

支部創立25周年記念
日本農芸化学会中四国支部第71回講演会

講演要旨集

日時：2025年6月14日（土）13時10分開会
場所：徳島大学常三島キャンパス



日本農芸化学会中四国支部

日本農芸化学会中四国支部第71回講演会（例会）

日時：2025 年 6 月 14 日（土）

12:10~13:00 支部参与会 (K棟2階 K201 講義室)

18:00~19:30 情報交換会 (大学生協第二食堂)

一般講演 会場一覧表

会場		講演番号	分類
A	K203 講義室 (2 階)	A1 ~ A10	微生物, 遺伝子, 環境新技術, その他
B	K202 講義室 (2 階)	B1 ~ B10	酵素・タンパク質
C	K201 講義室 (2 階)	C1 ~ C9	微生物
D	K204 講義室 (2 階)	D1 ~ D9	有機化学・天然物, 食品, 植物

一般講演 座長一覧表

会場	講演番号	座長
A	A1 ~ A3	田井章博 (徳島大・生物資源)
	A4 ~ A6	松沢智彦 (香川大・農)
	A7 ~ A10	古賀武尊 (徳島大・生物資源)
B	B1 ~ B3	川上竜巳 (徳島大・生物資源)
	B4 ~ B7	佐々木千鶴 (徳島大・生物資源)
	B8 ~ B10	中村光裕 (徳島大・理工)
C	C1 ~ C3	榎元廣文 (徳島大・生物資源)
	C4 ~ C6	阪本鷹行 (徳島大・生物資源)
	C7 ~ C9	田淵光昭 (香川大・農)
D	D1 ~ D3	向井理恵 (徳島大・生物資源)
	D4 ~ D6	田中 保 (徳島大・生物資源)
	D7 ~ D9	赤川 貢 (徳島大・医科栄養)

注意)

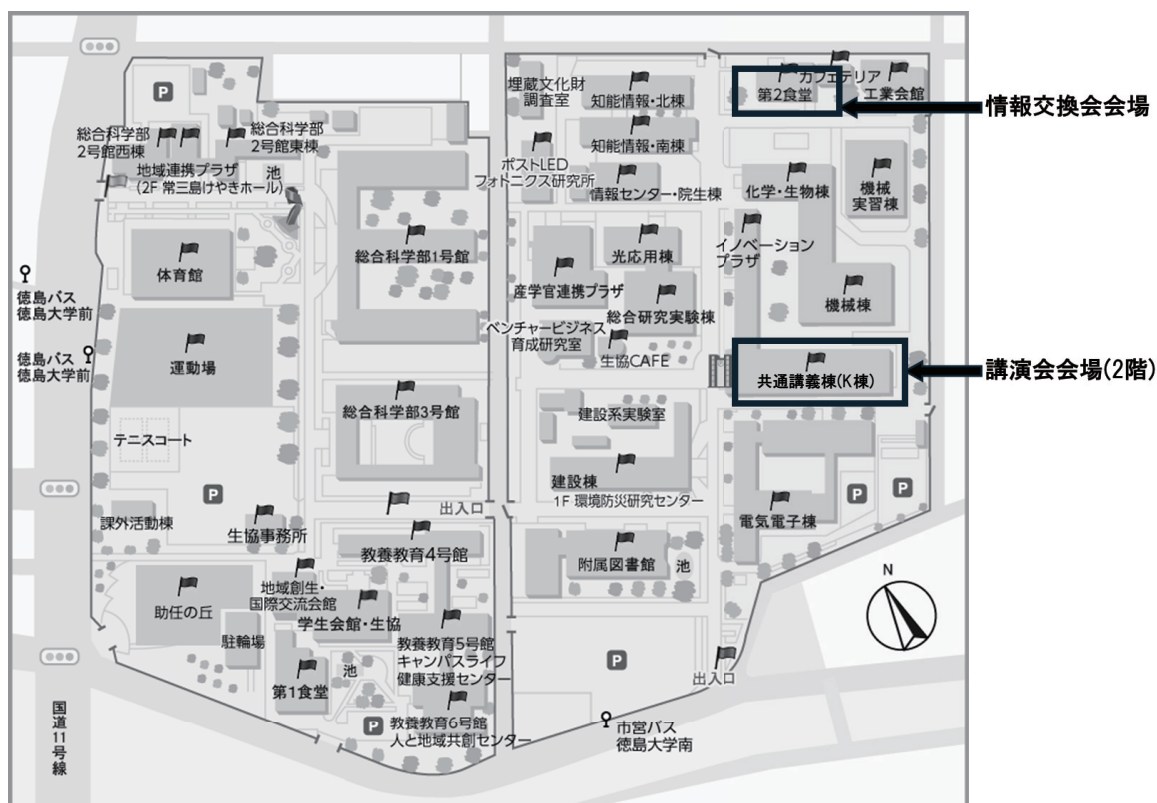
1. パソコンを用いた口頭発表にて行います。操作は各自でお願いします。プロジェクターへの接続は HDMI 対応です。D-Sub での接続はできません。接続トラブルの可能性もあるため、バックアップデータ (PowerPoint 形式と PDF 形式) を保存した USB メモリをご持参ください。なお、パソコンおよび USB メモリには必ずウイルスチェックを行ってください。
2. 一般講演は、発表 9 分、質疑応答 2 分、パソコン切替 1 分、時間厳守で進行をお願いします。

支部講演会（例会）会場案内 徳島大学常三島キャンパス

(〒770-0814 徳島県徳島市南常三島町2丁目1)

受付	K棟2階 エレベーターホール
シンポジウム・受賞講演会場	K棟2階 K206 講義室
一般講演 A会場	K棟2階 K203 講義室
B会場	K棟2階 K202 講義室
C会場	K棟2階 K201 講義室
D会場	K棟2階 K204 講義室
幹事打合会場	K棟2階 K205 講義室
支部参与会会場	K棟2階 K201 講義室
休憩室	K棟2階 K205 講義室

キャンパス構内図

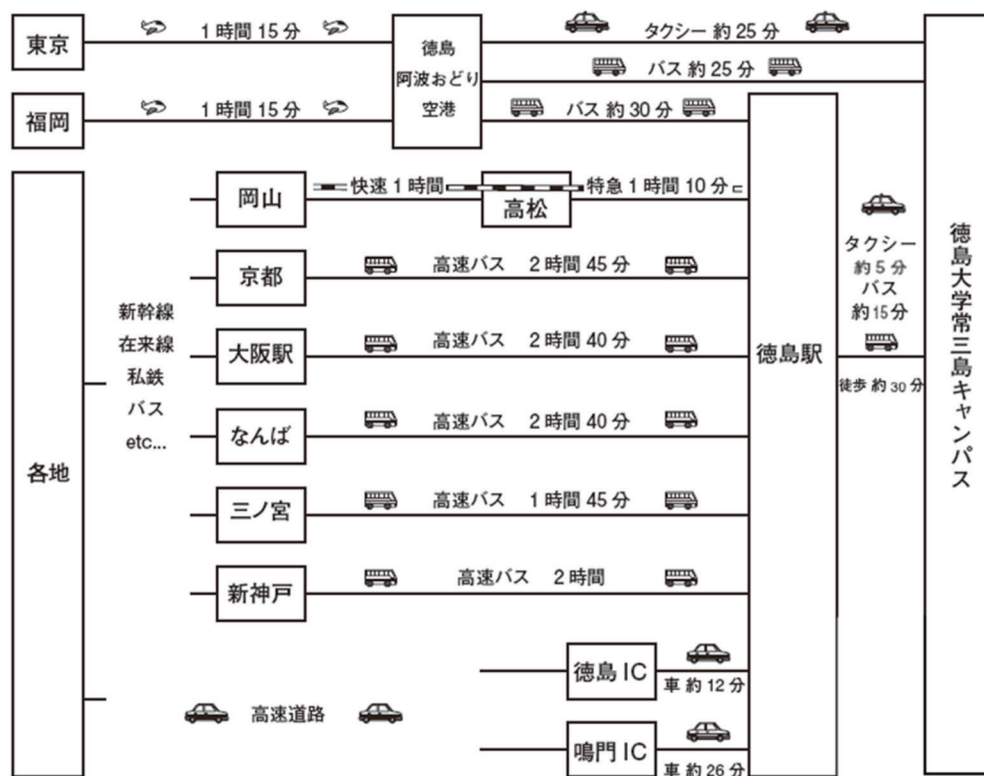
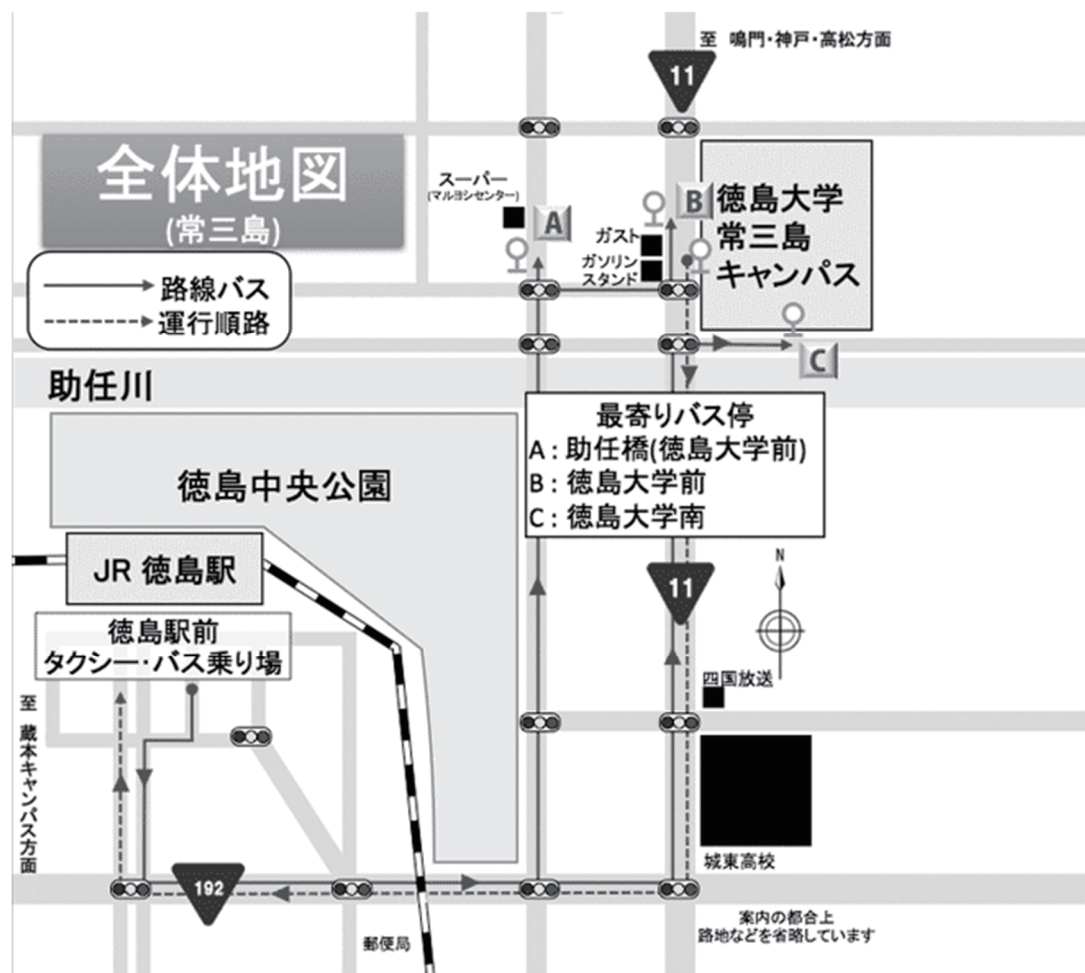


徳島駅からのアクセス



- ・ 徒歩の場合 20-30 分 (1.7km)
- ・ バス利用の場合 15 分
- ・ 徳島駅前より市営バスまたは徳島バスにご乗車ください。市バス・徳島バス株式会社の路線では、バスの運行状況をリアルタイムで確認できるバスロケーションシステム「とくしまバス Navi いまドコなん」を利用できます。バスの現在位置やバス停への到着予定時刻などの運行情報を、スマートフォンやパソコンからリアルタイムで確認できます。目的地までの経路や時刻表、運賃の検索も簡単です。「とくしまバス Navi いまドコなん」を使用して、便利に路線バスをご利用ください。(QR コードよりご利用ください)

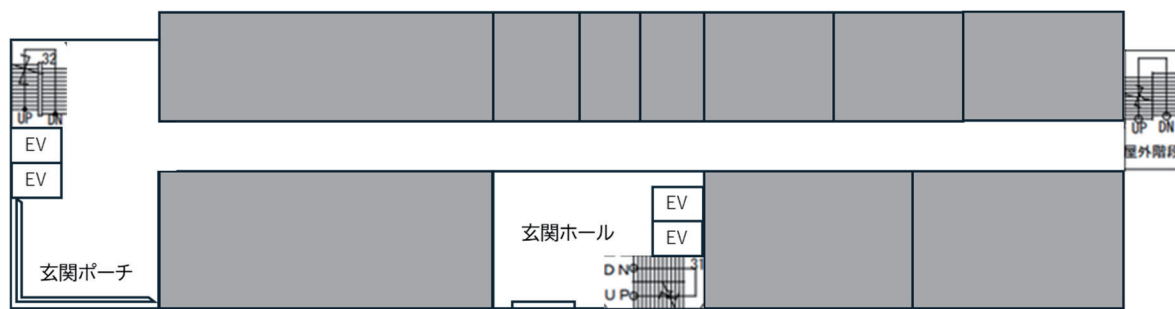




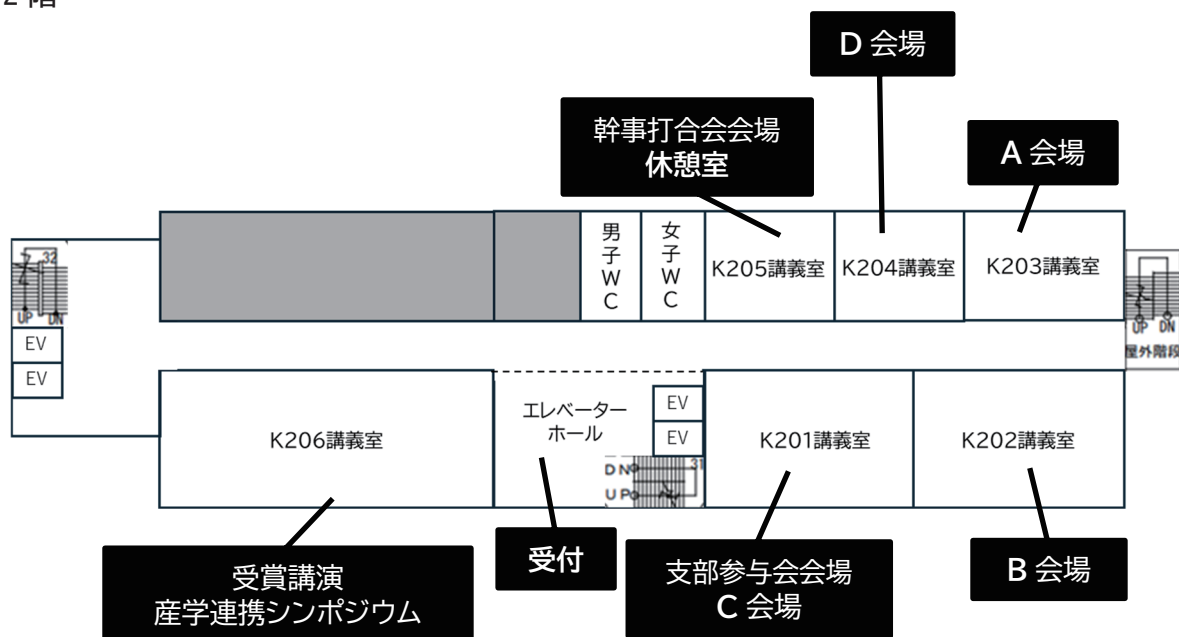
会場案内図

常三島キャンパス共通講義棟(K棟)

