

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



研究年報 2017

Annual Research report 2017

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	7
■	植物細胞工学研究室	9
■	環境工学研究室	15
■	環境有機化学研究室	23
■	応用微生物学研究室	29
■	食品分析学研究室	35
■	栄養生化学研究室	41
■	食品・作物資源利用学研究室	45
■	食品・発酵工学研究室	51
■	食品安全学研究室	63
■	食品酵素学研究室	67
■	化学研究室	71
■	理科教育学研究室	73
■	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

植物細胞工学
研究室

環境工学
研究室

環境有機化学
研究室

応用微生物学
研究室

食品分析学
研究室

栄養生化学
研究室

食品・作物資源
利用学研究室

食品・発酵学
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) 細胞死抑制タンパク質の解析



・グルコシルセラミド ・がん ・細胞ストレス ・細胞死 ・脂肪肝

研究課題

1) スフィンゴ脂質の研究

スフィンゴ脂質は、膜上に存在する脂質の1つで、様々な生理作用があると考えられているが、その詳細は明らかではない。本研究ではスフィンゴ脂質代謝酵素であるグルコシルセラミド合成酵素に焦点を合わせてその生理機能を解析する。特にスフィンゴ糖脂質機能解明の道具及び医薬品の基として、新しいグルコシルセラミド合成酵素阻害剤の開発を行う。

2) 非アルコール性脂肪肝予防法の研究

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) 酸化ストレスによる細胞死を抑制するタンパク質の研究

私達は、以前発現クローニング法により、過酸化水素によって誘導される細胞死を抑制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制する仕組みについて分析する。

平成29年度の研究成果

1) スフィンゴ脂質の研究

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、UDP-グルコースからグルコースをセラミドに転移して、グルコシルセラミドを合成する。本酵素の過剰発現は、がんの多剤耐性や脂肪細胞のインスリン抵抗性の原因の一つである。そのため、グルコシルセラミド合成酵素の阻害剤は、これらの疾患の治療薬になる可能性がある。本研究で私たちは、新規

グルコシルセラミド合成酵素阻害剤の探索を行った。

A) STAT3阻害剤WP1066はグルコシルセラミド合成酵素活性を阻害する。

WP1066は、JAK/STAT3経路の阻害剤として知られている化合物である。私たちは既存の酵素やタンパク質性因子に対する阻害剤を用いたスクリーニングで、WP1066がグルコシルセラミド合成酵素の阻害剤であることを見いだした。WP1066のグルコシルセラミド合成酵素に対するIC₅₀値は7.2 μ Mだった。WP1066のグルコシルセラミド合成酵素に対する阻害作用は、JAK/STAT3経路とは関係がない、酵素に対する直接作用だった。また、阻害様式は人工基質のC₆-NBD-セラミドとUDP-グルコースに対して不競合阻害の様式を示した。

B) コウホネ葉抽出液は、グルコシルセラミド合成酵素活性を阻害する。

コウホネ (*Nuphar japonicum*) は、日本に自生する水生植物である。今回、私たちは、コウホネの根及び葉の水抽出液にグルコシルセラミド合成酵素に対する阻害作用があることを見いだした。本研究では、入手が容易なコウホネの葉を材料に用いて研究を行った。乾燥したコウホネの葉を粉碎し、塩酸でpH3.0に調整した水を加えて60°Cで1時間加温して抽出液を作製した。コウホネ葉抽出液はグルコシルセラミド合成酵素に対して強い阻害作用を示し、その作用は容量依存的だった。一方、同じセラミドを基質とするスフィンゴミエリン合成酵素を阻害しないため、少なくともある程度の選択性があると考えられた。また、抽出液中の阻害物質が細胞内のグルコシルセラミド合成酵素を阻害できることから、細胞膜透過性を持つことが示唆された。

以上の結果から、WP1066とコウホネ葉抽出液に含まれるグルコシルセラミド合成酵素の阻害物質は、グルコシルセラミド合成酵素が関与する疾患を治療するための新しい医薬品の基になる可能性があると考えられる。

原著論文：Tsurumaki, H. Katano, H., Sato, K., Imai, R., Niino, S., Hirabayashi, Y. and Ichikawa, S. (2017) WP1066, established small molecule inhibitor of Janus kinase/STAT3 pathway inhibits ceramide glucosyltransferase activity *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 491, 265-270

学会発表：西方 瑞穂, 関川 夏子, 平林 義雄, 市川 進一

コウホネ抽出液のグルコシルセラミド合成酵素阻害活性, 東北糖鎖研究会・東京糖鎖研究会合同シンポジウム 11月18日 群馬県桐生市

2) 非アルコール性脂肪肝予防法の研究

脂肪肝は肝臓細胞に脂肪滴が過剰に蓄積した状態である。これらの脂肪滴は主にトリグリセリドから構成されている。脂肪肝の主な原因はカロリーの過剰摂取である。脂肪肝は炎症を引き起こし、肝臓がんの原因になる可能性がある。そのため、脂肪滴形成を抑制する化合物の研究は重要である。私たちは以前、既存の様々な阻害活性を持つ低分子化合物を用いてスクリーニングを行い、マウスヘパトーマ細胞 Hepa1-6を用いた培養細胞脂肪肝モデルで脂肪滴形成を抑制する4種類の化合物を同定している。今回、その中で比較的高い特異性を示した、PKR阻害剤として知られているC16について分析を行った。C16で処理した細胞では、細胞内のトリグリセリドの低下が観察された。また、トリグリセリド合成に関与する

GPAMとDGTA1のmRNAが減少していた。しかしながら、この脂肪滴形成の抑制は、他のPKR阻害剤であるPKR inhibitor IIIや、siRNAによるPKRのノックダウンで阻害されなかった。このことから脂肪滴形成の抑制はPKRの阻害によって引き起こされているのではないと考えられた。現在、脂肪滴形成の制御に関与している可能性があるC16の標的を探している。

学会発表：高橋 智裕，関根 大晃，市川 進一

肝臓細胞株で脂肪滴形成を抑制する化合物の同定と、その性質について、2017年度生命科学系学会合同年次大会 12月7日 兵庫県神戸市

3) 細胞死抑制遺伝子の研究

活性酸素種は、電子伝達系や様々な酸化反応などの正常な細胞の代謝や環境ストレスによって生じる。過剰な活性酸素種による酸化ストレスは、細胞に傷害を与え細胞死を誘導する。私たちの研究室では以前、発現クローニング法を用いて、酸化ストレスによる細胞死を抑制するタンパク質としてTCTPを同定している。TCTPはアポトーシスを抑制することが知られている。TCTPによって抑制される、酸化ストレスによる細胞死は典型的なアポトーシスではないので、この細胞死のタイプを分析した。TCTPを過剰発現したCHO-K1細胞とHEK293T細胞は、過酸化水素とメナジオンに対して抵抗性を示した。過酸化水素による細胞死はネクローシス阻害剤であるIM-54で阻害されることからネクローシスであることが明らかになった。一方で、メナジオンによる細胞死は部分的にアポトーシス阻害剤で阻害されたが、IM-54では阻害されなかった。以上の結果からTCTPが酸化ストレスによって誘導されるネクローシスとアポトーシスの両方を阻害する可能性が示唆された。

学会発表：斎藤 泉，長野-伊藤美千代，市川 進一

過酸化水素に抵抗性を与えるタンパク質の細胞死抑制の性質について、2017年度生命科学系学会合同年次大会 12月6日 兵庫県神戸市

Research projects and annual reports

1) Studies on sphingolipids.

Glucosylceramide synthase (GlcT-1, EC.2.4.1.80) catalyzes the first step in glycosphingolipid synthesis. The enzyme transfers glucose from UDP-glucose to ceramide, generating glucosylceramide. Overexpression of glucosylceramide synthase is one of the causes of multi-drug resistance of cancer cells and insulin resistance of lipid cells. Thus, inhibitors of glucosylceramide synthase have potential for therapeutic use for these diseases. In this study, we searched novel glucosylceramide inhibitors.

A) STAT3 inhibitor, WP1066, inhibits ceramide glucosyltransferase activity

WP1066 is an inhibitor of the JAK/STAT3 signaling pathway. By a screen of known small molecule inhibitors of various enzymes and protein factors, we identified WP1066 as a glucosylceramide synthase inhibitor. We found that WP1066 inhibited the activity of glucosylceramide synthase with an IC_{50} of $7.2 \mu M$. Inhibitory activity of WP1066 was independent of JAK/STAT3 pathway blockade. Moreover, the mode of inhibition of glucosylceramide synthase was uncompetitive with respect to both substrates, C_6 -NBD-ceramide and UDP-glucose.

B) *Nuphar japonicum* leaf extract inhibits glucosylceramide synthase activity

Nuphar japonicum is an aquatic plant found in Japan. We found that *Nuphar japonicum* root and leaf extracts had inhibitory activities on glucosylceramide synthase activity. We mainly used *Nuphar japonicum* leaves because they are easily available. The dried leaves were grounded with a blender and extracted with diluted hydrochloride solution (pH3.0) at 60°C for 1h. The resulting extract showed strong inhibitory effect on glucosylceramide synthase activity and the it was dose dependent. The inhibitory effect of the extract was selective to glucosylceramide synthase because it did not inhibit sphingomyelin synthase. An active component in the extract had permeability to cells since it could inhibit intracellular glucosylceramide synthase activity.

WP1066 and an active component in *Nuphar japonicum* root and leaf extracts may serve as the basis for new types of drugs to treat diseases caused by the aberration of GSL metabolism including.

2) Studies on fatty liver disease.

Fatty liver is a condition where lipid droplets accumulate in liver cells. These lipid droplets were mainly composed of triglyceride. The main cause of fatty liver is excess calorie consumption. Fatty liver induces inflammation and may finally cause cancer. Thus, chemical compounds which inhibit the formation of lipid droplets are of great importance. A screen of inhibitors with known biological activities identified four compounds that inhibit lipid droplet formation in oleate treated mouse hepatoma cell line, Hepa 1-6. We focused our studies on PKR inhibitor C16 since other inhibitors have relatively broad specificity. The decrease of triglyceride content was observed in the cells treated with C16. In addition, C16 treated cells lowered expression levels of DGAT1 and GPAM mRNA. However, suppression of the lipid droplet formation was not caused by the inhibition of PKR since another PKR inhibitor, PKR inhibitor III and knockdown of PKR by siRNA had no effect. We are now searching for a target protein of PKR inhibitor that may regulate lipid droplet formation.

3) Studies of TCTP that suppress oxidative stress induced cell death

Reactive oxygen species (ROS) are generated by normal cell metabolism such as mitochondrial electron transport and various oxidase reactions, and by environment stresses. Oxidative stress caused by excessive ROS injures cell components and induces cell death. We have previously identified a protein, translationally controlled tumor protein (TCTP), that suppress oxidative stress induced cell death by functional cloning. TCTP has been reported to inhibit apoptosis. Since oxidative stress induced cell death inhibited by TCTP was not typical apoptosis, we studied types of cell death in this study. TCTP overexpression in CHO-K1 and HEK293T cells led to elevated resistance against hydrogen peroxide and menadione toxicities. The cell death induced by hydrogen peroxide is necrosis since the cell death was inhibited by a necrosis inhibitor, IM-54. In contrast, menadione-induced cell death was partially inhibited by an apoptosis inhibitor, while IM-54 had no effect. These data suggest that TCTP could inhibit both necrosis and apoptosis induced by oxidative stress.

学術論文

Tsurumaki, H. Katano, H., Sato, K., Imai, R., Niino, S., Hirabayashi, Y. and Ichikawa, S. (2017) WP1066, established small molecule inhibitor of Janus kinase/STAT3 pathway inhibits ceramide glucosyltransferase activity

Biochem. Biophys. Res. Commun. 491, 265-270

Corresponding author. IF 2.559

学会発表

- 1) 西方 瑞穂, 関川 夏子, 平林 義雄, 市川 進一
コウホネ抽出液のグルコシルセラミド合成酵素阻害活性
東北糖鎖研究会・東京糖鎖研究会合シンポジウム 11月18日 群馬県桐生市
- 2) 斎藤 泉, 長野-伊藤美千代, 市川 進一
過酸化水素に抵抗性を与えるタンパク質の細胞死抑制の性質について
2017年度生命科学系学会合同年次大会 12月6日 兵庫県神戸市
- 3) 高橋 智裕, 関根 大晃, 市川 進一
肝臓細胞株で脂肪滴形成を抑制する化合物の同定と, その性質について
2017年度生命科学系学会合同年次大会 12月7日 兵庫県神戸市

学外活動

【学会活動】

- 1) 東北糖鎖研究会 世話人
学会での発表, 賞の審査, 運営に関わる会議への参加など。
- 2) 日本分子生物学会会員
- 3) 日本生化学会会員

【学外活動 (公的機関)】

新発田高等学校 SSH運営指導委員 4月1日～3月31日
「DNA実験」 8月17日 於新潟薬科大学
指導助言および研究協議会 12月20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 (次年度会長)

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.



有機化学手法を用いて匂いと味にかかわる分子と生体内高分子との相互作用を解析する。



- ・ うま味分子
- ・ うま味受容体
- ・ BR 1 Rリガンド
- ・ 匂い分子デザイン
- ・ DOI

研究課題

1. うま味受容体のモデリング
2. 甘味受容体と甘味物質の複合体モデリング
3. ブラジキニン受容体リガンドの合成
4. ステロイド系匂い受容体リガンドの合成
5. 新しい食品素材の開発
6. DOIからTHBへの効率的変換法の開発

平成29年度の研究成果

1. うま味受容体のモデリングをグルタメート受容体構造をもとに構築した。
2. グルタメート受容体構造をもとに構築した甘味受容体と天然甘味料の複合体モデリングを試みた。
3. D-リングレスステロイドの合成経路をほぼ確立した。
4. 匂い受容体リガンドとして18-ノルステロイドの合成経路を確立した。
5. 発酵食品の匂い物質の分析をGC-MSを用いて行った。
6. DOIからTHBへの変換条件を検討し、条件をほぼ確立した。

Research projects and annual reports

- 1) Umami receptor structure was constructed based on glutamate receptor structure.
- 2) Sweet receptor complexed with a natural sweet molecule was constructed.
- 3) A synthetic route for D-ring-less steroid has been established.
- 4) Odorant receptor ligand was successfully synthesized.

5) odorants involved in fermentation products were analyzed by GC-MS

6) An effective synthetic route for THB from DOI has been established.

学会発表

1) 依頼講演：宮崎 達雄 「酵素法と化学法を利用した擬似糖鎖の合成研究」大阪大学梶原研ミニシンポジウム 2017年7月8日（阪大豊中キャンパス）

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】

日本薬学会構造活性相関部会常任幹事

【学外活動（公的機関）】

食の新潟国際賞財団理事

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) 東北糖鎖研究会の世話人

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29年度の研究成果

1) イネのリン代謝に関する研究

穀物の種子には、種にかかわらず、65%から85%のリンがフィチン酸として貯蔵されている。ヒトを含む非反芻動物はこのフィチン酸を消化できないため、穀物種子のリンをほとんど利用できない。いくつかの栄養上重要な無機成分がフィチン酸のキレート作用によってフィチン酸分子内に取り込まれていることにより、非反芻動物はこのような無機成分も利用が難しくなっている。そこでイネにおいて、このような栄養上の問題を解決する目的に、国内の主要な水稲3品種を用いて化学変異原、 γ 線照射および培養変異を利用して低フィチン酸含有突然変異を誘発し、実用上利用可能な6系統の突然変異系統をこれまでに作製し、すべて一遺伝子変異に起因することを示している。本年度は、その農業特性及び栄養成分について評価した。

6系統の低フィチン酸突然変異系統について、玄米の外観・粒重、収量、生育特性、胚乳成分を評価した。6つの突然変異系統では、フィチン酸含有量は原品種の42.1%から94.1%になっていた。フィチン酸含有量の最も低かった2系統では、胚乳がやや白濁する傾向がみられた。これらの突然変異系統のほとんどの生育特性は、発芽がやや劣ることおよび収量がやや劣ることを除いて、原品種とほぼ同等であった。これらの成果より、単離された低フィチン酸突然変異系統は、経済的な栽培が可能となる最低限のフィチン酸含有量をもつ、実用的な突然変異であるといえる。

また、低フィチン酸突然変異系統の胚乳成分について調査し、フィチン酸含有量と鉄含有量とは正の相関を、カルシウム含有量とは負の相関があることを示した。これらの知見により、本研究で得られた低フィチン酸突然変異から収穫される米は、非反芻動物への飼料として使用した場合に、骨の強化、生育促進、排泄されるリンの減少等の機能を持つことが期待される。

2) オオムギの重要農業形質に関する研究

越冬性の評価が異なる4品種における6-SFT*)の全長配列を比較したところ、SNPsがエキソン領域に11ヶ所、イントロン領域に32ヶ所、indelsがイントロン領域に9ヶ所確認することができた。その中にはアミノ酸置換を伴う変異が1ヶ所あったが、越冬性の強弱に対応した変異ではなかった。見出されたSNPsの中から、北陸地域で広く栽培されているファイバースノウのみを識別するindel及びSNPと、ミノリムギのみを識別するSNPに着目し、計3種類のDNAマーカーを作製した。現在その実用性について、オオムギ新品種開発に向けた380育成系統を用いて評価を行っている。

*) sucrose: fructan 6-fructosyltransferase

3) ソバの重要農業形質に関する研究

フツウソバ (*Fagopyrum esculentum*) において異形花型自家不和合性は、花型と自家不和合性を制御する遺伝子複合体がS座に集約されて機能していると考えられている。これまで、ソバS座の構成因子の一つとして考えられる短柱花個体特異的に存在するS-ELF3について報告している。本年度は、ソバの花器官におけるトランスクリプトーム解析によってS座構成因子の候補を見出し、自家不和合性変異体の解析によりS座構成因子としての妥当性を検証した。

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.

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

Marker-assisted selection (MAS) provides opportunities for enhancing the response from selection because molecular markers can be applied at the seedling stage, with high precision and reductions in cost. In this study, we have characterized sucrose:fructan 6-fructosyltransferase gene (*6-SFT*) in four Japanese barley cultivars, which shows different winter hardiness. Based on SNPs and Indels information, we developed three DNA markers. These markers can be useful for rapid identification of winter hardiness in large scale barley breeding programs.

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. To explore the mechanisms of heteromorphic, SI transcriptomics analyses of short or long-morph flowers were performed to identify gene expressed specifically in each morph. We identified eight genes that only exist in S-haplotype. The mutant show loss of male determinant function was used to investigate how these eight genes are involved in self- pollen recognition. The results indicated that two of the suitable candidate genes for the control of self-pollen recognition.

学術論文

Osamu YATOU, Hideyuki AOKI, Jotaro AII and Hiroshi TANAKA, Selection of Novel Non-lethal, Low Phytic Acid Mutants and Evaluation of their Agronomic Traits/Mineral Compositions in Rice (*Oryza sativa*) JARQ 52 (1), 39 - 47 (2018) <https://www.jircas.go.jp>

学会発表

【国内】

- 1) 中野 絢菜, 野村 一樹, 高崎 真由, 井口 晃徳, 重松 亨, 相井城太郎, 田中 宥司「圧力感受性酵母変異株の比較ゲノム解析」日本農芸化学会 2018年度大会, 2018年3月16~18日, 名城大学 (名古屋)
- 2) 秋山 彩香, 相井城太郎, 佐藤 真吾, 田巻 茜, 中野 絢菜, 安井 康夫, 森 正之, 大田 竜也, 田中 宥司「フツウソバにおける異形花型自家不和合性遺伝子座の解析」日本育種学会133回講演会, 2018年3月25~26日, 九州大学 (福岡)
- 3) 中野 絢菜, 相井城太郎, 小森 美佳, 阿部 知子, 森下 敏和, 清水 明美, 田中 宥司「イオンビーム照射由来ダツタンソバ半矮性変異体*sdb*における原因遺伝子の同定」日本育種学会133回講演会, 2018年3月25~26日, 九州大学 (福岡)
- 4) 中野 絢菜, 中山 裕貴, 相井城太郎, 田中 宥司, 高城 啓一, 池田 達哉, 長嶺 敬「炭素線照射によるオオムギ (*Hordeum vulgare*) の突然変異の誘発 1. 種子貯蔵タンパク質の変異」北陸作物学会報第53回, 2017年7月14~15日, 上越市 (新潟)

著書

長嶺 敬, 高久 洋暁, 田中 宥司 「国産大麦品種を活かした”地産地消型”焼酎の展開とポイント」醸協第112巻第10号p. 675-682

外部資金

【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) 相井城太郎: 新潟市委託研究「ゲノム科学による新形質ソバの作出」
- 4) 田中 宥司, 相井城太郎: 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」

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

【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) 田上町食育委員会委員
- 5) 新潟県給付型奨学金選考委員会委員
- 6) 新潟県立新潟工業高校評議委員会委員
- 7) 新潟市農業活性化研究センター 葉草研究会委員

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 新津中央ロータリークラブ会員
- 2) 日本技術士会・生物工学部会委員

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

【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葉草研究会委員
- 3) 加茂農林高等学校スーパー・プロフェッショナル・ハイスクール事業運営指導委員
- 4) 高校特色化地域人材活用事業（加茂農林委員）

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 田上町食育事業支援
- 2) オオムギフォーラム世話人

中野 絢菜

【学会活動】

- 1) 日本育種学会
- 2) 日本農芸化学会
- 3) 北陸作物・育種学会

■ 教授 川田邦明 Professor Kuniaki KAWATA, Ph.D.

