

日本農芸化学会中四国支部創立10周年記念 第30回講演会（岡山）

11：00～12：00 役員会 小会議室（A棟2階）

12：00～12：50 評議員会 B33講義室（B棟3階）

13：00 受賞講演

A会場（A32講義室）

「ゴマの生産するプレニルキノン類に関する生物有機化学的研究」

古本敏夫（香川大農学部）

座長：川浪康弘（香川大農学部）

B会場（A34講義室）

「酢酸の代謝と酢酸が脂質代謝に及ぼす影響に関する研究」

山下広美（岡山県立大保健福祉学部）

座長：辻 英明（岡山県立大保健福祉学部）

13：30～15：30 一般講演

A会場（A32講義室）、B会場（A34講義室）、C会場（A36講義室）、D会場（A37講義室）

支部創立10周年記念 第14回市民フォーラム 「未来を拓く農芸化学」 - 生命・食糧・環境 -

会場： 一般教育棟A21講義室（A棟2階）

16：00～16：05 開会の挨拶 岡山大学大学院自然科学研究科教授 稲垣賢二

16：05～16：35 古くて新しい微生物「酵母」の話 広島大学名誉教授 宮川都吉

16：35～17：05 フェロモンの話 東京大学名誉教授、東洋合成／理研 森 謙治

17：15～17：45 暮らしに役立つ微生物の話 日本農芸化学会前会長
京都学園大／東レ先端研 清水 昌

17：45～17：50 閉会の挨拶 岡山大学大学院自然科学研究科教授 神崎 浩

※市民フォーラム終了後、祝賀会場（岡山ロイヤルホテル）行きのマイクロバスが出ます。
マイクロバス出発時刻 17：50, 18：00, 18：10

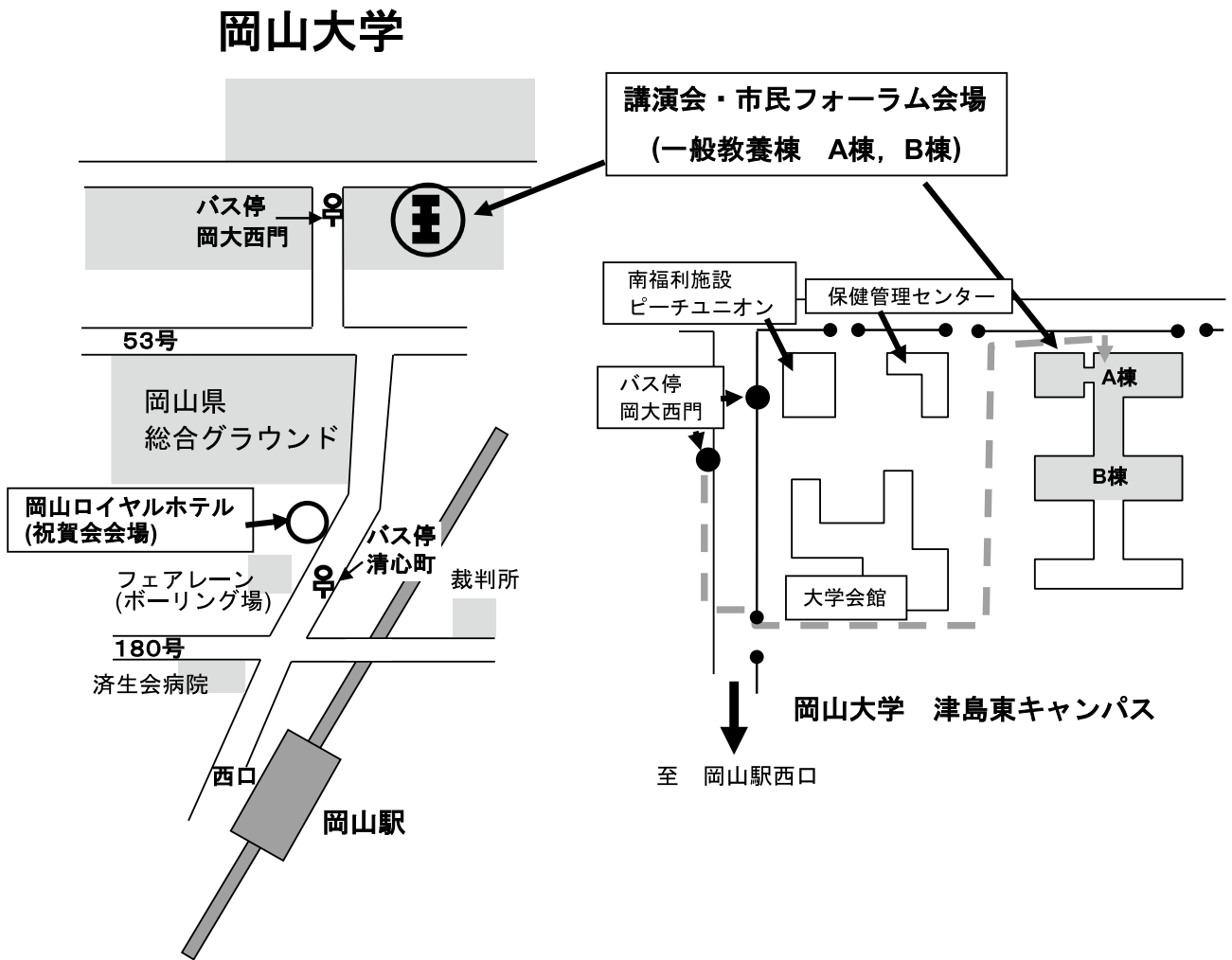
支部創立10周年記念祝賀会

開催時間： 18：30～21：00

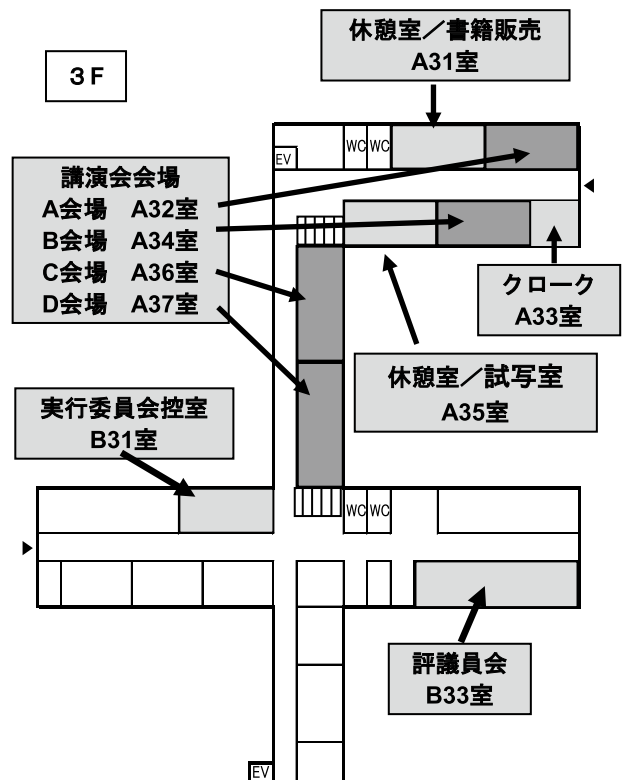
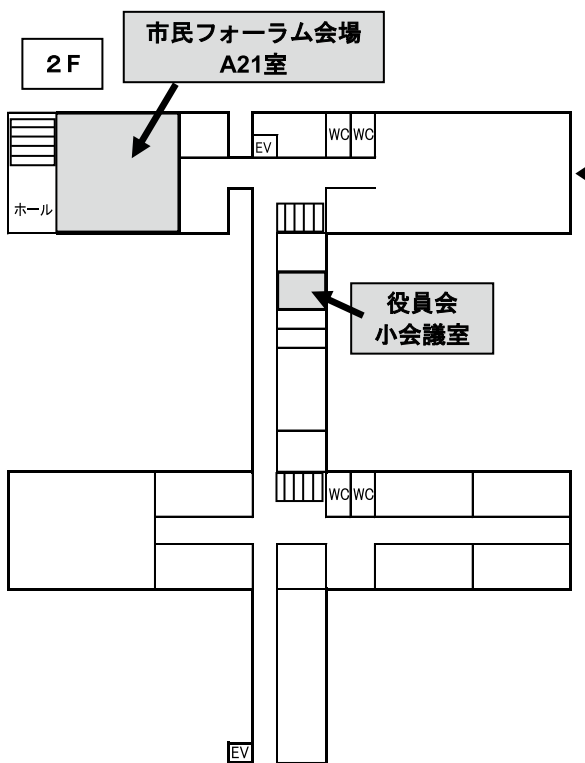
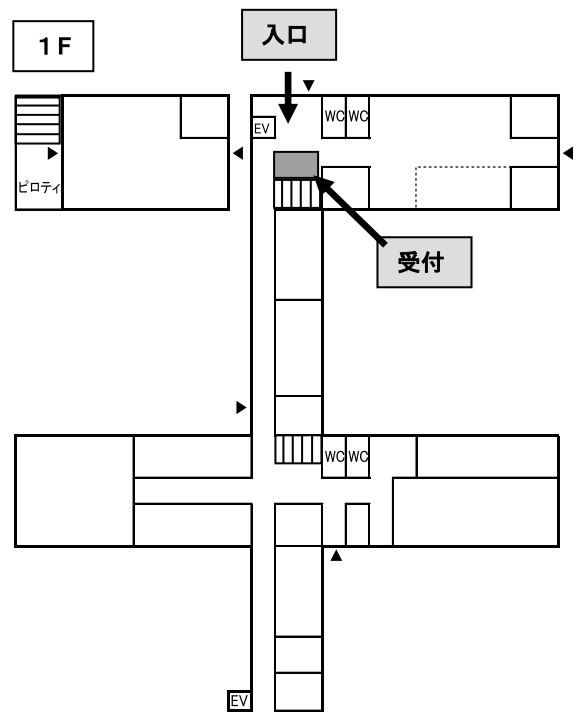
会場： 岡山ロイヤルホテル2階 光楽の間

〒700-0028 岡山市北区絵図町2-4 TEL086-255-1111

会場周辺図



会場案内図



一般講演プログラム

A会場 (有機化学・天然物・植物)

- 座長 地阪光生 (島根大・生資科), 増田俊哉 (徳島大院・総合)
- A-1 13:30 自己防御物質クリマコストールの生物活性に関する研究
○大谷恭子¹, 榎間由幸¹, 野嶋夕起子¹, 白杵克之助², 飯尾英夫²
(¹米子高専・物質, ²阪市大院・理)
- A-2 13:42 クリックケミストリーを利用した新規抗癌剤の合成
○枝谷麻里絵¹, 榎間由幸¹, 中光浩誠¹, 大井博己², 矢野重信²
(¹米子高専, ²京大院)
- A-3 13:54 反応生成物解析によるロスマリン酸の抗酸化反応機構の解明
○藤本 彩, 増田俊哉
(徳島大院・総合)
- A-4 14:06 植物生長抑制作用を有するD-アロース誘導体の構造活性相関研究
○柳田 亮, 橋谷矩史, 川浪康弘
(香川大・農)
- A-5 14:18 アオウキクサ151株の新規リポキシゲナーゼ
○逸見奈々¹, 岡 貴憲¹, 長谷川よしの¹, Veronica Sanda Chedea¹, 西村浩二²,
長屋 敦¹, 横田一成¹, 地阪光生¹
(¹島根大・生資科, ²島根大・総科研支セ)
- 座長 江坂宗春 (広島大院・生物圏), 村田芳行 (岡山大院・自然科学)
- A-6 14:30 Involvement of MAP kinases in MeJA-induced stomatal closure in *Arabidopsis*
○Mohammad Abdus Salam¹, Mohammad Anowar Hossain¹, Fabien Jammes², Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori³, June Ming Kwak², Yoshiyuki Murata¹
(¹岡山大院・自然科学, ²メリーランド大, ³岡山大・植物研)
- A-7 14:42 Methyl Jasmonate-Induced Stomatal Closure along with Intracellular Glutathione in *Arabidopsis*
○Nasima Akter¹, Muhammad Abdus Sobahan¹, Misugi Uraji¹, Yoshimasa Nakamura¹,
Izumi C. Mori², Yoshiyuki Murata¹
(¹岡山大院・自然科学, ²岡山大・植物研)
- A-8 14:54 Involvement of cADPR and cGMP in Methyl Jasmonate Signaling in *Arabidopsis* Guard Cells
○Mohammad Anowar Hossain¹, Shintaro Munemasa¹, Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori², Yoshiyuki Murata¹
(¹岡山大院・自然科学, ²岡山大・植物研)
- A-9 15:06 トマトのガラクツロン酸レダクターゼの発現とアスコルビン酸生合成
○近藤隆之¹, 稲田周平², 坂本真吾², 藤川愉吉², 江坂宗春²
(¹広島大・生物生産, ²広島大院・生物圏)
- A-10 15:18 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ attenuates inducible synthesis of prostaglandins E₂ and F_{2 α} and rescue their suppressive effects on adipogenesis program in preadipocytes
○Mohammad Sharifur Rahman^{1,2}, Abu Asad Chowdhury^{1,2}, Pinky Karim Syeda^{1,2}, Kohji Nishimura^{2,3}, Mitsuo Jisaka^{1,2}, Tsutomu Nagaya¹, Fumiaki Shono⁴, Kazushige Yokota^{1,2}
(¹島根大・生命工, ²鳥取大院・連農, ³島根大・総研セ, ⁴徳島文理大・薬)

- A-11 15:30 Preparation of a monoclonal antibody specific for Δ^{12} -prostaglandin J₂, a pro-adipogenic prostanoid, and development of an immunological assay for its quantification
 ○Pinky Karim Syeda^{1,2}, Mohammad Sharifur Rahman^{1,2}, Mohammad Salim Hossain^{1,2}, Kohji Nishimura^{2,3}, Mitsuo Jisaka^{1,2}, Tsutomu Nagaya¹, Fumiaki Shono⁴, Kazushige Yokota^{1,2}
 (1島根大・生命工, 2鳥取大院・連農, 3島根大・総研セ, 4徳島文理大・薬)

B会場 (食品)

- 座長 岸田太郎 (愛媛大), 矢中規之 (広島大院・生物圏科学)
- B-1 13:30 リン酸架橋デンプンの消化性
 ○内田乃利旭¹, 立部 誠², 海老原 清¹
 (1愛媛大, 2松谷化学)
- B-2 13:42 高ホモシステイン血症に対するベタインの影響
 ○小島侑子, 水重貴文, 岸田太郎, 海老原清
 (愛媛大)
- B-3 13:54 伊予特産柑橘類の成分研究
 ○天倉吉章, 好村守生, 大内かずさ, 奥山 聡, 古川美子, 吉田隆志
 (松山大・薬)
- B-4 14:06 Characterization of agar using SAXS and DSC
 ○Chivero Peter, Shoichi Gohtani, Shinya Ikeda
 (香川大・農)
- B-5 14:18 ビタミンB6摂取が単球・マクロファージの白色脂肪組織への浸潤に与える影響
 ○久本高央¹, 真田洋平², 末廣春奈², 加藤範久², 矢中規之²
 (1広島大・生物生産, 2広島大院・生物圏科学)
- 座長 河野 強 (鳥取大・農), 加藤範久 (広島大院・生物圏科学)
- B-6 14:30 db/db マウス脂肪組織における単球・マクロファージとの相互作用によって発現変動する候補遺伝子
 ○真田洋平¹, 中村啓司², 末廣春奈¹, 久本高央², 西村英紀³, 加藤範久¹, 矢中規之¹
 (1広島大院・生物圏科学, 2広島大・生物生産, 3広島大院・医歯薬学)
- B-7 14:42 スタチ由来ポリフェノール sudachitin による神経保護作用
 ○播田元輝, 湯浅恵造, 津嘉山正夫, 辻 明彦
 (徳島大院・先端技術)
- B-8 14:54 線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いたビタミンB₁₂欠乏と酸化ストレス障害の関連性について
 ○三崎太平, 大塚賢二, 藪田行哲, 河野 強, 渡辺文雄
 (鳥取大・農)
- B-9 15:06 パン酵母発酵おからによるマウスに対する給餌効果
 ○前田愛梨, 平木章葉, 滝澤 昇
 (岡山理大・工)
- B-10 15:18 食用および野生キノコ中のL-カルニチン, ベタイン類の分析
 ○藤光洋志¹, 前川二太郎², 森 信寛²
 (1鳥取大院・連農, 2鳥取大・農)

