

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13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）72名、博士後期課程18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38名、2回生37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 | | |
| 准教授 | 保川 清 | | |
| 助教 | 滝田 禎亮 | | |
| 助教 | 兒島 憲二 (2009.2~) | | |
| 大学院博士後期課程 | 2名 | | |
| 大学院修士課程 | 8名 | 研究生 | 3名 |
| 専攻4回生 | 4名 | | |

A . 研究活動 (2008.4 ~ 2009.3)

A - 1 . 研究概要

a) 蛋白質分解酵素に関する研究

- () 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。
- () 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

- () 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 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

() 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、リボソーム・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。

() 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 Maus 白血病ウイルス (Moloney murine leukaemia 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

著 書

井上國世 (共著): 酵素ハンドブック (第3版) (八木、福井、一島、鏡山、虎谷 編) 総ページ数1008ページ、朝倉書店、東京、2008

井上國世: プロテアーゼによるダイズタンパク質の消化分解と蛋白質化学的物性の改変. 酵素の技術と市場2009 (シーエムシー出版編集部編) p. 36-44, 2009

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. 酵素の技術と市場2009 (シーエムシー出版編集部編) p. 19-27, 2009

井上國世 (監修): 産業酵素の応用技術と最新動向、p. 1-345、シーエムシー出版、東京、2009

井上國世: 総論 「産業酵素」研究の過去、現在、未来. 産業酵素の応用技術と最新動向 (井上國世、監修) p. 1-14、シーエムシー出版、東京、2009

井上國世、橋田泰彦、草野正雪、保川清: サーモライシンの応用と高機能化. 産業酵素の応用技術と最新動向 (井上國世、監修) p. 58-68、シーエムシー出版、東京、2009

保川清: 核酸増幅法. 産業酵素の応用技術と最新動向 (井上國世、監修) p. 194-202、シーエムシー出版、東京、2009

Inouye, K., Lee, S., Oneda, H., Mouri, Y., Minoda, M., and Tanaka, A. Protein engineering and molecular recognition of the activity and stability of *Bacillus* α -amylases for their application to food science and biotechnology. Proceedings of the International Seminar

on Chemistry 2008 (Ed. by University of Padjadjaran), (ISBN 978-979-18962-0-7) p. 37-44, 2008

原著論文

- Yasukawa, K., Nemoto, D., and Inouye, K. Comparison of the thermal stabilities of reverse transcriptases from avian myeloblastosis virus and Moloney murine leukaemia 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
- Saruwatari, Y., Wada, T., Takita, T., and Inouye, K. Substrate-induced conformational changes of the truncated catalytic domain of *Geobacillus stearothermophilus* lysyl-tRNA synthetase as examined by fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*, 1784; 1633-1640, 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
- Ueda, M., Noda, K., Nakazawa, M., Miyatake, K., Ohki, S., Sakaguchi, M., and Inouye, K. A novel anti-plant viral protein from coelomic fluid of the earthworm *Eisenia foetida*: purification, characterization and its identification as a serine protease. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 151; 381-385, 2008
- Kusano, M., Yasukawa, K., and Inouye, K. Insights into the catalytic roles of the polypeptide regions in the active site of thermolysin and generation of the thermolysin variants with high activity and stability. *J. Biochem.*, 145; 103-113, 2009
- Yasukawa, K., Mizuno, M., and Inouye, K. Characterization of Moloney murine leukaemia virus/avian myeloblastosis virus chimeric reverse transcriptases. *J. Biochem* 145; 315-324, 2009
- Sakurama, H., Takita, T., Mikami, B., Itoh, T., Yasukawa, K., and Inouye, K. Two crystal structures of lysyl-tRNA synthetase from *Bacillus stearothermophilus* in complex with lysyladenylate-like compounds: insights into the irreversible formation of the

- enzyme-bound adenylate of L-lysine hydroxamate. J. Biochem., 145; 555-563, 2009
- Inouye, K., Nakano, K., Asaoka, K., and Yasukawa, K. Effects of thermal treatment on the coagulation of soy proteins induced by *subtilisin Carlsberg*. J. Agric. Food Chem., 57; 717-723, 2009
- Kojima, K., Tsuzuki, S., Fushiki, T., and Inouye, K. The activity of a type II transmembrane serine protease, matriptase, is dependent solely on the catalytic domain. Biosci. Biotechnol. Biochem., 73; 454-456, 2009
- Asaoka, K., Yasukawa, K., and Inouye, K. Coagulation of soy proteins induced by thermolysin and comparison of the coagulation reaction with that induced by subtilisin Carlsberg. Enz. Microbial. Technol., 44; 229-234, 2009
- Kosonh, X., Tsukiyama, T., Inouye, K., Okumoto, Y., Nakazaki, T., and Tanisaka, T. Gene cloning, expression, purification and characterization of rice (*Oryza sativa* L.) class II chitinase CHT11. Enz. Microbial. Technol. 43; 19-24, 2008
- Inouye, K. Food diagnosis by enzyme immunoassay: Improvement in its sensitivity and rapidity by enzyme chemistry and protein engineering. J. Biotechnol. 1365; S711, 2008.
- Kojima, K., Tsuzuki, S., Fushiki, T., and Inouye, K. Role of the stem domain of matriptase in the interaction with its physiological inhibitor, hepatocyte growth factor activator inhibitor type I. J. Biochem., in press
- Murai, N., Miyake, Y., Tsuzuki, S., Inouye, K., and Fushiki, T. Identification of the basolateral sorting signal of a type II transmembrane serine protease matriptase. Cytotechnology, in press
- Mochida, S., Tsuzuki, S., Yasumoto, M., Inouye, K., and Fushiki, T. Secreted expression of pseudozymogen forms of recombinant matriptase in *Pichia pastoris*. Enz. Microbial. Technol., in press
- Miyake, Y., Yasumoto, M., Tsuzuki, S., Fushiki, T., and Inouye, K. Activation of a membrane-bound serine protease matriptase on the cell surface. J. Biochem., in press

総説ほか

- 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
- Okumura, S., Saitoh, H., Ishikawa, T., Mizuki, E., and Inouye, K. Identification and characterization of a novel cytotoxic protein, parasporin-4, produced by *Bacillus thuringiensis* A1470 strain. Biotechnol. Annu. Rev., 14; 225-252, 2008

奥村史朗、斎藤浩之、片山秀樹、日下芳友、井上國世、水城英一 . 微生物由来の細胞障害性タンパク質パラスポリン4の作用機構解明。 福岡県工業技術センター研究報告 18; 24-26, 2008

神野英毅、清水昌、井上國世 . 水素生産を目的とした環境微生物からの有用菌の分離、同定及びその活性に関する研究 . 日本大学大学院生産工学研究科生命工学リサーチセンター平成20年度研究報告書、7-14、2008

b) 学会発表

日本農芸化学会2008年度大会：17件

2008年度日本農芸化学会関西支部大会：8件

第55回日本生化学会近畿支部例会：4件

第8回食品酵素化学研究会：2件

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 (BMB 2008)：4件

第8回昆虫病理研究会シンポジウム・第14回BT研究会合同大会：1件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等(役割)

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); 日本病態プロテアーゼ学会(世話人); 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)

科研費等受領状況

科学研究費 基盤研究(B)「サーモライシンの食品工業への利用性拡大を目的とした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.: The 33rd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Techniques, Kyoto University (共同発表者) (2008年12月)

Inouye, K.: International Seminar on Chemistry 2008, University of Padjadjaran, Indonesia (招待講演者)(2008年10月)

Inouye, K.: 13th International Biotechnology Symposium, Dalian Expo Center (招待講演者、

シンポジウム座長)(2008年10月)

Inouye, K.: 22nd International Conference on Coffee Science, Campinas, Brazil (共同発表者)(2008年9月)

Inouye, K.: The Environmental Research Seminar at the Austrian Research Centers, Seibersdorf, Austria (招待講演者)(2008年7月)

Inouye, K.: KIR Special Seminar on Proteases, London, UK (招待講演者)(2008年4月)

国際誌編集(役割)

井上國世: Biotechnology Annual Review (Elsevier) (国際編集委員)

井上國世: New Biotechnology (Elsevier) (Review 担当国際編集委員)

井上國世: Enzyme and Microbial Technology (Elsevier) (国際編集委員)

井上國世: 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: 細菌感染と治療に關与するプロテアーゼに關する共同研究(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關する共同研究(オランダ、ワーゲン
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關する共同研究(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關する共同研究(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關する共同研究(ノルウェー、トロンソー大学)

井上國世: 好熱性酵素に關する構造と機能に關する研究(韓国、ソウル国立大学、延世大学、
光州工科大学)

井上國世: 酵素反応機構に關する研究(英国、ワーウィック大学、エクセター大学)

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關する共同研究(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 (2008.4 ~ 2009.3)

B - 1 . 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品生化学（井上、保川）、酵素の作用と応用（井上、保川）、酵素化学（井上、保川）、課題研究（卒業論文）（井上、保川）、酵素化学実験及び実験法（保川、滝田）

