

2.7 食品生物科学専攻

食品生物科学専攻は、21世紀に人類が直面する地球規模の課題である食料問題を、資源・環境、生命・情報、民族・文化などの多角的な視点から取り組むことを目的に平成2001年4月に設立された。食品生命科学、食品健康科学、食品生産工学の3つの基幹講座8分野より構成されている。バイオサイエンスおよびバイオテクノロジーの最先端の知見と手法を駆使して、人類の健やかな生活に寄与できる優れた食品を創成することを目指している。

本専攻では、食品の開発と生産に関わる高度な技術者や研究者の育成、食品を取り巻く広範な科学技術の教育・研究を目的としている。食品生命科学講座（酵素化学、食環境学、生命有機化学）では食品の素材となる生物有機体を生命科学的な観点から考究し、食品健康科学講座（栄養化学、食品分子機能学、食品生理機能学）では人間と食品の関わりを栄養・生理学的な観点から解明し、食品生産工学講座（農産製造学、生物機能変換学）では化学工学や遺伝子工学的手法を導入した新たな食品創成基盤を確立する基礎教育ならびに最先端的研究を行っている。

本専攻は8研究分野からなり、博士前期課程（修士課程）65名、博士後期課程31名であり、このうち外国人留学生は6名である。学部食品生物科学科には、1回生33名、2回生35名、3回生34名、4回生37名が在籍している。

講座 食品生命科学

2.7.1 研究分野：酵素化学

構成員：教授	井上 國世		
助教授	保川 清		
助手	滝田 禎亮		
大学院博士後期課程	3名		
大学院修士課程	8名	研究生	2名
専攻4回生	3名		

A. 研究活動（2006.4～2007.3）

A-1. 研究概要

a) 蛋白質分解酵素に関する研究

- (i) サーモライシンの活性発現機構。好熱性プロテアーゼであるサーモライシンの活性は飽和濃度の中性塩の存在下に20倍以上も増大することを見いだした。この高度な好塩性の仕組みを理解することにより本酵素の活性発現の分子機構を解明できるものと期待できる。

基質の切断部位アミノ酸残基の構造の塩類による活性化に対する効果、活性部位のチロシン残基の存在状態と化学修飾および部位特異的変異導入、サーモライシン表面の荷電性残基の存在状態と酵素活性との関係について解明しようとしている。

- (ii) マトリックス・メタロプロテイナーゼ (MMP) の酵素化学的性質。MMPは動物細胞の細胞間の接着性マトリックス・タンパク質を加水分解し、細胞分裂や形態形成、さらにはガン転移に関与している亜鉛含有プロテアーゼである。われわれはヒト大腸ガン細胞由来の MMP-7 の酵素化学的性質を、微生物の亜鉛含有プロテアーゼであるサーモライシンとの比較することにより検討している。また、癌転移抑制剤としての応用が期待できる MMP-7 の阻害剤を天然有機化合物から探索することを試みている。

b) アミノアシル tRNA 合成酵素に関する研究

- (i) 中等度好熱菌 *Bacillus stearothermophilus* 由来のリジル tRNA 合成酵素 (LysRS) の構造と基質認識機構。アミノアシル tRNA 合成酵素は、その基質認識の厳格さにより、遺伝暗号をタンパク質の 1 次構造に翻訳する際の精度を保証している。我々は高純度の LysRS の高収率精製法を確立し、これによって得た酵素標品を用いて、各種基質及びそのアナログとの相互作用を、数種の酵素活性測定法、蛍光滴定法、平衡透析法、及びストップフロー装置による解析を組み合わせて、基質結合順序や基質分子認識に対する知見を明らかにしてきた。一方、本酵素の構造に関する知見を得るため、ペプチドのアミノ酸の配列をもとに、*Bacillus stearothermophilus* から LysRS 遺伝子をクローニングし全塩基配列を決定し、大腸菌での大量発現系を確立した。現在、結晶化並びに変異体の解析を行っている。また、超好熱性古細胞菌由来アミノアシル tRNA 合成酵素の大腸菌での発現を試みている。

c) 糖質分解酵素および糖転移酵素に関する研究

- (i) 統計学的解析法を用いた「pK 値」と「解離熱」からの酵素触媒基の推定

酵素触媒基の「pK 値」と「解離熱」は pH プロフィールの温度依存性から測定できる。

それらの値と低分子解離基の pK 値と解離熱のデータを用いて触媒基の種類を統計学的に推定する方法を開発した。採用した統計学的手法は大量データの数学的な分類法であるクラスター分析法である。この方法は多次元の属性を持つ多数のサンプル間の属性間距離を計算して、距離の近いサンプルを順次にグループ化していく。データ分布の特性に応じて、いくつかの距離計算法がある。まずカルボキシル基、イミダゾール基、チオール基及びアミノ基を持つ 39 個の低分子有機化合物を解析し、すべての距離計算法で 4 つのグループに正確に分類できることを確認した。次に解離基が解っている 6 種類の酵素データを一つずつ加えて、正確に帰属されることを確認した (最適の距離計算法は weighted pair-group method)。最後に、これまで測定されている 13 個の酵素データを weighted pair-group method で解析したが、一つを除いて妥当なグループに帰属された。通常触媒残基は酵素分子の表面近くにあるので、クラスター分析法を用いた熱力学的データからの触媒基の推定は十分に信頼性がある。各種のグリコシダーゼは一般に、加水分解の他、糖転移反応を触媒し、酵素の特色に依存した位置特異的な転移物を生産する。他方、その反応機構には多くの分岐過程が含まれているので、通常定常状態近似と微分方程式では式の複雑さと未知パラメータの多さのため、定量的解析がきわめて困難である。そこで、確率モデルによる新しい速度論的解析法を開発した。容器の中に 1 個の酵素と有限個の基質及び水分子を含む仮想的な系をモデルにした。このモデルは現実に存在しえる最少規模の酵素反応

系に相当する。実験系の基質と水分子の濃度比はシミュレーション系の分子数の比と同じである。酵素による反応分子の選択と反応経路は乱数と確率で進行させた。反応サイクルは最高100万回まで行い、反応終了までの生成物分布の推移を計算した。糖転移反応の一般モデルを β -Xylosidaseと β -Glucosidaseの糖転移反応に適用し、最少の速度パラメータを用いて、実験データが定量的に解析できた。この解析法で糖転移の反応機構が検証され、求められた最適パラメータを用いて基質濃度を変えたときの生成物分布の推移と最高収率などを予測することも可能になった。

d) 活性酸素に関わる酸素酸化還元酵素に関する研究

(i) 哺乳動物由来ミクロソーム型チトクロームP450の構造と機能に関する研究

2,3,7,8-TCDDを効率よく代謝するチトクロームP450の創製を目指している。ラット由来2種類およびヒト由来12種類のP450によるダイオキシン代謝活性を調べた結果、0~3塩素置換体に対して、いずれも複数のP450分子種が代謝機能を示したが、ダイオキシン類の中で最も毒性の高い4塩素置換体2,3,7,8-TCDDに対してはいずれのP450分子種も活性を示さなかった。0~3塩素置換体に対して最も高い活性を示したラット由来CYP1A1を土台として部位特異的変異導入により複数の変異体を作製したところ、4種類の変異体F240A、F228A、F319A、およびF385Aにおいて、2,3,7,8-TCDD代謝活性が認められた。

(ii) 哺乳動物由来ビタミンD₃水酸化酵素の構造と機能に関する研究

活性型ビタミンD₃の生合成および代謝に関与する3種類の水酸化酵素CYP27A1、CYP27B1およびCYP24の反応機構を明らかにするとともに、有用性ビタミンD₃類縁体生産への応用を試みる。これら3種類の酵素のcDNAをそれぞれ大腸菌内で発現させ、酵素化学的性質を調べた。CYP27A1およびCYP27B1についてはそれぞれ、CTX患者由来およびくる病患者由来の変異型酵素の性質を詳細に調べることにより、これら酵素の構造と機能に関する多くの知見を得た。CYP24は連続的水酸化反応を高頻度で起こすことにより、多くの代謝物を生み出すことがわかったが、ビタミンD₃およびその類縁体に対する反応特異性において、ヒト由来CYP24とラット由来CYP24の間に明らかな違いが認められた。

(iii) 放射線菌由来ビタミンD水酸化酵素の構造と機能に関する研究

放射線菌由来CYP105A1を大腸菌内で大量に発現させ、その酵素化学的性質を調べたところ、ビタミンD₃に対して25位、さらには1 α 位水酸化活性を示すことがわかった。X線結晶構造解析によりビタミンD₃結合様式を明らかにするため、結晶化を試みている。

e) モノクローナル抗体の高度利用に関する研究

(i) モノクローナル抗体は臨床診断や生理活性物質の分析に広く利用されているが、測定感度の向上や操作の簡便化など改良すべき点が多く、モノクローナル抗体の活性断片化、酵素とのコンジュゲートの調製、ニ価特異性抗体の調製を検討する。また、均一系酵素免疫測定法の開発を考慮して、リポソーム・アッセイ法や蛍光法を検討している。また、EIAの感度を10³~10⁵倍増大させることを目的とし、酵素反応のシンクロナイゼーションにより、二次抗体に結合したアルカリホスファターゼの活性増幅を試みている。また、食品分析やアレルギー検査で重要なヒスタミンの免疫測定法を検討する。

(ii) 触媒抗体。クロラムフェニコールのエステル誘導体に対して加水分解活性をもつ抗体を用いてその酵素としての性質を速度論的および熱力学的に解析している。

f) 大豆タンパク質の有効利用に関する研究

大豆タンパク質、特に脱脂大豆は有効に利用されないことが多い。これの食品としての有効性を検討する。種々の樹脂を用いて物理化学的脱臭法を開発している。また、種々のプロテアーゼによる凝集物の生成の機構を明らかにし、新規な食品の作製を試みている。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

井上國世：入門 — 酵素と補酵素の化学（井上國世、訳）。シュプリンガーフェアラーク東京株式会社、東京、2006

原著論文

Inouye, K., Minoda, M., Takita, T., Sakurama, H., Hashida, Y., Kusano, M., and Yasukawa, K.: Extracellular production of recombinant thermolysin expressed in *Escherichia coli*, and its purification and enzymatic characterization. *Protein Expr. Purif.* 46; 248-255, 2006

Yasukawa, K., Kusano, M., Nakamura, K., and Inouye, K.: Characterization of Gly-D-Phe, Gly-L-Leu, and D-Phe as affinity ligands to thermolysin. *Protein Expr. Purif.* 46; 332-336, 2006

Okumura, S., Saitoh, H., Wasano, N., Yamashita, S., Higuchi, K., Mizuki, E., and Inouye, K.: Efficient solubilization, activation, and purification of recombinant Cry45Aa of *Bacillus thuringiensis* expressed as inclusion bodies in *Escherichia coli*. *Protein Expr. Purif.* 47; 144-151, 2006

Lee, S., Oneda, H., Minoda, M., Tanaka, A., and Inouye, K.: Comparison of starch hydrolysis activity and thermal stability of two *Bacillus licheniformis* α -amylases and insights into engineering α -amylase variants active under acidic conditions. *J. Biochem.* 139; 997-1005, 2006

Lee, S., Mouri, Y., Minoda, M., Oneda, H., and Inouye, K.: Comparison of the wild-type α -amylase and its variants enzymes in *Bacillus amyloliquefaciens* in activity and thermal stability, and insights into engineering the thermal stability of *Bacillus* α -amylase. *J. Biochem.* 139; 1007-1015, 2006

Kusano, M., Yasukawa, K., Hashida, Y., and Inouye, K.: Engineering of the pH-dependence of thermolysin activity as examined by site-directed mutagenesis of Asn112 located at the active site of thermolysin. *J. Biochem.* 139; 1017-1023, 2006

Morimoto, K., Furuta, E., Hashimoto, H., and Inouye, K. Effects of high concentration of salts on the esterase activity and structure of kiwifruit peptidase, actinidain. *J. Biochem.* 139; 1065-1071, 2006

Nakazaki, T., Tsukiyama, T., Okumoto, Y., Kageyama, D., Naito, K., Inouye, K., and Tanisaka, T.: Distribution, structure, organ-specific expression, and phylogenetic analysis of the pathogenesis-related protein-3 chitinase gene family in rice (*Oryza sativa* L). *Genome*, 49, 619-630, 2006

Kakita, H., Kamishima, H., and Inouye, K.: Uronic acid determination by high performance liquid chromatography with postcolumn fluorescence derivatization. *J. Chromatogr. A.* 1129, 296-

299, 2006

- Shinkyo, R., Kamakura, M., Ikushiro, S., Inouye, K., and Sakaki, T.: Biodegradation of dioxins by recombinant *Escherichia coli* expressing rat CYP1A1 or its mutant. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72, 584–590, 2006
- Yoshioka, H., Kasai, N., Ikushiro, S., Shinkyo, R., Kamakura, M., Ohta, M., Inouye, K., and Sakaki, T.: Enzymatic properties of human CYP2W1 expressed in *Escherichia coli*. *Biophys. Biochem. Res. Commun.* 345; 169–174, 2006
- Urushino, M., Yamamoto, K., Kagawa, N., Ikushiro, S., Kamakura, M., Yamada, S., Kato, S., Inouye, K., and Sakaki, T.: Interaction between mitochondrial CYP27B1 and adrenodoxin: role of arginine 458 of mouse CYP27B1. *Biochemistry* 45; 4405–4412, 2006
- Sawada, N., Yamamoto, K., Yamada, S., Ikushiro, S., Kamakura, M., Ohta, M., Inouye, K., and Sakaki, T.: Role of Gln85 of human CYP27A1 in 25-hydroxyvitamin D(3)-binding and protein folding. *Biophys. Biochem. Res. Commun.* 355; 211–216, 2007
- Lee, H.-S., Kim, J.-S., Shim, K., Kim, J.-W., Inouye, K., Oneda, H., Kim, Y.-W., Cheong, K.-A., Cha, H., Woo, E.-J., Auh, J. H., Lee, S.-J., Kim, J.-W., and Park, K.-H.: Dissociation/association properties of a dodecameric cyclomaltodextrinase. Effects of pH and salt concentration on the oligomeric state. *FEBS J.* 273; 109–121, 2006
- Kakita, H., Kamishima, H., and Inouye, K.: Purification and some properties of a D-fructose-1,6-bisphosphate aldolase from red alga, *Gracilaria chorde* Holmes. *Botanica Marina* 49; 174–181, 2006
- Hamamoto, H., Kusudo, T., Urushino, N., Masuno, H., Yamamoto, K., Yamada, S., Kamakura, M., Ohta, M., Inouye, K., and Sakaki, T.: Structure-function analysis of vitamin D 24-hydroxylase (CYP24A1) by site-directed mutagenesis: amino acid residues responsible for species-based difference of CYP24A1 between humans and rats. *Molecular Pharmacology*, 70; 120–128, 2006
- Tatsumi, C., Hashida, Y., Yasukawa, K., and Inouye, K.: Effects of site-directed mutagenesis of the surface residues Gln128 and Gln225 of thermolysin on its catalytic activity. *J. Biochem.*, 2007, 印刷中
- Hashida, Y. and Inouye, K.: Kinetic analysis of the activation-and-inhibition dual effects of cobalt ion on thermolysin activity. *J. Biochem.*, 2007, 印刷中
- Hashida, Y. and Inouye, K.: Molecular mechanism of the inhibitory effect of cobalt ion on thermolysin activity and the suppressive effect of calcium ion on the cobalt ion-dependent inactivation of thermolysin. *J. Biochem.*, 2007, 印刷中
- Inouye, K., Shimada, T., and Yasukawa, K.: Purification to homogeneity of a neutral metalloproteinase from *Streptomyces caespitosus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2007, 印刷中
- Inouye, K., Nakamura, K., Kusano, M., and Yasukawa, K.: Improvement in performances of affinity gels containing Gly-D-Phe as a ligand to thermolysin by increasing the spacer chain length. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2007, 印刷中
- Yasukawa, K., Kusano, M., and Inouye, K.: A new method for the extracellular production of

recombinant thermolysin by co-expression of the mature sequence and the prosequence in *Escherichia coli*. Protein Eng. Des. Sel., 2007, 印刷中

