

日本農芸化学会中四国支部第58回講演会

講演要旨集

日時：2021年1月23日（土）13時10分開会
オンライン開催（香川大学農学部）



日本農芸化学会中四国支部

日本農芸化学会中四国支部第58回講演会（例会）

オンライン開催（香川大学農学部）

開催日：2021年 1月23日（土）

10:30～11:30 幹事打合せ (Zoom)

11:50～12:40 支部参与会 (Zoomウェビナー)

13:10～13:35 受賞講演 (Zoom)

2020年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞

「固体材料表面と生体分子の相互作用の解析とバイオ融合マテリアル開発への応用」

池田 丈（広島大院・統合生命）

13:35～14:45 シンポジウム「2019年（Vol. 83）BBB論文賞」 (Zoom)

「Histone deacetylases in sake yeast affect fermentation characteristics」

Kazuya Tomimoto, Takeshi Akao and Hisashi Fukuda

Biosci. Biotechnol. Biochem. 2019; 83: 1498–1505

富本和也（香川県産技セ・発酵研）

「Fecal metabolite of a gnotobiotic mouse transplanted with gut microbiota from a patient with Alzheimer's disease」

Yusuke Fujii, Thuy Tien Thi Nguyen, Yuta Fujimura, Naotaka Kameya,

Shoji Nakamura, Kensuke Arakawa and Hidetoshi Morita

Biosci. Biotechnol. Biochem. 2019; 83: 2144–2152

森田英利（岡山大院・環境生命）

「Bacteria with natural chemotaxis towards methanol revealed by chemotaxis fishing technique」

Yosef Hamba Tola, Yoshiko Fujitani and Akio Tani

Biosci. Biotechnol. Biochem. 2019; 83: 2163–2171

谷 明生（岡山大・植物研）

15:00～17:35 一般講演 (A～G会場, Zoom)

一般講演 会場一覧表 (Zoom)

会場	講演番号	分類・発表部屋名
A	A1 ~ A13	微生物, 遺伝子・ゲノム
B	B1 ~ B11	微生物, 遺伝子・ゲノム, その他
C	C1 ~ C11	植物, 動物
D	D1 ~ D10	有機化学・天然物
E	E1 ~ E11	酵素・タンパク質
F	F1 ~ F10	酵素・タンパク質, 食品
G	G1 ~ G12	食品

一般講演 座長一覧表

会場	講演番号	座長
A	A1 ~ A7	田淵光昭 (香川大・農)
	A8 ~ A13	渡邊 彰 (香川大・農)
B	B1 ~ B6	櫻庭春彦 (香川大・農)
	B7 ~ B11	加藤志郎 (香川大・農)
C	C1 ~ C2	望月 進 (香川大・農)
	C3 ~ C7	古本敏夫 (香川大・農)
	C8 ~ C11	末吉紀行 (香川大・農)
D	D1 ~ D3	柳田 亮 (香川大・農)
	D4 ~ D7	佐藤正資 (香川大・農)
	D8 ~ D10	花木祐輔 (香川大・農)
E	E1 ~ E6	森本兼司 (香川大・農)
	E7 ~ E11	吉原明秀 (香川大・農)
F	F1 ~ F5	高田悟郎 (香川大・農)
	F6 ~ F10	田村啓敏 (香川大・農)
G	G1 ~ G4	川村 理 (香川大・農)
	G5 ~ G8	小川雅廣 (香川大・農)
	G9 ~ G12	合谷祥一 (香川大・農)

注意)

1. Zoomのブレイクアウトルームの機能を用いた口頭発表にて行います。各演者が共有機能を用いて発表を行います。
2. 1演題目 15:00~開始いたします。
3. 発表 9分, 質疑応答 2分, 交代 1分を目安として進行いたします。

講 演 会

プ ロ グ ラ ム

日本農芸化学会中四国支部第58回講演会（例会）

プログラム

2021年1月23日（土）

（Zoom）

◇ 2020年度日本農芸化学会農芸化学奨励賞 受賞講演

13:10～13:35

座長 水沼正樹（広島大院・統合生命）

「固体材料表面と生体分子の相互作用の解析とバイオ融合マテリアル開発への応用」

池田 丈（広島大院・統合生命）

◇ シンポジウム「2019年（Vol. 83）BBB論文賞」

13:35～14:45

座長 田淵光昭（香川大・農）

「Histone deacetylases in sake yeast affect fermentation characteristics」

Kazuya Tomimoto, Takeshi Akao and Hisashi Fukuda

Biosci. Biotechnol. Biochem. 2019; 83: 1498–1505

富本和也（香川県産技セ・発酵研）

「Fecal metabolite of a gnotobiotic mouse transplanted with gut microbiota from a patient with Alzheimer's disease」

Yusuke Fujii, Thuy Tien Thi Nguyen, Yuta Fujimura, Naotaka Kameya,

Shoji Nakamura, Kensuke Arakawa and Hidetoshi Morita

Biosci. Biotechnol. Biochem. 2019; 83: 2144–2152

森田英利（岡山大院・環境生命）

「Bacteria with natural chemotaxis towards methanol revealed by chemotaxis fishing technique」

Yosef Hamba Tola, Yoshiko Fujitani and Akio Tani

Biosci. Biotechnol. Biochem. 2019; 83: 2163–2171

谷 明生（岡山大・植物研）

◇ 一般講演プログラム

A会場「微生物, 遺伝子・ゲノム」

- A-1 15:00 細胞内での GPI アンカータンパク質の役割に関する研究
○荒木美彩子, 西井日向子¹, 船戸耕一
(広島大院・統合生命, ¹広島大・生物生産)
- A-2 15:12 ホスファチジン酸の代謝は小胞体-ゴルジ体間の双方向輸送を調節する
○李 航慶, 船戸耕一
(広島大院・統合生命)
- A-3 15:24 液胞の形態制御における MCS の役割
○山下紗夕美, 西川謙介¹, 池田敦子¹, 船戸耕一
(広島大・生物生産, ¹広島大院・生物圏)
- A-4 15:36 AVT 液胞アミノ酸トランスポーターの窒素飢餓に応答した発現調節
○佐藤明香音¹, 木村 匠², 河田 (河野) 美幸^{1,3,4}, 関藤孝之^{1,4}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・農, ³愛媛大・学術支援セ, ⁴愛媛大・プロテオセ)
- A-5 15:48 出芽酵母における液胞内塩基性アミノ酸蓄積に関与するトランスポーターの機能解析
○市村 悠¹, 大西祥太¹, 川崎祐美¹, 山本悠介¹, 関藤孝之^{1,2}, 河田美幸^{1,2,3}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・プロテオセ, ³愛媛大・学術支援セ)
- A-6 16:00 担子菌 *Coprinopsis cinerea* におけるオートファジー関連遺伝子 *Cc.atg9* の解析
○高野早矢, 麻田恭彦, 村口 元¹, 渡邊 彰
(香川大・農, ¹秋田県大・生物資源)
- A-7 16:12 YAP ファミリー転写因子 YAP4 の過剰発現は出芽酵母の乾燥耐性を向上させる
○山本智絵, 佐伯 望, 稲垣賢二, 守屋央朗
(岡山大院・環境生命)
- A-8 16:24 ヒストンバリエント H2A.Z のテロメア保護因子 Pot1 の遺伝子破壊株における機能解析
○侯 陳, 上野 勝
(広島大院・統合生命)

- A-9 16:36 アントラサイクリン系抗がん剤類似体による環状染色体を持つ分裂酵母の生育阻害
○岩谷直人, 上野 勝
(広島大院・統合生命)
- A-10 16:48 分裂酵母のロンボイドプロテアーゼファミリーRbd4 の解析
○松浦汐里, 渋谷大介, 野村勇太, 田淵光昭, 田中直孝
(香川大・農)
- A-11 17:00 分裂酵母のアグマチンによって誘導される *agm3⁺*プロモーターの解析
○石井友惟, 田中寛大, 青木克幸, 田淵光昭, 田中直孝
(香川大・農)
- A-12 17:12 分裂酵母のポリアミン生合成経路で機能するアグマチナーゼ様タンパク質 Agm3 の
解析
○田中寛大, 石田麻里絵, 青木克幸, 田淵光昭, 田中直孝
(香川大・農)
- A-13 17:24 MAP キナーゼを標的としたキウイフルーツかいよう病菌エフェクターの酵母発現系
による機能解析
○山田涼華, 佐々奈於美, 藤原祥子, 川口瑞生, 齊藤美桜, 生咲 巖¹, 秋光和也,
五味剣二, 杉田 (小西) 左江子, 濱野康平¹, 大谷 衛¹, 片岡郁雄, 田中直孝,
田淵光昭
(香川大・農, ¹香川県農試)

B会場「微生物，遺伝子・ゲノム，その他」

- B-1 15:00 酸素ガスを用いた，プラズマベースイオン注入法が *Geobacillus stearothermophilus* の芽胞に与える影響について
○梅本章矢，酒瀬川健人，日山元子，田中 武¹，角川幸治
(広工大・生命，¹広工大・工)
- B-2 15:12 *Geobacillus thermodenitrificans* K1041 の特性評価
○小山幸祐，三河由依，中川翔太，倉敷凌大¹，大城 隆，鈴木宏和
(鳥取大・工，¹鳥取大院・持社創生)
- B-3 15:24 エネルギー負荷に基づく好熱菌の耐熱性酵素選択
○吉村俊祐，三河由依¹，高田真穂¹，大城 隆¹，鈴木宏和¹
(鳥取大院・持社創生，¹鳥取大・工)
- B-4 15:36 高圧処理による清酒酵母の耐圧性と醸造特性の変化
○小椋梨花，上東治彦¹，甫木嘉朗¹，諸野祐樹²，河野佑芽，畠中菜美季，
工藤溪汰，村松久司，永田信治
(高知大・農，¹高知県・工技セ，²高知コア研)
- B-5 15:48 地域資源から単離した野生酵母の醸造特性とその利用
○河野佑芽，甫木嘉朗¹，上東治彦¹，畠中菜美季，小椋梨花，門田雅人，
瀬戸口信弥²，武田廣一³，村松久司，永田信治
(高知大・農，¹高知県・工技セ，²TOSACO，³希望の海)
- B-6 16:00 スリーブ状胃切除術が日本人肥満患者の口内・胃内・腸内細菌叢に与える影響
○細木祐紀，江口 潤¹，高橋寛子¹，荒川健佑，森田英利，和田 淳¹
(岡山大院・環境生命，¹岡山大院・医歯薬)
- B-7 16:12 *Zymomonas mobilis* CP4 由来高温適応株におけるさまざまなストレス耐性と変異の関係性
○久我昂史¹，加藤 舜¹，白丸優貴²，村田正之¹，高坂智之^{1,2,3}，山田 守^{1,2,3}
(¹山口大院・創科，²山口大・農，³山口大・中高温微研セ)
- B-8 16:24 RNA ポリメラーゼへの変異導入による核酸系抗生物質シネフンギンの増産効果
小川沙織，山本倫生，坂本 亘，金尾忠芳，根本理子，稲垣賢二，○田村 隆
(岡山大院・環境生命)

- B-9 16:36 デジタル光照射によるスジアオノリの生育促進
○藤村亮佑, 太田健志郎, 江崎聡一郎, 杉河央晨, 前田敦史, 三好真千,
谷川浩司¹, 木村祐太¹, 武田真樹¹, 松田和典¹, 箕田康一¹, 梶山博司¹
(徳島文理大・理工, ¹徳島文理大院・工)
- B-10 16:48 デジタル光によるユーグレナの生育促進
○太田健志郎, 藤村亮佑, 江崎総一郎, 前田淳史, 谷川浩司, 木村祐太¹,
松田和典¹, 梶山博司¹
(徳島文理大・理工, ¹徳島文理大院・工)
- B-11 17:00 ナガサキアゲハの蛹体色の発現調節機構に関する知見
○上野翔也, 高橋洋平, 北沢千里¹, 山中 明²
(山口大・理, ¹山口大・教育, ²山口大院・創科)

C会場「植物, 動物」

- C-1 15:00 Tissue-specific expression analysis of two genes (AtMLLR1 and AtMLLR4) carrying malectin-like domain and leucine-rich repeat proteins in *A. thaliana*
○Md. Firose Hossain, Takushi Hachiya, Tsuyoshi Nakagawa
(Int. Cent. Sci. Res., Shimane Univ.)
- C-2 15:12 細胞内 IAA 濃度の恒常性は GH3 アミノ酸複合体合成酵素によって調節される
○新井一司, 青井勇輝¹, 笠原博幸^{2,3}, 福井康祐, 林 謙一郎
(岡山理大院・理, ¹農工大院・連農, ²農工大院・GIR, ³理研・CSRS)
- C-3 15:24 植物の生育と二次代謝の光制御技術の提案
○木村祐太¹, 三輪浩平¹, 太田健志郎², 藤村亮佑², 谷川浩司^{1,2}, 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)
- C-4 15:36 レタスの生育と二次代謝の光依存性
○三輪浩平¹, 木村祐太¹, 太田健志郎², 藤村亮佑², 杉河央晨², 谷川浩司^{1,2}, 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 國本 崇^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)
- C-5 15:48 シトルリン類縁体に対するスイカ幼苗の生理および代謝応答の解析
○山藤歩乃佳, 明石欣也
(鳥取大院・持社創生)
- C-6 16:00 D-allose 作用機構におけるイネ G6PDH の機能解析
○萩原 奏, 大谷夏生, 安喜絢花, 松平一志, 加野彰人, 福元健志, 大谷耕平, 吉田裕美¹, 加藤志郎, 五味剣二, 市村和也, 吉原明秀, 何森 健, 秋光和也, 望月 進
(香川大院・農, ¹香川大・医)
- C-7 16:12 希少糖生産植物ズイナの染色体倍加による形態変化
○山本 綾, 辻 則夫, 原 あかり, 福元健志, 市村和也, 何森 健, 高村武二郎, 秋光和也, 望月 進
(香川大院・農)

- C-8 16:24 スダチ果皮抽出液による表皮角化細胞の増殖・分化の制御
○西谷真美¹, 安部庄剛¹, 下田毬絵², 金岡大樹², 山崎博子², 湯浅恵造^{1,3}
(¹徳島大院・先端技術, ²松山油脂(株), ³徳島大院・社会産業理工)
- C-9 16:36 Indole-3-acetic acid leads to suppression of the expression levels of TNFalpha by AhR-independent mechanism in Caco-2 cells
○Md. Mazharul Islam Chowdhury¹, Koichi Kurata², Kana Yuasa², Yoshihito Koto², Kohji Nishimura^{1,2,3}, Hidehisa Shimizu^{1,2,3}
(¹Uni.Grad.Sch., Tottori Univ., ²Grad.Sch., and ³Inst., Shimane Univ.)
- C-10 16:48 ラットに対するミクロシスチンの低濃度曝露は結腸において MCP-1 の発現増加を導く
○古東義仁¹, 河原秀明², 蔵田航一², 吉清恵介^{1,2,3}, 杉浦則夫⁴, 清水和哉⁴, 清水英寿^{1,2,3}
(¹島根大院・自然, ²島根大・生資科, ³島根大・学術, ⁴筑波大・生環系)
- C-11 17:00 スカトールは異なる受容体を介して MAPK と NF-kappaB を活性化させる
○石井克範¹, 清水英寿^{1,2}
(¹島根大・生資科, ²島根大・学術)

D会場「有機化学・天然物」

- D-1 15:00 *Penicillium aurantiogriseum* が触媒する *Aspergillus ustus* 代謝物の新規フロイソキノリンアルカロイドへの変換反応
○山田光代, 齊藤太樹, 小川凌太, 仁戸田照彦, 神崎 浩
(岡山大院・環境生命)
- D-2 15:12 放線菌ブテノライド型シグナル伝達分子の二次代謝誘導活性
○江口雄聡, 手島愛子¹, 荒川賢治
(広島大院・統合生命, ¹広島大院・分子生命)
- D-3 15:24 ゲノム大規模欠失株を利用した網羅的二次代謝プロファイル解析
○藤田昂大, 西浦凜貴斗¹, Amirudin Akhmad Fauzi¹, Yosi Nindita¹, 荒川賢治
(広島大院・統合生命, ¹広島大院・分子生命)
- D-4 15:36 O-マンノシルグリカン部分構造, Xyl-GlcA 繰返し四糖の合成
○田村敬裕, 大村優華¹, 田村純一
(鳥取大院・連農, ¹鳥取大院・農)
- D-5 15:48 ナイセリア属 LOS の中性コア 3 糖の合成
○富樫佳祐, 後久保春花¹, 尾川周平², 眞鍋史乃^{2,3}, 一柳 剛¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農, ²星薬科大, ³東北大院・薬)
- D-6 16:00 非天然型リン酸化単糖誘導体の合成と生物活性評価
○金川優樹, 柳田 亮¹, 川浪康弘¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- D-7 16:12 希少アルドヘキソース誘導体のがん細胞増殖抑制活性の評価
○北口菜摘, 柳田 亮¹, 川浪康弘¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- D-8 16:24 希少糖 D-プシコース処理線虫における NADH および NAD⁺量の変動
○山野洋平, 飯田まみ, 佐藤正資
(香川大・農)

D-9 16:36 B環を除去した Aplysiatoxin 単純化アナログの合成研究

○山本剛資, 柳田 亮¹, 川浪康弘¹, 入江一浩²

(香川大院・農, ¹香川大・農, ²京大院・農)

D-10 16:48 サリチル酸を用いたアプリシアトキシン単純化アナログの合成と生物活性

○結城千晴, 岡田美砂, 関戸智紀, 川浪康弘, 柳田 亮

(香川大・農)

E会場「酵素・タンパク質」

- E-1 15:00 シリカ粒子形成タンパク質の配列に由来するシンプルな可用性タンパク質固定化タ
グの構築
○坂手勇斗, 美藤友博¹, 清水克彦², 有馬二郎¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・農, ²鳥取大・CoRE)
- E-2 15:12 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 由来のキチナーゼ ChiD 及び ExoChi の性質
○長瀬亜紀子, 東谷洸里¹, 森本智世里, 美藤友博, 清水克彦², 有馬二郎
(鳥取大・農, ¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大・地域価値創造)
- E-3 15:24 食品に含まれる抗疲労成分カルノシンの酵素定量法
○原田泰輔, 村松久司, 小杉香南子, 杉原大輝, 橋本佳怜, 加藤伸一郎,
島村智子, 永田信治
(高知大・農)
- E-4 15:36 *Burkholderia* sp. HME13 のヒダントイン-5-プロピオン酸アミドヒドロラーゼ遺伝
子の同定
○糀谷啓仁, 村松久司, 間口洸樹, 原田泰輔, 加藤伸一郎, 柏木丈拵, 金 哲史,
永田信治
(高知大・農)
- E-5 15:48 PhoD ファミリーに属するフコイダン脱硫酸化酵素の発見と分析
○倉本弥栄, 荒井良仁, 八木寿梓¹, 鈴木宏和¹, 大城 隆¹
(鳥取大院・持社創生, ¹鳥取大・工)
- E-6 16:00 高温性プロピオン酸酸化細菌が有する2つのフラボタンパク質の機能的異種発現へ
の取組み
○塩田悠介¹, 松谷峰之介², 山田 守^{1,3}, 高坂智之^{1,3}
(¹山口大・創科, ²東京農大・生資ゲノム解析セ, ³山口大・中高温微研セ)
- E-7 16:12 ゲノム編集により構築した ENGase 欠損トマトの ENGase 活性および遊離 N-グリカ
ン構造解析
○山本千晴, 前田 恵, 篠崎良仁^{1,2}, 杉本貢一¹, 江面 浩¹, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命, ¹筑波大・T-PIRC, ²農工大・グローバル)

- E-8 16:24 アミロイド繊維形成抑制に関わる糖鎖機能解析を目的としたシアル酸含有 O-グリカンの多量精製
○中野海藍¹, 杉本 楓¹, 竹内良太², 前田 恵^{1,2}, 木村吉伸^{1,2}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命)
- E-9 16:36 ゲノム編集による酸性ペプチド: N-グリカナーゼ (aPNGase)完全欠損トマトの構築と aPNGase 活性測定系の改良
○井口夢香¹, 山本千晴², 前田 恵^{1,2}, 篠崎良仁^{3,4}, 杉本貢一³, 江面 浩³, 木村吉伸^{1,2}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命, ³筑波大・T-PIRC, ⁴農工大・グローバル)
- E-10 16:48 超好熱菌由来色素依存性 D-乳酸脱水素酵素の X 線結晶構造解析
○林 順司, 大志田達也¹, 川上竜巳, 里村武範², 若山 守³, 大島敏久⁴, 櫻庭春彦⁵
(徳島大・生物資源, ¹高エネ研・物質構造, ²福井大・工, ³立命大・生命, ⁴大阪工大・工, ⁵香川大・農)
- E-11 17:00 *Bacillus* sp. YN14 を用いたガラクトールからの L-タガトース生産
○野島嘉人, 鈴木琢磨¹, 森本兼司
(香川大院・農, ¹愛媛大院・連農)

F会場「酵素・タンパク質，食品」

- F-1 15:00 ヒザラガイの磁鉄鉱菌に特異的な新奇タンパク質 RTMP1 の機能解析
○檜原優佳，田村 隆，稲垣賢二，守屋央朗，根本理子
(岡山大院・環境生命)
- F-2 15:12 ヒザラガイ類のトランスクリプトーム比較による磁鉄鉱形成関連因子の探索
○岡田航輝，伊藤孝祐，田村 隆，稲垣賢二，守屋央朗，David Kisailus¹，
大越健嗣²，小布施祈織，根本理子
(岡山大院・環境生命，¹カリフォルニア大・リバーサイド，²東邦大・理)
- F-3 15:24 *N*-ミリスチル化タンパク質結合因子 UNC119A と二重アシル化タンパク質との相
互作用の解析
○岩本奈津子，守屋康子，内海俊彦
(山口大院・創科)
- F-4 15:36 アポトーシス過程で *N*-ミリスチル化タンパク質 DCUN1D3 及び STBD1 に生ずる
カスパーゼ切断に関する研究
○西上美里，吉川祐希，守屋康子，内海俊彦
(山口大院・創科)
- F-5 15:48 キノヘムプロテイン・アミン脱水素酵素オペロンの近傍遺伝子 *Pden_1710* の役割の
解析
○宮城尚弥¹，中井忠志^{1,2}
(¹広工大院・生命機能，²広工大・生命)
- F-6 16:00 タデアイ葉由来フラボノイドの潰瘍性大腸炎モデルマウスでの抗炎症作用
○木村英人，徳山翔太，平林 侑，石原朋恵，地阪光生¹，横田一成^{1,2}
(寿製菓(株)，¹島根大・生資科，²鳥取大院・連農)
- F-7 16:12 味認識装置，及び GC×GC-TOFMS を用いたピーマンの風味解析
○大塚祐季，森 大地，松本直也，島村智子，柏木丈広
(高知大・農)
- F-8 16:24 抗アレルギー特性を有する火落乳酸菌の探索
○尾原 英，鈴木卓弥，山本祥也
(広島大院・統合生命)

- F-9 16:36 ピーナッツアレルギー発症に関わる Ara h1 の N 末端ドメインの重要性
○石橋里菜¹, Asaduzzaman Md², 松井照明³, 高里良宏³, 伊藤浩明³,
木村吉伸^{1,2}, 前田 恵^{1,2}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命, ³あいち小児医療総合セ・免疫)
- F-10 16:48 ビタミン B₁₂ 添加はアミロイド β を発現した線虫 (*Caenorhabditis elegans*) の麻痺を
緩和する
○Andra Arif¹, 谷川尚子², 美藤友博^{1,2}, 渡邊文雄^{1,2}, 藪田行哲^{1,2}
(¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大・農)

G会場「食品」

- G-1 15:00 ビタミン B₁₂ 欠乏が線虫(*C. elegans*)の産卵機能に及ぼす影響
○山本 葵, 藪田行哲, 渡邊文雄, 美藤友博
(鳥取大・農)
- G-2 15:12 植物 N-グリカンの腸内細菌増殖活性解析に向けた食用種子からの糖鎖多量調製
○荒木作彩¹, 前田 恵^{1,2}, 山本 勇³, 木村万里子³, 木村吉伸^{1,2}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命, ³神戸女子大院・食物栄養)
- G-3 15:24 さつま砂糖漬け由来酵母がさつま砂糖漬けの品質に及ぼす影響
○福田 翼, 小林聡子, 横山文二, 辰野竜平, 古下 学
(水大校・食品科学)
- G-4 15:36 オリーブ葉抽出液が線維芽細胞のコラーゲンと抗酸化物質に与える影響
○岩部璃音, 野崎智絵, 小川雅廣¹
(香川大院・農, ¹香川大・農)
- G-5 15:48 鰹節由来ジペプチジルペプチダーゼ IV 阻害ペプチドと糖負荷血糖上昇抑制試験
○関 英治, 山根拓也¹, 薩 秀夫², 大久保岩男³
(ヤマキ (株), ¹大阪府大院・生環科, ²前工大院・工, ³三笠総合病院)
- G-6 16:00 科学的分析による各種ナスの特徴の可視化
○森 大地, 大塚祐季, 松本直也, 柏木丈拵, 島村智子
(高知大・農)
- G-7 16:12 ヤギ乳の品質に対する酒粕添加飼料の影響
○川原里穂, 川添建太郎^{1,2}, 富 裕孝³, 柏木丈拵, 島村智子
(高知大・農, ¹川添ヤギ牧場, ²広島大院・統合生命, ³高知大・地域セ)
- G-8 16:24 リンゴポリフェノールによるタンパク質ニトロ化の抑制作用
○江木琴美, Li Kexin, 中村俊之, 加藤陽二¹, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹兵庫県大・環境人間)
- G-9 16:36 低温ボールミル処理による殻付きエビの殻の機械的分離
○林 釗羽, 川井清司, 羽倉義雄
(広島大院・統合生命)

G-10 16:48 熱帯の天然油脂結晶化に及ぼす超音波印加効果の影響

○和田拓也, 上野 聡, Sopark Sonwai¹

(広島大院・統合生命, ¹Silpakorn Univ.)

