

日本農芸化学会関西支部
第 529 回講演会

講演要旨集

令和 6 年(2024 年)2 月 10 日(土)
京都大学(百周年時計台記念館・国際交流ホール)

日本農芸化学会関西支部



第 529 回講演会プログラム

● 開会の辞 (13:00~13:05)

関西支部長 森 直樹

● 一般講演 (13:05~17:15) [講演 9 分、質疑 2 分、交代 1 分]

(*印は若手優秀発表賞対象講演)

座長:由里本 博也(京大院・農)、小倉 康平(京大院・農)

- *1. クロツヤツノツツハネカクシ *Priochirus japonicus* (ハネカクシ科:ツツハネカクシ亜科)の分泌する化学防御物質について
○高谷 佑生 (京都大学 農学部)
- *2. イネの細胞壁形成に関わるリグニンモノマー重合酵素の同定:ラッカーゼ欠損変異イネの作出と性状解析
○窪井 健斗 (京都大学 生存圏研究所)
- *3. ミカン青カビ・緑カビ病を惹起する *Penicillium* 属由来病原因子の解析
○加古 有宜子 (京都大学 大学院農学研究科)
- *4. アルギン酸多糖への走化性発現に関わる *Sphingomonas* 属細菌 A1 株のトリガー分子
○日尾 守 (京都大学 大学院農学研究科)
- *5. 分岐鎖アルコールと酵母 LeuRS の相互作用の解析による窒素飢餓応答機構の解明
○長谷川 真乃 (京都大学 大学院農学研究科)
- *6. *Saccharomyces cerevisiae* のミトコンドリア機能の維持における Glo4 の関与
○江原 匡亮 (京都大学 大学院農学研究科)
- *7. 出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のピルビン酸デカルボキシラーゼ欠損株が示す 2-デオキシグルコース感受性に関する遺伝学的解析
○中村 仁美 (京都大学 農学部)
- *8. スモモ類の花や果実からの野生酵母の単離と製パンへの応用
○井野 倫星 (摂南大学 農学部)
- *9. 高度好熱菌由来一本鎖 DNA 結合タンパク質と核様体構成タンパク質の相互作用
○小林 一稀 (立命館大学 生命科学部)
- *10. *Lactiplantibacillus plantarum* 22A-3 によるアレルギー抑制機序の解明
○辻 楓歌 (神戸大学 大学院農学研究科)

休憩 (15:05~15:15)

座長:佐藤 喬章(京大院・工)、古川 亜矢子(京大院・農)

- 11. パイナップル由来グルコシルセラミドが有する抗アレルギー効果の作用機序解明
○備谷 志保 (神戸大学 大学院農学研究科)
- 12. 高い抗酸化力を有する鶏卵調製法の検討 ~ORAC 値と SOAC 値を指標として~
○久保 七彩 (株式会社エヌ・ビー・エル鶏と卵の研究所、京都女子大学)

13. 生体内混雑環境を考慮した α シヌクレイン凝集化機構の動的構造解析
○佐藤 恵（京都大学 大学院工学研究科）
14. 長期記憶関連タンパク質 CPEB3 のユビキチン化による凝集機構解析
○齋藤 元伸（京都大学 大学院工学研究科）
15. 溶血性レンサ球菌におけるB群菌に特異的なヒト腔内常在性要因
○勝弘 夏子（京都大学 大学院農学研究科）
16. 腸内細菌における葉酸生合成遺伝子の同定
○長澤 舞奈（京都大学 大学院工学研究科）
17. Tet-Off システムを用いた UPR の人為的制御とその応用
○門口 将己（奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス領域）
18. PET 分解酵素 Cut190 の高機能化と構造機能相関解析
○近藤 史弥（京都府立大学 生命環境科学研究科）
19. 短鎖アルカン資化性細菌 *Mycolicibacterium* sp. TY-6 株におけるメタン酸化酵素高発現のためのプロモーター探索
○浅井 夏美（京都大学 大学院農学研究科）
20. 好熱性グラム陽性菌の新たな形質転換法の開発
○天津 凌太郎（神戸大学 大学院科学技術イノベーション研究科）

優秀発表賞の投票・集計（兼 休憩）（17:15～17:25）

● 2021 年度農芸化学中小企業産学・産官連携研究助成 成果報告（17:25～17:40）

座長：岸野 重信（京大院・農）

アミノ酸高生産酵母の育種技術を活用した泡盛の高付加価値化・ブランド化

○高木 博史（奈良先端大）、塚原 正俊（株式会社バイオジェット）

● 2023 年度支部技術賞 受賞記念講演（17:40～18:05）

座長：吉田 健一（神戸大院・イノベ）

腸内細菌由来の機能性脂肪酸類のターゲットリポドミクス分析法の開発

○辻 光倭（Noster 株式会社）、有田 誠（慶應義塾大・薬）、岸野 重信（京大院・農）、小川 順（京大院・農）

● 若手優秀発表賞表彰式（18:05～18:10）

● 次回関西支部例会のアナウンスおよび閉会の辞（18:10～18:15）

関西副支部長 八十原 良彦

● 懇親会（18:20～）

京都大学百周年時計台記念館 2 階 国際交流ホール II にて

（懇親会への参加は講演会ウェブサイトでの事前登録と電子決済をお願いしております。当日会場における現金によるお支払いはできません。当日に PC・スマートフォン等でクレジットカード決済を行なった方は、決済完了画面もしくは決済完了の確認メールを受付でご提示ください。）

一般講演

1* クロツヤツノツツハネカクシ *Priochirus japonicus* (ハネカクシ科: ツツハネカクシ亜科) の分泌する化学防御物質について

○高谷佑生¹、大畑勇統²、橋爪拓斗³、丸山宗利⁴、森直樹²

(¹京大・農、²京大院・農、³九大院・農、⁴九大博)

【目的】

「ハネカクシ」とは甲虫目ハネカクシ科に属する昆虫で、世界におよそ8万種が記載される動物界最大の分類群である。多様な二次代謝物質を産生することでも知られる。クロツヤツノツツハネカクシ *Priochirus japonicus* は危険を感じると独特の臭気成分を発する。この化学防御物質の同定と生理活性評価を目的として研究を行った。

【方法・結果】

GCMS分析とNMRによる構造決定

虫体をジクロロメタン 50 μ Lに3分間浸し、GCMSに供した。その結果、主要成分は 4-oxo-2-hexenal と limonene と推定した。次に、4-oxo-2-hexenal の幾何異性体を決定するために、分泌物のNMRを測定した。本種50 頭を ジクロロメタン 50 mLに5分間浸し、粗抽出物 23.3 mg を得た。精製し、黄色油状物質 6.1 mg を得た。これの¹H-NMRおよび¹³C-NMRを測定し、合成と比較した。その結果、本種から主要分泌物質として 4-oxo-(*E*)-2-hexenal を同定した。

Limonene の絶対立体配置を決定するため、キラルカラムを用いて分析した。市販の (4*R*)-, (4*S*)-limonene の保持時間を比較し、(4*R*)-(+)-limonene を同定した。

殺虫活性評価

合成品 4-oxo-(*E*)-2-hexenal と (4*R*)-, (4*S*)-limonene を用い、フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* を用いた一般毒性試験を行った。結果、暴露したすべての個体が、4-oxo-(*E*)-2-hexenal は100 mg/L, limonene は200 mg/L で死亡した。また、limonene において、体重減少量を比較したところ、*S*体 (10 mg/L)は *R*体 (25 mg/L) よりも活性が 2 倍程度強いことが分かった。

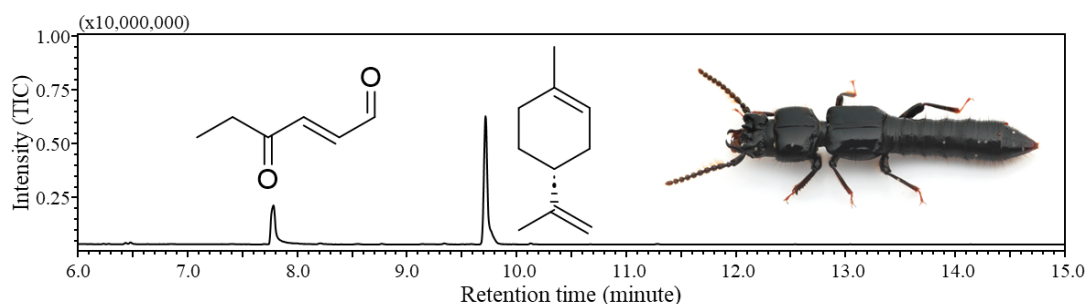


Figure 1. The results of GC/MS analysis. Total ion chromatograms (TIC) of crude extracts derived from *P. japonicus*.

2* イネの細胞壁形成に関わるリグニンモノマー重合酵素の 同定:ラッカーゼ欠損変異イネの作出と性状解析

○窪井健斗¹、寺野真季¹、山本千莉¹、三上文三¹、刑部敬史²、
刑部祐里子³、梅澤俊明¹、飛松裕基¹

(¹京大生存研、²徳島大生物資源産業、³東工大生命理工)

【目的】

木化とは、植物の二次細胞壁などに芳香族高分子であるリグニンが沈着するプロセスである。木化に関わる分子機構の解明は、陸上植物の環境適応の仕組みや進化の過程を理解する上で重要であると同時に、木化により作り出されるリグノセルロース資源を有効利用していくためにも重要な基盤となる。木化の最終段階であるリグニンモノマーの脱水素重合は、ラッカーゼ(LAC)とペルオキシダーゼ(PRX)により触媒される。LAC 及び PRX は、共に大きな遺伝子ファミリーを構成しており、各アイソザイムの役割については未だ一部のモデル植物種でごく部分的にしか調べられていない。特に、バイオマス供給源として重要なイネ科植物における LAC及びPRXの解析は遅れている。本研究では、イネ(*Oryza sativa*)の木化に関与するLACの同定と機能の詳細解明を目的とし、イネLACファミリーのバイオインフォマティクス解析とゲノム編集によるLAC欠損変異イネの作出及び細胞壁の性状解析を行った。

