

日本農芸化学会関西支部  
第 535 回講演会

講演要旨集

令和 7 年(2025 年)5 月 23 日(金)  
京都府立京都学・歴彩館

日本農芸化学会関西支部



## 日本農芸化学会関西支部 第 535 回講演会

◇開会の辞(13:00-13:05)

高野 和文(京都府立大学 幹事校代表)

◇一般講演(13:05-14:35)

[一般講演:発表 12 分、質疑 2 分 30 秒、交代 30 秒]

(\*印は若手優秀発表賞対象講演)

1\*. 光合成研究における阻害剤アンチマイシン A の使用の問題点と解決方法

○今泉 滉(京都大学 大学院農学研究科)

2\*. 希少糖アルロースの腸ホルモン GLP-1 を介したインスリン作用増強効果と代謝関連臓器の機能解析

○小見 渉(京都府立大学 大学院生命環境科学研究科)

3. グルココルチコイド誘発性筋萎縮をビタミン D が抑制するメカニズムの探索

○佐藤 由顕(京都府立大学 生命環境学部)

4\*. 新規耐熱性ホスホリパーゼの機能解析と応用

○松村 彰馬(京都府立大学 生命環境学部)

5. 酵母グリオキサラーゼ I の熱ストレスによるエネルギー依存的分解機構の解析

○岡市 和也(京都大学 大学院農学研究科)

6\*. Monobody を用いた酵素のアロステリック阻害の緩和

○戸谷 俊太朗(京都府立大学 大学院生命環境科学研究科)

<休憩 14:35-14:50>

◇受賞講演（14:50-16:10）

座長：谷 史人（京都大学 大学院農学研究科）

農芸化学技術賞 佐藤 俊輔 先生（カネカ CO2 Innovation Laboratory）

「カネカ生分解性バイオポリマー Green Planet® 生産微生物の開発と事業化」

日本農芸化学会賞 小川 順 先生（京都大学 大学院農学研究科）

「多様な微生物代謝の発見と解析ならびにその統合的応用に関する基盤研究」

<休憩 16:10-16:25>

◇産学交流講演会（16:25-16:55）

座長：高野 和文（京都府立大学 大学院生命環境科学研究科）

松山 奈穂子 先生（㈱堀場製作所 グループ戦略本部 Bio & Health Care Task Force）

「ほんまもんを目指して -Bio Life Science における HORIBA の挑戦-」

◇優秀発表賞（支部長推薦）表彰式（16:55-17:00）

◇JSBBA KANSAI Student Committee からの案内（17:00-17:05）

◇次回支部例会アナウンス（17:05-17:10）

◇閉会の辞（17:10-17:15）

谷 史人（日本農芸化学会関西支部長）

◇懇親会（17:30-）

# 1 \*

## 光合成研究における阻害剤アンチマイシン A の使用の問題点と解決方法

○今泉滉<sup>1</sup>、高木大輔<sup>2</sup>、三芳秀人<sup>1</sup>、伊福健太郎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>京大院・農、<sup>2</sup>摂南大院・農)

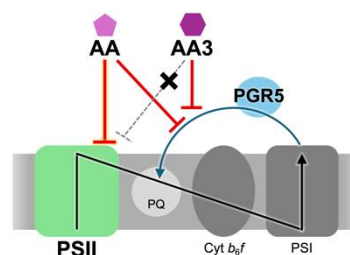
### 【目的】

光合成電子伝達は、直線的電子伝達と光化学系I周辺の循環的電子伝達(CEF-PSI)からなる。タンパク質PGR5が関わる主要なCEF-PSI経路は、光環境に応じて植物の光合成を調節する重要な機能を持つ。光合成分野でアンチマイシンA(AA)はPGR5依存CEF-PSI経路(別名:AA感受性経路)の阻害剤としてよく知られ、60年以上もの間、その特異的な阻害剤として頻繁に用いられてきた。一方で、AAがCEF-PSIに関与しない光化学系II(PSII)にも作用してしまう可能性が過去に示唆されたが、これは副次的な影響として無視され、このことは現在ほとんど知られていない。本研究では、AAのPSIIへの直接的な影響を評価し、AAを用いる現在のCEF-PSI研究手法の重大な問題点の存在を証明するとともに、これを解決する具体的な方法を提示することを目的とした。

### 【方法・結果】

本研究では、ホウレンソウのチラコイド膜と単離したPSII、シロイヌナズナの野生型および*pgr5*欠損変異体のチラコイド膜を用いた。PSII内部の電子伝達の様子を調べる $Q_A^-$ 再酸化キネティクスの測定により、AAがPSII内部の電子伝達を抑制することを示した。また、暗黒下でPSIIの最大量子収率 $F_v/F_m$ の繰り返し測定実験を行った結果、PSIIから下流への電子伝達を止める阻害剤の存在下では、AAがPSIIの光損傷を劇的に亢進することを明らかにした。これらのAAのPSIIへの影響は単離したPSIIにおいても認められ、材料にした植物体におけるPGR5の有無にもよらず、AAがPSIIに直接結合して強い阻害的効果を持つことを解明した。CEF-PSIを含め光合成電子伝達の研究は、主にPSIIからのクロロフィル蛍光の測定により行われる。PGR5依存CEF-PSIの阻害剤として用いられるAAがPSII自体にも影響することは重大な問題である。

光合成分野において、AAは構造の類似した化合物(主にAA1、AA2、AA3、AA4)の混合物として販売されているものが通常使用される。我々は上記と同様の実験により、精製されたAA3(市販入手可能)は、PSIIにほとんど影響を及ぼさずにPGR5依存CEF-PSI経路を阻害することを発見した。したがって、PGR5依存CEF-PSIの阻害剤として、従来のAAではなく、AA3を使用することを提言する。



## 2\*

### 希少糖アルロースの腸ホルモン GLP-1 を介したインスリン作用増強効果と代謝関連臓器の機能解析

○小見渉<sup>1</sup>、大林健人<sup>1</sup>、石原寛隆<sup>1</sup>、岩崎有作<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 京都府大院・生命環境)

