばれており、中性 7 炭糖である L-glycero-D-manno-heptose (Hep) 3 分子と酸性 8 炭糖である 3-deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic acid (Kdo) 2 分子の 2 種類の糖からなる五糖で構成されている。本研究では、*E.coli* LPS の Hep の 1 位と 7 位が結合した部分コア二糖の合成を目指し、6,7 位が無保護の Hep 受容体を用いたグリコシル化反応における位置選択性を調査した。

【方法・結果】 2 位にベンジル (Bn) 基と 2-ナフチルメチル (NAP) 基を用いた 2 種類の Hep 受容体を用いてグリコシル化反応を検討した。その結果、保護基の種類、反応温度による位置選択性の変化は観察されなかった。この結果から、Hep 誘導体の 6, 7 位水酸基の反応性の差は少なく、アセチル化で影響した受容体 2 位の保護基はグリコシル化の位置選択性に影響しないことが明らかになった。さらに溶媒について検討を行ったところ、アセトニトリルを反応溶媒として使用する場合に最もよい位置選択性を得ることが分かった。これらの結果は、極性溶媒を用いたグリコシル化がピラノース環外にジオール基を有する高炭素糖の位置選択的グリコシル化法開発に有用な知見となると考えられる。

C-4 希少糖 D-arabinose の線虫成長阻害活性とその作用メカニズム  
○棚次祐介, 小山麻里子, 三好紗那, 花木祐輔, 佐藤正資 (香川大・農)

我々は、D-ribose の C2 エピマーである希少糖 D-arabinose (D-Ara) が線虫 *Cenorhabditis elegans* の成長を強く阻害すること、また、D-Ara の代謝産物 D-arabinose 5-phosphate (D-Ara-5P) が、D-ribose の生合成酵素 ribose 5-phosphate isomerase を阻害することを報告した。以上の結果から、D-Ara は線虫体内で D-Ara-5P に代謝され、D-Ara-5P が D-ribose 生合成を阻害することで、その成長阻害活性が発現すると仮説を立てた。

本研究ではその仮説を検証するため、以下の実験を行った。(1) D-Ara 処理線虫 (成虫、幼虫) を抽出し、HPLC により D-Ara-5P の存在を確認した。(2) D-Ara 5 位 OH 基のリン酸化が、活性発現に必須であることを示すため、5 位 OH 基がブロックされた 5-O-methyl-D-arabinose を合成し、その活性を検証した。また、(3) D-Ara の哺乳動物細胞 (HeLa, NIH3T3) への毒性 (増殖抑制活性) を検証した。

以上の結果から、D-Ara は、D-ribose 生合成阻害というユニークな作用メカニズムを持った、哺乳動物への毒性の低い抗線虫薬リードであることが示された。

C-5 レモン(*Citrus limon*)に含まれる微量成分の生育過程における変化  
○本間美穂, 原田俊英<sup>1</sup>, 永野なおみ<sup>1</sup>, 山本幸弘<sup>2</sup>  
(県広大院・総合学術, <sup>1</sup>県広大・保健福祉, <sup>2</sup>県広大・生物資源)

【目的】レモン(*Citrus limon*)にはテルペソ類やクマリン類, フラボノイド類などの微量成分が含まれ, これらの生理機能に関する研究は数多い。しかし, そのほとんどが成熟した果実についての評価である。そこで本研究では生育過程の異なる果皮抽出物について, これら微量成分の含有量の変化を調査し, 未熟果の有用性を見出すことを目的とした。

【方法】レモンは, あじば農園(尾道市瀬戸田町)より供与された。テルペソ類は, ヘッドスペースを GC/MS にて分析・同定した。クマリン類は, 國賀ら(園芸学研究, 2005)の方法に従い蛍光検出器(Ex. 330 nm, Em. 400 nm)を備えた HPLC により分離・定量した。フラボノイド類は, Ma ら(Ultrason. Sonochem., 2008)の方法に従い, UV 検出器(285 nm)を備えた HPLC により分離・定量した。試料は幼果期(6月), 貯汁期(8-9月)および成熟期(12月)に収穫されたものを使用した。

