

**日本農芸化学会関西支部
第 539 回講演会**

講演要旨集

**令和 8 年(2026 年)2 月 14 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539回講演会プログラム

● 開会の辞 (13:15~13:20)

関西支部長 谷 史人(京大院農)

● 一般講演 (13:20~16:23) [講演 10 分、質疑 3 分、交代 1 分]

(*印は若手優秀発表賞対象講演)

座長：高橋春弥（京大院農）、神戸大朋（京大院農）

*1. 13:20 好熱性酢酸生成菌 *Moorella thermoacetica*における葉酸生合成酵素の同定

○宮崎 大季（京都大学 大学院工学研究科）

*2. 13:34 保存料ソルビン酸の抗真菌メカニズムの解析 翻訳関連因子の凝縮と相分離

○吉山 陽翔（京都工芸繊維大学 応用生物学課程）

*3. 13:48 PKC γ に着目した記憶障害を改善させる機能性食品の開発に向けた研究

○堂田 彩夏（神戸大学 大学院農学研究科）

*4. 14:02 小腸オルガノイドを用いた長鎖脂肪酸応答評価系の構築

○畠田 一成（神戸大学 大学院農学研究科）

*5. 14:16 肝臓のアミノ酸代謝に着目したタンパク質特異的な食欲調節機構の解明

○北谷 大樹（京都大学 大学院農学研究科）

6. 14:30 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)propanoic acid の肝臓における脂質代謝及び

炎症制御機能に関する研究

○岸本 拓己（京都大学 大学院農学研究科）

休憩 (14:43~15:00)

座長：松居 翔（京大院農）、岸野重信（京大院農）

7. 15:00 Sedanolide の抗炎症能と脂肪細胞分化及び代謝機能に与える効果に関する研究

○小林 丈洋（京都大学 大学院農学研究科）

8. 15:14 骨格筋において転写共役因子 PGC1 α は脂肪合成酵素 DGAT2 の遺伝子発現を正に制御する

○木村 徳士（京都府立大学 大学院生命環境科学研究所）

9. 15:28 転写因子 FOXO1/3a の活性を抑制し筋萎縮抑制効果を発揮する食品・植物由来化合物の探索

○阪上 愛斗（京都府立大学 大学院生命環境科学研究所）

10. 15:42 *Klebsiella pneumoniae* 9-3B フィターゼの pH 特性の改変

○山本 真輔（神戸大学 大学院科学技術イノベーション研究科）

11. 15:56 枯草菌細胞空洞化に関わる遺伝子の転写制御システムとオートリシン CwlO の活性発現

○中根 摩耶（京都大学 大学院農学研究科）

12. 16:10 Development of the Detection Methods of Amyloid Polymorphism

○劉 雅文（京都大学 大学院農学研究科 応用生命科学専攻）

優秀発表賞の投票・集計／休憩 (16:23~16:40)

- 支部技術賞 授賞式及び受賞記念講演（16:40～17:10）座長：谷 史人（京大院農）
「超耐熱化 *Arthrobacter globiformis* M30 由来 D-アルロース 3-エピメラーゼの構築」
○大谷 耕平、島田 研作、石川一彦、グラッパリ プシュバ キラン（松谷化学工業株式会社）
- 農芸化学会学会賞受賞講演（17:10～17:50）座長：増村 威宏（京府大院農）
「B型肝炎ウイルス由来中空ナノ粒子（バイオナノカプセル）の革新的応用研究」
○黒田 俊一（大阪大学産業科学研究所）
- 若手優秀発表賞表彰式（17:50～17:55）
- 次回関西支部例会のアナウンスおよび閉会の辞（17:55～18:00）
関西副支部長 佐藤 良（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）
- 懇親会（18:00～）
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

一 般 講 演

1* 好熱性酢酸生成菌 *Moorella thermoacetica* における葉酸合成酵素の同定

○宮崎大季¹、佐藤喬章^{1,2}、跡見晴幸^{1,2}

(¹京大院・工、²京大・エネ研カーボンネガティブ)

【目的】

好熱性酢酸生成菌 *Moorella thermoacetal* は、電子供与体として水素、炭素源として一酸化炭素や二酸化炭素を利用した独立栄養生育が可能であり、合成ガスからの物質生産への応用が期待されている微生物である。葉酸はビタミンB群の一つであり、その還元体は核酸やアミノ酸の生合成に利用される補酵素である。また葉酸は、*M. thermoacetal* の化学独立栄養生育に必要な炭酸固定かつエネルギー代謝を行うアセチル-CoA経路でも利用されており、非常に重要な補酵素である。しかし、本菌における葉酸生合成経路の全容は明らかになっていない。葉酸の一般的な生合成経路において、7,8-dihydronopterin triphosphate (DHNTTP) からピロリン酸 (PPi) が脱離され、7,8-dihydronopterin monophosphate (DHNMP) が生成する反応が存在し、この反応は DHNTTP pyrophosphohydrolase (FolQ) によって触媒される。かつてはバクテリアにおいて本酵素はミッシングエンザイムとなっていたが、乳酸菌 *Lactococcus lactis*、大腸菌 *Escherichia coli*において FolQ が同定された。また、当研究室において乳酸菌 *Limosilactobacillus reuteri* を含めた他の善玉菌における第三、第四の FolQ も同定された。一方で、*M. thermoacetal* は既知のいずれの FolQ もモログを保有していない。そこで、本研究では *M. thermoacetal* における新規 FolQ の同定を目的とした。

【方法・結果】

M. thermoacetal の無細胞抽出液中から酵素活性を指標に標的タンパク質を探査した。超音波破碎・遠心により無細胞抽出液を調製し、カラムクロマトグラフィーによりタンパク質を分画した。各画分に対して DHNTTP pyrophosphohydrolase 活性測定を行った結果、活性値と SDS-PAGE 解析におけるタンパク質量が相関するバンドを 2 つ見出した。これらのバンドを切り出し、LC-MS 解析により含まれるタンパク質を同定した。それぞれの遺伝子発現ベクターを作製し、大腸菌を用いて組換え型タンパク質を調製した。熱処理粗精製タンパク質の活性を調べたところ、一方のタンパク質のみが目的の酵素活性を示した。そのため、このタンパク質のさらなる解析を進めた。組換え型タンパク質をほぼ单一となるまで精製し、酵素活性を解析した結果、精製酵素が DHNTTP からの DHNMP 生成活性を示すことを確認できた。さらに、DHNMP からリジン酸が外れた 7,8-dihydronopterin (DHN) と考えられるピークの生成も検出された。そのため、本酵素は一般的に 2 種類の酵素によって行われる DHNTTP から DHN まで変換する役割を単独で担っている可能性も考えられた。

○吉山陽翔¹、寺島美侑²、井澤真吾²(¹京工織大・応生、²京工織大院・応生)

【目的】

SDGsにも掲げられている食品ロスの低減において、保存料や防腐剤は大きな役割を担うと考えられており、その作用機序を正しく理解することは、保存料の適切な利用や安全性の周知を図る上で不可欠である。真菌に対して静菌作用を示すソルビン酸は保存料として広く利用されているが、その作用機序はよくわかつていない。本研究では、翻訳活性への影響に着目してソルビン酸の作用機序の解明に取り組んだ。