Inouye, K., Shimada, T., and Yasukawa, K.: Effects of neutral salts and alcohols on the activity of *Streptomyces caespitosus* neutral protease (ScNP) J. Biochem., 2007, 印刷中

特許

特願2006-268935「微生物由来の菌体外プロテアーゼを生産するためのベクターおよびその利用」、発明者：井上國世、保川 清、草野正雪、出願人：国立大学法人京都大学、出願：平成18年9月29日

総説ほか

Inouye, K.: Recent development of chromatographic technology and its application to therapy and diagnosis (S26 Biotechnology). 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology Reports (Eds., Congre Co.; Taniguchi, N. and Suzuki, K.) p.65, Feb., 2007

井上國世：食品酵素の最新利用技術. Bio Industry, 2006-10: 5-6, 2006

長谷川信弘、井上國世：微生物アミラーゼを用いるデンプン加工工業の問題点と今後の課題. Bio Industry (2006) No. 10, pp. 23-31.

井上國世 (2006) プロテアーゼによるダイズタンパク質の消化分解と特性の改変. Bio Industry, 2006-10, 40-48, 2006

井上國世：食の原風景(1) 柿のある風景. 社報やまざき、2007-1、34-35、2007

井上國世：食の原風景(2) 柿と柿渋. 社報やまざき、2007-2、26-27、2007

井上國世：食の原風景(3) 柿のある風景. 社報やまざき、2007-3、34-35、2007

井上國世：伝記の枠を越えて科学者のあり方を考えさせてくれる (アミール・D・アクゼル著：フーコーの振り子、科学を勝利へ導いた世紀の大実験) 化学、61 ; 58、2006

b) 学会発表

日本農芸化学会2006年度大会：11件

日本農芸化学会・関西支部大会：5件

第53回日本生化学会近畿支部例会：2件

第58回日本生物工学会大会：2件

第6回食品酵素化学研究会：2件

食品酵素化学ミニシンポジウム：1件

酵素化学ミニシンポジウム：1件

第60回日本栄養・食糧学会：1件

第20回国際生化学・分子生物学連合大会 (IUBMB 2006 (Kyoto))：2件

不二たん白質研究振興財団第9回報告会：1件

日本食品分析研究会：1件

京都大学生存圏研究所学際萌芽研究センター第38回オープンセミナー：1件

第5回京都大学農学研究科シンポジウム：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

井上國世：日本生化学会（評議員、近畿支部評議員）；日本農芸化学会（評議員、関西支部評議員）；日本食品科学工学会（関西支部評議員）；日本動物細胞工学会（評議員）；食品分析研究会（常任幹事）

科研費等受領状況

科学研究費 基礎研究(B)「アスパルテーム合成の高効率化を目的とするサーモライシンの蛋白質工学と反応制御工学」（井上、代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

Inouye, K.: IUBMB 2006 (Kyoto)（プログラム委員、シンポジウムオーガナイザー、シンポジウム発表者）（2006年6月）

Inouye, K.: Korea-Japan Symposium on Food Enzyme Chemistry, Gwanju, Korea（共同主催者、発表者）（2006年3月）

Inouye, K.: Canada-Japan Joint Meeting on Enzymes for Food and Agricultural Chemistry, Guelph（日本側代表者、発表者）（2006年7月）

Inouye, K.: Professor M. J. Coon Conference on Oxidoreductases（発表者）（2006年7月）

Inouye, K.: 18th International Congress on Fibrinolysis and Proteolysis, San Diego, USA（2006年8月）（ワークショップ発表者）

Inouye, K.: 9th Japan-China-Korea Joint Symposium on Enzyme Engineering, Otsu, Japan（2006年10月）（シンポジウム発表者）

Inouye, K.: Joint Workshop for Research Cooperation in Seafood Safety between Japan and Norway, Yokohama, Japan（2006年11月）（日本側発言者、発表者）

Inouye, K.: Kyoto University and Seoul National University Core Project Seminar, Seoul Korea（2007年2月）（共同主催者、発表者）

Inouye, K.: Biotechnology Annual Review (Series), Elsevier, Amsterdam, the Netherlands (International Editor).

国際誌編集（役割）

Inouye, K.: Enzyme and Microbial Technology (editor)

Inouye, K.: Biotechnology Annual Review, Vol 12, 2006, Elsevier (editor).

Inouye, K.: Applied Microbiology and Biotechnology (editor)

国際共同研究、海外学術調査等

井上國世：ダイズおよびコムギタンパク質の物性解析（オランダ、ワーゲニンゲン大学）

井上國世：特異性抗体に関する多角的研究（オランダ、フローニンゲン大学）

井上國世：マトリックスメタロプロテアーゼの消化器疾患に関する共同研究（オランダ、ライデン大学）

井上國世：マトリックスメタロプロテアーゼの反応機構に関する共同研究（英国、インペリアルカレッジ）

井上國世：酵素と抗体のバイオテクノロジー（ノルウェー、トロムソー大学）

井上國世：好熱性酵素に関する構造と機能に関する研究（韓国、ソウル国立大学、延世大学）

井上國世：酵素反応機構に関する研究（英国ワーウィック大学）

井上國世：京都大学・ソウル国立大学エネルギー理工学における日韓拠点大学交流（韓国、ソウル国立大学）

井上國世：アミラーゼとプロテアーゼの反応機構および食品科学工業への応用（カナダ、ゲルフ大学）

B. 教育活動（2006.4～2007.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品基礎生物学Ⅰ（井上、保川）、食品分子生物学（井上、保川）、酵素化学（井上、保川）、課題研究（卒業論文）（井上、保川）、酵素化学実験（保川）、専門外国書購読Ⅱ（保川）、全学共通科目少人数セミナー（井上、保川）

大学院：酵素化学特論（井上、保川）、食品生命科学特論（井上）、酵素化学専攻演習（井上、保川）、酵素化学専攻実験（井上、保川）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

井上國世：奈良女子大学大学院生命科学特論

井上國世：岡山理科大学大学院総合理学特別講義

井上國世：藤女子大学大学院生活科学特別講義

井上國世：広島県立大学大学院生命工学特別講義

井上國世：西九州大学生生活福祉学部酵素化学特別講義

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

留学生：研究生 1名（韓国）

C. その他

学内

井上國世：京都大学産学官連携検討ワーキンググループ・委員、農学研究科将来構想検討委員会・委員、農学研究科建築委員会・委員、農学部学科長、生存圏学際萌芽研究センター学内研究担当教員

保川 清：年報編集委員会・委員、広報委員会・委員

滝田禎亮：農学研究科放射線障害防止委員会・委員

学外

井上國世：経済産業省新規産業創造技術事業・委員、中小企業総合事業団調査事業・委員、文部科学省科学技術政策研究所専門調査員、京都市バイオ産業技術フォーラム・幹事

2.7.2 研究分野：食環境学

構成員：教授 北島 直文

助教授 谷 史人

助手 榊田 哲哉

大学院博士後期課程 2名 研修員 1名

大学院修士課程 8名 研究生 0名

専攻4回生 3名

A. 研究活動（2006.4～2007.3）

A-1. 研究概要

- a) 食品タンパク質の機能特性：乳清タンパク質の主要成分である β ラクトグロブリンならびに卵白タンパク質の主要成分であるオボアルブミン、リゾチームを混合加熱したときにタンパク質分子間複合体の形成を検討した。その結果、中性pHならびに酸性pH域において加熱により分子複合体の形成を見出した。さらにその結合様式について明らかにした。
- b) 牛乳乳清タンパク質の酸性域における渋味、収斂味の低減技術の開発：牛乳乳清タンパク質は酸性域において渋味、収斂味を呈する。その理由を明らかにするとともに、その低減化を目的として一連の研究を行った。
- c) タンパク質の味刺激能に関する研究：タンパク質は通常無味無臭であるが、甘味、渋味、苦味を呈するタンパク質が見出され、その性質について検討を加え、味刺激発現機構について調べた。また、甘味タンパク質の一つである卵白リゾチームについて甘味活性に重要なアミノ酸残基の同定を化学修飾法ならびに部位特異的変異法により解析を行った。
- d) 多糖類の消化と生理機能：澱粉の酵素分解について検討し、澱粉の構造とアミラーゼの作用の関係を調べた。また、種々の澱粉ならびに植物性の多糖類の腸管における分解と発酵について、ヒトおよびマウスを用いて検討を行った。
- e) 自然免疫系の環境応答機構に関する研究：外環境と見なせる消化管内では、外界からの種々の侵入物や危険シグナルを感知するマクロファージ・樹状細胞やB細胞、NK細胞などの細胞群は生体防御に欠かせない。腸管関連免疫組織の機能を解明する一環として、免疫調節機能をもつ細胞内タンパク質hsp70の樹状細胞やマクロファージへの作用を解析している。生物種の異なるマウス、ハウレンソウ、乳酸菌、大腸菌由来のhsp70と免疫細胞との相互作用を調べ、hsp70のC末端配列に依存して抗原提示細胞においてhsp70の認識には違いがあることを明らかにした。また、食餌成分のタンパク質抗原がパイエル板組織の形成に機能することを見出した。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

原著論文

Tao Y., Nomura M., Kitabatake N., and Tani F.; Mouse CD40-transfected cell lines cannot exhibit the binding and RANTES-stimulating activity of exogenous heat shock protein 70. *Mol. Immunol.* **44**; 1262-1273, 2007

Ohno M., Kitabatake N., and Tani F.; Functional region of mouse heat shock protein 72 for its binding to lymphoid neoplastic P388D1 cells. *Mol. Immunol.* **44**; 2344-2354, 2007

Masuda T. Kitabatake N.; Developments in biotechnological production of sweet proteins. *J. Biosci. Bioeng.* **102**; 375-389, 2006.

Wada R., Fujita Y., Kitabatake N.; Effects of heating at neutral and acid pH on the structure of be-ta-lactoglobulin A revealed by differential scanning calorimetry and circular dichroism spectroscopy. *Biochim. Biophys Acta*, **1760**; 841-847, 2006

Hirose J., Doi Y., Kitabatake N., Narita H.; Ovalbumin-related gene Y protein bears carbohydrate chains of ovomucoid type. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **70**; 144-151, 2006

報告書等

梶田哲哉、北島直文：甘味タンパク質ソーマチンおよびリゾチームの微生物生産 *Foods & Food Ingredients J. Japan*, 211 782-791, 2006

b) 学会発表

日本農芸化学会2007年度大会：8件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

北島直文：日本農芸化学会 関西支部評議員

日本食品科学工学会 評議員

日本食品科学工学会 Food Science and Technology Research 編集委員

International Journal of Food Science and Nutrition 編集委員

日本食品機械研究会理事

谷 史人：日本農芸化学会 関西支部評議員

科研費等受領状況

北島直文：科研費、基盤研究(S)「地域研究を基盤としたアフリカ型農村開発に関する総合的研究」(北島分担)

北島直文：科研費、萌芽研究「唾液タンパク質と食品成分の相互作用ならびにその生理的意義に関する研究」(北島代表)

谷 史人：科研費、萌芽研究「唾液タンパク質と食品成分の相互作用ならびにその生理的意義に関する研究」(谷分担)

梶田哲哉：科研費、萌芽研究「唾液タンパク質と食品成分の相互作用ならびにその生理的意義に関する研究」(梶田分担)

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

Tani F., Ohno M., Nomura M., Nishikawa S., Tao Y., and Kitabatake N.; "A novel membrane protein recognizing the C-terminal diversity among heat shock protein 70." *Molecular chaperones & the heat shock response*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, May 3-7 (2006)

Tani F., Tao Y., Nishikawa S., Nomura M., and Kitabatake N.; "Biotinylation of heat shock

protein 70 elicits RANTES production in HEK293 cells independent of CD40 signaling.” 20th IUBMB international congress of biochemistry and molecular biology and 11th FAOBMB congress, Kyoto, June 18-23 (2006)

Nishikawa S., Nomura M., Tao Y., Kitabatake N., and Tani F.; “Lymphoid neoplastic P388D1 cells express the novel membrane protein that discriminates the C-terminal sequence diversity among heat shock protein 70 family.” 20th IUBMB international congress of biochemistry and molecular biology and 11th FAOBMB congress, Kyoto, June 18-23 (2006)

国際共同研究、海外学術調査等

北島直文：「地域研究を基盤としたアフリカ型農村開発に関する総合的研究」アフリカ、タンザニア調査

B. 教育活動 (2006.4~2007.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品基礎生物学Ⅲ（谷）、食品生物科学入門と実習（北島）、食品安全学Ⅰ（北島）、食品化学（北島）、食品生物科学基礎実験及び実験法（谷）、化学工学実験及び実験法（谷）

