

日本農芸化学会 受賞講演要旨集

2018 年度



—— 公益社団法人日本農芸化学会 ——

Japan Society for Bioscience,
Biotechnology, and Agrochemistry
<http://www.jsbba.or.jp/>

2018年度 学会賞・功績賞・技術賞・奨励賞 受賞者一覧（敬称略）

【日本農芸化学会賞】（2件，50音順）

石野 良純（九州大学大学院農学研究院）

「原核微生物の生命機能メカニズムに関する研究～バクテリアからアーキアへ～」…………… 1

五味 勝也（東北大学大学院農学研究科）

「麹菌における有用遺伝子の発現制御機構の解明とその応用研究」…………… 3

【日本農芸化学会功績賞】（2件，50音順）

井本 正哉（慶應義塾大学理工学部）

「がん細胞の特性を標的とする阻害剤の化学生物学的研究」…………… 5

裏出 令子（京都大学大学院農学研究科）

「タンパク質の新機能性開発に関する多面的基盤研究」…………… 7

【農芸化学技術賞】（3件，50音順）

蛸井 潔・糸賀 裕・岡田 行夫・鯉江 弘一朗（サッポロビール株式会社）

「ホップ品質の多角的な解析とその応用」…………… 9

堀江 健二・渡部 和哉・山津 敦史・坂下 真耶（株式会社ファーマフーズ）

「GABAの生産技術の確立と高機能食品の市場開発」…………… 11

宇多川 隆・白崎 裕嗣・森山 外志夫・片口 敏昭（福井県食品加工研究所・株式会社室次・有限会社もりやま・有限会社片口屋）

「地域資源を活かした速醸新魚醬類の開発と商品化」…………… 13

【農芸化学奨励賞】（10件，50音順）

伊原 誠（近畿大学農学部）

「イオンチャネル内蔵型受容体の高選択的リガンド認識と機能調節に関する生物有機化学研究」…………… 15

小笠原 泰志（北海道大学大学院工学研究院）

「ペプチドの構造に多様性を与える新規酵素の探索」…………… 17

梶川 昌孝（京都大学大学院生命科学研究科）

「藻類での有用脂質生産と脂質蓄積制御因子の同定」…………… 19

勝山 陽平（東京大学大学院農学生命科学研究科）

「放線菌のもつ多様な二次代謝産物生合成機構の解析」…………… 21

加藤 英介（北海道大学大学院農学研究院）

「食用植物の抗肥満，抗糖尿病効果を分子レベルで理解するための生物活性成分の探索と機能解析」…………… 23

後藤 剛（京都大学大学院農学研究科）

「エネルギー代謝を制御する食品成分とその作用機構に関する研究」…………… 25

辻村 清也（筑波大学数理物質系）

「バイオエレクトロカタリシスの基礎と応用の新展開」…………… 27

豊福 雅典（筑波大学生命環境系）

「低分子化合物及び膜小胞を介した細菌間相互作用に関する研究」…………… 29

原田 直樹（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科）

「生体制御におけるアンドロゲンシグナリングと食の相互作用に関する研究」…………… 31

若井 暁（神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科）

「極限環境微生物のエネルギー変換に関する生化学および熱力学的解析」…………… 33

2018年度 農芸化学女性研究者賞・農芸化学若手女性研究者賞・

農芸化学女性企業研究者賞 受賞者一覧（敬称略）

【農芸化学女性研究者賞】（3件，50音順）

大田 ゆかり（国立研究開発法人海洋研究開発機構） 「海洋微生物からの有用機能の探索とその応用」……………	35
古園 さおり（東京大学生物生産工学研究センター） 「細菌の環境応答と適応に関する分子生物学的研究」……………	37
齊藤 安貴子（大阪電気通信大学工学部） 「有機合成を基軸としたフラバン-3-オール誘導体の機能性解明研究と栽培現場への貢献を目指した研究展開」……………	39

【農芸化学若手女性研究者賞】（3件，50音順）

梅川 碧里（京都大学大学院生命科学研究科） 「微生物を活用したN型糖鎖代謝酵素の機能解明とその応用」……………	41
戸田 安香（明治大学農学部） 「味覚受容体の新しい機能解析技術の開発と味覚受容の分子機構の解明」……………	43
山下 陽子（神戸大学大学院農学研究科） 「プロシアニジンの高血糖・肥満予防効果に関する研究」……………	45

【農芸化学女性企業研究者賞】（3件，50音順）

石本 容子（第一三共株式会社） 「血管成熟化促進作用を持つ新規天然物vestaineの同定」……………	47
堤 浩子（月桂冠株式会社総合研究所） 「清酒副産物の機能性ペプチドに関する研究」……………	49
松井 知子（ノボザイムズ ジャパン株式会社研究開発部門） 「タンパク質工学を利用した産業用酵素の開発」……………	51

歴代受賞者一覧……………	53
日本農芸化学会鈴木賞（日本農学会取扱）……………	53
日本農芸化学会鈴木賞（本会取扱）……………	53
日本農芸化学会賞……………	54
日本農芸化学会功績賞……………	54
農芸化学技術賞……………	55
農芸化学賞（日本農学会取扱）……………	59
農芸化学賞（本会取扱）……………	59
農芸化学奨励賞……………	60
農芸化学女性研究者賞……………	67
農芸化学若手女性研究者賞……………	67
農芸化学女性企業研究者賞……………	67
2018年度学会賞等受賞者紹介……………	68
2018年度農芸化学女性研究者賞等受賞者紹介……………	69
2018年度学会賞等副賞御寄附会社名……………	70

原核微生物の生命機能メカニズムに関する研究～バクテリアからアーキアへ～



九州大学大学院農学研究院 教授 石野良純

はじめに

遺伝子操作技術は、大腸菌を中心とした原核微生物の分子生物学から生まれた。制限酵素、DNA リガーゼを用いた試験管内での遺伝子切り貼りの操作は、PCR の開発によって著しく簡便になり、生命科学の飛躍的な発展へと繋がった。そして、現在注目を集めるゲノム編集技術は、生命科学の発展をさらに加速している。これらのキーテクノロジーは、バクテリアやアーキアが産生する DNA 関連酵素の利用によって生み出されたものである。筆者は大学院入学後から今日まで一貫して核酸に作用する酵素の研究を行ってきた。本受賞講演では、生命現象を理解するための基礎研究から発見した種々の酵素、タンパク質の性質解析と、それらが有用技術に繋がった成果を紹介したい。

1. 遺伝子工学用酵素

1-1. DNA リガーゼ

初期の遺伝子操作技術を応用し、大腸菌のゲノム DNA から DNA リガーゼをコードする *lig* 遺伝子をクローニングすることに成功し、多量発現系を構築した。これにより DNA 複製にとって重要な酵素である DNA リガーゼタンパク質の構造がはじめて明らかになるとともに、有用酵素として商品化された。

1-2. 制限酵素

遺伝子操作のハサミ役として重要な制限酵素は、タンパク質による DNA 認識機構の研究にとって有用なモデルである。認識配列を化学修飾して認識機構解析を行うとともに、製品化を目指した新規酵素の探索や、組換え産生系により生産効率を高めるために遺伝子クローニングを行った。

2. PCR 酵素の開発

2-1. *Taq* ポリメラーゼ多量産生系による高品質化

PCR の標準酵素である *Taq* ポリメラーゼの多量産生系を構築して、独占輸入製品であった Ampli Taq を国産化した。さらに、その酵素をもとに TakaRa Ex Taq, TaKaRa LA Taq などの多くの *Taq* 関連製品が生み出され、現在も世界市場で活躍している。

2-2. *Taq* DNA ポリメラーゼの高速化

環境中 DNA のメタゲノム解析からファミリー A DNA ポリメラーゼ遺伝子を詳細に解析した結果、*Taq* ポリメラーゼには含まれない挿入配列を有するグループを見出し、その配列を *Taq* ポリメラーゼに移植することによって、DNA 合成反応をより高速化することに成功した。本酵素も実用化されている。

2-3. Clamp-assisted PCR の開発

DNA ポリメラーゼを補助するクランプ分子である PCNA の蛋白工学によって“Clamp-assisted PCR”を開発した。これは、正確性は高いものの伸長性が低いアーキ由来の DNA ポリメラーゼを補助して優れた PCR パフォーマンスを可能にする PCNA 変異体を創製して利用した独創的な技術である。この技術も実用化され、多くの製品の中で利用されている。

3. アーキアのゲノム安定性維持機構解析

地球上の生物の 3 ドメインの一つを形成するアーキアの生命機構を理解するために、世界に先駆けて DNA 複製と組換え修復機構研究を進めた(図)。

3-1. DNA ポリメラーゼ

超好熱性アーキアの *Pyrococcus furiosus* がバクテリアと同様な原核単細胞生物でありながら、ヒトと同じような真核型のファミリー B の DNA ポリメラーゼ (PolB) を有していること、さらにアーキア特有の DNA ポリメラーゼ (PolD) を発見し、新規のファミリー D を提唱した。また、別の門に属する *Pyrodicticum occultum* や *Aeropyrum pernix* が一つの細胞に二種類の PolB を有していることを発見し、真核生物と同様に複数のファミリー B 酵素が複製を分担することを示唆した。超好熱性アーキア由来の酵素は熱安定性に優れ、PCR 用酵素として利用できる。特にアーキアの酵素は *Taq* ポリメラーゼには無い校正機能を担う 3'-5'エキソ活性を有するため、より正確性が求められる PCR に適している。*P. furiosus* の PolB は広く世界的に使われている。

3-2. DNA 複製起点と複製開始因子

PolD 遺伝子上流にコードされるタンパク質を Orc1/Cdc6 と名付け、アーキア DNA 複製のイニシエータであることを提唱した。さらにその上流に複製起点が存在することを実験的に証明し、アーキアで初めて複製起点を同定した。アーキアがバクテリアと同じ環状ゲノム構造をとり、特定の起点から真核生物と類似したイニシエータを用いて複製することを示唆したことから、世界のアーキア DNA 複製研究が活発化した。その後、我々は *P. furiosus* の Orc1/Cdc6 が複製起点領域の二本鎖を開裂できることを *in vitro* 実験で示した。*P. furiosus* は複製起点が一箇所であるが、二、三、四箇所を有するアーキアが次々報告され、さらには四箇所を有する好塩性アーキアの全てを欠失させても死なずにむしろより早く増殖することが報告されるなど、アーキアの複製機構研究はますます面白くなっている。

3-3. DNA 鎖伸長機構

DNA 複製は二本鎖が開裂して、それぞれが鋳型になって新生

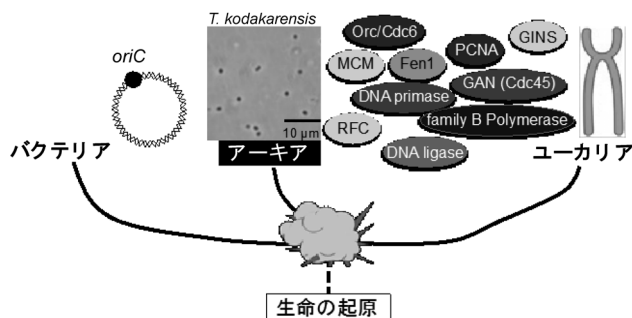


図 地球上の生命のゲノムとその複製 地球上の生物は 3 ドメインに分けられる。アーキアはバクテリアと同じように環状ゲノム上の特定の位置に複製起点を有するが、複製装置は真核生物と同じタンパク質から構成される。

鎖が合成される。DNA ポリメラーゼがDNA鎖に乗ったまま連続的に新生鎖を合成するために必要なクランプと呼ばれる分子は全ての生物に保存されていて、バクテリアでは β クランプ、真核生物ではPCNAと呼ばれていた。アーキアのクランプを探索してPCNAを発見した。またクランプをDNA鎖に載せるためのクランプローダー(RFC)も同定した。*P. furious*のPCNAとRFCを用いて、電子顕微鏡単粒子解析により、RFCがPCNAをDNA上に載せる瞬間を観察した。さらに、この手法を不連続合成鎖であるOkazaki断片のプロセッシング過程の解析に応用し、DNAポリメラーゼが不連続鎖を合成し、下流に存在するOkazaki断片のプライマーを除去するFEN1、その後形成されるニックを連結するDNAリガーゼの三者がPCNA上でどのように連携して働くのかをモデル構築して提唱した。

3-4. 相同組換え機構

アーキアの相同組換えの分子機構も全く未解明であったので、まず相同鎖を結合させるための、バクテリアのRecA、真核生物のRad51に相当するリコンビナーゼを解析した。*P. furious*にはRad51に類似したタンパク質が二種類存在し、RadA、RadBと名付けた。RadAが中心的なリコンビナーゼであることを証明したが、RadBも未解明ながら重要な機能を担っている。

リコンビナーゼが形成する組換え中間体ホリディジャンクション(HJ)を解消して組換えった二組の二本鎖に分離するリゾルバーゼ活性を検索した結果、全く新規の酵素が見つかりHjc(Holliday junction cleavage)と名付けた。Hjcはアーキアにおいては高度に保存されているが、バクテリアにも真核生物にもないアーキア特有の酵素である。次に、組換える範囲を広げるための、HJ中間体分岐点移動活性を探索した結果、新規のヘリカーゼ活性が見つかり、Hjm(Holliday junction migration)と名付けた。これらのタンパク質が関わるアーキアの分子機構は未だ解明されておらず、研究が続いている。

3-5. 複製フォーク停止の修復機構

アーキアの相同組換え機構の研究の過程で、ヘリカーゼとエンドヌクレアーゼが融合した新たなタンパク質を発見した。このタンパク質の基質特異性を詳しく調べていくと、複製フォーク構造をより好むことがわかり、複製の進行と関係することが示唆された。Hef(helicase-associated endonuclease for fork-structured DNA)と名付けたタンパク質のヌクレアーゼ活性はフォーク構造の分岐点の位置を切断し、付随するヘリカーゼはフォークの分岐点を移動させることから、複製フォークが停止した際の修復に関わることを提唱した。その後、ヒトの遺伝病の一つであるファンコニ貧血症の原因遺伝子産物の一つがHefのホモログであるという報告がなされ、ヒトHef(hHef)が正しく機能しないことが発症の原因になることから、ファンコニ貧血症の理解が急速に進んだ。

3-6. 損傷塩基の修復機構

塩基の脱アミノ化は生体内で頻繁に起こり、特に高温環境においては起こりやすいので、超好熱アーキアは優れた修復機構を有していると予想して、損傷塩基の除去修復機構の研究を始めた。他の生物で知られているウラシルDNAグリコシラーゼ(UDG)とその後に続く脱塩基エンドヌクレアーゼ(APE)、また脱アミノ化塩基の近傍のリン酸ジエステル結合を直接切断するエンドヌクレアーゼV(EndoV)をコードする遺伝子を*P. furious*のゲノム上に見つけ、これらの酵素の機能解析を

行ったが、その過程でEndoVとは異なるエンドヌクレアーゼ活性を発見し、エンドヌクレアーゼQと名付けた。

3-7. ミスマッチ修復

DNAの塩基対にミスマッチが生じると突然変異の原因になるので、素早く修復する必要がある。ミスマッチ修復は重要なDNA修復機能の一つとして知られている。この修復に働くMutS、MutLはバクテリアからヒトまで保存されているが、アーキアからは同定されず、ミスマッチ修復の有無が不明であった。我々はミスマッチ塩基対を含んで5'-突出型に二本鎖切断する活性を有する酵素を発見し、EndoMS(mismatch specific)と名付けた。EndoMSは一部のMutS、MutLを有さないバクテリアにも存在し、同様の活性を有することから、新規のミスマッチ修復系の存在を提唱し、長年のミステリーの一つであったアーキアのミスマッチ修復機能解明への道を開いた。

4. CRISPRの発見

筆者のこれらの研究の基礎に、大腸菌の環境適応応答の分子機構研究があり、リン酸代謝に関わるアルカリホスファターゼのアイソザイム変換機構解析の過程で発見したのがCRISPRである。1987年に発見した極めて規則正しく一定間隔をおいて繰り返される奇妙な配列が、実用的なゲノム編集に応用されて人類に大きく貢献しようとしている。発見した際には、あまりに綺麗に等間隔で繰り返される配列は偶然のものではなく、必ず生物学的意味を持っていると予想したが、30年前にはDNA配列データが乏しく比較する対象もなかった。時を経てその意味が解明され、実用的なゲノム編集技術の開発に繋がった。

