

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）70名、博士後期課程25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37名、2回生33名、3回生34名、4回生39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

准教授 保川 清

助 教 滝田 禎亮

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 2 名

専攻 4 回生 4 名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

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 (緑茶カテキンやリグナン) 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一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、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およびドメイン間相互作用の検討を行っている。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その阻害剤に関する研究

微生物由来のアミラーゼについてその熱安定性の改変を変異導入、反応系の工夫を通して行っている。カルシウム結合部位の改変により、熱安定性は大きく変化させることが出来た。これらの成果は、デンプン糖化工業や製パン工業に適用できる。また、コムギアルブミンから哺乳類のアミラーゼに対する阻害剤 (0.19AI) を精製し、ブタすい臓 α -アミラーゼ (PPA) に対する阻害を検討した。NaCl の添加効果、pH の効果などの検討により、PPA-0.19AI 複合体形成には1本の静電的相互作用が関与することを見出した。現在、化学修飾により、この静電的相互作用に関与する残基を検索している。本研究の成果は、肥満防止や糖尿病予防に利用できる。

d) 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、二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 $10^3 \sim 10^5$ 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。

e) 大豆タンパク質およびコムギ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。一方、コムギタンパク質は、主要な食用タンパク質であるが、特徴的なアミノ酸組成を持ち、in vivo および in vitro での加水分解は容易ではない。コムギグルテンを素材として有効な加水分解法を検討している。

f) 逆転写酵素に関する研究

逆転写酵素 (RT) は分子生物学的研究や RNA ウイルスの臨床分析において必要不可欠な酵素である。反応効率、耐熱性、転写の正確性という観点から、トリ骨髄芽球症ウイルス (avian myeloblastosis virus, AMV) RT とモロニーマウス白血病ウイルス (Moloney murine leukemia virus, MMLV) RT がよく使用されているが、反応効率や耐熱性の一層の改良が求められている。われわれは、AMV RT と MMLV RT の酵素化学的性質を検討するとともに、部位特異的変異による活性と安定性の向上を目指している。

A-2. 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

原著論文

- Sawada, N., Yamamoto, K., Yamada, S., Ikushiro, S., Kamakura, M., Ohta, M., Inouye, K., and Sakaki, T.: Role of Gln 85 of human CYP27A1 in 25-hydroxyvitamin D₃-binding and protein folding. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355; 211-216, 2007
- 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.*, 141; 835-842, 2007
- Hashida, Y. and Inouye, K.: Kinetic analysis of the activation-and-inhibition dual effects of cobalt ion on thermolysin activity. *J. Biochem.*, 141; 843-853, 2007
- 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.*, 141; 879-888, 2007
- Inouye, K., Shimada, T., and Yasukawa, K.: Purification to homogeneity of a neutral metalloproteinase from *Streptomyces caespitosus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71; 1773-1776, 2007
- 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.*, 71; 2083-2086, 2007
- 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.* 20; 375-383, 2007
- Inouye, K., Shimada, T., and Yasukawa, K.: Effects of neutral salts and alcohols on the activity of *Streptomyces caespitosus* neutral protease (ScNP). *J. Biochem.*, 142; 317-324, 2007

- Yasukawa, K. and Inouye, K.: Improving the activity and stability of thermolysin by site-directed mutagenesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 1774; 1281-1288, 2007
- Yasukawa, K., Nemoto, D., and Inouye, K.: Comparision of the thermal stabilities of reverse transcriptases from avian myeloblastosis virus and moloney murine leukemia virus. *J. Biochem.*, 143; 261-268, 2008
- Kojima, K., Tsuzuki, S., Fushiki, T., and Inouye, K.: Roles of functional and structural domains of hepatocyte growth factor inhibitor type 1 in the inhibition of matriptase. *J. Biol. Chem.*, 283; 2478-2487, 2008
- Takita, T., Aono, T., Sakurama, H., Itoh, T., Wada, T., Minoda, M., Yasukawa, K., and Inouye, K.: Effects of introducing negative charges into the molecular surface of thermolysin by site-directed mutagenesis on its activity and stability. *Biochim. Biophys. Acta*, 1784; 481-488, 2008
- Ueda, M., Asano, T., Nakazawa, M., Miyatake, K., and Inouye, K.: Purification and characterization of novel raw-starch-digesting and cold-adapted alpha-amylases from *Eisenia foetida*. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 150; 125-130, 2008

総説ほか

- Inouye, K., Kusano, M., Hashida, Y., Minoda, M., and Yasukawa, K.: Engineering, expression, purification, and production of recombinant thermolysin. *Biotechnol. Annu. Rev.* 13; 43-65, 2007
- Inouye, K., Okumura, S., and Mizuki, E.: Parasporin-4, a novel cancer cell-killing protein produced by *Bacillus thuringiensis* (Minireview). *Food Sci. Biotechnol.* 17: 219-227, 2008
- 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, 2007
- 井上國世、加茂昌之：基礎から学ぶ構造生物学（河野敬一、田之倉優、編）共立出版社、91-98（総203ページ）
- 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：読書のススメ、化学、62：56、2007

b) 学会発表

- 日本農芸化学会2007年度大会：11件
- 日本農芸化学会／関西・中部支部合同大会：6件
- 第54回日本生化学会近畿支部例会：5件
- 第59回日本生物工学会大会：1件
- 第7回食品酵素化学研究会：1件
- 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会（BMB 2007）：3件
- 酵素化学ミニシンポジウム（薮田セミナー）：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、シンポジウム実行委員およびプログラム委員）；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）；食品酵素化学研究会学術講演会（世話人）；病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター学会 [The Society of Proteases and Inhibitors in Pathophysiology and Therapeutics]（世話人）

科研費等受領状況

科学研究費 基盤研究(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）

科学研究費 基盤研究(C)「組換え AMV 逆転写酵素発現系の構築と蛋白質工学による生産性、活性、熱安定性の向上」（保川、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.: Kyoto University and Seoul National University Core Project Seminar, Kyoto University（発表者）（2007年7月）

Inouye, K.: The Japan-Korea Food Enzyme Chemistry Symposium, Seoul National University（発表者）（2007年2月）

Inouye, K.: International Symposium on the Clinical Aspects of Matrix Metalloproteinases, University of Leiden（発表者）（2007年4月）

Inouye, K.: UK-Japan Mini-symposium on the Recent Progress of Enzyme Inhibition Mechanism, University of Warwick（発表者）（2007年6月）

Inouye, K.: 5th General Meeting of the International Proteolysis Society, University of Patras, Greece（発表者）（2007年10月）

Inouye, K.: 3rd International Conference on Polyphenols and Health, Kyoto（発表者）（2007年11月）

Inouye, K.: International Symposium on Frontier in Plant Proteome Research, Tsukuba（発表者）（2008年3月）

国際誌編集（役割）

Biotechnology Annual Review (Elsevier)（国際編集委員）

Applied Microbiology and Biotechnology (Springer)（国際編集委員）

Enzyme and Microbial Technology (Elsevier)（国際編集委員）

Food Science and Biotechnology（国際編集委員）

国際共同研究、海外学術調査等

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事業 (JSPS-KOSEF) メンバー

井上國世：細菌感染と治療に関与するプロテアーゼに関する共同研究（米国、ミシガン大学）

井上國世：ダイズおよびコムギタンパク質の物性解析に関する共同研究（オランダ、ワー
ゲニンゲン大学）

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、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に関する共同研究（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、光州工科大学）

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：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）

井上國世：タンパク質安定化に関する共同研究（オーストリア、グラーツ工科大学、
BOKU、オーストリア国立科学研究所）

B. 教育活動（2007. 4～2008. 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）、酵素化学実験および実験法（保川、滝
田）、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）、酵素化学専攻演習（井上、保川、滝田）、酵素化学
専攻実験（井上、保川、滝田）

B－2. 学外における教育活動

学外非常勤講師他

井上國世：西九州大学健康福祉学部特別講義

井上國世：岩手大学農学研究科大学院特別講義

井上國世：徳島大学疾患酵素学研究センター特別講義

井上國世：東洋大学学位論文調査委員

井上國世：立命館大学学位論文調査委員

B－3. 国際的教育活動

非常勤講師他

Inouye, K.: Warwick University (Warwick, UK) (Enzyme Chemistry)

Inouye, K.: Seoul National University Graduate School of Life Science and Agriculture (Seoul,
Korea) (Enzyme Chemistry)

C. その他

学内

井上國世：京都大学公開講座等企画委員会・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、農学部教務委員会・委員、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：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、経済産業省地域新生コンソーシアム研究開発事業・評価委員、中小企業基盤整備機構実用化研究開発事業・評価委員、タンパク3000プロジェクト食品・環境等産業利用専門委員会・委員、財団法人飯島記念食品科学振興財団・選考委員、日本大学生産工学研究科生命工学リサーチセンター・学外研究員

2.7.2 研究分野：食環境学

構 成 員：教 授 北畠 直文
准教授 谷 史人
助 教 榊田 哲哉
大学院博士後期課程 3名
大学院修士課程 11名
専攻4回生 3名

研究活動（2007.4～2008.3）

A－1. 研究概要

a) 食品タンパク質の構造と物性

1. 小麦グルテンおよび小麦加工食品の物性に関する研究

小麦グルテンの加工に伴う特異な物性発現に関して、その機構解析を検討する。とりわけ、グルテンサブユニット間の結合様式について検討を行い、分子間相互作用と物性との関係を明らかにして、小麦加工食品の品質改善法を考察した。