G-11 17:00 テンパリングおよびせん断応力下における乳脂添加がココアバターの結晶化に及ぼす影響

○上田駿介, 上野 聡

(広島大院・統合生命)

G-12 17:12 固体脂代替食用オレオゲルの物性およびその安定性の評価

○松田瑛華, 上野 聡¹

(広島大・生物生産, ¹広島大院・統合生命)

受 賞 講 演

講 演 要 旨

固体材料表面と生体分子の相互作用の解析とバイオ融合マテリアル開発への応用

池田 丈（広島大院・統合生命）

酵素の触媒作用や抗体の結合特異性に代表されるタンパク質の優れた機能を人工材料やデバイスとうまく組み合わせることができれば、互いの特性を活かしたバイオ融合マテリアルの開発が可能となるが、そのためには失活しやすい生体高分子であるタンパク質と、基材となる固体材料という異種材料間の相互作用を適切に制御する必要がある。本発表では、ケイ素材料ならびにプラスチックを対象とした我々のこれまでの研究成果について紹介する。

1. シリカと相互作用するタンパク質を利用した半導体バイオ融合デバイス開発

ケイ素（シリコン，Si）は酸素に次いで地殻上に二番目に多く存在する元素であり、産業的にも広く利用されている。特に、単体のケイ素は主要な半導体材料であり、現在の情報化社会を支える基盤となっている。我々は、ケイ素材料とタンパク質の特性を組み合わせた融合マテリアルの構築を可能にする基盤技術の開発に取り組み、細菌由来のシリカ結合タンパク質を異種材料間の接着分子として利用する手法を以下のように開発した。

珪藻・海綿・イネなどの一部の真核生物は可溶性のケイ酸（ H_4SiO_4 ）の形でケイ素を取り込み、その重合体である固体のシリカ（ SiO_2 ）を殻や骨格などとして利用することが古くから知られている。一方、原核生物とケイ素の関わりについてはこれまでほとんど報告がなかった。ケイ酸の取り込みを指標としてケイ素を利用する細菌を探索したところ、予想よりも遥かに多くの株でケイ酸の取り込みが認められた（土壌より単離した 240 株中の約 1 割）。ケイ酸の取り込みを示した株の全てが、土壌に普遍的に存在する *Bacillus* 属細菌であることが判明した。このことから、自然界には普遍的にケイ素利用細菌が存在するが、これまで見過ごされていたと考えられた。ケイ酸取り込み量が特に多かった *B. cereus* をモデルとして解析を行った結果、本菌が孢子（芽胞）を形成する時期にケイ酸が細胞内に取り込まれ、細胞内で重合されてシリカとして孢子表面に蓄積されることを発見した。形成されたシリカは、孢子をカプセル状に覆う形で存在しており、孢子の酸耐性を向上させることも明らかとなった。孢子をシリカでコーティングすることで自身の生存率を高めるという独自の生存戦略だと考えられた。

本菌のシリカ蓄積メカニズムを解析する過程で、孢子コートタンパク質のひとつである CotB1 がシリカ形成に必須であることを明らかにした。また、本タンパク質の機能領域がシリカに対する親和性を発揮することを見出し、この配列を基に新規のシリカ結合ペプチドを開発した。本ペプチドをタグ配列として遺伝子工学的に融合することで、シリカに対する結合能を任意のタンパク質に付与することができる。半導体である単体のケイ素も表面は酸化されてシリカ被膜が形成されることから、本手法によって半導体の表面にタンパク質を固定化することもできる。本技術を利用して、実際に半導体デバイスとタンパク質を組み合わせたバイオセンサーの開発を進めており、本発表ではその成果についても紹介する。

2. プラスチック表面に対する細胞接着の制御と培養細胞解離法への応用

培養細胞の多くは、適切な培養基材に接着した状態で培養する必要があるが、代表的な細胞培養基材としてポリスチレンが広く利用されている。培養細胞を継代・回収する場合には細胞をポリスチレンから解離させる必要があるが、トリプシン処理が広く用いられているが、細胞表面のタンパク質まで分解されてしまうなどの欠点がある。我々は、アルギニンを含むリン酸緩衝液を添加するという単純な手法で、接着細胞をポリスチレンから解離できることを発見した。元々生体に存在する物質のみを用いるため、解離後の細胞には余計な酵素や化学物質が含まれないという利点がある。また、一部の細胞種は本手法によって、細胞シートとして回収できることも発見した。安価な細胞シート作製法としての利用を目指し、さらなる検討を進めている。

シ ン ポ ジ ウ ム
2019年 (Vol.83) BBB論文賞

講 演 要 旨

Histone deacetylases in sake yeast affect fermentation characteristics

富本和也 (香川県産技セ・発酵研)

ヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase, HDAC) は、ヌクレオソームを安定化させ、多くの遺伝子の転写をクロマチンレベルで抑制することが知られている。醸造酵母においても、本酵素を介した転写制御は重要と予想されるが、その研究報告はほとんどなかった。そこで清酒酵母 K701 を親株とし、*RPD3*・*HDA1*・*SIR2*・*HST1* の各ヒストン脱アセチル化酵素およびその関連遺伝子の破壊株を作製し、それらの清酒醸造特性を小仕込み試験により確認した。

一般成分の変化としては、*RPD3* 破壊株においてアルコール分が親株 K701 と比べて減少し、*HDA1* 破壊株で微増した。いずれの HDAC 遺伝子破壊株においても、酸度・アミノ酸度に顕著な変化は見られなかった。

香り成分・有機酸組成の変化としては、*RPD3*・*HDA1* のいずれかを破壊することにより、破壊株の酢酸イソアミル (バナナ・メロン様芳香物質) の濃度および E/A 比 (イソアミルアルコールが酢酸イソアミルへと酢酸エステル化される際の効率) が大幅に増加した。さらに、*RPD3* 破壊株では主に「コハク酸の増加、リンゴ酸・酢酸の減少およびイソアミルアルコール・イソブタノールの増加」が確認され、*HDA1* 破壊株では酢酸の減少が認められた。一方、*SIR2*・*HST1* 破壊により観察されたのは、酢酸の増加・リンゴ酸の減少のみであった。

以降、破壊により最も顕著に醸造特性が変化した *RPD3* に着目した。Rpd3 は多くのタンパク質と複合体を形成することから、それらの複合体関連タンパク質遺伝子の破壊株を作製し、清酒小仕込み試験を行った。その結果、酢酸イソアミルは Rpd3L 複合体関連タンパク質 (Dep1・Sds3) および Rpd3S 複合体関連タンパク質 (Rco1・Eaf3) の各単独遺伝子欠損株で増加、両複合体共通タンパク質 (Ume1) の遺伝子破壊株でさらに増加した。一方、E/A 比は Rpd3L 欠損株 (*DEP1* または *SDS3* 破壊株) では微減し、他の破壊株では増加した。酢酸イソアミル生成量・E/A 比について、Rpd3L・S 二重欠損株 (*UME1* 破壊株) でも *RPD3* 破壊株に及ばないことから、Rpd3L・S 以外のなんらかの Rpd3 複合体がこれに関与していることが示唆された。一方 *DEP1*・*SDS3* または *UME1* 破壊株 (Rpd3L 欠損株) において、*RPD3* 破壊株におけるものとほぼ同様の有機酸・イソアミルアルコール・イソブタノール量の変化が見られたことから、これらは Rpd3L の欠損が原因であることが分かった。

またリアルタイム PCR 解析によって、*RPD3*・*HDA1* 破壊株における E/A 比増加はアルコールアセチルトランスフェラーゼ *ATF1* の転写量増加に、Rpd3L 欠損各株におけるイソアミルアルコール・イソブタノール量の増加は分岐鎖アミノ酸合成関連遺伝子 *ILV2*, 3, 5 の転写量増加に、その原因があることが示唆された (両アルコールは、分岐鎖アミノ酸合成経路中間物質のデリバティブである)。

酢酸イソアミル生成量はもろみ溶存酸素濃度に影響を受け、大きく変化することが知られている。そこで、*RPD3*・*HDA1* 破壊株の酸素濃度に対する応答性を、清酒小仕込み試験におけるガス交換効率を変化させることで簡易的に調べた。その結果、K701・実験室酵母 X2180-1B ではガス交換効率低下に伴い一貫して酢酸イソアミル生成量が増加するのに対し、*RPD3*・*HDA1* 破壊株ではガス交換効率が高い条件と比べて、中程度のガス交換効率では酢酸イソアミル生成量が大きく増加する反面、それ以下のガス交換効率では酢酸イソアミル生成量は変化しなかった。このことから、*RPD3*・*HDA1* は酢酸イソアミル合成におけるもろみ溶存酸素に対する応答性に関与していることが示唆された。

Fecal metabolite of a gnotobiotic mouse transplanted with gut microbiota
from a patient with Alzheimer's disease

森田英利 (岡山大院・環境生命)

【背景と目的】後期高齢者の慢性疾患の中で、高齢になるほどその有病率が増加するのが認知症であり、その 60%以上を占めるのがアルツハイマー型認知症 (アルツハイマー病: AD) である。AD は進行性の神経変性疾患で、世界で最も罹患者数の多い神経疾患として知られているが、その有効な治療法は確立されていない。一方、ヒトの免疫細胞の 7 割以上が集まっている腸管は、宿主の健康維持や生体防御系に重要な役割を担っているだけでなく、脳との“脳腸相関 (脳-腸-細菌叢相関)”といわれるネットワークが提唱されている。腸内細菌叢は宿主の行動や疾病に影響することから、AD 患者の腸内細菌叢は AD に何らかの兆候や影響を及ぼすのではないかと考えた。本研究では、AD 患者の腸内細菌叢によるヒト型モデルマウスを構築し、その AD 腸内細菌叢がマウス認知行動に及ぼす影響について検討した。

【方法】本研究は、岡山大学生命倫理審査委員会において「認知症における腸内細菌叢の関与についての検討 (研 1612-031)」として審査され、承認を得た上で実施した。健常高齢者 (14 名) および AD 患者 (13 名) の糞便から細菌 DNA を抽出・精製して MiSeq (Illumina 社) を用いて V3-V4 領域の塩基配列を得た。得られた塩基配列は QIIME (Ver. 1.9.1) を用いた UniFrac 解析により腸内細菌叢を比較した。その中からそれぞれの群の特徴を反映しておりかつ主座標分析から細菌叢が異なっている健常高齢者と AD 患者の糞便を選抜した。選抜したヒト糞便 (腸内細菌叢) を、嫌気状態を保持しながら 4 週齢の無菌マウスにそれぞれ経口投与し腸内細菌叢を移植した。ヒト糞便を投与してから 2 週間後にマウスの糞便を採取し、腸内細菌叢の定着を確認した。さらに、マウスが 10 週齢に達した時点で 5 週間ごとに糞便の採取および、マウスの認知機能を確認するため認知行動試験を行った。

【結果と考察】健常高齢者 (14 名) および AD 患者 (13 名) の糞便による網羅的な腸内細菌叢解析により、両群で腸内細菌叢が有意に異なっていることを明らかにした。その中から健常高齢者と AD 患者の 1 サンプルを選抜し、4 週齢の無菌マウスにそれぞれの腸内細菌叢を移植した。投与 2 週間後とその後 5 週間ごと糞便を採取し腸内細菌叢の定着を確認した結果、投与したヒトの腸内細菌叢をよく反映しており、その細菌叢は 70 週齢の時点でも維持されていた。このことからヒト型モデルマウスが構築されていると考えられた。マウスの認知機能を確認するために 5 週間ごとに行動試験を行った。位置認識試験は周囲の空間を認識する空間認識試験として、物体認識試験は物体の形状や色などを認識する非空間的試験を実施した。2 つの認知行動試験により、10 週齢の AD マウスと比較して 70 週齢 (位置認識試験および物体認識試験) と 75 週齢 (位置認識試験) で、認知機能の低下がみられた。健常者細菌叢を移植したマウスとの群間比較において、位置認識試験では 55 と 70 週齢で、物体認識試験では、55, 60, 65, 70 週齢で有意な認知機能の低下を確認した。次に、採取したマウス糞便および血清のメタボローム解析を実施した。糞便中の含量で有意に変化した代謝産物の中には、中枢神経系機能に関与が報告されている GABA, tryptophan や記憶および認知機能に関与が報告されている taurine, valine, tyrosine, propionic acid などがあった。血清中では、GABA 合成に関与することが知られている putrescine および神経伝達物質として知られている acetylcholine の前駆物質である betaine, choline が AD マウス群において有意に低い値を示した。以上のことから、AD 患者の腸内細菌叢は、腸内で生成される代謝産物および、体内に吸収される代謝産物に影響を与え、認知機能低下を誘発している可能性が認められた。さらに、肝臓におけるアミロイド沈着を促進していたことから、腸内細菌叢は AD 発症に影響を与えている可能性が示唆された。

Bacteria with natural chemotaxis towards methanol revealed
by chemotaxis fishing technique

谷 明生 (岡山大・植物研)

【背景と目的】運動性のある細菌はしばしば好ましい物質の濃度が高い方へ遊走する活性, すなわち化学走性を示す。細菌は化合物認識センサー (Methyl-accepting chemotaxis proteins, MCPs) でリガンドを感知し, いくつかの Che タンパク質のシグナリングを解して鞭毛の回転方向を制御し, 直進と方向転換を繰り返して結果的に好ましい物質へと集まることが出来る。大腸菌では 5 つの MCP がアミノ酸や酸素に応答するセンサーとして同定されている。一方で, 環境細菌は多くの MCP を持つものが少なくない。たとえば植物共生・病原性細菌に限っても, *Agrobacterium* 属細菌は 20-40 個, *Rhizobium* 属細菌は 15-30 個, *Bradyrhizobium* 属細菌は 30-60 個もの MCP を持つ。これらの MCP が認識するリガンドの多くは不明であるが, アミノ酸や有機酸をリガンドとするものが同定されている。一方, *Methylobacterium* 属細菌は植物が成長過程で大量に放出しているメタノールを利用して生育し, 植物と共生する。私たちは本属細菌のランタノイド元素依存的なメタノール代謝や分離分類, メタノールへの走化性の分子メカニズムを研究しており, メタノールへの走化性を司る MCP を独自に同定している。走化性のアッセイでは, 誘引物質を含んだアガロースを充填したキャピラリーを菌体懸濁液に挿入し, 顕微鏡下でキャピラリーへの細菌細胞の集まりを定量化して, 走化性の有無や強度を測定することが一般的に行われている。このアッセイを改変すれば, 誘引物質に集まる細菌を, 特異的に自然界から分離できるのではないかと考えた。

【方法】キャピラリーの半分に誘引物質を含むアガロースを充填し, もう半分にバッファーを含むように細工した。これを *Methylobacterium* 属細菌の細菌懸濁液に浸漬すると, キャピラリーの中に移動する細胞が観察された。キャピラリーを懸濁液から回収・洗浄・破碎し, 内容物を寒天に塗布して CFU を計測することで捕獲された細胞数を求めた。一方, 植物の葉及び水田水から採取した複合細菌懸濁液でも同様に行い, メタノールを単一炭素源とする培地及び R2A 培地に試料を塗布して, 出現するコロニーを分離した。分離した細菌を MALDI-TOF/MS を用いた細胞タンパク質質量プロファイリングによって分類し, 代表分離株を 16S rRNA 遺伝子配列解析によって同定した。分離株のメタノール資化性, 運動性, 走化性について確認した。

【結果と考察】*Methylobacterium* 属細菌をモデルとして行った試験では, 単純な拡散によって菌体がキャピラリー内に侵入した場合に比べて, 平均して約 46 倍に濃縮されたことから, 化学走性により集まる細胞を特異的に濃縮して捕獲することが可能であると判断した。環境サンプルから分離した 75 株は 18 属 23 種と同定され, 多くは *Acinetobacter*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas* 細菌であった *Acinetobacter* 属分離株はいくつかの株がメタノール生育を示したが運動性はなく, 走化性も示さなかったことから, おそらく強い接着性によってキャピラリーに付着したものと考えられた。*Methylobacterium* 属細菌はメタノール生育, 走化性を示し, 環境から走化性を利用して直接分離できたと考えられた。*Pseudomonas* 属分離株のいくつかは走化性を示したが生育は示さなかった。メタノール代謝能がなくても走化性基質として利用して植物を感知するために重要なものかもしれない。以上のことから, 接着性細胞を除外すると, このような比較的単純な方法で特定の基質に対して走化性を持つ細菌を自然界から分離することは可能であると考えられた。また特定基質を認識する MCP を同定するために DNA ライブラリからその MCP を持つクローンを濃縮することも可能かもしれない。

一 般 講 演

講 演 要 旨

A-1 細胞内での GPI アンカータンパク質の役割に関する研究
○荒木美彩子, 西井日向子¹, 船戸耕一
(広島大院・統合生命, ¹広島大・生物生産)

【背景・目的】 GPI アンカーはタンパク質の C 末端に共有結合し、タンパク質を細胞膜に繋ぎ留める糖脂質である。GPI アンカー型タンパク質には受容体や酵素などの他、接着因子や免疫制御因子なども見出されており、細胞表層でのシグナル伝達を介して個体発生や神経発達、免疫機能、受精などにおいて重要な役割を果たしている。また、GPI アンカータンパク質はラフトの構成因子であることから、ラフトの構造維持においても重要な役割を担っていると推察される。ラフトは細胞膜だけでなくオルガネラ膜にも存在すると考えられるが、GPI アンカータンパク質のオルガネラにおける役割は不明である。私たちは細胞外の環境により GPI アンカータンパク質の局在が細胞膜から液胞にシフトすることを明らかにした。このことは GPI アンカータンパク質が環境変化に対応するために液胞で何らかの役割を果たす可能性を示唆している。そこで、本研究では、ラフトへの局在に重要であると推察される GPI の脂質リモデリングの異常が液胞の構造や機能に与える影響を解析した。

【結果・考察】 液胞の酸性化は液胞内の加水分解酵素や液胞膜上のアミノ酸トランスポーターが正常に機能するために重要である。そこでまず、液胞の酸性化における影響を調べたところ、GPI の脂質リモデリング異常株で液胞の酸性化は正常であることが示唆された。次に、液胞の形態を観察した。その結果、野生株と比較して異常株では液胞が断片化していることが確認された。このことから、GPI の脂質リモデリングが液胞の形態維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

A-2 ホスファチジン酸の代謝は小胞体-ゴルジ体間の双方向輸送を調節する
○李 航慶, 船戸耕一 (広島大院・統合生命)

【背景・目的】 ゴルジ体から小胞体への逆行輸送は誤って運ばれたタンパク質を小胞体に回収するためだけでなく、小胞体の膜の保全においても重要な役割を果たしている。タンパク質の分泌過程において小胞体で形成された COPII 小胞はゴルジ体へ順行輸送されるが、ゴルジ体が肥大化したり小胞体が無くなったりはしない。これは、小胞体とゴルジ体間での輸送が厳密に調節されているためであり、順行輸送と逆行輸送が相互に緊密に協調しながら機能しているからである。実際、*SEC21, 26, 27, 28* は小胞体から細胞膜への順行輸送、いわゆる分泌に異常を示す変異株から同定された遺伝子であるが、それらの変異株は同時に小胞体への逆行輸送にも異常を示す。これは、小胞体とゴルジ体の間での双方向に向かう小胞輸送が互いに協調する関係にあることを示唆しており、おそらく順行輸送と逆行輸送の間に何らかの共通のメカニズムが存在していることが考えられる。最近、我々は、COPII 小胞の形成がホスファチジン酸 (PA) によって負に調節されていることを明らかにした。本研究では、ゴルジ体から出芽する COPI 小胞の形成に異常を示す変異株を用いて逆行輸送における脂質の役割について解析した。

【結果・考察】 その結果、逆行輸送はジアシルグリセロール (DAG) によって正に調節されていることが示唆された。これらのことから、PA の DAG への代謝は小胞体-ゴルジ体間の双方向輸送を調節していると考えられる。

A-3 液胞の形態制御における MCS の役割
○山下紗夕美, 西川謙介¹, 池田敦子¹, 船戸耕一
(広島大・生物生産,¹広島大院・生物圏)

真核細胞のオルガネラは膜同士が接触する領域(membrane contact site ; MCS)を介して相互に作用し合いながら協調的に機能している。当研究室のこれまでの研究から、MCS 形成に関与するトリカルピン(Tcb1, Tcb2, Tcb3)の欠損により液胞の断片化が促進されることがわかった。そこで本研究では、MCS による液胞形態制御メカニズムの解明を目的とした。トリカルピン欠損株に人工的な MCS を形成させたところ、小胞体-細胞膜および小胞体-ゴルジ体の人工的な MCS 形成によって液胞の断片化が抑圧された。トリカルピンは MCS を介した小胞体からゴルジ体へのセラミド輸送に重要な役割を持ち、トリカルピンの欠損はセラミドの前駆体であるフィトスフィンゴシン(PHS)の蓄積を引き起こす。PHS の蓄積が液胞断片化の原因である可能性を調べるために、野生株に PHS を添加したところ液胞の断片化が促進された。また、PHS をセラミドに変換する酵素である Lag1 の欠損株における PHS の添加は野生株と比べて液胞の断片化が促進されたことから、PHS から変換されたセラミドではなく PHS 自身が液胞断片化を引き起こす因子であることが示唆された。そこで、PHS を細胞外に排出するタンパク質 Rsb1 をトリカルピン欠損株に過剰発現させたところ、液胞の断片化が抑圧された。さらに、小胞体-液胞間の MCS である Nuclear Vacuole Junction(NVJ)を欠失した株では、PHS の添加による液胞の断片化は起こらなかった。つまり、小胞体に蓄積した PHS は NVJ を介して液胞に輸送され、液胞の断片化を引き起こしていると考えられる。以上のことから、MCS を介した脂質の運搬が液胞の形態制御に重要であることが示唆された。

A-4 AVT 液胞アミノ酸トランスポーターの窒素飢餓に応答した発現調節
○佐藤明香音¹, 木村 匠², 河田(河野)美幸^{1,3,4}, 関藤孝之^{1,4}
(¹愛媛大院・農,²愛媛大・農,³愛媛大・学術支援セ,⁴愛媛大・プロテオセ)

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の液胞には、栄養豊富条件で細胞全体の約 50%のアミノ酸が存在する。一方で、窒素飢餓条件では、これらのアミノ酸がオートファジーにより生成したアミノ酸と共にサイトゾルへと排出される。このような液胞内アミノ酸プールの変動には、栄養条件に応答した液胞アミノ酸トランスポーターの活性調節が寄与すると考えられる。液胞アミノ酸トランスポーターをコードする AVT ファミリー中の *AVT1*, *AVT3*, *AVT4*, *AVT6*, *AVT7* のうち、*AVT1*, *AVT4*, および *AVT7* の転写は GATA 転写因子 Gln3 と Gat1 に依存することがマイクロアレイ解析により示唆されている。GATA 転写因子は、窒素源に応答したアミノ酸代謝調節に中心的な役割を果たす。我々は、リアルタイム定量 PCR (qPCR) によってマイクロアレイ解析と一致した結果を得たとともに、中性アミノ酸と塩基性アミノ酸を排出する *Avt4* タンパク質の細胞内レベルが、窒素飢餓条件において GATA 転写因子に依存して増加することを確認した。さらに、*AVT4* プロモーター中に見出された 4 つの GATA 転写因子結合配列への変異導入により *Avt4* の発現が減少し、クロマチン免疫沈降実験により、Gat1 が *AVT4* プロモーターに直接結合することが示された。加えて、*AVT1*, *AVT6* についてもクロマチン免疫沈降実験を行い、GATA 転写因子が *AVT1*, そして新たに *AVT6* を直接転写することが示唆された。これらの結果は、液胞膜を介したアミノ酸輸送が広く GATA 転写因子の制御下にあり、液胞が栄養状態に応じて細胞内のアミノ酸レベルを適切に維持する上で重要な役割を果たすことを強く示唆する。

