

日本生物高分子学会 2024 年度大会

## 講演要旨集

2024 年 8 月 24 日 (土), 25 日 (日)  
お茶の水女子大学



## 参加される方へのご案内

日本生物高分子学会 2024 年度大会は、お茶の水女子大学にて 2024 年 8 月 24 日（土）、25 日（日）に開催されます。1 日目の 15 時半より、公開シンポジウムを行います。会員・非会員を問わず、多くの方にご参加いただくことを願っております。

### 主催

日本生物高分子学会

### 開催日

2024 年 8 月 24 日（土）、25 日（日）

1 日目（24 日）一般講演、評議員会、総会、シンポジウム、懇親会

2 日目（25 日）一般講演、JBM 編集委員会

### 会場

お茶の水女子大学 国際交流留学生プラザ 多目的ホール

〒112-8610 東京都文京区大塚 2-1-1

### 参加費

- ・申込締切：2024 年 8 月 14 日（月）
- ・①氏名②所属③懇親会への出欠④e-mail を明記し、nitta.yoko@ocha.ac.jpへお送りください。
- ・件名は「参加申込（申込者の氏名）」としてください。受け取り次第、返信メールを送ります。
- ・名札は会場受付で交付します。
- ・参加費（講演会・懇親会）は下記まで振込をお願いします。

なお、入金いただいた参加費の返却はできませんのであらかじめご了承ください。

参加費	講演会	懇親会
一般会員および非会員	3,000 円	5,000 円
ユニット会員	無料	5,000 円
学生（会員・非会員）	無料	1,000 円

参加費（講演会・懇親会）振込先

中国銀行姫路支店（店番号602）普通預金1270263 日本生物高分子学会

郵便振替口座番号 01370-9-92201 日本生物高分子学会

### 優秀発表者

学生と若手研究者の優れた口頭発表に対して Best Presentation Award を授与いたします。受賞者は、評議員および座長による採点によって決定します。審査員には会場の受付で参加登録と同時に投票用紙を配布いたします。同じ研究室および共同研究者を審査することはできません。研究内容の優秀さだけでなく、明瞭でわかりやすい、課題を理解しているなど、発表の仕方（Presentation）を中心に評価していただきます。優秀発表者の発表は、第 2 日目一般発表の終了後に行う予定です。

### 口頭発表

講演時間 15 分（口頭発表 12 分、質疑応答 2 分、交代 1 分）

講演には液晶プロジェクターを使用します。PCをご持参ください。トラブルが生じた場合に備えUSBメモリ内に入れたファイルもお持ちください。

### 評議員会

1日目(24日)12:10より日本生物高分子学会評議員会を開催いたします。評議員の方はご出席ください。出欠に関しては別途学会事務局からご案内させていただきます。

### 総会

1日目(24日)13:10より口頭発表会場にて開催いたします。日本生物高分子学会会員の方はご出席ください。

### シンポジウム

「生活科学部・理学部・工学部の生物高分子研究」をテーマとした公開シンポジウムを1日目(24日)の一般公演後にとりおこないます。

### JBM 編集委員会

2日目(25日)12:00よりJournal of Biological Macromolecules 編集委員会を開催いたします。編集委員の方はご出席ください。出欠に関しては別途学会事務局からご案内させていただきます。

### 昼食

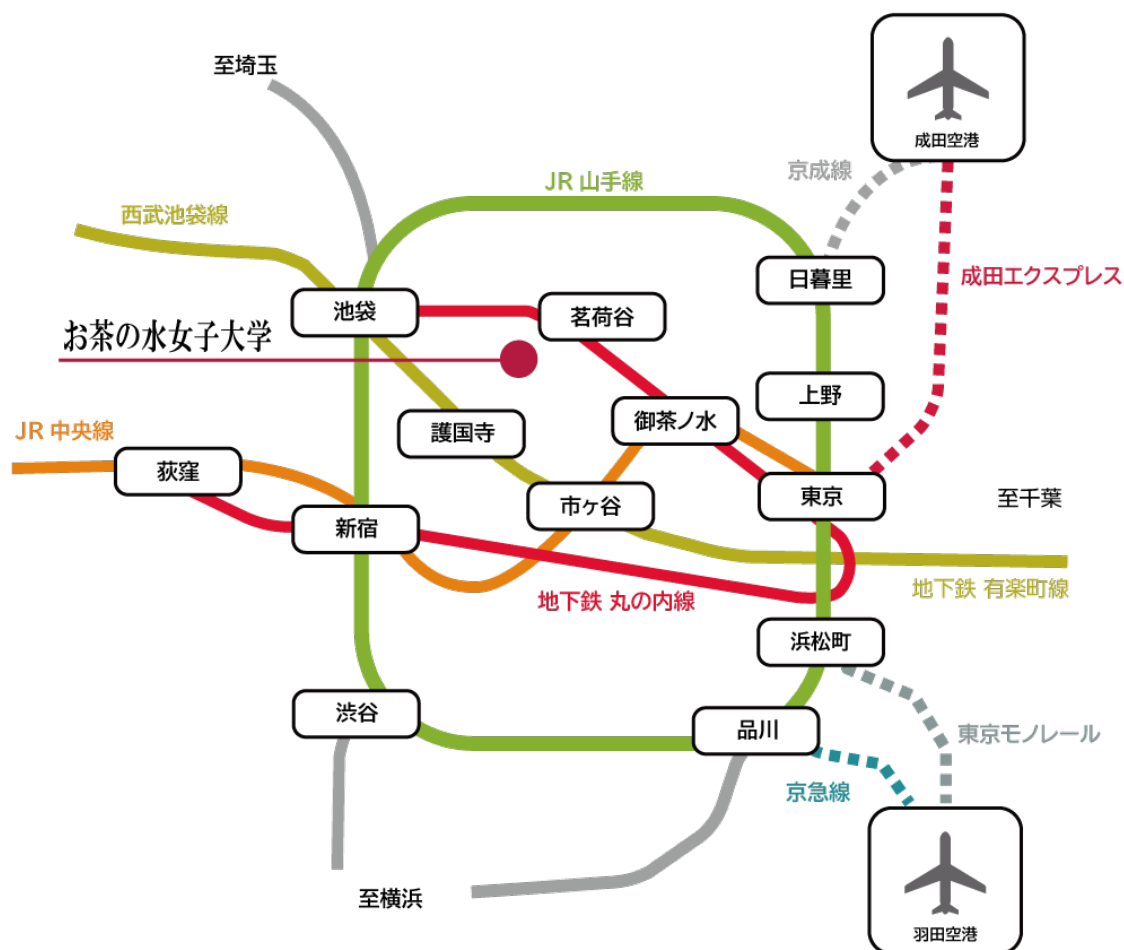
開催日は会場1階のカフェが営業しています。また駅から大学までにあるコンビニ等もご利用ください。

### 宿泊

各自で手配していただきますようお願いいたします。

日本生物高分子学会 2024 年度大会実行委員会  
実行委員長：新田陽子（お茶の水女子大学）

お茶の水女子大学へのアクセス  
交通アクセス



最寄駅まで（時刻表等は各機関のウェブサイトにてご確認ください）

- JR 池袋駅から
  - 「新宿、荻窪方面行」茗荷谷駅下車⇒[東京メトロ丸ノ内線](#)
  - 「新木場方面行」護国寺駅下車⇒[東京メトロ有楽町線](#)
  - 「東京ドームシティ行」大塚2丁目下車⇒[都営バス-都02乙](#)
- JR 東京駅 又は JR 御茶ノ水駅から
  - 「池袋方面行」茗荷谷駅下車⇒[東京メトロ丸ノ内線](#)
- JR 大塚駅から
  - 「JR 錦糸町駅行」大塚2丁目下車⇒[都営バス-都02](#)