おわりに

現代生命科学を進歩させた3回の革命的技術、①試験管内遺伝子切り貼りによる操作技術、②PCR増幅技術、③ゲノム編集技術、はすべてバクテリアやアーキアという原核生物の分子生物学研究が基盤となっている。原核生物の分子生物学研究は、今後もさらに新たな有用技術開発をもたらすであろう。特にアーキアはまだ未知の部分が多く、宝の山である。

謝辞 筆者は阪大薬学部池原森男、大塚栄子先生のもとで核酸の有機化学、生化学を、阪大微生物病研究所の中田篤男、品川日出夫先生のもとでバクテリアの分子生物学を、そしてYale大学のDieter Söll先生のもとでRNA酵素について学びました。宝酒造の研究所においては、大林 晃、加藤郁之進所長のもとで遺伝子工学酵素やPCR酵素の研究を行いました。生物分子工学研究所(BERI)では、志村令郎所長、森川耿右部長のもとでアーキアの分子生物学を開拓しました。これらを基盤にして、九大農学研究院に赴任してから今日まで、超好熱性アーキアの基礎と応用研究を続けています。このような研究環境を与えてくださり、ご指導ご支援くださいました先生方に深く感謝申し上げます。また多くの成果を上げられたのは、一緒に頑張った宝酒造、BERIの核酸酵素グループのメンバー、九大の蛋白質化学工学研究室のスタッフ、学生たち、そして多くの共同研究者の方々のおかげです。また、共に励まし刺激合ってきた世界の極限微生物、アーキアの研究仲間感謝申し上げます。特にPatrick Forterre (Institute Pasteur), Francine Perler (New England Biolab), Haruyuki Atomi (Kyoto Univ) には常に励まされました。最後になりますが、九大農学研究院で共に過ごさせていただき、本受賞に際してご推選くださいました大島敏久先生に深く御礼申し上げます。



東北大学大学院農学研究科 五味 勝也

麹菌における有用遺伝子の発現制御機構の解明とその応用研究

はじめに

麹菌は日本酒や醤油、味噌などのわが国の発酵醸造食品製造に1,000年以上の昔から利用されてきており、わが国を代表する産業微生物と言っても過言ではない。それゆえ、麹菌が生産する多様な酵素や生理学的な特性、また醸造現場サイドにおける培養プロセス管理などを中心にした研究が古くから多くなされ、わが国の応用微生物学や生化学などの研究基盤形成に多大な貢献をなしてきた。それに対して、麹菌が有性生活環を持たないことや多核細胞ゆえの古典遺伝学的解析の困難さから、分子レベルにおける遺伝子発現制御解析などは同じ醸造用真核微生物である酵母に比べてきわめて遅れていた。しかし、演者らにより、世界に先駆けて麹菌における遺伝子導入法と宿主ベクター系が開発されて以降、多くの大学や企業の研究者が麹菌をはじめとする糸状菌の分子生物学研究に参入することになり、糸状菌における分子レベルの研究が著しく発展してきた。演者はこれまで開発した麹菌の遺伝子工学技術を活用して、タンパク質などの有用物質生産に適した麹菌の育種などの産業上重要な課題に加えて、有用遺伝子の発現制御機構の解明という基盤的な研究にも取り組んできた。その中でも麹菌が生産する産業上最も重要な酵素の一つであるアミラーゼの生産制御機構は、遺伝子発現制御に関するすぐれたモデルとなり得るものであり、本講演では演者が長年取り組んできたこのアミラーゼの遺伝子発現制御機構に関する研究成果を紹介することとしたい。

1. アミラーゼ遺伝子発現制御に必須な2種類の転写因子

アミラーゼ遺伝子の発現は、細胞外のデンプンやマルトースなどによって誘導される。3種類のアミラーゼ遺伝子(α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、 α -グルコシダーゼ)のクローニングと塩基配列決定に引き続き、プロモーター領域中に高い相同性を有する保存領域を見出した。プロモーターの欠失変異体の解析から region III と名付けた配列がマルトースなどの誘導基質による遺伝子発現に重要であるシスエレメントであることを明らかにした。このシスエレメントを多コピー有する株では α -アミラーゼ生産性が著しく低下するという現象(titration)を見出し、その titration 現象を抑制する遺伝子をショットガンスクリーニングすることにより、アミラーゼ生産に必須である Zn_2Cys_6 型転写因子 AmyR を発見した。amyR 遺伝子の周辺配列を調べてみたところ、その下流に AmyR の発現制御下にある α -グルコシダーゼ遺伝子 (agdA) と麹菌に3コピー存在する α -アミラーゼ遺伝子の一つである amyA が存在し、遺伝子クラスターを形成していることが明らかとなった。さらに、その後のゲノム解析の結果、興味深いことに、この遺伝子クラスターのすぐ下流に AmyR に相同性の高い Zn_2Cys_6 型転写因子をコードする遺伝子が見出された。この遺伝子は機能解析により、菌体外プロテアーゼやペプチダーゼの生産に関わる転写因子 PrtR であることが示された。麹菌のゲノムサイズは 38 Mb と

大きいにもかかわらず、日本酒製造に必須なアミラーゼと醤油や味噌製造に必須なプロテアーゼの生産を制御する2種類の転写因子が数kbというきわめて近傍の領域に存在することは、転写因子の分子進化を考える上でも興味深い。

一方、AmyR欠損株はデンプン培地で生育が悪いものの、マルトース培地では野生株と同様の生育を示すことから、マルトースを資化するための別の制御機構の存在が予想された。EST解析及びゲノム解析データを検索した結果、マルトース輸送体、マルターゼ(α -グルコシダーゼ)をコードする遺伝子(malP および malT)とこれらの遺伝子の発現誘導に関わる転写因子遺伝子 malR からなるマルトース資化遺伝子(MAL)クラスターを発見した。このMALクラスターの遺伝子を欠損するとマルトース培地での生育がきわめて悪くなることから、MALクラスターは麹菌のマルトース資化に必須であることが示された。また興味深いことに、これらの遺伝子破壊株ではアミラーゼ遺伝子の転写が著しく遅延することが明らかになった。malPやmalTはマルトース添加後10分で転写誘導されるのに対し、 α -アミラーゼ遺伝子(amyA/B/C)はそれよりも20分ほど遅れて転写誘導が起こる一方でイソマルトース添加後には速やかに転写が起こる。これらの結果は、AmyRの転写活性化の直接の誘導基質はマルトースではなくイソマルトースであることを示唆している。実際にAmyRの細胞内局在解析により、イソマルトースの方がマルトースよりも速やかにAmyRの核移行が起こることが分かった。これらの結果から、麹菌ではマルトース輸送体MalPによりマルトースが細胞内に取込まれ、菌体内 α -グルコシダーゼMalTの糖転移活性によりマルトースからイソマルトースが生成することによって、AmyRの転写活性化が起こり、アミラーゼ遺伝子の転写が誘導されることが明らかになった。麹菌が生産するアミラーゼは、マルトースの取込みとイソマルトースへの構造変換に関わる遺伝子の制御を行うMalRと、イソマルトースによって活性化され直接遺伝子発現誘導に関わるAmyRの2種類の転写因子の働きによって生産されることが明らかになった(図1)。

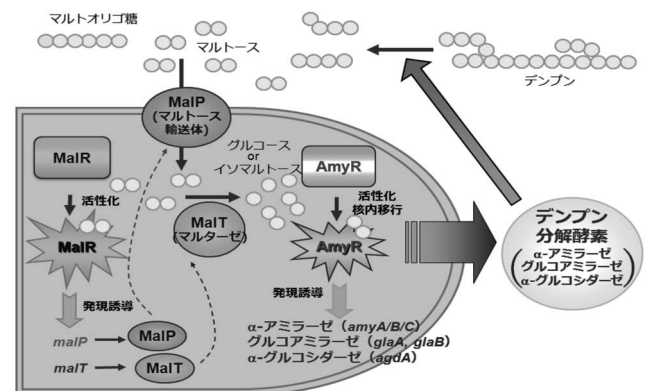


図1 麹菌のアミラーゼ生産制御モデル

2. 固体培養特異的に発現するグルコアミラーゼ遺伝子の発現制御に必須な転写因子

麹菌は2種類のグルコアミラーゼ (GlaA, GlaB) を生産するが、そのうち GlaB が日本酒製造では重要な役割を果たしており、興味深いことに *glaB* 遺伝子は液体培養ではほとんど発現せず、米麹のような固体培養で高発現することが月桂冠の秦らによって明らかにされている。このことが古くから先達たちが液体麹製造を試みたものの失敗してきた理由でもある。*amyR* 破壊株では固体培養でも GlaB は生産されないことから、AmyR が発現に必須であることが分かるが、それ以外に別の転写因子が *glaB* 遺伝子発現に必要であると考えられる。そこで、転写因子破壊株ライブラリーを利用して、固体培養条件を模した培養条件において GlaB 生産に影響がある破壊株を網羅的にスクリーニングすることとした。秦らによって提唱された *glaB* 遺伝子の高発現要因のうち、菌糸成長阻害ストレスと低水分活性を再現できるプレートを用いて、約400株の破壊株を培養し、GlaB抗体を用いて生産の有無を調べた。その結果、1つの破壊株で α -アミラーゼ生産は野生株と変わらないにもかかわらず GlaB 生産のみがほとんど失われていることを見出した。この破壊株は分生子形成に関与すると報告されていた C_2H_2 型転写因子 FlbC であり、*flbC* 破壊株では *glaB* の発現は認められず、*flbC* 相補株では野生株と同程度の発現に回復したことから、FlbC が *glaB* の発現を正に制御していることが示された。さらに、*flbC* 破壊株の解析から、FlbC はグルコアミラーゼ GlaB と同様に固体培養で高生産される酸性プロテアーゼや中性プロテアーゼなどの日本酒や醤油・味噌醸造でも重要なプロテアーゼの遺伝子発現制御にも必須な転写因子であることが明らかになってきた。FlbC が固体培養環境にどのように応答して *glaB* などの発現を制御しているかについては現在解析中であるが、浸透圧ストレスなどに応答する MAP キナーゼを介したシグナル伝達経路の関与が明らかになりつつある。今後詳細に解析する予定であるが、これまで謎であった固体培養特異的発現を示す醸造産業上必須である酵素の遺伝子の転写制御機構の一端が明らかになったものと考えている。

3. カーボンカタボライト抑制関連因子の機能解析とアミラーゼ生産

麹菌のアミラーゼをはじめとする糸状菌が菌体外に生産する多糖類分解酵素は、カーボンカタボライト抑制 (CCR) 機構によってグルコース存在下で生産が抑制されることが知られている。糸状菌における CCR には C_2H_2 型転写因子 CreA が関わっており、CreA はユビキチン化/脱ユビキチン化によって機能制御されているという機構が提唱されている。そこで、麹菌において CCR に関わる遺伝子破壊株を作製したところ、*creA* だけでなく CreA の脱ユビキチン化に関与すると考えられている脱ユビキチン化酵素遺伝子 (*creB*) も同時に破壊した二重破壊株で α -アミラーゼ生産が顕著に上昇することを見出した。*creA* と *creB* の二重破壊株ではキシラナーゼや β -グルコシダーゼなどのバイオマス分解酵素の生産量も向上していた。また、これまで他の糸状菌では *creA* 破壊株は生育がきわめて悪くなり、産業上は不利となると報告されていたが、麹菌の *creA* 破壊株は栄養培地における液体培養で野生株と同等の生育を示すことが認められた。特に興味深いことに、野生株では液体培養でペレット状の菌糸形態をとるのに対して、*creA* 破壊株では

パルプ状を呈することから、これが菌体量の増加につながったことが考えられた。パルプ状の菌糸形態での増殖により高密度培養が可能となるため、タンパク質のみならず低分子化合物などの有用物質高生産用宿主としての有用性も期待できる。また、予備的な知見であるが、*creA* 破壊株が示すパルプ状の菌糸形態は、細胞壁構成成分である α -1,3-グルカンの生合成に関わる遺伝子発現に影響を及ぼし、菌糸同士の接着力が弱まることが要因として示唆されている。

CreA のユビキチン化にはユビキチンリガーゼ HulA とそのアダプタータンパク質 CreD が関与していると考えられている。*creB* 破壊でも *creA* 破壊と同様 CCR が脱抑制され、アミラーゼ生産が上昇するが、これに *creD* 破壊を加える CCR が回復してアミラーゼ生産は抑制された。一方、マルトース輸送体 MalP の発現はグルコース存在下で CCR によって発現抑制されると同時に、膜タンパク質に共通するユビキチン化を受けてエンドサイトーシスによって液泡で分解されることが示された。MalP のユビキチン化とエンドサイトーシスにも CreD が関与しており、さらに CreD の脱リン酸化変異体と *creB* 破壊を組み合わせたことにより、アミラーゼ生産量の著しい向上を図ることができることを明らかにした。

おわりに

麹菌の遺伝子組換え系の開発から始め、その系を利用した遺伝子発現制御の解析を進めてきた結果、麹菌の最も代表的な酵素であるアミラーゼの遺伝子発現制御機構の全容を完全ではないとは言えかなり明確にすることができたのは研究者として嬉しい限りである。当然のことながら、今後明らかにしなければいけない課題は多く残されており、アミラーゼの生産制御一つとっても解明し尽くすまでの道はまだ遠く感じるのも確かである。また、最近手がけている麹菌と近縁で焼酎製造に必須の黒麹菌におけるアミラーゼの生産制御機構は麹菌と違いが認められており、生物が示す多様な生命現象の奥深さに感銘するとともに、研究の面白さをさらに強く感じている。

謝 辞 本研究は、国税庁醸造試験所 (現 (独) 酒類総合研究所) から東北大学大学院農学研究科まで、ほぼ30年間にわたって行ってきたものです。醸造試験所で研究生生活を始めるにあたって、当時の醸造試験所長の故・秋山裕一先生が麹菌研究に導いて下さらなければ、このような栄誉ある賞を受賞するには至りませんでした。心より感謝申し上げる次第です。麹菌の遺伝子組換え技術の開発とアミラーゼ遺伝子発現制御の研究は直属の上司であった飯村穰先生 (山梨大学名誉教授) との共同での研究が基盤となっています。有益で楽しいディスカッションが研究を続けるのに非常に役立ちました。厚く御礼申し上げます。また、大学時代に研究の基礎や研究者としてのあるべき姿をお教えいただき、卒業後も暖かく見守り下さりご指導いただきました別府輝彦先生 (東京大学名誉教授) ならびに故・田村学造先生 (東京大学名誉教授) に心より御礼申し上げます。本研究は、醸造試験所から大学に至るまで、多くの研究機関の共同研究者ならびに同僚やポスドク、学生、研究補助員の方々のご協力のもとでなされたものです。紙面の都合でお名前を挙げることはできませんが、関係された全ての皆様に心から感謝の意を表します。



慶應義塾大学理工学部 井 本 正 哉

がん細胞の特性を標的とする阻害剤の化学生物学的研究

はじめに

20世紀後半にがん遺伝子が相次いで同定され、がん遺伝子およびその関連分子による細胞応答の制御異常によってがんが悪性化していくことが示された。その後、がん遺伝子やそれに関連するがんの悪性化に関わる細胞応答機構、すなわち「がん細胞の特性」の研究が展開されるようになった。

一方、農芸化学分野では伝統的に生理活性物質の単離・構造解析研究が活発になされており、またそれら生理活性物質の作用機構解析を通じて生物応答機構を分子レベルで解析する研究がなされてきた。そのような背景のもとで筆者は農芸化学的手法で「がん細胞の特性」研究に挑み、それを標的とした化合物を主に微生物培養液から探索し、がん悪性化の細胞応答機構の解析研究を行ってきた。ここでは研究成果の概要を述べる。