【結果】未熟果から *d-Limonene* をはじめとする 8 種類のテルペソ類が検出され, これらは成熟果と同様の成分であることが分かった。また, クマリン類として Scoparone と Limettin が検出され, 共に成熟期にかけて減少傾向を示し, Scoparone は成熟期に消失すると分かった。果盤におけるフラボノイド類として貯汁期以降に Eriocitrin と Hesperidin が検出され, 共に幼果期後期にかけて生成されてゆくと分かった。以上より, 抗菌作用や抗酸化作用を示すクマリン類やフラボノイド類は, 一般に消費される成熟期のものよりも, 幼果期から貯汁期に多く含まれることが判明した。

C-6 鰹節由来カテプシン阻害ペプチド  
○関 英治 (ヤマキ (株))

目的: システインプロテアーゼであるカテプシンおよび, DPPIV に対する UPLC を用いた精製画分 (かつお節由来ペプチド) Y-2 及び強力な DPPIV 阻害ジペプチドWV (T r p-Val) の生理活性 (酵素阻害) を明らかにするために以下の実験を行なった。

実験方法: システインプロテアーゼ含有溶液と Y-2(1 mg)を混合し, pH 5.0 で 30 分間反応させた。その後, Z-Val-Val-Arg-MCA を基質として加え, 37°Cで 30 分間反応させた。その後, 切断された AMC の蛍光を蛍光分光光度計にて測定した。

結果: 精製画分 Y-2 はカテプシン S または L を 20%程度阻害することが明らかとなった。含まれるジペプチドWV はカテプシン S または L を 60%程度阻害することが明らかとなった。精製画分 Y-2 の DPPI 阻害作用のあるジペプチドWV は, カテプシン阻害においても Y-2 の主な活性阻害成分であることが明らかになった。

C-7 Caco-2 細胞におけるフロロタンニンの透過と透過物の抗アレルギー性  
○杉浦義正, 曽井将勝, 宮田昌明 (水大校・食品)

【目的】これまでに、腸管吸収モデルである Caco-2 細胞を用いた実験で、抗アレルギー性成分である海藻ポリフェノール（フロロタンニン）の透過を見出した<sup>1)</sup>。本研究では、褐藻サガラメから単離したフロロタンニン 4 種 (eckol, 8,8'-bieckol, dieckol, phlorofucofuroeckol-A) の透過量や、その透過物の抗アレルギー性を評価した。

【方法】Caco-2 細胞をトランズウェル上で 14 日間培養した。15 日目にウェル内の経上皮電気抵抗値 (TER) が 150 Ω 以上であることを計測し、腸管上皮細胞様の単層形成を確認した。フロロタンニン 4 種をそれぞれ含む試料溶液を管腔側（内液）へ供した。16 時間インキュベーションした後、内液と基底膜側の培地（透過液）、細胞破碎液を回収した。内液と細胞破碎液、透過液に含まれるフェノール性化合物をフォーリン・デニス法で定量し、透過液については HPLC で分析を行った。また、透過物の抗アレルギー性は、Caco-2 細胞における IL-8 産生と IL-8 mRNA レベル、肥満細胞モデル (RBL-2H3 細胞) に対する脱顆粒抑制、炎症関連酵素 4 種 (phospholipase A<sub>2</sub>, lipoxygenase, cyclooxygenase-2, hyaluronidase) の活性阻害により評価した。

【結果】内液と細胞破碎液、透過液のフェノール性化合物含量を測定したところ、フロロタンニンは一部が細胞に取込まれ、その一部が透過することが分かった。また、透過液の HPLC 分析の結果、投与したフロロタンニンは微量しか検出されず、多くは代謝されて透過した可能性が考えられた。透過液の抗アレルギー評価では、IL-8 産生と mRNA 発現を抑制し、脱顆粒抑制や酵素活性の阻害も示した。よって、フロロタンニンは上皮細胞内に吸収され、抗アレルギー性を示す可能性が見出された。 1) 杉浦ら、日本食品科学工学会 第 65 回大会講演集, p138.

