

平成19年度 第二回合同学術講演会

# 講演要旨

日時：平成19年11月10日（土）、11日（日）

会場：東京農業大学生物産業学部（網走市）

日本農芸化学会北海道支部

日本栄養・食糧学会北海道支部

日本土壌肥料学会北海道支部

日本生物工学会北日本支部

日本応用糖質科学会北海道支部

北海道農芸化学協会

連絡先：東京農業大学生物産業学部、永井 毅 (0152-48-3850)

北海道大学大学院農学研究院、玖村朗人 (011-706-3642)

北海道大学大学院農学研究院、石塚 敏 (011-706-2811)

# 平成19年度 第二回合同学術講演会日程

(於 東京農業大学オホーツクキャンパス)

## 【11月10日(土)】

9:30~11:50 サブセッション『酪農王国 北海道の牛乳の科学』(2号館204教室)

11:30~12:00 日本栄養食糧学会北海道支部総会(2号館202教室)

13:00~17:00 シンポジウム「これからの生物産業を考える」(大講義室)

18:00~20:00 懇親会(網走セントラルホテル)

## 【11月11日(日)】

9:30~12:06 一般講演(2号館202~204教室)

13:00~15:00 特別講演(大講義室)

## 札幌から網走方面へのアクセス JR利用の場合

### 札幌発 網走方面特急列車時刻表

	オホーツク 1号	オホーツク 3号	オホーツク 5号	オホーツク 7号
札幌発	07:21	09:41	15:08	17:30
網走着	12:46	15:09	20:37	22:58

### 網走発 札幌方面特急列車時刻表

	オホーツク 6号	オホーツク 8号
網走着	13:29	17:18
札幌発	18:45	22:36

指定席往復割引きっぷ（Rきっぷ）使用の場合

「行き」「帰り」に特急普通指定席を利用出来る往復割引切符。

料金は15960円（割引しない値段は19280円）

得割引切符使用の場合

「行き」はオホーツク 1、7号、「帰り」はオホーツク 2、8号にのみ乗車可能な普通指定席を利用出来る往復割引切符。料金は12500円。

## 高速バス（北海道中央バス）利用の場合

### 札幌発 網走方面時刻表

中央バス札幌ターミナル発	08:00	09:30	11:30	13:30	14:30	15:30	16:30	17:30
JR網走駅前着	13:46	15:16	17:46	19:16	20:16	21:16	22:16	23:16
網走バスターミナル着	13:50	15:20	17:50	19:20	20:20	21:20	22:20	23:20

### 網走発 札幌方面時刻表

網走バスターミナル発	07:00	08:00	09:00	10:00	12:00	14:00	16:30	18:00
札幌駅前ターミナル着	12:55	13:55	14:55	15:55	18:55	19:55	22:25	23:55

網走行きは中央バス札幌ターミナル(大通り)発です。またJR網走駅でも降車することができます。  
 網走発は網走バスターミナルのみの乗車で(JR網走駅を経由しません)札幌駅前に到着します。  
 バス乗車の際は要予約(011-231-0500)で片道6210円、往復11710円、四枚綴りで22080円です。  
 乗車時に学生証を提示すれば学生割引が適用されます。その場合、片道5600円、往復10500円です。

## 網走駅周辺から東京農業大学へのアクセス 路線バス(網走バス)利用の場合

(斜字は土曜日運行、日曜日運休)

### 網走市街発 東農大方面時刻表

JR網走駅前3番乗場発	07:40	08:20	08:50	09:55	11:55	13:55	15:30
網走バスターミナル発	07:46	08:26	08:56	10:01	12:02	14:02	15:37
東京農業大学着	08:10	08:50	09:20	10:25	12:26	14:26	16:01

### 東農大発 網走市街方面時刻表

東京農業大学発	10:45	12:35	14:45	16:25	16:40
網走バスターミナル着	11:07	12:57	15:07	16:47	17:02
JR網走駅前着	11:16	13:06	15:16	16:56	17:11

## 臨時バスの運行について

11月11日(日)15時30分に東京農業大学のバス停より網走バスターミナル経由JR網走駅行の臨時バス(有料)が出ます。

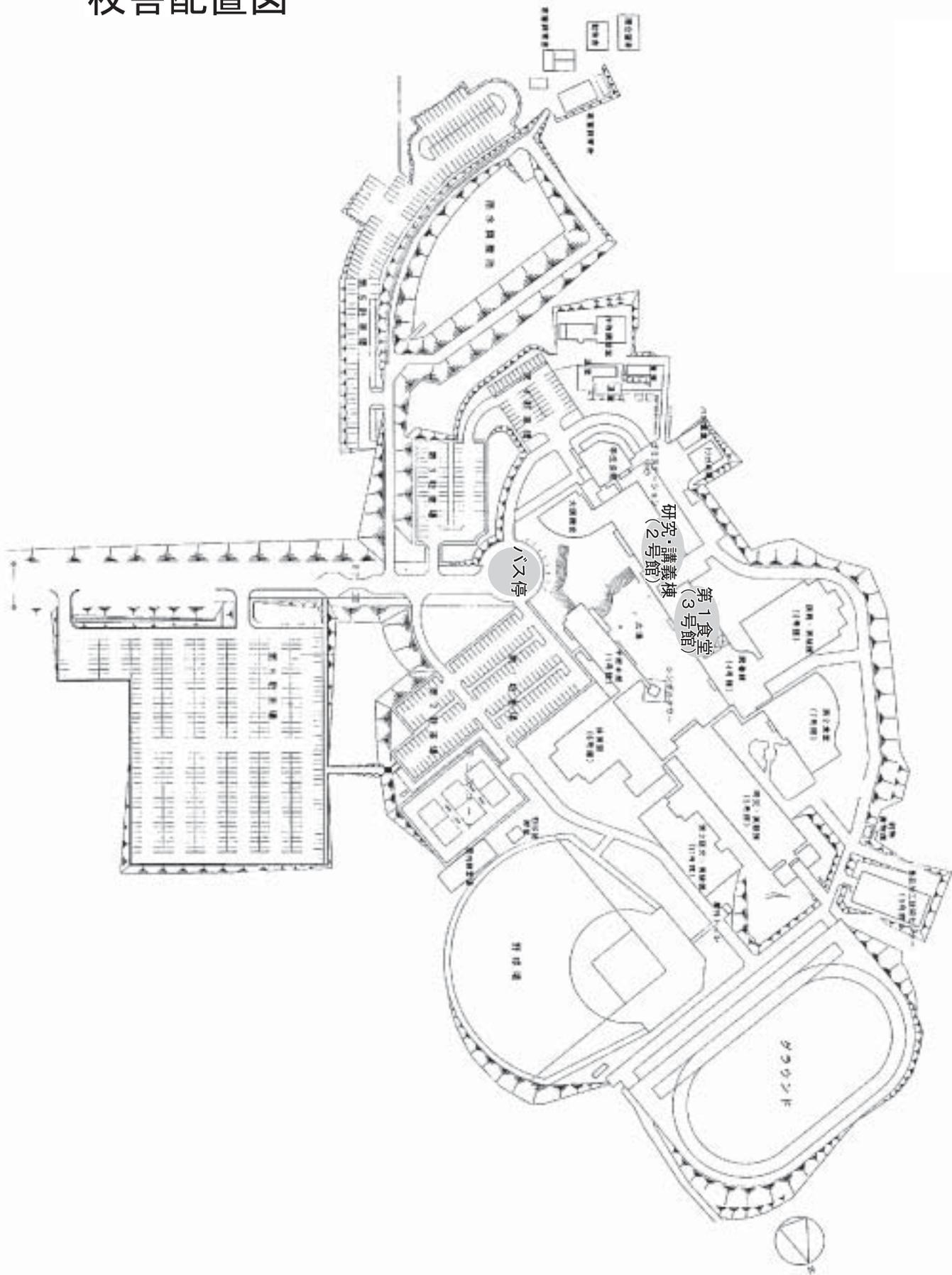
## タクシー利用の場合

網走市街から東京農業大学まで20分程度、料金は3000円前後です。

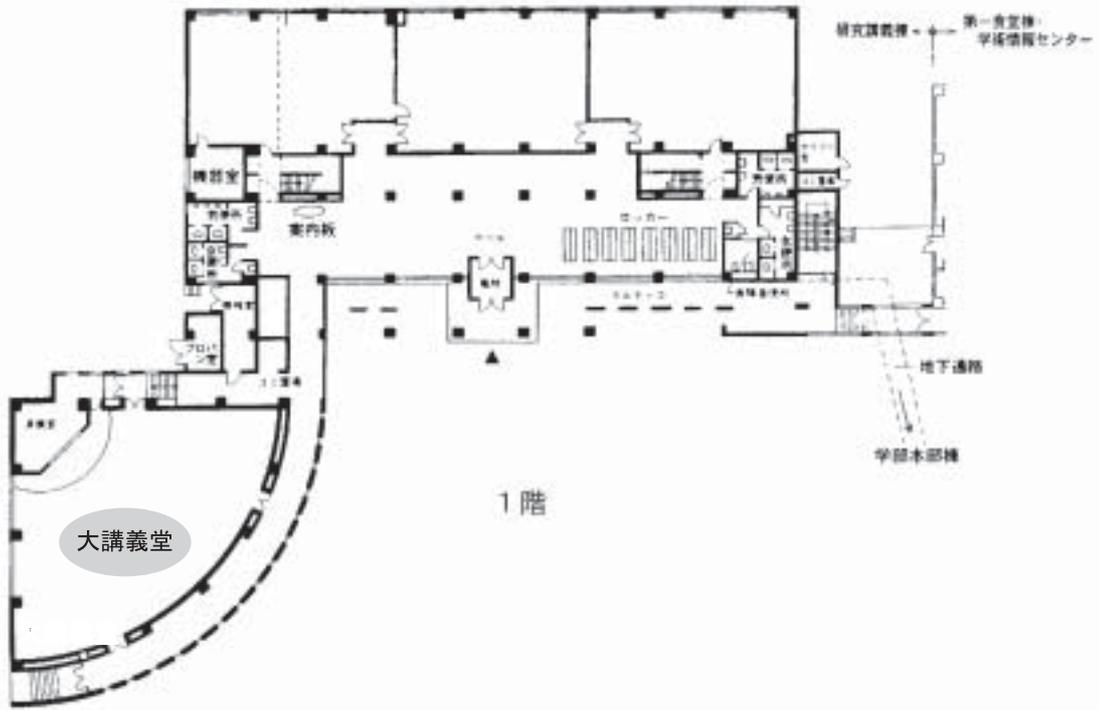
## 学会期間中の昼食について

学生食堂(第1食堂)が10時から16時まで営業致しますのでご利用下さい。

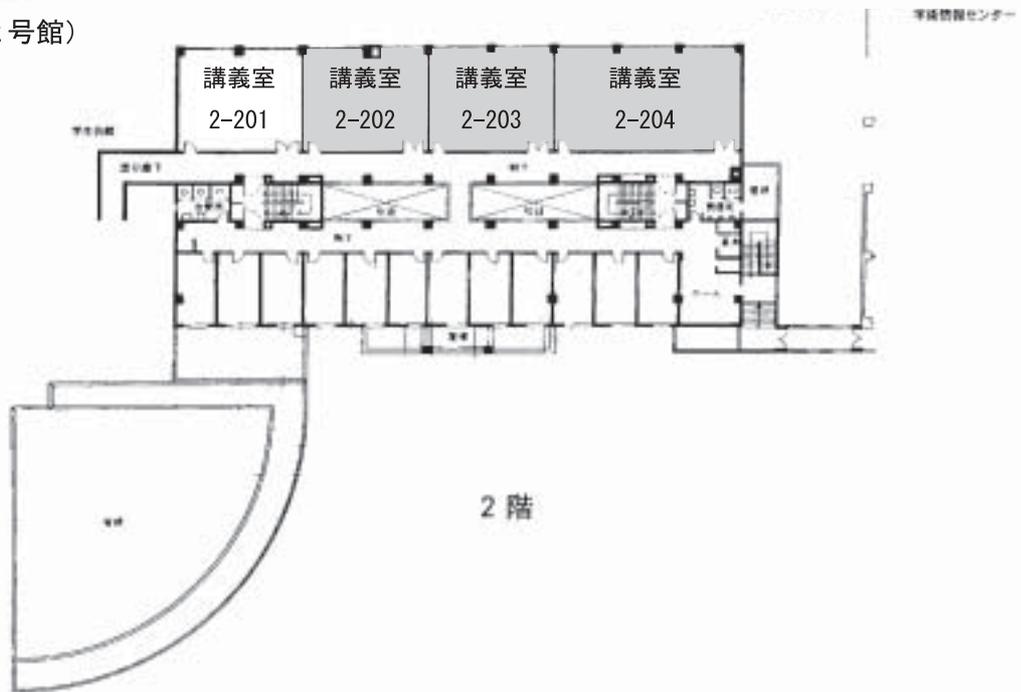
# 校舎配置図



研究講義棟（2号館）



研究講義棟（2号館）



研究講義棟（2号館）



日本農芸化学会北海道支部・網走大会・サブセッション  
『酪農王国 北海道の牛乳の科学』

日 時 11月10日(土) 9:30~11:50

場 所 東京農業大学オホーツクキャンパス(2号館204教室)

## プログラム

- 9:30~9:50 牛乳の科学を理解するための基礎  
島崎敬一(北海道大学・酪農食品科学研究室)
- 9:50~10:35 栄養学からみた牛乳・乳製品  
石井智美(酪農学園大学・臨床栄養管理学研究室)
- 10:35~10:45 休憩
- 10:45~11:30 牧場から食卓まで:牛乳・乳製品製造の実際とその科学  
元島英雅(よつ葉乳業(株)・中央研究所)
- 11:30~11:50 質疑応答
- 11:50 閉会

主 催:日本農芸化学会北海道支部(<http://www.agr.hokudai.ac.jp/jsbba/>)

共 催:日本酪農科学会、日本栄養食糧学会北海道支部、北海道農芸化学協会

世 話 人:島崎敬一(北海道大学)、元島英雅(よつ葉乳業(株))、岡本清孝(雪印乳業(株))

連 絡 先 tel:011-706-3642/2540 fax:011-706-4135 simazaki@anim.agr.hokudai.ac.jp

北海道の主要生産物の一つである牛乳・乳製品の価値を、消費する側からも生産する側からも正しく評価するための拠りどころとなるように、このセッションを設けました。対象としては特に食品や食事を扱う仕事に就いている方々を想定しております。牛乳を理解するためのヒントや牛乳の栄養的にすぐれた面を生かした利用法、さらに安心・安全な乳製品を消費者に送り届けるための現在のシステムなどについて、コンパクトにまとめて皆さまにお伝えできるように企画しましたのでぜひともご来聴ください。

## 《演者プロフィール》

しまざき けいいち

帯広畜産大学助教授を経て、現在は北海道大学大学院農学研究  
院・教授。専門はラクトフェリ  
ンなどミルクタンパク質の機能  
性の解明。農学博士。

いしい さとみ

酪農学園大学酪農学部食品科学  
科・准教授。専門は微生物学・栄  
養学・文化人類学。遊牧民宅で  
住み込み調査を行うほか、民族  
飲料「馬乳酒」の持つ機能性を  
研究。著書多数。文学修士・農  
学博士。

もとしま ひでまさ

よつ葉乳業(株)中央研究所・研  
究部長。現場にもアカデミック  
にも強く、数多くの新製品開発  
に寄与。専門は酪農微生物関係。  
農学博士。

・日本栄養食糧学会北海道支部総会（11：30～12：00）（2号館202室）

・シンポジウム「これからの生物産業を考える」（大講義室）  
オーガナイザー 荒川義人（天使大学）

開会の辞 永島俊夫（東京農業大学）（13：00～13：10）

S-1.オホーツク地域におけるわさびの栽培とおいしい製品作り  
大野吉孝（金印わさびオホーツク）（13：10～13：50）

S-2.オホーツク圏の植物資源を活用した商品開発  
山岸 喬（北見工大国際交流センター）（13：50～14：30）

S-3.生物産業の未来といわゆる“食育”のかかわり  
荒川義人（天使大学）（14：30～15：10）

休 憩（15：10～15：20）

S-4.エゾシカの有効活用に関する研究

1.エゾシカの素ジカ供給、増体成績および肉成分  
増子孝義<sup>1</sup>、相馬幸作<sup>1</sup>、関川三男<sup>2</sup>、岡本匡代<sup>3</sup>  
（<sup>1</sup>東京農業大学、<sup>2</sup>帯広畜産大学、<sup>3</sup>釧路短期大学）