1 階



2 階



講

演

会

プ

ロ

グ

ラ

ム

支部創立 25 周年記念 日本農芸化学会中四国支部第 71 回講演会（例会） プログラム

会場：徳島大学（常三島キャンパス）

日時：2025 年 6 月 14 日（土）

11:00～12:00	幹事打合せ	(K 棟 2 階 K205 講義室)
12:10～13:00	支部参与会	(K 棟 2 階 K201 講義室)

13:10～13:20	中四国支部奨励賞授賞式	(K206 講義室)
-------------	-------------	------------

13:20～14:05	受賞講演	
	2025 年度日本農芸化学会中四国支部奨励賞受賞講演	(K206 講義室)

「ヘミセルロース分解酵素の機能と構造に関する研究」

中道優介（産総研・機能化学）

座長：矢中規之（広島大院・統合生命）

「様々な酵素を用いた希少糖生産に関する研究」

吉原明秀（香川大・国際希少糖）

座長：渡邊 彰（香川大・農）

14:05～15:25	産学連携シンポジウム	(K206 講義室)
-------------	------------	------------

「徳島県立工業技術センターの食品業界への技術支援」

西岡浩貴（徳島県・工技セ）

「上勝町における循環型産業と地方創生の取組」

小林篤司（(株) BIG EYE COMPANY）

「すだち関連事業—未利用資源の有効活用—」

佐藤彰彦（池田薬草（株））

座長：櫻谷英治（徳島大・生物資源）

15:30～17:30	一般講演	(K 棟 2 階各講義室)
-------------	------	---------------

18:00～19:30	情報交換会	(大学生協第二食堂)
-------------	-------	------------

◇ 一般講演プログラム

A会場（K203 講義室）「微生物，遺伝子，環境新技術，その他」

- A-1 15:30 環境微生物のメタゲノム解析とメタトランスクリプトーム解析による糖質分解酵素の探索
○松沢智彦，吉野 成¹，松本 薫²，石川昌和²
（香川大・農，¹香川大院・農，²香川大・バイオインフォ）
- A-2 15:42 飢餓環境が担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジー誘導に及ぼす影響
○齊藤巧馬，北原昂希，村口 元¹，麻田恭彦²，渡邊 彰²
（香川大院・農，¹秋田県大・生物資源，²香川大・農）
- A-3 15:54 北西太平洋深海細菌由来の抗菌活性化合物の探索
○平野 絢，Ulanova Dana
（高知大院・農林海洋）
- A-4 16:06 コリネ型細菌における複数 RNase の改変による芳香族アミノ酸生産の効率化
坂本竣亮，松谷峰之介¹，○片岡尚也^{2,3}，松下一信^{3,4}，薬師寿治^{2,3}
（山口大院・創成科学，¹東農大・生物産業，²山口大・研究推進，³山口大・中高温微研セ，⁴山口大・農）
- A-5 16:18 *Thermus thermophilus* HB8 由来推定上ゲノム安定性維持機構関与遺伝子群の *in vivo* / *in vitro* 解析
○宗石実珠綺，福井健二¹，吉岡智史，若松泰介
（高知大院・農林海洋，¹奈良女大・生活環境）
- A-6 16:30 機能発現型メタゲノム法 SIGEX におけるライブラリー構築法の評価と誘導基質の選択
○後藤有乃，諸野祐樹¹，藏菌裕愛，寺田武志²，若松泰介
（高知大院・農林海洋，¹JAMSTEC・高知コア，²マリンワークジャパン）
- A-7 16:42 高バイオマス度クヌギ由来エポキシ硬化樹脂製造
○以西奈央，浅田元子¹
（徳島大院・創成科学，¹徳島大・生物資源）
- A-8 16:54 バイオマスの効率的糖化のための耐熱性セルラーゼ組合せ検討
○榎谷侑太郎，浅田元子¹
（徳島大院・創成科学，¹徳島大・生物資源）

A-9 17:06 ソルターゼを用いた VHH 抗体の好熱菌細胞表層提示

○小野達哉, 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)

A-10 17:18 亜臨界水処理を施したコンブのグルコシルトランスフェラーゼ阻害物質の探索

○畑中唯史, 楊 靈麗, 逸見健司, 木下 颯¹, 阿座上弘行^{1,2}, 熊谷祐也³

(岡山県生物研,¹山口大院・創成科学,²山口大・中高温微研セ,³北大院・水産)

B会場（K202 講義室）「酵素・タンパク質」

- B-1 15:30 脱硫酸化による酵素的なフコイダン低分子化の促進
○堀井悠暉, 藤田太洋, 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)
- B-2 15:42 オキナワモズクフコイダンを基質とする2種の脱硫酸化酵素
堀井悠暉, 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)
- B-3 15:54 ドメイン切除による ExoChi の可溶性発現と酵素活性の解析
○津知暉人, 有馬二郎¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農)
- B-4 16:06 超好熱アーキア由来アミノ酸ラセマーゼクラスター遺伝子群の大腸菌での発現
○宅見奈央, 宮地高輝, 川上竜巳¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)
- B-5 16:18 超好熱アーキア由来プロリン脱水素酵素複合体の精製とプロリン合成活性の解析
○宮地高輝, 宅見奈央, 川上竜巳¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)
- B-6 16:30 *Paradevosia* 属細菌のグルコース脱水素酵素とグルコン酸脱水素酵素の精製と性状
○笹野雅嵩, Ganta Phongsakorn¹, Nawarat Nantapong¹, 松谷峰之介², 片岡尚也,
松下一信, 薬師寿治
(山口大院・創成科学, ¹スラナリー工大・理, ²東農大・生物産業)
- B-7 16:42 *Klebsiella oxytoca* 由来組換えリビトールデヒドロゲナーゼ(RDH)での希少糖生産に向けて
○松本真侑, 吉田裕美^{1,2}, 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)
- B-8 16:54 *Cryobacterium* sp.由来組換えトランスケトラーゼを用いた D-グリセロ-L-グルコ-オクトロースの生産
○北畠郁哉, 綿貫花菜, 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)

B-9 17:06 リンゴ酸-キノン酸化還元酵素における膜結合部位の解析

○中村愛紀¹, 伊藤 剛¹, 渡邊誠也^{1,2},
(¹愛媛大・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ)

B-10 17:18 新規 L-Threonate 3-dehydrogenase のアポおよび補酵素複合体構造の決定

○里陽美花¹, 渡辺誠也^{1,2}
(¹愛媛大・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ)

C会場 (K201 講義室)「微生物」

- C-1 15:30 *Fusarium* 属糸状菌における菌体外リパーゼ遺伝子過剰発現株の脂質生産性評価
○池田汐里, 茨木暢大, 柴田優芽, 江郷花音¹, 阪本鷹行¹, 櫻谷英治¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)
- C-2 15:42 藍染液におけるインジゴ還元活性に及ぼすリグニンの効果
○佐藤 萌, 大畑陽花, 中川香澄¹, 竹内道樹², 阪本鷹行³, 櫻谷英治³
(徳島大院・創成科学, ¹岐阜大・応用生物, ²京工繊大・分子化学, ³徳島大・生物資源)
- C-3 15:54 酵母発現系を用いた根粒菌エフェクターBel2-5の機能解析
○小島 海, 中山英里, 平田篤史, 岡崎 伸¹, 田中直孝², 田淵光昭²
(香川大院・農, ¹農工大・農, ²香川大・農)
- C-4 16:06 スフィンゴ脂質代謝制御に関わる転写因子 Com2 の下流因子の探索
○正木美緒, 松本康生, 田中直孝¹, 田淵光昭¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- C-5 16:18 細胞膜マイクロドメインを介した PI(4,5)P₂ レベルの制御機構に関する研究
○何葉陽光, 坂本孝義¹, 吉澤昂志郎, 坂田健太郎, 田中直孝¹, 田淵光昭¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- C-6 16:30 分裂酵母の ERGIC 様コンパートメントに存在するタンパク質の探索
○上田樹怜, 神谷勇輝, 浅野里奈, 田淵光昭¹, 田中直孝¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- C-7 16:42 出芽酵母液胞アミノ酸トランスポーターAvt1 の N 末端親水性領域を介した制御
○大西香奈恵, 岡崎真士, 御供 遥¹, 佐藤明香音¹, 河田美幸^{1,2,3}, 関藤孝之^{1,2}
(愛媛大・農, ¹愛媛大院・農, ²愛媛大・プロテオセ, ³愛媛大・学術支援セ)
- C-8 16:54 排出系液胞アミノ酸トランスポーターAvt4 による TORC1 の活性抑制について
○勝野井涉真¹, 寺下晴夏¹, 山本悠介¹, 佐藤有美香¹, 石本品也¹, 國米春香², 野澤 彰³, 小迫英尊⁴, 澤崎達也³, 関藤孝之^{1,3}, 河田美幸^{1,3,5}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・農, ³愛媛大・プロテオセ, ⁴徳島大・先端酵素研, ⁵愛媛大・学術支援セ)

C-9 17:06 酢酸菌細胞膜結合型グルコース脱水素酵素の二糖基質に対する認識機構の解析
○竹内真慈, 森島ちひろ¹, 阿野嘉孝^{1,2}
(愛媛大院・農, ¹愛媛大・農, ²愛媛大・食健セ)

D会場 (K204 講義室)「有機化学・天然物, 食品, 植物」

- D-1 15:30 モレキュラーシーブを用いた coelenterazine から dehydrocoelenterazine への脱水素反応
中山和也, 松田和生¹, 井上 聡², ○中村光裕
(徳島大・理工, ¹徳島大・総合科学, ²愛知学院大・歯)
- D-2 15:42 糸状菌 *Pochonia suchlasporia* TAMA87 株が生産する α -ピロン環部位の異なる asteltoxin
類の UV スペクトルによる識別検出
○光畑百恵, 加藤陽輝, 神崎 浩, 仁戸田照彦
(岡山大院・環境生命)
- D-3 15:54 Cyanidin-3-*O*-glucoside の循環動態への影響とその作用メカニズムの検証
○伏見太希, 平畠千絵¹, 廣木健登¹, 亀井優輝, 赤川 貢, 越阪部奈緒美¹
(徳島大・医科栄養, ¹芝浦工大・シス理工)
- D-4 16:06 フラボノイドによる唾液腺機能亢進効果について
○蛇目みさき, 末永彩夏, 姚 陳娟¹, 向井理恵², 赤松徹也²
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・歯, ²徳島大・生物資源)
- D-5 16:18 大気圧低温プラズマ処理によるタマネギ中ポリフェノールの増産効果
○川上烈生, 向井理恵¹
(徳島大・理工, ¹徳島大・生物資源)
- D-6 16:30 紅藻アサクサノリの単胞子放出に及ぼすアラントインの影響
○高橋翔太, 松田春菜¹, 岡 直宏¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)
- D-7 16:42 気孔開閉運動を調節する新規因子の機能解析
○山中愛梨, 堀川昂暉, 田中優梨¹, 川内歩季¹, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行,
宗正晋太郎
(岡山大院・環境生命, ¹岡山大・農)
- D-8 16:54 Formation of inositol glycan by plant tissue cutting
○Majidul Islam, Rumana Yesmin Hasi, 梅村雄太¹, 田中秀則¹, 近藤雄大², 石川寿樹²,
長野 稔³, Hanif Ali, 川上竜巳⁴, 栗飯原睦美⁴, 田中 保⁴
(徳島大院・創成科学, ¹岐阜大・糖鎖生命, ²埼玉大院・理工, ³立命館大・生命,
⁴徳島大・生物資源)

D-9 17:06 Exploring the degradation pathways of sphingolipids in plants

○Rumana Yesmin Hasi, 藤田智帆, Majidul Islam, Hanif Ali, 石川寿樹¹, 栗飯原睦美²,
川上竜巳², 田中 保²

(徳島大院・創成科学, ¹埼玉大院・理工, ²徳島大・生物資源)

受 賞 講 演
講 演 要 旨

ヘミセルロース分解酵素の機能と構造に関する研究

中道優介（産総研・機能化学）

植物バイオマスはカーボンニュートラルな資源として注目されており，石油代替資源としてエネルギーや化学品原料への利用が検討されている。バイオマスに含まれるヘミセルロースは，複数種類の糖で構成され，かつ分岐構造をもつことから，分解酵素で処理することで多様な構造をもつオリゴ糖を得ることができる。これらのオリゴ糖は，様々な機能性化学品としての利用が期待されている。ヘミセルロース分解酵素は，それぞれ基質の分子構造を高度に認識し，特定の構造に対してのみ作用するという特徴を持つ。そのため，それら酵素の分解特性を理解し活用することで，ヘミセルロースの分子構造に基づく分解・加工が可能となり，特定の構造をもつオリゴ糖を合成する技術の開発につながる事が期待できる。

このような背景から，発表者らは代表的なヘミセルロースであるキシランやキシログルカンの分解酵素について，高次構造情報を活用した精密反応機構の解析によりその機能を明らかにしてきた。特に，糸状菌 *Talaromyces cellulolyticus* 由来のキシラン分解酵素のうち，糖質加水分解酵素ファミリー30（GH30）に分類される酵素群（*TcXyn30A*，*TcXyn30B*，並びに *TcXyn30C*）について詳細な解析を実施し，新規なキシラン分解機構を解明した。

