

ANNUAL RESEARCH REPORT 2018

研究年報 2018

新潟薬科大学
応用生命科学部

Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences
Faculty of Applied Life Sciences

目次

■ 動物細胞工学研究室	1
■ 生物機能化学研究室	5
■ 植物細胞工学研究室	9
■ 環境工学研究室	15
■ 環境有機化学研究室	23
■ 応用微生物学研究室	29
遺伝子発現制御学研究室	
■ 食品分析学研究室	35
■ 栄養生化学研究室	41
■ 食品・作物資源利用学研究室	47
■ 食品・発酵工学研究室	53
■ 食品安全学研究室	67
■ 食品酵素学研究室	71
■ 理科教育学研究室	75
■ 生物学研究室	81
■ 教育学研究室	83

動物細胞工学研究室

Laboratory of Animal Cell Engineering

■ 教授 市川 進 一 Professor Shinichi ICHIKAWA, Ph.D.



- 1) スフィンゴ脂質の研究
- 2) 非アルコール性脂肪肝予防法の研究



・ グルコシルセラミド ・ 化合物 ・ 脂肪肝

研究課題

1) スフィンゴ脂質の研究

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に焦点を当て、その生理機能を解析する。糖脂質関連疾患の治療薬を目指して、新しいグルコシルセラミド合成酵素阻害剤の開発を行う。

2) 非アルコール性脂肪肝の研究

非アルコール性脂肪肝は、過食などにより肝臓にトリグリセリド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や植物成分、および化合物の探索を培養細胞脂肪肝モデルで行う。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。

2018年度の研究成果

1) スフィンゴ糖脂質（糖脂質）の研究

糖脂質は脂質であるセラミドと糖鎖から構成される脂質である。糖脂質は動物細胞の膜に普遍的に存在し、その代謝異常は様々な疾患を引き起こす。グルコシルセラミド（GlcCer）は、セラミドとグルコースから構成される最も単純な構造を持つ糖脂質である。ほとんどの糖脂質はGlcCerを経由して合成される。GlcCerの分解酵素であるグルコセレブロシダーゼの欠損は、体内にGlcCerを蓄積させ、その結果としてゴーシェ病を発症させる。グルコシルセラミド合成酵素（EC.2.4.1.80 GlcT-1）を阻害することにより体内のGlcCerを減少させる化合物は、ゴーシェ病の治療薬候補として重要である。

現在、2種類のGlcT-1阻害剤が、ゴーシェ病の治療薬として用いられているが、いずれの化合物も血液—脳関門の透過できないために、神経症状に対しては効果がない。そのため、新しい薬の開発が望まれて

いる。私たちは日本に自生する水生植物であるコウホネ (*N. japonicum*) の酸性 (pH3.0) 水抽出液中にマウスおよびヒトのGlcT-1に対する強い阻害活性を見出している。この阻害活性はスフィンゴミエリン合成酵素やラクトシルセラミド合成酵素活性を阻害しないことから、選択性があると考えられた。また、細胞内でGlcT-1活性を阻害することから、阻害物質細胞膜透過性があると考えられた。コウホネ葉に含まれるGlcT-1の阻害物質は、ゴーシェ病を初めとするGlcT-1が関係する代謝異常疾患の治療薬開発のためのリード化合物になる可能性がある。現在、溶媒抽出とシリカゲルクロマトグラフィーを組み合わせ、阻害物質の単離を試みている。

2) 非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) の研究

非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) は過剰なTGが過剰に脂肪滴の形で蓄積した状態である。NAFLDの原因は過剰なカロリー摂取である。近年先進国でNAFLDの人が増えている。NAFLDは炎症を引き起こし、最終的にはがんを発症することがある。そのため肝臓で脂肪滴形成を阻害する化合物の探索は重要な研究テーマである。私たちは、以前の研究で二本鎖RNA依存性タンパク質リン酸化酵素 (PKR) の阻害剤であるC16が、マウス肝臓がん細胞株で脂肪滴形成を阻害することを明らかにしている。

今年度、私たちは、C16が脂肪滴形成を抑制する仕組みについての解析を行った。C16で処理した細胞では細胞内のTG量の減少と、脂肪酸取り込みの減少が観察された。さらにC16で処理した細胞では、TGと脂肪酸の調節因子であるSREBP-1c, GPAMやDGAT1を含むTG合成関連酵素, CD36, FATP2 や FATP5の様な脂肪酸輸送タンパク質のmRNAレベルが低下していた。

C16以外のPKR阻害剤であるPKR inhibitor III (7-DG) で細胞を処理した場合やPKRのsiRNAでPKRをノックダウンした場合は、脂肪滴形成抑制は起きなかった。そのためC16の脂肪滴形成抑制に関係する標的分子はPKRではないと考えられる。現在、私たちは、脂肪滴形成を制御するPKR標的分子を探している。

Research projects and annual reports

1) Studies on glycosphingolipids (GSL)

GSL are lipids composed of a lipid ceramide and sugar chains. GSLs are ubiquitously present in membranes of animal cells and their metabolic disorders cause various diseases. Glucosylceramide (GlcCer) is the simplest GSL composed of ceramide and glucose. Most of GSLs are synthesized from GlcCer. The GlcCer-degrading enzyme glucocerebrosidase deficiency leads to the accumulation of GlcCer and is manifested as Gaucher's disease.

Chemical compounds that inhibit glucosylceramide synthase (EC 2.4.1.80, GlcT-1) are of great importance since they are drug candidates for treating Gaucher's disease. Currently, two GlcT-1 inhibitors are used for the treatment of Gaucher's disease. None of them, however, show any significant effect on neurological symptoms of Gaucher's disease since it cannot cross blood-brain barrier. Therefore, the development of new drugs is highly desired. We found inhibitory activity of GlcT-1 in *N. japonicum* which is an aquatic plant native in Japan. The acidic water (pH 3.0) extract of *N. japonicum* leaves had strong inhibitory activity against both mouse and human GlcT-1 activities. It seems that the inhibition is rather selective since it does not inhibit sphingomyelin synthase lactosylceramide synthase. Inhibitor in the extract is cell membrane permeable since it can inhibit intracellular glucosylceramide synthase activity. GlcT-1 inhibitors in the extract of *N. japonicum* leaves can be lead compounds for developing drugs treating GlcT-1-related diseases. We are trying to isolate the inhibitors by solvent extraction and silica-gel chromatography.

2) Studies on non-alcoholic fatty liver disease

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a condition in which excess triglyceride (TG) are accumulated as lipid droplets in liver cells. The cause of NAFLD is excessive caloric intake. In recent years, NAFLD has been increasing in people in developed countries.

NAFLD induces inflammation and may finally cause cancer. Thus, it is important to search chemical compounds that inhibit lipid droplet formation in liver. In our previous studies, we had found double-stranded RNA-activated protein kinase (PKR) inhibitor C16 had an inhibitory effect on lipid droplet formation in mouse hepatoma cells.

In this year, we analyzed the inhibitory mechanism of lipid droplet formation by C16. The decrease of TG content and free fatty acid uptake were observed in the cells treated with C16. In addition, C16 treated cells lowered expression level of mRNAs of SREBP-1c a regulator of fatty acid and lipid production, of enzymes related to TG synthesis including GPAM and DGAT1, and of fatty acid transport proteins such as CD36, FATP2 and FATP5. However, suppression of the lipid droplet formation was not caused by the inhibition of PKR since treatment with another PKR inhibitor, PKR inhibitor III (7-DG) and knockdown of PKR by siRNA had no effect. We are now searching for a target protein of C16 that may regulate lipid droplet formation.

研究成果発表

1) 学会、シンポジウム等での発表

- ・鈴木 聡珠, 池田 遼太, 平林 義雄, 市川 進一, 細胞膜スフィンゴ糖脂質量がNMDA型グルタミン酸受容体活性に及ぼす影響, 第41回 日本分子生物学会年会, 神奈川県横浜市, 2018/11/28
- ・西方 瑞穂, 平林 義雄, 市川 進一, コウホネ葉抽出液のグルコシルセラミド合成酵素活性阻害作用について, 第41回 日本分子生物学会年会, 神奈川県横浜市, 2018/11/28
- ・関根 大晃, 高橋 智裕, 市川 進一, PKR inhibitor (C16) のマウス肝臓がん細胞株での脂肪滴形成抑制作用, 第41回 日本分子生物学会年会, 神奈川県横浜市, 2018/11/28
- ・長谷川 雄太, 和田 雄慈, 市川 進一, 神経芽細胞腫に分化を誘導する既存阻害剤の同定と, その解析, 第41回 日本分子生物学会年会, 神奈川県横浜市, 2018/11/30

学会等活動

市川 進一

1) 学会等の役員・委員活動

- ・東北糖鎖研究会 世話人, 青森県弘前市 (東北糖鎖研究会世話人会参加。2019年本学で開催することになった。)

公開講座等講師

市川 進一

1) 他機関から依頼の講演会等

- ・新発田高校SSH DNA講座 (実験)

他機関における教育支援

市川 進一

1) 高校での指導

- ・新発田高校SSH運営指導委員として期間中，7月10日と12月19日の2回の運営指導委員会に参加し，SSHについての意見を述べた。(新発田高校SSH運営指導委員)

生物機能化学研究室

Laboratory of Chemical Biology

■ 准教授 宮崎 達雄 Associate Professor Tatsuo MIYAZAKI, Ph.D.

■ 助手 井坂 修久 Research Associate Nobuhisa ISAKA, Ph.D.



化学反応と酵素反応を利用した有機合成により生理活性物質を創出する。



・ 擬似糖鎖 ・ カプサイシン配糖体 ・ 痛み受容体 ・ 匂い受容体
・ うま味受容体

研究課題

1) カルバ糖鎖を利用したヒト型モノクローナル抗体作成法の開発

近年、コア1糖鎖 ($\text{Gal} \beta 1 \rightarrow 3 \text{GalNAc} \alpha 1 \rightarrow \text{O-Ser/Thr}$) を基質としてコア2糖鎖を構築する β -N-アセチルグルコサミン転移酵素 (C2GnT) に陽性を呈する前立腺癌および膀胱癌患者の予後が悪いことが報告されている。これらのことより、C2GnTに陽性の癌患者は、尿中のタンパク質上のコア1糖鎖がコア2糖鎖に変化し、増加していると推定される。そのため、尿中のコア2糖鎖が定量できれば、癌の悪性度診断の指標となる可能性がある。そこで、本研究では立体構造が天然型の糖鎖に似ているが非ヒト型糖鎖であるカルバ糖鎖を利用して免疫を誘起させ、抗コア2糖鎖モノクローナル抗体を作成することを提案し、コア2糖鎖の非還元末端に位置するガラクトースとN-アセチルグルコサミン残基をカルバ糖とした擬似糖鎖の合成を検討している。

2) カプサイシン配糖体の合成研究

トウガラシは香辛料の中でも最も辛みが強く、その主成分であるカプサイシン類は交感神経の活性化、脂肪代謝の促進、抗酸化・抗菌作用などの生理機能があり、特にエネルギー代謝に影響を与える食品成分として注目されている。しかしながら、カプサイシン類は脂溶性化合物であることとその強烈な辛味のために、食品への利用は非常に限定されている物質である。これらの点を克服するひとつのアプローチ法としてカプサイシン類を配糖化する研究が展開されている。しかしながら、これまでの報告例ではグルコース残基のみしか利用されておらず、また生理活性における知見は主に辛味の低減や親水性の向上についてのみであり、ヒトにおける有効性はまだ十分に理解されていない。そこで、本研究ではさまざまな種類の糖を有するカプサイシン配糖体の合成を検討している。

3) 痛み受容体B1受容体に働く痛み防御物質のデザインと合成

ブラジキニン受容体 (BR) はB1RとB2Rの2種類に分類される。恒常性受容体であるB2Rは血圧調整や痛みに関与している。一方、誘導性受容体であるB1Rは痛みだけに作用することが示唆されている。近年、

植物由来のステロイド構造を有するVelutanol AがB1Rに対し選択的に拮抗作用を示すことが報告された。現在までに、当研究室ではこのB1Rのみに拮抗作用を示すVelutanol Aおよび関連する天然ステロイド性化合物の合成を達成している。また、活性発現に必須の部分構造に関してもいくつかの知見を有している。そこで、本研究では、合成が簡単な新しいアンタゴニストを創成することを目的に、構造を単純化した新しいステロイド誘導体をデザインし、その合成を検討している。

4) 匂い受容体に作用する物質のデザインと合成

匂い受容体OR51E2は嗅上皮のみならず前立腺などにも存在している。この匂い受容体OR51E2は、嗅上皮ではスミレの花のような香りをもつ β -イオノンとの受容に関わっている。一方、前立腺では細胞増殖にかかわり、アンドロスタ-1, 4, 6-トリエン-3, 17-ジオン (ATD) がアゴニストとして作用し、細胞増殖阻害を示す。本研究ではステロイド骨格をもつATDとテルペノイドのひとつである β -イオノンの構造的類似性をコンピュータモデリングにより解析し、その知見から新しいアゴニストおよびアンタゴニストの創成を目指している。

5) うま味受容体のうま味物質認識機構の解明 (分子モデリング)

うま味は基本味 (五味) のひとつである。うま味分子はうま味受容体に働いて活性を呈するが、いくつかの低分子化合物によってその活性が増強されることが知られている。本研究では、これらの低分子化合物がどのようにうま味受容体に結合するかをコンピュータシミュレーションで推定し、うま味増強の作用機序の解明を目指す。

2018年度の研究成果

1) カルバ糖鎖を利用したヒト型モノクローナル抗体作成法の開発

コア2糖鎖の非還元末端に導入するカルバ- β -D-ガラクトース供与体の効率的な合成法を検討した。既に、当研究室では、2017年にカルバ- β -D-グルコースを原料として目的の2, 3, 4, 6-O-tetra-Bn-カルバ- β -D-ガラクトースを合成している。しかしながら、その合成法は工程数が多く、低収率であった (収率0.5%, 12工程)。そこで、中性・酸性条件下でのベンジル化反応を鍵工程とした第2世代の合成ルート (8工程) を立案し、その合成を検討した。中性条件下でのベンジル化はDPT-BMを、また酸性条件下は, Benzyl 2, 2, 2-Trifluoro-N-phenylacetimidateまたはTriBOTを用いて検討を試みた。すべての試薬でベンジル化反応の進行が確認されたが、収率は低いものであった (14%, 31%, 43%)。また、酸性条件下の反応では、副反応として脱ベンジリデン化が起こっていることが確認された。

2) カプサイシン配糖体の合成研究

代表的な辛味成分であるカプサイシン類は、エネルギー代謝亢進作用、抗酸化作用、抗菌作用、鎮痛作用など様々な生理機能を有する。しかしながら、難水溶性を示す場合が多く、食品へ利用しづらい場合が多い。そこで、この欠点を克服し食品への応用範囲を拡大するために、辛味物質であるジカプサイシンの配糖化を検討した。今後の課題は、 α 体のみを単離精製することである。

3) 痛み受容体B1受容体に働く痛み防御物質のデザインと合成

Velutanol A 関連誘導体とブラジキニン受容体との相互作用解析結果を基として新しい構造のステロイド

誘導体をデザインし、その合成を行った。特にD環を単純化したセコステロイドのデザインから、ペプチドとの構造的相関性が見られる分子の合成の検討を行った。

4) 匂い受容体に作用する物質のデザインと合成

匂い受容体のリガンドであるアンドロスタ-1, 4, 6-トリエン-3, 17-ジオンからデザインした18-デメチル体及び18-デメチル-D-ホモ体の合成を試みた。その結果、D環の修飾からデメチル化する手法を見出し、各種誘導体の合成を達成した。

5) うま味受容体のうま味物質認識機構の解明 (分子モデリング)

分子モデリングソフトDiscovery Studioを用い、代謝型グルタミン酸受容体を鋳型とし、うま味受容体の立体構造モデルを構築した。次いで、グルタミン酸およびイノシン酸とうま味受容体の複合体モデルをそれぞれ作成し、その評価を試みた。その結果として、うま味受容体の分子認識における官能基の分布図を作成できた。

Research projects and annual reports

1) *Development of the human monoclonal antibody preparation method using a carba-oligosaccharide chain*

We investigated the effective synthetic method of the carba- β -D-galactose donor to introduce into the non-reducing end of 2 core 2 oligosaccharide. The 2,3,4,6-O-tetra-Bn-carba-D-galactose was already synthesized from carba- β -D-glucose in our laboratory in 2017. However, the synthetic route had many numbers of steps and was a low yield (0.5%, 12 steps). Therefore, we drew up the second generation of synthetic route (8 steps) in which the benzylation under the neutrality or the acidity condition is a key step. The benzylation under the neutral condition was examined using DPT-BM, and that under the acidity condition using Benzyl 2,2,2-Trifluoro-N-phenylacetimidate or TriBOT. The benzylation was confirmed in all three kinds of reagents, but the yields were low (14%, 31%, 43%, respectively). In the reaction under the acid condition, it was confirmed to occur deprotection of the benzylidene group.

2) *Synthetic study of capsaicin glycosides*

The capsaicin which is a representative pungent substance has various physiologies such as energy hypermetabolism action, an antioxidant action, antibacterial action, painkilling action. However, it is hard to often use it to food because the solubility of capsaicin is too low. Therefore, we investigated the synthesis of the dihydrocapsaicin glycoside to expand the applied range to food. The coming problem is to establish the purification method to isolate only α form.

3) *Design and synthesis of non-steroidal ligands for bradykinin receptor.*

The bradykinin receptor has two subtypes, referred to as bradykinin B1 receptor (B1R) and B2 receptor (B2R), and these subtypes differ in their level of expression and their binding to ligands. We achieved the syntheses of velutinol A and the structurally similar compounds sharing a highly oxygenated *seco*-pregnane cage-like structure. The syntheses of these aglycon derivatives may be useful for the structure-activity studies of non-peptide ligands for the bradykinin B1 receptor (B1R). Based on the analysis of the interactions between steroidal ligands and bradykinin receptor, non-steroidal ligands were designed for the development of the antagonists.

4) *Odorant design based on the interactions between steroidal odorants and their receptors.*

Odorant receptors constitute more than 350 G protein-coupled receptors (GPCRs), which have shown to be expressed not only at nasal cavity but also at other organs. Among the odorant receptors, bionone receptor OR51E2 is expressed at odorant and prostate cells. Recently, a steroidal derivative, androsta-1,4,6-triene-3,17-dione (ATD), was found to be a ligand for OR51E2. We designed 18-nor and 18-nor-D-homo steroid derivative, synthesized from epiandrosterone using Baeyer–Villiger (BV) oxidation, hydroboration (HB), and ring-closing metathesis (RCM) as key steps. 18-Demethylation was investigated for a synthesis of 18-Norandrostenone derivatives.

5) *Analysis of the interactions of volatile compounds on the Umami receptor.*

Umami is one of the 5 basic taste qualities. The umami taste receptor is a heteromeric complex of 2 class C G-protein-coupled receptors, T1R1 and T1R3. We propose a cooperative ligand-binding model involving the Venus flytrap domain of T1R1, where L-glutamate binds close to the hinge region, and 5'-ribo- nucleotides bind to an adjacent site close to the opening of the flytrap to further stabilize the closed conformation. We predicted the interaction of the key residues for L-glutamate and for IMP binding.

研究成果発表

1) 国際雑誌（査読付き）

- Tateda Naoya, Ajisaka Katsumi, Ishiguro Masaji, Miyazaki Tatsuo, Synthesis of 5a,5a'-dicarba-D-glucobioses from conformationally restricted carbaglucosyl triflates using S_N2 -type inversion with carbaglucosyl nucleophiles, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2019, 27, 2345-2367.

研究資金等

1) 科研費以外の政府系競争的資金

宮崎 達雄（研究分担者）：「木質バイオマスからの各種化学品原料の一貫製造プロセスの開発」，新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）

2) 学内競争的資金

宮崎 達雄，井坂 修久：「抗スポロゲネス菌活性を有する米成分の解析」平成30年度新潟薬科大学応用生命科学部，学部内共同研究奨励費

3) 企業等との共同研究

宮崎 達雄：「難水溶性物質に対する可溶化技術の検討」

宮崎 達雄：「キノコ由来の機能性物質の構造解析」奨学研究費

植物細胞工学研究室

Laboratory of Plant Biotechnology

- 教授 田中 宥司 Professor Hiroshi TANAKA, Ph. D.
- 准教授 相井 城太郎 Associate Professor Jotaro AII, Ph. D.
- 助手 中野 絢菜 Research Associate Ayana NAKANO



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



・ β -グルカン ・ 越冬性 ・ デンプン ・ 自家不和合性 ・ 突然変異体

研究課題

1) オオムギの重要農業形質に関する研究

オオムギは六条オオムギと二条オオムギに大別され、国内では六条オオムギは主に精麦用・麦茶用・味噌用等に、二条オオムギはビール用・焼酎用等に利用される。本研究ではこのうち六条オオムギについて、その主産地である北陸地域等の寒冷地・多雪地向けに、実需者から新規需要のある新需要オオムギ品種及び高品質精麦用オオムギ品種の育成に向け、越冬性や β -グルカン含量に関わるDNAマーカーの開発を行っている。

2) 薬用植物の産地形成に向けた研究

漢方製剤・生薬の原料となる薬用植物は、8割以上を中国からの輸入に依存している。今後、薬用植物は国内需要の拡大が見込まれるため、安定した生産システムを構築することが急務となっている。そこで、五味子等薬草の種子・種苗の安定供給体制の確立を目指し、効率的な組織培養技術を開発している。

3) ソバの重要農業形質に関する研究

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。

2018年度の研究成果

1) オオムギの重要農業形質に関する研究

越冬性への関与が示されるフルクタン合成遺伝子 1-SST , 6-SFT 及び 1-FFT に着目し、越冬性が「極強」であるファイバースノウと「強」であるミノリムギに特異的なSNP及びindelを発見した。ファイバースノウとミノリムギのフルクタン合成遺伝子 1-SST , 6-SFT 及び 1-FFT に見出された特異的なSNP及びindelに着目し、ファイバースノウタイプまたはミノリムギタイプのフルクタン合成遺伝子クラスターを評価できるDNAマーカーを開発した。

β -グルカン含量への関与が示される $\text{endo-}\beta\text{-1,4-glucanase}$ 及び $\beta\text{-amylase}$ において、 β -グルカン含量が多い系統に特異的なSNP及びindelを発見した。 β -グルカン含量が多い系統に見出されたSNP及びindelに着目し、 β -グルカン含量の定性的な評価に利用が期待されるDNAマーカーを開発した。

越冬性への関与が示されるフルクタン合成遺伝子 1-SST , 6-SFT 及び 1-FFT のタイプ識別DNAマーカーは、北陸地域等の寒冷地・積雪地に適した選抜育種を容易にする技術としての活用が期待される。また、 β -グルカン含量を定性的に評価するDNAマーカーは、高 β -グルカン品種を育成するうえで活用が期待される。

3) ソバの重要農業形質に関する研究

フツウソバ (*Fagopyrum esculentum*) において異形花型自家不和合性は、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。フツウソバにおける異形花型自家不和合性においては、雌蕊が短く雄蕊が長い短柱花をもつ個体と雌蕊が長く雄蕊が短い長柱花を持つ個体が存在し、異なる花型をもつ個体間でのみ受精が成立する。そのためソバの生産性は環境の影響を強く受けやすく、作柄が不安定となっている。本年度は、ソバの作柄不安定の解決を目指し、その一因である異形花型自家不和合性の遺伝的基盤の解明をおこなった。

フツウソバの短柱花及び長柱花の花器官で特異的に発現する遺伝子を探索したところ、4つの遺伝子 ($HSIG\text{-}3$, -4 , -5 , -7) が雄蕊あるいは雌蕊で特異的に発現していることを見出した。これらの4つの遺伝子と18品種のソバ遺伝資源を用いて花型との関連性を調査したところ、1つの品種を除き花型との関連性が確認された。花型との関連性が認められなかった1つの品種について、 $HSIG\text{-}3$, -4 , -5 , -7 の存否を確認したところ、 $HSIG\text{-}4$ 及び $HSIG\text{-}7$ については正常に存在するものの、 $HSIG\text{-}5$ については完全な欠失、 $HSIG\text{-}3$ についてはトランスポゾンの挿入が認められた。そこで、この個体をS del-1と名付けた。S del-1における異形花型自家不和合性の詳細な表現型を調査したところ、雌蕊の長さ、花粉の大きさ、不和合性応答に異常が確認された。S del-1と野生型の短柱花個体を交配し、正常な $HSIG\text{-}3$ 及び $HSIG\text{-}5$ をヘテロで有する F_1 個体の異形花型自家不和合性の表現型は、野生型の短柱花個体へと復帰することが確認された。これらの結果は、S del-1は短柱花形質を制御する遺伝子に欠損が生じていることを示すものである。つまり、短柱花個体の雄蕊と雌蕊特異的に発現する $HSIG\text{-}3$ 及び $HSIG\text{-}5$ は、ソバにおける異形花型自家不和合性の短柱花形質制御に関わると強く示唆するものである。これらの知見は、作柄が安定する自殖性ソバを開発するための基盤となる。

Research projects and annual reports

1) Development of PCR based markers for easy selection in barley breeding field

Marker-assisted selection (MAS) provides opportunities for enhancing the response from selection because molecular

markers can be applied at the seedling stage, with high precision and reductions in cost. In this study, we have characterized sucrose: sucrose-1-fructosyltransferase (*1-SST*), sucrose:fructan 6-fructosyltransferase gene (*6-SFT*) and fructan: fructan-1-fructosylferase (*1-FFT*) in four Japanese barley cultivars, which shows different winter hardiness. Based on SNPs and Indels information, we developed three DNA markers. Also, we have characterized end- β -1,4-glucanase and β -amylase to develop useful DNA markers for MAS of β -glucan content in barley breeding lines. Based on sequence polymorphisms, we developed two useful DNA markers. These markers can be useful for rapid identification of winter hardiness and also high β -glucan plant in large-scale barley breeding lines.