2.エゾシカ肉の加工特性と商品開発  
拔山嘉友（北海道立オホーツク圏地域食品加工技術センター）（15：20～16：05）

S-5.日本でエミューは新規畜産業になりえるか  
（東京農大バイオインダストリーの取り組みを例として）  
渡部俊弘（東京農業大学）（16：05～16：45）

総合討論（16：45～17：00）

閉会（17：00）

・懇親会：（18：00～20：00）

場 所：網走セントラルホテル（JR網走駅より徒歩15分、Tel: 0152-44-5151）

参加費：一般 4000円、学生 2000円

懇親会場へは17時20分に東京農業大学のバス停より送迎バスが出ます。

【11月11日(日)】於 東京農業大学オホーツクキャンパス (2号館)

・一般講演 (9:30~12:06)

講演様式:Power Point (OHP対応可)、パワーポイントファイルはWindows XPをOSとした、Power Point version 2003で作動することを確認しておいて下さい。初日11月10日(土)の午後に受付にて各自持参したファイルを支部が用意するノートパソコンにコピーして下さい。ここで、最終的な作動確認を行うことができます。

講演時間: 討論時間2~3分を含めてトータル12分間

## 一般講演プログラム

A会場 (2号館202教室)

(座長:石塚 敏)

9:30 (A-1) ボツリヌスD型毒素複合体の血管内皮細胞への結合機序  
丹羽光一<sup>1</sup>、米山徹<sup>1</sup>、宮田恵多<sup>1</sup>、平 磨耶<sup>1</sup>、三上晃史<sup>1</sup>、近井智行<sup>1</sup>、池田敏彦<sup>2</sup>、  
渡部俊弘<sup>1</sup>、大山 徹<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東京農大、<sup>2</sup>第一三共株式会社)

9:42 (A-2) 発酵性乳製品由来の酵母菌体成分による抗アレルギー作用の検討  
滝井慎也、岩瀬初音、島崎敬一、玖村朗人(北大院農)

9:54 (A-3) 牛ラクトフェリンのC-ローブの精製及び細菌に対する特性  
金 完燮<sup>1,2</sup>、シーマ カフレ<sup>1</sup>、横山智美<sup>1</sup>、玖村朗人<sup>1</sup>、島崎敬一<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農、<sup>2</sup>北大院水COE)

10:06 (A-4) ウシラクトフェリンのウグイの腸内細菌に対する影響  
柳澤壮太<sup>1</sup>、金 完燮<sup>2</sup>、玖村朗人<sup>1</sup>、島崎敬一<sup>1</sup>、笠井久会<sup>3</sup>、吉水 守<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農、<sup>2</sup>水産COE、<sup>3</sup>北大院水産)

(座長:玖村 朗人)

10:18 (A-5) *Bifidobacterium* のバクテリオシン様物質の検索  
柴田美和子、小野寺秀一、菊地政則、塩見徳夫(酪農大院、食品栄養科学)

10:30 (A-6) *Kluyveromyces marxianus*によるテンサイ糖蜜およびチーズホエーからエタノールの生産  
仲村憲治、小田有二(帯畜大・畜産科学)

10:42 (A-7) 自然界から分離した高発酵性酵母のエタノール生産性およびパン生地発酵力  
荒 美咲<sup>1</sup>、田嶋可奈子<sup>1</sup>、三雲 大<sup>1</sup>、田村雅彦<sup>2</sup>、山内宏昭<sup>3</sup>、小田有二<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>帯畜大・畜産科学、<sup>2</sup>日本甜菜製糖、<sup>3</sup>北海道農研)

10:54 (A-8) コンブ仮根(ガニアシ)の育毛、発毛効果  
西澤 信<sup>1</sup>、山岸 喬<sup>2</sup>、杉本達芳<sup>3</sup>、木内俊一郎<sup>4</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物、<sup>2</sup>北見工大、<sup>3</sup>ガニアシ研究会、<sup>4</sup>北野病院)

(座長：丹羽 光一)

- 11 : 06 (A-9) ラット腸管においてトウモロコシZein加水分解物は、内分泌細胞への直接的、間接的作用により消化管ホルモンGlucagon-like peptide-1分泌を刺激する  
持田泰佑<sup>1</sup>、比良 徹<sup>2</sup>、原 博<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北大・農、<sup>2</sup>北大院農)
- 11 : 18 (A-10) ラット大腸粘膜固有層からの免疫系細胞分離法の検討と機能解析  
岡 浩輔、李載星、原 博、石塚 敏(北大院農)
- 11 : 30 (A-11) ヒドロキシ桂皮酸およびヒドロキシ安息香酸誘導体がヒト骨髄性白血病由来株U937の増殖に及ぼす効果  
村井陽徳、木村卓郎、佐藤 敦(道東海大工)
- 11 : 42 (A-12) 網走産マタタビ[*Actinidia polygama* (Sieb et Zucc. P)anch.ex Maxim. の機能性について  
永井 毅、老沼万里子、永島俊夫(東京農大食品科学)

B会場 (2号館203教室)

(座長：柚木 恵太)

- 9 : 30 (B-1) メチロトローフ酵母*Pichia methanolica* CTA1のクローニングおよび発現応答解析  
木下博貴<sup>1</sup>、吉田恭子<sup>1</sup>、松藤淑美<sup>1</sup>、藤村朱喜<sup>1</sup>、宮地竜郎<sup>1</sup>、冨塚 登<sup>1</sup>、中川智行<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物産業・食品科学、<sup>2</sup>岐阜大・応用生物)
- 9 : 42 (B-2) メチロトローフ酵母*Pichia methanolica* PEX5欠損株によるペルオキシソーム輸送の解析  
小澤正太郎<sup>1</sup>、伊藤尚志<sup>2</sup>、松藤淑美<sup>1</sup>、藤村朱喜<sup>1</sup>、宮地竜郎<sup>1</sup>、冨塚 登<sup>1</sup>、中川智行<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物産業・食科、<sup>2</sup>筑波大院・生命環境、<sup>3</sup>岐阜大・応用生物)
- 9 : 54 (B-3) 出芽酵母のアセトアルデヒド応答とオレイン酸合成の制御  
松藤淑美<sup>1</sup>、藤村朱喜<sup>1</sup>、谷 明生<sup>2</sup>、西澤 信<sup>1</sup>、宮地竜郎<sup>1</sup>、冨塚 登<sup>1</sup>、大山 徹<sup>1</sup>、  
中川智行<sup>3</sup> (<sup>1</sup>東農大・生物産業・食科、<sup>2</sup>岡山大・資生研、<sup>3</sup>岐阜大・応用生物)
- 10 : 06 (B-4) 低温性イヌリン分解微生物のスクリーニングとDFA III生成  
藤村朱喜<sup>1</sup>、古本美恵<sup>1</sup>、宮下美香<sup>2</sup>、西澤 信<sup>1</sup>、宮地竜郎<sup>1</sup>、中川智行<sup>3</sup>、冨塚 登<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物産業・食品科学、<sup>2</sup>製品評価技術基盤機構NBRC、<sup>3</sup>岐阜大・応用生物)

(座長：宮地 竜郎)

- 10 : 18 (B-5) 細菌の多価不飽和脂肪酸合成経路 - エイコサペンタエン酸中間体の検出 -  
折笠善丈<sup>1,2</sup>、西田孝伸<sup>1</sup>、森田直樹<sup>3</sup>、奥山英登志<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院地球環境、<sup>2</sup>(現)北大院工、<sup>3</sup>産総研)

- 10 : 30 ( B-6) *Photobacterium profundum* SS9のSfp型phosphopantetheinyl transferase遺伝子のクローニングと同遺伝子の多価不飽和脂肪酸合成への関与  
杉原慎二<sup>1</sup>、折笠善丈<sup>2,3</sup>、奥山英登志<sup>1,3</sup>(<sup>1</sup>北大理、<sup>2</sup>(現)北大院工、<sup>3</sup>北大院地球環境)
- 10 : 42 ( B-7) 海洋性哺乳類の表皮脂質、とくにスフィンゴ脂質の化学的組成  
柚木恵太<sup>1</sup>、石川 創<sup>2</sup>、福井 豊<sup>1</sup>、大西正男<sup>1</sup>(<sup>1</sup>帯畜大・畜産科学、<sup>2</sup>日本鯨類研)
- 10 : 54 ( B-8) Gellan gum を用いたsoft gelによる土壌細菌窒素固定能の評価  
原新太郎、田原哲士、橋床泰之(北大院農)
- 11 : 06 ( B-9) *Methylobacterium* sp.と*Sphingobium yanoikuyae*の二者関係  
林 裕樹、田原哲士、橋床泰之(北大院農)

(座長：橋本 誠)

- 11 : 18 ( B-10) 植物の傷害応答時におけるジャスモン酸の代謝研究  
佐藤千鶴<sup>1</sup>、葵 新<sup>2</sup>、瀬戸義哉<sup>2</sup>、鍋田憲助<sup>3</sup>、松浦英幸<sup>2</sup>(北大農<sup>1</sup>、北大院農<sup>2</sup>)
- 11 : 30 ( B-11) ラベル体を用いたtheobroxideの代謝研究  
松浦英幸、上松 誠、太田希岐、葵 新、鍋田憲助(北大院農)
- 11 : 42 ( B-12) トマト(*Solanum lycopersicum*)のアンジオテンシン 変換酵素阻害活性物質について  
田中 聖、西村弘行(道東海大院)
- 11 : 54 ( B-13) ガマ(*Typha latifolia* L.)の穂由来の新規フラボノール配糖体  
渡辺悟史<sup>1</sup>、柴田敏郎<sup>2</sup>、細川敬三<sup>3</sup>、川端 潤<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農、<sup>2</sup>医薬基盤研・薬植セ・北海道、<sup>3</sup>兵庫大健康科)

## C会場 (2号館204教室)

(座長：瀬野浦 武志)

- 9 : 30 ( C-1) ミズバショウの越冬芽に含まれるレクチンの精製とその構造  
中川雄一郎<sup>1</sup>、齊藤明広<sup>2</sup>、桃木芳枝<sup>1</sup>、小栗 秀<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東農大・生物生産、<sup>2</sup>千葉大・園芸)
- 9 : 42 ( C-2) イネの生育における*Klebsiella oxytoca* M5a1カタラーゼ高生産変異株の影響  
森田亜紗美<sup>1</sup>、戸田篤司<sup>1</sup>、秋本正博<sup>1</sup>、奥山英登志<sup>2</sup>、湯本 勲<sup>3</sup>、森田直樹<sup>3</sup>、大和田琢二<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>帯畜大・畜産科学、<sup>2</sup>北大院・環境科学、<sup>3</sup>産総研(AIST))
- 9 : 54 ( C-3) ごぼう 1<sup>F</sup>-fructosyltransferase によるイヌロオリゴ糖の合成  
阿部雅美、石黒陽二郎、小野寺秀一、塩見徳夫(酪農大院、食品栄養科学)
- 10 : 06 ( C-4) *Rhizopus oryzae*および*Amylomyces rouxii*が生産するインベルターゼの諸性質  
中野渡瞳、仲村憲治、三雲大、小田有(帯畜大・畜産科学)

(座長：小野寺 秀一)

10 : 18 (C-5) シアル酸含有糖鎖の大量調製を目指して - 海洋性細菌由来シアル酸転移酵素の探索 -  
山本 岳 (日本たばこ・糖鎖ビジネスユニット)

10 : 30 (C-6) 海洋性細菌由来のシアル酸転移酵素による ガングリオシド合成  
櫛 泰典<sup>1</sup>、上宮 悠<sup>1</sup>、平塚宙子<sup>1</sup>、梶原ひとみ<sup>2</sup>、山本 岳<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>帯畜大畜産科学、<sup>2</sup>日本たばこ・糖鎖ビジネスユニット)

10 : 42 (C-7) 糖転移酵素による糖脂質へのグリコシル化反応におけるシクロデキストリン類の効果  
長島 生<sup>1</sup>、清水弘樹<sup>1</sup>、西村紳一郎<sup>1,2</sup>(<sup>1</sup>産総研北海道、<sup>2</sup>北大院先端生命)

10 : 54 (C-8) *Streptococcus mutans* 由来Dextran Glucosidase M198Wの結晶構造解析  
本同宏成、佐分利巨、森 春英、奥山正幸、木村淳夫 (北大院農)

(座長：本同宏成)

11 : 06 (C-9) インゲンマメ登熟種子由来イソアミラーゼアイソザイムの酵素特性  
瀬野浦武志、高嶋美範、濱田茂樹、伊藤浩之、松井博和 (北大院農)

11 : 18 (C-10) ジャガイモ塊茎 ADP-glucose pyrophosphorylase 調節サブユニットへのATP結合が酵  
素活性に与える影響  
和久田真司<sup>1</sup>、尾花由美子<sup>2</sup>、濱田茂樹<sup>1</sup>、伊藤浩之<sup>1</sup>、Thomas W. Okita<sup>3</sup>、松井博和  
<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農、<sup>2</sup>鹿大農、<sup>3</sup>ワシントン州立大)

11 : 30 (C-11) イネ ADP-glucose pyrophosphorylase アイソザイムの発現特性と酵素特性  
西村祐美<sup>1</sup>、和久田真司<sup>1</sup>、尾花由美子<sup>2</sup>、濱田茂樹<sup>1</sup>、伊藤浩之<sup>1</sup>、松井博和<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農、<sup>2</sup>鹿大農)

11 : 42 (C-12) インゲンマメ登熟種子由来プロテインキナーゼのクローニングおよび発現特性  
清木慈子、濱田茂樹、伊藤浩之、松井博和 (北大院農)

## ・特別講演 (大講義室)

大山 徹 (東京農業大学) (13:00 ~ 14:00)  
「ボツリヌス毒素の機能とそのサブユニット構造」  
座長：横田 篤 (北海道大学)

堀内淳一 (北見工業大学) (14:00 ~ 15:00)  
「グリーンバイオプロセスによる寒冷地バイオ資源の有効利用」  
座長：西村弘行 (北海道東海大学)

# S-1 オホーツク地域におけるわさびの栽培とおいしい製品作り

金印わさびオホーツク 大野 吉孝

## 1. 金印わさびグループの歴史と今後の展開

創業～粉わさびの製造販売  
網走工場竣工～生おろしわさび開発  
金印わさびグループの発足  
金印わさびオホーツクミッション  
金印わさびオホーツクの今後

- ・原料の品質の向上
- ・農家の栽培を楽に
- ・工場の合理化
- ・安信の為の管理と技術
- ・循環型農業を目指して

## 2. 金印わさびオホーツクの生産活動（苗作り～最終製品まで）

苗作り～最終収製品までのフロー  
試験管苗～苗栽培  
原料種～収穫受入れ  
収穫原料～一次加工  
原料の洗浄～攪拌（ミキシング）  
ミキシング～箱詰

## 3. 金印わさびオホーツク（農家さんに対する農業機械の支援）

わさびハ - ベスタ - の開発  
ストローチョッパー＆タッパー複合機の開発  
植え機の開発（試作中）

## S-2

### オホーツク圏の植物資源を利用した商品開発

北見工業大学 山 岸 喬

オホーツク圏と称している道東地域は、水産、酪農、畑作などの一次産業が中心であり、農水産物の輸入自由化により経済的に大きな影響を受けられると思われる。そこで、地場産業育成に地域の特色を生かした農林水産物の高付加価値化による2次産業、3次産業興しが必至となっている。

すでにこの地域において冷凍食品加工、焼酎製造、青紫蘇精油製造、製糖、練りわさび、加工タマネギ、カボチャパウダーの製造などがあるが、この他にも新たな加工業の進出の機会があると考えられる。私たちはオホーツク産植物中での健康に役立つ機能を持つものに注目して、ハマナスの花、タマネギなどの有効成分の研究、活性評価を行ってきた。また、これらを用いた研究開発について報告する。

#### 強い抗酸化活性の新食品素材「ハマナス花弁」

ハマナスの花の投与実験でマウスの便臭が少ないことに気がついた。このことからヒントを得て、人の便臭も消すのではないかと考えボランティアによる実験で、便臭にも効くことが分かった。また、抗酸化活性から、加齢臭を消すのではないかと考え、50歳以上の方にボランティアになってもらい、耳垢を集めて抽出してGL-MSで分析した結果2-nonenalが確認できた。ハマナス花には加齢臭を改善する効果があり、ハマナス花加工食品（1カプセルに100mgの乾燥花弁を配合）を朝夕2カプセルずつ服用すると数日後には2-nonenalのピークが消失した。直ぐに特許(特許第4008369号)を申請して、北見工業大学の「ベンチャービジネス・ラボラトリー」において、「はるにれバイオ研究所」を設立し、商品開発を始めた。また、科学技術振興財団（JST）の育成研究に採択され、平成17年度から本格的な研究がスタートした。

