

Niigata University of
Pharmacy and
Applied Life Sciences

Faculty of
Applied Life Sciences



研究 年報 2016

Annual Research report 2016

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		11
■ 環境工学研究室		19
■ 環境有機化学研究室		25
■ 応用微生物学研究室		31
■ 食品分析学研究室		41
■ 食品・作物資源利用学研究室		47
■ 食品・発酵工学研究室		55
■ 食品安全学研究室		67
■ 食品酵素学研究室		71
■ 化学研究室		75
■ 理科教育学研究室・生物学研究室		77
■ 教育学研究室		81

動物細胞工学
研究室

生物機能化学
研究室

植物細胞工
研究室

環境工
研究室

環境有機化学
研究室

応用微生物学
研究室

食品分析学
研究室

食品・作物資源利用学
研究室

食品・発酵工
研究室

食品安全学
研究室

食品酵素学
研究室

化学
研究室

理科教育学研究室
生物学研究室

教育学研究室

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
- 3) 細胞死抑制遺伝子の解析



・ グルコシルセラミド ・ がん ・ 酸化ストレス ・ 細胞死 ・ 脂肪肝

研究課題

1) スフィンゴ糖脂質生理機能の解明

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

2) 非アルコール性脂肪肝予防法の研究

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、植物、生薬、および化合物の探索を培養細胞脂肪肝モデルで行う。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。

3) 細胞死抑制遺伝子の研究

私達は、以前発現クローニング法により、過酸化水素による細胞死を抑性する遺伝子を数種類単離している。本研究では、これらの遺伝子が細胞死を抑性する仕組みについて分析する。

平成28年度の研究成果

1) スフィンゴ脂質の研究

STAT3 阻害剤WP1066と、その類似化合物はグルコシルセラミド合成酵素活性を阻害する。

グルコシルセラミド合成酵素 (EC.2.4.1.80) は、スフィンゴ糖脂質合成の第一段階を触媒する。この酵素は、グルコースをUDP-グルコースからセラミドに転移して、グルコシルセラミドを合成する。本酵素の基質であるセラミドは、また、細胞死を誘導するシグナル分子としても働く。そのため、がん細胞でグルコシルセラミド合成酵素活性が上昇すると、抗がん剤によるセラミドの上昇が抑えられ、多剤耐性の

原因になることがある。

一方、STAT3は、多くのがん細胞で高発現している転写因子であり、その阻害剤はがん細胞に対して細胞死を誘導することが知られている。

我々は今まで、グルコシルセラミド合成酵素の人工蛍光基質であるC₆-NBD-セラミドを用いたスクリーニング系で、この酵素に対する阻害剤を探索し、STAT3阻害剤であるWP1066が阻害作用を示すことを見出している。本実験ではWP1066の細胞内グルコシルセラミド合成酵素活性に対する阻害作用を調べた。また、WP1066と類似の構造を持つ化合物の作用を調べた。

B16細胞をWP1066存在下で5時間培養したところ、予想に反してC₆-NBD-グルコシルセラミドは合成されなかった。一方で、細胞内のグルコシルセラミド合成酵素活性の阻害によって考えられるセラミドの増加が観察された。

次に、WP1066と類似の構造を持つ化合物の、グルコシルセラミド合成酵素に対する阻害作用を調べた。その結果、STAT3阻害剤であるAG490は、グルコシルセラミド合成酵素に対する阻害作用を示さなかった。一方で、新たに生物活性が知られていない化合物1種類でグルコシルセラミド合成酵素に対する阻害作用が認められた。

2) 非アルコール性脂肪肝予防法の研究

*Rubus suavisissimus*葉抽出液による非アルコール性脂肪肝を改善作用。

非アルコール性脂肪肝（NAFLD）は過食により、中性脂質が脂肪滴として肝臓細胞に過剰に蓄積した状態である。NAFLDは非アルコール性脂肪肝炎を経て最終的にはがんを引き起こすことがある。そのため脂肪滴形成を抑制する物質は、NAFLDを予防または治療できる可能性がある。我々は、培養細胞脂肪肝モデルを用いて、食品及び医薬品に用いられる植物のスクリーニングを行ってきた。培養細胞脂肪肝モデルでは、肝臓がん細胞株Hepa1-6を0.6mMのオレイン酸を含むDMEM培地で1晩培養して脂肪滴を形成させ、NAFLDのモデルとした。この時、同時に植物または食品の水抽出液を加えることにより、脂肪滴形成が抑制されるかどうかを調べた。脂肪滴の形成は、細胞を固定した後、Oil RedOで染色することにより可視化した。試験を行った植物のうち、複数の植物抽出液が培養細胞脂肪肝モデルで脂肪滴形成を抑制した。その中で特にバラ科の甜茶（*Rubus suavisissimus*葉抽出液）が強い脂肪滴形成抑制作用を示した。甜茶に含まれる主要な成分の脂肪滴抑制作用を調べたところ、Gallic acidのみが脂肪滴形成抑制効果を示した。甜茶は、以前本研究室で高脂肪食摂取によるマウス脂肪肝モデルでも、脂肪肝の改善作用が示されている。

以上の結果から甜茶は、NAFLDを改善するハーブ茶として有望だと考えられる。

Research projects and annual reports

1) Studies on sphingolipids.

WP1066, a STAT3 inhibitor, and its analog inhibits ceramide glucosyltransferase activity

Ceramide glucosyltransferase (EC.2.4.1.80) catalyzes the first step in glycosphingolipid synthesis. This enzyme transfers glucose from UDP-glucose to ceramide, generating glucosylceramide. The substrate ceramide also serves as a second messenger of cell death. Up-regulation of ceramide glucosyltransferase is known to suppress cell death by reducing ceramide content. Thus, activation of glucosyltransferase activity is one of the causes of multi-drug resistance of cancer cells.

STAT3, a transcription factor, is associated with various cancer types and inhibition of the factor often induces cell death to the cancer cells.

We had searched for ceramide glucosyltransferase inhibitors using a fluorescent substrate C₆-NBD-ceramide and found WP1066, a STAT3 inhibitor, could inhibit this enzyme. WP1066 had no structural similarities with any other known ceramide glucosyltransferase inhibitors. Surprisingly, mouse melanoma B16 cells treated with WP1066 for 5 h did not reduce glucosylceramide content. In contrast, an increase in ceramide content was observed. The increase of ceramide content was presumably caused by the inhibition of ceramide glucosyltransferase activity. These results indicate that WP1066 has ability to inhibit ceramide glucosyltransferase activity in the cells.

We also examined inhibitory effects of WP1066 analogs on ceramide glucosyltransferase activity. AG490 is a STAT3 inhibitor from which WP1066 was derived. This compound did not inhibit ceramide glucosyltransferase activity. In contrast, one of the analogs of WP1066 without known biological activity inhibited ceramide glucosyltransferase activity. Detailed studies on this compound is now ongoing.

2) Studies on non-alcoholic fatty liver disease.

Rubus suavissimus leaf extract ameliorates non-alcoholic fatty liver.

Fatty liver disease is a condition where abnormally large numbers of lipid droplets accumulate in liver cells. Fatty liver disease induces inflammation in the presence of oxidative stress and may finally cause cancer. To find plants that protect liver from fatty liver, we examined inhibitory effect of the plant extracts on lipid droplet formation. In this experiments, mouse hepatoma cells were cultured overnight in the presence of 0.6mM oleic acid and of plant extracts to be tested. The next day, the cells were fixed and lipid droplets formed were visualized by Oil Red O staining. A screen of various plants identified several extracts with inhibitory effect. One of the extracts, *Rubus suavissimus* leaf extract, showed strong inhibitory effect against lipid droplet formation. We also examined major components of the extracts. Among them, only Gallic acid inhibited lipid droplet formation.

We previously demonstrated that the *Rubus suavissimus* leaf extract ameliorates high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver without affecting body weight in mice.

Our results suggest that *Rubus suavissimus* leaf extract could be a promising herb tea that protect liver from fatty liver disease.

学術論文

Takahashi, T., Sugawara, W., Takiguchi, Y., Takizawa, K. Nakabayashi, Y., Nakamura, Y., Nagano-Ito, M. and Ichikawa, S. Identification of plants that inhibit lipid droplet formation in liver cells: *Rubus suavissimus* leaf extract protects mice from high fat diet-induced fatty liver by directly affecting liver cells. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2016, Article ID 4282758

学会発表

- 1) 高橋 智裕, 菅原 航, 瀧口 裕也, 瀧澤 健人, 中林 愛美, 中村 光生, 長野一伊藤美千代, 市川 進一「*Rubus suavissimus*葉抽出液はマウスの非アルコール性脂肪肝を改善する」第39回 日本分子生物学会年会, 12月2日, 横浜(発表者: 市川)

- 2) 鶴巻 弘貴, 片野 光, 佐藤 滉輔, 今井 龍, 新野 聡美, 平林 義雄, 市川 進一「STAT3阻害剤 WP1066と, その類似化合物のグルコシルセラミド合成酵素阻害作用」第39回日本分子生物学会年会, 12月2日, 横浜(発表者: 鶴巻)

学外活動

【学会活動】

- 1) 日本生化学会会員
- 2) 日本分子生物学会会員
- 3) 東北糖鎖研究会(世話人)

【学外活動(公的機関)】

- 1) 新発田高等学校SSH運営指導委員
- 2) 新発田高等学校SSH運営指導委員会 7月11日, 11月30日
- 3) 新発田高等学校SSH, 「DNA実験」, 於新潟薬科大学 8月19日

【その他学外活動(社会貢献活動等)】

新津ロータリークラブ役員

生物機能化学研究室

Laboratory of Chemical Biology

- 教授 石 黒 正 路 Professor Masaji ISHIGURO, Ph.D.
- 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.



生理活性分子とその受容体の認識機構の解明と、それに基づく新しい活性分子のデザイン



・ 匂い物質 ・ うまみ増強 ・ ブラジキニン受容体
・ LXRリガンド ・ カルバ糖

研究課題

1) ステロイド性匂い物質と受容体の相互作用研究と新規匂い物質のデザイン

ステロイド性匂い物質の受容体は嗅球のみならず他の生体組織（前立腺など）に存在し、嗅球においては β -イオノンの受容に関わっているが、前立腺では細胞増殖にかかわり、アゴニストとして細胞増殖阻害を示す。ステロイド骨格と β -イオノン（ともにアゴニストとして働く）の構造的関連をコンピュータモデリングとその情報から新しいアゴニストおよびアンタゴニストのデザインを行っている。

2) うまみ受容体を活性化する揮発性分子の解析

うまみ分子はうまみ受容体に働いてうまみ活性を呈するが、このうまみは甘味同様いくつかの低分子化合物（主として発酵生産物）によってその活性が増強される。そこで、主として新潟産の発酵生産物（味噌や納豆など）に含まれる揮発性分子を特定し、これらの分子がうま味受容体に結合するか否かをまずコンピュータでのシミュレーションから推定する。その後、*in vitro*での受容体結合実験からうま味物質のうま味発現と増強作用を検討する。

3) ブラジキニン受容体の非ペプチドリガンドのデザインと合成

ブラジキニン受容体(BR)はB1RとB2Rの2種類に分類される。このうち誘導性受容体であるB1Rは疼痛などの痛みに関連している。植物由来のVelutinol Aはステロイド性のアンタゴニストでペプチド性アンタゴニストとの構造の比較によって、その活性発現に重要な構造を特定し、非ステロイド性の化合物のデザインを行うことを目的にしている。既にVelutinolに関連するステロイド性誘導体の合成が完了しており、これらの化合物の構造と活性の相関を見ることにより、新しい構造を有する分子のデザインが行なえると考え、非ステロイドのデザインと合成を行っている。この研究によって、ステロイド骨格から全く新しい骨格の分子をデザインする方法の確立にもつながり、ひいてはペプチド分子構造から非ペプチド分子のデザインまでその方法論を拡張できるものと考えている。

4) 胆汁酸受容体TGR5およびLXRのアゴニストのデザイン

胆汁酸受容体には膜貫通型のGPCRと核内受容体の2種類が存在する。それぞれの受容体に結合することによって発現する活性が異なることから、いずれかの受容体のみに特異的に結合する分子をデザインして、作用の分離とともにこれらの受容体を介して生じる症状に対する有効な分子を見出すことが出来るものと考えられる。ここではまず核内受容体に対して特異的に作用するアゴニストのデザインを目指し、コンピュータを用いたりガンダー受容体複合体モデル作成から、新しい分子のデザインを行い、合成法を確立することを目指している。

5) DOIを用いたカテコール誘導体の効率的合成

グルコースからバイオコンバージョンによって得られるDOIをさらに効率よくカテコール誘導体へと変換する条件の検討を行い、最終的に持続可能なバイオマス利用による高付加価値分子の開発へと結びつける。現在までにDOIを高圧処理することにより効率よくトリヒドロキシベンゼン(THB)に変換できることはわかっているが、工業的には高圧処理を避ける必要があるものと考え、常圧での効率よい返還条件を検討している。

6) カルバ糖を含む二糖類の合成

カルバ糖は対応する糖をミミックしさらに分子として化学的にも生物学的に安定であるため、その安定性を活かした糖分解に関わる酵素の阻害剤などのデザインと合成が重要な役割を果たすと考えている。そこで、二糖類で二つの糖がともにカルバ糖である分子を合成するために、二つのカルバ単糖の縮合方法を確立し各種カルバ二糖の合成を検討している。

平成28年度の研究成果

1) ステロイド性匂い物質と受容体の相互作用研究と新規匂い物質のデザイン

匂い受容体のリガンドであるアンドロスタジエノンの13-デメチル体の合成を試み、D環の修飾からデメチル化が行えることを見出し、アンドロスタジエノンをミミックする13-デメチルアンドロスタジエノンの合成を行い、コンピュータ解析による新しいステロイド性アンタゴニストを目指しほぼその合成法の確立に至っている。

2) ウマミ受容体を活性化する揮発性分子の解析

うま味受容体に作用する低分子化合物とうま味物質との共同作用に関するモデルを提案し、実際の分子の解析を行った。また、発酵食品（味噌、納豆、カンズリなど）のもつ匂い分子の解析を行うため揮発成分の抽出を行った。

3) ブラジキニン受容体の非ペプチドリガンドのデザインと合成

Velutinol A 関連誘導体とブラジキニン受容体との相互作用解析から、新しい構造のステロイド誘導体をデザインし、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を見られる分子の合成がほぼ可能になった。

4) 胆汁酸受容体TGR5およびLXRのアゴニストのデザイン

膜タンパク質受容体と核内受容体への結合を区別できるリガンドとして、コンピュータモデリングにより提案された胆汁酸のAB環を模したステロイドの合成を検討し、6-メチルコレステロールの合成を行うとともに、7-メチルコレステロールの合成も検討した。

5) DOIを用いたカテコール誘導体の効率的合成

DOIからTHBへの化学変換とTHBの化学修飾による有用化成品の合成を検討した。特に、高圧処理条件がDOI分子に及ぼす効果を検討し、高圧に代わる条件（酸性条件、濃度条件など）を見出すための検討を行っている。

6) カルバ糖を含む二糖類の合成

糖転移酵素の阻害剤として、いくつかのカルバ二糖類の合成を行った。またがんマーカーの検出のための免疫グロブリン作成の抗原として化学的・生物学的に安定なカルバ二糖をデザインし合成を行った。

Research projects and annual reports

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

13-Demethylation was investigated for a synthesis of 13-Norandroadienone derivatives.

2) Analysis of the interactions of volatile compounds on the Umami receptor.

Synergistic volatile compounds for Umami receptor were analyzed in fermented products, and complex model was constructed to investigate the interactions between receptor and ligand.

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

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) Design of agonists for bile acid receptors, TGR5 and LXR.

Bile acid-related steroids were synthesized and were found active on LXR.

5) Chemical transformations of DOI to THB which is converted to a useful chemical.

The conditions for the conversion of DOI to THB and THB to a useful alkylated compounds were investigated.

6) Design and synthesis of disaccharide containing carbasugars.

Disaccharides containing carbasugars derived from DOI were synthesized as a potential inhibitors for the sugar-transforming enzyme.

学術論文

Imai H, Suzuki-Hashido N, Ishimaru Y, Sakurai T, Yin L, Pan W, Ishiguro M, Masuda K, Abe K, Misaka T, Hirai H., Biophys Physicobiol. 2016, 165-171. Amino acid residues of bitter taste receptor TAS2R16 that determine sensitivity in primates to β -glycosides.

学会発表

- 1) 宮崎 達雄, 館田 尚家, 佐藤 大輔, 木下 裕市, 石黒 正路「2-デオキシ-scyllo-イノソースを鍵原料とした α 系列カルバ糖の合成研究」第35回日本糖質学会年会 2016年8月1日-8月3日(高知市文化プラザかるぽーと)
- 2) 宮崎 達雄, 館田 尚家, 石黒 正路, 鯉坂 勝美「2-デオキシ-scyllo-イノソースを原料とした5a,5a'-ジカルバ-D-グルコビオースの合成および α -グルコシダーゼに対する活性評価」第10回東北糖鎖研究会 2016年8月6日-7日(コラッセ福島)
- 3) 鯉坂 勝美, 松尾 敬太, 小柳 裕, 鈴木 康弘, 宮崎 達雄, 石井 希実, 吉村 弥生, 松尾 一郎「起源の異なる硫酸化多糖類を用いた構造と抗酸化活性の比較およびカウンターイオンとしての2価金属イオンの影響」第10回東北糖鎖研究会 2016年8月6日-7日(コラッセ福島)
- 4) 館田 尚家, 鯉坂 勝美, 石黒 正路, 宮崎 達雄「立体配座を固定したカルバグルコシルトリフラートの反転反応によるジカルバグルコビオースの合成」第72回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(新潟シンポジウム) 2016年11月26日-27日(新潟薬科大学 新津駅東キャンパス)

外部資金

【科研費】

宮崎 達雄(研究代表者): 基盤研究(C) 課題番号15K05571「コア2糖鎖を標的とした新たな癌悪性度診断法の開発」平成27年度~平成29年度

【受託研究・共同研究】

宮崎 達雄・井坂 修久(研究分担者): NEDO委託事業 非可食性植物由来化学品製造プロセス技術開発「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」平成25年度~平成29年度

【奨学寄付金】

宮崎 達雄: 1件(民間企業/研究・教育助成)

学外活動

石黒 正路

【学会活動】

- 1) 日本薬学会構造活性相関部会常任幹事
- 2) 日本薬学会医薬化学部会幹事

【学外活動（公的機関）】

- 1) 食の新潟国際賞財団理事
- 2) 新潟県立新津工業高校評議員
- 3) 秋葉区文化会館評議員

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

社会福祉法人 親和福祉会評議員

宮崎 達雄

【学会活動】

- 1) 日本糖質学会
- 2) 日本農芸化学会
- 3) 有機合成化学協会
- 4) FCCA (Forum of Carbohydrate Coming of Age)
- 5) 第72回有機合成化学関東支部シンポジウム（新潟シンポジウム）の世話人
- 6) 東北糖鎖研究会の世話人会出席

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



・ リン代謝 ・ 越冬性 ・ デンプン代謝 ・ 矮性 ・ 自家不和合性

研究課題

1) イネのリン代謝に関する研究

穀物の種子に含まれるリンの7～8割はフィチン酸として貯蔵されるが、非反芻家畜はフィチン酸を消化することができず多量のリンが排出され、湖沼の主な汚染源ともなっている。またフィチン酸は、様々な金属に強いキレート作用を示すため、食べると体内のミネラルの吸収を阻害することでも知られる。そこで、(独)農研機構 中央農研北陸研究センターとの共同研究で、無機リンの増加を指標として単離されたイネ低フィチン酸突然変異体を用い、種子中におけるリン代謝に関する新知見の獲得を目指している。さらに、得られた成果を応用することによる低環境負荷ならびに高機能性植物を作出するための技術基盤構築を目指している。

2) 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を2品種以上育成し、広域普及させることを目的とし、越冬性や病害抵抗性といった重要農業形質のDNAマーカー選抜による新需要オオムギ品種育成支援を行っている。

3) 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。

4) 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。

平成28年度の研究成果

1) イネのリン代謝に関する研究

イネにおけるリン代謝に関する知見獲得を目的に、フィチン酸含量が低下し、無機リンの含量が高まったイネ突然変異体の原因遺伝子の解明を順遺伝学的手法により行なっている。これまでに、(独)農研機構 中央農研北陸研究センターにおいて育成された「どんとこい」を原品種とする無機リン含量が高まった低フィチン酸変異体とカサラスとのF₂集団を用いて原因遺伝子座のファインマッピングを行った。その結果、ひとつの変異体(Dontokoi176)の原因遺伝子が新規の遺伝子の変異によるものであることが示された。Dontokoi176の原因遺伝子は、第12染色体上のOs12g0536000に座上する遺伝子と推定された。当該遺伝子は、PhosphoMutaseをコードしており、そのドメイン内にタンパク質構造に影響をあたえると考えられるトランジション変異が生じていることを明らかにした。これらの成果は、飼料イネを育種する上での重要農業形質である低フィチン酸形質に関する重要な学術的知見であると同時に、飼料米の遺伝子資源として有用性も示し、飼料イネ開発に新しい可能性を切り開いた。