2. 低水分下で加熱処理した小麦粉の加熱影響比較

小麦粉、グルテン、小麦デンプンについて加熱変性、糊化に伴うドウの物性変化をレオロジー学的手法により計測し、タンパク質、澱粉の構造変化と物性変化との対応を解析した。

b) 特異な生理的機能を有する食品タンパク質

1. 甘味タンパク質の構造と機能

強い甘味を有するタンパク質について甘味発現機構の解析を行っている。具体的にはソーマチンならびにリゾチームを中心に研究を進めている。甘味発現機構の解析にあたっては、組換え甘味タンパク質による甘味活性中心の探索、甘味タンパク質の X 線結晶構造

解析を進め、甘味タンパク質と生体との関連から、培養細胞に発現した甘味受容体と甘味タンパク質の相互作用を検討している。また、甘味受容体そのものの構造解析も進めている。

2. 血糖上昇抑制タンパク質の作用機序

ブドウ糖と共に特定のタンパク質を摂取すると、本来血糖値が著しく上昇する条件下においても、その上昇が抑制されることを見出し、その現象の確認と機構の解析を行っている。具体的にはヒト、マウスへ経口投与を行い、血糖上昇抑制タンパク質の効果を検討している。また、血糖上昇抑制タンパク質の作用機序の解明に力を注いでいる。

c) 腸管内環境と生体防御の科学

粘膜免疫系の環境応答機構と食餌成分による影響に関する研究：外環境と見なせる消化管内では、B細胞や制御的にはたらくマクロファージや樹状細胞などが生体防御に欠かせない。腸管関連免疫組織（GALT）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 B 細胞、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 hsp70 と免疫細胞との相互作用を調べ、B 細胞への結合には hsp70 の C 末端配列が大きく影響すること、また、局所性の樹状細胞やマクロファージは hsp70 の結合が多いに低下することを明らかにした。また、食餌タンパク質の存在が GALT における抗原提示細胞の形成にかかわることを見出した。

d) 在来伝統食の地球環境学的研究

世界各地（日本、アフリカ、東南アジア、ヨーロッパ）の地域在来伝統食および食文化、地域在来食品・飲料の加工、調理の意義を食品化学的・複合科学的観点で解析し、地域在来伝統食の合理性を自然科学、社会科学、人文科学の観点で検証し、地球環境への負荷を抑制した食糧供給の方策を検討した。

e) 腸内細菌叢の地域変容と食事性因子

東アフリカの人々と日本人では腸内細菌叢に違いがあることが明らかとなり、その原因を検討した。

A-2. 研究業績

a) 成果刊行

著書

北畠直文 食品ハイドロコロイドの開発と応用：第4章 3 卵タンパク質（西成勝好編）。P. 340-352、シーエムシー出版、東京、2007

原著

Ohta K, Masuda T, Ide N, Kitabatake N. Critical molecular regions for elicitation of the sweetness of the sweet-tasting protein, thaumatin I. FEBS J. 2008.

Ide N, Masuda T, Kitabatake N. Effects of pre- and pro-sequence of thaumatin on the secretion by *Pichia pastoris*. Biochem Biophys Res Commun. 2007 Nov 23; 363(3): 708-14.

Ide N, Kaneko R, Wada R, Mehta A, Tamaki S, Tsuruta T, Fujita Y, Masuda T, Kitabatake N. Cloning of the thaumatin I cDNA and characterization of recombinant thaumatin I secreted by *Pichia pastoris*. Biotechnol Prog. 2007; 23(5): 1023-30.

Ohno M, Kitabatake N, Tani F. Functional region of mouse heat shock protein 72 for its binding

to lymphoid neoplastic P388D1 cells. Mol Immunol. 2007, 44(9): 2344-2354.

Tao Y, Nomura M, Kitabatake N, Tani F. Mouse CD40-transfected cell lines cannot exhibit the binding and RANTES-stimulating activity of exogenous heat shock protein 70. Mol Immunol. 2007; 44(6): 1262-1273.

b) 学会発表

日本農芸化学会2007年度関西・西日本支部合同大会：3件

日本農芸化学会2008年度大会：5件

日本栄養食糧学会2008年度大会：1件

98th AOCS Annual Meeting and Expo, Quebec (2007)：2件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等

北畠直文：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 評議員

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

北畠直文：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」(北畠分担)

北畠直文：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」(北畠代表)

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)

榊田哲哉：科研費、若手研究(B)「タンパク質の甘味発現機構に関する研究」(榊田代表)

榊田哲哉：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」(榊田分担)

A-4. 国際交流・海外活動

国際共同研究、海外学術調査等

北畠直文：「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 (2007.4～2008.3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品基礎生物学Ⅱ (谷)、食品生物科学入門と実習 (北畠)、食品安全学Ⅰ (北畠)、食環境学 (北畠)、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 (北畠)、食環境学専攻演習 (北畠、谷)、食環境学専攻実験 (北畠、

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

北島直文：長崎大学医歯学部

北島直文：京都女子大学家政学部

B-3. 国際的教育活動

留学生、外国人研修員の受入れ なし

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：滋賀県農産加工研究参与

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：財団法人京都産業21技術顕彰委員会委員

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

2.7.3 研究分野：生命有機化学

構 成 員：教 授 入 江 一 浩
 助 教 村 上 明
 技 術 職 員 山 口 加 乃 子
 博 士 研 究 員 中 川 優
 大 学 院 博 士 後 期 課 程 5 名
 大 学 院 修 士 課 程 9 名
 専 攻 4 回 生 3 名 研 究 生 1 名
 関 係 教 員：教 授 平 井 伸 博（比較農業論講座）

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) 抗がん剤開発に向けたブライオスタチンの特異なPKCシグナル解析ツールの創製

海洋天然物ブライオスタチン（bryo）は、副作用の少ない抗がん剤であり、近年アルツハイマー病やうつ病などの難治性疾患治療薬候補としても有望な生理活性を有することが判明している。しかしながら、本化合物の天然からの単離収率は極めて低く、全合成も困難であるため、供給問題が研究の効率的な進展を妨げている。Bryoの細胞内ターゲットは、細胞内情報伝達の鍵酵素であるプロテインキナーゼC（PKC）であるが、強力なPKC活性化剤として知られる発がんプロモーターとは異なる活性化機構を示す。そこで、発がんプロモーターの一つであるアプリシアトキシンがbryoと類似の骨格を有することに着目し、その単純化ア

ナログを合成したところ、bryo の PKC 活性化機構を一部再現できることを見いだした。

b) 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原因物質である42残基の β アミロイドペプチド ($A\beta_{42}$) は、神経細胞毒性とともに高い凝集性を示す。 $A\beta_{42}$ の系統的なプロリン残基による置換により、 $A\beta_{42}$ 凝集体には、Glu-22及び Asp-23付近と Gly-25及び Ser-26付近にそれぞれターン構造を有する2つのコンホマーが含まれているものと推定された。そこで DARR 法 (2次元距離相関スペクトル) を用いた固体 NMR による詳細な構造解析を行なったところ、これら2つのコンホマーの存在が強く示唆された。さらに、それぞれの配座固定アナログを合成し、凝集能ならびに神経細胞毒性を調べた結果、前者が毒性コンホマーと考えられた。

c) 生活習慣病予防に対する食品成分の機能と安全性に関する研究

ウルソール酸 (UA) は植物界に普遍的に分布し、著名な抗炎症作用を示すトリテルペンである。しかし、UA についての既存の研究では、炎症性刺激を与えた実験条件が主であった。そこで、無刺激のマクロファージに対する UA の作用を幅広く検討したところ、IL-1 β などの炎症性サイトカインを放出する現象を見出した。また、分子機構を解析した結果、UA の受容体が CD36 であること、さらにその結合が NADPH オキシダーゼや ERK/p38 MAPK の活性化を惹起し IL-1 β 産生を増強しているとの知見を得た。本研究結果は UA の持つ潜在的な炎症惹起作用メカニズムの一端を初めて明らかにしたものである。

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、アカマツの場合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。昨年からのこの抗菌物質の解明に取り組み、アカマツの菌根抽出物から細菌に対して抗菌活性を示す物質を単離し、既知ジテルペンのトタロールと同定した。複数のアカマツ菌根を調べたところ、そのいずれにもトタロールが含まれていることがわかった。トタロールは地上部には含まれていなかったことから、有害菌からの菌根の防御に役立っていると推定される。

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。そこでその作用を農業生産に有効に利用することを目的として、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 構造を簡略化した酵素阻害剤 AHI 1 などを開発した。千葉大学共同研究者によるリンゴ果樹への投与試験の結果、AHI 1 はウニコナゾール-P と同等に乾燥ストレス耐性を付与することがわかった。現在、さらに強い選択的酵素阻害剤の開発を続行中である。

A-2. 研究業績

a) 成果刊行

著書

Miyamaoto, S., Yasui, Y., Murakami, A. and Tanaka, T.: Molecular mechanism of colorectal