TcXyn30A–*C* は，同じ GH30 に分類されながらそれぞれ全く異なる分解特性を示した。より具体的には，*TcXyn30A* はキシランの還元末端からキシロースを遊離するエキソ型のキシラナーゼ活性を示した。一方，*TcXyn30B* はグルクロノキシランを特異的に分解するエンド型活性を示すと共に，キシラン並びにキシロオリゴ糖の非還元末端からキシロース二糖（キシロビオース）を遊離するエキソ型活性を示す2機能酵素であることが分かった。また，*TcXyn30C* は，側鎖構造に依存せずキシラン主鎖を分解する一般的なエンド型キシラナーゼに近い分解特性を示したが，メチルグルクロン酸側鎖を持つ分岐キシロオリゴ糖としては，他のファミリーのキシラナーゼが産生する分岐キシロオリゴ糖より小さな単位（3糖）を効率的に遊離する酵素であることが明らかになった。X線結晶構造解析により，これらの酵素が上記の分解特性を示す構造要因を特定した。*TcXyn30A* は唯一ホモ2量体を形成し，2量体界面でキシランの還元末端を認識することが分かった。また，*TcXyn30B* が有する特徴的なループ構造がキシロビオース遊離活性に重要であることを見出した。さらに，キシロビオースの生理機能を調べたところ，オリゴ糖の一般的な機能として知られるプレバイオティクス作用を介さずに，ヒト小腸の腸管バリア機能を直接強化することが示唆された。これにより，ヘミセルロース由来オリゴ糖の用途拡大・高付加価値化の可能性を示すことができた。

様々な酵素を用いた希少糖生産に関する研究

吉原明秀（香川大・国際希少糖）

希少糖は国際希少糖学会により「自然界に存在量が少ない単糖およびその誘導体」と定義されている。単糖とは糖質の最小単位であり、アルデヒド基をもつものはアルドース、ケト基をもつものはケトースと呼ばれており、香川大学では、自然界に多量に存在する D-グルコースなどの単糖を出発原料にして希少糖の生産について研究を進めている。これまでに様々な微生物を土壌より単離して希少糖を生産できる酵素（L-ラムノースイソメラーゼや D-アラビノースイソメラーゼなど）を見出し、それらを用いることによって様々な希少糖の生産方法を確立し、その網羅的な生産方法を希少糖の生産戦略イズモリングとして報告している。本講演では、これまでの行ってきたさまざまな酵素を用いた希少糖の生産について紹介する。

希少糖生産の基盤酵素の一つである D-タガトース 3-エピメラーゼ（DTE: D-tagatose 3-epimerase, EC 5.1.3.31）は、1991 年に香川大学農学部キャンパスから単離された微生物 *Pseudomonas cichorii* から見つかった新規酵素である。本酵素は D-ガラクトースを還元することで得られるガラクトチールをタガトースへ酸化する微生物をスクリーニングする過程で発見された。*P. cichorii* 株由来 DTE は、D-タガトースの炭素第 3 位の水酸基の向きを反転して D-ソルボースに転換する。このように本酵素は世界で初めて発見された遊離の単糖に作用するエピ化酵素であり、この反応は可逆的な平衡反応で D-タガトースと D-ソルボースの平衡比は 20:80 と明らかとなっている。さらに、本酵素は D-タガトースと D-ソルボースだけでなく、D-フルクトースと D-プシコース（英語では D-allulose）間、L-タガトースと L-ソルボース間、L-プシコースと L-フルクトース間といったすべてのケトヘキソース（炭素数 6 のケトース）に作用することが明らかとなっている。また、ヘキソースだけでなく D-キシロースと D-リブロース間であり L-キシロースと L-リブロース間というようにケトペントース（炭素数 5 のケトース）のエピ化反応や D-エリスルロースと L-エリスルロース間の可逆的なエピ化反応も触媒することが可能な広い基質特異性を示すことも明らかとした。我々はこの酵素を用いることで天然に大量に存在する D-フルクトースから D-プシコース（英語では D-allulose）の大量生産に成功している。

近年、より炭素数の多い希少糖を生産するために微生物由来のトランスケトララーゼに着目している。トランスケトララーゼは D-フルクトース 6-リン酸などのリン酸化ケトースから二炭素鎖を D-リボース 5-リン酸といったリン酸化アルドースへの転位反応を触媒する酵素である。なかでも *Thermus thermophilus* HB8 由来のトランスケトララーゼはリン酸化されていないケトースからリン酸化されていないアルドースへの転位反応を触媒できることが明らかとなり、ドナー基質としてヒドロキシピルビン酸リチウム塩を用いてアクセプター基質となるアルドペントースを検討したところ、D-リボース、D-キシロース、L-アラビノース、L-リキソースにおいて生産物が確認された。NMR を用いて構造決定した結果、アクセプター基質に D-リボース、D-キシロース、L-アラビノースおよび L-リキソースを用いることで、それぞれ D-セドヘプツロース、D-イドヘプツロース、L-グルコヘプツロースおよび L-ガラクトヘプツロースの生産に成功している。さらに *P. cichorii* 株由来 DTE がトランスケトララーゼによって生産したケトヘプトースに作用することも明らかとなり、*P. cichorii* 株由来 DTE がケトヘキソース（炭素数 6）やケトペントース（炭素数 5）だけでなく、ケトテトロース（炭素数 4）やケトヘプトース（炭素数 7）の可逆的なエピ化反応を触媒できることが明らかとなり、さまざまなケトヘプトースの生産が可能となっている。

産学連携シンポジウム

講演要旨

産学連携シンポジウム

徳島県立工業技術センターの食品業界への技術支援

西岡浩貴（徳島県・工技セ）

徳島県立工業技術センターは、徳島県経済産業部に所属する県内唯一の工業系試験研究機関である（写真）。当所の設置の目的は、工業技術の向上とその成果の普及や、適正な計量の実施の確保により、徳島県における工業の振興および経済の発展に寄与することにある。主な業務内容としては、研究開発、技術相談、技術情報の提供、依頼による試験・分析、試験研究機器・施設の開放、計量検定業務などが挙げられる。2025 年 4 月 1 日現在の職員数は 50 名で、このうち研究職員は 36 名である。支援体制として、「企画総務担当」、「材料技術担当」、「機械技術担当」、「電子・情報技術担当」、「生活科学担当」、「食品・応用生物担当」、「計量・計測担当」の 7 担当が設置されている。本講演では、演者が所属する食品・応用生物担当による、食品業界への技術支援や最近の研究成果について概説する。

食品・応用生物担当は現在 8 名の研究職員が所属しており、主に水産物、畜産物、穀類、豆類、果実、野菜、発酵食品、バイオに関連する企業に対して支援を行っている。業務の内容は、大きく「技術相談・実施指導」、「依頼試験（分析）・機器利用」、「技術研修生の受け入れ」、「研究開発」に分けられる。技術相談は、衛生管理、品質管理、製造技術、新商品開発等に関する助言を行っており、必要に応じて現場を訪問して実施指導も実施している。依頼試験（分析）は企業からの依頼により試験や分析を請け負っており、衛生管理のための微生物検査や、品質管理指標の分析等が多い。機器利用では、当所が所有する機器や施設を開放している。技術研修生の受け入れでは、企業の技術者の養成を目的に、微生物検査や成分分析手法等を指導している。研究開発は、種類として当所が単独で実施する経常研究、企業や大学等との共同研究、企業からの依頼による受託研究、競争的資金を活用した特別研究がある。

最近の研究事例として、「LED 夢酵母」と「阿波晩茶由来乳酸菌」に関する取組みを紹介する。LED 夢酵母は、徳島県の地域資源である LED を利用して清酒酵母の育種を行い、徳島県オリジナルの酵母として開発したものである。清酒酵母に紫外線 LED 光を照射し、性質が変化した変異株の中から、吟醸酒の主要な香気成分であるカプロン酸エチルを高産生し、なおかつ発酵力の強い菌株を選抜した。選抜された酵母は LED 夢酵母と命名され、2015 年度より徳島県内の酒造企業に頒布されている。LED 夢酵母は現在、香味の特徴が異なる 3 タイプが開発されており、多様な品質の酒づくりに利用されている。阿波晩茶由来乳酸菌の研究は、徳島県内企業の乳酸菌を活用した製品開発を支援するため、後発酵茶の阿波晩茶から乳酸菌を分離し、その特性評価を行った。阿波晩茶の乳酸菌は、上勝町と那賀町は *Lactiplantibacillus pentosus* が、三好市は *Lactiplantibacillus plantarum* が最も頻繁に分離され、製造地域により優占種が異なることが明らかとなった。分離菌株の特性を評価すると、人工消化液に耐性を示し、プロバイオティクスとしての利用が期待される菌株、機能性成分 γ -アミノ酪酸を高産生する菌株等が確認された。阿波晩茶由来乳酸菌を利用した製品はすでに県内企業から販売されており、現在も共同研究や経常研究を通じて、製品開発の支援を継続している。

徳島県の食品業界は中小零細企業が多数を占めており、研究開発に十分な人的および経済的資源を投入することが困難な企業も多い。このような背景から、当所が担う技術支援の役割は極めて大きいと考える。県内企業の技術的課題の解決を支援できるよう今後も研鑽に努め、企業から信頼され、頼られる公設試験研究機関であり続けたい。



写真．徳島県立工業技術センターの外観

産学連携シンポジウム

上勝町における循環型産業と地方創生の取組

小林篤司（(株) BIG EYE COMPANY）

上勝町ゼロ・ウェイストセンターは、日本で初めて「ゼロ・ウェイスト宣言」を行った上勝町の理念を具現化する拠点として 2020 年に誕生した。住民参加による 45 種類以上の徹底した分別システムにより 80%超のリサイクル率を達成し、廃材を多用した独創的な建築デザインのセンター内には、リユースを促進する「くるくるショップ」やゼロ・ウェイストを体験できる「HOTEL WHY」といったユニークな施設を備えている。

この取り組みは、ごみ削減や環境負荷低減に留まらず、地域経済の活性化、住民の環境意識の向上、国内外からの注目といった多大な波及効果を生み出した。しかし、リサイクル困難な約 20%のごみという課題も残されており、生産段階からの変革やさらなる消費者の意識改革が求められている。上勝町ゼロ・ウェイストセンターとその活動は、ごみ問題に対する革新的なアプローチを通じて、持続可能なライフスタイルと地域社会のあり方を世界に問いかける、他に類を見ない先駆的な試みである。

そんな上勝町では、上勝町のゼロ・ウェイストの理念と様々な企業が連携し、新たな取組が生まれている。本発表では、上勝町における新たな循環型産業を紹介すると共に、産官学連携を含め、地方創生のあり方を紹介する。

すだち関連事業—未利用資源の有効活用—

佐藤彰彦（池田薬草（株））

池田薬草株式会社は徳島県三好市池田町の吉野川沿いにある会社である。事業内容は、医薬品、健康補助食品、化成品など、スプレードライ（噴霧乾燥）技術による原料粉末の受託加工、自社製品：すだち関連商品、精油商品などの製造販売を行っている。本講演では、池田薬草がこれまで携わってきたすだち関連事業について、紹介する。

スダチチンは健康増進作用のあるポリフェノールの一種であり、国内で流通している柑橘類ではすだちの果皮のみに含まれる希少性の高い成分である。スダチチンの構造と類似する物質に同じくポリフェノールの一種であるノビレチンがある。ノビレチンはミカンの皮、カボスやシークワーサーに含まれ、抗糖尿病作用、抗認知症作用やサーカディアンリズム調整作用を示すことが知られている。構造活性相関の観点から、スダチチンはノビレチンと同様の作用を示すことが期待できる。

徳島県の特産農作物であるすだちの年間収穫量は、約 4,000 トンであり、全国収穫量の 98% 以上を占めている。そのうちの半量は青果として出荷されているが、残りはポン酢やジュース、菓子用の果汁として搾汁され、大量の搾汁残渣が発生する。この搾汁残渣の大半は産業廃棄物として処理されており、事業主にとって大きな負担となっている。一方、徳島県の地域課題の一つとして、糖尿病死亡率があり、平成 5 年から平成 18 年にかけて、14 年連続して「糖尿病死亡率全国ワースト 1 位」を記録していた。

このような状況の下、徳島県では平成 21 年度から平成 25 年度までの 5 年間、文部科学省の地域イノベーション戦略支援プログラムにおいて、徳島大学を中心とする産官学連携体を基に、抗糖尿病に関する研究や商品開発を推進した。その一環として、徳島県立工業技術センターは徳島大学らと共同で、地域特産物に含まれる抗糖尿病作用を有した成分の探索研究を実施し、すだちの果皮に含まれるスダチチンに抗糖尿病作用などがあることを見出した。

健康効果が確認されたスダチチンだが、精製にコストがかかりすぎることや果皮に含まれる含量が少なすぎるなど、その利用には課題があった。

これらの課題の解決、そして徳島県、徳島大学が有する知見の事業化を目指して、池田薬草は産官学連携を通して、すだち果皮から、抽出、濾過、濃縮、スプレードライを行って得られる、スダチチン含量 1% 以上を規格とする、「スダチ果皮エキス末」を開発した。

スダチ果皮エキス末の抗肥満作用の評価を、徳島大学に依頼し検証した結果、高脂肪食投与マウスの体重増加が有意に抑制された。また、スダチ果皮エキス末を配合する食品を用いたヒト臨床試験を実施し、この試験結果を纏めた論文が査読付きの国際学術誌に受理されたことから、四国健康食品支援制度「ヘルシー・フォー」へ申請し、2021 年 9 月に代謝系調節機能を対象とした機能性素材として、「スダチン®」が認定された。

徳島県産特産物の未利用資源を有効活用したアップサイクル商品は、徳島県の糖尿病死亡率低減に向けた一つのアプローチとなりえる可能性を秘めている。研究事例が少ないすだち由来成分の新たな機能性が明らかになれば、すだち農家の活性化や地方創生の活力に繋がる。我々は、徳島県産農産物であるすだちの果皮を原料とした製品を製造販売し続けることで、すだちの価値の向上、未利用資源の再資源化、郷土愛の醸成、すだち農家数の維持増加、徳島県三好市での雇用創出を目指している。

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 環境微生物のメタゲノム解析とメタトランスクリプトーム解析による糖質分解酵素の探索

○松沢智彦, 吉野 成¹, 松本 薫², 石川昌和²

(香川大・農,¹香川大院・農,²香川大・バイオインフォ)

【目的】環境中の微生物は様々な有用酵素を探索するための遺伝子資源として古くから利用されてきた。メタゲノム解析は環境中の微生物の総ゲノム DNA を遺伝子資源として利用する手法であり、様々な研究において利用されている。しかし、メタゲノム解析において出力される塩基配列データおよびそれを基に予測される推定遺伝子数は膨大であり、これらの膨大な情報から有益な情報を抽出することは困難である。本研究では、メタゲノム解析にメタトランスクリプトーム解析（微生物群の総 mRNA の解析）を併用することで糖質分解酵素を探索する手法を検討した。

