

支部創立20周年記念
日本農芸化学会中四国支部第64回講演会

講演要旨集

日時：2023年1月21日（土）13時10分開会
場所：岡山県立大学



日本農芸化学会中四国支部

日本農芸化学会中四国支部第 64 回講演会（例会）

開催日：2023 年 1 月 21 日（土）

18:30~20:30 懇親会 (Ryoutei 奉還町本店)

一般講演 会場一覧表

会場			講演番号	分類
A	学部共通棟（北）	8102	A-1 ～ A-10	遺伝子，有機・天然物 1
B	学部共通棟（北）	8103	B-1 ～ B-10	有機・天然物 2，食品 1
C	学部共通棟（北）	8104	C-1 ～ C-10	食品 2
D	学部共通棟（北）	8105	D-1 ～ D-9	食品 3，動物
E	学部共通棟（東）	8901	E-1 ～ E-10	酵素・タンパク質 1
F	学部共通棟（東）	8902	F-1 ～ F-10	酵素・タンパク質 2，植物 1
G	学部共通棟（東）	8903	G-1 ～ G-10	植物 2，微生物 1
H	学部共通棟（東）	8904	H-1 ～ H-10	微生物 2

一般講演 座長一覧表

会場	講演番号	座長	
A	A-1 ～ A-5	清田洋正	（岡山大院・環境生命）
	A-6 ～ A-10	仁戸田照彦	（岡山大院・環境生命）
B	B-1 ～ B-5	岩岡裕二	（岡山県大・保健福祉）
	B-6 ～ B-10	向井理恵	（徳島大院・社産理工）
C	C-1 ～ C-5	中村宜督	（岡山大院・環境生命）
	C-6 ～ C-10	川上祐生	（岡山県大・保健福祉）
D	D-1 ～ D-4	清水英寿	（島根大・生資科）
	D-5 ～ D-9	室田佳恵子	（島根大・生資科）
E	E-1 ～ E-5	前田 恵	（岡山大院・環境生命）
	E-6 ～ E-10	大城 隆	（鳥取大・工）
F	F-1 ～ F-4	村田芳行	（岡山大院・環境生命）
	F-5 ～ F-7	梶山博司	（徳島文理院・工）
	F-8 ～ F-10	杉本 学	（岡山大・資植研）
G	G-1 ～ G-3	丸田隆典	（島根大・生資科）
	G-4 ～ G-6	宗正晋太郎	（岡山大院・環境生命）
	G-7 ～ G-10	田村 隆	（岡山大院・環境生命）
H	H-1 ～ H-5	田中晃一	（岡山県大・保健福祉）
	H-6 ～ H-10	有馬二郎	（鳥取大・農）

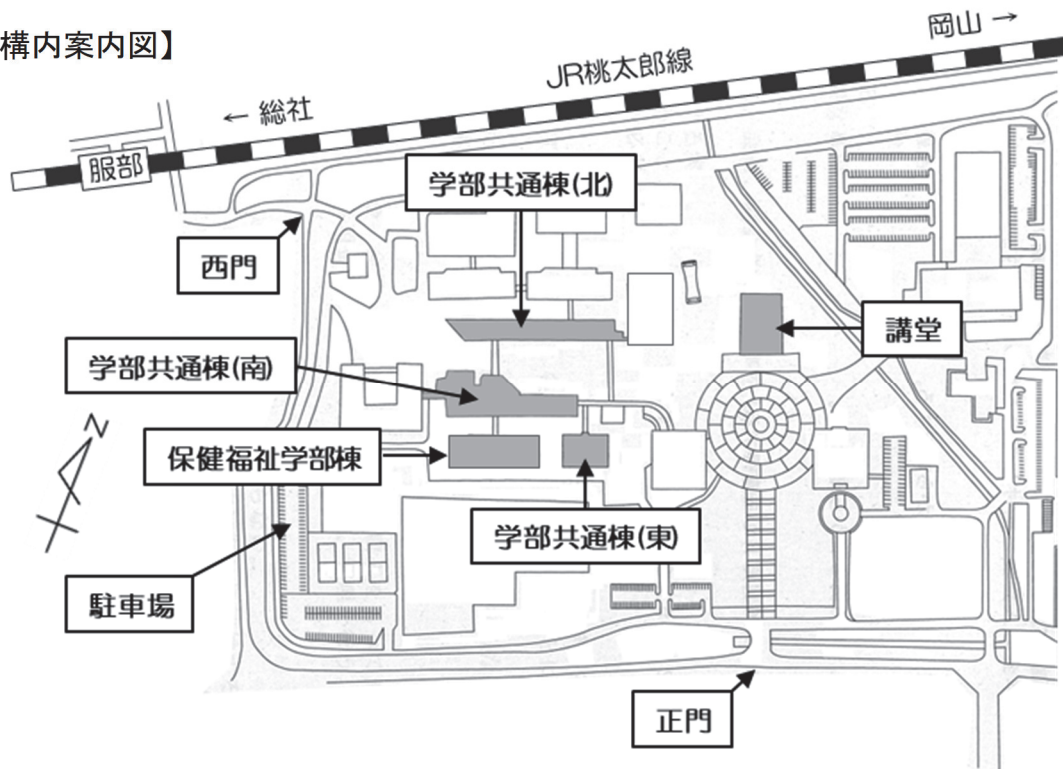
注意)

1. パソコンを用いた口頭発表にて行います。操作は各自でお願いします。
2. 発表 9 分，質疑応答 2 分，パソコン切替 1 分，時間厳守でお願いします。

支部講演会（例会）会場案内 岡山県立大学

（〒719-1197 岡山県総社市窪木 111）

【構内案内図】

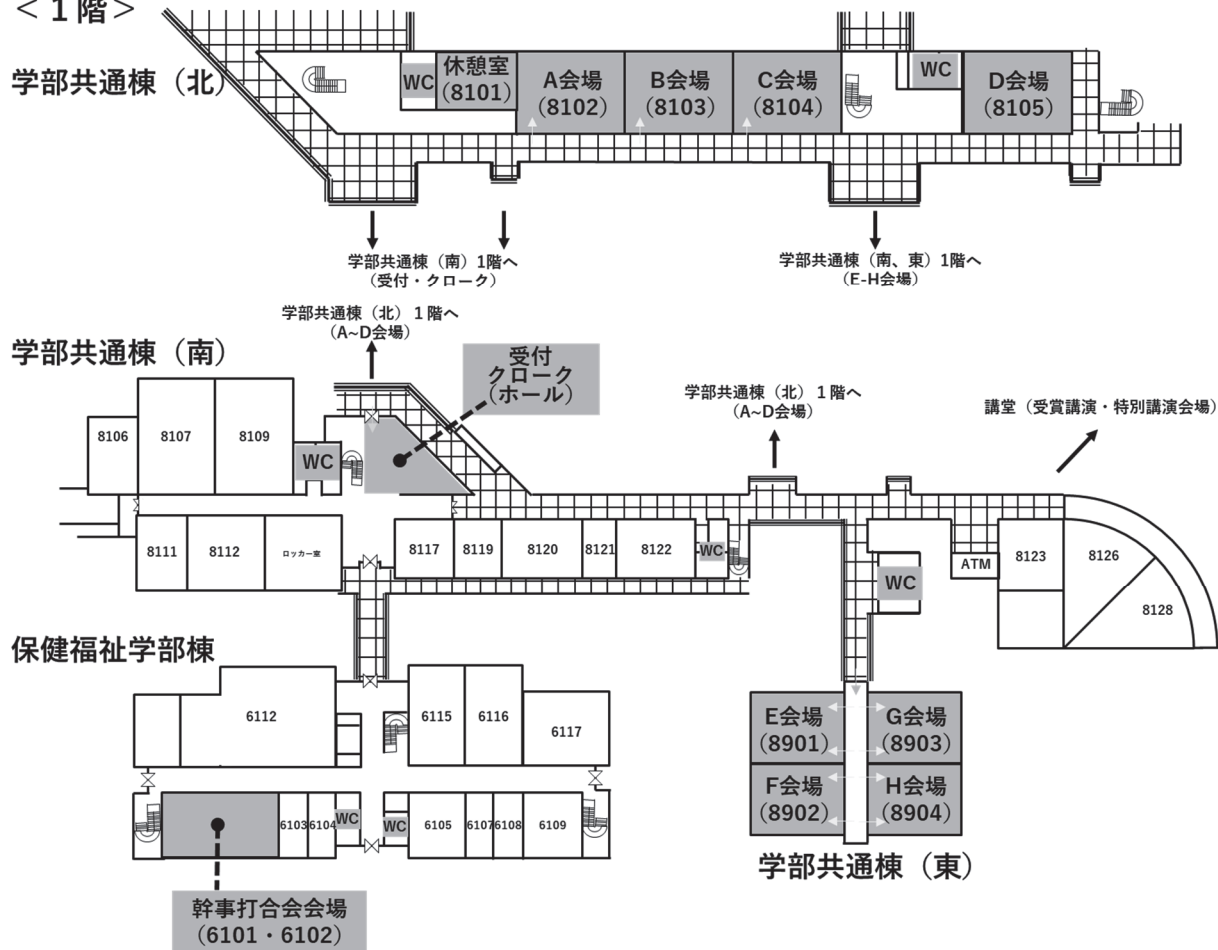


- 電車の場合：服部駅改札を出て右折し，踏切を渡って西門をお入りください。
- お車の場合：正門をに入って左折し，道なりに進んで駐車場までお越し下さい。

受付・クローク	学部共通棟（南）1階 ホール
受賞講演・特別講演会場	講堂
一般講演 A会場	学部共通棟（北）1階 8102
B会場	学部共通棟（北）1階 8103
C会場	学部共通棟（北）1階 8104
D会場	学部共通棟（北）1階 8105
E会場	学部共通棟（東）1階 8901
F会場	学部共通棟（東）1階 8902
G会場	学部共通棟（東）1階 8903
H会場	学部共通棟（東）1階 8904
幹事打合会会場	保健福祉学部棟 1階 6101・6102
支部参与会会場	学部共通棟（南）2階 8206
休憩室	学部共通棟（北）1階 8101

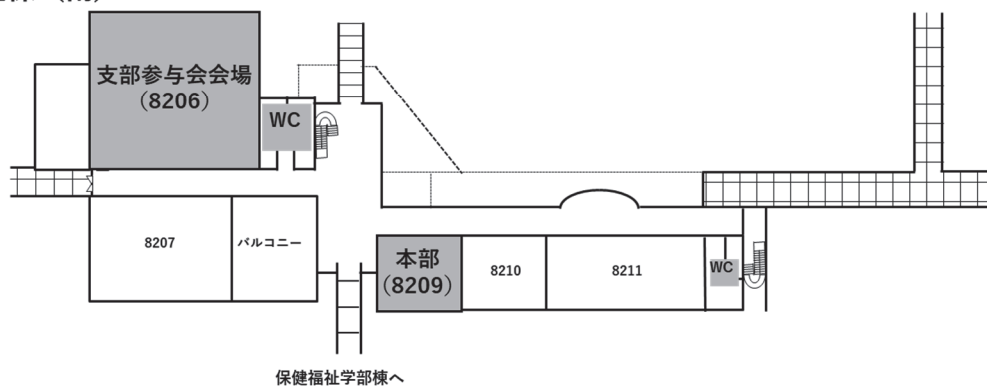
講演会会場

< 1 階 >



< 2 階 >

学部共通棟 (南)



【岡山県立大学への交通案内】



- JR 桃太郎線・服部駅から徒歩 5 分
 - JR 岡山駅から JR 桃太郎線で約 30 分
 - JR 倉敷駅から JR 伯備線（JR 総社駅乗換）JR 桃太郎線で約 40 分
- 岡山自動車道・岡山総社 IC から車で 5 分

J R 桃太郎線 服部駅 時刻表 (2022 年 3 月 12 日改正)

時	岡山行き	時	総社行き
5	11	5	53
6	04 32	6	23
7	15 52	7	32
8	18 48	8	09 40
9	16 41	9	07
10	35	10	00 52
11	21	11	40
12	21	12	40
13	08	13	34
14	02	14	21 51
15	02 32	15	21 51
16	02 32	16	21 51
17	02 31	17	21 51
18	04 32	18	23 51
19	02 32	19	21 51
20	32	20	23
21	25	21	00 44
22	09	22	34
23	02	23	28
24		24	06

【無線 LAN】

岡山県立大学では以下の無線 LAN サービスが利用できます。

○ eduroam (SSID : eduroam)

eduroam 参加機関に所属されている方は eduroam 用のアカウントで接続可能です。

事前に所属機関にて ID とパスワードをご準備ください。

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 64 回講演会（例会）
プログラム

会 場：岡山県立大学

開催日：2023 年 1 月 21 日（土）

11:00~12:00 幹事打合会 (保健福祉学部棟 6101・6102)

12:10~13:00 支部参与会 (学部共通棟 (南) 8206)

13:10~13:30 受賞講演 (講堂)

2022 年度農芸化学若手女性研究者賞受賞講演

「生体鉱物形成に関わるタンパク質に関する研究」

根本理子 (岡山大院・環境生命)

座長：稻垣賢二（岡山大院・環境生命）

13:30~14:50 特別講演 (講堂)

13:30~14:10

「機能性素材ヒシエキスの機能性関与成分の特定」

伊東秀之（岡山県大・保健福祉）

座長：田中晃一（岡山県大・保健福祉）

14:10~14:50

「植物糖タンパク質糖鎖の構造特性，代謝分解，生理活性」

木村吉伸（岡山大学院・環境生命）

座長：山本登志子（岡山県大・保健福祉）

15:00~17:00 一般講演 (学部共通棟 (北) 8102~8105, (東) 8901~8904)

◇ 一般講演プログラム

A会場（学部共通棟（北） 1階 8102）「遺伝子」「有機化学・天然物化学 1」

- A-1 15:00 Gateway ベクターにおけるネガティブコントロールコンストラクト作製システムの開発
○葛原大貴，中川 強，蜂谷卓士
（島根大院・自然科学）
- A-2 15:12 エレクトロポレーション法を用いた *Nitzschia* 属珪藻の形質転換系の確立
○森本 佑，岡田航輝，白石幸音，田村 隆，角野貴志¹，足立真佐雄¹，伊福健太郎²，根本理子
（岡山大院・環境生命，¹高知大・農海，²京大院・農）
- A-3 15:24 糸状菌 *Pochonia suchlasporia* TAMA87 株の固体培養による生薬センザンリュウ二次代謝産物の微生物変換
○竹本実加，神崎 浩，仁戸田照彦
（岡山大院・環境生命）
- A-4 15:36 麹菌固体培養による杜仲葉二次代謝産物の微生物変換（第2報）
○村上 響，奥川日菜乃，山下秀行¹，三木翔平¹，仁戸田照彦，神崎 浩
（岡山大院・環境生命，¹樋口松之助商店）
- A-5 15:48 新規希少糖誘導体 Allulofuranosyl allopyranoside の合成
○大槻芹香，柳田 亮¹，花木祐輔¹，佐藤正資¹，杉山康憲¹，川浪康弘¹
（香川大院・農，¹香川大・農）
- A-6 16:00 Azulene 型 vibsanin 誘導体の合成と生物活性評価
○和田智貴，柳田 亮¹，花木祐輔¹，川浪康弘¹
（香川大院・農，¹香川大・農）
- A-7 16:12 藍藻 *Oscillatoria sancta* 由来のマクロラク톤抗生物質 Sanctolide A のモデル合成研究
○香山健太郎，岩崎聡美¹，田中善將¹，坂口 愛¹，平田智大¹，長尾実佳¹，泉 実¹，清田洋正¹
（岡山大・農，¹岡山大院・環境生命）

- A-8 16:24 抗生物質 Enacyloxin 類の合成研究
○三木由崇, 梁 吟, 芦田直樹, 泉 実, 清田洋正
(岡山大院・環境生命)
- A-9 16:36 サリチルアルデヒド型イネいもち病菌毒素類の合成研究
○温皓然, 王子依, 平岡諒也, 泉 実, 清田洋正
(岡山大院・環境生命)
- A-10 16:48 ハーブ *Isodon eriocalyx* から単離された Maoecrystal V の CDE 環モデル合成
○浦 達哉, 石本泰輝¹, 西本光希, 片山峻樹, 井田浩介, 泉 実, 清田洋正
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・農)

B会場（学部共通棟（北） 1階 8103）「有機化学・天然物化学 2」「食品 1」

- B-1 15:00 海藻に含まれる単糖の定量分析
田村純一，北井悠仁，小林太洋，西 祐紀，○服部 怜，横井翔希，一柳 剛
（鳥取大・農）
- B-2 15:12 モノパルミトイルアスコルビン酸誘導体の特性
○結城琴絵，田井章博¹
（徳島大院・創成科学，¹徳島大・生物資源）
- B-3 15:24 *Zanthoxylum zanthoxyloides* の根 MeOH 抽出物が示す 3T3-L1 前駆脂肪細胞に対する脂肪蓄積抑制活性の解明
○小林稔季，松本 大，南川遥妃，柏木丈弘，Thomas Buxton，島村智子
（高知大・農）
- B-4 15:36 高脂肪誘導性肥満マウスにおいて 8-プレニルナリンゲニンが及ぼす代謝変化
○小西冴季，竹上菜緒，志内哲也¹，向井理恵
（徳島大院・創成科学，¹徳島大院・医歯薬学）
- B-5 15:48 シシトウに含まれるフラボノイドの解析
○松本直也，柏木丈弘，島村智子
（高知大・農）
- B-6 16:00 抗糖化活性に対するフラボノイドの構造活性相関
○岩岡裕二，平口絢媛，伊東秀之
（岡山県大・保健福祉）
- B-7 16:12 UPLC を用いたかつお節由来機能性ペプチドの測定方法の確立
○関 英治，山根拓也¹
（ヤマキ（株），¹阪大院・生物工学）
- B-8 16:24 梅酒は A β 42 のアミロイド線維形成を抑制し，不溶化凝集へと導く
○石丸隆行，真野純一¹，松井健二¹
（宇部フロ短大・食物栄養，¹山口大・農）
- B-9 16:36 黒糖の発酵における発酵助成剤及び麹の役割について
○田坂早紀^{1,2}，向井伸彦²，長船行雄²，磯谷敦子^{2,3}
（¹広島大・工，²酒総研，³広島大院・総合生命）

B-10 16:48 温度変化とせん断応力の同時印加がココアバター結晶化に及ぼす影響

○山田菜月，小泉晴比古，上野 聡

(広島大院・統合生命)

C会場（学部共通棟（北） 1階 8104）「食品 2」

- C-1 15:00 グラナチン B によるミクロソーム型プロスタグランジン E 合成酵素-1 の発現抑制と大腸炎組織修復効果
○坂口陽香¹, 上山真依¹, 津嘉山泉¹, 戸田圭祐¹, 鴻池優佳^{1,2}, 伊東秀之¹, 山本登志子¹
(¹岡山県大・保健福祉, ²福山大・生命工学)
- C-2 15:12 フラボノイド 5,7-Dihydroxyflavone は破骨細胞分化を抑制する
○中田晶大, 西脇 寿¹, 西 甲介¹, 菅原卓也¹, 今井祐記²
(愛媛大院・医, ¹愛媛大院・農, ²愛媛大・プロテオセ)
- C-3 15:24 トウガラシ属における機能性成分の探索
○白石怜香, 佐々木漠¹, 森 大地¹, 柏木丈弘¹, 島村智子¹, 富 裕孝
(高知大・土佐 FBC, ¹高知大・農)
- C-4 15:36 鳴門産スジアオノリ (*Ulva prolifera*) の志賀毒素吸着活性
山崎義輝, 山下晶央, 佐々木千鶴, 林 順司, 川上竜巳, ○金丸 芳
(徳島大・生物資源)
- C-5 15:48 食用昆虫としてのトノサマバッタの食品機能性の研究
○岡本翔太¹, 高橋有志^{1,2}, 井内良仁³
(¹山口大院・創成科学, ²日本食品分析センター, ³山口大・農)
- C-6 16:00 ケルセチングルクロン酸抱合体は位置異性体によって抗酸化活性が異なる
○大久保礼子, 光實利貴人, 生城真一¹, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之
(岡山大院・環境生命, ¹富山県大・工)
- C-7 16:12 γ -tocopherol 代謝物は heme oxygenase-1 の発現を誘導する
○青山翔祐, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之
(岡山大院・環境生命)
- C-8 16:24 クロロゲン酸とカフェ酸のアセトアルデヒドに対する細胞保護効果
○石倉亜季, 中村俊之, 佐藤あやの¹, 宗正晋太郎, 村田芳之, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大院・統合科学)

C-9 16:36 グルタチオン S-トランスフェラーゼ阻害剤がイソチオシアネートの抗がん作用に与える影響

○矢野愛奈, 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)

C-10 16:48 授乳中の母親の食事と乳房トラブルや泌乳量との関連

○大角美穂^{1,2}, 丸岡紗也¹, 長崎祐樹¹, 岡崎愉加³, 津嘉山泉³, 谷 政明²,
山本登志子³

(¹岡山県大院・保健福祉, ²(医)真弘会 谷病院, ³岡山県大・保健福祉)

D会場（学部共通棟（北） 1階 8105）「食品3」「動物」

- D-1 15:00 イネ出穂後気温条件が酒米の清酒醸造特性に与える影響
○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)
- D-2 15:12 トリメチルアミノオキサイドの摂取が脂質代謝異常マウスの脂質レベルに与える影響
○宮田昌明, 柳楽小百合, 武田賢斗, 杉浦義正
(水大校・食品)
- D-3 15:24 Estimation of antioxidant activity and sucrase inhibitory effect in Jasmine mixed tea
○Kheira Makreloufi¹, Tenka Ryu², Kaeko Murota^{1,2}
(¹Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., ²Fac. Life. Environ. Sci., Shimane Univ.)
- D-4 15:36 納豆菌由来の脂肪細胞抑制作用に関する研究
○三上知紗¹, 濱出拓馬², 原 圭吾², 大杉忠則^{1,2}
(¹倉芸大院・機能, ²倉芸大・生命)
- D-5 15:48 線虫 *C.elegans* の幼虫休眠打破機構
○能勢雅代¹, 坂本奏人², 岩崎 崇^{1,2}, 尾添嘉久³, 河野 強^{1,2}
(¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大・農, ³島根大・生資科)
- D-6 16:00 線虫の RAB family タンパク RAB-18 はコレステロール輸送体の輸送体を介して幼虫生育を制御する
○皆木友花¹, 栗津利邦², 松浦雅実², 松永洋平³, 岩崎 崇^{1,2}, 河野 強^{1,2}
(¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大・農, ³SRL)
- D-7 16:12 活性酸素を介して腎臓近位尿細管細胞に蓄積されたミクロシスチンはレニンの発現上昇を導く
○櫃田遊香, 古東義仁, 河原秀明¹, 蔵田航一¹, 岡野邦宏², 杉浦則夫³, 清水和哉³, 清水英寿⁴
(島根大院・自然科学, ¹島根大院・生物資源, ²秋田県大・生物資源, ³筑波大・生環系, ⁴島根大・生資科)
- D-8 16:24 腸内細菌代謝産物インドール-3-酢酸が大腸がん細胞に対して抗増殖効果を発揮する
○富井あやめ¹, 内藤一真², 蔵田航一³, 湯浅佳奈¹, 古東義仁¹, 清水英寿²
(¹島根大院・自然科学, ²島根大・生資科, ³島根大院・生物資源)

D-9 16:36 インドール酢酸の代謝産物スカトールは，インドール酢酸による CYP1A1 の発現開始を遅延させる

○内藤一真，富井あやめ¹，石井克範¹，清水英寿
(島根大・生資科，¹島根大院・自然科学)

E会場（学部共通棟（東） 1 階 8901）「酵素・タンパク質 1」

- E-1 15:00 PET 加水分解酵素の異種発現によるロドバクター科細菌へのプラスチック分解能の付与
○松場匠哉¹，中井忠志^{1,2}
（¹ 広島工大院・工，² 広島工大・生命）
- E-2 15:12 2 種のフコイダン資化性微生物が有するフコイダン低分子化酵素の特性解明
○高橋陽太，荒井良仁¹，新宮由奈子，八木寿梓^{1,2}，鈴木宏和¹，大城 隆^{1,2}
（鳥取大院・持社創生，¹ 鳥取大院・工，² 鳥取大・未利用セ）
- E-3 15:24 好熱菌を用いたプラスチック分解性クチナーゼの生産
○小山幸祐，大城 隆^{1,2}，鈴木宏和^{1,2}
（鳥取大院・持社創生，¹ 鳥取大・工，² 鳥取大・GSC セ）
- E-4 15:36 放線菌 *Cellulosimicrobium* 属由来 2 つの GH family 19 chitinase の異なる構造と性質
○仁木大輔，長瀬亜紀子¹，美藤友博²，清水克彦³，有馬二郎²
（鳥取大・連農，¹ 鳥取大院・持社創生，² 鳥取大・農，³ 鳥取大・CoRE）
- E-5 15:48 細菌由来のリン酸化を必要としない L-フコース代謝経路に関与する L-2-Keto-3-deoxyfuconate 4-dehydrogenase の X 線結晶構造解析
○赤樫実結¹，渡辺誠也^{1,2,3}
（¹ 愛媛大・農，² 愛媛大院・農，³ 愛媛大・沿岸環境科研セ）
- E-6 16:00 超好熱アーキア *Saccharolobus solfataricus* P2 由来 L-ノルバリンデヒドロゲナーゼの機能・構造解析
○岡部 樹，大森勇門¹，大島敏久¹，櫻庭春彦
（香川大院・農，² 大阪工大・工）
- E-7 16:12 乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus* 由来 L-ラムノースイソメラーゼの酵素学的諸性質
○山本菜帆¹，吉田裕美^{2,3}，倉原 琳²，吉原明秀^{1,3}
（¹ 香川大院・農，² 香川大・医，³ 香川大・国際希少糖）
- E-8 16:24 *Klebsiella pneumoniae* 40b 株由来 D-アラビノースイソメラーゼを用いた D-スレオースの生産
○富野舜介，吉原明秀¹
（香川大院・農，¹ 香川大・国際希少糖）