A-5 出芽酵母における液胞内塩基性アミノ酸蓄積に関するトランスポーターの機能解析

○市村 悠¹, 大西祥太¹, 川崎祐美¹, 山本悠介¹, 関藤孝之^{1,2}, 河田美幸^{1,2,3}
(¹愛媛大院・農, ²愛媛大・プロテオセ, ³愛媛大・学術支援セ)

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は、栄養豊富条件において細胞全体の塩基性アミノ酸のうち約70~90%を液胞内に蓄積する。当研究室では液胞への塩基性アミノ酸の取込みに機能するトランスポーターを複数同定してきた。しかし、これら遺伝子の多重破壊株においても液胞に塩基性アミノ酸が蓄積されるため、未知のトランスポーターの存在が示唆されていた。Ygr125w は液胞膜のプロテオーム解析(Wiederhold E., et al., *Mol. Cell. Proteomics*, 2009)によって同定された、機能未知の液胞膜タンパク質である。栄養豊富条件において培養した細胞の液胞内アミノ酸含量を測定したところ、*YGR125W* 遺伝子破壊により Lys, His, Arg が顕著に減少し、これは本遺伝子発現プラスミドの導入によりほぼ完全に回復した。最近 Ygr125w が塩基性アミノ酸の液胞貯蔵に関与することが報告され、Vsb1 と命名された(Cools M., et al., *PLOS Genetics*, 2020)。本研究では、Ygr125w/Vsb1 による塩基性アミノ酸取込み活性およびその生理的役割について検討した。*HA³-VSB1* 過剰発現株から単離した液胞膜小胞において ATP 存在下で Arg の有意な取込み活性が検出され、この活性は脱共役剤である CCCP 添加により顕著に抑制された。以上の結果は、Vsb1 がプロトン濃度勾配に依存した Arg 取込みに関与し、液胞への塩基性アミノ酸の蓄積に寄与することを示唆する。

A-6 担子菌 *Coprinopsis cinerea* におけるオートファジー関連遺伝子 *Cc.atg9* の解析

○高野早矢, 麻田恭彦, 村口 元¹, 渡邊 彰
(香川大・農, ¹秋田県大・生物資源)

【目的】担子菌は、外的環境の変化によって栄養生長から生殖生長へとその形態を劇的に変化させるユニークな生命現象を示す。一方、オートファジーは、真核生物における細胞内のバルクな分解過程であり、近年、様々な生命現象に密接に関与することが知られてきている。本研究では、生長不全を示す担子菌 *Coprinopsis cinerea* の UV 変異株 (ゲノム配列の解析の結果、少なくともオートファジー関連タンパク質の一つである Atg9 をコードする領域の一部が欠失) を対象に、*Cc.atg9* の導入を行い、その機能について検討することを目的とした。

【方法・結果】*C. cinerea* (UV 変異株の親株) より *Cc.atg9* のゲノム DNA を取得し、*C. cinerea* において *Cc.atg9* を発現させるためのベクターを構築した。構築した *Cc.atg9* 発現ベクターの UV 変異株への導入は、本研究に使用した *C. cinerea* が *p*-Aminobenzoic Acid (PABA) 要求性を示すことから、ポリエチレングリコール法を用いる PABA 要求性解除ベクターとの共形質転換により行った。共形質転換後、得られた PABA 要求性解除株に対して *Cc.atg9* の導入の確認を行い、導入が確認された株を用いて解析を行った。その結果、*Cc.atg9* 導入株は、菌糸生長、気中菌糸の発達、および子実体の形成において、UV 変異株に見られた生長不全を回復する傾向にあることが観察された。現在、*Cc.atg9* 導入株が示す表現型についてさらに解析を進めている。

A-7 YAPファミリー転写因子 YAP4 の過剰発現は出芽酵母の乾燥耐性を向上させる
○山本智絵, 佐伯 望, 稲垣賢二, 守屋央朗 (岡山大院・環境生命)

【目的】出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) は、極度の乾燥下でも生存率を維持できる乾燥耐性をもっている。酵母の乾燥耐性にはトレハロースやヒドロフィリンタンパク質が関与していることが知られているが、そのメカニズムには未知な点が多い。本研究は、酵母の各遺伝子を過剰発現する gTOW6000 ライブラリーを用いて、過剰発現で乾燥耐性を向上させる遺伝子を体系的に同定しその機能を解析することで、酵母の乾燥耐性のメカニズムを解明することを目的とした。

【方法】gTOW6000 ライブラリーを混合培養した酵母細胞集団をデシケーター内で約 1 週間乾燥条件に置き再び培養するという操作を 5 回繰り返して、乾燥耐性をもつ酵母株を濃縮した。次に、この酵母株が保持しているプラスミドの塩基配列をナノポアシーケンサーで決定し、過剰発現が乾燥耐性を向上させる遺伝子の候補を同定した。候補遺伝子の過剰発現株の乾燥耐性については、フィルタープレートを用いた乾燥・生残アッセイにより検証した。

【結果・考察】過剰発現により乾燥耐性を向上させる遺伝子の候補として YAP4 が同定された。乾燥・生残アッセイの結果、YAP4 過剰発現株はコントロール株と比べて有意に乾燥耐性が向上することが確認された。YAP4 は YAP ファミリーの転写因子をコードしており、高浸透圧による耐ストレス遺伝子の転写誘導に関与していることが知られている。したがって、YAP4 過剰発現は耐ストレス遺伝子の転写を介して乾燥耐性を向上させていることが考えられる。現在、この仮説を検証する実験を行っている。

A-8 ヒストンバリエント H2A.Z のテロメア保護因子 Pot1 の遺伝子破壊株における機能解析
○侯 陳, 上野 勝 (広島大院・統合生命)

【目的】加齢などによりテロメアが短くなると、DNA ダメージとして認識され、ゲノム不安定性と癌を防ぐため細胞が老化する。しかし、テロメアが維持されると細胞が生き残る。ほとんどの癌細胞ではテロメラーゼの活性化や DNA 組換えによってテロメアが維持されている。テロメアが十分に短くなった時に機能する因子が解明できれば、がんの予防につながることを期待できる。当研究室では、分裂酵母を用いて、テロメアが短くなった時に機能する因子について研究を行っており、テロメラーゼ遺伝子 *trl1* とヒストンバリエント H2A.Z の遺伝子 *pht1* とが負の遺伝学的な相互作用が報告されていることから、本研究では、*pht1* に注目した。

【方法・結果】*trl1* と *pht1* の負の遺伝学的相互作用の原因として、*pht1* は短小化したテロメアの維持に必要な、環状染色体の形成あるいは維持に必要なかと仮定した。テロメア保護因子 Pot1 の遺伝子破壊株は、3 本の染色体が全て環状化した株のみ生き残るため、*pot1* が機能しないときの *pht1* 破壊の影響を解析した。その結果、*pht1* 破壊株では、線状染色体を持つ *pot1* 破壊株から *pot1* プラスミドを除去した時の生存率が減少した。また、*pot1* の機能をシャットオフできる株 (*nmt-pot1-aid*) を用いて *pht1* 破壊の影響を調べた結果、*pht1* 破壊株で *pot1* をシャットオフすると、染色体分配異常の頻度が上がることを発見した。現在、*pht1* 破壊株で *pot1* が機能なくなると染色体間での末端融合が起こりやすくなったと仮定している。それを検証するため、末端融合が起こらない *rad22* 破壊株を用いて、この仮説を検証している。

A-9 アントラサイクリン系抗がん剤類似体による環状染色体を持つ分裂酵母の生育阻害
○岩谷直人, 上野 勝 (広島大院・統合生命)

【目的】真核細胞の染色体は線状であるが、脂肪肉腫などの一部のがん細胞では、高頻度で環状化した染色体が見つっている。当研究室では、アントラサイクリン系抗がん剤の類似体が、分裂酵母の野生株(線状染色体)と比較し、*pot1*破壊株(環状染色体)の生育を大きく阻害することを発見している。しかし、その分子機構は解明されていない。そこで本研究では、このアントラサイクリン系抗がん剤の類似体が環状染色体を持つ酵母の生育を阻害する機構を解析することとした。本研究で得られる知見は、環状染色体を持ったがん細胞を選択的に死滅させる、がん治療法の開発に繋がること期待できる。

【方法・結果】本研究では、アントラサイクリン系抗がん剤類似化合物である、1-(6aminohexylamino) Anthraquinone(AHAA)を化学合成し、環状染色体を持った分裂酵母に添加した際の影響について研究した。分裂酵母は、テロメアを保護する *pot1* 発現遺伝子を欠損させ、環状染色体を持たせた株を使用した。AHAA を加えた際の *pot1* 破壊株への影響を解析するために、アントラサイクリン系抗がん剤の一種であるミトキサントロンと *pot1* 破壊株への作用を比較した。その結果、*pot1* 破壊株に対して、AHAA はミトキサントロンより大きな生育阻害を示した。また、AHAA は、ミトキサントロンと同様に、トポイソメラーゼ II を阻害している可能性が高いと考えられる。他に、細胞毒性の特性や、細胞周期への変化などを評価するために、細胞同調実験やフローサイトメトリー法などを用いて検証した。その結果、細胞分裂が正常に完了せずに複製が終わったような細胞や、隔壁を形成した細胞が過剰に見られた。

A-10 分裂酵母のロンボイドプロテアーゼファミリーRbd4 の解析
○松浦汐里, 渋谷大介, 野村勇太, 田淵光昭, 田中直孝 (香川大・農)

【目的】ロンボイドプロテアーゼファミリーは基質の膜タンパク質を切断するものと、活性中心を持たずにタンパク質の輸送や品質管理に関わるものが存在するが生理的役割や機能について不明な点が多い。分裂酵母のロンボイドプロテアーゼファミリーの Rbd4 は欠損株がトランスゴルジネットワーク領域の小胞輸送を阻害するモネンシンに感受性を持つことが明らかになっている。このことから Rbd4 は細胞内のタンパク質輸送に関与すると推定し、その機能と他タンパク質との関連について解析することを目的とした。

【方法・結果】モネンシンの感受性を持つ他の変異株との関係性を調べるために *vps* 欠損株を用いた。ゴルジ体から液胞間の輸送に障害を示す *vps* 欠損株を *rbd4⁺* で形質転換すると *vps901* 欠損株でモネンシンの感受性を抑制し、さらにコロニーブロットの実施により同菌体において、可溶性の液胞タンパク質 Cpy1 の細胞外漏出が見られなくなった。Vps901 はエンドソーム形成に関わるタンパク質であり、Ent3 や Gga21Gga22 と深く関連し、これらの欠損株はモネンシンに感受性を示す。*rbd4⁺* でこれらの欠損株を形質転換させると、特に *ent3* 欠損株でモネンシンの感受性が抑制されたことから Rbd4 はゴルジ体から液胞間のタンパク質輸送に関わることが考えられた。さらに Cpy1 と異なる輸送経路を持ち、膜タンパク質として液胞へ輸送される Cps1 に Rbd4 が関与するのかわ確認するため、Cps1 の蛍光観察を行った。しかし、*rbd4⁺* で形質転換した *vps901* 欠損株では Cps1 の輸送は正常に戻らなかった。以上のことから Rbd4 は小胞輸送、特にエンドソーム形成に関わるか、輸送されるタンパク質の選別に関わることが考えられる。

A-11 分裂酵母のアグマチンによって誘導される *agm3*⁺プロモーターの解析
○石井友惟, 田中寛大, 青木克幸, 田淵光昭, 田中直孝 (香川大・農)

【目的】 プロモーターは下流遺伝子の正・負の制御を行っており、その中でも特定の物質添加による人為的な制御が可能な誘導性プロモーターは利便性が高いツールとして認識されている。分裂酵母で発見された内因性の *agm3*⁺プロモーターは、アグマチンを添加することで誘導を可能にするプロモーターである。アグマチンはポリアミンの前駆物質であり、筋肉トレーニング用の食品サプリメントとしても知られる。本研究では *agm3*⁺プロモーターを研究や物質生産で利用することを目的に機能解析を行った。

【方法・結果】 *agm3*⁺プロモーターの下流に EGFP を導入したベクターを作成し、生育培地にアグマチンを加えた際の野生株内で発現する EGFP 量を調べた。その結果、*agm3*⁺プロモーターが、アグマチン添加後の迅速な誘導反応とアグマチン濃度による発現量の調節を可能であることを明らかにした。このことから、*agm3*⁺プロモーターは分裂酵母を用いた研究・物質生産において優良なツールとなることが示唆された。加えてプロモーター領域中に、培地中のアグマチンの有無によらず恒常的に発現を促している領域を発見した。このことより、アグマチン応答性の転写因子が、プロモーター領域のいずれかに結合し制御を行っていることが示唆された。

A-12 分裂酵母のポリアミン生合成経路で機能するアグマチナーゼ様タンパク質 *Agm3* の解析
○田中寛大, 石田麻里絵, 青木克幸, 田淵光昭, 田中直孝 (香川大・農)

【目的】 アグマチナーゼはアグマチンを加水分解し、ポリアミンであるプトレシンへと代謝する酵素である。ポリアミンへの代謝経路にはオルニチンを経由するものもあり、アグマチンを経由する経路はこの経路の代替経路とされているが詳細は不明である。また、真核微生物に関してはこれらについて解析がほとんどされておらず不明な点が多い。分裂酵母はアグマチナーゼをコードする遺伝子を 3 種類有しており、本研究ではそれぞれを *agm1*⁺, *agm2*⁺, *agm3*⁺ とした。中でも *agm3*⁺ がアグマチナーゼとしての機能を有することが示唆された。そこで、本研究では *agm3*⁺ に焦点を当て、局在と機能を明らかにすることで、ポリアミン生合成におけるアグマチン経路の存在意義を解明することを目的とした。

【方法・結果】 分裂酵母における各アグマチナーゼ破壊株の表現型を確認した所、合成培地に最終濃度が 5 mM となるようにアグマチンを添加し、pH 6.4 に調整した場合に *agm3* 破壊株でのみ著しい生育遅延が生じた。また、同条件下でのウェスタンブロッティングにより *Agm3* の発現が確認されたが、アグマチン無添加の場合には *Agm3* の発現は確認できなかった。さらに同条件下における *Agm3* の局在観察では、ゴルジ体及び液胞での局在が確認された。後の液胞分画実験後のウェスタンブロッティングにより、液胞では分解バンドのみ得られた。また、オルガネラ分画後にオルガネラ内部と膜画分に分けてウェスタンブロッティングを行った所、ゴルジ体を含む膜画分でのみ *Agm3* の発現が確認できたことから、少なくとも *Agm3* はゴルジ体で機能する膜タンパク質であることが示唆された。

A-13 MAP キナーゼを標的としたキウイフルーツかいよう病菌エフェクターの酵母発現系による機能解析 ○山田涼華, 佐々奈於美, 藤原祥子, 川口瑞生, 齊藤美桜, 生咲 巖¹, 秋光和也, 五味剣二, 杉田(小西)左江子, 濱野康平¹, 大谷 衛¹, 片岡郁雄, 田中直孝, 田淵光昭(香川大・農,¹香川県農試)

【目的】キウイフルーツかいよう病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, *Psa*)はⅢ型分泌装置と呼ばれるニードル状の構造物を介して宿主細胞中にエフェクターを直接注入し、感染を成立させる。*Psa*には病原性の異なる5系統(*Psa*1, 2, 3, 5, 6)が存在しており、特に*Psa*3系統は病原性が強いとされている。*Psa*3の持つ42個のエフェクターを *GAL1* プロモーターの制御下で酵母において過剰発現させたところ、13個のエフェクターについて酵母増殖阻害が引き起こされた。本研究では酵母増殖阻害を引き起こしたエフェクターのうちの一つである HopAI1 の機能を明らかにすることを目的としている。【方法・結果】HopAI1 は、ホスホスレオニンリアーゼ活性を有しておりシロイヌナズナの MAP キナーゼ(MAPK)である MPK3 と MPK6 を脱リン酸化することで下流のシグナル伝達を阻害することが知られている。当研究室において HopAI1 を酵母で発現させると Cell wall integrity 経路 MAPK である Slt2 が特異的に脱リン酸化されることを見出した。Slt2 の欠損は、通常状態での酵母の生育に影響を及ぼさないことから HopAI1 は、Slt2 以外にも何らかの標的を有していることが示唆された。そこで、本研究では、Slt2 以外の標的因子を探索するため、酵母の多コピープラスミドライブラリーを用いてサプレッサー遺伝子のスクリーニングを行い、HopAI1 による増殖阻害を回復する多コピーサプレッサーを複数取得した。現在、これらサプレッサー遺伝子の解析を進めることで HopAI1 の新たな標的因子の解明を試みている。

B-1 酸素ガスを用いた、プラズマベースイオン注入法が *Geobacillus stearothermophilus* の芽胞に与える影響について
○梅本章矢, 酒瀬川健人, 日山元子, 田中 武¹, 角川幸治
(広工大・生命, ¹広工大・工)

【目的】一般に食品の殺菌は加圧加熱殺菌(レトルト殺菌)といった加熱殺菌技術が用いられている。しかし、食品は加熱処理により香りや色など品質の低下を起こす可能性がある。そこで新たな殺菌技術として非加熱殺菌技術が期待されている。私達は非加熱殺菌技術の一つであるプラズマベースイオン注入(PBII)法を用いて、*Geobacillus stearothermophilus* の芽胞に対して殺菌を試みている。そこで、本研究では、*G. stearothermophilus* の芽胞に対して、プラズマ処理時間依存性及び印加電圧依存性の2つの観点から芽胞形態の変化を観察することを目的とした。

【方法】耐熱性芽胞形成細菌の *G. stearothermophilus* を TYEA 培地で 55°C・10 日間培養を行い、芽胞を形成させた。回収した芽胞を 1.0×10^8 CFU/ml に調製し、これを殺菌試料とした。その後、プラズマ殺菌装置によりプラズマ殺菌を行った。本実験では、酸素ガスを用いて、RF 出力: 20 VA, 印加電圧: -2 kV, -4 kV, -6 kV, 処理時間: 10 min, 20 min, 30 min, 40 min の条件下でプラズマ殺菌を行った。各条件下で殺菌処理をした試料は、スパッタコーティングを行った後、走査型電子顕微鏡により観察を行った。

【結果】走査型電子顕微鏡観察により、未処理の芽胞と比較して、印加電圧: -6 kV, RF 出力: 20 VA, 処理時間: 40 min のプラズマ殺菌をした際に、芽胞表面に大きな損傷を観察することができた。現在、この芽胞の損傷原因を追及するため、調査を行っている。なお、本研究は、JSPS 科研費 JP19K05903 の助成を受けたものです。

B-2 *Geobacillus thermodenitrificans* K1041 の特性評価
○小山幸祐, 三河由依, 中川翔太, 倉敷凌大¹, 大城 隆, 鈴木宏和
(鳥取大・工, ¹鳥取大院・持社創生)

【目的】我々は、*Geobacillus* 属好熱菌の応用研究を行っている。これらは、大腸菌からの接合伝達によってプラスミドを導入できるが、その効率は概して低い。また大腸菌の生育に悪影響を及ぼすような DNA 断片も導入できない。本研究では、電気穿孔法でプラスミドを導入できることが知られている *Geobacillus thermodenitrificans* K1041 に着目し、その生物学的諸性質とドラフトゲノムを解析した。さらに電気穿孔法の最適化も行った。

【方法・結果】K1041 株の生育至適温度は 60°C だった。中性もしくは弱アルカリ性で増殖し、耐塩性は見られなかった。グルコース発酵能はなかったが、硝酸塩呼吸により嫌気増殖できた。LB 培地上の 7 日間培養では、芽胞形成は見られなかった。炭素源としては、グルコースで構成されたオリゴ糖や多糖などが資化できた。ゲノム配列に基づいても、K1041 株は *G. thermodenitrificans* に分類できた。K1041 株へのプラスミド導入は、*Geobacillus* 属細菌と大腸菌をシャトルできる 5 種のプラスミドを用いて検討した。電気穿孔法は、既報を参照しながら最適化した。K1041 株のゲノム配列には、III 型および IV 型の制限修飾系遺伝子が見出された。IV 型制限系は、異種メチル化を含む DNA を切断することから、DNA メチル化能が欠失した大腸菌 (IR27 株) を用いてプラスミドを増幅し、K1041 株に導入したところ、一部のプラスミドは効率よく導入できた (10^5 cfu/ μ g)。制限修飾系遺伝子の破壊ができれば、より高い導入効率が達成できるかもしれない。

B-3 エネルギー負荷に基づく好熱菌の耐熱性酵素選択

○吉村俊祐, 三河由依¹, 高田真穂¹, 大城 隆¹, 鈴木宏和¹
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・工)

【目的】以前の研究で、枯草菌の熱不安定酵素 (PyrF_A) から耐熱化変異体 (PyrF_V) を創出した。これら酵素を産生する好熱菌 (*Geobacillus kaustophilus*) の RNAseq を行ったところ、PyrF_A 生産株では呼吸鎖が活性化しており、熱不安定酵素の産生が好熱菌にエネルギー負荷をかけることが示唆された。本研究では、PyrF_A 生産株と PyrF_V 生産株の生育特性を解析した。

【方法・結果】PyrF_A 生産株と PyrF_V 生産株を、LB 培地中で培養した。温度は 45°C~65°C とし、リアルタイムに細胞増殖をモニターした。得られた増殖曲線から、倍加時間 (DT) と、単一細胞を培養した場合の準備期間 (SCLT) を算出した。PyrF_A 生産株の DT は、PyrF_V 生産株の DT よりも、45°C 以上の幅広い温度範囲において長かった。45°C では、SCLT も有意に長かった。これは、PyrF_A 生産株の生育が PyrF_V 生産株よりも遅いことを示す。この結果を確認するために、両株を混合し、培養前と培養後で細胞存在比がどう変化するかも解析した。混合細胞から混合プラスミドを抽出し、DNA シークエンスに供することで *pyrF_A* 遺伝子をもつプラスミドと *pyrF_V* 遺伝子をもつプラスミドの比率を概算した。45°C で培養した場合、培養前の存在比が 70% 以下であった PyrF_V が、培養後には 90% 以上に優勢化されていた。60°C で培養した場合も、同様の優勢化が見られた。これは熱不安定酵素の生産が好熱菌細胞に負荷を与えたためと考えられる。この負荷は、好熱菌において耐熱性酵素が選択される進化圧として働いている可能性もある。

B-4 高圧処理による清酒酵母の耐圧性と醸造特性の変化

○小椋梨花, 上東治彦¹, 甫木嘉朗¹, 諸野祐樹², 河野佑芽, 畠中菜美季,
工藤溪汰, 村松久司, 永田信治 (高知大・農,¹高知県・工技セ,²高知コア研)

【目的】清酒の香味は、特に清酒酵母の働きに依存しており、香味に特徴がある多彩な清酒の醸造を目指して、多様な清酒酵母の育種と醸造法の開発が行われている。これまでに薬剤耐性やエタノール耐性など多様な育種法による成果が報告されているが、清酒酵母の耐圧性に着目した報告はない。そこで本研究では、清酒酵母に高圧処理を施して耐圧性が向上した酵母を育種して、その発酵特性の変化を明らかにすると共に、高濃度のエタノールや糖類などのストレス条件下での清酒酵母の生育と、各種のストレスに対する耐性能の関連性を比較し、検討することを試みた。

【方法・結果】高知県内の醸造場で活用されている清酒酵母 22 株を供試菌株として、前培養した酵母菌体と YM 培地を含む培養液を高圧処理用のパックに充填し、70 MPa, 30°C, 4 日間の高圧処理を行った。高圧処理後の菌体を、45% グルコース含有 YM 培地や 12% エタノール含有 YM 培地に植菌し、酵母の増殖を確認した後に再度、同じ条件で高圧処理を行った。この操作を繰り返した後にも生存し、耐圧性が増加したと思われる菌株と親株を同じ条件下で高圧処理し、YM 平板培地に塗布することで生菌数を計測した。その結果、耐圧性が親株より向上した菌株を 44 株選抜した。これらの耐糖性や耐エタノール性は、YM 培地中での生育を波長 660 nm の吸光度を測定することで評価した。さらに、これらの選抜株と親株を用いて総米 155 g の小仕込み試験を行い、遠心分離により得られる上槽酒の一般成分と香气成分の分析を行った。

