

目次

■ 動物細胞工学研究室	1
■ 遺伝子発現制御学研究室	5
■ 生物機能化学研究室	11
■ 植物細胞工学研究室	15
■ 環境工学研究室	21
■ 環境有機化学研究室	27
■ 応用微生物学研究室	31
■ 食品分析学研究室	37
■ 栄養生化学研究室	41
■ 食品・発酵工学研究室	47
■ 食品安全学研究室	55
■ 応用糖質化学研究室	61
■ 化学研究室	67

動物細胞工学
研究室

遺伝子発現制御学
研究室

生物機能化学
研究室

植物細胞工学
研究室

環境工学
研究室

環境有機化学
研究室

応用微生物学
研究室

食品分析学
研究室

栄養生化学
研究室

食品・発酵工学
研究室

食品安全学
研究室

応用糖質化学
研究室

化学研究室

動物細胞工学研究室

Laboratory of Animal Cell Engineering

■ 教授 市川 進一 Prof. Shinichi ICHIKAWA, Ph.D.

■ 助教 伊藤 美千代 Assist. Prof. Michiyo ITO, Ph.D.



- 1) スフィンゴ脂質生理機能の解明
- 2) 細胞死抑制遺伝子の解析
- 3) 脂肪肝予防法の開発



・グルコシルセラミド ・がん ・酸化ストレス ・細胞死 ・脂肪肝

研究概要

1) スフィンゴ糖脂質生理機能の解明

スフィンゴ脂質は、膜上に存在する脂質の1つで、様々な生理作用があると考えられているが、その詳細は明らかではない。本研究ではスフィンゴ脂質代謝酵素であるグルコシルセラミド合成酵素とスフィンゴミエリン合成酵素に焦点を合わせてその生理機能を解析する。

2) 細胞死抑制遺伝子の解析

活性酸素種は、酸化ストレスシグナル伝達経路を通して細胞死を引き起こすことにより様々な疾患の原因になっている。本研究では、既に本研究室で同定している、活性酸素による細胞死を抑制する遺伝子の機能解析を行う。最終的には活性酸素種が引き起こす様々な疾患の予防と治療法の開発を目指す。

3) 脂肪肝予防法の開発

脂肪肝は、過食などにより肝臓に中性脂質が蓄積する生活習慣病である。脂肪肝は悪化すると、肝炎を経て肝硬変へと移行し、最終的にがんを発症することがある。本研究では、脂肪肝抑制作用のある食品、植物、生薬、および化合物の探索を

培養細胞脂肪肝モデルで行い、さらに動物実験モデルで検証する。最終的には脂肪肝を治療または予防する方法の開発を目指す。

2012年度の研究成果

1) 低分子量Bcl-2阻害剤HA14-1はグルコシルセラミド合成酵素を阻害する

新野 聡美, 中村 豊, 平林 義雄, 長野一伊藤美千代, 市川 進一

グルコシルセラミド合成酵素(EC.2.4.1.80)は、スフィンゴ糖脂質合成の第一段階の反応を触媒する酵素である。この酵素の過剰発現は、がん細胞の多剤耐性の原因の一つになっている。

我々は、グルコシルセラミド合成酵素阻害剤の探索の過程で、広くアポトーシスの研究に使われており、Bcl-2阻害剤の一つであるHA14-1が、この酵素を阻害することを見出した。この化合物は、今までに知られているグルコシルセラミド合成酵素阻害剤とは構造上の類似性がなかった。また、この化合物のグルコシルセラミド合成酵素に対するIC₅₀値は4.5 μMで、報告されているBcl-2に対する値よりも低かった。この化合物は二つの異なる細胞死シグナル伝達経路に作用するので、がん

治療のためのユニークなリード化合物になると考えられる。

2) 酸化ストレス抵抗性遺伝子を発現するトランスジェニックマウスの性質について

小池 茜, 市川 進一, 長野-伊藤美千代

我々はこれまでに発現クローニング法を用いて、酸化ストレスにより誘導される細胞死を抑制する遺伝子を同定してきた。本研究では、これらの酸化ストレス抵抗性遺伝子の中で、今までに酸化ストレスとの関係が報告されていない1種類の遺伝子(これ以降遺伝子Aと表記する。)について、この遺伝子を高発現するトランスジェニックマウスを作製し、その性質を解析した。

ユビキタスに発現するプロモーターを持つpBROAD2-mcsベクターにヒト遺伝子A cDNAを挿入し、C57BL/6N マウスに導入してトランスジェニックマウスを作製した。

Southern blot 解析の結果、このトランスジェニックマウスには複数コピーの遺伝子が導入されていることが明らかになった。RT-PCRで遺伝子の発現を調べたところ、ほとんどの組織で遺伝子Aの発現が認められた。このトランスジェニックマウスは見かけ上正常だったが、白内障を発症する傾向を示した。

3) 脂肪肝を予防する植物抽出液と化合物

高橋 智裕, 瀧口 裕也, 瀧澤 健人, 菅原 航
長野-伊藤美千代, 市川 進一

脂肪肝は肝細胞に脂肪滴が蓄積した状態である。脂肪肝は炎症の原因になり最終的にはがんを引き起こすことがある。我々は、肝細胞の脂肪滴形成を抑制する作用を持つ植物抽出液と化合物の探索を行った。実験では、マウス肝臓がん細胞株を高濃度のオレイン酸と、試験を行う植物抽出液または化合物を添加した培地で1晩培養した。翌日、細胞を固定し、形成された脂肪滴をOil RedOで染色して可視化した。試験したサンプルのうち、

4種類の植物抽出液と3種類の化合物で脂肪滴形成に対する抑制効果が認められた。強い脂肪滴抑制効果を示した植物抽出液1種類については、更にマウスの脂肪肝モデルを用いて評価を行った。その結果、この植物抽出液を投与したマウスでは脂肪肝に対する予防効果が見られた。

Research projects and annual reports

1) A small molecule inhibitor of Bcl-2, HA14-1, also inhibits ceramide glucosyltransferase

Satomi Niino, Yutaka Nakamura, Yoshio Hirabayashi, Michiyo Nagano-Ito, Shinichi Ichikawa

Ceramide glucosyltransferase (EC.2.4.1.80) catalyzes the first glycosylation step of glycosphingolipid (GSL) synthesis. Over-expression of ceramide glucosyltransferase is one of the causes of multi-drug resistance of various cancer cells. In the course of searching ceramide glucosyltransferase inhibitor, we found that a Bcl-2 inhibitor, HA14-1, widely used for studies of apoptosis had ability to inhibit this enzyme. This compound had no structural similarity with previously known ceramide glucosyltransferase inhibitor. IC_{50} value of the compound against ceramide glucosyltransferase is $4.5 \mu M$ which is lower than reported that of Bcl-2. This compound could be a unique lead compound for cancer treatment, since the compound induces cell death to multi-drug resistant cancer cells by affecting two different apoptotic signal pathways.

2) Characterization of transgenic mice expressing a gene against oxidative stress

Akane Koike, Shinichi Ichikawa, Michiyo Nagano-Ito

We have used expression cloning to identify genes that inhibit cell death induced by oxidative stress. One of the genes (hereafter designated as gene A) identified has not been reported as an antioxidative stress-associated gene previously. In the present study, we report creation and

characterization of transgenic mice expressing gene A.

The cDNA of gene A was inserted into pBROAD2-mcs vector containing a promoter to drive ubiquitous transgene expression. The construct was introduced into C57BL/6N mice and transgenic mice were created.

Southern blot analysis revealed that a transgenic mouse carried multiple copies of gene A. The expression of gene A in the transgenic mouse was confirmed in all tissues analyzed by RT-PCR. The gene A transgenic mice look apparently normal, however, the mice have a tendency to develop cataracts.

3) Plant extracts and chemicals that prevent fatty liver

Tomohiro Takahashi, Yuya Takiguchi, Kento Takizawa Wataru Sugawara, Michiyo Nagano-Ito and Shinichi Ichikawa

Fatty liver is a condition where lipid droplets accumulate in liver cells. Fatty liver induces inflammation and may finally cause cancer.

We screened plant extracts and chemicals for inhibitory effect on the lipid droplet formation in cultured liver cells. A mouse hepatoma cells were cultured overnight in the medium with high concentration of oleate, and plant extracts or chemicals to be tested. The next day, the cells were fixed and lipid droplets formed were visualized by Oil Red O staining. Among the samples, 4 plant extracts and 3 chemicals showed inhibitory effect on the lipid droplet formation. One of the extracts which showed strong inhibitory effect was further assessed by mouse model of fatty liver. In the mouse experiment, intake of the plant extract effectively protected mice from fatty liver.

発表論文

Michiyo Nagano-Ito and Shinichi Ichikawa.

“Biological effects of mammalian Translationally Controlled Tumor Protein (TCTP) on cell death, proliferation, and tumorigenesis”, *Biochemistry Research International* (2012) Article ID 204960, doi:10.

1155/2012/204960.

著書および総説

「安全と健康が確保された高年齢者就労を可能とする社会づくり推進研究」, 2013年, 新潟市発行, 共著, (担当部分) 佐藤 眞治, 伊藤美千代「オーストラリアとニュージーランドにおける高年齢就労の実態および支援策」, p. 58-72

招待講演, シンポジウム等

Tomohiro Takahashi, Yuya Takiguchi, Kento Takizawa Wataru Sugawara, Michiyo Nagano-Ito and Shinichi Ichikawa, Herbal extracts against fatty liver, 第6回食と健康に関する新潟国際シンポジウム, 新潟, 2012年10月16日

学会発表

国内学会

1. 小池 茜, 市川 進一, 長野-伊藤美千代「酸化ストレス抵抗性遺伝子を発現するトランスジェニックマウスの性質」第35回 日本分子生物学会年会, 福岡, 2012年12月11日~14日
2. 高橋 智裕, 瀧口 裕也, 瀧澤 健人, 菅原航, 長野-伊藤美千代, 市川 進一「脂肪肝を予防する植物抽出液と化合物」第35回 日本分子生物学会年会, 福岡, 2012年12月11日~14日
3. 新野 聡美, 中村 豊, 平林 義雄, 長野-伊藤美千代, 市川 進一「グルコシルセラミド合成酵素を阻害する低分子量Bcl-2阻害剤」第35回 日本分子生物学会年会, 福岡, 2012年12月11日~14日

その他特記事項

1) 外部資金

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)

「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と、その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成(研究分担者) 研究課題「脂質代謝異常による疾患の予防法の研究」市川 進一, 伊藤 美千代 (研究代表者: 小西 徹也)

受託/共同研究(民間)

市川 進一: 1件

2) 学外活動

学会活動

市川 進一: 日本生化学会, 日本分子生物学会

伊藤美千代: 日本薬学会, 日本生化学会, 日本分子生物学会

学外活動(公的機関)

伊藤美千代: 秋葉区自治協議会委員

学外活動(その他)

1. 市川 進一: 新発田高等学校, 理数科クラス
出前講義 7月27日
2. 市川 進一: 新発田高等学校, 理数科クラス,
高大連携実験 8月20日

遺伝子発現制御学研究室 Laboratory for Gene Regulation Study

■ 教授 梨本 正之 Prof. Masayuki NASHIMOTO, Ph.D.

■ 助教 川野 光興 Assist. Prof. Mitsuoki KAWANO, Ph.D.



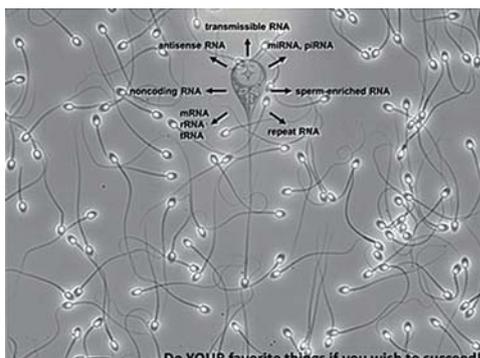
- ・多発性骨髄腫治療用sgRNA薬の開発
- ・脳、生殖細胞および大腸菌における機能性小分子RNAの解析



- ・ TRUE gene silencing
- ・ Multiple myeloma
- ・ 小分子機能性RNA
- ・ 次世代シーケンシング解析
- ・ RNA編集

研究概要

1. 多発性骨髄腫治療用sgRNA薬の開発 (梨本)
遺伝子発現抑制法TRUE gene silencingを基盤とした、多発性骨髄腫治療用のsmall guide RNA (sgRNA) 薬の開発を行う。
2. 大腸菌の非コードRNAの機能解析 (川野)
大腸菌のリボソームタンパク質オペロン部位から転写されている非コードRNAの機能解析を行う。また、大腸菌のtoxin-antitoxinシステムにおける遺伝子発現制御機構の解析を行う。
3. 精子特異的機能性小分子RNAの解析 (川野)
精子に特異的に存在している小分子RNAの生理機能を解明する。その小分子RNAが受精の際に精子を介して卵に伝達されているか調べる。



4. マイクロRNA前駆体中に生じるRNA編集部位の解析 (川野)

次世代シーケンシング解析により、ヒト脳サンプル由来のマイクロRNA(前駆体)中に生じるA-to-I RNA編集部位を同定する。そのRNA編集により、マイクロRNA生合成が制御されているかを解析する。

2012年度の研究成果

1. 多発性骨髄腫治療用sgRNA薬の開発 (梨本)
骨髄腫治療用有望heptamer型sgRNA (H15540) によるapoptosis誘導機構の解析を行った。sgRNA H15540のRPMI-8226細胞に対する効率の良いapoptosis誘導能が、実際に、tRNase ZLによる標的mRNAの切断によるものであることを検証するために、3'-RACE実験を行い、細胞内標的mRNAの切断部位をRT-PCRとDNA sequencingにて決定した。その結果、3'末端配列がtRNase ZLによる切断予想部位の少し上流に対応することが示され、標的mRNAの切断がtRNase ZLによるものであることが示唆された。

2. 大腸菌の非コードRNAの機能解析 (川野)

大腸菌のリボソームタンパク質オペロン内の

*rpsS-rplB*遺伝子部位からアンチセンス鎖として転写されている, 約580塩基の非コードRNAのプロモーター解析および構造解析を大腸菌遺伝学および分子生物学的手法を用いて行った。

3. 精子特異的機能性小分子RNAの解析 (川野)

次世代シーケンシング技術を用い, 精子からmiRNAやpiRNAなど様々な機能性RNAを同定した。生殖細胞特異的に存在する, 約20塩基からなる相同性の高い新規小分子RNAを2つ発見し, それらの特性を解明し, 論文として発表した。

4. マイクロRNA前駆体中に生じるRNA編集部位の解析 (川野)

次世代シーケンサーを用いて, miRNAの前駆体であるpre-miRNAを効率よく塩基配列決定するための技術開発を行った。(1)ヒト脳細胞(胎児, 成人を各一人ずつ)の全RNAサンプルを企業から購入し, それらを用いて約50~90塩基の長さからなるRNAの次世代シーケンス解析を行った。その結果を基に, 出現頻度ランクtop100リストを作成した。このリストと塩基配列データを用いて, 出現頻度の高いrRNAやsnoRNAに特異的に結合するDNA/LNAオリゴを, プライマー設計ソフトなどを活用して設計した。(2)新規に設計・合成したDNA/LNAオリゴ(88種類)を用いて, 各ヒト脳細胞の全RNAサンプル由来のcDNAライブラリーを, 我々が開発したプロトコール(Kawano et al. 2010)を用いて作製した。オリゴの濃度や塩基組成を検討することで, pre-miRNA由来cDNAの産生量には影響を与えず, 標的RNAに対してのみ機能するオリゴの最適条件を調べた。また, 高次構造をとるpre-miRNAを効率よく逆転写反応できる条件検討を行った。(3)cDNAライブラリーの塩基配列の決定 イルミナ社のHiSeq 2000次世代シーケンサーを用いて塩基配列の網羅的解析を行った。(4)生命情報科学的手法を用いて, 一連の次世代シーケンスデータ解析をスタンフォード大学およびペンシルバニア大学の研究協力者と共同で行った。

Research projects and annual reports

1. Development of therapeutic sgRNA for multiple myeloma

We analyzed the mechanism to induce apoptosis by a candidate therapeutic heptamer-type sgRNA, H15540, for multiple myeloma. In order to examine if the ability of the sgRNA15540 to efficiently induce apoptosis in RPMI-8226 cells is due to cleavage of the target mRNA by tRNase ZL, we performed a 3'-RACE experiment and determined a cleavage site of the cellular target mRNA. The 3' terminal sequence corresponded to a sequence slightly upstream to the expected cleavage site, suggesting that the cleavage of the target mRNA is by tRNase ZL.

2. Functional analysis of noncoding RNAs in *E. coli*

Noncoding RNAs which were transcribed from an antisense strand of ribosomal protein operons in *E. coli* were analyzed by molecular microbiology approaches. The regulatory region of one of the antisense RNA gene (*rpsS-rplB*) was investigated by using various transcriptional fusion plasmids/lysogens and beta-galactosidase assay at variety conditions. The 5' and 3' ends were determined by RACE and sequencing. Those results show its promoter sequences and indicate that the antisense RNA gene is induced with RpoS at early stationary phase.

3. Analysis of sperm-enriched small RNAs

We used high-throughput, large-scale sequencing technology to analyze sperm RNA. The RNA sequences generated were diverse in terms of length and included mRNAs, rRNAs, piRNAs, and miRNAs. We studied two small noncoding RNAs enriched in mature sperm, designated sperm RNAs (spR)-12 and -13. They are both encoded in a piRNA locus on chromosome 17, but neither their length (20-21 nt), nor their sequences correspond to known piRNAs or miRNAs. They are resistant to periodate-oxidation-mediated

reaction, implying that they undergo terminal post-transcriptional modification. Both were detected in sperm and ovulated unfertilized oocytes, present in one-cell embryos and maintained in preimplantation stages, but not at later differentiation stages. These findings offer a new perspective regarding a possibly important role for gamete-specific small RNAs in early embryogenesis.

4. Identification of RNA editing sites in (pre-) miRNA in human brain

pre-miRNA deep sequencing has not yet been done at high density and sensitivity by anyone because abundant rRNA and snoRNA, which are similar size to pre-miRNA (~70 nt), can be mainly sequenced when the corresponding small RNA library (cDNA) bands are gel-purified. We were able to obtain much more sequencing reads corresponding to pre-miRNAs when bands of cDNA products which are derived from such a major RNAs disappeared on a PAGE gel using 88 different DNA/LNA oligos in RT reaction. A-to-I RNA editing sites on human brain pre-miRNAs were identified by deep sequencing analysis with HiSeq 2000 sequencer. This technique can be applied for reducing abundant undesired cDNA products to study lowly expressed transcripts by deep sequencing.

発表論文

1. Norihiro Watanabe, Miwako Narita, Akie Yamahira, Tomoyo Taniguchi, Tatsuo Furukawa, Tetsuo Yoshida, Tatsuya Miyazawa, Masayuki Nashimoto, and Masuhiro Takahashi. (2013) Induction of apoptosis of leukemic cells by TRUE gene silencing using small guide RNAs targeting the WT1 mRNA. *Leukemia Research* 37, 580–585.
2. Masayuki Takahashi, Reyad A. Elbarbary, Aiko Nakashima, Mayumi Abe, Norihiro Watanabe, Miwako Narita, Masuhiro Takahashi, Masato Tamura, Tetsuo

Yoshida, and Masayuki Nashimoto. (2013) A naked RNA heptamer targeting the human Bcl-2 mRNA induces apoptosis of HL60 leukemia cells. *Cancer Letters* 328, 362–368.

3. Masayuki Takahashi, Reyad A. Elbarbary, Mayumi Abe, Mari Sato, Tetsuo Yoshida, Yoji Yamada, Masato Tamura, and Masayuki Nashimoto. (2012) Elimination of specific miRNAs by naked 14-nt sgRNAs. *PLoS ONE* 7, e38496.
4. Kawano M. Divergently overlapping cis-encoded antisense RNA regulating toxin-antitoxin systems from *E. coli*: hok/sok, ldr/rdl, symE/symR. *RNA Biol.* 2012;9(12):1520-7.
5. Kawano M, Kawaji H, Grandjean V, Kiani J, Rassoulzadegan M. Novel Small noncoding RNAs in Mouse Spermatozoa, Zygotes and Early Embryos. *PLoS One.* 2012;7(9):e44542.
日経産業新聞に紹介記事が掲載された。
6. Burroughs AM*, Kawano M*, Ando Y, Daub CO, Hayashizaki Y. pre-miRNA profiles obtained through application of locked nucleic acids and deep sequencing reveals complex 5'/3'arm variation including concomitant cleavage and polyuridylation patterns. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(4):1424-37.
*共筆頭著者
Featured Articleに選ばれ、その号の表紙を飾った。

著書および総説

Ando Y, Burroughs A, Kawano M, M., de Hoon, M. J., and Hayashizaki, Y. Targeted Methods to Improve Small RNA Profiles Generated by Deep Sequencing. *Regulatory RNAs: Basics and Applications.* 2012; 253-72.

学会発表

国際学会

Kawano, M., and Burroughs, M. Pre-miRNA deep sequencing: Cell Symposia: Functional RNAs, December 2-4, 2012, Sitges, Spain.