3) Molecular characterization of important agronomic traits in buckwheat (*Fagopyrum esculentum*)

Fagopyrum esculentum is a heteromorphic type self-incompatibility (SI) mechanism with outbreeding crops, and fertilization is established only between different flower types. The floral morphology and intra-morph incompatibility are both determined by a single genetic locus named the S-locus. Plants with short-styled flowers are heterozygous (*S/s*) and plants with long-styled flowers are homozygous recessive (*s/s*) at the S-locus. Despite recent progress in our understanding of the molecular basis of flower development and plant SI systems, the molecular mechanisms underlying heteromorphic SI remain unresolved. To understand of the molecular basis of heteromorphic SI in buckwheat, screening of specific expressed genes from the S locus was attempted. Four candidate S genes in heteromorphic SI were found (*HSIG-3~7*). *HSIG-3* and *HSIG-5* were specifically expressed in short-styled flower morph, but a world land race was defective in those genes and designated as *S del-1*. It was revealed that *S del-1* exhibits SI in the Long-homostyle flowers, which shows the same length of stamen and pistil. Pollen tube elongation tests demonstrated that *S del-1* pollen could be pollinated with both of short and long styled flower morphs. As a result, there is a possibility that SC has become due to an abnormality on the pollen side. *S del-1* was revealed that the length of the pistil and diameter of the pollen would be controlled by *HSIG-3*, *HSIG-5* or defective of its S haplotype region because of *HSIG-5* (*S-ELF 3*) its flower type changes to a short-styled flower morph by introgression of wild S haplotype region. We will elucidate the functional of *HSIG-3* and *HSIG-5* (*S-ELF 3*) through reverse genetics analysis and evolutionary analysis.

研究成果発表

1) 学会, シンポジウム等での発表

Yasui Yasuo, Jotaro Aii, Ohta tatsuya, Molecular bases of the different forms of flowers on plants of the same species, Society for Molecular Biology and Evolution, 2018/07/10

2) 国際雑誌 (査読付き)

Takeshi Nakano, Shota Tanaka, Misato Ohtani, Ayumi Yamagami, Shun Takeno, Naho Hara, Akiko Mori, Ayana Nakano, Sakiko Hirose, Yasuyo Himuro, Masatomo Kobayashi, Tetsuo Kushiro, Taku Demura, Tadao Asami, Hiroyuki Osada, Kazuo Shinozaki, FPX is a Novel Chemical Inducer that Promotes Callus Formation and Shoot Regeneration in Plants, Plant and Cell Physiology, 59(8), 1555-1567, 2018/08

研究資金等

1) 科研費以外の政府系競争的資金

- ・田中 宥司，相井城太郎（研究分担者）：革新的技術開発・緊急展開事業地域戦略「革新的醸造技術を用いた新しいSakeによる日本酒輸出の産業化」，国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究センター
- ・相井城太郎（研究分担者）：イノベーション創出強化研究推進事業「新たな実需者ニーズに応える寒冷地・多雪地向け新需要大麦品種等の育成と普及」，（小課題）「DNAマーカーによる大麦育種選抜支援及び新規有用マーカーの開発」，国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究センター
- ・相井城太郎（研究分担者），中野 絢菜（研究協力者）：イノベーション創出強化研究推進事業「そば需要拡大のための「デンプン改変そば」の系統開発と評価」，国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究センター

2) 企業等からの受託研究

- ・相井城太郎（研究代表者）：ゲノム科学による新形質ソバの作出，新潟市

3) その他の補助金・助成金

- ・田中 宥司，相井城太郎（研究分担者）：地域資源の食による健康自立地域の創生支援事業，文部科学省私立大学研究ブランディング事業

学会活動等

田中 宥司

- 1) 学会等の役員・委員活動
 - ・上信越育種セミナー世話人
- 2) その他
 - ・日本農芸化学会
 - ・日本育種学会

相井城太郎

- 1) 学会等の役員・委員活動
 - ・上信越育種セミナー世話人
- 2) その他
 - ・世界ソバ学会
 - ・日本育種学会

中野 絢菜

- 1) 学会等の役員・委員活動
 - ・上信越育種セミナー世話人

公開講座等講師

田中 宥司

- 1) 他機関から依頼の講演会等
 - ・北越高等学校1dayキャンパス

相井城太郎

- 1) 他機関から依頼の講演会等
 - ・加茂農林高等学校生産技術科果樹コース体験実験
 - ・田上町食育事業支援
 - ・明訓中学校夏休み体験講座
 - ・教員免許状更新講習
 - ・高大連携講座・応用生命科学
 - ・北越高等学校1dayキャンパス
 - ・新発田農業高等学校出前講義

中野 絢菜

- 1) 他機関から依頼の講演会等
 - ・加茂農林高等学校生産技術科果樹コース体験実験
 - ・田上町食育事業支援
 - ・北越高等学校1dayキャンパス
 - ・明訓中学校夏休み体験講座
 - ・高大連携講座・応用生命科学

公的な審議会，委員会等

田中 宥司

- 1) 審議会・委員会
 - ・新潟市農業活性化研究センター 薬草研究会委員
 - ・新潟県 農業総合研究所遺伝子組換え実験委員会委員
 - ・新潟県給付型奨学金選考委員会委員
 - ・田上町食育委員会委員
- 2) その他公的社会活動
 - ・新津中央ロータリー会員
 - ・日本技術士会生物工学部会委員

相井城太郎

- 1) 審議会・委員会
 - ・新潟市農業活性化研究センター薬草研究会委員として活動
 - ・加茂農林高等学校スーパー・プロフェッショナル・ハイスクール事業運営指導委員として活動

2) 調査・研究会

- ・新潟市農業活性化研究センター及びgenomedia株式会社ダイズ育種研究推進アドバイザーとして活動

3) その他公的社会活動

- ・田上町食育事業の支援メンバーとして活動

中野 絢菜

1) その他公的社会活動

- ・田上町食育事業の支援メンバーとして活動

他機関における教育支援

相井城太郎

1) 高校での指導

- ・新潟県高校特色化地域人材活用事業の委員として、加茂農林高等学校生命情報コースの講師として活動（加茂農林高等学校）

中野 絢菜

1) 高校での指導

- ・新潟県高校特色化地域人材活用事業の支援メンバーとして、加茂農林高等学校生命情報コースの講師として活動（加茂農林高等学校）

環境工学研究室

Laboratory of Environmental Engineering

■ 教授 川 田 邦 明 Professor Kuniaki KAWATA, Ph.D.

■ 准教授 小 瀬 知 洋 Associate Professor Tomohiro KOSE, Ph.D.



化学と工学を基礎とした化学物質の安全な管理法を通じた環境・生態系の改善と保全のための研究



・ 化学物質 ・ リスク ・ 起源解析 ・ 環境動態 ・ 再資源化

研究課題

I. 添加剤およびその不純物の曝露リスクを考慮した樹脂リサイクルに関する研究

樹脂には素材の特性を改善するために難燃剤をはじめとする多様な添加剤が使用されており、これらの添加剤やその不純物には有害性が懸念される物質も多い。その一方で、廃棄物の削減や地球温暖化の防止の観点から樹脂のマテリアルリサイクルが進められており、そのリサイクル率は上昇する傾向にある。しかしながら樹脂素材は金属と異なり、リサイクルに伴う加熱成型工程や使用時の劣化に伴い、素材自体が変質し、添加剤などの有害物質の放出性が高まる懸念がある。そこで本研究課題においてはウレタンや繊維をリサイクルしたチップウレタン素材および廃タイヤに含まれる添加剤および不純物のリサイクル製品を経由した曝露リスクについて検討を行った。

II. 東日本大震災における津波と復興工事によるかく乱を受けた干潟の回復過程

東北地方東沿岸域は全域が東日本大震災によって生じた津波に被災し、藻場や干潟などの海浜生態系もまた甚大な被害を被った。このようにかく乱を受けた干潟や藻場の回復は被災地域の水産業の復興における重要な課題である。宮城県奥松島の波津々浦湾干潟は震災前は宮城県内で唯一の潮干狩り場が存在し、水産業の場としても親水域としても重要な価値を有する干潟であった。しかしながら震災後、環境かく乱からアサリの生育に障害が出ており、いまだ回復していない。そこで本研究では東日本大震災における津波のかく乱を受けた宮城県奥松島の干潟の回復過程を検討し、アサリの生育阻害をもたらした干潟生態系のかく乱の原因を明らかにすることを目的とした。

III. 革新的膜利用水処理システムの構築

逆浸透膜処理は海水、地下水、および下水処理水の淡水化・水資源再利用化技術として広く利用されている。膜処理において、無機成分に起因するスケールや微生物の生物膜による膜の目詰まり（ファウリング）は深刻な問題である。従来のファウリング制御方法としては、無機スケールに対してクエン酸を用いた酸洗浄が適用されており、生物膜に対しては近年、次亜塩素酸ナトリウム（以下、塩素）による制御が

検討されている。しかし、水源が多様化する中で、沿岸域等の微生物密度の高い海水や高い塩濃度の排水を含む下水処理ではスケールと生物膜の同時形成によるより強固な複合的なファウリングになり、従来の方法では制御が困難になることが示唆されている。そこで本研究課題においては、複合ファウリングの制御にクエン酸と塩素を用いた洗浄を適用し、その洗浄効果について評価を行った。

IV. バイオマスを利用したリン資源循環型水田システムの構築

リン鉱石は枯渇資源であり、輸入に依存している。一方で、リンは環境において富栄養化の一因であり、中でも農地はリンの非点源汚染源であることから、農地におけるリン回収と再利用は水質保全と資源確保の観点から重要である。水中のリン回収方法として木質炭素化物の利用があり、カルシウム (Ca) の複合化によりリン回収能力を向上できる。また、水稻栽培で発生する籾殻はケイ素を含むことから従来、水田に還元されており、ここで籾殻を原料としてCaを複合化させた炭素化物は従来の農法を踏襲しつつ、環境へのリン負荷の低減と資源循環を両立でき得る。さらに、牡蠣殻もまた一次産業における廃棄物として多量に発生し、その処分に多くの費用を要している。そこで本研究課題においては、籾殻と牡蠣殻の有効活用を狙って、水田原位置でも実施可能な作製条件におけるリン回収材料の開発を行い、農地におけるリン資源削減効果の評価を試みた。

V. 閉鎖性海域における光環境の動態とその影響因子に関する研究

海産資源を支える海洋の基礎生産において光合成は必要不可欠であるが、陸域からの全懸濁物質 (TSS) や有色溶存有機物 (CDOM) の流入もしくは海洋内部でのCDOMの生産が要因となることで水中の光が減衰し、植物プランクトンの増殖が制限されることが分かっている。特に、CDOMの起源は多様であり、未だ明らかになっておらず、内湾で盛んに養殖される二枚貝もCDOMを排出することが示唆されているが、その排出量や光環境への影響については不明である。そこで本研究課題においては、強閉鎖性の典型的な富栄養海域であり、カキ養殖も盛んである佐渡市加茂湖をモデル水域として養殖カキ由来のCDOMによる水中の光減衰への影響を空間的かつ定量的に評価することを目的とした。

2018年度の研究成果

I. 添加剤およびその不純物の曝露リスクを考慮した樹脂リサイクルに関する研究

国内で流通する廃タイヤリサイクル製品中の有害な添加剤不純物の含有傾向を検討した。その結果、一部のタイヤリサイクル製品にはREACH規制における基準値を超過する多環芳香族炭化水素類が含まれた。またRoHS規制の基準内ではあるものの鉛などの重金属類の含有も確認された。

リサイクル素材であるチップウレタンを使用した寝具クッション類においても、原料のリサイクルウレタンに由来する難燃剤の混入が確認され、室内における曝露リスクが懸念される。

II. 東日本大震災における津波と復興工事によるかく乱を受けた干潟の回復過程

宮城県奥松島の波津々浦湾干潟の底質中のシルトの起源の経年変化を金属組成に基づいたクラスター分析および主成分分析によって検討した。結果、波津々浦湾干潟の底質中のシルトは、主として起源内湾奥部および内湾南岸の防潮堤工事に伴う土砂の流入と、外湾および周辺海域の沿岸防潮堤工事等に伴い流入した土砂の海洋を経由した流入の2つの経路で負荷していることが確認された。このうち、外湾および周辺海域の沿岸防潮堤工事等の影響が年々大きくなっていることが確認された。

Ⅲ. 革新的膜利用水処理システムの構築

複合ファウリングに対してクエン酸と塩素を用いた洗浄を適用したところ、無機スケールと生物膜の複合化は洗浄によるファウリング制御を困難にすることが明らかになった。また、塩素とクエン酸を同時併用した洗浄を検討したところ、併用洗浄におけるpH値はファウリング制御効果に影響を及ぼし、最大の制御効果はpH 10において得られることが分かり、複合ファウリングは塩素とクエン酸の併用洗浄による新たな洗浄方法を適用することで制御可能であった。

Ⅳ. バイオマスを利用したリン資源循環型水田システムの構築

籾殻と牡蠣殻を利用してリン回収材料の開発を試みたところ、牡蠣殻をその主成分である CaCO_3 から900℃での焼成による脱炭酸・水和処理を施して $\text{Ca}(\text{OH})_2$ に変化させることにより、既往の $\text{Ca}(\text{OH})_2$ とほぼ同程度のリン吸着能が得られることが明らかとなった。また、水田原位置において従来行われている燐炭作製時の温度（400℃）でも作製可能であることが分かった。さらに、作製した材料の飽和吸着量と籾殻の年間発生量（ $1,923 \times 10^3 \text{ t/y}$ ）からその全てを炭素化物にした場合に、この材料を適用することでリン鉱石の輸入量（ $31 \times 10^3 \text{ t-P/y}$ ）の約28%を回収可能であり、リン施肥量を削減できることが推定された。

Ⅴ. 閉鎖性海域における光環境の動態とその影響因子に関する研究

加茂湖におけるクロロフィルa濃度（ $0.5\text{--}19.8 \mu\text{g L}^{-1}$ ）は同様にカキ養殖が盛んな広島湾（2016）における濃度（ $1.5\text{--}3.9 \mu\text{g L}^{-1}$ ）より高く、加茂湖は高い基礎生産を持っていると考えられた。加茂湖における水質の空間分布の季節変動を確認したところ、6、9、および10月に水中のCDOM濃度およびタンパク質濃度が中層で突如高くなり、光の減衰が顕著になることを確認した。これらの水質の変化がカキ養殖に由来する可能性があり、これに起因して光が減衰したことが考えられた。

Research projects and annual reports

I. The distribution of toxic additives and their impurities in waste tire recycling products in Japan was investigated. Several polycyclic aromatic hydrocarbons, such as Benzo[a]pyrene were detected from some tire recycle products at excess concentration of REACH Restriction. Several heavy metals such as lead were also detected at concentrations within the concentration of RoHS directive. Even in bedding cushions using chip urethane, which is a recycled material, the inclusion of flame retardants derived from recycled urethane as a raw material has been confirmed, and there is concern about the risk of indoor exposure.

Several furniture such as beddings and cushions using recycled chip urethane contains flame retardants derived from the raw material recycled urethane, and there is concern about the risk of flame retardants exposure in the indoor environment.

II. Recovery process of tsunami devastated tidal flats in 2011 Tohoku-oki tsunami in the Great East Japan Earthquake

The secular change in the origin of silt in the sediment of the tidal flat in Hatsutsu-ura Bay was investigated by cluster analysis and primary component analysis based on metal composition. As a result, the dominant origin of silt in the tidal flats was is mainly from the embankment constructiona in Hatsutsu-ura inner bay, and embankment constructions in the outer bay and surrounding sea area. The impact of coastal seawall construction in the outer bay and surrounding

waters is increased after the completion of the inner bay.

III. Construction of an innovative membrane water treatment system

Reverse osmosis membrane treatment is widely used as a desalination and water resource reuse technology for seawater, groundwater, and secondly effluent water. In the membrane treatment, fouling of the membrane due to the mineral scale caused by inorganic components and the biofilm of microorganisms is an inevitable problem. As a conventional fouling control method, acid washing using citric acid has been applied for mineral scales, and in recent years, chlorine washing using sodium hypochlorite has been studied for biofilms. However, as water sources diversify, biofilms and mineral scales are easily formed on membrane simultaneously and cause combined fouling in the treatment of seawater with high density of microorganisms such as coastal area and secondary effluent water with high salinity. It is suggested that conventional method makes control difficult. Therefore, in this research project, we applied membrane cleaning using citric acid and chlorine to control combined fouling, and evaluated the washing effect.

As a result, it became clear that the combination of mineral scale and biofilm makes it difficult to control fouling by washing with citric acid or chlorine. In addition, when cleaning with chlorine and citric acid simultaneously was examined, it was found that the pH value in simultaneously washing affects the fouling control effect, and the maximum control effect is obtained at pH 10. It was possible to control of combined fouling by applying a new washing method by simultaneously washing with citric acid and chlorine.

IV. Construction of circulation paddy field system for phosphorus as resource using biomass

Rock phosphate is an exhaustible resource and depends on imports. On the other hand, phosphorus contributes to eutrophication in the environment. Especially, farmland is a non-point source of phosphorus, so phosphorus recovery and reuse in farmland is important from the viewpoint of water quality conservation and resource security. Woody carbonization is used as a method for recovering phosphorus in water, and phosphorus recovery capability can be improved by combining calcium (Ca). Moreover, rice husks generated in paddy rice cultivation have been reduced to paddy fields because they contain silicon, and Ca-loaded carbonaceous materials using rice husks as a raw material is possible to achieve both reduction of phosphorus load to the environment and resource circulation while adopting the conventional farming method. In addition, oyster shells are also generated in large quantities as waste in the primary industry and require a large amount of cost for their disposal. Therefore, in this research project, for effective utilization of rice husks and oyster shells, we developed phosphorus recovery materials under production conditions that can be carried out even in paddy fields, and tried to evaluate the reducing effect of phosphorus resources.

As a result, it was clarified that high capacity for phosphorus adsorption was obtained by changing the chemical form of the oyster shell from its main component CaCO_3 to Ca(OH)_2 by decarboxylation at 900°C and hydration treatment. In addition, it can be produced even at the conventional temperature (400°C) for producing the rice husk charcoal on the paddy field. Furthermore, when all of annual generation amount of rice husk is carbonized, it was estimated from the saturated adsorption amount for phosphorus that c.a. 28% of the import amount of rock phosphate was reduced by application of this materials.

V. Study on dynamics of light environment and its influencing factors in enclosed coastal sea

Photosynthesis is indispensable in primary production that supports marine resources. However, light in the water is attenuated by some factors such as the inflow of total suspended solids (TSS) and colored dissolved organic matter

(CDOM) from the land or production of CDOM inside the ocean, and phytoplankton growth is limited. In particular, it has been suggested that bivalves that are actively cultivated in inner bays also excrete CDOM, but the amount of emission and the effect on the light environment have been not clarified. Therefore, in this research project, We evaluated the influence of CDOM derived from cultured oysters on the light attenuation in Lake Kamo, Sado which is a typical eutrophic sea area with strong closure and thriving oyster culture.

As a result, the concentration of chlorophyll *a* in Lake Kamo ($0.5\text{--}19.8\ \mu\text{g L}^{-1}$) is also higher than that in Hiroshima Bay ($1.5\text{--}3.9\ \mu\text{g L}^{-1}$) in 2016, where oyster farming is thriving, and it seems that Lake Kamo have a high primary production. In the seasonal variation of the spatial distribution of water quality in Lake Kamo, the CDOM and protein concentration suddenly increased in the middle layer in June, September, and October, and the light attenuation became remarkable. These variations in water quality may have originated from oyster farming, and it was suggested that light attenuated due to these variations.

研究成果発表

1) 国際雑誌（査読付き）

- ・ Suzuki Mayumi, Kose Tomohiro, Tamaki Hitoshi, Kawata Kuniaki, Estimation of 2011 Tohoku-Oki Tsunami Deposit Origins by Cluster Analysis Using Metal Composition, J. of Wat. & Envir. Tech., 16(1), 1-17, 2018

2) 国内（日本語）雑誌（査読付き）

- ・ 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 大野 正貴, 玉置 仁, 川田 邦明, 東北沖津波によるかく乱を受けた干潟の回復過程に及ぼす防潮堤工事の影響, 日本水環境学会誌, in press, 2019/03

3) 学会、シンポジウム等での発表

- ・ 相馬 莉佐, 星 瑞穂, 南 創史, 小瀬 知洋, 川田 邦明, タイヤ及びそのリサイクルゴムチップに含まれる多環芳香族炭化水素, 鉛及び亜鉛のアベイラビリティ, 第27回環境化学討論会, 那覇市, 2018/06
- ・ 南 創史, 谷内 嶺仁, 熊倉 英記, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 自動車防振材の再生原料におけるウレタン及び繊維中の有機リン酸エステル類の含有傾向, 第27回環境化学討論会, 那覇市, 2018/06
- ・ 武田由美佳, 南 創史, 梶原 夏子, 滝上 英孝, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 日本の自動車内における空気及びダスト中の有機リン酸エステル類の曝露, 第27回環境化学討論会, 那覇市, 2018/06
- ・ 南 創史, 谷内 嶺仁, 熊倉 英記, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 自動車防振材を構成する再生原料素材中の有機リン酸エステル類, 第32回新潟地区部会研究発表会, 新潟市, 2018/09
- ・ 桑原 巧, 相馬 莉佐, 南 創史, 星 瑞穂, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 新品タイヤ, 廃タイヤ及びその再生製品に含まれる多環芳香族炭化水素類及び金属類のアベイラビリティの評価, 第32回新潟地区部会研究発表会, 新潟市, 2018/09
- ・ 諸橋 将雪, 高橋 雅昭, 齋藤 辰善, 中田 誠, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 佐瀬 裕之, 森林集水域における降水及び渓流水に溶存する金属元素等の季節変動とその地域特性, 第59回大気環境学会年会, 福岡県春日市, 2018/09
- ・ 丸山 千賀, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 玉置 仁, 坂巻 隆史, 波津々浦湾干潟の底質環境変化における周辺域からの流入物の寄与, 第21回水環境学会シンポジウム, 松江市, 2018/09/04

- ・田代 和希, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 一次産業由来バイオマスを利用した水田内リン循環システムの構築, 新潟県生物教育研究会第54回新津大会, 新潟市, 2018/12
- ・関根友一郎, 南 創史, 五十嵐創人, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 水田に散布された除草剤ピラクロニル及びフルセトスルフロンの実環境での挙動, 新潟県生物教育研究会第54回新津大会, 新潟市, 2018/12
- ・山田 薫, 相馬 莉佐, 鈴木まゆみ, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 溶存有機物質存在下における粘土鉱物へのセシウムの吸脱着挙動, 新潟県生物教育研究会第54回新津大会, 新潟市, 2018/12
- ・関根 正也, 丸山千賀, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 玉置 仁, 坂巻 隆史, 川田 邦明, 東日本大震災により攪乱を受けた干潟における周辺域からの流入物の寄与, 新潟県生物教育研究会第54回新津大会, 新潟市, 2018/12/23
- ・相馬 莉佐, 南 創史, 星 瑞穂, 桑原 巧, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, タイヤリサイクル製品中の有害物質の含有傾向と経口摂取時のアベイラビリティ, 第53回日本水環境学会年会, 甲府市, 2019/03
- ・田代 和希, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 次亜塩素酸ナトリウムを併用した酸洗浄を用いた逆浸透膜におけるスケール複合バイオフィアウリング制御, 第53回日本水環境学会年会, 甲府市, 2019/03
- ・南 創史, 関根友一郎, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 水田地域を流域とする河川水における農薬90種の濃度変動及び複合影響評価, 第53回日本水環境学会年会, 甲府市, 2019/03
- ・山田 薫, 相馬 莉佐, 鈴木まゆみ, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 粘土鉱物におけるセシウム及びストロンチウムの吸脱着挙動に及ぼす溶存有機物質の影響, 第53回日本水環境学会年会, 甲府市, 2019/03
- ・澁谷 真人, 関根 正也, 丸山 千賀, 鈴木まゆみ, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 波津々浦湾における干潟底質の粒度組成の変動と湾周辺からの堆積物負荷との関係, 第53回日本水環境学会年会, 甲府市, 2019/03
- ・丸山 千賀, 鈴木まゆみ, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 玉置 仁, 坂巻 隆史, 波津々浦湾干潟における周辺域からの堆積物負荷が干潟底質へ及ぼす影響, 第53回日本水環境学会年会, 甲府市, 2019/03

研究資金等

1) 科研費

- ・小瀬 知洋 (研究分担者): 東日本大震災により攪乱を受けた藻場・干潟生態系の回復過程と流域圏からの負荷の評価, 基盤研究 (C)

2) 研究助成金

- ・小瀬 知洋 (研究代表者): 一次産業廃棄物を利活用した水田におけるリン循環システムの確立, 内田エネルギー科学振興財団
- ・小瀬 知洋 (研究代表者): カルシウム担持燐炭を用いたリン循環型水田システムの確立, 鉄鋼環境基金 研究助成金

3) 学内競争的資金

- ・小瀬 知洋：タイヤゴムを循環利用した人工芝等の劣化に伴う内包有害物質による毒性の変化，平成30年度新潟薬科大学応用生命科学部「学部内共同研究奨励費」

その他の研究活動

小瀬 知洋

- ・東北マリンサイエンス拠点形成事業「海洋生態系の調査研究」
海洋生態系変動メカニズムの解明地震・津波による生態系攪乱とその後の回復過程に関する研究（平成23年度～令和2年度，代表者：東京大学大気海洋研究所 河村 知彦）