【方法・結果】

出芽酵母*Saccharomyces cerevisiae*を用い、ソルビン酸ストレス下における経時的な増殖と生存率を評価した結果、2 mM以上のソルビン酸で増殖が抑制される一方、生存率は高く維持されることが確認された。さらに、ポリソーム解析、ウェスタンブロッティング、蛍光顕微鏡解析により、4 mMのソルビン酸は翻訳開始因子eIF2α (Sui2) のリン酸化を誘導し、翻訳開始に関与するスキヤニング因子Ded1およびeIF2Bのgranule形成とストレス顆粒 (stress granules, SGs) への局在化を伴って、酵母の翻訳活性を抑制することが明らかになった。eIF2Bはグルコース枯渇下で、SGsとは独立してフィラメント状のeIF2B bodyを形成するが、ソルビン酸ストレス下ではフィラメント状ではなく顆粒状のeIF2B granulesを形成した。eIF2B bodyの形成に必須である eIF2B α (Gcn3) の欠損株でもeIF2B granulesが形成されたことから、eIF2B granules はeIF2B bodyとは形態および形成機構の点で異なる構造体だと考えられる。

また、4 mMのソルビン酸が変性タンパク質の堆積部位であるdeposition sitesの形成と不溶性タンパク質の蓄積を誘導することを明らかにした。なお、Ded1とeIF2B δ (Gcd2) は凝集しやすいaggregatorであり(Wallace *et al.*, 2015)、天然変性領域 (intrinsically disordered region, IDR) を持つことが報告されている。

一方、SGsなどのgranule形成には液一液相分離 (LLPS) が関与し、その駆動は細胞内高分子密度の上昇を介した分子間の多価相互作用によることが指摘されている。ソルビン酸ストレス下では濃度依存的に液胞サイズが拡大し、細胞全体に占める細胞質の割合が減少したことから、細胞内高分子密度が上昇し、LLPS が生じやすい細胞内環境が形成された可能性が示唆された。

以上の結果から、ソルビン酸はeIF2αのリン酸化やタンパク質変性、LLPSなどを介した翻訳関連因子の不活性化による翻訳抑制を引き起こすことで増殖を阻害し、酵母に対する静菌作用を発揮すると考えられた。

3* PKC γ に着目した記憶障害を改善させる機能性食品の開発に向けた研究

○堂田彩夏¹、川本新²、中尾天亮¹、上田修司¹、福田伊津子¹、園田悠馬²、古和久朋²、白井康仁¹

(1神戸大院・農・応用生命化学、2神戸大院・保健)

【目的】

プロテインキナーゼC (PKC)のうち、PKC γ は小脳、海馬、大脳皮質など神経系に特異的に発現している。また、ジアシルグリセロール(DG)を代謝することによりPKCの活性を抑制できるDGキナーゼ (DGK) のうち、DGK γ も同様に小脳、海馬、大脳皮質で多く発現している。これまでに当研究室の先行研究により、DGK γ をノックアウト(KO)したマウスでは、DG量が増加し、脳内のPKC γ が異常に活性化されることで神経形態の異常及び記憶障害が引き起こされることが明らかになっている。さらに、フラボノイドAを経口投与することで脳のPKC γ 活性が正常化され、形態異常と記憶障害を改善させることができることが見出された。しかし、フラボノイドAは高価であるため、機能性食品への応用には課題があった。そこで本研究では、記憶障害を改善させる機能性食品の開発に向けて、新たな食品成分の候補物質としてビタミンEに着目し、その効果を検討することを目的として、以下の実験を行った。

【方法・結果】

まず、Cos7細胞にPKC γ -GFPを導入し、 α -トコフェロール及び α -トコトリエノールのPKC γ 活性抑制効果をフラボノイドAと比較検討した。その結果、各ビタミンEはフラボノイドAと同程度までPKC γ 活性を抑制し、100 μ Mの濃度でPKC γ 活性を有意に抑制した。ついで、DGK γ KOマウスにビタミンEを3週間経口投与し、記憶を評価するY-maze試験を行ったところ、ビタミンEは共にDGK γ KOマウスの記憶障害を有意に改善させることを確認した。さらに、マウス脳組織におけるPKC γ の異常な活性に対する効果について、大脳皮質及び海馬組織を摘出し、自己リン酸化レベルを指標にWestern blottingを用いて調べた。その結果、DGK γ KOマウスで有意に上昇したPKC γ の自己リン酸化レベルが大脳皮質及び海馬どちらにおいても有意差がなくなるまで抑制され、 α トコトリエノール投与による抑制傾向は α トコフェロールと比較して大きかった。最後に、ヒト試験において、カカオフラバノールのみ含有チョコレート摂取群では摂取前と比較して有意な効果は見られなかつたが、トコトリエノール、ビタミンD、カカオフラバノール含有チョコレート摂取群では摂取前と比較して記憶を有意に向上させることができた。以上の結果より、ビタミンE、特に α -トコトリエノールはPKC γ 活性抑制を介した記憶改善効果をもたらす食品成分である可能性が示唆された。

【目的】

腸上皮は消化・吸収やバリア機能など多様な役割を担い、その機能は腸上皮幹細胞から分化する複数の細胞種により維持されている。腸上皮の細胞構成や機能は遺伝的制御に加え、食餌成分や生体の状態といった環境要因によっても変化することが、動物実験や培養細胞を用いた研究により示されてきた。特に、腸管管腔の環境による腸上皮への影響については、多様な細胞種を含む腸上皮を評価可能な実験系の構築が求められている。腸上皮幹細胞由来オルガノイド培養は、生体に近い上皮構造と分化系譜を再現可能な実験モデルとして注目され、胆汁酸や短鎖脂肪酸の影響が報告されている。一方、食品油脂を構成する長鎖脂肪酸が腸上皮分化や細胞構成に与える影響については未解明な点が多い。本研究では、腸上皮分化の解析モデルとしてマウス由来小腸オルガノイドを用い、各種食品油脂に含まれる代表的な脂肪酸(パルミチン酸(PA)、オレイン酸(OA)、リノール酸(LA)、 α -リノレン酸(ALA)、エルカ酸(ErA)、パルミトレイン酸(PTA))を添加し、遺伝子発現解析を行うことで、小腸上皮における長鎖脂肪酸応答を評価する実験系の構築を目指した。

【方法・結果】

6週齢のICRマウスより空腸上皮組織を採取し、EDTA溶液処理により陰窩を多く含む画分を単離した。単離した陰窩をコラーゲンゲルに包埋し、5日間増殖培地で培養することでオルガノイドを構築した。その後、各長鎖脂肪酸を添加した分化培地に切り替え、2日間培養した。培養後のオルガノイドからmRNAを抽出し、リアルタイムPCRによる遺伝子発現解析を行った。

腸オルガノイドの包埋材料としては、コラーゲンゲルおよびマトリゲルが用いられており、マトリゲルでは増殖培地から分化培地への切り替えにより未分化細胞が減少し、終末分化細胞が増加することが報告されている。本研究においてコラーゲンゲルを用いた小腸オルガノイド培養を行ったところ、増殖培地から分化培地への切り替えにより未分化細胞関連遺伝子の減少が認められた。一方で、終末分化細胞関連遺伝子の発現量は、増殖培地条件と比較して有意な変化を示さなかった。この結果から、コラーゲンゲルを用いた腸オルガノイド培養において分化状態を評価するためには、分化誘導条件の最適化が必要である可能性が示唆された。さらに、脂肪酸の種類によって、杯細胞、内分泌細胞、ペネート細胞といった異なる終末分化系譜に関するマーカー発現が相対的に異なる傾向を示した。

5* 肝臓のアミノ酸代謝に着目したタンパク質特異的な食欲調節機構の解明

○北谷大樹¹、松居翔¹、中川祐子²、藤谷与士夫²、北村忠弘²、佐々木努¹

(¹京大院・農、²群大・生調研)

【目的】

三大栄養素のうち、タンパク質の食欲調節メカニズムは未だ十分に解明されていない。一方、当研究室の先行研究により、グルカゴンがタンパク質への食欲を特異的に抑制することが明らかとなっている。本研究では、このメカニズムを臓器および代謝経路の観点から解明することを目的とした。