- cancer. In. Cancer: Disease Progression and Chemoprevention, Takuji Tanaka (Ed.), p. 45–56, Research Singpost, Kerala, India, 2007
- Murakami, A. and Ohigashi, H.: Cancer preventive agents in zingiberaceous plants from Southeast Asian countries. In. Cancer: Disease Progression and Chemoprevention, Takuji Tanaka (Ed.), Research Singpost, p. 217–238, Kerala, India, 2007
- Nishikawa, A., Nakamura, H., Lee, I-S., Furukawa, F., Murakami, A., Ohigashi, H., Umemura, T. and Hirose, M.: Chemoprevention effects of 1'-acetoxychavicol acetate and auraptene on stomach carcinogenesis in rats initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. In. Cancer: Disease Progression and Chemoprevention, Takuji Tanaka (Ed.), p. 267–276, Research Singpost, Kerala, India, 2007
- 津志田藤二郎、梅垣敬三、井上浩一、村上 明編著：機能性食品の安全性ガイドブック、サイエンスフォーラム、東京、2007
- 村上 明、森光康次郎 共著：健康一年生 ―食の情報を先生といっしょに考えよう―、丸善出版社、東京、2008
- 村上 明、大東 肇：多糖類. 機能性食品の安全性ガイドブック（津志田藤二郎、梅垣敬三、井上浩一、村上 明編）. p. 351–354、サイエンスフォーラム、東京、2007
- 村上 明、大東 肇：ジアシルグリセロール. 機能性食品の安全性ガイドブック（津志田藤二郎、梅垣敬三、井上浩一、村上 明編）. p. 369–372、サイエンスフォーラム、東京、2007
- 村上 明、大東 肇：カテキンなどのポリフェノール. 機能性食品の安全性ガイドブック（津志田藤二郎、梅垣敬三、井上浩一、村上 明編）. p. 380–383、サイエンスフォーラム、東京、2007
- 村上 明、大東 肇：動物培養細胞を用いた変異原性評価試験系. 機能性食品の安全性ガイドブック（津志田藤二郎、梅垣敬三、井上浩一、村上 明編）. p. 476–478、サイエンスフォーラム、東京、2007
- 村上 明、大東 肇：薬理活性成分. 機能性食品の事典（荒井綜一、阿部啓子、吉川敏一、金沢和樹、渡邊 昌編）. p. 244–253、朝倉書店、東京、2007
- 池田泰隆、村上 明、大東 肇：テルペン. 機能性食品の事典（荒井綜一、阿部啓子、吉川敏一、金沢和樹、渡邊 昌編）. p. 118–127、朝倉書店、東京、2007

原著論文

- Yanagita, R. C., Nakagawa, Y., Yamanaka, N., Kashiwagi, K., Saito, N. and Irie, K.: Synthesis, conformational analysis, and biological evaluation of 1-hexylindolactam-V10 as a selective activator for novel protein kinase C isozymes. *J. Med. Chem.*, 51(1); 46–56, 2008
- Murakami, K., Uno, M., Masuda, Y., Shimizu, T., Shirasawa, T. and Irie, K.: Isomerization and/or racemization at Asp-23 of A β 42 do not increase its aggregative ability and neurotoxicity in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 366(3); 745–751, 2008
- Sugimoto, T., Itagaki, K. and Irie, K.: Design and physicochemical properties of new fluorescent ligands of protein kinase C isozymes focused on CH/ π interaction. *Bioorg. Med. Chem.*, 16(2); 650–657, 2008
- Yanagita, R. C., Torii, K., Nakagawa, Y. and Irie, K.: Binding selectivity of 1- or 12-substituted

- indolactam derivatives for protein kinase C isozymes. *Heterocycles*, 73; 289–302, 2007
- Murakami, K., Hara, H., Masuda, Y., Ohigashi, H. and Irie, K.: Distance measurement between Tyr-10 and Met-35 in amyloid β by site-directed spin labeling ESR: implications for the stronger neurotoxicity of A β 42 than A β 40. *ChemBioChem*, 8(18); 2308–2314, 2007
- Miyamoto, S., Yasui, Y., Kim, M., Sugie, S., Murakami, A., Ishigamori-Suzuki, R. and Tanaka, T.: A novel rasH2 mouse carcinogenesis model that is highly susceptible to 4-NQO-induced tongue and esophageal carcinogenesis is useful for preclinical chemoprevention studies. *Carcinogenesis*, 29(2); 418–426, 2008
- Sandur, S.K., Pandey, M.K., Sung, B., Ahn, K.S., Murakami, A., Sethi, G., Limtrakul, P., Badmaev, V. and Aggarwal, B.B.: Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism. *Carcinogenesis*, 28(8); 1765–1773, 2007
- Murakami, A., Song, M. and Ohigashi, H.: Phenethyl isothiocyanate suppresses receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclastogenesis by blocking activation of ERK1/2 and p38 MAPK in RAW264.7 macrophages. *Biofactors*, 30(1); 1–11, 2007
- Kim, M., Murakami, A. and Ohigashi, H. Modifying effects of dietary factors on (-)-epigallocatechin-3-gallate-induced pro-matrix metalloproteinase-7 production in HT-29 human colorectal cancer cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71(10); 2442–2450, 2007
- Kwon, K.H., Ohigashi, H. and Murakami, A.: Dextran sulfate sodium enhances interleukin-1 beta release via activation of p38 MAPK and ERK1/2 pathways in murine peritoneal macrophages. *Life Sci.*, 81(5); 362–371, 2007
- Eguchi, A., Kaneko, Y., Murakami, A. and Ohigashi, H.: Zerumbone suppresses phorbol ester-induced expression of multiple scavenger receptor genes in THP-1 human monocytic cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71(4); 935–945, 2007
- Ikeda, Y., Murakami, A., Fujimura, Y., Tachibana, H., Yamada, K., Masuda, D., Hirano, K., Yamashita, S. and Ohigashi, H.: Aggregated ursolic acid, a natural triterpenoid, induces IL-1beta release from murine peritoneal macrophages: role of CD36. *J. Immunol.*, 178(8); 4854–4864, 2007
- Unahara, Y., Kojima-Yuasa, A., Higashida, M., Kennedy, D.O., Murakami, A., Ohigashi, H. and Matsui-Yuasa, I.: Cellular thiol status-dependent inhibition of tumor cell growth via modulation of p27 (kip1) translocation and retinoblastoma protein phosphorylation by 1'-acetoxychavicol acetate. *Amino Acids*, 33(3); 469–476, 2007
- Kamo, T., Endo, M., Sato, M., Kasahara, R., Yamaya, H., Hiradate, S., Fujii, Y., Hirai, N. and Hirota, M.: Limited distribution of natural cyanamide in higher plants: occurrence in *Vicia villosa* subsp. *varia*, *V. cracca*, and *Robinia pseudo-acacia*. *Phytochemistry*, 69; 1166–1172, 2007
- Hattori, Y., Horikawa, K., Makabe, H., Hirai, N., Hirota, M. and Kamo, T.: A refined method for determining the absolute configuration of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl group. *Tetrahedron Asym.*, 18; 1183–1186, 2007

Shimomura, H., Etoh, H., Mizutani, M., Hirai, N. and Todoroki, Y.: Effect of the minor ABA metabolite 7'-hydroxy-ABA on Arabidopsis ABA 8'-hydroxylase CYP707A3. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17; 4977-81, 2007

特 許

出願

特願2007-193062「スカベンジャー受容体発現抑制剤、ならびにそれを配合してなる医薬品および飲食品」、発明者：大東 肇、村上 明、江口 愛、出願人：財団法人奈良県中小企業支援センター、出願日：2007年7月25日

特願2007-224294「潰瘍性大腸炎予防・治療剤、ならびにそれを配合してなる医薬品および飲食品」発明者：村上 明、入江一浩、大久保徹、大東 肇、鷺田和人、出願人：財団法人奈良県中小企業支援センター 出願日：2007年8月30日

総 説

Irie, K., Murakami, K., Masuda, Y., Morimoto, A., Ohigashi, H., Hara, H., Ohashi, R., Takegoshi, K., Fukuda, H., Nagao, M., Shimizu, T. and Shirasawa, T.: Malignant conformation of the 42-mer amyloid β peptide. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 7(10); 1001-1008, 2007

Ikeda, Y., Murakami, A. and Ohigashi, H.: Ursolic acid: an anti- and pro-inflammatory triterpenoid. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52(1); 26-42, 2008

Murakami, A. and Ohigashi, H.: Targeting NOX, INOS and COX-2 in inflammatory cells: chemoprevention using food phytochemicals. *Int. J. Cancer*, 121(11); 2357-2363, 2007

村上 明：誰の責任か？ *FOOD Style* 21、11(4)；93-95、2007

村上 明：食品因子5人衆：前編。 *FOOD Style* 21、11(5)；84-86、2007

村上 明：食品因子5人衆：中編。 *FOOD Style* 21、11(6)；84-86、2007

村上 明：食品因子5人衆：後編（その1）。 *FOOD Style* 21、11(7)；90-92、2007

村上 明：食品因子5人衆：後編（その2）。 *FOOD Style* 21、11(8)；85-87、2007

村上 明：ヒトに潜んでいた植物ホルモン。 *FOOD Style* 21、11(9)；81-83、2007

村上 明：ICoFFにおける「Cancer Prevention II」。 *FOOD Style* 21、11(10)；106-108、2007

村上 明：食による発がん予防研究のフロンタライン。 *FOOD Style* 21、11(10)；56-58、2007

村上 明：健康食品についての雑感。 *FOOD Style* 21、11(11)；92-94、2007

村上 明：基礎実験あれこれ。 *FOOD Style* 21、11(12)；103-105、2007

村上 明：研究発表のノウハウ。 *FOOD Style* 21、11(1)；78-80、2007

村上 明：国際学会ABC。 *FOOD Style* 21、11(2)；83-85、2007

村上 明：COMTの意図。 *FOOD Style* 21、11(3)；96-98、2007

報告書等

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20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20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19年度研究成果報告書

b) 学会発表

日本農芸化学会2008年度大会（名古屋、研究発表13件、招待講演1件）
第42回天然物化学談話会（仙台、研究発表1件）
第112回日本薬理学会近畿部会（大阪、研究発表1件）
第49回天然有機化合物討論会（札幌、研究発表1件）
第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会（横浜、研究発表1件）
第46回NMR討論会（札幌、研究発表1件）
第2回ハナショウガ研究会（大阪、招待講演1件）
第14回日本がん予防研究会（東京、研究発表1件）
第66回日本癌学会総会（横浜、研究発表1件）
第54回日本食品科学工学会（福岡、招待講演1件）
日本栄養食糧学会中四国・近畿支部合同大会（広島、招待講演1件）
日本ケミカルバイオロジー研究会（京都、1件）
植物化学調節学会第42回大会（静岡、2件）