C会場（微生物・酵素・タンパク質）

座長 大政健史（徳島大院・STS），原 啓文（岡山理大院・工）

- C-1 13:30 トレハロース添加による一本鎖二重特異性抗体の凝集抑制効果の検討
○龍澤実季，鬼塚正義，白井昭博，間世田英明，大政健史
（徳島大院・STS）
- C-2 13:42 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* の溶血因子の解析
○山本美保子，松永哲郎，加藤昭夫，阿座上弘行
（山口大・農）
- C-3 13:54 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* の菌体表層レクチンはポーリン様タンパク質である
松永哲郎，○倉重吉宏，山田和範，加藤昭夫，阿座上弘行
（山口大・農）
- C-4 14:06 ラルストニア属細菌における異化抑制条件の検討
○鳥居英人¹，矢部博敬²，原 啓文²，八田 貴²，滝沢 昇¹
（¹岡山理大院・工，²岡山理大院・工）
- C-5 14:18 ChIP-chip 解析を用いたロドコッカス属細菌の転写因子結合領域の同定
○愛宕祐基¹，荒木直人²，下平 潤²，福田雅夫²，八田 貴¹，原 啓文¹
（¹岡山理大院・工，²長岡技科大院・工）

座長 有賀 修（高知工大・環境理工），中島田 豊（広島大院・先端研）

- C-6 14:30 トリクロロエチレン分解細菌 *Pseudomonas putida* F1 株のトリクロロエチレンに対する正の走化性センサーの特定
○奥 正太，木下閣基，田島誉久，中島田 豊，加藤純一
（広島大院・先端研）
- C-7 14:42 組み換え β -アガラーゼの精製とその特性
○岡本直樹，有賀 修，久保 元，井上貴由
（高知工大・環境理工）
- C-8 14:54 β -アガラーゼ遺伝子の枯草菌へのクローニング
岡本直樹，○有賀 修，井上貴由
（高知工大・環境理工）
- C-9 15:06 *Cellvibrio* sp. OA-2007由来の α -アガラーゼの精製
岡本直樹，有賀 修，○播本奈央望
（高知工大・環境理工）
- C-10 15:18 *Acidithiobacillus ferrooxidans* のチオ硫酸酸化に関与する遺伝子の同定
○菊本愛生，金尾忠芳，高田 潤，上村一雄
（岡山大院・自然科学）

D会場（微生物）

座長 上野 勝（広島大院・先端物質），三本木至宏（広島大院・生物圏）

- D-1 13:30 高度好塩性古細菌 *Haloarcula japonica* TR-1の高塩濃度下でのピロリン酸分解活性測定および反応熱測定
○若井 暁¹，渋谷紀成²，城所俊一²，三本木至宏¹
（¹広島大院・生物圏，²長岡技大・生物）
- D-2 13:42 シトクロム c' の生合成に関する研究
○藤井創太郎¹，若井 暁²，政成美沙²，三本木至宏²
（¹広島大・生物生産，²広島大院・生物圏）
- D-3 13:54 大腸菌における生育限界温度領域での生存機構の解析
○石井あやな¹，村田正之¹，藤本博子¹，西村香織¹，高坂智之²，大島 拓³，小笠原直毅³，山田 守¹
（¹山口大院・医学系，²山口大・農，³奈良先端大院・情報科学）
- D-4 14:06 分裂酵母テロメア結合蛋白質 Pot1 とヘリケース Rqh1 の機能解析
○高橋克典，上野 勝
（広島大院・先端物質）
- D-5 14:18 酵母のリボソーム生合成調節タンパク質 Ebp2 の核膜における機能
○矢吹友佳理¹，嶋津京子²，堀籠智洋^{2,3}，岡田貴文²，Susan Gasser³，水田啓子^{1,2}
（¹広島大・生物生産，²広島大院・生物圏，³FMI（スイス））

座長 田中直孝（香川大・農），秦野琢之（福山大・生命工）

- D-6 14:30 分裂酵母の ERGIC 様コンパートメントに局在する Emp43p の解析
○梨子木健人，鈴木章太郎，田淵光昭，田中直孝
（香川大・農）
- D-7 14:42 分裂酵母のゴルジ体膜に局在するロンボイドプロテアーゼの機能解析
○東 玲那，渋谷大介，中井啓輔，田淵光昭，田中直孝
（香川大・農）
- D-8 14:54 担子菌系酵母 *Cryptococcus* sp. S-2 の新規アスパラギン酸プロテアーゼ（Cap1）に関する研究
○饒 聖分^{1,2}，水谷 治²，正木和夫²，後藤奈美^{1,2}，家藤治幸^{1,2}
（¹広島大院・生物圏，²酒総研）
- D-9 15:06 *Penicillium decumbens* による液体アルカンの生産
○村瀬奈美，松崎浩明，秦野琢之
（福山大・生命工）
- D-10 15:18 出芽酵母における染色体からのセントロメア DNA の切り出しによる細胞死の誘導
○宮本昭弘，柳本敏彰，秦野琢之，松崎浩明
（福山大・生命工）

黎明期 - 萌芽期を越えて

日本農芸化学会中四国支部長 山田 守

日本農芸化学会中四国支部創立10周年記念事業をこのように盛大に開催できることを衷心よりお慶び申し上げます。

顧みれば、多くの関係者のご尽力によって、それまでの幾多の支部創設の動きに決着をつけ、2001年4月に晴れて全国7番目の支部として大きな第一歩を踏み出しました。おそらく、それと同時に、歴史ある他支部に引けをとらない「活発な支部活動」の達成と「支部の特性や独自性」の創成を求めて邁進する覚悟をされたものと推察されます。その覚悟はこれまでの10年間の活動に刻まれ、支部ホームページにありますように、広島で開催された全国大会をはじめ数々の合同支部大会、単独支部大会、例会など会員の皆様のご協力で総じて当初の予想を大きく上回る出来映えであったと感じています。現在では会員も1,100人を越え、多くの学生会員が加わる支部となっています。支部創設における多大なご努力を頂いた先輩諸先生方に心より敬意を表しますと同時に、これまでの積極的な支部活動を頂いた会員諸先生方に感謝申し上げます。

さて、区切りを迎え次の10年に向けてあらたな気持ちで中四国支部の更なる発展と、ひいては日本の農芸化学分野の発展に貢献することを目指すこととなります。日本農芸化学会は、国内外におけるバイオサイエンス・バイオテクノロジーを中心とする多彩な科学領域をその領分として、生命・食糧・環境に関する科学、技術、文化の創成あるいは発展に寄与してきております。中四国支部もその一翼を担うべく、弛まぬ活動を展開していくこととなります。そのためには若い新たな力が必要となります。本支部には多くの若手研究者が参加しており、大いに活躍していただきたいと思えます。また、これまで以上に支部会員や支部維持会員の皆様方のご協力もお願いしなければなりません。

支部創立10年を迎え、各県でその記念事業を2011年度あるいは2012年度に開催するように計画しています。その手始めが今回の記念事業となりますが、それぞれの記念事業を活力に変えて、ますます活気のある支部活動を展開できるよう祈念しています。

2011年4月7日

さらなる一步を

前支部長 早川 茂

日本農芸化学会中四国支部の会員の皆さん。支部創立10周年を迎えるにあたり、中四国支部会員の協力ならびに本部そして他支部の多大なるご支援により、この10年の中四国支部活動が活発に行われましたことを心より感謝申し上げます。

2年前の評議員会新旧昼食会の際に、「中四国支部は創立9年目を迎え、小学生に例えれば、やっと低学年生のやんちゃ坊主です。しかし、元気を取り柄の若手の活躍する支部です。」と挨拶させていただきました。その後、2年を経て、小学生高学年を迎え、ますます成長していると感じているところです。

思い起こせば、1995年夏に北海道大学で日本農芸化学会大会が行われた際に、支部設立についての話し合いに参加したのが私自身の中四国支部活動の始まりでした。その前年（1994年）に諸先輩方のご尽力により、中四国支部設立準備会が発足し、支部設立の機運が高まってきました。それ以降、中四国支部設立の希望に関するアンケート活動、市民フォーラムの開催による実績づくり、関西支部と西日本支部そして本部理事会への働きかけ、支部規約の制定などを行い、2001年4月に支部が設立しました。中四国支部が設立できたのは、多くの関係者の方々のご尽力とご支援の賜物によります。

支部設立準備会の代表であった田中英彦先生から日本農芸化学会会長の荒井綜一先生に宛てた支部設立趣意書（2000年7月8日）の中には、中四国9県に在住する農芸化学者が2つの支部に分かれて研究者間の交流や情報交換に困難をしていること、地域密着型の研究に障害があること、国立大学法人化を迎えて研究環境が一層厳しくなること等々の解決課題があげられ、中四国支部を設立して若手会員を増加させ、学会としての生残りを目指して学会活動を活性化させたいとの要望が示されています。また、中四国9県から委員を出して準備会を設立し、市民フォーラムなどの講演活動を行い、中四国地域学会員へのアンケートでは殆どの会員が新支部の設立を強く望んでいることが示されています。

このような経緯で支部が設立され、支部事務局を2年ごとの各県持ち回りをしてきました。これまである程度の困難はありましたが、支部会員の皆さんの強力な支援のもとで10年間活発な支部活動を続けることができました。特に、若手会員が活躍できる学会活動の場として活発かつ有意義な活動が展開されています。

これまでの支部活動の経験と成果を生かして、今後の10年間そしてさらなる先を見通して、支部活動のさらなる一步を踏み出していきましょう。

中四国支部10周年記念事業を中四国支部会員の皆さんで大いに祝し合いましょう。

2011年4月15日

日本農芸化学会中四国支部のあゆみ

年月日	活動、支部講演会	全国大会、市民フォーラム、若手研究者シンポ
1994年4月	中四国支部設立準備会発足	
1994年7月	中四国支部設立の希望に関するアンケート調査	
1995年8月	日本農芸化学会1995年大会（北海道大学）において、中四国支部設立についての話し合い	
1995年11月～	関西支部、西日本支部への中四国支部設立の働きかけ	
1997年5月～2000年6月	中四国ブロック市民フォーラム開催 第1回 岡山大学（食の科学）1997年5月24日 第2回 山口大学（遺伝子組換え植物の現状と将来）1997年12月12日 第3回 鳥根大学（「いのち」と「食」を考える）1998年5月23日 第4回 高知女子大学（食と健康）1998年10月11日 第5回 鳥取県民文化会館（環境とバイオ）1999年5月22日 第6回 広島大学（環境保全とバイオテクノロジー）2000年6月3日 第7回 愛媛大学（食とバイオテクノロジー）2000年11月11日	
2000年7月	関西支部、西日本支部が支部評議員会において中四国支部設立を了承	
2000年7月8日	中四国支部設立準備会執行部会議（岡山大学）17名参加	
2000年11月24日	全国評議員会で中四国支部設立承認	
2000年12月9日	中四国支部設立準備会執行部会議（岡山大学）26名参加	
2001年4月21日	中四国支部設立総会（岡山ロイヤルホテル）100名参加	
2001年4月～2003年3月 事務局：岡山	第1回講演会（支部大会）岡山大学 2001年10月12日～13日 第2回講演会（支部例会）香川大学 2002年1月26日 第3回講演会（支部例会）岡山県立大学 2002年5月25日 第4回講演会（支部大会）鳥根大学 2002年9月19日～20日 第5回講演会（支部例会）高知大学 2003年1月25日	第1回市民フォーラム 岡山大学 2001年4月21日 第2回市民フォーラム 鳥根大学 2002年9月21日 第3回市民フォーラム 福山大学 2002年11月30日 若手研究者シンポ 鳥根大学 2002年9月20日 若手研究者シンポ 徳島大学 2002年10月22日
2003年4月～2005年3月 事務局：広島	第6回講演会（支部例会）広島大学 2003年5月31日 第7回講演会（支部大会）鹿児島大学 2003年9月19日～20日 第8回講演会（支部例会）愛媛大学 2004年1月24日 第9回講演会（支部例会）鳥取大学 2004年6月12日 第10回講演会（支部大会）徳島大学 2004年9月17日～18日 第11回講演会（支部例会）岡山大学 2005年1月22日	全国大会2004年度 広島大学 2004年3月28日～31日 第4回市民フォーラム 香川大学 2003年11月8日 第5回市民フォーラム 山口大学 2004年11月3日 若手研究者シンポ 岡山大学 2003年6月14日 若手研究者シンポ 広島大学 2003年8月2日 若手研究者シンポ 鳥取大学 2004年6月11日 若手研究者シンポ 広島大学 2004年10月27日
2005年4月～2007年3月 事務局：愛媛	第12回講演会（支部例会）山口大学 2005年5月21日 第13回講演会（支部大会）大阪大学 2005年9月30日～10月1日 第14回講演会（支部例会）福山大学 2006年1月28日 第15回講演会（支部例会）鳥根大学 2006年5月13日 第16回講演会（支部大会）愛媛大学 2006年9月15日～16日 第17回講演会（支部例会）香川大学 2007年1月27日	第6回市民フォーラム 酒類総研 2005年10月6日 第7回市民フォーラム 林原生物化学研 2006年9月2日 第8回市民フォーラム 山口大学 2007年2月3日 第9回市民フォーラム 米子コンベンションセンター 2007年3月17日 若手研究者シンポ 山口大学 2005年5月20日 若手研究者シンポ 岡山大学 2006年12月9日～10日
2007年4月～2009年3月 事務局：鳥取	第18回講演会（支部例会）県立広島大学 2007年5月12日 第19回講演会（支部大会）山口大学 2007年9月14日～15日 第20回講演会（支部例会）徳島大学 2008年1月26日 第21回講演会（支部例会）岡山理科大学 2008年5月24日 第22回講演会（支部大会）鳥取大学 2008年9月12日～13日 第23回講演会（支部例会）高知大学 2009年1月24日	第10回市民フォーラム 高知市文化プラザ 2007年9月22日 第11回市民フォーラム 徳島大学 2008年12月6日 若手研究者シンポ 岡山大学 2008年5月23日～24日
2009年4月～2011年3月 事務局：香川	第24回講演会（支部例会）鳥根大学 2009年5月23日 第25回講演会（支部大会）琉球大学 2009年10月30日～31日 第26回講演会（支部例会）愛媛大学 2010年1月23日 第27回講演会（支部例会）広島大学 2010年6月5日 第28回講演会（支部大会）香川大学 2010年9月24日～25日 第29回講演会（支部例会）徳島大学 2011年1月22日	第12回市民フォーラム 鳥取県立生涯学習センター 2009年11月7日 第13回市民フォーラム 愛媛大学 2010年10月2日 若手研究者シンポ 岡山大学 2009年5月8日～9日 若手研究者シンポ 岡山大学 2010年5月7日～8日
2011年4月～2013年3月 事務局：山口	第30回講演会（支部例会）岡山大学 2011年5月21日 第31回講演会（支部大会）宮崎大学 2011年9月16日～17日 第32回講演会（支部例会）鳥取大学 2012年1月 第33回講演会（支部例会）愛媛大学 2012年 第34回講演会（支部大会）山口大学 2012年 第35回講演会（支部例会）高知大学 2013年	第14回市民フォーラム 岡山大学 2011年5月21日 第15回市民フォーラム 鳥根大学 2011年10月11日 第16回市民フォーラム 鳥取大学 2012年1月 第17回市民フォーラム 香川大学 2012年 第18回市民フォーラム 高知大学 2012年 若手研究者シンポ 岡山大学 2011年5月20日～21日
2013年4月～2015年3月 事務局：岡山	第36回講演会（支部例会）鳥根大学 2013年 第37回講演会（支部大会）広島大学 2013年 第38回講演会（支部例会）香川大学 2014年 第39回講演会（支部例会）広島大学 2014年 第40回講演会（支部大会）徳島大学 2014年 第41回講演会（支部例会）山口大学 2015年	第19回市民フォーラム 山口大学 2013年 全国大会2015年度 岡山大学 2015年3月