大学院：食環境学特論（北島）、食環境学専攻演習（北島、谷）、食環境学専攻実験（北島、谷）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

北島直文：滋賀県立大学人間文化学部（比較食文化論）

北島直文：京都女子大学家政学部（食環境学）

北島直文：長崎大学医歯学部

C. その他

北島直文：京都府中小企業総合センター、平成15年度京都府中小企業特別技術指導員

北島直文：財団法人 京都産業21技術顕彰委員会委員

北島直文：財団法人 京都産業21ベンチャー事業可能性評価委員会委員

北島直文：滋賀県農産加工研究参与

北島直文：京都市京（みやこ）・食の安全衛生管理認証審査委員会委員長

2.7.3 研究分野：生命有機化学

構成員：教授	大東 肇		
助教授	入江 一浩		
助手	村上 明		
技官	山口加乃子		
大学院博士後期課程	7名	受託研究員	1名
大学院修士課程	9名	専攻4回生	3名
IIC（農学研究科担当）教授	平井 伸博		

A. 研究活動（2006.4～2007.3）

A-1. 研究概要

a) 生活習慣病予防に対する食品成分の作用に関する研究

カンキツ成分 auroaptene (AUR) の MMP-7 産生抑制分子機序について詳細な検討を行った。AUR は mRNA の発現に影響を与えずに翻訳段階でタンパク質合成量を低下させていることが示唆された。そこで、種々の翻訳因子に対する影響を検討したところ、S6K1 と S6 には作用せず、4EBP1 および eIF4B のリン酸化を抑制した。一方、rapamycin は 4EBP1、S6K1 および S6 のリン酸化を抑制したが eIF4B には影響を与えなかったことから、両方の作用性には明らかな差異が認められた。次に、siRNA 処理により ERK1/2 のノックダウン (KD) を行い、proMMP-7 産生における ERK1/2 の寄与を検討した。ERK2 および ERK1/2 を KD すると、proMMP-7 の産生が顕著に抑制された。このことから、proMMP-7 産生には主に ERK2 が関与していることが判明した。次に、AUR 処理 6h では、ERK2 の活性化はほぼ完全に抑制された。以上の結果から、AUR は ERK2 を不活性化することによって proMMP-7 タンパク質の翻訳を抑制するというユニークな分子メカニズムが強く示唆された。

b) プロテインキナーゼCと発がんプロモーターの化学

発がんプロモーターの結合するプロテインキナーゼC (PKC) には、8種類のアイソザイムが存在する。近年、発がんプロモーションにおいて3種の novel PKC (δ , ϵ , η) が重要な役割を果たしていることが明らかになっており、これらのアイソザイムに選択的に結合する薬剤が求められている。Indolactam-V (**1**) は、nM オーダーで PKC の C1 ドメイン (C1A, C1B) に結合するインドールアルカロイドである。最近、**1** と PKC δ -C1B との結合において、**1** のインドール環と δ -C1B の11番目のプロリン残基 (Pro-11) が、CH/ π 相互作用していることを明らかにした。Pro-11 は、全 PKC C1 ドメインに保存されていることから、各 C1 ドメイン間の CH/ π 相互作用の差異を利用して、novel PKC 選択的な薬剤開発を試みた。化合物 **1** の1位にヘキシル基を導入し、ラクタムを9員環から10員環に拡大することによって、Pro-11 に対するインドール環の空間的位置を変化させた1-hexyl-indolactam-V10 (**2**) をデザイン合成した。化合物 **2** は novel PKC の C1B に対してのみ nM オーダーで結合し、HeLa 細胞において novel PKC を選択的に細胞質から細胞膜に移行させて活性化することが明らかになった。

c) アルツハイマー病因ペプチドの化学

アルツハイマー病の主な原因物質である42残基のアミロイド β ペプチド (A β 42) は、凝集することによって神経細胞毒性を示す。最近当研究室において、A β 42の系統的なプロリン置

換によって、Glu-22およびAsp-23付近でターン構造を形成すると、凝集能および神経細胞毒性が増大することが明らかにされた。このターン形成がA β 42の凝集能および神経細胞毒性を高める理由の一つとして、金属イオン存在下で生じた10番目のチロシン残基 (Tyr-10) のフェノキシラジカルと35番目のメチオニン残基 (Met-35) が空間的に近づき、メチオニンのカチオンラジカルの生成を促進することが考えられた。そこで本仮説を実証するため、ニトロキシドラジカルを有するスピンラベル剤 (MTSSL) で10番目および35番目を標識した10,35-MTSSL-A β 42のESRスペクトルを測定した。その結果、ニトロキシドラジカルを示す3重線に加えて、2つの電子スピン間の双極子相互作用を示す特徴的な2重線が観測された。対照として、片方ずつスピンラベルしたA β 42ではこのようなピークは観測されなかった。これより、本双極子相互作用は、分子内の2つの電子スピンによるものであり、両残基は15Å以下の距離にあることが示唆された。

d) 植物のエコロジカルケミストリー

菌根菌を形成する担子菌はしばしばフェアリーリングと呼ばれる環状の子実体形成を示す。興味深いことにフェアリーリング内側はその外側に比べて細菌類や糸状菌類が圧倒的に少なく、これが菌根由来の抗菌物質によるものであることが1967年に京大の研究者によって示されている。この抗菌物質はフェアリーリングの維持と拡大に貢献していると考えられるが、その正体は現在も不明のままである。今年からこの抗菌物質の解明に取り組み、これまでに樹木の菌根抽出物が細菌に対して抗菌活性を示すことを確認した。今後この抗菌物質の単離同定を行うとともにその分布などを調べ、菌根生長における抗菌物質の生態学的役割を明らかにして行く予定である。

e) 植物ホルモンアブシシン酸の生物工学的研究

アブシシン酸 (ABA) は、植物を乾燥などの環境ストレスから守る植物ホルモンである。しかしながらABAは植物体内で急速に不活性化されるため、その作用が持続しない。したがって、その作用を農業生産に有効に利用するためにはABAの不活性化を制御する必要がある。そこでABAを不活性化する最も重要な最初の代謝酵素・ABA8'位水酸化酵素に対する阻害剤の開発を行っている。今年も静岡大学の研究者と共同で、同酵素の基質であるABAの各種誘導体を合成し、それらの酵素阻害活性の解析より阻害活性に必要な部分構造を抽出した。その結果、ABA活性を有さずに同酵素阻害活性を有するABA誘導体の合成に複数成功した。これらはウニコナゾール-Pよりも酵素阻害活性は弱いものの、ジベレリン生合成阻害活性は有さないと考えられる。今後、これらの薬剤を実際に植物に投与して乾燥耐性付与効果を調べる予定である。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

著書

大東 肇：がん予防に期待がもたれる成分。「食と健康」食品の成分と機能 (中谷延二、清水 誠、小城勝相編)、財・放送大学教育振興会 (放送大学教材)、pp. 183-202、2006

大東 肇：がん予防。「栄養・食糧学データハンドブック」(社団法人日本栄養・食糧学会編) 第6章4項、pp. 215-217、2006

Murakami, K., Irie, K., Ohigashi, H., Hara, H., Nagao, M., Shimizu, T. and Shirasawa, T.:

‘Malignant’ conformation of Alzheimer’s β peptides (A β 42) through radical formation. Peptide Science 2006, Ishida, H and Mihara, H. (Eds.), The Japanese Peptide Society, pp. 19-20, 2006

村上 明、大東 肇：抗酸化食品成分による発がん予防：現状と展望、酸化ストレス、吉川敏一編、医歯薬出版社、pp.12-15、2006

原著論文

Xian, M., Ito, K., Nakazato, T., Shimizu, T., Chien, C., Yamato, K., Murakami, A., Ohigashi, H., Ikeda, Y. and Kizaki, M.: Zerumbone, a bioactive sesquiterpene, induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in leukemia cells via a Fas- and mitochondria-mediated pathway. Cancer Sci., 98(1); 118-126, 2007

Kawabata, K., Murakami, A. and Ohigashi, H.: Auraptene decreases the activity of matrix metalloproteinases in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in ICR mice. Biosci. Biotechnol. Biochem., 70(12); 3062-3065, 2006

Kawabata, K., Murakami, A. and Ohigashi, H.: Citrus auraptene targets translation of MMP-7 (matrilysin) via ERK1/2-dependent and mTOR-independent mechanism. FEBS Lett., 580(22); 5288-5294, 2006

Eguchi, A., Murakami, A. and Ohigashi, H.: Nobiletin, a citrus flavonoid, suppresses phorbol ester-induced expression of multiple scavenger receptor genes in THP-1 human monocytic cells. FEBS Lett., 580(13); 3321-3328, 2006

Ikeda, Y., Murakami, A., Nishizawa, T. and Ohigashi, H.: Ursolic acid enhances cyclooxygenases and tumor necrosis factor- α expression in mouse skin. Biosci. Biotechnol. Biochem., 70(4); 1033-1037, 2006

Miyamoto, S., Kohno, H., Suzuki, R., Sugie, S., Murakami, A., Ohigashi, H. and Tanaka, T.: Preventive effects of chrysin on the development of azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. Oncol. Rep., 15(5); 1169-1173, 2006

Nakagawa, Y., Irie, K., Yanagita, R. C., Ohigashi, H., Tsuda, K.-i., Kashiwagi, K. and Saito, N.: Design and synthesis of 8-octyl-benzolactam-V9, a selective activator for protein kinase C ϵ and η . J. Med. Chem., 49(9); 2681-2688, 2006

Saito, S., Okamoto, M., Shinoda, S., Kushihiro, T., Koshihara, T., Kamiya, Y., Hirai, N., Todoroki, Y., Sakata, K., Nambara E. and Mizutani, M.: A potent growth retardant, Uniconazole is a potent inhibitor of ABA catabolism in *Arabidopsis*. Biosci. Biotech. Biochem., 70(7); 1731-1739, 2006

Araki, Y., Miyawaki, A., Miyashita, T., Mizutani, M., Hirai, N. and Todoroki, Y.: A new non-azole inhibitor of ABA 8’-hydroxylase: effect of the hydroxyl group substituted for geminal methyl groups in the six-membered ring. Bioorg. Med. Chem. Lett. 16; 3302-3305, 2006

奥野成倫、田原秀隆、浮田和貴、森山和之、平井伸博、吉元 誠：サツマイモ焼酎廃液に含まれる植物生長阻害物質カフェ酸エチルの単離と同定。日本食品科学工学会誌。53(4) ; 207-213、2006

Setha, S., Hirai, N., Ohigashi, H. and Kondo, S.: Changes of xanthoxin levels during fruit development in sweet cherries. J. Japan Soc. Hort. Sci., 75(2); 185-187, 2006

Okamoto, M., Kuwahara, A., Seo, M., Kushiro, T., Asami, T., Hirai, N., Kamiya, Y., Koshiba, T., and Nambara, E.: CYP707A1 and CYP707A2, which encode ABA 8'-hydroxylase, are indispensable for a proper control of seed dormancy and germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 141(1); 97-107, 2006

特許

公開

特開 2006-265189 「 β アミロイドペプチド、及びそれを用いたアルツハイマー病治療薬又は予防薬のスクリーニング方法」、発明者：入江一浩、村上一馬、大東 肇、永尾雅哉、白澤卓二、清水孝彦、出願人：国立大学法人京都大学、財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団、公開日：2006年10月5日

総説

大東 肇：野菜と健康. 環境と健康、19(4)；434-437、2006

大東 肇：食や食成分によるがんの予防——現状と展望. ネスレ栄養科学レビュー、2006年10月、2006

大東 肇：農薬の功罪あれこれ. 環境と健康、19(3)；309-311、2006

大東 肇：“天然”志向にひとこと. 環境と健康、19(2)；200-202、2006

Murakami, A. and Ohigashi, H.: Cancer-preventive anti-oxidants that attenuate free radical generation by inflammatory cells. *Biol. Chem.*, 387(4); 387-392, 2006

大東 肇：食品の機能成分とがん予防. 医学と薬学、55(3)；347-354、2006

大東 肇：緑茶カテキンの光と陰. 環境と健康、19(1)；106-107、2006

入江一浩：CH/ π 相互作用を利用した薬剤開発. *ファルマシア*、42(5)；427-430、2006

村上 明：機能性成分の光と陰. *FOOD Style* 21、10(4)；96-97、2006

村上 明：研究手法を考える. *FOOD Style* 21、10(5)；82-84、2006

村上 明：学会の意義と方向性. *FOOD Style* 21、10(6)；96-98、2006

村上 明：研究の次元. *FOOD Style* 21、10(7)；81-83、2006

村上 明：ポリフェノール研究を見つめ直す. *FOOD Style* 21、10(8)；98-99、2006

村上 明：今が旬！ポリメトキシフラボノイド. *FOOD Style* 21、10(9)；93-95、2006

村上 明：身をもって知った食のパワー. *FOOD Style* 21、10(10)；110-112、2006

村上 明：クリッカーの心得. *FOOD Style* 21、10(11)；76-78、2006

村上 明：教えること、教わること. *FOOD Style* 21、10(12)；97-99、2006

村上 明：食品因子の標的分子. *FOOD Style* 21、11(1)；94-96、2007

村上 明：ストレスと鎧（よろい）. *FOOD Style* 21、11(2)；90-92、2007

村上 明：2006年を振り返る. *FOOD Style* 21、11(3)；92-94、2007

報告書等

大東 肇、入江一浩：科学研究費補助金基盤研究（A）：細胞内情報伝達を制御する新しい薬剤の開発 平成15-18年度研究成果報告書

入江一浩：科学研究費補助金基盤研究（A）： β アミロイドの新しい凝集モデルに基づいた抗体および凝集阻害剤の開発 平成18年度研究実績報告書

入江一浩：科学研究費補助金特定領域研究（生体機能分子の創製）：CH/ π 相互作用を利用したPKCアイソザイム選択的な薬剤開発 平成18年度研究実績報告書

村上 明：厚生労働省がん研究助成金：生体における炎症発がんの分子機構の解明とその
予防に関する研究 平成18年度研究成果報告書

平井伸博：戦略的創造研究推進事業研究領域「植物の機能と制御」研究課題「植物の害虫
に対する誘導防衛の制御機構」研究終了報告書

平井伸博：科学技術振興機構委託研究「被害植物が生産するエリシターの解明」平成18年
度成果報告書

b) 学会発表

日本農芸化学会2007年度大会 (12件)