国内学会

1. Masato Tamura, Masayuki Nashimoto 「Involvement of an intracellular vesicular transport process in naked-sgRNA-mediated TRUE gene silencing」
2012年12月, 第85回日本生化学会大会, 福岡
2. 川野 光興, Burroughs Maxwell 「DNA/LNA オリゴを用いたpre-miRNAのdeep sequencing手法と解析」第35回日本分子生物学会年会, 福岡国際会議場, 2012年12月11-14日
3. 川野 光興, マックスウェル・バローズ 「pre-miRNAのdeep sequencing手法と解析」第14回日本RNA学会年会, 東北大学百周年記念会館, 2012年7月18-20日

その他特記事項

1) 外部資金

科研費

基盤研究 (B)

課題名: 多発性骨髄腫治療用sgRNA薬の開発

研究代表者: 梨本 正之

研究分担者: 川野 光興

挑戦的萌芽研究

課題名: tRNaseZLのsgRNAとなる新規RNAの探索とそのがん病態との関係の解析

研究代表者: 梨本 正之

基盤研究 (C)

課題名: TRUE gene silencing法による頭頸部癌増殖抑制の試み

研究代表者: 北海道大学・医学研究科・准教授
折館 伸彦

研究分担者: 梨本 正之

挑戦的萌芽研究

課題名: 検査診断の新規バイオマーカーの開発を目指した血液中の低分子RNAの探索

研究代表者: 新潟大学・医歯学系・教授 高橋由明

研究分担者: 梨本 正之

基盤研究 (B)

課題名: Wntシグナルを介した骨と造血幹細胞制御の組織間ネットワークの分子機構

研究代表者: 北海道大学・歯学研究科・教授 田村 正人

研究分担者: 梨本 正之

若手研究 (B)

課題名: マイクロRNA前駆体の効率的な塩基配列決定手法の開発と配列解析

研究代表者: 川野 光興

挑戦的萌芽研究

課題名: ユビキチン-プロテアソーム系制御を介した骨形成の新規分子機構の解明と骨形成誘導法

研究代表者: 北海道大学・歯学研究科・教授 田村 正人

研究分担者: 川野 光興

その他研究費

日本私立学校振興・共済事業団 平成24年度学術研究振興資金

課題名: TRUE silencing法を基盤とした血液がん治療薬の開発

研究代表者: 梨本 正之

2) 特許出願

1. 発明者: 梨本 正之, 出願人: 学校法人新潟科学技術学園新潟薬科大学, 「ヒト血液がん細

胞のアポトーシスを誘導するヘプタマー型スモールガイド核酸」, 特願2011-176322, 出願日2011年8月11日, PCT/JP2012/070509, 国際出願日2012年8月10日, WO/2013/022092, 国際公開日2013年2月14日

2. 発明者: 梨本 正之, 高橋 益廣, 成田美和子, 吉田 哲郎, 宮澤 達也, 出願人: 学校法人新潟科学技術学園新潟薬科大学, 国立大学法人新潟大学, 「ヒト白血病細胞のアポトーシスを誘導するヘプタマー型スモールガイド核酸」, 特願2011-185594, 出願日2011年8月29日, PCT/JP2012/071503, 国際出願日2012年8月24日, WO/2013/031704, 国際公開日2013年3月7日

3) 学外活動

学会活動

梨本 正之: Oligonucleotide Therapeutics Society, RNA Society, 日本RNA学会, 日本生化学会 (評議員), 日本分子生物学会

川野 光興: 日本分子生物学会, 日本RNA学会, 日本生化学会, 日本農芸化学会, 日本エピジェネティクス研究会

学外活動 (その他)

梨本 正之: 日本文理高等学校にて出張講義, 新潟南高校SSH事業の運営指導委員, 新潟南高校1年理数コースSSI臨地研修, 平成24年度SSH生徒研究発表会講評者, 平成24年度秋葉区産学官連携地域交流講座講師, 平成24年度日本医薬品卸勤務薬剤師会新潟支部研修会講師, PLoS ONE論文審査員, Journal of Nucleic Acids論文審査員

川野 光興: 初年次教育学会大会(文京学院大学), 新任教職員研修「学習教育ワークショップ」(新潟大学), 新潟医療福祉大学非常勤講師

4) その他

1. 梨本 正之: JST特許出願支援制度採択 (ヒト血液がん細胞のアポトーシスを誘導するヘプタマー型スモールガイド核酸, 出願番号: 特願2011-176322)

2. 梨本 正之: JST特許出願支援制度採択 (ヒト白血病細胞のアポトーシスを誘導するヘプタマー型スモールガイド核酸, 出願番号: 特願2011-185594)

3. 川野 光興: Uncovering the role of sperm RNA RIKEN RESEARCH 2013;8(2):12

生物機能化学研究室

Laboratory of Chemical Biology

■ 教授 石黒 正路

Prof. Masaji ISHIGURO, Ph.D.

■ 助教 田宮 実

Assist. Prof. Minoru TAMIYA, Ph.D.



コンピュータシミュレーションと有機化学の手法を用いた多様な生物機能の解析



・コンピュータシミュレーション ・有機合成化学
・タンパク質構造解析

研究概要

生物機能化学研究室では、「小さな分子を用いて、タンパク質の機能をとらえる」ことを研究の目的とし、コンピュータシミュレーションと有機合成化学を手段として研究を進めている。

1) 新規核酸ペプチド (NAP) の機能とその応用

核酸を模倣したペプチド、いわゆる人工核酸ペプチドをデザインし、その機能をコンピュータシミュレーションにより予測し有機合成化学により、核酸とダブルストランドを形成し得る核酸ペプチドを合成してその新機能を応用する。

2) ブラジキニンB1受容体の機能解析

降圧、平滑筋収縮、発痛、血管透過性亢進など強力かつ多彩な生理活性を仲介するブラジキニン受容体(B1R)は、Gタンパク質共役型受容体(GPCR)の一つで、この受容体に作用するステロイド誘導体を用いてコンピュータシミュレーションと有機合成化学をベースにした機能解析を行う。

3) プロティンキナーゼATRの分子認識機構

五味子の実から単離されたリグナン類のなかで、ゴミシンNがATRを阻害することが明らかに

されている。そこで、その結合部位や分子認識様式をゴミシンNおよびその放射線ラベル体、誘導体の合成を通し解明する。

4) ミラクリンの甘味増強作用の機構解析

キンバイザサ科の植物とアカテツ科の植物からそれぞれ単離されたタンパク質、ネオクリンとミラクリンは、酸性において甘味を呈することが知られている。コンピュータシミュレーションにより、pHの違いによる両タンパク質の構造変化を予測し、新機能を示す甘味タンパク質を創成する。

2012年度の研究成果

1) 核酸ペプチド (NAP) の合成研究

アミノ酸側鎖のβ位に核酸塩基を有するアラニン誘導体とグリシンがペプチド結合したジペプチドを1ユニットとする核酸ペプチド (NAP) が核酸と安定な二重ラセン構造を形成することをコンピュータシミュレーションにより予想し、GCGCGCGCの配列を有するNAPの合成法を確立した。現在、そのより効果的な合成条件を検討するとともに、応用に向けてさらなるシミュレーション解析を行っている。

2) ブラジキニンB1受容体の機能解析

セコステロイドの一種であるvelutinol Aが非ペプチド性の天然物としてB1Rに対する拮抗作用があることが知られており、既にこのvelutinol Aの初の全合成に成功している。この合成経路を利用して関連するセコステロイドargelosideの合成に成功し、B1Rの機能解析のツールがさらに広がった。

3) プロテインキナーゼATRの分子認識機構

ATR阻害剤であるGomisin Nの不斉全合成を開発しており、この合成経路を用いて特にATRとの結合を検討する分子ツールとして放射線ラベル化の検討を行ない、最終段階でトリテウム又は¹⁴Cを導入したGomisinNの合成経路を確立した。

4) ミラクリンの甘味増強作用の機構

当研究室においてネオクリンはその二量体の解離状態が、中性では二量体となり、酸性では単量体となり、甘味を呈する甘味発現機構として示した。そこで同様の作用を示すミラクリンについても分子誘導法による機構解析を試み、ホモ二基体のミラクリンにおいても同様の発現機構を示すことができた。

Research projects and annual reports

1) *Design and Synthesis of Nucleic Acid Peptide*

According to our computational simulations and the development of the synthetic method of the artificial nucleic acid peptide (NAP), we focus on the application of this method to the design of the magnetic sensitive device.

2) *Synthesis of Steroidal Bradykinin Receptor Ligands*

D-ring secosteroids such as vertinol, illustrol and argeloside have unique oxygenated cage-like structure. Among them, argeloside is a steroidal glycoside whose aglycone structure is not available from the original plant. The synthetic route of vertinol which we developed previously was successfully applied to the synthesis of argeloside aglycone. Biological activity of the aglycone

is now under investigation.

3) *Mechanistic Study on the Molecular Recognition of ATR*

The extracts from the lignan-rich fruit of *Schizandra chinensis* have been used in Chinese and Japanese traditional medicine as an antitussive and a tonic and nearly forty dibenzocyclooctadiene lignans were isolated from the plant. Among those, Gomisin N was found to be a specific inhibitor of the ATR, a member of the phosphatidyl-inositol 3-kinase (PI3-kinase). However, the binding site of this lignan at the enzyme is not known since the enzyme constitutes kinase domain as well as DNA-binding domain. Thus, we have developed the synthetic methods for the preparation of radio-labeled Gomisin with tritium or ¹⁴C. The use of this labeled lignan would reveal the Gomisin N-binding domain.

4) *The Sweet modification Mechanism of Sweet-modifying Protein, Neoculin and Miraculin.*

The sweet-modification mechanism of Neoculin was proposed through the molecular dynamics study of Neoculin in water. In the simulation, the monomer structure showed little structural change within 5 nsec at pH7 and pH3. However, the dimeric structure of Neoculin showed the dissociation to monomeric structure at pH3 but not at pH7. This result suggests that the formation of the dimeric structure masks the receptor-binding surface at its interface and the acidic conditions unmask the receptor-binding surface to enable the binding to the receptor.

発表論文

1. Hossain M, Muntasir HA, Ishiguro M, Bhuiyan MA, Rashid M, Sugihara T, Nagatomo T. Mechanism of inverse agonist action of sarpogrelate at the constitutively active mutant of human 5-HT_{2A} receptor revealed by molecular modeling. *Biol Pharm Bull.* 2012, 35, 1553-1559. *Highlighted

Paper selected by Editor-in-Chiefに選ばれた。

2. Takeuchi M, Hirasawa A, Hara T, Kimura I, Hirano T, Suzuki T, Miyata N, Awaji T, Ishiguro M, Tsujimoto G. FFA1-selective agonistic activity based on docking simulation using FFA1 and GPR120 homology models. *Br J Pharmacol*. 2013, 68, 1570-1583.

3. Masuda K, Koizumi A, Nakajima K, Tanaka T, Abe K, Misaka T, Ishiguro M. Characterization of the modes of binding between human sweet taste receptor and low-molecular-weight sweet compounds. *PLoS One*. 2012, 7, e35380. Epub 2012 Apr 20.

*NHKのニュースとして紹介され、読売新聞および朝日新聞にも紹介記事が掲載された。

4. Hara K, Inada Y, Ono T, Kuroda K, Yasuda-Kamatani Y, Ishiguro M, Tanaka T, Misaka T, Abe K, Ueda M. Chimeric yeast G-protein α subunit harboring a 37-residue C-terminal gustducin-specific sequence is functional in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2012, 76, :512-516.

招待講演, シンポジウム等

国内

1. 石黒 正路: 構造活性フォーラム2012 in Kyoto 「多様なGPCRの機能と構造」 6月22日 (コープイン京都)

2. 石黒 正路: 日本化学会秋季事業 第2回 CSJ化学フェスタ『ノーベル化学賞2012解説講演』「GPCRの化学的役割と創薬への応用」 10月15日 (東工大岡山キャンパス)

学会発表

国際学会

Tamiya M.; Magara R.; Tsuchiya H.; Kumakura M.; Ikarashi K.; Ishiguro M. Development of divergent

synthetic route to Gomisin-Shizandrins for the SAR study of ATR (ポスター発表) 第9回薬物の分子設計と開発に関する日中合同シンポジウム, 桂林ブラボーホテル, 平成24年9月21-9月24日

国内学会

1. 北澤 貴明, 田宮 実, 井坂 修久, 石黒 正路: Argeloside類の合成研究 (口頭発表), 第64回有機合成化学協会関東支部シンポジウム, 長岡科学技術大学, 平成24年12月1-2日

2. 眞柄 良平, 田宮 実, 土屋 裕徳, 熊倉 美佳, 五十嵐久美, 石黒 正路: Gomisin Nの改良合成 (口頭発表), 第64回有機合成化学協会関東支部シンポジウム, 長岡科学技術大学, 平成24年12月1-2日

その他特記事項

1) 外部資金

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)

「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と、その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成 (研究分担者) 研究課題「健康増進を目的とした非糖系甘味剤の開発研究」石黒 正路, 田宮 実(研究代表者: 小西 徹也)

受託/共同研究 (民間)

石黒 正路 2件

その他研究費

第43回 (2011年度) 内藤記念科学奨励金 (研究助成) 研究課題: B1Rの作用機構の解明と創薬研究
研究代表者: 田宮 実

2) 学外活動

学会活動

石黒 正路: 日本薬学会医薬化学部会役員および構造活性相関部会常任幹事

田宮 実：構造活性相関部会幹事

学外活動（公的機関）

石黒 正路：JST専門委員，科研費審査員，農研機構審査員，長野県飯山北高SSH運営委員，新潟市食の新潟国際賞財団理事，新潟市食と花の世界フォーラム組織委員会委員

学外活動（その他）

1. 石黒 正路：県立図書館大学講座「動物の感覚受容体の情報認識機構について」11月1日（新潟県立図書館）
2. 石黒 正路：SSHフェスティバル講演会「創造力をはぐくむ多様な見方と組み合わせ」10月19日（飯山北高）

植物細胞工学研究室

Laboratory of Plant Biotechnology

■ 教授 田中 宥司 Prof. Hiroshi TANAKA, Ph.D.

■ 助教 相井 城太郎 Assist. Prof. Jotarou AII, Ph.D.



植物の重要農業形質の機能解明による高効率育種法の開発と実践



・リン代謝 ・デンプン代謝 ・半矮性 ・自家不和合性

研究概要

植物資源学・細胞工学研究室では、イネ科植物やソバ属植物等を研究材料として、植物に農業上有用な表現形質の探索とその形質が現れるメカニズムを分子レベルで解明し、品種改良に役立てようとする研究を進めている。

イネでは、食料としての不良成分であるフィチン酸含量を低下させ、無機リンの含量が高まった作物を作成するために、分子生物学的手法と逆遺伝学的手法を用いて、種子中におけるリン代謝に関する知見獲得を目指している。また、ソバでは、新規デンプン形質を有する健康・機能性を強化した食品素材開発を目指すと共に、生産性に大きく関わる生殖や草型の形質を順遺伝学的手法による分子レベルの研究に取り組んでいる。

1) イネのリン代謝に関する研究

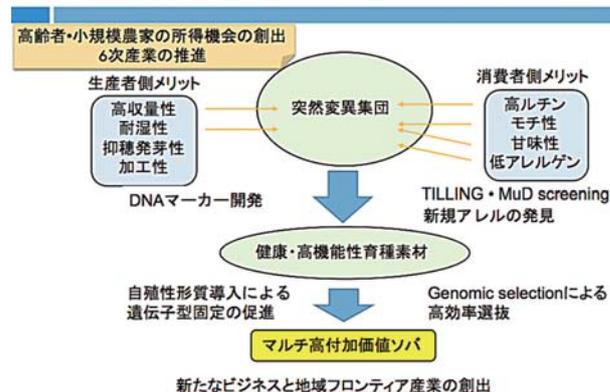
穀物の種子に含まれるリンの7～8割はフィチン酸として貯蔵されるが、非反芻家畜はフィチン酸を消化することができず多量のリンが排出され、湖沼の主な汚染源ともなっている。またフィチン酸は、様々な金属に強いキレート作用を示すため、食べると体内のミネラルの吸収を阻害することでも知られる。そこで、(独)農研機構中央

農研北陸研究センターとの共同研究で、無機リンの増加を指標として単離されたイネ低フィチン酸突然変異体を用い、種子中におけるリン代謝に関する新知見の獲得を目指している。さらに、得られた成果を応用することによる低環境負荷ならびに高機能性植物を作出するための技術基盤構築を目指している。

2) ソバの有用形質に関する研究

国際的な穀物需給の逼迫と価格の高騰、輸入食品による食の安全を脅かす問題の発生をうけ、安心感が高い国産農産物を軸とした食と農の結びつき、いわゆる「地産地消」の強化が求められている。このような社会的要請をうけ、伝統的な健康食品として広く認識され、特に高齢者の嗜好に合

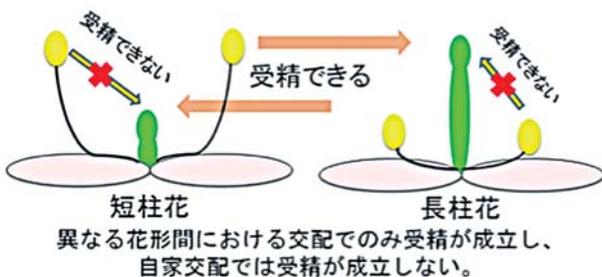
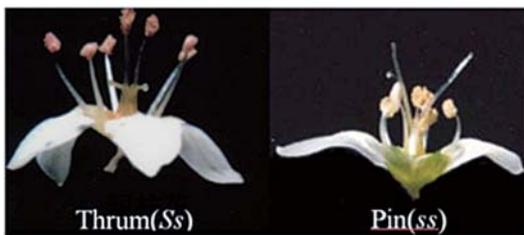
ソバをモデルとした高効率育種法の開発と実践



致することからその需要が増加しているソバをモデルとして、有用性質に関わる遺伝子の機能解析とその応用により、健康・機能性を強化した食品素材開発を目指している。さらに、草型および生殖機構に関する知見を獲得することで、安定多収品種育種体系の構築を目指している。

3) ソバ属の生殖機構に関する研究

植物は動物と違い動き回ることができないため、積極的な婿選びをすることができない。そのため多くの植物は、受粉時に自己の花粉と非自己の花粉を識別し、自己の花粉との受精を抑制する自他識別システムを有している。この自他識別システムは自家不和合性とも呼ばれ、花の形態が複数型あり、異なる型の花に由来する配偶子間で受精が行なわれる異型花型自家不和合性と花の形態には多型のない同型花型自家不和合性がある。C. Darwinの著書「Different forms of flowers」に掲載されているように、多くの植物において花の形態多型と自家不和合性が密接に関係した異型花型自家不和合性が見られる。しかしながら、その分子遺伝学的な機構は全く解明されていない。本研究の目的は、いまだに謎の多い異型花型自家不和合性の分子機構と進化を解明し、その成果を自殖性ソバ作出へ応用することにある。

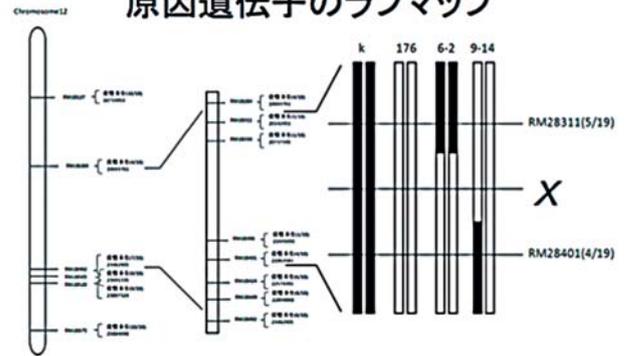


2012年度の研究成果

1) イネのリン代謝に関する研究

イネにおけるリン代謝に関する知見獲得を目的に、フィチン酸含量が低下し、無機リンの含量が高まったイネ突然変異体の原因遺伝子の解明を順遺伝学的手法により行なっている。本年度は、(独)農研機構 中央農研北陸研究センターにおいて育成された「どんとこい」を原品種とする無機リン含量が高まった低フィチン酸変異体とカサラスとのF₂集団555個体を用いてフィチン酸低含有化の原因遺伝子のマッピングを行った。その結果、本変異体の原因遺伝子は、第12染色体長腕上の500kbの領域に座することを明らかにした。

第12染色体における連鎖地図と原因遺伝子のラフマップ



2) ソバの有用形質に関する研究

ソバはタンパク質、脂質および糖質をバランスよく有し、動脈硬化の予防に有効なルチンを多量に含むことが明らかにされている。したがって、伝統的な食品を見直す機運が高まっているなか、

新規デンプン特性を持つソバの開発



バランスよく栄養素を摂取でき、メタボリック症候群といった現代病の予防に適したソバの価値は高く、新形質を有するソバ育種の価値は非常に大きいと考えられる。本年度は、新たな食感を持ったソバ製品の開発につながるモチ性品種の作成に向け、ダットンソバの変異体集団中から低アミロース変異体のスクリーニングを行った。これまでに、約10,000個体のM2種子をスクリーニングしたところ、12系統の低アミロース変異体が得られるに至っている。

3) ソバ属の生殖機構に関する研究

普通ソバの生殖は、異形花型自家不和合性に基づき行われる。異形花型自家不和合性は、他の植物でも見られる虫媒による他殖性強化のための巧妙な機構であり、ソバにおいては花型と自家不和合性を制御する遺伝子複合体がS座に集約されて機能していると考えられている。本年度は、その分子の実体解明を目指し、花器官における網羅的遺伝子発現解析を行った。ソバゲノムのドラフト配列を参照としたマッピングから、S座から転写される遺伝子(*S-ELF3*)を発見するに至った。ソバ属の中で自家和合性を示す種の*S-ELF3*は、いずれにおいても致命的な欠陥が生じていることを明らかにした。この事実は*S-ELF3*がソバ属の異形花型自家不和合性の維持に強い影響を持つことを示す。

Research projects and annual reports

Using rice and buckwheat as the main experimental materials, we are investigating the molecular mechanism of important agronomic characteristics, such as environmental stress, plant reproduction system and plant structure. Research activities also cover the improvement of agronomic and physiological characteristics and the development of crops adapted to low-input management and high-quality crops.

1) Genetic characterization of a low phytic acid mutant in rice.

Phytic acid is the most abundant form of phosphorus (P) in cereal grains. In addition to being essential for normal seedling growth and development, phytic acid plays an important role in human and animal nutrition. Previously, low phytic acid rice mutants were isolated by using a forward genetics approach. Those mutants are caused by single gene, recessive non-lethal mutations. DNA marker analysis revealed that one mutant was likely to be mapped in chromosome 12 as a novel locus in phytic acid metabolism.

2) Precision breeding for novel starch variants in buckwheat

Chemical mutagenesis is a rapid method of generating new alleles, but it can be difficult to identify the precise mutations efficiently in large plant populations. To develop a High-throughput mutation detection system, as the first step, a total of 10,000 M2 plants were screened for EMS-induced mutations of the GBSS1 (granule-bound starch synthase 1) encoded by the *waxy* gene, which determines the synthesis of amylose. We have identified 12 low amylose mutants in EMS-induced mutant population. These mutants are useful for breeding materials to develop a novel variety in buckwheat.