C-8 日本酒に含まれる美肌成分「 $\alpha$ -EG」高含有パウダーの開発とその活用  
○大渡康夫, 上野祐美, 牧野正知, 秋吉渚月, 渡部 忍, 森井康隆<sup>1</sup>,  
寺戸史浩<sup>1</sup> (島根県産技セ, <sup>1</sup>奥出雲酒造(株))

【目的】古くから日本酒には健康や美容に効果があると伝承的に言われてきたが、近年の科学的研究から、その有効成分の一つとしてエチル- $\alpha$ -D-グルコシド ( $\alpha$ -EG) が報告されている。日本酒は他の酒類に比べて醸造過程で  $\alpha$ -EG を多く生産し、日本酒塗布による紫外線 B 波 (UVB) 照射後の肌荒れ防止効果や<sup>1)</sup>、 $\alpha$ -EG 添加によるコラーゲンの産生促進効果などが報告されている<sup>2)</sup>。島根県は「日本酒発祥の地」とも言われるよう、日本酒とゆかりのある地域である。我々は、特産品である日本酒（地酒）の高付加価値化を目的に  $\alpha$ -EG に着目し、県内企業とともに研究を進め、 $\alpha$ -EG 高含有パウダーの開発およびパウダーを活用した商品化に取り組んだ。

【方法・結果】日本酒のアルコール分を減圧蒸留により除去して、 $\alpha$ -EG を濃縮したエキスを製造し、 $\alpha$ -EG 量を測定したところ、元の日本酒の約 1.7 倍に濃縮されていた。さらにエキスを乾燥粉末化することで、元の日本酒に比べ約 7 倍の  $\alpha$ -EG を含むパウダーを製造することに成功した。パウダーには日本酒由来の天然保湿因子（アミノ酸、有機酸）も多く含まれており、 $\alpha$ -EG は熱や酸に対して安定で、保存性、水溶性にも優れることから様々な食品への応用が可能であった。現在、県内企業と連携し、美肌に着目した日本酒と食のコラボ製品の商品化へと広がりつつある。

1) Kitamura N, Ota Y, Haratake A, et al. : Skin Pharmacol., **10**, 153-159 (1997)

2) Bogaki T, Mitani K, Oura Y, Ozeki K. : Biosci. Biotech. Biochem., **81**, 1706-1711 (2017)

C – 9

Effects of dietary GABA and its degrading inhibitor on appetite regulation  
OThanutchaporn Kumrungsee, 長尾知香<sup>1</sup>, 矢中規之  
(広島大院・統合生命, <sup>1</sup>広島大・生物生産)

In previous study, we accidentally found that a high dose (5%) of gamma-aminobutyric acid (GABA) mixed in a basal diet significantly decreased food intake and body weight gain in lean mice, while the lower doses (0.5 and 2 %) of GABA exhibited no such effects. In the present study, we aimed to test the hypothesis that elevated blood GABA is a key factor contributing to food intake suppression.

Firstly, we checked if blood GABA levels are differences between those groups. Compared with the control group (0% GABA), the 5% GABA diet exhibited significantly elevated plasma GABA levels ( $0.4 \pm 0.5$  vs.  $5.5 \pm 2.4$   $\mu\text{M}$ ,  $P = 0.0003$ ), whereas the 0.5 and 2% GABA diet groups showed no significant differences. To test if GABA degradation pathways are involved in the phenomenon, we examined if GABA degradation inhibition, by giving a GABA-degradation inhibitor (vigabatrin), can increase blood GABA levels and suppress food intake in mice fed the 2% GABA diet. As a result, in the control (0%) and 2% GABA without vigabatrin groups, GABA was present in very low levels ( $0.7 \pm 0.2$   $\mu\text{M}$ ). However, in the 2% GABA diet plus vigabatrin group, blood GABA levels were significantly increased ( $68.7 \pm 12.8$   $\mu\text{M}$ ). Interestingly, the 2% GABA diet plus vigabatrin significantly suppressed food intake ( $-50\%$ ,  $P < 0.05$ ) and body weight gain ( $-28\%$ ,  $P < 0.05$ ), whereas no significant differences were observed between the control and 2% GABA groups. In short, the food-intake suppressive effect of dietary GABA is mainly attributed to blood GABA availability and the GABA-degradation inhibition further enhances the effects.