E-9 16:36 大豆粕を原料とする機能性タンパク質の新規生産法の開発と評価

○渡辺桃子, 佐々木千鶴¹, 中村嘉利¹, 浅田元子¹

(徳島大院・生物資源, ¹ 徳島大・生物資源)

E-10 16:48 植物糖鎖結合ポリマーが自然免疫応答に及ぼす免疫活性の解析

○沓野那緒¹, 藤原美智子², 加来田博貴², 木村吉伸^{1,3}, 前田 恵^{1,3}

(¹ 岡山大・農, ² 岡山大院・医歯薬, ³ 岡山大院・環境生命)

F会場（学部共通棟（東） 1階 8902）「酵素・タンパク質 2」「植物 1」

- F-1 15:00 胚発生過程における卵白タンパク質 Ovalbumin-related protein X (OVAX) の糖鎖構造の変化
○杉村 亮, 中北愼一¹, 中北ゆかり¹, 赤澤隆志², 小川雅廣³
(香川大院・農, ¹香川大・医, ²宮城大・食産業, ³香川大・農)
- F-2 15:12 線維芽細胞が産生するコラーゲンの高感度定量法の開発
○島田絵乃, 川村 理¹, 小川雅廣¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- F-3 15:24 ユーグレナワックスエステル発酵調節に関わる WSRK の下流因子解析
○藏前由衣, 駒井陽輔, 小川貴央¹, 丸田隆典¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(島根大院・自然科学, ¹島根大・生資科, ²近畿大・附属農場)
- F-4 15:36 BMP2K の浸透圧による液滴変化と細胞質局在を決める責任領域
○久岡志帆¹, 小橋 陸¹, 大澤 仁^{1,2}, 末吉紀行^{1,2}
(¹香川大・農, ²愛媛大院・連農)
- F-5 15:48 Involvement of abscisic acid and reactive carbonyl species in methyl jasmonate-induced stomatal closure
○Oumayma Shaiek, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura, Shintaro Munemasa, Yoshiyuki Murata
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)
- F-6 16:00 Involvement of glutathione and reactive carbonyl species in chitosan-induced stomatal closure
○Israt Jahan, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura, Shintaro Munemasa, Yoshiyuki Murata
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)
- F-7 16:12 Reactive carbonyl species are involved in abscisic acid- and methyl jasmonate-induced stomatal in *Vicia faba*
○Yin Huifei, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura, Shintaro Munemasa, Yoshiyuki Murata
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)

- F-8 16:24 孔辺細胞における細胞質型グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼの機能解析
○山口大輝, 山上明浩, 今尾匡志, 藤井和樹¹, 細見泰希¹, 中村俊之, 中村宜督, 宗正晋太郎, 村田芳行
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・農)
- F-9 16:36 Effect of methylglyoxal and dihydroxyacetone in Arabidopsis
○Maoxiang Zhao, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura, Izumi Mori¹, Shintaro Munemasa, Yoshiyuki Murata
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ., ¹IPSR, Okayama Univ.)
- F-10 16:48 LED シグナル光照射によるレタスの生育と二次代謝のコントロール
○藤村亮佑¹, 太田健志郎¹, 白石純也², 宮腰峻平², 前田淳史¹, 谷川浩司^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理院・工, ¹徳島文理・理工)

G会場（学部共通棟（東） 1 階 8903）「植物 2」「微生物 1」

- G-1 15:00 植物カルシウムイオンシグナルの人為的調節技術の開発
○吉田磨生, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行, 宗正晋太郎
(岡山大院・環境生命)
- G-2 15:12 Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* roots under salt stress
○Hafsa Jahan Hiya, Airi Takeuchi, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura,
Yoshiyuki Murata, Shintaro Munemasa
(Grad. Sch. of Environ. Life Sci., Okayama Univ.)
- G-3 15:24 カルシウムイオンに依存した気孔閉鎖にかかわる新規タンパク質キナーゼの探索
○中島朱夏, 脇舛真穂¹, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行, 宗正晋太郎
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・農)
- G-4 15:36 植物における細胞内フラビン化合物レベルの調節と環境ストレス応答の関連性
○杉井天真, 原田美帆, 丸田隆典¹, 石川孝博¹, 吉村和也², 重岡 成³, 小川貴央¹
(島根大院・自然科学, ¹島根大・生資科, ²中部大・応生, ³近畿大・附属農場)
- G-5 15:48 遮光条件におけるアスコルビン酸代謝の変動
○濱田珠未, 石川孝博, 丸田隆典
(島根大・生資科)
- G-6 16:00 塩・アルカリストレス下におけるイネのカリウム輸送機構に関する品種間差
○南平眞実, Kamonthip Jiadkong, 黄木敬¹, 西田 翔², 上田晃弘
(広島大院・統合生命, ¹広島大・生物生産, ³佐賀大・農)
- G-7 16:12 植物の生長を制御する微生物由来揮発性物質の探索
○那須久瑠光, 三輪佳蓮¹, 上田晃弘¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)
- G-8 16:24 *Aurantiochytrium* 属による脂質生産に向けた Snf1 様 protein kinase の機能解析
○新本佳子, 渡邊研志, 秋 庸裕
(広島大院・統合生命)

G-9 16:36 Gas-to-Lipids バイオプロセスにおける脂質生産条件の検討

○奥田源己, 渡邊研志, 中瀬玄德, 廣谷 蘭, 石垣元務, 中島田豊, 松浦将吏¹,
松山恵介², 秋 庸裕
(広島大院・統合生命, ¹中国電力(株), ²長瀬産業(株))

G-10 16:48 ヤマブシタケ抽出物はバクテリアのバイオフィルム形成, クオラムセンシング, 自己凝集能に影響を及ぼす

○濱治百々子, 坂口直子, Siddiqa Ayesha¹, 石丸隆行², 阿座上弘行³
(山口大院・創成科学, ¹鳥取大院・連農, ²宇部フロ短大・食物栄養,
³山口大・中高温微研セ)

H会場（学部共通棟（東） 1階 8904）「微生物 2」

- H-1 15:00 アルギン酸カルシウムに固定化された *Saccharomyces cerevisiae* BAll による高濃度エタノール生産
○Nguyen Tuan Kiet, 中村嘉利¹, 浅田元子¹
(徳島大院・生物資源, ¹徳島大・生物資源)
- H-2 15:12 硫酸還元菌由来 Se 含有ギ酸脱水素酵素の分子系統解析
富永貴生, 根本理子, 金尾忠芳, ○田村 隆¹
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・グローバル人材)
- H-3 15:24 カニ殻分解菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 の栄養条件による生育及びキチナーゼ生産の増強
○溝尻怜史, 仁木大輔¹, 有馬二郎
(鳥取大・農, ¹鳥取大・連農)
- H-4 15:36 カニ殻を分解する中等度高熱放線菌の獲得と分泌タンパク質の解析
○枝並研一郎, 仁木大輔¹, 有馬二郎
(鳥取大・農, ¹鳥取大・連農)
- H-5 15:48 納豆菌が生産する抗細菌物質 ～グラム陰性菌に対する生育阻害活性～
○千田菜摘, 山根若菜, 西川亜美, 森本日向, 丸山雅史
(愛媛大・農)
- H-6 16:00 液胞アミノ酸リサイクルの生理的役割
○中城遙登, 濱田 和, 阿部創始, 中川 栞, 河田 (河野) 美幸^{1,2,3}, 関藤孝之^{1,2}
(愛媛大・農, ¹愛媛大院・農, ²愛媛大・PROS, ³愛媛大・ADRES)
- H-7 16:12 液胞アミノ酸トランスポーターAvt4 N 末端領域の機能とその分子機構解明
○山本悠介¹, 佐藤有美香¹, 石本品也¹, 野澤 彰², 小迫英尊⁴, 澤崎達也², 関藤孝之^{1,2}, 河田 (河野) 美幸^{1,2,3}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・PLOS, ³愛媛大・ADRES, ⁴徳島大・先端酵素研)
- H-8 16:24 清酒酵母一倍体の効率的取得に関する研究
○嶋津未来^{1,2}, 周延¹, 金井宗良¹, 赤尾 健^{1,2}
(¹酒総研, ²広島大院・統合生命)

- H-9 16:36 黄麹菌のゲノム編集による主要醸造酵素高生産株の育種
○木ノ上隆太^{1,2}, 島本和美², 林 梨咲², 織田 健², 赤尾 健^{1,2}
(¹広島大院・統合生命, ²酒総研)
- H-10 16:48 分裂酵母における Rad24 優性不能変異の解析
○大島智仁, 妹尾裕子¹, 章 佳君¹, 松尾安浩², 川向 誠²
(島根大院・自然科学, ¹島根大院・生物資源, ²島根大・生資科)

受 賞 講 演

講 演 要 旨

生体鉱物形成に関わるタンパク質に関する研究

根本理子（岡山大院・環境生命）

生物は、環境中から無機イオンを濃縮し、細胞内外で鉱物を形成することで骨や歯、細胞壁や磁気センサー等として利用している。生物が行う鉱物形成作用はバイオミネラリゼーションと呼ばれる。生物が形成する鉱物（バイオミネラル）は、その構造や組成に由来する優れた性質（強磁性、耐摩耗性、フォトリック結晶特性など）を持ち、多くの材料科学者から注目されてきた。生物は、様々なタンパク質を使って、金属の濃縮や酸化還元を制御することで、生体内の穏和な条件下で、優れた性質を持つ鉱物を形成することができる。生体鉱物の形成を制御するタンパク質を明らかにすることができれば、生体鉱物を模倣した新規機能性材料の開発や、環境に優しい材料合成プロセスの開発につながることを期待される。我々はこれまで生体鉱物の中でも、軟体動物であるヒザラガイの磁鉄鉱（ Fe_3O_4 ）の歯や微細藻類である珪藻のシリカ（ SiO_2 ）被殻について研究を行ってきた。今回はヒザラガイの磁鉄鉱の歯の形成に関わるタンパク質について最近行っている研究を紹介させていただく。

ヒザラガイは世界各地の海岸部に生息する、硬い岩礁上に付着して生活している貝類であり、“歯舌”と呼ばれる摂餌器官を使って、岩礁表面に付着している藻類を削り捕食している。歯舌はリボン状の有機膜に歯が数十列並んだ構造をしており、歯舌上の個々の歯の歯冠部に磁鉄鉱が沈着している。最近の研究から、磁鉄鉱が沈着したヒザラガイの歯は、生物が形成する鉱物の中で最大の硬度と剛性を持つ耐摩耗性材料であることが示されている。そのため、ヒザラガイの歯は生物由来の磁鉄鉱というだけでなく、超硬質材料としても、材料科学の分野において着目されている。

ヒザラガイによる磁鉄鉱形成機構を明らかにするため、筆者らはこれまで世界最大のヒザラガイであるオオバンヒザラガイ（学名：*Cryptochiton stelleri*）を用いて研究を行ってきた。ヒザラガイは、通常、歯舌の前方の数列の歯のみ摂餌に利用しており、歯が欠けると、新しく形成された歯が後方から前に押し出されることにより歯が新生される。そのため、歯舌上では常に新しい歯が形成されており、異なる成熟化ステージの歯をひとつの歯舌上に観察することができる。オオバンヒザラガイにおいては、初めの 8-12 列の歯は α -キチンを主成分とする透明な構造体である。続く 2-5 列目において、非晶質の酸化鉄が沈着し、歯が赤茶色を呈するようになる。その後、酸化鉄の結晶化が起り、黒色の磁鉄鉱が沈着した歯が形成される。歯舌組織中で、形成過程にある歯は上皮細胞で覆われており、歯の形成に必要なタンパク質は上皮細胞から供給されていると考えられる。そこで、上皮細胞を含む歯舌組織を採取した後、まず酸化鉄が全く沈着していない領域（非鉱物化領域）と非晶質の酸化鉄及び磁鉄鉱が沈着した領域（鉱物化領域）に分離した。その後、それぞれの領域から抽出した RNA を用いてトランスクリプトーム解析を行った。その結果、非鉱物化領域では鉄の蓄積・輸送に関わるフェリチンの遺伝子が、鉱物化領域ではミトコンドリアの電子伝達系酵素が高発現していることが明らかになった。さらに、歯舌組織のプロテオーム解析を行い、磁鉄鉱の沈着した歯冠部に特異的に含まれ、磁鉄鉱形成への関与が示唆される 22 個のタンパク質を同定した。最近、新たに 3 種のヒザラガイ類の歯舌組織のトランスクリプトーム解析を行い、オオバンヒザラガイで同定された 22 個の歯冠部特異的タンパク質のホモログが他のヒザラガイ類にも保存されていることを明らかにした。22 個の歯冠部特異的タンパク質のうち、既知のタンパク質に相同性を示さず、ヒザラガイ類のみに存在する歯舌歯マトリックスタンパク質 1 について、現在機能解析を進めている。

特 別 講 演

講 演 要 旨

機能性素材ヒシエキスの機能性関与成分の特定

伊東秀之（岡山県大・保健福祉）

ヒシは池や沼に生息するミソハギ科の1年草の水生植物で、同属植物が日本をはじめ、東アジアに広く分布している。トウビシ (*Trapa bispinosa* Roxb.) の果皮エキ스는、ヒトにおいて血糖値上昇抑制作用及び抗糖化作用を有することが示されており^{1,2)}、機能性食品素材として注目されている。本講演では、トウビシ果皮エキ스가有する抗糖化作用の関与成分の特定および定量、さらに関与成分の生体内挙動の研究結果について紹介する。

トウビシ果皮熱水抽出エキス(TBE)の70%含水アセトン可溶部、エーテル、酢酸エチルおよび *n*-ブタノールで順次抽出を行い、各エキスを得た。酢酸エチルエキスおよび *n*-ブタノールについて、各種カラムクロマトグラフィー等により分離、精製を行い、gallic acid, 2,6-di-*O*-, 1,2,3-, 1,2,6-, 2,3,6-tri-*O*-, 1,2,3,6-, 1,2,4,6-tetra-*O*-galloyl- β -D-glucose, tellimagradin II を単離、同定し、さらに TBE の水移行部についても各種カラムクロマトグラフィー等による分離、精製を行い、decarboxylated rugosin A, camptothin B, (7'S,8'R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol-9'-*O*- β -D-glucose, rubuphenol, eschweilenol A を単離、同定した³⁾。トウビシ果皮の70%含水アセトンエキスについても、各種カラムクロマトグラフィーにより分離、精製、新規化合物を単離し、各種スペクトル解析に基づき、その構造を 6-*O*-brevifolincarboxyloyl-1,2,3-tri-*O*-galloyl- β -D-glucose であると決定し、trabisnin と命名した。

TBE の抗糖化作用の関与成分を特定するために、単離した化合物の advanced glycation end products (AGEs) 生成阻害作用と AGEs 前駆物質分解作用を評価した。AGEs 生成阻害作用についてはネオリグナンを除く全ての化合物に AGEs 生成阻害活性が認められ、特にガロタンニンとエラジタンニンは陽性対象の aminoguanidine よりも顕著な活性を示した。一方、AGEs 前駆物質分解作用については、ellagic acid, 2,6-di-*O*-galloyl- β -D-glucose, 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose およびネオリグナンには活性が認められなかったが、特に gallic acid, rubuphenol および eschweilenol A は強力な切断活性を示した³⁾。

TBE の抗糖化作用の関与成分の生体内挙動を検討するために、TBE を SD 系雄性ラットに 100 mg/kg 経口投与し、投与後 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 h の血液を採血し、投与後 72 h までの尿も経時的に採尿した。採取した血漿および尿サンプルについて、3 種のエラジタンニン、12 種の urolithin 類およびエラジタンニン関連代謝物および 5 種のガロタンニン関連代謝物を含む計 20 種の代謝物を測定対象として、LC/ESI-MS/MS 法により定量を行った。TBE を投与したラットの尿中には urolithin 類や gallic acid 類が検出されたが、それぞれ異なる排泄パターンを示した。Urolithin 類は TBE 投与後 20 時間前後に比較的遅く尿中に排泄されたが、gallic acid 類は投与後 1 h でほとんど排泄された。血中動態についても、urolithin 類は最高血中濃度到達時間が遅く、gallic acid 類は早い傾向が認められた。エラジタンニン代謝物は吸収、排泄に時間を要するが、ガロタンニン代謝物は速やかに生体内に吸収、排泄されることが示され、代謝物のタイプによってそれぞれ異なる生体内挙動を示すことが明らかになった。

トウビシエキスに含まれる抗糖化作用の機能性関与成分の特定およびそれら成分のエキス中の含量を算出することができた。さらに機能性関与成分の生体内挙動の特性を解明することができ、食品の摂取設計に寄与するデータも得られた。本研究により機能性表示食品の届出において有用な科学的基礎データを提供することができた。

1) Takeshita, S., *et al.*, *Glycative Stress Res.*, **2**, 72–79 (2015).

2) Takeshita, S., *et al.*, *Glycative Stress Res.*, **3**, 24–132 (2016).

3) Iwaoka, Y., *et al.*, *Molecules*, **26** (19), 5802 (2021).

植物糖タンパク質糖鎖の構造特性，代謝分解，生理活性

木村吉伸（岡山大院・環境生命）

真核生物が産生する分泌型タンパク質や細胞膜タンパク質のほとんどは，オリゴ糖が共有結合した糖タンパク質である。特に，Asn-X-Ser/Thr (X≠Pro) 配列中の Asn 残基に結合するアスパラギン結合型糖鎖（*N*-グリカン）が新生タンパク質のフォールディングや分泌型タンパク質の機能に重要な寄与をなしていることはよく知られている。動植物ともに，小胞体（ER）やゴルジ装置中での *N*-グリカンの生合成およびプロセッシング機構については，関与する糖転移酵素やグリコシダーゼの遺伝子同定と基質特異性解析が長足の進歩を遂げて，動植物それぞれを特徴付ける *N*-グリカン構造が存在するものの，糖鎖生合成やプロセッシング機構のコンテキストには高い共通性があることが明らかになっている。動植物間において *N*-グリカンの生合成や分解に関与する糖転移酵素や加水分解酵素の機能特性と遺伝子構造にも共通性がある反面，当然のことではあるが，顕著な相違も存在する。そして，発生や分化段階，あるいは組織特異的に発現する *N*-グリカンは，それぞれ重要な存在意義や生理機能を担っていると考えられる。

本講演では，私どもが明らかにしてきた（1）植物糖タンパク質に結合する *N*-グリカンの構造特性，（2）小胞体関連分解（ERAD）における糖鎖遊離とその意義，（3）タンパク質立体構造構築（フォールディング）やアミロイド凝集抑制に関わる糖鎖機能について紹介させて頂く。

（1）植物糖タンパク質糖鎖の構造特性

植物複合型 *N*-グリカンの特徴は，（a）還元末端 GlcNAc 残基への α 1-3Fuc 残基の結合，（b） α 1-4Man 残基への β 1-2Xyl 残基の結合，（c）非還元末端側のルイス a 抗原（Le^a 抗原，Gal β 1-3(Fuc α 1-4)GlcNAc β 1-) の形成である。Le^a 抗原を有する植物 *N*-グリカンは，花粉アレルゲン等の分泌型タンパク質や細胞膜タンパク質に遍在する。一方，液胞に存在する糖タンパク質は Le^a 抗原を持たないパウチマンノース型構造（Man₃₋₁Xyl₁Fuc₁GlcNAc₂）を有する。

（2）小胞体関連分解（ERAD）における代謝分解とその意義

ER 中でミスフォールドした糖タンパク質は，分子表面の疎水性領域の会合により凝集体を形成し細胞毒性を持つことになる。そのため，ミスフォールド糖タンパク質は小胞体から細胞質へ逆輸送されプロテアソーム分解を受けるが，それに先行して細胞質 PNGase（cPNGase）による *N*-グリカン除去が起こる。cPNGase により GlcNAc 2 残基を有する GN2 型ハイマンノース型（MHT）遊離 *N*-グリカン（FNGs，Man₉₋₅GlcNAc₂）が生成した後，ENGase により *N,N'*-アセチルキトビオース結合が切断され GN1-HMT-FNGs が生成する。我々は cPNGase と ENGase の機能特性を明らかにするとともに，発現抑制植物を構築することで FNGs 生成機構を明らかにした。

（3）FNGs のタンパク質フォールディング促進活性とアミロイド線維形成抑制活性

GN 1 型および GN2 型 HMT-FNGs が ER 中に存在することを確認したことから，これらの FNGs がタンパク質品質管理系でフォールディング促進活性あるいはアミロイド凝集抑制活性を有する可能性を想定した。そこで，2 種のアミロイド凝集形成タンパク質をモデルタンパク質として用いて，FNGs のタンパク質フォールディング促進活性とアミロイド凝集形成抑制活性を解析した。その結果，HMT-FNGs はタンパク質フォールディングを促進させるとともに，アンフォールドタンパク質のアミロイド凝集を抑制することを見いだした。

【参考文献】化学と生物 61, 64-77 (2023)

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 Gateway ベクターにおけるネガティブコントロールコンストラクト作製システムの開発
○葛原大貴, 中川 強, 蜂谷卓士 (島根大院・自然科学)

【目的】

通常, ネガティブコントロールにはクローニング前の空ベクターを用いる。しかし Gateway クローニングではクローニング前のベクターは attR1-CmR-ccdB-attR2, クローニング後のベクターは attB1-gene-attB2 の構造であり, クローニング前のベクターをネガティブコントロールとして使用することができない。無関係な DNA 断片を組み込んだコンストラクトを使用することも多く行われて来たが, 今回本来の空ベクターである attB1-attB2 の構造を持つクローンを作製するシステムを開発することにした。

【方法・結果】

空ベクター作製用エントリークローンとして, attL1-制限酵素サイト-sGFP-制限酵素サイト-attL2 の構造を持つ各種 pNeCo (Negative Control)ベクターシリーズを構築した。pNeCo を LR 反応でバイナリベクターに組み込んだ後に制限酵素サイトで切断して sGFP を切り出し, セルフライゲーションを行うことで attB1-attB2 の構造を持つ空ベクターを得ることができる。

pNeCo シリーズは最終コンストラクトのタグによって使い分けるようになっており, N-Tag, C-Tag に応じて異なる pNeCo ベクターを使用する。また, 通常は sGFP の切り出しに PmlI を用いるが, タグが G3GFP の場合は NruI を使用する。本発表では, これら pNeCo を使用した植物用 Gateway バイナリベクターの空ベクター作製について報告する。

A-2 エレクトロポレーション法を用いた *Nitzschia* 属珪藻の形質転換系の確立
○森本 佑, 岡田航輝, 白石幸音, 田村 隆, 角野貴志¹, 足立真佐雄¹,
伊福健太郎², 根本理子
(岡山大院・環境生命, ¹高知大・農海, ²京大院・農)

【目的】 微細な多孔構造を持つ珪藻のシリカ被殻形成メカニズムを解明することで, シリカ被殻を模倣したナノ構造材料が作り出せる可能性がある。当研究室では, シリカ被殻形成に関する研究で主に用いられてきた小型のモデル珪藻 *Thalassiosira pseudonana* と比較して, 細胞が大きく被殻形成の過程が観察しやすい *Nitzschia* 属珪藻を使用して研究を行っている。これまでに *Nitzschia* 属珪藻由来のプロモーターを組み込んだ形質転換用ベクターを用いて薬剤耐性株を獲得することに成功した。一方で, 組換え株において, 薬剤耐性遺伝子と共に導入した GFP の明瞭な蛍光を確認できなかった。その原因は, ベクター上で同じプロモーターを使用したことによる遺伝子発現抑制と考えられた。そこで, 本研究では新たに3種のプロモーターを用いて GFP の発現を試みた。

【方法・結果】 本研究で使用したプロモーターは, *Phaeodactylum tricornutum* 由来の fcpA プロモーター, 珪藻 *Chaetoceros lorenzianus* に感染するウイルス由来の CIP4 プロモーター, *Nitzschia palea* から同定した Act1 プロモーターの3種類である。これらを用いてエレクトロポレーション法によって *Nitzschia* 属珪藻 NOH-41 株を形質転換した。出現した薬剤耐性コロニーを蛍光顕微鏡で観察したところ, 3種類のプロモーターを用いて形質転換を行った組換え株全てにおいて明瞭な GFP 蛍光が確認された。また, これらの形質転換体のゲノムから PCR 増幅により GFP 遺伝子が検出された。現在, 得られた形質転換株についてさらに詳細な解析を進めている。