B-5 地域資源から単離した野生酵母の醸造特性とその利用

○河野佑芽, 甫木嘉朗¹, 上東治彦¹, 畠中菜美季, 小椋梨花, 門田雅人,
瀬戸口信弥², 武田廣一³, 村松久司, 永田信治
(高知大・農,¹高知県・工技セ,²TOSACO,³希望の海)

【目的】酵母は自然界に広く存在し、その生育環境に伴って異なる性質を持つこともある。そのため分離源の異なる野生酵母は、発酵製品の風味や香りに異なる特徴を与える。これまで高知県を中心に地域資源から様々な野生酵母を単離し、その製パン特性を検討してきた。本研究では、地場資源を活用した個性ある醸造酒の開発を目的として、清酒やビール、ミード醸造などへの利用を検討した。

【方法・結果】地域資源から分離した植物由来の酵母 243 株、動物由来の酵母 13 株の計 256 株を発酵試験に用いた。清酒醸造では総米 12.4 g の小仕込み試験を行った。YM 培地で 3 日間静置培養した酵母の集菌体を水、乳酸、麴と混合して 2 日間、20℃で静置後、 α 化米を添加して 12℃で 21 日間発酵させた。発酵終了後に遠心分離し、上清のアルコール濃度が 14%以上ある 81 株を選抜した。また、ビール醸造では麦芽エキスを用いた発酵試験を行った。麦芽エキスを Brix%約 13 に調整し、滅菌処理後に酵母を植菌して 18℃で 7 日間発酵を行った。発酵終了後に遠心分離し、上清の糖減少率が 20%以上ある 40 株を選抜した。選抜した酵母の中から農学部構内のヤマモモから単離した野生酵母を用いて、県内企業において実地醸造を行った。その試作品は香味ともに良好であり、今後も特徴的な商品開発が期待できる。清酒小仕込み試験と麦芽エキス発酵試験の結果、植物由来 27 株と動物由来 4 株の計 31 株にいずれの試験でも高い発酵力が確かめられた。また、四万十町（旧窪川）のニホンハチミツを用いたミード醸造を目的として、安価なハチミツも用いた発酵試験を行って、その発酵特性を比較した。

B-6 スリーブ状胃切除術が日本人肥満患者の口内・胃内・腸内細菌叢に与える影響

○細木祐紀, 江口 潤¹, 高橋寛子¹, 荒川健佑, 森田英利, 和田 淳¹
(岡山大院・環境生命,¹岡山大院・医歯薬)

【目的】スリーブ状胃切除術は、肥満に関連した代謝障害の改善を目的に行われている。2014 年から日本においてもこの術式が保険適用となり、内科的治療で効果の得られなかった病的肥満患者に対して過体重を大幅に減少させる方法として用いられるようになった。本研究では、スリーブ状胃切除術による体重減少により口内・胃内・腸内細菌叢の経時的変化に関する知見を得ることを目的とした。日本人肥満患者の唾液と糞便は、初回診察時・食事制限を受けた術前・術後 6 ヶ月後・術後 12 ヶ月後に採取し、胃液は、初回診察時と術後 3 ヶ月後に採取し、口内・胃内・腸内細菌叢を経時的に比較解析した。

【方法・結果】BMI (Body Mass Index) 値が 32 以上の男女 10 人のボランティアから唾液・胃液・糞便を経時的に採取し、細菌ゲノム DNA を溶菌酵素法により精製した。次世代シーケンサー MiSeq (Illumina 社) により 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域の塩基配列について QIIME2 (Ver.2019.7) を用いて解析した。スリーブ状胃切除術により平均 BMI 値は 35 から 29 へと有意に減少した。各細菌叢の β 多様性において、術前術後で口内・腸内細菌叢に有意な変化はみられなかったが、胃内細菌叢において β 多様性は減少していた。 α 多様性において術前術後の各細菌叢で有意差はみられず、その理由としてスリーブ状胃切除術の影響より食生活や日常生活での個人間での差の方が大きく各細菌叢に影響を及ぼしているからだと推察された。一方、口内・胃内細菌叢では属レベルで術前術後の相対存在量が有意に変動しているものがあり、術前術後での Linear discriminant analysis (LDA) effect size (LEfSe) の結果についても報告する。

B-7 Zymomonas mobilis CP4 由来高温適応株におけるさまざまなストレス耐性と変異の関係性

○久我昂史¹, 加藤 舜¹, 白丸優貴², 村田正之¹, 高坂智之^{1,2,3}, 山田 守^{1,2,3}
(¹山口大院・創科, ²山口大・農, ³山口大・中高温微研セ)

【目的】高温発酵による物質生産は、雑菌増殖の抑制、酵素反応性の向上、発酵熱の冷却コストの削減といった利点から注目されている。さらに、耐熱化によって生じた変異は耐熱性だけでなく熱以外の環境ストレス耐性への貢献も期待できる。*Z. mobilis* CP4 から適応育種によって獲得した4つの耐熱化株は、生育限界温度が37°Cから39°Cに上昇し、シグナル伝達、膜の安定化、核酸代謝、一般的な代謝、ヒスチジン合成、そして膜輸送に関連する13の遺伝子に変異をもつことが確認された。本研究では、これらの変異と様々なストレス耐性との関係性を明らかにすることを目的とした。【方法・結果】各変異の耐熱化への影響を理解するため、接合によって13の変異を野生株 (CP4) に個別に導入した一遺伝子変異導入株を構築し、30°Cと38°Cの条件でそれらの株を培養し、個々の変異の影響を検討した。その結果、4つの耐熱化株それぞれにおいて、トランスポーター遺伝子以外の2つずつの遺伝子変異が耐熱性に寄与し、その一方が細胞伸長の抑制に寄与することが示された。次に、様々なストレス（塩濃度、グルコース、エタノール、H₂O₂、SDS）に対する耐性実験から、4つの耐熱化株は2つの組に分けられることが示された。さらに、耐熱化株に生じた各変異は、耐熱化や熱以外の環境ストレス耐性への寄与がそれぞれ異なっていることが示唆された。

B-8 RNAポリメラーゼへの変異導入による核酸系抗生物質シネフンギンの増産効果
小川沙織, 山本倫生, 坂本 亘, 金尾忠芳, 根本理子, 稲垣賢二, ○田村 隆
(岡山大院・環境生命)

(目的)*Streptomyces incarnatus* NRRL8089 は、抗コロナ SARS ウイルス、抗カンジダ、抗マラリア原虫活性を持つ核酸系抗生物質シネフンギンを生産する。シネフンギン生産能を強化するために、RNAポリメラーゼ (RNAP) σ -サブユニットをコードする *rpoB* 遺伝子への多重変異導入効果を検討した。(方法・結果) 抗生物質の増産効果が報告された σ -サブユニットの標的残基、D447, S453, H457, R460 の中で報告数が豊富な H457X 変異を、AAIndex データベースを説明関数としたスパース回帰分析に供した結果、H457R または H457Y 変異に高い増産効果が期待された。この数理解析予測に基づき、多重変異導入プラスミドを構築して接合伝達-相同組換えによる *S. incarnatus* のゲノム改変を行い、三連培養によるシネフンギン生産と生死細胞の蛍光顕微鏡観察の経時変化を追跡した。その結果、H457R/R460C 二重変異がシネフンギンの3倍増産効果を示した。他の多重変異群は中程度増産または生産抑制の結果となった。野生株と変異株群において生育における有意な差異は認められなかった。*rpoB* 変異導入による増産効果の分子メカニズムを解明するために、ホモロジーモデリングと分子動力学計算によって RNAP/DNA/mRNA 複合体モデルを構築した。標的4残基は新生 mRNA 鎖と相互作用する位置にあり、密度汎関数を用いた量子化学計算により、負に帯電した mRNA 鎖によって D447, H457, R460 の3残基に部分的正電荷が誘導される誘電相互作用が示唆された。RNAP の変異による二次代謝産物の増産効果は転写装置内の相互作用を介した転写の活性化もたらし、結果的に二次代謝産物の増産に寄与するメカニズムが考察された。

B-9 デジタル光照射によるスジアオノリの生育促進

○藤村亮佑, 太田健志郎, 江崎聡一郎, 杉河央農, 前田敦史, 三好真千, 谷川浩司¹, 木村祐太¹, 武田真樹¹, 松田和典¹, 箕田康一¹, 梶山博司¹
(徳島文理大・理工,¹徳島文理大院・工)

【目的】香りが良いことで知られる海藻スジアオノリ(*Ulva prolifera*)は海上養殖が盛んに行われているが、内湾沿岸海域の栄養塩が減少する貧栄養化に伴い、生産量は減少傾向にある。海藻の生長には光質は重要な要因である。これまで著者らは、主照明である太陽光にデジタル光を加える事で、水菜の生育が大きく促進したため、作物の生育を促進させる事がデジタル光の性質と特定している。本研究では、デジタル光を用いたスジアオノリの生育実験を実施し、海藻の生育速度向上による陸上養殖の可能性を検討する。【方法】主照明には太陽光または蛍光灯を用いた。追加で照射するデジタル光は、中心波長 450 nm, デューティ比<0.2, 光合成有効光量子束密度(PPFD)は 0.05~1.0 とし、以下の 2 試験を行った。収穫までの葉体の生育過程は、重量により評価した。重量は遠心分離機で脱水した後に計測した。

試験 1: 長さが 10 cm 程度の種ノリを用いた。コントロールには、太陽光を日の出から日没まで照射した。試験区には太陽光に加えて、デジタル光を照射した。

試験 2: 胞子から直径 5 mm 程度に成長した種ノリを用いた。コントロールには、蛍光灯 (PPFD<200) を照射した。試験区には蛍光灯に加えて、デジタル光を照射した。

【結果】試験 1,2 の試験区の収穫重量は、対コントロール比で、それぞれ 2 倍, 1.1 倍であった。アオサ, ユーグレナでもデジタル光による生育促進が確認されている。今後は、デジタル光照射条件と生育の関係を明らかにしていきたい。

B-10 デジタル光によるユーグレナの生育促進

○太田健志郎, 藤村亮佑, 江崎聡一郎, 前田淳史, 谷川浩司, 木村祐太¹, 松田和典¹, 梶山博司¹ (徳島文理大・理工,¹徳島文理大院・工)

【背景】ユーグレナ(和名: ミドリムシ)は、水田や池など日本各地に生息しており名称からも分かる通り葉緑体を持つ微細藻類である。葉緑体を持つ事で光合成による成長も可能である。ユーグレナは細胞内に、多糖類(パラミロン)を蓄積しており特殊代謝によってワックスエステル(WS)へと変換される。この WS からバイオ燃料を精製できる事、そしてユーグレナの高い CO₂吸収能により脱炭素化社会の切り札として日々研究がなされている。

【目的】我が研究グループでは、レタス,タデ藍の生育促進効果が報告されている微弱デジタル光の開発に成功しており、この光源を用いて夜間照射を行い生育促進効果を調べ、パラミロン含有量増加を目標とした。

【方法】1L の培養液にユーグレナ(1250 匹/mL)を 5 mL 投入し、光合成有効光量子束密度 PPFD(80)の白色 LED を 12 時間、試験区として PPFD(0.1 以下)の青色デジタル光を 4~8 時間の間、照射し試験を 2 週間行った。微細藻類ユーグレナの生育促進の検定として、濁度($\mu\text{g/L}$) 吸光度(480 nm)を測定した。

【結果】デジタル光照射 1 週間目から生育に差が現れ、2 週間目には、コントロールと比べ濁度は、約 6.3 倍 吸光度は、7.7 倍になった。この事からデジタル光には微細藻類ユーグレナの生育促進効果があると分かる。

B-11 ナガサキアゲハの蛹体色の発現調節機構に関する知見
○上野翔也, 高橋洋平, 北沢千里¹, 山中 明²
(山口大・理,¹山口大・教育,²山口大院・創科)

【目的】クロアゲハ類に属するナガサキアゲハは幼虫期の光周条件にかかわらず休眠しない種である。ミカン科の葉を食草とするため本種の生理学的な研究例は少ない。本種の蛹体色には緑色と褐色の2型が確認されている。本研究では、本種の蛹体色発現のトリガーとなる環境要因の特定と蛹体色発現の内分泌調節因子の関与について検討した。

【方法・結果】孵化した幼虫を、長日 25℃ (LD25) および短日 18℃ (SD18) の条件下で飼育した。ガットパーシ後の老熟幼虫を異なる性状(蛹化面の曲率・粗滑・材質)をもつ蛹化面で蛹化させ、出現する蛹体色を調べた。また、蛹体色決定時期に日長の影響があるかを検討するため一部のLD25飼育個体は全暗条件下にて蛹化させた。その結果、LD25飼育個体の大多数は蛹化面の条件によらず緑色型となった。しかし、粗面(紙やすり#40)・全暗条件下においては80%以上のLD25飼育個体が褐色型となった。一方、SD18飼育個体では、蛹化面が木材で曲率が大きいと90%が褐色型となった。内分泌調節因子の関与およびその分泌時期を特定するため、ガットパーシ後0, 12および24時間目に、胸腹部間で結紮を行った。結紮実験により、ガットパーシ後12-24時間あたりに蛹を褐色化させる因子が分泌されることが明らかとなった。内分泌調節因子の関与を調べるために、本種5齢幼虫のBr-SG-TG₁連合体およびTG_{2,3}-AG₁₋₇連合体から25脳神経系相当量の粗抽出液を同じクロアゲハ類に属するモンキアゲハの前蛹を胸腹部間で結紮した腹部に投与した。その結果、結紮腹部において褐色化活性が認められた。

C-1 Tissue-specific expression analysis of two genes (AtMLLR1 and AtMLLR4) carrying malectin-like domain and leucine-rich repeat proteins in *A. thaliana*
OMd. Firose Hossain, Takushi Hachiya, Tsuyoshi Nakagawa
(Int. Cen. Sci. Res., Shimane Univ.)

Proteins that carry malectin-like domain (MLD) and proteins that carry leucine-rich repeat (LRR) regulate various important biological functions in plants. We identified four proteins that contain LRR other than MLD in *Arabidopsis thaliana*. In the present study, we performed histochemical GUS staining to unveil the expression pattern of two malectin-like domain and leucine-rich repeat containing proteins (AtMLLR1 and AtMLLR4) in *A. thaliana*. AtMLLR1 and AtMLLR4 showed various tissue-specific expression by promoter:GUS assay. Expression of AtMLLR1 was higher in leaf, root and vascular region of leaf after 16 days of germination. We observed greater expression of AtMLLR1 in guard cells. Furthermore, significant expression of AtMLLR1 was detected in root apical meristem, primary root and secondary. After 40 days of germination, expression was noticed in floral parts viz sepal and petal in case of AtMLLR1. On the contrary, Expression of AtMLLR4 was restricted to primary and lateral roots after 16 days of germination. No expression was found in floral parts after 40 days of germination for AtMLLR4. So, our study will be helpful for proper understanding the physiological functions of AtMLLRs by creating double disruptant using T-DNA line.

C-2 細胞内 IAA 濃度の恒常性は GH3 アミノ酸複合体合成酵素によって調節される
○新井一司, 青井勇輝¹, 笠原博幸^{2,3}, 福井康祐, 林 謙一郎
(岡山理大院・理,¹農工大院・連農,²農工大院・GIR,³理研・CSRS)

【背景・目的】植物ホルモン・オーキシンは、細胞内濃度の変化により細胞分裂や細胞伸長など、様々な生理応答を示す。オーキシン濃度は生合成・輸送・不活性化が協調し精緻に制御されると考えられるが、不活性化による濃度制御機構はいまだ明らかとなっていない。これまでの報告により、DAO 酵素による IAA の酸化経路 (DAO 経路) と、GH3 酵素による IAA のアミノ酸複合体化経路 (GH3 経路) の 2 つが主要な IAA 不活性化経路であると考えられてきた。しかし、シロイヌナズナの *daol-1* 変異体や、*35S::DAO1* 組換え体ではオーキシン量の変化に基づく顕著な形態の変化は認められていないため、DAO 経路の役割には疑問が残る。一方、*GH3* 遺伝子は機能重複する多重遺伝子ファミリーを形成しているため、生理機能は未解明なままであった。本研究では、GH3 酵素阻害剤 *Takeimide* を創製することで GH3 の機能冗長性を克服し、IAA 代謝における GH3 経路の生理的役割の解明を目指した。

【方法・結果】組換え GH3 酵素に対する *Takeimide* の阻害定数及び阻害様式を検討し、*Takeimide* が IAA と拮抗して GH3 を特異的に阻害することを示した。また、オーキシンのレポーターライン *DII-VENUS* に *Takeimide* を処理すると、約 30 分で細胞内オーキシン量の増加を示した。さらに、*Takeimide* 処理によるオーキシン応答性遺伝子の発現変動や内生 IAA 量を分析した結果、約 30 分で顕著な上昇を確認した。この結果から、GH3 酵素は IAA の恒常的な代謝不活性化を担っていることが示唆され、植物内 IAA 濃度のホメオスタシスに大きく関与していることが明らかとなった。

C-3 植物の生育と二次代謝の光制御技術の提案

○木村祐太¹, 三輪浩平¹, 太田健志郎², 藤村亮佑², 谷川浩司^{1,2}, 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 梶山博司^{1,2} (¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

【目的】 本研究室ではこれまでに植物に特定の周期や光強度のデジタル(点滅)光を夜間照射すると生育が促進することを明らかにしている。しかし、デジタル光の照射条件が植物の生育や二次代謝に及ぼす影響は明らかになっておらず課題となっている。本研究では、デジタル光の照射条件の違いが植物の生育や二次代謝に及ぼす影響を調べる。これらを明らかにすることで、農作物の増収や高付加価値化など生産者の需要に応じることのできる新たな植物の生育・二次代謝制御技術を構築することが目的である。

【方法】 試験にはレタスを用いた。室温 22℃, 湿度 50~60%, 水耕方式で定植後 28 日間栽培した。白色 LED(光合成有効光量子束密度(PPFD):210)を 12 時間照射(明期)と 12 時間消灯(暗期)を繰り返した。デジタル光は、照射時間を 1~24 時間/日, 照射タイミングを明期や暗期など様々な条件にして照射した。収穫後、湿重量とアスコルビン酸量測定を行い各デジタル光照射区とコントロールの比較を行った。

【結果】 様々なデジタル光照射条件の中で、生育促進効果、二次代謝産物増加効果が得られる特定の光照射条件が明らかになった。この技術を用いれば、収量増加、機能成分増加など植物の生育や二次代謝の制御が可能になると考えられる。しかし、デジタル光照射による植物の生育促進メカニズムなどは明らかになっていないため、トランスクリプトーム解析などを行い遺伝子発現などの観点から効果発現のメカニズムを明らかにすることが今後の課題である。

C-4 レタスの生育と二次代謝の光依存性

○三輪浩平¹, 木村祐太¹, 太田健志郎², 藤村亮佑², 杉河央農², 谷川浩司^{1,2}, 前田淳史², 松田和典^{1,2}, 國本 崇^{1,2}, 梶山博司^{1,2}
(¹徳島文理大院・工, ²徳島文理大・理工)

【目的】 植物は、光合成でグルコースを合成している。グルコースの一部は一次代謝により生存に不可欠なエネルギーに変換されるが、残りは転流と二次代謝経路に分配される。転流によりバイオマスが形成され、二次代謝によりビタミン、アミノ酸などの有用物質に変換される。我々はこれまでに、太陽光や人工光で栽培されている植物に微弱な点滅光(以下、デジタル光)を付加することで、バイオマスが増加することを明らかにしてきた。本研究の目的は、レタスを対象にして微弱な点滅光照射で増加したグルコースが、転流だけに消費されるのか、あるいは、二次代謝経路にも分配されるのかを明らかにすることである。

【方法】 レタスは白色 LED 光を用いて水耕方式で栽培し、28 日後に収穫した。コントロールと試験区を用意し、コントロールは白色 LED 光のみ、試験区は白色 LED 光に、青色または赤色のデジタル光を付加した。デジタル光は、Duty 比<0.2, 光合成光量子束密度(PPFD)<1.0 に設定した。レタスのバイオマスと二次代謝物質は、それぞれ湿重量とビタミン C 量を測定した。

【結果】 青色のみのデジタル光によりバイオマスは約 1.6 倍に増加した。青色と赤色のデジタル光を同時に照射した場合、赤色のみのデジタル光を照射した場合には、バイオマスは全く変化しなかった。一方、ビタミン C 量は、青色のみ、赤色と青色、赤色のみデジタル光照射で大きく変動した。以上のことから、デジタル光は、転流経路と二次代謝経路に影響することが明らかになった。

C-5 シトルリン類縁体に対するスイカ幼苗の生理および代謝応答の解析
○山藤歩乃佳, 明石欣也 (鳥取大院・持社創生)

【目的】スイカに豊富に含まれるシトルリンは、血管拡張作用や抗酸化性が示唆される機能性アミノ酸である。スイカにおけるシトルリン生合成酵素の活性挙動についてはその概略が報告されているが、その代謝制御の全容については不明な点が多い。そこで本研究では、シトルリン類縁体のホモシトルリンをスイカ幼苗に投与した際の応答を解析し、シトルリンの代謝制御の更なる理解を深めることとした。

【方法】スイカ固定種の新大和 2 号の種子をろ紙上で発芽させた後、様々な濃度のホモシトルリンを添加した 1/2Hoagland's 溶液において 3 週間水耕栽培を行った。地上部の生育を画像解析および重量法により評価するとともに、それぞれの部位におけるアミノ酸組成を分析した。

【結果】ホモシトルリンを 1 または 3 mM 添加した試験区では、コントロール条件と比べ根の乾燥重量には有意な差が認められなかったが、本葉の発育抑制と子葉の肥大化が見られ、子葉から本葉への貯蔵物質の転流抑制が示唆された。各部位のアミノ酸組成を解析したところ、ホモシトルリンが本葉に顕著に蓄積する一方、子葉においてはほとんど蓄積しないという際立った対比を示した。シトルリンおよびアルギニン蓄積量は、特に本葉において顕著に増大し、ホモシトルリン添加による代謝補償が示唆された。さらに、数種のアミノ酸において蓄積量の有意な変動が観察され、スイカにおいてホモシトルリンがシトルリンの毒性アナログとして作用し、生長組織の代謝攪乱を介して生長に負の影響を及ぼすことが示唆された。

C-6 D-allose 作用機構におけるイネ G6PDH の機能解析
○萩原 奏, 大谷夏生, 安喜絢花, 松平一志, 加野彰人, 福元健志, 大谷耕平, 吉田裕美¹, 加藤志郎, 五味剣二, 市村和也, 吉原明秀, 何森 健, 秋光和也, 望月 進 (香川大院・農,¹香川大・医)

【目的】希少糖は自然界に存在量の少ない単糖とその誘導体の総称である。我々の研究グループはこれまでに希少糖 D-allose が植物の生長抑制剤や病害抵抗性誘導剤としての機能を持つこと、また、これらの作用は D-allose が六炭糖リン酸化酵素であるヘキソキナーゼ (HXK) によって C-6 位がリン酸化され D-allose-6-phosphate (A6P) となる事が必須であることを明らかにした。現在、HXK 以降のシグナル伝達経路の解析を進めており、ペントースリン酸経路の律速酵素であるグルコース 6 リン酸脱水素酵素 (G6PDH) が D-allose の病害抵抗性作用に関与していることが示唆された。本発表ではイネに 5 つ存在する G6PDH の中で、OsG6PDH1 の安定性とリン酸糖の関連性に着目した研究結果について報告する。

【方法・結果】 OsG6PDH1 の酵素学的な解析を行うため、アフィニティ精製を行い、SDS-PAGE 解析及び各種抗体を用いたウエスタンブロットを行なったところ、OsG6PDH1 は酵素的に不安定であることが示唆された。次に A6P を含む数種類のリン酸糖を用いて OsG6PDH1 の基質特異性の解析を行なった結果、OsG6PDH1 は G6P のみを基質とできることが明らかとなった。大腸菌組換え OsG6PDH1 と OsG6PDH2 にこれらの各種リン酸糖を加え、それぞれの熱安定性を検証したところ、OsG6PDH1 特異的に一部のリン酸糖での酵素の安定化が見られた。今後は、これらの安定性に寄与するリン酸糖結合部位の有無を詳細に解析していきたいと考えている。

