



日本農芸化学会 関東支部 2017年度 支部大会

講演要旨集

2017年9月2日(土)

筑波大学

主催 公益社団法人 日本農芸化学会 関東支部

共催 国立大学法人 筑波大学生命環境系

プログラム

10:30 開会の辞 浅見 忠男 支部長 (東京大学大学院)

<一般講演>

10:35 ポスター発表 (総合研究棟 A)

10:35-11:30 奇数演題の発表

11:30-12:25 偶数演題の発表

12:25 昼休み

13:40 口頭発表前半 (第2エリア 2H201)

O-1 枯草菌-シアノバクテリア間の“種の壁”を利用した革新的シアノバクテリアゲノム編集系の確立

○渡辺 智¹, 川口 毅¹, 坂巻 裕¹, 朝井 計¹, 板谷 光泰², 吉川 博文¹

(¹東京農大・バイオ, ²慶応大・先端生命研)

O-2 環境中のビタミン恒常性を担う複合微生物系

○金澤 拓史、柳 榮美、高谷 直樹 (筑波大・生命環境)

O-3 麹菌 *Aspergillus oryzae* の菌核形成に必須な転写因子の探索と機能解析

○藤井 陽平¹, 中村 英淳¹, 片山 琢也¹, 小川 真弘², 小山 泰二²,

北本 勝ひこ¹, 丸山 潤一¹ (¹東大院・農生科・応生工, ²野田産研)

O-4 海洋単離株 FT01 株はバイオフィルム形成により金属を腐食し鉄飢餓から逃れる

○渡辺 宏紀¹, 稲葉 知大², 尾花 望³, 宮野 泰征⁴, 野村 暢彦³

(¹筑波大院・生命環境, ²産総研・環境管理, ³筑波大・生命環境系, ⁴秋田大院・理工)

O-5 認知機能低下に対するロスマリン酸の効果

○山下 玲¹, 浜口 毅², 篠原 もえ子², 山田 正仁², 阿部 啓子^{1,3}, 小林 彰子¹

(¹東大院・農生科・応生工, ²金沢大・医, ³神奈川県立産業技術総合研究所)

O-6 食餌性ビタミンE 欠乏がマウスの社会性認知能力に及ぼす影響

○渡邊 佑¹, 服部 達哉², 川口 真以子², 竹中 麻子¹

(¹明治大農・農化, ²明治大農・農)

O-7 ライチ由来低分子化プロシアニジン Oligonol の炎症応答に与える影響

○河合咲紀¹, 長田恭一¹, 北舘健太郎², 高成準²

(¹明治大院・農, ²(株)アミノアップ化学)

O-8 C2C12 筋管細胞への脂肪蓄積に栄養状態が与える影響

島崎 遥加, 香取 彩, 長谷川 千織, 〇田中 直子 (大妻女子大・家・食物)

15:16 休憩

15:36 口頭発表後半 (第2エリア 2H201)

O-9 外界刺激に応答して配列変化を生じる金ナノロッド集団

○新森 英之, 望月 ちひろ (山梨大院・生命環境)

O-10 ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤トリコスタチンAの生合成機構の解明

○工藤 慧¹, 新家一男², 西山 真¹, 葛山智久¹ (¹東大・生物工学セ, ²産総研)

O-11 イネ受容体様細胞質キナーゼBSR1はキチンオリゴマーとLPSに対する防御応答の誘導に関与する

○神田 恭和^{1,2}, 横谷 尚起¹, 前田 哲^{1,3}, 西澤 洋子¹, 鎌倉 高志², 森 昌樹¹
(¹農研機構・生物機能利用研究部門, ²東理大院・理工, ³筑波大院・生命環境)

O-12 イネ由来のジテルペン化合物モミラク톤はどのように分裂酵母の生育を抑制しているのか

○富田 啓介¹, 松尾 安浩², 川向 誠², 八代田 陽子³, 吉田 稔^{3,4}, 野尻 秀昭¹, 岡田 憲典¹
(¹東大・生物工学セ, ²島根大・生物資源, ³理研・CSRS, ⁴東大院・農生科・応生化)

O-13 抗腫瘍活性物質 vicenistatin 耐性に関与する遺伝子の同定

○工藤 駿¹, 知念 拓実¹, 兼崎 友², 笠原浩司³, 工藤 史貴⁴, 江口正⁴, 臼井 健郎¹
(¹筑波大生命環境, ²東農大ゲノム解析センター, ³東農大応用生物科学, ⁴東工大理学院)

O-14 昆虫ステロイドホルモン生合成制御因子 Noppera-bo の生化学的・構造生物学的解析に基づく創農薬への展開

稲葉和恵¹, 荒井怜奈¹, 小祝孝太郎², 諸橋香奈¹, 塩谷天¹, 小島宏建³, 岡部隆義³,
長野哲雄³, 井上英史⁴, 藤川雄太⁴, 湯本史明², 千田俊哉², 〇丹羽隆介^{1,2}
(¹筑波大・生命環境, ²高エネ研・物構研・構造生物, ³東大・創薬機構, ⁴東京薬大・生命科学)

O-15 アミロイドβ凝集阻害活性におけるカカオ由来 Clovamide の構造活性相関

○角田 達彦¹, 高瀬 滯¹, 花木 瑞穂², 村上 一馬², 入江 一浩², 繁森 英幸³
(¹筑波大院・生命環境, ²京大院・農, ³筑波大・生命環境)

17:00 閉会の辞

小林 達彦 (筑波大学大学院)

<懇親会>

17:30 懇親会および優秀発表賞授与式

一 般 講 演

口 頭 発 表 要 旨

O-1	枯草菌-シアノバクテリア間の“種の壁”を利用した 革新的シアノバクテリアゲノム編集系の確立 ○渡辺 智¹, 川口 毅¹, 坂巻 裕¹, 朝井 計¹, 板谷 光泰², 吉川 博文¹ (¹東京農大・バイオ,²慶応大・先端生命研)
【背景、目的】光合成を行うモデルシアノバクテリアは自然形質転換能をもつことから物質生産のホストとして期待されている。しかしシアノバクテリアは形質転換に一ヶ月以上を要すること、複数コピーの染色体を持つため分離を繰り返さなければならない等、現状では自由なゲノムデザインが困難である。一方、増殖の早い枯草菌は同様の操作を三日で行うことができる。枯草菌は高い形質転換能を備えており、これまでの研究から、枯草菌細胞内においてシアノ遺伝子はほとんど転写、翻訳されないことが示された。これは枯草菌-シアノの遺伝子発現システムには“種の壁”が存在することを意味している。我々はこの種の壁を利用したシアノゲノム編集系の確立を目的として研究を進めている。 【方法、結果】ゲノム編集の最初のターゲットにはシアノバクテリア <i>Synechococcus</i> sp. WH 7803 のフィコエリスリン (PE) 遺伝子群 (約 25 kb) を選択した。S. 7803 は赤色をしており、これは光合成集光アンテナ複合体フィコビリソームに含まれる PE に由来する。そこで、この PE の遺伝子群を緑色の <i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942 へ導入し、発現を試みることとした。25 kbp 全長導入はできなかったが、領域を区切って解析することで S.7942 への導入を阻害する遺伝子を突き止めた。またこれらの遺伝子を誘導的に発現させることで細胞の色を緑から黒へまた、赤へと自在に操作できる株の構築に成功した。次なるターゲットとして、植物ホルモンの一種であるストリゴラクトンに着目し、生合成酵素の導入と機能発現を試みている。本講演ではシアノバクテリアのゲノム工学の可能性、将来性について議論する。	

O-2	環境中のビタミン恒常性を担う複合微生物系 ○金澤 拓史, 柳 榮美, 高谷 直樹 (筑波大・生命環境)
ビタミンは生物の代謝に必須な微量栄養素であり、その生合成と生理作用についてはよく知られている。一方、環境中でのビタミンの分解についてはチアミンの分解等の限られた例を除いてほとんど知られておらず、不明な点が多い。本研究では、水溶性のビタミン B 群に含まれるリボフラビンと葉酸に着目し、これらの環境微生物による分解と分解機構を解明した。 各種の土壌試料を単離源としてリボフラビンを炭素源とした培地を用いて集積培養したところ、<i>Microbacterium</i> sp. R33 株と <i>Nocardioides</i> sp. L16 株からなるリボフラビンの分解能をもつ複合微生物系が単離された。また、これらの菌はリボフラビンとその分解産物であるルミクロムをそれぞれ分解・資化することが明らかとなった。リボフラビン分解菌の一つである <i>Devosia riboflavina</i> のリボフラビン分解遺伝子クラスターを同定し、本菌が新規酵素であるリボフラビンモノオキシゲナーゼ、フラビンレダクターゼ、フラボキナーゼ、リボキナーゼを用いてリボフラビンをルミクロムとリボースに分解することを明らかとした。この遺伝子クラスターは <i>Devosia</i> 属と一部の <i>Microbacterium</i> 属に分布することが示された。同様の手法を用いて土壌細菌による葉酸の分解を検討したところ、葉酸をプテロイン酸とグルタミン酸へ変換する <i>Variovorax</i> 属細菌とプテロイン酸を資化する未同定細菌の複合微生物系が得られた。本研究は、リボフラビンや葉酸がいずれも土壌環境中の複合微生物系を介して分解されることを初めて示したものであり、ビタミン B 群の地球上での恒常性の理解において鍵となる知見を与える。	

O-3	麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> の菌核形成に必須な転写因子の探索と機能解析 ○藤井 陽平¹, 中村 英淳¹, 片山 琢也¹, 小川 真弘², 小山 泰二², 北本 勝ひこ¹, 丸山 潤一¹ (¹東大院・農生科・応生工, ²野田産研)
麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> は、日本の伝統的な醸造製品の製造に用いられる糸状菌である。麹菌では有性世代は見つかっておらず、交配育種を適用することが困難である。一方で近縁の糸状菌では、菌糸が凝集して無性的に形成される分化構造である菌核において、その内部に有性生殖器官を形成することが報告されている。麹菌で有性世代が発見されていないことの原因の 1 つとして、菌核形成能が低下ないし消失している点が考えられるが、菌核形成の分子メカニズムは糸状菌全般において未知な部分が多い。 そこで、我々は菌核形成が可能な麹菌の野生株に由来する転写因子遺伝子破壊株ライブラリーを用いたスクリーニングにより、生育や分生子の形成は正常であるが、菌核は全く形成しない 2 つの破壊株を見いだした。この 2 つの遺伝子は共に Zn(II)₂Cys₆ 型転写因子をコードし、他の糸状菌でも保存されているもののこれまでに機能解析の報告はなされていない。DNA マイクロアレイ解析の結果、両遺伝子の破壊株では野生型株と比べてそれぞれ約 1,000 個の遺伝子が 2 倍量変化の水準で増加もしくは減少していたが、その約半数が破壊株どうしで重複していた。以上の結果から、今回見いだした 2 つの新規転写因子は菌核形成に必須であり、互いに類似した転写制御パターンを示すことを明らかにした。また、両破壊株において糸状菌の細胞融合関連遺伝子のオルソログの転写産物量が低下しており、菌核形成と細胞融合の間における制御の関連が示唆された。今後、本研究の発見をもとに菌核形成の制御機構の全貌が解明されることにより、麹菌の菌核形成の促進による有性生殖の誘導が可能になることが期待される。	

O-4	海洋単離株 FT01 株はバイオフィーム形成により金属を腐食し鉄飢餓から逃れる ○渡辺 宏紀¹, 稲葉 知大², 尾花 望³, 宮野 泰征⁴, 野村 暢彦³ (¹筑波大院・生命環境, ²産総研・環境管理, ³筑波大・生命環境系, ⁴秋田大院・理工)
金属材料は通常劣化しにくいとされる常温・中性環境においても急速に腐食が進行する場合があります、深刻な問題となっている。こうした金属表面からはバイオフィーム (BF) という自身の代謝産物を身にまとった細菌の集合体が度々観察され、BF 状態に起因する特殊な生理活性と金属腐食との関連が予想される。当研究室の先行研究により海洋から単離された細菌 FT01 株は、海水中でステンレス鋼表面に立体的な BF を形成し、BF 下に腐食孔と推測される孔を 12 時間という短時間で発生させる。16S rRNA 解析の結果、FT01 株の近縁種による金属腐食の報告は無く、新規な機構による金属腐食を引き起こしていると考えられた。そこで、本研究では FT01 株の形成する BF に着目し、金属腐食機構の解明を目的とした。 FT01 株をステンレス鋼とともに海水模倣培地中で培養したところ、立体的な BF の形成は見られず、ステンレス鋼上への腐食孔の発生も観察されなかった。そこで、より実海水に近い条件にするため海水模倣培地中の鉄イオンを除去すると、FT01 株はステンレス鋼上に立体的な BF を形成し、その下に腐食孔を発生させた。加えて、鉄欠乏環境の生育にはステンレス鋼との接触が必須であることも明らかとなった。これらの結果は、FT01 株は生育に必要な鉄イオンを獲得するためにステンレス鋼へ付着し、BF を形成していることを示している。本研究により、FT01 株は、細菌集団として協働することで鉄鋼を腐食し生育に必須な鉄を獲得する生態を持つ可能性が示唆された。このような例は本研究が初であり、現在は BF による腐食機構について詳細な解析を行っている。	

O-5	認知機能低下に対するロスマリン酸の効果 ○山下 玲¹, 浜口 毅², 篠原 もえ子², 山田 正仁², 阿部 啓子^{1,3}, 小林 彰子¹ ^(¹東大院・農生科・応生化,²金沢大・医,³神奈川県立産業技術総合研究所)
【目的】近年、アルツハイマー病（AD）の患者数が増加し、社会問題となっている。我々のグループでは <i>in vitro</i> 試験により、AD の原因物質とされるアミロイドβタンパク質（Aβ）の凝集を抑制する物質として、ロスマリン酸（RA）を見出した。また AD モデルマウス（Tg2576 マウス）を用いた試験により、<i>in vivo</i> においても RA の Aβ 凝集抑制効果を明らかにしたが、一方で認知機能の評価や機序の解明は行われていない。そこで本研究では、RA の抗 AD 効果について行動表現型・遺伝子発現パターンの両面から検証することを目的とした。 【方法・結果】既報に準じ(<i>Am J Pathol.</i>, 2009), 3 か月齢の Tg2576 マウスおよび、その背景系統である C57BL/6J マウスをそれぞれ、AIN-93G を与えたコントロール群, 0.5% RA 含有 AIN-93G を与えた RA 群の 2 群に分け、12 か月間飼育した。飼育後、オープンフィールド試験および新奇物体認識試験による認知行動試験を行い、脳を免疫染色及び DNA マイクロアレイ解析に供した。Tg2576 マウスの免疫染色においてはコントロール群でも Aβ の顕著な沈着は見られなかった。認知行動試験においては、RA 摂食により認知機能低下の抑制が確認された。また DNA マイクロアレイ解析により、これらの効果は、グルタミン酸や GABA などの神経伝達物質シグナルを介している可能性が示唆された。本研究の一部は、総合科学技術・イノベーション会議の SIP（戦略的イノベーション創造プログラム）「次世代農林水産業創造技術」の助成によって実施された。	

O-6	食餌性ビタミン E 欠乏がマウスの社会性認知能力に及ぼす影響 ○渡邊 佑¹, 服部 達哉², 川口 真以子², 竹中 麻子¹ ^(¹明治大農・農化,²明治大農・農)
【背景と目的】ビタミン E（VE）は抗酸化作用をもつ脂溶性ビタミンである。我々は、授乳期からの VE 欠乏によってマウスの不安行動が増加することを報告した。本実験では、授乳期からの VE 欠乏がマウスの社会性行動におよぼす影響を検討した。【方法】C57BL6/J メスマウスを 16 匹妊娠させ、妊娠 16 日目に対照食摂取群（CON）と VE 欠乏食摂取群（E-）に分けた。オスの仔マウスを生後 24 日目に離乳し、母マウスと同じ実験食を与えて 5～6 匹／ケージで集団飼育し（CON: n=10、E-: n=11）、生後 68 日目からは個別飼育した。生後 78 日目に行動試験（社会性認知試験）を行い、試験直後に断頭により血液及び脳を採取した。社会性認知試験では、被験マウスに同系統マウス（別ケージ飼育）を 2 回提示することで既知個体とし、その後既知個体と新奇マウスを同時に提示してそれぞれへの接触行動を解析した。【結果と考察】大脳皮質の VE 濃度は E-群で有意に低下した。行動試験の結果、CON 群では同時に提示された既知個体に比べて新奇個体に対する接触が有意に多かったが、E-群では有意な差がなかったため、E-群では既知個体と新奇個体の弁別能力（社会性認知能力）が低下することが示された。社会性認知能力に関わるとされるオキシトシンの視床下部での遺伝子発現量、視床下部・扁桃体・嗅球でのタンパク量には食餌による差がなかった。一方、社会性認知試験時の神経活性化に関わる cAMP response element binding protein（CREB）の扁桃体でのリン酸化量が E-群で低下した。以上より、胎児期・授乳期からのビタミン E 欠乏による社会性認知能力の低下は、扁桃体の CREB リン酸化の低下を伴う可能性が示された。	

O-7	ライチ由来低分子化プロシアニジン Oligonol の炎症応答に与える影響 ○河合咲紀¹, 長田恭一¹, 北舘健太郎², 高成準² (¹明治大院・農,²(株)アミノアップ化学)
【目的】Oligonol はライチ由来プロシアニジンを低分子化することでバイオアベイラビリティを高めたポリフェノール素材である。我々はこれまでに、Oligonol を摂取したラットにおける生体内コレステロールレベル低下作用や抗動脈硬化作用を明らかにしてきたが、リン脂質膜中の脂肪酸組成を変化させ、抗炎症作用を示す可能性も示唆された。そこで、本研究では、LPS 刺激によって炎症を誘導したマクロファージ細胞を用いて Oligonol の炎症に与える直接的影響を検討した。 【方法】マウス由来マクロファージ様株化細胞 J774A.1 を、24 時間 LPS(1 μg/mL)で暴露して炎症を誘導した。炎症誘導時、誘導前あるいは誘導後にそれぞれ Oligonol(10~100 μg/mL)に暴露し、Oligonol の抗炎症作用、炎症改善作用あるいは炎症予防作用の有無について検証した。 【結果】抗炎症および炎症改善モデルでは、培地中の NO 量は高レベル Oligonol 暴露群では LPS 単独暴露群と比べて有意に低くなったが、低レベル暴露群では高くなった。一方、炎症予防モデルでは、暴露した Oligonol の濃度に依存的して NO 量は低くなった。また、炎症予防モデルでは、PGE₂ 産生に関わる酵素の cPLA₂ や COX2 の遺伝子発現レベルが低くなり、脂肪酸組成にも変化が見られた。細胞形態については現在検討中である。本研究結果から、Oligonol は炎症予防効果を有するものと考えられた。しかし、炎症を既に発症している場合には低用量の Oligonol の摂取によって炎症を悪化させてしまう可能性が示唆され、Oligonol の摂取量や摂取するタイミングに注意を払う必要があるのではないかと考えられた。	

