

学会創立100周年記念

日本農芸化学会

2023年度中四国・西日本支部合同大会

中四国支部第66回講演会

西日本支部第347回講演会

講演要旨集

日時：2023年9月21日(木)，22日(金)

場所：高知県立県民文化ホール，高知県立大学

 日本農芸化学会中四国支部・西日本支部

一般講演 会場一覧表

会場		講演番号	分類
A	教育研究棟 A104 講義室	A-1 ~ A-19	微生物
B	教育研究棟 A105 講義室	B-1 ~ B-19	微生物
C	教育研究棟 A213 講義室	C-1 ~ C-19	微生物
D	教育研究棟 A214 講義室	D-1 ~ D-17	動物・植物・生物化学工学・環境科学
E	地域連携棟 B206 講義室	E-1 ~ E-18	食品・有機化学
F	地域連携棟 B207 講義室	F-1 ~ F-18	食品

一般講演 座長一覧表

会場		講演番号	座長
A	教育研究棟 A104 講義室	A-1 ~ A-4	藤井達也 (産総研・機能化学)
		A-5 ~ A-8	門岡千尋 (崇城大・生物生命)
		A-9 ~ A-11	林 順司 (徳島大・生物資源)
		A-12 ~ A-15	松沢智彦 (香川大・農)
		A-16 ~ A-19	若松泰介 (高知大・農林海洋)
B	教育研究棟 A105 講義室	B-1 ~ B-4	堀澤 栄 (高知工科大・環境理工)
		B-5 ~ B-8	笹野 佑 (崇城大・生物生命)
		B-9 ~ B-11	二神泰基 (鹿児島大・農林水産)
		B-12 ~ B-15	渡邊 彰 (香川大・農)
		B-16 ~ B-19	関藤孝之 (愛媛大院・農)
C	教育研究棟 A213 講義室	C-1 ~ C-4	谷 明生 (岡山大・植物研)
		C-5 ~ C-8	土居克実 (九大院・農)
		C-9 ~ C-11	鈴木宏和 (鳥取大・工)
		C-12 ~ C-15	加藤伸一郎 (高知大・総研セ)
		C-16 ~ C-19	村松久司 (高知大・農林海洋)
D	教育研究棟 A214 講義室	D-1 ~ D-4	宮本恵美 (高知学園大・健康科学)
		D-5 ~ D-8	手林慎一 (高知大・農林海洋)
		D-9 ~ D-11	渡邊真宏 (産総研・機能化学)
		D-12 ~ D-15	浅田元子 (徳島大・生物資源)
		D-16 ~ D-17	今中洋行 (岡山大院・環境生命)
E	地域連携棟 B206 講義室	E-1 ~ E-4	西 甲介 (愛媛大・食品セ)
		E-5 ~ E-8	中村宜督 (岡山大院・環境生命)
		E-9 ~ E-11	島村智子 (高知大・農林海洋)
		E-12 ~ E-15	塩月孝博 (島根大・生資料)
		E-16 ~ E-18	柏木丈拵 (高知大・農林海洋)
F	地域連携棟 B207 講義室	F-1 ~ F-4	井内良仁 (山口大院・創成科学)
		F-5 ~ F-8	向井理恵 (徳島大・生物資源)
		F-9 ~ F-11	矢中規之 (広島大院・統合生命)
		F-12 ~ F-15	熊添基文 (九大院・農)
		F-16 ~ F-18	寺本祐司 (崇城大院・工)

注意)

1. 発表は据付のパソコン (Windows 10) をご使用ください。操作は各発表者でお願いします。
2. 試写は各会場にて午前発表の方は 8:30 より、午後発表の方は昼休みに行ってください。
3. 発表 9 分、質疑応答 3 分 (交代を含む)、時間厳守での進行をお願いします。

会場へのアクセス

第1日目：9月21日（木）

◇高知県立県民文化ホール（グリーンホール） <https://kkb-hall.jp/>

（中四国支部幹事打合せ，西日本支部参与会，受賞講演，特別講演）

〒780-0870 高知市本町 4-3-30 TEL 088-824-5321

- JR高知駅から路面電車，はりまや橋乗換「県庁前」下車（約20分），徒歩3分
- 高知龍馬空港から空港連絡バス「はりやま橋下車」，路面電車で「県庁前」下車

◇高知会館（懇親会会場） <https://kochikaikan.jp/>

〒780-0870 高知市本町 5-6-42 TEL 088-823-7123

- 高知県立県民文化ホール（グリーンホール）より北へ徒歩3分

第2日目：9月22日（金）

◇高知県立大学永国寺キャンパス <https://www.u-kochi.ac.jp/site/eikokuji/>

（中四国支部参与会，一般講演）

〒780-8515 高知市永国寺町 2-22

- JR高知駅からタクシーで5分，徒歩20分



会場案内

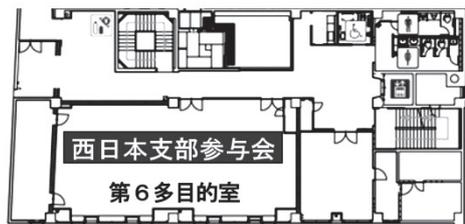
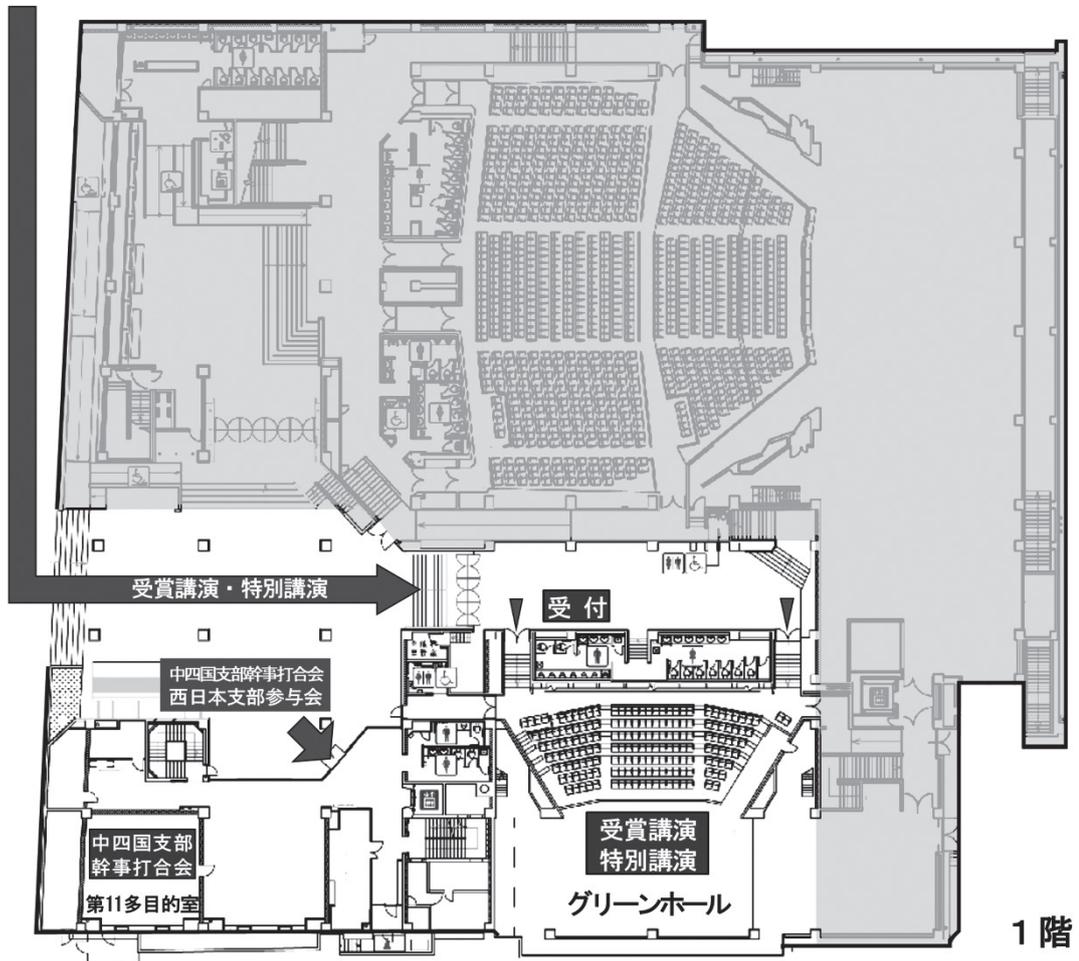
高知県立県民文化ホール（グリーンホール）

（〒780-0870 高知市本町 4-3-30 TEL 088-824-5321）

受付	1階 エントランスロビー
受賞講演・特別講演	1階 グリーンホール
中四国支部幹事打合会会場	事務棟 1階 第11多目的室
西日本支部参与会会場	事務棟 4階 第6多目的室



県庁前・高知会館方面

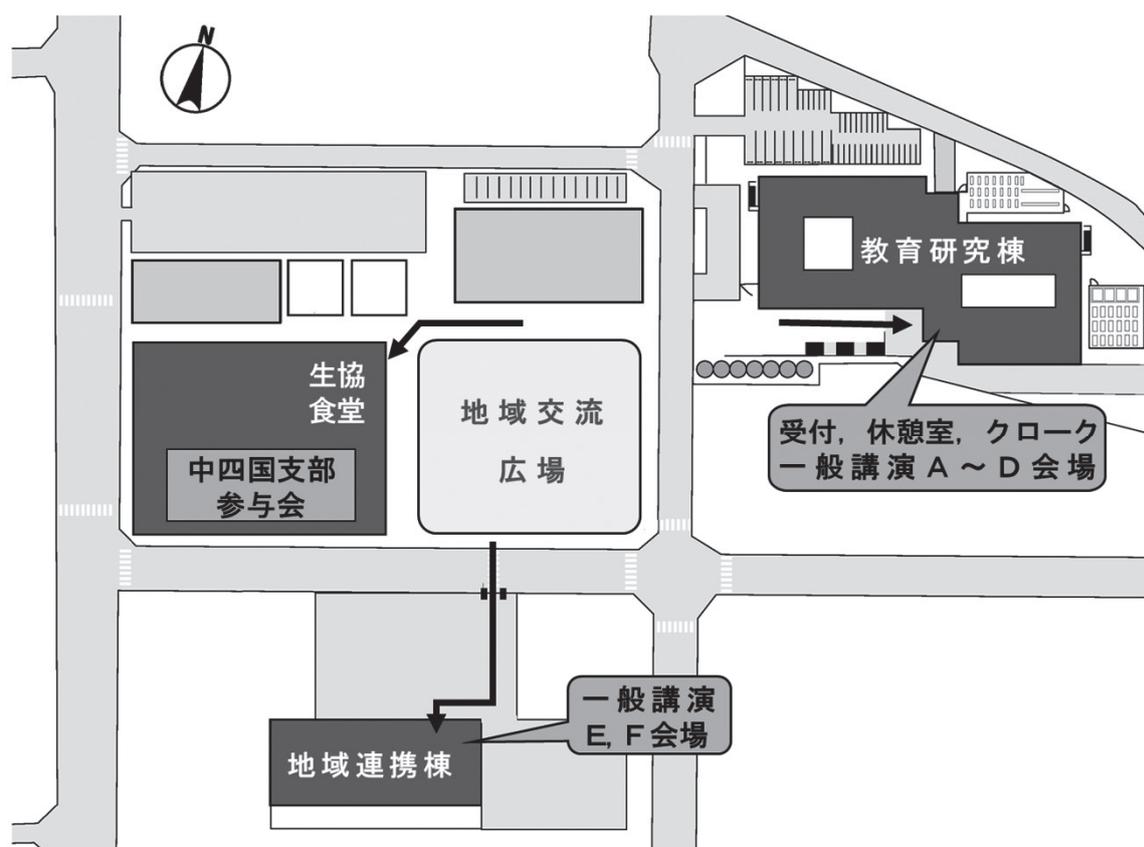


中四国支部幹事打合会および西日本支部参与会の会場には、事務棟入口よりお進みください

会場案内 高知県立大学永国寺キャンパス

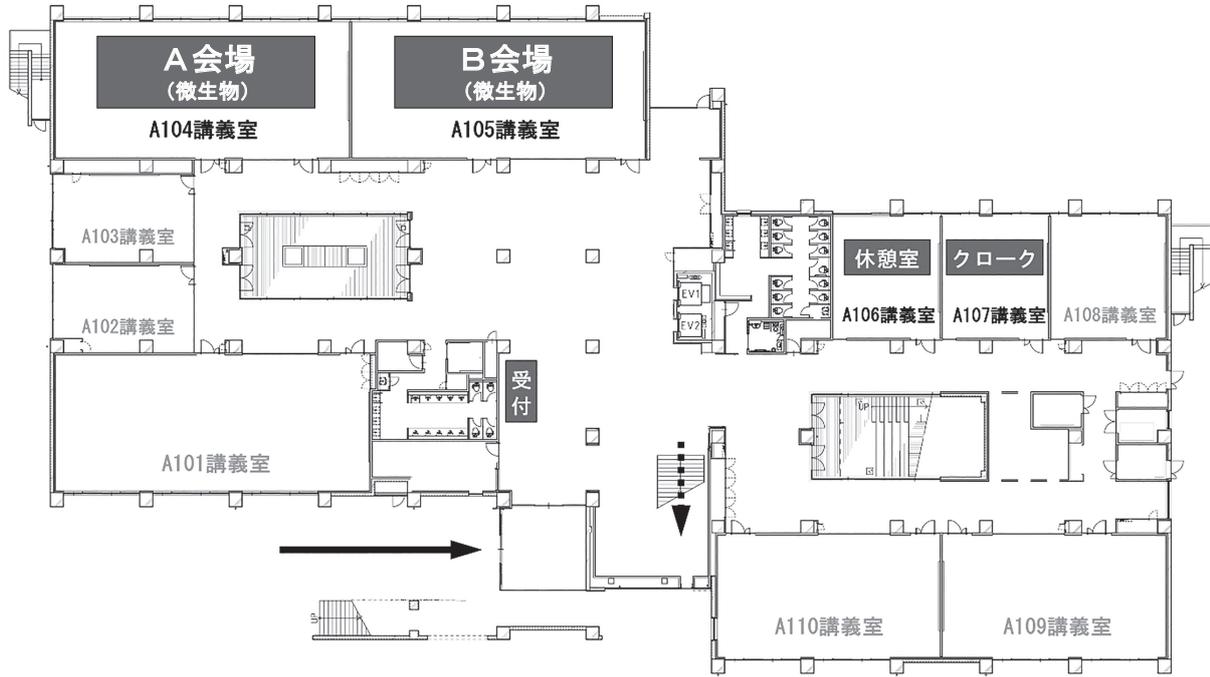
(〒780-8515 高知市永国寺町 2-22)

受付	教育研究棟 エントランスロビー
一般講演 A会場	教育研究棟 1階 A104 講義室
B会場	教育研究棟 1階 A105 講義室
C会場	教育研究棟 2階 A213 講義室
D会場	教育研究棟 2階 A214 講義室
E会場	地域連携棟 2階 B206 講義室
F会場	地域連携棟 2階 B207 講義室
中四国支部参与会会場	生協食堂
休憩室	教育研究棟 1階 A106 講義室
クローク	教育研究棟 1階 A107 講義室



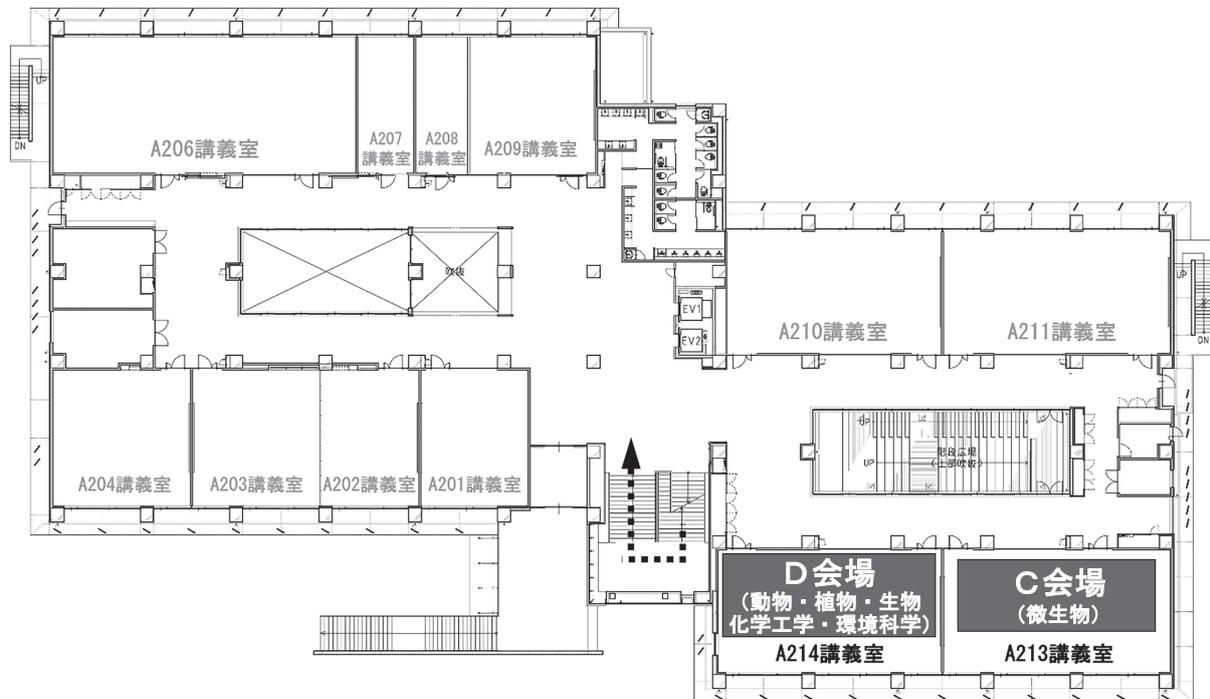
高知県立大学の駐車場は使用できません。周囲には有料となりますが駐車場がありますのでそちらをご利用ください。

教育研究棟 1階（受付，クローク，休憩室，A会場，B会場）



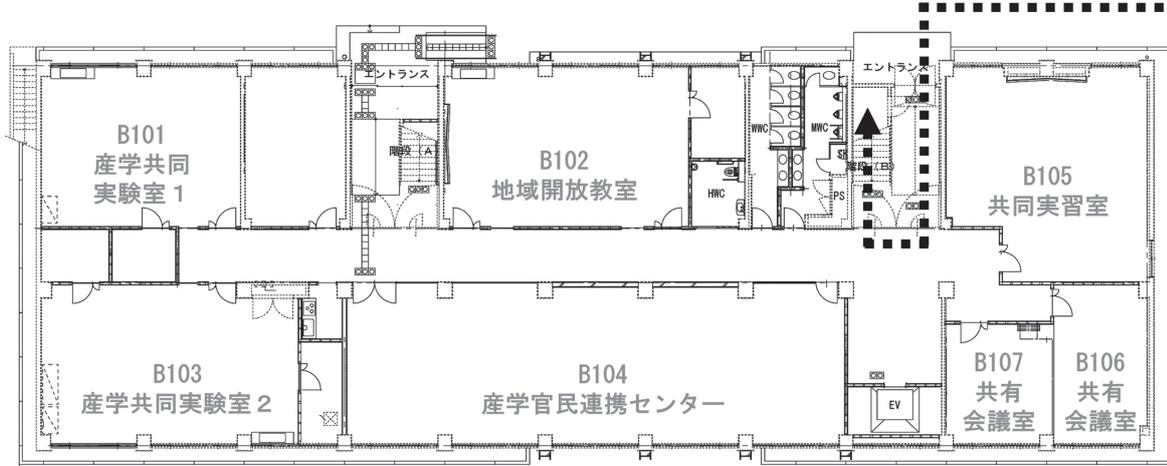
1階

教育研究棟 2階（C会場，D会場）

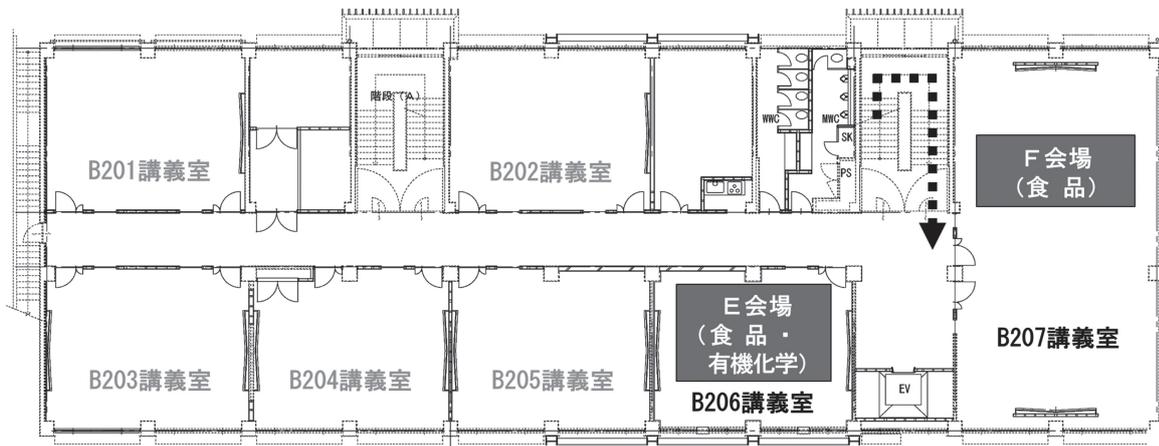


2階

地域連携棟（E会場，F会場）



1階



2階

講 演 会

プ ロ グ ラ ム

学会創立 100 周年記念 日本農芸化学会 2023 年度中四国・西日本支部合同大会

(中四国支部第 66 回・西日本支部第 347 回講演会)

プログラム

第 1 日目 : 9 月 21 日 (木) 高知県立県民文化ホール (グリーンホール)

13:15~14:15 2023 年度 日本農芸化学会功績賞受賞講演

「分裂酵母を基盤とした増殖制御機構と CoQ₁₀ 生合成の研究」

川向 誠 (島根大・生資科)

座長 塩月孝博 (島根大・生資科)

「膜を基軸とする微生物代謝の分子基盤と機能開発」

山田 守 (山口大院・創成科学)

座長 井内良仁 (山口大院・創成科学)

14:15~15:15 日本農芸化学会会長特別講演

「微生物における代謝の多様性と分子機構」

西山 真 (東大院・農)

座長 山内 聡 (愛媛大院・農)

15:20~16:30 特別講演

「新しい農薬を目指して - 化学生態学からのアプローチ -」

金 哲史 (高知大・農林海洋)

座長 石原 亨 (鳥取大・農)

「海洋産アルカロイド Lamellarin 及び類縁化合物の合成と生理活性」

石橋郁人 (長崎大院・水産)

座長 立花宏文 (九大院・農)

第 2 日目 : 9 月 22 日 (金) 高知県立大学永国寺キャンパス

9:00~11:36 一般講演 (午前の部)

(A~F 会場)

13:30~15:18 一般講演 (午後の部)

(A~F 会場)

◇ 一般講演プログラム

A会場（教育研究棟 1階 A104 講義室）「微生物」

- A-1 9:00 *Cryptococcus neoformans* における推定ガラクトース転移酵素遺伝子の機能解析
○門岡千尋, 田中 大¹, 岡 拓二
(崇城大・生物生命, ¹東北医薬大・薬)
- A-2 9:12 *Thermus thermophilus* HB8 由来トランスケトラーゼを用いた七炭糖生産と効率的な生産条件の検討
●綿貫花菜, 高松陽太, 望月 進^{1,2}, 花木祐輔^{1,2}, 吉田裕美^{2,3}, 神鳥成弘^{2,3}, 何森 健^{1,2}, 吉原明秀^{1,2}
(香川大院・農, ¹香川大・農, ²香川大・国際希少糖, ³香川大・医)
- A-3 9:24 *Thermus thermophilus* HB8 由来トランスアルドラーゼを用いたケトオクトース生産
●三好恵梨佳, 望月 進^{1,2}, 花木祐輔^{1,2}, 神鳥成弘^{2,3}, 何森 健^{1,2}, 吉原明秀^{1,2}
(香川大院・農, ¹香川大・農, ²香川大・国際希少糖, ³香川大・医)
- A-4 9:36 *Klebsiella pneumoniae* 40b 由来ポリオールデヒドロゲナーゼを用いたケトース・糖アルコール間の効率的な転換
●山本菜帆, 吉田裕美^{1,2}, 望月 進^{2,3}, 何森 健^{2,3}, 吉原明秀^{2,3}
(香川大院・農, ¹香川大・医, ²香川大・国際希少糖, ³香川大・農)
- 9:48 休憩
- A-5 10:00 *Luteolibacter algae* H18 アカモクフコイダン脱硫酸化酵素の精製と遺伝子同定
○藤田太洋, 松村直哉¹, 荒井良仁², 八木寿梓², 鈴木宏和², 大城 隆²
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・工, ²鳥取大院・工)
- A-6 10:12 *Luteolibacter algae* H18 の第二のフコイダン脱アセチル化酵素
○吉田優里, 荒井良仁¹, 八木寿梓¹, 鈴木宏和¹, 大城 隆¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大院・工)
- A-7 10:24 *Luteolibacter algae* H18 由来の複数酵素によるフコイダン分解
○荒井良仁, 村上ひかる¹, 八木寿梓, 鈴木宏和, 大城 隆
(鳥取大院・工, ¹鳥取大・工)

- A-8 10:36 麹菌の α -フコシダーゼの同定と機能解析
●島田尚季, 亀山昭彦¹, 松沢智彦
(香川大・農, ¹産総研・細胞分子)
- 10:48 休憩
- A-9 11:00 糸状菌 *Talaromyces cellulolyticus* のマンナン分解酵素遺伝子の発現機構の解析
○藤井達也, 森田友岳
(産総研・機能化学)
- A-10 11:12 麹菌における α -キシロシダーゼの機能分化
○松沢智彦, 中道優介¹, 島田尚季
(香川大・農, ¹産総研・機能化学)
- A-11 11:24 *Bacillus thuringiensis* A1100 のゲノム解析から見出した細胞損傷タンパク質遺伝子の機能解析
○山口朋恵, 齋藤浩之¹, 阿部雄一, 北田 栄², 原島 俊, 浴野圭輔
(崇城大・応微工, ¹福岡工技セ・生食研, ²九工大・情報工)
- 11:36 休憩
- A-12 13:30 出芽酵母におけるリジンの生育阻害効果の作用機序について
●尾坂夏味, 川内凜子¹, 山口翔吾¹, 村尾奈美¹, 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)
- A-13 13:42 分裂酵母 Pof1 の DNA 修復における機能解析
○Jiang Beibei, Tang Jiashen, 中村幹生, 上野 勝
(広島大院・統合生命)
- A-14 13:54 酢酸菌グリセロール脱水素酵素の機能安定化の物質生産および呼吸鎖への影響
●金田梨沙, 阿野嘉孝
(愛媛大院・農)
- A-15 14:06 不飽和脂肪酸代謝酵素を有する乳酸菌の探索
●福地雄大, 中島勇貴^{1,2}, 日比友之, 大貫琴音, 浦上雅史, 森井大貴, 安田 伸^{1,3}, 木下英樹^{1,2,3}
(東海大院・農, ¹東海大院・生科, ²東海大・総農研, ³東海大・農)

14:18 休憩

- A-16 14:30 超好熱アーキア由来 FAD 依存性 D-乳酸脱水素酵素の X 線結晶構造解析
○林 順司, 川上竜巳, 平田 章¹, 金丸 芳, 大島敏久², 櫻庭春彦³
(徳島大・生物資源, ¹徳島大・理工, ²大阪工大・工, ³香川大・農)
- A-17 14:42 大腸菌 D-アラニル-D-アラニンリガーゼ変異型酵素の特性解析
●木和田康太, 山元小槇, 加藤伸一郎¹
(高知大院・農林海洋, ¹高知大・総研セ)
- A-18 14:54 超好熱性細菌 *Thermotoga maritima* のキシログルカン分解酵素群
●河合柚希, 亀山昭彦¹, 櫻庭春彦, 松沢智彦
(香川大・農, ¹産総研・細胞分子)
- A-19 15:06 麹菌発現系を用いて生産した担子菌 *Flammulina velutipes* 由来ラッカーゼアイソザイ
ムの解析
○仁尾優太, Cesur Aylin¹, 須鼻浩平, 麻田恭彦², 渡邊 彰²
(香川大院・農, ¹愛媛大院・連農, ²香川大・農)