大学院：食品生命科学特論（井上）、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) 集会等（役割）

井上國世：農学部・農学研究科FDワークショップ（発表）

B - 2 . 学外における教育活動

非常勤講師他

井上國世：沖縄工業高等専門学校特別講義「酵素化学の基礎」(2008年11月)

井上國世：琉球大学農学部特別講義「パチルスアミラーゼの糖化工業への応用」(2008年11月)

井上國世：大阪府立高津高等学校への出前講義(2008年7月)

井上國世：岩手大学農学部特別講義「酵素化学入門」(2008年7月)

井上國世：琉球大学農学部特別講義「金属プロテアーゼの反応解析」(2008年6月)

井上國世：岡山理科大学大学院理学研究科特別講義「酵素反応機構」(2008年6月)

B - 3 . 国際的教育活動

非常勤講師他

井上國世：The Austrian Research Centers, Seibersdorf, Austria(2008年7月)

井上國世：Imperial College, London, UK(2008年4月)

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（ケニア）

C . その他

学内

井上國世：産官学連携本部・副本部長；産官学連携本部運営協議会・委員；産官学連携センター運営協議会・委員；国際化推進連絡会・委員；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、農学研究科寄付講座運営協議会・委員

保川 清：年報編集委員会・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、京都市医・工・ライフサイエンス連携プロジェクト検討委員会・委員、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、財団法人飯島記念食品科学振興財団・選考委員、東洋大学・客員教授、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 | 北島 直文 |
| 准 | 教授 | 谷 史人 |
| 助 | 教 | 榎田 哲哉 |
| 非常勤教務補佐員 | | 平川 由紀 |
| 非常勤教務補佐員 | | 井出 信幸 |
| 非常勤事務補佐員 | | 森島美千代 |
| 大学院博士後期課程 | | 2名 |
| 大学院修士課程 | | 8名 |
| 専攻4回生 | | 3名 |

研究活動（2008.4～2009.3）

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、制御的にはたらくマクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞が生体防御に欠かせない。消化管内には、共生細菌由来や食餌性の抗原として、免疫調節機能をもつストレスタンパク質(Hsp)が存在しており、その抗原提示細胞への作用を解析している。Hspを含むタンパク質を摂取させると、粘膜固有層の制御性マクロファージが増加すること、また、生物種の異なるHsp70と免疫細胞との相互作用を調べ、抗原提示細胞への結合にはhsp70のC末端配列が大きく影響することを見出した。

d) 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

原著

- 1) Tani F., Ohno M., Furukawa Y., Sakamoto M., Masuda S., and Kitabatake N.; Surface expression of a C-terminal α -helix region in heat shock protein 72 on murine LL/2 lung carcinoma can be recognized by innate immune sentinels. Mol. Immunol. 46; 1326-1339 (2009)

2) 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. 275; 3644-3652 (2008).

報告書等

Ohue R., Tani F., and Kitabatake N.; Effects of CpG-oligodeoxynucleotides on dendritic cell development. Nucleic Acids Symposium Series No.52 (Oxford University Press); 647-648 (2008)

b) 学会発表

- ・日本食品科学工学会第55回大会：11件
- ・Joint Symposium of the 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and the 35th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry：1件
- ・第81回日本生化学会大会・第31回日本分子生物学会年会合同大会：2件
- ・日本農芸化学会2009年度大会：4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
日本食品工学会 評議員
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：飯島記念食品科学振興財団平成19年度学術研究助成「キャッサバ芋の加工特性に関する研究」(北畠代表)

北畠直文：京都大学・日清製粉穀物科学コンソーシアム「小麦粉の加工と物性に関する研究」

谷 史人：科研費、基盤研究(C)「生物種特異的分子識別機構に関する研究」

谷 史人：東和食品研究振興会2008年度研究助成「光と温度制御を駆使した生鮮食料の保存と機能性向上に関する基礎的研究」

谷 史人：伊藤記念財団平成20年度研究助成「食肉由来の免疫調節ペプチドの生理機

能に関する研究」

梶田哲哉：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]（梶田代表）

梶田哲哉：京都大学・日清製粉穀物科学コンソーシアム「小麦粉の加工と物性に関する研究」

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（2008.4～2009.3）

B - 1 . 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品安全学（北畠）、食品化学（北畠）、食品生物科学入門と実習（北畠）、食品基礎生化学（谷）、食品生物科学基礎実験及び実験法（谷）、生命科学実験及び実験法（谷）

大学院：食環境学特論（北畠、谷）、食品生命科学特論（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

北畠直文：長崎大学医歯学部

北畠直文：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

北畠直文：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

北畠直文：滋賀県農産加工研究参与

北畠直文：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

北畠直文：財団法人京都産業21技術顕彰委員会委員

北畠直文：京都市京（みやこ）・食の安全衛生管理認証審査委員会委員

北畠直文：京都大学大学院地球環境学堂資源循環学廊（両任）

谷 史人：京都大学大学院地球環境学堂資源循環学廊（両任）

榎田哲哉：京都大学大学院地球環境学堂資源循環学廊（両任）

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 6名

大学院修士課程 8名

専攻4回生 2名

関係教員：教 授 平井 伸博（比較農業論講座）

A．研究活動（2008.4～2009.3）

A - 1．研究概要

a) アプリシアトキシンをリードとした新しい抗がん剤の開発

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注目されている。しかしながら、bryo 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、その分子疎水性を低下させた単純化アナログ・Aplog-1 を 22 段階で合成した。Aplog-1 は 39 種のヒトがん細胞パネルを用いた抗がん試験において、bryo と同等の増殖抑制活性を示すとともに、PKC δ を HeLa 細胞の核膜に局在化させた。

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 アミロイドタンパク (A β 42) は、神

経細胞毒性とともに高い凝集性を示す。A β 42 の系統的なプロリン残基による置換ならびに固体 NMR により、A β 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ことを明らかにした。それぞれの配座固定アナログの活性を調べることによって、後者が毒性を示すコンホマーであり、毒性本体と考えられるオリゴマー (3 及び 4 量体) を形成しやすいことが判明した。これらのオリゴマーを SDS-PAGE で分離して MALDI-TOF-MS 分析したところ、3 及び 4 量体のピークはまったく認められなかった。これより、これらのオリゴマーは共有結合ではなく、A β 42 間の水素結合によって形成されていることが示唆された。

c) 肥満による大腸がん発生機構の解析

肥満が大腸がんの原因であることは疫学研究などから示唆されているが、そのメカニズムに関しては不明な点が多い。そこで、マウス大腸化学発がんモデルを用いて、がんの発生に相関するアディポサイトカインを精査したところ、レプチンの関与が示唆された。また、レプチン産生を抑制する食品因子を検索した結果、柑橘類特有のポリメトキシフラボノイドであるノビレチンを同定した。培養脂肪細胞を用いた実験で、ノビレチンは mTOR 経路には作用せず、MEK/ERK 経路を抑制することでレプチン産生を低下させているという、新規な分子機構を見出した。レプチンは摂食抑制作用など恒常性の維持に必須なホルモンであるが、その血清レベルを適正に維持することが大腸がんの予防に寄与すると考えられる。

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、抗菌物質としてジテルペンのトタロールに加えて、5 つの既知ジテルペンと 1 つの新規ジテルペンを単離した。新規ジテルペンは誘導体の X 線解析により、(+)-(1*R*)-hydroxytatarol と同定した。アカマツと同じ Pinus 属のクロマツやハクショウ、ストロブマツ、ヒメコマツには tatarol がほとんど含まれていないことが判明した。同属にもかかわらず、根の成分にこのような違いがあることは興味深い。

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) 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・ABA 8' 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、ウニコナゾール-P をリード化合物としたトリアゾール系酵素阻害剤のデザイン合成を行った。合成した 26 化合物のうち、配座固定ア

ナログとベンゼン環 4 位修飾アナログのいくつかは、ABA 8' 位水酸化酵素に対して高い阻害活性を示すとともにリンゴ芽生えに対して高い乾燥耐性付与効果を示した。今年度から ABA の代謝物質ファゼイン酸を完全に不活性化するファゼイン酸還元酵素の精製も開始した。

A - 2 . 研究業績

a) 成果刊行

著書

Masuda, Y., Uemura, S., Ohashi, R., Nakanishi, A., Takegoshi, K. and Irie, K.: Identification of toxic conformation in A β 42 aggregates using solid-state NMR. Peptide Science 2008, Nomizu, M. (Ed.), The Japanese Peptide Society, pp.25-28, 2009

Murakami, A., Ikeda, Y. and Ohigashi, H.: Modulation of MAPK pathways by food phytochemicals: risks and benefits. In. Dietary Modulation of Cell Signaling Pathways, Surh, Y.-J., Dong, Z., Cadenas, E. and Packer, L. (Eds.), pp.75-90, Taylor and Francis Group, LLC, New York, 2009

原著論文

Masuda, Y., Uemura, S., Nakanishi, A., Ohashi, R., Takegoshi, K., Shimizu, T., Shirasawa, T. and Irie, K.: Verification of the C-terminal intramolecular β -sheet in A β 42 aggregates using solid-state NMR: implications for potent neurotoxicity through the formation of radicals. Bioorg. Med. Chem. Lett., 18(11); 3206-3210, 2008