最寄り駅から

- 東京メトロ丸ノ内線「茗荷谷」駅より徒歩7分
- 東京メトロ有楽町線「護国寺」駅より徒歩8分
- 都営バス「大塚2丁目」停留所下車徒歩1分



## 大会スケジュール

第1日：8月24日（土）

10:30	一般講演 (2F ホール A・B)
12:10	評議員会 (2F ホール C)
13:10	総会 (2F ホール A・B)
13:30	一般講演 (2F ホール A・B)
15:30	シンポジウム (2F ホール A-C)
18:30	懇親会 (1F カフェ)

第2日：8月25日（日）

10:30	一般講演 (2F ホール A・B)
12:00	JBM 編集委員会 (2F ホール C)
13:30	

# 日本生物高分子学会 2024 年度大会プログラム

2024 年 8 月 24 日 (土)、25 日 (日)

8 月 24 日 (土)

10:25 開会挨拶 (多目的ホール A・B)

10:30~12:10 一般講演 (\*優秀発表賞対象演題)

\* 1 10:30

豆苗ジアミンオキシダーゼによる食品中のヒスタミン量の減少について

○河内公花<sup>1</sup>、山本紗奈衣<sup>1</sup>、新田陽子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>お茶の水女子大学大学院、<sup>2</sup>お茶の水女子大学基幹研究院

\* 2 10:45

フォトバクテリウムのヒスタミン生成に対するヒスチジン脱炭酸酵素阻害物質の影響

○高津はづき<sup>1</sup>、葛西円<sup>1</sup>、新田陽子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>お茶の水女子大学大学院、<sup>2</sup>お茶の水女子大学基幹研究院

\* 3 11:00

植物由来成分によるサバ筋肉内ヒスタミン蓄積抑制効果についての研究

○布田真子<sup>1</sup>、葛西円<sup>1</sup>、新田陽子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>お茶の水女子大学大学院、<sup>2</sup>お茶の水女子大学基幹研究院

休憩 11:15~11:25

\* 4 11:25

アミロイド  $\beta_{42}$  凝集の pH 依存性

○CUI JING、吉宗一晃

日大院生産工

\* 5 11:40

アミロイド  $\beta_{42}$  の非晶質凝集体に対する低濃度界面活性剤の影響

○青山奨、吉宗一晃

日大院・生産工

\* 6 11:55

アミロイド  $\beta_{42}$  の非晶質凝集体の形状に対する長鎖脂肪酸の影響

○曾 時萌、吉宗一晃

日大院・生産工

12:10~13:10 評議員会 (多目的ホールC)

13:10~13:30 総会 (多目的ホールA・B)

13:30~15:55 一般講演 (\*優秀発表賞対象演題)

\* 7 13:30

ゲノム解析による大腸菌バシトラシン超感受性変異株の原因遺伝子の同定  
○蔭平陽葉<sup>1</sup>、末永修一<sup>1</sup>、實川智貴<sup>1</sup>、青木弘太郎<sup>2</sup>、鹿島誠<sup>1</sup>、藤崎真吾<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>東邦大・理、<sup>2</sup>東邦大・医

\* 8 13:45

ノシスタチン由来ペプチドの疼痛抑制の末梢性作用の検討  
○福山雄太、脇地航平、橋本真実、芦高恵美子  
大阪工大院工生命工学

\* 9 14:00

類古典型エーラス・ダンロス症候群原因遺伝子テネイシン XB 欠損マウスにおける NF- $\kappa$ B の活性化  
○山本陸斗<sup>1</sup>、鎌田浩輝<sup>1</sup>、松本健一<sup>2</sup>、芦高恵美子<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>大阪工大院工生命工学、<sup>2</sup>島根大総科支セ生体情報 RI

休憩 14:15~14:25

\*10 14:25

アミロイド  $\beta_{37}$  の測定に適したモノクローナル抗体の探索  
○張博涵、吉宗一晃  
日大院・生産工

\*11 14:40

DNA 結合タンパク質 gp32 の DNA 結合による構造変化に対する塩濃度の影響  
○安田弥奈<sup>1</sup>、Ngan Thi Kim Pham<sup>1</sup>、平川由紀<sup>2</sup>、滝田禎亮<sup>3</sup>、門間敬子<sup>2</sup>、保川清<sup>3</sup>、吉宗一晃<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>日大院・生産工、<sup>2</sup>京女大・食栄、<sup>3</sup>京大院・農

12 14:55

*Thermotoga maritima* ピルビン酸キナーゼのリコンビナーゼポリメラーゼ増幅法への応用  
Kevin Maafu Juma<sup>1</sup>、村上雄人<sup>2</sup>、森本健太<sup>1</sup>、滝田禎亮<sup>1</sup>、兒島憲二<sup>3</sup>、鈴木孝一朗<sup>4</sup>、柳原格<sup>5</sup>、  
生田宗一郎<sup>2</sup>、藤原伸介<sup>2</sup>、○保川清<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>京大院・農、<sup>2</sup>関西学院大生命環境、<sup>3</sup>姫路獨協大薬、<sup>4</sup>一財阪大微生物病研究会、<sup>5</sup>大阪母子医療センター



\*13 15:10

遊離アミノ酸でみる無農薬野菜, 有機野菜, 通常野菜の違い

○ 褒美瑛<sup>1</sup>、植野洋志<sup>2</sup>、上田由喜子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>龍谷大・農、<sup>2</sup>龍谷大・食農研

**15:30~17:45 シンポジウム (多目的ホールA-C)**

15:30-15:35 挨拶 芦高 恵美子 (生物高分子学会会長)

15:35-15:40 はじめに 新田 陽子 (大会実行委員長)

S1 15:40-16:20

生体を構成する材料としての細胞外マトリックス

秋元 文 (お茶の水女子大学 文理融合 AI・データサイエンスセンター (共創工学部))

S2 16:20-17:00

植物の「膜交通」とその利用

植村 知博 (お茶の水女子大学基幹研究院 (理学部))

S3 17:00-17:40

食品におけるメイラード反応の意義と展望

村田 容常 (お茶の水女子大学名誉教授 (生活科学部)、東京農業大学応用生物科学部)

17:40-17:45 おわりに 石畷 純男 (前生物高分子学会会長)

**18:30~20:30 懇親会 (シアトルエスプレスカフェ)**

8月25日(日)

10:30~11:45 一般講演(多目的ホールA・B)

14 10:30

予測構造に基づくヒスチジン脱炭酸酵素の比較研究

○小森博文<sup>1</sup>、新田陽子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>香大・教育、<sup>2</sup>お茶女大・基幹研究院

15 10:45

温泉水から単離した好熱菌が産生するバクテリオシンの機能解析

○大森勇門<sup>1,2</sup>、梶山明日香<sup>1</sup>、守崎香菜<sup>1</sup>、大島敏久<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>大阪工大・工・生命工学、<sup>2</sup>大阪工大・院工・生命工学

16 11:00

香辛料成分クルクミン類の脂質膜への直接的作用の構造活性相関解析

正木良和<sup>1</sup>、安原主馬<sup>1</sup>、○村井稔幸<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奈良先端大、<sup>2</sup>阪大院医

17 11:15

納豆における2,5-ジメチルピラジンおよび2,3,5-トリメチルピラジンの生成

五十嵐舞乃<sup>1</sup>、○野田響子<sup>1</sup>、筒浦さとみ<sup>2</sup>、村田容常<sup>3</sup>

<sup>1</sup>お茶大・院ライフ、<sup>2</sup>新潟大・農、<sup>3</sup>東農大・農化

18 11:30

Expression of recombinant human  $\alpha$ -glucosidase in HEK293 cells

So Nishimoto<sup>1</sup>, ○Anaïs Debarbat<sup>1</sup>, Yuki Ikeda<sup>1</sup>, Emi Arikawa<sup>1</sup>, Yuki Odagaki<sup>1</sup>, Haruna Yano<sup>1</sup>, Ying Qiao<sup>1</sup>,  
Masaaki Ito<sup>2</sup>, Toshiyuki Kimura<sup>3</sup>, Teisuke Takita<sup>1</sup>, and Kiyoshi Yasukawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Agriculture, Kyoto University, <sup>2</sup>National Institute of Technology, Okinawa College,