【方法・結果】

イネ LAC ファミリー(OsLAC1-30)の各種バイオインフォマティクス解析に基づき、木化に関与すると予測される6つのLAC遺伝子(*OsLAC2*, *OsLAC4*, *OsLAC5*, *OsLAC11*, *OsLAC15*, *OsLAC26*)を選定した。これらのLAC遺伝子を標的としたマルチプレックスゲノム編集を行い、標的LAC遺伝子のいずれかあるいは複数にノックアウト変異を持つシングルノックアウト株(*lac2*, *lac4*, *lac5*, *lac11*, *lac26*)、ダブルノックアウト株(*lac14 lac15*, *lac11 lac26*)、トリプルノックアウト株(*lac4 lac5 lac26*)を単離した。単離したLAC欠損変異株の茎細胞壁のリグニン定量分析を行ったところ、*lac2*, *lac4*, *lac5*, *lac11*, *lac14 lac15*, *lac11 lac26*, *lac4 lac5 lac26* において、リグニン量の低下(10%-21%)が見られたことから、少なくとも *OsLAC2*, *OsLAC4*, *OsLAC5*, *OsLAC11*, *OsLAC15* がイネの茎細胞壁の木化に関与していることが示唆された。また、チオアシドリシス分析及び2D HSQC NMR解析による茎細胞壁の構造解析を行ったところ、*OsLAC4* 及び *OsLAC5* を欠損した変異株(*lac4*, *lac5*, *lac4 lac5 lac26*)において、特にグアイアシル型リグニンが特異的に減少していることが分かった。このことから、*OsLAC4* 及び *OsLAC5* が特にグアイアシル型リグニンモノマーの重合に優先的に関与している可能性が示唆された。現在、さらなるLAC多重欠損変異株の作出を進めるとともに、2D NMR や組織観察を用いたより詳細な細胞壁の分析を進めている。

3* ミカン青カビ・緑カビ病を惹起する *Penicillium* 属由来病原因子の解析

○加古 有宜子、高瀬 隆一、老木 紗予子、小倉 康平、橋本 渉

(京大院・農)

【背景・目的】糸状菌*Penicillium digitatum*と*Penicillium italicum*による緑カビ・青カビ病は世界中の柑橘類の腐敗原因として問題になっている。数百種が属する*Penicillium*属の中で柑橘類を腐敗させる種は上述の2種であることから、柑橘類と*Penicillium*属との間には明確な種特異性が存在すると考えられる。これまでに、*P. digitatum*による柑橘類各種の過酸化水素産生抑制や柑橘類果皮由来の抗菌物質に対する*Penicillium*属各種の感受性差異が報告されている^{1,2)}。しかし、*Penicillium*属における種特異的な柑橘類腐敗機構に関しては未だに不明な点が多い。そこで、本研究では、日本で栽培される代表的な柑橘類である温州ミカンを用いて、*P. digitatum*と*P. italicum*の2種が特異的に柑橘類を腐敗させる病原因子の同定を目指した。

【方法・結果】*Penicillium*属糸状菌11種をミカンに植菌し静置したところ、*P. digitatum*と*P. italicum*の2種のみが果実の腐敗と菌糸・胞子の形成を示した。次に、バイオインフォマティクス解析を用いて、*Penicillium*属11種のうちミカンを腐敗させた2種のみが保持する10個の遺伝子を検出した。このうち、他属の柑橘類腐敗菌も保持している、もしくはミカン腐敗に関与しうる機能をもつと考えられる遺伝子産物として、3つの*P. digitatum*由来候補タンパク質PDIP_08200、13560、および40960を選抜した。3つの遺伝子産物はそれぞれ多剤排出による細胞保護 (PDIP_08200)、イオンチャネルによるシグナル伝達 (PDIP_13560)、および植物由来の脂溶性抗真菌物質分解 (PDIP_40960) に機能すると予測された。これらの候補タンパク質の*P. digitatum*遺伝子破壊株を、*Agrobacterium tumefaciens*を介した相同組換えにより育種した。*P. digitatum* 野生株と各遺伝子破壊株を一定の胞子数にそろえて培養したところ、ミカン粉碎物を唯一の栄養源とする寒天培地ではいずれも良好に生育した一方で、ミカン上では野生株と比較して、各遺伝子破壊株は腐敗能の顕著な低下を示した。

【考察】*Penicillium*属糸状菌における種特異的な柑橘類腐敗に関与する新規病原因子として、PDIP_08200、PDIP_13560、およびPDIP_40960を見いだした。遺伝子破壊株の生育試験結果から、欠失した遺伝子産物はミカン資化ではなく、ミカン由来抗菌物質の分解あるいは耐性獲得に関与すると考えられる。これらの病原因子は、ミカンを含む柑橘類の腐敗とその種特異性に重要な役割を果たすことが示唆された。今後、これらの構造機能解析を進め、ミカン腐敗機構の解明を目指す。

¹⁾ Macarisin *et al.*, *Phytopathology* **97**, 1491-1500 (2007)

²⁾ Stange *et al.*, *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **61**, 303-311 (2002)

4*

アルギン酸多糖への走化性発現に関わる *Sphingomonas* 属細菌 A1 株のトリガー分子

○日尾 守、高瀬 隆一、小倉 康平、橋本 渉

(京大院・農)

【目的】走化性とは、微生物が環境中の物質の濃度勾配を感知し、接近あるいは忌避する性質のことである。当研究室で土壌から分離された *Sphingomonas* 属細菌 A1 株 (A1 株) を軟寒天培地上で継代し運動性を発現させた A1-MP 株は、酸性多糖であるアルギン酸とペクチンに正の走化性を示す。低分子を標的とした走化性研究は進んでいるが、高分子多糖への走化性に関する知見は少ない¹。本研究では、アルギン酸への走化性発現に関わるトリガー分子の同定を目指し、A1-MP 株へのランダム変異導入によりアルギン酸走化性関連遺伝子を探した。また、A1 株のペリプラズムタンパク質 AlgQ1 と AlgQ2 は、アルギン酸輸送 ABC トランスポーターと協働する基質アルギン酸結合タンパク質である。A1 株のペクチン結合タンパク質 SPH1118 がペクチン輸送と走化性の両方に機能することから²、AlgQ1 と AlgQ2 にも着目した。

【方法・結果】A1-MP 株を遺伝子変異誘発剤 (*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン) で処理し、得られた 4,320 株からアルギン酸走化性が減弱した 3 株を選抜した。3 株の次世代シーケンスリードデータから多数の変異箇所を検出したが、変異箇所の共通性は少なく、アルギン酸走化性に関与する遺伝子は特定できなかった。そこで、A1-MP 株の遺伝子破壊株 Δ algQ1 株、 Δ algQ2 株、および Δ algQ1Q2 (AlgQ1 と AlgQ2 の両方を破壊) 株を育種し、各破壊株のアルギン酸走化性と資化性を評価した。その結果、 Δ algQ1 株はアルギン酸資化性が減弱したが、アルギン酸走化性を保持していた。一方、 Δ algQ2 株はアルギン酸最少培地で顕著な生育遅延を示すと同時に、アルギン酸走化性を欠損した。 Δ algQ1Q2 株はアルギン酸資化性と走化性の両方を欠損した。次に、各破壊株にプラスミドを導入し、AlgQ1、AlgQ2、および AlgQ1Q2 (AlgQ1、AlgQ2 両タンパク質) 遺伝子を相補した。その結果、 Δ algQ2 株の走化性は AlgQ2、 Δ algQ1Q2 株の走化性は AlgQ1、AlgQ2、および AlgQ1Q2 の相補により復帰した。

【考察】各破壊株はペクチン走化性を示すことから、アルギン酸を認識する機能を欠損していると考えられる。遺伝子破壊では AlgQ2 のみが、遺伝子相補では AlgQ1 と AlgQ2 の両方がアルギン酸を認識する走化性トリガーとして機能すること、および AlgQ2 は AlgQ1 よりもアルギン酸走化性を惹起させる能力が高いことが示唆される。今後、野生株、破壊株、および相補株における各遺伝子の発現量を解析し、AlgQ1 と AlgQ2 のアルギン酸走化性発現における役割を明らかにすることを目指す。

¹Keegstra et al. *Nat. Rev. Microbiol.* (2022), ²Anamizu et al. *Sci. Rep.* (2022)

5* 分岐鎖アルコールと酵母 LeuRS の相互作用の解析による窒素飢餓応答機構の解明

○長谷川真乃¹、人見花帆¹、古川亜矢子¹、黒田浩一²、菅瀬謙治¹

(¹京大院・農、²京工繊大院・工科)

【目的】

近年、地球温暖化問題の解決に向けて、化石燃料を代替するバイオマスエネルギーの開発・利用が進められている。その代表例として酵母を用いたバイオエタノールの生産が行われているが、酵母はエタノールだけでなくイソブタノールを生産する能力ももつ。イソブタノールは、エタノールと比較して1.24倍の高い発熱量を持ち、また親水性がエタノールの約10%程度低いことから腐食が少なく、大気中の湿気による汚染の心配が少ない。ゆえに、イソブタノールはエタノールよりも優れたバイオ燃料と言える。この一方で、酵母は高いエタノール耐性(8%)を持つが、イソブタノールに対する耐性(1.4%)が低く、イソブタノールによって酵母の生育阻害が引き起こされる。このことが酵母を用いたイソブタノール生産における大きな課題となっている。

当研究室の先行研究により、イソブタノールによる酵母の生育阻害には、ロイシルtRNA合成酵素LeuRSのロイシン認識機構にイソブタノールが影響を及ぼすことが予想された[1]。そこで、本研究ではイソブタノールによる酵母の生育阻害のメカニズムを解明することを目的とし、NMRを用いてLeuRSとイソブタノールの相互作用を解析した。

【方法・結果】

酵母はCDC60によってコードされる細胞質由来LeuRS (124 kDa)とNAM2によってコードされるミトコンドリア由来LeuRS (102 kDa)の2種類のLeuRSを持つ。本研究では両LeuRSを大腸菌内で発現・精製後(図1)、STD-NMRによる相互作用解析を行った。その結果、酵母LeuRSはイソブタノールと相互作用を持つことが明らかとなった。このことから、イソブタノールによる酵母の生育阻害には、イソブタノールがロイシンとLeuRSの反応を競合阻害することによって生育阻害が引き起こされていることが示唆された。

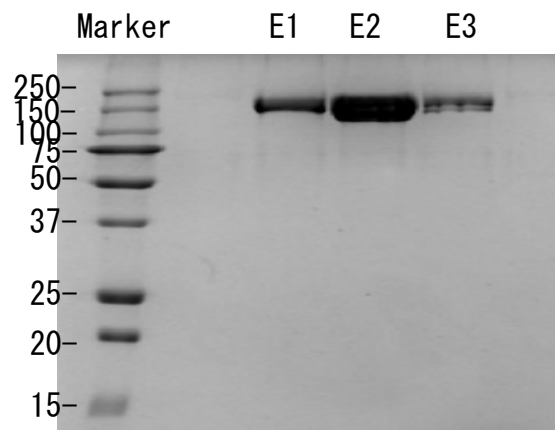


図1 精製後のCDC60
E1-3: ゲル濾過クロマトグラフィー
における溶出フラクション

[1] Kuroda, K. et al. Critical Roles of the Pentose Phosphate Pathway and GLN3 in Isobutanol-Specific Tolerance in Yeast. *Cell Syst* 9, 534-547 e535, 2019.