【背景と目的】 世界的に増加の一途をたどる2型糖尿病の成因は、インスリン作用の低下、すなわち「インスリン抵抗性」であり、その改善は2型糖尿病の根本的治療につながると考えられる。現在使用されているインスリン抵抗性改善薬には、効果および副作用の両面において課題が多く、より安全かつ有効な治療薬や新規改善法の開発が急務である。当研究室では、希少糖の一種であるアルロースに、インスリン感受性を高め、高血糖を改善する作用があることを明らかにしてきた (Y. Iwasaki et al., Nat. Commun., 2018)。この作用機序として、アルロースは腸ホルモン glucagon-like peptide-1 (GLP-1) の分泌を促進し、GLP-1受容体を発現する求心性迷走神経を活性化することが、生理作用の発現に必須であることを見出している。しかし、アルロースによってインスリン作用が増強される際に関与する具体的な末梢代謝臓器については、依然として不明である。

【目的】 本研究では、アルロースの腸GLP-1分泌を介したインスリン感受性改善作用における責任末梢臓器を同定することを目的とした。末梢代謝臓器におけるインスリン受容体シグナリングの鍵分子であるAKTに着目し、AKTのリン酸化をウエスタンブロッティング法にて定性・定量した。

【方法・結果】 絶食させたマウスにアルロースを1 g/kgで単回胃内投与し、その1時間後に経口糖負荷試験 (OGTT) を実施した。糖代謝が盛んな末梢代謝臓器の肝臓、心臓、骨格筋 (ヒラメ筋と腓腹筋) は、糖負荷10分後に摘出し、各臓器のAKTのリン酸化をウエスタンブロッティング法にて分析した。

【結果】 アルロースを糖負荷1時間前に与えると、インスリン分泌促進を伴わずして耐糖能を向上させた。このアルロースのインスリン感受性亢進作用を担う末梢臓器を、糖負荷後のAKTリン酸化を指標に検討した。その結果、インスリンによって糖代謝が亢進する肝臓、心臓、骨格筋の全ての臓器のAKTリン酸化がアルロースの前投与で有意に増加した。これらのアルロースの作用はGLP-1受容体の欠損で完全に消失した。さらに、アルロースの単投与では、これら代謝臓器のAKTリン酸化は変化しなかった。

【結語】 アルロースによる腸GLP-1分泌促進は、糖負荷によって肝臓・心臓・骨格筋のインスリン受容体シグナルを増強させること、そして、この作用にGLP-1受容体が関与していることが明らかとなった。従って、アルロースのインスリン作用増強効果に複数の代謝臓器が関与することが示唆された。今後、本作用における迷走感覚神経、中枢神経、そして、脳と代謝臓器をつなぐ自律神経の関与を検証する予定である。

# 3

## グルコルチコイド誘発性筋萎縮をビタミン D が抑制する メカニズムの探索

○佐藤由顕、阪上愛斗、山本有紗、広瀬優真、亀井康富

(京都府大・生命環境学部)

【背景・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、糖取り込みなど多岐にわたり重要な役割を果たしている。骨格筋が萎縮すると、健康寿命の短縮や生活の質(QOL)の低下を引き起こす。グルコルチコイドは炎症や自己免疫疾患など、様々な疾患に対する治療薬として使われている一方、副作用として、タンパク質の異化を促進し、同化を抑制することで筋萎縮を引き起こす。加えて、慢性的ストレス状態では、血清グルコルチコイド濃度の上昇が筋萎縮を引き起こすことが分かっている。また、ビタミンD欠乏が筋萎縮のリスクを増加させること、ビタミンD投与が高齢者の筋サイズ、筋力の増加を引き起こすことが報告されている。さらに、我々の過去の研究では、C2C12筋細胞において合成グルコルチコイドであるデキサメタゾン(DEX)によるAtrogin1(筋萎縮マーカー遺伝子)の発現上昇がビタミンDによって抑制され、ビタミンDが筋萎縮抑制に重要であることが示唆された(Hirose et al., JNSV 2018)。そこで本研究では、ビタミンDが筋萎縮を抑制する分子メカニズムの解析を目的とした。

【方法・結果】マウス骨格筋由来細胞株であるC2C12筋細胞にDEXと活性型ビタミンD(1,25(OH)2D3)を添加し、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。このデータからDEXで発現上昇し、1,25(OH)2D3で発現減少する遺伝子を絞り込み、その中から筋萎縮に関連しうる遺伝子を3つピックアップした。その3つの遺伝子とは、BCAT2(分岐鎖アミノ酸アミノ基トランスフェラーゼ2)、PDK4(ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ4)、11 $\beta$ -HSD1(11 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ1)であった。

【考察】BCAT2は筋タンパク質の同化促進作用を持つBCAAを分解し同化を抑制すること、PDK4は筋形成に重要なミオゲニンの分解を促進すること、11 $\beta$ -HSD1は内因性のグルコルチコイドを活性化することで筋萎縮に寄与する可能性があることが報告されている。DEXにより発現上昇する、これらの筋萎縮関連遺伝子を発現減少させることで、1,25(OH)2D3が筋萎縮を抑制する可能性があると考えられる。今後、筋萎縮をビタミンDが抑制する機序をより詳細に明らかにしたい。

# 4\*

## 新規耐熱性ホスホリパーゼの機能解析と応用

松村彰馬<sup>1</sup>、永野晏那<sup>2</sup>、辻本善之<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>京府大・生命環境、<sup>2</sup>京府大院・生命環境)

### 【目的】

ホスホリパーゼA (PLA) は、リン脂質をリゾリン脂質と脂肪酸に加水分解する。既存 PLA は乳化剤の製造や油脂の精製等に広く利用されているが、安全性や製造コストなどの様々な問題から代替酵素が求められている。我々は、新規耐熱性ホスホリパーゼを産生する好熱性細菌 *Caenibacillus caldisaponilyticus* B157<sup>T</sup>株を単離した。本酵素の組換え酵素を用いて、位置選択性を明らかにした結果、*sn*-1位への選択性が高い PLA<sub>1</sub> であることが分かった。次に、基質特異性を明らかにするとともに、リゾリン脂質やバイオディーゼル燃料(脂肪酸メチルエステル、FAME)の生成における反応の条件検討と、基質と酵素タンパク質の構造が反応に及ぼす影響を考察した。