1. がん細胞の特性を標的とした天然物スクリーニング

1-1. がん遺伝子を標的としたスクリーニング

多くのがん遺伝子がチロシンキナーゼ活性を有していることから、チロシンキナーゼの阻害剤は新たながん治療薬になることが期待された。筆者は世界に先駆けて上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) チロシンキナーゼ阻害剤の探索研究をおこない、1986年に放線菌 MH435-hF3 株から新規物質 アーブスタチンを発見した¹⁾。アーブスタチンは世界で最初に報告された天然由来チロシンキナーゼ阻害物質であり、様々なチロシンキナーゼに有効なスペクトルの広い阻害剤であった。その後、アーブスタチンをモデルに世界中で特定のチロシンキナーゼに対する阻害剤が開発され、2000年代になってグリベックやイレッサなどのチロシンキナーゼ阻害剤が臨床応用され多くの患者を救済している。さらに筆者らはイノシトールリン脂質代謝回転、チロシンホスファターゼ、ゲラニルゲラニル基合成酵素などの「がん細胞の特性」を標的とした阻害剤の探索研究を展開し、多様な作用を有する 10 数個の新規化合物を発見した。

1-2. 去勢抵抗性前立腺癌を標的としたスクリーニング

前立腺癌は男性ホルモンであるアンドロゲンがアンドロゲン受容体 (AR) に結合し、これら複合体が核内に移行して転写因子として機能することで悪性化する。エンザルタミドは第2世代の AR アンタゴニストとして、去勢抵抗性前立腺癌に有効性を発揮している。しかし、AR のミスセンス変異 (F876 L) によってエンザルタミドに耐性を示す前立腺癌細胞が出現し、これを克服する治療薬開発が求められている。そこで、このエンザルタミド耐性を克服する化合物の探索を行った。その結果、富山県大の五十嵐康弘教授との共同研究で放線菌 BB47 株より新規 22 員環マクロライドであるアンタルライド A-F を発見し、NMR スペクトル解析や各種化学変換反応を駆使することでその平面構造及び絶対立体構造を決定した²⁾。その後、同放線菌から 20 員環マクロライド構造を有するアンタルライドファミリーのアンタルライド G および H を発見した。通常、

放線菌が生産するマクロライド環の形成部位はポリケタイド合成酵素により厳密に制御されている。したがって、放線菌 BB47 株のポリケタイド合成酵素では基質認識のゆらぎが生じている可能性が示唆された。

2. 探索から細胞応答機構解析へ

2-1. がん細胞の遊走を阻害する物質の探索

細胞遊走は、胚の形態形成、組織の再生・治癒、白血球による免疫監視などでみられ、生体にとって不可欠な現象である。さらにがん転移におけるがん細胞の浸潤など、さまざまな病理的現象にも深く関わっている。そこで遊走阻害をする化合物を微生物二次代謝産物より探索し、カビの一株が生産する新規化合物 モベラスチン A を発見した³⁾。その作用解析の結果、モベラスチン A がファルネシルトランスフェラーゼ (FTase) を標的とし、その下流での H-Ras/PI3K/Akt 経路を阻害することで遊走阻害することを明らかにした³⁾。

2-2. 阻害剤を用いたがん細胞遊走阻害機構解析

その後、東大の渡邊秀典教授らによって合成されたモベラスチン A の誘導体 UTKO1 はモベラスチン A よりも強く遊走を阻害したが FTase を阻害しなかった。そこで UTKO1 のがん細胞遊走阻害機構を解析した。まず、UTKO1 ビオチン標識体を用いてその結合タンパク質として 14-3-3ζ を同定した。さらに、遊走に関わる Rac1 は 14-3-3ζ が Tiam1 と結合することで活性化されるが、UTKO1 は 14-3-3ζ に結合することで 14-3-3ζ と Tiam1 の結合を阻害し、その結果、Rac1 の活性化→遊走が阻害されることを明らかにした⁴⁾。

では、Tiam1 の発現はどのように制御されているのか？ 5-リボキシゲナーゼ (5-LOX) 阻害剤 BU-4664 L が Tiam1 の発現を阻害することで遊走を阻害することを見出した。この BU-4664 L による遊走阻害と Tiam1 の発現阻害はロイコトリエン C₄ (LTC₄) の添加によって回復することから、LTC₄ が脂質メディエーターとして Tiam1 の発現を制御していることがわかった。さらに LTC₄ の受容体である CysLT1 の阻害剤であるモンテルカストも遊走阻害と Tiam1 の発現阻害を誘導したことから 5-LOX/LTC₄/CysLT1 シグナリングが Tiam1 の発現を

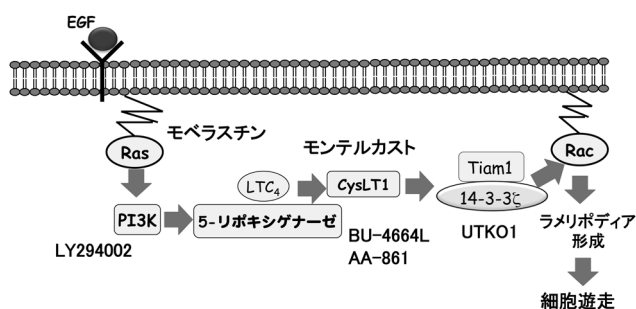


図1. 阻害剤を用いたがん細胞遊走機構解析

抑制し⁵⁾、その結果Rac1の活性化が阻害され、遊走阻害が誘導されることを明らかにした(図1)。

2-3. がん細胞遊走機構の共通性と個別性解析

がん細胞の遊走制御機構は、由来組織や変異遺伝子の違いによって、「全てのがんに存在する普遍的な機構」と「特定のがんにのみ存在する多様性を担う機構」が存在すると考えられる。そこでがん細胞の遊走制御機構の普遍性および多様性を担う分子群を明らかにするため、34種類の低分子化合物の影響を10種類の遊走細胞において定量的に評価し、化合物の遊走阻害プロファイルに対して階層的クラスタリングを行った。クラスタリングの結果、JNK阻害剤は全ての細胞株の遊走を抑制したが、ROCK、GSK-3、p38の阻害剤等は一部の細胞株の遊走のみを抑制することを示した⁶⁾。

3. ビッグデータを利用した標的分子同定

3-1. メタボローム解析による標的分子同定

がん細胞のフィロポディア形成は遊走運動開始の発端にもなっていることから、筆者らはEGF刺激によるフィロポディア形成を阻害する物質を探索した。その結果、放線菌培養液中にA431細胞のフィロポディア形成を阻害する物質が含まれていることがわかった。そこでフィロポディア形成阻害物質の単離・精製を行ったところ、グルコピエリシジンA(GPA)とピエリシジンA(PA)という2つの化合物を共処理することではじめてフィロポディア形成が阻害されることを見出した。

PAはミトコンドリア呼吸鎖複合体Iの阻害剤として報告されているが、GPAの標的タンパク質は不明であるためにGPAの標的分子同定を試みた。In house ケミカルライブラリーからGPAと似た作用をしめす化合物を探したところ、解糖系を阻害する2-デオキシグルコース(2DG)がヒットした。このことからGPAも解糖系の代謝を抑制している可能性が考えられ、慶應大・先端生命科学研究所・曽我朋義教授との共同研究により、GPAを処理した細胞内のメタボローム解析をおこなった。その結果、GPA処理した細胞ではピルビン酸と乳酸が減少していたことから、GPAは解糖系を阻害していることが示唆された。さらに、¹³C-グルコースを用いたメタボローム解析からGPAの標的分子がグルコーストランスポーターであることを明らかにした。これらのことから、PAとGPAを共処理することで細胞内ATP量が減少し、これによってアクチンモノマーの輸送が阻害されてF-アクチン重合が起こらなくなり、結果的にフィロポディア形成が阻害されたと考えられる⁷⁾。

3-2. 結合予測に基づく標的分子同定

多くのヒト腫瘍においてアポトーシス抑制タンパク質Bcl-2やBcl-xLの過剰発現が見られる。Bcl-2/Bcl-xLの過剰発現はがん化やがん悪性化に関与するだけでなく、既存の抗がん剤に対して抵抗性を示す。そこで、Bcl-2/Bcl-xL過剰発現ヒト腫瘍を用いて、Bcl-2/Bcl-xLの機能を阻害する物質を探索した。その結果、*Streptomyces* sp. 694-90F3株の培養液中に新規物質インセドニンを発見した。インセドニンの構造は各種NMRスペクトル解析、コンピュータモデリングにより平面及び相対立体構造を決定し、改良型Mosher法、X線構造解析によりその立体絶対配置を決定した⁸⁾。

次にインセドニンの標的分子同定を試みた。まずインセドニンのアフィニティービーズを合成し、インセドニンビーズに結合したタンパク質のLC-MS/MS解析から53種類のインセドニ

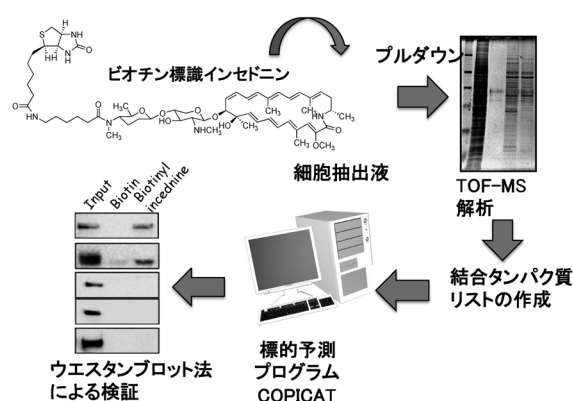


図2. COPICATによるインセドニン標的分子の同定の流れ

ン結合タンパク質を同定した。しかし、この53種類の候補たんぱく質からはインセドニン結合たんぱく質を見出すことはできなかった。そこで次に慶應大・理工・榊原康文教授が開発したCOPICATを用いて計算科学的にインセドニンの結合タンパク質を予測することを試みた。まず既に得られていた53種類のインセドニン結合タンパク質をSVM学習モデルで学習させ、24,245個のヒトのタンパク質の中から182個がインセドニン結合タンパク候補として得られた。さらにメタボローム解析の結果を用いて候補タンパクを絞り込み、それらのビオチン標識インセドニンとの結合を検証し、最終的にアセチルCoAカルボキシラーゼαがインセドニンの機能的標的分子であると示唆された⁹⁾(図2)。

おわりに

創薬開発における天然化合物の重要性は共通に認識されながらも、その標的分子同定の困難さから近年は天然物スクリーニングが敬遠される傾向にある。しかし、天然物スクリーニングは農芸化学のお家芸の一つであり、また我が国の文化ともいえる。多彩な活性と多様な構造を有する天然化合物を探索する「宝さがし」と、天然化合物の標的分子同定を通じて作用機構の解明を目指す「謎解き」に挑む「天然物ケミカルバイオロジー」をこれからも展開していきたい。

(引用文献)

- 1) Umezawa H. *et al. J. Antibiot.*, 39, 170 (1986)
- 2) Saito S. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.*, 55, 2728 (2016)
- 3) Takemoto Y. *et al. Chem. Biol.*, 12, 1337 (2005)
- 4) Kobayashi H. *et al. J. Biol. Chem.*, 286, 39259 (2011)
- 5) Magi S. *et al. Cancer. Sci.*, 105, 290 (2014)
- 6) Magi S. *et al. Sci. Rep.*, 2, 823 (2012)
- 7) Kitagawa M. *et al. Chem. Biol.*, 17, 989 (2010)
- 8) Futamura Y. *et al. J. Am. Chem. Soc.*, 130, 1822 (2008)
- 9) Kobayashi H. *et al. BMC Chem. Biol.*, 12, 2 (2012)

謝 辞 本研究の成果はご指導を賜りました財)微生物化学研究所・元所長の故梅澤濱夫先生、慶應義塾大学名誉教授の梅澤一夫先生をはじめとする財)微生物化学研究所や慶應義塾大学の諸先生、研究員、学生、卒業生、および多くの共同研究者のみなさまのご協力によって得られたものです。この誌面をお借りして厚く御礼申し上げます。最後に、本賞にご推薦いただいた山口大学名誉教授の畑中顯和先生、理研・環境資源科学研究センター副センター長・長田裕之先生、および選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。

タンパク質の新機能性開発に関する多面的基盤研究



京都大学大学院農学研究科 裏出 令子

1. はじめに

真核細胞で合成される全タンパク質の約3分の1を占める膜タンパク質や分泌タンパク質は、小胞体で合成される。また、人類の食糧タンパク質源として最も重要な主要穀類の種子貯蔵タンパク質も小胞体で合成され、蓄積される。これらのタンパク質が細胞内で輸送され、分泌、局在化あるいは蓄積されて生理的役割を果たすためには小胞体での立体構造形成（フォールディング）が必須であり、フォールディングに失敗したタンパク質は細胞に害作用をもつためタンパク質品質管理機構により分解される。

私は、植物細胞および動物細胞の小胞体でのタンパク質のフォールディング機構のさらなる理解とそれに基づいたタンパク質の高度利用を見据えて基盤的研究を行うとともに、食品タンパク質の凝集体構造と機能との関係を追求してきた。本講演では、それらの概略を紹介させていただきたい。

2. 動物細胞小胞体の酸化的フォールディング酵素ER-60の多面的機能

非常に還元的な環境でフォールディングする細胞質のタンパク質とは異なり、真核細胞の小胞体で合成される新生タンパク質は酸化的环境でその90%以上が分子内ジスルフィド結合の形成を伴ってフォールディング（酸化的フォールディング）する。そのため、小胞体には高度に発達した酸化的フォールディングシステムが備わっている。

1992年、私は小胞体を中心となって営まれるリン脂質代謝を研究していたが、その過程でprotein disulfide isomerase (PDI) に次ぐ量で存在するPDIファミリーER-60/ERp57（以下ER-60）を偶然見いだした。当時は、小胞体における酸化的フォールディングを担う酵素としてPDIが既に知られていたが、その反応機構や他のタンパク質との機能的な相互作用などは不明であり、PDI以外のファミリータンパク質はほとんど知られていなかった。私はER-60の発見を契機に小胞体タンパク質の研究を開始し、ER-60が小胞体で複数の小胞体分子シャペロン（BiP, calnexin, calreticulin, RAP）およびPDIと複合体を形成し、糖タンパク質の酸化的フォールディングに重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた（図1）。さらに、血清中性脂肪値の決定因子であるVLDL構成タンパク質apolipoprotein B100の肝細胞内での調節的分解にER-60が作用していることを見いだした。現在ではゲノム塩基配列情報からヒトにはチオレドキシシンモチーフを有する約20種類のPDIファミリーが存在することが明らかとなっており、これらのPDIファミリーが織りなす酸化的フォールディングの分子機構の詳細や役割分担を明らかにする研究が盛んに行われている。その中でもER-60は哺乳動物細胞にとって重要且つ普遍的なPDIファミリーと認知され、酸化的フォールディングのみならず抗原提示やアルツハイマー病などの神経変性疾患の発症・進

展にも関わるタンパク質として注目されている。

3. 植物小胞体における酸化的フォールディングの分子機構

穀類の種子は発芽の際に必要なとされるエネルギー源とアミノ酸を賄うために種子貯蔵タンパク質を蓄積するが、とくにダイズ種子は際だって高いタンパク質蓄積能を有する。そのため、医薬用タンパク質などの有用タンパク質の生産への利用が期待されている。私は、ダイズ種子を有用タンパク質生産に利用するためには小胞体における酸化的フォールディングの分子機構の解明が最重要課題であると考えて、研究に着手した。

シロイヌナズナのゲノム塩基配列情報から、植物には8種類のPDIファミリーが存在すると予想されていたが、これらのうち酸化的フォールディング機能を有すると推定された7種類のダイズオーソログを同定し、生化学的な解析により少なくとも5種類が主要なダイズ種子貯蔵タンパク質（グリシニンおよび β -コングリシニン）の構造形成に関わっていることを明らかにした（図2）。