#### タマネギから新規機能性食品素材（太陽タマネギ）

網走管内におけるタマネギの生産は全国生産量の約30%を占めている。そこで、タマネギの新用途開発、地元での加工技術の確立により、国産タマネギの消費拡大、競争力の強化を目的として、タマネギを用いた機能性の高い食素材の開発研究を行い、次のような新しい知見を得た（特許第3697524号、発明の名称：タマネギ加工食品、及びその製造法）。タマネギ可食部に人工気象器にて約2500ルクスの光を照射すると、タマネギ中のケルセチン量が約8倍増加した。そこで、タマネギに人工光より強い太陽光を照射し、フラボノイド量ならびにペクチン量を測定し、総ケルセチン量として800mg/100g以上、ペクチン量として約10g/100gという高含量の粉末を得ることが確認できた。また、太陽光照射タマネギに新しい化合物1、2を確認し、強い $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を見出した。未照射タマネギに比較して約2倍の効果を確認した。

- グルコシダーゼ阻害活性（糖尿病治療薬のアカルボースが対照薬）

試 料	IC <sub>50</sub> $\mu$ g/ml
アカルボース(対照薬物)	37.5
太陽光照射タマネギ抽出物	83.0
未照射タマネギ抽出物	185.2
ケルセチン	2.2
ケンフェロール	3.0
ケルセチン-3,4'-ジグルコサイド	440.0
ケルセチン-4'-グルコサイド	31.4
化合物1	119.2
化合物2	12.5

## S-3

### 生物産業の未来といわゆる“食育”のかかわり

天使大学看護栄養学部栄養学科 荒川 義人

わが国の農・畜・水・林産業（一次産業）、飲食料品産業（二次産業）等の生物産業分野において、とくに北海道は有効な資源の質・量に秀でており、将来的に新しい産業の創出や企業化の促進につながる研究・技術開発を推進しうる恵まれた環境にある。反面、全国的に一次産業は多くの課題を抱えており、このままではわが国の生物産業の未来に大きな影を落とすことになる。

これまで演者が関わりをもってきた農業では、安全性、栄養価、おいしさ、保存性等で高品質の作物が求められ、一方で价格的には安価な輸入作物との競合を強いられ、極めて厳しい状況が続いている。低農薬・減化学肥料や有機栽培によって安全・安心を売りにした作物生産にシフトする、あるいは生産（一次）だけに止まることなく、加工（二次）や流通（三次）と融合した新しい仕組みをつくる農業者も出現しているが、いずれも厳しい現状を打開するための積極的な行動といえよう。

大学等の研究機関や企業として、良食味品種の開発、三次機能の科学的実証、あるいは新規加工品の創出等で作物の付加価値を高めることは、農業に対する極めて大きな貢献であり、生物産業の未来を明るくするものである。今後もこの種の研究・開発が大いに期待されるところである。

これまで演者も微力ながら、例えば有機農産物の品質特性、馬鈴薯（主にインカのめざめ）の成分特性、そば（とくにオホーツク地域と縁の深いダツタンソバ）の機能性などを調べ、北海道農業に対して側面的支援を行ってきたつもりであるが、最近、とくに農業をはじめとする生物産業全体の発展には、いわゆる“食育”の展開が極めて重要という認識を強めている。

そこで本シンポジウムでは、管理栄養士という食の専門家を養成する大学に勤務する演者が、“食育”の一環として関わってきた活動を紹介するとともに、いわゆる“食育”の展開がどのように生物産業の未来を支えるかという点について言及したい。

## エゾシカの有効活用に関する研究

### 1. エゾシカの素ジカ供給、増体成績および肉成分

増子孝義<sup>1</sup>、相馬幸作<sup>1</sup>、関川三男<sup>2</sup>、岡本匡代<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東京農業大学、<sup>2</sup>帯広畜産大学、<sup>3</sup>釧路短期大学

#### はじめに

北海道におけるエゾシカ生息数は、明治期の乱獲と気象変動の影響により、激減する事態に陥ったが、保護政策により回復した。その後、農地造成などエゾシカの生息環境が好転するに伴い、個体数が著しく増加し、農林業被害が増えたため、北海道は「エゾシカ保護管理計画」を策定し、個体数調整に取り組んでいる。研究グループの代表者らは1991年からエゾシカの養鹿を目指して、飼育下におけるエゾシカの栄養学的研究を開始し、現在でも軌道修正しながら研究を継続している。北海道における養鹿は、当初予測したような飼育ジカを肥育する完全養鹿の形態では発展せず、野生ジカを捕獲して短期間肥育する一時養鹿のシステムが構築され、北海道独自のスタイルとして発展しようとしている。一時養鹿システムとは、野生エゾシカの生体捕獲により素ジカを供給し、最寄のシカ牧場で3~9カ月間肥育後、専用解体施設でシカ生産物を生産するまでの範囲を言う。これは新しいシステムなので、蓄積されたデータがないため、東京農大では素ジカ供給からシカ牧場における飼養管理および枝肉生産までの領域、共同研究者は枝肉から部分肉までの領域を取扱い、研究課題に取り組んでいる。ここでは一連の研究成果の概要を述べる。

#### 1. 野生エゾシカの生体捕獲による一時養鹿の実証的研究

##### (1) 野生エゾシカの生体捕獲

阿寒湖畔周辺の森林を所有管理する前田一步園財団では、1999年から樹皮食害防止のために野生エゾシカにピートパルプを給餌している。給餌年数が経過するに伴い、餌場利用個体数が増え、給餌量が著しく増加した。個体数を軽減する対策として、2005年から給餌場を利用して囲いワナによる大量捕獲を実施した。生体捕獲数は2005年338頭（3箇所）、2006年539頭（4箇所）、2007年514頭（4箇所）であった。捕獲後直ちにシカ牧場と東京農大に移送し、飼育を行なった。野生ジカを素ジカとして導入することが可能であると実証された。

##### (2) 生体捕獲ジカの飼料摂取量および増体量

2006年3月に生体捕獲ジカ満1歳雌6頭、満1歳雄3頭、成雌6頭、成雄4頭の計19頭を導入し、10~11月まで肥育した。飼料の乾物摂取量は導入から6月まで低かったが、7月以降は制限給与した濃厚飼料とアルファルファヘイキューブはほぼ採食された。自由摂取させた乾草の乾物摂取量は導入時から肥育終了時まで増加した。体重は導入時から9月まで増加し、特に雌雄ともに満1歳は成獣よりも増体量が高かった。それ以降はすべての個体が停滞した。増体成績は一時養鹿における解体時期を決定する場合の指標になるものと考えられる。

#### 2. エゾシカ肉の特性に関する食品化学研究

野生ジカの背最長筋のタンパク質は21.0~26.6%、脂肪は0.3~6.1%であった。脂肪含量は5月から8月にかけて増加して11月に減少した。Feは4.5~7.7mg/100g、主要脂肪酸はパルミチン酸（16:0）、スレアリン酸（18:0）、オレイン酸（18:1）およびリノール酸（18:2）であり、総コレステロールは10.5~16.7mg/100gであった。脂質のCLA（共役リノール酸）量は5月が低く、8月と11月（5~10mg/gFat）が高かった。シカ肉は脂肪含量が低い、Fe含量が高い、炭素数20以上のPUFA（多価不飽和脂肪酸）が高いという特徴を有していた。

## S-4

# エゾシカの有効活用に関する研究

## 2. エゾシカ肉の加工特性と商品開発

道立オホーツク圏地域食品加工技術センター 抜山嘉友

### はじめに

北海道内に生息するエゾシカによる森林や農作物の食害を減らすため、道では被害防止対策やエゾシカの個体数管理などを総合的に進める一方、平成17年度より「エゾシカ資源有効活用検討委員会」を中心とした、野生エゾシカ肉の安全性確保と安定供給に向けた検討を開始した。これにより、狩猟肉および生体捕獲～一時養鹿～屠殺による食肉処理の衛生処理マニュアルが策定されるとともに、有効利用の推進によって個体数の減少と被害の軽減を目指しているところである。

安全で安定的な原料肉を得るための検討については上述の通り進められている状況にあるが、利用法に関する研究も取り組むべき重要な課題の一つである。エゾシカ肉の栄養特性に関してはこれまでの調査によって、他の豚や牛などの肉と比べて低脂肪、高蛋白、かつミネラル分に富むことがわかっており、食料資源としての価値が見出されつつあることから、今後の利用法の開発が急務であるとともに、新たなビジネスチャンスとしても注目されているところである。

### これまでの経過と課題

当センターにおいてもこれまで、エゾシカ肉を利用したハム、ソーセージ類など食肉製品を中心とした種々の加工法の開発を行い、また道内各地のエゾシカ食肉事業者からも、カレーなどのレトルト製品等が商品化されている。しかしながらエゾシカは野生獣であるという特徴から、肉の成分や物性などいわゆる肉質には幅があり、それが加工品の品質面にも影響することから、食品メーカー等における商品化事例はまだ少ない。これはエゾシカの雌雄、年齢、季節、肉部位の違いによる加工特性に関する基礎データが十分に得られていないことが原因であると考えられ、利用拡大を目指すためにはエゾシカ肉の特性を踏まえた利用法の検討と品質の安定化技術の開発が必要であると考えられる。

### 研究内容

#### 1. エゾシカ肉の雌雄、年齢、肉部位別の加工特性の調査

生体捕獲エゾシカ肉の一般成分、加熱損失、切断応力、色素量、色調の変化、脂肪融点を調査し、モデルソーセージの発色と物性について比較を行なった。その結果、一般成分および物性に関する各値については個体差が大きく一定の傾向は見られなかったが、総色素量およびソーセージの色調、脂肪融点に関しては雌雄間および年齢間に違いがあり、加工特性上重要な形質であると考えられた。しかしながら、加工利用の観点から、混合肉のレベルであればある程度一定した品質の製品製造が可能と考えられた。今後は狩猟肉との比較を含め、季節変動や捕獲地による違い、熟成による肉質の変化等に重点を置き、食味評価等と連動した基礎データの蓄積を行なう。

#### 2. 原料特性に応じた加工品原型の開発

上記、加工特性調査によって得られた結果を踏まえ、最適な加工条件を見出すとともに製品品質の安定化を目指す。さらに、低利用部位の有効活用にも目を向け、エゾシカ肉を利用した発酵調味料の開発も検討する。

## S-5

### 日本でエミューは新規畜産業になりえるか

(東京農大バイオインダストリーの取り組みを例として)

(株)東京農大バイオインダストリー 東京農業大学生物産業学部食品科学科

渡部 俊弘

エミュー (Emu: 学名 *Dromaius novaehollandiae*) は、ヒクイドリ目エミュー科に属する走鳥類であり、ダチョウについて世界で2番目に大きい鳥類である。成鳥では、平均体高(頭長)1.7 m程度で体重60 kgになる。オーストラリアの原住民アボリジニーの人々は古くからその肉や皮、油脂を様々に利用し、特に油脂は、火傷や打ち身の治療などに民間療法的に利用されてきた。エミューの畜産は、1970年に西オーストラリアから始まった。雑食性、温和な性格、高い環境適応力といった特徴から比較的飼育が容易であり放牧が可能であることから、現在では、オーストラリア国内で1,330の飼育農家があり、80,000羽が繁殖され、その商業的関心が高まっている。



エミューの肉は、栄養面に優れ(低カロリー、低脂肪、低コレステロール)、またその油脂は、オレイン酸やリノール酸に富み、様々な機能性を有する。さらに特徴的な卵(大きさ約15cm、卵殻が濃緑色)、美しい羽からは多種多様な商品化の可能性がある。このような特性から、日本でもエミューは新規家禽種として十分な素質を備えていると考えられる。

2004年4月に起業した大学発ベンチャー企業である(株)東京農大バイオインダストリーでは、このようなエミューの特性を生かし、東京農業大学生物産業学部の「生物生産(第一次産業)加工(第二次産業)経営・流通(第三次産業)の食品供給行程を総合的に研究・実践する」というコンセプトの元、「エミュー」による新たな生物産業開発に取り組み、21世紀のビジネスモデルとして発展させ、そのノウハウを地域に還元していくことを目指している。

本講演では、エミューの家畜としての特性、肉あるいは油脂などの栄養成分、それらの加工特性について解説し、ついでエミューがオホーツクの北の農業の発展、食糧供給や地域産業振興につながる新規生物産業モデルとなる可能性について、当社のこれまでの実践的な取り組みを交えて説明する。

## 特別講演

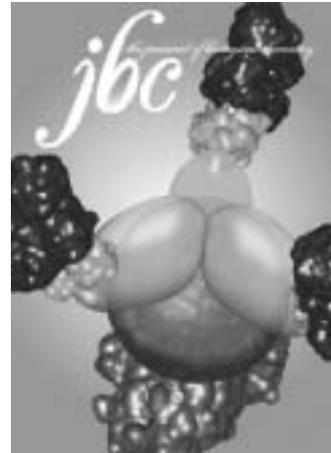
# ボツリヌス毒素の機能とそのサブユニット構造

東京農業大学 大 山 徹

ボツリヌス毒素は、グラム陽性・偏性嫌気性*Clostridium*属に分類されるボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) が産生する最強の神経毒素である。芽胞を形成するこの菌は、海底の泥、土壌中に存在し、死んだ動物・魚、缶詰、ソーセージ (ラテン語でbotulusと言い、菌名の由来である) などの嫌気的条件下で発芽し、栄養細胞となって増殖して毒素を産生する。ボツリヌス神経毒素は、分子量約150 kDaのタンパク質で、その抗原性の違いにより、AからG型の7種の血清型に分類されており、いずれも食品中や菌体培養液の上清中では、無毒のタンパク質と結合して巨大なサブユニット複合体を形成している。無毒タンパク質は経口的にヒトや動物に摂取された神経毒素が、強酸性である胃 (pH 2) や小腸など、種々の消化液が存在する厳しい環境において神経毒素の破壊から保護し、標的まで無事送達する運搬容器の役割を担っていると考えられる。自然毒の中で、このような送達システムを持っているのは、ボツリヌス毒素だけである。最終的に末梢神経の神経・筋接合部に到達したボツリヌス神経毒素は、神経細胞上の受容体を介したエンドサイトーシスにより、神経細胞内に侵入する。神経毒素はZn依存性プロテアーゼとして、シナプス融合に必須のタンパク質を特異的に切断し、神経伝達物質アセチルコリンの放出を遮断して、死に至る神経麻痺を引き起こす。

このようにボツリヌス神経毒素の詳細な構造およびその作用機構がすでに明らかにされているにも拘わらず、毒素複合体のサブユニット構造は依然として不明であった。著者の研究グループは、D型菌の特異的な株 (D-4947) からのボツリヌス神経毒素・無毒タンパク複合体に焦点を当て、各成分タンパク質の分子構造と機能の解析を進め、個々のサブユニットが複合体へと成熟する経路を明らかにした。ごく最近、電子顕微鏡により3本腕の突起を持った特異な複合体の姿を初めて捉え、突起部分のX線結晶解析と組み合わせ、神経毒素を含む14量体の750 kDaの毒素複合体サブユニット構造を決定し、その立体的配置を提唱した (図参照)。

本講演では、特異なボツリヌス毒素複合体の構造と各サブユニットの機能について、これまでの報告を基に解説し、ついで著者らが得た最近の知見について説明する。



## 特別講演

# グリーンバイオプロセスによる寒冷地バイオ資源の有効利用

(北見工大)(正)堀内 淳一

### 1. 緒言

持続可能な社会システムへの転換を図るため、各種の物質生産を化石燃料に依存した化学プロセスから、バイオ資源を活用した環境調和型のバイオプロセスに代替する研究が活発化している。本学の立地するオホーツク地域は豊かな農林水産資源に恵まれた地域だが、一方で有効利用が進んでいない様々なバイオマスが存在する。これらのバイオマスを活用する技術の開発は、循環型社会構築の上で大きな課題である。ここではバイオプロセスによりこれら未利用バイオマスの有効利用・高付加価値化を目指し検討を行った結果を紹介する。

