



日本農芸化学会 関東支部 2018年度 第1回 支部例会

講演要旨集

2018年 6月23日(土)

日本大学生物資源科学部

主催 公益社団法人 日本農芸化学会 関東支部

日本農芸化学会 関東支部 2018年度 第1回 支部例会

プログラム

<受賞講演>

13:00 開会

13:05 2018年度日本農芸化学会功績賞
がん細胞の特性を標的とする阻害剤の化学生物学的研究
井本 正哉 (慶応義塾大 理工学部)

13:45 2018年度農芸化学女性企業研究者賞
血管成熟化促進作用を持つ新規天然物vestaineの同定
石本 容子 (第一三共株式会社)

14:15-14:35 休憩

14:35 2018年度農芸化学技術賞
ホップ品質の多角的な解析とその応用
蛸井 潔 (サッポロビール株式会社)

15:05 2018年度農芸化学若手女性研究者賞
味覚受容体の新しい機能解析技術の開発と味覚受容の分子機構の解明
戸田 安香 (明治大学 農学部)

15:35 2018年度農芸化学女性企業研究者賞
タンパク質工学を利用した産業用酵素の開発
松井 知子 (ノボザイムズジャパン)

16:10 閉会

<懇親会>

16:30 懇親会 食堂棟2階 (※事前振込制、当日参加の枠はありません)



慶應義塾大学理工学部 井本 正 哉

がん細胞の特性を標的とする阻害剤の化学生物学的研究

はじめに

20世紀後半にがん遺伝子が相次いで同定され、がん遺伝子およびその関連分子による細胞応答の制御異常によってがんが悪性化していくことが示された。その後、がん遺伝子やそれに関連するがんの悪性化に関わる細胞応答機構、すなわち「がん細胞の特性」の研究が展開されるようになった。

一方、農芸化学分野では伝統的に生理活性物質の単離・構造解析研究が活発になされており、またそれら生理活性物質の作用機構解析を通じて生物応答機構を分子レベルで解析する研究がなされてきた。そのような背景のもとで筆者は農芸化学的手法で「がん細胞の特性」研究に挑み、それを標的とした化合物を主に微生物培養液から探索し、がん悪性化の細胞応答機構の解析研究を行ってきた。ここでは研究成果の概要を述べる。

1. がん細胞の特性を標的とした天然物スクリーニング

1-1. がん遺伝子を標的としたスクリーニング

多くのがん遺伝子がチロシンキナーゼ活性を有していることから、チロシンキナーゼの阻害剤は新たながん治療薬になることが期待された。筆者は世界に先駆けて上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) チロシンキナーゼ阻害剤の探索研究をおこない、1986年に放線菌 MH435-hF3 株から新規物質 アーブスタチンを発見した¹⁾。アーブスタチンは世界で最初に報告された天然由来チロシンキナーゼ阻害物質であり、様々なチロシンキナーゼに有効なスペクトルの広い阻害剤であった。その後、アーブスタチンをモデルに世界中で特定のチロシンキナーゼに対する阻害剤が開発され、2000年代になってグリバックやイレッサなどのチロシンキナーゼ阻害剤が臨床応用され多くの患者を救済している。さらに筆者らはイノシトールリン脂質代謝回転、チロシンホスファターゼ、ゲラニルゲラニル基合成酵素などの「がん細胞の特性」を標的とした阻害剤の探索研究を展開し、多様な作用を有する 10 数個の新規化合物を発見した。

1-2. 去勢抵抗性前立腺癌を標的としたスクリーニング

前立腺癌は男性ホルモンであるアンドロゲンがアンドロゲン受容体 (AR) に結合し、これら複合体が核内に移行して転写因子として機能することで悪性化する。エンザルタミドは第2世代の AR アンタゴニストとして、去勢抵抗性前立腺癌に有効性を発揮している。しかし、AR のミスセンス変異 (F876L) によってエンザルタミドに耐性を示す前立腺癌細胞が出現し、これを克服する治療薬開発が求められている。そこで、このエンザルタミド耐性を克服する化合物の探索を行った。その結果、富山県大の五十嵐康弘教授との共同研究で放線菌 BB47 株より新規 22 員環マクロライドであるアンタルライド A-F を発見し、NMR スペクトル解析や各種化学変換反応を駆使することでその平面構造及び絶対立体構造を決定した²⁾。その後、同放線菌から 20 員環マクロライド構造を有するアンタルライドファミリーのアンタルライド G および H を発見した。通常、

放線菌が生産するマクロライド環の形成部位はポリケタイド合成酵素により厳密に制御されている。したがって、放線菌 BB47 株のポリケタイド合成酵素では基質認識のゆらぎが生じている可能性が示唆された。

2. 探索から細胞応答機構解析へ

2-1. がん細胞の遊走を阻害する物質の探索

細胞遊走は、胚の形態形成、組織の再生・治療、白血球による免疫監視などでみられ、生体にとって不可欠な現象である。さらにはがん転移におけるがん細胞の浸潤など、さまざまな病理的現象にも深く関わっている。そこで遊走阻害をする化合物を微生物二次代謝産物より探索し、カビの一株が生産する新規化合物モベラスチン A を発見した³⁾。その作用解析の結果、モベラスチン A がファルネシルトランスフェラーゼ (FTase) を標的とし、その下流での H-Ras/PI3K/Akt 経路を阻害することで遊走阻害することを明らかにした³⁾。

2-2. 阻害剤を用いたがん細胞遊走阻害機構解析

その後、東大の渡邊秀典教授らによって合成されたモベラスチン A の誘導体 UTKO1 はモベラスチン A よりも強く遊走を阻害したが FTase を阻害しなかった。そこで UTKO1 のがん細胞遊走阻害機構を解析した。まず、UTKO1 ビオチン標識体を用いてその結合タンパク質として 14-3-3ζ を同定した。さらに、遊走に関わる Rac1 は 14-3-3ζ が Tiam1 と結合することで活性化されるが、UTKO1 は 14-3-3ζ に結合することで 14-3-3ζ と Tiam1 の結合を阻害し、その結果、Rac1 の活性化→遊走が阻害されることを明らかにした⁴⁾。

では、Tiam1 の発現はどのように制御されているのか？ 5-リボキシゲナーゼ (5-LOX) 阻害剤 BU-4664 L が Tiam1 の発現を阻害することで遊走を阻害することを見出した。この BU-4664 L による遊走阻害と Tiam1 の発現阻害はロイコトリエン C₄ (LTC₄) の添加によって回復することから、LTC₄ が脂質メディエーターとして Tiam1 の発現を制御していることがわかった。さらに LTC₄ の受容体である CysLT1 の阻害剤であるモンテルカストも遊走阻害と Tiam1 の発現阻害を誘導したことから 5-LOX/LTC₄/CysLT1 シグナリングが Tiam1 の発現を

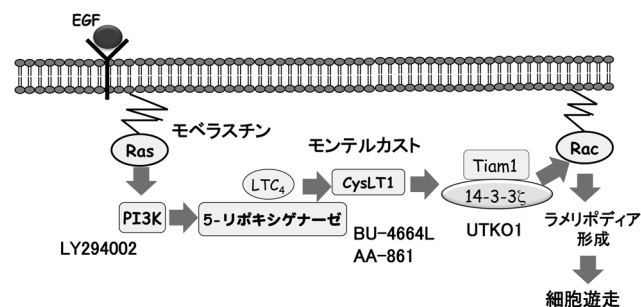


図1. 阻害剤を用いたがん細胞遊走機構解析

抑制⁵⁾、その結果Rac1の活性化が阻害され、遊走阻害が誘導されることを明らかにした(図1)。

2-3. がん細胞遊走機構の共通性と個別性解析

がん細胞の遊走制御機構は、由来組織や変異遺伝子の違いによって、「全てのがんに存在する普遍的な機構」と「特定のがんにのみ存在する多様性を担う機構」が存在すると考えられる。そこでがん細胞の遊走制御機構の普遍性および多様性を担う分子群を明らかにするため、34種類の低分子化合物の影響を10種類の遊走細胞において定量的に評価し、化合物の遊走阻害プロファイルに対して階層的クラスタリングを行った。クラスタリングの結果、JNK阻害剤は全ての細胞株の遊走を抑制したが、ROCK、GSK-3、p38の阻害剤等は一部の細胞株の遊走のみを抑制することを示した⁶⁾。