3) Molecular characterization of the S locus in buckwheat.

Self-incompatibility (SI) is an important reproductive system that prevents inbreeding in flowering plants. Particular attention has focused on heteromorphic SI, in which a supergene complex is thought to regulate flower morph and SI response simultaneously. However, genes that control heteromorphic SI have not been identified. In buckwheat (*Fagopyrum esculentum*), dimorphic flowers (short- and long-styled flowers) are linked with the SI response, which is triggered between plants bearing the same flower morph, but not between plants bearing different flower morphs. In this study, we identified *S LOCUS EARLY FLOWERING 3* (*S-ELF3*), which was present in short-styled plants and absent in long-

styled plants, in buckwheat and other *Fagopyrum* species. Disruption of *S-ELF3* in closely related self-compatible species indicates that this gene plays a significant role in heteromorphic SI.

発表論文

1. Yoshiyuki S., Yoshifumi O., Takashi T., Tetsuo O., Hiroshi T., Motoshige K., Masamichi T., Osamu Y., and Hiroaki T. Purification and cDNA cloning of a defensin in *Brassica juncea*, its functional expression in *Escherichia coli*, and assessment of its antifungal activity. *J. Pestic. Sci.* 38(1), 1-7 (2013)

学会発表

国際学会

1. Investigation of Rice Pollen Flow and Natural hybridization under Large Scale Field in Saga, Japan. Horimoto S., Shibaike H., Yatou O., Kimizu M., Tabuchi H., Aii J. and Tanaka H. The Monsoon Asia Agro-Environmental Research Consortium Symposium 2012. September 26-27
2. Developing a self-pollinate buckwheat based on reverse genetics approach. Aii J., Sato S, Nakano A, Yasui Y, Mori M, Abe T, Matsumoto D, Hayashi Y, Ohnishi O, Ota T, Funaki T, Sato Y, Tanaka H. 第6回食と健康に関する新潟国際シンポジウム, 新潟, 2012年10月16日, 17日

国内学会

1. 相井城太郎, 安井 康夫, 森 正之, 阿部知子, 佐藤 真吾, 田中 宥司, 松本 大生, 林 依子, 大西 近江, 大田 竜也: ソバの二花柱性関連遺伝子 *S-LOCUS EARLY FLOWERING3* の同定, 日本育種学会2012年秋季大会, 京都産業大学, 2012年9月14・15日
2. 安井 康夫, 森 正之, 相井城太郎, 阿部

知子, 佐藤 信吾, 田中 宥司, 松本 大生, 林 依子, 大西 近江, 大田 竜也: ソバ属の自殖性植物における *S-LOCUS EARLY FLOWERING3* 遺伝子の崩壊, 日本育種学会2012年秋季大会, 京都産業大学, 2012年9月14・15日

3. 船木 武人, 田辺 寿, 熊谷 直哉, 一場理美, 鈴木 達郎, 森下 敏和, 相井城太郎, 田中 宥司: ダツタンソバ北海T10号におけるアントシアニン高含有化の原因遺伝子の解析, 日本育種学会2012年秋季大会, 京都産業大学, 2012年9月14・15日
4. 中野 絢菜, 小森 美佳, 森下 敏和, 鈴木 達郎, 清水 明美, 相井城太郎, 田中 宥司: ダツタンソバ半矮性変異体 *sda* の解析, 日本育種学会2012年秋季大会, 京都産業大学, 2012年9月14・15日
5. 櫻井 美仁, 佐藤 祐也, 長野 美緒, キャンベルクレイトン, 相井城太郎, 田中 宥司: 普通ソバ (*Fagopyrum esculentum*) に見出された矮性変異体の解析, 日本育種学会2012年秋季大会, 京都産業大学, 2012年9月14・15日
6. 櫻井 美仁, 佐藤 祐也, 長野 美緒, クレイトンキャンベル, 相井城太郎, 田中 宥司: 普通ソバ (*Fagopyrum esculentum*) に見出された矮性変異体の解析, 日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 新潟薬科大学, 10月27・28日
7. 船木 武人, 田辺 寿, 熊谷 直哉, 一場理美, 鈴木 達郎, 森下 敏和, 相井城太郎, 田中 宥司: ダツタンソバ北海 T10 号におけるアントシアニン高含有化の原因遺伝子の解析, 日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 新潟薬科大学, 10月27・28日
8. 佐藤 真吾, 安井 康夫, 森 正之, 相井城太郎, 阿部 知子, 田中 宥司, 松本 大生,

林 依子, 大西 近江, 大田 竜也: ソバ属植物 (*Fagopyrum*) に見出された二花柱性関連遺伝子 *S-LOCUS EARLY FLOWERING3* の同定, 日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 新潟薬科大学, 10月27・28日

9. 中野 絢菜, 小森 美佳, 森下 敏和, 鈴木 達郎, 清水 明美, 相井城太郎, 田中 宥司: ダットンソバ半矮性変異体 *sda* の解析 日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 新潟薬科大学, 10月27・28日

その他特記事項

1) 外部資金

科研費

基盤研究 (C)

課題名: ソバにおける自家不和合性の遺伝的基盤の解明

研究代表者: 京都大学・農学研究科・助教

安井 康夫

研究分担者: 相井城太郎

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)

「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と, その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成(研究分担者) 研究課題「アグリインフォマティクスによるマルチ高付加価値ソバの開発」田中 宥司, 相井城太郎(研究代表者: 小西 徹也)

2) 社会的活動

学会活動

田中 宥司: 日本農芸化学会(学術強化委員, 関東大会実行委員) 日本育種学会員, 上信越地域育種セミナー(世話人)

相井城太郎: 日本育種学会, 日本遺伝学会, 植物生理学会, 世界ソバ学会

学外活動(公的機関)

田中 宥司: 文部科学省 技術・学術審議会 生命倫理・安全部会(遺伝子組換え技術等専門委員会委員)

相井城太郎:

学外活動(その他)

田中 宥司: 日本技術士会会員および農業部会講師, 糸魚川高校出前講義講師, 教員免許更新講習講師, 新津中央ロータリー会委員および定例会講師, 「Team Eco Work 144 新潟薬科大学 エコまる村 action in にいつ丘陵」林道整備に参加

相井城太郎: SSH新潟南高校講師, 青少年科学の祭典ミニ実験指導

3) その他

1. Screening of buckwheat heteromorphic self-incompatibility genes using heavy-ion-beam irradiation. Yasui Y., Mori M., Aii J., Abe A., Matsumoto D., Sato S., Hayashi Y., Ohnishi O., Ota T. RIKEN Accel. Prog. Rep. Vol. 45

2. *S-LOCUS EARLY FLOWERING3*

Is Exclusively Present in the Genomes of Short-Styled Buckwheat Plants that Exhibit Heteromorphic Self-Incompatibility. *FACULTY of 1000 POST-PUBLICATION PEER REVIEW

3. 普通ソバ (*Fagopyrum esculentum*) における異形花型自家不和合性の分子遺伝学的解析, 第2回植物育種セミナー, 6月16日

■ 教授 川田 邦明 Prof. Kuniaki KAWATA, Ph.D.

■ 助教 小瀬 知洋 Assist. Prof. Tomohiro KOSE, Ph.D.



化学と工学を基礎として化学物質の安全管理法を通じた環境の改善と保全のための研究



・ 化学物質 ・ 処理方法 ・ リスク ・ 起源解析 ・ 環境動態 ・ 再資源化

研究概要

I. 鉄触媒を用いたペルフルオロオクタン酸の光分解の機構の検討

有機フッ素化合物は撥水・撥油性を有するという物性から消火剤、衣類、ワックスなど様々な用途に用いられている。しかし、その難分解性から環境中において幅広く検出され、水環境汚染への関心が高まっている。中でもペルフルオロオクタン酸（PFOA）は水溶性の高い残留性有機化合物であり、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）の一般化学物質（旧第二種監視化学物質）に指定されている。近年、PFOAのより効率的な分解除去法として紫外線と鉄（III）を用いた複合処理が報告されている。しかしながら、この反応の分解機構は解明されておらず、反応速度の影響因子が明らかで無い。そこで、本研究ではPFOA分解機構とその速度に及ぼす鉄濃度の影響についての検討を行った。加えて活性炭に触媒鉄を担持した新水処理材料の開発を行い、その性能評価を行った。

II. 縮合リン酸エステル類難燃剤の分解生成物の放散挙動とリスク評価

テレビ、パソコンなどの電気製品の難燃化には、

多くの場合高い難燃化効果を持つ臭素系難燃剤（BFR）が使用されてきた。しかしながらRoHS指令によるポリ臭素化ジフェニルエーテルの規制に加え、ヘキサシクロブromododeカンもPOPs条約における審議対象物質となっている。これらの規制により臭素などのハロゲンを用いない難燃剤への代替が進んでいる。従来より一部樹脂の難燃化に用いられてきた有機リン酸トリエステル類（OPEs）は、難燃化作用に加えて可塑化作用を有するため添加樹脂の機械特性が低下する。またOPEsはSVOCに準ずる揮発性を有するため長期的な難燃効果の維持に不安が残るほか、室内空気の汚染源となることも懸念される。

近年これらの点を改良した有機リン系の難燃剤である縮合リン酸エステル類難燃剤（CPFR）の使用量が増加している。CPFRはリン酸トリエステルのエステル基部分に架橋構造を導入し、オリゴマー化した高分子量の難燃剤であり、分子量が大きいため揮発性が低く、樹脂を可塑化しない。しかしながら加水分解性を有することで知られるOPEsと同様のリン酸エステル結合を有するため、難燃化製品の使用時を想定した条件下においても同様の加水分解反応が起こることが確認されている。分解生成物にはフェノール類などのVOCに準ずる揮発性をもつ化合物も含まれていることから、

難燃化製品使用時、廃棄リサイクル時に汚染源となることが懸念される。そこで本研究では製品使用過程及び廃棄過程用いてビスフェノールAビス-ジフェニルホスフェート (BDP) 及びその分解生成物の生成、放散挙動を解明し、リスク評価を行うことを目的とした。

III. 水田に散布された農薬の挙動

多種多様の農薬が生産、販売されており、病虫害の駆除や除草等の目的で、主に農耕地で散布されている。特に水田に散布された農薬は、一部が排水とともに河川に流入する可能性があるため、河川の生態系への影響とともに、浄水処理における農薬対策などの問題が生じている。水田に散布された農薬は、水田土壌に移行するとともに、生物学的分解や化学的分解を受けて減少して行くと考えられるが、その挙動については十分解明されていない。また、分解過程で生ずる分解生成物の挙動についても不明な点が多い。そこで、水田に散布された農薬やその分解生成物を対象として、田面水と水田土壌における減衰挙動を明らかにし、排水に伴って河川に流出する農薬の割合を評価するとともに、河川における農薬の挙動についても明らかにした。

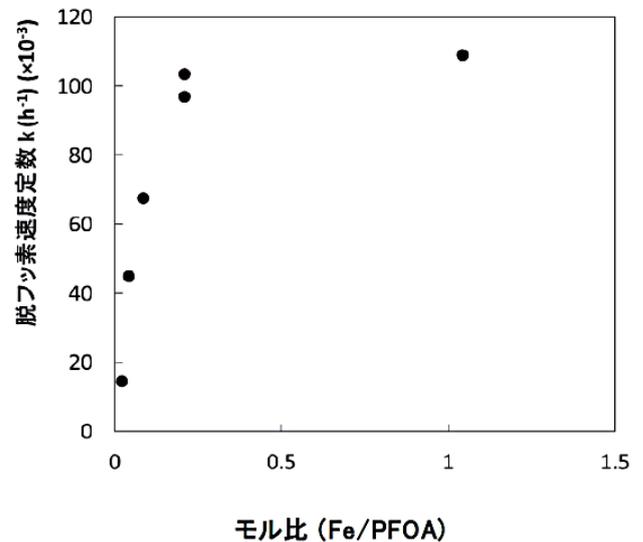
IV. 東日本大震災における津波堆積物の起源と再資源化に関する研究

東日本大震災における津波により生じた津波堆積物は、土砂や汚泥に加えて海水由来の塩分や周辺の汚染を含んでいる為、従来の処理法で処理できず、再生利用も困難である。このことから、本研究では宮城県石巻市周辺域において津波堆積物を採取し、その物理化学特性および金属含有量の検討を行った。得られた金属含有量から津波堆積物の有害性を検討し、堆積物の再生利用の可能性を評価した。また金属組成と物理化学特性の相関を解析し、再生資源としての特性と有害性を判断しうる簡便な指標を模索した。加えて金属組成の解析から津波堆積物の起源の推定を試みた。

2012年の研究成果

I. 鉄触媒を用いたペルフルオロオクタン酸の光分解の機構の検討

鉄の添加によってPFOAの分解は促進された。PFOAの分解は鉄濃度の高い系列においてより顕著であった。Fe/PFOAのモル比の上昇に伴ってPFOAの脱フッ素速度定数は上昇し、分解反応がPFOAと鉄の双方に依存することが確認された。しかしながらモル比を0.21以上に増加させても顕著な分解速度の向上は見られず、なんらかの制限因子の存在が示唆された。



II. 縮合リン酸エステル類難燃剤の分解生成物の放散挙動とリスク評価

樹脂製品中に含まれるBDPの製品の使用時および廃棄後の処分、再資源化時における分解性、分解生成物の放散の評価を行った。

製品使用時においてはBDPの分解にともなってフェノール、ビスフェノールAが生成し、特にフェノールの顕著な放散が確認された。製品の埋立廃棄時においてもBDPの分解とフェノール類の生成が確認された。埋立時の放散リスクはビスフェノールAがより顕著であった。廃プラのRPFへの再資源化時においてもBDPの分解にともなってフェノール、ビスフェノールAが生成し、RPF冷却水中へのフェノールの溶出が確認された。

III. 水田に散布された農薬の挙動

夏季に集中して水田に散布される殺菌剤と殺虫剤の流出挙動及び使用実態を明らかにするため、流域に水田地帯を有する信濃川水系の能代川（新潟市）における表流水中の農薬濃度変動の特徴を明らかにした。

IV. 東日本大震災における津波堆積物の起源と再資源化に関する研究

有害性の検討では、測定した金属の内、土壤汚染対策法で基準を設けられているCd, Cr, Pbについて堆積物中の含有量と基準値の比較を行ったところ、有害性の懸念は低いという結果が示された。物理化学的特性同士の単相関分析ではシルト含有量について、含水比、強熱減量、電気伝導度に正の相関を示し、pHが負の相関を示した。シルトは移動性が高いため、シルト含有量と金属含有量の単相関分析を行い、シルトと同伴していると考えられる金属を検討した。最も相関がよく見られたのはMn、次いでCo, Pbであったため、これらの金属が起源推定において重要な指標になると考え、Mnの含有量を比較することで、起源の推定を行った。しかし、調査地点周辺の陸域、海域における地殻組成と堆積物中のMn含有量を比較したが、その差が非常に大きいため比較が難しく、堆積物の起源推定は困難であった。そのため、シルト含有量と次いで相関の見られたCo, Pbを用いて、Pb/Mn比とCo/Mn比から起源の推定を試みた。その結果、鮫浦湾後背地堆積物試料と鮫浦湾底質試料の比較が可能であることが示されたため、Pb/Mn比とCo/Mn比による起源の推定が可能であると考えられた。

Research projects and annual reports

I. Study on Photochemical Decomposition of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) by Iron Catalyst

Perfluorinated compounds including perfluorooctanoic acid (PFOA), which have been detected globally in the environment and in wildlife, have recently

received a great deal of attention as environmental contaminants because of their specific characteristics. PFOA also has high water solubility compared to perfluorooctanesulfonic acid. In this study, the effect of pH and coexisting ion on the decomposition of PFOA was evaluated under a combined treatment of ferric ion and ultraviolet radiation. The defluorination of PFOA was accelerated with dissolved iron. The increases in concentration of dissolved iron increased decomposition rate constant of PFOA. The decomposition rate of PFOA significantly affected to molar ratio of Fe/PFOA, but no significant effect of the ratio was observed above Fe/PFOA > 0.21.

II. Study on emission behavior and risk assessment for breakdown products of condensed phosphoric ester flame retardants

Recently, the uses of condensed phosphoric ester flame retardants (CPFRs) have been increased. It is reported that parts of CPFRs were decomposed during the usage to their degradants including semivolatile phenols. In this study, bisphenol-A bis (diphenyl phosphate) (BDP) used in resin product was evaluated under conditions of usage, dumping and recycling. Preparation of bisphenol-A and phenol was observed under usage condition. In this case, significant emission of phenol was also observed. In the case of dumping condition, preparation of bisphenol-A and phenol was observed. The emission potential of bisphenol A was more significant than that for phenol. Preparation of bisphenol-A and phenol was also observed in the condition of RPF production process. In this case, significant emission of phenol into cooling water was observed.

III. Behavior of pesticides applied to paddy fields

Variations of fungicides and insecticides in surface water of the Nodai River (Niigata) were investigated to evaluate their behavior in a small river flowing through cultivated areas. The pesticides were detected

during April through September. Some aerially applied pesticides increased markedly in concentration after the applications. The differences in the variations depended on their application periods and application methods as well as precipitation.

IV. Study on origin and recycling capability of Tsunami deposit from Great East Japan Earthquake

No significant contamination of heavy metal was observed with environmental quality standards for soil and tsunami deposits were capable for recycling. For physico-chemical characteristics, positive correlation among silt contents, moisture contents, electric conductivity and ignition losses. Contents of Mn, Co, Pb correlated positively with silt contents. Mn correlated positively with silt contents. From these reasons, content of silt and Mn involving their entrainment were important indicator of the recycling capability of deposits. On the other hand, origins of tsunami deposits were difficult to evaluate based on Mn composition profiles. But origins of tsunami deposits were able to evaluate based on Pb/Mn, Co/Mn composition profiles.

発表論文

1. Takuya Kubo, Masaki Ohno, Shunsuke Nagasawa, Tomohiro Kose and Kuniaki Kawata: Behavior of Herbicide Pyrazolynate and its Hydrolysate in Paddy Fields after Application, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89(5), 985-989 (2012) .
2. Yuri Igari, Takaaki Tamura, Masaki Ohno, Kazuyuki Suzuki, Tomohiro Kose and Kuniaki Kawata: Distribution of Metals in Surface Sediments from a Small River Flowing Through Urban and Agricultural Areas, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89(4), 770-774(2012).
3. Yuri Igari, Masaki Ohno, Takaaki Tamura,

Kazuyuki Suzuki, Tomohiro Kose and Kuniaki Kawata: Chemical Speciation of Metals in Surface Sediments from Small Urban and Agricultural River, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89(4), 764-769(2012) .

4. Masaki Ohno, Yuta Kubo, Esteban R Mino A, Tomohiro Kose, Satoshi Nakai, Wataru Nishijima and Kuniaki Kawata: Effect of pH and coexisting species on the photochemical decomposition of perfluorooctanoic acid by iron (iii) sulphate, *Journal of Water and Environment Technology*, 10(2), 129-140(2012) .
5. Masayuki Morohashi, Shunsuke Nagasawa, Nami Enya, Masaki Ohno, Kazuyuki Suzuki, Tomohiro Kose and Kuniaki Kawata: Decrease of herbicide bromobutide and its debromo metabolite in paddy field soil during 24 weeks after application, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89(1), 176-180(2012).
6. Masaki Ohno, Nami Okamura, Tomohiro Kose, Takashi Asada and Kuniaki Kawata: Effect of palladium loaded activated carbons on hydrogen storage, *Journal of Porous Materials*, 19(6), 1063-1069(2012) .
7. Masayuki Morohashi, Shunsuke Nagasawa, Nami Enya, Kazuyuki Suzuki, Tomohiro Kose and Kuniaki Kawata: Behavior of bromobutide in paddy water and soil after application, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(4), 521-525 (2012) .

著書および総説

1. Behavior of Pesticides and Their Transformation Products in River Water in Japan, K. Kawata and T. Kose, in "The Impact of Pesticides", M. Jakanović

(edt.), pp.203-224, Publishing Services LLC, Cheyenne, WY, USA (September 2012).

2. 化学物質のモニタリング手法, 現場で役立つ水質分析の基礎, 川田 邦明, 分担執筆, 平井昭司 監修, 日本分析化学会編, (2012) .