■ 准教授 小瀬知洋 Associate Professor Tomohiro KOSE, Ph.D.



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



・ 化学物質 ・ リスク ・ 起源解析 ・ 環境動態 ・ 再資源化

研究課題

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

樹脂には製品の特性を改善するために難燃剤をはじめとする多様な添加剤が使用されている。しかしながらこれらの添加剤やその不純物には有害性が懸念される物質も多い。その一方で、廃棄物の削減や地球温暖化の防止の観点から樹脂のマテリアルリサイクルが進められており、そのリサイクル率は上昇する傾向にある。しかしながら樹脂素材は金属と異なり、リサイクルに伴う加熱成型工程や使用時の劣化に伴い、素材自体が変質し、添加剤などの有害物質の放出性が高まる懸念がある。

そこで本研究課題においてはウレタンや繊維をリサイクルした防しん材および廃タイヤに含まれる添加剤および不純物のリサイクル製品を経由した曝露リスクについて検討を行った。

II. 水田に散布された農薬の環境挙動と生態影響評価

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と復興工事によるかく乱を受けた干潟の回復過程

東北地方東沿岸域は全域が東日本大震災によって生じた津波に被災し、藻場や干潟などの海浜生態系もまた甚大な被害を被った。このようにかく乱を受けた干潟や藻場の回復は被災地域の水産業の復興における重要な課題である。宮城県奥松島の波津々浦湾干潟は震災前は宮城県内で唯一の潮干狩り場が存在し、

水産業の場としても親水域としても重要な価値を有する干潟であった。しかしながら震災後、環境かく乱からアサリの生育に障害が出ており、いまだ回復していない。そこで本研究では東日本大震災における津波のかく乱を受けた宮城県奥松島の干潟の回復過程を検討し、アサリの生育阻害をもたらした干潟生態系のかく乱の原因を明らかにすることを目的とした。

IV. 一次産業廃棄物を利活用した水田におけるリン循環システムの確立

農業、水産業などの第一次産業は新潟県における主要な産業の一つであるが、その産業活動は水質などの水環境に依存している。一方で農業、特に稲作における農業排水は水系へのリンをはじめとする栄養塩負荷の一因であり、赤潮などによる水産業への悪影響が懸念される。近年、世界的にリン資源の欠乏が懸念されており、産業におけるリン資源の循環利用技術の必要性が高まっている。また県内で盛んにおこなわれている稲作において生じるもみ殻、牡蠣の養殖における牡蠣殻などの産業廃棄物のバイオマス資源としての利活技術の確立は、環境に調和した産業の健全な育成に必要な不可欠な課題である。そこで本研究では非晶質ケイ酸カルシウムが有するリン吸着能に着目し、牡蠣殻に含まれるカルシウムともみ殻に豊富なケイ素を利用した農業排水中のリン循環技術の確立を目指した基礎検討を行った。

V. 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ブ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29年度の研究成果

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

自動車タイヤに含まれる有害な添加剤不純物に関して、その摂食時のアベイラビリティを評価した。結果、廃タイヤを原料としたリサイクルゴムチップ、廃タイヤおよび新品タイヤの順にアベイラビリティが高いことが明らかとなり、タイヤの使用やリサイクル加工時に有害な添加剤不純物のアベイラビリティが増加していると考えられた。

リサイクル原料を使用した自動車防しん材において、軟質ウレタンを破碎したリサイクル原料を経由して防しん材に難燃剤が混入していることが確認された。その一方で繊維質の原料は難燃剤の混入に関与していないことが確認された。

II. 水田に散布された農薬の環境挙動と生態影響評価

水田に散布された新規除草剤ピラクロニルとフルセトスルフロンについて、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と復興工事によるかく乱を受けた干潟の回復過程

宮城県奥松島の波津々浦湾干潟の底質中のシルトの起源の経年変化を金属組成に基づいたクラスター分析によって検討した結果、湾奥部および湾南岸を中心に確認された排水口流入物の負荷は工事終了後の時間経過に伴い減少していることが確認された。その一方で、湾口部を中心に湾外からの何らかの流入物の影響が年々大きくなっていることが確認された。この結果から震災後の干潟底質環境のかく乱の原因は、復興工事の進行に伴って変遷していることが示唆された。

Ⅳ. 一次産業廃棄物を利活用した水田におけるリン循環システムの確立

既知のもみ殻にカルシウムを添加してリン吸着能を付与する手法（硝酸で溶解した水酸化カルシウムを添加し、650℃で炭化する手法）を改良し、水田原位置でのくん炭化を可能とする条件（あらかじめ強熱し、脱炭酸したカキ殻破碎物をもみ殻に混合し、400℃で炭化）を確立した。

Ⅴ. 粘土鉱物に対するセシウム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の共存下においてセシウム吸着量の減少が確認され、これはフミン酸とセシウムの会合がフレイド・エッジへのセシウム吸着を妨げるためと考えられた。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、これはセシウムと会合したフミン酸が吸着するためと考えられた。

Research projects and annual reports

I. Availability of additives and their impurities in polymer materials in recycle process

For toxic additives and their impurities contained in automobile tires, the availability for oral ingestion was evaluated. The toxic substances in three types tire rubber have higher availability in this order, where 'the recycled rubber chips made from waste tires', 'the waste tires', and 'the new tires'. The availability of harmful additives and their impurities increased during the use of tires and recycling processing.

For flame retardants contained in vibrationproof materials made from recycle materials, the flame retardants were derived from soft urethane in recycled raw materials. On the other hand, the fibrous raw materials were not involved in any flame retardants.

II. Behavior of pesticides applied to paddy fields

Behavior of herbicides pyraclonil and flucetosulfuron 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 cluster analysis 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 on a downward trend every year. On the other hand, loading of silt from outside of the bay has a trend to increase every year.

IV. Phosphorus resource recycling system in paddy field using primary industrial waste.

A known method for preparing a phosphorus adsorbent by adding calcium to rice husk was improved. This method requires high temperature (650 °C) and pretreatment of oyster shell with nitric acid and it was difficult to operate in paddy fields. The established method can prepare the phosphorus adsorbent at low temperature (400 °C) without pretreatment with nitric acid by using preheated oyster shell. This method can be expected to operate in paddy fields.

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

The cesium adsorption amount on vermiculite decreased in the presence of humic acid due to the association of cesium and humic acid prevents adsorption to frayed edge site. On the other hand, the cesium adsorption on montmorillonite increased in the presence of humic acid due to co-adsorption of cesium and humic acid.

学術論文

- 1) Mayumi Suzuki, Tomohiro Kose, Hitoshi Tamaki, Kuniaki Kawata: Estimation of 2011 Tohoku-Oki Tsunami Deposit Origins by Cluster Analysis Using Metal Composition, Journal of Water and Environmental Toxicology, 16, 1-17 (2018).
- 2) 井口 晃徳, 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, 重松 亨: 原油自噴地域の原核生物の群集構造解析と好気性および嫌気性原油分解細菌の培養. 土木学会論文集G (環境), 73, III_165-III_173 (2017)

学会発表

- 1) 南 創史, 星野 真倫, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田に散布されたイブフェンカルバゾン及びプロモブチドの消長, 第26回環境化学討論会要旨集, pp.111-112, 6月7日～9日, 静岡 (2017).
- 2) 丸山 千賀, 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中のシルトの起源とその寄与, 第26回環境化学討論会要旨集, pp.230-231, 6月7日～9日, 静岡 (2017).
- 3) 小林 由季, 相馬 莉佐, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田由来の籾殻を循環利用したりん回収の検討, 第26回環境化学討論会要旨集, pp.673-674, 6月7日～9日, 静岡 (2017).
- 4) 諸橋 将雪, 齋藤 辰善, 高橋 雅昭, 中田 誠, 川田 邦明, 佐瀬 裕之: 日本海側の森林集水域における金属元素等の沈着特性, 第58回大気環境学会年会, P019, 9月6～8日, 神戸 (2017).
- 5) 丸山 千賀, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 玉置 仁: 多変量解析による津波浸食後の干潟底質中のシルトの起源, 第20回日本水環境学会シンポジウム講演集, pp.44-45, 9月26日～28日, 和歌山 (2017).
- 6) 相馬 莉佐, 小林 由季, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: バーミキュライト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, 第20回日本水環境学会シンポジウム講演集, pp.329-

- 330, 9月26日～28日, 和歌山 (2017).
- 7) 小林 由季, 相馬 莉佐, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 浅田 隆志: 粉殻を循環利用した燻炭のリン吸着能の検討, 第52回日本水環境学会年会, p.61, 3月15日～17日, 札幌 (2018).
- 8) 相馬 莉佐, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 溶存有機物質存在下における粘土鉱物へのセシウムの吸脱着挙動, 第52回日本水環境学会年会要旨集, p.255, 3月15日～17日, 札幌 (2018).
- 9) 丸山 千賀, 半谷 睦, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 玉置 仁, 坂巻 隆史: 東日本大震災により攪乱を受けた干潟における周辺域からのシルトの負荷源, 第52回日本水環境学会年会要旨集, p.320, 3月15日～17日, 札幌 (2018).
- 10) 諸橋 将雪, 齋藤 辰善, 高橋 雅昭, 中田 誠, 川田 邦明, 佐瀬 裕之: 森林集水域における降水及び渓流水に溶存する重金属類の季節変動とその特性, 第52回日本水環境学会年会, 3月15日～17日, 札幌 (2018).
- 11) 半谷 睦, 丸山 千賀, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明, 玉置 仁, 坂巻 隆史: 震災後の回復過程における波津々浦湾干潟底質への外洋からの流入物の影響, 第52回日本水環境学会年会, 3月15日～17日, 札幌 (2018).

その他研究活動

外部資金による研究活動

小瀬 知洋: 東北マリンサイエンス拠点形成事業「海洋生態系の調査研究」
 海洋生態系変動メカニズムの解明地震・津波による生態系攪乱とその後の回復過程に関する研究 (平成23年度～平成32年度, 代表者: 東京大学大気海洋研究所 河村 知彦)

研究会等における発表

- 1) 半谷 睦, 丸山 千賀, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 玉置 仁, 川田 邦明: PMF法を用いた東日本大震災後における干潟底質中のシルトの起源とその寄与, 第31回日本分析化学会関東支部新潟地区部会研究発表会, 9月22日, 新潟 (2017).
- 2) 小森 千春, 南 創史, 松縄 泰天, 諸橋 将雪, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田土壌中におけるジノテフラン及びカルベンダジムの鉛直分布及び経時的推移, 第31回日本分析化学会関東支部新潟地区部会研究発表会, 9月22日, 新潟 (2017).
- 3) 星 瑞穂, 松縄 泰天, 谷内 嶺仁, 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: マテリアルリサイクルによる自動車防振材への有機リン系難燃剤の混入, 第31回日本分析化学会関東支部新潟地区部会研究発表会, 9月22日, 新潟 (2017).
- 4) 相馬 莉佐, 小林 由季, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: バーミキュライトに対するセシウムの吸着挙動に及ぼすフミン酸の影響, 日本陸水学会甲信越支部会第43回研究発表会, pp.36-37, 11月25日～11月26日, 富士河口湖町, 山梨 (2017).
- 5) 丸山 千賀, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 玉置 仁, 川田 邦明: 多変量解析による東日本大震災後の干潟底質中のシルトの起源, 日本陸水学会甲信越支部会第43回研究発表会, pp.38-39, 11月25日～11月26日, 富士河口湖町, 山梨 (2017).
- 6) 武田由美佳, 丸山 千賀, 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中のシルトの起源とその寄与, 新潟県生物教育研究会第53回新津大

会, O-10, 12月10日, 新潟 (2017).

7) 小森 千春, 南 創史, 松縄 泰, 諸橋 将雪, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田土壌中におけるジノテフラン及びカルベンダジムの鉛直分布及び継時的推移, 新潟県生物教育研究会第53回新津大会, O-10, 12月10日, 新潟 (2017).

8) 小林 由季, 相馬 莉佐, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田由来の籾殻を循環利用したりン回収の検討, 新潟県生物教育研究会第53回新津大会, P-3, 12月10日, 新潟 (2017).

9) 南 創史, 星野 真倫, 松縄 泰天, 鈴木まゆみ, 小瀬 知洋, 川田 邦明: 水田に散布されたイプフェンカルバゾン及びプロモブチドの消長, 新潟県生物教育研究会第53回新津大会, P-4, 12月10日, 新潟 (2017).

外部資金

【科研費】

小瀬 知洋 (研究分担者): 基盤研究 (C) 課題番号17K00650「東日本大震災により攪乱を受けた藻場・干潟生態系の回復過程と流域圏からの負荷の評価」平成29年度～平成31年度

【助成金】

小瀬 知洋 (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29年度試験研究費助成「廃タイヤを原料にした人工芝緩衝材の発がんリスクとその制御」

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)

【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: 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
- 3) 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
- 4) 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

【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4編 (英文2編; 和文2編)
- 4) 内田エネルギー科学振興財団

小瀬 知洋

【学会活動】

- 1) 日本水環境学会 関東支部幹事
- 2) 日本水環境学会 年会実行委員会 実行委員
- 3) 日本環境化学会 評議員, 幹事
- 4) 日本分析化学会 関東支部新潟地区部会幹事

【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) 新潟市江南区亀田清掃センター運営評議会 委員（有識者）
- 3) 新潟県都市計画審議会 委員（有識者）

【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) 論文査読3編（英文2編；和文1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

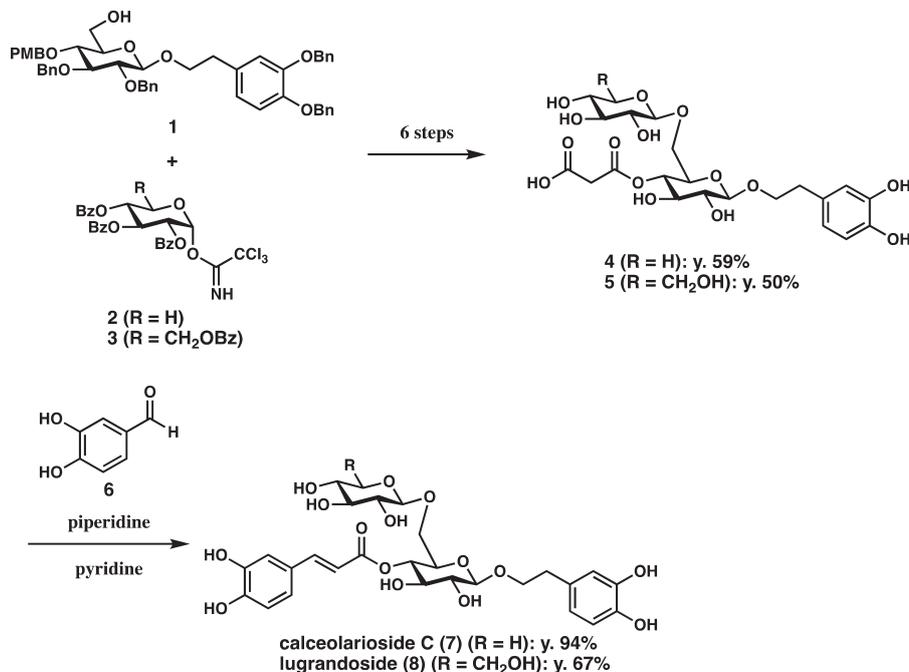
これまでの有機合成は、原料と反応溶媒は枯渇資源の石油由来であるばかりでなく、反応で生じる目的物と副生成物を分離する際に膨大なエネルギーを必要とし、かつ大量の廃棄物が発生していた。しかしながら、持続可能な社会を構築するためには環境に調和した有機合成技術の開発は必須である。このような観点から環境有機化学研究室では、再生可能資源として糖もしくは天然から容易に入手可能なアミノ酸を原料にして、医薬品のリード化合物となる天然物などの有用物質の合成および、これまでに培ってきたフルオラスケミストリーの技術の他、新しい反応場や反応媒体さらには触媒化学の技術を取り込むことによって環境にやさしい（環境調和型）有機合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

平成29年度の研究成果

1) カルセオラリオシドCおよびルグランドシドの全合成

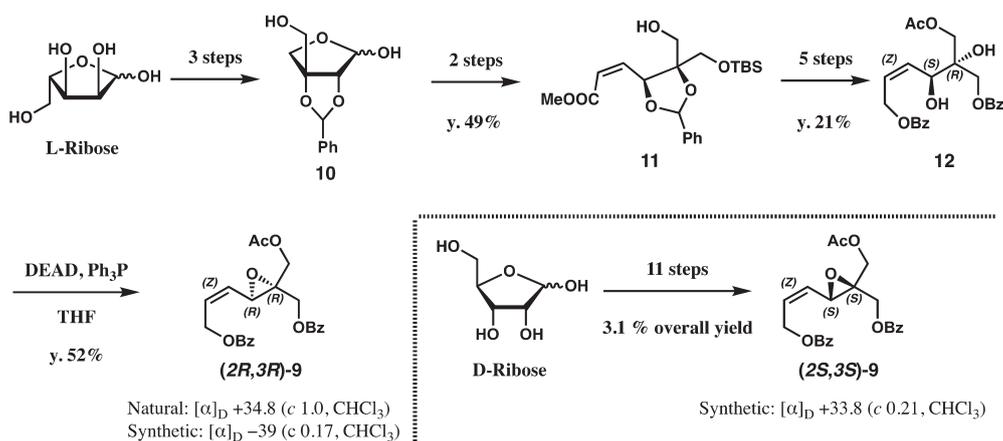
薬用植物から単離されたフェニルエタノイド配糖体は、多様で魅力的な生理活性を持つことから、医薬品のリード化合物として注目されている。その構造は、2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルβ-D-グルコピラノシドの4位または6位水酸基にカフェ酸をはじめとするケイ皮酸がエステル結合した共通骨格を有する。さらに、そのグルコピラノシド誘導体に、ラムノース、キシロース、グルコースがグリコシド結合した二糖および三糖型のフェニルエタノイド配糖体も存在する。当研究室では、フェニルエタノイド配糖体の構造活性相関に興味を持ち、それら配糖体の効率的な合成経路の開発について検討してきた。昨年度までに、カルボキシアセチル基を有する二糖誘導体とベンズアルデヒド誘導体とのクネーフェナーゲル縮合を行うことで、ケイ皮酸エステル部位の構造が異なるフォルシトシドA、フォルシセンシドKおよびプルプレアシドDの全合成を達成した。そこで本年度は、フェニルエタノイド配糖体のライブラリー構築のために、糖鎖構造が異なるカルセオラリオシドCおよびルグランドシドの全合成について検討した。まず、糖受容体1とキシロース供与体2からグリコシル化反応を経由し、6工程収率59%でカルセオラリオシドC前駆体4を得た。つぎに、触媒量のピペリジン存在下、前駆体4と3,4-ジヒドロキシベンズア

ルデヒド(6)とのクネーフェナーゲル縮合を行い、カルセオラリオシドC(7)を収率94%で得た。同様の合成経路で、共通の合成中間体1とグルコース供与体3とのグリコシル化、保護基の導入と除去、カルボキシアセチル化、クネーフェナーゲル縮合を行うことで、ルグランシド(8)が得られた。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、カルセオラリオシドCとルグランシドの最初の全合成を達成した。以上のように、クネーフェナーゲル縮合を鍵反応とする本合成法は、ケイ皮酸エステル部位の構造だけでなく、糖鎖構造の異なるフェニルエタノイド配糖体も簡便に合成できる方法論であることを明らかにすることができた。