学会等活動

小瀬 知洋

- 1) 学会等の役員・委員活動
 - ・日本水環境学会（関東支部幹事，第53回年会実行委員）
 - ・日本環境化学会（幹事，評議員）

公的な審議会，委員会等

小瀬 知洋

- 1) 審議会・委員会
 - ・北陸地方整備局ダイオキシン類精度管理委員会
 - ・新潟市亀田清掃センター運営評議員
 - ・新潟県都市計画審議会

環境有機化学研究室

Laboratory of Environmental Organic Chemistry

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

■ 助教 小島 勝 Assistant Professor 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



・天然物合成 ・再生可能資源 ・環境調和型有機合成化学

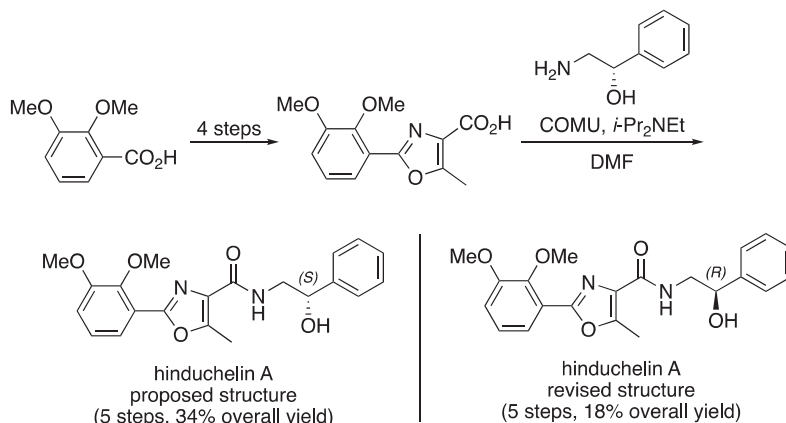
研究課題

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。

2018年度の研究成果

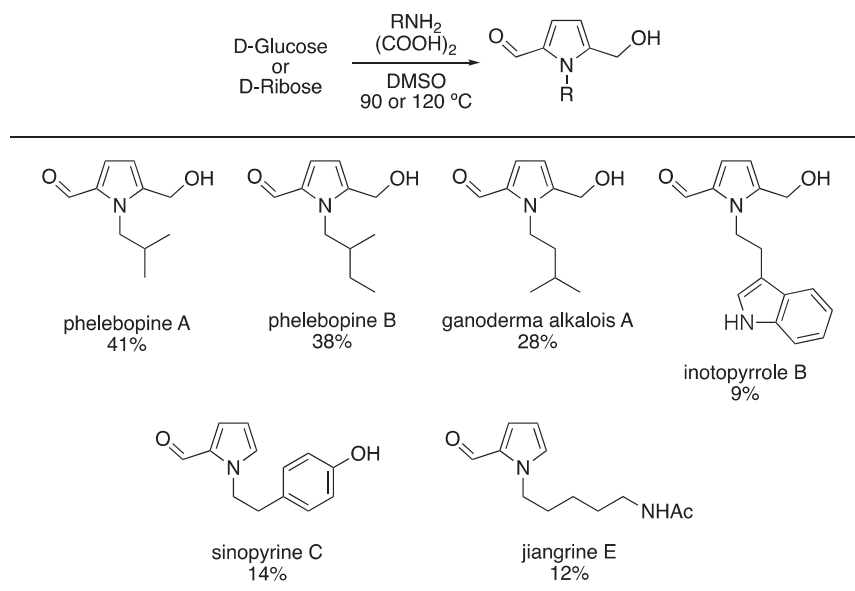
1) 新規カテコール誘導体hinduchelin Aの全合成

Hinduchelin類は*Streptoalloteichus hindustanus*から単離された鉄キレート能を有する非細胞毒性のカテコール誘導体である。それらの構造と絶対立体配置は、分光データと量子化学ECD計算の組み合わせた解釈により決定された。最初に提案された構造のhinduchelin A (S配置) とそのエナンチオマーの全合成を達成した。hinduchelin Aの絶対立体配置は、合成品の旋光度データに基づいてRに修正された。



2) メイラード反応を利用したピロールアルカロイドの合成

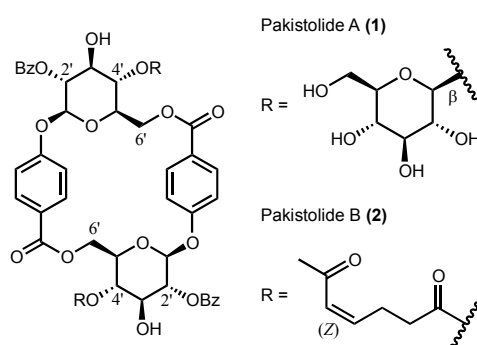
ピロール-2-カルバルデヒド（ピロールアルカロイド）は、真菌、微生物、果物などの様々な天然資源から単離されている。例えば、神経保護効果を有するピロールアルカロイド、phelebopines A と Bが、食用キノコ *Phelebopus portentisus* から見出されている。還元糖とアミン類のメイラード反応を鍵反応として、phelebopines A と B, gonoderma alkaloid A, inotpyrole A, jiangrine Eおよびsinopyrine Cの短段階合成を達成した（1工程，収率9-41%）。



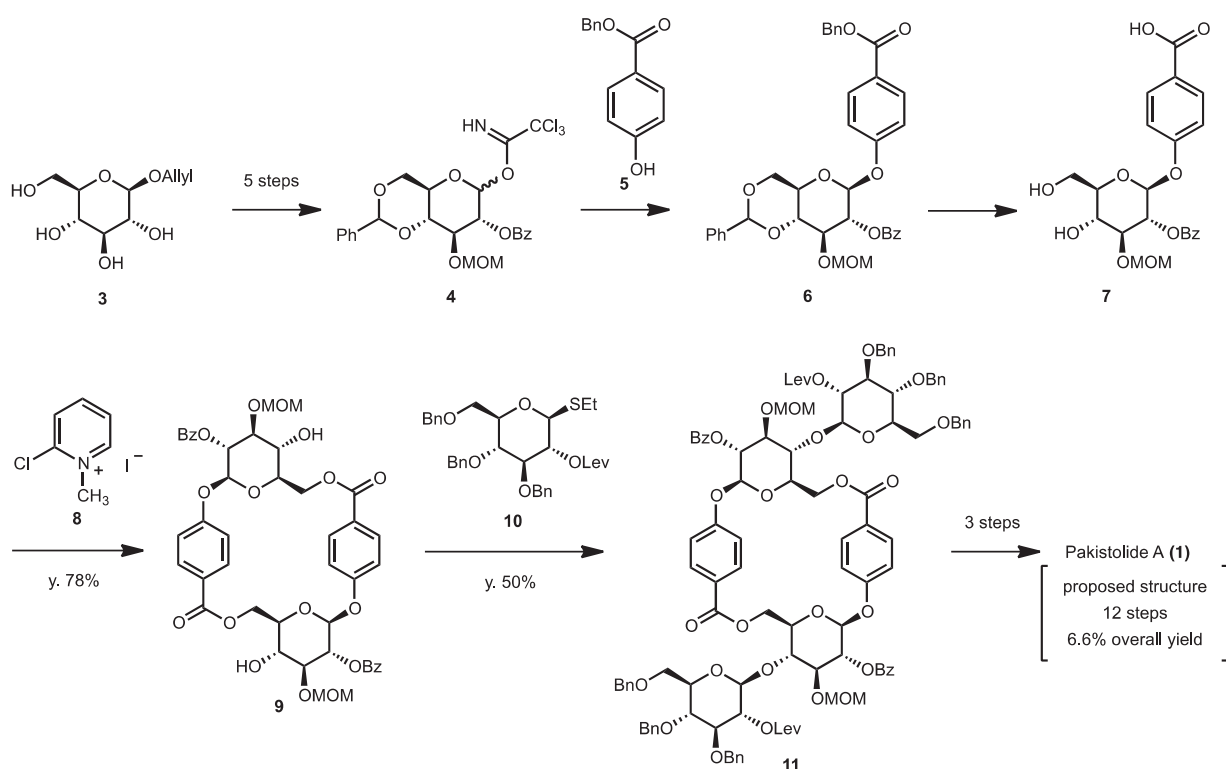
3) パキストリドAの提出構造の全合成

パキスタン産植物 *Berchemia Pakistanica* のメタノール抽出物から単離構造決定されたパキストリド A (1) およびB(2)は、 α -グルコシダーゼ、リポキシゲナーゼ阻害活性および抗酸化活性を有することから医薬品のリード化合物として期待される。それらの構造は、4-(2'-O-ベンゾイル- β -D-グルコピラノシルオキシ)安息香酸の6'位水酸基とカルボキシ基が脱水縮合した共通の環状二量体骨格を持ち、1は4'位水酸基にD-グルコースが β -グリコシド結合、2は(Z)-6-オキソ-4-ヘプテン酸がエステル結合した希少な大環状グリコシドである。そこで、パキストリド AおよびBの詳細な生理活性試験を行うための試料供給を目的とし、それら天然物の効率的な合成経路の確立を試みた。

まず、アリル α -D-グルコピラノシド(3)から7工程で単量体に相当する4-(β -D-グルコピラノシルオキシ)安息香酸誘導体7を合成した。ついで、7の6'位水酸基とカルボキシ基との位置選択的な脱水縮合を行うことでパキストリド AおよびBの共通中間体となる二量体9を合成した。つぎに、二量体9と糖供与体10とのグリコシル化、つづく保護基の除去を行うことで、全12工程、総収率6.6%で目的とするパキス



トリド A(1)を得た。しかし、合成品の¹H NMRデータは天然品と一致しなかった。以上のように、向山試薬 8 を用いた位置選択的な脱水縮合反応は円滑に進行し、パキストリド A および B の共通中間体 9 を収率良く得ることに成功した。さらに、パキストリド A の最初の全合成を達成したものの、合成品のスペクトルデータから提出構造は誤りであることを明らかにした。



Research projects and annual reports

1) Total synthesis of novel catechol derivative hinduchelin A

Hinduchelins are a class of noncytotoxic catechol derivatives from *Streptoalloteichus hindustanus*, and modest iron-chelating ability. Their structures and absolute configuration were elucidated by a combination interpretation of spectroscopic data and quantum chemical ECD calculations. A total synthesis of the originally proposed structure for hinduchelin A (S-form) and its enantiomer has been achieved. The absolute configuration of hinduchelin A was revised to be *R* on the basis of optical rotation data for the synthetic compounds.

2) Total synthesis of pyrrole alkaloids using Maillard reaction

Pyrrole-2-carbaldehydes (pyrrole alkaloid) have been isolated from a wide variety of natural sources, such as fungi, microorganisms, and fruits. For example, pyrrole alkaloid, phelebobines A and B, exhibit neuroprotective effects, were isolated from edible mushroom *Phelebopus portentisus*. A short step synthesis of phelebobines A and B, gonodeerma alkaloid A, inotpyrrole A, jiangrine E, and sinopyrrole C were achieved, using a Maillard reaction of carbohydrates and amines as a key reaction.

3) First total synthesis of the proposed structure of pakistolide A

Pakistolides A (1) and B (2) were isolated from *Berchemia pakistanica*. These natural products show α -glucosidase, lipoxygenase inhibitory activities and antioxidant potential. These have structure of common 4-(2'-O-benzoyl- β -D-

glucopyranosyloxy)benzoate cyclic dimer. In addition, D-glucose or (Z)-6-oxo-hept-4-enoic acid connected to hydroxy groups at C-4' of the sugar via β -glycosidic linkage or ester linkage. We tried to efficient total syntheses of pakistolides A and B to examine further biological activities of these natural products. The total synthesis of the proposed structure of pakistolide A was achieved using regioselective dimerization of 4-(β -D-glucopyranosyloxy)benzoic acid derivative 7 as a key reaction. However, the ^1H NMR data of synthetic pakistolide A differed from those of natural product.

研究成果発表

1) 国際雑誌（査読付き）

- Ken Takakura, Shouhei Takatou, Ryoichi Tomiyama, Thuong Manh Le, Dinh Thi Nguyen, Yutaka Nakamura, Tetsuya Konishi, Seiichi Matsugo, ©Osamu Hori, Inhibition of nuclear factor- κ B p65 phosphorylation by 3,4-dihydroxybenzalacetone and caffeic acid phenethyl ester, *Journal of Pharmacological Sciences*, 137(3), 248-255, 2018/07

2) 学会・シンポジウムでの発表

- 小島 勝, 笹川 美和, 中村 豊, グランジウバリリンAおよびBの合成研究, 第37回日本糖質学会年会, 仙台国際センター, 2018/08/29
- 山田 貢, 小島 勝, 中村 豊, パキストリドAの合成研究, 第37回日本糖質学会年会, 仙台国際センター, 2018/08/29
- 小島 勝, 笹川 美和, 中村 豊, (+)-および(-)-グランジウバリリンAの全合成と絶対立体配置の決定, 第76回有機合成化学協会関東支部シンポジウムー新潟（長岡）シンポジウムー, 長岡技術科学大学, 2018/12/01
- 山田 貢, 小島 勝, 大環状グリコシド・パキストリドAおよびBの合成研究, 糖質科学合同セミナー, 成蹊学園 箱根寮, 2018/10/20
- 笹川 美和, 小島 勝, 糖を出発物質とするバンレイシ科ウバリア属植物由来のseco-シクロヘキセン類の合成研究, 糖質科学セミナー, 成蹊学園 箱根寮, 2018/10/20
- 小島 勝, 山田 貢, 中村 豊, パキストリドAの提出構造の全合成, 第76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, 2018/12/01

研究資金等

1) 研究助成金

- 中村 豊（研究代表者）：疎水性タグを用いたペプチド性海洋天然物のミックスチャー合成, 公益財団法人内田エネルギー科学振興財団
- 小島 勝（研究代表者）：低環境負荷と低コストを志向したリサイクル型脱水縮合材の開発, 公益財団法人内田エネルギー科学振興財団

2) 企業等との共同研究

- 中村 豊（研究分担者）：新潟県産きのこ越後白雪茸Basidiomycetes-Xより見いだされた新規ピロールアルカロイドの合成研究

学会等活動

中村 豊

1) 学会等の役員・委員活動

- ・フルオラス科学研究会（評議員）
- ・公益社団法人有機合成化学協会関東支部（常任幹事）

公開講座等講師

中村 豊

1) 他機関から依頼の講演会等

- ・有機化学で何ができるのか，進路情報研究センター 株式会社ライセンスアカデミー，長岡向陵高等学校
- ・平成30年度教員免許状更新講習「化学の最近のトピックスと教育現場で使える簡単な実験」，文部科学省

2) その他

- ・紅茶から生理活性成分「カフェイン」を取り出そう！，新潟薬科大学新津キャンパス
- ・新津工業高等学校インターンシップ受け入れ，新津工業高等学校，新潟薬科大学新津キャンパス
- ・研究発表の審査員，新潟県高等学校文化連盟，長岡技術科学大学

小島 勝

1) その他

- ・紅茶から生理活性成分「カフェイン」を取り出そう！，新潟薬科大学新津キャンパス
- ・新潟薬科大学オープンキャンパス体験実験「炭素と炭素をつなぐ！ーノーベル賞を受賞した鈴木クロスカップリング反応をやってみよう！」，新潟薬科大学新津キャンパス
- ・新津工業高等学校インターンシップ受け入れ，新津工業高等学校，新潟薬科大学新津キャンパス

応用微生物学研究室／遺伝子発現制御学研究室

Laboratory of Applied Microbiology/Laboratory of Gene Regulation

■ 教授 高久 洋 暁 Professor Hiroaki TAKAKU, Ph.D.

■ 助教 山崎 晴 丈 Assistant Professor Harutake YAMAZAKI, Ph.D.



油脂酵母を用いた油脂生産システムの構築



・ 油脂酵母 ・ *Lipomyces starkeyi* ・ トリアシルグリセロール ・ 脂肪滴

研究課題

油脂酵母を用いた油脂生産システムの構築

2018年度の研究成果

油脂酵母を用いた油脂生産システムの構築

日本は食用油脂の自給率が低いため、油脂を生産し、安定的に供給する必要がある。しかし日本ではパームなどの油糧植物を栽培するには気候が不適であるため、海外のように油糧植物から効率的に油脂を生産することは困難である。そこで我々は油脂酵母を用いた油脂生産を目指している。油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* は細胞内に油脂であるトリアシルグリセロール (TAG) を高度に (乾燥菌体重量の75%以上) 蓄積することが可能であり、その油脂は性状が植物油と似ていることから食用油として有望である。また *L. starkeyi* は非可食の木質系バイオマス由来の糖化液を資化して油脂を生産できることから、油脂生産において可食バイオマスとの競合を避けることが可能である。しかしながら、この油脂酵母を産業利用するためには、油脂生産性の向上 (細胞当たりの油脂蓄積量、油脂生産速度、炭素源から油脂への変換率の向上) が必要であると考えられている。我々はこれまでに野生型 *L. starkeyi* CBS1807株に変異原処理をした後、Percoll密度勾配遠心に供し、密度の軽い画分を分取し、その画分を再度培養することを繰り返すことにより、油脂高蓄積候補変異株を得た。これは油脂を多く蓄積した細胞はそうではない株に比べて密度が低くなると考えられることを利用した油脂高蓄積変異株の濃縮法である。その結果として120の候補株から6株の油脂高蓄積変異株を取得することに成功していた。これらの株をA33, A42, A53, E15, E16, E47と命名した。

本年度はさらに効率よく油脂高蓄積変異株を取得する方法を探索した。新たに変異原処理した野生型 *L. starkeyi* CBS1807の細胞を、Percoll密度勾配遠心法に供して油脂高蓄積候補変異株を含むと考えられる画分を濃縮した後、シングルコロニーを形成させ、そのコロニーの中で光沢のあるmucoid colonyを除いて11個のコロニー (K4-K14) をピックアップして、液体培養後にTAG量を測定した。その結果、11個の候

補株すべてが野生型株よりも多く、細胞当たりのTAGを蓄積していることが明らかとなった。このことから、Percoll密度勾配遠心法による油脂高蓄積候補変異株の濃縮後に、mucoid colonyを除く手法は、油脂高蓄積変異株を取得する上で非常に有効な方法であると考えられた。

さらに、これまで得られた油脂高蓄積変異株A33, A42, A53, E15, E16, E47と、本年度得られた油脂高蓄積変異株K4-K14の中から、A42, E15, E47, K13, K14の5株と野生型株を同時培養し、その特性を解析した。その結果、1細胞当たりのTAG量（最高値）は、野生型株が $4.1 \pm 0.5 \text{ mg}/10^8 \text{ cells}$ (day 8)（誤差は標準誤差を示す。以下同様。）であるのに対して、A42が $5.1 \pm 0.2 \text{ mg}/10^8 \text{ cells}$ (day 6), E15が $6.6 \pm 0.2 \text{ mg}/10^8 \text{ cells}$ (day 5), E47が $5.7 \pm 0.3 \text{ mg}/10^8 \text{ cells}$ (day 7), K13が $5.8 \pm 0.1 \text{ mg}/10^8 \text{ cells}$ (day 6), K14が $5.7 \pm 0.2 \text{ mg}/10^8 \text{ cells}$ (day 8)となり、E15が細胞当たりの油脂を最も多く、そして速く、蓄積することが明らかとなった。また培養1LあたりのTAGの量がそれぞれの株で最も高くなる時を比べたところ、すべての油脂高蓄積変異株で野生型株を上回った。さらに培養1LあたりのTAGの量が最も高くなる時のマテリアルバランスを測定したところ、消費グルコース量に対する生産TAG量の比は、すべての油脂高蓄積変異株で野生型株を上回った。また消費グルコース量に対する乾燥菌体重量の比はE15のみが野生型株を上回った。さらに高蓄積変異株のTAGを構成する脂肪酸組成を野生型株と比較したところ、A42, E15, K14でパルミチン酸が、A42でオレイン酸が、それぞれ野生型株よりも多いことが明らかとなったが、パルミチン酸とオレイン酸がTAGを構成する主要な脂肪酸であることに変わりはない。以上のことから、開発した方法によって取得した油脂高蓄積変異株はすべて、その中でも特にE15は、野生型株よりも多くのTAGを細胞内に蓄積し、当初の目的である食用油の生産に適していることを示している。また開発した方法を繰り返し用いることで、工業生産に適した*L. starkeyi*の作出が可能であると考えられた。

Research projects and annual reports

Development of oil production system using oleaginous yeast *L. starkeyi*

Production of oils by microorganisms are becoming next attractive alternative to petroleum because it does not affect food supply and does not cause deforestation. The oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* is an attractive organism for the industrial production of lipids; however, the amount of lipid produced by wild-type *L. starkeyi* is insufficient. We aim to obtain *L. starkeyi* mutants that rapidly accumulate larger amounts of triacylglycerol. Mutagenized yeast cells at early stages of cultivation were subjected to Percoll density gradient centrifugation; cells with increased production of triacylglycerol were expected to be enriched in the resultant upper fraction because of their lower density. Among 120 candidates from the upper fractions, we have isolated six mutants, designated A33, A42, A53, E15, E16, E47, that accumulated higher amounts of triacylglycerol. Moreover, when omitting cells with mucoid colony morphology, we succeeded to quite effectively (100%) isolate 11 objective mutants (K4-K14) from 11 candidate from the upper fraction. Of total 16 mutants obtained, we performed detailed characterization of five mutants (A42, E15, E47, K13, K14) and revealed that five mutants achieved about 1.5 to 2.0 times triacylglycerol concentration (4.7 to 6.0 g/L) as compared to the wild-type strain (3.6 g/L) at day 5. Among these five mutants, strain E15 was the best for industrial use because only strain E15 showed both significantly higher triacylglycerol concentration and significantly higher degree of lipid to glucose yield and biomass to glucose yield. The fatty acid profiles of TAG in *L. starkeyi* were resemble to Palm oil, in which palmitic acid and oleic acid are major. The degrees of palmitic acid of strains A42, E15, and K14 and oleic acid of strain A42 were significantly higher and lower, respectively, than that of the wild-type strain although the major fatty acids were still palmitic acid and oleic acid in these mutants, suggesting that TAG accumulated in these

mutants are used for the substitution of vegetable oils. In conclusion, we established an efficient method to isolate *L. starkeyi* mutants accumulating large amount of TAG by enriching low-density mutagenized cells with Percoll density gradient centrifugation subsequently omitting cells with mucoid colony morphology. We expect that by repeating this procedure as part of a yeast-breeding program, we can easily and effectively obtain *L. starkeyi* mutants suitable for industrial lipid production.