2) オオムギの重要農業形質に関する研究

長野県農試及び北陸研究センターで育成された有望系統(合計147系統)について、DNAマーカーを用いた秋播性遺伝子*Vrn-H2*、うどんこ病抵抗性遺伝子*mlo*、縞萎縮病抵抗性遺伝子*rym5*の選抜支援を行った(表1)。秋播性遺伝子*Vrn-H2*に関するDNAマーカーを用いた解析から、長野県農試育成系統43系統のうち28系統及び北陸研究センター育成系統104のうち33系統が秋播性として判別された。うどんこ病抵抗性遺伝子*Mla*については、長野県農試育成系統9系統及び北陸研究センター育成系統55系統が抵抗性型として判別された。縞萎縮病抵抗性遺伝子*rym5*については、長野県農試育成系統11系統及び北陸研究センター育成系統45系統が抵抗性を示す*rym5*型として判別された。長野県農試育成系統4系統(長系110, 長形113, 長系121, 長系123)及び北陸研究センター育成系統2系統(新系MB-003, MB-005)は、秋播性でうどんこ病と縞萎縮病の抵抗性型遺伝子を併せ持っていた。

越冬性機構については、非構造性炭水化物であるフルクタンの含有率が密接に関連することが指摘されており、その合成には3種の酵素1-SST, 6-SFT, 1-FFTが関わることが知られている。そこで、越冬性が評価されている大麦9品種より、当該遺伝子のうち、1-SSTと1-FFTについてクローニングと塩基配列を決定し、各品種間におけるDNA多型解析を実施した。それぞれの遺伝子において、20, 17個のSNPsが見出された(表2)。エキソン中に見出されたcSNPsにおいては、アミノ酸の置換を伴うものも見出されたが、酵素活性に大きな変異を及ぼすものではなかった。しかしながら、ミユキタイプのフルクタン合成酵素を有する品種系統群には、越冬性との関連性が期待されたため、タイプ識別を可能とするdCAPSマーカーを、2種の酵素1-SST及び1-FFTについて作製し、その有用性について検証している。

3) ソバの重要農業形質に関する研究

ソバはタンパク質、脂質および糖質をバランスよく有し、動脈硬化の予防に有効なルチンを多量に含むことが明らかにされている。したがって、伝統的な食品を見直す機運が高まっているなか、バランスよく栄養素を摂取でき、メタボリック症候群といった現代病の予防に適したソバの価値は高く、新形質を有するソバ育種の価値は非常に大きいと考えられる。本年度は、食感に大きな影響を与えるアミロース及びアミロペクチンの含量比に影響を与える遺伝子の解析と変異体単離に向けたプラットフォームの作製を行った。

異形花型自家不和合性については、世界中のソバ集団を用いて、候補遺伝子と異形花型自家不和合性との関連解析を行ったところ、1つの遺伝子において短柱花と長柱花との完全な関連性が確認された。その遺伝子の発現様式をRT-PCRによって確認したところ、雌蕊で特異的に発現していることが示された。これらの結果は、この遺伝子がソバの異形花型自家不和合性における雌蕊因子の実体である可能性を示したものである。現在、同形花で自家和合性を示すソバの近縁種である*F. tataricum*及び*F. homotropicum*を用いて当該遺伝子の構造解析に取り組んでいる。

Research projects and annual reports

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

1 . Characterization of six low phytic acid mutants in rice

In grains of cereal crops, 65 % to 85% of phosphorus is stored as phytic acid, regardless of the crop species. Because non-ruminant animals, including humans, cannot digest phytic acid, they are unable to use most of the phosphorus in grains. Some of the nutritionally important minerals that are stored in phytic acid are not assimilated in these animals due to its chelating ability. Intending to improve the nutritional value of rice grain in three major cultivars in Japan, we obtained six non-lethal low phytic acid mutants, in which phytic acid contents were 42.1 to 94.1 % of their original cultivars. Most of the agronomic traits of the six mutants were comparable to the original cultivars, except for slightly weak germination ability in two mutants whose phytic acid contents were the lowest among the six mutants. In the grains of our mutants, the ferrous content was positively correlated and calcium contents was negatively correlated with phytic acid contents. Those mutants are caused by single gene, recessive non-lethal mutations. DNA marker analysis revealed that one mutant was likely to be mapped in chromosome 12 as a novel locus in phytic acid metabolism.

2 . DNA marker-assisted selection of important agronomic traits in barley

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. This study leverages the breeding data of 147 barley breeding lines evaluated in 2 field trials for marker-assisted selection of major disease resistance and chilling requirement genes.

3. Molecular characterization of important agronomic traits in buckwheat

Common buckwheat, *Fagopyrum esculentum*, is a heteromorphic self-incompatibility (SI) species. Its yield is relatively unstable compared to other major self-fertilizing crops due to heteromorphic SI. In this year, we attempted to identify the genes involved in heteromorphic SI of buckwheat. Noble two genes were found by transcriptome and geneomic analyses, which were located to the S locus and to be expressed in the short-styled flower. These two genes are suitable candidate genes for the control of the short-styled phenotype of buckwheat plants. The knowledge obtained from this study will enable to develop self-fertilizing buckwheat cultivars.

学会発表

【海外】

Draft genome sequencing of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and application for identifying agronomically useful genes. Hideki Hirakawa, Yasuo Yasui, Mariko Ueno, Katsuhiko Matsui, Tomoyuki Katsube-Tanaka, Soo Jung Yang, Jotaro Aii, Shingo Sato and Masashi Mori, International Plant and Animal Genome XXVI, San Diego, CA, USA (2017)

【国内】

- 1) 大田 竜也, 相井城太郎, 安井 康夫「フツウソバにおける異形花型自家不和合性ーゲノム・トランスクリプトーム解析を踏まえてー」国立遺伝学研究所ワークショップ 分子進化学の現状と今後の展望, 2016年8月20日~21日, 国立遺伝学研究所 (静岡)
- 2) 相井城太郎, 安井 康夫, 佐藤 真吾, 田巻 茜, 中野 絢菜, 森 正之, 田中 宥司, 大田 竜也「異形花型自家不和合性を示すソバにおけるトランスクリプトーム解析」日本進化学会第18回東京大会, 2016年8月25日~28日, 東京工業大学 (東京)
- 3) 相井城太郎「ゲノム科学によるソバ育種研究の進展と最近の進歩」バイオサイエンスin新潟, 2016年8月29日, 新潟市
- 4) 中野 絢菜, 森 明子, 原 奈穂, 遠藤 真咲, 三上 雅史, 中野 雄司, 土岐 精一, 廣瀬 咲子「新規カルス誘導剤FPXのゲノム編集に対する制御活性」第34回 日本植物細胞分子生物学会 長野 2016年9月1日~3日
- 5) 相井城太郎, 大田 達也, 安井 康夫, 森 正之, 佐藤 真吾, 田巻 茜, 中野 絢菜, キャンベル・クレイトン, 長野 美緒, 田中 宥司「異形花型自家不和合性を示すソバの雄蕊におけるトランスクリプトーム解析」日本育種学会第130回講演会, 2016年9月24日~25日, 鳥取大学 (鳥取)
- 6) 相井城太郎, 佐藤 真吾, 田巻 茜, 長野 美緒, キャンベル・クレイトン, 安井 康夫, 森 正之, 田中 宥司「RNA-seq解析によるソバ異形花型自家不和合性の雄性因子の探索」第5回上信越植物育種セミナー, 2016年12月17日, 新潟薬科大学 (新潟)

- 7) 中野 絢菜, 森下 敏和, 鈴木 達郎, 清水 明美, 相井城太郎, 田中 宥司「de novoアセンブリ配列を用いたダットンソバ半矮性変異体sdaの原因遺伝子の探索」第5回上信越植物育種セミナー, 2016年12月17日, 新潟薬科大学(新潟)
- 8) 小森 美佳, 中野 絢菜, 橋本 瑛司, 船木 武人, 森下 敏和, 鈴木 達郎, 清水 明美, 相井城太郎, 田中 宥司「イオンビーム照射由来ダットンソバ半矮性変異体sdbの次世代シーケンサーを用いた変異解析」第5回上信越植物育種セミナー, 2016年12月17日, 新潟薬科大学(新潟)

その他研究活動

- 1) 2016年4月20日「京大と石川県立大, かずさDNA研など, ソバのゲノムを解読」日経バイオテク(<https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/news/pl/16/04/19/00579/>)
- 2) 2016年4月13日京都大学研究成果報告ホームページ「世界初となるソバの全ゲノム解析に成功」(http://www.kyoto-uac.jp/ja/research/research_results/2015/160331_1.html)
- 3) 2016年4月1日新潟薬科大学ホームページ「世界初となるソバの全ゲノム解析に成功」(<http://www.nupals.ac.jp/news/2016/04/post-197.html>)
- 4) 読売新聞(2016年4月1日29面)にソバゲノム解読に関する記事が掲載
- 5) 新潟日報朝刊(2016年3月31日34面)「新潟薬科大学と京都大学, 石川県立大学などの研究グループがソバゲノムを世界で初めて解読」

外部資金

【科研費】

相井城太郎(研究代表者): 基盤研究(C) 課題番号25450011「ソバにおける自家不和合性の雄性因子の同定」平成25年度～平成28年度

【受託研究・共同研究】

- 1) 相井城太郎(研究分担者): 農林水産省農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「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」, 小課題責任者「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」平成26年度～平成30年度
- 2) 田中 宥司, 相井城太郎, 中野 絢菜(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)「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」平成28年度～平成30年度
- 3) 新潟市委託研究「ゲノム科学による新形質ソバの作出」

4) 新潟市委託研究「イチゴ『越後姫』における緑色LED照射による病害抵抗性誘導の調査研究」

【その他】

学部内共同研究奨励費：六条大麦の特性評価体制と大麦商品のビジネスモデルの構築

学外活動

田中 宥司

【学会活動】

- 1) 日本育種学会会員
- 2) 日本農芸化学会会員
- 3) 日本技術士会会員
- 4) 上信越育種セミナー世話人

【学外活動（公的機関）】

- 1) 文部科学省遺伝子組換え生物等の第一種使用規程の申請に対する学識経験者からの意見聴取会合
- 2) 農林水産省委託プロジェクト「GMOリスク分析」アドバイザー委員
- 3) 新潟県農業総合研究所遺伝子組換え実験委員会
- 4) 新潟県立加茂農林高校評議委員会委員
- 5) 教員免許状更新講師

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 新潟市農業活性化研究センター薬草研究会委員
- 2) 日本技術士会生物工学部会委員
- 3) 新津ロータリークラブ会員定例会講師
- 4) 秋葉区まちなか活性化部会委員

相井城太郎

【学会活動】

- 1) 日本育種学会
- 2) 遺伝学会
- 3) 植物生理学会
- 4) 世界ソバ学会
- 5) 上信越育種セミナー世話人

【学外活動（公的機関）】

- 1) 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
- 2) 新潟市農業活性化研究センター薬草研究会委員
- 3) 新潟県バイオサイエンスプロジェクトの推進に係るアドバイザー

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 北信越地区農業実験実習講習会講師
- 2) 教員免許状更新講習「遺伝子組換え技術の進展と将来展望」

中野 絢菜

【学会活動】

- 1) 日本育種学会
- 2) 日本植物細胞分子生物学会
- 3) 上信越植物育種セミナー

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て化学物質の安全な管理法を通じた環境の改善と保全のための研究



・ 化学物質 ・ リスク ・ 起源解析 ・ 環境動態 ・ 再資源化

研究課題

I. 自動車内装部材中の難燃剤の分布とその曝露リスク評価

自動車の内装部材には道路運送車両法により難燃性材料の使用が義務付けられており、シート布地やシートウレタンなどの一部内装部材においてジエチレングリコールビスジ 2-クロロイソプロピルホスフェートなどの有機リン系難燃剤(PFRs)による防炎加工が施されている。一部の有機臭素系難燃剤が家電製品からダストへ移行し、ダストを経由して人に曝露されることが知られており、車内環境において同様に難燃剤の移行及びダストを経由した曝露が考えられる。

そこで車内環境における有機リン系難燃剤の曝露を評価するために、使用済み自動車の乗用部分に面する内装部材、座面のダストを想定した模擬ダストを使用して内装部材中のPFRsのダストへの移行を検出した。

II. 水田に散布された農薬の挙動

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

III. 東日本大震災における津波の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。

IV. 粘土鉱物に対するセシウムの吸着挙動に及ぼす溶存有機物質の影響

東日本大震災に伴う福島第一原発事故によって放射性セシウムを初めとする放射性物質が環境中に放出された。これらの放射性物質の大半はプルームとして大気中に拡散し、その後山林をはじめとする地表面に沈着した。放射性セシウムは雲母様の粘土鉱物に強く吸着することが知られている。しかしながら、原発事故から5年を経た現在でも山林集水域から河川への継続的な負荷が続いている。山林集水域から水系へ負荷する溶存有機物質は、金属イオンと会合する。放射性セシウムの雲母様の粘土鉱物への吸着はフレイド・エッジ部への吸着であることから、溶存有機物質との会合に影響される可能性がある。そこで本研究では粘土鉱物へのセシウム吸着に及ぼす溶存有機物質の影響を明らかにすることを目的とした。

平成28年度の研究成果

I. 自動車内装部材中の難燃剤の分布とその曝露リスク評価

自動車内装部材においてはシートウレタンと一部の防しん材にDEG-BDCIPP等の有機リン系難燃剤等の使用が確認された。これらの内装部材への添加が確認された難燃剤のダストへの移行を検討した結果、難燃剤は揮発と部材とダストの接触の双方によって移行し、接触による移行がより顕著であった。

II. 水田に散布された農薬の挙動

水田に空中散布された除草剤プロモブチド、及びイプフェンカルバゾン、殺虫剤ジノテフラン、並びに殺菌剤チオファネートメチルについて、水田中における減衰と水田からの流出挙動を明らかにするとともに、河川における消長を検討した。これらの農薬の水田からの流出率と水田における半減期を算出できた。

III. 東日本大震災における津波の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を金属組成に基づいたPositive Matrix Factorization (PMF)法によって検討した結果、湾奥部および湾南岸を中心に排水口流入物の負荷が確認された。この結果から震災後の干潟底質環境のかく乱には津波のみならず、復興工事に伴う排水口流入物の影響が示唆された。

IV. 粘土鉱物に対するセシウムの吸着挙動に及ぼす溶存有機物質の影響

フミン酸の共存下および非共存下におけるセシウムの粘土鉱物への吸着を検討した結果、雲母様鉱物であるバーミキュライトにおいてはフミン酸100 mg/Lの存在下においてセシウム吸着量の減少が確認された。一方でモンモリロナイトにおいてはフミン酸の存在下においてセシウム吸着量の増加が確認された。

Research projects and annual reports

I . Distribution of flame retardants in automotive interior members and their exposure risk

In order to evaluate the exposure of organophosphorus flame retardant in car environment, the transportation of PFRs in interior member to dust was investigated using simulated dust.

The organic phosphorus flame retardants such as DEG-BDCIPP were observed for sheet urethane and sound proofing materials. The flame retardant was transported though both volatilization and contact, and the contact was dominant pathway of the transportation of PFRs.

II . Behavior of pesticides applied to paddy fields

Behavior of herbicides bromobutide, and ipfencarbazone, an insecticide dinotefuran, and a fungicide thiophanate-methyl in waters and soils from two paddy fields after aerial application to paddy fields was investigated as well as in river water. The runoff ratios from the paddy fields and the mean half-lives of the target pesticides in the paddy water and soil were calculated.

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

To clarify the cause for disruption of sediment environment in recovery process of tsunami devastated tidal flats, origin of silt fraction of tidal flat sediment in Hatsutsu-ura bay was investigated by Positive Matrix Factorization using metal composition in silt fraction. Loading of silt through drainage of tide embankment construction at inner part and south part of the bay was observed.

IV. Effect of dissolved organic matter on adsorption behavior of cesium on clay minerals

The purpose of this study was to clarify the influence of dissolved organic matter on cesium adsorption to clay minerals. The cesium adsorption amount on vermiculite decreased in the presence of humic acid. On the other hand, the cesium adsorption on montmorillonite increased in the presence of humic acid.

学術論文

中井 智司, エステバン ミニョ, 大野 正貴, 小瀬 知洋, 奥田 哲士, 西嶋 渉: キレート剤と鉄を併用したペルフルオロオクタン酸の光分解, 化学工学会論文誌, *in press* (2017/7月号予定)

学会発表

1) Mayumi Suzuki, Tomohiro Kose, Masaki Ohno, Tetsuji Okuda, Satoshi Nakai, Wataru Nishijima, Kuniaki Kawata: Characterizing Dissolved Organic Matter from Cattle Slurry in Kushiro River Water using EEM-PARAFAC, the 25th Symposium on Environmental Chemistry, 1D-02, Niigata (2016)

2) 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: Sep-Pak Plus Florisilカートリッジを用いた自動車内装部材中の有機リン系難燃剤のクリーンアップ法の検討, 第25回環境化学討論会, 3B-06, 新潟市 (2016)

- 3) 松尾実可子, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 梶原 夏子, 鈴木 剛, 滝上 英孝, 酒井 伸一, 川田 邦明: 有機リン系難燃剤の自動車内装部材からダストへの移行経路及び影響因子, 第25回環境化学討論会, P-046, 新潟市 (2016)
- 4) 小林 由季, 相馬 莉佐, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 木材を利用した溶存Csの吸着に及ぼすリグニン含有量の影響, 第25回環境化学討論会, P-145, 新潟市 (2016)
- 5) 丸山 千賀, 鈴木まゆみ, 松尾 紅志, 小瀬 知洋, 玉置 仁, 川田 邦明: 波津々浦湾干潟の津波侵食の回復過程における底質の起源推定, 第25回環境化学討論会, P-148, 新潟市 (2016)
- 6) 南 創史, 松尾実可子, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田に空中散布された殺虫剤ジノテフランと殺菌剤チオファネートメチルの消長, 第25回環境化学討論会, P-095, 新潟市 (2016)
- 7) 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 玉置 仁: 東日本大震災における津波堆積物の金属組成を用いた起源推定, 第51回日本水環境学会年会, 2-J-11-4, 熊本市 (2017)
- 8) 松縄 泰天, 谷内 嶺仁, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 梶原 夏子, 鈴木 剛, 滝上 英孝, 酒井 伸一: 自動車防振材中の再生原料における有機リン系難燃剤の含有傾向, 第51回日本水環境学会年会, 3-J-14-3, 熊本市 (2017)
- 9) 高橋 峻, 松尾 紅志, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 玉置 仁, 川田 邦明: 東日本大震災後の回復過程における波津々浦湾干潟底質の起源とその寄与, 第51回日本水環境学会年会, P-J03, 熊本市 (2017)
- 10) 相馬 莉佐, 小林 由季, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: セシウムのパーミキュライトへの吸着に及ぼす溶存有機物質の影響, 第51回日本水環境学会年会, L-009, 熊本市 (2017)
- 11) 南 創史, 星野 真倫, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田土壌におけるジノテフラン及びカルベンダジムの鉛直方向への移行, 第51回日本水環境学会年会, L-014, 熊本市 (2017)
- 12) 小林 由季, 相馬 莉佐, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 木材によるCs 吸着に及ぼす表面酸性基とリグニンの影響, 第51回日本水環境学会年会, L-077, 熊本市 (2017)
- 13) 川崎 真央, 松尾実可子, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 井口 晃徳, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 縮合リン酸エステル類難燃剤製剤中の副生物の毒性評価, 第51回日本水環境学会年会, L-097, 熊本市 (2017)
- 14) 丸山 千賀, 松尾 紅志, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 玉置 仁: 東日本大震災後の回復過程における波津々浦湾干潟底質中のシルトの起源推定, 第51回日本水環境学会年会, L-119, 熊本市 (2017)

- 15) 森 亮太, 井口 晃徳, 小瀬 知洋, 重松 亨: 原油自噴地域における微生物群集構造解析と原油分解細菌の分離培養の試み, 第51回日本水環境学会年会, 2-A-11-4, 熊本市 (2017)