日本フリーラジカル学会年会シンポジウム (1件)

第41回天然物化学談話会 (2件)

第109回日本薬理学会近畿部会 (1件)

第2回D-アミノ酸研究会学術講演会 (1件)

第40回固体NMR・材料研究会／第5回強磁場固体NMRフォーラム合同研究会 (1件)

第6回AOB研究会 (1件)

第3回日本カテキン学会総会 (1件)

第13回日本がん予防研究会 (5件、招待講演1件)

第65回日本癌学会総会 (4件)

第21回日本香辛料研究会 (招待講演1件)

第11回日本フードファクター学会 (3件)

第41回植物化学調節学会大会 (3件)

第4回産学連携学会大会 (1件)

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

大東 肇：日本農芸化学会 (2006年度大会実行委員長、全国評議員、関西支部評議員)、日
本分析化学会 (近畿支部幹事)、日本食品科学工学会 (関西支部運営委員)、日本フー
ドファクター学会 (功労会員)、日本香辛料研究会 (幹事)、臨床フリーラジカル会議
(世話人)、日本予防医学会 (理事)、日本過酸化脂質・フリーラジカル学会 (評議員)、
日本がん予防研究会 (2006年度会長)、日本動物細胞工学会 (評議員)

入江一浩：日本農芸化学会関西支部 (庶務幹事)、天然有機化合物討論会世話人会 (メン
バー)、天然物談話会世話人会 (メンバー)

村上 明：日本フードファクター学会 (理事)、フードサイエンスフォーラム (世話人)

平井伸博：植物化学調節学会 (幹事長)、日本農芸化学会 (関西支部評議員、英文誌編集委
員)

科研費等受領状況

文部科学省科学研究費補助金：基盤研究 (A)：細胞内情報伝達を制御する新しい薬剤の開
発 (大東代表、入江分担)、基盤研究 (A)： β アミロイドの新しい凝集モデルに基づい
た抗体および凝集阻害剤の開発 (入江代表)、特定領域研究：CH/ π 相互作用を利用し
たPKCアイソザイム選択的な薬剤開発 (入江代表)、基盤研究 (B)：半乾燥地帯等に
おける植物の環境ストレス保護剤の開発 (平井代表)

科学技術振興機構奈良県地域結集型研究開発プログラム：大和マナの抗炎症機能等の評価及び栽培・食品への活用（大東分担）

京都ウェルネス産業コンソーシアム産学公連携グループ共同研究支援事業（京都府）：「伝統発酵食品京漬物のヒト健康に対する科学的指標の解析・整理」（大東代表）

厚生労働省がん研究助成金：生体における炎症発がんの分子機構の解明とその予防に関する研究（村上代表）

科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業：領域「植物の機能と制御」課題「植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構」（平井分担）

受託研究：科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業「被害植物が生産するエリシターの解明」（平井代表）

共同研究：民間企業との共同1件（平井統括）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

大東 肇：門田基金国際フォーラム 2006（犬山、代表世話人）

大東 肇、村上 明：門田基金国際フォーラム 2006（犬山、研究発表3件）

大東 肇、村上 明：第64回米国癌学会（ワシントン、研究発表3件）

大東 肇、村上 明：薬学と毒性学の最前線（シカゴ、招待講演1件）

大東 肇、村上 明：第1回国際機能性食品医用学会（東京、招待講演1件）

入江一浩、大東 肇：第25回天然物化学国際会議（京都、研究発表3件）

入江一浩：第25回天然物化学国際会議（京都2006）組織委員

入江一浩、大東 肇：第43回ペプチド討論会国際会議（横浜、研究発表1件）

入江一浩：第2回国際生物分子と関連化合物シンポジウム（京都、研究発表1件）

入江一浩：2006年北米神経科学会議（アトランタ、研究発表1件）

入江一浩：第22回コンビナトリアルケミストリー研究会（大阪、招待講演1件）

村上 明：第1回アジア太平洋薬物代謝学会（APISX）（済州島、招待講演1件）

村上 明：韓中日合同食品科学工学会（済州島、招待講演1件）

平井伸博：日中韓サツマイモワークショップ（都城市、研究発表1件）

国際的学術雑誌等の編集等（役割）

大東 肇：Journal of Medicinal Food（編集委員）、Asian Pacific Journal of Cancer Prevention（編集委員）、Journal of Agricultural and Food Chemistry（編集理事）、BioFactors（編集委員）、Journal of Food Science（査読委員）、Molecular Nutrition and Food Research（編集委員）

村上 明：Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition（編集委員）

B. 教育活動（2006.4～2007.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品有機化学Ⅲ（大東・入江）、生命有機化学（大東・入江）、有機化学実験及び実験法（入江・平井・村上）、食品有機化学Ⅰ（入江）、食品有機化学Ⅱ（入江）、食品生

物科学入門及び実習Ⅰ、Ⅱ（大東・入江・村上・平井）、日本農業総論（大東分担）
大学院：食品生命科学特論（大東分担）、生体反応有機化学（大東、入江、平井）、生命有機化学専攻演習（大東・入江・村上・平井）、生命有機化学専攻実験（大東・入江・村上・平井）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

大東 肇：放送大学（食と健康 講義）、福井県立大学生物資源学科（農産物利用学 講義）

平井伸博：京都工芸繊維大学繊維学部（植物化学）

公開講座等

大東 肇：食品工業クラブ例会（講演）、ハンショウガ研究会（講演）、しずおか産業創造機構・フードサイエンスセミナー（講演）、京都No Border Symposium（京都大学農学部）No Border Symposium（京都大学農学部）大学農学部シンポジウムNo Border Symposium（講演）、福井県バイオテクノロジー研究会（講演）、㈱アークレイシンポジウム（講演）、福山大学特別セミナー（講演）、京都大学平成18年度総長裁量経費プロジェクト公開シンポジウム（講演）

入江一浩：第13回福山大学グリーンサイエンスセミナー（講演）

村上 明：富山県立大学機能性食品開発研究会（講演）

平井伸博：京都大学農学研究科公開シンポジウム ― 産業微生物学講座（寄附講座）開設記念「産学連携と応用微生物学」（講演）

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

留学生：私費留学生（博士課程）1名（韓国）、私費留学生（修士課程）1名（中国）

C. その他

大東 肇：京都大学アフリカ地域研究資料センター連絡会議構成員、日本学術振興会・レドックス生命科学第170委員会・第3分科会幹事、京都市・食の安全協議会委員長、奈良県地域結集型共同研究事業・共同研究推進委員、財団法人植物科学研究協会理事、社団法人京都府茶業会議所・茶学術研究助成会・研究課題選考委員、財団法人体質研究会・いのちの科学企画委員・同研究会・「環境と健康」編集委員、財団法人慢性疾患リハビリテーション研究振興財団評議員、「医学と薬学」編集委員

入江一浩：農学研究科放射線障害防止委員会委員（放射線取扱主任者）、京都大学全学共通科目化学部会委員、財団法人植物科学研究協会評議員、京都大学研究戦略タスクフォースプログラムオフィサー

平井伸博：京都大学人権委員会委員（国際融合創造センター）、国際イノベーション機構スーパー産学官連携室国内連携担当、京都大学ローム記念館運営委員会委員、京都大学評価委員会点検・評価実行委員会委員、京都大学・島津製作所研究交流会コーディネーター、京都大学・早稲田大学共同開発ビールプロジェクトなど各種産学連携事業推進、

財団法人植物科学研究協会評議員、科学技術政策研究所科学技術専門家ネットワーク
専門調査員

村上 明：京都大学動物実験委員会委員

講座 食品健康科学

2.7.4 研究分野：栄養化学

構 成 員：教 授 伏木 亨
助教授 井上 和生
助 手 都築 巧
大学院博士課程 4名
大学院修士課程 11名
専攻4回生 4名

A. 研究活動（2006.4～2007.3）

A-1. 研究概要

a) 食品のおいしさに関わる基盤的研究

おいしさの解明は食品研究における最も重要課題の一つである。おいしさを構成する諸要因を明らかにするとともに、動物実験を中心として、舌での脂肪の受容に関わる機構を研究している。また、おいしさや満足感、執着、嫌悪感などを栄養生理学的側面や脳科学的側面から解析を進めている。また、個別の食材を対象としておいしさのメカニズム解明を進めている。特に、脂肪やダシのおいしさについて、これらがどのようなメカニズムで受諾性を高めるのかを研究している。

b) 腸管上皮細胞の代謝制御と食物成分による調節

腸管粘膜表面を構成する一層の上皮細胞は栄養素の吸収あるいは生体防御にとって重要である。これらの機能を十全に発揮するためには古くなった細胞は速やかに除去され新しい細胞に置き換わる必要があるが、上皮細胞代謝のメカニズムはよくわかっていない。我々は新規膜結合性セリンプロテアーゼ membrane-type serine protease 1 (MT-SP1) を発見し、本酵素が生理的な腸管上皮の細胞代謝に深く関わっていることを示した。またMT-SP1および異常な上皮細胞にアポトーシスを誘導していると考えられるセリンプロテアーゼ、グランザイム A (Granzyme A; GrA) の活性がいくつかの食品成分によって調節されることを見いだした。本研究により、食品成分が腸管上皮細胞の代謝を制御し得ることが示された。

c) 持久運動能力を増強する食品の開発に関する研究

持久運動能力は、マラソン競技の例でも良く知られているように筋肉に十分な酸素を供給して体内の脂肪を効率よく燃焼させることが極めて重要である。我々は、これまでに持久運動能力を簡便かつ再現性良く測定できる流水プールを用いた動物実験系を開発してきた。こ

の系を用いて食品の中にマウスの持久運動能力を向上させる成分の存在することを明らかにした。さらに本研究においては、これら持久力を増加させる食品成分を対象として、そのメカニズムを解明するとともに、運動能力を高める食品の開発に関しての理論化・体系化を計ろうとしている。

d) 中枢性疲労発生機構に関する研究

運動により疲労させたラット脳脊髄液を採取し、これを安静状態のマウスの脳内に投与すると肉体的な消耗はないにも関わらず疲労したように動かなくなる。この現象は、疲労ラット脳脊髄液を投与されたマウスに疲労感が生じ、自発的に行動する意欲を失ったためと考えられた。

我々はこの現象に関与する物質が疲労感を引き起こす因子であると考え、種々の実験を駆使した結果その本体が Transforming growth factor- β (TGF- β) である事を明らかにした。疲労させたラット脳脊髄液では活性型 TGF- β 濃度が有意に増大しており、また抗 TGF- β 抗体で処理した脳脊髄液では自発行動量を抑制する活性が消失していた。ラットに負荷する運動強度を高くするとそれだけ脳脊髄液中の活性型 TGF- β 濃度が増大し、マウスの自発行動を抑制する活性も強まった。精製した TGF- β は用量依存的にマウスの自発行動量を抑制した。これらの結果から脳内で活性化される TGF- β が疲労感を生成して行動する意欲を減退させている事が示唆された。

さらに脳内に投与された TGF- β は利用するエネルギー基質を脂肪酸に向ける事、および甘味に対する嗜好性を増大させる事を明らかにした。これらは、脳内の活性型 TGF- β が単に疲労感を形成するだけでなく、末梢組織に対しても（自律神経系を経由して）作用し、末梢の代謝状態を運動中／後の状態に変化させる機構に関与している事を示している。

e) 自律神経に影響を与える食品成分の探索

自律神経の活度や体温、血流などを指標として、人間の自律神経活動に影響を与える食品成分の探索を行っている。特に、トウガラシに含まれているカプサイシンや辛味のないカプシエイト類の人体に対する作用を研究するとともに、中国で用いられている薬膳素材に着目してスクリーニングを進めている。さらに、動物を使った実験系で、それらのメカニズムの解明を行っている。

A-2. 研究業績

a) 成果刊行

著書

伏木 亨：味覚と嗜好 編著 総括：人間の嗜好と食文化 p.235-256 ドメス出版 2006

伏木 亨、山際寿一：今「食べること」を問う サントリー次世代研究所編 農文協 2006

伏木 亨：おいしさを科学する．ちくまプリマー新書、2006

伏木 亨：カフェインの中枢作用：コーヒーの科学と機能、p.36-49 アイケイコーポレーション 2006

原著論文

Ishikawa T, Mizunoya W, Shibakusa T, Inoue K, Fushiki T (2006) Transforming growth factor- β in the brain regulates fat metabolism during endurance exercise *Am.J.Physiol. Endocrinol*

Metab. July 5 E1151–E1159

- Haramizu S, Mizunoya W, Masuda Y, Ohnuki Y, Watanabe T, Yazawa S, Fushiki T, Capsiate, a nonpungent capsaicin analog, increases endurance swimming capacity of mice by stimulation of vanilloid receptors (2006) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70 (4); 774–781
- Toyoda T, Tanakas S, Ebihara K, Masuzaki H, Hosoda K, Sato K, Fushiki T, Nakao T, Hayashi T. Low-intensity contraction activates the alpha1-isoform of 5'-AMP-activated protein kinase in rat skeletal muscle. (2006) *Am J Physiol Endocrinol Metab.*; 290(3); E583–90.
- Miyamoto L, Toyoda T, Hayashi T, Yonemitsu S, Nakano M, Tanaka S, Ebihara K, Masuzaki H, Hosoda K, Ogawa Y, Inoue G, Fushiki T, Nakao K. Effect of Acute Activation of 5'-AMP-Activated Protein Kinase on Glycogen Regulation in Isolated Rat Skeletal Muscle (2007) *J Appl Physiol* (Mar)102(3); 1007–1013
- Mizushige T., Kawai T, Matsumura S, Yoneda T, Kawada T, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. POMC and orexin mRNA expressions induced by anticipation of a corn-oil emulsion feeding are maintained at the high levels until oil ingestion. (2006) *Biomed. Res.* 27(5); 227–232
- Nakano M, Hamada T, Hayashi H, Yonemitsu S, Miyamoto L, Toyoda T, Tanaka S, Masuzaki H, Ebihara K, Ogawa Y, Hosoda K, Inoue G, Yoshimasa Y, Otaka A, Fushiki T, Nakao K. $\alpha 2$ Isoform-specific activation of 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase by 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribose at a physiological level activates glucose transport and increases glucose transporter 4 in mouse skeletal muscle *Metabolism Clinical and Experimental* (2006) 55 (2006) 300–308
- Kawabata F, Inoue N, Yazawa S, Kawada T, Inoue K, Fushiki T. Effects of CH-19 sweet, a non-pungent cultivar of red pepper, in decreasing the body weight and suppressing body fat accumulation by sympathetic nerve activation in humans (2006) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70(12); 2824–2835
- Suzuki A, Yamane T, and Fushiki T, Inhibition of fatty acid β -oxidation attenuates the reinforcing effects and palatability to fat. (2006) *Nutrition* 22, 401–407
- Shibakusa T, Iwaki Y, Mizunoya W, Matsumura S, Nishizawa Y, Inoue K, Fushiki T. The physiological and behavioral effects of subchronic intracisternal administration of TGF- β in rats: comparison with the effects of CRF (2006) *Biomed. Res.* 27(6); 297–305
- Matsumura S, Mizushige T, Yoneda T, Iwanaga T, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. GPR expression in the rat taste bud relating to fatty acid sensing. (2007) *Biomed. Res.* 28(1); 49–55
- Matsumura S, Shibakusa T, Fujikawa T, Yamada H, Inoue K, Fushiki T. Increase in transforming growth factor- β in the brain during infection is related to fever, not depression of spontaneous motor activity. (2007) *Neurosci.* 144, 1133–1140
- Hirayasu H, Yoshikawa Y, Tsuzuki S, Fushiki T, A role of a lymphocyte tryptase, granzyme A, in experimental ulcerative colitis. (2007) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71(1); Jan, 234–237