研究成果発表

1) 国際雑誌（査読付き）

- Tomohiko Matsuzawa, Tomoko Maehara, Yasushi Kamisaka, Satoshi Ara, Hiroaki Takaku, Katsuro Yaoi, Identification and characterization of $\Delta 12$ and $\Delta 12/\Delta 15$ bifunctional fatty acid desaturases in the oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi*, Appl Microbiol Biotechnol., 102(20), 8817-8826, 2018
- Kazuki Nomura, Hirofumi Hoshino, Kazuaki Igoshi, Haruka Onozuka, Erika Tanaka, Mayumi Hayashi, Harutake Yamazaki, Hiroaki Takaku, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu, Brewing characteristics of piezosensitive sake yeasts, High Pressure Research, 38(2), 165-176, 2018

2) 著書（辞書・辞典等の項目執筆を含む）

- 高久 洋暁, 荒木 秀雄, 小笠原 渉, 田代 康介, 蓮沼 誠久, 油谷 幸代, 矢追 克郎, 油脂酵母による油脂発酵生産性改善へ向けた技術開発, スマートセルインダストリーー微生物細胞を用いた物質生産の展望ー, 2018/06

3) 学会、シンポジウム等での発表

- 風間 春香, 小林 鈴花, 荒 学志, 山崎 晴丈, 志田 洋介, 小笠原 渉, 矢追 克郎, 森 一樹, 油谷 幸代, 荒木 秀雄, 高久 洋暁, 遺伝子発現解析による油脂酵母の油脂高蓄積重要遺伝子の同定, 日本農芸化学会2019年度大会, 東京, 2019/03/26
- 唐澤 健太, 山崎 渉, 高久 洋暁, 山崎 晴丈, 分裂酵母における長寿命変異株の特性解析と全ゲノム解析によるその責任遺伝子の同定, 日本農芸化学会2019年度大会, 東京, 2019/03/26
- 小林 鈴花, 荒 学志, 山崎 晴丈, 吉田 崇伸, 志田 洋介, 小笠原 渉, 矢追 克郎, 荒木 秀雄, 蓮沼 誠久, 高久 洋暁, 油脂酵母*Lipomyces starkeyi*のアシルCoA合成酵素の高発現による油脂生産性の向上, 日本農芸化学会2019年度大会, 東京, 2019/03/26
- 小林 彩子, 小林 鈴花, 荒 学志, 山崎 晴丈, 吉田 崇伸, 志田 洋介, 小笠原 渉, 矢追 克郎, 荒木 秀雄, 蓮沼 誠久, 高久 洋暁, 油脂酵母*Lipomyces starkeyi*の中性脂質合成酵素の高発現による油脂生産性の向上, 日本農芸化学会2019年度大会, 東京, 2019/03/26
- 小野塚 悠, 池崎 南, 野村 一樹, 青木 俊夫, 栗林 喬, 金桶 光起, 井口 晃徳, 重松 亨, 山崎 晴丈, 高久 洋暁, 清酒酵母酢酸イソアミル高生産変異株の取得と解析, 日本農芸化学会2019年度大会, 東京, 2019/03/27
- 酒井里佳子, 阿部 紗也, 荒 学志, 山崎 晴丈, 志田 洋介, 小笠原 渉, 矢追 克郎, 森 一樹, 油谷 幸代, 荒木 秀雄, 田代 康介, 高久 洋暁, 油脂酵母*Lipomyces starkeyi*油脂低蓄積変異株の原因遺伝子の同定と解析, 日本農芸化学会2019年度大会, 東京, 2019/03/27
- 岩本 孝信, 高見沢健留, Pham Khanh Dung, 志田 洋介, 荒 学志, 山崎 晴丈, 高久 洋暁, 小

- 笠原 渉, *Rhodosporidium toruloides*の炭素源応答解析, 第70回日本生物工学会大会, 大阪, 2018/09/05
- ・高見沢健留, Pham Khanh Dung, 志田 洋介, 山崎 晴丈, 森 和樹, 田代 康介, 久原 哲, 高久 洋暁, 小笠原 渉, *Rhodosporidium toruloides*のカロテノイド生産制御機構の解析, 第11回北陸合同バイオシンポジウム, 2018/10/26

4) 学会, シンポジウム等での招待講演

- ・高久 洋暁, 油脂酵母を肥満へと導くスマートな戦略とは?, 第22回 酵母合同シンポジウム, 福岡, 2018/09/12
- ・高久 洋暁, 小笠原 渉, 矢追 克郎, 油谷 幸代, 荒木 秀雄, 田代 康介, 蓮沼 誠久, 山崎 晴丈, 油脂生産性の飛躍的向上を目指した油脂酵母の改良, 日本農芸化学会2019年度大会, 東京, 2019/03/26

研究資金等

1) 科研費

- ・高久 洋暁 (研究代表者): 油脂酵母の油脂合成・分解・蓄積機構の解明とその応用, 基盤 (C)

2) 科研費以外の競争的資金

- ・高久 洋暁, 山崎 晴丈 (研究分担者): 木質バイオマスからの各種化学品原料の一貫製造プロセスの開発, NEDO
- ・高久 洋暁, 山崎 晴丈 (研究分担者): 革新的醸造技術を用いた新しいSakeによる日本酒輸出の産業化, 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター
- ・高久 洋暁, 山崎 晴丈 (研究分担者): 高生産性微生物創製に資する情報解析システムの開発, NEDO

3) 研究助成金

- ・高久 洋暁 (研究代表者): 油脂酵母による地域バイオマスからのバイオディーゼル原料の高生産系の構築, 公益財団法人内田エネルギー科学振興財団

学会等活動

高久 洋暁

1) 学会等の役員・委員活動

- ・バイオマス利活用研究会
- ・新産業酵母研究会

公開講座等講師

高久 洋暁

1) 本学主催の公開講座等

- ・生命科学講座（発酵 ～微生物によるものづくり～）
- ・教員免許状更新講習

2) 他機関から依頼の講演会等

- ・新潟商工会議所「産学官金連携セミナー」

山崎 晴丈

1) 他機関から依頼の講演会等

- ・基礎研究から産業まで活躍する微生物の魅力（北越高校在籍の学生への講義）

公的な審議会，委員会等

高久 洋暁

1) 審議会・委員会

- ・農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業研究課題評価分科会（農林水産省）評価委員

他機関における教育支援

高久 洋暁

1) 他大学等の非常勤講師

- ・資源利用学概論（新潟大学）

報道関連

高久 洋暁

1) 自身の活動に対するマスコミ媒体を通じた報道

- ・まちなか元気予報（秋葉区行政情報番組 クリック！秋葉区），新潟市

2) マスコミ媒体への論評やコメントの提供・コメンテーター出演等

- ・教えて！ふむふむ先生（新潟日報）

その他社会貢献活動

高久 洋暁

1) The Journal of General and Applied Microbiology 論文査読

2) Journal of Bioscience and Bioengineering 論文査読

山崎 晴丈

1) Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry誌の論文査読 1 件

食品分析学研究室

Laboratory of Food Analysis

■ 教授 佐藤 眞 治 Professor Shinji SATO, Ph.D.

■ 助手 櫻井 美 仁 Research Associate Misato SAKURAI



生活習慣病予防効果を有する機能性食品開発と機能評価



- ・ 抗肥満効果
- ・ 血糖値上昇抑制効果
- ・ 脂質代謝改善効果
- ・ 整腸作用
- ・ 機能性成分分析

研究課題

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。本研究では血糖値上昇抑制、脂質代謝異常改善、血圧上昇抑制、整腸作用に効果を発揮する食品因子を特定し、動物や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性食品の開発に繋げ、開発された機能性食品の機能評価を行うことを目的としている。また、質量分析装置を用いて機能性成分の精密解析を行う。

2018年度の研究成果

1. プロポフォルとレボブピバカインの体内動態に及ぼす脂肪乳剤の影響

静脈麻酔薬であるプロポフォルは、覚醒が遅延した場合の麻酔薬中毒に対する処置が問題となっている。局所麻酔薬中毒については脂肪乳剤を急速投与することで中毒症状が改善されること（Lipid Sink Theory）が報告されている。そこで、プロポフォル（PRO）と局所麻酔薬のレボブピバカイン（LEVO）の体内動態と麻酔効果に及ぼす脂肪乳剤の影響について検討を行った。実験動物としてWistar系雄性ラットを用いた。生理食塩水定速注入（CONT）群と脂肪乳剤定速注入（INTRA）群に分けた。PRO（10mg/kg）単独、LEVO（2.5mg/kg）単独、PROとLEVO併用静脈内投与後、経時的に採血を行った。更に、正向反射回復時にラットを屠殺し、血液と各臓器を採取し、PROとLEVOの体内動態と麻酔効果に対する脂肪乳剤の影響について検討を行った。PRO濃度とLEVO濃度の測定は、それぞれGC/MS法とLC/MS/MS法を用いた。その結果、PRO単独投与試験において、静脈内PRO濃度は動脈内PRO濃度に比べて約2倍高く推移しており、PROが肺で消失することと各組織より「洗い出されている」ことが示唆された。INTRA群の静脈内と動脈内PRO濃度はCONT群の値に比べ有意に上昇することが明らかとなった。一方、INTRA群における正向反射回復時の脳内と脳脊髄液中PRO濃度は、CONT群の値と有意差は認められず、脂肪乳剤はPROの麻酔効果には影響しないことが明らかとなった。LEVOについても同様の検討を行った結果、静脈内、

動脈内、脳内、脳脊髄液中LEVO濃度には脂肪乳剤は影響しないことが明らかとなった。PROとLEVOを併用投与した場合、LEVOは血漿中PRO濃度には影響を及ぼさないが、正向反射消失時間が延長することと正向反射消失時の脳内PRO濃度が低くなることが明らかとなった。この結果はLEVOの併用投与によってPROの麻酔効果が増強されることを示している。PROとLEVOを併用投与した場合のINTRA群の血漿中PRO濃度はCONT群の値に比べ上昇するが、脳内PRO濃度は、CONT群の値とは有意差は認められなかった。

2. NAFLD/NASHモデルラットに対するエルゴチオネイン及び食用茸の機能性評価

きのこは食物繊維、ビタミン、ミネラルなど多くの栄養素を含む有用な食品であるとともに、機能性食品や生薬としてその機能性について古くから研究されており、抗肥満作用、脂質代謝異常改善作用、糖尿病改善作用などが報告されている。機能性成分として β -グルカンをはじめ様々な成分が同定されているが、近年きのこに多く含まれているエルゴチオネイン（ERG）の機能性について再評価が進んでいる。ERGはイミダゾール環にペタインが結合した構造を持ち、非常に強い抗酸化活性を有する化合物であるが、*in vivo*での機能性評価はほとんど進んでいない。そこで、本研究ではNAFLD/NASHモデルラットを用い、非アルコール性脂肪肝炎に対するERGの機能性について評価するとともに、ERGを含有する食用茸との比較を行うことを目的とした。供試動物としてNAFLD/NASHモデルラットであるSHRSP5/Dmcrを用い、試験群として高脂肪高コレステロール飼料（HFC）群、エリンギ群、マイタケ群、ERG群を設定して15週間の摂餌試験を行い、体重、肝機能、脂質代謝、炎症マーカーについての評価を行った。その結果、試験期間中の摂餌量及び体重の推移について各群に有意な差は認められなかった。血液生化学検査の結果、肝機能マーカーはHFC群と比較してエリンギ群、マイタケ群、ERG群のいずれも有意な差は認められず、本系においては試験試料の摂取によるNAFLD/NASH予防効果はほとんど見られなかった。しかし、ERG群では血中コレステロールに減少傾向が認められたほか、肝臓中のコレステロール量が有意に減少した。以上のことから、ERGは現在機能性として知られている抗酸化活性以外に、生体内のコレステロール代謝に何らかの作用を及ぼす可能性が示唆された。

3. 水耕栽培桑の根乾燥物と桑白皮の機能性及び含有成分の比較検討

桑白皮はマクワ（*Morus alba* L.）及びその同属植物の根皮からコルク皮を除いて乾燥させたものであり、日本薬局方に収載されている生薬である。生薬としては鎮咳去痰薬に処方されるが、その他にも多くの化粧品に利用されている。一方で桑白皮を得るためには木本である桑の根を掘り取る必要があるため労力がかかるほか、日本で利用されている桑白皮の殆どは中国からの輸入に頼っている。本研究では水耕栽培桑から採取された桑根に注目した。水耕栽培によって生産される桑根は桑白皮を得るための露地栽培の条件と栽培環境が全く異なることから、機能性成分の含有量や機能性に差がある可能性が高い。そこで、水耕栽培桑根と桑白皮の機能性及び機能性成分について分析を行った。水耕栽培桑根及び桑白皮を70%メタノールで抽出し、更に酢酸エチル及び水で分画した。機能性の比較として桑白皮で機能性が知られている抗酸化活性、チロシナーゼ阻害活性、 α -グルコシダーゼ阻害活性について評価を行った。また、水耕栽培桑根の主要成分を定量するためにLC/MS分析を行った。水耕栽培桑根の総ポリフェノール量は70%メタノール抽出物、酢酸エチル画分、及び水画分いずれも桑白皮と比較して有意に高く、HPLCによる分析から、水耕栽培桑根は桑白皮と比較して比較的極性の低いポリフェノール類を多く含有していることが明らかになった。機能性は酢酸エチル画分>70%メタノール抽出物>水画分の順に機能性が高く、桑白皮及び桑根の主要な機能性成分は酢酸エチル画分に含有する成分であることが示唆された。酢酸エチル画分にはプレニルフラボノイドであるモルシンやクワノン類が含まれており、桑根の機能性は主にプレニルフラボノイ

ドの機能によるものと示唆された。以上のことから、水耕栽培桑根は桑白皮以上の機能性を有しており、主にエキス剤として活用する香粧品への応用が期待できる。

4. 麴甘酒及び乳酸発酵麴甘酒によるラットのデキストラン硫酸ナトリウム誘発性大腸炎に対する予防効果の検討

近年、様々な疾病と腸内環境には因果関係がある事が明らかになっており、腸内環境の改善が疾病の予防に繋がるという研究結果も報告されている。麴甘酒は古くから滋養剤や飲料として親しまれているが、整腸作用や美肌効果などを有する機能性食品としても注目されている。また、麴甘酒の風味や機能性を向上させるために乳酸発酵させた甘酒も市販されるようになった。そこで、本研究では麴甘酒や乳酸菌による整腸作用に着目し、デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘発性潰瘍性大腸炎モデルラットを用いて腸内環境の悪化に対する予防効果について検討を行った。供試動物として8週齢のWistar系雄性ラットを用い、試験群として無処理（Normal）群、標準飼料（DSS）群、麴甘酒（A）群、乳酸発酵麴甘酒（LA）群、乳酸菌 *Lactobacillus sakei* Uonuma（L）群を設け、試験飼料を4週間与えたあと、飲水を2.0 % DSS水溶液に切り替え14日間飼養して大腸炎を惹起させた後解剖を行った。DSS投与期間中は、Disease Activity Index（DAI）スコアを用いて大腸炎の状態を評価し、解剖後は、大腸長測定、血液検査を行って各個体の大腸炎の評価を行った。その結果、DAIスコアはDSS群でNormal群と比較し有意に増加した一方、A群、LA群、L群では有意な増加が認められなかった。また、血球数測定の結果、麴甘酒及び乳酸発酵甘酒の継続的な摂取が大腸炎に伴う出血を抑制することが示唆された。更に、A群、LA群において大腸炎による大腸の萎縮を抑制する傾向が認められた。以上のことから、供試した試料の継続的な摂取が大腸炎の悪化を抑制し、特に乳酸発酵麴甘酒においてその傾向が顕著であったことから、乳酸発酵産物が機能性に寄与しているものと示唆された。

5. エルゴチオネインの体内動態に及ぼすマイナスイオンナノミストの影響

マイナスイオンナノミストはミスト粒径がナノメートル単位であることを特徴としており、一般的な加湿器のミストでは届かない毛穴の奥にまで理論上到達すると考えられている。ナノミストの曝露によって細胞障害や炎症などを効果的に抑制できるだけでなく、薬物などの吸収率を上昇させる可能性が指摘されている。エルゴチオネイン（ERG）は低分子量の含硫アミノ酸であり、強力な抗酸化活性を有している事が知られている。ERGは生体内において肝臓や腎臓などの臓器に高濃度に分布し、その組織移行には有機カチオントランスポーターであるOCTNが関与していることが報告されている。そこで、本研究ではERGの体内動態に及ぼすマイナスイオンナノミストの影響を明らかにすることを目的とした。実験動物としてWistar雄性ラットを用いた。試験群は加湿器ミスト曝露のコントロール静脈内投与群（Cont. IV群）と経口投与群（Cont. PO群）、マイナスイオンナノミスト曝露の静脈内投与群（ナノミストIV群）と経口投与群（ナノミストPO群）に分けた。それぞれのミストに1時間曝露後、ERGを静脈内投与または経口投与（10mg/kg）した後、経時的に採血を行った。血漿中エルゴチオネイン濃度の測定はLC-MS/MSを用いた。その結果、静脈内投与後に急速に上昇した血漿中ERG濃度は、1.5時間後には定常状態の値になり、6時間までほとんど変動しないことが明らかとなった。この結果は、組織に移行したERGが再び血液中に戻るために生ずると考えられた。肝初回通過効果によって、経口投与後の血漿中ERG濃度はほとんど上昇しないことが判明した。マイナスイオンナノミストの曝露群の血漿中ERG濃度は、コントロール群に比べ上昇することが明らかとなった。これらの結果は、マイナスイオンナノミストが、ERGの体内動態に影響を及ぼしていることを示している。

6. 米糠タンパク質の抗肥満作用およびその作用メカニズムの検討

肥満は生活習慣病の危険因子であり、その抑制は生活習慣病予防に寄与すると考えられている。このようことから、これまでさまざまな食品成分を対象に抗肥満作用に関する検討が行われており、米のタンパク質についてもこれまでの検討から抗肥満作用を有している可能性が示されつつある。本研究ではより強力な抗肥満作用がみられた米糠タンパク質を対象に、その有効成分を明らかにすることを目的に米糠タンパク質のアミノ酸組成に注目し、そのアミノ酸組成が肥満に与える影響について検討を行った。供試動物として6週齢の雄性C57BL/6Jマウスを用いた。試験群として高脂肪高ショ糖力ゼイン（HC）群、高脂肪高ショ糖米糠タンパク質（BP）群、高脂肪高ショ糖アミノ酸混合物（AA）群、標準力ゼイン（NC）群を設定し、12週間の試験を行った。なおアミノ酸混合物は、米糠タンパク質のアミノ酸組成と同一になるように遊離アミノ酸を混合したものをを用いた。試験終了直前に糞の回収を行い、糞中脂質の解析に供した。また試験終了後は血液および各種臓器を回収し、各パラメータの測定（組織重量測定、肝臓中脂質含量測定、血液生化学パラメータの測定など）を行った。その結果、HC群と比較してNC群では著しい体重増加の抑制がみられ、高脂肪高ショ糖飼料摂取による肥満誘導が確認された。HC群と比較してAA群では有意な体重増加の変動はみられなかったものの、BP群で有意な体重増加の抑制がみられ、その体重の値はNC群とほぼ同程度であった。また脂肪重量は体重増加と同様に、HC群と比較してAA群では有意な変動はみられなかったが、BP群で有意な低値を示した。以上の検討より、米糠タンパク質の抗肥満作用はそのアミノ酸組成ではなく、消化・吸収過程で生じるペプチドに起因する可能性が示された。

Research projects and annual reports

1. Effects of the *koji amazake* and its lactic acid fermentation product by *Lactobacillus sakei* UONUMA on defecation status in healthy volunteers with relatively few stool frequencies

To clarify the effects of the *koji amazake* and its lactic acid fermentation *amazake* by *Lactobacillus sakei* UONUMA (LFA-*amazake*) on the defecation status and intestinal microflora, a double blind parallel group comparison test in healthy volunteers with relatively few stool frequencies was conducted. The subjects ingested the *koji amazake* or the LFA-*amazake* for 1 week one bottle (108 mL, 118 g) once a day every morning. The subjects filled out daily questionnaires concerning their defecation conditions for the entire 3 weeks. First, second and third periods were the pre-test non-intake, the test food intake and the washout periods, respectively. Although there was no significant change in intestinal microflora, it was found that the defecation frequencies in the *koji amazake* group at second and third periods was significantly increased compared with that at first period. These results indicated that the *koji amazake* might be a food material with constipation relieving effects.

2. The effect of high hydrostatic pressure on acrylamide generation in aqueous reaction systems using asparagine and glucose

The effect of high hydrostatic pressure (HHP) on acrylamide generation was studied using an equimolar asparagine-glucose model system that was dissolved in ultrapure water or buffer at initial pH values of 5.0 and 9.0. The concentrations of acrylamide and melanoidins were determined after treatment at 120 °C for 60 min within a range of 100 to 300 MPa. The pH prior to and after treatment was also measured. The generation of acrylamide in all model systems was significantly suppressed under elevated pressure conditions. The strength of correlations among pressure value, acrylamide and melanoidins concentration differed depending on the initial pH condition of the model system.

It was suggested that the suppression of acrylamide generation occurred due to the different effects of pressure, which depends on the solution pH, on the Maillard reaction involving acrylamide formation. Based on these findings, we propose that application of HHP to heat processing of foods could be effective to reduce acrylamide content.

研究成果発表

1) 学会、シンポジウム等での発表

- ・山岸 千秋, 櫻井 美仁, 久保田真敏, 紙谷 義孝, 佐藤 眞治, プロポフォールの体内動態に及ぼす脂肪乳剤の影響, 日本麻酔科学会第65回学術集会, 2018/05/17
- ・山岸 千秋, 五十嵐武流, 櫻井 美仁, 久保田真敏, 紙谷 義孝, 佐藤 眞治, プロポフォールの体内動態と麻酔効果に及ぼす超低糖質餌の影響, 第87回新潟麻酔科懇話会および第66回新潟ショックと蘇生・集中治療研究会, 2018/06/09
- ・佐藤 晶子, 佐藤 眞治, 越中 敬一, 短期的なチアミン欠乏食の摂取が異なる様式の運動時に骨格筋糖代謝に及ぼす影響, 第73回日本体力医学会大会, 2018/09/07
- ・山岸 千秋, 五十嵐武流, 櫻井 美仁, 久保田真敏, 紙谷 義孝, 佐藤 眞治, プロポフォールの体内動態と麻酔効果に及ぼす超低糖質餌の影響, 第32回新潟地区部会研究発表会, 2018/09/21
- ・櫻井 美仁, 久保田真敏, 井口 晃徳, 重松 亨, 山口 利男, 倉橋 敦, 小黒 芳史, 西脇 俊和, 相原浩太郎, 佐藤 眞治, 麴甘酒及び乳酸発酵甘酒によるラットデキストラン硫酸ナトリウム誘発性大腸炎に対する予防効果の検討, 日本農芸化学会 2019年度東京大会, 2019/03/26
- ・櫻井 美仁, 久保田真敏, 井口 晃徳, 重松 亨, 山口 利男, 倉橋 敦, 小黒 芳史, 西脇 俊和, 相原浩太郎, 佐藤 眞治, 排便回数が比較的少ない健常成人の排便状況に及ぼす乳酸菌・麴菌発酵甘酒の影響, 日本食品科学工学会第65回大会, 2018/08/23

研究資金等

1) 企業等からの受託研究

- ・佐藤 眞治 (研究代表者): AOB中に存在する脂溶性ポリフェノールの定量

2) 研究助成金

- ・佐藤 眞治 (研究代表者): エルゴチオネインの体内動態と薬理効果に及ぼすマイナスイオンナノミストサウナの影響, 公益財団法人内田エネルギー科学振興財団

3) 企業等との共同研究

- ・佐藤 眞治: 機能性食品を目指した越後白雪茸に関する研究
- ・佐藤 眞治: 水耕栽培桑の機能性解析及び含有機能性成分の分析
- ・佐藤 眞治: 複合・連続発酵による米発酵食品の開発
- ・佐藤 眞治: NAFLD/NASHモデルラットSHRSP5/Dmcrを用いたエルゴチオネインの機能性評価
- ・佐藤 眞治: 新潟県新市場創出・米加工技術等開発事業「複合・連続発酵による米発酵食品の開発」

学会等活動

佐藤 眞治

1) 学会等の役員・委員活動

- ・日本分析化学会（関東支部新潟地区部会の幹事）
- ・日本食品分析学会（委員）

公的な審議会，委員会

佐藤 眞治

1) 審議会・委員会

- ・公私立大学実験動物施設協議会（代議員）

2) 調査・研究会

- ・新潟県新たな米産業創出技術研究会（会長代行，企画委員会委員）
- ・新潟県食品技術研究会（副会長）

3) その他公的社会活動

- ・新潟市健幸づくり応援食品認定制度推進委員会（委員）
- ・新潟県保健環境科学研究所嘱託アドバイザー

栄養生化学研究室

Laboratory of Nutritional Biochemistry

■ 教授 松 本 均 Professor Hitoshi MATSUMOTO, Ph.D.

■ 助教 能 見 祐 理 Assistant Professor Yuri NOMI, Ph.D.



食品に含まれる機能性成分の探索と評価，新規機能性食品の開発



・アントシアニン ・ポリフェノール ・プレバイオティックス ・乳酸菌
・メイラード反応

研究課題

- 1) プレバイオティックス，プロバイオティックスの機能性研究
- 2) 新規機能性食品素材の開発
- 3) 食品由来のポリフェノール成分の機能性研究
- 4) 食品中のメイラード反応生成物に関する研究

2018年度の研究成果

1) プレバイオティックス，プロバイオティックスの機能性研究

① フラクトオリゴ糖が腸内細菌の生育と代謝に及ぼす影響

昨年に引き続き，*Lactobacillus*属乳酸菌16種と*Bifidobacterium*属4種をそれぞれ炭素源の異なる培地（グルコース，FOS，GOS，GF₂，GF₃，イヌリン加水分解物ほか）で培養し，生育，pH変化，脂肪酸産生を分析した。属種に関係なく，幅広いオリゴ糖を資化できる菌，オリゴ糖はまったく資化できない菌，一部のオリゴ糖しか資化できない菌などが確認できた。乳酸菌は乳酸を，ビフィズス菌は酢酸を産生した。酪酸を産生できる菌は見出せなかった。

また，その資化する機能の解析のため，FOS，GOSを資化できる*L.gasseri* ME-604中の菌体外酵素液を抽出し反応性をみたところ，FOSは菌体外で分解され取り込まれるのに対し，GOSは菌体内へとりこまれて資化されていることが判明した。

② DSS誘導性炎症性腸疾患モデルマウスに対するフラクトオリゴ糖投与の影響

昨年よりDSS投与量を減らしたIBDモデルマウスにFOSを投与し，IBDの症状緩和の作用機序について検討した。結果は，まだDSS負荷量が強すぎて，FOS投与による明確な効果は認められなかった。

昨年同様，制御性T細胞（Treg）の分化を誘導することを再確認できた。また，新たに，脾臓におけるIL-10の有意な増加が確認され，盲腸内での酪酸などの短鎖脂肪酸の産生が確認でき，FOS投与が，免疫機構へ関与していることがさらに確認できた。

③ ラットにおけるフラクトオリゴ糖摂取がアントシアニンの生体利用性に及ぼす影響

アントシアニン（AC）は、体内への吸収率は低いとされているが、代謝物として種々のフェノール酸が血中や尿中で報告されている。プレバイオティクスであるフラクトオリゴ糖（FOS）を10日間摂取させACとその代謝物の吸収性を評価した。有意差はつかなかったが、Control群に対し5.0%FOS群で尿中D3R、C3R排泄量の平均値は高かった。盲腸内容物のpHはFOS群において低下し、ACの代謝物であるHPPA、Vanillic acid、Syringic acidの尿中排泄量が増加していた。要因は、腸内細菌がFOSを資化して脂肪酸を生成させて、pHを低下させ、ACが安定化したためと考えられる。

2) 新規機能性食品素材の開発

① フラノクマリン類に着目したイチジク葉茶の加工方法の検討

イチジク葉は、フラノクマリン類（FCs）であるpsoralenやbergaptenを含み、抗高血圧効果がある漢方薬（無花果葉）として知られ、健康茶としても利用されている。しかし、現在販売されているイチジク葉茶の加工方法は様々で、FCs量も大きく異なる。そこでFCs量に着目して、イチジク品種や加工方法について検討した。イチジク葉抽出物中では、品種間で異なるがchlorogenic acid, caffeoylmalic acid, psoralic acid-glucoside（PAG）, isoschaftoside, rutin, psoralen, bergaptenが同定された。新潟市で栽培されている品種のうち、榊井ドーフィン（別名：越の雫）が最もFCs量が多かった。イチジク葉茶の加工工程では、殺青は影響しないが、発酵と焙煎は継時的に減少する傾向にあった。