6* *Saccharomyces cerevisiae* のミトコンドリア機能の維持 における Glo4 の関与

○江原匡亮¹、野村 亘^{1,2}、井上善晴¹

(¹京大院・農、²京大・生理化学研究ユニット)

【目的】

真核生物における活性酸素種(ROS)の主要な発生源であるミトコンドリアには複数の抗酸化システムが存在し、グルタチオン(GSH)を還元力とするグルタチオンペルオキシダーゼもその一つである。GSHの合成は細胞質で行われることから、GSHは細胞質からミトコンドリアへと輸送される必要があるが、酵母におけるGSHのミトコンドリアへの供給機構は明らかにされていない。

一方、グリオキサラーゼ系はメチルグリオキサール(MG)をGSH依存的に代謝する経路である。MGはGlo1によってS-ラクチルグルタチオン(S-LG)へと変換され、引き続きGlo2によってGSHとD-乳酸へと加水分解される。出芽酵母では、Glo1ならびにGlo2は細胞質に局在しているが、ミトコンドリアにはGlo2と同様の反応を触媒する酵素であるGlo4が存在する。Glo4の基質であるS-LGを産生する酵素Glo1は細胞質にしか局在しないことから、Glo4のミトコンドリアにおける生理的な役割はよく分かっていない。そこで本研究では、S-LGがミトコンドリアへ輸送され、Glo4により加水分解されてGSHを供給している可能性について検討した。

【結果】

*GLO4*の発現は強いグルコース抑制を示す。そこで、生育にミトコンドリアを必要とする非発酵性炭素源培地における表現型を解析した。その結果、*glo4*Δ株は温度感受性を示すとともに、高いAntimycin A感受性を示したことから、Glo4がROSによるダメージからミトコンドリアを保護している可能性が示唆された。さらに、Rhodamine123を用いてミトコンドリア膜電位を観察した結果、非発酵性炭素源培地における*glo4*Δ株のミトコンドリア膜電位は、培養初期は高く維持されていたが、生育と共に低下し、それに伴って増殖が停止した。このことから、Glo4がミトコンドリア活性の維持に関与していることが示唆された。そこで、ミトコンドリアの品質管理機構であるマイトファジーをモニターしたところ、*glo4*Δ株はマイトファジー誘導条件下で野生株よりマイトファジーが亢進した。また、*glo4*Δ株のミトコンドリア内GSH含量は野生株と比べ有意に減少していた。

以上の結果より、Glo4はミトコンドリア内へのGSH供給を介してミトコンドリア機能の維持に関与していると考えられた。

7* 出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のピルビン酸デカルボキシラーゼ欠損株が示す 2-デオキシグルコース感受性に関する遺伝学的解析

○中村仁美¹、久保田麻友²、宇田竜成²、野村 亘^{2,3}、井上善晴²
(¹京大・農・応生科、²京大・院農・応生科、³京大・生理化学研究ユニット)

【目的】

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のアルコール発酵において、ピルビン酸デカルボキシラーゼ (PDC) は解糖系を経て産生されるピルビン酸をアセトアルデヒドへと脱炭酸する初発反応を触媒する酵素である。*S. cerevisiae* の PDC をコードする遺伝子として *PDC1*、*PDC5*、*PDC6* が同定されているが、このうち主要な PDC 活性を担うのは *PDC1* と *PDC5* である。野生株では *PDC1* が主に発現しており、*PDC5* の発現は強く抑制されているが、*PDC1* 欠損株では *PDC5* の発現が誘導されることで細胞の PDC 活性を担保する。*PDC1* と *PDC5* の二重欠損株はグルコースを単一炭素源とする培地で生育不可となるが、*PDC1* 単独欠損株の明確な表現型はこれまでに明らかにされていなかった。それに対して我々は、*PDC1* 欠損株がグルコースアナログである 2-デオキシグルコース (2-DG) に対して高い感受性を示すことを見出した。本研究では、*PDC1* 欠損と 2-DG 感受性との因果関係の解明に繋がる知見の獲得を目的として、*PDC1* 欠損株の 2-DG 感受性を抑圧する遺伝子の同定を試みた。

【方法・結果】

マルチコピーでの過剰発現により *PDC1* 欠損株が示す 2-DG 感受性を抑圧するマルチコピーサプレッサーの探索を実施した。その結果、取得が予想された *PDC1* 及び 2-DG の細胞毒性への耐性に寄与することが知られる *DOG1/2* (2-DG-6-リン酸ホスファターゼ) の他、*PDC2* (*PDC1*、*PDC5*、及びチアミン生合成系遺伝子の転写因子)、*NRP1* (ストレス顆粒局在性 RNA 結合タンパク質)、*ADE16* (プリン生合成酵素) の計 5 種類の遺伝子を取得した。*PDC2* 及び *NRP1* の過剰発現は *PDC1* 欠損株の 2-DG 感受性を抑圧したが、野生株に 2-DG 耐性を賦与しなかった。一方、*ADE16* の過剰発現は *PDC1* 欠損株の 2-DG 感受性を抑圧するとともに、野生株に 2-DG 耐性を賦与した。また、*ADE16* 欠損株は 2-DG 感受性を示した。

これらの結果は、*ADE16* は 2-DG の細胞毒性に関与すること、並びに *PDC2* と *NRP1* は *PDC1* 欠損に起因する 2-DG 感受性の発揮機構に関与することを示唆していると考えられた。

8*

スモモ類の花や果実からの野生酵母の単離と製パンへの応用

○井野倫星¹、左海遥奈¹、渡辺大輔²、山田徳広¹、川崎通夫¹、
沼本穂¹、加藤直樹¹、和田大¹

(¹ 摂大・農、² 奈良先端大・バイオ)

【目的】

パンや酒類などの発酵食品に利用される酵母は大半が*Saccharomyces cerevisiae*に属し、産業用に最適化されてきた。自然界には*S. cerevisiae*の他にも多くの*Saccharomyces*属酵母や*Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia*など多数の野生酵母が生息し、*S. cerevisiae*とは異なる特性を持つことが知られている。近年、発酵食品の味や香りの多様化が求められており、野生酵母を利用した独特の風味を持つ発酵食品の開発が注目されている。

そこで、本研究では野生酵母の発酵食品製造への利用を目的として、かつて枚方市の特産品だったスモモ類の花や果実から単離した酵母について製パン特性の評価を行い、製パンを試みた。

【方法・結果】

スモモ類の花(大石早生)・果実(バイオチェリー、メスレー)から発酵能のある菌株を分離選抜し26S rDNAシーケンスにより*S. cerevisiae*および*Hanseniaspora uvarum*と同定した。

分離した菌株が製パンに応用可能か検討するため、各種糖からのエタノール生産量を測定した。次に、小規模パン生地での二酸化炭素排出量を経時的に測定し、最適な発酵時間を検討した。その後、製パン試験を行い、製造したパンの比容積と硬さを測定した。また、各種糖源からの酢酸生産量を測定した。これら野生酵母の製パン特性を、ドライイーストから単離した市販酵母(*S. cerevisiae*)と比較し、評価した。

その結果、スモモ類の果実から単離した*S. cerevisiae*の2株は市販酵母と同程度の発酵能力を持ち、製パンに応用可能であった。また、製造したパンの品質も市販酵母を用いた場合と同等であった。スモモの花から単離した*H. uvarum*は、スクロース資化性がなく、グルコース、フルクトースからのガス発生速度も遅かった。そのため、スクロース(砂糖)を用いる通常の工程ではなく、フルクトース(フルーツシュガー)を用い、発酵時間を長くすることで製パンが可能になった。また、*H. uvarum*を用いて製造したパンには酢酸様の香味があった。液体培地でも*H. uvarum*は*S. cerevisiae*より多くの酢酸を生成しており、これらの香味の原因となっている可能性がある。

9*

高度好熱菌由来一本鎖 DNA 結合タンパク質と核様体構成タンパク質の相互作用

○小林一稀¹、藤井桃子¹、井上真男^{1,2}、青野陸¹、越智杏奈¹、
武田陽一¹、増井良治³、三原久明¹

(¹立命大・生命、²立命大・R-GIRO、³大阪公大・院理)

【目的】

一本鎖DNA結合タンパク質は、DNAの複製・修復・組換えなどのDNA代謝で生じる一本鎖DNA領域を保護するだけでなく、C末端側の酸性領域や天然変性領域を介してDNA代謝酵素群と相互作用し、DNA代謝の司令塔として働く。しかしながら、原核細胞のゲノムDNAは様々なタンパク質とともに凝縮した核様体構造を構築しており、本タンパク質が核様体中でどのように一本鎖DNA領域を探し出すのかなど未解明な点が多い。そこで本研究では、一本鎖DNA結合タンパク質と核様体構成タンパク質が直接相互作用するという仮説を立て、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* を対象としてその検証を試みた。

【方法・結果】

pET system を用いて *T. thermophilus* 由来一本鎖 DNA 結合タンパク質 (TTHA0244) および核様体構成タンパク質 (TTHA1349) をそれぞれ宿主大腸菌内で発現させ、細胞を破碎後、熱処理と種々のカラムクロマトグラフィーを用いて精製した。精製したTTHA0244とTTHA1349を混合すると、白濁し、凝集体が観察された。この凝集体は高濃度のNaClにより溶解した。また、60°Cで処理することでも凝集体は溶解したが、この溶液を4°Cに冷却すると再び白濁した。以上のことから、TTHA0244とTTHA1349が共存すると可逆的に凝集することが示唆された。次に、一定濃度のTTHA0244に対して種々の濃度のTTHA1349を添加し、ネイティブアガロースゲル電気泳動によって分析したところ、TTHA1349の濃度上昇に伴いTTHA0244に由来するバンドが消失したことから、TTHA0244とTTHA1349が相互作用したと考えられた。そこで、TTHA0244のC末端酸性領域17残基を欠損させた変異体を作製して同様の分析を行ったところ、TTHA1349添加によるバンドのシフトは観察されたものの、野生型とは大きく挙動が異なっていた。さらに、本変異体とTTHA1349との混合溶液は凝集体を生じなかったことから、TTHA0244のC末端酸性領域はTTHA1349との相互作用に必須ではないが、高次会合体の形成に関与することが示唆された。

10* *Lactiplantibacillus plantarum* 22A-3 によるアレルギー抑制機序の解明

○辻楓歌¹、福田伊津子¹、上田修司¹、白井康仁¹、田川岳²、山名美江²、水野雅史³ (¹神大院・農、²丸善製薬、³大阪青山・健康科学)

【目的】

先行研究において、植物由来乳酸菌である *Lactiplantibacillus plantarum* 22A-3 (LP22A-3) が卵白アルブミン (OVA) 誘導食物アレルギーモデルマウスのアナフィラキシー症状を抑制することが明らかとなった。その際、抗原提示細胞に発現し、2型ヘルパーT (Th2) 細胞への分化を誘導する共刺激分子であるOX40リガンド (OX40L) のmRNA発現が抑制されることが報告されている。しかしOX40Lの発現抑制に至るまでの機序は不明であるため、本研究ではその機序解明を目的とした。