### 2. コーンコブを原料としたキシリトール生産

キシリトールは、近年需要の伸びている糖アルコール系甘味料である。従来キシリトールはキシロースを化学的に還元して生産されてきたが、この方法は環境負荷が大きく生産コストが高いため代替生産法が模索されている。本研究では、トウモロコシ収穫後の農産廃棄物であるコーンコブ(トウモロコシの芯)を原料として、酵母を用いたキシリトールの微生物生産を検討した。コーンコブ中のキシランの加水分解条件を検討したところ、1~3%硫酸を用いたオートクレーブ処理により、100 (g/l) のコーンコブから20~30 (g/l) のキシロース溶液を得ることができた。この加水分解液(25 (g/l))を用い、酵母 *Candida magnorica* を用いキシリトール生産を試みたところ、加水分解過程において生成するフルフラール等の増殖阻害物質により、増殖が強く阻害された。そこでキノコ廃菌床由来の木炭ペレットを用いて阻害物質を選択的に除去した後、培養を行ったところ、18.7 (g/l) のキシリトールを得ることができ、コーンコブを原料としたキシリトール生産を行いうることが示された。これらの結果に基づくと、道内では年間4-5万トン程度発生するコーンコブから7-9,000トン程度のキシリトール生産が可能となり、これは日本全国のキシリトール需要に匹敵する。

### 3. チーズホエーを原料とした環境調和型融雪剤生産

チーズ製造の副生成物であるチーズホエーは、慢性的な供給過剰状態にあり、有効利用技術の開発が望まれている。一方、寒冷地においては、冬季間道路の機能維持のため融雪剤は必需品であるが、汎用される塩化物系融雪剤は、車や鉄筋への腐食被害、農作物への塩害を引き起こすため、低腐食性の環境に優しい融雪剤が望まれていた。環境調和型融雪剤の一つである酢酸カルシウムマグネシウム (Calcium Magnesium Acetate, CMA) は、酢酸とカルシウム、マグネシウムの混合物で、低腐食性で生分解性が高い環境への負荷が少ない優れた融雪剤である。しかしながら、原料となる酢酸が高価な為に生産コストが高く、十分に普及が進んでいない。そこで、チーズホエーに多く含まれる乳糖から酢酸を生産し安価にCMAを生産しうる微生物変換プロセスを検討した。本研究では、理論的に1gの乳糖から1.05gの酢酸が生成され、高い収率で酢酸を得ることが出来る、ホモ乳酸発酵とホモ酢酸発酵を組合せた高収率変換について検討を行なった。その結果、チーズ製造用乳酸菌 (CH-N-11, CHR Hansen) 及びホモ酢酸菌 *Clostridium formiaceticum*

(ATCC27076)を用いる2段階発酵プロセスにより、ホエー中乳糖を高収率で酢酸に変換しうる事が明らかとなり、ホエーを原料としたCMA生産の可能性が示された。次に、生産性を向上させるため、木炭ペレットバイオリアクターを用いた循環型バイオリアクターシステムを構築し、実験的検討を行ったところ、高い生産性を維持しつつ安定した運転を行うことが可能であった。

### 4. 規格外タマネギからの機能性ビネガーの製造

オホーツク地域は日本最大のタマネギ生産地であるが、生産量の約10%が規格外とされ安価に取り引きされるか廃棄物として処分されている。この規格外タマネギの有効利用を進めるため、タマネギ搾汁液を発酵原料とした機能性ビネガーの製造について検討した。高い糖含有率を示した赤タマネギの搾汁液を用い、繰り返し回分法と充填塔型バイオリアクターを組み合わせた2段階発酵法によるビネガー製造プロセスを構築し効率的生産を試みたところ、良好にビネガー製造を行いうることが明らかとなった。生成ビネガーには高濃度の各種アミノ酸、有機酸、カリウムやポリフェノールが含有され、新規な機能性食品として期待される。

### 参考文献)

- 1) Tada K., Horiuchi J., Kanno T. and Kobayashi M.: Microbial Xylitol Production from Corn Cobs Using *Candida magnorica*. *J. Biosci. Bioeng.*, 98, 3, 228-230 (2004)
- 2) Horiuchi, J. and Tada, K.: Optimization of Oxygen Supply in Microbial Xylitol Production Based on a Metabolic Reaction Model. *Journal of Biotechnology*, 118, suppl. 1, S120-S121 (2005)
- 3) 堀内淳一;「周辺環境に配慮した環境調和型融雪剤の微生物生産プロセス開発」(財)国土技術研究センター第4回助成研究報告書(2004)
- 4) Horiuchi, J., Kanno, T. and Kobayashi, M.: New Vinegar Production from Onions.: *J. Biosci. Bioeng.*, 88, 107-109 (1999)
- 5) Horiuchi, J., Kanno, T. and Kobayashi, M.: Effective Onion Vinegar Production by a Two-step Fermentation System.: *J. Biosci. Bioeng.*, 90, No. 3, 289-293 (2000)
- 6) Horiuchi J, Tada K., Kobayashi M., Kanno T., and Ebie K.: Biological Approach for Effective Utilization of Worthless Onions - Vinegar Production and Composting. *Resources, Conservation and Recycling*, 40, 94-109 (2004)
- 7) Horiuchi, J., Tabata, K., Kanno, T. and Kobayashi, M.: Continuous Acetic Acid Production by a Packed Bed Bioreactor Employing Charcoal Pellets Derived from Waste Mushroom Medium.: *J. Biosci. Bioeng.*, 89, 124-128 (2000)
- 8) Horiuchi, J., Ando, K., Watanabe, S., Tada, K., Kanno, T. and Kobayashi, M.: Performance of a Partially Packed Charcoal Pellet Bioreactor for Acetic Acid Fermentation. *J. Biosci. Bioeng.*, 92, 478-480 (2001)
- 9) 堀内淳一:グリーンバイオプロセスによる未利用地場資源の有効利用. 分離技術, 90-95, 36, (2006)

\*TEL: 0157-26-9415 FAX : 0157-24-9385  
e-mail: horiucju@mail.kitami-it.ac.jp

## A-1

### ボツリヌスD型毒素複合体の血管内皮細胞への結合機序

丹羽光一<sup>1</sup>、米山徹<sup>1</sup>、宮田恵多<sup>1</sup>、平磨耶<sup>1</sup>、三上晃史<sup>1</sup>、近井智行<sup>1</sup>、池田敏彦<sup>2</sup>、渡部俊弘<sup>1</sup>、大山徹<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東京農大・生産・生化、<sup>2</sup>第一三共株式会社)

**研究背景)** ボツリヌス神経毒素 (BoNT:150 kDa) は、その抗原性の違いによりAからG型の7種の血清型に分類され、食品中および菌体培養液の上清中では、非毒非血球凝集素 (NTNHA) および3種の血球凝集成分 (HAs: HA70、HA33、HA17) と結合して巨大な複合体 (TC) を形成する。CおよびD型BoNTは、家禽や家畜のボツリヌス中毒の原因となり、日、米、欧、豪を始めとして世界各国で毎年、数千頭のウシが斃死し、畜産上重要な問題となっている。近年、神経毒素を用いたワクチンの開発などウシボツリヌス症予防の観点から研究が進みつつある。また毒素の吸収機構については、TCの小腸上皮への結合機序、透過性について研究が進められているが、血管へのTCの結合能、血管内のTCの動態の詳細は不明である。そこで、本研究では、D型毒素のウシ大動脈内皮細胞 (BAEC) への結合能および結合機序を調べた。

**方法・結果及び考察)** ボツリヌスD型菌4947株培養上清より精製したBoNT、HA33/HA17、M-TC (BoNT/NTNHA) およびL-TC (M-TC/HAs) を培養したBAEC上に添加した。4℃で1時間インキュベートし、結合した毒素を抗BoNT抗体、抗HA33/HA17抗体を用いたウエスタンブロットで検出した。細胞に対する各毒素の結合量は、BoNT、M-TCが同程度であり、L-TCが最も多く結合した。また糖による競合結合試験から、L-TCの結合はNeu5Acにより抑制され、さらに細胞のNeuraminidase処理により、L-TCおよびHA33/HA17の結合が抑制された。以上の結果から、BoNT、M-TCおよびL-TCが内皮細胞に結合すること、さらにL-TCは構成成分であるHA33/HA17が細胞表面のシアル酸を認識し、効率よく結合する可能性が示唆された。

## A-2

### 発酵性乳製品由来の酵母菌体成分による抗アレルギー作用の検討

(北大院農) 滝井慎也、岩瀬初音、島崎敬一、玖村朗人

**研究背景)** プロバイオティクス効果が示されている乳酸菌やビフィズス菌の中には、Th1型サイトカインの産生を促し、アレルギーの発症を抑制する例が報告されている。一方、酵母の場合これらの菌と細胞構造が大きく異なるため、その効果の有無や違いに興味もたれる。本実験では、発酵性乳製品から分離した酵母の菌体成分がマウス由来の培養脾臓細胞のIgE産生に与える影響と、ラット好塩基球性白血病細胞株RBL-2H3による炎症性物質の脱顆粒に与える影響を調べることによって酵母のスクリーニングを行い、*in vivo* におけるIgE産生に与える影響を調べた。

**方法・結果及び考察)** 発酵性乳製品から分離した酵母5菌種12株と、対照として*Lactobacillus casei* シロタ株を用いた。シロタ株はMRS培地で、各酵母をYPD培地またはYPL培地で培養後集菌し、凍結乾燥した。酵母は集菌後にガラスビーズを用いて菌体を破碎した。オプアルブミン (OVA) を腹腔内注射により免疫したBALB/cマウスから脾臓細胞を採取し、加熱処理した菌体懸濁液とOVAを添加した培地でこの脾臓細胞を2週間培養した。培養後、培養液の上清を回収し、IgEを定量した。その結果、酵母の菌体成分にIgEの産生を抑制する効果があることが確認された。また、RBL-2H3に加熱処理した菌体懸濁液を添加した状態で脱顆粒を誘導し、上清と細胞溶解液を回収し、顆粒中の $\alpha$ -hexosaminidase活性を測定し、脱顆粒の程度を調べた。その結果、*Kluyveromyces lactis* S16株に、他の菌体よりも脱顆粒を抑制する傾向が認められた。しかし、OVAを腹腔内注射により免疫したBALB/cマウスにS16株またはシロタ株を経口投与し、所定の時期に採血して得た血清中のIgEを定量したところ、IgE産生抑制効果は見られなかった。

## A-3

### 牛ラクトフェリンのC-ローブの精製及び細菌に対する特性

金 完燮<sup>1,2</sup>、シーマ カフレ<sup>1</sup>、横山智美<sup>1</sup>、玖村朗人<sup>1</sup>、島崎敬一<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農、<sup>2</sup>北大院水COE)

**研究背景)** ラクトフェリンは分子量約80kDaの金属結合性糖タンパク質であり、主な機能としては抗菌活性が知られている。ラクトフェリンの示す抗菌性には静菌作用と殺菌作用がある。静菌作用は細菌がその生育に必要としている鉄イオンをラクトフェリンが奪うために生育が抑えられたと考えられる。一方、ラクトフェリンの殺菌作用としてはリポ多糖に結合し、細胞外膜にダメージを与える他にも様々なメカニズムが報告されている。ラクトフェリンはN- とC- ローブの二つのローブで構成され、両ローブ間には相同性があるにもかかわらずこれまでC- ローブの抗菌活性についての研究はほとんどなされていなかった。そこで我々は牛ラクトフェリンからC- ローブを分離し、ビフィズス菌と病原性菌に対する増殖効果を調べた。

**方法・結果及び考察)** 牛ラクトフェリンに約2%のトリプシン溶液を加え(1:50)、37℃で2時間反応を行った。トリプシン分解物からC- ローブの分離はイオン交換クロマトグラフィーで行った。分離されたC- ローブはSDS-PAGEとN- 末端アミノ酸分析を行って確認した。ビフィズス菌(*B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis* と *B. breve*)と病原性菌(*E. coli*, *C. perfringens*, *P. fluorescens* と *P. syringae*)を対象としてC- ローブの効果を96 ウェル マイクロプレート法で比較した。まず、C- ローブ溶液をポアサイズ0.2µmのフィルターで除菌し、それぞれのウェルに4、2、1、0.5と0.25mg/ml濃度で添加し、24時間培養しながら菌の生長を測った。その結果、牛ラクトフェリンC- ローブは4つの病原性菌に対して抗菌活性を見せたがビフィズス菌に対しては生長促進効果を示した。病原性菌に対するC- ローブの抗菌活性は以前我々が報告した組換え牛ラクトフェリンのC- ローブが大腸菌の生長を抑制した結果<sup>1)</sup>と一致した。

1)W.-S. Kim, K. Shimazaki, and T. Tamura. 2006. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70(11):2641-2645.

## A-4

### ウシラクトフェリンのウグイの腸内細菌に対する影響

柳澤壮太<sup>1</sup>、金完燮<sup>2</sup>、玖村朗人<sup>1</sup>、島崎敬一<sup>1</sup>、笠井久会<sup>3</sup>、吉水守<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農、<sup>2</sup>水産COE、<sup>3</sup>北大院水産)

#### (背景)

ラクトフェリン(以下Lf)は乳タンパク質の一つで、鉄結合、静菌・殺菌作用、炎症応答の調節など多様な生理機能を示す。またペプシンによる加水分解によって、強力な抗菌ペプチド(ラクトフェリシン、以下Lfcin)が生成されることも知られている。この抗菌作用を魚類の腸内細菌にどのように作用するかを調べた。対象としたのはウグイの腸管から採取した5属計17菌株である。

#### (方法・結果)

使用した腸内細菌は、新鮮なウグイの腸管を採取した菌を寒天培地に塗布し、得た菌株を性状から簡易同定し、選定した。これら腸内細菌に対する抗菌作用を調べるため、Lfの鉄結合可逆性を用いて調整した、飽和度の異なる3種のLf、Lf加水分解物、Lfcinを使用した。腸内細菌の培養にはLB液体培地を用いた。ガス滅菌した96穴プレートにLB液体培地とフィルター滅菌したLf溶液を、様々な最終LF濃度になるように調整して分注した。これとは別にコントロールとしてLfを含まないLB液体培地を用意した。これらの液体培地に、あらかじめ同様の培地で予備培養した腸内細菌17菌株を接種した。この96穴プレートを25℃で24時間培養し、その間4時間毎に液体培地の濁度を620nmの波長で測定した。その結果、鉄飽和度の低いLf(鉄飽和度4.8%、20%)が、ほとんどの菌株に対して増殖を抑制した。一方で、鉄飽和度の高いLf(鉄飽和度75%)では増殖の抑制が見られなかった。またLf加水分解物、Lfcinが、約半数の菌株に対して抗菌作用を示した。

## A-5

### *Bifidobacterium* のバクテリオシン様物質の検索

柴田美和子、小野寺秀一、菊地政則、塩見徳夫（酪農大院、食品栄養科学）

【目的】バクテリオシンは細菌が産生する抗菌性のタンパク質・ペプチドで、類縁菌、特にグラム陽性菌に対して抗菌的に作用することが知られている。しかしながら *Bifidobacterium* の産生するバクテリオシンについての報告は他の乳酸菌のものと比較して非常に少なく、オリゴ糖の資化性とバクテリオシン産生との関係に関する報告は全くない。本研究では、炭素源を変化させたBL培地から産生されたバクテリオシン様物質の検索と定性試験を行い、*Listeria monocytogenes* 1114に対する抗菌活性について検討した。

【方法】供試菌株は酪農学園大学保存の *Bifidobacterium* 52株より予備的に選抜された、未同定株4株を含む全12株を用いた。炭素源はglucose + soluble starch、1-kestose、および炭素源なしとした。3種のBL液体培地で37℃、24時間培養し、遠心分離して得られた培養液をpH7.0に調整して、粗バクテリオシン溶液とした。指標菌は *L. monocytogenes* 1114を使用し、2倍段階希釈によるagar spot法で抗菌活性(AU/ml)を測定した。またproteinase K、trypsin、pepsin、pancreatinを用いたプロテアーゼ耐性試験、および熱安定性試験を行った。

【結果】供試 *Bifidobacterium* のバクテリオシン様物質は、炭素源を1-kestoseとしたBL培地で4株に確認されたのに対し、炭素源なしのBL培地では9株において産生された。抗菌活性は最も強い菌株で6,400AU/mlと求められた。また、これらの抗菌性物質はプロテアーゼ処理によって完全に失活したが、120℃、30minの熱処理では菌株によって差が認められたものの抗菌活性が残存していた。

## A-6

### *Kluyveromyces marxianus* によるテンサイ糖蜜およびチーズホエーからエタノールの生産

仲村憲治、小田有二（帯畜大・畜産科学）

【目的】チーズ製造の副産物であるホエーからエタノールを生産する際には、ラクトース発酵性の酵母 *Kluyveromyces marxianus* が使用されている。しかし、*K. marxianus* は *S. cerevisiae* よりもエタノール生産性が低く、スクロースやグルコースからのエタノール生産には不向きとされている。本研究では、*K. marxianus* の保存菌株からテンサイ糖蜜およびチーズホエーを糖源とする培地においてエタノール生産性の高いものを選抜し、その発酵特性について調べた。