3. ビッグデータを利用した標的分子同定

3-1. メタボローム解析による標的分子同定

がん細胞のフィロポディア形成は遊走運動開始の発端にもなっていることから、筆者らはEGF刺激によるフィロポディア形成を阻害する物質を探索した。その結果、一放線菌培養液中にA431細胞のフィロポディア形成を阻害する物質が含まれていることがわかった。そこでフィロポディア形成阻害物質の単離・精製を行ったところ、グルコピエリシジンA(GPA)とピエリシジンA(PA)という2つの化合物を共処理することではじめてフィロポディア形成が阻害されることを見出した。

PAはミトコンドリア呼吸鎖複合体Iの阻害剤として報告されているが、GPAの標的タンパク質は不明であるためにGPAの標的分子同定を試みた。In houseケミカルライブラリーからGPAと似た作用をしめす化合物を探したところ、解糖系を阻害する2-デオキシグルコース(2DG)がヒットした。このことからGPAも解糖系の代謝を抑制している可能性が考えられ、慶應大・先端生命科学研究所・曾我朋義教授との共同研究により、GPAを処理した細胞内のメタボローム解析をおこなった。その結果、GPA処理した細胞ではピルビン酸と乳酸が減少していたことから、GPAは解糖系を阻害していることが示唆された。さらに、¹³C-グルコースを用いたメタボローム解析からGPAの標的分子がグルコーストランスポーターであることを明らかにした。これらのことから、PAとGPAを共処理することで細胞内ATP量が減少し、これによってアクチンモノマーの輸送が阻害されてF-アクチン重合が起こらなくなり、結果的にフィロポディア形成が阻害されたと考えられる⁷⁾。

3-2. 結合予測に基づく標的分子同定

多くのヒト腫瘍においてアポトーシス抑制タンパク質Bcl-2やBcl-xLの過剰発現が見られる。Bcl-2/Bcl-xLの過剰発現はがん化やがん悪性化に関与するだけでなく、既存の抗がん剤に対して抵抗性を示す。そこで、Bcl-2/Bcl-xL過剰発現ヒト腫瘍を用いて、Bcl-2/Bcl-xLの機能を阻害する物質を探索した。その結果、*Streptomyces* sp. 694-90F3株の培養液中に新規物質インセドニンを発見した。インセドニンの構造は各種NMRスペクトル解析、コンピュータモデリングにより平面及び相対立体構造を決定し、改良型Mosher法、X線構造解析によりその立体絶対配置を決定した⁸⁾。

次にインセドニンの標的分子同定を試みた。まずインセドニンのアフィニティービーズを合成し、インセドニンビーズに結合したタンパク質のLC-MS/MS解析から53種類のインセドニ

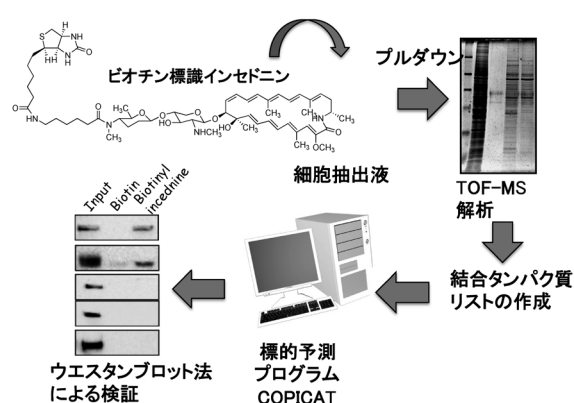


図2. COPICATによるインセドニン標的分子の同定の流れ

ン結合タンパク質を同定した。しかし、この53種類の候補たんぱく質からはインセドニン結合たんぱく質を見出すことはできなかった。そこで次に慶應大・理工・榊原康文教授が開発したCOPICATを用いて計算科学的にインセドニンの結合タンパク質を予測することを試みた。まず既に得られていた53種類のインセドニン結合タンパク質をSVM学習モデルで学習させ、24,245個のヒトのタンパク質の中から182個がインセドニン結合タンパク候補として得られた。さらにメタボローム解析の結果を用いて候補タンパクを絞り込み、それらのビオチン標識インセドニンとの結合を検証し、最終的にアセチルCoAカルボキシラーゼαがインセドニンの機能的標的分子であると示唆された⁹⁾(図2)。

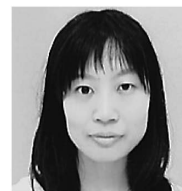
おわりに

創薬開発における天然化合物の重要性は共通に認識されながらも、その標的分子同定の困難さから近年は天然物スクリーニングが敬遠される傾向にある。しかし、天然物スクリーニングは農芸化学のお家芸の一つであり、また我が国の文化ともいえる。多彩な活性と多様な構造を有する天然化合物を探索する「宝さがし」と、天然化合物の標的分子同定を通じて作用機構の解明を目指す「謎解き」に挑む「天然物ケミカルバイオロジー」をこれからも展開していきたい。

(引用文献)

- 1) Umezawa H. *et al. J. Antibiot.*, 39, 170 (1986)
- 2) Saito S. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.*, 55, 2728 (2016)
- 3) Takemoto Y. *et al. Chem. Biol.*, 12, 1337 (2005)
- 4) Kobayashi H. *et al. J. Biol. Chem.*, 286, 39259 (2011)
- 5) Magi S. *et al. Cancer. Sci.*, 105, 290 (2014)
- 6) Magi S. *et al. Sci. Rep.*, 2, 823 (2012)
- 7) Kitagawa M. *et al. Chem. Biol.*, 17: 989 (2010)
- 8) Futamura Y. *et al. J. Am. Chem. Soc.*, 130, 1822 (2008)
- 9) Kobayashi H. *et al. BMC Chem. Biol.*, 12: 2 (2012)

謝辞 本研究の成果はご指導を賜りました財)微生物化学研究所・元所長の故梅澤濱夫先生、慶應義塾大学名誉教授の梅澤一夫先生をはじめとする財)微生物化学研究所や慶應義塾大学の諸先生、研究員、学生、卒業生、および多くの共同研究者のみなさまのご協力によって得られたものです。この誌面をお借りして厚く御礼申し上げます。最後に、本賞にご推薦いただいた山口大学名誉教授の畑中顯和先生、理研・環境資源科学研究センター副センター長・長田裕之先生、および選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。



血管成熟化促進作用を持つ新規天然物 vestaine の同定

第一三共株式会社 石本 容子

はじめに

血管は酸素と栄養を全身に供給し、また、老廃物を回収する重要な器官である。そのため、生体は血管新生という仕組みで新しい血管を誘導している。新生血管は、その後の成熟化と呼ばれる周細胞による被覆の過程を経ることで構造的に安定した血管となり、生体において機能を発揮している。

近年、血管成熟化の破綻が、糖尿病性網膜症や虚血後の脳梗塞の重症化、固形がんにおける抗癌剤の効果減弱など、様々な疾患の原因となることが示唆されてきている^{1)~3)}。上述罹患者では周細胞に被覆されていない脆弱な血管が観察されており、これが血管内容物の漏出や低酸素状態を引き起こす一因であると言える。

以上より、血管の成熟化を促進する薬剤は、これら病態の改善に有効な治療法であると考えられる。本稿では、血管成熟化促進剤の創製を目指しておこなった我々の取り組みについて紹介する⁴⁾。