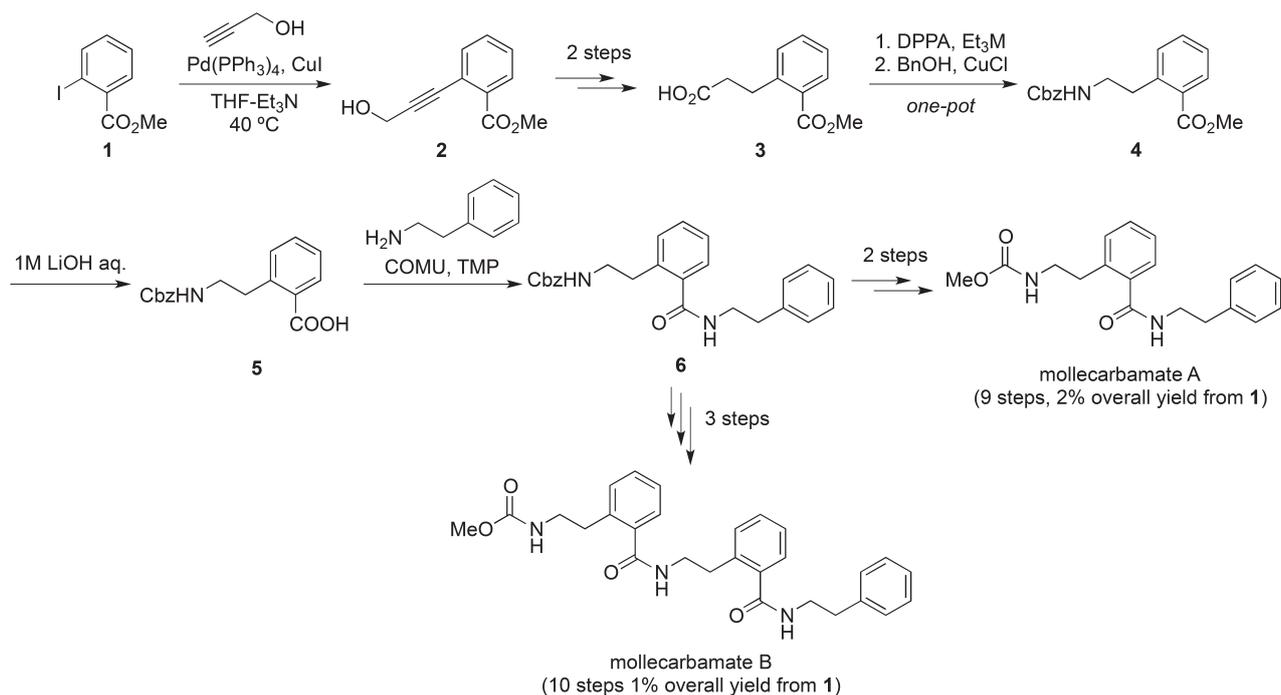
2) (2R,3R) -および (2S,3S) -グランジウバリンAの全合成

グランジウバリンA(9)は、*Uvaria grandiflora*の樹皮から単離構造決定された*seco*-シクロヘキセン誘導体である。天然には9と類似した構造のシクロヘキセンおよび*seco*-シクロヘキセン誘導体が単離されており、それらは抗マラリア活性などを示す。そのため、グランジウバリンAの生理活性にも期待が持たれる。また、9の2つの不斉炭素は相対立体配置が決定されているものの、絶対立体配置は明らかにされていない。一方、当研究室ではL-リボースからD-アピオース誘導体10の合成法を確立している。10は天然物9と炭素骨格が類似していることから、10をキラルシントンの用いれば、その全合成を容易に達成できるものと考えた。そこで、9の詳細な生理活性試験のための試料供給ならびに絶対立体配置の決定を目的とし、その全合成について検討した。まず、D-アピオース誘導体10に対して一級水酸基の保護とWittig反応を行い、二工程収率49%でアルケン11を得た。ついで、DIBAL還元、保護基の導入と除去を行うことで、グランジウバリンA前駆体12へ誘導した(五工程収率21%)。最後に、DEADとPh₃Pを用いた光延反応を行うことで、収率52%で目的物(2R,3R)-9を得た。しかしながら、合成品の比旋光度の値は報告された値と符号が逆であった。そこで、D-リボースから同様の合成経路で(2S,3S)-9を合成したところ、比旋光度の値は文献値と一致した。以上のように天然物の提出構造ならびにそのエナンチオマーの最初の全合成を達成し、天然物は(2S,3S)-9であることを明らかにすることができた。



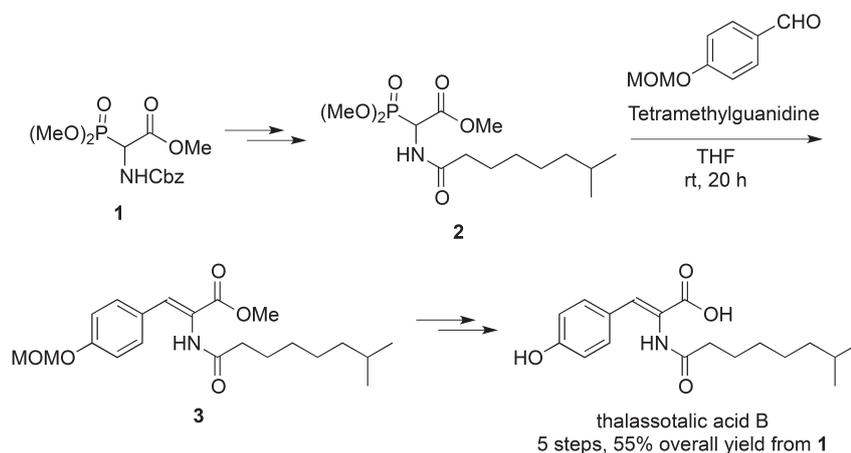
3) 海洋天然物モレカルバメートAとBの全合成

モレカルバメートAとBはマヨットで採取されたホヤの一種である*Didemnum molle* (MAY13-117) サンプルの抽出物から単離された繰り返しの*o*-カルボキシフェネチルアミド単位を有する化合物群である。モレカルバメートAとBの全合成は、*o*-ヨード安息香酸メチルからそれぞれ9および10工程、それぞれ2%および1%の総収率で達成した。この合成における重要な特徴は、菌頭クロスカップリング反応およびカルボン酸のワンポットクルチウス転位である。



4) Thalassotalic acid Bの全合成

Thalassotalic acid類は海洋二枚貝の養殖場で入手したグラム陰性菌である*Thalassotalea* sp. PP2-459の培養液から単離された*N*-アシルデヒドロチロシン誘導体である。昨年度、(*E*)-選択的Horner-Wadsworth-Emmons反応を鍵反応としてthalassotalic acid AとCの全合成を行った。今回、同様の方法で検討を行い、thalassotalic acid Bの全合成を達成した（1から5工程、総収率55%）。



Research projects and annual reports

1) First total syntheses of calceolarioside C and lugrandoside

Phenylethanoid glycosides are isolated from the roots, bark, and leaves of medicinal plants. Most of them possess diverse and interesting biological activities. The intriguing structure and characteristic biological activities of phenylethanoid glycoside have stimulated interest in the synthetic community. Recently, we achieved the total syntheses of forsythoside A, forsythenside K, and purpureaside D by using Knoevenagel condensation as a key reaction. In this year, we attempted to synthesize calceolarioside C and lugrandoside. The precursors 4 and 5 were prepared in 6 steps using donors 2 and 3. The carboxyacylated disaccharides 4 and 5 were reacted with 3,4-dihydroxybenzaldehyde (6) in the presence of piperidine to give the desired compounds 7 and 8 in 94% and 67% yields, respectively.

2) Total syntheses of (2*R*,3*R*)- and (2*S*,3*S*)-grandiuvarine A and determination of absolute configuration of naturally occurring grandiuvarin A

Grandiuvarin A was isolated from the bark of *Uvaria grandiflora*. The relative configuration at C-2 and C-3 in the compound were determined as 2*R**, 3*R** by 1D and 2D NMR spectroscopic analysis. We accomplished the first total syntheses of (2*R*,3*R*)- and (2*S*,3*S*)-grandiuvarine A in 11 steps from D- and L-ribose, respectively. By comparing the optical rotations of both enantiomers with those of the natural product, the absolute configuration of the naturally occurring grandiuvarine A has been determined to be 2*S*, 3*S*.

3) Total synthesis of marine natural products mollecarbamates A and B

Mollecarbamates A-D are a family of compounds that possess repeating *o*-carboxyphenethylamide units isolated from the extract of a sample of the tunicate *Didemnum molle* (MAY13-117) collected in Mayotte. The total synthesis of mollecarbamates A and B were accomplished in nine and ten steps and 2% and 1% overall yields respectively, from methyl *o*-iodobenzoate. The key features of the synthesis include Sonogashira cross coupling reaction and one-pot Curtius rearrangement of carboxylic acid.

4) Total synthesis of thalassotalic acid B

Thalassotalic acids and thalassotalamides are *N*-acyl dehydrotyrosine derivatives isolated from the culture solution of *Thalassotalea* sp. PP2-459, a Gram negative bacterium obtained from a marine bivalve aquaculture facility. Total

synthesis of thalassotalic acid B was achieved using (*E*)-selective Horner- Wadsworth-Emmons reaction of as a key reaction (5 steps, 55% overall yield from 1).

学会発表

- 1) "2,3-O-ベンジリデン-L-アピオフラノースを出発原料とするグランジウバリンBおよびその立体異性体の合成研究" 小島 勝, 笹川 美和, 中村 豊, 第74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), A05 (平成29年11月18日~19日, 新潟大学五十嵐キャンパス)
- 2) "ルグランドシド, フォルシセンシドKおよびそれら類縁体の合成研究" 小島 勝, 児玉 瞳, 小武 由奈, 中村 豊, 第74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), A06 (平成29年11月18日~19日, 新潟大学五十嵐キャンパス)
- 3) "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" 小島 勝, 児玉 瞳, 小武 由奈, 中村 豊, 日本化学会第97春季年会 (2017), 2C7-12 (平成29年3月16日~19日, 慶應義塾大学日吉キャンパス)

外部資金

【助成金】

小島 勝 (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29年度試験研究費助成「低環境負荷と低コストを指向したリサイクル型脱水縮合剤の開発」

学外活動

中村 豊

【学会活動】

- 1) 日本化学会
- 2) 有機合成化学協会 (関東支部幹事)
- 3) アメリカ化学会
- 4) 日本フッ素化学会
- 5) フルオラス科学研究会 (評議員)
- 6) 国際複素環化学会

【その他学外活動 (社会貢献活動等)】

- 1) 長岡向陵高等学校出張講義 (平成29年7月26日)
- 2) 教員免許状更新講習講師 (平成29年8月21日)
- 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29年11月12日, 新潟大学理学部)

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)

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



・ 2-deoxy-*scyllo*-inosose ・ genetic engineering ・ *Escherichia coli* ・ biomass

研究課題

組換え大腸菌による糖から化成品原料の高発酵生産

平成29年度の研究成果

組換え大腸菌による糖から化成品原料の高発酵生産

2-deoxy-*scyllo*-inosose (DOI) は、医薬品関連上重要な2-deoxystreptamine含有アミノグリコシド系抗生物質生合成経路における最初の中間産物であり、炭素六員環構造を持つ化合物である。DOIはカルバ糖誘導体やカテコール、ハイドロキノン、トリヒドロキシベンゼンなどの芳香族化合物へと容易に化学変換することができる有用な化合物である。また、DOIは医薬品、化粧品、化成品の中間原料として産業上有用な物質となることができる。そこで我々は、価値の高いDOI誘導体を見出すために、DOI資化微生物の単離を試みた。我々は、新潟の土壤中からDOIを単一炭素源として資化することのできる酵母を複数単離し、その単離した株の中の酵母*Cryptococcus podzolicus* ND1株は、DOIを主に*scyllo*-quercitolと(-)-*vibo*-quercitolに変換した。近年、inositol類縁体は様々な生体系において重要な生理的役割や物理的性質を有していることが報告されている。*myo*-inositolのデオキシ類縁体である(-)-*vibo*-quercitolはマウスを使用した実験において血糖降下作用が報告されている。また、(-)-*vibo*-quercitolは熱安定性や繰り返し安定性に優れた蓄熱材としても利用可能である。さらに、(-)-*vibo*-quercitol誘導体がグルコセレブロシダーゼ阻害活性を有することが報告されており、ゴーシェ病の医薬品開発に役立つことが期待されている。このようにquercitol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quercitol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quercitol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の合成や精製が非常に困難である。

そこで我々は、組換え微生物を用いた*scyllo*-inositolおよび(-)-*vibo*-quercitolの効率的な生産システムの構築を目的として、DOIを*scyllo*-inositolあるいは(-)-*vibo*-quercitolへ変換するDOI変換酵素の単離を*C. podzolicus* ND1から試みた。*C. podzolicus* ND1由来の粗酵素抽出液を用いて水素供与体(NADHまたは

NADPH) の存在下と非存在下の条件において *in vitro* における DOI 変換アッセイを行った。また、GC-MS 分析により変換中に形成された代謝産物を調べ、*scyllo*-inositol および (-)-*vibo*-quercitol に相当するピークを検出した。これらの結果は、*C. podzolicus* ND1 由来の粗酵素抽出液中には NADH あるいは NADPH 依存性の DOI 還元酵素の存在を示していた。

DOI のケト基は、NADH または NADPH が水素供与体となり、NADH または NADPH 依存性の還元酵素によって還元されている可能性が考えられた。NADH または NADPH を利用して *scyllo*-inosose を還元する酵素として、*B. subtilis* の inositol 脱水素酵素 (IolG, IolX, IolW) が見出されていることから、inositol 脱水素酵素に類似性を持つ DOI 還元酵素が存在するという仮説を立てた。NADH もしくは NADPH 依存性のケトン基還元活性を有する *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *C. neoformans*, *C. gattii* 由来 *myo*-イノシトールデヒドロゲナーゼのアミノ酸配列をもとに縮重プライマーを設計した。縮重プライマーを用いて *C. podzolicus* ND1 の染色体 DNA から *myo*-イノシトールデヒドロゲナーゼホモログの遺伝子の一部を増幅した。得られた一部の塩基配列をもとに *C. podzolicus* ND1 *myo*-イノシトールデヒドロゲナーゼの完全長 cDNA を RACE 法と RT-PCR 法を用いて取得した。Blast 解析の結果、本 DOI 還元酵素は MviM superfamily に属し、さらに Pfam による解析の結果、GFO_IDH_MocA ドメインと GFO_IDH_MocA_C ドメインを有するが明らかとなった。

C. podzolicus ND1 由来の NADH 依存性 DOI 還元酵素をコードする遺伝子である *DOIR* を組換えタンパク質発現用プラスミドに連結し、大腸菌を用いて発現、精製し特性解析を行った。精製した DOI 還元酵素を DOI と NADH と共に反応させたところ、不可逆的に DOI を (-)-*vibo*-quercitol へ変換した。この酵素は NADH に対して強い選択性を示し、NADPH 存在下では変換活性を示さなかった。DOI 還元酵素の至適 pH は 8.5 であり、至適温度は 35°C を示し、 k_{cat} は 9.98 s^{-1} 、DOI と NADH に対する K_m 値はそれぞれ 4.38 mM と 0.24 mM を示した。

我々の研究室では、ホスホグルコースイソメラーゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、ホスホグルコムターゼをコードする遺伝子 (それぞれ順に *pgi*, *zwf*, *pgm*) を破壊した glucose 代謝経路改変大腸菌を有している。*B. circulans* SANK72073 由来 DOI 合成遺伝子 (*btrC*) を組換え大腸菌 $\Delta pgi \Delta zwf \Delta pgm$ 株に導入し DOI の生産を行ったところ、生産性の大幅な向上がみられた (収率 99%)。次に *btrC* と *DOIR* を共発現させた $\Delta pgi \Delta zwf \Delta pgm$ 株を作製し、3% glucose と 4% mannitol を含む 2x YT 培地で培養を行った。その結果、30 g/L の glucose から 26 g/L の (-)-*vibo*-quercitol の生産に成功し収率 96.5% となった。

本研究は inositol 類縁体の生理活性に注目し、quercitol のような有用な環状 polyol 生産の基盤構築となりうるものであると考えている。

Research projects and annual reports

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

2-Deoxy-*scyllo*-inosose (DOI) is a unique cyclitol with six-membered carbocycle structure, which was found only in the biosynthetic pathway of clinically important 2-deoxystreptamine (DOS)-containing aminoglycoside antibiotics. DOI is a valuable material because it is easily converted to carbasugar derivatives and aromatic compounds such as catechol, hydroquinone and trihydroxybenzene by chemical reactions. DOI can become an industrially useful compound as an intermediate raw material for medicines, cosmetics, and chemicals. Additionally, DOI derivatives may have greatly expanded the use of DOI. Therefore, we came up with the isolation of DOI-assimilating microorganisms to find a useful DOI derivative. We isolated yeast strains capable of assimilating DOI as a carbon source from soil in Niigata. One of these strains, *Cryptococcus podzolicus* ND1, mainly converted DOI to *scyllo*-quercitol and (-)-*vibo*-

quercitol. Recently, it has been reported that inositol analogues have significant physiological roles in various biological systems and physical properties. (–)-*vibo*-quercitol, one of deoxy analogues of *myo*-inositol, has been reported to be an effect on hypoglycemia in mouse experiments. (–)-*vibo*-Quercitol is also an excellent heat storage material, as it has both heat resistance and repetition stability. In addition, (–)-*vibo*-quercitol derivatives have been reported to act as inhibitors of glucocerebrosidase activity. Glucocerebrosidase activity inhibitors is expected to serve for further drug development for the treatment of Gaucher's 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.

To establish the efficient *scyllo*-quercitol or (–)-*vibo*-quercitol production system in recombinant microorganism, we tried to obtain the DOI-converting enzyme, which converts DOI into *scyllo*-quercitol or (–)-*vibo*-quercitol from *C. podzolicus* ND1. We performed *in vitro* biotransformation of DOI with crude enzyme extracts of *C. podzolicus* ND1 with or without a hydrogen donor (NADH or NADPH). GC-MS analysis was performed to investigate the metabolites formed during DOI biotransformation. We confirmed the correspondence of the two peaks to (–)-*vibo*-quercitol and *scyllo*-quercitol, only in the presence of a hydrogen donor (NADH or NADPH). These results suggest the existence of an NADH/NADPH-dependent DOI reductase in crude enzyme extracts of *C. podzolicus* ND1.

The keto group in DOI may be reduced with NADH/NADPH as the hydrogen donor via an NADH/NADPH-dependent DOI reductase. The reduction of *scyllo*-inosose is catalyzed by the *B. subtilis* inositol dehydrogenase (IolG, IolX, IolW) with NADH or NADPH oxidation. Therefore, we hypothesize the existence of a DOI reductase that shares similarities with inositol dehydrogenase. Degenerate primers were designed from *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *C. neoformans*, and *C. gattii myo*-inositol dehydrogenase, which has NADH or NADPH-dependent ketone reductase activity. A part of a *myo*-inositol dehydrogenase gene homologue was amplified from *C. podzolicus* ND1 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* ND1 total RNA. Protein BLAST analysis revealed that DOI reductase is a putative member of the MviM superfamily. PFAM domain assignment showed that DOI reductase contains a GFO_IDH_MocA domain and GFO_IDH_MocA_C domain.

An NADH-dependent DOI reductase coding gene, *DOIR*, from *C. podzolicus* ND1 was ligated to the expression plasmid vector and was transformed into *Escherichia coli* DH5 α . *C. podzolicus* DOI reductase expressed in *E. coli* was purified and characterized. The purified protein catalyzed the irreversible reduction of DOI with NADH and converted DOI into (–)-*vibo*-quercitol. The enzyme showed a strong preference for NADH and showed no activity with NADPH. The enzyme had an optimal pH of 8.5 and optimal temperature of 35°C respectively. The *k_{cat}* of this enzyme was 9.98 s⁻¹, and the *K_m* values for DOI and NADH were 4.38 and 0.24 mM, respectively.

In our previous study, we constructed the metabolically engineered *E. coli* strains by disrupting the genes for phosphoglucose isomerase, glucose-6-phosphate (G6P) dehydrogenase, and phosphoglucomutase (*pgi*, *zwf*, and *pgm*, respectively). DOI production of the *E. coli* mutant strain $\Delta pgi\Delta zwf\Delta pgm$ into which the DOIS gene (*btrC*) from *B. circulans* SANK72073 was introduced showed strongly enhanced DOI productivity (99% yield). We then constructed the *E. coli* mutant strain $\Delta pgi\Delta zwf\Delta pgm$ co-expressing DOI synthase gene and DOI reductase gene and cultured in 2 x YT medium containing 3% glucose and 4% mannitol. This recombinant was achieved to produce 26 g/L of (–)-*vibo*-quercitol (26 g/L) from glucose (30 g/L) (96.5% yield).