その他研究活動

研究会等における発表

- 1) 小林 梓, 鈴木まゆみ, 松尾 紅志, 小瀬 知洋, 玉置 仁, 川田 邦明: 津波浸食後の回復過程における波津々浦湾干潟底質の起源推定, 日本陸水学会甲信越支部会 第42 回研究発表会, P-6, 長野県小諸市 (2016)
- 2) 相馬 莉佐, 小林 由季, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: セシウムの粘土鉱物への吸着に及ぼす溶存有機物質の影響, 日本陸水学会甲信越支部会 第42回研究発表会, P-7, 長野県小諸市 (2016)
- 3) 星野 真倫, 南 創史, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 河川中における新規除草剤イプフェンカルバゾンを含む農薬類の濃度変動, 新潟県生物教育研究会第52回新津大会, O-7, 新潟市 (2016)
- 4) 谷内 嶺仁, 松尾実可子, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 梶原 夏子, 鈴木 剛, 滝上 英孝, 酒井 伸一, 川田 邦明: 自動車内装部材からダストへの有機リン系難燃剤の移行経路, 新潟県生物教育研究会第52回新津大会, P-4, 新潟市 (2016)
- 5) 南 創史, 星野 真倫, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田に空中散布された殺虫剤ジノテフランと殺菌剤チオファネートメチルの挙動, 新潟県生物教育研究会第52回新津大会, P-5, 新潟市 (2016)
- 6) 小林 梓, 鈴木まゆみ, 松尾 紅志, 小瀬 知洋, 玉置 仁, 川田 邦明: 東日本大震災後の回復過程における波津々浦湾干潟底質の起源推定新潟県生物教育研究会第52回新津大会, P-6, 新潟市 (2016)

外部資金

【科研費】

小瀬 知洋 (研究代表者): 若手研究 (B) 課題番号26740044「自動車内装材に含まれる難燃剤成分の車内挙動及び循環時リスクの評価」平成26年度～平成28年度

【助成金】

小瀬 知洋 (研究代表者): 佐々木環境技術振興財団 試験研究費「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基礎検討」

学外活動

川田 邦明

【学会活動】

- 1) 日本環境化学会（評議員，編集委員）
- 2) 日本分析化学会（関東支部新潟地区部会幹事）
- 3) 第25回環境化学討論会（平成28年6月）実行委員長

【学外活動（公的機関）】

- 1) 環境省（事務局：国立環境研究所）化学物質暴露評価委員会 検討委員
- 2) 環境省（事務局：環境計画研究所）水質環境基準（健康項目）等検討委員会 委員
- 3) 環境省（事務局：日本エヌ・ユー・エス）内分泌かく乱作用に係る生態影響評価検討班 委員
- 4) 環境省（事務局：化学物質評価研究機構）化学物質複合影響評価手法検討調査生態影響評価分科会 委員
- 5) 国土交通省北陸地方整備局北陸技術事務所（事務局：新潟県環境衛生研究所）ダイオキシン類精度管理委員会 座長
- 6) 新潟県都市計画審議会 会長

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) (社)日本環境測定分析協会 環境測定分析士等試験・認定委員会委員
- 2) 新津第二小学校新津川水質調査への協力（5年生）
- 3) 論文査読1編（英文1編）
- 4) 内田エネルギー科学振興財団

小瀬 知洋

【学会活動】

- 1) 日本分析化学会（関東支部新潟地区部会幹事）
- 2) 日本水環境学会（関東支部幹事）
- 3) 第25回環境化学討論会（平成28年6月）実行副委員長

【学外活動（公的機関）】

- 1) 国土交通省北陸地方整備局北陸技術事務所（事務局：新潟県環境衛生研究所）ダイオキシン類精度管理委員会 委員
- 2) 新潟市亀田清掃センター運営評議会 委員

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 新津第二小学校新津川水質調査への協力（5年生）
- 2) 新津第二小学校ウェルカム参観講師
- 3) 新津第一小学校理科部活動指導
- 4) 論文査読5編（英文3編）

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

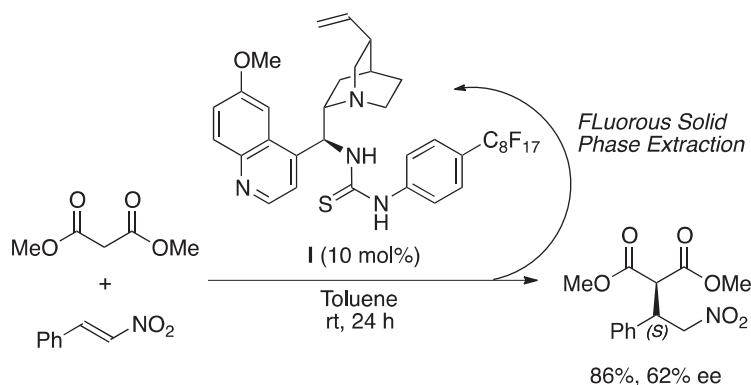
研究課題

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。

平成28年度の研究成果

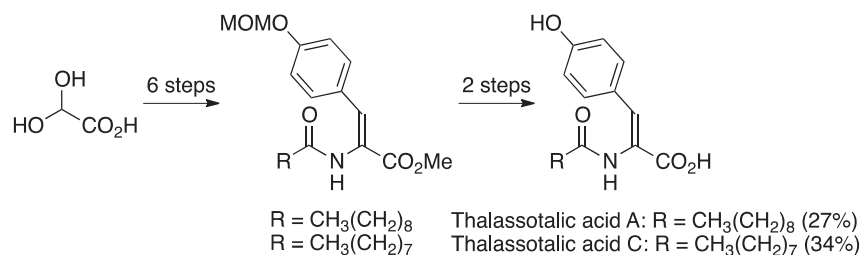
1) 新規リサイクル型フルオラス不斉有機触媒の開発

新規なりサイクル可能な不斉有機触媒として二官能基性のフルオラスシンコナアルカロイドチオ尿素誘導体(I)を合成し、マロン酸ジメチルとβ-ニトロスチレンの不斉マイケル付加反応を検討した。不斉有機触媒Iは高い触媒活性を有し、高収率（86%）、中程度のエナンチオ選択性（62% ee）で(S)-マイケル付加体を与えた。フルオラス不斉有機触媒Iはフルオラス固相抽出によって簡単に分離・回収された。



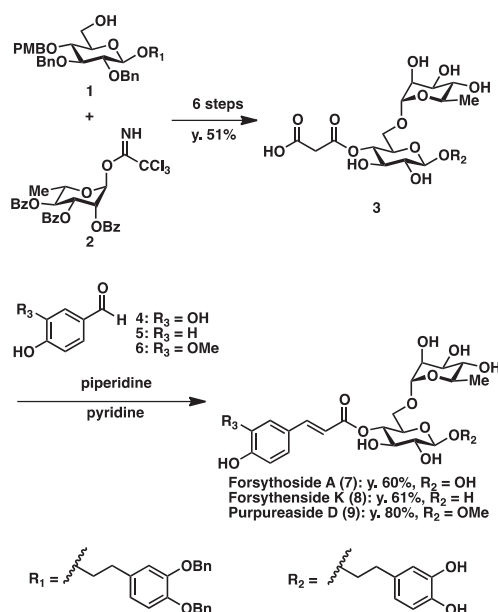
2) Thalassotalic acid AとThalassotalic acid Cの最初の全合成

Thalassotalic acids A-Cおよびthalassotalamides AとBは海洋2枚貝の養殖場で入手したグラム陰性菌 *Thalassotalea* sp. PP2-459が産生するN-アシルデヒドロチロシン誘導体である。我々は、E選択的Horner-Wadsworth-Emmons反応を鍵工程として用い、Thalassotalic acid AとThalassotalic acid Cの最初の全合成を9段階、27%および34%の総収率で達成した。



3) Forsythoside Aおよびその類縁体の最初の全合成

Forsythoside Aは、*Forsythia suspensa* Vahl.の果実から単離されたフェニルエタノイド配糖体に属する天然物である。その構造は、2-(フェニル)エチル β-D-グルコピラノシドの6位水酸基にL-ラムノピラノースがα-グリコシド結合し、4位水酸基にカフェ酸が脱水縮合している。Forsythoside Aはヒト末梢血好中球中の5-リボキシゲナーゼが産生する5-ヒドロキシ-6,8,11,14-エイコサテトラエン酸とロイコトリエン_{B4}の形成を選択的に阻害することが明らかにされ、気管支喘息の治療薬として期待される。昨年までに、カルボキシアセチル基を有する糖誘導体と3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒドとのクネーフェナーゲル縮合を行なうことで、カフェ酸エステル部位を合成終盤に構築することに成功し、acteosideの全合成を達成した。そこで本年度は、Forsythoside A、Forsythenside KおよびPurpureaside Dの合成について検討した。糖受容体1と糖供与体2から6工程で得られる3に対し、触媒量のピペリジン存在下で3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド(4)を作用させ、Forsythoside A(7)を収率60%で得た。同様の反応条件で、4-ヒドロキシベンズアルデヒド(5)およびバニリン(6)と共通の合成中間体3を反応させたところ、Forsythenside K(8)およびPurpureaside D(9)が収率61%、80%でそれぞれ得られた。合成品の¹Hおよび¹³C NMRスペクトルデータは、文献値と良く一致し、Forsythoside A、Forsythenside KおよびPurpureaside Dの最初の全合成を達成した。



Research projects and annual reports

1) Development of novel recyclable chiral fluororous organocatalyst

Bifunctional fluororous cinchona alkaloid-thiourea derivative (I) as a novel recyclable chiral organocatalyst was synthesized and employed for in asymmetric Michael addition reaction of dimethylmalonate to β -nitrostyrene. The organocatalyst I was a highly efficient catalyst for the Michael addition reaction, leading to (S)-adduct with high yield (86%) and moderate enantioselectivity (62%). The fluororous organocatalyst I was easily recovered by fluororous solid phase extraction.

2) First total synthesis of thalassotalic acids A and C

Thalassotalic acids A-C and thalassotalamides A and B are N-acyl dehydrotyrosine derivatives produced by *Thalassotalea* sp. PP2-459, a Gram-negative bacterium isolated from a marine bivalve aquaculture facility. We accomplished the first total synthesis of thalassotalic acids A and C in 9 steps with an overall yields of 27% and 34%, respectively, using the (E)-selective Horner-Wadsworth-Emmons reaction as a key step.

3) First total synthesis of forsythoside A, forsythenside K and purpureaside D

Phenylethanoid glycoside, forsythoside A, was isolated from the fruits of *Forsythia suspensa* VAHL. Forsythoside A possess a α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranose sugar chain and an ester linkage with caffeoyl moiety at C-4 of glucopyranose. Recently, we achieved the total synthesis of acteoside via condensation of 2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethyl 4-O-carboxyacetyl- β -D-glucopyranoside with 3,4-dihydroxybenzaldehyde by decarboxylative Knoevenagel-type reaction. In the final step of the synthetic route, this condensation gave the desired (E)- α , β -unsaturated ester with excellent stereoselectivity. In this year, we attempted to synthesize disaccharide-type phenylethanoid glycosides, forsythoside A and its analogues, using Knoevenagel condensation as a key reaction. The carboxyacetylated dissaccharide **3**, which was prepared in 6 steps from D-glucopyranosyl acceptor **1** and L-rhamonopyranosyl donor **2**, was treated with 3,4-dihydroxybenzaldehyde (**4**) in the presence of piperidine to afford forsythoside A (**7**) in 60% yield. Under same reaction condition, 4-hydroxybenzaldehyde (**5**) and vanilline (**6**) were reacted with 4-O-carboxyacetylated compound **3** to give the desired (E)- α , β -unsaturated esters **8** and **9** in 61% and 80% yields, respectively. The ^1H and ^{13}C NMR data obtained from synthetic **7**, **8**, and **9** agreed well with the previously reported values for the corresponding natural products.

学会発表

- 1) 小島 勝, 中村 豊, 「パキストリドAおよびBの合成研究」, 第71回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (農工大シンポジウム), 平成28年5月14日, 東京農工大学小金井キャンパス
- 2) 小島 勝, 笹川 美和, 徳永 夏希, 西田 浩志, 中村 豊, 「(R)1,3,4,5-テトラガロイルアピイトール誘導体の合成とその抗酸化作用」, 第72回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (新潟シンポジウム), 平成28年11月26日・27日, 新潟薬科大学新潟駅東キャンパス
- 3) 小島 勝, 児玉 瞳, 中村 豊, 「三糖型フェニルエタノイド配糖体エキナコシドの合成研究」, 第72回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (新潟シンポジウム), 平成28年11月26日・27日, 新潟薬科大学新潟駅東キャンパス

4) 小島 勝, 小武 由奈, 澁谷 夏希, 中村 豊, 「桂皮酸エステルの構築を鍵段階とするフォルシトシドAの合成研究」, 第72回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (新潟シンポジウム), 平成28年11月26日・27日, 新潟薬科大学新津駅東キャンパス

5) 小島 勝, 児玉 瞳, 小武 由奈, 中村 豊, 「クネーフェナーゲル縮合を鍵反応とするフォルシトシドAおよびその類縁体の合成研究」, 日本化学会第97春季年会 (2017), 平成29年3月16日～19日, 慶応義塾大学日吉キャンパス

その他研究活動

中村 豊

論文査読 1 件 (Journal of Fluorine Chemistry)

学外活動

中村 豊

【学会活動】

- 1) 日本化学会
- 2) アメリカ化学会
- 3) 有機合成化学協会 (関東支部常任幹事)
- 4) 国際複素環化学会
- 5) 日本フッ素化学会
- 6) フルオラス科学研究会
- 7) 第72回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (新潟シンポジウム) 実行委員長

【その他学外活動 (社会貢献活動等)】

- 1) 新潟県立新津工業高校デュアルシステム (インターンシップ) 2 名受入 (平成28年7月25日～8月5日)
- 2) 新潟薬科大学教員免許状更新講習講師 (平成28年8月23日, 新潟薬科大学)
- 3) 新潟県高等学校自然科学系クラブ活動報告・研究発表会審査員 (平成28年11月12日, 新発田市生涯学習センター)
- 4) 青少年のための科学の祭典2016新潟県大会演示ブース出展「発泡スチロールを溶かしてみよう」 (平成29年1月28日～1月29日, アオーレ長岡)

小島 勝

【学会活動】

- 1) 日本化学会
- 2) 有機合成化学協会
- 3) 日本糖質学会
- 4) FCCA (Forum of Carbohydrate Coming of Age)

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 「第72回有機合成化学協会関東支部シンポジウム（新潟シンポジウム）」平成28年11月26日（土），
27日（日），新潟薬科大学新津駅東キャンパス，実行委員
- 2) 青少年のための科学の祭典2016新潟県大会演示ブース出展「発泡スチロールを溶かしてみよう」（平成29年1月28日～1月29日，アオーレ長岡）

応用微生物学研究室

Laboratory of Applied Microbiology

■ 教授 高 久 洋 暁 Professor Hiroaki TAKAKU, Ph.D.

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



- ・ 組換え大腸菌による糖から化成品原料の高発酵生産
- ・ 油脂酵母による高付加価値油脂生産システムの開発



- ・ 2-deoxy-scyllo-inosose
- ・ genetic engineering
- ・ oleaginous yeast
- ・ lipid droplet

研究課題

- 1) 組換え大腸菌による糖から化成品原料の高発酵生産
- 2) 油脂酵母による高付加価値油脂生産システムの開発

平成28年度の研究成果

1) 組換え大腸菌による糖から化成品原料の高発酵生産

近年、希少なイノシトール類縁体において有用な生理活性が見出されている。例として多嚢胞卵巣症治療薬としてのchiro-イノシトールの実用化とアルツハイマー治療薬としてのscyllo-イノシトールの実用化が進められている。同様にイノシトール類縁体である(-)-vibo-クエルシトールはマウスを用いた実験において血糖降下作用が報告されている。さらにvibo-クエルシトールから合成される誘導体はグルコシダーゼ阻害剤、グルコセレブロシダーゼ阻害剤としての働きを有することが報告されている。グルコセレブロシダーゼ阻害剤はライソゾーム病やゴーシェ病などの難治性疾患の病理解明に役立つことが期待されている。このようにクエルシトールは数多くの有用な生理活性や物性を有する。しかしながらこれらのクエルシトール異性体は天然には希少であるため、容易に入手することはできない。加えてクエルシトールは水酸基の位置によって16種類の異性体が存在するため、化学合成法による立体選択的合成や精製が非常に困難である。一方、本研究室はクエルシトールの合成前駆体として利用可能な2-deoxy-scyllo-inosose (DOI) をグルコースを原料として組換え大腸菌に大量に生産させる技術を有している。さらに本研究ではDOIを有用な化合物へと変換することのできる酵母の探索を行い、その中からDOIを還元し (-)-vibo-クエルシトールとscyllo-クエルシトールに変換する能力を持つ酵母*Cryptococcus podzolicus* ND1株の単離に成功した。ND1株がDOIのケトン基を還元することから、目的の変換酵素はDOIのようなシクリトールを基質として認識し、酸化還元反応を行うデヒドロゲナーゼである可能性を考えた。そこでイノシトール分解酵素遺伝子が明らかになっている枯草菌*B. subtilis*のイノシトールデヒドロゲナーゼ遺伝子をもとに縮重プライマーを作製し、ND-1株から推定上のイノシトールデヒドロゲナーゼ遺伝子の単離を行った。さらにND-1株より抽

出したRNAを用い、RT-PCR法とRACE法を用いてイノシトールデヒドロゲナーゼの全鎖cDNAのクローニングを行った。得られたイノシトールデヒドロゲナーゼをコードする遺伝子を組換え蛋白発現用プラスミドに連結し、大腸菌を用いて発現・精製を行ったところ、目的のタンパク質はNADH存在下においてDOIを立体選択的に(-)-vibo-クエルシトールへと変換した。

2) 油脂酵母による高付加価値油脂生産システムの開発

世界的な人口増加に伴う油脂の需要増加、バイオディーゼル燃料原料としての新需要、中国、インドなどの市場の巨大化が油脂資源の争奪戦、価格の乱高下を引き起こしている。日本の油脂は輸入に大きく依存し、その油脂自給率はわずか13%であり、その自給率向上は急務課題である。環境保護、農業人口の減少、日本の国土を考えると広大な農地を開拓し、油糧植物の生産拡大は望ましくなく、植物への依存だけでなく、幅広く油脂資源を確保しておくことが必要である。特に国土の狭い日本にあった独自の油脂資源の確保法が求められる。本研究では、その一つの方法として様々なバイオマス由来の糖を資化して細胞内に油脂を高蓄積する油糧微生物による油脂生産に注目した。微生物油脂は植物油脂、動物油脂と異なり、①気候や季節に依存しないこと、②スケールアップが比較的簡単なこと、③様々な炭素源で生育が速いこと、④遺伝子工学的技術を利用して代謝改変が可能なことなど多数の利点を有する。乾燥菌体重量の20%以上油脂を細胞内に蓄積することができる微生物を油糧微生物というが、*Lipomyces starkeyi*, *Rhodospiridium toruloides*, *Rhodotorula glutinis*などの油脂酵母は、乾燥菌体重量の60%以上油脂を細胞内に蓄積することが可能な優秀な微生物である。これらの油脂酵母は、細胞内に植物油脂と脂肪酸組成が類似したトリアシルグリセロール (TAG) を蓄積する。その中でも、油脂酵母*Lipomyces starkeyi*は、細胞内に油脂を75%以上蓄積できるユニークな酵母であり、油脂合成・分解、蓄積という学術的及び産業的価値を有する。しかしながら、産業利用へ展開するためには、油脂生産性向上（油脂生産速度、油脂変換率）が必須である。最近、ゲノム情報が公開され、形質転換系も開発され、遺伝子工学的な改変も可能になってきたが、その油脂合成・分解に大きく関与する遺伝子等の情報が必要である。そこで、*L. starkeyi*油脂高蓄積変異株を取得し、解析することにより、油脂生産性への向上に大きく貢献可能な油脂合成・分解経路の知見を得ることを目的とした。

野生株 *L. starkeyi* CBS1807株に変異源Ethyl methanesulfonate (EMS)を利用して変異導入した。油脂と水の密度の違いより、油脂高蓄積細胞と油脂低蓄積細胞の密度も同様に異なる。すなわち、この密度の違いを利用することにより、油脂高蓄積細胞と油脂低蓄積細胞の分離が可能になると考えた。Percollを用いた密度勾配遠心法で油脂高蓄積株画分を分取し培養、さらに密度勾配遠心分離という操作を繰り返すことで油脂高蓄積株の濃縮を行った。得られた画分溶液をプレートに撒き、シングルコロニー単離を行い、249株の油脂高蓄積変異候補株を得た。249株の油脂生産性について、①油脂染色蛍光試薬Nile redで候補株を染色し、フローサイトメトリーによりその油脂生産性を評価、②顕微鏡で直接油脂の生産性を評価の2段階のスクリーニングを実施したところ、野生株と比較して油脂生産性の高い油脂高蓄積変異株E15, E47, A42の3株の選抜に成功した。