1. 血管成熟化促進物質のスクリーニング

血管成熟化は、血管新生因子と抗血管新生因子のバランスや血管内皮細胞と周細胞の相互作用など、様々な要因で制御される複雑な過程である。ゆえに、その機構は十分には解明されおらず、効果的な薬剤も開発されていない。このような背景を打破すべく、血管成熟化促進物質の探索は、共培養系による phenotype screening にておこなうことにした。また、スクリーニングソースとしては、天然物ライブラリを選択し、低濃度で最初から *in vivo* で作用を示す化合物の取得を目指した。

ヒト線維芽細胞 (NHDF) をフィーダーとし、その上に緑色蛍光蛋白 (EGFP) でラベルしたヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を播種し、代表的な血管新生因子である血管内皮増殖因

子 (VEGF) および代表的な血管成熟化促進因子である angiopoietin-1 (Ang-1) 存在下で培養したところ、それぞれ特徴的な血管内皮細胞のネットワークが形成された (図1A, B)。そこで、Ang-1 による島状の phenotype に注目し、同様の形態を誘導する物質をイメージングアナライザーを用いて探索した。結果、*Streptomyces sp.* SANK 63697 株の抽出物に、島状の形態変化を誘導する活性を見出した (図1C)。

2. Vestaine の精製と構造決定⁵⁾

SANK 63697 株の培養液から、各種カラムクロマトグラフィーを経て、2つの活性物質 vestaine A₁ および B₁ を単離した。精製の過程で、vestaine A₁ および B₁ は、平衡関係にある2つの物質で構成されていることが分かった (図1D, E)。MS, NMR等を用いた構造解析の結果、vestaine類は、N-アセチルシステインと脂肪鎖から成る新規物質であること (図1F)、平衡関係にある2つの物質は、ケト-エノール互変異性を介したジアステレオマーであることが明らかとなった。また、vestaine A₁ と B₁ の違いは、脂肪鎖長であった。

合成的手法を用いた vestaine A₁ の構造活性相関からは、活性発現に脂肪鎖、ケトン、トリメチルアミンが必須であることが示唆された。

3. Vestaine の血管作用

3-1. VEGF との違い

Vestaine A₁ は、共培養系において EC₅₀ = 60 nM と強い活性を示し、その作用は VEGF に対して相加的であった (図2A)。

増殖期にある血管内皮細胞では ERK の活性化が優位に、成熟化し安定化している血管内皮細胞では Akt の活性化が優位となっている⁶⁾。Vestaine A₁ は ERK 及び Akt のリン酸化を誘導した。その誘導パターンは、Akt を強くリン酸化する一方

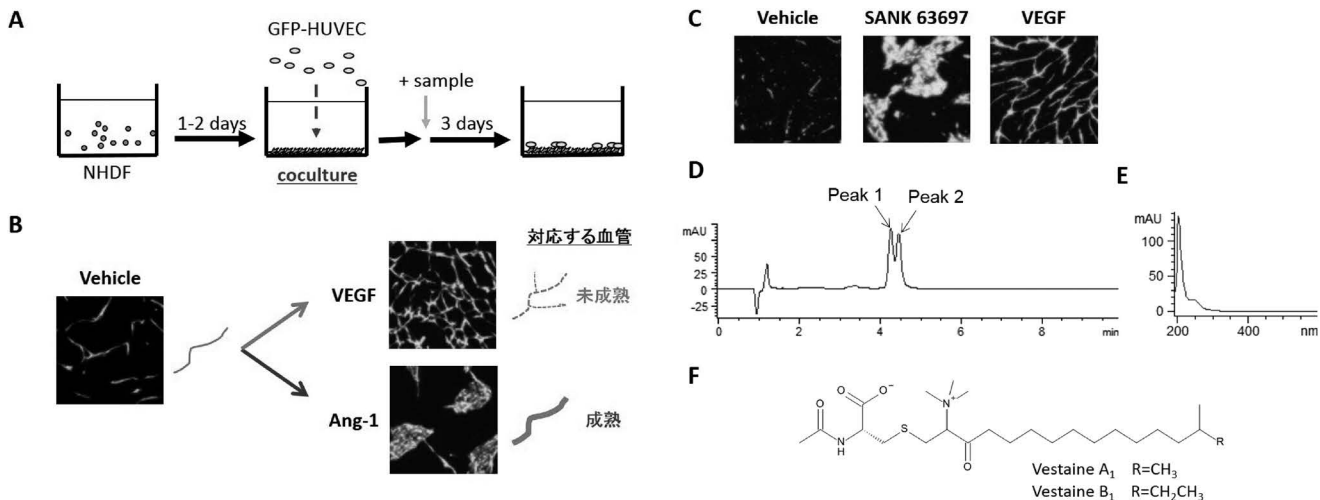


図1 共培養系と vestaine

A) 共培養系 B) 代表的な phenotype C) SANK 63697 の phenotype
D) vestaine A₁ の HPLC chart E) Peak1 の UV スペクトラム F) vestaine の構造

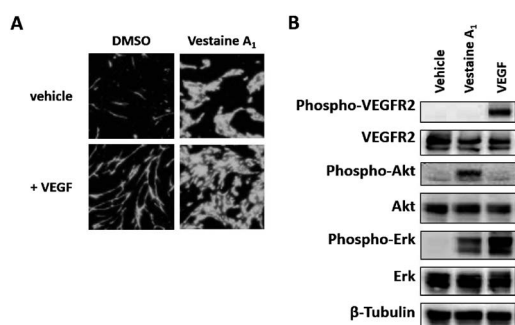


図2 Vestaine A₁の活性
A) VEGF存在下での形態変化
B) シグナル伝達経路に与える影響

ERKのリン酸化は弱く、VEGFとは異なるものであった。また、VEGFR2の活性化も誘導しなかった(図2B)。これらの結果から、Vestaine A₁はVEGF経路を介さずに、血管内皮細胞に作用することが確認された。

3-2. 血管新生作用

Vestaineの血管新生作用の有無を調べるために、代表的な血管新生活性評価系であるmatrigel tube formation assayと血管内皮細胞に対する生存改善試験をおこなった。Vestaine A₁はmatrigelの系にて強くtube形成を誘導した。また、血清飢餓による血管内皮細胞死を抑制したことから、血管新生作用を有することが示唆された。

3-3. 血管透過性抑制作用(血管成熟化促進作用)

血管成熟化の破綻が認められる病態においては、過剰なVEGF産生による血管透過性の亢進が問題となる。血管透過性に対する作用をHUVEC単層培養系における電気抵抗値にて評価したところ、Vestaine A₁は単独で電気抵抗値を上昇させた。更に、VEGF添加3時間後にvestaine A₁を添加したところ、vestaine A₁はVEGFによる電気抵抗値の低下を抑制することが示された(図3A)。続いて、Vestaine A₁が*in vivo*においても血管透過抑制作用を発揮するか、マウス耳血管におけるEvans blue dyeの漏出を指標に調べた。その結果、vestaine A₁の前投与により、VEGFによるEvans blue dyeの漏出は抑制された(図3B)。以上より、vestaine A₁は*in vitro*および*in vivo*いずれにおいても、VEGF誘導性の血管透過性の亢進を強力に抑制することが示唆された。

おわりに

天然物に対するphenotype screeningより、新規物質vestaineを同定した。Vestaineは、VEGF同様血管新生作用を有する一方、血管透過性制御においてはVEGFに対して阻害的に働くユニークな生理活性物質であることが示唆された。Vestaineの血管への活性は非常に強く、異常な血管新生に起因する病気の治療薬の候補化合物となり得る。加えて、血管透過性の制御を始めとする血管成熟化を解析するためのツール化