総説

- Mizushige T, Inoue K, Fushiki T. (2007) Why is fat so tasty? Chemical reception of fatty acid on the tongue. *J Nutr Sci Vitaminol* Feb; 53(1); 1–4.

b) 学会発表

- 日本農芸化学会2005年度大会 (8件)
- 日本栄養・食糧学会2005年度大会 (6件)
- 日本生理学会2005年度大会 (2件)
- 日本神経科学会2005年度大会 (2件)
- 日本味と匂い学会2005年度大会 (2件)
- 第19回日本香辛料研究会 (2件)

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

伏木 亨：日本農芸化学会 (評議員)、日本栄養・食糧学会 (理事、JNSV 誌編集委員長)、日本味と匂い学会 (運営委員)、日本食品科学工学会 (支部評議員)、日本生化学会 (評議員)、日本動物細胞工学会 (評議員) 香辛料研究会 (会長)

科研費等受領状況

- 伏木 亨：生研機構 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業 油脂の口腔内化学受容および脳内情報処理機構解明による高嗜好性低エネルギー油脂開発の基盤構築 (伏木、代表)
- 井上和生：科学研究費：基盤研究(B)(一般) 中枢性疲労評価システムと疲労制御を指向した食品開発基盤の整備(井上代表)
- 都築 巧：基盤研究(C)(2) モニターペプチドによる CCK 放出において結合分子グランザイムAが果たす役割の解明(都築代表)

A-4. 国際交流・海外活動

国際的学術誌等の編集等 (役割)

伏木 亨：J. Nutr. Sci. Vitaminol 誌 (編集委員長)、Am. J. Physiol. 誌 (非常勤論文審査委員)

B. 教育活動 (2006.4~2007.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

- 学部：栄養化学 (伏木)、卒業論文 (I) 味覚と嗜好の科学 (伏木)、食品・栄養学実験及び実験法 (井上、都築)、専門外国書購読II (井上、増田)
- 大学院：栄養化学特論 (伏木)、栄養化学専攻実験 (伏木、井上)

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

- 伏木 亨：北海道大学医学部
大阪市立大学医学部
京都女子大学大学院生活科学専攻
池坊文化学院

井上和生：

神戸大学医学部

公開講座等

伏木 亨：

平成18年12月17日「人間は脳で食べている」厚生労働省科学研究推進事業費発表会 滋賀県立大学

平成18年11月25日「ヒトの食嗜好の構造と食習慣の確立」日本栄養食糧学会関東支部シンポジウム、日本獣医生命科学大学

井上和生：

2006年8月22日 “Central Regulation of Energy Metabolism during Exercise”, International Sports Science Congress (Invited Speaker), Yong In, Korea

C. その他

学内・学外の各種委員会委員等

伏木 亨：農学部副研究科長、全学共通教育基礎教育委員長、全学共通教育システム委員会委員、京都大学評価委員会実行委員会委員、京都大学放射性同位元素総合センター協議会委員、日本学術振興会 科学研究費委員会専門委員、日本学術振興会グローバルCOEプログラム委員会専門委員、厚生労働省薬事・食品衛生審議会専門委員 新開発食品評価第一調査会員、

京都市中央卸売市場第一市場「食の拠点充実戦略委員会」委員、

井上和生：京都大学放射性同位元素総合センター動物委員会委員、農学部・農学研究科動物実験委員会委員、農学部・農学研究科図書委員会委員

2.7.5 研究分野：食品分子機能学

構成員：教授 河田 照雄

助教授 裏出 令子

大学院博士課程 5名

博士研究員 4名

大学院修士課程 9名

専攻4回生 3名

A. 研究活動（2006.4～2007.3）

A-1. 研究概要

a) 脂質代謝と肥満のゲノム制御科学

肥満は、脂肪組織とそれを構成する脂肪細部の過剰形成である。近年、多くの生活習慣病の主要因として脂肪細胞から分泌される因子が重要であることが指摘されてきている。脂肪細胞の増殖と分化、さらには病態発症と関係する諸因子の分泌は、摂取する食品成分によって日常的に強い影響を受けている。我々は、脂肪細胞の分化のマスターレギュレーターである核内レセプター、PPARs (peroxisome proliferator-activated receptors：ペルオキシソーム増

殖剤応答性受容体)の標的遺伝子に対する転写調節機構を解析した結果、転写共役因子である CREB binding protein (CBP) が、脂肪細胞分化の必須因子であることを見いだした。さらに、この系を用いて糖質代謝および脂質代謝を促進する PPARs の活性化因子を天然物素材、特に薬用植物やハーブ類に見いだした。現在それらの食品開発への応用研究をすすめている。

b) 生活習慣病の予防を目指したエネルギー代謝、脂質代謝の基礎的・応用的研究

生活習慣病発症の病態発症に、消化管、肝臓や脂肪組織をはじめとした種々の組織でのエネルギー代謝および脂質代謝が密接に関わっている。そこで、これらの組織におけるエネルギー代謝および脂質代謝のメカニズムの基礎的な解析と、脂質代謝を適正に調節する食品成分に関する研究を推進している。基礎的な研究として、生体内での脂質転送系、生合成系、分解系調節機構の解明をテーマに、リポタンパク質分泌・代謝に関する研究、生体内エネルギー消費に関する研究、インスリン抵抗性や動脈硬化症発症に関わる脂肪細胞機能に関する研究などを行っている。応用的研究としては、天然物素材による中性脂質代謝適正化能のメカニズム、リポタンパク質代謝を調節する食品成分の検索とその機能性食品化を目指した実用的研究などを行っている。また、エネルギー代謝や脂質代謝を研究するために有用な研究ツールや研究手法の開発などにも注力している。

c) 生体炎症反応の防御に関する分子食品学

動脈硬化やアレルギーは、食べ物や遺伝的背景により引き起こされる身近な生体炎症である。近年、生活習慣病発症における腫瘍壊死因子 (TNF)- α 、アディポネクチン、MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1) などのサイトカイン・ケモカインの重要性が国内外において明らかにされ、栄養学・健康医学上極めて重要な位置づけとなってきた。ケモカインは、細胞遊走性 (ケモタキシス) のサイトカインのスーパーファミリーであり、炎症性メディエーターとして知られている。我々は、生活習慣病発症にはサイトカイン・ケモカインの生成の制御が極めて重要であり、それらの化学因子の主要な産生細胞は、食事脂肪の主要な標的細胞であるマクロファージおよび脂肪細胞であること、また各種サイトカイン・ケモカインの生成分泌に重要な肥満すなわち白色脂肪組織の過形成およびマクロファージの活性化には、長鎖脂肪酸がリガンドとなり核内受容体、PPARs とそのコアクチベータ、CBP/p300が主因子として遺伝子発現を転写レベルで制御し、さらに種々の栄養素や食品成分によってその機能が修飾を受けることを見いだしてきた。本研究テーマは、これまで未解明であった生活習慣病を惹起・増悪化する化学因子の実態とその発現機構をサイトカイン・ケモカインの視点から明らかにするとともに、分子食品学・細胞生化学的アプローチにより食品成分を用いた機能亢進・不全の改善の方法論的基盤の確立へと展開するものである。

d) 細胞におけるタンパク質の高次構造形成及び品質管理に関する基礎および応用の研究

小胞体は、分泌タンパク質及び膜タンパク質の生合成部位であるとともに、タンパク質の高次構造形成と品質管理に中心的な役割を果たしている。すなわち、小胞体には分子シャペロンと糖鎖付加・修飾及びジスルフィド結合形成を担う酵素などの協同作業により正確かつ迅速にタンパク質のフォールディングを行うと同時に、タンパク質の構造異常をチェックし分解除去する機構が備わっている。本研究室では、タンパク質の高次構造形成と品質管理におけるタンパク質間相互作用及びその制御機構を解明することを目指して研究を進めている。また、心臓病などの素因となる高脂血症と密接に関わる VLDL の量的調節にも小胞体のタンパク質品質管理が深く関わっており、その制御機構について複数の研究機関と協同で研究を行

っている。さらに、生活習慣病予防効果をもつ生理機能タンパク質のダイズ種子での高生産化を目指し、ダイズ小胞体における種子貯蔵タンパク質の高次構造形成及び品質管理機構に関する研究を行っている。

e) 食用油脂と健康に関する基礎及び応用の研究

食用油脂を構成している種々の脂肪酸が生体膜の構造と機能にどのような影響を及ぼしているかという点に関して、大腸菌、植物培養細胞、動物培養細胞、ラット心臓、血小板などを用いて広く研究してきた。その結果、飽和脂肪酸、エルカ酸及びトランス型脂肪酸の細胞毒性、ミトコンドリアの呼吸におけるリノール酸の重要性、血小板凝集時における情報伝達の惹起因子としてのホスファチジルイノシトールのアラキドン酸側鎖の同定など数多くの成果を挙げてきた。このようにヒトの生体内での食用油脂の役割を分子レベルで解析することによって、ヒトの健康に対する食用油脂の適切な摂り方を考案している。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

原著論文

- Yu R, Kim C-S, Kwon B-S, Kawada T: Mesenteric adipose tissue-derived MCP-1 plays crucial role in adipose tissue macrophage migration and activation in obese mice: link between visceral fat and inflammation in obesity. *Obesity* (Silver Spring). 14; 1353-1362, 2006
- Mizushige T, Kawai T, Matsumura S, Yoneda T, Kawada T, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T POMC and orexin mRNA expressions induced by anticipation of a corn-oil emulsion feeding are maintained at the high levels until oil ingestion. *Biomed Res.* 27; 227-232, 2006
- Weangsripanaval T, Murakami Y, Kominami M, Kusudo T, Murota K, Moriyama T, Ogawa T, Kawada T Sodium Cromoglycate Inhibits the Absorption of a Major Soybean Allergen, Gly m Bd 30K, in Mice and Human Intestinal Caco-2 cells. *J Nutr.* 136; 1-7, 2006
- Kobayashi M, Ohno T, Kawada T, Ikegami H, Nishimura M, Horio F. Serum Adiponectin Concentration: Its Correlation with Diabetes-Related Traits and Quantitative Trait Loci Analysis in Mouse SMXA Recombinant Inbred Strains. *Biosci Biotechnol Biochem.* 70; 677-683, 2006
- Shimizu K, Sakai M, Ando M, Chiji H, Kawada T, Mineo H, Taira T.: Newly developed primary culture of rat visceral adipocytes and their in vitro characteristics. *Cell Biol Int.* 30; 381-388, 2006
- Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, Takahashi N, Kawada T, Miyashita K.: Fucoxanthin and its metabolite fucoxanthinol suppress adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Int J Mol Medicine* 18; 147-152, 2006
- Kim C-S, Park H-S, Kawada T, Lim D, Erickson K, Kwon B-S, Yu R,: Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *Int. J. Obesity (Lond).* 30; 1347-1355, 2006
- Ikeda I, Konno R, Shimizu T, Ide T, Takahashi N, Kawada T, Nagao K, Inoue N, Yanagita T, Hamada T, Morinaga Y, Tomoyori H, Imaizumi K, and Suzuki K Campesterol-5-en-3-one, an oxidized derivative of campesterol, activates PPAR α , promotes energy consumption and

reduces visceral fat deposition in rats 2. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1760; 800–807, 2006

Wadahama H, Kamauchi S, Ishimoto M, Kawada T and Urade R: Protein disulfide isomerase family proteins involved in soybean protein biogenesis. *FEBS J*. 274; 687–703, 2007

Ukai T, and Urade R: Cooperation of phosphatidylcholine with endogenous lipids of wheat flour for an increase in dough volume. *Food Chem*. 102; 225–231, 2007

Yano M, Matsumura T, Senokuchi T, Ishii N, Motoshima H, Taguchi T, Matsuo T, Sonoda K, Kukidome D, Sakai M, Kawada T, Nishikawa T, and Araki E. Troglitazone inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced macrophage proliferation: Impact of the suppression of nuclear translocation of ERK1/2. *Atherosclerosis* 191; 22–32, 2007

総 説

Rina Yu, Byung-Se Kwon, Tatsuya Kusudo, and Teruo Kawada: Obesity and Common Diseases: Proinflammatory Adipocytokines Modulate Adipocyte Functions and Obesity-related Pathologies. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* pp.106–118, 2006

Urade R: Cellular response to unfolded proteins in the endoplasmic reticulum of plants. *FEBS J*. 274; 1152–1171, 2007

平井 静、河田照雄：PPAR γ と脂肪細胞分化、「医学のあゆみ」、220；53–58、2006

後藤 剛、高橋信之、河田照雄：メタボリックシンドローム — 有効食品の探索と科学的エビデンス. *日本臨床* 64；558–563、2006

平井 静、河内浩行、矢野秀雄、河田照雄：Adiposcience — 脂肪細胞の新たな展開 — 脂肪細胞分化の分子メカニズム～C/EBP β と δ の新たな機能 細胞 38；219–223、2006