【参考資料】

日本農芸化学会

会長 荒井綜一殿

中四国支部設立趣意書

中四国9県（岡山，広島，山口，島根，鳥取，香川，徳島，高知，愛媛）に在住する農芸化学者は，現在関西ならびに西日本支部に分れて活動している。こうした分断された状況は，中四国の研究者間の交流を困難にし，また新しい研究者を掘り起こし，地域密着型の研究を行う際の障害となっている。またこの地域には二つの農学系連合大学院（鳥取大学，愛媛大学）があり，両連合大学院参加校の研究者は両支部に分れており，研究者間の情報交換が難しく，困惑している状態である。こうした状況を打開するため，中四国地域の国立大学と公私立大学から委員を選出し，中四国支部設立準備会を設立し，市民フォーラムなどの講演活動を積極的に行ってきた。日本農芸化学会の会員数が減少する中で，今後さらに独法化を控え研究環境が一層厳しくなるのは必至と認識している。我々としては中四国支部を設立することにより，特に若手会員を増加させ，学会としての生き残りを目指して，学会活動を活性化させたいと考えている。また他の主要な学会には既に中四国支部があり，活発かつ有意義な活動が展開されている。主要学会で中四国支部がないのは農芸化学会だけという状況である。先般行った中四国地域学会員に対するアンケートの結果でも，殆どの会員が新支部の設立を強く希望している。

以上のような状況を勘案し，ここに中四国支部の設立を発起したいと考える。

2000年7月8日

中四国支部設立準備会
代表 岡山大学農学部教授
田中 英彦

受賞講演1 ゴマの生産するプレニルキノン類に関する生物有機化学的研究

香川大農学部 古本 敏夫

ゴマ（胡麻）は、ゴマ科（*Pedaliaceae*）ゴマ属（*Sesamum*）に属する一年生の草本で、熱帯アフリカのサバンナ地帯が発祥地と考えられている。ゴマ属としては、約45種が知られているが、そのほとんどが野生種で、いくつかの例外を除いて*S. indicum* L.のみが栽培種であり、品種や系統が世界中で約3,000種存在するといわれている。熱帯から温帯地域で栽培されていて、その種子が食品として利用されている。5,000～6,000年以上の歴史をもつ最古の栽培油糧植物であるが、油としての価値だけでなく、古くから「健康に良い食品」「食べる薬」として信じられていて、世界中で重宝されてきた植物である。

ゴマ種子の一般成分としては、油糧種子であるため脂質が50%以上含まれていて、タンパク質が約20%、炭水化物が約18%である。近年、ゴマ種子に含まれるセサミンなどのリグナン類が注目され、活発な科学研究が行われている。しかしながら、ゴマリグナン類を除くその他の二次代謝産物に関する研究は非常に少なく、さらに可食部である種子以外の部位に関する成分研究もあまり行われてこなかった。数少ない研究報告の中で、野生ゴマの一種（*S. angolense*）の根および栽培ゴマ（*S. indicum*）の根と毛状根に含まれる抗菌性成分として、ジメチルアリル側鎖を持つナフトキノン類（2,3-epoxysesamone）の存在が示された。また、ゴマ毛状根がこの抗菌性ナフトキノン類と共に、 C_6 側鎖を持つアントラキノン類（MPAQ, (*E*)-MPDEAQ）も生産することが報告された。そこでゴマ根抽出物からさらなるゴマキノン類関連化合物の探索を試みたところ、上記キノン類と同一の炭素骨格を有する7種の新規ナフトキノン類（chlorosesamone, hydroxysesamone）およびアントラキノン類（anthrasesamones A-E）が得られた。また、ゴマ毛状根からアントラキノン類（(*E*)-MPDEAQ）のシス体が得られ、このシス体の光異性化反応によって既知のトランス体が生成されることを明らかにした。さらに最近、KimとParkにより黒ゴマ種子成分として新たなアントラキノン類（anthrasesamone F）が報告された。一般的にキノン類はさまざまな生理的・化学的特性および用途を有していることから、今後これらゴマキノン類の役割や生理作用等について解明していくことが必要である。

一方、これらゴマキノン類は、構造が類似しているポリプレニル側鎖を持つナフトキノンのビタミンKや C_6 側鎖を持つナフトキノンのシコニンなど他のキノン類の生合成経路との比較から、ナフタレン（ナフトキノン）骨格へのプレニル化（ジメチルアリル基またはゲラニル基）により生成されると推定されたが、未解明であった。まず、アントラキノン類の推定中間体であるゲラニルナフトキノンが毛状根中に存在することを明らかにした。また、 ^{13}C 標識グルコースを用いた投与実験により、ゴマナフトキノン類の生合成起源がナフトキノン環部分はシキミ酸経路由来、プレニル側鎖部分はメチルエリトリートールリン酸経路由来であること、さらにアントラキノン類（MPAQ）とゲラニルナフトキノンの標識パターンが同一であることが判明した。

本講演では、これまでに得られたゴマのプレニルキノン類に関する研究成果等を報告する。

受賞講演 2 酢酸の代謝と酢酸が脂質代謝に及ぼす影響に関する研究

岡山県立大学保健福祉学部栄養学科 山下 広美

演者らはこれまで、肝臓における絶食時の脂肪酸代謝ならびに高炭水化物食摂食時の肝臓における脂肪合成についての基礎研究を行ってきた。その過程で空腹時の肝臓では脂肪酸の酸化分解によりケトン体と共に酢酸が生成され、生成された酢酸はエネルギー源として利用されることを示してきた。

本研究では、肝臓における酢酸の生成が脂肪酸の β 酸化が亢進する条件下で増加し、また同条件下で生成された酢酸は肝臓ではほとんど利用されず肝外組織、特に心筋で促進することを示した。

一方、外因性の酢酸が脂肪代謝にどのような影響を及ぼすかについて、これまで詳細は不明であった。そこで本研究では、酢酸を摂取した場合の、肝臓、骨格筋および脂肪組織の脂肪代謝に及ぼす影響について検討した。肥満と2型糖尿病を併発する病態モデル動物(OLETFラット)に酢酸を継続して投与すると体重増加量および腹腔内脂肪量は低下し、また脂肪肝が改善した。さらに血糖値、血中の中性脂肪およびコレステロール値は低下し、高インスリン血漿および耐糖能が改善された。動物に経口投与した酢酸は速やかに血中に移行し組織に吸収された。このとき血中酢酸濃度は投与した酢酸量に依存した。また酢酸摂取に伴い肝臓および骨格筋において、酢酸代謝の指標となるAMP濃度が上昇し、fuel gauge (燃料ゲージ) センサーの作用をもつとされるAMPキナーゼ (AMPK) がリン酸化され活性化されることがわかった。また肝臓における脂肪合成関連酵素 (ACC, FAS, G6PD, ME, L-PK等) のmRNA発現量が酢酸摂取により低下した。これより、酢酸を摂取すると、肝臓のAMP/ATP比が増加しAMPKを活性化させると共に脂肪合成酵素遺伝子の発現低下を生じさせ、脂肪合成の抑制と脂肪蓄積の減少をもたらすことが示唆された。一方、酢酸摂取により動物個体の酸素消費量が増加し、骨格筋においてはミオグロビンおよびGLUT4mRNAの発現増加が見られた。経口投与した酢酸は、投与数分後をピークにして骨格筋内で代謝されその指標となるAMPの増加およびAMP/ATP比を増加させ、同時に骨格筋におけるAMPKのリン酸化を増加させた。これらの結果から、骨格筋においても酢酸が作用しAMPKの活性化を介して脂肪酸代謝の促進および糖の取り込みが増加すると示唆された。酢酸を摂取したOLETFラットの白色脂肪組織および褐色脂肪組織では脂肪酸の酸化分解関連遺伝子の発現増加、および脂肪滴肥大化の抑制が見られた。

以上の研究結果より、酢酸を摂取すると吸収された酢酸は組織内でAMPKを活性化し、脂肪合成の低下と脂肪代謝の促進により内臓脂肪蓄積を低下させ、その結果肥満を抑制し耐糖能を改善することが示された。

古くて新しい微生物「酵母」の話

広島大学名誉教授 宮川 都吉

(1) 有用微生物としての伝統的な酵母像

酵母と総称される微生物の中でも *Saccharomyces cerevisiae* (ここでは単に「酵母」と呼びます) が特に有名で、各種の酒やパンを作るのに利用される有用微生物です。人類と酵母の付き合いの歴史は古く、酒と呼ばれるアルコール飲料ができたのは、早い所では今から約1万年前の新石器時代に入った頃といわれます。パンもメソポタミア地方で約6000年前に作りだされたといわれます。顕微鏡を発明したオランダのレーウェンフックは1665年頃に身の回りの試料に含まれる微生物を観察し、ワイン発酵液に多数の微生物が含まれることを報告しています。ブドウ汁からワインができる過程が単に化学反応によるものか、あるいは生物学的作用によるものかで多数の研究者を巻き込んだ論争がおり、フランスのパスツールが1860年頃に発酵は酵母の働きによって起こることを示してこの論争に決着をつけたことは有名な話です。今日では、酵母は日本酒、ビール、ワインなどあらゆる種類の酒およびパンの製造に使われる有用微生物の代表格です。最近では伝統的な利用法以外にも、遺伝子操作を施した酵母による有用たんぱく質生産やバイオエタノール(生物資源由来の石油代替燃料)の生産が行われています。

(2) 生命の仕組みを解くモデル生物としての酵母像

このように産業において重要な酵母は早くから世界的に研究され、生物としての酵母の理解が深まると共に、1980年代になると色々な生物において遺伝子レベルの研究が進んだ結果、酵母は生命現象を研究するうえで恰好の「モデル生物」と考えられるようになりました。これは主には次のような理由によります。この地球上に住むあらゆる生物は、細胞内に「核」と呼ばれる構造体を持つか持たないかで二つに大別されます。核を持たない原核生物は細菌(バクテリア)類を、核を持つ真核生物は動物、植物のほか酵母などの菌類を包含し、真核生物の仲間は単細胞から多細胞へとわたり多様です。このため、単細胞生物である酵母はヒトのような高等な生物の細胞とも複雑な基本構造のみならず細胞を構成する要素(たんぱく質など)の働きが驚くほど類似していることが次々明らかにされました。これに加え、酵母は微生物であるため実験がし易いなどの研究上の利点により、世界中の多くの研究者が精力的に酵母の研究を行い、酵母で得られた成果を高等生物に応用する一方で、高等生物で得られた成果を酵母に戻して研究するようになりました。また酵母を一種の試験官のように利用してヒトのたんぱく質の働きを酵母で調べることもできるようになりました。こうして酵母を利用する研究から、ヒトのがん、遺伝病や老化の理解が深まり、酵母は生命科学や医学の研究に大きな貢献をできるようになりました。

この市民フォーラムではこのような酵母の特徴を解説するとともに、時間が許せば、酵母の特性を利用して医薬探索を行っている私たちの研究について紹介しようと思います。

フェロモンの話

東洋合成(株) / 理研 森 謙治

フェロモンの研究史

フェロモンとは「一個体から外界へ分泌されて同種の他の個体により受け取られて、特定の行動などの特異な反応をひき起こす物質」です。1914年にファーブルが、雌の蛾が雄の蛾を誘引することを観察し、1932年に誘引は物質によって起ることがわかりました。

カイコ蛾の雌のフェロモンであるボンビコールが、ブテナントによって明らかにされたのは、1959-61年のことです。50万のカイコ蛾処女雌から、誘導体として12 mgとれました。この物質は 10^{-16} gで雄を性的に興奮させます。

フェロモン分子の形とフェロモン作用の関係

フェロモンの分子は、生物のフェロモン受容器という器官で受け取られます。フェロモンの三次元での立体的な形が、タンパク質である受容器によって認識されますから、フェロモン分子では、多くの場合自然界で生物に実際に利用されている形をもった分子だけがフェロモン作用を示します。次の例をとりあげます。(1)アメリカ西部マツクイムシのフェロモン。(2)我国のミズナラ枯死のもととなるカシノナガキクイムシのフェロモン。(3)オオトゲシラホシカメムシのフェロモン。(4)アリの道しるべフェロモン。(5)マメコガネのフェロモン。(6)タバコシバンムシのフェロモン。(7)クイムシの一種のフェロモン。(8)オリーブミバエのフェロモン。(9)イエネズミのフェロモン。(10)粘液細菌のフェロモン。(11)緑鞭毛藻のフェロモン。

昆虫フェロモンの応用—環境にやさしい虫退治

フェロモンを害虫を防ぐために利用するためには、化学的研究だけでなくフェロモンが野外で持続的に少しずつ放出されるような製剤法の開発や、害虫を集める捕獲器（フェロモントラップと呼びます）の色や形的设计など、実験室と野外と双方での入念な開発研究が必要です。フェロモンは無毒で、少量で有効で、環境中ですぐ分解されるので在来型殺虫剤より環境負荷が少ないのが特徴です。

次の3種の方法がフェロモンによる害虫駆除法として知られています。

- a) 発生予察 フェロモントラップでの捕獲数をしらべて害虫の生息密度を知ります。虫が非常に多い時だけ殺虫剤を使うことで殺虫剤の使用量を適正にします。
- b) 大量誘引捕殺 多数のフェロモントラップを設置して害虫を捕まえてしまいます。
- c) 交信攪乱 やや多量のフェロモンを大気中に放出して雌雄の交信を不能にすると、交尾できないので害虫の次世代数が減少します。大規模農業に有効です。
- d) フェロモンの研究と応用の未来 魚類や、ヒトを含む哺乳類のフェロモン研究はこれからの課題です。フェロモン剤と在来型殺虫剤とをうまく組み合わせて作物や農産物、食品貯蔵庫、食品工場での害虫を防ぐ総合防除が大事です。

暮らしに役立つ微生物の話

京都学園大学バイオ環境学部 / 東レ先端研 清水 昌

京都, 比叡山の麓に曼殊院というお寺があります。訪ねられた人も多いと思います。しかし, お寺の一隅に菌塚があるのを知っている人は少ないと思います。私たちの暮らしを豊かにするために犠牲になった微生物たち, この世で一番小さな無数の命に感謝とお礼の気持ちを込めて造られました。ハサミや包丁, 針などの供養と同様に, 物言わぬ者たちに対する日本人の優しい心情の表われのひとつかと思います。私は, 大学では「応用微生物学 (発酵学)」を教え, 企業ではそれらを産業に結びつける仕事をしています。私たちの暮らしを支えるミクロの働き者を求めて, 毎日いろんな微生物と付き合っています。