Masuda, Y., Nakanishi, A., Ohashi, R., Takegoshi, K., Shimizu, T., Shirasawa, T. and Irie, K.: Verification of the intermolecular parallel β -sheet in E22K-A β 42 aggregates by solid-state NMR using rotational resonance: implications for the supramolecular arrangement of the toxic conformer of A β 42. Biosci. Biotechnol. Biochem., 72(8); 2170-2175, 2008

Masuda, Y., Uemura, S., Ohashi, R., Nakanishi, A., Takegoshi, K., Shimizu, T., Shirasawa, T. and Irie, K.: Identification of physiological and toxic conformations in A β 42 aggregates. ChemBioChem, 10(2); 287-295, 2009

Kim, M., Miyamoto, S., Sugie, S., Yasui, Y., Ishigamori-Suzuki, R., Murakami, A., Nakagama, H. and Tanaka, T.: A tobacco-specific carcinogen, NNK, enhances AOM/DSS-induced colon carcinogenesis in male A/J mice. In Vivo, 22(5); 557-563, 2008

Ikeda, Y., Murakami, A. and Ohigashi, H.: Strain differences regarding susceptibility to ursolic acid-induced interleukin-1 β release in murine macrophages. Life Sci., 83(1-2); 43-49,

2008

- Miyamoto, S., Yasui, Y., Tanaka, T., Ohigashi, H. and Murakami, A.: Suppressive effects of nobiletin on hyperleptinemia and colitis-related colon carcinogenesis in male ICR mice. *Carcinogenesis*, 29(5); 1057-1063, 2008
- Sekiguchi, H., Washida, K. and Murakami, A.: Suppressive effects of selected food phytochemicals on CD74 expression in NCI-N87 gastric carcinoma cells. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 43(2); 109-117, 2008
- Kaneko, K., Akuta, T., Sawa, T., Kim, H.W., Fujii, S., Okamoto, T., Nakayama, H., Ohigashi, H., Murakami, A. and Akaike, T.: Mutagenicity of 8-nitroguanosine, a product of nitrative nucleoside modification by reactive nitrogen oxides, in mammalian cells. *Cancer Lett.* 262(2); 239-247, 2008
- Sung, B., Murakami, A., Oyajobi, B. and Aggarwal, B.: Zerumbone abolishes RANKL-induced NF-kappaB activation, inhibits osteoclastogenesis and suppresses human breast cancer-induced bone loss in athymic nude mice. *Cancer Res.*, 69(4); 1477-1484, 2009
- Kim, M., Miyamoto, S., Yasui, Y., Oyama, T., Murakami, A. and Tanaka, T.: Zerumbone, a tropical ginger sesquiterpene, inhibits colon and lung carcinogenesis in mice. *Int. J. Cancer*, 124(2); 64-271, 2009
- Kajikawa, M., Hirai, N. and Hashimoto, T.: A PIP-family reductase is required for biosynthesis of tobacco alkaloids. *Plant Mol. Biol.*, DOI 10.1007/s11103-008-9424-3, 2008
- Todoroki, Y., Kobayashi, K., Yoneyama, H., Hiramatsu, S., Jin, M.-H., Watanabe, B., Mizutani, M. and N. Hirai: Structure-activity relationship of uniconazole, a potent inhibitor of ABA 8-hydroxylase, with a focus on hydrophilic functional groups and conformation. *Bioorg. Med. Chem.*, 16; 3141-3152, 2008

総説

- 入江一浩、増田裕一： アミロイドの毒性コンホメーション .*化学と生物* ,46(2); 431-434, 2008
- 村上一馬、清水孝彦、白澤卓二、入江一浩：アミロイド (Aβ42) の毒性コンホメーションの提唱 . *基礎老化研究* , 32(3); 25-29, 2008
- Murakami, A., Ashida, H. and Terao, J.: Multitargeted cancer prevention by quercetin. *Cancer Lett.*, 269(2); 315-325, 2008
- 宮本真吾、村上 明：肥満と大腸がんをつなぐ因子：レプチン ～柑橘類フラボノイドの新たな大腸発がん抑制メカニズム？～ . *フードリサーチ* , 642; 34-38, 2008
- 村上 明：講義 - 聴く立場と行う立場 - . *FOOD Style 21* , 13(3); 90-91, 2009

- 村上 明：セミナーバトル．FOOD Style 21, 13(2); 64-65, 2009
- 村上 明：気になる研究（その1）．FOOD Style 21, 13(1); 99-101, 2009
- 村上 明：留学生体験．FOOD Style 21, 12(12); 76-77, 2008
- 村上 明：メタボがもたらすもの．FOOD Style 21, 12(11); 72-73, 2008
- 村上 明：ラボディスカッション．FOOD Style 21, 12(10); 76-77, 2008
- 村上 明：研究の進め方．FOOD Style 21, 12(9); 116-117, 2008
- 村上 明：査読のお仕事．FOOD Style 21, 12(8); 84-85, 2008
- 村上 明：英語という難物．FOOD Style 21, 12(7); 76-77, 2008
- 村上 明：失敗を見つめる．FOOD Style 21, 12(6); 81-83, 2008
- 村上 明：動物実験 - 善悪と要不要 - ．FOOD Style 21, 12(5); 99-101, 2008
- 村上 明：卒業論文を仕上げる．FOOD Style 21, 12(4); 94-95, 2008

報告書等

- 入江一浩：科学研究費補助金基盤研究 (A)： 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：科学研究費補助金萌芽研究：インドール環 4 位への窒素原子導入酵素の触媒機構の解析と応用 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 20 年度研究成果報告書
- 村上 明：科学研究費補助金基盤研究 (C)：大腸発がんにおけるアディポサイトカインの役割と予防食品因子の解明 平成 20 年度研究実績報告書
- 平井伸博：科学研究費補助金基盤研究 (B)：半乾燥地帯における植物の環境ストレス保護剤の開発 平成 20 年度研究実績報告書

b) 学会発表

- 日本農芸化学会 2009 年度大会（福岡、研究発表 12 件、招待講演 1 件）
- 日本基礎老化学会第 31 回大会（松本、研究発表 1 件）
- 第 43 回天然物化学談話会（大阪、研究発表 1 件、招待講演 1 件）
- 第 60 回日本生物工学会大会（仙台、研究発表 1 件）
- 第 50 回天然有機化合物討論会（福岡、研究発表 1 件）
- 第 27 回日本認知症学会集会（前橋、研究発表 2 件）
- 第 45 回ペプチド討論会（東京、研究発表 1 件）
- 毒素研究会シンポジウム（東京、招待講演 1 件）
- 理研シンポジウム「第 9 回 分析・解析技術と化学の最先端」（和光、招待講演 1 件）
- 第 54 回白鷺セミナー（堺、招待講演 1 件）

第 455 回日本農芸化学会関西支部例会（大阪、招待講演 1 件）
第 3 回ハナショウガ研究会（大阪、招待講演 1 件）
第 15 回日本がん予防学会（福岡、研究発表 1 件）
第 68 回日本癌学会総会（名古屋、研究発表 1 件）
第 13 回日本フードファクター学会（東京、研究発表 5 件）
第 13 回 AOB 研究会（東京、研究発表 1 件）
レドックス生命科学第 170 委員会第 19 回研究会（御殿場、招待講演 1 件）
園芸学会 2008 年度大会（東京、研究発表 1 件）
植物化学調節学会第 43 回大会（つくば、研究発表 3 件）
第 52 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会（板倉、研究発表 1 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)： 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）、萌芽研究：インドール環 4 位への窒素原子導入酵素の触媒機構の解析と応用（入江代表）、基盤研究 (C)：大腸発がんにおけるアディポサイトカインの役割と予防食品因子の解明（村上代表）、基盤研究 (B)：半乾燥地帯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（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：果樹試験研究推進協議会研究助成金：カンキツ類成分が持つ抗ピロリ菌活性の解明と作用機構解析（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：2008年北米神経科学会議（米国ワシントンDC、研究発表3件）

入江一浩：Keystone Symposia on Neurodegenerative Diseases（米国コロラド、研究発表1件）

村上 明：第66回米国癌学会（米国サンディエゴ、研究発表1件）

村上 明：天然物と機能性食品に関する日伊合同シンポジウム（伊国サラerno、招待講演1件）

平井伸博：236th ACS National Meeting（米国フィラデルフィア、研究発表1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（2008.4～2009.3）

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（入江）、食品有機化学（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：生体反応有機化学（入江）、食品生命科学特論（入江分担）、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：彩都バイオヒルズクラブ プロテオミクスシンポジウム（講演）

村上 明：お茶の水女子大学生活科学部（集中講義）

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：国費留学生（研究生）1名（タイ）

C．その他

入江一浩：[学内] 食品生物科学科長、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、低温物質科学研究センター協議会協議員、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、京都大学総長室特命補佐、[学外] 京都市医・工・ライフサイエンス連携プロジェクト検

討委員会委員、[受賞] 2008 年度 BBB 論文賞 (日本農芸化学会)

村上 明:[学内] 農学研究科動物実験委員会委員、農学研究科衛生管理者

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 | 0名 |
| | 大学院修士課程 | 14名 |
| | 専攻4回生 | 3名 |

A . 研究活動 (2008.4 ~ 2009.3)

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する理論化・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-beta (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（自律神経系を經由して）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：味覚と嗜好のサイエンス 丸善 2008

Inoue K and Fushiki T. Exercise Fatigue. In: *Fatigue Science for Human Health*, edited by Watanabe Y, Evengard B, Natelson BH, Jason LA and Kuratsune H. Tokyo: Springer, 2008, p. 187-202.