<sup>3</sup>National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

11:45 表彰および閉会

12:00~13:30 JBM 編集委員会 (多目的ホールC)

#### 一般講演座長一覧

演題番号	座長
1～3	芦高恵美子（大阪工業大学）
3～6	石寫純男（京都府立大学）
7～9	赤桐里美（東京女子医科大学）
10～13	小森博文（香川大学）
14～15	保川清（京都大学）
16～18	植野洋志（龍谷大学）

#### シンポジウム座長一覧

演題番号	座長
S1～S3	新田陽子（お茶の水女子大学）

## 1 豆苗ジアミンオキシダーゼによる食品中のヒスタミン量の減少について

○河内公花<sup>1</sup>、山本紗奈衣<sup>1</sup>、新田陽子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>お茶の水女子大学大学院、<sup>2</sup>お茶の水女子大学基幹研究院

【背景・目的】アレルギー様食中毒の原因物質であるヒスタミンは、通常の加熱調理では分解されず対策法が限られる。そこで、新たな予防法として、豆苗由来のジアミンオキシダーゼ(DAO)により食品中に蓄積したヒスタミンを無害な形に分解できないかと考えた。酵素添加後の生成物として予想されるアルデヒドを定量したところ、生成量はヒスタミン減少量の8.5%に止まり、90%以上が別の化合物に変換されていると考えられた。生体中ではDAOによりイミダゾールアセトアルデヒドに変換された後にイミダゾール酢酸になることが知られているため、本研究では反応後生成物について、イミダゾール酢酸の生成も検討し、詳細を明らかにすることを目的とした。

【方法】豆苗と0.2Mリン酸Na緩衝液(pH7.4, 0.2M NaClを含む)を混合してホモジナイズ後、遠心分離して得られた上清を硫酸分画し、硫酸飽和40-60%画分から粗酵素液を得た。これを最終濃度2.0mMのヒスタミンと25℃で24h反応させ、HPLCを用いてイミダゾール酢酸とヒスタミンを検出した。

【結果・考察】イミダゾール酢酸の生成量はヒスタミン減少量の10%程度であり、かつ反応前に見られなかった複数のピークが観察されたことから、残りの約90%は別の化合物に変換されたと考えられた。そしてこれら複数のピークは、イミダゾール環を有するヒスタミン分解物、またはDAO以外の酵素の反応生成物である可能性が考えられた。本大会では、DAOの精製を進めることでこれらのピークが何に由来するのかを検討した結果を報告する。

## 2 フォトバクテリウムのヒスタミン生成に対するヒスチジン脱炭酸酵素阻害物質の影響

○高津はづき<sup>1</sup>、葛西円<sup>1</sup>、新田陽子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>お茶の水女子大学大学院 <sup>2</sup>お茶の水女子大学基幹研究院

【目的】アレルギー様食中毒は、ヒスタミンが高濃度で蓄積した食品を摂取することでアレルギー症状が現れる。ヒスタミン生成を担うのは食品に付着したヒスタミン生成菌であり、菌のヒスチジン脱炭酸酵素(HDC)によって反応が触媒される。現状では漁獲から喫食までの一貫した低温保存が一般的な予防方法となっている。しかし、ヒスタミン生成菌である *Photobacterium phosphoreum* は低温や食塩濃度の高い環境下でも増殖しやすい。そこで *P. phosphoreum* によるアレルギー様食中毒について、低温保存以外の予防策として、HDCの阻害を検討した。

【方法】HDCの阻害物質として、加水分解性タンニンの pentagalloylglucose (PG) と tellimagrandin I (TG I) を採用した。TSB培地(2.0%-NaCl, pH 5.8)中20℃で培養した *P. phosphoreum* の菌液を、定常期に達してから12時間後に取り出し、TSBH培地(2.0%-NaCl, 1.0%-histidine, pH 5.8)で10<sup>4</sup>倍希釈した。ここにPGとTG Iを投与した後、20℃で静置培養し、経過時間ごとに生菌数とヒスタミン生成量を調べた。

【結果】培養開始から18時間後、阻害物質添加サンプルのヒスタミン生成量はコントロールと比較して減少した。また阻害物質の濃度依存的にヒスタミン生成抑制効果が見られた。いずれの濃度でもPGよりもTG Iの方が、ヒスタミン生成抑制効果が高かった。本発表ではさらに、様々な培養時間でのサンプルのヒスタミン生成量を報告する。

### 3 植物由来成分によるサバ筋肉内ヒスタミン蓄積抑制効果についての研究

○布田真子<sup>1</sup>, 葛西円<sup>1</sup>, 新田陽子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>お茶の水女子大学大学院, <sup>2</sup>お茶の水女子大学基幹研究院

【目的】植物由来成分の pentagalloylglucose (PGG) は、ガロタンニンの一種で、抗酸化作用や抗菌作用が知られており、さらにヒスタミン生成酵素の活性を強力に阻害することを所属研究室で確認している。本研究では、植物由来成分によるヒスタミン食中毒の防止を目指し、PGG を用いて、食品でのヒスタミン蓄積が抑制されるかということを検討した。また生サバを用いた実験にてサンプルの個体差を均一にするための実験条件を検討した。

【方法】食品としてサバを用いた。サバ筋肉をすり潰してミンチ状にしたものに、超純水または PGG 水溶液を加えたサンプルを作成した。それぞれを 28°C で一定時間放置し、HPLC を用いてヒスタミン濃度を定量した。また、モルガン菌の菌液を一定量添加したサンプルについても一定時間放置後のヒスタミン量を測定した。

【結果】サバ筋肉中では 140 $\mu$ M、250 $\mu$ M の PGG 存在下でコントロールと比べて PGG 群でヒスタミン生成量が減少していることが確認された。しかしコントロールのヒスタミン量のばらつきが大きかった。モルガン菌が 10<sup>3</sup>CFU/mL 程度に生育している菌液の添加により、コントロール群でのヒスタミン量を 2000ppm~3500ppm 程度に抑えることができた。本大会ではこの実験条件にて、サバ筋肉に PGG を加えた際のヒスタミン生成抑制効果について報告する。

### 4 アミロイド $\beta_{42}$ 凝集の pH 依存性

○CUI JING、吉宗一晃

日大院生産工

【目的】アルツハイマー病(AD)の発症に関係すると考えられているアミロイド  $\beta_{42}$  ( $A\beta_{42}$ ) の凝集は界面活性剤や ATP の様なハイドロトロープ等で大きく影響を受ける。 $A\beta_{42}$  の凝集は pH によっても大きく影響を受けるため、凝集抑制物質の効果を比較するためには凝集に対する pH の影響を明らかにする必要がある。 $A\beta_{42}$  モノマーの凝集に与える pH の影響を調べた。

【方法】 $A\beta_{42}$  モノマーは非常に凝集しやすいため、有機溶媒中では凝集せず水溶液中で  $A\beta_{42}$  となる *o*-acyl iso $A\beta_{42}$  を用いてその凝集を観察した。線維状凝集体の形成はチオフラビン T (ThT) 存在下で蛍光強度の上昇を測定することで行った。さらに原子間力顕微鏡 (AFM) で凝集体の形状を観察した。

【結果と考察】ThT 蛍光測定の結果と AFM の結果より、pH 6 において  $A\beta_{42}$  モノマーは線維状凝集体を形成しやすく、pH 7 においては線維状と非晶質の両方の凝集体の形成が観察された。さらに pH 8 では大きな非晶質凝集体を形成する傾向が見られた。中性付近で凝集形態が変化したことから  $A\beta_{42}$  の電荷が凝集に影響することが考えられた。

## 5 アミロイド $\beta_{42}$ の非晶質凝集体に対する低濃度界面活性剤の影響

○青山奨、吉宗一晃

日大院・生産工

【目的】アルツハイマー病に関係するアミロイド $\beta_{42}$ ( $A\beta_{42}$ )は疎水性アミノ酸残基を多く有するため非常に凝集しやすい。 $A\beta_{42}$ の凝集体には非晶質や線維状のものが知られており、その細胞毒性も大きく異なる。このため $A\beta_{42}$ 凝集体の形状や大きさを制御することで、この凝集体の毒性を低減させ体外に排出できる可能性がある。これまでに1 ppm程度の低濃度の非イオン性の界面活性剤が非晶質の $A\beta_{42}$ 凝集体を細分化することを示した。