微生物というと不潔で病気の原因となる恐ろしいもの, といったところが, 一般的なイメージでしょうか。でも, 気が付いていないところで役立っているミクロの働き者も意外と多いのです。酒, 味噌, パン, 納豆などが微生物の働きでつくられる食品であることはご存知のことだと思います。松茸をはじめ八百屋の店先に並ぶ様々なキノコも実は微生物の仲間です。実は, 微生物学には「如何にして微生物を殺すか」と「如何にして微生物と仲良くするか」と2通りのものがあります。前者は医学の領域から生まれたもので, 後者は農学から生まれたものです。勿論, 私は農学から生まれた微生物学をやっています。

菌塚の話からもわかりますように, 日本人は昔から大変上手に微生物と付き合ってきました。従って, 微生物を扱う技術も自然と高度なものが身につけていました。もともとこのような基盤があった所に, 明治時代になって医学の領域の微生物学が輸入されました。両者がほど良くミックスされて, 日本の微生物利用に関する分野は学問的にも産業的にも大発展を遂げるのです。

日本は資源に乏しい国といわれていますが, 微生物に関しては世界に冠たる資源大国であるのをご存知でしょうか。一グラムの土の中には一億の微生物がいるといわれています。日本は国土が南北に細長く, 山あり河あり地形も変化に富んでいます。それに四季の変化もあります。つまり, 変化に富んだ自然があるわけです。従って, 生息する微生物も多種多様です。砂漠の土と比較すれば, 同じグラム中に同じ数の微生物がいると仮定しても, その豊かさが全くちがうことは容易に理解できるでしょう。従って, 求めれば, 優れた能力や未知の能力を持つ微生物と出会う可能性が高いということになります。例えば, プラスチックを食べる菌とか石油を食べる菌なども, その事自体がユニークな能力のひとつであります。現在, 日本が微生物バイオテクノロジーの分野では最先進国であるのもこのようなところにそのルーツがあるのです。

A - 1 自己防御物質クリマコストールの生物活性に関する研究

○大谷恭子¹, 榎間由幸¹, 野嶋夕起子¹, 白杵克之助², 飯尾英夫²
(¹米子高専・物質, ²阪市大院理)

【緒言】 生物界には、捕食-被食の関係が存在する。繊毛虫クリマコストム (*Climacostomum virens*) は、捕食者繊毛虫に対する防御毒素クリマコストールを有している。このクリマコストールは天然物であり、近年抗腫瘍活性を有することが報告されている。その構造は、飯尾らにより 5-(Z)-(non-2-enyl)benzene-1,3-diol と同定されている。またクリマコストールは、レゾルシノールと構造が類似していることから抗菌活性を持つことが期待される。

これまでに捕食者に対するクリマコストールの作用機序は明らかにされていない。クリマコストールの作用機序の解明を目指し、その基礎研究として本研究では、クリマコストールの類縁体を合成し、活性評価を行った。

【実験】 出発物質として3-ヒドロキシベンズアルデヒドもしくは3,5-ジヒドロキシベンズアルデヒドをTBS基にてフェノール性水酸基を保護し、Wittig反応を行った。次いで、フッ化水素ピリジンにて脱保護を行い、類縁体をそれぞれ収率58%、17%で得た。

活性評価は、ペーパーディスク法にて行った。*Bacillus cereus*を被検菌とし、標品にはクリマコストールと構造が類似している *m*-クレゾール、オルシノールを用いた。結果、一つより二つのフェノール性水酸基を有し、側鎖が長いほど活性が強いことが実験化学的に明らかとなった。

現在、二重結合の位置に着目した類縁体についても活性評価を行っている。

A - 2 クリックケミストリーを利用した新規抗癌剤の合成

○枝谷麻里絵¹, 榎間由幸¹, 中光浩誠¹, 大井博己²・矢野重信²
(¹米子高専, ²京大大学院)

【緒言】 医学が発展し続けている現在においても、癌による死亡は年々増加しており、抗癌剤の開発は広く行われている。抗癌剤には、分子標的薬、アルキル化剤、代謝拮抗剤、植物アルカロイド、抗癌性抗生物質、生物学的応答調節剤、ホルモン剤、白金製剤が挙げられるが、白金製剤は、白金錯体であるシスプラチンから始まった抗癌剤である。シスプラチンは多くの腫瘍に対し強い抗癌作用を示すものの、強い副作用が生じることが問題視されてきた。また、難溶性であるため、服用後の体内残存時間が長くなることから、副作用の生じる時間も長くなると考えられる。白金を含有するため、薬価が高いことも問題視されてきた。副作用、難溶性、薬価の問題点を改善するため、「糖質 (グルコース, ガラクトース, マルトース, フルクトースなど)」及び「安価な金属」の導入を検討した。また、鍵反応として、クリックケミストリーの一つである Huisgen 反応を用いた。

【実験】 水酸基をアセチル基にて保護した糖質 (ガラクトース) を出発物質に用い、糖アジド誘導体を合成し、2-エチニルピリジンと、Huisgen 反応による環化を行った (環化体1)。環化後、ナトリウムメトキシドを作用させ、脱保護を行った (環化体2)。スペクトル測定用メタノールにて、脱保護を環化体1および2、酢酸銅 (II) をそれぞれ同濃度に調整し、等量ずつ合わせ攪拌し、錯体形成を行った。錯体形成後、UV-Vis スペクトル測定を行ったところ、環化体1の銅錯体は、配位子に見られなかった吸収が生じ、また、酢酸銅 (II) に対しブルーシフトした。環化体2の銅錯体も、配位子に見られなかった吸収が生じたが、酢酸銅 (II) に対してレッドシフトした。合成した錯体の吸収には、糖のコンフォメーションが関係していると考えられる。また、¹H NMR 測定、Mass 測定 (FAB) により錯体形成の評価を行ったところ、錯体を形成していると示唆された。また、ガラクトースの他に、マルトース、グルコースを用いた銅錯体も達成した。

A - 3 反応生成物解析によるロスマリン酸の抗酸化反応機構の解明

○藤本 彩, 増田俊哉
(徳島大院・総合)

【目的】 当研究室ではこれまでにカフェ酸などフェノール類の不飽和脂質に対する抗酸化反応機構を安定抗酸化反応生成物の化学構造に基づき明らかにしてきた¹⁾。そこで、本研究ではシソ科の植物に広く含まれ強い抗酸化作用をもつことが知られ、分子内にカテコール構造を二つ有するロスマリン酸について、その抗酸化反応機構を明らかにしようと試みた。

【方法・結果】 本研究では、リノール酸エチルを酸化基質に用い、酸化反応をアゾ系のラジカル開始剤で促進する実験系において、ロスマリン酸の抗酸化活性測定および抗酸化反応生成物の分析を行った。その結果、HPLCでの分析により、主に1つの反応生成物が見られた。この化合物は不安定であり単離することはできなかったが、LC-MS測定により、ロスマリン酸の二つのカテコール構造のうち一方が酸化されたキノンであると考えられた。この化合物は、ロスマリン酸のみをDPPHにより酸化させたときも得られたため、塩基性下でドデカンチオールを反応させ、そのチオール付加物を単離し構造決定した。その化学構造から、ロスマリン酸の初期の抗酸化反応生成物は、ロスマリン酸のジヒドロカフェ酸部分のカテコールが酸化されたキノンであることがわかった。

1) Masuda, Akiyama, Fujimoto, Yamauchi, Maekawa, Sone, *Food Chem.*, 123, 442-450, (2010)

A - 4 植物生長抑制作用を有する D-アロース誘導体の構造活性相関研究

○柳田 亮, 橋谷矩史, 川浪康弘
(香川大農・応生科)

【背景と目的】

D-アロースは、D-グルコースの3位エピマーであり、植物生長抑制活性など様々な生理活性を示す。我々はこれまでに、D-アロースの6位アシル化誘導体がD-アロースよりも高い植物生長抑制活性を示すことを報告している¹⁾。6-O-アシル-D-アロースによる植物生長抑制はジベレリンA₃で回復するのに対して、D-アロースではこの回復が見られないことから、両者の作用機構が異なっていることがこれまでの研究から示唆されている。本研究では、6-O-デカノイル-D-アロース (All-C10) のカルボニル基を除去したD-アロースの6-O-デシル誘導体(1)を合成し、生物活性における本カルボニル基の役割を明らかにすることを目的とした。

【結果と考察】

化合物1は、既知の出発物質より3段階で合成した。化合物1は、レタスに対してAll-C10に匹敵する生長抑制活性を示した。この結果は、アシル基のカルボニル基ではなく、炭化水素鎖がAll-C10の高い植物生長抑制活性において重要であることを示唆している。さらに、All-C10の1位ヘミアセタール基をメチルアセタールに変換した誘導体ならびに3位水酸基のメチル化体の活性についても併せて報告する。

¹⁾ Kobayashi, M. *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74, 216, (2010).

A - 5 アオウキクサ151株の新規リポキシゲナーゼ

○逸見奈々¹, 岡 貴憲¹, 長谷川よしの¹, Veronica Sanda Chedea¹, 西村浩二²,
長屋 敦¹, 横田一成¹, 地阪光生¹
(¹島根大・生資科, ²島根大・総科研支セ)

【目的】アオウキクサ (*Lemna paucicostata*) 151株は、花芽形成機構の研究における代表的なモデル植物である。本植物の花芽形成を誘導する因子として、同441株より、9-Hydroxy-10-oxo-12(Z),15(Z)-octadecadienoic acidが同定された (Yokoyama, *Plant Cell Physiol.* 41, 110 (2000))。本物質の生合成にはリポキシゲナーゼ (LOX) が関与することが予想されるため、当研究室では、アオウキクサにおける花芽誘導因子の生合成機構を解明するための基礎として、同151株のLOXの解析を進めている。今回、リノール酸 (LA) の9位および13位の両方に反応する新規LOXを報告する。

【方法・結果】アオウキクサ151株の全RNAからオリゴdT-プライマーを用いてcDNAを合成し、これを鋳型にPCRクローニングを試みたところ、今回のLOX様ORFをコードするcDNAクローンが得られた。本cDNAには、長さの異なる2種類のクローン (L型およびS型) が検出され、L型には60塩基分の挿入部分があることが判明した。その両末端の塩基配列から、本挿入部分は残留したイントロンであることが示唆された。一方、本挿入部分には停止コドンが存在しないことから、L型もまた完全なLOXをコードしていることが示唆された。両cDNAをN末端にHis-タグを付加した融合タンパク質として大腸菌で発現させ、Ni-NTA樹脂を用いた精製を試みたところ、S型からのみ精製タンパク質を得ることができた。LAに対する本酵素の反応位置特異性 (9位:13位) を検討したところ、1:1.9であった。また、反応の立体特異性はS配置特異的 (>97%) であった。

A - 6 Involvement of MAP kinases in MeJA-induced stomatal closure in *Arabidopsis*

○Mohammad Abdus Salam¹, Mohammad Anowar Hossain¹, Fabien Jammes², Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori³, June Ming Kwak², Yoshiyuki Murata¹
(¹Div. of Biosci., Okayama Univ., ²Dept. Cell Biol. & Mol. Genet., Univ. Maryland, ³IPSR, Okayama Univ.)

Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) are involved in abscisic acid (ABA) signaling in *Arabidopsis* guard cells. In this study, we investigated MeJA-induced stomatal closure and production of reactive oxygen species (ROS) in *mpk9*, *mpk12*, and *mpk9 mpk12* mutants to elucidate whether two MAPK genes, *MPK9* and *MPK12*, are involved in MeJA signaling in *Arabidopsis* guard cells. MeJA induced stomatal closure in the *mpk9* mutants and the *mpk12* mutants whereas MeJA failed to induce stomata closure in the *mpk9 mpk12* mutants. In all mutants and wild type, Ca²⁺ induced stomatal closure and elicited ROS production. We also examined effects of *mpk9 mpk12* mutation on cytosolic free calcium concentration ([Ca²⁺]_{cyt}) in guard cells using a Ca²⁺-reporter fluorescent protein, yellow cameleon 3.6 (YC3.6). MeJA elicited [Ca²⁺]_{cyt} oscillation in wild-type and *mpk9 mpk12* mutants. These results suggest that MPK9 and MPK12 redundantly function downstream of ROS production and [Ca²⁺]_{cyt} oscillation in MeJA signaling in *Arabidopsis* guard cells.

A - 7 Methyl Jasmonate-Induced Stomatal Closure along with Intracellular Glutathione in *Arabidopsis*

○Nasima Akter¹, Muhammad Abdus Sobahan¹, Misugi Uraji¹, Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori², Yoshiyuki Murata¹
(¹Div. of Biosci., Okayama Univ., ²IPSR, Okayama Univ.)

Glutathione (GSH) negatively regulates methyl jasmonate (MeJA) signaling in *Arabidopsis* guard cells as well as abscisic acid (ABA) signaling. In order to deeply understand mechanism of negative regulation of MeJA signaling by intracellular GSH, we examined reactive oxygen species (ROS) production and cytosolic alkalization (pH_{cyt}) in guard cells during MeJA-induced stomatal closure using a GSH deficient mutant, *cadmium sensitive* (*cad2-1*). The *cad2-1* mutant is deficient in the first GSH biosynthesis enzyme, γ -glutamylcysteine synthetase. The stomatal aperture of *cad2-1* mutant was narrower than that of wild types in the absence and presence of MeJA. MeJA decreased GSH content in the *cad2-1* guard cells. A neutrophil NAD(P)H oxidase inhibitor, DPI (diphenyleneiodonium chloride) slightly increased GSH content and disruption of NAD(P)H oxidase catalytic subunit genes, *AtrbohD* and *AtrbohF*, impaired MeJA-induced GSH decreasing in guard cells. GSH monoethyl ester (GSHmee) increased intracellular GSH in guard cells and opened stomata of wild type and the *cad2-1* mutant. MeJA induced production of ROS and cytosolic alkalization in *cad2-1* and wild-type guard cells whereas the application of GSHmee did not affect production of ROS and cytosolic alkalization induced by MeJA. These results suggest that GSH negatively regulate MeJA signaling in *Arabidopsis* guard cells.

A - 8 Involvement of cADPR and cGMP in Methyl Jasmonate Signaling in *Arabidopsis* Guard Cells

○Mohammad Anowar Hossain¹, Shintaro Munemasa¹, Yoshimasa Nakamura¹, Izumi C. Mori², Yoshiyuki Murata¹ (¹Div. Biosci., Okayama Univ., ²IPSR, Okayama Univ.)

We investigated involvement of cyclic adenosine 5'-diphosphoribose (cADPR) and cyclic guanosine 3',5'-monophosphate (cGMP) in methyl jasmonate (MeJA)-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana* (Col-0) guard cells using an inhibitor of cADPR synthesis, nicotinamide (NA), and an inhibitor of cGMP synthesis, LY83583 (LY; 6-anilino-5,8-quinolinedione). We found that treatment with NA and LY inhibited MeJA-induced stomatal closure in wild-type plants. We examined effects of NA and LY on cytosolic free calcium concentration ([Ca²⁺]_{cyt}) in guard cells using a Ca²⁺-reporter fluorescent protein, yellow cameleon 3.6 (YC3.6). In wild-type guard cells, NA and LY inhibited MeJA-elicited [Ca²⁺]_{cyt} oscillation. We examined effects of NA and LY on transcription of MeJA-inducible gene, *VEGETATIVE STORAGE PROTEIN1* (*VSP1*). In wild-type leaves, NA and LY inhibited MeJA-induced *VSP1* expression. These results suggest that cADPR and cGMP mediate MeJA signal transduction in guard cells during MeJA-induced stomatal closure in *Arabidopsis*.