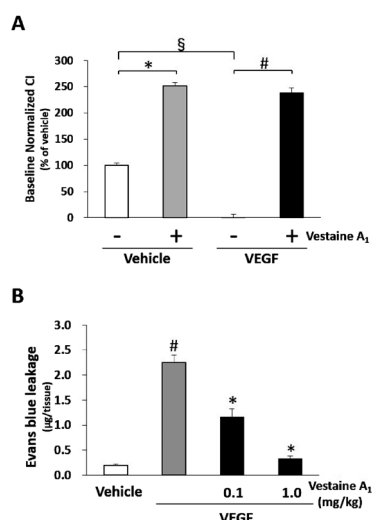


図3 Vestaineの血管透過性抑制作用(血管成熟化促進作用)
A) *in vitro* (血管内皮細胞電気抵抗値)
B) *in vivo* (マウス耳血管血管透過性)

化合物としても、有用と考えられる。

(引用文献)

- Hendrick AM, Gibson MV, Kulshreshtha A. Diabetic Retinopathy. *Prim Care*, 42, 451-464 (2015)
- Kawamura K, Takahashi T, Kanazawa M, Igarashi H, Nakada T, Nishizawa M, Shimohata T, Effects of angiopoietin-1 on hemorrhagic transformation and cerebral edema after tissue plasminogen activator treatment for ischemic stroke in rats. *PLoS ONE*, 9, e98639 (2014)
- Carmeliet P, Jain RK, Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 10, 417-427, (2011)
- Ishimoto Y, Hirota-Takahata Y, Kurosawa E, Chiba J, Iwadate Y, Onozawa Y, Hasegawa T, Tamura A, Tanaka M, Kobayashi H. A novel natural product-derived compound, vestaine A₁, exerts both pro-angiogenic and anti-permeability activity via a different pathway from VEGF. *Cell Physiol Biochem*, 39 (5), 1905-1918, (2016)
- Hirota-Takahara Y, Kurosawa E, Ishimoto Y, Iwadate Y, Kizuka M, Chiba J, hasegawa T, Tanaka M, Kobayashi H. Vestaines, novel vasoactive compounds, isolated from *Streptomyces sp.* SANK 63697. *J Antibiot.*, 70 (2), 179-186, (2017).
- Fukuhara S, Sako K, Minami T, Noda K, Kim HZ, Kodama T, Shibuya M, Takakura N, Koh GY, Mochizuki N. Differential function of Tie2 at cell-cell contacts and cell-substratum contacts regulated by angiopoietin-1. *Nat Cell Biol*, 10, 513-526 (2008)

謝辞 本研究は、第一三共株式会社および第一三共RDノバールにておこなわれたものです。実験を一緒におこなってくださったプロジェクトメンバーの皆様、終始ご指導を賜りました皆様に深く感謝致しますと共に、この場を借りて厚く御礼を申し上げます。

ホップ品質の多角的な解析とその応用



- ①
サッポロビール株式会社
商品・技術イノベーション部
蛸井 潔
①
- ②
サッポロビール株式会社
バイオ研究開発部
糸賀 裕
②
- ③
サッポロビール株式会社
酒類技術研究所
岡田 行夫
③
- ④
サッポロビール株式会社
バイオ研究開発部
鯉江 弘一朗
④

はじめに

ホップはアサ科カラハナソウ属の多年生、雌雄異株の作物であり、その雌株の球果がビールの原料として使われる。球果には多量の樹脂成分、精油成分、ポリフェノール等が蓄積されそのままでは食用には適さないが、ビールに使用した場合には爽快な苦味、芳香といった香味上の意義にとどまらず、麦汁煮沸工程において麦芽由来の過剰なたんぱく質を沈殿除去でビールを清澄化する働きもある。また、ビールの苦味成分はその抗菌性による微生物安定性の向上やビールの泡を補強する作用も有している。ビールになくてはならないといえるその重要性から「ビールの花」とも呼ばれている。

ホップは農業的には冷涼な地域に適応性が高く、北海道で野生ホップが見出されていたことが、サッポロビール株式会社（以下、サッポロ社）の前身である札幌開拓使麦酒醸造所が設立された理由の一つである。実際、北海道では早くからホップの栽培が行なわれ、当時設立されたホップ研究機関は現在のサッポロ社にも引き継がれている。日本国内においては、品質解析から育種まで自社で行なえる体制を維持している唯一のビールメーカーである。

ホップ研究は農業性や耐病性などの栽培に関わる分野から、苦味成分の元となる樹脂成分に関わる分野、芳香に寄与する香气成分に関わる分野、さらにはホップに含まれる多様な成分の機能性に関わる分野まで、多岐にわたる研究が盛んに取り組まれている。その中でもサッポロ社はホップの栽培安定性に関わるウイルス研究、新品種の育種、品種判定技術、ホップ特有の成分の生合成機構、ホップ由来成分の香味への影響の解析、などの分野で長年広範囲に取り組んできた（図1）。グローバルに展開するその取り組みを紹介したい。

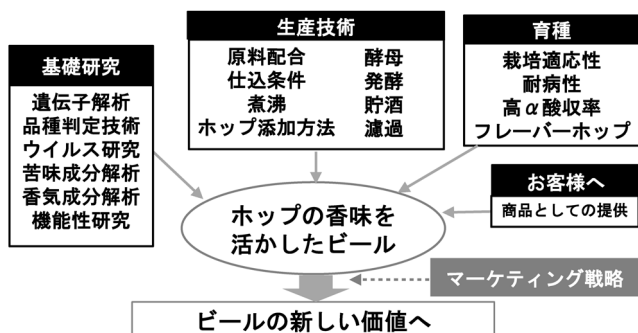


図1. ホップ品質解析と応用の取組み総括図

1. ホップの栽培安定化へのグローバルな貢献

チェコはピルスナータイプのビールの発祥の地であり、現地のファインアロマホップ Saaz は世界的にその高品質が認められている。しかし、1980年代に蔓延したウイルス病により収量、品質の両面で危機に陥った。サッポロ社は原因ウイルスの特定、ホップ茎頂培養によるウイルスフリー化技術を指導し、現地ホップ会社等とともにウイルスフリー苗を生産する V. F. Humulus 社を設立し、安定した栽培の回復と品質の向上に寄与した（図2）。

近年もホップのウイルス病に関する研究を継続し¹⁾、ホップの安定生産の基盤技術に貢献している。

さらに、購入する麦芽とホップの生産者とサッポロ社のフィールドマンが直接コミュニケーションをとる独自の「協働契約栽培」は2008年にドイツ連邦栄誉賞金賞を受賞した（「協働契約栽培」はドイツ以外でも実施）。

2. 優良ホップ品種の継続的な育種開発

国内で商業栽培されているホップの大部分は信州早生種だが、これはサッポロ社の前身である大日本麦酒株式会社が北海道で育成していた系統の中から1910年代に長野県での栽培に適応したものを選抜したことからこの品種名となったものである²⁾。サッポロ社ではその後も継続的に品種開発が行なわれており、1980年代に高 α アロマタイプのホップとして開発したソラチエース^{2,3)}は、現在米国や日本で栽培されているが、このホップで醸造したビールの独特の柑橘系の香味が近年注目を集め、徐々に栽培面積を増やし、クラフトビールで世界的に活用されている（図3）。

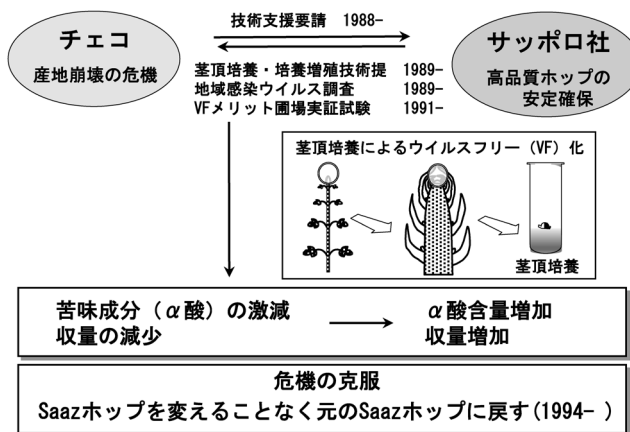
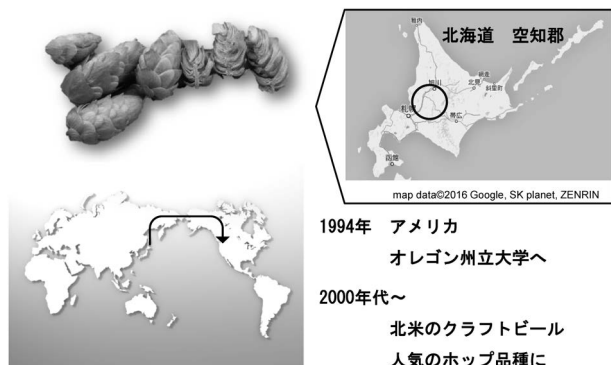