取得した油脂高蓄積変異株E15, E47, A42の油脂生産性を評価するために、500 mlバッフルプラスコスケールで培養し、菌体濁度、細胞濃度、乾燥菌体重量、推定細胞サイズ、培養液中の残存グルコース濃度、油脂生産量を経時的に測定し、細胞あたりの油脂蓄積含量、油脂蓄積量、1日あたりの油脂変換効率、対糖油脂収率、対糖バイオマス収率を求めた。

①菌体濁度

野生株と変異株の間に大きな差はなかった。

②細胞濃度

油脂高蓄積変異株E15の細胞濃度が他の3株と比較して低かった。

③乾燥菌体重量

野生株と比較して変異株の乾燥菌体重量は重かった。

④推定細胞サイズ

野生株と比較して変異株の推定細胞サイズは大きく、特にE15が大きかった。

⑤残存グルコース濃度

変異株のグルコース減少速度はどれも野生株の減少速度よりも速かった。

⑥油脂生産量

変異株の油脂生産量はどれも野生株の油脂生産量よりも高く、特にE15が高かった。

培養4日目の油脂高蓄積変異株E15の油脂生産量は、野生株の2倍を示した。また、油脂蓄積含量及び対糖油脂収率は野生株の1.6倍程度を示し、3つの油脂高蓄積変異株の中で最も油脂生産性が高かった。

Research projects and annual reports

1) High fermentative production of chemicals from glucose using recombinant *Escherichia coli*

Recent studies have shown that inositol analogues have significant physiological roles in various biological systems. As an example, *chiro*-inositol as therapeutic agent for polycystic ovary syndrome has already been used. Furthermore *scyllo*-inositol as therapeutic agent for alzheimer's disease has been examined in view of practical use. Similarly, *vibo*-quercitol, *myo*-inositol analogue, has been reported to have the effect of hypoglycemia in the mouse experiments. In addition, *vibo*-quercitol derivatives have been reported to act as glucocerebrosidase and glucocerebrosidase activity inhibitors. Glucocerebrosidase activity inhibitor is expected to serve as the elucidation of pathologic characteristics of Gaucher's disease or Lysosome disease. Thus, quercitol has a lot of valuable bioactivities and physical properties. However, it is not easy to obtain these quercitol analogues because only a little exists in nature. Moreover, the stereoselective synthesis and purification of quercitol is very difficult to exist 16 kinds of isomers varied in the position of hydroxyl groups. On the other hand, we can effectively produce 2-deoxy-*scyllo*-inosose (DOI), a precursor for quercitol derivatives, using metabolically engineered recombinant *Escherichia coli* from glucose. When we tried to isolate yeasts, which are able to convert DOI into valuable compounds, the yeast *Cryptococcus podzolicus* ND-1 converting DOI into *vibo*-quercitol or *scyllo*-quercitol was isolated. We predicted that the DOI-converting enzymes recognized DOI as a substrate and catalyzed the oxidation-reduction reaction because the ketone group of DOI was reduced by *C. podzolicus* ND-1. For cloning DOI-converting enzyme gene from *C. podzolicus* ND-1, we constructed the degenerate primer sets designed against *Bacillus subtilis*, *C. neoformans*, *C. gattii*, *Dothistroma septosporum*, *Fusarium oxysporum*, and *F. graminearum* *myo*-inositol dehydrogenase, which has NADH or NADPH-dependent ketone reductase activity. A part of a *myo*-inositol dehydrogenase gene homolog was amplified from *C. podzolicus* ND-1 genomic DNA using the above degenerated primers. Using the obtained DNA sequence information of *C. podzolicus* *myo*-inositol dehydrogenase gene, full-length cDNA of *C. podzolicus* *myo*-inositol dehydrogenase was cloned by RACE and RT-PCR methods from *C. podzolicus* ND-1 total RNA. The open reading frame region of *C. podzolicus* *myo*-inositol dehydrogenase was ligated to the expression plasmid vector and was transformed into *Escherichia coli* DH5 α . *C. podzolicus* *myo*-inositol dehydrogenase expressed in *E. coli* was purified and characterized. As a result, the

enzyme can convert DOI into *vibo*-quercitol with concomitant conversion NADH to NAD⁺

2) Development of high-value lipid production system by oleaginous yeast

Demand augmentation of oils with worldwide population growth has caused a scramble of oils and erratic fluctuation of a value. Biodiesel, one of next generation fuels, is mainly produced by alcoholysis of edible vegetable oils. The usage of edible oils as a biodiesel feedstock is often controversial because of the competition with food production. Extensive use of edible oils may cause other significant issues such as starvation in developing countries and obstruction of edible oil import in low oily self-sufficiency countries. The above issue is important for us due to only 13% of oily self-sufficiency in Japan. Due to the decrease in agricultural population and the extent of land area in Japan, we cannot expect an increased yield of oil plant. Therefore, we need an original lipid production system in low oily self-sufficiency countries.

Microbial oils have many advantages over plant oils or animal fats as described below.

1. Independence of climate and season
2. Ease of scaling up
3. High growth rates on various carbon sources
4. Simplicity of metabolic regulation of lipid producing microbes by genetic engineering tools

Therefore, oleaginous microorganisms with lipids in excess of 20% of their biomass dry weight might become excellent oil feedstocks. Some yeasts, such as *Lipomyces starkeyi*, *Rhodosporidium toruloides*, and *Rhodotorula glutinis*, can store intracellular lipids within cells to up to 60% of their cell dry weight. In these oleaginous yeasts, triacylglycerols (TAGs), which have a fatty acid composition similar to that of plant oils used as food and energy sources, mainly accumulate as storage lipids. *L. starkeyi* is one of the most widely known oleaginous microorganisms and is able to accumulate TAGs to up to 75% of its dry cell weight. Thus, *L. starkeyi* is a unique yeast strain of great industrial potential as a lipid producer. The complete genome sequence of *L. starkeyi* is now available, and genetic tools for the transformation, multicopy integration, and expression of heterologous genes have recently been reported for this yeast. However, there are issues of lipid productivity (lipid production rate and lipid conversion efficiency) for commercial applications.

In this study, we aimed the isolation of *L. starkeyi* mutants accumulating a high level of lipid. *L. starkeyi* mutants with high accumulation of lipid were isolated following mutagenesis with Ethyl methanesulfonate. Since a density of cells with a high level of TAG was expected to be lower than that of wild-type cells, mutagenized wild-type cells were subjected to Percoll density gradient followed by collection of low-density fractions to enrich cells with a high level of TAG. The enrichment fractions were spread on the plates of YPD agar medium. Plates were incubated for 3 days at 30°C to observe the colonies of yeast. After culturing for 3 days at 30°C in S5 medium (5 ml) of each isolate, Flow cytometry and microscope analysis were performed. Then, we obtained three mutants with a high level of TAG, A42, E15, and E47.

We compared the growth, glucose consumption rate and lipid productivity of wild-type and mutant (A42, E15, E47) strains grown in at 30°C in S5 medium (75 ml).

1. Turbidity

There is no difference between wild-type and mutants.

2. Cell concentration

Only the cell concentration of E15 was low compared with other strains.

3. Dry cell weight

Three mutants, A42, E15 and E47, were heavier than the wild-type.

4. Cell size

Only the cell size of E15 was big in comparison with other strains.

5. Glucose consumption rate

The glucose consumption rates of three mutants were fast more than the wild-type.

6. Lipid productivity

Three mutants, A42, E15 and E47, have the excellent lipid productivity compared to the wild-type.

The lipid amount of E15 was increased 2-fold compared with the wild-type on day 4.

The lipid content and lipid yield of E15 were elevated 1.6-fold compared with the wild-type on day 4.

Thus, E15 mutant was the most excellent lipid producer.

学術論文

- 1) Yoshifumi Oguro, Harutake Yamazaki, Satoshi Ara, Yosuke Shida, Wataru Ogasawara, Masamichi Takagi and Hiroaki Takaku. Efficient gene targeting in non-homologous end-joining-deficient *Lipomyces starkeyi* strains, *Curret Genet*, 63(4) : 751-763, 2017
- 2) 高久 洋暁, 小黒 芳史, 山崎 晴丈, 高木 正道 “酵母 *Pichia pastoris* による植物由来抗菌タンパク質 AFP1 の生産と AFP1 の作用メカニズムの解析” *生物工学会誌*, 94(5), 255-258, 2016
- 3) 高久 洋暁, 山崎 晴丈, 志田 洋介, 小笠原 渉 “微生物によるキノコ廃菌床からの化学工業原料生産システム開発” *環境技術*, 45(5), 239-245, 2016
- 4) 高久 洋暁, 山崎 晴丈 “油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* における遺伝子組換えシステムの構築とその応用” *オレオサイエンス*, 17(3), 107-116, 2017
- 5) 提箸 祥幸, 栃原 孝志, 高久 洋暁, 矢頭 治 “イネいもち病菌およびカンジダに抗菌活性を有するディフェンシンタンパク質のカラシナ種子からの単離” *農研機構研究報告中央農研*, 1, 13-24頁, 2017

学会発表

【海外学会・国際会議】

- 1) Hiroaki Takaku, Yoshifumi Oguro, Masamichi Takagi, Harutake Yamazaki, Establishment of a new genetic transformation system and its application for genetic engineering on lipid production in the oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi*, IBS 2016, the 17th International Biotechnology Symposium and Exhibition, Melbourne, Australia 24-27 October 2016

- 2) Harutake Yamazaki, Sayaka Ebina, Shiho Abe, Yosuke Shida, Wataru Ogasawara, Masamichi Takagi, and Hiroaki Takaku, Isolation and characterization of oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* mutants accumulating a high level of triacylglycerol, IBS 2016, the 17th International Biotechnology Symposium and Exhibition, Melbourne, Australia 24-27 October 2016

【国内学会・国際会議】

- 1) Atsushi Miyata, Pham Khanh Dung, Yosuke Shida, Harutake Yamazaki, Kazuo Masaki, Kazuki Mori, Satoru Kuhara, Hiroaki Takaku, Wataru Ogasawara, ANALYSIS OF RELATIONSHIP BETWEEN LIGHT RESPONSE AND LIPID PRODUCTION IN THE OLEAGINOUS YEAST *Rhodospiridium toruloides*, The 5th International GIGAKU Conference in Nagaoka (IGCN2016), Nagaoka, Japan 6-7 October 2016
- 2) Dung Pham Khanh, Atsushi Miyata, Yosuke Shida, Harutake Yamazaki, Kazuo Masaki, Kazuki Mori, Satoru Kuhara, Hiroaki Takaku, Wataru Ogasawara, ANALYSIS OF LIPID PRODUCTION IN THE OLEAGINOUS YEAST *Rhodospiridium toruloides*, The 5th International GIGAKU Conference in Nagaoka (IGCN2016), Nagaoka, Japan 6-7 October 2016
- 3) Sayaka EBINA, Shiho ABE, Harutake YAMAZAKI, and Hiroaki TAKAKU, Isolation of Industrial Oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* Mutants Accumulating a High Level of Lipid, International Conference on Food for Health in Niigata 2016, Niigata, Japan 10-11 November 2016
- 4) Manari SANO, Harutake YAMAZAKI, and Hiroaki TAKAKU, Metabolic engineering of oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* for over production and secretion of fatty acids from glucose, International Conference on Food for Health in Niigata 2016, Niigata, Japan 10-11 November 2016
- 5) Suzuka KOBAYASHI, Harutake YAMAZAKI, and Hiroaki TAKAKU, Expression profile of genes responsible for lipid production in oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* mutant K13 exhibiting high lipid accumulation, International Conference on Food for Health in Niigata 2016, 新潟, 2016年11月10日-11日

【国内学会・国内会議】

- 1) 小林 鈴花, 海老名 沙也佳, 阿部 史歩, 山崎 晴丈, 志田 洋介, 小笠原 渉, 高久 洋暁, 油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* の油脂高蓄積変異株の取得と油脂合成・分解関連重要遺伝子の同定, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月17日-3月20日
- 2) 佐野 真那理, 志田 洋介, 小笠原 渉, 山崎 晴丈, 高久 洋暁, 油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* における脂肪酸の分泌発酵生産, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月17日-3月20日
- 3) 海老名 沙也佳, 春日 琴葉, 志田 洋介, 小笠原 渉, 山崎 晴丈, 高久 洋暁, 油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* における油脂高蓄積変異株の育種, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月17日-3月20日

- 4) 鈴木 涼子, 山崎 晴丈, 伏信 進矢, 高久 洋暁, アミノ酸置換による2-deoxy-scyllo-inosose (DOI) 合成酵素活性の強化, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月17日-3月20日
- 5) 荒 学志, 川崎 優気, 山崎 晴丈, 高久 洋暁, 組換え大腸菌による糖からの (-) -vibo-quercitol の高発酵生産, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月17日-3月20日
- 6) Dung Pham Khanh, Atsushi Miyata, Yosuke Shida, Harutake Yamazaki, Kazuo Masaki, Kazuki Mori, Kosuke Tashiro, Satoru Kuhara, Hiroaki Takaku, Wataru Ogasawara, Analysis of light response mechanisms in carotenoid synthesis of the yeast *Rhodospiridium toruloides*, 第68回日本生物工学会大会, 富山, 2016年9月28日-30日
- 7) 宮田 淳史, 志田 洋介, 山崎 晴丈, 正木 和夫, 森 一樹, 田代 康介, 久原 哲, 高久 洋暁, 小笠原 渉, 油脂生産酵母 *Rhodospiridium toruloides* の突然変異導入による油脂生産向上因子の同定, 第39回日本分子生物学会年会, 横浜, 2016年11月30日-12月2日
- 8) 岩本 孝信, 宮田 淳史, Pham Khanh Dung, 志田 洋介, 山崎 晴丈, 正木 和夫, 森 一樹, 久原 哲, 高久 洋暁, 小笠原 渉, 油脂生産酵母 *Rhodospiridium toruloides* の油脂およびカロテノイド生産の相関解析, 第11回 日本ゲノム微生物学会年会, 神奈川, 2017年3月2日~4日

特許出願

- 1) 高久 洋暁, 荒 学志, 山崎 晴丈 特願2016-127068「2-デオキシーシロイノソース還元活性を有する微生物, 組成物, 及びポリペプチド, ポリヌクレオチド, 発現カセット, ベクター, 形質転換体, 当該ポリペプチドの製造方法, 並びにクエルシトールの製造方法」出願日: 平成28年6月27日
- 2) 高久 洋暁, 山崎 晴丈, 和田 光史, 宮澤 大輔 特願2017-061572「変異型2-デオキシーシロイノソース合成酵素」出願日: 平成29年3月27日

その他研究活動

高久 洋暁

【受賞】

平成28年度長瀬研究振興賞

【招待講演】

- 1) 高久 洋暁, 小黒 芳史, 山崎 晴丈, 高木 正道「油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* における形質転換系の確立と油脂生産メカニズム解析への応用」, 第11回新産業酵母研究会講演会, 新産業酵母研究会, 東京, 2016年5月20日
- 2) 高久 洋暁, 「油脂酵母の油脂蓄積能向上へ向けて」, 第6回合成生物学シンポジウム, 神戸大学バイオプロダクション次世代農工連携拠点, 神戸, 2016年7月28日

山崎 晴丈

論文査読 3 件 (The Journal of General and Applied Microbiology誌 2 件, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry誌 1 件)

外部資金

【科研費】

- 1) 高久 洋暁 (研究代表者): 基盤研究 (C) 課題番号15K07372「油脂酵母の油脂生産メカニズムの解明」平成27年度～平成29年度
- 2) 山崎 晴丈 (研究代表者): 若手研究 (B) 課題番号15K21466「G0細胞におけるテロメア維持機構の解析」平成27年度～平成29年度

【受託研究・共同研究】

- 1) 高久 洋暁, 山崎 晴丈 (研究分担者): NEDO委託事業「非可食性植物由来化学品製造プロセス技術開発」(課題名: 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) 平成25年度～平成29年度
- 2) 高久 洋暁, 山崎 晴丈 (研究分担者): NEDO委託事業「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」(課題名: 高生産性微生物創製に資する情報解析システムの開発) H28年度～H32年度
- 3) 高久 洋暁, 山崎 晴丈 (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)「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」平成28年度～平成30年度

【助成金】

- 1) 高久 洋暁 (研究代表者): 公益財団法人内田エネルギー科学振興財団 平成28年度試験研究費助成「有用稀少糖アルコール (クエルシトール) 合成酵素の取得とその特性解析」
- 2) 高久 洋暁 (研究代表者): 公益財団法人長瀬科学技術振興財団 平成28年度研究助成「油脂酵母による油脂合成・分解メカニズムの解明とその応用」

学外活動

高久 洋暁

【学会活動】

- 1) 日本農芸化学会
- 2) 日本生物工学会
- 3) 酵母細胞研究会
- 4) 新産業酵母研究会 (運営委員, 会計)

- 5) バイオマス利活用研究会（幹事）
- 6) 日本エネルギー学会バイオマス部会

【学外活動（公的機関）】

農林水産省競争的資金 1次（書面）審査専門評価委員（農林水産・食品産業技術振興協会）

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) SSH課題講師（新潟南高校）
- 2) 平成28年7月25日 佐渡中等教育学校出張講義
- 3) 免許状更新講習講師「遺伝子組換え技術の進展と将来展望」，2016年8月18日，新潟薬科大学

山崎 晴丈

【学会活動】

- 1) 日本農芸化学会
- 2) 日本生物工学会
- 3) 酵母細胞研究会
- 4) 新産業酵母研究会

食品分析学研究室

Laboratory of Food Analysis

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

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



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
・血圧上昇抑制効果 ・グリセミックインデックス

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。

平成28年度の研究成果

1) 高脂肪高糖給餌ラットにおける水耕栽培桑の抗肥満効果

桑は古くから養蚕の飼料としてあるいは生薬として用いられるなど、日本では馴染み深い植物である。近年、血糖値上昇抑制効果や抗肥満効果などの機能性を有していることが明らかとなり、機能性食品としても注目されている。本研究では世界初めて開発実用化された水耕栽培桑に注目し、高脂肪高糖給餌ラットを用いて、その機能性について検討を行った。その結果、桑根摂取群の体重が高脂肪高糖摂取群の値に比べ有意に低値を示すことが明らかとなった。これらの結果は、桑根がメタボリック症候群発症予防効果を有する食品素材になる可能性を示している。

2) 高脂肪高糖給餌ラットにおける越後白雪茸抽出分画の抗肥満作用

越後白雪茸は新潟県で発見された新種のキノコであり、抗酸化作用、免疫賦活作用、抗肥満作用を有していることが知られている。越後白雪茸水抽出物を用いて検討を行った結果、抗肥満効果、内臓脂肪蓄積抑制効果、肝機能改善効果を有していることを明らかにすることができた。そこで、本研究では、越後白雪茸水抽出物エタノール沈殿残渣分画と逆相系分取カラムを使用して調製したメタノール抽出分画を用いて、それらの抗肥満効果について検討を行った。その結果、越後白雪茸水抽出物含有高脂肪高糖飼料摂取群の体重は、高脂肪高糖飼料摂取群の体重の値に比べ有意に低値を示すことが明らかとなった。

更に、逆相系分取カラムを用いてられたメタノール抽出分画に血漿中インスリン濃度を低く推移させる成分が含まれていることが明らかとなった。

3) 「高脂肪シヨ糖給餌ラットにおける乳酸菌発酵甘酒の抗肥満効果

甘酒は酒粕から作れるもの（酒粕甘酒）と米麴から作れるもの（米麴甘酒）に分類される。酒粕甘酒には抗肥満効果、血圧上昇抑制効果、血中コレステロール濃度上昇抑制効果が報告されており、主に酒粕由来の成分が起因していると考えられている。一方、米麴甘酒は平安時代から栄養価の高い飲料として親しまれており、整腸作用や美肌効果などが知られている。また、乳酸菌にも整腸作用がある。そこで、本研究では高脂肪シヨ糖給餌ラットを用いて、米麴から作れる甘酒及び乳酸菌発酵甘酒の抗肥満効果について検討を行った。その結果、乳酸菌発酵甘酒凍結乾燥粉末含有高脂肪シヨ糖摂取群の血漿中遊離脂肪酸濃度が高脂肪シヨ糖摂取群の値に比べ、低値を示すことが明らかとなった。これらの結果は、乳酸菌発酵甘酒の摂取によって腸内環境の改善および脂質代謝改善効果が期待できることを示している。

4) ダチョウ肉摂取における鉄欠乏性貧血改善効果の検討

本研究で用いたダチョウ肉は近年食用として注目されている肉であり、脂質は非常に少ない一方、カルノシンなどのアミノ酸や鉄分を多く含有していることが知られている。しかし、ダチョウ肉を用いた貧血に対する機能性については研究がほとんどなされていない。そこで本研究では、ラットの鉄欠乏性貧血モデルを用い、ダチョウ肉の鉄欠乏性貧血改善効果について検討を行った。その結果、ダチョウ肉は日常的な鉄分補給のための食材としては有用であることが示唆された。

5) チアミ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

加湿器は皮膚の保湿効果を期待されて一般家庭に広く普及している。本研究に用いたマイナスイオンナノミスト発生装置は10~500 nmの水滴を発生させる装置であり、ヒトの毛穴よりも小さいミストを発生させるため皮膚への浸透性が高いことが知られており、水溶性物質の皮膚動態を含めた体内動態が変動する可能性がある。そこで、水溶性のビタミンであるチアミンに着目し、チアミ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について検討を行った。その結果、チアミンモノリン酸の体内動態がマイナスイオンナノミストの暴露によって変動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の暴露によって解糖系の回転に影響を及ぼしている可能性を示していると考えられた。

6) プロポフォールの体内動態に及ぼす脂肪乳剤の影響

静脈麻酔薬として一般的に使用されているプロポフォールは、代謝が早いこと蓄積性が少なく、術後の悪心嘔吐の発生率が低いこと、神経伝達を阻害しないことから、脳神経外科手術・脊椎手術で頻用されている。また、プロポフォールはベンゾジアゼピン系の鎮静薬と異なり、特異的な拮抗薬が存在せず、過量によって覚醒が遅延した場合、代謝が進むのを待つ他なく、臨床の場においてその対処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症状が改善されることが報告されており、その作用機序は、「血管内に投与された脂肪ミセルに脂溶性の局所麻酔薬が吸着されることで、中毒組織内の局所麻酔薬濃度が低下する」というLipid Sink Theoryが提唱されている。そこで、ラットを用いて、プロポフォールの体内動態に及ぼす脂肪乳剤の影響について検討を行った。その結果、脂肪乳剤を定速注入した場合、定常状態の血漿中プロポフォール濃度は1.54 $\mu\text{g/mL}$ であり、脂肪乳剤非定速注入群の値（0.86 $\mu\text{g/mL}$ ）に比べ、約2倍に上昇することが明らかとなった。更に、消失の動態については両群に大きな差

は認められず，脂肪乳剤はプロポフォルの分布容積に大きく影響することが明らかとなった。

Research projects and annual reports

1) Antihyperlipidemic effect of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim) Harms leaves in high-fat-diet fed mice.

