

# シンポジウム 合同学術講演会

## 講 演 要 旨

〒 060-8589

札幌市北区北9条西9丁目 北大院農  
生命有機化学講座生態化学分野

田原 哲士 様

会費未納年度 H11済

本年会費	1000 円
納入金額	1000 円

期 日：平成 12 年 7 月 21 日(金)～22 日(土)

場 所：帯広畜産大学 生物資源科学科棟  
(帯広市稻田町 Tel:0155-49-5541)

日本農芸化学会北海道支部  
日本土壤肥料学会北海道支部  
日本応用糖質科学会北海道支部  
北 海 道 農 芸 化 学 協 会

〒 060-8589 札幌市北区北 9 条西 9 丁目  
北海道大学農学部生物機能化学科内  
Tel : 011-706-2496/4140

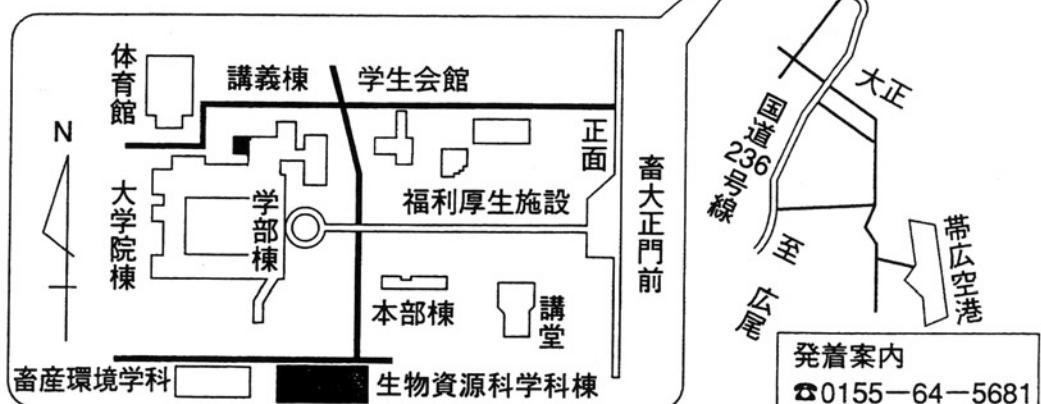
# 会場へのご案内

<帯広駅から講演会場までの交通機関>

- 十勝バス：帯広駅前からバス番号76、79番に乗り車、畜大正門前で下車（約25分、400円）
- タクシー：約15分、約2,000円（約7Km）

<帯広空港から講演会場までの交通機関>

- 空港から帯広駅前下車（約40分、1,000円）  
上記バスで本学まで
- タクシー：約25分、約5,500円（約21km）



(シンポジウムおよび講演会場)

## 十勝バス時刻表

帯広駅前発  
(76、79番)

7 : 50	15 : 34
7 : 59	15 : 50
8 : 05	16 : 14
8 : 34	16 : 50
10 : 50	17 : 14
11 : 14	17 : 34
11 : 53	18 : 34
13 : 34	19 : 30
13 : 50	20 : 30

畜大発

7 : 45	15 : 30
8 : 20	16 : 17
8 : 42	16 : 20
9 : 17	16 : 57
10 : 20	17 : 20
11 : 20	18 : 17
11 : 57	19 : 20
12 : 20	20 : 00
14 : 20	

## 合同学術講演会およびシンポジウムプログラム

7月21日(金)

◎シンポジウム (13:00~17:00)： 講義棟5番教室

「どこへ向かう、21世紀の食」 ー乳・肉・植物の機能性がヒトにどこまで影響するかー

司会人: 中野益男、三上正幸、荒井威吉、大西正男(帯畜大)

13:00 開会の辞	農芸化学会北海道支部長 葛西隆則 (座長 荒井威吉)
13:10 (S-1) 乳塩基性タンパク質(MBP)の生理作用 (雪印乳業栄養科学研)	山村淳一、高田幸宏 (座長 三上正幸)
14:00 (S-2) 食肉及び副産物の機能性について (伊藤ハム中央研)	中村豊郎
14:50-15:00 休憩	(座長 大西正男)
15:00 (S-3) 農産物及び海産物由来の生体調節機能脂質 (日本油脂食品カンパニー)	日比野英彦 (座長 中野益男)
15:50 (S-4) 21世紀の食は生活習慣病を克服できるか (九大健康科学セ)	藤野武彦
16:40 総合討論	中野益男、三上正幸、荒井威吉、大西正男

◎懇親会 (17:30-19:30)： 畜大生協前広場(雨天時は生協喫茶ホール)

会費: 一般 3000円、 学生 1500円

(参加希望者は、シンポジウム会場でお申し込みください)

7月22日(土)

◎一般講演 (9:30~12:00)： A、B会場(プログラムは別掲)

○北海道農芸化学協会総会 (13:00-13:15)： B会場

◎特別講演 (13:20~15:00)： B会場

(座長:鍋田憲助)

13:20 「植物の病害および生理機能に関する生理活性物質の合成研究」

－本年度農芸化学奨励賞受賞講演－ (北大院農)戸嶋浩明  
(座長:菊地晃二)

14:10 「アズキおよびインゲンマメの加工特性とその変動要因」 (道中央農試)加藤 淳

一般講演プログラム（講演時間10分、討論2分、○印：講演者）

A会場

(座長：田崎弘之)

- 9:36 (A-1) *Xanthomonas* sp. SB-K88 株によるメキシアルキルピラジンの產生  
(<sup>1</sup> 北大院農・応生科、<sup>2</sup>CREST) ○中村史晃<sup>1</sup>、橋床泰之<sup>1,2</sup>、田原哲士<sup>1,2</sup>
- 9:48 (A-2) ホワイトルーピン幼植物におけるイソフラボン類の動態；子葉切片における光とジャスモン酸メチルの影響について  
(<sup>1</sup>CREST、<sup>2</sup> 北大院農・応生科) ○片桐康史<sup>1</sup>、橋床泰之<sup>1,2</sup>、田原哲士<sup>1,2</sup>
- 10:00 (A-3) キマメ[*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]が分泌する piscidic acid の土壤中における安定性  
(<sup>1</sup> 北大院農・応生科、<sup>2</sup>ICRISAT) ○廣澤 憲<sup>1</sup>、石川 覚<sup>2</sup>、J.J.Adu-Gyamfi<sup>2</sup>、戸嶋浩明<sup>1</sup>、吉原照彦<sup>1</sup>

(座長：福士幸治)

- 10:12 (A-4) Lubimin および epilubimin の 15-norlubiminol および 15-norepilubiminol への化学的誘導  
(<sup>1</sup> 北大院農・応生科、<sup>2</sup>CREST) ○戸嶋浩明<sup>1</sup>、渡辺亜矢子<sup>1,2</sup>、吉原照彦<sup>1,2</sup>
- 10:24 (A-5) コアミメヒシャクゴケ(*Scapania parvitexta*)培養細胞に含まれるジテルペノン  
(<sup>1</sup> 帯広畜大・生資科、<sup>2</sup> 千葉中央博) 田崎弘之<sup>1</sup>、○三好正子<sup>1</sup>、波佐康弘<sup>1</sup>、古木達郎<sup>2</sup>、鍋田憲助<sup>1</sup>
- 10:36 (A-6) 褐藻エゾイシゲ由来フロロタンニンのラット小腸α-グルコシダーゼ阻害活性  
(<sup>1</sup> 北大院水、<sup>2</sup> 道食加研、<sup>3</sup> 才ホーツク食加技セ) ○栗原秀幸<sup>1</sup>、綾木 純<sup>1</sup>、高橋是太郎<sup>1</sup>、佐々木茂文<sup>2</sup>、太田智樹<sup>3</sup>

(座長：戸嶋浩明)

- 10:48 (A-7) ニガウリ(*Momordica charantia* L.)からのα-glucosidase 阻害物質の単離  
(<sup>1</sup> 道科学産業技術振興財団、<sup>2</sup> 北大院農・応生科、<sup>3</sup> 植物情報物質研究セ) 松浦英幸<sup>1</sup>、○浅川智香子<sup>1</sup>、栗本成敬<sup>1</sup>、川端 潤<sup>2</sup>、水谷純也<sup>3</sup>
- 11:00 (A-8) タマネギ中のアンジオテンシンⅠ変換酵素阻害活性物質について  
(<sup>1</sup> 道東海大・生工、<sup>2</sup> 農水省食総研) ○西村弘行<sup>1</sup>、佐藤 敦<sup>1</sup>、樋口央紀<sup>1</sup>、神馬千穂<sup>1</sup>、津志田藤二郎<sup>2</sup>
- 11:12 (A-9) 脳波計を用いた北方系植物のリラクセーション作用の評価  
(<sup>1</sup> 道科学産業技術振興財団、<sup>2</sup> 植物情報物質研究セ) ○仲原 聰<sup>1</sup>、角田英男<sup>2</sup>、水谷純也<sup>2</sup>

(座長：栗原秀幸)

- 11:24 (A-10) フキノトウ(*Petasites japonicus*)からの抗酸化成分の単離  
(<sup>1</sup> 道科学産業技術振興財団、<sup>2</sup> 北大院農・応生科、<sup>3</sup> 植物情報物質研究セ) 松浦英幸<sup>1</sup>、○天野みどり<sup>1</sup>、川端 潤<sup>2</sup>、水谷純也<sup>3</sup>
- 11:36 (A-11) 高温高圧水蒸気による大根グルコシノレートの質的変換と抗酸化活性の向上  
(農水省北農試) 石井現相
- 11:48 (A-12) 胆汁色素代謝物ウロビリノーゲンの新規生体内抗酸化物質としての作用-XYZ 系微弱発光による活性酸素消去における Y としての活性-  
(<sup>1</sup> 浅井ゲルマニウム研、<sup>2</sup> 東北大院農・環修生工) ○中村宜司<sup>1</sup>、佐藤克行<sup>1</sup>、吉城由美子<sup>2</sup>、大久保一良<sup>2</sup>、秋葉光雄<sup>1</sup>

## B会場

(座長:石井現相)