●の講演は、合同大会優秀発表賞審査の対象となります。

B会場（教育研究棟 1階 A105 講義室）「微生物」

- B-1 9:00 酵母 *Metschnikowia pulcherrima* AH550 株によるブルケリミン酸高生産
Shang Siqi, 浜口愛勇生, 田口久貴, ○笹野 佑
(崇城大・生物生命)
- B-2 9:12 出芽酵母における液胞アミノ酸リサイクルの重要性について
●中川 栞, 中城遥登¹, 阿部創始, 濱田 和, 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)
- B-3 9:24 *S. cerevisiae* BA11 の耐性評価とキシロース資化性付与
●樫谷侑太郎, 浅田元子¹, Prihardi Kahar², 荻野千秋², 中村嘉利¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源, ²神戸大・工)
- B-4 9:36 清酒酵母のエタノール応答機構に関与する遺伝子の探索
●河内孝之^{1,2}, 金井宗良¹, 赤尾 健^{1,2}
(¹酒総研, ²広島大院・統合生命)
- 9:48 休憩
- B-5 10:00 数理モデルで迫る乳酸菌-酵母複合系の種間相互作用
○大城麦人, 善藤威史, 田代幸寛, 中山二郎
(九大院・農)
- B-6 10:12 たくあん漬から分離した乳酸菌 *Lactococcus lactis* PJR24 が生産するバクテリオシンの精製方法の検討と性質
●永田妃奈子, 善藤威史¹, 松崎弘美²
(熊本県大院・環境共生, ¹九大院・農, ²熊本県大・環境共生)
- B-7 10:24 *Lactiplantibacillus plantarum* PUK6 が生産する多成分バクテリオシンの輸送機構
●松田明香里, 吉原真希¹, 河原あい¹, 善藤威史², 松崎弘美¹
(熊本県大院・環境共生, ¹熊本県大・環境共生, ²九大院・農)
- B-8 10:36 乳酸菌由来新奇抗菌ペプチド・タンパク質の探索と構造・特性解析
○田中里緒菜, 庄野陸太, 野見山泰成, 中山二郎, 善藤威史
(九大院・農)
- 10:48 休憩

- B-9 11:00 下水汚泥から単離されたオリゴ乳酸分解菌の特性評価
●吉田雄治, Adina Anghelescu-Hakala¹, 水野康平², 園田達彦², 日高浩樹,
前田憲成
(九工大院・生体工, ¹VTT, ²北九高専・生デ工)
- B-10 11:12 乳酸菌との共培養における *Geotrichum candidum* の生育促進因子の探索
●森井大貴, 角替健斗¹, 東野虎太郎¹, 菊川文音¹, 中島勇貴^{2,3}, 日比友之,
大貫琴音, 福地雄大, 浦上雅史, 安田 伸^{1,2}, 木下英樹^{1,2,3}
(東海大院・農, ¹東海大・農, ²東海大院・生科, ³東海大・総農研)
- B-11 11:24 白色腐朽菌を用いたエタノール生産における糖の利用効率
●西川拓海, 立尾崇真, 三宅真由, 堀沢 栄
(高知工科大・環境理工)
- 11:36 休憩
- B-12 13:30 黄麹菌生細胞におけるグルコアミラーゼ mRNA の局在機構解析
●守田湧貴, 竹川 薫, 樋口裕次郎
(九大院・生資環)
- B-13 13:42 黄麹菌の微小管生合成に関わるチューブリン mRNA の局在解析
●川富溪舟, 守田湧貴, 竹川 薫, 樋口裕次郎
(九大院・生資環)
- B-14 13:54 鯉節カビ *Aspergillus chevalieri* の生活環に関する解析
●平松健太郎, 森 一樹¹, 門岡千尋², 奥津果優, 吉崎由美子, 高峯和則,
田代康介¹, 玉置尚徳, 二神泰基
(鹿児島大院・農林水産, ¹九大・農, ²崇城大・生物生命)
- B-15 14:06 *Aspergillus fumigatus* の真菌型ガラクトマンナン生合成に関わる α -1,2-マンノース転移
酵素 CmsA の遺伝子破壊による菌糸成長抑制を抑圧する変異株の変異点解析
●岸田凜太郎, 門岡千尋, 田中 大¹, 平 大輔, 岡 拓二
(崇城大院・工, ¹東北医薬大・薬)
- 14:18 休憩

B-16 14:30 分裂酵母 *S. pombe* の *coq9* 破壊株への *coq8* 遺伝子導入による CoQ 生合成, 中間体蓄積への影響

●上西倫大朗, 堀 知葉, 松本早代, 戒能智宏¹, 川向 誠¹
(島根大院・自然科学, ¹島根大・生資科)

B-17 14:42 Romidepsin が環状染色体を持つ分裂酵母に与える影響

●田村洗斗, 上野 勝
(広島大院・統合生命)

B-18 14:54 核-液胞接合部(NVJ)を介したスフィンゴ脂質による液胞分裂制御機構

●花岡和樹, Philipp Schlarmann, 池田敦子, 船戸耕一
(広島大院・統合生命)

B-19 15:06 動植物から分離した *Saccharomyces cerevisiae* のワイン醸造特性

●前田祐里, 荒木鷹寧¹, 村松久司¹, 永田信治², 土居睦卓³, 甫木嘉朗³
(高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋, ²高知大・学創セ, ³高知県工技セ)

●の講演は, 合同大会優秀発表賞審査の対象となります。

C会場（教育研究棟 2階 A213 講義室）「微生物」

- C-1 9:00 *Cupriavidus necator* を宿主とした透明な生分解性プラスチックの生合成
○板倉真優, 石川鈴恵¹, 田中賢二², 田口精一³, 松崎弘美¹
(熊本県大院・環境共生, ¹熊本県大・環境共生, ²近畿大・産理工,
³神戸大院・科技イノベ)
- C-2 9:12 複合微生物工学アプローチによるバイオプロセス制御：マンニトールを基質とした
メタ回分発酵による有機酸生産
●水野 優, 古閑友紀, 大城麦人, 宮本浩邦^{1,2,3}, 酒井謙二, 田代幸寛
(九大院・生資環, ¹千葉大・園芸, ²理研・生命医科学, ³(株)サーマス)
- C-3 9:24 複合微生物工学アプローチによるバイオプロセス制御：メタ連続発酵における pH が
細菌叢と有機酸生産性に及ぼす影響の解明と乳酸生産性向上の検討
●古閑友紀, 宮本浩邦^{1,2,3}, 酒井謙二, 大城麦人, 田代幸寛
(九大院・生資環, ¹千葉大・園芸, ²理研・生命医科, ³(株)サーマス)
- C-4 9:36 水素細菌 *Ralstonia eutropha* H16 株のポリヒドロキシ酪酸蓄積変異株における特性評価
●小役丸桜季, 前田憲成
(九工大院・生体工)
- 9:48 休憩
- C-5 10:00 石けん及び合成洗剤成分の生分解に関わる細菌群集構造解析
●入口俊介, 前田憲成, 完山陽秀¹
(九工大院・生体工, ¹シャボン玉石けん(株))
- C-6 10:12 イネ・オオムギ二毛作における根圏微生物群集構造の時系列変遷と機能
○谷 明生, 最相大輔, 山地直樹, 山下 純, 小橋理絵子, 山本敏央, 門田有希¹,
中川智行², 持田恵一³
(岡山大・植物研, ¹岡山大院・環境生命, ²岐阜大・応生科, ³長崎大・情報)
- C-7 10:24 Unveiling *Methylobacterium* sp. 2A plant growth-promoting abilities and auxin signalling
modulation for enhanced plant development
○Cecilia Grossi, Akio Tani¹, Rita M. Ulloa
(INGEBI-CONICET, ¹IPSR-Okayama Univ.)

- C-8 10:36 宿主への高寄与なヒト毛髪細菌の調査とケラチノサイト内毛髪健康関連遺伝子に及ぼす毛髪細菌の発現制御の解明
 ●山田あずさ, 渡邊康太¹, 大城麦人, 片倉喜範, 酒井謙二, 田代幸寛
 (九大院・生資環, ¹東京農大・応用生物)
- 10:48 休憩
- C-9 11:00 大豆ペプチドと環境エンリッチメントがマウス腸内細菌叢に与える影響の解析
 ○荻山 葵, 瀬々航紀, 黒木健悟, 西川奈那, 濱野桃子¹, 古屋茂樹², 中山二郎²
 (九大院・生資環, ¹九工大院・情報工, ²九大院・農)
- C-10 11:12 廃グリセロールと下水余剰汚泥を用いたバイオガス生成及び基質ストレスの影響評価
 ●石関直人, 服部晴朗, 前田憲成
 (九工大院・生体工)
- C-11 11:24 *Bdellovibrio* 属細菌は大腸菌のどこを認識しているか～走化性評価～
 ●大串祐稀, 前田憲成
 (九工大院・生体工)
- 11:36 休憩
- C-12 13:30 通性または絶対嫌気性菌由来プラズマローゲンの効率的な生産方法の確立
 ●入交 伶, 桑原芽美, 藤野泰寛, 本庄雅則¹, 馬渡史郎², 藤野武彦², 土居克実
 (九大院・生資環, ¹九大院・医, ²レオロジー機能食品研)
- C-13 13:42 コリネ型細菌の代謝工学によるチロシンの効率的生産
 ○谷口和彌, 加藤瑠華, 片岡尚也^{1,2}, 松谷峰之介³, 松下一信^{2,4}, 薬師寿治^{1,2}
 (山口大院・創成科学, ¹山口大・研究推進機構, ²山口大・中高温微研セ,
³東農大・ゲノム解析セ, ⁴山口大・農)
- C-14 13:54 マルチ分解酵素生成菌 *Aeromonas hydrophila* ST5 株を用いたウイルス不活性化の調査
 ●松島雄大, 遠矢将太郎, 前田憲成
 (九工大院・生体工)
- C-15 14:06 *Geobacillus* 属好熱菌が発現する変異非依存的な適応機構の解析
 ○服部未澄, 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)

14:18 休憩

- C-16 14:30 スフィンゴ脂質鎖長がオルガネラの形態や量に及ぼす影響
●佐々木咲, 花岡和樹, 池田敦子, 船戸耕一
(広島大院・統合生命)
- C-17 14:42 耐熱性 *Gluconobacter* 属酢酸菌におけるグルコン酸輸送体ホモログの解析
中島さくら¹, 西原 彬², 和田征太郎², 阿野嘉孝², 松谷峰之介³, 松下一信¹,
Gunjana Theeragool⁴, 片岡尚也^{1,5}, ○薬師寿治^{1,5}
(¹山口大院・創成科学, ²愛媛大院・農, ³東農大・ゲノム, ⁴カセサート大・理,
⁵山口大・中高温微研セ)
- C-18 14:54 枯草菌宿主でのフラボノイドを誘導物質とした T7 発現系の開発と他の発現系との比較
●是枝亜実, 広岡和丈¹
(福山大院・工, ¹福山大・生命工)
- C-19 15:06 Cyclo(Leu-Phe) oxidase が触媒する環状ジペプチド脱水素反応の反応初期における人工電子受容体添加の影響の定量的評価
●猪口慧悟, 坂口幸士朗, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命)

●の講演は、合同大会優秀発表賞審査の対象となります。

D会場（教育研究棟2階 A214 講義室）「動物・植物・生物化学工学・環境科学」

- D-1 9:00 プロテインホスファターゼ PPM1M のリン酸化による多重制御
●大澤 仁, 唐川督理, 谷口 葵, 乾優依子, 亀下 勇, 石田敦彦¹, 末吉紀行
(香川大・農, ¹広島大院・統合生命)
- D-2 9:12 PDK4 は新規膵臓がん抑制因子である
○熊添基文, 山下麻衣, 恩田弘明, 藤村由紀, 立花宏文
(九大院・農)
- D-3 9:24 遮光および酸化ストレス条件におけるアスコルビン酸分解の分子機構
●濱田珠未, 石川孝博¹, 丸田隆典¹
(島根大院・自然科学, ¹島根大・生資科)
- D-4 9:36 遮光および酸化ストレス条件におけるアスコルビン酸分解産物の代謝
●山本虎次郎, 石川孝博¹, 丸田隆典¹
(島根大院・自然科学, ¹島根大・生資科)
- 9:48 休憩
- D-5 10:00 花卉におけるアスコルビン酸プールサイズの多様性と制御
○横川 暖, 濱田珠未¹, 佐々木是¹, 山本虎次郎¹, 石川孝博², 丸田隆典²
(長尾谷高校, ¹島根大院・自然科学, ²島根大・生資科)
- D-6 10:12 高温ストレスにより誘導されるコムギ葉の細胞壁成分の物理化学的変化の可能性
●竹田佳生, Salma O.M.Osman^{1,2}, 只野翔大¹, 山崎友渡, Abu Sefyan I. Saad²,
Izzat S.A. Tahir², 山崎裕司³, 辻本 壽³, 明石欣也¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大院・連農, ²スーダン農研機構,
³鳥取大・乾燥地研)
- D-7 10:24 酸性及び細胞質ペプチド: *N*-グリカナーゼ二重欠損 *A. thaliana* 遊離 *N*-グリカン構造
解析
●奥村 陸, 白井佐保子, 三崎 亮¹, 梶浦裕之¹, 藤山和仁¹, 木村吉伸², 前田
恵
(岡山大院・環境生命, ¹阪大・国際交流セ, ²くら作大・食文)

- D-8 10:36 イネを利用した組換えタンパク質生産技術の開発
●澤崎佑太, 野澤 彰¹, 澤崎達也¹
(愛媛大院・理工, ¹愛媛大・PROS)
- 10:48 休憩
- D-9 11:00 プロテインホスファターゼの新規汎用基質の開発
●井元菜津子, 大澤 仁¹, 末吉紀行, 秋月一駿²
(香川大院・農, ¹愛媛大院・連農, ²ヴァンダービルト大・医)
- D-10 11:12 高い RNA 結合特異性を持つ 2 種類の L7Ae 変異体-RNA 複合体の結晶構造解析
●中島もも香, 寺本岳大, 横林洋平¹, 福永圭佑², 角田佳充
(九大院・農, ¹OIST, ²東工大・地球生命研)
- D-11 11:24 真菌糖脂質加水分解酵素 EGCrP1 の基質特異性解析
●平田理桜, 石橋洋平, 寺本岳大, 沖野 望, 角田佳充
(九大院・農)
- 11:36 休憩
- D-12 13:30 古細菌 β -グルコサミニダーゼの結晶構造解析による基質認識機構の解明
○渡邊真宏, 峯 昇平¹
(産総研・機能化学, ¹産総研・バイオメディカル)
- D-13 13:42 ペプチドリガンドの配置が生体分子間相互作用に及ぼす影響
●渡邊滉大, 光成麻弥, 今村維克, 今中洋行
(岡山大院・環境生命)
- D-14 13:54 化粧品成分候補としてのポリ γ グルタミン酸塩の安全性試験
●庄田朱里, 大成冬真, 白米優一, 芦内 誠¹
(高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋)
- D-15 14:06 ポリ γ グルタミン酸イオンコンプレックスを利用した物質変換技術の基盤構築
●佐藤 黎, 大成冬真, 白米優一, 芦内 誠¹
(高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋)
- 14:18 休憩

D-16 14:30 魚の腸内環境に見出された海洋バイオリアクターとしての利用可能性

●大成冬真, 白米優一, 芦内 誠¹

(高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋)

D-17 14:42 クヌギからの One-Pot 酸化法を用いた CNC 製造と評価

○西村健太郎, 浅田元子¹, 中村嘉利¹, 植木智之², 源 貴志²

(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源, ²徳島大・技術支援)

●の講演は、合同大会優秀発表賞審査の対象となります。

E会場（地域連携棟 2階 B206 講義室）「食品・有機化学」

- E-1 9:00 ケルセチンのアセトアルデヒドに対する細胞保護作用
●澤本剛志, 佐藤あやの¹, 宗正晋太郎, 村田芳之, 中村俊之, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大院・ヘルスシステム)
- E-2 9:12 細胞内グルタチオン量の低下がベンジルイソチオシアネートのがん細胞増殖抑制作用に与える影響
●大重遼悟, 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)
- E-3 9:24 システインは水溶液中でのベンジルイソチオシアネートの安定性を改善する
●端 佑真, 宗正晋太郎, 村田芳之, 中村俊之, 中村宜督
(岡山大院・環境生命)
- E-4 9:36 酵母と線虫を用いた寿命延長に資する食品の作用メカニズムの解析
●松崎弘哉, 荒川賢治, 水沼正樹
(広島大院・統合生命)
- 9:48 休憩
- E-5 10:00 ウト葉エタノール抽出物の抗炎症効果に関する研究
●辻岡芽依, 西 甲介¹, 石田萌子, 伊藤 亮², 菅原卓也
(愛媛大院・農, ¹愛媛大・食品セ, ²シーシーアイ (株))
- E-6 10:12 煮干酵素処理液の抗アレルギー効果に関する研究
●淘江千緑, 平川泰己¹, 和泉光将¹, 石田萌子^{1,2}, 西 甲介^{1,2}, 菅原卓也^{1,2}
(愛媛大・農, ¹愛媛大院・農, ²愛媛大・食品セ)
- E-7 10:24 宍喰寒茶の成分特性
○西岡浩貴, 有澤隆文, 横山直人, 池田絵梨, 吉本春奈
(徳島県工技セ)
- E-8 10:36 後発酵茶碁石茶の製造工程と揮発性成分の関連
○山口泰河, 松本将弥, 出口真帆, 松本直也, 山口剛史, 柏木丈拵, 島村智子
(高知大・農林海洋)
- 10:48 休憩

- E-9 11:00 *Pochonia suchlasporia* が生産する asteltoxin 類の MS/MS 分析を用いた探索
●加藤陽輝, 神崎 浩, 仁戸田照彦
(岡山大院・環境生命)
- E-10 11:12 Strobilurin 類のメラノーマ細胞選択的な増殖阻害活性
●田中智也, 高橋賢次¹, 太田利男¹, 上野琴巳¹, 石原 亨¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農)
- E-11 11:24 ヤローの花由来の脱顆粒抑制物質
●黒川雅通, 古賀武尊¹, 田井章博¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)
- 11:36 休憩
- E-12 13:30 オガタマノキに含まれるミカドアゲハの産卵刺激物質
●高橋琢也, 井上昂大, 南 悠花, 太田陵介, 金 哲史, 本田計一¹
(高知大・農林海洋, ¹西条生態研)
- E-13 13:42 イネに含まれるトビイロウンカの産卵刺激物質
●河野美希, 阿部隆人, 榊山 萌, 奥原杏佳, 金 哲史
(高知大・農林海洋)
- E-14 13:54 コガタスズメバチの警報フェロモン
●待木亮人, 木下裕智¹, 西岡雄紀, 金 哲史^{1,2}, 中島修平², 市川俊英²
(高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋, ²(株) KINP)
- E-15 14:06 オリーブを食べると何故オリーブアナアキゾウムシの寿命が延びるのか?
●杉田皓紀, 金治風香¹, 吉住彩乃¹, 柏木丈拵¹, 金 哲史^{1,2}, 中島修平²,
市川俊英²
(高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋, ²(株) KINP)
- 14:18 休憩
- E-16 14:30 ニッポンクサカゲロウ緑色色素の精製と生合成遺伝子の検討
●阿部風音, 山内 聡, 西脇 寿
(愛媛大院・農)

E-17 14:42 1-benzyl-2-methylbenzimidazole 誘導体のカイコ成長の阻害特性

●井上鼓捺, 逸見周平, 塩月孝博

(島根大・生資科)

E-18 14:54 Intermedione 類縁体の合成および細胞毒性の評価

●斧 夢実, 山内 聡, 西脇 寿

(愛媛大院・農)

●の講演は, 合同大会優秀発表賞審査の対象となります。

F会場（地域連携棟2階 B207 講義室）「食品」

- F-1 9:00 プレニルフラボノイドの抗アレルギー作用
●庄野 陸, 韓 俊文¹, 棟方涼介¹, 田井章博², 矢崎一史¹, 古賀武尊²,
向井理恵²
(徳島大院・創成科学, ¹京大・生存研, ²徳島大・生物資源)
- F-2 9:12 Inhibition of pancreatic lipase by persimmon leaves tea and perilla leaves tea
●Mohammad Ariful Islam Bhuiya¹, Pinky Karim Syeda K. Fatema², Keisuke Yoshikiyo^{1,2},
Kaeko Murota^{1,2}
(¹UGSAS, Tottori Univ., ²Fac. Life Environ. Sci., Shimane Univ.)
- F-3 9:24 ニホンナシに由来するポリフェノール類の特性と機能性
●秋山結香, 美藤友博¹, 藪田行哲¹, 石原 亨¹, 下田絵美子¹, 児玉基一郎¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農)
- F-4 9:36 ニホンナシ由来飲料のポリフェノール含量と抗酸化活性
●東 実来, 下田絵美子¹, 石原 亨¹, 児玉基一郎¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農)
- 9:48 休憩
- F-5 10:00 糖尿病性腎症に対する糖転移ヘスペリジンの予防効果
○吉田有希, 亀沢実音¹, 八澤菜央¹, 石橋真紀², 遠藤 伸²,
Thanutchaporn Kumrungsee¹, 矢中規之¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命, ²(株)林原)
- F-6 10:12 Blood GABA availability contributes to food intake suppression in mice
○Thanutchaporn Kumrungsee, Tomoka Nagao, Noriyuki Yanaka
(広島大院・統合生命)
- F-7 10:24 Effects of vitamin B₆ supplementation on muscle regeneration
○Haruka Komuta, Noriyuki Yanaka¹, Thanutchaporn Kumrungsee¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)
- F-8 10:36 Saa3 遺伝子プロモーターを利用した非侵襲性の薬物性腎障害モデルマウスの作製
○大瀬戸遥, 工藤綾音¹, Tolulope P. Saliu¹, Thanutchaporn Kumrungsee¹, 矢中規之¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)

10:48 休憩

F-9 11:00 トノサマバッタが持つ抗肥満効果の作用機序の解明

●岡本翔太, 管原亮平¹, 樋口智之¹, 井内良仁
(山口大院・創成科学, ¹弘前大・農)

F-10 11:12 黄ニラ由来細胞内グルタチオン上昇活性成分の同定

○畑中唯史, 川上賀代子¹, 植田輝義², 坪井誠二¹, 守谷智恵¹
(岡山生物研, ¹就実大・薬, ²(株)アーチファーム)

F-11 11:24 岡山県産姫とうがらしのカロテノイド含量, 及び果皮色と抗酸化作用との相関

○楊 靈麗, 畑中唯史, 加藤奈々¹, 吉金 優¹, 逸見健司
(岡山生物研, ¹ノートルダム清心・食品栄養)

11:36 休憩

F-12 13:30 黄麹菌および黒麹菌の分生子の発芽率に及ぼす音波照射の効果

●松本 拓, 楠本拓真¹, 増田 翔¹, 小島幸治, 三枝敬明, 寺本祐司
(崇城大院・工, ¹崇城大・生物生命)

F-13 13:42 トマトパウダーの溶解性向上を目指した市販酵素製剤による糖化条件の検討

○平田竜一, 中山恵里花¹, 花田真哉斗¹, 小島幸治, 三枝敬明, 寺本祐司
(崇城大院・工, ¹崇城大・生物生命)

F-14 13:54 加熱時間が雑炊米飯のレオロジー特性に及ぼす影響

●二反田彩, 川井清司
(広島大院・統合生命)

F-15 14:06 凍結乾燥乳酸菌に対するヒスチジンの保護効果に関する研究

○佐々井真里奈, 川井清司
(広島大院・統合生命)

14:18 休憩

F-16 14:30 Caco-2 細胞を用いた Hyp 含有ペプチドの腸管膜透過性評価

○坂野新太, 中島望吾¹, Li Xixi¹, 松井利郎¹
(九大・五感セ, ¹九大院・農)

F-17 14:42 デルフィニジンの筋線維型変換作用とそのメカニズム

○高橋里奈, 村田 希, 丸亀裕貴¹, 藤村由紀¹, 立花宏文¹
(愛媛大院・農, ¹九大院・農)

F-18 14:54 ヒト血漿中に存在する植物 miRNA とその機能解析

●野内綾太, 近藤美裕貴, 熊添基文, 藤村由紀, 立花宏文
(九大院・農)

●の講演は, 合同大会優秀発表賞審査の対象となります。

受 賞 講 演

講 演 要 旨

分裂酵母を基盤とした増殖制御機構と CoQ₁₀ 生合成の研究

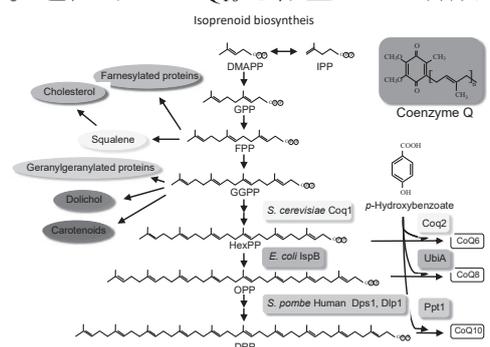
川向 誠 (島根大・生資料)

分裂酵母(*S.pombe*)はヒト細胞と共通の細胞制御機構を維持している部分が多いことから優れたモデル真核微生物である。分裂酵母は、栄養源枯渇という条件下で異なった接合体が融合し減数分裂過程を経て孢子形成する。その過程は、シグナル伝達系を経て伝えられる。グルコース応答の情報伝達がcAMP経路であり、フェロモンのシグナル伝達経路がRas-Gpa1-MAPキナーゼ経路になる。一方、分裂酵母は遺伝子工学的な手法が駆使できるCoQ₁₀を合成する有用な生物である。そのことにいち早く着目し、CoQ₁₀の生合成に関わる遺伝子群を解明し、分裂酵母に限らず、CoQ₁₀高生産大腸菌、出芽酵母、イネの育種を行い、世界に先駆けてCoQ₁₀生産生物の開発に成功した。

アデニル酸シクラーゼがcAMPの合成を制御することで、グルコースのシグナルを上流で感知し、体細胞分裂から減数分裂への増殖サイクルの変化を制御していること、体細胞周期では細胞の伸長に関わることを見出した。この発見により、演者が初期の頃に示した大腸菌でのcAMPと細胞増殖の関与をより普遍的に理解することができた。ガンタンパク質として有名なRASの分裂酵母ホモログRas1の下流に位置するByr2(MAPKKK)を負に制御する新たな因子としてRad24(14-3-3)を見出し、Ras1のシグナル伝達系路の制御因子であることを証明した。Ras1経路の下流に位置するSpk1(MAPキナーゼ)がRNA結合タンパク質であるMsa2を制御し、リボソーム結合タンパク質のCpc2やRNAヘリカーゼMoc2と共同して転写因子Ste11の翻訳を制御し、巨大な複合体のストレス顆粒を形成することを示した。

ユエンザイムQ(ユビキノン)はイソプレノイド側鎖を有するキノンの一種で、広く生物界に分布しており、電子伝達系の成分として、エネルギー産生に必須な化合物であると同時に、補酵素としての役割を担っている。現在、CoQ₁₀は食品サプリメントとして広く知れ渡っているが、演者がCoQの生合成研究を開始した時点においては、認知度の低い化合物であり、部分的な生合成が知られているのみで、現在でも完全解明には至っていない。演者らはCoQの生合成経路について大腸菌のイソプレノイド側鎖合成酵素IspBの解析から始め、その知見を基に真核生物のイソプレノイド側鎖合成酵素の解析に発展させた。CoQ種は、出芽酵母(*S. cerevisiae*)ではCoQ₆、大腸菌ではCoQ₈ヒト及び分裂酵母(*S. pombe*)ではCoQ₁₀ある。その鎖長を決定しているのが側鎖合成酵素であることを示し、それぞれの生物の側鎖長は、最適な鎖長を選択していることを見出した。大腸菌や出芽酵母で、元々有する側鎖合成酵素をイソプレノイド10単位の側鎖合成酵素に置き換えることでCoQ₁₀を合成させることに世界で最初に成功した。加えてDps1をミトコンドリアで発現させることで元来CoQ₉を合成するイネでCoQ₁₀を生産する技術を世界で最初に開発した。