BACKGROUND: Metabolic syndrome is a major risk factor for a variety of obesity-related diseases. Recently, the effects of functional foods have been investigated on lipid metabolism as a means to reduce lipid content in the blood, liver and adipose tissues associated with carnitine O-palmitoyltransferase (CPT) activity. *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim) Harms (AS) is a medicinal herb possessing a wide spectra of functions including antioxidant, anti-inflammatory and anti-fatigue actions. Despite much research being focused on the cortical roots of AS, little information is available regarding its leaves, which are also expected to promote human health, for example by improving abnormal lipid metabolism. Here, we explored whether AS leaves affect lipid metabolism in mice fed a high-fat diet.

RESULTS: The administration of AS to BALB/c mice fed a high-fat diet significantly decreased plasma triglycerides (TG). CPT activity in the liver of these mice was significantly enhanced by AS treatment.

CONCLUSION: These findings indicate that AS leaves have the potential to alleviate increase in plasma TG levels due to high-fat diet intake in mice, possibly by increasing mitochondrial fatty acid β -oxidation, especially via CPT activation. Consequently, daily intake of AS leaves could promote beneficial health effects including the prevention of metabolic syndrome.

2) Simultaneous Quantitation of Advanced Glycation End Products in Soy Sauce and Beer by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry without Ion-Pair Reagents and Derivatization

The aim of this study was to develop a simple and sensitive method to analyze several advanced glycation end products (AGEs) simultaneously using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and to apply this method to the quantitation of AGEs in brown-colored foods. The developed method enabled to separate and quantitate simultaneously seven AGEs, and was applied to the determination of free AGEs contained in various kinds of soy sauce and beer. The major AGEs in soy sauce and beer were N ϵ -carboxymethyllysine (CML), N ϵ -carboxyethyl-lysine (CEL), and N δ -(5-hydro-5-methyl-4-imidazolone-2-yl)ornithine (MG-H1). Using the developed LC-MS/MS method, recovery test on soy sauce and beer samples showed the recovery values of 85.3-103.9% for CML, 95.9-107.4% for CEL, and 69.5-123.2% for MG-H1. In particular, it is the first report that free CML, CEL, and MG-H1 were present in beer. Furthermore, long-term storage and heating process of soy sauce increased CML and MG-H1.

学術論文

1) Nishida M, Kondo M, Shimizu T, Saito T, Sato S, Hirayama M, Konishi T, Nishida H.

“Antihyperlipidemic effect of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim) Harms leaves in high-fat-diet fed mice.”
J Sci Food Agric. ; 96(11) : 3717-22., (2016)

2) Yuri Nomi, Hironori Annaka, Shinji Sato, Etsuko Ueta, Tsuyoshi Ohkura, Kazuhiro Yamamoto, Seiichi Homma, Emiko Suzuki, and Yuzuru Otsuka.

“Simultaneous Quantitation of Advanced Glycation End Products in Soy Sauce and Beer by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry without Ion-Pair Reagents and Derivatization”

J. Agric. Food Chem. ; 64, 8397-8405, (2016)

学会発表

- 1) 丸田 優人, 石川 修平, 笹川 克己, 櫻井 美仁, 能見 祐理, 越中 敬一, 佐藤 眞治, 「持久性運動ラットにおける異なるインスリン分泌刺激強度糖質の筋グリコーゲン蓄積効果」, 第70回日本栄養・食糧学会, 2016年5月13日(金)～5月15日(日), 神戸市
- 2) Yuri NOMI, Hironori ANNAKA, Akira TANI, Shinji SATO and Yuzuru OTSUKA “Simultaneous Quantification of Advanced Glycation End Products in Soy Sauce and Beer by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry without Ion-Pair Reagents and Derivatization”, 健康と食品に関する新潟国際会議2016, 2016年11月10～11日, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター
- 3) Shinji SATO, Misato SAKURAI, Yuri NOMI and Yusuke KOGA “Antiobesity Effect of Basidiomycetes-X (Echigoshirayukidake) in High Fat High Sucrose Fed Rats”, 健康と食品に関する新潟国際会議2016, 2016年11月10～11日, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター
- 4) 能見 祐理, 安中 博紀, 谷 晃, 佐藤 眞治, 大塚 譲: 最終糖化生成物AGEsのLC-MS/MSによる分析法の開発と褐変食品試料への適用: 日本食品科学工学会第63回大会: 名古屋: 2016年8月(口頭発表)
- 5) 能見 祐理 「LC-MS/MSによる最終糖化生成物AGEsの分析法の開発と褐変食品試料への適用」, 日本食品分析学会平成28年度学術集会, 東京, 2016年9月
- 6) 能見 祐理 「最終糖化生成物AGEsのLC-MS/MSによる一斉分析法の開発と食品試料への適用」, 日本分析化学会第30回新潟地区部会研究発表会, 新潟, 2016年9月

著 書

Nomi Y and Otsuka Y: Useful and accurate method for Simultaneous Quantitation of Advanced Glycation End Products by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry without Ion-Pair Reagents and Derivatization. IMARS Highlights 2017, *in press*

特許出願

特願2016-082424

【発明者】佐藤 眞治, 小西 徹也, 渡辺 哲男

【発明の名称】抗肥満組成物及びこれを用いたサプリメント及び飲料並びに肥満防止方法

その他研究活動

能見 祐理

論文査読 3 件：(Food Science and Technology Research 2 件, Journal of Cookery Science of Japan 1 件)

外部資金

【科研費】

能見 祐理（研究代表者）：若手研究（B）課題番号15K16195「高極性メイラード反応生成物に着目した一斉分析法の開発と食品の安全性評価手法の確立」平成27年度～平成29年度

【受託研究・共同研究】

- 1) 佐藤 眞治：民間企業 3 件（共同研究費）
- 2) 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」（共同研究費）

【助成金】

佐藤 眞治：(公) 内田エネルギー科学振興財団 平成28年度試験研究費助成「ビタミンと抗酸化物質の体内動態に及ぼすマイナスイオンナノミストサウナの影響」

学外活動

佐藤 眞治

【学会活動】

- 1) 日本薬学会
- 2) 日本栄養・食糧学会
- 3) 日本食品科学工学会
- 4) 日本食物繊維学会
- 5) 日本農芸化学会
- 6) 日本食品分析学会（委員）
- 7) 日本分析化学会（関東支部新潟地区部会の幹事）

【学外活動（公的機関）】

- 1) 公私立大学実験動物施設協議会（代議員）
- 2) 新潟県食品技術研究会（副会長）
- 3) 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）
- 4) 新潟市健幸づくり応援食品認定制度推進委員会（委員）
- 5) 日本GI研究会

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 平成28年度 新潟薬科大学市民講座 健康自立講座 講演「メタボ予防の生活習慣（早寝，早起き，朝ご飯）」（2015年5月21日（土）14：00～15：30，新潟日報メディアシップ6階ナレッジルーム）
- 2) イノベーション・ジャパン2016 - 大学見本市&ビジネスマッチングー 出展（2016年8月25－26日，東京ビッグサイト）
- 3) 平成28年度 亀田商工会議所 講演「メタボリック症候群を予防する食習慣」，（2016年11月4日（金）16：00～17：30，亀田商工会議所）
- 4) にいがた食と健康に関するマッチングフォーラム ポスター発表「米穀由来バイオエタノール発酵残渣の生活習慣病予防効果」，（2017年3月14日（火），新潟日報メディアシップ）

能見 祐理

【学会活動】

- 1) 日本農芸化学会
- 2) 日本食品科学工学会
- 3) 日本家政学会
- 4) 日本分子生物学会

【学外活動（公的機関）】

日本女子大学家政学部通信教育課程「食品加工及び貯蔵学Ⅰ・Ⅱ」非常勤講師

食品・作物資源利用学研究室

Food and Crop Resources Utilization Laboratory

■ 教授 大 坪 研 一

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，大麦等の食品・作物資源の品質評価及び利用・加工に関する研究



・ 米 ・ 麦 ・ 食味 ・ 機能性 ・ 加工食品

研究課題

- (1) 米の新しい食味評価技術の開発（共同研究）
- (2) 各種の米の食味評価（共同研究）
- (3) 米の機能性と良食味の両立に関する研究（科研費基盤研究（B））
- (4) 認知症予防効果の期待される米飯，米加工食品の開発（S I P）
- (5) 大麦の利用特性に関する研究（学部内共同研究）
- (6) 米加工による機能性の向上に関する研究（地域戦略プロ，地方創生プロ，科研費挑戦的萌芽研究）

平成28年度の研究成果

(1) 米の新しい食味評価技術の開発（共同研究）

本研究課題では，米を対象として，簡易・低コストかつ高精度の食味評価技術を開発することを目的としている。本年度は，当研究室で開発し，これまで澱粉特性の評価に適用してきたヨード呈色多波長走査分析の新たな活用を図り，①米飯物性評価への適用，②貯蔵中の古米化指標である脂肪酸度の推定への適用を可能にした。すなわち，米デンプンあるいは米粉を試料とし，ヨード呈色を400nmから900nmまで多波長走査分析し，そこから得られる $\lambda_{\max}$ ， $A_{\lambda_{\max}}$ ， $New \lambda_{\max}$ などの新指標を説明変数とする重回帰分析によって，米飯の硬さ，粘り，バランス度，古米化指標の脂肪酸度などを目的変数とする推定式を開発し，未知試料による検定を行って各推定式の適用性を確認した。

(2) 各種の米の食味評価（共同研究）

本研究においては，近年作付けが増加し，品質向上も著しい各種の中国産ジャポニカ米および産地間競争の激化している各種の国産ブランド米を対象とし，アミロース，タンパク質，少糖類等の食味関連成分

の分析、米粉の糊化特性試験、米飯の外観評価、物性測定等による食味理化学特性評価を行い、対象米の特性を明らかにすることを目的とした。各種中国産米の評価では、東北3省、天津市および江蘇省等の11種類のジャポニカ米の食味特性を明らかにし、国産ブランド米に比べて、多様なデンプン特性を示すこと、タンパク質含量が高く、プロラミン含量の多い品種のあること、ヨード呈色多波長分析によるアミロース含量推定式が、中国産ジャポニカ米にも適用可能であること ($R^2=0.99$) を明らかにした。また国産ブランド米15品種および秋田県産米13種類の食味の理化学特性も明らかにした。

(3) 米の機能性と良食味の両立に関する研究（科研費基盤研究（B））

本研究においては、各種の米の食味と機能性を両立させる研究を行っている。本年度は、新潟大学で開発中の高温耐性新品種米の食味特性および韓国の新形質米を対象に研究を行った。高温耐性新品種は、親品種であるコシヒカリに比べて、ほぼ同等のデンプン特性、タンパク質特性、米飯物性を示したが、年間差異がやや大きく、28年産はやや硬い米飯物性を示した。韓国の超硬質米「Goami2」は日本の超硬質米「EM72」に対し、更に硬質で、より難消化性が強く、より食味の劣る結果となった。韓国の粉状質米の「Seolgaeng」は日本の粉状質米の「こなゆきの舞」と比べ、良食味米である「コシヒカリ」等に近い数値が多く、特に良食味指標であるBreakdownが「コシヒカリ」より高いことから、粉状質米であることにもかわらず良食味である可能性が示され、それが官能検査でも裏付けられた。

(4) 認知症予防効果の期待される米飯、米加工食品の開発（SIP）

本研究では、認知症予防効果の期待される高圧処理米飯および米加工食品を開発することを目的としている。本年度は、黒米および黒大豆の抗酸化性が強く、高圧加工によって、抗酸化性、 β セクレターゼ阻害活性等がさらに向上することを見いだした。また、黒米、黒大豆を添加した米飯は、動物飼育試験により、食後血糖上昇抑制効果も示された。コシヒカリ玄米と黒米玄米を6：4の割合に配合し、高圧処理後に無菌米飯としてヒト単回投与試験を行った結果、食後血糖上昇抑制効果およびアミロイド β 産生増加抑制効果が認められた。

(5) 大麦の利用特性に関する研究（学部内共同研究）

本研究においては、大麦の利用特性、特に米と配合して炊飯した場合及び米と配合して製麺した場合の物理特性の変化を明らかにすることを目的とした。デンプン特性では、コシヒカリに比べ、「ゆきみ六条」の方が高いアミロース含量で、超長鎖が多く、老化しやすいことが示された。もち大麦はアミロースを含まなかった。飯の物性では、「ゆきみ六条」が最も硬く、もち大麦、コシヒカリの順となった。大麦を30%配合した飯では、「ゆきみ六条」の場合、硬くなって粘りが減少し、もち大麦の場合は、やや軟らかくなるが、粘りは約半分に減少した。大麦麺の場合はやや着色が認められた。

(6) 米加工による機能性の向上に関する研究（地域戦略プロ、地方創生プロ、科研費挑戦的萌芽研究）

本研究においては、各種の加工により、機能性を向上させることを目的とした。湿熱処理による玄米の場合、処理条件を強くすると、リパーゼが失活し、貯蔵中の古米化が抑制される効果が見いだされた。麴糖化米の場合、ポリフェノール及び抗酸化性の向上とACE阻害効果の増加が認められた。赤タマネギ添加発芽玄米の場合、抗酸化性および β セクレターゼ阻害効果が認められた。これらの各種の加工により、各種の機能性が向上する効果が明らかになった。

Research projects and annual reports

(1) Development of novel method to evaluate palatability of rice grains

The objective of this research is to develop novel methods, which are simple, low-cost, rapid and highly precise, to evaluate the palatability of rice grains. As we developed “iodine colorimetric scanning method”, we tried it to apply for estimation of physical properties of cooked rice grains, and for estimation of fat acidity, indicator of quality deterioration during the storage. It became possible to develop the estimation formulae by the multiple regression analyses using novel parameters, such as λ max, $A \lambda$ max, New λ max. And we carried out validation tests using unknown rice samples.

(2) Evaluation of palatability of various kinds of rice cultivars

The objective of this research is to evaluate the palatability and characteristics of Japanese high-quality rice cultivars and Chinese principal Japonica rice cultivars measuring amylose, protein, oligosaccharides, pasting property, apparent quality, and physical properties. It became possible to apply our iodine method to Chinese Japonica rice cultivars. They showed diversified starch properties and contained more proteins compared with Japanese cultivars. Some Chinese cultivars showed more prolamin contents than Japanese ones.

(3) Investigation on bio-functionality and palatability of rice grains

The objective of this research is to promote both the palatability and bio-functionality of rice grains. We chose two kinds of mutant rice cultivars, which are “resistant cultivar against high-temperature”, and “Korean specialty rice”. The former cultivar showed rather harder texture compared with control cultivar, Koshihikari. “Goami2”, one of the latter cultivar showed harder texture and higher resistant starch content than the Japanese mutant rice “EM72”. “Seolgaeng”, another cultivar of the latter ones showed soft texture and high breakdown value in the pasting properties. “Goami2” is promising in terms of bio-functionality and “Seolgaeng” is promising in terms of palatability.

(4) Development of cooked rice and rice products promising prevention of dementia

The aim of this investigation is to develop the promising cooked rice and rice products for prevention of dementia. Among the various agricultural products, we selected purple rice and black soybean as materials for rice products because of high resistance against oxidation and inhibitory activity against β -secretase activity. After high-pressure treatment we prepared aseptic rice, which was subjected to the animal feeding test and human test. The results showed that it is promising because it was resistant to the postprandial increase of blood glucose and it inhibited the abrupt increase of amyloid β in blood after meal.

(5) Investigation on processing suitability of barley grains

The objective of this research is to clarify the characteristics of rice-barley blended products in terms of physical properties. It was clarified that barley promotes the hardness and dietary fiber of the blended products. Appearance of the cooked rice and noodle was deteriorated by the addition of barley to the rice products.

(6) Investigation on bio-functionality accelerated by processing of rice grains

The objective of this research is to promote the bio-functionality of the rice products by the processing. It was shown that lipase lost activity and decomposition of fat was inhibited by the heat-moisture treatment. We clarified that fermentation of rice by *Aspergillus oryzae* enhanced polyphenol contents and ACE inhibitory activity. Germination of brown rice in the red-onion solution enhanced anti-oxidation capacity and β -secretase inhibitory activity. These various processing technologies were shown to be promising for the promotion of bio-functionality of the diversified rice products.

学術論文

- 1) S. Nakamura, T. Hara, T. Joh, A. Kobayashi, A. Yamazaki, K. Kasuga, T. Ikeuchi, K. Ohtsubo: Effects of super-hard rice bread blended with black rice bran on amyloid β peptide production and abrupt increase in postprandial blood glucose levels in mice, Biosci. Biotechnol. Biochem., 81(2), 323-334, 2017.
- 2) Sumiko Nakamura, Jing Cui, Xin Zhang, Fan Yang, Ximing Xu, Hua Sheng, Ken'ichi Ohtsubo: Comparison of eating quality and physicochemical properties between Japanese and Chinese rice cultivars, Biolsci. Biotechnol. Biochem., 80(12), 2437-2449, 2016.

学会発表

【国際学会】

- 1) 水稲品質・食味研究国際トップフォーラム 大坪 研一ほか6名：日本産および中国産のジャポニカ米の食味の物理化学的評価，中国天津市，2016年8月9日
- 2) 北方稲作科学技術協会講演会 大坪 研一：米の食味とその評価，中国瀋陽市，2017年3月5日

【国内学会】

- 1) 日本食品科学工学会 大坪 研一，中村 澄子，土田ちひろ，阿部 聖一，松井 崇晃，石崎 和彦：新潟県の水稲晩生新品種「新之助」の食味特性
- 2) 日本応用糖質科学会 大坪 研一，田村みなみ，福山 誠司，菅原 雅通，耐馬 諒介，渡邊真由香，石崎 和彦，松井 崇晃，中村 澄子：コシヒカリの食味特性の系譜
- 3) 日本水稲品質・食味研究会 大坪 研一，中村 澄子，土田ちひろ，阿部 聖一，松井 崇晃，石崎 和彦：新潟県の晩生新品種「新之助」の特性について
- 4) 日本農芸化学会 大坪 研一，菅原 雅通，中村 澄子：赤タマネギ添加発芽玄米の糖尿病および認知症の発症予防の可能性
- 5) 新潟大学脳研究所第7回国際シンポジウム Sumiko Nakamura, Masatoyo Nishizawa, Takeshi Ikeuchi,

Akira Yamazaki, Atsushi Kobayashi, Takashi Hara, Toshio Joh, Ken'ichi Ohtsubo: Preliminary test for dementia prevention by foodstuff and preparation of functional bread, 新潟市, 2017年3月10日

6) 日本応用糖質科学会 中村 澄子, 崔 晶, 張 欣, 楊 帆, 生 華, 大坪 研一: 日本産及び中国産のジャポニカ米の食味特性評価, 福山市, 2016年9月13日

7) 日本農芸化学会 中村 澄子, 奥村 寿子, 菅原 正義, 大坪 研一: 各種の湿熱処理玄米の物理化学特性の評価, 京都市, 2017年3月28日

著書・総説

1) K. Ohtsubo & S. Nakamura: Evaluation of palatability of cooked rice, Advances in international rice research, pp.91-110, Intech, 2016.