【方法・結果】

グルカゴンによるタンパク質への食欲抑制の標的臓器を同定するため、肝臓特異的または脂肪組織特異的にグルカゴン受容体遺伝子(*Gcgr*)を欠損したマウスにグルカゴンを投与し、普通食と高タンパク質食の食餌選択試験を行った。その結果、肝臓特異的 *Gcgr* 欠損マウスにおいてのみ、野生型マウスで認められたタンパク質への食欲抑制が消失した。

次に、野生型マウスにグルカゴンを投与し、肝臓のアミノ酸代謝関連遺伝子の発現を測定した。結果、尿素回路の律速酵素である *Cps1* の発現上昇が確認された。

さらに、尿素回路の関与を検討するため、尿素回路の基質アミノ酸であるアルギニン、オルニチン、シトルリンを野生型マウスに投与して食餌選択試験を行った。その結果、アルギニンおよびオルニチン投与時にのみ、タンパク質への食欲抑制が認められた。

アルギニンおよびオルニチンはカルバモイルリン酸との反応前に位置し、シトルリンはその反応後に生成されることから、カルバモイルリン酸合成酵素 1(CPS1)に着目した。そこで、CPS1 の活性化因子である N-カルバモイルグルタミン酸(NCG)を野生型マウスに投与して食餌選択試験を行った。結果、同様にタンパク質への食欲抑制が確認された。

続いて、タンパク質への食欲抑制に尿素またはアンモニアが関与する可能性を検討した。尿素回路の最終代謝産物である尿素を投与した場合には、タンパク質への食欲低下は認められなかった。また、アルギニン、オルニチンおよび NCG 投与時ににおいて、血中アンモニア濃度の上昇は確認されなかつた。

【結論】

グルカゴンによるタンパク質への食欲抑制には肝臓が関与しており、尿素回路律速酵素 CPS1 の活性化が重要な役割を果たす可能性が示唆された。

6

3-(3,4-Dihydroxyphenyl)propanoic acid の肝臓における脂質代謝及び炎症制御機能に関する研究

○岸本拓己、高橋春弥、高橋茉由、井上和生、後藤剛

(京大院・農)

【目的】

昨今、肥満やそれに伴う生活習慣病患者数が増加している。日々の食品摂取を通してこれらの予防や改善を実現するべく、食品成分の機能研究が盛んに行われている。我々の先行研究で抗炎症候補成分として選抜された食品成分である 3-(3,4-Dihydroxyphenyl) propanoic acid (DPA) は肝臓における脂質代謝調節機能並びに抗炎症機能を有することが示唆されている。本研究はその詳細な作用機序の解明を目的とした。

【方法・結果】

脂質代謝に関して、DPA はパルミチン酸添加によって脂質蓄積を誘導したヒト肝癌由来細胞株 HepG2 内の中性脂肪量並びに脂肪合成に関わる *ACSL1*、*DGAT2* mRNA 発現量を低下させた。炎症に関して、Lipopolysaccharide (LPS) で刺激を与えて炎症を惹起させた RAW264.7 マクロファージ様細胞において、炎症シグナルに関わる Extracellular signal-regulated kinase のリン酸化が DPA によって抑制され、抗炎症メカニズムの一端が示された。代謝機能障害関連脂肪肝炎を誘導するコリン欠乏メチオニン減量高脂肪食を用いた DPA 混餌摂食実験では、マウスの肝臓で炎症に関わる *Il6* mRNA 発現量が減少した。より詳細な肝臓における抗炎症作用を検討するため、炎症性マクロファージ由来培養上清による HepG2 刺激モデルを用いた。ヒト単球由来 THP-1 細胞をマクロファージ様に分化させた後、LPS による炎症刺激を与え、その後回収した培養上清に DPA を添加して HepG2 を刺激したところ、炎症性因子 *SAA*、*LCN2*、*CXCL8* mRNA 発現量は減少しなかった。一方、THP-1 に対して、LPS と同時に DPA も添加して得られた培養上清で HepG2 を刺激すると、上記三種の炎症性因子の mRNA 発現量は減少した。

【考察】

実験結果より、DPA は肝細胞へ直接的な抗炎症作用を発揮するのではなく、マクロファージの活性化抑制を介し肝細胞での炎症を間接的に軽減すると考えられる。また、DPA は肝細胞に対する脂肪合成抑制能とマクロファージを介した抗炎症能を有することから肥満に伴う脂肪肝炎等の代謝異常を予防・改善し得ることが期待される。

Sedanolide の抗炎症能と脂肪細胞分化及び代謝機能に 与える効果に関する研究

○小林丈洋、高橋春弥、高橋茉由、Kwon Jungin、井上和生、後藤剛
(京大院・農)

【背景・目的】 肥満時にマクロファージと脂肪細胞の相互作用により生じる慢性炎症は、様々な疾病を誘発するため、当該炎症の予防及び改善は重要な課題である。我々の先行研究にて、*in vitro* での抗炎症能評価実験とメタボローム解析を組み合わせた評価系を用いて、抗炎症機能性候補成分 Sedanolide (SED) が選抜された。SED は、セロリ等の食用のセリ科植物に含まれる天然化合物である。当研究室の先行研究にて、RAW264.7 マクロファージ様細胞への SED の添加により、炎症メディエーターの生産が抑制されたことが確認され、SED が抗炎症作用を持つことが示されている。しかし、その詳細な作用メカニズムや、脂肪細胞に対する SED の制御機能については明らかにされていない。そこで本研究では、SED の抗炎症作用メカニズムを解明することに加え、SED が脂肪細胞に与える影響を検討することにより、肥満により誘導される代謝異常に対する SED の効果を明らかにすることを目的とした。

【方法】 LPS 添加により炎症を惹起させた RAW264.7 マクロファージ様細胞の炎症シグナル伝達経路に着目して、SED (100 μ M) を添加した際の関連タンパク質発現量の変化をウエスタンブロッティング法により分析した。3T3-L1 前駆脂肪細胞の分化誘導時に SED (100 μ M) を添加した際の分化への影響を、Oil Red O 染色や、RT-PCR 法による脂肪分化マーカー遺伝子発現量解析により評価した。さらに培養上清中のアディポネクチン濃度を ELISA 法により測定した。SED (30 mg/kg body weight) をマウスに投与した後、尾静脈より採取した血漿中のアディポネクチン濃度を測定した。

【結果】 SED の抗炎症メカニズムを検討した結果、炎症を惹起させた RAW264.7 マクロファージ様細胞において、SED は c-Jun N-terminal Kinase (JNK) のリン酸化と、Inhibitor of Nuclear Factor Kappa B α (IkB- α) の分解を有意に抑制した。さらに 3T3-L1 前駆脂肪細胞の分化誘導時に SED を添加した結果、分化が促進されるとともに、糖代謝異常を改善するアディポネクチンの分泌増加が見出された。加えて、マウスに対して SED を投与した結果、対照群と比較し、血漿中アディポネクチン量が増加することを見出した。

【考察】 SED はマクロファージで抗炎症能を示すとともに、脂肪細胞で分化を促進し、血漿中アディポネクチン量の増加も認められたことから、SED は肥満により誘導される代謝異常の予防・改善に寄与する可能性がある。

8

骨格筋において転写共役因子 PGC1 α は脂肪合成酵素 DGAT2 の遺伝子発現を正に制御する

○木村徳士¹、杉本拓海¹、酒巻千広¹、大藪葵¹、三浦進司²、
亀井康富¹

(¹京府大院・生命環境、²静県大院・食品栄養)