② β -グルカン豊富に含む大麦ふすまの機能性食品への利用検討

新潟県では β -グルカンを多く含む、もち性大麦種の「はねうまもち」を栽培しており、精麦の際に β -グルカンを多く含むふすまが大量に産出される。このふすまを有効利用するために二軸エクストルーダーを用いてパフ状のスナックに加工し、スナックの機能性成分の測定及び官能評価を行った。原料のふすまには、 β -グルカン、ミネラル、ビタミンEが豊富に含まれていた。このふすまに米粉を混合した粉末で二軸エクストルーダーを用いてパフ状スナックの製造を検討した。加工後スナックの糊化度の測定、機能性成分の定量、官能評価を行った。ふすまに50、70、90%の米粉を混合した試験群で十分な膨化が起き、糊化度の割合が高いほどサクサクとした食感が得られ官能評価の高いスナックが得られた。機能性を考慮すると50%ふすまを含む試験群が最も好ましいと考えられた。加工後スナックにも β -グルカン、ビタミンEの減少は認められなかった。

3) 食品由来のポリフェノール成分の機能性研究

① アントシアニン（AC）の中性領域における構造変化

ACは、中性及び塩基性下ではキノイド型とシュードベース型の不安定構造で、経時的に分解するが分解物については不明である。近年、ACの機能性が注目されているが、中性である体内の生理活性を有する構造は未知である。カシスのACであるDelphinidin-3-glucoside(D3G)及びDelphinidin-3-rutioside(D3R), Cyanidin-3-glucoside(C3G), Cyanidin-3-rutioside(C3R)について検討した結果、pH7で経時的に非可逆的な分解が起こり、pH2に戻した場合、元の構造に一部戻らないことが確認された。pH7、24hインキュベート後で、D3Gは99.8%、D3Rは99.8%、C3G78.0%、C3Rは68.0%の減少が示され、デルフィニジンはシアニジンと比較して減少が大きいことが示唆された。デルフィニジンの分解物として、Phloroglucinaldehyde (PGA)とGallic acidが確認されたが、生成量が少なく、他の物質にさらに変換されていると考えられた。同様に、シアニジンの分解物として、PGAとProtocatechuic acidが確認されたが、デルフィニジンと同様に少量であった。

② 黒生姜ACの抗肥満作用の検討

昨年3T3-L1細胞を用い、黒生姜ACの抗肥満効果を評価した。本年は、高脂肪食（HFD）に黒生姜AC画分を添加した飼料をマウスに給餌させることで、黒生姜AC画分の抗肥満作用を検討した。平均体重およびWATの総重量においてHFDより0.1%ACが低い傾向であった。p-AMPKはACの濃度依存的に発現が上昇した。UCP-1の発現量はHF群に比べて0.1%AC群が高値を示した。PPAR γ , C/EBP α はAC群における発現量がHF群に比べ低値を示した。SREBP-1は0.1%AC群において発現量が低下した。AdiponectinはHF群と比較してAC群で減少傾向にあった。以上のことから黒生姜ACには脂肪細胞の分化抑制、脂肪蓄積を抑制し、脂質代謝を改善する可能性が示唆された。

③ ラットにおけるイチゴ由来のPelargonidin-3-glucosideとその代謝物の体内動態

イチゴに含まれるPelargonidin-3-glucoside（P3G）にフィチン酸（IP₆）またはクエン酸（CA）を混合して投与し、AC吸収量の改善と尿中および血中の代謝物量への影響を検討した。

AC吸収率の有意な増加は確認できなかったが、Control群に対し5.0%FOS群で尿中D3R, C3R排泄量の平均値は高かった。盲腸内容物のpHはFOS群において低下し、腸内細菌がFOSを資化し脂肪酸を産生してpHが低下しACが安定化し吸収量が増えたと考えられる。代謝物は、PGAとphloroglucinol carboxylic acidは、FOS群では有意に低下しACと同時に排泄量が減少した。それ以外の代謝物はFOS群では概ね増加傾向で、AC排泄が減ったあとも尿中に出続けたことから、二次的な代謝物であると考えられる。

4) 食品中のメイラード反応生成物に関する研究

① 各種糖質の終末糖化産物AGEs生成能評価

オリゴ糖を含む11種の糖（グルコース、フルクトース、ガラクトース、スクロース、マルトース、ラクトース、1-kestose（GF₂）、ニストース（GF₃）、95%フルクトオリゴ糖（FOS）（3糖以上が95%以上）、イヌリン加水分解物、99%ガラクトオリゴ糖（GOS）（3糖以上が99%以上）をアミノ酸と反応させ、AGEsおよびジカルボニル化合物生成量の比較を行った。糖質とリジン、アルギニンをpH 7.4で60℃、24時間および72時間加熱した。AGEsを定量した結果、単糖類はN^ε-カルボキシメチルリジン（CML）、N^δ-グリオキサールヒドロイミダゾリン（G-H1）、N^δ-メチルグリオキサールヒドロイミダゾロン（MG-H1）が多く生成されていた。また、マルトース、ラクトース、GOSでは単糖類と比較してCMLが多く生成されていた。一方、スクロース、GF₂、GF₃を含むフルクトオリゴ糖（FOS）類はAGEs生成量が少ない傾向であった。還元末端を有しているイヌリン加水分解物はCEL、MG-H1が多く生成された。AGEsの前駆体であるジカルボニル化合物量は、単糖類で最も多かったが、FOS類ではAGEsの生成と同様に少なかった。イヌリン加水分解物は、N^ε-カルボキシエチルリジン（CEL）、MG-H1の前駆体であるジカルボニル化合物のMGOを特に多く生成していた。

② 焼成パンの原材料およびポリフェノール成分の添加が終末糖化産物AGEs生成に及ぼす影響

メイラード反応が起こり易い食品である焼成パンに着目して、原材料の違いによるAGEs生成への影響を検討するため、各種焼成パンを調製するとともに、含まれるAGEsとその前駆体である α -ジカルボニル化合物（ α -DCs）の分布解析を行った。Y社から提供を受けた食パン、菓子パンでは、AGEsはCML、CEL、MG-H1、Pyrralineの4種、DCは3-デオキシグルコソン（3-DG）、デオキシテトロソン、メチルグリオキサール（MG）、3,4-ジデオキシテトロソン-3-エン（3,4-DGE）の4種が検出された。 α -DCs、AGEsともに食パンよりも菓子パンに多く、これは原材料によるものと考えられる。原材料の異なる食パン、フランスパン、クロワッサンと比較すると、メイラード反応の出発物質である糖や

タンパク質源を含む材料が少ないフランスパンではAGEs, α -DCsともにほとんど生成されておらず、脂質を多く含むクロワッサンでもあまり多くはなかった。また、ポリフェノール成分の添加で比較すると、ココアと緑茶は抑制傾向が見られるのに対し、AC10では増加傾向にあった。

Research projects and annual reports

1) Functional study of prebiotics and probiotics

- ① Influence of fructo-oligosaccharides on growth and metabolism of intestinal bacteria
- ② Effect of fructo-oligosaccharides administration on DSS-induced inflammatory bowel disease model mouse
- ③ Effects of Fructo-oligosaccharide Intake on Anthocyanin Bioavailability in Rats

2) Development of new functional food ingredient

- ① Investigation of processing method of fig leaf tea focusing on furanocoumarin component
- ② New application of β -glucan rich barley bran for functional food

3) Functional study of food-derived polyphenol component

- ① Structural transition in the neutral pH region of anthocyanins
- ② Study on the anti-obesity effect of black ginger anthocyanin
- ③ Pharmacokinetics of strawberry anthocyanin (Pelargonidin-3-glucoside) and its metabolites in rat

4) Study on Maillard reaction products in food

- ① Evaluation of the reaction property of advanced glycation end products (AGEs) in a model system of various carbohydrates with amino acids
- ② Effects of raw materials and the addition of polyphenol components in baked bread on advanced glycation end products (AGEs) formation

研究成果発表

1) 学会、シンポジウム等での発表

- ・松本 均, カシスアントシアニンによるアンチエイジングの可能性, 脳心血管抗加齢研究会, 2018/12/15
- ・竹内 大和, 井ノ川達也, 松村 晋一, 吉岡 百合, 能見 祐理, 松本 均, 黒生姜アントシアニン画分の抗肥満作用の検討, 日本薬学会第139年会, 2019/03/22
- ・能見 祐理, 山崎 健人, 佐藤 眞治, 松本 均, カルノシンとキシロースのメイラード反応で形成される低分子黄色色素の同定, 日本農芸化学会 2019 大会, 2019/03/26
- ・宮本 紅, 田野倉美里, 上田 悦子, 能見 祐理, 大倉 毅, 下 廣寿, 北尾 苑子, 伊藤 祐一, 山本 一博, 大塚 譲, 結合型AGEsの分析方法の検討およびヒト血液中のAGEs分析, 第41回日本分子生物学会年会, 横浜, 2018/11/28

研究資金等

1) 科研費

- ・松本 均 (研究代表者): アントシアニン成分及びその代謝物の血液脳関門透過性の検討とその代謝機構解明, 2018年度 基盤研究 (C)

- ・能見 祐理（研究分担者）：脾臓細胞の抗酸化機能を増強する食品の探索：ゼラニンAの効果は？, 基盤研究（C）
- ・能見 祐理（研究代表者）：飲食品中終末糖化産物（AGEs）の分布状況およびAGEs形成に及ぼす因子の解明, 基盤研究（C）

2) 企業等からの受託研究

- ・松本 均：カシスアントシアニンの神経細胞保護作用に関する研究
- ・松本 均：フラクトオリゴ糖の機能性に関する研究
- ・松本 均：機能性食品素材に関する研究
- ・松本 均：大麦ふすまを利用した新規機能性食品開発, 新潟市農業活性化研究センター

3) 研究助成金

- ・能見 祐理（研究代表者）：パンの製造工程および各種食品成分が終末糖化産物の形成に及ぼす影響, 公益財団法人 飯島藤十郎記念食品科学振興財団

4) 学内競争的資金

- ・能見 祐理：タイヤゴムを循環利用した人工芝等の劣化に伴う内包有害物質による毒性の変化, 平成30年度新潟薬科大学応用生命科学部「学部内共同研究奨励費」

学会等活動

松本 均

1) その他

- ・日本カシス協会（理事）

公開講座等講師

松本 均

1) 本学主催の公開講座等

- ・延ばそう 健康寿命!!～シニアに必要な食習慣～

能見 祐理

1) 他機関から依頼の講演会等

- ・新潟県立新井高等学校 大学・短期大学模擬講義

他機関における教育支援

松本 均

1) 高校での指導

- ・理科部の研究テーマの支援（新潟県立新津高等学校）

- ・出張講義（新潟県立新発田高等学校）
- ・1dayキャンパス 実施（北越高等学校）
- ・糖のいろいろ（高校2年生に向けての出張講義）理系5名，文系6名，計11名（新潟県立吉田高等学校）

能見 祐理

1) 他大学等の非常勤講師

- ・食品加工及び貯蔵学Ⅰ・Ⅱを担当（日本女子大学家政学部 通信教育課程）

食品・作物資源利用学研究室

Food and Crop Resources Utilization Laboratory

■ 特任教授 大坪 研 一

Research Professor Ken'ichi OHTSUBO, Ph.D.

■ 特任准教授 中 村 澄 子（穀物研究ユニット）

Research Associate Professor Sumiko NAKAMURA, Ph.D.



米の食味の新規評価方法の開発及び各種の米の食味評価。機能性米麦加工食品の開発。



・ 米 ・ 食味 ・ 品質評価 ・ 加工技術 ・ 機能性

研究課題

- (1) 米の新規食味評価技術の開発（科研費C（代表：中村准教授）、共同研究）
- (2) 世界及び全国の米の食味評価（科研費A（分担）、共同研究）
- (3) 糖尿病・認知症複合予防効果の期待される米加工食品の開発（内閣府SIP（分担）、受託研究）
- (4) 米発酵食品の機能性評価（新潟県新市場創出・米加工技術等開発事業（分担）、受託研究）
- (5) 湿熱処理玄米粉の特性評価（生研センター革新的技術開発緊急展開事業（分担）、受託研究）

2018年度の研究成果

(1) 米の新規食味評価技術の開発

全国の「特A」クラスのブランド米を対象に、食味の理化学的評価を行い、炊飯後の米飯物性の老化特性が重要であることを見出し、魚沼コシヒカリの長所を明らかにした（食品科学工学会発表）。

(2) 世界及び全国の米の食味評価

中国の各種ジャポニカ米、全国のブランド米、秋田県産米などを対象に、理化学的測定を中心として食味評価を行った（水稻品質・食味研究会発表、農芸化学会発表）。

(3) 糖尿病・認知症複合予防効果の期待される米加工食品の開発

黒米、超硬質米を配合し、高压処理後に炊飯した米飯について、12週間のヒト長期試験を行い、血糖上昇抑制およびアミロイドβ産生抑制の点で有望であることを明らかにした（育種学会論文掲載、応用糖質学会発表、論文受理）。

(4) 米発酵食品の機能性評価

新潟県農総研および企業の試作した米発酵食品を対象に、抗酸化性、ACE阻害活性等を測定し、原料米の種類や製造方法による機能性の相違について明らかにした（応用糖質科学会発表）。

(5) 湿熱処理玄米粉末の特性評価

長岡高専, 新潟県農総研, 新潟製粉の試作した湿熱処理玄米について, 湿熱処理条件が, 試作品の澱粉特性, 糊化特性および貯蔵性に対する影響を明らかにした (米国穀物化学会論文掲載)。

Research projects and annual reports

(1) Development of novel quality assay method of rice

It was clarified that the retrogradation degree is important in terms of evaluation of rice palatability and “Uonuma Koshihikari” retrogrades more slowly than other brand rice cultivars.

(2) Evaluation of palatability of various japonica rice all over Japan and world.

We evaluated palatability of various kinds of japonica rice cultivars in Japan and China using physical and chemical measurements.

(3) Development of rice products promising for the prevention of diabetes and dementia.

Cooked rice products developed with food industry were subjected to the long-term human test and black rice products were proved to be safe and acceptable, and showed high probability in terms of the prevention of diabetes and dementia.

(4) Evaluation of bio-functionality of the fermented rice products

Fermented rice products developed by Niigata Prefectural Agricultural Research Institute and food industries were subjected to the assay of anti-oxidative activity and ACE inhibitory activity, and the most suitable material rice cultivar and fermentation condition were selected.

(5) Characterization of high-moisture treatment brown rice flours

High-moisture treatment brown rice flours developed in National Institute of Technology, Nagaoka College, Niigata Prefectural Agricultural Research Institute, and food industry were subjected to the long-term storage test, which showed the effect of high-moisture treatment.

研究成果発表

1) 国際雑誌 (査読付き)

- Wataru Noro, Shigeto Itayagoshi, Ryota Hosono, Takaaki Matsui, Makoto Takahashi, Sumiko Nakamura, Kazuhiko Ishizaki, Satoshi Watanabe, Ken'ichi Ohtsubo: Characterization of the New Amylopectin Long-chain Rice Cultivar Chou 2418 and Its Boiled Rice Grains. *Food Science and Technology Research*, 25(2), 227-235, 2019.
- Masamichi Sugawara, Takashi Kuribayashi, Keigo Sato, Yoshihito Nabekura, Toshio Aoki, Mitsuoki Kaneoke, Sumiko Nakamura, Ken'ichi Ohtsubo: Iodine Absorption Scanning Analysis of the Digestibility and Gelatinization Properties of Koshitanrei Rice Cultivar for Sake Brewing. *Food Science and Technology Research*, 25(2), 207-216, 2019.
- Masamichi Sugawara, Mitsuoki Kaneoke, Sumiko Nakamura, Ken'ichi Ohtsubo, Improved cultivation and fortification of the giant embryo brown rice cultivar "Koshiguruma", *Food Science and Technology Research*, 24(4), 619-626, 2018/04
- Wataru Noro, Keiko Morohashi, Sumiko Nakamura, Masaharu Nakajima, Ken'ichi Ohtsubo, Effects of heat

moisture treatments on the digestibility and physicochemical properties of various rice flours, *Food Science and Technology Research*, 24(5), 851-859, 2018/05

- Sumiko Nakamura, Takashi Hara, Akira Yamazaki, Atsushi Kobayashi, Satoshi Maeda, Kensaku Kasuga, Takeshi Ikeuchi, Hiroshi Goto, Masao Hirayama, Kenichi Watanabe, Toshiko Koide, Ken'ichi Ohtsubo, Trial for the development of bio-functional foods to prevent diabetes and dementia using a high-pressure treatment, *Journal of Diabetes and Obesity*, 5(1), 22-30, 2018/06
- Sumiko Nakamura, Junji Katsura, Yasuhiro Maruyama, Ken'ichi Ohtsubo, Relationship between fatty acid composition and starch properties of 30 japonica rice cultivars, *Cereal Chemistry* (DOI:10.1002/cche.10110), 2018/10
- Sumiko Nakamura, Hui Li, Chang-Jun Dai, Rui-Ying Zhang, Motonobu Kawano, Ken'ichi Ohtsubo, Physicochemical measurements of japonica rice cultivars in Heilongjiang Province, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (DOI:10.1080/09168451.2019.1576499), 2019/01

2) 著書（辞書・辞典等の項目執筆を含む）

- 大坪 研一：米の美味しさと健康機能性，*精米工業*，No292, 10-16, 2018.
- 大坪 研一：米粉を使った新たな食品開発の展望，*JATAFFジャーナル*，6(7), 3-9, 2018.

3) 学会，シンポジウム等での発表

- 大坪 研一，露木 恵介，稲川 拓，桂 順二，丸山 恭弘，中村 澄子，米の食味の理化学評価及びその各種ブランド米への適用，日本食品科学工学会第65回大会，2018/08/23，仙台市
- 中村 澄子，鷺尾 慧，熊野 悠人，伊藤 満敏，田中 宥司，前田 慧，小林 篤，山崎 彬，大坪 研一，米及び大麦配合の高圧処理による機能性食品開発の試み，日本食品科学工学会第65回大会，2018/08/23，仙台市
- 石橋 実学，原 崇，池内 健，中村 澄子，城 斗志夫，西澤 正豊，小林 篤，山崎 彬，大坪 研一，フェルラ酸のアミロイドβ誘導性神経細胞死抑制作用，日本食品科学工学会第65回大会，2018/08/23，仙台市
- 大坪 研一，中村 澄子，前田 聡，小林 篤，池内 健，春日 健作，原 崇，平山 匡男，渡辺 賢一，後藤 博，小出 頼子，山口 修，山崎 彬，超硬質および黒米を配合した高圧処理包装米飯の機能性，日本応用糖質科学会第67回大会，2018/09/10，秋田市
- 中村 澄子，堀井悠一郎，西脇 俊和，渡辺 聡，穴戸 功一，羽田 知由，広井 伸行，大坪 研一，玄米の麴発酵における成分特性及び機能性の評価，日本応用糖質科学会第67回大会，2018/09/10，秋田市
- 中村 澄子，李 輝，戴 常軍，張 瑞英，河野 元信，大坪 研一，中国黒龍江省の各種ジャポニカ米の食味の理化学評価，日本水稻品質食味研究会第10回講演会，2018/11/03，秋田市
- 李 輝，戴 常軍，張 瑞英，河野 元信，中村 澄子，大坪 研一，理化学評価に基づく中国黒龍江省の各種ジャポニカ米の食味の推定式，日本水稻品質・食味研究会第10回講演会，2018/11/03，秋田市
- 大坪 研一，中村 澄子，孫 輝，段 曉亮，河野 元信，中国国家糧食局の試料米の食味の理化学評価，日本水稻品質・食味研究会第10回講演会，2018/11/03，秋田市
- 大坪 研一，朝妻 聖，中村 澄子：国産各種ブランド米の食味評価方法の開発，日本農芸化学会

2019年度大会, 2019/3/26, 東京都

4) 学会, シンポジウム等での招待講演

- ・大坪 研一: 米の食味評価, 黒龍江省農業科学院米食味品質監評学術報告会, 2018/10/10, 哈爾濱市
- ・Ken'ichi Ohtsubo and Sumiko Nakamura, Bioactive components of grains and some examples to increasethem, 2018 ICC international conference, Taipei, 2018/11/06
- ・Ken'ichi Ohtsubo, Physicochemical evaluation of palatabilityof various kinds of rice cultivars, International symposium on good eating quality japonica rice, China,2019/01/18
- ・大坪 研一: 米・米粉のおいしさと健康機能性, 日本応用糖質科学会中部支部大会, 2018/7/6, 名古屋市
- ・K. Ohtsubo: Bio-functionality of super-hard rice with long-chain amylopectin, The 3rd International Symposium on Rice Science in Global Health, Kyoto International Conference Center, 2018/11/29, 京都

研究資金等

1) 科研費

- ・大坪 研一 (研究分担者): 基盤研究 (A) 課題番号17H01491「世界におけるジャポニカ米の需要拡大, 品質改善, 潜在性に関する学際研究」
- ・中村 澄子 (研究代表者): 基盤研究 (C) 課題番号17K00829「ヨード呈色多波長走査分析による米の澱粉特性及び食味特性の新規評価方法の開発」

2) 科研費以外の政府系競争的資金

- ・大坪 研一, 中村 澄子 (研究分担者): 農研機構生研支援センター委託事業 戦略的イノベーション創造プログラム (S I P) 次世代農林水産業創造技術「食シグナルの認知科学の新展開と脳を活性化する次世代機能性食品開発へのグランドデザイン」, 課題名: 超高压加工による成分抽出効率の向上, 認知症予防効果の期待される米飯及び米加工食品の開発
- ・大坪 研一, 中村 澄子 (研究分担者): 農研機構生研支援センター委託事業 革新的技術開発・緊急展開事業 (うち地域戦略プロジェクト)「米の新規需要拡大のための輸出を目指した湿熱処理技術による保存性と生理的機能性の優れた玄米米粉開発に向けた研究」, 課題名: 湿熱処理におけるゲル強度測定方法の開発, 糊化粘度特性評価方法の開発, 湿熱処理レベル (デンプン特性・脂質酸化) 評価法の開発」

3) 企業等からの受託研究

- ・大坪 研一, 中村 澄子: 民間団体からの受託研究 (米の食味評価)

4) 企業との共同研究

- ・大坪 研一, 中村 澄子: 新潟県新市場創出・米加工技術等開発事業「複合・連続発酵による米発酵食品の開発」, 課題名: 玄米・機能性米の発酵による性状比較
- ・大坪 研一, 中村 澄子: 民間企業との共同研究 (米の品質評価手法の開発)
- ・大坪 研一, 中村 澄子: 民間企業との共同研究 (米菓加工適性)

その他研究活動

- ・大坪 研一，中村 澄子：韓国京畿道農業試験普及センターから研修生の受け入れ（韓国産突然変異米の食味特性の評価）
- ・大坪 研一：台湾台北市で開催された I C C 穀物会議に参加し，座長を務め，コメの機能性について口頭発表を行った。
- ・大坪 研一：タイ国ランシット大学訪問，2018年8月27～30日
- ・大坪 研一：食の新潟国際賞財団理事（第3回訪中団副団長）として，中国黒龍江省を訪問した。
- ・大坪 研一：日本水稻品質・食味研究会副会長（米食味監評会主任）として，第1回中国黒龍江米祭りに参加し，農業科学院で「米の食味評価」と題して講演した（2018年10月8日～11日）
- ・大坪 研一：米のおいしさ与健康機能性，日本精米工業会賛助会員講演会，2018年7月24日
- ・大坪 研一：米の食味と健康，新潟薬科大学健康自立講座，2018年5月19日，新潟市
- ・大坪 研一：米の食味とその評価，富山米生産推進大会，2018年7月26日，富山市
- ・大坪 研一：輸出食品展示会で「糖尿病・認知症複合予防米加工食品の開発」に関する展示を行った。
2018年10月12日，東京都
- ・大坪 研一：基調講演「おいしいお米とは」，魚沼米生産者会議，2018年4月15日，魚沼市
- ・大坪 研一：新潟日報社環日本海懇談会例会で「新潟と黒龍江省米による交流加速を！」と題して講演した。2018年12月19日，新潟市

公的な審議会，委員会

大坪 研一

1) 審議会・委員会

- ・日本米粉協会認証委員長
- ・農水省生産局事業の審査委員
- ・DNA鑑定学会理事
- ・日本食品科学工学会代議員・編集委員
- ・日本応用糖質科学会代議員
- ・日本食品保蔵科学会代議員
- ・農水省農食事業プログラムオフィサー
- ・新潟県健康ビジネス協議会研究事業審査委員
- ・新潟市食文化推進会議副議長
- ・佐渡市生物多様性委員会委員
- ・新潟市食の新潟国際賞財団理事
- ・全国瑞穂食糧検査協会評議員
- ・日本精米工業炊飯委員会委員

他機関における教育支援

大坪 研一

1) 他大学等の非常勤講師

- ・食と健康特別講義（新潟大学）
- ・農畜産物加工論講義（新潟県農業大学校）
- ・米の科学について集中講義（放送大学面接講義）

その他社会貢献活動

大坪 研一

- ・中国黒龍江省を2回訪問した。第1回中国黒龍江省国際米フェスティバルにおいて、審査主席を務めた。
- ・中国3回、タイ1回、台湾1回の海外出張を行い、国際交流に貢献した。

中村 澄子

- ・穀物・食品分析技術シンポジウム2018（Pertin Co. Ltd主催）で講演「RVAを用いた米の澱粉特性と脂肪酸組成の関連性の評価」，2018年11月29日，スウェーデン大使館，東京

食品・発酵工学研究室

Laboratory of Food and Fermentation Technologies

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

■ 助教 井口 晃徳 Assistant Professor 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



・食品高压加工技術 ・発酵醸造プロセス ・廃水処理技術 ・環境浄化
・微生物

研究課題

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。

- (1) 圧力の利用：100MPa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。
- (2) 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。