- 9:36 (B-1) 真菌類での 9-メチルースフィンガジエニンの分布とその存在意義  
(<sup>1</sup>岩手大院・連農、<sup>2</sup>帯広畜大・生資科)<sup>○</sup>高桑直也<sup>1</sup>、丹治幹男<sup>2</sup>、大村彰宏<sup>2</sup>、木下幹朗<sup>2</sup>、大西正男<sup>2</sup>
- 9:48 (B-2) アスパラガス実生の炭水化物含量と糖質関連酵素活性におよぼす AM 菌感染の影響  
(<sup>1</sup>酪農大院・食科、<sup>2</sup>北大院農・生資産)<sup>○</sup>塩見徳夫<sup>1</sup>、小野寺秀一<sup>1</sup>、山森 昭<sup>1</sup>、秋山 克<sup>2</sup>、松原陽一<sup>2</sup>、鈴木 卓<sup>2</sup>、原田 隆<sup>2</sup>
- 10:00 (B-3) ラフィノース添加による米飯の食味に関する影響について  
(日甜總研)<sup>○</sup>菅野恭志、佐山晃司

(座長:塩見徳夫)

- 10:12 (B-4) 野生エゾシカ肉の熟成に伴う硬さの変化  
(帯広畜大・生資科)<sup>○</sup>今野 宗、島田謙一郎、関川三男、三上正幸
- 10:24 (B-5) Effect of some neuropeptides and gut hormones on apolipoprotein A-IV gene expression in Caco-2 intestinal cells  
(Div. Appl. Biosci., Grad. Sch. Agr., Hokkaido Univ.)<sup>○</sup>Pimara Pholnukulkit, Kei Sonoyama and Takanori Kasai
- 10:36 (B-6) *Bifidobacterium bifidum* のウシラクトフェリン結合タンパク質に関する研究  
(北大院農・生資産)<sup>○</sup>金 完燮、森田浩史、田仲哲也、玖村朗人、島崎敬一

(座長:大和田琢二)

- 10:48 (B-7) 嫌気性ジャーファーメンターを用いた腸内細菌の培養条件とモニタリングの検討  
(<sup>1</sup>道科学産業技術振興財団、<sup>2</sup>北大院農・応生科)<sup>○</sup>上條万二郎<sup>1</sup>、Peter Kurdi<sup>2</sup>、Akarat Suksomcheep<sup>2</sup>、浅野行蔵<sup>2</sup>、横田 篤<sup>2</sup>、富田房男<sup>2</sup>
- 11:00 (B-8) 黄色ブドウ球菌検査培地の改良(第2報)  
(<sup>1</sup>道食加研、<sup>2</sup>北大院農・応生科)<sup>○</sup>吉川修司<sup>1</sup>、浅野行蔵<sup>2</sup>、田村吉史<sup>1</sup>
- 11:12 (B-9) 酵母 *Zygosaccharomyces mrankii* IFO1835 のメリビオース発酵性遺伝子の解析  
(農水省北農試) 小田有二

(座長:上條万二郎)

- 11:24 (B-10) 半ゲル状 *Azotobacter* 培地を用いた非共生窒素固定根面着生細菌の定性的分類の試み  
(<sup>1</sup>北大院農・応生科、<sup>2</sup>北大院農・生資産)<sup>○</sup>多田元比古<sup>1</sup>、橋床泰之<sup>1</sup>、大崎 満<sup>2</sup>、田原哲士<sup>1</sup>
- 11:36 (B-11) ヒドロキシリシンによる根粒菌の poly-β-hydroxybutyrate 含量の増加  
(帯広畜大・生資科)<sup>○</sup>齊藤伸幸、増田宏志、得字圭彦、大和田琢二
- 11:48 (B-12) 古代北海道・オホツク文化圏へ持ち込まれたイノシシ属—Ancient DNA 解析による復元  
(<sup>1</sup>岩手大院・連農、<sup>2</sup>帯広畜大・獣医、<sup>3</sup>帯広畜大・生資科)<sup>○</sup>渡部琢磨<sup>1</sup>、石黒直隆<sup>2</sup>、中野益男<sup>3</sup>

牛乳は良質のカルシウムを含むばかりでなく、新生動物を育てる機能を有することから、骨の代謝に関わる生理活性成分を含んでいると考えられる。骨を造りだす骨芽細胞を用いたこれまでの研究で、乳清タンパク質が *in vitro*において骨芽細胞増殖活性およびコラーゲン合成促進活性を有していることがわかった。そして、その有効成分が牛乳の塩基性タンパク質画分(MBP)中に存在することが示唆された。そこで、骨芽細胞の増殖活性に関わる成分を精製し、その構造を調べた。また、骨を壊す破骨細胞に対するMBPの効果についても、骨吸収活性および破骨細胞の形成により調べた。

MBPは、牛乳から陽イオン交換樹脂を用いて分画したもの用いた。骨芽細胞は、株化MC3T3-E1細胞およびMG63細胞を用いた。骨芽細胞の増殖活性は、放射性チミジンの取り込み量とDNA量により調べた。コラーゲン合成活性は、MC3T3-E1細胞によるハイドロキシプロリンの産生とMG63細胞によるP1CP量の産生により調べた。一方、破骨細胞はマウスおよびウサギの大転骨および脛骨から分離した。骨吸収抑制活性は、全骨細胞を用いる系と単離破骨細胞の系で調べた。また、破骨細胞の形成は、血液幹細胞から分化誘導させた芽球細胞を用いて調べた。

MBPは骨芽細胞において、濃度依存的にチミジンの取り込み量を増加させ、細胞の総DNA量も増加させた。また、コラーゲンに特徴的なハイドロキシプロリンの産生を促進し、コラーゲン産生の際に放出されるP1C P量を濃度依存的に増加させた。MBPから骨芽細胞の増殖に関与する成分を精製し、同定した。すなわち、MBPに加熱およびアルコール処理を行い、MBP中の高分子量の画分を除いた。陽イオン交換クロマトグラフィーにより、活性成分が2つ存在することが確認された。それぞれの活性画分を陰イオン交換クロマトグラフィー、ゲル滌過クロマトグラフィーおよび疎水性クロマトグラフィーにより精製し、プロテインシーケンサーによりN末端のアミノ酸配列を分析した。その結果、骨芽細胞の増殖活性成分は、キニノーゲンの内部構造であり、活性化する際にラジキニンとともに放出されるキニノーゲンフラグメント1・2であることがわかった。キニノーゲンフラグメント1・2の機能はこれまで不明であったが、骨芽細胞増殖という新たな機能が見出された。もう一つは、核内の転写の制御に関わる非ヒストン系のHMGタンパク質とN末端構造が同じであるHMG様タンパク質であることがわかった。これまで乳に存在することが知られていなかったこれらのタンパク質は、乳児の骨形成に深く関与していることが推測された。

骨吸収活性については、全骨細胞の系でMBPが濃度依存的にその活性を抑制することが分かった。また、ウサギ由来の単離破骨細胞の活性も抑制することから、破骨細胞に直接作用することが示された。さらに、芽球細胞を用いて多核破骨細胞様細胞の形成を調べたところ、MBPは破骨細胞への分化誘導も直接抑制した。

以上の結果から、MBPは骨芽細胞による骨形成を促進し、さらに破骨細胞の骨吸収を抑制することが明らかとなり、骨代謝の改善および骨粗鬆症の予防に有効な食素材であると考えられた。

食品研究の主要分野として、未利用資源の有効活用、食品の機能性の研究、食品の安全性に関する研究と指摘されている。(食品総合研究所 鈴木健夫所長) そして食品の機能性成分には3つあり、まず第一に栄養成分(第一次機能)、ついで呈味成分と感覚面での働き(第二次機能)、第三にいわゆる生理活性成分(第三次機能)であると言われる。

食肉の機能については第一次、第二次機能については長年研究されてきたものの、第三次機能に着目した研究は日本だけでなく世界的にもまだ少ないといわざるをえない。肉食民族とされる欧米諸国でも同様である。

今まで生理活性機能に関連した研究開発は主として副産物を原料として医薬品、化粧品の分野で活発に行われてきた。多くの商品を世に送り出し、今でも使われているのも多い。

例えば、医薬品ではインスリン、パンクレアチン、ヒアルロン酸  
化粧品ではコラーゲン、コンドロイチン硫酸等が挙げられる。

最近になって、牛乳の機能性成分の研究に先導された形で食肉そのもの及び副産物における機能性の研究が盛んになってきた。

「食肉と健康」との観点からは例えば疫学的研究で長寿地域の沖縄での豚肉摂取の例、小金井市民の血清アルブミン量との関係が挙げられる。又、食肉の摂取により体内での有用物質の生成ではアナンダマイド(至福物質)、セロトニン(うつ病防止効果)の研究が行われている。

そして食肉摂取のマイナス要因と考えられてきた中性脂肪も栄養学の進歩によりその評価に変化ができた。

一方、第三次機能に着目したものは食肉の酵素分解物ではペプチド関連が多く、血圧上昇抑制、抗酸化、抗肥満、アルコール代謝促進、睡眠、鎮静、体脂肪燃焼促進、筋肉瞬発性、回腸平滑筋収縮等の効果が報告されている。

副産物由来の素材成分はタンパク、ミネラル、糖など様々で肝機能改善、リュウマチ改善、骨形成促進、美容効果等の機能がある。

このような食肉の機能性研究の背景には消費者の健康への関心の高まり、特定保健用食品のような行政上の変化が背景にある。

今回は動物臓器由来の医薬品及び化粧品素材としてどのようなものがあったかをまず紹介し、そして食肉及び副産物の食品機能性の研究開発の現状と課題について触れるつもりである。

これが未利用資源の有効活用の観点からもお役に立てば幸いである。

### S-(3)

### 農産物及び海産物由来の生体調節機能脂質

(日本油脂・食品カンパニー) 日比野英彦

私達が食糧に利用してきた農産物や海産物に含まれている脂質（脂溶性化合物）には多種多様な化合物が含まれている。それらの脂質を栄養成分（ビタミンも含めて）としての効用以外に生体調節機能脂質として利用する検討が食品企業の中で大きく進歩してきた。これらの食糧由来の脂質もその第三次機能の評価が各方面から取り組まれている。多くの脂質は分子集合体であり単離精製された純粋な製品は法規やコストの面から工業的な利用が難しい。そこで各化合物を濃縮して酵素、細胞、実験動物でその生理機能を評価して、その保健効果が病態動物やヒトで確認された物も多い。それらの脂質濃縮物が機能性食品の素材として食品業界に紹介されている。

本講演で取り上げる生体調節機能脂質は、植物由来の高級脂肪族アルコールの一つであるオクタコサノール及び海産物由来のリン脂質の一つであるDHA結合ホスファチジルコリン(DHA-PC)である。

オクタコサノールの原料は米、小麦胚芽及び砂糖黍等に含まれるワックスである。ワックスは高級脂肪酸と高級脂肪族アルコールからなるエステルの混合物であり、オクタコサノールは高級脂肪酸を分別した広い炭素数分布を示す脂肪族アルコール群の一成分である。健康食品市場で販売されている商品はオクタコサノールを10~50%含む製品が流通している。