【目的】

骨格筋はヒトの体重の約40%を占める人体最大の組織であり、運動やエネルギー代謝、糖取り込みなどにおいて重要な役割を果たす。転写共役因子PGC1 α は運動によって骨格筋で発現が増加し、ミトコンドリアの生合成や脂肪酸酸化、筋線維の赤筋化といった、運動に関連する代謝を促進する。PGC1 α の標的遺伝子の同定は、運動への適応やエネルギー代謝の分子メカニズムを解明することにつながるため、PGC1 α の新規標的遺伝子を探索し、骨格筋におけるPGC1 α の新たな役割を解明することを目的とした。

【方法】

骨格筋特異的PGC1 α 欠損(PGC1 α -KO)マウスの腓腹筋を用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。マイクロアレイの結果より、PGC1 α の新規標的候補遺伝子として、アシルCoAとジアシルグリセロールからトリグリセリドを合成する脂肪合成酵素であるDGAT2が見出された。DGAT2がPGC1 α の標的遺伝子であるかをさらに検討するため、骨格筋特異的PGC1 α 過剰発現(PGC1 α -Tg)マウス、PGC1 α -KOマウスの腓腹筋及びPGC1 α を過剰発現させたマウス骨格筋細胞を用いて、qRT-PCRによる遺伝子発現解析を行った。また、PGC1 α -Tgマウスの腓腹筋におけるトリグリセリド量を測定した。加えて、急性運動、慢性運動を実施したマウスの腓腹筋における遺伝子発現解析を行った。

【結果・考察】

骨格筋特異的PGC1 α 遺伝子改変マウスの腓腹筋及びPGC1 α を過剰発現させたマウス骨格筋細胞の遺伝子発現解析より、DGAT2の遺伝子発現がPGC1 α によって正に制御された。また、PGC1 α -Tgマウスの腓腹筋におけるトリグリセリド量は野生型マウスと比較し、有意に増加していた。急性運動により骨格筋におけるPGC1 α の遺伝子発現は有意に増加したが、DGAT2の遺伝子発現は有意に増加しなかった。一方、慢性運動によりDGAT2の遺伝子発現は有意に増加した。これらのことから、運動により骨格筋で発現が誘導されるPGC1 α によって、脂肪合成酵素であるDGAT2の遺伝子発現が正に制御されることが考えられる。これにより、運動時のエネルギー基質としてトリグリセリドが合成され、持久力向上に寄与している可能性が示唆された。

9

転写因子 FOXO1/3a の活性を抑制し筋萎縮抑制効果を発揮する食品・植物由来化合物の探索

○阪上愛斗¹、山本有紗¹、大西拓己¹、大藪葵¹、亀井康富¹

(¹ 京府大院・生命環境)

【目的】

骨格筋は人体最大の組織であり、運動やエネルギー代謝、糖取り込みなどに重要な役割を果たしている。加齢や不活動、がんや糖尿病などの疾患時に骨格筋は萎縮し、生活の質の低下や健康寿命の短縮を招く。本研究室では、転写因子 FOXO1 を骨格筋特異的に過剰発現させると顕著な筋萎縮が生じ、FOXO ファミリーを骨格筋で欠損させると筋萎縮が抑制されることを観察している。よって、FOXO1 は筋萎縮を引き起こす重要な因子である。本研究では、FOXO1 の転写活性を指標とし、筋萎縮抑制効果を持つ化合物を探査することを目的とした。

【方法】

FOXO1 の転写活性を評価できるレポーターASSAY系を確立し、472 種類の化合物ライブラリーを用いて、FOXO1 の転写活性を抑制する化合物を探査した。加えて、FOXO ファミリーの一つである FOXO3a の転写活性を評価できるレポーターASSAY系を確立し、二次スクリーニングを行った。また、合成グルココルチコイドであるデキサメタゾンを添加して筋萎縮を誘導したマウス骨格筋由来の細胞に、スクリーニングでヒットした化合物を添加し、遺伝子発現解析やミオシン重鎖免疫蛍光染色を行った。

【結果・考察】

スクリーニングの結果、FOXO1/3a の転写活性を抑制する 8 種類の化合物が見つかった。遺伝子発現解析の結果、デキサメタゾン添加により誘導された筋萎縮関連遺伝子の発現増加が、ヒット化合物の添加により抑制された。ミオシン重鎖免疫蛍光染色の結果、デキサメタゾン添加により低下したミオシン陽性面積が、ヒット化合物の添加により抑制された。よって、これらの化合物は FOXO1/3a の転写活性を抑制することで、FOXO1/3a 下流の筋萎縮関連遺伝子の発現増加を抑制し、筋萎縮を抑制すると考えられる。本研究により見出した化合物は、筋萎縮のリスク軽減効果を持つ機能性食品や、筋萎縮改善を目的とした医薬品の開発への利用が期待される。

10

Klebsiella pneumoniae 9-3B フィターゼの pH 特性の改変

○山本真輔¹、石川周¹、吉田健一¹

(¹ 神戸大院イノベ)

【目的】

フィターゼは、米ぬかや植物種子に多量に蓄積されるフィチン酸の 6 か所のリン酸エステルを加水分解して脱リン酸化する酵素であり、飼料添加物として、また *myo-inositol* の生産に利用される。多くのフィターゼはフィチン酸のリン酸エステルをすべて加水分解することができないが、*Klebsiella pneumoniae* 9-3B のフィターゼはバクテリア由来フィターゼの中でも全脱リン酸化能を有する唯一の酵素である。しかし、その至適 pH が強酸性域に偏っているため中性域でしか生育できない枯草菌への本酵素の適用には困難がある。本研究は、9-3B フィターゼに変異を導入して pH 特性を改変し、中性域でも高い触媒活性を示す酵素の創出を目的とする。そして、変異酵素を枯草菌に分泌生産させて、中性域でフィチン酸を全脱リン酸化して *myo-inositol* を効率的に遊離する技術の確立を目指した。また、既開発の *inositol* 異性体変換技術と融合させることにより、フィチン酸から希少 *inositol* を生産する可能性も検討した。

【方法・結果】

フィチン酸を含む寒天培地にカルシウムイオンを共存させるとフィチン酸カルシウムの白濁を生じる。そこで、フィチン酸の脱リン酸化による白濁の解消（コロニー周囲のハロー形成）を指標として、中性域で活性を示す変異フィターゼを生産する枯草菌を探索した。酵素活性中心に隣接する 2 つのアミノ酸残基に絞った限定変異ライブラリーと、酵素遺伝子全域にランダム変異をかけた大規模ライブラリーの 2 種を作製し、スクリーニングを実施した結果、各ライブラリーより、それぞれ 2 種ずつ、合計で 4 種の有望な変異フィターゼ生産株を取得した。その後、シーケンス解析によりフィターゼ遺伝子の変異箇所とアミノ酸残基の置換を同定した。

各変異フィターゼは枯草菌の細胞外へ分泌されるため、培養上清から変異フィターゼの精製サンプルを得た。この精製サンプルとフィチン酸を反応させ、HPLC 解析した結果、中性条件下 pH7.0 でフィチン酸から *myo-inositol* が遊離していることが確認され、これによって中性域で全脱リン酸化能を持つ変異フィターゼの分泌生産を実証した。また、フィチン酸からの希少 *inositol* の生産も検討した。

以上より、枯草菌を用いて、中性域で活性をもつ全脱リン酸化能フィターゼを飼料添加酵素として生産できる可能性、ならびにフィチン酸から希少 *inositol* をバイオプロダクションできる可能性を示すことに成功した。

○中根 摩耶、小倉 康平、橋本 渉

(京大院・農)