2018年度の研究成果

1) 食品の高压加工技術に関する研究

バナナに400MPa（室温）の高压処理を10min施し、除圧後3days保存したところ、抗酸化活性の増加が認められた。この抗酸化活性の増加に寄与する抗酸化物質の同定を目的として、メタノール抽出物に含まれる成分の濃縮条件ならびに夾雑物の除去を検討した。遠心濃縮、再溶解の検討により成分の濃縮条件の最適化ができ、限外濾過膜の利用とクロロホルム抽出により、成分の濃縮と夾雑物の除去が達成できた。その結果、HPLCにより目的化合物と思われる2本のピークを確認することができた。

キウイフルーツの果実に、室温条件で200～600MPaの高压処理を10min施し、除圧後の保存中の色彩の変化を $L^* a^* b^*$ 表色系で解析した。その結果、200～600MPaの条件で、保存中の ΔL^* の値が処理圧力に依存して減少した。また、300～600MPaの条件で保存中の Δb^* の値が、処理圧力に依存して減少した。

これらの、高圧処理による色彩の変化の抑制は、キウイフルーツの果実のポリフェノールオキシダーゼ（PPO）酵素の圧力による不活性化によるものと考察した。

2) 高圧技術を利用した新規日本酒醸造プロセスの開発に関する研究

2017年度に開発した発泡性にごり生酒「AWANAMA」は、400MPa（室温）10minの高圧処理により製品中の酵母は完全に不活性化でき、保存中の酵母由来の風味の変化を抑制することができた。しかし、製品中に麹菌由来の各種酵素は依然活性を有するため、これらを高圧処理により不活性化させることにより、保存性が高まると考えた。200MPaから500MPaの高圧処理を、 -7°C から $+50^{\circ}\text{C}$ の温度条件で、10min行った。その結果、低温条件ならびに高温条件で高圧処理を行うことで、室温条件に比べて各酵素が不活性化できることが示された。

「生酒らしい風味」を数値化するために、日本酒の抗酸化活性をDPPH法ならびにORAC法により測定し、保存中の酸化反応による抗酸化活性の減少を解析した。DPPH法により抗酸化活性を測定した結果、保存期間に依存して抗酸化活性が減少すること、その減少挙動が「火入れ」や高温条件で高圧処理を行った試料で大きく、未処理あるいは低温条件で高圧処理を行った試料で小さいことが示された。生酒らしい風味とDPPH法による抗酸化活性の間に相関性が認められた。以上の結果から、現時点で最適な高圧処理は、 -7°C 、500MPa、10minの条件であると結論付けた。

醸造プロセスにおける処理圧力の軽減を目的として、現在、「単行複発酵式」日本酒醸造プロセスの開発に着手し、より低い圧力条件で保存性を向上させる醸造技術の開発を進めている。また、酒母として使用する酵母も圧力に弱い方が望ましいと考え、新潟県醸造試験場で作出された香気高生産酵母株からの圧力感受性変異株の取得を行った。ミトコンドリアの呼吸能が欠損した圧力感受性変異株の取得に成功した。

3) 非致死圧力下での出芽酵母による有用中間代謝産物の効率生産に関する研究

出芽酵母を15MPaの圧力下で培養することで、死滅はしないが増殖の抑制が認められる。こうした非致死圧力下での代謝制限を利用して、中間代謝産物の効率生産に応用するための検討を行った。主要なエネルギー代謝経路、 NAD^{+} 合成経路のサブメタボロームをCE-MSで解析したところ、解糖系、クエン酸回路、 NAD^{+} 合成経路のいずれにおいても、15MPaの圧力下で抑制される反応ステップが認められた。

4) 生分解性プラスチック製ごみ袋を用いた生ごみのメタン発酵に関する研究

生分解性プラスチックpoly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBH) を主成分とするごみ袋ごと生ごみのメタン発酵技術を開発する研究を進めている。PHBHを分解する嫌気性微生物群集の集積には成功したが、この微生物群集による実証試験用PHBHシートの分解は達成できなかった。実証試験用PHBHシートに含まれるpoly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) が原因と考えられたため、PHBHならびにPBATを懸濁させた合成廃水を連続供給するメタン発酵プロセスを構築した。長期間馴養した槽内液を用いて実証試験用PHBHシートの分解を検討したが、分解は見られなかった。別の原因を検討する必要が認められた。

5) 嫌気性廃水処理プロセスに生息する未培養微生物の分離培養

分離に成功した*Caldiserica*門細菌(NY-SETRAS株)およびcandidatus *Cloacimonetes*候補門細菌(NY-MAS株)の、菌株保存機関への寄託および生理学的諸性質の調査を行った。菌株寄託は国内保存機関であるNBRCとドイツのDSMZに行い、両株ともにそれぞれの機関から登録番号を受領した。生理学的諸性質の調査結

果、NY-MAS株とNY-SETRAS株の生育を著しく増大させる培養条件を見出した。また水素資化性メタン生成古細菌との共培養によってNY-SETRAS株は酢酸を、NY-MAS株はプロピオン酸を基質として利用可能であることが確認された。以上のことから両株は実際のリアクター環境において、代謝様式を変化させながら環境に適応している可能性が示唆された。

6) 新津川自噴石油成分を分解する微生物の同定

メタン生成を伴う嫌気的な有機物分解環境における、オクタデカンの分解に直接関与する微生物の解明、また本リアクターにおける n -アルカンの生物学的な分解機構を明らかにすることを目的に、 n -アルカンを分解するメタン発酵リアクターを構築し、次世代シーケンス解析による微生物群集構造解析と、バイアルビンバッチ培養によるオクタデカン分解経路の推定を行った。昨年度の研究結果から、リアクター内ではアルキルコハク酸とメタン生成古細菌を介さない、嫌気的なアルカン分解が生じている可能性が考えられたことから、オクタデカン分解汚泥にメタン生成阻害剤（2-ブロモエタンスルホン酸ナトリウム, BES）を添加し、生育してくる微生物の同定を行った。結果、BES添加区においてBrucellaceae科細菌がBES未添加区と比較して15倍多く検出されたことから、この微生物がアルキルコハク酸とメタン生成古細菌を介さない n -アルカンの分解に関与している可能性が示唆された。

7) 超高压技術を利用したCatalyzed Reporter Deposition (CARD) –Fluorescence *in situ* hybridization法適用のための細胞壁処理の検討

CARD-FISH法における新たな細胞壁処理方法として高压技術に着目し、モデル微生物には*Listeria innocua*菌体を使用して高压処理による自己溶解酵素の誘導および誘導された自己溶解酵素を用いたCARD-FISH法のための細胞壁処理における適用可能性を検証した。結果、自己溶解酵素の誘導条件および酵素処理条件を最適化することで、自己溶解酵素のCARD-FISH法への適用可能性が示唆された。実サンプルとして活性汚泥に対し同様に適用を試みたが、すべての菌体を検出するには至らなかった。このことからサンプルごとに最適化を必要とするものと考えられた。

8) 麴甘酒および乳酸発酵甘酒の摂取が腸内細菌叢に与える影響

麴甘酒および乳酸発酵甘酒を食餌することによる腸内細菌叢への影響を16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンス解析によって調査した。甘酒摂取におけるヒト便秘改善効果では、麴甘酒において便通改善効果が有意に示されたものの、腸内細菌叢に対して有意な変動は及ばなかった。また大腸炎モデルラットにおける効果では、麴甘酒および乳酸発酵甘酒は炎症を抑制する傾向が見られたと同時に、腸内細菌叢にも変動が生じ、腸内環境が悪化する際に増加する*Allobaculum*属細菌の減少とS24-7細菌（*Bacteroidetes*門）の増加が確認された。

9) 高压処理による微生物の不活性化を相乗的に促進する添加物質の探索とメカニズム解明

高压処理による微生物の不活性化を増強させる添加物質に着目し、「添加物質+圧力処理」の相乗効果による微生物の不活性化の解析及びメカニズム解明を試みた。昨年度の研究において、安息香酸、ソルビン酸、アジピン酸で高压処理による相乗効果が確認されたことから、これらの添加物質がどのような働きで不活性化を促進しているのかを明らかにするため、添加物の細胞内での挙動を解析した。結果、これらの物質を添加して圧力処理を施すことにより、圧力処理を行わない対照区と比較して、これらの物質は細胞外に流出せず、細胞内にとどまることが明らかとなった。またこれらの不活性化効果は致死的な作用と

同時に、損傷といった非致死的な効果を引き起こすことも明らかとなった。

10) 水酸化テトラメチルアンモニウム (TMAH) を分解するメタン生成古細菌の分離培養

近年の電子製品の生産量の増加に伴い排出量が増大する電子産業廃水には、毒性を有する水酸化テトラメチルアンモニウム (TMAH) が含まれている。本研究はTMAHを分解可能なメタン発酵の実現を目指し、TMAHの分解に関与するメタン生成古細菌の分離培養を目的とした。TMAH分解能を有するメタン発酵汚泥を分離源とし、液体培地による限界希釈法およびゲランガム固体培地によるコロニー形成法を用いることで標的微生物の分離培養を試みた。メタン生成古細菌特有の補酵素F420自家蛍光観察により、培養されてきた微生物の確認を行った結果、いくつかの培養液からメタン生成古細菌特有の蛍光シグナルを確認できたものの、ひとつの種類のメタン生成古細菌のみで構成されている培養液はなかった。引き続き限界希釈法やコロニー形成法を適用していくことで、TMAH分解能を有するメタン生成古細菌の分離培養を試みていく。

Research projects and annual reports

1) Research on food processing techniques using high hydrostatic pressure (HHP)

The antioxidant activity of banana was increased by HHP at 400 MPa (ambient temperature) for 10 min and subsequent storage for 3 days. In order to identify the antioxidant compounds, we conducted optimization of the procedure for extraction and purification of the compounds within the methanol extract. By optimization of (1) centrifugal concentration, (2) re-dissolving, (3) ultrafiltration, and (4) chloroform extraction, efficient concentration of targeting compounds and removal of contaminants were successfully achieved. As a result two peaks of the candidate compounds were detected by HPLC analysis.

The color of kiwi-fruit after HHP at 200 to 600 MPa (ambient temperature) for 10 min and subsequent storage were analyzed using $L^*a^*b^*$ color space. During storage, ΔL^* and Δb^* values decreased with increase in pressure levels. These suppression of changes in color during storage would be caused by inactivation of polyphenol oxidase (PPO) enzyme by HHP.

2) Research on new brewing process of Japanese rice wine (*sake*) with HHP

In 2017, we developed a new *sake* brewing process with HHP treatment as a non-thermal pasteurization. Using this process, a prototype HHP-treated sparkling type draft cloudy *sake*, namely AWANAMA, was brewed. This prototype *sake* remains the sensory properties like draft *sake*, but avoiding deterioration by over-fermentation due to inactivation of yeast. Because the enzymes derived from koji-mold still active, inactivation of the enzymes by HHP was required for longer shelf-life. We applied HHP at 200 to 500 MPa in combination at -7 to 50°C on the draft *sake* sample. HHP treatment at low and high temperature effectively inactivated enzymes compared with HHP treatment at ambient temperature.

In order to quantify the fresh flavor and fruity taste of draft *sake*, we analyzed the antioxidant activities of the draft *sake* by DPPH method as well as ORAC method. As a result, the untreated sample and samples treated by HHP at low temperature showed less decrease antioxidant activities during storage than those of thermal treated samples and samples treated by HHP at high temperature. The HHP treatment at 500 MPa at -7°C was presently optimum condition for inactivation of enzymes while retaining the fresh flavor and fruity taste of draft *sake*.

For HHP with lower pressure levels, we are conducting development of an alternative process, a single plural fermentation process was considered, which consists of saccharification, sterilization and subsequent fermentation processes, separately. For another approach, we are conducting generation of pressure-sensitive (piezosensitive) mutant of *sake* yeast. From a *sake* yeast strain derived at Niigata *Sake* Institute, we successfully obtained piezosensitive mutant strains screened by deficient in respiratory ability.

3) Research on intermediate metabolites by budding yeast under sub-lethal pressure

When budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* is cultivated under pressure at 15 MPa, no apparent loss of viability is shown but growth is inhibited possibly due to inhibition of metabolism. By using such sub-lethal pressure conditions, accumulation of intermediate metabolites in yeast cells. The submetabolome analysis on glycolysis, citrate cycle and NAD⁺ synthesis pathway were conducted using CE-MS. As a results we found several reaction steps inhibited by HHP at 15 MPa in these three metabolic pathways.

4) Research on methane fermentation of municipal solid waste (kitchen garbage) using bags made of biodegradable plastic

To develop a treatment process for municipal solid waste (or kitchen garbage) together with bags made of biodegradable plastics, a methane fermentation process degrading a biodegradable plastic poly (3- hydroxyl-butyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBH) was constructed. The resultant microbial community, which was enriched in the methane fermentation process, did not show degradation ability of the PHBH sheet developed for a verification test. This PHBH sheet contains another biodegradable plastic, poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT). We thought PBAT would be a reason why the microbial community did not show degradation of the PHBH sheet. Thus, a methane fermentation process, to which a synthetic wastewater contained suspended PHBH and PBAT was continuously supplied, was constructed. The acclimatized microbial community, however, did not show degradation ability of the PHBH sheet developed for a verification test. The other causes, which inhibited degradation, should be presently considered.

5) Isolation of microorganisms with uncultured phylotypes frequently detected in anaerobic wastewater treatment processes

We deposited successfully isolated two strains belonging to Phylum *Caldiserica* (Strain NY-SETRAS) and candidatus Cloacimonetes (strain NY-MAS) in the culture collections and investigated their physiological properties. Strains were deposited with the NBRC, and with the DSMZ in Germany, both of which received accession numbers from their respective institutes. The physiological properties of NY-MAS and NY-SETRAS were investigated, and optimum culture conditions were found to significantly increase the growth of NY-MAS and NY-SETRAS. Co-culture with hydrogen-utilizing methanogenic archaea confirmed that the NY-SETRAS and NY-MAS strains could utilize acetic acid and propionic acid as substrates, respectively. These results suggest that both strains are adapted to the actual reactor environment while changing the metabolic mode.

6) Identification of microorganisms capable of decomposing the components of the Niitsu River natural oil

A methane fermentation reactor was constructed to decompose *n*-alkane in order to clarify the anaerobic biodegradation mechanism of *n*-alkane in organic matter decomposition accompanied by methanogenesis. The

following were carried out: Microbial community analysis by the next generation sequencing and estimation of octadecane degradation pathway by the batch culture. Based on the results of last year, it was considered that anaerobic alkane degradation without alkyl-succinate and methanogen occurred in the reactor. Therefore, a methanogenic inhibitor (Sodium 2-bromoethanesulfonate, BES) was added to the octadecane degradation sludge to identify active microorganisms. The number of bacteria belonging to *Brucellaceae* was 15 times higher in the BES-treated group than in the BES-untreated group, suggesting that this microorganism is involved in the degradation of *n*-alkanes without alkyl-succinate and methanogen.

7) Effect of cell wall treatment using high pressure on CARD-FISH method

The induction of autolytic enzymes by high-pressure treatment and the applicability in cell wall treatment for the CARD-FISH method using induced autolytic enzymes were verified using *Listeria innocua* cells. As a result, the possibility of applying autolytic enzyme to CARD-FISH method was suggested by optimizing the induction condition of autolytic enzyme and enzymatic treatment condition. As a result of the application to the activated sludge, all bacterial cells could not be detected. From this result, the optimization seemed to be necessary for every sample.

8) Effect of intake of Koji Amazake and Lactic fermented Amazake on intestinal flora.

The effects of intake of *Koji* amazake and lactic acid fermented amazake on intestinal flora were investigated by 16S rRNA gene amplicon sequence analysis. As for the improvement effect of human defecation in amazake intake, the improvement effect of defecation was significantly shown in *koji*-amazake, but it did not affect the intestinal flora significantly. In the colitis model rats, *Koji* Amazake and lactic acid fermented Amazake tended to suppress inflammation, but also caused changes in the intestinal flora, resulting in a decrease in the number of *Allobaculum* bacteria, which increased as the intestinal environment deteriorated, and an increase in the number of S24-7 bacteria (*Bacteroidetes*).

9) Screening of food additives that synergistically promote the inactivation of microorganisms by high-pressure treatment and elucidation of their mechanism.

Focusing on food additives that enhance the inactivation of microorganisms by high-pressure treatment, an analysis of the inactivation of microorganisms by the synergistic effect of "Additive substances + pressure treatment" and elucidation of the mechanism were attempted. Since the synergistic effect of high-pressure treatment with benzoic acid, sorbic acid, and adipic acid was confirmed in the previous study, the behavior of these additives in cells was analyzed in order to clarify how these additives promote inactivation. As a result, when these substances were added and subjected to pressure treatment, it was found that these substances did not leak out of the cells and remained inside the cells compared with the control group without pressure treatment. It was also found that these inactivating effects cause both lethal damage and non-lethal damage.

10) Isolation of methanogenic archaea that degrade tetramethylammonium hydroxide (TMAH).

Toxic tetramethylammonium hydroxide (TMAH) is contained in wastewater from the electronics industry, whose emissions are increasing with the recent increase in production of electronic products. The purpose of this study was to establish a methane fermentation process capable of decomposing TMAH and to isolate and culture methanogenic archaea involved in the decomposition of TMAH. Using methane fermentation sludge with a capable of TMAH degradation as the microbial isolation source, the isolation of the target microorganism was attempt by the extinction

dilution method with liquid medium and the colony forming method with gellan-gum solid medium. As a result of confirming microorganisms cultivated by auto-fluorescence observation of coenzyme F₄₂₀ specific to methanogenic archaea, fluorescence signals peculiar to methanogenic archaea could be confirmed from some culture liquids, but there was no culture liquid composed of only one kind of methanogenic archaea. We will continue to apply extinction dilution and colonization methods to isolate and culture methanogenic archaea with TMAH degradation.

研究成果発表

1) 国際雑誌 (査読付き)

- Kazuki Nomura, Hirofumi Hoshino, Kazuaki Igoshi, Haruka Onozuka, Erika Tanaka, Mayumi Hayashi, Harutake Yamazaki, Hiroaki Takaku, Akinori Iguchi and Toru Shigematsu, Brewing characteristics of piezosensitive sake yeasts, *High Pressure Research*, 28(2), 165-176, 2018/05
- Mamoru Oshiki, Takayuki Miura, Shinobu Kazama, Takahiro Segawa, Satoshi Ishii, Masashi Hatamoto, Takashi Yamaguchi, Kengo Kubota, Akinori Iguchi, Tadashi Tagawa, Tsutomu Okubo, Shigeki Uemura, Hideki Harada, Naohiro Kobayashi, Nobuo Araki, Daisuke Sano, Microfluidic PCR amplification and MiSeq amplicon sequencing techniques for high-throughput detection and genotyping of human pathogenic RNA viruses in human feces, sewage, and oysters., *Frontiers in Microbiology*, 9, 2018/04
- Naoki Nomoto, Muntjeer Ali, Komal Jayaswal, Akinori Iguchi, Masashi Hatamoto, Tsutomu Okubo, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Tadashi Tagawa, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi, Hideki Harada, Characteristics of DO, organic matter, and ammonium profile on practical scale DHS reactor for sewage treatment under various organic load and temperature conditions, *Environmental Technology*, 39(7), 907-916, 2018/04
- Naoki Nomoto, Masashi Hatamoto, Yuga Hirakata, Muntjeer Ali, Komal Jayaswal, Akinori Iguchi, Tsutomu Okubo, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Tadashi Tagawa, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi, Hideki Harada, Defining microbial community composition and seasonal variation in a sewage treatment plant in India using a down-flow hanging sponge reactor, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(10), 4381-4392, 2018/05
- Takashi Onodera, Gen Kanaya, Masashi Hatamoto, Ayato Kohzu, Akinori Iguchi, Yuya Takimoto, Takashi Yamaguchi, Motoyuki Mizuochi, Kazuaki Syutsubo, Evaluation of trophic transfer in the microbial food web during sludge degradation based on ¹³C and ¹⁵N natural abundance., *Water Research*, 146(1), 30-36, 2018/09
- Tsuyoshi Danshita, Yuma Miyaoka, Haruhiko Sumino, Akinori Iguchi, Takashi Yamaguchi, Kazuaki Syutsubo, Evaluation of process performance and retained sludge properties of a psychrophilic UASB reactor for treatment of iso-plophyl alcohol (2-propanol)- containing wastewater, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 53(13), 1177-1184, 2018/12
- Tsutomu Okubo, Akinori Iguchi, Shuya Tanaka, Shota Uchida, Tadashi Tagawa, Mamoru Oshiki, Nobuo Araki, Ahamed Tawfik, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Hideki Harada, Shigeki Uemura, Health impact of agricultural drainage water for farmers in the West Nile Delta, *International Journal of Environmental Research (IJER)*, 2019/02
- Akinori Iguchi, Masaki Ikarashi, Akiko Maruyama, Saori (Ujiie) Hori, Kazuki Nomura, Toru Shigematsu, High-throughput screening of food additives with synergistic effects on high hydrostatic pressure inactivation of

budding yeast, High Pressure Research, 2019/03

- Kazuki Nomura, Minami Ikezaki, Chihiro Kataoka, Saori (Ujiie) Hori, Toshio Aoki, Takashi Kuribayashi, Mitsuoki Kaneoke, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu, High hydrostatic pressure pasteurization of a draft *sake* brewed using a Niigata-*sake* yeast, High Pressure Research, 2019/03

2) 国内（日本語）雑誌（査読付き）

- 平田 光, 林 真由美, 野村 一樹, 重松 亨, 井口 晃徳, 高圧を利用した細胞壁処理がCARD-FISH法に及ぼす影響, 土木学会論文集G (環境), 74(7), III_247-III_253, 2018/12
- 景政 柊蘭, 長町 晃宏, 井口 晃徳, 久保田健吾, 高橋 優信, 原田 秀樹, 押木 守, 荒木 信夫, 大久保 努, 上村 繁樹, 多川 正, 最初沈殿池+DHSシステムに付加する下水処理水の灌漑利用のための消毒システムの開発, 土木学会論文集G (環境), 74(7), III_333-III_340, 2018/09

3) 学会, シンポジウム等での発表

- 野村 一樹, 菅原 祐子, 片岡ちひろ, 氏家沙織里, 井口 晃徳, 重松 亨, 高圧技術により発酵制御した高圧活性にごり酒『AWANAMA』の開発, 損傷菌セミナー2018, 豊洲シビックセンター, 東京, 2018/06/19
- Yuto Kurashima, Yuki Chiba, Mayumi Hayashi, Kazuki Nomura, Masashi Hatamoto, Takashi Yamaguchi, Yuji Sekiguchi, Toru Shigematsu, Akinori Iguchi, 嫌気性廃水処理プロセスから分離培養された系統的に新規な未培養微生物の機能, 日本微生物生態学会第32回大会, 沖縄コンベンションセンター, 宜野湾市, 2018/07/12
- Akinori Iguchi, Hikaru Hirata, Saori Ujiie, Mayumi Hayashi, Kazuki Nomura, Toru Shigematsu, CARD-FISH法適用のための高圧力による細胞壁処理の有効性評価, 日本微生物生態学会第32回大会, 沖縄コンベンションセンター, 宜野湾市, 2018/07/12
- Kazuki Nomura, Chihiro Kataoka, Saori Ujiie, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu, 日本酒醪中における清酒酵母の高圧ストレス応答の解析, 日本微生物生態学会第32回大会, 沖縄コンベンションセンター, 宜野湾市, 2018/07/12
- Yuto Kurashima, Yuki Chiba, Mayumi Hayashi, Kazuki Nomura, Masashi Hatamoto, Takashi Yamaguchi, Yuji Sekiguchi, Toru Shigematsu, Akinori Iguchi, Isolation of microorganisms with uncultured phylotypes frequently detected in anaerobic wastewater treatment processes, Water and Environment Technology Conference WET2018, Ehime University, Matsuyama, 2018/07/15
- 櫻井 美仁, 久保田真敏, 井口 晃徳, 重松 亨, 山口 利男, 倉橋 敦, 小黒 芳史, 西脇 俊和, 相原浩太郎, 佐藤 眞治, 排便回数が比較的少ない健常成人の排便状況に及ぼす麴甘酒と乳酸菌発酵甘酒の影響, 日本食品科学工学会 第65回大会, 東北大学川内キャンパス, 2018/08/23
- 野村 一樹, 片岡ちひろ, 堀 沙織里, 井口 晃徳, 重松 亨, 日本酒の高圧発酵制御技術の確立に向けた清酒酵母の高圧不活性化挙動の解析, 第70回日本生物工学会大会, 関西大学千里山キャンパス, 2018/09/6
- Akinori Iguchi, Masaki Ikarashi, Saori Ujiie, Kazuki Nomura and Toru Shigematsu, High throughput screening of food additives with a synergistic effect on high hydrostatic pressure inactivation of budding yeast, The 10th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB2018), Plaza Verde, Numazu, 2018/09/19