C-7 希少糖生産植物ズイナの染色体倍加による形態変化

○山本 綾, 辻 則夫, 原 あかり, 福元健志, 市村和也, 何森 健,
高村武二郎, 秋光和也, 望月 進 (香川大院・農)

【目的】 *Itea* 属植物のズイナは、植物体内に希少糖 D-ブシコースとアリトールを高蓄積する唯一の植物である。我々はズイナの染色体を倍加することにより四倍体個体を作成した。これらの四倍体と通常の二倍体とを形態学的な面から比較することで、染色体倍加でどのような有用な変化があるかを調べた。

【方法・結果】 ズイナの培養植物にアミプロホスメチル (AMP) を処理することで四倍体個体を作成した。二倍体、四倍体植物を野外圃場に植樹し、花、葉、葉の細胞について観察し比較した。ズイナの花は総状花序で1本の花軸に数十の白い花序がついており、四倍体では花序の乾燥重量が約1.36倍となり、花軸および花托が赤みを帯びていることが確認された。色素抽出後、分光光度計で含有色素を分析した結果、赤色沈着はアントシアニンまたはアントシアニンによるものであることが示唆された。また、葉幅と葉長、葉面積を両植物で測定し比較したところ、四倍体では二倍体に対して葉幅が約1.1倍、葉長が約1.4倍、葉面積が約1.2倍になっており、四倍体で有意に葉が肥大化していることが観察された。そこで、この葉の肥大化の要因が個々の細胞の肥大化によるものか、細胞数の増加によるものかを調査するために、葉の表皮細胞および孔辺細胞の観察を行った。その結果、葉の肥大化は個々の細胞サイズの肥大化によるものであり、細胞数は二倍体個体、四倍体個体で同等であることが明らかとなった。以上の結果からズイナの四倍体個体では、他の植物種における倍数体の特徴と同様に、花序および葉の細胞の肥大化が起こっていることが明らかとなった。

C-8 スダチ果皮抽出液による表皮角化細胞の増殖・分化の制御

○西谷真美¹, 安部庄剛¹, 下田穂絵², 金岡大樹², 山崎博子², 湯浅恵造^{1,3}
(¹徳島大院・先端技術, ²松山油脂(株), ³徳島大院・社会産業理工)

【目的】皮膚は紫外線や化学物質などから体を保護しており、このバリア機能の形成に皮膚表皮角化細胞の増殖と分化のバランスが深く関与している。徳島県の特産品であるスダチの約半分は搾汁加工されるが、その際生じる搾汁残渣(果皮)のほとんどが廃棄されることから、有効利用が求められている。スダチ果皮には、ヘスペリジンやスダチチンなどの生理活性物質が多く含まれており、様々な効果が期待できる。本研究では、スダチ果皮抽出液(*Citrus sudachi peel extract*; SPE)のヒト表皮角化細胞株 HaCaT 細胞および正常ヒト表皮角化細胞の増殖・分化に及ぼす影響を検討した。【結果】まず、SPEが細胞増殖に与える影響を評価するために、BrdUアッセイを行った。SPE処理(1-3%)によって濃度依存的に HaCaT 細胞の増殖が抑制されることを見出した。そこで、次に細胞増殖に関わる ERK 経路に及ぼす影響を調べた。血清刺激によって誘導された Raf-1, MEK および ERK のリン酸化が SPE 処理により有意に抑制された。続いて、Ca²⁺処理による分化誘導下での細胞形態を観察した。Ca²⁺存在下では HaCaT 細胞の凝集と E-cadherin の発現上昇が見られ、これらは SPE により増強された。また、keratin-1, keratin-10 および involucrin といった分化マーカーの発現も同様に SPE によって増大された。最後に、正常ヒト表皮角化細胞の増殖・分化に対する SPE の効果を検討したところ、HaCaT 細胞と同様の結果が得られた。以上の結果から、SPE は表皮角化細胞に対して増殖抑制・分化促進能を有することが明らかとなった。

C-9 Indole-3-acetic acid leads to suppression of the expression levels of TNF α by AhR-independent mechanism in Caco-2 cells Omd. Mazharul Islam Chowdhury¹, Koichi Kurata², Kana Yuasa², Yoshihito Koto², Kohji Nishimura^{1,2,3}, Hidehisa Shimizu^{1,2,3} (¹Uni.Grad.Sch., Tottori Univ., ²Grad.Sch., and ³Inst., Shimane Univ.)

Colorectal cancer (CRC) study has attracted much attention recently due to its high mortality rate as well as increasing extent of new cases every year. Besides, tumor necrosis factor α (TNF α), an inflammatory cytokine, is involved not only in growth and promotion of CRC but also tumor recurrence in patients with metastases of CRC. On the other hand, gut microbiota derived Indole-3-acetic acid (IAA) from dietary tryptophan is considered to involve in reduction of CRC progression. Hence, we investigated the effects of IAA on Caco-2 cells, a well known cell line for colorectal cancer studies. Treating Caco-2 cells with 1000 μ M IAA resulted in a significant decrease in the mRNA levels of TNF α expression from day 2 to 8 days. Since IAA is known as a ligand for aryl hydrocarbon receptor (AhR), we checked whether AhR is activated by IAA using increased the expression levels of cytochrome P450 1A1 (CYP1A1), a well-known representative for target gene of AhR, as an indicator. This analysis revealed that AhR was activated by IAA. We next checked whether AhR activation induced by IAA is involved in the down regulation of TNF α expression. The gene expression analysis of CYP1A1 and TNF α at 2 and 8 day showed that CH223191, a specific AhR antagonist, significantly suppressed CYP1A1 expression induced by skatole but did not influence TNF α expression induced by skatole. Taken together, these results suggested that AhR is not involved in suppression of TNF α expression induced by IAA in Caco-2 cells and strikingly indicates the involvement of a new pathway in the regulation of TNF α expression induced by IAA in CRC.

C-10 ラットに対するミクロシスチンの低濃度曝露は結腸において MCP-1 の発現増加を導く ○古東義仁¹, 河原秀明², 蔵田航一², 吉清恵介^{1,2,3}, 杉浦則夫⁴, 清水和哉⁴, 清水英寿^{1,2,3}
(¹島根大院・自然, ²島根大・生資料, ³島根大・学術, ⁴筑波大・生環系)

湖沼の富栄養化に伴って異常発生するアオコは、ミクロシスチン (Microcystin: MC) と呼ばれる毒素を産生する。この毒素は、飲料水に用いられる水源だけでなく、ミクロシスチンに汚染された湖や河に生息する食用魚介類にも蓄積されるため、近年、世界的な問題となっている。これまでに報告されているミクロシスチンの毒性評価に関する報告は、急性中毒を想定した高濃度ミクロシスチン曝露に対する評価が主であり、低濃度曝露による慢性中毒に焦点を当てた報告例は少ない。また、本毒素は肝細胞内のプロテインホスファターゼ活性を阻害することで、肝臓毒としての作用を示すことが報告されているが、他の臓器に関する影響については、未だ不明な点が多い。そこで本研究では、代表的なミクロシスチンである MC-LR に着目し、被曝組織の一つと想定される結腸に対する低濃度曝露による影響を解析することを目的とした。WKAH/HkmSlc ラットに、MC-LR 含有水 (10 nM) を自由飲水により 7 週間摂取させたところ、体重、摂餌量、各臓器重量、糞便 pH には両群間で有意な変化は認められなかった。一方、結腸粘膜組織において、単球に対して特異的な遊走活性を示す Monocyte chemoattractant Protein-1 (MCP-1) の発現レベルが優位に上昇していた。また、MCP-1 の発現量と、成熟マクロファージの主要マーカーである F4/80 の発現量の 2 つの要因の間に優位な正の相関が認められたことから、MCP-1 の発現増加依存的にマクロファージの結腸への浸潤が示された。したがって、MC-LR の慢性摂取は、MCP-1 の発現増加を導き、その結果としてマクロファージの結腸への浸潤を促進させることが示唆された。

C-11 スカトールは異なる受容体を介して MAPK と NF- κ B を活性化させる
○石井克範¹, 清水英寿^{1,2} (¹島根大・生資科, ²島根大・学術)

炎症性腸疾患は、慢性的な腸管の炎症状態を引き起こす難病であり、その詳細な発症メカニズムは未だ不明である。近年、その発症・進展要因の一端として、食の欧米化に伴う高食肉摂取や、腸内細菌代謝産物の関与が指摘されている。そこで本研究では、主に高食肉摂取時に腸内で産生されるトリプトファン由来の腸内細菌代謝産物であり、インドール系化合物の一種であるスカトールに注目し、未だ詳細が明らかとなっていない腸管細胞での作用経路を解析することを目的とした。培養腸管細胞である Caco-2 細胞にスカトールを処理したところ、炎症性腸疾患の発症・進展と深い関わりがあると想定されている MAP キナーゼの活性化が導かれた。しかし、スカトールの標的受容体である Aryl hydrocarbon receptor (AhR) は MAP キナーゼの活性化に関与していなかった。そこで、MAP キナーゼの活性化を惹起させるスカトールの新規標的受容体の探索を行ったところ、少なくとも一部の MAP キナーゼの活性化に Toll-like receptor 4 (TLR4) の関与が認められた。TLR4 は炎症関連遺伝子の発現制御を担う Nuclear factor- κ B (NF- κ B) の活性化を導くと報告されているため、NF- κ B にも着目したところ、スカトールによる NF- κ B の活性化に TLR4 は関わっていなかった。以上から、本研究において、スカトールの標的受容体として AhR だけでなく、新たに TLR4 が確認された一方、まだ未同定の受容体が存在することが示された。よって、高食肉摂取に伴う炎症性腸疾患の発症・進展にスカトールが関与している場合、複数の受容体が起点となっている可能性が示唆された。

D-1 *Penicillium aurantiogriseum* が触媒する *Aspergillus ustus* 代謝物の新規フロイソキノリンアルカロイドへの変換反応
○山田光代, 齊藤太樹, 小川凌太, 仁戸田照彦, 神崎 浩 (岡山大院・環境生命)

【目的】我々は *Aspergillus ustus* と *Penicillium aurantiogriseum* の組み合わせ培養で初めて生産される新規フロイソキノリンアルカロイド TS-1¹⁾ と, *A. ustus* 代謝物中の類縁体 TS-2²⁾, TS-3, TS-4 を単離し, それらの構造決定を報告してきた。更に TS-1 への変換反応として *P. aurantiogriseum* に TS-2, TS-3, TS-4 を添加する添加培養を行い, TS-1 は *P. aurantiogriseum* によって TS-2, TS-4, TS-3 の順で変換生成されると推測してきた³⁾。 *P. aurantiogriseum* 休止菌体反応においても TS-1 への変換が確認されたため, 本研究では *P. aurantiogriseum* 休止菌体と酵素液を用いた TS-1 への変換反応の条件検討を行うことを目的とした。

【方法・結果】組み合わせ培養で pH が酸性側にシフトしたことからまず *P. aurantiogriseum* への基質添加培養で pH 3.0, 4.0, 5.2 に調整した培地で比較したところ, pH 4.0 で最も TS-1 生成量が高かったため, pH 4.0 と 5.2 で培養した菌体を用いる休止菌体反応を pH 3.0~7.0 で行った。 pH 4.0 で培養した菌体を pH 5.0 の MES 緩衝液中で反応した時 TS-1 生成量が最大となり, 培養における酵素発現と菌体反応の最適 pH は異なり, また緩衝液の塩が反応に影響することが判明した。次に pH 4.0 で培養した *P. aurantiogriseum* の菌体を破碎し pH 5.0 の MES 緩衝液中で *A. ustus* 培養物の EtOAc 抽出物を基質として反応したところ, 無細胞抽出液の反応では TS-1 生成はほぼ確認されず, 菌体破碎液と破碎残渣で同程度の TS-1 変換活性が観察されたことから, TS-1 生成に関与する *P. aurantiogriseum* の酵素は膜に局在している可能性が示唆された。¹⁾ 2016 農化大会 (札幌) 4B002 ²⁾ 2015 農化大会 (岡山) 4E23a13 ³⁾ 2017 農化合同支部大会 (大阪) D-p04

D-2 放線菌ブテノライド型シグナル伝達分子の二次代謝誘導活性
○江口雄聡, 手島愛子¹, 荒川賢治 (広島大院・総合生命, ¹ 広島大院・分子生命)

【目的】放線菌 *Streptomyces rochei* 7434AN4 株は抗生物質ランカサイジン(LC)およびランカマイシン(LM)を生産し, それらの生合成はシグナル分子 SRB (*Streptomyces rochei* butenolide) により厳密に制御されている。SRB1 (C₁₅H₂₄O₅) および SRB2 (C₁₆H₂₆O₅) の構造はそれぞれ, 2-(1'-hydroxy-6'-oxo-8'-methylnonyl)-3-methyl-4-hydroxybut-2-en-1,4-olide, 2-(1'-hydroxy-6'-oxo-8'-methyldecyl)-3-methyl-4-hydroxybut-2-en-1,4-olide である。なお, SRB は SRB 生合成因子 SrrX によって生合成され, 2,3-二置換ブテノライド構造を有しており, 40 nM の極低濃度で LC, LM 生産を誘導する。これまでの生合成研究で, P450 酵素遺伝子 *srrO* 破壊株から 6'-デオキソ SRB を取得し, それは SRB の 1/100 の誘導活性を有することが分かった。本研究では C-2'位の炭化水素鎖長に注目し, 誘導活性との関係を調べた。

【方法・結果】今回 5 種類の直鎖アルデヒド (C₄, C₆, C₈, C₁₀, C₁₂) を用い, 常法に従って γ -menthyloxybutenolide とのカップリング反応を経て, 各種誘導体を調製した。 Δ SrrX 株への添加培養による LC, LM 生産の回復を指標として, 合成した各種誘導体の二次代謝誘導活性の検証を行った。C₁₀-SRB および C₈-SRB では有意な活性がみられたが, C₄-SRB では活性が見られず, C₁₂-SRB では生育阻害が起きた。C₆-SRB については現在解析中である。本発表ではこれらの詳細について報告する。

D-3 ゲノム大規模欠失株を利用した網羅的二次代謝プロファイル解析
○藤田昂大, 西浦凜貴斗¹, Amirudin Akhmad Fauzi¹, Yosi Nindita¹, 荒川賢治
(広島大院・統合生命,¹広島大院・分子生命)

【目的】放線菌 *Streptomyces rochei* 7434AN4 株は, 8.36 Mb の線状染色体と 3 つの線状プラスミドを持ち, 通常培養において 2 つの抗生物質ランカサイジン, ランカマイシンを生産する。本研究室では, プラスミドを持たない 3 つの変異株 (2-39, YN-P7, YN-P145) を構築した。いずれの株も染色体の末端が部分的に消失しており, トータルゲノムサイズに違いが認められた。本研究では, これら変異株の二次代謝プロファイルについて解析し, ゲノム欠失領域と新規二次代謝産物の相関性の解明を目指した。

【方法・結果】3 株をオートミール培地で培養したところ, YN-P145 株において親株ではみられない UV 活性化化合物 (1) YN-P145A, (2) YN-P145B の 2 つが検出された。(1) YN-P145A について, MS および NMR により解析を行った結果, 環状ジペプチド化合物である cyclo(Phe-Pro) であると構造決定された。cyclo(Phe-Pro) の生合成経路に関して, 2 つの経路を予想した。1 つ目は, 非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) の関与である。*in silico* 解析の結果, NRPS において Phe-Pro (または Pro-Phe) の連続したアデニレーションドメインは検出されなかったため, この経路の可能性は低いことが示唆された。2 つ目は, 環状ジペプチド合成酵素 (CDPS) の関与である。現在, 有機合成により反応中間体である L-Pro-L-Phe の合成を行い, 添加実験を試みている。一方で, (2) YN-P145B について, 代謝産物の抽出, 精製を行ったところ, 分子式 C₈H₁₁NO の新規化合物であると推定された。現在, 構造決定に向けて十分量の YN-P145B の取得を行い, 解析を進めている。

D-4 O-マンノシルグリカン部分構造, Xyl-GlcA 繰返し四糖の合成
○田村敬裕, 大村優華¹, 田村純一 (鳥取大院・連農,¹鳥取大院・農)

O-マンノシルグリカン (MG) の欠損は筋ジストロフィー症の発症原因の一つである。O-MG は細胞外マトリックスであるラミニンと細胞骨格とを架橋することにより, 筋細胞膜を安定化させており, その形成は還元側から逐次相当する糖転移酵素により行われるため, どの部分が欠損しても発症に至る。目下, 非還元末端側を形成する糖転移酵素である LARGE の糖鎖伸長のプライマー構造を明らかにすることが求められており, 今回, そのプライマーとなりうる Xyl-GlcA 二量体を合成の標的化合物とした。

既知のグルクロン酸 (GlcA) 誘導体(1)から, 3 位水酸基遊離の 2 を得た。続いて, キシロース (Xyl) の 2 位水酸基に *p*-メトキシベンジルエーテルを有する Xyl 供与体(3)へと誘導した。化合物(2)と(3)を, DDQ を用いて混合アセタールとしたのち, 分子内縮合による擬似二糖を経由して α 選択的に二糖を得ることに成功した[1]。得られた二糖を酸加水分解することで, トリオール(4)を得た。得られた 4 の 2,4 位水酸基を選択的に保護して二糖ユニット(5)を得た。化合物(5)の遊離の 3 位水酸基を保護した後に 2 工程で相当するイミデートへと誘導し, 5 と縮合することで四糖(6)を得た。最後に全ての保護基を除去し, 標的化合物 Xyl(1-3GlcA@1-3Xyl(1-3GlcA@)の合成に成功した[2]。

[1] T. Tamura and J. Tamura, *Tetrahedron Lett.*, **60**, 2019, 465-468.

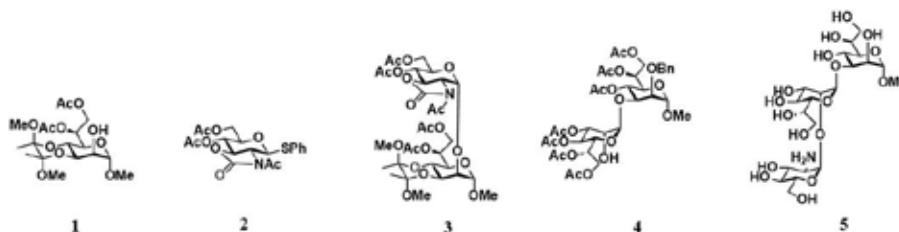
[2] T. Tamura, Y. Omura and J. Tamura, *J. Org. Chem.*, **85**, 2020, 12935-12946.

D-5 ナイセリア属 LOS の中性コア 3 糖の合成

○富樫佳祐, 後久保春花¹, 尾川周平², 眞鍋史乃^{2,3}, 一柳 剛¹
 (鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・農,²星薬科大,³東北大院・薬)

【目的】 ナイセリア属 LOS のコア糖鎖は 3-デオキシ-D-マンノオクトロン酸 (Kdo), L-グリセロ-D-マンノヘプトース (Hep) および *N*-アセチルグルコサミン(GlcNAc)からなる。コア糖鎖のうち GlcNAc が Hep の 2 位に結合した GlcNAc(α 1 \rightarrow 2)Hep 構造は, 特異的な抗菌スペクトルを有するワクチン開発の観点より注目されている。今回, 種々のグルコサミン誘導体を用いた Hep 誘導体 **1** の 2 位水酸基への立体選択的グリコシル化の調査およびコア 3 糖 **5** の合成を行った。

【方法】 *N*-アセチル-*N,O*-2,3-トランスカーバメート基を有するグルコサミン供与体 **2** を使用した 2 糖 **3** の合成を試みた。その結果活性化剤に NIS/AgOTf を用いて -40°C で反応を行うと α 体の 2 糖 **3** を選択的に得ることができた (64%)。同条件にて 2 糖受容体 **4** に対するグリコシル化を行うと 3 糖が立体選択的に得られた。その後, 全ての保護基を除去することによりコア 3 糖誘導体 **5** の合成を達成した。

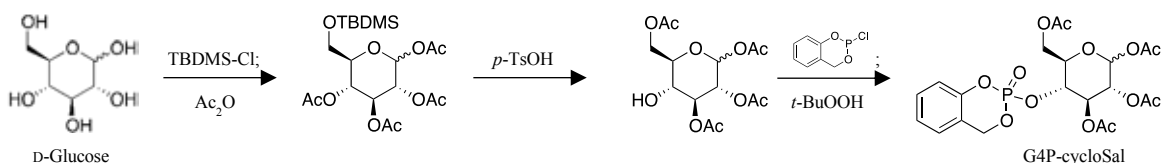


D-6 非天然型リン酸化単糖誘導体の合成と生物活性評価

○金川優樹, 柳田 亮¹, 川浪康弘¹ (香川大院・農,¹香川大・農)

【目的】 D-Allose は細胞内で D-allose-6-phosphate (A6P) に変換されて, がん細胞増殖抑制活性を示す。我々はこれまでに, A6P の水酸基とリン酸基を acetyl 基と cycloSaligenyl 基でそれぞれ保護した A6P-cycloSal が, ヒト白血病細胞株 MOLT-4F に対して D-allose の 250 倍高いがん細胞増殖抑制活性を示すことを明らかにした。本研究では非天然型リン酸化単糖の cycloSal 体を合成し, 生物活性評価を行うことを目的とした。

【方法・結果】 まず, 非天然型 D-glucose-4-phosphate (G4P) の cycloSal 体 (G4P-cycloSal) の合成を行った。D-Glucose から 1 段階で 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-TBDMS 体とし, これを酸性条件で脱保護することで C4 位の acetyl 基が C6 位に転移した生成物を得た。この 4-OH 基に cycloSaligenylphosphate を導入し, 目的とする G4P-cycloSal を 3 段階, 収率 3% で得た。G4P-cycloSal は, MOLT-4F 細胞に対して, A6P-cycloSal と同等の増殖抑制活性を示した。現在, G4P-cycloSal の構造活性相関研究を進めている。



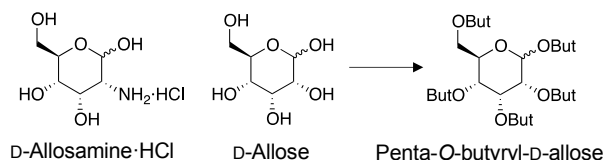
D-7 希少アルドヘキソース誘導体のがん細胞増殖抑制活性の評価
 ○北口菜摘, 柳田 亮¹, 川浪康弘¹ (香川大院・農, ¹香川大・農)

【背景】自然界に存在量が少ない単糖とその誘導体と定義される希少糖の中には、様々な生理活性を示すものが存在する。我々はこれまでに希少ヘキソサミンに着目し、D-allosamine·HCl (D-AIIN·HCl) がヒト前立腺がん細胞株 DU-145 に対して増殖抑制活性を示すことを報告している¹⁾。本研究では、D-AIIN·HCl の増殖抑制機構の解析を行った。また、新規希少糖誘導体として酪酸エステルの合成を行った。

【方法・結果】まず、D-AIIN·HCl が D-glucosamine·HCl と同様にオートファジーを誘導するのかを調べた。DU-145 細胞に D-AIIN·HCl 10 mM を処理して 48 h 培養した後、Acridine Orange で染色し、蛍光顕微鏡で細胞を観察した。D-AIIN·HCl 処理群では、オートファジーの誘導を示す橙～赤色の蛍光をほとんど観察できなかった。D-AIIN·HCl の DU-145 細胞に対する GI₅₀ 値 (50%細胞増殖阻害濃度) は 9.9 mM であることから、D-AIIN·HCl は他の作用機構によって細胞増殖を抑制していることが示唆された。

次に、希少糖と HDAC 阻害剤である酪酸の相互プロドラッグを設計し、まず penta-O-butyryl-D-allose の合成を行った。現在、DU-145 細胞に対する増殖抑制活性について検討中である。

1) 北口ら, 日本農芸化学会 2020 年度大会, 2020 年.