DHA-PCの原料はイカの外套筋、魚卵及び魚油付加飼料で飼育した鶏の卵などから得られるリン脂質である。筆者が検討した魚卵リン脂質は70%のPCを含み、その脂肪酸組成の20~30%がDHAであった。DHAはPCのsn-2位に結合しており、このDHA-PCの立体構造が生体調節機能を発揮しているものと思われる。

オクタコサノールは炭素数28個の直鎖飽和脂肪族アルコールで融点も82.7°Cである。主な生理作用には運動能増強（持久力・スタミナの増強）やホルモン様作用などが良く知られている。とくに運動との組合せにより大腿骨中におけるカルシウムとリンの取込が増加し骨強度も高まる。さらに同一飼料条件でもオクタコサノールを摂取すると血液性状のうち総コレステロール、トリグリセリド及び遊離脂肪酸の中性脂肪等を低下させ、血糖もやや低下させる。ラベル化オクタコサノールの投与結果は体内発熱組織である褐色脂肪細胞に多くの放射能が分布し、オクタコサノールがエネルギー運動メカニズムに関与し部分的にβ-酸化を通じて熱源の活性化に役だっている。

DHA-PCは制癌、レシチン・コレステロールアシルトランスフェラーゼの活性阻害、血圧低下、血中脂質低下、肝機能改善、生体防御能の向上、中枢機能作用（睡眠、学習脳、記憶）及び抗アレルギー作用等が知られている。筆者はDHA-PCの5-リポオキシゲナーゼ特異的抑制を見出し、一方、従来から血小板活性化因子の産生を抑制することから接触性皮膚炎モデル動物を用いて抗アレルギー作用を証明した。

その結果、DHA-PCは抗アレルギー性漢方薬の柴朴湯より炎症性サイトカイン産生を抑制しアレルギーの指標である耳介浮腫を即時型及び遅延型に優位に抑制することを示した。

特に、リン脂質に含まれるDHAはトリアシルグリセロールに含まれたDHAよりも2,4-ジニトロ-1-フルオロベンゼンで惹起された耳介浮腫を強く抑制していた。

### 1. はじめに一生活習慣病の現状とその発症仮説

(1) 生活習慣病の中で、とくに肥満、糖尿病、高血圧症、高脂血症の関係は、「死の四重奏」と呼ばれ、相互に悪化させることができたようになつた。第1バイオリンの「肥満」(BMI25.0以上)は、現在、男性の25.3%、女性の19.5%にも達している。(2)著者の提唱する生活習慣病の新たな発症仮説は、以下の通りである。①ストレス過剰→②脳疲労→③五感異常→④(食)行動異常(過食、嗜好異常)→⑤生活習慣病

### 2. 医食同源の科学 -新たな「食の科学」

(1) 「医食同源」という表現は、「黄帝内經」(紀元前の中国医学書)にもすでに述べられている古い概念であるが、いま再び新たな重要概念となろう。すなわち、「医食同源の科学」は、従来の「栄養学」から脱皮した「食文化」、「食と自然環境」を含む、新たな「食の科学」(食健康学)である。さらに、今後「ポジティブヘルス」(積極的健康)や「メンタルヘルス」(食と脳の科学)の方向も包含されることになろう。(2) 医食同源の科学のモデルの一つとして、著者らの「醸造酢」に関する研究を紹介する。in vivo および in vitro で、高脂血症、糖尿病、高血圧の明らかな改善と、血液レオロジー(赤血球変形能など)の著明な改善が見られた。

### 3. 「食の科学」(医食同源の科学)は「関係性の科学」である。

(1) 従来の要素還元主義では、たとえ食品の機能性が明らかになったとしても、人間の「生活習慣病」の予防と治療にはつながらないであろう。(2) 新たな「食の科学」(医食同源の科学)は、全て「関係性」においてとらえられねばならない。しかも、その「関係性」は、たんなる相互関係ではなく、holistic(有機的、統合的全体は部分の総和より大きく、新たな機能を持つ)であることが重要である。(3) 「食の科学」の「関係性」を以下の点について具体的に述べる。①食品と食品の関係②食品と微生物の関係(機能性の高次元化)③食品と化学物質(環境ホルモン)との関係(食の危険性)④個体における「食情報システム」⑤料理と五感(とくに味覚)活性化の関係⑥農産物生産者と消費者の新たな関係

### 4. 「生活習慣病」を克服する新たな食関連システム(BOOCS)の提唱

(1) 著者らの「生活習慣病の発症仮説」は、はじめに述べた通りであるが、これに基づく新たな「治療(予防)仮説」がブックス=BOOCS(Brain Oriented Obesity((Oneself)) Control System=脳指向型肥満((自己))治療システム)である。(2) その骨子は、2原理・3原則にある。

①2原理・自分で自分を禁止・抑制することができる限りしない。(禁止・禁止のルール)・自分にとって心地よいことを一つでも開始する。(快のルール)

②3原則・たとえ健康によいこと(運動など)やよい食べ物でも嫌であれば決してしない(食べない)・たとえ健康に悪いこと(食べ物)でも好きでたまらないか、やめられないこと(食べ物)はとりあえずそのまま続ける(決して禁止しない)・健康によくてしかも自分がとても好きなこと(食べ物)を一つでもよいから始める(食べ始める)。

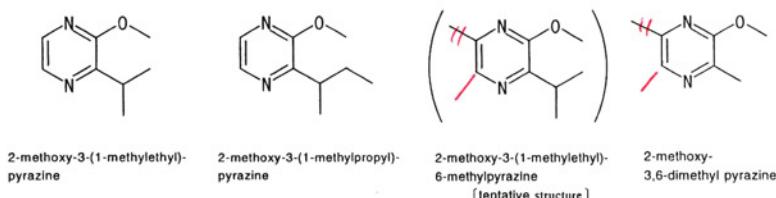
(3) この治療仮説(BOOCS)を肥満治療に適用した結果、6ヶ月以上の長期間観察で、成功率は95%を超えるものであった。

## A-(1)

### Xanthomonas sp. SB-K88 株によるメトキシアルキルピラジンの产生

○中村 史晃<sup>1)</sup>, 橋床 泰之<sup>1,2)</sup>, 田原 哲士<sup>1,2)</sup> (1; 北大院農 2; 科技団 CREST)

テトラミン酸系マクロライド抗生物質 xanthobaccin 類を产生する、テンサイ苗立枯病拮抗細菌 *Xanthomonas* sp. SB-K88 株 (*Stenotrophomonas*) に分類するとした報告もあるが未決)は培養中に特徴的な土様の臭気を持つ揮発性物質を放出する。今回、培養液中に含まれる揮発性物質をジエチルエーテルにより抽出後、GC-MS で分析した結果、臭気化合物本体は下図に示した4種のメトキシアルキルピラジンであることがわかった。これらの化合物のうち試薬として入手可能な 2-methoxy-3-(1-methylethyl)pyrazine について検量線を作成し、本化合物の本菌株の生成量を予備的に定量したところ、2週間培養後サッカロース-酵母エキス-硝酸カルシウム-アルギニン培地中に 0.52mg / L 蕎積していた。アルキルピラジンについては *Bacillus subtilis* や *Aspergillus oryzae* 等の代謝産物として多くの報告があるが、置換基としてメトキシのついたピラジン誘導体の微生物による產生についての報告は比較的少なく、異臭のする食品から分離される *Pseudomonas perolens* 等に限られている。経験的に、K88 株が抗生物質を蓄積する培養条件においてこれら臭気化合物の產生が付随することがわかつており、本細菌の二次代謝におけるこれら化合物の役割に興味が持たれる。現在、本細菌の増殖や抗生物質生産へ本化合物がおよぼす影響について検討している。



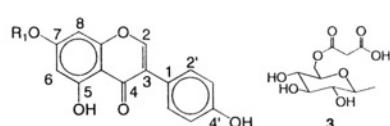
## A-(2)

### ホワイトルーピン幼植物におけるイソフラボン類の動態；子葉切片における光とジャスモン酸メチルの影響について

○片桐康史<sup>1)</sup>, 橋床泰之<sup>1,2)</sup>, 田原哲士<sup>1,2)</sup> (1; 科技団CREST, 2; 北大院農)

**【背景と目的】** マメ科植物の生活環に重要な役割を果たしているイソフラボノイドの二次代謝特性および機能を明らかにすることを目的とした研究の一環として、ルーピン類（ハウチワマメ属）をモデルとして、そのイソフラボン類の動態の解析を行っている。今回は、ホワイトルーピン幼植物中のイソフラボン類の構成に影響をおよぼす要因のうち、光およびジャスモン酸メチル (MeJA) の効果について検討したのでその結果を報告する。

**【方法と結果】** 暗所で吸水・発芽させたホワイトルーピンの0~5日齢黄化幼植物体の子葉を切片とし、MeJA水溶液を与えて、明所または暗所で一定時間インキュベート後、蓄積されたイソフラボン類を定量した。光照射下で48時間インキュベートした子葉では、単位重量当たりの全イソフラボン含量は暗所対照区に対し3~5倍に増加し、暗所で0.2 mMのMeJA水溶液で処理した子葉でも2倍前後に増加した。また、光およびMeJAにより誘導されるイソフラボン類の総蓄積量は、この生育段階では相加的であることが示唆された。48時間のインキュベーションで誘導・蓄積されたイソフラボン総量を日齢の違いにより比較したところ、光の効果は播種二日目以降、MeJAによるそれは三日目以降にはほぼ最大値に達すると判断された。組成の検討を行った結果、光照射下では主に genistein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside (2) の含量が、MeJA処理では genistein 7-O-glucoside (1) の含量が顕著に増加することが判った。抗菌活性の発現の上で重要であると考えられる2'位の水酸化と6位のペニル化についても報告する。



1; R<sub>1</sub> = Glc, 2; R<sub>1</sub> = 6-O-malonyl Glc (=3), and genistein; R<sub>1</sub> = H

### A-(3)

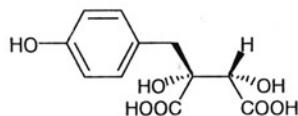
キマメ [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] が分泌する piscidic acid の土壤中における安定性

○廣澤憲、石川覚\*、J. J. Adu-Gyamfi\*、戸嶋浩明、吉原照彦

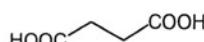
(北大院農・応生科、\*ICRISAT)