PDIファミリーは活性中心のジスルフィド結合と基質タンパク質のチオール基との間で交換反応を行うことで酸化的フォー

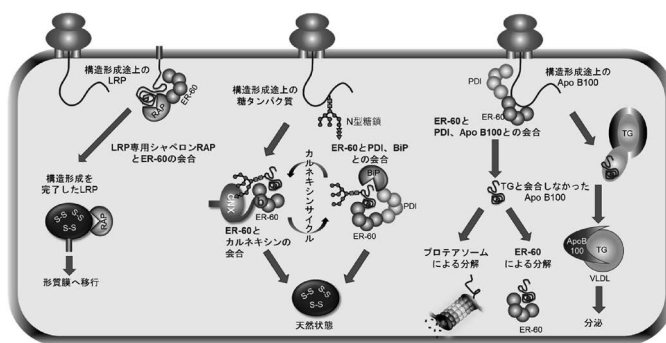


図1 動物細胞小胞体におけるER-60の多機能性

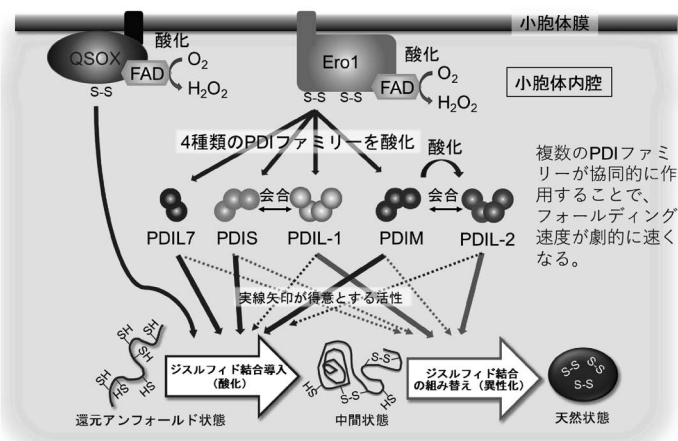


図2 植物小胞体における酸化的フォールディングの分子機構

ルディング反応を実行する酵素であるが、酸化当量を自ら生み出すことはできない。この役目を担うダイズの小胞体膜酵素ER oxidoreductin 1 (Ero1) を同定し、植物で初めてダイズ Ero1 が補酵素FAD を介して酸素分子から酸化力を得て4種類のPDIファミリーの活性中心を酸化することで、酸化的フォールディング反応に酸化当量を供給することを明らかにした。ダイズ Ero1 に酸化されるPDIファミリーのうち3種類は活性中心を2個有しており、各PDIファミリーの活性中心に部位特異的変異を導入する方法でダイズ Ero1 の酸化反応には活性中心に対して特異性があることも明らかにした。また、常態のダイズ Ero1 は活性中心システイン残基が分子内の他の調節性システイン残基とジスルフィド結合を形成することで不活性化されているが、基質である還元型PDIファミリーによって不活性化の原因となっているジスルフィド結合が還元されることで必要に応じて活性化されることを明らかにしている。

従来、複数種類のPDIファミリーが存在する意義は、基質との親和性の違いによってさまざまなタンパク質の酸化的フォールディングに対応することであると考えられてきた。私は、植物のPDIファミリーにはジスルフィド結合の導入(酸化)が得意なグループと組み替え(異性化)が得意なグループがあり、これらが小胞体内で複数の組み合わせで会合していることを見いだした。さらに、会合したPDIファミリー、たとえば酸化が得意なGmPDIMと異性化が得意なGmPDIL-2が分子間および分子内の活性中心間で電子リレーを行うことで協同的かつ効率的に酸化的フォールディングを成し遂げていることを明らかにした。これにより複数種類のPDIが存在する意義は、多様な基質への対応に加え、酸化的フォールディング速度を速めることにあるという新規な説を提案した。

また、PDIファミリーと同様にチオレドキシシンモチーフを有し、且つEro1と同様に酸素から酸化力を得てPDIファミリーを介さずに基質タンパク質に直接ジスルフィド結合を導入する膜タンパク質Quiescin sulfhydryl oxidase (QSOX) を植物で初めて同定した。QSOXはアンフォールドしたタンパク質に特異的にジスルフィド結合を導入するが、ジスルフィド結合を組み替えてフォールディングする能力を欠いている。しかし、異性化が得意なPDIファミリーとの共存下でジスルフィド結合導入をアシストすることで、酸化的フォールディングに寄与していることを明らかにした。

小胞体でフォールディング能力を超えた大量のタンパク質が合成されたり、立体構造形成に障害のある変異タンパク質が合成されると小胞体内にアンフォールドしたタンパク質が蓄積する。これを小胞体ストレスとよび、これにより小胞体のホメオスタシスを維持するためのunfolded protein response (UPR) が惹起される。私は、植物におけるUPR遺伝子のリストを完成させ、5種類のPDIファミリー、Ero1およびQSOXの発現もUPRにより制御されていることを明らかにした。

以上のように、植物小胞体における酸化的フォールディング反応の全容を明らかにするとともに、真核細胞において小胞体に複数のPDIファミリーが存在する生理的意義について新しい概念を提唱した。

4. 種子貯蔵タンパク質の構造と食品機能特性

食品タンパク質は、食品加工のほとんどの場面で分子間相互作用のもとで形成された凝集体として食品機能特性を発揮する。

たとえば、人類が摂取している食料エネルギーの約20%を賄うコムギ種子の胚乳は小麦粉生地としてさまざまな食品に加工され消費されているが、その優れた物性に主に寄与しているのはタンパク質凝集体グルテンである。グルテンは270年前にボローニャ大学のJ. Beccariによって最初に発見されたタンパク質で、グルテンの主要成分の1つであるグリアジンは200年前にG. Taddeiによりアルコール水に溶解するタンパク質として同定された。以来、グリアジンは水には溶解しないと考えられてきたが、私は小麦粉生地から天然構造を維持したまま純水で抽出する方法を開発し純水に高濃度で溶解することを証明した。これにより、水中で変性していないグリアジンの解析が可能となった。そして、X線や中性子を用いた量子ビーム小角散乱解析を食品タンパク質凝集体の実験手法として取り入れ、グリアジンが桿状の比較的大きく広がった分子であり、濃度に依存して分子集合することを明らかにした。また、グルテンのような濃厚な状態では十数ナノメートルの基本凝集体を形成し、これらが集合してメゾスケールの二次凝集体を形成すること、凝集体間の距離は塩などによって大きく変化し、この距離と物性との間に相関関係があることを明らかにした。

ジスルフィド結合と小麦粉生地の加工特性との関係の研究では、コムギの5種類のPDIファミリーを同定し、酵素学的性質を解析し、これらが登熟種子の胚乳でグリアジンの生合成時期と連動して発現し完熟後も残存して小麦粉に持ち込まれ、生地作製時のグルテニンの脱重合化反応を抑制することで生地の抗張力に寄与していることを示した。

また、ダイズ子葉細胞内での β -コングリシニンとグリシニンのタンパク質貯蔵液胞への効率的な輸送に重要な役割を果たすジスルフィド結合依存性の新たな分子会合を見だし、工業的なダイズタンパク質の良好な分離に還元剤の添加が必要とされる理由を解明した。

以上のように、動物および植物の小胞体におけるタンパク質の酸化的フォールディングの分子機構、および小胞体で合成される主要な植物性食品タンパク質の構造と食品機能特性との関係に関する研究を一貫して行ってきた。小胞体におけるタンパク質の酸化的フォールディングは真核細胞に共通の基本的な生命現象であり、さまざまな疾病発症にも関わるため創薬の方向性を示す基盤となることが期待される。また、植物性食品タンパク質の品質管理や高度利用に重要な基盤の研究としても位置付けられ、生化学的手法と分子細胞生物学的手法を食品科学研究と組み合わせて展開させた本成果は農芸化学領域の研究の発展に少なからず貢献するものと考えている。

謝 辞 大阪府立大学大学院での学生時代には、故北岡正三郎先生に研究の基礎をご指導いただきました。北岡正三郎先生に心より感謝いたします。京都大学名誉教授 鬼頭誠先生には京都大学食糧科学研究所の文部技官として採用して頂き、その後研究者へと教え導いていただくとともに、研究以外でも数え切れない事柄でお世話になりました。鬼頭誠先生のご指導ご鞭撻なくして今日の私はあり得ません。ここに鬼頭誠先生に深く感謝申し上げます。また、共同研究者である多数の国内外の先生方、院生、企業研究者に助けられて研究を続けることができました。これらの方々に深謝いたします。

ホップ品質の多角的な解析とその応用



①

サッポロビール株式会社
サッポロビール株式会社
サッポロビール株式会社
サッポロビール株式会社



②

商品・技術イノベーション部
バイオ研究開発部
酒類技術研究所
バイオ研究開発部



③

蛸井 潔
糸賀 裕
岡田 行夫
鯉江 弘一朗



④

はじめに

ホップはアサ科カラハナソウ属の多年生、雌雄異株の作物であり、その雌株の球果がビールの原料として使われる。球果には多量の樹脂成分、精油成分、ポリフェノール等が蓄積されそのままでは食用には適さないが、ビールに使用した場合には爽快な苦味、芳香といった香味上の意義にとどまらず、麦汁煮沸工程において麦芽由来の過剰なたんぱく質を沈殿除去でビールを清澄化する働きもある。また、ビールの苦味成分はその抗菌性による微生物安定性の向上やビールの泡を補強する作用も有している。ビールになくなくてはならないといえるその重要性から「ビールの花」とも呼ばれている。

ホップは農業的には冷涼な地域に適応性が高く、北海道で野生ホップが見出されていたことが、サッポロビール株式会社（以下、サッポロ社）の前身である札幌開拓使麦酒醸造所が設立された理由の一つである。実際、北海道では早くからホップの栽培が行なわれ、当時設立されたホップ研究機関は現在のサッポロ社にも引き継がれている。日本国内においては、品質解析から育種まで自社で行なえる体制を維持している唯一のビールメーカーである。

ホップ研究は農業性や耐病性などの栽培に関わる分野から、苦味成分の元となる樹脂成分に関わる分野、芳香に寄与する香氣成分に関わる分野、さらにはホップに含まれる多様な成分の機能性に関わる分野まで、多岐にわたる研究が盛んに取り組まれている。その中でもサッポロ社はホップの栽培安定性に関わるウイルス研究、新品種の育種、品種判定技術、ホップ特有の成分の生合成機構、ホップ由来成分の香味への影響の解析、などの分野で長年広範囲に取り組んできた（図1）。グローバルに展開するその取り組みを紹介したい。

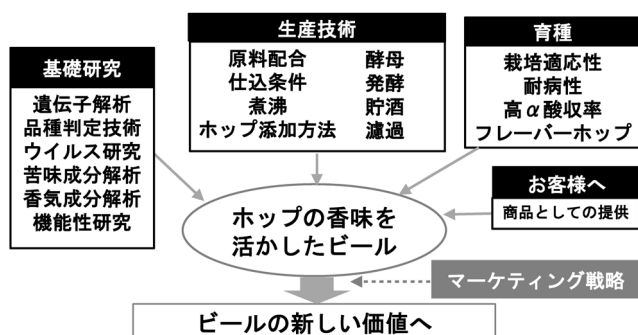


図1. ホップ品質解析と応用の取組み総括図

1. ホップの栽培安定化へのグローバルな貢献

チェコはピルスナータイプのビールの発祥の地であり、現地のファインアロマホップ Saaz は世界的にその高品質が認められている。しかし、1980年代に蔓延したウイルス病により収量、品質の両面で危機に陥った。サッポロ社は原因ウイルスの特定、ホップ茎頂培養によるウイルスフリー化技術を指導し、現地ホップ会社等とともにウイルスフリー苗を生産する V. F. Humulus社を設立し、安定した栽培の回復と品質の向上に寄与した（図2）。

近年もホップのウイルス病に関する研究を継続し¹⁾、ホップの安定生産の基盤技術に貢献している。

さらに、購入する麦芽とホップの生産者とサッポロ社のフィールドマンが直接コミュニケーションをとる独自の「協働契約栽培」は2008年にドイツ連邦栄誉賞金賞を受賞した（「協働契約栽培」はドイツ以外でも実施）。

2. 優良ホップ品種の継続的な育種開発

国内で商業栽培されているホップの大部分は信州早生種だが、これはサッポロ社の前身である大日本麦酒株式会社が北海道で育成していた系統の中から1910年代に長野県での栽培に適応したものを選抜したことからこの品種名となったものである²⁾。サッポロ社ではその後も継続的に品種開発が行なわれており、1980年代に高 α アロマタイプのホップとして開発したソラチエース^{2,3)}は、現在米国や日本で栽培されているが、このホップで醸造したビールの独特の柑橘系の香味が近年注目を集め、徐々に栽培面積を増やし、クラフトビールで世界的に活用されている（図3）。

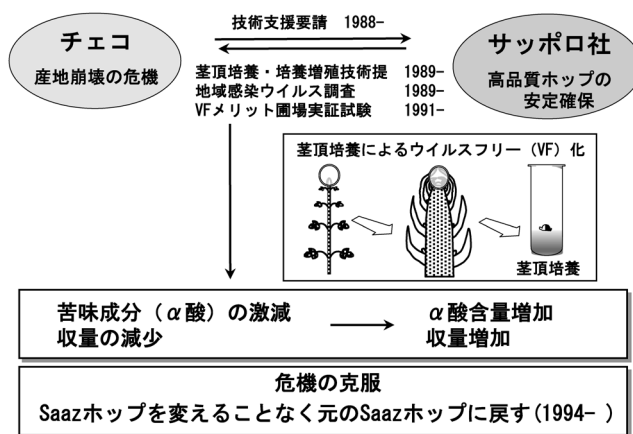


図2. ウイルスフリー化による Saaz ホップの危機克服

GABA の生産技術の確立と 高機能食品の市場開発



① 株式会社ファーマフーズ 生産管理部 堀 江 健 二
 ② 株式会社ファーマフーズ 生産管理部 渡 部 和 哉
 ③ 株式会社ファーマフーズ 営業部 山 津 敦 史
 ④ 株式会社ファーマフーズ 開発部 坂 下 真 耶

はじめに

GABA (gamma-aminobutyric acid) は抑制系の神経伝達物質として哺乳動物の脳や各器官など全身に分布しており¹⁾、ヒト体内において極めて重要な役割を果たしている生体内アミノ酸の一つである。

日本において、GABA は近年まで頭部外傷後遺症に対する脳代謝促進用の医薬品として使用されており²⁾、化学合成法で作られていた³⁾。2001年に厚生労働省による食薬区分の変更がなされ、GABA が一般食品として使用できるようになってからは、天然由来GABA 高含有の発芽玄米やお茶などの食品が注目されるようになった。しかし、一般的に食品で摂取できるGABA 含量は1食あたり数mg程度と摂取量が少なく、高機能な健康食品として普及するには、合成ではなく、天然由来の安全でかつ高純度なGABA 素材の開発と応用技術が望まれていた。そこで我々はGABA が幅広く機能性食品として普及する為に、3つの実用化研究(技術開発)に取り組んだ。(1)食品として安全に食することができる高純度GABA の大量製造技術の研究、(2)GABA 摂取による新規生理機能性の研究、(3)幅広い応用・市場開拓を可能にするアプリケーションの開発研究である。これらの基礎及び応用研究に取り組んだ成果により、GABA を広く人々の健康増進に貢献する素材へと高める事ができた。

1. 食品としての高純度GABA の大量製造技術の研究

我々は様々な発酵食品を調べる中で、伝統的な発酵漬物である“キムチ”にGABA が極めて多く含有する事を見出した。キムチは乳酸菌で発酵する事により作られる食品であるが、キムチ中の乳酸菌のスクリーニングを進める中で、低pH環境下で非常に高いGAD (glutamate decarboxylase) 酵素活性を示し、また高濃度のグルタミン酸塩存在下の条件でも菌が増殖する極めて特殊な乳酸菌を見出した(図1, 2)。本菌について16S rRNA系統解析による菌同定を試みた結果、新種の菌である事が判明、本菌を *Lactobacillus hilgardii* K-3株と命名した(京都府中小企業技術センター共同研究)。本菌は菌の増殖と同時にグルタミン酸をGABA に効率よく変換する特有の性質を併せ持つ事が判明し、これらの特性を生かしGABA の大量生産を試みた。

一方で、大量生産の発酵過程ではpH が急激に上昇し菌の生育を阻害する等多くの解決すべき問題が発生した。これらの問題点を解決するべくpH の連続的コントロール及び発泡抑制、更には食品由来の乳化剤の添加など発酵条件の検討を重ねる事

で飛躍的に高濃度GABA 粉末「ファーマギャバ® (PharmaGABA®)」を作り出す事に成功した。なお本乳酸菌K-3株は、食経験豊富な漬物から発見されたこと、及びGABA 抽出物の毒性試験の結果から食品としての安全は担保されており、結果、本成功により高濃度のGABA を食する事が可能となった。今日では乳酸菌による発酵GABA は広く普及しているが、我々は乳酸菌発酵によるGABA の大量生産と市場開拓をいち早く確立する事ができた。更に現在では、過飽和結晶法を用いた精製工程を設ける事により、純度約99%のGABA 粉末の大量製造方法も確立した。