分裂酵母での知見を基に、ヒトや植物のCoQ合成系遺伝子の解析を進め、ヒトや植物と分裂酵母の合成経路が類似していることを示した。植物では、種子の形成に必須であることを初めて報告した。一連の研究の中で、演者らが発見したヒトのイソプレノイド側鎖合成遺伝子は、ヒトの遺伝病であるリー症候群の原因であるという発見に繋がった。遺伝的にCoQ₁₀を微量にしか合成できない症例が次々と発見されてきている中で、演者らが同定したヒトのヘテロマー型の側鎖合成酵素をコードするPDSS1(DPS1)、PDSS2(DLP1)遺伝子は、遺伝病との因果関係を証明する発端となり、医学的な側面でも貢献することができた。現在ではCoQ合成に影響するヒトのCoQ₁₀欠損症が多数報告されるようになり、分裂酵母のCoQ生合成解析がヒトの遺伝病の研究に繋がりを示している。



膜を基軸とする微生物代謝の分子基盤と機能開発

山田 守 (山口大院・創成科学)

これまで、呼吸鎖電子伝達系、タンパク質の膜透過や膜結合、糖の取り込み、膜ストレスと細胞死、発酵など微生物の「膜」に関連した研究を展開してきた。これらはいずれも細胞の生存にとって重要な基盤的代謝であると同時に得られた知見は有用物質生産に利用できる。

1. 呼吸鎖電子伝達系と初発酵素グルコース脱水素酵素の構造と機能

いくつかの細菌や酵母の呼吸鎖電子伝達系の生化学的、分子生物学的研究を行ってきた。中でも、大腸菌の膜結合型グルコース脱水素酵、ユビキノン、ユビキノールオキシダーゼで構成される電子伝達系は極めてシンプルで、初発酵素の構造と機能の解明に最適であり、膜トポロジー解析、再構成実験、活性部位解析、分子内電子移動解析、補酵素解析などを行った。

2. 遺伝子、オペロン(構造と発現調節機構)、ゲノムの解析

コリシンE1チャンネル、糖の輸送体、膜透過タンパクの分子生物学的研究を行ってきたが、特に、大腸菌のソルビトールとグルコン酸の膜輸送に関わる*gut*オペロンと*gnt*オペロン、膜結合型グルコース脱水素酵素の*gcd*遺伝子において、それぞれ巧妙な発現調節機構をもっていることを示した。物質生産などの新しいプラットフォームとなる耐熱性酵母*Kluyveromyces marxianus*について、完全ゲノム解析、トランスクリプトーム解析、高温代謝解析を行った。一方、内在性のミトコンドリア膜透過配列やミトコンドリア膜透過配列に類似した両親媒性配列を見出した。

3. 大腸菌のストレス誘導性プログラム細胞死とその役割

定常期初期に蓄積する酸化ストレスによって障害を受けた細胞は、シグマ E 依存性溶菌 (SEDL) 機構によって除去されることを発見した。SEDL は外膜タンパク質のポリリン等の構造変化が引き金となる遺伝子発現カスケード (プログラム細胞死) であることを示した。また、SEDL は障害細胞の除去だけでなく栄養源の供給によって長期定常期での細胞集団の維持に寄与すると推測された。さらに、重篤な DNA 障害が起こるとその細胞は SulA 依存性溶菌 (SADL) 機構によって除去されること及びその遺伝子発現カスケードを明らかにした。

4. 耐熱性機構、耐熱化、高温発酵研究

4-1 耐熱性遺伝子の特定と耐熱性機構: 大腸菌、耐熱性ザイモナス菌、耐熱性酢酸菌について、耐熱性の原因遺伝子 (耐熱性遺伝子) を特定するとともに、これらの機能的分類や変異による表現型に基づいて共通する耐熱性機構を提唱した。なお、熱ショック蛋白質 (HSP) 遺伝子がほとんど含まれないことから熱ショック応答とは異なる。一方、*K. marxianus* は代謝フロー切替えによってNADPHの生産性を高め高温での生存を可能にすると推測された。

4-2 耐熱化と耐熱化の限界: ザイモナス菌2株と大腸菌1株について高温適応育種 (耐熱化) を試み、それぞれ2°C高温で生育できる耐熱化株を得た。さらに限界を見極めるために、耐熱化株をミューテータに改変し、それをを用いて高温適応を限界まで実施したところ、さらに1°C高温で生育できる株を得た。また、2種2株をそれぞれ複数並行して高温適応育種を行ったところ、同様な表現型や遺伝型をもつものがそれぞれに得られた。これらの結果は急激な地球温暖化が進行するとヒトの生活温度領域で棲息する微生物の生存が脅かされる可能性を暗示する。

4-3 次世代型高温エタノール発酵の技術開発と多様な耐熱性酵母の開発: 冷却が不要な高温でのエタノール発酵技術の開発とそのため不可欠な種々の耐熱性酵母の開発を行った。さらに、40-45°Cでの減圧蒸留と膜分離を組み合わせることによって無水エタノール化に成功した。加えて、それらの技術と改質エンジンを組み合わせ、食品残渣等をグリーンエネルギーに変換する技術並びにシステム開発を県及び環境省の事業として進めてきた。このコンパクトなシステムは過疎地や災害地での活用も期待される。

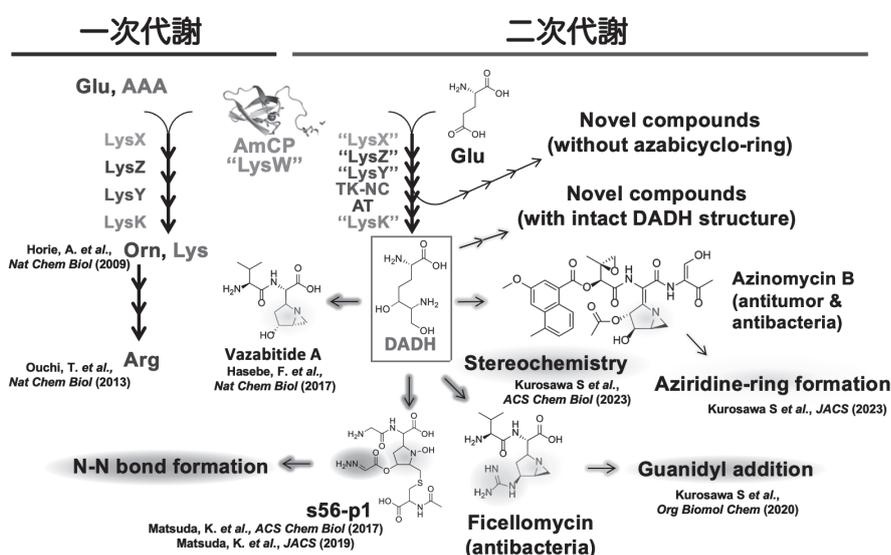
会 長 特 別 講 演

講 演 要 旨

微生物は地球の様々なところに生息し、その環境に適した酵素や代謝系を有している。これが背景となって、微生物からは多様な酵素群や代謝系が発見され、それらの一部は産業に利用されている。我々は、微生物が有するユニークな代謝機能や代謝システムを探索し、機能を発揮するメカニズムを立体構造ベースで明らかにする研究を行っている。そうしたものの1つに、高度好熱性細菌 *Thermus thermophilus* において見出された新規のリジン生合成システムがある。リジンは我々高等生物には必須アミノ酸として知られているが、細菌や植物にはこれらを自身で生合成できるものが存在する。これまで細菌や植物において、リジンはジアミノピメリン酸 (DAP) 経路で生合成されるとされてきたが、我々は *T. thermophilus* が細菌として初めてカビや酵母のように α アミノアジピン酸 (AAA) を経由してリジンを生合成することを見出した。同菌のリジン生合成経路は、2-オキソグルタル酸を初発物質として AAA を経由してリジンを生合成するという点ではカビや酵母のものと同様であるが、生合成経路の後半部にあたる AAA からリジンまでの変換が酵母の AAA 経路とは異なり、一般的なアルギニン生合成のものと同様している。また AAA からリジンまでの反応には基質を酵素へ運ぶキャリアタンパク質 (Amino-group carrier protein: AmCP) を必要とすることもまたユニークな点である。我々は、これら生合成系を構成する酵素群の X 線構造解析に取り組み、AmCP が静電相互作用を介して各生合成酵素と相互作用して、基質を各酵素の活性中心へ運ぶことを明らかにしてきた。また、アーキアの一部が同様な AmCP を介してリジンを生合成すること、そしてそれらのアーキアでは同リジン生合成酵素群がアルギニン (オルニチン) 生合成をも担うことも見出している。これら一連の研究により、幾つかのアミノ酸を生合成する原始代謝系の存在が示唆されると同時に、代謝系進化の歴史を垣間見ることが可能になったのではないかと考えている。次いで、多様な二次代謝産物を生産することが知られている放線菌を対象として、データベース検索及び約 850 株ゲノムを用いた PCR スクリーニングを行うことにより、多数の放線菌が AmCP 遺伝子を含む遺伝子クラスターを有することを見出した。それら二次代謝産物の生合成の解析により、AmCP

システムの一部がアザビシクロ [3.1.0]ヘキサシクロ環を有するペプチド系二次代謝産物の生合成に関わることを明らかにしている。本講演では、AmCP が関わるユニークな生合成について紹介する。同時に、AmCP システム以外で我々が新しく見出したユニークな酵素あるいは酵素機能の調節の例についても幾つか紹介したい。

AmCPを利用した多様な化合物の生合成



特 別 講 演

講 演 要 旨

新しい農薬を目指して —化学生態学からのアプローチ—

金 哲史（高知大・農林海洋）

化学生態学は本来生物間の相互作用を「化学物質」で説明する学問であり、化学物質と受け手側の生物の反応は1対1であることから、幅広いスペクトルを示す化学物質は少なく、フェロモン等の特殊な例を除いて、農薬として発展・展開された例はほぼない。しかしながら、私が赴任した三十数年前の当時は、学部は農学部であり、学科も農芸化学科、研究室は農薬化学という環境であったことから、自ずと「新しい農薬開発に関与したい」と心のどこかに思う処があった。

ミナミキイロアザミウマの好き嫌い-選択性のない農薬-

高知県は、全国に先駆けて施設園芸を最初に始めた県だと言われるほど施設園芸が盛んであるが、その施設園芸を行う上でミナミキイロアザミウマの防除は不可欠である。本種はナス科、ウリ科、マメ科など34科に渡る植物を加害できると言われているが、興味深いことに、ナス科のトマトとバラ科のイチゴやユキヤナギを加害できない。本種がトマトとイチゴを加害できないのは、それぞれの植物が本種に対する摂食阻害物質を含んでいるためだということを明らかにしたが、ユキヤナギの場合、本種に対する揮発性の殺虫成分を用いて、防御していることが分かった。この殺虫成分は α -methylene- γ -butyrolactone (Tulipalin A) であり、その誘導体を400種ほど合成するといくつかの誘導体が1 ppm以下で蚊などを殺虫することを明らかとした。極めて低濃度で殺虫活性を示すものが出発物質が Tulipalin A であることから、作用機序に選択性が無く、植物にも影響が出ることから農薬開発までには至らなかった。

マメハモグリバエの好き嫌い-食べて健康になる農薬-

90年代から2000年代に突如マメハモグリバエが園芸施設内で大発生し、日本中で大騒ぎになった。この虫も先の虫と同様幅広い作物を加害するが、成長期のピーマンへの加害がないことに気が付いた。この原因を探ると、フラボノイド配糖体が本種の産卵行動を止めることがわかった。おりしも、世間ではポリフェノールの酸化防止作用が健康に良いとワインや健康食品ブームであったことから、「食べて健康になる農薬」と言うコンセプトで特許まで取得したが、ナスハモグリバエやトマトハモグリバエ等には全く効果がなく、スペクトルの広い既存のクロチアニジンやアセフェートに歯が立たなかった。

スズメバチの好き嫌い-農薬の範疇に入らない雑物-

夏になるとオオスズメバチがクヌギから出る樹液を独占し、カブトやクワガタ採取に支障を来すが、よくよく観察すると、樹液には2通りあり、スズメバチが好きな樹液と嫌いな樹液があることが分かった。嫌いな樹液から本種に対する忌避物質として2-phenylethanolを同定し、その類縁体で、食品添加物として幅広く食品に使われている benzyl alcohol (BA) にも同様の活性があることを明らかとした。BAを噴霧されたスズメバチ類は、攻撃することも巣を守ることも忘れるほどの忌避行動を示すことから、BAを使った画期的なスズメバチ類専用忌避剤「スズメバチサラバ」を開発した。初めての農薬の開発！と思ったが、この商品、農薬ではなく、雑物としてしか登録されなかった。

トビイロウンカの好き嫌い-100年後の農薬？化学生態学屋さんには化学生態学屋さんらしく-

イネの害虫であるトビイロウンカはイネのみを加害する。本種がなぜ、イネを認識し、イネに卵を産むのかを追求し、イネに含まれる本種の寄主認識物質と産卵刺激物質を明らかとした。これらの知見は、将来(100年後?)トビイロウンカに執り、「見えないイネ」や「卵を産みづらいイネ」の開発につながるかと思われる。これ以外にも化学生態学の観点から農薬開発に少しでも寄与しようと様々なアプローチを試みたが、いずれも農薬登録には至らなかった。

既存の農薬はスペクトルが広すぎて効きすぎる！というのが今の素直な感想である。

特別講演

海洋産アルカロイド Lamellarin 及び類縁化合物の合成と生理活性

石橋郁人（長崎大院・水産）

ホヤやカイメン等の海洋生物からは、様々な骨格構造を有する DOPA/チロシン由来のピロールアルカロイド類が単離されている。本講演では、ラメラリン (lamellarin) を中心に、これまで演者らが行ってきた海洋産アルカロイドの合成と生理活性に関する研究を紹介したい。

ラメラリンと関連化合物の合成

ラメラリン類は、特異な5環性骨格を持つアルカロイドのグループであり、現在までに結合様式や置換様式の違いによる 50 種類以上のラメラリンが単離されている。これらは、抗がん活性、抗 HIV-1 活性、多剤耐性 (MDR) 克服活性、免疫機能調節活性等の多様な生理活性を示すことが知られている。特に抗がん活性は強力で、多くのラメラリンが種々のヒト培養がん細胞に対して nM レベルでの高い増殖抑制活性を示す。演者らはこれまでに、異なる手法によるラメラリン D (1), H, L, N, α -20 sulfate 等の合成を行ってきた。また、ラメラリン合成法の応用によるテロメラーゼ阻害活性物質ディクティオデンドリン B (2) やアルドース還元酵素阻害活性を持つルキアノール A (3) の合成を行った。

構造活性相関と分子作用機構

構造活性相関研究の手始めとして、最も高活性なラメラリン D (1) の芳香環上のヒドロキシ基/メトキシ基のがん細胞増殖抑制活性に対する影響を調べたところ、8位と20位のヒドロキシ基は活性発現に必要なが、他の置換基の影響は無視できることを明らかにした。また、1位の芳香環自体も必要でなく、メチル基等に置換可能であることが解った。一方、Bailly 等は、ラメラリン D がトポイソメラーゼ I (Top1) を強く阻害することを明らかにしていたが、ラメラリン D 誘導体を用いた Bailly 等との共同研究により、Top1 阻害活性と細胞増殖抑制活性とは良く相関することを明らかにした。さらに、分子動力学シミュレーションによる Top1 阻害の分子作用機構を解析した。ラメラリンは DNA の主溝側からインターカレートした後、8位と20位のヒドロキシ基および17位のカルボニル基が、Top1 の Asn722, Glu356 及び Arg364 側鎖と水素結合し、強固な DNA-Top1-lamellarin 三元複合体 (Fig. 1) を形成することにより Top1 poison として作用すると思われる。

新規トポイソメラーゼ I 阻害活性分子の創製

上述の Top1 阻害作用機構によると、中心のピロールは酵素や DNA とは直接的には相互作用していない。そこで、活性発現に必要な置換基は残しつつ、窒素原子の位置を移動した新規な benzo[g][1]benzopyrano[4,3-b]indol-6(13H)-one 骨格を持つ Top1 阻害活性物質 BBPI (4) を設計した。合成した BBPI 類は、親化合物と同等かそれ以上の高い細胞増殖阻害活性を示した。BBPI は、ピロール窒素原子上への置換基の導入が容易であり、イオン性基を結合させた水溶性誘導体は、in vivo においても効果を示した。

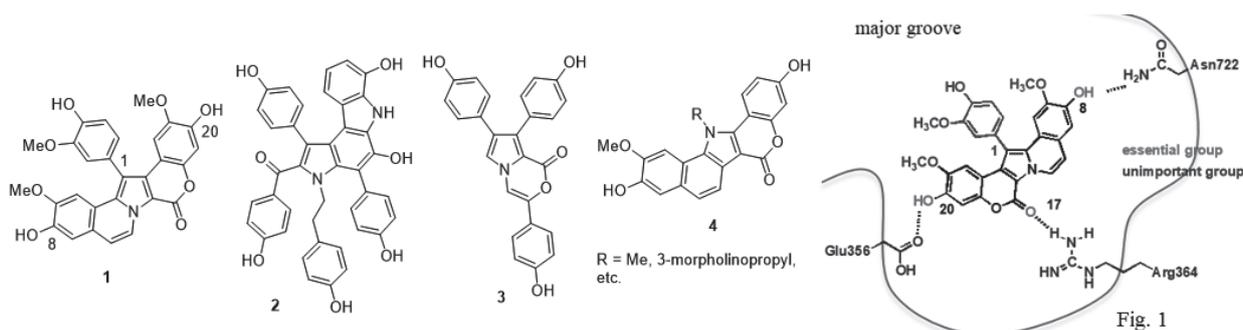


Fig. 1

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 *Cryptococcus neoformans* における推定ガラクトース転移酵素遺伝子の機能解析
○門岡千尋, 田中 大¹, 岡 拓二 (崇城大・生物生命, ¹東北医薬大・薬)

【目的】 クリプトコッカス症の主な原因菌である *Cryptococcus neoformans* は、細胞壁の最表層に莢膜多糖としてグルクロノキシロマンノガラクトン (GXMGal) を産生する。GXMGal は α -(1→6)-ガラクトン主鎖にガラクトマンノオリゴ糖が β -(1→3)-結合した構造をとるが、生合成に関与する糖転移酵素はほとんど同定されていない。本研究では β -(1→3)-ガラクトース転移酵素の同定を目的とした。

【方法・結果】 *C. neoformans* のゲノム上には、GT31 ファミリーに属するグリコシルセラミド β -(1→6)-ガラクトース転移酵素遺伝子 *GGT1* の機能未知パラログが 2 つ存在したため、それぞれ *GGT2* および *GGT3* とした。*C. neoformans* において、各遺伝子破壊株を構築し、表現型を解析した結果、*ggt2* 破壊株は 37°C において温度感受性を示した。次に、*ggt2* 破壊株、*ggt3* 破壊株、*ggt2/ggt3* 二重破壊株の培養上清から GXMGal を精製し、NMR およびメチル化分析による構造解析を行った結果、*ggt2* 破壊株と *ggt2/ggt3* 二重破壊株では、GXMGal のガラクトマンナン側鎖が消失していることが明らかになった。以上の結果より、Ggt は GXMGal の生合成に関与する β -(1→3)-ガラクトース転移酵素であることが示唆された。

A-2 *Thermus thermophilus* HB8 由来トランスケトラーゼを用いた七炭糖生産と効率的な生産条件の検討 ●綿貫花菜, 高松陽太, 望月 進^{1,2}, 花木祐輔^{1,2}, 吉田裕美^{2,3}, 神鳥成弘^{2,3}, 何森 健^{1,2}, 吉原明秀^{1,2}
(香川大院農, ¹香川大農, ²香川大・国際希少糖, ³香川大・医)

トランスケトラーゼはほぼすべての動植物が有するペントースリン酸経路内で作用する酵素である。先行研究において、*T. thermophilus* HB8 由来のトランスケトラーゼが遊離の糖に作用し、さらに七炭糖生産に応用できることも確認された。また、安価な D-フルクトースから 100% 転換される、5-ケト-D-フルクトースをドナー基質に用いた場合でも七炭糖の生産が確認された。そこで本研究では、更なる効率的な生産のための条件検討及び各種七炭糖の生産を行った。*T. thermophilus* HB8 由来のトランスケトラーゼを高発現する組換え大腸菌を SB 培地で 12 時間培養し、粗酵素液を調製した。その後、70°C、10 分間の熱処理によって、夾雑タンパク質を取り除くことで、部分精製酵素液を得た。その活性は 0.40 U/mL であった。また、部分精製酵素液を用いて各種七炭糖生産を行った結果、D-セドヘプツロース、L-グルコヘプツロース、D-イドヘプツロース、L-ガラクトヘプツロースの 4 種の七炭糖生産が確認された。

A-3 *Thermus thermophilus* HB8 由来トランスアルドラーゼを用いたケトオクトース生産 ●三好恵梨佳, 望月 進^{1,2}, 花木祐輔^{1,2}, 神鳥成弘^{2,3}, 何森 健^{1,2}, 吉原明秀^{1,2}
(香川大院・農, ¹香川大・農, ²香川大・国際希少糖, ³香川大・医)

【目的】 D-フルクトース 6-リン酸から D-エリスロース 4-リン酸に 3 炭素鎖を転移する反応を触媒するトランスアルドラーゼに着目し、*Thermus thermophilus* HB8 由来の本酵素を用いた八炭糖生産を目指した。

【方法・結果】 まず、*T. thermophilus* HB8 由来の精製トランスアルドラーゼの基質特異性を検討した。その結果、D-キシロース、L-リキソース、D-リボース、L-アラビノースをアクセプターとして生産物を確認した。ドナー基質にジヒドロキシアセトン、アクセプター基質に D-キシロース、L-アラビノースをそれぞれ用いて 50°C、24 時間反応させた後に HPLC 分析を行った結果、保持時間 16.0 分、12.4 分に生産物と思われるピークが確認された。これらの生産物を CARBOSep COREGEL 87C SemiPrep カラムにて分離、精製し LC/MS 分析、NMR 分析を行った結果、それぞれ D-グリセロ-L-ガラクト-オクツロース、L-グリセロ-L-ガラクト-オクツロースであることが示唆された。

A-4 *Klebsiella pneumoniae* 40b 由来ポリオールデヒドロゲナーゼを用いたケトース・糖アルコール間の効率的な転換

●山本菜帆, 吉田裕美^{1,2}, 望月 進^{2,3}, 何森 健^{2,3}, 吉原明秀^{2,3}
(香川大院・農,¹香川大・医,²香川大・国際希少糖,³香川大・農)

【目的】*Klebsiella pneumoniae* 40b は生菌体を用いた反応によりガラクトールを酸化してL-タガトースへ転換することが可能な菌株であると知られている。そこで、この反応を触媒するポリオールデヒドロゲナーゼ(PolDH)を抽出し、補酵素を再生するギ酸脱水素酵素やNADH酸化酵素のカップリング反応を構築することで、ケトースと糖アルコールの効率的な生産方法を確立することを目的とした。

【方法・結果】*K. pneumoniae* 40b 由来 PolDH は 4 種類のカラムに供することで単一に精製した。*Streptococcus pyogenes* 由来 NADH 酸化酵素(SpNox)は組換え酵素として発現させ、ニッケルアフィニティークロマトグラフィーにて精製した。精製した PolDH と SpNox または PolDH とギ酸脱水素酵素(FDH)を組み合わせ、補酵素の循環系を構築した。結果として、ガラクトールから L-タガトース、D-アルロースから D-タリトールが生産できることが明らかになった。

A-5 *Luteolibacter algae* H18 アカモクフコイダン脱硫酸化酵素の精製と遺伝子同定

○藤田太洋, 松村直哉¹, 荒井良仁², 八木寿梓², 鈴木宏和², 大城 隆²
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・工,²鳥取大院・工)

【目的】オキナワモズクフコイダン資化性菌として単離された *Luteolibacter algae* H18 は、アカモクフコイダンも単一炭素源として生育できる。また、フコイダンは微生物による分解過程で、酵素的な脱硫酸化を受ける。本研究では、アカモクフコイダン脱硫酸化酵素を精製し、遺伝子同定、異種発現を行った。

【方法・結果】アカモクフコイダンの脱硫酸化活性が認められた H18 株の無細胞抽出液を、各種クロマトグラフィーで分画し、それぞれの画分とアカモクフコイダンを反応させ、遊離硫酸をバリウム沈殿法で定量することにより酵素活性を測定し、最終的に二つのタンパク質を候補とした。N 末端アミノ酸配列から、一つ(Sut3)は脱硫酸化酵素との相同性が高かったが、もう一方(Sut70)は機能未知であった。これら遺伝子をクローニング、大腸菌で異種発現し、それぞれをアカモクフコイダンに作用させた。その結果、Sut3 によって微量の硫酸が遊離したが、Sut70 による脱硫酸化は見られなかった。しかし、双方を同時添加することで Sut3 の脱硫酸化活性の向上が確認された。

A-6 *Luteolibacter algae* H18 の第二のフコイダン脱アセチル化酵素

○吉田優里, 荒井良仁¹, 八木寿梓¹, 鈴木宏和¹, 大城 隆¹
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大院・工)

【目的】褐藻類の粘質成分であるフコイダンは、様々な生理活性を示すことから、医薬品や機能性食品への応用が期待されている。しかし不規則な構造のため、生理活性との関係性は不明であり、その解明のため酵素を利用した研究が進められている。フコイダンの微生物分解には多数の酵素が関与していると報告されている。今までに当研究室では、オキナワモズクフコイダン資化性菌 *Luteolibacter algae* H18 から低分子化酵素、脱アセチル化酵素、脱硫酸化酵素を見出ししている。本研究では、脱アセチル化酵素に着目し、第二の脱アセチル化酵素の探索を行った。

【方法・結果】H18 株において、すでに明らかにしている脱アセチル化酵素 Fud664 (69.8 kDa) の遺伝子情報を基に探索した結果、38.8%の相同性を示す *fud1* が見い出された。80.4 kDa のタンパク質をコードする *fud1* について、クローニング・異種発現を行い、フコイダンに対する活性を調べた結果、Fud1 は、Fud664 同様にオキナワモズクフコイダンに対して脱アセチル化活性を有していた。

A-7 *Luteolibacter algae* H18 由来の複数酵素によるフコイダン分解

○荒井良仁, 村上ひかる¹, 八木寿梓, 鈴木宏和, 大城 隆
(鳥取大院・工, ¹鳥取大・工)

【目的】 フコイダンとは藻類等に含まれる硫酸化多糖であり、抗ガン・抗ウイルス作用などの生理活性を有する。当研究室では、フコイダンの生理活性と構造との関連解明を目的に研究を行っており、酵素を利用した分解が有効であると考えている。既に、オキナワモズクフコイダン資化性菌 *Luteolibacter algae* H18 から、endo 型低分子化酵素 Fct114, 脱アセチル化酵素 Fud664, 脱硫酸化酵素 Fsut107 を見だし、それぞれの遺伝子を異種発現させ、フコイダンを基質とした酵素活性を確認している。今回、これら酵素を混合させた酵素反応を行い、フコイダンの低分子化を促進させる組み合わせについて検討した。

【方法・結果】 上記酵素を高生産する組み換え大腸菌の粗酵素液を調製し、オキナワモズクフコイダンを基質として、30°C、一晚酵素反応を行い、ゲルろ過 HPLC により分析を行った。その結果、基質に Fct114 を加えた反応に比べ、Fud664 を加えると低分子化産物の増加が認められ、そこに Fsut107 を添加するとさらに低分子化が促進されることがわかった。

A-8 麹菌の α -フコシダーゼの同定と機能解析

●島田尚季, 亀山昭彦¹, 松沢智彦 (香川大・農, ¹産総研・細胞分子)

【目的】 麹菌 *Aspergillus oryzae* は植物が合成する多糖類を分解するために様々な酵素を生産している。キシログルカンは陸上植物の細胞壁や種子に存在し、構造多糖類として、また貯蔵多糖類として重要な多糖類である。キシログルカンは複雑な側鎖構造をしており、麹菌は複数の酵素を協調的に作用させることでキシログルカンを分解している。しかし、麹菌においてキシログルカン側鎖のフコース残基を遊離する酵素は未解明であったため、本研究では麹菌の α -フコシダーゼの同定と機能解析を試みた。