図2. ウイルスフリー化による Saaz ホップの危機克服

サッポロビールが 30 年以上前に育種したホップ「ソラチエース」
(1975 年 育種開始 → 1984 年 品種登録)



1994年 アメリカ
オレゴン州立大学へ
2000年代～
北米のクラフトビール
人気のホップ品種に

図3. ソラチエースの品種開発と普及

そのソラチエース同様、当初は別の目的で開発された品種であっても、再評価によって極めて特徴的な香気を持つことが分かることがある。例えば2010年に品種登録されたフラノビューティは、当初は収量性や苦味成分含量などが優れているとして選抜されたものであったが、現在はその柑橘類を想起させる香気で注目されている。2017年に登録されたフラノブラン(登録名:フラノ 0802D号)は、白ワイン様、ライム様の香りが特徴である。

サッポロ社のホップ品種開発は、19世紀から蓄積してきた数百の多様なホップ遺伝資源に基づく²⁾。その多様性を背景に、また、後述するホップ香気研究の成果を活用し、現在も個性的な香りの品種開発が継続的に進められている。

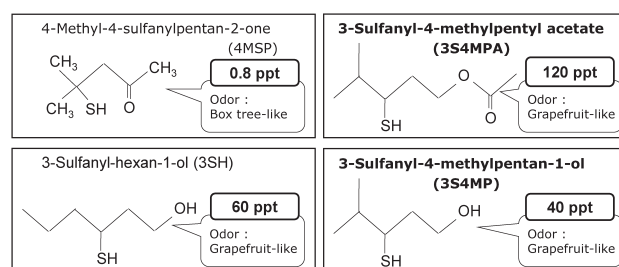
3. ホップ特有の成分に関する多角的解析

ホップ球果の内部にはルプリン腺と呼ばれる黄色の粒が蓄積され、その内部には苦味成分の元となる樹脂成分、芳香の元となる精油成分が特異的に生合成される。サッポロ社ではその特性に着目し、樹脂成分や精油成分、機能性を有するフラボノイドなどの生合成に関与する、ルプリン腺で特異的に発現する遺伝子群の同定や発現機構に関する基礎研究⁴⁾を行ってきた。

また、2000年代以降、それまでの伝統的なホップの香りと一線を画する「フレーバーホップ」と呼ばれるフルーティで個性的なホップ品種が開発され、その品種特有香を生かしたクラフトビールが世界的にブームとなってきている。サッポロ社ではそれらの品種にいち早く着目し、香気に関する基礎研究を行ってきた。一例として、白ワインの香りがするといわれるニュージーランドのホップ品種Nelson Sauvínからはその香りのキーとなる新規な揮発性チオールを発見し⁵⁾(図4)、ライムの香りを呈する米国のホップ品種Citraの香りには原料ホップ中のgeraniolと、geraniolから酵母の代謝変換で生成する β -citronellolの相互作用が関与していることを見出した⁶⁾。これらの知見から、それぞれの品種の特性を生かすとともに、ホップ品種のブレンドで異なる香気成分間の相互作用を活用する技術も開発し⁷⁾、実際の商品開発にも活用できるようになっている。

おわりに

サッポロ社は長年にわたりホップの栽培技術、育種技術およ



4MSPと3SHはソーヴィニオン・ブランワインの特徴香成分としてよく知られている。3S4MPAおよび3S4MPはこれまでにワイン及びその他の食品で報告例のない新規なチオールだった。

3SHと閾値は同等で、特徴も近いグレープフルーツ様の香り。

図4. Nelson Sauvín ホップから見出された新規チオール

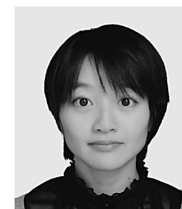
びホップ品質の解析と応用に対しての研究と開発に取り組んできた。長年のホップ栽培安定性に関する世界的な成果に加え、近年のクラフトビールブームを支える個性的なホップの香気特性を解明しその知見を商品開発に継続的に応用している。

ホップはビール醸造に長年使われてきたものの、まだまだ謎の多い作物でもある。今後ともその謎を解明するとともに、品質の安定化、新品種開発、商品開発等につなげていきたい。

(引用文献)

- Okada Y, Itoga Y, Inaba A, Kaneko T, Ito K. Detection of two viruses in hop using loop-mediated isothermal amplification. *Proc. 31st EBC Congr.*, p 236-240, (2007)
- 森 義忠, ホッパーホップの基礎科学と育種, 栽培について - 北海道大学生協同組合印刷事業部, (1995)
- 品種登録証, 登録番号613, ソラチエース, 1984/09/05登録, (1984)
- Okada Y, Sano Y, Kaneko T, Abe I, Noguchi H, Ito K. Enzymatic reactions by five chalcone synthase homologs from hop (*Humulus lupulus* L.). *Biosci Biotechnol Biochem.*, **68**, p 1142-1145, (2004)
- Takoi K, Degueil M, Shinkaruk S, Thibon C, Maeda K, Ito K, Bennetau B, Dubourdieu D, Tominaga T. Identification and characteristics of new volatile thiols derived from the hop (*Humulus lupulus* L.) cultivar Nelson Sauvín. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, p 2493-2502, (2009)
- Takoi K, Koie K, Itoga Y, Katayama K, Shimase M, Nakayama Y, Watari J. Biotransformation of hop-derived monoterpene alcohols by lager yeast and their contribution to the flavor of hopped beer. *J. Agric. Food Chem.*, **58**, p 5050-5058, (2010)
- Takoi K, Itoga Y, Takayanagi J, Matsumoto I, Nakayama Y. Control of hop aroma impression of beer with blend-hopping using geraniol-rich hop and new hypothesis of synergy among hop-derived flavour compounds. *Brewing-Sci.-Monatsschr. Brauwiss.*, **69**, p 85-93, (2016)

謝辞 本賞にご推薦いただきました岡山大学・清田洋正教授に深謝いたします。また、本研究の推進にあたり、ホップのチオール研究に関してご助言・ご指導を賜りましたボルドー第二大学・故富永敬俊博士に厚く御礼申し上げます。本研究成果はサッポロビール株式会社ならびにサッポロホールディングス株式会社の多くの関係者の尽力によるものであり、関係の皆様へ感謝いたします。



味覚受容体の新しい機能解析技術の開発と味覚受容の分子機構の解明

明治大学 農学部 農芸化学科 食品機能化学研究室 戸田 安香

はじめに

味覚は、食物を摂食可能であるかを決定する上で重要な化学感覚である。味は甘味、旨味、苦味、酸味、塩味の基本五味からなり、それぞれの味は口腔中の味蕾に発現する受容体タンパク質により受容される¹⁾。そのうち嗜好味である甘味と旨味はGタンパク質共役型受容体(GPCR)のT1Rファミリーのヘテロ2量体で受容され、基本的に甘味は糖質を、旨味はアミノ酸及びヌクレオチドを検出する役割を担う(図1)。筆者はこれまで、味覚受容体の新たな機能解析技術を開発し、その新技術により味覚受容の分子機構の解明を行ってきた。