This research focuses on the physiological activity of inositol analogues and can be the basis for building a platform for producing useful cyclic polyols such as quercitol.

学術論文

- 1) Nomura K, Hoshino H, Igoshi K, Onozuka H, Tanaka E, Hayashi M, Yamazaki H, Takaku H, Iguchi A and Shigematsu T. Brewing characteristics of piezosensitive sake yeasts. High Pressure Res., 38(2):165-176 (2018)
- 2) Ara S, Yamazaki H, Takau H. Isolation of 2-deoxy-scylo-inosose (DOI)-assimilating yeasts and cloning and characterization of the DOI reductase gene of *Cryptococcus podzolicus* ND1. J Biosci Bioeng, 125(4):397-406 (2018)
- 3) Sagehashi Y, Takaku H, Yato O. Partial peptides from rice defensin OsAFP1 exhibited antifungal activity against the rice blast pathogen *Pyricularia oryza*. J Pestic Sci 42(4), p172-5, (2017)
- 4) 長嶺 敬, 高久 洋暁, 田中 宥司 “国産大麦新品種を生かした” 地産地消型” 焼酎の展開とそのポイント 日本醸造協会誌 112(10) 675-682, (2017)

学会発表

【海外】

- 1) Kazuki Nomura, Hirofumi Hoshino, Kazuaki Igoshi, Haruka Onozuka, Mayumi Hayashi, Harutake Yamazaki, Hiroaki Takaku, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu. 2017 Brewing characteristics of piezosensitive Sake yeasts, European High Pressure Research Group (EHPRG2017), Adam Mickiewicz University in Poznan, September 3-8.

【国内】

- 1) 酒井里佳子, 荒 学志, 山崎 晴丈, 志田 洋介, 小笠原 涉, 矢追 克郎, 荒木 秀雄, 高久 洋暁 : 油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* の油脂低蓄積変異株の取得及びその油脂蓄積性の解析 ; 日本農芸化学会 2018年度大会 (名城大学) 平成30年 3月
- 2) 風間 春香, 岡 由佳, 小林 鈴花, 荒 学志, 山崎 晴丈, 志田 洋介, 小笠原 涉, 矢追 克郎, 森 一樹, 油谷 幸代, 荒木 秀雄, 高久 洋暁 : 赤色油脂酵母 *Rhodospiridium toruloides* の油脂高蓄積変異株の取得及びその油脂蓄積性の解析 ; 日本農芸化学会2018年度大会 (名城大学) 平成30年 3月
- 3) 宮島 温美, 荒 学志, 山崎 晴丈, 志田 洋介, 小笠原 涉, 矢追 克郎, 荒木 秀雄, 高久 洋暁 : 脂質工学への展開を視野に入れた油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* の簡易的形質転換系の開発 ; 日本農芸化学会2018年度大会 (名城大学) 平成30年 3月
- 4) 春日 琴葉, 海老名 紗也佳, 荒 学志, 山崎 晴丈, 志田 洋介, 小笠原 涉, 矢追 克郎, 森 一樹, 油谷 幸代, 荒木 秀雄, 高久 洋暁 : 油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* の油脂超高蓄積変異株の取得及び油脂蓄積重要遺伝子の同定 ; 日本農芸化学会2018年度大会 (名城大学) 平成30年 3月
- 5) 松沢 智彦, 前原 智子, 神坂 泰, 荒 学志, 高久 洋暁, 矢追 克郎 : 油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* の delta 12-fatty-acid desaturase の機能解析 ; 日本農芸化学会2018年度大会 (名城大学) 平成30年 3月
- 6) Khanh Dung Pham, Yosuke Shida, Harutake Yamazaki, Kazuki Mori, Sachiyo Aburatani, Kasuke Tashiro, Satoru Kuhara, Hiroaki Takaku, Wataru Ogasawara: Study of the expression of carotenoid biosynthesis genes in wild type and hyper carotenoid strains of the yeast *Rhodospiridium toruloides*; 第12回日本ゲノム微生物学会年会 (京都)

大学) 平成30年3月

- 7) Kota Oshiro, Takanobu Iwamoto, Takeru Takamizawa, Yoshiyuki Suzuki, Harutake Yamazaki, Hiroaki Takaku, Yosuke Shida, and Wataru Ogasawara: Comparison of Transformation Method in *Rhodospiridium toruloides*; The 6th International GIGAKU Conference in Nagaoka (長岡技術科学大学) 平成29年10月
- 8) Khanh Pham Dung, Atsushi Miyata, Yosuke Shida, Harutake Yamazaki, Kazuo Masaki, Kazuki Mori, Kosuke Tashiro, Satoru Kuhara, Wataru Ogasawara: Analysis of carotenoid production in the yeast *Rhodospiridium toruloides* by light response. The 6th International GIGAKU Conference in Nagaoka (長岡技術科学大学) 平成29年10月
- 9) 野村 一樹, 星野 浩史, 井越 和彰, 小野塚 悠, 林 真由美, 山崎 晴丈, 高久 洋暁, 井口 晃徳, 重松 亨, 日本酒の圧力発酵制御に向けたきょうかい7号酵母株への圧力感受性の付与と醸造特性の解析, 平成29年度日本醸造学会大会, 東京, 平成29年10月
- 10) Khanh Pham Dung, Atsushi Miyata, Yosuke Shida, Harutake Yamazaki, Kazuo Masaki, Kazuki Mori, Kosuke Tashiro, Satoru Kuhara, Wataru Ogasawara: Analysis of light response mechanisms in carotenoid synthesis of the yeast *Rhodospiridium toruloides*. 第69回日本生物工学会大会 (早稲田大学) 平成29年9月

特許出願

高久 洋暁, 荒木 秀雄, 山崎 晴丈 特願2018-034748「油脂高蓄積株, 油脂高蓄積株を製造する方法, 油脂高蓄積株を用いて油脂を製造する方法, 及び, 油脂高蓄積株の抽出物」出願日: 平成30年2月28日

その他研究活動

高久 洋暁

【論文査読】

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

山崎 晴丈

【論文査読】

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】

山崎 晴丈 (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29年度試験研究費助成「油脂酵母*Lipomyces starkeyi*の油脂蓄積機構の解析～酵母による油脂生産を目指して～」

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) 出張講義 6月15日 新発田高等学校
- 2) 出張講義 10月19日 十日町高等学校

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
- 5) 酵母遺伝学フォーラム

食品分析学研究室

Laboratory of Food Analysis

- 教授 佐藤 眞 治 Professor Shinji SATO, Ph.D.
- 特任講師 久保田 眞 敏 Research Lecturer Masatoshi KUBOTA, Ph.D.
- 助手 櫻井 美 仁 Research Associate Misato SAKURAI



生活習慣病予防効果を有する機能性食品開発と機能評価



- ・ 抗肥満効果
- ・ 血糖値上昇抑制効果
- ・ 脂質代謝改善効果
- ・ 免疫賦活効果
- ・ 機能性成分分析

研究課題

糖尿病、高血圧、高脂血症などのメタボリック症候群（生活習慣病）を予防するためには、内臓脂肪蓄積型の「肥満症」の発症を予防し、インスリン抵抗性の惹起を阻止することが非常に重要である。本研究では血糖値上昇抑制、脂質代謝異常改善、血圧上昇抑制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。

これまで研究を重ねてきた食品因子に加え、新たな機能性食品因子として日本人の主食でありタンパク質供給源としての重要性にはほとんど注目されてこなかった米タンパク質に焦点を当て、その機能性をメタボリック症候群予防だけでなく免疫系に対する影響など幅広く検討を重ねている。さらに近年新たなタンパク質源として世界的に注目を集めつつあるgreen protein, その中でもクロレラについても機能性に関する検討に加え、栄養学的に基礎となる知見を得ることを目的として消化性に関する検討も行っている。

平成29年度の研究成果

1. プロポフォールの体内動態と薬理効果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、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、中毒に対する処置が問題となっている。局所麻酔薬中毒については脂肪乳剤を急速投与することで症状が改善されること（Lipid Sink Theory）が報告されている。そこで、プロポフォールの体内動態と麻酔効果に及ぼす脂肪乳剤の影響について検討を行った。その結果、脂肪乳剤を定速注入した場合の血漿中プロポフォール濃度は、脂肪乳剤を注入していない群の値に比べて約2倍に上昇することが明らかとなった。また、静脈内プロポフォール濃度は動脈内濃度の値に比べて約5倍高く、プロポフォールが組織中より「洗い出されていること」が示唆された。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ールの分布容積に大きく影響することが明らかとなった。正向反射が

消失した時点での血漿中プロポフォル濃度は脂肪乳剤を定速注入した場合、大きく上昇することが明らかとなった。一方、脳脊髄液の濃度には有意差は認められず、脂肪乳剤はプロポフォルの麻酔作用に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

2. プロポフォルの体内動態と麻酔効果に及ぼす超低糖質餌の影響

静脈麻酔薬として一般的に使用されているプロポフォルは、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、中毒に対する処置が問題となっており、また、肥満症の患者において麻酔薬の効果が減弱することが報告されている。超低糖質ダイエットは中枢のエネルギーである糖質の摂取を極端に制限したダイエットであるため、中枢神経系に作用する薬物の薬理効果に影響を及ぼす可能性がある。そこで、超低糖質餌の摂取によって惹起された肥満ラットを用いて、プロポフォルの体内動態と麻酔効果の変動について検討を行った。その結果、プロポフォル静脈内単回投与後の静脈中プロポフォル濃度は、動脈中濃度に比べて約5倍高く、プロポフォルが組織中より「洗い出されていること」が示唆された。Ket群の動脈内濃度はCont群の値に比べ低く推移することが明らかとなった。これらの結果は、低糖質餌の摂取によって蓄積された組織中の脂肪にプロポフォルが移行したために生ずると考えられた。RRR試験におけるKet群の覚醒時間は、Cont群の値に比べ有意に短く、超低糖質餌の摂取によって、プロポフォルの麻酔効果が減弱することが明らかとなった。

3. 糖尿病モデルラットに対する*Lactobacillus sakei* UONUMAの機能性評価

近年、糖尿病と腸内環境には関連性があるということが報告されており、特に腸内細菌叢による腸内環境の変化が自己免疫疾患、代謝疾患など様々な疾病につながるということが報告されている。前年度の研究より、乳酸発酵甘酒によって腸内細菌叢変化したことから、本研究では乳酸発酵甘酒の乳酸発酵に用いられた*Lactobacillus sakei* UONUMA 3株を用い、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発性糖尿病ラットに対する機能性評価を行った。その結果、STZ投与群では体重の増加が強く抑制され、各群間に差は認められなかった。血液生化学検査の結果、ウオヌマB群では総ケトン体の量が他のSTZ投与群より改善傾向が見られ、重篤な糖尿病によって惹起されたエネルギー産生不足を補う可能性が示唆された。また、HbA1cはウオヌマB群で他のSTZ群と比較して低値を示したことから、ウオヌマ-2株の摂取は重篤な糖尿病を改善する効果は認められないものの、高齢期のフレイルに対して活用できるのではないかと考えられる。

4. 高脂肪高シヨ糖給餌ラットにおける越後白雪茸水抽出物画分の抗肥満効果

越後白雪茸は新潟県で発見された新種の食用キノコであり、抗酸化作用や免疫賦活作用、抗肥満効果を有していることが知られている。昨年度までの研究から越後白雪水抽出画分について抗肥満効果、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が明らかになった。そこで本研究では越後白雪茸水抽出物をさらに分画し、各画分の抗肥満効果を検討した。その結果、体重は越後白雪茸水抽出物含有群 (BX-E, BX-R, BX-Ac, BX-W) で低値を示した。また、BX-E群, BX-W群は肝臓重量, AST, ALT, LDHが低値を示し、肝機能低下を抑制することが示唆された。内臓脂肪量についてもBX-E群, BX-W群で減少傾向が見られ、特にBX-W群で著しく減少していた。糞中の脂質排泄量は越後白雪茸水抽出物含有群全てがHFHS群よりも高く、特にBX-W群で最も増加していた。以上から、越後白雪茸の機能性成分は水溶性の高い物質であることが示唆された。

5. 抗メタボリックシンドローム機能を有する食品の組み合わせによる相加相乗効果の検討

近年健康志向の高まりから様々な機能性食品が販売されているが、その多くが複数の機能性食品を組み合わせ、相加相乗効果を狙っている。しかし、機能性食品を組み合わせることによる相加相乗効果について検討している例はほとんどない。本研究では市販の桑葉・煎茶混合茶を検討試料として用いた。桑葉や煎茶は多くの機能性を有している事が明らかになっており、これらの素材を含む機能性食品は多い。対象試料として混合茶の原料である桑葉のみ、または煎茶のみを用い、二つの素材の組み合わせがメタボリックシンドロームに対しどのような影響を及ぼすかについて、高脂肪高シヨ糖給餌ラットを用いて検討を行った。その結果、長期摂餌期間中の摂餌量は桑葉群、煎茶群、混合茶群において有意な差は認められなかった。体重の推移ではHFHS群、桑葉群、煎茶群において同程度の推移であった一方、混合茶群では抑制傾向が認められた。また、肝機能パラメータであるAST, ALTについても混合茶群で低値を示し、肝臓への脂質蓄積も抑制傾向が認められた。糞中における脂質量も混合茶群で高く、混合茶を摂取することにより高脂肪高シヨ糖飼料による脂肪蓄積を抑制することが示唆された。以上から、桑及び煎茶単体では本研究におけるメタボリックシンドロームに対する効果は弱かったものの、これらを混合することで機能性成分が多様化し、より脂肪蓄積や体重増加に対する機能性が向上したと示唆された。

6. チアミン(ビタミンB1)の体内動態に及ぼす超低糖質食の影響

超低糖質食とは糖質を極端に制限した食事法であり、近年ではダイエット方法としても注目されているが、危険性も指摘されている。日本人の食事摂取基準(厚生労働省, 2015)によると、生活習慣病の予防や重症化予防のためにはエネルギーの約50~65%を炭水化物から摂取することが望ましいとされており、超低糖質食などの極端に偏った食事は生体内での消化・吸収・代謝に悪影響を及ぼすことが危惧されている。実際に超低糖質食を摂取させたラットでは、臓器への著しい脂肪蓄積が認められることが報告されており、脂質代謝や糖質代謝などの生体内での代謝に対して大きな影響を及ぼす可能性がある。そこで本研究では、超低糖質餌の摂取により組織中に脂質が蓄積したラットを用いて、水溶性のビタミンであるチアミンの体内動態に及ぼす超低糖質餌の影響について検討を行った。その結果、Ket.群のチアミン静脈内投与後の血漿中チアミン濃度はCont.群の値に比べ、有意に高く推移することが明らかになった。更に、経口投与後の血漿中チアミン濃度についてもKet.群の値がCont.群の値に比べ高く推移することが明らかとなった。リン酸が2個結合したチアミンピロリン酸はピルビン酸デヒドロゲナーゼの補酵素である。従って、超低糖質餌の摂取によって解糖系などの糖質代謝に影響を及ぼすことが示唆された。

7. 食事誘導性肥満モデルマウスにおける米胚乳・米糠タンパク質の抗肥満作用

近年問題となっている医療費高騰の原因の1つとして、生活習慣病患者数の増加が挙げられる。この生活習慣病の代表的な危険因子が肥満であり、その抑制が医療費高騰の抑制にもつながると期待されている。これまでさまざまな食品成分を対象に抗肥満作用に関する検討が行われており、日本人にとって最も重要な植物性タンパク質源である米タンパク質についても、抗肥満作用に関する研究が始まりつつあるがその検討は十分とはいえない。そこで本研究では、米胚乳・米糠タンパク質摂取が肥満に与える影響について明らかにすることを目的とした。その結果、体重増加はNC群と、HC群の間で明確な違いがみられ、高脂肪高シヨ糖飼料による肥満の誘導が確認された。一方、高脂肪高シヨ糖食群間ではHC群と比較して、BP群でのみ有意な体重減少がみられた。体重増加と同様に脂肪重量もBP群でのみ有意な減少がみられた。また糞中脂質含量はBP群で有意に約3倍高値を示し、糞中への脂質排泄が亢進している可能性が示された。以上の検討より、食事誘導性肥満モデルマウスにおいて米糠タンパク質が抗肥満作用を有しているこ

とが示され、その作用は糞中への脂質排泄亢進を介している可能性が示された。

8. *Lactobacillus sakei* UONUMA株がマウス免疫系に与える影響

新潟県の雪室から新たに発見された*Lactobacillus sakei* UONUMA株3種は、低温増殖性や雑菌繁殖抑制などの特徴を有していることが明らかとなっているが、生体に対する生理学的な機能性に関する研究は行われていない。そこで本研究ではこれらUONUMA株3種の生理学的機能性を発見することを目的に、マウス免疫系、特にアレルギーに与える影響について検討を行った。本研究ではアレルギーに対する影響を評価するために、試験開始4および6週目に腹腔内にアレルギーおよびアジュバンドを投与するアレルギー感作モデルマウスを用いた7週間の飼養試験を行った。その結果、試験開始4（アレルギー感作前）および7週目において、血中IgG1濃度（II型ヘルパーT（Th2）細胞側免疫応答の指標の1つ）、IgG2a濃度（I型ヘルパーT（Th1）細胞側免疫応答の指標の1つ）は試験群間で有意な変動がみられず、これら血中IgGサブタイプ濃度から算出されるIgG2a（Th1）/IgG1（Th2）比も有意な変動がみられなかった。さらに食物アレルギー発症に最も重要な抗体である血中総IgE、抗原特異的IgE濃度は、アレルギー感作処理による上昇はみられたものの、試験群間で有意な変動は確認できなかった。以上の結果より、本試験条件ではUONUMA株による明確な抗アレルギー作用は確認できなかった。

Research projects and annual reports

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

To clarify the effects of the koji amazake and its lactic acid fermentation amazake by *Lactobacillus sakei* UONUMA (LFA-amazake) on the defecation status, a double blind parallel group comparison test in healthy volunteers with relatively few stool frequencies was conducted. The subjects ingested the koji amazake or the LFA-amazake for 1 week one bottle (108 mL, 118 g) once a day every morning. The subjects filled out daily questionnaires concerning their defecation conditions for the entire 3 weeks. The study duration of 3 weeks was divided into 3 periods. First, second and third periods were the pre-test non-intake, the test food intake and the washout periods, respectively. It was found that the defecation frequencies in the koji amazake group at second and third periods was significantly increased compared with that at first period. These results indicated that the koji amazake might be a food material with constipation relieving effects.

2. Effect of *Grifola frondosa* on Postprandial Glycemic Response and Second-meal Effect in Humans

Grifola frondosa is one of the food items that are rich in dietary fiber and it has been reported that it can reduce blood glucose and improve lipid metabolism. This study looked into the effects of taking in *Grifola frondosa* with cooked rice on the postprandial glycemic response and the second-meal effect. In this trial, 13 healthy subjects (eight males and five females) went through a crossover test by taking in three different types of test meals for breakfast (cooked rice 152g, cooked rice 152g & *Grifola frondosa* 60g and *Grifola frondosa* 60g), followed by a common meal (cooked rice 200g) for lunch three hours later. The results show that the peak blood glucose level after breakfast is significantly lower for the cooked rice & *Grifola frondosa* group than the cooked rice-only group ($p < 0.05$). Furthermore, the blood glucose level after lunch tended to be lower for the cooked rice & *Grifola frondosa* group than the cooked rice-only group. The above indicates that taking in *Grifola frondosa* with cooked rice is useful in regulating postprandial blood glucose

elevation.

学術論文

W. Kupkanchanakul, M. Kadowaki, M. Kubota, O. Naivikul. (2018) Effect of pre-germination at varying stages of embryonic growth length on chemical composition and protein profile of Thai rice (*Oryza sativa* L.). *Agriculture and Natural Resources*, 52, 59-65.

