

日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部
日本ビタミン学会近畿・中国四国・九州沖縄地区

2013年度 合同広島大会

講 演 要 旨 集

日時：2013年9月5日(木)，6日(金)

場所：県立広島大学 広島キャンパス

2013年度 合同広島大会

プログラム・講演要旨集

日本農芸化学会

関西支部 第481回講演会
中四国支部 第37回講演会
西日本支部 第304回講演会

日本ビタミン学会

近畿地区 第1回講演会
中国四国地区 第2回講演会
九州沖縄地区 第1回講演会

協賛：日本化学会中国四国支部

日程：2013年9月5日(木)・6日(金)

場所：県立広島大学 広島キャンパス

Information

日程	2
会場アクセス	3
会場マップ	4
座長一覧	6

Program

特別講演(受賞講演)	7
シンポジウム	8
一般講演	9

Abstract

特別講演(受賞講演)	37
シンポジウム	41
一般講演	49

2013年度合同広島大会 日程

会場：県立広島大学広島キャンパス 教育研究棟 2

日程：2013年9月5日（木），6日（金）

第1日：9月5日（木） 県立広島大学教育研究棟 2

特別講演 A会場 13:00～15:00

シンポジウム 1 A会場 15:10～17:20

シンポジウム 2 B会場 15:10～17:20

支部幹事会等 11:30～12:30

日本農芸化学会関西支部幹事会 2343室

日本農芸化学会中四国支部幹事打合会 2346室

懇親会 18:30～20:30

会場：ANAクラウンプラザホテル広島

（〒730-0037 広島市中区中町7-20 TEL:082-241-1111）

第2日：9月6日（金） 県立広島大学教育研究棟 2

一般講演 B～I会場 9:00～17:08

支部参与会等 12:00～13:00

日本農芸化学会関西支部参与会 2343室

日本農芸化学会中四国支部参与会 2346室

日本農芸化学会西日本支部参与会 2333室

サテライトミーティング

「ビタミン・バイオフィクター関連研究者の集い」 18:00～20:00

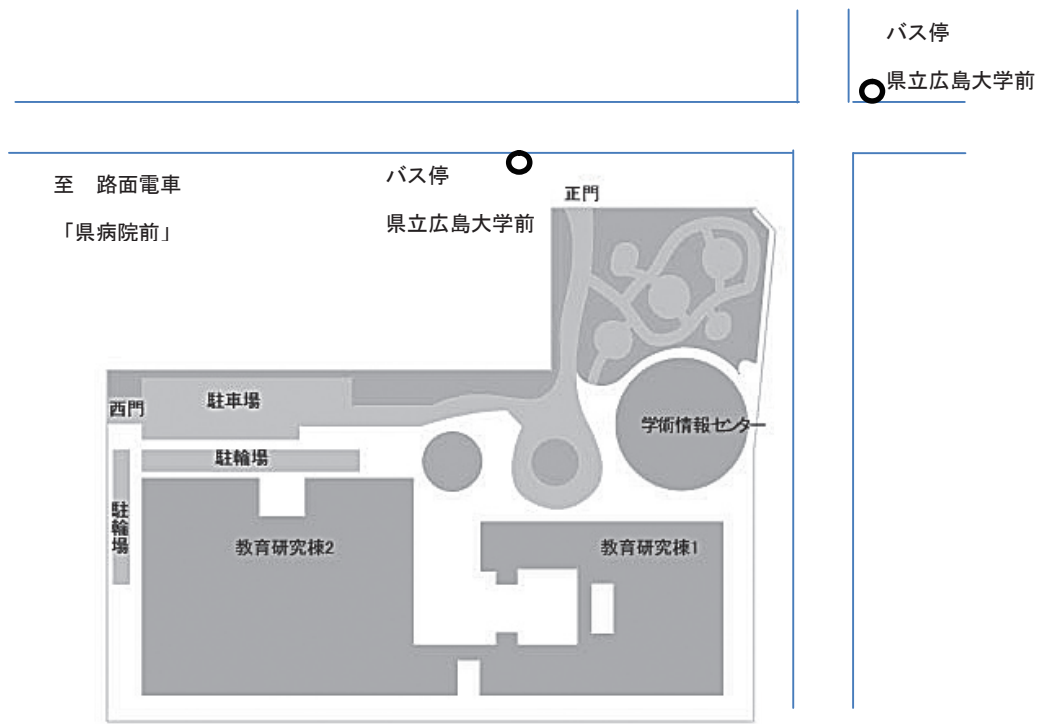
会場：広島アンデルセン

（〒730-0035 広島市中区本通7-1 TEL:082-247-2403）



【市内電車】[5] 広島港(宇品)行きにて「県病院前」下車-徒歩7分

県立広島大学 広島キャンパスマップ



【講演会場と受付について】

・講演会場と大会受付は「教育研究棟2」にあります。大会受付は「教育研究棟2」の1階入口にあります。クローク及び大会本部も同じ建物内にあります。

【昼食について】

・大会当日、学内食堂は営業しておりません。大会2日目(9月6日)の弁当のご注文を大会受付で承りますので、当日の朝9時30分までにご予約ください。なお、食事には食堂やホールをご利用いただけます。

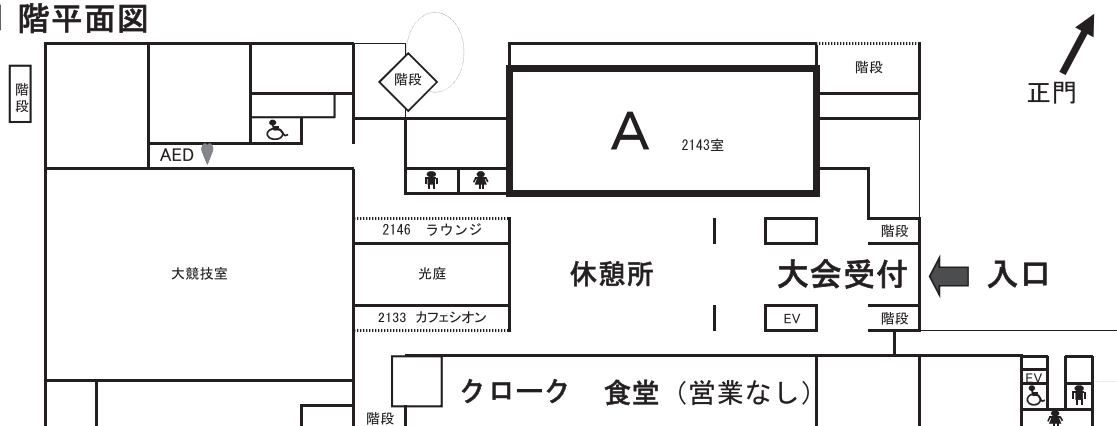
・近くにコンビニエンスストアもありますが、食事がとりやすい環境ではありませんので、各自お弁当を注文されるかご持参をお願いします。

【懇親会について】

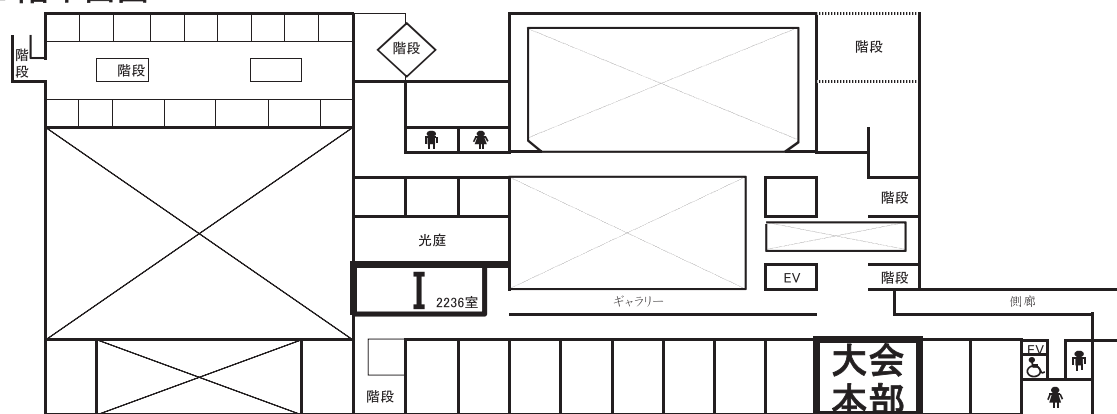
・9月5日(木)18:30より、「ANAクラウンプラザホテル広島」で開催します。懇親会会場へは、市内電車([1]または[3]利用で「県病院前」から「袋町」下車、徒歩2分。所要時間約30分。料金150円) かバス(正門前バス停広電バス[12]号線利用で「富士見町」又は「新天地」下車、徒歩7分。所要時間約30分。料金220円)又はタクシー(所要時間約15分。料金1300円程度)をご利用ください。

会場案内図:教育研究棟2

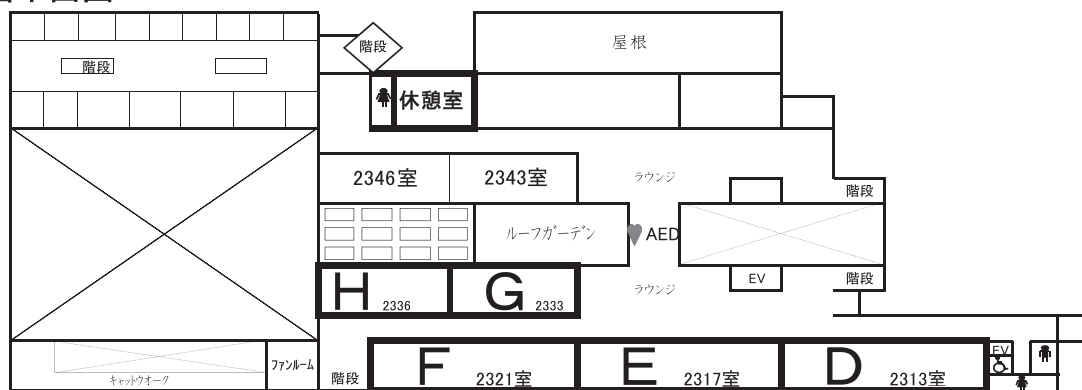
1 階平面図



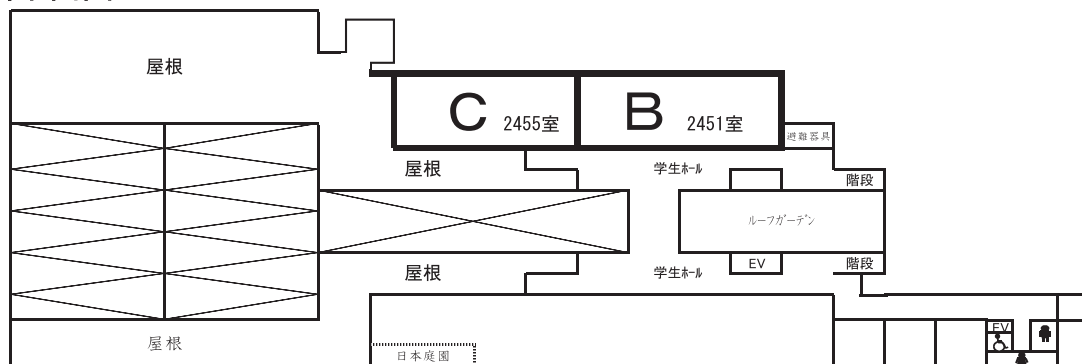
2 階平面図



3 階平面図



4 階平面図



一般講演座長一覧

会場	午前	座長	午後	座長
B 会場 (2451 教室)	1 ~ 5	伊藤一成 (岡山県工技セ)	16 ~ 20	竹中慎治 (神戸大院・農)
	6 ~ 10	大田 毅 (県広大・生命環境)	21 ~ 24	北村憲司 (広島大・自然科学研セ)
	11 ~ 15	上野 勝 (広島大院・先端物質)	25 ~ 29	田中克典 (関西学院大・理工)
			30 ~ 33	松崎浩明 (福山大・生命工)
C 会場 (2455 教室)	1 ~ 5	渡邊克二 (福岡工大・工)	16 ~ 20	吉田健一 (神戸大院・農)
	6 ~ 10	倉田淳志 (近畿大・農)	21 ~ 24	和崎 淳 (広島大院・生物圏)
	11 ~ 15	渡邊 彰 (香川大・農)	25 ~ 28	高坂智之 (山口大・農)
			29 ~ 31	三本木至宏 (広島大院・生物圏)
D 会場 (2313 教室)	1 ~ 5	松原主典 (広島大院・教育)	16 ~ 19	濱 進 (京都薬大)
	6 ~ 10	吉野智之 (県広大・生命環境)	20 ~ 23	上田夏生 (香川大・医)
	11 ~ 15	菅原卓也 (愛媛大・農)	24 ~ 27	中村宜督 (岡山大院・環境生命)
			28 ~ 31	増田俊哉 (徳島大院・総合)
E 会場 (2317 教室)	1 ~ 5	田村 隆 (岡山大院・環境生命)	15 ~ 18	岸田太郎 (愛媛大・農)
	6 ~ 10	渡辺文雄 (鳥取大院・連合農)	19 ~ 22	矢中規之 (広島大院・生物圏)
	11 ~ 14	石川孝博 (島根大・生物資源)	23 ~ 26	室田佳恵子 (近畿大・理工)
F 会場 (2321 教室)	1 ~ 5	福田 翼 (水産大学校)		
	6 ~ 9	榊田哲哉 (京大院・農)		
	10 ~ 13	三枝敬明 (崇城大院・応微工)		
G 会場 (2333 教室)	1 ~ 4	井内良仁 (山口大・農)	11 ~ 14	手林慎一 (高知大・農)
	5 ~ 7	湯浅恵造 (徳島大・ソシオ)	15 ~ 18	野下俊朗 (県広大・生命環境)
	8 ~ 10	井上祐一 (北九州高専)	19 ~ 21	泉 実 (岡山大院・環境生命)
			22 ~ 25	柳田 亮 (香川大・農)
H 会場 (2336 教室)	1 ~ 3	深溝 慶 (近畿大・農)	16 ~ 18	河野智謙 (北九大・国環工)
	4 ~ 6	木村吉伸 (岡山大院・環境生命)	19 ~ 21	太田広人 (熊本大院・自然)
	7 ~ 9	米田一成 (東海大・農)	22 ~ 24	黒木勝久 (宮崎大・農)
	10 ~ 12	由里本博也 (京大院・農)	25 ~ 27	滝田禎亮 (京大院・農)
	13 ~ 15	光富 勝 (佐賀大・農)	28 ~ 30	有馬一成 (鹿児島大院・理工)
			31 ~ 33	山上 健 (九大・農)
I 会場 (2236 教室)	1, 2	垣田浩孝 (産総研)	16 ~ 19	田茂井政宏 (近畿大・農)
	3 ~ 6	宗正晋太郎 (岡山大院・自然科学)	20 ~ 24	丸田隆典 (島根大・生物資源)
	7 ~ 11	杉本 学 (岡山大・植物研)	25 ~ 28	水谷正治 (神戸大院・農)
	12 ~ 15	新美善行 (県広大・生命環境)	29 ~ 32	石崎公庸 (神戸大院・理)

講

演

会

プ

ロ

グ

ラ

ム

会場別講演カテゴリー

第1日 9月5日(木)

	A会場 (大講義室)	B会場 (2451教室)
13:00 13:30 14:00 14:30	特別講演	
休憩 15:00-15:10		
15:15 15:45 16:15 16:45	シンポジウム1 (S1-1～S1-4)	シンポジウム2 (S2-1～S2-4)

終了17:20

第2日 9月6日(金)

	B会場 (2451教室)	C会場 (2455教室)	D会場 (2313教室)	E会場 (2317教室)	F会場 (2321教室)	G会場 (2333教室)	H会場 (2336教室)	I会場 (2236教室)
9:00 9:12 9:24 9:36 9:48 10:00 10:12 10:24 10:36 10:48 11:00 11:12 11:24 11:36 11:48	遺伝子・ 微生物 (B-1～ B-15)	遺伝子・ 微生物 (C-1～ C-15)	食品・ ビタミン (D-1～ D-15)	食品・ ビタミン (E-1～ E-14)	食品・ ビタミン (F-1～ F-13)	生物化学 (G-1～ G-10)	生物化学 (H-1～ H-15)	植物・ 環境科学 (I-1～ I-15)
11:00 11:12 11:24 11:36 11:48						会議に使用		
昼休み 12:00-13:20						11:30-12:30		
13:20 13:32 13:44 13:56 14:08 14:20 14:32 14:44 14:56	遺伝子・ 微生物 (B-16～ B-24)	遺伝子・ 微生物 (C-16～ C-24)	食品・ ビタミン (D-16～ D-23)	食品・ ビタミン (E-15～ E-22)		有機化学・ 天然物 (G-11～ G-18)	生物化学 (H-16～ H-24)	植物・ 環境科学 (I-16～ I-24)
14:08 14:20 14:32 14:44 14:56								
休憩 15:08-15:20								
15:20 15:32 15:44 15:56 16:08 16:20 16:32 16:44 16:56	遺伝子・ 微生物 (B-25～ B-33)	遺伝子・ 微生物 (C-25～ C-31)	食品・ ビタミン (D-24～ D-31)	食品・ ビタミン (E-23～ E-26)		有機化学・ 天然物 (G-19～ G-25)	生物化学 (H-25～ H-33)	植物・ 環境科学 (I-25～ I-32)
16:08 16:20 16:32 16:44 16:56								

終了17:08

2013年度合同広島大会 プログラム

1日目：9月5日（木）特別講演・シンポジウム

特別講演 13：00～15：00 （教育研究棟2 A会場）

2013年度日本農芸化学会賞受賞講演

13：00～13：30

座長 稲垣賢二 （岡山大院・環境生命）

「光合成生物の環境ストレス応答・耐性の分子機構に関する研究」

重岡 成（近畿大・農）

13：30～14：00

座長 内海龍太郎（近畿大・農）

「油脂の嗜好性に関する栄養生理学的研究」

伏木 亨（京大院・農）

2013年度日本農芸化学会功績賞受賞講演

14：00～14：30

座長 木村 誠 （九大院・農）

「バイオインフォマティクスによる生物機能開発」

久原 哲（九大院・農）

14：30～15：00

座長 神崎 浩（岡山大院・環境生命）

「昆虫生理活性物質の化学生態学的研究」

西田 律夫（京大院・農）

シンポジウム 15:10~17:20 (教育研究棟2 A会場 & B会場)

シンポジウム1 (A会場)

「食品成分の機能性評価と応用研究：食による健康・長寿を目指して」

コーディネーター：四童子好廣（長崎県大・看護栄養）・田井章博（県立広島大・生命環境）

15:10~15:15 はじめに

15:15~15:45 S1-1 「カロテノイド研究の推移と現状」

富田純史（九州共立大・スポーツ）

15:45~16:15 S1-2 「乳酸菌・ビフィズス菌の腸炎抑制作用」

田辺創一（広島大院・生物圏）

16:15~16:45 S1-3 「体脂肪を低減させるポリフェノール高含有飲料の開発」

中村淳一（サントリーグローバルイノベーションセンター(株)）

16:45~17:15 S1-4 「地域特産食品の高付加価値化を実現する機能性成分の分析マニュアルの標準化について」

廣津孝弘（(独)産総研・四国センター）

17:15~17:20 おわりに

シンポジウム2 (B会場)

「藻，微生物によるエネルギー・食糧生産と魚介資源の安全確保：諸課題と未来への展望」

コーディネーター：倉田淳志（近畿大・農）・阪口利文（県立広島大・生命環境）

15:10~15:15 はじめに

15:15~15:45 S2-1 「高オイル産生海洋珪藻*Fistulifera*属を利用したエネルギー生産の展望」

松本光史（電源開発・若松研）

15:45~16:15 S2-2 「資源管理型漁業のための動物性初期餌料生物の培養生産の現状と光利用による生産効率化の可能性」

田中賢二（近畿大・産業理工）

16:15~16:45 S2-3 「温室効果ガスCO₂を食糧と燃料に変換する微細藻研究」

西尾幸郎（四国大短大・人間健康）

16:45~17:15 S2-4 「海洋酵母による水圏バイオマスからのエタノール生産」

岡井公彦（東大院・農学生命）

17:15~17:20 おわりに

一般講演プログラム

B 会場「遺伝子・微生物」

- B-1 9:00 *Ensifer* sp. AS08 由来 NPEO-DH の酵素化学的解析
○大田 毅¹, Xin Liu², 川端 猛³, 河合富佐子⁴
(¹県立広島大・生命環境, ²遼寧師範大, ³大阪大・蛋白研, ⁴京都工繊大・ナノ材料デバイス)
- B-2 9:12 *Pseudomonas putida* NT11 株および化学法を用いたスクロース誘導体, D-アロシル-D-フルクトースの生産
○黒田智美, 竹地紀昭, 吉原明秀, 高田悟郎, 森本兼司
(香川大・希少糖研セ)
- B-3 9:24 *Shinella zoogloeoides* NN-6 由来の希少糖生産酵素の解析
○野々垣陽介, 千葉和也, 藤井翔太, 吉原明秀, 高田悟郎, 森本兼司
(香川大・希少糖研セ)
- B-4 9:36 *Bacillus* sp.K44 由来の希少糖生産酵素に関する研究
○若林 徹, 藤井翔太, 吉原明秀, 高田悟郎, 森本兼司
(香川大・希少糖研セ)
- B-5 9:48 枯草菌 EdmS (PgsE) タンパク質はエピソームの維持に関与している
○白米優一, 若松泰介, 芦内 誠
(高知大・農)
- B-6 10:00 *Aspergillus ustus* と *Penicillium aurantiogriseum* との組み合わせ培養による単独培養で検出されない化合物の生産
○齊藤太樹, 小坂亜弓, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命)
- B-7 10:12 *Aspergillus ustus* と *Aspergillus repens* との組み合わせ培養で観察される *Aspergillus repens* の生育阻害
○高岡晶美, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命)
- B-8 10:24 コロイダルキチンによる放線菌由来キチン分解酵素阻害物質の培養生産性への影響
○長谷井拓真, 浅尾昂平, 神崎 浩, 仁戸田照彦
(岡山大院・環境生命)

- B-9 10:36 固体培養中に培養基質を乾燥させたときの酵素生産
○伊藤一成¹, 五味勝也², 狩山昌弘³, 三宅剛史¹
(¹岡山県工技セ, ²東北大院・農, ³フジワラテクノアート)
- B-10 10:48 *Pseudomonas aeruginosa* ME-4 由来エラスターゼを用いた卵殻膜の可溶化と生理活性ペプチドの探索
○竹中慎治, 田中裕基, 芦田 均, 吉田健一
(神戸大院・農)
- B-11 11:00 Optimizing secretion of heterologous thermostable cellulases in *Bacillus subtilis*
○Bien Thi Lan Thanh, 田中耕生, 竹中慎治, 吉田健一
(神戸大院・農)
- B-12 11:12 細菌のアルギン酸代謝に関わる新規な NADH 要求性 α -ケト酸還元酵素
○高瀬隆一, 河井重幸, 橋本 渉, 村田幸作
(京大院・農)
- B-13 11:24 細菌由来不飽和グルクロニルヒドロラーゼのヘパリン二糖認識機構
○中道優介¹, 三上文三¹, 村田幸作², 橋本 渉¹
(¹京大院・農, ²摂南大・理工)
- B-14 11:36 アルギン酸資化性細菌 *Sphingomonas* sp. A1 の転写因子 AlgO の作用機構
○林 智恵, 丸山如江, 橋本 渉, 村田幸作
(京大院・農)
- B-15 11:48 サッカロミセス酵母 1200 株を用いた五炭糖キシロース発酵の検討
○笹井雄貴¹, 泉 可也², 渡辺誠也¹
(¹愛媛大・農, ²(株) bits)

休 憩

- B-16 13:20 Ubr ユビキチンリガーゼによる酵母のオリゴペプチド・アミノ酸利用制御
○北村憲司
(広島大・自然科学研セ)
- B-17 13:32 分裂酵母におけるコエンザイム Q とシステイン代謝の関連性
○竹内佳奈, 古田奈々, 戒能智宏, 川向 誠
(島根大・生物資源)
- B-18 13:44 分裂酵母 Chk1 は DNA 組換え中間体の蓄積に関与する
○升田堅太, 上野 勝
(広島大院・先端物質)

- B-19 13:56 分裂酵母 Exo1 と Rqh1 はテロメア末端の削り込みに関与する
浮森 忍, 平田直也, 南部智子, ○上野 勝
(広島大院・先端物質)
- B-20 14:08 SUMO 化修飾による分裂酵母テロメア長制御
宮川恵輔¹, Venny Santosa¹, 辻 浩基¹, 松山晃久², 上野 勝³, 吉田 稔²,
中村 通⁴, ○田中克典¹
(¹関西学院大・理工, ²理研・吉田化学遺伝学, ³広島大院・先端物質,
⁴イリノイ大・分子遺伝)
- B-21 14:20 出芽酵母において染色体からのセントロメア DNA の切り出し誘導時に出現する
生存細胞の解析
○宮本昭弘, 柳本敏彰, 秦野琢之, 松崎浩明
(福山大・生命工)
- B-22 14:32 油脂 (triacylglycerol) を分泌する酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 変異株の解析
○藤井洋紀, 松崎浩明, 秦野琢之
(福山大・生命工)
- B-23 14:44 分裂酵母のピルビン酸転移酵素を利用したピルビン酸含有複合型糖鎖の合成
○吉永 将, 頼経健一, 竹川 薫
(九大院・農)
- B-24 14:56 分裂酵母ゲノムに存在するトランスポゾン様遺伝子配列を利用した異種タンパ
ク質生産系の構築
○藤木真優¹, アリムジャン・イディリス², 竹川 薫¹
(¹九大院・農, ²旭硝子 (株))

休 憩

- B-25 15:20 分裂酵母の液胞タンパク質輸送や液胞融合に関与する Vsl1p の解析
○八木聖史¹, 細見 昭², 竹川 薫¹
(¹九大院・農, ²理研・システム糖鎖)
- B-26 15:32 分裂酵母の有機酸排出に関与するトランスポーターの探索
○陶山明子^{1,2}, 竹川 薫¹
(¹九大院・農, ²旭硝子 (株))
- B-27 15:44 ガラクトフラノース特異的な β -D-ガラクトフラノシダーゼ遺伝子の同定と諸性
質の解析
○八色奈央¹, 松永恵美子¹, 篠塚早紀², 泉 実², 竹川 薫¹
(¹九大院・農, ²岡山大院・環境生命)

- B-28 15:56 メタノール誘導性遺伝子発現を制御する Hap 複合体サブユニットの機能解析
○由里本博也, 小田沙織, 阪井康能
(京大院・農)
- B-29 16:08 グルタルアルデヒドを用いた化学修飾によるサーモライシンの熱安定性の向上
○柏原宏行, 兒島憲二, 保川 清, 井上國世
(京大院・農)
- B-30 16:20 サーモライシンの酵素活性に対する緩衝液の影響
○黒木亮吾, 兒島憲二, 保川 清, 井上國世
(京大院・農)
- B-31 16:32 誘導ペプチドを介した多成分バクテリオシンの生産制御機構の解明
○松本南帆¹, 石橋直樹¹, Perez Rodney Honrada¹, 姫野康平¹, 井上朋子¹,
善藤威史¹, 中山二郎¹, 園元謙二^{1,2}
(¹九大院・農, ²九大・バイオアーク)
- B-32 16:44 デザインドバイオマスによるバイオプロセス開発: リグノセルロース系バイオマスを構成する混合糖と乳酸からのバイオブタノール生産
○江頭駿介¹, 野口拓也¹, 田代幸寛¹, 酒井謙二¹, 園元謙二^{1,2}
(¹九大院・農, ²九大・バイオアーク)
- B-33 16:56 麹菌 *Aspergillus oryzae* による L-乳酸の生産
○若井 暁¹, 吉栄俊秀², 浅井菜々実¹, 山田亮祐¹, 荻野千秋², 堤 浩子³,
秦 洋二³, 近藤昭彦²
(¹神戸大院・自然科学, ²神戸大・工, ³月桂冠・総研)

C 会場「遺伝子・微生物」

- C-1 9:00 *Rhodobacter sphaeroides* による抗酸化物質の生産
○佐藤美紀¹, 小林正幸², 出口智昭²
(¹有明高専専攻・応物工, ²有明高専・物質工)
- C-2 9:12 琵琶湖深湖底から分離された新規亜セレン酸還元性バチルスに関する諸特性
阪口利文¹, ○平岡達也¹, 石川可奈子², 岡村好子³, 宮下英明⁴
(¹県立広島大・生命環境, ²琵琶湖環境科学研セ, ³広島大院・先端物質, ⁴京大院・人間環境)
- C-3 9:24 酸性環境からの硫酸酸化能に優れた微生物の分離と培養
○石故明衣子, 上村一雄, 金尾忠芳
(岡山大院・環境生命)
- C-4 9:36 イオン液体と利用可能な微生物や酵素の探索
○倉田淳志, 池田泰之, 貝田英彰, 古中康平, 妹尾文哉, 岸本憲明
(近畿大・農)
- C-5 9:48 水生植物に生息するメタン資化性細菌の分布とメタン消費
○井口博之^{1,4}, 吉田奈央子^{1,2}, 梅田涼平¹, 由里本博也¹, 小山時隆³, 阪井康能^{1,4}
(¹京大院・農, ²豊技大・EIIRIS, ³京大院・理, ⁴JST・ALCA)
- C-6 10:00 マイクロチップ電気泳動装置を用いた排水処理に関与する微生物相の解析
○渡辺克二
(福岡工大・工)
- C-7 10:12 Diversity in gut bacterial composition and their 16S rRNA gene sequences among Asian children
○J.Jiang¹, K.Sonomoto¹, K.Watanabe², K.Matsuda², T. Kurakawa², H.Tsuji², F.Ren³, S.Nitisinprasert⁴, O.La-ongkham⁴, E.S.Rahayu⁵, C. Liao⁶, Yi.Tsai⁷, Y.Lee⁸, J.Nakayama¹
(¹Kyushu Univ., ²Yakult Central Institute, ³China Agric. Univ., ⁴Kasetsart Univ., ⁵Gadjah Mada Univ., ⁶Food Industry R&D Institute, ⁷National Yang-Ming Univ., ⁸National Univ. of Singapore)
- C-8 10:24 歯周病原性細菌の可溶性ポーリンが細菌間コミュニケーションを変化させる？
○阿座上弘行, Mansur Jasin, Karim Minnatul, 加藤昭夫
(山口大・農)

- C-9 10:36 光合成生物の共進化モデル実験における脱共生ミドリゾウリムシ細胞へのシアノバクテリアの封入と経時変化
○村田祐希¹, 古川俊輔¹, 大河 浩²
(¹北九州市立大院・国際環境工, ²弘前大)
- C-10 10:48 *Pseudomonas fluorescens* KU-7 株の 2-ニトロ安息香酸走化性の代謝依存性
○藤岡 諒, 岩木宏明, 長谷川喜衛
(関西大・化学生命工)
- C-11 11:00 赤痢アメーバ原虫メチオニン γ -リアーゼの特徴付けと基質特異性を決めるメカニズム
○佐藤 暖¹, 酒井菜摘¹, 志波智生¹, 野崎智義², 原田繁春¹
(¹京都工繊大・応用生物, ²国立感染研・寄生動物)
- C-12 11:12 藍甕由来好アルカリ性 *Bacillus* 属細菌のインジゴカルミン還元酵素の機能解析
○安部友昭¹, 鈴木宏和², 土居克実², 大島敏久³
(¹九大院・生物資源, ²九大院・農, ³大阪工大・工)
- C-13 11:24 嫌気性アンモニア酸化細菌 KSU-1 株の Mn 型 superoxide dismutase
○竹之内良太¹, 西山 孝¹, 古川憲治², 藤井隆夫¹
(¹崇城大・応生命, ²熊本大院・自然科学)
- C-14 11:36 Auxiliary regeneration systems of NAD⁺ in *Lactobacillus panis* PM1: characterization for bioconversion of glycerol to 1,3-propanediol
T.S. Kang, D.R. Korber, ○T. Tanaka
(Univ. of Saskatchewan)
- C-15 11:48 *Cellvibrio* sp. 由来の α -アガラーゼ遺伝子の大腸菌へのクローニング
○川本雄基¹, 嘉数匡弘¹, 有賀 修¹, 中崎清彦²
(¹高知工大・環境理工, ²東工大・国際開発)

休 憩

- C-16 13:20 放線菌由来 L-メチオニン脱炭酸酵素の遺伝子クローニングと異種発現系の構築
○岡田 茜¹, 広瀬 侑², 田村 隆¹, 稲垣賢二¹
(¹岡山大院・環境生命, ²豊技大・EIIRIS)
- C-17 13:32 麹菌 *Aspergillus oryzae* を用いた担子菌 *Flammulina velutipes* 由来ラッカーゼの異種宿主生産
○尾崎公亮¹, 渡邊 彰¹, 島津知香¹, 馬替由美², 麻田恭彦¹
(¹香川大・農, ²森林総研)

- C-18 13:44 微生物の新規マンナン代謝における *exo-mannanase* の役割
○川口和輝¹, 瀬野浦武志², 平良東紀¹, 和崎 淳³, 伊藤 進¹
(¹琉球大・農, ²石川県立大・生物資源, ³広島大院・生物圏)
- C-19 13:56 フコイダン資化性を有する新規 *Prostheobacter* 属細菌の代謝特性
○山崎まいこ¹, 隈部絢子¹, 小林泰明¹, 石橋瑠美¹, 三木康成², 川本仁志², 大城 隆¹
(¹鳥取大・工, ²海産物のきむらや)
- C-20 14:08 *Luteolibacter algae* H18 株によるオキナワモズク由来フコイダンの分解様式
○長尾達彦¹, 小林泰明¹, 原田尚美¹, 隈部絢子¹, 三木康成², 川本仁志², 大城 隆¹
(¹鳥取大・工, ²海産物のきむらや)
- C-21 14:20 細菌ヒスチジinkinナーゼ, WalK を標的とする新規抗生物質 waldiomycin
○犬飼洋一¹, 木野弘量¹, 五十嵐雅之², 志波 優³, 吉川博文³, 江口陽子¹, 内海龍太郎¹
(¹近畿大院・農, ²微化研, ³東京農大)
- C-22 14:32 植物病原菌 *Burkholderia plantarii* における植物毒素トロポロン産生に関与する二成分制御系の解析
吉岡誠訓¹, ○三輪瞬平², 紀平絵梨¹, 仲曾根薫³, 五十嵐雅之⁴, 波多野和樹⁴, 内海龍太郎^{1,2}
(¹近畿大院・農, ²近畿大・農, ³近畿大・工, ⁴微化研)
- C-23 14:44 大腸菌センサータンパク質 PhoQ とコネクタ因子 safA の相互作用
○吉谷亘平², 江口陽子¹, 中村真也³, 仲西 功³, 内海龍太郎^{1,2}
(¹近畿大・農, ²近畿大院・農, ³近畿大・薬)
- C-24 14:56 海洋性細菌のトルエン分解系遺伝子の解析
○國頭一平, 岩木宏明, 長谷川喜衛
(関西大・化学生命工)
- 休 憩
- C-25 15:20 好圧好冷性細菌 *Shewanella violacea* の膜に存在する新規 ATPase の特徴付け
○長瀬真子¹, 若井 暁², 政成美沙³, 山中 優⁴, 為我井秀行⁵, 三本木至宏³
(¹広島大・生物生産, ²神戸大院・自然科学, ³広島大院・生物圏, ⁴奈良先端大・物質, ⁵日本大・文理)
- C-26 15:32 *Shewanella violacea* 由来 cytochrome c₅ の圧力耐性
○政成美沙¹, 若井 暁², 加藤千明³, 西山雅祥⁴, 三本木至宏¹
(¹広島大院・生物圏, ²神戸大院・自然科学, ³海洋機構, ⁴京大・白眉)

- C-27 15:44 好熱菌および常温菌由来シトクロム *c'* の熱安定性の比較研究
○藤井創太郎¹，井上寛基¹，政成美沙¹，若井 暁²，山中 優³，三本木至宏¹
(¹広島大院・生物圏，²神戸大院・自然科学，³奈良先端大・物質)
- C-28 15:56 好熱性細菌 *Meiothermus ruber* H328 株が生産するケラチン分解性プロテアーゼ巨大分子複合体に関する研究—免疫顕微鏡観察法を用いた検討—
○山岡昂太¹，佐生 愛¹，増村威宏¹，片岡真亜知¹，川崎一則²，茂里 康²，渡部邦彦¹
(¹京都府大院・生命環境，²産総研・健康工学)
- C-29 16:08 超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* の二つの Transcription factor B の役割
○西川 諒¹，秀瀬涼太¹，今井友裕¹，片野正展²，加藤 知¹，金井 保²，跡見晴幸²，今中忠行³，藤原伸介¹
(¹関西学院大・理工，²京大院・工，³立命館大・生命科学)
- C-30 16:20 好熱菌分岐型ポリアミンの生合成経路
○岡田和真¹，秀瀬涼太²，前川真理子¹，今中忠行³，藤原伸介^{1,2}
(¹関西学院大・理工，²関西学院大・生命環境科学研究セ，³立命館大・生命科学)
- C-31 16:32 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* の 2-deoxyglucose 耐性変異株の解析
Suprayogi¹，村田正之¹，高坂智之²，○山田 守^{1,2}
(¹山口大院・医，²山口大・農)

D 会場「栄養・食品・ビタミン」

- D-1 9:00 ホウレンソウ由来フラボノイドの脱顆粒抑制活性と抗酸化活性
○森下雄太¹, 熊石朱純¹, 代田 修², 黒柳正典², 武藤徳男¹
(¹県立広島大・生命環境, ²徳島文理大・香川薬)
- D-2 9:12 シモン芋からの神経分化増強物質の単離と作用解析
○真島 大¹, 坂本修一郎¹, 代田 学², 福田和典³, 武藤徳男¹
(¹県立広島大・生命環境, ²徳島文理大・香川薬, ³東洋林産化成)
- D-3 9:24 レモンフラボノイドの吸収動態と細胞保護効果
○山本涼平, 小川晃太郎, 高橋依子, 高橋里奈, 武藤徳男
(県立広島大・生命環境)
- D-4 9:36 三原産タコによる生活習慣病の予防
○和田 秀, 永見亜門, 三浦香織, 田井章博, 吉野智之
(県立広島大・生命環境)
- D-5 9:48 バニリン酸エステルの脱顆粒抑制作用
○石股 直¹, 池田 郁¹, 伊東秀之², 田井章博¹
(¹県立広島大・生命環境, ²岡山県立大・保健福祉)
- D-6 10:00 ストレスマーカーの探索とストレス抑制食材
○河井怜奈, 長尾則男, 龍治 英
(県立広島大・生命環境)
- D-7 10:12 カルノシン酸の長期投与が老化促進モデルマウスに与える影響
○柴田紗知¹, 萱島知子², 松原主典¹
(¹広島大院・教育, ²佐賀大・文化教育)
- D-8 10:24 ホウレンソウ成分の脱顆粒抑制作用に関する研究
○石田萌子¹, 西 甲介¹, 渡辺 久², 菅原卓也¹
(¹愛媛大・農, ²愛媛農水研)
- D-9 10:36 石鎚黒茶の脱顆粒抑制効果に関する研究
○近藤倫世, 西 甲介, 菅原卓也
(愛媛大・農)
- D-10 10:48 カツオ削粉熱水抽出物の免疫賦活活性に関する研究
○篠原 梢¹, 西 甲介¹, 箆島克裕², 末光友和², 菅原卓也¹
(¹愛媛大・農, ²仙味エクス)

- D-11 11:00 海藻ポリフェノールの dieckol による *in vivo* での抗炎症効果
○木下佑一, 杉浦義正, 田中竜介, 松下映夫, 宮田昌明
(水産大学校・食品科学)
- D-12 11:12 Inhibitory effects of black soybean seed coat polyphenols against DNA damage in HepG2 cells
○Tianshun Zhang¹, Yu Li¹, Michiko Yasuda², Kaori Hayashibara¹, Hitoshi Ashida¹
(¹Dept. Agrobiosci., ²Adv. Sci. Technol., Kobe Univ.)
- D-13 11:24 骨格筋形成に及ぼすメトキシフラボンの影響
○斧伸太郎¹, 小川真弘¹, 原田直樹¹, 乾 博², 中野長久³, 山地亮一¹
(¹大阪府大院・生命環境, ²大阪府大院・栄養, ³大阪女子短大)
- D-14 11:36 β -コングリシニン摂取が血清・肝臓脂質濃度および血糖値に及ぼす影響
○福田英里子, 田丸静香, 古場一哲
(長崎県大院・人間健康科学)
- D-15 11:48 昆布抽出物の抗酸化酵素・薬物代謝酵素発現誘導作用について
○白杉一郎¹, 榊原陽一², 黒木勝久², 伝宝啓史¹, 水光正仁²
(¹株式会社くらこん, ²宮崎大・農)

休 憩

- D-16 13:20 ヒシ外皮のポリフェノール成分の機能性とその利用について
○大曲希実, 安田みどり, 安武健一郎, 日野まど香, 大渡 瞳
(西九大・健康福祉)
- D-17 13:32 クロロフィルの光による退色および活性酸素生成の抑制に関する研究
○織田恵輔¹, 安田みどり², 田端正明³, 上田敏久¹
(¹佐賀大・農, ²西九大・健康福祉, ³佐賀大・理工)
- D-18 13:44 発酵乳ケフィアによる筋肉細胞のエネルギー代謝亢進効果
○末永美由紀¹, 栗田真衣¹, 照屋輝一郎^{1, 2}, 徳丸浩一郎³, 白畑實隆^{1, 2}
(¹九大院・生資環, ²九大院・農, ³日本ケフィア)
- D-19 13:56 脂質メディエーターである脂肪酸エタノールアミドを分解するリソソーム酵素の活性化因子と阻害剤
○坪井一人¹, 田井達也^{1, 2}, 山野由美子³, 宇山 徹¹, 保崎有紀³, 高橋清宏³, 芳地 一², 和田昭盛³, 上田夏生¹
(¹香川大・医, ²香川大病院, ³神戸薬大)

- D-20 14:08 酵素消化低分子化フコイダン抽出物とナタ豆抽出物との併用による抗腫瘍作用増強効果
○山本諭司¹, 照屋輝一郎^{1,2}, 江藤 博³, 白畑實隆^{1,2}
(¹九大院・システム生命, ²九大院・農, ³第一産業(株))
- D-21 14:20 酵素消化低分子化フコイダンのガン細胞に対する増殖抑制効果の検討
○石橋祐子¹, 照屋輝一郎^{1,2}, 江藤 博³, 白畑實隆^{1,2}
(¹九大院・生資環, ²九大院・農, ³第一産業(株))
- D-22 14:32 肝細胞癌再発予防薬としてのメナハイドロキノン-4 プロドラッグの投与設計と動態比較
○瀬戸口修一, 渡瀬大輔, 彌生知里, 楠田真理子, 長田(赤穂)菜美, 松永和久, 加留部善晴, 高田二郎
(福岡大院・薬)
- D-23 14:44 トコフェロールコハク酸の多面的な抗癌作用
○濱 進¹, 岡村有里子¹, 福田友紀¹, 大石利一¹, 下井雄太¹, 桑原義和², 福本 学², 福澤健治³, 小暮健太郎¹
(¹京都薬大, ²東北大・加齢医研, ³安田女大・薬)
- 休 憩
- D-24 15:20 脂質に対する各種システイン誘導体の抗酸化効果
○三浦ゆかり, 稲井美由紀, 増田俊哉
(徳島大院・総)
- D-25 15:32 ポリフェノールによるメトミオグロビンからオキシミオグロビンの生成
○稲井美由紀, 三浦ゆかり, 増田俊哉
(徳島大院・総)
- D-26 15:44 白金ナノ粒子の細胞内取り込みと抗酸化作用
○池田昌史¹, 菅 真樹¹, 濱崎武記², 照屋輝一郎^{1,2}, 樺山 繁³, 白畑實隆^{1,2}
(¹九大院・システム生命, ²九大院・農, ³(株)日本トリム)
- D-27 15:56 Antioxidant and Anticancer Activities of Indonesian Tea Mistletoe Extract Obtained by High Temperature Extraction
○ S. I. Rahmawati¹, K. Ishimaru², D.X. Hou¹ and N. Hayashi²
(¹United Grad. Sch. Agr., Kagoshima Univ., ²Saga Univ.)
- D-28 16:08 チーズの鉄イオンキレート活性に関する研究
○藍澤貴之, 森木秀明, 井越敬司, 安田 伸
(東海大・農)

- D-29 16:20 ブルーチーズ熟成中の ABTS ラジカル消去活性とその成分
○木村 元¹, 室北颯太¹, 山室顕之¹, 佐藤崇雄², 瀬戸泰幸³, 安田 伸¹,
井越敬司¹
(¹東海大・農, ²熊本県産業技術センター, ³雪印メグミルク・サイエンス)
- D-30 16:32 エポワスチーズの抗酸化活性とその成分
○山室顕之¹, 木村 元¹, 室北颯太¹, 佐藤崇雄², 安田 伸¹, 井越敬司¹
(¹東海大・農, ²熊本県産業技術センター)
- D-31 16:44 Effect of benzyl isothiocyanate on redox-sensitive signaling in human T lymphocytic leukemia Jurkat cells
○Yue Tang, Sho Naito, Naomi Abe, Yoshiyuki Murata, Yoshimasa Nakamura
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)

E 会場「栄養・食品・ビタミン」

- E-1 9:00 ビタミン B₆ 摂取に対するラット血中, 及び大腸の遊離アミノ酸の応答
○長谷川知美, ソフィア スイダサリ, 張 培培, 矢中規之, 加藤範久
(広島大院・生物圏)
- E-2 9:12 がん細胞のビタミン B₆ に対する遺伝子発現応答の解析
○張 培培, 長谷川知美, ソフィア スイダサリ, 矢中規之, 加藤範久
(広島大院・生物圏)
- E-3 9:24 線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いたビタミン B₁₂ ドデシルアミン誘導体のビタミン B₁₂ 細胞内代謝の阻害機構の解明
○美藤友博, 薮田行哲, 一柳 剛, 河野 強, 渡辺文雄
(鳥取大院・連合農学)
- E-4 9:36 髪菜に含まれるビタミン B₁₂ 化合物の特性
○膝 飛¹, 竹中重雄², 竹中裕行³, 薮田行哲¹, 渡邊文雄¹
(¹鳥取大院・連合農学, ²大阪府大院・生命環境, ³マイクロアルジェ)
- E-5 9:48 栄養補助食品のクロレラ錠剤に含まれるコリノイド化合物の分析
○多湖一憲¹, 薮田行哲¹, 竹中重雄², 溝口 亨³, 渡辺文雄¹
(¹鳥取大院・農, ²大阪府大院・生命環境, ³(株)サン・クロレラ)
- E-6 10:00 セレノリン酸合成酵素アイソザイム(SPS1, SPS2)の酵素共役法の開発
○鎌田早帆, 奥河内貴大, 稲垣賢二, 田村 隆
(岡山大院・環境生命)
- E-7 10:12 ユーグレナにおけるビタミン B₁, B₆ の生合成経路
林麻理亜¹, ○田鶴谷(村山) 恵子², 野坂和人³, 山田和子¹
(¹武庫川女大・薬, ²第一薬大, ³兵庫医大)
- E-8 10:24 ヒメツリガネゴケのアスコルビン酸生合成調節に関わる *vtc3* 遺伝子の発現解析
○袖山 翼¹, 原井健司¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(¹島根大・生資科, ²近畿大・農)
- E-9 10:36 光酸化的ストレス応答におけるアスコルビン酸再生系酵素群の役割
○畑中理佐¹, 野志昌弘², 田茂井政宏^{1,2}, 丸田隆典³, 石川孝博³, 重岡 成^{1,2}
(¹近畿大院・農, ²近畿大・農, ³島根大・生資科)
- E-10 10:48 糖尿病時におけるビタミン D・カルシウム代謝異常の分子機構の解明
○田尻真梨¹, 山本浩範^{1,2,3}, 中橋乙起¹, 香川知博¹, 竹谷 豊¹, 武田英二¹
(¹徳島大院・HBS 研究部, ²仁愛大・人間生活, ³福井大・医)

- E-11 11:00 上皮細胞の極性に対するビタミンEの作用の検討
○堀越洋輔, 中曽一裕, 神崎孝基, 田島奈緒子, 仲宗根正人, 持田晋輔,
松浦達也
(鳥取大・医)
- E-12 11:12 種々の非環式レチノイドがヒト肝癌由来細胞株の脂肪滴動態へ与える影響
○牧 翔太¹, 佐上 博², 四童子好廣¹
(¹長崎県立大院・人間健康科学, ²東北大院・生命科学)
- E-13 11:24 口腔粘膜相対テロメア長と血中 β カロテンおよびその代謝に関与している遺伝子の一塩基多型との関連
○薮田末美, 正木基文, 四童子好廣
(長崎県立大院・人間健康科学)
- E-14 11:36 ビタミンE誘導体の消化管吸収に関する研究
○彌生知里, 渡瀬大輔, 瀬戸口修一, 松永和久, 長田(赤穂)菜美, 楠田真理子,
加留部善晴, 高田二郎
(福岡大・薬)
- 休 憩
- E-15 13:20 線虫(*C. elegans*)を用いた葉酸過剰症の解析
○前川由紀奈, 美籐友博, 薮田行哲, 河野 強, 渡辺文雄
(鳥取大院・農)
- E-16 13:32 バナジウムの線虫 *C. elegans* による *in vivo* 評価
○椛島李歩¹, 富永伸明², 山口明美², 中村 浩³, 内田雅也³
(¹有明高専専攻・応物工, ²有明高専・物質工, ³エコジェノミクス)
- E-17 13:44 リゾホスファチジン酸添加がCaco-2細胞層の透過性に及ぼす影響
○熊本 舜¹, 福嶋伸之^{1,2}, 徳村 彰³, 室田佳恵子^{1,2}
(¹近畿大院・総合理工, ²近畿大・理工, ³徳島大院・HBS 研究部)
- E-18 13:56 コリン含有リン脂質の小腸における消化吸收動態の解明
○室田佳恵子^{1,2}, 高木美佳², 徳村 彰³, 大久保剛⁴
(¹近畿大・理工, ²近畿大院・総合理工, ³徳島大院・HBS 研究部, ⁴日油(株)・食品研)

- E-19 14:08 日本人の血中 Enterolacton 濃度は北欧諸国より高く, Secoisolarisiresinol が主要な起源である - 東温スタディより
○梶原秀平¹, 斉藤 功², 江口依里³, 丸山広達⁴, 松木 翠¹, 池田槇子¹, 村上 聖¹, 西脇 寿¹, 山内 聡¹, 岸田太郎¹, 海老原清¹, 谷川 武³
(¹愛媛大・農, ²愛媛大・医・健康科学, ³愛媛大・医・公衆衛生)
- E-20 14:20 イエバエのサナギ粉末および幼虫粉末の脂質代謝に与える生理効果
○柿原文耶¹, 水重貴文², 三浦 猛³, 三浦智恵美³, 太田 史³, 岩井俊治³, 井戸篤志³, 森 裕貴¹, 金子奈津美¹, 江籠平ゆい¹, 岸田太郎¹
(¹愛媛大・農, ²京大院・農, ³愛媛大・南水研)
- E-21 14:32 慢性腎不全における亜鉛代謝異常の分子機構の解明
○阿部航太郎¹, 山本浩範^{1,2,3}, 中尾真理¹, 中橋乙起¹, 神戸大朋⁴, 竹谷 豊¹, 武田英二¹
(¹徳島大院・HBS 研究部, ²仁愛大・人間生活, ³福井大・医, ⁴京大院・生命)
- E-22 14:44 フェノール性化合物硫酸体モデルの機能に関する研究
○菅原進太郎¹, 竹内 良², 小野政輝^{1,2}, 井越敬司^{1,2}, 榊原陽一³, 水光正仁³, 安田 伸^{1,2}
(¹東海大院・農, ²東海大・農, ³宮崎大・農)
- 休 憩
- E-23 15:20 Cordycepin による LPS 誘導性 NO 産生抑制効果
○今村健太¹, 浅井桃子¹, 菅本和寛², 松本朋子³, 山崎有美¹, 亀井一郎¹, 服部貴博⁴, 岸本正興⁴, 新坂誠司⁴, 西山和夫¹, 山崎正夫¹
(¹宮崎大・農, ²宮崎大・工, ³宮崎大・産学・地域連携セ, ⁴晨星興産 (株))
- E-24 15:32 GAPDH による IgE クラススイッチの抑制
○岩元 彬¹, 井上愛子², 井上祐一³, 山田耕路¹, 立花宏文¹, 川原浩治³
(¹九大院・農, ²(株)キューリン・検査部, ³北九州高専・物質化学工)
- E-25 15:44 血中サイトカインの変化とパラミロンフィルムの創傷治癒効果
大串美沙¹, 今井ももこ¹, 飯田聡史¹, 庄條愛子^{1,2}, 吉田絵梨子³, 鈴木健吾³, 原田直樹¹, 山地亮一¹, 乾 博¹, 和田野晃¹, ○中野長久^{1,4}
(¹大阪府大, ²相愛大, ³(株)ユーグレナ, ⁴大阪女子短大)
- E-26 15:56 グリセロホスホコリンはコリン欠乏によるマウス肝障害を抑制する
○米中久喜, 光本仰志, 中村啓司, 橋本貴生, 加藤範久, 矢中規之
(広島大院・生物圏)