【方法】

雌性5週齢BALB/cマウスに10 µgのOVAとAl(OH)₃を混合したものを腹腔内投与して感作させ、10 mgのOVAを複数回経口投与して腸管に刺激を与えた後、100 mgのOVAを経口投与することで食物アレルギーを誘導した。なお、試験期間中には1×10⁸ cfuのLP22A-3を毎日経口投与した。感作期にあたる試験期間中、ならびに抗原暴露後である試験終了後に小腸を採取してRNAを抽出し、qPCRによりOX40Lの発現を促進する因子である上皮由来サイトカインのmRNA発現量を測定した。また、*in vitro*実験として、分化させたヒト結腸癌由来細胞株HT-29にLP22A-3を6時間、OVAを24時間作用させた後RNA抽出を行い、同様にqPCRで上皮由来サイトカインのmRNA発現量を測定した。

【結果・考察】

感作期に採取した小腸において、食物アレルギー誘導群では上皮由来サイトカインである胸腺間質性リンパ球新生因子 (TSLP) の発現に増加傾向が見られ、インターロイキン (IL) -25、IL-33の発現が有意に増加した。LP22A-3を経口投与することにより、TSLPの発現は抑制されなかったが、IL-25とIL-33の発現は有意に抑制された。抗原暴露後に採取した小腸においても、感作期と同様の結果が得られた。このことから、食物アレルギーモデルマウスにおいて、LP22A-3は感作期からIL-25とIL-33の発現を抑制することで、OX40Lの発現を抑制することが示唆された。ついで、感作を模した*in vitro*系でIL-25とIL-33の発現を評価したところ、LP22A-3処理によりIL-25の発現は抑制されなかったが、IL-33の発現は有意に抑制された。以上のことから、LP22A-3によるOX40Lの発現抑制機序は少なくともIL-33の発現抑制によるものであることが示唆された。現在はLP22A-3がIL-33の上流に与える影響を検討中である。

11

パインナップル由来グルコシルセラミドが有する抗アレルギー効果の作用機序解明

○備谷志保¹、福田伊津子¹、上田修司¹、白井康仁¹、田川岳²、吉野進²、水野雅史³ (¹神大院・農、²丸善製薬、³大阪青山・健康科学)

【目的】

パインナップル由来グルコシルセラミド (P-GlcCer) の経口摂取により、アレルギーモデルマウスにおいて症状が抑制されることが明らかにされているが、その詳細なメカニズムは不明である。P-GlcCerは小腸上皮でグルコシルセラミダーゼやセラミダーゼによる分解を受け、セラミドや4,8-スフィンガジエニン(4,8-SD)などのスフィンゴイド塩基として一部吸収される。先行研究により、これらの代謝産物がマスト細胞に直接作用し、ヒスタミン放出(脱顆粒)を阻害することで抗アレルギー効果を発揮すると考えられているが、その詳細は不明な点が多い。そこで、本研究では、4,8-SDのマスト細胞への影響に着目して、P-GlcCerの経口投与による抗アレルギー効果の作用機序を明らかにすることを目的とした。

【方法及び結果】

まず、4,8-SDをラット好塩基球性白血球細胞(RBL-2H3)に2時間作用させた後、ウェスタンブロッティングによって、マスト細胞の活性化に深く関与しているプロテインキナーゼC (PKC)の活性化を自己リン酸化を指標に評価した。その結果、アクチンの脱重合を阻害することで脱顆粒を抑制するPKC α のリン酸化が亢進していた。一方、PKC β はカルシウム流入を誘導し、脱顆粒に促進的に働くことが知られているが、4,8-SD処理によってPKC β のリン酸化も亢進する傾向が示された。そこで、4,8-SD処理により実際にカルシウム流入が起こるかどうかを、カルシウムイメージングによって調べたところ、RBL-2H3細胞を4,8-SDのみで刺激した際にカルシウム流入が引き起こされたが、ヒスタミン分泌は誘導しなかった。ついで、4,8-SDを作用させた上で抗原刺激による脱顆粒誘導時のカルシウム流入を測定したところ、4,8-SDを前処置により、ヒスタミン分泌と同様に、カルシウム流入が抑制された。最後に、P-GlcCerを経口投与したアレルギーモデルマウスの組織中ヒスタミン量をELISAにて測定した。その結果、P-GlcCer投与群ではアレルギー症状の減少に伴ってヒスタミン量が有意に減少することが示された。以上のことから、4,8-SDは抗原抗体反応以前に細胞内カルシウムストア量を減少させること及び膜直下のアクチンを増加させることで、マスト細胞からのヒスタミン分泌を抑制し、抗アレルギー効果を発揮している可能性が示唆された。

12 高い抗酸化力を有する鶏卵調製法の検討 ～ORAC 値と SOAC 値を指標として～

○久保七彩^{1,2}、西井真理³、上野義栄^{1,2}、八田一^{1,2}

(¹(株)NBL 鶏と卵の研究所・²京都女子大学・³京都府畜産センター)

【目的】 先行研究において、「抗酸化力」をアピールし販売している鶏卵の中で、抹茶粉末を飼料に添加して生産された卵(ブランド卵A)の抗酸化力(ORAC値・SOAC値)が最も高値であった。本研究では、産業廃棄物として年間約12万トン廃棄されている茶殻に着目し、餌に茶殻粉末を添加することによりブランド卵Aのような高い抗酸化力を有する卵が生産可能かを検討した。

【方法】 ボリスブラウン(392日齢)21羽を7群に分けた。コントロール群は通常配合飼料、茶葉粉末群および茶殻粉末群はそれぞれ0.5、1.0、2.0%配合した飼料を摂取させた。水は自由飲水とし4週間飼育した。試験期間の卵は冷蔵保存し、4週目の卵の全卵液を凍結乾燥した。飼料に添加した茶葉、茶殻と各群の卵の凍結乾燥粉末を試料とし、抗酸化力測定(ORAC法、SOAC法)を実施した。ORAC法では標準物質をTrolox(水溶性ビタミンE誘導体)とし、蛍光プローブであるフルオレセイン、活性酸素発生剤としてAAPH(2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride)を用いた。SOAC法では標準物質を α -tocopherol(ビタミンE)とし、一重項酸素($^1\text{O}_2$)アクセプターはDPBF(2,5-diphenylbenzofuran)、 $^1\text{O}_2$ 発生剤としてEndoperoxide試薬を用いた。また、0～4週目にデジタルエッグテスター((株)ナベル製)による鶏卵の鮮度測定、卵白の色調を調べるための写真撮影を行った。

【結果】 茶葉及び茶殻のORAC値($\mu\text{mol TE/g}$)は茶葉で高く(茶葉:1990、茶殻:127)、一方でSOAC値($\mu\text{mol } \alpha\text{-toc/g}$)には差がなかった(茶葉:437、茶殻:433)。鶏卵のORAC値は茶葉1%、茶殻1%配合群で特に高値(約1200～1300)を示す個体が見られたが、ばらつきが大きく、各群間で有意な差は認められなかった。SOAC値においてもコントロール群(33.6)と茶葉粉末0.5、1.0、2.0%配合群(順に41.1、40.2、44.1)、茶殻粉末0.5、1.0、2.0%配合群(順に35.4、35.5、38.8)に有意差はなかった。なお同時に測定したブランド卵AのSOAC値は107.0を示した。また、コントロール群と茶葉・茶殻配合群の卵重・卵殻強度・YCF・HU・YI・産卵率に変化はなかった。一方、茶葉粉末摂取群は卵白の蛍光色(黄色)が消失し、無色透明なガラス様となった。

【考察】 本研究で茶葉や茶殻粉末を添加した飼料を摂取させ調製した鶏卵(全卵)の抗酸化力は、コントロール群と比較して有意な差はなく、茶葉や茶殻から鶏卵への抗酸化成分の移行がなかったと考えられる。一方、市販ブランド卵A(抹茶配合)のSOAC値は有意に高く、使用した茶葉の特性や粒度に違いがあると思われた。

13 生体内混雑環境を考慮した α シヌクレイン凝集化機構の動的構造解析

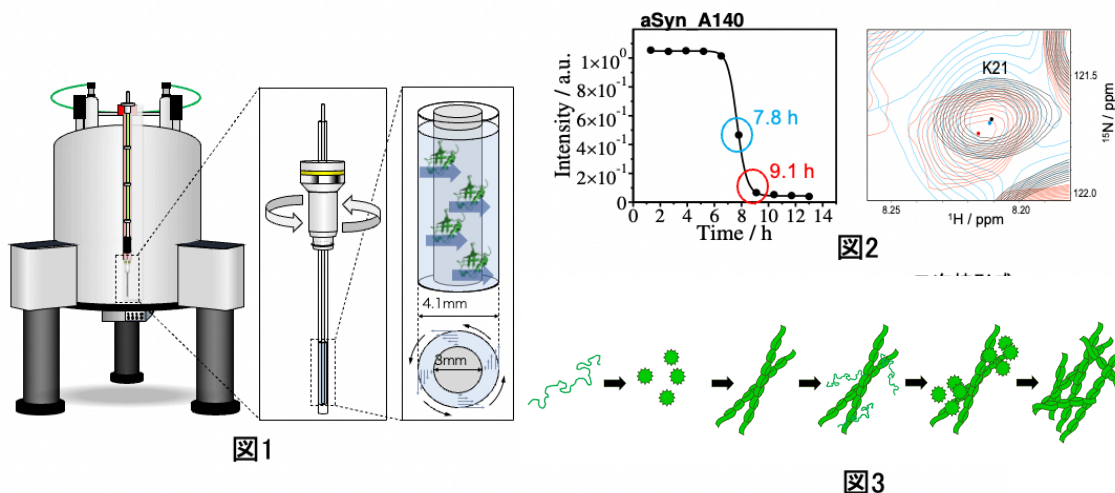
○佐藤恵¹、吉岡康太¹、森本大智¹、古川亜矢子²、菅瀬謙治²
(¹京大院・工、²京大院・農)

【目的】

パーキンソン病は様々な運動障害を引き起こす神経変性疾患である。パーキンソン病の原因は、神経細胞内に多量に存在する α -シヌクレインというタンパク質のオリゴマー化およびアミロイド線維化と考えられているが、その詳細なメカニズムは分かっていない。そこで、本研究では高感度Rheo-NMR法を用いて α -シヌクレインのアミロイド線維化過程の分子メカニズムを部位特異的に解明することに取り組んだ。また、近年細胞内のイベントとして注目されている「液液相分離」が、 α -シヌクレイン凝集の初期状態に関与していることが示唆されており、この液液相分離を再現した混雑環境のアミロイド線維化に対する影響を調べた。