【方法・結果】 麹菌のトランスクリプトーム解析から、キシログルカンによって発現が誘導される遺伝子を探索した結果、Glycoside hydrolase family 95 に属する推定酵素をコードする遺伝子を見出した。当該遺伝子を *Pichia pastoris* において異種宿主発現させ、精製酵素を調製した。また、酵素反応の基質とするためにフコース残基を含有するキシログルカンオリゴ糖を緑豆胚軸から調製した。これらの精製酵素と基質を用いて酵素反応を行った結果、当該酵素によってキシログルカンオリゴ糖からフコースが遊離されることが明らかになった。

A-9 糸状菌 *Talaromyces cellulolyticus* のマンナン分解酵素遺伝子の発現機構の解析

○藤井達也, 森田友岳 (産総研・機能化学)

【背景】 バイオエコノミー社会の実現に向け原料確保は喫緊の課題であり、バイオマスを効率的に糖化する技術が求められている。我々は、バイオマス糖化性能が高い糸状菌 *Talaromyces cellulolyticus* を対象に、糖化酵素をコードする遺伝子群の発現に関わる複数の転写因子を同定してきた。本研究では、本菌の転写因子 TcIB2 によるマンナン分解酵素遺伝子の発現制御について検証した。

【結果・考察】 本菌のゲノム情報に対して、他の糸状菌で知られているマンナン分解酵素の発現を制御する転写因子 (ClrB) のアミノ酸配列を用いた相同性検索を行った結果、有意な相同性を示す遺伝子 *tclB2* を見出した。そこで *tclB2* 破壊株を作製し、グルコマンナンを炭素源とした液体培地で培養したところ、マンナン分解酵素 (β -マンナーゼおよび β -マンノシダーゼ) の活性および遺伝子発現量が野生型株と比較して低下した。それに対し、*tclB2* 過剰発現株のマンナン分解酵素活性および遺伝子発現量は向上した。以上の結果から、本菌の TcIB2 が、マンナン分解酵素遺伝子の発現を制御する転写因子であることが明らかとなった。

A-10 麹菌における α -キシロシダーゼの機能分化

○松沢智彦, 中道優介¹, 島田尚季 (香川大・農, ¹産総研・機能化学)

α -キシロシダーゼはキシログルカン (植物の細胞壁や種子に含まれている多糖類) の分解に重要な酵素であり, キシログルカン由来オリゴ糖の β -グルカン主鎖に付加したキシロース側鎖を加水分解する。麹菌 *Aspergillus oryzae* は植物が生産する多糖類を分解するために多種多様な酵素を生産しており, 我々はこれまでに2つの α -キシロシダーゼ (AxyA および AxyB) を同定していた。AxyA は細胞内において, AxyB は細胞外において機能する α -キシロシダーゼであり, 共に Glycoside hydrolase family 31 (GH31) に属している。

我々は, 第三の α -キシロシダーゼを麹菌から新たに見出し, AxyC と命名した。AxyC は AxyA および AxyB と同様に GH31 に属し, 人工基質 (pNP α -D-xylopyranoside) に対して高い活性を有していた。しかし, AxyA と AxyB がキシログルカンオリゴ糖に対して高い比活性を示すのに対し, AxyC はキシログルカンオリゴ糖に対してほとんど活性を示さなかった。以上の結果から, 麹菌には複数の GH31 α -キシロシダーゼが存在しており, それらの機能は分化していることが示唆された。

A-11 *Bacillus thuringiensis* A1100 のゲノム解析から見出した細胞損傷タンパク質遺伝子の機能解析

○山口朋恵, 齋藤浩之¹, 阿部雄一, 北田 栄², 原島 俊, 浴野圭輔
(崇城大・応微工, ¹福岡工技セ・生食研, ²九工大・情報工)

【目的】*Bacillus thuringiensis* (Bt) が産生し, 培養ガン細胞に対して選択的に損傷活性を示すタンパク質を Parasporin (PS) と呼んでいる。本タンパク質は Bt が芽胞を形成する際に産生する結晶性タンパク質中に含まれており, これまで Bt で盛んに研究されてきた殺虫活性とは異なる新しい生物活性である。現在知られている6種類のPSのうち, Bt A1100 株は PS5 を産生する。本菌株のゲノム解析の結果, PS5 遺伝子に加え, 相同な遺伝子が6つ存在することが明らかとなったこれらの細胞損傷活性を検討した。

【方法・結果】6種類のPS5様遺伝子をPCRで増幅し, pET発現系を用いて大腸菌による組換えタンパク質を調製した。各発現タンパク質をプロセッシングするため Proteinase K で処理し, Sawano および HepG2 細胞に添加し, 形態変化を観察することで細胞損傷活性を確認した。その結果, PS5 と 89.1%, 84.5% の相同性を示す2種類のタンパク質が両細胞に対して損傷活性を示すことが明らかとなった。

A-12 出芽酵母におけるリジンの生育阻害効果の作用機序について

●尾坂夏味, 川内凜子¹, 山口翔吾¹, 村尾奈美¹, 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)

【目的】出芽酵母の生育はプロリンを窒素源とする培地 (SD/Pro 培地) にリジンを添加すると阻害される。本研究ではこのリジン毒性の作用機序を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】SD/Pro 培地にリジンを添加するとプロリンを取り込むトランスポーター Put4 が液胞内へ移行することを見出した。その一方で, 恒常的に細胞膜に局在する変異型 Put4 の発現株では生育が部分的に回復し, 細胞内プロリン含量が野生型 Put4 発現株に比べて増加したことから, プロリンの取り込み低下が生育阻害の原因であることが示唆された。さらに, リジンを添加した SD/Pro 培地ではアミノ酸全般を取り込むトランスポーター Gap1 も液胞内へと移行し, *gap1* Δ 株は野生株に比べて生育が回復した。*gap1* Δ 株では細胞内リジン含量が大幅に低下したことから, 細胞内に取り込まれたリジンが生育阻害に作用する可能性も示され, さらなる検討を進めている。その結果も合わせて発表する。

A-13 分裂酵母 Pof1 の DNA 修復における機能解析
○Jiang Beibei, Tang Jiashen, 中村幹生, 上野 勝 (広島大院・統合生命)

Rqh1 は、DNA 組換え修復に関係するヘリケースであり、*rqh1-hd* 株は DNA ヘリケースの活性を持たない変異である。HU (Hydroxyurea, 複製阻害剤) と TBZ (Thiabendazole, 微小管阻害剤) の存在下、*rqh1-hd* 変異株の生育が非常に悪い。この原因は、上記の条件では、姉妹染色分体間で組換え中間体が蓄積したまま、不均等な染色体分配が起こるためと考えられる。当研究室では、HU 存在下での *rqh1-hd* 変異体の TBZ 感受性 (以下、*rqh1-hd* 株における HU・TBZ 感受性と呼ぶ) は、*pof1-A81T* 変異による抑圧することを発見しているがその機構はわかっていない。Pof1 は F-box タンパク質で、タンパク質の分解に関わる。本研究では、*pof1* 変異による *rqh1-hd* 株の HU・TBZ 感受性を抑圧するメカニズムを理解することを目標としている。これまでに *pof1* 変異により *rqh1-hd* 株の核小体の分配異常が抑圧することを発見している。そこで、現在、*LacO* /*LacI*-GFP システムを用いて rDNA 領域を蛍光標識することで、rDNA 領域の組換え中間体の蓄積が *pof1* 変異によって抑圧された可能性を検証している。

A-14 酢酸菌グリセロール脱水素酵素の機能安定化の物質生産および呼吸鎖への影響
●金田梨沙, 阿野嘉孝 (愛媛大院・農)

【目的】酢酸菌グリセロール脱水素酵素 (GLDH) はゆるい基質特異性が特徴的な酵素で、様々な基質を酸化変換することができる。その酸化反応は呼吸鎖と直接リンクしており、酢酸菌のエネルギー生成に機能している。GLDH は容易に補酵素 PQQ が脱離してしまう性質があり、当研究室では PQQ 結合を安定化した変異体 GLDH を得ている。本研究では、GLDH のゆるい基質特異性を活かした多彩な物質生産を目指して、PQQ 結合の安定化による物質生産および呼吸鎖への影響を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】作製した変異体 GLDH (m6) は、細胞膜画分懸濁液でも高い活性を有するものであった。そこで、m6 の生育および物質生産量を調査したところ、野生株よりも生育が悪く、それに伴った培地中の生成物量も低下していた。しかし、生育を伴わない物質生産を休止菌体反応にて比較すると、障害の著しかったケトグルコン酸発酵では、約 6 倍も物質生産量が向上していた。これらのことから、m6 では細胞外での基質酸化が強化され、生成物が培地中に蓄積したことで、生育が阻害されたと考えられる。あわせて、この変異の呼吸鎖への影響についても考察する。

A-15 不飽和脂肪酸代謝酵素を有する乳酸菌の探索
●福地雄大, 中島勇貴^{1,2}, 日比友之, 大貫琴音, 浦上雅史, 森井大貴,
安田 伸^{1,3}, 木下英樹^{1,2,3}
(東海大院・農,¹東海大院・生科,²東海大・総農研,³東海大・農)

【目的】現代の日本人は食の欧米化によりリノール酸等の ω -6 脂肪酸の摂取過多になっている。リノール酸は炎症に関与するエイコサノイドに代謝されるため過剰摂取は慢性炎症の原因となりうる。一方、リノール酸代謝産物の一つである水酸化脂肪酸は抗炎症作用を示すことが報告がされている。一部の乳酸菌でその代謝酵素が見ついているもののその知見は限定的である。本研究では研究室保有の乳酸菌を用いてリノール酸代謝酵素 (CLA-HY, CLA-DH, CLA-ER) の有無を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】6 菌株の乳酸菌から DNA を抽出し、PCR 後アガロースゲル電気泳動でバンドを確認したところ、すべての菌株において CLA-HY は 227 bp に、CLA-DH は 279 bp に、CLA-ER は 271 bp にバンドが確認された。DNA 配列解析を行ったところ、すべての菌株で CLA-HY, CLA-DH および CLA-ER と高い相同性が見られたことから、本菌株はリノール酸代謝酵素を有している可能性が示唆された。

A-16 超好熱アーキア由来 FAD 依存性 D-乳酸脱水素酵素の X 線結晶構造解析
○林 順司, 川上竜巳, 平田 章¹, 金丸 芳, 大島敏久², 櫻庭春彦³
(徳島大・生物資源,¹徳島大・理工,²大阪工大・工,³香川大・農)

【目的】FAD 依存性脱水素酵素 (fad-DH) は、人工の酸化還元色素を電子受容体とできるためバイオセンサーなどの電極素子として理想的な酵素であるが、膜結合型酵素が多く不安定なため研究は進んでいない。我々は超好熱菌に由来する高度耐熱性 fad-DH の機能性電極素子としての有用性を立証したが、新たな fad-DH の探索が課題である。本課題解決のため、FAD 依存性 D-乳酸脱水素酵素 (DLDH) の基質特異性を改変することで、D-乳酸以外の α -ヒドロキシ酸を測定できる fad-DH の作製を目指している。

【方法・結果】超好熱菌 *Aeropyrum pernix* 由来 FAD 非結合型 DLDH (ApeDLDH) の構造情報に基づき、FAD に対する親和性を約 200 倍向上させた変異型 ApeDLDH を作製した。本変異酵素を FAD と共に結晶化することで黄色のクラスター型結晶を得た。結晶作製時に Glycyl-glycyl-glycine を添加することで晶形が改善されプレート状の結晶が得られた。晶形が改善された結晶を用いて X 線結晶構造解析を行い、超好熱菌 DLDH として初めて FAD 結合型の構造情報を得た。

A-17 大腸菌 D-アラニル-D-アラニンリガーゼ変異型酵素の特性解析
●木和田康太, 山元小楨, 加藤伸一郎¹ (高知大院・農林海洋,¹高知大・総研セ)

【目的】D-アラニル-D-アラニンリガーゼ (DdlB) は、2 分子の D-アラニンから 1 分子の D-アラニル-D-アラニンを生成する反応を触媒する酵素である。本酵素の立体構造情報をもとに活性中心近傍のアミノ酸残基に部位特異的変異を導入した変異型酵素を調製し、活性測定を行って基質特異性に与える影響を考察した。

【方法・結果】PCR により変異型酵素発現用プラスミドを 32 種類調製し、大腸菌 BL21(DE3)にそれぞれ導入した。アンピシリンおよび IPTG を含む LB 液体培地にて培養した後、菌体を超音波破砕し無細胞抽出液を得た。これをニッケルキレートカラムを用いて精製し、アミノ酸に対する反応性をそれぞれ HPLC により測定した。その結果、本来の基質と考えられる D-アラニンについては、野生型と比較してほとんどの変異型酵素で活性の低下が確認された。一方で H63Q 変異型酵素については、グリシンに対しても反応性を示すことが明らかになり、D-アラニンとグリシンを添加した場合はグリシル-D-アラニン、また、グリシンのみを添加した場合はグリシルグリシンの生成が確認された。

A-18 超好熱性細菌 *Thermotoga maritima* のキシログルカン分解酵素群
●河合柚希, 亀山昭彦¹, 櫻庭春彦, 松沢智彦
(香川大・農,¹産総研・細胞分子)

【目的】キシログルカンは植物の細胞壁や種子に存在する多糖類であり、 β -1,4 グルカン主鎖に対してキシロースやガラクトース等が側鎖として結合している。微生物は様々な酵素を協調的に作用させることで複雑な側鎖構造を有するキシログルカンを分解している。本研究では、超好熱性細菌 *Thermotoga maritima* のキシログルカン分解機構の解明を試みた。

【方法・結果】我々は、*T. maritima* の Glycoside hydrolase family (GH) 74 に属する酵素がキシログルカンの β -1,4 グルカン主鎖を切断することでキシログルカンをオリゴ糖レベルに低分子化することを見出した。また、*T. maritima* のゲノムにおいて、当該酵素をコードする遺伝子の近傍に 2 つの推定 GH をコードする複数の遺伝子が存在することを見出した。これらの推定 GH の機能を解析した結果、これらの酵素はキシログルカンオリゴ糖の側鎖からガラクトース残基およびキシロース残基を遊離する β -ガラクトシダーゼおよび α -キシロシダーゼであることが明らかになった。

A-19 麴菌発現系を用いて生産した担子菌 *Flammulina velutipes* 由来ラッカーゼアイソザイムの解析

○仁尾優太, Cesur Aylin¹, 須鼻浩平, 麻田恭彦², 渡邊 彰²
(香川大院・農, ¹愛媛大院・連農, ²香川大・農)

【目的】我々は、担子菌 *Flammulina velutipes* の子実体を形成する株 (FVN-1) と形成しない株 (FVD-1) の比較解析の結果、同菌が菌体外に生成する特定のラッカーゼアイソザイムの生産性に差があることを見出している。また、このアイソザイムは子実体誘導条件に応答して生産量の上昇が観察され、その生理機能にはたいへん興味をもたれる。本研究では、麴菌の発現系を用いて調製した本アイソザイムについて解析を行った。【方法・結果】まず、麴菌を宿主に染色体挿入型の発現ベクターを使用し、高い酵素生産性を示す株の取得を試みたところ、培養液中に高いラッカーゼ活性を示す株を得ることができた。次に、得られた株の培養液を解析したところ、糖鎖付加の差異が見られる 2 種のラッカーゼが検出された。そこで、各酵素を精製し調べた結果、両組換え酵素は同等の安定性を示した (*F. velutipes* から調製した酵素とも顕著な差は認められなかった)。現在、これら組換え酵素の機能について解析を進めている。

B-1 酵母 *Metschnikowia pulcherrima* AH550 株によるプルケリミン酸高生産 Shang Siqi, 浜口愛勇生, 田口久貴, ○笹野 佑 (崇城大・生物生命)

【目的】酵母 *Metschnikowia pulcherrima* はプルケリミン酸(PA)を細胞外に分泌する。培地中の鉄イオンがこれに配位することで、寒天培地上でコロニー周囲が赤色を呈する。本酵母は真菌類や細菌類などに幅広い抗菌性があることが知られており、その要因の一つが、PA 分泌が引き起こす環境中の鉄欠乏であると言われている。我々がショウジョウバエの体内から分離した *M. pulcherrima* AH550 株は基準株と比較して寒天培地上で鮮やかな赤色を呈し、抗菌性の向上も確認されたことから、AH550 株では PA を高生産していると考えられる。本研究では *M. pulcherrima* AH550 株の PA 高生産機構の解明を試みた。

【方法・結果】本株のドラフトゲノム配列を決定した。基準株と同様、PA 合成に関わるとされる *PUL* 遺伝子群(*PUL1*~*PUL4*)がクラスターを形成していた。YPD 培地 (炭素源グルコース) で生育した AH550 株と基準株の細胞内から RNA を抽出して RT-PCR を行ったところ、AH550 株では基準株よりも *PUL* 遺伝子群の転写が 10~70 倍向上していた。AH550 株での PA 高生産性の要因の一つが、PA 合成遺伝子群の転写量の違いであると考えられる。

B-2 出芽酵母における液胞アミノ酸リサイクルの重要性について

●中川 栞, 中城遥登¹, 阿部創始, 濱田 和, 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)

【目的】本研究では窒素飢餓条件におけるオートファジーアミノ酸リサイクルの生存への寄与について、液胞アミノ酸トランスポーター欠損株を用いて検討した。

【方法・結果】液胞塩基性アミノ酸トランスポーターを多重欠損した *ypq1 Δ ypq2 Δ avt4 Δ* 株では窒素飢餓条件で液胞内塩基性アミノ酸含量が高いまま維持された。リジン合成遺伝子をさらに破壊した *ypq1 Δ ypq2 Δ avt4 Δ lys1 Δ* 株は窒素飢餓条件でオートファジー欠損株 (*atg9 Δ*) と同様に生存率が大幅に低下し、その二倍体株も *atg9 Δ* 二倍体株同様、胞子を形成しなかった。これら表現型は培地へのリジン添加によって見られなくなったことから、細胞の生存や胞子形成にリジンのリサイクルが必須であることが示唆された。さらに、野生株では窒素飢餓条件で増加する Arg1 および Ctt1 の細胞内レベルがこの四重破壊株では低く抑えられたことから、リジンリサイクルの欠損により新規タンパク質合成が低下していると考えられた。

B-3 *S. cerevisiae* BA11 の耐性評価とキシロース資化性付与

●樫谷侑太郎, 浅田元子¹, Prihardi Kahar², 荻野千秋², 中村嘉利¹
(徳島大院・創成科学,¹徳島大・生物資源,²神戸大・工)

【目的】近年、石油などの枯渇性エネルギーに代替しうる再生可能エネルギーとしてバイオエタノールが注目されている。トウモロコシやサトウキビなどの食糧と競合しないリグノセルロース系バイオマスを原料に用いるには、脱リグニン前処理・糖化・発酵の過程が必要であり、その効率化が求められる。脱リグニン前処理を行うとフルフラールや酢酸などの発酵阻害物が生成される。本研究では、保有している耐熱耐塩性酵母である *S. cerevisiae* BA11 株の阻害物耐性を明らかにすると共に、リグノセルロース構成糖の中で多く含まれる、今まで未利用糖であったキシロースを資化可能にするため形質転換を行い、BA11 株に *S. stipitis* 由来 *XYL1*, *XYL2* 遺伝子を導入した。

【方法・結果】*S. cerevisiae* BA11 株を酢酸、フルフラールなどの阻害物を含む YPD 培地で 48 時間培養した。結果、BA11 株は Safale US-05 (コントロール株) よりも良いエタノール収率を得ることができた。また、BA11 形質転換株は、YPX 培地での培養でキシロースの資化能も確認することができた。

B-4 清酒酵母のエタノール応答機構に関与する遺伝子の探索

●河内孝之^{1,2}, 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】清酒酵母は高発酵能の代償としてストレス応答機構に欠損があり、実験室酵母や他の醸造用酵母に比べてエタノール耐性が低いことが知られている。その原因として現在までにいくつかの遺伝子の関与が明らかにされているが、未知の因子の存在も示唆されており、未だ全貌の解明には至っていない。そこで本研究では清酒酵母のエタノール応答に関与する遺伝子及び変異の同定を目的とし、ゲノムワイドな遺伝統計学的手法である量的形質遺伝子座 (QTL) 解析により原因遺伝子の網羅的な探索を行った。

【方法・結果】清酒酵母と実験室酵母を親とする交雑二倍体由来の一倍体 398 株についてエタノールストレス耐性試験を行い、表現型データを収集した。このデータとゲノム全域に約 3 kb ごとに設定した約 5,300 箇所の SNP マーカーを用いて QTL 解析を行ったところ、複数の有意な QTL が検出された。それらには清酒酵母型で実験室酵母型よりもストレス耐性を示すものもあり、ストレス応答欠損を抑圧するために別の機構が働いている可能性も示唆された。現在、検出された QTL に存在する候補遺伝子について、アレルごとの評価により、エタノールストレス応答に関与する遺伝子の同定を試みている。

B-5 数理モデルで迫る乳酸菌-酵母複合系の種間相互作用

○大城麦人, 善藤威史, 田代幸寛, 中山二郎 (九大院・農)

【目的】乳酸菌と酵母の複合系によって発酵する伝統的発酵食品では、微生物種間の相互作用が複合系を安定させる要因となり得る。本研究では伝統的パン種 sourdough の乳酸菌-酵母複合系を数理モデル化し、複合系の内部に働く種間相互作用を理論的に推定した。

【方法・結果】sourdough から分離した乳酸菌 3 株 (*Weissella confusa*, *Pediococcus pentosaceus*, *Limosilactobacillus fermentum*) と酵母 2 株 (*Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania unispora*) を単独または混合して *in vitro* 培地に接種し、sourdough 発酵に倣い継代した。5 菌それぞれの選択平板培地を用いて継代過程の各菌数の変遷データを得た。変遷データを表現する数理モデルを一般化 Lotka-Volterra 方程式で構築した。その結果、2 菌を組み合わせた 10 通りの内の 7 割が競合、3 割が片害共生の関係にあった。*S. cerevisiae* の菌数は *L. fermentum* との 2 菌の組み合わせで抑制された。しかしそこへさらに *P. pentosaceus* が加わると、当該 3 菌を含む 3~5 菌のコミュニティにおいて *S. cerevisiae* の菌数が安定的に維持された。それらの 3 菌はじゃんけんゲームに例えられる三すくみの関係にあると考えられた。

B-6 たくあん漬から分離した乳酸菌 *Lactococcus lactis* PJR24 が生産するバクテリオシンの精製方法の検討と性質

●永田妃奈子, 善藤威史¹, 松崎弘美²

(熊本県大院・環境共生, ¹九大院・農, ²熊本県大・環境共生)

【目的】熊本県阿蘇地方で製造されたたくあん漬より分離した乳酸菌 *Lactococcus lactis* PJR24 が生産するバクテリオシンの精製方法を検討し、性質を調べることを本研究の目的とした。

【方法・結果】PJR24 株を M17G 培地で培養 (37°C, 18 h) して得られた培養液上清に対して、70%飽和硫酸沈殿、透析 (MWCO 3,500)、陰イオン交換クロマトグラフィー、限外ろ過 (MWCO 2,000) によりバクテリオシンを精製した。この精製サンプルについて Tricine-SDS-PAGE およびゲルバイオアッセイを行ったところ、PJR24 株バクテリオシンの分子量は約 10 kDa であることがわかった。また、精製過程で得られた透析液を用いて本バクテリオシンの pH および熱安定性を調べた結果、pH 3-11 の範囲で少なくとも 50%以上の活性を保持しており、80°C, 30 分の加熱処理後にも抗菌活性が残存していた。また、抗菌スペクトルを調べた結果、近縁種のほか *Listeria* 属や *Enterococcus* 属細菌などにも抗菌活性を示した。

B-7 *Lactiplantibacillus plantarum* PUK6 が生産する多成分バクテリオシンの輸送機構

●松田明香里, 吉原真希¹, 河原あい¹, 善藤威史², 松崎弘美¹
(熊本県大院・環境共生, ¹熊本県大・環境共生, ²九大院・農)

【目的】 乳酸菌が生産するバクテリオシンは安全性に優れた食品保存料として期待されている。*Lactiplantibacillus plantarum* PUK6 は熊本県の伝統的発酵食品「味噌漬け豆腐」から分離されたバクテリオシン生産乳酸菌である。本研究では、PUK6 株が生産する多成分バクテリオシンの生合成機構を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】 PUK6 株は少なくとも4種類のバクテリオシン (plantaricins A, EF, NC8 and PUK6) を生産することを明らかにしている (Kawahara *et al.* *J. Biosci. Bioeng.* 2022)。 *pln* locus 上の各遺伝子の機能を推定したところ、推定 ABC トランスポーター遺伝子 (*plnG*) と、そのアクセサリタンパク質遺伝子 (*plnH*) を見出した。これらをウェブデータベースを用いて解析したところ、PlnG/H は PUK6 株が生産するバクテリオシンのプロセッシングと菌体外輸送に関与すると推測された。その機能を明らかにするため、*plnG/H* 遺伝子破壊株や *plnG/H* 遺伝子と各バクテリオシン遺伝子との共発現株の作製を進めている。

B-8 乳酸菌由来新奇抗菌ペプチド・タンパク質の探索と構造・特性解析

○田中里緒菜, 庄野陸太, 野見山泰成, 中山二郎, 善藤威史 (九大院・農)

【目的】 乳酸菌が生産するバクテリオシンは、多様な構造や性質を示す抗菌ペプチドもしくはタンパク質であり、食品保存料や医薬品へ応用が期待される。そこで様々な分離源から乳酸菌を分離して新奇バクテリオシンを見出し、構造や特性を明らかにすることを本研究の目的とした。

【方法・結果】 様々な分離源から乳酸菌を単離し、抗菌活性を評価したところ、複数の乳酸菌がバクテリオシン様の抗菌活性を示す物質を生産していることが確認された。そのうち、特徴的な抗菌スペクトルを示したバクテリオシンについて、各種クロマトグラフィーによる精製を行い、質量分析やドラフトゲノム解析によってその構造を解析した。その結果、羊毛から分離された *Enterococcus faecium* W2 は、enterocin P を生産しているほか、既知のバクテリオシンと相同性の高い2つのバクテリオシン構造遺伝子を有していることが示された。一方、土から分離された *Weissella* sp. 2701 は、新奇抗菌性タンパク質を生産しており、大腸菌による異種発現によってもその抗菌活性が確認された。また、本抗菌タンパク質は溶菌作用をもつことが示され、バクテリオシンに分類されることが明らかとなった。

B-9 下水汚泥から単離されたオリゴ乳酸分解菌の特性評価

●吉田雄治, Adina Anghelescu-Hakala¹, 水野康平², 園田達彦², 日高浩樹, 前田憲成 (九工大院・生体工, ¹VTT, ²北九高専・生デ工)

【目的】 海洋プラスチック問題は現在の大きな環境問題の一つであり、対応策としてプラスチック代替材料の開発が急速に進んでいる。フィンランドではプラスチック製品のポリ乳酸 (PLA) 製への移行を推進するプロジェクトにより、PLA 材料を多様に資源化する技術の開発が進んでおり、PLA の新規化学的リサイクル法が確立された。先行研究において、このリサイクル法の中間生成物であるオリゴ乳酸 (OLA) を資源利用できることとされる微生物が下水汚泥から単離された。本研究では、新たなリサイクル法に付加価値をつけるため、単離菌の OLA 分解能や産生酵素などを調査し、OLA 資源化能力の評価を行った。

【方法・結果】 OLA を添加した M9 最小培地に3種類の単離菌をそれぞれ 37°C, 120 rpm で2週間振盪培養した。クロロホルムを用いて OLA 抽出し、重量減少率より OLA 分解量を算出した。結果として2週間で約 35 - 46% の分解率が示され、OLA の安定的な利用が見られた。また、産生酵素調査において、それぞれの生成する酵素に違いがあったことから OLA 分解に対するアプローチが異なると考えた。

- B-10 乳酸菌との共培養における *Geotrichum candidum* の生育促進因子の探索
●森井大貴, 角替健斗¹, 東野虎太郎¹, 菊川文音¹, 中島勇貴^{2,3}, 日比友之,
大貫琴音, 福地雄大, 浦上雅史, 安田 伸^{1,2}, 木下英樹^{1,2,3}
(東海大院・農,¹東海大・農,²東海大院・生科,³東海大・総農研)