A－3 糸状菌 *Pochonia suchlasporia* TAMA87 株の固体培養による生薬センザンリュウ
二次代謝産物の微生物変換
○竹本実加, 神崎 浩, 仁戸田照彦 (岡山大院・環境生命)

【目的】当研究室では、糸状菌 *Pochonia suchlasporia* TAMA87 株が、植物を基材に用いた固体培養において β -N-acetylglucosaminidase 阻害物質 pochonicine などの新規の生物活性物質を生産することを見出した。本菌株が植物二次代謝産物を利用して新たな生物活性物質を生産する可能性があることから、本研究では、豊富な生物活性物質を有する生薬植物を本菌株の固体培養に供し、有用な化合物の生産を目指した。

【方法・結果】センザンリュウ (植物ウチワドコロの根茎) に栄養源水溶液または水のみを添加した固体培地で本菌株の培養を行った結果、栄養源添加条件よりも栄養源非添加条件で早い生育が見られた。培養物 MeOH 抽出物の HPLC-MS 解析の結果、増加した主な化合物をウチワドコロの主要な二次代謝産物である dioscin および gracillin と同定した。さらに、dioscin および gracillin と同様のマスペクトルを示すが、保持時間が異なる化合物が新たに出現した。また、マスペクトルから dioscin や gracillin より糖が 1 残基少ない構造と推定される化合物の増加が見られた。このことから、これらの化合物は dioscin および gracillin の加水分解により生成したと考えられた。一方、減少した化合物は dioscin や gracillin に 1 残基のグルコースが結合した構造の化合物 protodioscin, pseudoprotodioscin, protogracillin, pseudoprotogracillin であると推定した。以上のことから、これらの化合物のグルコース残基の加水分解により dioscin および gracillin が生成したと考えられた。以上の成分変換は栄養源添加と非添加の両条件で確認されたが、生育が早かった栄養源非添加条件において、より短い培養日数で成分変換が進行した。

A－4 麹菌固体培養による杜仲葉二次代謝産物の微生物変換 (第2報)
○村上 響, 奥川日菜乃, 山下秀行¹, 三木翔平¹, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命, ¹樋口松之助商店)

【目的】我々は、麹菌の固体培養による植物素材の微生物変換に着目し、有用な機能性を示す素材の創生を目指した研究を行ってきた。その一連の研究において、杜仲葉を植物素材とし、4 種の産業用麹菌による製麹を試みたところ、いずれの菌株の生育も認められ、それらの MeOH 抽出物の分析から、総ポリフェノール量や抗酸化活性の変化が確認されるとともに、杜仲葉の代表的な二次代謝産物である chlorogenic acid やその加水分解物である caffeic acid の量に変化することを報告した¹⁾。杜仲葉には、chlorogenic acid 以外に、イリドイド類やフラボノール類が二次代謝産物として存在することが知られていることから、今回はそれらの化合物の微生物変換について解析した結果を報告する。

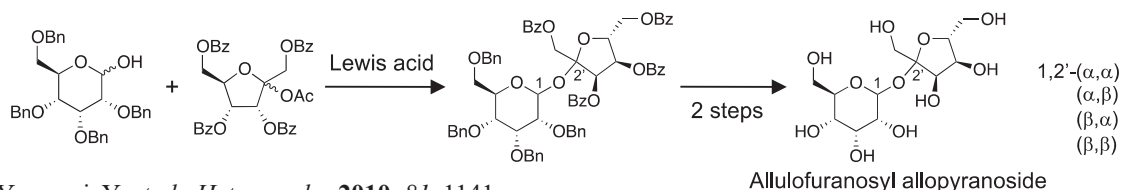
【方法・結果】蒸気処理 3 分 60°C 乾燥杜仲葉を基材とした杜仲葉麹 MeOH 抽出物の HPLC-DAD-MS 解析を進めたところ、杜仲葉麹中にイリドイド類である geniposidic acid, asperuloside, aucubin の存在を、それらの UV 吸収スペクトルとマスペクトルおよび、標品の分析結果との比較により確認し、eucommiol に関してはマスペクトルからその存在を確認した。また、フラボノール類である quercetin とその配糖体も標品の分析結果との比較により杜仲葉麹中に存在することを確認した。これらの化合物の変化量は用いた麹菌の種類により異なっており、麹菌固体培養に伴う成分変化の傾向に差異が認められた。以上のことから、麹菌の固体培養によって杜仲葉成分の微生物変換が起こり、その変換は菌株ごとに特徴的であることが明らかとなった。1) 2021 年 5 月中四国支部大会 (広島) C-9

A-5 新規希少糖誘導体 Allulofuranosyl allopypyranoside の合成

○大槻芹香, 柳田 亮¹, 花木祐輔¹, 佐藤正資¹, 杉山康憲¹, 川浪康弘¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)

【目的】自然界に微量にしか存在しない単糖である希少糖は, 様々な生物活性を有することが明らかにされている。しかし, 希少糖を含む二糖の機能性はこれまでほとんど調べられていなかった。そこで本研究では, 新規希少糖誘導体として D-allulose の C2 位と D-allose の C1 位がグリコシド結合した二糖 allulofuranosyl allopypyranoside を合成し, 生物活性評価を行うことを目的とした。

【方法・結果】二糖の合成は Yamanai らの D-allulose と D-glucose のグリコシル化¹を参考に行うことで, 4 種類全ての立体異性体を得た。グリコシル化は触媒に Sc(OTf)₃, 溶媒にジクロロメタンを用いた場合, α-D-allopyranoside が優先して生成し, TMSOTf, トルエンを用いた場合は β-D-allopyranoside が選択的に生成することが明らかになった。その後, 4 種類の異性体をカラムクロマトグラフィーにより分離し, 各種保護基を脱保護することで, allulofuranosyl allopypyranoside を得た。発表では, 得られた二糖の α-glucosidase 活性阻害試験の結果についても報告する。



[1] Yamanai, Y. *et al.*, *Heterocycles* **2010**, *81*, 1141.

A-6 Azulene 型 vibsantin 誘導体の合成と生物活性評価

○和田智貴, 柳田 亮¹, 花木祐輔¹, 川浪康弘¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)

【背景・目的】 Vibsantin 類は, レンブクソウ科ガマズミ属のサンゴジュ (*Viburnum odoratissimum*) から単離されるジテルペノイドである。そのなかで, 11 員環骨格を有する vibsantin A はプロテインキナーゼ C (PKC) 活性化能を示す。我々の研究グループでは, 11 員環 vibsantin 類の PKC 結合能および細胞増殖抑制活性を評価し, 構造活性相関研究を行ってきた。しかしながら, azulene 型[5,7]二環性骨格や 7 員環骨格を有する vibsantin 類の活性評価はほとんど行われていない。本研究では, PKC リガンドとして機能する新たな基本骨格を探索するために, 主として azulene 型 vibsantin 類の合成と活性評価を行った。

【方法・結果】 サンゴジュの葉のメタノール抽出物から河津¹⁾の手順を参考にして, vibsantin B を単離した。Vibsantin B を xylene 溶液中で加熱することで, oxy-Cope 転位反応により, 7 員環骨格の vibsantin C および vibsantin D へと変換した²⁾。さらに, メタノール溶液中での加溶媒分解および分子内アルドール縮合により, それぞれ, azulene 型の aldovibsantin B および 5,10-di-*epi*-aldovibsantin B へと変換した。合成した vibsantin の PKC 結合能とがん細胞増殖抑制活性を評価したが, いずれの化合物も顕著な活性を示さなかった。したがって, これらの骨格を PKC リガンドとして機能させるためには, 大幅な構造最適化が必要である。

1) Kawazu, K. *Agric. Biol. Chem.* **1980**, *44*, 1367-1372.

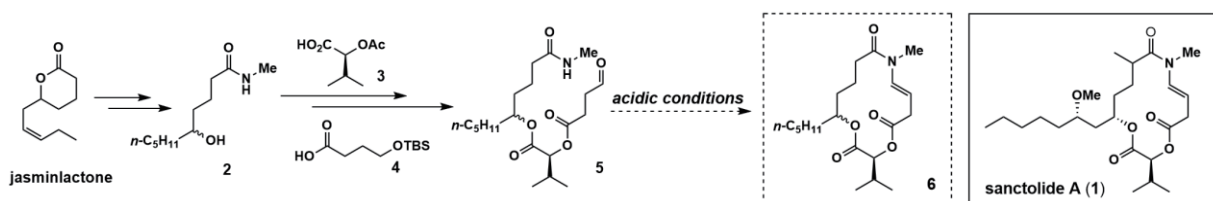
2) Fukuyama, Y., *et al.*, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1435-1438.

A-7 藍藻 *Oscillatoria sancta* 由来のマクロラクトン抗生物質 Sanctolide A のモデル合成研究

○香山健太郎, 岩崎聡美¹, 田中善将¹, 坂口 愛¹, 平田智大¹, 長尾実佳¹, 泉 実¹, 清田洋正¹ (岡山大・農,¹岡山大院・環境生命)

【目的】 Sanctolide A (**1**) は藍藻 *Oscillatoria sancta* から単離された 14 員環マクロリドであり, 抗腫瘍活性 (殺 brine shrimp, LD₅₀ = 23.5 μM) を示すことから医薬リードとして期待され^[1], Yadav らによって全合成が報告された^[2]。しかし **1** の構造活性相関は未解明であるため, 我々はその構造活性相関の解明を目的として 14 員環コア構造から成る誘導体の合成研究を行っている。

【結果】 Jasminlactone から導いたアミド **2** と, L-valine から調製したカルボン酸 **3** 及び γ-butyrolactone から得たカルボン酸 **4** との二度の縮合反応, さらに脱 TBS 化及び酸化を行ってアルデヒド **5** を合成した。**5** を酸性条件下で処理することで目的のモデル化合物 **6** が得られると考えている。



[1] H. S. Kang *et al.*, *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 3563.

[2] J. S. Yadav *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 26, 5856.

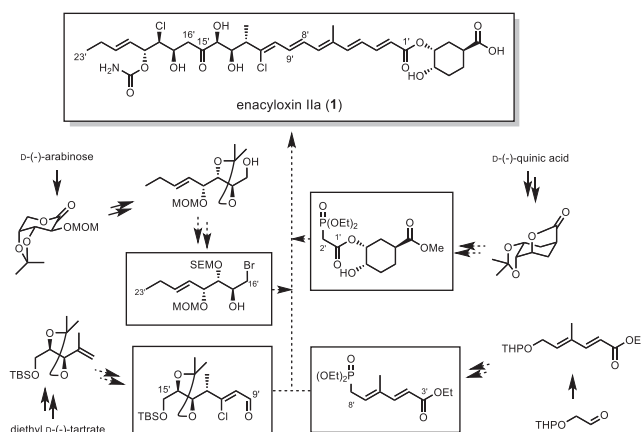
A-8 抗生物質 Enacyloxin 類の合成研究

○三木由崇, 梁 吟, 芦田直樹, 泉 実, 清田洋正 (岡山大院・環境生命)

【目的】 Enacyloxin IIa (ENX IIa) は, アカパンカビ上清で培養した *Frateriura* sp. W-315 株より単離された鎖状のポリエーテル系抗生物質である。グラム陽性, 陰性の両細菌に対し幅広い抗菌スペクトルを示す一方で, ヒトと類似した細胞構造を持つ真菌に対しては細胞毒性が低いことから¹⁾, 選択的な抗菌薬のリード化合物として期待される。我々は, 新薬リード開発を視野に入れた全合成研究および立体化学の確認を目指し研究を行っている。

【結果】 C16'-23'部において, D-アラビノースからラクトンへ導き, 続く Wittig-Horner 反応により *E* 選択的にオレフィンを合成した。C9'-15'部については, D-酒石酸ジエチルを原料としエキソオレフィンを得た。シクロヘキサン部, C3'-8'部の調製も進めている。最終的に各フラグメントを結合し, ENX IIa を合成する計画である。

1) T. Watanabe *et al.*, *Agric. Biol. Chem.* **54**, 259 (1990); R. Oyama *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **58**, 1914. (1994).



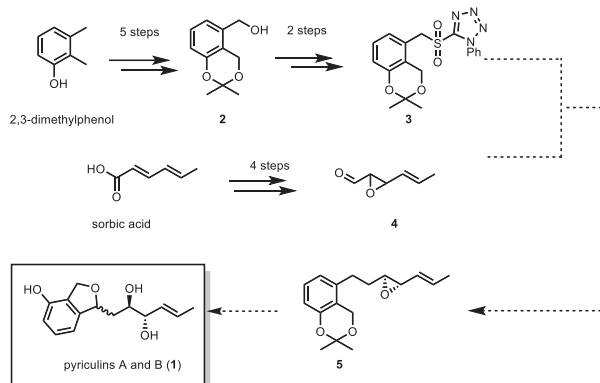
A-9 サリチルアルデヒド型イネいもち病菌毒素類の合成研究
 ○温皓然, 王子依, 平岡諒也, 泉 実, 清田洋正 (岡山大院・環境生命)

【目的】Pyriculins A 及び B は, 北アメリカに分布する *Cenchrus ciliaris* の葉面病原体である *Pyricularia grisea* から単離された化合物であり, 植物細胞における毒性を示すことから, 新規農薬のリード化合物として期待されている^[1]。当研究室では, イネいもち病原菌から単離された植物毒素 pyriculariol 類の全合成研究を行っており, pyriculariol 類の合成中間体から pyriculins A 及び B を合成する計画を立てた。

【結果】PT-スルホン **3** は, 2,3-dimethylphenol を出発物質とし, NBS でメチル基末端に臭素を導入後, アセトキシ基へ変換, 加水分解を経て, アリールアルコール **2** とした。**2** に対し, 光延反応-酸化を行うことで **3** を調製した。

側鎖部分は, sorbic acid を原料として 4 工程でエポキシアルデヒド **4** とした。得られた PT-スルホン **3** と側鎖部の Julia-Kocienski オレフィン化を検討している。最終的にアリルエポキシド **5** の官能基変換を行うことで pyriculins A 及び B を合成する。

[1] M. Masi *et al.*, Wiley Periodicals, Inc. **2017**, 29, 726.



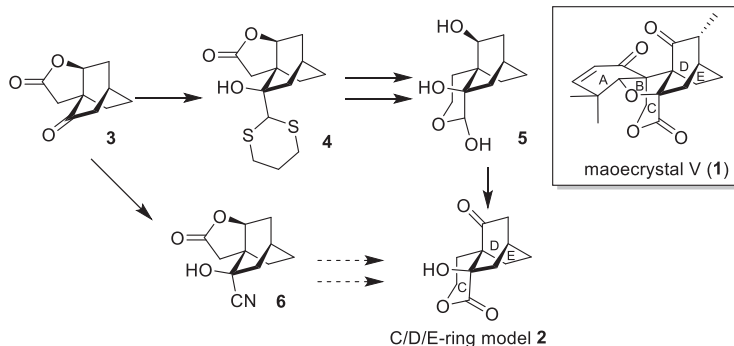
A-10 ハーブ *Isodon eriocalyx* から単離された Maoecrystal V の CDE 環モデル合成
 ○浦 達哉, 石本泰輝¹, 西本光希, 片山峻樹, 井田浩介, 泉 実, 清田洋正
 (岡山大院・環境生命, ¹岡山大・農)

【目的】Maoecrystal V (**1**) は, 中国産ハーブ *Isodon eriocalyx* より単離された, 五環性骨格を有する化合物である¹⁾。新規な薬剤リードとして期待されることから, これまで多くの全合成・部分合成研究が報告されてきた²⁾。我々は, **1** の CDE 環モデル **2** の合成に成功したので報告する。

【結果】シクロヘキセノンから 4 工程で DE 環に相当する **3** を用い, 初めに C 環形成に必要な C1 単位としてジチアン基を付加した **4** を合成した。ラクトン環の還元的開環に続くジチアン部分酸化脱保護により, ヘミアセタール **5** を得た。最後にヒドロキシ基を酸化して目的のラクトン **2** を合成した。

一方, **3** からシアノヒドリン **6** を合成し, 同様な開環に続くラクトン化を経た **2** の合成を検討中である。

1) S. H. Li *et al.*, *Org Lett.* **2004**, 6, 4327. 2) Smith, B. R. and Njardarson, J. T. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, 16, 4210.



B-1 海藻に含まれる単糖の定量分析

田村純一, 北井悠仁, 小林大洋, 西 祐紀, ○服部 怜, 横井翔希, 一柳 剛
(鳥取大・農)

【目的】オキナワモズクは、硫酸化多糖であるフコイダンを多く含む重要な資源植物である。フコイダンは、そのガン抑制作用などの多彩な生理活性が近年注目されており、医薬品や機能性食品として需要が高まっている。一方、フコイダンの構成糖であるフコースについても機能解明が進められているものの、資源生物の情報は十分ではない。本研究では、オキナワモズク以外の種々の海藻について、含有する糖成分を定量的に分析し、未利用海藻のフコースなどの糖資源としての可能性を検討した。

【方法・結果】山陰地方の海岸に自生する種々の海藻を採取した。これらを酸性溶液中で加熱し、溶出する成分を回収した。以後の分離と解析を容易にするために、回収乾燥物をピリジノー無水酢酸中でアセチル化し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーやゲル濾過カラムによって分離精製した。NMR 等による解析の結果、海藻の種によって含有する糖の種類の違いや含有量の多寡はあるものの、フコースを含有する海藻を見出すことができ、その含有量を求めることができた。また、同じ系統として生物分類される海藻でも、含有する糖の種類が全く異なる場合があり興味深い。以上の結果は、未利用海藻の産業利用における資源生物の選択に貴重な情報を与えると考えられる。

B-2 モノパルミトイルアスコルビン酸誘導体の特性

○結城琴絵, 田井章博¹ (徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)

【目的】当研究室では、6-*O*-palmitoyl-2-*O*- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid (6-Palm-AA-2G) 自身が、*in vitro* において強い脱顆粒抑制作用を示し、マウスへの経皮投与により抗アレルギー作用を示すことを報告している。そのため、抗アレルギー薬としての利用が期待される。また、6-Palm-AA-2G とアシル基の炭素数の異なる 6-*O*-dodecanoyl-2-*O*- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid (6-Dode-AA-2G) は、緩衝液中でアシル基の転位が約 10% 生じると報告されている。本研究では、6-Palm-AA-2G について安定性を評価し、モノパルミトイルアスコルビン酸誘導体の特性を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】6-Palm-AA-2G において、pH 7.0 のリン酸緩衝液中、37°C、7 日間の安定性を HPLC 分析により評価した。その結果、1 日後において 6-Palm-AA-2G の転位体と考えられるピークが約 5% 生じ、3 日まで微増した後、プラトーに達した。6-Palm-AA-2G は、経時的にゆっくりと加水分解され、7 日後には約 5% 加水分解されていた。次に、6-Palm-AA-2G の転位体と考えられる物質を単離・精製し、NMR と MS の解析によって、5-*O*-palmitoyl-2-*O*- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid (5-Palm-AA-2G) と同定した。また、ラット好塩基性白血病 (RBL-2H3) 細胞を用いて、5-Palm-AA-2G と 6-Palm-AA-2G の脱顆粒抑制作用を評価した。その結果、5-Palm-AA-2G、6-Palm-AA-2G とともに同様な脱顆粒抑制作用を示した。以上のことから、6-Palm-AA-2G は、緩衝液中で約 5% の 5-Palm-AA-2G を生じるが、脱顆粒抑制作用へ影響を及ぼさないことが明らかとなった。

B-3 *Zanthoxylum Zanthoxyloides* の根 MeOH 抽出物が示す 3T3-L1 前駆脂肪細胞に対する脂肪蓄積抑制活性の解明

○小林稔季, 松本 大, 南川遥妃, 柏木丈弘, Tohmas Buxton, 島村智子
(高知大・農)

【目的】近年の肥満人口の急増により, 代謝異常を伴う生活習慣病が世界的に問題となっている。食生活の改善や運動不足の解消による肥満の予防・治療に加え, 代謝異常を緩和・改善する天然由来の生理活性物質に期待が寄せられている。当研究室ではミカン科サンショウ属の *Zanthoxylum Zanthoxyloides* の根 (ZZR) MeOH 抽出物が, 3T3-L1 前駆脂肪細胞の脂肪蓄積量を著しく低下させることを見出した。そこで本研究では, その脂肪蓄積抑制成分の同定を試みた。

【方法】12 穴プレートに播種した 3T3-L1 前駆脂肪細胞に分化誘導及び脂肪蓄積を行う際に, 終濃度 3.0 mg eq./mL でサンプルを添加した。分化誘導開始から 6 日後に細胞破碎液中のトリグリセリド (TG) 蓄積量及びタンパク質量を測定した。脂肪蓄積抑制活性は, タンパク質量あたりの TG 量に換算し Control の TG 蓄積量の比を阻害率 (%) として評価した。

【結果】ZZR MeOH 抽出物 Et₂O 層 (阻害率: 81.8%) を, Sep-PakC₁₈ カートリッジを用いて 3 画分に分画し, 脂肪蓄積抑制活性を評価した。その結果, 50% MeOH/H₂O 溶出部と 100% MeOH 溶出部を混合することで, Et₂O 層と同等の活性が再現された。逆相系 HPLC により 50% MeOH/H₂O 溶出部を fr. 1~fr. 5 に分画し, 100% MeOH 溶出部と組み合わせ脂肪蓄積抑制活性を測定した結果, fr. 4 が比較的高い活性 (65.0%) を示した。そこで, fr. 4 に含まれる単一の化合物を NMR に供し構造解析を行った結果, 50% MeOH/H₂O 溶出部の主要な活性成分は Fagaramide であると同定された。

B-4 高脂肪誘導性肥満マウスにおいて 8-プレニルナリンゲニンが及ぼす代謝変化

○小西冴季, 竹上菜緒, 志内哲也¹, 向井理恵
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大院・医歯薬学)

【目的】

骨格筋量維持と増進は全身の健康状態を左右するが, 骨格筋は加齢や廃用性筋萎縮との合併により量や機能が低下する。骨格筋量とその機能維持は肥満などの生活習慣病リスクを低下させる。これらの背景から, 我々は骨格筋量の維持に貢献する食品機能性研究を展開してきた。そのなかでビールの原料であるホップの含まれるフラボノイド, 8-プレニルナリンゲニン (8-PN) が有効であることつきとめた。8-PN が骨格筋量の維持に貢献するのであれば, 肥満を抑制しうると着想を得た。

【方法・結果】

高脂肪食誘導性肥満モデル実験を行った。雄性 C57BL/6N マウス (7 週齢) にラードを 30%配合した高脂肪食 (AIN93M 改変) を Pair-Fed で与えた。8-PN の混合割合は 2 種類設定した。飼育期間中の体重変化では, 8-PN によって抑制される傾向にあった。酸素摂取量 (VO₂/W) の測定結果では, 高脂肪食群だけでなく, 通常食群においても 8-PN による上昇が認められた。同じ試験における運動量 8-PN による変動が認められなかったことから, 8-PN は安静時の代謝亢進作用があることが明らかとなった。各種骨格筋, 視床下部, 肝臓において脂質代謝や炎症等に関連する遺伝子の発現量をリアルタイム PCR で解析した。骨格筋においてはヒラメ筋で 8-PN による変動傾向が認められた。視床下部においては, 8-PN によって炎症性サイトカインが抑制される傾向があった。

B-5 シシトウに含まれるフラボノイドの解析 ○松本直也, 柏木丈弘, 島村智子 (高知大・農)

【背景】高知県では温暖・多照な気候を生かし、シシトウの周年栽培が行われており、その出荷量は全国1位を誇っている。シシトウは高知県の重要な地域資源と言えるが、成分や機能性に関する研究例は乏しい。そこで本研究では、高付加価値化に資する科学的根拠を見出すことを目的とし、シシトウ中のフラボノイド類の品種間差違、季節変動に関する詳細な分析を実施した。

【方法】産地、品種 (葵, 土佐じしスリム, 非辛味系統, 甘とう美人, ねごろ大唐, 万願寺甘とう), 収穫時期が異なるシシトウ計31種を分析試料とした。可食部10gを80% MeOHで抽出後、減圧濃縮し、最終的に40% MeOHにて生鮮物重1 g/mLに調製したものを分析に供した。フラボノイド類(15種)の分析はLC-MS/MS(X500R QTOF, SCIEX製)にて行い、カラムにはInertSustain™ C18 HP(3 μm, 2.1 i.d. × 100 mm), 移動相には0.1% ギ酸水溶液と0.1% ギ酸を含むMeOHを用いた。