D-8 希少糖 D-プシコース処理線虫における NADH および NAD⁺量の変動
 ○山野洋平, 飯田まみ, 佐藤正資 (香川大・農)

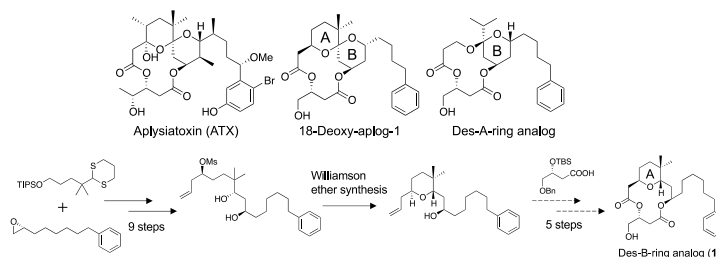
【目的】D-フルクトースの C3 エピマーである希少糖 D-プシコースは、高濃度で線虫 *Caenorhabditis elegans* の成長を抑制し、低濃度でその寿命を延長する。しかし、その作用メカニズムは明かではない。演者らは、D-プシコース処理した線虫ではエネルギー代謝の阻害が起き、細胞内 NADH および NAD⁺量に変化が起きているのではないかと考えた。本研究では、D-プシコース処理線虫の NADH および NAD⁺量を測定し、この仮説を検証した。

【方法・結果】同調培養によって得た第 1 期幼虫 (L1) を液体培地で 2 日間培養し、第 4 期幼虫 (L4) とした。そこへ生殖細胞の分裂阻害剤である FUDR と D-プシコース (10, 25, 50, 100 mM) を加え、さらに 2 日間培養し、4 日齢の D-プシコース処理線虫を得た。D-プシコースを含まない培地で培養した線虫をコントロール線虫とした。これらの線虫を、50%EtOH を含む緩衝液中 (pH 10.3) でビーズ破砕法により抽出を行なった。抽出液の NADH および NAD⁺濃度測定は、分光光度計を用いた WST-1 法で行い、タンパク質濃度でノーマライズを行った。得られた結果から、線虫における D-プシコースの作用メカニズムを考察する。

D-9 B環を除去した Aplysiatoxin 単純化アナログの合成研究
○山本剛資, 柳田 亮¹, 川浪康弘¹, 入江一浩²
(香川大院・農, ¹香川大・農, ²京大院・農)

【目的】 Protein kinase C (PKC) は多くの細胞内情報伝達に参与する鍵酵素である。天然の PKC 活性化剤である aplysiatoxin (ATX) は発がんプロモーション活性とがん細胞増殖抑制活性を示す。我々の研究グループは、ATX の構造を単純化することで、がん細胞増殖抑制活性のみを示す aplog 類の開発に成功している。最近、我々は PKC との水素結合に参与しないスピロ環構造を大幅に改変した des-A-ring analog を開発した。本化合物は既知の aplog 類とは異なる立体配座と PKC アイソザイム選択性を示した。本研究では、スピロ環のさらなる構造活性相関研究のために、スピロ環の B 環を除去した des-B-ring analog (1) の合成を目的とした。

【方法・結果】 これまで報告されている aplog 類の合成経路を基に、最長直線工程数 19 段階での合成を計画した。既知のエポキシドとジチアンから 9 段階でトリオールモノメシレート体を得て、分子内 Williamson エーテル合成によって、トランス型のテトラヒドロピラン環の立体選択的構築に成功した。今後 5 段階で 1 を合成し、生物活性評価を行う。



D-10 サリチル酸を用いたアプリアトキシン単純化アナログの合成と生物活性
○結城千晴, 岡田美砂, 関戸智紀, 川浪康弘, 柳田 亮 (香川大・農)

【目的】 アプリアトキシン (ATX) とは軟体動物アメフラシから単離された天然のプロテインキナーゼ C (PKC) 活性化剤で、がん細胞増殖抑制活性を示す一方で発がん促進活性を示す¹。この発がん促進活性により医薬品への応用は困難であったが、構造を適切に単純化することでがん細胞増殖抑制活性のみを残した 10-Me-Aplog-1 が開発された²。本研究では、認識部位として PKC との結合に必須な 3-アシロキシ-4-ヒドロキシブタン酸部位を有し、構造修飾が困難なスピロ環を多様な置換基を導入できるサリチル酸に単純化した新規 ATX 単純化アナログ Aplog-SA6 を合成し、がん細胞増殖抑制活性を評価した。

【方法・結果】 4-ブロモサリチルアルデヒドを出発原料としてエーテル化、ピニック酸化、2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオールとのモノエステル化の 3 段階でアルコールを合成し、(R)-(-)-ベンジルグリシジルエーテルを出発原料としてビニルマグネシウムブロミドによるエポキシドの開環、TBS 保護、オレフィンの酸化の 3 段階でカルボン酸を合成した。その後、アルコールとカルボン酸のエステル化を行い、TBS 基の脱保護、オレフィンの酸化、分子内マクロラクトン化、鈴木カップリングによるフェニル基の導入、Bn 基の脱保護を行い、最長直線工程数 9 段階で Aplog-SA6 を合成した。次に白血病細胞株 MOLT-4F に対するがん細胞増殖抑制試験を行った。結果、Aplog-SA6 は増殖抑制活性を示すことが明らかになった。

[1] Irie, K.; Yanagita, R. C., *Chem. Rec.* **14**, 251-267 (2014).

[2] Kikumori, M., et al., *J. Med. Chem.* **55**, 5614-5626 (2012).

E-1 シリカ粒子形成タンパク質の配列に由来するシンプルな可用性タンパク質固定化タグの構築

○坂手勇斗, 美藤友博¹, 清水克彦², 有馬二郎¹
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・農,²鳥取大・CoRE)

【背景・目的】カイロウドウケツのシリカ骨格由来タンパク質グラシンは、ケイ酸からのシリカ形成を促進する機能を有する。グラシンは、His-Asp に富む領域 (HD 領域), Pro に富む領域 (P 領域), His-Thr に富む領域 (HT 領域) がスペーサーを挟んで繰り返されるタンデムリピート構造をなし、これまでに HD 領域がシリカ形成に寄与することを明らかにした。本研究では、グラシンのシリカ表面への吸着能に着目し、各領域とグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質を用いて、各領域のシリカへの吸着特性を評価するとともに、可用性タンパク質固定化のためのタグとしての利用可能性を評価した。

【方法・結果】グラシン及び各領域と GST との融合タンパク質を調製し、融合タンパク質のシリカへの吸着能について、GST をコントロールとして SDS-PAGE と GST 活性を指標に評価した。pH 7.0 で吸着試験を行った結果、GST と比較して融合タンパク質は優位にシリカに対して吸着特性を示したが、GST 自身も約 40%の吸着が見られ、GST-グラシンと GST-HT2 はグラシン領域の分解が確認された。吸着時の pH を 9 まで上げることで、GST のシリカ吸着は解消されたと共に、GST-グラシンと GST-HD2 が pH 9 においても特異的な吸着能を示し、GST-HD2 にいたってはタンパク質分解も確認されなかった。本実験結果から、HD 領域のみでタンパク質固定化タグとして利用できる可能性が高いことが示された。現在は、吸着能の比較のため、シリカとグラシンや HD 領域との解離定数(K_D)の算出を試みている。

E-2 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 由来のキチナーゼ ChiD 及び ExoChi の性質

○長瀬亜紀子, 東谷洗里¹, 森本智世里, 美藤友博, 清水克彦², 有馬二郎
(鳥取大・農,¹鳥取大院・持社創生,²鳥取大・地域価値創造)

【目的】カニ殻堆肥から単離されたキチン分解菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 (NTK2 株) は、ゲノム上に 8 種類のキチナーゼを擁し、培養時にキチンを添加することで複数のキチナーゼを分泌する。キチナーゼは、キチン分解に加え、カビの孢子発芽・菌糸伸長を阻害する機能も持ち、植物病原糸状菌の防除にも利用できる。本研究では、8 種類のキチナーゼのうち、ドメイン構造が異なる 2 種類のキチナーゼを選択し、組換え酵素の生産と基質特異性やカビ孢子への効果等の性質について検討した。

【方法・結果】8 種類のキチナーゼのうち、GH family 18 に属する Chitinase D (Chi D) と Exochitinase (ExoChi) は全体構造が類似しているが、Chi D には C 末側に Carbohydrate-Binding Module 5 (CBM 5) を持つことに対し、ExoChi は N 末側に CBM 4 とフィブロネクチン領域を持つ。これらは、NTK2 株をキチン添加条件で培養すると、菌体外に分泌されることが確認された。組換え酵素の部分精製品を使用して性質検討を行った結果、両酵素共に pH 6.0 が反応最適 pH であり、熱に対しては Chi D (45°C) より ExoChi (37°C) が低い結果となった。両酵素共に p-nitrophenyl-chitobiose からの pNP 遊離活性、キチンオリゴ糖分解活性、エチレングリコールキチン分解活性、キチンナノファイバー分解活性、結晶キチンに色素が付加されたキチンアズールに対する分解活性が認められたが、キチンアズール分解の検討において反応終了時の色素遊離に差があり、特異性に違いがあることが考えられた。また、Chi D からはキャベツ黒すす病原菌の孢子発芽・菌糸伸長の阻害活性も確認された。

E-3 食品に含まれる抗疲労成分カルノシンの酵素定量法
○原田泰輔, 村松久司, 小杉香南子, 杉原大輝, 橋本佳伶, 加藤伸一郎,
島村智子, 永田信治 (高知大・農)

【目的】カルノシンは抗疲労効果などの機能性を持つ食品成分として注目されている。本研究では、食品に含まれるカルノシンの簡易定量法を確立するために、*Pseudomonas putida* NBRC100650 由来の BapA とヒスチジンアンモニリアーゼ (HAL) を組み合わせて、食肉や魚肉中に含まれるカルノシンの定量を試みた。

【方法】*bapA* と *hal* をそれぞれ pET21a に連結して Rosetta-gamiB(DE3)を形質転換し、培養菌体の粗酵素液から Ni-NTA アフィニティーカラムで BapA と HAL を精製した。食品試料約 10 g を冷水 50 mL に懸濁し、95℃で 30 分間加熱後に遠心分離して、食品抽出液を調製した。Mora ら¹⁾の方法に従った HPLC を用いて、食品抽出液中のカルノシンを分析した。さらにカルノシンの酵素定量は、0.1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0), BapA, HAL, 食品抽出液の混合溶液を 30℃で 1 時間反応後の 277 nm の吸光度を測定して行った。

【結果】酵素定量法によるカルノシンの検量線は 0~22.6 mg/L で明確な直線性が得られた。鶏肉, 豚肉, 牛肉, 鯨肉, マグロ, カツオの抽出液を調製し、各食品中のカルノシン量を HPLC で分析したところ、それぞれ 251, 320, 390, 130, 175, 46.5 (mg/100 g 食品試料) であった。また、酵素定量法では、それぞれ 258, 317, 385, 135, 178, 47.8 (mg/100 g 食品試料) であった。HPLC による測定値を 100 とすると、酵素定量法による測定値は 96.3~101 であった。また、各食品抽出液を用いて添加回収試験を行った結果、収率は 97.0%~103%であった。これらの結果から、酵素定量法は HPLC 分析と同等の精度でカルノシンを定量できることがわかった。^{1) Mora L. et al., J. Agric. Food Chem., 55(12), p. 4664-4669, 2007.}

E-4 *Burkholderia* sp. HME13 のヒダントイン-5-プロピオン酸アミドヒドロラーゼ遺伝子の同定
○糺谷啓仁, 村松久司, 間口洗樹, 原田泰輔, 加藤伸一郎, 柏木文拡, 金 哲史,
永田信治 (高知大・農)

【目的】エルゴチオネイン (ERT) は、高い抗酸化作用を持つヒスチジンベタイン誘導体である。これまでの研究で、*Burkholderia* sp. HME13 が ERT からチオウロカニン酸, 3-(5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-4-イル)プロピオン酸, ヒダントイン-5-プロピオン酸へ変換する代謝経路を持つと推測して、これら 3 つの反応を触媒する酵素の遺伝子 *ertA*, *ertB*, *ertC* を同定した。本研究では、*Burkholderia* sp. HME13 の ERT 資化経路の全容を解明するために、ヒダントイン-5-プロピオン酸に作用する酵素の探索を試みた。

【方法】*Burkholderia* sp. HME13 の *ertC* の上流に、アミノヒドロラーゼやアライントイナーゼ, ヒダントイナーゼに類似した機能を持つと予想されるタンパク質をコードする *ertD* を見出した。PCR で増幅した *ertD* を pET21a の *Nde* I -*Hind*III 部位に連結し、Rosetta-gamiB (DE3) を形質転換した。培養菌体を超音波破碎した粗酵素抽出液を、Ni-NTA アフィニティーカラムとトヨパール DEAE-650M カラムに供して ErtD を精製した。さらに、ヒダントイン-5-プロピオン酸を基質とする反応生成物を LC-MS で分析した。

【結果】ErtD をヒダントイン-5-プロピオン酸と反応させた生成物を LC-MS 分析した結果、ErtD はヒダントイン-5-プロピオン酸から *N*-カルバモイル-L-グルタミン酸への加水反応を触媒することが明らかになった。ErtD のヒダントイン-5-プロピオン酸に対する K_m , V_{max} を 30℃, 0.1 M リン酸カリウム緩衝液 (pH7.2) 存在下で測定したところ、それぞれ 3.7 mM, 1.5 U/mg であった。その一次構造から考えて、ErtD はアミノヒドロラーゼファミリーに属し、 Zn^{2+} が触媒機能の発現に関与することが推定された。

E-5 PhoD ファミリーに属するフコイダン脱硫酸化酵素の発見と分析
○倉本弥栄, 荒井良仁, 八木寿梓¹, 鈴木宏和¹, 大城 隆¹
(鳥取大院・持社創生,¹鳥取大・工)

【目的】フコイダンは、モズク、コンブなどの褐藻類の粘質物に含まれるヘテロ硫酸化多糖で、平均分子量約 200,000 であり、抗ガン作用や抗ウイルス作用などの様々な生理活性を有すると報告されている。当研究室では、オキナワモズク由来フコイダンの生理活性と構造の関連解明を目的として、酵素的なフコイダン分解について検討している。今までに、オキナワモズクフコイダン資性菌 *Luteolibacter algae* H18 によるフコイダン分解を研究する過程において、脱硫酸化反応が進行することが明らかになっている。そこで目的酵素の遺伝子同定、特性解明を行った結果、興味深い知見が得られたので報告する。

【方法・結果】本研究で見い出された、オキナワモズクフコイダンの脱硫酸化活性を有する酵素 (Fsut107) について BLAST 検索を行った結果、高い相同性を有するタンパク質の多くは、ホスファターゼ活性を有する PhoD ファミリーに属する酵素であった。既知フコイダン脱硫酸化酵素が formylglycine-dependent sulfatase のグループに属しているのに対し、系統樹解析では、Fsut107 はアルカリホスファターゼ活性を有する PhoD ファミリーと近縁であることが確認された。従って Fsut107 は、脱硫酸化活性を有した PhoD ファミリーのメンバーと考え、フコイダン脱硫酸化活性とホスファターゼ活性とを比較検討した。組み換え大腸菌から Fsut107 を精製し、オキナワモズクフコイダンと *p*-nitrophenylphosphate を用いた酵素反応を行ったところ、両者に対する活性を確認することができた。しかしながら、比活性はフコイダンの脱硫酸化活性の方が高いという結果になった。

E-6 高温性プロピオン酸酸化細菌が有する 2 つのフラボタンパク質の機能的異種発現への取り組み
○塩田悠介¹, 松谷峰之介², 山田 守^{1,3}, 高坂智之^{1,3}
(¹山口大・創科,²東京農大・生資ゲノム解析セ,³山口大・中高温微研セ)

【目的】嫌氣的プロピオン酸酸化経路において、コハク酸酸化反応はボトルネックとなる反応である。高温性プロピオン酸酸化細菌 *Pelotomaculum thermopropionicum* SI は、ゲノム解析の結果からコハク酸酸化に関わる 2 つの酵素 (SDH1 と SDH2) を有すると予測され、SDH1 が主にコハク酸酸化を担い、SDH2 はフマル酸還元を行うと示唆されている。本研究では、この 2 つの酵素のさらなる機能解析を行うため異種微生物細胞で機能的発現を試みた。

【方法・結果】異種微生物細胞として大腸菌を用い 2 つの酵素の発現を試みた。大腸菌 BW25113 株を親株としコハク酸脱水素酵素とフマル酸還元酵素をコードする全遺伝子欠損株 (Δ *sdhCDAB* Δ *frdABCD*) を構築し、その株にプラスミドを導入することで SDH1 と SDH2 を発現させた。しかし、プラスミド導入株ではコハク酸脱水素酵素活性は見られなかった。そこで、SDH1 および SDH2 の補酵素 flavin adenine dinucleotide (FAD) が結合するフラビン結合サブユニット (SdhA) を His-tag 精製し、FAD の結合を分析したところ、SDH1 と SDH2 の SdhA サブユニットでは酸化型 FAD の吸収スペクトルが確認できなかった。このことは、大腸菌細胞では SDH1 および SDH2 に FAD を結合することが出来ないことを示唆している。一方、SdhA の系統解析によって、コリネ型細菌の SDH が大腸菌よりも SDH1 および SDH2 に近縁であることが示されたことから、コリネ型細菌を宿主とした発現系も検討している。

E-7 ゲノム編集により構築した ENGase 欠損トマトの ENGase 活性および遊離 N-グリカン構造解析

○山本千晴, 前田 恵, 篠崎良仁^{1,2}, 杉本貢一¹, 江面 浩¹, 木村吉伸
(岡山大院・環境生命,¹筑波大・T-PIRC,²農工大・グローバル)

【目的】真核生物では、新生糖タンパク質の生合成において、フォールディングに失敗した糖タンパク質は小胞体から細胞質へ逆輸送され、小胞体関連分解を受ける。その際、脱糖鎖酵素である細胞質 PNGase / ENGase の作用により、ハイマンノース型遊離 N-グリカン (HMT-FNGs) が生じる。本研究では、植物細胞における FNGs の生理機能解明研究の一環として、(1) CRISPR-Cas9 システムによる ENGase 欠損トマトの構築、(2) ENGase 活性解析、(3) FNGs 構造解析を試みた。【方法・結果】トマト ENGase 遺伝子 (*Solyc06g050930*) に対し、2 種類のガイド RNA (ENG-t1, ENG-t2) を設計した。それらと Cas9 スクレアゼを共発現するプラスミドを構築後、*A. tumefaciens* EHA105 に導入し、Micro-Tom 子葉切片に感染させることで形質転換を行った。カナマイシン含有培地上でカルス、不定芽および不定根を形成した個体を T0 世代として得た。T1 世代について、ゲノム DNA を鋳型にした PCR を行った結果、T-DNA を喪失した 3 個体が得られた。また、DNA シークエンス解析の結果、3 個体全てにおいて標的配列近傍に同様の変異導入 (84 塩基の欠失) が検出された。そこで、これらの葉を用いて、ENGase 活性解析を行ったところ、いずれも活性の消失が確認できた。更に、野生株と ENGase 欠損株の葉からオリゴ糖鎖を抽出後、透析し、透析外液からイオン交換、ゲルろ過、蛍光ラベル、ConA アフィニティークロマトグラフィーにより HMT-FNGs を精製し、RP/SF-HPLC による構造解析を行った。その結果、欠損株では、ENGase の生成物である GN1 型 FNGs はほぼ検出されず、GN2 型 HMT-FNGs が主要構造であることが確認された。

E-8 アミロイド繊維形成抑制に関わる糖鎖機能解析を目的としたシアル酸含有 O-グリカンの多量精製

○中野海藍¹, 杉本 楓¹, 竹内良太², 前田 恵^{1,2}, 木村吉伸^{1,2}
(¹岡山大・農,²岡山大院・環境生命)

【目的】我々はハイマンノース型遊離 N-グリカン (HMT-FNGs) が変性タンパク質の正常フォールディングを促進し、ミスフォールドタンパク質の凝集を阻害することを見出している^[1]。また、アルツハイマー病の原因タンパク質となるアミロイドβ (Aβ) は、非還元末端にシアル酸を有する動物複合型 FNGs によりアミロイド線維化が抑制されるという予備実験的な結果を得た^[2]。そこで本研究では、シアル酸含有糖鎖によるアミロイド繊維形成抑制機構を解明することを目的として、シアル酸含有 O-グリカンの多量精製を行った。【方法・結果】ブタ膠様物 (3.2 g) をアクチナーゼ消化 (37°C, 72 h) し、ゲルろ過によりブタムチン糖ペプチドを得た。その凍結乾燥物 (2.0 g) は親水性クロマト法に供し、80% MeCN, 0.1% TFA, による洗浄後 0.1 N NH₃ aq によりシアリル化糖ペプチドを溶出させ、凍結乾燥物が 1.2 g 得られた。この糖ペプチドはアミノ酸組成分析により GalNAc を有することが確認できた。また、凍結乾燥物 0.1 g をヒドラジン分解 (100°C, 10 h) し、N-アセチル化後、凍結乾燥し、蛍光標識 (PA 化) を行った。得られた PA 化糖鎖は逆相 HPLC に供し、主要ピークは MS, MS/MS によりシアリル Tn 抗原 (Neu₅GalNAc₁) であることが同定された。α2,3-シアリダーゼ消化により、シアル酸が α2,3-結合していることが明らかになった。多量精製した O-グリカンを用い、大腸菌で発現させた Aβ のアミロイド線維化抑制活性を解析する。[1] Katsube, M., *et al.*, 19th Euro Carb (Barcelona, Spain, 2017) Abstract p574; [2] 杉本ら 農化中四国支部例会 p39 (2019 年 1 月高知)

E-9 ゲノム編集による酸性ペプチド：*N*-グリカナーゼ（aPNGase）完全欠損トマトの構築と aPNGase 活性測定系の改良 ○井口夢香¹，山本千晴²，前田 恵^{1,2}，篠崎良仁^{3,4}，杉本貢一³，江面 浩³，木村吉伸^{1,2}（¹岡山大・農，²岡山大院・環境生命，³筑波大・T-PIRC，⁴農工大・グローバル）

【目的】植物には、酸性ペプチド：*N*-グリカナーゼ（aPNGase）によって糖ペプチドから生成した植物複合型遊離 *N*-グリカン（PCT-FNGs）が遍在しているが、それらの生理機能は不明である。FNGs の生理機能解明研究の一環として、当研究室では、*A. thaliana* を用いて aPNGase の完全欠損株を作成したが、特徴的な表現形や塩感受性の変化は見られなかった。一方、aPNGase 欠損株にも PCT-FNGs が存在することから、aPNGase 非依存的な PCT-FNGs 生成機構が存在することを明らかにしている^[1]。しかしながら、果実成熟に関わる aPNGase 機能については解析がなされていないため、トマトを用いて aPNGase 完全欠損株の構築に着手した。トマトには aPNGase をコードする推定遺伝子が 6 種類存在するため、ノックアウト株を掛け合わせることによる多重欠損体の作成は困難であると考え、本研究では、ゲノム編集による aPNGase 完全欠損トマトの構築を目指した。【方法・結果】CRISPR-Cas9 によるゲノム編集のため、トマトに存在する 6 つの aPNGase 推定遺伝子を標的とした、ガイド RNA 配列（aPNG-t1, aPNG-t2, aPNG-t3, aPNG-t4）を設計した。LR 反応により Cas9 ベクターにそれらを挿入し、DNA シーケンスを確認した発現プラスミドを構築した。発現プラスミドはアグロバクテリウム EHA105 に導入し、トマト子葉切片に感染させることで形質転換を行った。更に、当研究室で確立した aPNGase 活性測定法を更に簡便化するため、aPNGase により生成する糖鎖を ABEE で蛍光標識する方法を検討した。[1] Uemura, R., *et al.*, 19th European Carbohydrate Symposium (Barcelona, Spain, 2017) Abstract p134.