F 会場「栄養・食品・ビタミン」

- F-1 9:00 氷の融解温度を用いて算出した糖の水溶液構造パラメータ α とエクアトリアル OH 基数の関係
○相本香織¹，宮脇長人²，佐藤之紀¹
(¹県立広島大・生命環境，²石川県大・生資環)
- F-2 9:12 乳化亜麻仁油の噴霧乾燥粉末の安定性について
二宮 愛¹，○四日洋和¹，足立早映¹，安達修二²，吉井英文¹
(¹香川大・農，²京大院・農)
- F-3 9:24 甘味タンパク質ソーマチンの高分解能構造解析
○榊田哲哉¹，村田一輝²，佐野文音¹，三上文三¹，北畠直文³，谷 史人¹
(¹京大院・農，²京大・農，³ノートルダム清心女大)
- F-4 9:36 無限に細いパスタの吸水挙動に及ぼすグルテンの影響
○小川剛伸，長谷川絢子，安達修二
(京大院・農)
- F-5 9:48 亜臨界水処理によるツノナシオキアミ抽出物の特性評価
○永水宏昇¹，インティラ クームヤート¹，小林 敬¹，四日洋和²，吉井英文²，安達修二¹
(¹京大院・農，²香川大・農)
- F-6 10:00 竹粉の製パンへの応用とその冷凍耐性
○森永賀亮¹，唐川紀章²，森田 洋²
(¹北九大院・国際環境工，²北九大・国際環境工)
- F-7 10:12 *Aspergillus* 属菌と *Rhizopus* 属菌を用いた混合培養麹の酵素生産と醸造特性
○佐藤由可衣¹，許斐 隼¹，二宮純子¹，森田 洋²
(¹北九大院・国際環境工，²北九大・国際環境工)
- F-8 10:24 共培養系を用いた新規液体麹による酵素生産の増強
○許斐 隼¹，佐藤由可衣¹，二宮純子¹，森田 洋²
(¹北九大院・国際環境工，²北九大・国際環境工)
- F-9 10:36 *Enterobacter aerogenes* による黒米アントシアニンの構造変化
○山本佳子，三枝敬明，寺本祐司
(崇城大院・応微工)
- F-10 10:48 *Streptococcus mutans* のグルカンシュークラゼ阻害物質の探索
○薮田行哲，木村成沙，金田淑未，石原 亨，渡辺文雄
(鳥取大・農)

- F-11 11:00 にごり酒における機能性成分 *S*-アデノシルメチオニン及び葉酸の安定性について
○藤井 力¹, 森本朋子¹, 金井宗良¹, 濱田由紀雄², 山田 修¹
(¹酒総研, ²日本酒造組合中央会)
- F-12 11:12 清酒の低分子オリゴペプチドの網羅的解析
○高橋 圭¹, 徳岡昌文^{1,2}, 河野弘美¹, 澤村宣子¹, 妙見夕佳¹
(¹酒総研, ²東農大)
- F-13 11:24 非生物素材に付着した大腸菌 O157 の生存性
○横井川久己男¹, 達 牧子²
(¹徳島大院・SAS 研究部, ²神戸女短大)

G 会場「生物化学」

- G-1 9:00 2 タイプの野生型ショウジョウバエ・ニコチン性受容体 D α 1 サブユニットの構造と昆虫制御剤感受性の関係
○島津直弥, 伊原 誠, 松田一彦
(近畿大・農)
- G-2 9:12 カシ米尔コクヌストモドキのオクトパミン・チラミン受容体のクローニングと機能解析
○山田隆一郎¹, 鴛海央², 太田広人^{1,2}, 平島明法³, 森村 茂^{1,2}, 新留琢郎^{1,2}
(¹熊本大・工, ²熊本大院・自然科学, ³九大院・農)
- G-3 9:24 中間径フィラメント蛋白質フィレンシンの機能に及ぼすテイルドメインの長さの影響
○岩本悟史, 高田 京, 中村朱里, 松元俊彦, 安藤祥司
(崇城大・生物生命)
- G-4 9:36 ヘアケラチンの多様性と中間径フィラメント形成特性
○荒川友貴¹, 本田裕子², 小池謙造³, 増子貞彦², 神原光作¹, 松元俊彦¹, 安藤祥司¹
(¹崇城大・生物生命, ²佐賀大・医, ³花王・BC 研)
- G-5 9:48 Tyr を含む化合物の細胞毒性について
平 順一¹, 関 清彦², 光富 勝², 宗 伸明², 〇上田敏久²
(¹久留米大・医, ²佐賀大・農)
- G-6 10:00 レチノイン酸によって抗体産生能が増強するヒトハイブリドーマ
○峠 美穂¹, 井上愛子², 井上祐一¹, 川原浩治¹
(¹北九州高専・物質化学, ²(株) キューリン・検査部)
- G-7 10:12 上皮細胞との接触による樹状細胞への制御性誘導
○竹内杏理¹, 寺井織枝¹, 梶田哲哉¹, 馬渡隆志², 谷 史人¹
(¹京大院・農, ²グリコ乳業)
- G-8 10:24 CDK ファミリーPCTK3 は cyclin A および PKA によって活性化する
○松田真弥, 小湊恭平, 宮本賢治, 辻 明彦, 湯浅恵造
(徳島大院・STS)
- G-9 10:36 小胞体で機能するペルオキシレドキシン 4a の局在変化
○多田久志¹, 内海俊彦², 藤井順逸³, 井内良仁¹
(¹山口大・農, ²山口大院・医, ³山形大院・医)

- G-10 10:48 精巢特異的ペルオキシレドキシン 4b の機能解析
○松本勝太郎¹, 多田久志¹, 藤井順逸², 井内良仁¹
(¹山口大・農, ²山形大院・医)

休 憩

「新技術・新素材」

- G-11 13:20 ポリ- γ -グルタミン酸の超分子（複合）材料化と新機能開発
○尾池翔太¹, 妹尾香苗², 若松泰介^{1,2}, 芦内 誠^{1,2}
(¹高知大院・農, ²高知大・農)

「天然物・有機化学」

- G-12 13:32 ユビキノンプローブの合成とユビキノン結合性タンパク質 Coq10 の解析
○村井正俊¹, 松延広平¹, 工藤佐和子¹, 川向 誠², 三芳秀人¹
(¹京大院・農, ²島根大・生物資源)
- G-13 13:44 ユズ果皮中の ERK リン酸化促進物質の同定（徳島産柑橘の機能性成分の探索その1）
中村光裕¹, ○鈴木智子¹, 田村啓敏², 増田俊哉¹
(¹徳島大院・総合, ²香川大・農)
- G-14 13:56 抗かび活性を有する 6-置換-5,6-ジヒドロ- α -ピロン化合物の全立体異性体の合成研究
○渡部加奈, 西脇 寿, 山内 聡
(愛媛大・農)
- G-15 14:08 Ficifolidione とその類縁体の合成とガン細胞に対する毒性評価
○藤原敏美, 西脇 寿, 岩本洋幸, 福岡伸洋, 菅原卓也, 西 甲介, 山内 聡, 首藤義博
(愛媛大・農)
- G-16 14:20 エーテルおよびチオエーテルを有するイミダクロプリド類縁体の生物活性
○長岡ひかる, 西脇 寿, 久保卓也, 山内 聡, 首藤義博
(愛媛大・農)
- G-17 14:32 オカボノアカアブラムシの寄生によるイネ根の褐変機構
○上田真二¹, 手林慎一¹, 佐野千聡¹, 及川 彰², 佐々木亮介³, 斎藤和季³, 上手麻希⁴, 間世田英明⁴, 石原 亨⁵
(¹高知大・農, ²山形大・農, ³理研 PSC, ⁴徳島大・工, ⁵鳥取大・農)

- G-18 14:44 植物病原菌 *Bipolaris coicis* の生産する植物毒素 radicinin の生合成
○西田直人¹, 赤木靖典², 児玉基一朗², 石原 亨², 中島廣光²
(¹鳥取大院・農, ²鳥取大・農)

休 憩

- G-19 15:20 Synthesis of 6-*O*-decanoyl-D-altrose and its biological activity on plant growth
○Md. Tazul Islam Chowdhury, Ryo C. Yanagita and Yasuhiro Kawanami
(Fac. Agri., Kagawa Univ.)
- G-20 15:32 Apteniol 類の構造及び生物活性に関する研究
○西川 耀¹, 野下俊朗¹, 田井章博¹, 大内秀一², 岡本泰輔³, 齊藤安貴子³
(¹県立広島大・生命環境, ²近畿大・薬, ³大阪電通大・工)
- G-21 15:44 側鎖切断型 20 位ヒドロキシビタミンDの合成研究
○末長 努, 山菅真基, 大西翔太, 川幡正俊, 山口健太郎, 藤島利江
(徳島文理大・香川薬)
- G-22 15:56 矮性エンドウから単離された成長抑制物質DHMDとその配糖体の合成
○高月香澄, 篠塚早紀, 吉良 梓, 松本唯希, 中島修平, 泉 実
(岡山大院・環境生命)
- G-23 16:08 植物金属輸送体ニコチアナミンの前駆体であるトリペプチドの効率的な合成法
○城戸裕喜, 城戸健史, 平田智大, 中島修平, 泉 実
(岡山大院・環境生命)
- G-24 16:20 オリーブアナアキゾウムシ由来揮発性物質の SPME-GCMS による分析
○藤久保亮, 泉 実, 中島修平
(岡山大院・環境生命)
- G-25 16:32 ガラクトフラノシド誘導体の合成と酵素加水分解
○篠塚早紀¹, 松本唯希¹, 中村健太郎¹, 八色奈央², 松永恵美子², 竹川 薫²,
中島修平¹, 泉 実¹
(¹岡山大院・環境生命, ²九大院・農)

H 会場「生物化学」

- H-1 9:00 酸性 Peptide:N-glycanase (PNGase) 過剰発現トマトの構築
○村田翔平¹, 前田 恵¹, 中村浩介², 中野龍平¹, 木村吉伸¹
(¹岡山大院・環境生命, ²カゴメ総研)
- H-2 9:12 植物複合型糖鎖の代謝に関与する β -ガラクトシダーゼ (β -Gal'ase) の精製と酵素学的性質
○Ziaur Rahman, 秋山 剛, 前田 恵, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命)
- H-3 9:24 金属イオン添加によるセイヨウワサビペルオキシダーゼの過酸化水素非要求性スーパーオキシド生成反応の誘導
○木村 誠¹, 梅本洋介², 河野智謙¹
(¹北九大院・環境生命, ²北九大・環境生命)
- H-4 9:36 オオイタビ (*Ficus Pumila*) 乳液由来プロテアーゼの構造解析
○黒木隆生¹, 岩下和樹², 瀬戸上徹², 上條陽平², 外川内亜美², 伊東祐二², 有馬一成²
(¹鹿児島大・理, ²鹿児島大院・理工)
- H-5 9:48 アコウ (*Ficus superb var. japonica*) 乳液由来プロテアーゼの精製と性質
○小倉梨那¹, 高山亜衣¹, 外川内亜美², 上條陽平², 伊東祐二², 有馬一成²
(¹鹿児島大・理, ²鹿児島大院・理工)
- H-6 10:00 イヌビワ (*Ficus erecta* Thunb.) 由来セリンプロテアーゼの構造解析
○中村信孝², 赤瀬優也¹, 外川内亜美², 上條陽平², 伊東祐二², 有馬一成²
(¹鹿児島大・理, ²鹿児島大院・理工)
- H-7 10:12 高い糖転移活性を示すソテツ由来クラス V キチナーゼの構造と機能
○梅本尚之¹, 神田有華¹, 大沼貴之¹, 沼田倫征², 平良東紀³, 深溝 慶¹
(¹近畿大院・農, ²産総研・バイオメディカル, ³琉球大・亜熱生資)
- H-8 10:24 *Paenibacillus* sp. IK-5 由来新規キトサン特異的糖質結合モジュールのキトサンオリゴ糖結合様式
○新家粧子¹, 大沼貴之¹, 山城玲奈¹, Padmanabhan Anbazhagan², André H. Juffer², 木元 久³, 草桶秀夫⁴, 深溝 慶¹
(¹近畿大・農, ²University of Oulu, ³福井県大・生物資源, ⁴福井工大・工)
- H-9 10:36 *Gongronella butleri* の生産する exo-chitobiohydrolase の精製と性質
○西山安江, 千原早央里, 平野勝紹, 関 清彦, 光富 勝
(佐賀大・農)

- H-10 10:48 サンゴ由来レクチン様タンパク質の糖特異性の解明
○郷田秀一郎, 工藤彰洋, 牛島祐樹, 海野英昭, 畠山智充
(長崎大院・工)
- H-11 11:00 Characterization of Delta-class glutathione transferase of brown plant hopper
○MD. Tofazzal Hossain¹, Naotaka Yamada¹, Takahiro Shiotsuki², Kohji Yamamoto¹
(¹Kyushu Univ., ²NIAS)
- H-12 11:12 カボチャカルモジュリンによるグルタミン酸脱炭酸酵素の活性化
○齊藤慶二郎, 菊池章隆, 松元俊彦, 安藤祥司
(崇城大・生物生命)
- H-13 11:24 耐熱性 NADP 依存性 D-アミノ酸脱水素酵素の構造解析
○秋田紘長¹, 土居克実², 大島敏久³, 櫻庭春彦⁴
(¹九大院・生資環, ²九大院・農, ³大阪工大・工, ⁴香川大・農)
- H-14 11:36 ニワトリ脂肪肝で特異的に発現する NAD(P)H 依存性 carbonyl reductase の性質と構造
○曾根孟起¹, 福田雄大¹, 荒木朋洋¹, 櫻庭春彦², 大島敏久³, 米田一成¹
(¹東海大・農, ²香川大・農, ³大阪工大・工)
- H-15 11:48 ニワトリ脂肪肝で特異的に発現する NAD(P)H 依存性 carbonyl reductase の分子特性
○福田雄大¹, 荒木朋洋¹, 仁木隆博¹, 櫻庭春彦², 大島敏久³, 芝田 猛¹, 米田一成¹
(¹東海大・農, ²香川大・農, ³大阪工大・工)

休 憩

- H-16 13:20 カイコ絹糸腺のみどりの香り生成抑制因子の精製とその性質について
○高井嘉樹¹, 藤井沙季¹, 小澤理香², 道羅英夫³, 大西利幸³, 小林 淳¹, 高林純示¹, 松井健二¹
(¹山口大院・医, ²京大・生態研, ³静岡大・GRL)
- H-17 13:32 嫌気性アンモニア酸化菌のヘム酵素による一酸化窒素還元反応
○入佐達也¹, 平 大輔¹, 古川憲治², 藤井隆夫¹
(¹崇城大・生物生命, ²熊本大院・自然科学)
- H-18 13:44 Redox maintenance by redox modulators under proteasome inhibition
○Sunita Maharjan¹, 實関 淳^{1,2}, 奥 公秀¹, 阪井康能^{1,2}
(¹京大院・農, ²京大・学際融合)

- H-19 13:56 シロイヌナズナ硫酸転移酵素によるフラボノイド硫酸化
○原 洋介¹, 橋口拓勇¹, 下平武彦¹, 黒木勝久¹, 榊原陽一¹, Liu Ming-Cheh², 水光正仁¹
(¹宮崎大・農, ²トレド大・薬)
- H-20 14:08 マウス SULT2 硫酸転移酵素の転写調節領域解析
○高瀬憲太郎¹, 黒木勝久¹, 橋口拓勇¹, Liu Ming-Cheh², 水光正仁¹, 榊原陽一¹
(¹宮崎大・農, ²トレド大・薬)
- H-21 14:20 腸内細菌による胆汁酸代謝変換は回腸の胆汁酸吸収輸送担体の発現を制御する
○宮田昌明^{1,2}, 山川泰輝¹, 林謙次郎¹, 吉成浩一¹, 山添 康¹
(¹東北大院・薬, ²水大校・食品科学)
- H-22 14:32 組換え HIV-1 逆転写酵素の耐熱化
○西村耕作, 篠村まゆ, 小西 篤, 保川清
(京大院・農)
- H-23 14:44 リジル-tRNA 合成酵素の tRNA 非依存的校正機構の解析
○滝田禎亮
(京大院・農)
- H-24 14:56 *Pyrococcus furiosus* 由来 Exo I のホモ三量体形成と活性の関係
○濱砂孝文¹, 石野園子¹, 山上 健¹, 宮園健一², 田之倉優², 石野良純¹
(¹九大院・農, ²東大院・農)

休 憩

- H-25 15:20 高速・高効率 PCR を目指した DNA ポリメラーゼの創製
○恒川冴恵, 石野園子, 山上 健, 石野良純
(九大院・農)
- H-26 15:32 アーキアの損傷塩基修復酵素 Endonuclease Q の活性に関わるアミノ酸残基の同定
○牧田成人, 白石 都, 石野園子, 山上 健, 石野良純
(九大院・農)
- H-27 15:44 超好熱性アーキア RNase P RNA 変異株の作製
○上田敏史¹, 石野園子², 石野良純², 中島 崇^{1,2}, 角田佳充^{1,2}, 木村 誠^{1,2}
(¹九大院・システム生命, ²九大院・農)

- H-28 15:56 シロイヌナズナ細胞内小器官前駆体 tRNA プロセシング酵素・PRORP1 の基質認識機構の解析
○今井崇喜¹, 中村崇裕², 中山 郁¹, 前田 卓¹, 中島 崇¹, 角田佳充^{1,2}, 木村 誠^{1,2}
(¹九大院・生資環, ²九大院・農)
- H-29 16:08 シロイヌナズナ核内前駆体 tRNA プロセシング酵素・PRORP2 の調製と酵素化学的性質
○前田 卓¹, 今井崇喜¹, 中山 郁¹, 中島 崇², 角田佳充², 木村 誠²
(¹九大院・生資環, ²九大院・農)
- H-30 16:20 RNase P 構成タンパク質は RNA の活性化において RNA と複合体を形成することが必要か？
○宮ノ下充¹, 上田敏史¹, 中島 崇^{1,2}, 角田佳充^{1,2}, 木村 誠^{1,2}
(¹九大院・システム生命, ²九大院・農)
- H-31 16:32 RNase P 構成タンパク質 Pop5 の RNA 結合モチーフ (RRM) 非標準構造は RNA の活性化に重要である
○栢山紘輔¹, 中島 崇^{1,2}, 角田佳充^{1,2}, 木村 誠^{1,2}
(¹九大院・生資環, ²九大院・農)
- H-32 16:44 RNase P 構成タンパク質の RNA 解離会合促進活性は進化系統ドメイン間で保存されている
○古谷貴志¹, 栢山紘輔¹, 富田里子², 今井崇喜¹, 中島 崇^{1,2,3}, 角田佳充^{1,2,3}, 木村 誠^{1,2,3}
(¹九大院・生資環, ²九大院・農, ³九大院・農)
- H-33 16:56 RNase P 構成タンパク質 Rpp30 の RNA 活性化に関与するアミノ酸残基の解析
○岩崎文彦¹, 濱崎真人², 上田敏史¹, 中島 崇^{1,2,3}, 角田佳充^{1,2,3}, 木村 誠^{1,2,3}
(¹九大院・システム生命, ²九大院・生資環, ³九大院・農)

Ⅰ 会場「植物・環境科学・その他」

- I-1 9:00 酸触媒イオン液体前処理を用いた新規バイオプロセス構築
○小倉一真, 荻野千秋, 近藤昭彦
(神戸大院・工)
- I-2 9:12 ノリ加工排水処理用微生物担体の作製
○高田好見¹, 田浦昌純², 出口智昭³
(¹有明高専専攻・応物工, ²熊本高専・生物化学, ³有明高専・物質工)
- I-3 9:24 紅藻類オゴノリ科海藻表層に付着する微生物相の特徴
○垣田浩孝, 小比賀秀樹, 上嶋 洋
(産総研・健康工学)
- I-4 9:36 A comparative study of antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in Okinawan mangroves
○Md. Daud Hossain, Hironori Iwasaki, Masashi Inafuku, Hirosuke Oku
(Univ. Ryukyus TBRC)
- I-5 9:48 Catalases are not key enzymes to alleviate gamma irradiation-induced DNA damage, H₂O₂ accumulation, or lipid peroxidation in *Arabidopsis thaliana*
○Amena Sultana¹, Ikuko Minami¹, Daiki Matsushima¹, Mohammad Issak¹, Yoshimasa Nakamura¹, Setsuko Todoriki², Yoshiyuki Murata¹
(¹Div. Biosci., Okayama Univ., ²Food Safety Div., NFRI)
- I-6 10:00 シロイヌナズナでのサリチル酸が誘導する活性酸素種の蓄積は気孔口径を減少させ乾燥耐性を向上させる
○大熊英治¹, 岡本啓之¹, Paul M. Hasegawa², 三浦謙治³, 村田芳行¹
(¹岡山大院・環境生命, ²H.L.A., Purdue Univ., ³筑波大・生命環境)
- I-7 10:12 セレンストレス下のタバコ培養細胞へのプロリンの影響と酸化ストレスとの関係
○松島大貴, 宗正晋太郎, 中村宜督, 村田芳行
(岡山大院・環境生命)
- I-8 10:24 Spatiotemporal expression of hydroperoxide lyase gene in *Arabidopsis*
○Cynthia Mugo, Atsushi Matsuki, and Kenji Matsui
(Grad. Sch. Med. (Agri.), Yamaguchi Univ.)

- I-9 10:36 シロイヌナズナにおけるカタラーゼのペルオキシソーム輸送機構の解明
○遠藤聡至¹, 藤川愉吉¹, 大島良美², 真野昌二³, 林 誠⁴, 西村幹夫³, 江坂宗春¹
(¹広島大院・生物圏, ²産総研・生物プロセス, ³基生研・高次細胞機構, ⁴長浜バイオ・バイオサイエンス)
- I-10 10:48 アセロラにおけるアスコルビン酸生合成酵素遺伝子の発現解析
○近藤隆之, 藤川愉吉, 江坂宗春
(広島大院・生物圏)
- I-11 11:00 トマトのアスコルビン酸生合成におけるガラクトuron酸レダクターゼの遺伝子発現に関する研究
○末川麻里奈, 藤川愉吉, 江坂宗春
(広島大院・生物圏)
- I-12 11:12 Neither endogenous abscisic acid nor endogenous jasmonate is involved in salicylic acid-, yeast elicitor-, or chitosan-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*
○Mohammad Issak¹, Eiji Okuma¹, Shintaro Munemasa¹, Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori², Yoshiyuki Murata¹
(¹Div. Biosci., Okayama Univ., ²IPSR, Okayama Univ.)
- I-13 11:24 OST1 is involved in YEL-induced stomatal closure and activation of slow anion channels.
○Wenxiu Ye¹, Shintaro Munemasa¹, Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori², Yoshiyuki Murata¹
(¹Div. Agric. Life Sci., Okayama Univ., ²IPSR, Okayama Univ.)
- I-14 11:36 気孔閉口誘導と気孔開口阻害におけるアブシジン酸受容機構
○銀 叶¹, 足立優司¹, 叶 文秀¹, 林 真紀², 中村宜督¹, 木下俊則², 森 泉³, 村田芳行¹
(¹岡山大院・自然科学, ²名大院・理, ³岡山大・植物研)
- I-15 11:48 孔辺細胞アブシジン酸シグナル伝達におけるグルタチオンの役割
○室山大地¹, 宗正晋太郎¹, 長橋大樹², 中村宜督¹, 森 泉³, 村田芳行¹
(¹岡山大院・環境生命, ²岡山大・農, ³岡山大・IPSR)

休 憩

- I-16 13:20 孔辺細胞アブシジン酸シグナル伝達におけるヒスチジinkinナーゼ AHK5 の役割
○宗正晋太郎¹, Mohammad Anowar Hossain¹, 中村宜督¹, 森 泉², 村田芳行¹
(¹岡山大院・環境生命, ²岡山大・IPSR)

- I-17 13:32 ユーグレナチオレドキシンレダクターゼの同定と機能解析
○玉木 峻¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(¹島根大・生資科, ²近畿大・農)
- I-18 13:44 シロイヌナズナ VTC2 タンパク質の細胞内局在性の検討
○種子田隼人¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(¹島根大・生資科, ²近畿大・農)
- I-19 13:56 セイタカアワダチソウ抽出物を利用した組換え型 AhR/GUS レポーター遺伝子系
導入シロイヌナズナによる PCB 同族体のファイトモニタリング
○嶋津小百合¹, 太田雅也², 芦田 均¹
(¹神戸大院・農, ²福山大・生命工)
- I-20 14:08 シロイヌナズナ由来葉緑体局在 Lon プロテアーゼの異種発現と酵素学的解析
○國嶋幹子, 山内靖雄, 水谷正治, 杉本幸裕
(神戸大院・農)
- I-21 14:20 葉緑体由来の酸化的シグナリングに関与する転写因子の同定および機能解析
○野志昌弘¹, 問田英里¹, 岡本 泰¹, 田茂井政宏¹, 丸田隆典², 吉村和也³,
高木 優^{4,5}, 石川孝博², 重岡 成¹
(¹近畿大・農, ²島根大・生資科, ³中部大・応生, ⁴産総研・生物プロセス,
⁵埼玉大・環境科学)
- I-22 14:32 ホメオドメインロイシンジッパー(HAT1)転写因子を介したストレス応答機構
○大和 開¹, 問田英里², 野志昌弘², 野坂亮太², 田茂井政宏², 吉村和也³,
高木 優^{4,5}, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 石川孝博¹, 重岡成²
(¹島根大・生資科, ²近畿大・農, ³中部大・応生, ⁴産総研・生物プロセス,
⁵埼玉大・環境科学)
- I-23 14:44 オオムギ由来 Nudix hydrolase 遺伝子のストレス応答解析
○田中小百合¹, 木原 誠², 杉本 学¹
(¹岡山大・植物研, ²サッポロビール)
- I-24 14:56 イネ種子プロテインボディタイプ I (PB-I)に蓄積するプロラミン分子種間の相互
作用の解析
○佐生 愛¹, 重光隆成¹, 森田重人^{1,2}, 佐藤 茂^{1,2}, 増村威宏^{1,2}
(¹京都府大院・生命環境, ²京都農技セ・生資セ)

休 憩

- I-25 15:20 炭素分配による側枝形成の制御機構
○田茂井政宏^{1,2}, 大鳥久美^{1,2}, Daniel Padilla-Chacon^{1,2}, 田部記章^{1,2}, 重岡 成^{1,2}
(¹近畿大・農, ²JST・CREST)

- I-26 15:32 E3 リガーゼ NOPPERABO1 はゼニゴケ気室形成を正に制御する
○石崎公庸¹, 水谷未耶², 嶋村正樹³, 増田晃秀², 西浜竜一², 河内孝之²
(¹神戸大・理, ²京大院・生命, ³広島大・理)
- I-27 15:44 蛍光オーキシンによるオーキシン分布の可視化
○中村昌一¹, 福永紫穂¹, 古谷将彦², 野崎 浩¹, 青山卓史³, 林謙一郎¹
(¹岡山理大・理, ²奈良先端大・バイオサイエンス, ³京大・化研)
- I-28 15:56 Development of R4 Dual Site Gateway Binary Vector System Driven by Any Desirable Promoter for Plant Transformation
○Mostafa Aboulela and Tsuyoshi Nakagawa
(島根大・総科セ)
- I-29 16:08 シンビジウムへの *CyNAC3* 遺伝子導入
○山本剣輔¹, 宮本 拓¹, 三田 悟², 新美善行¹
(¹県立広島大・生命環境, ²静岡大・遺伝子)
- I-30 16:20 温帯性シンビジウムのライゾームの増殖と器官分化
○柚園明秀, 新美善行
(県立広島大・生命環境)
- I-31 16:32 Colchicine を用いた倍数体および異数体 *Spathoglottis plicata* の作出
○濱田昂希, 新美善行
(県立広島大・生命環境)
- I-32 16:44 *Tacca chantrieri* の増殖と馴化
○林田知佳, 新美善行
(県立広島大・生命環境)

受 賞 講 演

講 演 要 旨

植物、藻類などの光合成生物は、なぜビタミン C（アスコルビン酸:AsA）などの抗酸化物質を多く含むのか？ この素朴な疑問を出発点とし、これまでに我々は、光合成生物における AsA などの抗酸化物質と活性酸素種（ROS）によるレドックス制御を介した環境ストレス応答・耐性やこれと表裏一体にある光合成炭素代謝の分子機構の解明、関連する遺伝子群の導入による環境ストレス耐性や生産性を向上させた形質転換植物の作出（分子育種）に関する研究を行ってきた。

我々は、真核藻類ユーグレナの抗酸化酵素として、AsA を特異電子供与体とするペルオキシダーゼ（APX: EC1.1.1.11）を単離・精製し、酵素学的性質を明らかにした。さらに、高等植物や藻類の APX アイソザイムを導入した形質転換体を用いた解析から、APX が様々な環境ストレス応答に対して主要な ROS 消去酵素であることを示した。また、ホウレンソウ由来のチラコイド膜結合型およびストロマ型 APX アイソザイムは、1 つの遺伝子にコードされており、選択的スプライシングにより C 末端側の 2 つのエキシソンの使い分けにより生成されていた。そして、転写後調節としての mRNA の（選択的）スプライシング反応の場であるスプライセオソーム形成に関与するセリン／アルギニン（SR）タンパク質の分子特性と機能解析へと進展した。さらに、光合成生物の AsA 生合成系の光による調節機構も明らかにした。最近では、遺伝子破壊株、エストロゲンによる一過的発現抑制系を用いて、APX などの抗酸化酵素、AsA などの抗酸化剤および ROS による細胞内レドックス制御が、酸化ストレス、病害、ホルモン応答など、種々の細胞応答の遺伝子発現のシグナリングとして関与していることを明らかにしてきている。

時々刻々と変化する環境への応答（馴化）、複合的な激しい環境変化への耐性機構の 1 つとして、ヌクレオシド 2-リン酸由来の物質を加水分解する Nudix (Nucleoside diphosphate linked some moiety X) hydrolase ファミリーに属する 1 つの遺伝子（AtNUDX2）を見いだした。これを基盤に、シロイヌナズナの 27 種類の Nudix hydrolase タンパク質を網羅的に解析した。その結果、ADP リボース代謝、NADH 代謝を介したポリ ADP リボシル化反応の活性化、NADPH 代謝を介した葉緑体内のレドックス制御、病原菌感染に対する獲得免疫機構（全身獲得抵抗性）、酸化ヌクレオチドの除去修復による DNA 損傷の防御、FAD・CoA 代謝などに関与することを明らかにした。さらに、熱ショック転写因子（Heat shock transcription factor）HsfA2 が、強光・熱ストレスにおけるシグナル伝達の中心的な役割を担っていること、その標的遺伝子の 1 つであるガラクトキノール合成酵素を介して生成されるガラクトキノールやラフィノース属オリゴ糖が、適合溶質としてだけでなく生体内抗酸化剤としても機能することを証明した。

植物葉緑体のチオール酵素（GAPDH, FBPase, SBPase, PRK）のシステイン（Cys）残基は、フェレドキシン・チオレドキシン系により活性調節を受けるが、原核／真核藻類のチオール酵素は、活性調節に必要な Cys を欠損しておりレドックス調節を受けないこと、ROS による酸化失活を受けず、ROS 存在下でも高活性を維持していることを明らかにした。さらに、ストレス応答・耐性に関与する遺伝子群やラン藻カルビン回路で機能するフルクトース-1,6-/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ（FBP/SBPase）遺伝子の導入により、環境ストレス耐性および光合成能上昇・収量性向上の形質転換体の作出に成功した。また最近、葉緑体ゲノムへの形質転換にも成功し、葉緑体（工場）を用いた有用物質（ビタミン E など）や外来タンパク質の高生産への開発の道も開いた。

油脂の嗜好性に関する栄養生理学的研究

伏木 亨（京大院・農）

純粋で新鮮な油脂に対し人間は特別な味や匂いを感じない。しかし、食品中に油脂を添加すると食品の味わいが格段に増強される。無味無臭なのにおいしさとして強く認識され、好まれることは不思議である。

油脂が口腔内を化学的に刺激し神経系によって信号が脳に伝達されていることを証明するために、膵消化酵素の頭相分泌が舌上の油脂滴下で反射的に生じることを示した。食道を切断したラットの舌上に滴下した油脂は数分以内に膵外分泌を強く惹起した。分泌が観察されたのは長鎖の脂肪酸を滴下したときのみであり、中鎖脂肪酸やトリアシルグリセロール、脂肪酸のメチルエステルあるいはエチルエステルにはそのような刺激がなかった。この特異性は脂肪関連物質に対するラットやマウスの選択実験と同じであった。

甘味や酸味など多くの味覚に関与する鼓索神経は、試験した総ての油脂関連物質に対して何らの応答も記録されなかった。舌の奥を支配する舌咽神経舌枝については脂肪酸に対する応答が観察されたが、TG や脂肪酸のメチルエステルには応答しない。舌の奥を支配する舌咽神経が味覚とは異なる油脂の刺激を脳に伝えている可能性が高い。

福渡らは、舌の奥に分布する有郭乳頭の味蕾細胞のアピカル側に2回膜貫通構造を持つ脂肪酸結合タンパク質（CD36）が特異的に発現していることを示し、油脂の化学受容との関係を示唆した。松村らは GPR120 がラット舌の有郭乳頭の味蕾細胞に発現していることを示した。江口らの実験では GPR120 は長鎖の脂肪酸に対する特異性が高く、マウスやラットの油脂に対する嗜好性の特異性とよく一致している。CD36 とともに油脂の受容に対する生理的な関与が期待される。

今泉は、油脂の3日間の自由摂取がマウスの強化効果（やみつきとも言える）を惹起することを初めて明らかにし、ドーパミンならびにオピオイド受容体の関与を示した。

米田らは、レバー押しパラダイムによるオペラント条件付け法によって、油脂に対する強化効果を定量的に示した。さらに、数十秒以内のリック（なめる行動）回数を、動物の口腔内刺激に対する嗜好性を評価する方法として利用したところ、油脂を好きになったマウスにとっては、1%脂肪酸は100%コーン油に匹敵するほどの刺激があることが明らかになった。微量の脂肪酸が油脂の代替え物として利用できることを示唆する結果である。

油脂に対する高度の嗜好性には口腔内刺激のみならず、摂取後に油脂としての認識が体内で行われることが必要である。鈴木らは、消化吸收されない脂肪酸のソルビトールエステルが実験開始直後から1時間程度しかマウスの嗜好性を維持できないことを示した。エネルギーがないことを察知するメカニズムが存在し、代謝とリンクしている可能性が高い。しかし、人間は一度に多種類の食物を摂取するので、油脂の口腔内刺激とエネルギーの有無は対応させられないことが多い。人工甘味料のような人工油脂料の開発は可能であると言える。

謝辞

受賞研究は京都大学農学研究科栄養化学分野で行なわれたものです。引用した実験者以外にも多くの教室員ならびに共同研究者にご協力いただきました。深く感謝します。本研究の一部は、日本学術振興会未来開研究拓推進事業、生研センター基礎研究推進事業、ならびに同イノベーション創出基礎的研究推進事業の支援を得ました。深謝します。

1990 年代に巻き起こったゲノム研究の急激な発展は、その塩基配列決定法の飛躍的な進歩が最も大きな要因である。1995 年のインフルエンザ菌の全ゲノム配列（1.83Mb）の決定を皮切りに 2002 年のヒトゲノム配列（3Gb）の決定を経て多くの生物のゲノム配列が決定され、現在では、更なる改良・開発が継続されヒトゲノムが 1000 ドルで解析できる状況になり、より早く、安く、長く塩基配列が決定できる時代となっている。これらのゲノム解技術の発展は従来からの解析手法では処理不可能な巨大なデータを生み出し、コンピュータを用いたデータの解析法の開発が喫緊の重要課題となってきた。また、ゲノム配列決定後の網羅的オミックス解析に至っては、コンピュータを用いた網羅的な解析手法の開発無くしては行えない状況となってきた。我々は、この網羅的解析法、特に 1) ゲノム配列解析手法、2) 遺伝子発現解析手法、3) 発現制御ネットワーク解析手法等を我が国において先駆的に生物学分野に導入し、バイオインフォマティクス分野の先導的開拓を行ってきた。

1) ゲノム配列解析手法の開発と応用

DNA データバンク GenBank が設立され、DNA シークエンスデータの配布が始められた 1980 年代のはじめに、我々は世界に先駆けて DNA-データベースシステム GENAS (Nucleic Acids Res.,1984) を九州大学大型計算機センターに構築しネットワーク上に公開した。このシステムは GenBank の塩基配列データベース、アミノ酸配列データベースを基盤とし、解析用のプログラムを付加した本格的データベースシステムであり、多くの研究者に利用された。このシステムを応用して、榊氏らの研究グループと共同で当時開発されたダイデオキシ DNA 塩基配列決定法このデータベースとを基盤として、霊長類の反復配列である L1 ファミリーが 1294 アミノ酸配列蛋白質をコードしていることを明らかにした。決定されたアミノ酸配列をアミノ酸配列データベースに対してホモロジー検索を行い、この配列が出芽酵母の RNA 依存 DNA polymerase 等が高い類似性をもつことを明らかにし 1986 年に Nature に発表した。このようなゲノム解析手法は 2000 年以降飛躍的に拡張され、現在多くの解析支援システムの構築につながり、ゲノム配列決定の効率化の基盤となっている。

2) トランスクリプトーム解析手法の開発と応用

決定されたゲノム配列を基盤とし、マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム研究が 2000 年から増加してきた。我々のスタンスとしては、日本での技術開発を念頭におき、研究の基盤となるマイクロアレイの作製システムの開発を日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社と測定機器の開発を富士フイルム株式会社と行い、現在のトランスクリプトーム解析分野の発展に大きく貢献し、特に、多くの微生物のマイクロアレイのカスタムチップを作製し、研究コミュニティとの共同研究を行ってきた。

3) 遺伝子発現ネットワーク解析手法の開発と応用

次に技術的に大きく発展したのが、トランスクリプトーム解析である。特に、遺伝子発現の制御を網羅的に明らかにする試みが行われ、現在ではヒト全遺伝子産物を対象にした遺伝子ネットワーク推定が可能となり、創薬ターゲット遺伝子等の推定が可能となってきた。我々は、遺伝子をグラフ上のノード、遺伝子と遺伝子の制御関係をノードとノードを結ぶエッジ、遺伝子の制御関係のネットワークは実験データを満足するグラフィカルモデルの構造推定であると考え、ベイジアンネットワークを基盤とした大規模遺伝子ネットワークを推定するためのアルゴリズムを開発した。これらのネットワーク解析手法はバイオインフォマティクスの大きな分野を形成し、今や農芸化学分野を含む全生物学分野で極めて広く用いられている。

昆虫は植物の生産する豊富な一次代謝物質に依存し、地球上で多様に進化を遂げてきた最大の生物種群である。一方、植物は昆虫をはじめとする植食者からの攻撃に対抗するため、アルカロイド・テルペノイド・フェノリックスなど多くの二次代謝物質を生合成し適応してきた。これに対して昆虫側は、独特の解毒機構でこれらの化学障壁を克服してきた。しかし、他方で、植物は花粉を運んでもらうため色素・花香・花蜜で巧みに虫たちを誘う。このような‘食う食われる’の攻防も‘もちつもたれつ’の共存も生物間相互の共進化プロセスにより促されたと考えられている。昆虫と植物の間で繰り広げられる相互作用のなかで重要な働きをしている植物化学因子とそれを的確に認識・利用する昆虫側の‘本能’の背景にある以下の4つの課題を中心に研究を進めてきた。

1. 昆虫の寄主選択に関わる植物化学因子：「アゲハチョウはなぜミカン科植物に産卵するのか？」を中心課題として、植食性昆虫の産卵刺激物質・摂食行動制御因子などについて解析し、昆虫類の寄主選択の背景にある化学基盤を明らかにしてきた。アゲハチョウが食草を認識するための産卵刺激物質は、ミカン葉に含まれるフラボノイド・アルカロイド・サイクリトールなど多数種の物質から構成される複合系成分系であった。さまざまな昆虫について産卵・摂食・吸汁促進および阻害成分など摂食行動における植物化学因子について系統的に追跡した。

2. 昆虫の化学防御機構と植物化学因子：昆虫の多くは、外敵から身を守るために独特の防御機構を備えている。派手な色彩を持つチョウ類や昼行性のガ類のなかには幼虫時代に有毒植物から選択的に薬理成分を摂取・蓄積（sequestration）するものが多い。また、成虫時代における選択的な薬理成分の獲得現象（pharmacophagy 薬物食性）に関してその生態学的意味を比較考察した。

3. 花香を介した昆虫と植物の送粉共生系：地上の生物相をこれほどまで多様にしたのは、花粉媒介者としての昆虫と被子植物相互の急速な適応放散によるところが大きいと考えられている。‘花の香り’を介した送粉共生系の進化プロセスに注目して両者の関係を追究した。熱帯地域における果実の大害虫 *Bactrocera* 属ミバエ類とそそれに送粉依存する *Bulbophyllum* 属“ミバエラン”を中心に、相互の繁殖戦略と種分化に関わるフェニルプロパノイド花香成分（ラン側）および花香を原料としたフェロモン成分（ミバエ側）を明らかにし、相互の“共進化”を促した植物化学的要因について考察した。

4. 昆虫フェロモンとその生態学的機能：昆虫の配偶行動や集合を制御する多種多様なフェロモン成分について化学構造解析・有機合成・行動解析を進めた。とくに雄成虫が独特の性フェロモン分泌器官をもつマダラチョウ類や害虫蛾類から、寄主植物由来と考えられる特異な性フェロモン成分を同定し、雌に対する作用ならびにその起源について考察した。果樹害虫ミカンコミバエ種群の雄の性フェロモン成分を解明し、項目2、3との関連において、植物化学因子を介した独特の生活環と、その生態学的意義を明らかにした。

上記1～4の各テーマは互いに密接に関連し、そのほとんどの題材において“植物二次代謝成分を介した昆虫と植物の相互作用”の解明に主眼を置いてきた。昆虫の生理・生態制御新素材開拓への足掛かりを得ることを視野に研究を進めるとともに、生態系を構成する生物間のネットワークをよりグローバルに捉え、環境保全に資することを目標としていきたい。

シ　ン　ポ　ジ　ウ　ム

1. 食品成分の機能性評価と応用研究：食による健康・長寿を目指して
2. 藻，微生物によるエネルギー・食糧生産と魚介資源の安全確保：諸課題と未来への展望

カロテノイドに関する研究は、19世紀にパブリカやニンジン等の植物色素を対象に開始され、1831年にニンジン（carrot）から得られた色素がカロテン（carotene）と命名された。1906年にカラムクロマトグラフィによるカロテンと類縁色素の分離精製が行われ構造決定が行われた。構造的に類似した約700種もの色素群はカロテノイド（carotenoid）と呼ばれている。

ビタミンAの研究は、1913年頃に McCollum, Osborne & Mendel らがネズミの成長因子として発見したことに始まり、1919年に Steenbock により黄色色素がビタミンAの前駆体（プロビタミン）である可能性を指摘した。これは、1930年 Karrer によるβ-カロテン構造の報告によってビタミンAとの構造的類似から支持されることとなった。1937年には Karrer と構造決定に貢献した Kuhn にノーベル化学賞が授与されている。

一方、植物だけでなく細菌、藻類、動物からもカロテノイドが見出され、その分布と構造に関する研究からカロテノイドを合成するのは光合成細菌・シアノバクテリアを中心とする細菌と藻類、植物であり、動物界はそれらをそのまま若しくは代謝して利用していることが明らかとなった。動物のカロテノイド研究は植物からやや遅れて開始された。海綿動物、軟体動物、甲殻類、昆虫類等の無脊椎動物では鮮やかな色を持つものが多く、脊椎動物では、体表・羽毛、筋肉、卵黄などにカロテノイドが存在し、それぞれ婚姻色、保護色、警戒色等として機能している。カロテノイドの（1）吸収代謝、（2）体内分布、（3）種による差異、等について研究が行われたが、生理的機能はプロビタミンAとしての役割を除けば余り考慮されていなかった。しかし、水産・畜産分野では魚類の色揚げ、卵黄色、肉質等、主に商業的重要性から研究され着色料として研究された。光合成の分野ではカロテノイドのアンテナ色素並びに光傷害防御色素としての重要な役割が解明された。

1950年代に医療・衛生・栄養状態の改善によって従来の感染症から悪性新生物いわゆる“がん”へ疾病構造が変化した。このため、がんの予防・治療を目指して世界中の研究者が精力的な努力を注いだ。化学発がんやウイルス発がんの機構解明、疫学的研究による発がん抗発がん要因の究明によって、レチノール・レチノイドによる発がん過程の抑制や緑黄色野菜摂取による発がんリスク減少が示された。当初、緑黄色野菜中のβ-カロテンがレチノールに変換されて発がんを抑制すると推定されたが、その後レチノールの摂取では発がんとの負の相関がみられないことからβ-カロテンが発がん抑制の本体と考えられた（Doll & Sporn, 1981）。このような結果を踏まえて大規模ながん予防の介入試験が行われた。しかし開始後まもなくしてがん抑制効果が認められないか逆にリスクを高める結果が示され急遽中止に至った。疫学的知見の大幅な見直しと、β-カロテンや他のカロテノイドの吸収・代謝、物理化学的・生理学的・薬理的性質について検討が行われ多量投与の問題点に迫った。一方、カロテノイドの一重項酸素消去能、抗酸化性、光酸化防止効果、生体防御作用、生殖機能への影響などが報告され、異なるカロテノイドの組合せ（マルチカロテノイド）や天然抽出物、野菜・ジュース、として摂取することががんや心疾患、その他の疾患のリスクを低下させるとの研究報告が得られている。

現在、1950年代に全合成されたβ-カロテンを始めとして商業的重要性のあるカロテノイドが合成され、天然系着色料とともに水産・畜産の分野並びに食品の着色等に用いられている。天然系着色料は我が国だけで2012年度に1300トンが使用されており、ポリフィリン系の3300トンに次ぐ。β-カロテンだけでなく、リコピン、アスタキサンチン、ルテイン、ゼアキサンチン等を含むものが着色料や健康食品、化粧品等、幅広く利用されており、世界のカロテノイド市場規模は1000億円を超えている。最近、遺伝子発現レベルでの研究報告や人工光合成の実用化研究に関する進捗状況が報告されており極めて興味深く今後の発展が期待される。

炎症性腸疾患（inflammatory bowel disease, IBD, 潰瘍性大腸炎・クローン病など）は、難病に指定されている疾患である。IBD は、複合的な要因によって発症する。腸管上皮細胞層によるバリア機能の異常により、高分子抗原や微生物などが侵入することで、粘膜固有層の免疫細胞が過剰に活性化し、腸管での炎症が引き起こされる。また、腸における炎症には Th17 細胞の関与も指摘されている。Th17 は、炎症・自己免疫疾患・アレルギーなどに深く関与する IL-17 産生細胞であることから、Th17 活性を抑制することが炎症抑制に効果的であると考えられる。

当研究室では、プロバイオティクス乳酸菌・ビフィズス菌による腸炎抑制効果について検討している。*Streptococcus thermophilus* ST28 は、Th17 分化誘導環境下（in vitro）において Th17 分化および IL-17 産生を低下させた。一方、ST28 は Th1 サイトカインである IFN- γ の産生量を有意に増加させた。このような Th1/Th17 バランス制御を担う因子（の少なくとも その一部）として、ST28 のゲノム DNA が示唆された。続いて、生体内における Th17 抑制効果を、デキストラン硫酸ナトリウム誘導 腸炎マウス（DSS マウス）を用いて評価した。DSS マウスへの ST28 の経口投与は、血便と下痢を伴う腸炎症状を軽減した。また、ST28 の経口投与は、大腸粘膜固有層の Th17 割合を減少させ、大腸粘膜固有層および脾細胞における過剰な IL-17 産生も著しく減少させた。

炎症部位においては、低酸素状態である領域が広がっており、そこに Th17 細胞が浸潤している。また、ストレス下で産生されるアドレナリンなどが、Th17 活性化を介し炎症性細胞を誘導することが知られている。加えて、炎症状態の上皮細胞では、CD40 などの共刺激分子が異常発現し、腸炎に深く関与することが明らかになってきた。DSS マウスにおいて、*Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* JCM 1222^T 投与は、CD40 発現を制御することで、炎症に関わる IL-17 の高産生を抑制することを明らかにした。現在、Th17 をはじめ 腸炎に深く関わる免疫細胞について解析し、腸管保護食品創製に繋げることを研究目標にしている。

腸管上皮バリア損傷に対する乳酸菌の回復効果についても解析した。DSS マウス腸管において、経口投与した *Lactobacillus rhamnosus* OLL2838 は、tight junction 構成・調節タンパク質である ZO-1 および MLCK 発現を制御することにより、腸管バリア機能の低下を抑制した。さらに、in vitro（Caco-2）での検討から、OLL2838 の活性成分の 1 つはリポテイコ酸であり、Toll-like receptor（TLR）2 を介して腸管バリア回復効果を発揮することが示された。テイコ酸側鎖は D-alanine（D-Ala）や D-glucose により修飾されているが、テイコ酸の D-Ala 修飾が *S. thermophilus* ATCC19258^T の腸管バリア保護効果に重要な役割を果たしていることを見出した。また、L-Ala を添加した培地で ATCC19258^T を培養することにより、テイコ酸の D-Ala 修飾が促進され、腸管バリア保護効果を増強することができた。

IBD は腸炎の中でも重篤な段階であるが、我々の日常生活におけるストレスなどによっても、局所的に軽微な炎症が起こっており、これを乳酸菌・ビフィズス菌が修復していると推察されることから、これらの腸管炎症抑制作用は、IBD 患者に限定されるものではないと思われる。ヨーロッパでは、乳酸菌を IBD などの治療に用いる試みが始まっている。今後、有効菌種・菌株や作用機序の全容が明らかとなることを期待したい。

S 1－3 体脂肪を低減させるポリフェノール高含有飲料の開発

中村淳一（サントリーグローバルイノベーションセンター（株））

サントリーでは1981年に缶入り烏龍茶を発売して以来、烏龍茶の健康効能に着目して研究を続けてきました。その長年にわたる烏龍茶研究を活かし、茶葉を半発酵させる工程で生成されるカテキン類が重合した特有のポリフェノール：ウーロン茶重合ポリフェノール（Oolong Tea Polymerized Polyphenols；OTPP）の作用に着目し研究を重ねてきました。その結果、OTPPが膵リパーゼの阻害作用を有することを突き止め、OTPP高含有飲料摂取による便中脂肪排泄量の増加作用、および食後血中中性脂肪の増加抑制作用について、ヒト試験にて検証したことから、2006年に特定保健用食品としての表示許可を取得いたしました。

その後も研究を続け、OTPP高含有飲料を継続摂取することで体脂肪が減少することを実証し、特定保健用食品として新たな許可表示を取得するに至りました。

また、たまねぎやりんごをはじめ、様々な野菜・果物などに含まれるポリフェノール：ケルセチンの研究も行っており、ケルセチン配糖体高含有飲料の開発を進めてきました。ケルセチンには、抗酸化作用、抗炎症作用等の様々な作用が報告されていますが、中でも脂質代謝亢進作用に着目し、脂肪分解促進作用およびヒトでの体脂肪低減作用を検証してきました。

本シンポジウムでは、我々が研究してきたポリフェノール高含有飲料の開発の経緯を、体脂肪低減効果を検証したヒト試験結果を中心にご紹介させていただきます。

S 1－4 地域特産食品の高付加価値化を実現する機能性成分の分析マニュアルの標準化

廣津孝弘（（独）産総研・四国センター）

【背景】 急速な少子・高齢化の進行により，“健康・長寿”の実現は単に個人の幸せにとどまらず社会の安定した発展の為にも重要な課題となっている。これを反映して、国民の食品の安全性あるいは健康機能性に対する関心は非常に高い。食品に関する、科学的根拠に立脚した客観的な健康情報（機能性成分、成分量等）を社会に提供することが重要な所以である。このような情報を通じて、消費者は自己の必要に応じて正しく食品を選択することができ、一方生産者は消費者の要望に応じてよりの確に食品の開発・市場供給が可能になる。国内の需要が今後漸減すること、更にはグローバル化が一層進むことを考えるとき、特に地域の中小食品関連企業にとって国内市場はもとより国際市場を獲得するための有効な戦略ともなる。

産総研・四国センターは、平成 20 年度経済産業省地域イノベーション創出共同体形成事業において（独）農業・食品産業技術総合研究機構・近畿中国四国農業研究センター、四国四県の公設研と共同で、有望な食品市場調査および食品関連企業ニーズ調査を実施し、特に、四国地域の特産食品類に含まれる 52 種類の機能性成分について定量分析マニュアル集を作成・公開した。この成果への社会の関心は非常に高いことから、その後、産総研・北海道センターとも協力し、定量分析マニュアル集の充実を図った（現在、80 品目）。同時に、これらの成果が社会に広く受け入れられ、実際にその活用を図るためには、機能性成分の分析マニュアルの標準化が不可欠であると認識するに至った。

【フォーラム標準化を目指して】 食品中の機能性成分の分析マニュアルの標準化を推進するため、産総研・計量標準総合センター（NMIJ）の指導・協力のもと、①標準化のレベルは、任意の機関が集まりフォーラムを形成し作成するフォーラム標準が妥当であること、②構成機関として、産業技術連携推進会議傘下の地域公設研が実績・能力において主要メンバーたること、③食品及びその機能性成分は各県の提案に基づくこと、等を基本理念とし、平成 24 年 4 月 1 日食品分析フォーラムを設立した。現在、産総研の他、全国から 20 の地域公設研が機関参加している。なお、大学からは個人参加である。本フォーラムでは、会員に向けて、対象食品と機能性成分の募集、テストマテリアルの調製と提供、フォーラム標準化の為の共同分析の実施、標準化された分析マニュアル集の公開等を主な業務として進めている。