【方法】環境サンプルから寒天培地において微生物を集積培養した微生物群を実験室において作成した。その一部からメタゲノム DNA を抽出し、メタゲノム解析を行った。また、微生物群の一部に糖質を添加し、インキュベート後に総 RNA を抽出して RNA-seq 解析によってメタトランスクリプトーム解析を実施した。

【結果】集積培養した微生物群のメタゲノム解析によって約 12 万遺伝子の配列情報を取得した。また、本メタゲノム情報に対してメタトランスクリプトーム解析の結果をマッピングすることによって、微生物群に添加した糖質に応答して発現が変動する遺伝子群を探索した。

A-2 飢餓環境が担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジー誘導に及ぼす影響

○齊藤巧馬, 北原昂希, 村口 元¹, 麻田恭彦², 渡邊 彰²

(香川大院・農,¹秋田県大・生物資源,²香川大・農)

本研究の対象である担子菌は、栄養源の減少などの条件が合うと、菌糸成長から子実体形成へとその生育様式を劇的に変化させる。一方、オートファジーは、細胞内に出現した二重膜により囲まれたオートファゴソームと呼ばれる構造体を介したバルクな分解機構であり、周りの栄養状態に応答して誘導される。当研究室では、これまで担子菌の生育とオートファジーの関係解明について研究に取り組んできており、今回、各種飢餓環境が担子菌 *Coprinopsis cinerea* のオートファジー誘導に及ぼす影響について解析を進めたので報告する。使用菌株としては、オートファジー進行に重要と考えられる関連遺伝子 *Ccatg9* 欠損株およびその親株、そして欠損株に *Ccatg9* を導入した *Ccatg9* 相補株を用いた。また、オートファジー誘導の解析は、誘導時にその局在を液泡へと変化させるオートファゴソーム構成タンパク質 CcAtg8 に緑色蛍光タンパク質 AcGFP1 を連結させた融合タンパク質 (CcAtg8-AcGFP1) の動態から行った (なお、CcAtg8-AcGFP1 の発現には *Ccatg8* のプロモーターと考えられる領域を使用した)。CcAtg8-AcGFP1 を導入した使用菌株の解析の結果、担子菌 *C. cinerea* は、培地中の窒素源飢餓環境下に加えて、金属である、マグネシウム、鉄、亜鉛、そしてマンガンのそれぞれの飢餓環境下においても、誘導的にオートファジーを進行させることが示唆された。現在、得られた結果に基づいて、さらに解析を進めている。

A-3 北西太平洋深海細菌由来の抗菌活性化合物の探索
○平野 絢, Ulanova Dana
(高知大院・農林海洋)

【目的】世界各国における薬剤耐性菌や新規病原菌の出現により、新たな抗菌活性化合物の発見が必要である。従来の抗生物質の多くは、土壌や植物由来細菌が産生した抗菌活性化合物を基に開発されてきたが、それらの環境からはすでに多数の細菌や化合物が発見され、新規化合物の獲得が困難である。そこで探索の場を広げ新規抗菌活性化合物の獲得が目指されている。特に深海は陸地と全く異なる環境であり、深海由来細菌独自の代謝経路を持つと考えられ、彼らは新規抗菌活性化合物の供給源となる可能性が高いといえる。日本海溝付近における微生物の探索は行われているが、抗菌活性化合物に注目した研究例は少ない。そこで、本研究では、北西太平洋に位置する日本海溝付近の深海由来細菌が産生する新規化合物の獲得を目指し、細菌単離・抗菌活性調査を行った。

【方法・結果】2024年4月、新青丸に乗船し、深海堆積物の採取を行った。本研究で見つかった抗菌活性化合物を生産する細菌の研究開発における容易な応用利用を目指すため、28℃において深海由来細菌の培養を行った。細菌株267株を単離し、グラム陽性菌である *Kocuria rhizophila* とグラム陰性菌である *Escherichia coli* を感受性株として抗菌活性試験を行った。その結果、*K. rhizophila* に対して52株、*E. coli* に対して6株が抗菌活性を示した。この6株は *K. rhizophila* に対しても抗菌活性を示したため、汎用性の高い抗菌活性化合物を生産する細菌を確認することができた。

A-4 コリネ型細菌における複数 RNase の改変による芳香族アミノ酸生産の効率化
坂本竣亮, 松谷峰之介¹, ○片岡尚也^{2,3}, 松下一信^{3,4}, 薬師寿治^{2,3}
(山口大院・創成科学,¹東農大・生物産業,²山口大・研究推進,
³山口大・中高温微研セ,⁴山口大・農)

我々はこれまでに、代謝制御発酵の戦略によって取得された芳香族アミノ酸高生産コリネ型細菌において、3'→5'エキソ型リボヌクレアーゼ RNase R に複数のアミノ酸置換を伴う変異が蓄積していることを見出し、さらにその変異が、シキミ酸経路中間体であるシキミ酸および3-デヒドロシキミ酸の生成量を約4倍、最終産物であるチロシン (Tyr) およびフェニルアラニン (Phe) の生成量を約2倍に向上させることを報告した [日本農芸化学会 2024 年度中四国支部大会 (第 69 回講演会)]。この際、シキミ酸経路中間体と最終産物の増加量に差が見られたことから、RNase R の変異によりシキミ酸経路への炭素流量は増加しているものの、シキミ酸以降の代謝には顕著な変化が生じていない可能性が考えられた。一方で、エンド型かつ5'→3'エキソ型リボヌクレアーゼである RNase J の欠損変異が、シキミ酸経路中間体の蓄積を抑制しつつ、Tyr および Phe の生成量を向上させることも我々は報告している (*J. Gen. Appl. Microbiol.*, 69: 11, 2023)。この特徴は、RNase R 変異により観察された代謝変化と組み合わせることで、芳香族アミノ酸生産のさらなる向上が期待された。そこで本研究では、RNase R および RNase J に変異を導入し、それらの組み合わせが芳香族アミノ酸生産に与える影響を検証した。その結果、シキミ酸および3-デヒドロシキミ酸の生成量は40-60%減少し、Tyr 生成量は約1.4倍に増加した。一方で Phe 生成量には大きな変化は認められなかった。これらの結果は、RNase R および RNase J の変異が、相加的な効果を示すわけではないものの、シキミ酸経路への炭素流量の増加およびその後の代謝強化に一定程度寄与することを示唆していた。

A-5 *Thermus thermophilus* HB8 由来推定上ゲノム安定性維持機構関与遺伝子群の *in vivo* / *in vitro* 解析

○宗石実珠綺, 福井健二¹, 吉岡智史, 若松泰介
(高知大院・農林海洋, ¹奈良女大・生活環境)

【目的】モデル生物においてもゲノム中の約四割の遺伝子は依然として機能が不明であり, これら機能未知遺伝子群の存在は生命現象を理解する際の大きな障害となっている。DNA 修復や組換えなどのゲノム安定性維持機構は生命の根幹をなす重要な機構であるが, 本機構にも機能未知遺伝子群が関与している可能性が高い。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 は, 基本的な生命現象に必要な最低限の遺伝子しか持たない。遺伝子破壊株の作製が容易であることに加え, タンパク質は安定であり機能解析や X 線結晶構造解析に適する。データベース検索を行い, ドメインの存在やゲノム上での位置関係などから, *T. thermophilus* HB8 の機能未知遺伝子 *ttha0265*, *ttha1017*, *ttha1020* がゲノム安定性維持機構に関与している可能性が示唆された。本研究では, これら遺伝子群の *in vivo/in vitro* の機能解析を行う。

【方法・結果】遺伝子破壊株を作製し PCR により遺伝子破壊の有無を確認後, 紫外線 (254 nm, 365 nm), マイトマイシン C, ナリジクス酸, 過酸化水素を用いて DNA 損傷を与え, その感受性を野生株と比較した。その結果, 全ての遺伝子破壊株について 254 nm の紫外線に対して感受性を示した。本結果は, これら遺伝子群が相同組換えもしくはヌクレオチド除去修復に関わることを示唆する。また, TTHA1017 組換えタンパク質について大量発現を行い, 凍結融解と熱処理後, 2 本のカラムクロマトグラフィーを用いて精製した。本精製タンパク質を用いてゲルシフトアッセイを行ったところ, 上記経路の中間体構造であるバブル構造と D-ループ構造に高い結合特異性を示し, ATP 存在下でその親和性が増加した。

A-6 機能発現型メタゲノム法 SIGEX におけるライブラリー構築法の評価と誘導基質の選択

○後藤有乃, 諸野祐樹¹, 藏蘭裕愛, 寺田武志², 若松泰介
(高知大院・農林海洋, ¹JAMSTEC・高知コア, ²マリンワークジャパン)

【目的】海底下微生物が持つ未知遺伝子の機能を配列非依存的に探索するため, 好気/嫌気両条件下で実施可能な基質誘導性遺伝子発現解析 (SIGEX) 法を開発した。しかし, 同定した基質応答 DNA 断片は全て未知配列であり応答機構さえ不明であった。また, 最小で 30 bp の短い断片もあり挿入断片に依存しない基質応答が起きている可能性があった。そこで, 本研究ではライブラリー構築法の評価と挿入断片非依存的な誘導を起こさない基質の選択を行い, その結果を基に陽性クローンの取得を行うこととした。

【方法・結果】脱ハロゲン呼吸の転写アクチベーター *cprK* とその結合部位を含む DNA 断片を挿入したクローン (CprK クローン) と挿入断片を含まない空クローンを作製し, 基質誘導解析を行った。CprK クローンの解析には基質 3-クロロ-4-ヒドロキシフェニル酢酸 (CHA), 空クローンの解析には海底下環境を代表するハロゲン化合物や金属イオンなど計 49 の化合物を使用した。CprK クローンの CHA 未添加時に対する添加時の蛍光強度比は好気条件下で約 5 倍あり, ライブラリー構築法に問題がないことが明らかとなった。一方で嫌気条件下では誘導が見られなかったが, 宿主を大腸菌 MegaX DH10B T1^R から JM109 に変更し CHA と同時に IPTG を添加することで 2 倍程度になった。また, 空クローンで CoCl₂ など 11 種で誘導が見られた。それら以外の基質を用いて上越沖及び下北半島沖の海底下コア試料から作製した 4 ライブラリーの誘導解析を行った結果, CHA や D-Asp などに応答を示した。CHA を基質として FACS を行い, 下北沖海底下 25-30 cm ライブラリーから 4 つの CHA 応答クローンの取得に成功した。

A-7 高バイオマス度クヌギ由来エポキシ硬化樹脂製造
○以西奈央, 浅田元子¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)

【目的】現在、幅広い製品に使用されているエポキシ硬化樹脂の材料は、石油資源由来である。一方、リグノセルロース系バイオマスの構成成分一つであるリグニンは、反応性の高いフェノール性水酸基を持つことからエポキシ硬化樹脂の原料に代替できると期待されている。本研究では、水蒸気爆砕前処理法によってバイオマスのリグニン構造を破壊した後、アセトン抽出で得られたリグニンを硬化剤として、さらにエポキシ化したリグニンをエポキシ樹脂として用いることで、バイオマス含有率の高いエポキシ硬化樹脂の作製を行い、その特性評価をすることを目的とした。

【方法・結果】バイオマス試料としてクヌギを用い、水蒸気爆砕処理(35 atm, 5 min)によって脱リグニン前処理をし、アセトン可溶リグニンを回収した。得られたアセトン可溶リグニンを原料としてエポキシ化を行った。また、アセトン可溶リグニンを硬化剤として、リグニンエポキシ樹脂または市販のエポキシ樹脂(EP828)をエポキシ樹脂として組み合わせ、硬化成型を行い、エポキシ樹脂硬化物を作製した。得られた硬化物に対して、熱的特性(TG-DTA)および機械的特性(万能試験機)を用いて特性評価を行い、クヌギリグニンの硬化剤およびエポキシ樹脂としての有用性を検討した。作製したバイオマス含有量91.3%の高バイオマス含有エポキシ硬化樹脂は、機械的特性および熱的特性において、石油資源由来の硬化物に比べると低い結果となったが、熱的特性に関しては電子機器基盤材料として要求されるハンダ耐熱を満たし、機械的特性においてもある程度の強度をもつことが明らかとなった。

A-8 バイオマスの効率的糖化のための耐熱性セルラーゼ組合せ検討
○樫谷侑太郎, 浅田元子¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)

【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燃料(バイオエタノール)が注目されている。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る。糖化過程では、セルロースをグルコースに糖化するためにセルラーゼが用いられるが様々な理由により高価である。そこで好熱細菌由来の耐熱性セルラーゼを大腸菌で発現させ、熱処理による酵素精製を行うことによって、酵素作製のコストダウンや酵素生産・生成の効率化を行うことを目的とした。また、高温で糖化反応を行うことができるためコンタミネーションの防止や雑菌繁殖の抑制、糖化反応速度が速いといったメリットもある。セルラーゼによるバイオマスの糖化では、基本的に β -グルコシターゼ(BGL), エンドグルカナナーゼ(EG), セロビオハイドロラーゼ(CBH)の3種類必要である。しかし、本研究室保有の好熱細菌 *Pyrococcus horicossii* OT3 由来 Ph1171 には EG と BGL 両方の活性が見られたため、*Caldicellulosiruptor saccharolyticus* ATCC43494 由来 CBH I と組み合わせることでセルロースの糖化に利用可能であるか検討した。

【方法・結果】蛋白質発現用大腸菌 BL21 株によって EG, CBH I を発現させ、それぞれ 90℃, 80℃ 15 分熱処理を行い遠心分離することで精製した。非結晶セルロースとしてベンコット(旭化成)を基質として糖化を行い、最適温度及び EG と CBH I の最適な添加比率を検討した。

A-9 ソルターゼを用いた VHH 抗体の好熱菌細胞表面提示
○小野達哉, 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】VHH 抗体は小型かつ安定で、微生物を宿主とした生産もできることから、抗体事業において注目されている。VHH 抗体のスクリーニングは、ファージ表面提示などを用いて構築したライブラリに対して行うが、それにより同定された VHH 抗体が生産宿主で生産されないといった事態がしばしば起こる。この課題は、スクリーニング宿主と生産宿主の統一により解決できる。そこで本研究では、タンパク質生産能に優れた好熱菌 K1041 株の細胞表面に VHH 抗体を提示させる技術の開発に取り組んだ。