学会発表

1. Behavior and mechanism of photochemical decomposition of Perfluorooctanoic acid by iron (III) sulfate, Ohno M, Ito M, Ohkura R, Mino ER, Kose T, Okuda T, Nakai S, Nishijima W, Kawata K, Society of Environmental Toxicology and Chemistry Asia Pacific Annual Meeting (SETAC AP 2012), Kumamoto, Japan

2. 水田土壌における除草剤プロモブチド及びその脱臭素化代謝物質の減少, 大野 正貴, 諸橋将雪, 長沢 俊輔, 塩谷 奈美, 鈴木 和将, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 第21回環境化学討論会, 愛媛

3. 鉄固定化触媒によるペルフルオロオクタン酸の紫外線分解, 大野 正貴, 大倉 遼一, Esteban R Mino A, 小瀬 知洋, 奥田 哲士, 浅田 隆志, 中井 智司, 西嶋 渉, 川田 邦明, 第21回環境化学討論会, 愛媛

4. 鉄触媒を用いたペルフルオロカルボン酸類の光分解挙動とその機構, 伊藤 雅隆, 大野 正貴, Esteban R Mino A, 小瀬 知洋, 奥田 哲士, 中井 智司, 西嶋 渉, 川田 邦明, 第21回環境化学討論会, 愛媛

5. 縮合リン酸エステル類難燃剤による難燃化製品から生じる分解生成物の使用時および廃棄時における排出評価, 黒瀬 航, 小瀬 知洋, 滝上 英孝, 川田 邦明, 第21回環境化学討論会, 愛媛

6. 水田に散布された除草剤ピラゾレートの減衰, 久保 拓也, 長沢 俊輔, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 第21回環境化学討論会, 愛媛

7. 能代川における表流水中の殺菌剤と殺虫剤濃度変動, 大野 正貴, 今泉 圭隆, 白石不二雄, 芹澤 滋子, 永井 千尋, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 第21回環境化学討論会, 愛媛

8. 釧路川における水道原水中の溶存有機物質の起源解析, 小瀬 知洋, 金子翔一郎, 西嶋 渉, 川田 邦明, 第47回日本水環境学会年会, 大阪

9. 樹脂廃棄物埋め立て処分時を想定した縮合リン酸エステル類難燃剤の分解生成物の発生リスク評価, 黒瀬 航, 小瀬 知洋, 滝上 英孝, 川田 邦明, 第47回日本水環境学会年会, 大阪

10. 東日本大震災津波堆積物の起源推定と再利用に関する検討, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 玉置 仁, 川田 邦明, 第47回日本水環境学会年会, 大阪

11. 鉄-紫外線複合処理によるPFOA 分解処理の機構, 伊藤 雅隆, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 大野 正貴, 奥田 哲士, 中井 智司, 西嶋 渉, 第47回日本水環境学会年会, 大阪

12. 有機リン系難燃剤を含有する廃棄物の焼却処理過程における分解挙動, 松神 秀徳, 小瀬 知洋, 渡部 真文, 滝上 英孝, 第21回環境化学討論会, 愛媛

その他特記事項

1) 外部資金

科研費

若手研究 (B)

課題名: 室内環境におけるリン系新規難燃剤の放散・暴露リスク評価に関する研究

研究代表者：小瀬 知洋

2) 社会的活動

学会活動

川田 邦明：日本環境化学会（理事，幹事，評議員，編集委員），日本分析化学会（関東支部新潟地区部会幹事）

小瀬 知洋：日本水環境学会（関東支部幹事），廃棄物資源循環学会，環境化学会，分析化学会（新潟支部幹事）

公的活動

川田 邦明：環境省（事務局：国立環境研究所）化学物質暴露評価委員会検討委員，環境省（事務局：環境計画研究所）水質環境基準（健康項目）等検討委員会委員，環境省（事務局：日本エヌ・ユー・エス）内分泌かく乱作用に係る生態影響評価検討班委員，国土交通省北陸地方整備局北陸技術事務所ダイオキシン類精度管理委員会座長，新潟県都市計画審議会委員，新潟県環境リーダー育成協議会委員，新潟市亀田清掃センター運営協議会委員

小瀬 知洋：国土交通省北陸地方整備局北陸技術事務所ダイオキシン類精度管理委員会委員

非常勤活動

川田 邦明：(社)日本環境測定分析協会環境測定分析士等試験・認定委員会委員，新潟県立新津工業高等学校デュアルシステム(生徒1名)，新津第二小学校新津川水質調査への協力(5年生)

小瀬 知洋：新潟県立新津工業高等学校デュアルシステム（生徒1名），新津第二小学校新津川水質調査への協力（5年生），新津川シンポジウムでの講演（新津第二小学校），新津第二中学校への模擬実験（生徒6名），新潟市民大学講義（受講者12名）

環境有機化学研究室

Laboratory of Environmental Organic Chemistry

■ 教授 中村 豊 Prof. Yutaka NAKAMURA, Ph.D.

■ 助教 小島 勝 Assist. Prof. Masaru KOJIMA, Ph.D.



環境にやさしい有機合成化学によるものづくり



- ・フルオラス化学
- ・フェイズタグ法
- ・環境調和型有機合成反応
- ・再生可能資源
- ・不斉触媒

研究概要

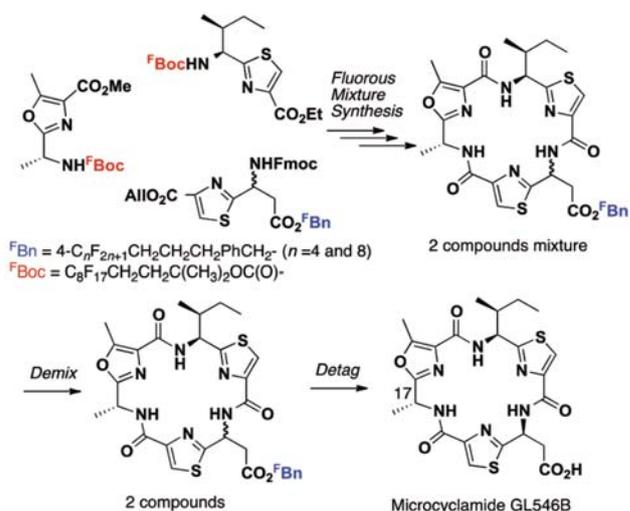
これまでの有機合成は、原料と反応溶媒は枯渇資源の石油由来であるばかりでなく、反応で生じる目的物と副生成物を分離する際に膨大なエネルギーを必要とし、かつ大量の廃棄物が発生していた。しかしながら、持続可能な社会を構築するためには環境に調和した有機合成技術の開発は必須である。このような観点から環境有機化学研究室では、再生可能資源として糖もしくは天然から容易に入手可能なアミノ酸を原料にして、医薬品のリード化合物となる天然物などの有用物質の合成および、これまでに培ってきたフルオラスケミストリーの技術の他、新しい反応場や反応媒体さらには触媒化学の技術を取り込むことによって環境にやさしい（環境調和型）有機合成反応の開発を行っている。

2012年度の研究成果

1) フルオラスミックスター合成法によるマイクロシクラミドGL546Bの全合成

シアノバクテリアが産生するシアノバクチン環状ペプチドであるマイクロシクラミドGL546AとGL546Bのジアステレオマーのフルオラスミック

スター合成を行った。合成した一方にジアステレオマーは天然のマイクロシクラミドGL546Bの物性値と一致し、マイクロシクラミドGL546Bの正しい構造は17R体であることを明らかにした。

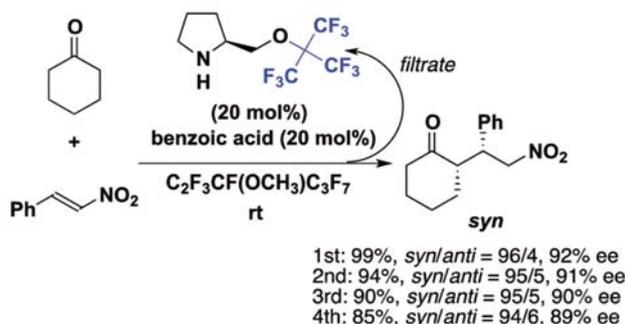


2) リサイクル型フルオラス不斉有機触媒反応の開発

リサイクル型のフルオラス触媒としてパーフルオロ *tert*-ブトキシメチルピロリジン を合成し、シクロヘキサノンとニトロオレフィン類の不斉マイケル付加反応を検討した。このフルオラスピロリジンはマイケル付加反応の高効率な触媒であり、高収率、高ジアステレオ選択的、高エナンチオ選

択性で*syn*-付加体を与えた。

フルオラス触媒は簡単なろ過操作によって分離・回収され、最低でも3回まで活性とエナンチオ選択性を失うことなく再使用できた。



Research projects and annual reports

1) Total synthesis of microcyclamide GL546B by fluororous mixture synthesis.

Microcyclamide GL546B is cyanobactin cyclic peptide isolated from cyanobacteria. Fluororous mixture synthesis of the diastereomers of microcyclamides GL546A and GL546B was achieved. Since one of the diastereomers exhibited identical physical properties to those reported for natural microcyclamide GL546B, the correct structure for micro microcyclamide GL546B was corrected to be 17*R*-form.

2) Development of recyclable fluororous organocatalytic reactions.

Perfluoro *tert*-butyloxymethyl pyrrolidine as a novel recyclable fluororous catalyst was synthesized and employed for in enantioselective Michael addition reaction of cyclohexanone to nitroolefins. The fluororous pyrrolidine catalyst was a highly efficient catalyst for the Michael addition reaction, leading to *syn*-adducts with high yields, diastereoselectivities, and enantioselectivities.

The fluororous catalyst was simply separated and recovered by filtration, and reused repeatedly at least three cycles without significant loss of activity and enantioselectivity.

学会発表

国際学会

1. First total synthesis and revision of absolute configuration of (-)-1,3,4,5-tetragalloylapiitol, Yutaka Nakamura, Masaru Kojima, Seiji Takeuchi, INSDH 2012 (The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health), P-47, September 16-17, 2012, Niigata, JAPAN.
2. 3,6-Dideoxy-3,6-Iminofuranoside Derivatives as Organocatalysts for the Asymmetric Michael Addition, Masaru Kojima, Yoshiaki Yasuno, Seiji Takeuchi, Yutaka Nakamura, 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P411, July 22-27, 2012, Madrid, Spain
3. 3,6-Dideoxy-3,6-Iminohexopyranosides as Organocatalysts for the Asymmetric Michael Addition, Masaru Kojima, Akishige Miyazawa, Yoshiaki Yasuno, Seiji Takeuchi, Yutaka Nakamura, 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P082, July 22-27, 2012, Madrid, Spain

国内学会

1. “アキラルな”カルボニル化合物から立体制御された3級および4級炭素の効率的構築法の開発研究, 佐藤 憲一, 小島 勝, 堀内 友貴, 松吉 俊彦, 赤井 昭二, 中村 豊, 日本化学会第93春季年会 (2013), 1E6-17 (平成25年3月22日~25日, 立命館大学びわこ・くさつキャンパス)
2. N,N-ビス(パーフルオロアルキル)ジアミン触媒による不斉マイケル付加反応, 中村 豊, 春日 達樹, 本間 綾香, 小島 勝, 武内 征司, 第64回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (新潟 (長岡) シンポジウム), E21 (平成24年12月1日~2日, 長岡技術科学大学)

3. パーフルオロ *tert*-ブトキシ基を導入したピロリジン誘導体を有機触媒とする不斉マイケル付加反応, 中村 豊, 渡辺 未希, 牛腸 明子, 小島 勝, 武内 征司, フルオラス科学研究会 第5回シンポジウム(仙台)(平成24年11月29日, 仙台)
4. 1,3-ジアキシャル構造を有する糖誘導体のエンド開裂反応におけるルイス酸の効果, 伊藤祐介, 小島 勝, 武内 征司, 中村 豊, 第31回日本糖質学会年会, P-082(平成24年7月17日~20日, 鹿児島)
5. フルオラスイミノ糖を有機触媒として用いた不斉マイケル付加反応, 安野喜明, 小島 勝, 武内 征司, 中村 豊, 第31回日本糖質学会年会, P-081(平成24年7月17日~20日, 鹿児島)
6. フルオラスタグ法を用いたSanguinamide Bの合成研究, 中村 豊, 石塚 雄也, 小島 勝, 武内 征司, 第63回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(理科大シンポジウム), C21(平成24年5月19日, 東京理科大学野田キャンパス)
7. 分岐フルオラスピロリジン触媒による不斉マイケル付加反応—触媒の回収・再利用の検討—, 中村 豊, 渡辺 未希, 小島 勝, 武内 征司, 第63回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(理科大シンポジウム), A16(平成24年5月19日, 東京理科大学野田キャンパス)
8. プロリノールフルオロアルキルエーテル触媒によるシクロヘキサノンとニトロオレフィンの不斉マイケル反応, 渡辺 未希, 中村 豊, 小島 勝, 武内 征司, 日本化学会第92春季年会(2012), 平成24年3月25日~28日, 慶應義塾大学日吉・矢上キャンパス

9. ミクロシクラミド GL546AとGL546Bの全合成研究:フルオラスミックスター合成法による報告された構造の合成, 渡辺 雅史, 中村 豊, 小島 勝, 武内 征司, 日本化学会第92春季年会(2012), 平成24年3月25日~28日, 慶應義塾大学日吉・矢上キャンパス

その他特記事項

1) 外部資金

科研費

基盤研究(C)

課題名: 海洋シアノバクテリア由来環状デプシペプチドグラッシィペプトリド類の全合成研究

研究代表者: 中村 豊

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)

「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と、その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成(研究分担者) 研究課題「クネーフェナーゲル縮合を鍵反応とするフェニルエタノイド配糖体の合成研究」中村 豊, 小島 勝(研究代表者: 小西 徹也)

2) 学外活動

学会活動

中村 豊: 日本化学会, アメリカ化学会, 有機合成化学協会(関東支部幹事), 国際複素環化学会, フルオラス科学研究会

小島 勝: 日本化学会, 有機合成化学協会, 日本糖質学会

学外活動(公的機関)

中村 豊: 新津工業高校学校評議員

学外活動(その他)

1. 中村 豊: 第12回高校生ものづくりコンテスト化学部門新潟県大会審査員(7/14)

2. 中村 豊：新津工業高校デュアルシステムインターンシップ 2名受け入れ (7/23-8/5)
3. 中村 豊：第12回高校生ものづくりコンテスト化学部門全国大会審査員 (11/18)
4. 中村 豊：小出高校出張講義 (3/4)
5. 中村 豊：新津工業高校意識啓発講演会講師 (3/14)

応用微生物学研究室

Laboratory of Applied Microbiology

■ 准教授 高久洋暁 Assoc. Prof. Hiroaki TAKAKU, Ph.D.

■ 助教 山崎晴丈 Assist. Prof. Harutake YAMAZAKI, Ph.D.



- ・植物ディフェンシン蛋白質の作用メカニズム解析
- ・組換え大腸菌を利用した糖からの芳香族化合物前駆体の高発酵生産



- ・ Biorefinary
- ・ antifungal peptide
- ・ yeast
- ・ *Escherichia coli*

研究概要

1) 植物ディフェンシン蛋白質の作用メカニズム解析

稲いもち病菌 *Magnaporthe grisea*, カンジダ症原因菌 *Candida albicans* に抗菌作用を示す新規抗菌剤として付加価値の高いカラシナ由来ディフェンシン蛋白質の作用メカニズムの解析を行う。

2) 組換え大腸菌を利用した糖からの芳香族化合物前駆体 2-deoxy-scylo-inosose (DOI) の高発酵生産

バイオマスを原料として生産するバルク化学品において、エチレン、プロピレン類はバイオエタノール誘導品として生産可能であるが、芳香族類に関しては手付かずに近い状態であり、開発は急務である。そこで簡単に芳香族化合物 2 価フェノールに変換することができる有用化学原料 DOI の微生物による高生産システムの構築を行う。

2012年度の研究成果

1) 植物ディフェンシン蛋白質の作用メカニズム解析

植物ディフェンシンは、細菌及び真菌に抗菌活

性を示す小さく、塩基性で、システインに富むペプチドである。植物ディフェンシンは、植物の自然免疫系の一部であり、真菌や細菌への防御機能を担っている。昨年までに、我々は、カラシナ由来のディフェンシン AFP1 の精製と特徴解析を行ってきた。我々は、酵母 *Pichia apstoris* を利用して組換え AFP を生産させ、精製し、酵母 *Kluyveromyces lactis*, ヒト病原菌 *Candida albicans* に対して生育を阻害することを明らかにしている。また、AFP1 は、高い耐熱性と pH 耐性の特性をもつ抗菌蛋白質である。さらに、細胞膜上に局在するグルコシルセラミドが、AFP1 が *C. albicans* の生育阻害するためには必須であることも明らかにしている。

本年度は、AFP1 の酵母に対する生理学的な効果を明らかにするために、細胞膜脱分極化の指示薬 DiBAC4(3) と ROS 産生の指示薬 DCFHDA を利用して、細胞内の状態を調べた。AFP1 の濃度依存的に細胞内の DiBAC4(3) 及び DCFHDA の蛍光レベルは上昇し、さらに生育阻害の程度も大きくなり、生菌数の減少が見られた。すなわち、膜の脱分極化、ROS の産生は、*C. albicans* の細胞死の起因の一つである。

また、膜の脱分極化と ROS の産生のどちらが直接、細胞の生菌率に影響をきたしているかを、膜の脱分極化の捕捉剤である CCCP と ROS 産生の捕捉

剤であるアスコルビン酸を*C. albicans*の生育を阻害しない程度に添加し、菌の生育と生菌について調べた。その結果、膜の脱分極化がROS産生を誘導し、ROS産生が生菌率に影響を与えることが明らかとなった。

2) 組換え大腸菌を利用した糖からの芳香族化合物前駆体2-deoxy-scyllo-inosose (DOI) の高発酵生産

2-デオキシシロイノソース (DOI) は、*Bacillus circulans*のアミノグリコシド系抗生物質合成経路の鍵酵素であるDOI合成酵素により、グルコース-6-リン酸 (G6P) から合成される炭素6員環構造を持つ芳香族化合物前駆体である。DOIは簡単にカテコール、ハイドロキノンのような重要な工業原料の2価フェノールに化学合成変換することができる。昨年までに、我々は、代謝工学的に改変した大腸菌株 ($\Delta pgi\Delta zwf\Delta pgm$ /DOIS) を用いて、至適条件下で50gのグルコースから45.1gのDOIの発酵生産に成功している。

本年度は、我々は、培養時間の短縮化のために高活性型のDOI合成酵素の取得を目指した。高活性型のDOI合成酵素を取得するために、ランダムに変異を導入するPCR法と組換え大腸菌によるDOI生産の定量法を組み合わせたスクリーニングシステムを構築した。変異ライブラリーを導入した大腸菌クローン1107クローンをスクリーニングした結果、野生型と比較してこのDOI生産性を示す7クローンを見いだした。その中でも特にDOI生産性が高かったクローンは、293番目のトリプトファンがアルギニンに置換されていた。この変異型酵素を大腸菌で生産させ、精製し、その酵素特性を野生型酵素と比較した。その結果、基質親和性を示すKm値は、変異型DOI合成酵素W293Rの方が野生型DOI合成酵素よりも1.9倍程度大きい値を示し、基質親和性が低いことが明らかとなった。しかしながら、酵素の代謝回転能を示すKcat値は、変異型DOI合成酵素W293Rの方が野生型DOI合成酵素よりも4倍程度大きい値を示し、代謝回転能が高いことが示され、総合的に酵素の能

力を示すKcat/Km値は、変異型DOI合成酵素W293Rの方が野生型DOI合成酵素よりも2倍程度大きな値を示し、W293Rの変異は、酵素の代謝回転に大きな影響をきたしていることが推測された (表1)。

表1 野生型DOI合成酵素と変異型DOI合成酵素の特性の比較

	Km (M)	Vmax	Kcat (sec ⁻¹)	Kcat/Km (M ⁻¹ s ⁻¹)
野生型	7.07 x 10 ⁻³	6.91 x 10 ⁻⁴	6.70 x 10 ⁻²	9.5
変異型	1.32 x 10 ⁻²	4.05 x 10 ⁻³	2.70 x 10 ⁻¹	20.4

Research projects and annual reports

1) Analysis of molecular mechanism of the plant defending AFP1

Plant defensins, which possess antifungal and/or antibacterial activity, are small (45 to 54 amino acids), basic, and cysteine-rich peptides. Plant defensins are part of the innate immune system of plants, and they function in the protection of plants against fungal and bacterial pathogens. By last year, we purified and characterized AFP1, a plant defensin from *Brassica juncea*. We produced the functional recombinant Rs-AFP1 (rRs-AFP1) using the yeast *Pichia pastoris* heterologous expression system and purified. Recombinant AFP1 (rAFP1) inhibited the growth of yeast species *Kluyveromyces lactis*, human fungal pathogen *Candida albicans*. The biological function of rAFP1 was found highly stable in extremes pH (range from 3 to 11) and temperature (upto 100 °C) conditions. We also reported that the fungal sphingolipid glucosylceramide (GlcCer) is essential for AFP1-mediated growth inhibition of yeast *C. albicans*.

In this year, to understand the physiological effects of rAFP1 treatment, we observed the fluorescent levels of DiBAC4(3) and DCFHDA, which are indicators of membrane permeabilization and ROS production, respectively, after the treatment with rAFP1. The

fluorescent levels of DiBAC4(3) and DCFHDA significantly increased with the rAFP1 concentration, which correlated with the growth inhibition and the loss of cell viability, demonstrating that membrane permeabilization and/or ROS production induced by rAFP1 treatment causes *C. albicans* cell death.

To clarify whether membrane permeabilization or ROS production directly affects cell viability, we used CCCP and ascorbic acid, which prevent membrane permeabilization and ROS production, respectively. The growth of cells treated with 4 μ M CCCP or 100mM ascorbic acid was almost same as that of non-treated cells, indicating that both reagents do not affect the growth of *C. albicans* cells. We observed that 4 μ M CCCP or 100 mM ascorbic acid treatment repressed the effect of rAFP1 on cell growth and cell viability. While CCCP significantly reduced the fluorescent level of the DiBAC4(3)- and DCFHDA-stained cells treated with rAFP1, ascorbic acid significantly reduced only that of the DCFHDA-stained cells. These results demonstrate that after rAFP1 treatment, plasma membrane permeabilization induces ROS production but not vice versa, and that ROS production but not membrane permeabilization does affect the yeast cell viability.

2) Metabolic Engineering of *Escherichia coli* for Enhanced Production of 2-Deoxy-scyllo-inosose (a Precursor for Aromatic compounds) from Glucose

2-deoxy-scyllo-inosose (DOI) is a six-membered carbocycle formed by the multi-step direct cyclization of glucose-6-phosphate (G6P) catalyzed by 2-deoxy-scyllo-inosose synthase (DOIS), a key enzyme in the biosynthesis of aminocyclitol antibiotics in *Bacillus circulans* and is valuable as a precursor for aromatic compounds. DOI can also be conveniently converted by rather simple chemical reactions into benzenediols such as catechol and hydroquinone, which are important industrial chemicals. By last year, we reported that metabolically engineered recombinant *E. coli* strain (Δ pgi Δ zwf Δ pgm /DOIS) could produce DOI at 45.1

g/L from glucose 50 g/L under the optimum conditions.

In this year, we tried to obtain the DOI synthase with high activity for shortening the culture time. To screen the mutated DOIS with high activity, a screening system for mutational analysis of DOIS was developed by combining PCR random mutagenesis with measuring the DOI production level of recombinant *E. coli*. When *E. coli* Δ pgi was transformed with the plasmid of mutant library, 1107 clones were measured, and the DOI productions of seven clones were higher than that of wild-type clone, respectively. The highest clone in the DOI production has the substitutions of natural residues Trp293 by arginine (W293R). Mutant enzyme W293R was overproduced in *E. coli* cells and purified to give a single band on the SDS-PAGE. The kinetic parameters of the mutant enzyme for the synthesis of DOI are shown in Table 1. The Km value of W293R was larger than that of wild-type enzyme by 1.9-fold, while the Kcat value of W293R was larger than that of wild-type enzyme by 4.0-fold. These results indicate that enzyme activity is enhanced by the improvement of catalytic efficiency, not substrate binding affinity.