【現状と今後の展開】 認証標準物質“メカジキ魚肉粉末（NMIJ CRM 7403-a）中のアンセリンに着目して、高知県工業技術センターにより提案の分析マニュアルをもとに 7 試験室で共同分析を予備的に実施し、同分析マニュアルを改良しフォーラム標準化する上で留意すべき一般的かつ重要な課題を把握した。同時に標準化された分析法は公開した。この経験に基づき、機能性成分の分析法のフォーラム標準化は以下の過程を経て実施している：①各県から地域特産食品、それを特徴づける機能性成分とその分析法の提案、②共同分析の共通試料としてテストマテリアルの製造と保管、③提案県によるテストマテリアルを用いた分析マニュアルの修正（プロト型分析マニュアル）、④共同分析の実施（通常 8 試験室以上）、⑤分析結果の統計解析とマニュアルの修正（目標値：相対標準偏差 $\leq 5.0\%$ ）、⑥分析マニュアルの審査委員会による審査、⑦食品分析フォーラムによる承認、⑧公開。平成 24 年度からルチン（そば米）、6-ジンゲロール（ショウガ）、ポリメトキシフラボン（柑橘皮）の共同分析を開始、今年中には標準化マニュアルを公開の予定である。また、今年中に新たに 4 件の共同分析を開始する。標準化された案件については、公設研の協力を得て、地域の特産食品に機能性成分量を表示し、消費者の食品選択と生産者の競争力強化に寄与したいと考えている。

S 2-1 高オイル産生海洋珪藻 *Fistulifera* 属を利用したエネルギー生産の展望

松本光史（電源開発・若松研）

微細藻類によるバイオ燃料・原料用オイル（以下、グリーンオイル）生産に関する研究が国内外で活発に行われている。微細藻類を用いたグリーンオイル生産技術は、①藻類の選択、②選択藻類の大量培養技術、③回収・脱水技術、④オイル抽出技術の4つの工程から構成される。微細藻類によるグリーンオイル生産では、これらの工程を効率的に且つ、コスト競争力を持つオイルを生み出すプロセスとして構築する必要がある。このプロセスを成立させるには、各工程の要素技術開発も非常に重要であるが、演者は特に、一連のバリューチェーンの出発点である大量培養技術が重要であると考えている。

微細藻類の培養にはエネルギーコストを投入し続けなければならない。一般的に微細藻類の培養は、エネルギーコスト（光照射、等）と価格コスト（装置類、等）を投入すればするほど藻体生産性、オイル生産性は向上する。しかし、バイオ燃料という“エネルギー物質”を生産することを目指した場合、従来の付加価値物質生産の場合と異なり、エネルギーコストや価格コストの低減を思考した培養手法やプロセス設計が必須条件となる。

微細藻類が持つオイルを生み出す能力を我々が上手く活用するには、“安く”、“安定的に生産（培養）”する技術が必要である。上述したように実用化に当たっては、培養技術が重要であることを述べた。一方で、エネルギー用オイル生産では、市場が求める要求量を安定的に供給するにあたっては、培養のスケール観が全く違ってくる。敷地の確保はともかく、現状の数十 haで行っている大量培養技術・ノウハウが、万 ha 規模で適用できるか検討しなくてはならない。さらに、微細藻類を用いたエネルギー生産において筆者が考える最も大きい課題の1つが、エネルギー収支 EPR（Energy Profit Ratio : Input energy/Output energy ≥ 1 ）である。付加価値物質や原料などの物質生産などは、主に経済的な収支を考えれば良いが、エネルギー生産では、どれだけエネルギーを生み出せるかが重要となる。

世界中でクロレラ株やスピルリナ株を中心に年間約1万トン（乾物ベース）生産されているが、現在事業として成立している微細藻類は10指も満たない。微細藻類種は、あらゆる環境に生存し、どれくらい存在しているかわからないことを考えれば非常に少ない。これまで多様な機能をスクリーニングし、多くの候補株が見出されてきたが新たな事業として確立できなかった。では、クロレラやスピルリナ、ドナリエラがなぜ実用化できているといえ、市場が求める要求量を安定的に供給するための大量培養が出来るからこそ実用化されていると言ってもよい。では、実際に微細藻類を活用した“エネルギー利用オイル生産事業”として育てていく際には何が必要になるだろうか。そこには、克服すべき高いハードルが存在することを明確にお伝えしたいと思う。

そこで今回、演者が海洋環境から新たに分離した海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 ソラリス株を活用し、これらの課題解決に向けて現在進めている取組み状況をお伝えしながら、微細藻類によるエネルギー生産の展望について、みなさんと議論していきたい。

S 2-2 資源管理型漁業のための動物性初期餌料生物の培養生産の現状と光利用による生産効率化の可能性

田中賢二（近畿大・産業理工）

【種苗生産と餌料生物】養殖や栽培漁業など資源管理型の「つくって育てる」漁業では、種苗である仔稚魚の飼育生産に餌料として大量の生きた動物プランクトンを必要とする。とくに卵から孵化したばかりの仔魚の飼育に使用できるのはシオミズツボワムシ（海産ワムシ、以下ワムシと称す）だけである。ワムシは形態的な違いから SS, S, L 型に大別され、仔魚の種類に応じて使い分けられる。国内各地の種苗生産施設は個別に大掛かりなワムシ培養設備を有しており、繁忙期には毎日数十億から百億個体ものワムシを生産している。ワムシの飼育には、海産クロレラ、圧搾生パン酵母、ワムシの増殖必須因子であるビタミン B_{12} （以下 VB_{12} と称す）を含有させた市販の濃縮淡水クロレラなど生きた微生物餌料が用いられている。

【動物性初期餌料生物の生産】ワムシの生態・生理に関しては多くの研究報告があり、それをもとに大量培養法の開発が進められてきたが、ワムシの増殖密度は数百個体/ml が限界であったため培養槽の容量は 50 kL にも達し、多くの作業員を必要としていた。演者らは、好気性菌の培養工学を参照にワムシ生産の効率化を図り、その結果、濃縮淡水クロレラの給餌と通気方法の改善、非解離アンモニアの阻害軽減などを核とする高密度培養技術の開発に成功し、S 型ワムシでは数万個体/ml という極めて高い増殖密度を実現した。高密度培養法は培養設備と作業人員の大幅な削減を可能にし、福岡県栽培漁業公社はじめ一部の種苗生産施設で使用されている。

【動物性餌料生物の増殖に光が及ぼす影響】高密度培養法では濃縮淡水クロレラがワムシ生産コストの 7 割を占めるため、餌料コストの低減が新たな課題である。市販価格が格段に安い生パン酵母の活用が望まれるが、パン酵母給餌による培養では VB_{12} など栄養因子が足りないためかワムシの増殖密度が低く、培養されたワムシも仔魚の栄養因子が不足している。我々は、微量の硫酸コバルト存在下で L 型ワムシに光を照射すると暗所よりも増殖が良く、しかも VB_{12} を含有処理していないクロレラを餌料に用いても増殖可能なことを見出した。近年、植物だけでなく家畜や魚貝の飼育生産に光を利用する研究が進んでいる。平成 21 年には農林水産省の「生物の光応答メカニズムの解明及び高度利用技術の開発」プロジェクトが発足し、演者らもその一員として動物プランクトン生産における光利用の可能性を研究することとなった。そこで、赤 (470 nm)・緑 (525 nm)・青 (660 nm) および白色の LED を用いて、照射光の波長と光量（光量子束密度）が L 型ワムシの増殖に及ぼす影響を精査した。その結果、濃縮淡水クロレラ給餌では、長波長よりも短波長の光をある程度強い光量で照射したほうがワムシはよく増殖することが分かった。ワムシ増殖に最適な照射条件は青色光 $3.0 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ であった。生パン酵母給餌の場合、暗所でのワムシ増殖が非常に不調であるのに対して光照射下ではワムシは活発に増殖し、とくに青色光 $3.0 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 照射では濃縮淡水クロレラ給餌に匹敵する高い増殖密度が得られた。光照射下の培養水懸濁物には著量の VB_{12} が蓄積しており、培養水から分離された細菌の約 4 割が VB_{12} 合成能を有することも分かった。また、光照射下ではビタミン A 蓄積量も増大することが確認された。淡水クロレラとパン酵母は VB_{12} を合成蓄積せず海水中では数時間で死滅するため、光照射下でのワムシの増殖密度向上は、培養水中の細菌によるビタミン合成が活性化されたためではないかと推察された。このため、光照射下で実際に VB_{12} やビタミン A の合成量が増加する細菌の探索を現在行っている。光照射下でのワムシの増殖は、水質その他培養環境による影響を受けやすく、同一照射条件下でも増殖が好調な時と不調な時の差が激しい。ワムシ増殖と細菌のビタミン合成に光が及ぼす影響については、もっと多くの検証が必要であるが、動物性初期餌料生物の生産、さらには微生物による発酵生産の制御・促進に光を利用することができないか今後も研究を進めたいと考えている。

S 2-3 温室効果ガス CO₂ を食糧と燃料に変換する微細藻研究

西尾幸郎（四国大短大・人間健康）

緑藻イカダモを 20 t 水槽で野外培養すると炭酸イオンが微細藻に固定され、培養液の pH が 10 を超えて上昇する。このような高い pH 環境でもイカダモは増殖する。このため侵入する微生物、ワムシや繊毛虫などの動物プランクトンは抑制され、イカダモの優占状態が継続する。

野外で 20 t 水槽 2 基を周年運転した 2010 年から 2011 年の結果によると、梅雨前と梅雨明けから初秋にかけての季節での生産性が高く、8 月期に生産量が 10 g/m²/日を超えている。晩秋から厳冬期には盛夏の数分の一の生産量となる。それでも表層が氷結し降雪があってもイカダモは増殖し、周年の生産量 5 g/m²/日を記録している。20 t 水槽 2 基による 2010 年 6 月から 2011 年 5 月までの野外周年培養の結果を 1 ha 当りに換算すると 50 t/ha/年以上となる。

培養したイカダモの脂質含有量は 50%~20%の範囲で変動し、高温期に多く寒冷期に少なくなる。タンパク質量は、アミノ酸分析の結果から 30%前後となっている。そこで年間平均藻体生産量 50 t/ha/年から平均脂質含有量を 30%とすると 15 t/ha/年の油脂、そして同量の 15t/ha/年のタンパク質が生産可能となる。藻油の比重 0.91 から油脂生産量は 16,500 L/ha/年と計算され、油ヤシ 5,950 L/ha/年の 2.77 倍、菜種油 1,190 L/ha/年の 139 倍になる。20 t 水槽 2 基の運用から得られたイカダモの周年培養結果は、微細藻で知られている理論値 354,000 L/ha/年、ホノルルでの実験値 51,700 L/ha/年に比べればまだかなり低い。アメリカ・エネルギー省（DOE）が商業生産のために設定した目標値は 30 g/m²/日（近い将来）~60 g/m²/日（近い将来）である。徳島で培養しているイカダモによる食糧・燃料生産は開発途上で、培養タンク間のスペースや種株の維持管理、種株の高濃度培養、および培養藻体を集め脱水、抽出する作業エリアを考慮してなお 50 t/ha/年の生産性を確保し、さらに 30 g/ha/年の目標を実現するという未解決課題が多数残っている。石炭火力の排炭酸ガスなどの吹き込みと近年進歩した培養管理技術により四国北部の日照、気温、競争的生物種出現の環境条件で年間生産量を当面 20g/m²/日まで引き上げることに取り組んでいる。

光合成培養の大きな律速因子である太陽光を効率良くイカダモに照射することを目的に野外チューブ培養を 2011 年初夏に試験した。半量収穫の培養を数回経た後の培養で、細胞濃度が 1.0×10^8 cells/mL を超え、3.97 g/L の培養液 610 L が得られた。直径 30 cm と 20 cm のチューブ受光面積等から生産量は 176 g/m²/日となった。一般に微細藻の最大生産量は 196 g/m²/日といわれている。イカダモの野外チューブ培養にて理論値に近い数値が得られ、微細藻による食糧と燃料生産実現の可能性が近づいた。

培養したイカダモの濃縮に凝集沈降と濾過法を採用している。遠心分離等のエネルギー多消費型の操作を避け、水分 80%前後の脱水ケーキを調製している。水分量 80%のケーキ 5 kg から 4 kg の水を除くため 10,000 kJ・kg⁻¹以上の熱量が必要で、脱水乾燥に要するエネルギーは 1 kg の微細藻乾燥藻体が持つ熱量の実に 1/3 以上と考えられる。微細藻の脂質を抽出する出発物質を乾燥藻体とせず、含水ケーキとする操作方法の開発は微細藻研究にとって野外培養に次ぐ重要課題である。

私たちは年間約 300 万トンの動植物の油を食糧等として使っているが、植物系の油の自給率は 2~3%である。天然ガス、石油の自国内生産は無いに等しい。イカダモは水と太陽光があれば炭酸ガスを固定して油脂を高能率に生産する。微細藻の力を借りて日本の植物油脂自給率を高め、また、抽出された脂質をバイオディーゼル燃料に誘導して再生可能なエネルギーへ移行を促進する。このように日本と世界が直面する食糧と燃料の課題を、大気炭酸ガスを利用して解決するイカダモをはじめとする微細藻研究の進歩が期待される。

S 2-4 海洋酵母による水圏バイオマスからのエタノール生産

岡井公彦¹, 浦野直人² (¹東大院・農学生命, ²海洋大院・海洋科学)

化石燃料の過度の使用による温暖化問題やエネルギー政策の方向転換により、代替クリーンエネルギーが注目を集めている。クリーンエネルギーの1つとしてバイオエタノールが挙げられ、アメリカやブラジルでは2000年頃からトウモロコシやサトウキビを原料に生産が進められてきた。しかし、これらの原料はエタノールへの変換は容易であるが、食糧との競合が問題として指摘されている。この問題点を解決するために食糧と競合しないセルロース系バイオマス（草本又は木本等の資源作物）を原料とした第2世代のバイオエタノール生産が活発になってきている。更には近年、食糧生産活動そのものと競合しない原料を用いたバイオマスエネルギー技術開発にも焦点が当てられている。

世界でも有数の海洋国家である日本の特産を考慮し、我々は海藻からの効率的なバイオエタノール生産を試みた。海藻は色によって緑藻、褐藻、紅藻の3種類に大別でき、それぞれの代表種として緑藻ではアナアオサ (*Ulva pertusa*)、褐藻ではオゴノリ (*Gracilaria vermiculophylla*)、紅藻ではスジメ (*Costaria costata*) を選定し、糖化・発酵試験を行った。各海藻の乾燥試料を3% (v/v) 硫酸溶液に添加し、高温処理を施した後に pH を 4.5 に調整し、セルラーゼを添加して糖化した溶液のグルコース量と還元糖量の測定を行った。本研究で用いた3種類の海藻ではアナアオサが最もグルコース量、還元糖量共に多く、続いてオゴノリ、スジメの順になった。各海藻糖化液に対して数種類の酵母による発酵試験を行った結果、海洋由来の *Saccharomyces cerevisiae* C-19 が発酵に最も適しており、エタノール生産量はアナアオサ > オゴノリ > スジメとなった。また、褐藻は緑藻、紅藻に比べて資源量が多いことから、スジメに含まれるアルギン酸を抽出した残渣に対して糖化・発酵試験を行ったところ、グルコース量、還元糖量、エタノール量が抽出前のそれぞれ2.4倍、1.3倍、1.3倍へ上昇した。

続いて、水圏バイオマスとして湖沼に繁殖するホテイアオイ (*Eichhornia crassipes*) をターゲットとし、バイオエタノール生産を試みた。ホテイアオイは南アメリカ原産の浮遊性水草で夏から初秋にかけて繁殖するが、熱帯原産であるため晩秋を過ぎると腐敗が始まってしまう。我々は晩秋のホテイアオイを回収し、糖化液の pH 調整、濃縮倍率、エタノール生産の最適時間、酵母の種類を検討した。その結果、水酸化バリウムを用いて pH を調整し、8倍濃縮した糖化液を用いて *Saccharomyces cerevisiae* C-19 株で9日間発酵させた時、最大約25 g/L のエタノールを生成することが明らかになった。

最後に、我々はワカメの国内生産量の75%を占める三陸産ワカメの残渣を原料とするバイオエタノール生産を東北マリンサイエンス拠点形成事業(新たな産業の創成につながる技術開発)で進めており、こちらについても少し触れさせていただく。

一 般 講 演

講 演 要 旨

B-1 *Ensifer* sp. AS08 由来 NPEO-DH の酵素化学的解析

○大田 毅¹, Xin Liu², 川端 猛³, 河合富佐子⁴ (¹県立広島大・生命環境,
²遼寧師範大, ³大阪大・蛋白研, ⁴京都工繊大・ナノ材料デバイス)

【目的】*Ensifer* sp. AS08 由来 NPEO-DH と *Pseudomonas putida* S-5 由来 OPEO-DH は、共に GMC oxidoreductase family の PEG-DH group に属するフラビン結合型酵素にも関わらず、遊離型 EO chain である PEG に対する活性が異なる。本研究では NPEO-DH の触媒メカニズムを明らかにするとともに、NPEO-DH、OPEO-DH および PEG-DH の 3D modeling から反応性の違いを明らかにする。

【結果と考察】3D molecular modeling を下で作製した変異型 NPEO-DH は大腸菌発現系にて合成し、Ni-NTA を用いて精製した。PEG1000 及び NPEO_{av10} に対する活性測定ならびにストップフローによる速度論的解析から、His465 と Asn507 は直接活性に関わるアミノ酸残基であり、Asn507 は基質から FAD へのプロトン輸送を仲介し、His465 は還元型 FAD から電子受容体へのプロトン輸送を果たしていることが示唆された。また NPEO-DH、OPEO-DH ならびに PEG-DH の活性中心構造を比較した結果、三次構造と疎水性が、EO chain alkylphenol と PEG に対する基質特異性に影響していることが明らかになった。

B-2 *Pseudomonas putida* NT11 株および化学法を用いたスクロース誘導体、D-アロシル-D-フルクトースの生産

○黒田智美, 竹地紀昭, 吉原明秀, 高田悟郎, 森本兼司 (香川大・希少糖研セ)

【目的】*Pseudomonas putida* NT11 株は、ラクチトールを 3-ケトラクチトールに変換することから、炭素第三位のヒドロキシル基を酸化する酵素 D-グルコシド 3-デヒドロゲナーゼを有することが示唆された。本研究では、本菌による酸化反応および化学的還元法を用い、スクロースから希少糖 D-アロースを含むスクロース誘導体である D-アロシル-D-フルクトースを生産することを目的とした。

【方法および結果】2%ラクチトールを含む ME 培地で 24 時間培養した本菌を用いて様々な二糖類を基質に洗浄菌体反応を行ったところ、スクロースとパラチノースに対して強い転換活性が見られた。糖濃度 1%のスクロースのときには反応開始 9 時間後に 92%の転換率で 3-ケトスクロースを得た。さらに、得られた 3-ケトスクロースを水素化ホウ素ナトリウム法により還元したところ、HPLC 分析により出発物質であるスクロースおよび D-アロシル-D-フルクトースと思われる未知生産物が確認された。現在、この D-アロシル-D-フルクトースと示唆される未知生産物の同定を進めている。

B-3 *Shinella zoogloeoides* NN-6 由来の希少糖生産酵素の解析

○野々垣陽介, 千葉和也, 藤井翔太, 吉原明秀, 高田悟郎, 森本兼司
(香川大・希少糖研セ)

【目的】*Shinella zoogloeoides* NN-6 株は、L-ラムニトールを基質とし洗浄菌体反応すると 1-デオキシ-L-フルクトース、L-ラムニュロース、さらに 1 または 6-デオキシ-プシコースと思われるピークが確認されている。このことから本菌はケトース 3 エピメラーゼを有すると示唆され、本研究では本菌の培養条件及び本ケトース 3 エピメラーゼの諸性質について検討した。

【方法・結果】0.5% D-プシコースを含む無機塩液体培地で培養した菌体から調製した粗酵素液を用いて、D-プシコースを基質に反応させた結果、HPLC 分析で D-フルクトースおよび D-マンノースが確認されたためケトース 3 エピメラーゼと D-マンノースイソメラーゼの存在が示唆された。さらに同粗酵素液で 8 種のケトヘキソースに対する反応性を調べた結果、本酵素は D-プシコースに対して最も活性が高かったことから、本酵素は D-プシコース 3-エピメラーゼであると強く示唆された。現在、本酵素の精製を行っている。

B-4 *Bacillus* sp. K44 由来の希少糖生産酵素に関する研究
○若林 徹, 藤井翔太, 吉原明秀, 高田悟郎, 森本兼司
(香川大・希少糖研セ)

【目的】*Bacillus* sp. K44 株は D-フシトールから D-ラムニュロースを直接生産・蓄積する菌として発見され、これまでの先行研究においてユニークな代謝経路を有していることが示唆されている。この経路に関わっている酵素を明らかにし、経路を解明することは今後の希少糖生産における新たな合成経路として応用できると考えられ、培養または酵素反応により関与する酵素を調べた。

【方法・結果】本菌をさまざまな基質で培養し、洗浄菌体反応により種々の異性化酵素の有無を検討した。D-ガラクトースを基質とした場合に D-タガトースが生産されていたことから L-アラビノースイソメラーゼを有していることが分かった。D-タガトースまたは D-ガラクトースを基質とした場合、それぞれ D-フラクトース、D-グルコースが生産され、さらに 6-デオキシ-D-タガトースを基質にした際に D-ラムニュロースが生産されたことから *Bacillus* sp. K44 株は炭素第 4 位を異性化する酵素を有していることが示唆された。現在、この炭素第 4 位を異性化する酵素の特定を試みている。

B-5 枯草菌 EdmS (PgsE) タンパク質はエピソームの維持に関与している
○白米優一, 若松泰介, 芦内 誠 (高知大・農)

【目的】染色体外 DNA (エピソーム) の維持は、微生物の分子育種の成否を握る最も重要な生理現象の一つとされている。また、遺伝子組換え微生物 (分子育種株) の優れた応用性・付加機能を保証する基盤的バイオプロセスでもある。最近、我々は納豆の糸の主成分として知られる“ポリ- γ -グルタミン酸”の合成遺伝子群の一つ“*pgsE* (後に *edmS*)”がエピソーム維持にも関与するという興味深い発見をした。今回、該エピソーム維持機構に係る新たな知見を得たので報告する。【方法・結果】プラスミドを基礎とするベクター類は一般に宿主内での安定性に欠ける。実際、宿主内でのコピー数から計算される確率に則って起こる random 分配よりも劣る worse-than-random 分配を受ける。本研究の対象とした pWH1520 も worse-than-random で分配された。一方、pWH1520 に *edmS* 遺伝子を組み込んだ pEDMS1 ベクターは random 分配よりも優れた better-than-random に分配様式が変化したことから、細胞分裂時の DNA 分配を有利に進める機能因子であると示唆された。さらに、タンパク質工学的解析の結果、EdmS 因子は膜結合領域と可溶領域を持つ膜タンパク質で、両ドメインともに本維持機構の発現に必須であることが判明した。

B-6 *Aspergillus ustus* と *Penicillium aurantiogriseum* との組み合わせ培養による
単独培養で検出されない化合物の生産
○齊藤太樹, 小坂亜弓, 仁戸田照彦, 神崎 浩 (岡山大院・環境生命)

【目的】当研究室では *Aspergillus ustus* が生産する phenylahistin を *Streptomyces albulus* の酵素を用いて、高い抗腫瘍活性を持つ dehydrophenylahistin (Δ PLH)に変換することに成功した。一方 2 種の微生物を同時に培養する組み合わせ培養の有用性が報告されている。本研究では Δ PLH の生産が組み合わせ培養で達成できるか、また他の組み合わせ培養で単独培養では見出されない化合物が生産されるかを確認した。

【方法・結果】組み合わせ培養には菌同士が直接接触せず代謝産物のみが行き来する共生培養と直接接触する混合培養を用いた。環状ジペプチド生産菌 *A. ustus* と *S. albulus* の共生培養において、単独培養では生産されない Δ PLH が生産されたことから、組み合わせ培養による新規化合物生産の有用性が示された。次に *A. ustus* と別の環状ジペプチド生産菌 *Penicillium aurantiogriseum* の組み合わせ培養を行ったところ、それぞれの単独培養で見出されない化合物が共生培養、混合培養ともに生産された。またこの化合物は *A. ustus* 単独培養で生産される他の化合物と類似の UV 吸収スペクトルを持つことがわかった。

B－7 *Aspergillus ustus* と *Aspergillus repens* との組み合わせ培養で観察される
Aspergillus repens の生育阻害
○高岡晶美, 仁戸田照彦, 神崎 浩 (岡山大院・環境生命)

【目的】2種の微生物の組み合わせ培養により単独培養では見出されない物質生産が報告されている。当研究室では環状ジペプチド生産菌 *Aspergillus ustus* と別の3種の環状ジペプチド生産菌を用いた組み合わせ培養を行ったところ、*A. ustus* と *Aspergillus repens* の組み合わせにおいてのみ *A. repens* の生育の阻害が観察された。そこで、どのような因子がこの阻害現象に関与しているのか予備検討を行うことにした。

【方法・結果】2種の微生物の組み合わせ培養として菌同士が直接接触せず代謝産物のみが行き来する共生培養と菌同士が直接接触する混合培養及び寒天培養を行い、目視による判定と各菌株が単独培養で生産する代謝産物の生産量を生育の指標とした。共生培養、混合培養、寒天培養すべてにおいて *A. repens* の生育が阻害された。また、*A. repens* の生育は濾過滅菌した *A. ustus* 胞子懸濁液には阻害されたが、オートクレーブ処理した *A. ustus* 胞子懸濁液には阻害されなかった。したがって、*A. repens* の生育の阻害には *A. ustus* の菌自体ではなく *A. ustus* の生産する熱に不安定な化合物が関与していることが推測された。

B－8 コロイダルキチンによる放線菌由来キチン分解酵素阻害物質の培養生産性への
影響
○長谷井拓真, 浅尾昂平, 神崎 浩, 仁戸田照彦 (岡山大院・環境生命)

【目的】当研究室では放線菌 *Streptomyces anulatus* NBRC 13369 株培養上清中に新規 β -N-acetylglucosaminidase (GlcNAcase) 阻害物質 TMG-chitotriomycin を見出し、同時にキチナーゼ阻害物質の存在も確認した。これらキチン分解酵素阻害物質の培養生産性は、炭素源として用いるコロイダルキチンの原料であるキチンの種類によって異なることが示唆されたため、その検討を行った。

【方法・結果】販売元の異なる4種類のキチンそれぞれを原料としてコロイダルキチンの調製を行い、コロイダルキチンの水への分散性およびキチン分解酵素阻害物質の培養生産性について調べた。原料となるキチンの種類によってコロイダルキチンの水への分散性は異なり、水への分散性が高いコロイダルキチンを用いて得られた培養上清は高い GlcNAcase 阻害活性とキチナーゼ阻害活性を示す傾向が見られた。さらにそれらの培養上清を LC-MS 分析に供し、TMG-chitotriomycin およびその関連化合物であり GlcNAcase 阻害物質と考えられる化合物 KA-1 の培養生産性を比較した。

B－9 固体培養中に培養基質を乾燥させたときの酵素生産
○伊藤一成¹, 五味勝也², 狩山昌弘³, 三宅剛史¹
(¹岡山県工技セ, ²東北大院・農, ³フジワラテクノアート)

【目的】固体培養は高い酵素生産性で知られている。しかし培養中に培養条件を変化させつつ、基質全体を均一な状態に保つことは難しい。このことが固体培養における酵素生産の詳細なメカニズムの解明を難しくさせていた。本研究では、これを可能にする無通風箱培養法を採用し、培養中に基質を乾燥させた時の酵素生産への影響について調べた。

【方法】一定の水分量を含む小麦ふすまに *Aspergillus oryzae* AOK11 株を植え付け、恒温恒湿槽内で 25℃, 95%RH の環境下で 24 時間培養した後、48 時間かけて相対湿度を低下させ、基質が徐々に乾燥していく経過をたどらせた。培養後、酵素抽出して様々な酵素活性を測定した。

【結果】培養中に基質を乾燥させた方が酵素生産の上昇が見られ、総じて 80%RH に乾燥させた時が顕著であった。菌体量はあまり変化していなかったことから、基質水分の減少が酵素生産量に影響することが分かった。

B-10 *Pseudomonas aeruginosa* ME-4 由来エラスターゼを用いた卵殻膜の可溶化と生理活性ペプチドの探索
○竹中慎治, 田中裕基, 芦田 均, 吉田健一 (神戸大院・農)

【目的】未利用資源である卵殻膜の有効利用を図るため、*P. aeruginosa* ME-4 の生産する卵殻膜分解酵素（エラスターゼ）の特製解析等を行ってきた。本研究では組換え酵素を用いた卵殻膜分解と機能性ペプチドの検索を目的とし、卵殻膜可溶性画分から生理活性を示すペプチド画分を見出したので報告する。

【方法および結果】大腸菌 BL21(DE3)-pET11a の発現系にて組換えエラスターゼを調製した。卵殻膜分解の最適条件（10 mM Na, K-phosphate buffer (pH 6.5), 50°C, 12 時間反応）にて分解を行い、分解液中の可溶性ペプチド画分を限外濾過および COSMOSIL 5C18-AR-II クロマトグラフィーにより精製した。ACE 阻害活性、L6 筋管細胞を用いた糖取り込みに及ぼす影響、3T3-L1 細胞を用いた脂肪蓄積に及ぼす影響を調べた。活性画分にはいまだ複数のペプチドが含まれているが、ACE 阻害活性、濃度依存的なグルコース取り込み促進効果、脂肪細胞による脂肪蓄積抑制効果が見られた。なお、本研究の一部は、財団法人旗影会平成 25 年度研究助成により行った。文献：Takenaka *et al.*, *Biotechnol. Lett.* **34**, 949-955 (2012).

B-11 Optimizing secretion of heterologous thermostable cellulases in *Bacillus subtilis*
○Bien Thi Lan Thanh, 田中耕生, 竹中慎治, 吉田健一 (神戸大院・農)

Four genes from *Clostridium thermocellum* encoding cellulase, including *celA*, *celB*, *celK*, and *celS*, were cloned into the *Bacillus subtilis*/*Escherichia coli* shuttle vector pBE-S and expressed in *B. subtilis* RIK1285. Each of these cellulase genes was randomly fused to 173 different signal peptides derived from *B. subtilis* to construct a library, which was screened for cellulase activity on carboxymethyl cellulose (CMC) plates. The cellulases were secreted to form distinguishable halos around the colonies, and a number of signal peptides efficient for secretion of each of the cellulases were identified. The optimal medium for cellulase secretion and thermal stability of cellulases were investigated successively. The highest secretion was recorded on a medium containing 1% Bacto soytone, 0.5% yeast extract, and 1% *myo*-inositol during 36-42 h after the inoculation, and the activities reached a maximum at 60°C but decreased slightly at further higher temperatures. The four secreted cellulases were assayed on various substrates including CMC, phosphoric acid-swollen cellulose, and microcrystalline cellulose to reveal their difference in substrate specificities.

B-12 細菌のアルギン酸代謝に関わる新規な NADH 要求性 α -ケト酸還元酵素
○高瀬隆一, 河井重幸, 橋本 渉, 村田幸作 (京大院・農)

【背景】*Sphingomonas* 属細菌 A1 株は、酸性多糖アルギン酸を資化する。アルギン酸は、リアーゼにより単糖（ α -ケト酸, DEH）に分解された後、NADPH 要求性酵素 A1-R により還元され、その後ピルビン酸に変換される。今回、A1-R の機能を低下させた A1 変異株に、NADH 要求性 α -ケト酸還元酵素を新たに見出した。本研究では、当該酵素の補酵素要求性に関わる構造要因を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】A1 株細胞抽出液より、NADH 存在下で α -ケト酸（DEH）を還元する酵素を精製した。N 末端配列とゲノム構造に基づいて、本酵素（SPH1210）の遺伝子を同定した。A1-R と SPH1210 との一次構造による相同性は 64%であり、補酵素要求性を除く酵素学的性質は両者で類似していた。しかし、A1-R と異なり、SPH1210 は NADH 要求性を示した。組換え酵素を用いて X 線結晶構造解析を行い、SPH1210 の立体構造を決定した。SPH1210 と A1-R の全体構造はよく類似しているが、補酵素結合部位に相違が見られた。SPH1210 では A1-R と比べて、補酵素のリン酸基が収まる空間が狭く、その分子表面は正電荷ではなく中性であった。これらの違いによって異なる補酵素要求性を示すと考えられる。

B-13 細菌由来不飽和グルクロニルヒドロラーゼのヘパリン二糖認識機構
○中道優介¹, 三上文三¹, 村田幸作², 橋本 渉¹
(¹京大院・農, ²摂南大・理工)

【目的】グリコサミノグリカン (GAG) は、糖結合様式や構成糖の違いから、コンドロイチン硫酸 (CS) やヘパリンなどに分類される。病原性連鎖球菌は、多糖リアーゼと不飽和グルクロニルヒドロラーゼ (UGL) の協働作用により GAG を分解し、宿主細胞に定着する。これまでに、連鎖球菌 UGL について、1,3 グリコシド結合の不飽和 CS 二糖の認識に関わる構造要因を決定した。本研究では、UGL による 1,4 結合の不飽和ヘパリン二糖の認識機構を明らかにするため、GAG 資化性細菌 *Pedobacter heparinus* 由来 UGL の構造と機能を解析した。【方法・結果】X 線結晶構造解析により、不飽和ヘパリン二糖へ特異性を示す *P. heparinus* UGL (Phep_2830) の立体構造を決定した。その触媒部位について、不飽和 CS 二糖へ特異性を示す連鎖球菌 UGL と比較したところ、基質のアミノ糖を認識するサブサイト+1 の構造に相違が見られた。すなわち、Phep_2830 の触媒部位には、不飽和ヘパリン二糖における *N*-アセチルグルコサミンのアセチル基を認識するポケットが存在し、サブサイト+1 付近のループが基質結合部位を覆っていた。結合シミュレーションにより、これらの構造が不飽和ヘパリン二糖の認識に寄与することが示唆された。

B-14 アルギン酸資化性細菌 *Sphingomonas* sp. A1 の転写因子 AlgO の作用機構
○林 智恵, 丸山如江, 橋本 渉, 村田幸作 (京大院・農)

【目的】グラム陰性 *Sphingomonas* 属細菌 A1 株は、ABC トランスポーターとエンド型リアーゼにより、酸性多糖アルギン酸を細胞質に取り込み、分解する。これらをコードする遺伝子群はクラスターを形成し、アルギン酸で誘導発現される。この遺伝子クラスター内に、LacI ファミリーに属する転写因子 AlgO を見出した。AlgO 遺伝子の下流には、エンド型リアーゼが、その上流の相補鎖には、ABC トランスポーターがコードされている。本研究では、AlgO による遺伝子発現制御を解析した。【方法と結果】AlgO 遺伝子破壊株を用いた DNA マイクロアレイ解析により、アルギン酸非存在下で、AlgO がアルギン酸遺伝子クラスターの両鎖にわたって転写抑制に機能することが明らかとなった。そこで AlgO の発現系を構築し、精製タンパク質を用いてゲルシフトアッセイを行った。その結果、AlgO がアルギン酸遺伝子クラスター内の AlgO と ABC トランスポーターの遺伝子間に存在する DNA に結合することが判明した。また、その結合はアルギン酸オリゴ糖により阻害される。以上のことから、AlgO が特異的な DNA 配列と結合並びに解離することにより、アルギン酸遺伝子クラスターの発現を制御することが示唆された。

B-15 サッカロミセス酵母 1200 株を用いた五炭糖キシロース発酵の検討
○笹井雄貴¹, 泉 可也², 渡辺誠也¹ (¹愛媛大・農, ²(株) bits)

【目的】サッカロミセス酵母に五炭糖キシロースを発酵させるためには、ピキア酵母由来のキシロース代謝遺伝子 (XR と XDH) を発現させる必要がある。本研究では、宿主酵母有用株の探索を行うとともに遺伝子工学的手法によりさらなるキシロース発酵能の向上を試みた。

【方法・結果】球磨焼酎製造に用いられるサッカロミセス酵母 1200 株に染色体組み込みによりキシロース発酵遺伝子を導入し 1200X 株を得た。本株は、他の産業用酵母と比較して同等の高キシロース発酵能を有し、さらに高い耐熱性も備えていた。細胞内へのキシロースの取り込みを向上させるために、ピキア酵母由来のキシロース輸送遺伝子である SUT1 及び HGT2 を染色体組み込みによって導入したところいずれも好氣的キシロース生育が向上した。

【結論及び展望】キシロース発酵酵母育種における 1200 株の有用性が証明された。高い耐熱性は将来的なセルラーゼ酵素との同時糖化発酵に応用可能である。今後は、導入したキシロース輸送遺伝子の嫌氣的キシロース発酵に及ぼす効果を検証する。

B-16 Ubr ユビキチンリガーゼによる酵母のオリゴペプチド・アミノ酸利用制御
○北村憲司（広島大・自然科学研セ）

【目的】真核生物に高度に保存された Ubr 蛋白質は、酵母ではオリゴペプチド輸送体の発現に必要である。分裂酵母 *S. pombe* のペプチド輸送体発現制御機構はまだ明らかではないが、制御の詳細が唯一わかっている出芽酵母 *S. cerevisiae* とは相違点も多い。関連因子の変異株探索と解析を通してペプチド利用制御機構を解明する。また、細胞外オリゴペプチドを有効利用できる酵母の育種に役立てる。

【方法・結果】*S. pombe* の Ubr11 の機能を完全にバイパスし、*ubr11* 遺伝子欠失株のペプチド利用能欠損を抑圧する *upal* 変異株を単離した。酵母の生育に影響する複数のジペプチドを見出したが、特に glycylglycine（最も単純なジペプチド）と carnosine（抗疲労・抗老化・抗腫瘍作用を持つ動物由来ジペプチド）は、*upal* 変異株の生育のみを特異的に阻害する興味深い性質を示した。更に *ubr11* と *upal* の変異株では、一部のアミノ酸の利用能も変化していた。Ubr11-Upal は細胞外オリゴペプチドとアミノ酸の取込みと利用を制御する重要な因子だと考えられ、産物がまだ未同定の *upal* 遺伝子の単離を試みると共に、ジペプチドが *upal* 変異株の生育を阻害する機構について調べている。

B-17 分裂酵母におけるコエンザイム Q とシステイン代謝の関連性
○竹内佳奈、古田奈々、戒能智宏、川向 誠（島根大・生物資源）

【目的】分裂酵母においてコエンザイム Q (CoQ) は Sulfide の酸化還元に関わっている。一方、Sulfide は含硫アミノ酸であるシステイン (Cys) の合成に必要な基質としての役割がある。分裂酵母の CoQ 欠損株は、最少培地での生育遅延や酸化ストレス感受性といった表現型を示すが、これらの表現型は Cys を添加すると抑制が見られる。このことから、CoQ 欠損株における表現型と Cys 代謝が深く関係していると推測できる。そこで、本研究では、CoQ と Cys 代謝との関連性の解明を目的とした。

【方法・結果】CoQ 欠損株 ($\Delta dps1$) の細胞内アミノ酸量を測定すると Cys や Glu をはじめとする多くのアミノ酸とグルタチオン量が減少していた。これにより、CoQ 欠損株の最少培地での生育遅延は、Cys やグルタチオンの合成量の低下が原因である可能性が示唆された。また、Cys 合成酵素遺伝子破壊株 ($\Delta cys1a$) はグルタチオンの添加で生育回復し、グルタチオン非生産株である $\Delta gcs1$ と $\Delta dps1$ の二重破壊株は Cys の添加で生育回復しないことから、CoQ 欠損株の Cys の添加による生育の回復には、Cys 自身の効果よりも Cys から合成されるグルタチオンがより重要であることが示唆された。

B-18 分裂酵母 Chk1 は DNA 組換え中間体の蓄積に関与する
○升田堅太、上野 勝（広島大院・先端物質）

【目的】我々は、分裂酵母テロメア結合蛋白質 Pot1 とヘリケース Rqh1 の二重変異株 (*pot1 rqh1* 二重変異株) が、微小管阻害剤に感受性になることを報告している (高橋ら, Mol. Cell. Biol. 2011)。しかしその分子機構は完全には解明されていない。微小管阻害剤は、抗がん剤として広く使われている。そこで本研究では、この分子機構を解明するために、*pot1 rqh1* 二重変異株の微小管阻害剤感受性を抑圧する変異株を探索した。

【方法・結果】分裂酵母 *pot1 rqh1* 二重変異株に DNA ダメージチェックポイント蛋白質である *chk1* を破壊すると微小管阻害剤感受性が抑圧されることを発見した。*pot1 rqh1* 二重変異株は、テロメア間での組み換え中間体が染色体分配時にも蓄積している。一方 *pot1 rqh1 chk1* 三重変異株は、テロメア間での組み換え中間体が染色体分配時に蓄積しないことがわかった。これらのことから、Chk1 はテロメアの組換えを促進することで *pot1 rqh1* 二重変異株のテロメア間の組換え中間体を蓄積することが示唆された。

B-19 分裂酵母 Exo1 と Rqh1 はテロメア末端の削り込みに関与する
浮森 忍, 平田直也, 南部智子, 〇上野 勝 (広島大院・先端物質)

【目的】 分裂酵母のテロメア結合因子 *pot1* を破壊するとテロメアは急激に消失し、染色体が 3 本とも環状化した株だけが生き残る。このときにどのような蛋白質がテロメアの消失に関与しているのかは、わかっていなかった。我々は、チアミンとオーキシンの 2 つの薬剤投与によって *Pot1* の機能をシャットオフできる株 (*nmt-pot1-aid* 株) の構築に成功している (南部ら, *Mol. Cell. Biol.* 2013)。DNA 切断末端が相同組換えで修復される時は, *Exo1* と *Rqh1* が独立して DNA 末端の削り込みに関与することがわかっている。そこで, *nmt-pot1-aid* 株を用いて *Exo1* と *Rqh1* がテロメア末端の削り込みにも関係しているかどうかを調べた。

【方法・結果】 *exo1* や *rqh1* を単独で破壊しても *Pot1* のシャットオフでテロメアが消失したが, *exo1* と *rqh1* の両方を同時に破壊した株では, *Pot1* のシャットオフ時のテロメアの消失が大きく抑圧された。このことから, *Pot1* が機能を失うことによってテロメアが保護されなくなったときは, *Exo1* と *Rqh1* が独立してテロメア末端の削り込みを行うことがわかった。

B-20 SUMO 化修飾による分裂酵母テロメア長制御
宮川恵輔¹, Venny Santosa¹, 辻 浩基¹, 松山晃久², 上野 勝³, 吉田 稔², 中村 通⁴, 〇田中克典¹ (¹関西学院大・理工, ²理研・吉田化学遺伝学, ³広島大院・先端物質, ⁴イリノイ大・分子遺伝)

【背景】我々は, 分裂酵母において SUMO 化修飾がテロメア長制御に重要な役割を果たすことを見出し, その分子機構を明らかにすることを目指してきた。しかしながら, これまでこの現象に関与する SUMO 化のターゲット因子を同定することができず, その分子機構に迫ることは困難であった。

【方法・結果】今回, 我々は分裂酵母テロメアシェルトリン複合体を構成するタンパク質の 1 つである *Tpz1* が SUMO 化のターゲット因子であることを見出した。*Tpz1* の SUMO 化消失変異株ではテロメア長の伸長が起こり, その程度は SUMO 欠損株で生じるテロメア伸長と同程度であった。その他の詳細な解析により, テロメア長制御に関与する SUMO 化のターゲット因子は *Tpz1* であると結論づけた。本発表では *Tpz1* の SUMO 化に関わる解析結果を示し, テロメア長制御における SUMO 化の役割について考察する。

B-21 出芽酵母において染色体からのセントロメア DNA の切り出し誘導時に出現する生存細胞の解析
〇宮本昭弘, 柳本敏彰, 秦野琢之, 松崎浩明 (福山大・生命工)

【目的】遺伝子組換え生物の野外での拡散を防ぐため染色体からセントロメア DNA を切り出して細胞死誘導することで遺伝子組換え生物に条件致死性質や不稔性質を付与することが効果的であると考えられる。そこで, 我々は酵母 *Saccharomyces cerevisiae* をモデル生物として部位特異的組換えを利用して特定の条件下で染色体からセントロメア DNA を切り出して細胞死を誘導することを検討した。

【方法・結果】一倍体細胞において第 IV 番染色体上のセントロメア DNA の両側に組換え部位を挿入し, さらにレコンビナーゼ発現プラスミドを導入した株を作製した。レコンビナーゼ遺伝子は, *GALI* プロモーターの制御下にあり, ガラクトース培地で培養することでセントロメア DNA が切り出される。切り出しの誘導で生存率が大きく低下し, 細胞死を起こすことができた。しかし, プレート上で生存コロニーがわずかに出現するので, 生存原因を解析した。生存細胞クローン 50 株について調べた結果, 大半が 2 個の組換え部位の片方が欠失しており, これにより切り出しが起こらなかったことが示唆された。

B-22 油脂 (triacylglycerol) を分泌する酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 変異株の解析
○藤井洋紀, 松崎浩明, 秦野琢之 (福山大・生命工)

【目的】 我々は、油脂を細胞外へ分泌生産する微生物の育種を目指している。これまで 2 種の酵母の triacylglycerol (TG) 分泌変異株を材料として、TG の細胞外排出機構の解析を行ってきた。今回は、*Saccharomyces cerevisiae* で得られた知見について報告する。

【方法・結果】 *S. cerevisiae* の STG1 変異株は、TG を菌体外に漏出する。STG1 株の TG 分泌 (Halo⁺) 形質は 1 遺伝子変異に由来し、野生型遺伝子により相補される。変異遺伝子を特定するため、Yeast-Knock-Out collection (YKO, 約 4800 株) より TG 分泌の表現型を示す株をスクリーニングした。得られた候補株について、STG1 株との交配ならびに菌体外 TG の検出試験を行った。その結果、*SPC72* 遺伝子が TG 分泌抑制に関与していることが強く示唆された。また、親株 (YP1) の *SPC72* を破壊した (YP1/*spc72* Δ) ところ、菌体外に TG が検出されるようになった。*Spc72p* は 622 アミノ酸で構成され coiled-coil 構造を有し、SPB の outer-plaque に局在して、細胞質微小管や星状体微小管の形成・安定に関与することが示されている。*SPC72* の変異が TG 分泌にどのように関与するかについて明らかにしていきたい。

B-23 分裂酵母のピルビン酸転移酵素を利用したピルビン酸含有複合型糖鎖の合成
○吉永 将, 頼経健一, 竹川 薫 (九大院・農)

分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* の生産する糖タンパク質糖鎖には、酸性糖としてピルビン酸が非還元末端の β-結合ガラクトース残基に付加している。しかしながらピルビン酸化ガラクトースの詳しい生成経路や生理的な役割は不明であった。これまでに Trimble らにより分裂酵母の糖鎖にピルビン酸が付加されない変異株として 5 種類 (*pvg1-pvg5*) が単離されて遺伝子が同定された。これらの中で *Pvg1* タンパク質 (*Pvg1p*) は、細菌由来のピルビン酸転移酵素と低い相同性があることが報告されたが、酵素活性等の諸性質については全く解析が行われていなかった。そこで私たちは *Pvg1p* を大腸菌で生産して単一タンパク質にまで精製を行った。そして本タンパク質がピルビン酸転移活性を示すことを報告した。本酵素はパラニトロフェニル (*pNP*)-β-Gal のみならず、*pNP*-ラクトース (*Galβ1,4-Glc*) へもピルビン酸を付加できるが、*N*-結合複合型糖鎖に存在する *Galβ1,4-GlcNAc* へはピルビン酸をほとんど付加できないことがわかった。そこで *Pvg1p* の種々の点変異体を作製して酵素活性を測定したところ、168 番目のヒスチジンをアラニンへと変化した変異 *Pvg1p* が *Galβ1,4-GlcNAc* へピルビン酸を転移できることを見出した。

B-24 分裂酵母ゲノムに存在するトランスポゾン様遺伝子配列を利用した異種タンパク質生産系の構築
○藤木真優¹, アリムジャン・イディリス², 竹川 薫¹
(¹九大院・農, ²旭硝子 (株))

【目的】 分裂酵母のレトロトランスポゾン Tf2 はゲノム上に 13 個のコピー配列が存在する。Tf2 を標的とした相同組換えでは 13 個の Tf2 座への安定したマルチコピー遺伝子の組込みが可能であることが期待される。本研究では目的遺伝子を含む断片の形質転換効率、および異種タンパク質生産性を解析し、条件検討を行うことで、より高効率な異種タンパク質生産系の構築を目的とした。【方法・結果】 Tf2 の相同配列を両端に持ち、*ura4* マーカーと EGFP を導入した遺伝子断片を作製し、分裂酵母野生株への形質転換を行った。獲得した形質転換体について、PCR により目的断片が組込まれた Tf2 座の位置と数を解析した。その結果、13 ヶ所の Tf2 座では形質転換用断片の組込み効率に差があることが明らかになった。さらに、複数の Tf2 座に組込まれた株は栄養培地で継代培養を行っても安定に EGFP が発現しており、本法が分裂酵母の異種タンパク質生産に有効であることが示された。

B-25 分裂酵母の液胞タンパク質輸送や液胞融合に関与する Vsl1p の解析

○八木聖史¹, 細見 昭², 竹川 薫¹

(¹ 九大院・農, ² 理研・システム糖鎖)

【目的】真核生物において SNARE と呼ばれる一連のタンパク質が小胞融合過程に重要な役割を果たしている。出芽酵母の SNARE である Vam7p は液胞タンパク質輸送や液胞膜同士の融合過程に機能する。一方、分裂酵母にも出芽酵母 Vam7p と相同性は低い PX (Phox homology) ドメインや SNARE モチーフを有している遺伝子 (SPCC594.06c) が存在することが分かった。そこで本研究ではこの遺伝子に *vs11*⁺ (Vam7-like protein 1) と名付けて機能解析を行った。【方法・結果】*vs11* Δ 破壊株とゴルジ体-エンドソーム間で働く SNARE をコードする *fsv1* Δ 破壊株の液胞形態を観察したところ、両単独破壊株ともに液胞形態は野生株と変わらなかったが、*vs11* Δ *fsv1* Δ 二重破壊株では液胞が著しく小さくなることがわかった。さらに *fsv1* Δ 各破壊株の温度感受性を Vsl1p の過剰発現により相補できた。以上の結果から Vsl1p は分裂酵母において主にエンドソーム-液胞間で機能しており、出芽酵母の Vam7p と類似した機能を一部持っていることを明らかにした。

B-26 分裂酵母の有機酸排出に関与するトランスポーターの探索

○陶山明子^{1,2}, 竹川 薫¹ (¹ 九大院・農, ² 旭硝子 (株))

【目的】我々は分裂酵母によるフマル酸の高効率生産を目的として代謝経路を改変し、培養上清へ 14.7 mM のフマル酸を分泌生産する株を育種した。今回フマル酸分泌生産量の増加を目的として、細胞外へのフマル酸排出に関与するトランスポーターの探索を行った。【方法・結果】分裂酵母のデータベース (PomBase) においてキーワード「トランスポーター」で検索し、さらに機能既知、ミトコンドリア局在、pseudogene を削除した絞り込み検索の結果、42 遺伝子がヒットした。これらの遺伝子をフマル酸分泌生産株で過剰発現させ、培養上清のフマル酸量を測定した。その結果、3 つの遺伝子 (SPCC1529.01, SPAC1399.02, SPAC3H1.06c) の過剰発現株でフマル酸量の増加が認められた。また、SPBPB10D8.07c の過剰発現株では培地中のグルコース濃度が 2% の時にはフマル酸量が増加し、9% の時には減少した。これらの遺伝子破壊株では培養上清のフマル酸量が減少することも確認した。さらに、これらの遺伝子に GFP タグを融合させ細胞内局在観察を行った結果、いずれも主に細胞膜に局在していた。以上の結果、これらのトランスポーターが分裂酵母の細胞外へのフマル酸排出に関与していることが示唆された。

B-27 ガラクトフラノース特異的な β-D-ガラクトフラノシダーゼ遺伝子の同定と諸性質の解析

○八色奈央¹, 松永恵美子¹, 篠塚早紀², 泉 実², 竹川 薫¹

(¹ 九大院・農, ² 岡山大院・環境生命)

【目的】β-D-ガラクトフラノシダーゼ (GalF-ase) は糖鎖中の非還元末端のガラクトフラノース (GalF) の機能解析を行うための重要な酵素である。これまでに本酵素の精製に関する報告はあるが、遺伝子の同定までには至っていない。そこで本研究では土壌より GalF-ase を生産する放線菌を単離し、酵素の諸性質について解析を行った。【結果・考察】土壌より単離した放線菌から、培養上清中に GalF-ase 活性を示す *Streptomyces* 属放線菌 2 株 (JHA26, JHA19) を得た。両株のゲノム配列の解読を試み、既知のフラノシダーゼと相同性を示す遺伝子を検索した。その結果、α-L-アラビノフラノシダーゼと相同性を持つ配列が各株 4 遺伝子存在した。これらの遺伝子を大腸菌内で発現させて精製を行い、酵素活性を測定したところ JHA19 株の候補遺伝子の 1 つ (ORF2387) が GalF 特異的な酵素であった。このアミノ酸配列についてデータベース検索を行うと *Streptomyces* 属の GH2 ファミリーに属する多数の推定上の加水分解酵素と相同性を示し、GalF 特異的な新奇酵素が *Streptomyces* 属放線菌に広く存在する可能性が示唆された。