【目的】キマメ [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] はインドなどで広く栽培されおり、その特異的リン酸吸収機構に関与する根分泌物として piscidic acid (1) が同定された。piscidic acid はその酒石酸部分のカルボキシル基と水酸基が  $\text{Fe}^{3+}$  イオンとキレートを形成することが確かめられている。また piscidic acid が  $\text{Fe}^{3+}$  イオンとキレートを形成した後、遊離したリン酸は根から吸収されるが、生成した錯体は土壤中にとどまると考えられている。本研究では、piscidic acid と他の有機酸の土壤中における分解を比較することにより、その安定性を検討した。

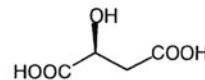
【方法および結果】土壤 1g (Alfisol, Vertisol, 北大農場土壤) に piscidic acid を  $2.5\mu\text{mol}$  を添加し、30 分、1 時間、3 時間、12 時間、24 時間後に  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  buffer で抽出し、ろ過後 HPLC で残存 piscidic acid 量を定量分析した。比較する有機酸として、succinic acid (2)、malic acid (3) を用いた。定量分析の結果、北大農場の土壤では piscidic acid, succinic acid は同程度の安定性を示し、malic acid はこの 2 つの有機酸に比べ著しく土壤微生物に分解されやすいことが示された。一方、インドの土壤 Alfisol, Vertisol 中では、piscidic acid は succinic acid よりもかなり安定であった。以上の結果、piscidic acid は土壤中で微生物に代謝されにくく、他の有機酸よりも安定であることが明らかとなった。またその結果、 $\text{Fe}^{3+}$  イオンキレート能もかなり持続していることが示唆された。



piscidic acid (1)



succinic acid (2)



malic acid (3)

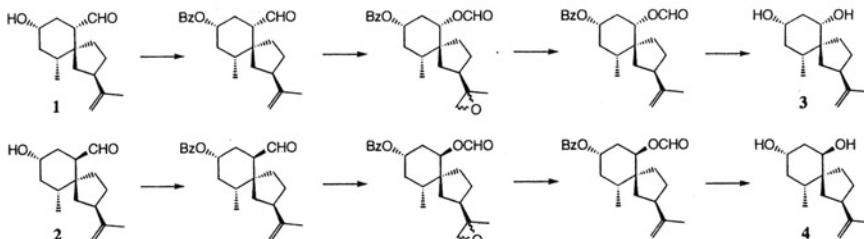
### A-(4)

Lubimin および epilubimin の 15-norlubiminol および 15-norepilubiminol への化学的誘導

○戸嶋浩明、渡辺亜矢子\*、吉原照彦\* (北大院農・応生科, \*CREST)

【目的】種々の土壤病害に対して強い抵抗性を示すエチオピアナス (*Solanum aethiopicum*) の根抽出物からは、セスキテルペン類（炭素数 15）、solavetivone、lubimin (1)、epilubimin (2) とそれらの関連化合物が単離され、これらのセスキテルペン類は病害抵抗性への関与が指摘されている。その微量成分として数種類の  $\text{C}_{15}$ -欠落型テルペン類（炭素数 14）も得られている。そのうち 15-norlubiminol (3) および 15-norepilubiminol (4) は混合物として得られているが微量かつ分離が困難なことから、これまで構造の確証が得られていない。3 および 4 の構造を確証すること、ならびに抗菌活性を評価するための試料を供給することを目的とし、主成分として得られる 1 および 2 からの化学的な誘導を行う。

【結果】先ずモデル反応において、過酸を用いた Baeyer-Villiger 酸化によるホルミル基のホルミルオキシ基への変換、およびトリフェニルホスフィンセレニド処理による過酸でエポキシ化されたイソプロペニル基の再生を確立した。次いで実際の基質を以下のように誘導した。揮発性を低下させるため 1 および 2 の水酸基をベンゾイル化した後に、過酸 (mCPPA) を用いた Baeyer-Villiger 酸化により立体配置の保持された転位生成物を得た。モデル反応に従いエポキシドを除去し、さらに加溶媒分解でベンゾイル基を除去し、目的とする 3 および 4 が得られた。3 および 4 のそれぞれの  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは、天然より得られた 3 と 4 の混合物のスペクトルの双方の化合物に由来するシグナルと完全に一致した。3 および 4 の構造を確証すると共に、抗菌活性を評価するために必要な 3 および 4 それぞれを単一化合物として得ることができた。



#### A-(5)

コアミメヒシャクゴケ (*Scapania parvitexta*) 培養細胞に含まれるジテルペン

(<sup>1</sup> 帯広畜産大学・生物資源科学, <sup>2</sup> 千葉県立中央博物館)

田崎弘之<sup>1</sup>, ○三好正子<sup>1</sup>, 波佐康弘<sup>1</sup>, 古木達郎<sup>2</sup>, 鍋田憲助<sup>1</sup>

[目的] コアミメヒシャクゴケ (*Scapania parvitexta*) は、ヒシャクゴケ属のタイ類で、北海道～九州、朝鮮半島に幅広く分布する。以前、Matsuoらが、野外採集したコアミメヒシャクゴケのヘキサン抽出物を GC-MS 分析し、 $\beta$ -bourbonene,  $\beta$ -ylangene,  $\beta$ -cubene を始めとする 9 種のセスキテルペンを同定しているが<sup>1)</sup>、その後くわしい報告がなされていない。我々は、野外採集したコアミメヒシャクゴケより誘導した培養細胞を実験材料に用いて、新たに、コアミメヒシャクゴケに含まれるテルペン化合物について調べることにした。

[方法および結果] 1997 年 5 月、北海道中札内村札内川上流の川岸で採集した胞子のうを用いて、無菌条件下での胞子発芽ついでカルス化したコアミメヒシャクゴケを MSK-4 寒天培地上で、25°C、連続照明下、60 日ごとに継代移植しながらカルスを集めた。集めたカルスは、風乾後 (34.6 g), コーヒーミルで粉碎してから Et<sub>2</sub>O 抽出した。Et<sub>2</sub>O 抽出物 (2.85 g) を、Sephadex LH-20 カラム, SiO<sub>2</sub> カラムクロマトグラフィーにより分画した。ついで、HPLC (SiO<sub>2</sub>, n-hexane:EtOAc=7:3) により、7 つのピークを分離した。このうち、ピーク 4 の分子量は、EI-MS から、388, EI-HR-MS から C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> であることが判明した。<sup>13</sup>C-NMR では、2 つの二重結合を含む、4 つのメチル、5 つのメチレン、6 つのメチン、7 つの 4 級炭素のシグナルが観測された。さらに、<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C COSY により、 $\beta$ -置換フラン環とアセチル基 1 ケを有する 6 環性のジテルペンであることが考えられた。ついで、COLOC 測定を行うことで、ピーク 4 は、C-12 位でケタール構造を有するクレロダン型の骨格を有することが判明した。現在、NOE 測定による立体構造の解析と誘導体化について検討を進めている。

1) A. Matsuo et. al., Bull. Chem. Soc. Japan 46, 1010 (1973).

#### A-(6)

褐藻エゾイシゲ由来フロロタンニンのラット小腸  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性

(<sup>1</sup> 北大院水、<sup>2</sup> 道食加研、<sup>3</sup> オホーツク食加技セ)

○栗原 秀幸<sup>1</sup>、綾木 毅<sup>1</sup>、高橋 是太郎<sup>1</sup>、佐々木 茂文<sup>2</sup>、太田 智樹<sup>3</sup>

[目的] 食後高血糖抑制を目的として  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害物質をスクリーニングしたところ、ヒバマタ科褐藻エゾイシゲ (*Pelvetia babingtonii*) の 70% MeOH 抽出物に強い阻害活性が認められた。そこで、エゾイシゲ抽出物から阻害活性物質を得て、構造解析、酵素阻害試験およびラットによる生物試験を行った。

[方法] 函館近郊で採集したエゾイシゲを 70% MeOH で抽出し、溶媒分画・セルロースクロマトグラフィーに供して阻害活性物質を得た。阻害活性物質のラット小腸  $\alpha$ -グルコシダーゼに対する阻害活性は基質にマルトースあるいはスクロースを用いて、生成するグルコースをグルコースオキシダーゼ法で定量した。Wistar 系ラットを用いた生物試験は、スクロースのみ（対照群）とスクロース+阻害活性画分（投与群）を与えたときの 2 時間後までの血漿中グルコース量の変化を検討した。

[結果] 阻害活性物質はメタジフェノール構造に呈色する試薬に陽性であり、NMR スペクトルからフロロタンニンと同定した。フロロタンニンのアセチル化物の分子量は GPC で求め、約 14,000 と見積もられたが、さらに検討が必要である。フロロタンニンはラット小腸  $\alpha$ -グルコシダーゼ活性を阻害したが、非選択性阻害と推察した。ラットによる生物試験では、投与後 10 分で対照群に比べ有意に血漿中グルコース量が低下したが、それ以後有意差はなかった。

アセチル化 フロロタンニンの分子量 14,000 の元底 <sup>13</sup>C-NMR でアセチル化プロトタイプ

## A-(7)

ニガウリ (*Momordica charantia* L.) からの  $\alpha$ -glucosidase 阻害物質の単離

松浦英幸、○浅川智香子、栗本成敬、川端潤<sup>†</sup>、水谷純也<sup>‡</sup>

北海道科学・産業技術振興財団、<sup>†</sup>北大、農学部生物機能化学科、<sup>‡</sup>植物情報物質研究センター

目的) 近年、高血圧、心疾患、糖尿病などの生活習慣病の予防、改善、並びにアレルギー症状の緩和効果など食品に含まれる機能性成分が注目されている。また、疫学的調査からも食品に含まれる機能性成分の重要性がクローズアップされている。本研究の目的はわれわれの健康増進に寄与する機能性成分の単離、同定である。今回は長寿で知られる沖縄地方で多く消費されるニガウリの機能性成分を検索した。ニガウリには糖尿病予防効果があることが知られており、糖尿病予防効果に注目し実験を行った。小腸内の  $\alpha$ -グルコシダーゼ酵素を阻害する物質は糖尿病予防、改善効果が期待され、検定法には  $\alpha$ -グルコシダーゼ酵素阻害試験<sup>[1]</sup>を用いた。

方法及び結果) ニガウリ (*Momordica charantia* L.) 種子のメタノール抽出液に酵素阻害活性が確認された。種子、135g(乾燥重)より得られた抽出液を活性炭カラムおよびセファデックス LH-20、ローバーカラム(RP-18)を用い粗分画をおこなった。数段階の HPLC(TOSO: ODS 80Ts, GL Science: Inertsil ODS, TOSO: Amido-80, Shimadzu: Phenomenex C18, Kanto: Mightysil RP-18 GT Aqua)を用いた精製操作により活性化合物(1)を得た。現在、活性化合物(1)について EI-MS, FD-MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 等の機器分析を行い、その構造について検討中である。

[1] Toda, M., Kawabata, J., and Kasai, T., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 64, 294-298, 2000.