【方法・結果】

当研究室が開発した高感度Rheo-NMR法(図1)は、測定サンプルに剪断流を発生させることにより、通常は観測が困難なタンパク質のアミロイド線維化を原子分解能かつリアルタイムで測定可能にする。分子クラウディング剤PEGにより液液相分離させた状態でも静止状態では α -シヌクレインは線維化しなかったが、Rheo-NMR法を適用すると、アミロイド線維化に特徴的なNMRシグナルの減衰が見られた(図2左)。また、線維化に伴って多くのアミノ酸残基で化学シフト変化が観測され、構造状態の変化が示唆された(図2右)。さらに、NMRシグナルの減衰カーブの解析により、アミロイド線維化過程において、モノマーの α -シヌクレインが核を形成する一次核形成過程が律速段階であることが示された(図3)。これらの結果から、液液相分離状態により α -シヌクレインのアミロイド線維化が促進されることが原子レベルで明らかになった。



14

長期記憶関連タンパク質 CPEB3 のユビキチン化による凝集機構解析

○齋藤元伸¹、上野元春²、森本大智¹、関山直孝²、古川亜矢子³、菅瀬謙治³

(¹京大院・工、²京大院・理、³京大院・農)

【目的】

人が何かを記憶する際、得られた情報は特定の化学物質に変換されるのではなく、神経細胞のネットワークとして保存される。とくに、長期記憶として情報を保存するとき、細胞レベルでは特定のシナプス結合だけが強化されている。近年、この過程にRNA結合タンパク質 CPEB3 による翻訳制御が重要であることが分かってきた。CPEB3 はグルタミン酸受容体や細胞骨格タンパク質といった、シナプス結合の強化に必要なタンパク質の翻訳を促進させる。興味深いことに、この翻訳促進は CPEB3 が自己凝集することや、ユビキチン化によって活性化される。しかし、CPEB3 の詳細な凝集体形成機構はよく分かっていない。そこで、本研究ではユビキチン化による凝集性や相互作用形式の変化といった観点から CPEB3 の活性化機構の解明をめざした。

【方法・結果】

まず、CPEB3の凝集形成に特に寄与している領域を特定するために、天然変性領域を複数の領域に分割して調製した組み替えタンパク質の性質を調べた。その結果、アミロイド線維を形成する**線維化領域**(Fibril region: **FR**)と液滴状の凝集体を形成する**液滴化領域**(Droplet region: **DR**)を特定した。さらに、凝集性の解析やNMRによる相互作用解析を行ったところ、DRはFRと相互作用してアミロイド線維形成を抑制する性質があり、CPEB3分子全体の凝集を抑制する働きを持つことが示唆された。

次に、ユビキチン化CPEB3についての研究を行った。そもそもユビキチン化部位さえ決定されていなかったため、はじめに試験管内でユビキチン化アッセイを行い、修飾部位を解析した。その結果、特定した修飾部位はDRのN末端側近傍に位置していた。ユビキチン化が凝集性に与える影響を調べるため、ユビキチン化CPEB3 DRを調製して濁度アッセイを行ったところ、ユビキチン化CPEB3 DRの方が非修飾のDRより高い凝集性を示し、ユビキチン化によって自己凝集が促進されることが示唆された(図1)。さらに、ユビキチンとユビキチン化CPEB3 DRのNMR測定を行ったところ、ユビキチン化によってループ領域やI44パッチのNMRシグナルが変化し、これらの領域がCPEB3 DRと相互作用することが明らかとなった。

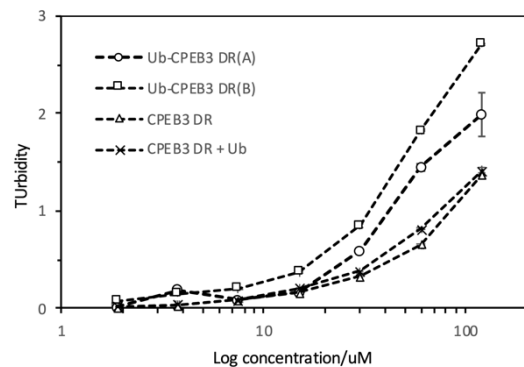


図1.ユビキチン化CPEB3 DRを用いた濁度アッセイ

15

溶血性レンサ球菌におけるB群菌に特異的なヒト腔内常在性要因

○勝弘 夏子、高瀬 隆一、老木 紗予子、小倉 康平、橋本 渉

(京大院・農)

【背景・目的】 ヒト子宮内は無菌であると考えられていたが、ヒトに病原性を示す溶血性レンサ球菌のうち、ランスフィールド抗原でB群に分類される*Streptococcus agalactiae*は、約5%の女性の子宮内に保菌される¹⁾。ヒト子宮下部に存在する腔内の細菌叢は、*Lactobacillus*属細菌が90%以上を占めることでpHが低く保たれ、病原体の繁殖が抑制されている。死産や新生児敗血症の原因菌である*S. agalactiae*は、*Lactobacillus*属細菌の割合に関わらず約20%の女性の腔内から検出されるが、その細菌間作用に関しては不明な点が多い。また、当研究室では*S. agalactiae*におけるヒト粘液物質ヒアルロン酸の輸送代謝機構を明らかにし、その腸内常在性を解析しているが²⁾、ヒト腔内における*S. agalactiae*の栄養獲得機構に関する知見は少ない。本研究では、*S. agalactiae*とヒト腔内優占*Lactobacillus*属細菌との細菌間作用と、ヒト腔内モデル環境における*S. agalactiae*の栄養獲得性を明らかにすることを目指した。

【方法・結果】 *S. agalactiae*と*Lactobacillus*属細菌とを共培養し、各々の生菌を検出する系を確立した。共培養の結果、培養液のpHの低下に伴い*S. agalactiae*の生育は抑制されたが、*Lactobacillus*属細菌の生育はほとんど影響をうけなかった。*Lactobacillus*属細菌によるpH低下を誘起する乳酸を定量し、その分泌量と同量の乳酸標品は*S. agalactiae*を死滅させることがわかった。次に、*S. agalactiae*はヒト腔内を模した再現培地中で、他の溶血性レンサ球菌(*S. dysgalactiae*、*S. pneumoniae*、*S. pyogenes*)と比べて顕著に生育した。再現培地から大量に含まれるタンパク質源であるアルブミン、あるいは微量に含まれる粘液成分ムチンを除くと*S. agalactiae*の生育は著しく低下した。*Lactobacillus*属細菌も同様に再現培地中で良好に生育し、アルブミンあるいはムチンを除くと生育は低下した。

【考察】 *Lactobacillus*属細菌との共培養における*S. agalactiae*の生育抑制には、*Lactobacillus*属細菌が分泌する乳酸が重要であることが示唆された。糖タンパク質ムチンはヒト腔内上皮細胞から分泌される。ヒト腔内モデル環境におけるムチンの欠失は*S. agalactiae*と*Lactobacillus*属細菌の生育を低下させることから、ムチンが両細菌の腔内上皮細胞表面での増殖や定着に必要な因子である可能性が示された。また、アルブミンやムチンが溶血性レンサ球菌におけるB群菌に特異的な腔内常在性の要因としてもはたらくことが明らかになった。

¹⁾ de Goffau *et al.*, *Nature* **572**, 329-334 (2019)

²⁾ Oiki *et al.*, *PLoS One* **11**, e0224753 (2019)

16

腸内細菌における葉酸生合成遺伝子の同定

○長澤舞奈¹、佐藤喬章^{1,2}、跡見晴幸^{1,2}

(¹京大院・工、²京大・エネ研)

【目的】

腸内細菌には善玉菌・中間菌・悪玉菌が存在し、それらが相互作用しながらバランスを保って宿主であるヒトの腸内に生息している。腸内細菌叢のバランスが崩れ悪玉菌が増殖しすぎると、ヒトの健康に悪影響をもたらす。例えば主要な悪玉菌の一種であるウェルシュ菌は、発生する毒素により腸炎を引き起こす。しかし、ウェルシュ菌を始め、多くの腸内細菌の代謝は未だ明らかにされていない部分がある。例えば、一部の腸内細菌の葉酸生合成経路では、葉酸の前駆体である 7,8-ジヒドロネオプテリン三リン酸(DHNTp)を脱ピロリン酸化する酵素が未同定である。先行研究では、善玉菌に分類される乳酸菌ラクトコッカスや中間菌に分類される大腸菌においてこの反応を触媒する酵素が同定されている。これらの酵素間の相同性は低く、異なる酵素であると捉えられているが、それらのホモログは両方ともウェルシュ菌には存在しない。よって、ウェルシュ菌ではそれらと異なる一次構造をもつ酵素が反応を触媒している可能性がある。そこで本研究では、ウェルシュ菌において DHNTp を基質とした脱ピロリン酸化反応を触媒する酵素を同定することを目的とした。葉酸は核酸・アミノ酸・補酵素などの生合成に関与し、多くの細菌の生存に欠かせない生体分子であることから、ウェルシュ菌が特異的に有する葉酸生合成酵素を阻害することでそれらの生育を選択的に抑制できる可能性もある。

【方法・結果】

ウェルシュ菌のゲノム上の葉酸生合成オペロンの内部または近辺にある 2 つの遺伝子を、DHNTp 脱ピロリン酸化反応を触媒する酵素の候補とした。His タグ配列を付加したこれらの遺伝子を大腸菌内で発現し、発現産物をカラムクロマトグラフィーでほぼ単一となるまで精製した。また、基質となる DHNTp を大腸菌由来の酵素を用いてグアノシン 5'-三リン酸から調製した。得られた 2 つの精製組換え型タンパク質に対して、調製した DHNTp を基質として活性測定を行った。その結果、両タンパク質においてマンガンイオン依存的な脱ピロリン酸化活性を検出できた。しかし、それらの酵素が示す活性には大きな差があり、活性の高い方が DHNTp の脱ピロリン酸化に寄与していると考えている。現在、本タンパク質の酵素学的特性の解析を進めている。また、もう一方の酵素についてもその遺伝子の配置から、何らかの形で葉酸生合成に関与している可能性も考えて検討を進めている。

17 Tet-Off システムを用いた UPR の人為的制御とその応用

○門口将己、木俣行雄

(奈良先端大・バイオ)

【目的】

増殖が速く、多様な遺伝子操作手法が開発されている出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は、バイオテクノロジー的な手法による有用物質生産のプラットフォームとして、高い利用価値が期待されている。生物学的製剤となるヒト由来分泌タンパク質や、植物由来の機能性脂質を酵母を用いて製造する技術開発は、実用化、あるいは実用化に近いレベルにまで研究が進められているが、本研究の目的は、それらの収量の増大のための技術的基盤を作ることである。