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

入江一浩：日本農芸化学会（関西支部評議員）、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）、新規素材探索研究会（幹事）
村上 明：日本フードファクター学会（理事）、日本酸化ストレス学会（評議員）、Antioxidant Unit（AOU）研究会（評議員）、フードサイエンスフォーラム（世話人）

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) 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）
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（村上分担）
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）
財団：上原記念生命科学財団研究助成金：ブライオスタチン等価体の設計と合成（入江代表）、アサヒビール学術振興財団研究助成金：スカベンジャー受容体に結合する食品因子の機能性と安全性に関する研究（村上代表）
共同研究：民間企業との共同研究2件（入江代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

入江一浩：2007年北米神経科学会議（サンディエゴ、研究発表3件）
村上 明：第65回米国癌学会（ロサンゼルス、研究発表2件）
村上 明：第6回国際医薬化学会（イスタンブール、招待講演1件）
村上 明：第3回国際ポリフェノール学会（京都、研究発表3件、招待講演1件、組織委

員)

村上 明：第4回国際フードファクター学会（京都、研究発表3件、組織委員、プログラム委員長）

村上 明：第2回国際がん治療学会（ムンバイ、招待講演1件）

平井伸博：第19回国際植物調節物質会議（Puerto Vallarta・メキシコ、研究発表3件）

国際的学術雑誌等の編集等（役割）

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

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

B－1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：生命有機化学（入江）、有機化学実験及び実験法（入江・村上・平井）、食品有機化学Ⅰ（入江）、食品有機化学Ⅱ（入江）、食品有機化学Ⅲ（入江）、食品生物学入門及び実習（入江・村上・平井分担）、農学概論Ⅱ（入江分担）

大学院：生命有機化学専攻演習（入江・村上・平井）、生命有機化学専攻実験（入江・村上・平井）

B－2. 学外における教育活動

公開講座等（役割）

入江一浩：東北薬科大学ハイテクリサーチセンター 第2回シンポジウム（講演）

村上 明：京都ウェルネス産業創出研究会 健康ビジネスシーズ発掘セミナー（講演）

村上 明：大阪市立大学医学部・医薬品・食品効能評価センター交流会（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：国費留学生（研究生）1名（タイ）

C. その他

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理事・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

村上 明：農学研究科動物実験委員会委員、農学研究科衛生管理者、Biosci. Biotechnol. Biochem. 論文賞受賞

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
准教授	井上 和生
助教	都築 巧
大学院博士課程	2名
大学院修士課程	11名
専攻4回生	4名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

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、酒類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：人間にとってのおいしさ：湯木貴和編「食卓から地球環境がみえる」p.1-23
昭和堂 2007

原著論文

Tetsuro Shibakusa, Wataru Mizunoya, Yuki Okabe, Shigenobu Matsumura,

Yoko Iwaki, Alato Okuno, 2Katsumi Shibata, Kazuo Inoue, and Tohru Fushiki (2007) Transforming growth factor- β in the brain is activated by exercise and increases mobilization of fat-related energy substrates in rats (2007) *Am. J. Physiol. Regul Integr Comp Physiol* 292: R1851-R1861

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

Shigenobu Matsumura, 1 Tetsuro Shibakusa, Teppei Fujikawa, Hiroyuki Yamada, 1 Kiyoshi Matsumura, Kazuo Inoue, and Tohru Fushiki Intracisternal administration of transforming

- growth factor- β evokes fever, through the induction of cyclooxygenase-2 in brain endothelial cells(2007) *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R266-R275
- Fujikawa T, Matsumura S, Yamada H, Inoue K, Fushiki T. Transforming growth factor- β in the brain enhances fat oxidation via noradrenergic neurons in the ventromedial and paraventricular hypothalamic nucleus. (2007) *Brain Res.* Oct 10; 1173: 92-101
- 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
- Tanaka S, Hayashi T, Toyoda T, Hamada T, Shimizu Y, Hirata M, Ebihara K, Masuzaki H, Hosoda K, Fushiki T, Nakao K. High-fat diet impairs the effects of a single bout of endurance exercise on glucose transport and insulin sensitivity in rat skeletal muscle. (2007) *Metabolism.* Dec; 56(12): 1719-28
- Koji Tajino, Kiyoshi Matsumura, Kaori Kosada, Tetsuro Shibakusa, Kazuo Inoue, Tohru Fushiki, Hiroshi Hosokawa, and Shigeo Kobayashi Application of menthol to the skin of whole trunk in mice induces autonomic and behavioral heat-gain responses (2007) *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R2128-R2135
- Kenji Kojima, Satoshi Tsuzuki Tohru Fushiki, and Kuniyo Inoue Roles of Functional and Structural Domains of Hepatocyte Growth Factor Activator Inhibitor Type 1 in the Inhibition of Matrilysin (2007) *J. Biol. Chem.* 283(5) 2478-2487
- Ikeda H, Yong Q, Kurose T, Todo T, Mizunoya W, Fushiki T, Seino Y, Yamada Y. Clock gene defect disrupts light-dependency of autonomic nerve activity. (2007) *Biochem Biophys Res Commun.* Dec 21; 364(3): 457-63
- Yoneda T, Saitou K, Mizushige T, Matsumura S, Manabe Y, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. The palatability of corn oil and linoleic acid to mice as measured by short-term two-bottle choice and licking tests (2007) *Physiol. Behav.* Jun 8 91, 304-309
- Yoneda T, Taka Y, Okamura M, Mizushige T, Matsumura S, Manabe Y, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. Reinforcing effect for corn oil stimulus was concentration dependent in an operant task in mice. (2007) *Life Sci.* 81, 1585-1592

b) 学会発表

- 日本農芸化学会2007年度大会 (8件)
- 日本栄養・食糧学会2007年度大会 (6件)
- 日本生理学会2007年度大会 (2件)
- 日本神経科学会2007年度大会 (1件)
- 日本味と匂い学会2007年度大会 (4件)
- 第20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）、The Elsevier Editorial System (registered reviewer)

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

全学共通科目：味覚と嗜好の科学（伏木）

学部：栄養化学（伏木）、食品生理学（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
京都女子大学大学院生活科学専攻

公開講座等

伏木 亨：

平成19年11月16日「現代人の食生活を考える：油脂に対抗できる伝統的なダシのおいしさ」日本臨床栄養学会総会シンポジウム（京都市、京都テルサ）

平成20年1月13日「うま味成分を生かした食事」日本病態栄養学会年次学術集会教育講演（京都市、京都国際会館）

平成19年9月14日「おいしさの感覚の構成要素」日本生薬学会54回年会シンポジウム（名古屋市愛知学院大学）

平成19年7月7日「人間にとってのおいしさ」第6回地球研フォーラム（京都市 国際会館）

平成19年5月18日「ボーダーのない栄養学の時代：食が足りた人間に対する栄養学の新しい使命」日本栄養食糧学会創立60周年記念学術シンポジウム（京都市、京都国際会

館)

平成19年11月18日「現代人のおいしさ ―やみつきになるおいしさ」日本栄養食糧学会中四国・近畿支部合同大会シンポジウム (広島大学)

平成19年11月6日「日本酒のおいしさの科学」日本醸友会大阪支部講演会 (神戸市)

平成19年5月23日「おいしさの科学」日本酒で乾杯推進委員会総会講演会 (東京、東京會館)

平成19年6月18日「おいしさの科学と食品への応用」山梨県食品新技術研究会研修会 (甲府市)

平成19年4月10日「いま『食えること』を問う 日本醤油協会経営研究会 (東京)

平成20年3月10日「日本人の健康と食」京都府北部地区栄養士会研修会 (京丹後市)

平成20年1月8日「おいしさの科学」フォーラム「新地球学の世紀」(京都市)

平成20年1月29日、30日「おいしさの科学：おいしさの構成要素と香り」香料協会講演会 (東京、大阪)

井上和生：

2007年6月28日「どうしてこんなに疲れるのか ―運動・栄養と中枢性疲労発生機構―」、農学研究科シンポジウム、京都大学 (京都)

2007年11月24日「運動における脳の役割 ―中枢性疲労と中枢性エネルギー代謝調節―」、日本女子体育大学、平成19年度基礎体力研究所 公開フォーラム (東京)

C. その他

学内・学外の各種委員会委員等

伏木 亨：京都大学教育研究評議会評議員、農学部副研究科長、京都大学評価委員会小委員会委員、同実行委員会委員、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、財団法人味の素奨学会 理事、浦上食品・食文化振興財団 選考委員、日本料理アカデミー 理事、不二タンパク質研究振興委員会 評議員、財団法人杉山産業化学研究所 理事、日本応用酵素協会 評議員、日本食肉消費総合センター食味官能評価分科会委員、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		
	准教授	裏出	令子		
	助教	高橋	信之		
	博士研究員	平井	静		
	大学院博士後期課程	7名	研修員	2名	
	大学院修士課程	10名	研究生	1名	
	専攻4回生	3名			

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

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胞の過剰形成である。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