【方法・結果】まず K1041 株で VHH 抗体が生産できるか検討した。ソルターゼ依存型表面結合タンパク質 (P85) の分泌シグナルと抗 GFP-VHH 抗体を連結し、K1041 株で生産させた。検出可能な規模で分泌生産され、生産された VHH 抗体に GFP 結合能があることも確認できた。つづいて表面結合タンパク質 (P85 と P24) のアンカー領域を、抗 GFP-VHH 抗体に連結して K1041 株で生産させた。細胞毒性が見られたアンカー領域については、部分的に削るか、もしくはプロモーター強度を下げることで対応した。一部の生産系では、融合型の抗 GFP-VHH 抗体の分泌生産が確認できた。別途生産した GFP と細胞を混合し、フローサイトメトリーで GFP の細胞表面結合を調べたところ、わずかではあるが結合が見られた。ただし本結果は試行によって変動し、再現性は低かった。いずれにしても表面提示効率が悪いように思われる。今後は、別途生産したソルターゼと細胞を混合させることで提示効率の向上を検討する予定である。

A-10 亜臨界水処理を施したコンブのグルコシルトランスフェラーゼ阻害物質の探索
○畑中唯史, 楊 靈麗, 逸見健司, 木下 颯¹, 阿座上弘行^{1,2}, 熊谷祐也³
(岡山県生物研,¹山口大院・創成科学,²山口大・中高温微研セ,
³北大院・水産)

【背景・目的】虫歯は、虫歯菌がバイオフィーム (=不溶性グルカン) を形成し、菌に付着した後、糖類を代謝し乳酸を作り、口腔環境が酸性化することによって、歯のエナメル質の脱灰が起こり、う蝕が始まる。バイオフィームは、虫歯菌のグルコシルトランスフェラーゼ (Gtf) によって形成される。本課題では、不溶性グルカン合成酵素活性の簡易定量法を用いて、コンブを原料に亜臨界水処理を行い、Gtf 阻害活性を評価し、亜臨界水処理コンブに含まれる Gtf 活性阻害物質の濃縮・同定を目的とする。

【方法】*Streptococcus salivarius* ATCC25975 由来 Gtf を BL21(DE3)大腸菌に形質転換し、リコンビナントを発現させた。菌体を超音波破碎した後、遠心上清を透析し、これを粗酵素液とした。プレートリーダーを用いて、シュクロースを基質とした酵素反応液の濁度 (OD600 nm) の経時変化を追跡し、吸光度変化の総面積 (AUC) を算出することにより、不溶性グルカン合成活性を定量した。

【結果】コンブを亜臨界水処理 (130°C, 3 MPa) することによって、Gtf 活性を阻害することを見出した。透析および遠心式限外ろ過フィルターにより、分画を試みた結果、阻害活性は、分子量 3.5 kDa~50 kDa の範囲に濃縮されることを明らかにした。また亜臨界水処理コンブは、*S. mutans* MT8148 株生菌によるバイオフィーム形成を阻害した。

【謝辞】本研究は、公益財団法人・八雲環境科学振興財団および公益財団法人・両備てい園記念財団の支援を受けて行った。

B－1 脱硫酸化による酵素的なフコイダン低分子化の促進
○堀井悠暉, 藤田太洋, 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】コンブなどの褐藻類に含まれる硫酸化多糖類フコイダンは、様々な生理活性を示すため、医薬や健康食品の分野での利用を注目されている。しかし、高分子量で不規則・不均一な構造を持つフコイダンは、構造活性相関が不明であることから、酵素的な低分子化が期待されている。当研究室ではオキナワモズクフコイダン資化性菌として *Luteolibacter algae* H18 および *Flavobacterium* sp. SW を単離しており、SW 株から、既知フコイダン低分子化酵素のホモログとしてガゴメコンブフコイダン低分子化酵素 Swfcn2 を見出している。そして swfcn2 の周辺遺伝子の検索により、Swsu4 がガゴメコンブフコイダンの脱硫酸化を触媒することを明らかにした。その一方、H18 株をアカモクフコイダンを単一炭素源として培養して得られた無細胞抽出液からアカモクフコイダン脱硫酸化酵素 Sut3 を精製し、Sut3 がガゴメコンブフコイダンにも作用することを見出すとともに、Swfcn2 の低分子化を促進することを明らかにしている。本研究では、Swsu4、Sut3 による脱硫酸化が Swfcn2 の低分子化に与える影響について評価した。

【方法・結果】Swsu4、Sut3 を同時にガゴメコンブフコイダンへ添加した際の遊離硫酸基量は、それぞれを単独添加した場合の合計より多くなったことから、両酵素による相乗的な作用が示唆された。さらに、Swfcn2 によるガゴメコンブフコイダンの低分子化は、Swsu4 によっても促進され、両酵素を同時添加した場合、さらに低分子化が進んだ。これらの結果から、2 つの酵素による脱硫酸化が Swfcn2 の低分子化活性を高めることが明らかになった。

B－2 オキナワモズクフコイダンを基質とする 2 種の脱硫酸化酵素
堀井悠暉, 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】フコイダンは褐藻に特徴的なヘテロ硫酸化多糖であり、様々な生理活性を示す。当研究室では、海洋環境からオキナワモズクフコイダン資化性菌を単離し、それら菌株からフコイダンを低分子化する酵素および、アセチル基あるいは硫酸基を遊離する酵素を見出し、特性を明らかにしている。その中で *Luteolibacter algae* H18 由来の Fsut107 はオキナワモズクフコイダんに、*Flavobacterium* sp. SW 由来の Swsu1 はオキナワモズクおよびオオウキモフコイダンに対して活性を示す脱硫酸化酵素である。今回、これら 2 つの脱硫酸化酵素をオキナワモズクフコイダんに作用させた際の分解パターンについて発表する。

【方法・結果】Fsut107 と Swsu1 を単独あるいは両方を 2% オキナワモズクフコイダンに作用させたところ、それぞれ 0.3, 0.8, 1.2 mg/ml の硫酸基の遊離がバリウム沈殿法によって確認できた。このことから、2 つの酵素によって切断される硫酸エステルの位置は異なることが示唆された。H18 株の無細胞抽出液 (CFE) を用いるとオキナワモズクフコイダンの低分子化は進行し、HPLC 分析で分子量 10 万以上の高分子化合物は検出できなくなる。次に、CFE の代わりに H18 株由来の低分子化酵素 Fct114 と脱アセチル化酵素 Fud1-s を添加すると低分子化が確認され、そこに Fsut107 を加えると、さらに反応は進行するものの、高分子量化合物は残存していた。しかし、Fsut107 の代わりに Swsu1 を添加した場合、CFE を用いた場合とほぼ同じ分解パターンを示した。以上の結果、Swsu1 はオキナワモズクフコイダンの低分子化に重要な役割を果たしていると考えられた。

B－3 ドメイン切除による ExoChi の可溶性発現と酵素活性の解析
○津知暉人, 有馬二郎¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農)

【背景】キチナーゼ高生産菌として単離された *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 株は, ゲノム上に 8 種類のキチナーゼ遺伝子を保持している。それらのうち GH family 18 に分類される Exo Chitinase (ExoChi, 約 59 kDa) は, N 末側に Carbohydrate-binding module family 4(CBM4)と fibronectin type-III 領域(Fn)を持つ。本研究ではこの ExoChi に焦点を当て, ドメイン構造と性質との関連の解明を目的として大腸菌発現系の構築と機能解析を行った。

【方法・結果】分泌シグナルを除いた ExoChi 遺伝子を pET-28a ベクターに挿入し, *E. coli* Rosetta (DE3) に導入した。25℃で 2 日間培養後の無細胞抽出液からはキチンオリゴ糖分解活性が観察されたが, SDS-PAGE では特異的なバンドが見られず, ウェスタンブロッティングから約 38 kDa のバンドを確認した。N 末端に付加した His-tag による精製が不可能であったことから, N 末端領域が切断され, CBM4 および Fn が欠失した状態で発現していると考えられた。一方で, 破碎沈殿画分からは 59 kDa の特異的なバンドとキチンオリゴ糖分解活性が確認された。従って, 不溶性の ExoChi は触媒ドメインの構造が維持されていることが考えられた。そこで CBM4 および Fn を欠損させた変異酵素を構築した結果, 大量の可溶性タンパク質が得られ, 精製も容易となった。性質検討を行った結果, pH 6.0 で最適 pH を示し, pH 5.0~9.0 の範囲で活性を保持した。また, 50℃まで熱安定性を有していた。

B－4 超好熱アーキア由来アミノ酸ラセマーゼクラスター遺伝子群の大腸菌での発現
○宅見奈央, 宮地高輝, 川上竜巳¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)

Pyrococcus horikoshii は D-アミノ酸を資化して増殖できる超好熱アーキアである。本菌ゲノム中には, アミノ酸トランスポーターと推定される膜タンパク質 (PH0137 遺伝子), 低基質特異性アミノ酸ラセマーゼ (BAR, PH0138), 転写因子 (PH0140) からなる遺伝子クラスター (BAR クラスター) が存在しており, D-アミノ酸培養によって PH0137 と PH0138 遺伝子が連動して高発現することや, 転写因子がその遺伝子発現制御に関与していることを明らかにしている。これまでに, BAR と転写因子を組換えタンパク質として大腸菌で発現させ, その機能解析や構造解析を行ってきた。残るアミノ酸トランスポーターの機能と構造も明らかにするため, 大腸菌での組換え発現を目指していくつかのタンパク質高発現系を構築したが, 大腸菌での発現は全く認められなかった。

ところが, BAR クラスター全体 (約 3.4 kbp) を pUC18 に連結した pUC/BAR ベクターを用いて形質転換した大腸菌から, IPTG による誘導を行わなくても BAR 活性が検出されることを見出した。このことは大腸菌が BAR クラスターの遺伝子発現システムを認識して BAR を発現させたことを示している。さらにこのことは, タンパク質高発現ベクターでは発現しなかったトランスポーター遺伝子が発現していることも示唆している。今回の報告では, pUC/BAR ベクターを用いた BAR クラスター遺伝子群解析の基盤を構築するため, pUC/BAR の BAR 遺伝子に His タグ配列を導入し, BAR を His タグカラムで精製できるかどうかを検証した。

B－5 超好熱アーキア由来プロリン脱水素酵素複合体の精製とプロリン合成活性の解析
○宮地高輝, 宅見奈央, 川上竜巳¹
(徳島大院・創成科学, ¹徳島大・生物資源)

我々は超好熱アーキアにおける L-プロリン生合成経路に関する研究を行っている。この経路の最終反応は NADH 依存性ピロリン-5-カルボン酸レダクターゼ (P5CR)によって行われる。真核生物や細菌の P5CR の解析はいくつか行われているが、我々の研究対象である *Thermococcus* 属や *Pyrococcus* 属の超好熱アーキアにこの酵素を持つものは少なく、別の酵素が同反応を担っていることが示唆された。一方でこれらの超好熱アーキアに、NADH 脱水素酵素 (α), L-プロリン脱水素酵素 (PDH, β), 2 種の電子伝達タンパク質 (γ , δ)からなる, $\alpha\beta\gamma\delta$ 構造の PDH 複合体を見出しており, *T. profundus* の酵素を用いた解析により、嫌気環境下で NADH の酸化に伴って L-プロリンを生成する活性を示した。このことは、全く新規な構造を有する P5CR が超好熱アーキアに存在していることを示唆している。本研究では, *T. profundus* の近縁種である *T. peptonophilus* 及び *P. horikoshii* の PDH 複合体を大腸菌で組換え発現させ、それらの酵素も L-プロリン合成活性を示すかどうかを検討した。

発現ベクターを大腸菌 NiCo21 (DE3)株に導入し、複合体酵素として発現させた。粗酵素液を熱処理し、ヒスタグカラムとキチンカラムにかけたあと、透析して精製標品を得た。事前に調製した P5C 溶液と NADH, 各 PDH 複合体を嫌気的環境下で混合して 50℃, 1 時間反応させた。P5CR 活性による NADH 減少量は 340 nm の吸光度測定、生成した L-プロリンは NBDF 誘導体化して検出した。発表では、3 種類の PDH 複合体の解析結果について報告する。

B－6 *Paradevosia* 属細菌のグルコース脱水素酵素とグルコン酸脱水素酵素の精製と性状
○笹野雅嵩, Ganta Phongsakorn¹, Nawarat Nantapong¹, 松谷峰之介²,
片岡尚也, 松下一信, 薬師寿治 (山口大院・創成科学, ¹スラナリー工大・理,
²東農大・生物産業)

【目的】グルコースを酸化する酵素は、その 1 位炭素を酸化するものがよく知られているが、6 位炭素を酸化するグルコース脱水素酵素 (G6DH) も報告されている。その中で、ピロロキノリンキノン (PQQ) を補欠分子族とする G6DH に興味を持ち、既報のグルコース脱水素酵素との比較解析を進めようとしている。グラム陰性細菌 *Paradevosia tibetensis* はゲノム上に PQQ 依存型 G6DH とグルコン酸脱水素酵素 (GADH) のホモログ遺伝子を持つ。本研究は、その精製と性状解析を試みた。

【結果】先行研究で使用された培地を参考に *P. tibetensis* を培養し、酵素活性を測定した (1)。DEAE-Toyopearl, Phenyl-Toyopearl, ゲルろ過カラムを用い両酵素の精製を試みた。最終的に G6DH と考えられる活性画分 2 つ, GADH と考えられる活性画分 2 つを回収した。ゲルろ過の画分を SDS-PAGE にて解析したところ、G6DH は活性とタンパク質バンドの溶出パターンに関連を確認できなかった。一方、GADH は活性に結びつくようなタンパク質バンドが見られた。GADH サンプルはやや赤みがあり、ヘム染色で約 20 kDa のバンドが染色された。吸収スペクトルを確認したところ、典型的なチトクロム *c* で、部分的に還元型だった。グルコン酸だけでなくグルコースでも還元された。現在、G6DH 精製法の検討を進めている。

参考文献 1 : Ito et al., *Biosci Biotechnol Biochem.* 86: 56-67 (2021)

B-7 *Klebsiella oxytoca* 由来組換えリビトールデヒドロゲナーゼ(RDH)での希少糖生産に向けて

○松本真侑, 吉田裕美^{1,2}, 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】希少糖は自然界に微量または存在しない単糖やその誘導体であり, それらが有する血糖値上昇抑制作用などの生理機能が注目されている。しかし, 効率的な生産方法が確立されておらず, 高価なものも多い。リブロースやアリトールもその例である。これらの生産に関与する酵素として, NAD⁺依存型リビトールデヒドロゲナーゼ (RDH) は, NAD⁺/NADH の存在下でリビトールとリブロース間の酸化還元反応を触媒する。これまでの研究で *Klebsiella oxytoca* 由来 RDH の酸化・還元反応における性質を明らかにし, 本酵素がリビトールや D-アルロースに活性を示すことを確認した。これにより, 本酵素でのリブロースやアリトールの生産の可能性が示唆された。そこで本研究では, *K. oxytoca* 由来 RDH を用いた希少糖生産を検討した。