### 【方法・結果】

*E. coli* Rosetta BL21 (DE3) で発現させた rPlaA-Cpro (不活性型pro体) を熱処理等で精製し、Proteinase Kでプロセッシング後、疎水性カラム等を用いてrPlaA (活性型) を精製した。酵素反応の基本条件は、基質として卵黄ホスファチジルコリン (PC) 、界面活性剤としてタウロコール酸ナトリウム (NaTC) を用い、pH 7.0、60℃とした。FAME生成反応は、メタノール (MeOH) 存在下で行った。

基質特異性：複数のリン脂質を含む大豆レシチンを基質とした時、TLCとNMR解析の結果から、rPlaAは、ホスファチジルエタノールアミン (PE) 、ホスファチジルイノシトール (PI) 、PCのどのリン脂質も加水分解し、リン脂質の親水性頭部基に対しての基質特異性は低かった。

リゾリン脂質の生成：副生成物の脂肪酸が酵素反応を阻害していることが判ったため、基質の卵黄PCが glycerylphosphorylcholine まで分解されず、lysoPCを効率よく生成できることが示された。

FAMEの生成：基質が卵黄PC、10-50% MeOHの場合、生成物のFAMEには卵黄PCの *sn*-1 位に多く結合する飽和脂肪酸がどの条件でも96%以上含まれており、トランスアシラーゼ活性においても *sn*-1 位選択性が高いことが判った。さらに、MeOH存在下での基質と酵素タンパク質の構造の影響を調査した。

# 5

## 酵母グリオキサラーゼ I の熱ストレスによるエネルギー依存的分解機構の解析

○岡市和也、池田佳代、井上善晴

(京大院・農・応生科)

### 【目的】

メチルグリオキサール(MG)は解糖系から生成する副産物であるが反応性が高く、細胞毒性を示す。出芽酵母においてMGは、グルタチオン存在下でグリオキサラーゼI (Glo1)によりS-ラクトイルグルタチオンに代謝される一方、メチルグリオキサール還元酵素 (Gre2)によりラクトアルデヒドや、アルドース還元酵素 (Gre3)によりアセトールに代謝される。さらに我々は、ホルムアルデヒドをグルタチオン依存的にS-ホルミルグルタチオンに代謝するホルムアルデヒド脱水素酵素 (Sfa1)の欠損株がMG感受性を示し、Glo1とSfa1の二重破壊株はMG感受性において相加性を示すこと、また野生株で*SFA1*を過剰発現させるとMG耐性を賦与することを見出した。しかしながら、*glo1Δ*株の示すMG感受性は*SFA1*の過剰発現では抑圧されなかった。*GLO1*と*SFA1*の遺伝学的相互作用を検討する過程で、37°Cでは*SFA1*のマルチコピーによるMG耐性が消失することを見出した。そこで本研究では、37°CにおけるGlo1の挙動について明らかにすることを目的とした。

### 【方法・結果】

*glo1Δ*株では*SFA1*の過剰発現によりMG感受性を抑圧できなかったことから、37°Cにおける*GLO1*遺伝子の発現を検討した。その結果、28°Cで培養した場合と比較して発現量に大きな差は見られなかった。一方、Glo1活性は37°Cで培養すると28°Cで培養した場合の半分以上に低下した。また、28°Cで培養した菌体を37°Cにシフトすると、経時的にGlo1活性が低下した。28°Cで培養した菌体から調製した無細胞抽出液を37°Cで保温してもGlo1活性の低下は見られなかったことから、37°CでのGlo1活性の低下は細胞内で起こる現象であると考えられた。そこで、37°Cにシフトした後のGlo1タンパク量をウェスタンブロッティングにより検討した結果、Glo1活性の低下と連動して減少した。熱ストレスによるGlo1タンパク量の減少は、低グルコース条件、プロテアソーム貯蔵顆粒の形成を誘導することでプロテアソームを不活性化させる2-デオキシグルコースの添加、ならびにプロテアソーム阻害剤MG132の添加によって抑制された。これらのことから、熱ストレスによるGlo1タンパク量の減少はユビキチン・プロテアソームを介する可能性が示唆された。現在、Glo1が熱ストレスで積極的に分解される生理的意義についても検討している。

## 酵素のアロステリック部位を標的とした人工結合タンパク質による酵素活性阻害の緩和

6\*

○戸谷 俊太郎<sup>1</sup>、雨坂 心人<sup>1</sup>、上原 了<sup>2</sup>、原 瑞穂<sup>1</sup>、高野 和文<sup>1</sup>、  
松村 浩由<sup>2</sup>、田中 俊一<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 京都府大・院生環、<sup>2</sup> 立命館大・院生命)

従来のタンパク質工学では、酵素自体に変異を導入して機能を改変することが主流である。しかし、このアプローチには、人為的に導入されたアミノ酸により、酵素の構造不安定化や活性の低下を引き起こす課題が伴う。先行研究において、野生型酵素に結合する人工結合タンパク質Monobody (Mb)を活用し、酵素の基質結合部位またはその近傍を標的とすることで基質特異性を調節する手法が開発された<sup>[1]</sup>。