A - 9 トマトのガラクトツロン酸レダクターゼの発現とアスコルビン酸生合成

○近藤隆之¹, 稲田周平², 坂本真吾², 藤川愉吉², 江坂宗春²
(¹広島大・生物生産, ²広島大院・生物圏)

【目的】高等植物では, ガラクトツロン酸レダクターゼ (GalUAR) は細胞壁成分であるペクチンの分解産物 (ガラクトツロン酸) からの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。しかし, GalUARに関する研究例は乏しく, その生理機能は不明である。そこで本研究では, トマトの葉の老化やストレスに対する GalUAR の遺伝子発現応答を解析すると共に, トマト果実の発達・成熟に伴う GalUAR の遺伝子発現変動について解析した。

【方法・結果】最初にトマト (マイクロトム) の 5 cm 程度の緑葉と老化葉を用いて GalUAR 遺伝子をノーザンブロット法とウエスタンブロット法により解析を行ったところ, 老化葉で GalUAR の高い遺伝子発現が確認された。さらに, エチレン前駆体であるエテホン処理により GalUAR の遺伝子発現が誘導された。次に GalUAR 遺伝子発現のストレスおよび植物ホルモン応答性について調べた結果, 酸化ストレス (過酸化水素, 塩化ナトリウム) や, 植物ホルモン (サリチル酸, とジャスモン酸) により GalUAR の遺伝子発現が誘導された。一方, トマト果実の発達・成熟に伴う GalUAR の遺伝子発現を調べると, 結実後 23 日前後で GalUAR の遺伝子発現が高いことが分かった。しかし, トマト葉の老化やストレス応答, トマト果実の成熟・発達のいずれにおいても, アスコルビン酸量の変動と GalUAR 遺伝子の発現変動との間に正の相関が認められなかった。よって, 老化や環境ストレス時に誘導される GalUAR は, アスコルビン酸生合成以外に関わっている可能性が示唆される。

A - 10 15-Deoxy-^{12,14}-prostaglandin J₂ attenuates inducible synthesis of prostaglandins E₂ and F₂ and rescue their suppressive effects on adipogenesis program in preadipocytes

○Mohammad Sharifur Rahman^{1,2}, Abu Asad Chowdhury^{1,2}, Pinky Karim Syeda^{1,2}, Kohji Nishimura^{2,3}, Mitsuo Jisaka^{1,2}, Tsutomu Nagaya¹, Fumiaki Shono⁴, Kazushige Yokota^{1,2}
(¹Dept. Life Sci. Biotechnol., Fac. Life Environ. Sci., Shimane Univ., ²Unit. Grad. Sch., Tottori Univ., ³Center Int. Res. Sci., Shimane Univ., ⁴Dept. Clin. Pharm., Fac. Pharm., Tokushima Bunri Univ.)

The function of adipocytes in adipose tissues is always affected by a variety of mitogenic and inflammatory factors. Cyclooxygenase-2 (COX-2) has been shown to be one of several factors that contribute to inflammation associated with adiposity. By contrast, some of peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists are known to serve as a negative regulator of experimental inflammation. The present study was undertaken to unravel the interacting effects of pro-adipogenic 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ (15d-PGJ₂) on the biosynthesis of PGE₂ and PGF_{2 α} by cultured preadipocytes during the growth phase as a model system. The synthesis of PGE₂ and PGF_{2 α} by preadipocytes stimulated with a mixture of PMA and A23187 was significantly suppressed by the co-incubation with 15d-PGJ₂ but not with Δ^{12} -PGJ₂ or troglitazone. The suppression involved the reduced induction of COX-2 following the interference of NF- κ B pathway. Our study also revealed that 15d-PGJ₂ rescued the inhibitory effects of endogenous PGs synthesized in preadipocytes during the growth phase on the subsequent adipogenesis program leading to the differentiation and maturation of adipocytes.

A - 11 Preparation of a monoclonal antibody specific for 12 -prostaglandin J_2 , a pro-adipogenic prostanoid, and development of an immunological assay for its quantification.

○Pinky Karim Syeda^{1,2}, Mohammad Sharifur Rahman^{1,2}, Mohammad Salim Hossain^{1,2}, Kohji Nishimura^{2,3}, Mitsuo Jisaka^{1,2}, Tsutomu Nagaya¹, Fumiaki Shono⁴, Kazushige Yokota^{1,2}
(¹Dept. Life Sci. Biotechnol., Fac. Life Environ. Sci., Shimane Univ., ²Unit. Grad. Sch., Tottori Univ., ³Center Int. Res. Sci., Shimane Univ., ⁴Dept. Clin. Pharm., Fac. Pharm., Tokushima Bunri Univ.)

Prostaglandin (PG) D_2 can be produced in adipocytes and dehydrated to J_2 series of PGs including Δ^{12} -PG J_2 and 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PG J_2 , which serve as pro-adipogenic prostanoids. To develop a sensitive and specific immunological assay for Δ^{12} -PG J_2 , we established a cloned hybridoma cell line secreting a monoclonal antibody recognizing specifically Δ^{12} -PG J_2 . For our enzyme-linked immunosorbent assay, the immobilized antigen using a conjugate of Δ^{12} -PG J_2 and γ -globulin was immunoreacted with the monoclonal antibody in presence of free Δ^{12} -PG J_2 . The assay provided a sensitive calibration curve for Δ^{12} -PG J_2 allowing us to determine a range from 0.16 pg to 0.99 ng with a value of 13 pg at 50% displacement. The antibody showed almost no cross-reactivity with other related prostanoids. The accuracy for determining Δ^{12} -PG J_2 in the culture medium of adipocytes was evaluated after the culture medium was fortified with known amounts of authentic Δ^{12} -PG J_2 . The analysis revealed a nice, linear proportionality between the mass found and the mass added in a range from 10 to 200 pg/ml. Therefore, our assay method is useful for the determination of Δ^{12} -PG J_2 at different life stages of adipocytes.

B - 1 リン酸架橋デンプンの消化性

○内田乃利旭¹, 立部 誠², 海老原 清¹
(¹愛媛大, ²松谷化学)

【目的】レジスタントスターチ-タイプ4 (RS4) に分類されるリン酸架橋澱粉 (DP: Distarch phosphate) の消化性は *in vitro* では架橋度の増加に伴い低下することが確認されている。しかし *in vivo* ではほとんど検討されていない。本実験では, DP の *in vivo* 消化性について検討した。

【方法】実験を通して8週齢の雄ラットを用いた。DP の *in vivo* 消化性と架橋度の関係は, DP 投与後の血糖値応答曲線下面積 (iAUC) を比較することで行った。**実験1**: 飼育飼料の澱粉源を糊化澱粉 (GS) とするGS群, 生澱粉 (NS) とするNS群の2群に分け, 飼育10日目, 一晩絶食後にNS懸濁液を経口投与し, 投与後のiAUCを求めた。**実験2**: 実験1と同様に2群 (GS群/NS群) に分け, 20日間飼育し, 膵アミラーゼ活性を測定するとともに, 空腸および回腸粘膜のマルターゼ活性を測定した。**実験3**: すべてのラットに前述のNS飼料をあらかじめ20日目与え, 一晩絶食後にNSまたは架橋度の異なる4種のDP懸濁液を経口投与し, 投与後のiAUCを求めた。

【結果】**実験1**: GS群に比べNS群でiAUCが高値を示した。**実験2**: GS群に比べNS群で, 膵アミラーゼ活性の上昇, 空腸マルターゼ活性の低下, 回腸マルターゼ活性の上昇が認められた。**実験3**: 架橋度の増加に伴いiAUCの低下が認められた。以上の結果より, ①DPの *in vivo* 消化性を検討するには, 飼育飼料の澱粉源が重要であること, ②DPの *in vivo* 消化性は, *in vitro* と同様に架橋度に依存して低下することが明らかになった。

B - 2 高ホモシステイン血症に対するベタインの影響

○小島侑子, 水重貴文, 岸田太郎, 海老原清
(愛媛大学)

【目的】高ホモシステイン (Hcy) 血症とは, 代謝過程の異常により血中Hcy濃度が上昇することである。高Hcy血症は動脈硬化の危険因子であるとして注目されている。高Hcy血症がインスリン抵抗性 (IR) を誘発するといわれているが, 明確な結果は得られていない。一方, 多量のフルクトース摂取はIRをもたらすことが示唆されている。近年食品や清涼飲料水からの異性化糖の摂取が増えている。しかし, 異性化糖はグルコースとフルクトースを主成分とする液状糖であるためフルクトースの摂取量が増加している。そこで本研究では, 高フルクトース食を使用し, Hcyの添加により発症した高Hcy血症に対するベタインの影響を調べた。

【方法・結果】5週齢雄Wistar系ラットを14日間環境に馴化させた後, (a)コントロール飼料を与えたC群, (b)コントロール飼料全体の60%をフルクトースで置き換えた高フルクトース (HF) 飼料を与えたHF群, (c)HF飼料に0.5%ベタインを添加した飼料を与えたHF+B群, (d)HF飼料に0.2% Hcyを添加した飼料を与えたHF+Hcy群, (e)HF飼料に0.2% Hcy及び0.5%ベタインを添加した飼料を与えたHF+Hcy+B群, の計6群に分け, 6週間飼育した。HF食にHcyを添加することで血中のHcy濃度は有意に上昇し, 高Hcy血症を発症した。しかしながら, 高Hcy血症を発症したにも関わらずIRを導くことは出来なかった。一方で, Hcy添加により上昇した血中Hcy濃度はベタインの添加によって減少した。よって, ベタインは高Hcy血症を改善するということが示唆された。

B - 3 伊予特産柑橘類の成分研究

○天倉吉章, 好村守生, 大内かずさ, 奥山 聡, 古川美子, 吉田隆志
(松山大薬)

【目的】柑橘類は、国内は勿論、世界中で広く生産される主要な果実であり、その爽やかな香りや味が老若男女を問わず幅広く親しまれている。国内では温州みかんがその代表であり、近年、それらの抗がん作用などが明らかにされ、食の三次機能面からも注目されている素材である。愛媛県はこれら柑橘類の国内有数の生産県であり、温州みかんの他にも様々な柑橘類が特産品として生産されている。本研究では、愛媛県産柑橘類の健康促進素材開発のための研究の一環として、柑橘機能成分として報告のあるフラボノイド類を中心とした含有成分について、特に中晩柑橘類の果皮を対象に成分比較を行った。

【方法・結果】愛媛県産柑橘類17種（甘夏、安政柑、伊予柑、温州みかん、黄金柑、河内晩柑 他）、の成熟果皮をエタノールで抽出し、各エタノール抽出物を得た。各抽出物について、逆相HPLCにより柑橘成分10種（auraptene, bergamottin, heptamethoxyflavone, nobiletin, tangeretin 他）の定量分析を行った。フラバノン配糖体の分布を見ると、naringinを主とするもの（河内晩柑、安政柑、文旦）、narirutinおよびhesperidinを主とするもの（温州みかん、伊予柑、黄金柑、清見、せとか 他）の2群に分かれた。その他の成分を見ると、例えばポンカンではnobiletinおよびtangeretinの含有が顕著で、河内晩柑ではheptamethoxyflavoneおよびaurapteneの含有が特徴的であり、各柑橘での特色が認められた。

B - 4 Characterization of agar using SAXS and DSC

○Chivero Peter, Shoichi Gohtani, Shinya Ikeda
(Depart. App. Biolog. Sci., Fac. Agric., Kagawa Univ.)

The gel structure of agar was studied by differential scanning calorimetry (DSC) and small angle X-ray scattering (SAXS). Single endothermic and exothermic peaks were observed during heating and cooling of the agar respectively indicating that agar undergoes a single structural transition thus contains one structural domain. Test agar had melting temperatures in the upper 80°C range while the conventional agar melted at 77.8°C. However the conventional agar required at most an additional $8.51 \times 10^4 \text{ J/kg}$ for the transition compared to the test agar reflecting that conventional agar may have large structural chains or stronger chemical linkages. The SAXS profiles displayed power-law decay slopes of -2 which signify the presence of Gaussian coil chains in dilute solutions. The cross-sectional and thickness Guinier plots had clear linear portions indicating that agar may be composed of both rods and flat particles in its gel form. There were no significant peaks observed in the wide angle X-ray diffraction (WAXD) data indicating that there are no ordered structures in agar gel. Agar is thought to be composed of branched flexible coils in dilute solutions that form cross-linked domains at gelation.

B - 5 ビタミンB6摂取が単球・マクロファージの白色脂肪組織への浸潤に与える影響

○久本高央¹, 真田洋平², 末廣春奈², 加藤範久², 矢中規之²
(¹広島大・生物生産, ²広島大院・生物圏科学)

以前, Vitamin B6(B6)の大腸腫瘍の抑制効果に関する解析を行う中で, B6を混飼投与した際にマウス脂肪組織中のB6濃度が有意に上昇することを見出した。そこで, 本研究では食餌性B6による白色脂肪組織における遺伝子発現に対する調節作用を解明することを目的に行った。5週齢ICR雄性マウスに20%高脂肪食下において1 mg/kgのpyridoxine(PN)を加えた対照群と35 mg/kg PNを加えたB6群の2群 (n = 10) に分け8週間飼育した。DNA microarray法を用いて2群間の白色脂肪組織において発現変動する遺伝子群を網羅的に解析した。その結果, B6群において単球・マクロファージのマーカー遺伝子や細胞遊走に関連したCCL2などのケモカイン類の発現の抑制が認められ, また炎症性因子であるPTX3やMMP3の発現が低下していた。さらに, PTX3やMMP3はマウス由来脂肪前駆3T3-L1細胞を分化誘導した後, TNF- α で刺激した際も著しく発現は上昇したことから, B6摂取群では白色脂肪組織におけるTNF- α の発現低下によってPTX3やMMP3の発現が抑制されたと考えられた。PTX3やMMP3は動脈硬化の発症に関与すると考えられており, 食餌性B6は肥満に伴う脂肪組織の炎症反応を抑制することでメタボリックシンドロームの発症を予防・改善する新しいメカニズムが考えられた。

B - 6 db/dbマウス脂肪組織における単球・マクロファージとの相互作用によって発現変動する候補遺伝子

○真田洋平¹, 中村啓司², 末廣春奈¹, 久本高央², 西村英紀³, 加藤範久¹, 矢中規之¹
(¹広島大院・生物圏, ³広島大・生物生産, ²広島大院・医歯薬)

近年, ライフスタイルの変化に伴うメタボリックシンドロームの罹患患者数が急激に増加し, 大きな社会問題となっている。内臓脂肪型肥満を背景として発症するメタボリックシンドロームは, 糖尿病や動脈硬化などの疾患と深く関連し, 脂肪組織での慢性炎症を成因とした多因子の疾患である。当研究室においては食餌性vitamin B6の白色脂肪組織の遺伝子発現に対する影響を, 網羅的に解析した結果, vitamin B6摂取群において単球・マクロファージのマーカー遺伝子, MCP1/CCL2などのケモカイン類, さらにPTX3やMMP3などの炎症性因子の発現が抑制されていた。本研究では, 肥満時の白色脂肪組織における慢性炎症の分子機構に着目し, トランズウェルシステムを用いたマウス脂肪細胞株3T3-L1細胞とマウス単球系RAW264.7細胞の非接触共存培養を行い, 単球・マクロファージとの相互作用が脂肪細胞の遺伝子発現に与える影響を解析した結果, PTX3やMMP3などの炎症性因子の発現が上昇しており, vitamin B6が単球・マクロファージの浸潤を抑制することで, PTX3やMMP3の発現を抑制した可能性が示された。次に, 肥満病態モデルマウス (db/dbマウス)の白色脂肪組織において発現変動する遺伝子の網羅的解析を行い, 詳細に比較を行うことで, 肥満脂肪組織において単球・マクロファージと脂肪細胞との相互作用によって発現変動する候補因子を単離することを試みた結果についても報告する。