1. 発光検出系の導入による味覚受容体の新規機能解析技術の開発

味覚受容体と味物質の相互作用を解析する手法として、培養細胞を用いたカルシウムイメージング法が広く用いられている(図2)。この評価系では、培養細胞に味覚受容体及びGタンパク質を強制発現させ、味物質添加時の受容体の活性化の強さを細胞内カルシウム濃度の変化量として数値化する。この際、細胞内カルシウムの検出には、カルシウム感受性蛍光指示薬が広く用いられてきた。しかし、サンプル中にビタミン類やメイラード反応物質などの蛍光物質が含有される場合、この蛍光検出系を利用することができない(図3)。そこで、1) 蛍光物質を含有するサンプルでも測定が可能な新規味覚評価系の開発が望まれていた。また、旨味受容体や苦味受容体の発現細胞においては、味物質添加時にごく僅かにしか細胞内カルシウム濃度

が変化せず、高感度評価系の構築が難しかったことから、2) 検出感度の高い評価系の開発が望まれていた。

上記2つの課題を解決するために、筆者は蛍光検出系に代わる細胞内カルシウムの検出技術として、カルシウム結合型発光タンパク質を用いた発光検出系を導入した²⁾。発光検出系では、検出の際に励起光の照射が不要なため、サンプル自体が蛍光特性を有する場合にも影響を受けずに測定が可能である(図3)。また、蛍光検出系では培養細胞内に存在する弱い蛍光物質による干渉が生じるのに対し、発光検出系では事実上バックグラウンドがない状態での測定が可能のため、蛍光検出系に比べ高いシグナル/バックグラウンド比を実現することも可能である。

筆者は、用いる発光タンパク質の種類を検討し、発光タンパク質をミトコンドリア内に局在化させる等の工夫を重ねることで、味覚受容体の活性化の強さを発光値として検出することに成功した。検出感度も向上し、苦味や旨味受容体の高感度評価系の構築にも成功した。特に、旨味受容体の高感度評価系の構築に成功しているグループは世界でも殆どなく、旨味受容体の機能解析において世界をリードした研究を行うことが可能となった。更に、この評価系はリポフラビンなど食品由来の蛍光特性を有するサンプルの測定にも利用可能なことが確かめられた³⁾。作製した評価系では発光値の検出にスループットの高いマイクロプレートリーダーを用いることから、味覚修飾作用を有する食品成分の大規模スクリーニングにも役立つものとなった。

2. 味覚受容の分子機構の解明

2-1. 旨味受容体のアミノ酸選択性を決定する分子機構の解明

ヒトの旨味受容体はグルタミン酸で強く活性化されるが、マウスの旨味受容体はグルタミン酸よりもむしろそれ以外の幅広いアミノ酸により強く活性化される(図4)⁴⁾。しかし、この分子機構は明らかになっていなかった。そこで、筆者は構築したハイスループットアッセイ法を用いて、ヒト及びマウス旨味受容体の変異体162種類の機能解析を実施し、ヒトとマウスの間にあるアミノ酸選択性の違いが、リガンド結合部位と非リガン

	甘味受容体	旨味受容体
	T1R2 + T1R3	T1R1 + T1R3
リガンド	天然糖 人工甘味料 甘味タンパク質 など	アミノ酸 ヌクレオチド (イノシン酸、 グアニル酸など)

図1. 甘味・旨味受容体

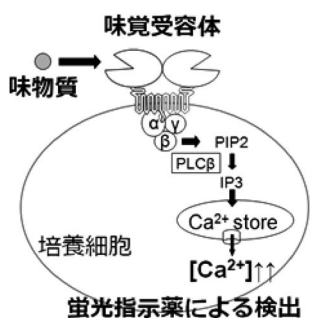


図2. 培養細胞を用いた味評価系

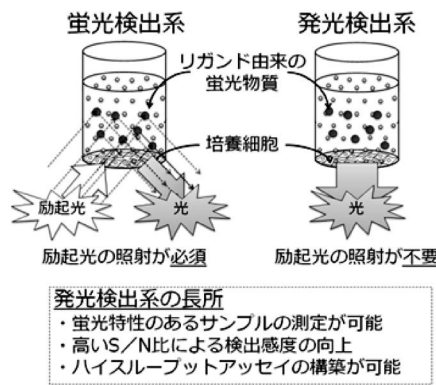


図3. 蛍光検出系と発光検出系の比較

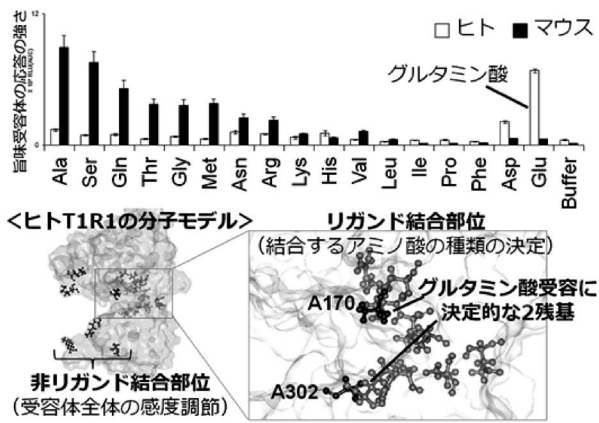


図4. 旨味受容体のアミノ酸選択性を決定する分子機構

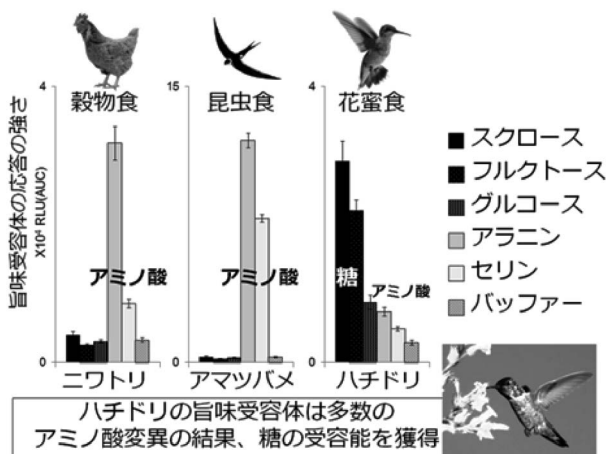


図5. ハチドリの糖の味受容機構

ド結合部位の特性の組み合わせで決定されることを明らかにした(図4)⁵⁾。中でもグルタミン酸受容能は、T1R1のリガンド結合部位に存在する2アミノ酸残基の負電荷の消失により獲得されることを明らかにした(図4)⁵⁾。今後、この2アミノ酸残基の変異が進化の過程でどのように獲得されたのかを明らかにすることで、ヒトがグルタミン酸に旨味を感じることの生理的意義を解明することにも繋がると期待される。

2-2. ハチドリの花蜜の味受容機構の解明

鳥類は甘味受容体の構成因子であるT1R2が偽遺伝子化しているため⁶⁾、甘味を感知できないと考えられている。そのため、糖が豊富な花蜜を主食とするハチドリなどの蜜食性鳥類がどのように蜜の味を感知しているのかは長年の謎であった。そこで、筆者が発光検出系を用いて鳥類の旨味受容体の機能解析を行ったところ、ハチドリの旨味受容体が糖を受容する機能を持つことが明らかになった。また、134種類のニワトリ及びハチドリのキメラ変異体や点変異体を解析することで、この機能転換はハチドリが非蜜食性鳥類から種分化した後に、旨味受容体における多数のアミノ酸変異を得たことでもたらされたことを実証した(図5)⁷⁾。本研究では鳥類の旨味受容体のリガンドと実際の嗜好性が非常に良く一致することが示された。今後、発光検出系を、家禽を含む産業動物の味覚受容体の機能解明に役立てることで、飼料開発への貢献も期待される。