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

著 書

植村 卓、後藤 剛、河田照雄：抗肥満食品・素材の開発と応用展開；抗肥満のメカニズムシーエムシー出版 39-51、2007

後藤剛、植村卓、村上陽子、河田照雄：メタボリック症候群と栄養：メタボリック症候群と食品機能 ― 糖尿病関連 幸書房 175-187、2007

平井静、楠堂達也、向井佐輝子、河田照雄：培養脂肪細胞の分化プロトコール、「糖尿病カレントライブラリー」276-279、2007

原著論文

- Kasahara Y, Takayanagi Y, Kawada T, Itoi K, Nishimori K.: Impaired thermoregulatory ability of oxytocin-deficient mice during cold-exposure. *Biosci Biotechnol Biochem.* 71: 3122–3126, 2007
- Sakane N, Kotani K, Hioki C, Yoshida T, Kawada T.: Up-regulation of muscle uncoupling protein 3 gene expression by calcium channel blocker, Benidipine Hydrochloride in rats. *Endocr. J.* 54: 771–775, 2007
- Hirai S, Kim Y-I, Goto T, Kang M-S, Yoshimura M, Obata A, Yu R, Kawada T.: Inhibitory effect of naringenin chalcone on inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Life Sci.* 81: 1272–1279, 2007
- Kang J-H, Kim C-S, Han I-S, Kawada T, Yu R.: Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissue macrophages. *FEBS Letters* 581: 4389–4396, 2007
- Yano Y, Matsumura T, Senokuchi T, Ishii N, Motoshima H, Taguchi T, Matsuo T, Sonoda K, Kukidome D, Sakai M, Kawada T, Nishikawa T, 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
- Yano Y, Matsumura T, Senokuchi T, Ishii N, Murata Y, Taketa K, Motoshima H, Taguchi T, Sonoda K, Kukidome D, Takuwa Y, Kawada K, Brownlee M, Nishikawa T, Araki E.: Statins Activate Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Through Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase-Dependent Cyclooxygenase-2 Expression in Macrophages. *Circ. Res.* 100: 1442–1451, 2007
- Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T, Koyama F, Watanabe K, Senbongi R, Iwai K.: Extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue, and enhances noradrenaline and adrenaline secretion in rats. *J Nutr Biochem.* 18: 685–692, 2007
- Woo H-M, Kang J-H, Kim C-S, Kawada T, Yoo H, Sung M-K, Yu R.: Spices-derived active components inhibit obesity-induced inflammatory responses by modulating the behavior of adipose tissue macrophages and the release of MCP-1 from adipocytes. *Life Sci.* 80: 926–931, 2007
- Kawachi H, Moriya NH, Korai T, Tanaka S, Watanabe M, Matsui T, Kawada T, Yano H.: Nitric oxide suppresses preadipocyte differentiation in 3T3-L1 culture. *Mol. Cell. Biochem.* 300: 61–67, 2007
- Kondoh Y, Kawada T, Urade R.: Activation of caspase 3 in HepG2 cells by elaidic acid (t18:1) *Biochim. Biophys Acta*, 1771: 500–505, 2007
- Wadahama, H., Kamauchi, S., Nakamoto, Y., Nishizawa, K., Ishimoto, M., Kawada, T. and Urade, R.: A novel plant protein disulfide isomerase family homologous to animal P5: molecular cloning and characterization as a functional protein for folding of soybean seed storage proteins. *FEBS J.* 275: 399–410, 2008
- Ukai, T., Matsumura, Y. and Urade, R.: Disaggregation and reaggregation of gluten proteins by

sodium chloride. J Agric. Food Chem. 102; 225-231, 2008

b) 学会発表

2008年度日本農芸化学会大会：4件

2007年度日本栄養・食糧学会大会：10件

2007年度日本肥満学会大会：5件

2007年度日本生化学会大会：2件

第10回アジア栄養学会議：3件

第59回日本生物工学会大会：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

河田照雄：日本農芸化学会（関西支部評議員）、日本肥満学会（常務理事、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

河田照雄：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）、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）

裏出令子：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）、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）

高橋信之：特定領域研究(2)「アディポミクス：脂肪細胞における細胞容積制御を介したインスリン抵抗性発症メカニズムの解析」（高橋代表）

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）

河田照雄：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）

財団法人ソルト・サイエンス研究財団

裏出令子：研究助成「小麦粉生地中のグリアジン会合体形成を支配する食塩機能」（裏出代表）

A-4. 国際交流・海外活動

国際共同研究、海外学術調査等

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：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：Journal of Biological Chemistry (referee), BMC Genomics (referee), The Plant and Cell Physiology (refree), Plant Science (refree), Journal Biologia (refree), The Molecular Genetics and Genomics (referee)

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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）、食品健康科学特論（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）

B－3. 国際的教育活動

海外での講義、講演

第10回アジア栄養学会議 シンポジウム招待講演

留学生、外国人研修員の受入れ

留学生：博士後期課程 2名（韓国）

研究生 1名（台湾）

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、農学部組織・制度等検討委員会委員

裏出令子：財団法人不二たん白質研究振興財団助成研究選考委員、The Open Programme of the Dutch Research Council (NWO) for Earth and Life Sciences (ALW) (referee)

2.7.6 研究分野：食品生理機能学

構成員：教授 吉川 正明

准教授 大日向耕作

助教 山田 優子

大学院博士後期過程 1名

博士研究員 1名

大学院修士課程 8名

非常勤研究員 1名

学部4回生 3名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) rubimetideの抗不安作用およびプロスタグランジンD₂を介する新しい作用機構

ハウレンソウRubiscoの酵素消化物から単離した動脈弛緩・血圧降下ペプチド rubimetide (Met-Arg-Trp) の情動に及ぼす影響について、高架式十字迷路を用いて検討したところ、マウス腹腔内投与 (0.1 mg/kg) および経口投与 (1 mg/kg) により、open armにおける滞在時間および open arm への進入回数の割合が有意に増加し、rubimetide が抗不安作用を示すことを初めて見出した。rubimetideの動脈弛緩および血圧降下作用は、プロスタグランジン (PG) D₂ 受容体 (DP₁) アンタゴニストの BWA868C により阻害されることから、rubimetide の血圧降下作用は PGD₂ を介した動脈弛緩作用に基づくことを以前に明らかにしている。そこで、rubimetide の抗不安作用が PGD₂ を介しているかを検討したところ、BWA868C により完全にブロックされたことから、その抗不安作用は PGD₂-DP₁ 受容体経路を介していることが判明した。

さらに、PGD₂ 自身の抗不安作用を検討したところ、脳室内投与により抗不安作用を示すことを初めて見出した。その最小有効用量は 10 pmol/mouse と非常に低く、また、睡眠誘発作用や摂食促進作用に必要な用量よりも低いことから、抗不安作用は PGD₂ の極めて重要な中枢作用と考えられる。PGD₂ の摂食促進作用は、neuropeptide Y (NPY) を介することを見出しているが、PGD₂ の抗不安作用は、NPY Y₁ および Y₅ 受容体アンタゴニストでは阻害されなかったことから、摂食促進作用とは異なる情報伝達経路を経由することが判明した。

b) Rubisco 由来 rubiscolin-6 の学習促進機構

Rubisco 由来の δ (デルタ) オピオイドペプチドである rubiscolin-6 (Tyr-Pro-Leu-Asp-Leu-Phe) はマウスへの経口投与により、抗不安および学習促進作用を示すが、抗不安作用の場合は、 δ レセプターの下流で、神経ステロイド等の内因性 σ (シグマ) リガンドと σ_1 レセプターを介して、ドーパミンを放出し、さらに D₁ レセプターを介して作用することを、これまでに各種アンタゴニストを用いて見出してきた。rubiscolin-6 の学習促進機構を検討したところ、 δ レセプターの下流で、 σ_1 レセプターを介して、ドーパミンを放出する段階までは、抗不安作用の場合と共通であるが、学習促進の場合はドーパミン D₁ レセプターを介することがわかった。実際、マイクロダイアリシス実験により、rubiscolin-6 の還流により海馬からのドーパミンの放出が促進されることが判明した。

c) 卵白アルブミン由来の摂食抑制ペプチド

これまでに捕体 C3a アゴニストが摂食抑制作用を示すことを見出している。C3a 受容体に

対する結合する条件を満たす Ile-Gly-Leu-Phe-Arg という一次構造を卵白アルブミン中に見出し、このアミノ酸配列を含むペプチドを化学合成し、これらの摂食調節作用について検討した。N-末端側に鎖長を4残基延長した Met-Met-Tyr-Glu-Ile-Gly-Leu-Phe-Arg (MMYQIGLFR) は、マウス腹腔内投与により IGLFR の1/30の用量で持続的な摂食抑制作用を示すことを見出した。しかしながら、MMYQIGLFR は回腸収縮活性を示さなかったことから、意外にも捕体 C3a 受容体アゴニストではないことが判明した。MMYQIGLFR の C 末端の Arg を除去したペプチドは、摂食抑制作用を示したが、N-末端の Met を削除したペプチドには作用が認められなかった。したがって、この摂食抑制作用には、C3a 活性に必須な C-末端の Arg ではなく、むしろ N-末端構造が重要であることがわかった。なお、MMYQIGLFR は、fMLP 受容体に親和性を示すことから ($K_i=35 \mu\text{M}$)、fMLP レセプターは MMYQIGLFR が直接作用する受容体の一つの候補である。さらに、MMYQIGLFR の摂食抑制作用は、COX 阻害剤および $\text{PGF}_{2\alpha}$ アンタゴニストにより阻害されたことから、 PGE_2 を介する捕体 C3a アゴニストとは異なり、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ を介することがわかった。