B - 7 スダチ由来ポリフェノールsudachitinによる神経保護作用

○播田元輝, 湯浅恵造, 津嘉山正夫, 辻 明彦
(徳島大院・先端技術)

柑橘類の果皮に含まれているポリメトキシフラボン類は, 抗酸化作用, 発ガン抑制作用, 抗菌抗ウイルス作用, 抗アレルギー作用など様々な機能性を有している。徳島県の特産物であるスダチの果皮には他の柑橘類には全く含まれてないスダチチン (5,7,4'-trihydroxy-6,8,3'-trimethoxyflavone) が含まれているが, このポリメトキシフラボンの機能性についてはほとんど解析がなされていない。そこで, 本研究では, マウス神経細胞であるN1E-115細胞を用いてスダチチンの神経保護作用の解析を目的とし, 学習や記憶に関わるとされているNMDA受容体シグナル伝達経路の一つであるERKのリン酸化について検討した。スダチチンは時間および濃度依存的にERKのリン酸化を誘導し, また, NMDA受容体選択的アゴニストMK-801によるERKの活性化阻害がスダチチンによって改善された。これらの作用は, サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ (PDE) の非特異的阻害剤であるIBMXによっても得られたことから, 現在, PDEとスダチチンとの関連性について解析中であり, 合わせて報告したい。

B - 8 線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いたビタミンB₁₂欠乏と酸化ストレス障害の関連性について

○三崎太平, 大塚賢二, 藪田行哲, 河野 強, 渡辺文雄
(鳥取大・農)

【目的】 ビタミンB₁₂ (B₁₂) が欠乏し, 蓄積したホモシステインは自己酸化の過程で活性酸素種の発生に関与し, 様々な病気を引き起こすことが報告されている。しかし現在, B₁₂欠乏による酸化ストレス障害の程度や生体に及ぼす影響については不明である。そこでヒトのモデル生物として広く用いられている線虫 (*C. elegans*) に着目し, B₁₂欠乏線虫を用いて, 酸化ストレス障害の解析を行った。

【方法】 M9最小培地で培養した大腸菌をB₁₂制限食餌とした。B₁₂ (100 µl/L) を添加した培地とB₁₂無添加培地にて5世代継代的に生育させた線虫を, それぞれコントロール線虫ならびにB₁₂欠乏線虫として実験に用いた。酸化ストレスマーカーとして過酸化脂質をTBARS法で, 過酸化水素をBES-H₂O₂-Acを使用して測定した。また, カルボニル化タンパク質をDNPH法等で, グルタチオンをDTNB法等で測定した。

【結果】 B₁₂欠乏線虫では, コントロール線虫に比べ過酸化脂質や過酸化水素, カルボニル化タンパク質が有意に蓄積していた。一方, 抗酸化物質のグルタチオンにおいては酸化型が欠乏線虫で有意に上昇し, 還元型と全グルタチオン量は減少した。また, 欠乏線虫にB₁₂を添加するとこれらの酸化ストレスマーカーは, コントロール線虫のレベルにまで回復した。これらの結果からB₁₂欠乏線虫は酸化ストレスの影響を受けていることが推察できた。現在, さらに詳細にB₁₂欠乏と酸化ストレス障害について検討中である。

B - 9 パン酵母発酵おからによるマウスに対する給餌効果

○前田愛梨, 平木章葉, 滝澤 昇
(岡山理大・工・バイオ応化)

【目的】 おからは現在年間約65万t廃棄されており, 産業廃棄物に指定されている。当研究室ではこれまでにパン酵母による発酵処理によるおからの乾燥減容化・保存性向上技術を開発してきた。また発酵処理により消化性リン酸量や遊離ペプチド量が増加することを示した。今回はマウスを対象とし, パン酵母発酵おからの飼料としての給餌効果, 有用性について検討を行った。

【方法・結果】 おからにパン酵母を添加し, 5日間醗酵させた。この醗酵おからに, ラボMRブリーダー(日本農産工業(株):繁殖用)を加え, おから100%飼料, 50%飼料および25%飼料を作成した。試験には, 作成した各おから飼料群に加え標準群(ラボMRブリーダー)の4群を設定し, 各群マウス(Slc:ICR)を5匹ずつ用いた。約30日間各群の飼料を給与し, 体重, 摂食量を2~3日ごとに計測した。試験終了後, 安楽死させ, 臍臓, 脾臓, 肝臓, 副腎, 腎臓, 褐色脂肪組織の臓器重量を測定した。結果としては, 摂食量は各群はほぼ変化が見られなかったものの, 体重は標準群, 25%飼料群は増加し, 50%飼料群はほぼ増減しなかった。しかし100%飼料群では大幅に減少した。褐色脂肪組織は, おからの配合率が増えるにつれ重量が減少し, 開腹の際にも100%飼料群は白色脂肪組織がほぼ見られなかった。臓器重量は50%飼料群まで増加する傾向にあるが, 100%飼料群では減少していた。以上から100%飼料は飼養には不向きと考えられるが, 25%飼料は繁殖飼料, 50%飼料は維持飼料として使用可能と考えられる。

B - 10 食用および野生キノコ中のL-カルニチン, ベタイン類の分析

○藤光洋志¹, 前川二太郎², 森 信寛²
(¹鳥取大院・連農, ²鳥取大農)

【目的】 L-カルニチンは脂肪酸の β 酸化で重要な役割を果たしている。またグリシンベタインをはじめとする各種ベタインは, 浸透圧調節に利用されている。このような機能性を有したL-カルニチン・ベタイン類に関して, キノコ中の含量を分析した報告例は少ない。そこで本研究では市販の食用キノコおよび野生キノコを対象に酵素法およびキャピラリー電気泳動法により, L-カルニチン, ベタイン類の定量を行った。

【方法・結果】 市販の食用キノコおよび大山山麓で採取した野生キノコを凍結乾燥・粉碎し, 熱水抽出によりキノコ抽出液を調製した。同抽出液をp-ブロモフェナシルプロミドにより誘導体化し, キャピラリー電気泳動法によりグリシンベタイン・ β -アラニンベタイン・ γ -ブチロベタインを定量した。L-カルニチンは微生物由来の組換え型L-カルニチン脱水素酵素を用い, 初速度法で定量した。その結果, ベタイン類の中で, グリシンベタインを多く含むキノコと γ -ブチロベタインを多く含むキノコが存在していた。また食用キノコでは, L-カルニチン含量は3-5 mg/100g湿重量であった。

C - 1 トレハロース添加による一本鎖二重特異性抗体の凝集抑制効果の検討

○龍澤実季, 鬼塚正義, 白井昭博, 間世田英明, 大政健史
(徳島大院・STS)

【目的】近年, 抗体医薬品の製造プロセスで生じる抗体の凝集が問題となっている。トレハロースは, 凍結乾燥時に生じる凝集の抑制に大きな効果を有することが知られているが, 製造の全工程を対象とした凝集抑制効果については報告例がない。そこで, 本研究では一本鎖二重特異性抗体(Bispecific single chain diabody-Fc : scDb-Fc) へのトレハロース添加を行い, 製剤化の各工程への適用の第一歩として, 溶液状態での抗体凝集抑制効果について検討した。

【方法・結果及び考察】scDb-Fc生産Chinese hamster ovary (CHO) 細胞株の培養上清から精製したscDb-Fc溶液に200 mMトレハロースを添加し, 円二色性(Circular Dichroism : CD) スペクトルを用いて構造・熱安定性を解析した。さらに加熱により凝集体を形成させ, 加熱前後の上清タンパク質濃度の差に基づいて凝集体形成割合を算出した。その結果, トレハロース添加により抗体の熱安定性が上昇し, 凝集体形成割合が大きく減少した。さらに培養過程における凝集抑制にもトレハロースは有効であると考え, scDb-Fc生産細胞株のトレハロース含有培地への馴化を行った所, トレハロース150 mM含有培地までの馴化が可能であった。さらに添加によって抗体比生産速度および培養後期における細胞生存率が上昇し, 抗体発現量が増加した。以上より, トレハロースは抗体の熱安定性を高め凝集抑制効果を持つことが認められた。現在, トレハロース添加培養時における凝集体の抑制効果について検討している。

C - 2 歯周病原性細菌*Eikenella corrodens*の溶血因子の解析

○山本美保子, 松永哲郎, 加藤昭夫, 阿座上弘行
(山口大・農)

【目的】歯周病原性細菌*Eikenella corrodens*の臨床分離株1073を羊血液寒天培地で培養したところ, コロニーの周りが透明になる β 溶血が観察された。また, 本株から単離されたプラスミド上にコードされたリコンビナーゼ遺伝子の導入により, 溶血が見られた。本研究では, 本菌の溶血因子の解析を行い, 溶血と病原性との関わりを明らかにすることを目的としている。

【方法・結果】まず, 溶血の程度を数値化するために, 溶血活性の高い1073株を用いて溶血アッセイの確立を試みた。リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中で溶血アッセイを行ってみたが, 溶血活性は見られなかった。そこで, 生理食塩水でアッセイを行うと, 菌体量に依存して溶血活性が見られた。PBSと同じpHのトリス緩衝生理食塩水(TBS)中で反応させても活性が見られたことから, PBS中のリン酸が溶血を阻害する可能性が示唆された。また, アッセイ条件を検討したところ, 18時間培養した*E. corrodens*を生理食塩水中で羊赤血球と3時間, 兎赤血球と24時間インキュベートしたときが高い溶血活性が見られた。さらに, GalNAcの添加により溶血活性の低下が見られたことから, 本菌の溶血活性にはGalNAc特異的レクチンが関与する可能性が示唆された。1073株, 23834株, 23834株にリコンビナーゼを導入した株の3株の溶血活性を測定したところ, 23834株では溶血活性が見られなかったが, リコンビナーゼ導入株では高い溶血活性が見られた。このことから, リコンビナーゼによるゲノム再編によって溶血を引き起こすことが示唆された。

C - 3 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* の菌体表層レクチンはポーリン様タンパク質である

松永哲郎, ○倉重吉宏, 山田和範, 加藤昭夫, 阿座上弘行
(山口大・農)

【目的】 *Eikenella corrodens* は菌体表層に GalNAc 特異的なレクチンを有し, これを介して歯面や歯肉への付着や口腔内異種細菌との共凝集などを行うことが報告されており, このレクチンが本菌の歯周病原性に大きく関与すると考えられている。そこで, 菌体表層から GalNAc 特異的レクチンを精製し, その解析を行った。

【方法】 *E. corrodens* 1073株を超音波破碎後, Triton X-100で可溶化し, GalNAc アフィニティークロマトに供し, GalNAc 溶出画分を得た。この画分を *S. sanguinis* との共凝集, SDS-PAGE, 標識 GalNAc との結合実験により解析した。

【結果】 GalNAc 溶出画分には約90 kDaのタンパク質が検出され, GalNAc との特異的な結合が見られた。また, このタンパク質は, 加熱により約40 kDaへと分子量が変化したが, GalNAc との特異的な結合は維持されていた。また, この約40 kDaのタンパク質のN末アミノ酸配列を決定したところ, 以前部分精製した高分子量レクチン複合体に含まれていたポーリンと高い相同性が見られた。したがって, 本菌の菌体表層レクチンはポーリン様のタンパク質であることが示唆された。

C - 4 ラルストニア属細菌における異化抑制条件の検討

○鳥居英人¹, 矢部博敬², 原 啓文², 八田 貴², 滝沢 昇¹
(¹岡山理大院・工・システム科学, ²岡山理大工・生体医工)

【緒言】 *Ralstonia pickettii* DTP0602株は, 2,4,6-トリクロロフェノール (2,4,6-TCP) を分解する土壌細菌である。我々はこれまでに, 2,4,6-TCP分解酵素遺伝子群 (*hadE-C*オペロン) の解析を行ない, *hadE-C*オペロンの発現はLysR型転写制御因子HadRによって2,4,6-TCP存在下で誘導されることを明らかにした。本研究ではDTP0602株の異化抑制機構を解明するために, 2,4,6-TCP初発水酸化酵素遺伝子 (*hadA*) の発現を指標として異化抑制条件の検討を試みた。

【結果・考察】 *hadA* に *lacZ* を挿入した株を用いて *hadA* の発現に対する各種炭素源の影響を調べたところ, *hadA* の発現はコハク酸などによって強く抑制されたことから, DTP0602株に異化抑制機構が存在することが示された。次に, 野生株を用いて2,4,6-TCP, コハク酸, 2,4,6-TCPとコハク酸存在下の *hadA* の mRNA 量を測定した。その結果, コハク酸のみの存在下では *hadA* の mRNA は全く検出されなかったのに対して, 2,4,6-TCPとコハク酸の存在下では有意な *hadA* の転写が認められた。さらに, コハク酸存在下における2,4,6-TCP分解能を測定したところ, 野生株で分解が始まる10時間以降でもコハク酸存在下では2,4,6-TCPを分解できなかった。以上の結果から, DTP0602株の2,4,6-TCPの分解能はコハク酸によって抑制されるが *hadA* の mRNA は転写されていることが示され, 転写・翻訳を含む複雑な異化抑制機構の存在が示唆された。

C - 5 ChIP-chip 解析を用いたロドコッカス属細菌の転写因子結合領域の同定

○愛宕祐基¹, 荒木直人², 下平 潤², 福田雅夫², 八田 貴¹, 原 啓文¹
(¹岡山理科大学・工, ²長岡技科大学・工)

【目的】 *Rhodococcus jostii* RHA1株に存在する二成分制御系 BphS1T1は、ビフェニルを感知して分解酵素遺伝子を活性化するビフェニル代謝に必須な転写制御因子である。本研究では、ChIP-chip法を用いて全ゲノム上での BphT1制御下遺伝子群の網羅的同定を行った。

【結果・考察】 RHA1株に存在する BphT1とアミノ酸配列で97%の高い相同性を示す BphT2の影響を除くために、*bphT2* 遺伝子破壊株を用いた。ビフェニルと1時間振盪させた *bphT2* 遺伝子破壊株の細胞抽出液と抗 BphT1抗体を用いて ChIP-chip 解析を行った。その結果、ビフェニルに応答して BphT1が RHA1株ゲノム上の100以上の領域に結合しており、BphT1がビフェニル分解酵素系以外の遺伝子を直接転写活性化していることが明らかとなった。これらの遺伝子のうち BphT1が直接結合し、ビフェニル生育で高発現している IclR 型の転写制御因子およびエンドリボヌクレアーゼの両遺伝子を選択し、それぞれの遺伝子破壊株を作製した。さらにこれらの破壊株を、フタル酸、テレフタル酸、安息香酸、ピルビン酸で生育した結果、両破壊株とも野生株と各基質上での生育能に違いは見られなかった。以上の結果から、これらの遺伝子はビフェニルに応答した BphT1から直接転写活性化を受け、RHA1株のビフェニル生育においてのみ生理学的な何らかの影響を及ぼす遺伝子であることが明らかとなった。

C - 6 トリクロロエチレン分解細菌 *Pseudomonas putida* F1 株のトリクロロエチレンに対する正の走化性センサーの特定

○奥 正太, 木下閣基, 田島誉久, 中島田 豊, 加藤純一
(広島大院・先端物質)