【目的】*Geotrichum candidum* は白カビ系チーズ製造に用いられるスターターである。当研究室で、*G. candidum* と乳酸菌との共生関係を明らかにしている。しかしながら、その全容解明には至っていない。そこで本研究では共培養時に産生される物質における *G. candidum* の生育因子の探索を行った。

【方法・結果】二菌株の *G. candidum* を用いてスキムミルク中での生育性の評価を行った。その結果、共培養において検出された有機酸、ビタミン B₆、グルコース、ガラクトース添加で生育性の向上が見られた。そこで、代謝経路に着目したところ、生育が向上した物質はすべて解糖系、あるいは TCA 回路で代謝されることが分かった。一方、ラクトースを添加したサンプルでは生育は向上しなかったことから、β-ガラクトシダーゼ活性が低い可能性が示唆された。以上のことから *G. candidum* はラクトースを分解できないためにスキムミルク中で十分な生育ができない可能性が示唆された。

- B-11 白色腐朽菌を用いたエタノール生産における糖の利用効率
●西川拓海, 立尾崇真, 三宅真由, 堀沢 栄 (高知工科大・環境理工)

【目的】スエヒロタケ NBRC4928 株は白色腐朽菌であり、セルロース系バイオマスを用いたエタノール生産における脱リグニン、糖化、発酵の工程を 1 つの反応槽で行うことができる可能性がある。また、これまでの研究でスエヒロタケ NBRC4928 株は、グルコース、マンノースなどの単糖を高い変換率でエタノール生産できることが明らかとなっている。本研究では、まだ明らかでない単糖であるフルクトースの発酵効率と、多糖であるセルロース、キシラン、イヌリンの発酵効率を検討した。

【方法・結果】PDA に前培養したスエヒロタケ NBRC4928 株の菌糸片を、原料糖を含む液体培地に接種し、回転培養を行った。培地液中の糖とエタノールの濃度を HPLC で測定し、発酵効率を評価した。フルクトースについては、グルコースと同程度の高いエタノール変換率を示し、原料濃度を 2%~10% に変化させたところ違いは見られなかった。多糖については、糖化補助のために加水分解酵素の有無による発酵効率の違いも検討するため、酵素を液体培地に添加した試験を行った。その結果、スエヒロタケのみで分解できる多糖とそうでない多糖が明らかとなった。

- B-12 黄麹菌生細胞におけるグルコアミラーゼ mRNA の局在機構解析
●守田湧貴, 竹川 薫, 樋口裕次郎 (九大院・生資環)

黄麹菌 *Aspergillus oryzae* はタンパク質分泌能力に優れ、アミラーゼ等の有用酵素を安全かつ多量に分泌生産する。そして、より高生産な菌株の分子育種のために、*A. oryzae* におけるタンパク質分泌機構の分子細胞生物学的な解析が行われている。本研究では、分泌型酵素に関する mRNA レベルの局在に着目し、高分泌されるグルコアミラーゼ(*glaA*) mRNA の細胞内局在機構を解明することを目的とした。

我々は *A. oryzae* の生細胞において mRNA を可視化する MS2 system を新たに適用し、これまでに *glaA* mRNA が分泌部位である菌糸先端と隔壁近傍に局在することを明らかにした。そして、さらなる局在解析の結果、*glaA* mRNA は小胞体(ER)と共局在を示し、一部はキネシンモータータンパク質に依存して ER に沿った動態を示すことを明らかにした。また、高温ストレス条件下においては、*glaA* mRNA の一部が翻訳制御を担う processing body や stress granule と共局在を示すことを明らかにした。

このように、黄麹菌におけるタンパク質分泌に関して未解明の分子機構について一層の理解を進めており、分泌酵素の mRNA 局在化機構が効率的なタンパク質翻訳と分泌に寄与する可能性が示唆された。

B-13 黄麹菌の微小管生合成に関わるチューブリン mRNA の局在解析
●川富溪舟, 守田湧貴, 竹川 薫, 樋口裕次郎 (九大院・生資環)

【目的】黄麹菌 *Aspergillus oryzae* が多量に生産するアミラーゼ等の有用酵素は、細胞内で微小管を介した輸送経路で分泌されるため、微小管の適切な形成が重要である。しかし、黄麹菌を含む糸状菌における微小管の形成機構に関する研究はタンパク質レベルに留まっており、転写と mRNA レベルでの時空間的な制御機構については未解明である。そこで本研究では、微小管を形成する α -チューブリン(*atuA*)と β -チューブリン(*btuA*), 及び基部構造を形成する γ -チューブリン(*gtuA*)の mRNA を標的に局在解析を行った。

【方法・結果】まず、固定細胞にて single molecule fluorescence in situ hybridization (smFISH)法により *atuA* mRNA と *gtuA* mRNA を可視化したところ、*atuA* mRNA は菌糸先端を含む核から離れた部位にも局在し、*gtuA* mRNA は核と隔壁付近に局在することが明らかとなった。次に、生細胞にて MS2 system により *btuA* mRNA を可視化したところ、細胞質の所々に集合して局在し、また核分裂の前後ではその存在量がダイナミックに変化する様子も観察された。今後は、チューブリン mRNA の局在と関連するタンパク質やオルガネラとの共局在解析によって、微小管生合成の時空間制御機構をより詳細に明らかにしていく。

B-14 鯉節カビ *Aspergillus chevalieri* の生活環に関する解析 ●平松健太郎,
森 一樹¹, 門岡千尋², 奥津果優, 吉崎由美子, 高峯和則, 田代康介¹,
玉置尚徳, 二神泰基 (鹿児島大院・農林水産, ¹九大・農, ²崇城大・生物生命)

【目的】*Aspergillus chevalieri* は鯉節から分離された主要なカビで、子嚢胞子を形成する有性世代株と分生子を形成する無性世代株に分類される。本研究の目的は、有性世代株が有性生殖能を失うことで無性世代株が出現した可能性を検証し、その生活環に関連する遺伝子を同定することである。

【方法・結果】まず、有性世代株の染色体レベルのゲノムを解析し、これに無性世代株のショートリードをマッピングすることにより、無性世代株において破壊的な変異が示唆された遺伝子を有性生殖に関与する候補遺伝子として同定した。次に、*A. chevalieri* の遺伝子組換え実験系を構築し、無性世代株に有性世代株に由来する正常な候補遺伝子を相補したが、表現型は変化しなかった。続いて、有性世代株において候補遺伝子の破壊を行ったが、いずれも変化は観察されなかった。そのため現在は、無性世代株の染色体レベルのゲノム情報を取得し、より詳細な比較ゲノム解析を進めている。また、有性世代株と無性世代株のトランスクリプトームを比較し、発現量に差があった遺伝子について解析を行っている。

B-15 *Aspergillus fumigatus* の真菌型ガラクトマンナン生合成に関わる α -1,2-マンノース転移酵素 CmsA の遺伝子破壊による菌糸成長抑制を抑圧する変異株の変異点解析 ●岸田凜太郎, 門岡千尋, 田中 大¹, 平 大輔, 岡 拓二
(崇城大院・工, ¹東北医薬大・薬)

【目的】*A. fumigatus* の細胞壁表層に局在する真菌型ガラクトマンナン (FTGM) は、 α -1,2- α -1,6-マンナン主鎖と β -1,5- β -1,6-ガラクトフラン側鎖からなる多糖である。 α -1,2-マンノース転移酵素遺伝子である *cmsA* の破壊株は、菌糸伸長速度および分生子形成能が著しく低下する。 $\Delta cmsA$ を平板無機塩培地において培養すると、一部分から菌糸成長が回復した変異株が自然発生した。本研究では、 $\Delta cmsA$ 抑圧変異株 (RKF-1 株) の責任遺伝子の同定を目的とした。

【方法・結果】RKF-1 株ゲノムを NGS により解析したところ、CmsA と協働して FTGM のマンナン主鎖生合成を担う α -1,6-マンノース転移酵素 AnpA に挿入変異が見出された。そこで $\Delta cmsA \Delta anpA$ 二重破壊株を構築し、菌糸伸長速度および分生子形成数を定量したところ、RKF-1 株と同等の回復を示した。以上のことから、RKF-1 株における責任遺伝子は *anpA* であることが示された。

B-16 分裂酵母 *S. pombe* の *coq9* 破壊株への *coq8* 遺伝子導入による CoQ 生合成、中間体蓄積への影響

●上西倫大朗, 堀 知葉, 松本早代, 戒能智宏¹, 川向 誠¹
(島根大院・自然科学,¹ 島根大・生資科)

【目的】真核生物のコエンザイム Q(CoQ)合成の経路と遺伝子はまだ完全には解明されていない。出芽酵母 *S. cerevisiae* の CoQ 合成酵素遺伝子の破壊株では初発物質(HHB)が蓄積する一方、分裂酵母 *S. pombe* では破壊した遺伝子により異なる中間体が蓄積する。*S. pombe* の機能未知である *coq9* 遺伝子の破壊株では、初発物質(DHB)が蓄積する。本研究では CoQ 合成タンパク質を安定化させる *coq8* の高発現やキノン骨格基質の添加が $\Delta coq9$ に与える影響を調べた。

【方法・結果】 $\Delta coq9$ を最少培地で培養し、CoQ や中間体を抽出した後、LC-MS によって解析した。 $\Delta coq9$ に *coq8* を高発現させることで、反応が進んだ中間体 DMQ₁₀ が蓄積された。また、キノン骨格基質 PHB を添加することにより DMQ₁₀ の蓄積に加えて、CoQ₁₀ の生合成が回復したことから、PHB を基質とする CoQ₁₀ 生合成経路では Coq9 の関与は浅いことが示唆された。

B-17 Romidepsin が環状染色体を持つ分裂酵母に与える影響

●田村洗斗, 上野 勝 (広島大院・統合生命)

ヒトの正常な細胞の染色体は線状であるが、ある種のがん細胞では、全染色体のうち的一本が環状化している場合がある。環状染色体をもつヒトがん細胞を選択的に死滅させるような化合物を発見することが出来れば、世界で初めての環状染色体を標的とした抗がん剤の開発につながる。そこで、環状染色体を持つ分裂酵母として知られるテロメア保護タンパク質 Pot1 欠損株 (*pot1Δ* 株) を用いて、*pot1Δ* 株を選択的に増殖阻害する化合物のスクリーニングを行った。スクリーニングの結果、ヒト HDAC (ヒストン脱アセチル化酵素) classI 阻害剤である Romidepsin が *pot1Δ* 株の増殖を阻害することを発見し、現在は、Romidepsin の *pot1Δ* 株に対する作用機構の解析を行っている。本発表では、HDAC 阻害が *pot1Δ* 株の生育に悪影響を与える可能性について報告する。分裂酵母において Hos2, Clr6 がヒト HDAC classI と相同性を示すことが知られており、*pot1Δ* 株にそれぞれをコードする遺伝子の変異を導入した。*clr6* は生育に必須な遺伝子であるため、その温度感受性変異である *clr6-1* 変異株を使用した。その結果、*pot1Δclr6-1* 二重変異株が合成致死もしくは、重度の生育阻害を引き起こすことが示唆された。

B-18 核-液胞接合部(NVJ)を介したスフィンゴ脂質による液胞分裂制御機構

●花岡和樹, Philipp Schlarmann, 池田敦子, 船戸耕一 (広島大院・統合生命)

オルガネラはそれぞれが独立して存在しているのではなく、Membrane Contact Site(MCS)を介して互いに大規模なネットワークを構成していることが知られている。当研究室は、小胞体-ゴルジ体間および小胞体-細胞膜間の MCS 繫留因子であるトリカルビンタンパク質を欠損させると、スフィンゴ脂質の1つである phytosphingosine(PHS)が細胞内に蓄積し、液胞が分裂することを明らかにした。しかし、細胞内に蓄積した PHS がどのように液胞を分裂させるかは不明であった。そこで、PHS の液胞への移動の場として考えられる小胞体-液胞間の MCS である NVJ の関与についての解析を行った。Nvj タンパク質を欠損した細胞では、PHS 投与による液胞の分裂が抑圧された。また、Nvj タンパク質の欠損は浸透圧ショックによる液胞の分裂も抑圧した。加えて、浸透圧ショックを行った細胞では、未処理の細胞と比較して PHS が有意に蓄積した。さらに、PHS を細胞外に排出する Rsb1 タンパク質を過剰発現により、浸透圧ショックによる液胞の分裂が抑圧された。これらの結果から、PHS による液胞の分裂には NVJ が関与すること、そして、NVJ 依存的な液胞分裂はストレス応答の1つの共通した機構であることが示唆された。

動植物から分離した *Saccharomyces cerevisiae* のワイン醸造特性●前田祐里, 荒木鷹寧¹, 村松久司¹, 永田信治², 土居睦卓³, 甫木嘉朗³(高知大院・農林海洋,¹高知大・農林海洋,²高知大・学創セ,³高知県工技セ)

【目的】地方のワイナリーやブルワリーの増加に伴って、野生酵母が地域資源として注目されている。そこで、動植物から分離した *Saccharomyces cerevisiae* を対象に、優れた醸造特性を持ち、香りに特徴があるワインの醸造に適した株の選抜を試みた。

【方法・結果】高知大学応用微生物学研究室に保存されている 235 株の *S. cerevisiae* を選抜に供した。糖資化性、pH 耐性、亜硫酸耐性、銅耐性試験では濁度を測定することで生育を評価した。キラー性試験にはキラー感受性酵母を塗布したメチレンブルー含有培地を、硫化水素生産性試験には BiGGY 培地を用いて、目視で評価した。ワイン醸造試験は、コンコードまたはマスカットの果汁を用いて醸造後、一般成分と香气成分を分析した。試験の結果、ワイン醸造に適した *S. cerevisiae* として 6 株（植物由来 5 株、動物由来 1 株）を選抜した。これらはワイン醸造に必要な資化性や耐性を持ち、キラー性を示さず、かつ醸造試験において果実様の香气成分がワイン酵母 EC1118 株より高生産されていた。

C-1 *Cupriavidus necator* を宿主とした透明な生分解性プラスチックの生合成
○板倉真優, 石川鈴恵¹, 田中賢二², 田口精一³, 松崎弘美¹
(熊本県大院・環境共生, ¹熊本県大・環境共生, ²近畿大・産理工,
³神戸大院・科技イノベ)

【目的】微生物が菌体内に合成・蓄積するポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) は生分解性プラスチックの1つであるが、一般にPHAは物性に難があり不透明であるため、使用用途は制限される。一方、乳酸(LA)および3-ヒドロキシブタン酸(3HB)ユニットからなる共重合ポリエステルP(LA-co-3HB)は、LA分率を15~30 mol%に高めると透明性、柔軟性、生分解性に優れる。本研究では、水素細菌 *Cupriavidus necator* を宿主とした組換え株を作製し、実用的なP(LA-co-3HB)を合成することを目的とした。

【方法・結果】*C. necator* の分子育種株を宿主として、LAユニット供給系酵素遺伝子および *Pseudomonas* sp. 61-3 由来の改変PHA重合酵素遺伝子 [*phaC1(STQK)*] を導入した組換え株を作製し、糖を炭素源として培養した結果、LA分率が24.6 mol%のP(LA-co-3HB)を合成した。また、二酸化炭素を炭素源としたところ、LA分率が8.2 mol%のP(LA-co-3HB)を合成した。

C-2 複合微生物工学アプローチによるバイオプロセス制御：マンニトールを基質としたメタ回分発酵による有機酸生産
●水野 優, 古閑友紀, 大城麦人, 宮本浩邦^{1,2,3}, 酒井謙二, 田代幸寛
(九大院・生資環, ¹千葉大・園芸, ²理研・生命医科, ³(株)サーマス)

【目的】当研究室では複合微生物系による有機酸の生産過程をメタ発酵と定義している。本研究では、海藻の主炭素源であるマンニトールを発酵原料として着目し、メタ発酵条件の最適化を目的とした。

【方法・結果】発酵条件は温度とpH制御時方法について検討した。温度は30~60°C, pH制御方法は一定制御、振動制御及び切替制御で検討した。有機酸はHPLC, マンニトールは糖分析計を用いて測定し、菌叢は16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を行った。その結果、温度条件を変えると40°Cでは酪酸が、50°Cでは乳酸が大量に生産された。また、40°Cでは気体の発生が観察され、優占した *Clostridium* 属細菌がマンニトールを消費して酪酸を生産する際に、二酸化炭素と水素を生成することが示唆された。pHの制御方法は振動制御の時のみ乳酸が大量に生産され、それ以外の制御方法では乳酸は生産されなかった。以上の結果、マンニトールからのメタ発酵におよぼす温度とpH制御の影響を明らかにした。

C-3 複合微生物工学アプローチによるバイオプロセス制御：メタ連続発酵におけるpHが細菌叢と有機酸生産性に及ぼす影響の解明と乳酸生産性向上の検討
●古閑友紀, 宮本浩邦^{1,2,3}, 酒井謙二, 大城麦人, 田代幸寛
(九大院・生資環, ¹千葉大・園芸, ²理研・生命医科, ³(株)サーマス)

【目的】メタ発酵(複合微生物を用いた有機物生産プロセス)は、複数の基質利用や雑菌汚染への耐性、滅菌不要などのメリットが存在する一方、細菌叢を含む統合的な知見が乏しい。本研究はメタ連続発酵において高乳酸生産性を達成するためにpHが細菌叢と有機酸生産性に及ぼす影響の解明を目的とした。

【方法・結果】希釈率0.05 h⁻¹, 嫌気条件にてグルコースを基質とした連続発酵を行い、pHを非制御および、5.5から7.5まで変化させ、有機酸濃度と細菌叢の解析を行った。さらに、pH 6.0にて最大乳酸生産を達成する希釈率を調査した。pH 7.5では多種の細菌が生育し、pHの低下に伴い種数、多様性度は減少した。pH 7.0, 7.5にて *Xylanivirga thermophila* が優占化しpH 6.0以下では *Weizmannia coagulans* が優占種となり細菌叢の変化を明らかにし、pH 6.0で最大乳酸濃度51.3 g/Lを得た。また、pH 6.0, 希釈率0.25 h⁻¹にて、先行研究よりも優れた最大乳酸生産性を達成した。

C-4 水素細菌 *Ralstonia eutropha* H16 株のポリヒドロキシ酪酸蓄積変異株における特性評価

●小役丸桜季, 前田憲成, (九工大院・生体工)

【目的】*Ralstonia eutropha* H16 株は水素と酸素を利用する水素細菌として知られ, CO₂ を固定し, 生分解性プラスチックの材料であるポリヒドロキシ酪酸 (PHB) を合成する能力を持つことから, CO₂ 固定のためのバイオテクノロジー開発に大きな可能性を秘めている。しかし, PHB の蓄積は, 生成反応と共に分解反応が働くため, これが H16 株の低 PHB 収量の要因となっている。そのため, 本研究では, *Ralstonia eutropha* H16 株を研究対象に PHB を多く蓄積できる変異株を作製し, その特性を評価した。

【方法・結果】*Ralstonia eutropha* H16 株にトランスポゾン (pTnMod-OKm) を導入し, PHB を蓄積できる変異株を探索し, PHB 蓄積能が高い株 (AC1) および褐色色素を生成する変異株 (PIG1) を単離した。PHB 蓄積能を調査した結果, AC1 は野生株に比べ, グルコースおよび二酸化炭素からの PHB 合成に優れている可能性が示唆された。また, PIG1 が生成する色素は菌体外に放出されており, ストレス環境下で色素生成が促進されることが分かった。

C-5 石けん及び合成洗剤成分の生分解に関わる細菌群集構造解析

●入口俊介, 前田憲成, 完山陽秀¹

(九工大院・生体工, ¹シャボン玉石けん (株))

【目的】液体石けんの年間製造量はコロナ禍に入り, 約 1.4 倍に増加しており, これらの界面活性剤の使用増加が水環境の微生物菌叢に負荷を与えている可能性が考えられる。本研究では, 石けん及び合成洗剤成分が環境に及ぼす影響を生分解性とそれに関わる細菌叢に着目して調査を行った。

【結果・考察】生分解試験の結果, 石けん成分である C₁₂K は 1 日で 100% 分解される一方, 合成洗剤成分である D-LAS は 7 日たっても分解されないことが分かった。MiSeq による細菌叢解析の結果, D-LAS と C₁₂K どちらを添加した系でもグラム陽性菌が死滅しており, リポ多糖がないグラム陽性菌は陰性菌に比べて化学物質への感受性が高いため死滅したことが考えられる。また, PICRUST2 による細菌叢代謝解析では界面活性剤分解に関する遺伝子の存在が C₁₂K と D-LAS どちらでも確認できた。

C-6 イネ・オオムギ二毛作における根圏微生物群集構造の時系列変遷と機能

○谷 明生, 最相大輔, 山地直樹, 山下 純, 小橋理絵子, 山本敏央, 門田有希¹, 中川智行², 持田恵一³

(岡山大・植物研, ¹岡山大院・環境生命, ²岐阜大・応生科, ³長崎大・情報)

日本の西南暖地では冬にムギ, 夏にイネを栽培する二毛作が盛んである。岡大植物研でも二毛作栽培試験を長年継続している。二毛作の生産性を支える物理化学的環境要因と生物学的要因はほとんど明らかにされていない。本研究では, 3 年間にわたるイネ・オオムギの二毛作で, 酸性土壌で問題となるアルミニウム耐性の異なる品種を用い, 施肥・無施肥区での根圏微生物叢, 土壌の水抽出可能なイオン, 作物の成長, 野生植物相を経時的にデータ化し, それぞれの要因の相関を調べた。計 2388 点の土壌微生物叢の 16S rRNA アンプリコン解析により, イネ及びオオムギ特異的な微生物叢が 3 年間再現性良く繰り返されることが分かった。土壌から根圏土壌を経て根に至るまで植物に近づくにつれ特異的な微生物群集構造が形成されており, オオムギとイネ, 施肥の有無にそれぞれ応答して増減する微生物の存在と異なる機能を見いだした。

- C-7 Unveiling *Methylobacterium* sp. 2A plant growth-promoting abilities and auxin signalling modulation for enhanced plant development.
○Cecilia Grossi, Akio Tani¹, Rita M. Ulloa.
(INGEBI-CONICET, ¹IPSR-Okayama Univ.)

Methylobacterium sp. 2A, a pink-pigmented rhizobacterium induces positive changes in *Arabidopsis thaliana* development and synthesizes IAA. We measured phytohormone levels in strain 2A-inoculated *A. thaliana*. JA and SA increased upon inoculation, while IAA levels remained unchanged. Strain 2A-inoculated plants displayed typical auxin-dependent phenotypes. The auxin-responsive *DR5* promoter activity was detected in root tips and lateral root emergence sites upon inoculation. Furthermore, the functional impact of 2A-secreted IAA on root architecture was investigated in *yucQ*, *iaa19*, *arf7*, and *arf19* mutant seedlings with reduced lateral root formation. After 7 days, inoculation with 2A resulted in a significant increase in lateral root density in all mutants. These findings strongly suggest that 2A modulates root architecture through the secretion of IAA.

- C-8 宿主への高寄与なヒト毛髪細菌の調査とケラチノサイト内毛髪健康関連遺伝子に及ぼす毛髪細菌の発現制御の解明
●山田あずさ, 渡邊康太¹, 大城麦人, 片倉喜範, 酒井謙二, 田代幸寛
(九大院・生資環, ¹東京農大・応用生物)

近年, ヒト毛髪の毛根部(毛包)から毛先までの表面常在菌(毛髪細菌)の実態が明らかとなり, 他部位と異なる独自の細菌叢が解明されつつある。しかし, 毛髪細菌が宿主に及ぼす影響は不明である。そこで本研究では, 長期優占な毛髪細菌叢を推定するとともに細菌が接するケラチノサイト内の遺伝子発現変化を評価した。3ヶ月間各月に被験者2名から毛髪を採取しDNA抽出後に次世代シーケンサーによる16Sアンプリコン解析を行った。また最優占毛髪細菌3属を選択し, 調製した各細菌試料をヒト表皮細胞へ供試後, 細胞活性, 抗老化機能を示すSIRT1および育毛促進能を有するTERTを標的に細胞内の発現量を測定した。その結果, ケラチノサイト生細胞数が変化しSIRT1およびTERTは最優占種である*Cutibacterium*と*Pseudomonas*で高い増強を示した。従って, 優占な毛髪細菌はヒト表皮細胞の細胞増殖能およびケラチノサイト内遺伝子発現を制御することが示唆された。

- C-9 大豆ペプチドと環境エンリッチメントがマウス腸内細菌叢に与える影響の解析
○荻山 葵, 瀬々航紀, 黒木健悟, 西川奈那, 濱野桃子¹, 古屋茂樹²,
中山二郎² (九大院・生資環, ¹九工大院・情報工, ²九大院・農)

【目的】実験動物の行動に飼料を含む飼育環境が影響することが示されている。我々は給餌飼料に大豆ペプチドを添加するとうつや不安行動が軽減されることを見いだしており, 飼料成分と飼育環境が脳機能改善に相加的・相乗的効果を与える可能性を想定している。本研究では, 大豆ペプチドと環境エンリッチメント(EE)を組み合わせて飼育したマウス腸内細菌叢を調査することで, 大豆ペプチドと生活環境が腸内環境の形成に与える影響を解明することを目的とした。【方法・結果】C57BL6マウスを「①大豆ペプチド非食餌群, ②大豆ペプチド食餌群, ③EE群, ④大豆ペプチド食餌+EE群」の4群(n=10)に分け, 回収した腸の内容物(小腸上部, 小腸下部, 盲腸, 大腸)からDNAを抽出した。そして16SrRNAのV3-V4領域のアンプリコン配列解析により細菌叢を解析した。その結果, EEのみでは有意な変化はなかったが, 大豆ペプチドで腸管各部位での菌叢に有意な変化が見られ, そこにEEを加えることでさらなる変化が見られた。以上, 大豆ペプチドは腸内細菌叢を変化させ, EEによりさらなる効果が表れることが示された。

C-10 廃グリセロールと下水余剰汚泥を用いたバイオガス生成及び基質ストレスの影響評価

●石関直人, 服部晴朗, 前田憲成 (九工大院・生体工)

【背景・目的】近年, 化石燃料に代わる燃料として, 世界中でバイオディーゼルの生産が盛んに行われているが, 副生物として廃グリセロールが生成されることが問題となっている。これは廃棄物として認識される一方で, 微生物が利用する基質としての有効利用法が検討されている。本発表では, 廃グリセロールと下水余剰汚泥を利用したバイオガス生産及び各濃度での微生物への影響を評価した。

【実験方法】25%下水余剰汚泥をバイアル瓶に入れ, 基質に廃グリセロールを添加した。これを 37°C, 120 rpm で振蕩培養を行い, 経時的にバイオガス生成量を測定した。また, 微生物源に汚泥の上清を使用した際のバイオガス生成量を測定し, 水素生成菌に対する廃グリセロールの影響の有無を評価した。

【結果及び考察】廃グリセロールを 0.5%に調整したサンプルでメタン発酵が最も促進されることが判明した一方で, 上清のみのサンプルでは, 廃グリセロールが 5%のときに水素生成が最大になることが分かった。このことから, 汚泥を可溶化して基質を利用しやすくするプロセスの必要性が示唆された。

C-11 *Bdellovibrio* 属細菌は大腸菌のどこを認識しているか～走化性評価～

●大串祐稀, 前田憲成 (九工大院・生体工)

【目的】近年, 従来の抗菌薬が効かない薬剤耐性菌(AMR)が世界中で増えてきている。AMR に対する新しい対策手法として, *Bdellovibrio* 属細菌(以下 Bd 菌)の利用が注目されている。特に, 被食菌を認識する部位などについては知見がない。本研究では, Bd 菌がグラム陰性細菌の細胞表層に特徴的に存在するリポ多糖 (LPS) やクオラムセンシング (QS) 物質を捕食時に標的としているのかを明らかにすることを目的に調査を行った。