【方法・結果】この研究では, *K. oxytoca* 由来 RDH の精製酵素を使用した酸化還元反応による希少糖生産を行った。大腸菌 BL21 (DE3) で *K. oxytoca* 由来組換え RDH を過剰発現させ, HisTrap HP カラムにより精製した。得られた精製酵素を用いて, D-アルロースを基質に NAD⁺を補酵素とした酸化反応, およびリビトールを基質に補酵素に NADH を用いた還元反応を実施した。反応後, HPLC 分析により生産物の確認を行った。その結果, それぞれアリトールおよびリブロースの生産を確認することができた。現在, 補酵素の再生を目的とした NADH オキシダーゼやギ酸デヒドロゲナーゼを用いるカップリング反応の構築を進めており, 今後は補酵素循環を通じた反応効率・収率の向上を目指す。

B-8 *Cryobacterium* sp.由来組換えトランスケトラーゼを用いた D-グリセロ-L-グルコ-オクツロースの生産

○北畠郁哉, 綿貫花菜, 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】本研究グループでは, トランスケトラーゼを用いて, アルドヘキソースから様々な八炭糖の生産を進めている。先行研究にて *Cryobacterium* sp.由来組換えトランスケトラーゼは, アクセプター基質として 16 種類中 8 種類のアルドヘキソースと反応し, そのうちドナー基質にヒドロキシピルビン酸リチウム (Li-HPA) を用いたときの D-アロースとの反応産物が八炭糖である D-グリセロ-D-アルトロ-オクツロースであることを報告した。本研究では, 残る 7 種類のうち, アクセプター基質に D-ガラクトースと D-グルコースを用いたときに生産される希少八炭糖の同定とその生産性の検証を目的とした。

【方法・結果】*Cryobacterium* sp.由来トランスケトラーゼを高発現する組換え大腸菌を SB 培地にて 37℃ で 6 時間培養し, その後終濃度 1.0 mM となるように IPTG を加え, 20℃ で 16 時間酵素の発現誘導を行った。得られた菌体を集菌, 洗浄, 破碎して調製した粗酵素液を HisTrap HP カラムを用いて精製し, 精製酵素とした。得られた精製酵素を反応触媒に, ドナー基質に Li-HPA, アクセプター基質に D-ガラクトースと D-グルコースを用いて, それぞれ 35℃ で 24 時間酵素の反応を行い, 八炭糖生産を試みた。その後, 反応液を HPLC にて分析した結果, 保持時間 18.2 分と 25.6 分に生産物と思われるピークがそれぞれ確認された。この生産物を Carbosep 87C カラム, GL-P2611 カラムにて分離, 精製し得られた生産物について LC/MS 分析, NMR 分析を行った結果, D-ガラクトースから D-グリセロ-L-グルコ-オクツロース, D-グルコースから D-グリセロ-L-ガラクト-オクツロースが生産されていることが示唆された。

B-9 リンゴ酸-キノン酸化還元酵素における膜結合部位の解析
○中村愛紀¹, 伊藤 剛¹, 渡邊誠也^{1,2},
(¹愛媛大・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ)

【目的】 リンゴ酸-キノン酸化還元酵素(MQO)は、一部の病原性細菌やマラリア原虫などの原生生物に分布する膜タンパク質である。本酵素は、リンゴ酸の酸化とキノンの還元を触媒する TCA 回路と電子伝達系の構成因子であり、細胞のエネルギー代謝に寄与する。これまでの研究により、リンゴ酸の酸化反応機構については一定の知見が得られたが、キノンの還元反応機構については未だ知見が限られたままである。本研究では、疎水性分子キノンの結合部位に関するヒントを得るべく、MQO の膜結合領域の解析を行った。

【方法・結果】 まず、AlphaFold2 にて構築したマラリア原虫 MQO (PfMQO) のモデル構造と、機能的・構造的に相同な可溶性あるいは膜結合性タンパク質の立体構造を詳細に比較した。その結果、膜結合型に特異なヘリックス構造を膜結合候補領域として見出すことができた(I371-W381, L385-K396, M398-E411)。そこで、本領域が欠損した変異 PfMQO を発現する大腸菌を作製し、その細胞内局在を調べた。プラスミドの構築には pCold3 ベクターを用いた。また、検出用タグとして PfMQO の C 末端側に Flag 配列を付加した。細胞分画により得られた細胞抽出物(CE), 可溶性画分(S), 膜画分(M)を SDS-PAGE と Western-blot に供し、PfMQO を分離・検出した。その結果、膜画分に局在した野生型 PfMQO とは対照的に、変異 PfMQO は可溶性画分に局在した。本結果は上述のヘリックス構造が膜結合に寄与していることを強く示唆するものである。

B-10 新規 L-Threonate 3-dehydrogenase のアポおよび補酵素複合体構造の決定
○里陽美花¹, 渡辺誠也^{1,2}
(¹愛媛大・農, ²愛媛大・沿岸環境科研セ)

【目的】 L-Threonate 3-dehydrogenase (Ltn3D) は、L-スレオン酸の 3 位の水酸基を NAD(P)⁺依存的に酸化する新規酵素である。L-スレオン酸はビタミン C の分解によって生じるが、遺伝子クラスターと基質特異性の解析から、3-オキソ酸中間体を介した D-グルコン酸など他の糖酸の新しい代謝経路にも関わっていると考えられている。Ltn3D は Short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) タンパク質ファミリーに属しているが、機能既知の酵素で 40%以上の相同性を示すものではなく、さらに補酵素として NAD⁺と NADP⁺の両方を利用できる例はめずらしい。そこで本研究では、Ltn3D の触媒機構を明らかにするために、アポ構造および補酵素複合体構造を決定することにした。

【方法・結果】 パラコッカス属細菌由来の組み換え Ltn3D の結晶は、SPRING-8 BL45XU で X 線回折データを収集し、1.9 Å 分解能のアポ構造の決定に成功した。三次構造は補酵素と基質の結合ドメインの 2 つに分かれており、全体の折りたたみは他の SDR 酵素と類似していた。アポ結晶を NADP⁺を含む結晶化溶液にソーキングしたところ、補酵素結合ドメインのロスマンフォールドモチーフ内に明瞭なオミットマップが得られた。NADP⁺の 3' -リン酸基は Arg33 と Arg34 の隣り合った塩基性側鎖により認識されていた。このような NADP⁺の結合様式は SDR 酵素でも数例知られているのみであり、さらに Ltn3D は NAD⁺も利用することができる。発表では、これらのアルギニン残基の変異実験の結果も報告する。

C-1 *Fusarium* 属糸状菌における菌体外リパーゼ遺伝子過剰発現株の脂質生産性評価
○池田汐里, 茨木暢大, 柴田優芽, 江郷花音¹, 阪本鷹行¹, 櫻谷英治¹
(徳島大院・創成科学,¹徳島大・生物資源)

【目的】 水酸化脂肪酸(HFA)は炭素骨格に1つ以上の水酸基を有する脂肪酸であり、医薬品やポリマーなどの原料として幅広い分野で注目されている。しかし、HFAは総じて細胞毒性が高く、微生物による発酵生産は困難である。一方、本研究室ではこれまでに糸状菌 *Fusarium* sp. D2 株において HFA である 10(OH)-18:0 (HYB) や 10(OH)c12-18:1 (HYA) の生産能を見出した。また、本菌株は総脂肪酸の 40% に相当する HYB を蓄積する高い HFA 耐性を有しており、HFA 発酵生産育種株として期待される。しかし、本菌株の HFA 生産に関わる脂肪酸水和酵素は遊離脂肪酸を基質とするため、トリアシルグリセロールなどの貯蔵脂質を利用した HFA 生産効率性は低かった。したがって、貯蔵脂質を利用した D2 株の HFA 高生産には基質脂肪酸の遊離化が必要である。そこで本研究では、D2 株の組換え育種によって菌体外リパーゼ遺伝子を過剰発現することで、植物油を原料とした遊離脂肪酸および HFA の *in vivo* 生産を試みた。

【方法・結果】 *Fusarium* sp. D2 株のゲノム DNA より菌体外リパーゼ遺伝子 *FvLIP1* をクローニングし、プロトプラスト-PEG 法を用いて過剰発現株を構築した。得られた形質転換体 FLOE 株について、培養後の菌体内および菌体外総脂質をガスクロマトグラフィー分析に供した。キャノーラ油含有培地で培養した結果、親株である D2 株と比較して菌体内遊離脂肪酸割合の増加が確認された。さらに、FLOE 株では、添加した植物油が菌体外リパーゼによって遊離脂肪酸となり、それらが菌体内に取り込まれ効率的に HFA に変換されることも確認された。

C-2 藍染液におけるインジゴ還元活性に及ぼすリグニンの効果
○佐藤 萌, 大畑陽花, 中川香澄¹, 竹内道樹², 阪本鷹行³, 櫻谷英治³
(徳島大院・創成科学,¹岐阜大・応用生物,²京工繊大・分子化学,
³徳島大・生物資源)

【目的】 藍染における色素はタデアイ由来の非水溶性のインジゴであり、染液中の好アルカリ嫌気性細菌により水溶性のロイコ体へと還元されることで染色効果を発揮する。タデアイの堆肥化で作られる「すくも」にはインジゴだけでなく低分子化したリグニンも含まれると予想される。非水溶性のインジゴが藍染液中でインジゴ還元菌により還元されるメカニズムは未解明である。我々は藍染液中におけるインジゴとリグニンの相互作用に注目し、インジゴ還元に及ぼすリグニンの効果について検討した。

【方法・結果】 供試菌として、藍染液由来の好アルカリインジゴ還元菌 *Alkalibacterium* sp. B3F-M6 株を用いた。市販の染料を用いて藍染液を建て、アセトンと硫酸を用いて藍染液由来リグニン(IDS-EX)を抽出した。IDS-EX および 3 種の市販リグニンを含む培地に B3F-M6 株を植菌し、嫌気培養した後、染色試験、再酸化インジゴ粒子径測定、およびサイクリックボルタンメトリー(CV)によるロイコインジゴ量測定に供した。これらの結果、IDS-EX および L0098 リグニンを 0.03% 添加することでインジゴ粒子サイズの低下が確認され、それに伴って染色力の向上およびロイコインジゴ量の増加が示された。これらのことから、酸可溶性の低分子リグニンがインジゴの再凝集を防ぎ、還元活性を促進することが示唆された。この結果は、インジゴ還元反応にタデアイ由来の植物成分が関与することを裏付けた。今後は、藍染液中の酸可溶性リグニン分解物に注目し、インジゴ還元活性向上効果を示す化合物の探索とそのメカニズムの解明が求められる。

C-3 酵母発現系を用いた根粒菌エフェクターBel2-5の機能解析
○小島 海, 中山英里, 平田篤史, 岡崎 伸¹, 田中直孝², 田淵光昭²
(香川大院・農,¹農工大・農,²香川大・農)

【目的】根粒菌はマメ科植物と共生し、植物の根に根粒と呼ばれるこぶ状の構造を形成して窒素固定を行う。近年、共生促進メカニズムが注目されており、その一因子として Bel2-5 が知られている。Bel2-5 は C 末端に ULP ドメインを持ち、脱 SUMO 化酵素と高い相同性を持つことから、本研究では Bel2-5 の ULP ドメインが脱 SUMO 化活性を有するかどうかを明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】Bel2-5 の ULP ドメインを酵母発現系により過剰発現させたところ、酵母内在性の脱 SUMO 化酵素 Ulp1 の ULP ドメインと同様に増殖阻害が引き起こされた。さらに、Bel2-5 の ULP ドメインの推定活性部位を変異させた変異体を過剰発現させると増殖阻害から回復したことから、Bel2-5 の ULP ドメインは脱 SUMO 化活性を持つことが示唆された。しかし、大腸菌で発現させた Ulp1 の ULP ドメインでは脱 SUMO 化が確認できたが、大腸菌で発現させた Bel2-5 の ULP ドメインでは確認できなかった。次に、脱 SUMO 化活性には酵母内在性の因子が重要だと考え、酵母遺伝子ライブラリーを使い、Bel2-5 の ULP ドメインと相互作用する酵母内因子を Yeast Two-Hybrid 法を用いて探索した。その結果、ユビキチン関連遺伝子と酵母 SUMO である Smt3 が取得された。しかし、大腸菌で発現させた Bel2-5 の ULP ドメインと GST-Ubiquitin または GST-Smt3 を用いて、GST-pull down を行ったが、相互作用は確認できなかった。これらの結果から Bel2-5 は酵母内で何らかの因子により脱 SUMO 化活性を獲得していることが示唆された。

C-4 スフィンゴ脂質代謝制御に関わる転写因子 Com2 の下流因子の探索
○正木美緒, 松本康生, 田中直孝¹, 田淵光昭¹
(香川大院・農,¹香川大・農)

【目的】出芽酵母において、細胞膜を構成する脂質の 1 種であるスフィンゴ脂質の代謝制御機構として TORC2-Ypk1 シグナル経路が知られている。我々は、スフィンゴ脂質代謝制御に関わる新たな制御因子として Com2 を取得した。YPK1 とスフィンゴ脂質合成初発酵素である SPT の構成因子である LCB1 のプロモーター領域には Com2 binding site (CBS 配列) が存在する。com2Δ 株と YPK1, LCB1 の CBS を同時欠損させた株では、スフィンゴ脂質合成阻害剤である Myriocin に対する増殖阻害に差が生じた。そのため、Com2 過剰発現時と抑制時の遺伝子発現を RNA-seq により解析をした。本研究では、RNA-seq データをもとにスフィンゴ脂質代謝制御に関わる転写因子 COM2 の下流因子を探索することを目的とした。

【方法・結果】新たな Com2 の下流因子を探索するために Com2 過剰発現時と抑制時の遺伝子を RNA-seq 解析した。その結果、Com2 の発現量依存的に約 500 個の遺伝子に変動が見られ、そのうちプロモーター領域における CBS の有無やデータベース等の情報をもとに約 100 個の候補遺伝子を選抜した。候補遺伝子がスフィンゴ脂質代謝との関係を調べるために、遺伝子破壊株ライブラリーを用いて候補遺伝子欠損株の表現型確認を行い、欠損により Myriocin 感受性を示す遺伝子として DUN1, PTC4, UBP13 の 3 遺伝子を選抜した。選抜した遺伝子の中で PTC4 は欠損時特に Myriocin 感受性を示し、過剰発現時に耐性を示した PTC4 に焦点を当てて研究を進めている。