【方法】可溶化した非晶質 $A\beta_{42}$ の凝集体の細分化は、細分化した凝集体と特異的に反応するモノクローナル抗体83-3との反応性を酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)で調べた。さらに細分化した凝集体の大きさと形状を原子間力顕微鏡(AFM)を用いて観察した。

【結果と考察】可溶化非晶質 $A\beta_{42}$ 凝集体をリン酸緩衝食塩水中で37°Cで3日間静置しても抗体83-3との反応性に大きな変化は見られなかった。一方、ポリオキシエチレンソルビタンパルミテートなどの非イオン性の界面活性剤を1 ppm添加すると抗体との反応性が大きく上昇した。さらにAFMによる観察では界面活性剤の添加によって大きな非晶質凝集体や線維状凝集体が観察された。これらのことから低濃度の非イオン性の界面活性剤は可溶化非晶質 $A\beta_{42}$ 凝集体上の $A\beta_{42}$ の溶解性を高め、凝集体の形状変化を促進していることが示唆された。

## 6 アミロイド $\beta_{42}$ の非晶質凝集体の形状に対する長鎖脂肪酸の影響

○曾 時萌、吉宗一晃

日大院・生産工

【目的】アルツハイマー病に関係するアミロイド $\beta_{42}$ タンパク質( $A\beta_{42}$ )は、生体内で様々な形状の凝集体を形成する。この凝集体の形状によって異なる毒性を示すことから、凝集体の形状を制御することで毒性を低減でき、その細分化によって脳からの排出を促進できる可能性がある。これまでに長鎖脂肪酸が $A\beta$ の非晶質凝集体を細分化させることを明らかにした。本実験では不飽和脂肪酸であるオレイン酸と飽和脂肪酸であるステアリン酸との比較により、非晶質凝集体の細分化に対する長鎖脂肪酸濃度の影響を比較した。

【方法】細分化した非晶質 $A\beta_{42}$ 凝集体と特異的に反応するモノクローナル抗体83-3を用いた酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)により細分化を評価した。さらにこれらの凝集体を原子間力顕微鏡(AFM)により観察した。

【結果と考察】非晶質 $A\beta_{42}$ 凝集体に0.03 wt%オレイン酸を添加したところ、抗体83-3と高い反応性を示した。一方、同じ条件で同濃度のステアリン酸を添加しても凝集体の反応性に大きな影響はなかった。AFMで形状を確認したところ、オレイン酸を添加した $A\beta_{42}$ 凝集体はステアリン酸の場合よりもより小さく細分化されていた。オレイン酸の細分化効果は濃度依存的に上昇したが、臨界ミセル濃度(CMC)に達すると効果の上昇が見られなくなった。このことから遊離の脂肪酸が $A\beta_{42}$ 凝集体の細分化を促進している可能性が示唆された。

## 7 ゲノム解析による大腸菌バシトラシン超感受性変異株の原因遺伝子の同定

○蔭平陽葉<sup>1</sup>、末永修一<sup>1</sup>、實川智貴<sup>1</sup>、青木弘太郎<sup>2</sup>、鹿島誠<sup>1</sup>、藤崎真吾<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東邦大・理、<sup>2</sup>東邦大・医

【目的】グラム陽性菌の感染症に対する抗菌薬として用いられるバシトラシン (Bc) はウンデカプレニルニリン酸 (UPP) と結合し、UPP の脱リン酸化反応を阻害することが知られている。大腸菌変異株 NW6 は、UPP 蓄積株由来であるが変異遺伝子は不明である。この NW6 の継代株の中に NW6 より高い Bc 感受性を示す NW6N が発生した。本研究ではこの Bc 超感受性の原因遺伝子の同定を目的とした。

【方法】次世代シーケンサーにより NW6 と NW6N の DNA 配列データを得て野生型株 W3110 の DNA 配列データと比較した。NW6N でのみ変異が認められた遺伝子を原因遺伝子の候補と考え、国立遺伝学研究所ナショナルバイオリソースプロジェクトより Keio コレクションに属する遺伝子破壊株を取り寄せ P1 形質導入を行った。形質導入で得られた株の Bc 感受性試験を行い、PCR による遺伝子型の確認と照合して Bc 超感受性の原因遺伝子を同定した。

【結果と考察】変異解析ツール Breseq により解析したところ *ybfA*、*fliZ*、*tdcA*、*yhbX*、*lptC* の 5 個の遺伝子には NW6N でのみ変異が見られた。NW6N の *lptC* には挿入配列が認められ、形質導入株の中で *lptC* 変異を保有する株は Bc 超感受性を示し、保有しない株は Bc 超感受性を示さなかった。このことから Bc 超感受性の原因遺伝子は *lptC* であると同定した。*lptC* はリポ多糖の外膜への運搬に関わる生存に必要な遺伝子であり、変異による機能低下の結果 Bc 感受性が上がったのではないかと考えられた。

## 8 ノシスタチン由来ペプチドの疼痛抑制の末梢性作用の検討

○福山雄太、脇地航平、橋本真実、芦高恵美子

大阪工大院工生命工学

【目的】ノシスタチン (NST) はオピオイドペプチドのノシセプチンオーファニン FQ (N/OFQ) 前駆体タンパク質中に存在するペプチドである。これまでに、NST の髄腔内投与により、N/OFQ によって惹起されるアロディニアを抑制することを見出している。また、6 アミノ酸残基の NST 由来ペプチドとその誘導體 (NST-6Ps) が髄腔内投与で効果を示すことを明らかにした。NST-6Ps の疼痛抑制の末梢性作用の関与を解明するため、生体内への様々な投与による疼痛抑制効果を検討した。

【方法】糖尿病性神経障害性疼痛モデルマウスの作製のため、C57BL/6J (雄, 5 週齢) マウスにストレプトゾトシン (STZ, 200 mg/kg) を腹腔内投与し、von Frey test (up and down 法) により疼痛解析、グルコースパイロットによる血糖値測定を行った。STZ 投与 3 週目以降のマウスに対して、NST-6Ps を後脚底部、坐骨神経近傍、背部皮下、腹腔内投与し疼痛解析を行った。

【結果】STZ 投与後 1, 2, 3 週で疼痛閾値の有意な低下が見られ、アロディニアを誘発していた。NST-6Ps は髄腔内投与で STZ 誘発性のアロディニアを抑制したが、後脚底部、坐骨神経近傍、背部皮下、腹腔内投与では、疼痛閾値の変化は見られなかった。

【考察】NST-6Ps の疼痛抑制効果は、中枢性作用によるもので、末梢性作用の関与は低いと考えられる。

## 9 類古典型エーラス・ダンロス症候群原因遺伝子テネイシン XB 欠損マウス における NF- $\kappa$ B の活性化

○山本陸斗<sup>1</sup>、鎌田浩輝<sup>1</sup>、松本健一<sup>2</sup>、芦高恵美子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>大阪工大院工生命工学、<sup>2</sup>島根大総科支セ生体情報 RI

【目的】エーラス・ダンロス症候群(EDS)は遺伝性結合組織疾患であり、関節の過可動や皮膚の過伸展の他、慢性疼痛が認められる。これまでに、EDS の原因遺伝子の 1 つであるテネイシン XB 欠損(*Tnxb*<sup>-/-</sup>)マウスにおいて、神経障害性疼痛に特徴的な触ることも痛みとなるアロディニアが発症することを見出した。また、細胞膜非透過性局所麻酔薬 QX-314 単独の *Tnxb*<sup>-/-</sup>マウスの足底皮下投与により、アロディニアが抑制され、その抑制は TLR5 を介していることを明らかにした。本研究では、*Tnxb*<sup>-/-</sup>マウスにおける TLR5 シグナルについて解析した。