【目的】 トリクロロエチレン (TCE) 分解細菌 *Pseudomonas putida* F1 株はトルエンに曝露することにより TCE に集積応答を示すことが報告されている。このように特定の化合物を感知し、集積もしくは忌避行動を示す応答を走化性と呼ぶ。走化性は、走化性センサータンパク (Methyl-accepting chemotaxis protein; MCP) が化合物を感知し、シグナル伝達を介して鞭毛回転を制御することにより生じる。そのため、各 MCP が感知する化合物を特定することは走化性機構の解明において重要な意味をもつ。しかし、F1 株において、TCE を感知する MCP は未だ特定されていない。本研究では、F1 株において、TCE を感知し集積応答に関与する MCP の特定を試みた。

【方法・結果】 ゲノム情報から F1 株は 27 種類の MCP を有することが明らかとなった。そこで我々は、これらの F1 MCP を *Escherichia - Pseudomonas shuttle vector* である pUCP18 へ導入し、各 F1 MCP の発現プラスミドを構築した。そして、当研究室の走化性モデル細菌である *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Δ pctABC 株へこれらの発現プラスミドをそれぞれ導入し、異種株間相補試験用形質転換株を作成した。これら形質転換株を用い、キャピラリーアッセイ法にて走化性応答を検出することで、F1 MCP の網羅的機能解析を行った。その結果、4 種類の F1 MCP を導入した PAO1 Δ pctABC 形質転換株において、TCE への強い誘引応答が検出された。このことから、F1 株において、これら 4 種類の MCP が TCE に対する集積応答に関与している可能性が明らかとなった。

C - 7 組み換え - アガラーゼの精製とその特性

○岡本直樹, 有賀 修, 久保 元, 井上貴由
(高知工大・環境理工)

【目的】本研究では, 寒天分解菌 (*Cellvibrio sp.*) 由来の β -アガラーゼ遺伝子をクローニングした大腸菌からの組み換え β -アガラーゼの精製を試みた。また, 精製された β -アガラーゼの諸特性を調べた。

【方法・結果】寒天分解菌の β -アガラーゼ遺伝子を大腸菌へクローニングし, 組み換え大腸菌を得た。組み換え大腸菌の菌体破碎液から, 硫酸アンモニウム沈澱の後, 陰イオン交換カラム, ゲル濾過カラムを用いて, FPLCにより精製した。20 g/Lのアガロースを添加した20 mMのリン酸緩衝液に画分を添加し, アガロースの分解を行った。生成された寒天オリゴ糖の分析にはHPLC及びTLCを用いた。酵素活性は単位時間におけるアガロース分解時の還元糖量の増加量とし, 還元糖をフェリシアナイド法を用い測定した。タンパク質量はBCA protein assay kitを用いて測定した。

精製 β -アガラーゼは, 約79 kDaの単量体であり, 塩基配列の推定分子量と一致した。アガロースを2糖と4糖に分解することがわかった。また, 酵素活性の最適pH及び最適温度はそれぞれ6.5と42℃であった。 β -アガラーゼは Cu^{2+} , Zn^{2+} 等の金属イオンにより阻害されることを確認した。

C - 8 - アガラーゼ遺伝子の枯草菌へのクローニング

岡本直樹, ○有賀 修, 井上貴由
(高知工大・環境理工)

【目的】遺伝子配列から寒天分解菌 (*Cellvibrio sp.*) の β -アガラーゼ遺伝子がシグナル配列を持つことが予想された。そこで, β -アガラーゼ遺伝子を枯草菌にクローニングし, 組み換え枯草菌による β -アガラーゼの菌体外生産とアガロースからの寒天オリゴ糖の生産を試みた。

【方法・結果】アガラーゼ遺伝子のORF領域とその上・下流のプロモーター領域をPCRによって増幅した。PCR産物をpHY300PLKに結合し, 枯草菌を形質転換した。培地として, テトラサイクリンを添加したLB培地を用いた。一方, テトラサイクリンを添加したLB培地に20 g/Lのアガロースを添加し, アガロースの同時発酵分解を行った。生産された寒天オリゴ糖をHPLCにて定量した。

培地及び枯草菌内の酵素活性を調べたところ, 約92%の酵素が培地中に存在し, 組み換え枯草菌は β -アガラーゼを菌体外生産することが分かった。アガロースを添加した培地で組み換え枯草菌を培養したところ, 寒天オリゴ糖が経時的に増加し, 同時発酵分解により菌体を破碎することなく寒天オリゴ糖の生産を行うことに成功した。しかし, 菌体濃度の増加とともに培地のpHが高まり, 寒天オリゴ糖濃度の増加が低下した。

C - 9 *Cellvibrio* sp. OA-2007由来の α -アガラーゼの精製

岡本直樹, 有賀 修, ○播本奈央望
(高知工大・環境理工)

【目的】寒天分解菌のアガラーゼには α -アガラーゼと β -アガラーゼが存在するが, 非海洋性細菌の α -アガラーゼについてはほとんど報告されていない。そこで, 本研究では, 我々が単離した非海洋性寒天分解菌 (*Cellvibrio* sp. OA-2007) からの α -アガラーゼの精製を試みた。

【方法・結果】寒天分解菌の菌体破碎液からヒドロキシアパタイトを用いた前処理の後, 陰イオン交換カラム, ゲル濾過カラムを用いて, FPLCにより精製した。 β -アガラーゼを生産する組換え大腸菌を用いて, アガロースの分解を行い, ネオアガロオリゴ糖混合液を調製し, 20 mMのリン酸緩衝液に添加した。画分を添加後, 加温し, ネオアガロオリゴ糖を分解した。寒天オリゴ糖の分析には, HPLC及びTLCを用いた。 α -アガラーゼ活性は単位時間における寒天オリゴ糖分解時のガラクトース増加量と定義した。タンパク質量はBCA protein assay kitを用いて測定した。

DEAE-Toyopearlによる寒天分解酵素のGradient溶出の結果, ネオアガロオリゴ糖混合物を分解する幾つかの画分が得られた。ネオアガロビオースを分解する画分を回収し, 透析後, ゲルろ過カラムによる精製を行った。SDS-PAGEにより, 精製の進展を確認したところ, まだ, 数本のバンドが見られ, 精製が不十分であると思われた。部分精製した α -アガラーゼはネオアガロビオースを分解し, ガラクトースとアンヒドロガラクトースを生産することがTLCにより分かった。

C - 10 *Acidithiobacillus ferrooxidans* のチオ硫酸酸化に関する遺伝子の同定

○菊本愛生, 金尾忠芳, 高田 潤, 上村一雄
(岡山大院・自然科学)

【目的】鉄酸化細菌 *A. ferrooxidans* は, 二価鉄および還元型無機硫黄化合物をエネルギー源として生育する。鉄酸化系はほぼ解明されているが, 硫黄代謝系は不明な点が多い。本菌のチオ硫酸デヒドロゲナーゼ (TSD) の精製を行い, N末端アミノ酸配列をもとにTSDをコードする遺伝子 (*tsd*) を決定した。本研究では, 決定した *tsd* がTSDをコードしているかを確かめるために, *tsd* の大腸菌内での発現を試みた。【方法】 *A. ferrooxidans* ATCC23270株からPCR増幅した *tsd* を発現用ベクター pET21aに組み込み, 発現用宿主 *E. coli* BL21 (DE3) に導入した。IPTGを添加して発現誘導し, SDS-PAGEと活性測定によって, *tsd* 遺伝子の発現を検討した。酵素活性は, フェリシアナイドを電子受容体に用い, 420 nmの吸光度の減少によって測定した。【結果・考察】形質転換株を用いたSDS-PAGE分析により, 遺伝子から推定される約25 kDaのタンパク質が確認され, その無細胞抽出液中に酵素活性が検出された。無細胞抽出液中の酵素は, pH2.0および50°Cで最大の活性を示し, 50 mMの硫酸イオンおよび1 mMの亜硫酸イオンで活性化された。鉄酸化細菌の無細胞抽出液の酵素は, 活性発現に硫酸を必要としたが, 部分精製された酵素は逆に阻害されたため, 精製した組換え酵素での検討を予定している。BLAST解析の結果, *Thiomonas*, *Gluconobacter*, *Hydrogenobuculum*などが相同な遺伝子を持っており, いずれの細菌も *A. ferrooxidans* と同様にその下流に硫酸結合タンパク質をコードする遺伝子を持っていた。

D - 1 高度好塩性古細菌 *Haloarcula japonica* TR-1 の高塩濃度下でのピロリン酸分解活性測定および反応熱測定

○若井 暁¹, 渋谷紀成², 城所俊一², 三本木至宏¹
(¹広大院・生物圏, ²長岡技大・生物)

ATPの加水分解には、水が決定的な役割を果たすはずだが、その効果は明らかになっていない。本研究では、ATPエネルギーへの水の効果を検討するために、水分活性が低い条件下で良好に生育する高度好塩性古細菌 *Haloarcula japonica* TR-1株を対象とした。さらに、ATPのモデル化合物としてピロリン酸に着目した。塩濃度を変えて本菌抽出液のピロリン酸加水分解活性と反応熱を測定し、塩濃度の違いによる水分活性変化の影響を調べた。

TR-1株を3.4MのNaClを含む培地で培養し、同条件下で菌体を破碎した。得られた抽出液を、超遠心分離により膜画分と可溶性画分に分離した。それぞれの画分のピロリン酸分解活性を、塩の種類と濃度を変えて測定した。その結果、ピロリン酸分解活性は、3M以上のNaClあるいはKCl存在下で可溶性画分に検出されたが、同じくらいの濃度のNa₂SO₄存在下では全く活性がなかった。以上から、可溶性画分のピロリン酸分解活性は、SO₄²⁻イオンの塩析効果によって生じるのではなく、Cl⁻イオンによって生じると考えた。さらに、ピロリン酸分解時の反応熱を等温滴定マイクロカロリメトリーで測定した。その結果、2~4Mと大きくNaCl濃度を変えても、2mM MgCl₂を含むトリス緩衝液 (pH 8.0) 中、37℃では反応熱がほぼ一定の-35 kJ/molとなった。これらの結果から、水分活性が変化しても、ピロリン酸分解のエネルギーを一定に保つ機構があると考えた。今後、反応熱のpHや温度に対する依存性を調べるとともに、酵素精製に着手する。

D - 2 シトクロムcの生合成に関する研究

藤井創太郎¹, 若井 暁², 政成美沙², 三本木至宏²
(¹広大・生物生産 ²広大院・生物圏)

シトクロムc'は、4本のヘリックスが束になった4-helix bundle構造をとり、NOやCOを結合する。このようにシトクロムc'の構造や機能に関する知見は得られているが、その生合成については知られていない。今回、私達は新規シトクロムc'の諸性質を調べ、生合成機構を探った。結果は、以下の通りである。

(1) *Hydrogenophilus thermoluteolus* 菌体より新規シトクロムc'(PHCP)を精製し、その可視および円二色性スペクトルを測定した。PHCPは既知のシトクロムc'と同じスペクトルを示した。(2) PHCPの遺伝子配列を決定しアミノ酸配列を推定した。アミノ酸配列は立体構造既知のシトクロムc'と50%以上一致した。(1)と(2)より、PHCPは4-helix bundleであると推定した。(3) PHCP遺伝子を、一般的なシトクロムcの生合成に必要な蛋白質群(システムI)を欠損する大腸菌株に導入した。組換え体はホロ型として合成された。この結果は、一般的なシトクロムcとは異なり、PHCPがシステムIに依存しないで合成されることを示唆する。またシトクロムc'と同様に、シトクロムb₅₆₂変異体もシステムIに依存しないで合成される。シトクロムc'とb₅₆₂変異体は4-helix bundleという構造面で共通しており、それが生合成に影響すると考えた。

D - 3 大腸菌における生育限界温度領域での生存機構の解析

○石井あやな¹, 村田正之¹, 藤本博子¹, 西村香織¹, 高坂智之², 大島 拓³, 小笠原直毅³, 山田 守¹
(¹山口大院・医学系, ²山口大・農, ³奈良先端大院・情報科学)

【目的】大腸菌は他の中温菌と比較してある程度高温で生育できる, 耐熱性を獲得した中温菌である。これまで大腸菌における熱ショック応答は広範囲に研究されてきたが, 生育限界温度領域での熱ショック応答や生存機構の解析を行った研究は少ない。そこで本研究では, 生育限界温度領域での細胞の生存機構を明らかにすることを目的とし, 生育限界温度領域で必要な遺伝子の同定と関連する代謝系の解析を行った。

【方法】大腸菌の一遺伝子破壊株ライブラリーを用いて, 生育限界温度における感受性株のスクリーニングを行った。また, このスクリーニングによって同定された遺伝子について, 種々のデータベースを用いて代謝系解析を行った。さらに, DNAチップを用いて生育限界温度領域での遺伝子発現変動を分析した。

【結果】37度で正常に生育し, 生育限界温度感受性を示す変異株51株が単離され, さらに37度で生育が悪い変異株26株を単離した。生育限界温度感受性を示す51個の変異遺伝子を予測される機能及び生理学的解析により分類した結果, 特に外膜の安定化やtRNA修飾に関わる遺伝子が大腸菌を含む耐熱性を示す中温菌において獲得されたことを示唆していた。また, DNAチップの解析によって, 大腸菌における生育限界温度下での細胞の生存機構は, 熱ショック応答とは重複してないことが明らかとなった。さらに, 37度で生育抑制がみられた変異株の温度感受性の検討も行った。

D - 4 分裂酵母テロメア結合蛋白質Pot1とヘリケースRqh1の機能解析

○高橋克典, 上野 勝
(広島大院・先端科学)

【目的】Pot1は一本鎖テロメアDNA結合タンパク質であり, 分裂酵母*pot1*破壊株のテロメアは消失する。我々は, *pot1*破壊株のテロメア消失がRecQヘリケース*rqh1*の変異によって抑圧されることを発見した。興味深いことに, この*pot1 rqh1*二重変異株は微小管重合阻害剤(TBZ)に感受性を示すことがわかった。そこで, 本研究ではこのTBZ感受性の原因を解明することでPot1とRqh1の新機能を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】*pot1 rqh1*二重変異株にさらにRad51(相同組換えの中心因子)を破壊した*pot1 rqh1 rad51*三重変異株はテロメアを消失することから, *pot1 rqh1*二重変異株は相同組換えによってテロメアが維持されていることが示唆された。また, *pot1 rqh1*二重変異株のゲノムをNot1処理しパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を行ったところ, 染色体末端のDNA断片だけが流れないことが明らかとなった。さらに, 同株のRad22(相同組換えの中心因子)を蛍光標識し, 蛍光顕微鏡でライブ観察を行ったところ, Rad22フォーサイがM期にも存在していることを発見した。高次構造を形成しているDNAはPFGEで流れず, Rad22は組換え中間体に結合することから, *pot1 rqh1*二重変異株は「テロメア間の組換え中間体」によって染色体末端が絡まり, 染色体分配が阻害されることによってTBZ感受性を示すことが強く示唆された。以上の結果から, 「分裂酵母Pot1とRqh1は正常な染色体分配に必要である」という新機能が明らかとなった。

D - 5 酵母のリボソーム生合成調節タンパク質 Ebp2 の核膜における機能

○矢吹友佳理¹, 嶋津京子², 堀籠智洋^{2,3}, 岡田貴文², Susan Gasser³, 水田啓子^{1,2}
(¹広島大・生物生産, ²広島大院・生物圏, ³FMI, スイス)

【目的】 出芽酵母において, Ebp2は核小体でリボソーム生合成を調節する必須タンパク質である。我々は, Ebp2が核膜辺縁にも存在し, 核内膜を貫通するSUNタンパク質Mps3やテロメア結合タンパク質Sir4との相互作用を介して, テロメアのクラスター形成にも機能することを見出した。今回, Ebp2のリボソーム生合成における機能と, テロメアの組織化における機能との関連について検討した結果を報告する。