【方法】*K. marxianus* (Anamorph: *Candida kefyr*) 26株は（独）製品評価技術基盤機構(NBRC)より入手し、YPD培地(1%酵母エキス、2%ポリペプトン、2%グルコース)で振盪培養した。この培養液10mlを無菌的に遠心分離で回収し、その全量を発酵培地(5~20%糖[糖蜜あるいはホエー]、0.2% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 100mlに接種し、通気を制限して振盪培養した。

【結果】供試菌株はいずれもスクロースを発酵したが、ラクトースを速やかに発酵したのは14株(*K. marxianus*, 5株; *C. kefyr*, 9株)であった。これらを糖濃度20%の糖蜜あるいはホエー発酵培地で培養し、両方の培地においてエタノール生産性が高い菌株として *K. marxianus* NBRC 1963を選抜した。最高エタノール濃度に達するまでの日数は、いずれの培地において糖濃度5%および10%で1日、15%で2日、20%で糖蜜培地は3日、ホエー培地は4日であり、エタノールへの変換率は約90%であった。糖蜜とホエーを等量混合した糖濃度20%の培地ではエタノール変換率が45%まで低下し、市販のラクターゼを添加すると65%まで上昇した。このとき、ラクトースに由来するガラクトースはほとんど消費されていなかった。

## A-7

### 自然界から分離した高発酵性酵母のエタノール生産性およびパン生地発酵力

荒美咲<sup>1</sup>、田嶋可奈子<sup>1</sup>、三雲大<sup>1</sup>、田村雅彦<sup>2</sup>、山内宏昭<sup>3</sup>、小田有二<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>帯畜大・畜産科学、<sup>2</sup>日本甜菜製糖、<sup>3</sup>北海道農研)

**目的)** テンサイ糖蜜からのエタノール生産およびパン製造に適用可能な新規微生物を開発するため、自然界から酵母を分離してそれらの諸性質について調べた。

**方法)** エタノール発酵はスクロース培地 (20%スクロース、0.3%酵母エキス、0.5%ポリペプトン) および糖蜜培地 (20%糖[テンサイ糖蜜]、0.2%NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.05%MgSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O) で行い、対照株として *Saccharomyces cerevisiae* NBRC2018を使用した。パン生地発酵力は、3%NaClを含むYPS培地\*で振盪培養した湿菌体 (固形分33%) 0.2g、スクロース0.5g、蒸留水6.5mlおよび小麦粉10gで調製したパン生地からのガス発生量(ml/2h)として測定し、市販パン酵母分離株(NBY)と比較した。

**結果)** 2007年6月~7月に十勝支庁管内で採取した果実、花など215点を50 μg/mlクロラムフェニロールを含むスクロース培地10mlに接種して30℃で集積培養した。4日後にその一部を別の同培地に植え継いでさらに4日間培養を継続し、培地重量が0.2g以上減少した試料から50株の酵母(AK01~AK50)を純粋分離した。これらの菌株を10mlのスクロース培地および糖蜜培地でそれぞれ静置培養して上清のエタノール量を測定したところ、対照株NBRC 2018を凌ぐ菌株はなかった。比較的良好であった8株 (AK30, 35, 40, 42, 43, 45, 46, 49) を糖蜜培地150mlで通気を制限して振盪培養すると、対照株NBRC2018よりも発酵速度がやや劣るものの3日目のエタノール量は約90mg/mlに達した。一方、これら8株のパン生地発酵力には菌株間の差異が認められたが、対照株NBYの80%程度の発酵力を示してパン製造に適用可能な菌株も見出された。Y. Oda & K. Tonomura (1993) *Food Microbiol.*, 10, 249-254

## A-8

### コンブ仮根 (ガニアシ) の育毛、発毛効果

西澤 信<sup>1</sup>、山岸 喬<sup>2</sup>、杉本達芳<sup>3</sup>、木内俊一郎<sup>4</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物、<sup>2</sup>北見工大、<sup>3</sup>ガニアシ研究会、<sup>4</sup>北野病院)

我々は養殖コンブ仮根 (ガニアシ) を機能性食品素材として開発する研究を進めている。これまでに、ガニアシはカリウムなどミネラルを多く含むこと、癌細胞に対して細胞毒性を示すステロール酸化体を含むこと、抗腫瘍性を示すフコイダンを2種類含有することなどを明らかにしている。開発研究の一環として、臨床試験を実施したところ毛髪の育毛・発毛効果があることがわかったので報告する。

**(方法)** 被験者は20~70歳代の男性83名、女性28名の合計111名で、ガニアシ粉末250mgを含むカプセルを1日4錠 (朝晩2錠づつ)、6~8ヶ月間服用させた。育毛、発毛効果の判定は月1回、被験者の自己評価のほか体表温度測定、マイクロスコープ撮影、写真撮影を行い、それらの結果から4段階評価した。(0:無効、1:やや有効、2:有効、3:著効)

**(結果と考察)** 服用開始1ヶ月目から被験者の約10%で著効、20%で有効と認められた。その後、著効、有効の割合は増加し、6ヶ月目には著効37%、有効40%となった。有効率 (著効+有効) は4ヶ月目以降70%を越えていた。また、美肌などの自覚症状も改善効果も認められ、ガニアシには体調改善効果もあるものと考えられる。

ガニアシに含まれているフコイダンは老化促進マウスによる試験で、末梢血中のアディポネクチンの減少を抑制することから、末梢血管の血流増加などが示唆されているが、発毛・育毛効果の詳細は今後の検討課題である。しかし、これまで経口投与により発毛、育毛効果が確認された例はなく、特に20~30代の男性と、50代の女性でも著効例が出たことは注目される。

## A-9 ラット腸管においてトウモロコシZein加水分解物は、内分泌細胞への直接的、間接的作用により消化管ホルモンGlucagon-like peptide-1分泌を刺激する

持田 泰佑<sup>1</sup>、比良 徹<sup>2</sup>、原 博<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>北大農、<sup>2</sup>北大院農)

【背景】我々は、ラット腸管において消化管内分泌細胞(L細胞)で産生される消化管ホルモンGlucagon-like peptide-1 (GLP-1)の分泌が、トウモロコシの難消化性たんぱく質Zein加水分解物(ZeinH)によって刺激されることを見出した。その分泌活性は、L細胞の発現度が高い下部小腸において強く、発現度の低い上部小腸において弱く見られた。

【目的】本研究では、ZeinHによるGLP-1分泌刺激が、L細胞への直接的な作用によるか、迷走神経を介した間接的な作用によるかを明らかにするため、Capsaicin処理により迷走神経求心路を破壊したラットを用いて小腸の部位別に検討した。

【方法】Zeinをパパイン処理(55、60分)することでZeinHを調製した。7週齢SD系雄ラットの食道にある迷走神経幹へCapsaicin、またはVehicle(オリーブオイル)を塗付し、採血用のカニューレを門脈に留置した。十二指腸、空腸、回腸結紮ループを作成し、各部位へZeinHを単回投与した。投与前後の門脈血を、留置したカニューレより経時的に採取し、血漿中GLP-1濃度をELISAにより測定した。

【結果・考察】十二指腸結紮ループへのZeinH投与により誘導されたGLP-1分泌は、Capsaicin処理により消失した。空腸、回腸結紮ループへのZeinH投与によるGLP-1分泌は、Capsaicin処理による影響を受けなかった。これらの結果により、十二指腸に投与されたZeinHは、迷走神経を介して下部小腸のL細胞へシグナルを伝達してGLP-1分泌を刺激するという間接的機構が存在することが示唆された。また、空腸、回腸においてはZeinHがL細胞に直接認識されてGLP-1放出を刺激していると考えられた。

## A-10 ラット大腸粘膜固有層からの免疫系細胞分離法の検討と機能解析

岡浩輔、李載星、原博、石塚敏 (北大院農)

【研究背景】当研究室の以前の研究から、生理的状态においても食物繊維食を与えることにより、ラットの盲腸でCD8<sup>+</sup>T細胞とCD161<sup>+</sup>NK細胞の局在が組織化学的に結果として得られた。一般に免疫系細胞の機能解析には当該組織から免疫細胞を分離する必要がある。そこで、すでに確立されたラット小腸粘膜固有層リンパ球(LPL)分離法を応用し、大腸LPL分離法の確立と機能の解析を目標とした。

【方法】小腸LPL分離法を基にして大腸LPLの分離を試みた。小腸と大腸の組織量の差を加味し、Dithiothreitol、EDTA、およびcollagenase処理を行う時間を検討した。回収されてきたLPLをフローサイトメトリーに供し、FSC-SSCプロットによるリンパ球サブセットの領域の探索、抗体処理したリンパ球の表面抗原の解析を行った。

【結果及び考察】大腸LPL分離法は小腸LPL分離法を改変させることで可能となった。大腸の中でも盲腸と結腸では機能が異なると考えられている。そこで、盲腸、近位結腸を含む近位大腸と中位、遠位結腸と直腸を含む遠位大腸とに大腸を二分してLPLの分離回収を行った。FSC-SSCプロット解析の結果、遠位大腸と近位大腸では回収されてくる細胞が異なるということを見出した。また、細胞の表面抗原解析では近位大腸のCD3<sup>+</sup>細胞が、遠位大腸や小腸に比べて非常に少ないことが分かった。さらにCD8<sup>+</sup>細胞にはCD8<sup>int</sup>とCD8<sup>high</sup>の画分があることが確認された。

これらの結果から小腸と大腸だけでなく、大腸においても部位の違いによってLPLの特徴が異なるということが分かり、腸内細菌と関連したプレバイオティクスやプロバイオティクスの機能解明の一助となるかもしれない。

## A-11 ヒドロキシ桂皮酸およびヒドロキシ安息香酸誘導体がヒト骨髄性白血病由来株U937の増殖に及ぼす効果

村井陽徳、木村卓郎、佐藤 敦 (道東海大工)

**研究背景)** プロポリスから単離されたcaffeic acid phenethyl ester (CAPE)は、抗炎症作用などを有する化合物であり、また、ヒト骨髄性白血病由来株U937など動物細胞に対して比較的低濃度でその増殖を抑制する。しかしながら、遊離のカフェ酸の細胞増殖抑制活性は、CAPEと比較して非常に弱い。本研究では、CAPEの構造活性相関研究の一環として、そのアルコール部分の効果を検討した。

**方法)** Caffeic acid、ferulic acid、protocatechuic acidおよびgallic acidのmethyl~decyl esterを、酸触媒縮合反応により対応するアルコールから調製した。また、調製した各エステルの分配係数(logPow)は、ODSカラムを用いたHPLC法により推定した。

エステルの細胞増殖に及ぼす効果は、血球計算盤による計数ならびにMTT法によって得られた各エステル添加48時間後の細胞数を基に求められる50%増殖抑制濃度(IC<sub>50</sub>)により評価した。

**結果)** Methyl caffeate~pentyl caffeateまでの5種のエステルを用いてIC<sub>50</sub>とlogPowの相関を求めたところ、これらの相関は二次式によって近似された。このことから増殖抑制効果に最適な分配係数が存在することが明らかとなった。また、CAPEのIC<sub>50</sub>(22.8 μM)が、前述の近似式より分配係数を用いて得られる理論値(20.4 μM)とほぼ等しいことから、CAPEが示す細胞増殖抑制活性において、構造中のphenethyl alcohol部分は、分子の疎水性を調節しているものと予測された。

この予測を確認するため、現在、ferulic acid、protocatechuic acidおよびgallic acidのエステルの細胞増殖抑制活性を検討し、分配係数との相関を検討中である。

## A-12 網走産マタタビ[*Actinidia polygama* (Sieb et Zucc.)Planch.ex Maxim]の機能性について

永井 毅、老沼万里子、永島俊夫(東京農大食品科学)

**研究背景)** マタタビは、山地に自生し、実は熟成すると生食できるが、未熟のものは塩漬けや果実酒として利用される。一方、蕾みは塩蔵し、新芽は和え物などとして活用される。北方系植物のひとつである網走産マタタビは、収穫量は少ないものの、最北の地で収穫されることや、マタタビのもつ機能性の面からも注目を浴びている。さらに、近年、地元で収穫される素材を活用する動きもみられており、これらの低利用機能性素材の高度有効利用が期待されている。本研究では、網走産マタタビのもつ生体調節機能を検討することを目的とした。

**方法・結果及び考察)** 平成16年度収穫され、冷凍保存された網走産マタタビは洗浄後、へたを除去し、一般成分の測定に用いた。また、へたを除去したマタタビから抽出した水溶性画分を用いて、ポリフェノール含量や総ビタミンC含量を測定した。その結果、ポリフェノール含量は、北方系植物のハスカップと比較した場合、1/10程度と低いものの、ビタミンC含量は顕著に高く、同じマタタビ科のキウイフルーツのそれと比較しても約4-5倍であった。次に、水溶性画分の抗酸化性、活性酸素種捕捉効果ならびに、血圧降下作用を検討した。その結果、リノール酸の自動酸化を指標とした過酸化脂質生成阻害活性は、水溶性抗酸化剤のビタミンCと同程度の効果が認められた。ヒドロキシルラジカル消去活性では、1mMトコフェロールには及ばないものの、高い捕捉効果を示した。スーパーオキシドアニオンラジカル消去活性は、5mMアスコルビン酸より顕著に高かった。一方、ACE阻害活性を指標として血圧降下作用を検討したところ、そのIC<sub>50</sub>値は約65%であった。以上の結果より、網走産マタタビは、ビタミンC含量が顕著に高く、抗酸化性、活性酸素種捕捉効果ならびに、血圧降下作用の高い機能性素材であることが明らかとなった。

## B-1 メチロトローフ酵母 *Pichia methanolica* CTA1 のクローニングおよび発現応答解析

木下博貴<sup>1</sup>、吉田恭子<sup>1</sup>、松藤淑美<sup>1</sup>、藤村 朱喜<sup>1</sup>、宮地 竜郎<sup>1</sup>、冨塚 登<sup>1</sup>、中川 智行<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物産業・食品科学、<sup>2</sup>岐阜大・応用生物)

【目的】メチロトローフ酵母のメタノール代謝ではペルオキシソーム (Ps) に局在するアルコールオキシダーゼ (AOD) により多量のH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>が産生される。また、メチロトローフ酵母のカタラーゼ欠損株では、Ps誘導炭素源における生育が著しく阻害されることが報告されており (Horiguchi *et al.*, 2001)、代謝中間体として産生されるH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>のコントロールは、代謝を円滑に進める上で重要であると考えられる。そこで、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の消去系としてカタラーゼ (CTA) を代謝の重要なコントロール因子であると考え、*P. methanolica* CTAの一次構造決定および発現誘導解析を行った。

【結果および考察】*P. methanolica* CTA1 は1,533bpからなるORFを持ち、511残基の推定アミノ酸配列は他のメチロトローフ酵母と70.4-72.9%の高い相同性を示した。また、C末端側にはPs targeting signal type 1 (PTS1) 様配列が存在していた。*PmCTA1* の炭素源による誘導の違いを検討したところ、グルコースでは誘導されず、メタノールで強力な誘導が見られた。さらに、PTS1様配列を持つことからPs誘導炭素源であるオレイン酸、D-アラニンによる誘導を調べたところ、*PmCTA1* は強く誘導されPs誘導と関係があることが示された。次に、*PmCTA1* の細胞内局在を検討したところ、Psにその局在が見られた。これらの結果から、*PmCTA1* はメタノール代謝をはじめ、Psで行われる代謝系において産生される代謝中間体H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の無毒化を担っており、各炭素源による転写レベルで制御されるというPs代謝系に非常に重要な因子であることが考えられる。

## B-2 メチロトローフ酵母 *Pichia methanolica* PEX5 欠損株によるペルオキシソーム輸送の解析

小澤正太郎<sup>1</sup>、伊藤尚志<sup>2</sup>、松藤淑美<sup>1</sup>、藤村 朱喜<sup>1</sup>、宮地 竜郎<sup>1</sup>、冨塚 登<sup>1</sup>、中川 智行<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物産業・食科、<sup>2</sup>筑波大院・生命環境、<sup>3</sup>岐阜大・応用生物)