## D－1 慢性腎不全に伴う大腸がん進展に対するインドキシル硫酸の作用メカニズムの解析

○一坂 優<sup>1</sup>, 矢野彰三<sup>2</sup>, 丹羽利充<sup>3</sup>, 清水英寿<sup>1,4</sup> (<sup>1</sup>島根大院・自然科学,  
<sup>2</sup>島根大・医看系, <sup>3</sup>修文大・医療, <sup>4</sup>島根大・生資科)

**【目的】** 高齢社会を迎えた日本では、現在、慢性腎不全も国民病として認知されている。これにより近年、疫学的解析から慢性腎不全患者は、大腸癌の発症・進展リスクが高いことが明らかとなってきた。しかし、その発症・進展メカニズムは不明である。これまでに当研究グループでは、インドキシル硫酸 (Indoxyl sulfate: IS) が慢性腎不全の進行促進に加え、その代表的な合併症である動脈硬化の発症・進展にも中心的な役割を担うことを見出してきた。そこで本研究では、同様の合併症である大腸癌にも IS が関与すると予想し、大腸癌の進展に対するその効果および作用メカニズムを解析することを目的とした。

**【方法・結果】** ヒト大腸癌 HCT-116 細胞に対する IS の作用効果について、タンパク質レベルおよびそのリン酸化レベルをウェスタンプロット法、mRNA レベルを real-time PCR 法、細胞の増殖率を CCK-8 法を用いて解析を行った。IS は大腸癌細胞においても、その受容体である Aryl hydrocarbon receptor (AhR) を介して Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) の発現上昇を導いた。IS が大腸癌細胞にも作用することが確認されたため、細胞増殖に着目したところ、Akt と AhR の活性化により細胞増殖が導かれていた。また、AhR は Akt の活性化を一部抑制したため、IS によって惹起される Akt の活性化には、AhR 以外の未同定の受容体を介している可能性が示された。さらに IS は、AhR の活性化を介して Epidermal growth factor receptor (EGFR) の発現上昇を導き、Epidermal growth factor (EGF) に対する感受性を亢進させた。以上から、慢性腎不全の進行に伴って血中に蓄積する IS は、大腸癌の進展に寄与することが示唆された。

## D－2 2-Methylbenzimidazole 誘導体のカイコ幼虫の成長に及ぼす影響

○逸見周平<sup>1</sup>, 末吉歩夢<sup>1</sup>, 塩月孝博<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>島根大院・自然科学, <sup>2</sup>島根大・生資科)