【方法・結果】37°C, 好気性条件下で一晩培養させた大腸菌の親株または LPS 合成系・QS に関わる変異株を pH 7.6 の HEPES 緩衝液を用いて 3 回洗浄した。クリスタルバイオレット液で染色した 150 µL の Bd 菌をスライドガラス上に置き, 洗浄した被験大腸菌を 1%のアガーを含むキャピラリー管内に閉じ込め, そのキャピラリー管に集まる Bd 菌の動きを光学顕微鏡で観察し, 走化性をアッセイした。結果, 大腸菌親株に比べ, 変異株に対して, Bd 菌の走化性が少ないことが観察された。よって, Bd 菌が捕食する際に, 大腸菌のリポ多糖や QS 物質を感知し, 走化していることが示唆された。

C-12 通性または絶対嫌気性菌由来プラズマローゲンの効率的な生産方法の確立

●入交 伶, 桑原芽美, 藤野泰寛, 本庄雅則¹, 馬渡史郎², 藤野武彦², 土居克実 (九大院・生資環, ¹九大院・医, ²レオロジー機能食品研)

【目的】プラズマローゲン (Pls) はアルツハイマー型認知症などの症状改善に効果があるとされているが, 原料となる海産物が高価で供給が安定しないという課題がある。本研究では, Pls 生産性をもつ細菌に着目し, 医薬品だけでなく食品として開発するための安価で効率的な Pls 生産方法の確立を目指す。

【方法・結果】*Lactococcus cremoris* subsp. *cremoris*, *Enterococcus faecalis* および *Bifidobacterium longum* subsp. *suis* がもつプラズマローゲン合成関与遺伝子 (*plsA*) を大腸菌に導入し, 組換え体を好気条件と嫌気条件で培養した際の Pls 生産量を測定した。結果, 通性嫌気性菌由来 *plsA* を導入した大腸菌は両条件で Pls 生産が確認されたが, 絶対嫌気性菌由来 *plsA* を導入した大腸菌では好気条件では Pls 生産がみられなかった。また, *L. cremoris* ATCC BAA-493 を培地, 培養温度, 嫌気度を変更して培養し, 得られた菌体の Pls 生産量を測定した。その結果, M17 培地, 25°C, 嫌気培養で最も多くの Pls が検出された。

C-13 コリネ型細菌の代謝工学によるチロシンの効率的生産

○谷口和彌, 加藤瑠華, 片岡尚也^{1,2}, 松谷峰之介³, 松下一信^{2,4}, 薬師寿治^{1,2}
(山口大院・創成科学, ¹山口大・研究推進機構, ²山口大・中高温微研セ,
³東農大・ゲノム解析セ, ⁴山口大・農)

【目的】芳香族アミノ酸の一つであるチロシン (Tyr) は, 香料, 医薬品, 化粧品合成における前駆体として利用される有用化合物である。本研究では, コリネ型細菌 *Corynebacterium glutamicum* に代謝工学を施すことにより, Tyr を高生産する株を造成することを目的に, 実験に着手した。

【方法・結果】フィードバック制御が解除された Tyr 生合成遺伝子を過剰発現させることで Tyr 生産能を付与した。親株には, フェニルアラニン (Phe) 生産に有用であった AD3 を用いた。RNase J の欠損, Phe 生合成系の不活化, ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの欠損を導入することにより段階的に Tyr 生産が向上し, 最終的に構築した株は, 回分培養により 80 g/L のグルコースから 4.5 g/L の Tyr を生産した。また, RNase J 欠損による転写産物の変化を解析したところ, シキミ酸経路の遺伝子の多くが RNase J の欠損により有意に向上していることが確認され, これが Tyr 生産が向上した一因と考えられた。

C-14 マルチ分解酵素生成菌 *Aeromonas hydrophila* ST5 株を用いたウイルス不活性化の調査

●松島雄大, 遠矢将太郎, 前田憲成 (九工大院・生体工)

【目的】

世界中には様々な有害なウイルスが存在し, 人間だけでなく農作物や家畜の健康を脅かしている。ウイルスに対抗するため治療薬やワクチンなどの開発が行われているが, それには莫大な資金と時間を必要とすることから, 従来とは異なるウイルス不活性化技術の確立が求められている。そこで本研究では, 3種類の分解酵素を生成する細菌である *Aeromonas hydrophila* ST5 株が生成する酵素が, ウイルス粒子の構成成分であるタンパク質や脂質を分解することでウイルスを不活性化する能力を持つか検討を行った。

【方法・結果】

本研究では, 試験ウイルスとしてバクテリオファージである P1 ファージを, 酵素溶液として ST5 株を LB 液体培地で振盪培養した試料を遠心分離して得た上清を用いた。ウイルスと酵素溶液を 24 時間静置で反応させ残存ウイルスを測定した所, 40%近くウイルスが減少していた事が確認できた。

C-15 *Geobacillus* 属好熱菌が発現する変異非依存的な適応機構の解析

○服部未澄, 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)

【目的】*Geobacillus kaustophilus* MK503 は, 核酸合成酵素の遺伝子 (*pyrF*) を欠失しながら, 枯草菌由来の *pyrF* 遺伝子 (*BSpyrF*) をもつ。*BSpyrF* 発現産物は熱不安定であるため, 高温培養下では機能しない。よって本株は基本的にはウラシル要求性であるが, 一定頻度でウラシル原栄養性の株が発生する。その一部は *BSpyrF* に変異が入ることで, その発現産物が耐熱化した株である。本会では, それに該当しないウラシル原栄養性株 (MUP) の発生機構を解析した。

【方法・結果】MK503 株を, ウラシルを含まない最少培地で培養した (60°C)。生育したウラシル原栄養性株のうち MUP を検出したところ, その発生頻度は細胞当たり約 10^{-5} であった。全ゲノム解析や変異点解析を行ったが, MUP に特異的な変異点は見出されなかった。MUP を継代すると, 一部はウラシル要求性に復帰した。以上の結果は, MUP が変異に依存しない一過的な現象によることを示す。RNA シークエンスからは, MUP が *BSpyrF* を高発現していることが示唆された。

C-16 スフィンゴ脂質鎖長がオルガネラの形態や量に及ぼす影響
●佐々木咲, 花岡和樹, 池田敦子, 船戸耕一 (広島大院・統合生命)

細胞やオルガネラを構成する生体膜上には, ステロールやスフィンゴ脂質によって形成される秩序液体相 (Lo ドメイン) と呼ばれる脂質ドメインが存在する。この脂質ドメインは, シグナル伝達や細胞内小胞輸送における積み荷の選別に関与していると推測されている。当研究室ではこれまで, 出芽酵母本来の C26 ではなく C18 の短いセラミドを合成する *GhLag1* 株を用いて, タンパク質の選別輸送における Lo ドメインの役割について解析を行ってきた。しかしながら, 短鎖長のスフィンゴ脂質がオルガネラにどのような影響を及ぼすかについては不明であった。そこで本研究では, 各オルガネラを蛍光マーカーにより可視化し, 形態や量を観察した。その結果, *GhLag1* 株で, 液胞, ミトコンドリア, 小胞体, 脂肪滴, ゴルジ体の形態や量が異常になることが観察された。以上のことから, オルガネラの内平衡にスフィンゴ脂質の鎖長が重要な役割を果たしていることが示唆された。

C-17 耐熱性 *Gluconobacter* 属酢酸菌におけるグルコン酸輸送体ホモログの解析
中島さくら¹, 西原 彬², 和田征太郎², 阿野嘉孝², 松谷峰之介³, 松下一信¹,
Gunjana Theeragool⁴, 片岡尚也^{1,5}, 〇薬師寿治^{1,5} (1 山口大院・創成科学,
2 愛媛大院・農, 3 東農大・ゲノム, 4 カセサート大・理, 5 山口大・中高温微研セ)

酢酸菌はグルコースを, グルコン酸を経て, 2-ケト-グルコン酸 (2KG) あるいは 5-ケト-グルコン酸 (5KG) へと酸化する。2KG の安定生産を目的とし, *Gluconobacter* sp. CHM43 の細胞内 2KG 分解系を解析している。5KG 生産不能株でグルコン酸の取込み能を失わせることができれば, グルコン酸培地で 2KG に依存した生育を評価できると考え, グルコン酸輸送体を探索した。本菌には, 5KG の細胞内代謝の要となる 5KG 還元酵素遺伝子上流に, グルコン酸輸送体遺伝子とアノテートされた *GLF_1423* 遺伝子が存在する。この遺伝子の破壊株を作製した。グルコン酸を生産するが 2KG も 5KG も生産できない株を親株にすると, 培地中にグルコン酸が蓄積し消費は見られなくなった。また, 2KG 生産能を失っているがグルコン酸と 5KG を生産できる株を親株にすると, 蓄積した 5KG を消費できなくなった。以上より, *GLF_1423* はグルコン酸輸送体であることが確認され, さらに 5KG の輸送も担うことが示唆された。

C-18 枯草菌宿主でのフラボノイドを誘導物質とした T7 発現系の開発と他の発現系との比較
●是枝亜実, 広岡和丈¹ (福山大院・工, ¹ 福山大・生命工)

組み換えタンパク質生産において, 過剰生産が宿主細菌に影響する場合は厳密な制御が要求される。本研究では, 枯草菌宿主で *qdoI* プロモーター (*PqdoI*) を用いて T7 RNA ポリメラーゼ遺伝子 (*T7 pol*) を制御するフラボノイド誘導型 T7 発現系を作製した。マルチコピープラスミド中の T7 プロモーター制御下にある *egfp* レポーターを用いて, この発現系がフラボノイドで厳密に制御されることを示した。また, *PqdoI* をハイブリッド構築に置換することで, 誘導時の最大値が 6.6 倍に増加したが, 非誘導条件下で発現の漏れがわずかに認められた。したがって, 厳密な制御と高生産量のいずれを優先させるかで 2 つの発現系の使い分けが想定された。また, キシロース誘導型 T7 発現系と, *T7 pol* を使わずにハイブリッド構築と *egfp* との連結を保持するマルチコピープラスミドを用いた発現系を作製し, 誘導・非誘導条件の発現量を比較することで, フラボノイド誘導型 T7 発現系が高発現量と制御の厳密性を両立しており, その有用性が示された。

C-19 Cyclo(Leu-Phe) oxidase が触媒する環状ジペプチド脱水素反応の反応初期における人工電子受容体添加の影響の定量的評価
●猪口慧悟, 坂口幸士朗, 仁戸田照彦, 神崎 浩 (岡山大院・環境生命)

【目的】我々は、放線菌由来の環状ジペプチド脱水素酵素 cyclo(Leu-Phe) oxidase が環状ジペプチド類 (CDPs) に対して幅広い基質特異性を示すことを見出してきた。当研究室では本酵素の反応初速度測定法として、人工電子受容体である phenazine methosulfate (PMS) と 2, 6-dichloroindophenol (DCIP) を用いた PMS-DCIP 法と酸素を電子受容体とする過酸化水素蛍光定量法の 2 種類の測定法を用いているが、様々な CDPs に対する反応性を調べた際、CFL に対するその他 CDPs の相対反応性に 2 種類の測定法間で差がみられた。そこで UPLC-MS 分析を用いて、酵素反応初期に生成される Δ CDP (Δ :dehydro) を定量し、反応の追跡を行った。【方法・結果】CFL, CFP, CFH を基質とした酵素反応(0-30 分)を PMS, DCIP 添加条件と非添加条件で行い、UPLC-MS 分析に供し、 Δ CDPs の定量を行った。その結果、3 種の CDP に共通して、Phe 側脱水素体の生成が PMS, DCIP の添加により促進された。また 3 種の CDP の反応性を比較した結果、同じ Phe 側脱水素体であっても、もう一方のアミノ酸側鎖の影響を受けることが明らかとなった。

D-1 プロテインホスファターゼ PPM1M のリン酸化による多重制御

●大澤 仁, 唐川督理, 谷口 葵, 乾優依子, 亀下 勇, 石田敦彦¹, 末吉紀行
(香川大・農, ¹広島大院・統合生命)

【目的】タンパク質のリン酸化を介したシグナル伝達の異常は細胞機能の破綻につながる。そのため、プロテインキナーゼ・ホスファターゼは様々な方法でその機能が厳密に制御されている。しかし、キナーゼと比べてホスファターゼは制御機構が明らかになっているものが少ない。そこで本研究では、がんや免疫にかかわることが知られている一方で、未だ制御機構が一切不明なプロテインホスファターゼ PPM1M の制御機構の解明を試みた。【結果】PPM1M と構造が類似する PPM1H は細胞内でリン酸化によって制御されることを我々は以前に報告した。そこで、細胞内の PPM1M がリン酸化されているかを調べたところ、PPM1H よりも多くの部位がリン酸化されていた。PPM1M のリン酸化部位のうち、Ser27, Ser43 のリン酸化は PPM1M の核局在化を阻害した。また、Ser60 のリン酸化は PPM1M を不活性化させ、Thr254 のリン酸化は PPM1M を活性化した。以上の結果より、PPM1M は細胞内において、様々な部位がリン酸化されることで細胞内局在や酵素活性が変化し、シグナル伝達を調節していることが示唆された。

D-2 PDK4 は新規膵臓がん抑制因子である

○熊添基文, 山下麻衣, 恩田弘明, 藤村由紀, 立花宏文
(九大院・農)

【目的】膵臓がんは難治性のがんの一種である。その原因として、薬剤に強い抵抗性を有するがん幹細胞が注目されている。これまでに、環状グアノシンーリン酸 (cGMP) が膵臓がんの幹細胞性を抑制することを見出していることから、本研究ではその作用機序解明を目指した。

【方法・結果】ヒト膵臓がん細胞株 Panc-1 において cGMP 産生誘導剤処理により、Pyruvate dehydrogenase kinase 4 (PDK4) の発現が誘導されることを見出した。また、Panc-1 の PDK4 を siRNA によりノックダウンし、cGMP 産生誘導剤処理後スフェロイドアッセイにてがん幹細胞性を評価したところ、cGMP によるがん幹細胞抑制作用は PDK4 のノックダウンにより減弱された。一方、患者由来膵臓組織における PDK4 の発現は腫瘍組織において低下していた。さらに、PDK4 の発現と膵臓がん患者の予後を比較したところ、PDK4 発現の高い患者では予後が良好であることが明らかになった。以上より、cGMP により誘導される PDK4 は新規膵臓がん抑制因子であることが示唆された。

D-3 遮光および酸化ストレス条件におけるアスコルビン酸分解の分子機構

●濱田珠未, 石川孝博¹, 丸田隆典¹ (島根大院・自然科学, ¹島根大・生資料)

葉はアスコルビン酸を高濃度を含み、酸化ストレスから細胞を保護する。アスコルビン酸のターンオーバーは遮光や酸化ストレス条件で著しく高まるため、これらの条件ではアスコルビン酸レベルの急激な低下が生じる。アスコルビン酸の分解は酸化型 (デヒドロアスコルビン酸) から始まるため、アスコルビン酸の酸化反応がこのプロセスに関与すると予想されるが、詳細は不明である。そこで本研究では、細胞内外のアスコルビン酸レドックスサイクルに関与する酵素のアスコルビン酸分解への影響を調べた。2 週齢のシロイヌナズナを遮光条件に移したところ、経時的かつ急激なアスコルビン酸レベルの低下が見られ、48 時間後までに 65% が失われた。このとき、細胞内のアスコルビン酸の酸化および還元に関する酵素の活性は変動しなかった。また、これらの酵素の欠損はアスコルビン酸レベルの低下速度に影響しなかった。一方、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の主要アイソフォーム (AOI) の欠損では、遮光 48 時間後のアスコルビン酸レベルが野生株よりも約 20% 高いことがわかった。現在、他の AO アイソフォームの関与や酸化ストレスの影響について調べている。

D-4 遮光および酸化ストレス条件におけるアスコルビン酸分解産物の代謝 ●山本虎次郎, 石川孝博¹, 丸田隆典¹ (島根大院・自然科学, ¹島根大・生資料)

植物に含まれるアスコルビン酸は遮光や酸化ストレス条件により急激に L-トレオン酸などへと分解される。バクテリアでは、この分子は L-トレオン酸脱水素酵素 (LtnD) を含む四つの酵素の反応により解糖系中間体へと変換され、資化される。興味深いことに、そのうちの三つの酵素と相同なドメインがシロイヌナズナにおける単一の機能未知遺伝子 (L-threonate metabolizing domains, LTD) にコードされることがわかった。そこで、LTD の機能解析を通してアスコルビン酸分解産物の代謝機構の解明を試みた。リコンビナント酵素を用いた解析の結果、LTD に含まれる二つの LtnD ドメインは亜鉛依存の LtnD 活性を持つこと、L-トレオン酸以外の複数の四炭糖酸も基質にすることがわかった。野生株の葉では亜鉛依存の LtnD 活性が検出されたが、この活性は LTD 遺伝子の欠損の影響を受けなかった。そこで次に、Native-PAGE を用いた活性染色法を用いたところ、野生株でのみ LtnD 活性を示す明瞭な一本のシグナルが検出された。これらの結果から、LTD は LtnD 活性を有し、L-トレオン酸の代謝に関与することが強く示唆された。現在、遮光や酸化ストレスが LtnD 活性や L-トレオン酸レベルに及ぼす影響を調べている。

D-5 花卉におけるアスコルビン酸プールサイズの多様性と制御 ○横川 暖, 濱田珠未¹, 佐々木是¹, 山本虎次郎¹, 石川孝博², 丸田隆典² (長尾谷高校, ¹島根大院・自然科学, ²島根大・生資料)

葉のアスコルビン酸 (ASC) の高蓄積 ($2\sim 20 \mu\text{mol g}^{-1}$ FW) はすべての種で普遍的な現象であるが、果実には ASC をほとんど含まないものがある。先行研究から、花卉は ASC を含み、その含有量は花持ちと関連する可能性が示唆されているが、情報量が極めて少ない。本研究では、花卉における ASC 量の多様性および制御機構を理解することを目的とした。園芸植物 (9 種) の花卉と葉、さらに 6 種の切り花の花弁を用いて ASC を定量した。その結果、花卉の ASC 量は多様であったが、もっとも低い値が約 $2 \mu\text{mol/gFW}$ (葉と同じ) であった。興味深いことに、9 種の葉と花卉の ASC 量には相関性があり、葉の ASC 量が多い種は花卉にも高濃度に蓄積することがわかった。日陰と日向のキシツツジを用いた実験から、葉とは異なり、花卉の ASC 量は光による影響を受けないことがわかった。また、ヒマワリを用いた qPCR 解析から、花卉における ASC 生合成遺伝子の発現が確認された。現在、ニチニチソウの花弁への前駆体処理実験やトレーサー解析を進めており、花卉が ASC を自ら合成するかどうかを検討している。

D-6 高温ストレスにより誘導されるコムギ葉の細胞壁成分の物理化学的変化の可能性 ●竹田佳生, Salma O.M.Osman^{1,2}, 只野翔大¹, 山崎友渡, Abu Sefyan I.Saad², Izzat S.A.Tahir², 山崎裕司³, 辻本 壽³, 明石欣也¹ (鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大院・連農, ²スーダン農研機構, ³鳥取大・乾燥地研)

【目的】本研究では、圃場での分析が比較的容易であり、高分子の分析が可能である Fourier transform infrared (FTIR) 分光法と化学的分画を組み合わせることで、コムギにおける高温ストレス分子応答の学術的理解を深めることを目的とした。

【方法】コムギ農林 61 号系統・Chinese spring 系統を人工気象器内で日中温度 22°C の条件で栽培し、日中温度 42°C の高温ストレスに 6 日間暴露した。コムギ葉を粉碎し KBr 錠剤法により FTIR スペクトルデータを取得し、多変量解析に供した。多糖画分の単糖組成はガスクロマトグラフィーにより分析した。

【結果】農林 61 号において細胞壁ペクチンが主成分とされる画分において、指紋領域のスペクトル形状に明瞭な差異が認められた。また、単糖組成が熱ストレス下において対照葉と大きく異なることが見出され、高温ストレスに対するコムギ葉の応答は細胞壁の化学組成の変化を伴うことが示唆された。

D-7 酸性及び細胞質ペプチド: *N*-グリカナーゼ二重欠損 *A. thaliana* 遊離 *N*-グリカン構造解析 ●奥村 陸, 白井佐保子, 三崎 亮¹, 梶浦裕之¹, 藤山和仁¹, 木村吉伸², 前田 恵 (岡山大院・環境生命,¹ 阪大・国際交流セ,² くら作大・食文)

【目的】植物細胞における植物複合型遊離 *N*-グリカン (PCT-GN2-FNGs) の生理機能解明研究の一環として、液胞/細胞外空間で PCT-GN2-FNGs の生成への関与が考えられる酸性 PNGase (aPNGase) を欠損した *A. thaliana* を作製した。この欠損株は aPNGase 活性が検出されない一方、PCT-GN2-FNGs が野生株の 1/3 程度存在していた。この結果は、aPNGase 非依存的 PCT-GN2-FNGs 生成機構の存在を示唆している。しかし、細胞質 PNGase (cPNGase) が生成に関与する可能性も考えられた。そこで、本研究では、a/cPNGase 二重欠損株を新たに作製し、a/cPNGase 非依存的 PCT-GN2-FNGs 生成機構の存在を検証した。【方法・結果】a/cPNGase 二重欠損株の a/cPNGase 活性消失を確認した^[1]。FNGs 構造解析には植物地上部を用いた。液体窒素中で破碎後、0.1 N アンモニア水で糖鎖を抽出し、脱塩水に対して透析後、外液から陽イオン交換、ゲルろ過により FNGs を調製した。FNGs は蛍光標識後、ConA アフィニティ、RP/SF-HPLC により精製した。構造は酵素消化、質量分析で解析した。[1] S. Shirai, *et al.*, *B.B.B.*, **85**, 1460-1463 (2021).

D-8 イネを利用した組換えタンパク質生産技術の開発
●澤崎佑太, 野澤 彰¹, 澤崎達也¹ (愛媛大院・理工,¹ 愛媛大・PROS)

現在の組換え(GM)タンパク質生産は動物細胞などの培養を基本とし、培養液から目的タンパク質のみを精製するコストは非常に高い。安価な GM タンパク質生産のためには抜本的な転換が必要であり、私達は組換えが比較的容易なイネの種子を母体とする GM タンパク質生産技術を開発している。イネ種子胚乳の主成分はデンプンだが、タンパク質も生重量の約 7%が含まれる。内在タンパク質の発現抑制により、GM タンパク質を種子重量の 1%という高い効率で発現できた。私達は自身の研究室で取得した抗ヒトドーパミン受容体 DRD1 抗体 (抗 AGIA 抗体) 遺伝子をイネ種子胚乳内部で発現させた。抗 AGIA 抗体は GM イネ胚乳粉末を PBS で懸濁するという簡便な方法でも 10%が回収された。また、イネで発現させた抗 AGIA 抗体が 4 量体を形成していること、動物培養細胞で生産したものと同程度の抗原認識活性を持っていることが確認された。イネの形質転換と栽培にかかる期間は長いですが、一度 GM イネが作製できれば半年あたり数百グラムの GM タンパク質が極めて安価に生産できる。従来では不可能な家畜やペットへの抗体医薬品投与など、イネによる GM タンパク質生産方法は様々な波及効果が期待される。

D-9 プロテインホスファターゼの新規汎用基質の開発
●井元菜津子, 大澤 仁¹, 末吉紀行, 秋月一駿²
(香川大院・農,¹ 愛媛大院・連農,² ヴァンダービルト大・医)

【目的】当研究室では以前に、様々なプロテインホスファターゼ(PP)によって脱リン酸化される高汎用性基質“リン酸化 TandeMBP”を開発した。しかし、リン酸化 TandeMBP の取得には約 2 週間の期間と手間を要し、更に凝集しやすいため収量が少ないという問題がある。そこで本研究では、基質タンパク質を様々なキナーゼと共発現させた大腸菌内でリン酸化した後に精製することで、短期間で簡便に高汎用性 PP 基質を取得する方法の開発を目的とした。【方法】まず、高活性かつ恒常的な活性を持つ CK1 などの複数のプロテインキナーゼを同時発現するベクターを構築した。次に、これらのキナーゼによって高度にリン酸化される MAP2 と MLC1A を連結させた発現ベクターを構築し、大腸菌へ導入・発現後に、大腸菌内でリン酸化された MAP2-MLC1A を精製した。【結果】リン酸化 MAP2-MLC1A は僅か 3 日で取得できた上に、凝集が全く生じなかったため収量も大きく上回った。更に、リン酸化 MAP2-MLC1A を用いて PP 活性測定を行った結果、調べた限りすべての PP の基質となった。

D-10 高い RNA 結合特異性を持つ 2 種類の L7Ae 変異体-RNA 複合体の結晶構造解析
●中島もも香, 寺本岳大, 横林洋平¹, 福永圭佑², 角田佳充
(九大院 農, ¹OIST, ²東工大・地球生命研)

【目的】 RNA 結合タンパク (RBP) は, タンパク質発現の人工制御技術に有用だが, 細胞内利用で特定の RNA にのみに結合する高い特異性が必要とされる。我々は, L7Ae Protein と Kink-turn RNA の既知の RBP-RNA ペアを基に RBP と RNA を同時に分子進化させ, より高い結合特異性をもつ 2 種類のペア (① LS4 Protein-CS1 RNA, ② LS12 Protein-CS2 RNA) を報告している。本研究は, これらの立体構造を結晶構造解析で明らかにし, 高い結合特異性の構造基盤解明を目指した。

【方法・結果】 2 種類のペアの立体構造を決定した。どちらの RNA も Kink-turn 構造を維持しつつ, 部分的な構造変化が見られた。①では RNA の構造変化に伴い, RBP 変異残基 Trp89 近傍に 2 塩基が配置され, 相互作用していた。②の RNA では, 変異残基 Arg88 と Tyr90 が RNA の 3 塩基と相互作用していた。以上が, 高い結合特異性の主な構造基盤と考えられる。RNA は RBP 変異に適応する形に構造が変化しており, RBP と RNA を同時に分子進化させる方法の有効性が示された。

D-11 真菌糖脂質加水分解酵素 EGCrP1 の基質特異性解析
●平田理桜, 石橋洋平, 寺本岳大, 沖野 望, 角田佳充 (九大院・農)

【目的】 Endoglycoceramidase-related protein 1 (EGCrP1) は真菌類におけるグルコシルセラミド (GlcCer) に特異的な糖脂質加水分解酵素である。真菌類の GlcCer は C9 位にメチル基をもつ (d19:2) のが特徴の一つであるが, 生合成過程でメチル基が付いていない未成熟な GlcCer も生成される。EGCrP1 は GlcCer の品質管理への関わりが報告されているが, その詳細な分子メカニズムは明らかになっていない。本研究は, EGCrP1 の成熟型 GlcCer の生合成への関わりを, その基質特異性を調べることで考察した。

【方法・結果】 *Rhizopus oryzae* 由来の EGCrP1 (RoEGCrP1) を, 大腸菌で組換えタンパク質として発現し, 精製した。RoEGCrP1 と 2 種類の GlcCer (d18:2, d19:2) をそれぞれ反応させ, LC-MS によって分解産物を検出した。その結果, RoEGCrP1 は未成熟型 GlcCer(d18:2) を効率的に切断するが, 成熟型 GlcCer(d19:2) をほとんど切断しなかった。したがって, RoEGCrP1 の加水分解活性におけるメチル基感受性が, 真菌に特徴的な GlcCer 生合成に寄与すると考えられた。

D-12 古細菌 β -グルコサミニダーゼの結晶構造解析による基質認識機構の解明
○渡邊真宏, 峯 昇平¹ (産総研・機能化学, ¹産総研・バイオメディカル)

【目的】 Exo- β -D-Glucosaminidase(GlmA)は, 好熱性古細菌のキチン代謝経路において, グルコサミン (GlcN)-N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)₂ 糖を GlcN と GlcNAc に加水分解する酵素である。しかし, GlmA の立体構造が解かれておらず, GlmA の触媒メカニズムは未解明であった。

【方法・結果】 本研究では, X 線結晶構造解析により GlmA と GlcN の複合体構造を分解能 1.27 Å で決定した。構造解析の結果, GlmA は GH35 ガラクトシダーゼと共通する触媒残基 (acid/base E179 と nucleophile E347) を持つ一方, 全体構造は GH42 ガラクトシダーゼと類似していることが分かった。また, GlmA は二量体化することで, 基質である GlcN-GlcNAc と特異的に結合する活性部位ポケットを形成していた。さらに, NMR による変異体解析によって, D178 が GlcN の 2 位のアミノ基の認識に重要な役割を果たし, GlcN とガラクトースを区別していることが明らかとなった。本研究により, GlmA は 2 つの異なる GH ファミリーの構造を併せ持つ酵素であることが分かった。