【背景と目的】枯草菌 *Bacillus subtilis* はグラム陽性細菌のモデル生物であり、自然形質転換能や発酵食品製造など学術・産業の両面で重要である。本菌は環境応答により、芽胞形成、自己溶菌やバイオフィルム形成など多様な形態変化を示す。近年、当研究室では蒸大豆を含む固体培地上の納豆菌と枯草菌 168 株において、細胞極付近に孔が生じ内容物が流出する「細胞空洞化」現象を見いだした。細胞空洞化には形態変化マスター・レギュレーター Spo0A とオートリシン CwlO (ペプチドグリカン分解 DL-エンドペプチダーゼ) が必須であることを明らかにしているが、それらが関わる細胞空洞化の分子機構には不明な点が多い。また、他の研究グループによる CwlO に関する研究の多くは C 末端側活性ドメインを対象としており、N 末端側ドメインを含む全長タンパク質の構造や分解活性の有無は報告されていない。本研究では、細胞空洞化における Spo0A と CwlO の関係性と機能発現の解明を目指し、野生株と一遺伝子欠損株のマルチオミクスおよび CwlO 全長タンパク質の機能構造解析を実施した。

【方法と結果】細胞空洞化関連遺伝子を探索するため、*spo0A* と *cwlO* の各遺伝子欠損株 ($\Delta spo0A$ 株と $\Delta cwlO$ 株) を対象にトランスク립トミクスとプロテオミクスを行った。その結果、両オミクスで共通して発現が低下していた分解酵素や電子伝達系関連タンパク質などの遺伝子を見いだした。しかし、それらの一遺伝子欠損株では、細胞空洞化がみられた。 $\Delta spo0A$ 株と $\Delta cwlO$ 株のトランスク립トミクスでは、両欠損株の発現変動に強い正の相関が認められた。Spo0A はリン酸化によって活性化されることから、CwlO が Spo0A の活性化に影響を及ぼすことが示唆された。これにより、Spo0A と CwlO との相互作用が細胞空洞化機構の起点となる可能性が示された。また、CwlO 全長タンパク質はペプチドグリカン分解活性を保持し、N 末端側ドメインが DL-エンドペプチダーゼ活性を阻害しないことを明らかにした。加えて、CwlO 全長タンパク質の構造解析では結晶化溶液中で CwlO が分解され、C 末端側活性ドメインのみの構造を決定した。このことから、CwlO が分解を受けやすいことがわかった。

【結論】本研究から、CwlO が Spo0A 活性化に影響を与えることで活性型 Spo0A による転写制御システムを介して細胞空洞化を誘発する可能性を示した。また、これまで不明であった CwlO 全長タンパク質の酵素学的特性について、CwlO 全長タンパク質の活性発現と分解感受性を明らかにした。得られた成果は、細胞空洞化の分子基盤を解明すること、ならびに固体培地における枯草菌の適応戦略の理解を深めることにも貢献すると期待される。

【Purpose】

Protein aggregation is a central pathological feature of various neurodegenerative disorders such as Parkinson's disease, in which α -synuclein (α Syn) forms toxic amyloid fibrils. Recent atomic-resolution studies have shown that α Syn adopts multiple amyloid polymorphs, whose structures depend on environmental conditions and mutations. These polymorphs are thought to contribute to disease heterogeneity and clinical variability. However, conventional experimental approaches, including the widely used thioflavin T (ThT) assay, are insufficient for distinguishing among structurally distinct polymorphs or for detecting transient intermediate species during aggregation.

This study aimed to develop a fluorescence-based detection platform capable of discriminating α Syn amyloid polymorphs and capturing non-canonical and intermediate aggregation states.

【Methods and Results】

We performed a systematic screening of 34 candidate chemical probes to evaluate their binding properties and fluorescence responses toward distinct α Syn amyloid structures. Among these probes, five showed clear potential to differentiate between polymorphic amyloid states. Notably, BF-188 proved effective for monitoring non-canonical aggregation states.

Using a dual-probe strategy that combined ThT with BF-188, we analyzed the aggregation kinetics of several pathogenic α Syn mutants, including A30P, H50Q, and E46K. ThT measurements predominantly reflected a gradual and monotonic increase in fluorescence corresponding to the accumulation of mature fibrils. In contrast, BF-188 revealed distinct, transient fluorescence changes during early aggregation phases, indicating sensitivity to oligomeric and intermediate species. These probe-dependent differences demonstrate that α Syn aggregation proceeds through multiple stages that cannot be resolved by a single fluorescent reporter alone.

The combined use of ThT and BF-188 provides a practical methodology for analyzing amyloid polymorphism and offers a scalable strategy for examining the relationship between protein structure and neurodegenerative pathology.

2025 年度支部技術賞 受賞記念講演

超耐熱化 *Arthrobacter globiformis* M30 由来 D-アルロース 3-エピメラーゼの構築

○大谷耕平, 島田研作, 石川一彦, グラッパリ プシュバ キラン
(松谷化学工業株式会社)

はじめに

D-アルロース(D-ブシコース)は、自然界に存在量が少ない希少糖の一種であり、砂糖の7割の甘味を有するにもかかわらず、カロリーはゼロであり、更に食後血糖上昇抑制効果、脂肪燃焼効果を併せ持つ機能性食品素材である。我々は、酵素法を用いたD-アルロースの大量生産技術を開発し、「ASTRAEA(アストレア)」の商品名で上市している。

酵素耐熱化の必要性

酵素法によるD-アルロース生産において、我々は独自に単離した*Arthrobacter globiformis* M30 由来の組換えD-アルロース 3-エピメラーゼ(AgDAE)を用いている。AgDAEは、D-フルクトースとD-アルロースの可逆的な異性化反応を触媒し、D-アルロースの工業的な大量生産において重要な役割を担っている。熱安定性の高いAgDAEは微生物汚染リスクを回避する高温連続反応を長時間行うことができ、酵素の交換頻度を減らすことで生産効率の向上につながる。さらに、AgDAEの効率的調製には60–70°Cでの加熱処理による宿主細胞の除去が必要であり、高い熱安定性を持つAgDAEが必要とされる。このように工業規模の生産においてAgDAEの熱安定性は重要な要素である。

研究目的

上記の理由から、我々はAgDAEと他のDAEとのアミノ酸配列アライメント解析及びAlphaFold2により予測された構造モデルを用いて、タンパク質構造の安定化原理に従い変異を導入するアミノ酸配列シャッフリング法により、その熱安定性の改良を試みた。構築した変異酵素は、触媒活性、至適温度、変性転移温度、熱処理後の残存活性を測定することによって評価を行った。

点変異酵素の構築と評価

我々は、75番目のグルタミン酸(Glu), 137番目のアルギニン(Arg), 200番目のアラニン(Ala), 237番目のバリン(Val), 270番目のアラニン(Ala)の5箇所のアミノ酸に着目した。タンパク質構造の安定化原理、すなわちプロリン導入、塩橋形成、疎水性相互作用による安定化を考慮し、それぞれ点変異を導入した(Glu75Pro, Arg137Lys, Ala200Lys, Ala270Lys, Val237Ile)。それらの点変異酵素の評価を行ったところ、変性転移温度がGlu75Proで2.7°C, Arg137Lysで2.1°C, Ala200Lysで3.7°C, Ala270Lysで5.1°C, Val237Ileで8.0°Cの上昇が確認された。また、これらの5

変異すべてを導入した変異酵素(AgDAE_5m)は、触媒活性を大きく損なうことなく変性転移温度が約 12°C 上昇し、65°C、2 時間の熱処理後においても高い安定性を維持した。