## A-(8) タマネギ中のアンジオテンシン I 変換酵素阻害活性物質について

○西村 弘行、佐藤 敦、樋口 央紀、神馬 千穂(道東海大・生物工学)  
津志田 藤二郎(農水省食総研)

【目的】 高齢化に伴う医療費の増加によって予防医学が重要視されつつある。道内の主要農産物であるタマネギは、血小板凝集阻害活性、血糖低下作用、学習記憶障害改善効果、整腸作用、抗発がん作用など生体調節機能が知られ、一部生理活性成分が明らかとなっている。演者はネギ属野菜の持つ高血圧症予防効果に興味を持ち、特にタマネギ中のアンジオテンシン I 変換酵素(ACE)阻害活性物質について単離および同定を行い、さらに関連物質の ACE 阻害活性を比較したので報告する。

【方法】 北海道産ネギ属野菜として、ギョウジャニンニク、タマネギ、ニラ可食部を用い、エタノール抽出物について ACE 阻害活性を比較した。検定法は、Cushman and Cheung の方法に若干の変更を加えた方法を用いた。まずエタノール抽出物を酢酸エチル可溶部、n-ブタノール可溶部、水化溶部に順次分配し活性画分について各種クロマトグラフィーによって分画を行い、活性物質の単離を行った。活性物質はスペクトル解析によって同定を行った。

【結果】 ギョウジャニンニク、タマネギ、ニラ、それぞれのエタノール抽出物4000ppmの濃度でのACE阻害活性を比較したところ、タマネギからの抽出物に最も高い活性を見出した。そこで、タマネギエタノール抽出物10gを極性の差による溶媒分画を行い、活性を調べたところ、酢酸エチル画分の活性に対する寄与が大きかった為、SiO<sub>2</sub>カラム等による単離・精製を行った結果、400 ppmの濃度において阻害活性約30%の黄色物質11.1mgを単離した。スペクトル解析の結果、quercetin-4'-O-β-D-glucoside であると同定した。また、タマネギ中には quercetin およびその配糖体が比較的多量に含まれていることから、quercetin 誘導体について ACE 阻害活性を比較し、タマネギ食品としての機能性を考察する。

## A-(9) 脳波計を用いた北方系植物のリラクセーション作用の評価

○仲原聰、角田英男\*、水谷純也\*

(北海道科学・産業技術振興財団、\*植物情報物質研究センター)

【目的】当研究室では、北海道の地場産業の活性化を念頭に置いて、北海道で栽培可能な、または自生している、食用となる北方系植物の中から機能性食品の探索を行っている。その中で今回は、一般に安静時に多く放出されるという $\alpha$ 波の放出量について、北海道で栽培されているハーブをハーブティーとして用い、ハーブティー摂取前後にどれだけ違いがあるかを脳波計にて測定することにより、リラクセーション作用を持つ機能性食品を探索するということを目的として研究を行った。

【方法】健康な20歳代男性を対象に脳波測定を株式会社エヌエフ回路設計ブロック社製の脳波計を用いて行った。測定は、当研究室内の準シールドルームにて行い、まず摂取前の測定を30分、その後ハーブティーの摂取を行い、さらに測定を60分間行った。陽性対照には高級玉露、陰性対照には、お湯を用いた。評価については、同社製脳波解析ソフトESA-16を用い、摂取前平常時1分間と、摂取20分後および、40分後の1分間あたりの $\alpha$ 波放出量を脳波パワーマップにて目視で評価した。また、ハーブティー摂取後に、香りと味についての簡単なアンケートを行い、官能評価との相関についても検討した。

【結果】北見産ハーブ13種について評価を行ったところ、カモミール、マジョラム、ヒソップに平常時よりも強い $\alpha$ 波が、また、レモンバーム、バジル、ディルシードに平常時よりもやや強い $\alpha$ 波の放出が確認された。官能評価との相関は、カモミール、マジョラムは、香り、味ともよいと感じた人が多かったのに対し、ヒソップは、味が良くないと感じた人の方が多かった。また、ペパーミントは、香り、味とも高評価を得たが、 $\alpha$ 波の放出量には、全く変化は見られなかった。これらより、味、香りの嗜好性による脳波への影響は少ないものと考えられる。

## A-(10) フキノトウ (*Petasites japonicus*)からの抗酸化成分の単離

松浦英幸、○天野みどり、川端潤<sup>†</sup>、水谷純也<sup>‡</sup>

北海道科学・産業技術振興財団、<sup>†</sup>北大、農学部生物機能化学科、<sup>‡</sup>植物情報物質研究センター

目的) 近年、高血圧、心疾患、糖尿病、癌などの生活習慣病の予防、改善、並びにアレルギー症状の緩和効果など、食品に含まれる機能性成分がクローズアップされている。食品に含まれる機能性成分であることから、普段の食生活により多くの疾病が予防できる可能性があり、欧米では functional foods と訳され、盛んに研究が行われている。日本においては緑茶の研究が代表的であり、その他に醤油、味噌などの大豆製品や緑黄色野菜などの研究が行われている。しかし、フキノトウ、タラノメなどに代表される山菜や地方に伝わる伝承薬草などの研究は浅く、今後、われわれの健康に寄与する機能性成分の探索、単離、同定が進められていく分野と思われる。本研究の目的は、北方(北海道)で栽培、自生可能な植物からの機能性成分の単離、同定である。

方法及び結果) 札幌市、恵庭市、北見市近郊で60数種類の植物を採取した。抗酸

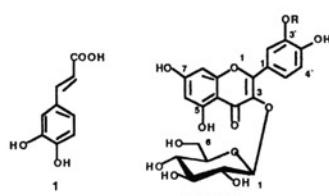


Fig. Antioxidative compounds from *Petasites japonicus*

化活性の評価はDPPHラジカルの捕捉能(DPPH-HPLC法)を指標にした。<sup>[1]</sup>この結果、山菜として知られるフキノトウ(*Petasites japonicus*)に強い抗酸化活性が確認された。酢酸エチル可部の抗酸化成分を種々のカラムクロマトグラフィー、HPLC等を用い、3種の抗酸化成分を単離した。各種NMR測定、EI-MS、FD-MSなどの機器分析の結果、caffeic acid(1), quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside(2), 3'-O-acetylquercetin-3-O-β-D-glucopyranoside(3)であることが明らかとなった。

[1] Yamaguchi, T., et al. Biosci. Biotechnol. Biochem., 62, 1201-1204, 1998.

## A-(11)

高温高圧水蒸気による大根グルコシノレートの質的変換と抗酸化活性の向上

(農水省北海道農業試験場) 石井現相

アブラナ科野菜のグルコシノレート(GSL)及びその酵素分解産物イソチオシアネートは食品の香味・色調形成に寄与し、化学発ガスに関わる生体異物を解毒する酵素(キノンレダクターゼなど)を誘導することが報告されている。特にプロッコリーのGlucoraphanin(4-Methylsulphinylbutyl-GSL)はその誘導活性が高いSulforaphane(4-Methylsulphinylbutyl-ITC)の前駆物質である。ここでは大根根部の主要なGSLである4-Methylthio-3-butetyl glucosinolate(MTB-GSL)の炭素二重結合に水素2原子付加とMethylthio基に酸素1原子付加により、Glucoraphaninが生成することに着目した。そこで、大根を小型圧力容器中で加熱飽和水蒸気に接触させる方法により、MTB-GSLの質的変換を試み、同時にその処理大根の抽出液の抗酸化活性を測定した結果を報告する。

方法と結果 HPLC機種：島津LC-10A, 同SPD-10Avp UV-VIS検出器, 同記録計C-R6A; Autoclave機種：SANYO MLS-2400型, 温度121°C, 1.1-1.2kgf/cm<sup>2</sup>; 化学発光検出器：東北電子産業CLD-110I, 日立記録計D-2500

1)オートクレーブ処理は市販かいわれ大根(1包装約250本)から胚軸を切り取り、10本(約1gfw)づつを10mL容ガラス試験管1本に入れて1組とし、所定時間毎(15,30,45,60,75,90分)に2組を供試した。2)GSL分析は1)処理後の胚軸をガラス棒摩碎してその抽出液について前報の方法(C18カラムによりion pair試薬とMeOHの濃度勾配12-34%で溶離して237nm検出)で行った。標準はSinigrin, Glucoerucin(4-Methylthiobutyl-GSL, Eruca sativa L.から調製), MTB-GSL(大根胚軸から調製), Glucobrassicinを用いた。MTB-GSL量は処理時間と共に分解が進行したが、MTB-GSLのGlucoerucinへの変換は15分で最大で20%余に達した。3)抗酸化活性測定は大久保らのXYZ系化学発光法に従い、200μL前記処理抽出液に同量の441mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>と1136mM MeCHOを含む50mM NaPi緩衝液(pH7.0)とMeOHの1:1混合液を添加して、その化学発光量を90秒間記録した。標準は10mM没食子酸のMeOH溶液を用いた。抽出液の抗酸化活性は処理時間に比例して上昇した。

## A-(12)

胆汁色素代謝物ウロビリノーゲンの新規生体内抗酸化物質としての作用

-XYZ系微弱発光による活性酸素消去におけるYとしての活性-

○中村宣司<sup>1</sup>, 佐藤克行<sup>1</sup>, 吉城由美子<sup>2</sup>, 大久保一良<sup>2</sup>, 秋葉光雄<sup>1</sup>

(1 (株) 浅井ゲルマニウム研究所、2 東北大院・農・環境修復生物工学)

**[目的]** 生体は酸化ストレスに対する防御機能として幾つかの活性酸素種の消去作用を有する酵素(SODやカタラーゼ等)を備えている。酵素系で消去不能の活性酸素種についても低分子抗酸化物質によって消去しており、このような抗酸化物質(ビリルビン・尿酸・ユビキノン等)も幾つか知られている。血色素ヘムの後期代謝過程で、ウロビリノーゲンは消化管という非常に還元的な環境下において酸化によりウロビリンに代謝される。空気による酸化が起こりにくい環境であることから、この過程での抗酸化作用が期待された。胆汁色素代謝物であるウロビリノーゲンが生体内抗酸化物質であることを明らかにするために、生体試料からの抽出物および合成したウロビリノーゲンを用いて抗酸化性を検討した。