後藤 剛、康 敏淑、金 秋淑、柳 梨娜、河田照雄：メタボリックシンドローム ケモカイン. *臨床栄養* 108；725–730、2006

b) 学会発表

2006年度日本栄養・食糧学会大会：4件

2006年度日本肥満学会大会：5件

2007年度日本農芸化学学会大会：6件

2006年度日本生化学会大会：2件

2006年度日本薬学会東海支部例会：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

河田照雄：日本農芸化学会（関西支部評議員）、日本肥満学会（理事、庶務・広報担当、評議員）、日本栄養・食糧学会（理事）、日本内分泌学会（代議員）、アディポサイエンス研究会（幹事）

科研費等受領状況

科学研究費：特定領域研究(2)「アディポミクス：脂肪細胞の肥大化をモニターする分子機構の解析」（河田代表、継続）、基盤研究(B)(2)「食事脂肪標的細胞における生活習慣病誘発性サイトカイン発現機構の分子的解明」（河田代表、継続）、基盤研究(B)(2)「小胞体タンパク質フォールディング酵素ER-60のジーンターゲット解析」（裏出代表、

新規)、萌芽研究「ダイズタンパク質の生産を調節する小胞体品質管理機構に関する研究」(裏出代表、新規)

農業・生物系特定産業技術研究機構生物系特定産業技術研究支援センター(生研センター): 生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業(異分野融合研究開発型)「トマト機能性成分を活用した花粉症・生活習慣病対策食品の開発」(河田、代表、継続)

農業・生物系特定産業技術研究機構生物系特定産業技術研究支援センター(生研センター): 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業「ゲノム情報の活用による生活習慣病予防機能を強化した食品素材の創出」(裏出、分担、継続)

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等(役割)

河田照雄: 10th International Congress on Obesity (Sydney, Australia, 研究発表3件)、The 4th Asia-Oceania Conference on Obesity (Seoul, Korea, 研究発表2件)

裏出令子: 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (京都、研究発表2件)

国際共同研究、海外学術調査等

河田照雄: 脂肪組織・マクロファージ由来サイトカイン・ケモカインと病態発症に関する研究(韓国・ウルサン大学)

河田照雄: 幹細胞および脂肪細胞の分化・増殖機構に関する研究(仏国・CNRS 生化学研究所)

裏出令子: LDL レセプター関連分子結合タンパク質 RAP と ER-60 間相互作用に関する研究(米国・ワシントン医科大学)

裏出令子: アポリポプロテイン B100 の分解における ER-60 の役割(カナダ国・トロント大学)

国際誌編集(役割)

河田照雄: J. Medicinal Food (editorial board), J. Nutritional Science and Vitaminology (expert editor), Obesity (referee), B.B.A. (referee), Life Science (referee), Lipid (referee), J. Agric. Food Chem. (referee), B.B.B (referee)

裏出令子: The Plant Journal (referee), Journal of Food Science (referee), Antioxidants and Redox Signaling (referee)

B. 教育活動(2006.4~2007.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部: 食品分子機能学(河田照雄、裏出令子)、食品安全学Ⅱ(河田照雄)、食品生物科学入門及び実習Ⅰ(河田照雄、裏出令子)、食品生物科学入門及び実習Ⅱ(河田照雄、裏出令子)、食品生化学Ⅱ(河田照雄)、食品生化学Ⅰ(裏出令子)、酵素化学・生化学実験及び実験法(裏出令子)

大学院: 食品分子機能学特論(河田照雄)、食品分子機能学専攻演習(河田照雄、裏出令子)、食品分子機能学専攻実験(河田照雄、裏出令子)

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

河田照雄：同志社女子大学生活科学部（酵素科学）、佐賀大学農学部（生物資源利用化学特別講義）

公開講座等：

河田照雄：京都バイオ計測プロジェクト 第2回 講演会、近畿アグリハイテク講演会

C. その他

河田照雄：文部科学省科学技術・学術審議会専門委員、文部科学省科学技術政策研究所科学技術動向研究センター専門調査員、日本学術振興会植物分子デザイン第178委員会委員、近畿アグリハイテク食品部会部会長、京都大学シニアキャンパス委員会委員、農学部教務委員会委員

裏出令子：独立行政法人日本学術振興会専門委員

2.7.6 研究分野：食品生理機能学

構成員：教授 吉川 正明

助教授 大日向耕作

助手 山田 優子

大学院博士後期課程 1名 博士研究員 2名

大学院修士課程 7名 非常勤研究員 2名

学部4回生 1名

研究生 1名

A. 研究活動（2006.4～2007.3）

A-1. 研究概要

a) 食品タンパク質由来の学習促進および抗不安ペプチドの作用機構

牛乳β-ラクトグロブリン消化物から回腸収縮ペプチドとして得られたβ-lactetensin (His-Ile-Arg-Leu) はニューロテンシンNT₂レセプターに選択的な天然ペプチドとしては最初の物質である。以前、マウスを用いたステップスルー型受動的回避実験において、本ペプチドは、経口投与（300mg/kg）の際に、学習促進作用を示すことを見出し、その作用がドーパミンD₂アンタゴニストracloprideによりブロックされることから、ドーパミンの放出を介していると推定してきた。今回、β-lactetensinの投与により、線条体および側座核からのドーパミンの放出が増加することを実際に確認した。また、ホウレンソウRubiscoから派生する、δオピオイドペプチドであるrubiscolin-6 (Tyr-Pro-Leu-Asp-Leu-Phe) も経口投与の際に学習促進および抗不安作用を示すことを見出し、ドーパミンD₁アンタゴニストを用いた実験から、ドーパミンの関与を推定してきたが、マイクロダイアリシス法により、rubiscolin-6の投与により、線条体からのドーパミン放出が増加することを確認した。

b) 食品タンパク質由来の免疫促進ペプチドの育毛促進作用

β -conglycinin α' サブユニットに由来するファゴサイトシス促進ペプチド soymetide-4 (Met-Ile-Thr-Leu) および glycinin A₅-A₄ サブユニットに由来するファゴサイトシス促進ペプチド soymetide-B4 (Met-Ile-Ile-Ile) は経口投与 (300mg/kg) により、抗がん剤によるラットの脱毛を抑制する作用を示すことを見出していたが、今回、両ペプチドは2週間の経口投与 (10mg/kg) または2%溶液の経皮投与により、剃毛マウスの自然育毛を促進することを新たに見出した。

c) Rubisco 由来のアンジオテンシン変換酵素阻害/動脈弛緩ペプチド Met-Arg-Trp の作用機構

以前に我々が、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害ペプチドとして、ハウレンソウ Rubisco 消化物から ACE 阻害ペプチドとして単離した Met-Arg-Trp (MRW) は、SHR の腸間膜動脈に対して動脈弛緩作用を示し、且つ、食品タンパク質から派生する通常の ACE 阻害ペプチドが血圧降下作用を示さない30週齢の老 SHR に対しても、20週齢とほぼ同等の血圧降下作用を示した。MRW の動脈弛緩作用は COX 阻害剤であるインドメタシン、および DP₁ アンタゴニスト BWA868C によりブロックされることから、プロスタグランジン (PG) D₂ を介することが判明した。また、MRW を老 SHR に経口投与した際の血圧降下作用も、BWA868C によってブロックされることから、その血圧降下作用は動脈弛緩作用に基づくことがわかった。

d) アンジオテンシン AT₂ アゴニストペプチド Novokinin の新作用および作用機構

卵白アルブミン消化物から単離した動脈弛緩ペプチド ovokinin(2-7) (Arg-Ala-Asp-His-Pro-Phe) のアミノ酸を部分的に置換することによって得た Arg-Pro-Leu-Lys-Pro-Trp は、ovokinin (2-7) の1/100に相当する0.1mg/kg の経口投与により、SHR に対して血圧降下作用を示す。そこで、本ペプチドを Novokinin と命名した。その動脈弛緩および血圧降下作用はアンジオテンシン AT₂ アンタゴニストである PD123319 によりブロックされ、また、Novokinin の血圧降下作用は AT₂-KO マウスでは見られないことから、AT₂-レセプターを介することが確定した。Novokinin の動脈弛緩および血圧降下作用は、インドメタシンおよび IP アンタゴニストである CAY10441 によってブロックされることから、PGI₂ の放出を介することが判明した。

100mg/kg Novokinin 5週間の経口投与によりの2型糖尿病モデルである KKAY マウスの血糖上昇は抑制された。同時に、血中アディポネクチンレベルの上昇が見られた。また、腸間膜脂肪において、アディポネクチンおよび PPAR γ をコードする mRNA レベルの上昇が見られた。なお、この条件下では摂食量ならびに体重に有意な変化は見られなかった。以上の結果から、Novokinin は PPAR γ およびアディポネクチンの遺伝子発現を高めることによって、抗糖尿作用を示すと考えられる。

e) 摂食調節ペプチド

ナタネタンパク質の subtilisin 消化物から、アンジオテンシン変換酵素阻害活性を指標に単離された3残基の生理活性ペプチド Arg-Leu-Tyr (RIY) は、血圧降下作用、腸間膜動脈弛緩作用を示す多機能性ペプチドである。本ペプチドの経口投与により食欲抑制作用および gastric emptying 抑制作用を示すとともに、これらの抑制作用がコレシストキニン-1 (CCK₁) アンタゴニスト lorglumide でブロックされることが判明した。RIY は CCK1 受容体に親和性を示さないことから RIY の摂食および消化管運動抑制作用は CCK 分泌の亢進によるものであることが明らかとなった。また、RIY の構造活性相関を検討したところ、IY、LY が逆に摂食促進作用を示すことが判明した。これらのジペプチドは経口投与で有効な摂食促進ペプチドと

しては初めての例である。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

- Fujiwara, K., K. Ohinata and M. Yoshikawa: Mechanism for suppression of food intake by AT₂ receptor agonists. Peptide Science 2006. p. 301-302, 2006
- Hirata, H., S. Sonoda, S. Agui, K. Ohinata, and M. Yoshikawa: Involvement of σ_1 and dopamine D₁ receptors in anxiolytic effect of rubiscolin-6, a δ opioid peptide derived from spinach Rubisco. Peptide Science 2006. p. 299-300, 2006
- Yoshikawa, M.: Exorphin μ -opioid active peptides of exogenous origin. Handbook of Biologically Active Peptides, Elsevier. p. 1365-1371, 2006
- Ohinata, K., Y. Fujiwara and M. Yoshikawa: Novokinin, an angiotensin AT₂ agonist peptide, decreases food intake in mice. Peptides 2006, KENES International, p. 438-439, 2007 in press

原著論文

- Tsuruki, T. and M. Yoshikawa: Orally administered FPRL1 receptor agonist peptide MMK-1 inhibits etoposide-induced alopecia by a mechanism different from intraperitoneally administered MMK-1. Peptides, 27, p. 820-825, 2006
- Ohinata, K., K. Kobayashi and M. Yoshikawa: [Trp³, Arg⁵]-ghrelin(1-5) stimulates growth hormone secretion and food intake via growth hormone secretagogue (GHS) receptor. Peptides, 27, p. 1632-1637, 2006
- Yang, L., Y. Tada, M.P. Tamamoto, H. Zhao, M. Yoshikawa and F. Takaiwa: A transgenic rice seed accumulating an anti-hypertensive peptide reduces the blood pressure of spontaneously hypertensive rats. FEBS Letters, 580, p. 3315-3320, 2006
- Marczak, E.D., K. Ohinata, A.W. Lipkowski and M. Yoshikawa: Arg-Ile-Tyr (RIY) derived from rapeseed protein decreases food intake and gastric emptying after oral administration in mice. Peptides, 27, p. 2065-2068, 2006
- Ohinata, K., K. Suetsugu, Y. Fujiwara, and M. Yoshikawa: Activation of prostaglandin E receptor EP4 subtype suppresses food intake in mice. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 81(1-2), p. 31-36, 2006
- Yamauchi, R., E. Wada, D. Yamada, M. Yoshikawa and K. Wada: Effect of β -lactotensin on acute stress and fear memory. Peptides, 27, p. 3176-3182, 2006
- Ohinata, K., S. Sonoda, T. Shimano and M. Yoshikawa: Enterostatin (APGPR) enhances memory consolidation in mice. Peptides, 28, p. 719-721, 2007
- Ohinata, K., K. Suetsugu, Y. Fujiwara and M. Yoshikawa: Suppression of food intake by a complement C3a agonist [Trp⁵]-oryzatensin(5-9). Peptides, 28, p. 602-606, 2007
- Tsuruki, T., K. Takahata and M. Yoshikawa: Mechanism of the Protective Effect of Intraperitoneally Administered Agonists for Formyl Peptide Receptors against Chemotherapy-Induced Alopecia. Biosci Biotechnol Biochem, 71, p. 1198-1202, 2007

特許

特願2007-94518「育毛促進剤」、発明者：吉川正明、出願人：日本サプリメント株式会社、
出願：平成19年3月30日

総説

吉川正明：卵白由来ペプチド Ovokinin を基にして設計した血圧降下・育毛促進ペプチド
Novokinin, NIAS アグリバイオサイエンス・シリーズNo.2. バイオインダストリー、p.
10-11、2006

大日向耕作、吉川正明：脳内プロスタグランジンによる新しい食欲調節経路を活性化する
低分子ペプチド. ブレインテクノニュース. 117、p.19-23、2006

b) 学会発表

日本農芸化学会2007年度大会（9件）

第60回日本栄養・食糧学会大会（2件）

日本農芸化学会関西支部大会（2件）

第43回ペプチド討論会（2件）

第53回日本食品科学工学会（1件）

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

吉川：日本農芸化学会（評議員）、日本食品科学工学会（理事）、日本栄養食糧学会（評議員）、日本酪農科学研究会（評議員、編集委員）、日本動物細胞工学会（評議員）、鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム（世話人）、日本ペプチド学会（評議員）

科研費等受領状況

文部科学省科学研究費：基盤研究(B)(2) 育毛促進および抗脱毛作用を有する低分子ペプチドの作用機構（吉川代表）、若手研究(B) 食欲調節作用を有する低分子ペプチドの探索と作用機構の解析（大日向代表）、若手研究（スタートアップ）アンジオテンシンAT₂アゴニスト Novokinin の新しい生理作用と作用機構（山田）