キメラ酵素の構築と評価

更に、高い熱安定性を有することが報告された *Arthrobacter psychrolactophilus* 由来の DAE(ApDAE) のアミノ酸配列情報を用いたアライメント解析に基づき AgDAE_5m と ApDAE を組み合わせたキメラ酵素を 5 つ設計した。構築したキメラ酵素は著しい触媒活性の低下を示すことなく野生型 AgDAE と比較して変性転移温度の向上が確認された。キメラ酵素のうちのひとつは変性転移温度がおよそ 30°C 上昇し、相対触媒活性が通常の工業的なアルロース生産条件である 50°Cにおいて 129% に向上した。また、本酵素は 95°C以上でも顕著な触媒活性を示し、80°C・2 時間の熱処理後においても高い安定性を維持した。

おわりに

今回、我々は点変異型とキメラ型の超耐熱化 AgDAE の構築に成功した。それは持続的かつ高効率な D-アルロース生産のための強力なバイオ触媒となることを示した。一般に酵素の耐熱化研究において耐熱化と触媒活性はトレードオフの関係にあると言われるが、本研究成果はトレードオフのない酵素の耐熱化研究の成功例である。また、現在様々な研究機関において、AI を用いた酵素耐熱化設計手法の開発が進められている。しかし、その基盤となる機械学習用データの信頼性の低さや酵素耐熱性の評価基準の曖昧さが大きな障壁となり、十分に満足できる設計には至っていない。本研究成果は、松谷化学工業において培われたタンパク質構造安定化の原理と精緻な評価実験に基づくものであり、この手法は他の酵素にも幅広く適用可能であると考える。

(引用文献)

- 1) Shimada *et al.* (2025). Construction of hyperthermostable D-allulose 3-epimerase from *Arthrobacter globiformis* M30 using the sequence information from *Arthrobacter psychrolactophilus*. *FEBS Open Bio.* 15, 1508–1519.
- 2) Ohtani *et al.* (2024). Construction of thermostable D-allulose 3-epimerase from *A. globiformis* M30 by protein engineering method. *J. Appl. Glycosci.* 71, 95–102.
- 3) Yoshihara A, *et al.* (2017) Purification and characterization of D-allulose 3-epimerase derived from *Arthrobacter globiformis* M30, a GRAS microorganism, *J. Biosci. Bioeng.* 123, 170–176.
- 3) 島田 研作(2022)希少糖の実用化～プシコースの大量生産に係る研究開発及び応用研究～ 応用糖質科学 12巻1号, 33–39.

- 4) 特開 2024-104480 热安定性及び酵素活性が向上した新規ケトース 3-エピメラーゼ
- 5) 特許第6647619 热安定性が向上したケトース 3-エピメラーゼ
- 6) 特許第 5997693 アルスロバクターグロビホルミスの生産する酵素

プロフィール

名前: 大谷 耕平 (Kouhei Ohtani)

連絡先: 〒664-8508 兵庫県伊丹市北伊丹 5 丁目 3 番地 研究所

E-mail address: kouhei-ohtani@matsutani.co.jp

略歴:

2003 年 愛媛大学 大学院連合農学研究科 博士課程修了

2003 年 科学技術振興機構さきがけ研究 21 研究補助員

2004 年 ミシガン州立大学-米国エネルギー省共同植物研究所 ポスドク研究員

2005 年 ミシガン州立大学-米国エネルギー省共同植物研究所 日本学術振興会
海外特別研究員

2008 年 国立大学法人 香川大学 農学部産官学連携研究員

2013 年 松谷化学工業株式会社 入社

現在に至る

主な研究テーマ: 酵素を用いた新規素材の開発

2025 年度 学会賞 受賞記念講演

B型肝炎ウイルス由来中空ナノ粒子(バイオナノカプセル)の革新的応用研究

○黒田俊一

(阪大・産研)

1. はじめに:B型肝炎ワクチン研究から始まったバイオナノテクノロジー

B型肝炎ウイルス(HBV)は、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌の主要な原因であり、現在も世界で約3億人が慢性感染している。根治療法が未確立である現状において、ワクチンは最も有効な感染予防手段である。本研究は、B型肝炎ワクチンの高性能化を目的とした基礎研究から出発し、その過程で得られた知見を基に、ウイルス由来ナノ粒子を活用した新規ドラッグデリバリーシステム(DDS)および高感度バイオセンシング技術へと展開してきたものである。特に、HBVエンベロープLタンパク質からなる中空ナノ粒子「バイオナノカプセル(Bionanocapsule:BNC)」は、ウイルスが本来有する細胞認識・侵入機構を安全な形で再構築した“ウイルス模倣型ナノキャリア”として、DDS、感染機構解明、バイオセンサーという異なる分野を横断する基盤技術へと発展した。本講演では、その研究の流れと設計原理、ならびに今後の展望について概説する。

2. 第2世代・第3世代B型肝炎ワクチンの開発（第1図）

1980年代に実用化された第1世代B型肝炎ワクチン(S抗原)は、安全性に優れる一方、抗体誘導に時間を要し、一定割合の非応答者が存在するという課題を抱えていた。我々はHBV表面抗原Mタンパク質のpre-S2領域に着目し、この領域が肝細胞特異性に関与することを見出した。酵母発現系を用いてM抗原粒子を大量生産することに成功し、第2世代ワクチンとして高い防御効果を示すことを動物実験および臨床試験で明らかにした。さらに、HBV感染において最も重要な中和エピトープを含むpre-S1領域を有するL抗原に挑戦し、世界に先駆けて酵母での高発現系を確立した。この第3世代ワクチン候補であるL抗原粒子は、抗S、抗pre-S2に加え、抗pre-S1抗体を早期に誘導し得る「完全型ワクチン」と考えられた。しかし、商業的理由により臨床応用には至らなかった。一方で、このL抗原粒子が直径約100nmの安定な中空ナノ粒子を形成し、かつHBV本来の肝細胞特異的感染機構を保持していることが明らかとなり、新たな応用可能性が見出された。

3. BNCを基盤としたウイルス模倣型 DDS の構築（第2図）

L抗原粒子を「BNC」と定義し、そのDDSへの応用を検討した。BNCは、①免疫系から回避されやすいステルス性、②ヒト肝細胞への能動的ターゲティング能、③エンドソームからの脱出能、というHBV由来の三つの機能を併せ持つ。実際に、BNCに遺伝

子や低分子化合物を封入すると、培養細胞系およびヒト肝細胞移植マウスにおいて、極めて高いヒト肝特異的集積と細胞質送達が確認された。さらに、免疫原性低減変異の導入、リポソームとの融合によるハイブリッド化、低 BNC 含量のウイルス様粒子(virosome)の構築などにより、臨床応用を見据えた改良を進めてきた。また、抗体結合ドメインを導入した ZZ-BNC により、抗体を介したリターゲティングが可能となり、がん、免疫細胞、腫瘍微小環境など多様な標的への DDS 展開を実証した。

4. BNC を用いた HBV 初期感染機構の解明（第3図）

BNC は DDS 材料であると同時に、HBV 感染機構を解析するための優れたモデル粒子でもある。NTCP が HBV 受容体として同定された後も、感染初期過程には不明点が多く残されていた。我々は、BNC が NTCP 非発現細胞にも結合・侵入可能であることを見出し、heparan sulfate proteoglycan や SR-B1 を介した代替経路の存在を明らかにした。さらに、pre-S1 領域の pH 依存的膜融合活性、pre-S2 領域によるアルブミン結合を介したステルス性付与などを統合的に解析し、HBV が進化の過程で獲得した「分子論理」を明確化した。これらの知見は、HBV 侵入阻害剤の設計指針としても重要な意味を持つ。