2) 大坪 研一: 穀類 (特集: 日本食品標準成分表2015年版), 臨床栄養, 129(1), pp18-29, 2016.

3) 大坪 研一: 米デンプンの食文化と機能性, Functional Food, 10(2), 72-77, 2016.

特許取得

大坪 研一, 中村 澄子, 石山 了治, 養田 武郎, 江川 和徳: 無塩発酵味噌を含む米加工食品の製造方法, 日本特許第6051808号, 2016年12月9日登録

外部資金

【科研費】

1) 大坪 研一 (研究代表者): 基盤研究 (B) 課題番号15H02891「生物的, 物理的手法による良食味で難消化性の加工米飯の開発及び機能発現機構の解明」平成27年度～平成29年度

2) 大坪 研一 (研究代表者): 挑戦的萌芽研究 課題番号26560043「赤タマネギ添加による種子の発芽促進機構の解明」平成26年度～平成28年度

【受託研究・共同研究】

1) 大坪 研一 (研究代表者), 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・個別型)「複合機能性を有する高付加価値包装米飯等の開発」

2) 大坪 研一 (研究分担者), 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: 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

- 3) 大坪 研一（研究分担者）、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：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
- 4) 大坪 研一（研究分担者）：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」（共同研究費）
- 5) 大坪 研一、中村 澄子：民間企業からの受託研究（米の食味評価）
- 6) 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）
- 7) 大坪 研一、中村 澄子：新潟県農業総合研究所食品研究センターからの受託研究（米製粉時の水蒸気処理が米粉食品への加工性に及ぼす影響の評価）

【その他】

学部内共同研究奨励費：六条大麦の特性評価体制と大麦商品のビジネスモデルの構築

学外活動

大坪 研一

【学会活動】

- 1) 日本水稲品質・食味研究会副会長
- 2) DNA鑑定学会理事
- 3) 日本食品科学工学会代議員
- 4) 日本応用糖質科学会代議員
- 5) 日本食品保蔵科学会代議員

【学外活動（公的機関）】

- 1) 農林水産省農食事業専門PO
- 2) 新潟県米産業創出技術研究会企画委員
- 3) 新潟市食文化創造都市協議会副議長
- 4) 佐渡市生物多様性佐渡戦略推進会議委員
- 5) 新潟食の国際賞財団理事

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 全国瑞穂食糧検査協会評議員
- 2) 日本精米工業会炊飯委員会委員

中村 澄子

【学会活動】

- 1) 日本水稻品質・食味研究会
- 2) 日本食品科学工学会
- 3) 日本応用糖質科学会

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：100 MPa以上の超高压を食品素材に施すことで、細胞構造や生体成分の変化が生じる。このような現象を解明し利用することで、機能性成分の富化、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ならびに環境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、様々なフィールドへの応用を目指す。

平成28年度の研究成果

1) 高压技術を利用した新規日本酒醸造プロセスの開発

日本酒の火入れを高压処理に代替することで、生酒等の風味できるだけ損なわず保存性を向上させる新規な醸造技術の開発を目指した研究を進めている。

活性にごり酒、生酒試料を用いて高压処理の条件を検討した。400 MPa（室温）の高压処理を10 min施すことで、酵母と乳酸菌は検出されなかった。一方、この高压処理では試料中に検出された芽胞菌と思われる細菌の生菌数、また麹菌由来の各酵素活性が減少せず、今後の課題が提起された。

出芽酵母の圧力感受性変異株a924E1株を用いて、醸造用酵母に圧力感受性を付与する手法を開発した。醸造用酵母K7株の一倍体を接合させた二倍体株を作出し、圧力感受性株を作出した。本株を用いて、小スケールの日本酒醸造（小仕込み）試験を行ったところ、わずかにオフフレーバーの発生が認められたが、

K7株と同等の発酵能を示した。

圧力感受性酵母を用いた新規日本酒醸造プロセスを完成させるために、米麴由来の雑菌および麹菌の酵素を不活性化することが望ましい。そこで、米麴による糖化工程の後、殺菌および酵素不活性化を行い、その後無菌的に圧力感受性酵母を酒母として添加するプロセスを構築し、糖化・発酵性能を検討した。

2) 高圧技術を利用した芽胞の殺菌技術の開発

高圧処理による枯草菌の芽胞の耐熱性減少機構を解析した。耐熱性が減少した高圧処理（200 MPa, 25～65℃, 500 MPa, 40～65℃）を施した芽胞は密度が低下しており、内部への水の浸入が示唆された。芽胞の発芽に伴い放出されるジピコリン酸の放出挙動を解析した結果、200 MPa, 室温および40℃の条件では、芽胞の発芽レセプターに依存した発芽が生じ、その結果、耐熱性が減少することが示唆された。一方、200 MPa, 50℃および65℃, 500 MPa, 40～65℃の高圧処理では、発芽レセプターに依存しない耐熱性の減少が生じていることが示唆された。

3) 出芽酵母の細胞内代謝に及ぼす非致死的高圧処理の影響

出芽酵母を15 MPaの高圧条件下で培養した。生菌数の減少は見られなかったが、大気圧下と比べて著しく増殖とガス発生が抑制された。CE-MSにより細胞内代謝物を解析したところ、解糖系においてグルコースからグルコース-6-リン酸が生成される反応、クエン酸回路においてアセチルCoAからクエン酸が生成される反応が、それぞれ顕著に阻害されていることが示された。

4) 高圧処理による食品の機能性向上に関する研究

バナナに400 MPa (室温) の高圧処理を10 min施し、除圧後3 days保存したところ、抗酸化活性の増加が認められた。バナナのメタノール抽出物をHPLCにより分析したところ、抗酸化活性の増加に相関するピークが認められた。このピークを分画して、質量分析計でネガティブモードの分析を行った結果、 m/z 値485, 325, 311のイオンが検出された。

5) 微生物のコロニー形成機構に関する研究

微生物の寒天培地でのコロニー形成機構を解明することを目的に、大腸菌一遺伝子欠損ライブラリ(Keio Collection)を用いてコロニー形成率を解析した。電子伝達系複合体IVを構成する $cydB$ 遺伝子の欠失により、大腸菌のコロニー形成率が低下した。野生株に対して複合体IVの機能を阻害するアジ化ナトリウムを添加したところ、やはりコロニー形成率が低下した。電子伝達系複合体IVの機能がコロニー形成に重要な働きを示すことが示唆された。

6) 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

嫌気性廃水処理プロセスに生息する未培養微生物である *Caldiserica*門に属する未培養細菌 (OP5細菌) およびCandidate phylum WWE1に属する未培養細菌 (WWE1門細菌) の分離培養を試みた。これまでの実験からOP5門細菌は嫌氣的に酢酸を分解することが示唆されていたため、酢酸およびイーストエキストラクトを基質とした培地で限界希釈法による分離培養を行った。集積培養系に対して次世代シーケンス解析による微生物群集構造解析を適用した結果、未培養OP5細菌およびWWE1門細菌がそれぞれ全体の30.9%, 98.5%まで優占する集積培養系を得ることができた。

7) 新津川自噴石油成分を分解する微生物の分離培養と微生物群集構造解析

新津川に自噴する石油の生物処理プロセスの確立を目指し、新津川石油汚染土壌および流出河川底泥中の原油分解に関与する原核生物の分離培養および微生物群集構造解析を行った。新津川自噴石油の主成分であるオクタデカンを主成分とした寒天培地を用いて好気性オクタデカン分解細菌の分離培養を行った結果、12種の細菌を分離することができた。完全混合型リアクターを用いた嫌気性オクタデカン分解細菌の集積培養の結果、投入有機物に対して92.6%の除去能を有する混合培養系を得ることができた。嫌気的アルカン分解に関与するアルキルコハク酸合成酵素をコードする*assA*遺伝子のRFLP解析の結果、多様な制限酵素パターンが検出されたことから、複数種の嫌気的アルカン分解細菌が存在することが示唆された。

8) 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法は、通常のFISH法と比較して高感度な検出が可能となる一方、巨大な分子量のHRP (Horseradish peroxidase)標識プローブを用いるため細胞への浸透性が悪く、適切な細胞壁処理を必要とするが、全ての微生物に等しく適用可能な処理方法は提唱されていない。本研究は、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、CARD-FISH法における適用可能性をモデル微生物である大腸菌細胞を用いて検証した。高压処理条件および高压条件下における温度条件を検討した結果、高压処理がCARD-FISH法における細胞壁処理として利用可能である可能性が見出された。

9) 下水処理DHSリアクターにおける水理学的滞留時間がウイルス除去性能に与える影響

途上国に適用可能な下水処理技術として認知されるDHSリアクターにおける、下水中に存在するヒト感染性ウイルスの除去性能を明らかにすることを目的に、DHSリアクターにおける水理学的滞留時間 (HRT) がウイルス除去性能に及ぼす影響を調査した。10種類のヒト感染性ウイルスを同時に定量可能なMFQ-PCR法を構築し、下水およびDHS処理水のウイルス濃度を経時的にモニタリングした。結果、HRTを延長するほどウイルス除去性能は向上することが明らかとなった。

10) 乳酸発酵甘酒の摂取がラットの腸内細菌叢に与える影響

乳酸発酵甘酒を食餌することによる動物の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。結果、乳酸発酵甘酒を食餌したラットにおいて、長期(3ヶ月)試験では腸内細菌叢の改善効果を示唆する微生物構成比は示さなかったが、短期間(1ヶ月)での食餌においては肥満との関連が報告されている*Allobaculum*属細菌の減少、脂肪の分解に関与すると考えられる*Bacteroides*属細菌の増加など腸内細菌叢の改善が示唆された。

Research projects and annual reports

1) Development of a new Sake-brewing process integrated with high-hydrostatic pressure (HHP) technology

We are developing a new Sake-brewing process integrated with HHP technology, instead of conventional thermal pasteurization. This process can increase shelf life of the produced Sake while retaining the original sensory properties of Nama-Sake (unpasteurized Sake).

The samples of Nama-Sake were subjected to HHP. After HHP treatment at 400 MPa (ambient temperature) for 10 min, viable counts of yeasts and lactic acid bacteria were not detected. In contrast, some bacteria (possibly spore

forming bacteria) and enzyme activities were detected even after the HHP treatment. Further optimization of HHP treatment conditions is still undergoing.

A method was developed for generation of pressure sensitive (piezosensitive) strains of budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* using the piezosensitive strain a924E1. Using this method, we generated a piezosensitive strain from *Sake* yeast strain K7. The resulting strain was used for a *Sake*-brewing process in our laboratory and showed approximately comparable fermentation ability with strain K7, although it produced compounds generating off-flavors.

To develop the new *Sake*-brewing process with the piezosensitive yeast strain, it is important to inactivate of bacteria and enzymes from the rice *Koji*. For an alternative process, a single plural fermentation process was considered, which consists of saccharification, sterilization and subsequent fermentation processes, separately.

2) Development of inactivation technique of bacterial spores by HHP technology

The mechanism for decrease in thermotolerance of *Bacillus subtilis* spores by HHP was investigated. After HHP treatment conditions (200 MPa with 25 to 65°C, 500 MPa with 40 to 65°C), the densities of the spores decreased, possibly due to the integration of water. Analysis of the emission behavior of dipicolinic acid (DPA) from the spore suggested that HHP at 200 MPa with 25 to 40°C could lead spores to germinate via functions of germination receptors, resulting in decreased thermotolerance. In contrast, HHP at 200 MPa with 50 and 65°C and 500 MPa with 40 to 65°C were suggested to lead spores decreased thermotolerance without functions of germination receptors.

3) Influence of sub-lethal pressure on metabolisms of budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae was cultivated under pressure at 15 MPa. Although no decrease in viable count, remarkable suppression of growth and gas generation was observed at 15 MPa, compared with cultivation under atmospheric pressure. Analysis of metabolites using CE-MS showed that the following reactions were significantly inhibited: synthesis of glucose-6-phosphate from glucose in the glycolytic pathway and synthesis of citric acid from acetyl-CoA in the citric acid cycle.

4) Research on improvement of food functions by HHP

The antioxidant activity of banana was increased by HHP at 400 MPa (ambient temperature) for 10 min and subsequent storage for 3 days. The HPLC analysis of methanol extract of banana revealed HHP-dependent increase of a compound, which would be correlated with the antioxidant activity. The compound was separated and analyzed by MS/MS with negative mode. Three anions with the *m/z* values of 485, 325 and 311 were detected.

5) Research on mechanism for colony-forming in microorganisms

To investigate the mechanism of microbial colony-forming on agar media, the colony-forming abilities of some mutants in *Escherichia coli* Keio Knockout Collection were analyzed. As the results, the deletion of *cydB* gene, which encodes a subunit for the complex IV in the electron transport chain, was shown to decrease the colony forming ability. Cultivation of the wildtype *E. coli* strain with sodium azide, which inhibits the function of the complex IV, also showed decreased colony forming ability. The function of the complex IV in the electron transport chain was suggested to be important for colony forming of *E. coli* on agar medium.

6) Enrichment of uncultured microorganisms abundantly detected in methane fermentation process treating municipal wastewater.

We tried to isolate yet-to-be cultured microorganisms that frequently detected in anaerobic wastewater treatment processes. Our previous experiments suggested that uncultured OP5 bacteria, belonging to the phylum *Caldiserica*, might decompose acetate syntrophically with hydrogenotrophic methanogen. To isolate of these uncultured microbes, serial dilution culture method with a medium containing acetate and limited yeast extract as major carbon sources was performed. As a result, we successfully enriched not only the uncultured OP5 bacteria but also a WWE1 bacterium, belonging to uncultured lineage at the phylum level.

7) Prokaryotic community analysis of crude oil artesian area and cultivation of indigenous aerobic-anaerobic petroleum degrading microorganisms

In order to develop a biological treatment process for artesian crude oil in Niitsu river, microbial community analysis and isolation of crude oil degrading bacteria in oil contaminated soil and sediment on the river site were conducted. Regarding isolation of aerobic oil-degrading bacteria using agar medium containing octadecane as a major component of the crude oil, we could obtain several types of bacteria belonging to various taxonomic groups. By the cultivation of anaerobic octadecane-degrading bacteria using an anaerobic completely stirred tank reactor (CSTR), we successfully constructed a biological octadecane-degrading process, with 92.6% COD removal efficiency on influent organic matter. PCR-RFLP analysis for *assA* gene encoding alkyl succinate synthase, involved in anaerobic alkane-degradation, suggested that wide variety of anaerobic alkane-degrading bacteria were present in the reactor.

8) Investigation of microbial cell wall treatment by high pressure technology for catalyzed reporter deposition-fluorescence in situ hybridization (CARD-FISH).

Although a CARD-FISH technique allows specific detection of target microorganisms with high sensitivity compared with a conventional FISH, it uses an HRP-labeled probe with a high molecular weight, so it has low permeability to microbial cells and requires proper cell wall treatment. In this study, we focused on high-pressure technology as a new cell-wall treatment method in terms of the CARD-FISH. Applicability in the CARD-FISH was verified using *Escherichia coli* cells as a model microorganism. As a result of verification for high-pressure and temperature treatment conditions, the possibility that high-pressure treatment could be applied as the cell wall treatment for the CARD-FISH was found.

9) Influence of the operating conditions on the removal efficiency for human-infectious-viruses in a DHS reactor

To clarify the removal efficiency of human infectious viruses present in municipal wastewater using a DHS reactor, the virus removal performance of DHS reactor was investigated. MFQ-PCR method, capable of simultaneously quantify 10 types of human infectious viruses, was constructed and virus concentration of raw sewage and DHS effluent was monitored. As a result, it became clear that the virus removal performance improves with longer HRT.

10) The influence of intestinal bacterial flora with intake of lactic acid fermented *Amazake*

The effect of lactic acid fermented *Amazake* on the intestinal bacterial flora was investigated by 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis. As a result, in the rats fed with lactic acid fermented *Amazake*, with long-term (3 months) test did not show the composition of microorganisms suggesting the effect of improving intestinal flora. It suggested improvement of intestinal bacterial flora, such as decrease of *Allobaculum* sp., related to obesity and increase *Bacteroides* sp., thought to be involved in decomposition of fat for short term (one month) test.

学術論文

- 1) 重松 亨, 野村 一樹, 林 真由美, 井口 晃徳, 高圧力発酵制御技術に向けた出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae*における圧力感受性機構の解析, 高圧力の科学と技術, 第27巻, 第1号, pp. 40-48, 2017.
- 2) Tsutomu Okubo, Akinori Iguchi, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Shigeki Uemura and Hideki Harada, Treatment performance of practical-scale down-flow hanging sponge reactor using sixth-generation hard sponge media, Desalination and Water Treatment, In press, 2017.
- 3) Naoki Nomoto, Muntjeer Ali, Komal Jayaswal, Akinori Iguchi, Masashi Hatamoto, Tsutomu Okubo, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Tadashi Tagawa, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi and 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, In press, 2017.
- 4) 野本 直樹, T. V. Kumar, M. Ali, J. Komal, N. Maharjan, 井口 晃徳, 幡本 将史, 大久保 努, 高橋 優信, 久保田健吾, 多川 正, 上村 繁樹, 山口 隆司, 原田 秀樹, 開発途上国における実機スケールDHSリアクターのスタートアップ特性および高有機物負荷条件下における有機物処理性能, 水環境学会誌, Vol.40, No.1, pp.11-19, 2017.
- 5) Naohiro Kobayashi, Mamoru Oshiki, Toshihiro Ito, Takahiro Segawa, Masashi Hatamoto, Tsuyoshi Kato, Takashi Yamaguchi, Kengo Kubota, Masanobu Takahashi, Akinori Iguchi, Tadashi Tagawa, Tsutomu Okubo, Shigeki Uemura, Hideki Harada, Toshiki Motoyama, Nobuo Araki, Daisuke Sano, Removal of human pathogenic viruses in a down-flow hanging sponge (DHS) reactor treating municipal wastewater and health risks associated with utilization of the effluent for agricultural irrigation, Water Research, Vol. 110, pp. 389-398, 2017.
- 6) 井口 晃徳, 佐々木波輝, 長谷川大地, 林 真由美, 原田 秀樹, 重松 亨, ファージディスプレイ法を用いた *Shewanella algae* 菌体特異的ペプチドの選抜と菌体回収への適用, 土木学会論文集G (環境), Vol.72, No.7, III_325-III_332, 2016.
- 7) 長町 晃宏, 井口 晃徳, 瀬戸 雄太, 久保田健吾, 押木 守, 荒木 信夫, 大久保 努, 上村 繁樹, 高橋 優信, 原田 秀樹, 多川 正, 一次沈殿+DHSシステムによる衛生指標微生物の処理性能評価. 土木学会論文集G (環境), Vol.72, No.7, III_187-III_195, 2016.
- 8) Shigeaki Ueno, Mayumi Hayashi, Norihito Kimizuka and Toru Shigematsu “Effect of freezing storage and high hydrostatic pressure on microbial viability in liquid whole egg-sucrose mixture” Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers, 33 (3), 273-277 (2016年9月)

学会発表

- 1) 伊藤 俊輔, 佐藤 伸吾, 林 真由美, 野村 一樹, 山口 利男, 井口 晃徳, 重松 亨「好気呼吸機能関連遺伝子が微生物のコロニー形成に及ぼす影響」日本農芸化学会2017年度大会, 口頭発表(発表番号2C19a09), 京都女子大学, 京都(2017年3月17日~20日)(発表は18日)
- 2) 野村 一樹, 星野 浩史, 田中絵莉果, 中島加奈子, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨「圧力感受性ミトコンドリア供与による圧力感受性清酒酵母株の作出」日本農芸化学会2017年度大会, 口頭発表(発表番号3C23a02), 京都女子大学, 京都(2017年3月17日~20日)(発表は19日)
- 3) 平澤 貴昭, 中原 健太, 小林 裕紀, 中島加奈子, 木戸みゆ紀, 林 真由美, 野村 一樹, 井口 晃徳, 重松 亨「耐熱性の減少を目的とした加圧処理による枯草菌芽胞の状態変化の解析」日本農芸化学会2017年度大会, 口頭発表(発表番号3C17a07), 京都女子大学, 京都(2017年3月17日~20日)(発表は19日)
- 4) 倉島 優仁, 千葉 有紀, 佐藤 江美, 野村 一樹, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨, 幡本 将史, 山口 隆司, 原田 秀樹「下水処理UASBプロセスに生息する未培養微生物群の検出と分離培養の試み」第51回日本水環境学会年会, ポスター発表L-085, 講演集p.664, 熊本大学, 熊本(2017年3月15日~17日)発表は15日
- 5) 森 亮太, 鈴木浩史朗, 橋本健太郎, 野村 一樹, 林 真由美, 小瀬 知洋, 井口 晃徳, 重松 亨「原油自噴地域における微生物群集構造解析と原油分解細菌の分離培養の試み」第51回日本水環境学会年会, 口頭発表2-A-11-4, 講演集p.167, 熊本大学, 熊本(2017年3月15日~17日)発表は16日
- 6) 川崎 真央, 松尾実可子, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 井口 晃徳, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 縮合リン酸エステル類難燃剤製剤中の副生物の毒性評価, 第51回日本水環境学会年会, L-097, pp.676, 熊本, (2017.3.15-17).
- 7) 景政 柊蘭, 長町 晃宏, 多川 正, 久保田健吾, 井口 晃徳, 押木 守, 荒木 信夫, 大久保 努, 上村 繁樹, 高橋 優信, 原田 秀樹, 乾燥途上国における下水の灌漑再利用のための処理システムの開発, 第51回日本水環境学会年会, L-069, pp.648, 熊本, (2017.3.15-17).
- 8) 田中 周弥, 大久保 努, 上村 繁樹, 多川 正, 井口 晃徳, 押木 守, 荒木 信夫, 高橋 優信, 久保田健吾, 原田 秀樹, 下水灌漑におけるウイルスを対象とした健康リスク評価, 第51回日本水環境学会年会, L-053, pp.632, 熊本, (2017.3.15-17).
- 9) 井口 晃徳, 久保田健吾, 稲葉 愛美, 原田 秀樹, 大久保 努, 上村 繁樹, 長町 晃宏, 多川 正, 押木 守, 荒木 信夫, 瀬戸 雄太, 幡本 将史, 山口 隆司, 高橋 優信, 下水処理DHSリアクターの運転条件がウイルス除去性能に及ぼす影響, 第51回日本水環境学会年会, 3-F-14-1, pp.440, 熊本, (2017.3.15-17).