受託研究：生研センター ゲノム情報の活用による生活習慣病予防機能を強化した食品素材の創出（吉川代表）、戦略的創造研究推進事業（CREST）脳発達を支える母子間バイオコミュニケーション（吉川分担）、JST シーズ発掘試験研究 生活習慣病予防のための持続性・徐放性カテキンの開発（吉川代表）、糧食研究会 食品タンパク質の生体調節機能に関する研究（吉川代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際共同研究、海外学術調査等

吉川：Drug design based on natural products（ポーランド工業化学研究所との共同研究）

国際会議、研究集会等（役割）

大日向：29th European Peptide Symposium, 2006.9.3-8, ポーランド（口頭発表）、ワークショップ“From Endogenous Systems to Medicines” 2006.9.9、ポーランド（口頭発表）

国際誌編集（役割）

吉川：Peptides（編集委員）、J. Agr. Food Chem.（レフリー）、J. Food Sci.（レフリー）

B. 教育活動 (2006.4~2007.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：基礎食品生物科学Ⅱ（吉川・大日向）、食品生理機能学（吉川）、食品生物科学入門及び実習Ⅰ・Ⅱ（吉川・大日向）、基礎情報処理演習（大日向）、食品・栄養化学実験および実験法（大日向）

大学院：食品生理機能学演習（吉川・大日向）、食品生理機能学実験（吉川・大日向）

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

吉川：長野県バイオテクノロジー研究会「食品たんぱく質から派生する生理活性ペプチドによる生活習慣病の予防」2006.4.28、松本、

近畿化学会バイオサイエンス講演会「タンパク質から派生する低分子ペプチドの生理作用とその展開」2006.7.28、京都、

統合医療研究開発セミナー「食品タンパク質から派生する生理活性ペプチドによる生活習慣の予防」2006.9.5、京都

独立行政法人科学技術振興機構・新技術説明会「新しい作用機構に基づいた抗健忘ペプチドの開発、2006.12.11、名古屋

大日向：武庫川女子大学大学院講義「脳で調節される食欲」、2006.6.28

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

留学生：2名（中国、台湾）

C. その他

吉川：特定保健用食品専門委員、乳業技術協会理事、NPO法人さきがけ技術振興会理事

大日向：農学部・農学研究科動物実験委員会委員、農学研究科放射線障害防止委員会委員

講座 食品生産工学

2.7.7 研究分野：農産製造学

構成員：教授	安達 修二
助教授	木村 幸敬
助手	島 元啓
事務補佐員	神谷るみ子
大学院博士後期課程	3名
大学院修士課程	8名
専攻4回生	4名

A. 研究活動（2006.4～2007.3）

A-1. 研究概要

a) 亜臨界水を用いた新たな食品加工技術の開発：

100℃を越える高温で加圧することにより液体状態を保った水を亜臨界水という。亜臨界水の比誘電率は有機溶媒のそれに近く、疎水性物質の溶解度が高い。また、イオン積が大きいという特徴をもつ。これらの特徴を活用した新たな食品加工技術の開発を目的として、低利用生物資源からの有用物質の生産および各種エステル、糖、アミノ酸などの加水分解反応について検討し、物理化学、食品工学の観点から解析している。

b) ナノおよびマイクロ分散系食品素材の特性解析と利用：

油滴径が数10nmのナノ・エマルションは既存のマイクロエマルションにない特異な性質と機能をもつと期待されるが、十分な知見が得られていない。そこで、O/W型エマルション中の油滴の微細化が油相中の不飽和脂肪酸の酸化過程に及ぼす影響について、油水界面における物質移動現象を含めて、系統的に検討している。また、W/O/W型エマルションの内水相に機能性成分を封入した食品素材の開発に関する基礎的検討を行っている。

c) バイオリクターの構築に関する生物反応工学的研究：

酵素、微生物などの生体触媒の特徴を十分に理解し、それに基づいて効率的に物質生産を行うバイオリクターシステムを構築する。とくに、加水分解酵素の有する縮合作用を利用して界面活性物質などの機能性食品素材の合成について、反応効率に及ぼす物理化学的因子の影響を明らかにし、合理的なバイオリクターシステムの設計法の確立を目指している。

d) 食品加工プロセスの解析と展開：

高度不飽和脂肪酸などの液状脂質を多糖やタンパク質など（包括剤）の濃厚水溶液でエマルション化したのち、それを急速に脱水して微小な油滴を包括剤乾燥層で被覆することにより粉末化物を調製することができる。脂質を粉末化することにより、脂質の酸化の抑制、脂溶性生理活性物質の経口摂取から腸管吸収までの輸送などの機能が付与できる。これらの機能を十分に発揮する粉末化物を合理的に調製する手法を確立するための基礎的検討と応用研究を行っている。さらに、糖のクロマトグラフ分離などについて系統的な解析を行っている。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書・総説

- S. Adachi and J. Piao: Monoacyl Sugar Alcohols Synthesized through Lipase-catalyzed Condensation in an Organic Solvent. In “Biocatalysis and Biotechnology for Functional Foods and Industrial Products”, Taylor & Francis, pp. 333-348, 2006.

原著論文

- J. Zhou, H. Li, Q. Liu, X. Zhang, B. Feng, and S. Adachi: Lipase-catalyzed synthesis of mono- and diacyl mannoses in acetone. *Biotechnol. Lett.*, 28, 395-400 (2006).
- M. Shima, Y. Yoshida, and S. Adachi: Kinetics of the change in the acid value of palm oil during simulated deep frying. *Japan J. Food Eng.*, 7, 113-117 (2006).
- M. Mori and S. Adachi: Temperature dependence of distribution coefficients of caffeine and vanillin on hydrophobic resin in an aqueous system. *Japan J. Food Eng.*, 7, 141-145 (2006).
- C. Usuki, Y. Kimura, and S. Adachi: Conversion of linoleic acid to its conjugated isomers in subcritical water. *Japan J. Food Eng.*, 7, 147-150 (2006).
- S. Haghghat Khajavi, S. Ota, Y. Kimura, and S. Adachi: Kinetics of maltooligosaccharide hydrolysis in subcritical water. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 3663-3667 (2006).
- J. Chen, Y. Kimura, and S. Adachi: Surface activities of monoacyl trehaloses in aqueous solution. *Lebensm.-Wissens. u. Technol.*, 40, 412-417 (2006).
- Y. Yoshida, Y. Kimura, and S. Adachi: Thermal inactivation of immobilized lipase in 1-alcohols. *J. Biosci. Bioeng.*, 102, 66-68 (2006).
- J. Piao and S. Adachi: Stability of O/W emulsions prepared using various monoacyl sugar alcohols as an emulsifier. *Inov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 7, 211-216 (2006).
- Y. Yoshida, Y. Kimura, M. Kadota, T. Tsuno, and S. Adachi: Continuous synthesis of alkyl ferulate by immobilized *Candida antarctica* lipase at high temperature. *Biotechnol. Lett.*, 28, 1471-1474 (2006).
- J. Chen, Y. Kimura, and S. Adachi: Oxidation of linoleoyl residue of its trehalose ester in an aqueous solution. *Food Sci. Technol. Res.*, 12, 163-166 (2006).
- S. Haghghat Khajavi, S. Ota, R. Nakazawa, Y. Kimura, and S. Adachi: Hydrolysis kinetics of trisaccharides consisting of glucose, galactose and fructose residues in subcritical water. *Biotechnol. Prog.*, 22, 1321-1326 (2006).
- M. Shima, Y. Morita, M. Yamashita, and S. Adachi: Protection of *Lactobacillus acidophilus* from the low pH of a model gastric juice by incorporation in a W/O/W emulsion. *Food Hydrocolloids*, 20, 523-531 (2006).
- L. Hung, Y. Kimura, and S. Adachi: Discoloration kinetics of L-ascorbyl 6-palmitate powders with various water contents. *Food Sci. Technol. Res.*, 13, 7-12 (2007).
- Y. Sakuramoto, M. Shima, and S. Adachi: Autoxidation of mono-, di- and trilinoleoyl glycerols at different concentrations. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71, 803-806 (2007).
- S. Kikuchi, X. Fang, M. Shima, K. Katano, H. Fukami, and S. Adachi: Oxidation of arachidonoyl glycerols encapsulated with saccharide. *Food Sci. Technol. Res.*, 12, 247-251 (2006).

M. Shima, T. Matsuo, and S. Adachi: Effect of inner-phase components of water-in-oil-in-water emulsion on low-pH tolerance of *Lactobacillus acidophilus* incorporated into inner-water phase. *J. Biosci. Bioeng.*, 103, 278-281 (2007).

b) 学会発表

日本食品工学会：5件
第17回化学プロセス工学国際会議：1件
化学工学会第38回秋季大会：1件
日本農芸化学会2006年度関西支部大会：1件
酵素工学研究会第56回講演会：1件
化学工学会徳島大会：2件
食品微細科学研究会第6回研究発表会：1件
日本農芸化学会関西支部第448回例会：2件
日本農芸化学会大会：2件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

安達修二：日本食品工学会（理事）、日本農芸化学会（関西支部副支部長）、酵素工学研究会（副会長）、日本油化学会（関西支部幹事）

科研費等受領状況

科学研究費：萌芽研究 ナノ粒子化は脂質の酸化を遅延させる？（安達代表・島分担）基盤研究(C)(2) 亜臨界水による食品成分の無触媒合成（木村代表・島分担）
生物機能の革新的利用のためのナノテクノロジー・材料技術の開発：マイクロ／ナノ粒子の界面移動現象と機能制御（安達代表）
ソルトサイエンス財団：亜臨界水による食品成分の分解に及ぼす塩の影響に関する基礎的検討（安達代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際学会、研究集会等（役割）

安達修二：中国・江南大学招待講演（H18.03.01）、17th International Congress of Chemical and Process Engineering（口頭発表）（チェコ、H18.08.28）、2006 Gwangju International Food Symposium on Health and Safety（招待講演）（韓国、H18.11.17）

国際的学術雑誌等の編集等（役割）

安達修二：Food Sci. Technol. Res.（編集委員）、J. Biosci. Bioeng.（編集委員）
木村幸敬：Japan J. Food Eng.（編集委員）

B. 教育活動（2006.4～2007.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品工学（安達、木村）、食品物理化学Ⅰ（木村）、食品物理化学Ⅱ（安達）、食品生物科学基礎実験及び実験法（木村）、化学工学実験及び実験法（木村）

大学院：食品生産工学特論（安達）、農産製造学専攻演習（安達、木村）、農産製造学専攻実験（安達、木村）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

安達修二：香川大学農学部（食品化学工学）、三重大学大学院生物資源学研究科（循環生物工学特別講義）

木村幸敬：岡山理科大学大学院生物化学専攻（生物化学特別講義Ⅰ）

公開講座等

安達修二：山口大学工学部・地域共同研究開発センター講演会（講師）（H18.07.07）、和歌山県工業技術センター講演会（講師）（H18.09.08）、化学工学会徳島大会（展望講演）（H18.10.28）

木村幸敬：2006国際食品機械工業展アカデミックプラザ（講師）（H18.06.07）

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員等の受入れ

留学生：博士課程学生 3名（イラン1名、台湾1名、タイ1名）

C. その他

安達修二：全学共通教育システム委員会情報教育専門委員、学術情報メディアセンター学内共同利用運営委員、情報システム運営委員長、農学部情報セキュリティ委員、研究科環境安全衛生委員

木村幸敬：農学部情報セキュリティ委員、農学部衛生安全管理者副主任

島 元啓：農学部情報システム運営委員会委員

2.7.8 研究分野：生物機能変換学

構成員：教授 村田 幸作

助教授 橋本 涉

助手 河井 重幸

ポスドク研究員 2名

大学院博士後期課程 2名

大学院修士課程 5名 研究員 1名

専攻4回生 3名

A. 研究活動（2006.4～2007.3）

A-1. 研究概要

a) 体腔形成細菌の機能・構造プロテオミクス

Shingomonas 属細菌 A1株は、高分子多糖存在下で細胞表層の襲状物質を再構成・再編成さ

せることにより、細胞表層に巨大な孔（体腔）を形成する。体腔は、細胞外の高分子多糖を濃縮する機能を示す。体腔形成に関わる細胞表層タンパク質について、アルギン酸レセプターとして機能するフラジェリンホモログ p5が見出されている。今年度は、p5の高次構造と機能との相関を解析した。p5は、N/C 末端領域の α ドメイン（ $\alpha 1 + \alpha 2$ ）と中央領域の β ドメインから成る。 $\alpha 1$ ドメインを欠失したp5変異体はアルギン酸結合能を失うことから、アルギン酸の結合には $\alpha 1$ ドメインが不可欠である。p5とサルモネラ菌の鞭毛由来フラジェリンとの構造比較の結果、 α ドメインは互いによく類似していた。そのため、細菌フラジェリンに共通するアルギン酸結合能は、高度に保存された α ドメインに因るものと考えられる。一方、p5の β ドメインは、T4ファージの基盤と尾繊維とのヒンジ領域に位置するタンパク質 gp11のフィンガードメインと似ている。フィンガードメインと基盤タンパク質 gp10との結合は、尾繊維が細菌細胞表層に接着するのに重要である。フィンガードメインが他のタンパク質と相互作用を示すことから、p5の β ドメインはA1株の細胞表層分子と相互作用するアンカーとして機能し、アルギン酸結合に重要な α ドメインを外界に配向させていると考えられる。

b) 体腔器官の分子移植工学

Sphingomonas 属細菌は、様々な環境有害物質を分解する能力を有し、環境浄化への適用が期待されている重要な菌群である。その能力を格段に増強すれば、実用的な環境浄化能を持つ菌株を得ることができる。そのためには、応用微生物学が確立して来た従来の代謝工学的手法を凌駕する技術の導入が求められる。そこで、物質輸送に関わるA1株の体腔を他の細菌に移植し、各種化合物を強力に分解する「スーパー細菌」を創成することにより、大規模細胞機能改変技術としての「分子移植工学」の確立を目指した。ポリデキストロース分解菌 *Sphingomonas sanguis* にA1株の体腔を分子移植することにより、高分子物質（ポリデキストロース）を強力に分解する「スーパー細菌」を創成した。「スーパー細菌」は、ポリデキストロースを効率よく分解することから、そのバイオレメディエーションへの高い適用性を示した。従って、細菌の巨大分子輸送装置（体腔器官）を他の細菌に分子移植することにより、細胞の構造と機能を大規模に改変する技術（分子移植工学）を確立した。

c) ガスバイオロジー

窒素固定細菌 *Azotobacter vinelandii* は、窒素源を含まない培養条件下では、空気中の窒素をニトロゲナーゼによりアンモニアに同化し生育する。ニトロゲナーゼは、酸素存在下で速やかに失活する。そこで、本菌における窒素と酸素の細胞内レベルの制御機構を解析した。*A. vinelandii* は莢膜多糖アルギン酸をバリアーとして細胞内酸素濃度を制御することが示唆されているが、その詳細は不明である。そこで、アルギン酸合成欠損株を育種し、その窒素固定能を調べた。アルギン酸合成欠損株は野生株と同等の窒素固定能を示したことより、アルギン酸が細胞内酸素濃度の制御に深く関与しているわけではないことを明らかにした。今後は、窒素或いは酸素の膜透過機構をトランスクリプトームとプロテオーム解析により調べる予定である。

d) 細菌-宿主細胞との相互作用：宿主細胞表層多糖に作用する細菌由来分解系の構造生物学

細菌と各種生物（宿主：微生物、植物、動物）との相互作用について解析を加えた。細菌による宿主の細胞表層多糖の分解は、両者が相互作用（感染・腐生・共生）する際の初期応答の1つである。