The effect of pre-germination at varying stages of embryonic growth length (EGL) (0.5–7 mm, for 30–56 h of pre-germination time) on the chemical composition and protein profiles were investigated in three different Thai rice cultivars – SPT1 (waxy), PTT1 (low amylose), and PNL2 (high amylose). Pre-germination at 0.5–1 mm of EGL (first-stage) of all rice led to a significant change in most of the total starch, crude protein, and crude fat contents except in the crude protein content of PNL2 and the crude fat content of SPT1, which significantly changed at 3–7 mm of EGL (malted-stage) and at 2–3 mm of EGL (third-stage), respectively. Analysis of protein profiles from all rice samples indicated that glutelin molecules existed in subunits linked by disulfide bonds. Pre-germination to the second-stage of SPT1 and PTT1, and to the first-stage of PNL2 caused the cleavage of proglutelin (~51.6 kDa) into acidic-glutelin (~31.9 kDa) and basic-glutelin (~17.8 kDa) and also increased the relative concentration of 13 kDa prolamins. Pre-germination of these three rice cultivars at 30°C for 32–48 h clearly indicated the function as bio-modification of rice proteins, particularly in the reduction of glutelin disulfide bonds.

学会発表

- 1) Masatoshi Kubota, Takuya Kamada, Takashi Hara, Yuki Higuchi, Mikio Fujii, Shinji Sato, Shinobu Fujimura, and Motoni Kadowaki, “Beneficial effect of rice endosperm protein on IgE production”, 21th International Congress of Nutrition. Buenos Aires, Argentina, October 15-20, 2017.
- 2) 山岸 千秋, 櫻井 美仁, 久保田真敏, 紙谷 義孝, 佐藤 眞治, 「プロポフォルの体内動態と薬理効果に及ぼす脂肪乳剤の影響」, 日本薬学会 第138年会, 2018年3月25～28日, 金沢市

著書

- 1) 久保田真敏, 門脇 基二, 「お米の化学 白米タンパク質の生理学的機能性」, 食と医療, Vol. 2, pp. 32-39.

その他研究活動

佐藤 眞治, 櫻井 美仁, 久保田真敏, 「乳酸菌発酵甘酒の腸内環境改善効果」, 米及び加工食品の新市場創出に向けたマッチングフォーラム in にいがた ポスター発表, 2017年11月6 – 7日, 新潟コンベンションセンター (朱鷺メッセ)

外部資金

【科研費】

久保田真敏（研究分担者）：基盤研究（B）課題番号17H03816「米胚乳・米糠タンパク質の多様な新規機能性の探索と機構解析」平成29年度～平成31年度

【受託研究・共同研究】

- 1) 佐藤 眞治, 櫻井 美仁：民間企業との共同研究（水耕栽培桑の機能性解析及び含有機能性成分の分析）
- 2) 佐藤 眞治：民間企業との共同研究（機能性食品を目指した越後白雪茸の研究）
- 3) 佐藤 眞治, 久保田真敏, 櫻井 美仁：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29年度試験研究費助成「チアミンとチアミンピロリン酸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) 新潟県保健環境科学研究所嘱託アドバイザー

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) イノベーション・ジャパン2017ー大学見本市&ビジネスマッチングー 出展（2017年8月31ー9月1日, 東京ビッグサイト）

栄養生化学研究室

Laboratory of Nutritional Biochemistry

■ 教授 松本 均 Professor Hitoshi MATSUMOTO, Ph.D.

■ 助教 能見 祐理 Assistant Professor Yuri NOMI, Ph.D.



食品に含まれる機能性成分の探索と評価, 新規機能性食品の開発



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

研究課題

- 1) プレバイオティックス, プロバイオティックスの機能性研究
- 2) 新規ポリフェノール含有食品素材の開発
- 3) 食品由来のポリフェノール成分の機能性研究

平成29年度の研究成果

1) プレバイオティックス, プロバイオティックスの機能性研究

① フラクトオリゴ糖が腸内細菌の生育と代謝に及ぼす影響

乳酸菌やビフィズス菌の培養時に, 様々な糖質を培地に加え, その資化性, 脂肪酸の産生を評価した。ビフィズス菌はフラクトオリゴ糖を良く資化し, 主に酢酸を生成することでプレバイオティックス効果を有することを確認した。乳酸菌は, オリゴ糖を資化しない株も複数見られた。

② DSS誘導性炎症性腸疾患モデルマウスに対するフラクトオリゴ糖投与の影響

DSSを投与したIBDモデルマウスにFOSを投与し, IBDの症状緩和の可能性を検討するとともに, その作用機序について検討した。DSS投与でモデルの作成には成功したが, 投与による明確な効果は認められなかった。盲腸内容物量の増加や, 脾臓中の制御性T細胞の増加が認められ, 免疫機能の亢進が確認された。

2) 新規ポリフェノール含有素材の開発

① ラッカーゼによるカカオポリフェノールの増強検討

カカオポリフェノールにポリフェノールオキシダーゼである担子菌由来のラッカーゼを作用させることで, カカオポリフェノール量を増加させることと抗酸化活性を増強させることができることを見出した。酵素の反応機構や生成されるポリフェノール成分については, 不明である。

② イチゴ品種間のアントシアニン含量の比較と吸収性評価

欧州産の高アントシアニン品種イチゴであるNerinaに関して, 評価を行った。国産のイチゴと比較

してアントシアニンが高含量であることを確認できた。アントシアニン抽出エキスを調製し、ラットに投与し、その吸収性を評価した結果、P3Gとその代謝産物を尿中で検出することができた。

③ エディブルフラワー抽出物の抗糖化活性検討

新潟県内で生産されている食用の花弁を抽出し、ポリフェノール素材を調製し、その抗糖化活性を調べた。パンジー、ビオラなどの赤や紫色の花弁の抽出物は抗糖化活性を示したが、黄色の抽出物は活性を示さなかった。これは、ポリフェノールの含量と相関した。色素成分であるアントシアニンの精製品を評価したところ、高いジカルボニル捕捉活性を示した。

3) 食品由来のポリフェノール成分の機能性研究

① カシスポリフェノール抽出物に含まれる血管弛緩成分の探索

一部のポリフェノール成分には、血管弛緩効果があり、血圧降下作用や血流改善作用があることが知られている。カシスのポリフェノール混合物には、この血管弛緩効果があるが、その有効成分は特定されていない。そこで、血管弛緩効果の有効成分の探索を行った。ターゲットであったアントシアニン成分を単離したが、単独では活性が認められなかった。複数の物質の組み合わせ、他の有効成分の存在が示唆された。

② 3T3-L1脂肪細胞を用いた黒生姜アントシアニン画分の抗肥満作用の検討

黒ショウガに含まれるメトキシフラボンに、抗肥満効果が知られているが、アントシアニン類の効果は知られていないため、白色脂肪細胞のモデルである3T3L1細胞を用いて評価した。アントシアニンは、分化誘導時と分化後の双方で脂肪蓄積量を減少させた。PPAR γ 、adiponectinの発現量も減少した。

③ アルツハイマー病モデル神経細胞におけるカシスアントシアニンの神経細胞保護作用

アルツハイマーモデルであるアミロイド β を添加したラット副腎髄質褐色細胞腫に、カシスに含まれるアントシアニンを添加すると、用量依存的に細胞生存率が上昇した。

④ 短梗五加果実に含まれる機能性成分cyanidin-3-xylosyl-galactosideの生体利用性検討

短梗五加果実からアントシアニンを抽出精製し、cyanidin-3-xylosyl-galactosideと同定した。本成分をマウスに経口投与し、本成分が、血中移行し、尿中移行することを確認したが、肝臓中からは検出されなかった。

Research projects and annual reports

1) Functional study of prebiotics and probiotics.

- ① Influence of fructo-oligosaccharides on growth and metabolism of intestinal bacteria.
- ② Effect of fructo-oligosaccharides administration on DSS-induced inflammatory bowel disease model mouse.

2) Development of new Polyphenol rich food ingredient.

- ① Increase of cacao polyphenol content and antioxidant activity by laccase derived from *basidiomycete*.
- ② Comparison of anthocyanin content among strawberry cultivars and evaluation of anthocyanin absorbability in rats.
- ③ Anti-glycation activity of edible flower extract

3) Functional study of food-derived polyphenol component

- ① Search for vasorelaxant components contained in Blackcurrant polyphenol extract.
- ② Study on the anti-obesity effect of black ginger anthocyanin fraction using 3T3-L1 cells.

- ③ Protection of PC12 cells from A β 25-35-induced apoptosis by Blackcurrant anthocyanin.
- ④ Bioavailability study of functional ingredient cyanidin-3-xylosyl-galactoside contained in *Acanthopanax sessiliflorus* fruits.

学術論文

- 1) 平山 匡男, 渡辺 賢一, 後藤 博, 尾崎 信紘, 松本 均, 渡辺 智之, 中村 晴彦, 箕田 出, 「柿葉の熱水抽出液または粉末と米飯の同時摂取は健常人の食後血糖値の上昇を抑制する」薬理と治療 45(10), 1667-1678, (2017)
- 2) Okura, T.; Ueta, E.; Nakamura, R.; Fujioka, Y.; Sumi, K.; Matsumoto, K.; Shoji, K.; Matsuzawa, K.; Izawa, S.; Nomi, Y.; Mihara, H.; Otsuka, Y.; Kato, M.; Taniguchi, S.-i.; Yamamoto, K., High Serum Advanced Glycation End Products Are Associated with Decreased Insulin Secretion in Patients with Type 2 Diabetes: A Brief Report. Journal of Diabetes Research 2017, Volume 2017, Article ID 5139750, 7 pages.

外部資金

【科研費】

- 1) 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
- 2) 能見 祐理 (研究分担者): 基盤研究 (C) 課題番号16K00892 「膵臓細胞の抗酸化機能を増強する食品の探索: ゼーラニンAの効果は?」平成28年度～平成30年度

【受託研究】

松本 均: 民間企業2件 (フラクトオリゴ糖の機能性に関する研究, カシスアントシアニンの神経細胞保護作用に関する研究)

【助成金】

能見 祐理 (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29年度試験研究費助成 「メイラード反応による褐変現象に寄与するジペプチド由来低分子色素の探索と同定」

学外活動

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.

■ 准教授 中 村 澄 子 (穀類研究ユニット特任准教授)

Research Associate Professor Sumiko NAKAMURA, Ph.D.



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



・ 米 ・ 食味 ・ 品質評価 ・ 加工技術 ・ 機能性

研究課題

- (1) 米の新規食味評価技術の開発 (科研費C, 共同研究)
- (2) 世界及び全国の米の食味評価 (科研費A (分担), 共同研究)
- (3) 糖尿病・認知症複合予防効果の期待される米加工食品の開発 (内閣府S I P)
- (4) 米発酵食品の機能性評価 (内閣府地域プロ (分担))
- (5) 湿熱処理玄米粉の特性評価 (生研センター革新的技術開発緊急展開事業 (分担))

平成29年度の研究成果

(1) 米の新規食味評価技術の開発

当研究室の中村が開発したRVAによる糊化特性試験法を適用することにより、対象ジャポニカ米の脂肪酸組成を推定する技術を開発した (農化学会発表, 論文受理印刷中)。

(2) 世界及び全国の米の食味評価

中国の各種ジャポニカ米, 韓国の新形質米, 全国のブランド米, 秋田県産米などを対象に, 理化学的測定を中心として食味評価を行った (食科工学会発表, 水稻品質食味研究会発表, 農化学会発表)。

(3) 糖尿病・認知症複合予防効果の期待される米加工食品の開発

黒米, 超硬質米を中心に, 抗酸化性, β -セクレターゼ阻害活性等に着目し, 高圧処理の影響を調べた。企業と共同で試作した高圧処理加工米飯について, 動物試験, ヒト単回投与試験を行い, 黒米が有望であることを明らかにした (BBB論文掲載, 育種学会論文受理, ISNFF学会発表, 応用糖質学会発表, 認知症予防学会発表, 論文受理印刷中)。

(4) 米発酵食品の機能性評価

新潟県農総研および企業の試作した米発酵食品を対象に, 抗酸化性, ACE阻害活性等を測定し, 原料

米の種類や製造方法による機能性の相違について明らかにした（食科工学会発表）。

(5) 湿熱処理玄米粉末の特性評価

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

Research projects and annual reports

(1) Development of novel quality assay method of rice

It became possible to estimate fatty acid composition of japonica rice by applying RVA pasting property test which had been developed by S. Nakamura in our laboratory.

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

We evaluated palatability of various kinds of japonica rice cultivars in Japan, China and Korea.

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

Anti-oxidative capacity, inhibitory activity against β -secretase of the various kinds of agricultural products were assayed and black rice and super-hard rice were evaluated as promising. Effects of high-pressure treatment on the bio-functionality and physical properties of the promising materials were investigated. Cooked rice products developed with food industry were subjected to the animal feeding test and single-time human test and black rice products showed high probability in terms of the prevention of diabetes and dementia.

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

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

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

High-moisture treatment brown rice flours developed in National Institute of Technology, Nagaoka College, Niigata Prefectural Agricultural Research Institute, and food industry were subjected to the evaluation of starch properties, pasting properties, and storability.

学術論文

- 1) Nakamura, S., Hara, T., Joh, T., Kobayashi, A., Yamazaki, A., Kasuga, K., Ikeuchi, T., Ohtsubo, K. 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) Nakamura S., Okumura H., Sugawara, M., Noro, W., Homma, N., Ohtsubo, K. Effects of different heat-moisture treatments on the effects on the physicochemical properties of brown rice flour., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 81(12), 2370-2385, 2017.
- 3) Wada, T., Yamaguchi O., Miyazaki, M., Miyahara, K., Ishibashi, M., Aihara, T., Shibuta, T., Inoue, T., Tsubone, M., Toyosawa, Y., Satoh, H., Akaishi, R., Yoshii, Y., Ohtsubo, K. Development and characterization of a new rice cultivar, "Chikushi-kona 85", derived from a starch-branching enzyme Iib-deficient mutant line. *Breeding Science*, in press.

学会発表

【海外】

- 1) 大坪 研一：日本産米および中国産米の食味評価の事例，中国北方稲作科学技術協会講演会，2017年7月14日（中国寧夏省銀川市）
- 2) OHTSUBO, K., NAKAMURA, S., HARA, T., YAMAZAKI, A., KOBAYASHI, A., OHARA, E., KASUGA, K., IKEUCHI, T., GOTO, H., HIRAYAMA, M., WATANABE, K., KOIDE, T., SUGAWARA, M：Specialty rice cultivars in relation to the prevention of diabetes and dementia, ISNFF2017, 2017年10月23日, Gunsan, Korea.
- 3) Ohtsubo, K.: Health characteristics of Japanese cuisine. JFN2017, 12月14日, Nantes, France.

【国内】

- 1) 大坪 研一, 川上 知輝, 会田 有生, 稲川 拓, 松江 勇次, 崔 海椿, 孫 雅君, 河野 元信, 中村 澄子：日本，韓国，中国の米の品質特性の評価，日本食品科学工学会第64回大会，2017年8月29日，藤沢市.
- 2) 中村 澄子, 西脇 俊和, 渡辺 聡, 大坪 研一：各種の米およびその糖化発酵物の機能性について，日本食品科学工学会第64回大会，2017年8月29日，藤沢市.
- 3) 大坪 研一, 池内 健, 春日 健作, 原 崇, 山崎 彬, 小林 篤, 前田 聡, 大原 絵里, 後藤 博, 平山 匡男, 小出 頼子, 渡辺 賢一, 野呂 渉, 大坪 貞視, 中村 澄子：糖尿病および認知症の複合予防効果の期待される米飯開発の試み，日本応用糖質科学会第66回大会，2017年9月6日，藤沢市.
- 4) 中村 澄子, 野呂 渉, 本間 紀之, 奥村 寿子, 菅原 正義, 大坪 研一：ヨード呈色多波長走査分析およびRVA粘度測定による各種の米試料の古米化の評価，日本応用糖質科学会第66回大会，藤沢市.
- 5) 大坪 研一, 中村 澄子, 池内 健, 春日 健作, 原 崇, 山崎 彬, 小林 篤, 大原 絵里, 前田 聡, 後藤 博, 平山 匡男, 渡辺 賢一, 小出 頼子：食後の血糖上昇および血中アミロイドβ増加を抑制する食素材の探索，認知症予防学会第7回学術集会，2017年9月23日，岡山市.
- 6) 大坪 研一・中村 澄子・稲川 拓・露木 恵介：中国産ジャポニカ米の食味の理化学的測定評価の事例，日本水稲品質・食味研究会第9回講演会，2017年11月11日，福井市.
- 7) 大坪 研一, 中村 澄子, 稲川 拓, 露木 恵介, 川上知輝¹, 孫 雅君², 河野元信：日本産，中国産のジャポニカ米の食味の理化学評価，日本農芸化学会2018年度大会，2018年3月16日，名古屋市.
- 8) 中村 澄子, 桂 順二, 丸山 恭弘, 大坪 研一：ジャポニカ米の脂肪酸組成と糊化特性，ヨード呈色多波長走査分析との関係，日本農芸化学会2018年度大会，2018年3月16日，名古屋市.

著書・総説

- 1) 大坪 研一：機能性の高い米加工食品の開発，農業，1628号（2017年8月号），pp.32-40，2017年.
- 2) 大坪 研一, 中村 澄子：お米のおいしさ，おいしさの科学とビジネス展開の最前線，都甲 潔・柏柳 誠編集，シーエムシー出版，東京，pp.228-235，2017.
- 3) K. Ohtsubo and S. Nakamura: Evaluation of palatability of cooked rice, Advances in international rice research, J.

特許取得

- 1) 大坪 研一, 中村 澄子: ヨード比色分光測定による米澱粉特性の評価方法, 日本特許第6187062号, 2017年8月10日登録 (学校法人新潟科学技術学園)
- 2) 中井 博之, 仁平 高則, 大坪 研一, 北岡 本光: β -マンノシドの製造方法, 日本特許第6171598号, 2017年7月14日登録 (国立大学法人新潟大学, 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構)
- 3) 大坪 研一, 中村 澄子: 味噌水溶液に浸漬した粉状質米を原料とする加工食品, 日本特許第6128515号, 2017年4月21日登録 (国立大学法人新潟大学)

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) 中村 澄子 (研究代表者): 基盤研究 (C) 課題番号17K00829「ヨード呈色多波長走査分析による米の澱粉特性及び食味特性の新規評価方法の開発」平成29年度~平成31年度

【受託研究・共同研究】

- 1) 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: 超高压加工による成分抽出効率の向上, 認知症予防効果の期待される米飯及び米加工食品の開発
- 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 革新的技術開発・緊急展開事業 (うち地域戦略プロジェクト)「米の新規需要拡大のための輸出を目指した湿熱処理技術による保存性と生理的機能性の優れた玄米米粉開発に向けた研究」, 課題名: 湿熱処理におけるゲル強度測定方法の開発, 糊化粘度特性評価方法の開発, 湿熱処理レベル (デンプン特性・脂質酸化) 評価法の開発
- 3) 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)
- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) 大坪 研一, 中村 澄子: 民間企業との共同研究 (米菓加工適性)
- 7) 大坪 研一, 中村 澄子: 民間企業との共同研究 (乳酸菌の稲作への利用と米品質への影響)

その他研究活動

- 1) 大坪 研一: Rice Innovation in Japan, タイ・ランシット大学シンポジウム, 2017年4月30日.

- 2) 大坪 研一・中村 澄子：認知症予防米加工食品の開発，第四銀行食エコプラザ，2017年5月10日。
- 3) 大坪 研一：米の澱粉特性と食味品質の関係，日中稲米技術研究会，中国黒龍江省綏化市，2017年9月5日。
- 4) 大坪 研一：米の食味の理化学的評価とその適用事例，青島海水稻研究発展中心講演会，中国青島市，2017年6月12日。
- 5) 大坪 研一・中村 澄子：糖尿病および認知症の複合予防効果の期待される米飯および米加工食品開発の試み，SIP公開成果発表会，2017年11月30日，東京都。
- 6) 大坪 研一：新潟県の新品種「新之助」，加茂市公民館市民大学講座，2017年6月5日，加茂市。
- 7) 大坪 研一：米の機能性，（一財）日本穀物検定協会専門家養成講義，2017年11月28日。
- 8) 大坪 研一：米の品種と食味，ライスエキスポキックオフシンポジウム，2017年11月29日，新潟市。
- 9) 大坪 研一・中村 澄子：認知症予防機能の期待される米飯および米加工食品の開発，SIP公開成果発表会，2017年11月30日。
- 10) 大坪 研一：米の品質特性及び利用加工に関する研究事例，京都大学大学院集中講義，2017年12月20日，21日。
- 11) 大坪 研一：米の種類と食味特性・健康機能性，テック講演会，2018年3月28日，東京都。
- 12) 大坪 研一：米の食味について，魚沼米食味検討会議，2018年3月22日，魚沼市。

学外活動

大坪 研一

- 1) DNA鑑定学会理事，日本食品科学工学会代議員・編集委員，日本応用糖質科学会代議員，日本食品保蔵科学会代議員として学会活動に協力した。
- 2) 京都大学大学院非常勤講師，新潟大学フェロー，新潟県農業大学校非常勤講師として講義を行った。
- 3) 農水省農食事業プログラムオフィサー，新潟県健康ビジネス協議会研究事業審査委員，新潟市食文化推進委員会副議長，佐渡市生物多様性委員会委員として，行政事業に協力した。
- 4) 日本米粉協会認証委員会委員長，全国瑞穂食糧検査協会評議員，日本精米工業会炊飯委員会委員として米業界の活動に協力し，米穀機構および米穀小売商組合の出版物の監修を行った。
- 5) 中国3回，韓国2回，タイ1回，フランス1回の海外出張を行い，国際交流に貢献した。

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.