- Toru Shigematsu, Nobuya Okada, Kazuki Nomura, Chihiro Kataoka, Saori Ujiie and Akinori Iguchi, Effect of high hydrostatic pressure on activities of enzymes in unpasteurized Japanese rice wine (*nama-sake*), The 10th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB2018), Plaza Verde, Numazu, 2018/09/22
- Kazuki Nomura, Minami Ikezaki, Chihiro Kataoka, Saori Ujiie, Toshio Aoki, Takashi Kuribayashi, Mitsuoki Kaneoke, Akinori Iguchi and Toru Shigematsu, High hydrostatic pressure inactivation behavior of Niigata-*sake* yeast for pressure-pasteurized cloudy *sake*, The 10th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB2018), Plaza Verde, Numazu, 2018/09/22
- 野村 一樹, 池崎 南, 堀 沙織里, 井口 晃徳, 重松 亨, 高压技術により過発酵を抑制した活性にごり酒の開発, 平成30年度日本醸造学会大会, 東京大学弥生講堂・一条ホール, 2018/10/11
- 野村 一樹, 片岡ちひろ, 池崎 南, 堀 沙織里, 井口 晃徳, 重松 亨, 圧力感受性を付与した清酒酵母の醸造特性および香気成分の解析, 美味技術学会第18回大阪例会, 大阪府立国際会議場, 2018/11/09
- 野村 一樹, 片岡ちひろ, 堀 沙織里, 井口 晃徳, 重松 亨, 日本酒の醸造工程を模して低温培養を行った酵母の高圧不活性化挙動の解析, 第59回高圧討論会, 岡山理科大学, 2018/11/27
- 岡田 延哉, 菅原 佑子, 野村 一樹, 堀 沙織里, 片岡ちひろ, 井口 晃徳, 重松 亨, 生酒中の酵素活性に及ぼす高圧処理の影響および保存中の抗酸化活性の変動解析, 第59回高圧討論会, 岡山理科大学, 2018/11/27
- 平田 光, 井口 晃徳, 野村 一樹, 林 真由美, 重松 亨, 高圧処理により誘導される微生物の自己溶解作用を利用したCARD-FISH法適用のための細胞壁処理, 第59回高圧討論会, 岡山理科大学, 2018/11/27
- 平田 光, 林 真由美, 野村 一樹, 重松 亨, 井口 晃徳, 高圧を利用した細胞壁処理がCARD-FISH法に及ぼす影響, 第55回環境工学研究フォーラム, 京都大学, 2018/12/17
- Akinori Iguchi, Isolation of novel anaerobes belonging to novel bacterial phylum and class in anaerobic wastewater treatment process, JST-SICORP 3rd China-Japan International Workshop in Niigata, Niigata, JAPAN, 2018/04/23
- Tsuyoshi Danshita, Yuma Miyoka, Haruhiko Sumino, Akinori Iguchi, Norihisa Matsuura, Takashi Yamaguchi, Kazuaki Syutsubo, イソプロピルアルコールおよび水酸化テトラメチルアンモニウム合成排水を処理対象としたUASBリアクター保持グラニュール汚泥の微生物群集構造解析, 日本微生物生態学会 第32回大会, 宜野湾市, 沖縄, 2018/07/13
- 段下 剛志, 山口 隆司, 井口 晃徳, 角野 晴彦, 珠坪 一晃, 難分解性の有機溶媒を含む電子産業排水の低温メタン発酵処理と分解特性の評価, 平成30年度全国大会第73回年次学術講演会, 2018/08
- 野本 直樹, 幡本 将史, 山口 隆司, Vinay Kumar Tyagi, Muntzir Ali, 高橋 優信, 久保田健吾, 原田 秀樹, 大久保 努, 上村 繁樹, 多川 正, 井口 晃徳, Komal Jayaswal, 開発途上国における実規模DHSリアクターの有機物除去特性, 第21回日本水環境学会シンポジウム (2018年度), 島根大学 (島根県松江市), 2018/09/04
- 井口 晃徳, 五十嵐祐希, 加納 佑也, 森 亮太, 野村 一樹, 堀 沙織里, 林 真由美, 南 創史, 小瀬 知洋, 山口 利男, 重松 亨, *n*-アルカンを嫌気分解する連続培養系の構築と分解機構の解明, 第21回日本水環境学会シンポジウム (2018年度), 島根大学 (島根県松江市), 2018/09/04
- 景政 柊蘭, 長町 晃宏, 井口 晃徳, 久保田健吾, 高橋 優信, 原田 秀樹, 押木 守, 荒木 信

夫, 大久保 努, 上村 繁樹, 多川 正, 最初沈殿池+DHSシステムに付加する下水処理水の灌漑利用のための消毒システムの開発, 第55回環境工学研究フォーラム, 京都大学吉田キャンパス百周年時計台記念館, 2018/12/18

- ・惣中 英章, 段下 剛志, 山口 隆司, 竹村 泰幸, 井口 晃徳, 角野 晴彦, 珠坪 一晃, 水酸化テトラメチルアンモニウムのメタン発酵処理特性の評価, 第53回日本水環境学会年会 (2018年度), 山梨大学 (山梨県甲府市), 2019/03/08
- ・丸山 涼介, 上村 繁樹, 大久保 努, 井口 晃徳, LAS含有下水がDHS法の微生物群集に与える影響, 第53回日本水環境学会年会 (2018年度), 山梨大学 (山梨県甲府市), 2019/03/09
- ・倉島 優仁, 千葉 有紀, 堀 沙織里, 林 真由美, 野村 一樹, 幡本 将史, 山口 隆司, 関口 勇地, 重松 亨, 井口 晃徳, 嫌気性廃水処理プロセスに生息する未知微生物の分離培養と生理学的性質, 日本農芸化学会 2019年度大会, 東京農業大学 (東京都), 2019/03/24
- ・櫻井 美仁, 久保田真敏, 井口 晃徳, 重松 亨, 山口 利男, 倉橋 敦, 小黑 芳史, 西脇 俊和, 相原浩太郎, 佐藤 眞治, 麴甘酒及び乳酸発酵甘酒によるラットデキストラン硫酸ナトリウム誘発性大腸炎に対する予防効果の検討, 日本農芸化学会 2019年度大会, 東京農業大学 (東京都), 2019/03/26
- ・小野塚 悠, 池崎 南, 野村 一樹, 青木 俊夫, 栗林 喬, 金桶 光起, 井口 晃徳, 重松 亨, 山崎 晴丈, 高久 洋暁, 清酒酵母酢酸イソアミル高生産変異株の取得と解析, 日本農芸化学会 2019年度大会, 東京農業大学 (東京都), 2019/03/27
- ・池崎 南, 野村 一樹, 片岡ちひろ, 堀 沙織里, 青木 俊夫, 栗林 喬, 金桶 光起, 井口 晃徳, 重松 亨, 清酒酵母から取得した圧力感受性清酒酵母株の圧力不活性化挙動の解析, 日本農芸化学会 2019年度大会, 東京農業大学 (東京都), 2019/03/27
- ・野村 一樹, 片岡ちひろ, 池崎 南, 堀 沙織里, 井口 晃徳, 重松 亨, 醸造工程における醗中の清酒酵母の圧力不活性化挙動, 日本農芸化学会 2019年度大会, 東京農業大学 (東京都), 2019/03/27

4) 学会, シンポジウム等での招待講演

- ・重松 亨, 高圧処理を応用した日本酒の醸造技術, 第16回日本機能性食品医用学会総会シンポジウム, 新潟コンベンションセンター, 2018/12/16

研究資金等

1) 科研費

- ・井口 晃徳 (研究分担者): 開発途上国における水・廃棄物問題改善のための包括的都市衛生政策の構築, 基盤B (海外)

2) 科研費以外の競争的資金

- ・重松 亨 (研究代表者), 井口 晃徳 (研究分担者): 革新的醸造技術を用いた新しいSakeによる日本酒輸出の産業化, 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター
- ・井口 晃徳 (研究分担者): 下水汚泥と食品廃棄物の共同処理による高度資源回収プロセスのための基盤技術開発とパイロット実証, JST-SICORP 国際科学技術共同研究推進事業 (戦略的国際共同研究プログラム)

3) 企業等からの受託研究

- ・井口 晃徳：特定化学物質含有排水処理メタン発酵プロセスに生息する重要微生物の分離培養，国立環境研究所

4) 研究助成金

- ・井口 晃徳（研究代表者）：新潟市秋葉区の石油自噴地域に生息する土着細菌の嫌気的アルカン分解機構の解明，公益財団法人 内田エネルギー科学振興財団

5) 学内競争的資金

- ・井口 晃徳：タイヤゴムを循環利用した人工芝等の劣化に伴う内包有害物質による毒性の変化，平成30年度新潟薬科大学応用生命科学部「学部内共同研究奨励費」
- ・井口 晃徳：福島潟に生息する水生植物からの未知微生物の分離培養に関する研究，応用生命科学部若手教員研究奨励費

6) 企業等との共同研究

- ・重松 亨，井口 晃徳：新潟県新市場創出・米加工技術等開発事業「複合・連続発酵による米発酵食品の開発」

その他研究活動

重松 亨

- ・論文査読等

Microbes and Environments 3 件（Associate editorとして編集業務）

日本食品科学工学会誌 1 件（査読）

Food Science and Technology Research 1 件（査読）

High Pressure Research 3 件（査読）

井口 晃徳

- ・論文査読

Microbes and Environments 2 件

High pressure research 1 件

Journal Bioscience and Bioengineering 1 件

学会等活動

重松 亨

1) 学会等の役員・委員活動

- ・日本農芸化学会（代議員，関東支部会参与）
- ・日本高圧力学会（評議員）

2) 学術雑誌編集委員

- ・日本微生物生態学会（英文誌Associate Editor）

井口 晃徳

1) 学会等の役員・委員活動

- ・WET（Water and Environment Technology Conference）- 日本水環境学会（WET部会）

公的な審議会，委員会

重松 亨

1) 審議会・委員会

- ・上越市 坂口謹一郎博士顕彰委員会 委員
- ・新潟市秋葉区ボランティア・市民活動センター運営委員会 委員

2) 調査・研究会

- ・H・P未来産業創造研究会 顧問

井口 晃徳

1) 調査・研究会

- ・新潟県新たな米産業創出技術研究会

他機関における教育支援

重松 亨

1) 小・中学校での指導

- ・出張講義（新潟明訓中学校）

2) 高校での指導

- ・出張講義（新潟県立新津高等学校）

3) 他大学等の非常勤講師

- ・客員教授（「暮らしに役立つバイオサイエンス」担当）（放送大学）
- ・新潟国際情報大学オープンカレッジ公開講座「発酵食品とバイオテクノロジー」担当（新潟国際情報大学）

井口 晃徳

1) 高校での指導

- ・SSH事業に係わるSS探求の講師:「福島潟に生息する水生植物からの未知微生物の培養に関する研究」における微生物の培養実験の指導・助言（新潟県立新発田高等学校）

2) 他大学等の非常勤講師

- ・放送大学 「暮らしに役立つバイオサイエンス」 外部講師

報道関連

重松 亨

1) 自身の活動に対するマスコミ媒体を通じた報道

- ・新聞社からの取材と記事掲載（教育学術新聞）「地域共創の現場29 新潟薬科大学 産官学で日本酒業界に大革命～薬科大に社会科学系学科を設置～」 2018/5/9
- ・新聞社からの取材と記事掲載（新潟日報社）「産学連携成長への力3 大学が中小の挑戦後押し」 2018/5/21
- ・新聞社からの取材と記事掲載（教育学術新聞）「『AWANAMA』あらばしり風の発泡性日本酒 新潟薬科大学」 2018/10/10
- ・新聞社からの取材と記事掲載（朝日新聞社大阪本社）「軽きこと羽のごとし 日本酒容器ペットボトルに商機」 2018/11/27
- ・新聞社からの取材と記事掲載（日本食糧新聞社）「新潟薬科大 高圧処理の新しいSake『AWANAMA』世界に発信」 2018/12/21

その他社会貢献活動

重松 亨

- ・平成30年度青少年のための科学の祭典・上越大会（2018/11/18）微生物って何？酵母ってどんな生き物？ 新潟県立上越科学館（上越市）出展と演示実験

井口 晃徳

- ・平成30年度青少年のための科学の祭典・上越大会（2018/11/17）微生物って何？酵母ってどんな生き物？ 新潟県立上越科学館（上越市）講師

食品安全学研究室

Laboratory of Food Safety

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

■ 准教授 西山 宗一郎 Associate Professor Soichiro NISHIYAMA, Ph. D.



食中毒病原体の制御に関する研究。HACCPなどの食品安全手法の研究と普及。
食中毒細菌の走化性能に関する研究。



・ 食中毒病原体 ・ HACCP ・ 細菌走化性 ・ 走化性受容体

研究課題

1. コメに含まれる抗菌物質の検索
2. ノロウイルスに有効な皮膚消毒剤の開発
3. 多品種生産に対応できるHACCP手法の開発
4. コレラ菌走化性受容体の機能解析

2018年度の研究成果

1. 炊飯でのコメが含む抗ボツリヌス活性を測定する方法を改良し、コメ粉成分を分画したところ、高い活性を含む分画を得ることができ、活性のほとんどが回収できることがわかった。これをクロマトグラフィーにより分離し、NMRとマスペクトルによる解析を行い構造を決定した。
2. 人体に用いることのできる消毒剤の開発を目指し、消毒剤と認識されていない化学物質で有効なものを探索し、有効だが皮膚へのダメージが大きい消毒剤とをそれぞれ低濃度で混合することによる相乗効果を探索した。
3. ヒト、ヤギ、ウシの中性及び酸性ミルクオリゴ糖の精製法を確立し、それらのもつサルモネラの付着阻害効果を、ヒト腸管細胞を用いて*in vitro*で探索した。その結果、3者間の差は小さく、ヤギ、ウシのオリゴ糖は乳児用にミルクや機能性食品での効果が期待できることが分かった。
4. コレラ菌アミノ酸走化性受容体Mlp24のセンサードメインの大量発現及び精製を行い、複数のアミノ酸結合型、及びリガンド非結合型の構造を解析したところ、いずれも特定ループ領域の1ヶ所にCa²⁺を結合することが明らかになった。*in vitro*, *in vivo*での解析から、Ca²⁺存在下では複数のアミノ酸への親和性が上昇し、当該アミノ酸への走化性能も上昇することが示された。Ca²⁺はMlp24センサードメインの特

定ループ領域を安定化することで、リガンド結合能を高めると考えられる。

Research projects and annual reports

1. Investigation of antibacterial substances in rice grains.

We improved a titration method to measure anti-*C. botulinum* activity in rice to obtain active substances. NMR and mass spectrography analyses revealed the molecular structures of the active substances.

2. Development of skin sanitizers effective on norovirus.

We found some effective chemicals on norovirus which were not recognized as sanitizers. The synergistic effects were investigated in the combination of these chemicals and already-known sanitizers.

3. A high efficient procedure was developed to purify neutral and acidic milk oligosaccharides. Inhibition of Salmonella adsorption onto human intestinal cells was compared in vitro. The differences were not significant and oligosaccharides from two mammals were promising as potential ingredients of infant formulae or functional foods.

4. Ca^{2+} -dependence of *Vibrio cholerae* chemoreceptor Mlp24.

To elucidate molecular mechanism of the ligand recognition of an amino-acid chemoreceptor, Mlp24 of *Vibrio cholerae*, we solved structures of a series of ligand complex of the sensor region of Mlp24. Interestingly, in all solved structures, Ca^{2+} binds to the same loop of the Mlp24 sensor domain. Following *in vitro* and *in vivo* analyses revealed that the Ca^{2+} modulates the ligand binding affinity of Mlp24p. Although Ca^{2+} itself is not an attractant for Mlp24, we propose that it works as a signal enhancer that increases the affinity of Mlp24 for the primary signal, thereby reinforcing the chemotactic behavior of *V. cholerae*.

研究成果発表

1) 国際雑誌（査読付き）

- Hiroshi Urakami, Mari Saeki, Yuta Watanabe, Reina Kawamura, Saki Nishizawa, Yayoi Suzuki, Ayaka Watanabe, Katsumi Ajisaka, Isolation and assessment of acidic and neutral oligosaccharides from goat milk and bovine colostrum for use as ingredients of infant formulae, Int. Dairy J., 83, 1-9, 2018/08
- Yamanaka Yuki, Winardhi Ricksen S, Yamauchi Erika, Nishiyama So-ichiro, Sowa Yoshiyuki, Yan Jie, Kawagishi Ikuro, Ishihama Akira, Yamamoto Kaneyoshi, Dimerization site 2 of the bacterial DNA-binding protein H-NS is required for gene silencing and stiffened nucleoprotein filament formation., J. Biol. Chem., 293, 9496-9505, 2018/06
- Takahashi Yohei, Nishiyama So-ichiro, Sumita Kazumasa, Kawagishi Ikuro, and Imada Katsumi, Calcium ion modulates amino acid sensing of the chemoreceptor Mlp24 of *Vibrio cholerae*, J. Bacteriol., 201, e00779-18, 2019/02

2) 学会、シンポジウム等での発表

- 宮澤（角田）めぐみ, 浦上 弘, アルコール製剤によるノロウイルス不活化効果について, 第34回日本環境感染学会総会, 神戸, 2019/02/23
- 西山宗一郎, 小野木汐里, 川岸 郁朗, Temperature-dependent gene expression of the taurine sensor Mlp37 of *Vibrio cholerae*, 第56回日本生物物理学会年会, 岡山大学, 2018/09/17

- ・ 西山宗一郎，小野木汐里，川岸 郁朗，コレラ菌タウリン走性の温度依存性は走性受容体Mlp37の発現制御でコントロールされている，第52回ビブリオシンポジウム，福島県耶麻郡猪苗代町 ホテルリステル猪苗代，2018/10/26

3) その他

- ・ 川岸 郁朗，田島 寛隆，山本健太郎，西山宗一郎，コレラ菌のタウリン走性とその受容体，タウリンリサーチ，4, 9-12, 2018/09

研究資金等

1) 科研費

- ・ 西山宗一郎（研究代表者）：コレラ菌ToxRレギュロンは走化性受容体をどこまで支配するのか，基盤研究（C）（一般）

2) 企業からの受託研究

- ・ 浦上 弘：「ノロウイルス等が起因する食中毒対策薬剤」に関する研究

3) 学内競争的資金

- ・ 浦上 弘：抗スポロゲネス菌活性を有する米成分の解析，平成30年度新潟薬科大学応用生命科学部「学部内共同研究奨励費」

学会等活動

西山宗一郎

1) 学会等の役員・委員活動

- ・ 日本生物物理学会（分野別専門委員）

公開講座等講師

西山宗一郎

1) 本学主催の公開講座等

- ・ 食中毒から身を守る～家庭でできる予防法～，新潟日報社，新潟薬科大学，新潟青陵大学，長岡造形大学，新潟日報メディアシップ

公的な審議会，委員会

浦上 弘

1) 審議会・委員会

- ・ 新潟市食の安全意見交換会
- ・ にいがた食の安全安心審議会（新潟県）・委員

- ・平成30年度農林水産省補助事業「第1回産学官連携による食品安全専門人材育成研究会」

他機関における教育支援

浦上 弘

1) 高校での指導

- ・ HACCPの出張授業（加茂農林高等学校）

その他社会貢献活動

浦上 弘

- ・ Preventive Controls Qualified Individual養成講座

食品酵素学研究室

Laboratory of Food Enzymology

■ 教授 井 深 章 子 Professor Akiko SHIMIZU-IBUKA, Ph.D.

■ 助 授 古 川 那由太 Assistant Professor Nayuta FURUKAWA, Ph.D.



立体構造解析および酵素学的解析手法を用いたタンパク質の機能解明



・ 味覚修飾タンパク質 ・ 薬剤耐性菌 ・ β -ラクタマーゼ ・ アラニンラセマーゼ

研究課題

I. 味覚修飾タンパク質の構造と機能の解明

味覚修飾タンパク質（酸味を甘味に変換する機能を持つタンパク質）であるミラクリンは、組換えタンパク質の大量生産が難しく分子レベルでの研究が進んでいない。一方、ミラクリンとアミノ酸配列の相同性が高い“ミラクリン類似タンパク質”は多くの植物に存在するが、このタンパク質は味覚修飾活性を有しない。我々は、組換えタンパク質発現が容易なミラクリン類似タンパク質を研究対象とし、味覚修飾活性発現メカニズムの解明を目指す。

II. β -ラクタマーゼの構造と基質特異性

医療現場では抗生物質 β -ラクタム剤に対する耐性菌が多く出現して感染症を引き起こし、深刻な問題となっている。耐性菌の多くは、 β -ラクタム剤分解酵素（ β -ラクタマーゼ）を生産することで β -ラクタム剤耐性を獲得する。細菌の β -ラクタマーゼは“分子進化”し、基本骨格や置換基の異なる新規 β -ラクタム剤に対して分解活性を持つ“基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ”が次々と出現している。我々は、 β -ラクタム剤投与患者から単離された菌が生産する複数の β -ラクタマーゼを対象とし、X線結晶構造解析、変異型酵素を用いた基質特異性解析等を行うことにより、 β -ラクタマーゼの基質特異性決定要因を明らかにすることを目指す。

III. 乳酸菌由来D-アミノ酸生産関連酵素の解析

D-アミノ酸は古くから細菌の細胞壁に含まれることが知られているが、近年の分析技術の発達に伴い、ヒトを含む哺乳類や植物にもD-アミノ酸が存在し、様々な機能を有することが明らかになりつつある。食品では乳酸菌が関与する発酵食品中に特に多量に含まれることから、本研究では乳酸菌 *Lactobacillus sakei* Uonuma株のD-アミノ酸生産関連酵素の解析を行う。

2018年度の研究成果

I. 大腸菌を宿主とした組換えミラクリンの発現、精製、および解析

大腸菌でミラクリンを発現させると、一般には不溶化することが知られている。本研究室では、複数の菌株及びプラスミドベクターを用い、またシャペロンの共発現なども検討し、可溶性ミラクリンの発現に成功した。また、組換えミラクリン分子が二量体を形成していることを確認した。

II. メタロ β -ラクタマーゼIMP-1の未知酵素活性の解析

β -ラクタマーゼには、セリン残基を触媒残基とするセリン β -ラクタマーゼと、活性中心にZnイオンを結合したメタロ β -ラクタマーゼ (MBL) が存在する。MBLは $\alpha\beta/\beta\alpha$ サンドイッチと言われる立体構造をとるが、MBL以外にも同様の全体構造を有する酵素が多く見つかっており、これらの酵素はMBLスーパーファミリーと呼ばれている。構造類似性からMBLが他の酵素活性を有する可能性を考え、本研究ではMBLの1つであるIMP-1の未知酵素活性を探索した。その結果、IMP-1は β -ラクタマーゼ活性以外の酵素活性も有することが明らかになった。

III. *Lactobacillus sakei* Uonuma由来アラニンラセマーゼの性状解析

L. sakei Uonuma株からクローニングしたアラニンラセマーゼの大量発現系を大腸菌で構築し、酵素の基礎的な性状解析および結晶構造解析を行った。

Research projects and annual reports

Research projects

I. Structures and Functions of taste-modifying proteins

Miraculin and neoculin are taste-modifying proteins, which have taste-modifying activity to convert sourness to sweetness. In order to reveal the taste-modifying mechanism of miraculin, we analyze the structures and the functions of miraculin-like proteins (MLPs) from various plants.

II. Structure-function correlation in β -lactamases

β -Lactam antibiotics represent the most widely used clinical antibiotics due to their efficacy and safety. Among Gram-negative bacteria, the most important resistant mechanism is the production of β -lactamases, the enzymes that hydrolyze and inactivate β -lactams. In decades, the β -lactamases have evolved to hydrolyze wider range of β -lactam antibiotics. We perform structural and kinetic studies of several β -lactamases to investigate their substrate-recognition mechanism.

III. Analysis of D-amino acid producing enzymes from lactic bacteria

D-amino acids have been known as components of the peptidoglycan cell wall of bacteria. Recently, developed analytical techniques have shown that D-amino acids exist in animals too. Since the foods fermented with lactic bacteria are known to contain high concentration of D-amino acids, we study the enzymes related to D-amino acid production in *Lactobacillus sakei* Uonuma strains.

Annual reports

I. Overexpression, purification, and the structural analysis of miraculin

Generally, miraculin becomes insoluble when it is expressed in *E. coli*. We tested several *E. coli* strains, plasmid vectors, and co-expression with chaperon proteins, to obtain soluble recombinant miraculin in *E. coli*. We revealed that this recombinant protein molecule existed as homodimer.

II. Analysis of unknown enzymatic activity of metallo- β -lactamase IMP-1

There are two different catalytic mechanism in β -lactamases. Serine- β -lactamases utilize a serine as a catalytic residue, while metallo- β -lactamases (MBL) binds zinc ion(s) in the active center to hydrolyze β -lactams. MBL has an overall structure which is called “ $\alpha\beta/\beta\alpha$ -sandwich fold”. It is known that there are many other enzymes that has the same overall structures with different catalytic functions, and MBL and these enzymes are the members of the “MBL superfamily”. In this study, we investigated unknown enzymatic activity of IMP-1, a wide-spread MBL, to find that IMP-1 has enzymatic function other than β -lactamase activity.

III. Characterization of alanine racemases from *Lactobacillus sakei* Uonuma strains

We constructed overexpression system of alanine racemases (AlaRs) from *L. sakei* Uonuma strains in *E. coli*, and performed basic characterization of these enzymes. We also analyzed the crystallographic structure of an AlaR from *L. sakei* Uonuma-1.