そのために着目したのが、分泌タンパク質や様々な脂質の生合成の場となるオルガネラとして知られる小胞体である。高等真核生物の小胞体は細胞質全体に広がっている場合が多いのに対し、酵母の小胞体は概して表面積や体積が小さい。よって、人為的に小胞体を伸展できれば、様々な有用物質の酵母における産生量増大に資することができると想定される。

そこで本研究では、Unfolded Protein Response (UPR) を利用することとした。小胞体の機能障害や機能不全は小胞体ストレスと呼ばれ、真核生物細胞は総じて、小胞体ストレスに対する防衛応答として、UPR を引き起こす。*S. cerevisiae* では UPR を司る転写因子は Hac1 タンパク質である。Hac1 タンパク質は小胞体ストレスに応じて産生され、分泌タンパク質の成熟に関わる因子(小胞体分子シャペロンやタンパク質修飾酵素)や脂質合成酵素など、小胞体の機能に関わるタンパク質の発現が誘導される。

よって、恒常的な遺伝子発現プロモーターを用いて Hac1 タンパク質を人為的に発現させれば、非ストレス時にも UPR が誘導され、小胞体の機能が強化され、小胞体における有用物質生産の収量が増大すると期待される。先行研究において、実際にそのような *S. cerevisiae* 株が作製されたが、増殖が極めて遅く、活用することが困難であった。そこで本研究では、誘導性の遺伝子プロモーターを用いた Hac1 タンパク質の発現を試みた。

【方法・結果】

本研究では Tet-off システムを用い、ドキシサイクリンにより Hac1 タンパク質の発現が制御される *S. cerevisiae* 株を作製した。ドキシサイクリンを培地に加え、Hac1 タンパク質の発現を抑制すると、UPR が抑えられ、通常で細胞は増殖した。一方、ドキシサイクリン非存在下では、期待通り、Hac1 タンパク質が高発現し、高レベルの UPR が惹起された。この状態では、増速は遅延したが、小胞体の著しい進展が認められ、また、他種性の機能性脂質である β カロチンの産生量が増大した。よって、この手法は、*S. cerevisiae* による有用物質生産に有効であると考えられる。

18 PET 分解酵素 Cut190 の高機能化と構造機能相関解析

○近藤史弥¹、Gert-Jan Bekker²、神谷成敏³、沼本修孝⁴、織田昌幸¹

(¹京都府大院・生命環境、²大阪大・蛋白研、³兵庫県大院・情報、⁴東京医科歯科大・難研)

【目的】

主要プラスチックの1つであるpolyethylene terephthalate (PET) の分解は、これまで高熱処理によるアプローチが試行されてきたが、近年、酵素利用による低エネルギーなPET分解の実現が期待されている。PETの物性から、70°C前後での酵素反応によりPET全体の分解が達成できる。*Saccharomonospora viridis* AHK190由来のCut190はPET分解活性を有するクチナーゼ様酵素で、高機能化変異体Cut190**SSは分子内S-S結合の導入により熱安定性が向上し、70°Cでの活性維持が確認された。

本研究の目的は、Cut190**SSを標準型とし、より基質分解活性の高い変異体を創製することである。主に2つの変異戦略、1.基質結合への関与が予想される残基Phe255の変異、2.Ca²⁺結合部位の近傍残基Phe77、Phe81の変異、によって、各変異体を評価した。特に後者について、Cut190はCa²⁺結合でclosed構造からopen構造へ変化し、活性化するという特徴的な性質を有する。上記の2残基はこの構造変化で側鎖芳香環を置き換えるように配向が変化し、同構造変化の鍵となる可能性が考えられるため、高機能化検討に加え、構造機能相関の解明を志向した。

【方法・結果】

Cut190**SSを鋳型として、各種変異体の創製に成功した。大腸菌発現系で取得し、精製した各変異体をPETに反応させ、分解産物の定量によって活性値を評価した。加えて、円二色性分散(CD)を用いて二次構造と熱安定性を評価した。結果として、F255I変異体で活性が上昇し、熱安定性がわずかに低下した。側鎖芳香環の欠損による基質PETとの相互作用の変化が、活性値に影響を与えたと推測される。また、F77L変異体で活性上昇、F81L変異体で活性低下が確認され、両変異体とも熱安定性はわずかに低下した。変異による二次構造の変化は認められず、小角X線散乱から取得した分子挙動のプロファイルにも変化が確認されなかった。一方、拡張アンサンブル法による分子動力学計算の結果、F77L、F81L変異は、closed構造とopen構造の存在分布率を変化させることが明らかとなり、構造分布の差異が活性値に変化をもたらすという構造機能相関が示唆された。

19

短鎖アルカン酸化性細菌 *Mycolicibacterium* sp. TY-6 株におけるメタン酸化酵素高発現のためのプロモーター探索

○浅井夏美、木田航平、Oktay Gafarov、岩崎光司、阪井康能、由里本博也

(京大院・農)

【目的】

天然ガスの主成分であるメタンは、燃料としての利用に加え、石油に代わる化成品原料としてメタノールへと変換して利用することが期待されている。しかし、従来の化学触媒を用いた高温高压条件での変換反応は膨大なエネルギーを要する。一方で自然界に存在するメタン酸化性細菌は、この反応を常温常圧条件で触媒するメタン酸化酵素(メタンモノオキシゲナーゼ:MMO)を有しており、本酵素の活用により効率的なメタン酸化が可能になると期待できる。しかし、多くのメタン酸化性細菌はメタン酸化で得られるメタノールを生育のために代謝するため、メタノールを代謝しない宿主でMMOを異種発現させる必要がある。しかし、大腸菌などの異宿主において活性型での高発現に成功した例はない。当研究室において単離された短鎖アルカン酸化性細菌 *Mycolicibacterium* sp. TY-6株は、メタンやメタノールには生育できないが、MMOと相同性を示すアルカン酸化酵素遺伝子を複数保持していることから、MMOの発現宿主として適していると考えられる。そこで本研究では、TY-6株を宿主としてMMOを発現させるための最適なプロモーターを探索した。

【方法・結果】

TY-6株の持つ4種類のアラン酸化酵素遺伝子群の上流領域よりプロモーター配列を取得し、各プロモーター支配下にEGFP遺伝子を導入したプラスミドをTY-6株に形質転換した。得られた株の蛍光顕微鏡解析により各プロモーターの強さを評価した結果、*M-smoX* プロモーターが最も強力なプロモーターであることがわかった。

一般に、複数のサブユニットからなるMMOは異宿主におけるフォールディングが難しく、不活性型凝集体として発現してしまうため、低温培養で時間をかけてフォールディングを行うことで、MMOの活性型での発現効率を高めることができると考えた。TY-6株のRNA-seq解析で高い発現量を示した遺伝子の中にコールドショック応答に関わる遺伝子があったことから、発現量が上位4位までの遺伝子の上流領域よりプロモーター配列を取得し、各プロモーターの支配下にEGFP遺伝子を発現させた。コールドショック誘導前後の蛍光顕微鏡解析により、低温培養によるMMOの発現に有効なプロモーターを選抜した。

20 好熱性グラム陽性菌の新たな形質転換法の開発

○天津凌太郎¹、天津(吉田)紗菜子¹、石川周¹、吉田健一¹

(¹神戸大院・イノベ)

【目的】

高温での培養が可能な好熱菌は、コンタミネーションリスクが低いことや培養中の冷却が不要となるなど、種々のメリットがありバイオプロダクションへの応用に期待が高まっている。しかし、好熱菌の遺伝操作は効率が低く、好熱性の選択マーカーが少ないため複数の改変を同時に導入することが難しいので、自由自在とは言い難い現状にある。そこで、本研究では好熱性グラム陽性菌 *Geobacillus kaustophilus* (GK) の遺伝子操作法の改善、ならびに新たな選択マーカーの開発を目指した。具体的には、グラム陽性菌接合伝達プラスミド pLS20 を利用して GK ゲノムを操作する手法を改良し、さらに GK に対して抗菌活性を示す好熱性バクテリオシンに対する耐性遺伝子を好熱性選択マーカーとしての活用できるか検討した。

【方法・結果】

GK への遺伝子供与に用いる枯草菌において pLS20 の接合伝達遺伝子を過剰に発現させると細胞毒性が生じるので、これを軽減するために接合伝達に用いる培地の組成を変えて(浸透圧を調整するなど)条件を検討した。その結果、従来のおよそ130倍の高効率での遺伝子組換え体を取得可能とする新手法の開発に成功した(下図)。

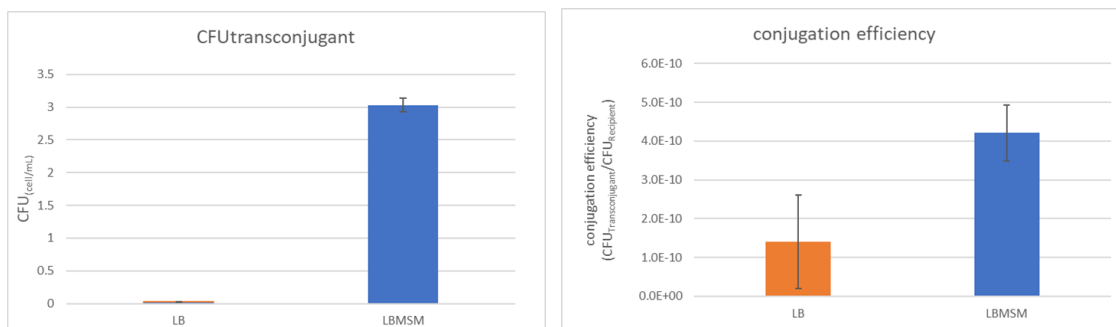


図. LB培地(橙)と改善培地(青)の比較:形質転換体CFU(左)、形質転換効率(右)

GKは好熱バクテリオシンであるパリドサイクリンを生産する *Aeribacillus pallidus* PI8 と共培養すると顕著な生育阻害を受ける。PI8のパリドサイクリン生産を担う *pcyn* オペロンの末尾には *pcynF* 遺伝子が含まれており、これをプラスミド上に乗せて GK へ導入すると、PI8による生育阻害を回避できることが見出した。この結果は、*pcynF* がパリドサイクリンの抵抗性遺伝子であることを強く示唆した。即ち、*pcynF* を pLS20 の接合伝達によって GK ゲノムへ導入すれば、PI8 との混合培養後の生存を指標として、これを新たな選択マーカーとして利用できる可能性が示された。