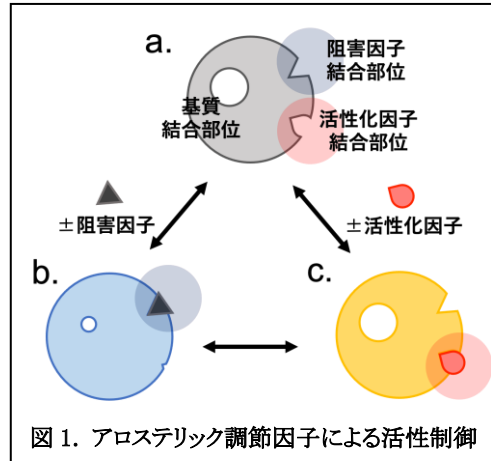


図 1. アロステリック調節因子による活性制御

本研究では、この手法を新たに発展させ、Mbの標的を基質結合部位から、酵素の構造状態を調節する部位へ拡張することを検証する(図1a)。この部位は、アロステリック部位と呼ばれ、基質の結合に直接関与しないが、活性化因子や阻害因子の結合によって酵素の構造変化を促し、酵素活性を制御する機能を有する(図1b,c)。そこで本研究では、酵素のアロステリック部位を標的とし、Mbを構造制御に活用することで酵素活性阻害の緩和に挑戦する。モデル酵素として、特定の代謝産物により活性阻害(アロステリック阻害)される大腸菌由来ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ(EcPEPC)を選択し、アロステリック部位に結合するMbのスクリーニングを実施した。選別されたいくつかのMbをEcPEPCに添加した状態で活性測定を行った結果、阻害因子の影響を緩和するMb(L5)とMb(L14)を同定した。これらのMbの作用機序を解明するため、酵母表面ディスプレイ法およびSPRを用いた結合解析、AlphaFold3による構造予測を行った。その結果、Mb(L5)はEcPEPCに結合した活性化因子の解離を防ぐ可能性が示唆された。一方、Mb(L14)は阻害因子結合部位を覆い、阻害因子の結合を妨げる作用をもつことが示された。興味深いことに、これら異なるエピトープに結合するMbを併用することで、阻害因子の影響を相乗的に緩和できることも確認された。本発表では、これらの結果をもとに、本アプローチの有用性について議論する。

[1] Tanaka, S.-i., et al., *Nat. Chem. Biol.* (2015), 11, 762-764.

## カネカ生分解性ポリマー Green Planet®生産微生物 の開発と事業化

佐藤 俊輔, 有川 尚志

((株)カネカ CO2 Innovation Laboratory)

### はじめに

1950 年代に実用化が始まったプラスチックは、高分子化学の発展に伴い加工性、物性の改善が進み、今では人々の生活に必要な不可欠な素材となった。特に食品の個包装、ストローなどの食品接触用途は衛生管理面でも重要な役割を担っており、賞味期限の延長や感染症の拡大防止による循環型社会の構築に重要な役割を担っている。

一方で、大量生産、大量消費に伴う弊害も顕在化してきた。化石資源の利用による資源の浪費や焼却時の二酸化炭素排出が気候変動の一員となっている。更には、誤って自然界に流出したプラスチックが海洋中に蓄積し、海洋汚染を引き起こしていることが分かりつつある。株式会社カネカは 1990 年代より石油由来のプラスチックの代替として、再生可能資源から生分解性ポリマーを開発することで、持続的なプラスチック産業を創造することを志し、研究開発を進めてきた。基礎研究開始から 30 年以上、生分解性ポリマーの工業生産技術開発、社会実装を進めて来た。2011 年に 1,000 トン/年の生産能力にて生産を開始し、2024 年には 20,000 トン/年に能力増強を実施、徐々に社会実装を実現させている。社会実装に至る研究成果を紹介したい。

### 1. プラスチック代替素材としての位置付け

#### 1-1 Poly(3HB-co-3HHx) : PHBH

我々が Green Planet®の名称で商品化を進めている生分解性ポリマーは微生物が生産するポリエステル、ポリヒドロキシアルカノエート (PHA) に分類され、特に 3-hydroxybutyrate(3HB)と 3-hydroxyhexanoate(3HHx)の2成分から成る共重合ポリエステル (PHBH : 図1) である。

1991 年に当社高砂工業所 (兵庫県高砂市) の敷地内から PHBH を生合成する微生物を世界で初めて発見したことから、本研究が始まった。今も変わらないが、一般的に微生物が生産する PHA は 3HB のみからなるホモポリエステル(PHB)がほとんどであり、第 2 モノマーを有する共重合ポリエステルが天然から発見された例は無かった。高分子の視点から見ると PHB は結晶性が高く、硬い物性であることから、プラスチックとしての使用には不向きな素材である。一方で PHBH は第 2 モノマーである 3HHx が結晶化しない性質を有していることから、PHB と比較して結晶性が低く柔軟な物性であり、プラスチック材料を代替しうる素材であった。

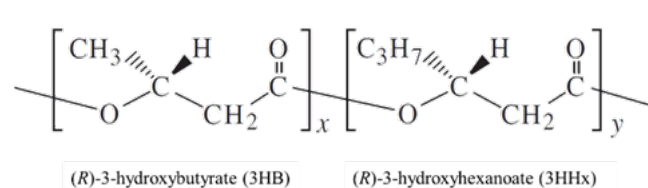


図1 PHBHの化学構造

## 2-1. 海洋生分解性ポリマー

生分解性という言葉が独り歩きした結果、ユーザーが誤解を生じやすい状況を招いており、材料開発を困難にしている。生分解性は置かれた環境に依存し、例えば、土壌、コンポスト、海洋などが代表的な環境として設定されている。さらにコンポストは高温環境である工業コンポスト、常温環境であるホームコンポストに分けられる。

環境によって、温度、微生物濃度が異なるため、生分解性も当然異なる点がユーザーを混乱させる要因の一つである。

PHBH は、上記すべての環境において良好に生分解性を示す材料である。日本においても、生分解性プラ、並びに海洋生分解性プラ認証を取得している。1-1 にて記載したように、PHBH は土壌に生息する微生物が天然に蓄積している天然型ポリマーであり、地球の炭素循環に長年組み込まれている炭素源であるため、微生物が存在しうる環境において良好に生分解する材料である。

## 2. PHBH 生産微生物の分子育種

### 2-1 ポリマー物性

PHB は結晶性が高く引張伸びが 5% 程度と硬く脆い物性のため実用には適さなかった。PHBH は、その共重合比率に応じて結晶化度が大きく変化し、硬質から軟質まで幅広い物性が得られることが示された（表 1）。我々は遺伝子工学によって微生物の代謝を改変することで、共重合比率制御技術を開発した。更にポリマー物性に影響を与える分子量に関しても、代謝工学による制御技術を確認した。

表 1 共重合比率の違いによる PHBH の物性変化

| Polymer       | Melting point (°C) | Tensile strength (MPa) | Elongation to break (%) |
|---------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| PHB           | 177                | 43                     | 5                       |
| PHBH          |                    |                        |                         |
| 5 mol% 3HHx   | 151                | -                      | -                       |
| 10 mol% 3HHx  | 127                | 21                     | 400                     |
| 15 mol% 3HHx  | 115                | 23                     | 760                     |
| 17 mol% 3HHx  | 120                | 20                     | 850                     |
| Polypropylene | 170                | 34                     | 400                     |

The data are cited from Doi et al. (1995).