原著論文

Yoneda T, Saitou K, Asano H, Mizushige T, Matsumura S, Eguchi A, Manabe Y, Tsuzuki S, Inoue K, and Fushiki T. Assessing palatability of long-chain fatty acids from the licking behavior of BALB/c mice. *Physiol Behav* 96: 735-741, 2009.

Saitou K, Yoneda T, Mizushige T, Asano H, Okamura M, Matsumura S, Eguchi A, Manabe Y, Tsuzuki S, Inoue K, and Fushiki T. Contribution of gustation to the palatability of linoleic acid. *Physiol Behav* 96: 142-148, 2009.

Murai N, Miyake Y, Tsuzuki S, Inouye K, and Fushiki T. Involvement of the cytoplasmic juxtamembrane region of matriptase in its exclusive localization to the basolateral membrane domain of Madin-Darby canine kidney epithelial cells. *Cytotechnology*, 2009.

Mizushige T, Saitoh K, Manabe Y, Nishizuka T, Taka Y, Eguchi A, Yoneda T, Matsumura S, Tsuzuki S, Inoue K, and Fushiki T. Preference for dietary fat induced by release of beta-endorphin in rats. *Life Sci* 84: 760-765, 2009.

Miyake Y, Yasumoto M, Tsuzuki S, Fushiki T, and Inouye K. Activation of a Membrane-bound Serine Protease Matriptase on the Cell Surface. *J Biochem*, 2009.

Matsumura S, Eguchi A, Mizushige T, Kitabayashi N, Tsuzuki S, Inoue K, and Fushiki T. Colocalization of GPR120 with phospholipase-Cbeta2 and alpha-gustducin in the taste bud cells in mice. *Neurosci Lett* 450: 186-190, 2009.

Masamoto Y, Kawabata F, and Fushiki T. Intra-gastric administration of TRPV1, TRPV3, TRPM8, and TRPA1 agonists modulates autonomic thermoregulation in different manners in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 73: 1021-1027, 2009.

Kojima K, Tsuzuki S, Fushiki T, and Inouye K. The activity of a type II transmembrane serine protease, matriptase, is dependent solely on the catalytic domain. *Biosci Biotechnol Biochem* 73: 454-456, 2009.

Kojima K, Tsuzuki S, Fushiki T, and Inouye K. Role of the stem domain of matriptase in the interaction with its physiological inhibitor, hepatocyte growth factor activator inhibitor type I. *J Biochem* 145: 783-790, 2009.

- Fukatsu Y, Noguchi T, Hosooka T, Ogura T, Kotani K, Abe T, Shibakusa T, Inoue K, Sakai M, Tobimatsu K, Inagaki K, Yoshioka T, Matsuo M, Nakae J, Matsuki Y, Hiramatsu R, Kaku K, Okamura H, Fushiki T, and Kasuga M. Muscle-specific overexpression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor increases peripheral glucose disposal and insulin sensitivity. *Endocrinology* 150: 2683-2691, 2009.
- Yoshikawa Y, Hirayasu H, Tsuzuki S, and Fushiki T. Granzyme A causes detachment of alveolar epithelial A549 cells accompanied by promotion of interleukin-8 release. *Biosci Biotechnol Biochem* 72: 2481-2484, 2008.
- Yoshikawa Y, Hirayasu H, Tsuzuki S, and Fushiki T. Carrageenan inhibits granzyme A-induced detachment of and interleukin-8 release from alveolar epithelial A549 cells. *Cytotechnology* 58: 63-67, 2008.
- Nishino N, Tamori Y, Tateya S, Kawaguchi T, Shibakusa T, Mizunoya W, Inoue K, Kitazawa R, Kitazawa S, Matsuki Y, Hiramatsu R, Masubuchi S, Omachi A, Kimura K, Saito M, Amo T, Ohta S, Yamaguchi T, Osumi T, Cheng J, Fujimoto T, Nakao H, Nakao K, Aiba A, Okamura H, Fushiki T, and Kasuga M. FSP27 contributes to efficient energy storage in murine white adipocytes by promoting the formation of unilocular lipid droplets. *J Clin Invest* 118: 2808-2821, 2008.
- Naitoh R, Miyawaki K, Harada N, Mizunoya W, Toyoda K, Fushiki T, Yamada Y, Seino Y, and Inagaki N. Inhibition of GIP signaling modulates adiponectin levels under high-fat diet in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 376: 21-25, 2008.
- Matsumura S, Shibakusa T, Fujikawa T, Yamada H, Matsumura K, Inoue K, and Fushiki T. Intracisternal administration of transforming growth factor-beta evokes fever through the induction of cyclooxygenase-2 in brain endothelial cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R266-275, 2008.
- Matsumura S, Saitou K, Miyaki T, Yoneda T, Mizushige T, Eguchi A, Shibakusa T, Manabe Y, Tsuzuki S, Inoue K, and Fushiki T. Mercaptoacetate inhibition of fatty acid beta-oxidation attenuates the oral acceptance of fat in BALB/c mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R82-91, 2008.
- Kojima K, Tsuzuki S, Fushiki T, and Inouye K. Roles of functional and structural domains of hepatocyte growth factor activator inhibitor type 1 in the inhibition of matriptase. *J Biol Chem* 283: 2478-2487, 2008.
- Kawasaki H, Yamada A, Fuse R, and Fushiki T. Preference for dried bonito broth in olfactory-blocked or taste nerve-sectioned mice in the two-bottle choice test. *Biosci*

Biotechnol Biochem 72: 2840-2846, 2008.

Inagaki H, Tsuzuki S, Iino T, Inoue K, and Fushiki T. Development of an in vitro system for screening the ligands of a membrane glycoprotein CD36. Cytotechnology 57: 145-150, 2008.

Inada H, Kawabata F, Ishimaru Y, Fushiki T, Matsunami H, and Tominaga M. Off-response property of an acid-activated cation channel complex PKD1L3-PKD2L1. EMBO Rep 9: 690-697, 2008.

Hirayasu H, Yoshikawa Y, Tsuzuki S, and Fushiki T. A lymphocyte serine protease granzyme A causes detachment of a small-intestinal epithelial cell line (IEC-6). Biosci Biotechnol Biochem 72: 2294-2302, 2008.

b) 学会発表

日本農芸化学会2008年度大会：8件

日本栄養食糧学会2008年度大会：5件

日本味と匂い学会2008年度大会：5件

日本香辛料学会2008年度大会：2件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

伏木 亨：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) 腸管由来セリンプロテアーゼの細胞死における意義と食品成分による調節機構の解明（都築代表）

A - 4 . 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

井上和生：2008 Main Meeting of the Physiological Society: (Cambridge、UK, 研究発表1

件)

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(2008.4~2009.3)

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()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(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：

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20年4月13日「現代人のおいしさと情報」中小企業懇話会講演会(京都市、リーガロイヤルホテル)

平成20年4月1日「うま味成分を生かした食事」日本食文化財団講演会(大阪市、リーガロイヤルホテル大阪)

平成20年5月31日「おいしさのメカニズム：人間は情報を食べている」NPOテクノ塾(大阪市 立命館アカデミア大阪)

平成20年6月9日「京料理に見る日本の食と健康」京都市商工会議所シンポジウム(京都市 商工会議所)

平成20年6月28日「情報とやみつきのおいしさ：現代人の食を考える」京都市中央卸売市場協会講演会(京都市、京都ロイヤルホテル)

平成20年7月16日「情報とやみつきに特化した日本のおいしさ」日本食品クラブ講演会(大阪 ルービス大阪)

平成20年7月30日「やみつきになる現代のおいしさ」日本食品分析センター講演会(大阪市千里ライフサイエンスセンター)

平成20年9月20日「幼児期の食が嗜好に与える影響」日本味と匂学会公開講演会（富山市）

平成20年10月5日「健康と食嗜好」近畿農政局講演会（京都市 ひとまち交流館）

平成20年7月30日「生理的な観点から見た種類のおいしさ」北陸醸造試験場講演会（金沢市 石川文教会館）

平成20年10月29日「油脂のおいしさの科学」日本油化学会講演会（高松市）

井上和生：

2008年7月17日 Inoue K. Central regulation of fat metabolism during endurance exercise. London, UK (University College London, Dept. of Psychology)

2008年7月18日 Inoue K. Why is fat so tasty? Preference for fat and the reward system. In: *DA forum*. London, UK (Imperial College London - Hammersmith Hospital Campus)

2008年7月5日井上和生. 運動時エネルギー代謝の中枢性調節. 第55回日本栄養・食糧学会中部支部大会 シンポジウム「脳機能と栄養 最近の研究から」. 愛知県刈谷市: 日本栄養・食糧学会中部支部, 2008.