**【目的】** 安全性と選択性の高い害虫防除剤として昆虫の成長を障害する昆虫成長制御剤が期待されている。農業害虫を多く含むチョウ目昆虫に成長阻害活性を示す化合物として、imidazole 骨格と芳香環を有する化合物が多数報告されており、1-(3,7-Dimethyl-7-ethoxy-2-octenyl)-2-methyl benzimidazole (B-1) はそのひとつである。そこで、B-1 の類縁体である 1-benzyl-2-methyl benzimidazole 誘導体 (BMBIs) を合成し、モデル昆虫のカイコ幼虫の成長に与える影響を検証した。**【方法・結果】** BMBIs のアセトン溶液をカイコ (春嶺×鐘月) 3 歳 1 日目幼虫の胸部背面に塗布し、蛹化まで継続的に観察した。その結果、投与後 48 時間以内に致死する早期致死活性、および 48 時間以後に影響を与える成長阻害活性が確認された。また、10 µg/頭の高薬量投与では早期致死を生じさせる誘導体においても、3 µg/頭以下の低薬量投与により成長阻害が生じたため BMBIs は両活性を併せ持つことが判明した。早期致死が生じた個体の外観は、対照個体と顕著な差異はなかった。一方、成長阻害として、脱皮異常、蛹化時の幼虫/蛹中間体の発生、および早熟変態など複数の表現型が観察された。さらに、対照区よりも体サイズが小さい個体が観察され、成長の遅れが生じた。その影響は各齢期間の延長が最大で 2 日程度、蛹化の遅れが 4 日程度であった。脱皮の遅れを伴う類似した表現型の報告として、主に脱皮変態に関与するエクジステロイドの合成分泌を制御する PTTH シグナル、および、前胸腺において PTTH の受容に寄与するオクトパミンレセプター (OcR) との関連が示されている。現在 OcR をはじめとする脳・中枢神経系・内分泌器官などの標的分子に対する BMBIs の作用機構について検討中である。

D-3 *Klebsiella pneumoniae* 40b 由来 Polyol dehydrogenase の精製及び諸性質の検討  
○山本菜帆, 吉原明秀<sup>1</sup> (香川大院・農, <sup>1</sup>香川大・国際希少糖)

【目的】*Klebsiella pneumoniae* 40b は菌体反応によってガラクチトールから L-タガトースの生産ができることが知られている。しかし、その反応性は低く効率が悪いという課題があった。そこで私は本菌体由来のポリオールデヒドロゲナーゼに着目し、効率の良い L-タガトースの生産を行うため本酵素の精製及び酵素学的諸性質を明らかにした。

【方法・結果】*K. pneumoniae* 40b を 30°C, 300 rpm の条件で培養後、菌体を回収し粗酵素液を調製した。酵素の生産量を向上させるため、誘導炭素源と培地組成を検討した結果、誘導炭素源はキシリトールが最適であり、培地は肉エキス培地が最適であることが示された。次に粗酵素を HiPrep Q カラム, HiTrap phenyl カラム, RESOURCE Q カラム, RESOURCE PHE カラムの順に供し精製を試みた。酵素精製の結果、SDS-PAGE にて単一のバンドが確認でき、単量体の分子量は 30.6 kDa であった。また、活性測定の結果から精製酵素の比活性は 21.1 U/mg であると推測された。精製酵素を用いた諸性質検討の結果、至適 pH はグリシン NaOH バッファー pH 9.5, 至適温度は 40°C であった。また pH 安定性及び温度安定性検討の結果、pH 安定性は pH 6~10 で安定であり、温度安定性は 40°C まで安定であった。基質特異性検討の結果、D-アラビトール、ガラクチトール、L-フシトールに強い反応性を示したことから、本酵素は D-スレオ型の糖アルコールを認識し酸化する酵素であると示唆された。

D-4 *Enterobacter cloacae* 由来組換えトランスアルドラーゼ A の酵素学的諸性質の検討  
○富野舜介, 神鳥成弘<sup>1,2</sup>, 吉原明秀<sup>2</sup>  
(香川大院・農, <sup>1</sup>香川大・医, <sup>2</sup>香川大・国際希少糖)

【目的】トランスアルドラーゼはペントースリン酸経路内において、D-フルクトース 6-リン酸の炭素鎖第 1 位から炭素鎖第 3 位までの 3 炭素鎖を D-エリスロース 4-リン酸に転移する平衡反応を触媒する酵素である。この酵素が遊離の糖にも作用することができれば、様々な希少糖を生産できると考え、本研究では *Enterobacter cloacae* 由来組換えトランスアルドラーゼ A の酵素学的諸性質を検討した。