**[方法]** 生体試料(ヒト糞便および尿)より色素を抽出し、DPPHラジカルの持つ可視光吸收の紫色の消失を薄相クロマトグラフィー上で確認した。また、ビリルビンの還元によりウロビリノーゲンを調製したものを用いてDPPHラジカル捕捉能を吸光度(517nm)の減少による比色法で既知の抗酸化物質と比較検討した。さらにラジカル開始剤(AMVN)によるリノール酸の自動酸化に対する抑制効果について、逆相HPLCによる共役ジエン法(UV235nm)で検討した。一方、合成ウロビリノーゲンを用い、XYZ系微弱発光における活性酸素の消去作用に対する関与について検討を行った。

**[結果]** 生体試料より抽出した色素抽出物の薄相クロマトグラフィーにおいて、Ehrlich試薬により呈色するウロビリノーゲンの赤色スポットと、DPPHラジカル試薬の紫褐色の消失した白色スポットは一致した。合成したウロビリノーゲンのラジカル消去活性は代表的な抗酸化物質であるα-トコフェロールやβ-カロチンより強く、ビリルビンと同程度であった。また、酸化開始剤により誘発されるリノール酸の自動酸化に対して高い抑制効果を示した。

一方、吉城らはX(活性酸素種)、Y(プロトンドナー)およびZ(触媒種)の存在下で微弱発光が見られ、これにともなうXに対する消去作用が認められることを明らかにしている。この系においてウロビリノーゲンがY成分であり、しかも動物体のY成分としては比較的強い活性を示した。ウロビリノーゲンは消化管内で腸内細菌の作用で生成し、吸収されて腸肝循環する。また、消化管や血管等はZ活性を持つことが既に明らかにされており、ウロビリノーゲンの消化管での酸化抑制作用、さらに吸収後の各組織(腎臓等)での酸化防止が期待される。

## B-(1)

真菌類での 9-メチル-スフィンガジエニンの分布とその存在意義

○ 高桑直也<sup>1</sup>, 丹治幹男<sup>1</sup>, 大村彰宏<sup>1</sup>, 木下幹朗<sup>1</sup>, 大西正男<sup>1</sup>

(岩手大院・連農, \*帯畜大・生資料)

演者らは、先にマイタケと黄コウジカビに含まれるセレブロシドの構造を検討し、主要な構成スフィンゴイド塩基が 9-methyl-4-trans, 8-trans-sphingadienine (9-メチル塩基) であることを報告している。本研究では、セレブロシド以外のマイタケスフィンゴ脂質群の成分特性を解析するとともに、他のキノコや酵母における 9-メチル塩基の分布を明らかにしようとした。また、アゾレクチンからなるリポソームの流動性に及ぼすセレブロシド分子中の 9-メチル分枝の影響を蛍光偏光消法で調べた。分析した 6 種の食用キノコ中のセレブロシドの主要構成セラミド残基はいずれも N-2'-hydroxypalmitoyl-9-methyl-sphingadienine であった。一方、セラミド、ジグリコシルセラミドおよびスフィンゴリン脂質群では、主要塩基は C18 の飽和トリヒドロキシ型で、構成脂肪酸としては C24 と C26 を中心とした超長鎖タイプが多く含まれていた。最近、数種の酵母においても 9-メチル塩基含有型セレブロシドが主要分子種であることが明らかにされているが、*Saccharomyces* 属酵母（2 種 13 株）にはこの塩基成分は存在せず、また真菌類の恒常的な膜脂質であると考えられているセレブロシドも検出されなかった。真菌および動植物から分離されたセレブロシド分子種群を添加したリポソームの疎水性部分の流動性を測定した結果、スフィンゴイド塩基部分の 9-メチル基は、8-シス二重結合と同様に、セレブロシドの存在による膜流動性の低下を抑制することが判明した。このように、8-トランス不飽和部にメチル基を導入することは低温環境下における膜の流動性維持に効果的に作用することができるところから、真菌類での 9-メチル塩基は高等植物での 8-シス不飽和塩基と同様の役割をしている可能性が示唆された。

## B-(2)

アスパラガス実生の炭水化物含量と糖質関連酵素活性におよぼすAM菌感染の影響

○ 塩見徳夫<sup>1</sup>, 小野寺秀一<sup>1</sup>, 山森昭<sup>1</sup>, 秋山克<sup>2</sup>, 松原陽一<sup>2</sup>, 鈴木卓<sup>2</sup>, 原田隆<sup>2</sup>

(\*酪農大院・食品科学、<sup>2</sup>北大院・園芸緑地)

【目的】アスパラガス実生はAM菌感染により生育が促進され、還元糖・ショ糖・リンの各含量も増加傾向にあることをすでに報告した。本研究では、アスパラガス実生の各種オリゴ糖含量とこれらの合成に関与するフルクトシルトランスフェラーゼ(1<sup>F</sup>-FT, 6<sup>G</sup>-FT, SST)活性におよぼすAM菌 (*Gigaspora margarita* および *Glomus intraradices*) 感染の影響を調べた。

【方法】アスパラガスに既報の方法に従って上記AM菌を接種し8週間生育させたものを採取し、冷凍保存した。試料は地上部と地下部に分け、細切した。これを70%エタノールで4回、温水で1回加熱抽出した。抽出液を合わせその一部を減圧下で濃縮乾固した後、水で溶解したものを糖抽出液としてHPLCで分析した。一方、粗酵素液を調製するため各試料を0.01Mリン酸緩衝液(pH7.0)中でポリトロンを用いてホモジナイズした後、布で搾り抽出液を得た。この抽出液を遠心分離し、上澄液を0.01Mリン酸緩衝液(pH7.0)で2日間透析を行った後限外濾過により濃縮し、これを粗酵素液とした。1<sup>F</sup>-FT および 6<sup>G</sup>-FT 活性は、粗酵素液 0.05ml、McIlvaine緩衝液(pH5.5)0.05ml、基質として 0.2M 1-ケストースあるいは 0.2M ショ糖を 0.1ml 加え 30°C で 2~18 時間反応させ、基質である 1-ケストースから生成されたニストース量、あるいは 1<sup>F</sup>、6<sup>G</sup>-ジフルクトシルシュクロース量を HPLC で測定して、それぞれ算出した。SST 活性は基質であるショ糖から生成された 1-ケストース量を HPLC により測定して算出した。各酵素活性の 1k at は上記の条件で 1 秒間で 1 モルの転移生成物を生成する酵素量とした。

【結果】地下部において、AM菌接種区は、無接種区と比較して、グルコース量、フルクトース量は 1.5~2.2 倍と高く、二糖類から五糖類までの糖含量も高かった。一方、五糖類から七糖類までの糖含量は接種区で低い傾向が認められ、ポリマーは接種区の方が無接種区の約 1/2 と低かった。全糖量は両区間でほとんど差がなかった。フルクトシルトランスフェラーゼ活性についても、両者間にほとんど差がみられなかった。 $\beta$ -フルクトフラノシダーゼなど、分解活性は接種区の方が高かった。地上部においては、逆にグルコース量、フルクトース量、二糖類から五糖類までの糖含量は接種区より無接種区で高かったが、ポリマーについては差はなかった。各酵素活性とも両者間にほとんど差は認められなかった。

## B-(3)

ラフィノース添加による米飯の食味に関する影響について

○菅野 恒志、佐山 晃司（日本甜菜製糖（株）総合研究所）

【目的】ラフィノースは、腸内細菌の中でもビフィズス菌を増殖させる作用があるオリゴ糖であり、特定保健用食品素材として評価されている。現在、色々な食品への応用が検討されており、市販化されているものもある。我々は、ラフィノースの機能性を残しつつ、無理なく継続的に摂取可能な方法を検討しているが、その一つとして、我々の主食である米飯に添加した場合、食味にどの様な影響があるか調査した。

【方法】平成9年及び10年北海道産きらら397及び、平成10年茨城県産コシヒカリ（いずれも市販品）を用い、HPLCによる炊飯後のラフィノース残存率、食品総合研究所の方法を基礎としたレオメーター三粒法によるテクスチャ試験及び、官能検査を実施した。また、比較対照としてはトレハロースを用いた。

【結果】ラフィノース添加により、米飯の固さ調整及び粘りの改善が見られ、特に古米での差が際だっていた。また、食味に対する影響では、炊きたてよりも冷蔵、冷凍後に再加熱した米飯で強く現れた。官能試験結果では、艶、食感及び味の中で、特に艶が優れている結果となった。炊飯時の加水量について、ラフィノース添加区は、無添加よりも約6%増加させた方が良く、米飯のべたつきが少なく、体積増加が見られた。また、体積増加曲線の変曲点付近が、官能試験での最高点となかった。

オリゴ糖無添加区と比較して、ラフィノース及びトレハロース共に食味の改善が見られたが、ラフィノース添加区の方がより改善された結果となった。

1) H.Toyoshima et al. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi Vol.46, No.3, 123 ~ 130(1999)

2) H.Okadome et al. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi Vol.43, No.9, 1004 ~ 1011(1996)

3) 大坪研一 食品流通技術 Vol.22, No.13, 23 ~ 28(1993)

## B-(4)

野生エゾシカ肉の熟成に伴う硬さの変化

○今野 宗、島田 謙一郎、関川 三男、三上 正幸（帯畜生資料）

【目的】エゾシカ (*Cervus nippon yesoensis*) は本州に生息するニホンジカの亜種で、北海道全域に生息している。近年、個体数が急増したことにより農林業への被害が深刻となり、野生のエゾシカに対して有害鳥獣駆除法が適用された。狩猟により駆除されたエゾシカの頭数も増加し、これから得られる肉は良質な食糧資源として注目されている。しかし、エゾシカは野生であるため、食肉として流通している家畜や家禽のように衛生的な処理が行われず、さらに品質も一定でないことが予測される。そこで、今回は食肉の品質を決定する重要な因子である“硬さ”に着目して、熟成に伴う野生エゾシカ肉の硬さの変化を調べることを目的とした。

【方法】野生のエゾシカは鹿追町の協力のもと、狩猟により得られた。屠殺直後の半腱様筋を切り出し、0.05% (w/v) アジ化ナトリウム水溶液を染み込ませたガーゼに包み、5°Cで熟成を行った。経時的に採取した試料は剪断値とpHを測定された。また、Etlingerの方法により筋原線維を調製してZ線の脆弱化の程度（筋原線維の小片化率）の測定および12.5% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動分析を行った。30 kDa成分の生成量は泳動後デンシトメーターを用いて、アクチンに対する相対面積で表した。

【結果】剪断値は屠殺7~10日目まで低下し、その後一定となった。筋原線維の小片化は屠殺10~14日目で最大に達し、その後一定となった。また、トロボニンTの分解に伴う30 kDa成分の生成は屠殺14日目でほぼ最大となった。すなわち、筋原線維の変化は10~14日で一定となり、硬さの指標となる剪断値は7~10日で一定となることから、野生エゾシカ肉の熟成には5°Cで10日前後の期間が必要であると考えられた。しかし、実際にエゾシカ肉の熟成を行うには、さらに衛生的な検討を加えることが重要である。

## B-(5)

Effect of some neuropeptides and gut hormones on apolipoprotein A-IV gene expression in Caco-2 intestinal cells  
○Pimara Pholnukulkit, Kei Sonoyama, and Takanori Kasai  
(Div. Appl. Bioscience., Grad. Sch. Agr., Hokkaido Univ.)