D-13 ペプチドリガンドの配置が生体分子間相互作用に及ぼす影響
●渡邊滉大, 光成麻弥, 今村維克, 今中洋行 (岡山大院・環境生命)

【目的】生体分子間相互作用を検出する際、標的分子に特異的に結合する分子認識素子が必要不可欠である。本研究では高い構造安定性を有する超好熱菌由来 CutA1 (ホモ三量体) を用いたタンパク質性分子認識素子の創製を試みた。リガンドペプチドを挿入、置換した各種変異型 CutA1 を設計し、それらの発現特性、標的分子との相互作用検出特性について評価を行った。

【結果】サブユニット配列中の酸性アミノ酸残基数が等しくなるよう設計し、挿入領域および長さが異なるリガンドペプチドにより改変された各種変異型 CutA1 の調製を試みた結果、いずれの変異体についても可溶化発現し、十分な耐熱性を有することが確認できた。そこで、静電的相互作用モデルに基づき、それぞれを配向固定化後、特性評価を進めた。アナライト分子として～6 残基の塩基性アミノ酸を連結した EstAf を用いた Enzyme-Linked Assay を行ったところ、それぞれのリガンド分子との相互作用検出感度に顕著な差が生じた。得られた結果より、ペプチドリガンド側鎖の配向最適化により標的分子と効率よく相互作用する分子認識素子を創製できる可能性が示唆された。

D-14 化粧品成分候補としてのポリγグルタミン酸塩の安全性試験
●庄田朱里, 大成冬真, 白米優一, 芦内 誠¹
(高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋)

【目的】ポリγグルタミン酸 (PGA) と界面活性剤αから創り出された PGA 塩 (PGAα) には優れた抗菌力が備わっており、例えば、0.05%ほどの超低用量スプレーでも所望の抗菌性を示すことが分かってきた。他方、人に対する安全性を確認するため、複数名のボランティアによるパッチテストを計画した。

【方法・結果】Finn Chamber AQUA キット記載のマニュアルに準じて試験した。本試験では PGAα のほか、界面活性剤βを用いて作製した PGAβ, さらにγタイプの PGAγを用意し、試験対象とした。試験区の濃度としては通常使用想定 0.05%を標準に、保管や輸送を想定した終濃度 1%相当の濃縮液、さらに実験室試作での調製のみ可能な 3~5%の超濃縮液を設定した。結果、顕在化が見込まれる PGA 塩の濃度域 (0.05~1%) において PGAα・PGAβ・PGAγのいずれも「陰性」であることが示された。さらに、ラボで試作された超高濃度 (~5%) PGAα・PGAβを使用した本試験でも「陰性」であったことから、極めて安全性の高い多機能性バイオ新素材であるとの結論に達した。

D-15 ポリγグルタミン酸イオンコンプレックスを利用した物質変換技術の基盤構築
●佐藤 黎, 大成冬真, 白米優一, 芦内 誠¹
(高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋)

【目的】循環型社会の構築が世界共通の課題として認識されている。現代の大量生産大量消費の背景には、一度成形された素材の物質変換が困難であることが挙げられる。当研究室ではポリγグルタミン酸 (PGA) をバイオプラに改質する技術を開発している。電荷の偏りに着目した該技術が素材の物質変換の基盤技術になりうることに気付き、その可能性を模索した。【方法・結果】当研究室で開発されている異なる機能を備えた 2 種類の PGA イオンコンプレックス (PGAIC : PGAICα ; PGAICδ) を用いて、両者を繰り返し変換する「往復反応」が可能か試みた。両者の良溶媒・貧溶媒を利用し、PGAICα から PGAICδ, PGAICδ から PGAICα への変換を 1 往復と設定した。結果、驚くべきことに 1 往復反応が可能であるばかりか、継続的な往復反応が可能なことまで判明した。また、往復反応の過程で分取しておいた PGAICα 及び PGAICδ の機能性を調査した。前者では抗菌性を、後者ではゲル化能について試験し、往復反応の前後でその機能を維持していることまで明らかとなった。

D-16 魚の腸内環境に見出された海洋バイオフィリアクターとしての利用可能性
●大成冬真, 白米優一, 芦内 誠¹ (高知大院・農林海洋, ¹高知大・農林海洋)

【目的】海洋の微生物濃度は陸域と比較して低く、またその多くが難培養微生物であるとされる。一方で近年、世界レベルでの海洋管理が重要視されており、海洋プラスチックごみをはじめとする諸課題への対応が求められている。本件では「魚腸内は培養可能微生物の集積空間である」との発想のもと、魚腸内環境の海洋バイオフィリアクターとしての利用可能性について研究を行なった。具体的にはカツオをモデル魚とし、結晶性ポリエステル高分子に対する腸内微生物の機能・性質について研究を行なった。

【方法・結果】高知市中央卸市場で購入したカツオ(重さ:1.5 kg, 全長:40 cm)を開腹し腸を摘出した。腸内物を滅菌人工海水に懸濁し、該懸濁液を Poly(3-hydroxybutyric acid) (PHB) と人工海水塩を含む栄養制限培地に播種し 22°C で培養した。結果、PHB 分解によるクリアゾーンを形成する微生物を 1 種取得した。さらに、本微生物の PHB 分解・資化能力は海水に近い条件下においてより能力が増強されることを明らかにした。本結果は魚腸内環境の海洋バイオフィリアクターとしての利用可能性を示唆するものである。

【謝辞】本件は令和 5 年度学長裁量経費採択事業、及び高知県海洋深層水研究所の支援を受けた。

D-17 クヌギからの One-Pot 酸化法を用いた CNC 製造と評価
○西村健太郎, 浅田元子¹, 中村嘉利¹, 植木智之², 源 貴志²
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源, ²徳島大・技術支援)

【目的】再生可能資源利用の普及には化石資源由来と比較して生産コストが高く、品質が劣るといった課題を解決する必要がある。本研究の目的は、環境低負荷で効果的な水蒸気蒸煮処理によってクヌギよりホロセルロースを分離取得し、One-Pot 酸化法という、簡易かつ一般の亜塩素酸ナトリウムによる酸化法よりもコストを削減できる酸化法に注目しバイオマス由来 CNC を製造することである。

【方法・結果】15 atm, 5 min で水蒸気蒸煮前処理を行ったクヌギ由来のホロセルロースから One-Pot 酸化法によって 0, 0.5, 2, 6, 8, 10 時間の反応時間の異なる 6 種類の CNC を製造し、製造した CNC の評価として走査型電子顕微鏡観察、重合度測定、FT-IR 分析、XRD 解析、電導度滴定法によるカルボン酸含有量測定、TEM 観察、TG 分析を行った。結果、6 h, 8 h, 10 h ではカルボキシル基当量が 0.95 mmol/g 付近に達し、酸化触媒を用いることなく、酸化反応が進行することを明らかにした。また、通常処理のサンプルが結晶化度 60% に対し One-Pot 酸化法を行うことで結晶化度が 80% 付近まで上ることが判明した。

E-1 ケルセチンのアセトアルデヒドに対する細胞保護作用

●澤本剛志, 佐藤あやの¹, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村俊之, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大院・ヘルシステム)

【目的】 飲酒等で摂取したエタノールは、代謝過程でまず有毒なアセトアルデヒド (AA) に代謝され、さらにアルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) により酵素的に酢酸へと変換されて無毒化される。代謝中間体である AA の蓄積は、顔面紅潮や頭痛といったフラッシング反応だけでなく、アルコール性疾患の原因になると考えられている。本研究では、果物や野菜に遍在する代表的なフラボノイドのケルセチン (Que) に注目し、Que が AA の代謝や細胞毒性に与える影響を調査した。

【方法・結果】 ヒト肝がん由来 HepG2 細胞に Que を 6 時間前処理した後に、AA を 3 時間曝露し、これらの細胞生存率への影響を MTT アッセイにより評価した。その結果、AA は濃度依存的に細胞死を誘導する一方で、Que の前処理は AA 誘導細胞死を有意に抑制した。次に、Que が ALDH 活性に与える影響を調査したところ、Que は細胞質総 ALDH 活性を有意に増加させた。以上の結果から、Que の AA に対する細胞保護効果には細胞質総 ALDH 活性の増強が少なくとも一部は寄与することが示唆された。

E-2 細胞内グルタチオン量の低下がベンジルイソチオシアネートのがん細胞増殖抑制作用に与える影響

●大重遼悟, 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】 ベンジルイソチオシアネート (BITC) は様々ながん細胞株において細胞増殖抑制作用を示す。しかし、高濃度では正常細胞にも細胞死を誘導することから、より低濃度でがん細胞特異的に抗がん作用を発揮する BITC の用法を検討することが必要である。そこで本研究では、BITC の代謝に重要な細胞内グルタチオン (GSH) 量を低下させる薬剤が BITC の細胞増殖抑制作用に与える影響を調査した。【方法・結果】 マウス肝がん細胞株 Hepa1c1c7 に BITC と 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) を共処理した結果、それぞれの単独処理と比較して有意に細胞生存率を低下させた。また、CDNB は BITC の代謝により減少する細胞内総 GSH 量をさらに低下させるだけでなく、BITC-GSH 抱合体量も減少させた。以上の結果から、代謝の阻害が BITC をより低濃度で用いる方策として有望であることが示唆された。

E-3 システインは水溶液中でのベンジルイソチオシアネートの安定性を改善する

●端 佑真, 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】 ベンジルイソチオシアネート (BITC) は、アブラナ科の野菜由来の含硫化合物であり、様々な生理活性が報告されている。BITC は水溶液中において非常に不安定であるが、BITC の安定性を改善する共存物質については多糖などの一部を除いて研究例が少ない。そこで本研究では、生体温度における水溶液中での BITC の安定性と L-システインとの共存が与える影響を調査した。【方法・結果】 BITC を添加した細胞培養用培地 (α MEM) を 37°C でインキュベートし、残存する BITC 量を経時的にシクロコンデンセーション法により定量した。インキュベーション開始の 2 時間後には BITC の残存量は 20%以下にまで低下した。一方、L-システイン添加によって濃度依存的に BITC の残存量が回復した。また、マウス肝がん細胞に予め 2 時間インキュベーションした BITC 添加培地を処理した結果、残存した濃度の BITC を添加した培地と同程度の細胞増殖抑制作用を示した。以上の結果から、L-システインの添加は、水溶液中での BITC の安定性を向上させるだけでなく、生理活性も維持できることが示唆された。

E-4 酵母と線虫を用いた寿命延長に資する食品の作用メカニズムの解析

●松崎弘哉, 荒川賢治, 水沼正樹 (広島大院・統合生命)

【目的】近年、健康ブームと相まって、機能性食品が注目されている。しかし、健康に良いとされる食品には、機能性成分とその作用メカニズムが不明であるなど科学的根拠に基づかないものも多い。我々は、ある食品(食品 A)が線虫の寿命を延長することを見出した。しかし、食品 A による寿命延長メカニズムや機能性物質本体は不明である。そこで、酵母と線虫の実験上での利点を生かして、食品 A による寿命延長メカニズムの解明と機能性成分の同定をおこなうことを目的とした。

【方法・結果】食品 A を線虫に与えると平均寿命が延長した。さらに、食品 A を摂取した酵母と線虫は酸化ストレスに耐性を示した。そこで、線虫の寿命延長や酸化ストレス応答に重要な転写因子 SKN-1 に着目した。*skn-1* 変異体を用いた解析により、食品 A による酸化ストレス耐性の獲得は SKN-1 に依存することが明らかとなった。さらに、酵母を用いた解析から、食品 A は寿命や酸化ストレスと機能関連のあるミトコンドリアの機能に影響を与えることもわかった。以上より、食品 A による抗老化作用が示唆されたため、食品 A 中の機能性成分を同定するため、スクリーニング系を構築し、探索を行っている。

E-5 ウド葉エタノール抽出物の抗炎症効果に関する研究

●辻岡芽依, 西 甲介¹, 石田萌子, 伊藤 亮², 菅原卓也
(愛媛大院・農, ¹愛媛大・食品セ, ²シーシーアイ (株))

【目的】糖尿病や認知症などの疾患の起因となる慢性炎症の予防および緩和の重要性が指摘されている。ポリフェノールなど、植物成分に慢性的な炎症を抑制する効果が知られている。本研究では、ウド葉のエタノール抽出物の抗炎症作用に着目した。

【方法・結果】ウド葉乾燥粉末をエタノールに懸濁し、エタノール抽出物を調製した。抗炎症効果の評価には、マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞およびマウス腹腔から回収した初代マクロファージ (P-Mac) を用いた。LPS による炎症誘導と同時にサンプルを作用させて 6 時間培養した後に培養上清を回収し、ELISA 法および Griess 法により炎症性因子の産生量を測定した。また、細胞毒性を WST-8 法により評価した。その結果、ウド葉エタノール抽出物は、RAW264.7 細胞に対して、毒性なく IL-6, MCP-1, NO 産生を濃度依存的に抑制した。また、P-Mac に対しても毒性なく IL-6, TNF- α , NO 産生を抑制した。以上の結果より、ウド葉には、抗炎症作用があることが確認された。

E-6 煮干酵素処理液の抗アレルギー効果に関する研究

●淘江千緑, 平川泰己¹, 和泉光将¹, 石田萌子^{1,2}, 西 甲介^{1,2}, 菅原卓也^{1,2}
(愛媛大・農, ¹愛媛大院・農, ²愛媛大・食品セ)

【目的】煮干をプロテアーゼ処理して調製したエキスに、抗アレルギー効果があり、活性成分はペプチドであることが示唆された。そこで、活性物質の推定を目的とし、種々のペプチドの効果の評価した。

【方法・結果】ジペプチドを中心に様々なペプチドを合成し、ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞の抗原誘導性脱顆粒に対する作用を抗アレルギー効果として評価した。細胞毒性は WST-8 法で評価した。その結果、Glu と Glu, Ala, Ser, Arg, Hi, Thr の組合せによるグルタミンジペプチドに脱顆粒抑制効果が認められた。また、カルボキシ末端側に Glu を持つジペプチドの方が強い脱顆粒抑制活性を持つことが明らかになった。一方、グルタミン酸及びポリグルタミン酸には活性は認められなかった。His-Glu, Glu-His 及び Glu-Glu の作用機序を検討したところ、いずれのジペプチドも脱顆粒誘導時に起こる細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を阻害しなかった。また、カルシウムイオンフォアによる脱顆粒も抑制することから、細胞内カルシウムイオン濃度上昇以降のプロセスに作用していると推測された。

E-7 宍喰寒茶の成分特性

○西岡浩貴, 有澤隆文, 横山直人, 池田絵梨, 吉本春奈
(徳島県工技セ)

【目的】 徳島県南部の海陽町宍喰地区では伝統的に真冬に茶がつくられ、宍喰寒茶と呼ばれている。宍喰寒茶は2月頃の成熟した茶葉を使用するため、5月頃の新芽の茶葉でつくる茶(以下、春茶)とは風味が異なるが、これまでに宍喰寒茶の成分に関する報告は無い。本研究では、宍喰寒茶の風味に関連する成分について分析を行い、春茶と比較することで宍喰寒茶の成分特性を検討した。

【方法・結果】 宍喰寒茶と春茶の茶葉について、呈味成分であるカテキン類、カフェイン、遊離糖を高速液体クロマトグラフ、遊離アミノ酸を高速アミノ酸分析計により定量した。また、香气成分は2次元ガスクロマトグラフ飛行時間型質量分析計により測定した。宍喰寒茶の呈味成分は春茶と比較して、カテキン類、カフェイン、遊離アミノ酸は少なく、遊離糖は多かった。香气成分は、宍喰寒茶に特徴的な成分としてオクタナールなどのアルデヒド類、4-ヘキセン-3-オールなどのアルコール類等が検出された。これらの結果から、宍喰寒茶の成分特性は春茶とは異なることが明らかとなった。

E-8 後発酵茶碁石茶の製造工程と揮発性成分の関連

○山口泰河, 松本将弥, 出口真帆, 松本直也, 山口剛史, 柏木丈拵, 島村智子
(高知大・農林海洋)

【目的】 後発酵茶とはその製造に微生物が関与する茶のことであり、高知県の山間部に位置する長岡郡大豊町でのみ生産されている碁石茶もその一種である。碁石茶は、好気発酵と嫌気発酵を組み合わせ製造される世界的に見ても珍しい二段階発酵茶である。その風味も独特であり、際立つ酸味が特徴的である。今回は、二次元分析により迅速な網羅的解析を可能とするGC×GC-TOFMSを用い、碁石茶の揮発性成分と製造工程の関連について調べることにした。

【方法・結果】 分析試料として製造工程毎にサンプリングした碁石茶を用いた。分析にはGC×GC-TOFMS(Pegasus 4D, LECO社製)を用い、茶葉熱水抽出物の揮発性成分の捕集はSPME法にて行った。得られたクロマトグラムについては、ソフトウェアChroma TOF(LECO社製)によりピーク検出、及びライブラリ検索を行った。解析の結果、202種類の揮発性成分を同定した。現在、各種成分の製造工程中の消長について検討を進めているところである。

E-9 *Pochonia suchlasporia* が生産する asteltoxin 類の MS/MS 分析を用いた探索

●加藤陽輝, 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 (F40 株) の固体培養物より、殺虫活性を持つ新規の asteltoxin 類化合物 ET-1, ET-4 を見出した^{1,2)}。これらは既知の asteltoxin 類とは α -ピロン環の炭素骨格が異なり、本糸状菌が asteltoxin 類の新たな化合物群を生産することが示唆された。ET-1, ET-4 は MS/MS 分析において、 α -ピロン環に由来する特徴的なプロダクトイオン m/z 123, 137 を示すことから、これらを指標とすることにより、F40 株培養物中から新規 asteltoxin 類縁体の探索を試みた。

【方法・結果】 F40 株培養抽出物の部分精製画分を、ET-1, ET-4 に共通するプロダクトイオン m/z 123, 137 を指標としてプリカーサーイオンスキャンに供したところ、複数の類縁体候補が検出された。また、検出されたそれぞれの類縁体候補について、プロダクトイオンスキャンを行なった結果、一部の類縁体候補では m/z 123, 137 が検出されず、従来の asteltoxin 類の α -ピロン環に特徴的なプロダクトイオン m/z 139 が検出され、新規の α -ピロン環を有する asteltoxin 類と推測される化合物の他に、既知の α -ピロン環を有する asteltoxin 類の存在が示唆された。1) *J. Pestic. Sci.* **45**, 81-85 (2020) 2) 第46回農薬学会要旨 p84(2021)

E-10 Strobilurin 類のメラノーマ細胞選択的な増殖阻害活性

●田中智也, 高橋賢次¹, 太田利男¹, 上野琴巳¹, 石原 亨¹
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・農)

【目的】ヌメリツバタケモドキ *Mucidula venosolamellata* 液体培養物から単離された strobilurin A (SA) および X (SX) は, ヒトメラノーマ細胞に対し増殖阻害活性を示すことが見出された。さらに, SX と SA の活性を比較したところ, SX はメラノーマ細胞に対して高い選択性を示した。本研究では, strobilurin 類のベンゼン環上の置換基に着目し, strobilurin 類のメラノーマ細胞に選択的な増殖阻害活性に寄与する化学構造を明らかとすることを目的に研究を行った。

【方法と結果】SA のベンゼン環上に種々の置換基を導入した化合物を合成した。得られた strobilurin 類縁体をヒトメラノーマ細胞 (G-361) およびヒト皮膚線維芽細胞 (NB1RGB) に処理し, WST 法により細胞毒性を評価した。合成した 12 種類の類縁体と SA および SX の活性を比較したところ, メトキシ基の置換位置によって G-361 細胞に対する選択性が異なり, パラ置換体が最も高い選択性を示した。また, パラ位にエチル基やエトキシ基, フェノキシ基などを導入することで G-361 に対する選択性が向上した。

E-11 ヤローの花由来の脱顆粒抑制物質

●黒川雅通, 古賀武尊¹, 田井章博¹ (徳島大院・創成科学,¹徳島大・生物資源)

【目的】I 型アレルギーは, マスト細胞からの脱顆粒によって放出されるケミカルメディエーターによって引き起こされる。脱顆粒を抑制することは I 型アレルギーの予防に有効である。ヤロー (*Achillea millefolium*) は古くから薬用植物として用いられている。全草抽出物, 精油において抗炎症作用, 抗酸化作用をはじめとする多様な生物作用が報告されているが, ヤローの花抽出物の報告は少ない。本研究では, ヤローの花抽出物に含まれる脱顆粒抑制物質を, 単離・同定することを目的とした。

【方法・結果】ラット好塩基性白血球細胞 (RBL-2H3) における脱顆粒抑制作用を指標に物質の精製を行った。ヤローの花乾燥物を 80%MeOH で抽出を行い, ヤローの花抽出物を濃縮後, 分液した。最も脱顆粒抑制作用の強かった酢酸エチル層を各種カラムクロマトグラフィーによって精製し, 脱顆粒抑制物質として, luteolin, apigenin, isorhamnetin を単離し, 未同定の物質を 2 つ得た。luteolin, apigenin, isorhamnetin による脱顆粒抑制作用は既知の作用であり, 未同定の物質はともに新規の作用であることが考えられた。今後, 未同定の物質の化学構造解析を行っていく。

E-12 オガタマノキに含まれるミカドアゲハの産卵刺激物質

●高橋琢也, 井上昂大, 南 悠花, 太田陵介, 金 哲史, 本田計一¹
(高知大・農林海洋,¹西条生態研)

【目的】アオスジアゲハ族に属する蝶の寄主に関与する化学因子の解明がほとんど進んでいないことから, オガタマノキ (*Michelia compressa*) を寄主とするミカドアゲハ (*Graphium doson*) の産卵刺激物質の解明に取り組んだ。【方法・結果】ケージ (W90*D70*H90 cm) の中に供試虫である産卵期のミカドアゲハ雌成虫 1 匹を入れ, ケージの左右から, サンプルを塗布したケント紙と蒸留水のみを塗布したコントロールケント紙を 1 枚ずつ提示した。オガタマノキの葉の粗抽出から得られた活性の認められる水層を ODS_{H₂O} 画分, ODS20%MeOH 画分, ODS40%MeOH 画分, ODSMeOH 画分に分画したところ, 画分を合一したときのみ元の活性に戻った。生物検定を繰り返すことにより, 活性に関与する成分として, ODS_{H₂O} 画分から Pinitol に加え, Sucrose, 1,6-Dihydro-1-methyl-6-oxo-3-pyridinecarboxylic acid を活性成分と同定した。それらに ODS20%MeOH 画分, ODS40%MeOH 画分, ODSMeOH 画分を合一すると元の水層の活性に戻った。

E-13 イネに含まれるトビイロウンカの産卵刺激物質

●河野美希, 阿部隆人, 榊山 萌, 奥原杏佳, 金 哲史 (高知大・農林海洋)

【目的】トビイロウンカ (*Nilaparvata lugens* STAL) はイネの吸汁性害虫であり、稲作に多大な被害を与える。本種はイネのみを寄主とし、イネのみに産卵することが知られているが、その化学はほとんど明らかでない。そこで本研究ではイネに含まれるトビイロウンカ産卵刺激物質の解明を試みた。

【方法・結果】MeOH で内容物を除去したイネ(品種：黄金錦)に、イネ(品種：日本晴)の 90%MeOH/H₂O 抽出液および各種分画画分を生葉 1 g 相当/ml に調製し、内容物を除去したイネに塗布後、本種雌成虫 4 匹に与え、48 時間後の産卵の有無を観察した。ヘキサンで脱脂後の水層画分は顕著な産卵刺激活性を示し、活性の認められたこの水層を ODS オープンカラムにより分画したところ、40%MeOH/H₂O 溶出画分に強い産卵刺激活性が確認された。HPLC による分画ならびに繰り返しの生物検定により、この溶出画分から、合一すると元の活性を示す 8 種のフラボノイド配糖体を得た。これらのうち、2 種がイネ科に幅広く存在する O-配糖体であり、6 種がイネ特有の C-配糖体であった。

E-14 コガタスズメバチの警報フェロモン

●待木亮人, 木下裕智¹, 西岡雄紀, 金 哲史^{1,2}, 中島修平², 市川俊英²
(高知大院・農林海洋,¹高知大・農林海洋,²(株)KINP)

【目的】スズメバチ類の働き蜂が放出する毒液に含まれる警報フェロモンは、周囲の蜂の攻撃を誘起する要因となっている。本研究では、コガタスズメバチに着目し、その警報フェロモンの成分を特定することを目的とした。

【方法】野外で採取したコガタスズメバチから毒腺を切除し、1 mL の Pentane で 24 時間抽出した。ろ過後、GC-MS 分析を行った。生物試験方法としては、250 mL 容のポリプロピレンボトル内に本種を 3 匹入れ、各種被検液を濾紙に浸み込ませ提示し、それに対する反応を点数化し評価した。

【結果】毒腺中の主要成分 (1-Methylbutyl 3-methylbutanoate, 3-Methylbutyl 3-methylbutanoate, 1-Methylbutyl acetate, 2-Pentanol, 3-Methyl-1-butanol) はそれぞれ単独でも活性を示したが、それらをすべて合一したときが最も反応性が高かったことから、これらをコガタスズメバチの警報フェロモン成分と結論付けた。

E-15 オリーブを食べると何故オリーブアナアキゾウムシの寿命が延びるのか?