## 2-2 微生物育種

我々は独自開発技術による代謝工学研究を用い、細胞内の 3HHx モノマー濃度を制御する研究開発を進め、3HHx モノマー供給の鍵酵素が Enoyl-CoA hydratase(PhaJ) や  $\beta$ -ketothiolase(BktB)であることを突き止めた<sup>1)</sup>、<sup>2)</sup>、<sup>3)</sup>。続いて *phaJ* 遺伝子の転写、翻訳の精密制御技術、並びに *bktB* 遺伝子ノックアウトにより細胞内の 3HHx モノマー濃度を精密に制御する技術開発に成功した<sup>4)</sup>。さらに、3HB、3HHx の両モノマーを重合する酵素である PHBH synthase(PhaC)の機能制御によって、モノマー生産とポリマー重合の両面から 3HHx 分率の精密制御技術を完成させた。PhaC の改良では、モノマーの活性中心への結合を酵素の立体構造を基にシミュレーションすることで、3HHx モノマーの活性中心への取込みを効率化するために有効なアミノ酸残基変異導入候補を見出し、効率的に酵素改良研究を進めた。その結果、制御可能な 3HHx 組成幅をこれまでによりも大きく拡張することに成功している<sup>5)</sup>。これら技術の統合により、硬質から軟質まで物性の異なる PHBH を生産する微生物育種の基盤技術開発を成功させた。

分子量に関しては、PHBH 培養生産時間における分子量推移の精密データを取得し、細胞内で PHBH の合成と分解が同時に起こっていることを発見した。その結果を基に生産後期には PHBH 鎖を内部から切断し分子量を低下させる分解酵素 (PhaZ6) を見出した。*phaZ6* 遺伝子のノックアウトによって PHBH 培養生産プロセスにおいて、分子量を高く保つことに成功した<sup>6)</sup>(図 2)。

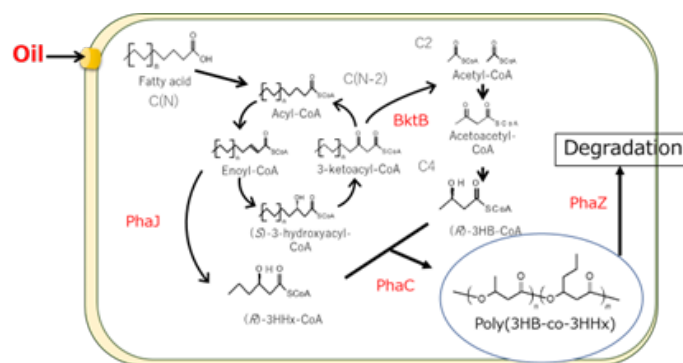


図 2 PHBH 生合成経路

おわりに

PHBH 生産微生物の育種に続き、効率的な培養方法の開発、更にスケールアップ技術開発を進め、安定、且つ高効率な PHBH 培養生産方法の開発に成功した。

しかしながら、PHBH をプラスチック代替素材として社会実装するためには、培養液から PHBH を取り出し、精製パウダーを生産するダウンストリームプロセス、パウダーからアプリケーション（成形体）を生産する成形加工技術の開発が鍵となる。カネカでは、微生物育種、培養技術、ダウンストリーム技術、成形加工技術の全ての研究開発を実施した。現在はカトラリー等の硬質用途から、シート、フィルム等の軟質用途、更には、ストローや発泡

体成形などにも成形加工可能な技術開発に成功した。

バイオものづくりによる環境循環型材料の開発が待ち望まれているが、製造においては、原料からアプリケーション生産まですべてを統合したプロセス設計が必要であり、バイオ技術のみならず、化学プロセスや高分子化学とのハイブリッド技術開発が重要であること心から実感したことは、本研究開発において大きな学びであった。

今後も Green Planet®の事業スケールを拡大し、プラスチック産業を環境循環型産業へと変革する一翼を担っていく所存である。

(引用文献)

- 1) : Sato S, Fujiki T, Matsumoto K., Construction of a stable plasmid vector for industrial production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) by a recombinant *Cupriavidus necator* H16 strain, 116(6): 677-81, J. Biosci. Bioeng., 2013
- 2) : Sato S, Maruyama H, Fujiki T, Matsumoto K., Regulation of 3-hydroxyhexanoate composition in PHBH synthesized by recombinant *Cupriavidus necator* H16 from plant oil by using butyrate as a co-substrate, 120(3), 246-51, J. Biosci. Bioeng., 2015
- 3) : Arikawa H, Matsumoto K., Evaluation of gene expression cassettes and production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) with a fine modulated monomer composition by using it in *Cupriavidus necator*, 15(1), 184, Microb. Cell. Fact., 2016
- 4) : Arikawa H, Sato S., Impact of various  $\beta$ -ketothiolase genes on PHBHHx production in *Cupriavidus necator* H16 derivatives, 106(8), 3021-3032, Appl. Microbiol. Biotechnol., 2022
- 5) : Harada K, Kobayashi S, Oshima K, Yoshida S, Tsuge T, Sato S., Engineering of *Aeromonas caviae* Polyhydroxyalkanoate Synthase Trough Site-Directed Mutagenesis for Enhanced Polymerization of the 3-Hydroxyhexanoate Unit, 3;9:627082, Front. Bioeng. Biotechnol., 2021
- 6) : Arikawa H, Sato S, Matsumoto K., A study on the relation between poly(3-hydroxybutyrate) depolymerases or oligomer hydrolases and molecular weight of polyhydroxyalkanoates accumulating in *Cupriavidus necator* H16, 10:227, 94-201, J Biotechnol., 2016

謝 辞

本文にも述べさせて頂きましたように、Green Planet®の社会実装は微生物開発だけでは成し遂げられませんでした。ダウンプロセスや成形加工技術、また市場開発においても、多くの困難を乗り越え、現在に至ります。社会実装の実現に共に立ち向かった全てのカネカ関係者に深く感謝いたします。更に本技術は多くのアカデミアの先生方、卒業研究にてご研究された学生の皆様の基礎研究を発展させたものです。PHBH 生産微生物の開発に関わって頂きました全研究者の方々に深く感謝いたします。

## 多様な微生物代謝の発見と解析 ならびにその統合的応用に関する基盤研究

小川 順

(京都大学大学院農学研究科・応用生命科学専攻)