【目的】メチロトローフ酵母のメタノール代謝は、アルコールオキシダーゼ(AOD)、ジヒドロキシアセトンシンターゼ(DHAS)、カタラーゼ(CTA)など様々なメタノール代謝酵素群により行われる。AOD、DHAS、CTAはペルオキシソーム(Ps)に局在し、Ps内ではじめて活性を示すことでメタノール代謝を維持しており、Ps局在型酵素群の正確なPsへの輸送機構は、メタノール代謝にとって必須であると考えられる。本酵素群はPs輸送シグナル配列であるPTS1様配列を保持していることから、そのレセプターである *P. methanolica* PEX5 欠損株を獲得し、Ps局在型酵素群のPs輸送機構について解析し、メタノール代謝でのPs輸送の重要性について考察した。

【結果および考察】AOD、DHAS、CTAのPTS1様配列をそれぞれ付加した緑色蛍光タンパク質GFPを *P. methanolica* 野生株細胞内で発現させたところ、それらのほとんどはPs局在を示した。一方、*P. methanolica* のPEX5 欠損である *pex5* 株を取得し、その表現系を観察した。*pex5* 株はグルコースには野生株と同等の生育を示したものの、Ps誘導炭素源であるメタノール、オレイン酸には全く生育できなかった。また、メタノール代謝酵素群の細胞内局在を解析したところ、全てのメタノール代謝酵素のPs局在はみられず、その活性は野生株に比べ著しく低下していた。

以上の結果からPex5pは、メタノール代謝酵素群のPs輸送および活性発現に重要であり、さらに、Pex5pを介したタンパク質輸送はPs代謝全体に関わることが明らかになった。

## B-3

### 出芽酵母のアセトアルデヒド応答とオレイン酸合成の制御

松藤 淑美<sup>1</sup>、藤村 朱喜<sup>1</sup>、谷 明生<sup>2</sup>、西澤信<sup>1</sup>、宮地 竜郎<sup>1</sup>、冨塚 登<sup>1</sup>、大山 徹<sup>1</sup>、中川 智行<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物産業・食科、<sup>2</sup>岡山大・資生研、<sup>3</sup>岐阜大・応用生物)

【目的】 アセトアルデヒド(AA)は二日酔いやシックハウス症候群の原因物質の一つとして知られる有毒な揮発性化学物質である。しかし、AAはアミノ酸代謝など様々な生体内反応において生産され、特に出芽酵母においてはアルコール発酵の際に大量に生産される重要な中間代謝物質である。よって、生物はAAの毒性を回避するために何らかの機構を有していると考えられる。これまでに、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* をモデル生物として解析を行い、本酵母はAAストレスにより細胞に含まれるオレイン酸の比率を増加させることを明らかにし、このオレイン酸の増加にはNADPHを供給するペントースリン酸経路(PPP)が重要な役割を果たしていることを示唆してきた<sup>1)</sup>。

本研究では本酵母のAAストレス耐性機構に関与する因子の網羅的探索を行い、その役割について考察した。

【結果・考察】 まず、二次元電気泳動法を用いてAA誘導性タンパク質を網羅的に探索した。その結果、AAストレスにより顕著に誘導されるスポットをいくつか見出し、MS/MS解析による同定の結果、4つの解糖系酵素(トリオースリン酸イソメラーゼ、グリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ、エノラーゼ、ピルベートデカルボキシラーゼ)であると同定された。さらに、解糖系遺伝子の欠損株の生育を比較したところ、PPPとの枝分かれ部分の反応に関与する *PFK1* と *TPI1*、アセチルCoAの生成反応に関与する *PDA1*、*PDB1* そして *PDX1* の欠損株がAA感受性となった。一方、その他の解糖系遺伝子の欠損株はAA耐性が上昇した。以上の結果から、糖代謝系の制御がオレイン酸合成に必要なNADPHとアセチルCoAの供給に重要であることが示唆された。

<sup>1)</sup> 松藤ら 2006年度 日本農芸化学会 大会要旨集

## B-4

### 低温性イヌリン分解微生物のスクリーニングとDFA 生成

藤村 朱喜<sup>1</sup>、古本 美恵<sup>1</sup>、宮下 美香<sup>2</sup>、西澤 信<sup>1</sup>、宮地 竜郎<sup>1</sup>、中川 智行<sup>3</sup>、冨塚 登<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・生物産業・食品科学、<sup>2</sup>製品評価技術基盤機構NBRC、<sup>3</sup>岐阜大・応用生物)

【目的】 イヌリンは、キク科やユリ科の植物の根に多く含まれる天然多糖類であり、健康食品素材として食品産業での需要が大きい。また、このイヌリンを低分子化するイヌラーゼにより生成する機能性甘味料イヌロオリゴ糖(環状イヌロオリゴ糖、ジフルクトース・ジアンヒドリド[DFA III])は、新食品素材の開発等、食品産業で脚光を浴びている。本研究では低温性イヌリン資化性微生物を分離し、イヌリン分解酵素による有用オリゴ糖生産を目指した。

【方法および結果】 イヌリンを唯一の炭素源とし、5℃にてスクリーニングを行ない、Y-1およびW-1の2株を分離した。両株は30℃で良好に生育し、また5-15℃においても生育することから、耐冷性微生物であった。Y-1およびW-1株は16s rDNA配列から *Arthrobacter nicotinovorans* および *A. ilicis* と同定された。両株のイヌリン分解産物について検討したところ、TLCパターンが *Arthrobacter* sp.由来イヌラーゼ II<sup>1)</sup> によるイヌリン分解パターンと一致していた。さらに、主要TLCスポットを回収し、MSおよびNMRによる構造解析を行った結果、本スポットはDFA IIIと同定された。

<sup>1)</sup> Yokota A., et al., 1991. *J. Ferment. Bioeng.* 262-265.

## B-5 細菌の多価不飽和脂肪酸合成経路 - エイコサペンタエン酸中間体の検出 -

折笠善丈<sup>1,2</sup>、西田孝伸<sup>1</sup>、森田直樹<sup>3</sup>、奥山英登志<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院地球環境、<sup>2</sup>(現)北大院工、<sup>3</sup>産総研)

**研究背景** 細菌のドコサヘキサエン酸(DHA)とエイコサペンタエン酸(EPA)は、*pfa* 遺伝子群(*pfaA-pfaE*)によってポリケチドと同じ様式でde novo合成されると考えられているが、確証はない。大瀧ら(2003)が提唱する合成経路では、炭素数8(C8)からC20又はC22に至る 2、3ないし 4位に二重結合をもつ種々の多価不飽和脂肪酸が中間体として存在することが予想されている。本研究では、細菌によるEPA合成経路の解明を目的に、EPA合成能力の著しく高い大腸菌形質転換株を用いて微量に存在すると考えられる中間体脂肪酸の検出を試みた。

**方法・結果及び考察** *Shewanella pneumatophori* SCRC-2738株由来の*pfa* 遺伝子群を含むベクター(pBA-NEB 1,3,4,9)を導入した大腸菌DH5 を、LB液体培地に於て20、48時間培養した。EPAは菌体の全脂肪酸の約25%であった。脂肪酸メチルエステルをピロリジル化し、ガスクロマトグラフィー質量分析に供した。予想される中間体脂肪酸の分子イオン[M+H]<sup>+</sup>の質量数でスキャンしたところ、C18:1(11)のピークに近接してM/Z=302に相当するピークが認められた。その成分は、マスパターンが4,7,10,13に二重結合の存在を示すことからC16:4(4,7,10,13)であると同定された。C16:4(4,7,10,13)はEPA合成の前駆体と考えられており、この脂肪酸の存在は提唱されているEPA合成経路が実際に機能していることを示唆するものである。

**参考文献** Ootaki et al. (2003) Advanced research on plant lipids. pp.49-52

## B-6 *Photobacterium profundum* SS9のSfp型phosphopantetheinyl transferase 遺伝子のクローニングと同遺伝子の多価不飽和脂肪酸合成への関与

杉原慎二<sup>1</sup>、折笠善丈<sup>2,3</sup>、奥山英登志<sup>1,3</sup> (<sup>1</sup>北大理、<sup>2</sup>(現)北大院工、<sup>3</sup>北大院地球環境)

**研究背景** エイコサペンタエン酸(EPA)を合成する好冷、好圧細菌*Photobacterium profundum* SS9(以下SS9)はそのゲノムが解析され、EPA合成に関わると予想される*pfa* A,B,C,D遺伝子は既にクローニングされている<sup>a</sup>。しかし、EPA合成に必須とされるSfp型phosphopantetheinyl transferase(PPTase)遺伝子である*pfaE*は単離されていない。データベースから予想されるSS9のSfp型PPTaseは大腸菌のEntDタイプである<sup>b</sup>が、これまでEntDタイプのPPTaseが多価不飽和脂肪酸(PUFA)合成に関与するという報告はない。本研究ではSS9のSfp型PPTase(EntDタイプ)遺伝子を単離し、この遺伝子がPUFA合成に関わるか(*pfaE*機能をもつか)否かを検討した。

**方法・結果及び考察** SS9のゲノム<sup>c</sup>を鋳型にし、そのEntDタイプPPTaseのアミノ酸配列を基に作成したプライマーを用いてPCRを行い、PPTase遺伝子をクローニングした。この遺伝子(pET21a::PPTase)と*Moritella marina* MP-1由来の*pfaE*だけを欠くDHA合成遺伝子(*pfaA-D*; pDHA3)を大腸菌DH5 で共発現させたところ、形質転換体の全脂肪酸の2%がDHAであった。この結果からSS9のEntDタイプPPTaseはDHA合成遺伝子を相補すること、即ちEntDタイプのPPTaseも*pfaE*と同様、PUFA合成に関与しうることがわかった。今後は大腸菌のEntD自身がPUFA合成に関わることを確認したい。

<sup>a</sup>Allen and Bartlett (2002), <sup>b</sup> Oriyasa et al. 2006, <sup>c</sup> D. Bartlettより分譲された。

## B-7 海洋性哺乳類の表皮脂質、とくにスフィンゴ脂質の化学的組成

柚木恵太<sup>1</sup>、石川創<sup>2</sup>、福井豊<sup>1</sup>、大西正男<sup>1</sup>（<sup>1</sup>帯畜大・畜産科学、<sup>2</sup>日本鯨類研）

【緒言】乾燥ストレスに曝されている陸生哺乳類の皮膚は細胞間脂質マトリックスで構築されている角質層で覆われており、セラミドを主成分とする脂質マトリックスは過剰な経皮水分蒸散を防ぐバリアー機能の役割を担っている。ヒトを含めて陸生動物の表皮スフィンゴ脂質の組成についてはこれまで詳細に研究されているが、乾燥ストレスとは無縁である海洋性哺乳類についてはほとんど分かっていない。そこで今回、鯨の表皮部の脂質成分、とくにスフィンゴ脂質の化学的組成を明らかにしようとした。

【方法と結果】南氷洋において調査捕獲された黒ミンク鯨（成熟と未成熟の各6頭）から、黒皮部（表皮最外層）と脂皮部を分離した。Folch法により抽出した全脂質から、ケイ酸カラムクロマトグラフィーによって複合脂質画分を調製した。主要な複合脂質クラスとして、2種のグリセロリン脂質の他にセレプロシド（CE）、コレステロール硫酸およびスフィンゴミエリン（SM）が認められた。黒皮のCEとSMの構成脂肪酸としては、共通してC34までの超長鎖非ヒドロキシモノ不飽和タイプが検出され、とくに前者ではその割合が高値であった。また、CE中には、C34までの - ヒドロキシモノ不飽和脂肪酸に加えて、微量の - ヒドロキシ脂肪酸（32:1と34:1）も検出され、これはアシル-CEに由来するものと考えられた。構成スフィンゴイド塩基としては、両スフィンゴ脂質ともに4- スフィンゲニン（64%）が最も多かったが、C16同族体（21%）も著量検出された。CEの構成糖としては、グルコースが67%、ガラクトースが33%であり、 - ヒドロキシ脂肪酸はガラクトース含有型として存在することが示された。このように、海洋性哺乳類である鯨の表皮スフィンゴ脂質は、陸生哺乳類とは大きく異なり、大部分が糖およびリン酸コリン含有型として存在し、その構成脂肪酸は不飽和の超長鎖タイプであることが明らかとなった。

## B-8 Gellan gum を用いたsoft gelによる土壌細菌窒素固定能の評価

原新太郎、田原哲士、橋床泰之（北大院農）

【研究背景】通常、単生窒素固定細菌の培養と窒素固定能評価には液体培地や0.2%程度のagarをマトリックスに用いたsoft gelが広く用いられる。本研究では0.3% gellan gumを用いた soft gelの性能評価を試みた。

【方法・結果及び考察】アゾトバクター用のWinogradsky's無機塩培地（マンニトール0.05%含有）を基礎培地とした無窒素液体培地、agar gel、およびgellan gum gelを用いて東シベリア・グイマツ林床および北海道静内コーン畑の土壌微生物群集を培養し、アセチレン還元活性を測定した。液体培地や0.2% agar 培地では、全てのサンプルでアセチレン還元活性はほとんど認められなかったが、0.3% gellan gumをマトリックスとした培地では高いアセチレン還元活性を示した。リファレンスとした*Beijerinckia indica* subsp. *indica* IFO 3744株を10 mlの培地で培養した後、7日間アセチレン還元に供すると、agar gelでは0.98  $\mu$ l、gellan gum gelでは17.71  $\mu$ lのエチレンが遊離し、液体培地では活性が認められなかった。また、gellan gum gelの物理化学的条件を現地土壌環境に近づけるほど東シベリア土壌微生物群集のアセチレン還元活性が増加することから、この培地では土壌環境や菌叢がよく再現されていると推察された。gellan gumが土壌微生物群集の窒素固定能を発揮させる要因として、これがagarとは異なり細菌由来の多糖である点が挙げられる。本研究の結果から、gellan gum gelは生態系内の窒素固定能を研究する上で実用的な培地であると結論した。現在、シベリア土壌から単離・同定した*Burkholderia xenovorans* および*Pseudomonas* sp.で同様にgellan gum soft gelの評価を行なっている。

## B-9 *Methylobacterium* sp.と*Sphingobium yanoikuyae*の二者関係

林裕樹、田原哲士、橋床泰之 (北大院農)

**背景)** 本研究ではピレンを唯一の炭素源として*Sphingobium yanoikuyae*の培養を試みており、条件検討に際し培養条件として、窒素源に硝酸カリウムもしくは硝酸カルシウムを選び、その分解能向上の検討を行なった。その際、コロニーが赤く呈色したため、その原因を探ろうとした。

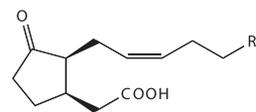
**実験及び結果)** 赤色細菌の再分離及び16S rRNA遺伝子領域相同性解析により、*Methylobacterium* sp.であることが分かった。*Methylobacterium*はグラム陰性、 $\gamma$ -プロテオバクテリアに属し、環境中ではC1,C2といった比較的単純な化合物の代謝を担っている。したがって、この細菌の出現が生体異物分解の、とりわけ末端に寄与するのではないかと考えられる。硝酸カリウムを窒素源として加えた場合、*Methylobacterium*のみに完全に置き変わった。一方、硝酸カルシウムを窒素源として培養を行なうと*Methylobacterium*と*S. yanoikuyae*の両者が出現した。窒素源を加えなかった際には*S. yanoikuyae*のみが増殖した。したがって、カルシウムを含む土壌では、*Methylobacterium*は*S. yanoikuyae*と共存し、生体異物分解系に関わっている可能性があるかと推測した。以上の現象から、両細菌の優占性決定要因は何なのかを現在検討している。

## B-10 植物の傷害応答時におけるジャスモン酸の代謝研究

佐藤 千鶴<sup>1</sup>、葵 新<sup>2</sup>、瀬戸 義哉<sup>2</sup>、鍋田 憲助<sup>3</sup>、松浦 英幸<sup>2</sup>  
(北大農<sup>1</sup>、北大院農<sup>2</sup>)

**研究目的)** 植物が毛虫などの虫害を受けた場合、傷害を受けた部位より緊急を知らせるシグナルが非傷害部位へ発せられ、更なる攻撃に備える。緊急の知らせを受信した非傷害葉(部位)ではpathogenesis related proteinや草食昆虫の消化酵素を阻害するproteinase inhibitorの蓄積、毛虫の天敵を呼び寄せる揮発性成分の発散などが誘導される。飛び火した、または新たに攻撃してきた病原虫の侵入を食い止めるための重要な応答機構の一つと考えられる。一般に病虫害による細胞壊死を伴う傷害に対する防御システムは傷害性全身獲得抵抗性と呼ばれ、植物は毛虫等の食害を受けた際、即応的にジャスモン酸(JA)を合成する。緊急を知らせるシグナルとしてのJAの可能性が示唆されている。しかしながら、即応的に生合成されたJAの代謝については研究が行われていない。本研究は傷害応答時におけるJAの主代謝類解析を目的とした。