高圧技術・発酵技術を利用したグリーンプロセスの開発



・食品高圧加工技術 ・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、高圧（静水圧）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) 高圧技術の利用：100 MPa以上の圧力を食品素材に施すことで、細胞構造や生体成分の変化が生じる。こうした現象を解明し利用することで、機能性成分の富化を伴う、省エネルギー型の新しい食品製造技術の開発を進めている。
- (2) 発酵技術の利用：発酵は微生物の機能を利用した省エネルギー型の食品製造技術と位置付けられる。発酵制御のための微生物の圧力死滅機構に関する研究、微生物間相互作用に関する研究、さらに未知の微生物の探索等を通じて、知られざる微生物の機能を引き出し、食品製造技術にとどまらず様々なフィールドへの応用を目指す。

平成29年度の研究成果

1) 高圧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圧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たな醸造技術の開発を目指した研究を進めている。

発酵醪を酒袋で圧搾した生酒とあら濾ししたにごり酒をPETボトルに充填し瓶内二次発酵の後に高圧処理（400 MPa, 室温, 10分間）を施した試作品AWANAMAの開発に成功した。高圧処理前の試料には酵母が $10^6 \sim 10^7$ cfu/ml, 一般細菌が 10^2 cfu/ml程度検出されたが、高圧処理後は、酵母、乳酸菌、一般細菌共に検出されなかった。生命産業創造学科と連携し、試作品AWANAMAを各種展示会に出展し試飲によるアンケート調査を実施した。アンケート結果からは非常に高い評価が得られた。

AWANAMA中に存在する各種酵素（ α アミラーゼ, 糖化酵素, 酸性カルボキシペプチダーゼ）の活性は高圧未処理とほぼ同等であった。高圧処理（200, 400, 600 MPa）を、15℃から50℃の条件で施すこ

とで、残存する酵素活性を測定した。その結果、高圧処理時の温度を上昇させることで各酵素活性が減少する傾向が示された。

この醸造プロセスにおける処理圧力の軽減を目的として、新潟県醸造試験場で作出された香気高生産酵母株からの圧力感受性変異株の取得を行った。ミトコンドリアの好気呼吸活性の減少を指標に変異株を評価した結果、効率的に圧力感受性株の取得を可能とした。

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た。水麴を用いた糖化反応後の糖化液の酵素活性は減少していることが判明した。糖化工程の後の酵素不活性化は必要ない可能性が示された。

2) 高圧処理による微生物の不活性化を相乗的に促進する添加物質の探索

圧力処理の効果を増強させる添加物質に着目し、一定の圧力処理条件下において増殖遅延を起こさない*S. cerevisiae* a1210H12株 (H12株) と液体培養に基づく生菌数測定 (HT-PIKAS) 法を組み合わせ、「添加物質 + 圧力処理」の相乗効果による微生物の不活性化の解析を行った。結果、いくつかの真正細菌において圧力処理との相乗効果が示されている*t*-シンナムアルデヒド (CIN)、イソチオシアン酸アリル (AIT)、食品添加物として承認されている安息香酸、アジピン酸、ソルビン酸や、アジピン酸とソルビン酸との類似構造を持つカプロン酸において高い相乗効果が認められた。

3) 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。HPLCで高圧処理依存的に増加した2本のピークを示した化合物2つを分離・回収し、NMRによって化合物の同定を試みた。1つの化合物はオイゲノールである可能性が示されたが同定には至っていない。もう1つは良好なNMRスペクトルが得られなかった。

4) 生分解性プラスチック製ごみ袋を用いた生ごみのメタン発酵に関する研究

生分解性プラスチック poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBH) を主成分とするごみ袋ごと生ごみのメタン発酵技術を開発する研究を進めている。PHBHを分解する嫌気性微生物群集の集積には成功したが、この微生物群集による実証試験用PHBHシートの分解は達成できなかった。実証試験用PHBHシートに含まれる poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) が原因と考えられたため、PHBHならびにPBATを懸濁させた合成廃水を連続供給するメタン発酵プロセスを構築した。その結果、少なくともメタン発酵槽内の微生物群集に対する阻害効果は認められず、処理性能が維持されていることが示された。

5) 高圧を利用した細胞壁処理がCARD-FISH法に及ぼす影響

グラム陰性細菌の*Escherichia coli* およびグラム陽性細菌の*Rhodococcus equi* 菌体に対し、高圧を利用した細胞壁処理がCARD-FISH法に及ぼす影響を検証した。結果、高圧単独での処理ではほぼすべての条件で*E. coli*, *R. equi* 菌体両方からの蛍光シグナルは確認できなかったが、リゾチームやアクロモペプチダーゼなどの酵素処理に高圧処理を組み合わせることで、それぞれを単独で処理した場合よりも大きい蛍光シグナルを得られることが判明した。このことから処理圧力レベル、処理温度、酵素濃度の条件を適切に設定した上で細胞壁処理を行えば細胞壁構造の異なる微生物に対しても強い蛍光シグナルを得ることができ、高圧処理がCARD-FISH法における汎用的かつ有効な細胞壁処理として適用できることが示された。

6) *n*-アルカンを嫌気分解する連続培養系の構築と分解機構の解明

メタン生成を伴う嫌気的な有機物分解環境における、オクタデカンの分解に直接関与する微生物の解明、また本リアクターにおける*n*-アルカンの生物学的な分解機構を明らかにすることを目的に、*n*-アルカン分解するメタン発酵リアクターを構築し、次世代シーケンス解析による微生物群集構造解析と、バイアルビンバッチ培養によるオクタデカン分解経路の推定を行った。結果、オクタデカンを供給するメタン発酵

リアクターにおいてRikenellaceae科細菌, Bacteroides属細菌, Kosmotoga属細菌が特異的に検出されたことから, これらの細菌がオクタデカンの分解に直接関与している可能性が示された。またバッチ試験では, メタン生成阻害剤 (2-ブロモエタンスルホン酸ナトリウム) を添加した系において, 添加基質であるオクタデカン (C18) をピークに偶数個の炭素を有する低分子化したn-アルカンが検出された。このことからアルキルコハク酸とメタン生成古細菌を介さない, 嫌気的なアルカン分解が生じている可能性が示唆された。

7) 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から高頻度に検出されるCloacimonetes (WWE1) 候補門に属する細菌およびCaldiserica門の未培養グループ (WCHB1-03) に属する細菌の廃水処理プロセスにおける機能解明を目的に分離培養を行った。結果, Cloacimonetes候補門細菌の純粋培養液を獲得し, 新規の分離株 (NY-MAS株) の培養に成功した。また, Caldiserica門細菌が全原核生物のうち96.8%で構成される集積培養液を獲得した。NY-MAS株は無機塩 (Widdel) 培地にスクロースとYeast Extractを添加することで増殖の促進が認められたことから, 糖類を基質としYeast Extractを補助物質としていると考えられた。一方, Caldiserica門 (WCHB1-03) 細菌はチオ硫酸を電子受容体としYeast Extractに含まれる何らかの物質を基質としている可能性が考えられた。

8) 乳酸菌Uonuma株の摂取が腸内細菌叢に与える影響

乳酸菌Uonuma株 (Uonuma 1 ~ 3 株) を給餌することによる糖尿病発症ラット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, Uonuma株未給餌およびUonuma 3 株を給餌した糖尿病ラットにおいて, 悪玉菌と考えられるClostridia綱細菌が腸内で優占した。一方Uonuma 1 および2 株を給餌した糖尿病ラットにおいて, 給餌後1-2 ヶ月でBifidobacterium属細菌が顕著に増加しClostridia綱細菌の割合は低く抑えられていた。給餌したUonuma株は殺菌しており, このことからUonuma 1 株および2 株はプレバイオティクスの腸内細菌叢が改善されることが示唆された。乳酸菌Uonuma株 合計3 株の全ゲノム解析を行った。結果, Uonuma 1 株は既知種のLactobacillus sakeiとは別種であることが示された。

9) 微生物のコロニー形成機構の解明に関する研究

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が低下する遺伝子欠損変異株の探索系を構築した。結果の安定性に課題が残ったが, マイクロプレート液体培養と寒天平板へのスポットによるコロニー形成により, 従来よりも大幅に高効率なコロニー形成能の低下を評価できる実験系が構築できた。

Research projects and annual reports

1) New brewing process of Japanese rice wine (*sake*) with pasteurization by high hydrostatic pressure (HHP)

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

After fermentation in a conventional *sake* brewing manner, the fermentation mash (*moromi*) was filtered and put into PET bottles mixed with roughly filtered *moromi*. The secondary fermentation was then performed in the bottles and subjected to HHP treatment at 400 MPa at ambient temperature for 10 min. By this brewing process, we successfully produced the prototype HHP-*sake* “AWANAMA.” Before HHP treatment, yeast and bacteria were detected at $10^6 \sim 10^7$

cfu/ml and approximately 10^2 cfu/ml, respectively. However, no microorganisms were detected after HHP treatment. In corroboration with our Department of Life Sciences Business, AWANAMA was displayed at some domestic and international exhibitions for questionnaire survey in marketing research. At all exhibitions, AWANAMA got a high evaluation by the participants.

The enzyme activities of α -amylase, glucose-producing enzymes including glucoamylase and α -glucosidase, and acid carboxypeptidase of the AWANAMA, which was treated at 400 MPa at ambient temperature for 10 min, were equivalent with those of the AWANAMA without HHP treatment. Thus, AWANAMA without HHP was subjected to HHP treatment for 10 min at pressures of 200 to 600 MPa and at temperatures of with temperatures of 15 to 50°C. After HHP treatments at 200 to 600 MPa at 15°C, activities of the three enzymes in the samples were roughly equivalent to those in the untreated control. When the temperature during HHP treatment increased, the activities of the three enzymes decreased depending on the pressure levels.

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. After the saccharification process, the activities of enzymes, α -amylase and acid carboxypeptidase, was remarkably decreased. This result suggests that the inactivation process of enzymes is not required in the single plural fermentation process.

2) Screening of food additives with a synergistic effect on high hydrostatic pressure inactivation of microorganisms

We analyzed the inactivation of microorganisms by synergistic effect of additive substance and pressure treatment combined with *S. cerevisiae* strain H12 which does not cause growth delay under certain pressure conditions and viable cell count based on liquid culture (HT-PIKAS) method. As a result, a high synergistic effect was found in t-cinnamaldehyde (CIN), allyl isothiocyanate (AIT), shown to have synergistic effects with pressure treatment in some bacteria. Also, synergistic effect was observed in benzoic acid, adipic acid, sorbic acid, caproic acid, adipic acid and sorbic acid, approved as food additives.

3) 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 two peaks, hereafter peak 1 and 2, which would be correlated with the antioxidant activity. The compound of the peaks in HPLC analysis were separated and analyzed by NMR. The compound for peak 1 was suggested to be eugenol. The other compound detected as peak 2 could not show a NMR spectrum sufficient for further analysis.

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

We investigated the effect of cell wall treatment utilizing high pressure on the CARD-FISH method against *Escherichia coli* and *Rhodococcus equi* cells as a Gram-negative and Gram-positive bacteria respectively. As a result, fluorescence signals from both *E. coli* and *R. equi* cells could not be confirmed under almost all conditions with high pressure treatment alone. However, it was revealed that by combining high pressure treatment with enzyme treatment such as lysozyme and achromopeptidase, a higher fluorescence signal can be obtained than each treatment alone. It is possible to obtain a strong fluorescent signal even for microorganisms with different cell wall structures by carrying out cell wall treatment with appropriate conditions such as pressure level, treatment temperature, enzyme concentration. It was shown that high pressure treatment can be applied as a versatile and effective cell wall treatment in the CARD-FISH method.

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

To develop a treatment process for municipal solid waste (or kitchen garbage) together with bags made of biodegradable plastics, a methane fermentation process degrading a biodegradable plastic poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBH) was constructed. The resultant microbial community, which was enriched in the methane fermentation process, did not show degradation ability of the PHBH sheet developed for a verification test. This PHBH sheet contains another biodegradable plastic, poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT). We thought PBAT would be a reason why the microbial community did not show degradation of the PHBH sheet. Thus, a methane fermentation process, to which a synthetic wastewater contained suspended PHBH and PBAT was continuously supplied, was constructed. The constructed methane fermentation process maintained sufficient organic matter degradation ability. No inhibitory effect of PBAT addition was observed against the microbial community.

6) Construction of continuous culture system for anaerobic decomposition of n-alkane and its degradation mechanism

In order to elucidate the microorganisms directly involved in the degradation of octadecane in an anaerobic condition and to clarify the biological n-alkane degradation mechanism in the reactor, we constructed a methane fermentation reactor for analyze microbial community structure by next-generation sequencing and estimate octadecane decomposition pathway by batch culture experiment. As a result, in the methane fermentation reactor supplying octadecane, bacterial family *Rikenellaceae*, genus *Bacteroides*, *Kosmotoga* were specifically detected, suggesting the possibility that these bacteria directly participate in decomposition of octadecane. Also, in the batch experiment, in the culture with methanogen inhibitor (sodium 2-bromoethanesulfonate), n-alkane has been reduced. This suggests that anaerobic alkane decomposition may occur, not via alkyl-succinate with methanogenic archaea.

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

Isolation of uncultured bacteria was performed to elucidate the function of bacteria belonging to the *candidatus* Cloacimonetes (WWE1) which is frequently detected from the anaerobic wastewater treatment process and bacteria belonging to the uncultured group (WCHB1-03) of the *Caldiserica* in the wastewater treatment process. As a result, we successfully obtained a pure culture of *candidatus* Cloacimonetes, named strain NY-MAS. In addition, enrichment culture of *Caldiserica* (WCHB1-03) composed of 96.8% of all prokaryotes was obtained. Since the growth of NY-MAS strain was promoted by adding sucrose and yeast extract, it was suggested that sugar was used as a substrate and yeast extract was used as an auxiliary substance. On the other hand, it was considered that *Caldiserica* (WCHB1-03) may use thiosulfate as an electron acceptor.

8) The effect of intake of lactic acid bacteria and lactic-acid-fermentation-amasake on intestinal flora

The influence of the lactic acid bacteria strain Uonuma 1 to 3 on intestinal flora of diabetic rats was investigated by 16S rRNA gene amplicon sequence analysis. As a result, diabetic rats without feeding of Uonuma strains (controls) and feeding Uonuma no3, bacterial class, considered a bad bacterium, dominated in the intestine. On diabetic rats fed Uonuma 1 and 2 strains, *Bifidobacterium* remarkably increased in 1-2 months after feeding and the proportion of *Clostridia* was kept low. The fed Uonuma strain was sterilized, suggesting that the Uonuma 1 strain and 2 strains improved the intestinal flora in a prebiotic manner. Whole genome analysis of 3 strains of lactic acid bacteria (Uonuma 1 to 3) was carried out. As a result, Uonuma 1 strain was shown to be a different species from the known species *Lactobacillus sakei*.

9) 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. A new experiment system for assaying the colony forming abilities of strains, by microplate liquid cultivation combined with spot test on agar plate. The developed experiment system showed a good potential to screen mutants deficient of colony forming ability in a high throughput manner.

学術論文

- 1) Kazuki Nomura, Hirofumi Hoshino, Kazuaki Igoshi, Haruka Onozuka, Erika Tanaka, Mayumi Hayashi, Harutake Yamazaki, Hiroaki Takaku, Akinori Iguchi and Toru Shigematsu “Brewing characteristics of piezosensitive sake yeasts” *High Pressure Research*, 38 (2), 165-176 (02 May 2018 published; 06 Feb. 2018 published online; Accepted 18 Jan. 2018; Received 15 Sep. 2017; DOI: 10.1080/08957959.2018.1435785) Proceedings 査読付き
- 2) 重松 亨 「中高压処理を導入した微粉碎米粉の製造」 *応用糖質科学*, 7 (4), 210-213 (2017年12月) 特集記事
- 3) 井口 晃徳, 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, 重松 亨 「原油自噴地域の原核生物の群集構造解析と好気性および嫌気性原油分解細菌の培養」 *土木学会論文集 G(環境)*, 73 (7), III_165-III_173 (2017年11月, 2017年8月31日 accepted) 原著論文・査読付き
- 4) Kazuki Nomura, Yuki Kuwabara, Wataru Kuwabara, Hiroyuki Takahashi, Kanako Nakajima, Mayumi Hayashi, Akinori Iguchi and Toru Shigematsu “Comparative analysis on inactivation kinetics of between piezotolerant and piezosensitive mutant strains of *Saccharomyces cerevisiae* under combinations of high hydrostatic pressure and temperature” *Biophysical Chemistry*, 231, 87-94 (30 Nov. 2017; Available online on 24 May 2017; Accepted on 24 May 2017; doi.org/10.1016/j.bpc.2017.05.014) Proceedings 査読付き
- 5) 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 the saccharification of starch in the tuberous root of sweet potato (*Ipomoea batatas*)” *Biophysical Chemistry*, 231, 105-110 (30 Nov. 2017; Corrected proof available online 12 May 2017; Available online 1 May 2017; Accepted on 29 April 2017; doi 10.1016/j.bpc.2017.04.012) Proceedings 査読付き
- 6) 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*, 27(1), 40-48 (2017年4月12日公開, 2017年1月12日アクセプト) 総説・査読付き
- 7) 大久保 努, 上村 繁樹, 井口 晃徳, 多川 正, 押木 守, 久保田健吾, 荒木 信夫, 原田 秀樹, Ahmed Tawfik, 市村禎二郎, エジプトの高校生を対象とした「水」に関する環境教育プログラムの開発と実践, *下水道協会誌*, 55(665), 76-82頁, 2018.
- 8) Naoki Nomoto, Muntjeer Ali, Komal Jayaswal, Akinori Iguchi, Masashi Hatamoto, Tsutomu Okubo, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Tadashi Tagawa, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi, Hideki Harada, Characteristics of DO, organic matter, and ammonium profile on practical scale DHS reactor for sewage treatment under various organic load and temperature conditions, *Environmental Technology*, 39(7), pp.907-916, 2018.
- 9) Naoki Nomoto, Masashi Hatamoto, Yuga Hirakata, Muntjeer Ali, Komal Jayaswal, Akinori Iguchi, Tsutomu Okubo, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Tadashi Tagawa, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi, Hideki Harada,

- Defining microbial community composition and seasonal variation in a sewage treatment plant in India using a down-flow hanging sponge reactor, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(10), pp.4381-4392, 2018.
- 10) Naoki Nomoto, Masashi Hatamoto, Muntjeer Ali, Komal Jayaswal, Akinori Iguchi, Tsutomu Okubo, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Tadashi Tagawa, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi, Hideki Harada, Characterization of sludge properties for sewage treatment in a practical-scale down-flow hanging sponge reactor: Oxygen consumption and removal of organic matter, ammonium, and sulfur, *Water Science and Technology*, 77(6), pp.608-616, 2017.
- 11) 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*, 110, pp.389-398, 2017.
- 12) Tsutomu Okubo, Akinori Iguchi, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Shigeki Uemura, Hideki Harada, Treatment Performance of Practical-Scale Down-flow Hanging Sponge Reactor Using Sixth-Generation Hard Sponge Media, *Desalination and Water Treatment*, 91, pp.48-54, 2017.
- 13) 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*, 40(1), 11-19頁, 2017.