発表論文

Sagehashi Y, Oguro Y, Tochihara T, Oikawa T, Tanaka H, Kawata M, Takagi M, Yatou O, Takaku H 「Purification and cDNA cloning of a defensin in *Brassica juncea*, its functional expression in *Escherichia coli*, and assessment of its antifungal activity」 *J. Pestic. Sci.* 38(1):33-38(2013)

著書および総説

高久 洋暁, 宮崎 達雄, 脇坂 直樹, 山崎 晴丈, 鯨坂 勝美, 高木 正道 「合成生物学の隆起－有用物質の新たな生産法構築をめざして－有用化学工業原料中間体2-deoxy-scyllo-inosose (DOI) の発酵高生産とその利用」シーエムシー出版, pp169-179(2012)

招待講演, シンポジウム等

高久 洋暁:「組換え大腸菌によるバイオマスからの芳香族化合物前駆体の高効率発酵生産」バイオマス利活用技術に関する討論会/大阪市立大学バイオマス検討会/化学工学会バイオ部会関西・東海地区交流会/大阪市立大学/2012年12月21日

学会発表

国際学会

Takaku H., Oguro Y., Yamazaki H. and Takagi M. 「Future Prospects of plant defensin Rs-AFP1 as a food preservative agent」 The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health, Niigata, Japan, 15-17 Oct 2012

国内学会

1. 荒 学士, 脇坂 直樹, 山崎 晴丈, 高木 正道, 高久 洋暁「酵母*Pichia pastoris*による糖からの芳香族化合物前駆体の高発酵生産」日本生物工学会, 神戸, 2012年10月24日
2. 提著 祥幸, 高久 洋暁, 矢頭 治「イネディフェンシン由来ペプチドはヒト日和見感染菌*Candida albicans*に抗菌活性を示す」日本生物工学会, 神戸, 2012年10月25日
3. 田邊 聡, 柳場 まな, 河田 学, 長沼 孝文, 飯村 穰, 鈴木 俊二, 正木 和夫, 小笠原 渉, 高久 洋暁, 高木 正道「低価値な再生可能資源を利用した酵母*Lipomyces*による油脂生産—農産(廃棄)物からの油脂生産」日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 新潟, 2012年10月27日
4. 岩澤 裕喜, 脇坂 直樹, 山崎 晴丈, 高木 正道, 高久 洋暁「高活性型, 2-deoxy-scyllo-inosose (DOI) 合成酵素W293Rの改変」日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 新潟,

2012年10月27日

5. 竹田 美春, 佐藤 拓, 山崎 晴丈, 高木 正道, 高久 洋暁「高活性型2-deoxy-scyllo-inosose 合成酵素の取得」日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 新潟, 2012年10月27日
6. 荒 学士, 脇坂 直樹, 山崎 晴丈, 高木 正道, 高久 洋暁「酵母*Pichia pastoris*による糖からの芳香族化合物前駆体の高発酵生産」日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 新潟, 2012年10月27日
7. 小黒 芳史, 山崎 晴丈, 高木 正道, 高久 洋暁「植物抗菌性蛋白質AFP1の標的認識部位の同定」日本農芸化学会2013年度大会, 仙台, 2013年3月26日
8. 提著 祥幸, 高久 洋暁, 矢頭 治「イネディフェンシン由来ペプチドのヒト日和見感染菌*Candida albicans*に対する抗菌活性評価とアミノ酸置換効果の検証」日本農芸化学会2013年度大会, 仙台, 2013年3月27日

その他特記事項

1) 外部資金

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)
「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と、その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成(研究分担者) 研究課題「ファインケミカル原料の微生物生産」高久 洋暁, 山崎 晴丈(研究代表者:小西 徹也)

受託/共同研究(民間)

高久 洋暁: 2件

その他研究費

1. 環境省, 環境研究総合推進費
研究課題:「微生物を利用した地域バイオマス

キノコ廃菌床からの化学工業原料生産システムの開発」

研究代表者：高久 洋暁

研究分担者：山崎 晴丈

2. JST, 研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) フィージビリティスタディ【FS】ステージ

研究課題：「低炭素型社会に向けた酵母による糖からの化学工業原料前駆体の発酵生産」

研究代表者：高久 洋暁

研究分担者：山崎 晴丈

3. JST, 研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) フィージビリティスタディ【FS】ステージ

研究課題：「低炭素社会を目指した大腸菌による糖からの芳香族アミン前駆体の発酵生産」

研究代表者：高久 洋暁

研究分担者：山崎 晴丈

2) 学外活動

学会活動

高久 洋暁：日本農芸化学会，日本生物工学会，日本分子生物学会，日本RNA学会，酵母遺伝学フォーラム，新産業酵母研究会（運営委員，会計），バイオマス利活用研究会（幹事）

山崎 晴丈：日本農芸化学会，日本生物工学会，酵母遺伝学フォーラム，酵母細胞研究会，新産業酵母得研究会

学外活動（その他）

1. 高久 洋暁：SSH課題講師（新潟南高校）
2. 高久 洋暁：日本農芸化学会関東支部2012年度大会 実行委員
3. 高久 洋暁：第2回バイオマス&エネルギー expo in 新潟（幹事）

4. 高久 洋暁：教員免許状更新講習「遺伝子組換え技術の進展と将来展望」，2012年12月1日，新潟薬科大学

5. 高久 洋暁：第64回日本生物工学会シンポジウムオーガナイザー「多様な酵母の研究に期待する」，2012年10月25日

6. 高久 洋暁：平成24年度やまなし産学官連携研究交流事業研究発表会「低価値な再生可能資源を利用した油脂酵母*Lipomyces*による植物性油脂の生産」

食品分析学研究室

Laboratory of Functional and Analytical Food Sciences

■ 教授 佐藤 眞治 Prof. Shinji SATO, Ph.D.



抗肥満作用・血糖値上昇抑制作用・血圧上昇抑制作用を有する機能性食品の開発



・抗肥満作用 ・血糖値上昇抑制作用 ・血圧上昇抑制作用
・グリセミックインデックス



研究概要

メタボリック症候群予防・改善機能を持つ食品素材，因子の研究

糖尿病，高血圧，高脂血症などのメタボリック症候群（生活習慣病）を予防するためには，内臓脂肪蓄積型の「肥満症」の発症を予防し，インスリン抵抗性の惹起を阻止することが非常に重要である。本研究では血糖値調整および脂質代謝異常改善に作用する食品因子，素材の動物，細胞レベルの機能評価を通してメタボリック症候群予防機能食品の開発に繋げる。インスリン抵抗性は高血糖状態が長期間持続することによって惹起されるため，食後の血糖値の変動をより厳密に管理することが必要となる。摂食後の急激な血糖値の上昇を抑制し，インスリン抵抗性の惹起を阻止する食品の開発を企業連携で進め，機能評価を行うと共に，セカンドミール効果など食育にも資する現象の機構解明を進める。

2012年度の研究成果

食物繊維を含有するマイタケ熱水抽出物質（YM-11）の摂取が便秘傾向成人女性の排便状況に及ぼす影響

便秘傾向成人女性37名（年齢 36.8 ± 7.2 歳）を対象に，64%の食物繊維を含むマイタケ熱水抽出物質を摂取することによる排便状況の改善効果について検討を行った。被験者を対照（プラセボ食）・低用量（YM-11摂取量として1.56 g/日）・中用量（YM-11摂取量として3.12 g/日）・高用量（YM-11摂取量として6.24 g/日）食品摂取群 [CG・LG・MG・HG] の4群に分け，6週間の試験期間を4期に分けた。第Ⅰ期は前観察期間として1週間の非摂取期間を設定した。第Ⅱ期はデキストリンをプラセボ食として用い，対照食摂取期間として全群がプラセボ食を2週間摂取した。第Ⅲ期は非摂取期間として1週間摂取を休止した。第Ⅳ期は試験食摂取期間として試験食を2週間摂取した [CG・LG・MG・HG]。被験者に日誌を渡して排便回数，排便日数，排便指標，便の形状，便の色，便の臭いおよび排便後感覚を試験期間中毎日記入させた。その結果，YM-11を3.12 g/日摂取したMGの排便日数がCGの排便日数に比べ有意に増加することおよびYM-11の摂取によって目立った胃腸症状や臨床学的に問題となる症状は認められないことが明らかとなった。以上の結果は，YM-11が便秘改善効果を期待できる食品であることを示している。

ラットにおけるイソマルチュロースの満腹感持続作用

スクロースの構造異性体であるイソマルチュロースは、小腸でゆっくりと消化される糖質として知られている。摂食行動には様々な要因が関わっているが、食品中の栄養成分の消化速度と摂食調節との関連性については明らかになっていない。そこで、ラットの摂食行動に及ぼすイソマルチュロースの影響について検討を行った。その結果、イソマルチュロース投与後24時間の摂餌量及び総エネルギー摂取量は、コントロール群に比べ有意に減少することが明らかとなった。また、胃内容物排出速度はコントロール群に比べ低下する傾向にあり、血糖値と血漿中インスリン濃度の上昇はスクロース群に比べ有意に抑制された。以上の結果は、消化速度の遅いイソマルチュロースが満腹感を持続させる作用を有することを示しており、食欲コントロールに有用である可能性が示唆された。

Research projects and annual reports

The effect of a hot water-soluble extract of *Grifola frondosa*, rich in dietary fiber (YM-11), on defecation in 37 female volunteers (age 36.8 ± 7.2 years) with a tendency to be constipated.

We examined the effect of a hot water-soluble extract of *Grifola frondosa* powder, containing 64 % dietary fiber (YM-11), on defecation in 37 female volunteers (age 36.8 ± 7.2 years) with a tendency to be constipated. The subjects were divided into four groups: control group (placebo diet only) [CG], low-dose group (YM-11 1.56 g/day) [LG], middle-dose group (YM-11 3.12g/day) [MG] and high-dose group (YM-11 6.24g/day) [HG]. The study duration of 6 weeks was divided into 4 periods. First period [I] was pre-test non-intake period [one week]. Second period [II] was placebo diet intake period [two weeks]. Digestible dextrin was given as a placebo diet. All groups were given a placebo diet for two weeks. Third period [III] was a washout, non-intake period [one week]. Fourth

period [IV] was test diet intake period [two weeks] for CG, LG, MG and HG. The subjects filled out daily questionnaires concerning their defecation conditions for the entire six weeks. It was found that the number of days with defecation in the MG group was significantly increased during period IV when compared with CG. No deleterious effects were recognized during the studies. These results suggested that YM-11 is a food material with constipation-relieving effects.

Sustained effect of isomaltulose on a feeling of satiety in rats

Isomaltulose, which is a structural isomer of sucrose, is digested slowly in the small intestine. Although various factors are concerned with feeding behavior, the relationship between the digestion rate of the nutrients in food and feeding regulation is unknown. We examined the effect of isomaltulose on feeding behavior in rats. The food and total energy intakes were measured during the light (7:00-19:00) and dark (19:00-7:00) periods after the administration of test sugar at 7:00 and 19:00. The results showed that the food and total energy intakes during 24 hours were significantly decreased in isomaltulose group compared with control group. We also measured gastric emptying rate and blood components after the administration of test sugar. Gastric emptying rate in isomaltulose group had a tendency to be slower than that in control group. Isomaltulose group was significantly lower plasma glucose and insulin levels than sucrose group. From these results, it was suggested that isomaltulose had the prolonged effect of the satiety and would be likely to be beneficial for appetite control.

発表論文

1. 食物繊維を含有するマイタケ熱水抽出物質 (YM-11) の摂取が便秘傾向成人女性の排便状況に及ぼす影響, 川面 香奈, 佐藤 眞治, 田中 昭弘, 吉野 史彦, 伊藤 蘭, 小西 徹

也, 日本食物繊維学会誌, 第16巻, 19-25, (2012)

2. 市中病院におけるDPP-4阻害剤シタグリプチンの安全性評価, 井上 裕, 荒川 倫世, 磯田明広, 井澤 正義, 佐藤 眞治, 瀬戸山敏幸, 村田 勇, 金本 郁男, Progress in Medicine, 第32巻, 181-185, (2012)

著書および総説

「安全と健康が確保された高齢者就労を可能とする社会づくり推進研究」, 2013年, 新潟市発行, 共著, (担当部分) 佐藤 眞治, 伊藤美千代「オーストラリアとニュージーランドにおける高齢者就労の実態および支援策」, p. 58-72

学会発表

国際学会

1. Effect of isomaltulose on liver and skeletal muscle glycogen accumulation in rats, Katsumi Sasagawa, Shigeru Mineo, Hiroshi Nishida, Shinji Sato, The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health, October 16, 17, 2012, Toki Messe, Niigata
2. Prevention of metabolic syndrome and second meal effect, Shinji Sato, The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health, October 16, 17, 2012, Toki Messe, Niigata

国内学会

1. 2型糖尿病モデルラットにおけるカカオ成分の内臓脂肪蓄積抑制効果, 小堀 欣司, 峰尾茂, 佐藤 眞治, 小西 徹也, 第66回日本栄養・食糧学会大会, 平成24年5月18~20日, 東北大学, 仙台
2. 日本酒蒸発乾固成分摂取によるエタノール代謝促進効果, 佐藤優太郎, 土田 啓明, 佐藤克成, 小西 徹也, 佐藤 眞治, 第59回日本

食品科学工学会, 平成24年8月29~31日, 藤女子大学, 札幌

3. 米飯摂取後の血糖プロファイルに及ぼすダチョウ肉の影響, 竹内 康浩, 佐藤 克成, 佐藤優太郎, 金本 郁男, 井上 裕, 青木 敏弘, 宮地 登三, 佐藤 眞治, 第50回日本糖尿病学会関東甲信越地方会, 平成25年1月26日, パシフィコ横浜会議センター, 横浜
4. 自然発症高血圧ラットにおける米穀由来成分の血圧上昇抑制効果とインスリン抵抗性改善効果, 腰越香保里, 内海 竜也, 佐藤 眞治, 日本食品科学工学会平成25年度関東支部大会, 平成25年3月9日, 東京農業大学, 東京
5. 高脂肪高シヨ糖給餌ラットにおける米穀由来成分の抗肥満効果とインスリン抵抗性改善効果, 菅沼 葉月, 内海 竜也, 佐藤 眞治, 日本食品科学工学会平成25年度関東支部大会, 平成25年3月9日, 東京農業大学, 東京
6. 脂肪高シヨ糖給餌ラットにおける雑穀の生活習慣病予防効果, 寺岡 未彩, 佐藤 眞治, 日本食品科学工学会平成25年度関東支部大会, 平成25年3月9日, 東京農業大学, 東京
7. 3T3-L1脂肪細胞に対する短梗五加抽出物質の作用, 西田美也子, 深井 一子, 永塚 貴弘, 佐藤 眞治, 西田 浩志, 小西 徹也, 日本農芸化学会平成25年度大会, 平成25年3月24~27日, 東北大学, 仙台
8. イソマルチュロースが運動時のグリコーゲン蓄積に及ぼす影響, 笹川 克己, 石川 修平, 峰尾 茂, 西田 浩志, 佐藤 眞治, 平山 匡男, 日本農芸化学会平成25年度大会, 平成25年3月24~27日, 東北大学, 仙台
9. 高脂肪高シヨ糖ラットにおけるカフェインの

抗糖尿病効果, 今泉 友里, 若月 香, 佐藤眞治, 日本薬学会第133年会, 平成25年3月27~30日, パシフィコ横浜, 横浜

10. 摂食後の血糖値と血中インスリン濃度に及ぼすダチョウ肉の影響, 竹内 康浩, 青木 敏弘, 宮地 登三, 佐藤 克成, 佐藤優太郎, 佐藤眞治, 日本薬学会第133年会, 平成25年3月27~30日, パシフィコ横浜, 横浜

その他特記事項

1) 外部資金

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)
「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と, その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成(研究分担者) 研究課題「イソマルチュロースがグリコーゲン蓄積に及ぼす影響」佐藤 眞治(研究代表者:小西 徹也)

受託/共同研究(民間)

佐藤 眞治 4件

その他研究費

新潟市大学連携「超高齢社会への対応」研究事業,
「安全と健康が確保された高齢者就労を可能とする社会づくり推進研究」, 研究分担者

2) 学外活動

学会活動

日本薬学会, 日本栄養・食糧学会, 日本食品科学工学会, 日本食物繊維学会, 日本農芸化学会, 日本体力医学会, 日本分析化学会, 新潟県食品技術研究会, 日本GI研究会, The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health (Committee Member)

学外活動(公的機関)

公私立大学実験動物施設協議会 代議員

学外活動(その他)

北陸ガス主催「ガス展」内『大学は美味しい!!』フェア in 新潟 講演「メタボリック症候群を予防する食生活」平成24年10月13日, 14日, アオーレ長岡

The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health, Committee Member, October 15 - 17, 2012

青少年のための科学の祭典 新潟県大会, アオーレ長岡, 平成25年2月9~10日

日本食品科学工学会 関東支部大会, ポスター発表優秀賞「高脂肪高ショ糖給餌ラットにおける雑穀の生活習慣病予防効果(発表者:寺岡未彩)」平成25年3月9日, 東京農業大学世田谷キャンパス

栄養生化学研究室

Laboratory of Nutritional Biochemistry

■ 准教授 西田 浩志 Assoc. Prof. Hiroshi NISHIDA, Ph.D.

■ 助教 永塚 貴弘 Assist. Prof. Takahiro EITSUKA, Ph.D.



健康維持および病態改善に貢献できる食品成分の探索とその生化学的メカニズムの解析



・ 抗腫瘍 ・ 抗酸化 ・ 脂質代謝 ・ 免疫制御 ・ アンチエイジング

研究概要

人の健康における“食”の役割は大きい。なかでも栄養については、その重要性が極めて大きく、これまで生体内で生合成できない栄養素をいかに効率よく摂るかというクラシックな研究が多く進められてきた。しかし近年では、食品およびその成分の新たな「機能性」を見出し健康維持や疾病予防に寄与するという新しい観点に移行して来ていることは周知である。本研究室では、既知および未知の食品成分による生理作用を生化学的な解析や遺伝子発現解析（ニュートリゲノミクス）を応用することで、人の健康維持および疾病予防につながるための情報集積や健康戦略の構築を行うことを目的とした研究を進めてきた。また、脂質・糖質・タンパク質代謝制御に加えて、機能成分による抗ガン作用や高血圧作用についても研究を行っている。

2012年度の研究成果

1) 抗酸化食品AOBによるガン細胞のDNA損傷 チェックポイントシグナルの活性調節

抗酸化機能を主体とした、野菜や穀物の混合物を発酵した製品（AOB）が単に抗酸化作用を示す

だけで無く、DNA損傷応答反応に関わる酵素の活性を調節することを見出した。AOBは抗ガン剤によるDNA損傷に伴うDNAの修復機能に重要な酵素であるATMとATRの活性を阻害することで、抗ガン剤の細胞毒性を飛躍的に高めることを初めて示す結果を得た。

2) 糖化リン脂質によるテロメラーゼの活性化

糖尿病患者はガンに罹りやすいことが報告されているが、その機構はほとんど明らかになっていない。糖尿病患者に高蓄積する糖化リン脂質のガンに対する影響を調べた結果、糖化リン脂質がガン細胞の無限増殖に関わる酵素テロメラーゼを活性化する作用のあることを世界に先駆けて発見した。

3) 近赤外線による非温度依存的なガン細胞死の誘導

近赤外線によるガン細胞の非温度依存的な増殖抑制作用はこれまで詳細な報告が無かった。我々は近赤外線の中でも水に吸収されない特別な波長帯を用いてガン細胞の増殖抑制を試みたところ、近赤外線が非温度依存的にガン細胞のDNA損傷を誘導して細胞死に至らしめることを初めて見出した。

Research projects and annual reports

1. Manipulation of DNA damage checkpoint signaling in cancer cells by antioxidant biofactor (AOB).

Antioxidant biofactor (AOB) is one of the fermented grain food supplements commercially available in Japan and other countries. Herein, we investigated the effect of AOB on the UVC(254 nm) induced DNA damage in A549 cells. Both distilled water and MeOH extracts of AOB did not show any significant cell toxicity. However, the UV(25-75 J m⁻²) induced cell death was amplified in the presence of these extracts, especially the MeOH extract. When the DNA damage was evaluated by comet assay, the AOB water extract prevented the UV induced DNA damage at the initial stage but significantly inhibited the repair process, especially in the cells exposed to a high dose of UV. The retardation of DNA repair was significantly higher in the presence of the MeOH extract, concentrating such components as caffeine and polyphenols, and thus the damage was enhanced both in the cells irradiated by low and high doses of UV. The DNA damage profile was consistent with the inhibitory profile of ATR, a key kinase of DNA damage checkpoint signaling. The AOB MeOH extract markedly reduced the phosphorylation level of the checkpoint proteins activated by UV, such as p53, SMC1 and Chk1, together with ATR. The inhibitory effect of the AOB water extract was less effective as compared to the MeOH extract, but was dose-dependent both in the cells irradiated with high and low doses of UV. The dual role of AOB as an antioxidant and a checkpoint modulator suggests its beneficial use in complementary medicine as a potential sensitizer of anticancer treatment.

2. Amadori-glycated phosphatidylethanolamine up-regulates cellular telomerase activity in PANC-1 human pancreatic carcinoma cells.

Several lines of experimental data have highlighted a

key role of Amadori-glycated phosphatidylethanolamine (Amadori-PE) in the development of diabetic complications. Recent epidemiological studies suggest that diabetes mellitus could be a risk factor for some cancers. A characteristic of cancer cells is their immortal phenotype, and the enzyme telomerase contributes to the infinite replicative potential of cancer cells. The purpose of this study was to obtain new information about the effect of Amadori-PE on the regulation of telomerase in PANC-1 human pancreatic carcinoma cells. Amadori-PE enhanced cellular telomerase in a time- and dose-dependent manner by up-regulating hTERT expression through induction of c-myc. These results provide experimental evidence for a novel role of Amadori-PE in linking diabetes and cancer.