E-10 超好熱菌由来色素依存性 D-乳酸脱水素酵素の X 線結晶構造解析 ○林 順司，大志田達也¹，川上竜巳，里村武範²，若山 守³，大島敏久⁴，櫻庭春彦⁵（徳島大・生物資源，¹高エネ研・物質構造，²福井大・工，³立命大・生命，⁴大阪工大・工，⁵香川大・農）

【背景・目的】色素依存性 D-乳酸脱水素酵素（Dye-DLDH）は、FAD を補酵素とし人工の酸化還元色素（ジクロロインドフェノールなど）を電子受容体として D-乳酸の酸化反応を触媒する酵素である。D-乳酸をエネルギー源とする微生物では、エネルギー生産系において重要な役割を果たしていると考えられているが、常温菌の Dye-DLDH は不安定なため詳細な機能・構造解析例は少ない。Dye-DLDH はバイオセンサー素子など産業面への利用も期待できるが、その不安定さから応用化は進んでいない。我々は数種の超好熱菌に Dye-DLDH を見出し、酵素化学的諸性質を明らかにすると共に D 乳酸検出用センサーの開発に成功している。これまでに、*Aeropyrum pernix* 由来 DLDH の X 線結晶構造解析に成功したが、FAD 非結合状態の構造情報しか取得できておらず触媒機構の解明には至っていない。現在、酵素/FAD 複合体の構造情報を得るため *A. pernix* DLDH の結晶化条件の検討を続けている。

【方法・結果】発現ベクター pET-15b/APE0487 を作製し、発現宿主として大腸菌 Rosetta (DE3) を形質転換させることで酵素を発現させた。酵素精製は熱処理（80℃，10 分），Ni アフィニティークロマトグラフィー，ゲルろ過クロマトグラフィーにて行った。結晶化スクリーニングは各種スクリーニングキットを使用しハンギングドロップ蒸気拡散法にて行い、結晶化温度に 4，20，25℃の 3 条件を検討することで新たに 2 種類の結晶を得た。得られた結晶を用いて高エネルギー加速器研究機構（ビームライン AR-NW12A）にて X 線回折実験を行った。今回、研究の進展について報告する。

E-11 *Bacillus* sp. YN14 を用いたガラクトールからの L-タガトース生産
○野島嘉人, 鈴木琢磨¹, 森本兼司 (香川大院・農, ¹愛媛大院・連農)

【目的】 土壌からスクリーニングされた *Bacillus* sp. YN14 は L-フシトールを酸化し 6-デオキシ-L-タガトースを生産する。この反応はガラクトールから L-タガトースへの酸化反応に応用できると考えられた。L-フシトールを培養炭素源として本菌を培養した菌体でガラクトールを基質として洗浄菌体反応させたところタガトースが生産されたが、その転換率は 24 時間で 5%と低かった。その転換率を向上させるために、洗浄菌体反応の条件を検討し、その生産物を同定することを目的とした。

【方法・結果】

無機塩培地をベースとし、培養炭素源を検討した。炭素第 2, 3 位が L-フシトールと同様の構造を有するキシリトール, D-アラビトールを用いた。キシリトール, D-アラビトールを誘導炭素源とした際に 24 時間の反応でその転換率はそれぞれ 10%, 35%であり、D-アラビトールが最適であった。

次に、洗浄菌体反応時の菌体濁度の影響を検討した結果、O.D._(600 nm)=10 での転換率は 24 時間で 35%であったが、20 の条件で 70%まで上昇した。

得られた生産物は旋光度, L-ラムノースイソメラーゼ, L-リボースイソメラーゼによる反応産物を調べた結果、L-タガトースであったことからガラクトールの酸化は D-アラビトールデヒドロゲナーゼであると示唆された。

F-1 ヒザラガイの磁鉄鉱菌に特異的な新奇タンパク質 RTMP1 の機能解析
○ 檜原優佳, 田村 隆, 稲垣賢二, 守屋央朗, 根本理子 (岡山大院・環境生命)

【目的】 ヒザラガイは歯に磁鉄鉱を沈着する。ヒザラガイの磁鉄鉱形成機構の解明は、穏和な条件における磁鉄鉱合成技術の開発につながると期待されている。これまでに、オオバンヒザラガイ *Cryptochiton stelleri* の歯のプロテオーム解析から、磁鉄鉱の沈着した歯に特異的な新奇タンパク質 RTMP1 が同定された。ヒザラガイの歯は、磁鉄鉱が沈着した歯冠部とそれを支える有機膜で構成されるが、RTMP1 は歯冠部への磁鉄鉱沈着に関与している可能性があると考えられた。そこで本研究では、RTMP1 を異種発現する酵母を用いてその機能を解析することを目的とした。

【方法・結果】 酵母を用いて、RTMP1 からシグナル配列を除いた RTMP1(Δ ss)と、RTMP1(Δ ss)からグリシン、セリンに富んだ繰り返し配列を除いた RTMP1(Δ GS)を GST と融合発現させた。上記組換え酵母を鉄含有培地で培養し、ICP-AES を用いて酵母細胞内の鉄蓄積量を測定したところ、コントロールと比べ RTMP1(Δ ss)発現酵母の鉄蓄積量が2倍以上増加した。次に、オオバンヒザラガイ歯組織における RTMP1 の局在を解析するため、酵母で発現、精製した RTMP1(Δ GS)に対するポリクローナル抗体を作製した。この抗体を用いてウェスタンブロットを行ったところ、RTMP1 が歯冠部特異的に存在することが示された。さらに、脱リン酸化処理によって、RTMP1 のタンパク質バンドが低分子側にシフトしたことから、RTMP1 がリン酸化されていることが示唆された。

F-2 ヒザラガイ類のトランスクリプトーム比較による磁鉄鉱形成関連因子の探索
○ 岡田航輝, 伊藤孝祐, 田村 隆, 稲垣賢二, 守屋央朗, David Kisailus¹,
大越健嗣², 小布施祈織, 根本理子
(岡山大院・環境生命, ¹カリフォルニア大・リバーサイド, ²東邦大・理)

【目的】 ヒザラガイ類は、歯冠部に磁鉄鉱(Fe_3O_4)が沈着した歯舌と呼ばれる摂餌器官を持つ。ヒザラガイ類の歯の形成機構を解明できれば、その形成原理を模倣して低エネルギーでの磁鉄鉱合成に応用できる可能性がある。我々はこれまでの研究で、オオバンヒザラガイ *Cryptochiton stelleri* の歯舌組織のトランスクリプトームデータを利用した解析から、磁鉄鉱の沈着した歯冠部に特異的に含まれ、その形成に関与していると考えられる22個のタンパク質を同定した。本研究では、ヒザラガイ類において普遍的に存在する磁鉄鉱形成関連タンパク質を明らかにすることを目的とし、新たに3種のヒザラガイ類のトランスクリプトームデータを取得し、比較解析を行った。

【方法・結果】 まず、ヒザラガイ *Acanthopleura japonica*, ヒメケハダヒザラガイ *Acanthochitona achates*, ババガセ *Placiphorella stimpsoni* の歯舌組織から RNA を抽出し、次世代シーケンサーで RNA シーケンス解析を行った。得られたリードを *De novo* アセンブルし、トランスクリプトームデータを構築した。BLAST による相同配列検索を行ったところ、*A. japonica*, *A. achates*, *P. stimpsoni* において、*C. stelleri* で同定された22個の歯冠部特異的タンパク質が保存されており、これらのタンパク質がヒザラガイ類において共通して磁鉄鉱形成に関与している可能性が示された。また、*C. stelleri* の歯舌組織で高発現しており、磁鉄鉱形成のための鉄の輸送に関与していると考えられている細胞質型のフェリチンが、他の3種のヒザラガイの歯舌組織においても発現していることが示された。

F-3 **N-ミリスチル化タンパク質結合因子 UNC119A と二重アシル化タンパク質との相互作用の解析**
○岩本奈津子, 守屋康子, 内海俊彦 (山口大院・創科)

【目的】 *N*-ミリスチル化タンパク質結合因子UNC119Aは、*N*-ミリスチル化タンパク質であるSrcファミリーチロシンキナーゼ(SFKs)のミリスチル基と結合し、それらの細胞内局在に参与することが報告されている。SFKsであるFynは*N*-ミリスチル化に加え*S*-パルミトイル化される二重アシル化タンパク質であり、その両方が修飾された状態ではUNC119Aと相互作用しないと報告されている。本研究では、UNC119Aと二重アシル化タンパク質との相互作用の解析を目的とし、パルミトイル化部位の位置に注目し、3,6位がパルミトイル化されるFynと、SFKsではないが同じく二重アシル化タンパク質であり7位がパルミトイル化されるEEPD1の細胞内局在にUNC119Aが与える影響について比較・検討した。【方法・結果】 Fyn, EEPD1の全長及びN末端10アミノ酸、それぞれの*N*-ミリスチル化を阻害したG2A変異体、*S*-パルミトイル化を阻害したC to S変異体のC末端にGFPを、UNC119AのC末端にFlag-tagを付加した融合タンパク質cDNAを作成した。これらをCOS-1細胞に遺伝子導入し共発現させ、GFP蛍光観察と免疫染色によりFyn及びEEPD1の細胞内局在に対するUNC119Aの影響を検討した。その結果、原形質膜とゴルジ体に局在するFyn-WTはUNC119Aの共発現でも局在に変化はないが、3,6位のパルミトイル化が阻害されゴルジ体に局在するC to S変異体は共発現によって細胞質局在に変化した。一方で、原形質膜とゴルジ体に局在するEEPD1はUNC119Aとの共発現で、WTと7位のパルミトイル化が阻害されたC to S変異体の両方が細胞質に局在した。これらの結果から二重アシル化タンパク質とUNC119Aとの相互作用にはパルミトイル化の有無ではなく、パルミトイル化の修飾位置が重要であることが示された。

F-4 **アポトーシス過程で *N*-ミリスチル化タンパク質 DCUN1D3 及び STBD1 に生ずるカスパーゼ切断に関する研究**
○西上美里, 吉川祐希, 守屋康子, 内海俊彦 (山口大院・創科)

【目的】 我々はこれまでに、ヒト *N*-ミリスチル化タンパク質の網羅的探索とその機能解析の過程で、*N*-ミリスチル化されるE3ユビキチンリガーゼ関連タンパク質DCUN1D3とグリコーゲンオートファジー関連タンパク質STBD1が、アポトーシス過程でカスパーゼにより特異的に切断されることを明らかにした。本研究では、DCUN1D3とSTBD1のカスパーゼによる特異的切断と切断に伴い生じる切断断片の細胞内挙動について比較・検討を行った。【方法・結果】 C末端にFlag-tagを付加したDCUN1D3, STBD1及び各種変異体をCOS-1細胞に遺伝子導入した。アルキルミリスチン酸で代謝標識した後クリック反応により*N*-ミリスチル化を、ウエスタンブロットによりタンパク質発現を、また免疫染色法により細胞内局在を検討した。その結果、野生型(WT)のDCUN1D3は*N*-ミリスチル化され原形質膜に局在し、ミリスチル化を阻害したG2A変異体は核に局在したのに対し、WTのSTBD1は小胞体の一部に、G2Aは小胞体上のミトコンドリアとの接触面に局在した。切断部位の解析から、DCUN1D3は160位のAsp, STBD1は199位のAspのC末端側でカスパーゼにより切断されること、また、その切断にはDCUN1D3では*N*-ミリスチル化が必要であるのに対し、STBD1は必要としないことが示された。切断後の断片は、DCUN1D3では、N末端側は原形質膜に局在し、C末端側はプロテアソーム分解されるのに対し、STBD1では、N末端側は小胞体全体に局在し、C末端側は一部がタンパク質分解を受けることが示された。以上、二つの*N*-ミリスチル化タンパク質で、そのカスパーゼ切断と、切断に伴う切断断片の細胞内挙動が異なることが示された。

F-5 キノヘムプロテイン・アミン脱水素酵素オペロンの近傍遺伝子 *Pden_1710* の役割の解析
○宮城尚弥¹, 中井忠志^{1,2} (¹ 広工大院・生命機能, ² 広工大・生命)

キノヘムプロテイン・アミン脱水素酵素 (QHNDH) は一級アミンを酸化しアルデヒドを生成する酵素で, *Paracoccus denitrificans* Pd1222 ではブチルアミン (*n*-BA) によりペリプラズムへの発現が誘導される。QHNDH は $\alpha\beta\gamma$ の3つのサブユニットから構成され, その構造遺伝子は *qhp* オペロンを構成している。*qhp* オペロンの近傍には, QHNDH を持つ細菌で高度に保存された遺伝子 (*Pden_1710*) が存在する。筆者らは *Pden_1710* の上流領域のプロモーター解析により *Pden_1710* が QHNDH と同時に発現することを示し, QHNDH の生合成または QHNDH による生成物の代謝への *Pden_1710* の関与が示唆されていた。本研究では *Pden_1710* の役割を明確にするため, *Pden_1710* の破壊株を作製し, 増殖測定と QHNDH 活性測定を行った。まず破壊株作製用プラスミド pGRPd1-*Pden_1710*-Km^R を構築し, 大腸菌 S17-1 を用いた二親接合により野生株に導入し *Pden_1710* 破壊株を得た。続いて炭素源として *n*-BA とコリンを含む最少培地で野生株と破壊株を培養し, ペリプラズム抽出画分の QHNDH 活性を測定した。その結果, 破壊株は野生株と同程度の活性を示した。次に野生株と破壊株を炭素源として *n*-BA 1 種類またはコリンと *n*-BA の2種類を含む最少培地にて培養し, 24 時間後と 48 時間後の濁度を測定した。その結果, 野生株は *n*-BA のみの最少培地にて増殖した一方, 破壊株は 48 時間後も増殖が確認されなかった。また破壊株に *Pden_1710* 発現プラスミドを導入して同様に培養すると *n*-BA のみの最少培地にて増殖を確認した。以上から *Pden_1710* は QHNDH の生合成には関与せず, *n*-BA 代謝に重要な役割を担っていることが判明した。

F-6 タデアイ葉由来フラボノイドの潰瘍性大腸炎モデルマウスでの抗炎症作用
○木村英人, 徳山翔太, 平林 侑, 石原朋恵, 地阪光生¹, 横田一成^{1,2}
(寿製菓 (株), ¹ 島根大・生資料, ² 鳥取大院・連農)

【目的】タデアイ (*Persicaria tinctoria* (Aiton) Spach) は染料原料として有名であるが, 薬用植物としても解毒, 解熱, 消炎などの目的で古くから利用されていた。本研究では, タデアイ葉の主要なフラボノイドである 3,5,4'-trihydroxy-6,7-methylenedioxyflavone (TMF) 配糖体およびそのアグリコンのマクロファージ細胞および潰瘍性大腸炎モデルマウスでの抗炎症作用を検討した。

【方法・結果】タデアイ葉の熱水抽出物から Diaion HP-20 と逆相の ODS カラムで4つの TMF 配糖体を含む画分 (TMF-G) を分離した。TMF-G を加水分解して遊離の TMF を調製した。マクロファージ細胞 (RAW264) でのリポ多糖 (LPS) による炎症性サイトカイン遺伝子の誘導に対する遊離の TMF の抑制効果を調べた。この結果, 遊離の TMF は, インターロイキン (IL)-1 β , IL-6, 誘導性一酸化窒素合成酵素 (iNOS) 及び腫瘍性壊死因子 (TNF)- α の遺伝子発現を有意に抑制し, 一方で, 炎症を抑制するサイトカインである IL-10 の遺伝子発現を促進させた。次にデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を投与することで潰瘍性大腸炎を誘導したマウスに TMF-G あるいは遊離の TMF を投与したところ, 潰瘍性大腸炎の症状である大腸組織の損傷, 体重の低下, 大腸長の短縮が抑制された。TMF-G を投与したマウスの糞中には, 遊離の TMF が主に含まれていた。そして, 肝臓中には TMF のグルクロン酸抱合体が確認された。このことから, マウスに投与された TMF-G は消化管で遊離の TMF に分解され, 体内に吸収されて抗炎症作用を示すと考えられた。

F-7 味認識装置, 及び GC×GC-TOFMS を用いたピーマンの風味解析
○大塚祐季, 森 大地, 松本直也, 島村智子, 柏木丈弘 (高知大・農)

【背景】ピーマンは全国で年間約 13 万 t 収穫され, ハウス施設栽培により周年栽培が可能な農作物である。本研究では味認識装置, 及び GC×GC-TOFMS を用いた科学的根拠に基づく風味の解析・高付加価値化を目的とし, 各種ピーマンにおける味と香気成分の数値化を行い, 各種特徴を見出した。

【方法】分析試料として緑ピーマン (GP) を 12 種類, カラーピーマン (CP) を 9 種類用いた。試料可食部 20 g に水 200 g を加え, 電子レンジで 3 分加熱後に粉碎し, ろ過したものを抽出液とした。味分析には味認識装置 (TS-5000, Intelligent Sensor Technology, Inc. 製) を用いた。香気成分分析には GC×GC-TOFMS (Pegasus 4D, LECO Corp. 製) を用い, 一次, 二次カラムには Rtx-WAX と Rxi-5ms を使用した。

【結果】味分析: GP は CP よりも苦味値と渋味値が高かった。さらに旨味値には差が認められない一方で, 苦味値と渋味値は品種ごとの差が極めて大きく, 2 つの味値の間には正の相関が認められた ($r=0.967$)。香気分析: 全検出化合物の有意差の指標 (Fisher Ratio 値) を算出し, 特徴的な成分を抽出したところ, 各種ピーマン中から 495 本の化合物由来のピークが検出され, 255 種類の化合物が認められた。加えて, 多変量解析により各種ピーマンの特徴成分を分類したところ, GP では 140 種類, CP では, 145 種類の成分由来ピークが見出された。さらに特徴香であるピラジン類量も試料間ごとの差が認められた。従って, 各種ピーマンの風味 (味や香り) は色, 産地, 及び収穫時期によって変化することが示唆された。

F-8 抗アレルギー特性を有する火落乳酸菌の探索
○尾原 英, 鈴木卓弥, 山本祥也 (広島大院・統合生命)

【目的】我々の研究グループでは, 清酒の腐敗・腐造を引き起こす乳酸菌である火落菌の有効利用を目指し, その生体調節作用を探索している。種々の乳酸菌には炎症やアレルギーの抑制効果などの免疫調節作用が見出されているが, 火落菌にはその報告はない。そこで本研究では, まず, 健常マウスの脾臓細胞培養系を用いて, 51 菌株の火落菌の免疫賦活作用を評価した。続いて, 卵白アルブミン (OVA) 感作マウスの脾臓細胞培養系における選抜火落菌株による Th2 免疫応答の抑制効果を検証した。

【方法】6-8 週齢 BALB/c 雌性マウスより調製した脾臓細胞に各種火落菌 (1×10^7 cfu) を添加し, 48 時間培養後, アレルギー抑制性サイトカイン IFN- γ および IL-10 産生量を ELISA 法で定量した。続いて, 6 および 7 週齢目に BALB/c 雌性マウスに 100 μ g OVA と 2 mg 水酸化アルミニウムゲルを腹腔内投与することで OVA 感作マウスを作出した。同マウスより調製した脾臓細胞に選抜火落菌株と OVA を添加し, 120 時間培養後, アレルギー関連サイトカイン IL-4 産生量を測定した。

【結果・考察】対照群と比較して, 5 つの火落菌株で IL-10 産生量の有意な増加, また別の 2 菌株で IFN- γ 産生量の有意な増加が確認されたため, これら 7 菌株を選抜した。また選抜株のうち, *Lactobacillus* (*L.*) *homohiochii* S-26 株および S-35 株, *L. fructivorans* S-14 株および S-21 株が OVA 誘導性 IL-4 産生量を有意に減少した。以上の結果より, 51 菌株の火落菌の中から, 優れた抗アレルギー効果を発揮する火落菌 4 菌株を得ることに成功した。

F-9 ピーナッツアレルギー発症に関わる Ara h1 の N 末端ドメインの重要性
○石橋里菜¹, Asaduzzaman Md², 松井照明³, 高里良宏³, 伊藤浩明³,
木村吉伸^{1,2}, 前田 恵^{1,2}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命, ³あいち小児医療総合セ・免疫)

【目的】ピーナッツアレルギーは最も重篤な食物アレルギーの一つであり、16種類のアレルゲン性タンパク質がピーナッツの種子から同定されている。最近、主要アレルゲン Ara h1 (63 kDa) とその N 末端ドメイン (65 アミノ酸残基) を欠損した 54 kDa のサブユニットが疎水クロマトにより分離されることが明らかになった^[1]。本研究では、両サブユニットとピーナッツアレルギー症例血清中の IgE との結合性をイムノブロット法で解析した。【方法と結果】ピーナッツ粉末 970 g をアセトン脱脂し、脱脂物から、Ara h1 を 50 mM Tris-HCl (pH 8.3) / 0.2 M NaCl で抽出し、陰イオン交換、ゲルろ過、疎水クロマトにより両サブユニットを精製した。両サブユニットを SDS-PAGE 後、イムノブロット解析を行った。ピーナッツアレルギー症例血清 IgE は 63 kDa Ara h1 と 54 kDa Ara h1 の両方に結合したが、非アレルギー症例血清 IgE は 54 kDa Ara h1 のみに結合した。このことから、63 kDa の N 末端ドメインに存在するエピトープがアレルギー発症に関与していることが推察された。また、Ara h1 は β 1-2 結合キシロース残基を有する植物抗原性糖鎖を有する糖タンパク質であるため、PNGaseF 消化によって植物抗原性糖鎖とアレルギー患者 IgE との結合性を解析した。その結果、ピーナッツアレルギー症例 9 例中 1 例の血清 IgE は脱グリコシル化 Ara h1 に結合せず、この IgE は糖鎖をエピトープとしていることが明らかになった。この結果はスギ花粉症患者の 10~20% は糖鎖抗原を認識する IgE を有するという報告と一致していた^[2]。

[1]Asaduzzaman ら日本農芸化学会 2018 年度中四国支部大会 p51; [2] *Clin. Exp. Allergy*, 34, 770-778 (2004)

F-10 ビタミン B₁₂ 添加はアミロイド β を発現した線虫 (*Caenorhabditis elegans*) の麻痺を緩和する
○Andra Arif¹, 谷川尚子², 美藤友博^{1,2}, 渡邊文雄^{1,2}, 藪田行哲^{1,2}
(¹鳥取大院・持社創生, ²鳥取大・農)

【背景と目的】ビタミン B₁₂ (B₁₂) の欠乏は血漿ホモシステイン (Hcy) 濃度の増加などにより酸化ストレスを引き起こす。高 Hcy 血漿はアミロイド β (A β) の発現やタウタンパク質のリン酸化を促進する事が報告されており、アルツハイマー病の発症との関連性が示唆されている。しかし B₁₂ の欠乏による A β 凝集に関する詳細な作用メカニズムは明らかになっていない。ところで線虫も生育に B₁₂ を要求し、その欠乏は Hcy の増加と酸化ストレスを引き起こす。そこで A β の凝集に及ぼす B₁₂ の影響について調べるため、A β を発現する線虫を用いて B₁₂ 供給の有無による A β 毒性について調査した。

【方法】線虫 GMC101 株は A β を発現すると麻痺を引き起こす。そこで A β の毒性は麻痺した線虫を経時的に観察することで評価した。線虫の培養には B₁₂ 添加 (100 μ g/L) あるいは無添加の NGM 寒天培地を用い、B₁₂ 添加および無添加の培地に同調培養した線虫を L4 ステージまで 20°C で培養した。その後、25°C に移動し A β の発現を誘導し、温度上昇から 12 時間後より、経時的に麻痺した線虫の数を記録した。

【結果・考察】B₁₂ 無添加線虫では Hcy が蓄積しており、B₁₂ が不足もしくは欠乏している事を確認した。B₁₂ 添加線虫は、無添加の線虫と比較して麻痺の進行が緩やかであった。A β の発現量を qPCR により調べたところ、二つのグループにおける発現量の有意差は認められなかった。以上の結果より、B₁₂ の供給により Hcy 量が低下し、酸化ストレスが軽減され、A β の毒性が緩和されると考えられた。すなわち、酸化ストレスが A β 凝集の促進因子であることが示唆された。

G-1 ビタミン B₁₂ 欠乏が線虫 (*C. elegans*) の産卵機能に及ぼす影響
○山本 葵, 藪田行哲, 渡邊文雄, 美藤友博 (鳥取大・農)

【目的】ビタミン B₁₂ (B₁₂) 欠乏症は神経障害や巨赤芽球性貧血を発症させることが知られている。また、B₁₂ の欠乏は不妊症との関連性が報告されているが、その詳細な発症メカニズムは不明である。本研究はヒトのモデル生物である線虫 (*C. elegans*) を用いて、B₁₂ 欠乏症が産卵機能に及ぼす影響を詳細に検討した。

【方法・結果】コントロール線虫と B₁₂ 欠乏線虫は B₁₂ 添加培地と B₁₂ 無添加培地で継代的に生育させ調製した。線虫の産卵数を経時的に測定した結果、B₁₂ 欠乏線虫はコントロール線虫と比較し、産卵のピークが遅れ、産卵期間が延長することが明らかになった。マイクロアレイ解析により、B₁₂ 欠乏で応答する産卵機能に寄与する遺伝子から *mod-5* を選抜し、qPCR 法で遺伝子発現量を評価した結果、B₁₂ 欠乏線虫では *mod-5* の mRNA 発現がコントロール線虫の約 20% まで低下していた。*mod-5* はセロトニンの再取り込みの機能を有することが解析されている。そこで HPLC を用いてセロトニンの定量を行った結果、B₁₂ 欠乏線虫ではコントロール線虫の約 5.6 倍のセロトニンの蓄積を示した。さらにセロトニン再取り込み阻害剤であるフルオキセチンをコントロール線虫に供与した場合、セロトニンの蓄積のみならず B₁₂ 欠乏線虫と同様に産卵のピークが遅れ、産卵期間の延長を示すことが明らかになった。これらの結果より、B₁₂ 欠乏はセロトニンの再取り込み機構に影響を及ぼし線虫の産卵期間の延長を引き起こすことが示唆された。