- 10) 長町 晃宏, 景政 柊蘭, 多川 正, 井口 晃徳, 押木 守, 荒木 信夫, 大久保 努, 上村 繁樹, 久保田健吾, 高橋 優信, 原田 秀樹, 初沈+DHS システムにおける処理水質の長期安定性に関する検証, 第51回日本水環境学会年会, 3-F-13-3, pp. 438, 熊本, (2017.3.15-17)
- 11) 野本 直樹, 幡本 将史, 山口 隆司, 原田 秀樹, 井口 晃徳, 大久保 努, 高橋 優信, 久保田健吾, 多川 正, 上村 繁樹, インドアグラ市に建設された実規模スケール下水処理DHSリアクター有機物処理特性, 第51回日本水環境学会年会, 1-H-15-3, pp. 139, 熊本, (2017.3.15-17).
- 12) Shigeaki Ueno, Shoji Sasao, Mayumi Hayashi, Toru Shigematsu and Tetsuya Araki “Innovative quality modification of barley flour by high hydrostatic pressure.” International Conference on Food for Health in Niigata 2016 (ICFHN2016), P-05, abstract book p. 26, Niigata Convention Center “Toki Messe”, Niigata (Nov. 10, 11, 2016) ポスター発表 (発表は10日)
- 13) Toru Shigematsu, Naho Furukawa, Ryo Takaoka, Mayumi Hayashi, Shoji Sasao, Shigeaki Ueno, Kanako Nakajima, Miyuki Kido, Kazuki Nomura and Akinori Iguchi “Effect of high pressure on saccharification of starch in tuberous root of sweet potato (*Ipomoea batatas*)” International Conference on Food for Health in Niigata 2016 (ICFHN2016), P-19, abstract book p. 40, Niigata Convention Center “Toki Messe”, Niigata (Nov. 10, 11, 2016) ポスター発表 (発表は10日)
- 14) Kazuki Nomura, Yuki Kuwabara, Wataru Kuwabara, Hiroyuki Takahashi, Kanako Nakajima, Mayumi Hayashi, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu “Characterization of inactivation behavior at pressure-temperature diagram in *Saccharomyces cerevisiae* for establishment of pressure regulated fermentation technology.” International Conference on Food for Health in Niigata 2016 (ICFHN2016), P-22, abstract book p. 43, Niigata Convention Center “Toki Messe”, Niigata (Nov. 10, 11, 2016) ポスター発表 (発表は10日)
- 15) 伊藤 俊輔, 林 真由美, 野村 一樹, 井口 晃徳, 重松 亨, 電子伝達系が微生物のコロニー形成に及ぼす影響, 第34回土木学会関東支部大会新潟会研究調査発表会, ハイブ長岡, 新潟, (2016.11.2).
- 16) 野村 一樹, 井口 晃徳, 岩橋 均, 重松 亨「ミトコンドリア電子伝達系の阻害による出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の高圧感受性の向上」第57回高圧討論会講演要旨集p. 152, 筑波大学, つくば(2016年10月26日～29日, 発表は27日)
- 17) 重松 亨, 古川 奈穂, 高岡 稜, 林 真由美, 笹尾 翔士, 上野 茂昭, 中島加奈子, 木戸みゆ紀, 野村 一樹, 井口 晃徳「サツマイモにおける澱粉の糖化反応に及ぼす高圧処理の影響」第57回高圧討論会講演要旨集p. 154, 筑波大学, つくば(2016年10月26日～29日, 発表は27日)
- 18) Akinori Iguchi, Kengo Kubota, Akihiro Nagamachi, Yuta Seto, Manami Inaba, Mamoru Oshiki, Nobuo Araki, Tsutomu Okubo, Shigeki Uemura, Masanobu Takahashi, Tadashi Tagawa, Hideki Harada, Removal efficiency regarding human infectious viruses through a Down-flow Hanging Sponge reactor treating municipal wastewater, International Society for Food and Environmental Virology 2016 (ISFEV2016), Kusatsu, pp. 13-15, Sept., 2016.

- 19) Akinori Iguchi, Hiroyuki Nagai, Makoto Tachibana, Tsutomu Okubo, Mayumi Hayashi, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi, Toru Shigematsu, Kengo Kubota and Hideki Harada “ Microbial community composition of practical-scale DHS reactor treating municipal wastewater in India.” Water and Environment Technology Conference 2016, WET2016 Program and Abstract p. 64, Oral and Poster presentations (4B-02), Korakuen campus, Chuo Univ., Tokyo (Aug. 27, 28, 2016, 発表は28日)

- 20) 重松 亨, 田中絵莉果, 野村 一樹, 中島加奈子, 林 真由美, 井口 晃徳「高圧殺菌工程を組み込んだ醸造プロセスのための圧力感受性酵母二倍体の作出と発酵特性」日本食品工学会第17回(2016年度)年次大会, 講演要旨集p. 82, 東京海洋大学, 東京(2016年8月4日, 5日, 発表は5日)

- 21) 平澤 貴昭, 中原 健太, 小林 裕紀, 中島加奈子, 林 真由美, 野村 一樹, 井口 晃徳, 重松 亨「枯草菌胞子の熱耐性減少を目的とした圧力処理と蛍光色素透過性の評価」日本食品工学会第17回(2016年度)年次大会, 講演要旨集p. 83, 東京海洋大学, 東京(2016年8月4日, 5日, 発表は5日)

- 22) Kazuki Nomura, Yuki Kuwabara, Wataru Kuwabara, Hiroyuki Takahashi, Kanako Nakajima, Mayumi Hayashi, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu “Inactivation behavior of barosensitive and barotolerant mutant strains from *Saccharomyces cerevisiae* characterized by combination of pressure and temperature” 9th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB2016), p. 42, Oral presentation, University of Toronto, Canada (July 25 to 29, 2016, 発表は25日)

- 23) Toru Shigematsu, Naho Furukawa, Ryo Takaoka, Mayumi Hayashi, Shoji Sasao, Shigeaki Ueno, Kanako Nakajima, Miyuki Kido, Kazuki Nomura and Akinori Iguchi “Effect of high pressure on saccharification of starch in sweet potato (*Ipomoea batatas*) root” 9th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB2016), p. 42, Oral presentation, University of Toronto, Canada (July 25 to 29, 2016, 発表は28日)

- 24) Akinori Iguchi, Kengo Kubota, Mamoru Oshiki, Tadashi Tagawa, Tsutomu Okubo, Shigeki Uemura, Nobuo Araki, Hideki Harada, Evaluation of down-flow hanging sponge reactor: Virus removals and microbial ecology. TICAD VI Pre-event; The 3rd International symposium for the Promotion of Science and Technology Innovation Cooperation between Africa and Japan. -Life Innovation and Green Innovation- Tokyo, July 13, 2016.

- 25) Akinori Iguchi, Kengo Kubota, Mamoru Oshiki Tadashi Tagawa, Tsutomu Okubo, Shigeki Uemura, Nobuo Araki, Hideki Harada, Environmental Education Class (EEC) in Egypt. TICAD VI Pre-event; The 3rd International symposium for the Promotion of Science and Technology Innovation Cooperation between Africa and Japan. -Life Innovation and Green Innovation- Tokyo, July 13, 2016.

- 26) Shigeki Uemura, Tsutomu Okubo, Shota Uchida, Mamoru Oshiki, Nobuo Araki, Tadashi Tagawa, Akinori Iguchi, Ahmed Tawfik, Amr Fleifle, Kengo Kubota, Hideki Harada, Evaluation of disability-adjusted life year and microbial risk to the farmers using agricultural drainage water for irrigation in west Nile delta, TICAD VI Pre-event; The 3rd International symposium for the Promotion of Science and Technology Innovation Cooperation between Africa and Japan. -Life Innovation and Green Innovation- Tokyo, July 13, 2016.

その他研究活動

重松 亨

Microbes and Environments論文編集 (Associate Editor) 5 件

High Pressure Research論文査読 3 件

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry論文査読 1 件

Bioresource Technology論文査読 1 件

Journal of Bioscience and Bioengineering論文査読 2 件

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

Biophysical Chemistry論文査読 1 件

井口 晃徳

Microbes and Environments論文査読 1 件

Journal of Water and Health論文査読 1 件

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry論文査読 1 件

外部資金

【科研費】

重松 亨 (研究分担者), 井口 晃徳 (研究分担者): 挑戦的萌芽研究 課題番号26630249「セシウムの吸収・濃縮に関わるきのこ遺伝子の特定とこれを利用した革新的技術の開発」研究代表者: 山内 正仁 (鹿児島工業高等専門学校 都市環境デザイン工学科) 平成26年度～平成28年度

【受託研究・共同研究】

- 1) 重松 亨 (研究代表者), 井口 晃徳 (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)「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」 平成28年度～平成30年度
- 2) 井口 晃徳 (研究分担者): 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)「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」, 研究代表者: 宝田 恭之 (群馬大学 大学院理工学府) 平成28年度～平成30年度
- 3) 井口 晃徳 (研究分担者): 文部科学省 社会システム改革と研究開発の一体的推進 先導的創造科学技術開発費補助金 (分担)「乾燥地域における灌漑再利用のための革新的下水処理技術の開発」研究代表者: 原田 秀樹 (東北大学大学院 工学研究科)
- 4) 重松 亨 (研究分担者), 井口 晃徳 (研究分担者): 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」 (共同研究費)

【助成金】

井口 晃徳（研究代表者）：公益財団法人内田エネルギー科学振興財団 平成28年度試験研究費助成「新津川に自噴する原油の浄化を目的とした省エネ・創エネ型のバイオプロセスの開発」

【奨学寄付金】

重松 亨：1件（民間企業／研究・教育助成）

【その他】

井口 晃徳（研究代表者）：応用生命科学部 若手教員研究奨励費「超高压技術によるCARD-FISH法適用のための細胞壁処理の検討」

学外活動

重松 亨

【学会活動】

- 1) 日本農芸化学会（代議員，関東支部会参与）
- 2) 日本微生物生態学会（英文誌Associate Editor）
- 3) 日本生物工学会
- 4) 日本水環境学会
- 5) 日本食品工学会
- 6) 日本高圧力学会
- 7) 土木学会

【学外活動（公的機関）】

- 1) 放送大学 客員教授「暮らしに役立つバイオサイエンス」担当
- 2) H・P未来産業創造研究会 顧問
- 3) 上越市 坂口謹一郎博士顕彰委員会 委員
- 4) 上越市 坂口謹一郎博士生誕120周年記念事業実行委員会 委員
- 5) 4大学メディアキャンパス 副キャンパス長
- 6) 日本食品工学会第17回(2016年度)年次大会実行委員会 委員
- 7) 食品と健康に関する新潟国際会議2016 (ICFHN2016) 実行委員会 委員
- 8) 平成28年8月25日 平成28年度 第60回農業実験実習講習会 講師
- 9) 平成28年10月29日 高等教育コンソーシアムにいがた 新潟県内大学・短期大学合同説明会2016参加（模擬授業担当）
- 10) 平成28年11月11日 健康ビジネスサミットうおぬま会議2016「高圧技術活用促進シンポジウム」講師
- 11) 平成28年11月25日 平成28年度メディアキャンパス連携講座シニア世代の健康げんき講座 講師
- 12) 平成28年12月6日 高田高等学校スーパーサイエンスハイスクール(SSH) 講師
- 13) 平成28年12月14日～16日 アグリビジネス創出フェア 2016出展（ポスター・セミナー講師）
- 14) 平成28年11月26日～27日 青少年のための科学の祭典, 新潟県・上越大会, 演示実験講師
- 15) 平成29年3月14日 新市場創出を目指した技術シーズプレゼンテーション 出展

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 平成28年7月1日 村上高等学校 出張講義
- 2) 平成28年8月21日 平成28年本学オープンキャンパス実験講座
- 3) 平成28年9月26日 日本文理高等学校 出張講義
- 4) 平成28年10月6日 日本文理高等学校 ガイダンス参加
- 5) 平成28年10月21日 新発田市地域交流センター 会場形式進学相談会 参加
- 6) 平成29年2月2日 新井高等学校 出張講義
- 7) 平成29年3月16日 加茂高等学校 出張講義
- 8) 平成29年3月22日 高田農業高校 出張講義

井口 晃徳

【学会活動】

- 1) 日本水環境学会
- 2) 日本水環境学会WET部会
- 3) 日本微生物生態学会
- 4) 土木学会
- 5) International Society for Food and Environmental Virology (ISFEV)
- 6) International Water Association (IWA)

【学外活動（公的機関）】

- 1) 放送大学 分担講師「暮らしに役立つバイオサイエンス」担当
- 2) 2016年8月26日 平成28年度 第60回農業実験実習講習会 講師
- 3) 2016年8月27日～28日 WET2016 (国際学会) 実行委員幹事
- 4) 2016年11月23日 Environmental Education class in STEM school, Borg-El-Arab, Egypt, Lecturer.
- 5) 2016年11月26日～27日 青少年のための科学の祭典，新潟県・上越大会，演示実験講師
- 6) 2017年2月16日 香川高等専門学校 特別研究II 論文副査

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 2016年7月24日 平成28年本学高大連携「生命科学」講座 講師.
- 2) 2016年8月7日 平成28年本学高大連携「生命科学」講座 実験補助 (重松先生担当).
- 3) 2016年8月21日 平成28年本学オープンキャンパス実験講座.
- 4) 2016年10月15日 新葉祭研究室ポスター展示での，研究室4年生へのポスター作成指導.

食品安全学研究室

Laboratory of Food Safety

■ 教授 浦 上 弘 Professor Hiroshi URAKAMI, Ph.D.



食中毒病原体の増殖，殺滅に関する研究。HACCPなどの食品安全手法の研究と普及



・ 食中毒 ・ ボツリヌス菌 ・ ノロウイルス ・ 病原体 ・ HACCP

研究課題

1. コメに含まれるボツリヌス菌に対する抗菌物質の検索
2. ノロウイルスに有効な皮膚消毒剤の開発
3. リステリア菌の酸素走化性についての研究
4. 多品種生産に対応できるHACCP手法の開発

平成28年度の研究成果

1. コメ粉のアミラーゼ分解物を分析したところ，その有機溶媒抽出物に活性のほとんどが回収できることがわかり，シリカゲルクロマトグラフィーにより分離を試みている。
2. これまでの研究で有効な薬剤は皮膚へのダメージが大きく，器具や床の消毒にしか使えない。これらを低濃度で混合することにより相乗効果が得られる組み合わせを探索する。同時に消息剤と認識されていない化学物質で有効なものを探索する。
3. リステリアは酸素濃度18%前後に向かったの酸素走化性があることが，軟寒天培地を使った研究で明らかになった。この手法でリステリアの運動性の解析に役立てる。
4. HACCPで製造工程の分析用いるフローダイアグラムをマクロレベルで纏めると，複雑な工程も10に満たないモジュールに分解できる。多種類の製品であってもモジュールには共通するものが多い。モジュールごとにHACCP計画を作り，モジュールをつなげることで複雑な工程の適用できるHACCP計画ができるか検討している。

Research projects and annual reports

1 . Investigation of anti-*Clostridium botulinum* substances in rice.

The active substances in amylase-digested rice powder were found to be soluble in organic solvents. We are trying to isolate the substances in a silica gel chromatography.

2 . Development of a skin disinfectant effective to noroviruses.

Effective ingredients that have been found so far were erosive to human skin. We are examining synergies of these agents at low concentrations.

3 . Aerotaxis of *Listeria*.

We found that *Listeria* has an aerotaxis toward 18% oxygen in soft agar. *Listerial* motility will be analyzed by this method.

4 . HACCP technics suitable for food industry producing a wide variety of products.

Flow diagrams used for HACCP plans could be divided into several modules, even if the diagrams were complex. Each module was universal in many of diagrams. Thus the hazard analysis of a wide variety of products could be done by combination of these modules.

外部資金

【受託研究・共同研究】

民間企業 1 件（共同研究費）

【奨学寄付金】

民間企業 1 件（研究助成）

学外活動

【学外活動（公的機関）】

- 1) 新潟県にいがた食の安全・安心審議会委員
- 2) 新潟市食の安全意見交換会議長
- 3) 新潟市HACCP普及促進連絡協議会議長
- 4) 新潟県HACCP普及推進検討会委員長
- 5) 栃木県HACCPマイスター養成研修会 講師

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 日本HACCPトレーニングセンター理事長
- 2) 日本惣菜協会惣菜管理士試験委員
- 3) 放送大学面接授業「食品安全の基礎」

- 4) 新潟バイオリサーチパーク食品安全部門・食品企業での衛生コンサルティング
- 5) 新潟バイオリサーチパーク食品安全部門・HACCP1日講習会
- 6) 日本HACCPトレーニングセンター・HACCPコーディネーターコース講師
- 7) 第2回食品衛生協会研修会「食中毒はなぜ起こる・HACCPとは」

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食品関連タンパク質・病原菌由来タンパク質の機能解明



・ 味覚修飾タンパク質 ・ 白癬菌 ・ 薬剤耐性菌

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いため分子レベルでの研究が進んでいない。一方、味覚修飾活性はないもののミラクリンと類似したタンパク質群の存在が知られており、これらは“ミラクリン類似タンパク質 (Miraculin-Like Protein, MLP)”と呼ばれている。我々は、組換えタンパク質発現が容易な複数の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している。

II. 白癬菌の感染メカニズムの解明

白癬菌と呼ばれる真菌は、白癬（一般には水虫とも呼ばれる）の原因菌である。この菌は、皮膚・爪などに含まれる難分解性タンパク質ケラチンを栄養源として増殖する。しかしながら、これまで白癬菌について分子レベルでの解析はほとんどなされておらず、白癬に対して特異的に作用する薬剤も開発されていない。近年の研究により、システインジオキシゲナーゼ（CDO）あるいは亜硫酸排出ポンプ（Ssu1）遺伝子を欠損した白癬菌変異株は、ケラチンを栄養源とした生育が著しく悪くなることが明らかになった。本研究室では、これらのタンパク質およびケラチン分解性プロテアーゼ（ケラチナーゼ）が白癬菌の感染・増殖に重要であると考え、その立体構造を明らかにすることを目的としている。

III. β -ラクタマーゼの構造と基質特異性の関連

抗生物質の一種である β -ラクタム剤は感染症に有効な薬剤として広く使用されているが、近年はこの薬剤に対する耐性菌が多く出現し、医療の現場では問題となっている。細菌が β -ラクタム剤に対する薬剤耐性を獲得するメカニズムの中で最も多いのは、 β -ラクタム剤分解酵素(β -ラクタマーゼ)の生産である。基本骨格や置換基の異なる新しい薬剤が開発・使用される度に、細菌の酵素が“分子進化”し、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”を生産する薬剤耐性菌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、熱安定性-薬剤耐性の相関解析を行っている。

平成28年度の研究成果

I. ミラクリン類似タンパク質の構造解析

本研究室では、ミラクリン類似タンパク質（MLP）の中でも特にミラクリンとアミノ酸配列相同性が高いブドウ、ダイズ、ナンヨウザンショウ由来MLP 遺伝子試料を保有している。本年度は、前年度に発現系構築・精製条件の確立を行ったブドウ由来MLP のX線結晶構造解析を行い、1.3Å分解能の立体構造を解明した。また、MLPはプロテアーゼの一種トリプシンを阻害するタンパク質との類似性が高いことから、ダイズ由来MLPとブドウ由来MLPのトリプシン阻害作用を測定し、これらのMLPがトリプシン阻害作用を有することを明らかにした。

II. 白癬菌由来メタロプロテアーゼおよびシステインジオキシゲナーゼの性状解析

白癬菌*Arthroderma venbreuseghemii*由来のメタロプロテアーゼ及びシステインジオキシゲナーゼの大量発現系と精製条件の確立を行った。システインジオキシゲナーゼについては、前年度までは酵素の失活が問題となっていたことから、pH安定性、温度安定性等の基本的な性状解析を進めた。CDOについては、活性測定条件の最適化を行うと共に、HPLCを用いた反応生成物の同定を行った。

III. β-ラクタマーゼVIM-28の立体構造解析

クラスBに分類されるメタロβ-ラクタマーゼVIM-28の基質特異性を理解するため、そのX線結晶構造を1.5Å分解能で決定した。全体的な構造は既知のクラスB酵素と類似しており、大きな差異はみられなかった。VIM-28の速度論的解析を行い、アミノ酸配列の相同性が高い他のVIM型酵素の速度論パラメータと比較したところ、一部の抗生物質についてのみ速度論パラメータに違いが見られたため、立体構造解析の結果と合わせて考察を行った。

Research projects and annual reports

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 are now trying to give taste-modifying activity to miraculin-like proteins (MLPs) from various plants.