3. Non-thermal DNA damage of cancer cells using near-infrared irradiation.

Previously, we reported that near-infrared irradiation that simulates solar near-infrared irradiation with pre- and parallel-irradiational cooling can non-thermally induce cytotoxic effects in cancer cells. To explore these effects, we assessed cell viability, DNA damage response pathways, and the percentage of mitotic cancer cells after near-infrared treatment. Further, we evaluated the anti-cancer effects of near-infrared irradiation compared with doxorubicin in xenografts in nude mice by measuring tumor volume and assessing protein phosphorylation by immunoblot analysis. The cell viability of A549 lung adenocarcinoma cells was significantly decreased after three rounds of near-infrared irradiation at 20 J/cm². Apoptotic cells were observed in near-infrared treated cells. Moreover, near-infrared treatment increased the phosphorylation of ataxia-telangiectasia mutated (ATM) at Ser(1981), H2AX at Ser(139), Chk1 at Ser(317), structural maintenance of chromosome (SMC) 1 at Ser(966), and p53 at Ser(15) in A549 cells compared with control. Notably, near-infrared treatment induced the formation of nucleic foci of γ H2AX. The percentage of mitotic

A549 cells, as measured by histone H3 phosphorylation, decreased significantly after three rounds of near-infrared irradiation at 20 J/cm². Both near-infrared and doxorubicin inhibited the tumor growth of MDA-MB435 melanoma cell xenografts in nude mice and increased the phosphorylation of p53 at Ser(15), Chk1 at Ser(317), SMC1 at Ser(966), and H2AX at Ser(139) compared with control mice. These results indicate that near-infrared irradiation can non-thermally induce cytotoxic effects in cancer cells as a result of activation of the DNA damage response pathway. The near-infrared irradiation schedule used here reduces discomfort and side effects. Therefore, this strategy may have potential application in the treatment of cancer.

発表論文

1. Tatewaki N, Bhilwade HN, Nishida H, Nakajima Y, Konishi T, Manipulation of DNA damage checkpoint signaling in cancer cells by antioxidant biofactor. , *Food Funct.*, 4, 63-73, 2013
2. Eitsuka T, Nakagawa K, Ono Y, Tatewaki N, Nishida H, Kurata T, Shoji N, Miyazawa T. ,Amadori-glycated phosphatidylethanolamine up-regulates telomerase activity in PANC-1 human pancreatic carcinoma cells., *FEBS Lett.*, 586, 2542-2547, 2012
3. Tanaka Y, Tatewaki N, Nishida H, Eitsuka T, Ikekawa N, Nakayama J. Non-thermal DNA damage of cancer cells using near-infrared irradiation., *Cancer Sci.*, 10, 1467-1473, 2012

著書および総説

Takahiro Eitsuka, Kiyotaka Nakagawa, Hiroshi Nishida, Tada, Teruo Miyazawa “Amadori-glycated phosphatidylethanolamine increases cellular telomerase activity –A link between diabetes and cancer-” Research

Communication for *IMARS Highlights* 8,24-25 (2013)

招待講演, シンポジウム等

西田 浩志 : 33th Annual Conference of Environmental Mutagen Society Of India (EMSI) and National Conference on Current Perspectives on Environmental Mutagenesis and Human Health, India, Jan.29th,2013

学会発表

国際学会

1. Effect of Isomaltulose on liver and skeletal muscle glycogen accumulation in rats., Sasagawa K, Mineo S, Nishida H, Hirayama M., The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health, (Oct. 15-17th, 2012 @ Niigata, Japan)
2. The protective effect of Squalene on inflammatory responses in BALB/c mice..Tatewaki N, Eitsuka T, Konishi T, Nishida H, The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health, (Oct. 15-17th, 2012 @ Niigata, Japan)
3. The effect of Schisandrin on DNA damage checkpoint induced by heavy ion., Nishida H, 33th Annual Conference of Environmental Mutagen Society Of India (EMSI) and National Conference on “Current Perspectives on Environmental Mutagenesis and Human Health, (Jan. 28-30th, 2013 @ Mumbai, India)
4. “Amadori-glycated phosphatidylethanolamine up-regulates telomerase activity –A link between diabetes and cancer-” Takahiro Eitsuka, Kiyotaka Nakagawa, Hiroshi Nishida, Tadao Kurata, Teruo Miyazawa, The 6th International Symposium on Diet and Health, Niigata, October 16-17 (2012)

国内学会

1. ボイセンベリー果汁および果実酢の経口投与による血圧降下作用, 古内 亮, 松嶋 全人, 永井 聡, 白井まりえ, 横山 忠幸, 西田 浩志, 平山 匡男 (日本栄養・食糧学会2012年度大会, 5/18-20, 東北大学)
2. アマドリ型糖化リン脂質によるテロメラーゼ活性の誘導, 永塚 貴弘, 仲川 清隆, 西田 浩志, 倉田 忠男, 宮澤 陽夫 (日本栄養・食糧学会2012年度大会, 5/18-20, 東北大学)
3. 3T3-L1細胞に対する短梗五加抽出物の作用, 西田美也子, 西田 浩志, 新野 由佳, 永塚 貴弘, 小西 徹也 (日本栄養・食糧学会2012年度大会, 5/18-20, 東北大学)
4. マウスと培養細胞を用いた高圧処理豚肉の安全性評価, 斎藤 雅史, 西田 浩志, 桑原裕里依, 西田美也子, 金 娟廷, 西海 理之, 浦上弘, 小西 徹也 (日本農芸化学会, 2012年度関東支部大, 10/27-28, 新潟薬科大学)
5. 3T3-L1細胞に対する短梗五加抽出物の作用, 西田美也子, 新野 由佳, 深井 一子, 永塚 貴弘, 佐藤 眞治, 西田 浩志, 小西 徹也 (日本農芸化学会, 2012年度関東支部大会, 10/27-28, 新潟薬科大学)
6. DNA損傷応答反応に対する米ぬか抽出物の作用, 舘脇 直人, 鷺尾 知佳, 小日山 惇, 永塚 貴弘, 西田 浩志, 小西 徹也 (日本農芸化学会, 2013年度大会, 3/25-29, 東北大学)
7. 3T3-L1脂肪細胞に対する短梗五加抽出物の作用, 西田美也子, 深井 一子, 永塚 貴弘, 佐藤 眞治, 西田 浩志, 小西 徹也 (日本農芸化学会, 2013年度大会, 3/25-29, 東北大学)
8. アマドリ型糖化リン脂質のテロメラーゼ活性

に与える影響, 永塚 貴弘, 仲川 清隆, 西田 浩志, 倉田 忠男, 宮澤 陽夫 (日本農芸化学会, 2013年度大会, 3/25-29, 東北大学)

9. イソマルチュロースが運動時のグリコーゲン蓄積に及ぼす影響, 笹川 克己, 石川 修平, 峰尾 茂, 西田 浩志, 佐藤 眞治, 平山 匡男 (日本農芸化学会, 2013年度大会, 3/25-29, 東北大学)
10. 高血圧自然発症ラットにおけるボイセンベリー果汁および果実酢の抗高血圧作用, 松嶋 全人, 古内 亮, 横山 忠幸, 西田 浩志, 平山 匡男 (日本農芸化学会, 2013年度大会, 3/25-29, 東北大学)

その他特記事項

1) 外部資金

科研費

基盤研究 (C)

課題名: 食品成分によるDNA損傷応答反応の制御に関する研究

研究代表者: 西田 浩志

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)

「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と、その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成(研究分担者)研究課題「シサンドリンB立体異性体の一つであるゴミシンNの立体特異的なATR阻害作用」西田 浩志、「糖尿病と癌の関わり～アマドリ型糖化リン脂質によるテロメラーゼの活性化～」西田 浩志, 永塚 貴弘 (研究代表者: 小西 徹也)

受託/共同研究(民間)

西田 浩志: 2件

その他研究費

新潟県地域結集型研究開発プログラム (独立行政

法人科学技術振興機構)

田高校12/21, 22)

「食の高付加価値化に資する基盤技術の開発」

中核機関：財団法人にいがた産業創造機構

研究テーマ：高圧食品の毒性評価による安全性確保

研究分担者：西田 浩志

2) 特許出願

特願：2012-249844

食肉の機能性ペプチドの富化方法及び食肉利用食品

発明者：藤村 忍，西海 理之，小西 徹也，浦上 弘，西田 浩志，金 娟廷，齋藤 雅史，小林 裕之

3) 学外活動

学会活動

西田 浩志：米国癌学会，日本生化学会，日本農芸化学会，日本栄養・食糧学会，日本食品免疫学会，日本畜産学会，日本メイラード学会，日本フードファクター学会

永塚 貴弘：日本農芸化学会，日本栄養・食糧学会，日本ビタミン学会，日本メイラード学会，日本過酸化脂質・抗酸化物質学会，日本脂質生化学会

学外活動（公的機関）

西田 浩志：日本メイラード学会 評議員，日本畜産学会第117回大会 実行委員，6th International Niigata Symposium on Diet and Health 2012 実行委員長

学外活動（その他）

西田 浩志：平成24年10月5,23,25日 本学応用生命科学部就職委員会主催SPI対策講座 講師，平成24年12月20日 新発田中央高校 出張講義

永塚 貴弘：キャンパス見学（新潟北高校，4/27），高大連携事業-バイオテクノロジー実習講座-（高

食品・発酵工学研究室

Laboratory of Food and Fermentation Technologies

■ 教授 重松 亨 Prof. Toru SHIGEMATSU, Ph.D.

■ 助教 井口 晃徳 Assist. Prof. Akinori IGUCHI, Ph.D.



超高压技術・発酵技術を利用したグリーンプロセスの開発



・超高压技術 ・微生物 ・食品加工 ・メタン発酵 ・難培養性微生物

研究概要

本研究室では、超高压（静水压）技術および発酵技術を2つの軸として、新しい食品製造技術をはじめとする様々な“地球に優しい”グリーンプロセスの開発を目指して研究を行っている。

圧力の利用：100 MPa以上の超高压を食品素材に施すことで、細胞構造や生体成分の変化が生じる。こうした現象を解明し利用することで、機能性成分の富化を伴う、省エネルギー型の新しい食品製造技術の開発を進めている。

発酵の利用：発酵は微生物の機能を利用した省エネルギー型の食品製造技術と位置付けられる。発酵制御のための微生物の圧力死滅機構に関する研究、微生物間相互作用に関する研究、さらに未知の微生物の探索等を通じて、知られざる微生物の機能を引き出し、食品製造技術にとどまらず様々なフィールドへの応用を目指す。

2012年度の研究成果

本年度の主な研究成果は以下の通りである。

1) 超高压技術を用いた食品加工

超高压技術を用いた食品加工を目的として以下の研究を行った。パセリのフラボノイド成分の組

成が圧力処理により変化することを明らかにした。水浸漬大麦に圧力処理を施した結果、澱粉の糖化が促進することを明らかにした。また、ブドウ果実へのエタノールの含浸が圧力処理により促進することを明らかにした。リンゴとルレクチェの褐変反応が圧力処理により促進し、酸性条件下で抑制されることを明らかにした。

2) 圧力による発酵制御・殺菌技術の開発

圧力による微生物死滅効果を応用し、非加熱で発酵制御を行う技術の開発を目的として、以下の研究を行った。酵母*S. cerevisiae*の圧力感受性・耐性変異株の圧力死滅挙動を解析した結果、圧力耐性・感受性には処理後の回復機能および好気呼吸機能が関連することを示す結果を得た。耐塩性酵母*Z. rouxii*の圧力感受性変異株の探索を行った。また、大腸菌*E. coli*の圧力死滅挙動を解析した結果、塩共存下においてイオン輸送タンパク質が圧力耐性に関与することを明らかにした。枯草菌*B. subtilis*の熱死滅が圧力前処理により増大することを示した。

3) 未培養微生物の探索・解析

メタン発酵プロセスに生息する未培養微生物の探索および解析を目的とし研究を行った。標的未

培養微生物の機能推定を目的に、構築したラボスケールUASBリアクター内のグラニュール汚泥に対して切片FISH法を適用し、対象未培養微生物の空間分布を調査した。基質拡散モデルおよびメタン生成古細菌の空間分布から、標的未培養微生物はペプチド、アミノ酸等をメタン生成古細菌との共生により酸化分解している可能性が示された。マイクロプレート培養を軸とした、新しい嫌気微生物のハイスループット分離培養法を確立するため、制限酵素断片長多型法による、異なるメタン生成古細菌の迅速な識別法を構築した。

Research projects and annual reports

In our laboratory, we have carried out research projects for the novel uses of high hydrostatic pressure over 100 MPa on food processing and fermentation control technologies. Moreover, we have investigated on detection, separation and analysis of the uncultured microorganisms related to methane fermentation processes. The summarized result of each project was as follows:

1) Food processing technologies using high hydrostatic pressure

The effect of pressure on enzymatic reactions in food materials was analyzed. Pressure could (i) alter the composition of parsley flavonoids, (ii) improve sugar production of barley grains and (iii) improve impregnation of ethanol into grape. Moreover, the effect of pressure treatment and pH on brown discoloration of pear fruits was analyzed.

2) Microbial inactivation using high hydrostatic pressure

For the novel use of pressure on fermentation control, pressure inactivation behavior of the pressure-sensitive and resistant mutants of budding yeast *S. cerevisiae* was analyzed. The functions for recovery after pressure treatment and aerobic respiration could be key factor for sensitivity and resistance against pressure. A

pressure sensitive mutant of a halophilic yeast *Z. rouxii* was screened. Pressure resistance of *E. coli* with salt solution was demonstrated to correlate with certain ion-transport proteins. Moreover, pressure treatment could increase thermal inactivation of spores of *B. subtilis*.

3) Analysis on uncultured microorganisms related to methane fermentation processes

To investigate uncultured microbes reside in methane fermentation processes, we analyzed bacterial and archaeal community based on conventional culture approach and 16S rRNA gene approach. In order to estimate functions of target-uncultured microorganisms, we applied to the section-FISH method for granular sludge in lab-scale UASB reactor. From the spatial distribution of methanogenic archaea and target microorganisms in granular sludges, the target microorganisms likely to be symbiotically decomposed peptides and amino acids with methanogenic archaea. To establish the high-throughput cultivation method for uncultured anaerobic microorganisms by using a 96-well microplate, we constructed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) method for distinguish the different species of methanogenic archaea.

発表論文

1. Toshimi Hasegawa, Manabu Hayashi, Kazuki Nomura, Mayumi Hayashi, Miyuki Kido, Tsuneo Ohmori, Masao Fukuda, Akinori Iguchi, Shigeaki Ueno, Toru Shigematsu, Masao Hirayama and Tomoyuki Fujii “High-throughput method for a kinetics analysis of the high-pressure inactivation of microorganisms using microplates” Journal of Bioscience and Bioengineering, 113(6), 788-791 (May 2012).

学会発表

国際学会

1. Takahashi Masanobu, Hideharu Tanaka, Kaoru Kato, Akihiko Nagano, Akinori IGUCHI, Takashi Yamaguchi, Hideki Harada. “Development of a sewage treatment system combining an UASB and random packing type down-flow hanging sponge reactor for minimum energy requirement.” The 10th International Symposium on Southeast Asian Water Environment, Hanoi, Viet Nam November 8-10, 2012, Vol. 10, pp. 41-46. 2012 (Part II)
2. Toru Shigematsu, Kanako Nakajima, Kazuyo Inagaki, Tomoki Kawamura, Masaki Nakamura, Mayumi Hayashi, Shinnosuke Kumakura, Akinori Iguchi, Masao Hirayama, Shigeaki Ueno, and Tomoyuki Fujii “Effect of high hydrostatic pressure and subsequent preservation on the antioxidant activities of agricultural products.” 7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology Book of Abstracts, p. 41, Piazza Ohmi, Otsu (2012年10月29日～11月2日)
3. Shuji Chino, Miyuki Kido, Kaneto Kobayashi, Noriyuki Homma, Kazutaka Yamamoto and Toru Shigematsu “Characteristics of bread and sponge cake using the Ultra-Fine Rice Flour” 7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology Book of Abstracts, p. 106, Piazza Ohmi, Otsu (2012年10月29日～11月2日) ポスター発表
4. Kazuki Nomura, Hitoshi Iwahashi, Akinori Iguchi, and Toru Shigematsu “Barosensitivity of *Saccharomyces cerevisiae* for fermentation control” 7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology Book of Abstracts, p. 136, Piazza Ohmi, Otsu (2012年10月29日～11月2日)
5. Toshimi Hasegawa, Takuya Nakamura, Mayumi Hayashi; Miyuki Kido, Masao Hirayama; Toshio Yamaguchi, Akinori Iguchi, Shigeaki Ueno, Toru Shigematsu, Tomoyuki Fujii “Influence of osmotic and cation stresses on high-pressure inactivation of *Escherichia coli*.” 7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology Book of Abstracts, p. 142, Piazza Ohmi, Otsu (2012年10月29日～11月2日) ポスター発表
6. Masaru Nanba, Kazuki Nomura, Yusuke Nasuhara, Manabu Hayashi, Miyuki Kido, Mayumi Hayashi, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu, Masao Hirayama, Shigeaki Ueno, Tomoyuki Fujii “Importance of cell-damage causing growth delay for high-pressure inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*.” 7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology Book of Abstracts, p. 143, Piazza Ohmi, Otsu (2012年10月29日～11月2日) ポスター発表
7. Miyuki Kido, Kaneto Kobayashi, Shuji Chino, Toshikazu Nishiwaki, Noriyuki Homma, Kazutaka Yamamoto, Toru Shigematsu “Ultra-fine rice flour by high hydrostatic pressure technology.” 7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology Book of Abstracts, p. 144, Piazza Ohmi, Otsu (2012年10月29日～11月2日) ポスター発表
8. 重松 亨「高圧処理を利用した食品の機能性富化」The 6th International Niigata Symposium on diet and Health Abstracts and Synopsis, p. 39, Toki Messe (2012年10月16-17日)
9. Shigeaki Ueno, Toru Shigematsu, Mayumi Hayashi and Tomoyuki Fujii “High-pressure induced generation of functional compounds in brown rice” The 6th International Niigata Symposium on diet and Health Abstracts and Synopsis, p. 122, Toki Messe

(2012年10月16-17日) ポスター発表

化学会2013年度大会, 東北大学 (2013年 3月 26日)

10. Toru Shigematsu, Sakae Ikarashi, Mayumi Hayashi, Akinori Iguchi and Masao Hirayama “A vinegar production process using simultaneous fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter pasteurianus*” The 6th International Niigata Symposium on diet and Health Abstracts and Synopsis, p. 165, Toki Messe (2012年10月16-17日) ポスター発表

6. 井口 晃徳 下水処理メタン発酵プロセスにおいて高頻度に検出される未培養微生物の機能解析 第2回 バイオマス&エネルギー expo in 新潟 2012年12月 (新潟)

7. 重松 亨, 中島加奈子, 稲垣 和世, 川村 知輝, 中村 真己, 林 真由美, 熊倉眞之助, 井口 晃徳, 平山 匡男, 上野 茂昭, 藤井 智幸「食品素材の抗酸化活性に及ぼす高圧処理と除圧後の保存の影響」日本農芸化学会関東支部2012年度大会講演要旨集p. 21, 新潟薬科大学 (2012年10月27-28日)

国内学会

1. 井口 晃徳, 千葉 有紀, 林 真由美, 山口 隆司, 原田 秀樹, 重松 亨.「下水処理メタン発酵プロセスにおいて高頻度に検出される未培養微生物の集積化と機能推定」第47回日本水環境学会年会. Page 400. 2013年 3月 (大阪)

8. 長谷川敏美, 中村 拓哉, 木戸みゆ紀, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨, 平山 匡男, 山口 利男, 上野 茂昭, 藤井 智幸「大腸菌の高圧死滅反応に及ぼす浸透圧およびイオンストレスの影響」日本農芸化学会関東支部2012年度大会講演要旨集p. 53, 新潟薬科大学 (2012年10月27-28日) ポスター発表

2. 野村 一樹, 岩橋 均, 井口 晃徳, 重松 亨「遺伝子発現プロファイル解析により示された*Saccharomyces cerevisiae*における圧力感受性変異と呼吸欠損の関連性」日本農芸化学会2013年度大会, 東北大学 (2013年 3月26日)

9. 南波 優, 野村 一樹, 南須原悠輔, 林 真名歩, 木戸みゆ紀, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨, 平山 匡男, 上野 茂昭, 藤井 智幸「*Saccharomyces cerevisiae*の圧力死滅における増殖遅延を引き起こす細胞損傷の重要性」日本農芸化学会関東支部2012年度大会講演要旨集 p. 55, 新潟薬科大学 (2012年10月27-28日) ポスター発表

3. 長谷川敏美, 中村 拓哉, 木戸みゆ紀, 林 真由美, 井口 晃徳, 山口 利男, 重松 亨「大腸菌の耐圧性に関与する浸透圧・イオンストレス因子の探索」日本農芸化学会2013年度大会, 東北大学 (2013年 3月25日)

4. 木戸みゆ紀, 小林 兼人, 知野 秀次, 西脇 俊和, 本間 紀之, 林 真由美, 山本 和貴, 重松 亨「高圧酵素処理を用いた超微細米粉の開発」日本農芸化学会2013年度大会, 東北大学 (2013年 3月26日)

10. 木戸みゆ紀, 小林 兼人, 知野 秀次, 西脇 俊和, 本間 紀之, 山本 和貴, 重松 亨「高圧処理を利用した超微細米粉の製造」日本農芸化学会関東支部2012年度大会講演要旨集p. 37, 新潟薬科大学 (2012年10月27-28日) ポスター発表

5. 南波 優, 野村 一樹, 齋木 朋恵, 木戸みゆ紀, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨「*Saccharomyces cerevisiae* UV変異株の圧力損傷からの回復機能に関わる変異の解析」日本農芸