G-2 植物 N-グリカンの腸内細菌増殖活性解析に向けた食用種子からの糖鎖多量調製
○荒木作彩¹, 前田 恵^{1,2}, 山本 勇³, 木村万里子³, 木村吉伸^{1,2}
(¹岡山大・農, ²岡山大院・環境生命, ³神戸女子大院・食物栄養)

【目的】ほとんどの分泌型植物糖タンパク質には、 α 1-3Fuc および β 1-2Xyl が結合した Man3Xyl1Fuc1GlcNAc2 (M3FX) をコア構造とする植物抗原性糖鎖が発現している。一方、乾燥種子貯蔵タンパク質にはハイマンノース型糖鎖が豊富に含まれている。我々はイチヨウ種子貯蔵タンパク質とアズキ貯蔵タンパク質がこれらの機能性 N-グリカンの有用な供給源になることを報告している。N-グリカンの腸内細菌増殖活性については、これまでに動物複合型 N-グリカンが *Bifidobacterium infantis* の増殖を促進することが報告されているが^[1]、植物 N-グリカンによる腸内細菌の増殖活性については報告例がない。そこで本研究では、植物 N-グリカンの腸内細菌増殖活性を解析することを目的として、糖ペプチドの多量精製を行った。【方法・結果】イチヨウ種子貯蔵タンパク質からは、ペプシンとアクチナーゼによる連続消化で糖ペプチドを調製後、ゲルろ過と Shodex NH₂-P 樹脂による親水性クロマト (0.1% TFA 画分) で M3FX-Asn を調製した。一方、アズキ貯蔵糖タンパク質については、ペプシン消化物から疎水クロマトにより糖ペプチドを部分精製後、そのアクチナーゼ消化物からゲルろ過と親水性クロマトによりハイマンノース型糖ペプチド (M8-Asn) を調製した。糖鎖構造解析から M3FX 含有糖ペプチド (52.3 mg)、Man8GlcNAc2 含有糖ペプチド (27 mg) が精製されていることを確認した。現在これらの糖ペプチドを用いて、*B. adolescentis*, *B. longum* subsp. *infantis*, *B. longum* subsp. *adolescentis*, *B. pseudocatenulatum* に対する増殖活性を解析している。 [1] Karav S., et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, **82**, 3623-3630(2016)

G-3 さつま砂糖漬け由来酵母がさつま砂糖漬けの品質に及ぼす影響
○福田 翼, 小林聡子, 横山文二, 辰野竜平, 古下 学 (水大校・食品科学)

【目的】さつま砂糖漬けは、江戸時代の料理集「鯛百珍料理秘密箱」(1785年)に記載された鯛の保存食で、味噌漬け工程と砂糖漬け工程により製造される。これまでの研究成果より、さつま砂糖漬けにおける味噌漬け工程は、細菌増殖抑制効果および嗜好性を向上させる事が明らかとなった。また、さつま砂糖漬けの真菌叢が *Zygosaccharomyces* 属が優占となる。そこで、さつま砂糖漬け由来酵母 *Zygosaccharomyce* sp. MZ20, 味噌由来酵母 *Zygosaccharomyce* sp. SM20 および未処理由来酵母 *Debaryomyces* sp. MS20 を接種したさつま砂糖漬けを製造し、酵母がさつま砂糖漬けの品質に及ぼす影響を評価した。

【方法・結果】さつま砂糖漬け製造は「鯛百珍料理秘密箱」を参考にした。魚肉は、マダイを使用した。魚肉は、脱水シートおよび加塩により、味噌漬け工程後の魚肉と同等の水分および塩分に調整した。調整した魚肉はガラス容器に入れ、魚肉重量に対して20%の砂糖を添加した。容器を密封後、20°Cで発酵させた。酵母の接種は、酵母の初発菌数が 10^5 CFU/g となる様に調整した酵母懸濁液を添加した。

発酵4週間目までの細菌数は、いずれの酵母においてもコントロール(酵母未接種)よりも低かった。しかし、水分、塩分、pHは、いずれの酵母およびコントロールで差は見られなかった。10%TCA可溶性窒素量および総遊離アミノ酸量は、いずれの酵母においてもコントロールより低かった。一方、味覚センサーを用いた味評価を行った結果、旨味はいずれの酵母においてもコントロールより強かった。さらに、香りセンサーを用いた香り評価を行った結果、いずれの酵母においてもコントロールより強かった。

G-4 オリーブ葉抽出液が線維芽細胞のコラーゲンと抗酸化物質に与える影響
○岩部璃音, 野崎智絵, 小川雅廣¹ (香川大院・農, ¹香川大・農)

【目的】近年、オリーブの葉を活用した食品の開発が増えてきている。我々は、オリーブ葉の乾燥粉末を給餌した養殖ハマチ(オリーブハマチ)の筋肉中の成分を調べたところ、通常養殖ハマチに比べてコラーゲン含量が増加していることを報告した。オリーブ葉にはポリフェノール(PP)が多量に含まれることから、オリーブ葉中のPPがコラーゲン産生細胞である線維芽細胞に作用してコラーゲン産生量を増加させたことが考えられる。コラーゲンの産生量の増加には、アスコルビン酸(ASA)が深く関わっている。そこで本研究では、オリーブ葉中から抽出した成分が線維芽細胞のコラーゲン産生とASAなどの抗酸化物質の含量にどのような影響を与えるかを調べることを目的とした。

【方法・結果】実験には金魚鱗由来(GAKS)とヒト胎児由来(KMST-6)の二種類の線維芽細胞を用いた。細胞に添加するオリーブ葉抽出液(OLE)には、オリーブ葉の乾燥粉末を100%メタノールで抽出し濃縮乾固したものをを用いた。線維芽細胞のコラーゲン量は、GAKSを5ppmのOLEで処理すると約2.0倍に、KMST-6を10ppmのOLEで処理すると約1.6倍にそれぞれ増加した。細胞内の抗酸化物質であるASA量およびグルタチオン(GSH)量は、OLE処理によって約1.2~1.5倍に増加した。以上のことより、線維芽細胞にOLE処理を施すと、細胞内のASAが増加し、その結果コラーゲンの産生量が増えたと示唆された。また、ASA量の増加にはGSHが関わっている可能性が示唆された。

G-5 鯉節由来ジペプチジルペプチダーゼ IV 阻害ペプチドと糖負荷血糖上昇抑制試験
○関 英治, 山根拓也¹, 薩 秀夫², 大久保岩男³
(ヤマキ(株), ¹大阪府大院・生環科, ²前工大院・工, ³三笠総合病院)

【目的】鯉だし粕のプロテアーゼ酵素分解物にジペプチジルペプチダーゼ (DPP) IV 活性阻害が認められたことから成分の単離・同定を試みた。【方法・結果】Sep-Pak C18 カラムを用いて N5 から 10%エタノール溶出画分 (N5-2 画分) ($IC_{50}=73.71 \mu\text{g/ml}$) を得た。N5-2 画分の収率は 19.63%, DPP IV 活性阻害力価の回収率は 100.15%であった。さらに, UPLC カラムクロマトグラフィーの N5-2-3 画分に 70%の DPP IV 活性阻害が認められた。プロテインシーケンサーを用いて各ピークのアミノ酸配列を決定した Ala-Va-Phe, Gly-Val-Phe, Glu-Val-Phe, は新規であった。Trp-Val (0.14%; Trp-Val 含量 15.24 mg/100 g N5-2 画分, DPP IV 活性阻害 IC_{50} 値; 11.21 $\mu\text{g/ml}$) であった。5-2 画分の生理機能解析を行い, Caco-2 細胞膜上に N5-2 画分 400 mg/ml の添加で約 20%の DPP IV 阻害活性が有意 ($p<0.05$) に認められヒト小腸上皮細胞において N5-2 画分が細胞膜上の DPP IV 活性を阻害することが示唆された。ICR マウス ($n=8$) を用いた N5-2 画分の糖負荷血糖上昇抑制試験 (OGTT) を行い, グルコース投与前に N5-2 画分を投与 (100 mg/kg), 続けて 1 g/kg BW のグルコースを投与, 尾静脈より回収した血液の血糖値を測定し, 血糖値の上昇は 30 分時点でコントロール群のマウスと比較して有意 ($p<0.05$) に抑制された。60 分以降でも N5-2 画分投与群のマウスはコントロール投与群のマウスと比較して血糖値が低くなる傾向がみられた。以上の結果, N5-2 画分は DPP IV 活性阻害を介して糖負荷血糖上昇抑制作用が推定される。

G-6 科学的分析による各種ナスの特徴の可視化
○森 大地, 大塚祐季, 松本直也, 柏木丈拵, 島村智子 (高知大・農)

【目的】ナスは高知県の代表的な農産物であり, 優れた機能性が数多く報告されている。しかし, その風味の特徴を客観的に評価した例は皆無である。本研究では, ナスの味, 香り, 色, 機能性成分, 機能性に関するデータを取得して比較を行い, 産地や形状による特徴及び各分析値の関連について調べた。

【方法】産地, 形状の異なるナス 19 種類を試料とした。可食部 20 g に対して水 200 mL を添加し, 電子レンジで 3 分間加熱した。これをミキサーを用いて粉碎し, ろ過したものを測定試料 (0.1 g/mL) とした。測定項目は下記の通りとした: 重量, 色彩値, pH, Brix, 遊離 アミノ酸量 (AQC 法), ポリフェノール量 (FC 法), 味 (味認識装置), 香気成分 (SPME 法, GC×GC-TOFMS), 抗酸化活性 (DPPH 法, WST-1 法)。以上の分析値を用いて多変量解析を行った。

【結果及び考察】FR 値に基づき各試料の香りに寄与率が高い特徴的な成分を抽出し, 主成分分析による分類を試みたところ, ナスの香りはその形状ごとにグループ化することが可能であった。また, アミノ酸含量は試料間の差が大きく, 265~2958 $\mu\text{g/g F.W.}$ と 10 倍以上の違いが認められた。味については, 苦味, 渋味, 旨味において試料間の差があることが判明した。多変量解析の結果, ナスの色 (a^* , b^*) と抗酸化活性の間に有意な相関が認められた ($r>0.511$)。また, 抗酸化活性は, 苦味, ならびにポリフェノール量とも有意な相関を示した ($r>0.702$)。今後は, 品種, 収穫時期, 生産者ごとの違いについても検討していく予定である。

G-7 ヤギ乳の品質に対する酒粕添加飼料の影響

○川原里穂, 川添建太郎^{1,2}, 富 裕孝³, 柏木丈弘, 島村智子
(高知大・農, ¹川添ヤギ牧場, ²広島大院・統合生命, ³高知大・地域セ)

【目的】ヤギ乳は牛乳と比較してアレルギーの原因となる α SI-カゼインがほとんど含まれないこと、ならびに体内で吸収されやすい中鎖脂肪酸が多く含まれていることなどから、牛乳に次ぐ動物性飲料として期待されている。ヤギ用の濃厚飼料には一般的に輸入大豆粕が使用されるが、近年、輸入飼料の価格高騰や自給率の低迷が問題となっている。そこで本研究では、安定的に入手可能で、かつ植物性タンパク質に富む酒粕を飼料に添加して飼育を行い、得られたヤギ乳の乳質、及び風味を評価した。

【方法】川添ヤギ牧場で飼育しているヤギを4群(各群20頭)に分け、1, 2群には酒粕無添加飼料を与え(無添加区)、3, 4群には酒粕添加飼料を与えた(添加区)。酒粕は濱川商店(高知県)のものを用いた。試料採取は2020年5月から11月に行った。各群で得たヤギ乳を、官能試験、乳質検査、脂肪酸組成分析に供し、無添加区と添加区の結果を比較した。

【結果】ヤギ乳の官能試験(20代の男女15名)の結果、無添加区と添加区の乳の味に有意差は認められなかった。乳質検査では、タンパク質含量と脂肪含量において、添加区の方が高い傾向にあった。一方、泌乳量は無添加区の方が高い傾向にあった。また、脂肪酸組成には両試験区に目立った差は認められなかった。以上のことから、酒粕の濃厚飼料としての利用は、乳質、及び風味に影響を与えないことが判明した。今後、濃厚飼料の一つとして酒粕を積極的に利用することにより、濃厚飼料調達安定化だけでなく、未利用資源の活用や地域貢献にも資するものと期待される。

G-8 リンゴポリフェノールによるタンパク質ニトロ化の抑制作用

○江木琴美, Li Kexin, 中村俊之, 加藤陽二¹, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
(岡山大院・環境生命, ¹兵庫県大・環境人間)

【目的】一酸化窒素(NO)は生体内において血流調節などの重要な役割を果たすが、スーパーオキシド(O_2^-)と反応すると、より反応性の高い活性窒素種のペルオキシナイトライト(ONOO⁻)へと変化し、タンパク質中のチロシン残基をニトロ化する。このチロシンのニトロ化はNO₂を基質としたペルオキシダーゼの酵素反応によっても形成されるが、様々な炎症性疾患で観察されるバイオマーカーであるだけでなく、タンパク質間相互作用や機能の低下により病態の進行にも寄与していると考えられている。そこで本研究では、抗酸化素材として近年注目されているリンゴポリフェノールに焦点を当て、酵素的または非酵素的なタンパク質ニトロ化に対する抑制作用を評価した。

【方法】チロシンのニトロ化にはONOO⁻またはミエロペルオキシダーゼ(MPO)や西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)の酵素反応を用い、ELISA法で評価した。また、リンゴポリフェノール(フロレチン、フロリジン)を含む反応サンプルをHPLC分析に供し、ニトロ化抑制メカニズムを考察した。

【結果・考察】ONOO⁻およびペルオキシダーゼはタンパク質中のニトロチロシンの生成を促し、リンゴポリフェノールはそれらを濃度依存的に抑制した。フロレチンはその配糖体のフロリジンや類縁体のナリングニンよりも高い抑制効果を示したことから、抗酸化作用に寄与するヒドロキシ基の数がニトロ化の抑制に重要であることが示唆された。一方、ONOO⁻との反応サンプルからニトロ化フロリジンに相当するピークが検出され、フロリジンの一部は競合的にニトロ化を抑制していることが示唆された。

G-9 低温ボールミル処理による殻付きエビの殻の機械的分離
○林 剣羽, 川井清司, 羽倉義雄 (広島大院・統合生命)

【目的】エビの殻剥き工程は、手作業や殻剥き機械を用いて行われている。手作業の場合、莫大な人力が必要であり、作業中の微生物汚染の可能性もある。一方、殻剥き機械の場合、品質低下を伴う前処理が必要であり、歩留りも悪い。ところで、エビの大半は冷凍状態で輸入されている。そこで、冷凍状態のエビから殻を機械的に分離することが可能になれば、エビの品質を最大限維持することができる。本研究では、低温材料力学物性を利用して、ボールミル処理による殻付きエビの殻と身の機械的分離を検討した。

【方法・結果】実験試料には、冷凍状態のブラックタイガーを使用した。エビの殻と身を分離し、所定温度 (-50, -60, -70, -80℃) に再凍結し、低温下でボールミル処理を行った。処理後の各試料の粒子径を測定し、殻と身のそれぞれの粉砕性の温度依存性を調べた。その結果、適切な処理温度を選択することにより、ボールミル処理で殻と身を機械的に分離できる可能性が示唆された。そこで、殻付きエビを用いた分離試験を行ったところ、殻の分離率〔分離した殻の質量(g)/分離前のエビの殻の質量(g)〕×100%が14.7%と非常に低いことが明らかになった。そこで、分離率を向上させるため、粉砕ボールの衝撃力と衝撃数の影響を検討した。ここでは、粉砕ボール(ステンレス製)の直径と使用個数、粉砕ポットの直径を変化させた。その結果、ボールミル処理時の衝撃力と衝撃数は、分離率に大きく影響することが明らかになった。また、衝撃力と衝撃数を適切に設定することにより、分離率を68.5%まで向上させることができた。しかし、エビの殻を完全に分離することはできず、更なる条件の設定が必要であった。

G-10 熱帯の天然油脂結晶化に及ぼす超音波印加効果の影響
○和田拓也, 上野 聡, Sopark Sonwai¹ (広島大院・統合生命, ¹ Silpakorn Univ.)

【目的】油脂食品の多形をコントロールする外部刺激の方法としてテンパリング法やせん断力の印加効果などがあるが、近年、超音波刺激による多形の制御方法が注目されている。これまでの研究で単一酸型(PPP など)や混酸型(POP など)トリアシルグリセロールに超音波を印加することで多形転移、結晶化促進が起きることは知られている一方、天然の熱帯油脂での超音波印加効果の知見は少ない。そのため本研究では、多成分系である熱帯油脂を用いて超音波印加による結晶化挙動を調査することを目的とした。

【方法・結果】熱帯の天然油脂としてココアバター(CB), ココナッツオイル(CO), クラボック種子油(KSF)を用いた。70℃にて10分間加熱した後、水流で単純に冷却し、冷却途中にそれぞれ0秒, 1秒, 3秒の超音波(20 kHz, 100 W)を印加した。そして適当な温度下で60分間結晶化させ、X線回折法, 示差走査熱量測定, 偏光顕微鏡観察及びパルス核磁気共鳴分光法を用い、結晶多形, 結晶形態, 結晶化度を調べた。

CO, KSF にβ'型の融点以下で超音波印加すると結晶化が促進され、微細な結晶が発現したが多形転移は起こらなかった。これはCO, KSFともにβ'型で安定であることが考えられる。CBに超音波を印加すると結晶化は促進されたが多形転移は起こらなかった。しかし、攪拌を加えた後に超音波を印加することで多形転移を起こし、β(V)型が形成された。攪拌を加えることで試料内の温度を限りなく一定に保つことができ、超音波印加によるキャビテーション形成が均一に起きることにより核形成に影響を及ぼしたと考えられる。

G-11 **テンパリングおよびせん断応力下における乳脂添加がココアバターの結晶化に及ぼす影響**
○上田駿介, 上野 聡 (広島大院・統合生命)

【目的】チョコレートの主成分であるココアバター(CB)にはI型からVI型の結晶多形が存在する。一般にチョコレート工場では、調温過程(テンパリング)を通じてV型へと結晶化させる。また、テンパリングマシン内部では攪拌や物質輸送に伴ってせん断応力が印加されており、せん断応力もまたV型結晶化を促進することが知られている。チョコレート中の固体粒子は結晶化を促進することが解明されている。乳脂添加については結晶化が遅延するという現象は知られているが、攪拌やテンパリングと組み合わせた条件での結晶化速度についての定量評価はこれまで行われていない。そこで本研究では、CBに乳脂を添加した混合油脂において攪拌を加えながらテンパリングを行うことで、ココアバターの結晶化に及ぼす乳脂の添加効果を調べた。

【方法】試料はCB単体およびCB+乳脂(株式会社明治より提供)の混合油を使用した。各試料は恒温槽3台が接続された水流式温度制御装置によってテンパリングが行われた。一次冷却(15℃)および昇温(35℃)過程で攪拌した。その後、融液試料をアルミパンに充填しDSC測定を行った。また、放射光X線回折測定では、テンパリング過程全体を通じた結晶構造の時間的変化を観察した。

【結果】乳脂の添加割合が増加することで多形転移開始までの時間が延長した。すなわち、CB単一の系では即座に全体がV型結晶化するのに対し、乳脂の添加が多い試料は、より長い結晶化時間を要することが示された。

G-12 **固体脂代替食用オレオゲルの物性およびその安定性の評価**
○松田瑛華, 上野 聡¹ (広島大・生物生産,¹広島大院・統合生命)

【目的】マーガリンなどの油脂性食品では、健康志向の高まりから、水素添加により副産物として発生し動脈硬化の要因となるトランス脂肪酸を含まない製品の開発が求められる。そこで注目されるのが、油状のゲル化剤と液状油を含むオレオゲルを固体脂の代替として用いる方法である。オレオゲルの構造は明らかにされているが、国内での実用化の例はない。本研究では、植物由来の米ぬかワックス(RBX)をゲル化剤としたオレオゲルの物性を調べ、実用性の観点より安定性を評価することを目的とした。

【方法・結果】まず安定性試験では、未精製および精製RBXをゲル化剤とし、液状油としてキャノーラ油、オリーブ油、高オレイン酸含有ひまわり油(HOSO)を用い得られたオレオゲルを試験管に充填し、20℃、30℃で静置して流動性が生じるまでの日数を記録した。その結果、ゲル化剤として未精製RBXよりも精製RBXを用いた試料のほうが長く保形性を有し、ゲル化剤の純度は安定性に影響を及ぼすことが判明した。次に冷却過程の示差走査熱量測定と粘度測定では、液状油の種類がRBXの結晶化とゲル形成に及ぼす影響を調べた。本実験では、70℃から20℃における試料の粘度変化を2℃ごとにプロットした。液状油にオリーブ油およびHOSOを用いたオレオゲルは、キャノーラ油を用いた場合に比べて最大粘度が2~3倍大きかった。偏光顕微鏡、走査型電子顕微鏡(SEM)を用いたオレオゲルの観察では、20~50 μmの微細な精製RBX針状結晶とそれにより構成された網目構造が液状油を取り囲む様子が観察された。以上の結果より、精製RBXはオレオゲル形成に適した物性を備えていることが判明した。

賛助企業

- ・天野エンザイム(株)
- ・アルファー食品(株)
- ・池田糖化工業(株)
- ・(株)猪原商会 山口営業所
- ・エイチビィアイ(株)
- ・(株)エンザイム・センサ
- ・(株)えひめ飲料
- ・(株)大熊
- ・大塚器械(株) 西条支店
- ・岡山県酒造組合
- ・オハヨー乳業(株)
- ・片山化学工業(株) 岡山営業所
- ・カバヤ食品(株)
- ・(株)機能性食品開発研究所
- ・協和発酵バイオ(株)
山口事業所生産技術研究所
- ・キリンビール(株) 岡山工場
- ・(株)近畿日本ツーリスト中国四国 広島支店
- ・久保田商事(株) 広島営業所
- ・寿製菓(株)
- ・三栄源エフエフアイ(株)
- ・(株)サン・クロレラ
- ・(株)四国総合研究所
- ・四国乳業(株)
- ・新青山(株)
- ・神協産業(株)
- ・(株)酔心山根本店
- ・正晃(株) 山口営業所
- ・(株)ソフィ
- ・(株)大愛
- ・大興産業(株)
- ・大山乳業農業協同組合
- ・大洋香料(株)
- ・(有)タグチ
- ・中国ケミー(株)
- ・鳥取科学器械(株)
- ・鳥取サイエンス(株)
- ・(有)友田大洋堂
- ・日本オリーブ(株)
- ・(株)林原
- ・(有)ビーエムステーション
- ・備前化成(株)
- ・ひまわり乳業(株)
- ・(株)氷温研究所
- ・(株)フジワラテクノアート
- ・(株)扶桑理化
- ・プロテノバ(株)
- ・丸善製菓(株)
- ・マルトモ(株)
- ・(株)三ツワフロンテック
- ・宮下酒造(株)
- ・(株)宮田薬品
- ・ヤスハラケミカル(株)
- ・ヤマキ(株)
- ・(株)やまだ屋
- ・八幡物産(株) (五十音順)

2020年12月25日現在 55社

日本農芸化学会中四国支部第 58 回講演会の開催にあたり，以下のご支援を賜りました。
ここに厚く御礼申し上げます。

後援：国立大学法人香川大学農学部

日本農芸化学会中四国支部第58回講演会

主 催：日本農芸化学会中四国支部

世話人：田淵光昭

連絡先：761-0795 香川県木田郡三木町池戸2393

香川大学農学部応用生物科学科

T E L：087-891-3110

E-mail：tabuchi.mitsuaki@kagawa-u.ac.jp

支部からのお知らせ

1. 支部創立20周年記念 第59回 講演会（例会）
開催日：2021年6月12日（土）
場 所：広島大学 東広島キャンパス
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
講演申込締切：2021年5月6日（木）
講演要旨締切：2021年5月13日（木）
世話人：羽倉義雄（広島大学）
2. 2021年度 関西・中四国・西日本支部合同大会（第60回 講演会）
開催日：2021年9月24日（金）～25日（土）
場 所：かごしま県民交流センター，鹿児島大学 郡元キャンパス
内 容：特別講演，シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：玉置尚徳（鹿児島大学）
3. 支部創立20周年記念 第61回 講演会（例会）
開催日：2022年1月22日（土）
場 所：高知大学 物部キャンパス
内 容：シンポジウム，受賞講演，一般講演
世話人：島村智子（高知大学）

日本農芸化学会中四国支部事務局

〒770-8513 徳島県徳島市南常三島町 2-1

徳島大学生物資源産業学部内

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

E-mail：chushikoku@jsbba.or.jp