【結果・考察】フラボノイド組成を比較した場合、土佐じしスリム, 非辛味系統, 甘とう美人, ねごろ大唐, 万願寺甘とうではquercitrinの割合が高い傾向にあった。一方、葵にはquercitrinがほとんど含まれていなかった。また、高知県外産(茨城県産, 岡山県産, 兵庫県産)のシシトウではhyperosideの割合が高い傾向にあった。上記の結果から、シシトウのフラボノイド組成は品種, あるいは産地によって異なることが判明した。また、5月, 6月, 10月に収穫した葵のフラボノイド組成を比較したところ、10月にのみhyperosideが認められた。現在、栽培環境とフラボノイド組成との関連に着目し解析を進めている。

B-6 抗糖化活性に対するフラボノイドの構造活性相関 ○岩岡裕二, 平口絢媛, 伊東秀之 (岡山県大・保健福祉)

【目的】野菜や果物などの食品に含まれるフラボノイドは抗酸化活性, 抗腫瘍活性, 抗炎症活性など多様な生物活性を有する。また、フラボノイドは種々の疾病に関与する終末糖化産物(Advanced glycation end products: AGEs)の生成を阻害する抗糖化活性を有することが報告されているが、活性の詳細は未解明な部分が多い。本研究では、抗糖化活性に対するフラボノイドの構造活性相関を明らかにするため、AGEsの生成阻害試験およびAGEs前駆体の分解活性試験を行い、それらの活性を比較した。

【方法・結果】AGEsの生成阻害試験の結果から、①分子内に少なくとも1つ以上の水酸基を有すること, ②C環3位に水酸基を有すること, ③B環がカテコール構造であること, ④A環5位に水酸基を持たないことが活性の発揮に必要であると分かった。A環5位に水酸基を持たないRobinetinが顕著に高い活性を示したことから、特に④が阻害活性に大きく影響を与えることが示唆された。また、AGEs前駆体の分解活性試験の結果、B環に結合した2もしくは3分子の水酸基がオルト位の関係にあることが活性の発揮において必要であり、特にB環にピロガロール構造を有するMyricetin, Robinetinが顕著な切断活性を示した。

以上の結果から、2つの異なる抗糖化試験法においてフラボノイドがそれぞれ異なる構造活性相関を示すことを明らかにした。今後、更にフラボノイドの抗糖化活性に必要な化学構造を明らかにするため、より多くのフラボノイドの抗糖化活性評価を行う予定である。

B－7 UPLC を用いたかつお節由来機能性ペプチドの測定方法の確立
○関 英治, 山根拓也¹ (ヤマキ (株), ¹ 阪大院・生物学)

【目的】

かつお節由来機能性ペプチドおよび鰹だしには DPPIV 阻害作用があり, OGTT 法を用いて各パラメータとの相関を認め, 食後血糖値上昇抑制効果の作用機序を明らかにしている。本実験においてさらにペプチド中に含まれる主な機能性ペプチドを質量と DPPIV 阻害活性値およびヒト摂取量から算出し, 関与成分として妥当性を調べた。

【方法・結果】

機能性ペプチド 18 種類を UPLC 法を用いて単離・同定した。主要な成分 Trp-Val, Ala-Trp の定量と DPPIV 阻害活性値は, Trp-Val (IC₅₀ 値) 36.99 (μM) 15.24 量(mg/100 g), また Ala-Trp (IC₅₀ 値) 312.07 (μM) 70.05 量(mg/100 g)が得られ, Trp-Val および Ala-Trp の分析方法による DPPIV 阻害活性 (IC₅₀ 値), 定量値の高い再現性が認められた。

【考察】

一回のカートリッジ (Sep-Pak C18) の前処理により, 後一回の UPLC によって, 簡易に値が得ることが分かった。Waters 社との共同研究により, 本サンプルの, 質量分析, カートリッジ処理, UPLC 分析の組み合わせ操作を行った。

B－8 梅酒は Aβ42 のアミロイド線維形成を抑制し, 不溶化凝集へと導く
○石丸隆行, 真野純一¹, 松井健二¹ (宇部フコ短大・食物栄養, ¹ 山口大・農)

【目的】認知症の一種であるアルツハイマー病は Aβ と呼ばれるペプチドがアミロイド線維という線維状構造を形成し, 脳に蓄積し, 神経細胞を破壊することで引き起こされる。現在までに植物等から Aβ ペプチドのアミロイド線維形成を抑制する物質が多数発見されている。本研究では酒類に注目した。少量ないし中程度の飲酒は認知症のリスクを低減させると報告されている。また, ワインに含まれるポリフェノール, ビール中のホップ苦味酸に認知症予防効果があることが報告されている。そこで他の酒類にも認知症予防効果があるのかを調べるため, 酒類に含まれるアミロイド線維形成抑制物質の探索を行った。

【結果・考察】Aβ42 を使用し, 日本酒及び梅酒を用いて線維形成実験を行った。結果, 日本酒ではアミロイド線維形成抑制能がみられなかったが, 梅酒を添加するとアミロイド線維形成を抑制したが, アモルファスな不溶化がみられた。梅酒のどの成分が不溶化に関与しているのかを逆相 HPLC にて調べた。ポリフェノールの一種で, 梅酒に含まれており, アミロイド線維形成抑制が報告されているクロロゲン酸, フェルラ酸, trans-p-クマル酸に焦点をあて, Aβ42 が不溶化するか調べた。結果, この 3 種のポリフェノールではなかった。不溶化を引き起こす成分を同定するため, 逆相 HPLC を用いてフラクション分割, 分取し, アミロイド線維形成抑制能をみたところ, 初めのフラクションに含まれる成分がアミロイド線維形成を抑制し, 不溶化凝集へと導くことが明らかになった。

B－9 黒糖の発酵における発酵助成剤及び麴の役割について
○田坂早紀^{1,2}, 向井伸彦², 長船行雄², 磯谷敦子^{2,3}
(¹広島大・工, ²酒総研, ³広島大院・総合生命)

【目的】 黒糖焼酎の製造では、伝統的に原料として黒糖及び米麴が使用されている。また近年、黒糖を原料として発酵・蒸留したラムが国内各地で製造されるようになってきた。そこで、黒糖の発酵における発酵助成剤及び麴の役割を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】 原料黒糖として沖縄県産粉状黒糖を、発酵助成剤（窒素源）として硫酸アンモニウム（硫安）及びリン酸水素二アンモニウム（DAP）を、麴として麴エキスを及び乾燥焼酎麴（米麴）を、酵母は鹿児島2号酵母を使用した。

黒糖溶液（エキス分 15%）の発酵試験において、窒素源添加無しに比べ、窒素源（硫安, DAP）を黒糖重量に対して 0.25%以上添加したところ、添加量に応じてアルコール分の生成が促進された。次に、黒糖溶液（エキス分 15%）と麴エキス（エキス 15%）を様々な割合で混合して発酵させた。黒糖溶液単独及び麴エキス単独の場合アルコール分は 6 %程度と低かったが、麴エキス割合 10～40%ではアルコール分が 7 %以上となった。さらに、黒糖焼酎の仕込み配合を参考に 1 次仕込み（麴米, 5 日間）、2 次仕込み（黒糖, 9 日間）の発酵試験を実施したところ、アルコール分の生成は、窒素源（硫安, DAP）の添加の有無にかかわらず同程度であったことから、窒素源は十分量存在していることがわかった。

以上より、黒糖を原料とする発酵では不足する窒素源を補う必要があり、黒糖焼酎もろみの発酵における麴の役割として、窒素源を供給し発酵を促進する役割を果たしていることが明らかとなった。

B－10 温度変化とせん断応力の同時印加がココアバター結晶化に及ぼす影響
○山田菜月, 小泉晴比古, 上野 聡（広島大院・統合生命）

【目的】 ココアバター（CB）はチョコレートの主成分であり、I 型から VI 型の 6 つの結晶多形をもつ。その中でも密度・融点の観点で V 型が最適な多形とされており、製造工程ではテンパリング（調温操作）とせん断応力によって V 型で結晶化させている。CB の結晶化に及ぼすせん断応力の影響について、V 型の結晶化を促進することはこれまでの研究により明らかにされているがその機構は不明のままである。また、CB 単体ではなく砂糖などの固形粒子を添加した製品により近い系の結晶化挙動を経時的に観察した研究は行われていない。そこで本研究では、テンパリングとせん断応力の同時印加が CB の結晶化に及ぼす影響を経時的に明らかにするとともに、固形粒子を添加した系での結晶化機構の解明を目的とした。

【方法・結果】 CB および CB に固形粒子（カカオマス・砂糖）をそれぞれまたは両方添加した試料を使用した。45℃で 15 分保持した後 15℃で 10 分冷却した。その後 CB では 26,28,30℃, 固形粒子の添加試料では 28℃で 20 分保持し再び 15℃に冷却した。各試料で 0rpm と 300 rpm の 2 条件でせん断を印加した。高エネルギー加速器研究機構にて放射光 X 線回折測定（SR-XRD）を行い、SR-XRD と同時に試料の温度履歴を測定した。また、これらの試料を研究室にて示差走査熱量測定を行った。

SR-XRD より、0 rpm では II 型で結晶化したが、300 rpm では一次冷却過程において II 型から V 型への多形転移が確認された。また、固形粒子を添加した場合、V 型の出現時間が早くなった。以上のことから、せん断応力の印加と固形粒子の添加がそれぞれ V 型への多形転移を促進することが明らかになった。

C-1 グラナチン B によるミクロソーム型プロスタグランジン E 合成酵素-1 の発現抑制と大腸炎組織修復効果

○坂口陽香¹, 上山真依¹, 津嘉山泉¹, 戸田圭祐¹, 鴻池優佳^{1,2}, 伊東秀之¹, 山本登志子¹ (¹岡山県大・保健福祉, ²福山大・生命工学)

【目的】誘導型のミクロソーム型プロスタグランジン E 合成酵素-1(mPGES-1)は, 様々な病態の惹起や増悪に働く PGE₂ の過剰産生に関わる酵素である。炎症組織において, 持続的な mPGES-1 の発現や PGE₂ の過剰産生は, 急性炎症だけでなく慢性炎症とそれに続く種々の慢性疾患を招く。私達は, 慢性炎症の予防や改善を目指して, mPGES-1 を標的とした食品機能性成分の探索を行っている。その中で, ギャロウ由来エラジタンニンの Granatin B と構造類似体で生薬成分である Geraniin に, mPGES-1 発現抑制効果を見出した。

【方法・結果】マウス炎症モデル細胞として, LPS 誘導マウスマクロファージ様 RAW264 細胞に, Granatin B を添加したところ, mPGES-1 の mRNA 発現を濃度依存的に抑制し, その EC₅₀ は 1.89 μ M であった。また, 炎症性サイトカインの IL-1 β や IL-6 の mRNA 発現も抑制し, 抗炎症効果が示唆された。次に, 7 日間のデキストラン硫酸ナトリウム塩投与で誘導したマウス大腸炎モデルへ, Granatin B を腹腔内投与した際の効果を検証した。その結果, 2.0 nmol/day の 7 日間投与で, 大腸組織での mPGES-1 の mRNA 発現を正常マウスと同程度まで抑制し, 炎症性サイトカインの IL-1 β , IL-6, TNF α の mRNA 発現も有意に抑制した。さらに, 大腸の蛍光免疫二重染色の結果から, 大腸病変部で強く発現する mPGES-1 の陽性反応は, Granatin B の投与で著しく減弱した。大腸炎では, 大腸粘膜固有層が退縮し, 組織構造の乱れや腸陰窩の消失が観察されたが, Granatin B の投与によって, これらの組織障害の修復が認められた。

C-2 フラボノイド 5,7-Dihydroxyflavone は破骨細胞分化を抑制する

○中田晶大, 西脇 寿¹, 西 甲介¹, 菅原卓也¹, 今井祐記²
(愛媛大院・医, ¹愛媛大院・農, ²愛媛大・プロテオセ)

【目的】フラボノイドは C6-C3-C6 骨格を持つ植物二次代謝物の総称である。近年, フラボノイドはその置換基の違いにより様々な生理活性を有することが報告されており, 機能性食品としての活用も期待されている。本研究では超高齢社会における我が国の課題の 1 つである骨粗鬆症の予防・改善を目的として, 骨粗鬆症の原因となる骨吸収の亢進に寄与する破骨細胞の分化を抑制する作用を持つフラボノイドを探索し, その作用機序の解明を行った。

【方法】マウスマクロファージ様細胞株 RAW264 細胞に, 破骨細胞への分化誘導因子である receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) を作用させることで分化誘導を行った。分化誘導期間中, 培地に様々なフラボノイドを添加し, 分化抑制作用を解析した。RT-qPCR により破骨細胞の分化マーカーの遺伝子発現の変化を, Western blotting により RANKL 経路におけるシグナル伝達因子を解析した。

【結果】15 種類のフラボノイドによるスクリーニングの結果, 5,7-dihydroxyflavon (Chrysin) に顕著な破骨細胞分化抑制活性を認めた。RT-qPCR の結果より, Chrysin を作用させた細胞では破骨細胞分化マーカーの 1 つである Dc-stamp の遺伝子発現が有意に抑制された。Western blotting により Dc-stamp 発現誘導を担う転写因子の 1 つである CREB について解析したところ, Chrysin 投与により CREB のリン酸化が顕著に抑制された。Dc-stamp は細胞同士の融合に必要な因子の 1 つとして知られており, Chrysin は破骨細胞分化のプロセスにおける細胞融合を阻害することで分化抑制活性を示す可能性が示唆された。

C-3 トウガラシ属における機能性成分の探索

○白石怜香, 佐々木 漠¹, 森 大地¹, 柏木丈弘¹, 島村智子¹, 富 裕孝
(高知大・土佐 FBC, ¹高知大・農)

【背景及び目的】年間日照量や降水量が多い高知県で栽培された農作物は、高い抗酸化活性の発現が期待できる。本研究では、線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いて数十種類の高知県産作物の機能性スクリーニングを行い、その中で老化抑制活性、熱ストレス耐性、酸化ストレス耐性といった高い機能性が認められたシシトウ及びその類縁種における機能性成分の探索を行った。

【方法及び結果】高知県産農作物は、乾燥後に粉碎し、熱抽出したものを試料とし、線虫における老化抑制活性を測定してスクリーニングを行った。活性が認められたいくつかの試料のうち、シシトウについて、線虫における熱耐性及び酸化物質耐性の測定を行い、両耐性の増加を確認した。シシトウ抽出液が線虫の遺伝子発現に与える影響を調査するため、トランスクリプトーム解析に供したところ、グルタチオン関連遺伝子の増加が確認された。ヒト細胞に対して、シシトウ抽出液を最終濃度 5%になるよう調整した培養液で培養したヒト正常線維芽細胞の培養上清をメタボローム解析に供したところ、還元型グルタチオン (GSH) の増加が認められた。GSH 増加に関与しているシシトウ由来成分を調べるため、シシトウに含まれるフラボノイド及びその配糖体から 4 成分を選出してヒト正常線維芽細胞に添加し、得られた細胞上清について GSH 測定を行ったところ、ルテオリン配糖体を添加した細胞上清において GSH の顕著な増加が確認された。この結果を踏まえ、現在、産地及び品種が異なるシシトウ及びその類縁種におけるルテオリン配糖体の定量を HPLC 分析により行っている。

C-4 鳴門産スジアオノリ (*Ulva prolifera*) の志賀毒素吸着活性

山崎義輝, 山下晶央, 佐々木千鶴, 林 順司, 川上竜巳, ○金丸 芳
(徳島大・生物資源)

[緒言] 志賀毒素 (Stx1・Stx2) 産生性の腸管出血性大腸菌 (*Enterohemorrhagic Escherichia coli* ; EHEC) O157:H7 は HUS などの重篤な症状を引き起こす。そこで症状軽減を目指し、食品成分によって Stx を吸着して細胞内への Stx 侵入を防ぐことを検討している。9 月支部大会にて、アラメのフコイダンに Stx 吸着活性があることを報告した。今回、徳島県産海藻 3 種について Stx 吸着活性を検討した。

[方法] 鳴門産スジアオノリ (*Ulva prolifera*)、海部産ヒジキ (*Sargassum fusiforme*)、鳴門産ミリンソウ (*Agardhiella subulata*) から 5% 海藻熱水抽出液 (HWE) を調整し、Stx 吸着活性をみた。Stx は VTEC-RPLA で測定した。スジアオノリ HWE の活性成分は 80% EtOH 沈殿、DEAE-650M 分画により得、糖組成、硫酸基量、分子質量をみた。Stx の CACO-2 細胞への毒性に対して、吸着による毒性軽減も検討した。

[結果] 3 種の 5% 海藻 HWE と Stx1, 2 (256 ng/mL) を等量混和し吸着能を見た。スジアオノリは Stx1 を 94%, Stx2 を 100% 吸着し、最も顕著な吸着活性を示した。次いでヒジキが Stx1 を 100%, Stx2 を 75% 吸着し活性を示した。スジアオノリの活性成分は、糖組成は Rhamnose, Xylose, Glucose, Glucuronic acid, 硫酸基含有量は 0.53%, 分子質量は 920~1800 kDa であり、ラムナン硫酸と示唆された。スジアオノリ由来ラムナン硫酸 (UpR) 1 mg は Stx1 (256 ng) を 99%, Stx2 (256 ng) を 98% 吸着し顕著な活性を示した。Stx1 (512 pg) は CACO-2 (1000 cells) の生存率を 51% に低下させるが、UpR (4 µg) と Stx1 が吸着することにより、生存率は 76% に留まり、吸着による毒性軽減が示唆された。

C-5 食用昆虫としてのトノサマバッタの食品機能性の研究

○岡本翔太¹, 高橋有志^{1,2}, 井内良仁³

(¹山口大院・創成科学, ²日本食品分析センター, ³山口大・農)

【目的】トノサマバッタ (*Locusta migratoria*) は日本全土, アフリカ, アジア大陸に分布しており, 食用としてなじみ深いイナゴの仲間ということもあり食糧として親しまれている。先行研究により私たちは, マウスへの食餌実験によるトノサマバッタの脂肪蓄積抑制効果, メタボリックシンドロームの改善を発見している。加えて, トノサマバッタの糞茶には細胞における脂肪蓄積抑制効果があることを発見している。本研究の目的は, トノサマバッタの細胞への影響と細胞における脂肪蓄積抑制効果, 及びその作用機序を評価することである。

【方法・結果】はじめに 3T3-L1 細胞を用いて脂肪蓄積抑制効果を評価した。結果はトノサマバッタ非加熱抽出液, 加熱抽出液両方で脂肪滴生成の抑制がみられた。続いて HepG2 細胞を用いた脂肪蓄積抑制効果を評価した。HepG2 細胞は脂肪酸を BSA (Bovine serum albumin, ウシ血清アルブミン) と同時に添加することで脂肪滴を生成する。OA/BSA 混合液とトノサマバッタ抽出液を同時に細胞に添加した。結果は非加熱のトノサマバッタ抽出液で脂肪蓄積抑制を示した。また, トノサマバッタ抽出液が Sirt1 タンパク質の発現に関わるかを Western Blotting で評価した。Sirt1 は抗酸化酵素を増加させることで細胞内酸化ストレスを低下させることが知られている。結果は, 非加熱のトノサマバッタ抽出液で時間経過に比例した Sirt1 タンパク質の上昇傾向がみられた。以上の研究より, トノサマバッタの脂質蓄積抑制が示唆された。

C-6 ケルセチングルクロン酸抱合体は位置異性体によって抗酸化活性が異なる

○大久保礼子, 光實利貴人, 生城真一¹, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督,
中村俊之 (岡山大院・環境生命, ¹富山県大・工)

【目的】ケルセチンは, 健康増進や疾病予防効果が期待されているフラボノール型フラボノイドである。ケルセチンは野菜や果物中では配糖体として存在しているが, 摂取したケルセチン配糖体は小腸からの吸収過程においてグルクロン酸抱合体, 硫酸抱合体, およびそれらのメチル化抱合体 (イソラムネチン抱合体) へと代謝されるため, 生体内では代謝物として存在している。これまでにケルセチンアグリコンの有効性は数多く報告されているが, その代謝物の機能性に関する報告は極めて少ない。そこで本研究では, 各代謝物の中から, ケルセチングルクロン酸抱合体 (QGA) およびイソラムネチングルクロン酸抱合体 (IRGA) に注目し, これらの抗酸化活性の評価を行った。

【方法・結果】アグリコンのケルセチンおよびイソラムネチンに加えて, 4 種の QGA および 3 種の IRGA の抗酸化活性を DPPH ラジカル消去活性評価法を用いて調べた。その結果, グルクロン酸抱合をうける OH 基の位置 (7, 3, 3', 4'位) の違いによって抗酸化活性に違いが見られ, 中でも 4'-グルクロン酸抱合体は DPPH ラジカル消去活性を顕著に低下していた。次に, マウス肝がん細胞株 Hepa1c1c7 に上記の化合物をそれぞれ処理し, 第二相薬物代謝酵素のひとつであるヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) の mRNA 発現を RT-PCR 法により評価したところ, 一部の QGA 処理は HO-1 遺伝子発現を有意に上昇させた。現在, ケルセチン代謝物による HO-1 遺伝子発現誘導に関与する因子の評価を進めている。

C-7 γ -tocopherol 代謝物は heme oxygenase-1 の発現を誘導する
○青山翔祐, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之
(岡山大院・環境生命)

【目的】 ビタミンEの一種である γ -トコフェロール (γ -T) は植物油に多く含まれ, 食事からの摂取量が比較的多いものの, ビタミンEとしての活性が低いため, 栄養素以外の機能性に注目が集まっている。 γ -Tは摂取後肝臓において ω 酸化に続く β 酸化により速やかに代謝され, 生体内では γ -カルボキシエチルヒドロキシクロマン (γ -CEHC) として多く存在する。 γ -CEHCはラジカル消去活性やナトリウム利尿ホルモン様作用を持つことがこれまでに報告されているが, 研究例は非常に限られており, その機能性は十分に理解されていない。そこで本研究では, γ -CEHCの抗酸化活性について γ -Tと比較しながら調査を行った。

【方法・結果】 マウス肝がん由来 Hepalclc7 細胞を用い, γ -T および γ -CEHC の細胞毒性を MTT assay により調査した。その結果, どちらも 100 μ M まで細胞毒性を示さなかった。次に, これらの過酸化水素に対する細胞保護作用を調査したところ, どちらも過酸化水素が誘導する細胞死を有意に抑制した。さらに, これら化合物が第二相薬物代謝酵素である heme oxygenase-1 (HO-1) の遺伝子発現およびタンパク質発現に及ぼす影響を評価したところ, γ -CEHC は濃度依存的に HO-1 の遺伝子発現およびタンパク質発現を有意に上昇させ, その濃度依存性は γ -T と同様であった。これらの結果から, γ -CEHC は直接的なラジカル消去作用に加え, 抗酸化酵素を誘導することで, 親化合物と同等の細胞保護作用を示すことが示唆された。現在, HO-1 の発現に関与する上流分子の評価を行っている。

C-8 クロロゲン酸とカフェ酸のアセトアルデヒドに対する細胞保護効果
○石倉亜季, 中村俊之, 佐藤あやの¹, 宗正晋太郎, 村田芳之, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大院・統合科学)

飲酒により摂取したエタノールは, 吸収された後に肝臓でアルコールデヒドロゲナーゼによりアセトアルデヒド (AA) に代謝され, さらにアルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) により酢酸へと変換されることで無毒化される。東アジア人系人種の約半数は不活性型あるいは失活型の *ALDH2* 遺伝子型を有しているため, AA が十分に代謝されず生体内に蓄積しやすい。この過剰な AA 蓄積は顔面紅潮や頭痛といったフラッシング反応の原因となるが, 食品成分により ALDH 活性を増強できればこの症状緩和に貢献できる。そこで本研究は, 生薬の枸杞子に含まれるクロロゲン酸 (CGA) に注目し, CGA およびその代謝物であるカフェ酸 (CA) が AA 誘導細胞死に及ぼす影響とその作用機構を調査した。

【方法・結果】 ヒト肝がん細胞株 HepG2 に CGA および CA を 24 時間処理した後に, AA を 3 時間曝露し, これらが細胞生存率に及ぼす影響を MTT アッセイにより評価した。その結果, CGA と CA は共に AA 誘導細胞死を有意に抑制した。次に, CGA および CA 処理による総 ALDH 活性への影響を調査したところ, CGA と CA は共に ALDH 活性を有意に増加させた。さらに, ALDH 分子種のタンパク質発現量への影響を調査したところ, CGA および CA は ALDH 分子種のタンパク質の発現レベルを増加させる傾向を示した。以上の結果から, CGA およびその代謝物である CA の細胞保護効果には, ALDH 活性の上昇が寄与することが示唆された。現在, 不活性型 ALDH2 保有者モデルの ALDH2 発現低下細胞プールを用いて, CGA と CA の細胞保護効果および総 ALDH 活性への影響を検討中である。

C-9 グルタチオン S-トランスフェラーゼ阻害剤がイソチオシアネートの抗がん作用に与える影響

○矢野愛奈, 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)

【目的】イソチオシアネート (ITC) は、アブラナ科植物に普遍的に存在する含硫配糖体グルコシノレートの分解産物のひとつであり、発がん抑制作用や抗がん作用を示す生理活性物質である。第 2 相薬物代謝酵素のひとつであるグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) は、発がん物質などの毒物の解毒代謝だけでなく、ITC 自体の代謝にも重要な役割を果たしている。そこで本研究では、GST アイソザイム選択的阻害剤である NBDHEX が、ITC の細胞増殖抑制作用に与える影響を調査し、ITC による抗がん作用の分子機構において GST がどのような役割を果たしているのかを考察した。