2. 高濃度GABA 摂取による新規生理機能性の研究

GABA は経口摂取による血圧抑制効果^{4,5)}が知られていたが、その他の機能に関してはほとんど注目されていなかった。我々はGABA が抑制系アミノ酸であることに着目し研究した結果、GABA の経口摂取によるリラックス効果ならびに抗ストレス効果を初めて見出した(日本農芸化学会発表(2002年))。抗ストレス効果の試験は、各種動物試験で有効性を確認した後、その結果を基に人による各種試験を実施した。その一つとして日本一の吊り橋である「谷瀬の吊り橋(奈良県)」(全長300m、高さ54m)を高所恐怖症の被験者が渡る事で負荷したストレスを

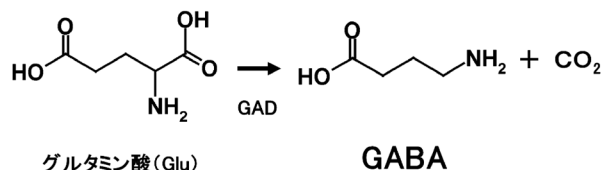


図1 グルタミン酸からGABA への変換

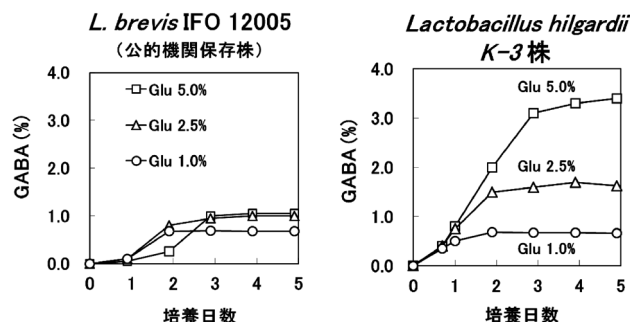


図2. GABA への変換効率

GABA の生産能が比較的高い公的機関保存株に比べK-3株はグルタミン酸からGABA への変換効率が高い

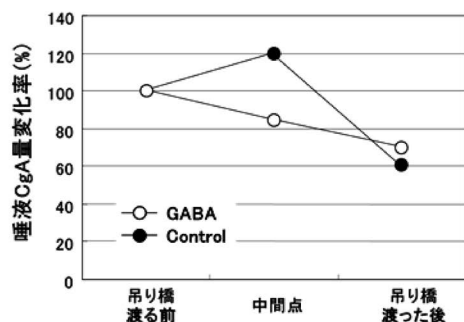


図3. 吊り橋（谷瀬の吊り橋）によるストレス負荷試験

計測するという斬新な試験を2大学（静岡県立大学、京都女子大学）と共同で実施した。ストレスマーカーとしては唾液中のコルチゾール、IgA などに加え、精神的なストレスの指標として唾液クロモグラニン A (CgA) に着目し、その有用性を見出した（図3）。本手法を取り入れる事により、GABA を配合した食品のヒトでの効果を科学的に、かつ身近な方法で検出出来た結果、GABA のリラックス効果や抗ストレス効果は幅広く認知される様になった。

更に、子供や老人のストレスにも着目し、学習塾ならびに老人施設と協力し GABA が受験生や老人の精神的ストレスを緩和する事を検証した。また、抗ストレスなどの機能のみにとどまらず、更なる機能として睡眠効果も見出した。睡眠効果に関しては、脳波計（スリープウェル™）を用いて GABA 摂取による深睡眠（ノンレム睡眠）に与える影響のデータを取得し、睡眠の質改善に与える効果を示した。2015年には GABA の成長ホルモン分泌促進効果に着目し、ホエイプロテインと同時に摂取した際の筋肉への影響についてデータを取得し、国際学会（2016年（米国））で発表を行い GABA の新規機能分野を切り開いた。

3. アプリケーション技術研究と市場の拡大

2006年 GABA 高配合チョコレートの上市をきっかけに、飲料、コーヒー、ヨーグルトなど PharmaGABA® 配合商品が数多く世に出回る事になり、約10年間をかけ GABA プームを作り上げた。配合商品形態による効果検証も大学との共同研究により実証、学会（日本農芸化学会）での発表ならびに特許も取得した。2015年4月からスタートした「機能性表示食品」においては、GABA を配合する事で「精神的ストレスの緩和」を表記した健康食品が日本で初めて受理され、発売する事となった。本件をきっかけに GABA を使用した機能性表示食品の登録件数が急速に増え、現在では当該製品が機能性表示食品全体の約1割以上に当たる 140件（2018年1月23日現在）となって

いる。GABA を用いたヘルスクレームは現在4項目あり、1) 抗ストレス、2) 抗疲労、3) 睡眠改善ならびに 4) 高血圧抑制作用に関して機能性表示食品への届出が可能となった。我々の生理機能研究成果ならびにアプリケーションの研究の成果により、GABA はサプリメントの応用から菓子、飲料、そして米、麺、ハム等広く一般食品へ広がり日本での市場を伸ばしている。

また、GABA は日本国内だけでなく海外市場においても広く展開している。米国では FDA の GRAS (The Generally Recognized as Safe) の認証を取得（2008年）、北米のマーケットリサーチで PharmaGABA® がアミノ酸部門No.1 の売上となった（2012年）。台湾では、PharmaGABA® が初めて台湾政府から食品許認可を受けた（2009年）。中国でも、新資源食品の許認可を受け（2009年）中国初の保健食品（サプリメント）が上市され（2016年）、更に本サプリは中国において2020年オリンピックの公式サプリとなった（2017年）。タイでは、タイ FDA から食品素材としての許認可を取得、PharmaGABA® を配合した食品の販売が開始された（2013年）。以上、我々が開拓した応用技術開発により、海外では大手メーカーの飲料、サプリメント、食品等で広く発売され、大きな新市場を作り上げている。

おわりに

このように、我々が確立した GABA の開発技術や数々のエビデンスデータは、多くの人々の健康増進に大いに貢献している。結果、この20年で国内外の大きな新市場を作り上げ、GABA として年間100t（PharmaGABA®20%製剤換算）となる世界一の出荷量を達成した。

（引用文献）

- 1) Awapara J., Free gamma-aminobutyric acid in brain. J. Biol. Chem., 185, 35 (1950)
- 2) 武田文和, 他 頭部外傷の後遺障害に対するガンマロンの治療効果—二重盲検法による検討—. 薬理と治療, 7(1), 249 (1979)
- 3) J. Tafel and M. Stern, Ber., 16, 643-649 (1900)
- 4) H. Takahashi, M. Tiba, M. Iino and T. Takayasu, The effect of gamma-aminobutyric acid on blood pressure. Jpn. J. Physiol., 5, 334-341 (1955)
- 5) KAC. Elliot and F. Hobbiger, Gamma aminobutyric acid: circulatory and respiratory effects in different species: re-investigation of the anti-strychnine action in mice. J. Physiol., 146, 70-84 (1959)

謝 辞 本賞に支部推薦頂きました日本農芸化学会関西支部・支部役員の先生方に深く感謝致します。また、GABA の機能性研究の推進にあたり、ご助言、ご指導を賜りました元静岡県立大学・横越英彦教授、近畿大学・米谷俊教授、松下記念病院・山根哲郎病院院長ならびに乳酸菌の分離・実用化に関しご協力賜りました元京都府中小企業技術センター・早川潔研究開発課長、京都府中小企業技術センター・上野義栄主任研究員に深く感謝申し上げます。また本技術の基礎、応用研究ならびに国内外の市場開拓にご尽力頂きました株式会社ファーマフーズの関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

地域資源を活かした速醸新魚醬類の 開発と商品化



①



②



③



④

福井県食品加工研究所特別研究員 福井県立大学名誉教授 宇多川 隆①

株式会社室次 代表取締役 白 崎 裕 嗣②

有限会社もりやま 代表取締役社長 森 山 外志夫③

有限会社片口屋 専務取締役 片 口 敏 昭④

はじめに

日本海に面した北陸地方は漁業が盛んで、多くの魚介類の加工工場が存在する。魚の内臓は重量の約20%を占め非食部位として副生し多くは廃棄されている。福井県の伝統的発酵食品として知られるサバの糠漬け「へしこ」の生産においても、最初の工程は内臓を除去することにある。我々は、副生する内臓が良好なタンパク質を含むことに着目し、発酵することによって魚醬を製造することを目的として研究を始め、酵素剤などを使用せずに効率的に生産する方法（速醸法）を開発するに至った。速醸法を利用し、福井、石川、富山において特徴ある魚醬類の生産と商品化を実現した。

速醸発酵魚醬の開発

我々はサバの内臓を原料として、従来の伝統的な魚醬発酵法（高濃度食塩に内臓を漬け込む長時間発酵）で試作したが、塩辛く、臭もあって実用化できなかった。そこで、サバ幽門垂から抽出した蛋白質分解活性を有する粗酵素を用いて検討した結果、雑菌増殖を防ぐために添加される食塩濃度が高くなるに従い、急激に分解活性（魚醬生産活性）が低下することを確認した。一方、加温すると分解活性の著しい向上とともに雑菌の増殖が制御されることを認めた。この知見に基づき魚醬実生産を検討したところ、55℃で雑菌の増殖を制御し、反応を阻害する食塩を添加しないで発酵すると、24時間で長時間発酵して得られる魚醬とほぼ同じ濃度のアミノ酸の生成を認めた。

発酵終了後、荒いメッシュで未分解物を除去したものを“無塩粗魚醬”とし、120℃・20分の加熱処理を行い、分解活性を失活させた。遠心分離操作にて、油分と未分解沈殿物を除去し“無塩サバ魚醬”を得た。15%となるように食塩を添加し、し

ばらく放置して生成する澱を除去して魚醬を得るプロセスを「速醸魚醬発酵法（速醸法）」とした。サバ魚醬は、醤油とは異なるアミノ酸組成を示し、リジンやアルギニン等の塩基性アミノ酸の他、バリン、ロイシン、イソロイシンなどの必須アミノ酸が多く含まれている。アミノ酸のプロファイルは、速醸法も従来法もほとんど変わりはないが、遊離アミノ酸濃度はむしろ速醸法が高くなることを認めた。

速醸発酵の特徴

特徴① 高い設備生産性

発酵速度が早く、小さな発酵槽で大きな生産量の確保が可能である。3つの連携企業はいずれも「ものづくりファンド」に採択され、80-100Lスケールの発酵槽および精製処理設備からなる速醸魚醬製造設備の導入を果たしている。また、発酵速度が速いので、原料評価や条件検討が短期間で可能である。

特徴② 多品種の魚類に展開が可能

サバ以外にブリ、メギス、ニシン、マグロ、タイ、イワシなどは加工副生物を、アユやアジ、アンチョビなどの小魚は魚全体を原料として、それぞれ対応する魚醬を調製した。

サバ魚醬は(株)室次によって「へしこ」等サバ加工工場から出る副生物を原料にして、24時間の発酵で生産し「鯖しょうゆ」として販売している。おでんやラーメンの調味料として利用されている。

ブリ魚醬は富山湾で捕獲されるブリの内臓を原料とし、(有)片口屋によって72時間の発酵で生産し「鰯醬」として販売している。味に深みがあり、2015年のブランド100選に選ばれている。2017年には“明日のとやまブランド”にも選ばれた。

メギス魚醬は石川県七尾のメギス加工工場が副生する内臓等を原料にして、(有)もりやまによって18~24時間の発酵で製造している。当初、静置発酵を試みたが、酪酸、プロピオン酸などの強い不快臭の生成を認めた。これらは嫌気状態で生成する化合物であり、攪拌によって空気を巻き込む工夫をすることによって臭の問題を解決した。

メギス魚醬は、従前より食塩添加・長時間発酵により生産されてきたが、速醸法で



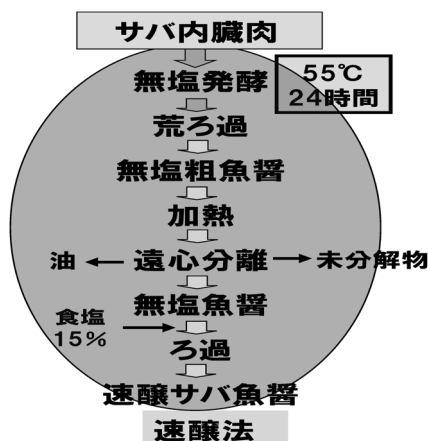
鯖しょうゆ



鰯醬



めぎす魚醬濃口



作られた魚醤のアミノ酸濃度が高く「めぎす魚醤こいくち」として販売するに至っている。

(有)もりやまの関連企業である料亭“いしり亭”では、めぎす魚醤を使った多くの料理メニューを開発し提供している。

越前海岸で古くから身欠きニシンを製造しているタクエツ数馬(株)は、副生する内臓を原料とし、72時間の発酵でニシン魚醤を生産し、平成29年10月に「北前にしん魚醤」として商品化した。

特徴③ 食塩濃度の加減が可能

食塩は、発酵後に添加するので、塩分濃度はニーズに応じて加減することができる。食塩を含まない“無塩魚醤”の生産も可能である。(株)室次では、無塩サバ魚醤に大豆醤油をほぼ1:1でブレンドし塩分濃度を約8.5%とした減塩魚醤を生産し、「旨醬」として生産販売している。脱塩装置を必要としない簡単な設備での減塩魚醤の生産を実現した。「旨醬」には、醤油と魚醤由来のアミノ酸が両者のほぼ平均濃度含まれているだけでなく、サバ由来のタウリンやペプチドも含み、健康志向の方に愛用されている。この「旨醬」を乾燥粉末化した「黄金ソルト」は旨みが強いだけでなく、持ち運び等の利便性に優れており、道の駅などでの人気が高い。

「旨醬」に漬けた魚の「一夜干し」は、醤油漬けの商品と比較して塩分が大幅に低減しており、口当たりが改善されている。本商品は東京ビジネスサミット大賞2013食部門で準賞を受賞した。

特徴④ 臭が少ない

油分除去工程の導入によって油が除かれ、長時間の保存においても油の酸化による不快臭の生成が殆どない。従って、他食材とブレンドすることにより様々な新しい加工食品の調製が可能である。

福井県小浜の(有)タカノではサバ魚醤に米麹を添加し、再発酵することによって旨味を強化した味噌様ペーストを生産し、「鯖こうじ」として販売している。

また、「鰯醤」を使った「鰯醤油仕立てバイ貝入り炊き込みご飯の素」は地域に根ざした商品として成長しつつあり、JR構内の売店でも販売されている。

不快臭の無い粉末サバ魚醤「黄金ソルト」を使った焼菓子メレンゲは「ピュアロッシュ」として販売しており香ばしい風味が感じられて好評である。

特徴⑤ アルコールを含まない

速醸魚醤は発酵が高温で短時間であるために酵母が生育できず、アルコールは全く生成されないの、アルコールを嫌うイスラムの人々向けの調味液として適している。



北前にしん魚醤



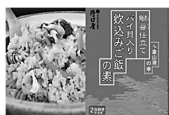
旨醬



黄金ソルト



鯖こうじ



鰯醤油仕立て
バイ貝入り炊き込み
ご飯の素



ピュアロッシュ

(株)室次では、サバ魚醤に大豆分解エキスを添加し、醤油風魚醤「福むらさき」を開発した。本商品はイスラムの食認証「ハラール」を取得している。今後予想されるイスラム圏からの訪問客向けの調味料としての期待が大きい。本品は、中東ドバイに輸出されている。



福むらさき

特徴⑥ 低ヒスタミン

高温短時間発酵ではヒスタミン生成菌の生育はなく、発酵中にヒスタミンの生成は認められない。現在、東南アジアから著量の魚醤が輸入されているが、コーデックス基準(400ppm)を超えるヒスタミンが検出されるものがある。我々は、タイ国カセサート大学(KU)の協力を得て、現地アンチョビを調達し、速醸ナンプラーを試作したが、4日間の発酵で得られた速醸ナンプラー中のヒスタミン濃度は市販品に比べて極めて低かった。検出したヒスタミンは原料由来と考えている。ヒスタミンは食中毒の原因の一つであり、低減することが望まれる。速醸発酵により魚醤の品質改善につながる事が期待される。