【方法】野生型マウスと *Tnxb*<sup>-/-</sup>マウスの後脚、坐骨神経、後根神経節を採取し、TLR5 のシグナル分子の I $\kappa$ B $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65、Phospho-NF- $\kappa$ B p65(Ser536)抗体を用いて Western Blotting を行った。

【結果・考察】*Tnxb*<sup>-/-</sup>マウスの坐骨神経では野生型マウスと比較して有意に I $\kappa$ B $\alpha$  の分解が見られ、後脚でも抑制傾向を示した、一方、後根神経節では差が認められなかった。*Tnxb*<sup>-/-</sup>マウスの後脚では NF- $\kappa$ B p65(Ser536)リン酸化上昇が見られた。

【考察】*Tnxb* 欠損により、TLR5 の下流シグナルである I $\kappa$ B $\alpha$  の分解と NF- $\kappa$ B のリン酸化が活性化している可能性が示唆された。

## 10 アミロイド $\beta_{37}$ の測定に適したモノクローナル抗体の探索

○張博涵、吉宗一晃

日大院・生産工

【目的】アルツハイマー病(AD)に関係するアミロイド  $\beta$  にはその生成時にペプチドが切断される位置によって様々なアミノ酸残基数のものが存在する。 $A\beta_{42}$  は 42 残基のアミノ酸残基からなり、凝集性が高く毒性も高い。これまでに髄液中の  $A\beta_{42}$  及び、その C 末端の 2 残基が欠損した  $A\beta_{40}$  の存在比を測定することで AD の進行度を診断する方法が報告されている。近年、 $A\beta_{42}$  の C 末端の 5 残基が欠損した  $A\beta_{37}$  と  $A\beta_{42}$  の比によって、より高い精度で AD を診断できることが示唆された。そこで  $A\beta_{37}$  の測定を目的として、 $A\beta_{42}$  よりも  $A\beta_{37}$  に高い反応性を示すモノクローナル抗体を抗  $A\beta_{42}$  抗体からスクリーニングした。

【方法】合成した  $A\beta_{37}$  及び  $A\beta_{42}$  と抗  $A\beta_{42}$  モノクローナル抗体 (75-2、37-11、83-3、79-3、82-5、77-3、72-10 及び 31-2) との反応性を酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)で評価した。

【結果および考察】当研究室が保有する抗  $A\beta_{42}$  抗体のうち、抗体 72-10 は他の抗体に比べて合成  $A\beta_{37}$  に対し最も高い反応性を示した。抗体 72-10 はアルツハイマー病の早期診断および進行モニタリングにおいて、より精度の高いツールとなる可能性を示している。



## 11 DNA結合タンパク質gp32のDNA結合による構造変化に対する塩濃度の影響

○安田弥奈<sup>1</sup>、Ngan Thi Kim Pham<sup>1</sup>、平川由紀<sup>2</sup>、滝田禎亮<sup>3</sup>、門間敬子<sup>2</sup>、保川清<sup>3</sup>、吉宗一晃<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大院・生産工、<sup>2</sup>京女大・食栄、<sup>3</sup>京大院・農

【目的】 T4ファージ由来gp32はDNA結合タンパク質で、一本鎖DNAとより強く協同的に結合し、DNA結合により構造変化する。この構造変化によって抗gp32モノクローナル抗体MGP45との反応性が低下する性質を利用して、ペーパーイムノクロマトグラフィーでは3  $\mu$ g/ml以上、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)では10 ng/ml以上の $\lambda$  DNAを簡易的に測定できる。この方法によって病原微生物由来のDNAを増幅し、簡易的にDNAを測定する技術の開発を目指している。しかしgp32は塩化物イオン添加によってもDNA結合時と同様の構造変化をすることが知られている。測定対象となる増幅DNA試料には塩が含まれることが多いことから、本DNA測定系に対する塩濃度の阻害を調べた。

【方法】 様々な塩存在下において、20  $\mu$ g/mlの $\lambda$  DNAとの結合によって引き起こされるgp32の構造変化を抗gp32モノクローナル抗体MGP45を用いたELISAで評価した。

【結果および考察】  $\lambda$  DNA (20  $\mu$ g/ml) 添加による gp32 の構造変化を確認後、この反応系に 3.5 mM NaCl を添加すると同じ濃度の $\lambda$  DNA 存在下でも構造変化が観察されなかった。これまでの報告で 100 mM 以上の NaCl 添加によって gp32 が構造変化することが知られていたが、本反応系では更に低濃度の NaCl で構造変化が阻害された。

## 12 *Thermotoga maritima* ピルビン酸キナーゼのリコンビナーゼポリメラーゼ増幅法への応用

Kevin Maafu Juma<sup>1</sup>、村上雄人<sup>2</sup>、森本健太<sup>1</sup>、滝田禎亮<sup>1</sup>、兒島憲二<sup>3</sup>、鈴木孝一朗<sup>4</sup>、柳原格<sup>5</sup>、

生田宗一郎<sup>2</sup>、藤原伸介<sup>2</sup>、○保川清<sup>1</sup>

<sup>1</sup>京大院・農、<sup>2</sup>関西学院大生命環境、<sup>3</sup>姫路獨協大薬、<sup>4</sup>一財阪大微生物病研究会、<sup>5</sup>大阪母子医療センター

【目的】 リコンビナーゼポリメラーゼ増幅法 (RPA法) は、リコンビナーゼ (Rec)、一本鎖DNA結合タンパク質 (SSB)、鎖置換型DNAポリメラーゼ (Pol)、ATP再生酵素 (ARE) により標的DNAを約41°Cの一定温度で増幅させる。RPA法を現場での検査に普及させるために、試薬の常温保存が求められている。本研究では、*T. maritima* 由来の耐熱性ピルビン酸キナーゼ (TmPK) のAREへの応用を検討した。

【方法・結果】 1. 発現と精製：N末端に(His)<sub>6</sub>をもつTmPKを大腸菌BL21(DE3)で発現させ、菌体から精製した。2. 活性測定：ADP、ホスホエノールピルビン酸を基質とし、NADH、乳酸脱水素酵素存在下、pH 7.5、25°Cで反応させ、340 nmの吸光度の減少を測定した。3. 耐熱性：ヒトPK<sup>1)</sup>は64°C10分間の処理で活性が50%に低下したが、TmPKは92°C10分間でも低下しなかった。4. RPA：ウレアプラズマのUreB DNAを標的とし、41°Cで反応を行いアガロースゲル電気泳動で解析した。TmPKを用いたRPAでは、標的DNAが6,000分子以上存在するとき、30分間で増幅された。5. 凍結乾燥試薬：酵素類を混合後、トレハロースを加え、-50°C、50 Paで16時間凍結乾燥を行った。その後、20°Cで0~28日保存後、水に溶解しRPA反応を行った。TmPKを含む試薬はヒトPKを含む試薬よりも高い性能を示した。

【考察】 TmPKはRPA凍結乾燥試薬への応用に適していると考えられた。さらに、耐熱酵素は中温酵素よりも、凍結乾燥試薬への応用に広く適していることが示唆された<sup>2)</sup>。

【文献】 1) Kojima *et al.* (2023) *J. Biosci. Bioeng.* **136**, 341; 2) Juma *et al.* (2024) *J. Biosci. Bioeng.* in press

## 13 遊離アミノ酸でみる無農薬野菜, 有機野菜, 通常野菜の違い

○ 斐美瑛<sup>1</sup>、植野洋志<sup>2</sup>、上田由喜子<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 龍谷大・農、<sup>2</sup> 龍谷大・食農研

**【目的】**世界的に農薬の使用は、野菜栽培において残留農薬や発がん作用などの問題があがっている。学校給食では、オーガニック農法で作られた野菜は児童・生徒から「おいしい」という意見があり、食べ残しなどの問題を解決する方策の一つとなる可能性もある。しかし、農法による味質の違いは果たして本当なのだろうか。食品中の遊離アミノ酸は味質に影響を与えると考えられており、本研究では市販の野菜から遊離アミノ酸を抽出しアミノ酸分析により比較検討することを目的とした。