B-28 メタノール誘導性遺伝子発現を制御する Hap 複合体サブユニットの機能解析
○由里本博也, 小田沙織, 阪井康能 (京大院・農)

Hap 複合体は呼吸代謝に関わる遺伝子を制御する転写調節因子として真核生物に広く存在し、出芽酵母では、Hap2, Hap3, Hap5 が複合体を形成して DNA に結合する。我々はこれまでに、メタノール資化性酵母 *Candida boidinii* において、出芽酵母 Hap 複合体サブユニットのホモログである CbHap2, CbHap3, CbHap5 を同定し、メタノール誘導性遺伝子発現における機能を解析してきた。それぞれの遺伝子破壊株は、メタノールを炭素源とした場合のみ生育不能であり、メタノール誘導性遺伝子プロモーターの活性が低下したことから、*C. boidinii* における Hap 複合体サブユニットは、出芽酵母の Hap 複合体とは異なるメタノール誘導性遺伝子の転写活性化に特異的な機能を有していることが示唆された。さらに、CbHap2, CbHap3, CbHap5 それぞれの核輸送の相互依存性と *Cbhap2Δ* 株および *Cbhap5Δ* 株における CbHap3 の DNA 結合能を調べたところ、CbHap3 は CbHap5 に依存して核局在し、CbHap5 および CbHap2 に依存してメタノール誘導性遺伝子のプロモーター領域に結合することが分かった。

B-29 グルタルアルデヒドを用いた化学修飾によるサーモライシンの熱安定性の向上
○柏原宏行, 兒島憲二, 保川 清, 井上國世 (京大院・農)

【目的】サーモライシン (TLN) は好熱性中性金属プロテアーゼであり、1 分子あたり 11 個のリシン残基を有する。グルタルアルデヒド (GA) は主としてタンパク質のリシン残基の ϵ -アミノ基と反応する。本研究では、GA による TLN の修飾がその酵素活性や熱安定性に与える効果を検討した。

【方法・結果】GA による TLN の修飾は、40 mM ホウ酸緩衝液 (pH 8.0) 中で 30 μ M TLN と 2.7 mM GA を 25 $^{\circ}$ C で反応させて行った。修飾されたアミノ基の数は、2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸を用いてアミノ基を定量することにより算出した。GA による修飾時間が 5, 20, 80, 320 分において、それぞれ TLN 1 分子あたり平均 4, 6, 7, 8 個のアミノ基が修飾された。SDS-PAGE 解析より GA 修飾後の TLN は分子間架橋が形成されていなかった。平均 8 個のアミノ基が修飾された TLN の *N*-[3-(2-furyl)acryloyl]-Gly-L-Leu amide (FAGLA) に対する加水分解活性は 80%に減少した。また、この TLN における、60 $^{\circ}$ C の熱処理により FAGLA 活性が 50%に減少するまでの時間は 89 分となり、未修飾 TLN (34 分) に比べ約 2.6 倍に増大した。GA 修飾により TLN の熱安定性を向上させることができた。

B-30 サーモライシンの酵素活性に対する緩衝液の影響
○黒木亮吾, 兒島憲二, 保川 清, 井上國世 (京大院・農)

【目的】サーモライシン (TLN) は好塩性・好熱性金属プロテアーゼである。これまでに、塩の添加によって TLN 活性が著しく増大し、その活性は塩の種類によって変化することが報告されている。本研究では pH 7.5 において TLN 活性に対する種々の緩衝液の効果を検討した。

【方法・結果】6 種類の緩衝液 (トリス, リン酸, イミダゾール, BES, MOPS, および HEPES) を用いた。8-256 mM の各緩衝液 (pH 7.5, 25 $^{\circ}$ C) を調製し、それぞれの緩衝液において TLN 活性の緩衝剤濃度依存性を検討した。TLN 活性は、25 $^{\circ}$ C でのペプチド基質 *N*-[3-(2-furyl)acryloyl]-Gly-L-Leu amide に対する加水分解活性により評価した。Good 緩衝液 (BES, MOPS, および HEPES) では、TLN 活性は緩衝剤濃度に依存せず一定であった。一方、トリス, リン酸, イミダゾール緩衝液では、緩衝剤濃度の増加に伴い TLN 活性は減少した。4 M NaCl による TLN の活性化度の緩衝剤濃度依存性も検討した。Good 緩衝液では TLN の活性化度は緩衝剤濃度に依存せず 15 倍で一定であった。トリスおよびリン酸緩衝液では、活性化度は緩衝剤濃度の増加に伴い増大し、イミダゾール緩衝液では減少した。

B-31 誘導ペプチドを介した多成分バクテリオシンの生産制御機構の解明
○松本南帆¹, 石橋直樹¹, Perez Rodney Honrada¹, 姫野康平¹, 井上朋子¹,
善藤威史¹, 中山二郎¹, 園元謙二^{1, 2} (¹九大院・農, ²九大・バイオアーク)

【目的】乳酸菌バクテリオシンは、リボソーム上で合成される抗菌性のペプチドであり、安全な食品保存剤としての利用が期待されている。*Enterococcus faecium* NKR-5-3 は 5 つのバクテリオシンを生産するが、そのうち Enterocin NKR-5-3D (Ent53D) は、他のバクテリオシン生産を誘導する誘導ペプチドである。本研究では、Ent53D によるバクテリオシン生産制御機構の解明を試みた。【方法・結果】Ent53D 添加・非添加におけるバクテリオシン生合成遺伝子群の転写解析を行った。その結果、1 つのバクテリオシン構造遺伝子を除き、全ての生合成関連遺伝子の転写量が、Ent53D 添加により増加した。また、Ent53D を介した三成分制御系を構成する Ent53R および K の遺伝子を破壊すると、Ent53D 添加による生産誘導が起こらなかった。さらに、Ent53D 構造遺伝子を破壊すると、生合成遺伝子群の転写量が顕著に減少した。以上のことより、本株は、Ent53D, および Ent53R, K を介した転写誘導により、バクテリオシン生産を制御していることが明らかになった。

B-32 デザインドバイオマスによるバイオプロセス開発：リグノセルロース系バイオマスを構成する混合糖と乳酸からのバイオブタノール生産
○江頭駿介¹, 野口拓也¹, 田代幸寛¹, 酒井謙二¹, 園元謙二^{1, 2}
(¹九大院・農, ²九大・バイオアーク)

【目的】我々はカタボライトリプレッション (CCR) の回避を目的としたセロビオース、キシロースとの混合糖を用いたブタノール発酵プロセスの構築に成功した (1)。本研究では、上記の培養系に加え、ABE 発酵に適用が期待できる DL-乳酸をデザインドバイオマスとして組み合わせたブタノール生産プロセスの構築を目指した。

【方法・結果】pH 非制御条件下において DL-乳酸 5 g/L とセロビオース、キシロースを各 10 g/L 含む混合基質を用いて回分培養を行った結果、培養 72 時間までに乳酸が完全に消費された。さらに乳酸添加により消費混合糖当たりのブタノール生産収率が 4.6% 上昇した。一方、流加培養では、基質添加を繰り返すと各基質の蓄積が生じたため pH 制御下での回分培養を行った。その結果、pH 非制御培養と比べて 2.54 倍の乳酸消費速度 (0.464 g/L/h) を示した。また、pH を 5.5 に制御した添加 1 回の流加培養で、ブタノール生産量は本研究で最大値となる 10.6 g/L を示した。(1) Noguchi et al., *J. Biosci. Bioeng.*, 2013

B-33 麹菌 *Aspergillus oryzae* による L-乳酸の生産
○若井 暁¹, 吉栄俊秀², 浅井菜々実¹, 山田亮祐¹, 荻野千秋², 堤 浩子³,
秦 洋二³, 近藤昭彦² (¹神戸大院・自然科学, ²神戸大・工, ³月桂冠・総研)

【目的】本研究の目的は、麹菌 *Aspergillus oryzae* を用いた L-乳酸の生産である。麹菌は、千年以上にわたって発酵食品分野で使用されており、食経験の長い安全な微生物として知られている。また、麹菌は高い酵素生産能力を持つため、発酵食品以外の分野でも産業利用が期待されている。L-乳酸は、従来のプラスチック等に替わるポリ乳酸の原料として注目され、バイオ生産の重要なターゲットとなっている。

【方法・結果】栄養要求性麹菌 *A. oryzae* NSPID1 に、牛由来 lactate dehydrogenase (LDH) を導入した。また、生産された乳酸の分解を防ぐ目的として、ゲノム上の lactate monooxygenase (*lmo*) 様遺伝子を破壊した。創成した形質転換麹菌 *A. oryzae* LDHΔ*lmo* は、100 g/L グルコースから約 50 g/L の乳酸を生産した。また、*A. oryzae* LDHΔ*lmo* は 100 g/L 可溶性デンプンからも約 30 g/L の乳酸を生産した。生産された乳酸の光学純度は、99% 以上が L 体であった。以上、麹菌を用いて、グルコースおよびデンプンから高い光学純度の L-乳酸の生産に成功した。

C-1 *Rhodobacter sphaeroides* による抗酸化物質の生産

○佐藤美紀¹, 小林正幸², 出口智昭²

(¹有明高専専攻・応物工, ²有明高専・物質工)

【目的】現在、食品の抗酸化活性が注目され、様々な抗酸化物質が抽出などにより生産されている。抗酸化物質は微生物由来のものも多く見出されている。本研究では光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* に注目し、野生株と変異株が生産する抗酸化物質について抽出条件の検討と抗酸化活性の評価を行った。

【方法・結果】それぞれの菌は 25℃の嫌気状態で白熱灯を照射し、約 1~2 週間の培養を行った。培養液は遠心分離によって上清と菌体に分け、凍結乾燥して粉末試料を作製した。菌体粉末と上清粉末は様々な濃度のエタノールまたは水で 5℃の暗所で 24 時間の攪拌抽出を行った。抽出液は DPPH ラジカルに対する消去活性の評価を行った。その結果、野生株では 100%エタノール抽出液で、変異株では 70%エタノール抽出液で最も高いラジカル消去活性を示した。上清粉末についてはどちらも水での抽出が最も高かったが、菌体粉末よりも低かった。また、最も活性の高かった菌体の抽出液について脂質の自動酸化に対する抗酸化活性を評価したところ、どちらの抽出液も抗酸化活性を示した。

C-2 琵琶湖深湖底から分離された新規亜セレン酸還元性バチルスに関する諸特性

阪口利文¹, ○平岡達也¹, 石川可奈子², 岡村好子³, 宮下英明⁴ (¹県立広島大・生命環境, ²琵琶湖環境科学研セ, ³広島大院・先端物質, ⁴京大院・人間環境)

(目的・背景) これまで演者らは三陸沖日本海溝の 6000 から 7000 m に達する深海底から採取された泥質試料からセレンオキシアニオンの回収・変換が可能な微生物の探索を行い、*Shewanella* 属に分類される新種株などの多くの分離株の獲得してきた。本研究では、日本最大の淡水湖沼である琵琶湖の最深部の泥質からセレンオキシアニオンの回収・変換を期待できる微生物の探索、分離株の獲得、特性解析を実施した。

(方法・結果) 琵琶湖最深部 (N4: 水深約 90 m) から採取された泥質を用いてセレンオキシアニオン還元性菌の集積化・分離を行った。採取した泥質試料を亜セレン酸などのセレンオキシアニオンを含む新たに考案した分離培地に接種した。その結果、乳酸を炭素源にして考案された新規の分離培地から亜セレン酸を嫌気条件での呼吸基質として生育できるグラム陽性菌が分離された。BSA-1 と名付けられた本菌について 16SrDNA 配列に基づく分子系統解析を行った結果、既存種には同一ものがなく *Bacillus* 属に属する新種の分離株であると考えられた。

C-3 酸性環境からの硫黄酸化能に優れた微生物の分離と培養

○石故明衣子, 上村一雄, 金尾忠芳 (岡山大学・環境生命)

【目的】自然界には、硫黄 (S⁰) を酸化することによるエネルギーと還元力で CO₂ を同化して生育する化学合成独立栄養性の硫黄酸化細菌が存在する。このような微生物を利用して硫黄を生物的に処理した場合、硫酸などの有用物質に変換すると同時に CO₂ の固定・回収も可能となる。本研究課題では、硫黄酸化能に優れた微生物の集積培養による微生物相の解析と、そこから分離した硫黄酸化細菌の硫黄酸化能の評価を目的とした。【方法・結果】大分県の硫酸酸性泉付近の酸性環境から採取した土壌や水、23 種類のサンプルを用いて元素硫黄を添加した無機塩酸性培地 (pH 3.0) において集積培養を行った。これらの培養液について硫黄の酸化に伴うプロトン生成量を比較した。酸生成能力の優れた培養液より回収した菌体から、PCR によって増幅した 16S rDNA を用いて DGGE 法とシーケンス解析によって微生物相を解析した。この結果、硫酸酸性能力の高いサンプル⑥⑬の培養液の微生物相は主に *Acidithiobacillus thiooxidans* と *Acidithiobacillus caldus* で構成されていた。それぞれの集積培養サンプルより硫黄酸化細菌の単離を行ったところ、⑥からは *A. caldus* が、⑬からは *A. thiooxidans* が単離された。

C-4 イオン液体と利用可能な微生物や酵素の探索 ○倉田淳志, 池田泰之, 貝田英彰, 古中康平, 妹尾文哉, 岸本憲明 (近畿大・農)

【目的】化石資源に依存しない化学製品群の生産系において、バイオマス利用技術の開発は必須である。有機塩の一種であるイオン液体は、アニオンとカチオンの組み合わせを変化させることで、親水性・疎水性を示す。親水性イオン液体はセルロースやケラチンなどの難水溶性バイオマスを溶解できるため、バイオマス利用技術に応用されつつある。親水性イオン液体は有用性が高いが、親水性イオン液体中では多くの酵素は変性して失活する。さらに親水性イオン液体存在下では *Escherichia coli* の生育は阻害された。現在、親水性イオン液体に耐性を示す微生物や酵素の開発が期待されている。本研究では、親水性イオン液体[BMIM][Cl]を用いて、親水性イオン液体存在下で安定である酵素の取得を試みた。

【方法・結果】80種類の海水や土壌、塩分を含む食品サンプルを単離源として [BMIM][Cl]耐性細菌を探索したところ、10% [BMIM][Cl]存在下で生育する *Bacillus* sp. CMW1 を見いだした。10% [BMIM][Cl]添加培地を用いて本菌株を培養したところ、プロテアーゼ活性を検出できた。そこで、各種クロマトグラフィーを用いて本酵素を精製して、酵素の諸性質を検討した。

C-5 水生植物に生息するメタン酸化性細菌の分布とメタン消費 ○井口博之^{1,4}, 吉田奈央子^{1,2}, 梅田涼平¹, 由里本博也¹, 小山時隆³, 阪井康能^{1,4} (¹京大院・農, ²豊技大・EIRIS, ³京大院・理, ⁴JST・ALCA)

【目的】湖や水田、湿地といった水圏はメタンの主要な発生源となっており、そこでメタン消失を担うメタン酸化性細菌の生態や活動の理解は、地球温暖化防止の取り組みにおいて重要である。我々はこれまでに、メタン発生源である陸生の植物に生息するメタン酸化性細菌について研究を行ってきた。本研究では、水生植物に生息するメタン酸化性細菌の分布とそのメタン消費活性を調べた。【方法・結果】琵琶湖から採取した水草（オオカナダモなど）或いは湖水とメタンをバイアルビンに密閉し、メタン消費を経時測定した。その結果、多くの水草が、湖水と比べて高いメタン消費活性を示した。また水草から抽出したメタゲノム DNA を用い、メタン酸化酵素遺伝子 *pmoA* を PCR 増幅、シーケンス解析した結果、水草上には γ -Proteobacteria に属するメタン酸化性細菌が優占化していることが分かった。また、7~10月にわたって琵琶湖のウキクサのメタン消費活性を調査した結果、季節変動が見られ 8月に高い活性を示した。以上より、水草は、メタン酸化性細菌が生息してメタン消費を活発に行う場となっていることが明らかになった。

C-6 マイクロチップ電気泳動装置を用いた排水処理に関与する微生物相の解析 ○渡辺克二 (福岡工大・工)

【目的】活性汚泥等を用いた好気性の排水処理にはアンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌、脱窒素菌の他、BODの削減に関与する従属栄養微生物等様々な微生物群が関与する可能性があり、効率的に排水処理施設を運用してゆくためにはどのような微生物群集が主体となっているか定期的に調査する必要がある。演者はこれまでに制限酵素断片長多型解析方法を基本に、断片長データをマイクロチップ電気泳動装置 (MultiNA) で読み取り結果を最確数法と組み合わせることで、試料中の多様な微生物群集の同定と定量が純粋分離することなく可能な MPN/MERFLP 法を開発してきており、環境微生物や食品微生物分析への利用を検討しているが、今回は本法を排水処理に関与する微生物相の解析に適用した試みを報告する。

【方法・結果】連続運転している好気的な蓄舎排水処理施設から採取した試料から希釈系列を作成後、アンモニア酸化菌用の液体培地、肉汁培地 (DNB)、乳糖ブイヨン培地 (LB 培地) で一定期間培養後、各培地で増殖してくる菌群の 16S rDNA の制限酵素切断パターンを MultiNA で読み取り類縁性解析を行い、今後アンモニア酸化菌群や DNB 培地と LB 培地で増殖してくる従属栄養微生物群の菌相解析を行う予定。

C-7 Diversity in gut bacterial composition and their 16S rRNA gene sequences among Asian children

O.J.Jiang¹, K.Sonomoto¹, K.Watanabe², K.Matsuda², T. Kurakawa², H.Tsuji², F.Ren³, S.Nitisinprasert⁴, O.La-ongkham⁴, E.S.Rahayu⁵, C. Liao⁶, Yi.Tsai⁷, Y.Lee⁸, J.Nakayama¹ (¹Kyushu Univ., ²Yakult Central Institute, ³China Agric. Univ., ⁴Kasetsart Univ., ⁵Gadjah Mada Univ., ⁶Food Industry R&D Institute, ⁷National Yang-Ming Univ., ⁸National Univ. of Singapore)

To investigate diversity of human gut microbiota, we studied bacterial composition from 303 children in five Asian countries by pyrosequencing and sanger sequencing of fecal bacterial 16S rRNA gene. Principal component analysis classified the gut bacterial compositions of Asian children into two types; P-enterotype abundant in *Prevotellaceae*, which mainly observed in children from Khon Kean and Indonesia and B-enterotype abundant in *Bifidobacteriaceae/Bacteroidaceae*, mainly observed in Chinese, Japanese and Taiwanese. In addition, local differences in the bacterial composition, e.g., low abundance of *Escherichia coli* in Japan, were found among the five countries. These differences probably reflect different dietary habit and geo-economical profile.

C-8 歯周病原性細菌の可溶性ポーリンが細胞間コミュニケーションを変化させる？

○阿座上弘行, Mansur Jasin, Karim Minnatul, 加藤昭夫 (山口大・農)

【目的】 歯周病関連細菌の一つである *Eikenella corrodens* は、対数増殖期中後期に AI-2 を産生し、これによりバイオフィーム形成に影響を及ぼす。しかし、定常期に入ると、AI-2 活性は劇的に減少することから、AI-2 の分解または不活化酵素の存在が示唆された。

【方法・結果】 *E. corrodens* の定常期の培養上清を硫酸分画し、AI-2 不活化活性を有する画分 (30%画分) を得た。この画分は、精製 AI-2 のみならず、AI-2 様物質 MHF も不活化した。30%画分と MHF をインキュベートすると、薄層クロマトのスポットが消失し、逆相 HPLC のピークがシフトした。これらの結果から、この画分には AI-2 を分解または不活化する酵素が含まれることが示唆された。次に、30%画分をイオン交換クロマトにより精製した。精製タンパク質を SDS-PAGE で解析したところ、約 40 kDa の単一なバンドが確認され、その N 末シーケンスは外膜ポーリン (PorA) のものと一致した。また、*porA* 欠損株の株の培養上清からは AI-2 不活化活性は見られなかった。これらの結果から、*E. corrodens* において可溶性ポーリンが AI-2 を不活化する可能性が示唆された。

C-9 光合成生物の共進化モデル実験における脱共生ミドリゾウリムシ細胞へのシアノバクテリアの封入と経時変化

○村田祐希¹, 古川俊輔¹, 大河 浩² (¹北九州市立大院・国際環境工, ²弘前大)

【目的】 一般に真核生物における進化の過程において、異なる生物同士が共生し進化する事を「細胞内共生説」と言われている。本研究では実験室内で上記プロセスを再現する為のモデル実験を提案する材料としてミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*: 以下 *P.b.*) を用い、*P.b.* 細胞内への人為的な光合成細菌 *Synechocystis* spp. PCC6803 系統細胞の封入における経時変化を検証し、共生移行プロセスを解明する事を目的とする。

【方法】 PCC6803 導入前及び直後の *P.b.* 細胞、及び 3 年間継代された PCC6803 導入株の細胞を用いて以下の実験を行った。(1) 封入における形態変化の観察、(2) 封入後、長期継代株における PCC6803 由来細胞の増殖性能の確認、(3) 封入後における長期継代株による各ゲノム変化の比較。

【結果】 (1) 長期継代により形態に変化が見られた。(2) 増殖性能の維持は行われていた。(3) 長期継代によりゲノム変化の可能性が確認された。

C-10 *Pseudomonas fluorescens* KU-7 株の 2-ニトロ安息香酸走化性の代謝依存性
○藤岡 諒, 岩木宏明, 長谷川喜衛 (関西大・化学生命工)

【目的】我々はこれまでに, *Pseudomonas fluorescens* KU-7 株の 2-ニトロ安息香酸 (2-NBA) 走化性に関するレセプタータンパク質遺伝子(*nbaY*)を特定している。本研究では, 新たに *P. fluorescens* KU-7 株の 2-NBA 走化性の代謝依存性が明らかとなったので報告する。

【実験方法と結果】2-NBA 走化性機構の詳細を検討するため, 2-NBA 分解系酵素遺伝子である *nbaA*, *nbaB*, *nbaC* 欠損変異株を造成した。それぞれの欠損変異株について 2-NBA に対する走化性試験を行った結果, すべての欠損変異株で走化性は見られず, 2-NBA 走化性には代謝依存性があることが明らかとなった。そこで, RT-PCR を行い各遺伝子の発現を確認したところ, 欠損変異株では *nbaY* を含む 2-NBA 分解系遺伝子の誘導は見られなかった。このことより, *NbaC* の変換産物である 2-アミノ-3-カルボキシムコン酸-6-セミアルデヒド(ACMS)以降の化合物が誘導物質であると考え, *nbaD* 欠損変異株を構築・解析した。その結果, *nbaY* を含む 2-NBA 分解系遺伝子の発現が見られ, *NbaD* の基質である ACMS が誘導物質であり, このことが 2-NBA 走化性の代謝依存性の要因であることが明らかとなった。

C-11 赤痢アメーバ原虫メチオニン γ-リアーゼの特徴付けと基質特異性を決めるメカニズム
○佐藤 暖¹, 酒井菜摘¹, 志波智生¹, 野崎智義², 原田繁春¹
(¹京都工繊大・応用生物, ²国立感染研・寄生動物)

寄生性原虫 *E.histolytica* は赤痢アメーバ症を引き起こす病原体である。本原虫はユニークな代謝経路を数多く持つことから, その詳細な解析は薬剤開発に役立つと期待される。含硫アミノ酸代謝について見ると, 一般的な生物が持つ, システインとメチオニンをつなぐトランスサルフェーション経路が存在せず, 一方で含硫アミノ酸をアンモニア・ケト酸・チオールに分解するメチオニン γ-リアーゼ(MGL)もつ。したがって MGL は赤痢アメーバ原虫の含硫アミノ酸代謝において重要な意味を持つと考えられる。また, 本原虫は2種類のアイソザイム(MGL1とMGL2)を持つがその理由は分かっていない。本研究では, 酵素学的解析やアイソザイム間の比較, 変異体解析, X線結晶構造解析から, MGL1とMGL2の酵素反応機構や基質特異性の違いを明らかにすることを試みた。

C-12 藍甕由来好アルカリ性 *Bacillus* 属細菌のインジゴカルミン還元酵素の機能解析
○安部友昭¹, 鈴木宏和², 土居克実², 大島敏久³
(¹九大院・生物資源, ²九大院・農, ³大阪工大・工)

【目的】天然藍染めに使用されるインジゴ染色液(藍甕)は, インジゴの微生物還元により生産されるが, その還元機構に関する生化学的酵素学的知見は極めて少ない。本研究では, インジゴ還元に関与する藍甕微生物の分離と, 分離菌が有するインジゴ還元酵素の同定と特性評価を目的とした。

【方法・結果】インジゴカルミン(インジゴ類縁体)の還元能を示す微生物を藍甕から分離した。本微生物は pH 10 程度のアルカリ性領域および 35℃ 程度の中温領域に生育至適をもち, 16S rDNA 解析から好アルカリ性 *Bacillus* 属菌の近縁種であった。既に我々はインジゴカルミン還元酵素がアゾ還元酵素と一致することを見出しているため, 分離菌の染色体からインバース PCR 法を用いて推定アゾ還元酵素遺伝子を増幅し, pET システムを用いて本遺伝子の発現産物を大腸菌で調製した。本酵素は NADH 依存的にインジゴカルミンを還元し, 数種のアゾ色素(コンゴーレッド, メチルレッド, Orange I, Orange II)の脱色反応も触媒した。

C-13 嫌気性アンモニア酸化細菌 KSU-1 株の Mn 型 superoxide dismutase
○竹之内良太¹, 西山 孝¹, 古川憲治², 藤井隆夫¹
(¹ 崇城大・応生命, ² 熊本大院・自然科学)

【背景・目的】嫌気性アンモニア酸化 (anammox) を触媒する嫌気性細菌 Planctomycete KSU-1 株は, そのゲノム中に酸素耐性に関わる遺伝子を持っている。昨年度の本会で, 我々は KSU-1 株が 2 個の superoxide dismutase (SOD) 遺伝子を持ち, その翻訳産物が anammox 細菌のオルガネラ様構造体である anammoxosome の内部で機能していることを報告した。本研究では, KSU-1 株の SOD のさらなる性質解明を行った。

【方法・結果】KSU-1 株の 2 個の SOD 遺伝子を大腸菌で発現させ, 組換え SOD (SOD1, SOD2) を得た。組換え SOD をキレート処理したもの, キレート処理後に重金属を再構成したものの活性測定を行ったところ, SOD1 は Mn^{2+} と再構成した際に最も高い活性を示し, Mn 型 SOD と考えられた。現在, SOD2 について同様の実験を行い, また KSU-1 株の SOD と anammox との関わりについて検討を行っている。

C-14 Auxiliary regeneration systems of NAD^+ in *Lactobacillus panis* PM1:
characterization for bioconversion of glycerol to 1,3-propanediol
T.S. Kang, D.R. Korber, OT. Tanaka (Univ. of Saskatchewan)

Lactobacillus panis PM1 はグリセロールを NADH を用いて還元し 1,3-propanediol を生成する。酸素とクエン酸の NAD^+ 再生系への影響および 1,3-propanediol 生成との関係について報告する。

方法: 好気性および嫌気性条件下での代謝を HPLC, 酵素活性測定, qRT-PCR を用い検討した。

結果および考察: 好気性条件下では *L. panis* PM1 は対数期の早い段階で成長が停止する。これは分子酸素を NADH oxidase 反応の電子受容体として用いる事で過酸化水素を生成するためであり, 生成した過酸化水素は酸素の存在により誘導される NADH-dependent peroxidase の活性により処理される。嫌気性条件下ではクエン酸-コハク酸代謝系が補助的な NAD^+ 再生系として機能する。引き換えに糖代謝の最終生成物である乳酸を酢酸に変換する系が働き, ATP を生成するためエネルギー代謝上有利である。

結論: 酸素, クエン酸はグリセロールより NAD^+ を効率的に再生できる代謝系であり, グリセロールの 1,3-propanediol への変換にはこの両条件を含む NAD^+ の再生系の至適化が不可欠である。

C-15 *Cellvibrio* sp. 由来の α -アガラーゼ遺伝子の大腸菌へのクローニング
○川本雄基¹, 嘉数匡啓¹, 有賀 修¹, 中崎清彦²
(¹ 高知工大・環境理工, ² 東工大・国際開発)

【目的】アガラーゼに関して多くの研究が行われているが, α -アガラーゼについては, ほとんど報告されていない。精製した α -アガラーゼの N 末端アミノ酸配列を NCBI のデータベースで調べたところ, 一致する配列を *Cellvibrio* sp. BR のゲノム上に見出した。本研究ではこれらの情報を基に α -アガラーゼ遺伝子のクローニングを行った。

【方法・結果】相同性の高い *Cellvibrio* sp. BR のゲノムの塩基配列を基に, Forward 及び Reverse primer を設計し, PCR を行った。この PCR 産物を用いて形質転換し, クローニングした菌体を培養し, 超音波破壊し, 粗酵素液を回収した。粗酵素溶液を用いて, 寒天, ネオアガロオリゴ糖混合液の分解反応を行い, HPLC 及び TLC で分解産物の分析を行った。

粗酵素はネオアガロオリゴ糖を分解したが, アガロースを分解せず, この遺伝子が α -アガラーゼ遺伝子であることが明らかとなった。また, この遺伝子のアミノ酸配列が *Cellvibrio* sp. BR の遺伝子と極めて相同性が高いことが分かった。

C-16 放線菌由来 L-メチオニン脱炭酸酵素の遺伝子クローニングと異種発現系の構築
 ○岡田 茜¹, 広瀬 侑², 田村 隆¹, 稲垣賢二¹
 (¹岡山大院・環境生命, ²豊技大・EIRIS)

【目的】放線菌 *Streptomyces* sp. 590 由来 L-メチオニン脱炭酸酵素(MetDC)は, L-メチオニンの脱炭酸反応を触媒し, 補酵素としてピリドキサル 5'-リン酸を持つビタミン B₆ 酵素である。本酵素の遺伝子レベルでの解析例は一例もなく, その構造や生理的意義に興味を持たれる。MetDC 遺伝子のクローニングを行い, 大腸菌での発現系構築を行った。【方法及び結果】ゲノムシーケンサーRoche 454 GS FLX+を用いて *Streptomyces* sp.590 株のゲノム DNA の解析を行った。その結果 MetDC の部分精製酵素を用いて解析した N 末端アミノ酸配列 15 残基と完全に一致する遺伝子(1671 bp, 557 アミノ酸)が見い出された。この遺伝子の相同性検索を行ったところ, *Streptomyces viridifaciens* 由来の L-バリン脱炭酸酵素と 45%と高い相同性を示したことから, この遺伝子が MetDC をコードしていることが強く示唆された。この推定 MetDC 遺伝子を pET28a に繋ぎ込み, His-Tag 融合タンパク質となるよう発現プラスミドを構築した。このプラスミドを *E. coli* BL21(DE3)に形質転換し, 培養, 菌体破碎後, Ni-NTA カラムによる精製を行った。その結果, SDS-PAGE により発現確認ができ, 更に MetDC 活性も確認できた。現在諸性質を検討中である。

C-17 麹菌 *Aspergillus oryzae* を用いた担子菌 *Flammulina velutipes* 由来ラッカーゼの異種宿主生産
 ○尾崎公亮¹, 渡邊 彰¹, 島津知香¹, 馬替由美², 麻田恭彦¹
 (¹香川大・農, ²森林総研)

【目的】我々はこれまで, 担子菌 *Flammulina velutipes* (エノキタケ) が培地中に生産する複数のラッカーゼアイソザイムの内, アイソザイム (FvLcc2) が, *F. velutipes* の子実体形成に深く関与することを示唆してきた。本研究では, FvLcc2 の機能解析を目的として, 麹菌 *Aspergillus oryzae* を用いた FvLcc2 の異種宿主生産について検討した。【方法・結果】*A. oryzae* での FvLcc2 の発現には, タカアミラーゼ A (TAA) プロモーターの下流に, FvLcc2 のシグナルペプチド(SP)配列を TAA の SP 配列に置換した rFvLcc2 の発現ベクターを構築し行った。また, *A. oryzae* への発現ベクターの導入は, プロトプラスト-PEG 法を用いて行った。次に, 得られたベクター導入株を用いて, rFvLcc2 の生産条件について検討した。その結果, 終濃度 2 mM の CuSO₄ を含む静置培養条件において, 培養時間の経過に伴う顕著なラッカーゼ活性が検出され, *A. oryzae* を宿主としたラッカーゼの生産には同条件が適していることが示唆された。

C-18 微生物の新規マンナン代謝における exo-mannanase の役割
 ○川口和輝¹, 瀬野浦武志², 平良東紀¹, 和崎 淳³, 伊藤 進¹
 (¹琉球大・農, ²石川県立大・生物資源, ³広島大院・生物圏)

【目的】我々は, *Bacteroides fragilis* のマンナン異化代謝経路はオペロンを構成しており mannann → mannobiose → mannosylglucose → mannose-1-phosphate + glucose を経て解糖系に至ると提唱している。この経路を証明するため, 関与する mannanase の酵素化学的性質を調べた。

【方法・結果】

B. fragilis のゲノムから当該遺伝子をクローニングし大腸菌に発現させた。組換え酵素を精製後, mannann と manno-oligosaccharide を基質として反応させ, 生成するオリゴ糖の型式を調べた。

生成オリゴ糖を分析したところ, mannann から mannobiose のみを, manno-oligosaccharide (M2~M6) からは反応初期から mannobiose 単位を生成することが判明した。本結果は, 我々が提唱している新規マンナン代謝経路を支持するものであった。本酵素は GH family 26 に属するが, 新規な exo 型 mannobiose 生成 mannanase である。

C-19 フコイダン資化性を有する新規 *Prostheco*bacter 属細菌の代謝特性

○山崎まいこ¹, 隈部絢子¹, 小林泰明¹, 石橋瑠美¹, 三木康成², 川本仁志², 大城 隆¹ (¹鳥取大・工, ²海産物のきむらや)

【目的】当研究室では、オキナワモズク由来フコイダンの酵素的低分子化を目的とした分解菌株についての研究を行っている。既知のフコイダン分解菌株の多くは、我々が単離した *Luteolibacter algae* H18 株も含め、すべて海洋環境由来である。そこで今回、海洋、陸生両環境からのスクリーニングを実施した。

【方法・結果】フコイダンを単一炭素源とする集積培養の結果、新たに3株を単離することができ、16S rRNA 遺伝子を解析した結果、すべて *Prostheco*bacter 属細菌と高い相同性を有していた。これら菌株の培養上清あるいは無細胞抽出液を用いて酵素反応を行ったところ、H18 株とは異なりほとんどフコイダン分解活性は検出されなかった。しかし H18 株同様、フコイダンを基質とした脱アセチル化、脱硫酸化活性は検出できた。一方、今回単離した菌株の無細胞抽出液によりアルギン酸ナトリウムを分解できることが明らかになった。このように、フコイダン資化能を指標として同じ方法で単離した菌株でも、代謝特性が異なるケースがあることが示された。

C-20 *Luteolibacter algae* H18 株によるオキナワモズク由来フコイダンの分解様式

○長尾達彦¹, 小林泰明¹, 原田尚美¹, 隈部絢子¹, 三木康成², 川本仁志², 大城 隆¹ (¹鳥取大・工, ²海産物のきむらや)

【目的】オキナワモズク由来フコイダンは、主鎖であるフコースに、硫酸基、グルクロン酸残基、アセチル基が結合した多糖類であると考えられている。当研究室で単離したフコイダン分解菌、*Luteolibacter algae* H18 では、フコイダンの脱アセチル化の後に低分子化が起こる。しかし、硫酸基、グルクロン酸残基に作用する酵素については調べられておらず、今回、これら酵素について検討することを目的とした。

【方法・結果】脱アセチル化反応後、分画分子量 10,000 の限界ろ過膜で高分子量画分と低分子量画分に分けた。前者は酸加水分解後、後者は濃縮後 TLC 分析を行ったところ、前者にのみフコースとグルクロン酸のスポットが確認された。後者については硫酸基の遊離が確認でき、低分子化反応の前に脱アセチル化と脱硫酸化が起こることが明らかになった。次に、脱アセチル化酵素と低分子化酵素を同時添加した酵素反応液の TLC 分析を行ったところ、グルクロン酸の遊離は認められなかった。従って、主鎖にグルクロン酸が結合した状態で低分子化反応が進行することが示唆された。

C-21 細菌ヒスチジinkinナーゼ, WalK を標的とする新規抗生物質 waldiomycin

○犬飼洋一¹, 木野弘量¹, 五十嵐雅之², 志波 優³, 吉川博文³, 江口陽子¹, 内海龍太郎¹ (¹近畿大院・農, ²微化研, ³東京農大)

2成分制御系, WalK (HK, ヒスチジinkinナーゼ)/WalR (RR, レスポンスレギュレーター)は低GCグラム陽性細菌の細胞壁代謝に関与する遺伝子群の発現を制御して、細菌細胞分裂増殖に必須な働きをしている。waldiomycin は枯草菌や MRSA 等の多剤耐性細菌にも有効な抗菌作用を示す。本研究において、waldiomycin の阻害作用を明らかにするために、WalK/WalR 制御下の遺伝子群の発現制御に及ぼす影響を調べた。定量的リアルタイムPCR法によって解析した結果、WalK/WalR 制御下の遺伝子の発現が特異的に waldiomycin によって制御されていることが明らかになった。さらに、次世代シーケンサーを用いたRNAseq解析を行った結果、waldiomycin はWalK/WalR TCSに加えて、LiaS/LiaR TCS制御下の遺伝子群の発現制御にも強い影響を与えていることが明らかになった。LiaS/LiaR TCSは”envelope “ストレスによって、応答することが知られている。これらの結果は、waldiomycin のWalK 阻害による、WalK/WalR の制御と LiaS/LiaR 制御が関連していることを示唆した。

C-22 植物病原菌 *Burkholderia plantarii* における植物毒素トロポロン産生に関与する二成分制御系の解析
吉岡誠訓¹, ○三輪瞬平², 紀平絵梨¹, 仲曾根薫³, 五十嵐雅之⁴, 波多野和樹⁴, 内海龍太郎^{1,2} (¹近畿大院・農, ²近畿大・農, ³近畿大・工, ⁴微化研)

トロポロンはイネ苗立枯細菌病菌 *Burkholderia plantarii* によって生産され、イネ苗立枯病の主病原因子と考えられている。*B. plantarii* のゲノム解析の結果、2成分制御システム (two-component system: TCS) を構成する 55 個の HKs (ヒスチジンキナーゼ) と 75 個の RR (レスポンスレギュレーター) が見出されている。これらの各 HK, RR 破壊実験の結果、染色体 1 に、隣接して存在する HK3, RR1, RR2 がトロポロン生産に関与することが明らかにされた。本研究では、このようなトロポロン生産に関与する HK3, RR1, RR2 の機能解析研究を行った。HK3 遺伝子産物を大腸菌において、精製し、それらの活性を測定した。その結果、HK の自己リン酸化活性が *in vitro* で、確認された。次に、HK と RR のリン酸リレーに関する部位をアラニンに変異させた株では、トロポロン産生能が抑制された。これらの結果から、HK3, RR1, RR2 の3成分間でのリン酸基リレーとトロポロン産生の関与が示唆された。

C-23 大腸菌センサータンパク質 PhoQ とコネクタ因子 safA の相互作用
○吉谷亘平², 江口陽子¹, 中村真也³, 仲西 功³, 内海龍太郎^{1,2}
(¹近畿大・農, ²近畿大院・農, ³近畿大・薬)

細菌には、二成分制御系(TCS)と呼ばれる情報伝達機構が存在する。TCSには、構成要素であるヒスチジンキナーゼの機能を修飾するコネクタ因子の存在が知られており、大腸菌のTCS PhoQ/PhoPでは、コネクタ因子SafAがPhoQのセンサードメイン(SD)に相互作用することで活性化される。このPhoQとSafAとの詳細な相互作用は判明していないが、PhoQ-SD D179がSafAとの結合に重要なアミノ酸残基であることが明らかになっている。我々は、PhoQ D179周辺の凹みにSafAが結合することで活性化を行うという仮説を検証するため、分子シミュレーションツールMOEを用いてPhoQとSafAとの結合様式を予測した。その結果PhoQ K186が結合に重要であることが示唆され、検証のため作成した変異体PhoQ K186AではSafAによる活性化は確認されず、PhoQ K186がSafAによる活性化に重要であることが裏付けられた。これらの予測および実験結果は、PhoQ-SDの凹みにSafAが結合することを支持するものである。

C-24 海洋性細菌のトルエン分解系遺伝子の解析
○國頭一平, 岩木宏明, 長谷川喜衛 (関西大・化学生命工)

【目的】我々は、海洋性トルエン分解菌を日本各地の海水から 6 株分離し、その中の *Marinobacter* sp. E-31 株が、陸棲細菌由来のトルエンジオキシゲナーゼ大サブユニット様遺伝子(*todC1*)を有していることを明らかにしている。本研究では、E-31 株のトルエン分解系遺伝子(*tod* 遺伝子)の全体像を明らかにし、陸棲細菌由来のトルエン分解系遺伝子と比較解析した。

【方法・結果】E-31 株の *tod* 遺伝子群の全体像を明らかにするために、*todC1* の周辺領域を inverse PCR により増幅し、約 14kb の塩基配列を決定した。得られた配列を blastx 解析した結果、この領域には 12 個の ORF が存在することが明らかとなり、そのうち 10 個はトルエンから TCA サイクル中間体までの変換に関与する酵素遺伝子および制御遺伝子であると推定された。これらの遺伝子の推定アミノ酸配列は、*Pseudomonas putida* F1 株の *tod* 遺伝子群や *P. putida* 01G3 株の *ebd* 遺伝子群の推定アミノ酸配列と 41~90% 一致し、遺伝子クラスター構造も類似していた。現在、各遺伝子の機能を解析するために大腸菌発現系の構築を試みている。

- C-25 好圧好冷性細菌 *Shewanella violacea* の膜に存在する新規 ATPase の特徴付け
○長瀬眞子¹, 若井 暁², 政成美沙³, 山中 優⁴, 為我井秀行⁵, 三本木至宏³
(¹広島大・生物生産, ²神戸大院・自然科学, ³広島大院・生物圏, ⁴奈良先端大・物質, ⁵日本大・文理)

【目的】好圧好冷性細菌 *Shewanella violacea* は深海に生息する。高圧力・低温環境への適応メカニズムを知る目的で、本菌の膜 ATPase を特徴付けた。

【方法・結果】Marine Broth で培養した *S. violacea* 菌体をフレンチプレスで破碎し膜画分を得た。膜 ATPase 活性は、30℃, pH 8.0, 10 mM MgCl₂ 存在下で最大となった。本菌が海洋性細菌であることを踏まえて、膜 ATPase の塩依存性を調べたところ、2 M KCl あるいは NaCl で活性が最大となった。*S. violacea* 膜画分を界面活性剤(C₁₂E₈)で可溶化後、Hi-Trap Q 及びゲル濾過カラムにより ATPase を精製したところ、F 型 ATP 合成酵素ではなく、59 kDa (MS 測定) の単一サブユニットの蛋白質であることが分かった。本 ATPase の N 末端配列は GGSDNDDKKV であり、本酵素は *S. violacea* ゲノム上で UDP-sugar diphosphatase であることが分かった。BLAST 検索により、他の海洋細菌及び大腸菌にも相同蛋白質が存在することが分かった。本 ATPase は深海微生物由来のものが作るグループに属することが分かった。

- C-26 *Shewanella violacea* 由来 cytochrome c₅ の圧力耐性
○政成美沙¹, 若井 暁², 加藤千明³, 西山雅祥⁴, 三本木至宏¹
(¹広島大院・生物圏, ²神戸大院・自然科学, ³海洋機構, ⁴京大・白眉)

【目的】深海は高圧力環境である。高圧力は蛋白質を変性させるため、深海に生息する微生物は圧力に耐性のある蛋白質を生産していると考えられるが、その耐性化機構は分かっていない。本研究では深海に生息する *Shewanella violacea* 由来の cytochrome c₅ (SV) の圧力耐性を測定した。

【方法・結果】圧力耐性の測定には、高圧蛍光光度計および高圧分光光度計を使用した。SV に変性剤を添加すると、構造変化に応じて蛍光強度と特定波長の吸光度が変わる。その変化を様々な圧力下で測定し、変性剤による変性曲線を求めた。その結果、蛍光強度の変化は小さかったため、蛍光測定では再現性のあるフィッティングが出来なかった。しかし、吸光度測定では十分な吸光度の変化が得られ、再現性のあるフィッティングが出来た。変性曲線から各圧力下での変性中点を算出すると、高圧力になるほど変性中点が低くなることが分かり、SV の安定性に圧力が影響していることが分かった。今後は、浅瀬に生息する *Shewanella* 属細菌由来 cytochrome c₅ でも同様の測定を行い、圧力耐性を比較する。

- C-27 好熱菌および常温菌由来シトクロム c' の熱安定性の比較研究
○藤井創太郎¹, 井上寛基¹, 政成美沙¹, 若井 暁², 山中 優³, 三本木至宏¹
(¹広島大院・生物圏, ²神戸大院・自然科学, ³奈良先端大・物質)

【目的】シトクロム c' は細菌から見出されるヘム蛋白質である。4 本のヘリックスが束になった筒状構造を持ち、その多くは 2 量体である。本研究では、好熱菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* 由来シトクロム c' (PHCP) の熱安定性を調べる。PHCP を特徴付けるため、アミノ酸配列が 55%一致する常温菌 *Allochromatium vinosum* 由来シトクロム c' (AVCP) と比較する。

【方法・結果】CD (円偏光二色性) スペクトル および DSC (示差走査熱量計) によって熱安定性を測定したところ、PHCP の変性中点温度 T_m は 87℃, AVCP は 52℃ であった。さらに PHCP の熱変性に伴う ΔH は AVCP よりも大きく、分子内部の相互作用が安定性に寄与する可能性を見出した。ゲルろ過クロマトグラフィーから、AVCP は 2 量体、PHCP は 3 量体を形成していることが分かり、この違いが PHCP 熱変性時の高い ΔH の原因であると考えた。両者は、蛋白質の複合体形成と熱安定性の関係を探る適切な研究対象となり得る。

- C-28 好熱性細菌 *Meiothermus ruber* H328 株が生産するケラチン分解性プロテアーゼ巨大分子複合体に関する研究 –免疫顕微鏡観察法を用いた検討–
○山岡昂太¹, 佐生 愛¹, 増村威宏¹, 片岡真亜知¹, 川崎一則², 茂里 康², 渡部邦彦¹ (¹京都府大院・生命環境, ²産総研・健康工学)

好熱性細菌 *Meiothermus ruber* H328 株はトリ羽毛ケラチンを強力に分解する。本菌株が生産するケラチン分解性プロテアーゼは、複数のタンパク質を含むウイルス大の巨大分子複合体を形成すると同時に、SDS や有機溶媒の変性剤および熱に対し驚異的な安定性を示す。

そこで、透過型電子顕微鏡を用いて、膜小胞様構造を観察した。また、全ゲノム情報と MALDI-MS 解析から、ケラチン分解を担うセリンプロテアーゼ候補を1つ同定し、このセリンプロテアーゼ抗体を作製した。そして、膜小胞がケラチン分解に関与しているかを明らかにするため、同定されたセリンプロテアーゼの膜小胞中における存在また局在性について、作製したプロテアーゼ抗体を用いて免疫電子顕微鏡観察法により解析を行っている。

- C-29 超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* の二つの Transcription factor B の役割
○西川 諒¹, 秀瀬涼太¹, 今井友裕¹, 片野正展², 加藤 知¹, 金井 保², 跡見晴幸², 今中忠行³, 藤原伸介¹
(¹関西学院大・理工, ²京大院・工, ³立命館大・生命科学)

【目的】超好熱始原菌 *Thermococcus kodakarensis* は基本転写因子である二つの TFB (*tfb1*: TK1280, *tfb2*: TK2287) と一つの TBP (TK0132) を有している。これら TFB と TBP の組み合わせにより多様な遺伝子の転写が調節されると考えられる。本研究は二つの TFB の役割の違いを解明することを目的とした。

【方法・結果】*tfb1* 破壊株(DTF1)と *tfb2* 破壊株(DTF2)をトランスクリプトーム解析したところ、高温で培養した DTF1 では主に走化性と鞭毛形成に関わる遺伝子の転写量が減少した。60℃, 85℃, 93℃で培養した KU216 株, DTF1 株および DTF2 株の鞭毛形成能を電子顕微鏡で観察した結果、85℃で DTF1 株では鞭毛の消失がみられた。TFB1, TFB2, TBP を精製して熱安定性を調べたところ、二つの TFB は TBP に比べて熱に対して不安定だった。さらに、鞭毛遺伝子 *flaB1* のプロモーター活性をレポーターアッセイで検証したところ、DTF1 株で *flaB1* プロモーター活性が低下した。

- C-30 好熱菌分岐型ポリアミンの生合成経路
○岡田和真¹, 秀瀬涼太², 前川真理子¹, 今中忠行³, 藤原伸介^{1,2}
(¹関西学院大・理工, ²関西学院大・生命環境科学セ, ³立命館大・生命科学)

【目的】好熱菌ではスペルミジンなどの一般的なポリアミンの他に、長鎖・分岐型のポリアミンを持つ。本研究では分岐型ポリアミン生合成経路の解明を目指す。

【方法・結果】生育温度が高くなる程、好熱菌内の分岐型ポリアミン量は増える。60℃, 85℃, 93℃で培養した *Thermococcus kodakarensis* KU216 株より RNA を取得しポリアミン生合成に関与する遺伝子の転写量を調べたところ、S-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素(TK1592)にのみ高温依存性が見られた。一方アミノプロピル基の転移を触媒する TK0147 及び TK1691 には高温依存性が見られなかった。特に TK1691 は好熱菌にのみみられる遺伝子で、分岐型ポリアミン合成に重要だと考えられる。

C-31 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* の 2-deoxyglucose 耐性変異株の解析
Suprayogi¹, 村田正之¹, 高坂智之², 〇山田 守^{1,2}
(¹山口大院・医, ²山口大・農)

【目的】耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* は広い糖資化性を有することから、様々なバイオマスからのエタノール生産に有利である。この有利な点を活かすために、グルコース抑制を無くし、グルコースと他の糖を同時に効率良く資化できる変異株の開発が望まれる。本研究はそのための基礎研究として 2-deoxyglucose 耐性変異株を分離し、その性質を調べることによってグルコース抑制の分子機構等を明らかにすることを目的とする。

【方法・結果】*KanMX4* 断片をランダムにゲノムに挿入した G418 耐性でかつ 2-deoxyglucose 耐性の変異株を分離し、その中から TAIL-PCR とシーケンス等によってシングルの挿入変異株 15 株を得た。その内 *KanMX4* が遺伝子のコーディング領域に挿入されたもの 11 株について、糖の利用等を *mig1* 変異株や親株と比較した。その結果、3 株についてはグルコース抑制が解除あるいは低減しており、8 株はグルコースの取り込みなどに欠失があると予想された。また、グルコース抑制やグルコース取り込みの制御機構について、*Saccharomyces cerevisiae* で知られている機構より複雑である可能性が示唆された。

D-1 ホウレンソウ由来フラボノイドの脱顆粒抑制活性と抗酸化活性
○森下雄太¹, 熊石朱純¹, 代田 修², 黒柳正典², 武藤徳男¹
(¹県立広島大・生命環境, ²徳島文理大・香川薬)

【目的】ホウレンソウから単離したフラボノイド(SO-1)は強い脱顆粒抑制活性を示し、動物試験においても抗アレルギー作用を有することを認めている。一方、脱顆粒には活性酸素種によるカルシウムイオン流入が関与しているという報告がある。本研究では、ホウレンソウ由来フラボノイドと既知フラボノイドの脱顆粒抑制活性と抗酸化活性を比較し、両活性の関連性を評価した。

【方法・結果】脱顆粒抑制活性はラット好塩基性白血球細胞を用いて、抗原抗体反応とカルシウムイオンフォア刺激による脱顆粒への影響を評価した。抗酸化活性は DPPH ラジカル消去活性とスーパーオキシドアニオン消去活性を評価した。ホウレンソウ由来 SO-1 は強い脱顆粒抑制活性を示すが抗酸化活性は認められず、一方でそのアグリコンは脱顆粒抑制活性も抗酸化活性も認められた。クエルセチンやルテオリン等の既知フラボノイドについても脱顆粒抑制活性と抗酸化活性を評価し、ホウレンソウ由来フラボノイドと比較した。これらの結果から脱顆粒における活性酸素の関与について考察する。

D-2 シモン芋からの神経分化増強物質の単離と作用解析
○真島 大¹, 坂本修一郎¹, 代田 学², 福田和典³, 武藤徳男¹
(¹県立広島大・生命環境, ²徳島文理大・香川薬, ³東洋林産化成)

【目的】神経細胞の生存や機能維持に重要な役割を果たしている神経成長因子(NGF)は高齢化とともに脳内濃度が減少すると言われている。アルツハイマー型認知症のような神経変性疾患の治療法として NGF 様作用又は NGF 増強作用を示す低分子の化合物の探索が進められている。そこで、シモン芋(*Ipomoea batatas* sp.)に着目し、神経分化増強物質の単離と作用解析を行なった。