【方法・結果】 温度感受性 *ebp2-14* 変異株は制限温度において, リボソーム生合成とテロメアのクラスター形成の両方に欠陥を示す。また, 変異型のEbp2は制限温度において核膜に局在できない。そこで, *ebp2-14* 変異株においてEGFP-Ebp2-Mps3融合タンパク質を発現させることによって, 核膜におけるEbp2の機能を補うことを試みた。さらにこの時, *ebp2-14* 変異の欠陥が回復するかどうかを調べた。予想通り, EGFP-Ebp2-Mps3融合タンパク質は, 核膜にMps3と類似の局在を示した。EGFP-Ebp2-Mps3融合タンパク質の発現は, *ebp2-14* 変異株におけるテロメアのクラスター形成の欠陥を回復させたが, 制限温度における生育障害とリボソーム生合成の欠陥はまったく回復させなかった。以上の結果は, Ebp2が2つの機能—核小体におけるリボソーム生合成と核膜辺縁におけるテロメアの恒常性維持—を持つことを明確に示している。

D - 6 分裂酵母のERGIC様コンパートメントに局在する Emp43p の解析

○梨子木健人, 鈴木章太郎, 田淵光昭, 田中直孝
(香川大・農・応用生物)

【目的】 新生分泌タンパク質は合成後ERで糖鎖の付加・品質管理を受け, 小胞輸送によってGolgiへと運ばれ生物種固有の糖修飾を経て成熟する。ERからGolgiへの輸送には糖鎖が関与するものがあり, 糖質結合タンパク質であるレクチンが重要な働きを担っている。ヒトではERGIC-53というレクチン様タンパク質がER/ERGIC (ER-Golgi intermediate compartment) 間を循環しながらN結合型糖鎖中のマンノースを認識し目的糖タンパク質をERからERGICへと輸送することが報告されている。分裂酵母のゲノムデータベース解析の結果, ヒトERGIC-53遺伝子と高い相同性を示す遺伝子が存在したことから, この遺伝子を *emp43+* と名付け解析を試みた。

【方法・結果】 始めに分裂酵母 *emp43+* 遺伝子破壊株を作製し表現型観察を行った。細胞形態は野生株同様の俵型を示し, 分泌糖タンパク質への糖修飾にも影響は見られなかった。しかし, Mg^{2+} に対し感受性を示し, その恒常性維持に関与する可能性が示唆された。BIACOREによるEmp43pの糖鎖との相互作用の解析の結果, N結合型糖鎖中のマンノースを認識することが明らかとなった。蛍光タンパク質を融合し局在観察を行うとGolgi様のドット状の蛍光を示すが, Golgi局在のタンパク質とは共局在しなかった。また, C末端領域が局在化に重要な働きを担うことが分かった。BFA処理によりヒトERGIC-53同様にER近傍でドット状の蛍光を示すことから, Emp43pはER/ERGIC様のコンパートメント間でタンパク質の選別輸送に関与する可能性が示唆された。

D - 7 分裂酵母のゴルジ体膜に局在するロンボイドプロテアーゼの機能解析

○東 玲那, 渋谷大介, 中井啓輔, 田淵光昭, 田中直孝
(香川大・農・応用生物)

【目的】 ロンボイドプロテアーゼ (ロンボイド) とは, 膜内プロテアーゼファミリーに属するセリンプロテアーゼであり, 複数回膜貫通領域を持ち, 基質となる膜タンパク質の膜貫通領域を切断する。本研究に用いた分裂酵母 *Shizosaccharomyces pombe* には, ロンボイドと相同性の高い遺伝子が4つ存在しており, そのうち2つがミトコンドリア局在, 2つがゴルジ体局在である。ミトコンドリア局在のロンボイドは出芽酵母において既に機能解析が行われているが, ゴルジ体局在のロンボイドは, 真核微生物において機能解析は行われていない。そこで分裂酵母においてゴルジ体局在のロンボイド (**Rob1**, **Rob2** (**Rhomboid**)) の機能解析を行った。

【方法・結果】 破壊株を単離し, 種々の表現型を確認した結果, *rob1* Δ株は亜鉛感受性を示し, 液胞へ選別輸送されるカルボキシペプチダーゼY (CPY) が細胞外へ誤輸送された。これらのことから, **Rob1**は細胞内の亜鉛恒常性や, ゴルジ体において液胞タンパク質の選別輸送に関与していることが示唆された。*rob2* Δ株は, トランスゴルジネットワーク領域の逆行輸送を阻害するモネンシンに対し感受性を示したが, CPYの輸送に障害は見られなかった。このことから**Rob1**, **Rob2**はゴルジ体において異なる機能を有していることが示唆された。また, ロンボイドの基質認識モチーフを有する膜タンパク質の一つである**Sre2p** (膜結合型転写因子) の細胞内局在を確認した結果, *rob1* Δ株では, 核への移行の遅延が見られた。

D - 8 担子菌系酵母 *Cryptococcus* sp. S-2 の新規アスパラギン酸プロテアーゼ (Cap1) に関する研究

○饒 聖分^{1,2}, 水谷 治², 正木和夫², 後藤奈美^{1,2}, 家藤治幸^{1,2}
(¹広大院生物圏, ²酒総研)

【目的】 担子菌系酵母 *Cryptococcus* sp. S-2 (FERM ABP-10961) は, 耐熱性セルラーゼ, 各種バイオプラスチックを分解するリパーゼなど様々な特徴的な酵素を生産する。しかし, 本酵母が分泌するプロテアーゼに関する報告が殆どないことから, 菌体外プロテアーゼに注目し, アスパラギン酸プロテアーゼ (**Cap1**) の精製, 諸性質の決定及びクローニングを行った。相同性検索より, **Cap1** と既知タンパク質のホモロジーは 39%以下であることが確認され, 新規なアスパラギン酸プロテアーゼと示唆された。本発表では主に **Cap1** の基質特異性について報告する。

【方法・結果】 タンパク質基質, 蛍光基質及びアミノペプチダーゼ基質を用い, 精製した **Cap1** の基質特異性を調べた。その結果, **Cap1** は他のタンパク質基質と比較して hemoglobin に高い分解活性を示した。また, **Cap1** の κ -casein の分解活性は α -casein や β -casein より高いことが明らかとなった。この結果から, **Cap1** の凝乳活性を測定した所, その活性が認められた。続いて, アミノペプチダーゼの基質を用いた結果, **Cap1** は Arg-NA に高い基質特異性を持つことが示唆された。最後に, 蛍光基質及び insulin B 鎖を基質とした場合では, 芳香族を有した疎水性アミノ酸残基間 (Phe-Phe, Phe-Leu) を優先的に切断することが明らかとなった。この基質特異性は哺乳類由来のペプシンと類似していた。

D - 9 *Penicillium decumbens* による液体アルカンの生産

○村瀬奈美, 松崎浩明, 秦野琢之
(福山大・生命工・生物工)

【目的】我々は、糸状菌 *Penicillium decumbens* IFO-7091 を用いる微生物変換により、油脂（パーム核油等のトリアシルグリセロールまたは C8～14 の脂肪酸）から効率よく液体アルカン（Methylalkylketone (MAK)：液体燃料）を生産する技術の開発を目指している。現在、バイオリアクター構築に用いるための菌体固定化担体について検討を加えている。

【方法・結果】菌体増殖を伴う発酵法では、パーム核油を基質とし 28℃、4 日間の振とう培養で、消費基質 2.3 g から約 1.7 g の MAK (C7～13) を得た。このとき変換効率は 73% となった。この効率をさらに上げるため、リアクターの構築を目指すこととした。まず固定化酵素系構築の目的で、MAK 生産酵素類の単離を試みたが、活性は殆ど可溶化されなかった。そのため、休止菌体での生産を行うこととし、菌体固定化能と産物生産能の高い担体を探索している。現在までに、セルロース系担体、活性炭、スポンジ等を検討したが、いずれも良好な結果とはならなかった。各種不織布 (PET, PP 繊維含む) を検討したところ、JK クリーンクロスが MAK 生産効率 66.6% と高い値を示した。今回は、各種不織布への菌体の固定化と、MAK 生産性についてさらに検討を行った。

また、近年里山で繁茂してその管理が問題となっている竹の利用法を探るため、チップ化した竹の炭を担体として利用できないか検討したが、固定化菌体量が少なく、本実験には適さないと判断した。

D - 10 出芽酵母における染色体からのセントロメア DNA の切り出しによる細胞死の誘導

○宮本昭弘, 柳本敏彰, 秦野琢之, 松崎浩明
(福山大・生命工・生物工)

【目的】遺伝子組換え生物の野外での拡散を防ぐため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を目指している。これらの性質の付与は、特定の条件下で染色体からセントロメア DNA を切り出し、細胞死を誘導することにより可能であると考えられる。そこで、我々は酵母 *S. cerevisiae* をモデル生物として部位特異的組換えを利用し、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】染色体上のセントロメア配列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、*GAL1* 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。まず、一倍体細胞において第 IV 番染色体からセントロメア DNA を切り出すことによって細胞死を誘導できた（プレート培養での生存率：約 4×10^5 ）。さらに、二倍体細胞で第 IV 番相同染色体の両方から切り出すことで細胞死を誘導できた。しかし、この生存率は一倍体細胞よりも約 10 倍高かった。そこで、第 IV 番相同染色体と第 V 番相同染色体の両方から切り出した結果、生存率は一倍体細胞と同程度に低下した。二倍体細胞で複数の染色体からセントロメア DNA を切り出すことで細胞死の効率を向上させることができた。現在、セントロメア DNA の切り出しを誘導しても生育してきた生存細胞について、生存メカニズムの解析を行っている。

日本農芸化学会中四国支部 維持会員名簿

(株)アプロサイエンス
天野エンザイム(株) 岐阜研究所
アルファー食品(株)
(株)井ゲタ竹内
池田糖化工業(株)
(株)猪原商会 山口営業所
(株)大熊
大塚アグリテクノ(株)
大塚器械(株) 西条支店
岡山県酒造組合
社団法人 岡山県農業開発研究所
オハヨー乳業(株)
(株)海産物のきむらや
片山化学工業(株)岡山営業所
カバヤ食品(株)
機能性食品開発研究所
杏林予防医学研究所
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
久保田商事(株) 広島営業所
高知酒造(株)
寿製菓(株)
(株)サカタ
(株)四国総合研究所
四国乳業(株)
(株)シマヤ
新青山(株)
神協産業(株)
(株)酔心山根本店
諏訪酒造(株)
正晃(株)山口営業所
仙味エキス(株)
(株)ソフィ
(株)大愛
大興産業(株)
大山乳業農業協同組合
大山ハム(株)
大洋香料(株)
高塚ライフサイエンス(株)
(有)タグチ
中国ケミー(株)
帝國製菓(株)
鳥取科学器械(株)
(有)友田大洋堂
日本オリーブ(株)
(株)日本総合科学
白牡丹酒造(株)
(株)林原生物化学研究所
備前化成(株)
ひまわり乳業(株)
(株)水温研究所
広島和光(株) 岡山営業所
(株)扶桑理化
プロテノバ(株)
ペロリ
マルキン忠勇(株) 技術研究所
丸善製菓(株)
マルトモ(株)
三島食品(株)
(株)宮田薬品
(株)無手無冠
ヤスハラケミカル(株)
ヤマキ(株)
(株)やまだ屋
山本薬品(株)
両備ホールディングス(株) 事業開発部
ルナ物産(株)
湧永製菓(株) 中央研究所

(五十音順)

謝 辞

日本農芸化学会中四国支部創立10周年記念第30回講演会，第14回市民フォーラム，記念祝賀会の開催に当たり，下記の企業及び団体から御支援を賜りました。
ここに厚く御礼申し上げます。

2011年5月

日本農芸化学会中四国支部
第30回講演会実行委員会

(株)井ゲタ竹内
大塚アグリテクノ(株)
片山化学工業(株)岡山営業所
キリンビール(株)岡山工場
中国ケミー(株)
日本オリーブ(株)
(株)扶桑理化
(株)宮田薬品

(財)岡山工学振興会
(社)おかやま観光コンベンション協会

(株)大熊
岡山県酒造組合
カバヤ食品(株)
高塚ライフサイエンス(株)
(有)友田大洋堂
(株)バイオバンク
プロテノバ(株)
(株)山田養蜂場

日本生物工学会西日本支部
岡山大学農学部

心を込めた味と健康を



株式会社井ゲタ竹内

〒684-0034

鳥取県境港市昭和町 12-10

TEL 0859-44-0725

FAX 0859-44-0727

<http://www.igetatakeuchi.co.jp/>

バイオ研究機器
分析・汎用研究機器
環境分析・計測機器
研究用設備機器



株式会社 大熊

本社 〒701-0165 岡山市北区大内田 756-3

TEL086-293-2171 FAX086-292-0830

津山営業所 〒708-0871 津山市中島 233-7 A号

TEL0868-28-8207 FAX0868-28-8209

倉敷支店 〒712-8044 倉敷市東塚6丁目 4-51

TEL086-455-8895 FAX086-456-2057

福山営業所 〒721-0963 福山市南手城町 4-7-6 1-1

TEL084-973-9540 FAX084-973-9541

タンパク質のアフィニティ精製ゲル担体

バルクメーカーならではの高品質、低価格、豊富な製品群

製品紹介

●His-tagタンパク質精製...金属キレートゲル担体	25mL	¥26,000 (税別)
●GST融合タンパク質精製...グルタチオンゲル担体	10mL	¥26,000 (税別)
●リガンド固定化ゲル...グリオキサルアガロース	25mL	¥28,000 (税別)
●抗体精製バルクゲル...Ab-Capcher™	2mL	¥25,000 (税別)

その他のラインナップ

- ・最適レジン検索用スクリーニングキット
- ・高流速カラム精製用金属キレートゲル担体 Rapid Run™、カートリッジ
- ・抗体精製プレパックカラムAb-Rapid PuRe™ (シリンジ用)
- ・抗体精製スピнкаラムAb-Rapid SPiN™ (スピン用)



日本農芸化学会中四国支部創立10周年記念 特別価格キャンペーン 30~50%OFF

★ キャンペーン対象商品(抜粋) ★

期間 2011年6月1日~7月末まで

日本農芸化学会中四国支部会員の皆様限定です！この他にもキャンペーン対象商品がございます。下記URLにアクセスして、ご希望の商品をお選び下さい。価格はWebでご覧下さい。

● His タグタンパク質精製

製品名	CAT. No.	容量	価格(税別)
ABT HIGH Density NICKEL	6BCL-QHNI-25	25 mL	¥26,000
ABT HIGH Density COBALT	6BCL-QHCo-25	25 mL	¥26,000

● GST 融合タンパク質精製

製品名	CAT. No.	容量	価格(税別)
ABT GLUTATHIONE Agarose Resin	4B-GLU-10	10 mL	¥26,000

● 抗体精製

製品名	CAT. No.	容量	価格(税別)
Ab-Capcher™ (バルクゲル)	P-002-2	2 mL	¥25,000
Ab-Rapid PuRe™ (シリンジ精製用カラム)	P-012-2	2本 (0.5mL gel / 本)	¥16,000
Ab-Rapid SPiN™ (スピン精製用カラム)	P-013-10	10本 (0.1mL gel / 本)、 2 mL 空チューブ 20本	¥16,000

※ キャンペーン専用webサイト

<http://protenova.com/products-jsbba-cs2011.html>

プロテノバ株式会社

〒761-0301 香川県高松市林町2217-44 ネクスト香川 201
TEL 087-897-2073 / FAX 087-816-2073

URL: <http://protenova.com>

E-mail: info@protenova.com

ProteNova