11. 井口 晃徳, 林 真由美, 山口 隆司, 原田 秀樹, 重松 亨「都市下水処理メタン発酵プロセスにおいて高頻度に検出される未培養微生物の視覚化と定量」日本農芸化学会関東支部2012年度大会講演要旨集p. 65, 新潟薬科大学(2012年10月27-28日) ポスター発表
12. 井口 晃徳, 大久 保努, 高橋 優信, 久保田健吾, 山口 隆司, 関口 勇地, 重松 亨, 荒木 信夫, 原田 秀樹「無加温・低濃度メタン発酵プロセスの微生物群集構造と機能」第28回日本微生物生態学会Program & Abstracts, p. 97, 豊橋技術科学大学(2012年 9月19~22日)
13. 重松 亨「微生物高圧死滅により評価した環境ストレスと細胞ダメージの解析」第28回日本微生物生態学会Program & Abstracts, p. 128, 豊橋技術科学大学 (2012年 9月19~22日)
14. 知野 秀次, 木戸みゆ紀, 小林 兼人, 本間紀之, 山本 和貴, 重松 亨「超微細米粉を使用した米粉パンおよびスポンジケーキの特性」日本食品科学工学会第59回大会, 藤女子大学北16条キャンパス (2012年 8月31日)
15. 木戸みゆ紀, 小林 兼人, 知野 秀次, 西脇俊和, 本間 紀之, 山本 和貴, 重松 亨「高圧処理を利用した超微細米粉の製造」日本食品工学会第13回年次大会講演要旨集p. 31, 北海道大学 (2012年 8月 9日)
16. 長谷川敏美, 中村 拓哉, 木戸みゆ紀, 林真由美, 井口 晃徳, 重松 亨, 平山 匡男, 山口 利男, 上野 茂昭, 藤井 智幸「透圧およびイオンストレスが大腸菌の圧力死滅挙動に及ぼす影響」日本食品工学会第13回年次大会講演要旨集p. 40, 北海道大学(2012年 8月 9日)
17. 南波 優, 野村 一樹, 南須原悠輔, 林 真名歩, 木戸みゆ紀, 林 真由美, 井口 晃徳,

重松 亨, 平山 匡男, 上野 茂昭, 藤井 智幸「*Saccharomyces cerevisiae* 圧力耐性・感受性UV変異株の圧力死滅挙動の解析」日本食品工学会第13回年次大会講演要旨集p. 45, 北海道大学 (2012年 8月 9日)

その他特記事項

1) 外部資金

科研費

若手研究 (B)

課題名: 下水処理嫌気性プロセスに存在する未知微生物群の機能解析と最適運転条件の提案

研究代表者: 井口 晃徳

基盤研究 (B)

課題名: バクテリアのコロニーを作らない変異株を用いたコロニー形成の機構解析

研究代表者: 東京大学・農学生命科学研究科・教授 正木 春彦

研究分担者: 重松 亨

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)

「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と、その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成(研究分担者) 研究課題「食品加工による血管拡張機能の効率的な増強」重松亨(研究代表者: 小西 徹也)

受託/共同研究(民間)

重松 亨: 1件

その他研究費

新潟県地域結集型研究開発プログラム(独立行政法人科学技術振興機構)

「食の高付加価値化に資する基盤技術の開発」

中核機関: 財団法人にいがた産業創造機構

研究テーマ: 米・米粉の生化学的特性に及ぼす圧力効果の解明, 超高圧を利用した醗酵漬物の開発(研究分担者: 重松 亨)

公益財団法人内田エネルギー科学振興財団試験研究費

「高圧発酵制御のための酵母の圧力感受性株作出技術の開発」

研究代表者：重松 亨

科学技術戦略推進費補助金（文部科学省）

途上国におけるイノベーションを促進する国際協力の戦略的推進「乾燥地域における灌漑再利用のための革新的下水処理技術開発の国際研究拠点形成」

代表機関：国立大学法人東北大学

（共同研究者：井口 晃徳）

JST-JICA地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）

研究課題：エネルギー最小消費型の下水処理技術の開発

研究題目「処理メカニズムの解明と重要微生物の検出・定量・モニタリング技術の開発，DHS技術の新展開」

代表機関：国立大学法人東北大学

（研究分担者：井口 晃徳）

公益財団法人 鉄鋼業環境基金 鉄鋼環境基金若手研究助成

「ファージディスプレイペプチド法を利用した特定微生物集積化による新規有用資源回収技術の開発」

研究代表者：井口 晃徳

公益財団法人内田エネルギー科学振興財団試験研究費

「下水処理メタン発酵プロセスにおいて高頻度に検出される未知微生物群の機能解析」

研究代表者：井口 晃徳

2) 特許出願

特願2012-166121号：特願2011-196071「米粉の製造方法並びに米粉並びに米粉加工品」の国内

優先権主張出願（2012年7月26日）発明者：本間 紀之，西脇 俊和，小林 兼人，木戸みゆ紀，山本 和貴，重松 亨，鈴木 敦士，出願人：にいがた産業創造機構，独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構，学校法人新潟科学技術学園新潟薬科大学

3) 学外活動

学会活動

重松 亨：日本農芸化学会，日本生物工学会，日本水環境学会，日本微生物生態学会（編集委員），土木学会

井口 晃徳：日本水環境学会，日本微生物生態学会，土木学会

学外活動（公的機関）

重松 亨：H・P未来産業創造研究会 顧問

学外活動（その他）

1. 重松 亨：平成24年5月31日 NTSセミナー「食の高付加価値化への挑戦」 講師
2. 重松 亨：平成24年7月11日 北越高校 出前講義
3. 重松 亨：平成24年9月11, 12日 平成24年度先端科学技術体験講座（中学校理科）講師
4. 重松 亨：平成24年11月21日 新発田高校 S P P（阿賀北のバイオマスエネルギー）講師
5. 重松 亨：平成24年11月23, 24日 青少年のための科学の祭典 新潟県・上越大会 演示実験 講師
6. 重松 亨：平成24年6月18～21日 BIO International Convention 2012 出展

7. 重松 亨：平成24年9月27,28日 イノベーション・ジャパン2012大学見本市 出展
8. 重松 亨：平成24年10月3日 県内大学等と県内企業の情報交換会 出展
9. 重松 亨：平成24年11月14~16日 アグリビジネス創出フェア 出展
10. 重松 亨：平成24年度日本農芸化学会関東支部大会実行委員会委員
11. 重松 亨：The 6th International Niigata Symposium on diet and Health実行委員会委員
12. 重松 亨：7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology実行委員会委員
13. 井口 晃徳：高田高校 高大連携実習講座講師（2012年12月21-22日）
14. 井口 晃徳：上越科学館 青少年のための科学の祭典・新潟県上越大会 講師（2012年11月23-24日）

食品安全学研究室

Laboratory of Food Safety

■ 教授 浦上 弘 Prof. Hiroshi URAKAMI, Ph.D.

■ 助教 小長谷 幸史 Assist. Prof. Yukifumi KONAGAYA, Ph.D



品の安全のための微生物制御方法に関する研究



・ 食品安全 ・ 微生物 ・ 食中毒 ・ ノロウイルス ・ 孢子形成菌

研究概要

食の安全・安心という標語をよく見かけるが、安心は心理的なものであるのに対して安全は客観的、科学的なものである。食品の安全を脅かす最大の脅威は、一般に恐れられているような残留農薬でも放射性物質でもましてや食品添加物ではなく、微生物である。私たちは食品安全の最大の脅威である有害な微生物から食品を守ることを目標に研究を行っている。

1) 孢子形成菌の制御

細菌の中には、栄養がなくなると孢子と呼ばれる種のような耐久型の細胞をつくるものがある。その中でもっとも恐れられているのが、食品中で猛毒をつくるボツリヌス菌であり、その殺滅には調理加熱では不十分で、120℃で数分の加熱を要する。私たちは、このような細菌孢子の熱耐性を下げる成分をいくつかの食品中で見つけた。例えば、ボツリヌス菌の孢子を炊飯中に加えると、水の中で加熱するよりも1000倍も速く死滅する。米に含まれる成分の探索とその作用のメカニズムがひとつの研究テーマである。

また、ある条件下で数千気圧の圧力をかけると、孢子が発芽する。発芽して増殖を始めた細胞は胞

子と違って熱に弱く、70~80℃で殺すことができる。おそらく、孢子は環境に栄養があると勘違いしたのだろう。どのような条件を揃えれば、孢子をだまして発芽を促せるか。その条件が食品加工に利用できれば、缶詰のように120℃まで加熱することなく、おいしさを保ったまま安全性を確保できる。これまでに、食品に含まれている栄養素などが発芽の促進に有効であることを明らかにすることができた。



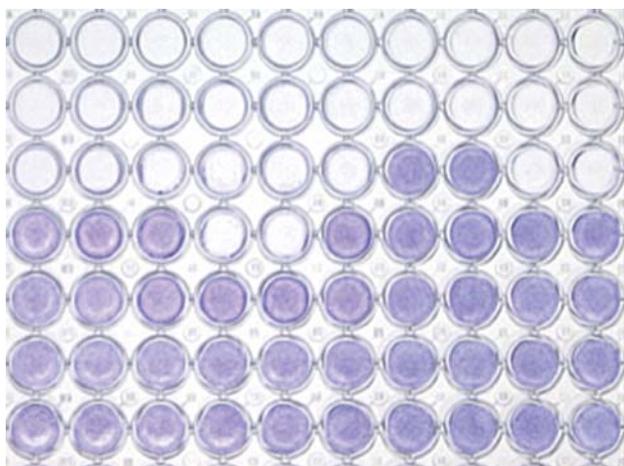
ボツリヌス菌の孢子

2) ウイルスに有効な消毒剤の開発

日本で最も多い食中毒はノロウイルスによるものである。年間370万人もの日本人が感染する理

由のひとつに、よい消毒剤がないことが挙げられる。ノロウイルスは構造が単純なだけ、消毒剤の標的が少ないのである。かつてノロウイルスを殺すには、数100ppmの次亜塩素酸（ハイター）が必要とされていた。私たちは、視点を変えて実験をやり直すことで、数ppmで十分であることを明らかにした。

現在は消毒剤メーカーと協同で、様々な消毒成分を配合することで、ノロウイルスに有効な消毒剤の開発を行っている。キッチンでも安心して使える組成であること、皮膚に使えること、それに加えて一般の細菌にも有効であることが目標である。



培養細胞を使った消毒力の測定
生き残った細胞が紫に染まっている

3) 高圧技術の安全性の検証

高圧技術の食品加工への応用を目標にした新潟県のプロジェクトに、新潟薬科大学から我々を含む3研究室が参画している。1) で述べた高圧による発芽促進もその一環であるが、もうひとつの大きな研究課題は、高圧加工の安全性の検証である。高圧をかけることにより発癌物質のようなものが新たに生成される可能性はほとんどない、というのが世界的な認識である。しかし一般消費者の「安心」への疑念に応える必要がある。そこで、製品化を予定している高圧加工食品をマウスに食べさせ、細菌や動物細胞に与えてその安全性を検証している。



超高压装置 円筒の中心の空間を6000気圧まで
加圧することができる

4) HACCPの研究と普及

HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point, 危害要因分析と必須管理点) は、食品を安全に製造する手法である。近年、国際的な食品安全への関心の高まりから義務化する国が増え、様々な国際機関が認証を行っている。それに伴い、HACCP自体が変容してきている。我々はその動向を注視するとともに、遅れている日本での普及を促進したいと考えている。

2012年の研究成果

1) 米に含まれる孢子形成菌の制御因子

有効成分は複数あり、タンパク質とタンパク質以外のものがあると考えられた。タンパク質については、目的物質と推定されるものが単離され、現在得られたタンパク質が目的の物質であるかを検討している。非タンパク質の成分についても検討中である。

高圧による発芽誘発での孢子形成細菌の制御を

試みた結果、高圧処理を行うときに複数の化合物を添加することで、より効率よく胞子を発芽させることが可能になった。

2) ウイルスに有効な消毒剤の開発

ノロウイルスは培養できないため、近縁のネコカリシウイルス (FCV) がその代替として、広く用いられてきた。近年、ヒトノロウイルスにより近縁なネズミノロウイルス (MNV) が発見された。我々もこれら2種のウイルスを使い消毒剤耐性の比較を行っている。ノロウイルスへの有効性を謳っている市販の消毒剤を比較したところ、主張通りの効果があるもだけでなく、有効性が疑わしいものも見出された。FCVには有効だが、MNVには有効性の低いものもあり、これは消毒剤が酸性であるためと考えられた。なぜなら、FCVは気道感染するウイルスであるが、MNVはヒトノロウイルスと同様に胃を通過して感染するため、酸性環境に耐性があると考えられるからである。また、MNVは感染させる宿主細胞の細胞密度など培養条件で見かけに感染価が変化するという扱い難さがあることが判明した。

3) 高圧技術の安全性の検証

高圧技術で生産された製品に微細な米粉がある。この米粉を汚染していることが懸念されるいくつかの食中毒細菌を、高圧により不活化できる条件を見出した。

4) HACCPの研究と普及

HACCPは全米食品微生物諮問委員会と国連機関のCodexがガイドラインを定めているが、実際の運用には様々な方法がある。その中で影響力の大きい米国での実施方法が変化し始めている。これは米国が想定している、国内でのHACCPの全食品への義務化と国際化に合わせたものではないかと思われる。このような変化も踏まえて、食品企業への啓蒙活動を行った。

Research projects and annual reports

The most serious threat in food safety is not pesticide residue, radioactive substances nor food additives, but pathogenic microorganisms. Our studies therefore focus on protection of foods from the microorganisms.

1) Controlling the heat-resistance of bacterial spores.

Some bacteria produce a resistant form of the cells called “spores.” The spores are highly resistant to heat. *Clostridium botulinum* produces toxins in foods, one gram of which kills millions of humans and their spores are the most heat-resistant among the pathogenic bacteria. Temperature as high as 120°C is needed to kill the spores. We, however, found some factors in foods to reduce the heat-resistance. The spores are killed 1,000 times faster when cooked with rice than when heated in water. We are seeking the factor(s) in rice to know the mechanism reducing the heat-resistance.

The spores germinate when pressurized at several hundred mega Pascals in some conditions. The germinated spores lose their heat-resistance and are easily killed at cooking temperature. We found that nutrient conditions are important for germination under the pressure. Controlling the germination of the spores, we could prepare long shelf life foods without harsh heating.

2) Development of sanitizers effective against norovirus.

Approximately one out of 40 Japanese are infected with norovirus every year. One of the reasons for this serious number of infections is a lack of effective sanitizers. We already found the effectiveness of sodium hypochlorite at a concentration lower than 5 ppm. It used to be thought that hypochlorite was effective only when the concentrations are higher than 100 ppm.

We are developing effective sanitizers by dispensing several ingredients in a cooperative study with a

company. Our goal is sanitizers that can be used in safety in a kitchen and used for human skins.

Because Human norovirus cannot be cultivated in vitro, feline calicivirus (FCV) and murine norovirus (MNV) are widely used as surrogates. We examined commercially available sanitizers that claim effectiveness on human norovirus. Some were effective enough to inactivate FCV and MNV, but some were not. One sanitizer showed significant difference between the effectiveness against two viruses provably because of its acidic pH. MNV is more resistant in acidic environment than FCV, because MNV infects through stomach, but FCV through the respiratory tract. This suggested that MNV is a better surrogate for human norovirus that also infect through the digestive tract. However MCV changed its apparent infectivity depending on the condition of host cells, such as cultivation density.

3) Validation of safety of high pressure treatment of foods.

We are involved in a grant-in-aid project for utilization of the high pressure technology of food industries. Our participation is a validation of safety of pressurized foods. Though toxic substances such as carcinogens are not likely to occur if foods are pressurized, it will be required to confirm the safety when the pressurized foods will be on the market. We are feeding the foods to mice and cultivating bacteria and animal cells with extracts of the foods.

4) Research and education of HACCP

HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) is known as the most useful tool to produce safe foods. The number of the countries is increasing that mandate food industries to adopt HACCP, and several international organizations require safety control by HACCP for international food trade. We keep a research of HACCP that appears to change.

発表論文

1. Synergistic Effects of High Hydrostatic Pressure, Mild Heating, and Amino Acids on Germination and Inactivation of *Clostridium sporogenes* Spores. Takateru Ishimori, Katsutoshi Takahashi, Masato Goto, Suguru Nakagawa, Yoshiaki Kasai, Yukifumi Konagaya, Hiroshi Batori, Atsushi Kobayashi, and Hiroshi Urakami. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012. 78(23): 8202-8207.
2. Transovarial transmission rates of *Orientia tsutsugamushi* in naturally infected *Leptotrombidium* colonies by immunofluorescent microscopy. Hiroshi URAKAMI, Koji OKUBO, Hitoko MISUMI, Masahiro FUKUHARA and Mamoru TAKAHASHI *Med. Entomol. Zool.* 2013. 64(1): 43-46.

学会発表

国際学会

1. 7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, 2012/10/29-11/2, Piazza Ohmi (Otsu, Japan), Food constituents and food additives facilitate the inactivation of spores of *Clostridium sporogenes* by hydrostatic pressure. Takateru Ishimori, Katsutoshi Takahashi, Yuya Nakagawa, Shinya Naganuma, Yoshiaki Kasai, Hiroshi Batori, Yukifumi Konagaya, Hiroshi Batori, Atsushi Kobayashi, Hiroshi Urakami.
2. 7th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, 2012/10/29-11/2, Piazza Ohmi (Otsu, Japan), Mutagenicity survey of high-pressure pork, rice flour, and egg white. Yoshiaki KASAI, Yunjung KIM, Kaneto KOBAYASHI, Masafumi SAITO, Tadayuki NISHIUMI, Hiroshi NISHIDA, Toru SHIGEMATSU, Mari WATANABE, Takashi HARA, Tetsuya KONISHI and, Hiroshi URAKAMI.

国内学会

カキ果実抽出液によるボツリヌス菌胞子の耐熱性の低下, 小長谷幸史, 田原 雪江, 長尾 圭也, 寺久保洋介, 中野 理子, 平山 匡男, 浦上 弘, 日本農芸化学会2012関東支部大会, 新潟薬科大学, 平成24年10月27~28日(新潟市)

その他特記事項

1) 外部資金

受託/共同研究(民間)

浦上 弘: 2件

小長谷幸史: 1件

その他研究費

新潟県地域結集型研究開発プログラム(独立行政法人科学技術振興機構)

「食の高付加価値化に資する基盤技術の開発」

中核機関: 財団法人にいがた産業創造機構

研究テーマ: 高圧食品の微生物安全性確保, 高圧処理による食肉の食感改良と滅菌条件の確立(研究分担者: 浦上 弘)

(財)飯島記念食品科学振興財団学術研究助成金

研究課題名: 「米ペプチドによるボツリヌス菌の制御」

研究代表者: 小長谷幸史

2) 特許出願

特願2012-249844 藤村 忍, 西海 理之, 小西 徹也, 浦上 弘, 西田 浩志, 金 娟廷, 齋藤 雅史, 小林 裕之。「食肉の機能性ペプチドの富化方法及び食肉利用食品」

3) 学外活動

学外活動(公的機関)

1. 浦上 弘: 新潟市「食の安全基本方針見直し検討委員会」(議長)

2. 浦上 弘: 新潟県「にいがた食の安全安心審

議会」(委員)

3. 浦上 弘: 日本HACCPトレーニングセンター(理事長)

4. 浦上 弘: 新潟県総合生活協同組合・組合員の声反映する有識者会議(議長), 2013/2/15から13年度まで継続

5. 小長谷幸史: 日本HACCP トレーニングセンター理事

学外活動(その他)

1. 浦上 弘: 食品安全ネットワーク・第16回定期総会/特別講演会, 「食品危害を日本の生食文化から考える」, 2012/4/25, エル大阪(大阪市)

2. 浦上 弘: イオン食品安全安心セミナー, 「HACCPシステムの考え方を学ぶ」, 2012/7/6, 新潟商工会議所(新潟市)

3. 浦上 弘: イオン食品安全安心セミナー, 「HACCPシステムの考え方を学ぶ」, 2012/7/26, 東商ホール(東京)

4. 浦上 弘: 巻(西蒲区)新潟地域振興局巻農業振興部, 畜産物品質向上研修会「放射線と食品安全」, 西蒲区岩室出張所(新潟市)

5. 浦上 弘: 村上地域振興局健康福祉部, 「放射線って何? ~食品の放射性物質の基準を中心に」, 村上市教育情報センター(村上市)

6. 浦上 弘: 佐渡保健所・放射性物質と食・健康に関するフォーラム, 「放射線の基礎知識とその食品基準について」, アミューズメント佐渡(佐渡市)

7. 浦上 弘: 日本HACCPトレーニングセンター

- 主催・第29回HACCPコーディネーター・ワークショップ 講師, 2012/9/19-21, 発明学会ビル (東京)
8. 浦上 弘: 新潟県環境衛生中央研究所・新潟県衛生協会共催講演会, 「食品安全の動向とHACCP」, 2012/10/16, 長岡ニューオータニ (長岡市)
9. 浦上 弘: 日本HACCPトレーニングセンター主催
第12回Train-the-trainer/HACCP Course 副講師, 2012/11/6-8, 銀座ラフィナート (東京)
10. 浦上 弘: 日本食品洗浄剤衛生協会・年末講演会, 「ノロウィルスの感染, 流行と消毒」, 2012/12/12, 日本青年館 (東京)
11. 浦上 弘: 日本HACCPトレーニングセンター主催・第29回HACCPコーディネーター・ワークショップ 講師, 2012/3/13-15, 発明学会ビル (東京)
12. 浦上 弘: イオン食品安全安心セミナー, 「HACCPシステムの考え方を学ぶ」, 2013/3/27, JA宮崎経済連AZMホール (宮崎市)
13. 浦上 弘: イオン食品安全安心セミナー, 「HACCPシステムの考え方を学ぶ」, 2013/3/28, 福岡国際会議場 (福岡市)
14. 小長谷幸史: 新潟医療福祉大学非常勤講師 (生物学の基礎担当)
15. 小長谷幸史: 新潟県立高田高等学校高大連携 (12月21,22日)
16. 小長谷幸史: 模擬講義・出張講義 (新潟県立巻総合高等学校4/26, 新潟県立小出高等学校 12/5)

応用糖質化学研究室 Laboratory of Applied Glycochemistry

■ 教授 鯉坂 勝美 Prof. Katsumi AJISAKA, Ph.D.

■ 助教 宮崎 達雄 Assist. Prof. Tatsuo MIYAZAKI, Ph.D.