### はじめに

微生物機能は、食品、医薬品、化学工業などの様々な産業に利用されており、今後も、多様な産業への微生物機能の導入を可能とするツールの拡充が求められている。筆者らは、複合的な酵素機能を顕在化させる補酵素再生系やエネルギー供給系を考慮した探索手法、腸管や根圏などの生物間相互作用の場で発揮される機能を濃縮する環境制御手法の構築を通して、様々な新規微生物代謝、複合微生物系の探索、解析、応用に取り組んできた。本講演では、その事例を紹介したい。

### 1. 微生物の物質変換能を活用する有用物質生産

#### 1-1. 核酸関連化合物代謝の解析と応用

ピリミジン塩基の還元的代謝酵素群などを、構造が類似する5-置換ヒダントインの立体選択的変換に応用し、D-、L-体アミノ酸の立体選択的合成プロセスを開発した(図1)。D-アミノ酸生産法は、抗生物質側鎖の工業生産に活用されている。これ以外にも、以下のヌクレオシド代謝解析と応用に取り組んだ。

- ・ピリミジン塩基の酸化的分解代謝の解明とプリンヌクレオシド合成反応制御への応用
- ・プリン塩基代謝酵素のGABAアナログ合成や高尿酸血症予防法への応用
- ・2'-置換ヌクレオシド代謝酵素の発見と核酸医薬ヌクレオシドアナログ合成への応用

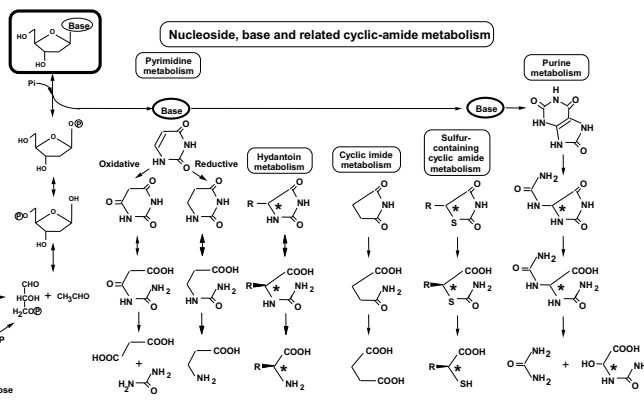


図1. 研究対象とした核酸関連化合物代謝

加えて、デオキシリボヌクレオチド(dNS)代謝系の逆反応を、未確立であったグルコースからのdNS生産に応用した。dNS生産研究は、生命分子のRNA起源説と絡んだ基礎的にも興味深い展開を見せている。

#### 1-2. 水酸化が関与する新規アミノ酸代謝の解析と応用

遊離脂肪族アミノ酸の水酸化反応を微生物に見だし、本反応への二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナ

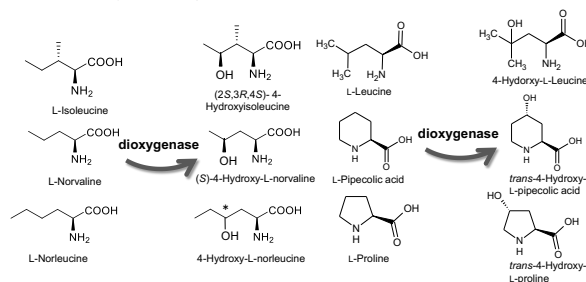


図2. 微生物に見いだしたアミノ酸水酸化反応

ーゼの関与を示すとともに、多様な類縁酵素を見いだした(図2)。これらを用いて合成したキラル合成基質ライブラリーを製品化している。

地球外アミノ酸としても知られる $\alpha,\alpha$ -2置換  $\alpha$ -アミノ酸(2-アミノイソ酪酸)の酸化的代謝を初めて見いだした。その初発酵素として新規な非ヘム二核鉄依存モノオキシゲナーゼを同定し、医薬品中間体D-メチルセリンの立体選択的合成に応用した。

### 1-3. 油脂発酵・脂肪酸変換の新展開

【EPA発酵】アラキドン酸生産菌 *Mortierella alpina* 1S-4のEPA生産株への分子育種に取り組んだ。新たに見いだした常温にて機能する *Plectospora myriandra* 由来  $\Delta$  17DS 遺伝子ならびに *Coprinus cinereus* 由来  $\Delta$  12DS 遺伝子を共に高発現プロモーター *PP3p* にて制御し、 $\Delta$  12DS 欠損変異株 *M. alpina* JT180株に発現させた。本株は26℃、10日の培養にて、EPA高含有油脂を著量生産した(図3)。

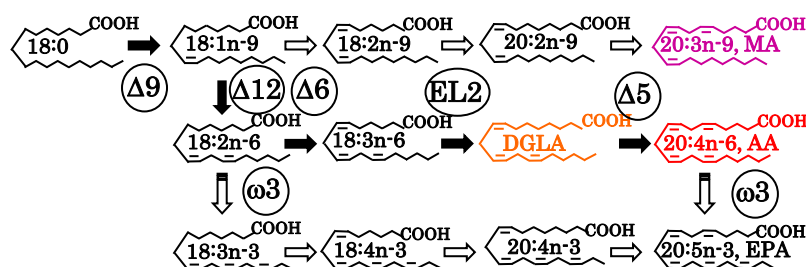


図3. アラキドン酸生産菌 *Mortierella alpina* 1S-4におけるEPA生合成経路

【 $\omega$  3-DPA発酵】多様な生理機能が期待される  $\omega$  3-DPAを蓄積する *Aurantiochytrium* sp. T7株を見だし、グルコースの枯渇が  $\omega$  3-DPAの蓄積を誘導することを示した。

【魚油代替発酵DHA】養殖飼料中の魚油由来DHAを資源循環の観点から代替すべく、植物資源を用いる発酵生産系の開発に取り組んだ。 *Aurantiochytrium* sp. 6-2株が米麴にて発酵処理した発酵脱脂大豆を利用し効率的にDHA高含有油脂を発酵生産していることを見いだした。本発酵DHAは飼料中の魚油DHAの50% を代替できた。

【プロスタグランジン発酵】オゴノリ由来新規シクロオキシゲナーゼをアラキドン酸生産菌 *M. alpina* 1S-4株に発現させた。本菌は菌体外に6 mg/LのPGF2  $\alpha$  を蓄積した。