2009年2月14日 井上和生. 中枢性疲労と乳酸. 第5回乳酸研究会, 東京 (東大教養部)

2009年3月15日 井上和生. 運動時エネルギー代謝の中枢性調節. 第13回日本体力医学会東海地方会, 名古屋大学

C. その他

学内・学外の各種委員会委員等

伏木 亨：京都大学理事補（研究推進担当）、京都大学教育研究評議員、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、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 |
| | | 後藤 | 剛 |
| | 大学院博士後期課程 | | 6名 |
| | 大学院修士課程 | | 13名 |
| | 専攻4回生 | | 3名 |
| | 研究生 | | 2名 |

A．研究活動（2008.4～2009.3）

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) 多臓器間代謝情報ネットワークの解析と新たな食品科学研究への展開

生体の恒常性・健全性は、臓器間の制御バランスの上で成り立っている。例えば、食物として摂取した栄養成分は、腸管上皮組織で認識され、消化管ホルモンや神経系を介して肝臓など他の組織・臓器にその情報を伝達し、生体全体としての代謝が制御されている。このバランスが崩れると疾病の発症につながると考えられる。このテーマでは、脂質代謝に深く関連した腸管上皮・肝臓・脂肪組織に着目し、その脂質代謝情報に関わる神経・ホルモン情報のネットワークを解析し、食品摂取と疾病の関係について明らかにすることにより新たな食品科学研究への展開を試みる。

e) 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。

f) 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

Kawada T, Goto T, Hirai S, Yu R, Takahashi N. Chapter 4: Obesity and Nuclear Receptors: Effective Genomic Strategies in Functional Foods in Book "Nutrigenomic and Proteomics in Health and Diseases-Impact of food factors-gene interactions". 47-58, 2008.

平井 静、後藤 剛、柳 梨娜、高橋 信之、河田 照雄：肥満と脂肪エネルギー代謝：肥満・メタボリックシンドロームと食品機能。建帛社 2008.

河田 照雄：栄養学研究の最前線：病態栄養分野の進歩と課題。建帛社 2008.

原著論文

Taketa K, Matumura T, Yano M, Ishii N, Senokuchi T, Motoshima H, Murata Y, Kim-Mitsuyama S, Kawada T, Itabe H, Takeya M, Nishikawa T, Tsuruzoe K and Araki E. Ox-LDL activates PPARalpha and PPARgamma through MAPK-dependent COX-2 expression in macrophages. J Biol Chem. 283: 9852-9862, 2008.

Takahashi N, Kang M-S, Kuroyanagi K, Goto T, Hirai S, Ohyama K, Lee J-Y, Yu R, Yano M, Sasaki T, Murakami S and Kawada T. Auraptene, a citrus fruit compound, regulates gene expression as a PPARalpha agonist in HepG2 hepatocytes. BioFactors. 33: 25-32,

2008.

Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T, Koyama F, Watanabe K, Senbongi R and Iwai K. Oleuropein, a phenolic compound in extra virgin olive oil, increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretions in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 54: 363-307, 2008.

Isa Y, Miyakawa Y, Yanagisawa M, Goto T, Kang MS, Kawada T, Morimitsu Y, Kubota K and Tsuda T. 6-Shogaol and 6-gingerol, the pungent of ginger, inhibit TNF-alpha mediated downregulation of adiponectin expression via different mechanism in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 373: 429-434, 2008.

Takayanagi Y, Kasahara Y, Onaka T, Takahashi N, Kawada T and Nishimori K. Oxytocin receptor-deficient mice developed late onset obesity. *Neuro Report*.19: 951-955, 2008.

Kang MS, Hirai S, Goto T, Kuroyanagi K, Lee JY, Uemura T, Ezaki Y, Takahashi N, Kawada T. Dehydroabietic acid, a phytochemical, acts as ligand for PPARs in Macrophages and adipocytes to regulate inflammation. *Biochem Biophys Res Commun*. 369: 333-338, 2008 .

Kamauchi, S., Wadahama, H., Iwasaki, K., Nakamoto, Y., Nishizawa, K., Ishimoto, M., Kawada, T. and Urade, R. Molecular cloning and characterization of two soybean protein disulfide isomerases as molecular chaperones for seed storage proteins. *FEBS J*. 275: 2644-2658, 2008.

Mochizuki, Y., Maebuchi, M., Kohno, M., Hirotsuka, M., Wadahama, H., Moriyama, T., Kawada, T. and Urade, R. Changes in lipid metabolism by soy -conglycinin-derived peptides in HepG2 cells. *J Agric Food Chem*. 57: 1473-1480, 2009.

特許

該当なし

総説

河田 照雄、後藤 剛、平井 静、高橋 信之：脂質代謝と生活習慣病・メタボリックシンドローム。 *生物工程学* 86: 469-487, 2008.

河田 照雄：食品機能性の科学：辛味成分およびフィトケミカル。 *産業技術サービスセンター* 2008.

河田 照雄：肥満・メタボリックシンドロームと食品。 *ネスレ栄養科学レビュー*2008.
(<http://www.nestle.co.jp/science/review/review0712.htm>)

河田照雄、後藤剛、平井静、高橋信之：リン脂質（レシチン）をはじめとする脂溶性機能性成分の臨床効果と現状。 *The Lipid* 20: 69-73,2009.

裏出令子：グルテンタンパク質のネットワーク形成における食塩の役割. 食品と技術
450: 1-9, 2008.

報告書等

裏出令子：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. 財団法人ソルト・サイエンス研究財団平成19年度助成研究報告書；231-240, 2008.

b) 学会発表

2009年度日本農芸化学会大会：4件

2008年度日本栄養・食糧学会大会：3件

2008年度日本肥満学会大会：5件

2008年度第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会：3件

2008年度日本食品科学工学会大会：1件

第60回日本生物工学会大会：1件

33rd FEBS Congress & 11th IUBMB Conference：1件

16th EASO Annual Conference：3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）

高橋信之：日本肥満学会（評議員）、日本生理学会（評議員）

科研費等受領状況

科学研究費

河田照雄：基盤研究(B)(3)「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)(3)「臓器特異的ジーンターゲット法による小胞体ER-60の生理機能に関する研究」(裏出代表)

高橋信之：基盤研究(C)(2)「容積感受性クロライドチャンネル活性化の分子レベルでの解析」(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)

財団法人エリザベス・アーノルド富士財団

裏出令子：研究助成「製パン時のグルテン形成過程におけるタンパク質間ジスルフィド結合の変化とプロテインジスルフィドイソメラーゼの役割」(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・INSERM)

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), Journal of Food Science (referee)

B . 教育活動(2008.4~2009.3)

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(河田照雄)、食品生物学入門及び実習(河田照雄、裏出令子)、食品生化学(河田照雄)、食品生化学(裏出令子)、酵素化学・生化学実験及び実験法(裏出令子、高橋信之)

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、高橋信之)、食品分子機能学専攻実験(河田照雄、裏出令子、高橋信之)

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)、光産業創成大学院大学(光バイオ工学特論)

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：博士後期課程 | 1名（韓国） |
| 大学院修士課程 | 1名（台湾） |
| 研究生 | 2名（韓国・中国） |

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、NPO法人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：准教授 | 大日向耕作 |
| 助 教 | 山田 優子 |
| 博士研究員 | 1名 |
| 大学院修士課程 | 6名 |
| 学部4回生 | 2名 |

A . 研究活動（2008.4～2009.3）

A - 1 . 研究概要

a) ジペプチド（Tyr-Leu）の強力な抗不安作用とその新しい作用機構

食品タンパク質の酵素消化により派生する生理活性ペプチドが循環器系、免疫系、内分泌系に作用することをこれまでに見出してきたが、近年、中枢神経系に作用し学習促進、食欲調節および精神的ストレス緩和作用（抗不安作用）などを示す場合があることがわかってきた。精神的ストレスは生活習慣病のリスクを高めることから、これを緩和する食品/医薬品の開発が期待されている。種々のペプチドの情動調節に及ぼす影響を高架式十字迷路試験で検討したところ、共通アミノ酸からなるジペプチドがマウス経口投与で抗