O-8	C2C12 筋管細胞への脂肪蓄積に栄養状態が与える影響 島崎 遥加, 香取 彩, 長谷川 千織, ○田中 直子 (大妻女子大・家・食物)
【目的】骨格筋細胞は生体内で最大の組織であり、熱産生機関であるとともにエネルギー代謝や糖の取り込み、運動と大きく関与している。本来脂肪を蓄積しない細胞に蓄積する脂肪を異所性脂肪と呼び、近年、糖尿病や動脈硬化など様々な疾患と関連していると注目されている。本研究では、骨格筋に分化しうる C2C12 細胞の分化誘導過程において、培養溶液中のグルコース濃度および脂肪酸が筋管細胞への分化、脂肪蓄積に与える影響について、いくつか知見を得たので報告する。 【方法】マウス筋芽細胞株である C2C12 細胞を 2%ウマ血清を含む分化誘導培地 (Glc 濃度:4.5g/L) で 6 日間培養後、高 Glc (8.0g/L) 培地、パルミチン酸またはオレイン酸をそれぞれ 200μM で添加した培地に変えて 1~5 日間培養した。中性脂肪 (TG) の蓄積は Oil red O 染色で観察・定量し、Real-time PCR 法により筋分化誘導因子、脂質代謝に関わる酵素等の mRNA 発現量を測定した。 【結果および考察】高 Glc 培地では 5 日間の培養でも顕著な TG 蓄積は観察できなかったが、処理前にいったん低 Glc 培地で処理することにより、有意な TG 蓄積が観察された。オレイン酸処理で 1 日後から TG 蓄積が観察され、パルミチン酸処理では少し遅れて蓄積する様子が観察された。いずれの脂肪酸処理の場合も、事前に低 Glc 処理を行うことにより TG 蓄積量は有意に増加した。いったん低 Glc 状態におくことが TG 蓄積を促す要因となること、オレイン酸処理は骨格筋内 TG 蓄積を促し、また筋管細胞への分化を遅らせる効果を持つことが示された。	

O-9	外界刺激に応答して配列変化を生じる金ナノロッド集団 ○新森 英之, 望月 ちひろ (山梨大院・生命環境)
【目的】 生命体は、外部環境や外界刺激に応答して進化してきた組織集合体である。従って、物質の組織化を外界刺激等によって変動させることは、生命の発展・発達にとって非常に重要な事項である。一方、近年注目されている物質のひとつに、貴金属ナノ粒子と呼ばれる微粒子系ナノ物質がある。これらのナノ物質は局在表面プラズモン共鳴に由来する特徴的な光物性を示すことから、ナノバイオイメージング等への応用に期待が持たれている。そこで本研究では、可視及び近赤外光領域で特に特異な光活性を有する金ナノ粒子の一種である棒状金ナノロッドに焦点を絞り、それらの外界刺激に応答した集団的配列制御を目的とした。 【方法・結果】 使用する金ナノロッドはシード成長法で合成した。まずは、光エネルギー刺激に応答する金ナノロッドを調製するために、光感受性物質を金ナノロッド界面に導入した。そのコロイド分散液に紫外光を照射した結果、光感受性物質の光異性化反応に伴った金ナノロッド由来の吸収帯の長波長シフトが観測された。また電子顕微鏡観察は光照射による明らかな end-to-end 型配列を示した。次に、キラル物質による金ナノロッドの刺激応答を目指し、ヒト血清アルブミンを添加したところ、キラル side-by-side 型配向が分光分析及び電子顕微鏡観察によって立証できた。以上の事より、外界刺激に応答した金ナノロッドの集団的配列制御は可能であることが明らかとなった。	

O-10	ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤トリコスタチンAの生合成機構の解明 ○工藤 慧¹, 新家一男², 西山 真¹, 葛山智久¹ (¹東大・生物工学セ, ²産総研)
【目的】 トリコスタチンA (TSA) は、1976年に抗真菌活性物質として報告された後、1990年にヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の強力な阻害剤として再発見されて以来、エピジェネティクスの研究試薬として広く用いられている天然化合物である。TSAの作用機序は結晶構造解析から明らかになっており、類似の構造と作用機序を有する有機合成品ボリノスタットは抗がん剤として上市されている。このように長きにわたって利用されてきた有用物質である TSA であるが、その生合成機構については未解明であった。そこで我々は、新たな生物活性物質を得るために有効な知見が得られることを期待して、TSA の生合成経路の解明を目指した。 【方法・結果】 TSA 生産菌 <i>Streptomyces</i> sp. RM72 株を材料に、ゲノムマイニングと異種発現によって、14 個の遺伝子からなる TSA 生合成遺伝子クラスターを同定した。さらに、TSA の HDAC 阻害活性に必須な末端ヒドロキサム酸基の生合成に関与する遺伝子の機能解析を試み、グルタミン酸γモノヒドロキサム酸 (GluHx) を経由するヒドロキサム酸基生合成機構の解明に成功した。すなわち、グルタミンの酸化によって生じた GluHx を基質として、ユニークなアミド基転移酵素ホモログが触媒するヒドロキシルアミンの転移反応によってカルボン酸中間体が TSA へと変換される。このような末端ヒドロキサム酸基の形成機構は本研究が初めての報告であり、他の末端ヒドロキサム酸含有化合物を見出す上でも重要な知見であると考えている。Kudo K. <i>et al. J. Am. Chem. Soc.</i> 139, 6799–6802 (2017)	

O-11	イネ受容体様細胞質キナーゼ BSR1 はキチンオリゴマーと LPS に対する防御応答の誘導に関与する ○神田 恭和^{1,2}, 横谷 尚起¹, 前田 哲^{1,3}, 西澤 洋子¹, 鎌倉 高志², 森 昌樹¹ ^(¹農研機構・生物機能利用研究部門,²東理大院・理工,³筑波大院・生命環境)
【目的】<i>BSR1</i> (<i>Broad-spectrum resistance 1</i>) は、受容体様細胞質キナーゼ (receptor-like cytoplasmic kinase: RLCK) サブファミリーVII に分類される推定タンパク質キナーゼをコードするイネ遺伝子である。<i>BSR1</i> の過剰発現は、イネやシロイヌナズナにおいて病原細菌及び病原糸状菌の両方に対する抵抗性を顕著に向上させる。RLCK サブファミリーVII の知見から、<i>BSR1</i> が本来の機能として病原体を認識する受容体の下流の防御応答シグナル伝達に関与することが想像された。 【方法・結果】イネの本来有する防御応答への <i>BSR1</i> の寄与を明らかにするために、CRISPR/Cas9 システムを用いて <i>BSR1</i> ノックアウト系統を作出した。野生型と <i>BSR1</i> ノックアウト系統から懸濁培養細胞を誘導して microbe-associated molecular pattern (MAMP) エリシターに対する防御応答 (オキシダティブバーストと防御関連遺伝子発現) を解析した。糸状菌細胞壁由来のエリシターであるキチンオリゴマー処理下でのオキシダティブバーストを定量したところ、<i>BSR1</i> ノックアウト系統で顕著な抑制がみられた。また、処理後 3 時間の時点で野生型培養細胞において防御関連遺伝子の発現が誘導されたのに対し、<i>BSR1</i> ノックアウト系統ではほとんど誘導されなかった。さらに <i>BSR1</i> ノックアウトは、グラム陰性細菌外膜成分である lipopolysaccharide (LPS) に応答したオキシダティブバーストと防御関連遺伝子発現の誘導をも有意に低下させた。これらの結果より、キチンオリゴマーと LPS を認識した後のイネ防御応答の誘導に <i>BSR1</i> が関与することが明らかになった。	

O-12	イネ由来のジテルペン化合物モミラク톤はどのように分裂酵母の生育を抑制しているのか ○富田 啓介¹, 松尾 安浩², 川向 誠², 八代田 陽子³, 吉田 稔^{3,4}, 野尻 秀昭¹, 岡田 憲典¹ ^(¹東大・生物工学セ,²島根大・生物資源,³理研・CSRS,⁴東大院・農生科・応生化)
【背景】モミラク톤はイネが生産するジテルペン化合物であり、モミラク톤 A とモミラク톤 B が存在する。モミラク톤は真菌や細菌、植物や動物腫瘍細胞の生育を阻害することが報告されており、広い作用スペクトルを持つことが示唆されている。しかし、モミラク톤が様々な生物の生育を阻害する作用機序は未解明であり、本研究はその作用メカニズムを解明することを目的としている。 【結果】我々はこれまでにモミラク톤の作用スペクトルについて検討を行い、分裂酵母がモミラク톤に対して高い感受性を示すことを見出していた。そこで、分裂酵母を用いてモミラク톤の作用について更なる解析を行うこととした。まず、モミラク톤処理時の分裂酵母の形態を観察した結果、多くの細胞でマルチセプタムの形成が確認された。更に、GFP 融合核局在タンパク質 Arp8 を発現させた分裂酵母を用いて核の動態を観察したところ、セプタムで区切られた各細胞区画にはそれぞれ 1 つの核が存在しており、核の分配は正常に行われていた。これら一連の現象は、モミラク톤が分裂酵母の細胞周期の進行、特にセプタム形成から細胞の分離までの過程を阻害することでその生育を阻害しており、その結果、細胞分裂が正常に進まなくなることを示唆している。現在、モミラク톤の作用標的を探索するため、分裂酵母の ORF 過剰発現株ライブラリーからモミラク톤耐性株をスクリーニングし、得られた耐性株で過剰発現している遺伝子の解析を進めている。	

O-13	抗腫瘍活性物質 vicenistatin 耐性に関与する遺伝子の同定 ○工藤 駿¹, 知念 拓実¹, 兼崎 友², 笠原浩司³, 工藤 史貴⁴, 江口正⁴, 臼井 健郎¹ (¹筑波大生命環境, ²東農大ゲノム解析センター, ³東農大応用生物科学, ⁴東工大理学院)
【背景・目的】 Vicenistatin は抗腫瘍性の 20 員環マクロラクタムである¹⁾。我々は本物質が動物細胞に対し初期エンドソーム由来の液胞様構造を短時間で誘導することを見出し、その液胞化誘導機構として、リン脂質膜の流動性を亢進するとともに、エンドソーム成熟を制御する Rab5-PAS 経路を活性化することを明らかにしてきた²⁾。しかしながら詳細な液胞形成機構や細胞増殖阻害機構は不明のままである。そこで本研究では出芽酵母を用いて、vicenistatin の液胞化誘導機構を明らかにすることを目的に研究を行った。 【方法・結果】 Vicenistatin 感受性を示す出芽酵母変異株を探索したところ、エルゴステロール合成系に関わる <i>erg6</i> 破壊株が vicenistatin に高い感受性を示すことを見出した。そこで、<i>erg6</i> 破壊株を親株として vicenistatin 特異的耐性株の単離し、ゲノムシーケンスにより変異遺伝子を同定したところ、感受性に関わると考えられる複数の変異遺伝子が見出された。遺伝解析の結果、これらの耐性変異候補遺伝子のうち、vicenistatin 感受性に関わる遺伝子として、ステロールの細胞内輸送に関連する遺伝子、および機能未知の遺伝子を同定した。現在これらの遺伝子産物の機能や他のタンパク質との相互作用について検討を行っているところであり、合わせて発表する予定である。 1) Shindo K <i>et al</i>, <i>J. Antibiot.</i>, 46, 1076-1081 (1993) 2) Nishiyama Y <i>et al</i>, <i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i>, 80, 902-910 (2016)	

O-14	昆虫ステロイドホルモン生合成制御因子 Noppera-bo の生化学的・構造生物学的解析に基づく創農薬への展開 稲葉和恵¹, 荒井怜奈¹, 小祝孝太郎², 諸橋香奈¹, 塩谷天¹, 小島宏建³, 岡部隆義³, 長野哲雄³, 井上英史⁴, 藤川雄太⁴, 湯本史明², 千田俊哉², ○丹羽隆介^{1,2} (¹筑波大・生命環境, ²高エネ研・物構研・構造生物, ³東大・創薬機構, ⁴東京薬大・生命科学)
昆虫の脱皮と変態の誘導には、「脱皮ホルモン」と呼称されるエクジステロイドが重要な役割を果たす。エクジステロイド生合成酵素は後口動物には存在しないと考えられており、よって、エクジステロイドの生合成や受容機構を阻害する化合物は、標的選択性が高く環境に調和した昆虫発育制御剤 (IGR) になると期待される。しかし現在までに、エクジステロイド生合成を担う酵素や制御因子を標的とした化合物はほとんど知られていない。 このような中で我々は、エクジステロイド生合成に特異的に関与するグルタチオン S-転移酵素 (GST) である Noppera-bo をターゲットとした酵素活性阻害化合物の探索、およびその作用機序の解明を通じて、新しい IGR の発掘・開発を目指している。現在までに我々は、組換え Noppera-bo タンパク質のグルタチオン抱合活性を、GST 活性検出蛍光プローブ 3,4-DNADCF を用いて高感度に検出するアッセイ系を確立している。このシステムを活用して我々は、キイロショウジョウバエ <i>Drosophila melanogaster</i> やハマダラカ <i>Anopheles gambiae</i> に由来する組換え Noppera-bo タンパク質に対して阻害活性を示す化合物を複数種類見出している。本発表では、Noppera-bo と阻害化合物の相互作用の様式について、X 線結晶構造解析のデータも援用しながら議論し、今後の創農薬展開について紹介する。	

O-15	アミロイドβ凝集阻害活性におけるカカオ由来 Clovamide の構造活性相関 ○角田 達彦¹, 高瀬 滯¹, 花木 瑞穂², 村上 一馬², 入江 一浩², 繁森 英幸³ (¹筑波大院・生命環境, ²京大院・農, ³筑波大・生命環境)
【目的】アルツハイマー型認知症（AD）は世界で最も罹患者の多い神経変性疾患であり、アミロイドβタンパク質（Aβ）が脳内で凝集・沈着することにより神経系の機能が低下することが知られている。当研究室では、カテコール構造を有する化合物に顕著なAβ凝集阻害活性を見出してきた。そこで本研究では、カテコール構造を有するカカオ由来ポリフェノール化合物 Clovamide に着目し、種々の Clovamide 関連化合物を合成して構造活性相関を調べ、Clovamide のAβ凝集阻害活性機構の解明を目的とした。 【方法・結果】芳香族アミノ酸（L-DOPA, L-Tyrosine, L-Phenylalanine）を出発原料として、EDC, DIEA および HOBt を用いて桂皮酸誘導体（Caffeic acid, <i>p</i>-Coumaric acid, Cinnamic acid）と反応させ、9 種の Clovamide 関連化合物を合成した。Th-T アッセイならびに透過型電子顕微鏡（TEM）を用いて、これらの化合物のAβ凝集阻害活性を評価した。その結果、カテコール構造を2つ有する Clovamide に顕著な活性が認められ、1つ有する化合物にも活性が見られたが、カテコール構造を全く持たない化合物は活性を示さなかった。したがって、Aβ凝集阻害活性発現には少なくとも1つのカテコール構造の存在が不可欠であり、カテコール構造の数に比例して活性が強くなることが示唆された。今回の結果から得られた知見は、Clovamide のAβ凝集阻害活性メカニズムの解明に貢献できるものと考えられる。一方で、Clovamide は抗酸化作用、抗神経炎症作用、神経細胞保護作用が報告されており、カカオに含まれていることから、AD 予防における機能性成分として期待される。	

一 般 講 演

ポ ス タ ー 発 表 要 旨

P-1	New Flo 型凝集性を示す遺伝子の解析 ○大竹 麟, 尾形智夫 (前橋工科大院・生物工学)
【目的】ビール醸造において、麦汁発酵終了後に酵母が凝集することは、酵母を回収し、再利用することができ、コストが削減され、ビール醸造に適している。マンノース、グルコースのいずれの添加でも凝集阻害が起こることを New Flo 型凝集性といい、ビール醸造では New Flo 型凝集性の酵母が望ましい。上面ビール酵母において New Flo 型凝集性になる遺伝子は同定されていない。また、凝集性に関与する Flo タンパク質には、多数の反復配列があり、この反復配列数が、凝集様式の差異を与えることが報告されている。本研究では、New Flo 型凝集性上面ビール酵母株からの凝集関連遺伝子のクローニングと、Flo タンパク質の反復配列数の変化による凝集性の様式の変化を検討した。 【方法】酵母の凝集性は塩化カルシウム存在下での凝集による吸光度の変化により測定した。凝集関連遺伝子のクローニングは、New Flo 型凝集性上面ビール酵母株のゲノムを次世代シーケンズにより解析し、得られたリードをアセンブリし、scaffold を作成し凝集関連遺伝子 <i>FLO</i> と相同性のある配列を選択した。反復配列数の変化は、配列中に存在する制限酵素部位 <i>Nco</i> I で部分分解することによって行った。 【結果】次世代シーケンズの解析により、凝集関連遺伝子は S288C 株と同様に第 I 染色体左腕末端、右腕末端、第 VIII 染色体右腕末端にあると考えられた。また非翻訳領域と翻訳領域では相同性に差異が見られた。反復配列数を変化させた形質転換酵母では New Flo 型に類似した凝集性を示した。本研究の一部は、公益財団法人発酵研究所平成 27 年度一般研究助成で実施した。	

P-2	枯草菌における(p)ppGpp に依存しないアミノ酸飢餓適応機構の解析 ○大坂夏木¹, 高田啓², 多喜乃雄太¹, 兼崎友³, 渡辺智¹, 千葉櫻拓¹, 吉川博文^{1,2}, 朝井計¹ (¹ 東京農大・院・バイオ, ² 立教大学・理・生命理, ³ 東京農大・ゲノム解析セ)
【背景・目的】細菌において、アミノ酸飢餓時に GTP レベルを低下させることが、生存するための代謝の切り替えに重要な役割を担っている。その主要な機構として、核酸小分子(p)ppGpp による制御が存在する。枯草菌ではアミノ酸飢餓時に蓄積した(p)ppGpp が、GTP 生合成経路の酵素を阻害することで、GTP レベルを低下させる。その結果、翻訳関連遺伝子等の転写が抑制される一方、アミノ酸生合成関連遺伝子等の転写が促進される。枯草菌(p)ppGpp 合成酵素遺伝子を全て欠失させた株 (ppGpp⁰ 株) はアミノ酸飢餓時に GTP レベルを制御できないため、最少培地において生育阻害を示す。その生育阻害を抑圧する変異はこれまでに、<i>de novo</i> GTP 生合成経路の酵素遺伝子群に生じることが知られていたが、我々は新たにプリンヌクレオチド生合成経路の初発酵素遺伝子 <i>prs</i> に抑圧変異を見出した。本研究では(p)ppGpp に依存しないアミノ酸飢餓への適応機構を探るため、抑圧変異 <i>prs</i> について解析を行ってきた。 【方法・結果】抑圧変異 <i>prs</i> を持つ株において Prs のタンパク量を確認したところ、野生株と同等であり、この変異が Prs の機能に影響を与えるものであることが示唆された。また、抑圧変異株(<i>prs</i>)では、ATP・GTP 両者のレベルの低下が見られたことから、Prs の機能低下によって生じる GTP レベルの低下が、アミノ酸飢餓への適応性を回復させる要因であることが示唆された。一方で、抑圧変異株(<i>prs</i>)の最少培地における生育は、メチオニンの添加によって阻害される。このことから Prs の機能変化によるアミノ酸飢餓への適応機構にメチオニンまたはその代謝産物が関与していることが考えられる。	

P-3	上面ビール酵母からのマルトース発酵関連遺伝子のクローニング ○志田 奈々子, 齊藤 和仁, 平沼 花乃子, 尾形 智夫 (前橋工科大学・工学部・生物工学科)
【目的】自然界から酵母を分離し、地域の産業育成に利用している例がある。分離された酵母の多くは、マルトース発酵性が必ずしも強くなく、ビール、パン製造には活用しにくいことが多かった。マルトース発酵性が強い酵母菌株のマルトース発酵性機構を利用して、地域の特色ある酵母にマルトース発酵性を付与することを目指した。 【方法】マルトース発酵能力が高い上面ビール酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCYC1006 から、転写活性化因子 <i>MAL63</i> ホモログ、<i>MAL33</i> ホモログをクローニングし、実験室酵母 <i>S. cerevisiae</i> YNN27 に導入し、マルトース培地での生育性を確認した。 【結果】上面ビール酵母 <i>S. cerevisiae</i> NCYC1006 の <i>MAL63</i> ホモログを導入された実験室酵母 <i>S. cerevisiae</i> YNN27 は、マルトース培地での生育性が向上した。一方、<i>MAL33</i> ホモログの導入株は、マルトース培地での生育性に変化はなかった。次世代シーケンスほかの実験結果より、<i>MAL63</i> ホモログは、第Ⅶ番染色体右腕末端に存在していると予想された。この染色体領域は、全ゲノム配列解読株 <i>S. cerevisiae</i> S288C と、上面ビール酵母とは、異なっており、上面ビール酵母と下面ビール酵母とで共通な染色体構造であった。従って、マルトース発酵能力の差は、この染色体領域の差異による可能性が示された。本研究は、エリザベス・アーノルド富士財団平成 28 年度学術研究助成を受けておこなった。	