【抗炎症性EPA代謝物生産】抗炎症性EPA代謝物17,18-エポキシエイコサテトラエン酸(17,18-EpETE)の生成量には個人差があり、食事からの摂取が期待されている。納豆菌に生成活性を見だし、魚油と納豆を用いた抗炎症食品の開発に応用した。

### 1-4. 様々な微生物酸化酵素の探索、解析と応用

P450、ペルオキシダーゼ、ラッカーゼを対象に新たな機能の開拓に取り組んだ。ラッカーゼについて、中性pHで機能する新規ラッカーゼを見いだし、酵素バイオ電池の開発に活用いただいた。また、ラッカーゼのラジカル生成能に起因する殺菌機能の開発研究が、後述する有機水耕栽培に関する共同研究の契機となった。

## 2. 食と微生物の相互作用の理解に基づく健康増進

### 2-1. 腸内細菌の脂肪酸代謝解析と代謝物の生理機能解析ならびにその応用

腸内細菌叢における食事由来脂肪酸代謝の解析に取り組み、生理機能発現代謝物を同定するとともに、腸内細菌による食事成分代謝物(ポストバイオティクス)を健康増進ツールとして開発した。遊離脂肪酸の腸内細菌による飽和化代謝を酵素レベルで解明し(図4)、水和反応を起点に生じる代謝物群(水酸化・オキソ・エノン脂肪酸)が、宿主移行していることを見いだした。代謝物を酵素合成し、多くの先生方との共同研究にて生理機能を評価した結果、代謝変換により $\omega$ 3脂肪酸の健康機能が強化されること、 $\omega$ 6脂肪酸代謝物が $\omega$ 3脂肪酸様の健康機能を示すことを見いだした。例えば、リノール酸の水和代謝物(HYA; 10-ヒドロキシ-*cis*-12-オクタデセン酸)が血糖値上昇抑制、耐糖能改善、抗肥満、腸管上皮バリア保護、抗炎症等の機能を有するとともに、生活習慣病予防につながる腸内細菌叢を誘導することを見いだした。

このほかにも、水酸化・オキソ脂肪酸にPPAR、LXR、TRPV1を介した脂質代謝・エネルギー代謝制御機能を、エノン脂肪酸に抗酸化作用を、共役脂肪酸に抗炎症活性を見だしている。

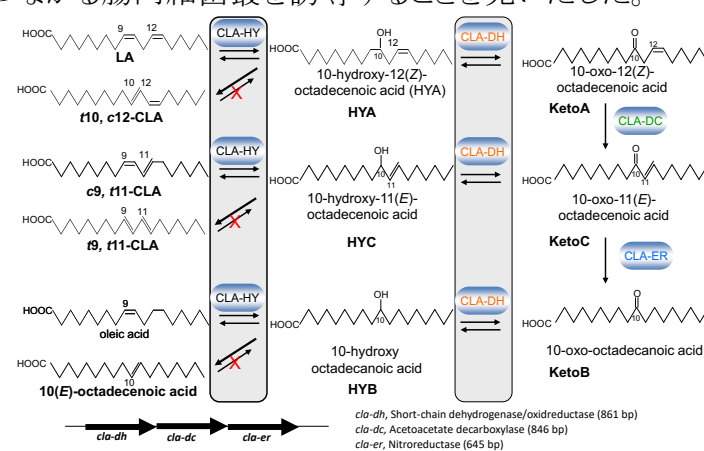


図4. 遊離脂肪酸の腸内細菌による飽和化代謝

HYAについては、ヒトに対する効果、安全性の検証、乳酸菌代謝を利用した植物油脂からの効率生産技術の開発により、機能性表示食品として市販された。

## 2-2. 腸内細菌における植物機能性分子代謝の解析と応用

腸内細菌による食事成分代謝を植物機能性分子を中心に展開した。

アブラナ科植物に含まれるS-グリコシド結合型配糖体グルコシノレートは、腸内細菌によりイソチオシアネートに変換され、抗がん、抗酸化、抗炎症などの生理機能を示す。比較プロテオーム解析を適用し、PTS糖輸送体、アリル-ホスホ- $\beta$ -D-グルコシダーゼが関与する新規なグルコシノレート分解酵素系を見いだした(図5)。

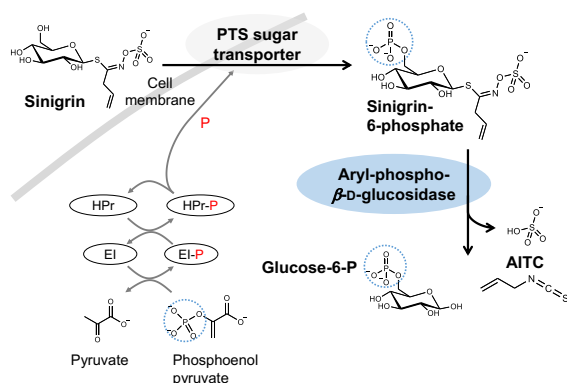


図5. 腸内細菌に見いだしたグルコシノレート代謝

ザクロに含まれるエラグ酸は腸内細菌により抗酸化・抗炎症、オートファジー制御などの生理活性を示すウロリチン類に変換される。比較プロテオーム解析を適用した結果、初発酵素エラグ酸ラクターゼ、ならびに、ウロリチン構造上の多様な水酸基に位置選択的に作用する脱水酸化酵素群を特定した。これらの酵素系の理解は代謝物の

酵素合成を介し製品化を支援した。一連の酵素遺伝子情報は腸内細菌メタゲノム解析を介して食品機能享受の個人差を理解する精密栄養学を支援する。

### 3. 複合微生物系の物質循環機能を活用する環境制御技術

根圏や水圏環境において物質循環を担っている難分離・培養微生物の機能解析を、モデル系の確立により実現し、関与する微生物を同定・解析・応用した。この研究の端緒となったのは、ラッカーゼの殺菌機能を水耕栽培系に応用する試みであったが、研究は、水耕栽培系の複合微生物系を有効活用する有機水耕栽培技術の共同研究に展開した。具体的には、複合微生物系である植物根圏において窒素代謝を担う難培養硝化菌を水系で濃縮・優先化させる環境制御技術を構築した。このことが、機能解析の実現、硝化を担う微生物の単離同定を可能とし、選抜微生物による硝化複合微生物系のモデル構築を可能とした(図6)。