【方法・結果】シモン芋パウダーのクロロホルム/メタノール抽出物を PC 12 細胞に添加すると、NGF 増強活性が確認された。シモン芋パウダー抽出物をシリカゲルや Sephadex LH-20 を充填したオープンカラムを用いて精製することで NGF 共添加において神経分化増強作用を示す化合物を単離した。この化合物を NMR, MS で解析した結果、ステロール配糖体の一種と同定された。ウエスタンブロッティングにより、NGF と本化合物の共添加においては PC 12 細胞内の細胞外シグナル制御因子(ERK)のリン酸化が促進されることが認められた。

D-3 レモンフラボノイドの吸収動態と細胞保護効果
○山本涼平, 小川晃太郎, 高橋依子, 高橋里奈, 武藤徳男
(県立広島大・生命環境)

【目的】レモンの有効利用を目的としてレモンの主たるフラボノイドのエリオシトリンなどに注目し、 α グルコシダーゼ阻害活性などの機能性を報告してきた。本研究では、レモン由来のフラボノイドについてラットにおける吸収動態の解析と、ラット小腸上皮細胞(IEC-6 細胞)における酸化障害に対する細胞保護効果について評価した。

【方法・結果】エリオシトリン及びエリオジクチオールはレモン果皮より調製した。これらを Wistar 系ラットに経口投与し、その血中移行量を HPLC で測定した。また IEC-6 細胞を用いて、過酸化水素やドキシソルビシンによる酸化障害に対する細胞保護効果を WST-1 法で評価した。ラットに対するレモンフラボノイドの最大吸収濃度は、配糖体のエリオシトリンで $0.2 \mu\text{M}$ 程度とエリオジクチオールを含む一般的なアグリコンの最大吸収濃度 ($2\sim 3 \mu\text{M}$) と比べて非常に低かった。また酸化ストレス障害に対する細胞保護効果はエリオジクチオールで有意に強く、吸収量と細胞保護効果には相関が見られた。

D-4 三原産タコによる生活習慣病の予防

○和田 秀, 永見亜門, 三浦香織, 田井章博, 吉野智之 (県立広島大・生命環境)

【目的】 現在, 糖尿病などの生活習慣病が深刻化しており, その発症・進行には日々の食習慣が密接に関与している。そこで我々は, 生活習慣病の予防を目的とした食品源として三原産のタコに着目し, タコの継続的摂取による生活習慣病への影響を検討した。

【方法・結果】 水道水と高カロリー源飲料として 5%グルコース水溶液, 5%スクロース水溶液を自由摂取させた 7 週令オス ICR マウスに, それぞれ 0, 3, 5%の乾燥タコ粉末を含む飼料を与えた。飼育 20 日後, 心臓採血により血清を採取し, 血中グルコース濃度を測定した。その結果, 5%グルコース水溶液, 5%スクロース水溶液摂取群において, タコを摂取させることで血中グルコース濃度の減少傾向が見られた。また, 動脈硬化などの発症リスクの指標となる血中コレステロール濃度・血中トリグリセライド濃度に関しても測定した結果, 全飲料摂取群において, タコを摂取させることでコレステロール及びトリグリセライド濃度ともに減少傾向が見られた。本研究により, タコの継続的摂取が生活習慣病を予防することが示唆された。

D-5 バニリン酸エステルの脱顆粒抑制作用

○石股 直¹, 池田 郁¹, 伊東秀之², 田井章博¹

(¹県立広島大・生命環境, ²岡山県立大・保健福祉)

【目的】 国民の約 3 割が I 型アレルギー疾患を抱えていると報告されている。I 型アレルギーは肥満細胞の脱顆粒反応によって惹起されるため, 脱顆粒抑制作用を示す食品成分の研究が試みられている。本研究では, 食品中の香気成分として利用されている Vanillin (VN)に着目し, 抗アレルギー作用を評価した。

【方法・結果】 ラット好塩基性白血球細胞(RBL-2H3)を用いて, 脱顆粒反応を起こした際に放出される β -hexosaminidase を酵素反応に基づく比色法により測定し, 試料の脱顆粒抑制作用を評価した。評価対象として VN 及びその構造類似体である Vanillic acid (VA), Methyl vanillate (MVA), Ethyl vanillate (EVA)を用いた。その結果, VN や VA に対して VA のエステル体である MVA と EVA の方が活性を高く示した。そこで, VA エステルに着目し, MVA と EVA よりも炭素鎖の長い Propyl vanillate, その分岐鎖である Isopropyl vanillate, また Butyl vanillate を評価した。その結果, 分岐鎖型では直鎖型に比べ活性の低下が見られ, また直鎖型のエステル体では炭素鎖依存的に活性が高くなることが明らかとなった。

D-6 ストレスマーカーの探索とストレス抑制食材

○河井怜奈, 長尾則男, 龍治 英 (県立広島大・生命環境)

【目的】 社会問題となっているうつ病等の精神疾患の診断は, 主に専門医の問診によって行われおり, バイオマーカーを用いた診断方法はまだ確立されていない。そこで, マウスを用いた実験モデルを構築し, 新規診断マーカー物質の探索を行った。

【方法・結果】 発症初期段階を想定し, 従来法よりも軽微なストレス負荷法として, 足先のみ水に浸し飼育するストレスおよびわずかに身動きできる過密状態で飼育するストレスを検討した。血清中に発現するタンパク質を二次元電気泳動により解析したところ, ストレス負荷により発現が増加し, ストレス応答マーカー候補となり得るタンパク質を複数見出した。また, それらのタンパク質は, 抗うつ剤等の投与により発現が減少することを見出した。この実験モデルを用いて, ストレスマーカーの発現を抑制する抗ストレス食材をスクリーニングしたところ, 有望な食材を見出した。

D－7 カルノシン酸の長期投与が老化促進モデルマウスに与える影響
○柴田紗知¹, 萱島知子², 松原主典¹ (¹広島大院・教育, ²佐賀大・文化教育)

【目的】我々は脳神経モデル細胞において、シソ科ローズマリーの主要な機能成分であるカルノシン酸が酸化ストレスと飢餓に対して細胞保護作用を示すことを明らかにしている。そこで、経口摂取による有効性を検証するために、老化促進モデルマウスに対してカルノシン酸の長期経口投与を行い、生体内におけるカルノシン酸の脳機能保護作用について検討した。

【方法・結果】老化促進モデルマウス(senescence – accelerated mice ; SAM)のうち、早期学習記憶障害モデル動物として確立された SAM P8 系に、蒸留水に溶解したカルノシン酸(6, 60 μ M)を 10 ヶ月間自由摂取させた。対照群には蒸留水を自由摂取させた。脳機能保護作用については、行動科学的手法として新規物体認識試験と受動的回避学習試験を行った。その結果、SAM P8 系においてカルノシン酸の摂取群が対照群よりも学習・記憶といった脳機能評価が良かったことから、カルノシン酸が脳機能に対して保護的に作用する可能性が示された。そこで、学習や記憶に関連する海馬・歯状回について組織化学的解析を現在進めている。

D－8 ホウレンソウ成分の脱顆粒抑制作用に関する研究
○石田萌子¹, 西 甲介¹, 渡辺 久², 菅原卓也¹ (¹愛媛大・農, ²愛媛農水研)

【目的】ホウレンソウは多様な保健機能成分を含有しているものの、抗アレルギー作用については報告例がない。本研究では、ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞に対するホウレンソウ抽出物の脱顆粒抑制効果とその作用メカニズムの解明を目的とした。

【方法・結果】抗 DNP-IgE で感作した RBL-2H3 細胞にホウレンソウ抽出物を作用させた後、DNP-BSA で抗原刺激することで脱顆粒を誘導した。その結果、ホウレンソウ抽出物は RBL-2H3 細胞の顆粒放出を細胞毒性なく濃度依存的に抑制した。その活性物質は分子量およそ 500 Da 以上 14 kDa 以下の比較的熱に安定で、トリプシン非感受性であることが推察された。さらに、ホウレンソウ抽出物は抗原抗体反応に影響することなく細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を抑制した。これらの結果から、細胞内のシグナル伝達に関与して、細胞内への Ca^{2+} 流入を阻害することが示唆された。シグナル伝達物質の活性化に及ぼす影響を検討した結果、ホウレンソウ抽出物は脱顆粒シグナルの上流に位置する Syk、及び PI3K のリン酸化を下方制御することで RBL-2H3 細胞の脱顆粒を抑制していることが示唆された。

D－9 石鎚黒茶の脱顆粒抑制効果に関する研究
○近藤倫世, 西 甲介, 菅原卓也 (愛媛大・農)

【目的】石鎚黒茶は愛媛県特産の二段発酵茶である。緑茶に多く含まれるカテキン類は発酵過程で減少しているものの、一方で、テアフラビンやテアルビジンなどのポリフェノール重合体を豊富に含む。我々は、石鎚黒茶が好塩基球の顆粒放出を抑制することを確認した。そこで本研究では、石鎚黒茶の機能性食品としての価値を見出すために、脱顆粒抑制効果について詳細に検討した。

【方法・結果】石鎚黒茶の乾燥茶葉を粉碎後、蒸留水に懸濁し、121℃で 20 分間熱水抽出した。遠心により不溶物を除去後、10 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (NaPB) に対して透析したものを石鎚黒茶抽出物 (IKE) として実験に用いた。ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞の脱顆粒に及ぼす IKE の影響を検討したところ、濃度依存的に脱顆粒を抑制した。次に液-液分配によりポリフェノール重合体の分画を行ったところ、テアブブラウン画分に強い抑制活性が認められ、テアブブラウンが活性物質である可能性が高いことが示唆された。さらに、脱顆粒抑制の作用機序の解析を行ったところ、シグナル上流に位置する Syk のリン酸化を下方制御することによって脱顆粒を抑制していることが示唆された。

D-10 カツオ削粉熱水抽出物の免疫賦活活性に関する研究

○篠原 梢¹, 西 甲介¹, 箆島克裕², 末光友和², 菅原卓也¹
(¹愛媛大・農, ²仙味エキス)

【目的】 カツオ削粉は、旨み成分であるイノシン酸を豊富に含むだけでなく、血流改善、老化防止、疲労回復など、様々な保健機能が注目されている。本研究では、カツオ削粉抽出物の免疫賦活効果に着目し、培養細胞、およびマウスを用いた効果の検討とその作用機構の解明を目的とした。

【方法・結果】 カツオ削粉の熱水抽出物 (DBE) を添加した培地でマウスマクロファージ細胞株 J774.1 細胞を培養し、培養上清中の IL-6、および TNF- α 産生に及ぼす影響を検討した。その結果、サイトカイン産生の促進が認められた。食食作用に与える影響を検討したところ、DBE は J774.1 細胞の食食活性を有意に促進するとともに、BALB/c マウスへの 2 週間の経口投与により、腹腔マクロファージの食食活性も促進することが明らかとなった。また、DBE のマクロファージ活性化における作用機構の解明を試みたところ、マクロファージを活性化する LPS とは異なる経路、即ち Toll 様受容体 4 (TLR4) 以外の経路でマクロファージを活性化していることが推察された。

D-11 海藻ポリフェノールの dieckol による *in vivo* での抗炎症効果

○木下佑一, 杉浦義正, 田中竜介, 松下映夫, 宮田昌明
(水産大学校・食品科学)

【目的】 これまでに、海藻ポリフェノール (フロロタンニン) の dieckol には、*in vitro* 試験において抗炎症効果が報告されているが、*in vivo* 試験においての知見はない。よって、本研究では、dieckol の抗炎症効果について *in vivo* で検討した。

【方法・結果】 褐藻サガラメ由来の dieckol について、即時型アレルギー炎症の指標である arachidonic acid (AA)、遅延型アレルギー炎症の指標である oxazolone (OXA) を起炎剤とする ICR マウス耳介浮腫抑制試験 (経皮投与、経口投与) を行い、抗炎症効果を解析した。その結果、dieckol を経口投与 (0.1 mg/mouse) した場合、AA、OXA による炎症は、陽性対照 epigallocatechin gallate (EGCg) と同程度、経皮投与した場合、EGCg の 3 倍程度 (IC₅₀ 値, AA : <0.01 mg/mouse, OXA : 0.017 mg/mouse), 抑制された。よって、dieckol は即時型炎症、遅延型炎症のいずれに対しても EGCg と同等、あるいはそれ以上の抗炎症効果を有し、経口投与においても組織での炎症を抑制することが示唆された。

D-12 Inhibitory effects of black soybean seed coat polyphenols against DNA damage in HepG2 cells

○Tianshun Zhang¹, Yu Li¹, Michiko Yasuda², Kaori Hayashibara¹, Hitoshi Ashida¹
(¹Dept. of Agrobiosci., ²Adv. Sci. Technol., Kobe Univ.)

【Aim】 The present study investigated the potential protective effects of polyphenol-rich extract from black soybean seed coat extract (BE) on DNA damage in HepG2 cells.

【Methods & Results】 The results from micronucleus assay revealed that BE at concentrations up to 25 μ g/mL was non-genotoxic. In contrast, BE and its main components, procyanidins (PCs) and cyanidin 3-glucoside (C3G), significantly reduced the genotoxic effect induced by benzo[a]pyrene. These compounds inhibited 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), which detected by LC-MS/MS, in a dose-dependent manner. Moreover, BE suppressed AAPH-induced radical formation. Together all the results, PCs and C3G in BE will protect DNA damage in hepatocytes effectively.

D-13 骨格筋形成に及ぼすメトキシフラボンの影響

○斧伸太郎¹, 小川真弘¹, 原田直樹¹, 乾 博², 中野長久³, 山地亮一¹
(¹大阪府大院・生命環境, ²大阪府大院・栄養, ³大阪女子短大)

【目的】骨格筋量を維持・増加することは運動機能の低下や肥満の進行を予防・改善するために重要である。食品成分であるメトキシフラボンは様々な生理活性をもつが、骨格筋量に対する影響は不明である。そこで本研究では、メトキシフラボンが骨格筋形成に及ぼす影響について検討した。

【方法・結果】マウス筋芽細胞株 C2C12 細胞をメトキシフラボン (10 種類) 存在下で筋管細胞に分化誘導させた。その結果、5-ヒドロキシ-7-メトキシフラボン、5-ヒドロキシ-3,7-ジメトキシフラボンそして 5-ヒドロキシ-3,7,4'-トリメトキシフラボンが筋分化マーカー (ミオシン重鎖とトロポミオシン) の発現量を増加させることが判明した。またこれら 3 種類のメトキシフラボンが筋管形成を促進し、特に 5-ヒドロキシ-7-メトキシフラボンが筋管細胞を肥大させることが明らかとなった。一方、5,7-ジヒドロキシフラボンと 5,7-ジメトキシフラボンには筋管形成を促進する効果はなかった。これらの結果から、5 位のヒドロキシ基と 7 位のメトキシ基が筋形成促進に重要であることが判明した。

D-14 β - コングリシニン摂取が血清・肝臓脂質濃度および血糖値に及ぼす影響

○福田英里子, 田丸静香, 古場一哲 (長崎県大院・人間健康科学)

【目的】大豆タンパク質の主要な構成成分の一つである β - コングリシニンの摂取が血清・肝臓脂質濃度および血糖値にどのような影響を及ぼすのかラットを用いた摂食試験により検討した。

【方法・結果】タンパク質源として、カゼイン(CAS)を 20%含む食餌を対照食とし、カゼインの 50%を大豆タンパク質(SOY)または β - コングリシニン(CON)で置き換えた食餌を実験食とした。5 週齢の SD 系雄ラットを 1 群 6 匹で 3 群に分け、各実験食を約 1 カ月間自由摂取させた。摂食開始後 4 週目にインスリン耐性試験を行った。その結果、SOY および CON 摂取は CAS 摂取に比べ、腸間膜脂肪組織重量を低減した。血清トリグリセリド(TG)濃度は 3 群間で違いはなかったが、肝臓 TG 濃度は SOY および CON 摂取により低下した。食餌タンパク質の違いは血糖値に影響しなかったが、インスリンを投与して 90 分後の血糖値は、CAS 摂取に比べ SOY および CON 摂取で有意な低値を示した。血清アディポネクチン濃度は CAS 群に比べ SOY 群さらには CON 群で高値であり、インスリン投与後の血糖値変化との関連が考えられた。このことから、CON は脂質代謝だけでなく糖代謝にも影響することが示唆された。

D-15 昆布抽出物の抗酸化酵素・薬物代謝酵素発現誘導作用について

○白杉一郎¹, 榊原陽一², 黒木勝久², 伝宝啓史¹, 水光正仁²
(¹(株)くらこん, ²宮崎大・農)

【目的】昆布や海藻は低カロリーでヘルシーな食品として昔からよく食べられてきており、日本人の長寿に貢献していると言われている。本研究では、昆布や海藻にはまだ多くの未知の生理機能があるを期待し、抗酸化酵素・薬物代謝誘導酵素の発現量の変化に着目し、研究を行った。

【方法・結果】アンチオキシダント・レスポンス・エレメント (ARE)の転写活性をレポーターアッセイシステムで評価した後、ARE 配列を有するヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1)や NAD(P)H-デヒドロゲナーゼキノン-1 (NQO-1), グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST)の発現量の変化をウエスタンブロッティング法や RT-PCR 法を用いて検証した。産地に関わらず昆布のエタノール抽出物は ARE ルシフェラーゼ活性を上昇させ、HO-1 や NQO-1, GST の発現も誘導した。したがって、昆布に含まれる成分は、様々な疾病のリスクとなる酸化ストレスから身体を防御する可能性が示された。

D-16 ヒシ外皮のポリフェノール成分の機能性とその利用について
○大曲希実, 安田みどり, 安武健一郎, 日野まど香, 大渡 瞳
(西九大・健康福祉)

【目的】佐賀県神崎市の特産物でもあるヒシは、食用とされるだけでなく、民間薬としても用いられてきた。近年開発されたヒシ焼酎の製造過程で、ヒシ外皮が大量廃棄されているが、これには多くのポリフェノールが含まれ、様々な生理機能を示すことが明らかとなっている。本研究では、ヒシ外皮のポリフェノールの特性について調べ、さらに機能性として血糖値上昇抑制作用について検討を行った。

【方法・結果】ヒシ外皮より分取したヒシポリフェノール(WCP)について、種々の温度及び pH での安定性を調べた。機能性に関する実験では、血糖値上昇抑制作用について *in vitro* および *in vivo* における実験を行った。WCP は、80℃以上、pH8 以上において減少することが分かった。また、WCP は糖質分解酵素である α -アミラーゼ、 α -グルコシダーゼに対して高い阻害活性を示すことが分かった。ヒトに対して血糖値上昇抑制作用はほとんど見られなかったが、最高血糖値到達時間が総ポリフェノール 400 mg 摂取群で遅延することがわかった。さらに、マウスに対して、WCP 40 mg/kg 投与群で投与 30 分後の血糖値及び血中インスリン濃度が対照群と比較して有意 ($P<0.05$, $P<0.01$) に減少した。

D-17 クロロフィルの光による退色および活性酸素生成の抑制に関する研究
○織田恵輔¹, 安田みどり², 田端正明³, 上田敏久¹
(¹佐賀大・農, ²西九大・健康福祉, ³佐賀大・理工)

【目的】野菜や緑茶に含まれるクロロフィルは、光により退色することが知られている。また、クロロフィルは、UV により光増感反応を引き起こし、生じた活性酸素(一重項酸素)により食品の品質劣化も引き起こす。本研究では、クロロフィルの光退色および一重項酸素の抑制について検討を行った。

【方法・結果】クロロフィルは、クロロフィル-*a* を用い、紫外線 (365 nm) を照射し、その後のクロロフィルの残存率を蛍光光度計または HPLC により調べた。一重項酸素は、SOSG (Singlet Oxygen Sensor Green) を用いた方法にて調べた。クロロフィルの光退色に対して、水溶性の抗酸化物質であるアスコルビン酸やカテキン類についてはほとんど効果が認められなかったが、脂溶性の抗酸化物質である α -トコフェロールや β -カロテンには抑制作用が認められた。また、SOSG により、 α -トコフェロールはクロロフィルが光分解する際に放出する一重項酸素を抑制することも明らかになったことから、光退色の抑制と共に光増感作用を防止することが示唆された。

D-18 発酵乳ケフィアによる筋肉細胞のエネルギー代謝亢進効果
○末永美由紀¹, 栗田真衣¹, 照屋輝一郎^{1, 2}, 徳丸浩一郎³, 白畑實隆^{1, 2}
(¹九大院・生資環, ²九大院・農, ³日本ケフィア)

【目的】当研究室では、発酵乳ケフィアのメタボリックシンドロームに対する有用性を研究してきた。本研究では、ケフィアが筋肉細胞のエネルギー代謝とミトコンドリアの機能に与える影響を調べることによってエネルギー代謝亢進効果を検討し、ケフィアによる抗メタボリックシンドローム効果を見出すことを目的とした。

【方法・結果】ケフィアの標品は、日本ケフィア株式会社から提供された粉末状ケフィアを使用した。マウス C2C12 筋管細胞への分化誘導処理を 8 日間行った後、ケフィア処理を行った。WST-1 アッセイにて細胞の呼吸活性を評価し、IN Cell Analyzer 1000 を使用して Hoechst33342 染色による細胞数の計測を行い、細胞数あたりの呼吸活性の評価を行った。その結果、ケフィアが筋肉細胞のエネルギー代謝を亢進させることが示唆された。

D-19 脂質メディエーターである脂肪酸エタノールアミドを分解するリソソーム酵素の活性化因子と阻害剤

○坪井一人¹, 田井達也^{1,2}, 山野由美子³, 宇山 徹¹, 保崎有紀³, 高橋清宏³, 芳地 一², 和田昭盛³, 上田夏生¹ (¹香川大・医, ²香川大病院, ³神戸薬大)

長鎖脂肪酸とエタノールアミンが縮合した構造を持つ脂肪酸エタノールアミド (別名 *N*-アシルエタノールアミン) は, 多彩な生体作用を持つ脂質メディエーターである。なかでもパルミトイルエタノールアミド(PEA)は, 鎮痛効果を示すサプリメントとして欧米で販売されている。PEA を選択的に加水分解するリソソーム酵素として, 我々は *N*-アシルエタノールアミン水解酸性アミダーゼ(NAAA)の遺伝子クローニングを世界に先駆けて行った。今回我々は, 本酵素の活性化剤として従来用いていた非イオン性界面活性剤やジチオトレイトールをそれぞれ置換する生体物質として, コリンまたはエタノールアミンを含有するリン脂質およびジヒドロリポ酸 (還元型 α -リポ酸) が活性促進効果を持つことを明らかにした。また NAAA の阻害剤としてペンタデシルアミンと 2-アミノ酢酸トリデシルを見出し (50%阻害濃度: $5.7\mu\text{M}$ と $11.8\mu\text{M}$), さらに強力な阻害剤を開発する際の原型として有用であると考えられた。

D-20 酵素消化低分子化フコイダン抽出物とナタ豆抽出物との併用による抗腫瘍作用増強効果

○山本諭司¹, 照屋輝一郎^{1,2}, 江藤 博³, 白畑實隆^{1,2}
(¹九大院・システム生命, ²九大院・農, ³第一産業 (株))

【目的】これまでに当研究室では, フコイダンを生化学的に分解した酵素消化低分子化フコイダン抽出物(FE)が, ガン細胞株の細胞死を誘導することを確認した。本研究では, FE がもつ細胞死誘導効果を, ナタ豆抽出物を用いて増強させることを目的とした。

【方法・結果】第一産業株式会社から提供されたトンガ王国産モズク由来の FE, およびナタ豆抽出物を使用した。ヒト繊維肉腫由来細胞株 HT1080, ヒト肺腺ガン由来細胞株 A549, ヒト正常線維芽細胞 TIG-1 を FE とナタ豆抽出物を添加した培地で培養後, WST-1 アッセイを行い細胞の生存率を調べ, 細胞死誘導増強効果の評価を行った。その結果, FE とナタ豆抽出物を併用することにより, ガン細胞特異的な細胞死誘導増強効果を確認することができた。

D-21 酵素消化低分子化フコイダンのガン細胞に対する増殖抑制効果の検討

○石橋祐子¹, 照屋輝一郎^{1,2}, 江藤 博³, 白畑實隆^{1,2}
(¹九大院・生資環, ²九大院・農, ³第一産業 (株))

【目的】これまでに当研究室では, グリコシダーゼにより生化学的に分解した酵素消化低分子化フコイダン (以下, FE) が, ガン細胞に対して細胞死を誘導することを確認している。そこで, 本研究では分画分子量 5,000 の透析膜を用いて FE を透析し, 分子量 5,000 以下 (低分子) とそれ以上のもの (高分子) とに分画後, それぞれのガン細胞に対する増殖抑制効果の検討を行った。

【方法・結果】FE は第一産業株式会社より提供されたトンガ王国産モズクから調製したものをを使用した。正常細胞としてヒト正常線維芽細胞の TIG-1, ガン細胞としてヒト肺腺ガン細胞の A549 とヒト繊維肉腫由来細胞の HT1080 を使用した。細胞は 10%FBS 添加 MEM 培地で培養した。

FE の透析で得られた分子量 5,000 以下の FE 画分は分子量 5,000 以上の FE 画分よりガン細胞の増殖抑制効果が高く, 濃度依存的にその効果が強まることが確認された。

D-22 肝細胞癌再発予防薬としてのメナヒドロキノン-4 プロドラッグの投与設計と動態比較

○瀬戸口修一, 渡瀬大輔, 彌生知里, 楠田真理子, 長田(赤穂)菜美, 松永和久, 加留部善晴, 高田二郎 (福岡大院・薬)

【目的】肝細胞癌 (HCC) は長期予後が極めて悪く, 長期投与可能な再発予防薬が求められている。我々はメナキノン-4 (MK-4, VK₂) の活性体メナヒドロキノン-4 (MKH) のジメチルグリシン (DMG) エステル誘導体 MKH-DMG が *in vitro* において優れた MKH のプロドラッグとして機能し高い増殖抑制効果を示すことを明らかにした。また, この MKH-DMG がラットへの静脈内投与において優れた MKH 送達と選択的な肝移行性示すことを明らかにしている。HCC の再発予防薬として MKH プロドラッグが効率的に機能するためには HCC 組織中への高い MKH 送達性と実際の投与法の開発が不可欠である。本研究では MKH-DMG の投与設計を行い実験動物における動態を調べた。【方法・結果】合成して得られた MKH-DMG 塩酸塩は水溶性で注射投与可能であるが, マウス腹腔内投与において, 水のみに溶解させた投与液では吸収性が低く, pH 調整と可溶化剤 (Tween80, 日油) により吸収性が改善した。MKH-DMG の pH による分配性と溶解性が吸収性に大きく影響することが示された。

D-23 トコフェロールコハク酸の多面的な抗癌作用

○濱 進¹, 岡村有里子¹, 福田友紀¹, 大石利一¹, 下井雄太¹, 桑原義和², 福本 学², 福澤健治³, 小暮健太郎¹
(¹京都薬大, ²東北大・加齢医研, ³安田女大・薬)

【目的】 α -トコフェロールコハク酸 (TS) は抗酸化活性が欠失しているにも拘わらず, 様々な生理作用を有することが報告されており, 特に TS の抗癌作用が注目されている。しかし, TS の抗癌作用に関して, 癌細胞特異的にアポトーシスを誘導すること以外は, 十分に明らかになっていない。そこで, 本研究では腫瘍の増殖に必須の血管新生および放射線耐性癌細胞に対する影響について検討した。

【方法】マウス黒色腫細胞 (B16-F1) を TS 処理し, 血管新生に関連する遺伝子の発現変動を real time PCR により解析した。さらに大動脈リングアッセイおよび免疫染色により血管新生を評価した。また, 臨床的放射線耐性細胞を用いて, Wst-1 アッセイにより, 細胞死誘導効果を評価した。

【結果・考察】TS は血管新生因子 angiopoietin-2 (Ang-2) mRNA 発現の低下させることにより, 血管新生を抑制することが示唆された。また, 放射線耐性細胞では, 非耐性細胞に比べて, TS に対する感受性が高く, TS 処理によってミトコンドリア由来の活性酸素増大を介して, 強力な細胞死を誘導することが示唆された。以上より, TS は多面的な作用を有する新規抗癌剤として期待される。

D-24 脂質に対する各種システイン誘導体の抗酸化効果

○三浦ゆかり, 稲井美由紀, 増田俊哉 (徳島大院・総)

【目的】システインやシステインを含むペプチドなどの誘導体は抗酸化性が高く, 生体や食品の還元的環境の維持に深く関わる。また, 酸化されてシスチンとなることで, 食品ではパンなどの物性形成に重要な役割を果たす。ところで, これまでの研究により, 脂質酸化に対してある種のシステイン誘導体が抗酸化性を示さないことがわかった。そこで, 本研究ではシステインの抗酸化官能基であるチオールが, どのような条件下において脂質に対する抗酸化効果を示すのかを検討する。

【方法・結果】5 種類のシステインシステイン誘導体を用い, AMVN を用いたリノール酸エチル酸化に対する抑制能を評価した。結果, アミノ基およびカルボキシル基が修飾されているシステインはほとんど抗酸化性を示さなかった。一方, カルボキシル基フリーのものは含水溶媒系で抗酸化性を示し, アミノ基フリー又はカルボキシレート基になっているものは, 有機溶媒, 含水溶媒系両方で抗酸化性を示した。その詳細と反応中のシステインの変化を解析した結果を併せて報告する。

[本研究は (公財) エリザベス・アーノルド富士財団の助成で行いました。]

D-25 ポリフェノールによるメトミオグロビンからオキシミオグロビンの生成
○稲井美由紀, 三浦ゆかり, 増田俊哉 (徳島大院・総)

【目的】食肉の鮮赤色タンパク質であるオキシミオグロビンはそれほど安定でなく、酸化されて褐色のメトミオグロビンに変化する。そのため食肉の品質管理上、メトミオグロビンをオキシ化し、維持することは重要であると考えられる。そこで、今回、ポリフェノールの有する還元力に着目し、メトミオグロビンのオキシ化が可能かを検討する。

【方法・結果】ポリフェノール及び、その類縁体 20 種類をメトミオグロビンの溶液(pH 7.4)に添加し、その吸光スペクトルを経時的に測定した。その結果、4 種類のポリフェノールがメトミオグロビンをオキシミオグロビンに還元できることを確認した。一方、これまでの研究¹⁾によりオキシミオグロビンのメト化を促進するポリフェノールであっても、システインを共存させることにより、オキシミオグロビン化が可能であることがわかった。これらの現象をポリフェノールの構造変化に基づいて解析を試みた結果と併せて報告する。

1) Masuda, Inai, *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **2013**, 61, 1097-1104.

D-26 白金ナノ粒子の細胞内取り込みと抗酸化作用
○池田昌史¹, 菅 真樹¹, 濱崎武記², 照屋輝一郎^{1,2}, 樺山 繁³, 白畑實隆^{1,2}
(¹九大院・シス生, ²九大院・農, ³(株)日本トリム)

【目的】白金ナノ粒子は化粧品・食品・医療において注目されている金属ナノ粒子である。本研究では、白金ナノ粒子の経時的及び濃度依存的細胞内取り込みと、細胞内活性酸素消去作用を調べることを目的とした。

【方法】白金ナノ粒子はヘキサクロロ白金酸塩をクエン酸ナトリウムにより還元することにより調製した。ラット筋芽細胞株 L6 を白金ナノ粒子添加 DMEM 培地で培養し、白金ナノ粒子の細胞内への取り込み量を ICP-MS を用いて測定した。また、L6 細胞を種々の濃度の白金ナノ粒子で処理し、細胞内活性酸素消去能を BES-H₂O₂ 試薬を用いて検討した。

【結果】白金ナノ粒子の L6 細胞への取り込み量は添加後 4 時間まで経時的に増加した。また、取り込み量は白金ナノ粒子濃度依存的に増加した。さらに、白金ナノ粒子濃度依存的に細胞内過酸化水素濃度が低下した。

D-27 Antioxidant and Anticancer Activities of Indonesian Tea Mistletoe Extract
Obtained by High Temperature Extraction
○ S. I. Rahmawati¹, K. Ishimaru², D.X. Hou¹ and N. Hayashi²
(¹United Grad. Sch. Agr., Kagoshima Univ., ²Saga Univ.)

Indonesian tea mistletoe generally called *Benalu Teh* (*Scurulla atropurpurea*) is one of the medicinal plants as a cure especially for cancer. In our previous study, the highest functionality was obtained by extraction treatment with solvent 30% ethanol at temperature 100°C for 10 min using batch reactor. In addition, the main flavonoid compound of the extract was identified as rutin (Rahmawati, S. I., 2012). On this work we used batch reactor extract and traditional extract as comparison. Then we evaluated by radical scavenging activities and total phenolic compound. Furthermore anticancer was determined by using neutral red uptake on HT-29 and Caco-2 cancer cells. Also we confirmed safety analysis for normal cell by using fibroblast mouse cell balb/c 3T3. As a result, batch extraction gave the better value than traditional extraction.

Rahmawati *et al.*, *Am. J. Appl. Sci.*, 9, 337-342, 2012

D-28 チーズの鉄イオンキレート活性に関する研究
○藍澤貴之, 森木秀明, 井越敬司, 安田 伸 (東海大・農)

【目的】市販チーズの抗酸化活性としての鉄イオンキレート活性（キレート活性）について調べた。【方法・結果】チーズは市販 14 種類を用い、活性はチーズの 70%エタノール可溶性画分（70%SF）を使用した。キレート活性は、鉄イオンとフェロジン試薬による鉄イオンキレートの阻害活性として表した。14 種類のチーズのキレート活性を調べた結果、リネンス菌（ボンレベック、エポワス）およびカビ熟成チーズ（ゴルゴンゾーラ、スチルトン、カマンベール、シャウルス）に比較的高い活性を見出した。乳酸菌およびプロピオン酸菌熟成チーズは低い活性であった。次いで、ゴルゴンゾーラおよびカマンベールの 70%SF をダイアイオン HP-20 により吸着と未吸着画分に分離したところ、両チーズ共に両画分に活性が見出された。トヨパール HW-40 ゲル濾過クロマトグラフィーによりそれぞれの画分から活性成分を分離した結果、ゴルゴンゾーラの未吸着画分から 1 種類、吸着画分から 2 種類、またカマンベールの場合、未吸着および吸着画分よりそれぞれ 1 種類ずつ見出された。従って、ゴルゴンゾーラに 3 種類、カマンベールに 2 種類のキレート活性成分が少なくとも存在することが知られた。

D-29 ブルーチーズ熟成中の ABTS ラジカル消去活性とその成分
○木村 元¹, 室北颯太¹, 山室顕之¹, 佐藤崇雄², 瀬戸泰幸³, 安田 伸¹, 井越敬司¹
(¹東海大・農, ²熊本県産業技術センター, ³雪印メグミルク・サイエンス)

【目的】ブルーチーズ熟成中（0～4 か月）の ABTS ラジカル消去活性（ABTS 活性）とその成分について調べた。【方法・結果】各熟成ブルーチーズの 70%Et-OH 可溶性画分（70%SF）の ABTS 活性を調べたところ 2 および 4 か月熟成に高い活性が見出された。次いで、熟成 2 か月チーズの 70%SF をダイアイオン HP-20 にて Et-OH ステップワイズ法により分離した。0, 20, 40 および 80%溶出画分の ABTS 活性を調べた結果、20%溶出画分が最も高い活性を示した。そこで 20%溶出画分を HW-40 ゲル濾過クロマトグラフィーにより活性成分を分離したところ、少なくとも 2 種類（20A,20B）の活性画分が得られた。両画分の ABTS および DPPH ラジカル消去活性を調べた結果、20A は両活性とも高い値を示したが、20B の DPPH ラジカル消去は低い値を示した。20B の活性成分を ODS-HPLC により分離した結果、高い ABTS 活性を示す単一成分が得られた。精密質量分析等により本成分の構造を明らかにしたところ、4-Hydroxyphenylacetic acid と同定された。

D-30 エポワスチーズの抗酸化活性とその成分
○山室顕之¹, 木村 元¹, 室北颯太¹, 佐藤崇雄², 安田 伸¹, 井越敬司¹
(¹東海大・農, ²熊本県産業技術センター)

【目的】エポワスチーズの抗酸化活性を DPPH ラジカル消去を指標に測定し、その成分について研究を行った。【方法・結果】エポワスチーズ 70%Et-OH 可溶性画分の活性を調べた結果、濃度依存的に活性が見出された（EC₅₀: 0.875 mg/ml）。次いで、同画分をダイアイオン HP-20 により未吸着および吸着画分に分離し、両画分の活性を測定した。その結果、未吸着画分より吸着画分に高い活性が認められた。両画分をゲル濾過クロマトグラフィーによってそれぞれ活性成分を分離した結果、未吸着画分には 2 ヲ所（0A・0B）、吸着画分には 1 ヲ所（80C）に比較的高い活性が認められた。未吸着 0B を ODS-HPLC によって分離したところ、尿酸と保持時間が一致する活性成分を見出した。また、80C を同様に分離したところ、ピーク 5 本に活性が認められ、そのうち 2 本のピーク成分はブルーチーズより見出されたホモゲンチジン酸とホモプロトカテキ酸とそれぞれ保持時間が一致した。従って、エポワスチーズにはブルーチーズと同様の DPPH ラジカル消去成分が含まれていることが明らかとなった。

D — 31 Effect of benzyl isothiocyanate on redox-sensitive signaling in human T lymphocytic leukemia Jurkat cells
OYue Tang, Sho Naito, Naomi Abe, Yoshiyuki Murata, Yoshimasa Nakamura
(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)

Benzyl isothiocyanate (BITC) derived from papaya fruits has been reported to exhibit antioxidant properties via the induction of phase II cytoprotective enzymes including glutathione S-transferase (GST). In the present study, we investigated the effect of BITC on redox-sensitive signaling in human T lymphocytic leukemia Jurkat cells. Treatment of Jurkat cells with BITC resulted in a significant enhancement of GST activity and class- π GST isozyme protein expression. Thus we next examined the effect of BITC on exogenous hydrogen peroxide-induced phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase (JNK). However, BITC did not affect hydrogen peroxide-induced JNK phosphorylation. These results led us to a speculation that the target of BITC might be the downstream of JNK. An investigation of this issue is currently under way.

E-1 ビタミン B₆ 摂取に対するラット血中、及び大腸の遊離アミノ酸の応答
○長谷川知美, ソフィア スイダサリ, 張 培培, 矢中規之, 加藤範久
(広島大院・生物圏)

【目的】我々は、ビタミン B₆ (B₆) 摂取の大腸腫瘍の発現抑制作用を見出し、その機構の解析を行ってきた。その結果、B₆ による細胞増殖、炎症、酸化ストレス、及び血管新生の抑制に加えて、B₆ の大腸粘膜の保護作用も示唆してきた。近年、アミノ酸代謝とがんとの関連性を示す証拠が増えているので、本研究では、アミノ酸代謝に及ぼす B₆ 摂取の影響を調べた。

【方法・結果】SD 系雄ラットに 6 週間実験食 (1 mg, 7 mg あるいは 35 mg pyridoxine HCl/kg) を摂取させた。その結果、摂取量や体重増加の変化はなかった。結腸、及び血中の pyridoxal 5'-phosphate (PLP) は B₆ 摂取の増加とともに増加していた。興味あることに、結腸、及び血漿の遊離の Thr が B₆ 摂取により増加していた。近年、腸管バリアー機能に関与する大腸のムチン (大腸がんや大腸炎の予防因子) の合成が Thr により誘導されることが報告され、我々は B₆ 摂取により糞中ムチンの増加を見出している。そこで、B₆ が Thr 代謝を制御してムチン合成を促進する可能性が推定された。

E-2 がん細胞のビタミン B₆ に対する遺伝子発現応答の解析
○張 培培, 長谷川知美, ソフィア スイダサリ, 矢中規之, 加藤範久
(広島大院・生物圏)

【目的】我々は、ビタミン B₆ (B₆) の抗腫瘍作用を見出し、その機構解析を行ってきた。さらに最近、結腸がん細胞や肝がん細胞の B₆ に応答する遺伝子を網羅的に解析し、興味ある遺伝子群を特定した。本研究では、その中から抗腫瘍因子の IGFBP1 と p21 の発現誘導について解析した。

【方法・結果】IGFBP1 の発現は主に肝臓であることから、肝がん細胞 HepG2 細胞を用いて、B₆ (pyridoxal: PL) による発現誘導を解析した。その結果、PL による IGFBP1 の mRNA とタンパク質の顕著な発現誘導が Real-time PCR と Western blot によって示され、その誘導に ERK の活性化が少なくとも一部関与していることが示唆された。さらに、p21 の mRNA 発現誘導が様々ながん細胞で確認され、p21 発現に関与する因子として抗腫瘍因子 p53 の活性化も調べたところ、p-p53 タンパク質が増加していた。そこで、PL が p53 を活性化し、p21 の発現誘導に繋がった可能性が推定された。

E-3 線虫(*Caenorhabditis elegans*)を用いたビタミン B₁₂ ドデシルアミン誘導体のビタミン B₁₂ 細胞内代謝の阻害機構の解明
○美藤友博, 薮田行哲, 一柳 剛, 河野 強, 渡辺文雄 (鳥取大院・連合農学)

【目的】ヒトのモデル動物である線虫(*Caenorhabditis elegans*)へビタミン B₁₂ (B₁₂) ドデシルアミン誘導体を投与すると、B₁₂ 依存性酵素活性が顕著に低下した。そこで、B₁₂ ドデシルアミン誘導体の詳細な B₁₂ 細胞内代謝の阻害機構を詳細に検討した。

【方法】B₁₂ ドデシルアミン誘導体は McEwan らの方法に準じて調製した。B₁₂ ドデシルアミン誘導体添加線虫の体内 B₁₂ 含量および B₁₂ ドデシルアミン誘導体含量は HPLC にて測定した。また、B₁₂ 関連酵素及びタンパク質の mRNA 発現レベルをリアルタイム PCR 法で評価した。

【結果・考察】B₁₂ ドデシルアミン誘導体添加線虫では食餌性 B₁₂ 欠乏線虫同様に、B₁₂ 依存性酵素活性の低下を伴い、メチルマロン酸とホモシステインの顕著な蓄積を示した。また、B₁₂ ドデシルアミン誘導体添加線虫の体内には多量の B₁₂ ドデシルアミン誘導体が含有されていたことより、体内に取り込まれ B₁₂ 依存性酵素活性を阻害していることが明らかとなった。また、細胞内 B₁₂ のトラッキングタンパク質の MMACHC の mRNA 発現レベルの変動が大きかったため、B₁₂ 輸送系に影響を及ぼしていることも示唆された。

E-4 髪菜に含まれるビタミン B₁₂ 化合物の特性

○ 藤 飛¹, 竹中重雄², 竹中裕行³, 藪田行哲¹, 渡邊文雄¹

(¹鳥取大学・連合農学, ²大阪府大院・生命環境, ³マイクロアルジェ)

【目的】髪菜は中国やモンゴルなどの乾燥した砂漠地域に生息する食用藍藻で、黒髪に似ていることから髪菜と名づけられた。中国では、高級料理の食材や薬膳に利用されている。これまで、種々の食用藍藻類には、シュードビタミン B₁₂ が多量に含まれていることが報告されている。そこで、今回髪菜に含まれるビタミン B₁₂(B₁₂)化合物の特性について検討した。

【方法・結果】実験には乾燥した髪菜(天然品, 人工品, 模擬品など)を使用した。各髪菜から B₁₂ の抽出・定量は、日本食品成分表で採用される *L.delbrueckii subsp.lactis* ATCC7830 を用いた微生物的定量法で測定した。また、抽出液を用いて *E. coli* 215 による TLC バイオオートグラム分析を行った。多数の髪菜の B₁₂ 含量を測定した結果、天然物と人工物の B₁₂ 含量は乾燥重量 100 g あたり約 100 µg であったが、模擬品は 5 µg 程度と低かった。また、バイオオートグラム分析では、天然物と人工物においてに真の B₁₂ とシュード B₁₂ が両方検出された。現在、髪菜に含まれるこれら B₁₂ 化合物を LC/MS/MS 分析を行っている。

E-5 栄養補助食品のクロレラ錠剤に含まれるコリノイド化合物の分析

○ 多湖一憲¹, 藪田行哲¹, 竹中重雄², 溝口 亨³, 渡辺文雄¹

(¹鳥取大院・農, ²大阪府大院・生命環境, ³(株)サン・クロレラ)

【目的】これまでの研究において、食用藍藻のスピルリナやアフアニゾメノンには、ヒトで生理的に不活性なシュードビタミン B₁₂ が多量に含まれていた。そこで、同じ栄養補助食品として利用されている緑藻類のクロレラを検討したところ、シュードビタミン B₁₂ は含まず、ビタミン B₁₂ と未同定のコリノイド化合物の存在が示唆された。そこで、栄養補助食品として市販されているクロレラ中にこれらビタミン B₁₂ 化合物が普遍的に存在しているのかどうかを検討した。

【方法・結果】様々なクロレラ錠剤を KCN 存在下で加熱抽出をした後、サンプルを用いてバイオオートグラム分析と HPLC 分析を行った。その結果、クロレラ中にはビタミン B₁₂ と未同定の物質を含むもの、ビタミン B₁₂ のみを含むもの、ビタミン B₁₂ も未同定物質も含まないものがあることが明らかとなった。現在、LC/MS/MS 分析を用いた精密分析を検討している。

E-6 セレノリン酸合成酵素アイソザイム (SPS1, SPS2) の酵素共役法の開発

○ 鎌田早帆, 奥河内貴大, 稲垣賢二, 田村 隆 (岡山大院・環境生命)

【目的】微量必須元素セレンの生理機能はセレン含有タンパク質の触媒能に基づいて発揮される。セレンタンパク質合成に必須な代謝中間体であるセレノリン酸は、セレノリン酸合成酵素 (SPS) によって作られる。SPS の活性測定法としては ³²P 標識した ATP を基質として生成物 AMP を定量する方法が用いられてきた。簡便性と検出感度の点からアッセイ法の改良法が強く望まれてきた。本研究では、SPS の機能解析を目的として、酵素共役法を検討した。セレンのリサイクル機構に関与すると考えられている L-セレノシステイン β リアーゼ (SCL) の L-アラニン脱水素酵素 (AlaDH) との共役反応も検討した。

【方法・結果】SCL/AlaDH の共役反応系に、大腸菌で発現させた組換え型 SPS1 を共存させると、SCL 活性が促進されたため、SCL が切り出す 2 価セレンを SPS1 が受け取ることが示唆された。次に SPS の酵素共役法の開発を目的として高度好熱菌 *Thermus thermophilus* 由来 PPK (Phosphoenolpyruvate Dikinase) の発現系を構築した。PPK による AMP の検出も乳酸脱水素酵素を介する共役反応で定量できることが示された。この新規酵素共役法により、SPS1, SPS2 の相互作用を検討していく予定である。

E-7 ユーグレナにおけるビタミン B₁, B₆ の生合成経路
林麻利亜¹, 〇田鶴谷(村山)恵子², 野坂和人³, 山田和子¹
(¹武庫川女大・薬, ²第一薬大, ³兵庫医大)

【目的】チアミン (B₁) はピリミジン部 (HMP) とチアゾール部 (Th) のリン酸エステルが独立して生合成され、縮合してチアミンモノリン酸 (TMP) が生成される。HMP 及び Th の生合成経路や補酵素へのリン酸化過程は生物種により異なる。B₆ 生合成経路も、真核生物と原核生物とで異なることを我々は報告した。ユーグレナは光合成を行う単細胞真核生物で、Th や B₆ は生合成できるが、HMP は生合成できない。ユーグレナの B₁ および B₆ 生合成経路の詳細は解明されていないため、今回、TMP 合成酵素の存在及び Th, B₆ の窒素の起源について検討した。【方法・結果】ユーグレナの粗酵素抽出液を用いて、HMP 及び Th のリン酸誘導体を基質とし、TMP 合成酵素の活性を測定した。Th は、L-[¹⁵N]Tyr 及び [¹⁵N]Gly を、B₆ は L-[¹⁵N]Gln 及び L-[¹⁵N]Glu を用いてトレーサー実験を行った。その結果、ユーグレナは TMP 合成酵素活性を持つこと、B₆ の生合成経路は真核生物タイプであることを明らかにした。一方 Th については、原核生物の前駆体である Tyr や真核生物の前駆体である Gly の窒素はいずれも取込まれなかった。

E-8 ヒメツリガネゴケのアスコルビン酸生合成調節に関わる *vtc3* 遺伝子の発現解析
〇袖山 翼¹, 原井健司¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(¹島根大・生資料, ²近畿大・農)

【目的】最近、シロイヌナズナのアスコルビン酸欠乏 *vtc* 変異体のうち、最後まで未同定だった *vtc3* 変異体の原因遺伝子がプロテインキナーゼ/フォスファターゼの融合タンパク質をコードすることが示された。*VTC3* 遺伝子は多くの植物に相同遺伝子が存在しており、アスコルビン酸生合成調節との関連に興味を持たれている。本研究では植物で唯一遺伝子ターゲティング可能なヒメツリガネゴケに着目し、*VTC3* 遺伝子の機能解析を行った。

【結果】相同組換えを利用してヒメツリガネゴケ *VTC3* 遺伝子破壊株 ($\Delta vtc3$) を作製した。シロイヌナズナ *vtc3* 変異体とヒメツリガネゴケ $\Delta vtc3$ は、共に葉における AsA レベルの光応答性が喪失していたことから、*VTC3* はアスコルビン酸の光調節に関与することが示唆された。定量的 PCR により $\Delta vtc3$ の D-マンノース/L-ガラクトース経路構成酵素遺伝子の発現レベルについて検討したところ、いくつかの遺伝子の明暗時の発現パターンが野生株と比較して異なっていることが示された。

E-9 光酸化的ストレス応答におけるアスコルビン酸再生系酵素群の役割
〇畑中理佐¹, 野志昌弘², 田茂井政宏^{1,2}, 丸田隆典³, 石川孝博³, 重岡 成^{1,2}
(¹近畿大院・農, ²近畿大・農, ³島根大・生資料)

【目的】アスコルビン酸 (AsA) は活性酸素種の消去に加えて、生長/発達および遺伝子発現の調節などに関与するが、これらの生理作用の維持には酸化型 AsA (デヒドロ AsA; DHA, モノデヒドロ AsA; MDA) の再生系が重要であると考えられている。シロイヌナズナには局在の異なる DHA 還元酵素 (DHAR1~5) および MDA 還元酵素 (MDAR1~5) が存在する。そこで本研究では、AsA 再生系酵素群の包括的な逆遺伝学的解析を試みた。

【方法・結果】各 MDAR および DHAR 酵素群の欠損株ラインを作出し、それらの光酸化的ストレス感受性を調べたところ、DHAR1 および DHAR5 欠損株が最も顕著な感受性を示した。両欠損株では、強光照射による AsA レベルの増大が抑制されており、AsA プールサイズの維持における両酵素の重要性が明らかになった。また、両欠損株では H₂O₂ や過酸化脂質レベルが増大していた。現在、光酸化的ストレス下の両欠損株における細胞内レドックス状態に関して更なる解析を進めている。

E-10 糖尿病時におけるビタミンD・カルシウム代謝異常の分子機構の解明
○田尻真梨¹, 山本浩範^{1,2,3}, 中橋乙起¹, 香川知博¹, 竹谷 豊¹, 武田英二¹
(¹徳島大院・HBS 研究部, ²仁愛大・人間生活, ³福井大・医)

【目的】Streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病ラットを用い、糖尿病発症時のビタミンD代謝異常について解析した。【方法】5週齢 Sprague-Dawley 雄ラットに STZ を腹腔内投与し、糖尿病発症急性期にあたる8日後において解剖した。【結果】STZ 投与後8日間において血中の活性型ビタミンD [1,25(OH)₂D], カルシウム, 骨形成マーカーのオステオカルシンの濃度は著しく低下した。一方, 血中コルチコステロン値は上昇を示した。次に, 腎臓におけるビタミンD代謝酵素の発現の解析を行った結果, STZ 群ではビタミンD 異化酵素(CYP24A1)の発現が有意に増加することを明らかにした。また, 腎近位尿細管細胞において CYP24 発現は, グルココルチコイド受容体(GR)を介した転写調節により誘導された。【結論】糖尿病発症時のビタミンD代謝異常には, コルチコステロン上昇による GR を介した CYP24A1 発現の上昇が示唆された。

E-11 上皮細胞の極性に対するビタミンEの作用の検討
○堀越洋輔, 中曽一裕, 神崎孝基, 田島奈緒子, 仲宗根正人, 持田晋輔,
松浦達也 (鳥取大・医)

【目的】本研究では, 細胞極性の変化に対するビタミンEの作用を明らかにする為に, ①酸化ストレスによって生じる細胞極性の異常をビタミンEによって抑制できるか, ②細胞極性の形成および細胞極性の消失に対してビタミンEがどのように作用するか, 検討を行った。【方法・結果】MDCK 培養上皮細胞に酸化ストレスにより, 極性制御分子 Par3 の局在変化を誘導した。ビタミンEの添加により Par3 の局在変化が抑制されることが分かった。また, ビタミンEにより酸化ストレスによる aPKC-PAR 複合体形成の阻害が抑えられた。さらに, 創傷治癒時に生じる細胞の極性化に対するビタミンEの作用を検討したところ, ビタミンEの添加により細胞の極性化と傷の修復が促進された。現在, カルシウム濃度の操作によって誘導される上皮細胞の極性変化に対する作用を検討中である。【考察】ビタミンEは, 酸化ストレスによる極性制御分子の機能変化の抑制を介し極性異常を改善したと考えられた。また, ビタミンEは創傷治癒における細胞の極性化を促進し創傷治癒を早める事が示唆された。