d) ナタネ由来 Arg-Ile-Tyr の動脈弛緩および血圧降下機構

Arg-Ile-Tyr (RIY) は、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 (ACE) 阻害活性を指標に単離した血圧降下ペプチドである。本ペプチドは、動脈弛緩作用を有するが、その動脈弛緩作用は CCK_1 受容体アンタゴニストの lorglumide により阻害されることを明らかにした。RIY は CCK_1 受容体に親和性を示さないことから、RIY の動脈弛緩作用は CCK 分泌促進および CCK_1 受容体の活性化を介しているものと考えられる。また、本ペプチドの動脈弛緩作用は、COX 阻害剤のインドメタシンおよび PGI_2 受容体アンタゴニストの CAY10441 によりブロックされたことから、 CCK に加え、 PGI_2 を介することが判明した。さらに、動脈弛緩における両メディエーターの上下関係を検討したところ、 PGI_2 アゴニスト iloprost の動脈弛緩作用は、 CCK_1 受容体アンタゴニストによりブロックされたことから、 PGI_2 の下流で CCK が活性化されていることがわかった。以上の結果より、RIY は、 PGI_2 受容体の下流で CCK_1 受容体を活性化することにより動脈弛緩作用を示すことが明らかとなった。

e) アンジオテンシン AT_2 受容体アゴニストの抗鎮痛作用

novokinin (Arg-Pro-Leu-Lys-Pro-Trp) は、卵白アルブミン由来の動脈弛緩ペプチド ovokinin (2-7) のアミノ酸置換により高機能化設計した生理活性ペプチドで、アンジオテンシン AT_2 受容体アゴニストとして、強力な動脈弛緩・血圧降下作用を示すことを見出している。novokinin を AT_2 受容体の新たな機能を探るためのプローブとして用いて、痛覚における AT_2 受容体の役割を tail-pinch 法で検討した。novokinin は脳室内投与により μ オピオイドアゴニストのモルヒネの鎮痛作用を抑制し、その抗鎮痛作用は AT_2 受容体アンタゴニストの PD123319 により阻害されることを見出した。また、angiotensin (Ang) II、および合成 AT_2 アゴニストの [$p\text{-NH}_2\text{-Phe}^6$]-Ang II もモルヒネの鎮痛作用を阻害し、その作用は同様に PD123319 により抑制された。novokinin、Ang II および [$p\text{-NH}_2\text{-Phe}^6$]-Ang II の抗鎮痛作用は PGE_2 の受容体サブタイプのひとつである EP_3 受容体アンタゴニストである ONO-AE3-240 によって阻害された。これらのことから、 AT_2 アゴニストの抗鎮痛作用には、 AT_2 受容体の下流で PGE_2 - EP_3 系が関与していることが判明した。これまでに novokinin の動脈弛緩および血圧降下作用には AT_2 受容体の下流で PGI_2 が関与していることを明らかにしているが、中枢と末梢では AT_2 受容体の下流で作用するプロスタグランジン分子種が異なることは興味深い。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

吉川正明：機能性食品成分の科学、生理活性ペプチド、「機能性食品の事典」、荒井他編、pp. 43-57、朝倉書店（2007）

Fujita, H., and Yoshikawa, M.: Marine-derived protein hydrolysates, Their biological activities and potential as functional food ingredients: ACE-inhibitory peptides derived from bonito. In “Marine Nutraceuticals and Functional Foods” pp. 247-257, Taylor & Francis (2007)

大日向耕作、吉川正明：乳タンパク質・ペプチド、「食品機能性の科学」、pp. 376-382、SGS（2008）

原著論文

Ohinata, K., Sonoda, S., Inoue, N., Yamauchi, R., Wada, K., and Yoshikawa, M. β -Lactotensin, a neurotensin agonist peptide derived from bovine β -lactoglobulin, enhances memory consolidation in mice, *Peptides*, **28**, 1470-1474 (2007)

Hirata, H., Sonoda, S., Agui, S., Yoshida, M., Ohinata, K., and Yoshikawa, M. Rubiscolin-6, a δ opioid peptide derived from spinach Rubisco, has anxiolytic effect via activating σ_1 and dopamine D₁ receptors. *Peptides*, **28**, 1998-2003 (2007)

Ohinata, K., Agui, S., and Yoshikawa, M. Soymorphins, Novel μ opioid peptides derived from soy β -Conglycinin β -subunit have anxiolytic activities. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **71**, 2618-2621 (2007)

Yamada, Y., Yamauchi, D., Yokoo, M., Ohinata, K., Usui, H., and Yoshikawa, M., A. potent hypotensive peptide, novokinin, induces relaxation of by AT₂- and IP-receptor dependent mechanism in the mesenteric artery from SHR. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 257-259 (2008)

Zhao, H., Usui, H., Ohinata, K., and Yoshikawa, M.: Met-Arg-Trp derived from Rubisco lower blood pressure via prostaglandin D₂-dependent vasorelaxation in spontaneously hypertensive rats. *Peptides*, **29**, 345-349 (2008)

Watanabe-Kamiyama, M., Kamiyama, S., Horiuchi, K., Ohinata, K., Shirakawa, H., Furukawa, Y., and Komai, M.: Antihypertensive effect of biotin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr*, **99**(4), 756-763 (2008)

Yamada, Y., Yamauchi, D., Usui, H., Zhao, H., Yokoo, M., Ohinata, K., Iwai, M., Horiuchi, M., and Yoshikawa, M.: Hypotensive activity of novokinin, a potent analogue of ovokinin (2-7), is mediated by angiotensin AT₂ receptor and prostaglandin IP-receptor. *Peptides*, **29**, 412-418 (2008)

Yamada, Y., Nishizawa, K., Yokoo, M., Zhao, H., Onishi, K., Teraishi, M., Utsumi, S., Ishimoto, M., and Yoshikawa, M.: Anti-Hypertensive activity of genetically modified soybean seeds accumulating novokinin. *Peptides*, **29**, 331-337 (2008)

Zhao, H., Ohinata, K., and Yoshikawa, M.: Rubimetide (Met-Arg-Trp) derived from Rubisco exhibits anxiolytic-like activity via DP₁ receptor in male *ddY* mice. *Peptides*, **29**, 629-632 (2008)

Ohinata, K., Fujiwara, Y., Fukumoto, S., Iwai, M., Horiuchi, M., and Yoshikawa, M.: Angiotensin II and III suppress food intake via angiotensin AT₂ receptor and prostaglandin EP₄ receptor in mice. *FEBS Lett.*, **562**, 773-777 (2008)

Ohinata, K., Takagi, K., Biyajima, K., Fujiwara, Y., Fukumoto, S., Eguchi, N., Urade, Y., Asakawa, A., Fujimiya, M., Inui, A., and Yoshikawa, M.: Central prostaglandin D₂ stimulates food intake via the neuropeptide Y system in mice. *FEBS Lett.*, **582**, 679-682 (2008)

特 許

特願2007-226614「育毛剤、育毛用医薬品、育毛用食品」、発明者：吉川正明、釣木隆弘、
出願人：キューピー株式会社、出願：平成19年8月31日

特願2008-093178「抗不安作用剤及び医薬品」、発明者：吉川正明、大日向耕作、趙 慧、
出願人：カゴメ株式会社、出願：平成20年3月31日

総 説

大日向耕作：アドレノメジュリン関連ペプチドと脳-腸相関～中枢神経系と消化器系におけるアドレノメジュリンの多彩な生理作用～、*医学のあゆみ*、**223**、555-558 (2007)

吉川正明：食品の生体調節機能と生活習慣病の予防 ― あふれる食品機能情報といかに向合うか ―、*栄養教諭*、**2008/Winter**、58-61 (2008)

吉川正明、大日向耕作：植物タンパク質から派生する抗不安ペプチド、*フードリサーチ*、**633**、33-37 (2008)

b) 学会発表

日本農芸化学会2008年度大会 (8件)

第54回日本食品科学工学会 (1件)

日本食品科学工学会関西支部大会 (1件)

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

吉川：日本農芸化学会 (評議員)、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 (山田代表)

受託研究：JST 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 産学共同シーズイノベーション化事業 (顕在化ステージ) 大豆由来の免疫促進ペプチドを有効成分とする、新しい作用機構による育毛剤の開発 (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)、旗影会 卵タンパク質由来の食欲調節ペプチドに関する研究 (大日向代表)、牛乳栄養学術研究事業 牛乳タンパク質由来の低分子ペプチドによる食欲抑制作用 (大日向代表)、不二たん白質研究振興財団 生活習慣病予防作用を有するダイズタンパク質由

来の新規低分子ペプチドの探索（大日向代表）

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）

吉川：Polish Peptide Symposium 2007.9.23-27 ポーランド（招待講演）

大日向：4th International Workshop on Complement Associated Diseases, Animal Models, and Therapeutics 2007.6.10-15 ギリシャ（口頭発表）、ICoFF2007 International Conference on Food Factors for Health Promotion 2007.11. 27-12.1 京都（ポスター発表）、The 9th Neuropeptide Y International Meeting 2007.3.16-20, 沖縄（招待講演）

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（2007.4～2008.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品基礎生化学Ⅰ（大日向）、食品生理機能学（吉川）、食品生物学演習（吉川）、食品生物学入門及び実習（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）、食品健康科学特論（吉川）、食品生理機能学特論（吉川・大日向）

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

吉川：バイオ講演会 毛髪科学の最前線～育毛剤の開発を目指して～「毛髪系に対する食品関連低分子ペプチドの作用」2007.7.4 福岡、牛乳市民講座「牛乳の生体調節機能と基礎食品としての重要性」2008.1.26 京都

大日向：東北薬科大学大学院講義「生理活性ペプチドによる食欲調節機構」2007.12.7 仙台

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）

外国人客員教授：1名（ポーランド）

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、宇治地区安全衛生委員

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
准 教 授 木村 幸敬
助 教 島 元啓
助 教 小林 敬
事務補佐員 神谷るみ子

大学院博士後期課程	1 名	受託研究員	1 名
大学院修士課程	8 名	研究生	1 名
専攻 4 回生	4 名	特別研究学生	1 名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

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10 nm 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) バイオリア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ア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、合理的なバイオリア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

a) 成果刊行

著書・総説

小林敬：リパーゼによる反応を用いた機能性エステル生産 — 生産性を左右する因子について — FFIジャーナル, 212, 273-280 (2007).