不安作用を示すとともに、医薬品並みの低用量で作用することが判明した。これまでオピオイドアゴニストとして作用する抗不安ペプチドや、プロスタグランジン(PG)類をメディエーターとする抗不安ペプチドを報告してきた。しかしながら、本ジペプチドの抗不安作用はオピオイドアンタゴニストやシクロオキシゲナーゼ(COX)阻害剤などにより阻害されないことから、これまでのオピオイド系やPG系を介する抗不安機構とは異なる新しい作用経路を介することが明らかとなった。

b) ヒトラクトフェリン由来のlactomedin 1による抗不安作用およびその作用機構

lactomedin 1 (Phe-Lys-Asp-Cys-His-Leu-Ala-Arg) は、人乳中の主要タンパク質であるヒトラクトフェリンのトリプシン消化物から単離された回腸収縮ペプチドである。これまでに補体C5aアゴニストとして免疫促進作用を示すことを見出している。lactomedin 1の情動調節作用を検討したところ、マウス経口投与により抗不安作用を示すことを見出した。lactomedin 1の抗不安作用は、C5a受容体のアンチセンスODNにより阻害される一方、もう一つの受容体サブタイプであるC5L2受容体に対するアンチセンスODNでは阻害されないことから、本ペプチドの抗不安作用は、C5a受容体を介することがわかった。また、補体C5aの脳室内投与により抗不安作用を示すことを見出した。なお、lactomedin 1の抗不安作用は、COX阻害剤およびDP₁受容体アンタゴニストによりブロックされることから、C5a受容体の下流でPGD₂の放出を介していることが明らかとなった。これまで我々は睡眠誘発物質として知られるPGD₂が抗不安作用や摂食促進作用を示すことを明らかにしてきたが、多機能な生理活性脂質であるPGD₂とlactomedin 1がカップルすることは興味深い。

c) 牛乳β-ラクトアルブミン由来のβ-lactotensinの摂食抑制作用

β-lactotensin (His-Ile-Arg-Leu) は、牛乳β-ラクトグロブリン由来の回腸収縮ペプチドであり、コレステロール低下作用、鎮痛作用、学習促進作用などを示す多機能性ペプチドであることを明らかにしている。さらに今回、β-lactotensinが経口投与で摂食抑制作用を示すことを見出した。β-lactotensinは、摂食抑制作用を示す脳腸ペプチドのニューロテンシンとホモロジーを有するとともに、ニューロテンシン受容体アゴニストとして、いくつかの生理作用を示すことが判明している。しかしながら、本ペプチドの摂食抑制作用はニューロテンシンNT₁およびNT₂受容体アンタゴニストで阻害されず、ニューロテンシン系を介していないことがわかった。一方、β-lactotensinの摂食抑制作用は、corticotropin-releasing factor (CRF)およびcalcitonin gene-related peptide (CGRP)アンタゴニストで阻害されることがわかった。なお、β-lactotensinはCRFおよびCGRP受容体に親和性を示さないことから、CRFおよびCGRP系の活性化を介していることが明らかとなった。

d) Arg-Ile-Tyrおよびenterostatinの抗鎮痛作用

Arg-Ile-Tyr (RIY)は、ナタネタンパク質由来の摂食抑制および動脈弛緩ペプチドであるが、

マウスへの脳室内投与によりモルヒネの鎮痛作用を抑制する作用、すなわち抗鎮痛作用を有することを新たに見出した。RIYの抗鎮痛作用はコレシストキニン (CCK) のCCK₂受容体アンタゴニストであるLY225910で阻害されたが、CCK受容体に親和性を持たないことから、CCKの放出およびCCK₂受容体を介することが判明した。ちなみに、CCK₁受容体アンタゴニストであるlorglumideでは阻害されなかった。RIYの摂食抑制および動脈弛緩作用はCCK₁受容体を介することがわかっている。抗鎮痛作用機構は、CCKが関与する点で他の生理作用と共通していたが、仲介するCCK受容体サブタイプが異なることが示された。作用の種類によって仲介する受容体サブタイプが異なることは興味深い事実である。

また、内因性の摂食抑制ペプチドとして知られるenterostatin (APGPR) も抗鎮痛作用を有することを新たに見出した。この作用はCCK₁およびCCK₂受容体のアンタゴニストであるlorglumideおよびLY225910により阻害されることがわかった。したがって、内因性ペプチドであるenterostatinの抗鎮痛作用もRIYと同じくCCKを介していることが示された。enterostatinはCCK受容体に親和性を持たないことから、RIYの抗鎮痛作用はCCKの遊離を介していると考えられる。

e) アンジオテンシンIIの動脈に対する作用とその新しい作用機構

アンジオテンシンII (Ang II) は血圧のキーレギュレーターである。我々はAng IIが高血圧自然発症ラット (SHR) の腸間膜動脈において、一過性の動脈収縮作用の後に動脈弛緩作用を示すことを見出した。Ang IIの動脈収縮作用は、2種類の受容体サブタイプのうちAT₁受容体を介しており、弛緩作用はAT₂受容体を介していることを、特異的アンタゴニストを用いた実験により明らかにした。一方、novokininは血圧降下作用を示すAT₂受容体アゴニストペプチドであるが、novokininはSHRの腸間膜動脈において弛緩作用のみを示す。その動脈弛緩および血圧降下作用はAT₂受容体の下流でPGI₂およびIP受容体を介することを見出している。AT₂受容体とIP受容体がカップルしているという作用経路は、novokininの動脈弛緩および血圧降下作用機構として初めて見出したものである。Ang IIによる動脈弛緩作用も、novokininの場合と同様にIP受容体アンタゴニストであるCAY10441により阻害されたことから、AT₂受容体の下流でPGI₂およびIP受容体を介していることがわかった。AT₂受容体に高い選択性を持つ合成AT₂アゴニスト [ρ -NH₂Phe⁶]-Ang IIも一過性の動脈収縮作用の後に動脈弛緩作用を示し、この動脈弛緩作用も同様にAT₂アンタゴニストおよびIP受容体アンタゴニストにより阻害された。このことから、AT₂受容体アゴニストがAT₂受容体の下流でPGI₂およびIP受容体を介して動脈弛緩作用を示すことの一般性が証明されたといえる。

A - 2 . 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

著 書

Yoshida, M., K. Ohinata, and M. Yoshikawa: Tyr-Pro-Ile-Glu-His-Gly (YPIEHG) Derived from Actin Exhibits Anxiolytic-Like Effect in Mice. Peptide Science 2008, The Japanese Peptide Society; 345-348, 2009

Muraki, A., Y. Fujiwara, K. Ohinata, and M. Yoshikawa: Antidiabetic Activity of Novokinin (RPLKPW) after Oral Administration in KK-Ay Mice. Peptide Science 2008, The Japanese Peptide Society; 349-352, 2009

Hou, IC., K. Ohinata, and M. Yoshikawa: β -Lactotensin (His-Ile-Arg-Leu) Derived from Bovine β -Lactoglobulin Suppresses Food Intake after Oral Administration in Mice. Peptide Science 2008, The Japanese Peptide Society; 367-370, 2009

原著論文

Zhao, H., K. Ohinata and M. Yoshikawa: Rubimetide (Met-Arg-Trp) derived from Rubisco exhibits anxiolytic-like activity via the DP₁ receptor in male ddY mice. Peptides 29(4); 629-632, 2008

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

Takenaka, Y., T. Shimano, Y. Yamada, M. Yoshida, K. Ohinata, and M. Yoshikawa: Enterostatin (APGPR) suppresses the analgesic activity of morphine by a CCK-dependent mechanism. Peptides 29(4); 559-563, 2008

Takenaka, Y., T. Shimano, T. Mori, IC. Hou, K. Ohinata, and M. Yoshikawa: Enterostatin reduces serum cholesterol levels by way of a CCK₁ receptor-dependent mechanism. Peptides 29(12); 2175-2178, 2008

Nishizawa, K., A. Kita, C. Doi, Y. Yamada, K. Ohinata, M. Yoshikawa, and M. Ishimoto: Accumulation of the bioactive peptides, novokinin, LPYPR and rubiscolin, in seeds of genetically modified soybean. Biosci Biotechnol Biochem 72(12); 3301-3305, 2008

Ohinata, K., M. Takemoto, M. Kawanago, S. Fushimi, H. Shirakawa, T. Goto, A. Asakawa, and M. Komai: Orally administered zinc increases food intake via vagal stimulation in rats. J Nutr 139(3); 611-616, 2009

特 許

特願2009-21958号「ペプチドを含む医薬または食品」、発明者：大日向耕作、金川典正、

出願人：国立大学法人京都大学、出願日：平成21年2月2日

総説

Ohinata, K., and M. Yoshikawa: Central prostaglandins in food intake regulation. Nutrition 24(9); 798-801, 2008

Ohinata, K., and M. Yoshikawa: Food intake regulation by central complement system. Adv Exp Med Biol 632; 35-46, 2008

駒井三千夫、神山（渡部）麻里、神山 伸、大日向耕作、堀内貴美子、古川勇次、白川 仁：ビオチンの薬理量摂取による血圧上昇抑制効果の解析。日薬理誌（Folia Pharmacol Jpn）131; 248-251, 2008

山田優子、大日向耕作、吉川正明：AT₂受容体を介して作用する新しい血圧降下ペプチドnovokininとその作用機構。分子心血管病 9(5); 77-82, 2008

山田優子、大日向耕作、吉川正明：新しい血圧降下ペプチドnovokininの設計、作用機構および遺伝子改変大豆における生産。食品加工技術 28(4); 1-7, 2008

b) 学会発表

日本農芸化学会2009年度大会：7件

第55回日本食品科学工学会：1件

第3回日本食品科学工学会若手の会：2件

第31回日本分子生物学会年会第81回日本生化学会大会合同大会：1件

第45回ペプチド討論会：3件

第3回ラクトフェリンフォーラム：1件

第20回機能性食品用ペプチド研究会：1件

A - 3 . 国内における学会活動など

科研費等受領状況

文部科学省科学研究費：若手研究（B）アンジオテンシン系の新機能と食品由来ペプチドによるその制御（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（大日向分担）、牛乳栄養学術研究事業 牛乳由来の摂食抑制ペプチドβ-ラクトテンシンの作用機構（大日向代表）、ネスレ栄養科学会議 食欲調節における亜鉛の役割に関する基礎的研究（大日向代表）