P-4	酵母によるデンプン排水処理の試み ○深海 あすか, 尾形 智夫 (前橋工科大学・工学部・生物工学科)
【目的】酵母は、<i>Saccharomyces cerevisiae</i> を始めとして、長い歴史の間で食品製造や食用として用いられており、その安全性は、消費者に広く受け入れられている。食品工場から排出されるデンプンを多く含んだ食品排水を、酵母を用いて処理することが可能となると、食用酵母の生産にも利用でき、食品工場の価値を向上できると期待される。 【方法】1%可溶性デンプンを含むモデル食品排水に、5.0×10^6 cells/ml の酵母を加え、25℃で処理した。処理後の COD（化学的酸素要求量）と酵母細胞数を測定した。 【結果】酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S288C を用いたところ、グルコアミラーゼ無添加の場合は、平均 COD 1935 であったのに対し、グルコアミラーゼ添加の場合、平均 COD 1421 であり、危険率 1%で有意差があった。処理後の酵母細胞数は、グルコアミラーゼ無添加の場合は、平均 5.3×10^6 cells/ml であったのに対し、グルコアミラーゼ添加の場合、平均 3.0×10^7 cells/ml であった。このことより、グルコアミラーゼを添加することで、モデル食品排水中のデンプンが、グルコース等に分解され、酵母が増殖し、処理が進んだと推察した。食用酵母 <i>Candida utilis</i> NBRC0988 を用いた場合も同様であり、グルコアミラーゼ無添加の場合は、平均 COD 1886 であったのに対し、グルコアミラーゼ添加の場合、平均 COD 1003 であり、危険率 1%で有意差があった。 本研究は、住友財団 2016 年度環境研究助成を受けたものである。	

P-5	分泌性グルコアミラーゼ(STA1)遺伝子及びタンパク質の発現調節 ○塚田 紗生, 川田 貴世, 岩下 祐子, 尾形 智夫 (前橋工科大学・工学部・生物工学科)
【目的】酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> は、マルトトリオースまでは利用できるが、デキストリンは利用することができない。一方、<i>S. diastaticus</i> は、グルコアミラーゼ(STA1)遺伝子を有しており、デキストリンを利用することができる。当研究室では、グルコアミラーゼを発現するビール酵母を接合育種し、発酵液中のデキストリンが分解されたことを見出した(J. Inst. Brew. Vol.123, p66-69 (2017))。しかし、STA1 遺伝子及びグルコアミラーゼタンパク質の発現は、酵母株によって、大きな差異があり、全ての産業用酵母株でのグルコアミラーゼのスムーズな発現には至っていない。そこで、STA1 遺伝子及びグルコアミラーゼタンパク質の発現調節について検討した。 【方法・結果】パン酵母由来の 113371 株と STA1 遺伝子を有する酵母株 278 の接合株では、グルコアミラーゼ活性が見られたが、上面ビール酵母由来の Y7 株と STA1 遺伝子を有する酵母株 278 の接合株では、グルコアミラーゼ活性は、検出されなかった。STA1 遺伝子は、接合遺伝子座 MAT によって、発現が制御されているとの報告がある(Mol. Cell. Biol. Vol.9, p3992-3998 (1989))。しかし、接合により造成した酵母株では、接合遺伝子座 MAT による遺伝子発現制御は正常であり、STA1 遺伝子及びグルコアミラーゼタンパク質の発現は、接合遺伝子座 MAT による遺伝子発現制御以外の要因が考えられる。 T. Ogata, Y. Iwasahita, T. Kawada: J. Inst. Brew. Vol.123, p66-69 (2017).	

P-6	屋外培養可能な新奇微細藻による有用油脂生産 ○佐々木 美月¹, 福田 寛史¹, 朝山 宗彦¹, 佐々木 智子², 佐々木 大作² (¹茨城大・農, ²Biox 化学工業)
【目的】 通年を通して屋外培養することのできる天然藻を単離し、この株を用いて有用油脂生産に関する基盤研究を行なった。 【方法・結果】 天然水ベースの培養液から微細藻を単離し、これを BX1.5 株と命名した。BX1.5 株を 1.5 から 10 トン規模の屋外培養をしたところ、本州域でも通年培養が可能であり、1 トンあたり乾燥重量で 100 グラム以上のバイオマスが得られた。 レースウェイ式の屋外培養施設で 2 週間から 1 ヶ月程度培養した BX1.5 株細胞内における脂質の蓄積を光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡で観察したところ、葉緑体付近に油脂と思われる物質の蓄積が認められた。さらに脂質成分をガスクロマトグラフィー/水素炎イオン化検出器 (GC/FID) により分析したところ、全脂肪酸メチルエステル (FAMES) 中、バイオ燃料や飲食品向け FAMES の占める割合が多いことが明らかとなった。一方、屋外培養由来の BX1.5 藻乾燥粉末を調製し、その安全性を調査する一環として、微生物を使用した復帰突然変異試験を行なった。その結果、乾燥粉末の微生物ゲノム遺伝子への突然変異誘発性は認められなかった。以上の結果をもとに、新奇 BX1.5 のバイオ燃料や飲食品生産藻としての可能性を考察する。	

P-7	環境中にはメンブレンベシクルが存在する ○鬼澤 里奈¹, 豊福 雅典², 森永 花菜¹, 尾花 望², 野村 暢彦² (¹筑波大院・生命環境, ²筑波大・生命環境)
多くの細菌はメンブレンベシクル (MV) を放出することが報告されている。MV とは直径 20~400 nm の膜小胞であり、タンパク質や DNA、シグナル物質など多くの細菌由来成分を含むことが知られている。また、遺伝子の水平伝播や免疫応答等の様々な機能を持つことから、細菌間および細菌と宿主間相互作用において重要な役割を担っていると考えられる。これまでに報告された MV 研究のほとんどが単離株を用いた限られた条件下で行われた。一方で、海水試料中に MV が豊富に存在する (S. J. Biller, <i>et al.</i>, <i>Science</i>, 2014) など、MV は環境中にも存在し、微生物生態に関与している可能性がある。しかし、環境中の MV 研究はほとんど報告がなく、その多くが未解明である。本研究では実環境中の MV に着目した。活性汚泥および筑波大学内の池の水から回収した粒子画分を透過型電子顕微鏡で観察した結果、双方において MV が存在することが示唆された。さらに、次世代シーケンサーを用いて MV 様粒子に付随する DNA 解析を行うことにより、活性汚泥における MV 供与菌を推定した。その結果、活性汚泥と粒子画分の 16S rRNA 配列に門レベルの違いが見られた。また、先行研究にて MV 産生が報告されている <i>Paracoccus</i> 属細菌 (M. Toyofuku <i>et al.</i>, <i>The ISME Journal</i>, 2017) の 16S rRNA が粒子画分から検出され、このことから <i>Paracoccus</i> 属細菌は活性汚泥中に MV を放出している可能性が高いと考えられる。本研究により、MV は環境中に広く存在することが示唆され、MV 供与菌と受容菌の関係を明らかにすることで、複合微生物系での細胞間相互作用の解明に繋がることが期待される。	

P-8	Class III LitR における光受容ドメインの形成に関する解析 ○角 悟、上田 賢志、高野 英晃 (日大・生資科・生命研)
【目的】我々は前大会で土壌細菌 <i>Burkholderia multivorans</i> ATCC 17616 の青色光による葉酸合成促進メカニズムについて発表した。それを制御する光センサー Class III LitR の組換え蛋白質には 340 nm の単一の極大吸収が認められ、それが光照射により消失し、暗条件に戻すことで徐々に回復していく光サイクルを有していることを報告した。本研究では、Class III LitR の光受容に関与するドメインの特定に向けた検証を進めた。 【方法・結果】本蛋白質は、N 末端側に DNA 結合ドメインを有していることが推定されているが、340 nm の極大吸収に由来するクロモフォアおよびその結合領域が不明である。そこで、クロモフォアの結合領域を推定するため、N 末端側領域または C 末端側領域を除いた変異体を作製した。その吸光スペクトルを測定したところ、C 末端側領域において野生型と同様に 340 nm の極大吸収が認められ、180 秒の光照射によりそのピークは消失した。一方で、N 末端側領域はその極大吸収が検出されなかった。このことから、340 nm の極大吸収は C 末端側領域に由来することがわかった。次に、光吸収に関与しているアミノ酸残基の特定を試みた。本蛋白質の C 末端側領域には 3 つのシステイン残基が高度に保存されており、それらが光受容ドメインの構造形成に関与していると予想した。そこで、それぞれをアラニンに置換した変異体の吸光スペクトルを測定したところ、3 つの変異体全てにおいて 340 nm の極大吸収が検出されなかった。このことから、3 つのシステイン残基が光受容に必須の役割をもつことが示された。	

P-9	様々な基質表面構造が与えるバイオフィーム形成機構の解析 ○宮崎 俊¹, 清川 達則¹, 尾花 望², 別役 重之², A. S. Utada², 野村 暢彦² (¹筑波大院・生命環境科学, ²筑波大・生命環境系)
バイオフィーム(BF)は、微生物が環境中で存在する一つの形態であり、医療や産業など様々な分野に関与する。また、微生物は BF を形成することで様々な環境ストレスに耐性を獲得することが知られている。このことから BF の制御が求められるため、BF 形成メカニズムの基礎的・基盤的な理解が必須である。BF の形成は菌体の固体表面上への付着から始まるため、BF 形成には基質となる物質表面の性質が大きく関与することが知られている。これまでの研究ではとくに、物質表面の化学的な性質、例えば、疎水性や親水性、電荷の影響はこれまでによく調べられてきた。しかしながら、BF 形成には化学的な基質表面の性質のみならず、表面構造などの物理的側面も大きく関与しうることが考えられる。そこで、我々は基質表面構造と BF 形成の関係性の解明を目的に、任意の基質表面構造の構築と、その表面上における BF 形成の解析を行った。 様々な基質表面の構築にはフォトリソグラフィ技術を用い、供試材としてシリコンの一種である Polydimethylsiloxane (PDMS)を使用した。PDMS は生体毒性が低いことから、細菌動態の研究において一般に用いられている。様々な基質表面構造において <i>E. coli</i> K-12 株の BF 形成に与える影響を解析したところ、その表面構造の違いが、菌体の付着や BF の生育に影響を与えることが明らかとなった。以上のことから、基質表面構造の違いという物理的な特徴によって、細菌の BF 形成が制御されうる可能性が示唆された。本発表では付着試験の経時的な観察結果とともに、その解析結果を報告する。	

P-10	緑膿菌自然環境単離株における Tn による細胞間コミュニケーションの切替 ○須澤 由希¹, 遠矢 正城², 豊福 雅典³, 尾花 望⁴, 木暮 一啓⁵, 野村 暢彦⁶ ¹筑波大・生命環境, ²筑波大院・生命環境, ³⁴⁶筑波大生命環境系, ³University of Zurich, Institute of Plant Biology, ⁵東京大・大気海洋研
近年の研究で私たちの身の回りに存在する微生物もお互いにコミュニケーションをとることが分かっている。Quorum sensing (QS) とは微生物間コミュニケーションの一つであり、シグナル物質を介して菌体密度を感じし様々な遺伝子の転写を調節する機構である。QS を行う代表的な細菌の一つである緑膿菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) は優れた環境適応能力により河川、湖沼、土壌など非常に幅広い自然環境中に分布しており、緑膿菌の自然環境中での動態を理解することは臨床的・生態的に重要であると言える。本研究においては前述の背景より、異なる水環境から単離された緑膿菌における QS システムの多様性に着目し解析を行った。分析の結果、緑膿菌の QS システムは自然環境中の株間で多様性を持っており異なる生息環境下においてコミュニケーション方法を巧みに変化させることで順応しているということが示唆された。また、多様性の一環として QS 関連遺伝子が可動性因子であるトランスポゾン(Tn)によって制御される株が見つかってきており、その中でも緑膿菌の外洋単離株 1187 株に着目しどのように QS 関連遺伝子が Tn によって ON-OFF のスイッチングをされているかを明らかにすることにした。この株は培地条件を変えると 2 つの表現型が出てくることが知られており、片方の株では QS 関連遺伝子に Tn が入って遺伝子が破壊されている。Tn の転移が QS のスイッチングに関与し 2 つの表現型の行き来に影響しているのではないかと考え、その仮説を検証するため現在は Tn の転移が確認された株の分析を進めている。	

P-11	油脂資化性酵母 <i>Meyerozyma guilliermondii</i> TY-89 の長鎖脂肪酸資化特性 ○小林由衣乃¹, 日下部征信¹, 竹園恵¹, 中島敏明², 茂野俊也³, 小野寺正幸¹ (¹新工大工, ²筑波大院生命環境, ³つくば環微研)
【目的】廃食用油の有効活用として、安価な窒素源(N 源)の添加により微生物菌体を培養し、家畜並びに養食用飼料の生産を目指している。ラードを炭素源(C 源)とした場合は植物油を C 源とした場合より菌体の生育が不良であることを報告した。¹⁾今回、その原因が食用油の脂肪酸組成の相違に起因しているものと考え、長鎖脂肪酸の資化性について検討を行った。 【方法・結果】菌株として油脂資化性酵母 <i>Meyerozyma guilliermondii</i> TY-89 株を用いた。GPY 培地¹⁾で、30℃24 時間回転振盪培養したものを前培養とした。本培養に用いる培地は、C 源として各種長鎖脂肪酸(C_{10:0}～C_{18:0}, C_{18:1})10g/L, N 源として硫酸アンモニウム 2g/L, その他無機塩からなる無機塩培地とした。バッフル付き 500ml 容三角フラスコ(培地量 100ml, シード接種量 4ml)で、30℃, 120rpm の回転振盪培養を行った。菌体量は Whatman 製 glass microfiber filters, Grade GF/B を用いた乾燥菌体重量法によって測定した。C_{10:0}と C_{18:0}では生育はほとんど認められず、C_{16:0}では 72 時間で菌体量が約 1.0g/L, pH2.9 と、生育は認められたが生育速度が遅かった。一方、C_{12:0}, C_{14:0}, C_{18:1}で生育は良好であった。ラードは C_{16:0}と C_{18:0}で約 40%を占めており、植物油は C_{16:0}と C_{18:0}で約 15%未満であることを考慮すると、ラードを C 源とした場合に菌体の生育が不良である原因は高含量の C_{16:0}と C_{18:0}に起因するものと示唆された。今後、モノ並びにジアシルグリセロール等の資化性について検討を行う予定である。 1) 小林, 日下部, 竹園, 中島, 茂野, 小野寺, 日本農芸化学会 2017 年度大会講演要旨集, 3J27a10.	

P-12	クロストリジウム属に保存されるタンパク質複合体による芽胞形成制御メカニズムの解析 ○武藤 真輝¹, 尾花 望², 野村 暢彦² (¹筑波大・生命環境, ²筑波大・生命環境系)
クロストリジウム属細菌は偏性嫌気性芽胞形成細菌であり、いくつかの本属細菌は病原性細菌として知られる。病原性クロストリジウム属細菌は芽胞を形成することで熱や酸素、抗生物質に対する高度な耐性を獲得し、食品中や腸管内に残存して毒素を産生することによって食中毒などの感染症を引き起こす。本属細菌の病原性発揮には芽胞形成が必須であると考えられる一方で、本属細菌における芽胞形成の詳細な制御機構は不明な点が多い。 これまでに我々はウェルシュ菌 (<i>Clostridium perfringens</i>) において毒素遺伝子の制御因子として <i>ctrAB</i> 遺伝子群を同定した (Obana and Nakamura, 2011)。CtrA および CtrB タンパク質は生体内で複合体を形成して機能していることが明らかとなった。さらに <i>ctrAB</i> 遺伝子群は様々なクロストリジウム属細菌に保存されていることから、本属細菌において共通の機能を有していることが予想された。ウェルシュ菌の食中毒単離株である SM101 株を用いて <i>ctrB</i> 破壊株を作成し、位相差顕微鏡および熱耐性試験を行ったところ、<i>ctrB</i> 破壊株では芽胞形成能が失われていることが明らかとなった。さらに <i>ctrB</i> 破壊株ではエンテロトキシン (CPE) の産生が見られなかった。<i>cpe</i> 遺伝子の転写は芽胞形成特異的シグマ因子である σ^E および σ^K によって制御されることが知られている。以上のことより、CtrAB タンパク質複合体は新規の芽胞形成因子であり、芽胞形成の初期過程に必須であることが示唆された。	

P-13	<i>Pseudomonas putida</i> との相互作用で変化する <i>Klebsiella oxytoca</i> の窒素固定能の動態の解析 ○吉留 大輔, 近藤 佐紀, 日高 真誠 (東大院・農生科)
【目的】緑の革命により現代農業は化学窒素肥料に大きく依存する構造となった。化学窒素肥料の原料を合成するハーバーボッシュ法はエネルギーを大量消費（世界の年間エネルギー消費量の 1%を占める）するため、現在エネルギー消費削減に向けた様々な研究が進められている。当研究室では、イネ根圏窒素固定細菌 <i>Klebsiella oxytoca</i> NG13 と <i>Azospirillum lipoferum</i> FS を生物肥料として活用することでの化学窒素肥料使用量削減を目標として、稲栽培での追肥部分として窒素固定細菌が利用可能であることを示してきた。今回は、NG13 株の生物肥料としての機能解明に向けた窒素固定能の解析結果について発表する。 【方法と結果】微量の酵母エキスと大量の炭素源（ショ糖など）を含む窒素制限培地で培養する NG13 株のニトロゲナーゼ活性をアセチレン還元能（ARA）で測定すると、<i>Pseudomonas putida</i> KT2440 株との共培養で ARA が増強された。この時 NG13 株はショ糖を資化して酢酸を生産しつつ速やかに増殖する一方、KT2440 株は培地 pH の低下により増殖抑制を受けた。次に、培地からモリブデン（Mo）を抜いた場合（ニトロゲナーゼが活性化しない）、NG13 株の ARA はほぼ消失し、窒素固定反応で副生する水素の生産量も減少したが、菌体増殖量は Mo 含有時と同程度で、窒素固定は菌体の増殖量に反映しないことが示唆された。また、当初の窒素制限培地は炭素源量と C/N 比が実際の水田環境と大きくかけ離れていることから、酵母エキスと炭素源を減じた様々な C/N 比の培地で、NG13 株の窒素固定の挙動を観察した。その結果を基に、KT2440 株が NG13 株の C/N 比感知に影響を与えている可能性を探っている。	