5. ナノスキャフォールドとしての BNC とバイオセンシング応用（第4図）

BNC の表面に放射状に配置された L タンパク質は、分子を高密度かつ配向制御して配置する「ナノスキャフォールド」として機能する。ZZ-BNC を用いることで、IgG 分子を Fc 結合により整列固定でき、ELISA や QCM センサーにおいて検出感度を 1 枠以上向上させることに成功した。さらに、DNA アプタマーや受容体タンパク質への応用、二次元膜状構造(ZZ-L 膜)の構築などにより、従来困難であった高感度・多項目検出を可能にした。これらの技術は、診断・分析分野における新たな基盤技術として注目されている。

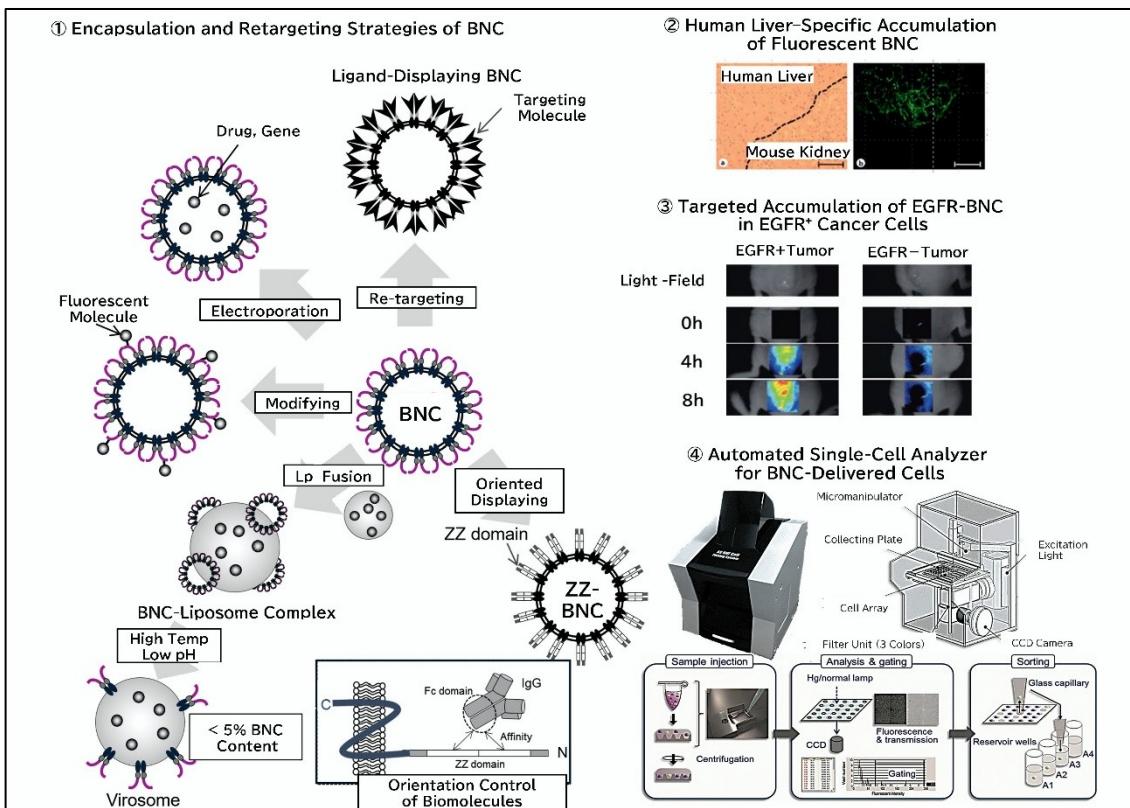
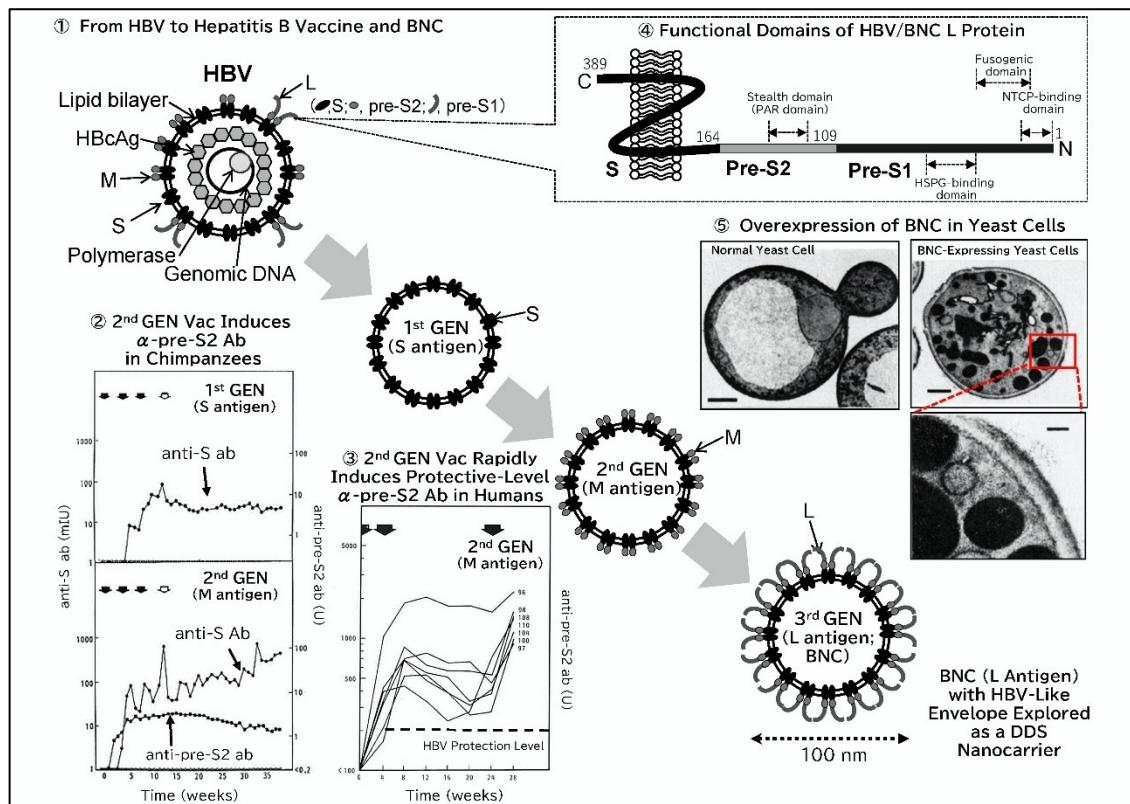
6. おわりに:ウイルス由来 VLP 技術の将来展望