【方法・結果】ヒト大腸がん細胞株 HCT-116 にベンジルイソチオシアネート (BITC) および NBDHEX を処理した際の細胞生存率を MTT assay を用いて評価した。その結果、BITC と NBDHEX の共処理は、それぞれの単独処理と比較してより顕著に細胞生存率を低下させた。NBDHEX が GST の活性を有意に阻害したことから、BITC と NBDHEX の共処理による細胞毒性の増強作用において、GST 活性阻害の寄与が示唆された。また、NBDHEX を共処理することにより、BITC の代謝に伴い減少する細胞内総 GSH 量は回復したが、細胞内 BITC 蓄積量に有意な変化は観察されなかった。したがって、NBDHEX が BITC の代謝を阻害するのではなく、BITC によるアポトーシス誘導のシグナル伝達経路を活性化していることが示唆されたため、現在この可能性について検討中である。

C-10 授乳中の母親の食事と乳房トラブルや泌乳量との関連

○大角美穂^{1,2}, 丸岡紗也¹, 長崎祐樹¹, 岡崎愉加³, 津嘉山泉³, 谷 政明², 山本登志子³

(¹岡山県大院・保健福祉, ²(医)真弘会 谷病院, ³岡山県大・保健福祉)

【目的】授乳中の母親の食事は、母子の健康にとって重要であるが、それが乳腺炎や泌乳量に影響するかは明らかではない。本研究では、母親の食事と、乳房トラブル、泌乳量の関連について調査した。

【方法】生後 1 か月健診で、81 人の母親に食事調査とアンケート調査を実施した。食事調査は、24 時間思い出し法を実施し、アンケート調査では、母親の乳房トラブルの有無と乳児の栄養方法を調査した。なお、乳児の栄養方法は母乳栄養、混合栄養で人工乳摂取量 400 mL 未満 (混合 H) と 400 mL 以上 (混合 L) の 3 群に分けた。加えて、エジンバラ産後うつ病自己評価 (EPDS) を実施した。

【結果】乳房トラブル有群では、無群に比べて、エネルギー摂取量、特に炭水化物の摂取量が有意に高い傾向であった。母乳栄養群に比べて、混合栄養の 2 群は、入院中泌乳量が有意に低く、1 か月健診時の EPDS スコアが有意に高い結果となった。母乳栄養群と比べて、混合 L 群では、多価不飽和脂肪酸、中でも n-6 系多価不飽和脂肪酸、 α リノレン酸、リノール酸の摂取量が、いずれも有意に低かった。

【結論】本研究では、授乳婦の食事摂取において、炭水化物摂取量が多いと乳房トラブルを起こしやすく、多価不飽和脂肪酸の摂取量が少ないと泌乳量が減少する可能性が示唆された。したがって、母親の食事の内容と量は、乳房トラブルと泌乳量に関連することが考えられ、今後はさらに食物摂取頻度調査などにより、摂取する食品の種類や量による影響の詳細を明らかにする予定である。

D－１ **イネ出穂後気温条件が酒米の清酒醸造特性に与える影響**
○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】 酒米の作柄は清酒品質や醸造工程、酒化率に大きな影響を及ぼすことから、米の醸造特性とイネ登熟期の気象条件の関係解明は重要である。そこで、酒米0次（早期）分析結果及び入手できるイネの出穂日記録を元に、醸造特性と出穂後気温条件との関連性を明らかにすることを目的とした。

【方法】 酒造用原料米全国統一分析法に基づき酒米の醸造特性（玄米千粒重及び白米（精米歩合 70%）の 20 分吸水率, 120 分吸水率, 蒸米酵素消化性, 粗タンパク質含量等）を分析した。2002 年から 2019 年までの間に得られたデータのうち、出穂日を入手或いは推定可能な品種を選別し、米試料 22 品種（酒造好適米 18 品種, 一般米 4 品種）, 490 点を用いた。各品種・各年の出穂日（出穂後 1 日目）から出穂後 30 日目まで 11 区分の最高気温, 平均気温, 最低気温の平均値（合計 33 区分）について、地域気象観測システム（AMeDAS）のデータから算出した。統計解析ソフト JMP10.0.2 を用いて、相関解析等を実施した。

【結果】 デンプンの蒸米酵素消化性（Brix 値）は、青森県以南の酒造好適米で出穂後 1 ヶ月間の中期から後期の最高気温と強い負の相関を示すことが分かった。一方、北海道産の酒造好適米では出穂後 1 ヶ月間の前半の最高気温が正の相関を示すことが分かり、アミロース含量が関係していることが示唆された。酒造好適米の玄米千粒重や吸水率が出穂期間の最高気温とそれぞれ負の相関, 正の相関を示すことが明らかとなった。さらに、粗タンパク質含量は出穂後 1 ヶ月間の特に最低気温と負の相関を示したことから、イネ登熟期間の夜間の気温が影響する可能性が示唆された。

D－２ **トリメチルアミノオキサイドの摂取が脂質代謝異常マウスの脂質レベルに与える影響**
○宮田昌明, 柳楽小百合, 武田賢斗, 杉浦義正（水大校・食品）

【目的】トリメチルアミノオキサイド(TMAO)は卵や牛肉等に含まれるコリンやカルニチンから腸内細菌の代謝を経て体内で生成されるとともに TMAO を多く含有する魚の摂取により体内に蓄積する。近年、血中の TMAO レベルの上昇とアテローム性動脈硬化との相関が報告され、病態との関連が注目されている。ところが、TMAO 自体の脂質代謝に与える影響については、食事性脂質代謝異常モデルにより相反する報告がなされ、不明な点が多い。本研究では遺伝性脂質代謝異常モデルと考えられ、肝臓と血清中のトリグリセリド(TG)と総コレステロール(TC)レベルが高値を示す farnesoid X receptor (Fxr)欠損マウスを用い、TMAO 摂取における脂質レベルの変動について解析した。

【方法・結果】雌性 Fxr 欠損マウスと野生型マウスに 0.3% TMAO 添加食(AIN-93M)を 12 週間摂取させたのち臓器, 血液等を採取した。脂質レベルは市販キットで、胆汁酸は酵素カラムを用いた HPLC と市販キットで、mRNA レベルは定量 PCR で測定した。野生型マウスでは肝臓, 血清中ともに脂質レベルの有意な変動は認められなかったが、Fxr 欠損マウスでは肝臓の TC と胆汁酸(BA)レベルの有意な低下が認められ、肝障害マーカーの ALP も有意に低下した。肝臓の胆汁酸/コレステロール代謝関連遺伝子の mRNA レベルでは、これらの合成の律速酵素における有意な発現低下と、コレステロール排出トランスポーターの有意な発現上昇が認められた。以上の結果より TMAO は遺伝性の脂質代謝異常マウスの肝胆汁酸/コレステロール代謝を変動させ、肝内胆汁酸/コレステロールレベルを低下させることが示唆された。

D－3 Estimation of antioxidant activity and sucrase inhibitory effect in Jasmine mixed tea.

OKheira Makreloufi ¹, Tenka Ryu ², Kaeko Murota ^{1,2}

(¹ Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., ² Fac. Life. Environ. Sci., Shimane Univ.)

【Objective】 Type 2 diabetes is a serious public health issue worldwide, that contributes to increase cardiovascular mortality. Jasmine tea is a popular flower tea that is reported to be effective in treating hypercholesterolemia in rats and preventing the elevation of serum and liver cholesterol as well as the atherogenic index. Our objective is to study jasmine tea's potential benefits against metabolic diseases like obesity and type 2 diabetes by investigating jasmine mixed tea's antioxidant activity and its inhibitory effect against sucrase activity.

【Method/Result】 Extracts of jasmine green tea, green tea, or jasmine buds were prepared with boiling water. The antioxidant activity was estimated by the radical scavenging ability using DPPH technique. The total polyphenol content was measured using Folin Ciocalteu method and was compared in each extract. The polyphenolic content was analyzed in each extract using the HPLC method. The sucrase inhibitory effect was estimated using rat intestinal homogenate as the enzyme source.

Green tea showed a high antioxidant specific activity per total polyphenol and the addition of the jasmine scent reduced the activity in jasmine green tea. On contrary, whereas the jasmine buds extract had less inhibitory effect against sucrase activity than green tea, the jasmine green tea showed a higher inhibitory effect than green tea.

Further investigation is needed to clarify the jasmine and tea's combined effect for which a handmade mixture using various ratios of green tea and jasmine will be prepared.

D－4 納豆菌由来の脂肪細胞抑制作用に関する研究

○三上知紗 ¹, 濱出拓馬 ², 原 圭吾 ², 大杉忠則 ^{1,2}

(¹ 倉芸大院・機能, ² 倉芸大・生命)

【目的】メタボリックシンドロームは、体内の過剰な酸化ストレスを引き起こし重篤な血管性疾患を誘発している。納豆菌が生産するナットウキナーゼ、ジピコリン酸（DPA）、それぞれが血液凝固-線溶系に作用することを報告してきたが、メタボリックシンドロームの根本には多くのサイトカインを分泌している脂肪細胞が関与している。今回、脂肪細胞の脂肪滴蓄積および脂肪酸合成の原料となるグルコースの吸収関わるαグルコシダーゼの阻害作用を指標に調べた。

【方法・結果】試料は市販納豆、宮城野菌、成瀬菌、高橋菌を用いて調製した自家製納豆および菌体を用い、60℃の熱水抽出、メタノール抽出、ヘキサン抽出を行なった。脂肪滴蓄積は、マウス線維芽細胞 3T3-L1 を DEX, IBMX, インスリンで脂肪細胞に分化誘導後に抽出物を添加し、5 日後にオイル-O-レッド染色を行い評価した。αグルコシダーゼの阻害は、ラット小腸由来の酵素を使用し、PNPG α を基質として反応速度を測定した。

脂肪滴蓄積は、熱水抽出物では市販納豆 8 種類中 7 種類で抑制作用が確認できた。発酵条件を統一した宮城野菌、成瀬菌、高橋菌での納豆熱水抽出物、DPA でも同様に抑制された。αグルコシダーゼ阻害（Δ 吸光度 / 1/（試料希釈度））は、市販納豆（8 種）では 0.017 ± 0.023 、納豆菌（3 種）では 0.055 ± 0.023 と差が見られた。

D-5

線虫 *C. elegans* の幼虫休眠打破機構○能勢雅代¹, 坂本奏人², 岩崎 崇^{1,2}, 尾添嘉久³, 河野 強^{1,2}(¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大・農, ³島根大・生資科)

【背景と目的】我々は線虫 *C. elegans* の幼虫休眠打破物質としてウラシルを同定し、休眠打破に関与するウラシル受容体 SRH-11 を同定した。SRH-11 は休眠打破細胞 ASJ に発現する GPCR である。哺乳動物培養細胞に発現した SRH-11 はウラシルと結合し、細胞内の cGMP 濃度を上昇させた。*C. elegans* の化学受容細胞では、GCY (guanylyl cyclase) ・cGMP 濃度上昇・cGMP 依存性カルシウムイオンチャネル・カルシウムイオン流入が細胞内情報伝達機構の 1 つとして知られている。以上の背景の下、発表者らはウラシルによる休眠打破機構の全容解明と目的として、主に分子遺伝学的手法を用いた解析を行っている。

【方法・結果】ウラシル・cGMP アナログ 8-bromo-cGMP・カルシウムイオノフォア A23187 は濃度依存的に野生株の休眠打破を誘導した。次いで、種々の Gα破壊線虫・GCY (guanylyl cyclase) 破壊線虫・PDE (phosphodiesterase) 破壊線虫・cGMP 依存性カルシウムイオンチャネル TAX-4 破壊線虫をウラシル・8-bromo-cGMP・A23187 に暴露して休眠打破を検証し、ウラシルによる休眠打破はウラシル受容体 SRH-11 →G protein→GCY→TAX-4 に基づくことを立証した。さらに、インスリン様シグナルの休眠打破への関与を検証した。唯一のインスリン受容体様タンパク DAF-2 の機能不全株は休眠打破を示さなかったことから、休眠打破にはインスリン様シグナルが関与することが明らかとなった。そこで、休眠打破細胞 ASJ で発現するインスリン様遺伝子破壊線虫をスクリーニングし、休眠打破に関わるインスリン様遺伝子を同定した。現在、詳細な分子遺伝学的解析を進めている。

D-6

線虫の RAB family タンパク RAB-18 はコレステロール輸送体の輸送体を介して幼虫生育を制御する

○皆木友花¹, 栗津利邦², 松浦雅実², 松永洋平³, 岩崎 崇^{1,2}, 河野 強^{1,2}(¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大・農, ³SRL)

【背景・目的】低分子量 G タンパク質である RAB family タンパクは、膜輸送に関与し、タンパク・ペプチド等の小胞輸送・分泌を制御する。我々は、モデル生物・線虫 *Caenorhabditis elegans* の生育/休眠制御機構の解明を目指しており、生育ホルモンの分泌・受容体等の膜タンパクの輸送に関与すると考えられる RAB family タンパクに着目した研究展開を図っている。

【方法・結果】RNAi スクリーニングにより選別した RAB-18 は、腸においてステロイドホルモンシグナルに寄与することから、主に腸で発現するコレステロール類トランスポーターである NCR-1 の膜輸送に RAB-18 が関与する可能性を検証した。*rab-18* 破壊株、*ncr-1* 破壊株、二重破壊株がほぼ同程度の幼虫生育阻害（幼虫休眠）を示したことから、RAB-18 と NCR-1 が同一経路上で機能する可能性が示唆された。次いで、レポータータンパク NCR-1::mRFP 発現線虫を作出し、腸細胞内の局在を検証したところ、頂端側への局在が認められた。一方、RAB-18 非存在下（*rab-18* 破壊線虫）では頂端側への局在性が消失した。このことから、RAB-18 は NCR-1 の頂端側への膜輸送に関与する可能性が示された。そこで、NCR-1 輸送小胞に RAB-18 が共局在するかを検証することとした。NCR-1::mRFP ならびに VENUS::RAB-18 を共発現する線虫を作出し、共焦点レーザースキャン型顕微鏡を用いて観察したところ、輸送小胞上に NCR-1::mRFP ならびに VENUS::RAB-18 の共局在が認められた。このことから、RAB-18 は NCR-1 の頂端側への膜輸送に関与し、両者が同一の輸送小胞に存在する可能性が考えられる。

D－7 活性酸素を介して腎臓近位尿細管細胞に蓄積されたミクロシスチンはレニンの発現上昇を導く ○櫃田遊香, 古東義仁, 河原秀明¹, 蔵田航一¹, 岡野邦宏², 杉浦則夫³, 清水和哉³, 清水英寿⁴ (島根大院・自然科学,¹島根大院・生物資源,²秋田県大・生物資源,³筑波大・生環系,⁴島根大・生資科)

【目的】富栄養化した湖沼で藍藻類が異常増殖するとアオコが発生し、ミクロシスチンと呼ばれる藍藻類毒素が産生される。すなわち、アオコが発生している湖沼ではミクロシスチン濃度は上昇する。ミクロシスチンの慢性摂取は肝疾患を発症することが知られているが、腎臓への影響に関する報告は乏しい。そのため、腎臓へのミクロシスチンの影響およびその作用メカニズムの解析を本研究の目的とした。

【方法・結果】ミクロシスチン添加水を7週間慢性的に飲水させたラットの腎皮質において、Renin-Angiotensin 系に関わる Renin の発現増加が認められた。腎皮質の主な構成細胞は近位尿細管細胞であることから、その細胞株である HK-2 細胞を用いて、ミクロシスチンの作用メカニズムについて解析を行った。まず、ミクロシスチンが HK-2 細胞内に蓄積されるのか検証したところ、時間依存的に細胞内への蓄積が認められ、合わせて Renin のタンパクレベルの上昇も確かめられた。この結果から、近位尿細管細胞は、ミクロシスチンの標的細胞であることが明らかとなった。ミクロシスチンは ROS を産生するとの報告があるため、そのスカベンジャーである NAC を前処理すると、ミクロシスチンの蓄積が抑えられ、Renin のタンパクレベルも減弱した。以上の結果から、ミクロシスチンの慢性的な摂取は、ROS の産生を介して Renin の発現量を増加させることが示唆された。加えて、産生された ROS によってミクロシスチンの細胞内への取り込みが促進される可能性が示された。したがって、ROS の産生防止は、ミクロシスチンの慢性摂取による腎機能低下に対する予防・進行遅延に寄与すると考えられる。

D－8 腸内細菌代謝産物インドール-3-酢酸が大腸がん細胞に対して抗増殖効果を発揮する

○富井あやめ¹, 内藤一真², 蔵田航一³, 湯浅佳奈¹, 古東義仁¹, 清水英寿²
(¹島根大院・自然科学,²島根大・生資科,³島根大院・生物資源)

【目的】大腸がん患者の血中および尿中において、食品タンパク質由来の腸内細菌代謝産物であるインドール-3-酢酸 (Indole-3-acetic acid: IAA) の濃度低下が報告されている。また、当研究グループではこれまでに、ヒト結腸がん由来細胞株である Caco-2 細胞において、大腸がんの発症・進展に寄与する炎症性サイトカインの発現低下を IAA が導くことを明らかにしている。そこで本研究では、大腸がん細胞の増殖能に対する IAA の効果とその作用メカニズムを解析することを目的とした。

【方法・結果】大腸がん細胞として、Caco-2 細胞を使用した。Caco-2 細胞に対して IAA 刺激を行い、細胞増殖率を算出したところ、IAA は濃度依存的にその値を低下させた。加えて、LDH 活性を指標に細胞毒性についても調べたところ、IAA は LDH 活性に影響を与えなかった。よって IAA は、大腸がん細胞に対して、細胞傷害を与えることなく抗細胞増殖能を発揮するが示された。IAA の作用メカニズムについて解析を行ったところ、その受容体である Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) は関与していなかった。また、本研究により新たに IAA が MAPK である ERK 及び JNK を活性化させることが見出されたが、ERK は関与せず、JNK は IAA による抗細胞増殖能に対して抑制的に作用していた。さらに、TLR4 が IAA の新規受容体である可能性が本研究により示されたものの、TLR4 も関与はしていなかった。以上から、IAA は AhR と TLR4 を標的受容体としており、また ERK と JNK を活性化するものの、抗細胞増殖能に対しては上記以外の分子が関与していることが示唆された。

D-9 インドール酢酸の代謝産物スカトールは、インドール酢酸による CYP1A1 の発現開始を遅延させる

○内藤一真, 富井あやめ¹, 石井克範¹, 清水英寿

(島根大・生資科, ¹島根大院・自然科学)

[背景と目的] インドール酢酸 (Indole-3-acetic acid: IAA) とスカトール (Skatole: Ska) は共に、摂取タンパク質のトリプトファンを起点とした腸内細菌によって生成される腸内細菌代謝産物であるが、相反する作用を有していることを当研究グループで明らかにしている。しかし、なぜ腸内で生じる僅か 1 つの代謝過程が両者の機能に違いをもたらすのか、詳細は未だ不明である。そこで本研究では、これら代謝産物の作用メカニズムの違いを両者の受容体である Aryl hydrocarbon receptor (AhR) の標的遺伝子となっている Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) の発現量を指標に検証することを目的とした。

[方法] 解析には、培養腸管細胞である Caco-2 細胞を使用した。また、IAA や Ska に加え AhR に対するアンタゴニストである CH223191 を用いて、CYP1A1 の発現量をウエスタンブロット法にて確認した。

[結果と考察] IAA および Ska によって誘導される CYP1A1 の時間依存的な発現変化を検証したところ、両者の間でその傾向に明らかな違いが認められた。両代謝産物で刺激する前に CH223191 を Caco-2 細胞に処理すると、どちらにおいても CYP1A1 の発現上昇が抑制された。しかし、IAA と Ska の混合物を Caco-2 細胞に刺激すると、IAA 単独刺激と比較して CYP1A1 の発現上昇が抑えられた。以上のことから、IAA および Ska は共に AhR を受容体としているが、IAA と Ska が共存している状況下では、両代謝産物は AhR に対して競合的に作用し、その結果として、Ska は IAA によって誘導される CYP1A1 の発現上昇に対して抑制的に作用する可能性が示された。

E-1 PET 加水分解酵素の異種発現によるロドバクター科細菌へのプラスチック分解能の付与
○松場匠哉¹, 中井忠志^{1,2} (¹広島工大院・工, ²広島工大・生命)

ポリエチレンテレフタレート(PET)は加水分解が非常に困難なプラスチックであるが 2005 年に初めて PET 分解酵素が発見され、本酵素を利用した研究が世界中で進められている。本研究では、ロドバクター科細菌である *Paracoccus denitrificans* と *Cereibacter sphaeroides* に PET 加水分解酵素遺伝子を導入することで PET 分解能を付与するとともに、ロドバクター科細菌を用いた汎用的な分泌発現法の確立を目的とした。本研究では、PET 加水分解酵素として leaf-branch compost cutinase (LCC)を用い、本酵素遺伝子の N 末端側にペリプラズム移行シグナルを融合した発現プラスミドと、シグナルを欠失した発現プラスミドを構築し、2 種類の細菌に導入した。各形質転換体は最少培地中、発現誘導条件で振盪培養し、遠心分離により集菌した後、培養上清、ペリプラズム画分、細胞質画分を調製し、polycaprolactone (PCL)を基質として加水分解活性を測定した。その結果、*P. denitrificans* では、シグナルの融合型と欠失型の両方でペリプラズム画分が活性が最大であったが、シグナル欠失型の培養上清でも活性が認められた(昨年度本会大会で報告)。今回、*C. sphaeroides* で同様の実験を行ったところ、シグナル欠失型において、ペリプラズム画分に活性が見られたが、培養上清、細胞質画分には活性が見られなかった。以上の結果から、本酵素を *P. denitrificans* で発現させた場合、シグナルを融合させるとペリプラズムに酵素が移行しても細胞外までは移行しにくいのに対し、シグナル欠失型の方が細胞外まで移行しやすいことが示唆される。一方、*C. sphaeroides* においては、シグナル欠失型が細胞外に移行する現象は見られなかった。

E-2 2 種のフコイダン資化性微生物が有するフコイダン低分子化酵素の特性解明
○高橋陽太, 荒井良仁¹, 新宮由奈子, 八木寿梓^{1,2}, 鈴木宏和¹, 大城 隆^{1,2}
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大院・工, ²鳥取大・未利用セ)

【目的】当研究室では、オキナワモズクフコイダンの低分子化酵素に関する研究を進めており、既にフコイダン資化性菌 *Luteolibacter algae* H18 および *Flavobacterium* sp. SW から、一次構造が類似した低分子化酵素 (Fct114, Swfct) をクローニングし、異種発現、諸性質検討を行っている。一方、今までに Fucoidanase と登録されている酵素の多くは、GH107 に分類されている。H18 株, SW 株には Fct114, Swfct の他に GH107 様の酵素をコードする遺伝子 *h18fda1* および *swfcn2* が見い出され、*swfcn2* については、大腸菌での異種発現、酵素精製を行っている。今回、両菌株が有するフコイダン低分子化酵素の比較検討を行った。

【方法・結果】*h18fda1* 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、可溶性画分に 130 kDa の酵素タンパク質が生産された。得られたタンパク質を精製し酵素反応を行った結果、H18fda1 はガゴメコンブ、オオウキモ由来フコイダンを低分子化できたが、オキナワモズクフコイダンには作用しなかった。この特異性は、Swfcn2 と同様であった。一方、Fct114 と Swfct は、オキナワモズクフコイダンのみを低分子化でき、その他のフコイダンには作用しない。また、両菌株由来の 2 つの酵素による反応後の分解産物を比較すると、分子量に明らかな違いが見られた。さらに、ガゴメコンブフコイダンを基質として H18fda1, Swfcn2 を順次反応させた結果、それぞれを単独で作用させた場合と比較してさらに低分子化した分解産物が認められた。以上の結果より、両菌株が有する酵素は、同じ種類のフコイダンに対する低分子化活性を有しているが、その特性は異なることが示唆された。

E-3 好熱菌を用いたプラスチック分解性クチナーゼの生産
○小山幸祐, 大城 隆^{1,2}, 鈴木宏和^{1,2}
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・工,²鳥取大・GSC セ)

【目的】*Geobacillus thermodenitrificans* K1041 は電気穿孔法によって形質転換できる中等度好熱菌で、これまでの研究において我々は、この株を宿主としたタンパク質生産システムを開発した。本研究では、当該システムを用いて Cut190 を高生産することを目的とした。Cut190 はポリエチレンテレフタレート (PET) 分解活性をもつクチナーゼで、耐熱性を獲得できれば PET 分解に利用できると期待されている。発表では、K1041 株で Cut190 を生産することの長所と短所についても議論したい。