E-12 種々の非環式レチノイドがヒト肝癌由来細胞株の脂肪滴動態へ与える影響
○牧 翔太¹, 佐上 博², 四童子好廣¹
(¹長崎県立大院・人間健康科学, ²東北大院・生命科学)

【目的】ヒト肝癌由来細胞株 HuH-7 を用いて非環式レチノイドが脂肪滴の動態に与える影響を明らかにするため, 細胞当たりの脂質含量の定量解析により検討した。【方法】ヒト肝癌由来細胞株 HuH-7 の培養系を用いて, geranylgeranoic acid, [S]2,3-diGGA, geranylgeraniol, dolichoic acid (各 25 μM) を 5%FBS 共存下の培地に添加し, 添加後 24, 48 時間の脂肪滴を観察した。脂肪滴は BODIPY493/503 を用いて生染色し, LSM700 を用いた共焦点蛍光顕微鏡により Live-cell imaging を行い, 3D 画像解析ソフト IMARIS により細胞内の脂肪滴の体積を定量解析した。【結果・考察】[S]2,3-diGGA 添加後 24 時間で, 脂肪滴のサイズと細胞当たりの脂肪滴の体積の増大を認めた。GGOH においても, 同様の変化が確認できたが, その効果はやや弱い傾向にあった。現在, その他の GGA 類縁化合物 ([R]2,3-diGGA 等) が脂肪滴の動態に与える影響についても検討中である。今後は脂肪滴結合タンパクや脂肪滴のサイズに関係する遺伝子, 脂質の代謝に関与する遺伝子群に焦点を当て, 解析を行う予定である。

E-13 口腔粘膜相対テロメア長と血中 β カロテンおよびその代謝に関与している遺伝子の一塩基多型との関連
○薮田末美, 正木基文, 四童子好廣 (長崎県立大院・人間健康科学)

【目的】テロメア長短縮の要因として活性酸素の影響が考えられる。それを抑制する抗酸化栄養素の1つに β カロテン(BC)がある。今回、相対テロメア長(RTL)および血中BC、BCの代謝酵素をコードする遺伝子の多型などを測定し、相互の関連について、さらに栄養素摂取量との関連も検討した。

【方法】20-50歳の男女70名を対象とし、口腔粘膜より採取したDNAを用い、MMQPCR法によりRTLを、TaqManPCR法により遺伝子多型のタイピングを行った。血中BC濃度はHPLC法により測定した。また、食物摂取頻度調査(FFQ)を行い、栄養素摂取量を算出した。

【結果と考察】男女とも、RTLと血中BC値との間に有意な相関はみられなかった。しかし、遺伝子多型別に解析すると、男性で α 、 β カロテンや α トコフェロール、女性では α 、 β カロテン、ビタミンCなどの抗酸化栄養素の摂取量とRTLが有意に正の相関を示すものが存在した。カロテノイドやその他の抗酸化栄養素が何らかの形でRTLに影響している可能性が示唆された。

E-14 ビタミンE誘導体の消化管吸収に関する研究
○彌生知里, 渡瀬大輔, 瀬戸口修一, 松永和久, 長田(赤穂)菜美, 楠田真理子, 加留部善晴, 高田二郎 (福岡大・薬)

【目的】これまで γ -tocopherol(γ -Toc)と γ -tocotrienol(γ -T3)のエステル誘導体は親薬物のprodrugあるいは γ -CEHCのtwo-step prodrugとして機能できることを報告している。ビタミンE類の消化管吸収は胆汁酸塩および脂質からなる混合ミセルが影響することが知られている。本研究ではビタミンEエステル誘導体の消化管吸収性に及ぼすタウロコール酸(TCA)の影響を*in vivo*及び*in vitro*で検討した。【方法】 γ -Tocと γ -T3は市販食品添加物から単離。2R- γ -tocopheryl N,N-dimethylglycinate(γ -TDMG), 2R- γ -tocotrienyl N,N-dimethylglycine(γ -T3DMG)は合成して使用。水溶解性、n-Octanol分配性から γ -TDMG、 γ -T3DMGとTCAの相互作用を検討。ラット経口投与後の血漿中濃度に及ぼすTCA添加の影響を検討。【結果】エステル誘導体の溶解性と分配性からエステル誘導体がTCAとion complex及びmixed micellを形成することが明らかになった。吸収性はTCAとの組成比の影響を受け、経口投与における γ -TDMG、 γ -T3DMGの吸収は消化管内でのTCAとの相互作用の影響を受けることが示唆された。

E-15 線虫(*C. elegans*)を用いた葉酸過剰症の解析
○前川由紀奈, 美藤友博, 薮田行哲, 河野 強, 渡辺文雄 (鳥取大院・農)

【目的】現在、葉酸欠乏症の予防策として米国で食品へ葉酸の強化が行われている。一方こうした取り組みの結果として高濃度葉酸摂取による有害作用(神経障害、腎障害等)についての報告も散見されるが、それらの詳細な発症メカニズムについてはいまだ明らかにされていない。そこで、遺伝学的な情報が多様で、世代交代時間が短く、基本的な動物の体制を持つモデル生物の*C. elegans*を用いて葉酸過剰症の発症メカニズムの解析を試みた。

【方法・結果】線虫の生育培地(NGM培地)に葉酸を添加し、葉酸過剰の飼育条件を検討した。NGM培地で育てた線虫をコントロール線虫とし、3.9 mg /plateの葉酸を添加した培地で5世代継代的に生育させた線虫を葉酸過剰線虫として実験に用いた。線虫体内の葉酸含量は、葉酸過剰線虫でコントロール線虫の約2倍量の体内葉酸含量(約16 μ g/g fw)を示した。また、産卵数はコントロール線虫に比べ有意に減少した。さらに、酸化ストレス障害について検討したところ著しいホモシステインの増加と過酸化脂質の蓄積が見られた。現在、葉酸代謝関連酵素の機能解析について検討中である。

E-16 バナジウムの線虫 *C. elegans* による *in vivo* 評価

○梶島李歩¹, 富永伸明², 山口明美², 中村 浩³, 内田雅也³

(¹有明高専専攻・応物工, ²有明高専・物質工, ³エコジェノミクス)

【目的】バナジウムはインスリン様作用を持ち、ヒトにおいて血糖値を下げるといわれ、バナジウムを含有する水やサプリメントなどから積極的に摂取されるようになった。しかし、バナジウムの摂取量、摂取期間およびインスリンとの併用による影響についてはほとんど検討されていない。そこで、本研究ではモデルとして線虫 *C. elegans* を使い、バナジウムの生体影響を調べることを目的とした。

【方法・結果】液体合成培地にバナジウム、インスリンを添加し、線虫を3日間培養した。これら線虫から Total RNA を抽出し、Cy5 標識 cRNA の合成を行った。6000 遺伝子を搭載した DNA マイクロアレイ上で cRNA をハイブリダイズし、発現変動した遺伝子を探索した。その結果、バナジウム単独で応答する遺伝子が確認できた。また、インスリンを同時に添加することで応答する遺伝子数は増加した。このことから、バナジウムとインスリンの併用はその作用を増強する可能性があると考えられた。現在、両物質の同時暴露による成長・繁殖の調査を行っており、これらを合わせ、複合影響について報告する。

E-17 リゾホスファチジン酸添加が Caco-2 細胞層の透過性に及ぼす影響

○熊本 舜¹, 福嶋伸之^{1,2}, 徳村 彰³, 室田佳恵子^{1,2}

(¹近畿大院・総合理工, ²近畿大・理工, ³徳島大院・HBS 研究部)

【目的】リゾホスファチジン酸(LPA)は脂質メディエーターとして創傷治癒作用等を有するが、腸管での作用については明確には分かっていない。一方で、主要なリン脂質の消化産物であるリゾホスファチジルコリン(LPC)は細胞間透過性を高める作用を有する。本研究では小腸上皮細胞モデルである Caco-2 細胞を使用し LPC の作用に対し LPA がどのように影響するのかを調べた。【方法・結果】Transwell に播種した Caco-2 細胞の apical 側に脂質サンプルを投与し経上皮電気抵抗(TER)を測定した。0.25 mM LPC 単独投与では、Control に比べて TER 値が顕著に低下した。しかし 0.25 mM LPC + 0.01 mM LPA 同時投与では Control より低いものの LPC 単独投与に比べ TER 値は高く、投与後 1 h 以降は有意に高値を維持した。一方、0.01 mM LPA 単独投与では Control と同様の経時的変化を示した。またリゾリン脂質投与後に Lucifer Yellow を添加し透過性を測定したところ、LPC 単独投与に比べ LPC+LPA 同時投与では Lucifer Yellow の透過が抑制された。以上の結果より、LPA が LPC の透過性亢進を抑制することが示唆された。

E-18 コリン含有リン脂質の小腸における消化吸收動態の解明

○室田佳恵子^{1,2}, 高木美佳², 徳村 彰³, 大久保剛⁴ (¹近畿大・理工, ²近畿大院・総合理工, ³徳島大院・HBS 研究部, ⁴日油(株)・食品研)

【目的】コリンはビタミン様分子として生体においてさまざまな機能を有している。ホスファチジルコリン(PC)が種々の食品に大量に存在しているためコリンの欠乏症は通常認められないものの、生合成されるコリンは限られており、日常的な摂取量は至適摂取量を下回っているとの懸念がある。本研究では主要なコリン給源である PC について小腸での消化動態を再検討し、食事由来コリンの吸収経路をより詳細に明らかにすることを目的とした。【方法・結果】ラット小腸粘膜ホモジネートを用いた消化実験を行ったところ、PC は膵酵素によりリゾ体(LPC)に分解された後、脂肪酸が遊離したグリセロホスホコリン(GPC)へと変換されることが示唆された。この結果はヒト小腸モデルとして汎用されている Caco-2 細胞でも同様であった。さらにラット小腸灌流実験を行ったところ、GPC を含む灌流液から遊離コリンが経時的に生じた。また、麻酔下のラット十二指腸への GPC 投与後、門脈からは遊離コリンが検出された。以上のことより、コリン供給は PC 由来の消化産物である GPC を介していることが示唆された。

- E-19 日本人の血中 Enterolacton 濃度は北欧諸国より高く, Secoisolarisiresinol が主要な起源である - 東温スタディより
○梶原秀平¹, 斉藤 功², 江口依里³, 丸山広達³, 松木 翠¹, 池田槇子¹, 村上 聖¹, 西脇 寿¹, 山内 聡¹, 岸田太郎¹, 海老原清¹, 谷川 武³
(¹愛媛大・農, ²愛媛大・医・健康科学, ³愛媛大・医・公衆衛生)

【目的】リグナンは食品成分中の植物エストロゲンとして注目されているが, 日本での疫学的報告がほとんどない。本研究では, 生活習慣病の予防を目的とした詳細検診を実施している疫学研究: 東温スタディの参加者の一部の血清を用い, リグナン濃度を測定し, 様々なデータと比較を行った。

【方法】愛媛県東温市の住民436名について, 主要なリグナンである Matairesinol (MAT), Secoisolarisiresinol (SECO), Enterodiol (END), Enterolacton (ENL)の血中濃度を UPLC-ToF-MS 法で測定した。

【結果】ほとんどの被験者で ENL が高濃度で存在し, 諸外国の疫学調査と比べても高い濃度であり, リグナンを多く摂取していることが示唆された。SECO の濃度は他のリグナンに比べはるかに高く検出されたことから, ENL の主要な起源である可能性がある。SECO と ENL 濃度と食事アンケートや血液検査結果との相関より, ENL が高くなるにつれ, 野菜摂取量の増加し中性脂肪の減少する傾向が見られた。

- E-20 イエバエのサナギ粉末および幼虫粉末の脂質代謝に与える生理効果
○柿原文耶¹, 水重貴文², 三浦 猛³, 三浦智恵美³, 太田 史³, 岩井俊治³, 井戸篤志³, 森 裕貴¹, 金子奈津美¹, 江籠平ゆい¹, 岸田太郎¹
(¹愛媛大・農, ²京大院・農, ³愛媛大・南水研)

【目的】イエバエはイメージとは裏腹にその有用性から, 既に清潔な環境下で飼料としての生産が始まっている。また, FAO の提言にもあるように昆虫は将来の機能性食品素材としても有望である。本研究ではラットにイエバエのサナギ粉末および幼虫粉末を摂取させ, 脂質代謝に与える影響を調べた。

【方法】6週齢オス SD 系ラットにイエバエのサナギ粉末または幼虫粉末を摂取させ 28 日間飼育した。飼料および飲料水は自由摂取させた。

【結果】血中総コレステロール濃度は対照群と比べてサナギ摂取群, 幼虫摂取群共に有意に低下した。血中 HDL 濃度もサナギ摂取群, 幼虫摂取群の両群で有意に低下したが, 血中 non-HDL 濃度は幼虫摂取群でのみ有意に低下した。糞中への胆汁酸排泄は対照群と比べてサナギ摂取群, 幼虫摂取群で有意に増加した。イエバエはステロイド排出の促進によりコレステロール低下作用を示すと考えられる。

- E-21 慢性腎不全における亜鉛代謝異常の分子機構の解明
○阿部航太郎¹, 山本浩範^{1,2,3}, 中尾真理¹, 中橋乙起¹, 神戸大朋⁴, 竹谷 豊¹, 武田英二¹ (¹徳島大院・HBS 研究部, ²仁愛大・人間生活, ³福井大・医, ⁴京大院・生命)

【目的】慢性腎不全(CKD: Chronic Kidney Disease)患者では血中亜鉛濃度が低下するといわれているが, この機序は明らかではない。本研究では CKD における亜鉛代謝異常の原因解明と, 心血管疾患の死亡リスク軽減に重要とされているリン制限食(LP 食)が亜鉛代謝異常に及ぼす効果の検討を目的とした。

【方法・結果】5/6 腎臓摘出ラットを3群に分け, Sham 群及び CKD 群に Control 食(リン含量 1.03%), CKD-LP 群に LP 食(リン含量 0.2%)を与えて解剖した。その結果, CKD 群では Sham 群と比して血漿中亜鉛濃度低下と尿中亜鉛排泄亢進, 腸管亜鉛輸送担体(ZIP4)のタンパク質発現上昇及び肝臓の亜鉛蓄積がみられた。CKD-LP 群では CKD 群に比して血漿中亜鉛濃度上昇, ZIP4 タンパク質発現の減少がみられたが, 尿中亜鉛排泄と肝臓の亜鉛蓄積量に変化はみられなかった。以上より, CKD の亜鉛代謝異常は尿中亜鉛排泄亢進と肝臓の亜鉛蓄積が一因であり, リン制限食が亜鉛代謝異常を改善する可能性が示唆された。

E-22 フェノール性化合物硫酸体モデルの機能に関する研究

○菅原進太郎¹, 竹内 良², 小野政輝^{1,2}, 井越敬司^{1,2}, 榊原陽一³, 水光正仁³,
安田 伸^{1,2} (¹東海大院・農, ²東海大・農, ³宮崎大・農)

【目的】ポリフェノール類や薬剤などのフェノール性化合物が生体内にどのような形状で存在し、どの程度の生理機能を有するかについては未解明な部分も多い。本研究では *p*-nitrophenol (*p*-NP) と 4-methylumbelliferone (4-MU) をモノフェノールのモデル化合物として用い、第2相薬物代謝反応時に生じるこれらの硫酸体代謝物モデルの抗酸化特性について比較評価することとした。

【方法・結果】NADH を介した superoxide anion (O_2^-) radical 産生系ならびに xanthine oxidase (XOD) 酵素系に及ぼすこれら化合物の影響を試験管レベルで調べた。いずれも硫酸体のほうが強い抑制作用を有していた。顆粒球様分化した HL-60 細胞における 12-*O*-tetradecanoylphorbol 13-acetate 誘導の O_2^- radical 産生に及ぼす影響を調べた結果、*p*-NP や 4-MU ほどではないもののこれらの硫酸体は抑制作用を示した。以上より、これらの硫酸体代謝物モデルは NADH や XOD を介した O_2^- radical 産生を制御しうることで、細胞レベルでは他の O_2^- radical 産生メカニズムに大きく依存しうる可能性があることが考えられた。

E-23 Cordycepin による LPS 誘導性 NO 産生抑制効果

○今村健太¹, 浅井桃子¹, 菅本和寛², 松本朋子³, 山崎有美¹, 亀井一郎¹,
服部貴博⁴, 岸本正興⁴, 新坂誠司⁴, 西山和夫¹, 山崎正夫¹
(¹宮崎大・農, ²宮崎大・工, ³宮崎大・産学・地域連携セ, ⁴晨星興産(株))

【目的】冬虫夏草は、中国で古来より滋養強壮目的に漢方や薬膳食材として利用されてきた。冬虫夏草には特徴的な成分として Cordycepin が含まれ、健康機能性に寄与する分子である。本研究では、Cordycepin のもつ抗炎症作用の機構解明を目的とした。【方法・結果】マウスマクロファージ様細胞株である RAW264.7 細胞を Cordycepin および Adenosine で 24 時間処理後、リポ多糖 (LPS) を添加し、nitric oxide (NO) 産生量を測定したところ、NO 産生が抑制された。また、ヌクレオシドトランスポーターの阻害剤とアデノシンキナーゼの阻害剤を前処理した時、Cordycepin による作用が阻害された。以上の結果から、Cordycepin の抗炎症作用は細胞内に取込まれ、アデノシンキナーゼで代謝されることにより発揮されることが示唆された。

E-24 GAPDH による IgE クラススイッチの抑制

○岩元 彬¹, 井上愛子², 井上祐一³, 山田耕路¹, 立花宏文¹, 川原浩治³
(¹九大院・農, ²(株) キューリン・検査部, ³北九州高専・物質化学工)

【目的】これまでに我々は、ヒト末梢血単核球を用いた *in vitro* アレルギーモデルにおいて特定品種のイチゴ抽出物が IgE 産生を抑制すること、アトピー性皮膚炎モデルマウスのアレルギー症状を改善することを明らかにしてきた。また、イチゴ成分の解析により、IgE 産生抑制因子の一つが Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) であることを見出した。そこで本研究では、GAPDH の IgE 産生抑制メカニズムについて検討した。

【方法・結果】ヒト末梢血単核球を用いて、GAPDH の IgG, IgE, IgM 産生への影響を検討した。その結果、GAPDH は IgE 産生を抑制する一方で、IgG や IgM の産生を増強した。IgE は IL-4 刺激を受けた B 細胞が IgM から抗体遺伝子の再編成 (クラススイッチ) を起こすことにより産生される。したがって、GAPDH は B 細胞の IgE へのクラススイッチ、もしくはそれを引き起こす反応に影響を及ぼすことにより、IgE 産生を抑制している可能性が示唆された。

E-25 血中サイトカインの変化とパラミロンフィルムの創傷治癒効果
大串美沙¹, 今井ももこ¹, 飯田聡史¹, 庄條愛子^{1, 2}, 吉田絵梨子³, 鈴木健吾³,
原田直樹¹, 山地亮一¹, 乾 博¹, 和田野晃¹, ○中野長久^{1, 4}
(¹大阪府大, ²相愛大, ³(株)ユーグレナ, ⁴大阪女子短大)

【目的】 β -グルカンは、腫瘍性および炎症性マクロファージに作用し、サイトカイン分泌を促進すると報告されている。創傷治癒に使用される包帯等や傷用フィルムなどの素材には、セルロースが使用されている。そこで、我々はユーグレナ独自の成分であるパラミロン (β -1.3 グルカン) に着目し、マウス背部に創傷を作製し、パラミロンの損傷治癒促進作用について検討した。【方法】8 週齢の雄性 Jcl : ICR マウスの背部に 8 mm の創傷を作製し、コントロール (Cont) には何も被覆せず、パラミロンフィルム (PF) とセルロースフィルム (CF) を用い、ドレッシングフィルムで創傷部分を覆った。各種フィルムの創傷治癒効果を、経口的に傷面積比を用いて算出し、血中サイトカインの発現を検討した。【結果】3 群の体重に差異は見られなかった。5 日目の創傷面積は、Cont 群および CF 群において約 80% に対し、PF 群で 60% にまで治癒されていた。各種血中サイトカインは、PF 群で 3 日目に高値を示し、CF 群では 5 日目まで上昇し続けた。これらのことから、PF 群では創傷治癒効果が増強したことが示唆された。

E-26 グリセロホスホコリンはコリン欠乏によるマウス肝障害を抑制する
○米中久喜, 光本仰志, 中村啓司, 橋本貴生, 加藤範久, 矢中規之
(広島大院・生物圏)

【目的】コリンはリン脂質膜や神経伝達物質の合成、およびメチル基代謝に関与する重要な栄養素であり、欠乏によって肝障害や筋障害を生じることが報告されている。本研究ではコリンの供与体としてグリセロホスホコリン (GPC) に着目し、その肝障害抑制効果を検討した。

【方法・結果】6 週齢雄性 ICR マウスにコリン欠乏食、0.2%GPC 添加食、コントロールとして 0.2%コリン添加食を自由摂取させた。1 週間、および 3 週間後に血清、および肝臓を採取し、コリン代謝物量、肝障害マーカーである血中 ALT 活性、および肝臓における遺伝子発現を解析した。1 週間、3 週間ともにコリン欠乏食群において血中のコリン、ベタイン濃度、および肝臓中のコリン、ベタイン、GPC 濃度が減少しており、コリン添加食群、および GPC 添加食群においてはこれらの減少を抑制した。また、特に GPC 添加食群はコリン欠乏食群における血中 ALT 活性の上昇、および炎症性遺伝子群の発現も抑制した。以上のことから GPC がコリン欠乏による肝障害を抑制することが示された。

F-1 氷の融解温度を用いて算出した糖の水溶液構造パラメータ α とエクアトリアル OH 基数の関係

○相本香織¹, 宮脇長人², 佐藤之紀¹

(¹ 県立広島大・生命環境, ² 石川県大・生資環)

【目的】パラメータ α は、モル分率 (X_s) と水分活性 (A_w) の関係から得られる係数で、Raoult の法則からのずれを示す水溶液構造パラメータである。パラメータ α が求められていない糖の値を加えて、パラメータ α とエクアトリアル OH (e-OH) 数の関係を考察した。

【方法と結果】ガラクトースなどの糖水溶液をそれぞれ -20℃ で凍結させた後、自作の振動式の融解温度測定装置で氷の融解温度を求めた。その後、Hildebrand and Scott (1962) の式により A_w を求め、 X_s - A_w の関係を $A_w = (1-X_s) \exp(\alpha X_s^2)$ の式にあてはめて、パラメータ α を求めた。その結果、パラメータ α と e-OH 基数の間には $R^2 = 0.754$ で一次式に近似できた。さらに、2 糖は低いパラメータ α を示す場合が多いため、2 糖を除外してヘキソース糖のみに限定して両者の関係を調べても高い R^2 値 ($R^2 = 0.805$) であったことから、糖のパラメータ α は糖の OH 基の構造をよく反映する水構造パラメータと考えられた。

F-2 乳化亜麻仁油の噴霧乾燥粉末の安定性について

二宮 愛¹, ○四日洋和¹, 足立早映¹, 安達修二², 吉井英文¹

(¹ 香川大・農, ² 京大院・農)

【目的】魚油などに多く含まれている n-3 系高度不飽和脂肪酸は極めて不安定な物質であり、食品に利用する際はその安定化が重要となる。本研究では、 α -リノレン酸を高含有する亜麻仁油を用い、粉末中の油脂の酸化安定性に及ぼす乳化剤および乳化溶液のナノエマルジョン化の影響について検討した。【方法・結果】乳化剤 (カゼインナトリウム (TG-) および、そのトランスグルタミナーゼ架橋化物 (TG+)) と賦形剤 (マルトデキストリン) の混合水溶液に亜麻仁油を加え、ホモジナイザーと高圧乳化機を併用してマイクロエマルジョンおよびナノエマルジョン溶液を調製した。次いで、試料溶液を噴霧乾燥機で乾燥し、各種亜麻仁油粉末を調製した。亜麻仁油粉末中の油脂の酸化安定性は、自動油脂安定性試験により評価した。その結果、亜麻仁油粉末の酸化安定性は、TG- に比べて TG+ の方が高く、また、それは粉末中の乳化液滴径の減少に伴って低減した。本研究は、JST の復興促進プログラム (産学共創) 「水産加工サプライチェーン復興に向けた革新的基盤技術の創出」の支援により実施したものである。

F-3 甘味タンパク質ソーマチンの高分解能構造解析

○榊田哲哉¹, 村田一輝², 佐野文音¹, 三上文三¹, 北畠直文³, 谷 史人¹

(¹ 京大院・農, ² 京大・農, ³ ノートルダム清心女大)

【目的】甘味タンパク質ソーマチンは、ショ糖に比べモル比で 10 万倍と非常に強い甘味を呈し、食品に広く利用されている。ソーマチンの更なる応用利用を目論む上では、詳細な構造情報が有益である。そこで本研究ではソーマチンの高分解能 X 線結晶構造解析を試み、ソーマチンの甘味発現に関わる構造的要因の詳細を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】ソーマチン I およびソーマチン II は酵母 *Pichia pastoris* で発現させ、精製は陽イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーにて行った。結晶化は精製ソーマチン溶液を濃縮後、沈殿剤としてロッシェル塩、ポリエチレングリコール (PEG) を用いた蒸気拡散法にて行った。回折データの収集は大型放射光施設 SPring-8 にて BL26B1 の IP ディテクターを用いて行いソーマチン I については分解能 0.9 Å 前後のデータを、ソーマチン II については分解能 1.0 Å 前後の高分解能データを収集した。現在 Coot によるモデル修正と、SHELXL を用い精密化を進めている。

F-4 無限に細いパスタの吸水挙動に及ぼすグルテンの影響 ○小川剛伸, 長谷川絢子, 安達修二 (京大院・農)

デンプン粒の糊化による吸水過程は一般に極めて速いが, 72 wt%のデンプンを含むパスタの茹で過程での吸水速度は遅い. 演者らは, 内部での水分の拡散が関与しないパスタ表面の吸水量は瞬時には平衡値に到達せず, 徐々に増加することを見出したが, この現象が生起する機構については不明である. 本研究では, 数種類の太さの異なるパスタの吸水量を太さ方向に外挿して, 太さが 0 mm の仮想的なパスタの吸水量を算出した. その吸水量は時間に対して双曲線型の関数であり, 1 時間以上経っても平衡に達しなかった. デンプン粒は短時間 (1 分以内) に糊化が完了することに対比すると, この過程は極めて遅い. パスタ内部ではデンプン粒がグルテンの構造骨格に包埋されていることに着目し, グルテンのみのパスタの吸水挙動を測定したところ, 吸水量は少ないものの, その経時変化は無限に細いパスタのそれと同様の傾向を示した. したがって, グルテンの構造骨格が律速段階であり, その構造の緩和 (弛緩) に伴ってデンプン粒が糊化して吸水が進行する機構が示唆された. 【謝辞】本研究は, 「日清製粉グループ・岐阜大学・京都大学 穀物科学コンソーシアム」の一部としておこなった.

F-5 亜臨界水処理によるツノナシオキアミ抽出物の特性評価 ○永水宏昇¹, インティラ クームヤート¹, 小林 敬¹, 四日洋和², 吉井英文², 安達修二¹ (¹京大院・農, ²香川大・農)

【目的】ツノナシオキアミは主に三陸沖で漁獲され, 養殖飼料や釣りの寄せ餌として利用されているが, 食材としての利用の可能性を探るため, 亜臨界水処理の温度が抽出物の特性に及ぼす影響を検討する.

【方法・結果】ツノナシオキアミ (半乾燥または湿潤サンプル) を生の材料基準で 30 g と同量の水を耐圧容器に入れ, 所定の温度 (100~240°C) まで昇温し, 達温後 10 分間保持して, 室温まで急冷した. 内容物をろ紙で濾過したのち, ろ紙上の残渣を 7.6 MPa で圧搾した. 得られた液体画分を抽出液, 圧搾後の固形分を抽出残渣とした. これらの抽出物の水分量, 脂質量, タンパク質の分子量分布, 色彩色差, 香りの嗜好性, 臭気強度および DPPH ラジカル消去能を測定した. 処理温度 140~160°C の間で, 抽出物の水分量, 脂質量およびタンパク質の分子量分布が大きく変化する傾向が見られた. また, 160~180°C の抽出液は香りの嗜好性が最も高かった.

【謝辞】本研究は科学技術振興機構の復興促進プログラム (産学共創) の一部として実施した.

F-6 竹粉の製パンへの応用とその冷凍耐性 ○森永賀亮¹, 唐川紀章², 森田 洋² (¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)

【目的】近年, 健康への関心の高まりから欧米を中心に食物繊維が見直され, 中でもファイバーブレッドが注目されている. 本研究室では, 竹粉 (モウソウチク稈粉末) の化学組成とその新規用途開発として食用化に着目し, 竹粉を非冷凍パン生地添加到した竹粉パンの研究を進めてきた. そこで, 本研究では竹粉を冷凍パン生地添加到したときの生地への影響を非冷凍パン生地と比較し, 検討を行った.

【方法・結果】竹粉は粒径が異なるものを 3 種類用意し, パン生地は非冷凍と冷凍の生地を調製した. 竹粉の生地への影響を調べるため, 両生地において添加量あるいは粒径の違いによる膨張力と発酵力の違いを比較した. 生地膨張力試験では非冷凍生地, 冷凍生地においてはどちらも竹粉 10% 添加まででは, 竹粉無添加と同じような膨張力を示し, 20% 以上添加で膨張力は著しく低下した. 粒径で比較すると, 粒径が小さいほど生地膨張力の低下が著しかった. 発酵力試験では, 冷凍生地は非冷凍生地に比べ発酵力の低下が認められた. 非冷凍生地では, いずれの粒度・添加量でも発酵力に差が見られなかったが, 冷凍生地では, 各粒度の添加量によっては無添加のものに比べ発酵力の増加が見られた.

F-7 *Aspergillus* 属菌と *Rhizopus* 属菌を用いた混合培養麹の酵素生産と醸造特性
○佐藤由可衣¹, 許斐 隼¹, 二宮純子¹, 森田 洋²
(¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)

【目的】日本以外の東アジアにおいて麹菌として用いられている *Rhizopus* 属菌は、糖化酵素であるグルコアミラーゼ(GA)を高生産するが、*Rhizopus* 属菌を用いた麹の多くは生の穀物粉を原料としており、*Rizopus* 属菌は蒸米には繁殖しにくい。そこで本研究では、*Aspergillus* 属菌と、*Rhizopus* 属菌を蒸米に混合培養することにより、両菌株の特性を引き出した麹を製造することを目的としている。また、混合培養麹を用いて清酒醸造を行い、その醸造特性を調査した。

【結果と考察】*Aspergillus* 属菌に HI-G を、*Rhizopus* 属菌に *Rhizopus oryzae* IFO4716 を選抜し、混合培養麹を作製することにより、糖化酵素の生産性が大幅に増強された。また、*Aspergillus* と *Rhizopus* の混合培養における酵素生産の制御はそれぞれの培養時期ではなく、初発胞子数比により可能であることが示唆され、最適混合培養比は *Aspergillus*(HI-G) : *Rhizopus*(*Rhizopus oryzae* IFO4716)=1:1 もしくは 10:1 であることが明らかとなった。

F-8 共培養系を用いた新規液体麹による酵素生産の増強
○許斐 隼¹, 佐藤由可衣¹, 二宮純子¹, 森田 洋²
(¹北九大院・国際環境工, ²北九大・国際環境工)

【目的】 麹菌は古来より安全な微生物として発酵食品製造に利用されており、その培養方法には固体培養（固体麹）と液体培養（液体麹）がある。特に清酒生産には糖質分解酵素生産が高い固体麹が用いられるが、麹菌の培養制御が困難であるために液体麹を利用した清酒醸造技術の開発が望まれる。しかし液体麹の酵素生産は低いため、清酒生産には酵素生産の増強が必要不可欠である。そこで本研究では麹菌の共培養系により、液体麹の糖質分解酵素生産の増強を目的として検討を行った。

【方法・結果】 *Rhizopus arrhizus* P20 と *Aspergillus oryzae*(HI-G)の胞子数を制御した胞子懸濁液を、改変 SLS 培地に同時接種した共培養を行った。このとき 30℃, 96 h, 200 rpm の培養条件にて、培地中の栄養源を様々に変化させ培養を行った。その結果、初発添加胞子比の制御、また窒素源に酢酸アンモニウム 1.29%, 炭素源にマルトース 3%添加することで、糖質分解酵素生産が大幅に増強した。以上のことから本液体麹を利用した醸造技術の開発の可能性が示唆された。

F-9 *Enterobacter aerogenes* による黒米アントシアニンの構造変化
○山本佳子, 三枝敬明, 寺本祐司（崇城大院・応微工）

【目的】植物色素であるアントシアニンを微生物酵素で構造修飾し、必要なアントシアニンを必要な時に短時間で入手する技術確立することを目的としている。本報では *Enterobacter aerogenes* による黒米アントシアニンの色質変化について検討した。

【方法・結果】黒米抽出液と有機酸（カフェ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、フェルラ酸、マロン酸)を含んだ PDA 培地を調製し、スクリーニングにより変色した培地を選抜した。微生物を分離後、同培地に接種し、変色した部分を 15%酢酸で抽出後に連続吸光度測定したところ、黒米アントシアニンのピークが 520 nm から 500 nm にシフトしていることが確認された。更に分離した微生物を同定したところ *Enterobacter aerogenes* であった。そこでピークが 500 nm にシフトした色素を HPLC により分離したところ、新たなピークが 4 つ確認された。また、4 つのピークを各々分取し、連続吸光度パターンを測定したところ、500 nm において極大吸収を示すものは 2 つであった。この 2 つの色素はいずれも黒米アントシアニンの基本骨格の 1 つであるである、シアニジンではなかった。

F-10 *Streptococcus mutans* のグルカンシュークララーゼ阻害物質の探索
○藪田行哲, 木村成沙, 金田淑未, 石原 亨, 渡辺文雄 (鳥取大・農)

【目的】*S.mutans* は虫歯の原因菌として知られ, 本菌が生成するグルカンに様々な微生物が定着・増殖した後, 酸を生産し, その結果歯を脱灰する。グルカンシュークララーゼ (GTF) はグルカン形成の鍵酵素であり, ショ糖を分解し生成したグルコースからグルカンを合成する。従って GTF 活性を阻害することで虫歯の予防に繋がるのではないかと考えた。そこで *S.mutans* リコンビナント GTF を作成し, 本酵素の阻害物質の探索を行った。

【方法・結果】大腸菌発現系を用い, 種々のドメインを欠失させた GTF の発現を行ったところ, グルカン結合ドメインを欠失させた GTF (GTF Δ NC) が最も多量に発現した。GTF Δ NC のグルカン合成活性は全長 GTF と比べて低下していたが, 高いショ糖分解活性が認められた。これまでにいくつかのポリフェノールが GTF を阻害することが報告されている。そこで GTF Δ NC を用い, 51 種類のポリフェノールの阻害活性を測定したところ, 34 種類に GTF 阻害活性が認められた。

F-11 にがり酒における機能性成分 S-アデノシルメチオニン及び葉酸の安定性について
○藤井 力¹, 森本朋子¹, 金井宗良¹, 濱田由紀雄², 山田 修¹
(¹酒総研, ²日本酒造組合中央会)

【目的】我々は清酒酵母が S-アデノシルメチオニン (SAM) や葉酸の蓄積能が高いこと, 清酒粕に著量の SAM や葉酸が含まれていることを示した。また, 清酒粕中の SAM は, 4℃保存では 3 ヶ月後に約 60%, 半年後でも約 50%保持されていたが, 清酒粕中の葉酸は 4℃保存で 1 ヶ月以内に約 20%にまで減少すること, 凍結乾燥により葉酸の安定性は著しく改善し 25℃保存でも 3 ヶ月後に約 70%保持されること, 等を示した。今回は, 清酒粕部分を清酒中に含むにがり酒を用いて, SAM と葉酸の安定性試験を行った。

【方法・結果】葉酸含量が高い桃色にがり酒を試料とし, 4℃で安定性試験を行い, にがり酒の固形部, 液部それぞれの SAM, 葉酸含量を測定した。SAM は, あるにがり酒では半年後に約 30%まで減少したが, 別のにがり酒では, 固形部から液部への SAM の移行が見られたものの, 半年後も約 90%保持されていた。SAM 安定性が高いにがり酒は pH が低く, 酸度が高かったが, 安定性向上への酸の寄与について検討中である。にがり酒中の葉酸は半年後でも約 60%が残存しており, 清酒粕に比べ安定性が高いことが分かった。

F-12 清酒の低分子オリゴペプチドの網羅的解析
○高橋 圭¹, 徳岡昌文^{1,2}, 河野弘美¹, 澤村宣子¹, 妙見夕佳¹
(¹酒総研, ²東農大)

【目的】醸造酒や発酵食品はジペプチドを中心に様々な低分子オリゴペプチドを含んでおり, 呈味や生理機能に影響を与えると考えられている。しかし, 醸造酒や発酵食品のジペプチドの網羅的解析法は未だ確立していない。そこで, ジペプチドの定性 (プロファイリング)・定量・構造推定方法を開発し, 醸造酒のジペプチドの情報を収集することを目的とした。

【方法】ジペプチド標準品および醸造酒中に含まれるアミノ基/イミノ基を持つ化合物を, 市販誘導体化試薬を用いて誘導体化した。誘導体化ジペプチドを 2 本の ODS 系カラムを用いた UHPLC により高度に分離した。ジペプチドのプロファイリングと定量は三連四重極質量分析計 (MS/MS) を用いて行なった。ジペプチドの構造推定には Q-TOFMS を用いた。清酒中から見出されたジペプチドについて米タンパク質との関連性を解析した。

【結果】ジペプチドの種類と量は, 清酒・ビール・赤ワインにおいて著しく異なっていることが分かり, 中でも清酒には多くの種類のジペプチドが存在していることが明らかとなった。

F-13 非生物素材に付着した大腸菌 O157 の生存性
○横井川久己男¹, 達 牧子² (¹徳島大院・SAS 研究部, ²神戸女短大)

【目的】腸管出血性大腸菌 O157 は、胃の酸性バリアーを容易に通過できる高い酸耐性を有し、数細胞でも経口感染すると報告されている。本菌が混入した食材は直接の感染源となるだけでなく、調理器具表面のわずかな汚染でさえ感染源となり、調理器具を介して食品の二次汚染を引き起こす可能性がある。食品工場のステンレス、プラスチック、ゴム等の表面に付着した本菌は、長期にわたり生存すると報告されている。しかし、調理器具素材と食品との接触は短時間であり、単細胞の状態で付着した菌の生存性に興味もたれるが、その挙動は未だ十分に解明されていない。本研究では非生物素材表面に付着した本菌の自然乾燥に伴う生存性を検討した。【方法・結果】各種非生物素材に本菌を付着させ、生存率を検討した。素材を自然乾燥させることは、付着菌の生細胞数を大きく低下させる有効な方法と考えられたが、素材の種類によって付着菌の生存性は異なった。ガラスに付着した細胞は、ステンレスの場合より自然乾燥に強いと思われた。しかし、牛脂や肉浸出液が共存する条件では、生細胞数の減少率が低下し、食品成分の共存は本菌の生存能を高めると思われた。

G-1 2タイプの野生型ショウジョウバエ・ニコチン性受容体 Dα1 サブユニットの構造と昆虫制御剤感受性の関係
○島津直弥, 伊原 誠, 松田一彦 (近畿大・農)

【目的】昆虫ニコチン性受容体 (nACh) の数種の α サブユニットはバリエーションをもつが, nAChR の昆虫制御剤感受性に対するこのことの影響の有無については知られていない。本研究では, データベースに登録されている 1 アミノ酸だけが異なる 2 つのショウジョウバエ Dα1 サブユニットに焦点を絞り, それらがつくる nAChR のネオニコチノイド系昆虫制御剤感受性を比較・検討したので報告する。

【方法・結果】2 つのタイプの Dα1 サブユニットをそれぞれヒヨコの β2 サブユニットとアフリカツメガエル卵母細胞に共発現させ, nAChR に対するアゴニストの結合により誘起される膜イオン電流を二電極膜電位固定法により測定した。2 種の Dα1β2 nAChR の間でアセチルコリンおよびネオニコチノイド系化合物のアゴニスト活性を比較したところ, アセチルコリンやネオニコチノイド系化合物クロチアニジンの活性については顕著な差が認められなかったのに対して, ネオニコチノイド系化合物イミダクロプリドの活性については, 受容体活性化効率 (efficacy) で有意な差が認められた。

G-2 カシ米尔コクヌストモドキのオクトパミン・チラミン受容体のクローニングと機能解析
○山田隆一郎¹, 鴛海央², 太田広人^{1,2}, 平島明法³, 森村 茂^{1,2}, 新留琢郎^{1,2}
(¹熊本大・工, ²熊本大院・自然科学, ³九大院・農)

【目的】貯穀害虫カシ米尔コクヌストモドキ (Tf) は, 高密度な生育条件だと成長を伴わない脱皮を繰り返すことで蛹化が遅延するという特徴を持つ。この制御機構に生体アミンのオクトパミン (OA) とチラミン (TA) が関与することを報告してきた。これらアミンの生理機能を詳しく理解するために, 今回受容体のクローニングと機能解析を行ったので報告する。

【方法・結果】近縁種コクヌストモドキのゲノム情報をもとにプライマーを設計し, Tf のゲノム DNA を鋳型にした PCR を行った結果, OA と TA の候補受容体 (TfOAR, TfTAR) をクローニングすることができた。それぞれの受容体を培養細胞に発現させ, cAMP 応答能を CRE-SEAP アッセイで評価した。その結果, TfOAR では, OA による濃度依存的な応答とアンタゴニストによる阻害が観察できた。一方, TfTAR では, TA による顕著な応答は観察されなかったが, リガンド非依存的な基礎値の上昇が見られた。

G-3 中間径フィラメント蛋白質フィレンシンの機能に及ぼすテイルドメインの長さの影響
○岩本悟史, 高田 京, 中村朱里, 松元俊彦, 安藤祥司 (崇城大・生物生命)

目の水晶体には, 中間径フィラメント蛋白質ファミリーに属する Filensin (フィレンシン 以下 Fil, 94 kDa) と Phakinin (ファキニン 以下 Phk, 49 kDa) が特異的に存在する。両蛋白質は, 水晶体細胞内に特徴的に観察されるビーズフィラメント (粒状構造が付着した細胞骨格) の構成成分であり, 水晶体の透明性維持に重要であると考えられている。一方, 白内障を遺伝的に発症するラットの解析から, Fil の C 末端側テイルドメイン (351 残基) の蛋白質分解酵素による欠失が, 白内障の発症と密接に関連することが指摘されている。本研究では, テイルドメインを C 末端から順次欠失させた Fil の組換え体 (Fil94, Fil50, Fil38) を調製し, Phk との相互作用を BIAcore を用いて解析した。その結果, テイルドメインの順次欠失は Fil-Phk のヘテロ二量体の形成には影響しないことが示された。次に試験管内でのフィラメント形成能を解析したところ, Fil94 と Fil50 は Phk と共重合してフィラメントを形成したが, 粒状構造は観察されなかった。一方, Fil38 はフィラメントを形成せず, 凝集体のみが観察された。

G-4 ヘアケラチンの多様性と中間径フィラメント形成特性

○荒川友貴¹, 本田裕子², 小池謙造³, 増子貞彦², 神原光作¹, 松元俊彦¹,
安藤祥司¹ (¹ 崇城大・生物生命, ² 佐賀大・医, ³ 花王 BC 研)

毛を形成するヘアケラチン(硬ケラチン)は中間径フィラメント蛋白質ファミリーに属し, 近年の遺伝子解析によってヒトで 17 種類が存在することが示されている。しかし 1 本の毛髪に多種類のヘアケラチンが存在する意義や, 個々の蛋白質の具体的な機能については不明な点が多い。我々はこれまでに, ヒトヘアケラチンの type I (hK35, 36, 38) 及び type II (hK81, 85) をコードする遺伝子を人工合成し, 大腸菌の発現系を用いて蛋白質を調製した。今回, type I-II 間のヘテロ複合体の形成状況を二次元電気泳動で解析した。その結果, 蛋白質の組合せの種類によって相互作用の安定性に差が見られた。次に, 試験管内での中間径フィラメントの形成について, 電顕を用いて解析した。9.5 M 尿素存在下で type I と type II を等モルで混合後, 透析により尿素濃度を段階的に 0 M に下げ, 中性 pH, 160~180 mM NaCl の条件に調整することでフィラメント構造を形成した。しかし, 用いる type I と II の蛋白質の種類によって, フィラメントの形態に差が観察されたので報告する。

G-5 Tyrを含む化合物の細胞毒性について

平 順一¹, 関 清彦², 光富 勝², 宗 伸明², ○上田敏久²
(¹ 久留米大・医, ² 佐賀大・農)

【目的】筆者らは, Bzl(benzyl)基で保護された側鎖をもつチロシン, Tyr(Bzl), のアルキルエステルや Tyr(Bzl)を含むトリペプチドエステルなど Tyr を含む種々の化合物の *Valsa ceratosperma* Maire (リンゴ腐爛病菌) に対する抗真菌活性から, アルキルエステルの炭素数や構造, またトリペプチドを構成するアミノ酸配列などの要素が抗真菌活性に及ぼす影響を明らかにしてきた。今回, これらの化合物の腫瘍細胞に対する毒性を測定し, 新たな機能の可能性を探った。

【方法・結果】Tyr を含む化合物は, これまでに合成したものに加え, さらに数種類を合成した。細胞毒性試験にはヒト前立腺ガン細胞株を用いた。現在のところ, Tyr(Bzl)エステルと Tyr(Bzl)含有トリペプチドエステル各 1 種類ずつが, シスプラチンと同程度の濃度で, この細胞に対して毒性を示す, という結果を得ている。今後, 化合物の構造-抗真菌活性-細胞毒性の相間, 細胞毒性の特徴などについて明らかにしていく予定である。

G-6 レチノイン酸によって抗体産生能が増強するヒトハイブリドーマ

○峠 美穂¹, 井上愛子², 井上祐一¹, 川原浩治¹
(¹ 北九州高専・物質化学, ² (株) キューリン・検査部)

【目的】全トランス型レチノイン酸 (ATRA) はヒトハイブリドーマの抗体産生能を増強するが, 必ずしもすべてのハイブリドーマの抗体産生能を増強する訳ではなかった。そこで本研究では, ATRA によって抗体産生能が増強するハイブリドーマの特徴について調べることを目的とした。

【方法・結果】ATRA によって抗体産生能が増強するハイブリドーマは, すべて A4H12 を融合パートナーとするものであった。また, それらのハイブリドーマは培養中に細胞凝集を形成する特性を有していた。凝集サイズと抗体産生増強との関係を調べた結果, 凝集サイズが小さい方が ATRA による抗体産生増強割合は高かった。従って, ATRA による抗体産生増強には, ハイブリドーマの融合パートナーや細胞凝集性が関与していると考えられた。本研究は, ATRA による抗体産生増強機構の解明や完全ヒト抗体の汎用的・効率的生産に役立つ。

G-7 上皮細胞との接触による樹状細胞への制御性誘導
○竹内杏理¹, 寺井織枝¹, 榎田哲哉¹, 馬渡隆志², 谷 史人¹
(¹京大院・農, ²グリコ乳業)

【目的】宿主にとって本来無害である食物や腸内細菌由来の抗原に対する特異的な免疫不応答の状態が消化管には備わっており、経口免疫寛容と呼ばれている。この寛容機構の中心的存在の一つに粘膜組織内の樹状細胞(DCs)が挙げられる。近年、この DCs の機能が接触する腸管上皮細胞(IECs)により調節されることが指摘されているが、両者の相互作用については十分に明らかにされていない。本研究では、DCs に制御性を賦与する腸内環境のあり方を解明することを目的に、DCs-IECs の相互作用を調べる。

【方法・結果】DCs-IECs の相互作用を調べるためにトランスウェルを用いた共培養系を構築した。インサート膜の下面には株化されたマウス IECs の CMT-93 を付着させ、インサート内部にはマウス骨髄より調製した樹状細胞(BMDCs)を入れて培養した。接触が BMDCs の分化に及ぼす影響を検討した結果、CMT-93 との接触により BMDCs 表面での CD103 発現が増加した。また、IECs 側へレチノイン酸を添加することによって BMDCs 表面での CD103 発現がさらに増加した。

G-8 CDK ファミリーPCTK3 は cyclin A および PKA によって活性化する
○松田真弥, 小湊恭平, 宮本賢治, 辻 明彦, 湯浅恵造(徳島大院・STS)

【目的】PCTAIRE kinase 3 (PCTK3)は cyclin dependent kinase (CDK)ファミリーに属する Ser/Thr キナーゼであり、脳や精巣で高度に発現していることから、終末分化した神経細胞で機能する特異な CDK であると考えられている。しかしながら、その活性調節因子が同定されていないことから、活性調節機構は明らかにされておらず、何年もの間 PCTK3 に関する研究は進められていない。そこで本研究は、PCTK3 の活性調節機構を明らかにすることを目的とし、活性化因子の探索を試みた。

【方法・結果】プルダウン実験および各種抗 cyclin 抗体を用いたウェスタンブロットにより PCTK3 の結合因子として cyclin A を同定した。さらに、retinoblastoma protein (Rb)を用いた *in vitro* kinase assay により、PCTK3 は cyclin A によって活性化することが明らかとなった。また、PCTK3 のアミノ酸配列中には protein kinase A (PKA)によるリン酸化コンセンサスモチーフが 4 か所存在し、そのうち 3 か所が PKA によってリン酸化されることを確認した。加えて、PKA によるリン酸化部位の一つである 12 番目の Ser を Asp に置換した擬似リン酸化変異体では、活性が約 2 倍上昇することが明らかとなった。

G-9 小胞体で機能するペルオキシレドキシン 4a の局在変化
○多田久志¹, 内海俊彦², 藤井順逸³, 井内良仁¹
(¹山口大・農, ²山口大院・医, ³山形大院・医)

【目的】チオレドキシン依存的に H₂O₂ を還元無毒化する抗酸化酵素ペルオキシレドキシン(Prx)のうち Prx4 は、分泌シグナル配列を有する体細胞型 Prx4a と精巣細胞型 Prx4b が選択的スプライシングによってひとつの遺伝子から生じる。Prx4a については、生合成されたほとんどの分子は小胞体に局在することが報告されており、小胞体内でタンパク質の折りたたみの際に生じる過酸化水素を代謝することで小胞体ストレスから保護する効果が指摘されている。本研究では、Prx4a-GFP 融合遺伝子を用いて細胞内の局在を観察することを目的としている。

【方法・結果】H₂O₂ や DTT 処理で小胞体ストレスを与えると、無処理時では核周辺で検出された Prx4a が核周辺では検出されずに細胞膜側に変化しているのが確認された。小胞体マーカーを使用して Prx4a の局在と一致するか確認したが一致は見られなかったことから、Prx4a は小胞体ストレス緩和に働いた後その役割を終え、細胞内で移動することが示唆された。

G-10 精巣特異的ペルオキシレドキシン 4b の機能解析
○松本勝太郎¹, 多田久志¹, 藤井順逸², 井内良仁¹
(¹山口大・農, ²山形大院・医)

【目的】ペルオキシレドキシン(Prx)はチオレドキシン依存的に H₂O₂ を還元無毒化する抗酸化酵素として見出され、哺乳類では 6 種類遺伝子が存在する。中でも Prx4 は体細胞型 Prx4a と精巣細胞型 Prx4b が選択的スプライシングによって一つの遺伝子から生じるといった他の Prx 分子種に無い性質がある。Prx4b は、性成熟に伴って精子形成細胞で発現が誘導される。Prx4a 遺伝子ノックアウト(Prx4a KO)マウスでは、Prx4b の発現も野生型に比べて低下しており、細胞死の増加による精巣の委縮と性成熟の遅延が確認されている。本研究では精子形成細胞の細胞質に局在する Prx4b の機能を解析することを目的とする。

【方法・結果】HEK293T 細胞に Prx4b-GFP 融合遺伝子を導入し、細胞質で発現していることを確認した。次に、Prx4b を遺伝子導入した HEK293T 細胞に UV や H₂O₂ 処理により酸化ストレスを与え、Prx4b を高発現している細胞が Prx4b を高発現していない細胞に比べ、酸化ストレス耐性が向上していることが示された。これは Prx4b が細胞質で酸化ストレスからの保護に働いていることを示唆する。

G-11 ポリ-γ-グルタミン酸の超分子（複合）材料化と新機能開発
○尾池翔太¹, 妹尾香苗², 若松泰介^{1,2}, 芦内 誠^{1,2}
(¹高知大院・農, ²高知大・農)

【目的】ポリ-γ-グルタミン酸 (PGA) は化成ナイロン様の主鎖骨格を持つ上、全体構造としてはポリアクリル酸に類似する。そのため、産業用バイオポリマーとしての応用に大きな期待が寄せられている。今回、PGA の画期的な超分子プラスチック化技術を確認するとともに、興味深い有用機能や新用途を見いだしたので報告する。【方法・結果】PGA 改質技術の望むべき姿を模索する中で「超分子」理論に関心を持った。すなわち、日用品等に含まれる安全性の高い既知成分と PGA の間で強固だが可逆的な（非共有）結合を形成させ、まずは安定なプラスチック部材として用いる。使用後は解離を促す環境下に置き、そのリサイクル性や環境適性を担保するというものである。実際、歯磨き粉成分 HDP⁺を使い、超分子新素材“PGAIC”の創製に成功した¹⁾。PGAIC は化学耐久性を示す熱可塑性材料である一方、食中毒細菌や感染性真菌類、インフルエンザウィルス等に顕著な増殖抑制効果を示した。以後、医用／衛生目的材料としての用途化が進んでいる。超分子プラスチック類の新たな応用性についても考察する。

¹⁾ Ashiuchi et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces* **5**, 1619–1624 (2013).