特徴⑦ 粗魚醤や魚醤粕は無塩

食塩は魚醤生産工程の後半に添加するため、魚醤生産途中で生成する粗魚醤や魚醤粕には食塩はほとんど含まれていない。従って、塩分を嫌う肥料や飼料原料としての利用が考えられる。我々は、マリーゴールド栽培の肥料として無塩サバ粗魚醤を希釈して施肥し、花付きがよくなることを認めている。今後、植物活性剤としての利用が期待される。

おわりに

古くから伝統的な手法(高濃度食塩添加・長時間発酵)で生産されてきた魚醤を、高温発酵によって雑菌を制御し、食塩無添加によって活性を高めることによって極めて短時間に魚醤を調製する方法(速醸法)を確立した。本法を利用し、地域の企業とともに、地域の魚加工工場副産物を原料として様々な速醸魚醤を開発し商品化してきた。

一方で、伝統的な手法で作られている魚醤も存在し、地方の食文化を形成している。今回開発した速醸魚醤は伝統的な魚醤と拮抗するものではなく、地域の資源を活用した新しい調味液として利用されることが望まれる。

(参考文献)

- 1) 特開2011-182663 鯖速醸魚醤及びその製造法 出願人：福井県立大学
- 2) 特開2013-138654 低食塩(減塩)醤油及びその製造法 出願人：福井県立大学
- 3) 特開2015-116135 ノンアルコール液体調味料の製造方法 出願人：福井バイオテック(株)
- 4) 宇多川 隆「速醸魚醤の開発とその利用」日本醸造協会誌 第107巻 第7号 477-484 (2012) 5)
- 5) 宇多川 隆「古くて新しい調味料「魚醤」」化学と生物 Vol. 52, No. 3. 151-152 (2014)

謝 辞 ご推薦いただきました石川県立大学学長熊谷英彦先生に深謝申し上げます。本研究は福井県地域貢献事業として採択され支援いただきました。また、中小機構北陸からは、開発のための資金補助を、富山県立大学、富山県食品研究所、石川県産業支援センターには、魚醤の利用・物性に関するご指導を頂きました。皆様に厚くお礼申し上げます。

イオンチャネル内蔵型受容体の高選択的リガンド認識と機能調節に関する 生物有機化学研究



近畿大学農学部 伊原 誠

はじめに

イオンチャネル内蔵型受容体は、神経伝達物質受容体としてのみならず環境応答センサーとしても重要な働きをしている。それゆえ、その機能調節機構の理解は基本的生命現象の解明だけでなく、生物制御剤の開発を初めとする応用への可能性を秘めている。このような背景のもと、演者はイオンチャネル内蔵型受容体のリガンド認識と機能制御の解明をめざした研究を展開してきた。講演では、本奨励賞に関わる研究推進に大きく寄与した技術開発研究、タンパク質の新規非変性電気泳動法と昆虫神経細胞に対するパッチクランプ法の確立、そして真菌 TRP チャネルのマルチモーダルな活性化制御の分子機構およびネオニコチノイドの昆虫ニコチン性アセチルコリン受容体に対する高選択的相互作用の分子機構について紹介する。

1. イオンチャネル内蔵型受容体の構造機能相関研究に向けた 技術開発研究 ~FN-PAGEの開発とパッチクランプ条件の確立

構造生物学的アプローチによりイオンチャネルの機能・構造相関研究を行うためには、解析に必要なイオンチャネルの異種発現コンストラクト設計を迅速に進める必要がある。研究開始当時、GFP融合技術と液体クロマトグラフィーを組み合わせた蛍光検出ゲル過クロマトグラフィー (FSEC) が開発され普及し始めていたが、逐次分析のため解析できる試料数に限界があった。そこで、解析のハイスループット化が期待される Native-PAGE法に着目し、その条件を探索した。その結果、スルホコハク酸系陰イオン界面活性剤の一種をチャージキャリアとして用いることで、膜タンパク質の構造を保ちながらも、明瞭な電気泳動バンドを与える条件を見だし FN-PAGE の開発に至った (図1A)。一方で昆虫神経細胞のイオンチャネル内蔵型受容体と各種リガンド間相互作用の分子機構解析には、長時間に渡り安定した測定が必要である。そこで、電気生理学の実験手法であるパッチクランプ測定に使用する電極内溶液組成を精査しリガンド処理により誘起されるイオン電流を長時間にわたり記録可能なパッチクランプ条件を確立した (図1B)。

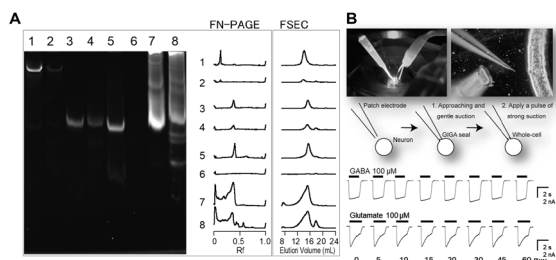


図1. イオンチャネルの構造・機能相関研究に向けて開発した膜タンパク質の迅速な性状解析を可能とする FN-PAGE (A) と長時間に渡り安定なイオン電流記録を可能としたパッチクランプ測定法 (B) (Ihara et al., *Anal. Biochem.* 2014; *Invert. Neurosci.* 2005 より許可を得て転載)。

2. 真菌 Transient receptor potential (TRP) チャネルの マルチモーダルな活性化制御の分子基盤研究

Transient receptor potential (TRP) チャネルは、ヒトや昆虫を含む多くの真核生物において、温度や浸透圧の他、ケミカルリガンドなどの細胞外情報の受容および細胞内情報伝達に関与している。TRP チャネルの興味深い特性として、ひとつのチャネルが異なったメカニズムにより活性化されるというマルチモーダルな制御機構があげられる。しかし、どの様なしくみで TRP チャネルが多様な情報に応答できるのか不明であった。そこで GFP 融合技術を活用して構造生物学的研究に適用可能な真菌 TRP チャネルを探索し、赤カビ病菌 (*Gibberella zeae*) から [1] 浸透圧変化, [2] 温度上昇, [3] H_2O_2 による酸化ストレス, [4] 細胞質 Ca^{2+} および [5] 膜電位の変化を感知してチャネルを開く TRP チャネル (TRPGz) を見いだした (図2)。

TRPGz が様々な外部刺激に対して応答できる機能制御には、細胞内ドメイン (CTD) が関与すると推測し、その構造特性を分析超遠心法や NMR により解析した。その結果、CTD は単量体・二量体・四量体の平衡状態にあり、浸透圧や温度刺激によるイオンチャネルの開閉には CTD の会合が重要な役割を果たす一方で、 Ca^{2+} や膜電位変化に対する応答には CTD が関与しないことが明らかになった。つぎに、CTD の多量体化が生じる機構と CTD に動的な構造変化が伴う理由についてさらに検討したところ、CTD に存在する、強いねじれをもつヘリックスバンドル構造が関与することが明らかになった。さらに、TRPGz のカルボニル末端近傍に存在する塩基性アミノ酸クラスターの機能を調べたところ、当該塩基性アミノ酸クラスターがイノシトールリン脂質 (PIPs) に対する親和性を示すとともに、それらは浸透圧や温度変化に伴う液胞膜上の TRPGz チャネルの開閉抑制に関与することを見出した。

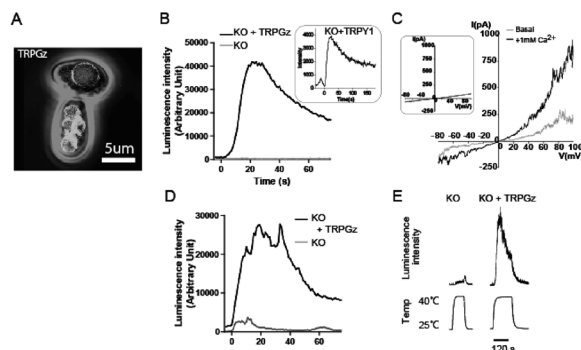


図2. 赤カビ病菌 TRP チャネル (TRPGz) の特徴: TRPGz は出芽酵母に発現させると液胞膜上に局在し (A); 浸透圧 (B); 膜電位変化 (C); 酸化ストレス (D) および温度上昇 (E) に応答するマルチモーダルな活性化機構を有する (Ihara et al., *JBC* 2013 より許可を得て転載)。

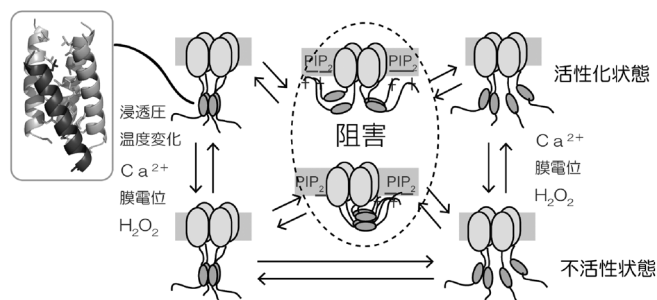


図3. TRPGzのマルチモーダルな制御の分子構造基盤

これらの研究を通じて、浸透圧や温度変化により TRPGz が液胞からのカルシウムイオンの放出を連鎖的に引き起こして細胞内シグナルカスケードのスイッチを入れる一方、カルシウムイオン濃度の上昇により誘起される液胞膜中の PIP₂ 濃度上昇を検知してチャネル機能が制御されること、そして本 TRP チャネルが離合集散可能な弱い相互作用で会合する CTD を有することで、浸透圧や膜電位、イノシトールリン脂質など様々な形態の刺激によって制御されるというマルチモーダルな機能制御を可能にしていることを構造生物・生理学的に明らかにした (図3)。

3. 昆虫制御物質の活性発現と選択性の分子機構の解明

多くの動物に共通する神経シナプス伝達のうち、昆虫の神経伝達機構を選択的に制御・調節することは、安全性に優れた昆虫制御剤を開発するうえで重要である。そこで、昆虫のイオンチャネル内蔵型受容体に作用する昆虫制御剤、特にネオニコチノイド系生物制御剤の活性発現と昆虫のニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) に対する選択的結合機構の解明に取り組んだ。まず、電気生理学的手法パッチクランプ法と二電極膜電位固定法を用いた解析によって、化学構造の類似性が高いネオニコチノイドであっても、化合物間において分子標的である nAChR に対する相互作用に顕著な違いがあること、すなわち化合物によってアンタゴニストとして作用する場合からアセチルコリン以上の応答を誘起するスーパーアゴニストとして作用する場合までバラエティに富むことを見出した。

次に、その分子機構をより詳細に明らかにするために、ヨーロッパモノアラガイ由来で nAChR のアゴニスト結合ドメインに相同な構造をもつタンパク質、アセチルコリン結合タンパク質 (AChBP) とネオニコチノイドとがつくる複合体結晶の X 線結晶構造を明らかにした。そして、その立体構造に基づいて、nAChR の non- α サブユニットの loop D 領域にて広く保存されている塩基性アミノ酸との相互作用 (図4A) によってネオニコチノイドが昆虫の nAChR に対する選択性を示すと提唱するとともに、昆虫の nAChR サブユニットタンパク質で見られた一アミノ酸多型がネオニコチノイドのアゴニスト活性に顕著に影響を及ぼすことを発見しその分子機構を明らかにした。さらに、Loop D に塩基性アミノ酸導入した変異型 AChBP とネオニコチノイド複合体結晶の X 線結晶構造を解析することにより結晶構造中でネオニコチノイドが loop G 領域の塩基性アミノ酸とも相互作用することを見いだした。この発見から、昆虫の nAChR では、 α サブユニット同士が隣接した受容体が形成されること (図4B)、そして昆虫の nAChR α サブユニットでは、Loop D-E-G 領域のアミノ酸残基が協調して、ネオニコチノイドの昆虫 nAChR に対する選択性をいっそう高めていることを見

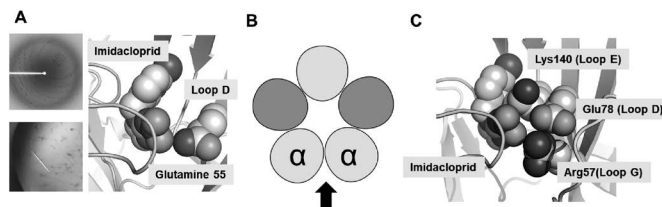


図4. ネオニコチノイドの昆虫 nAChR に対する選択毒性と多様な生理活性発現の分子機構

(A) ヨーロッパモノアラガイ由来 AChBP とイミダグロプリド複合体結晶および X 線結晶構造 (B) 昆虫の nAChR は α サブユニット同士が隣接することで形成されるアゴニスト結合部位にネオニコチノイド高親和性結合部位が形成される (C) 昆虫の nAChR における α - α サブユニット同士の境界に、Loop D-E-G のアミノ酸残基からなるネオニコチノイドとの相互作用に有利な構造が形成される。

いだした (図4C)。

また本研究で得られた知見は、同受容体を標的とする生物制御剤開発のみならず、将来発生する可能性のある薬剤耐性昆虫の予測とその対策への知見として活用できると期待される。

おわりに

以上の研究成果は、真菌や昆虫の生体機能の高選択的的化学調節機構における基盤概念を提供し、基本的生命現象の理解を深めることに貢献したことから、広範な応用研究へと発展する可能性を秘めている。今後もイオンチャネルの動作原理の解明をすすめていくとともに、イオンチャネルが関与する生命現象を追求し、環境に調和した生物制御剤の開発を見据えた農芸化学研究に貢献していきたい。

謝 辞 本研究は、近畿大学農学部、理化学研究所放射光科学総合研究センター・構造生理学研究グループ・分子シグナリング研究チームおよび岡山大学大学院医歯薬学総合研究科にて行われたものです。本研究を行う機会を与えていただくとともに、公私にわたり懇切な御指導、御支援を賜りました近畿大学農学部 松田一彦先生、岡山大学大学院 山下敦子先生に心より御礼申し上げます。University College London の David B. Sattelle 先生には、昆虫制御物質の活性発現と選択性の分子機構解析に関する研究で多くの助言をいただきました。深く感謝いたします。X 線結晶構造解析を研究に取り入れるにあたり、大阪大学産業科学研究所 岡島俊英先生に御指導・御助言を賜りました。深く御礼申し上げます。NMR 解析は名古屋大学構造生物学センター 甲斐正恒先生、宮ノ入洋平先生および武田光広先生との共同研究によって、酵母液胞膜を使用したパッチクランプ実験は東北大学大学院 魚住信之先生、浜本晋先生および東京電機大学 矢部勇先生との共同研究によって行われました。快く研究にご協力していただき深く感謝いたします。ノースウェスタン大学 檜橋敏夫先生、理化学研究所 小田俊郎博士 (現東海学院大学) には、それぞれ昆虫の神経細胞を用いたパッチクランプ実験と分析超遠心解析で御助言・御指導をいただきました。厚く御礼申し上げます。また、様々な面からご支援いただいた、近畿大学、理化学研究所、岡山大学の研究室的スタッフ、学生および研究支援者の方々に深く感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会関西支部長の河田照雄先生に厚く御礼を申し上げます。



北海道大学大学院工学研究院 小笠原 泰志

ペプチドの構造に多様性を与える新規酵素の探索

はじめに

アミノ酸の重合体であるペプチドは、生命活動におけるシグナル分子や抗生物質、毒などとして様々な役割を担っている。天然物として単離されるペプチドは修飾されたものが多く、その骨格に非タンパク質性アミノ酸やD-アミノ酸を含有するもの、N-メチル化や環状化されたものなどが存在する。一般に修飾されたペプチドは高い生理活性も有すると同時に、高い生体内安定性（ペプチダーゼ耐性）も持つことが知られている。本研究ではペプチドに構造多様性を付与するペプチド修飾酵素について解析し、いくつかの新規酵素を見出した。

1. 新規ペプチドライゲースの相同遺伝子の機能解析

これまで当研究室では、放線菌が生産するペプチド系抗生物質であるフェガノマイシンの生合成に関与する新規ペプチドライゲース（PGM1）を見出している（図1A）。本酵素はアミノフェニルグリシン誘導体のカルボキシル基をATPの存在下でリン酸無水物へと活性化させ、ここにリボソームによって合成されたオリゴペプチドのN末端が求核攻撃することでアミド結合形成反応を触媒する。これはATP-grasp型のアミド結合形成酵素の中で、ペプチドを求核剤として用いる初めての例である。本酵素は求核剤基質の認識が非常に緩く、様々なペプチドを受容可能であったことから、ペプチドのN末端を非タンパク質性アミノ酸で修飾する酵素として応用面でも興味が持たれた。ペプチドライゲースの多様性や一般性を明らかにするため、PGM1相同遺伝子の機能解析を行った。