研究成果発表

1) 国際雑誌（査読付き）

- So-ichiro Ohkura, Misaho Hori, Kazuki Saitoh, Takumi Okuzawa, Ikuko Okamoto, Nayuta Furukawa, Akiko Shimizu-Ibuka, Structural and functional analysis of miraculin-like protein from *Vitis vinifera*, *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1866(11), 1125-1130, 2018/08
- Nayuta Furukawa, Akimasa Miyanaga, Masahiro Nakajima, and Hayao Taguchi, Structural Basis of Sequential Allosteric Transitions in Tetrameric D-Lactate Dehydrogenases from Three Gram-Negative Bacteria., *Biochemistry*, 57(33), 5388-5406, 2018/09

2) 学会，シンポジウム等での発表

- A. Shimizu-Ibuka, T. Ishikawa, N. Furukawa, E. Caselli, F. Prati, M. A. Taracila, R. A. Bonomo, Y. Ishii, Overcoming Extended spectrum AmpC β -lactamases with boronic acid transition state inhibitors; crystal structure of MOX-1 complexed with S02030., ASM microbe 2018, アトランタ，米国, 2018/06/08
- 中山 栞, 大越 正貴, 吉井 郁弥, 市村 光, 平賀 晴菜, 古川那由太, 西脇 俊和, 井深 章子, *Lactobacillus sakei* Uonuma株由来アラニンラセマーゼ (AlaR) の解析, 日本農芸化学会2019年大会, 東京, 2019/03/24
- 加藤 善輝, 野澤 裕介, 古川那由太, 井深 章子, メタロ- β -ラクタマーゼIMP-1における亜鉛結合解析, 日本農芸化学会2019年大会, 東京, 2019/03/26
- 古川那由太, 梅田 菜摘, 風間 愛, 高橋 佑果, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 山田 剛, 井深 章子, 白癬菌 *Trichophyton mentagrophytes* 由来メタロプロテアーゼ4の性状解析, 日本農芸化学会2019年度大

会，東京，2019/03/24

3) その他

- ・ 古川那由太：参加記「理事長と語る会」に出席して，日本学生相談学会会報 学生相談ニュース，120, 10, 2018/12

研究資金等

1) 科研費

- ・ 井深 章子（研究代表者）：ミラクリン類似タンパク質を用いたミラクリン味覚修飾活性発現機構の解明，基盤C

2) 学内競争的資金

- ・ 古川那由太：白癬菌 *Trichophyton mentagrophytes* 由来ケラチナーゼの単離・同定，応用生命科学部若手教員研究奨励費

公的な審議会，委員会

井深 章子

1) その他公的社会活動

- ・ 新潟県立加茂農林高校 学校評議員

理科教育研究室

Laboratory of Science education

■ 教授 寺 木 秀 一 Professor Shuichi TERAOKI, M.A. (Education)



中等教育理科教員に求められる科学リテラシーの育成及び理科授業指導法の研究



・ 科学リテラシー ・ 放射線教育 ・ 中学校地学領域 ・ エネルギー環境教育
・ S D G s

研究課題

- ① 中学校における教科横断的な放射線教育の展開と科学リテラシーの研究
- ② 中学校理科授業についての教材開発（地学分野・生物領域）
- ③ エネルギー環境教育とS D G s の展開

2018年度の研究成果

① 中学校における教科横断的な放射線教育の展開と科学リテラシー

学習指導要領等の改善及び必要な方策等について（答申）」（平成28年12月21日中央教育審議会によると、今時の改訂は「予測困難な時代に、一人一人が未来の創り手となる」「…新たな価値を生み出していくために必要な力を身に付け、子供たち一人一人が、予測できない変化に受け身で対処するのではなく、主体的に向き合って関わり合い、その過程を通して、自らの可能性を発揮し、よりよい社会と幸福な人生の創り手となっていけるようにすることが重要である。」と、「放射線教育」を進める必然性を物語っている。

一方、「総合的な学習の時間」は「一つは、総合的な学習の時間に固有な見方・考え方を働かせて、横断的・総合的な学習を行うことを通して、よりよく課題を解決し、自己の生き方を考えていくための資質・能力を育成する」持続可能な社会の実現に関わる課題であり、現代社会に生きる全ての人が、これらの課題を自分のこととして考え、よりよい解決に向けて行動することが望まれている。正解や答えが一つに定まっているものではなく、従来の各教科等の枠組みでは必ずしも適切に扱うことができない。したがって、こうした課題を総合的な学習の時間の探究課題として取り上げ、その解決を通して具体的な資質・能力を育成していく。

教科横断的な扱いとしての放射線教育

- 1) 調査の手法は社会科において課題を追究したり解決したりする活動を通して (7) 地域調査において、対象となる場所の特徴などに着目して、適切な主題や調査、まとめとなるように、調査の手法やその結

果を多面的・多角的に考察し、表現する。

2) 目標を実現するにふさわしい探究課題の探究をする内容

- ・資源・エネルギー利用の現状，国内の産業の動向，環境やエネルギーに関する課題など。
- ・放射線は医療や製造業などに利用される。
- ・放射線は核燃料からでたり自然界に存在したりすること。
- ・放射線に関して科学的に思考し判断するとする。
- ・身近なエネルギー変換の技術が用いられた製品について各種資料を用いて開発の経緯を調べる。
- ・健康と環境に関する情報から課題を発見し，その解決に向けて思考し判断するとともに，それらを表現すること。
- ・差別や偏見のない社会の実現に努める。

(7) 地域調査に当たっては，対象地域は学校周辺とし，主題は学校所在地の事情を踏まえて，防災，人口の偏在，産業の変容，交通の発達などの事象から適切に設定し，観察や調査を指導計画に位置付けて実施すること。なお，学習の効果を高めることができる場合には，内容のCの(3)の中の学校所在地を含む地域の学習や，Cの(4)と結び付けて扱うことができること。

(4) 様々な資料を的確に読み取ったり，地図を有効に活用して事象を説明したりするなどの作業的な学習活動を取り入れること。また，課題の追究に当たり，例えば，防災に関わり危険を予測したり，人口の偏在に関わり人口動態を推測したりする際には，縮尺の大きな地図や統計その他の資料を含む地理空間情報を適切に取り扱い，その活用の技能を高めるようにすること。

この中項目の主なねらいや着目する視点などについては次のとおりである。

この中項目は，場所などに関わる視点に着目して，地域調査の手法やその結果を多面的・多角的に考察し，表現する力を育成することを主なねらいとして移行するのは1991～1992年にかけて発表された現行の学習指導要領によると，環境教育を強力に進める中で，環境教育やエネルギー・原子力の教育は従来より重視されており，これらは理科と社会科で扱われている。1 この小項目で身に付けたい「知識」に関わる事項として，ア(ウ)「日本の資源・エネルギー利用の現状，国内の産業の動向，環境やエネルギーに関する課題などを基に，日本の資源・エネルギーと産業に関する特色を理解すること」が挙げられる。

このうち，日本の資源・エネルギー利用の現状については，我が国はエネルギー資源や鉱産資源のほとんどに恵まれていないため，消費する資源の大部分を海外からの輸入に依存していることといった程度の内容を取り扱うことを意味し，持続可能な社会の形成，情報化等による産業構造の変化やその中での起業，防災・安全への対応や環境やエネルギーに関する課題については，日本全体で見ると，我が国は資源やエネルギーの大量消費に伴う環境問題，エネルギー問題を抱えた国の一つであるが，その現れ方には地域差が見られること，風力発電や太陽光発電などの新しいエネルギーの開発に努力していること。

② 大学構内のバラスを使った教材開発と岩石標本の作製

本学は，薬学と生命科学を修学する課程がほぼ9割をしめている。その中であって教育職員免許状中学校・高等学校一種（理科）教育職員免許状の取得が認定されている。さらに今年度から大学院修士課程においてはそれぞれ専修免許の取得も可能となった。

物理と地学については，免許法に必要な最低限の授業で教職課程を運用しているのが現実である。

物理については高等学校で履修した者も少なくなく，体験的な学習をしないでも指導が難しいとする学

生は多くはない。

地学についてこれまでの経験から見ても、体験的に実際の教材に触れて学ぶことが少なく、高等学校はともあれ中学校の理科の指導で特に次のような内容については指導することに自信がないとする学生が多い。

- ① 赤道儀付きの天体望遠鏡で特定の天体の導入や追尾
- ② 地球と宇宙の指導で星座と恒星の位置の特定と星座名等の特定（星雲、星団等）
- ③ 主な堆積岩、火成岩のフィールドでの同定（標本ではなく、円礫など）

1. 中学校理科での「石っこ」の扱い

中学校学習指導要領（2017）では火成岩については、火山岩と深成岩があり、その組織に違いがあること、それらが、それぞれの成因と深くかかわっていることをとらえさせるとしている。ここで取り上げる火成岩は、例えば火山岩として安山岩や玄武岩など、深成岩として花こう岩や閃緑岩など（中略）身近な建物などの石材を観察したり、標本サイズの岩石を割ったり、磨いたり（後略）堆積岩については同書では「地層を構成する堆積岩としては、小学校では礫岩、砂岩、泥岩を（中略）例えば石灰岩、チャートなどを扱い、粒の大きさや構成物質の違いなどに気付かせる。」と述べられている。

2. 岩石の同定のための簡単な実験

ここで似た岩石の違いを見分けるための生徒に行わせる事を想定した実験を例示する。

石灰岩とチャート

生物起源の岩石としては共通で、外見的には区別が付きにくいものを以下のように区別することができる。

砂岩と泥岩

岩石に分類としては1/16mmで境目となるが、舌触りの違いによる区別する方法が有効である。衛生に留意して行う。

円礫の粘板岩と玄武岩

表面に見えるかんらん石の斑晶の有無で区別できることがある。

他には比重を体感的に調べ比較することによって他の石より「重い」ことにより区別する。

赤褐色のチャートと緑色岩

河原等では同じ場所で採取されることがあるがチャートは赤鉄鉱が呈色している堆積岩。一方赤い緑色岩は輝緑凝灰岩、玄武岩質の溶岩が低い熱で変質した変成岩。手触りと、鉄釘で硬度の違いを比べる。（チャート＞緑色岩）火打ち鉄から火花がでるのはチャート。）

3. 岩石標本の作製

ケースは100円ショップで購入、サンプルは小割に合わせて径25mm～35mm程度に揃える。学生個別に作成させる。

□パラス敷設場所から採取できた岩石（角礫）

流紋岩rhyolite

石英、アルカリ長石、角閃石の斑晶および気泡が認められる。石基は緑泥色。

安山岩andesite

全体に暗黒色を帯び、玄武岩質安山岩。斑晶は斜長石、輝石、磁鉄鉱などがある。

花崗岩 granite

カリ長石、石英、斜長石の巨晶及び、有色鉱物として黒雲母、わずかに角閃石がある。

閃緑岩diorite

全体に暗緑色を示す閃長閃緑岩。角閃石を多く含み、少々のカリ長石、黒雲母が認められる。

石英閃緑岩quartz diorite

石英、角閃石が多い。カリ長石、黒雲母がわずかに認められる。石材としては「白御影」。

チャートchert

灰～赤褐色を呈する。イライトを含むものが風化している。他に赤褐色をしめすものは赤鉄鉱を含む。

泥岩madstone

剥離性は少なく、粒子は比較的に大きいのでシルト岩とする。

粘板岩slate

剥離性は顕著ではないので頁岩とはしない。今日話題のシェールガスについて触れる。

砂岩sandstone

層理構造があり、堆積岩としての呈をしている。指の触感で泥岩と区別できる。

凝灰岩tuff

火山灰の構成比が多いので火砕岩の中の凝灰岩とする。堆積岩であることを強調する。

ホルンフェルス hornfels

断面の特徴から粘板岩、頁岩と区別する。

石英・水晶quartz

石英は単体で認められる物があつた。自形の結晶を持つ水晶は、晶洞水晶rockcrystalgeode であり2～3 mmの水晶が認められる。

③ 持続可能な開発目標（SDGs）と中学校におけるエネルギー環境教育

これまでエネルギー環境教育は理科を中核として総合的な学習の時間で指導すること少なくなかったが、これからは、加えて、社会、技術家庭、保健体育、道德などの教科等を横断して扱うことが求められている。本稿では2015年9月の国連サミットで採択され、国連加盟193か国が2016年～2030年の15年間で達成するために掲げた目標としてのSDGsの17のゴール及びその中を細分した169のターゲットの実現可能性を、中学校での学習指導を想定して検討する。

1. 学習指導要領の改訂とエネルギー環境教育

学習指導要領等の改善及び必要な方策等について（答申）」（平成28年12月21日中央教育審議会）によると、今時の改訂は「予測困難な時代に、一人一人が未来の創り手となる」「…新たな価値を生み出していくために必要な力を身に付け、子供たち一人一人が、予測できない変化に受け身で対処するのではなく、主体的に向き合って関わり合い、その過程を通して、自らの可能性を発揮し、よりよい社会と幸福な人生の創り手となっていけるようにすることが重要である。」としている。

また、「総合的な学習の時間」は「一つは、総合的な学習の時間に固有な見方・考え方を働かせて、横断的・総合的な学習を行うことを通して、よりよく課題を解決し、自己の生き方を考えていくための資質・能力を育成する」持続可能な社会の実現に関わる課題であり、現代社会に生きる全ての人が、これらの課題を自分のこととして考え、よりよい解決に向けて行動することが望まれている」「正解や答えが一つに定まっているものではなく、従来の各教科等の枠組みでは必ずしも適切に扱うことができない。したがって、こうした課題を総合的な学習の時間の探究課題として取り上げ「その解決を通して具体的な資質・能力を育成していくとしている。なおこのことについては高等学校では「総合的な探究の時間」と科目名を変え、目標についても小中学校の「探究的な見方・考え方を働かせ・・・」に対して「探究の見方・考え方

を働かせ・・・」と変え、さらに小中学校では「自己の生き方を考え・・・」とあるのに対して「自己の在り方生き方を考えながら・・・」とされている。

新しい学習指導要領は「探究」の教育課程であるということができる。

2. SDGsと学校教育

2018年6月に制定された第3期教育振興計画によれば、「持続可能な開発のための教育（ESD）の推進・地域の多様な関係者（学校、教育委員会、大学、企業、NPO、社会教育施設など）の協働によるESDの実践を促進するとともに、学際的な取組などを通じてSDGs（持続可能な開発目標）の達成に資するようなESD深化を図る。これらの取組を通して、地球規模課題を自らの問題として捉え、身近なところから取り組む態度を身に付けた持続可能な社会づくりの担い手を育む」として学校教育におけるSDGsの重要性をのべている。

3. SDGsとエネルギー環境教育

(1) 個々のゴールの達成

SDGsには17のゴールの中で直接エネルギー教育に関連のあるゴールは

Goal 7: Ensure access to affordable, reliable, sustainable and modern energy for allである。

Energy is central to nearly every major challenge and opportunity the world faces today. Be it for jobs, security, climate change, food production or increasing incomes, access to energy for all is essential.

Sustainable energy is opportunity – it transforms lives, economies and the planet.

さらにエネルギー環境の視点から広げるとすればGoal 12: Ensure sustainable consumption and production patterns がある。

世界で電源を利用できる人の割合は、2000年の79%から2012年の85%へと着実に増加しているが、それでもなお、11億人が電気を利用することができていない、サハラ砂漠以南のサブサハラ地域では、人口の65%が電気を利用せずに生活している現状がある。

In Honduras, 4 women have installed 207 solar panels, improving the quality of life of 54 families.

Each panel generates 85 watts that feed three lamps, a radio, television and also charges cell phones and bulbs.

The Small Grants Program has invested US\$ 1 million in support for 28 solar energy projects in 18 countries.

Women have been empowered to provide solar energy to more than 3,778 households, benefiting 22,739 people in 52 districts.

ここでは7、のエネルギーはもとより1、貧困、4、質のよい教育、17パートナーシップのゴールが設定されている。このように、多くのゴールは複合的に設定されることが多い。総合的な学習の時間で扱うのが中学校では現実的である。

(2) 環境教育としてのゴール

17のゴールのうち12は少なからず「環境教育」に関連しているということができる。

1. 貧困の撲滅 2. 飢餓撲滅、食料安全保障 3. 健康・福祉 4. 万人への質の高い教育、生涯学習 5. ジェンダー平等 6. 水・衛生の利用可能性 7. エネルギーへのアクセス 8. 包摂的で持続可能な経済成長、雇用 9. 強靱なインフラ、工業化・イノベーション 10. 国内と国家間の不平等の是正 11. 持続可能な都市 12. 持続可能な消費と生産 13. 気候変動への対処 14. 海洋と海洋資源の保全・持続可能な利用 15. 陸域生態系、森林管理、砂漠化への対処、生物多様性 16. 平和で包摂的な社会の促進 17. 実施手段の強化と持続可能な開発のためのグローバル・パートナーシップの活性化

環境教育をすすめるSDGsの達成を目指す。詳細は169のターゲットとの関連を図って進める。

研究成果発表

1) 学会，シンポジウム等での発表

- ・ 寺木 秀一，中学校における教科横断的な放射線教育の展開，日本生活科・総合的な学習教育学会第27回全国大会 北海道大会，2018/06/16
- ・ 寺木 秀一，持続可能な開発目標（SDGs）と中学校におけるエネルギー環境教育，日本エネルギー環境教育学会第13回全国大会，山形大学，2018/08/09
- ・ 寺木 秀一，構内のバラスを使った教材開発と岩石標本の作製，日本地学教育学会第72回全国大会，筑波大学，2018/08/26

生物学研究室

Laboratory of Biology

■ 教授 寺木 秀一 Professor Shuichi TERAKI, M.A. (Education)

■ 講師(専任) 小長谷 幸史 Senior Lecturer Yukifumi KONAGAYA, Ph.D.



理科教材とくに生物に関する教材の開発と実践



・生物学教育 ・理科教材 ・生命の尊重

研究課題

- 1 動物細胞教材に関する研究
- 2 タンパク質教材に関する研究
- 3 生物に対する放射線の影響を知るための教材に関する研究

2018年度の研究成果

魚類細胞の培養方法を検討し、高等学校の理科教員に対して高等学校でも実験可能な培養方法を提案した。

学校で用いられている実験道具の中で、放射線が漏出していることが指摘されているものが、生物にどのように影響しているかを検討し、原子力教育関係の会議で発表した。

タンパク質教材を検討して高等学校SSH 事業におけるバイオ実習の中に取り入れた。

研究成果発表

1) 国内(日本語)雑誌(査読付き)

- ・小長谷幸史・浅田 真一・寺木 秀一, 防災イベントに参加した大学の災害ボランティアサークルの学生の防災教育と理科に対する意識－児童の動きの変化を見て得られた気づき－, 16, 7-14, 2018/11
- ・小長谷幸史, 寺木 秀一, 食品安全の意識を高める授業の取り組み, ESD by EC 〈環境カウンセラー ESD研究〉, 1, in press, 2018

2) 査読なしの論文

- ・小長谷幸史「理科の楽しさその先に」全国桜師会報, 50号p60, 2018.

3) 学会、シンポジウム等での発表

- ・ 小長谷幸史, 宮本 俊彦, 岡田理恵子, 伊藤 (長野) 美千代, 寺木 秀一, SSH事業における大学連携のとりくみ～大学での遺伝子を扱う実験講座～, 日本理科教育学会平成30年度第68回全国大会, 岩手大学, 2018/08/04.
- ・ 寺木 秀一・小長谷幸史, 教員養成課程の挑戦ー教職科目でESDをどのように組み入れるかー, 環境カウンセラーESD学会平成30年度研究大会 (東京大会), 東京家政大学, 2019/02/09.
- ・ 小長谷幸史・山口 聖奈・寺木 秀一, 生命科学のなかの放射線教育～教員養成の中で～, 放射線安全のための大学間連携教育者育成プログラム, 青森県観光物産館アスパム (青森), 2019/3/14.

学会等活動

小長谷幸史

1) 学会等の役員・委員活動

- ・ 環境カウンセラーESD学会, 2017/04～

他機関における教育支援

小長谷幸史

1) 小・中学校での指導

- ・ 実験教室 (浮沈子) (新潟市立新津第二小学校)
- ・ 文化祭での実験教室 (シャボン玉) (新潟市立新関小学校)
- ・ 文化祭での実験教室 (ジャンボシャボン玉) (新潟市立新津第一小学校)

2) 高校での指導

- ・ 非常勤講師 (生物基礎) (新潟県立栃尾高等学校)

3) その他

- ・ 小学生向け実験教室 (秋葉区社会福祉協議会)
- ・ 小学生向けの実験教室 (本学災害ボランティア部活動) (小須戸地区公民館)

教育学研究室

Laboratory of Pedagogy

■ 教授 木村哲郎 Professor Tetsuro KIMURA, M.A. (Education)



シティズンシップ（市民性）教育の原理とそのカリキュラム及び指導方法の実践的研究



・シティズンシップ ・主体的・対話的で深い学び ・社会科 ・生活指導
・ネットいじめ

研究課題

1. 「主体的・対話的で深い学び」における「歴史日記」実践の意義に関する授業研究
2. シティズンシップの育成を目指した生活指導の実践的研究

2018年度の研究成果

1. 「主体的・対話的で深い学び」における「歴史日記」実践の意義に関する授業研究

本研究は、新潟市内の公立中学校のベテラン社会科教師A教諭の授業を分析対象として、2017年度から共同で取り組んでいる。A教諭は長年、生徒が主体性を発揮し、お互いの意見を活発に表現する中で社会認識を深める「討論授業」を追究してきており、研究はA教諭が近年集中的に行っている「歴史日記」の授業をその対象としている。前年度は、生徒が作成した「歴史日記」を小集団で吟味し合い、その内容について意見交換する討論の授業を取り上げ、その成立条件と関連構造について検討したが、今年度は「歴史日記」の作成過程に着目し、授業記録とA教諭とのカンファレンス記録から分析を行い、以下のような知見を得た。

- (1) 「歴史日記」作成の授業が、多様な理解度や特性を持つ学習者にとって、これまでの学習を整理し、主体的に活動に取り組む場面を豊かに保障する時間になっていた。そこには、普段課題に取り組まない学習者への丁寧な働きかけに象徴されるような、A教諭のすぐれた指導や適切な支援が確認された。
- (2) 「歴史日記」を書くという学習課題が、学習者に独自の発想や文体による自由な表現を奨励しつつ、史資料を手がかりにしながら、ある時代の地域に生きた民衆の一人に「なりきる」という「奥深さ」を持っていて、そうした自由と制約を併せ持つ高度な課題だからこそ、困難さを感じても最後まで、学習活動をやり遂げようとする生徒たちの意欲を引き出していることが明らかになった。
- (3) これらのことを総合して、「歴史日記」を書く授業は、A教諭が討論型授業において実現を目指している「主体的・対話的で深い学び」の基盤を形成する過程であると同時に、それ自体が「主体的・対話的で深い学び」の過程そのものでもあると結論づけられた。

2. シティズンシップの育成を目指した生活指導の実践的研究

新潟県内の生活指導サークルで報告されたレポートや、現場の教師からの聴き取りを中心に、生活指導に関して、主に以下の2題の研究に取り組んだ。

(1) 小学校高学年の課題に応える生活指導研究

かつてのように「学級崩壊」が声高に叫ばれることはなくなったが、依然として小学校の高学年において指導が困難な状況が「日常化」しているとする報告が数多くなされている。その原因として、各発達段階で必要な経験や行動能力を獲得する機会を奪われたまま高学年を迎えた子どもたちが、「学校の顔」として行事や学力、体力などで「見栄えのいい」成果を求められ、更に思春期にさしかかる中で、選抜と競争、自己責任などの価値観にさらされる中で、困難を抱えているという構図を指摘した。

その上で、状況の改善に成功しているレポートの分析を通して、(1)暴力や授業妨害などを繰り返す子どもの発達課題をていねいに看取り、学級の子どもたちと問題を共有しながら、個人指導と集団指導を重ね合わせながら指導を展開すること。(2)高学年の認識発達を踏まえて、話し合いを柱に学級づくりを進め、学級レクリエーション、修学旅行に向けた班編成、授業中の学習班など、生活上の課題こそ自分たちで話し合い解決する力を育てるのが重要であること。更に話し合いにおいては、単なる方法をめぐる論議に終始することなく、その根拠となる価値観が意識されるような討論が展開されるような指導をめざすべきこと、などが明らかになった。

(2) 今日のいじめの主たる形態としての「ネットいじめ」研究

依然として、今日の学校教育の最重要課題の一つであるいじめ問題の中でも、現在主流となっているSNS等を利用した「ネットいじめ」について、主に新聞の社会面記事のファイリングから、その特徴と解決に向けた取り組みを模索した。

その結果、「ネットいじめ」は現実生活のリアルないじめと連動して行われること、発生の学年は中学1、2年生が多いこと、発生時期としては新たな集団での活動が軌道に乗る5月と夏休み明けの9月に集中していること、学校内だけではなく私的是時間・空間までも「浸食」し被害者に傷を与え続けること、従来のいじめより加害性が助長されやすく、また簡単に被害者の孤立化が成立すること、などの特徴が明らかとなった。

その解決に向けた取り組みについて、学校現場の具体的な取り組み事例を集め、効果的な指導原則を提起することが今後の課題である。

研究成果発表

1) その他

- ・木村 哲郎, 生きづらさ／困難を抱える子の苦悩や葛藤に応答する, 全生研第60回全国大会紀要, 2018/08
- ・木村 哲郎, 吉原 和義, 川井 拓郎, 小学校高学年の課題に応える生活指導・集団づくりとは, 2018年新生研大会基調, 2018/11

公開講座等講師

木村 哲郎

- 1) 本学主催の公開講座等
 - ・教員免許更新講習，新潟薬科大学

公的な審議会，委員会

木村 哲郎

- 1) その他公的社会活動
 - ・新潟市立金津小学校評議委員
 - ・新潟市立小合中学校評議委員
 - ・新潟市立新津図書館協議委員

他機関における教育支援

木村 哲郎

- 1) 他大学等の非常勤講師
 - ・教育方法・技術B（集中講義）（新潟大学）
 - ・教育課程総論（新潟大学）
 - ・不登校児童生徒理解集中演習（新潟医療福祉大学）

**新潟薬科大学 応用生命科学部
研究年報 2018 (平成 30 年度)**

発行日：2020 年(令和 2 年) 1 月22日

発行者：新潟薬科大学 産官学連携推進センター

〒956-8603 新潟市秋葉区東島字山居265番地1

TEL 0250-25-5402 FAX 0250-28-5340

<http://www2.nupals.ac.jp/liaison/>



■研究に関するご相談・お申し込み

新潟薬科大学 産官学連携推進センター

〒956-8603 新潟市秋葉区東島字山居265番地1 E-mail:liaison@nupals.ac.jp 事務局

<http://www2.nupals.ac.jp/liaison/>

TEL 0250-25-5402 FAX 0250-28-5340

業務時間 平日9:00～17:00(土日祝日は休業)