G-12 ユビキノンプローブの合成とユビキノ結合性タンパク質 Coq10 の解析
○村井正俊¹, 松延広平¹, 工藤佐和子¹, 川向 誠², 三芳秀人¹
(¹京大院・農, ²島根大・生物資源)

【背景・目的】ユビキノンに代表されるキノン類は、バクテリアから高等生物に至るまで幅広く分布する生理活性分子であり、その主な役割は呼吸鎖電子伝達系における基質（電子伝達担体）としてはたらくことである。出芽酵母や分裂酵母を用いた近年の研究で、Coq10 と呼ばれるキノンの生理的役割に関与する新規なタンパク質の存在が明らかになった。我々は、合成ユビキノンプローブを用いた光親和性標識実験を切り口に、ミトコンドリア電子伝達における Coq10 の役割を明らかにすることを目的とした。

【結果】ユビキノンのベンゾキノン骨格と分子末端にそれぞれ、アジド基とアルキンを導入したユビキノンプローブ分子を合成した。本化合物は光親和性標識実験後に、クリックケミストリー（[3+2]-環化付加反応）を利用してビオチンなどの任意の検出タグを導入することができる。分裂酵母由来の Coq10 に対して標識実験を実施し、各種生化学解析を進めた結果、本プロブ分子は Coq10 を特異的に結合、標識することが分かった。

G-13 ユズ果皮中の ERK リン酸化促進物質の同定（徳島県産柑橘の機能性成分の探索その1）
中村光裕¹，○鈴木智子¹，田村啓敏²，増田俊哉¹
（¹徳島大院・総合，²香川大・農）

【目的】ERK (extracellular signal-regulated kinase) は，セリン／スレオニンキナーゼの一つであり，全身の細胞に広く存在し，様々な細胞の機能発現に関与している。ERK を活性化すると，転写因子 CREB を活性化し，記憶障害改善作用を持つことが示唆されている。本研究では徳島県でも多く栽培されているユズに着目し，ユズの果皮から ERK リン酸化促進物質の精製と同定を行う。

【方法・結果】ヒトグリオーマ A172 細胞株にユズ果皮を 30 分作用させた。ERK リン酸化は，リン酸化 ERK 特異的抗体を用いたウエスタンブロット法により評価した。ユズ果皮をメタノール抽出し，メタノール留去後，ヘキサン，酢酸エチル，ブタノール，水で分配した。活性の認められたヘキサン層をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより 10 フラクションに分画した。その中で活性の認められたフラクションの主成分 5 種類を精製・単離した。これら活性については現在検討中である。

G-14 抗かび活性を有する 6-置換-5,6-ジヒドロ- α -ピロン化合物の全立体異性体の合成研究
○渡部加奈，西脇 寿，山内 聡（愛媛大・農）

これまでに，6 位に 4-acetoxy-2-hydroxy-8-phenyloctyl 基を有する 5,6-ジヒドロ- α -ピロン化合物の全立体異性体の合成を行い，すべての立体異性体が植物病原性かびである *Alternaria alternata* および *Colletotrichum lagenarium* に対して 0.5 mM で 40-70% の生長阻害活性を有する事を示し立体構造が抗かび活性に影響を与えない事が分かった。本研究では，さらに構造が活性に与える影響を調べるために，6 位に 2-acetoxy-4-hydroxy-8-phenyloctyl 基を有する 5,6-ジヒドロ- α -ピロン化合物の全立体異性体の合成を行う事を目的とした。ラセミ体の methyl 2-oxocyclopent-1-ylacetate の酵母還元により得られる methyl (1R,2S)-2-hydroxycyclopent-1-ylacetate を出発化合物として allyl Grignard 試薬との反応，エポキシドと有機銅試薬との反応，Baeyer-Villiger 酸化，二重結合の導入を鍵反応として 6-置換-5,6-ジヒドロ- α -ピロン化合物へ導いた。最後に，側鎖の 4 位水酸基の保護基であるベンジル基を DDQ を用いて除去しようとしたが，2 位のアセチル基の転移のため目的物は低収率で得られた。

G-15 Ficifolidione とその類縁体の合成とガン細胞に対する毒性評価
○藤原敏美，西脇 寿，岩本洋幸，福岡伸洋，菅原卓也，西 甲介，
山内 聡，首藤義博（愛媛大・農）

【目的】Ficifolidione はユーカリから単離された天然化合物で，蚊に対する殺虫活性が報告されている。その構造から細胞毒性を示す可能性があるかと推測されるが，未だ評価されていない。そこで，本研究では ficifolidione 類縁体を合成し，マウスの大腸ガン細胞 Colon26 に対する毒性を評価することで，立体構造が生理活性におよぼす影響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，3 段階を経て syncarpic acid を合成した後，(-)- β -pinene と isovaleraldehyde を縮合させ，ficifolidione とその 4-epimer 体を得た。さらに，butylaldehyde を用いて 4-propyl-ficifolidione 類縁体とその 4-epimer 体を合成した。そして，合成した化合物の Colon26 に対する細胞毒性を WST-8 試験により評価し，50%細胞増殖阻害濃度 IC₅₀ を求めた。その結果，ficifolidione とその類縁体の IC₅₀ 値はいずれも約 10 μ M であり，各化合物の活性に大きな差は認められなかった。このことから，4 位の立体構造は細胞毒性に影響しないことが示唆された。

G-16 エーテルおよびチオエーテルを有するイミダクロプリド類縁体の生物活性
○長岡ひかる, 西脇 寿, 久保卓也, 山内 聡, 首藤義博 (愛媛大・農)

【目的】神経作用性殺虫剤イミダクロプリド (IMI) は、ニコチン性アセチルコリン受容体にアゴニストとして作用する。これまでに、IMI のイミダゾリジン環 5 位周辺のリガンド結合領域に置換基が入り込める空間が存在することを確認している。本研究では、この空間を構成するアミノ酸残基がリガンドのどのような構造と相互作用しうるのであるのか明らかにすることを目的として、イミダゾリジン環 5 位上の置換基としてエーテルまたはチオエーテル構造を有する IMI 類縁体を合成し、生物活性を評価した。

【方法・結果】Methionine, cysteine ならびに serine を出発原料として、目的とする化合物を合成した。そして、共力剤処理したイエバエ (*Musca domestica*) の雌成虫に各化合物を注射投与し、1 時間後の 50% 効果薬量 ED₅₀ (pmol/fly) を求めて殺虫活性の指標とした。さらに、[³H]IMI を用いた競合的結合阻害実験により受容体親和性を評価した。エーテルまたはチオエーテル構造を有する類縁体の生物活性を同じ長さの炭素骨格を持つ *n*-propyl もしくは *n*-butyl 類縁体のものと比較したところ、5 位上のアルキル置換基の炭素原子を酸素原子や硫黄原子へ変換することは活性に不利な影響をおよぼすことが示唆された。

G-17 オカボノアカアブラムシの寄生によるイネ根の褐変機構
○上田真二¹, 手林慎一¹, 佐野千聡¹, 及川 彰², 佐々木亮介³, 斎藤和季³,
上手麻希⁴, 間世田英明⁴, 石原 亨⁵
(¹高知大・農, ²山形大・農, ³理研 PSC, ⁴徳島大・工, ⁵鳥取大・農)

【目的】オカボノアカアブラムシはイネ科作物や園芸作物の根に寄生する害虫として知られている。本研究では本種がイネ根に寄生した際に生じるイネ根の褐変と抵抗性について検討した。

【方法・結果】播種 4 日後のイネの芽出しにオカボノアカアブラムシを接種し、イネ根の褐変とアブラムシの寄生状況を観察した。またこの時のイネ根を採取しメタボローム解析・遺伝子発現解析・酵素活性測定に供した。その結果、イネ根の褐変はアブラムシの寄生によって生じるものの、褐変程度の高い部分にはアブラムシは寄生しないことから、褐変はアブラムシに対するイネの防御反応の一部と考えられた。また寄生部ではトリプトファンが減少する一方でトリプタミンおよびセロトニンの増加が確認され、特にセロトニンは 9.3 倍に増加した。このセロトニンを基質としたペルオキシダーゼ活性は褐変の進行とともに上昇することから、イネ根の褐変にはセロトニンが関与することが示唆された。

G-18 植物病原菌 *Bipolaris coicis* の生産する植物毒素 radicinin の生合成
○西田直人¹, 赤木靖典², 児玉基一郎², 石原 亨², 中島廣光²
(¹鳥取大院・農, ²鳥取大・農)

【目的】植物毒素 radicinin は植物病原菌 *Bipolaris coicis* の生産するポリケチド化合物であり、ハトムギに葉枯病を引き起こす原因物質である。異なる 2 つのポリケチド鎖から radicinin が生合成されるというユニークな生合成機構が提唱されているが、直接的な証明はされていない。その生合成機構を証明することを目的に、本研究では radicinin 生合成に関わる PKS 遺伝子を明らかにすることを目指した。

【方法・結果】*B.coicis* のゲノムを次世代シーケンサーで解析した結果、14 の PKS 遺伝子を持つことが明らかとなった。これらの PKS 遺伝子に存在するケトシンターゼ (KS) ドメインを相同組換えにて破壊し、14 の PKS 遺伝子それぞれの破壊株を得た。破壊株における radicinin の生産量を LC-MS で定量し、その生産量から生合成に関わる PKS 遺伝子を推定した。その結果、*BcPKS3*, *BcPKS8* の遺伝子破壊株で radicinin の生産が認められなかったことから、この 2 つの PKS 遺伝子が radicinin 生合成に関与することが示唆された。

G-19 Synthesis of 6-O-decanoyl-D-altrose and its biological activity on plant growth
OMd. Tazul Islam Chowdhury, Ryo C. Yanagita and Yasuhiro Kawanami
(Fac. Agri., Kagawa Univ.)

We have previously reported the regioselective synthesis of 6-O-acyl-D-allose (C-3 epimer of D-glucose) and its growth inhibitory activity on plants. In this study, we investigated the synthetic procedure of 6-O-decanoyl-D-altrose (C-2 epimer of D-allose) and evaluated its activity on plant growth in order to examine the structure-activity relationship of rare sugar esters. 6-O-Decanoyl-D-altrose was synthesized from D-altrose via lipase-catalyzed transesterification using vinyl decanoate. Acetone was found to be optimal organic solvent, giving the highest yield (60%) at room temperature for 48 h. Then we performed the bioassay of 6-O-decanoyl-D-altrose on lettuce (*Lactuca sativa*), cress (*Lepidium sativum*), Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) and rice (*Oryza sativa* L. cv. Nipponbare) seedlings. This compound showed similar inhibitory effect on cress, Italian ryegrass and rice seedlings to that of the corresponding D-allose ester and lower inhibitory effect on lettuce. These results suggest the importance of the α -axial hydroxy group at C-3 of D-altrose and D-allose for the activity.

G-20 Apteniol 類の構造及び生物活性に関する研究
○西川 耀¹, 野下俊朗¹, 田井章博¹, 大内秀一², 岡本泰輔³, 齊藤安貴子³
(¹ 県立広島大・生命環境, ² 近畿大・薬, ³ 大阪電通大・工)

【目的】 *Aptenia cordifolia* (ベビーサンローズ) は南アフリカ原産の多肉植物であり、本植物から単離された apteniol 類はジアリールエーテル型オキシネオリグナンである。Apteniol 類はこれまでに A-G までの 7 種類が単離構造決定されており、いずれも植物種子発芽抑制活性を持っていることが報告されている。ジアリールエーテル構造を有する化合物には抗腫瘍、抗炎症、抗菌などの生物活性を持つものが多く報告されている。そこで、apteniol 類の新規有用性の探索を目的として、これらの合成を行った。

2012 年、我々は apteniol A, B, C, F, G として報告されている化合物の合成を完了した。しかし、それらはいずれも天然物の NMR データとは一致しなかった。そこで、apteniol 類の真の構造を明らかにすることを目的として、報告されている apteniol 類の異性体の合成を行うことにした。

【方法・結果】 今回我々は報告されている apteniol B 及び C の合成ならびにその構造異性体である 10 種のジカルボン酸・ジエステルを合成した。合成した異性体について報告されている天然物の各種データの比較を行った。同時に、得られた化合物について脱顆粒抑制作用及び神経突起伸長作用を評価した。

G-21 側鎖切断型 20 位ヒドロキシビタミン D の合成研究
○末長 努, 山菅真基, 大西翔太, 川幡正俊, 山口健太郎, 藤島利江
(徳島文理大・香川薬)

【目的】 近年、ステロイドホルモン生合成の鍵酵素である CYP11A1 がビタミン D₃ (1) を基質とし、側鎖切断することなく 20 位ヒドロキシビタミン D₃ (2) を生成することが示された。新たに代謝物候補となった 20 位ヒドロキシビタミン D₃ (2) は、セコステロイドホルモンとして知られる 1 α ,25-ジヒドロキシビタミン D₃ (3) の持つ 1 α 位、および 25 位ヒドロキシ基を欠くにも関わらず、高い生物活性を有することが知られる。そこで、ビタミン D 骨格に対する 20 位ヒドロキシ基導入の有利な効果を精査するため、様々な炭素数の側鎖を持つ新規 20 位ヒドロキシビタミン D 誘導体を設計・合成した。

【方法・結果】 新規誘導体の合成には収束的方法を採用した。ビタミン D₂ より導いた 20 位ケトン体と Grignard 試薬との反応にて、様々な側鎖部を有する CD 環部の合成が完了した。構造修飾を有する A 環部前駆体と palladium 触媒にてカップリングすることにより、20 位ヒドロキシビタミン D のライブラリーを構築することができた。詳細な合成法、および構造解析について発表する。

G-22 矮性エンドウから単離された成長抑制物質 DHMD とその配糖体の合成
○高月香澄, 篠塚早紀, 吉良 梓, 松本唯希, 中島修平, 泉 実
(岡山大院・環境生命)

【目的】Dihydromaleimide (DHMD) 及びその配糖体は矮性エンドウから単離された成長抑制物質であるが, 植物生体内での生理的役割は明らかになっておらず, その機能解明のために合成が望まれている。DHMD の合成法として, マレイミドを水素化ジイソブチルアルミニウム (DIBAL) または水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4) などを用いて還元する経路が報告されているが, どちらの還元剤を用いた場合にも 1,2-および 1,4-還元が起き, 生成物が混在するという位置選択性の問題がある。本研究では, より扱いやすい還元剤である NaBH_4 を用い, 種々の金属塩化物を加えた場合の位置選択性について検討した。

【方法・結果】種々の金属塩化物存在下で NaBH_4 を用いてマレイミドの還元を行い, その位置選択性を検討した。マレイミドが 1,2-還元されると目的化合物である DHMD が生成し, 1,4-還元されるとスクシンイミドが生成する。反応時間 1 時間において, 金属塩化物の種類により DHMD の収率に差が見られた。現在は, マレイミドの還元により得た DHMD を用いてその配糖体合成について検討している。

G-23 植物金属輸送体ニコチアナミンの前駆体であるトリペプチドの効率的な合成法
○城戸裕喜, 城戸健史, 平田智大, 中島修平, 泉 実 (岡山大院・環境生命)

【背景・目的】ニコチアナミンは, *Nicotiana tabacum* L. の葉から単離された広く高等植物に存在する低分子化合物であり, 鉄などの金属イオンを植物体内に取り込むキレーターとしての働きや動物における血圧降下作用をなど有する。これまで天然物からの抽出・精製法, 有機合成法が報告されているが, 依然として容易な大量合成法の確立はされていない。本研究ではニコチアナミンの安価な大量合成法の確立を目的とする。【方法・結果】選択的に保護・脱保護した二分子の L-アスパラギン酸を縮合させてジペプチドを得た。コバルトオクタカルボニルを用いてプロパルギルエステルを選択的に脱保護した後, 保護したアゼチジン-2-カルボン酸を縮合させることによってトリペプチドを合成した。しかしながら, コバルトオクタカルボニルは自然発火の危険があるため大量合成には向かないことが分かった。そこで, 保護したアゼチジン-2-カルボン酸と分離が困難な L-アスパラギン酸の α - , β -エステル混合体とを用いてジペプチドを合成したところ, 生成物はシリカゲルカラムで分離できた。同様にジペプチドと L-アスパラギン酸の α - , β -エステル混合体を縮合させ, トリペプチドに導いた。現在生成中である。

G-24 オリーブアナアキゾウムシ由来揮発性物質の SPME-GCMS による分析
○藤久保亮, 泉 実, 中島修平 (岡山大院・環境生命)

【目的】オリーブアナアキゾウムシはオリーブに高い密度で寄生し, オリーブを栽培する際このゾウムシによる被害が最も大きな障害となる。対応策として殺虫剤散布があるが, 幼虫はオリーブの樹皮下へ潜行食害するため, 定期的に散布を行わなければ駆除が困難である。更に, 環境保全の観点からも殺虫剤に代わる防除方法の開発が望まれている。その方法の一つとして, 行動制御物質によるオリーブアナアキゾウムシの防除が有効であると考えられる。本研究はこの様な行動制御物質の探索のために, 本ゾウムシ由来の揮発成分を詳しく分析することを目的とした。

【方法・結果】オリーブアナアキゾウムシの雌雄それぞれから揮発している物質, 及びゾウムシが排泄したフラスの揮発性物質を SPME ファイバー 2 種 (PDMS, DVB/CAR/PDMS) により抽出し GCMS で分析した。ゾウムシについては単独または複数 (10 頭) からサンプルを得た。分析の結果, 雌雄に共通する物質と異なる物質が確認できた。

G-25 ガラクトフラノシド誘導体の合成と酵素加水分解
○篠塚早紀¹, 松本唯希¹, 中村健太郎¹, 八色奈央², 松永恵美子²,
竹川 薫², 中島修平¹, 泉 実¹ (¹岡山大院・環境生命, ²九大院・農)

【目的】ガラクトフラノースは、真菌類や結核菌類など病原菌の細胞表面糖鎖に含まれていることが知られている。強力な免疫原性を持つため、病原菌の選択的排除において重要だと考えられているが、その役割などについて詳細な報告はされていない。糖鎖の機能解明には、糖に *p*-ニトロフェノール (*p*NP) がグリコシド結合した *p*NP 糖が用いられるが、ガラクトフラノースにおいては、その合成法が確立されていると言えない。そこで本研究では、*p*NP-ガラクトフラノシドなどのガラクトフラノシド誘導体の合成を目的とした。

【方法・結果】窒素雰囲気下、ピリジン中で加熱を行い、ガラクトースの異性化を行った後、無水酢酸などを用いて水酸基のアセチル化を行った。ついで $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用いて *p*NP のグリコシド化を行った。NMR などの機器測定や酵素加水分解による構造確認を行ったところ、*p*NP-ガラクトフラノシドの生成が確認された。また同様に、4-MU 糖などの合成においても有効であることを確認した。

H-1 酸性 Peptide:N-glycanase (PNGase) 過剰発現トマトの構築
○村田翔平¹, 前田 恵¹, 中村浩介², 中野龍平¹, 木村吉伸¹
(¹岡山大院・環境生命, ²カゴメ総研)

【目的】植物特異的な酸性 Peptide:N-glycanase (aPNGase) は、糖タンパク質から N-グリカン遊離させる脱グリコシル化酵素の一つであり、機能を失った糖タンパク質の代謝分解に関与していると考えられている。しかしながら、組織分布、基質分子の同定、aPNGase によって生成する遊離 N-グリカンの植物生理に係わる機能等については不明な点が多い。本研究では、植物成長に関わる糖タンパク質糖鎖の代謝機構や遊離 N-グリカンの生理機能を明らかにするため、aPNGase を過剰発現させたトマトを構築し、その遊離糖鎖構造や分化・成長に与える影響を調べた。【方法・結果】当研究室にて遺伝子を同定しているトマト aPNGase-Le¹について、アグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*) を用いてトマト 'Micro-Tom' に形質転換し、CaMV 35S プロモーターのもとで過剰発現させた。Real-time PCR の結果から、組換え体の aPNGase 発現量は数倍~数十倍に増加しており、aPNGase 過剰発現トマトの構築に成功したことが確認された。1) Hossain, A., *et al.*, *J. Biochem.*, **147**, 157-165 (2010)

H-2 植物複合型糖鎖の代謝に関与する β -ガラクトシダーゼ (β -Gal'ase) の精製と酵素学的性質
○Ziaur Rahman, 秋山 剛, 前田 恵, 木村吉伸 (岡山大院・環境生命)

Many secreted-type plant glycoproteins often carry complex type N-glycans containing the Lewis a epitope (1), but the physiological significance of the plant specific N-glycans remains to be elucidated. As a part of study to elucidate the physiological function of Lewis a epitope in plants, in this study, we purified and characterized β -galactosidase (β -Gal'ase) involved in the release of β -Gal residue(s) from the plant complex type N-glycans.

We purified two β -Gal'ases (β -Gal Gb1 and Gb2) to homogeneity from the seeds of *Ginkgo biloba*. While β -Gal Gb1 was active for both PA-sugar chains and pNP- β -Gal, β -Gal Gb2 was active only for pNP- β -Gal, indicating that β -Gal Gb1 may be involved in the degradation of Lewis a epitope. Purified β -Gal Gb1 gave a single band with molecular masses of 24 kDa on SDS-PAGE and 48 kDa on gel filtration, indicating that β -Gal Gb-1 has a homo-dimeric structure. β -Gal Gb-1 showed optimum activity at about pH 5 (PA-sugar chains), suggesting putative localization in the vacuole. (1) Maeda, M., *et al.*, *J. Biochem.*, **148**, 681-692 (2010)

H-3 金属イオン添加によるセイヨウワサビペルオキシダーゼの過酸化水素非要求性スーパーオキシド生成反応の誘導
○木村 誠¹, 梅本洋介², 河野智謙¹
(¹北九大院・環境生命, ²北九大・環境生命)

【目的】セイヨウワサビペルオキシダーゼ (HRP) は活性酸素種 (ROS) の一種である過酸化水素 (H_2O_2) を除去する酵素として知られるが、条件によって ROS を生成する触媒としても知られる。反応経路には H_2O_2 要求性回路 (ペルオキシダーゼサイクル) と分子酸素 (O_2) 要求性回路 (オキシゲナーゼサイクル) があり、後者は電子供与体の存在下にてスーパーオキシド (O_2^-) の生成を伴う反応である。本研究では O_2 要求性回路での O_2^- 生成反応をより効果的に誘導する、新規の電子供与体として様々な金属イオンの効果を検証した。

【方法・結果】HRP に様々な遷移金属イオンを電子供与体やリガンドとして添加し、 O_2^- に特異的な化学発光プローブ (ウミホタル由来ルシフェリンアナログ; CLA) を用いて O_2^- 生成反応を確認した結果、二価鉄が新規の電子供与体として最も高い効果を示した。

- H-4 オオイタビ (*Ficus Pumila*) 乳液由来プロテアーゼの構造解析
○黒木隆生¹, 岩下和樹², 瀬戸上徹², 上條陽平², 外川内亜美²,
伊東祐二², 有馬一成² (¹鹿児島大・理, ²鹿児島大院・理工)

【目的】

クワ科イチジク属であるオオイタビ (*Ficus Pumila*) 乳液中に含まれるプロテアーゼの一次構造について、遺伝子クローニングの手法を用いて塩基配列から決定した。

【操作・結果】

オオイタビの未成熟果実外皮からフェノール-クロロホルムを用いてゲノム DNA を抽出した。また同組織から Total RNA を CTAB 法により抽出し、Gubler-Hoffman 法を用いて cDNA を合成した。ゲノム DNA および cDNA をそれぞれ鋳型として制限酵素サイトを含む予想される特異的オリゴ DNA プライマーで PCR をし、増幅産物をクローニングして配列解析を行った。また、得られた塩基配列をもとにプロテアーゼの一次構造を推定したところ、パパイヤ乳液由来システインプロテアーゼであるカリカインと高い相同性があることが判明した。

- H-5 アコウ (*Ficus superb var. japonica*) 乳液由来プロテアーゼの精製と性質
○小倉梨那¹, 高山亜衣¹, 外川内亜美², 上條陽平², 伊東祐二², 有馬一成²
(¹鹿児島大・理, ²鹿児島大院・理工)

【目的】

クワ科イチジク属であるアコウ (*Ficus superb var. japonica*) が分泌する乳液中に含まれるプロテアーゼを精製し性質を調べた。

【方法と結果】

アコウの枝や果実から浸漬する乳液を、20 mM リン酸緩衝液 (pH7.0) で抽出して回収した。これを DEAE-cellulose 陰イオン交換クロマトグラフィーにかけ活性画分を得た。部分精製したプロテアーゼの分子量は、SDS-PAGE で約 48 kDa と推定された。本酵素の合成基質に対する活性は、Suc-Ala-Pro-Ala-pNA を最もよく分解した。阻害剤の影響は、DFP や PMSF で効果的に阻害されたことから、本酵素はセリンプロテアーゼであると考えられた。また、本酵素の最適温度は 35-55°C、最適 pH は 10 付近であった。温度安定性は 65°C 付近まで安定であり、アルカリ性領域で安定であった。

- H-6 イヌビワ (*Ficus erecta* Thunb.) 由来セリンプロテアーゼの構造解析
○中村信孝², 赤瀬優也¹, 外川内亜美², 上條陽平², 伊東祐二², 有馬一成²
(¹鹿児島大・理, ²鹿児島大院・理工)

【目的】

クワ科イチジク属であるイヌビワ (*Ficus erecta* Thunb.) の乳液中に含まれるプロテアーゼについて、精製して性質を明らかにするとともに、遺伝子レベルでの一次構造解析を行った。

【方法・結果】

イヌビワ乳液中より一連のクロマトグラフィーにより分子量約 66 kDa のプロテアーゼを精製した。阻害実験の結果より本プロテアーゼはセリンプロテアーゼと推定され、さらに N 末端アミノ酸配列はククミシン様であった。N 末端アミノ酸配列をもとにオリゴ DNA プライマーを設計し、未成熟果実から抽出したゲノム DNA 及び mRNA をもとに PCR を行い、プロテアーゼ遺伝子の塩基配列を解析した。その結果、遺伝子領域の塩基配列 1743 bp (一部) が同定され、推測された 514 残基のアミノ酸配列は S8 サブチラーゼファミリーとの相同性が示された。

H-7 高い糖転移活性を示すソテツ由来クラス V キチナーゼの構造と機能
○梅本尚之¹, 神田有華¹, 大沼貴之¹, 沼田倫征², 平良東紀³, 深溝 慶¹
(¹近畿大院・農, ²産総研・バイオメディカル, ³琉球大・亜熱生資)

【目的】糖質加水分解酵素の分類で Family GH18 に分類されるソテツ由来クラス V キチナーゼ(CrChi-A)は、顕著な糖転移活性を示すことから、オリゴ糖合成の有用なツールになるものと考えられる。一方、同じ植物クラス V キチナーゼに分類され、40%程度のアミノ酸配列の相同性を示すシロイヌナズナおよびタバコ由来クラス V キチナーゼ(AtChiC と NtChiV)は糖転移活性を示さない。本研究では、CrChi-A の結晶構造を決定し AtChiC と NtChiV の 2 つ酵素と比較することによって、CrChi-A において糖転移反応が高効率に触媒される分子機構を明らかにすることを目的とした。

【結果】野生型 CrChi-A の結晶化に成功した。また、CrChi-A の結晶構造を X 線結晶構造解析により 1.6 Å 分解能で決定することに成功した。さらに、CrChi-A E119Q と基質との複合体結晶構造を決定した。得られた結晶構造を AtChiC および NtChiV と比較した結果、いくつかのループ構造に違いがみられた。また、DxDxE モチーフの側鎖の挙動に違いがみられた。

H-8 *Paenibacillus* sp. IK-5 由来新規キトサン特異的糖質結合モジュールのキトサンオリゴ糖結合様式
○新家粧子¹, 大沼貴之¹, 山城玲奈¹, Padmanabhan Anbazhagan²,
André H. Juffer², 木元 久³, 草桶秀夫⁴, 深溝 慶¹
(¹近畿大・農, ²University of Oulu, ³福井県大・生物資源, ⁴福井工大・工)

我々は、*Paenibacillus* sp. IK-5 が生産する Family GH8 キトサナーゼの C 末端側に 2 つ縦列して存在する糖質結合モジュール DD1, DD2 がキトサンオリゴ糖に対してより高い特異性をもつことを見出した。本講演では、NMR 法およびドッキング計算、ITC を用いて得た、DD1 と DD2 のより詳細なキトサンオリゴ糖結合様式について報告する。¹⁵N, ¹³C ラベルを施した DD1 および DD2 の NMR スペクトルに基づいてキトサンオリゴ糖滴定実験を行い、結合に伴う化学シフト変化がみられるアミノ酸残基をホモロジーモデリング法により構築したモデル構造上に表示した。その結果、DD1 と DD2 のキトサンオリゴ糖結合部位は□サンドウィッチ構造から突き出したループ構造上に存在することが明らかになった。さらに、ITC を用いてキトサンオリゴ糖結合に伴う結合エネルギーを測定したところ、DD1 と DD2 は類似した構造をもつにもかかわらず、オリゴ糖に対して異なる結合力を示した。

H-9 *Gongronella butleri* の生産する exo-chitobiohydrolase の精製と性質
○西山安江, 千原早央里, 平野勝紹, 関 清彦, 光富 勝 (佐賀大・農)

【目的】キトサン分解酵素には endo 型の chitinase (EC 3.2.1.132)と exo-β-D-glucosaminidase (EC 3.2.1.165)が報告されている。我々は、*Gongronella butleri* NBRC105989 がキトオリゴ糖の存在下において誘導的に exo-chitobiohydrolase を菌体外に生産することを見出した。本研究では、*Gongronella butleri* NBRC105989 の培養上清より exo-chitobiohydrolase を精製し、その性質を調べた。

【方法・結果】キトオリゴ糖を含む培地で *Gongronella butleri* NBRC105989 を 7 日間培養し、培養上清を塩析後、さらに CM-Sephadex C-50 および Sephadex G-100 を用いて精製し、電気泳動的に均一な酵素標品を得た。本酵素の分子量は 46,000 であった。最適 pH は 4.0 であり、pH5-11 で安定であった。最適温度は 45℃付近にあり、30℃まで安定であった。キトサンの分解産物を TLC で分析したところ、生成物は (GlcN)₂ のみであった。また、還元末端に GlcNAc を有する (GlcN)₅-GlcNAc の分解産物を HPLC で分析した結果、(GlcN)₂, GlcN-GlcNAc, (GlcN)₃-GlcNAc が検出された。これらの結果から、本酵素はキトサンを非還元末端側から 2 糖単位で分解する新規な exo-chitinase であることが明らかとなった。

H-10 サンゴ由来レクチン様タンパク質の糖特異性の解明
○郷田秀一郎, 工藤彰洋, 牛島祐樹, 海野英昭, 畠山智充 (長崎大院・工)

【目的】サンゴの一種であるハイマツミドリイシ(*Acropora millepora*)の発生の過程において発現レベルが上昇する遺伝子として、海産無脊椎動物グミ由来溶血性レクチン CEL-III と高いアミノ酸配列相同性を示すものが見出されている。本研究では、そのサンゴ由来レクチン様タンパク質の糖特異性の解明を行った。

【方法・結果】目的タンパク質は、大腸菌を宿主に用いて生産させたが、ほとんどが多量体化し、収量は極めて少量であった。そこで、糖結合ドメインと考えられる部分のみの生産を試みた。その結果、封入体に発現を確認することができ、得られた封入体は塩酸グアニジンによる可溶化及び、希釈によって巻き戻しを行った。その後、ゲルろ過により目的タンパク質を精製し、ウサギ赤血球を用いた赤血球凝集活性測定を行った。その結果、CEL-III の糖結合ドメインのみが示す最終凝集濃度と同程度の活性を示し、凝集阻害活性測定の結果、CEL-III で凝集阻害を示した lactose, galactose, raffinose, melibiose は本タンパク質でも同様に凝集阻害活性を示した。

H-11 Characterization of Delta-class glutathione transferase of brown plant hopper
OMD. Tofazzal Hossain¹, Naotaka Yamada¹, Takahiro Shiotsuki²,
Kohji Yamamoto¹ (¹Kyushu Univ., ²NIAS)

【Objective】

Brown plant hopper (*Nilaparvata lugens*) is a serious insect for rice cultivation. Insecticide application is harmful for economy and environment. Glutathione transferase (GST) can detoxify diverse xenobiotics by conjugation with reduced glutathione. Here, we report biochemical properties of GST of *N. lugens*.

【Methods and Results】

One GST clone was sequenced and deduced amino acid sequence. Sequence alignment and phylogenetic tree revealed it belongs to Delta-class GST. The recombinant protein (nGSTD) was overexpressed in *Escherichia coli* and purified. The nGSTD was stable at temperatures below 50°C, and retained more than 80% of the original activities from pH 6 to 12. We found that optimum pH of nGSTD was 8.0, similar to other GSTs of *Bombyx mori*. The nGSTD was able to catalyze one of oxidative stress inducer, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene.

H-12 カボチャカルモジュリンによるグルタミン酸脱炭酸酵素の活性化
○齊藤慶二郎, 菊池章隆, 松元俊彦, 安藤祥司 (崇城大・生物生命)

【目的】γ-アミノ酪酸 (GABA) は、自然界に幅広く存在している非タンパク質性のアミノ酸であり、グルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) によって生成する。GAD は Ca^{2+} 結合蛋白質であるカルモジュリン (CaM) と結合することが報告されている。著者らは、GAD 活性に及ぼす CaM の影響を調べた結果、カボチャ GAD は Ca^{2+} 存在下、CaM により数倍活性化することを明らかにした。本研究では、Native-PAGE および高速ゲルろ過により GAD と CaM の相互作用を検討し、活性化の原因を明らかにする。

【方法および結果】著者らが精製した GAD, CaM を用いて、Native 電気泳動を行った結果、GAD は Ca^{2+} 存在下でのみ CaM と結合した。また、pH7.0 での高速ゲルろ過を行った結果、GAD は EGTA 存在下では、分子量 340,000 と 120,000 のピークが、 CaCl_2 存在下では、分子量 440,000 のピークのみが溶出された。分子量の変化から CaM の結合量を求めた結果、GAD 1 分子に CaM 6 分子結合することが推察された。また、2 量体に相当するピークが消失したことより、CaM が結合することにより 6 量体から 2 量体への解離が抑えられたか、または 2 量体から 6 量体への会合が起こったと示唆された。

H-13 耐熱性 NADP 依存性 D-アミノ酸脱水素酵素の構造解析
○秋田紘長¹, 土居克実², 大島敏久³, 櫻庭春彦⁴
(¹ 九大院・生資環, ² 九大院・農, ³ 大阪工大・工, ⁴ 香川大・農)

【目的】 我々は、好熱菌 *Ureibacillus thermosphaericus* 由来の meso-ジアミノピメリン酸脱水素酵素 (DAPDH) に 5 カ所のアミノ酸変異を導入して新規耐熱性 D-アミノ酸脱水素酵素 (DAADH) を作製することに成功している。本研究では、親酵素である DAPDH と新規 DAADH の構造解析を行い、これらを比較することにより両酵素の基質認識メカニズムの違いを明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】 まず、大腸菌で発現させた DAPDH を用いてアポ型および NADP との二者複合体の結晶を作製して、X 線結晶構造解析を行ない、それぞれ 2.4 Å, 2.1 Å の分解能で立体構造の決定に成功した。また DAADH についても、NADP との二者複合体の結晶化を行い、3.1 Å の分解能で立体構造決定に成功している。これらの構造を比較することにより、DAPDH の基質認識および変異導入による DAADH への変換に関与が推察される構造上の特徴を検討した。

H-14 ニワトリ脂肪肝で特異的に発現する NAD(P)H 依存性 carbonyl reductase の性質と構造
○曾根孟起¹, 福田雄大¹, 荒木朋洋¹, 櫻庭春彦², 大島敏久³, 米田一成¹
(¹ 東海大・農, ² 香川大・農, ³ 大阪工大・工)

【目的】 本研究では、ニワトリ脂肪肝で特異的に発現する carbonyl reductase の触媒に関与すると予測される Tyr178 および Lys182 の変異体 (Y178F, K182M) を作成し、酵素学的性質の決定および結晶化を行った。【方法・結果】 2 種の変異体は *DpnI* 法により作製した。大腸菌 BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL 株を用いて IPTG による遺伝子の発現を行った。その結果、SDS-PAGE で予測される分子量にバンドが検出され、His-tag カラムによる精製にも成功した。精製酵素の機能解析の結果、相対活性はそれぞれ Y178F が 0.3%, K182M が 1.0% であった。また、K182M の最適 pH を調べた結果、K182M の最適 pH は 10.0 であり、Wild-Type の最適 pH (6.5) とは大きく異なることが明らかになった。現在、構造解析を目的としてこの 2 種の変異体の結晶化を進めており、Y178F では NADP との 2 者複合体、K182M では NADP との 2 者複合体及び、基質である 9-10 フェナントレンキノンの 3 者複合体の結晶を得ることに成功している。

H-15 ニワトリ脂肪肝で特異的に発現する NAD(P)H 依存性 carbonyl reductase の分子特性
○福田雄大¹, 荒木朋洋¹, 仁木隆博¹, 櫻庭春彦², 大島敏久³, 芝田 猛¹, 米田一成¹ (¹ 東海大・農, ² 香川大・農, ³ 大阪工大・工)

【目的】 本研究では、ニワトリの脂肪蓄積機構を解明するために、脂肪肝に特異的に発現するタンパク質の機能の解析を行った。【方法・結果】 外科的甲状腺除去により人工的に脂肪蓄積を亢進させたニワトリを作成し、このニワトリの脂肪肝由来のタンパク質を 2 次元電気泳動で分離検出した。正常なニワトリ肝との電気泳動パターンの比較により、肝臓において脂肪蓄積の亢進とともに発現が増強されるタンパク質を見出した。ニワトリのゲノム情報から脂肪肝特異的に発現するタンパク質をコードする機能未知遺伝子を同定した。遺伝子を合成した後、pET15b ベクターに挿入し、大腸菌を用いて IPTG による遺伝子の発現に成功した。また、精製したタンパク質のアミノ酸配列の特徴から機能を予測し、予測される酵素活性の測定を行った結果、NAD(P)H 依存性 carbonyl reductase 活性の検出に成功した。さらに基質特異性や阻害剤などの酵素学的性質についても明らかにした。

H-16

カイコ絹糸腺のみどりの香り生成抑制因子の精製とその性質について

○高井嘉樹¹, 藤井沙季¹, 小澤理香², 道羅英夫³, 大西利幸³, 小林 淳¹, 高林純示², 松井健二¹

(¹山口大院・医, ²京大・生態研, ³静岡大・GRL)

植物は炭素数6のアルコールやアルデヒドからなるみどりの香りを防御物質として生成する。我々はカイコ、アワヨトウ、ハスモンヨトウの絹糸腺に、みどりの香り生成抑制因子が存在することを発見した。この因子はみどりの香り生成経路で中間体である脂肪酸ヒドロペルオキシドをケト体へと変換することでみどりの香り生成を抑制する因子であった。本因子を最終齢のカイコガ幼虫絹糸腺粗抽出物から陰イオン交換クロマトグラフィーと疎水性相互作用クロマトグラフィーを用いて電気泳動的に均一にまで精製した。本因子は30 kDaでその部分アミノ酸配列から機能未知の分泌性タンパク質であることが予想された。現在、本因子のcDNAを単離し、昆虫細胞発現系を用いて発現し、その活性を確認中である。

H-17

嫌気性アンモニア酸化菌のヘム酵素による一酸化窒素還元反応

○入佐達也¹, 平 大輔¹, 古川憲治², 藤井隆夫¹

(¹崇城大・生物生命, ²熊本大院・自然科学)

【目的】嫌気性アンモニア酸化 (anammox)で、中間体のヒドラジンを経由して、脱窒させる酵素として、ヒドロキシルアミン酸化還元酵素 (HAO)とヒドラジン酸化酵素 (HZO)の2種類が知られている。しかし、両酵素の K_m , V_m から、HAO が HZO に比べかなり劣った酵素に思われた。そこで、ヒドラジンの酸化の逆である還元反応を HAO が触媒できるか調べることを目的とした。

【方法・結果】まず、還元剤としてベンジル (BV) あるいはメチルピオロゲン (MV) を使い、無酸素状態で反応を行った。HAO は、NO を基質にし、生成物はヒドロキシルアミンであることが分かった。つぎに、MV を還元剤として、NO 放出試薬 NOC7 を添加して、HAO による MV の酸化を連続的に測定した。ある反応時間内で、NO が一定濃度になっていると思われる擬定常を認めたので、そこでの反応速度定数を決定した。アンモニア酸化菌の HAO で NO のヒドロキシルアミンへの還元反応の反応速度定数が報告されている。この値より1桁大きな反応速度定数を anammox の HAO が持っていることが分かった。

H-18

Redox maintenance by redox modulators under proteasome inhibition

○Sunita Maharjan¹, 寶 関 淳^{1,2}, 奥 公秀¹, 阪井康能^{1,2}

(¹京大院・農, ²京大・学際融合)

【Objective】 Ubiquitin proteasome system is essential for various cellular processes via selective degradation of target proteins and its impairment is linked to many pathological disorders. We aimed to identify redox modulators against aberrant redox change under proteasome inhibition and reveal the redox maintenance mechanism.

【Methods and Results】 Intracellular redox state was observed under proteasome inhibition in a mammalian cell line using our newly developed redox sensor protein, Redoxfluor. Redoxfluor detects intracellular redox state by its fluorescence resonance energy transfer efficiency with a concomitant redox-dependent structural change. Intracellular redox state was found to be oxidized under presence of a proteasome inhibitor. Simultaneous treatment with a redox modulator derived from food prevented the cellular oxidation by maintaining functional mitochondria. Further, simultaneous treatment with a mitochondria targeted antioxidant, showing the maintenance of intracellular redox state, indicated mitochondria as a primarily affected organelle under proteasome inhibition.

H-19 シロイヌナズナ硫酸転移酵素によるフラボノイド硫酸化
○原 洋介¹, 橋口拓勇¹, 下平武彦¹, 黒木勝久¹, 榊原陽一¹, Liu Ming-Cheh²,
水光正仁¹ (¹宮崎大・農, ²トレド大・薬)

【目的】硫酸転移酵素 (SULT)は薬物の解毒代謝や内因性ホルモンの濃度調節に関与し、生体の恒常性維持に不可欠な硫酸化反応を触媒する。これまでの研究から、モデル植物であるシロイヌナズナにはフラボノイドの硫酸化に関与する SULT が存在していることが明らかとなった。しかしながら、それらの詳細な機能は知られていない。そこで、本研究では植物 SULT の機能を解明するためにフラボノイドとフラボノイド硫酸体を用いて、これらを基質として触媒する SULT に関して詳細に研究を行った。

【方法・結果】フラボノイド硫酸体は、SULT 発現大腸菌を用いて代謝工学的に産生した。リコンビナント SULT は GST 融合タンパク質として調製した。硫酸化は活性硫酸[³⁵S]-PAPS を硫酸供与体とし、種々のフラボノイドあるいはフラボノイド硫酸体を基質に反応を行った。その結果、フラボノイドに活性を示す SULT で代謝物である硫酸体にもさらに活性を示す SULT の存在が示された。また、硫酸基の位置によって酵素の特異性に差があることが判明した。

H-20 マウス SULT2 硫酸転移酵素の転写調節領域解析
○高瀬憲太郎¹, 黒木勝久¹, 橋口拓勇¹, Liu Ming-Cheh², 水光正仁¹,
榊原陽一¹ (¹宮崎大・農, ²トレド大・薬)

【目的】硫酸転移酵素(SULT)は遺伝子スーパーファミリーを形成しマウスでは 20 種以上存在することが知られる。中でもヒドロキシステロイド類を硫酸化する SULT2A サブファミリーは、7 番染色体上で 8 個の遺伝子からなるクラスター領域を形成している。我々 SULT 遺伝子同士が転写調節レベルで関連性を持つと予想し、いくつかの SULT2A 遺伝子の転写調節領域の解析結果を報告する。

【方法】マウスゲノム DNA から SULT2A 遺伝子の転写調節領域を PCR で増幅し、pGL4 Neo ベクターに導入した。制限酵素処理によってサイズの異なる転写調節領域をもつレポータープラスミドを作製し、Lipofectamine LTX を用いてヒト肺癌由来 A549 細胞に導入し、ルシフェラーゼアッセイを行った。

【結果・考察】マウス SULT2A1 の転写調節領域は、2111bp の断片に IR0 と呼ばれるコアプロモーター部位を含むと推定された。同じく IR0 を含む SULT2A3, SULT2A6 の転写活性が SULT2A1 と大きく異なることから、各 SULT2A 遺伝子の転写活性が IR0 以外の部分によって調節されていることが示唆された。

H-21 腸内細菌による胆汁酸代謝変換は回腸の胆汁酸吸収輸送担体の発現を制御する
○宮田昌明^{1,2}, 山川泰輝¹, 林謙次郎¹, 吉成浩一¹, 山添 康¹
(¹東北大院・薬, ²水大校・食品科学)

【目的】腸内細菌の酵素は宿主の胆汁酸の脱抱合や脱水酸化反応を触媒し、二次胆汁酸を生成することが知られているが、その生理的役割については不明なままである。演者らは抗菌薬投与により腸内細菌を減少させると、胆汁酸プールサイズが増加し、その時消化管からの胆汁酸吸収が増加することを明らかにした。本研究では腸内細菌の代謝で生成する胆汁酸による消化管の胆汁酸吸収輸送担体 apical Na-dependent bile acid transporter (ASBT)の発現調節について明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】C57BL/6 雄性マウスに抗菌薬のアンプシリン(ABPC)(100 mg/kg)を経口投与後、3, 12, 24 時間後に臓器を採取した。ABPC 投与後 12 時間で、糞中の腸内細菌数、胆汁酸排泄量が有意に減少し、門脈血中の胆汁酸濃度、回腸刷子縁膜中の ASBT タンパクレベルの有意な増加が認められた。この時、消化管管腔内の腸内細菌による代謝で生成する胆汁酸（腸内細菌代謝型胆汁酸）は検出限界以下まで減少した。腸内細菌代謝型胆汁酸を ABPC と併用すると ASBT タンパクレベルは減少した。

H-22 組換え HIV-1 逆転写酵素の耐熱化 ○西村耕作, 篠村まゆ, 小西 篤, 保川 清 (京大院・農)

【目的】ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) 逆転写酵素 (RT) は分子量 66,000 の p66 と 51,000 の p51 から成るヘテロダイマーである。我々は HIV-1 グループ M (HIV-1 M) RT と HIV-1 グループ O (HIV-1 O) RT がモロニーマウス白血球ウイルス (MMLV) RT よりも dTTP と鋳型プライマーへの高い親和性をもつことを示し, cDNA 合成酵素としての有用性を示唆した¹⁾。本研究では, 部位特異的変異導入により HIV-1 M RT と HIV-1 O RT の熱安定化を試みた。【方法】RNase H 活性を消失させる変異 D443→A を p66 に導入し, HIV-1 M p66_{D443A}/p51 と HIV-1 O p66_{D443A}/p51 を大腸菌で作製した。【結果】poly(rA)-p(dT)₁₅ (T/P) 存在下, 10 分間の熱処理により, 37℃で T/P へ dTTP を取込む活性を 50%に低下させる温度は, HIV-1 M p66_{D443A}/p51 では 44℃, HIV-1 O p66_{D443A}/p51 では 52℃であり, 野生型酵素 (それぞれ 42, 48℃) よりも高かった。モデル RNA を用いた RT-PCR における cDNA 合成の反応温度の上限は, HIV-1 M p66_{D443A}/p51, HIV-1 O p66_{D443A}/p51 ともに 68℃であり, 野生型酵素 (それぞれ 62, 66℃) よりも高かった²⁾。【文献】1. Konishi, A. *et al.*, (2013) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **169**, 77-87; 2. Nishimura, K. *et al.*, (2013) *Biotechnol. Lett.* in press

H-23 リジル-tRNA 合成酵素の tRNA 非依存的校正機構の解析 ○滝田禎亮 (京大院・農)

【目的】アミノアシル-tRNA 合成酵素 (aaRS) は, 対応するアミノ酸 (aa) と tRNA を結合させるアミノアシル化反応を正確に触媒する。本反応では, aa は ATP で活性化され (aa-AMP 中間体の形成) 続いて tRNA へ転移される。aaRS の aa に対する高い基質特異性は, 結合親和力の差だけでなく, 誤って活性化された aa を除く校正機構によるとされる。しかし, これらに関する速度情報は少ない。そこで, *Bacillus stearothermophilus* 由来リジル-tRNA 合成酵素 (E) の L-リジン (Lys) 活性化反応における以下のアナログ (LA) に対する校正機構を調べ, E・LA-AMP 複合体分解の 1 次反応速度定数 (k_{dec}) の決定を試みた: L-lysinehydroxamate (Lxt); S-(2-aminoethyl)-L-cysteine (SAEC); L-ornithine (Orn); (5R) 5-hydroxy-L-lysine (5OHr-Lys); 及び 5-hydroxy lysine (mixed DL and DL-allo: 5OH*-Lys*)。【方法・結果】活性化反応を連続酵素反応系と共役させ, AMP 依存的 NADH 酸化の初速度の LA 濃度依存性を調べた。最大速度から求めた k_{dec} は, Lys < Lxt < Orn < SAEC < 5OHr-Lys の順であった。TLC とアルカリ処理を組み合わせた解析は, Orn, 5OHr-Lys, 5OH*-Lys*の中間体の aa 側鎖は, 環状化を起こすことを示唆した。

H-24 *Pyrococcus furiosus* 由来 Exo I のホモ三量体形成と活性の関係 ○濱砂孝文¹, 石野園子¹, 山上 健¹, 宮園健一², 田之倉優², 石野良純¹ (¹ 九大院・農, ² 東大院・農)

【目的】我々が超好熱性アーキア *Pyrococcus furiosus* (Pfu) から発見した Exonuclease I (Exo I) は, 既知のヌクレアーゼとは相同性を示さない一本鎖特異的 3'-5'エキソヌクレアーゼであり, ゲル濾過クロマトグラフィーにより溶液中で三量体構造を形成することを示した。本研究では PfuExo I の三量体構造とヌクレアーゼ活性との相関を調べた。

【方法・結果】*P. horikoshii* Exo I の立体構造をもとに活性部位および多量体形成に関与すると考えられる 6 種の変異体を作製し, 変異タンパク質を高純度に精製した。活性変異体と予想される D7A および D80A は, ゲルろ過では三量体を形成したが, 活性は消失した。D189R は単量体の位置に溶出された。一本鎖 DNA を基質としてヌクレアーゼ活性測定を行った結果, 野生型および D189R は DNA を共に 2 nt 単位で分解したが, D189R の分解速度は野生型に比べて減少した。また, 一本鎖 DNA との結合を調べた結果, 短鎖 (7-10 nt) DNA に対して野生型は結合したが D189R はほとんど結合しなかった。以上の結果から, PfuExo I のヌクレアーゼのプロセッシブな切断活性に三量体形成能が重要であることが示唆された。

H-25 高速・高効率 PCR を目指した DNA ポリメラーゼの創製 ○恒川冴恵, 石野園子, 山上 健, 石野良純 (九大院・農)

【目的】PCR 法をはじめ, 多くの遺伝子解析技術には耐熱性の DNA ポリメラーゼが広く用いられている。本研究では, *Thermus aquaticus* 由来の DNA ポリメラーゼ (Taq ポリメラーゼ) を, タンパク工学的手法を用いて改変し, 既存のポリメラーゼより合成速度の速いポリメラーゼを創製することを目指した。

【方法・結果】我々は, すでに Taq ポリメラーゼの立体構造情報をもとに, DNA 伸長能の高い変異体 (TaqE742A) を取得している (特許取得済み)。今回は, 温泉土壌メタゲノム解析から作製した変異体 (Taq11) および TaqE742A と Taq11 を組み合わせた Taq11/E742A 変異体を作製した。変異型 Taq ポリメラーゼは大腸菌で産生させ, 分離原理の異なるカラムクロマトグラフィー法を組み合わせ, 分解産物を最小に抑えた精製法を確立した。得られた変異タンパク質を用いて, ヌクレオチド取り込み活性およびプライマー伸長活性を測定し, PCR における性能評価を行った。また, ゲルシフト法を用いて DNA との親和性を調べた。Taq11 および Taq11/E742A は, 野生型酵素よりも優れた伸長活性および PCR パフォーマンスを示し, 野生型酵素よりも DNA との親和性が増大していた。

H-26 アーキアの損傷塩基修復酵素 Endonuclease Q の活性に関わるアミノ酸残基の 同定 ○牧田成人, 白石 都, 石野園子, 山上 健, 石野良純 (九大院・農)

【目的】DNA 損傷の一つである塩基の脱アミノ化は, 点変異を誘発しガン化の原因となることが知られている。我々は, 超好熱性アーキアにおけるアデニンの脱アミノ化で生じたヒポキサンチン(Hx)の除去修復機構の解明を目指して研究を進めている。その過程で, *Pyrococcus furiosus* (*P. furiosus*)細胞抽出液を分画し活性測定することによって Hx の 5'側を切断する新規のエンドヌクレアーゼを発見し, Endo Q と名付けた。この酵素の構造と機能について明らかにするために, 部位特異的変異体解析を行なった。