P-14	トウモロコシ芽生えの重力屈性・光屈性メカニズムの解明 ○西久保 はるか¹, 須藤 恵美², 山田 小須弥³, 長谷川 宏司³, 繁森 英幸³ (¹筑波大・生物資源, ²筑波大院・生命環境, ³筑波大・生命環境)
【目的】植物における重力・光屈性のメカニズムは、これまで Cholodny-Went 説で説明されてきた。しかしながら近年、光側組織で生成する成長抑制物質が光屈性に関与するという Bruinsma-Hasegawa 説が提唱された。そこで本研究ではトウモロコシ芽生えを用い、重力・光屈性における偏差成長の観測と、成長抑制物質である DIMBOA および MBOA の内生量の変化ならびに成長抑制活性に着目した重力・光屈性メカニズムの解明を目的として研究を行った。 【方法・結果】重力・光刺激後のトウモロコシ芽生えの屈曲角度および成長率を測定するために、まずは重力・光刺激を与えたトウモロコシ芽生えを赤外線カメラで測定した結果、刺激後 20 分以内に屈曲が起こり、刺激後 30 分間は上側組織の成長抑制のみによって屈曲が誘導されていることが明らかになった。次に、刺激後経時的にサンプリングを行い、重力・光刺激に伴う内生量の経時変化を HPLC によって分析した結果、重力・光刺激開始 30 分後に DIMBOA および MBOA のピークの増加が観察されたことから、重力・光刺激後 0~30 分間でトウモロコシ芽生えにおいてこれらの成長抑制物質が生成されていることが分かった。さらに、DIMBOA および MBOA を暗所でトウモロコシの芽生えの片側に投与した結果、屈曲が観察され、DIMBOA および MBOA がトウモロコシ芽生えに対して成長抑制活性を示すことを見出した。以上より、トウモロコシ芽生えの重力・光屈性の両現象において、DIMBOA および MBOA のような成長抑制物質が関与するという Bruinsma-Hasegawa 説を支持する結果が得られた。	

P-15	野生イネにおけるジテルペノイド生合成遺伝子クラスターの発現制御を担うシス - トランス因子の探索 ○富山 詩歩¹, 川原 玲香², 小塩 海平², 宮本 皓司³, 山根 久和³, 野尻 秀昭¹, 岡田 憲典¹ (¹東大・生物工学セ, ²東農大・ゲノムセ, ³帝京大・バイオ)
ファイトカサン類とモミラクトン類は栽培イネ <i>Oryza sativa</i> が生産する主要なジテルペン型ファイトアレキシンである。それらの生合成遺伝子群はそれぞれ染色体上にクラスターを形成し, CuCl₂ 処理などのストレスにより同調的に転写誘導を受ける。我々は栽培種 <i>O.sativa</i> における遺伝子クラスターの獲得過程を解明するため, これまでにゲノムタイプの異なる 4 種の野生イネや近縁種 (<i>O. rufipogon</i>, <i>O. punctata</i>, <i>O. brachyantha</i>, <i>Leersia perrieri</i>) を解析し, <i>O. sativa</i> と類似したファイトアレキシン生合成遺伝子ホモログのクラスターが野生イネにおいて既に形成されており, また, 野生イネのクラスター内遺伝子群が <i>O.sativa</i> と同様に CuCl₂ 処理による転写誘導を受けることを明らかにしている。これらの結果より, 野生イネのクラスター領域における転写が, <i>O. sativa</i> と同様な機構で制御されている可能性が考えられた。そこで本研究では, <i>O. sativa</i> と野生イネのゲノム情報と RNA-seq の結果の詳細な種間比較を行うことで, 野生イネのクラスター内遺伝子の転写制御に関与する因子の探索を行った。その結果, ファイトアレキシン生合成遺伝子ホモログの上流配列の比較から, シス因子を含む可能性のある保存領域を数か所見出した。また, <i>O. sativa</i> でファイトアレキシン生産制御因子をコードする <i>DPF</i> および <i>OsTGAPI</i> のホモログ遺伝子が野生イネの染色体上にシンテニーを保ち存在していた。これらの発現は <i>O. sativa</i> の CuCl₂ 処理後の葉身におけるレスポンスと同様であることから, 現在その機能解析を進めている。	

P-16	蕨類ハイゴケのモミラクトン生産制御に関与するオキシリピン ○照屋美優¹, 藤原 薫¹, 宮本 皓司², 山根 久和², 新屋友規³, Ivan Galis³, 白石太郎¹, 葛山智久¹, 林 謙一郎⁴, 野尻秀昭¹, 岡田憲典¹ (¹東大・生物工学セ, ²帝京大・バイオ, ³岡山大・植物研, ⁴岡山理科大・理学部)
【背景・目的】イネから初めて単離されたジテルペン型ファイトアレキシンの一つであるモミラクトンは, 様々な生物学的ストレスに対する化学防御物質または他の植物に対するアレロパシー物質として働くことが知られている。一方, イネ以外の植物としては, 蕨類ハイゴケにおいてもモミラクトンがアレロパシー物質として生産される。モミラクトン生合成遺伝子は, イネにおいてジャスモン酸 (JA) 処理により発現が誘導されるが, ハイゴケにおいては JA 前駆体である 12-オキソフィトジエン酸 (OPDA) により誘導される。また, 蕨類モデル生物ヒメツリガネゴケにおいては JA が生産されないことが報告されており, 蕨類に共通して JA に代わる OPDA または他のオキシリピンによるストレス伝達機構が存在し, ハイゴケにおいてはモミラクトン生産制御に関与していることが予想される。本研究ではハイゴケにおいてモミラクトン生産制御に関わるシグナル物質の同定を目指し, オキシリピン分析を行っている。 【方法・結果】塩化銅またはキトサン処理後のハイゴケを凍結破碎したのちにメタノール抽出を行い, 精製と濃縮の後に LC-MSMS 分析に供した。その結果, ヒメツリガネゴケ同様にハイゴケにおいても JA の蓄積は見られなかったが, JA の MRM トラジションにおいて JA とは異なる retention time (RT) のピークが 2 つ検出された。一方で JA アミノ酸複合体 (JA-Ala, JA-Ile, JA-Val) の MRM トラジションにおいては該当のピークが微弱ながら検出され, アミノ酸複合体の標品との共導入においてもこれらの化合物の RT が一致した。現在, これらの化合物が JA アミノ酸複合体であることの証明を慎重に進めている。	

P-17	蛍光プローブを用いた植物根細胞外酸化還元物質の選択的分析 ○伊藤 洋輔¹, 矢澤 正道², 菊地 俊介¹, 安保 充² (¹明大院農・農化, ²明大農・農化)
【目的】 植物は酸化還元物質を巧みに利用し、生育環境に適応している。活性酸素種（ROS）は根の伸長、気孔開閉、シグナル伝達など様々な役割を担っている。特に根の伸長においては、膜貫通型酵素 NADPH オキシダーゼホモログから細胞外（アポプラスト）に向けて放出される ROS が重要であるという報告があるが、その分析手法は限られている。一方、生体サンプルの ROS を分析する場合、アスコルビン酸（AsA）などの還元物質による干渉が考えられる。そこで、選択的にアポプラストの酸化還元物質の分析・定量のための蛍光プローブ法を検討した。 【方法・結果】 フルオレスカミンと 3-amino-2,2,5,5-tetramethyl-1-pyrrolidinyloxy から合成した水溶性の蛍光プローブ（FI）は酸化還元物質と反応し、蛍光消光が回復する。この反応性を確認するために、フェントン反応によるヒドロキシラジカル（OH・）と、4 種の還元物質と反応させた。この反応液を ODS による HPLC(蛍光検出 Ex: 390 nm/Em: 490 nm)に供し、ピーク推定は分取後 LC/MS 分析によって行った。FI は OH・および AsA などのラジカル性の酸化還元物質と反応し、酸化分解物と還元体、それぞれ異なる保持時間に蛍光ピークを与えた。 植物サンプルとして、シャーレ上で発芽させたダイズ（<i>Glycine max</i>）の根を、300 μM FI と 1 mM CaCl₂ を含む溶液に浸し、3 時間暗所で培養した。培養液を同様の HPLC 分析に供したところ、酸化分解物のピークのみを与え、還元体のピークは得られなかった。	

P-18	エンドウ由来のβ複素環アラニン化合物による重力屈性メカニズムの解明 ○大宮 由芽¹, 長谷川 剛¹, 山田 小須弥², 宮本 健助³, 上田 純一⁴, 長谷川 宏司², 繁森 英幸² (¹筑波大院・生命環境, ²筑波大・生命環境, ³大阪府立大・高等教育, ⁴大阪府立大院・理)
【目的】 重力屈性とは植物が重力刺激に応答し、茎は上方へ根は下方へと屈曲しながら成長する現象である。そのメカニズムは、光屈性と同様にオーキシンの偏差分布により屈曲が生じるという Cholodny-Went 説によって説明されてきた。しかし、光屈性においては前者に対峙する説として光側での光屈性制御物質の生成により屈曲するという Bruinsma-Hasegawa 説が提唱されており、重力屈性に関しても Bruinsma-Hasegawa 説に基づいた知見が得られつつある。そこで本研究では、エンドウ芽生えから重力屈性制御物質を見出し、それらを用いて重力屈性メカニズムを解明することを目的とした。 【方法・結果】 エンドウ芽生えに重力刺激を与えて経時的にサンプリングを行い、HPLC で分析することによって増減のあるピークを特定した。そこで、大量のエンドウ芽生えを有機溶媒で抽出し、カラムクロマトグラフィーや HPLC 等を用いて目的物質の分離・精製を行った。NMR や MS を用いた機器分析により構造解析を行った結果、得られた物質はβ複素環アラニン化合物 β-(isoxazolin-5-on-2-yl)-alanine (βIA) であることが明らかとなった。さらに、βIA ならびに同時に単離した関連化合物 willardiine および isowillardiine を用いて、種々の生物活性試験（片側投与実験、セクションテスト、ティッシュプリン等）に供した結果、これらの化合物にエンドウ芽生え上胚軸に対する成長抑制活性やオーキシン活性阻害が認められた。以上のことから、エンドウの重力屈性は βIA 等のβ複素環アラニン化合物によって起きることが示唆され、Bruinsma-Hasegawa 説を支持する結果が得られた。	

P-19	光屈性制御物質によって制御されるエンドウ上胚軸の光屈性メカニズムの解明 ○都築 萌¹, 繁森 英幸², 山田 小須弥² (¹筑波大院・生命環境, ²筑波大・生命環境系)
【目的】光屈性とは植物が光の方向に屈曲する現象である。植物の茎(胚軸)におけるこの現象の誘導メカニズムとして、従来のオーキシン説に加え、光刺激により光照射側組織において生成する成長抑制物質(光屈性制御物質と呼ばれている)による胚軸の伸長抑制も寄与する可能性が示唆されている。さらに、種々の植物から光屈性制御物質が単離・構造決定されている。本研究は光屈性制御物質に関する報告例のないマメ科植物について、アラスカエンドウ上胚軸を材料として光屈性制御物質を単離・構造決定し、さらに細胞伸長の抑制メカニズムを明らかにすることを目的とした。 【方法・結果】光照射後、植物芽生えを光照射側と反対側にカミソリで切り分けて、その抽出物を HPLC に供し、光照射側組織で顕著に増加するピークを探索した。続いて、大量のエンドウ芽生えを用いて当該ピークを各種クロマトグラフィーにより単離し、様々なスペクトル解析により構造決定を行った。単離した化合物について、胚軸切片伸長試験によりオーキシン活性抑制効果を検討し、さらにはラノリンと共に上胚軸に投与した際の過酸化水素の蓄積や、それに伴う細胞壁の剛直化(リグニンの蓄積)の様子を顕微鏡により観察した。その結果、単離した化合物は光刺激に応答して光照射側組織で増加してオーキシン活性を抑制し、同時に細胞壁の剛直化を誘導することで光照射側組織の伸長抑制に寄与していることが明らかとなった。以上のことから、エンドウ上胚軸においても光屈性制御物質に起因する光照射側組織での伸長抑制が光屈性に関与している可能性が強く示唆された。	

P-20	3D 励起蛍光スペクトルと主成分分析による水耕栽培植物の 生育状態モニタリング ○藤田 洋志¹, 植松 寛暁², 土田 夏穂², 城所 美紀², 菊地 俊介¹, 安保 充² (¹明大院・農, ²明大・農)
【目的】近年、人口増加による食糧不足や農業用地の減少に対して、植物工場の利用が注目されている。植物工場において、植物の生育状態をモニタリングするシステムは確立されておらず、作物は人の目により管理されている。そのため、作物の生育状態の変化を検知できるようなモニタリングシステムの必要性が示唆される。そこで、植物が根から様々な化合物を滲出しており、生育状態により蛍光物質の滲出量が変化することに着目した。今発表では、近年の研究で注目される 3D 励起蛍光スペクトル測定と主成分分析の併用を水耕栽培時の水耕液に適用し、生育状態モニタリングへの応用を検討する。 【方法・結果】ダイズ(<i>Glycine max</i>)を、シャーレ上で芽出しし(二日間、暗所、25℃)、1/2 MS 培地および 1%の NaCl または 150 μM の Al を含む 1/2 MS 培地を 1 mL 入れた 1.5 mL エッペンチューブに、芽出ししたダイズを直接浸す形で水耕を行った(個体数 3 個体)。24 時間後、エッペンチューブからダイズを取り除き、水耕液を遠心分離機で遠心した(10000 rpm, 5 分)。遠心後、上清を 0.20 μm フィルターでろ過し、蛍光分光光度計により、3D 励起蛍光スペクトル測定を行った。励起波長は、5 nm ごとに 200~500 nm に、蛍光波長は、1 nm ごとに 250~600 nm に設定し、感度 High で測定を行った。蛍光スペクトルのデータを励起 15 nm、蛍光 10 nm ごとの区画に分けて蛍光強度を積算し、SPSS ver.24 (IBM)を用いて主成分分析を行った。主成分分析により、生育区画ごとにプロットを分離することができた。この分離に関わるスペクトルの位置を調べることで、生育状態の違いによるスペクトルの変化について考察を行った。	

P-21	シロイヌナズナ葯タペート組織の遺伝子発現プロファイルの作成 ○川又 奨¹, 木本 剛彰², 岩野 恵³, 高山 誠司⁴, 柴 博史¹ (¹筑波大院・生命環境, ²奈良先端大・バイオサイエンス, ³阪大・産研, ⁴東大院・農学生命科学)
【背景・目的】タペート組織は葯壁の最も内側に存在する一層の細胞で、花粉の形成や稔性に重要な役割を果たす事が知られている。このタペート組織は多核化が確認されること、また花粉の成熟に伴い崩壊することが知られているが、そのメカニズムは未だ不明である。 演者らの研究室では、タペート組織特異的にヘテロクロマチン化が起こることを明らかにしている。そこで、本演題では、ヘテロクロマチン化が観察されたタペート組織における遺伝子発現様態を明らかにするために、レーザーマイクロダイセクション法によるシロイヌナズナタペート組織の単離および単離組織からの RNA 抽出系を確立し、マイクロアレイを用いてタペート組織の遺伝子発現プロファイルを作成し、タペート組織特異的な発現を示すヘテロクロマチン化関連遺伝子の探索を行った。また、タペート組織で高発現していた遺伝子の変異体の表現型の観察を行った。 【方法・結果】最も高レベルでヘテロクロマチン化が観察されている小孢子期の葯3組織（葯壁組織、タペート組織、花粉小孢子）の単離および RNA 抽出をおこない、マイクロアレイ解析に用いた。その結果、タペート組織で高発現しているヘテロクロマチン形成関連遺伝子として、DCL ファミリー遺伝子やメチルシトシン結合タンパク質遺伝子が同定された。また、最も高発現していた DCL ファミリー遺伝子の変異体における葯の観察を行なったところ、葯の裂開の異常が見られ、自然受粉時における莢の総数の低下等の表現型が観察された。	

P-22	植物バイオマス測定系の確立とメタボローム解析を用いたシロイヌナズナ種内雑種で見られる雑種強勢メカニズムの解明 ○杉 直也¹, Le Quynh¹, 草野 都^{1,2}, 斎藤 和季^{2,3}, 柴 博史¹ (¹筑波大院・生命環境, ²理研・CSRS, ³千葉大・薬)
【目的】雑種強勢は、異なる種間あるいは種内系統間の交配で得られた F₁ 雑種において、その両親と比較してバイオマスの増大、ストレス耐性向上等により旺盛な生育を示す現象であり、重要農業形質として広く利用されている。近年、F₁ 雑種における様々な遺伝子発現の変化やエピジェネティックな遺伝子発現制御についての報告がなされているものの、そのメカニズムの全容解明には至っていない。そこで、発現活性・酵素活性等を反映し、表現型に直結する代謝物レベルにおける変化を捉え、雑種強勢メカニズムに対する新規知見を得ることを目的とした。 【方法・結果】雑種強勢で見られるバイオマスの増大は、栽培時の様々な環境要因から多大な影響を受けると考えられることから、それらを極力排除し、均一化された新規バイオマス測定系の確立を進めた。寒天培地による無菌栽培を採用し、培地成分や光強度、光照射条件等を検討し、両親系統及びその F₁ 雑種の成長過程を詳細に調べるとともに、実験に用いる種子のサイズまで検討することで、ほぼ均一の生育状態にすることに成功した。上記栽培条件で両親系統及びその F₁ 雑種を生育したところ、両親系統に比べて生重量比で 20%程度のバイオマス増大が見出された。またそれらをサンプルとしてメタボローム解析をおこなったところ 229 種類の代謝産物が検出された。現在、F₁ 雑種で変化した代謝物の表現型への関与について検証しており、得られた結果を合わせて雑種強勢メカニズムについて議論したい。	

P-23	コケ分化制御機構の解明を通じたジベレリン起源物質の探索 ○小野 真太郎¹, 宮崎 翔¹, 梁 彩東¹, 浅見 忠男¹, 川出 洋², 中嶋 正敏¹ (¹東大院・農生科・応生化, ²東京農工大・農)
【目的】コケ植物の一種・ヒメツリガネゴケ (<i>Physcomitrella patens</i>) のゲノムには植物ホルモン・ジベレリンの生合成に欠かせない酵素遺伝子群が一部欠失しているために生体からはいずれのジベレリンも検出されていない。ところが、<i>ent</i>-カウレン酸合成経路上の酵素 PpCPS/KS を人為的に欠損させた変異株では原系体の分化過程の進行に異常が現れ、PpCPS/KS の代謝産物である <i>ent</i>-カウレンやその酸化物 <i>ent</i>-カウレン酸の投与により異常が回復するがジベレリンの投与では回復が認められないことから、ジベレリンと構造的に異なる未同定の <i>ent</i>-カウレン酸代謝物がこの分化過程の制御に関与していると考えられる。そこで本研究では上記変異体の回復応答状況を指標として、市販のライブラリーから選抜した分化過程制御化合物を利用したコケ原系体分化制御機構の解明を目的として展開している。 【方法・結果】球状にした <i>Ppmps/ks</i> 欠損変異株の原系体を化合物入りの培地に置き、赤色光下で生育させて 7 日後に分化回復状況が判定可能となる系を用いて、<i>ent</i>-カウレン酸投与時と似た分化誘導活性を持つ化合物を 2 種選抜した。これらについて、それぞれの作用点が <i>ent</i>-カウレン酸の作用点と同一であることを慎重に判断すべく、顕微鏡を用いた分化状況の観察、および構造類似体を用いた共投与条件での活性評価を行っており、それらの結果を報告したい。	

P-24	イネにおけるジテルペン型ファイトアレキシン生産を制御する転写因子 DPF の誘導機構と機能解析 ○田淵 雄夢¹, 堤 涼¹, 根本 圭一郎², 澤崎 達也², 森 昌樹³, 宮本 皓司⁴, 山根 久和⁴, 光田 展隆⁵, 野尻 秀昭¹, 岡田 憲典¹ (¹東大・生物工学セ, ²愛媛大学・PROS, ³農研機構, ⁴帝京大・バイオ, ⁵産総研)
【背景・目的】イネにおける防御応答の一つとして抗菌性二次代謝産物ジテルペン型ファイトアレキシンの生産誘導が知られている。近年、ジテルペン型ファイトアレキシンの生産を正に制御する転写因子として DPF が報告された。これまでに、DPF によるジテルペン型ファイトアレキシン生合成遺伝子の発現制御に必要なプロモーター上のシス配列が示唆されている。さらに、我々は DPF 自体の発現を直接制御する転写因子の探索を行い、MYC2 をその候補として取得した。本研究では DPF を介したジテルペン型ファイトアレキシンの生産制御機構のより詳細な解析を進めている。 【方法・結果】DPF の発現誘導機構に関して、MYC2 ノックダウン株における DPF の発現量を定量したところ、ベクターコントロール株で見られるジャスモン酸処理による DPF の発現誘導が消失した。このことから、MYC2 が植物体内で実際に DPF の発現を制御していることが示された。MYC2 は DPF の発現誘導に必要な領域へ結合する転写因子として酵母ワンハイブリッド法によりスクリーニングされた。現在、MYC2 が実際に植物体内で DPF 上流領域へ結合しているか調べるため ChIP assay を進めている。DPF の機能解析に関しては、GFP-DPF 融合タンパク質の一過的発現の結果から、DPF が核に局在することが示された。また、DPF がジテルペン型ファイトアレキシン生合成遺伝子の一つである CPS2 上流領域内の N-box へ結合することも <i>in vitro</i> 解析から示唆された。現在、DPF が実際に植物体内で CPS2 上流領域へ結合するかを検討するための ChIP assay を進めている。	