2021年度 農芸化学
中小企業産学・
産官連携研究助成
成果報告

アミノ酸高生産酵母の育種技術を活用した 泡盛の高付加価値化・ブランド化

高木 博史¹、塚原 正俊²

¹ 奈良先端科学技術大学院大学 研究推進機構

² 株式会社バイオジェット

1. はじめに

沖縄県の伝統的蒸留酒である泡盛は、県内食品産業の大きな柱であり、県全体の産業振興に不可欠である。しかし、近年は需要の微減傾向が続き、酒税軽減措置の終了、競合商品である焼酎ブームなどの厳しい環境下にある。したがって、泡盛の認知度と競争力の向上には、各酒造所での独自の商品開発や製造工程の改良が求められている。泡盛製造には黒麹菌 (*Aspergillus luchuensis*) と酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) が用いられ、泡盛の風味や酒質に大きな影響を与えている。特に、主要な芳香成分である高級アルコール、エステル類は発酵過程で主に酵母から生成される。泡盛では主としてエタノール生産性と芳香性に優れた泡盛 101 号酵母 (101 株) が使用されているが、これまで育種研究は行われてこなかった。

高木は、酵母に見出したアミノ酸の代謝制御機構および生理機能を解析してきた (日本農芸化学会賞、生物工学賞など)。また、アミノ酸高生産株を効率的に取得する育種手法を「アミノ酸機能工学」と命名し、産業酵母 (パン酵母、清酒酵母、泡盛酵母、ビール酵母) の高機能開発 (発酵力の向上、味・風味の多様化、健康イメージの付与など) を行ってきた¹⁻⁴⁾。泡盛においては、塚原との共同研究により、L-ロイシン (Leu) の代謝中間体から合成され、吟醸香・バナナ香の主要成分である酢酸イソアミル (IAA) に着目し、泡盛酵母の Leu アナログ (5,5,5-トリフルオロ-DL-ロイシン; TFL) 耐性変異株から、親株に比べて Leu および IAA の含量が増加した株を取得した。本株には α -イソプロピルリンゴ酸シンターゼ Leu4 をコードする遺伝子 (*LEU4*) にアミノ酸置換を伴う変異があり、Leu によるフィードバック阻害感受性の低下が Leu 高生産の原因であることが判明した。これは泡盛酵母の育種に関する初めての成果であり、本株で醸造した泡盛は香味性が向上し、商品化された (2016 年、2023 年)⁵⁾。また、沖縄に自生するハイビスカスの花から酵母を単離し、全ゲノム解析によって詳細な系統解析を行うとともに、Leu および IAA の含量が増加した株を育種し、*LEU4* 遺伝子の新規変異および Leu 高生産機構の解明、泡盛の商品化に至った (2018 年、2019 年)⁶⁾。

塚原は最近、沖縄で栽培される島バナナの茎から泡盛の醸造に応用可能な酵母 (島バナナ酵母 35a14 株) を単離した。35a14 株を用いた泡盛に含まれる IAA は従来の泡盛酵母 101 株の約 60% と低かった。そこで、本研究では島バナナ酵母から Leu と IAA を高生産する株の育種に取り組み、多様な風味を有する泡盛の開発を行うことを目的とした。

2. Leu 蓄積を伴う島バナナ酵母変異株の分離

島バナナ酵母 35a14 株について、泡盛醸造に適した特性を付与するため、IAA の高生産株の取得を目指し、細胞内に Leu を蓄積する TFL 耐性変異株の分離を試みた。35a14 株を 6 分間の紫外線照射により変異を誘発し

た後、TFL (40 $\mu\text{g/ml}$) を含む

最少培地に播種したところ、

約 100 個の TFL 耐性コロニーが得られた。これらのコロニーから、Leu を高生産する株をスクリーニングし、最終的に BNNL80 株を選抜した。BNNL80 株は、

親株 35a14 株と比較して、乾燥重量当たりの Leu 含量が約 3.3 倍に増加していた

(図 1)。

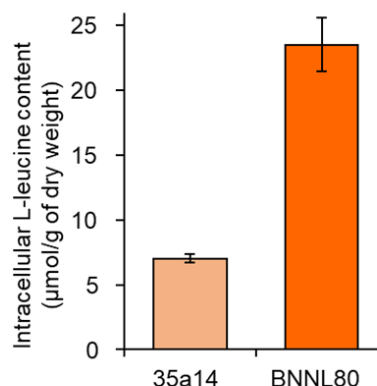


図 1 島バナナ酵母 35a14 株と BNNL80 株の細胞内 Leu 含量
酵母細胞を 5 ml の最少培地で 30°C、2 日間培養した ($\text{OD}_{600}=10.0$)。
数値は 3 回の独立した実験の平均と標準偏差で示す。

3. 島バナナ酵母変異株 (BNNL80 株) の特性解析

BNNL80 株の *LEU4* 遺伝子配列を解析したところ、1,732 番目の塩基がグアニンからアデニンに置換しており、この変異は Leu4 のアミノ酸置換 (Asp578Asn) を伴っていた。清酒酵母では、Leu4 の Asp578 を Tyr に置換すると、Leu によるフィードバック阻害感受性が低下し、Leu が過剰生産されることで清酒中の IAA 含量が増加することが報告されている⁷⁾。したがって、BNNL80 株の Asp578Asn 置換も Leu によるフィードバック阻害を脱感作すると考えられた。次に、Leu4 の Asp578Asn

置換が Leu 合成に及ぼす影響を解析した。その結果、Asp578Asn 変異型 Leu4 を発現する 35a14 株の細胞内 Leu 含量は、空ベクター導入株および野生型 Leu4 を発現する 35a14 株と比較して、乾燥細胞重量当たり 1.6 倍および 1.4 倍高かった (図 2)。

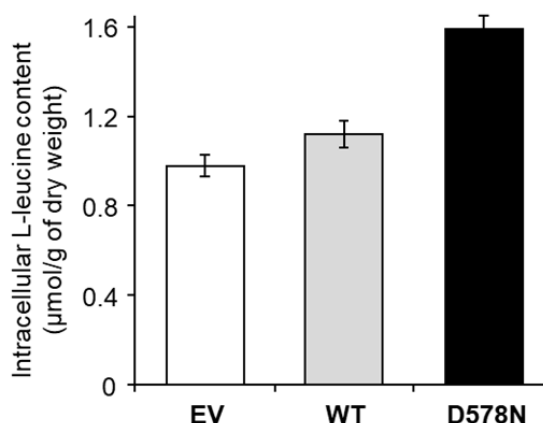


図 2 BNNL80 株の *LEU4* 変異が細胞内 Leu 含量に及ぼす影響
pYC130 ベクターのみ (EV)、pYC130_Leu4 (WT)
および pYC130_Leu4^{D578N} を保持する酵母の細胞内 Leu 含量。
数値は 3 回の独立した実験での平均と標準偏差で示す。

4. Leu4 変異体における Leu 結合部位の構造予測

Leu と結合した結核菌由来 LeuA の構造では、2つの Leu 結合部位が隣接する単量体の調節ドメインで構成されており⁸⁾、Asn532*と Ala565 の空間位置が Leu を認識するように変化していることが示された (*は隣接する単量体の残基)。一方、Leu4 のホモ二量体構造モデルでは、Asp578 は2つの隣接する単量体の界面に位置し、側鎖のヒドロキシル基は Asp581 との単量体内および Lys489*と Arg495*との単量体間でそれぞれ相互作用していると予想された。また、Leu と結合した LeuA を鋳型として構築した Leu4 の構造モデルでは、Glu577、Lys489*、Arg495*の側鎖の向きを変えることで、Asn515*が Leu を認識するように移動することが示唆された。さらに、Asp578 と Arg495*の間の相互作用は Leu 結合によって遮断され、Asp578 が Leu を介したコンフォメーション変化に寄与することが示唆された。したがって、Asp578Asn 置換によってこの相互作用が消失することで、同じ単量体の Glu577 と隣接する単量体の Asn515 の空間位置が変化し、Leu の結合が妨げられると考えられた。

5. BNNL80 株の泡盛酵母としての有用性

BNNL80 株を用いて小仕込み試験を行い、得られた泡盛に含まれる 4-ビニルグアヤコール (4-VG)、イソアミルアルコール、IAA の濃度を評価した。その結果、4-VG 濃度は泡盛酵母 101 株と比較して約 4 倍で、親株の 35a14 株と同等の値であり、BNNL80 株は 4-VG を高生産することが確認された (図 3A)。一方、イソアミルアルコール、IAA は、泡盛酵母 101 株と比較して、35a14 株では低かったものの (約 87%、60%)、BNNL80 では親株 35a14 株の 3-5 倍に増加していた (図 3B)。以上の結果から、BNNL80 株を用いることで、泡盛酵母 101 株と比較して、古酒香成分バニリンの前駆体である 4-VG 濃度および吟醸香成分である IAA の濃度がともに高い泡盛醸造が可能であることが示された。

6. まとめ/今後の展開

今回、島バナナの茎から分離された 35a14 株を親株とし

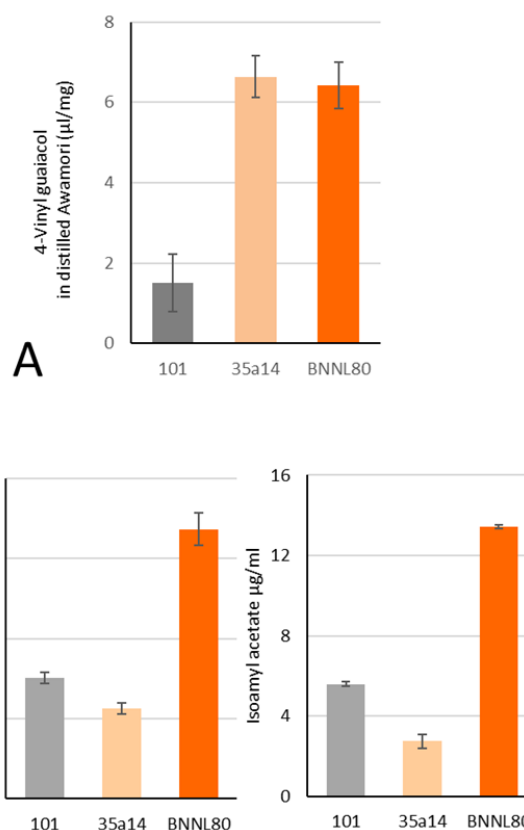


図 3 BNNL80 株を用いた小仕込み試験における泡盛の香気成分 (A) 4-VG 濃度、(B) イソアミルアルコール、IAA 濃度。数値は 3 回の独立した実験の平均と標準偏差で示す。

て育種した BNNL80 株は、①従来の商用酵母（泡盛酵母 101 株）とは系統的に異なり沖縄独自の系統と考えられる株で、本菌株を用いることで、②泡盛古酒香のバニリンの前駆体である 4-VG を高含有、かつ③吟醸香の一つである IAA を多く含む泡盛の醸造が可能な酵母であることが示された。さらに、BNNL80 株の IAA 高生産に寄与する機構を解明することもできた。

BNNL80 株は、新たな泡盛醸造用酵母として付加価値の高い特性を有することから、本菌株を用いた泡盛の開発を泡盛酒造所と進めており、新たな泡盛として 2023 年度に商品化される予定である。

7. 謝辞

本研究に助成をいただきました公益社団法人日本農芸化学会に深く感謝申し上げます。また、島バナナ酵母の分離とゲノム解析でご協力いただいた株式会社バイオジェットの東 春奈さん、塚原恵子さん、変異株の取得と遺伝子・酵素レベルの解析でご協力いただいた奈良先端科学技術大学院大学の豊川洋一博士、磯貝章太博士に厚くお礼申し上げます。

【成果報告】

M. Tsukahara, S. Isogai, H. Azuma, K. Tsukahara, Y. Toyokawa, H. Takagi: Characterization of a new *Saccharomyces cerevisiae* isolated from banana stems and its mutant with L-leucine accumulation for awamori brewing. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, **87**, 240-244 (2023).