微生物多糖：細菌 *Xanthomonas campestris* の莢膜多糖キサントンを分解する *Bacillus* 属細菌

GL1株のキサンタンリアーゼについて、X線結晶構造解析と変異体の酵素速度論的解析により基質特異性を決定する構造要因（基質認識に関わるループの重要性）を明らかにした。

植物多糖：枯草菌における植物細胞壁多糖 [ペクチン構成多糖ラムノガラクトuronan I (RG-I)] の分解機構を明らかにした。多糖リアーゼ YesW と YesX が各々エンド型とエキソ型で RG-I 主鎖に作用し、最終的に 2 糖にまで分解する。生じた 2 糖は、不飽和ガラクトuron酸ヒドロラーゼ YteR と YesR の作用により単糖にまで分解される。YesW の X 線結晶構造解析を進め、本酵素が多糖リアーゼでは新規の 8 枚羽 β プロペラ構造を基本骨格にもつことを明らかにした。

動物多糖：Streptococcus に属する *S. pyogenes*、*S. agalactiae*、及び *S. pneumoniae* は、化膿性溶血性連鎖球菌に分類され、重篤な疾患を誘発する。3 種類の連鎖球菌に共通な病原性因子・ヒアルロン酸リアーゼ (HLY) は、宿主細胞外マトリクスであるグリコサミノグリカン (GAG) を不飽和オリゴ糖にまで分解し、菌の侵入に重要な役割を示す。本研究では、連鎖球菌における GAG 完全分解系を明らかにし、それに関わる酵素群の阻害剤を開発することにより新たな感染症治療法を確立することを目的とした。3 種類の連鎖球菌ゲノムには、GAG 由来不飽和オリゴ糖を単糖に分解する不飽和グルクロニルヒドロラーゼ (UGL) 遺伝子がコードされていた。連鎖球菌由来 UGL は、既知の *Bacillus* 属細菌 GL1 株由来 UGL と異なり硫酸化 GAG に対しても良好に作用するため、この UGL の広い基質特異性が連鎖球菌の感染を容易にしている可能性が考えられた。

e) NADP(H) 分解系の解析：フォスファターゼ [NADP(H)ase] の同定

超好熱性メタン生成古細菌 *Methanococcus jannaschii* 由来 MJ0917 は、N 末端側のイノシトールモノフォスファターゼ (IMPase) ホモログと、C 末端側の NAD キナーゼホモログが融合した特徴的な一次構造を示す。古細菌 IMPase ホモログは、IMPase およびフルクトース-1,6-ビスフォスファターゼ (FBPase) 活性を示すことが知られていた。しかし、IMPase や FBPase 活性と NAD キナーゼ活性に生理的相関性が見出し難いため、MJ0917 の IMPase ホモログ領域は NADP(H)ase 活性を示すのではないかと推定し、MJ0917 の詳細な機能解析を行った。その結果、MJ0917 の IMPase ホモログ領域が IMPase 活性を示さないものの、強い NADP(H)ase および FBPase 活性を示すことを明らかにした。更に、MJ0917 が高い NAD(H)/NADP(H) 比を保ち得る種々の生化学的特長を有していることも示した。また、他の幾つかの古細菌ゲノム上においても、IMPase ホモログと NAD キナーゼホモログがオペロン様の構造をとっていることを明らかにした。更に、他の古細菌 IMPase ホモログ (超好熱性硫酸還元古細菌 *Archaeoglobus fulgidus* 由来 AF2372、および *M. jannaschii* 由来の別の IMPase ホモログ MJ0109) が、IMPase 活性と FBPase 活性の他に、強い NADP(H)ase 活性を示すことも実証した。以上の結果より、古細菌 IMPase ホモログが NADP(H)ase として機能し得ることを明らかにした。本成果は、真の NADP(H)ase の初めての発見であった。

f) 出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* エンドサイトーシスタンパク質 Pan1p の構造機能相関

エンドサイトーシスは、真核生物に特有の重要なプロセスであり、多くのタンパク質の高度に統御された複雑かつ動的な相互作用を要する。出芽酵母において、Pan1p はこの相互作用の要となるタンパク質である。Pan1p 自身の活性は、自身のリン酸・脱リン酸化により制御される。本研究では、Pan1p の構造と細胞内での生理機能の相関を明らかにするため、約 30 種類に及ぶ Pan1p の系統的変異株 (主に Pan1p の各ドメインの段階的欠失株) を作製し、

その表現型を詳細に検討した。その結果、Pan1pにおける特に重要な領域や必須のリン酸化部位 (Thr398)、Sla1p (EnC 関連タンパク質) の機能発現や *SLA1* 欠損との合成致死に必須の Pan1p のドメイン、並びに pan1-4 の変異点を明らかにした。本成果は、出芽酵母におけるエンドサイトーシスを始めとする Pan1p を要する生物学的プロセスの全容解明に資すると期待された。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

原著論文

- Aso, Y., Y. Miyamoto, K. M. Harada, K. Momma, S. Kawai, W. Hashimoto, B. Mikami and K. Murata: Engineered membrane superchannel improves bioremediation potential of dioxin-degrading bacteria. *Nat. Biotechnol.*, 24 (2); 188-189, 2006
- Harada, K. M., Y. Aso, W. Hashimoto, B. Mikami and K. Murata: Sequence and analysis of the 46.6-kb plasmid pA1 from *Sphingomonas* sp. A1 that corresponds to the typical IncP-1 β plasmid backbone without any accessory gene. *Plasmid*, 56 (1); 11-23, 2006
- Ochiai, A., W. Hashimoto and K. Murata: A biosystem for alginate metabolism in *Agrobacterium tumefaciens* strain C58: Molecular identification of Atu3025 as an exotype family PL-15 alginate lyase. *Res. Microbiol.*, 157 (7); 642-649, 2006
- Dominggus, M., T. Itoh, W. Hashimoto, K. Murata, S. Utsumi and B. Mikami: Overexpression, purification and preliminary X-ray analysis of pullulanase from *Bacillus subtilis* strain 168. *Acta Crystallograph. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 62 (4); 381-384, 2006
- Itoh, T., W. Hashimoto, B. Mikami and K. Murata: Substrate recognition by unsaturated glucuronyl hydrolase from *Bacillus* sp. GL1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 344 (1); 253-262, 2006
- Ochiai, A., M. Yamasaki, T. Itoh, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystallization and preliminary X-ray analysis of the rhamnogalacturonan lyase YesW from *Bacillus subtilis* strain 168, a member of polysaccharide lyase family 11. *Acta Crystallograph. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 62 (5); 438-430, 2006
- Ochiai, A., M. Yamasaki, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystallization and preliminary X-ray analysis of an exotype alginate lyase Atu3025 from *Agrobacterium tumefaciens* strain C58, a member of polysaccharide lyase family 15. *Acta Crystallograph. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 62 (5); 486-488, 2006
- Itoh, T., A. Ochiai, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: A novel glycoside hydrolase family 105: The structure of family 105 unsaturated rhamnogalacturonyl hydrolase complexed with a disaccharide in comparison with family 88 enzyme complexed with the disaccharide. *J. Mol. Biol.*, 360 (3); 573-585, 2006
- Harada, K. M., K. Tanaka, Y. Fukuda, W. Hashimoto and K. Murata: *Paenibacillus* sp. strain HC1 xylanases responsible for degradation of rice bran hemicellulose. *Microbiol. Res.*, Online publication, July 7, 2006
- Itoh, T., W. Hashimoto, B. Mikami and K. Murata: Crystal structure of unsaturated glucuronyl

- hydrolase complexed with substrate: Molecular insights into its catalytic reaction mechanism. *J. Biol. Chem.*, 281 (40); 29807-29816, 2006
- Cui, Z., Y. Maruyama, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystallization and preliminary crystallographic analysis of a family GH78 α -L-rhamnosidase RhaB from *Bacillus* sp. GL1. *Acta Crystallograph. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 62 (7); 646-648, 2006
- Itoh, T., A. Ochiai, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Structure of unsaturated rhamnogalacturonyl hydrolase complexed with substrate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 347 (4); 1021-1029, 2006
- Hong, C. S., T. Yamada, W. Hashimoto, A. M. Fialho, T. K. D. Gupta and A. M. Chakrabarty: Disrupting the entry barrier and attacking brain tumors: The role of the *Neisseria* H.8 epitope and the Laz protein. *Cell Cycle*, 5 (15); 1633-1641, 2006
- Maruyama, Y., B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: A structural factor responsible for substrate recognition by *Bacillus* sp. GL1 xanthan lyase that acts specifically on pyruvated side chains of xanthan. *Biochemistry*, 46 (3); 781-791, 2007

総 説

- 河井重幸、福田知加子、村田幸作：NADP(H) 合成の鍵酵素、NAD キナーゼの機能と構造。蛋白質 核酸 酵素、52 (3) ; 243-248、2007
- 宮本祐希子、橋本 渉、村田幸作：「スーパー細菌」の創成とバイオレメディエーションへの応用。バイオテクノロジージャーナル・テクノ・トレンド、7-8 ; 472-474、2006
- 麻生祐司、宮本祐希子、橋本 渉、村田幸作：スーパー細菌の創成とバイオレメディエーションへの利用。(The creation of super bacteria and its make use of bioremediation) 資源環境対策、42 (7) ; 103-107、2006
- 麻生祐司、宮本祐希子、橋本 渉、村田幸作：超チャネルの分子移植による環境浄化型「スーパー細菌」の創成。ブレインテクノニュース、No.115 ; 30-33、2006
- 宮本祐希子、橋本 渉、村田幸作：巨大な口を開けるスーパー細菌 — 超チャネルの移植。バイオニクス、No.4、April ; 70-71、2006

報告書等

- 村田幸作、橋本 渉：「小胞状構造体」の形成に関わる細菌細胞膜のダイナミクス。特定領域研究 研究成果報告書 (2000年度~2004年度科学研究費補助金) 細胞システム解明に向けたゲノム生物学の新展開 (略称：ゲノム生物学)、p.432-433、2006
- Ochiai, A., T. Itoh, Y. Maruyama, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of rhamnogalacturonan lyase from *Bacillus subtilis* strain 168. *SPring-8 User Experiment Report*, On-line publication, 2006
- Itoh, T., Y. Maruyama, K. Ogura, M. Domingus, B. Mikami, W. Hashimoto and Kousaku Murata: Structural analysis for the substrate specificity of a novel glycosidase, unsaturated galacturonyl hydrolase, responsible for the degradation plant cell wall. *SPring-8 User Experiment Report*, On-line publication, 2006
- Itoh, T., A. Ochiai, B. Mikami, A. Tanabe, K. Mizutani, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of unsaturated rhamnogalacturonan hydrolase complexed with substrate. *SPring-8 User Experiment Report*, On-line publication, 2006

Ochiai, A., M. Yamasaki, T. Itoh, Y. Maruyama, A. Tanabe, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: X-ray analysis of exotype alginate lyase from *Agrobacterium tumefaciens* C58. *SPring-8 User Experiment Report*, On-line publication, 2006

Maruyama, Y., M. Momma, K. Ogura, M. Domingus, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Analysis of alginate recognition system on cell surface of *Sphingomonas* sp. A1. *SPring-8 User Experiment Report*, On-line publication, 2006

b) 学会発表

日本農芸化学会2006年度大会：11件

日本農芸化学会2006年度関西支部大会：4件

日本農芸化学会2006年度関西支部例会：3件

日本生物工学会2006年度大会：2件

日本生化学会2006年度大会：3件

日本生物物理学会2006年度大会：1件

アメリカ微生物学会2006年度大会：1件

微生物と植物バイオテクノロジーに関する日韓合同セミナー：1件

第8回京都大学国際シンポジウム：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

村田幸作：日本農芸化学会（全国評議員・「化学と生物」編集委員長）、日本生物工学会（理事・Journal of Bioscience and Bioengineering編集委員長）、日本生化学会（評議員）、日本栄養・食糧学会（評議員）、日本ビタミン学会（評議員）、その他

橋本 渉：酵母研究会（運営委員）

科研費等受領状況

村田幸作：基盤研究(B)(2) 鞭毛タンパク質フラジェリンの機能解析による細菌細胞表層構造の構築原理と鞭毛進化（村田代表、三上・橋本分担）；特定領域研究 タンパク質の「揺らぎ」と機能発現における水分子の役割（村田代表、三上・橋本分担）；萌芽研究 体腔器官の分子移植による細菌の構造と機能の大規模改変とその応用（村田代表、橋本分担）

橋本 渉：基盤研究(C) グリコサミノグリカン分解による連鎖球菌の宿主細胞侵入・感染機構の分子・構造生物学（橋本代表）

河井重幸：独立行政法人 科学技術振興機構平成18年度シーズ発掘試験：未利用資源ポリリン酸依存型酵素の開発と脱 ATP 型物質生産系への応用（河井代表）

A-4. 国際交流・海外活動

外国人研究者の受入れ

招へい外国人共同研究者 1名（Food Industries Research Institute, Viet Nam・Deputy head）

B. 教育活動 (2006.4~2007.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品微生物学（村田）、生物機能変換学（村田・橋本）、食品生物科学演習（村田・橋本・河井）、微生物学実験及び実験法（橋本分担）

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ

留学生：博士課程学生 1名（中国）

外国人研修生等：研究留学生 1名（中国）