初めに、フェガノマイシンと構造が類似しているレゾルシノマイシンの生合成に注目した。この場合、アミド結合はアミノフェニルグリシン誘導体とグリシンとの間で起こることが予想される。実際に生産菌のゲノム解析を行ったところ、その生合成遺伝子クラスターにはPGM1相同遺伝子（*res5*）が含まれ

ていた。また、Res5がレゾルシノマイシンの生合成におけるアミド結合形成に関与していることを、クラスターの異種宿主発現および遺伝子破壊実験により証明した（図1B）。

続いて、PGM1の相同遺伝子をゲノムデータベースに探索した結果、一部の放線菌に見出すことができ、それらは何れも固有な遺伝子群とクラスターをなしていた。この中で3つの放線菌、*Micromonospora* sp., *Salinispora tropica*, および *Streptomyces mobaraensis* に見出された遺伝子クラスターは互いに類似しており、6つの遺伝子をすべて共通に含んでいた。このような遺伝子構成のクラスターはこれまで知られておらず、その代謝産物は新規な骨格を持つことが期待された。そこで、それら推定生合成遺伝子クラスターを各々異種宿主である *Streptomyces lividans* で発現し、培養液を分析した結果、何れにおいても特異的な代謝産物が検出された。また構造解析の結果、それらはすべて新規化合物（ケトメシシンと命名した）であることが分かった。図2には2つの構造のみ示すが、ケトメシシン類はいずれも通常のペプチド結合がカルボニルメチレン構造に置き換わったシュードジペプチド構造を有しており、そのN末にアミノアミノ酸がアミド結合したシュードトリペプチドである。

その生合成について検討した結果、PGM1の相同酵素であるKtmDはケトメシシン生合成の最終段階でアミド結合形成反応を触媒する（シュード）ジペプチドライゲースであることが明らかにした（図1C）。これはC末基質に（シュード）ジペプチドを認識する初の例であり、先のアミノ酸を求核剤とするRes5と合わせて、ペプチドライゲースの多様性を示す重要な知見である。また、N末基質のアミノ-L-アルギニンについては2分子のL-アルギニンからアミノ基転移酵素（KtmE）によって生成されることも *in vitro* で確認した。

2. カルボニルメチレン型シュードジペプチドの生合成

ケトメシシン類のシュードジペプチドにみられるカルボニルメチレン構造は、アミドの生物学的等価体である。これまで、カルボニルメチレン構造を持つシュードペプチド天然物はペプチダーゼ阻害剤として単離されたアルファメニン類にのみが知

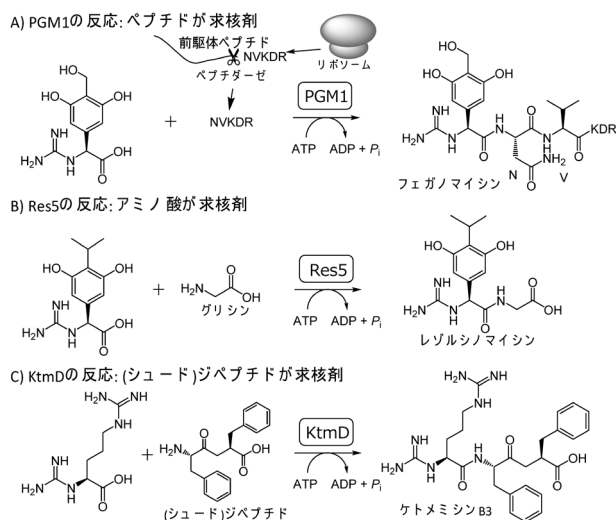
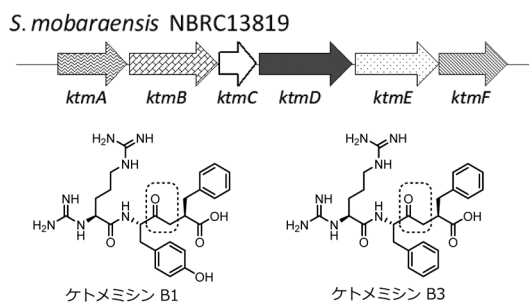


図1. ペプチドライゲースおよびその相同酵素の反応

図2. *S. mobaraensis*由来の生合成遺伝子クラスターおよびケトメシシンの構造

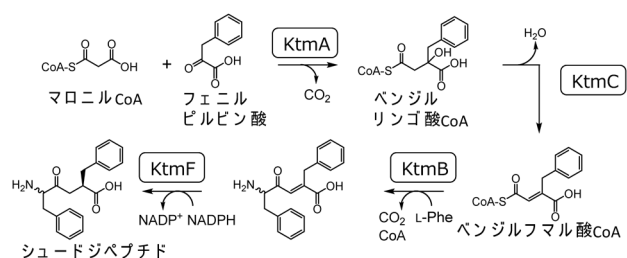


図3. シュードジペプチド部の生合成経路

られているが、このシュードジペプチド構造は合成品ではヒトライノウイルス C3 プロテアーゼ阻害剤であるルピントリビルの部分構造として用いられるなど重要である。これまでその生合成の報告はないことから解明を行った。遺伝子クラスターの6つの遺伝子の内、残りの4つの遺伝子が生合成に関与すると予想されたため、各反応を組換え酵素を用いて検証した(図3)。初発反応を担うと考えたアルドラーゼ(KtmA)はクエン酸の分解に関わるクエン酸リアーゼと相同性を有しており、当初アセチル CoA とフェニルピルビン酸からベンジルリンゴ酸 CoA が生成すると予想し酵素反応を行ったが反応は進行しなかった。しかし、アセチル CoA の代わりにマロニル CoA を用いた場合には反応が脱炭酸を伴って進行し、ベンジルリンゴ酸 CoA の生成が確認できた。続いて、脱水酵素(KtmC)をアルドラーゼ生成物と反応させたところ、ベンジルフマル酸 CoA へと変換された。さらに PLP 依存酵素である α -オキソアミン合成酵素(KtmB)が2回目の炭素-炭素結合形成を触媒し、最後に二重結合が還元酵素の KtmF により還元されシュードジペプチドが生成することを明らかにした。本経路では炭素-炭素結合形成を行う2つの酵素がシュードジペプチドの構成アミノ酸を決定しており、KtmA が C 末基質、KtmB が N 末アミノ酸基質の認識と選択に重要である。

3. 新規ペプチドグリカン生合成経路の解明

細菌の細胞壁の成分であるペプチドグリカンは、*N*-アセチルグルコサミン(GlcNAc)と*N*-アセチルムラミン酸(MurNAc)の繰り返し構造を持つ糖鎖にオリゴペプチドが結合し、さらにペプチド鎖同士がクロスリンクした網目構造をしている。その生合成中間体である UDP-MurNAc-ペンタペプチドは UDP-MurNAc のカルボキシル基に L-Ala, D-Glu, *meso*-ジアミノピメリン酸, D-Ala-D-Ala が順次アミド結合することで形成される。本経路において、D-Glu はグルタミン酸ラセマーゼまたは D-アミノ酸アミノ基転移酵素によって生成される。しかし、植物病原菌の *Xanthomonas* 属細菌のゲノムには、UDP-MurNAc-ペンタペプチドを形成する遺伝子群のうち、D-Glu を供給する遺伝子のみが一切見いだせなかった。この事実は *Xanthomonas* において未知の D-Glu 供給系が存在することを示している。そこで、グルタミン酸ラセマーゼ欠損に由来する D-Glu 要求性大腸菌を用いて、D-Glu 要求性を相補する遺伝子断片を *Xanthomonas* ゲノムからショットガンクローニングで取得し、最終的に XOO_1319 及び XOO_1320 の2つが相補に必要であることが分かった。XOO_1319 は既知タンパク質との相同性は見られなかったものの XOO_1320 は既存の MurD と相同性を有していたことから、当初 XOO_1319 がグルタミン酸ラセマーゼと予想し、組換え酵素を用いて *in vitro* アッセイを行ったが活性を確認できなかった。しかし、UDP-MurNAc-L-

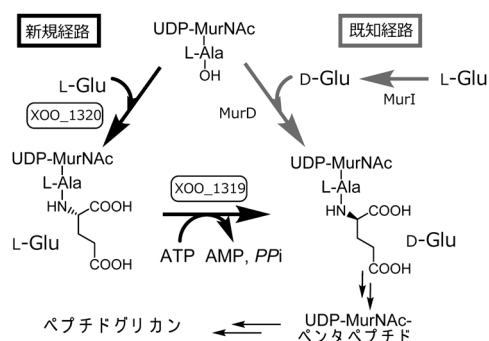


図4. 新規ペプチドグリカン生合成経路と XOO_1319 が触媒するペプチド異性化反応

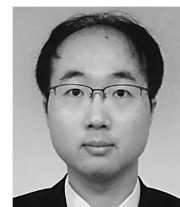
Ala と L-Glu に2つの酵素を共に添加した場合には UDP-MurNAc-L-Ala-D-Glu の生成が確認できた。これを足掛かりに組換え酵素を用いた解析を行い、XOO_1320 が UDP-MurNAc-L-Ala に L-Glu を結合する酵素であり、続いて XOO_1319 が UDP-MurNAc-L-Ala-L-Glu の末端のグルタミン酸を異性化し UDP-MurNAc-L-Ala-D-Glu を生成することを明らかにした(図4)。XOO_1319 は、既知酵素と全く相同性がなく、特徴的なモチーフ配列や補酵素結合領域も持たない。また、反応の補基質に ATP を用い AMP を副生するが、この点でも既知酵素とは明確に異なり興味深い。XOO_1319 はペプチド鎖上のアミノ酸の立体反転酵素としての応用が期待できる。

おわりに

微生物の二次代謝経路は新規な反応を触媒する酵素の宝庫である。本研究ではペプチド天然物の構造多様性に注目し、これまでの知見では説明できない3つの新規ペプチド修飾反応を明らかにした。これら結果は、自然が生み出したペプチド修飾酵素の多様性を示す点で興味深いだけでなく、遺伝子改変による非天然型の新規ペプチド化合物生産のための基盤としても重要である。今後も、ゲノムマイニングや有機化学的な手法を駆使した新規酵素の探索や生合成の解明、新規化合物の探索研究に取り組んでいきたいと考えている。

謝 辞 本研究は、北海道大学大学院工学研究院・応用生物化学研究室で行われたものです。研究の機会を与えていただき、研究を進めるにあたって終始ご指導ご鞭撻を賜りました北海道大学教授・大利徹先生に心より感謝申し上げます。また、天然物化学の基礎からご指導頂きました東京工業大学教授・(故)柿沼勝己先生、同大教授・江口正先生、ポスドク研究でご指導頂きました米国テキサス大学オースティン校教授・Hung-wen (Ben) Liu 先生に深く御礼申し上げます。日頃からご助言と激励をいただきました北海道大学教授・及川英秋先生、同大助教・佐藤康治先生、福井県立大学教授・濱野吉十先生、東京工業大学准教授・工藤史貴先生、広島大学准教授・荒川賢治先生に深謝いたします。また、本研究の遂行にあたり北海道大学・福士江里先生、東京大学・降旗一夫先生、所属研究室の学生など多くの方々にご助力を頂きました。ここにすべての方のお名前を挙げることはできず残念ですが、皆様に深く感謝申し上げます。最後に、本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会北海道支部長・福島道広先生ならびにご支援賜りました諸先生方に厚く御礼申し上げます。

藻類での有用脂質生産と脂質蓄積制御因子の同定



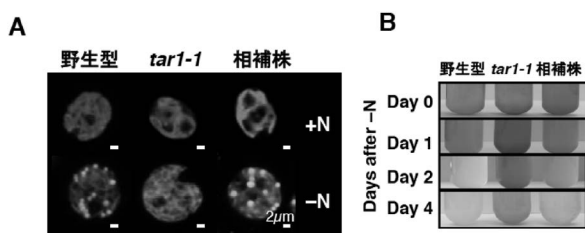
京都大学大学院生命科学研究科 梶 川 昌 孝

はじめに

多くの藻類は窒素欠乏に応答して脂質・デンプンを高蓄積するが、栄養欠乏は藻類の生育を停止させる。良好な生育と高い生産性を両立させるために脂質・デンプン蓄積の分子機構を理解し制御する必要がある。しかし脂質・デンプン蓄積誘導の分子機構の全体像の解明には至っていない。筆者はモデル緑藻のクラミドモナスを用いて脂質蓄積異常変異体の探索と原因遺伝子の解析によりその分子機構の解明を進めた。また藻類はその高い光合成能や増殖能を活用した有用物質生産の場としても注目されている。そこで脂質蓄積制御因子の研究と並行し、藻類での代謝工学による有用物質生産の可能性を探るため、実用珪藻ツノケイソウを用いた有用脂肪酸リシノール酸の生産、ならびにクラミドモナスのスクアレノ酸合成経路の改変を行った。以下に各研究の概略を記す。

1. 緑藻の窒素欠乏時の脂質蓄積制御因子 *TAR1* の解析

緑藻クラミドモナスの脂質蓄積異常変異体を解析し、栄養欠乏応答の鍵となる制御因子 *TAR1* を見出した (図1)¹⁾。 *TAR1* 遺伝子は DYRK ファミリーの Yak1 サブファミリーに属するタンパク質リン酸化酵素をコードしており、光混合栄養条件において窒素や硫黄の欠乏に応答してクロロフィル分解と光合成活性を低下させ、培地中の酢酸からの脂質の生合成と蓄積を正に制御する因子であった。Yak1 サブファミリーは植物・藻類・菌類に広く保存されているが、実験開始当時、酵母Yak1以外の機能は不明であった。次世代シーケンスを用いたRNAseqによる網羅的遺伝子発現解析から、葉緑体タンパク質の品質管理に関わる *VIPPI* 遺伝子やクロロフィル生合成に関与する複数の遺伝子発現が変異体で上昇していることが示された。これは藻類の栄養欠乏応答と遺伝子発現制御にタンパク質リン酸化酵素が重要な役割を担うことを示した最初の事例であるとともに、他の藻類においても *TAR1* オーソログ遺伝子が脂質蓄積量を増大するための育種ターゲットとなる可能性を示唆する。

図1. クラミドモナスの脂質蓄積異常変異体 *tar1-1* 株

A. 光混合栄養・窒素欠乏 (-N) 条件で2日間、*tar1-1* 変異体、野生株、相補株を培養し、BODIPYで油滴を染色した。*tar1-1* 変異体はTAGを蓄積できず油滴が発達しない一方、野生型および相補株ではTAGを含む油滴が発達した。B. *tar1-1* 変異体のステイグリン表現型。

2. 分子育種による藻類をプラットフォームとした有用脂質生産

2-1. ツノケイソウでのリシノール酸生産

水酸化脂肪酸のリシノール酸は鎮痛剤や抗炎症剤といった医薬品や携帯電話等に使われる機能性プラスチック、ならびに自動車エンジンの潤滑油の原料として利用されている。現在、リシノール酸はトウモロコシの種子油から精製されているが、原料のトウモロコシの種子は毒性物質をもつ点、海外からの種子の供給量が低下していること等の問題があり、他生物を用いた代替生産方法の確立が求められている。リシノール酸の代替生産を行う候補としてツノケイソウに着目した。ツノケイソウは牡蠣やウニの養殖で餌として利用されており中性脂質を高蓄積する性質をもつ (図2A)。筆者らの共同研究グループにより、高効率な外来遺伝子の導入が可能となった。そこで、麦角菌由来のリシノール酸合成酵素 (脂肪酸水酸化酵素) 遺伝子 *CpFAH* を導入した形質転換体を作成し、ツノケイソウでのリシノール酸生産を試みた²⁾。 *CpFAH* 発現株の中で最もリシノール酸を生産した *Cp4* 株を用いて、生育可能な15℃から25℃までの範囲で蓄積量が最大となる温度を調べた結果、最も低温の15℃で培養7日目に細胞あたり2.2 pg蓄積した (図2B)。これは全ての脂質を構成する脂肪酸の8.8%に相当する。リシノール酸は内在性の脂肪酸であるオレイン酸 (炭素鎖18) から生合成されるが、ツノケイソウの脂質はオレイン酸よりも鎖長の短いパルミチン酸 (炭素鎖16) をより多く含む。そこでパルミチン酸を炭素鎖18の脂肪酸に変換してオレイン酸の供給量を増やすために、糸状菌由来のパルミチン酸特異的な鎖長延長酵素遺伝子 *MALCE1* を *Cp4* 株に導入した。その結果、リシノール酸の含有量は1.5倍多くなり細胞あたり3.3 pg、全脂質の12%にまで増加した。一方パルミチン酸は60%減少し、脂肪酸代謝のフラックスを変えることに成功した。 *Cp4* 株はどの生育温度においても野生型と同様に生育する。一方、酵母に *CpFAH* を発現させた先行研究では細胞内のリシノール酸は細胞増殖を顕著に阻害し、分子内の水酸基に細胞毒性があることが示唆された。ツノケイソウではこの毒性を回避する仕組みがあると思われ、