**【方法】**地元のスーパーや野菜専門店より野菜を購入した。「オーガニック」、「無農薬」、「ラベルなし」に区別し、遊離のアミノ酸を抽出した。抽出方法は既存の論文 (*J. Nutr. Sci. Vitam.*, **65**, 264-271 (2019)) に従った。野菜は細かく切り、Hepes 緩衝液の中でティッシュホモジナイザーで潰し、遠心後に上澄みを回収し PCA で除タンパク後、NBD-F 化し超高速アミノ酸分析装置でアミノ酸分析を行った。

**【結果と考察】**遊離アミノ酸は、20 種類に加えて GABA を分析した。野菜ごとに特色のあるアミノ酸を分析できたが、詳細は当日発表したい。

## 14 予測構造に基づくヒスチジン脱炭酸酵素の比較研究

○ 小森博文<sup>1</sup>、新田陽子<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 香大・教育、<sup>2</sup> お茶女大・基幹研究院

X 線結晶解析の技術が進歩し、多くのタンパク質の構造が実験的に決定されている。一方、DeepMind 社の開発した構造予測プログラム alphafold2 は、アミノ酸配列からその立体構造を極めて高い精度で予測できると注目されている。我々は、ヒト由来のものを含めてヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) の構造と機能について研究を進めているが、未だに多くの HDC の構造については決定されていない。モルガン菌由来 HDC (mHDC) についても結晶化を試みているが成功にいたっていない。本研究では、alphafold2 によって予測された mHDC の立体構造をもとに、X 線回折実験で決定されたヒト由来 HDC (hHDC) の結晶構造と比較した。HDC 活性に重要なはたらきをする触媒ループについては、実験的にも柔軟性が高いことが示唆されており、実際に alphafold2 の予想構造においても、この領域の予測の信頼性を示す数値は低い結果となっていた。既知構造が少ないであろうと思われる領域は構造予測を行うことは難しいと考えられる。また、基質結合部位については、基質ヒスチジンのイミダゾール環をどのように認識しているかについて確認したところ、基質ポケットを形成するために重要であると考えられる残基が示唆された。さらに、植物のアミノ酸脱炭酸酵素と考えられる配列を持つものについても構造予測を行い、その活性部位を比較したので報告する。

## 15 温泉水から単離した好熱菌が産生するバクテリオシンの機能解析

○大森勇門<sup>1,2</sup>、梶山明日香<sup>1</sup>、守崎香菜<sup>1</sup>、大島敏久<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>大阪工大・工・生命工学、<sup>2</sup>大阪工大・院工・生命工学

【目的】我々はこれまでに和歌山県にある湯の峰温泉から単離した好熱菌 *Anoxybacillus flavithermus* OIT-Y1 株が *Geobacillus kaustophilus* に対して強い抗菌活性を示し、その活性がバクテリオシンに由来することを見出している。本発表では本菌が生産するバクテリオシンの精製法の検討と機能解析について報告する。

【方法】*A. flavithermus* OIT-Y1 株を soy peptone を含む培地にて 1 晩培養した後、培養液をバクテリオシン溶液として回収した。本バクテリオシンの精製は、熱処理(110°C, 15 min)と Native-PAGE を用いた調製用電気泳動の 2 ステップにて行った。粗精製バクテリオシンを用いて各種機能解析と N 末端アミノ酸配列解析による同定を行った。

【結果・考察】本バクテリオシンは非常に簡便な方法での精製が可能であった。抗菌スペクトルの解析により、本バクテリオシンは *Geobacillus* 属や *Bacillus* 属などグラム陽性桿菌に対して幅広い抗菌活性を示すことが示唆された。また SDS-PAGE 後のゲルを用いた抗菌活性測定の結果から、本バクテリオシンに由来するバンドは 3.4 kDa 付近に検出されるバンドであることが明らかになり、さらに N 末端アミノ酸配列解析により得られた配列が、*A. flavithermus* 由来の Hypothetical protein の内部配列と完全に一致したことから、本バクテリオシンは翻訳後切断による修飾を受けている可能性が考えられた。

## 16 香辛料成分クルクミン類の脂質膜への直接的作用の構造活性相関解析

正木良和<sup>1</sup>、安原主馬<sup>1</sup>、○村井稔幸<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奈良先端大、<sup>2</sup>阪大院医

【目的】クルクミンは香辛料のターメリック（ウコン）に含まれるポリフェノール化合物である。クルクミンは構造的に無関係なくつかの膜タンパク質の機能に影響を与え、神経保護作用など様々な生物学的活性を示すことが報告されている。本研究では、クルクミン類が膜に直接的に作用して物理的特性を変化させ、膜タンパク質の機能を間接的に調節する可能性について検討した。

【方法】1, 2-ジオレオイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン、スフィンゴミエリン、およびコレステロールから成る脂質フィルムを調製し、静置水和法により細胞サイズのリポソーム(GUV)を作成した。これを用いて、クルクミンおよびその誘導体の脂質膜ドメイン形成に対する作用を解析した。また、培養細胞から細胞膜ベシクル(GPMV)を形成させ、同様の検討を行った。

【結果と考察】クルクミンおよび特定の誘導体が膜ドメイン再編成を誘導した。この作用は分子の平面構造と 2 つの芳香環に配置された水酸基およびメトキシ基に依存することが明らかになった。非回転性、平面性、両親媒性構造を有する分子が脂質二重膜のドメイン境界に配向挿入される効果であることが推定された。クルクミン類は膜活性効果を介して脂質膜ドメインを調節し、これが細胞内シグナル伝達を含む膜タンパク質の機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

## 17 納豆における2,5-ジメチルピラジンおよび2,3,5-トリメチルピラジンの生成

五十嵐舞乃<sup>1</sup>、○野田響子<sup>1</sup>、筒浦さとみ<sup>2</sup>、村田容常<sup>3</sup>

<sup>1</sup>お茶大・院ライフ、<sup>2</sup>新潟大・農、<sup>3</sup>東農大・農化

【目的】納豆の香気成分としてピラジン類である2,5-ジメチルピラジン(2,5-DMP)および2,3,5-トリメチルピラジン(T3MP)があげられる。当研究グループはその生成に納豆菌とスレオニンが関与することを報告したが<sup>1)</sup>、詳細な生成機構は不明である。本研究では、納豆における2,5-DMPおよびT3MPの生成と、納豆菌によるスレオニンの代謝との関連を調べることを目的とした。【方法】L-スレオニン-<sup>15</sup>N,<sup>14</sup>C<sub>4</sub>を1 mg/mLとなるように、ビオチン0.1 μg/mL含有Spizizen培地に添加し、納豆菌(*Bacillus subtilis* (natto) NBRC3335)の芽胞懸濁液(5.0 × 10<sup>5</sup> CFU/mL)を加え、37°Cで4日間振盪培養した。培養液中の2,5-DMPおよびT3MPをLC-MSを用いて分析した。また、オートクレーブした大豆30 gに芽胞懸濁液(1.0 × 10<sup>4</sup> CFU/g)を加え、37°Cで静置培養して納豆を作製し、経時的に2,5-DMPおよびT3MP、スレオニン、アミノアセトン进行分析した。【結果と考察】L-スレオニン-<sup>15</sup>N,<sup>14</sup>C<sub>4</sub>を用いた培地で納豆菌を培養した結果、<sup>15</sup>Nおよび<sup>14</sup>Cは、2,5-DMPの環の半分または分子全体、T3MPのメチル基を一つ持つ環の片側、アミノアセトンの分子全体に取り込まれた。すなわち、納豆菌の液体培養において2,5-DMPおよびT3MPは納豆菌によるスレオニンの代謝により、アミノアセトンを經由して生成したと推測された。納豆を作成した結果、納豆菌の生育が定常期に達した後にスレオニンが増加し始め、続いてアミノアセトン、ピラジン類が生成した。以上のことから、納豆において2,5-DMPおよびT3MPは、納豆菌によるスレオニンの代謝が関与して生成したことが示された。