有機化学と酵素化学の技術を駆使して糖質を合成し、その機能研究を行う。



・糖ペプチド ・ミルクオリゴ糖 ・抗酸化 ・擬似糖 ・酵素反応

研究概要

生体内には、単糖を構成単位として鎖のように繋がった「糖鎖」と呼ばれる物質が、タンパク質や脂質に結合して存在しており、ヒト細胞の表面はその糖鎖で覆われている。そして、これら糖鎖は、細胞が細胞同士もしくは細胞外物質とコミュニケーションを図るときにリガンドとして機能し、ウイルスの感染、癌の転移、炎症、発生、分化、老化などのさまざまな生命現象に関わっていることが知られている。当研究室では、この「糖」をキーワードとして、酵素や微生物などの生物学的手段、あるいは有機化学的な変換や改造といった工学的手段を利用し、ヒトに役立つ物質を創る研究に取り組んでいる。

1. 酵素を利用したオリゴ糖、糖鎖、糖ペプチドの合成

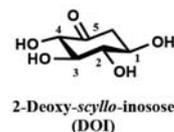
これまでに当研究室においてはGal β 1-3GalNAc α -pNPを糖供与体としてStreptomyces属エンドN-アセチルガラクトサミニダーゼの存在下でペプチドと反応させることにより、O-結合型糖ペプチドを合成する手法を確立してきた。しかし、GalNAc α -pNPは高価であることから実用化には不适当であった。さらに、Streptomyces属の微生物の培養

が難しく、安定してendo- α -ガラクトサミニダーゼを産生できないことも問題となった。

そこで、あらたな糖供与体の探索および新規なエンドN-アセチルガラクトサミニダーゼの探索を目的として研究を行っている。

2. 2-デオキシ-scyllo-イノソース (DOI) を原料としたカルバ糖の系統的合成法の開発

カルバ糖とは天然型の単糖の環酸素原子がメチレン基に置換された化合物であり、この擬似単糖は、ピラノース環に比べて化学的に強固なシクロヘキサン環をもつため酵素的な糖代謝反応の基質とはならず、またメイラード反応に代表される非酵素的糖化反応も起こさないの、*in vivo*において非常に優れた安定性を有するミミック分子である。そのため、糖関連酵素の機能を解明する上での分子ツールと成りえる化合物である。しかしながら、効率的にグラムスケールにて合成可能なカルバ糖は数例しか報告されていない。そのため当研究室では、組換え大腸菌により数百グラムスケールでの合成が可能となったDOIを前駆体として、系統的なカルバ糖の合成研究を展開している。



3. 海洋性細菌由来のシアル酸転移酵素の基質特異性の解明研究

細胞表面はタンパク質や脂質に結合した糖鎖で覆われており、それら糖鎖が、感染における分子認識の第一段階であることが多い。特に末端にシアル酸を有する糖鎖（シアロシド）は、インフルエンザウイルスの感染、コレラ毒素の細胞内侵入に関わる分子である。そのため、それらシアロシドの機能解明を目指し、また新たな創薬シーズを見つけるために、これまでに様々な種類のシアロシドが合成されてきた。それらの合成法のうち、最も簡単なものがシアル酸転移酵素を利用した手法である。しかしながら、本手法は酵素の基質特異性が厳密であるため合成可能なシアロシドが天然型に限られるという欠点を有していた。しかしながら、我々の共同研究者が海洋性細菌から発見したシアル酸転移酵素は非常に幅広い基質特異性を有しており、これまでに酵素合成できなかったタイプのシアロシドに利用できることが判明した。そこで、当研究室では、この希少な特異性の解明研究に着手した。

4. 糖質の機能解析および利用を目指した研究

糖質にはいろいろな生理機能が知られており、その代表的なものの一つに、抗感染機能がある。また最近注目されている機能として抗酸化機能がある。そこで本研究室では、これらの機能解析を行い実用化することを目的として、抗感染機能に関してはヤギミルクオリゴ糖および牛初乳中のオリゴ糖を用いて研究を行っている。また抗酸化活性に関する研究材料としては、硫酸基を有する多糖であるフコイダンとコンドロイチン硫酸を用いて研究を行っている。

2012年度の研究成果

1) 糖ペプチドの酵素合成

糖ペプチドの酵素合成において従来用いていたGal β 1-3GalNAc- α -pNPに代わる新規な糖供与体として、Gal β 1-3GalNAc- α -DMTが使用可能で

あることを見出した。この糖供与体は合成が容易で、糖ペプチド合成の収率もGal β 1-3GalNAc- α -pNPに対して遜色はないため、実用化には最適であると考えられる。

2) ミルクオリゴ糖の感染阻害研究

ヤギミルクからオリゴ糖を分離して、それを中性糖画分と酸性糖画分に分けて、それらのオリゴ糖画分の抗感染活性について調べるために、浦上教授と共同研究を行った。その結果、ヒト母乳由来オリゴ糖には及ばないものの、両画分ともにサルモネラ菌の腸管内皮細胞への付着を抑えることを確認した。

3) 硫酸化多糖の抗酸化活性に関する研究

容易に手に入る硫酸化多糖として、フコイダンとコンドロイチン硫酸について、いろいろな食材由来の多糖を精製してその抗酸化活性を比較検討した。モズク、ガゴメ昆布、ナガモ等、7種類の褐藻類から得られたフコイダンの抗酸化活性は、絶対的な活性は高いものの、原料の種類による違いはあまりないことが明らかになった。

一方コンドロイチン硫酸の抗酸化活性は、原料の種類によっても大きな違いが見られたが、さらに新規な発見として、硫酸基のカウンターイオンを変化させることによって抗酸化活性が大きく変化することが見出された。

4) 海洋性細菌由来の α 2,3-シアル酸転移酵素のイノシトール類に対するユニークな基質認識の解明

α 2,3-シアル酸転移酵素は、CMP-NeuAcを糖供与体基質として、シアル酸残基を糖鎖の非還元末端ガラクトース、およびN-アセチルガラクトサミン残基の3位ヒドロキシ基に転移させる反応を触媒する。一般に、哺乳類由来のシアル酸転移酵素は受容体に対して厳密な基質認識を有している。しかしながら近年、海洋性細菌から見出された α 2,3-シアル酸転移酵素 (*Photobacterium* sp.) は非常に興味深い基質特異性を有しており、例え

ば、ラクトースのグルコース残基やマンノースを受容体基質として認識し、シアリルグルコースやシアリルマンノースが合成できる。これら新たに転移活性が見出された2つの基質は、典型的な受容体であるガラクトース残基の3位と4位のヒドロキシ基の立体配置に相当する1,2-*cis*-ジオール構造を有していた。そのため、当研究室では本酵素の基質特異性をより詳細に解明することを目的として、六員環構造と様々なパターンの1,2-ジオール構造を併せ持つイノシトール類に対するシアリル酸転移活性を調べた。その結果、1,2-*cis*-ジオール構造を1カ所に有するmyo-, 1D-chiro-, muco-イノシトールが基質として機能することが判明した。さらに、1,2-*cis*-ジオール構造を2カ所、もしくは3カ所に有するneo-, *cis*-イノシトールを基質として用いた場合、モノシアロシドに加えてシアリル酸が2残基転移したジシアロシドを与えることを見出した。

5) 2-デオキシ-*scyllo*-イノソース (DOI) を原料としたカルバ- β -D-マンノースの合成

糖の環酸素原子をメチレン基に置き換えたカルバ糖は、糖とよく似た三次元構造をとっているが、糖のようにヘミアセタール部分を持たないので水溶液中で変旋光を示さない化合物である。つまり、カルバ糖は相当する糖の α 体、または β 体のミミック分子として機能することが期待される物質である。そのためカルバ糖は、糖質関連酵素の基質認識機構を詳細に解明するために利用されている。しかしながら、効率的にグラムスケールにて合成可能なカルバ糖は限られており、多種多様なカルバ糖を糖鎖生物学研究の試料として十分提供できるには至っていない。そのため、当研究室では近年微生物による物質変換技術を利用することで数百グラムスケールでの合成が可能となった2-デオキシ-*scyllo*-イノソース (DOI) を出発原料とした系統的なカルバ糖合成研究を展開している。本年は効率的なカルバ- β -D-マンノースの合成を検討した。1,3-di-O-Piv体に対するピバロイル化反応の結果から、2位ヒドロキシ基の反応性は4位よ

りも高いことが示唆された。そこで2位のヒドロキシ基に位置選択的に脱離基を導入後に立体反転をするルートを検討した。トリフレート化反応は予想通り2位優先的に進行したが、得られた生成物は非常に不安定であった。一方、副生成物として得られたジトリフレート体は比較的安定であった。これらの知見は遊離のヒドロキシ基が化合物の安定性に関与していることを示唆していた。そこでトリフレート化後にアセチル化し、続いて酢酸セシウムによる反転反応を試みることにした。その結果、2位反転体を中程度の収率にて得ることに成功した(56%)。最終的にDOIから18%(12工程)の収率にて目的のカルバ- β -D-マンノースの合成を達成した。

Research projects and annual reports

1. Enzymatic synthesis of glycopeptides.

Gal β 1-3GalNAc- α -DMT was turned out as a new donor in the enzymatic synthesis of O-linked glycopeptides with the aid of endo α -GalNAc'ase. Gal β 1-3GalNAc- α -DMT can be easily synthesized from Gal β 1-3GalNAc and DMT-MM in the presence of lutidine.

2. Study of milk oligosaccharide for use as an anti-infection materials.

Oligosaccharides were isolated from goat milk, and were further separated to neutral and acidic oligosaccharide fractions. Both fractions of neutral and acidic oligosaccharide were confirmed to inhibit the *salmonella* to attach to Caco-2 cells *in vitro* study.

3. Antioxidant activity of various sulfated polysaccharides.

Various fucoidans were isolated from 7 kinds of brown seaweed including mozuku, nagamo, and kelp. Three kinds of antioxidant activity; DPPH radical scavenging activity, SOD activity, hydroxyl radical scavenging activity, were measured and compared.

However major difference in antioxidant activity was not observed between the different origin of brown seaweeds.

The antioxidant activity of chondroitin sulfate was found to vary with the difference of its source. Moreover interestingly, its antioxidant activity differed with the difference of counter ion on the sulfate group.

4 . Evaluation of the marine bacterial

α 2,3-sialyltransferase activity toward inositols

Sialyltransferases transfer *N*-acetyl neuraminic acid (NeuAc) from the common donor substrate of these enzymes, cytidine 5'-monophospho- *N*-acetylneuraminic acid (CMP-NeuAc), to acceptor substrates. To date, we have demonstrated that marine bacterial sialyltransferases show broad acceptor substrate specificities. For instance, the α 2,3-sialyltransferase from *Photobacterium* sp. JT-ISH-224 can transfer Neu5Ac residue to both the 3'-OH and the 2-OH groups of lactose simultaneously, and gave 2,3'-disialyllactose as the reaction product. Furthermore, the sialyltransferase reaction towards the mannose as the substrate gave the sialylmannoside in which the α -Neu5Ac residue is coupled to the anomeric position of mannose via β -form.

The novel substrates, the α -glucopyranose and β -mannopyranose have a 1,2-*cis*-diol structure corresponding to the 3- and 4-position of the galactopyranose, which is typical acceptor toward the sialyltransferases. To elucidate the limitation of unique acceptor substrate specificity of the marine bacterial α 2,3-sialyltransferase from *Photobacterium* sp. JT-ISH-224, we investigated α 2,3-sialyltransferase reaction toward inositols with 1,2-diol and 6-membered ring structure. As the results, *myo*-, 1*D*-*chiro*- and *muco*-inositol with a 1,2-*cis*-diol were recognized by the α 2,3-sialyltransferase [3]. The sialyltransferase reactions toward the *neo*- and *cis*-inositols having two or three 1,2-*cis*-diol gave both monosialoside and disialoside simultaneously.

5 . A study on synthesis of 5a-carba- β -D-mannopyranose from 2-deoxy-*scyllo*-inosose

Carbasugars, in which the ring oxygen atom of the parent sugar moiety has been replaced by a methylene unit, are a family of carbohydrate mimics. The feature of carbasugars to mimic the size and polarity of parent sugars and to be stable *in vivo* toward sugar metabolizing enzymes make them potential candidates of glycosidase inhibitor and biochemical tools to elucidate the mechanism of carbohydrate-related enzymes.

Therefore, the various approaches to synthesis of biological significance of carbasugars and their derivatives have been achieved. However, it is still difficult to synthesize them in a large scale due to requiring multisteps and time-consuming preparation. For that reason, we have developed the facile and systematic method for the synthesis of carbasugars from 2-deoxy-*scyllo*-inosose (DOI), which is suitable in preparative scale. Herein we report the modified synthetic routes of 5a-carba- β -D-mannose, featuring selective triflation of 1,3-di-*O*-pivaloate, followed by displacement with acetate. Though the selective triflation of 1,3-di-*O*-pivaloate in 2-position was smoothly proceeded, the 2-*O*-Tf derivative was very labile compound. Therefore, after triflation of 2-OH group selectivity, acetyl group was introduced at 4-position. Following inversion reaction with CsOAc gave 2-*epi*-DOI derivative in 56 % yield over 3 steps. Finally, we achieved the synthesis of 5a-carba- β -D-mannose in 18 % yield over 12 steps from DOI.

発表論文

K. Ajisaka, M. Yagura, T. Miyazaki, A novel two-step synthesis of α -linked mannobioses based on an acid-assisted reverse hydrolysis reaction. Carbohydrate Research, 347, 2012, 147-150.

著書および総説

有用化学工業原料中間体2-deoxy-scyllo-inosose(DOI)の発酵高生産とその利用：高久 洋暁，宮崎 達雄，脇坂 直樹，山崎 晴丈，鰺坂 勝美，高木 正道：「合成生物工学の隆起 -有用物質の新たな生産法構築をめざして-」シーエムシー出版 2012年4月,pp169-179

学会発表

国際学会

1. Tatsuo Miyazaki, Toshiki Mine, Naoya Tateda, Takayuki Watanabe, Hitomi Kajiwara, Katsumi Ajisaka, Takeshi Yamamoto; EVALUATION OF THE MARINE BACTERIAL α 2,3-SIALYLTRANSFERASE ACTIVITY TOWARD INOSITOLS; 26th International Carbohydrate Symposium (Madrid, Spain) ; 2012, July, 22-27
2. Naoya Tateda, Tatsuo Miyazaki, Kazuya Arisaka, Tatsuya Kano, Katsumi Ajisaka; STUDY ON SYNTHESIS OF 5a-CARBA- β -D-MANNOPYRANOSE AND 5a-CARBA- β -D-N-ACETYL MANNOSAMINE FROM 2-DEOXY-SCYLLO-INOSOSE; 26th International Carbohydrate Symposium (Madrid, Spain); 22-27, July, 2012
3. Tatsuo Miyazaki, Toshiki Mine, Takayuki Watanabe, Hitomi Kajiwara, Katsumi Ajisaka, Takeshi Yamamoto; Enzymatic Synthesis of a Novel Sialyl Mimic Molecules by Use of Marine Bacterial Sialyltransferase; The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health (Niigata); 15-17, Oct, 2012

国内学会

1. 館田 尚家，宮崎 達雄，有坂 和也，館田 尚家，狩野 達也，鰺坂 勝美，2-デオキシ-scyllo-イノソース(DOI)を原料としたカルバ-

β -D-マンノースとカルバ- β -D-N-アセチルマンノサミンの合成研究;日本農芸化学会2012年度大会(京都)2012年3月22~25日

2. 宮崎 達雄，峯 利喜，館田 尚家，金子直史，渡部 貴幸，梶原ひとみ，鰺坂 勝美，山本 岳，海洋性細菌由来 α 2,3-シアル酸転移酵素のイノシトール類に対する転移活性評価；日本農芸化学会2012年度大会(京都)2012年3月22~25日
3. 館田 尚家，宮崎 達雄，鰺坂 勝美； α -キシリレンリンカーを介した分子内カップリングによるカルバマルトースの合成研究；第31回日本糖質学会年会(鹿児島市民文化ホール)2012年9月17~20日
4. 鰺坂 勝美，松尾 啓太，長谷川 丞，横山 達也，阿川紗由里，宮崎 達雄；構造の異なる種々の硫酸化多糖の抗酸化活性の比較；第31回日本糖質学会年会(鹿児島市民文化ホール)2012年9月17~20日
5. 宮崎 達雄，峯 利喜，渡部 貴幸，梶原ひとみ，鰺坂 勝美，山本 岳；海洋性細菌由来の α 2,3-シアル酸転移酵素のユニークな基質特異性の解明；第6回東北糖鎖研究会(弘前大学)2012年10月12日~13日
6. 鰺坂 勝美，松尾 啓太，長谷川 丞，宮崎 達雄；硫酸化多糖類の抗酸化活性に関する研究；第6回東北糖鎖研究会(弘前大学)2012年10月12日~13日
7. 本間 祐貴，三原 俊介，矢倉 美里，宮崎 達雄，鰺坂 勝美；大腸菌除去を目的としたマンノビオース結合ピースの調製；日本農芸化学会関東支部2012年度大会(新潟薬科大学)2012年10月27日~28日

8. 鈴木 康弘, 松尾 啓太, 宮崎 達雄, 鰺坂 勝美; 各種褐藻類から得られたフコイダンの抗酸化活性と構造の関係; 日本農芸化学会関東支部2012年度大会(新潟薬科大学) 2012年10月27日~28日

9. 長谷川 丞, 横山 達也, 阿川紗由里, 宮崎 達雄, 鰺坂 勝美; 由来の異なるコンドロイチン硫酸の抗酸化活性と構造の関係; 日本農芸化学会関東支部2012年度大会(新潟薬科大学) 2012年10月27日~28日

養学会, キチン・キトサン学会, 日本農芸化学会関東支部2012年度大会における実行委員長を行った。

宮崎 達雄: 日本糖質学会, 日本農芸化学会, 有機合成化学協会, FCCA (Forum of Carbohydrate Coming of Age), 日本農芸化学会関東支部2012年度大会の世話人

学外活動(その他)

鰺坂 勝美: 小千谷高校での出張講義

その他特記事項

1) 外部資金

科研費

若手研究(B)

課題名: カルバ糖を基盤としたヒト型擬似糖鎖の系統的合成法の開発

研究代表者: 宮崎 達雄

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(文部科学省)

「薬」「食」融合研究による次世代型機能性食品開発基盤の確立と, その医療・健康指導への応用のための実践拠点形成(研究分担者) 研究課題「擬似糖質を基盤とした感染症治療薬の開発」 鰺坂 勝美, 宮崎 達雄 (研究代表者: 小西 徹也)

その他研究費

JST, 研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP) フィージビリティスタディ
【FS】ステージ

研究課題: 「病原菌と結合するオリゴ糖結合ビーズの研究基材および生活用品への利用」

研究代表者: 鰺坂 勝美

2) 学外活動

学会活動

鰺坂 勝美: 日本農芸化学会(関東支部参与), 日本糖質学会, 日本応用糖質科学会, 日本食糧栄

化学研究室

Laboratory of Chemistry

■ 教授 新井祥生 Prof. Yoshifusa ARAI, Ph.D.



アルキルコバロキシム錯体の固相反応の研究及び天然物化学に関する研究



・アルキルコバロキシム錯体 ・固相反応 ・X線結晶構造解析
・天然物化学 ・生理活性

研究概要

1) アルキルコバロキシム錯体の固相反応の研究

嵩高い平面配位子を有するアルキルコバロキシム錯体の結晶に空気中で可視光を照射すると空気中の酸素と反応して酸素挿入錯体が生成する。平面配位子や反応基上の置換基を変えることでその反応性を制御し、酸素以外の気体状小分子と反応させて固相-気相反応で炭素-炭素結合形成反応を開発することを当面の目標としている。

2) 天然物化学

ダチョウの脂肪や葛、モロヘイヤなどの植物より抗菌活性及び抗酸化活性を指標として新規生理活性物質の単離を目的とする。

2012年度の研究成果

1) アルキルコバロキシム錯体の固相反応の研究

平面配位にビフェニルグリオキシムを有する錯体を合成した。その中で、反応基としてナフチルエチル基を有する錯体では固相で可視光を照射したところ、空気中の酸素と反応した酸素挿入錯体を高収率で得た。

2) 天然物化学

ダチョウの脂肪の抽出物において、脂肪酸トリグリセリドよりやや高極性分画に抗菌活性を有する成分が含まれることを見いだした。また、モロヘイヤのメタノール抽出物中には、抗酸化活性を有する分画があることを見いだした。

Research projects and annual reports

1) Solid-state reaction of alkylcobaloxime complexes

Alkylcobaloxime complexes coordinated with bulky substituents on in-plane ligands reacted with oxygen and oxygen insertion products were obtained.

2) Bioactive natural products

The antimicrobial activity was found from the extract of fat of ostrich.

発表論文

Solid state and crystalline state-specific ($\omega \rightarrow \alpha$) photoisomerization-linked dioxygenation reaction of (ω -substituted alkyl) cobalt complexes, Y. Ohgo, H. Shimizu, Y. Saigoh, K. Ikeda, K. Komori-Orisaku, Y. Arai and K. Hamada, *Tetrahedron Lett.*, 53, 6552-

6556 (2012).

学会発表

国内学会

アルキルコバロキシム錯体の結晶と気体状小分子の固相-気相反応, 高橋 麻実, 笠原えれな, 桑原ゆかり, 新井 祥生, 大胡 恵明, 第64回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(新潟(長岡)シンポジウム), 要旨集p.70-71 (長岡, 2012年12月)

その他特記事項

1) 外部資金

受託/共同研究(民間)

新井 祥生 1件

2) 社会的活動

学会活動

新井 祥生: 日本化学会, 有機合成化学協会, 日本結晶学会, 日本農芸化学会

学外活動(公的機関)

新井 祥生: 新潟県立新津高等学校学校評議員

学外活動(その他)

新井 祥生: 平成24年度第12回高校生ものづくりコンテスト新潟県大会化学分析部門審査委員長(8/21-22), 新潟南高校SSI実地研修 事前講義および実験指導(10/12, 10/14), 長岡農業高校出張講義(11/14), 平成24年度第12回高校生ものづくりコンテスト全国大会化学分析部門審査委員長(11/17-18), 長野県田川高校出張講義(1/31)