【方法・結果】好熱菌高発現ベクター pGKE124 に *cut190* 遺伝子をクローニングし、K1041 株に導入した。得られた形質転換体を 55℃ で培養したところ、Cut190 が高度に生産された (100 mg/L)。発現産物のポリカプロラクトン分解活性も確認できた。好熱菌細胞内のシャペロン様因子によって Cut190 が耐熱化していないか調べるために、K1041 株で生産した Cut190 と大腸菌で生産した Cut190 の耐熱性を粗酵素抽出液を用いて評価した。予備実験においては、明確な差異は見られていない。また K1041 株で生産した Cut190 は、高温処理中に活性が減少した。これは好熱菌由来のプロテアーゼによって Cut190 が分解されたためと考えられる。さらなる高生産を目指し、*Geobacillus* 属細菌に対してコドン最適化した人工遺伝子を合成した。野生型 Cut190 の N 末端に見られた推定分泌シグナルも連結し、C 末端側にはヒスチジンタグを融合させた。生産量は低下したが、分泌生産された。K1041 株はコーンステーパーリカーで生育できるため、分泌生産を最適化すれば優れた生産系になるかもしれない。

E-4 放線菌 *Cellulosimicrobium* 属由来 2 つの GH family 19 chitinase の異なる構造と性質
○仁木大輔, 長瀬亜紀子¹, 美藤友博², 清水克彦³, 有馬二郎²
(鳥取大・連農,¹鳥取大院・持社創生,²鳥取大・農,³鳥取大・CoRE)

【目的】キチンは自然界で多く生産され、次世代のバイオマス資源に位置付けられている。また、様々な生理活性を持つ分解物は医療・食品分野に利用される一方で、複雑な工程や環境負荷が問題とされている。これらの問題解決のため、酵素による効率的な分解方法の発見が求められているが、未だ有用な酵素は見つかっていない。我々はこれまでに、 α -キチンを直接分解する放線菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 を単離した。本菌の特徴として、ゲノム解析から Glycoside Hydrolase Family 19 ドメインのみ有する Chitinase class I-2 (Chi I-2) と GH family 19 及び Carbohydrate Binding Module Family 5 ドメインを有する Chitinase class I-3 (Chi I-3) の 2 つのキチン分解酵素を持つことが明らかとなっている。本研究では、 α -キチンの酵素による直接分解を目指し、異なる構造を持つ 2 つの GH family 19 キチナーゼに焦点を当て、構造の付与や欠如によるキチン分解活性への影響を調べた。

【方法及び結果】2 つの GH family 19 chitinase に加え、Chi I-3 の CBM family 5 を付与した Chi I-2 及び CBM family 5 を欠如した Chi I-3 の計 4 つの大腸菌発現系を構築した。無細胞抽出液から、GST カラムを使用して粗精製した組換えタンパク質を使用して性質を調べると、CBM family 5 を欠如させた Chi I-3 は、水溶性の高い基質に対し大きな活性の差は無かったが、より疎水度の高い基質では約 1/2 倍以下まで活性が減少した。また、Chi I-2 は CBM family 5 を付与することで、Chi I-2 に表れなかったキチン基質分解能が確認された。

E-5 細菌由来のリン酸化を必要としない L-フコース代謝経路に関与する L-2-Keto-3-deoxyfuconate 4-dehydrogenase の X 線結晶構造解析

○赤樫実結¹, 渡辺誠也^{1,2,3}

(¹愛媛大・農, ²愛媛大院・農, ³愛媛大・沿岸環境科研セ)

【目的】NAD⁺依存性 L-2-Keto-3-deoxyfuconate 4-dehydrogenase (L-KDFDH) は、細菌のリン酸化を必要としない L-フコース代謝経路の 4 番目の反応を触媒する。Short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) タンパク質ファミリーに属しており、C4(R)-OH を持つ基質をきわめて厳格に認識する。L-KDFDH の哺乳類ホモログである BDH2 の基質は、これまでに β -ヒドロキシ酪酸, 2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoic acid, シス-4-ヒドロキシ-L-プロリンの 3 種類が知られている。これらは L-KDFDH の基質でもあるが、いずれも L-KDF とは構造骨格が大きく異なっている。そこで本研究では、L-KDFDH の立体選択性と基質特異性を X 線結晶構造解析により明らかにすることを目的とした。

【実験・結果】L-KDFDH (C785_RS13675) は大腸菌を用いて発現させ、Ni-NTA およびゲルろ過クロマトグラフィーによる精製、結晶化し、SPRING-8 のビームラインで X 線回折データを収集した。AlphaFold2 にて分子モデルを構築し、最終的に 1.77 Å の分解能でアポ構造を決定することに成功した。サブユニットの全体構造とホモ 4 量体の会合様式は、他の SDR 酵素とよく似ていた。予想外にも、大腸菌に由来する NAD⁺ が 4 量体中の 3 つのサブユニットに結合していた。また、硫酸イオンが推定活性部位の 3 つのア르기ニン残基のクラスターと結合していた。こうした情報に基づく部位特異的変異実験の結果も報告する。

E-6 超好熱アーキア *Saccharolobus solfataricus* P2 由来 L-ノルバリンデヒドロゲナーゼの機能・構造解析

○岡部 樹, 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】*Saccharolobus solfataricus* P2 は 55-80℃ の好氣的条件下で生育する硫黄依存性超好熱アーキアであり、そのゲノム中には 4 種類の L-グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (GDH) ホモログをコードする遺伝子が存在する。その中でも SSO1457 の遺伝子産物は、55℃ の反応温度では L-グルタミン酸に対する活性が低く、L-ノルバリンに対して高い活性を有する。本研究では SSO1457 由来の遺伝子産物の基質特異性に関する構造学的な特徴を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】まず、発現用プラスミドで大腸菌を形質転換した。生産させた目的たんぱく質は、熱処理 (55℃, 30 分間)、アフィニティークロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーにより精製を行った。次に、熱処理と反応温度の違いによって酵素の基質特異性が変化するかどうかを調べるために、熱処理温度と反応温度を変化させ、L-ノルバリンと L-グルタミン酸を基質として活性をそれぞれ測定した。その結果、熱処理温度を上げると L-ノルバリンと L-グルタミン酸に対する活性はともに下がり、基質特異性の変化は見られなかった。一方、60℃ 以下の反応温度では L-グルタミン酸より L-ノルバリンに対して高い活性を示すが、70℃ 以上では L-ノルバリンより L-グルタミン酸に対する活性が高くなることが判明し、本酵素は高温条件で可逆的にノルバリン脱水素型からグルタミン酸脱水素型へと変化していると考えられる。また、精製酵素を用いて結晶化を行い、X 線結晶構造解析を行った。本酵素と基質との複合体構造を決定し、基質と相互作用するアミノ酸残基を同定した。

E-7 乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus* 由来 L-ラムノースイソメラーゼの酵素学的諸性質
○山本菜帆¹, 吉田裕美^{2,3}, 倉原 琳², 吉原明秀^{1,3}
(¹香川大院・農, ²香川大・医, ³香川大・国際希少糖)

【目的】L-ラムノースイソメラーゼは(L-RhI)は、アルドースとケトース間の可逆的な異性化反応を触媒する酵素である。現在報告されている多くの L-RhI は、至適 pH がアルカリ側であり、長時間の反応においてアルカリ異性化による副産物の生成が問題視されている。そこで本研究では、酸性条件下で生育する乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus* 由来 L-RhI を調製し、酵素学的諸性質を解明することを目的とした。

【方法・結果】*L. rhamnosus* 由来組換え L-RhI を高発現する組換え大腸菌を培養し、粗酵素液を調製した。得られた粗酵素液はニッケルアフィニティークロマトグラフィーによって精製を行った。酵素精製の結果、本酵素の単量体の分子量は 47 kDa であることが明らかとなった。本酵素の諸性質は、L-ラムノースを基質として 10 分間酵素反応を行い、システインカルバゾール法を用いた比色定量によって確認した。至適 pH はリン酸ナトリウム緩衝液の pH 5.5, 至適温度は 70℃であった。また、10 分間の保温において、60℃まで安定であった。金属イオンの選択性について検討したところ、1 mM のコバルトイオンを添加した際に最も高い活性を示した。D-エリスロ型のアルドースを基質に用いて基質特異性を検討した結果、L-ラムノースに最も高い反応性を示し、L-リキソース、L-マンノース、D-リボースにも反応性を示した。本酵素は至適 pH が酸性側であることから、希少糖生産においてアルカリ異性化の発生を防ぐことができ、さらに熱安定性も高いことから有用な酵素であるといえる。

E-8 *Klebsiella pneumoniae* 40b 株由来 D-アラビノースイソメラーゼを用いた D-スレオースの生産
○富野舜介, 吉原明秀¹ (香川大院・農, ¹香川大・国際希少糖)

【目的】多くの希少アルドースは各種異性化酵素を用いて対応するケトースより生産ができる。しかし、D 体のアルドテトロースの出発原料である D-エリスルロースの生産性が低いことが問題となっている。これまでに、*Pseudomonas cichorii* ST-24 株由来 D-タガトース 3-エピメラーゼ(D-TE)を用いて L-エリスルロースから D-エリスルロースに変換できることを明らかとしてきている。本研究では *Klebsiella pneumoniae* 40b 株由来 D-アラビノースイソメラーゼ(D-AI)を用いて D-スレオースの生産について検討した。

【方法・結果】*P. cichorii* ST-24 株由来 D-TE を L-エリスルロースに反応させ、D, L-エリスルロース混合液を調製した。次に *K. pneumoniae* 40b を D-アラビノースを含む肉エキス培地にて培養し粗酵素を調製した。終濃度 1.0%となる D, L-エリスルロース混合液に 37℃, 36 時間反応させた。得られた反応液を CARBOSep CORGEL-87C カラムを用いて HPLC にて分析した結果、保持時間 13.0 分に生産物である D-スレオースとみられるピークが確認された。また CARBOSep COREGEL-87C SemiPrep カラムを用いて反応液中の生産物を分取した後、比旋光度を測定したところ -16.0° であり、標品である D-スレオースの比旋光度値が -17.5° とほぼ同じであった。また ¹³C-NMR 分析を行った結果、標品と生産物のケミカルシフトが一致した、これらのことから、D-AI が D-エリスルロースに反応し D-スレオースに転換したことが示唆され、その転換率は 9.35%であった。

E-9 大豆粕を原料とする機能性タンパク質の新規生産法の開発と評価
○渡辺桃子, 佐々木千鶴¹, 中村嘉利¹, 浅田元子¹
(徳島大院・生物資源, ¹徳島大・生物資源)

【目的】

大豆は、抗発がん性物質を含んでいることや、治療薬の開発に使用されたことが報告されており、近年、大豆やその発酵製品への関心が高まっている。本研究では、大豆加工食品の製造工程で大量に発生する高タンパク質含有食品廃棄物である大豆粕に着目し、機能性を有するタンパク質を一度に大量かつ安価に供給できる新規製造法の開発とその評価を行うことを目的とした。

【方法・結果】

まず、10 秒間ミル処理を施し、その後マイクロ波処理(MW, Anton Paar Multiwave PRO, 224℃あるいは234℃で 5 分)を施した大豆粕サンプル、25 atm で 5 分間水蒸気爆砕を行ったサンプルについて水溶性成分中のタンパク質量を Lowry 法で定量した。その結果、MW 処理を施したサンプルが最も高いタンパク質収率を示した。(46%, 大豆粕タンパク質当たり) また、タンパク質収率の高かったものに対して、血圧上昇抑制効果の指標となるアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性を評価した。その結果、大豆粕 1 に対し 20 の割合で水を加え、234℃で 5 分間 MW を照射するのが、タンパク収率、ACE 阻害活性率ともに最も高いことがわかった。

E-10 植物糖鎖結合ポリマーが自然免疫応答に及ぼす免疫活性の解析
○沓野那緒¹, 藤原美智子², 加来田博貴², 木村吉伸^{1,3}, 前田 恵^{1,3}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・医歯薬, ³岡山大院・環境生命)

【目的】主要なスギ、ヒノキ花粉アレルゲン (Cry j1, Cha o3) には、Lewis a エピトープを有する植物抗原性糖鎖が結合しており、その免疫活性に興味が持たれている。既に我々は遊離型の植物抗原性糖鎖の骨格構造 (Man₃Fuc₁Xyl₁GlcNAc₂, M3FX) が、スギ花粉症患者由来末梢血リンパ球の Cry j1 特異的 Th2 細胞の増殖と IL-4 産生を抑制することを見出している。この結果は植物抗原性糖鎖が花粉症治療薬のリード化合物になりうることを示唆しているが、M3FX による Th2 型免疫応答の抑制機構は未だ解明されていない。そこで本研究では、植物抗原性糖鎖の自然免疫応答に及ぼす免疫活性を明らかにするため、糖鎖結合ポリマーを作成し、糖鎖認識受容体を持つマウスマクロファージの活性化について解析した。【方法・結果】(1) 銀杏種子由来可溶性タンパク質、オオカナダモ由来タンパク質、アズキ由来タンパク質から調製した糖ペプチド (M3FX, Le^a 含有糖鎖, Man₈GlcNAc₂) を、γ-ポリグルタミン酸 (γPGA) と縮合させた糖鎖結合ポリマー (M3FX, Le^a, M8) を作成した。アミノ酸組成分析の結果より、糖鎖結合率は、それぞれ 31.8%, 12.7%, 7.6%であることを確認した。(2) NFκB の転写応答配列下流に、分泌型アルカリホスファターゼ SEAP 遺伝子を組み込んだ組換え RAW264.7 細胞を 96 穴プレートに播種 (5 × 10⁴ cells/well) し 37℃, 5% CO₂ 条件下で培養した。24 時間後、糖鎖ポリマー (1, 10, 100 μg/mL) を加え 24 時間培養後、SEAP の活性測定により炎症反応への影響を解析した。その結果、M3FX, M8 糖鎖ポリマーは濃度依存的に NFκB 活性化を有意に促進したが、Le^a 含有糖鎖ポリマーは γPGA と同様に変化がみられなかった。

F-1 胚発生過程における卵白タンパク質 Ovalbumin-related protein X (OVAX) の糖鎖構造の変化

○杉村 亮, 中北慎一¹, 中北ゆかり¹, 赤澤隆志², 小川雅廣³
(香川大院・農,¹香川大・医,²宮城大・食産業,³香川大・農)

【目的】Ovalbumin-related protein X(OVAX)は, Ovalbumin との相同性が 62%の糖タンパク質である。OVAX はタンパク質部分の塩基性部位がヘパリンと結合することで胚発生を制御していると考えられている。しかしながら, 糖鎖に関する情報はほとんど明らかとなっていない。そこで本研究では, OVAX の糖鎖構造を調べるとともに, 胚発生前後での糖鎖構造の違いを解析し, OVAX がもつ糖鎖の役割を調べることを目的とした。

【方法・結果】保温 0 日目の卵白, 保温 18 日目の羊水と卵黄から OVAX を精製した。卵白 OVAX(0WOVAX)から遊離した糖鎖をピリジルアミノ標識し, 質量分析により構造解析を行った。羊水 OVAX(18AOVAX)と卵黄 OVAX(18YOVAX)の糖鎖構造は, 抗 OVAX 抗体を用いたレクチンマイクロアレイにより定量的に解析した。質量分析の結果, 0WOVAX の主要な糖鎖は, 3 つの GlcNAc を含む複合型, 2 つの GlcNAc を含むハイブリッド型, 2 つの GlcNAc を含む複合型であることが示された。また, 一部の糖鎖はシアル酸を含んでいることがわかった。レクチンマイクロアレイの結果から, 0WOVAX は, 質量分析により糖鎖構造解析を行った結果に対応するレクチンとの反応がみられた。18AOVAX と 18YOVAX は 0WOVAX よりもシアル酸含量が減少していた。また, 18YOVAX は 18AOVAX と比較してマンノース含量が減少していた。以上のことから, 糖含量の減少度から, 卵白→羊水→卵黄の順に OVAX の糖鎖がプロセッシングを受け, 構造が変化していることが推測された。

F-2 線維芽細胞が産生するコラーゲンの高感度定量法の開発

○島田絵乃, 川村 理¹, 小川雅廣¹ (香川大院・農,¹香川大・農)

【目的】コラーゲンは, 動物の結合組織を構成する主要なタンパク質である。コラーゲンの合成は肌や血管の老化を予防することから, 細胞のコラーゲン合成を促進させる機能性成分の探索が行われている。本研究では, 機能性成分の探索をより効率的に行うため, 細胞が合成するコラーゲン量を高感度に測定する手法を確立することとした。培養細胞が産生するコラーゲン量の測定には, 一般に色素結合法が用いられるが, 検出感度は 50 µg/mL と低く, 細胞が産生するコラーゲンを検出するには多量の細胞を必要とする。そこでより感度が高いとされる ELISA 法にてコラーゲンの定量を行うこととした。

【方法・結果】コラーゲン定量のための ELISA について検討を行った。ELISA の固相抗原としてブタ皮由来 I 型コラーゲン(PIC)及びラット尾由来 I 型コラーゲン(RIC)を, 一次抗体には抗ウサギ I 型コラーゲン抗体を用い, 間接 ELISA を行った。PIC の検量線では 0.94~94 µg/mL の範囲で, RIC の検量線では 0.5~50 µg/mL の範囲で定量が可能であった。RIC を用いた場合の感度は, 色素結合法より約 100 倍高感度であった。線維芽細胞(KMST-6)を 96 ウェルプレートにて培養し, 未成熟の可溶性コラーゲンとウェルの底面に接着している沈着コラーゲンを間接 ELISA で定量した。RIC の検量線から, 可溶性コラーゲン産生量は 1.2 µg/mL, 沈着コラーゲン産生量は 29.8 µg/mL であると算出された。以上より, 96 ウェルプレートという少量での培養細胞のコラーゲン産生量を測定することが可能となった。

F-3 ユーグレナワックスエステル発酵調節に関わる WSRK の下流因子解析
○藏前由衣, 駒井陽輔, 小川貴央¹, 丸田隆典¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(島根大院・自然科学,¹島根大・生資科,²近畿大・附属農場)

【目的】微細藻類ユーグレナ (*Euglena gracilis* Z) は、嫌気条件でワックスエステル発酵により貯蔵多糖パラミロン (β -1,3-グルカン) を分解し、ミリスチルミリスチン酸 (C28) を主成分とするワックスエステルを生産する。これまでに我々は、嫌気応答時のワックスエステル発酵制御にはリン酸化による翻訳後修飾が重要であること、その制御には WSRK (Wax ester Synthesis Regulation Kinase) と命名した新奇プロテインキナーゼの関与を明らかにしている。また、WSRK はその下流において、ワックスエステル発酵の鍵酵素ピルビン酸:NADP⁺ 酸化還元酵素 (PNO) のリン酸化状態に影響を及ぼす可能性が示唆されている。そこで本研究では、WSRK 遺伝子サイレンシング (WSRK_KD) 細胞における PNO リン化状態および PNO 活性に及ぼす影響を検討した。

【結果】ユーグレナの葉緑体欠損株 SM-ZK に対し、WSRK 特異的な二本鎖 RNA を導入し WSRK_KD 細胞を調製した。従属栄養条件下で SM-ZK 株および WSRK_KD 細胞を定常期まで培養した後嫌気処理を行い、嫌気初期段階 (3, 6 時間後) における各細胞の PNO タンパク質およびリン酸化レベル、酵素活性について検討した。リン酸化の解析には、抗リン酸化 PNO ペプチド抗体を用いた。その結果、コントロールの SM-ZK 株では嫌気処理に応答してリン酸化レベルの増加が確認された。一方、WSRK_KD 細胞では PNO タンパク質が減少し、かつリン酸化レベルが低下していた。嫌気処理 6 時間後の PNO 活性を測定した結果、SM-ZK 株と比較して WSRK_KD 細胞では約 50%に低下していた。

F-4 BMP2K の浸透圧による液滴変化と細胞質局在を決める責任領域
○久岡志帆¹, 小橋 陸¹, 大澤 仁^{1,2}, 末吉紀行^{1,2}
(¹香川大・農,²愛媛大院・連農)

BMP2-inducible kinase (BMP2K) は骨芽細胞の分化を抑制するプロテインキナーゼとして発見され、白血病の促進に関わることや、ガン浸潤関連タンパク質と結合するなど、様々な疾病との関連が指摘されている。近年の研究で、BMP2K は液-液相分離による液滴を形成することが明らかとなっているが、その制御機構についてはあまり知られていない。今回我々は、BMP2K の各種変異体を用いた解析から、グルタミンリッチな polyQ 領域が BMP2K の相分離責任領域であると明らかにした。また、NaCl や sorbitol による高浸透圧処理によって液滴は小さくなり、数が増加した。

核局在化シグナル (NLS) 直後の Ser-1010 を、リン酸化されない Ala に置換すると、WT では主に細胞質に存在していた BMP2K の半分以上が核に局在変化した。また Ser-1010 を、リン酸化を模倣した Glu に置換すると、BMP2K は細胞質に局在した。さらに、polyQ 直後の領域を欠損させた Δ 527-751 は完全に核局在した。そこで、 Δ 527-751 に N 末側からアミノ酸配列を戻すと、戻したアミノ酸の長さ依存的に細胞質局在の BMP2K が増加した。そして、527-639 が欠損していると完全に核局在であった。よって、アミノ酸 527-639 が BMP2K の細胞質局在に必須であり、アミノ酸 640-751 は BMP2K の細胞質局在を強める働きがあると示唆された。

以上より、BMP2K の液滴形成には polyQ 領域が必要であり、高浸透圧ストレスが液滴形成を変化させることと、細胞質局在には Ser-1010 のリン酸化とアミノ酸 527-639 が重要であることが明らかとなった。

- F — 5 Involvement of abscisic acid and reactive carbonyl species in methyl jasmonate-induced stomatal closure. OOumayma Shaiek, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura, Shintaro Munemasa, Yoshiyuki Murata
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)

Abiotic and biotic stresses, including drought and pathogens reduce crop productivity. Plants have developed various mechanisms to cope with these stresses. A typical example is stomatal closure, limiting water loss and restricting pathogen entry into the leaves. Abscisic acid (ABA) and methyl jasmonate (MeJA), which are involved in various plant defense responses, induce stomatal closure. The mechanism of ABA-induced stomatal closure has been extensively studied. Reactive carbonyl species (RCS) function as a signal component in this mechanism. However, the function in MeJA signaling remains to be clarified. In this research, we examined the involvement of RCS and ABA in MeJA-induced stomatal closure using wild type (WT) and an ABA-deficient mutant, *aba2* of *Arabidopsis thaliana*. We used the method of dinitrophenyl hydrazine (DNPH)-derivatization followed by a reverse-phase HPLC analysis to quantify RCS content. The RCS scavengers, carnosine and pyridoxamine, were used to confirm the involvement of RCS in stomatal closure. We quantified ROS levels after application of MeJA. Our results reveal that MeJA induced stomatal closure in WT but not in the *aba2*. The stomatal closure was inhibited by the RCS scavengers. These results suggest that RCS and ABA mediate MeJA-induced stomatal closure. By studying MeJA signaling pathway we also noticed that MeJA induced a significant increase in ROS production in WT but not in the *aba2*. Our findings also indicated that treatment with MeJA increased acrolein content in WT epidermal tissue. We concluded that RCS and ABA are indeed strongly involved in MeJA-induced stomatal closure.

- F — 6 Involvement of glutathione and reactive carbonyl species in chitosan-induced stomatal closure
Olsrat Jahan, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura, Shintaro Munemasa, Yoshiyuki Murata (Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)

Chitosan (CHT) is a deacylated derivative of chitin, which is present mainly in the exoskeleton of insects, crustaceans, and cell wall of fungi. Chitosan improves growth and yield performance, activates defensive genes, and also induces stomatal closure in plants. Glutathione (GSH) negatively regulates abscisic acid (ABA)-, methyl jasmonate (MeJA)-, and salicylic acid (SA)-induced stomatal closure. Abscisic acid-, MeJA-, and SA-induced stomatal closure are accompanied by decreasing GSH in guard cells. However, the involvement of GSH in CHT-induced stomatal closure is still unknown. We examined CHT-induced stomatal responses. Chitosan significantly induced stomatal closure and decreased GSH in guard cells of the wild-type plants. The involvement of GSH in CHT-induced stomatal closure was investigated using a GSH decreasing chemical, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB), in *A. thaliana* wild-type plants. Treatment with CDNB significantly decreased GSH content in guard cells and enhanced CHT-induced stomatal closure, suggesting that GSH negatively regulates CHT-induced stomatal closure in *A. thaliana*. Reactive carbonyl species (RCS) mediate ABA and MeJA signaling in guard cells. The involvement of RCS in CHT-induced stomatal closure was investigated using RCS scavengers, carnosine and pyridoxamine, in *A. thaliana* wild-type plants. Both RCS scavengers significantly inhibited CHT-induced stomatal closure. These results suggest that RCS is involved in CHT-induced stomatal closure in *A. thaliana*, which is negatively regulated by GSH.