P-25	メタボローム解析を用いた植物工場野菜の品質評価 ○田村 祥雄^{1,2}, 高嶋 香里³, Wang Ning¹, 岡崎 聖一³, 草野 都^{1,4} (¹筑波大院・生命環境, ²JA 全農, ³株式会社キーストーンテクノロジー, ⁴理研)
【目的】植物工場は、植物の生長に重要な要素である温湿度、光質、培養液等を制御し、閉鎖的環境下で生育することにより、天候に左右されない野菜の安定かつ安全な供給が可能である。一方で、生産コストが高いため、食味や機能性成分等で付加価値を付与できるような先進的な野菜栽培条件の検討が不可欠である。本研究では GC-MS を用いたメタボローム解析を用いて栽培環境差（土耕または植物工場）がサニーレタスの品質に与える影響を明らかにするとともに、指標代謝物群の探索を行うことを目的とした。 【方法】サニーレタス（Black rose, Red fire）は、実験室内のチャンバー内での土耕または植物工場での水耕栽培条件下で 33 日間栽培後、サンプリングした。得たサンプルに対して、GC-MS を用いたメタボローム解析を行った。得られたデータには多変量解析に供した。 【結果】GC-MS 分析の結果、全 223 個の代謝物が検出され、うち 101 個の代謝物は同定もしくはアノテーションすることができた。これら代謝物データを主成分解析に供した結果、主成分スコア 1（24.7%）は栽培環境の違いによる分類に寄与することを明らかにした。また、主成分ローディングの結果より植物工場栽培されたレタスは、味覚に寄与するアミノ酸類を多く含有する傾向がみられた。一方で、主成分スコア 2（12.7%）は、リーフレタスの部位の違いの分類に寄与するものであった。	

P-26	シロイヌナズナの免疫応答におけるファイトアレキシシン合成酵素遺伝子発現の時空間的解析 ○岩本 瑞生¹, 野村 暢彦², 別役 重之² (¹筑波大・生物資源, ²筑波大・生命環境系)
植物は微生物の感染に対する免疫を有している。その中でも、エフェクターである <i>AvrRpt2</i> を持つ <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> DC3000 接種により誘導されるエフェクター誘導免疫（ETI）は宿主-病原菌ペアの遺伝子型に特異的な強い防御応答を示すことが知られている。ETI による防御応答の一つとして、抗菌性の二次代謝産物であるファイトアレキシシン合成が挙げられるが、ETI 誘導病原菌の局所的な感染に対してファイトアレキシシンの蓄積がいつ、どこで起こっているのか、時空間的な解析はあまりされていない。そこで我々は、シロイヌナズナのファイトアレキシシンの一つとして知られるカマレキシシン合成に必須な酵素をコードする <i>PHYTOALEXIN DEFICIENT 3</i> (<i>PAD3</i>) のプロモーター (<i>pPAD3</i>) 活性を、核局在型 eYFP を用いたライブイメージングにより解析することで、局所的に ETI を誘導した葉組織において、ファイトアレキシシン合成がどこで行われているのかに迫ることを目指している。まず、ETI のプロモーター活性を解析したところ、<i>pPAD3</i> 活性化領域が ETI の初期には感染部位近傍で、さらに後期にはその外周部で、と移行することを見出した。<i>pPAD3</i> 活性化領域移行という現象は、ETI 誘導時のカマレキシシン合成が時空間的に異なる制御を受けている可能性を示唆している。本発表では、イメージングを用いた <i>PAD3</i> の時空間的挙動解析についての進展を報告する。	

P-27	ゴマ芽生えの光・重力屈性に関わる生理活性物質の探索と機構解明 ○森 梓紗¹, 萩原 美里¹, 高瀬 涼¹, 山田 小須弥², 長谷川 宏司², 繁森 英幸² (筑波大院・生命環境¹, 筑波大・生命環境²)
【背景】屈性とは植物が刺激を感知し屈曲する現象であり、従来植物の刺激を受けた側から受けていない側へオーキシンが移動して屈曲を起こすという Cholodny-Went 説で説明されてきた。光屈性では光刺激を受けると光側組織で生成される成長抑制物質が屈曲に関与するとされる Bruinsma-Hasegawa 説が提唱されている。当研究室ではこの説に基づいて、種々の植物から様々な光屈性制御物質を単離・構造決定しており、重力屈性についても重力屈性物質が関与しているのではないかと考えている。そこで本研究では、重力屈性現象を観察し、光屈性ととも重力屈性制御物質を探索することを目的とする。 【方法・結果】暗所で培養した種々の植物に一方向から青色光を照射して光屈性を、芽生えを 90 度傾けることで重力屈性現象を撮影し、屈曲の様子を観察した。次に光刺激により内生量が増加した屈性制御物質を単離するため大量のゴマ芽生えを培養し、ホモジナイザーで抽出した。そして ODS カラムや HPLC を用いて分離・精製を行い、NMR スペクトルを用いて構造の確認を行った。その結果、光屈性制御物質として配糖体 Compound 1 とそのアグリコン Compound 2 を単離した。これらを用いて行った活性試験では、濃度依存的に成長抑制が観測され、Compound 1 よりも 2 の方がやや強い活性を示した。また、これらをゴマ芽生えの片側に投与したところ、投与側に屈曲がみられた。 Bruinsma-Hasegawa 説が光・重力屈性のメカニズムとして認められれば、Cholodny-Went 説で説明されてきた記述を訂正・補完することにつながり、学術的にも大きな意義があると考えられる。	

P-28	更年期脂質代謝異常に対する共役リノール酸と大豆イソフラボンの同時摂取による調節 ○谷澤 郁¹, 小栗 幹也¹, 吉富 簾¹, 長田 恭一¹, 戸田 登志也² (¹明治大院・農, ²フジッコ株式会社)
【目的】更年期の女性は、卵巣機能低下による女性ホルモン分泌の欠乏に伴い、脂質代謝異常をはじめとした種々の症状を発症する。本研究では、脂質代謝異常を予防または改善する機能性成分として期待されている共役リノール酸（CLA）と大豆イソフラボン（IF）を、卵巣を摘出した更年期モデルラットに同時に摂取させた場合の脂質代謝異常に対する効果を検討した。 【方法】5 週齢 Wistar 系雌性ラットの卵巣を摘出し、対照群は偽手術を施した。予備飼育後、卵巣を摘出したラットを食餌により SHAM 群、OVX 群、CLA 群、IF 群、INT 群の 5 群に分け、38 日間飼育し、12 時間の絶食後、腹部動脈より採血死させ脂質代謝に関わる種々のパラメータを測定した。 【結果】卵巣摘出により体重増加量や脂質動態に変動が生じたが、CLA と IF の同時摂取により肝臓 TG 濃度上昇が抑えられた。これは主として摂取した CLA と IF による肝臓の脂肪酸合成の抑制によるものであると考えられた。また、IF 単独摂取で認められた動脈硬化指数およびインスリン抵抗性指数の低減効果、あるいは CLA 単独摂取で得られた肝臓肥大抑制効果は、CLA と IF の併用摂取により相殺されることなく、相加的に抑制効果が現われた。以上のことから、CLA と IF を摂取することで、卵巣機能低下による脂質代謝とそれに伴う糖代謝異常が予防され、とくに同時摂取により更に強い予防作用が得られるのではないかと考えられた。	

P-29	FGF21 が肝臓コレステロールを低下させる機構の解析 ○大塩 優衣¹, 高橋 遼太¹, 増澤 (尾崎) 依², 竹中 麻子¹ (¹ 明治大・農, ² 日大・生資科)
【背景・目的】 Fibroblast growth factor21(FGF21)は糖代謝・脂質代謝を制御するホルモンである。当研究室では、低タンパク質食摂取により血中 FGF21 濃度と肝臓 FGF21mRNA 量が顕著に増加すること, FGF21 ノックアウトマウス(FGF21 KO)に低タンパク質食を給餌すると肝臓コレステロール(Cho)蓄積が起こることを見出した。これらの結果から FGF21 はタンパク質欠乏による肝臓 Cho 蓄積を抑制することが示された。そこで本研究ではこの Cho 蓄積抑制メカニズムの解析を目的とした。【方法】 4~7 週齢の WT(C57BL/6J), FGF21KO マウスにカゼインを 20%含む通常食(20C)あるいは 5%含む低タンパク質食(5C)を 10 日間時間制限(9:00-17:00)給餌し, 16 時間絶食後解剖を行った。肝臓の FGF21・CYP7A1(胆汁酸合成系酵素)・Hmgcr(Cho 合成系酵素)・LDLR(Cho 取り込み受容体)の mRNA 量, 肝臓 Cho 濃度を測定した。また, 35~55 週齢の WT, KO マウスに 20C または 5C を 7 日間給餌し, 最終 3 日間分の糞重量・糞中胆汁酸濃度を測定した。【結果および考察】 WT で 5C の肝臓 FGF21 発現上昇, KO で 5C の肝臓 Cho 濃度増加を確認した。Hmgcr・LDLR 発現と糞中胆汁酸排泄量は FGF21KO で有意に低下したが食餌の影響を受けず, これらの変化は FGF21KO の 5C における Cho 蓄積に関与しないことが示された。一方, 肝臓の CYP7A1 発現が WT では 5C で上昇し, KO では 5C で低下した。また, 糞中胆汁酸濃度は WT のみ 5C で増加した。以上の結果から, 低タンパク質食摂取により増加する FGF21 が CYP7A1 発現上昇および糞中胆汁酸濃度増加を介して肝臓 Cho 蓄積を抑制する可能性が示された。	

P-30	ロスマリン酸の抗アルツハイマー病効果に関する研究 ○山本 宗¹, 篠原 もえ子², 浜口 毅², 山田 正仁², 小林 彰子¹ (¹ 東大院・農生科・応生化, ² 金沢大・医)
【目的】 シソ科植物に含まれるポリフェノール的一种であるロスマリン酸 (RA) は, アルツハイマー病 (AD) の原因物質のひとつとされるアミロイドβに対し, 高い凝集抑制効果を示す (Ono et al. 2004, Hamaguchi et al. 2009)。しかし, 実際に RA 摂食によって AD に伴う認知機能低下を抑制できるかに関しては, 作用機序を含め未検討な点も多い。そこで本研究では, RA を摂食させた AD モデルマウスの認知行動評価および海馬のトランスクリプトーム発現変動解析を通して, RA の抗 AD 作用をより詳細に検証することを目的とした。【方法】 2 か月齢の 3xTg-AD マウスを対照群 (n=8) と RA 群 (n=9) に分け, 対照群には通常飼料を, RA 群には 0.5%RA を含む飼料を与えた。10 か月齢まで飼育を行い, 解剖にて脳および血液を採取した。9 か月齢時には, 認知行動試験として Y 字迷路および新奇物体認識試験を実施した。また, 脳内のアミロイドβおよびリン酸化タウの免疫染色によって AD の病理進行を確認するとともに, 海馬の DNA マイクロアレイ解析を行い, RA 摂食による認知機能改善効果について検討した。【結果・考察】 認知行動試験の結果, 対照群では空間や物体に関する認知力が低下したのに対し, RA 群ではそれらが抑制された。したがって, RA には AD に伴う認知機能低下を予防, 軽減する作用があることが示された。DNA マイクロアレイ解析では, 神経発達や神経伝達に関連する遺伝子群の発現に多く変動が見られた。脳切片の免疫染色の結果については, 現在検討中である。なお, 本研究の一部は, 総合科学技術・イノベーション会議の SIP「次世代農林水産業創造技術」の助成によって実施された。	

P-31	不安傾向が異なる系統のマウスにおけるビタミンEの体内濃度の比較検討 ○松尾 契吾, 渡邊 佑, 竹中 麻子 (明治大・農)
【目的】ビタミンE (VE) は体内の主要な脂溶性抗酸化物質である。我々は、ラットやマウスにおいて、体内 VE 濃度の低下に伴う過酸化脂質 (TBARS) 濃度上昇と不安行動の増加を報告している。一方、マウスの不安行動には種差があり、脳内の特定の抗酸化関連酵素の発現量がこの種差を制御する可能性が報告されている。そこで、VE 摂取量の増減によって不安行動の種差を制御することを目的とし、本研究ではまず不安傾向の異なる系統のマウスの体内 VE 濃度の解析を行った。 【方法・結果・考察】C57BL/6J と DBA/2C の 2 つの系統の 7 週齢雄性マウスを AIN93-G 準拠の飼料を与えて 1 週間個別飼育した。その後、高架型十字迷路試験 (EPM 試験) とオープンフィールド試験 (OF 試験) の 2 つの行動試験を行い、解剖した。EPM 試験のオープンアーム滞在時間と OF 試験のセンターエリア滞在時間ともに、C57BL/6J に比べ DBA/2C で有意に少なく、DBA/2C で不安が大きかった。また、脳内の抗酸化関連酵素である Glyoxalase1 (Glo1), Glutathione reductase1 (Gsr) の mRNA 発現量が DBA/2C で高いことを確認した。肝臓の VE 濃度と TBARS 濃度、大脳の TBARS 濃度には系統間で差がなかったが、大脳の VE 濃度、血漿における VE 濃度と TBARS 濃度は、DBA/2C で有意に高く、血漿の VE 濃度と TBARS 濃度に正の相関が得られた。これらの結果から DBA/2C の高い脂質過酸化が抗酸化酵素の発現と不安行動を増加させる可能性が考えられた。	

P-32	テストステロンがタンパク質欠乏による脂肪肝におよぼす影響 ○内田 海登, 井上 佳奈, 長谷川 由希子, 竹中 麻子 (明治大学・農・農芸化学)
【背景・目的】低タンパク質食摂取による肝臓への中性脂肪蓄積は、性成熟前はオス・メス同様に生じるのに対し、性成熟後ではオスよりもメスで顕著である。そこで本研究では、男性ホルモンであるテストステロンが低タンパク質食摂取による脂肪肝におよぼす影響を検討した。 【方法】5 週齢の Wistar 系雄性ラットに精巣除去手術 (Cas, n=5) もしくは偽手術 (Sham, n=15) を行い、Sham の一部 (n=5) に 2 日に 1 度 testosterone propionate (TP) 8 mg/kg を筋肉注射した。手術後 20 日間の回復期間後、タンパク質を 20% 含む通常食、もしくは 3% 含む低タンパク質食を pair-feeding で 10 日間与えた。実験群は、Sham+20P, Sham+3P, Cas+3P, TP+3P (各群 n=5) とした。 【結果】肛門拳筋の精巣除去による縮小と TP 投与による肥大、血漿テストステロン濃度の精巣除去による減少と TP 投与による増加を確認した。体重は 3P 摂取により減少したが、体重減少率は TP 投与により有意に小さくなり、精巣除去により大きくなる傾向が得られた。尿量・飲水量は 3P 摂取により低下したものの、TP 投与で有意に増加した。血中尿素窒素は 3P 摂取で低下し、3P 摂取下では Cas 群と比較し TP 投与群でさらに低下する傾向があった。3P 食による肝臓中性脂肪蓄積は精巣除去群でのみ有意であった。以上の結果から、テストステロンが低タンパク質食摂取下での体タンパク質同化活性を変化させた可能性があること、またテストステロンの欠如は低タンパク質食摂取による肝臓中性脂肪蓄積を大きく亢進することが示された。	

P-33	米アルブミンの熱耐性機構の解明 ○藤澤 望 ¹ , 濱田 彩 ² , 稲 成信 ² , 秋間 彩香 ³ , 山口 勇将 ^{1,2} , 赤尾 真 ^{1,2} , 熊谷 仁 ³ , 熊谷 日登美 ^{1,2} (¹ 日大・生資科, ² 日大院・生資科, ³ 共立女子・家政)
【目的】食品中のタンパク質には、様々な生体調節機能特性を有するものがあるが、一方で加熱により変性するため、食品の加工・製造工程において取り扱いに注意を要する。昨年の大会では、既に食後血糖値上昇抑制することを報告した米アルブミンが熱耐性を有することを発表した。本研究では、米アルブミンと化学処理した試料、他のタンパク質を用いて、米アルブミンの熱耐性の機構に関して検討した。 【方法・結果】米粒を粉碎後、pH 6.0 の緩衝液でタンパク質を抽出し、硫酸アンモニウムによりアルブミンを分画した。これを透析し、凍結乾燥により得られた米アルブミン粉末を測定に用いた。熱耐性は、示差走査熱量測定 (Differential scanning calorimetry: DSC) により得られる熱変性温度により評価した。DSC 測定は、銀製セルを用いて、昇温速度 1 °C/min で 30°C-120°Cでの範囲で行った。測定試料として、米アルブミン水溶液、比較試料としてのホエータンパク質水溶液、米アルブミン水溶液にジチオスレイトール (DTT) を加えて一晩保持したものを用いた。DSC の変性ピークの範囲は、ホエーでは 52.5°C-77.8°C、米アルブミンでは 73.3°C-114.8°C、DTT を加えた米アルブミンでは 37.3°C-59.3°C となった。この変性温度の違いから、米アルブミンは、ホエータンパク質より熱耐性が高いと考えられる。また、未処理米アルブミンは、DTT 処理した米アルブミンより変性温度が高いことから、ジスルフィド結合によって熱変性を起こしづらいものと推察される。今後、各試料に関して 8-anilino naphthalene-1-sulfonate (ANS) を用いた表面疎水性度測定からも、熱耐性の評価を行う予定である。	

P-34	Volatile compositions, MS-based flavor and olfactometric profiles of seasonal dogfruit (<i>Pithecellobium jiringa</i>) and smelly bean (<i>Parkia speciosa</i>) ○Yonathan Asikin ¹ , Miyako Kusano ¹ , Kusumiyati ² , Koji Wada ³ (¹ 筑波大・生命環境, ² パジャジャラン大・農, ³ 琉球大・農)
Research Objectives Dogfruit (<i>Pithecellobium jiringa</i>) and smelly bean (<i>Parkia speciosa</i>) are popular edible stinky legumes from Southeast Asia region that known for emitting unpleasant aroma characteristics. The aims of this study were to determine volatile components of seasonal dogfruit and smelly bean, and to differentiate their volatile flavors through mass spectrometry (MS)-based flavor profiling and olfactometric datasets. Methods and Results Volatile compositions of seasonal dogfruit and smelly bean were determined using static headspace-gas chromatography-flame ionization detection/mass spectrometry (SHS-GC-FID/MS) analysis. Untargeted GC-MS-based flavor profiling and GC-olfactometry techniques were applied to monitor seasonal changes on their volatile flavor profiles. As the results, concentration of predominant hexanal of smelly bean significantly declined over maturation, whilst major components of dogfruit altered from 3-methylbutanal and methanol to acetaldehyde and ethanol. Moreover, 1,2,4-trithiolane significantly raised in both matured legumes. MS-based flavor profiling further detailed differentiation of volatiles through multivariate statistical analysis, and provided discriminant ion masses such as m/z 41, 43, 58, 78, and 124. Additionally, perceived odor strength (odor intensity and sniff duration) of aldehydes tended to decline, whilst sulfur components showed linier progression with maturity process.	