1) *J. Home Econ. Jpn.*, **73**, 39-49 (2022)

## 18 Expression of recombinant human $\alpha$ -glucosidase in HEK293 cells

So Nishimoto<sup>1</sup>, ○Anaïs Debarbat<sup>1</sup>, Yuki Ikeda<sup>1</sup>, Emi Arikawa<sup>1</sup>, Yuki Odagaki<sup>1</sup>, Haruna Yano<sup>1</sup>, Ying Qiao<sup>1</sup>, Masaaki Ito<sup>2</sup>, Toshiyuki Kimura<sup>3</sup>, Teisuke Takita<sup>1</sup>, and Kiyoshi Yasukawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Agriculture, Kyoto University, <sup>2</sup>National Institute of Technology, Okinawa College,

<sup>3</sup>National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

[Objective] In mammals,  $\alpha$ -glucosidase (AG) exists as maltase-glucoamylase complex (MG) and sucrase-isomaltase complex (SI). Traditionally, rat intestinal acetone powder (R) extract has been used as an AG source for the evaluation of inhibitors. However, human enzymes are preferable to rats. We recently pointed out the usefulness of human colon cancer cell line Caco-2 cell extract as an AG source. In this study, we transiently expressed human MG and SI in human embryonic kidney cell line HEK293 and characterized them.

[Methods] Expression of MG and SI: The pCMV\_FLAG plasmid harboring the MG or SI gene was transfected into HEK293 cells. Enzyme activity: In maltase (M), sucrase (S), and isomaltase (I), the extracts were mixed with maltose, sucrose, or isomaltose and incubated at pH 6.0, 37°C. After the reaction, glucose was quantified by the mutarotase-GOD method. In glucoamylase (G), Glucoamylase and  $\alpha$ -glucosidase assay kit (Kikkoman) was used.

[Results] M, S, I, and G activities: The MG-expressing HEK293 cells showed M, G and weak I but not S activity.

The SI-expressing HEK293 cells and Caco-2 cells showed M, S, and I but not G activity. R showed all activities.

Temperature dependence of activity: The optimal temperatures were 65°C for M and 55°C for S and I in R and 55°C for M, S, and I in Caco-2 cells, suggesting that MG is more thermostable than SI. Analysis of HEK293 cells is currently underway. Effect of AG inhibitor: 1-Deoxynojirimycin (1-DNJ) inhibited the M activity of Caco-2 cells more strongly than R, suggesting that 1-DNJ inhibits SI more strongly than MG.

[Discussion] The MG or SI-expressing HEK293 cells might be useful in the evaluation of inhibitors.

秋元 文

お茶の水女子大学 共創工学部 人間環境工学科

細胞外マトリックス (Extracellular matrix, ECM) とは、生体を構成する細胞以外の物質であり、上皮組織における薄いシート状の基底膜と、結合組織における細胞が埋め込まれた嵩高い間質を指す。ECMは長い間、生体内における「単なる詰め物」であると見做されてその重要性が十分に認知されてこなかったが、近年、細胞がECMの力学物性を感知して挙動を変化させること<sup>1)</sup>、発生過程における組織形態形成プロセスにおいてECMがダイナミックに動いていること<sup>2)</sup>、ECM成分の添加なしにオルガノイドを創製できないこと<sup>3)</sup>等が次々と明らかになり、生命現象における重要性が認識されるようになってきた。しかし未だなお、細胞内現象と比較して細胞外のECMが発現する現象の理解・制御は発展途上である。ECM研究の難易度の高さは、そのマルチモーダルな性質によりところが大きい。ECMは、分子組成、接着シグナル、受容体シグナル、液性因子といった生化学的な情報を有すると同時に、ジオメトリ、相分離や凝集体形成などを含む高次構造、粘弾性といった力学物性、分子透過性などの物理的情報をも含有し、それらが時空間的なダイナミクスを携えて生命現象に影響を与える複雑なシステムである (Figure 1)。このような複雑系のECMを理解・制御するためには、構成論的なアプローチが有効である。

ECMは、シンプルに捉えると、「ハイドロゲル様の物質である」と考えることができる。

そこで筆者の研究グループではこれまでに、

材料工学 (機能性ハイドロゲル材料の設計) を学術基盤として人工ECMの創製を行ってきた。構造・物性が定義された人工ECMと細胞との相互作用を解析することで、構成論的な細胞外現象の理解が可能になると考え、刺激応答的にダイナミックに力学物性が変化するゲルの設計<sup>4)</sup>や物性を独立制御したゲルの設計<sup>5)</sup>を行った。本講演では、これまで筆者がどのようにECM研究に取り組み、どのようにつまづいてきたのか、そしてどのように解決を目指しているのか、材料工学的な視点から説明を行う。

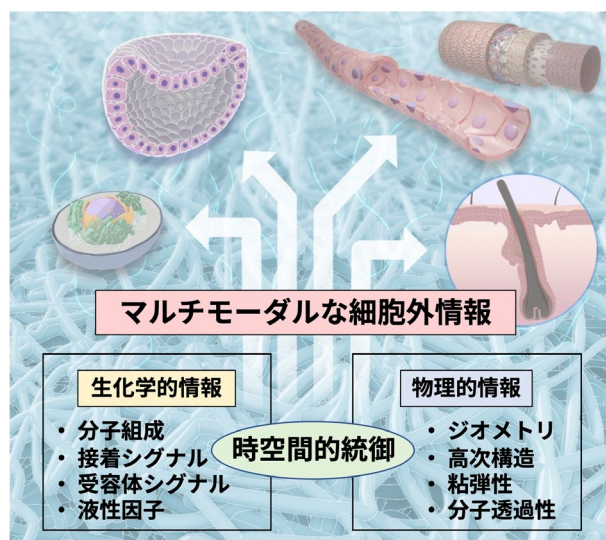


Figure 1 ECM のマルチモダリティ

1) Engler *et al.* (2006) *Science* **126**, 677; 2) Morita *et al.* (2021) *Nature* **594**, 547; 3) Eiraku *et al.* (2011) *Nature* **472**, 51; 4) Akimoto *et al.* (2018) *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 1253; 5) Akimoto *et al.*, *in preparation*.

植村 知博

お茶の水女子大学・基幹研究院・自然科学系

真核生物の細胞内で合成されたタンパク質は、オルガネラ間を膜小胞や細管を介してダイナミックに結ぶ「膜交通(メンブレントラフィック)」により、機能すべき場所に輸送されている。トランスゴルジ網(TGN)は、ゴルジ体のトランス槽の外側に存在する網目状の構造体で、積荷タンパク質の選別を行う、ポストゴルジ輸送網の玄関にあたるオルガネラである(文献1)。一般的には TGN はゴルジ体の一部と考えられてきていた。しかし、我々は植物細胞を用いた超解像ライブイメージングにより、TGN はゴルジ体のトランス槽に接して存在する GA-TGN とゴルジ体とは独立して存在する GI-TGN の2種類が存在すること、GI-TGN は GA-TGN の一部が解離することによって形成され分泌経路で機能することを既に見出している。このことは GA-TGN においてポストゴルジ輸送網の選別がおこなわれていることを示唆している(文献2)。そこで GA-TGN での選別輸送をより詳細に理解するために、TGN から細胞膜方向へ輸送されるタンパク質の選別をおこなう Adaptor protein 複合体 1 (AP-1) と、TGN から液胞方向へ運ばれる積荷タンパク質を認識する AP-4 に注目して GFP, mRFP, iRFP を用いたマルチカラー超解像ライブイメージングによる観察を行った。その結果、AP-1 と AP4は同じ GA-TGN 上の異なるゾーンに局在し、ダイナミックに変化していることを発見した(文献3)。こ本講演では、植物細胞を用いたマルチカラー超解像ライブイメージングにより“TGN におけるポストゴルジ輸送選別ゾーンの構築機構と動態”について最新の知見を紹介し、植物がその生存戦略として膜交通をどのように利用しているかについて講演する(文献4)。