原著論文

- S. Kikuchi, T. Kobayashi, and S. Adachi: Dependence of the distribution coefficients of hydrophobic solutes on porous methyl methacrylate resin on the temperature and methanol content of the eluent. *Food Sci. Technol. Res.*, **14**, 144-147 (2008).
- Y. Watanabe, Y. Sawahara, S. Asai, and S. Adachi: Decomposition kinetics of 6-*O*-monoacyl ascorbate in air. *Food Sci. Technol. Res.*, **14**, 139-143 (2008).
- N. Iwamoto, M. Shima, and S. Adachi: Synthesis of xylitoyl fatty acid monoesters by immobilized lipase in subcritical acetone. *Biochem. Eng. J.*, **38**, 16-21 (2008).
- P. Khuwijtjaru, K. Chaloodong, and S. Adachi: Phenolic content and radical scavenging capacity of kaffir lime fruit peel extracts obtained by pressurized hot water extraction. *Food Sci. Technol. Res.*, **14**, 1-4 (2008).
- R. Nakazawa, M. Shima, and S. Adachi: Effect of oil-droplet size on the oxidation of microencapsulated methyl linoleate. *J. Oleo Sci.*, **57**, 225-232 (2008).
- J. Wiboonsirikul, Y. Kimura, Y. Kanaya, T. Tsuno, and S. Adachi: Production and characterization of functional substances from a by-product of rice bran oil and protein production by a compressed hot water treatment. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 384-392 (2008).
- J. Wiboonsirikul, Y. Sakai, A. Hosoda, H. Morita, Y. Kimura, H. Taniguchi, T. Tsuno, and S. Adachi: Mutagenicity of the extract from defatted rice bran by subcritical water treatment. *Japan J. Food Eng.*, **9**, 75-78 (2008).
- C. Usuki, Y. Kimura, and S. Adachi: Degradation of pentaoses and hexauronic acids in subcritical water. *Chem. Eng. Technol.*, **31**, 133-137 (2008).
- S. Katagi, Y. Kimura, and S. Adachi: Continuous preparation of O/W nano-emulsion by the treatment of a coarse emulsion under subcritical water conditions. *LWT-Food Sci. Technol.*, **40**, 1376-1380 (2007).
- J. Wiboonsirikul, S. Hata, Y. Kimura, T. Tsuno, and S. Adachi: Production of functional substances from black rice bran by its treatment in subcritical water. *LWT-Food Sci. Technol.*, **40**, 1732-1740 (2007).
- J. Piao, K. Takase, and S. Adachi: Enzymatic synthesis of myristoyl disaccharides and their surface activity. *J. Sci. Food Agric.*, **87**, 1743-1747 (2007).
- P. Khuwijtjaru, P. Nualchan, and S. Adachi: Foaming and emulsifying properties of rice bran extracts obtained by subcritical water treatment. *Silpakorn U. Sci. Technol. J.*, **1**, 7-12 (2007).

- L.-H. Hung, Y. Horagai, Y. Kimura, and S. Adachi: Decomposition and discoloration of L-ascorbic acid freeze-dried with saccharides. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **8**, 500-506 (2007).
- C. Usuki, Y. Kimura, and S. Adachi: Isomerization of hexoses in subcritical waters. *Food Sci. Technol. Res.*, **13**, 205-209 (2007).
- J. Wiboonsirikul, Y. Kimura, M. Kadota, H. Morita, T. Tsuno, and S. Adachi: Properties of extracts from defatted rice bran by its subcritical water treatment. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 8759-8765 (2007).
- J. Wiboonsirikul, P. Khuwijitjaru, Y. Kimura, H. Morita, T. Tsuno, and S. Adachi: Production optimization of the extract with high phenolic content and radical scavenging activity from defatted rice bran by subcritical water treatment. *Japan J. Food Eng.*, **8**, 311-315 (2007).
- T. Kobayashi, T. Nagao, Y. Watanabe, and Y. Shimada: Analysis of equilibrium state for synthesis of oleic acid L-menthyl ester in an oil-aqueous biphasic system with *Candida rugosa* lipase. *Enz. Microb. Technol.*, **40**, 1300-1304 (2007).
- Y. Watanabe, P. Pinsirodom, T. Nagao, A. Yamauchi, T. Kobayashi, Y. Nishida, Y. Takagi, and Y. Shimada: Conversion of acid oil by-produced in vegetable oil refining to biodiesel fuel by immobilized *Candida antarctica* lipase. *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, **44**, 99-105 (2007).
- T. Nagao, Y. Watanabe, T. Kobayashi, M. Sumida, N. Kishimoto, T. Fujita, and Y. Shimada: Enzymatic purification of dihomo- γ -linolenic acid from *Mortierella* single-cell oil. *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, **44**, 14-19 (2007).

b) 学会発表

- 第98回米国油化学会：1件
 日本食品工学会：3件
 第46回日本油化学会年会：2件
 化学工学会第39回秋季大会：2件
 Asia-Pacific Biochemical Engineering Conference 2007：1件
 酵素工学研究会第58回講演会：1件
 化学工学会山口大会：1件
 日本生物工学会第6回脂質工学研究部会講演会：2件
 日本農芸化学会大会：1件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

安達修二：日本食品工学会（理事）、酵素工学研究会（副会長）、日本油化学会（関西支部幹事、学術専門委員）、化学工学会（食糧・食品生産専門分科会世話人）

科学研究費等受領状況

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)（一般）高温高压下における pH が亜臨界水による食品成分分解
 動力学に及ぼす影響（木村代表）
 食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発：ナノスケール食品分散系の抗酸化性・

安定性の評価と制御（安達代表）
地域科学技術振興事業委託費：機能性食品素材の開発（安達分担）
ソルトサイエンス財団研究助成：クロマトグラフ手法を用いた塩とオリゴ糖の結合定数の算出（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（H19.09.17）

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）

木村幸敬：Japan J. Food Eng.（編集委員）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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、島、小林）、化学工学実験及び実験法（木村、島、小林）

大学院：食品工学特論（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

公開講座等

安達修二：日本食品工学会基礎講習会（講師）（H19.11.29）

木村幸敬：2007国際食品機械工業展アカデミックプラザ（講師）（H19.06.05）

小林 敬：環境調和型有機反応プロセス研究交流会（講師）（H19.10.19）

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 1名（タイ）、特別研究学生 1名（オランダ）、研究生 1名（中国）

C. その他

安達修二：食品生物科学科長、学術情報メディアセンター協議員、学部評価委員、研究科情報システム運営委員長、研究科情報システム技術専門委員長、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
准 教 授 橋本 渉
助 教 河井 重幸
博士研究員 丸山 如江
博士研究員 伊藤 貴文
大学院博士後期課程 2名
大学院修士課程 6名
専攻4回生 2名

A. 研究活動（2007.4～2008.3）

A-1. 研究概要

a) 体腔形成細菌の機能プロテオミクス

Sphingomonas 属細菌 A1株は、高分子多糖存在下で細胞表層の膜状物質を再構成・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が存在する。本年度は、p5の細胞表層局在性について解析した。アルギン酸結合ドメインを構成する N/C 末端約50残基を欠失した変異体 p5 Δ NC を作製した。p5 Δ NC を固定化したカラムに吸着する分子として、A1株細胞表層タンパク質 SPH2681（50 kDa）を見出した。ペプチドマスフィンガープリンティング解析により、SPH2681遺伝子を同定することができた。SPH2681の生理機能を明らかにするために、その大腸菌での発現・精製系を確立し、以下の実験に用いた。表面プラズモン共鳴法により SPH2681と p5との相互作用を解析した結果、SPH2681は p5 Δ NC と濃度依存的に結合することが分かった。結合プロファイルより、SPH2681と p5 Δ NC との解離定数は 1.6×10^{-4} M と算出された。従って、SPH2681は p5細胞表層局在性に関してアンカリングタンパク質として機能することが示唆された。

b) 体腔形成細菌の構造プロテオミクス

Sphingomonas 属細菌 A1株は、体腔に濃縮した高分子多糖を結合タンパク質依存 ABC インポーターにより細胞質へ輸送する。ホモロジーモデリングとドッキングシミュレーションにより、ABC インポーター（AlgM1-AlgM2/AlgS-AlgS：構成サブユニット4分子）の構造モデルを分子構築した。AlgM1と AlgM2は、6回膜貫通型タンパク質であり、2量体全体で12本の膜貫通 α ヘリックスをもつ。AlgS の ATP 結合部位付近には、ATP 加水分解タンパク質の間でよく保存されている P ループ及び LSGGQ モチーフがある。AlgM1と AlgM2の細胞質側に突き出た短い α ヘリックス、AlgS の ENI モチーフ、及び Q ループの相互作用により、複合体が形成されている。