P-35	発酵食品における有用芳香族アミノ酸代謝物の分布 ○木村優花¹, 青木玲二², 高山喜晴², 鈴木チセ², 鈴木義人¹ (¹茨城大・農,²農研機構・畜産部門)
【目的】芳香族アミノ酸代謝物である芳香族乳酸や芳香族ピルビン酸は抗酸化作用[1]や抗炎症作用[2]を有する。芳香族アミノ酸は食品中に含まれるが、それらの代謝物の食品中での分布に関する情報はない。乳酸菌等の発酵微生物が、芳香族アミノ酸から芳香族ピルビン酸、芳香族乳酸への変換酵素を有していることから、今回、発酵食品を中心に、その原料とともに芳香族アミノ酸代謝物類の内生量を測定した。[1] Suzuki <i>et al.</i> Biosci. Biotechnol. Biochem. 77: 1299 (2013), [2] Aoki <i>et al.</i> PLoS One. 9: e96804 (2014). 【方法・結果】液体試料はそのまま、固体試料はメタノールで抽出後、芳香族ピルビン酸類は cysteamine と反応させ thiazolidine 誘導体とし、芳香族乳酸類はそのまま LC-MS/MS により測定した。牛乳、オオムギ種子、イネ種子、ダイズ種子、タケノコ等に比べると、それらを原料とするヨーグルト、チーズ、ビール、日本酒、納豆、メンマなどの発酵食品や発酵飲料からは、極めて高濃度の芳香族アミノ酸代謝物が検出された。ビールや日本酒など、酵母を用いた発酵飲料では芳香族乳酸に比べて芳香族ピルビン酸の内生量が高く、一方で、乳酸菌由来の発酵食品では芳香族乳酸の内生量が高いことから、乳酸菌が芳香族ピルビン酸をさらに芳香族乳酸へと変換したものと考えられた。 *本研究の一部は、総合科学技術・イノベーション会議の SIP（戦略的イノベーション創造プログラム）「次世代農林水産創造技術」によって実施された。	

P-36	イチゴ中のアントシアニンの高感度イメージング質量分析 ○佐藤 圭¹, 扇子 拓也¹, 吉澤 史昭², 山根 久和^{1,3}, 榎元 廣文^{1,3} (¹帝京大院・理工,²宇都宮大・農,³帝京大・理工)
【目的】マトリックス支援レーザー脱離イオン化-イメージング質量分析(MALDI-IMS)は、組織切片上にマトリックスを塗布後、二次元に質量分析することで代謝物を可視化する手法である。マトリックスの塗布には主にエアブラシが用いられているが、動物組織より比較的厚い切片を要する植物組織では、代謝物によっては十分な検出感度を得るのが難しい。近年、加熱したマトリックス溶液を噴霧塗布する TM-スプレイヤーが開発されている。そこで本研究では、エアブラシおよび TM-スプレイヤーを用いてイチゴ切片上にマトリックスを塗布後、MALDI-IMS を行い、アントシアニンの検出感度を比較した。 【方法と結果】イチゴ抽出液の MALDI-タンデム質量分析により、ペラルゴニジン配糖体を 3 種、シアニジン配糖体を 2 種、デルフィニジン配糖体を 1 種、同定した。イチゴをカルボキシメチルセルロースに凍結包埋して切片化し、エアブラシおよび TM-スプレイヤーを用いて 2,5-ジヒドロキシ安息香酸(DHB)を塗布後、ポジティブモードで MALDI-IMS を行った。その結果、エアブラシと比較して TM-スプレイヤーではペラルゴニジン配糖体で 4.3~21.5 倍、シアニジン配糖体で 1.4~3.6 倍、検出感度が向上した。さらに、デルフィニジン配糖体はエアブラシでは検出されなかったが、TM-スプレイヤーでは検出された。シアニジンおよびデルフィニジンの配糖体は表皮のみに局在していたが、ペラルゴニジン配糖体は、表皮、皮層、芯に分布していた。以上の結果から、TM-スプレイヤーを用いた DHB 塗布後の MALDI-IMS によって、イチゴ中のアントシアニンが高感度に可視化されることが示唆された。	

P-37	ライチ由来プロシアニジン化合物 Oligonol の消化管を中心とした体内動態 ○依田 浩樹、林 洪太、河合 咲紀、長田 恭一 (明治大院・農)
【目的】 プロシアニジン類、特に A 型プロシアニジンの体内動態を明らかにすることを本研究の目的とした。 【方法】 《動物実験》5 週齢の雄性 Wistar ラットを 15 日間 MF 固形飼料（オリエンタル酵母）で飼育し、12 時間絶食させてから Oligonol を胃内に強制投与した。投与してから 0, 1, 2, 6 時間後に解剖して胃、小腸、大腸等の消化管および血漿や尿、腎臓などの組織を採取し、LC-ESI-MS で代謝産物の分析を行った。 《細胞実験》Caco-2 細胞の単層膜を形成させ、100 μg/mL の Oligonol を加えてから 0, 1, 3, 6, 18, 24 時間後にインサート外の培養液を回収し、LC-ESI-MS で代謝産物の分析を行った。 【結果・考察】 消化管中ではプロシアニジン類の構造の変化はあまり見られなかったが、尿中などからは硫酸抱合化等を受けた単量体が多く検出された。また、腎臓からはメチル化された Procyanidin dimer A と推定される化合物が検出された。さらに、Caco-2 細胞による透過性試験の結果から、Oligonol 由来のプロシアニジン類の吸収率は数%～10%未満であると考えられ、代謝産物に関しては単量体の硫酸抱合体や 2～3 量体の A 型プロシアニジンが検出された。以上のことから、A 型のプロシアニジンは消化管内では構造が変化しないが、2～3 量体までは消化管から吸収され、種々の抱合化を受けて体内に移行すると考えられた。	

P-38	ロスマリン酸による脳内モノアミン変動の解析 ○長谷 知輝¹、宍戸 駿¹、浜口 毅²、篠原 もえ子²、山田 正仁²、小林 彰子¹ (¹東大院・農生科・応生化、²金沢大・医)
【目的】我々のグループは、既にアルツハイマー病(AD)の主病態である脳内アミロイド β ($A\beta$) の沈着を抑制するポリフェノールとして、ロスマリン酸(RA)を見出している。AD モデルマウスを用いた <i>in vivo</i> 試験において、RA の経口摂取により $A\beta$ 凝集が抑制された。また、これらのマウスの脳の DNA マイクロアレイ解析では、遺伝子発現変化において RA 群の脳内で $A\beta$ 凝集抑制活性が報告されているカテコールアミン濃度の上昇が示唆された。そこで本研究では、RA による $A\beta$ 凝集抑制効果として脳内モノアミン濃度の上昇に着目し、RA 経口摂取時の脳内カテコールアミン変動およびそのメカニズムを詳細に解析することを目的とした。 【方法・結果】AD モデルマウスの背景系統である C57BL/6J マウスを、AIN93G を与えるコントロール(C)群(n=5)、AIN93G に 0.5%ロスマリン酸(RA)を混合した(RA)群(n=6)に分けて 11 日間飼育した。11 日後に脳を大脳皮質、海馬、線条体に分けて採取し、部位ごとにモノアミン濃度を高速液体クロマトグラフィー電気化学検出器(HPLC-ECD)で測定した。11 日間 RA を摂取させたマウスでは、大脳皮質において一部のモノアミン濃度が有意に上昇しており、代謝酵素の mRNA 発現量が増加していた。現在、RA 摂食による脳内モノアミン上昇機作について、詳細な解析を行っている。本研究は、総合科学技術・イノベーション会議の SIP(戦略的イノベーション創造プログラム)「次世代農林水産業創造技術」の助成によって実施された。	

P-39	安全で低蓄積性の接触酸化による殺菌・消臭効果を基盤とする衛生管理 ○田村 健治 (首都大・産技高専品川)
【目的】医薬品製造や食品関連をはじめとする農林水産および畜産分野において、安全性が高くより効果的な殺菌・消臭などの衛生管理に関する方法論の構築が広く求められている。本報では、体内合成物質である次亜塩素酸 HClO を用いた衛生管理について様々な検討を行っている。人畜無害で低蓄積性の酸化剤である HClO による殺菌あるいは消臭効果は、対象物質との接触酸化に基づく機能として発現されている。著者らは、独自の流体制御技術を駆使した存在寿命が非常に長い安定化次亜塩素酸水を調製する装置を開発しており、本品の応用の一環として、様々な分野における衛生管理方法の検討を行った。 【研究の概要】従来法では HClO は、塩素の水に対する溶解平衡を利用して調製していたため、塩酸が共存し、強酸性領域における使用が必須であり、調製後直ちに使用しなければ分解してしまう程度の存在寿命が一般的であった。従って、調製に関する反応制御や品質管理を行う余地は無く、応用することが非常に困難であった。著者らが開発した高精度流体制御法により調製される HClO は、pH ならびに有効塩素濃度を高精度に制御して連続的に調製することが可能であり、中性ないし弱酸性領域での使用を達成している。また、調製水の品質管理が可能となるため、遮光条件下で被酸化物質との接触を避けることにより、貯蔵や流通を行うことが出来る。従って、様々な分野・領域における応用の検討が容易である。衛生管理の方法論構築のために必要な様々な試験分析結果を得ているため、これらを併せて詳細に報告する。	

P-40	塩酸処理小麦タンパク質の経皮感作による小麦アレルギー発症メカニズム解明 ○飯島 宏美 ¹ , 松風 成美 ¹ , 山本 佳奈 ¹ , 中村 華恵 ¹ , 阿部 竜典 ¹ , 山口 勇将 ¹ , 赤尾 真 ¹ , 熊谷 仁 ² , 熊谷 日登美 ¹ (¹ 日大・生資科, ² 共立女子大・家政)
【目的】近年、腸管感作による小麦アレルギーを発症していなかった人が塩酸処理小麦タンパク質を含む洗顔石鹸を継続的に使用した後、ある日突然、小麦を含む食品の経口摂取によりアレルギー反応を示すという新しい症例が報告された。この小麦アレルギーは、塩酸処理により低分子化・脱アミド化した小麦タンパク質を含む石鹸で洗顔することにより経皮的・粘膜的にアレルゲンが吸収されて感作が成立したとの仮説があるが、未だ詳細な発症原因については解明されていない。そこで本研究では、塩酸処理による小麦タンパク質の低分子化および脱アミド化に注目し、低分子化のみ、脱アミド化のみ、あるいはその両方を起こした小麦タンパク質の感作性をマウスを用いた実験により評価を行った。 【方法・結果】小麦タンパク質であるグルテンから 60%エタノールで抽出した画分を未処理グリアジンとした (UG)。UG を陽イオン交換樹脂処理により脱アミド化のみ起こしたグリアジン (DG), UG にペプシンを作用させた低分子化のみ起こしたグリアジン (HG), UG を塩酸処理することにより低分子化・脱アミド化したグリアジン (HDG) を作製した。これらのグリアジンの感作性を検討するため、マウスに各グリアジンの経皮免疫を行った後各グリアジンの腹腔内付加試験を行った。アレルギー発症の程度は、アレルギー症状の観察、血中のグリアジン特異的抗体量、各種サイトカイン量、皮膚中の免疫担当細胞量から比較した。その結果、いずれの測定項目においても、HDG 群で重篤な症状を示した。このことから、低分子化と脱アミド化が同時に起こることにより、感作性の増強に繋がることが明らかとなった。	

P-41	青枯病菌の走化性誘引物質の探索（第四報） ○長谷川 琢也¹, 岡部 淳², 加藤 雄亮², 川出 洋¹, 夏目 雅裕¹ （¹東農工大・連農,²東農工大・院農）
【目的】植物病原細菌である青枯病菌 <i>Ralstonia solanacearum</i> は植物の根滲出物に対する走化性誘引応答を利用し宿主植物へ接近することで、感染の促進や宿主の識別を行うことが報告されている。アミノ酸や有機酸が青枯病菌の走化性誘引活性を示すが、これらは宿主以外の植物も分泌していることから、我々は青枯病菌の感染には宿主植物に特異的な走化性誘引物質が別に存在し重要な役割を果たしていると推察した。前報で我々は、トマトの根滲出物を活性炭カラムで精製し、その活性炭吸着画分に未知の誘引活性物質の存在を見出したことを報告した。本報はこの未知の誘引物質の更なる解明を行ったものである。 【方法・結果】トマトを10日間水耕栽培することで根浸出液サンプルを回収した。浸出液に含まれる走化性誘引物質は、Sep-Pak C-18・活性炭・DIOL シリカゲル・NH₂ シリカゲル等の担体を用いて精製し、各画分の活性はシャーレ上にスポットした青枯病菌のサンプルへの移動距離を指標とした軟寒天培地法で評価した。段階的な精製の結果、HPLCにおいて単一のピークを示す活性画分が得られたことより誘引活性物質を単離したことが示された。また各種精製方法を試行する過程で誘引活性物質の以下の特徴を見出した。1) 中程度の極性の化合物であること。 2) 中性の化合物であること。 3) 糖を構成成分として含む化合物であること。これらの特徴から、本誘引活性物質は青枯病菌の走化性誘引物質として報告されていない未知の糖含有化合物であると期待される。現在、MS や NMR を用いて最終的な構造解析を行っている。	

P-42	新規ゴルジ体β-ガラクトシダーゼの発見とスクリーニングにより見出した特異的阻害剤を用いた細胞内機能の解明 ○三浦一輝¹, 小野寺千尋², 袴田航^{1,2}, 平野貴子^{1,2}, 西尾俊幸^{1,2} （¹日大院・生資科,²日大・生資科・生命化）
【目的】ヒト遺伝子には、1つのβ-ガラクトシダーゼ (GLB1) がコードされており、その発現に際して選択的スプライシングにより、小胞体・ゴルジ体に局在する Precursor GLB1 (pGLB1) および核周辺に局在する GLB1 isoform 2 の2つが生合成される。さらに、pGLB1 は特定アミノ酸配列が切断されリソソームに移動し、成熟 GLB1 isoform 1 となる。このように、ヒト細胞内には3つの GLB1 が報告されている。この中でも pGLB1 は <i>in vitro</i> での酵素活性が報告されているが、細胞内での機能は不明である。しかし、pGLB1 の局在するゴルジ体には、pGLB1 の基質となり得る構造を持つ糖鎖が存在することから、pGLB1 が糖鎖修飾に関与していると考え、ヒト細胞内での pGLB1 の機能解明を研究目的とした。 【方法・結果】これまでに細胞内 pGLB1 活性の報告がないのは、本酵素活性のイメージングに適切な蛍光基質が存在しないためであると考え、pGLB1 の立体構造に基づきを <i>in silico</i> での精密分子設計を行い、設計分子を合成した。これら蛍光基質をヒト細胞へ投与した結果、ゴルジ体β-ガラクトシダーゼ活性の検出に成功した (<i>Bioorg. Med. Chem.</i>, 2016, 24, 1369-1375)。そこで、本活性を持つ酵素を同定するため、用いた蛍光基質の構造に基づいて光親和性プローブを設計・合成し、標的酵素の単離・同定を行った。その結果、pGLB1 にのみに存在するアミノ酸配列が同定され、pGLB1 が細胞内でβ-ガラクトシダーゼを持つことが示された (論文投稿中)。現在は本酵素に対する阻害剤の探索し、発見した阻害剤を投与した際の細胞の糖鎖プロファイルを網羅的に解析し、pGLB1 の細胞内機能の解明を試みている。	

P-43	合成ラクタム天然物群の生物活性評価 ○日下部 泰葉¹, 水谷 翔馬², 椿 一典², 倉持 幸司¹ (¹東理大院・理工,²京府大院・生命環境)
ラクタム化合物とは環状アミド化合物の総称である。ペニシリンをはじめ、天然ラクタム化合物には生物活性を持つものが数多く存在する。しかしながら天然物を単離する場合、その物量が少なく活性測定が困難となる場合がある。そこで我々はラクタム化合物の簡便な合成法を開発した。その結果、天然物である berkeleyamide D、flavipucine、isoflavipucine、rubrobramide とその誘導体を共通中間体から短工程で合成した^{1),2)}。本研究では合成したラクタム化合物の生物活性評価、構造活性相関、作用機序解明を行なうことを目的とした。 はじめに微量液体希釈法を用いての大腸菌と枯草菌に対する抗菌活性評価を行った。その結果、flavipucine は枯草菌に対する抗菌活性を示すことがわかった。また、Flavipucine のメチル基をベンジル基へ置換した phenylflavipucine は、大腸菌と枯草菌の両者に対する抗菌活性を有することが明らかとなった。したがって大腸菌に対して phenylflavipucine のフェニル基が活性に重要であると考えられる。 続いて WST-8 を用いた比色法により、数種のがん細胞に対する細胞毒性評価を行った。その結果、flavipucine は本研究で使用したすべての細胞に対して細胞毒性を持つことがわかった。Phenylflavipucine は細胞毒性を持たないので、flavipucine のメチル基が活性に重要であると考えられる。 1) Mizutani, S. et al. <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> 2016, 55, 9553. 2) Mizutani, S. et al. <i>Tetrahedron</i>, 2016, 72, 6640.	

P-44	光屈性制御物質 Raphanusanin の合成と構造活性相関 ○荒井 厚志¹, 渡邊 諒子², 堀之内 妙子³, 渡邊 秀典³, 繁森 英幸⁴ (¹筑波大・生物資源,²筑波大院・生命環境,³東京大院・農,⁴筑波大・生命環境)
【目的】光屈性は光エネルギーを効率よく補足するため、植物が自らの茎を光源方向に屈曲させる現象であり、オーキシンが光側から影側に横移動し影側組織の成長を促進させ起こるとされている。これが Cholodny-Went 説であり、教科書にも記載されている。しかし近年、光側組織で産生する光屈性制御物質によって屈曲が起こるとする Bruinsma-Hasegawa 説が提唱された。当研究室では、これまで種々の植物から光屈性制御物質を単離しており、ダイコン芽生えからは 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBI)および Raphanusanin を見出している。そこで本研究では MTBI と Raphanusanin の効率的な合成法の検討とその構造活性相関を目的とした。 【方法・結果】Thiolane を出発原料とし、S-メチル化した後に NaN₃を用いてアジド化合物へ誘導した。この化合物を N-クロロスクシンイミドと Et₃N により S-メチル基の α 位を酸化して二重結合を導入した。続く CS₂と PPh₃を用いた aza-Wittig 反応によりイソチオシアネート基へ誘導し MTBI を得た。さらに MTBI を CH₂Cl₂中で酸性 Al₂O₃と反応させ、温和な条件下で環化させることで Raphanusanin を短行程で合成した。この合成手法を基に種々の関連化合物を合成し、生物活性試験（植物成長抑制活性、片側投与実験、セクションテスト、ティッシュプリント等）に供し、構造活性相関を調べる。その後に、Raphanusanin への蛍光プローブ導入を検討し、その動的様子を観察することで Bruinsma-Hasegawa 説の証明につなげる予定である。	

P-45	Inhibitory Activities on Amyloid Aggregations of Rosmarinic Acid Derivatives from <i>Rabdosia japonica</i> Hara OJiayi Sun¹, Gandan Jiang¹, Mizuho Hanaki², Kazuma Murakami², Kazuhiro Irie² and Hideyuki Shigemori³ (¹Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. of Tsukuba, ²Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ. and ³Facul. Life Environ. Sci., Univ. of Tsukuba)
【Introduction】 With global aging, the incidence of Alzheimer's disease (AD) and diabetes is increasing at an alarming rate and has become a highly concerning global health issue. Both proteins of amyloid β (Aβ) and human islet amyloid polypeptide (hIAPP) aggregations are considered to play an important role in the pathogenesis of AD and type 2 diabetes (T2D). In the study, we aimed to investigate the inhibitory activities of rosmarinic acid (RA) derivatives from <i>Rabdosia japonica</i> Hara on Aβ and hIAPP aggregations. 【Methods and Results】 The EtOAc-soluble portion of the MeOH extract of <i>R. japonica</i> was subjected to ODS column and the reversed-phase HPLC to afford RA, which was confirmed by using NMR and ESI-MS analyses. Thioflavin-T (Th-T) assay, TEM observation and DPPH assay were carried out to evaluate the role of RA, caffeic acid (CA) and 3,4-dihydroxyphenyllactic acid (DPA) on Aβ and hIAPP aggregations. In the Th-T assay IC₅₀ values of RA, CA and DPA were 4.8, 17.9 and 31.2 μM on Aβ42; and 3.1, 57.6 and >100 μM on hIAPP, respectively. The TEM observation indicated that pretreating Aβ42 and hIAPP with RA, CA and DPA inhibited the formation of these fibrils. The results of these assays showed that RA exhibited the most significant inhibitory activities. Therefore, we speculated that the catechol moiety may also affect the inhibitory activities towards Aβ and hIAPP. These results indicate that applying RA derivatives in medicine will be a promising strategy to treat and prevent AD and T2D.	