おわりに

筆者らは発光検出法の導入により、高感度かつハイスループットな味覚受容体の機能解析技術を構築することに成功し

た。特に、甘味・旨味・苦味といったGPCRを介した味質の中で、旨味受容に関する研究は進んでいないことから、旨味受容体のハイスループットアッセイ法が確立できたことの意義は大きい。ヒト旨味受容体はグルタミン酸によって強く活性化されるが、マウス⁴⁾や鳥類、魚類⁸⁾の旨味受容体はグルタミン酸によってほとんど活性化されない。今後は、本評価系を味覚修飾物質の探索や味覚修飾メカニズムの解明に役立てるだけでなく、「ヒトがどのような成分においしさを感じるのか」という生物学的な問いを解決するためにも活用していきたい。

(引用文献)

- 1) Chandrashekar J, Hoon MA, Ryba NJ, Zuker CS. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, Vol. 444, p 288-294, (2006)
- 2) Shimomura O, Johnson FH, Saiga Y. Further Data on the Bioluminescent Protein, Aequorin. *J. Cell Physiol.*, Vol. 62(1), p 1-8, (1963)
- 3) Toda Y, Okada S, Misaka T. Establishment of a new cell-based assay to measure the activity of sweeteners in fluorescent food extracts. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 59(22), p 12131-12138, (2011).
- 4) Nelson G, Chandrashekar J, Hoon MA, Feng L, Zhao G, Ryba NJ, Zuker CS. An amino-acid taste receptor. *Nature*, Vol. 416 (6877), p 199-202, (2002)
- 5) Toda Y, Nakagita T, Hayakawa T, Okada S, Narukawa M, Imai H, Ishimaru Y, Misaka T. Two distinct determinants of ligand specificity in T1R1/T1R3 (the umami taste receptor). *J. Biol. Chem.*, Vol. 288(52), p 36863-36877, (2013)
- 6) Shi P, Zhang J. Contrasting modes of evolution between vertebrate sweet/umami receptor genes and bitter receptor genes. *Mol. Biol. Evol.*, Vol. 23(2), p 292-300, (2006)
- 7) Baldwin MW*, Toda Y*, Nakagita T, O'Connell MJ, Klasing KC, Misaka T, Edwards SV, Liberles SD. Evolution of sweet taste perception in hummingbirds by transformation of the ancestral umami receptor. *Science*, Vol. 345(6199), p 929-933, (2014)
- 8) Oike H, Nagai T, Furuyama A, Okada S, Aihara Y, Ishimaru Y, Marui T, Matsumoto I, Misaka T, Abe K. Characterization of Ligands for Fish Taste Receptors. *J. Neurosci.*, Vol. 27(21), p 5584-5592, (2007)

謝辞 本研究は、東京大学大学院 農学生命科学研究科 生物機能開発化学研究室にて行われたものです。本研究を進める上で多大なるご助言を賜りました東京大学 三坂巧先生に深く感謝申し上げます。日頃よりご指導ご鞭撻賜り、研究者としての成長を応援して下さいました明治大学 石丸喜朗先生、東京大学 成川真隆先生、岡田晋治先生に厚く御礼申し上げます。また、中北智哉博士をはじめ、本研究の遂行にご協力いただいた生物機能開発化学研究室の卒業生、企業からの派遣研究員の方々に感謝申し上げます。また、東京大学にて研究を行う機会を与えて下さいましたキッコーマン株式会社 常務執行役員 松山旭博士、小幡明雄博士、内田理一郎博士に厚く感謝申し上げます。なお、旨味受容体のアミノ酸受容に関する分子機構の解明は京都大学霊長類研究所の今井啓雄先生、早川卓志先生との共同研究によるものであり、ハチドリの味覚研究はハーバード大学のMaude Baldwin博士(現Max Planck Institute)、Scott Edwards先生、Stephen Liberles先生方との共同研究によるものです。ご支援賜りました諸先生方に深く感謝致します。最後に、本賞にご推薦下さいました東京大学 名誉教授 阿部啓子先生に心より御礼申し上げます。



ノボザイムズ ジャパン株式会社 松井知子

タンパク質工学を利用した産業用酵素の開発

はじめに

自然界には、様々な機能を持つ酵素が存在し、比較的容易に目的とする反応を触媒する酵素を取得することができる。自然界に存在しない化合物を基質とした反応を触媒する酵素すら発見されることがある。しかし、産業用酵素としては、目的とする触媒機能だけではなく、実際のプロセスの条件 (pH, 温度等) に適した酵素であることが求められる。また、長い貯蔵安定性等も産業用酵素の重要な要件の一つである。これらすべての要件を満たした酵素を自然界から得ることは難しく、最近ではタンパク質工学を利用して酵素を改変することによって足りない要件を満たすことが日常的に行われている。

以下に、筆者らが中心となり、タンパク質工学の手法を利用した酵素開発の例をいくつか紹介する。

1. アスパラギナーゼによるアクリルアミドの低減

2002年にスウェーデン食糧庁とストックホルム大学によって、澱粉等の炭水化物が多く含まれる食材の高温加熱加工の際に、アクリルアミドが生成することが発見された¹⁾。アクリルアミドは、グルコース等の還元糖とアスパラギンからアミノカルボニル反応 (メイラード反応) によって生成されるのが主な経路と考えられている。そこで、弊社では *Aspergillus* 由来のアスパラギナーゼを用い、食品中のアスパラギンのアスパラギン酸への脱アミド化によって、原因物質のひとつであるアスパラギンを低減することを目的としたアスパラギナーゼ製剤「アクリルアウェイ」を開発した (図1)。本製剤を生地に添加しアスパラギンを減少させた後に焼成することにより高温で加工製造される (ビスケットやトルティーヤ、成型ポテトチップスなど) の食感・外観を損なうことなく、アクリルアミドの生成を抑制することが可能になった。この製剤の用途を広げるために、タンパク質工学によるアスパラギナーゼの耐熱化を行った。変異導入箇所を、酵素分子のモデリングなどにより特定し、アスパラギナーゼ遺伝子の変異体ライブラリーを酵母を利用して作製

し、MTP (microtiter plate) によるスクリーニングを行い、高温での活性・耐性がともに上昇した変異体を取得した。

これにより、高温でのブランチング処理が行われるフレンチフライ等へのアスパラギナーゼの効率的な応用の可能性が広がっている。

2. 飼料用フィターゼの開発

穀物中の有機リンはフィチン酸の形態で貯蔵されているが、これは難消化性であるため別に飼料として無機リンを添加する必要がある。また、フィチン酸はカルシウム等の2価金属イオンと結合するため、これらの腸内での吸収を妨げる。フィターゼは、このフィチン酸によりカルシウムの吸収を促進させる。排泄物の富リン化や狂牛病の問題のため無機リン、肉骨粉利用が減少・廃止される中、この10年ほどの間に、家畜飼料へのフィターゼ配合は飛躍的に増加した。弊社では、担子菌 *Peniophora lycii* 由来フィターゼを発見し、製品化に至っている。

このフィターゼの熱安定性ならびにさらなる貯蔵安定性の向上をめざし、蛋白質工学による耐熱化を行った。酵素分子の Molecular Dynamics Simulation 法などの手法を用い、ターゲット部位を決定、ライブラリーを構築しスクリーニングを進めていった結果、最終的に熱変性温度が酸性中性両 pH において 20℃ 以上上昇した変異体を取得された (表1)。実際にこれらの変異体は、貯蔵安定性等が増加したことが確認されている。

また、飼料製造には、ペレット化工程 (殺菌と穀物澱粉の糊化のための短時間スチーム処理) を含む場合が多く、飼料用酵素はペレット化工程中に熱により失活する危険性がある。そこで、弊社では CT 顆粒 (コーティングした耐熱性顆粒) を開発、フィターゼに応用し、ペレット化工程で失活せず優れた熱安定性を保持している酵素顆粒製剤を製造しているが、このペレット化工程でのさらなるフィターゼの安定性を得るため、筆者らは *Citrobacter braakii* 由来のフィターゼのタンパク質工学による耐熱化も行った。Molecular Dynamics Simulation (MD) 法を用い、高温化での酵素分子の動きを予測し分子内 SS 結合を導入できる場所を探した。温度変化により大きく構造が変化する部位を同定し、変異を導入したところ (図2)、この分子内 SS 結合変異体は、熱変性温度が上昇しているだけでなく、熱変性後のリフォールディング率の向上した変異体であることが確認された。また、ペレット化工程後の安定性向上も確認されている。