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。

空気（窒素78%：酸素21%）を対照として、各種ガス分圧の異なる混合ガス（窒素：酸素：ヘリウム）を用いて窒素源非含有培地における *A. vinelandii* の生育を測定した結果、酸素分圧比が高いほど生育が阻害されることが分かった。そこで、本菌の遺伝子発現レベルを DNA マイクロアレイにより網羅的に解析した。窒素50%：酸素50%での培養菌体では、空気でのそれと比較して、莢膜多糖であるアルギン酸と細胞質貯蔵顆粒であるポリヒドロキシ酪酸（PHB）の合成に関わる各遺伝子クラスターが6倍以上多く発現していた。*A. vinelandii* は、アルギン酸や PHB を主成分とする cyst（胞嚢）を形成し乾燥耐性を示すことが知られているが、乾燥以外に、窒素・酸素環境も cyst 形成の要因であることが示唆された。

- 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
細菌と植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。

ラムノガラクトナン（RG）リアーゼは、植物細胞壁を構成する多糖 RG-I の主鎖を分解する脱離酵素である。植物腐生性の枯草菌は、互いに68.7%の相同性を示すエンド型 RG リアーゼ YesW（64 kDa）とエキソ型 RG リアーゼ YesX（68 kDa）を持つ。エンド型/エキソ型の作用様式に関わる構造要因を解明するため、YesW と YesX の比較構造解析を行った。YesW の立体構造をサーチモデルとした分子置換により、YesX の X 線結晶構造を1.65Å 分解能で決定した。YesX の立体構造と YesW とガラクトン酸2糖との複合体の立体構造を重ね合わせた結果、活性中心に結合する2糖の非還元末端側を覆い被さるように配置するループを YesX に見出した。このループを欠失させた変異体は、YesW 様のエンド型活性を示した。従って、このループ構造が長鎖基質の活性中心への結合を立体的に阻害し、YesX にエキソ型活性を付与していると考えられた。

- e) 酵母における NADP(H) 合成系の生理機能

ミトコンドリア（Mit）が正常な機能を発揮するためには、Mit 内における NADPH（Mit NADPH）が正常に供給される必要がある。出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において、Mit 局在性 NAD(H) キナーゼ（Pos5p）がこの供給に重要な役割を果たす。Pos5p は、NAD をリン酸化する NAD キナーゼ活性と NADH をリン酸化する NADH キナーゼ活性を示し、NADP と NADPH の両方を合成し得る。Mit NADPH 供給には、NADP 依存型デヒドロゲナーゼ（NADP-DH）活性を要求しない NADH キナーゼ活性が重要であるとみなされていた。しかし、本研究により、Mit NADPH 供給に NADH キナーゼ活性が必須ではないことが明らかとなった。これは、Mit NADPH の供給における、Mit 局在性 NADP-DH の重要性を意味した。そこで、Mit 局在性 NADP-DH [イソクエン酸 DH（Idp1p）、リンゴ酸 DH（malic enzyme; Mae1p）、アセトアルデヒド DH（Ald4p および Ald5p）] に着目して解析したところ、Mit NADPH 供給に Ald4/5p、特に Ald4p が重要であることが明らかとなった。

- f) ヒト NAD キナーゼの機能解析

NAD キナーゼ（NADK）は、NAD を NADP へとリン酸化する反応を触媒する、細胞にとって必須の NADP 合成酵素である。リン酸受容体として NADH をリン酸化する活性（NADH キナーゼ活性）を示す NADK、および本活性を示さない NADK が知られている。ヒト NADK に関しては、ヒト好中球由来の粗精製 NADK が Ca^{2+} /カルモジュリン（CALM1）により活性化されることが報告されている。しかしながら、ヒト NADK 活性に対する Ca^{2+} /CALM1 の影響は未だ明確にされていない。本研究において、精製 CALM1 および Ca^{2+} のフォスフォジエス

テラーゼ活性化能を確認した後、Ca²⁺/CALM1の精製ヒト NADK 活性への影響を調べたが、効果は認められなかった。キノリン酸、ニコチン酸、NMN などの各種 NAD 生合成中間体もヒト NADK 活性に影響を及ぼさなかった。一方、NADH ならびに NADPH がヒト NADK 活性を阻害するが、NADP は阻害しなかった。なお、還元剤（ジチオスレイトール）も阻害を示さなかった。ヒト NADK の極めて弱い NADH キナーゼ活性（NADK 活性の 1 % 程度）も考慮に入れると、ヒト細胞内における NADK 活性（すなわち NADP 合成活性）の調節に、NADH および NADPH が重要であり、NADK 反応の直接の生成物である NADP は重要でないことが示唆された。

A-2. 研究業績（国内、国外を含む）

a) 成果刊行

著書

- 村田幸作、橋本 渉、河井重幸：4 章 微生物の細胞構造 遺伝子から見た 応用微生物学. (熊谷英彦、加藤暢夫、村田幸作、阪井康能編)、p. 55-77、朝倉書店、東京、2008
- 村田幸作、麻生祐司：7 章 微生物の分離と増殖 遺伝子から見た 応用微生物学. (熊谷英彦、加藤暢夫、村田幸作、阪井康能編)、p. 113-128、朝倉書店、東京、2008

原著論文

- Maruyama, Y., M. Momma, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of a novel bacterial cell-surface flagellin binding to polysaccharide. *Biochemistry*, 47(5); 1393-1402, 2008
- Fukuda, C., S. Kawai and K. Murata: NADP(H) phosphatase activities in archaeal inositol monophosphatase and eubacterial 3'-phosphoadenosine 5'-phosphate phosphatase. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(17); 5447-5452, 2007
- Chaudhari, A., M. Mahfouz, A. M. Fialho, T. Yamada, A. T. Granja, Y. Zhu, W. Hashimoto, B. Schlarb-Ridley, W. Cho, T. K. D. Gupta and A. M. Chakrabarty: Cupredoxin-cancer interrelationship: azurin binding with EphB2, interference in EphB2 tyrosine phosphorylation, and inhibition of cancer growth. *Biochemistry*, 46(7); 1799-1810, 2007
- Ochiai, A., T. Itoh, A. Kawamata, W. Hashimoto and K. Murata: Plant cell wall degradation by saprophytic *Bacillus subtilis*: gene clusters responsible for rhamnogalacturonan depolymerization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(12); 3803-3813, 2007
- Cui, Z., Y. Maruyama, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of glycoside hydrolase family 78 α -L-rhamnosidase from *Bacillus* sp. GL1. *J. Mol. Biol.*, 374(2); 384-398, 2007
- Ochiai, A., T. Itoh, Y. Maruyama, A. Kawamata, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: A novel structural fold in polysaccharide lyases: *Bacillus subtilis* family 11 rhamnogalacturonan lyase YesW with an eight-bladed β -propeller. *J. Biol. Chem.*, 282(51); 37134-37145, 2007

総説

- Murata, K., S. Kawai, B. Mikami and W. Hashimoto: Superchannel of bacteria: biological significance and new horizons. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72(2); 265-277, 2008
- Hashimoto, W., T. Itoh, Y. Maruyama, B. Mikami and K. Murata: Hydration of vinyl ether groups

by unsaturated glycoside hydrolases and their role in bacterial pathogenesis. Int. Microbiol., 10(4); 233-243, 2007

橋本 渉、丸山如江、麻生祐司、村田幸作：細菌器官の分子移植と環境浄化。化学と生物、45(5) ; 320-329、2007

報告書等

Maruyama, Y., M. Momma, T. Itoh, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: X-ray crystallographic study on *Sphingomonas* sp. A1 cell surface protein associating with alginate-binding flagellin homologue. SPring-8 User Experiment Report, 2007B1624, On-line publication, 2007

Ochiai, A., T. Itoh, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of exotype rhamnogalacturonan lyase YesX from *Bacillus subtilis* strain 168: structural factors responsible for mode of action. SPring-8 User Experiment Report, 2007B1268, On-line publication, 2007

Itoh, T., Y. Maruyama, A. Ochiai, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Structural identification of bacterial *yihS*-encoded proteins to an aldose-ketose isomerase. SPring-8 User Experiment Report, 2007B1176, On-line publication, 2007

Itoh, T., Y. Maruyama, A. Ochiai, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Structural analysis of *N*-acyl-D-glucosamine 2-epimerase superfamily. SPring-8 User Experiment Report, 2007A1154, On-line publication, 2007

Maruyama, Y., M. Momma, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Alginate recognition by cell surface flagellin homologous proteins of *Sphingomonas* sp. A1. SPring-8 User Experiment Report, 2007A1330, On-line publication, 2007

Maruyama, Y., T. Itoh, A. Ochiai, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of unsaturated glucuronyl hydrolase from *Streptococcus agalactiae*. SPring-8 User Experiment Report, 2007A1407, On-line publication, 2007

b) 学会発表

日本農芸化学会2007年度大会：11件

日本農芸化学会2007年度関西支部大会：2件

日本農芸化学会2007年度関西支部例会：4件

日本生物工学会2007年度大会：2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：2件

リン化合物討論会（第28回 C-P 化合物研究会）：2件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

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）；ターゲットタンパク研究プログラム 多糖の輸送・分解に関わる細菌由来超分子の構造生物学とその食品・環境分野への応用（橋本代表、村田・三上分担）

河井重幸：科学研究費補助金 若手研究(B) 細胞外環境に応答した NADP(H)/NAD(H) 比制御の分子機構と生理的意義（河井代表）

B. 教育活動（2007.4～2008.3）

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）

C. その他

村田幸作：日本農芸化学会賞

河井重幸：農芸化学奨励賞