A - 4 . 国際交流・海外活動

国際会議、研究集会等（役割）

山田： 237th American Chemical Society National Meeting & Exposition March 22-26, 2009
Salt Lake City, UT (シンポジウム発表者)

B . 教育活動 (2008.4 ~ 2009.3)

B - 1 . 学内活動

a) 開講授業科目

学部：食品基礎生化学 (大日向)、食品生理機能学 (大日向)、食品生物学入門及び実習 (大日向)、食品・栄養化学実験および実験法 (大日向・山田)

大学院：食品生理機能学専攻演習 (大日向)、食品生理機能学専攻実験 (大日向)、食品生理機能学特論 (大日向)

C . その他

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（平成 20 年 9 月 30 日まで） | |
| | 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 |
| | 大学院修士課程 | | 8 名 |
| | 専攻 4 回生 | | 2 名 |
| | | | 特別研究学生 1 名 |

A. 研究活動（2008.4～2009.3）

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に関する応用的研究、および糖、アミノ酸などの（加水）分解に関する基礎的研究の両面から、反応工学的な検討を行っている。

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、ナノ粒子化は比表面積を増大させるにも拘わらず脂質の酸化を遅延することを見出し、この現象を説明するモデルを提出している。

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：

陽イオン交換樹脂を用いた糖の分離，食品高分子を用いた粉末化による脂質の酸化の遅延，パスタなどの脱水による乾燥麺の製造などは既存のプロセスである。しかし，それらの過程で生起する現象に対する理解は必ずしも十分ではない。そこで，それらの過程に既往および新規な手法や新たなモデルを適用することにより，それらのプロセスで起こる現象に対する理解の深化を図り，それにより物質生産プロセスの合理的な設計法の確立に資する。

A - 2 . 研究業績

a) 成果刊行

著書・総説

J. Wiboonsirikul and S. Adachi: Extraction of functional substances from agricultural products or by-products by subcritical water treatment. Food Sci. Technol. Res., 14(4), 319-328 (2008).

安達修二：亜臨界水の特性と食品加工への利用．食品加工技術，28(2)，45-51 (2008)．

原著論文

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).

C. Usuki, Y. Kimura, and S. Adachi: Degradation of pentaoses and hexauronic acids in subcritical water. Chem. Eng. Technol., 31(1), 133-137 (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).

Y. Watanabe, Y. Sawahara, S. Asai, and S. Adachi: Decomposition kinetics of 6-*O*-monoacyl ascorbate in air. Food Sci. Technol. Res., 14(2), 139-143 (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(1), 75-78 (2008).

R. Nakazawa, M. Shima, and S. Adachi: Effect of oil-droplet size on the oxidation of

- microencapsulated methyl linoleate. *J. Oleo Sci.*, 57(4), 225-232 (2008).
- S. Kikuchi, T. Kobayashi, and S. Adachi: Dependences 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(2), 144-147 (2008).
- S. Hata, J. Wiboonsirikul, A. Maeda, Y. Kimura, and S. Adachi: Extraction of defatted rice bran by subcritical water treatment. *Biochem. Eng. J.*, 40(1), 44-53 (2008).
- P. Khuwijitjaru, 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), 1-4 (2008)
- Y. Watanabe, Y. Sawahara, H. Nosaka, K. Yamanaka, and S. Adachi: Enzymatic synthesis of conjugated linoleoyl ascorbate in acetone. *Biochem. Eng. J.*, 40, 368-372 (2008).
- T. Matsuo, T. Kobayashi, Y. Kimura, A. Hosoda, H. Taniguchi, and S. Adachi: Continuous synthesis of glyceryl ferulate using immobilized *Candida antarctica* lipase. *J. Oleo Sci.*, 57(7), 375-380 (2008).
- J. Ohshima, S. Haghghat Khajavi, Y. Kimura, and S. Adachi: Effects of sodium chloride on the degradation of hexoses and the hydrolysis of sucrose in subcritical water. *Eur. Food Res. Technol.*, 227(3), 799-803 (2008).
- Y. Horagai, L. Hung, Y. Kimura, and S. Adachi: Decomposition and discoloration kinetics of L-ascorbic acid powders in superheated steam. *LWT-Food Sci. Technol.*, 41, 2113-2117 (2008).
- H. Imai, T. Maeda, M. Shima, and S. Adachi: Oxidation of methyl linoleate in O/W micro- and nanoemulsion systems. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85(9), 809-815 (2008).
- S. Kikuchi, T. Kobayashi, and S. Adachi: Temperature dependences of the distribution coefficients of hydrophobic solutes onto porous styrene divinylbenzene resin for the eluent with a low methanol content. *J. Biosci. Bioeng.*, 106(2), 208-210 (2008).
- J. Wiboonsirikul, R. Nakazawa, T. Kobayashi, H. Morita, T. Tsuno, and S. Adachi: Suppression of the oxidation of methyl linoleate encapsulated with the extract from defatted rice bran by a compressed hot water treatment. *Eur. Food Res. Technol.*, 228, 109-114 (2008).
- L. Hung, Y. Kimura, and S. Adachi: Kinetics of disappearance and discoloration of L-ascorbic acid 2-glucoside powders with different water contents. *Japan J. Food Eng.*, 9(3), 135-140 (2008).
- T. Matsuo, T. Kobayashi, Y. Kimura, M. Tsuchiyama, T. Oh, T. Sakamoto, and S. Adachi:

Synthesis of glyceryl ferulate by immobilized ferulic acid esterase. Biotechnol. Lett., 30, 2151-2156 (2008).

T. Kobayashi, T. Matsuo, Yukitaka Kimura, and Shuji Adachi: Thermal stability of immobilized lipase from *Candida antarctica* in glycerols with various water contents at elevated temperatures. J. Am. Oil Chem. Soc. J. Am. Oil Chem. Soc. 85, 1041-1044 (2008).

b) 学会発表

日本生物工学会第6回脂質工学研究部会講演会：2件

2008年度日本農芸化学会大会：1件

日本食品工学会2008年度年次大会：4件

日本食品科学工学会第55回大会：4件

日本農芸化学会2008年度関西支部大会：1件

13th International Biotechnology Symposium and Exhibition (IBS2008):3件

化学工学会姫路大会：1件

2nd International Symposium on "Rice and Disease Prevention": 6件

The 10th Korea-China-Japan Joint Symposium on Enzyme Engineering: 1件

酵素工学会30周年記念シンポジウム：1件

日本食品工学会2008年度秋季講演会：3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： 基盤研究（C）（一般）高温高圧下における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：亜臨界水による酸性多糖類の分解に及ぼす対イオン形の影響（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：International Biotechnology Symposium 2008（中国・大連）招待講演
（H20.10.13）

第10回日中韓酵素工学研究会（韓国・釜山）ポスター発表（H20.11.3）

小林 敬：International Biotechnology Symposium 2008（中国・大連）口頭発表
（H20.10.15）

国際的学術雑誌等の編集等（役割）

安達修二：Biosci. Biotechnol. Biochem.（編集委員）, Food Sci. Technol. Res.（編集委員）

B. 教育活動（2008.4～2009.3）

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（木村），食品物理化学（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：大阪市立大学大学院工学研究科（特別講義）

公開講座等

安達修二：日本食品工学会基礎講習会（講師）（H20.12.5）

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 2名（タイ，中国），特別研究学生 1名（オランダ）

C. その他

安達修二：学術情報メディアセンター協議員，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（H20.9.30 まで）

で)

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 涉
助 教 河井 重幸
博士研究員 丸山 如江
博士研究員 伊藤 貴文
博士研究員 竹田 浩之
博士研究員 落合 秋人
大学院博士後期課程 1名
大学院修士課程 5名
専攻4回生 3名

A．研究活動（2008.4～2009.3）

A - 1．研究概要

a) 体腔形成細菌の機能プロテオミクス

多糖アルギン酸資化性細菌 *Sphingomonas* 属細菌A1株は、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を細胞表層にもつ。本年度は、p5のアルギン酸結合領域を特定した。大腸菌を用いて11種類の断片化タンパク質($\Delta N_{53}C_{10}$ 、 $\Delta N_{53}C_{20}$ 、 $\Delta N_{53}C_{30}$ 、 $\Delta N_{10}C_{45}$ 、 $\Delta N_{20}C_{45}$ 、 $\Delta N_{30}C_{45}$ 、 $\Delta N_{40}C_{45}$ 、 $\Delta N_{20}C_{20}$ 、 $\Delta N_{20}C_{30}$ 、 $\Delta N_{30}C_{10}$ 、及び $\Delta N_{30}C_{20}$)の発現・精製系を構築し、得られたタンパク質のアルギン酸結合能を表面プラズモン共鳴法（ピアコア解析）により解析した。その結果、細胞表層レセプターのアルギン酸結合にはN末端領域（残基番号20-40）或いはC末端領域（353-363）が重要であることが明らかになった。

b) 体腔形成細菌の構造プロテオミクス

アルギン酸レセプターの細胞表層分泌機構を明らかにするため、フラジェリンのタイプIII分泌機構に着目した。鞭毛基部体ロッドのアセンブリーとペプチドグリカン分解に関わる酵素（FlgJ）の遺伝子破壊A1株では、レセプターの細胞表層での発現が低下した。そこで、ペプチドグリカン分解酵素ドメイン（FlgJ-C）のX線結晶構造を決定した。FlgJ-C