P-46	オキシビニルグリシン類縁体である FVG の合成研究 ○前田大輝, 堀之内妙子, 森直紀, 渡邊秀典 (東大院・農生科)
【背景】 ビニルグリシン類はピリドキサルリン酸依存性酵素の阻害剤として作用することが知られており、多様な生理活性作用を示す。Formylaminoxyvinylglycine (FVG)は土壌細菌である <i>Pseudomonas fluorescences</i> WH6 より単離されたアミノ酸であり、スズメノカタビラ (<i>Poa annua</i> L.)の種子の発芽を不可逆的に停止する作用を有することが報告されている。FVG は小さい分子の中に多数の官能基が密集しており、有機合成化学の観点から見て、興味深い化合物であると言える。我々は、FVG のユニークなホルミルアミノオキシビニル構造の新規構築方法の確立と FVG の初の全合成を目指して研究に着手した。 【方法・結果】 背景でも述べたように、FVG を合成するうえでの最大の課題は、ホルミルアミノオキシビニル構造を如何にして構築するかである。我々は、L-デヒドロメチオニンに対する、水銀(II)トリフラートとヒドロキサム酸を用いたオキシマーキュレーション-逆チオマーキュレーションを鍵反応として、ホルミルアミノオキシビニル構造の構築を達成した。最後に保護基の脱保護を施すことにより、FVG を合成し、重水溶液中でその構造を確認することができた。現在は、重水からの FVG の単離と精製を試みている段階である。 今後は、この度得られた知見をもとに、より強力な活性を持つ FVG 誘導体の合成を行いたいと考えている。	

P-47	グラウンドカバープランツからの生物活性物質の探索 ○富田 雅紀 ¹ , 繁森 英幸 ² , 山田 小須弥 ² (¹ 筑波大院・生命環境, ² 筑波大・生命環境系)
【背景・目的】強い繁殖力を持ち、地表面を覆うように生育するグラウンドカバープランツは近年、畦畔法面の雑草管理や土壌流出防止の目的で導入が進められている。その強い繁殖力に周りの環境中に放出される他感物質が関与している可能性が示唆されているが、具体的な化合物の同定は一部の植物種を除いて未解明のままである。本研究はグラウンドカバープランツから放出される生物活性物質に着目し、特に他の植物に対して成長促進や抑制活性を示す他感物質、ならびに土壌中の菌のフロラを変化させる物質の単離・構造決定を行うことを目的とした。 【方法・結果】フッキソウ、イブキジャコウソウ、ヒメイワダレソウ、キチジョウソウの4種のグラウンドカバープランツの有機溶媒抽出物について、レタス種子を用いた植物成長制御活性試験に供し、成長促進および抑制活性を評価した。さらに抗菌活性試験(ペーパーディスク法)により抗菌性についても検討した。これらの活性スクリーニングを行った結果、ヒメイワダレソウに顕著な植物成長抑制活性が認められた。一方、抗菌活性はいずれの植物にも確認されなかった。ヒメイワダレソウの Acetone 抽出物から成長抑制活性を指標に逆相のカラムクロマトグラフィーを用いて分画し、さらに逆相 HPLC を用いて精製した。植物成長抑制活性を示した画分から ¹H NMR, ¹³C NMR, 2D NMR スペクトル, ESI-MS により Cornoside, Arenarioside および Acteoside の3種の化合物を単離・同定した。Cornoside について、ヒメイワダレソウからの報告は今回が初めてであった。	

P-48	(+)-Salinipostin A の合成研究 ○藤岡 孝亘、森 直紀、渡邊 秀典 (東大院・農生科)
(+)-Salinipostin A は海洋放線菌である <i>Salinispora</i> sp. から単離・構造決定された¹⁾、5員環ラクトンと7員環リン酸エステルの縮環構造を有する化合物である。生理活性としてマラリア原虫である <i>Plasmodium falciparum</i> に対する細胞毒性、すなわち抗マラリア活性を有する。我々は日本農芸化学会 2017 年度大会において本化合物のラセミ体合成を報告した。本大会では本化合物の不斉合成への取り組みを報告する。 2017 年度大会にて報告した際に我々は、金属カルベン錯体を經由したシクロプロパン化反応においてキラルな配位子を用いることで立体化学を制御する試みを述べた。実際に様々なキラル配位子を検討したが、結果として鏡像体過剰率は最高でも 49%ee に留まった。そこで我々は、二重結合へのカルベン付加反応ではなく、有機分子触媒を用いたシクロプロパン化反応によって立体化学を制御することとした。すなわち、マイケル付加反応と分子内 S_N2 置換反応によってシクロプロパン環を構築する際に、有機分子触媒の軌道相互作用と立体障害を利用するというものである。その結果、鍵中間体を単一のエナンチオマーにて合成することに成功した。目的化合物である(+)-Salinipostin A の鏡像体過剰率は未決定であるが、比旋光度の符号は天然物と一致した。 1) Christopher J. Schulze, Gabriel Navarro, Daniel Ebert, Joseph DeRisi, and Roger G. Linington <i>J. Org. Chem.</i>, 2015, 80, 1312-1320	

P-49	11β-HSD1 阻害活性を有する Conosilane A の全合成 ○岡村 仁則, 森 直紀, 渡邊 秀典 (東大院・農生科)
Conosilane A は、オキナタケ科のキノコ的一种である <i>Conocybe siliginea</i> の培養液より 2012 年に単離されたセスキテルペンである¹⁾。本化合物は 11β-HSD1 という、生活習慣病型疾患の関連因子であると示唆されている酵素に対し中程度の阻害活性を有している。今回、本化合物のラセミ体全合成を達成したので報告する。 ジメドン及び 3-フルアルデヒドを出発原料として、種々の変換の後に両ユニットをクロスアルドール反応によってカップリングし、α-ヒドロキシエステルへと導いた。その後、フラン環の酸化と続くアセタール交換により鍵反応である分子内環化反応の前駆体へと導いた。分子内環化の条件検討の結果、ビス(1,5-シクロオクタジエン)ニッケル(0)を用いた還元的 Heck 反応条件下で最も収率良く所望の環化体を得ることが出来た。また、このとき反応点近傍の置換基の立体化学が望む環化の反応性に影響を与えることが判明した。 得られた環化体から 3 工程の変換を経て Conosilane A のラセミ体全合成を達成した。 1) Xiao-Yan Yang, Tao Feng, Zheng-Hui Li, Yu Sheng, Xia Yin, Ying Leng, and Ji-Kai Liu, <i>Org. Lett.</i> 2012, <i>14</i>, 5382	

P-50	抗菌・抗腫瘍活性を有する Pseudolaric acid B の合成研究 ○赤松 禎久, 間瀬 千晶, 森 直紀, 渡邊 秀典 (東大院農生科)
【目的】 Pseudolaric acid B はマツ科の植物である <i>Pseudolarix kaempferi</i> Gordon の根皮より単離されたジテルペンであり、抗菌・抗腫瘍活性を有していることから抗ガン剤のリード化合物として期待されている。また本化合物は天然には珍しい 5 員環と 7 員環のトランス縮環構造、架橋ラクトン構造、さらに四級炭素を含む 4 つの連続不斉炭素を有しており、有機合成化学的にも興味深い。以上の背景から筆者らは pseudolaric acid B の効率的な合成経路の確立を目的として合成研究に着手した。 【方法・結果】 本合成における重要課題である 5 員環と 7 員環のトランス縮環構造の構築は Dieckmann 縮合を用いて行おうと考えた。まずシクロペンタノンとホルムアルデヒドとの不斉アルドール反応、立体選択的な Claisen 転位とセレノラクトン化により 5 員環上の 3 つの連続不斉炭素の導入に成功した。また鍵反応である Dieckmann 縮合による 7 員環形成は強塩基条件下では進行しなかったが、TiCl₄ と Et₃N を用いると反応が進行することを見出した。得られた化合物はヘミアセタールを形成していたため、現在はヘミアセタールの開環を試みている。さらに 7 員環を開環メタセシスにより構築するルートの検討も行っている。	

P-51	小胞体グルコシダーゼ II 阻害活性と抗ウイルス活性を有するカルボリン誘導体の立体異性体に着目した構造展開 ○恩田 桃子¹, 東田 彩花², 氏家 誠³, 袴田 航^{1,2}, 平野 貴子^{1,2}, 西尾 俊幸^{1,2} (¹日大院・生資科, ²日大生資科・生命化, ³日獣大・獣医)
【目的】ウイルスの感染にはウイルス表面の N-結合型糖鎖が宿主細胞侵入に重要な役割を果たしておりその修飾過程を阻害するとウイルスが未成熟な糖鎖をもつため、その感染力が大幅に低下する。そこで、この N-結合型糖鎖修飾に関与し、抗ウイルス剤の標的酵素として報告例が多いグルコシダーゼ II (GII) を標的酵素とした。これまでに我々は、天然化合物ライブラリーから GII 阻害剤を探索し、カルボリン母核を有する一連の化合物が GII 阻害と抗ウイルス活性を有していることを見出した。そのなかで、2つの不斉中心を有する（4つの立体異性体を有する）カルボリンのメチルエステル誘導体に最も高い抗ウイルス活性が認められた。そこで、4つの立体異性体のうちどの異性体が最も抗ウイルス活性が高いのか明らかにし、かつメチルエステルの重要性を明らかにすることを本研究の目的とした。 【方法・結果】目的の4つの立体異性体を合成するために、L- および D-トリプトファンメチルエステルとアニスアルデヒドを出発原料とし、反応条件の異なる Pictet-Spengler 反応により閉環反応を行い、syn 体と anti 体のカルボリン誘導体（全ての立体異性体）を得た。次に、メチルエステルの重要性を明らかにするために、メチルエステルを加熱・加圧下、1段階でメチルアミドに変換し、4つの異なる立体配置を持つ、新規カルボリン誘導体を合成した。これら誘導体の立体構造・エステルの重要性を中心に細胞毒性・GII 阻害活性を評価した結果、立体構造の違いによる活性への大きな影響とメチルエステルによるプロドラッグ効果が明らかとなった。現在、これら誘導体の抗ウイルス活性の評価を行なっている。	

P-52	子囊菌 <i>Poculum pseudosydowianum</i> からの新規生物活性物質の探索と構造決定 ○川島 大輝¹, 細矢 剛², 供田 洋³, 繁森 英幸⁴ (¹筑波大院・生命環境, ²国立科博・植物研, ³北里大院・薬, ⁴筑波大・生命環境)
【目的】真菌類からは抗生物質のペニシリンを始めとする多くの新規生物活性物質が発見され、様々な病気の治療薬として利用されてきた。本研究では真菌類に含まれるもののうち子囊菌類を探索源とする。なかでも非土壌生でかつ小型の子実体を形成する子囊菌類は採集が困難であるものが多く、生物活性物質の探索源として使用される機会が少なかった。そこで本研究では、このような非土壌生の子囊菌類から新規生物活性物質を探索することを目的とした。 【方法・結果】20種の子囊菌類を振盪培養し、有機溶媒を用いて抽出した。各菌株の抽出物に対してペーパーディスク法を用いた抗菌活性試験を行い、抗菌活性を示した <i>Poculum pseudosydowianum</i> を選別した。液体培地で7日間振盪培養した後、吸引ろ過および遠心分離により菌体部とろ液部に分離した。菌体部を有機溶媒で抽出し、菌体抽出物とろ液部を各種溶媒による液々分配により分配した。抗菌活性を指標に活性の認められた可溶部をシリカゲルカラムクロマトグラフィーや分取シリカゲル TLC を用いて分離・精製し、活性物質を単離した。NMR, MS などの機器分析により得られた活性物質の構造解析を行った。その結果、ベンズアルデヒド構造を持つ Sydowianumol A および C、ならびにピラン環を持つ Sydowianumol B の3種類の新規化合物であることが明らかとなり、菌の学名に因み命名した。種々の被験菌に対する抗菌活性試験の結果、Sydowianumol A および B は、MRSA に対して顕著な抗菌活性 (MIC₉₀ 12.5 and 6.25 µg/mL) を示した。	

P-53	カイワレダイコン由来シナピン酸誘導体の生物活性 ○石田 貴也 ¹ , 長谷部 明喜 ¹ , 趙 幸運 ¹ , 繁森 英幸 ² (¹ 筑波大院・生命環境, ² 筑波大・生命環境)
【目的】近年、日本人の死因の約 3 分の 2 が生活習慣病と言われており、生活習慣病予防に関する研究が盛んに行われている。そこで、身近な食から予防ができないかと考え、市販で手軽に入手できる等の利点を踏まえ、野菜スプラウトに着目した。そこで本研究では、代表的な野菜スプラウトであるカイワレダイコンを材料とし、単離したシナピン酸誘導体について生物活性試験を行い、生活習慣病予防におけるカイワレダイコンの有効活用を目的とした。 【方法・結果】市販のカイワレダイコンをメタノールで抽出し、有機溶媒を用いて分配を行い、4 つの可溶部を得た。これらの可溶部について、カラムクロマトグラフィー等を用いてシナピン酸誘導体の分離・精製を行い、NMR スペクトルおよび ESI-MS で構造を帰属した。さらに、得られた 4 種のシナピン酸誘導体 1-4 ならびに部分構造である Sinapic acid を用いて、4 種の生物活性試験[DPPH ラジカル消去活性、α-グルコシダーゼ阻害活性、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性および SOD 活性試験]に供した。その結果、DPPH ラジカル消去活性と ACE 阻害活性においては、シナポイル基の数が活性に関与していること示唆された。一方で、α-グルコシダーゼ阻害活性においては、すべての化合物で一定の活性を示したが、SOD 活性においては 1-Sinapoyl-β-D-glucopyranoside (2)が最も強い活性を示した。 以上より、シナピン酸誘導体を豊富に有するカイワレダイコンは、生活習慣病予防に貢献できる有用な植物材料となり得る可能性が示唆された。	

P-54	アクチンの FD-891 結合部位検討 ○吉田 香里 ¹ , 吉田 英輝 ¹ , 江口 正 ² , 工藤 史貴 ² , 臼井 健郎 ¹ (¹ 筑波大・生命環境, ² 東工大院理工・物質科学)
【目的】 FD-891 は放線菌から単離構造決定された 16 員環マクロライドであり、¹⁾細胞周期を G2/M 期で停止させアポトーシスを誘導することが明らかとなっている。²⁾我々は FD-891 の細胞周期阻害機構を解析し、これまでに本物質が細胞内に一つの大きなアクチン凝集体を形成すること、アクチンと直接共有結合し、F-アクチンを安定化させることなどを報告してきた。しかしながら、アクチン上の FD-891 結合部位は不明のままである。そこで本研究では、FD-891 の共有結合部位同定を目的として研究を行った。 【方法・結果】 FD-891 は構造中にエポキシドと不飽和カルボニルを有することから、アクチン表面上の共有結合性アミノ酸残基である Lys または Cys と共有結合すると考えられる。そこで、アクチン表面上に存在するこれらのアミノ酸残基 (K50, K61, K84, K113, K118, K191, K284, C285, K291, K326, K359, K373) を非共有結合性アミノ酸 (Arg, Ser) に置換した変異アクチンのみを発現する出芽酵母を作製し、DNase I カラムを用いて変異アクチンを精製した。精製した変異アクチンはすべて重合活性を有していたため、ビオチン化 FD-891 の結合検討を行うことで共有結合部位の同定を試みた。また、FD-891 とその生合成類縁体を用いて細胞増殖やアクチン凝集体形成に対する作用の検討を行っており、まとめて報告する予定である。 1) <i>J. Antibiot.</i>, 47, 1226 & 1234 (1994) 2) <i>J. Antibiot.</i>, 62, 507 (2009)	

P-55	薬剤共処理による γ- チューブリン特異的阻害剤 gatastatin の細胞毒性増強 ○恵比須 春菜¹, 早川 一郎², 木越 英夫³, 臼井 健郎¹ (¹筑波大・生命環境, ²岡山大・自然科学, ³筑波大・数理物質)
【目的】微小管阻害剤は、無秩序に増殖を繰り返すがん細胞の細胞周期を分裂期で停止させ、細胞死を誘導することから抗がん剤として用いられている。しかしながら、既存の多くの微小管作用薬は間期の微小管に対しても作用するため、時として副作用を引き起こす。このため副作用の少ない分裂期特異的阻害剤が求められている。我々は、微小管核形成時に足場として働く γ- チューブリンの特異的阻害剤 gatastatin が、間期細胞の微小管骨格に対し形態的影響を示さずに分裂期紡錘体形成を阻害することを見出した¹⁾。この結果より、本化合物は副作用の少ない分裂期特異的作用薬となる可能性が期待される。しかしながら、本化合物の細胞毒性は既存の阻害剤と比べ、低いという問題がある。そこで本研究では、gatastatin の細胞毒性を相乗的に増強する阻害剤の探索を試みた。 【方法・結果】Gatastatin との共処理により、相乗的に強い細胞毒性を示す薬剤の探索を行ったところ、Cdk1/2 阻害剤 Cdk1/2 inhibitor III および GSK3β 阻害剤 TWS119 を見出した。Cdk1/2 inhibitor III と gatastatin の共処理は中心体構造の異常を引き起こし、その後 MCL-1 減少や PARP の断片化を伴うアポトーシスを誘導した。一方、TWS119 は 24 時間後に星状体微小管が異常に長い異常な細胞を誘導したものの、アポトーシスは誘導せず、48 時間後ようやくアポトーシス誘導が見られた。現在、さらに詳細な作用機序解析を行っており、合わせて報告する予定である。 1) Chinen T, <i>et al.</i>, <i>Nat. Commun.</i>, 6, 8722 (2015)	

P-56	4 級不斉炭素原子を有する芳香族ビスボラン類の合成研究 ○白川 和泉¹, 矢島 新², 勝田 亮², 額田 恭郎² (¹東農大院・農, ²東農大・生命)
【背景・目的】天然からは 4 級不斉炭素原子を有する芳香族ビスボラン類が数多く見出されており、その多くは興味深い生物活性を有する。よって、これらの光学活性体の合成法の開発は基礎・応用研究において重要な意義を持つ。本研究で注目した 1,3,5-bisabolatrien-7-ol は北インドのウコン科の植物 <i>Curcuma amada</i> より単離された芳香族ビスボラン型セスキテルペンであり、7 位に 4 級不斉炭素原子を有している。よって筆者らは、これらの芳香族ビスボラン類の合成に広く応用可能な合成経路の確立を目的とし、1,3,5-bisabolatrien-7-ol の全合成研究を行うこととした。また、1,3,5-bisabolatrien-7-ol は <i>C. amada</i> の微量香気成分であると考えられることから、大量合成により香気特性と立体化学の相関を解明することも研究の目的とした。 【結果】4'-メチルアセトフェノンを出発原料とし、高立体選択的な Sharpless 不斉ジヒドロキシ化により 4 級不斉炭素を構築することに成功した。この際得られた光学活性体の鏡像体純度は $er > 99:1$ であった。続く β-ヒドロキシスルホンの Smiles 転位によるオレフィン化の後、Grubbs 第 2 世代触媒を用いた交差メタセシスによって主鎖を伸長し、最後に接触水素化により全 8 工程にて、1,3,5-bisabolatrien-7-ol の光学活性体の全合成を達成した。今後は合成品の香気特性評価を行う予定である。	