学会発表

【海外】

- 1) Ryosuke Maruyama, Akinori Iguchi, Shigeki Uemura, Tsutomu Okubo, Microbial community comparison of DHS system and ASP treating LAS containing sewage, *International Workshop in Effective Engineering Education 2017 (IWEEE2017)*, Kisarazu, December 7, 2017.
- 2) Akinori Iguchi, Mayumi Hayashi, Toru Shigematsu, Hiroyuki Nagai, Makoto Tachibana, Tsutomu Okubo, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi, Kengo Kubota, Hideki Harada, Prokaryotic diversity in a practical-scale DHS reactor treating municipal wastewater using next-generation sequencing analysis, *7th IWA-ASPIRE Conference 2017*, Kuala Lumpur, September 11-15, 2017.
- 3) Tsutomu Okubo, Akinori Iguchi, Shuya Tanaka, Shota Uchida, Tadashi Tagawa, Mamoru Oshiki, Nobuo Araki, Ahmed Tawfik, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Hideki Harada, Shigeki Uemura, Evaluation of disability-adjusted life year and microbial risk for farmers using agricultural drainage water for irrigation in the West Nile Delta, *77th IWA-ASPIRE Conference 2017*, Kuala Lumpur, September 11-15, 2017.
- 4) Kazuki Nomura, Hirofumi Hoshino, Kazuaki Igoshi, Haruka Onozuka, Mayumi Hayashi, Harutake Yamazaki, Hiroaki Takaku, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu, Brewing characteristics of piezosensitive Sake yeasts, *European High Pressure Research Group (EHPRG2017)*, Adam Mickiewicz University in Poznan, September 3-8, 2017.
- 5) Akinori Iguchi, Tsutomu Okubo, Shigeki Uemura, Kengo Kubota, Hideki Harada, Virus removal during sewage treatment with full-scale UASB-DHS system in India, *The 2nd International Symposium on Conservation and Management of Tropical Lakes*, Siem Reap, Cambodia, August 24-26, 2017.
- 6) Tsutomu Okubo, Akinori Iguchi, Ahmed Tawfik, Shigeki Uemura, Actual conditions on agricultural drainage

- water for irrigation in West Nile Delta, The 2nd International Symposium on Conservation and Management of Tropical Lakes, Siem Reap, Cambodia, August 24-26, 2017.
- 7) Toru Shigematsu, Yuta Kaneko, Kazuki Nomura, Miyuki Kido, Kanako Nakajima, Mayumi Hayashi, Akinori Iguchi, The restricted energy metabolism of a *Saccharomyces cerevisiae* piezosensitive mutant as suggested by metabolomics approach, The 26th International Conference on High Pressure Science and Technology (AIRAPT 26), Joint with the 8th Asian Conference on High Pressure Research (ACHPR 8) & the 19th China High Pressure Conference (CHPC19), Beijing, China, August 18-23, 2017.
- 8) Kazuki Nomura, Akinori Iguchi, Hitoshi Iwahashi, Toru Shigematsu, *COXI* Gene on Mitochondrial DNA Contributes to High Hydrostatic Pressure Stress Response in *Saccharomyces cerevisiae*, International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology (Yeast2017), Prague Congress Centre, August 27-September 1, 2017.
- 9) Naoki Nomoto, Muntjeer Ali, Komal Jayaswal, Akinori Iguchi, Masashi Hatamoto, Tsutomu Okubo, Masanobu Takahashi, Kengo Kubota, Tadashi Tagawa, Shigeki Uemura, Takashi Yamaguchi, Hideki Harada, Removal and oxygen consumption of retained sludge for organic matter, ammonium, and sulfur in a practical-scale down-flow hanging sponge sewage- treatment reactor, 6th Annual International Conference on Sustainable Energy and Environmental Sciences (SEES2017), Singapore, May 6-7, 2017.
- 10) Takashi Onodera, Kengo Kubota, Akinori Iguchi, Akihiro Nagamachi, Tadashi Tagawa, Gen Kanaya, Kazuaki Syutsubo, Determination of Trophic Relationships within Biotic Community in Down-flow Hanging Sponge Reactor for Sewage Treatment using Carbon and Nitrogen Stable Isotope Analysis, 10th International Conference on Biofilm Reactors, Dublin, Ireland, May 9-12, 2017.

【国内】

- 1) 景政 柁蘭, 長町 晃宏, 多川 正, 井口 晃徳, 久保田健吾, 原田 秀樹, 押木 守, 荒木 信夫, 大久保 努, 上村 繁樹, 初沈+DHS下水処理システムにおける安全な処理水の再利用を実現する消毒システムの開発, 第52回日本水環境学会年会, 北海道大学, 3月15日, 1-D-15-2, page 144, 2018.
- 2) 野村 一樹, 片岡ちひろ, 星野 浩史, 井越 和彰, 氏家沙織里, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨 「圧力感受性を付与した清酒酵母株の日本酒醪中における高圧不活性化挙動の解析」日本農芸化学会2018年度大会, 口頭発表 (発表番号2A08a06), 講演要旨集 p. 48, 名城大学 天白キャンパス, 愛知県名古屋 (2018年3月15日~18日) (発表は16日)
- 3) 中野 絢菜, 野村 一樹, 高崎 真由, 井口 晃徳, 重松 亨, 相井城太郎, 田中 宥司 「圧力感受性酵母変異株の比較ゲノム解析」日本農芸化学会2018年度大会, 口頭発表 (発表番号3A06a13), 講演要旨集 p. 84, 名城大学 天白キャンパス, 愛知県名古屋 (2018年3月15日~18日) (発表は17日)
- 4) 倉島 優仁, 千葉 有紀, 野村 一樹, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨, 幡本 将史, 山口 隆司, 関口 勇地 「嫌気性廃水処理プロセスに生息する系統的に新規な未培養微生物の分離培養」第52回水環境学会年会, 口頭発表 (発表番号3-D-11-4), 講演要旨集 p. 356, 北海道大学, 札幌市 (2018年3月15~17日; 発表は3月17日)
- 5) 平田 光, 林 真由美, 野村 一樹, 重松 亨, 井口 晃徳 「高圧技術を利用したCARD-FISH法適用範囲拡大のための細胞壁処理」第52回水環境学会年会, 口頭発表 (発表番号1-J-16-2), 講演要旨集 p. 183, 北海道大学, 札幌市 (2018年3月15~17日; 発表は3月15日)
- 6) 井口 晃徳, 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, 重松 亨 「原油自噴地域の原核生物の群集構造解析と好気性および嫌気性原油分解細菌の培養」第54回環境工

- 学研究フォーラム, 口頭発表 (発表番号 A-18), 講演要旨集 p. III_165~III_173, 岐阜大学, 岐阜市 (2017年11月17日~19日; 発表は11月17日)
- 7) 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「下水処理UASB汚泥から高頻度に検出される未培養系統分類群に属する真正細菌の培養条件の検討」第35回土木学会関東支部新潟会研究調査発表会, 口頭発表 (発表番号209), 講演要旨集p. 416, ハイブ長岡, 長岡市 (2017年11月9日)
- 8) 野村 一樹, 星野 浩史, 井越 和彰, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨「圧力感受性清酒酵母株の圧力不活性化挙動の解析」第58回高圧討論会, 口頭発表 (発表番号1C01), 第58回高圧討論会要旨集 p. 42, 名古屋大学, 名古屋市 (2017年11月8~10日; 発表は11月8日)
- 9) 平田 光, 井口 晃徳, 野村 一樹, 林 真由美, 重松 亨「CARD-FISH法における細胞壁処理のための高圧処理の利用」第58回高圧討論会, 口頭発表 (発表番号1C02), 第58回高圧討論会要旨集 p. 43, 名古屋大学, 名古屋市 (2017年11月8~10日; 発表は11月8日)
- 10) 野村 一樹, 星野 浩史, 井越 和彰, 小野塚 悠, 林 真由美, 山崎 晴丈, 高久 洋暁, 井口 晃徳, 重松 亨「日本酒の圧力発酵制御に向けたきょうかい7号酵母株への圧力感受性の付与と醸造特性の解析」平成29年度日本醸造学会大会, 口頭発表 (発表番号No. 14), 講演要旨集p. 7, 北とぴあ, 東京都北区 (2017年10月11日, 12日)
- 11) 野村 一樹, 林 真由美, 井口 晃徳, 重松 亨「高圧技術によるSakeの革新的醸造技術の確立」特殊環境微生物セミナー2017, 口頭発表 (発表番号O-7), 講演要旨集p. 11, 広島大学, 東広島市 (2017年10月6日)
- 12) 重松 亨「高圧殺菌工程による, 生酒等の風味をもち保存性の優れた日本酒の製造」日本醸造協会 第3回 清酒・ビール製造技術セミナー, 口頭発表, 北とぴあ, 東京都北区 (2017年9月20日)
- 13) 重松 亨, 菅原 佑子, 野村 一樹, 高橋 巖, 林 真由美, 井口 晃徳「高圧処理による生酒中の微生物および酵素の不活性化挙動」日本食品工学会第18回 (2017年度) 年次大会, 口頭発表 (発表番号6-2A-9), 講演要旨集p. 85, 関西大学, 大阪府吹田市 (2017年8月8日, 9日; 発表は9日)
- 14) Takashi Onodera, Kengo Kubota, Akinori Iguchi, Akihiro Nagamachi, Tadashi Tagawa, Gen Kanaya, Kazuaki Syutsubo, Changes in Carbon and Nitrogen Stable Isotope Ratio of Biomass and Macrofauna in Down-flow Hanging Sponge Reactor, Water and Environmental Technology 2017 (WET2017), Sapporo, July 22-23, 2017.
- 15) 野村 一樹, 金子 裕太, 井口 晃徳, 岩橋 均, 重松 亨「日本酒の高圧発酵制御に向けた出芽母力不活性化機構解明」損傷菌セミナー2017, ポスター発表 (P3), 豊洲シビックセンター, 東京 (2017年6月13日)
- 16) Akinori Iguchi, Microbial community analysis and isolation of hydrocarbon degrading bacteria in natural-flow crude oil aria, Key Technology and Pilot Demonstration of Resource Recovered from Synergetic Treatment of Urban Sewage Sludge and Food Waste, Kagoshima, April 19-21, 2017.

著書

- 1) 重松 亨「高圧処理による超微細米粉の製造」山本和貴監修「食品高圧加工の最新動向」ISBN 978-4-9909936-0-3 pp. 16-20, 缶詰技術研究会編集発行 (2017年12月11日)
- 2) 重松 亨「1-24 麴・塩麴」「3-35 圧力と微生物」北本勝ひこ, 春田 伸, 丸山 潤一, 後藤 慶一, 尾花 望, 齋藤 勝晴編「食と微生物の事典」ISBN 978-4-254-43121-6 pp. 46-47, 朝倉書店, 東京 (2017

年7月25日)

その他研究活動

重松 亨

Microbes and Environments 論文編集 (Associate Editor) 2件

Microbes and Environments 論文査読2件

Journal of Food Science 論文査読1件

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

Journal of Bioscience and Bioengineering 論文査読1件

High Pressure Research 論文査読1件

Food Science and Technology Research 論文査読1件

Biochemical Engineering Journal 論文査読1件

Biophysical Chemistry 論文査読1件

Microbes and Environments 2017年 論文賞選考

平成29年11月28日, 12月1日 新潟総合テレビ取材対応 (平成29年12月9日「八千代コースター」にて放映)

平成29年12月11日 日本農業新聞取材対応 (平成30年1月4日掲載)

平成30年1月25日 全国農業新聞取材対応 (平成30年2月16日掲載)

平成30年3月22日 農林水産省食料産業局取材対応 (平成30年7月4日ホームページにて掲載)

平成30年3月19日 教育学術新聞取材対応 (平成5月9日掲載)

井口 晃徳

Journal of Water and Health 論文査読2件

Journal of Bioscience and Bioengineering 論文査読1件

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 論文査読1件

外部資金

【科研費】

井口 晃徳 (研究分担者) : 基盤研究 (B) (海外学術調査) 課題番号17H04590「開発途上国における水・廃棄物問題改善のための包括的都市衛生政策の構築」平成29年度～平成31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」, 平成28年度～平成30年度

- 3) 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)
- 4) 井口 晃徳 (研究代表者): 国立環境研究所「平成29年度特定化学物質含有排水処理メタン発酵プロセスに生息する重要微生物の分離培養」(受託研究費)

【助成金】

- 1) 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29年度試験研究費助成「新潟市秋葉区の石油自噴地域に生息する土着細菌の嫌氣的アルカン分解機構の解明」
- 2) 井口 晃徳: 社団法人 日本水環境学会 年会優秀発表賞受賞者国際会議発表助成 (クリタ賞国際会議発表助成)

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) 日本高圧力学会 (評議員)
- 4) 日本生物工学会
- 5) 日本水環境学会
- 6) 日本食品工学会
- 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) 東京大学大学院農学生命科学研究科 非常勤講師「分子育種学」担当 (平成29年11月29日)
- 3) H・P未来産業創造研究会 顧問
- 4) 上越市 坂口謹一郎博士顕彰委員会 委員
- 5) 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
- 6) 4大学メディアキャンパス 副キャンパス長
- 7) 秋葉区ボランティア・市民活動センター運営委員会委員

【その他学外活動 (社会貢献活動等)】

- 1) 平成29年4月24日 三条東高等学校1学年宿泊研修に係る出張講義
- 2) 平成29年5月10日 にいがた食・環境・健康の展示商談会「しょくエコプラス」出展
- 3) 平成29年6月14日 新潟県立村上中等教育学校出張講義
- 4) 平成29年7月7日 新潟県立村上高等学校出張講義
- 5) 平成29年7月13日 新潟県立高田高等学校SSHに係る出張講義
- 6) 平成29年9月18日 3大学連携「ニイガタSKY (スカイ) スクール」に係る出張講義
- 7) 平成29年10月4日～6日 アグリビジネス創出フェア2017出展

- 8) 平成29年11月2日 坂口謹一郎博士生誕120周年記念フォーラム 司会進行
- 9) 平成29年11月7日 新潟県立新潟西高等学校出張講義
- 10) 平成29年11月8日～10日 フードメッセinにいがた2017出展
- 11) 平成29年11月18日, 19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
- 12) 平成30年2月1日 新潟県立新井高等学校出張講義
- 13) 平成30年3月6日 長野県須坂創成高等学校出張ガイダンス

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) 分担講師「暮らしに役立つバイオサイエンス」担当（放送大学）
- 2) WET2017実行委員・副幹事長（社団法人日本水環境学会）
- 3) 新たな米産業創出技術研究会ワーキングチーム（新潟県）
- 4) 2017年12月26日平成29年度「食品科学講座」SSH事業 新発田市立高等学校 理数科1年生（科学技術振興機構JST）

食品安全学研究室

Laboratory of Food Safety

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



食中毒病原体の制御に関する研究。HACCPなどの食品安全手法の研究と普及。



・食中毒 ・ HACCP ・ ノロウイルス ・ ポツリヌス菌

研究課題

1. コメに含まれる抗菌物質の検索
2. ノロウイルスに有効な消毒剤の開発
3. 多品種生産に対応できるHACCP手法の開発

平成29年度の研究成果

1. コメ成分を分析したところ、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、クロマトグラフィーにより分離し、NMRとマススペクトルによる解析を試みている。
2. 人体に用いることのできる消毒剤の開発を目指し、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した。有効であるが、皮膚へのダメージが大きい、短時間では有効性が低い、などの弱点のある物質を複数種見出した。これら及び既存の消毒剤を混合し、相乗効果を探索した。
3. 多品目の製造工程を共通するモジュールに分解し、モジュールごとのHACCP計画で管理する手法を検討した。もう一つの手法として、複数の品目に共通する必須管理点を重点的に管理するとともに、それに加えて品目ごとに特異な必須管理点を別途管理する方法も検討し、前者と比較した。

Research projects and annual reports

1. Investigation of antibacterial substances in rice grains.
The antibacterial substances could be extracted from rice powder into organic solvent fractions. NMR analyses were in progress.
2. Development of skin sanitizers effective on norovirus.
We found some effective chemicals on feline calicivirus, a norovirus surrogate. Some of them were not generally recognized as sanitizers. The synergistic effects were investigated in the combination of these chemicals and already-

known sanitizers.

3. HACCP plans applicable to multiple food products.

HACCP plan is difficult to create in the industries that produce various kinds of foods, because conventional HACCP plans must be created for individual products. Thus the manufacturing processes were divided into several small modules that can be shared among the multiple products and HACCP plans were made for the modules. A large number of products could be covered by combination of a small number of the module plans. This was compared with another method, in which efforts are concentrated on the common CCPs among the multiple products, such as cooking and metal detection, then the other product-specific CCPs are controlled distinctively.

学術論文

- 1) 金属異物対策の考～とそこから見えるHACCPの論理. 浦上 弘, 2017, 月刊HACCP, 23(7):50-54
- 2) Preventive Control (予防的コントロール) とHACCPの違い. 浦上 弘, 2017, 月刊HACCP, 23(8):34-44
- 3) Pork Loin Treated with High Hydrostatic Pressure as a Food Processing Technology: Subacute Toxicity of the Freeze-Dried Powder and Cytotoxicity of the Methanol Extracts., M. Saito, M. Nishida, T. Eitsuka, Y. J. Kim, T. Nishiumi, Te. Konishi, H. Urakami and H. Nishida Food Safety, 2017, 5:98-109
- 4) Isolation and assessment of acidic and neutral oligosaccharides from goat milk and bovine colostrum for use as ingredients of infant formulae. 2018, H. Urakami, M. Saeki, Y. Watanabe, R. Kawamura, S. Nishizawa, Y. Suzuki, A. Watanabe, K. Ajisaka, Int. Dairy J., 83:1-9

学会発表

宮澤 (角田) めぐみ, 浦上 弘, アルコール製剤によるノロウイルス不活化効果について, 第34回日本環境感染学会総会・学術集会, 2019年2月23日, 神戸

著書

- 1) 米国ヒト用食品予防コントロール受講者用マニュアル: 第1版, Food Safety Preventive Controls Alliance ; 監修: 株式会社鶏卵肉情報センター, 翻訳: 杉浦 嘉彦, 浦上 弘, 海澤 幸生, 片岡 愛
- 2) 病原細菌・ウイルス図鑑. 新居 志郎ら編, 浦上 弘, 橘 宣祥, 北海道大学出版会, ISBN 978-4-8329-8229-1

外部資金

【受託研究・共同研究】

民間企業 1件 (奨励研究費), 民間企業 1件 (共同研究費)

学外活動

【学外活動（公的機関）】

- 1) 新潟市「食の安全基本方針見直し検討委員会」（議長）
- 2) 新潟県「にいがた食の安全安心審議会」
- 3) 新潟市HACCP普及推進連絡協議会
- 4) HACCP普及検討会

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) (一社)日本HACCPトレーニングセンター（理事長）
- 2) 一般社団法人 日本惣菜協会・惣菜管理士試験委員
- 3) 市民公開講座 新潟「食と健康」フォーラム・実行委員
- 4) HACCPワークショップ タケショー(株) 17/4/12
- 5) 新潟市保健所主催・ビジネス面と衛生面から考えるHACCP講習会・演者18/1/31
- 6) 南魚沼フードビジネス研究会・南魚沼市まちづくり推進機構主催・魚沼・フードビジネスの未来・基調講演・「中小企業が取組むべき食の安全と戦略」18/2/26

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 ・薬剤耐性菌 ・ β -ラクタマーゼ ・アミノ酸ラセマーゼ
・白癬菌

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く分子レベルでの研究が進んでいない。一方、ミラクリンとアミノ酸配列の相同性が高い“ミラクリン類似タンパク質”は多くの植物に存在するが、このタンパク質は味覚修飾活性を有しない。我々は、組換えタンパク質発現が容易な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す。

II. β -ラクタマーゼの構造と基質特異性

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

III. 乳酸菌由来D-アミノ酸生産関連酵素の解析

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

IV. 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、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。本

研究室では、システインジオキシゲナーゼ（CDO）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する。

平成29年度の研究成果

I. ブドウ由来ミラクリン類似タンパク質の性状解析

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。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、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がヒスチジンタグの有無に関わらずトリプシン阻害作用を有することを明らかにした。また、ゲルろ過解析の結果より、ブドウ由来MLPは溶液中において単量体として存在することを確認した。

II. β -ラクタマーゼMOX-1に対する阻害剤S02030の阻害作用解析および複合体の立体構造解析

共同研究者R. Bonomo博士の研究グループが合成したS02030は、クラスAおよびクラスC β -ラクタマーゼに対する新規阻害剤として臨床利用が期待されている。平成29年度はクラスC β -ラクタマーゼMOX-1に対するS02030の阻害作用を速度論的に解析すると同時に、MOX-1とS02030の複合体の結晶構造解析を行った。

III. *Lactobacillus sakei* Uonuma株のアラニンラセマーゼのクローニング

D-アミノ酸の中で特に存在量が多いD-アラニンの生産関連酵素を解析することを目的として、アラニンラセマーゼの遺伝子クローニングを行った。*L. sakei* Uonuma-1, 2, 3株のうち、2株において遺伝子の全長塩基配列を決定した。

IV. 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結晶化を試みたが、X線結晶構造解析に適した結晶は得られなかった。

Research projects and annual reports

Research projects

I. Structures and Functions of taste-modifying proteins.

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

II. Structure-function correlation in β -lactamases.

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

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

D-amino acids have been known as components of the peptidoglycan cell wall of bacteria. Recently, developed

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

IV. Infection mechanisms 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. We try to analyze the structures of cysteine dioxygenase (CDO) and keratin-hydrolyzing proteases to investigate the infection mechanism of dermatophytes.