は、NとC末端領域から成る α -ローブ、及び分子中央領域から成る β -ローブを基本骨格とする。両ローブの間には、深いクレフトが存在するため、長鎖基質であるペプチドグリカンがこのクレフトで分解されることが示唆された。

c) ガスバイオロジー

窒素固定細菌 *Azotobacter vinelandii* 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に対する応答機構を解析した。*A. vinelandii* の細胞切片構造を電子顕微鏡で観察した結果、空気での場合と比較して、窒素低分圧：酸素高分圧下で生育した細胞の細胞表層には多数の突起状の小胞構造が形成され、かつ小胞として細胞表層から遊離しアルギン酸莢膜の多層化を促すことが認められた。小胞状構造体はアルギン酸分泌粒と考えられ、この小胞状構造体を「トランスアルジソーム」と命名した。つまり、小胞状構造体を介した新規な高分子物質輸送システムの存在を示唆した。

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

Streptococcus に属する化膿性溶血型連鎖球菌は、多糖リアーゼと不飽和グルクロニルヒドロラーゼ (UGL) により宿主細胞外マトリックス (グリコサミノグリカン:GAG) を単糖 (アミノ糖と ケト酸) にまで分解し、宿主細胞へ侵入・感染することを示唆してきた。そこで、連鎖球菌におけるUGLの発現をDNAマイクロアレイにより解析した。*Streptococcus agalactiae* において、UGL遺伝子は、ヒアルロン酸存在下で有意に誘導発現する。また、UGL遺伝子の下流に位置するアミノ糖輸送に関わるフォスフォータランスフェラーゼ系 (PTS) ホモログの発現もヒアルロン酸により促進されていた。UGL遺伝子の上流にもヒアルロン酸により誘導発現する遺伝子クラスターの存在が見出された。このクラスターには、ケトグルコン酸 (KDG) の代謝に関わる3種類の酵素 (還元酵素、キナーゼ、アルドラーゼ) のホモログ遺伝子がコードされている。UGL遺伝子の近傍におけるPTS系やKDG代謝系遺伝子がGAGにより転写誘導を受けるクラスターを構成することから、連鎖球菌は多糖リアーゼとUGLによる反応産物をPTS系で細胞内に取り込み、かつKDG代謝系で資化することが考えられた。

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)の機能には、MitにおけるNADPH (Mit NADPH)の正常な合成が必要であるが、真核生物のMit NADPH合成系は未解明である。出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において、(i)Mit局在性NAD(H)キナーゼ(Pos5p)のNADHキナーゼ活性(NADHのリン酸化によるNADPH合成反応)がNADキナーゼ活性(NAD⁺のリン酸化反応)より強い、(ii)POS5欠損株がMit NADPHの低下に起因する表現型を示すことから、Pos5pのNADHキナ

ーゼ反応がMit NADPH合成に重要とみなされているが、本反応の生理的な重要性は実証されていない。Pos5pのNADキナーゼ反応とそれに引き続くNADP⁺依存型デヒドロゲナーゼ(NADP-DH)反応も、Mit NADPH合成に寄与する可能性も否定できない。Pos5p由来のMit輸送配列(MTS)を付加したYfjB(MTS+YfjB : NADHキナーゼ活性を示さない)を、唯一のNADキナーゼとして保有する出芽酵母株を作製した。MTS+YfjBのMitへの移行を分画実験により確認した上で、本酵母株の表現型解析を行った結果、Mit NADPHの供給にNADHキナーゼ活性は必須でないことを明らかにした。これは、NADキナーゼ反応とNADP-DH反応の重要性を示唆した。

f) 生物燃料

体腔形成細菌 *Sphingomonas* 属細菌 A1 株による、海性バイオマス(アルギン酸)からのエタノールの生産プロセスを確立するため、A1 株に *Zymomonas mobilis* のピルビン酸脱炭酸酵素とアルコール脱水素酵素の遺伝子を導入した。得られた組換え A1 株は、3・4 日間の培養でアルギン酸から 0.7% 以上のエタノールを生産した。

A - 2 . 研究業績 (国内、国外を含む)

a) 成果刊行

著書

橋本 涉、村田幸作：スーパー細菌の創成とダイオキシン分解の高効率化技術・土壌・地下水汚染の浄化・修復技術(株式会社エヌ・ティー・エス) p.137-147、東京、2008

原著論文

Miyagi, H., S. Kawai and K. Murata: Two sources of mitochondrial NADPH in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chem., 284 (12), 7553-7560, 2009

Kawai, S., T. A. Pham, E. Kono, K. Harada, C. Okai, E. Fukusaki and K. Murata: Transcriptional and metabolic response in yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells during polyethylene glycol-dependent transformation. J. Basic Microbiol., 49 (1), 73-81, 2009

Hashimoto, W., A. Ochiai, K. Momma, T. Itoh, B. Mikami, Y. Maruyama and K. Murata: Crystal structure of the glycosidase family 73 peptidoglycan hydrolase FlgJ. Biochem. Biophys. Res. Commun., 381 (1), 16-21, 2009

Ochiai, A., T. Itoh, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Structural determinants responsible for substrate recognition and mode of action in family 11 polysaccharide lyases. J. Biol. Chem., 284 (15), 10181-10189, 2009

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.*, 163 (3), 293-298, 2008
- He, J., A. Ochiai, Y. Fukuda, W. Hashimoto and K. Murata: A putative lipoprotein of *Sphingomonas* sp. strain A1 binds alginate rather than a lipid moiety. *FEMS Microbiol. Lett.*, 288 (2), 221-226, 2008
- Ogura, K., M. Yamasaki, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Substrate recognition by family 7 alginate lyase from *Sphingomonas* sp. A1. *J. Mol. Biol.*, 380 (2), 373-385, 2008
- Itoh, T., B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of YihS in complex with D-mannose: Structural annotation of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* *yihS*-encoded proteins to an aldose-ketose isomerase. *J. Mol. Biol.*, 377 (5), 1443-1459, 2008

総 説

- Kawai, S. and K. Murata: Structure and function of NAD kinase and NADP phosphatase: key enzymes that regulate the intracellular balance of NAD(H) and NADP(H). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72 (4), 919-930, 2008

報告書等

- Hashimoto, W., A. Ochiai, T. Itoh, K. Ogura, B. Mikami, Y. Maruyama and K. Murata: X-ray crystal structure of *Sphingomonas* sp. A1 peptidoglycan hydrolase categorized to family GH-73. *SPring-8 User Experiment Report*, 2008B1112, 2008
- Itoh, T., K. Ogura, Y. Nakamichi, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystal structure of alginate-binding protein (AlgQ1) in complex with unsaturated mannuronic acid trisaccharide. *SPring-8 User Experiment Report*, 2008B1191, 2008
- Itoh, T., A. Ochiai, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Structural insights into the reaction mechanism of coenzyme-independent mannose isomerase. *SPring-8 User Experiment Report*, 2008A1119, 2008
- Ochiai, A., T. Itoh, K. Ogura, B. Mikami, W. Hashimoto and K. Murata: Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of peptidoglycan hydrolase from *Sphingomonas* sp. strain A1. *SPring-8 User Experiment Report*, 2008A1322, 2008

b) 学会発表

- 日本農芸化学会2008年度大会：7件
- 日本農芸化学会2008年度関西支部大会：1件
- 日本農芸化学会2008年度関西支部例会：5件
- 日本生物工学会2008年度大会：2件

日本応用糖質科学会2008年度近畿支部会：1件

バイオテクノロジーに関する日韓合同セミナー：1件

A - 3 . 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

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（評議員）、日本生化学会（評議員・第82回日本生化学会大会組織委員）、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）、Applied Microbiology and Biotechnology（編集委員）

河井重幸：日本農芸化学会（代議員）

科研費等受領状況

村田幸作：基盤研究(B)(2) 細菌鞭毛フラジェリンの構造機能相関と細胞表層局在化機構（村田代表、三上・橋本分担）；生研センターイノベーション創出基礎的研究推進事業 海性バイオマス（アルギン酸）からのエタノール生産基盤（村田代表）

橋本 渉：基盤研究(C) 連鎖球菌におけるヘパリン分解・輸送系の構造・機能相関とその感染症への関与（橋本代表）；文部科学省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）；財団法人昭和報公会 細菌細胞壁ペプチドグリカンの分解（橋本代表）

河井重幸：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）（留学のため辞退）

B . 教育活動（2008.4～2009.3）

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）、食品生物科学入門及び演習（村田・橋本）、食品生物科学演習（村田・橋本）専門外国書講読II（橋本分担）微生物学実験及び実験法（橋本分担）

大学院：食品生産工学特論（村田分担）、生物機能変換学特論（村田・橋本）、生物機能変換学演習（村田・橋本）

C . その他