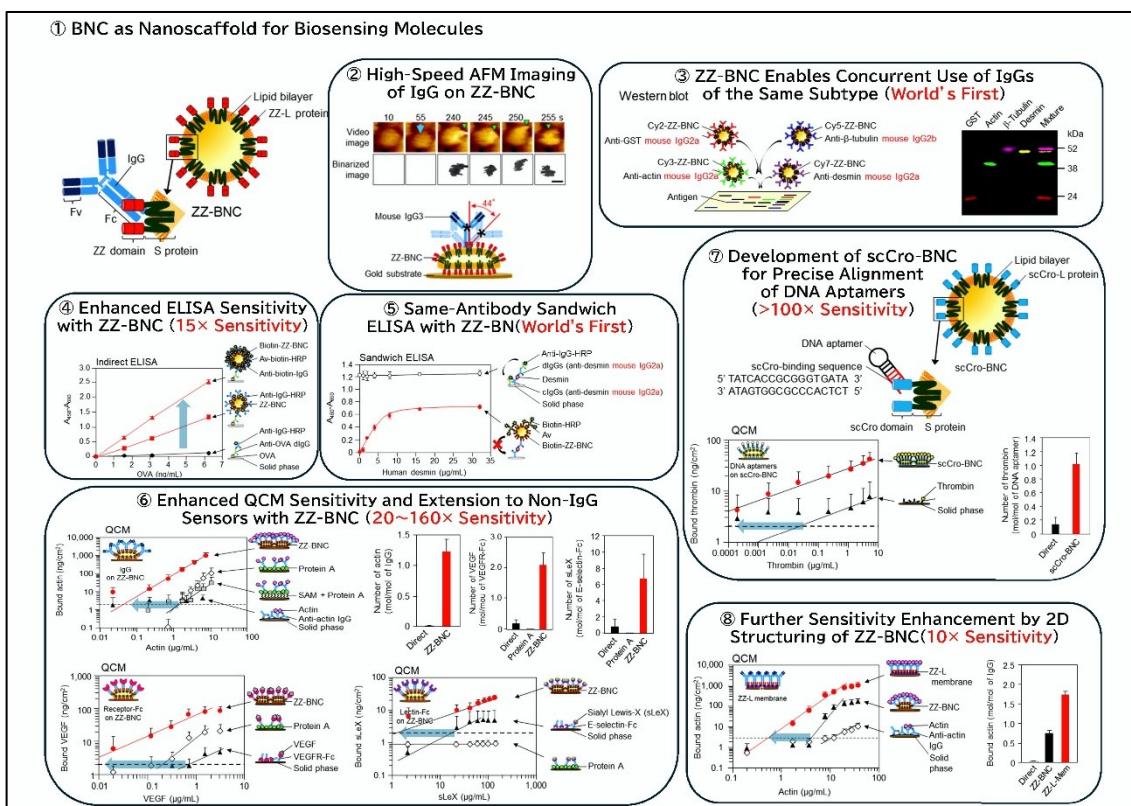
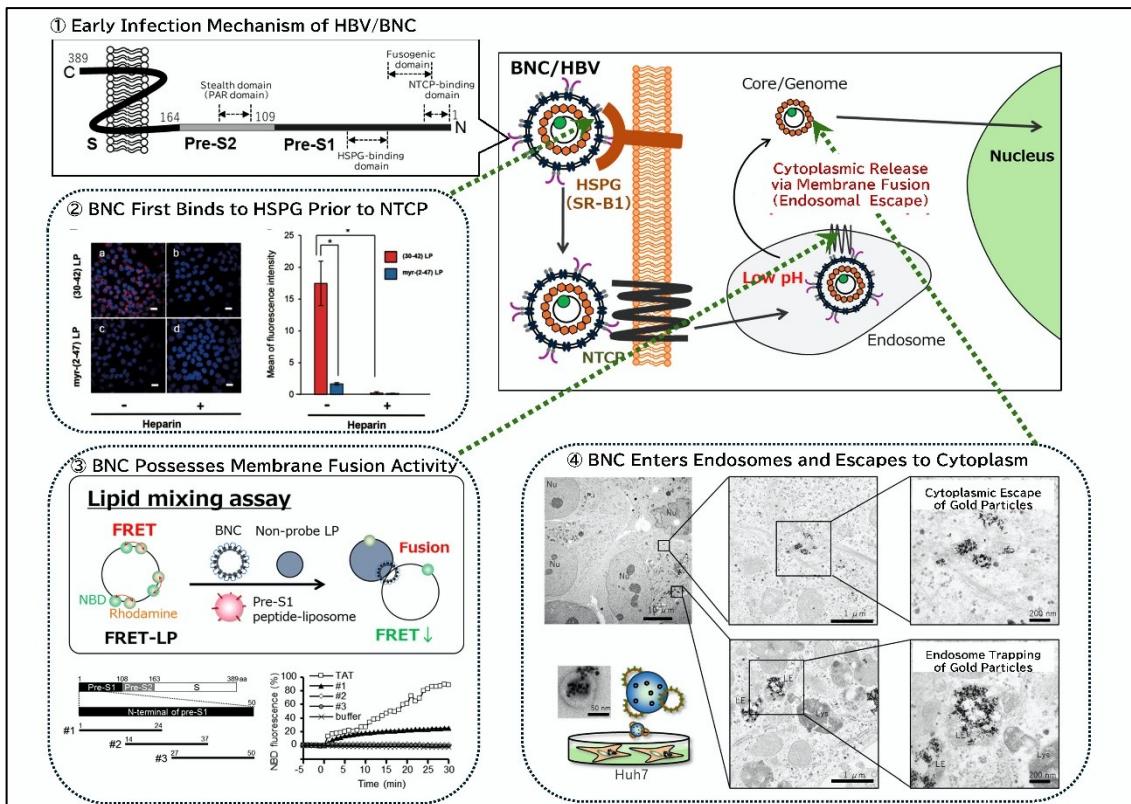
BNC 研究を通じて確立された「ウイルス模倣型 DDS 設計原理」は、HBV に限らず、他のウイルス由来 VLP にも適用可能である。ウイルスが進化の過程で獲得した高度な細胞認識・侵入機構を、安全な形で再構築することにより、遺伝子治療、がん免疫療法、再生医療、分子診断など幅広い分野への展開が期待される。

B 型肝炎ワクチン研究から派生したこれらの成果は、基礎研究と応用研究の連続性、そして異分野融合の重要性を示す一例であり、今後もウイルス由来ナノテクノロジーが新たな学術的・社会的価値を創出することを期待したい。

謝辞

本研究は、武田薬品工業(株)在籍時に藤澤幸夫博士のご指導のもと HB ワクチン開発に取り組んだことに端を発する。DDS 開発では阪大産研の谷澤克之名誉教授、山田忠範博士、鄭周姫教授、粕谷武史博士、李昊博士、故・上田政和准教授(慶應医)、妹尾昌治名誉教授(岡大)、近藤昭彦名誉教授(神大)、松尾英典博士(名大)らと共に共同研究を行った。HBV 初期感染機構解明では日沼州司特任教授、曾宮正晴准教授、劉秋実博士に、バイオセンサー開発では中野秀雄教授(名大)、飯島益巳教授(東京農大)に深く感謝する。また、関係各機関の研究スタッフ、学生諸氏にも厚く御礼申し上げる。





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	日清オイリオグループ株式会社
植田製油株式会社	日世株式会社
株式会社力ネ力	株式会社日本医化器械製作所
菊正宗酒造株式会社	Noster 株式会社
黄桜株式会社	ハウスウェルネスフーズ株式会社
月桂冠株式会社	ヒガシマル醤油株式会社
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社	不二製油株式会社
サントリーホールディングス株式会社	松谷化学工業株式会社
住友化学株式会社	三井化学クロップ&ライフソリューション 株式会社
宝酒造株式会社	株式会社三ツワフロンテック
株式会社第一化成	大和酵素株式会社
筑野食品工業株式会社	理研化学工業株式会社
東洋紡株式会社	株式会社ロッテ
ナカライトスク株式会社	和研薬株式会社

(50 音順 敬称略)

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：谷 史人
Tel: 075-753-6286
E-mail : tani.fumito.6w@kyoto-u.ac.jp



庶務幹事：小倉 康平
Tel: 0774-38-3768
E-mail : ogura.kohei.7x@kyoto-u.ac.jp

会計幹事：高橋 春弥
Tel: 0774-38-3759
E-mail : takahashi.haruya.3x@kyoto-u.ac.jp

庶務幹事(補)：小野 肇
Tel: 075-753-6310
E-mail : ono.hajime.5a@kyoto-u.ac.jp

発行日 2026年2月7日（土）

日本農芸化学会関西支部ホームページ: <https://kansai.jsbba.or.jp/>