- F — 7 Reactive carbonyl species are involved in abscisic acid- and methyl jasmonate-induced stomatal closure in *Vicia faba*
OYin Huifei, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura, Shintaro Munemasa, Yoshiyuki Murata (Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)

Objectives: Abscisic acid (ABA) and methyl jasmonate (MeJA) induce stomatal closure in plants such as *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*, and *Vicia faba*. The scavengers of reactive carbonyl species (RCS), carnosine and pyridoxamine, inhibited the ABA- and MeJA-induced stomatal closure while both scavengers reduced the ABA- and MeJA-induced RCS accumulation but not the ABA- or MeJA-induced reactive oxygen species (ROS) production in *Arabidopsis* and tobacco. This study aims to clarify the mechanisms of RCS on ABA-induced and MeJA-induced stomatal closure in *V. faba*.

Materials and Methods: Excised leaves of 3- to 6-week-old *V. faba* were used to investigate stomatal responses. The RCS scavengers were added 20 minutes prior to ABA and MeJA application. Twenty stomatal apertures were measured for each sample leaf and the experiment under the same condition was repeated at least five times.

Results: Both ABA and MeJA induced stomatal closure at 1 μ M and 10 μ M but not at 0.1 μ M in *V. faba*. The treatment with carnosine at 1 mM significantly impaired the ABA- and MeJA-induced stomatal closure. The results suggest that RCS is involved in both ABA- and MeJA-induced stomatal closure in *V. faba*.

- F — 8 孔辺細胞における細胞質型グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼの機能解析
○山口大輝, 山上明浩, 今尾匡志, 藤井和樹¹, 細見泰希¹, 中村俊之, 中村宜督, 宗正晋太郎, 村田芳行 (岡山大院・環境生命, ¹岡山大・農)

植物の表皮に存在する気孔は一对の孔辺細胞に囲まれた小孔であり、光合成に必要な二酸化炭素の取り込みや蒸散による水分放出の調節を行う場所である。気孔開度の制御を行う孔辺細胞シグナル伝達において、活性酸素種 (ROS) は重要なメディエーターとして機能することが知られている。

グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) は、糖代謝に関与する解糖系酵素の一つである。しかし近年では、mRNA との結合を介した転写後調節や核内移行を伴う非代謝的役割など既知の役割とは異なる働きが動植物において多く報告され、ムーンライトタンパク質として注目されている。

モデル植物であるシロイヌナズナにおいては、細胞質型 GAPDH である GAPC が、トライコームを含む表皮細胞において、ROS シグナルを調節する可能性が報告されている。しかし、GAPC が気孔開閉運動の制御にかかわる孔辺細胞シグナル伝達において、ROS の調節因子として機能しているかは現在明らかとなっていない。

そこで本研究では、孔辺細胞に発現する GAPC の遺伝子破壊シロイヌナズナ変異体を用いて、気孔開度、GAPC 活性、孔辺細胞の ROS レベルを調査することで、GAPC の孔辺細胞における機能解析を行った。

- F-9 Effect of methylglyoxal and dihydroxyacetone in Arabidopsis
O Maoxiang Zhao, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura, Izumi Mori¹,
Shintaro Munemasa, Yoshiyuki Murata
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ; ¹IPSR., Okayama Univ.)

【Purpose of the research】 Dihydroxyacetone (DHA), is an intermediate in carbohydrate metabolism in higher plants and animals. Methylglyoxal (MG), is a highly reactive physiological metabolite of glycolysis and plays the role of a signal molecule in plants has been studied. **However, information about the physiological functions of DHA, which is the precursor of MG, in higher plants is very limited.** This study clarifies the physiological functions of DHA and aimed to investigate the morphological, physiological, and biochemical responses to DHA.

【Methods・Results】 Arabidopsis was used for this study. The effects of DHA and MG on germination, root elongation, fresh weight, and accumulation of anthocyanin were investigated. Methylglyoxal at concentrations at least higher than 0.1 mM is cytotoxic in Arabidopsis while DHA showed its toxicity at least higher than 1 mM. Exogenous MG at 1 mM significantly inhibited germination and root elongation and MG at 10 mM resulted in chlorosis of seedlings. Exogenous DHA at 1 mM delayed germination and root elongation and treatment at 10 mM completely inhibited root elongation. In addition, no chlorosis of seedlings was observed in the DHA treatments. Application of MG at 1 mM and 10 mM completely inhibited fresh weight. Treatment with DHA at 10 mM decreased the fresh weight by 64%. Treatment with MG at 0.5 mM and 1 mM significantly increased anthocyanin accumulation. In contrast, no accumulation of anthocyanins was detected in the seedling treated with 0.5 mM and 1 mM DHA. These observations suggested that DHA shows less toxicity in plants than MG does.

- F-10 LED シグナル光照射によるレタスの生育と二次代謝のコントロール
O 藤村亮佑¹, 太田健志郎¹, 白石純也², 宮腰峻平², 前田淳史¹, 谷川浩司^{1,2},
梶山博司^{1,2} (¹徳島文理院・工, ²徳島文理・理工)

【目的】植物は光合成でグルコースを合成している。グルコースの一部は生存に不可欠なエネルギーに変換されるが、残りは転流経路と二次代謝経路に分配される。本研究ではレタスに微弱な点滅光(以下, LED シグナル光)を照射する事で, グルコースの転流経路と二次代謝経路への分配比率を明らかにする。

【方法】白色 LED 光と LED シグナル光を使用して, レタスを水耕方式で 3 週間栽培した。白色 LED 光を 12 時間照射し, 白色 LED 光消灯後に LED シグナル光を 8 時間照射した。LED シグナル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 $190 \mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$, LED シグナル光は $0.01 \mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$ に設定した。また, LED シグナル光は, 波長が①630~640 nm と②710 nm より長波長の 2 種類を使用した。LED シグナル光の効果は, 新鮮重量, レタス 1 g 中のアスコルビン酸重量と総ポリフェノール重量により評価した。

【結果】LED シグナル光①と②の照射により, 新鮮重量, アスコルビン酸, 総ポリフェノール全てが CNT に比べて変化していた。LED シグナル光②は, 特にアスコルビン酸の増加が顕著であった。これらの結果は, 三輪ら[1]は, レタスに青色と赤色の LED シグナル光を同時照射した試験で, 新鮮重量が減少するとアスコルビン酸が増加すると報告している。本研究の結果は, PPFD 値が極めて低い赤色の LED シグナル光のみでも, グルコースの転流経路と二次代謝経路への分配比率が変化する事を示している。

[1]三輪浩平ら,日本農芸化学会中四国支部第 58 回講演会,C-4,2021 年 1 月,香川大学(オンライン開催)

G-1 植物カルシウムイオンシグナルの人為的調節技術の開発
○吉田磨生, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行, 宗正晋太郎 (岡山大院・環境生命)

【目的】

細胞質のカルシウムイオン (Ca^{2+}) は、ほぼ全ての真核生物において重要なセカンドメッセンジャーとして機能する。細胞外からの刺激に応答して起こる細胞質遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$) の上昇は、カルモジュリンなどの Ca^{2+} センサータンパク質によって感知されることで下流のシグナル伝達を活性化し、細胞応答を引き起こす。植物においては、成長や分化、植物ホルモン応答、乾燥・温度・機械刺激といった非生物学的ストレス、病原体の感染といった生物学的ストレスへの応答などの過程で、 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ の上昇が起こり、これらの重要な生理学的プロセスの調節に関与している。そのため、植物の $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ を人為的に調節することができれば、有益な形質を植物に付加できる可能性がある。本研究では、植物の $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ の上昇を意図的に誘導するシステムを構築することを目的としている。

【方法・結果】

実験にはニコチアナタバコとシロイヌナズナを用いた。動物の $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ 調節タンパク質を植物に導入し、特定の処理を施すことで、 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ 上昇を誘発するシステムの構築を進めた。このシステムの評価を行うため、 Ca^{2+} センサー蛍光タンパク質である Yellow Cameleon3.6 (YC3.6) に核排除シグナルペプチド (NES) を連結した nesYC3.6 を用いて、 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ の経時変化を観察した。

G-2 Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* roots under salt stress
○Hafsa Jahan Hiya, Airi Takeuchi, Toshiyuki Nakamura, Yoshimasa Nakamura,
Yoshiyuki Murata, Shintaro Munemasa
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)

Salt stress is a major environmental stress that affects growth and development in plants. Calcium ion is an essential second messenger in regulating cellular responses of plants to stress conditions. Salt stress induces an increase in concentration of free cytosolic calcium ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$), which leads to activation of the downstream signaling in plants. However, the molecular mechanisms of salt stress-triggered $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ rise and the downstream signaling remains unclear. To clarify these mechanisms, we have performed $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ imaging and assay of root growth using *Arabidopsis thaliana* roots expressing a fluorescent $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ indicator, Yellow Cameleon 3.6. The application of extracellular sodium chloride and potassium chloride to the root tips induced $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ elevation in *A. thaliana* roots. The peak height of the observed $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ elevation scaled with salt concentrations. We also found that sodium chloride and potassium chloride at 75 mM significantly inhibited the root growth of *A. thaliana* wild-type plants.

G-3 カルシウムイオンに依存した気孔閉鎖にかかわる新規タンパク質キナーゼの探索
○中島朱夏, 脇舩真穂¹, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行, 宗正晋太郎
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・農)

気孔は、植物の葉の表皮に存在する一対の孔辺細胞に囲まれた小孔である。植物は、気孔の開閉運動によって光合成に必要な二酸化炭素の取り込みや蒸散による水分放出の調節を行い、環境の変化に適応している。孔辺細胞は、暗闇や乾燥といった様々な環境刺激を感知し、その体積を変化させることで気孔の開度を調節している。気孔の開閉を制御する孔辺細胞シグナル伝達において、細胞質カルシウムイオンは、重要なセカンドメッセンジャーとして機能する。モデル植物であるシロイヌナズナを用いた実験により、カルシウムイオンに依存した孔辺細胞シグナル伝達に関与する因子がいくつか同定されてきている。しかし、その分子機構の完全解明には至っていない。そこで、本研究では、カルシウムイオン依存性孔辺細胞シグナル伝達に関与する新規因子の同定を最終目的として研究を行った。まず、シロイヌナズナの孔辺細胞に発現するタンパク質キナーゼ遺伝子群から、カルシウムイオンに依存した気孔閉鎖に関与するものを選抜し、その詳細な機能解析を行った。

G-4 植物における細胞内フラビン化合物レベルの調節と環境ストレス応答の関連性
○杉井天真, 原田美帆, 丸田隆典¹, 石川孝博¹, 吉村和也², 重岡 成³, 小川貴央¹
(島根大院・自然科学, ¹島根大・生資科, ²中部大・応生, ³近畿大・附属農場)

【目的】リボフラビン (RF) およびその補酵素型である FMN, FAD は、植物において光合成を含む様々な代謝反応に関与する必要不可欠な化合物である。そのため、細胞内におけるこれらフラビン化合物レベルは厳密に制御する必要があると考えられる。これまでに我々は植物におけるフラビン代謝調節に関わる新規転写因子の解析を通して、シロイヌナズナにおいて RF 合成系遺伝子の発現や細胞内フラビン化合物レベルが低温ストレスや植物ホルモンであるアブシジン酸処理により増加することを見出した。これらのことから、植物において細胞内フラビン化合物レベルと環境ストレス応答の関連性が示唆されるが、その詳細についてはほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、シロイヌナズナの RF 合成系遺伝子 (*AtRibA1*, *PyrD*, *COS1*, *RS*) の過剰発現株を作出し、細胞内フラビン化合物レベルの変化が環境ストレス応答に与える影響について解析を行う。

【方法・結果】これまでに得られた各遺伝子の過剰発現株について、RT-qPCR による発現量の確認を行った結果、コントロールと比較して約 2~37 倍の導入遺伝子の発現増加が確認された。また、これらの過剰発現株について HPLC を用いた RF 量の定量を行った結果、いずれの過剰発現株でもコントロールと比較して約 2 倍程度の RF 量の増加が確認され、最も発現量が高かった *AtRibA1* 過剰発現株ではコントロールの 5.1 倍の RF 量の蓄積が認められた。現在、これらの細胞内フラビン化合物レベルが異なる形質転換体を用いて様々な環境ストレスに対する感受性について解析を行っている。

G-5 遮光条件におけるアスコルビン酸代謝の変動

○濱田珠未, 石川孝博, 丸田隆典 (島根大・生資料)

葉のアスコルビン酸レベルは光強度の上昇に伴って著しく増加するが、遮光条件では生合成系の速やかな停止とともに低下する。そのため、長期的な遮光は著しくアスコルビン酸レベルを減少させ、農作物の品質低下を招く。しかし、この現象の仕組みは不明であり、代謝制御によるものかどうかは明らかではない。本研究では、アスコルビン酸のレドックスサイクルに関わる化合物や酵素に遮光が及ぼす影響を詳しく調べることで、アスコルビン酸分解の分子機構の解明を試みた。2週齢のシロイヌナズナを遮光条件に移したところ、48時間後までに63%が失われた。このとき、NAD(P)Hやグルタチオンの総量やレドックス状態には、アスコルビン酸分解を説明できるほどの大きな変化は見られなかった。興味深いことに、遮光によってアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) 活性が増加し、再生に関与するモノデヒドロアスコルビン酸還元酵素 (MDAR) の活性が低下した。また、細胞外でアスコルビン酸の酸化反応を触媒するアスコルビン酸オキシダーゼ (AO) の関与について、主要アイソフォームである AO1 の欠損株を用いて調べた。その結果、欠損株でも遮光によるアスコルビン酸の分解が起こったが、野生株と比較して遮光48時間後のアスコルビン酸レベルが統計学的に有意に高かった。現在、他の AO アイソフォームや APX, MDAR の関与について詳しく調べている。

G-6 塩・アルカリストレス下におけるイネのカリウム輸送機構に関する品種間差

○南平眞実, Kamonthip Jiadkong, 黄木敬¹, 西田 翔², 上田晃弘
(広島大院・統合生命, ¹広島大・生物生産, ²佐賀大・農)

乾燥地を中心に拡大する塩・アルカリ (SA) 害はイネの生育を著しく阻害するため、イネ生産における課題である。SA害地でも栽培可能なイネ品種を新たに作出するためには、育種母本となり得る SA 耐性イネ品種を選抜し、その耐性機構を解明することが求められる。これまでに我々は、SA 耐性品種として選抜された在来イネ品種 Shwe Nang Gyi を用いて RNA-seq による網羅的遺伝子解析を行ったところ、SA ストレス下でカリウム輸送体が高発現することを確認した。本研究では、SA ストレス下のカリウム輸送機構を耐性品種 Shwe Nang Gyi と感受性品種コシヒカリを比較することで、Shwe Nang Gyi の SA 耐性機構を明らかにすることを目的とした。RNA-seq 解析で発現誘導が確認された遺伝子についてリアルタイム PCR を行った結果、SA ストレス下の両品種において 根の *OsHAK17* と *OsHAK21* の発現の顕著な増加が確認された。また、*OsHAK17* と *OsHAK21* の相対発現量はそれぞれ耐性品種において 58 倍と 172 倍、感受性品種において 29 倍と 84 倍であった。続いて、両品種における SA ストレス下のカリウム含有量を調べたところ、全部位において耐性品種でカリウム含有量が高かった。さらに葉身のカリウム含有量について SA ストレス開始直前と SA ストレス処理後と比較すると、感受性品種で横ばいであった一方で耐性品種では増加していた。以上から、*OsHAK17* と *OsHAK21* は SA ストレス誘導性遺伝子であり、SA ストレス下における耐性品種 Shwe Nang Gyi のカリウム輸送機構の一部に寄与していることが示唆された。

G-7 植物の生長を制御する微生物由来揮発性物質の探索
○那須久瑠光, 三輪佳蓮¹, 上田晃弘¹
(広島大・生物生産,¹広島大院・統合生命)

植物生産には化学肥料が多用されているが、リンやカリウムのような化学肥料は有限資源から製造されているため、肥料資源の節約技術の開発は持続的農業に重要である。近年、生態系との調和性の高い微生物資材に注目が集まっており、植物の生産性向上のための微生物機能の開発が活発となっている。植物の生育促進作用を持つ微生物の多くは植物に微生物を接種して選抜されてきたが、本研究では微生物を植物に接触させず、間接的作用により植物の生長を制御する微生物の単離を試みた。微生物由来の植物生長調節物質の同定を行い、新規なバイオスティミュラント開発の基盤を作ることを目的とした。

供試植物としてシロイヌナズナを用いて植物生育促進微生物 (PGPM) を探索した。微生物は様々な環境から単離した細菌 167 種と真菌 135 種を用いた。二分割シャーレ内でシロイヌナズナと単離した微生物を隔離共培養し、23℃・連続光下で二週間栽培した。その後、シロイヌナズナの地上部を切り取り、三日間乾燥させて乾物重を測定した。植物生育制御効果の判断基準は乾燥重量比とし、対照 (微生物非接種) 区のシロイヌナズナと比べて乾燥重を大きく増加させた 2 種の細菌を単離した。16S rDNA 配列解析を行った結果、これらの細菌は *Bacillus* 属と *Microbacterium* 属細菌と考えられた。これらの細菌培養液の気相部分を捕集して GC-MS による分析に供試したところ、複数種類の揮発性物質が同定された。これらの細菌由来の揮発性物質を持つ植物の生育制御機構について考察する。

G-8 *Aurantiochytrium* 属による脂質生産に向けた Snf1 様 protein kinase の機能解析
○新本佳子, 渡邊研志, 秋 庸裕 (広島大院・統合生命)

【目的】ラビリンチュラ類 *Aurantiochytrium* (オーランチオキトリウム) 属は様々な有用脂質を著量生産することから産業微生物としての利用が期待される。当研究グループでは、CO₂ を固定して酢酸を生成する *Acetobacterium* 属と酢酸資化性の *Aurantiochytrium* 属の組み合わせで、火力発電所から排出される CO₂ を脂質に変換する Gas-to-Lipids バイオプロセスの開発を進めている。これまでに、出芽酵母において脂肪酸の β 酸化を亢進することが報告されている AMP 活性型プロテインキナーゼ (AMPK) が、酢酸を炭素源とした培養での脂肪酸生産性を向上するための育種標的の一つとして推定された。そこで本研究では、*Aurantiochytrium* 属において Snf1 と相同性を持つ AMPK の遺伝子を探索し、その破壊や高発現化を通じた機能解析を目的とした。

【方法・結果】Snf1 のアミノ酸配列を query として *A. limacinum* SR21 株のゲノム中を探索した結果、40-51% の配列類似性を示す ALSnf1-1, 1-2 および 1-3 を発見した。CRISPR-Cas9 システムを用いて各遺伝子破壊株を取得し、酢酸を炭素源として培養したところ、 Δ ALSnf1-1 株は野生株と比較して増殖性が顕著に低下した。出芽酵母 Snf1 がグルコース濃度に応じた代謝切り替えの規定因子であることから、ALSnf1-1 が酢酸資化に重要な役割を果たすことが推察された。また、 Δ ALSnf1-2 株の脂肪酸生産性は野生株の 1.5 倍に向上し、 Δ ALSnf1-3 株のそれも培養後期に概ね高くなったため、両遺伝子の破壊が β 酸化系の活性化を抑制した可能性が考えられた。

G-9 Gas-to-Lipids バイオプロセスにおける脂質生産条件の検討

○奥田源己, 渡邊研志, 中瀬玄德, 廣谷 蘭, 石垣元務, 中島田豊, 松浦将吏¹, 松山恵介², 秋 庸裕 (広島大院・統合生命, ¹中国電力(株), ²長瀬産業(株))

【目的】ラビリンチュラ類 *Aurantiochytrium* (オーランチオキトリウム) 属は高度不飽和脂肪酸やカロテノイドなどの多彩な有用脂質を生産するため、産業微生物としての利用が期待される。本研究では、CO₂を還元固定して酢酸を生成する *Acetobacterium* 属と酢酸資化性の *Aurantiochytrium* 属を組み合わせた二段階発酵によってカーボンリサイクルと有用脂質生産を同時に実現する「Gas-to-Lipids バイオプロセス」の確立に向けて、酢酸からの脂質生産に関する諸条件を検討した。

【方法・結果】*Acetobacterium woodii* DSM1030 株の CO₂-H₂ 混合ガスを基質とした培養で得られた酢酸や菌体を含む *A. woodii* 培養液にトリグリセリド高生産性の *Aurantiochytrium limacinum* SR21 株を接種して培養したところ、菌体あたりの脂肪酸含有率が 60%に及ぶ高い生産性が認められた。そこで、アスタキサンチン高生産性の *Aurantiochytrium* sp. RH-7A-7 株についても検討するため、まず、細胞増殖性の向上に向けた流加培養条件として、酢酸ナトリウム、コーンステープリカー、人工海塩および無機塩類を種々の濃度で含む培地で培養し、培養途中で酢酸ナトリウムを流加して、培養経過を観察した。その結果、24 時間における対酢酸細胞収率が最大 45%に達したことから、高効率な物質変換を可能とする増殖条件が見いだされた。一方、定常期における脂質蓄積条件も検討して、脂肪酸およびアスタキサンチン収量の向上を図っている。

G-10 ヤマブシタケ抽出物はバクテリアのバイオフィーム形成、クオラムセンシング、自己凝集能に影響を及ぼす ○濱治百々子, 坂口直子, Siddiq Ayesha¹, 石丸隆行², 阿座上弘行³ (山口大院・創成科学, ¹鳥取大院・連農, ²宇部フコ短大・食物栄養, ³山口大・中高温微研セ)

ヤマブシタケは食用キノコの一つで、神経保護や抗炎症性、抗酸化性特性など様々な薬理作用を示すことが報告されている。我々はヤマブシタケの抽出物が歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* のバイオフィーム形成を阻害することを発見した。本研究では、ヤマブシタケ抽出物がバイオフィームを阻害するメカニズムを解明するため、抽出物からバイオフィーム阻害物質の精製を行い、その機能を調べた。

抽出物をイオン交換、ゲルろ過、疎水性の各クロマトグラフィーによって分画を行った結果、約 55 kDa のタンパク質が *E. corrodens* のバイオフィームを阻害することが示唆された。また、ヤマブシタケの抽出物が一旦形成されたバイオフィームを分解する能力があることも示唆された。*E. corrodens* はクオラムセンシングのシグナル (オートインデューサー) として AI-2 を使用する。ヤマブシタケ抽出物の添加により、*E. corrodens* の AI-2 生産に影響を及ぼすことが示された。*E. corrodens* は菌体表層レクチンに依存した自己凝集能を有することが報告されているが、ヤマブシタケ抽出物の添加により *E. corrodens* の自己凝集能が抑制された。

さらに、この抽出物はう蝕病原性細菌 *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成も阻害することが示された。また、*S. mutans* のう蝕病原性に関与するグルカン形成を阻害する能力も示した。

H-1 アルギン酸カルシウム に固定化された *Saccharomyces cerevisiae* BA11 による高濃度エタノール生産

ONguyen Tuan Kiet, 中村嘉利¹, 浅田元子¹

(徳島大院・生物資源, ¹徳島大・生物資源)

【目的】本研究者は業廃棄物である杉チップに着目した。リグノセルロース系バイオマスに含まれるセルロースはリグニンやヘミセルロースで覆われているため、環境に優しい前処理方法である水蒸気爆砕によりリグニンやヘミセルロースを除去した。バイオエタノール生産においては、低濃度エタノール生産の報告が多いが、蒸留にかかるエネルギーが大きいことが問題である。そこで、高濃度エタノール生産を目指した発酵方法検討と、そのための酵素糖化率向上を検討した。バイオエタノール生産コストを低下するため、アルギン酸カルシウムにより再利用できる細胞固定化も検討した。

【方法・結果】水蒸気爆砕装置を使用し、杉チップを 45 atm, 5 分間処理した。次に、ミル処理物および処理物残渣を基質として酵素糖化を行った。エタノール発酵は耐塩・耐熱性酵母 *Saccharomyces cerevisiae* BA11 を用い、前培養済みの菌体をアルギン酸カルシウムによって細胞固定化した。固定化済みの菌を用いて、40℃, 48 時間発酵 (3 回) を行った。爆砕処理、ミル処理をそれぞれ行った 200g/l 基質液を用い、72 時間で酵素糖化を行った結果、それぞれ 68.3 g/l, 32.4 g/l のグルコースが生産できた。酵素糖化液濃度 50.4 g/l で 40℃, 固定化菌を用い 3 回の再利用発酵を行った。1, 2, 3 回目のエタノール収量は、21.6, 23.42, 18.4 g/l となった。ミル処理と比較すると、水蒸気爆砕処理により、2.1 倍のグルコース生産量を得ることができた。また、アルギン酸カルシウムで細胞固定化とその再利用により高濃度のエタノールができ、高濃度バイオエタノール生産の可能性が示唆された。

H-2 硫酸還元菌由来 Se 含有ギ酸脱水素酵素の分子系統解析

富永貴生, 根本理子, 金尾忠芳, 〇田村 隆¹

(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・グローバル人材)