**方法・結果及び考察)** 植物界でのJA、ツベロン酸(TA)、ツベロン酸グルコシド(TAG)の普遍的存在、ならびにグルコシル化酵素活性の普遍性が確認できた[1]ことから、JA、TA、TAGへの代謝経路について検討した。タバコ(*Nicotiana tabacum*)を用い、葉全体にピンセットで傷害を施した。1、2、3、24時間後のJA、TAおよびTAG内生量を測定した結果、JA、TA、TAGはそれぞれ1、2、3時間後に内生量のピークを迎えた。ピーク時のJA、TA、TAG内生量はそれぞれ5.42、2.49、9.75 nmol/FW gであった。



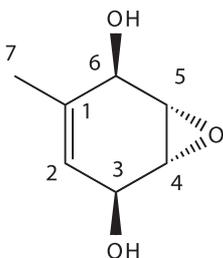
R=H, JA(ジャスモン酸)  
R=OH, TA(ツベロン酸)  
R=O- $\beta$ -D-glc, TAG(ツベロン酸グルコシド)

[1] Seto, Y, et al., 2006年度 日本農芸化学会本大会講演要旨集,

## B-11 ラベル体を用いたtheobroxideの代謝研究

松浦英幸、上松誠、太田希岐、葵新、鍋田憲助（北大院農）

**研究目的** 糸状菌、*Lasiodiplodia theobromae* はジャスモン酸などの興味ある生理活性物質を生合成し、培養濾液へ放出する。本菌が作り出す他の興味ある生理活性物質として図に示すセオプロキシド(1)があげられる。本化合物は葉面散布による内生ジャスモン酸含量上昇効果、ジベレリン内生含量減少作用、また、パレイショ塊茎増収効果、アサガオ花芽誘導促進効果、ホウレンソウ抽臺抑制効果が報告されている。しかしながら、興味ある生理活性の報告はあるが、1の代謝に関する報告例は無い。本報告では1のラベル体(2,3)を用いた代謝実験で見知が得られたので報告する。



セオプロキシド (1)

**方法・結果及び考察** 重水素ラベルセオプロキシドは高橋らの1の全合成報告 [1]に基づき、7位のCH<sub>3</sub>がCD<sub>3</sub>と置き換わった[7,7,7-<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]-theobroxide (2)を合成した。セオプロキシドの6位がoxo型のepiepoformineを出発原料に6位の水素がトリチウムラベル化された[6-<sup>3</sup>H<sub>1</sub>]-theobroxide (3)を合成した。イネの explantを用いた実験ではアイソトープ検出器を用いたHPLC分析により、3の葉部への移動が確認され、代謝を受けずの3形態で留まる事を確認した。また、蓄積される1の含有量に関しては2を内部標準として用い、定量する事に成功した。葉面散布実験では非散布部位での放射活性が確認できなかった事から、葉面への施用では移動は起こらないと結論した。

[1] Takahasi, K. et. al., *Tetrahedron lett.*, 36, 1685-1688 (1995).

## B-12 トマト (*Solanum lycopersicum*) のアンジオテンシン 変換酵素阻害活性物質について

田中聖、西村弘行（道東海大院）

**1. 目的** 近年、食生活の欧米化にともない日本人の死因の30%を動脈硬化症に伴う各種疾病が占めている。発症要因は様々あるが、なかでも高血圧予防に着目し、降圧作用に関連したアンジオテンシン 変換酵素 (ACE) 阻害活性をもつ食材をスクリーニングしてきた。その中でトマトに比較的高い活性があることが判明した。先行論文を調査したが、トマトにそうした活性があることは未だ報告されてない。広く一般に知られているように、トマトはリコピンをはじめとする強い抗酸化活性物質を有しており、抗動脈硬化食材としての期待ができる。トマトがもつACE阻害活性を解明し、抗動脈硬化食材としての可能性を追究した。

**2. 方法** 仁木産トマトをエタノールにて約1ヶ月間浸漬し、トマト成分を抽出した。常法に従い、活性成分を精製した。また、これを核磁気共鳴装置 (NMR) や質量分析計 (MS) での測定に供し、化学構造を決定した。

**3. 結果および考察** 酢酸エチル可溶成分のうち、フェノール性成分に比較的高い活性を見出した。さらに各種クロマトグラフィーを用いて精製を行い、活性成分の単離に成功した。これらについて、前述の方法に従い、その化学構造の決定を行った。その結果、この物質は“Naringenin”(図1)であることを同定した。現在、活性の強度やNaringenin含有量など品種間での程度差があるのかを検討している。

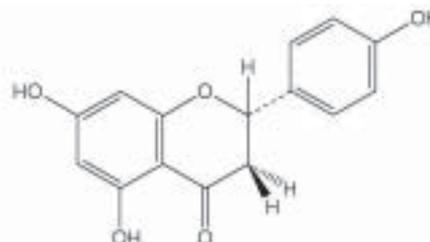


図1.Naringenin の化学構造

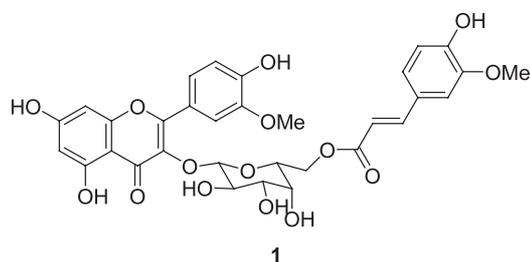
## B-13

### ガマ(*Typha latifolia* L.)の穂由来の新規フラボノール配糖体

渡辺悟史<sup>1</sup>、柴田敏郎<sup>2</sup>、細川敬三<sup>3</sup>、川端潤<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農、<sup>2</sup>医薬基盤研・薬植セ・北海道、<sup>3</sup>兵庫大健康科)

**目的：**腸リパーゼ阻害物質は小腸における脂質の吸収を抑制することにより、肥満や生活習慣病の予防や治療に貢献できると考えられる。この目的で、北海道産植物ライブラリ中よりリパーゼ阻害物質の探索を行っている。<sup>1)</sup>スクリーニングにおいて高活性を示したガマ(*Typha latifolia* L.)の穂より、活性本体を探索する過程で新規イソラムネチン配糖体を単離した。

**方法および結果：**ガマの穂の70%メタノール抽出物を水と酢酸エチルで溶媒分配し、活性を示した酢酸エチル可溶画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル)、逆相ODSカラムクロマトグラフィー(40%アセトニトリル)、HPLC(ODS, 0.1%ギ酸含有25-35%アセトニトリル)に供して主活性成分の分画・精製を行った。最後のHPLC分取成分のうち、活性の低い部分から化合物1を単離し、各種機器分析に供した。1はFAB-MS(negative)より $C_{32}H_{30}O_{15}$ の分子式をもち、各種2D NMR測定結果から、その構造を新規フラボノール配糖体であるisorhamnetin-3-O-(6-O-feruloyl)- $\beta$ -D-galactosideと決定した。また、同じ画分より1の類縁体を数種単離し、現在構造解析中である。



1) 渡辺ら、日本農芸化学会2007年度大会要旨集、3B01a13.

## C-1 ミズバショウの越冬芽に含まれるレクチンの精製とその構造

中川雄一郎<sup>1</sup>、齊藤明広<sup>2</sup>、桃木芳枝<sup>1</sup>、小栗秀<sup>1</sup>（<sup>1</sup>東農大・生物生産、<sup>2</sup>千葉大・園芸）

**目的)**レクチン（赤血球凝集素）は、植物の根、種子等の貯蔵器官に分布するタンパク質である。植物レクチンの中には種々の抗生物活性を示すものも含まれる。我々は、北海道の薬用植物から新規レクチンをスクリーニングする過程で、単子葉植物サトイモ科ミズバショウ（*Lysichiton camtschaticensis* L. Schott）の冬芽に特異的に出現するレクチンを見出し、その性質と一次構造を明らかにした。

**方法)**本学網走寒冷地農場内に自生するミズバショウを材料に用いた。活性はウサギ赤血球の凝集を指標に測定した。

**結果及び考察)**レクチン活性はミズバショウの芽に含まれ、根、地下茎、展開した葉、花序および種子には検出されなかった。芽に含まれるレクチン活性はPBS抽出後、陰イオン交換カラムクロマト上で5成分に分離され、その主要画分（LCL1）を精製した。SDS-PAGEおよびゲルろ過上の挙動からLCL1は12kD (Large) と11kD (Small) の2種のサブユニットが非共有結合により会合した4量体と示唆された。両サブユニットのN末端配列と内部アミノ酸配列を分析した後、これらの情報をもとにLCL1の全長をコードするcDNAを単離した。LCL1の2つのサブユニットは同一のmRNA上にコードされており、翻訳後にプロセシングされて派生すると推定された。サブユニット間のアミノ酸配列は45%の相同性を示した。LCL1のアミノ酸配列はサトイモ科に属するタロイモ、カラスビシャク、アルム塊茎レクチンのアミノ酸配列と約50%の相同性を示した。また、ヒガンバナ科、ユリ科植物の鱗茎由来の-D-マンノース結合性レクチンに保存される糖結合モチーフが両サブユニットに見出された。LCL1の赤血球凝集活性はメチル-D-マンノシドなどの単糖では阻害されず、糖タンパク質ではシアロフェツインとウシ顎下腺ムチンの添加で阻害された。

## C-2 イネの生育における *Klebsiella oxytoca* M5a1カタラーゼ高生産変異株の影響

森田亜紗美<sup>1</sup>、戸田篤司<sup>1</sup>、秋本正博<sup>1</sup>、奥山英登志<sup>2</sup>、湯本勲<sup>3</sup>、森田直樹<sup>3</sup>、大和田琢二<sup>1</sup>（<sup>1</sup>帯畜大・畜産科学、<sup>2</sup>北大院・環境科学、<sup>3</sup>産総研（AIST））

**【研究背景】**植物体には種々の内生菌が見出されており、エンドファイトと呼ばれている。本研究では、窒素固定能を有するエンドファイト、*Klebsiella oxytoca* M5a1を用い、これに *Vibrio rumoiensis* 由来のカタラーゼ高発現遺伝子 *vktA* を導入して高カタラーゼ株(HC株)を構築し、宿主イネの生育に与える影響とそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

**【方法】***Vibrio rumoiensis* 由来 *vktA* 領域(4.9kbp)は、広宿主域ベクター pBBR1MCSを用いてエレクトロポレーション法により *K. oxytoca* M5a1に導入された。接種試験の宿主には、イネ〔*Oryza sativa* (L.) cv. Kasalath〕を用い、予備発芽後のイネの根を菌液に1時間浸した後、ポットに植え、明期23.5 14h暗期20 10hで50日間栽培した。菌体の窒素固定活性は、ガスクロマトグラフィーを用いたアセチレン還元活性(ARA)により測定した。また、インドール酢酸(IAA)はサルコフスキー法により測定した。

**【結果】**HC株は、親株と比較して約100倍のカタラーゼ活性を示した。HC株の増殖は初期にやや遅れが生じたが、30時間後には親株とほぼ同程度になった。HC株を宿主イネに接種した結果、植物体長が促進されると共に、根の本数や長さ、生重量に有意な増加が認められた。HC株の窒素固定活性(ARA)と培養菌液中のIAA量を親株と比較した結果、ARAは反応開始後24時間で約30倍に高まった。またIAA量は培養開始から48時間後には16倍程度にまで増加し、IAA合成酵素(トリプトファンアミノトランスフェラーゼ)活性の高揚が見られた。これらの結果から、高カタラーゼ化により、菌体の窒素固定活性(ARA)とIAAの生産量が増加し、宿主イネの生長が促進された可能性が示唆された。

## C-3

### ごぼう<sup>1F</sup>-fructosyltransferaseによるイヌロオリゴ糖の合成

阿部雅美、石黒陽二郎、小野寺秀一、塩見徳夫 (酪農大院、食品栄養科学)

**目的)**ごぼうには重合度3から約30のフルクトース重合体が含まれているが、日本以外の国で食用としている国は少ないため、その生合成に関する研究はほとんど行われていない。本研究では、このフルクトース重合体の合成に関する<sup>1F</sup>-fructosyltransferase (1-FFT) の精製を行い、精製酵素によるイヌロオリゴ糖の合成を行った。

**方法)**ごぼう抽出液から硫酸分画、DEAE-Sepharose, Toyopearl HW-55S, Sephadex G-100などの各種クロマト操作を行い、電気泳動的に単一に1-FFTを精製した。この1-FFTを、fructoseと1-kestoseから成る混合基質と反応させてイヌロオリゴ糖の合成を行った。反応液を活性炭・セライトカラムクロマトグラフィーに供し、3%エタノール画分について調製用HPLCを用いイヌロオリゴ糖を単離した。得られたイヌロオリゴ糖について、TOF-MS分析により分子量を測定し、メチル化糖のメタノール分解物についてガスクロマトグラフィー分析を行い、さらにNMR分析を行うことにより構造を決定した。

**結果)**本酵素の至適pHは6.5、4、24時間の処理でpH 5~7で安定であった。15分間の熱処理において50℃まで安定であった。活性炭・セライトカラムクロマトグラフィーによって単離されたイヌロオリゴ糖の分子量は342であり、完全メチル化誘導体分析及びNMR分析の結果からイヌロピオースであることが確認された。このことから、本酵素は1-kestoseを基質としたときnystoseを生成するが、この反応の他に、fructoseと1-kestoseの混合基質からイヌロピオースを生成する反応も触媒することが確認された。すなわち、fructoseを受容体とした転移反応を触媒することが明らかとなった。

## C-4

### *Rhizopus oryzae* および *Amylomyces rouxii* が生産するインベルターゼの諸性質

中野渡瞳、仲村憲治、三雲大、小田有二 (帯畜大・畜産科学)

**目的)**糸状菌 *Rhizopus oryzae* は乏しい栄養源でも旺盛に増殖することが可能で、対糖収率が乳酸菌よりもやや劣るものの、グルコースばかりでなくデンプンを糖化して純度の高いL-乳酸を生成するという特徴を有している。これまでに、*R. oryzae* はスクロースの発酵性が低い、*R. oryzae* と分類学的に近縁な *Amylomyces rouxii* はスクロースから活発に乳酸を生成すると報告されている。本研究では、スクロースを迅速に発酵する *R. oryzae* 菌株と *A. rouxii* によるスクロースからの乳酸生成とインベルターゼ活性の変動について調べた。

**方法)** *R. oryzae* NBRC 4785および *A. rouxii* CBS 438.75は、直立させた試験管(直径1.8cm)中のPDA寒天培地で増殖させた菌体を、乳酸発酵用培地(10%スクロース0.2%(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.065%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.025%MgSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O、2.5%CaCO<sub>3</sub>) 100mlに移植し、30℃、振盪培養した。

**結果)**両菌株による乳酸生成を追跡したところ、8日目まで培養日数に伴って増加した。乳酸生成速度は *R. oryzae* のほうが *A. rouxii* よりも早く、10日目での乳酸量は *R. oryzae* で89mg/ml、*A. rouxii* で74mg/mlに達した。*R. oryzae* のインベルターゼ活性は4~6日目に最高に達してから急減し、8日目には検出限界以下になった。一方、*A. rouxii* の活性は14日目まで上昇し続けた。両菌株の培養上清からインベルターゼを限外ろ過、DEAEトヨパールおよびButylトヨパールのカラムクロマトグラフィーによって部分精製した。両酵素の性質は類似していたが、*R. oryzae* の酵素は *A. rouxii* の酵素よりも耐酸性が低く、このような性質が培養上清中のインベルターゼ活性の差異のもとになっていると推定した。

## C-5 シアル酸含有糖鎖の大量調製を目指して 海洋性細菌由来シアル酸転移酵素の探索 - 山本 岳 (日本たばこ・糖鎖ビジネスユニット)

**研究背景)** 糖転移酵素を用いるグリコシル化は、目的とする糖の付加反応が一段階で終了する利点があるが、反応に用いることが可能な糖転移酵素の種類が限られているという問題があった。この問題は種々の研究開発により解決しつつあるが、未だ解決しなければならない課題を残している。