II. Pathomechanisms of dermatophytes

Dermatophytes are responsible for millions of superficial mycoses, including common diseases such as athlete's foot and nail infections. These fungi exclusively infect keratin-rich host structures such as hair, nails, and skin. Recently, it was discovered that the growth of dermatophytes is largely affected by the loss of two genes that encodes cysteine dioxygenase (CDO) and sulfite efflux pump Ssu1. We try to analyze the structures of these proteins and keratin-hydrolyzing proteases to investigate the infection mechanism of dermatophytes.

Ⅲ. 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 mechanism is production of β -lactamases, the enzymes that hydrolyze and inactivate β -lactams. As clinical use of new β -lactam antibiotics increased, enzymes have evolved to hydrolyze wider range of β -lactam antibiotics. We perform structural study of several β -lactamases to investigate their substrate-recognition mechanism.

Annual reports

I. Structural analysis of miraculin-like protein (MLP).

We performed X-ray crystallographic analysis of MLP from *Vitis venifera* (grape), and solved its structure at 1.3 Å.

II. Characterization of metallo-protease MEP4 and cysteine dioxygenase (CDO) from *Arthroderma venbreuseghemii*.

We constructed over-expression system of metallo-protease MEP4 and cysteine dioxygenase (CDO) from *Arthroderma venbreuseghemii*. Basic characterization of these enzymes was performed, including the analysis pH stability, temperature stability, pH optimum, and temperature optimum. Condition for CDO activity assay was optimized, and the product of the reaction was analyzed by HPLC.

III. Crystal structure of Mox-1

In order to understand correlation between substrate specificity and three-dimensional structure of a class B β -lactamase VIM-28, we determined the X-ray crystallographic structure of this enzyme at a 1.5-Å resolution. The overall structure of VIM-28 β -lactamase resembled that of other class B enzymes. We also performed kinetic analysis of VIM-28. Comparison of the kinetic parameters with those of other VIM-type enzymes revealed that there is a significant difference only for certain β -lactam antibiotics.

学術論文

- 1) Nayuta Furukawa, Akimasa Miyanaga, Masahiro Nakajima, and Hayao Taguchi. "The ternary complex structure of D-mandelate dehydrogenase with NADH and anilino(oxo)acetate." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 486, 665-670. (2017).
- 2) Masahiro Nakajima, Nobukiyo Tanaka, Nayuta Furukawa, Takanori Nihira, Yuki Kodutsumi, Yuta Takahashi, Naohisa Sugimoto, Akimasa Miyanaga, Shinya Fushinobu, Hayao Taguchi and Hiroyuki Nakai. "Mechanistic insight into the substrate specificity of 1,2- β -oligoglucan phosphorylase from *Lachnoclostridium phytofermentans*." *Sci. Rep.* 7, 42671. (2017).

学会発表

- 1) 大倉宗一郎, 堀 実佐穂, 古川那由太, 井深 章子「ブドウ由来ミラクリン類似タンパク質の構造解析」日本農芸化学会2017年度大会, 京都女子大学 (2017.3.18~20)

2) Ai KAZAMA, Natsumi UMEDA, Mayumi SUZUKI, Tomohiro KOSE, Tsuyoshi YAMADA, Nayuta FURUKAWA, and Akiko SHIMIZU-IBUKA. "Characterization of metalloprotease 4 from *Arthroderma vanbreuseghemii*" International Conference on Food for Health in Niigata 2016. Niigata, Japan, November 10-11, 2016.

3) Soichiro OHKURA, Misaho HORI, Nayuta FURUKAWA, and Akiko SHIMIZU-IBUKA. "X-ray Crystallographic Analysis of Miraculin-Like Protein from Grape " International Conference on Food for Health in Niigata 2016. Niigata, Japan, November 10-11, 2016.

4) 古川那由太, 梅田 菜摘, 風間 愛, 鈴木 まゆみ, 小瀬 知洋, 山田 剛, 井深 章子「白癬菌 *Arthroderma vanbreuseghemii*由来メタロプロテアーゼ4の性状解析」平成28年度日本生化学会関東支部例会, 栃木, 2016年6月11日

5) 野々村 遥, 古山 雄光, 石井 良和, 古川那由太, 井深 章子「メタロβ-ラクタマーゼ IMP-18 野生型および変異型酵素の速度論的解析」平成28年度日本生化学会関東支部例会, 栃木, 2016年6月11日

外部資金

【科研費】

井深 章子 (研究代表者): 基盤研究 (C) 課題番号15K07445「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」平成27年度～平成29年度

学外活動

井深 章子

【学会活動】

- 1) 日本農芸化学会 (英文誌編集委員)
- 2) 日本生化学会
- 3) D-アミノ酸学会

【その他学外活動 (社会貢献活動等)】

- 1) 平成28年7月14日 新潟県立小千谷高等学校 出張講義 講師
- 2) 平成29年1月11日 新潟県立中条高等学校 出張講義 講師
- 3) 平成29年3月9日 北越高校 出前講義 講師

古川那由太

【学会活動】

- 1) 日本生化学会
- 2) 日本農芸化学会
- 3) 日本蛋白質科学会

化学研究室

Laboratory of Chemistry

■ 教授 新井 祥生 Professor Yoshifusa ARAI, Ph.D.



アルキルコバロキシム錯体の固相反応および葛の茎中の生理活性物質の探索



・ 固相反応 ・ アルキルコバロキシム ・ 酸素挿入反応 ・ 葛 ・ 抗酸化

研究課題

アルキルコバロキシム錯体の固相反応

- 1) キラル菜軸配位子を有する新規アルキルコバロキシム錯体の合成
- 2) アルキルコバロキシム錯体の固相気相不斉酸素挿入反応

天然物化学

- 1) 葛の茎中の抗酸化活性物質の探索

平成28年度の研究成果

アルキルコバロキシム錯体の固相反応

- 1) 4種類の新規ピリジン系キラル配位子を合成し、これが配位した新規アルキルコバロキシム錯体を8種類合成した。
- 2) 新規錯体の固相気相光反応を行い、そのうち2種で従来よりかなり高い75%の収率で酸素挿入生成物を得た。しかしながら不斉選択性は一桁に終わった。

天然物化学

抗酸化活性を指標に、葛の茎中の抗酸化活性物質を探索して、高活性分画を得た。これを単離精製して構造解析を行い、(E)-octadecyl 3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoateであることを明らかにした。これは植物に分布する既知物質であったが、葛中に見いだされた報告例は無かった。また、これ以外にこれより活性の強い分画があることも明らかになってきた。

Research projects and annual reports

Solid-state Reaction of Alkylcobaloxime Complexes

- 1) 8 Complexes coordinated with chiral pyridines were synthesized.
- 2) Yields of O₂ insertion products obtained by irradiation of visible light under air were 20-75%. Enantioselectivity was very low.

Natural Products Chemistry

(*E*)-octadecyl 3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoate was isolated from Stem of *Pueraria lobata*.

学会発表

第72回有機合成化学協会関東支部新潟シンポジウム，要旨集P.170-171 (平成28年11月，新潟)，“アルキルコバロキシム錯体の固相気相酸素挿入反応”

学外活動

【学会活動】

- 1) 日本化学会
- 2) 日本化学会有機結晶部会
- 3) 有機合成化学協会
- 4) 日本結晶学会
- 5) 日本農芸化学会

【学外活動（公的機関）】

- 1) 新潟県立教育センター「平成28年度観察・実験指導力向上講座」講師
- 2) 新潟県立新津工業高校 デュアルシステム（インターンシップ受け入れ）

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

いきいきわくわく科学賞2016（新潟日報社）最終審査会審査員（中学校物理・化学部門 審査委員長）

理科教育学研究室・生物学研究室

Laboratory of Science education

Laboratory of Biology

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

■ 助教 小長谷 幸 史 Assistant Professor Yukifumi KONAGAYA, Ph.D.



- ・中等教育理科教員に求められる科学リテラシーの育成とその指導法の研究
- ・エネルギー環境教育を通して行う中学校におけるESD及びSDGs
- ・身近な河川を教材とした生物を用いた環境教育の検討。
- ・生物の授業で有用な生物教材の検討。



- ・中学校理科 ・高等学校理科 ・科学リテラシー ・ESD＜SDGs
- ・エネルギー環境教育

研究課題

1) 教員養成課程における放射線教育カリキュラムの展開

【課題の設定】

東北地方太平洋沖地震に伴う福島第一原子力発電所の事故により、放射性物質が放出され、大気や水、土壌が汚染された。放射線による被ばくを防ぐため、放射線量の高い地域は居住を制限され、水道水や一部の食品についても摂取・出荷が制限され、日常生活に悪影響を与えた（2013 後藤，福島大学放射線副読本研究会）我が国の中学校教育においては、2008年3月に中学校理科学習指導要領が告示されるまでの約30年の間、放射線教育を取り扱っていなかった。多くの国民が放射性物質に対する不安を抱えたまま日々を過ごしている。こうした現状を打開するため、原子力発電所を抱える都道府県をはじめとして、各学校で放射線教育の授業実践がなされている。

平成20年改訂の中学校学習指導要領（2008 文部科学省）で放射線については第3学年の「(7) 科学技術と人間」の内容にあたる。現在配当されている理科の授業時数は140時間である。D社の教科書では「単元6 地球の明るい未来のために3章たいせつなエネルギー資源」について6時間の指導時間が想定されているに過ぎない。さらに、単元の実施時期は2月。学校の実態として、高校受験などの時期を控えた生徒たちにこれだけの時間を割いている学校は多くはない。生徒たちの放射線に対する認識（2011 成井）を考えると、放射線の性質と利用に加えて、人体への影響あるいは環境への影響について深く伝えていくことが重要である。より円滑に放射線教育を進めていくために、他教科との連携や工夫された教材の利用が求められる。

放射線について学ぶことにより、各地で起こる原子力発電所再稼働の論争について生徒たち自身が関心を持ち、解決の糸口をつかめるようさせることが大切である。これまで、少なくとも2011年3月までは我が国では電力の約30％を原子力発電から、約60％を火力発電によりまかなってきた（2016 電気事業連

合会)。現在は環境省が推進するCOOL CHOICEの視点から、二酸化炭素を排出しない再生可能エネルギーによる発電に力を注いでいる。再生可能エネルギーによる発電は原子力発電や火力発電に比べて電力供給が不安定かつ経費がかかる。この実情を踏まえて、生徒たちとともに将来の電源のベストミックスを考えていくことのできる教員養成が求められている。

【教員養成課程における放射線教育のカリキュラム】

中学校及び高等学校の教育職員免許状を取得するために必要な教職科目を中心に3年間を視野に入れたカリキュラムを構成する。

回(時)	講	テーマ	想定科目
1		電気エネルギーの供給	理科教育法Ⅱ(2年後期)
2		放射線の性質	理科教育法Ⅱ(2年後期)
3		1 原子力発電などで使われるウランなどの核燃料は放射線を出している	理科教育法Ⅲ(3年前期)
		2 自然界にある放射線	理科教育法Ⅲ(3年前期)
4		3 透過性を持つ放射線	理科教育法Ⅲ(3年前期)
		4 医療や製造業などで利用されている放射線	理科教育法Ⅲ(3年前期)
5		5 放射線が身体に与える影響	理科教育法Ⅲ(3年前期)
6		発電所(科学館)の見学	理科教育法Ⅳ(3年後期)
7・8		中学校理科(高等学校理科)における放射線教育<演習>	教職実践演習(4年後期)

放射線教育のテーマに即したカリキュラム構成

(自然界にある放射線)

- ・自然界の放射線は宇宙誕生以来あるもので、人類は古来から自然界の放射線(自然放射線)を日常的に受けている。
- ・身体に受ける自然放射線の量は地域、場所、条件などによって異なる。
- ・日本人は自然放射線を年間約2.1ミリシーベルト、医療で放射線を年間約3.9ミリシーベルト受けている。放射線の影響は、自然放射線も人工放射線も変わらない。
- ・自然界に存在する放射性物質を、呼吸や食品摂取によって体内に取り込んでいる。(透過性を持つ放射線)
- ・アルファ線、ベータ線、ガンマ線などさまざまな種類がある放射線のうちエックス線、ガンマ線は、赤外線、可視光線、紫外線などと同じ電磁波の仲間である。
- ・放射線にはエネルギーを持つ高速の粒子で粒子線と呼ばれるものがある。
- ・放射線には物を透過する作用、電離させる作用がある。これらの作用は、放射線の種類やエネルギーによって違う。(寺木 秀一)

2) 河川の微小な生物を用いた環境教育教材の検討

河川の動物を用いた環境教育は小学校～高等学校までよく行われていることである。しかし、町中を流れる河川では動物がほとんど見られないことがある。環境を知る手がかりとして、化学的な手法も行われているが、採取された水の溶存酸素濃度や亜硝酸体窒素、硝酸態窒素などの指標は小学生には理解が難しい。そこで、すでに小学校の理科部の活動で、ほとん

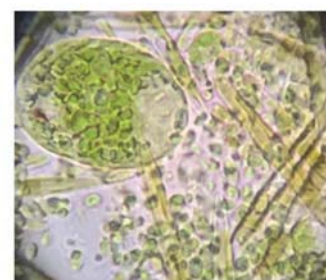


図1 培養したプランクトン

ど動物が見られなかった河川の植物プランクトンや細菌の調査を行い、これらを用いた環境教育の可能性を検討する。また、調査を行っている河川では、川底から石油の流出が見られることから、石油分解細菌の分離もあわせて検討している。

3) 透明標本の教材化への取り組み

小学校4年生の理科や、中学校2年生の理科（2分野）動物のからだの作りを学ぶ。このときに魚類の骨格標本がよく用いられているが、魚類の骨格標本は高価であり多数購入することが難しい、また、胸鰭などの骨は他の骨から離れた位置にあるなどで、紛失しやすいなどの欠点もある。魚類の透明標本は、魚類を固定後タンパク質分解酵素やアルカリなどで処理した後に骨を染色することで、その生物が活着しているときと同じ状態のままの骨格が観察できる。比較的小型の魚類でも容易に作成でき、一度に多数作成できるなどの利点がある。そこで、本研究では透明標本を骨格標本の欠点を補う教材として用いることを検討する。（小長谷幸史）



図2 ドジョウの透明標本

平成28年度の研究成果（寺木 秀一）

【学会発表】

- 1 寺木 秀一：「IPCCレポートコミュニケーター養成講座の実践と課題～中学校・高等学校理科教区養成過程での展開」，日本エネルギー環境教育学会第10回全国大会，札幌市立山の手小学校8月8日
- 2 寺木 秀一：「福島県の中学校における放射線教育の現状と教員養成過程における放射線教育の研究」，野外文化教育学会第17回全国大会 松山大学10月29日
- 3 寺木 秀一，柳沼里沙：「生命科学系学部における教職専門科目「地学」のカリキュラムの研究」，日本地学教育学会 第70回全国大会 四国大学 10月9日

【その他の特記事項】

- 1 本学を訪問した福島県立会津学鳳中学校2年生の体験授業として「気候変動と私たちの暮らし」の講義をおこなった。
- 2 持続可能エネルギー環境教育研究会（共同代表）において小学生，中学生のエネルギー変換，発電に関する内容をZEHのモデルを作成する実験講義を東京都練馬区，文京区において展開した。（2回）
- 3 新津第一小学校の招聘に応じ，5年，6年生の，新津川の生物，水質調査の指導をおこなった。
- 4 武蔵野市サイエンスフェスタ（武蔵野市）で，化石レプリカの作成，化石の実物観察を通して「生命の歴史と生物の進化」について小学生，成人を対象に講演をおこなった。

学外活動

寺木 秀一

【学会活動】

- 1) 日本エネルギー環境教育学会 理事
- 2) 環境カウンセラーESD学会 会長
- 3) 野外文化教育学会 常任理事
- 4) 日本理科教育学会
- 5) 生活・総合的学習教育学会
- 6) 日本環境教育学会
- 7) 日本地学教育学会

【学外活動（公的機関）】

- 1) 環境カウンセラー全国連合会理事（環境省）
- 2) むさしの・こどもエコフォーラム 副代表（武蔵野市）

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 持続可能エネルギー環境教育研究会 共同代表（東京都）
- 2) 循環のみち下水道環境教育支援協議会 委員（日本下水道協会）
- 3) NPO法人エコテクみらい研究所 理事長（東京都）
- 4) 新津第一小学校 新津川の水質調査 出前講座（新潟市）
- 5) 武蔵野市サイエンスフェスタでの出展・講演（武蔵野市）
- 6) 武蔵野市サイエンスクラブ 化石採取指導（印西市）
- 7) 住みよい地球全国小学生作文コンクール 審査副委員長（東京都）

小長谷幸史

【学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 新潟県立高田高等学校SSH運営指導員
- 2) 新津第一小学校理科部支援活動
- 3) 金津小学校理科実験教室（引率）

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 ・教育課程 ・学校づくり ・主権者教育 ・生活指導

研究課題

1. シティズンシップ教育の視点を取り入れた教育課程，学校づくりの検討
2. 18歳選挙権など主権者教育の課題に対応する授業プラン，教育コンテンツの開発
3. シティズンシップの育成を目指した生活指導についての実践的研究

平成28年度の研究成果

1. 新潟市内の中学校の協力を得て，継続的に研究を行っている。
2. 18歳選挙権の事前学習，模擬投票の実施などについて高等学校の社会科教員と共同で検討会を開き，授業プランを作成した。
3. 小中学校の実践報告を分析し，以下の報告をまとめた。（木村哲郎「子どもの現実から指導を立ちあげるとは」『生活指導』2016.6/7月号，木村哲郎「子どもの困難を受け止め未来を紡ぐ生活指導・集団づくり」第48回新潟県生活指導研究協議会大会基調提案）

学術論文

木村 哲郎「アクティブラーニングと次期学習指導要領」にいがたの県民教育研究所『にいがたの教育情報』122,2016/12

その他研究活動

- 1) 木村 哲郎「子どもの現実から指導を立ちあげるとは」『生活指導』2016.6/7月号高文研(2016.5)
- 2) 木村 哲郎「子どもの困難を受け止め未来を紡ぐ生活指導・集団づくり」第48回新潟県生活指導研究協議会大会基調提案(新潟ユニゾンプラザ2016.11.19)

学外活動

【学会活動】

- 1) 日本生活指導学会
- 2) 日本教育方法学会
- 3) 日本教育学会
- 4) 日本特別指導学会
- 5) 日本公民教育学会

【学外活動（公的機関）】

- 1) 新潟県立新津高等学校評議員
- 2) 新潟市立金津小学校評議員
- 3) 田上町にぎわい創出会議委員

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 新潟大学教育学部 非常勤講師：教育方法・技術B(2016.8), 教育課程総論(2016.10～2017.2)
教員養成実地指導講師(2017.12)
- 2) 新潟医療福祉大学 実習前特別講義講師(2017.2)
- 3) 秋葉区地域教育コーディネーター交流会報告(2017.2)

**新潟薬科大学 応用生命科学部
研究年報 2016 (平成 28 年度)**

発行日：2018 年(平成 30 年) 2 月 9 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）