【方法・結果】*E. cloacae* 由来組換えトランスアルドラーゼ A を高発現する組換え大腸菌を培養し、粗酵素を調製した。粗酵素液の活性測定には、システイン・カルバゾール法や HPLC 分析を用いた。また、ジヒドロキシアセトンと D,L-グリセルアルデヒドを基質に用いた時、生産物としてフルクトースとソルボースが確認された。His-Trap HP カラムを用いて本酵素の精製を試みた結果、活性画分の SDS-PAGE により単一のバンドが確認され、本酵素の単量体の分子量は約 26.0 kDa であると推定した。比活性は  $0.352 \times 10^{-6}$  U/mg から  $0.912 \times 10^{-5}$  U/mg に向上し、25.9 倍に精製された。またその収率は 22.2% であった。得られた精製酵素の酵素学的諸性質を検討した結果、本酵素の至適 pH は pH 4.0(クエン酸緩衝液)であった。至適温度は 75°C であり、本酵素を 30°C から 80°C の各温度で 10 分間熱処理した際、65°C まで 80% 以上の活性を保持していた。金属イオンの影響を調べたところ、各種金属イオンの添加により本酵素の活性は上昇しなかった。

D－5 ナンノクロロプロシス類を用いた RNP 導入によるゲノム編集系の開発  
○坪内俊介, 米村茉穂<sup>1</sup>, 藤江 誠 (広島大院・統合生命, <sup>1</sup>広島大・工)

【目的】ナンノクロロプロシス類は、バイオ燃料の生産手段として有望な藻類である。ナンノクロロプロシス類でゲノム編集を行うには、プラスミド等でゲノム編集に必要な要素を発現させる方法が一般的である。しかし、ターゲット配列ごとにプラスミド等を新規に構築する作業は煩雑であり、細胞に RNP を直接導入して高速にゲノム編集する実験系の確立が望まれている。RNP の直接導入と、切断部位でのゲノム配列と検出用カセットの相同組換え(HR)を組み合わせたノックインが報告されているが (Naduthodi ら, 2019), 目標配列毎に HR 用カセットを構築するのは労力を要する。本研究では、RNP の直接導入で HR を利用せずにノックインを実現する実験系の構築を目的とした。

【方法・結果】モデル実験系として、*N. oceanica* NIES-2145 株に GFP 遺伝子が一つ挿入された株を構築した。この株に対して、GFP 遺伝子を切断する RNP と検出用カセットを共導入し、ノックインの条件を検討した。RNP の構築には、Clontech 社の Cas9 タンパク質と、FASMAC 社が供給する crRNA と tracrRNA の混合物を用いた。ノックインを検出するゼオシン耐性カセットとして、GFP との相容性がない 0002, および、両末端に GFP との相同配列を持つ 0008 を構築した。0002 と RNP をエレクトロポレーションで共導入した場合、19%のコロニーで GFP 蛍光の変化が認められた。GFP 蛍光を失った 8 株について PCR 解析した結果、全ての株でノックインが検出された。塩基配列を解析したところ、目的箇所での正確なノックインが確認された。

D－6 遺伝子発現レベルから分析する MCS の機能  
○櫻木桂子, 池田敦子, 船戸耕一 (広島大院・統合生命)

Membrane Contact Site (MCS) はオルガネラ膜同士が近接した微細領域であり、オルガネラ間コミュニケーションの場として注目されている。近年では、MCS がオルガネラの形成や形態維持、脂質の代謝や輸送などに加え、細胞内外の環境変化への応答にも関与することが明らかになってきている。当研究室ではこれまで、MCS で機能する Tricalbin タンパク質を研究対象としてきた。Tricalbin はヒトにも保存された小胞体膜タンパク質であり、出芽酵母において、小胞体-細胞膜間の MCS を構成する tether タンパク質である。それに加えて、我々は Tricalbin が小胞体-ゴルジ体間の MCS の形成にも機能することを明らかにした。このように Tricalbin は 2 つの MCS によって 3 つのオルガネラを繋ぐことから、細胞内ホメオスタシスの維持に重要な役割を果たすと考えられる。細胞は様々な環境変化に適応するために、オルガネラが発するシグナル伝達経路と連動しながら、遺伝子の転写を介してタンパク質の発現を制御している。したがって、MCS による細胞内ホメオスタシスの維持においても遺伝子の転写が深く関与していると推察できるが、この関連性を紐解くための情報は未だ乏しい。そこで本研究では、遺伝子発現における Tricalbin 欠損の影響を解析した。その結果、欠損株ではアルギニンの合成経路や TCA 回路といったミトコンドリアの機能に関わるタンパク質をコードする遺伝子の転写が変動していることがわかった。この結果は、MCS がミトコンドリアの機能を転写レベルで制御している可能性を示唆する。