C-5 細胞膜マイクロドメインを介した PI(4,5)P₂ レベルの制御機構に関する研究
○何葉陽光, 坂本孝義¹, 吉澤昂志郎, 坂田健太郎, 田中直孝¹, 田淵光昭¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)

【目的】エイソソームは酵母細胞膜上に存在する膜陥入型のマイクロドメインであり、膜ストレス応答への関与が示唆されている。我々は、エイソソーム構造を欠損した *pill Δ 6-tsp Δ* 株が SDS に高感受性を示し、その原因が TORC2-Ypk1 経路の過剰活性化であることを明らかにした (Sakata et al., Mol Microbiol, 2022)。本研究では、この SDS 感受性を抑圧する変異として、PI(4,5)P₂ 合成酵素 *MSS4* の変異を同定し、エイソソームを介した TORC2-Ypk1 経路と PI(4,5)P₂ 合成の制御機構の解明を目的として研究を行った。

【方法・結果】先行研究で得られた *pill Δ 6-tsp Δ* 株の SDS 感受性抑圧変異株 (*sde1~8*) の原因遺伝子の多くは、TORC2-Ypk1 経路構成因子をコードする遺伝子であり、これら以外に *MSS4* やエンドサイトーシス関連遺伝子 *RVS161/167* も含まれていた。mCherry-PLC δ PH を用いた PI(4,5)P₂ の局在解析では、*pill Δ 6-tsp Δ* 株で細胞膜に加え膜近傍のドットに蓄積が観察されたが、TORC2 変異株ではドットが見られず、野生型と同様に膜に均一に局在した。これにより、PI(4,5)P₂ 合成制御が TORC2-Ypk1 シグナルに依存することが示唆された。そこで、TORC2-Ypk1 シグナルにより *Mss4* 機能がどのように制御されているのかを明らかにするための、*Mss4* の安定性を CHX 処理で解析したところ、*pill Δ 6-tsp Δ* 株と野生型に有意差はなかった。一方、*Mss4*-6xGFP による局在解析では、*pill Δ 6-tsp Δ* 株で *Mss4* と PI(4,5)P₂ が膜近傍のドットに共局在していた。これらの結果から、*Mss4* の局在異常が PI(4,5)P₂ の異常蓄積の原因であり、TORC2-Ypk1 シグナルは *Mss4* の局在を介して PI(4,5)P₂ 合成を制御する可能性が示された。

C-6 分裂酵母の ERGIC 様コンパートメントに存在するタンパク質の探索
○上田樹怜, 神谷勇輝, 浅野里奈, 田淵光昭¹, 田中直孝¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)

【目的】真核生物における糖タンパク質の輸送過程では、小胞体とゴルジ体の間に小胞体-ゴルジ体中間区画 (ER-Golgi intermediate compartment: ERGIC) が存在する。ヒトでは ERGIC に局在するレクチンとして ERGIC-53 が知られており、分裂酵母においても ERGIC-53 のホモログである *Emp43* の局在解析が行われ ERGIC 様のコンパートメントが存在することが明らかとなった。ERGIC の存在意義や機能については不明瞭な点が多く、培養細胞よりも取り扱いが容易な分裂酵母において ERGIC 様コンパートメントの存在が明らかになったことから、ERGIC 様コンパートメントを構成するタンパク質の探索を行い、ERGIC の形成や維持、輸送に関わるタンパク質を解析することを目標とした。

【方法・結果】分裂酵母の ERGIC 様コンパートメントに局在するタンパク質はゴルジ体と似たドット状の局在を示す。そのため、ゴルジ体に局在するタンパク質を小胞体に回収させる BFA 処理を行ったうえで、候補タンパク質の局在を確認した。その結果、*Erp2* がドット状に局在し、BFA 処理後も局在に変化が見られなかったことから、ERGIC 様コンパートメントに存在すると考えられた。さらに、*emp43* 欠損株は MgCl₂ に対して感受性であることから、*erp2* 欠損株を作製し、MgCl₂ 含有培地での感受性試験を行ったところ、*emp43* 欠損株と同様に感受性を示した。カルコフロールホワイトによる細胞壁染色を行ったところ、*erp2* 欠損株にセプタム断裂などの異常が見られ、*Emp43* と同様に ERGIC 様コンパートメントの機能に関与する可能性が示唆された。

C-7 出芽酵母液胞アミノ酸トランスポーターAvt1 の N 末端親水性領域を介した制御
○大西香奈恵, 岡崎真士, 御供 遥¹, 佐藤明香音¹, 河田美幸^{1,2,3}, 関藤孝之^{1,2}
(愛媛大・農,¹愛媛大院・農,²愛媛大・プロテオセ,³愛媛大・学術支援セ)

出芽酵母の液胞膜に存在する Avt1 は, 中性アミノ酸およびヒスチジンを液胞内へ取り込むアミノ酸トランスポーターである。Avt1 は窒素飢餓条件下で GATA 転写因子に依存した転写誘導により細胞内レベルが増加する。しかし, この Avt1 の増加は液胞内へのアミノ酸取り込みを増加させるため, サイトゾルのアミノ酸枯渇をさらに悪化させることになる。我々は Avt1 が窒素飢餓条件でリン酸化されることを見出し, リン酸化により Avt1 の輸送活性が負に制御されているとの仮説を立てた。Avt1 の N 末端親水性領域には約 200 アミノ酸残基の親水性領域が存在する。この領域中で報告されたリン酸化 Ser/Thr 残基のうち, T46, S50, S77 を Ala に置換した変異型 Avt1 は, ウェスタンブロット解析ではリン酸化状態に大きな変化は見られなかったが, 窒素飢餓条件で細胞内レベルがわずかに減少した。Avt1 は N 末端から 77 アミノ酸残基を欠損するとアミノ酸輸送活性が亢進することが示唆されている。本研究では欠損した領域中の α ヘリックスのみを欠損した変異型 Avt1 (Δ helix-Avt1) 発現株の生育低下を検出し, 液胞内へのアミノ酸取り込みの増加を示唆する結果を得た。 Δ helix-Avt1 は細胞内レベルが野生型 Avt1 に比べ明らかに低かったが, 液胞内プロテアーゼ Pep4 の欠損株で部分的に細胞内レベルが回復したことから, 液胞内で分解されている可能性が示された。以上の結果は Avt1 のリン酸化, 輸送活性制御と分解が相互に作用して細胞内 Avt1 レベルが制御される可能性を示している。

C-8 排出系液胞アミノ酸トランスポーターAvt4 による TORC1 の活性抑制について
○勝野井渉真¹, 寺下晴夏¹, 山本悠介¹, 佐藤有美香¹, 石本晶也¹, 國米春香², 野澤 彰³, 小迫英尊⁴, 澤崎達也³, 関藤孝之^{1,3}, 河田美幸^{1,3,5} (¹愛媛大院・農,²愛媛大・農,³愛媛大・プロテオセ,⁴徳島大・先端酵素研,⁵愛媛大・学術支援セ)

【目的・背景】出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は, 栄養豊富条件において細胞内のアミノ酸の約 50% を液胞に蓄積する。一方, 栄養飢餓になるとオートファジーが誘導され, タンパク質分解によって液胞内に生じたアミノ酸はサイトゾルへと排出される。この過程に関与する中性・塩基性アミノ酸トランスポーターAvt4 の活性調節は細胞内アミノ酸ホメオスタシスに大きく寄与すると考えられる。当研究室では, Avt4 の N 末端親水性領域が TORC1 によってリン酸化され, 活性が抑えられるとの仮説を立て検討を行っている。その一方で, 動物リソソームにおいてはアミノ酸トランスポーターSLC38A9 が mTORC1 活性を制御することが報告されており, 本研究では Avt4 による TORC1 の活性調節について検討した結果を報告する。

【結果】N 末端欠損変異型 Avt4 導入株の TORC1 阻害剤ラパマイシン感受性試験では Avt4 の輸送活性と TORC1 活性の密接なリンクが示されていたが, 活性が大幅に低下した膜貫通領域の変異型 Avt4 発現株も TORC1 活性を抑制したことから, Avt4 がアミノ酸輸送とは別に TORC1 活性を抑制するトランスセプターであることが示唆された。さらに Avt4 と似た領域をもつ中性アミノ酸排出系トランスポーターAvt3 においても Avt4 と同様に TORC1 の活性を調節する可能性が示された。

C-9 酢酸菌細胞膜結合型グルコース脱水素酵素の二糖基質に対する認識機構の解析
○竹内真慈, 森島ちひろ¹, 阿野嘉孝^{1,2}
(愛媛大院・農,¹愛媛大・農,²愛媛大・食健セ)

【目的】酢酸菌の細胞膜結合型 PQQ 依存性グルコース脱水素酵素 (mGDH) は 5 回膜貫通領域と細胞膜外表層に露出した触媒領域から構成される。本酵素は基質特異性がゆるく、単糖のみならず二糖類も酸化し、食品機能性成分としての利用が期待されるオリゴ糖酸を生成する。しかし、mGDH は酢酸菌に普遍的に存在するにもかかわらず、二糖酸化能を有する菌株は限られておりその理由は不明のままである。本研究では、酢酸菌 mGDH の二糖基質に対する認識機構を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】これまで、研究室分離株 *Gluconobacter oxydans* AiF 138, 研究標準株 *Pseudomonas taetrolens* NBRC 3460 をマルトース高酸化株として見出している。mGDH の構造と基質特異性との関係について調査するため、マルトース酸化能を示さないゲノム公開株 *G. oxydans* 621H を加えて、同プロモーター制御下での発現系を構築したところ、二糖酸化能には mGDH の一次構造の違いが影響していることが伺えた。そこで、部位特異的置換体ならびにキメラ変異体を作製しその影響を調査したところ、AiF138 株と 621H 株との相違点である 2 アミノ酸は比活性に、AiF138 株と NBRC 3460 株との相違点である細胞膜近傍の一次構造は二糖への相対活性に影響していた。相対活性の発揮に細胞膜脂質と mGDH の相互作用が示唆されたため、mGDH を細胞膜画分から界面活性剤を用いて可溶化したところ、NBRC3460 型酵素で特異的にマルトースの相対活性が低下した。このことから、mGDH の二糖基質に対する認識機構には、mGDH と細胞膜脂質との相互作用が重要であることが示唆された。

D-1 モレキュラーシーブを用いた coelenterazine から dehydrocoelenterazine への脱水素反応

中山和也, 松田和生¹, 井上 聡², 〇中村光裕
(徳島大・理工,¹ 徳島大・総合科学,² 愛知学院大・歯)

【目的】 Coelenterazine (以下 CTZ) は, ウミシイタケやオワンクラゲなどの様々な海洋性発光生物の発光源である。発光基質ルシフェリンである CTZ は, O₂ 存在下で発光酵素ルシフェラーゼによって触媒され, CTZ のペルオキシド中間体を経たのち発光を伴って, 酸化物である coelenteramide と CO₂ を生成する。この酸化分解過程で, CTZ の一部は coelenteramine になることが知られている。一方, dehydrocoelenterazine (以下 dCTZ) は, CTZ の脱水素体であり, 水溶液中で, 空気酸化により容易に生成する。その安定性から生体内での CTZ の保存体であると考えられている。また, dCTZ も CTZ と同様に生物発光に関与する化合物として知られている。

これまでは CTZ から dCTZ を生成する方法として, MnO₂ 等を用いる方法が知られている。今回, モレキュラーシーブを用いて CTZ から dCTZ を生成する方法を見出したので報告する。

【方法・結果】 CTZ 溶解時に使用する溶媒について, モレキュラーシーブを添加して保存した溶媒と, 無添加で保存した溶媒を用いたところ, dCTZ の生成量に有意な差が認められた。そこで, ペレット状のモレキュラーシーブを粉末化し, CTZ に添加した後に, 溶媒を加えて反応を実施し, 得られた試料を LC-MS により分析した。それらの結果について報告する。

D-2 糸状菌 *Pochonia suchlasporia* TAMA87 株が生産する α -ピロン環部位の異なる asteltoxin 類の UV スペクトルによる識別検出 〇光畑百恵, 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 株の固体培養物より殺虫活性物質として新規 asteltoxin 類である ET-1, ET-4 を見出した。ET-1, ET-4 は従来の asteltoxin 類とは異なる新規型の α -ピロン環部位を有している¹⁾。さらに, 当研究室は同じ固体培養物より従来型の α -ピロン環部位を有する asteltoxin C を見出し, TAMA87 株が固体培養において, 異なる種類の α -ピロン環部位を有する asteltoxin 類を同時に生産することを明らかにした²⁾。従来型の α -ピロン環を有する asteltoxin 類に属する asteltoxin C は, 270 nm と 367 nm の極大吸収波長を有する特徴的な UV スペクトルを示すが, ET-1, ET-4 はともに, それら 2 つの極大吸収がわずかに長波長側にシフトした UV スペクトルを示した。このことから, 従来型の α -ピロン環を有する asteltoxin 類と新規型の α -ピロン環を有する asteltoxin 類を UV スペクトルにより識別検出できると考え, 前者に特徴的な UV スペクトルを示すピークを単離し, 構造解析することにより, その確認を行った。【方法・結果】 TAMA87 株固体培養抽出物 EtOAc 可溶画分の HPLC-DAD 分析を行い, UV スペクトルから従来型の α -ピロン環を有する asteltoxin 類と推定した化合物を, シリカゲルカラムクロマトグラフィーと分取 HPLC により精製・単離した。各種機器分析による構造解析から, 本化合物は asteltoxin であることが明らかとなった。Asteltoxin は従来型の α -ピロン環を有する asteltoxin 類に属することから, α -ピロン環部位の異なる asteltoxin 類の UV スペクトルによる識別検出が可能であることが支持された。¹⁾J. Pestic. Sci., **45**(2), 81-85(2020) ²⁾農化中四国 69 回講演会 2024.9 愛媛 (E-1)

D-3 Cyanidin-3-O-glucoside の循環動態への影響とその作用メカニズムの検証
○伏見太希, 平田千絵¹, 廣木健登¹, 亀井優輝, 赤川 貢, 越阪部奈緒美¹
(徳島大・医科栄養,¹芝浦工大・シス理工)