【参考文献】

- 1) A. Tsolmonbaatar, K. Hashida, Y. Sugimoto, D. Watanabe, S. Furukawa, H. Takagi: Isolation of baker's yeast mutants with proline accumulation that showed enhanced tolerance to baking-associated stresses. **Int. J. Food Microbiol.**, **238**, 233-240 (2016).
- 2) N. Murakami, A. Kotaka, S. Isogai, K. Ashida, A. Nishimura, K. Matsumura, Y. Hata, H. Ishida, H. Takagi: Effects of a novel variant of the yeast γ -glutamyl kinase Prol1 on its enzymatic activity and sake brewing. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.**, **47**, 715-723 (2020).
- 3) M. Ohashi, R. Nasuno, S. Isogai, H. Takagi: High-level production of ornithine by expression of the feedback inhibition-insensitive *N*-acetyl glutamate kinase in the sake yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Metab. Eng.**, **62**, 1-9 (2020).
- 4) H. Takagi: Metabolic regulatory mechanisms and physiological roles of functional amino acids and their applications in yeast. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, **83**, 1449-1462 (2019).
- 5) H. Takagi, K. Hashida, D. Watanabe, R. Nasuno, M. Ohashi, T. Iha, M. Nezu, M. Tsukahara: Isolation and characterization of awamori yeast mutants with L-leucine accumulation that overproduce isoamyl alcohol. **J. Biosci. Bioeng.**, **119**, 140-147 (2015).
- 6) T. Abe, Y. Toyokawa, Y. Sugimoto, H. Azuma, K. Tsukahara, R. Nasuno, D. Watanabe, M. Tsukahara, H. Takagi: Characterization of a new *Saccharomyces cerevisiae* isolated from hibiscus flower and its mutant with L-leucine accumulation for awamori brewing. **Front. Genet.**, **10**, 490 (2019).
- 7) T. Oba, S. Nomiya, H. Hirakawa, K. Tashiro, S. Kuhara: Asp578 in LEU4p is one of the key residues for leucine feedback inhibition release in sake yeast, **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, **69**, 1270-1273 (2005).
- 8) N. Koon, C. J. Squire, E. N. Baker: Crystal structure of LeuA from *Mycobacterium tuberculosis*, a key enzyme in leucine biosynthesis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **101**, 8295-8300 (2004).

2023 年度支部技術賞 受賞記念講演

腸内細菌由来の機能性脂肪酸類のターゲットリポドミクス分析法の開発

辻 光倭^{1,2,3}、有田 誠^{2,3,4}、岸野 重信⁵、小川 順⁵

¹Noster 株式会社、²慶應義塾大学、³理化学研究所、⁴横浜市立大学、⁵京都大学

1. はじめに

動物と共生する腸内細菌は宿主と異なる代謝経路を持つことが知られている。その中の1つに不飽和脂肪酸の飽和化代謝経路が存在する。例えば、不飽和脂肪酸であるリノール酸がオレイン酸へ代謝されることが知られており、その代謝の過程で水酸化脂肪酸やオキソ脂肪酸といった代謝中間体の存在が明らかとなっている。¹⁾ リノール酸代謝物の1つである 10-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid (HYA)をはじめとする代謝物は様々な生理機能を有することが知られている。一方で機能未知の代謝物も数多く存在している。これら腸内細菌が産生する脂肪酸代謝物の生体内での存在を包括的にモニターすることは、健康維持における生理的意義やバイオマーカーを探る上で重要である。これまでに、リノール酸及び α -リノレン酸代謝物の中で10位に水酸基またはカルボニル基を持つ代謝物や共役構造を持つ代謝物の測定方法が構築されていた。一方、13位に水酸基を持つ脂肪酸や γ -リノレン酸を基質とする脂肪酸代謝物の存在を新たに見出したが、これらを包括的に検出する手法は確立されていなかった。²⁾ 今回、リノール酸及び α -リノレン酸由来代謝物の測定対象を拡張し、 γ -リノレン酸を基質とする代謝物までを包括的に解析するための技術開発を実施した。

2. 腸内細菌由来脂質代謝物の包括的な解析法の構築

微生物合成法及び化学合成法を駆使して脂肪酸代謝物45種の標準品を合成した。合成した標準品を用いて、液体クロマトグラフ三連四重極型質量分析計によるターゲットリポドミクスの解析手法を最適化した。分析条件として液体クロマトグラフのカラムの選抜及び移動相条件の最適化を行い、加えて、質量分析計の Multiple reaction monitoring (MRM) 条件の最適化を行った。既知濃度の標準溶液を用いて分析の精度・真度について評価した結果、定量下限は全ての代謝物において0.03~10pg/ μ Lの範囲であった。分析の精度及び真度について、精度は80.3~119.6%の範囲であり、真度は19.1%以下を示した。

3. 生体サンプルへの適応

構築した分析法を、抗生剤投与・非投与群のマウス糞便及び異なる特徴を持つ油（サフラワー油・亜麻仁油・月見草油）をそれぞれ摂取させた際の糞便及び生体組織試料における腸内細菌由来脂質代謝物の解析に適用した。本手法を通常マウス糞便に適用した結果、今回新たに拡張した γ -リノレン酸代謝物や13位に修飾基を持つ脂肪酸代謝物の検出に成功した。また、抗生剤投与マウスの糞便にも同様に適用したところ、非投与群と比較して代謝物量が減少していたことから、糞便中の代謝物が腸内細菌依存的に産生されていることを確認した。異なる油を摂取させた際の代謝物プロファイルについて、特徴的な脂肪酸を含む亜麻仁油や月見草油などの摂取と糞便中の α -リノレン酸代謝物及び γ -リノレン酸代謝物レベルの相関が確認された。また、糞便の特

徴的な代謝物プロファイルが血漿をはじめとする生体内の代謝物プロファイルに反映されていることを明らかにした。

4. 社会実装及び今後の展開

本手法は、測定対象として腸内細菌が産生するリノール酸及び α -リノレン酸由来代謝物に加え、13位に修飾基をもつ脂肪酸代謝物と γ -リノレン酸を基質とする脂肪酸代謝物を含む45種類を包括的に解析することを可能にした。³⁾ 本手法は、宿主の健康や疾病を制御する腸内細菌由来脂肪酸代謝物の生理学的意義を解明するために役立つため、健康維持を指向した測定サービスとして技術提供が開始されており、新たな健康指標を提示する新技術として期待を集めている。

【参考文献】

- 1) Kishino S, Takeuchi M, Park SB, Hirata A, Kitamura N, et al: Polyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition. Proc Nat Acad Sci USA 110: 17808–17813, 2013.
- 2) Miyamoto J, Igarashi M, Watanabe K, Karaki S, Mukouyama H, et al: Gut microbiota confers host resistance to obesity by metabolizing dietary polyunsaturated fatty acids. Nat Commun, 10: 1–15, 2019.
- 3) Tsuji, K., Shimada W, Kishino S, Ogawa J, Arita M; Comprehensive analysis of fatty acid metabolites produced by gut microbiota using LC-MS/MS-based lipidomics. Medical Mass Spectrometry, 2022.

【講演者略歴】

辻 光倭 (つじ こうわ; 修士 (農学))

Noster 株式会社 事業開発本部 事業推進部 アライアンスグループ

2017年4月 日東薬品工業株式会社 入社

2020年5月 日東薬品工業グループ Noster 株式会社へ出向

現在に至る

専門分野：分析化学、微生物学

日本農芸化学会関西支部

支部賛助企業

関西支部の活動は、下記の支部賛助企業様からのご支援により支えられています

アース製薬株式会社

植田製油株式会社

江崎グリコ株式会社

株式会社カネカ

菊正宗酒造株式会社

黄桜株式会社

月桂冠株式会社

甲陽ケミカル株式会社

三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

サントリーホールディングス株式会社

住友化学株式会社

株式会社第一化成

宝酒造株式会社

築野食品工業株式会社

東洋紡株式会社

ナカライテスク株式会社

日世株式会社

株式会社日本医化器械製作所

ハウスウェルネスフーズ株式会社

ヒガシマル醤油株式会社

不二製油株式会社

松谷化学工業株式会社

三井化学アグロ株式会社

株式会社三ツワフロンテック

大和酵素株式会社

理研化学工業株式会社

株式会社ロッテ

和研薬株式会社

(50音順 敬称略)

○次回支部例会(第530回講演会)予定
開催日:2024年5月31日(金)
開催校:京都府立大学
会場:京都府立京都学・歴彩館
(京都府立大学下鴨キャンパスに隣接)
講演申込締切:2024年5月2日(木)
講演要旨締切:2024年5月10日(金)
講演会参加登録締切:2024年5月24日(金)

問い合わせ先:
〒619-0244
京都府相楽郡精華町北稲八間大路74
京都府立大学生命環境科学研究科 遺伝子工学研究室
森田 重人(開催校庶務幹事)
Tel:0774-93-3526
E-mail: s_morita@kpu.ac.jp

公益社団法人 日本農芸化学会関西支部 事務局
〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
京都大学大学院農学研究科内



支部長: 森 直樹
Tel: 075-753-6307, Fax: 075-753-6312
E-mail : mori.naoki.8a@kyoto-u.ac.jp

庶務幹事: 岸野 重信
Tel: 075-753-6122, Fax: 075-753-6113
E-mail : kishino.shigenobu.3e@kyoto-u.ac.jp

会計幹事: 安居 佑季子
Tel: 075-753-6390, Fax: 075-753-6127
E-mail : yasui.yukiko.7a@kyoto-u.ac.jp

庶務幹事(補): 川本 純
Tel: 0774-38-4711, Fax: 0774-38-3248
E-mail : kawamoto.jun.4s@kyoto-u.ac.jp

発行日 2024年2月2日(金)
日本農芸化学会関西支部ホームページ: <http://kansai.jsbba.or.jp/>

第529回講演会世話役: 飛松裕基 (京都大学生存圏研究所)