Annual reports

- I. Characterization of miraculin-like protein (MLP): We performed kinetic analysis to reveal that the recombinant MLP from grape, with or without (His)₆ tag, have moderate inhibitory activity toward trypsin. The result of size-exclusion chromatography analysis indicated that this MLP exists as monomer in solution, with or without the tag.
- II. Kinetic analysis of S02030 inhibitory activity toward MOX-1, and the structural analysis of MOX-1-S02030 complex: S02030 synthesized by the group of Prof. R. Bonomo is a candidate inhibitor of class A and C β -lactamases. This year, we have performed kinetic analysis to investigate the inhibitory activity of S02030 toward class C β -lactamase MOX-1, and also analyzed the crystal structure of MOX-1-S02030 complex.
- III. Cloning of alanine racemase genes from *L. sakei* Uonuma strains: We tried to clone the genes of D-Ala racemase from *L. sakei* Uonuma strains. We have decided whole gene sequences coding the enzymes in two of three strains.
- IV. Crystallization of metallo-protease MEP4 and cysteine dioxygenase (CDO) from *Arthroderma venbreuseghemii*: Using the *E. coli* over-expression systems of metallo-protease MEP4 and cysteine dioxygenase (CDO) from *Arthroderma venbreuseghemii* that were constructed previously, we screened crystallizing condition of these proteins. However, no crystal suitable for X-ray crystallographic analysis was obtained.

学外活動

井深 章子

【学会活動】

日本農芸化学会（英文誌編集委員）

【学外活動（公的機関）】

加茂農林高等学校評議員

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 平成27年8月29日 富山国際大学付属高等学校 出前実験
- 2) 平成28年1月10日 新潟県立中条高等学校 出前講義

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

その他研究活動

古川那由太：Protein Data Bankへの登録 3 件（PDB ID 5Z1Z, 5Z20, 5Z21）

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の研究



・ 固相反応 ・ 不斉反応 ・ コバロキシム錯体 ・ 固相気相反応
・ 有機金属錯体

研究課題

新規アルキルコバロキシム錯体の合成とその結晶を用いた固相気相反応の開発

平成29年度の研究成果

平面配位子としてジ(4-フロオロフェニル)グリオキシムを有する新規錯体を合成した。

ジ(4-フロオロフェニル)グリオキシムを有する β アリアルエチルコバロキシム錯体の結晶に光照射を行い、アルキル基の異性化とともに空気中の酸素がコバルト-炭素結合間に挿入した酸素挿入錯体を得た。また、不斉な結晶格子を有する結晶を用いることで、結晶格子に制御された不斉酸素挿入反応が進行した。化学収率は最大75%、不斉収率は15%eeを得た。

Research projects and annual reports

Several β -aryl ethyl cobaloxime complexes coordinated with di(4-fluorophenyl)glyoximes as in-plane ligand were synthesized. Solid-state O_2 -insertion reaction with isomerization reaction were occurred by irradiation of visible light. α -Aryl ethyl peroxy complexes were obtained. Irradiation to the crystals with chiral crystal lattice afford chiral peroxy complexes. The reaction was controlled by crystal lattice. Chemical yields were $\sim 75\%$ and stereo selectivities were $\sim 15\%$ ee.

学会発表

β 置換エチルルコバロキシム錯体の酸素挿入を伴う固相不斉異性化反応, 国峯 拓也, 高橋 麻実, 中川 有香, 新井 祥生, 大胡 恵明, 第74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), 要旨集p.78-79(新潟, 2017年11月)

学外活動

【学会活動】

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

【学外活動（公的機関）】

新潟県立教育センター「平成29年度観察・実験指導力向上講座」講師

【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2017」（新潟日報社主催）中学校 物理・化学部門審査委員長

理科教育学研究室

Laboratory of Science education

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



中等教育理科教員に求められる科学リテラシーの育成とその指導法の研究



・科学リテラシー ・ESD (SDGs) ・エネルギー環境教育
・改訂学習指導要領

研究課題

- 1 理科教員養成課程における放射線教育の教材開発
- 2 化石レプリカ作成を通して幼児期から学ぶ地球生命史

平成29年度の研究成果

1 理科教員養成課程における放射線教育の教材開発

平成27年3月31日に公示された学習指導要領中学校理科編においては、さほど改訂がなされなかったのであるが、放射線教育についてはこれまでの3学年の内容に加えて2学年でも扱うことになった。

2学年では、「異なる物質同士をこすり合わせると静電気が起こり、帯電した物体間では空間を隔てて力が働くこと」の学習において「真空放電と関連付けながら放射線の性質と利用にも触れること。」(2017中学校学習指導要領理科編、以下新学習指導要領)、3学年では、「様々なエネルギーとその変換に関する観察、実験などを通して、日常生活や社会では様々なエネルギーの変換を利用していることを見いだして理解すること。また、人間は、水力、火力、原子力、太陽光などからエネルギーを得ていることを知るとともに、エネルギー資源の有効な利用が大切であることを認識すること。」の内容について「熱の伝わり方、放射線にも触れること」(新学習指導要領)とされている。

また、同年6月に示された、中学校学習指導要領解説理科編では、静電気と電流について「真空放電と関連させてX線についても触れるとともに、X線と同じように透過性などの性質をもつ放射線が存在し、医療や製造業などで利用されていることにも触れる。」(現行指導要領では3学年配当)として透過性や活用にも触れるとされている。「科学技術と人間」の解説ではさらに初めて、2011.3.11の震災にもふれて「東日本大震災以降、社会において、放射線に対する不安が生じたり、関心が高まったりする中、理科においては、放射線について科学的に理解することが重要であり、放射線に関する学習を通して、生徒たちに自ら思考し、判断する力を育成することにもつながると考えられる。(解説・以下略)」

しかしながら現状では多くの中学校ではこの単元の学習が十分に履修されていないという現状がある。

その原因については、多くの教科書の単元配列が3学年の学年末にあること。中学校に放射線教育を推進する教材教具が整備されていないこと。教員が教員養成課程を含めこれまで放射線教育を受けていなかったことなどが指摘されている。

岐阜大学教育学部教師教育研究によれば、岐阜県の小中学校の理科を専門とする教員のうち授業で放射線教育を扱った経験のある教員は24%、うち自身が学習した経験のある者が48%、扱ったことのない教員は76%うち52%が学習の経験がない。(中村 琢2015) 筆者が別に調査した結果もほぼ同様の結果を示している。中学校では30年来といわれる現行学習指導要領での放射線教育以前に中学生であって、その後も学ぶ機会がなかった教員の多くは自身の担当する理科の時間に放射線について教科書をなぞる座学中心の授業で済ませてしまうことが多いというのが現状であろう。

将来中学校(高校)の教員を目指す学生に、放射線教育の基本的なリテラシーを身につけさせることは喫緊の課題である。

筆者は中学校教員養成課程の教職課程における放射線教育の基本的な構想について検討をしてきたが、本校では東北放射線科学センターによる「放射線講座」の実施と簡便化した「霧箱」による放射線の見える化についての実践をした。

2 化石レプリカ作成を通して幼児期から学ぶ地球生命史

就学前教育は幼稚園および保育所における保育によって行われる。幼稚園教育要領では、幼稚園教育の基本として「幼児との信頼関係を十分に築き、幼児が身近な環境に主体的に関わり、環境との関わり方や意味に気づき、これらを取り込もうとして、(中略)幼児と共によりよい教育環境を創造するように努めるものとする」更には「幼児期の終わりまでに育ってほしい姿」として「(7) 自然との関わり・生命尊重自然に触れて感動する体験を通して、自然の変化などを感じ取り、好奇心や探究心をもって考え言葉などで表現しながら、身近な事象への関心が高まるとともに、自然への愛情や畏敬の念をもつようになる。また、身近な動植物に心を動かされる中で、生命の不思議さや尊さに気づき、身近な動植物への接し方を考え、命あるものとしていたわり、大切にすることを覚えるようになる」として「ねらいおよび内容」の「環境」項目で具体的にその内容を示している。

保育所では「保育の目標」として「(エ) 生命、自然及び社会の事象についての興味や関心を育て、それらに対する豊かな心情や思考力の芽生えを培うこと。」として同様の目標を掲げている。

小学校では、小学校学習指導要領に基づき、第6学年 土地のつくりと変化について、「土地やその中に含まれる物に着目して、土地のつくりやでき方を多面的に調べる活動を通して、次の事項を身に付けることができるよう指導する。」として観察、実験などに関する技能を身に付ける。

中学校では、「大地の成り立ちと変化」において土地は、礫、砂、泥、火山灰などからできており、層をつくって広がっているものがあること。また、層には化石が含まれているものがあること。

「内容の取り扱いにおいては「化石」については、示相化石及び示準化石を取り上げること。「地質年代」の区分は古生代、中生代、新生代の第三紀及び第四紀を取り上げること。」と地質年代にも触れている。



【学内活動】

- ・教員免許更新講習（必須）において今日の教育課題として、①学校教育におけるESDの実践上の課題。
②通常学級における特別な支援の必要な児童生徒の教育について～10年間の我が国に教育政策から読み解く、をテーマに講義をおこなった。

【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

【その他の特記事項】

- 1 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。
- 2 環境カウンセラー全国研修会（主催環境省）において、ESDにおけるSDGsの実践について講演

【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) 武蔵野市サイエンスフェスタでの出展・講演（武蔵野市）
- 5) 武蔵野市サイエンスクラブ 化石採取指導（印西市）
- 6) 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）

学術論文

福島県の中学生の放射線に関する意識の調査と教員養成課程における放射線教育カリキュラムの展開
「野外文化研究」NO.15 2017 PP.27-42

その他研究活動

タイ王国コンケン県において中生代の恐竜化石の発掘、調査および研究者との交流（日本地学教育学会海外研修として参加）

学外活動

【学会活動】

環境カウンセラーESD学会を設立し、会長として運営を図り、第1回総会および研究大会を本学で実施をした。(平成30年2月17日)

【その他学外活動（社会貢献活動等）】

- 1) 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。
- 2) 環境カウンセラー全国研修会（主催環境省）において、ESDにおけるSDGsの実践について講演およびセミナーの支援をした。
- 3) 地球温暖化防止コミュニケーターセミナーを本学で実施し、学生、新潟県の地球温暖化防止普及員の研修を支援した。

生物学研究室

Laboratory of Biology

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

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



理科, 特に生物に関わる教材の研究とそれを用いた授業での取組



・ 理科 ・ 生物学 ・ 初等中等教育 ・ 授業

研究課題

1. 授業で用いる生物教材の研究

身の回りにある自然や施設などを利用して、生物の授業に活用できる教材を検討する。特に、教科書に記載されにくい地域の特徴を活かした教材を研究する。

2. 高等学校と大学での生物学の学び

高等学校と大学での学びは大きく異なる。大学に入学した後は、大学の学び方への移行が必要となる。そこで、本研究では高校生と大学生に同じテーマの課題や試験を行い、見方や考え方の違いを明らかにしていく。

3. 生物学と社会の関わり

生物学が関わる、社会に大きなインパクトを与えた出来事を教材として扱うことを検討する。このことにより、生物学を学んだ人の社会的な責任、危機管理の側面からみた生物学の在り方が学べる授業について研究する。

平成29年度の研究成果

1. 授業で用いる生物教材の研究

新潟市秋葉区の市街地を流れる河川では、地域の小学生が毎年水生生物の調査を行っているが、観察される生物は数少なく、また種類も少ない。そこで本研究では水質と植物プランクトンの調査を行った。結果、両者の間に明確な関連性を見出すことはできなかったが、植物プランクトンが教材として利用できる可能性を見出させた。

教職課程を履修している学生に、本学の植物園及びその周辺の植物を利用した授業を行い、学生の植物に関する知識や意識が授業の前後でどのように変化するかを調査した。その結果、学生の植物に関する知識と植物を見るときの意識に変化が見られた。このような学びの場として、植物園の存在は有用であったと考えられ、薬学部のように植物園の設置が必須である学部が同一キャンパス内に存在している大学の

優位性を示す一例となった。

2. 高等学校と大学での生物学の学び

高等学校で生物基礎を履修している生徒と本学の教職課程の学生に生物学のスケッチ技術と顕微鏡の使い方に関する同じ課題と筆記試験の問題を課した。その結果、スケッチの技術には差が見られず、最初は生物学のスケッチの仕方ができていなかったが、3回目には大幅な改善が見られた。また、顕微鏡観察の筆記試験については、高校生は操作手順で正答率が高く、運搬や取扱の注意点の正答率も高かった。これらのことから、スケッチや顕微鏡観察が近年の授業の中で重要視されていない可能性が推察された。

3. 生物学と社会の関わり

これまで座学でしか行っていなかった食品微生物学の授業で、1955年と2000年に発生した雪印集団食中毒事件を題材としたグループ学習を導入し、食品を扱う企業の社会的責任、企業経営者と社員一人一人の責任、危機管理の考え方を学ぶ場とした。授業後の質問紙による調査の結果、学生が食中毒に関連した微生物を学ぶことの意義が明確になっていったものと推察される。

学術論文

小長谷幸史・寺木 秀一：食品安全の意識を高める授業の取り組み. EDS by EC Report 1巻

学会発表

1. 小長谷幸史・寺木 秀一：薬用植物園を持つ大学での理科教育法の観察学習～薬学部が併設されている大学における教職課程の強み～. 日本理科教育学会第67回全国大会 2017.08.05. 福岡教育大学（福岡県宗像市）.
2. 小長谷幸史・浅田 真一・寺木 秀一：大学ボランティアサークルによる防災教育の可能性. 野外文化教育学会第18回大会 2017.10.28. 白鷗大学（栃木県小山市）.
3. 小長谷幸史・寺木 秀一：高等学校生徒と大学生の検鏡とスケッチ技術の比較. 日本理科教育学会平成29年度北陸支部大会 2017.11.18. 上越教育大学（新潟県上越市）.
4. 田中 健太・小長谷幸史・寺木 秀一：市街地を流れる河川の教材としての利用. 環境カウンセラーESD学会平成29年度研究大会 2018.02.17. 新潟薬科大学（新潟県新潟市）.
5. 小長谷幸史・寺木 秀一：食品安全の意識を高める授業の取り組み. 環境カウンセラーESD学会平成29年度研究大会 2018.02.17. 新潟薬科大学（新潟県新潟市）.

その他研究活動

小長谷幸史：講演「大学での主体的対話的で深い学びを目指して」新潟桜師会研修会 2017.08.20. ホテルイタリア軒（新潟県新潟市）.

学外活動

【学会活動】

- 1) 日本理科教育学会

- 2) 環境カウンセラーESD学会
- 3) 野外文化教育学会
- 4) 教材生物研究会
- 5) 日本食品微生物学会

【学外活動（公的機関）】

- 1) 新潟県立栃尾高等学校非常勤講師（生物基礎担当）
- 2) 新潟県立高田高等学校SSH運営指導委員
- 3) 新潟市立新津第一小学校理科探検クラブ引率
- 4) 新潟市立新関小学校理科教室講師
- 5) 新潟桜師会研修会講師

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 ・主体的・対話的な深い学び ・社会科
・生活指導

研究課題

1. 「主体的・対話的で深い学び」の成立要件に関する研究
2. 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
3. シティズンシップの育成を目指した生活指導の実践的研究

平成29年度の研究成果

1. 「主体的・対話的で深い学び」の成立要件に関する研究

新潟市内の公立中学校における，あるベテラン教師の社会科歴史分野の授業記録を分析対象として，「主体的・対話的で深い学び」の成立条件と関連構造についての共同研究を行った。授業の概要は，生徒たちが通う中学校区に江戸時代に存在した農村の生活を，原資料に基づいて考証させ，それに基づいて一人一人が当時の農民に成りきって日記を書き，その日記を全員で吟味し合うというものである。授業トランスクリプトの分析，さらに授業者との意見交換などから，以下のような知見を得た。(1)生徒の主体性の開発のためには，自分の意見を形成させる手立てと並んで，他の学習者（同級生）の意見に関心を抱かせる「仕掛け」が必要である。(2)本授業の価値である生徒と教師の豊かな応答の背景として，授業者の専門分野への深く継続的な学問的探究と生徒の日常的な生活世界や他者との関係性の的確な把握がある。(3)課題として上げられるのは，このようなパフォーマンス課題に取り組みせるにあたって，学習者の歴史認識の高まりをどのように評価していくか，内容的にも方法的にも必ずしも明確になっていないという点である。

2. 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

2017学習指導要領において，「多様な人々と協働しながら」「持続可能な社会の担い手」を育てる教育課程が求められている。（中学校学習指導要領前文 他）このことはシティズンシップ教育の視点の重要性を浮かび上がらせるものであり，その具体的な指導場面として，特別な教科道徳と並んで特別活動の指導のあり方が注目されている。

本研究室では、今日の中学校における生徒会活動について、その活動の実態を調べる研究を始めた。昨年度明らかになった点は、(1)ほとんどの生徒会役員の生徒たちは、目的意識を持って主体的に活動に取り組みたいという意欲がある。(2)教育課程の過密さ、担当教員の高齢化、部活動やスクールバス運行等による放課後活動時間の縮小により、活動時間そのものが極めて限定的になっている。(3)活動の内容自体が「お飾りの参加」レベルに留まり、生徒自身が集団的に討論や決定を行う場面がほとんどなく、自治能力の育成に効果を上げていない、等である。さらに研究を継続する予定である。

3. シティズンシップの育成を目指した生活指導の実践的研究

新潟県内の生活指導サークルで報告された小学校のレポートをもとに、今日の小学校における生活指導の課題を、低学年、中学年、高学年それぞれの発達段階の視点から明らかにした。その概要を以下に記す。

低学年では、保護者も含めた他者との信頼関係をベースにして、心と身体を開いていくような活動を豊かにする中で、「小1プロブレム」と称される危機を乗り越えていく必要性を論じた。中学年ではともすれば同調的な「空気」が支配する学級が増えている中で、豊かな「ギャングエイジ」を保障する時間・空間・仲間を育てる指導のあり方を論じた。高学年では中学年までに必要な経験や行動能力を獲得できずにいる子どもたちの存在を前提に、ていねいなケアと思春期の人格的な自立に向けた指導の重要性を述べた。

学術論文

小林 朗・木村 哲郎・足立 淳『『主体的・対話的で深い学び』の成立条件と関連構造に関する授業研究－中学校社会科歴史分野の授業を手がかりとして－』、朝日大学教職課程センター研究報告第20号、2018.3

その他研究活動

- 1) 木村 哲郎, 山田 昭雄, 吉原いづみ, 川井 拓郎「今日の少年期の課題に応える生活指導・集団づくりとは」, 第49回新潟県生活指導研究協議会基調提案, 2017.11
- 2) 足立 淳, 木村 哲郎, 今井 翔馬「1930年代初頭新潟における子どもの生活世界と『戦争』－児童文集をてがかりとして－」, 公開市民シンポジウム「新潟から戦争を考える」実行委員会, 2018.2

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) 日本特別活動学会
- 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) 教員免許更新講習講師（必修領域）(2017.8)
- 2) 新潟市北区子ども支援ネットワーク・ライツ 教育懇談会講師（2017.7）
- 3) 新潟大学教育学部 非常勤講師：教育方法・技術B（2017.8）
- 4) 同 非常勤講師：教育課程総論（2017.10～2018.2）
- 5) 同 教員養成実地指導講師：特別活動研究（2017.12）
- 6) 新潟医療福祉大学 実習前特別講義講師（2018.2）

**新潟薬科大学 応用生命科学部
研究年報 2017 (平成 29 年度)**

発行日：2019 年(平成 31 年) 1 月11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)