Anthocyanin は, メタボリックシンドロームのリスクファクターを改善することが知られている。しかしながら, その生体利用性は極めて低く作用メカニズムは未だ不明である。本研究では, 果物や野菜などに豊富に含まれる Cyanidin-3-O-glucoside (C3G)による循環動態への影響とその作用メカニズムの検証を目的とした。HPLC-UV にて, C3G の安定性と生じる分解物を推定した。また, シミュレーションによって, 電子分布を評価した。C3G は, 中性領域および時間経過によって分解が促進された。また, C3G の分解に伴って, protocatechuic acid (PCA)などの生成量が増加した。次に, PCA および phloroglucinaldehyde (PGA)の Redox 特性についてスーパーオキシド検出試薬を用いた発光法にて測定した。PCA は酸化作用, PGA には抗酸化作用が確認された。次に, ラットの挙筋筋を露出させ, 胃底部にカニューレを挿入した。C3G を経口投与し, 挙筋筋細動脈の血流量を 60 分間測定した結果, 血流量の上昇がみられた。また, ラットに C3G および抗酸化物質を反復投与し, 平均血圧, 大動脈中 eNOS の発現量ならびに骨格筋中の血管新生マーカー CD31 を計測した。C3G 反復投与によって, 血圧低下作用, eNOS 発現増加, CD31 レベルの上昇が確認されたが, NAC 併用投与によってこの作用は抑制された。これまでに, Epicatechin 重合物である Cinnamtannin A2 の活性酸素種を介した交感神経活動亢進作用の可能性が示唆されている。C3G も同様に, 活性酸素種を産生する事で, 循環刺激作用に影響を及ぼした可能性が示唆された。

D-4 フラボノイドによる唾液腺機能亢進効果について
○蛇目みさき, 末永彩夏, 姚 陳娟¹, 向井理恵², 赤松徹也²
(徳島大院・創成科学,¹徳島大・歯,²徳島大・生物資源)

【目的】唾液分泌低下は口腔乾燥症を発症するのみでなく, 全身の疾患にも影響することから, 改めて唾液の重要性が注目されている。口腔乾燥症は, 加齢, 薬物副作用等で発症するが, 中高年以降に患者が増加し, 近年は若い女性でも増加傾向にあることから, 食事制限の影響も指摘されている。本研究では, 食品由来成分である 8-プレニルナリンゲニン (8PN) が若齢および高週齢マウスの唾液腺機能に及ぼす効果について, 唾液分泌に関わる水チャネル AQP5 発現, 唾液分泌量, および上気道感染症予防の観点で注目される分泌型 IgA 濃度を解析した。

【方法】7 週齢および 54 週齢雄の C57BL/6N マウスを用い, 普通食 (C), 高脂肪食 (H), それぞれに 8PN を低濃度 (L ; 0.0005%) および高濃度 (H ; 0.005%) で配合した飼料を一定期間摂取させた。ピロカルピン刺激唾液をコットン法により採取し, 唾液 IgA 濃度は ELISA キットにより測定した。また, 唾液腺 (耳下腺, 顎下腺) を摘出し, 解析に用いた。

【結果】AQP5 発現量は, 若齢マウス耳下腺において C 群で 8PN 濃度依存的に増加傾向であった。H 群では高脂肪食によって減少したが, 8PN 濃度依存的に回復傾向が見られた。この AQP5 発現量変動は唾液分泌量とも相関した。高週齢マウスにおいても同様の傾向が示唆された。一方, 唾液 IgA 濃度は若齢および高週齢マウスともに C 群で 8PN 摂取に応じた増加傾向が見られた。以上より, 8PN には若齢マウス, 高週齢マウス, いずれの唾液腺に対しても機能亢進効果があることが示唆された。

D－5 大気圧低温プラズマ処理によるタマネギ中ポリフェノールの増産効果
○川上烈生, 向井理恵¹
(徳島大・理工,¹徳島大・生物資源)

【目的】抗酸化成分を多く含む食品は疾病予防や健康維持に貢献する。我々は、抗酸化成分であるポリフェノールを多く含むタマネギに大気圧低温空気プラズマジェットを 30 分間局所照射し、3 日間貯蔵することで、可食部層におけるポリフェノール含量が増加することを見出した。本研究では、ポリフェノール増産のストレス要因と考えられるプラズマ由来の NO₃⁻がタマネギ内部へどのように分布するのか明らかにし、増加したポリフェノールとの相関性を考察した結果を報告する。また、ポリフェノールのうち、ケルセチン類の変動についても報告する。

【方法・結果】タマネギは、プラズマ噴出口から 10 mm 離れた距離から流量 6 L/min の大気圧低温空気プラズマを照射した。その後、暗室（温度 25℃、湿度 90%以上）で 3 日間貯蔵した。貯蔵後、タマネギを外側から各層に分けた。ポリフェノール量はフォーリンチオカルト法、NO₃⁻濃度はイオン電極法、ケルセチン種は HPLC により評価した。未照射タマネギの NO₃⁻は各層に一樣に分布していた。一方、プラズマ照射後は全層で NO₃⁻濃度が増加し、特に内層（第 4・5 層）で顕著な増加が見られた。この NO₃⁻濃度分布変化はポリフェノールの増加傾向と一致し、プラズマ由来の NO₃⁻が植物細胞間の plasmodesma を介して内部へ拡散したことによるものとする。更に、ケルセチンおよびその配糖体が増加していた。これらの結果より、プラズマにより導入された NO₃⁻がストレスシグナルとして細胞に認識され、その応答として二次代謝物経路が活性化され、ポリフェノール生合成が促進されたと考える。

D－6 紅藻アサクサノリの単孢子放出に及ぼすアラントインの影響
○高橋翔太, 松田春菜¹, 岡 直宏¹
(徳島大院・創成科学,¹徳島大・生物資源)

【背景・目的】アサクサノリは高品質のノリとして知られているものの、現在では絶滅危惧Ⅰ類に指定されている。本研究は、その希少性及び品質性の高さから、高コストな陸上養殖でも採算が取れるのではと考え、アサクサノリの陸上養殖の実現を目指し、アラントインを用いた種苗の生産方法について検討を行ったものである。本研究では、アラントインの濃度と水温が単孢子の放出に与える影響を評価した。

【方法】実験では、葉長 5 mm のアサクサノリ葉状体を、人工海水をベースとした PES 培地 3 mL が満たされた 12 穴のマルチウェルプレートに入れ 28 日間静置培養した。濃度実験では、アラントイン濃度を 0 mM, 10 mM, 20 mM, 30 mM に調整した培地を用い、水温 15℃ で培養を行った。水温実験では、アラントイン濃度を 30 mM に調整した培地を用い、水温 10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃ で培養を行った。その他の培養条件は、白色 LED, 光量 25 μmol m⁻²s⁻¹, 光周期 12L12D で行った。培養 7 日毎に単孢子（発芽体）を計数し、28 日目には果孢子（糸状体）数も計数した。

【結果・考察】濃度実験の結果、アラントイン濃度が高いほど単孢子、果孢子が多く放出される傾向が見られた。また水温実験の結果、水温 30℃ では 7 日目時点、25℃ では 21 日目時点で全ての葉状体が枯死した。単孢子放出数は水温 25℃ が最も多かった。28 日目時点での果孢子放出数は、水温 20℃ 以下では温度が高いほど多く放出する傾向が見られた。以上から、アラントインを用いたアサクサノリの種苗生産には、アラントインの濃度 30 mM, 水温 25℃ で 14 日間培養が最適であるとわかった。

D-7 気孔開閉運動を調節する新規因子の機能解析
○山中愛梨, 堀川昂暉, 田中優梨¹, 川内歩季¹, 中村俊之, 中村宜督, 村田芳行,
宗正晋太郎 (岡山大院・環境生命,¹岡山大・農)

気孔は一对の孔辺細胞で構成された小孔であり, 蒸散やガス交換を行う機能を持つ。気孔は, 様々な環境刺激や植物ホルモンに応答して開閉し, 例えば, 乾燥ストレスに応答して生合成される植物ホルモンであるアブシシン酸 (ABA) に応答して閉口し, 蒸散による過度の水分損失を防いでいる。気孔の開閉を制御するシグナル伝達において, 孔辺細胞細胞質のカルシウムイオン (Ca^{2+}) がセカンドメッセンジャーとして機能している。しかし, 孔辺細胞細胞質 Ca^{2+} 濃度の調節にかかわる Ca^{2+} 輸送体の実体は完全に明らかになっていない。

本研究室では, モデル植物のシロイヌナズナの孔辺細胞に高発現し, 気孔開閉に関わる Ca^{2+} 輸送体の候補因子として, *GCC*ファミリーを同定している。本研究では, *GCC*ファミリーの機能解析を目的として実験を行った。様々な*GCC*ファミリー多重遺伝子破壊変異体を作成し, 遺伝子間の機能重複について調査した。また, 各種*GCC*遺伝子のプロモーターの制御下で, *GUS* (β -glucuronidase) を発現する組み換えシロイヌナズナ植物体を作成し, *GCC*遺伝子の発現組織パターンを解析した。

D-8 Formation of inositol glycan by plant tissue cutting
○Majidul Islam, Rumana Yesmin Hasi, 梅村雄太¹, 田中秀則¹, 近藤雄大², 石川寿樹², 長野 稔³, Hanif Ali, 川上竜巳⁴, 栗飯原睦美⁴, 田中 保⁴ (徳島大院・創成科学,¹岐阜大・糖鎖生命,²埼玉大院・理工,³立命館大・生命,⁴徳島大・生物資源)

Glycosylinositol phosphoceramide (GIPC) is the most abundant sphingolipid in plants. Previously, we found phospholipase D (PLD), encoded by non-specific phospholipase C3 (*NPC3*) gene, hydrolyzes GIPC to produce phytoceramide 1-phosphate (PC1P). In this study, we determined inositol glycan (InoGly), a counterpart of PC1P in GIPC, from plant homogenates. The extracted InoGly was separated by TLC, visualized with diphenylamine-aniline-phosphoric acid reagent and determined by Image J. The structures of InoGly isolated from plants were confirmed by LC-MS/MS using chemically synthesized InoGly as standard. We confirmed that *A. thaliana NPC3* protein and partially purified GIPC-PLD from cabbage produced InoGly in a similar amount to PC1P from purified GIPC. We found that the amount of InoGly present in plant tissues was at 25–80 nmol/g (wet wt.), and increased to 80–150 nmol/g after homogenization of in *A. thaliana*, cabbage leaves, radish root and broccoli stem. Similar range of increases in PC1P and decreases in GIPC were observed after homogenization, indicating that GIPC-PLD is activated in response to homogenization. We found that PC1P was also produced in response to cutting cabbage leaves. These results indicated that GIPC-PLD is activated in response to tissue injury and implicated in wounding response in plants.

D — 9 Exploring the degradation pathways of sphingolipids in plants
○Rumana Yesmin Hasi, 藤田智帆, Majidul Islam, Hanif Ali, 石川寿樹¹,
栗飯原睦美², 川上竜巳², 田中 保² (徳島大院・創成科学, ¹埼玉大院・理工,
²徳島大・生物資源)

【Objective】

Glycosylinositol phosphoceramide (GIPC) and glucosylceramide (GlcCer) are the major SLs in plants. Recently, we found a novel phospholipase D (PLD) activity that degrades GIPC, and that this activity was responsible for by the action of NPC3 protein [1]. This finding led us to investigate the clarification of degradation pathways of SPLs in plants [2].

【Method, Results and Discussion】

Total lipids were extracted from the homogenates of plant tissues using 1-butanol and water. The lipid profile was analyzed using TLC imaging. When we homogenized tissues of cabbage, broccoli, *A. thaliana*, carrot and rice, formations of phytoceramide 1-phosphate (PC1P) and phytoceramide (PCer) accompanied by a decrease of GIPC were observed. We found PCer was not formed from PC1P in the plants, suggesting that PCer was directly formed from GIPC but not mediated via PC1P. Based on these findings, we characterized GIPC-PLC activity that is responsible for hydrolyzing GIPC to PCer in carrot.

1) Rumana Yesmin Hasi, et al., FEBS Lett. 596, 3024- 3036 (2022)

2) Yoshimichi Takai, et al., J. Biochem. 175, 115-124 (2024)

賛 助 企 業

- ・アルファー食品(株)
- ・アルフレッサ篠原化学(株)
- ・池田糖化工業(株)
- ・エイチビィアイ(株)
- ・(株)えひめ飲料
- ・(株)大熊
- ・大塚器械(株) 西条支店
- ・岡山県酒造組合
- ・オハヨー乳業(株)
- ・片山化学工業(株) 岡山営業所
- ・カバヤ食品(株)
- ・(株)機能性食品開発研究所
- ・麒麟ビール(株) 岡山工場
- ・麒麟ホールディングス(株)
R&D 本部 バイオプロセス技術研究所
- ・久保田商事(株) 広島営業所
- ・寿製菓(株)
- ・三栄源エフエフアイ(株)
- ・四国乳業(株)
- ・新青山(株)
- ・神協産業(株)
- ・(株)酔心山根本店
- ・(株)大愛
- ・大山乳業農業協同組合
- ・大洋香料(株)
- ・鳥取科学器械(株)
- ・ナガセヴィータ(株)
- ・日進商事(株) 松山営業所
- ・日本オリーブ(株)
- ・備前化成(株)
- ・(株)氷温研究所
- ・広島和光(株)
- ・(株)フジワラテクノアート
- ・プロテノバ(株)
- ・丸善製菓(株)
- ・マルトモ(株)
- ・(株)三ツワフロンテック
- ・宮下酒造(株)
- ・ヤスハラケミカル(株)
- ・ヤマキ(株)
- ・八幡物産(株) (五十音順)

2025 年 6 月 1 日現在 40 社

日本農芸化学会中四国支部第71回講演会（例会）

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：浅田元子

連絡先：〒770-0814 徳島県徳島市南常三島町2丁目1
徳島大学生物資源産業学部

T E L：088-656-9071

E-mail：asada.c@tokushima-u.ac.jp

協賛：徳島化学工学懇話会

支部からのお知らせ

1. 2025年度 関西・中四国・西日本支部合同大会（第72回講演会）

開催日：2025年9月18日（木）～9月19日（金）

場 所：岡山大学（津島キャンパス）

内 容：シンポジウム，受賞講演，特別講演，一般講演

講演申込締切：7月29日（火）

講演要旨締切：8月5日（火）

世話人：中村宜督（岡山大学）

2. 支部創立25周年記念 第73回 講演会（例会）

開催日：2026年1月31日（土）

場 所：山口大学

内 容：受賞講演，シンポジウム，一般講演

世話人：松井健二（山口大学）

3. 支部創立25周年記念 第48回 市民フォーラム

開催日：2025年7月13日（日）

場 所：高知県立県民文化ホール・第6多目的室

内 容：招待講演

世話人：村松久司（高知大学）

4. 支部創立25周年記念 第41回 若手研究者シンポジウム

開催日：2025年6月15日（日）

場 所：徳島大学（常三島キャンパス）

内 容：招待講演

世話人：佐々木千鶴（徳島大学）

日本農芸化学会中四国支部事務局

〒680-8553 鳥取県鳥取市湖山町南 4-101

鳥取大学農学部生命環境農学科内

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

E-mail：chushikoku@jsbba.or.jp