P-57	ヒト血清アルブミン金ナノロッド複合体の集合様式制御 ○望月ちひろ, 新森英之 (山梨大院・生命環境)
原子レベルで見ると不揃いなナノ粒子の秩序立った集合化は、生物の器官の成り立ちを彷彿させるものがある。近年では、このようなナノメートルオーダーの微粒子が規則的に集合させることが可能であることが明らかとなり、注目を集めている。我々は、微粒子として棒状金ナノ粒子である金ナノロッドを用いた。金ナノロッド溶液は異方性形状に由来する特異な光学吸収特性を可視-近赤外領域に有していることで知られており、生体系での光線力学への応用も期待されている。これらの金ナノロッドとヒト血漿中の主要タンパク質であるヒト血清アルブミン（HSA）との相互作用は大変興味深い。我々はこれまで金ナノロッドと HSA の相互作用による高次な自己集積体について研究している。今回は、この自己集積化の条件を詳細に調整することで自己集積化の高次構造を緻密に制御することを目的とした。溶媒条件を変化させることで、円二色性スペクトルのコットン効果の反転に成功した。また、pH を変化させることで金ナノロッドの配向パターンを、長軸同士を重なり合わせた side-by-side 型から短軸同士を突き合わせた end-to-end 型へと変換できることを証明した。このような外部環境に応答した高次な集合体の構造変化は、バイオセンサー、イメージングへの応用において今後さらなる注目を集めることが期待される。	

P-58	JBIR-81 の合成による立体化学の決定 ○勝田 亮¹, 豊田 麻実², 矢島 新¹, 石神 健¹, 額田 恭郎¹ (¹東農大・生命,²東農大院・農)
<i>Aspergillus</i> 属菌は C 末端にデヒドロトリプタミン(DHTrp)を有する特徴的なトリペプチド誘導体を産生することが知られている。新家らは褐藻由来の <i>Aspergillus</i> 属菌から抗酸化作用を示す JBIR-81 およびブレニル化体 JBIR-82 を単離した。JBIR-81 は構造上 Ac-Val-MeLeu-DHTrp からなる(Z)-エナミドであるが、N-メチルロイシンおよびバリン両残基の立体化学については未決定である。これを解決すべく演者らは、JBIR-81 の合成による立体化学の決定を試みた。なお合成に当たっては、既存の類縁化合物の合成では並立し得なかった①エナミド部分の幾何異性の制御、②アミノ酸上の立体化学の制御、③短工程での合成を兼ね備えたペプチドエナミド類の網羅的合成法の確率を志向した。このため、容易に異性化するエナミド構造は合成の終盤に構築する戦略とした。 N-メチル-L-ロイシンより二段階で調製したアミドと Fmoc-L-バリンを縮合剤によりジペプチドへと変換し、Fmoc 基を N 末端構成要素であるアセチル基へと交換した。本化合物のアミド窒素と(Z)-プロモビニルインドール保護体の銅(I)触媒によるカップリング反応を行った後、インドール部分を脱保護することにより、L 型アミノ酸由来の JBIR-81 の初の合成に成功した。また同様の手法によりエピマーを合成した。合成した立体異性体の各種スペクトルデータを天然物の値と比較したところ、天然物の立体化学はいずれも L 型アミノ酸に由来することが明らかとなった。また本研究で確立したペプチドエナミド合成法は 6 工程で総収率 43%であり、前述の 3 つの条件を達成した極めて効率的なものである。	

P-59	酵母を用いた negamycin 類縁体によるリードスルー活性の作用機構解析 濱田圭佑¹, ○内藤あかり², 兼崎 友³, 笠原浩司⁴, 林良雄¹, 臼井 健郎² (¹東薬大院, ²筑波大生命環境, ³東農大ゲノム解析センター, ⁴東農大応用生物科学)
【目的】遺伝病の原因の1つに、タンパク質コード領域上に終止コドンが生じるナンセンス変異がある。ナンセンス変異性の遺伝病を治療する方法の一つに、生じた終止コドンを翻訳時に読み飛ばす(リードスルー)ことで、完全長のタンパク質を産生する試みがあり¹⁾, リードスルーを引き起こす薬剤(リードスルー薬)の開発が進められている。しかしながら通常細胞内で抑制されているリードスルーに関わる機構には不明な点が多い。そこでリードスルー薬の一つである negamycin の作用機構について、遺伝学的解析を行うことを目的に研究を行った。 【方法・結果】我々はこれまでに、遺伝学的解析能を維持した多剤超感受性酵母株(12geneΔHSR)^{2,3)} に <i>ade2-E79X</i> (<i>ochre</i>, <i>amber</i>, または <i>opal</i>) を導入する事で、リードスルー活性を定性的に評価可能な酵母株(YKH002)を構築してきた⁴⁾。今回, YKH002 を用いて negamycin 類縁体に耐性を示す変異酵母株を取得し, ゲノムシーケンスにより変異遺伝子の同定を行った。現在, いくつかの negamycin 耐性遺伝子について検討を行っており、合わせて発表する予定である。 1) Welch, E.M. <i>et al.</i>, <i>Nature</i>, 44787-91 (2007) 2) Chinen, T. <i>et al.</i>, <i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i> 75, 1588-1593 (2011) 3) 2013 年日本農芸化学学会大会 (講演番号: 2C21p15) 4) 2016 年日本農芸化学学会大会 (講演番号: 3B061)	

P-60	加齢に伴う栄養認識変化—腸内代謝産物認識受容体を介した宿主代謝制御— ○中谷 明穂, 木村 郁夫 (東京農工大院・農)
【目的】我が国をはじめ、世界的に超高齢化社会を迎えた現在、健康寿命の延伸が望まれ、長寿研究に対する関心は益々高まっている。以前より健全な食習慣と長寿との関係が示唆されていたが、それを結びつける要因の一つとして、腸内細菌が注目されている。我々の研究室では、主要な腸内細菌代謝産物である短鎖脂肪酸に着目し、その認識受容体改変マウスを用いた解析から、短鎖脂肪酸が宿主のエネルギー代謝に重要な役割を担っていることをこれまでに明らかにしてきた。そこで、本研究は、加齢に伴う栄養摂取を介した恒常性維持への代謝機能変化に、短鎖脂肪酸をはじめとした腸内代謝産物およびそれらの受容体が関与しているか否かを明らかにする事を目的とした。 【方法・結果】45 週齢の加齢マウスと 7 週齢の若齢マウスを用いて、各組織での各種脂肪酸受容体の発現比較を行った結果、それぞれが重要な機能を発揮する事が知られている組織において、加齢に伴いその発現が変化している傾向が見られた。さらに、短鎖脂肪酸産生源である難消化性多糖のイヌリンを加齢マウスに摂食させたと、コントロール群に比べて、腸管内短鎖脂肪酸量の増加と体重の減少傾向が見られた。以上の結果から、短鎖脂肪酸およびその受容体が、加齢に伴う宿主の代謝機能低下に重大な影響を与えている可能性が考えられ、加齢における食—短鎖脂肪酸—短鎖脂肪酸受容体のさらなる生理機能の解明は、健全な長寿社会の実現に繋がっていくと期待される。	

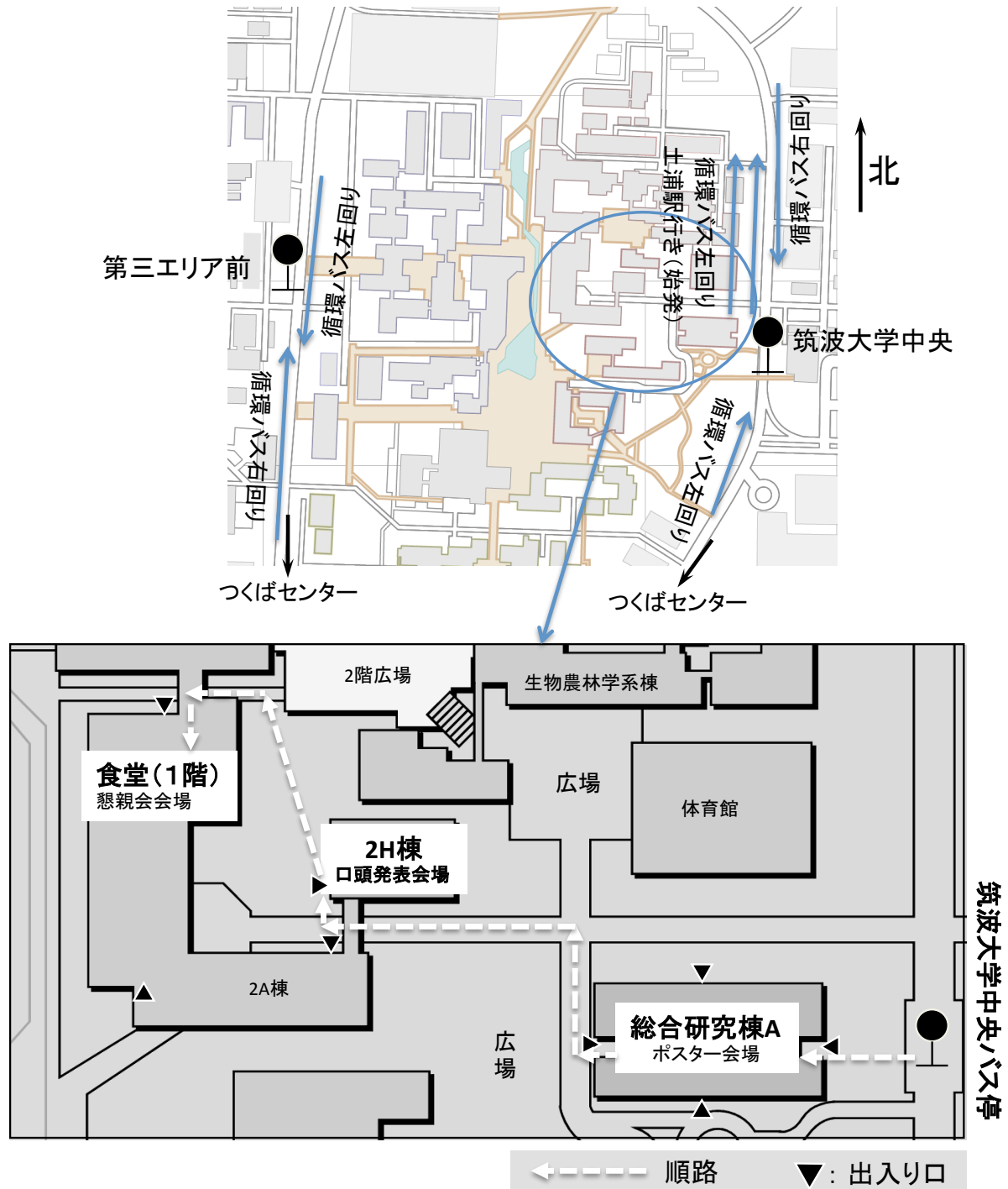
P-61	琥珀エタノール抽出物による糖の分解および吸収抑制効果 ○榮岩 春奈^{1,2}, 武田 令子^{1,2}, 山本 卓也^{1,2,3}, 五十嵐 則夫¹ (¹株式会社ヤマノビューティケミカル, ²琥珀バイオテクノロジー株式会社, ³筑波大・生命環境系)
【目的】 琥珀は、主にマツ属植物の樹脂が長期間地下に埋没し凝結してできた化石である。琥珀は古来より宝石として珍重されるだけでなく、医学的な効果があると言われており、中国では漢方としても利用されている。我々はこれまでに、琥珀エタノール抽出物が皮膚において様々な効果を示すことを報告している。本研究では、新たに琥珀の生活習慣病予防効果があるかどうかを検討するため、まずα-グルコシダーゼ活性及び小腸細胞におけるグルコース吸収に与える影響について調べたので報告する。 【方法・結果】 ロシア・バルト海沿岸産琥珀粉末から 50 %エタノールにより抽出物を得た。ヒト結腸癌由来細胞（以下、Caco-2 細胞）を本抽出物で 7 日間処理し、回収した細胞抽出液における生成グルコース量を、酵素法を用いて定量した。グルコース生成量を基にスクラーゼ活性およびマルターゼ活性をそれぞれ算出した結果、本抽出物の濃度依存的にスクラーゼおよびマルターゼの活性が抑制された。次に、本抽出物で処理した Caco-2 細胞におけるスクラーゼ・イソマルターゼ複合体（以下、SI）の mRNA 発現量とタンパク質発現量をそれぞれ RT-PCR 法と Western blot 法により測定した。その結果、本抽出物により SI mRNA および SI タンパク質の発現量が抑制された。さらに、Transwell 上で培養し、本抽出物で処理した Caco-2 細胞のグルコース透過量を酵素法により定量した。その結果、本抽出物は Caco-2 細胞におけるグルコース透過を阻害した。以上より、本抽出物は小腸における糖の分解と吸収を抑制することが示された。	

P-62	小胞体ストレスがインスリン分泌に与える影響：小胞体カルシウムを観る ○川久保 愛美¹, 長山 恵理子², 田中 光³, 田中 直子² (¹大妻女子大院・健康栄養, ²大妻女子大・食物, ³東邦大・薬)
【目的】 インスリンは、血糖（グルコース）を全身の細胞に取り込ませる働きをもち、この機能の破綻は糖尿病を引き起こさせる。小胞体はインスリンの合成・分泌に大きな役割を持つが、加齢や酸化ストレスによって機能にダメージを受けやすいことが知られている。（「小胞体ストレス」という。）本研究では、バイオイメージング法でインスリン分泌の観察や分泌に伴う Ca^{2+} の小胞体 - 細胞質間でのやり取りを観察することにより小胞体ストレスを評価し、その後、食環境等が小胞体ストレスの改善や進行に与える影響を調べるための評価系を構築することを目的とした。 【方法・結果】 ラット膵臓β細胞株 INS-1 に、小胞体移行性赤色蛍光タンパク質 R-CEPIA1er (Addgene) を遺伝子導入し、ミトコンドリアを染色する MitoTracker Green と共染色すると、蛍光が重ならなかった。これにより R-CEPIA1er の小胞体への局在を確認した。R-CEPIA1er 導入細胞にグルコース刺激を与え、40 分間の蛍光観察を行った。蛍光強度はグルコース刺激後に減少し、またオシレーションが観察され、インスリン分泌に際して小胞体から細胞質へと Ca^{2+} が動員されることと間を行き来していることがわかった。小胞体膜上の Ca^{2+} 取り込みを阻害し、小胞体 Ca^{2+} を枯渇させる Thapsigargin (Tg) で刺激した場合にも蛍光強度の減少およびオシレーションが観察された。よって、高濃度に Ca^{2+} を貯蔵する小胞体の中の少しの Ca^{2+} の行き来を捉えられるとわかった。また、R-CEPIA1er と Fluo-4 の共染色による蛍光観察で、グルコース刺激後の小胞体 Ca^{2+} と細胞質 Ca^{2+} を同時に観ることもできた。	

P-63	Ⅱ型膜貫通タンパク質の細胞内局在性とその要因に関する考察 ○亀卦川 樹, 向井 有理 (明治大院理工・電気)
【目的】Ⅱ型膜貫通タンパク質は小胞体膜やゴルジ膜、細胞膜などに広範囲に存在し、酵素や受容体として生命活動に重要な役割を果たしている。しかしながら、それぞれのタンパク質がどのような要因で最終目的地まで局在化するかということについては、その一端しか明らかにされていない。本研究では、小胞体膜局在、ゴルジ膜局在、細胞膜局在型のⅡ型タンパク質が、細胞内局在化の過程において経由するいくつかのオルガネラ間を、どのような要因によって移行するかということをも明らかにすることを目的としている。 【方法・結果】本研究ではまず、小胞体膜・ゴルジ膜・細胞膜局在のタンパク質配列データセットから、膜貫通領域周辺の配列を抽出し、アミノ酸出現傾向の解析や細胞内局在性の判別を行った。その結果、局在する膜ごとにアミノ酸出現傾向に明確な特徴が見られ、高精度で判別が可能であった。また、小胞体膜・ゴルジ膜・細胞膜局在のタンパク質から各々のモデルタンパク質を選択し、膜貫通領域周辺を GFP と融合させたタンパク質を HeLa 細胞内でそれぞれ発現させ、細胞内局在性を調査した。その結果、小胞体膜とゴルジ膜への局在化には膜貫通領域が本質的であった。	

P-64	生ゴミメタン発酵処理液のニンジン露地栽培での施肥効果について 小島岳 ¹ , 細井早苗 ² , 〇田中佑季 ¹ , 小林由衣乃 ¹ , 関根唯 ¹ , 竹園恵 ¹ , 小野寺正幸 ¹ (¹ 新工大工, ² 細井農園)
【目的】大学の学生食堂から廃棄されている生ゴミの 55℃メタン発酵処理液(液体肥料)をニンジン露地栽培での活用について検討している。昨年の関東支部大会において追肥での施肥効果について検討し、その有効性について報告した。¹⁾今回は、元肥と追肥ともに液体肥料としニンジンの露地栽培での施肥効果について検討した。 【方法・結果】学生食堂からの生ゴミを同重量の水を添加して市販のミキサーで破碎したものを 100L 容メタン発酵槽(液量としては 80L)で 55℃メタン発酵を行った。その発酵処理液を貯留し、液体肥料とした。ニンジンとしては、エマ、クリスティーン、カトリーヌの 3 品種を用い、8/21 に播種し、12/14 に収穫した。化成肥料の施肥方法は、従来通り、8/21 に元肥 (N 量 264g/列)、9/23 に 1 回目の追肥 (N 量 36g/列)、10/20 に 2 回目の追肥 (N 量 36g/列) を行った。液体肥料の施肥方法は、元肥 (N 量 264g/列) として 9/10 ~10/17 に 26 回施肥し、追肥 (N 量 72g/列) として 10/17~10/29 に 6 回施肥した。3 品種の収穫後の可食部の生育量として長さ・重さを測定した。3 品種の生育量の平均値の比較をしたところ、液体肥料のみで栽培したニンジンの可食部の生育量は、化成肥料で栽培したものとはほぼ同等かむしろ良好であった。これらのことから、液体肥料での施肥方法としては、1 回の施肥量を少なくし、施肥回数を増やすことが有効であることが明らかとなった。 1) 大久保、細井、小島、蔵部、池亀、竹園、小野寺、日農化 2016 年度関東支部大会講演要旨集、P-07.	

会場マップ



交通(帰り)

「筑波大学中央」で乗車し
「つくばセンター(TXつくば駅)」で下車

循環右回りと土浦駅行きは約15分、
循環左回りは約20分かかります。

バス時刻表 (筑波大学中央 土日祝)

	16時	17時	18時	19時	20時
右回り	17, 57	37	17, 57	37	16
左回り	32	12, 15	32	12, 15	32
土浦駅	10, 30, 50	10, 45	20, 50	40	20



日本農芸化学会関東支部2017年度支部大会 講演要旨集
2017年9月2日 発行
発行者 公益社団法人 日本農芸化学会 関東支部

連絡先

〒113-8657

東京都文京区弥生1-1-1

東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命化学専攻
浅見 忠男