【方法・結果】Endo Q に含まれる PHP domain のアミノ酸配列の比較, 及び *P. furiosus* 由来 Endo Q (PfuEndo Q) の結晶解析により得られた立体構造から金属配位部位, Zinc-finger ドメインおよび酸性ポケットに注目し, それらに含まれるアミノ酸残基を変換した 14 種の変異体を精製した。得られた変異体の活性を測定した結果, 金属配位部位と予想して作製した変異体である E76A 及び D193A の活性はほとんど消失し, これらの残基が活性アミノ酸であることがわかった。残りの変異体の性質についても考察する。

H-27 超好熱性アーキア RNase P RNA 変異株の作製 ○上田敏史¹, 石野園子², 石野良純², 中島 崇^{1,2}, 角田佳充^{1,2}, 木村 誠^{1,2} (¹九大院・システム生命, ²九大院・農)

【目的】近年, 真核生物由来 RNase P に関する研究から, RNase P は前駆体 tRNA や様々な non-coding RNA のプロセッシングを触媒するだけでなく, RNA 合成酵素 I および III の転写因子としても機能していることが示唆されているが, アーキアにおける機能は未解明である。本研究では, アーキア RNase P の機能解明のために, 超好熱性アーキア (*Thermococcus kodakarensis*) RNase P 変異株を作製した。

【方法・結果】既に, 超好熱性アーキア (*Pyrococcus horikoshii*) RNaseP に関する研究により, RNA サブユニットのヘリックス P3 を欠失すると RNase P の前駆体 tRNA 切断活性が低下することを明らかにしている。そこで, 遺伝子組換え系が確立されている *T. kodakarensis* KUW1 株を用い, RNase P RNA P3 欠失変異株を相同組換えカセット (pU-Ryo ベクター) を用いて作製した。続いて, 形質転換を確認するために, *T. kodakarensis* 野生株と変異株の生育速度を比較したところ, 変異株では野生株に比べてわずかに生育速度が遅くなっていた。現在, 定量 RT-PCR 法を用いて前駆体 tRNA の発現量の違いを検討している。

H-28 シロイヌナズナ細胞内小器官前駆体 tRNA プロセシング酵素・PRORP1 の基質認識機構の解析
○今井崇喜¹, 中村崇裕², 中山 郁¹, 前田 卓¹, 中島 崇¹, 角田佳充^{1,2}, 木村 誠^{1,2} (¹九大院・生資環, ²九大院・農)

【目的】シロイヌナズナ細胞内小器官の前駆体 tRNA (pre-tRNA) プロセシング酵素・PRORP1 は N 末端側に 5 つの RNA 結合 PPR モチーフ:PPR1~PPR5 と C 末端側に新規ヌクレアーゼ NYN ドメインを持つ。本研究では, PRORP1 の PPR モチーフの基質認識機構について検討した。

【方法と結果】まず, PPR モチーフの塩基認識コードに基づいて, PPR1~PPR5 の認識塩基を予測したところ, PPR2 と PPR4 が C と A を認識することが推定された。続いて, PRORP1 のシグナル移行配列を削除した des38 を精製し, pre-tRNA^{Phe} の D-ループ (G18, G19) と T-ループ (U54-U60) をそれぞれ他の塩基に置換した pre-tRNA^{Phe} 変異体に対する切断活性を測定した。その結果, D-ループの変異体に対しては切断活性を維持していたが, T-ループの U55-A57 の変異体に対しては, その活性は著しく低下していた。これらの結果から, PPR1~PPR5 はそれぞれ U55, C56, A57, A58, A59 を認識していることが推定された。

H-29 シロイヌナズナ核内前駆体 tRNA プロセシング酵素・PRORP2 の調製と酵素化学的性質
○前田 卓¹, 今井崇喜¹, 中山 郁¹, 中島 崇², 角田佳充², 木村 誠² (¹九大院・生資環, ²九大院・農)

【目的】シロイヌナズナでは, 3 種の前駆体 tRNA プロセシング酵素 (PRORP) が存在し, PRORP1 はミトコンドリアと葉緑体に, PRORP2 と PRORP3 は核に局在している。既に, PRORP1 の酵素化学的性質と結晶構造が報告されている。本研究では, PRORP2 の酵素化学的性質について検討した。

【方法と結果】PRORP2 は PRORP1 と約 40% のアミノ酸が同一であるが, PRORP2 の N 末端は PRORP1 と比較して 66 アミノ酸残基短縮されている。まず, PRORP2 の酵素活性を pre-tRNA^{Phe} を基質として評価したところ, PRORP1 と同等の活性を示したが, 至適温度は約 28 度で PRORP1 (約 35 度) と比較して低かった。続いて, PRORP2 の基質認識機構の解明のため, pre-tRNA^{Phe} の変異体を用いて切断活性を調べた。その結果, T ループの変異体 A57C ではわずかに, C56G では著しく活性が低下した。この結果から PRORP2 は PRORP1 と同様に, pre-tRNA^{Phe} の T ループの C56 と A57 を認識することが推定された。

H-30 RNase P 構成タンパク質は RNA の活性化において RNA と複合体を形成することが必要か?
○宮ノ下充¹, 上田敏史¹, 中島 崇^{1,2}, 角田佳充^{1,2}, 木村 誠^{1,2} (¹九大院・システム生命, ²九大院・農)

【目的】超好熱性アーキア (*Pyrococcus horikoshii*) 前駆体 tRNA プロセシング酵素・RNase P は, 1 分子の RNA (pRNA) と 5 種のタンパク質から構成されている。本研究では, RNase P 構成タンパク質が pRNA の活性化において, “一過的に相互作用すれば pRNA の活性は維持されるか” について検討した。

【方法・結果】まず, pRNA と 5 種のタンパク質を混合後, プロテナーゼ K により処理した (プロセス 1)。一方, 5 種のタンパク質をプロテナーゼ K により処理した後, pRNA と混合した (プロセス 2)。両複合体をグリセロール密度勾配 (10~30%) 遠心法により精製し, 前駆体 tRNA の切断活性を測定した。その結果, プロセス 1 では未処理の再構成 RNase P と同様の活性を示したのに対し, プロセス 2 では著しく活性が低下していた。次に, 両精製複合体の SDS-PAGE によるタンパク質分析に基づいて, プロセス 2 の精製酵素に Rpp30 と Pop5 を添加し前駆体 tRNA の切断活性を測定したところ, 著しく活性を示した。この結果から, 少なくとも Rpp30 と Pop5 は常時 RNA と結合していることが必須であることが分かった。

- H-31 RNase P 構成タンパク質 Pop5 の RNA 結合モチーフ (RRM) 非標準構造は RNA の活性化に重要である
○ 栢山紘輔¹, 中島 崇^{1,2}, 角田佳充^{1,2}, 木村 誠^{1,2}
(¹ 九大院・生資環, ² 九大院・農)

【目的】超好熱性アーキア RNase P 構成タンパク質 Pop5 は, RNA 解離会合促進活性により RNase P RNA (PhopRNA) を活性化することが推定されている。本研究では, Pop5 の二量体化に関与している $\alpha 1$ - $\alpha 2$ ループと, C 末端 α -ヘリックス ($\alpha 4$ と $\alpha 5$) の PhopRNA 活性化への関与について検討した。

【方法と結果】Pop5 の $\alpha 1$ - $\alpha 2$ ループ欠損体 (ΔL), $\alpha 5$ を含む 6 残基欠損体 ($\Delta 6C$), 及び $\alpha 4$ と $\alpha 5$ を含む 14 残基欠損体 ($\Delta 14C$) を調製し, 再構成実験による前駆体 tRNA 切断活性と, FRET 法による RNA 解離会合促進活性を測定した。その結果, $\Delta 6C$ を含む再構成酵素は野生型 Pop5 を含む再構成酵素と同程度の触媒活性を保持していたが, ΔL または $\Delta 14C$ を含む再構成酵素の活性は著しく低下していた。また ΔL と $\Delta 6C$ は野生型と同程度の FRET 効率を示したが, $\Delta 14C$ は RNA 解離会合促進活性を失っていた。この結果より, 二量体化した Pop5 の $\alpha 4$ のアミノ酸が PhopRNA の活性化に重要であることが分かった。

- H-32 RNase P 構成タンパク質の RNA 解離会合促進活性は進化系統ドメイン間で保存されている
○ 古谷貴志¹, 栢山紘輔¹, 富田里子², 今井崇喜¹, 中島 崇^{1,2,3}, 角田佳充^{1,2,3}, 木村 誠^{1,2,3} (¹ 九大院・生資環, ² 九大院・農, ³ 九大院・農)

【目的】RNase P は前駆体 tRNA の 5' 末端余剰配列を切断するエンドヌクレアーゼである。我々は, 超好熱性アーキア RNase P 構成タンパク質が RNA 解離会合促進活性を持つことを明らかにした。本研究では, 酵母および大腸菌 RNase P 構成タンパク質 (Rpr2 と C5) の同活性の有無について検討した。

【方法・結果】タンパク質の存在下または非存在下で, Cy3 もしくは Cy5 で蛍光標識した 2 本の相補的塩基配列 (21 nt) を持つ RNA (Cy3-Oligo と Cy5-Oligo) を室温で混合後, Cy3 を励起波長 $\lambda=535$ nm で照射し, $\lambda=590$ nm の蛍光強度の減少を測定することにより, RNA 会合促進活性を評価した。一方, 上記の系に Cy3-Oligo と同じ塩基配列を持つ競合 RNA を加え, $\lambda=590$ nm の蛍光強度の回復を測定することにより, 解離促進活性を評価した。その結果, Rpr2 と C5 は超好熱性アーキア RNase P 構成タンパク質と同様に両促進活性を持つことが分かり, 同活性が進化系統ドメイン間で保存されていることが分かった。

- H-33 RNase P 構成タンパク質 Rpp30 の RNA 活性化に関与するアミノ酸残基の解析
○ 岩崎文彦¹, 濱崎真人², 上田敏史¹, 中島 崇^{1,2,3}, 角田佳充^{1,2,3}, 木村 誠^{1,2,3} (¹ 九大院・システム生命, ² 九大院・生資環, ³ 九大院・農)

【目的】超好熱性アーキア RNase P 構成タンパク質の 1 つである Rpp30 は, RNase P の再構成実験より pre-tRNA 切断活性に関与していることが知られている。また, Rpp30 は RNA 解離会合促進活性を持つことが知られている。本研究では, Rpp30 の活性に関与するアミノ酸残基について検討した。

【方法・結果】現在までに, Arg90, Arg107, Lys196, を Ala に置換した変異体を含む再構成酵素の速度論的パラメーターを測定したところ, Arg90 と Arg107 の置換は k_{cat} を低下 (約 1/3) したのに対し, Lys196 の置換は K_m を増加 (約 2 倍) した。また, Arg90 と Arg107 の RNA 会合解離促進活性を蛍光共鳴エネルギー移動法により解析したところ, Arg90 の変異体は野生型と同程度の活性を維持していたが, Arg107 の変異体は僅かに低下していた。この結果より, Rpp30 の RNA 会合解離促進活性には Arg107 が関与し, その活性により RNA を活性化していること, さらに, Lys196 は pre-tRNA との結合に関与していることが示唆された。現在, Lys123, Arg176, Asp180 の変異体についても同様に検討中である。

Ⅰ－１ 酸触媒イオン液体前処理を用いた新規バイオプロセス構築 ○小倉一真, 荻野千秋, 近藤昭彦 (神戸大院・工)

【目的】リグノセルロース系バイオマスの有効活用を目的とし、イオン液体を用いた前処理法の開発が進んでいる。しかし、前処理系に水分が含まれていると前処理効果の低下が引き起こされるため、乾燥プロセスが必須となる。近年この問題を解決するために酸触媒を用いた含水系前処理法が開発されている。本研究では混酸を用いることで既存の前処理法を改良するとともに、微生物発酵を組み合わせた新規バイオプロセスの開発を行った。

【方法・結果】リグノセルロース系バイオマスとしてスギ(200 μ m アンダー)、イオン液体としては 1-butyl-3-methylimidazolium chloride を準備した。そして、酸触媒の種類や前処理組成を変化させることで前処理効果の変化を観察した。その結果、塩酸と塩化鉄を組み合わせた場合に高い前処理剤として機能することを見つけ出した。この新規前処理法と酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を組み合わせ、同時糖化発酵を行ったところ、既存の系よりも高いエタノール生産性を実現することに成功した。

Ⅰ－２ ノリ加工排水処理用微生物担体の作製 ○高田好見¹, 田浦昌純², 出口智昭³ (¹有明高専専攻・応物工, ²熊本高専・生物化学, ³有明高専・物質工)

【目的】ノリ加工排水は赤く着色し、高濃度の有機物を含んでいる。この排水が河川に排出されることで周囲の美観を損ね、悪臭を発生させるなどの問題が起きている。そこで本研究では効果的なノリ加工排水処理用の微生物担体の作製を試み、新規なノリ加工排水処理技術の開発を目的とした。

【方法・結果】実験には疑似ノリ加工排水として乾ノリから色素成分を抽出したものをを用いた。疑似ノリ加工排水に河川から採取したノリ加工排水を添加し振盪処理を行ったところ、24 時間後には TOC が 41%減少し、色の除去も確認された。比較として蒸留水を添加したものはほとんど変化しなかった。そのため河川から採取したノリ加工排水中にはノリ色素成分を分解する微生物が多くいることが判明した。そこで河川から採取したノリ加工排水にノリ色素成分抽出液を添加し、竹炭を一定期間浸漬させて微生物担持竹炭を作製した。得られた担体で疑似ノリ加工排水を処理した結果、4 日間浸漬したものが高い分解能を示した。現在この微生物担持竹炭を用いて最適な処理条件を検討中である。

Ⅰ－３ 紅藻類オゴノリ科海藻表層に付着する微生物相の特徴 ○垣田浩孝, 小比賀秀樹, 上嶋 洋 (産総研・健康工学)

【目的】大型海藻は増殖にビタミン及び植物ホルモンを必要とし、水圏でこれらの増殖因子の有力な生産者は微生物であり、藻体表面または近傍に分布する微生物が海藻成長へ影響を及ぼしていると考えられている。そこで本研究では紅藻類オゴノリ科海藻の付着共存微生物を明らかにすることを目的とした。

【方法】天然海藻、培養海藻及び環境海水試料を塗抹した寒天プレートで 20℃ で 14 日間培養し各寒天平板の微生物を形態・色素でグループ分けした。培養平板上に優勢に生育した集落を釣菌し分離微生物とした。各分離微生物について形態観察及び生理学的性状試験を行い絵面らの方法により分類を行った。

【結果】環境海水中の優勢な微生物は *Moraxella* sp. であり、天然海藻試料の優勢な微生物は *Vibrio* sp. 及び *Moraxella* sp. であった。培養海藻試料の優勢な微生物群集には寒天培地に黄色等の色素集落を形成する微生物が含まれ、それらは性状より *Flavobacterium* sp./*Cytophaga* sp. と分類された。

【考察】培養海藻の付着共存微生物が *Flavobacterium* sp./*Cytophaga* sp. 優勢になるという傾向は再現性もあり、当該海藻に特有の付着共存微生物が存在することが裏付けられた。

I - 4 A comparative study of antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in Okinawan mangroves
OMd. Daud Hossain, Hironori Iwasaki, Masashi Inafuku, Hirosuke Oku
(Univ. Ryukyus TBRC)

Activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation were investigated in leaves and roots obtained from nine mangrove trees on Iriomote Island, Okinawa. Most of the species revealed higher SOD activities than those of other enzymes under investigation. In most cases, roots tended to show higher enzymatic activities than did leaves. *B. gymnorrhiza*, *R. stylosa* and *K. obovata* showed improved SOD, APOX, GPOX, DHAR and MDHAR activities. *E. agallocha* had moderate to high SOD, APOX and CAT activities although the GPOX activity was almost absent. The antioxidative performances of *L. racemosa*, *P. acidula*, *S. alba* and *H. littoralis* were rather inconsistent. Levels of lipid peroxidation in terms of MDA content were varied markedly among mangrove species. However, low to moderate MDA levels in *A. marina*, *S. alba*, *E. agallocha* and *B. gymnorrhiza* suggested improved protection against oxidative stress. The data from this study provide a valuable basis for future intensive investigation.

I - 5 Catalases are not key enzymes to alleviate gamma irradiation-induced DNA damage, H₂O₂ accumulation, or lipid peroxidation in *Arabidopsis thaliana*
O Amena Sultana¹, Ikuko Minami¹, Daiki Matsushima¹, Mohammad Issak¹,
Yoshimasa Nakamura¹, Setsuko Todoriki², Yoshiyuki Murata¹
(¹Div. Biosci., Okayama Univ., ²Food Safety Div., NFRI)

Gamma irradiation causes DNA damage and increases hydrogen peroxide accumulation and lipid peroxidation. Catalase is an antioxidant enzyme scavenging H₂O₂ and irradiation changes catalase activities. Hence it is thought that increasing the activity of catalases alleviates the damage caused by irradiation, but the roles of catalases in irradiated plants remain to be clarified. We investigate the functions of catalases in response to gamma irradiation using *Arabidopsis* catalase-deficient mutants. Irradiation increased catalase activities at 0.1 kGy and decreased at 10 kGy in the wild type and the catalase mutants. DNA damage, H₂O₂ accumulation and lipid peroxidation were induced by irradiation at 10 kGy but not at 0.1 to 1 kGy in the catalase mutants like in the wild type. Hence, catalases may not be a key enzyme to protect gamma irradiation-induced damage.

I - 6 シロイヌナズナでのサリチル酸が誘導する活性酸素種の蓄積は気孔口径を減少させ乾燥耐性を向上させる。
O 大熊英治¹, 岡本啓之¹, Paul M. Hasegawa², 三浦謙治³, 村田芳行¹
(¹岡山大院・環境生命, ²H.L.A., Purdue Univ., ³筑波大・生命環境)

サリチル酸(SA)は気孔閉口を誘導し、また、SUMO E3 リガーゼ(*SIZ1*)を破壊した変異体 *siz1* は、野生株と比較して SA を過剰に蓄積している。よって、*siz1* 変異体では、野生株よりも気孔が閉口し、乾燥ストレスにより強いことが予想される。そこで、本研究では、*siz1* 変異体の気孔口径、活性酸素種の蓄積、および乾燥ストレス耐性を評価した。*siz1* 変異体は、野生株と比較して光条件下で気孔口径が小さく、活性酸素種を多く蓄積していた。また乾燥ストレスに曝したとき、*siz1* 変異体の生存率は野生株と比較して高かった。他の SA 蓄積変異体についての結果についても報告する。

I-7 セレンストレス下のタバコ培養細胞へのプロリンの影響と酸化ストレスとの関係

○松島大貴, 宗正晋太郎, 中村宜督, 村田芳行 (岡山大院・環境生命)

プロリンは, タバコ培養細胞において塩ストレス及びカドミウムストレスを軽減する。しかし, ストレス軽減作用の機構は十分に明らかにされていない。一方, 高濃度のセレンは, 植物の成長を阻害する。しかし, 外因性プロリンのセレンストレス下の植物への効果について報告は少ない。本研究では, プロリンのストレス軽減作用を明らかにするために, セレンストレス下のタバコ培養細胞への外因性プロリンの影響を調べた。

外因性プロリンは, セレンストレス下での細胞の成長抑制を軽減しなかった。セレンストレス下の細胞の抗酸化酵素活性, 脂質過酸化及びタンパク質酸化への外因性プロリンの影響はなかった。また, 以上の結果と, 塩ストレス及びカドミウムストレス下のタバコ培養細胞への外因性プロリンの影響との比較を行い, ストレス下のタバコ培養細胞におけるプロリンの役割について議論する。

I-8 Spatiotemporal expression of hydroperoxide lyase gene in Arabidopsis

○Cynthia Mugo, Atsushi Matsuki, and Kenji Matsui
(Grad. Sch. Med. (Agri.), Yamaguchi Univ.)

C6 aliphatic aldehydes and their corresponding alcohols or esters collectively known as green leaf volatiles are the products of the hydroperoxide lyase (HPL) branch of the oxylipin pathway. Mechanical wounding in Arabidopsis results in the induction of HPL gene and the other defense genes such as allene oxide synthase (AOS). Transgenic Arabidopsis lines with HPL or AOS promoter fused to the β -glucuronidase (GUS) gene were used to examine spatiotemporal expression of HPL. pHPL::GUS Arabidopsis showed intense GUS activity in young buds and young siliques. Upon mechanical wounding GUS staining profiles were different between pHPL::GUS and pAOS::GUS Arabidopsis. This shows that activation of HPL and AOS genes occur in different tissues in response to wounding and other stimuli and this correlates with their roles during development and defense in Arabidopsis.

I-9 シロイヌナズナにおけるカタラーゼのペルオキシソーム輸送機構の解明

○遠藤聡至¹, 藤川愉吉¹, 大島良美², 真野昌二³, 林 誠⁴, 西村幹夫³, 江坂宗春¹ (¹広島大院・生物圏, ²産総研・生物プロセス, ³基生研・高次細胞機構, ⁴長浜バイオ・バイオサイエンス)

【目的】蛋白質のペルオキシソーム輸送は, ペルオキシソーム局在化シグナル(Peroxisomal Targeting Signal:PTS)を介して行われることが知られている。しかし, これまでの研究から, 植物カタラーゼのペルオキシソーム輸送に, PTS だけでなく活性中心であるヘム結合領域も重要であることが示唆された。そこで本研究では, 植物カタラーゼのヘム結合領域に着目してより詳細な研究を行った。

【方法・結果】植物カタラーゼの細胞内局在性をより簡易に解析するため, プロトプラストを用いた一過的発現系を用いた。GFP と融合したシロイヌナズナのカタラーゼを, シロイヌナズナのプロトプラスト内で一過的に発現させ, GFP シグナルを蛍光顕微鏡観察した。その結果, ヘム結合領域のアミノ酸残基を置換した変異体では細胞質に GFP シグナルが検出された。現在, カタラーゼの種々の変異体の局在性を解析し, カタラーゼのペルオキシソームへの輸送シグナルの同定を試みている。

I-10 アセロラにおけるアスコルビン酸生合成酵素遺伝子の発現解析
○近藤隆之, 藤川愉吉, 江坂宗春 (広島大院・生物圏)

【目的】GDP-D-mannose pyrophosphorylase (GMP)は、植物の主要なアスコルビン酸生合成経路であるマンノース経路において D-mannose-1-P から GDP-D-mannose への反応を触媒する酵素である。これまで本研究室では、アセロラ GMP 遺伝子上流域に着目して研究を行ってきた。その結果、転写開始点から上流 1200 bp までの塩基配列を明らかにし、転写活性化シス因子の存在が示唆された。本研究は、アセロラ GMP 遺伝子のプロモーター解析を行い、アセロラにおけるアスコルビン酸生合成酵素遺伝子の高発現機構を転写レベルで明らかにすることを目的としている。

【方法・結果】最初に、アセロラとシロイヌナズナの GMP 遺伝子のプロモーター活性を比較したところ、アセロラのプロモーター活性はシロイヌナズナの 20 倍以上であった。次いで、転写活性化因子の存在が示唆された転写開始点から上流 1200 bp までの範囲に着目し、プロモーターのデリーション解析を行った。その結果、アセロラの GMP 遺伝子の転写開始点から上流 1100 bp から 1080 bp の間に高発現に必要なシス因子の存在が示唆された。

I-11 トマトのアスコルビン酸生合成におけるガラクトuron酸レダクターゼの遺伝子発現に関する研究
○末川麻里奈, 藤川愉吉, 江坂宗春 (広島大院・生物圏)

【目的】植物において、ガラクトuron酸レダクターゼ (GalUAR) は細胞壁成分であるペクチンの分解産物 (ガラクトuron酸) を介したアスコルビン酸生合成に関与することが示唆されている。これまでに、トマト葉の老化やストレスに伴って GalUAR の mRNA 発現が増加することを確認している。本研究では、トマト GalUAR の遺伝子発現調節を転写レベルで明らかにすることを目的とし、GalUAR のプロモーター領域について解析を行う。

【方法・結果】トマト GalUAR 遺伝子の開始コドンから上流域 1400 bp に着目し、ルシフェラーゼをレポーター遺伝子としてプロモーターアッセイを行った。シロイヌナズナの葉から単離したプロトプラストに PEG 法を用いて一過的に遺伝子導入し、ルシフェラーゼ活性を測定した結果、有意なルシフェラーゼ活性が検出された。現在、GalUAR 遺伝子上流域 1400 bp についてデリーション解析を行い、GalUAR 遺伝子の転写誘導に関わるシスエレメントを探索している。

I-12 Neither endogenous abscisic acid nor endogenous jasmonate is involved in salicylic acid-, yeast elicitor-, or chitosan-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*
○Mohammad Issak¹, Eiji Okuma¹, Shintaro Munemasa¹, Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori², and Yoshiyuki Murata¹
(¹Div. Biosci., Okayama Univ., ²IPSR, Okayama Univ.)

Salicylic acid (SA), yeast elicitor (YEL), and chitosan (CHT) induce stomatal closure in several plant species. In order to determine whether endogenous abscisic acid (ABA) or endogenous jasmonates (JAs) is involved in SA-, YEL-, or CHT-induced stomatal closure, we examined stomatal responses to SA, YEL, and CHT in an *Arabidopsis* ABA deficient mutant, *aba2-2*, and an *Arabidopsis* JA deficient mutant, *aos*, and effects of an inhibitor of ABA biosynthesis, fluridone, on the SA-, YEL-, and CHT-induced stomatal closure. SA, YEL, and CHT induced stomatal closure in the *aba2-2* mutants, in fluridone-treated wild-type plants, and in the *aos* mutants like in wild-type plants. These results suggest that neither endogenous ABA nor endogenous JAs is involved in SA-, YEL-, or CHT-induced stomatal closure.

- I-13 OST1 is involved in YEL-induced stomatal closure and activation of slow anion channels.
OWenxiu Ye¹, Shintaro Munemasa¹, Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori² and Yoshiyuki Murata¹
(¹Div. Agric. Life Sci., Okayama Univ., ²IPSR, Okayama Univ.)

Yeast elicitor (YEL) induces stomatal closure in Arabidopsis. Activation of slow anion (S-type) channels is essential for stomatal closure. An Snf1-related protein kinase 2, SnRK2.6 named Open Stomata 1 (OST1), is involved in activation of S-type channels in abscisic acid and CO₂ signaling in guard cells, and in stomatal closure induced by low humidity, ozone, darkness, and a bacterial elicitor, flg22. However, it remains unknown whether OST1 is involved in YEL-induced stomatal closure. We investigated the role of OST1 in YEL-induced stomatal closure using an OST1 knockout mutant, *ost1-3*. In *ost1-3* mutants, YEL induced ROS accumulation, activation of nonselective Ca²⁺-permeable cation channels and transient elevations in cytosolic free Ca²⁺ concentration in guard cells, but did not induce stomatal closure or activation of S-type channels in guard cells. These results suggest that OST1 is involved in YEL-induced stomatal closure and activation of S-type channels.

- I-14 気孔閉口誘導と気孔開口阻害におけるアブシジン酸受容機構
○銀 叶¹, 足立優司¹, 叶 文秀¹, 林 真紀², 中村宜督¹, 木下俊則², 森 泉³, 村田芳行¹ (¹岡山大院・自然科学, ²名大院・理, ³岡山大・植物研)

【目的】アブシジン酸 (ABA) は、植物のストレス応答及び成長を調節する植物ホルモンである。ABA は、気孔の閉口を促進し、気孔の開口を阻害する。しかし、これらの運動は単純な逆向き過程ではないことが知られている。近年、PYR/PYL/RCAR 遺伝子群が ABA 受容体として同定された。PYR/PYL/RCAR の四重変異体である *pyr1/pyl1/pyl2/pyl4* において ABA 誘導性気孔閉口が抑制されることが報告されているが、これら ABA 受容体の ABA による開口阻害への関与に関する詳細な研究はない。本研究では、開口阻害における PYR1, PYL1, PYL2 および PYL4 の役割について同四重変異体を用いて解析した。

【方法・結果】四重変異体では ABA 処理による気孔閉口が顕著に抑制されたが、開口の阻害は野生株と変わらなかった。孔辺細胞 ABA シグナルにおけるセカンドメッセンジャーである活性酸素種と一酸化窒素の産生ならびに細胞質アルカリ化を測定したが、変異体ではこれらは誘導されなかった。気孔開口に重要な H⁺-ATPase のリン酸化は阻害され、内向き K⁺チャンネル活性は抑制されていた。

- I-15 孔辺細胞アブシジン酸シグナル伝達におけるグルタチオンの役割
○室山大地¹, 宗正晋太郎¹, 長橋大樹², 中村宜督¹, 森 泉³, 村田芳行¹
(¹岡山大院・環境生命, ²岡山大・農, ³岡山大・IPSR)

気孔は植物表面に存在する一対の孔辺細胞に囲まれた小孔である。植物は様々な刺激に応答し、気孔の開閉を厳密に調節することで環境変化に適応している。植物ホルモンのアブシジン酸は乾燥ストレス下で生産され、気孔閉口を誘導し、蒸散による水分損失を減少させる。グルタチオンは、細胞の酸化還元状態を調節に機能し、成長などの生理的プロセスに関与することが知られている。これまで我々の研究で得られた結果から、グルタチオンは孔辺細胞内に比較的多く存在しており、アブシジン酸の誘導する気孔閉口シグナルの負の調節因子であることが示めされたが、その調節機構の詳細は明らかにされていない。本研究では、アブシジン酸シグナル伝達経路の調節にグルタチオンがどのように関わるのか調べるため、シロイヌナズナ野生株 Columbia とグルタチオン合成酵素の欠損変異体 *cad2-1* を用いて、アブシジン酸シグナルのセカンドメッセンジャーである活性酸素種の産生量の測定、気孔閉口に関わる S-type 陰イオンチャンネルやカルシウムチャンネルの活性測定を行った。

I-16 孔辺細胞アブシジン酸シグナル伝達におけるヒスチジンキナーゼ AHK5 の役割
○宗正晋太郎¹, Mohammad Anowar Hossain¹, 中村宜督¹, 森 泉²,
村田芳行¹ (¹岡山大院・環境生命, ²岡山大・IPSR)

アブシジン酸 (ABA) は、気孔閉鎖を誘導することで蒸散による水分放出を抑制する働きを持つ植物ホルモンである。孔辺細胞において ABA が誘導する気孔閉鎖シグナルには、様々なシグナル因子が関与していることが知られている。今回我々は、シロイヌナズナのアブシジン酸ヒスチジンキナーゼ *AHK5* を破壊した変異体 *ahk5-1* の孔辺細胞が、ABA に対して高感受性を示すことを報告する。*ahk5-1* 変異体では、0.1 μM という低濃度の ABA で処理した際に、野生株よりも大きな気孔口径の減少が観察された。気孔開閉運動の制御に関わる内向きカリウムイオンチャネルの活性を調査したところ、*ahk5-1* 変異体では、ABA による内向きカリウムイオンチャネル活性抑制が強められていることが明らかとなった。以上の結果は、シロイヌナズナ孔辺細胞における ABA シグナル伝達において *AHK5* が負の制御因子として機能していることを示唆している。

I-17 ユーグレナチオレドキシシンレダクターゼの同定と機能解析
○玉木 峻¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(¹島根大・生資科, ²近畿大・農)

【目的】NADPH 依存型チオレドキシシンレダクターゼ (NTR) はほぼすべての生物に分布し、チオレドキシシンのレドックス状態を制御することで、活性酸素種代謝、レドックスシグナリングなど多様な細胞内代謝に関与している。本研究では、NTR 遺伝子が未同定の緑藻ユーグレナに注目し、そのレドックスシステムの解明を目的として、ユーグレナ NTR の酵素学的性質と生理機能を検討した。

【結果】データベース検索により、3 つのユーグレナ NTR 遺伝子の完全長 cDNA 配列を決定し、それぞれ EgNTR1, NTR2, NTRC とした。局在予測から、EgNTR1, NTR2, NTRC はそれぞれミトコンドリア、細胞質、葉緑体局在が予測された。大腸菌発現系により、EgNTR の組換え体タンパク質を作製した。活性測定から、組換え体 EgNTR は有意な NTR 活性を示した。EgNTR の生理機能を明らかにするために、二本鎖 RNA 導入により各 NTR KD 細胞を作製した。各 NTR KD 細胞のスポットアッセイから、特に EgNTR1 は細胞の生育に重要な役割を果たすことが示唆された。

I-18 シロイヌナズナ VTC2 タンパク質の細胞内局在性の検討
○種子田隼人¹, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 重岡 成², 石川孝博¹
(¹島根大・生資科, ²近畿大・農)

【目的】植物のアスコルビン酸は、D-マンノース/L-ガラクトース経路を主要経路として生合成されており、シロイヌナズナにおいてこれまでにこの経路に関わる遺伝子はすべて同定されている。同経路構成酵素遺伝子のうち GDP-マンノースフォスホリラーゼをコードする *VTC2* 遺伝子は、最も顕著な光応答性を示すことから、未解明のアスコルビン酸生合成光調節機構の鍵を握っていると推測されている。本研究では *VTC2* の機能解析を目的に、細胞内局在性を検討した。

【方法・結果】CaMV35S プロモーターの制御下、*VTC2* および推定核移行シグナルを Ala 残基に置換した変異 *VTC2* (mutNLS) と GFP との融合タンパク質発現用コンストラクトを作製し、シロイヌナズナおよびシロイヌナズナ懸濁培養細胞に形質転換した。共焦点レーザー顕微鏡による局在解析により、*VTC2* は細胞質と核に局在することが示された。現在、GFP 抗体を用いた共免疫沈降による *VTC2* との相互作用タンパク質の探索を進めている。

1-19 セイタカアワダチソウ抽出物を利用した組換え型 AhR/GUS レポーター遺伝子系
導入シロイヌナズナによる PCB 同族体のファイトモニタリング
○嶋津小百合¹, 太田雅也², 芦田 均¹ (¹神戸大院・農, ²福山大・生命工)

【目的】PCB 同族体の高蓄積植物であることが知られているセイタカアワダチソウ (*Solidago canadensis*) から PCB 同族体の取り込み・移行に関与する物質の探索を行った。モニタリングは、これまでに構築した組換え型モルモット AhR (gAhR) / β -グルクロニダーゼ (GUS) レポーター系遺伝子導入シロイヌナズナを用いた PCB 同族体のアッセイ系を利用し、PCB126 誘導 GUS 活性を指標にして行った。

【方法・結果】セイタカアワダチソウから総脂質を抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに供して糖脂質画分を得た。さらに、異なる組成の移動相のシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画した。分画した画分と PCB 同族体を添加したムラシゲ・スクーグ培地に組換え体シロイヌナズナを播種して 2 週間培養した後、シロイヌナズナ植物体の GUS 活性を測定した。その結果、糖脂質画分の添加により PCB126 誘導 GUS 活性の増加が認められ、その有効成分の一つとしてステリルグルコシドを同定した。本研究は JSPS 科学研究費補助金 (特別研究員奨励費 24・3482) の助成を受けたものである。

1-20 シロイヌナズナ由来葉緑体局在 Lon プロテアーゼの異種発現と酵素学的解析
○國嶋幹子, 山内靖雄, 水谷正治, 杉本幸裕 (神戸大院・農)

【目的】植物は高温や強光などの環境ストレスにより生成した変性タンパク質を除去する機構を持つ。Lon プロテアーゼは微生物や動物で変性タンパク質の分解に関わっているが植物での機能は明らかではない。そこで本研究では、葉緑体において変性タンパク質の分解に関与すると考えられる Lon プロテアーゼの生理的役割を解明するために、組換え酵素を作製しそれらの酵素学的性質を解析した。

【方法・結果】シロイヌナズナのゲノムには 11 種の Lon プロテアーゼがコードされており、その中で植物に特有で葉緑体局在が予想される 4 種の Lon プロテアーゼ AtLon7,8,10,11 の遺伝子をクローニングし、大腸菌で発現させ、組換えタンパク質を精製した。BSA や casein を基質として酵素学的性質を調べた結果、至適温度は 37℃で、25℃以下では活性を示さなかった。また、pH 8~10 で高い活性を示し pH 6 以下では活性を示さなかった。動物や微生物の Lon プロテアーゼ活性が ATP 依存性であるのに対し、4 種の AtLon とも ATP 依存性を示さなかった。以上の結果からこれらの Lon プロテアーゼは、高温ストレスを受けた植物体中のエネルギーを必要としないタンパク質分解に関わっている可能性が考えられた。

1-21 葉緑体由来の酸化的シグナリングに関与する転写因子の同定および機能解析
○野志昌弘¹, 問田英里¹, 岡本 泰¹, 田茂井政宏¹, 丸田隆典², 吉村和也³,
高木 優^{4,5}, 石川孝博², 重岡 成¹ (¹近畿大・農, ²島根大・生資料, ³中部大・
応生, ⁴産総研・生物プロセス, ⁵埼玉大・環境科学)

【目的】これまでに我々は、チラコイド膜結合型アスコルビン酸ペルオキシダーゼの誘導抑制系を用いて、葉緑体由来の H₂O₂ がシグナルとしてストレス応答に重要であることを明らかにしてきた。そこで、このシグナル伝達の分子機構の解明を目的とし、葉緑体 H₂O₂ 応答性遺伝子群の変異株ラインからストレス感受性変異株を選抜し、原因遺伝子の機能解析を試みた。

【結果】上述の変異株ラインをパラコートおよびエリシター (flg22) 添加培地で生育させ、8 つの酸化的ストレス高感受性変異株 (pss), 9 つの非感受性変異株 (pss), さらに 1 つの flg22 高感受性株 (fs) を選抜した。各変異株の表現型や原因遺伝子の発現解析などにより、FS1 転写因子はサリチル酸非依存的な病原菌応答に関与していること、さらに PSS9 転写因子による鉄代謝制御が酸化的ストレス応答に重要な役割を持つことを明らかにした。

1-22 ホメオドメインロイシンジッパー (HAT1) 転写因子を介したストレス応答機構
○大和 開¹, 問田英里², 野志昌弘², 野坂亮太², 田茂井政宏², 吉村和也³,
高木 優^{4,5}, 丸田隆典¹, 澤 嘉弘¹, 石川孝博¹, 重岡 成² (¹島根大・生資科,
²近畿大・農, ³中部大・応生, ⁴産総研・生物プロセス, ⁵埼玉大・環境科学)

【目的】葉緑体由来の H₂O₂ はシグナルとしてストレスおよびホルモン応答に重要な機能を有する。最近我々は、葉緑体 H₂O₂ 応答性遺伝子群の包括的な逆遺伝学解析を試み、ホメオドメインロイシンジッパー (HAT1) 転写因子の重要性が示唆された。そこで、本転写因子のストレス応答における役割について解析した。

【結果】HAT1 の欠損株はパラコートに対して高感受性を示したが、優性抑制株は非感受性を示した。よって、HAT1 は転写抑制因子であることが示唆された。HAT1 は細胞質と核の両方に局在し、HAT1 の発現は葉緑体由来の H₂O₂ によって顕著に抑制された。マイクロアレイ解析の結果、HAT1 欠損株では複数のストレス応答性遺伝子の発現が上昇していることが分かり、本転写因子はストレス応答のリプレッサーとして働く可能性が示唆された。現在、優性抑制株を用いたマイクロアレイ解析を進めている。

1-23 オオムギ由来 Nudix hydrolase 遺伝子のストレス応答解析
○田中小百合¹, 木原 誠², 杉本 学¹ (¹岡山大・植物研, ²サッポロビール)

【目的】植物は、紫外線、高濃度塩類、乾燥等の環境ストレス下で、TCA サイクルやアミノ酸代謝の阻害、DNA 螺旋構造の崩壊といった傷害を生じる。Nudix hydrolase は植物の代謝制御や酸化ヌクレオチド修復能を有する酵素の一つであり、環境ストレス下の植物で重要な役割を担う。我々は、これまでにオオムギに 14 種類の Nudix hydrolase 遺伝子が存在し、紫外線の波長 (UV-A, -B, -C) により応答性が異なることを明らかにした。本研究では、オオムギ由来 Nudix hydrolase 遺伝子の環境ストレスに対する応答を明らかにする目的で、各ストレスに対する発現量について検討した。

【方法・結果】オオムギ幼芽にストレス処理 (UV-C, 塩, 乾燥, ABA, SA) を行い、0, 2, 12, 24 時間後の発現量を半定量的 RT-PCR 法により解析した。24 時間後、UV-C で HvNUDT3, -6, -7 が 1.5, 1.8, 5.4 倍、塩で HvNUDT1, -3, -4, -5, -6, -7, -13, -14 が 4.5, 1.6, 1.7, 1.5, 1.5, 1.8, 1.6, 1.6 倍、乾燥で、HvNUDT2, -3, -6, -7, -11, -12, が 1.5, 20.3, 11.1, 3.5, 1.7, 1.9 倍、ABA で HvNUDT1, -6, が 4.2, 1.7 倍、SA で HvNUDT3 が 2.6 倍発現誘導された。

1-24 イネ種子プロテインボディタイプ I (PB-I) に蓄積するプロラミン分子種間の相互作用の解析
○佐生 愛¹, 重光隆成¹, 森田重人^{1,2}, 佐藤 茂^{1,2}, 増村威宏^{1,2}
(¹京都府大院・生命環境, ²京都農技セ・生資セ)

イネ種子貯蔵タンパク質の一種であるプロラミンは ER 内で凝集し、プロテインボディタイプ I (PB-I) を形成する。プロラミンは多重遺伝子ファミリーを形成しており、大きくは 10 kDa, 13a, 13b および 16 kDa プロラミン分子種に分類される。PB-I 形成には、プロラミン同士のシステイン残基を介したジスルフィド結合や疎水性相互作用が重要であると考えられており、これまでに分子レベルでの解析を試みてきたが、未解明な部分が残っている。

そこで本研究では、PB-I 形成において主要なプロラミン分子種のうち 2 種類 (13a と 13b, 13a と 10 kDa, 10 kDa と 13b) をそれぞれ同時に発現するイネカルスおよび酵母の系を用いて、プロラミン分子種の局在性について形態学的解析を行った。また、種子中における各プロラミン分子種の相互作用について共免疫沈降法を用いた解析を行った。

1-25 炭素分配による側枝形成の制御機構

○田茂井政宏^{1,2}, 大鳥久美^{1,2}, Daniel Padilla-Chacon^{1,2}, 田部記章^{1,2}, 重岡 成^{1,2}
(¹近畿大・農, ²JST・CREST)

ショ糖生成系を強化した形質転換タバコは、高 CO₂ 環境下では野生株と比べて糖代謝物量が変化し、側枝数、葉数が増加することを明らかにした。そこで、炭素分配の変化による側枝形成の制御機構を分子レベルで明らかにするために、ラン藻由来 FBPase-II を細胞質で発現させたシロイヌナズナ(AcF)を用いて、形態形成に関わる植物ホルモン関連遺伝子群の発現解析を行った。その結果、AcF 株では野生株と比較して側枝形成抑制ホルモンであるストリゴラクトンの合成遺伝子 (*MAX2*, *MAX4*) および応答遺伝子 (*BRC1*) が減少していた。これらの遺伝子発現は、シロイヌナズナ野生株にショ糖、グルコース、フルクトース処理を行った場合も AcF 株と同様の応答が認められた。さらに、AcF 株では野生株と比較して糖シグナリング関連遺伝子 (*STP1*, *HXK1*, *cFBP*, *cWINV6*) の発現量が変化していた。これらの結果から、ショ糖、グルコース、フルクトース量のバランスの変化が糖シグナリング関連遺伝子の発現を介してストリゴラクトン合成遺伝子発現を調節し、側枝形成を制御することが示唆された。

1-26 E3 リガーゼ NOPPERABO1 はゼニゴケ気室形成を正に制御する

○石崎公庸¹, 水谷未耶², 嶋村正樹³, 増田晃秀², 西浜竜一², 河内孝之²
(¹神戸大・理, ²京大院・生命, ³広島大・理)

【目的】植物は、呼吸や光合成のためのガス交換に重要な組織構造、細胞間隙を形成する。しかしながらその発生の分子機構についてはほとんど知見がない。ゼニゴケは葉状体の背面に離生細胞間隙をもつ気室という器官を形成する。本研究では、離生細胞間隙形成の分子メカニズムの解明を目指し、ゼニゴケの気室形成機構に着目して解析した。

【方法・結果】T-DNA タグging法により得られた約 1 万株の形質転換株の中から気室形成欠損株 *nopperabo1* (*nop1*) を単離した。組織切片の詳細な観察により *nop1* では、気室発生の初期段階である離生細胞間隙形成に異常があることが明らかとなった。TAIL-PCR 法による T-DNA タグ隣接配列の取得および相補実験から気室形成異常株 *nop1* の原因遺伝子 NOPPERABO1 (*NOP1*) を同定した。生化学的解析から *NOP1* は細胞膜に局在する PUB-ARM タイプの E3 リガーゼをコードすることが明らかとなった。*NOP1* タンパク質が関わる離生細胞間隙形成の制御メカニズムについて考察する。

1-27 蛍光オーキシシンによるオーキシシン分布の可視化

○中村昌一¹, 福永紫穂¹, 古谷将彦², 野崎 浩¹, 青山卓史³, 林謙一郎¹
(¹岡山理大・理, ²奈良先端大・バイオサイエンス, ³京大・化学研究所)

オーキシシンによる正常な植物の分化・成長の制御にとって、オーキシシンの極性輸送によるオーキシシンの濃度勾配の形成は重要である。一方、最近明らかになったオーキシシン生合成経路の知見から、トリプトファンからインドール 3-ピルビン酸を経てオーキシシンを生合成する経路が、オーキシシンの濃度勾配の形成に重要な役割を果たすと考えられた。すなわち、オーキシシンの濃度勾配の形成には、オーキシシン極性輸送だけではなく、局所的なオーキシシン生合成も大きく関与することが示唆された。

これまでオーキシシン濃度分布は、オーキシシン応答性 GFP レポーター遺伝子の発現応答に基づいて可視化されてきた。しかしながら、GFP レポーター系によるオーキシシンの可視化は、輸送や生合成・代謝などを合わせた内生オーキシシン量の動態であり、輸送と合成に由来するオーキシシンをそれぞれ分離して観察することは不可能であった。今回報告する蛍光オーキシシンアナログは、オーキシシン輸送によるオーキシシン分布を選択的に可視化することができるアナログであり、オーキシシン輸送の研究に有用な化学ツールと考えられる。

I -28 Development of R4 Dual Site Gateway Binary Vector System Driven by Any
Desirable Promoter for Plant Transformation
O Mostafa Aboulela and Tsuyoshi Nakagawa (島根大・総科セ)

We developed the R4 Dual site Gateway binary vector system to enhance the expression of any two genes in plants. This system use 6 att sequence and make it possible to link promoter and cDNA fragments in any combination. We introduced fifteen different reporters and epitope tags in our system namely; sGFP, GUS, LUC, EYFP, ECFP, G3GFP, mRFP, tag RFP, 6xHis, FLAG, 3HA, 4xMyc, 10xMyc, GST and T7 for fusion with cDNA. The efficiency of the R4 Dual site Gateway binary vectors has been assessed using transformation of different combinations of promoter1- ORF1-reporter1 + promoter2- ORF2-reporter2 in *Arabidopsis thaliana* plants. Finally we believe that the new developed R4 Dual site Gateway binary vector system can contribute to more efficient plant transformation technologies and to extra production of genetically modified transgenic plants and that should accelerate plant research.

I -29 シンビジウムへの CyNAC3 遺伝子導入
O 山本剣輔¹, 宮本 拓¹, 三田 悟², 新美善行¹
(¹ 県立広島大・生命環境, ² 静岡大・遺伝子)

【目的】シンビジウムは、高温下で花序が枯死する花飛びを引き起こす。現在、花飛びを起こす際に NAC 遺伝子ファミリーに属する *CyNAC1* 遺伝子の過剰発現が明らかとなっている。本研究では *CyNAC1* 遺伝子の過剰発現を抑制するために、*CyNAC3* 遺伝子を導入し高温耐性株の作出を行った。

【方法】①遺伝子導入系の確立：以下の 3 点について検証した。選抜抗生物質濃度、*Agrobacterium* 感染時間、アセトシリンゴン(AS)の有無②ベクタープラスミドの導入：ヒートショックによる *E.coli* へのプラスミド導入後、Triparental mating 法で *Agrobacterium* への導入を行った。③プロトコーム状球体への *CyNAC3* 遺伝子導入：①での最適条件で遺伝子導入を行い PCR 法、RT-PCR 法で導入を確認した。

【結果】①最適条件：選抜にはハイグロマイシン 20 mg/L, 感染時間 120 分, 前培養, 感染, 共存培養時に AS100 μ M 添加。②PCR 法により、377 bp 付近にバンドが検出されたため導入を確認した。③二次的な PLB から再生した小植物体に対して PCR, RT-PCR を行った結果、377 bp 付近にバンドが検出された。

I -30 温帯性シンビジウムのライゾームの増殖と器官分化
O 柚園明秀, 新美善行 (県立広島大・生命環境)

【目的】温帯性シンビジウムが形成するライゾーム(根茎)は容易に分化せず、成長に長期間を要する。分化後の生育も非常に緩慢で、商業的な利用はされていない。本研究では、ライゾームの増殖と器官分化について研究を行い、材料としての効率的な調整方法・分化・育成条件等についての検討を行った。

【方法・結果】玉花蘭の無菌発芽由来のライゾームを定期的に継代培養した材料を使用し、以下 2 つの実験を行った。①光条件による増殖への影響 ②植物ホルモンによる器官分化の制御
①ライゾームは明条件で分枝を繰り返して成長するが、太さや節数が均一ではない。しかし暗条件では徒長し、節数が予測できるので供試材料に適した調整が可能となった。②器官分化では BA2 mg/L を添加した区で良好なシュートが形成され、その後 NAA0.02~0.2 mg/L を添加した区でルート形成を誘導し幼苗育成を行った。またこの過程で、一部では in vitro での開花誘導も確認された。③分化後の育成は水苔でポット育苗した。今後は玉花蘭をモデルに、効率の良い分化条件が不明な春蘭・報歳蘭で同様の実験を行う。

1-31 Colchicine を用いた倍数体および異数体 *Spathoglottis plicata* の作出 ○濱田昂希, 新美善行 (県立広島大・生命環境)

【目的】 *Spathoglottis plicata* は成長すると大型になり、花茎に対して花が小さいことが観賞用としての利用を目指すうえで大きな障害となっている。よって、Colchicine を用いて変異個体の作出を試みた。

【方法】実験 1-1. Colchicine の処理濃度, 時間の検討: 無菌発芽により得られたプロトコームを, Colchicine を含む Hyponex 液体培地で処理した。処理後 Hyponex 固形培地上で培養し, 枯死, 成長停止個体の割合を測定した。実験 1-2. 植物体の DNA 量の測定: 実験 1-1 と同様の条件で処理を行ったプロトコームから幼苗を育成し, フローサイトメーターを用いて DNA 量を測定した。実験 2. 選抜および変異形質の確認: 測定した DNA 量の結果に基づき倍数体, 異数体の個体を選抜し, 形態の変化を確認した。

【結果】実験 1-1. Colchicine の処理濃度, 時間の検討: Colchicine の処理濃度, 時間が上昇するにつれて枯死率が上昇する傾向が見られた。実験 1-2. 植物体の DNA 量の測定: 得られた幼苗からは, 4 倍体および異数体の個体を確認できた。実験 2. 選抜および変異形質の確認: 選抜した個体には, 葉幅の増大, 植物体の肥厚, 矮化の形態的变化が見られた。

1-32 *Tacca chantrieri* の増殖と馴化 ○林田知佳・新美善行 (県立広島大・生命環境)

【目的】 *Tacca chantrieri* は多年生植物で, タイのチェンマイ北部からラオス, ベトナム北部, 中国南東部に分布している。根茎にサポニン等の薬用成分を多く含有している。また, 花はコウモリのような特異な形状をし, 王室の花として保護されている。しかし, 増殖において種子発芽は極端に低く, 10%程度であり, 発芽までに時間を要する。組織培養での試みも行われているが, 増殖効率は悪い。そこで短期間での効率の良い, 増殖方法を検討した。

【方法・結果】ホルモンフリーでの未熟胚の培養でカルス形成が認められた。それからカルス経由の幼植物と共に不定胚形成が確認された。育成された幼植物を用い, 葉片及び葉柄から増殖を行った。Nitsch (1967) 培地を使用し, Cytokinin と Auxin を組み合わせ, 検討した。葉柄からは不定胚形成(BA:NAA 2 : 0.5 mg/l)や球状集塊(BA:NAA 0.1 : 0.1 mg/l)が誘導された。それらを用い, 増殖を行い, 培養後, 馴化を行った。育成した幼植物は初期には馴化が比較的容易であると思われたが, 22~24℃が維持できないと生育が思わしくなく, また加湿にしすぎると根が枯死する。

2013年度 合同広島大会 実行委員会

実行委員長：武藤徳男

実行委員：森永 力（総務），松本拓也（会計），野下俊朗（プログラム）
田井章博（シンポジウム），阪口利文（シンポジウム）
新美善行（会場），佐藤之紀（会場），長尾則男（会場）

連絡先：大会事務局

〒727-0023 広島県庄原市七塚町562番地

県立広島大学生命環境学部

TEL & FAX：0824-74-1795

公益社団法人 日本農芸化学会中四国支部

〒700-8530 岡山市北区津島中 1-1-1

岡山大学大学院環境生命科学研究科

農生命科学専攻生物機能化学講座内

支部ホームページ：<http://jsbba-cs.jp>

E-mail：nouka_chushi@okayama-u.ac.jp

2013年（平成25年）9月5日公開