**結果及び考察)** 我々は、これまでにシアル酸転移酵素活性を示す細菌を20菌株以上単離している。これらの細菌を同定した結果、*Photobacterium* 属及び *Vibrio* 属にシアル酸転移酵素を生産する種が多いことが明らかになった。具体的には、2,3-シアル酸転移酵素生産菌株として、*P. phosphoreum* JT-ISH-467株、*Vibrio* sp. JT-FAJ-16株等がある。2,6-シアル酸転移酵素の生産菌株としては、*P. damselae* JT-0160株、*P. leiognathi* JT-SHIZ-145株等が挙げられる。*P. damselae* JT-0160株から精製したシアル酸転移酵素は、ラクトース、N-アセチルラクトサミンのいずれも良い基質とした。更に、この酵素が3-シアリルラクトース、2'-フコシルラクトース、N-アセチルガラクトサミンへもシアル酸を転移させることを明らかにした。*Vibrio* sp. JT-FAJ-16株の組換え体 2,3-シアル酸転移酵素は、糖受容体基質のアノマー選択性が極めて低く、メチル-β-ガラクトピラノシド、メチル-β-ガラクトピラノシドに対してほぼ同程度のシアル酸を転移した。また、ラクトースやN-アセチルラクトサミン等の2糖類に対してもほぼ同じ程度のシアル酸を転移する特徴的な糖受容体基質特異性を有していた。これら海洋性細菌から得られたシアル酸転移酵素は、いずれも大量供給が可能であり、またユニークな特異性を有することから、糖鎖工学上、有用な酵素になることが期待される。

## C-6 海洋性細菌由来のシアル酸転移酵素による ガングリオシド 合成 榎泰典<sup>1</sup>、上宮悠<sup>1</sup>、平塚宙子<sup>1</sup>、梶原ひとみ<sup>2</sup>、山本岳<sup>2</sup> (<sup>1</sup>帯畜大畜産科学、<sup>2</sup>日本たばこ・糖鎖ビジネスユニット)

**研究背景)** 細胞表面の複合糖質の機能解明はポストゲノム研究の中で、最も重要な課題の一つである。その目的達成には大量のかつ多種類の複合糖質が必要であり、様々な生理機能が期待できる。最近海洋性細菌由来のシアル酸転移酵素(STs)をクローン化した組み換え酵素として用いることにより、実用化レベルのガングリオシドのin vitro合成法を確立したので報告する。

**方法・結果及び考察)** 日本たばこ・糖鎖ビジネスユニットにより既に組み換え酵素として樹立しているSTsを数種、基質としてラクト及びガングリオ系列の糖脂質及びTriton X-100を用いて酵素反応を行った。今まで知られている動物由来のSTsと同じ触媒機能を有し、シアロシルパラグロポシド(SPG)をアシアロ糖脂質から簡便に合成することができた。また合成されたガングリオシドはSTsの基質特異性に対応して、シアル酸結合の異なるSPG即ち、2,3-SPGと2,6-SPGを効率良く合成し、その構造をシアル酸結合を区別できるモノクローナル抗体と種々の分析法により確認した。得られたガングリオシド、SPGを用いたインフルエンザウィルスへの結合能を調べると、動物由来のものとは差がなく、様々な生理機能解析に利用可能である。今後の応用が増々期待できる。

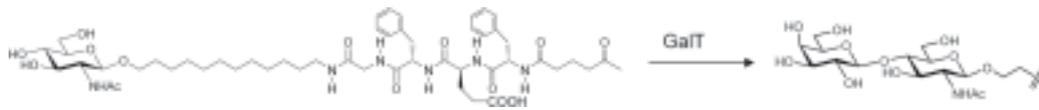
## C-7 糖転移酵素による糖脂質へのグリコシル化反応におけるシクロデキストリン類の効果

長島生<sup>1</sup>、清水弘樹<sup>1</sup>、西村紳一郎<sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup>産総研北海道、<sup>2</sup>北大院先端生命)

**研究背景)** 糖転移酵素は一般に基質特異性が高く、糖鎖の構造多様性を高度に制御しつつ糖鎖伸長反応を遂行する。当研究室ではこの特性を利用して糖鎖自動合成装置Golgi™を開発しているが、糖転移酵素による反応では基質は水溶性であることが必須であり、ターゲットとなる糖鎖が糖脂質の場合にはこの溶解性が問題になることが多い。そこで糖脂質の溶解性向上のために中性界面活性剤を添加することがあるが、界面活性剤の添加は質量分析法における反応モニタリングや生成物の精製などを困難にするといった不利益ももたらす。

シクロデキストリン (CD) はグルコースが 1-4 結合した環状糖鎖化合物であり、構成されるグルコース単糖の数が 6 つ、7 つ、8 つの  $\alpha$ -CD、 $\beta$ -CD、 $\gamma$ -CD などが市販されている。分子外側表面にヒドロキシル基が存在することから CD 分子自体は水溶性を示すが、環状構造の内部は疎水性が高く、一般に CD は「疎水性物質を水に溶解させる働き」を持つ。我々はこの CD の特性を利用して、糖転移酵素による難溶性糖脂質へのグリコシル化反応を高濃度で進める検討をした。

**方法・結果及び考察)** ガラクトース転移酵素 (GalT) を用いてグルコサミン糖脂質誘導体 (GlcNAc-OC<sub>12</sub>H<sub>24</sub>-GFEF-oxohex) にガラクトースを 1-4 導入 (Gal-1-4GlcNAc-OC<sub>12</sub>H<sub>24</sub>-GFEF-oxohex) した。CD 分子自体は水溶性を示すと述べたが、溶解度は先の 3 種類間で大きく異なり、25 °C で  $\alpha$ -CD は 150mM、 $\beta$ -CD は 16mM、 $\gamma$ -CD は 179mM である。そこで、 $\alpha$ -CD と  $\beta$ -CD については 10mM ~ 100mM まで段階的に、 $\gamma$ -CD については 10mM 添加することで、受容体である糖脂質誘導体 (GlcNAc-OC<sub>12</sub>H<sub>24</sub>-GFEF-oxohex) の反応の高濃度化を検討し、糖鎖大量合成への展開を計った。



## C-8 Streptococcus mutans 由来 Dextran Glucosidase M198W の結晶構造解析

本同宏成、佐分利亘、森春英、奥山正幸、木村淳夫 (北大院農)

**研究背景)** Dextran glucosidase はデキストランを還元末端から加水分解し、グルコースを生成する。我々はこれまでに、本酵素の Met198 を Trp に変えることにより、糖転移活性が上昇することを明らかにした。また野生型酵素の X 線結晶構造解析も行い、その基質認識機構を明らかにした。本研究では、M198W 変異体の結晶構造解析を行うことで、本変異体酵素の転移メカニズムの解明を目指す。

**方法・結果及び考察)** M198W の結晶化は、野生型酵素と同様にポリエチレングリコールを沈殿剤として行った。得られた結晶から、Cu を線源として X 線回折強度の測定を 100K で行った。その結果、2.2 Å までの回折像が得られ、 $R_{int}$  は 0.057 であった。このデータを用いて、野生型酵素の構造をサーチモデルとして分子置換法 (AMoRe) により位相を決定した。CNS 及び COOT を用いてモデルの構築及び精密化を行い、最終的なモデルの  $R$  値は  $R = 19.5\%$  ( $R_{free} = 24.4\%$ ) となった。

M198W の立体構造は野生型酵素とほぼ変わらず、フォールディングの大きな違いは見られなかった。しかしながら Trp198 の周辺に小さな変化が見られた。Met より大きな Trp が存在することにより、本来は接触しないはずの Ile138 や Ser209 と相互作用し、その側鎖の方向が変化していた。また Trp に変えることで活性部位により近い位置に存在することになり、基質である isomaltotriose の還元末端グルコースと相互作用することが期待された。M198W 変異体は isomaltotriose に対して、野生型酵素よりも小さな  $K_m$  を示すことがわかっており、この還元末端グルコースとの相互作用が基質結合に効果的に働くと考えられる。

## C-9 インゲンマメ登熟種子由来イソアミラーゼアイソザイムの酵素特性

瀬野浦武志, 高嶋美範, 濱田茂樹, 伊藤浩之, 松井博和 (北大院農)

**【目的】** イソアミラーゼ (ISA) はデンプンやグリコーゲンなどにみられる  $\alpha$ -1,6 グルコシル結合を加水分解する酵素である。植物には共通して3種のISA ホモログ (ISA1, ISA2, ISA3) が存在するが, 各ホモログの酵素化学的な性質についてはほとんど報告されていない。本研究では, インゲンマメ登熟種子から2種のISAを精製し, その反応特性を比較した。

**【方法および結果】** 登熟後期のインゲンマメ種子から, 各種カラムクロマトグラフィーにより2種のISAを精製した。一つは, ISA1とISA2からなるヘテロ多量体 (ISA1/2複合体) であり, その構成比は1:1と推察された。もう一方は, ISA3の単量体であった。ジャガイモ塊茎アミロペクチンおよびウサギ肝グリコーゲンに対し, 各精製酵素を作用させた結果, 2種の酵素間で明らかな基質選択性の違いが認められた。キャピラリー電気泳動によって遊離グルカン鎖の鎖長分布を解析した結果, ISA1/2複合体は様々な長さのグルカン鎖を遊離し, その分布は基質として用いたアミロペクチンおよびグリコーゲンの構成鎖長とほぼ一致していた。これに対して, ISA3は両基質に対してグルコース重合度3および4のグルカン鎖を特異的に遊離し, その他のグルカン鎖にはほとんど作用しなかった。植物において, ISAはデンプンの合成と分解の両方に関与すると考えられている。基質特異性の違いから, ISA1/2複合体とISA3は生理学的にも大きく異なる役割を担うことが示唆された。

## C-10 ジャガイモ塊茎 ADP-glucose pyrophosphorylase 調節 サ サブユニットへの ATP 結合が酵素活性に与える影響

和久田真司<sup>1</sup>, 尾花由美子<sup>2</sup>, 濱田茂樹<sup>1</sup>, 伊藤浩之<sup>1</sup>, Thomas W. Okita<sup>3</sup>, 松井博和<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農, <sup>2</sup>鹿大農, <sup>3</sup>ワシントン州立大)

**【研究背景】** 植物 ADP-glucose pyrophosphorylase (EC 2.7.7.27; AGPase) は, glucose 1-phosphate (G1P) と ATP からの ADP-glucose 合成を触媒する酵素であり, 調節および触媒サブユニットからなるヘテロ四量体として機能する。調節サブユニットにアロステリック因子である3-phosphoglycerate (3-PGA) および inorganic phosphate (Pi) が結合することにより, それぞれ活性化と阻害が起こる。両サブユニットの一次構造間には高い相同性が認められ, 調節サブユニットにも触媒残基や基質結合残基は保存されている。しかし, 調節サブユニットは触媒活性を保持しておらず, これらの残基の機能は明らかでない。これまでの研究で, 触媒サブユニット同様, 調節サブユニットにもATPが結合することを明らかにした。本研究では, ジャガイモ塊茎 AGPase を用いて調節サブユニットへのATP結合が酵素特性に与える影響を解明することを目的とした。

**【方法・結果】** ジャガイモ塊茎 AGPase 触媒サブユニットで明らかにされた立体構造をもとに, 調節サブユニットの立体構造モデルを作製した。その結果, 触媒サブユニットにおいて基質 ATP との結合に関与するアミノ酸残基およびその立体配置が調節サブユニットでも保存されていたことから, 両サブユニットは同様の位置にATPを結合すると考えられた。これらのアミノ酸を置換した調節サブユニットを持つ変異 AGPase を調製し, 酵素特性を野生型 AGPase と比較した。反応速度論的解析から, 作製した変異 AGPase はすべてアロステリック活性化因子である 3-PGA に活性化されにくくなると同時に, 阻害因子である Pi に阻害されやすくなった。これらのことから, 調節サブユニットへのATP結合はAGPaseのアロステリック調節に必要であることが示唆された。

## C-11 イネ ADP-glucose pyrophosphorylase アイソザイムの発現特性と酵素特性

西村祐美<sup>1</sup>, 和久田真司<sup>1</sup>, 尾花由美子<sup>2</sup>, 濱田茂樹<sup>1</sup>, 伊藤浩之<sup>1</sup>, 松井博和<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院農, <sup>2</sup>鹿大農)

**【研究背景】** ADP-glucose pyrophosphorylase (EC 2.7.7.27; AGPase) は, 植物のデンプン生合成において唯一の基質である ADP-グルコースを生成する反応を触媒する酵素である。本酵素は 2 つの調節サブユニットと 2 つの触媒サブユニットから形成されるヘテロ四量体であり, 酵素活性はアロステリックに調節される。一般に, 植物はこれらのサブユニット遺伝子を複数もっており, イネでは, 4 種の調節サブユニット (L1, L2, L3, L4) 遺伝子と 3 種の触媒サブユニット (S1, S2A, S2B) 遺伝子の存在が知られている。デンプンがプラスチドに蓄積することから, 大部分の AGPase もプラスチドに局在するが, 穀類種子胚乳細胞では細胞質に局在する AGPase の存在が明らかになっている。しかし, 細胞質型 AGPase には, 不明の点が多く残されている。本研究では, イネ種子細胞質型 AGPase の生理的役割を理解するために, その酵素特性の解析を目的とした。

**【方法・結果】** イネ葉身および種子から調製した mRNA を用い, 各サブユニット遺伝子の発現量を RT-PCR 法により半定量的に解析したところ, 葉身では L1 と S2B, 種子では L3 と S2A の発現が顕著であった。そこで, L1 と S2B で構成される L1/S2B-AGPase と L3 と S2A で構成される L3/S2A-AGPase を, 細菌 AGPase を欠損した変異大腸菌で発現させた。ヨウ素染色により, グリコーゲン合成能を調べたところ, L3/S2A-AGPase を導入した大腸菌は, L1/S2B-AGPase を導入した大腸菌よりも強く染色された。このことから, L3/S2A-AGPase は, L1/S2B-AGPase よりも高い活性を有することが推測された。形質転換体から, 両酵素を電気泳動的に均一に精製し, 速度論的解析から基質特異性ならびにアロステリック特性を比較した。

## C-12 インゲンマメ登熟種子由来プロテインキナーゼのクローニングおよび発現特性

清木慈子, 濱田茂樹, 伊藤浩之, 松井博和 (北大院農)

**【研究背景】** 植物の貯蔵物質 (デンプン, 脂質, タンパク質など) の生合成には数多くの酵素が関与し, 複雑に制御されている。出芽酵母では糖代謝を調節するプロテインキナーゼ SNF (sucrose nonfermenting) 1 が解析されている。植物にも多数の SNF1 ホモログ (SNF1-related kinase; SnRK) の存在が知られ, 糖代謝に関与すると推定されているが, その機能が解析されている例はほとんどない。本研究では, 植物の栄養代謝に関与する酵素群のリン酸化制御機構を解明するため, SnRK の単離および発現特性の解析を行った。

**【方法・結果】** インゲンマメ登熟種子より作製した cDNA ライブラリーをスクリーニングし, 5 種のインゲンマメプロテインキナーゼ (PvPK) の cDNA クローンを単離した。塩基配列を解析したところ, いずれの PvPK も N 末端側に触媒領域を C 末端側に調節領域をもつことが明らかになった。触媒領域の相同性は互いに高く, 一方, 調節領域には相同性が認められないことから, これら 5 種の PvPK は互いに異なる機能を持つことが示唆された。また, いずれの PvPK にも調節領域に共通して calcineurin B-like protein (CBL, カルシウムシグナル伝達タンパク質) の結合領域である NAF ドメインが存在した。このことから PvPK は CBL を介したカルシウムシグナルにより制御されることが示唆された。そこで, ライブラリーをスクリーニングし, 2 種のインゲンマメ CBL (PvCBL) cDNA クローンを得た。単離した PvPK および PvCBL の発現特性を調べるため, 登熟初期, 中期, 後期の種子および葉より調製した RNA を用い, RT-PCR を行った。全ての PvPK はいずれの時期にも発現しており, 特に葉および登熟初期種子で顕著であった。PvCBL については現在検討中である。

## 北海道農芸化学協会特別会員御芳名

アサヒビール株式会社北海道工場	福山醸造株式会社
池田町ブドウ・ブドウ酒研究所	ベル食品株式会社
岩田醸造株式会社	北海三共株式会社
関販テクノ株式会社	北海製罐株式会社
キリンビール株式会社千歳工場	有限会社北海道バイオ技術研究所
サッポロビール株式会社北海道工場	財団法人北海道農業企業化研究所
札幌酒精工業株式会社	北海道立十勝圏地域食品加工技術センター
春雪さぶーる株式会社	北海道糖業株式会社技術研究所
高砂香料工業株式会社札幌出張所	北海道和光純薬株式会社
ニッカウヰスキー株式会社北海道工場	雪印乳業株式会社札幌研究所
日本化学飼料株式会社	よつ葉乳業株式会社中央研究所
日本新薬株式会社千歳クリエートパーク	株式会社和科盛商会
日本甜菜製糖株式会社（技術部製造課）	