Apolipoprotein (apo) A-IV is a component of triglyceride-rich lipoproteins mainly synthesized by the enterocytes in the small intestine and responsible for various functions from food intake to lipoprotein metabolism. Our previous studies<sup>1)</sup> demonstrated that intravenous infusion of ganglionic blocker (hexamethonium) and cholinergic blocker (atropine) but not of adrenergic blocker (propranolol) suppressed the apo A-IV mRNA levels in the ileum of rats, suggesting that apo A-IV gene regulation in the intestine is associated with the autonomic nervous system including cholinergic neurons. In addition, we reported that gut hormone PYY stimulated the apo A-IV gene expression in the intestinal epithelial cell line Caco-2.<sup>2)</sup> To obtain further informations on the neuroendocrine regulation of intestinal apo A-IV gene, in the present study, neuropeptides and gut hormones were examined for its effect on the apo A-IV gene expression in Caco-2 cells. Caco-2 cells were maintained with standard medium containing DMEM/20% FCS at 37°C in 5% CO<sub>2</sub>/95% air. Subconfluent cells were plated onto filter insert in six-well plate and cultured with the standard medium. Fourteen days-post confluent Caco-2 cells were incubated with the standard medium supplemented with different concentrations (10<sup>-10</sup> – 10<sup>-5</sup> M) of each neuropeptide and hormone for 6 h. Cells were then harvested, and RNA was analyzed by semiquantitative RT-PCR followed by dot blot hybridization. Apo A-IV mRNA levels were increased by VIP, bombesin, and substance P, and were decreased by somatostatin 28, glucagon, GRP, and NPY. In contrast, apo A-I mRNA levels were generally unchanged. The results suggest that some neuropeptides and gut hormones differently regulate the expression of apo A-IV gene in intestinal epithelial cells. We are now investigating the effect of other neuropeptides.

1) Sonoyama et al. (2000) *J. Nutr.* **130**: 637-641. 2) Sonoyama et al. (2000) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **223**: 270-275.

## B-(6)

*Bifidobacterium bifidum* のウシラクトフェリン結合タンパク質に関する研究

○金 完燮、森田浩史、田仲哲也、玖村朗人、島崎敬一  
(北海道大学・農・酪農科学)

[目的] 鉄結合性糖タンパク質であるラクトフェリンは、もっぱら病原性微生物の成長を抑制し、腸管内における有用菌である *bifidobacteria* に対してはその成長を促進させることが知られている。しかし、*bifidobacteria* に対するラクトフェリンの成長促進メカニズムについては現在でも不明な点が多い。本研究では *bifidobacteria* に対してラクトフェリンが特異的に結合するかどうかを検討した。

[実験方法] *B. bifidum* を常法により培養し、収集した菌体を超音波処理および凍結-融解法を併用して膜画分を調製した。分離された膜画分は SDS-PAGE 後の PVDF 膜への転写、次いでビオチン化ラクトフェリン、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビシン、および ECL ウエスタンプロッティング検出試薬を用いて検討した。

[結果] まず、超音波処理時間による効果的な細胞膜の分画条件を調べたところ、6 分以上の超音波処理が必要であった。次いで膜画分を SDS-PAGE で分離し PVDF 膜へ転写した後、ビオチン化ウシラクトフェリンを用いてラクトフェリン結合タンパク質を検出した。その結果、分子量 69kDa の位置に強いバンドが観察された。この結果は *B.bifidum* にラクトフェリン結合タンパク質（レセプター）が存在していることを示唆している。

## B-(7)

嫌気性ジャーファーメンターを用いた腸内細菌の培養条件とモニタリングの検討

(北海道科学・産業技術振興財団、\*北大院・農・応用菌学、\*\*北大院・農・微生物資源生態)

○上條万二郎、Peter Kurdi\*、Akarat Suksomcheep\*、浅野行蔵\*、横田篤\*\*、富田房男\*

【目的】我々は人体の消化吸収における大腸での腸内細菌の影響解明を目指し、腸内フローラを占める代表的な菌株を嫌気性ジャーファーメンターを用いて培養する研究を行っている。今回は通気ガスの種類やpHコントロールの有無による単菌あるいは混合培養での細菌の生育や生成有機酸の変化を検討した。また、混合培養における迅速簡便な菌叢モニタリング技術として、16S rDNA由来のプローブを作製してその実用性を検討した。

【方法及び結果】MRS培地5mlにて *Lactobacillus*、*Bifidobacterium*、*Bacteroides*、*Clostridium* 属等各菌株を前培養し、ジャー内の同培地500mlに接種して N<sub>2</sub> や CO<sub>2</sub> あるいは N<sub>2</sub> : CO<sub>2</sub> : H<sub>2</sub> = 8 : 1 : 1 の混合ガスを通気して嫌気状態とし、場合によっては pH を常時 6.5 にコントロールした。単菌培養の結果、N<sub>2</sub>ガス下ではいずれの菌株も増殖が悪かったが、CO<sub>2</sub> や混合ガス下では著しく増殖したため、腸内細菌の増殖において CO<sub>2</sub> の存在が重要な因子であることが分かった。また、pH コントロールによりいずれの属種も生育が大幅に増大したが、*Bacteroides* 属菌株の場合は特に生育量が非制御時の 10 倍以上の値を示した。更に培養液中のグルコース濃度の変化を追跡すると、非制御下ではいずれの菌株も添加したグルコースを消費し切っておらず、pH 低下による増殖阻害が非常に大きいものと考えられた。HPLC により培養液中の各有機酸濃度を測定したところ、*Lactobacillus* 属菌株では乳酸、*Bifidobacterium* 属菌株では酢酸、そして *Clostridium* 属菌株では酪酸及び酢酸が特に高濃度で検出された。現在は様々な組み合わせでの混合培養における有機酸生成の変化を調べ、*Lactobacillus* 属あるいは *Bifidobacterium* 属のプロビオティックスとしての作用を検討している。16S rDNA プローブの作製では、*Bifidobacterium* 属や *Bacteroides* 属等より抽出した rDNA から 12 種のプローブを得て、コロニーハイブリダイゼーションにより属レベルでの特異的なハイブリダイズを確認した。この技法を混合培養に応用すれば、オリゴ糖の添加などにより菌叢中の属種がどのように変化するか識別できるようになると期待できる。

## B-(8)

黄色ブドウ球菌検査培地の改良（第2報）

\* 北海道立食品加工研究センター \*\*現・北海道大学 農

○吉川修司\*、浅野行蔵\*\*、田村吉史\*

### 【目的】

黄色ブドウ球菌は食品の微生物検査で高頻度で実施される項目である。現在、我が国では黄色ブドウ球菌の分離・検出培地として卵黄加マンニット食塩寒天が広く用いられている。

同培地では黄色ブドウ球菌の重要な鑑別点である黄色色素の生成および卵黄反応が必ずしも明瞭に現れない場合が多い。そのため標準菌株を持たない食品企業の検査室のスタッフでは黄色ブドウ球菌の判定が困難なことが多い。そこで前報<sup>1)</sup>では、卵黄加マンニット寒天に亜テルル酸カリウムを加えて黄色ブドウ球菌の判定を容易にした培地について報告し、亜テルル酸カリウムの至適濃度が 10~35mg/l であることを明らかにした。さらに黄色ブドウ球菌 2 株、他のブドウ球菌 2 種、*Micrococcus ruteus* と *Enterococcus faecalis*、*Escherichia coli* 各 1 株を用いた試験で選択性が従来の培地より良好であることを確認した。

本報では前報で用いたのとは異なる黄色ブドウ球菌株および他のブドウ球菌株、ならびに食品の微生物検査時に卵黄反応など黄色ブドウ球菌と類似した反応を示すとされる *Bacillus subtilis*、*B. cereus* について、さらに選択性を確認した。

### 【方法と結果】

卵黄加マンニット食塩寒天に亜テルル酸カリウムを終濃度 30 μg/ml 添加し、ブドウ球菌（非ブドウ球菌）11 株、*Bacillus subtilis*、*B. cereus* を接種した。37°C で 24 時間培養後に、酸生成によるコロニー周囲の培地変色、卵黄反応の有無などを比較した。その結果、黄色ブドウ球菌と他菌種との鑑別が容易かつ明瞭に行うことができた。

### 文献

- 1) 日本食品科学工学会大会講演要旨集 p 222 (1998)

## B-(9) 酵母 *Zygosaccharomyces mrankii* IF0 1835 のメリビオース発酵性遺伝子の解析

(農水省北海道農試) 小田有二

【目的】*Zygosaccharomyces mrankii* と *Torulaspora delbrueckii* は、rRNA スペーサー領域の配列から系統分類学的に近縁と考えられている。演者は、これまでに *T. delbrueckii* で唯一メリビオースを発酵する IF0 1255 の  $\alpha$ -ガラクトシダーゼの物理化学的性質、<sup>1)</sup> およびこれコードする *MELt* 遺伝子<sup>2)</sup>について調べた。本研究では、*Z. mrankii* IF0 1835<sup>T</sup> のゲノム DNA から  $\alpha$ -ガラクトシダーゼをコードする *MELr* 遺伝子を分離し、その塩基配列を決定した。

【方法および結果】*T. delbrueckii* の *MELt* 遺伝子の塩基配列をもとにオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして PCR 反応を行うと 770bp の断片が得られた。Inverse-PCR によって 770bp の断片を含む領域を増幅し、その塩基配列を決定したところ、1410bp の単一の ORF があった。本遺伝子によってコードされるアミノ酸残基数は 470、推定分子量は 51,909 であった。5' - 上流領域には TATAAA 配列 (-83 ~ -77)、ガラクトース代謝に関する GAL4 タンパク質の認識配列 5'-AGGACTACTGTAGTCCG-3' (-198 ~ -182) およびカタボライト抑制に関する MIG1 タンパク質の認識配列 5'-GAGTGTGGG-3' (-317 ~ -308) が認められた。推定されたアミノ酸配列には 18 残基からなるシグナル配列があり、糖鎖の付加される部位 (N-X-S/T) は 8 個所あった。*Zygosaccharomyces cidri*、*T. delbrueckii* および *Saccharomyces* 属の  $\alpha$ -ガラクトシダーゼに対する相同意性は、それぞれ 63.3%、71.5% および 70.7~73.9% であった。