●杉田皓紀, 金治風香¹, 吉住彩乃¹, 柏木文拡¹, 金 哲史^{1,2},
中島修平², 市川俊英², (高知大院・農林海洋,¹高知大・農林海洋,²(株)KINP)

【目的】日本の土着昆虫であるオリーブアナアキゾウムシ (*Pimelocerus perforates*) は、オリーブを育てる上で最も障壁となる生物的要因である。本種にオリーブを摂食させると人工飼料のみで飼育したときに比べ寿命が 20 倍にも伸びる現象を見出したことから、本研究ではこの現象の解明に取り組んだ。

【方法・結果】オリーブの枝葉の MeOH 抽出物やその分画画分を人工飼料 (インセクターF-II) に混合し本種雌成虫計 10 匹に与え、それらの平均生育日数を比較した。寿命延長活性の認められたオリーブの MeOH 粗抽出物を Hexane, AcOEt を用いて液々分配を行ったところ、AcOEt 層と水層に強い寿命延長活性が認められた。AcOEt 層を順相系のシリカゲルカラムを用いて分画すると 20% MeOH/CHCl₃ 溶出部に強い活性が認められ、さらにこの画分を逆相系の ODS カラムを用いて分画を行うと、40% MeOH/H₂O 溶出部に主な活性が認められた。現在、この画分に含まれる活性成分の構造を追求中である。

E-16 ニッポンクサカゲロウ緑色色素の精製と生合成遺伝子の検討

●阿部風音, 山内 聡, 西脇 寿 (愛媛大院・農)

【目的】ニッポンクサカゲロウ (*Chrysoperla nipponensis*) 成虫の体色は鮮やかな緑色である一方で、環境の変化により茶色に変わる個体も存在する。本研究では、未だ不明な点が多いニッポンクサカゲロウが有する緑色色素の構造や生合成経路に関する知見を得ることを目的とした。

【方法・結果】ニッポンクサカゲロウ成虫をエタノール中で磨砕した後、各種カラムで精製し、体色を構成する色素の一つを biliverdin と特定した。そこで、RT-PCR を用いて biliverdin の生合成と分解に関与する酵素をコードする mRNA の発現量を比較した。その結果、クサカゲロウの緑色個体および茶色個体中で、これらの酵素をコードする mRNA の発現量に差が見られた。次に、大腸菌を用いてこれら酵素の組換え体を過剰発現させ、酵素の性質を検討した。さらに、dsRNA を幼虫に注射投与することにより mRNA の発現を抑制したところ、体色の変化は認められなかった。

E-17 1-benzyl-2-methylbenzimidazole 誘導体のカイコ成長の阻害特性

●井上鼓捺, 逸見周平, 塩月孝博 (島根大・生資料)

【背景・目的】チョウ目に選択的で既存の殺虫剤に抵抗性が発達した害虫の防除には、作用機序の異なる新規昆虫成長制御剤の開発が有効と考えられる。その中で我々は、1-benzyl-2-methylbenzimidazole の誘導体 (BMBIs) がチョウ目のモデル昆虫であるカイコの幼虫に対し、成長阻害活性を示すことを発見し報告した。そこで、誘導体の構造や異なる投与方法による成長阻害の特性について調査した。

【方法・結果】1-benzyl 基に様々な置換基を持つ誘導体の合成を行い、そのアセトン溶液をカイコ幼虫に塗布し、成長に与える影響を観察した。その生物活性には早期致死のほか、脱皮阻害、蛹化阻害、早熟変態など時期や表現型が異なる成長阻害が生じた。また、同じ化合物でも、薬量や投与時期の違いにより、異なる成長阻害の特性が現れることが分かった。同じ置換基でも benzyl 環上の位置が異なると生物活性に大きく差があり、早期致死と成長阻害の割合が異なった。これらのことから、本誘導体がカイコの成長に与える影響は、複数の異なる作用機序によって現れることが推察された。

E-18 Intermedione 類縁体の合成および細胞毒性の評価

●斧 夢実, 山内 聡, 西脇 寿 (愛媛大院・農)

【目的】2018年にユーカリより単離された intermedione は、2003年に単離された ficifolidione の4位のイソブチル基が phenyl 基に変換された構造をもつ。これまでに、ficifolidione は HL60 細胞に対して毒性を示すことや4位のアルキル基の長さを変化させてもその毒性に影響がないことを明らかにしてきた一方で、intermedione が細胞毒性を示すのかは明らかではない。本研究では、intermedione ならびにその phenyl 基を種々置換した類縁体を合成し、それらの細胞毒性を評価することにより、phenyl 基上の置換基効果を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】Phloroglucinol を出発原料として syncarpic acid を合成し、各種 benzaldehyde との Diels-Alder 反応により intermedione 類縁体を得た。WST-8 試薬を用いて HL60 細胞に対する毒性を評価したところ、intermedione は ficifolidione と同等の細胞毒性を示すことが明らかとなった。さらに、phenyl 基に置換基を有する intermedione 類縁体では、置換基の影響で細胞毒性が変化することが明らかとなった。

F-1 プレニルフラボノイドの抗アレルギー作用

●庄野 陸, 韓 俊文¹, 棟方涼介¹, 田井章博², 矢崎一史¹, 古賀武尊²,
向井理恵² (徳島大院・創成科学,¹京大・生存研,²徳島大・生物資源)

【目的】植物性食品成分フラボノイドはプレニル化することで生物活性が強くなる例が報告されているが, 抗アレルギー作用については不明である。本研究では, quercetin, isorhamnetin, tamarixetin, kaempferol のプレニル化体を用い, 母骨格のフラボノールとプレニル化体の抗アレルギー作用を比較することで, 作用が増強するか否かを明らかにすることを目的とし, 研究を行った。

【方法・結果】ラット好塩基球性白血球 (RBL-2H3)細胞における脱顆粒抑制作用を評価したところ, 4種のフラボノールは, プレニル化による作用の向上は認められなかった。そこで, 細胞試験で同程度の活性を発揮した quercetin と 8-prenylquercetin を用いてマウスでの受動的皮膚アナフィラキシー反応試験を行った。その結果, 経口投与では quercetin の抗アレルギー作用が強かったものの, 経皮投与では 8-prenylquercetin がより強い抑制作用を示した。この結果は, プレニル化によって経皮吸収性が高くなったことを示唆しており, プレニルフラボノイドの利用法に新たな知見を与えるものである。

F-2 Inhibition of pancreatic lipase by persimmon leaves tea and perilla leaves tea

●Mohammad Ariful Islam Bhuiya¹, Pinky Karim Syeda K. Fatema²,
Keisuke Yoshikiyo^{1,2}, Kaeko Murota^{1,2}
(¹UGSAS, Tottori Univ., ²Fac. Life Environ. Sci., Shimane Univ.)

Persimmon leaves tea and perilla leaves tea are health beneficial herbal teas although the details about the inhibitory mechanism of the fat absorption are not well known. The objective of this study is to compare the inhibitory effect of these two teas against dietary fat digestion with pancreatic lipase. The polyphenol contents of tea determined by Folin Ciocalteu method depended on the amount of tea leaves used and extraction heating time. The lipase inhibitory effect of persimmon leaves tea was dose-dependent on its polyphenol content, whereas it was not correlated at high content in the case of perilla leaves tea. Persimmon leaves tea showed a lower IC₅₀ value than perilla leaves tea and have more potential to inhibit fat digestion. Rosmarinic acid is a natural lipase inhibitor and perilla leaves tea contained it as a main component. At present the contribution of rosmarinic acid in perilla leaves tea to the inhibition of fat digestion has been investigated.

F-3 ニホンナシに由来するポリフェノール類の特性と機能性

●秋山結香, 美藤友博¹, 藪田行哲¹, 石原 亨¹, 下田絵美子¹, 児玉基一郎¹
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・農)

【目的】鳥取県特産品であるニホンナシ‘二十世紀’の葉は, 果実と比較して 3,5-ジカフェオイルキナ酸 (3,5-DCQ), クロロゲン酸およびアルブチンなどのポリフェノール (PP) を多量に含有しており, これらの PP を“ナシ PP”と呼称している。さらに, 二十世紀ナシ葉抽出物は高い抗酸化活性を有することも明らかとなった。本研究では, 二十世紀ナシ葉の化粧品・機能性食品素材としての有用性を検証するため, ナシ PP の有するメラニン生成抑制活性や抗菌性など, 各種機能性を検討した。

【方法・結果】凍結乾燥させたナシ葉から, エタノールおよびブチレングリコールを用いて抽出物を調製した。ナシ葉抽出物および 3,5-DCQ などのナシ PP を用いて, B16 メラノーマ細胞によるメラニン生成抑制試験を行った。その結果, ナシ葉抽出物およびナシ PP は, メラニン生成を阻害することが認められた。ナシ PP では, 特に 3,5-DCQ が高い阻害活性を示した。また, ナシ葉抽出物およびナシ PP は, *Streptococcus mutans* の生存率を低下させ, 乳酸生成を抑制することも明らかになった。

F-4 ニホンナシ由来飲料のポリフェノール含量と抗酸化活性

●東 実来, 下田絵美子¹, 石原 亨¹, 児玉基一朗¹
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・農)

【目的】果物などを主・副原料とするビール, シードルなどのアルコール飲料において, 近年, 原料となる果汁やハーブ類の成分に由来する抗酸化活性などの機能性が注目されている。ニホンナシ, 特に鳥取県特産品である‘二十世紀’の葉および果実は, アルブチンや3,5-ジカフェオイルキナ酸などのポリフェノール (PP) を含む。そこで本研究では, ニホンナシ果汁を原料とするアルコール飲料が, 発酵後に含有する PP 量を検定するとともに, 原料および製品の抗酸化活性を検証した。

【方法・結果】二十世紀および新甘泉果実, 二十世紀若葉を使用した。また, 二十世紀果汁などを原料として, *Lachancea thermotolerans* と *Saccharomyces cerevisiae* を用いて醸造したナシシードル製品も分析に供試した。PP の定性・定量は, Folin-Ciocalteu 法および HPLC 分析により行った。抗酸化活性については, DPPH 法, SOD 法および ORAC 法により評価した。その結果, ナシシードルは原料のナシ果汁とほぼ同程度の PP を含有しており, 抗酸化活性も保持していることが明らかとなった。

F-5 糖尿病性腎症に対する糖転移ヘスペリジンの予防効果 ○吉田有希, 亀沢実音¹, 八澤菜央¹, 石橋真紀², 遠藤 伸², Thanutchaporn Kumrungsee¹, 矢中規之¹ (広島大・生物生産,¹広島大院・統合生命,²(株)林原)

【目的】糖尿病性腎症は三大合併症の 1 つであり, 人工透析などへの移行率の高さなどが社会問題となっている。糖転移ヘスペリジン (G-Hes) は柑橘に豊富に存在するヘスペリジンに糖転移させており, 水溶性が高く食品加工に有利である。本研究では streptozotocin (STZ) 投与により糖尿病モデルマウスを作製し, G-Hes 投与での腎保護効果を検証した。

【方法・結果】8 週齢雄性 ICR マウスに STZ の腹腔内投与 (100 mg/kg) を二日間行い, その後 4 週間飼育した (DM 群)。STZ 投与後 1% G-Hes を飲水投与させた G-Hes 群では DM 群と比較して腎重量が有意に低下し, 糸球体面積が有意に減少した。さらに DNA microarray 解析を行った結果, G-Hes 投与により 220 個の遺伝子発現が低下し, 特に fibronectin の発現量を有意に低下させた。G-Hes の摂取が尿細管上皮細胞障害を抑制することで組織線維化を予防したと想定し, 現在ヒト近位尿細管由来 HK-2 細胞を TGF- β で刺激した際の fibronectin の発現に対するヘスペレチンの効果を検討している。

F-6 Blood GABA availability contributes to food intake suppression in mice ○Thanutchaporn Kumrungsee, Tomoka Nagao, Noriyuki Yanaka (広島大院・統合生命)

Previously, we found that increased blood GABA levels due to a dietary GABA with GABA-degradation inhibition treatment induced food intake suppression. In this study, we examined a correlation between blood GABA levels and food intake by conducting a 24-h fasting refeeding experiment. Mice were divided into four groups receiving a control or GABA diet with or without a GABA-degradation inhibitor (Vig). After the 30-min refeeding, all groups had a similar amount of food intake (~1 g/mouse). Then, during 30 min to 6 h, the GABA diet with Vig injections barely had food intake, while other three groups gradually had food intake (~2 g/mouse at 6 h). At 9 h when the dark period started (19.00), food intake in all groups highly increased, but that increase in the GABA diet with Vig group still lower than other groups until 24 h. At 30 min after refeeding, blood GABA levels ($167.0 \pm 33.8 \mu\text{M}$) were significantly and markedly increased in the GABA diet with Vig group and decreased at 6 h. The results suggest that blood GABA availability has a correlation with food intake suppression.

F-7 Effects of vitamin B₆ supplementation on muscle regeneration
○Haruka Komuta, Noriyuki Yanaka¹, Thanutchaporn Kumrungsee¹
(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)

Recent human studies suggest a link between vitamin B₆ (VitB₆) deficiency and sarcopenia. However, its underlying mechanisms remain unknown. Here, we examined effects of VitB₆ deficiency and supplementation on muscle regeneration. We found that after 10 days of cardiotoxin-induced muscle injury, mice fed a VitB₆-deficient diet (1 mg PN HCl/kg) exhibited a significant decrease in the regenerating muscle mass and fiber size than mice fed a VitB₆-normal diet (7 mg), suggesting VitB₆ deficiency impairs muscle regeneration. Surprisingly, VitB₆ supplementation (35 mg) also worsened muscle regeneration. This led us to determine the optimal VitB₆ supplemented levels (14, 21, 28, or 35 mg PN HCl/kg) enhancing muscle regeneration. As compared to a VitB₆-normal diet (7 mg), all VitB₆ supplemented levels retarded muscle regeneration, and the highest inhibitory effect was observed from the 35 mg group. This study suggests that VitB₆ supplementation does not enhance but rather suppresses muscle regeneration. Further studies are necessary to clarify the underlying mechanisms.

F-8 Saa3 遺伝子プロモーターを利用した非侵襲性の薬物性腎障害モデルマウスの作製
○大瀬戸遥, 工藤綾音¹, Tolulope P. Saliu¹, Thanutchaporn Kumrungsee¹,
矢中規之¹ (広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)

【目的】抗がん剤投与の副作用などによる腎障害の予防は社会的課題であり、動物愛護の観点から実験動物の痛みを伴わない腎障害の評価法が求められている。炎症反応に鋭敏に応答する *serum amyloid A3* (*Saa3*) 遺伝子プロモーター領域の下流に *luciferase* 遺伝子を連結し、遺伝子組換えを行った *Saa3-luc* マウスをシスプラチン誘導性、およびアリストロキア酸誘導性腎症モデルに応用し、*in vivo* イメージングを用いて麻酔下での非侵襲的な薬物性腎障害の観察を試みた。

【方法・結果】*Saa3-luc* マウスに 8 mg/kg のシスプラチンを腹腔内投与することで腎障害を誘導した。尿細管上皮細胞障害が観察され、*in vivo* イメージング解析により腎臓由来の化学発光が検出された。また、2.5 mg/kg のアリストロキア酸の繰り返し投与においても同様の腎障害が誘導され、腎臓由来の化学発光が観察された。いずれの腎症モデルにおいても血中の尿素窒素 (BUN) などの腎障害マーカーが認められない病態初期であり、*Saa3-luc* マウスは薬物性腎障害モデルでの評価に応用可能である。

F-9 トノサマバッタが持つ抗肥満効果の作用機序の解明 ●岡本翔太, 管原亮平¹,
樋口智之¹, 井内良仁 (山口大院・創成科学, ¹弘前大・農)

【目的】本研究室では昆虫食に機能性食品としての付加価値を見出すことでその認知普及を目指している。トノサマバッタ (*Locusta migratoria*) は日本で食用昆虫として親しまれてきたものの1つである。これまでの研究により、トノサマバッタには *in vivo*, *in vitro* 実験の両方で脂肪の蓄積を抑制する効果を持つことが認められた。しかしその作用機序についてはまだ解明できていない。本研究ではトノサマバッタの可溶性抽出液 (LE) と培養細胞を用いてその作用機序について評価した。

【方法・結果】3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化期間または脂肪生成期間それぞれに LE を添加することで、LE がどちらを抑制しているのかを調べた。結果、LE は濃度依存的に脂肪細胞への分化を抑制した。次に、LE 添加時の脂質生成関連遺伝子の発現変化を RT-PCR 法を用いて評価した。結果、PPAR γ , PGC-1 α 等の脂肪細胞分化に関連する遺伝子の発現を抑制した。

以上の結果から、LE が PPAR γ を中心とした脂肪細胞分化のレギュレーターを阻害することにより脂肪蓄積を抑制する可能性を示した。

F-10 黄ニラ由来細胞内グルタチオン上昇活性成分の同定
○畑中唯史, 川上賀代子¹, 植田輝義², 坪井誠二¹, 守谷智恵¹
(岡山生物研, ¹就実大・薬, ²(株)アーチファーム)

【目的】酸化ストレスは、様々な疾病の発症や増悪化に関っており、細胞内グルタチオンを上昇させることは酸化ストレスが関与する疾病の治療や予防に有効であることが期待される。我々は、岡山県の特産品である黄ニラに細胞内グルタチオン上昇作用があることを見出した。本研究では、黄ニラ抽出物の細胞内グルタチオン上昇活性成分の同定およびそのメカニズムの解明を試みたので報告する。

【方法】黄ニラは50%エタノールで抽出した後、凍結乾燥後試料とした。ヒト肝臓がん由来 HepG2 細胞を48時間培養後に、黄ニラ抽出物を添加し、24時間培養後に細胞を回収した。細胞内グルタチオン量はDTNB(5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid))法によった。また活性成分を同定するため、黄ニラ抽出物を、Sep-PakC18 および逆相カラムを装着した HPLC を用いて分画した。

【結果】細胞内グルタチオン上昇活性を指標に精製し、LC-MS/MS による精密質量分析を行った結果、黄ニラに含まれる活性成分は、(Z)-4,5,9-trithiadeca-1,6-diene 9-oxide であることを明らかにした。

F-11 岡山県産姫とうがらしのカロテノイド含量, 及び果皮色と抗酸化作用との相関
○楊 靈麗, 畑中唯史, 加藤奈々¹, 吉金 優¹, 逸見健司
(岡山生物研, ¹ノートルダム清心・食品栄養)

【目的】姫とうがらしは岡山県鏡野町の在来品種であり、その機能性はほとんど不明である。機能性の特徴を理解するために、各種カロテノイド含量、抗酸化作用や果皮色を評価した。

【方法・結果】カロテノイドは HPLC と C30 カラムを用いて分離・定量した。果皮色は色彩計を用いて $L^*a^*b^*$ 表色系により、抗酸化作用は SOAC(Singlet Oxygen Absorption Capacity)法により評価した。市販の赤色及び黄色品種と比べ、姫とうがらしはカロテノイド総量と SOAC 値が高かった。カプサンチン、 β -クリプトキサンチン、 β -カロテン、ゼアキサンチンの順に含量が高かった。更に、色彩値 b^* と SOAC 値との間に強い負の相関が見出された。これにはカプサンチンの寄与が大きかった。季節変動により、 β -クリプトキサンチン(橙色)の増加とカプサンチン(赤色)の減少が見られたが、これに伴って色彩値 b^* の増加と SOAC 値の減少が見られた。品種間でも高い相関がみられたことから、トウガラシの SOAC 値は、非破壊で推定できると考えられる。

F-12 黄麹菌および黒麹菌の分生子の発芽率に及ぼす音波照射の効果
●松本 拓, 楠本拓真¹, 増田 翔¹, 小島幸治, 三枝敬明, 寺本祐司
(崇城大院・工, ¹崇城大・生物生命)

【目的】先行研究にて、黄麹菌の分生子に対して特定の周波数で音波照射した結果、製麹した米麹の酵素活性および菌糸伸長に影響を及ぼすことを明らかにした。本研究では麹菌の音波照射に対する応答がどの段階から行われているのかを明らかにするため、発生の初期段階である分生子の発芽に及ぼす音の影響を観察した。また黒麹菌の分生子に対しても同様に音の影響を観察し、黄麹菌の結果と比較した。

【方法・結果】黄麹菌 *Aspergillus oryzae* RIB40 株および黒麹菌 *Aspergillus luchuensis* NBRC4119 株の分生子を蒸米と混合し、音波照射せず 30°C で 24 時間培養した。黄麹菌の発芽率は 8 時間経過時点で $25.5 \pm 6.4\%$ を示した。16 kHz の周波数で音波照射しながら製麹した結果、発芽率は $31.1 \pm 6.3\%$ を示し、1.2 倍の増加を確認した。一方、黒麹菌の場合、音波照射なしの発芽率は 8 時間経過時点で $33.4 \pm 1.1\%$ を示した。16 kHz の周波数で音波照射した結果、発芽率は $34.0 \pm 6.0\%$ を示し、音波照射なしの発芽率と比べても変化は確認されなかった。菌種間を通して同じ周波数に対する応答は異なることが分かった。

F-13 トマトパウダーの溶解性向上を目指した市販酵素製剤による糖化条件の検討
○平田竜一, 中山恵里花¹, 花田真哉斗¹, 小島幸治, 三枝敬明,
寺本祐司(崇城大院・工,¹崇城大・生物生命)

【目的】これまで演者らは、トマトパウダーの溶解性向上を目的にトマトの糖化を試みてきた。その結果、3種類のセルラーゼ酵素製剤の中で、スクラーゼ X (三菱ケミカル株式会社) を用いて処理すると、トマトのグルコース含有率および還元糖含有率が最も高い値を示し、それぞれ 86.2%, 96.7%に増加した。また、トマトの糖化反応時の振とう操作は、糖化の効率に対して影響を与えないことがわかった。本研究では、トマトの糖化処理における糖化時間について検討した。さらに抗酸化能についても評価した。

【方法・結果】トマト(麗容)を凍結乾燥後粉末化した。このトマト粉末 0.3 g に対し、0.1%各酵素溶液を加え、24 h と 48 h、それぞれの最適温度にてインキュベートした結果、糖化時間は 24 h で十分であることがわかり、グルコース含有率は、スクラーゼ C (三菱ケミカル株式会社) で 84.9%、還元糖含有率は、スクラーゼ X で 90.0%であった。また、これらの糖化処理により DPPH ラジカル消去能は糖化時間とともに 0.49 倍~0.61 倍に低下したが、総ポリフェノール含量は 1.11 倍~1.29 倍増加した。

F-14 加熱時間が雑炊米飯のレオロジー特性に及ぼす影響
●二反田彩, 川井清司(広島大院・統合生命)

【目的】雑炊はスープと米飯が混在した食品であり、スープに米飯を入れて加熱調理される。雑炊米飯の食感は調理条件によって変化するが、その物理的評価方法については十分に検討されてこなかった。本研究では、加熱時間が雑炊米飯のレオロジー特性に及ぼす影響について調べた。

【方法・結果】電子レンジで温めた包装米飯 5 g をガラス容器に採り、そこに沸騰水 12.5 g を入れて、98°C で最大 9 分間加熱した。得られた雑炊試料をふるいにかけて米飯とスープを分離し、スープの粘性特性、米飯の形状および圧縮特性についてそれぞれ評価した。また、スープと米飯とが混在した状態で動的粘弾性測定を実施した。加熱調理によって米粒の表面は荒くなった。スープは擬塑性流体であり、流動曲線から粘性係数および流動性指数を決定した。加熱時間の増加と共に粘性係数は上昇し、流動性指数は低下した。これらの結果は、米粒から澱粉やタンパク質などの高分子成分が流出したことによると考えられる。スープと米粒とが混在した状態での動的粘弾性測定より、加熱時間が長くなると貯蔵弾性率が高くなることが明らかになった。スープの粘性が系のレオロジー特性に影響を及ぼした結果といえる。

F-15 凍結乾燥乳酸菌に対するヒスチジンの保護効果に関する研究
○佐々井真里奈, 川井清司(広島大院・統合生命)

【目的】乳酸菌の一部には凍結乾燥並びにその後の保存過程において生菌数が大きく低下するものがある。これまでの研究により、カルノシンは凍結乾燥乳酸菌 (*L. reuteri*) の生菌数低下を抑制すること、スクロースと併用することで水分活性 (a_w) が高い状態でも生菌数を維持できることなどを明らかにした。しかし、カルノシンはコストが高く産業利用には不向きといえる。本研究ではカルノシンの構成物質であり、カルノシンよりもコストが低いアラニンおよびヒスチジンの効果について検討した。また、ヒスチジンの構成物質であるイミダゾールやヒスチジン-スクロース混合系の効果も検討した。

【方法・結果】凍結乾燥試料を様々な条件で 4 週間保存後、生菌数を調べた。凍結乾燥試料 (a_w 0.06~0.14) を 37°C で保存した結果、アラニンおよびイミダゾールは保護効果を示さなかったが、ヒスチジンはカルノシンと同等の高い保護効果を示した。ヒスチジン-スクロースを添加した凍結乾燥試料 (a_w 0.75) を 25°C で保存した結果、生菌数は著しく低下した。ヒスチジンはスクロースと同様のガラス転移特性を示すことが報告されており、保護効果は水置換効果やガラス転移効果によって説明できる。

F-16 Caco-2 細胞を用いた Hyp 含有ペプチドの腸管膜透過性評価
○坂野新太, 中島望吾¹, Li Xixi¹, 松井利郎¹ (九大・五感セ, ¹九大院・農)

【目的】主に Gly-Pro-Hyp の反復配列から成る食品中のコラーゲンは、消化により腸管で Pro-Hyp をはじめとする Hyp 含有ペプチドとして吸収され、高い腸管膜透過性を有するがその要因は未だ不明である。本研究では、特異的な透過性には Hyp 含有ペプチドの特徴的な構造が起因すると仮定して、腸管膜透過性を解明することを目的とした。

【方法・結果】本研究では、細胞膜透過性評価の為、腸管上皮モデル細胞である Caco-2 細胞を transwell (PET 膜, 膜径 1.0 μm) に播種後、経上皮電気抵抗値 (TEER) >400 Ω/cm² の単層膜に Pro-Hyp, Gly-Sar, Pro-Pro (各 0.5~5 mM, 30 min) を添加した。各透過液を、アミン誘導体化 LC-TOF/MS 分析に供し、被験ペプチドの透過量 (nmol/cm²/min) を算出した。その結果、Pro-Hyp の透過量が最も高い値を示し、経過時間に対し透過量プロットが描く曲線が飽和と直線に分かれる結果となった。これより、Hyp 含有ペプチドは他のペプチドとは異なる輸送経路の可能性が示唆された。

F-17 デルフィニジンの筋線維型変換作用とそのメカニズム
○高橋里奈, 村田 希, 丸亀裕貴¹, 藤村由紀¹, 立花宏文¹
(愛媛大院・農, ¹九大院・農)

【目的】アントシアニン類の一種であるデルフィニジンが、マウスにおいて尾懸垂誘導性の筋重量の低下を改善することを報告しているが、デルフィニジンが骨格筋の機能に与える影響については不明な点が多い。本研究では、デルフィニジンが骨格筋の機能の特徴づける筋線維型に与える影響とその作用機構について、マウス筋芽細胞株 C2C12 を用いて検討した。

【方法・結果】分化させた C2C12 細胞をデルフィニジンで処理した結果、遅筋型筋線維マーカー遺伝子の発現ならびに遅筋型ミオシン重鎖タンパク質発現を上昇させた。また、デルフィニジンは遅筋型への変換を誘導する AMPK のリン酸化ならびにその上流因子である LKB1 のリン酸化および CaMKK2 のタンパク質発現を促進した。一方、AMPK 阻害剤で処理した C2C12 細胞においては、デルフィニジンは筋線維型マーカー遺伝子の発現を変化させなかった。以上の結果より、デルフィニジンは AMPK 経路を介して筋線維を遅筋型へシフトさせることで、持久力を向上させる可能性が示された。

F-18 ヒト血漿中に存在する植物 miRNA とその機能解析
●野内綾太, 近藤美裕貴, 熊添基文, 藤村由紀, 立花宏文 (九大院・農)

【目的】マイクロ RNA (miRNA, miR) は 20 塩基程度の一本鎖 RNA であり、標的 mRNA に相補的に結合することで遺伝子発現を制御する。近年、植物由来の miRNA が動物体内においても機能性を発揮することが注目されている。そこで本研究では、ヒト血漿中に存在する植物由来の miRNA を同定するとともに、その生理作用を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】ヒト血漿中より miRNA 画分を抽出し、次世代シーケンス解析を行った結果、200 種類以上の植物由来 miRNA が検出された。それらの内、比較的多く検出された植物 miRNA をヒト臍帯静脈内皮細胞 HUVEC に導入し、発現変動した mRNA を次世代シーケンス解析により明らかにした。発現量に変動した遺伝子に対して、標的予測ツールを用いて植物 miRNA の直接標的となる可能性のある遺伝子を探索したところ、TGFβR1 (transforming growth factor beta receptor 1) や IL6R (Interleukin-6 Receptor) などの遺伝子が見出された。以上の結果より、ヒト血中には血管内皮細胞の機能調節作用を有する可能性のある植物由来 miRNA が存在することが示された。

学会創立100周年記念

日本農芸化学会2023年度中四国・西日本支部合同大会実行委員会

実行委員長：大西浩平（高知大・農林海洋）

副実行委員長：堀澤 栄（高知工科大・理工）

実行委員：

総務：島村智子（高知大・農林海洋）

会計：村松久司（高知大・農林海洋）

広報：柏木丈拡（高知大・農林海洋）

プログラム・要旨集：加藤伸一郎（高知大・農林海洋），
若松泰介（高知大・農林海洋）

受付・会場：小野寺健一（高知大・農林海洋），
宮本恵美（高知学園大・健康科学）

懇親会：手林慎一（高知大・農林海洋）

連絡先：〒783-8502 高知県南国市物部乙200

高知大学総合研究センター

TEL：088-864-5213 E-mail：kouheio@kochi-u.ac.jp

支部からのお知らせ

中四国支部

1. 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：米子コンベンションセンター
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）
2. 学会創立100周年記念 第46回 市民フォーラム
開催日：2023年10月14日（土）
場 所：岡山大学 資源植物科学研究所
内 容：招待講演
世話人：谷 明生（岡山大学）

西日本支部

1. 第348回講演会（第6回学生フォーラム及びダイバーシティシンポジウム）
開催日：2023年11月25日（土）
場 所：Zoomによるオンライン開催（予定）
内 容：英語での発表ならびに本部ダイバーシティ推進委員会との
共催企画（予定）
世話人：西日本支部学生会員実行委員・ダイバーシティ推進委員
2. 第349回西日本支部例会及び講演会
開催日：2024年1月27日（土）
場 所：九州大学西新プラザ
内 容：支部活動報告会，支部奨励賞授賞式，受賞講演，特別講演

詳しくは、支部ホームページをご覧ください

中四国支部 <http://chushikoku.jsbba.or.jp/>

西日本支部 <http://nishinihon.jsbba.or.jp/>

日本農芸化学会中四国支部事務局

〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7

愛媛大学大学院農学研究科内

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

E-mail：chushikoku@jsbba.or.jp