この複合微生物系を活用する新規な水耕栽培技術は、プロバイオポニックスとして新たにJAS規格を取得し作物生産の現場に導入されるとともに、人工土壌創出技術、環境電子伝達を考慮した脱窒と組み合わせた水質保全技術として、実用化に向け展開されている。

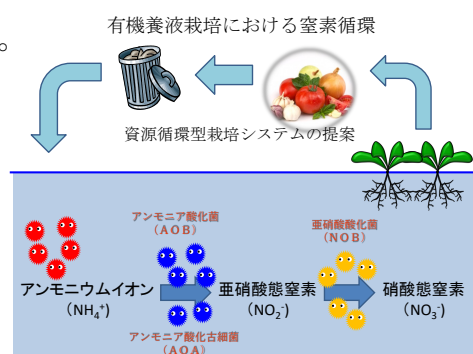


図6. 硝化複合微生物系の水系での構

### おわりに

以上の成果は、バイオプロセス構築を介したCO<sub>2</sub>削減、新規健康増進手法と機能性食品素材・医薬品シーズの提供、複合微生物系機能の活用による持続的循環型社会の構築を支援するものと期待している。研究開発を支援したオミクス技術・ハイスループット技術の登場は微生物機能研究に革新をもたらしたが、現時点では理解が不十分な情報があまた存在し、そこに未知機能が潜んでいることも浮き彫りにした。ここで述べた、機能レベルでの代謝解析が、複合的な物質変換システム、生物間相互作用システムなどの複雑系を理解する端緒となり、農芸化学が先導的に開拓しうる新産業を創生することを期待し、これからも「微生物機能の探・観・拓」に尽力したい。

**謝 辞** 本研究は、京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻発酵生理及び醸造学分野、ならびに、産業微生物学講座を中心に展開された。微生物機能研究における精神性をご教授いただいた山田秀明先生、清水昌先生、産業応用の実際を説いてくださった横関健三先生、高橋里美先生、上田誠先生に深く感謝いたします。また、直接研究を共にした現教員の岸野重信氏、安藤晃規氏、原良太郎氏、旧教員の片岡道彦氏、櫻谷英治氏、日比慎氏、竹内道樹氏をはじめとする研究室スタッフ、学生、企業共同研究者の皆さまに御礼申し上げます。また応用を導いた異分野との融合や現場での取り組みをご指導・協働いただいた多くの方々に感謝申し上げます。

## ほんまもんを目指して

### ～Bio Life Science における HORIBA の挑戦～

株式会社 堀場製作所

グループ戦略本部

Bio and Healthcare Taskforce

松山 奈穂子

関西には「ほんまもん」という表現がある。「ほんまもん」は「ほんもの」と何が違うのか。HORIBA では「ほんまもん」を「心をこめてより良いものを追い求めつづけた先に生まれる、唯一無二の価値」と定義している。個々の好奇心、情熱、こだわりから生まれる、追従を許さない、人の心を揺さぶるものやことを指す。HORIBA のミッションは「ほんまもん」と多様性を礎にソリューションで未来をつくる」ことであり、あらゆる生命が秘めている可能性を解き放つよりよい未来の実現を目指している。

その未来の実現には Bio Life Science 分野は欠かせない。HORIBA では 2024 年から Life Science を一つの事業体として発足させ、この分野におけるソリューションの開発・展開を進めている。バイオ医薬品やバイオテクノロジーなど、HORIBA にとって新たな市場においてどのように事業を進めるのか。そこでキーとなるのが、1) おもしろおかしく情熱を持って推進しているメンバー、2) 表彰されたこともある唯一無二の分析コア技術、3) パートナーとしてお客様に寄り添い、お客様が実現したいことを形にするエンジニアリング力である。本講演では Bio Life Science 分野において国内でも近日リリースする予定の 3 つのソリューションにおける具体例を説明する。

これらのソリューションはほんまもんとお客様に評価いただくには長い道のりとなるが、Bio Life Science 分野に携わる方々と共に常により良いものを追求していくことで日本の Bio Life Science 分野の成長およびより良い未来に貢献していきたい。

---

# 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                  |
| 江崎グリコ株式会社         | 株式会社日本医化器械製作所           |
| 株式会社カネカ           | Noster 株式会社             |
| 菊正宗酒造株式会社         | ハウスウェルネスフーズ株式会社         |
| 黄桜株式会社            | ヒガシマル醤油株式会社             |
| 月桂冠株式会社           | 不二製油株式会社                |
| 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社   | 松谷化学工業株式会社              |
| サントリーホールディングス株式会社 | 三井化学クロップ&ライフソリューション株式会社 |
| 住友化学株式会社          | 株式会社三ツワフロンテック           |
| 宝酒造株式会社           | 大和酵素株式会社                |
| 株式会社第一化成          | 理研化学工業株式会社              |
| 築野食品工業株式会社        | 株式会社ロッテ                 |
| 東洋紡株式会社           | 和研薬株式会社                 |
| ナカライテスク株式会社       |                         |

(50 音順 敬称略)

## ○次回支部例会(第 536 回講演会)予定

開催日:2025 年 7 月 11 日(金)

同日開催:ミニシンポジウム「酵素改変が拓く未来の産業革新」

開催校:大阪公立大学

講演申込締切:2025 年 6 月 20 日(金)

講演要旨締切:2025 年 6 月 27 日(金)

(問い合わせ先)

幹事校庶務幹事 中澤 昌美(大阪公立大学大学院 農学研究科)

Tel&Fax : 072-254-9468

E-mail : mami@omu.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: 谷 史人

Tel: 075-753-6286, Fax: 075-753-6285

E-mail: tani.fumito.6w@kyoto-u.ac.jp



庶務幹事: 小倉 康平

Tel: 0774-38-3768, Fax: 0774-38-3756

E-mail: ogura.kohei.7x@kyoto-u.ac.jp

会計幹事: 高橋 春弥

Tel:0774-38-3759, FAX:0774-38-3752

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 2025 年 5 月 21日 (水)

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