<sup>1)</sup>Y. Oda and K. Tonomura, *J. Appl. Bacteriol.*, 13, 1243~1250 (1997)

<sup>2)</sup>Y. Oda and M. Fukunaga, *Yeast*, 15, 1797~1801 (1999)

## B-(10) 半ゲル状 *Azotobacter* 培地を用いた非共生窒素固定根面着生細菌の定性的分類の試み

○多田 元比古<sup>1)</sup>、橋床 泰之<sup>1)</sup>、大崎 满<sup>1)</sup>、田原 哲士<sup>1)</sup> (1;北大院農)

背景) インドネシア、中央カリマンタンの低湿地帯は表層の泥炭とその下層に多量に黄鉄鉱(バイライト)を含む粘土層からなるため、大規模な土地開発による泥炭の消失とその後の運河の掘削により土壤環境が嫌気的状態から好気的状態に変化すると、バイライトに含まれる硫黄が急激に硫酸イオンにまで酸化され、土地の硫酸酸性化が起こる。その pH 域は 2.0 にまで及び、加えて多雨の影響で無機塩類の溶脱が起こるため、著しく貧栄養、かつ強酸性の土地が広く分布することになる。このような土地に自生できる植物(硫酸酸性耐性植物)は、自身の耐酸性機構例えばアルミニウム耐性などに加え、根圈微生物との協力作用によって根圈土壤環境を改善することで生育が可能になっているのではないかと考えられる。そこでこの視点に立ち、現地に生育している幾つかの硫酸酸性耐性植物の根面から微生物を探取し、それらの機能を広くスクリーニングしようと考えた。

方法および結果) まず根面微生物の窒素固定能に着目して 0.3% Gellan Gum<sup>®</sup> で半ゲル状にした *Azotobacter* 用培地(窒素源を含まない)にそれぞれの根洗浄液を接種した。その結果、微生物に含まれる nitrogenase の酸素耐性的度合いにより、それぞれの菌種が培地表面から一定の深さに階層を形成するのが観察された。またその階層を構成するコロニーの形状也非常に狭い範囲で薄い層を形成するものから、ある程度の幅を持って生育するもの、大きく分散するもの、ある程度の大きさの円盤状コロニーを形成するものなど、特徴的なパターンが現れ、これらはそれぞれ微生物の運動性の有無や、呼吸と窒素固定の分業を反映していると思われた。以上のことからこの方法は、採取した複数の非共生窒素固定根圈細菌を定性的に分類をする上で簡便かつ有効であることがわかった。この方法で、現地の硫酸酸性土壤で見られる *Melastoma malabathricum*(ノボタン科の低木)の根面洗浄液を接種したところ、2 層のコロニーを形成した。これはこの植物の根面に酸素に対する耐性の異なる nitrogenase をもつ非共生窒素固定細菌が存在し、これらが植物の日周期により変動する根圈の酸素分圧に影響されず効率よく窒素を固定できることを示唆しているであろう。さらに培地の pH 変化をみると、他の根圈微生物がグルコースの分解に伴って pH を低下させているのに対して、*Melastoma* 由来の窒素固定細菌はその増殖の途上で pH の低下を伴わないという傾向を示した。この細菌による酸性状態の緩和作用が根圈でも認められれば、これらは植物体がリン酸やカリを取り込むのに有利にはたらくと考えられる。現在、これらの微生物の分離、同定を行うとともに、nifH プライマーによる PCR 産物の塩基配列の相同性による窒素固定遺伝子群の分類を検討している。

## B-(11) ヒドロキシリシンによる根粒菌の poly- $\beta$ -hydroxybutyrate 含量の増加 (帯畜大・生資料) ○齊藤伸幸、増田宏志、得字圭彦、大和田琢二

【目的】マメ科植物細胞内に存在し、浸出されるヒドロキシリシン (Hyl) には、*Rhizobium* 属の free-living (单生菌) とバクテロイドの増殖を抑制すると共に、free-living の形態をバクテロイド様に肥大させる作用があることから、Hyl が free-living からバクテロイドへの分化に関与している可能性が示唆されている。今回、Hyl 存在下で根粒菌の貯蔵物質である poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (PHB) 含量の増加が見られたため、そのメカニズムを検討するとともにバクテロイドへの分化との関連について調べた。

【方法】宿主にインゲン (*Phaseolus vulgaris* (L.))、根粒菌には *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* USDA 2676 を用いた。根粒菌の培養には最少培地を用い、必要に応じて Hyl を添加した。また、Norris & Date 氏液を入れたシードパックを用いて本菌を接種した宿主植物を 20~60 日間人工栽培室で生育させ、着生した根粒を回収した。バクテロイドは根粒を破碎後、ペーコールによる密度勾配遠心法により単離した。PHB の合成、分解系に関わる酵素系の活性は無細胞抽出液を用いて測定した。PHB 含量は PHB 標品をスタンダードにした高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した。

【結果】根粒菌を Hyl (1 mM) を含んだ最少培地で振とう培養した結果、培養後 14 日目で細胞内 PHB 含量がコントロールの約 2.5 倍量にまで増加した。PHB の合成と分解に関わる酵素系の活性を調べた結果、合成系の一つである 3-ケトチオラーゼ活性が PHB 合成に先立って 8 日目から顕著に高まったことから、細胞内 PHB 含量の増加に 3-ケトチオラーゼが関与している可能性が示唆された。また、バクテロイドの PHB 含量が根粒の成熟とともに増加していたことから、Hyl による PHB 含量の増加がバクテロイドへの分化の過程に関与している可能性が示唆された。

## B-(12) 古代北海道・オホーツク文化圏へ持ち込まれたイノシシ属— Ancient DNA 解析による復元 (<sup>1</sup>岩手連大院、<sup>2</sup>帯広畜大・獣医、<sup>3</sup>帯広畜大・生資料) ○渡部琢磨<sup>1</sup>、石黒直隆<sup>2</sup>、中野益男<sup>3</sup>

1. 目的 5~10世紀、オホーツク海沿岸に栄えたオホーツク文化は、ほぼ同時期に北海道内に存在した続縄文・擦文化とは明らかに異なる古代文化であった。オホーツク文化が広がっていた地域には野生のイノシシ集団が存在しないにも関わらず、この文化圏の遺跡からは多くのイノシシ属骨 (サハリンブタ) が出土する。これらは他の地域から持ち込まれたものと考えられるが、その来歴は未だに明らかになっていない。そこで本研究では、Ancient DNA 解析技術を用いて古代サハリンブタの遺伝的背景を明らかにすることを目的とした。

2. 方法 遺跡出土イノシシ属骨 45 点 (北海道礼文島・香深井 A 遺跡 : 42、サハリン・南貝塚 : 2、ロシア・ビシャーニ工遺跡 : 1) を試料とした。遺跡出土骨から Ancient DNA を回収し、PCR 法を用いてミトコンドリア DNA コントロール領域の塩基配列 (574-bp) を決定した。以前に報告した 94 個体<sup>1)</sup>に加え、新たに 197 個体の現生イノシシ属の配列情報を検索して、古代配列とともに系統解析に用いた。

3. 結果 9 種類の古代ハプロタイプ (A1、A2、A3、B1、B2、C1、C2、D1、D2) が検出された。節約的ネットワーク解析により、それらは大きく 4 グループ (A、B、C、D) に分類された。現生イノシシ属との系統解析により、グループ A と B は日本イノシシ (西日本グループ) とモンゴル北東部イノシシのクラスターと近縁な独自のクラスターを形成した。一方、グループ C と D は上記の日本イノシシ・モンゴル北東部イノシシのクラスターに含まれ、これらと非常に近縁であることが示された。香深井 A 遺跡の 7 つの堆積層のうち、イノシシ属骨は上部 5 層から出土している。上記 4 グループに属するハプロタイプの各出土層 (I~IV) での分布により、各グループのイノシシ属個体は、間隔を置いて異なる時期にこの遺跡に導入されたことが示された。導入はグループ A (5 世紀) が最も古く、次いでグループ B と D (7 世紀・前)、そしてグループ C (7 世紀・後) が最も新しかった。さらに、これら各グループは連続的に複数の堆積層にわたって分布していたことから、本遺跡においてはイノシシ属個体が長期にわたり飼育されていたか、導入が幾度となく連続的に行われたということが示唆された。また、サハリン・南貝塚 (5 世紀) 出土の骨 2 点からはいずれもハプロタイプ A1 が、ロシアアムール川流域・ビシャーニ工遺跡 (10 世紀) 出土の 1 点からはハプロタイプ C1 が検出された。これらの結果から、香深井 A 遺跡のハプロタイプ A1 を有する個体は、同じオホーツク文化圏のサハリンからおよそ 5 世紀に導入され、最も新しいハプロタイプ C1 はユーラシア大陸北東部から導入された可能性が高いことが示された。

1) Watanobe et al. (1999) Molecular Ecology 8 : 1509–1512

# 北海道農芸化学協会特別会員御芳名

(ABC順)

アサヒビール株式会社北海道工場  
旭油脂株式会社  
ベル食品株式会社  
恵庭リサーチビジネスパーク株式会社  
福山醸造株式会社  
富良野市ぶどう果樹研究所  
合同酒精株式会社  
北海道日産化学株式会社  
北海道立十勝圏地域食品加工技術センター  
北海道糖業株式会社  
北海道和光純薬株式会社  
北海三共株式会社  
北海製罐株式会社食品研究所  
池田町ブドウ・ブドウ酒研究所  
岩田醸造株式会社  
株式会社北開水工コンサルタント  
株式会社和科盛商会  
株式会社ズコーシヤ

関東化学販売株式会社  
麒麟麦酒株式会社千歳工場  
小柳商事株式会社  
日本化学飼料株式会社  
日本清酒株式会社  
日本新薬株式会社千歳クリエートパーク  
日本甜菜製糖株式会社  
ニッカウヰスキー株式会社北海道工場  
サッポロビール株式会社北海道工場  
サッポロビール株式会社札幌工場  
札幌酒精工業株式会社  
宝酒造株式会社札幌工場  
高砂香料工業株式会社札幌出張所  
十勝農業協同組合連合会農産化学研究所  
よつ葉乳業株式会社リサーチセンター  
雪印乳業株式会社札幌研究所  
雪印食品株式会社  
有限会社北海道バイオ技術研究所