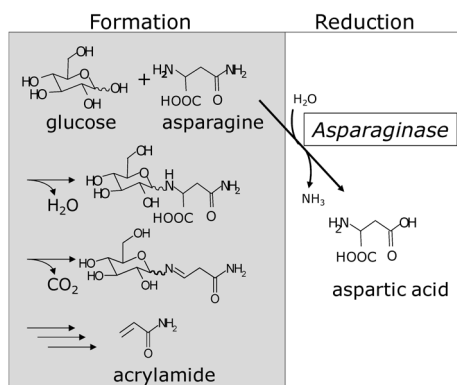


図1. アクリルアミド生成過程の一経路 (左) とアスパラギナーゼによるアクリルアミド低減のメカニズム

表1. DSC による熱変性温度 (Td)

精製酵素	Td (°C) at pH2.5	Td (°C) at pH5.5
野生型	36	59
変異体1	60	82

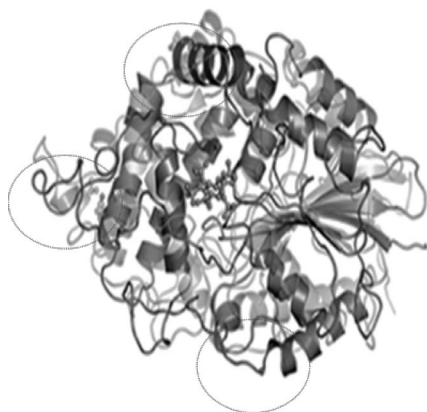


図2. Citrobacter フィターゼの 500 K (濃) と 300 K (淡) における MD 予測構造の重ね合わせ
スティック表示は、フィチン酸、温度変化により大きく構造変化した部分を丸で表示

3. バイオエタノール用アミラーゼの開発

限りある化石エネルギーの代替として燃料用エタノール製造は、ブラジル・アメリカを筆頭に世界的に普及しつつある。原料となるのは、サトウキビ、あるいは、とうもろこしを主とした穀類である。とうもろこしの場合、ミルにて粉碎後、ジェットクッカーあるいは80℃以上の高温で糊化され、バクテリア由来アルファアミラーゼにて液化し、その液化澱粉にグルコアミラーゼなどの酵素製剤を添加しアルコール発酵を行う。これが現在の主流のプロセス (Conventional process) である。

ところが、米国 POET 社が開発した新プロセスでは、糊化・液化工程を必要とせず、ミル粉碎したとうもろこしを直接一段階にてエタノール発酵を行う。これによりプロセス全体の10~20%ほどかかっていた糊化・液化用エネルギーを削減することができる。また、発酵残渣は飼料として用いられているが、Conventional process のものに比べ、メイラード反応生成物がなくビタミン等豊富なため、付加価値が上がるというメリットがある。しかし、このプロセスでは、生澱粉を分解する必要がある。従来の糊化を含む工程より酵素添加量が非常に多くなってしまい、酵素コストがかかるのがデメリットになっていた。そこで、筆者らは生澱粉に対し非常に特異性の高いアルファアミラーゼをタンパク質工学により開発し、酵素の添加量を顕著に減らすことに成功した (図3)。

4. バイオプラスチック分解促進用酵素の開発

生分解性プラスチックは「グリーンプラ」として各種分野で利用が広がっている。しかし、コンポスト中などの高温下では分解を受けやすいが、実際の土壌中などでは速やかに分解されにくい。そこで、筆者らは酵素を添加することによりその分解を促進させることを試みた。筆者らは以前、ポリエステル分解を試み、様々な加水分解酵素をスクリーニングし、またその特異性を上昇させるため蛋白質工学も行っている。その時に得られた変異体を PBS (poly (butylene succinate)) フィルムの分解に応用させたところ、他の加水分解酵素に比べ、PBS に対して特異性が高いことが判明した。実際に、PBS フィルム断片をこの変異体を含む水溶液中に浸漬し40℃にて反応させると、4時間後には完全に溶解した。この酵素の実際の応用分野の一つに、畑などに使われる農業用マルチフィルムの分解促進がある。この分野において、作物取り入れ後のフィルムを回

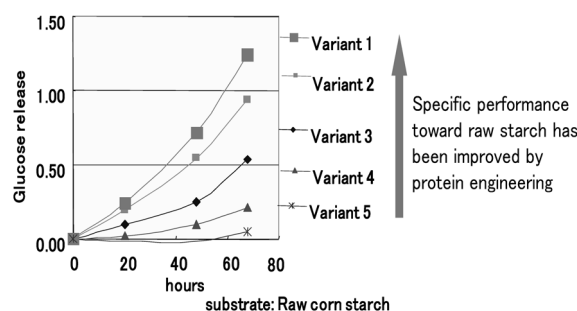


図3. アルファアミラーゼ変異体による生澱粉からのグルコース生成効率の改善
同タンパク量のアルファアミラーゼ変異体と一定のグルコアミラーゼをトウモロコシ生澱粉に作用させ、生成グルコース量を測定

収する手間が要らず、直接トラクターで鋤き込みができる生分解性マルチフィルムの需要がのびている。この酵素をさらに利用すれば、フィルムの分解がコントロールできるため、作物の取り入れ期の違いによってフィルムを変える必要もなくなる。また、土壌中のシートの切れ端がトラクターに絡まるなどの問題も減少する。実際に市販のPBSフィルムにこの酵素を噴霧したところ、翌日にはシート上に部分分解にて生じた裂け目が観測でき、容易にトラクターにて鋤き込み可能となった。このように、自然界より選び出した酵素のポリエステルに対する基質特異性を向上させ、グリーンプラの分解促進へ応用することに成功した。また、酵素自身は土壌中で分解されるため、環境に影響を与える心配はないという点においても、非常に有用な応用であると考えている

おわりに

近年、ゲノム解析技術の発展とともに利用できる酵素遺伝子情報は膨大に増加しており、DNA合成技術の進歩とともに簡単に遺伝子合成、そしてタンパク質合成が可能となってきている。

しかし、実際に産業用酵素として利用するには、製造時での生産量、安定性、酵素製剤としての安定性、実際の応用条件での酵素のパフォーマンスを始めとして、数多くのハードルを乗り越えなくてはならない。

その際にタンパク質工学は非常に有効な手段であり、各種の変異導入部位選定法、ハイスループットな簡易スクリーニング法と実際の酵素の反応条件に基づいて構築した特異的なスクリーニング方法とのバランスの良い組み合わせにより、必要とされる産業用酵素の開発を迅速かつ的確に遂行することが可能となるであろう。

(引用文献)

- 1) Donald S. Mottram, Bronislaw L. Wedzicha and Andrew T. Dodson Acrylamide is formed in the Maillard reaction, Nature, Vol. 419, p. 448-449, (2002)
- 2) 松井知子 タンパク質工学・進化分子工学を利用した産業用酵素の開発. 生物工学会誌, 85(9), p. 393-408, (2007)

謝辞 ここにおける研究は、ノボザイムズ ジャパンならびにノボザイムズ デンマーク本社 ノボザイムズ ノースアメリカにて 福山志朗、綾部圭一、倉方悠馬、富木亜紀、平山恵都子、Lars K. Skov, Allan Nørgaard, Allan Svendsen 他多くの同僚とともに行った仕事、成果です。改めて、研究開発にかかわったすべての皆様に心から感謝申し上げます。

JSBBA KANTO

日本農芸化学会関東支部2018年度第1回支部例会 講演要旨集
2018年 6月23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

〒252-0880

神奈川県藤沢市亀井野1866

日本大学生物資源科学部応用生物科学科 高橋 恭子