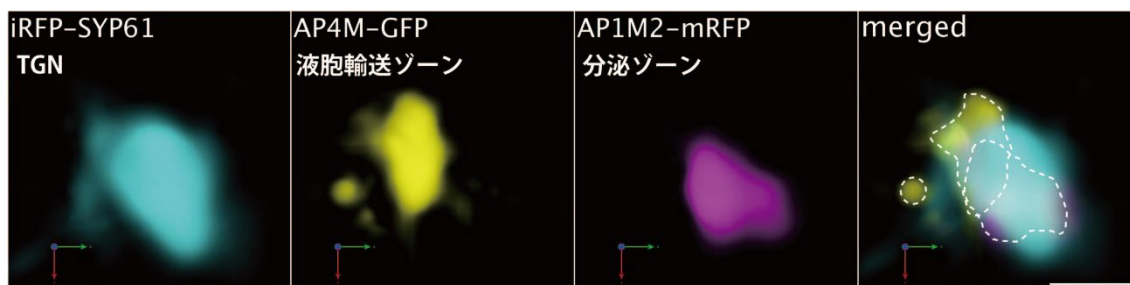


図1 3色超解像イメージングによるTGNの機能ゾーン

【参考文献】

- 1) Shimizu, Y. and \*Uemura, T. (2022) The sorting of cargo proteins in the plant trans-Golgi network. *Frontiers in Plant Science*, 13:957995.
- 2) \*Uemura, T *et al.* (2019) A Golgi-released subpopulation of the trans-Golgi network mediates protein secretion in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, 179:519-532.
- 3) Shimizu, Y *et al.* (2021) Cargo sorting zones in the trans-Golgi network visualized by super-resolution confocal live imaging microscopy in plants. *Nat. Commun.*, 12:1901.
- 3) \*Uemura, T *et al.* (2012). Qa-SNAREs localized to the trans-Golgi network regulate multiple transport pathways and extracellular disease resistance in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 109:1784-89.

### S3 食品におけるメイラード反応の意義と展望

東京農業大学応用生物科学部農芸化学科教授、お茶の水女子大学名誉教授 村田 容常

食品の原料は無機物を除けば生物が原料となる。生物から食品・食物になる過程で大きな化学的、物理的变化が生じる。その中でも加熱操作によるでんぷんの糊化、タンパク質の変性が、穀類や豆類の食資源化に大きな役割を果たしてきた。

メイラード反応は、1912年にLouis C. Maillardがグルコースとアミノ酸を含む水溶液を加熱したところ、茶色く着色して芳香や二酸化炭素が発生することを偶然見出したことに始まる。本反応は大きく三段階に分けて考えられる。初期段階でアマドリ化合物が形成され、中期段階ではそこから様々なカルボニル化合物が生成される。後期段階もしくは終期段階では、それらのカルボニル化合物とアミノ酸やタンパク質がさらに反応し、多種多様な低分子、高分子化合物が生成する。その中に色素や香気成分その他様々な物質が含まれる。

食材は生物であり、還元糖やアミノ酸・タンパク質を含むためこの反応は食品の加熱過程や熟成中に必ず起こり、食品の色（褐変）や加熱香気の形成にかかわる。そのため、メイラード反応は食品の品質を考える上では避けては通れない反応である。また、色と香りだけでなく、味にもかかわることが近年明らかになってきた。

糖やアミノ酸・タンパク質は生物としてのヒトが食べなければならないものである。栄養・生理学的に必要な糖やアミノ酸のシグナルとなるのが甘味やうま味であるが、それらを感知するためには実際に口に入れて食べなくてはならない。しかしそれは生物のヒトとしての安全性の観点からは望ましいものではない。食べるという行為に比べて、見る、嗅ぐという行為は安全性上好ましいものである。メイラード反応を起こす食材は、糖やアミノ酸・タンパク質を含んでいるものであり、この反応により色や香りがついているものは、糖やアミノ酸・タンパク質を含んでいることを間接的に示すことになる。人間はメイラード反応を手掛かりに栄養・生理学的に意味のある食品を食べていることになる（表1）。<sup>1)</sup>

表1 メイラード反応と色、香り、味の関係<sup>1)</sup>

情報の流れ (食品→ヒト)	色（外観）	⇒	香り	⇒	味⇒栄養・生理
生理的、栄養学的 意義	なし	⇒	僅か	⇒	実質的
感覚器官	視覚	⇒	嗅覚	⇒	味覚
摂取量	ゼロ	⇒	極微量	⇒	通常量
安全性	問題なし	⇒	高い	⇒	低い
メイラード反応	着色・褐変	⇒	香気形成	⇒	味増強物質

また、食品の品質ということではレオロジカルな特性や加工特性に対してもメイラード反応は影響する。食品タンパク質の糖化や架橋反応は、タンパク質の構造、極性、分子量に変化をもたらす。それが溶解性、乳化特性、ゲル形成性などに影響を及ぼす。



このようにメイラード反応は食品の品質・嗜好性に大きく関わるが、同時に食品の安全性の観点からも重要である。遺伝毒性発がん性を示すものは食品添加物や農薬としては許可されず使用できないが、1970年代に遺伝毒性発がん物質であるヘテロサイクリックアミン類がメイラード反応により焼き肉や焼き魚の焦げ部分に生じることが日本で報告され世界的に注目をあびた。しかし現実的な食生活の観点からはヒトの発がんに対する影響はほとんど無視できると考えられるようになった。その後、揚げる、炒めるといった高温加熱調理した植物性食品にアクリルアミドが形成されていることが明らかになった。アクリルアミドも遺伝毒性発がん物質でありその摂取は望ましいものではない。食品安全委員会ではばく露評価がなされ、日本人は0.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日程度のアクリルアミドを食品から摂取していると見積もられた。定量的評価を行うため、この摂取量と動物試験から求めたBMDL<sub>10</sub> (Benchmark dose lower confidence limit for extra 10% riskの略)を用いたばく露幅 (margin of exposure; MOE = 摂取量/BMDL<sub>10</sub>) が算出された。その結果MOEは1,000程度となった。<sup>2)</sup> MOEは大きいほどリスクが低く、小さいほどリスクが高いと考えられる指標である。MOEが10,000を超えるとリスク管理の優先度は低いとみなされる。現在アクリルアミドに対してはALALA (as low as reasonably achievableの略)の原則で対応している。我々もばく露評価で最大のものとなった炒めもやしについてその形成条件などを検討している。<sup>3)</sup>

褐色はメイラード反応により生じる不定形高分子であるメラノイジンによるものであるが、繰り返し単位やクロモフォアのはっきりしない高分子でありその化学構造は未詳のままである。<sup>4)</sup> 一方、近年様々な低分子色素化合物が単離・同定されてきて、クロモフォアや高分子構造を考える上での手掛かりとなってきた。我々のグループも複数の新規色素化合物を同定してきた。<sup>5)</sup> ここではそれらについても紹介する。

#### 参考文献

- 1) 村田容常：うま味，おいしさを生みだす科学技術の世界 味，香り，色，*日本味と匂学会誌*, **18**, 75-82 (2011). DOI: 10.18965/tasteandsmell.18.2\_75
- 2) 食品安全委員会：評価書 加熱時に生じるアクリルアミド，2016年4月，[https://www.fsc.go.jp/osirase/acrylamide1.data/acrylamide\\_hyokasyo1.pdf](https://www.fsc.go.jp/osirase/acrylamide1.data/acrylamide_hyokasyo1.pdf)
- 3) Noda, K. et al., Acrylamide formation during pan-frying of mung bean sprout. *Food Sci. Technol. Res.*, **28**, 307-315 (2022). DOI: 10.3136/fstr.FSTR-D-21-00030
- 4) Noda, K. and Murata, M.: What are melanoidins, polymers in food? *J. Biol. Macromol.*, **22**, 23-26 (2022). DOI: 10.14533/jbm.22.23
- 5) Murata, M.: Browning and pigmentation in food through the Maillard reaction. *Glycoconj. J.*, **38**, 283-292 (2021). DOI: 10.1007/s10719-020-09943-x