【目的】Baar's Beeking の定理(Everything is Everywhere, but the Environment Selects)によれば、微生物は普遍的な存在であり、環境に適した種がそれぞれのニッチで選択される。この定理は、微生物の地理的分布が種の系統関係とは無関係であることを示唆する。この学説に挑戦し、種の系統がグローバルなニッチ特異的に局在することを証明する試みがなされてきたが、BB 定理を覆すだけの物的証拠は得られていない。その主な理由として、微生物では比較的高い頻度で遺伝子の水平伝播が起こるため、遺伝子の分子系統を属や種の系統として解析することの困難さが挙げられる。1 遺伝子ではなく複数遺伝子を用いれば水平伝播を排除した種の解析が可能と考えられるが、同じ進化速度を持ちかつ遺伝子クラスターとして局在しない複数遺伝子を選定することは極めて困難である。【方法・結果】硫酸還元菌のギ酸脱水素酵素(*fdoG*)はセレノシステイン(Sec)残基を持ち、Sec 合成酵素(*selA*)、伸長因子(*selB*)、セレノリン酸合成酵素(*selD*)などの Sec 翻訳装置に依存して発現する。この翻訳装置は相互に分子認識しながら共働しており、さらにこれらの遺伝子はゲノム上に広範囲に散在していることからゲノムの系統関係を解析できる可能性が示唆された。分離源が記録されている 28 種の硫酸還元菌のゲノム情報から *fdoG*, *selA*, *selB*, *selD* の塩基配列を収集してアライメント解析、分子進化モデルの最適化、最尤法による系統解析を行った結果、4 つの遺伝子系統樹は種によっては高い相似形を示した。これら遺伝子群 *fdoG*, *selA*, *selB*, *selD* は硫酸還元菌の種の解析に有用な指標遺伝子群になる可能性が示された。

H-3 カニ殻分解菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 の栄養条件による生育及びキチナーゼ生産の増強

○溝尻怜史, 仁木大輔¹, 有馬二郎 (鳥取大・農, ¹鳥取大・連農)

【目的】カニやエビの殻等に含まれるキチンは毎年約 10 億 t 生産され、その分解物は種々の生理活性を持つことからバイオマス資源として期待されている。しかし、カニ殻やキチンのバイオマス利用は環境への負荷が大きく煩雑な処理が必要であり、これらの問題を解決するために、近年では微生物や酵素を利用した穏和な環境での処理方法の確立が求められている。当研究室ではカニ殻コンポストから、迅速にカニ殻を分解する放線菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 (NTK2 株) を単離した。本研究では、NTK2 株のキチン分解に関わる栄養条件を明らかにし、効率よくキチンを分解する条件を調べた。

【方法・結果】NTK2 株を M9 最小培地で培養した際、培地に 1 mM の MgSO_4 を添加すると顕著に生育の向上が確認された。また、 MgSO_4 とグルコース、キチンオリゴ糖(COS)をそれぞれ添加し、NTK2 株を 7 日間培養したところ、グルコースを添加した条件では、菌は培地中に分散していたことに對し、COS を添加した条件において NTK2 株が凝集する様子が見られた。放線菌用の培地である ISP1 培地に MgSO_4 を添加しても、同様に顕著な生育の増加が見られたため、キチンを添加した場合における MgSO_4 の効果を確認したところ、生育の増加と共にキチン分解の向上が観察され、その上清について、キチナーゼの基質である $(\text{GlcNAc})_2\text{-pNP}$ の分解活性を測定すると、 MgSO_4 無添加条件と比較して、4 倍の分解活性が確認された。このことから培地条件における Mg と NTK2 株のキチン分解との関連が示唆された。現在は、 MgSO_4 の添加によるキチン分解系タンパク質の発現の変化について確認している。

H-4 カニ殻を分解する中等度高熱放線菌の獲得と分泌タンパク質の解析

○枝並研一郎, 仁木大輔¹, 有馬二郎 (鳥取大・農, ¹鳥取大・連農)

【目的】日本有数のカニの水揚げ量を誇る鳥取県では、剥身加工等で殻が大量に発生する。カニの殻の主成分はキチンであり、その分解物の GlcNAc やキチンオリゴ糖からは、抗炎症や作物に対するエリシターなど様々な生理活性が認められている。しかしカニの殻は Ca やタンパク質も多く含まれ、キチンの単離には強酸/強塩基処理が施される。加えて、キチンは水素結合による強固な結晶構造から難分解性であるため、未利用資源として位置づけられる。カニ殻すきこみ農法では、土壌中の放線菌が活性化してカニ殻を分解する。そこで本研究では放線菌のカニ殻分解の機能に着目し、カニ殻からのキチンの抽出・分解に利用可能なカニ殻解放線菌を探索し、分泌タンパク質の生産検討や同定を試みた。

【方法・結果】当研究室が保有する約 30 種類の放線菌株を対象に、カニ殻やキチンを培地成分として添加した際に効率よく分解する放線菌を選抜した。その結果、中等度好熱放線菌である *Streptomyces thermohygroscopicus* において高度な分解と良好な生育が認められた。*S. thermohygroscopicus* は 37~45°C で良好に生育し、培地にキチンやカニ殻を添加することで培養 2 日目からキチナーゼ活性が認められた。また、キチン添加培養液の SDS-PAGE の結果、40 kDa, 30 kDa, 20 kDa 付近に新たなバンドが確認された。それらの N 末端アミノ酸配列解析を行った結果、30kDa のタンパク質が Glycoside Hydrolase family 19 に属するキチナーゼである可能性が示唆された。現在、本菌のゲノム解析を行っており、他のタンパク質の同定も試みている。

H-5 納豆菌が生産する抗細菌物質 ～グラム陰性菌に対する生育阻害活性～ ○千田菜摘, 山根若菜, 西川亜美, 森本日向, 丸山雅史 (愛媛大・農)

【目的】微生物による疫病や汚染が医療や食品、畜産など様々な産業分野において深刻な問題となっている。特にグラム陰性菌は病原性が強く、薬剤透過性が低いいため安全かつ効果的な微生物制御が求められている。乳酸菌の生産する抗菌物質であるナisinが食品添加物として古くから利用されてきたが、枯草菌はより多様の抗菌物質を生産するため、産業利用に向けた研究が進められている。そこで、枯草菌の変種であるところの納豆菌の抗菌性を網羅的に調べた結果、納豆の起源や菌種を問わず普遍的に一定の抗菌性があることが推察された。今回その中からグラム陰性菌に対する物質の解析を行った。

【方法・結果】YM培地より調製した宮城野株培養液の生育阻害活性について性状解析を行ったところ、本抗細菌物質はpHや熱への安定性が高く、分子量約500～1000 Daと推定された。また精製方法の確立に向けてC18とイオン交換カラムを用いてカラム吸着特性の検証を行ったところ、電荷を持たず疎水性が弱い物質であると考えられた。さらに抗菌スペクトルを調べた結果、グラム陽性菌、陰性菌、酵母と様々な微生物に対して幅広く活性が認められた。また本培養液に大腸菌を加えたものとコントロールとして大腸菌のみの二つの系を用意し、所定の培養条件にてそれぞれ培養経過における生菌数をモニターした。その結果、CFUの時間推移から本物質は殺菌作用をもつことも判明した。納豆菌の生産する抗菌物質として最も研究が盛んにされているサーファクチンと比較したところ、本物質とは性状が異なると判明したため、本物質の精製と物質同定を試みている。

H-6 液胞アミノ酸リサイクルの生理的役割 ○中城遥登, 濱田 和, 阿部創始, 中川 栞, 河田 (河野) 美幸^{1,2,3}, 関藤孝之^{1,2} (愛媛大・農,¹愛媛大院・農,²愛媛大・PROS,³愛媛大・ADRES)

細胞が自己分解を行う機構であるオートファジーは真核生物全般に保存されている。オートファジーによって液胞/リソソーム内に生じた分解産物は液胞膜に局在するトランスポーターによってサイトゾルへと排出されると考えられる。我々は液胞膜局在性アミノ酸トランスポーターを含むAVTファミリーの解析を進める中で、酸性アミノ酸を排出するAvt6を*avt3Δ avt4Δ avt7Δ*株で欠損させると酸性アミノ酸だけでなく中性アミノ酸の液胞内含量が増加することを見出した。この四重破壊株(*avt3467Δ*株)はオートファジーを欠損した*atg9Δ*株と同様に、窒素飢餓条件において放射標識バリンのタンパク質への取り込みが大幅に低下し、同条件で発現誘導されるArg1の細胞内レベルも低く抑えられたことから新規タンパク質合成の低下が示唆された。しかし、窒素飢餓条件下での生存率は*atg9Δ*株が大きく減少したのに対し、*avt3467Δ*株では野生型とほぼ同等に維持された。一方、孢子形成効率は部分的に低下したことから*avt3467Δ*株のアミノ酸リサイクルは部分的に低下しており、これがタンパク質合成の低下にも反映したと考えられる。また、グルコースの枯渇によって呼吸代謝へと移行するdiauxic shiftにオートファジー由来のセリンが必要であることが報告されたことから、*avt3467Δ*株にセリン合成酵素遺伝子を破壊した株のdiauxic shiftへの影響について解析中である。本発表ではその結果も合わせて報告する。

H-7 液胞アミノ酸トランスポーターAvt4 N 末端領域の機能とその分子機構解明
○山本悠介¹, 佐藤有美香¹, 石本品也¹, 野澤 彰², 小迫英尊⁴, 澤崎達也²,
関藤孝之^{1,2}, 河田 (河野) 美幸^{1,2,3}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・PLOS, ³愛媛大・ADRES, ⁴徳島大・先端酵素研)

栄養豊富条件で生育している出芽酵母では、栄養応答シグナルの中枢を担う TORC1 キナーゼ複合体が活性化する。本条件下、細胞内の遊離アミノ酸は積極的に液胞内に取り込まれ、蓄積されている。一方で細胞が飢餓条件に陥ると、TORC1 が不活性化しオートファジーが誘導される。液胞での分解により生じたアミノ酸は、蓄積していたアミノ酸とともにサイトゾルへ排出されタンパク質合成にリサイクルされる。このような液胞内外へのアミノ酸輸送は液胞アミノ酸トランスポーターにより行われるため、液胞アミノ酸トランスポーターの活性調節は細胞内アミノ酸ホメオスタシス維持に重要だと考えられる。

我々は飢餓条件でのアミノ酸排出に中心的に働く Avt4 に着目して研究を進めている。Avt4 は N 末端にホモログ間における複数の保存配列や推定リン酸化部位を含む長い親水性領域を持つ。この N 末端欠損型 Avt4 の発現株では、栄養豊富条件にもかかわらず液胞内アミノ酸が減少する。これは Avt4 の N 末端領域が Avt4 自身の活性を負に調節していることを示唆している。そこで本研究では、Avt4 N 末端領域による活性調節機構の解明を目的として、近位依存性ビオチン化酵素 *AirID* 融合型 *AVT4* 発現株を作製し、Avt4 相互作用因子の同定を試みた。

AirID-Avt4 特異的なビオチン化タンパク質を質量分析によって特定したところ、Avt4 の相互作用因子の候補として、液胞膜局在性タンパク質や TORC1 関連タンパク質が複数検出された。本発表では、これら相互作用候補因子と Avt4 との相互作用およびその機能解析について報告したい。

H-8 清酒酵母一倍体の効率的取得に関する研究
○嶋津未来^{1,2}, 周延¹, 金井宗良¹, 赤尾 健^{1,2}
(¹酒総研, ²広島大院・統合生命)

【目的】きょうかい7号(K7)系の清酒酵母は、通常二倍体で生育し胞子形成・発芽能がともに非常に低いため、一倍体取得が困難で、遺伝解析等の障壁となっている。最近、K7系酵母の胞子発芽能の低さの大きな原因として、*SPO11* 遺伝子の機能欠失変異で減数分裂時組換え不全となり、胞子への染色体分配に異常が生じることが報告された。しかし実際には、正常型 *SPO11* の相補のみでは胞子発芽能の回復は十分ではなく、更なる原因変異の存在が示唆されことから、その探索を目的とした。

【方法・結果】広島6号酵母(H6)はK7系酵母に非常に近縁だが、*SPO11* は正常型で、有性生活環を有する。H6-K7間の交雑体も有性生活環を有することから、H6由来一倍体に対してK7由来一倍体による連続戻し交配を行った。その過程で、接合型、倍数性、及び正常型 *SPO11* の保持を確認し、次の戻し交配に供する一倍体を選抜した。最終的に、次世代での胞子発芽能の高い一倍体5株を選抜した(内訳:3回戻し交配株由来一倍体3株, 4回戻し交配株由来一倍体2株)。これらのゲノム中に残ったH6由来領域には、K7の胞子発芽能に正に寄与するアレルが存在すると考えられる。そこで、これらについてゲノムシーケンスを実施し、公開されているK7ゲノムに対して得られたリードをマッピングした。各一倍体のH6由来領域を特定したのち、3株以上共通している領域から、34遺伝子上に約60ヶ所の原因変異の候補を抽出した。胞子発芽に関しては、H6型がK7型アレルに対して優性(顕性)という仮定の下で、複数の候補遺伝子について、K7に対してH6型アレルを相補し、胞子発芽能の評価を行っている。

H-9 黄麹菌のゲノム編集による主要醸造酵素高生産株の育種
○木ノ上隆太^{1,2}, 島本和美², 林 梨咲², 織田 健², 赤尾 健^{1,2}
(¹広島大院・統合生命, ²酒総研)

【目的】黄麹菌は日本の醸造・発酵産業に深く関与する糸状菌であり、有用な菌株が求められている。しかしながら、黄麹菌は交雑できない等の理由から育種は非常に難しい。現在の育種では UV 等による変異により形質が付与されているが、ゲノム全体に変異が入るため、特異的に形質を変えることは困難である。そこで、我々は当所で開発した RNP(sgRNA+Cas9p)直接導入による共ゲノム編集法を用いて、実用株 RIBOIS01 で主要醸造酵素を特異的に高生産する株の開発を目指した。まずは、ターゲットとして α -アミラーゼ(TAA)生産性を改変した株の取得を目指した。

【方法・結果】黄麹菌の TAA を含む糖化酵素の遺伝子発現は転写抑制因子 CreA によりカーボンカタボライト抑制(CCR)される。そこで、遺伝子組換えにより実用株 RIBOIS01 の *creA* を破壊し、米麹を作製すると、TAA 活性の向上が確認できた。一方で、生育能の低下や酸性カルボキシペプチダーゼ活性の低下も見られた。次に、CreA の抑制を TAA のみ解除させるため、3 つの α -アミラーゼ遺伝子のプロモーター上にある CreA のシスエレメントを遺伝子組換えにより除去すると、その株では C 源をグルコースとした培地で液体培養した場合、コントロール株に比べ TAA 活性が増加していることから、TAA の CCR が抑制されることが分かった。そこで、共ゲノム編集により CreA のシスエレメントを除去した株を作出し、形質を確認した結果、本株でも CCR が抑制されていた。さらに、米麹では *creA* 破壊株と同等レベルではないものの、特異的に TAA 活性が向上しており、生産性が改変された株が取得できた。

H-10 分裂酵母における Rad24 優性不能変異の解析
○大島智仁, 妹尾裕子¹, 章 佳君¹, 松尾安浩², 川向 誠²
(島根大院・自然科学, ¹島根大院・生物資源, ²島根大・生資料)

分裂酵母は通常は一倍体で安定で栄養豊富な条件下では体細胞分裂により増殖する。しかし細胞外ストレスや栄養源（特に窒素源）の枯渇、接合フェロモンなどの細胞外因子に応答すると、細胞周期を G1 期で停止させ接合・減数分裂・胞子形成からなる有性生殖過程へ移行する。

分裂酵母の *sam*(skip the requirement of starvation for mating)変異株は、有性生殖過程の理解のために栄養豊富な条件下でも接合・胞子形成を行う株として 9 株が単離されている。これまでの研究で *sam3*, *sam4*, *sam9* の原因遺伝子は *rad24*, *sam1*, 2, 5~8 の原因遺伝子は *pka1* であり、優性変異である *sam3*, *sam9* の変異は *rad24*(E185K)のミスセンス変異である。また *sam* 変異株は KCl と CaCl₂ に対して感受性を示すことも分かっている。

rad24 pka1 二重欠損株を誘導し、栄養豊富条件と低グルコース条件で表現型を解析した結果、*rad24* 欠損株の低グルコース条件と *rad24 pka1* 二重欠損株の栄養豊富条件は同様の表現型を示すと考えられたが、接合・胞子形成率が異なり、細胞の形態で *rad24 pka1* 二重破壊株でしか見られない異常な胞子を形成する細胞が観察された。そして *rad24 pka1* 二重欠損株は CaCl₂ に対して強い感受性を示した。

Δ *rad24 pka1*-GFP 株, *rad24*(E185K) *pka1*-GFP 株を誘導し、窒素源枯渇条件の *pka1*-GFP の局在を解析したところ窒素源枯渇の時間経過に伴い核の局在から細胞質へ局在が移行するタイミングに大きな影響は見られなかった。

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)大熊
- ・大塚器械(株) 西条支店
- ・岡山県酒造組合
- ・オハヨー乳業(株)
- ・片山化学工業(株) 岡山営業所
- ・カバヤ食品(株)
- ・(株)機能性食品開発研究所
- ・協和発酵バイオ(株)
山口事業所生産技術研究所
- ・麒麟ビール(株) 岡山工場
- ・(株)近畿日本ツーリスト中国四国 広島支店
- ・久保田商事(株) 広島営業所
- ・寿製菓(株)
- ・三栄源エフエフアイ(株)
- ・(株)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)
- ・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)

2022年12月1日現在 50社



農業、はじめまして。

人と地域を繋ぐ



英田エンジニアリングは産業機器メーカーとして、お客様が安心できる街づくりに取り組んできました。農業分野では耕作放棄地を活用し、害獣の発生を防ぐと共に、高齢者、障がい者の雇用促進など、地域社会に貢献していきます。



精神的疲労感軽減に

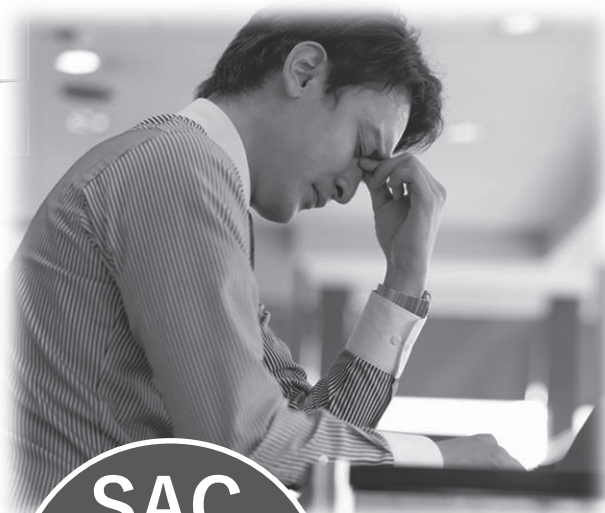
S-アリルシステイン (SAC) 高含有
食品素材

SAC
サ ッ ク
ニンニク®

SACニンニクは

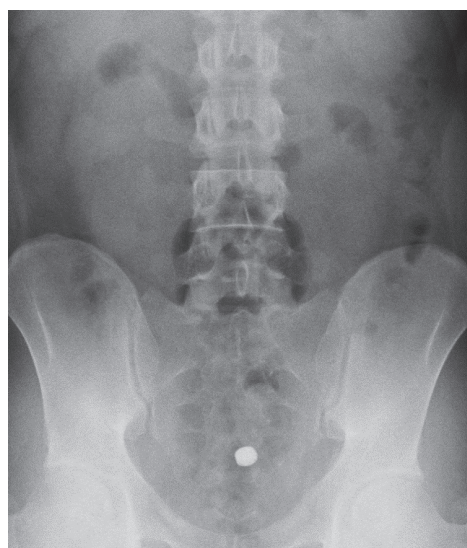
- 独自発酵技術「SACLATION®」によって
SAC含量を200倍以上アップ
- ニンニク100%のエキス末
- 精神的疲労感を軽減する効果を確認
- ニンニク特有の臭いを低減

☆機能性表示食品をご希望の方はご連絡下さい！



SAC
10 mg/g
以上

高い吸収率
(90%以上)
脳内の抗酸化による
脳内炎症の抑制
= 抗脳疲労



B-ReC錠の体内動態X線写真

素材の機能を最大限に発揮 届ける製剤

Bizen Release-time Control

B-ReC®
ビ ー レ ッ ク

食品成分がその機能を発揮するためには、
消化管の適切な場所や適切な時間で溶出される
ことが重要です。

B-ReC®錠は機能成分を消化管の狙った場所に
送達できる錠剤です。

＜ニンニクの臭いがしない技術＞

女性も

SACニンニク + B-ReC で臭いを感じず安心して食べて頂けます！



— 自然素材の力をカタチにするパイオニア —

備前化成株式会社

BIZEN CHEMICAL CO., LTD.



ホームページ FM505847/ISO9001



本 社 〒709-0716 岡山県赤磐市徳富363
TEL 086-995-3311 FAX 086-995-3131
東京支社 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町2-6-1
TEL 03-5643-1055 FAX 03-5643-1056



FSSC 748331 / FSSC 22000
製剤工場

<https://www.bizen-c.co.jp>

第64回日本農芸学会中四国支部 講演会 ご開催おめでとうございます

新青山株式会社

研究者・技術者の皆様、ご要望にお応え致します。

< LCMS-2050 >

- ・ 複雑な設定が無く
従来のHPLC検出器のように
簡単に使える。
- ・ 世界最高クラスの
高速・高感度を実現
- ・ 小型化、分析の高速化・高感度化を
両立したシングル四重極LC-MS



既存LCに接続可能！！

〒700-0953

岡山市南区西市114番地8(岡山営業所)

Tel 086-245-4551 Fax 086-245-4220

Mail info@shin-aoyama.co.jp

<http://www.shin-aoyama.co.jp>

新青山
サイエンスのすべてを。

地域の発展と豊かな環境を目指し、我々は進化します。

KAKEN-TECHNO CO., LTD.

化研テクノ株式会社

<http://kaken-techno.co.jp>

本 社	〒770-0873	徳島県徳島市東沖洲2丁目27番地1
		TEL (088)664-6321(代表)
高 松 営 業 所	〒761-0301	香川県高松市林町148-19
		TEL (087)815-1111(代表)
松 山 営 業 所	〒791-1102	愛媛県松山市来住町1445番1
		TEL (089)960-0260(代表)
新居浜営業所	〒792-0050	愛媛県新居浜市萩生545-3
		TEL (0897)43-8001(代表)
高 知 営 業 所	〒780-0082	高知県高知市南川添21-13
		TEL (088)884-8881(代表)
岡 山 出 張 所	〒700-0927	岡山県岡山市北区西古松1丁目6-3
		TEL (086)250-3959(代表)
大 阪 出 張 所	〒564-0062	大阪府吹田市垂水町3丁目13番18号
		TEL 06-4861-0018 (代表)

取扱品目

試験研究用試薬、一般試薬
輸入試薬、体外診断薬
試験研究用精密分析機器
実験器具及び機材
臨床検査機器
高純度化成品、工業薬品
水産薬品、水処理薬品
医薬品、動物用医薬品



ISO9001 品質マネジメントシステム認証取得
ISO14001 環境マネジメントシステム認証取得

認証範囲：ISO9001 本社、松山営業所
ISO14001 本社、高松営業所
松山営業所

謝 辞

日本農芸化学会中四国支部創立 20 周年記念第 64 回講演会の開催にあたり，下記の企業からご支援を賜りました。

ここに厚くお礼申し上げます。

2023 年 1 月

日本農芸化学会中四国支部第 64 回講演会実行委員会

(株) 英田エンジニアリング
化研テクノ (株)
片山化学工業 (株)
新青山 (株)

林兼産業 (株)
備前化成 (株)
勇心酒造 (株)

(五十音順)

日本農芸化学会中四国支部第64回講演会

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：山本登志子

連絡先：〒719-1197 岡山県総社市窪木111

岡山県立大学保健福祉学部栄養学科

T E L：0866-94-2156

E-mail：toshiko@fhw.oka-pu.ac.jp

支部からのお知らせ

1. 学会創立100周年記念 第65 回講演会（例会）
開催日：2023年 6 月 3 日（土）
場 所：宇部フロンティア大学（文京台キャンパス）
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
講演申込締切：5 月 1 日（月）
講演要旨締切：5 月 8 日（月）
世話人：石丸隆行（宇部フロ短大）
2. 学会創立100周年記念 第66回 講演会（中四国支部・西日本支部合同大会）
開催日：2023年 9 月21日（木）～9 月22日（金）
場 所：高知県立大学
内 容：特別講演，シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：大西浩平（高知大学）
3. 学会創立100周年記念 第67回 講演会（例会）
開催日：2024年 1 月27日（土）
場 所：鳥取大学
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：有馬二郎（鳥取大学）
4. 学会創立100周年記念 第37回 若手研究者シンポジウム
開催日：2023年 5 月12日（金）
場 所：岡山大学（津島キャンパス）
内 容：招待講演（5 件）
世話人：宗正晋太郎，中村俊之，根本理子，泉 実（岡山大学）
5. 学会創立100周年記念 第38回 若手研究者シンポジウム
開催日：2023年 7 月 1 日（土）
場 所：高知大学（物部キャンパス）
内 容：招待講演（4 件），一般講演（1 件）
世話人：若松泰介（高知大学）

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