尿酸代謝調節に着目した超長寿命昆虫ヤマトシロアリの生存戦略の解析  
○梶原由貴, 木村洋貴, 中筋勇希, 藤崎 翼<sup>1</sup>, 田崎英祐<sup>2</sup>, 井内良仁  
(山口大院・創成科学, <sup>1</sup>山口大・農, <sup>2</sup>新潟大・理)

【背景・目的】不老長寿は古来よりヒトの欲望の一つであると同時に未だ叶わない願いでもある。これまでに我々は、数十年という昆虫界で超長寿命を誇る日本のヤマトシロアリ (*Reticulitermes speratus*) が体内に大量に有する、抗酸化物質の尿酸に着目してきた。今回、尿酸がヤマトシロアリの長寿命にどう貢献しているのか考察するため、尿酸合成に関与する代謝経路における各酵素遺伝子の発現量の調節について解析を進めた。

【方法】条件を変えて飼育したヤマトシロアリのワーカーにおいて、リアルタイム PCR 法を用いることで尿酸代謝に関わる酵素遺伝子の発現量の変化を調べた。

【結果・考察】ヤマトシロアリは飼育期間にともなって体内に尿酸を蓄積し、尿酸合成に関与する酵素遺伝子の発現量はほぼ全て増加した。一方で条件を変えて尿酸を経口投与すると、尿酸合成に関与する遺伝子発現量は経路によって大きく結果が異なった。糖新生経路、解糖系、ペントースリン酸経路に関わる酵素の遺伝子発現は減少し、プリン代謝系の酵素とキサンチンオキシダーゼの遺伝子発現量は増加した。これは尿酸の代謝産物がプリン代謝系の上流に入り、グルコースからの尿酸合成を行わなくなったためだと考えられる。よってヤマトシロアリワーカーはストレスを感じると、体内に尿酸を蓄積するよう代謝を調節し、尿酸を合成して ROS から身を守り、この抗酸化作用がヤマトシロアリの長寿命につながることが示唆される。

## 贊 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)
- ・丸善製薬(株)
- ・マルトモ(株)
- ・(株)三ツワフロンティック
- ・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)

2022年5月2日現在 52社



## 日本農芸化学会中四国支部第62回講演会

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：塩月孝博

連絡先：690-8504 松江市西川津町1060

島根大学生物資源科学部

T E L : 0852-32-6573

E-mail : shiotsuk@life.shimane-u.ac.jp

## 支部からのお知らせ

---

1. 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：レクザムホール（香川県県民ホール）および香川大学農学部  
内 容：特別講演、シンポジウム、受賞講演、一般講演  
講演申込締切：8月3日（水）  
講演要旨締切：8月10日（水）  
世話人：渡邊 彰（香川大学）
2. 支部創立20周年記念 第64回 講演会（例会）  
開催日：2023年1月21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）
3. 支部創立20周年記念 第40回 市民フォーラム  
開催日：2022年7月9日（土）  
場 所：山口市内  
世話人：井内良仁（山口大学）
4. 支部創立20周年記念 第41回 市民フォーラム  
開催日：2022年7月16日（土）  
場 所：香川大学 農学部 BW106講義室  
世話人：田淵光昭（香川大学）
5. 支部創立20周年記念 第35回 若手研究者シンポジウム  
開催日：2022年7月30日（土）  
場 所：徳島大学 共通講義棟6F創成スタジオ  
世話人：向井理恵（徳島大学）

## 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