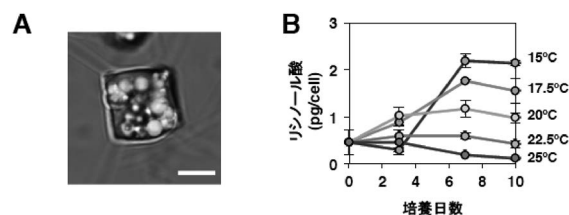


図2. リシノール酸を蓄積するツノケイソウ株の作出

A. 培養7日目のリシノール酸生産株 *Cp4* の細胞観察像。BODIPYで油滴を染色した。バーは5 μm。
B. *Cp4* 株における温度依存的なリシノール酸の蓄積。15℃で最も多くのリシノール酸を蓄積した。

Cp4株のリシノール酸を含む脂質の構造を決定した結果、細胞内のリシノール酸の約70%が分子内の水酸基に他の脂肪酸が新たに1分子結合したエストライド構造をもつ脂質(図3)として蓄積することが判明した。また培地中にリシノール酸メチルを添加して野生型ツノケイソウを生育させた場合にも、細胞内に取り込まれたリシノール酸は速やかにエストライドに変換されて蓄積することがわかった。以上の結果からツノケイソウは水酸基を持つリシノール酸をエストライドに変換する仕組みを持ち、分子内の水酸基を他の脂肪酸でマスクすることで細胞毒性を回避していることが示唆された。

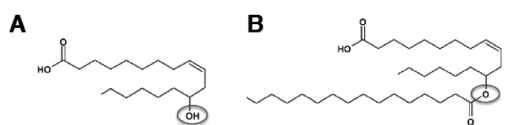


図3. リシノール酸とエストライド
リシノール酸(A)の水酸基に他の脂肪酸のカルボキシル基がエステル結合することでエストライド(B)となる。

2.2. クラミドモナスでのスクアレン代謝経路の改変

スクアレンは化粧品や医薬品原料となるがサメ肝油を主な原料として供給されており、持続的な代替供給源の創出が課題である。そこで藻類でのスクアレン生産に向けて、スクアレン量の増大に寄与する可能性のある遺伝子を、クラミドモナスでのスクアレン代謝経路の改変により検証した³⁾。スクアレンはクラミドモナスにおいてステロール生合成の中間生成物であるため細胞内に蓄積しない。そこでクラミドモナスのスクアレン蓄積量を増大させるために、スクアレンを2,3-オキシドスクアレンに変換するスクアレンエポキシダーゼ *CrSQE* 遺伝子の発現抑制体を作出したところ、細胞乾燥重量 (mg) あたり 1.1 μg のスクアレンが蓄積した(図4)。またエルゴステロールを生育に要求する酵母のスクアレンエポキシダーゼ遺伝子変異体に、*CrSQE* 遺伝子をヘテロ発現させるとその表現型を回復したことから、*CrSQE* が機能的なスクアレンエポキシダーゼをコードすることが示された。一方で、スクアレン合成を担うスクアレンシンターゼ *CrSQS* 遺伝子についても、組換え *CrSQS* タンパク質がスクアレン合成酵素活性を有することを確認した上で、過剰発現するクラミドモナス形質転換体を作出したが、スクアレン量の増大は見られなかった。さらに *CrSQE* 発現抑制と *CrSQS* 過剰発現を同時に起こす形質転換体を構築したが、スクアレン蓄積量は *CrSQE* 発現抑制体における蓄積量と変わらなかった。以上の結果から、少なくとも *CrSQE* 遺伝子は藻類にスクアレンを高蓄積させるための育種ターゲットになりうると思われる。

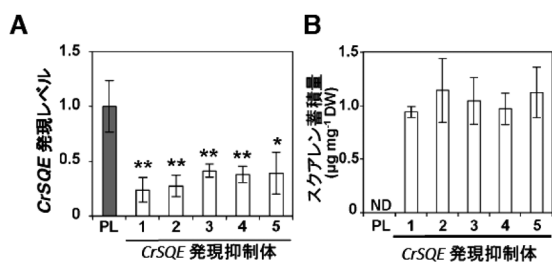


図4. スクアレン蓄積量が増大した *CrSQE* 発現抑制体
5株の *CrSQE* 発現抑制体の *CrSQE* 遺伝子の発現レベル(A)と細胞乾燥重量あたりのスクアレン蓄積量(B)。PL: 形質転換に用いた親株。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

おわりに

本研究により、藻類の栄養欠乏下での光合成活性と代謝変動にタンパク質リン酸化酵素が重要な働きをすることが明らかになった。現在、TAR1によってリン酸化制御を受けることが予想される新奇因子について変異体解析に基づく機能解析を進めており、TAR1を起点としたタンパク質リン酸化の制御機構の全容解明につながると期待される。またツノケイソウのリシノール酸生産株の解析から、ツノケイソウがリシノール酸をエストライドTAGへ変換する代謝経路を持つことを明らかにした。この変換反応を担う酵素を同定できれば、ツノケイソウでの生産性の強化に加えて、酵母など他の微生物でのRAの細胞毒性を回避したエストライドTAGの生産につながると期待される。今後も藻類の栄養欠乏への応答機構と藻類での有用物質生産という基礎と応用の両面に貢献する研究を進めていきたい。

(引用文献)

- 1) M. Kajikawa, Y. Sawaragi, H. Shinkawa, T. Yamano, A. Ando, M. Kato, M. Hirono, N. Sato & H. Fukuzawa: *Plant Physiol.*, **168**, 752-764 (2015)
- 2) M. Kajikawa, T. Abe, K. Ifuku, K. Furutani, D. Yan, T. Okuda, A. Ando, S. Kishino, J. Ogawa & H. Fukuzawa: *Sci. Rep.*, **6**, 36809 (2016)
- 3) M. Kajikawa, S. Kinohira, A. Ando, M. Shimoyama, M. Kato & H. Fukuzawa: *PLoS ONE*, **10**(3), e0120446 (2015)

謝 辞 本研究は、京都大学大学院生命科学研究科微生物細胞機構学分野において実施されたものです。この研究の機会を与えていただくとともに、日々ご指導、ご支援を賜りました福澤秀哉教授に心より御礼申し上げます。京都大学大学院農学研究科教授・小川順先生、お茶の水女子大学基幹研究院教授・加藤美砂子先生、京都大学大学院生命科学研究科助教・伊福健太郎先生、東京大学大学院総合文化研究科教授・佐藤直樹先生、法政大学生命科学部教授・廣野雅文先生との共同研究によって本課題が推進されましたことに御礼申し上げます。また本研究を支えてくださいました研究室のスタッフならびに共に研究を行ってきた在学生の皆様、修了生の皆様に感謝いたします。大学院在籍時よりご指導、多くの助言を賜りました京都大学名誉教授・故大山莞爾先生ならびに京都大学大学院生命科学研究科教授・河内孝之先生に感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦いただきました日本農芸化学会関西支部長・河田照雄先生(京都大学大学院農学研究科教授)ならびにご支援くださいました先生方に厚く御礼申し上げます。



放線菌のもつ多様な二次代謝産物生合成機構の解析

東京大学大学院農学生命科学研究科 勝 山 陽 平

はじめに

放線菌は実に多様な構造を持つ二次代謝産物を生産する。抗生物質であるバンコマイシン、免疫抑制剤であるタクロリムス、抗がん剤であるドキソルビシンに代表されるように、その多くは有用な生理活性を示すことから、放線菌の生産する二次代謝産物は古くから有用な医薬品資源であった。このような放線菌の物質生産能力は、進化の過程で多様な化学反応を触媒する酵素を放線菌が獲得してきたことを示している。今回、放線菌の持つ二次代謝産物生産能力を理解するために、私たちの研究室で取り組んできた最近の研究を紹介する。

1. 非リボソームペプチドの生合成機構の解析

非リボソームペプチドはリボソームではなく、非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) と呼ばれる酵素群により生産されるペプチドの総称である。NRPSは複数のドメインからなる巨大なタンパク質である。リボソームにおけるペプチド合成系とは異なり、多くの非タンパク質性アミノ酸を基質として利用することができ、実に多様な構造のペプチドを合成することができる。非リボソームペプチドの生合成機構を理解する上では非タンパク質性アミノ酸がどのように生合成されるか解析するとともに、NRPS本体の触媒機構を知ることが重要である。

Methylproline残基を持つ griselimycin, α -methyl-L-serine残基を持つ JBIR-34, -35, nitrotyrosine残基を持つ rufomycin の生合成機構を解析した。それにより、これらの持つ非タンパク質性アミノ酸の生合成機構を明らかにした (図1)。Methylproline は leucine の水酸化から始まる経路により生合成されることが明らかとなった。 α -methyl-L-serine は serine のメチル化ではなく D-alanine のヒドロキシメチル化を触媒する酵素 FmoH により生合成される。また、nitrotyrosine は NO を利用して tyrosine のニトロ化を触媒する cytochrome P450 により合成されることを示した。

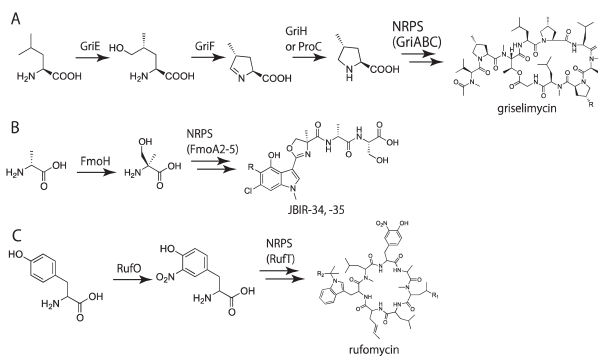


図1. 新たに明らかとなった非リボソームペプチドの生合成経路。A, griselimycin におけるメチルプロリン生合成経路。B, JBIR-34, -35 の生合成経路における α -methyl-L-serine 生合成経路。C, rufomycin の生合成におけるニトロチロシンの生合成経路。

また, JBIR-34, -35 の生合成を担う NRPS について詳細な機能解析を試みた。JBIR-34, -35 は最終的に FmoA2, A3, A4, A5 と名付けた4つの NRPS により組み立てられる。そこで、これらの4つのアミノ酸の組換えたんぱく質を調製し、in vitro で解析を行った。4つのたんぱく質を用いて反応を行うことで、JBIR-34, -35 の生合成経路を in vitro で再構成することに成功した。また、変異導入解析をすることで、ヘテロ環構築と α -methyl-L-serine 認識メカニズムに関する知見を得た。さらに FmoA3 の X 線結晶構造解析に取り組み、Cy (環化)、A (アデニル化)、PCP (ペプチジルキリヤーアータンパク質) ドメインからなる NRPS の構造を明らかにすることに成功した。

2. ポリケタイド生合成機構の解析

ポリケタイドは酢酸ユニットが多数縮合した結果合成されるポリケトメチレン鎖由来の化合物群である。マクロライド化合物や芳香族化合物が知られており、二次代謝において重要な化合物群である。

Streptazone E は cyclopenta[b]pyridine 環を持つポリケタイドである。その特異な環構造の形成メカニズムの解明を目指した。まず、この化合物の生合成遺伝子クラスターを同定し、その生合成機構を遺伝子破壊により解析した。その結果、この化合物は最終モジュールに還元ドメインを持つモジュラー型ポリケタイド合成酵素 (PKS) により生合成されることがわかった。また、破壊株に蓄積した中間体の構造解析を行うことで streptazone E の生合成経路を調べた。その解析からその生合成にはエポキシ環の開環と共役した炭素5員環形成という珍しい反応を触媒する新規酵素が関わることを示した (図2A)。

次に、イソフラノナフトキノンを持つ芳香族ポリケタイドである JBIR-76, -77 の生合成機構を解析した。遺伝子破壊と酵素の in vitro 解析実験から、この化合物は II 型 PKS により生合成されることが、フラビン依存型のバイヤービリガー酸化酵素により触媒される C-C 結合の切断がイソフラノナフトキノン環形成の鍵反応であることを示した (図2B)。

また、genome mining を利用して新規 PKS の探索を試みた。Streptomyces antibiotic regulatory protein (SARP) ファミリー転写制御因子を網羅的に強発現し、野生株との代謝比較により新規な二次代謝産物を探索した。その結果、ポリエン部位を持つアミド、ishigamide を単離同定した。さらに、この化合

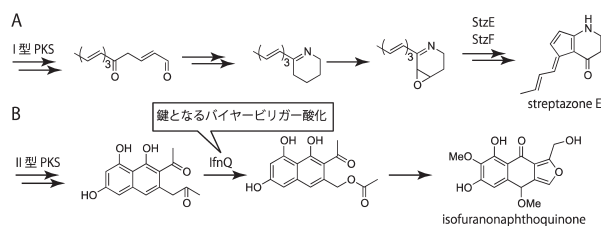


図2. Streptazone E (A) と isofuranonaphthoquinone の生合成経路

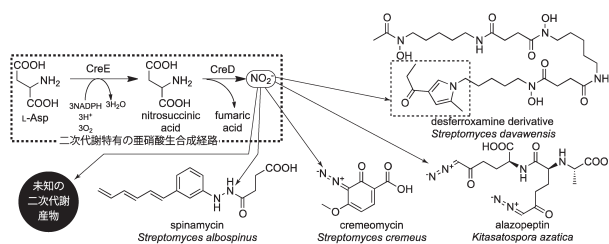


図3. 新たに見出された亜硝酸生成経路とそれにより生成されるとされる二次代謝産物の例。

物の生合成に関わる酵素群を in vitro において解析した。その結果、ishigamide のポリエン部位は複数還元を触媒する新規な II 型 PKS により生合成されることを示した。II 型 PKS は、ポリケタイド鎖の還元をほとんど触媒せず、芳香族化合物の生合成を担うことが知られている。そのため、この II 型 PKS をもとに高還元型 II 型 PKS という新たなサブファミリーを提唱した。

また、希少放線菌 *Actinoplanes* の II 型 PKS の機能解析を行った結果、この PKS が 3 つの fogacin 類を生合成することを示した。このうち 1 つはポリケタイド鎖の β 位がアルキル化された構造を持っていた。II 型 PKS により生合成されるポリケタイドの β 位のアルキル化は、これまで知られておらず、本研究も II 型 PKS 機能の多様性の拡張に貢献するものである。

3. 二次代謝産物生合成に特有の亜硝酸生成経路の発見とその機能解析

いくつか放線菌はジアゾ基を持つ二次代謝産物を生合成することが知られている。しかし、ジアゾ基の生合成機構はこれまで不明であった。そこで、*Streptomyces cremeus* の生産するジアゾ基を持つ二次代謝産物、cremeomycin の生合成機構を解析することでジアゾ基生合成機構の解明を目指した。その結果、ジアゾ基の遠位の窒素は CreE (アスパラギン酸を酸化しニトロコハク酸を合成する) と CreD (ニトロコハク酸から亜硝酸の脱離を触媒する) と名付けた 2 つの酵素によりアスパラギン酸から合成される亜硝酸由来であることが示された (図 3)。この亜硝酸生成経路は土壌における窒素循環の経路と異なり二次代謝産物を生産するために独自に放線菌が獲得したものであると考えた。実際この亜硝酸生成経路遺伝子 (*creE*, *creD* のホモログ) は数百種の放線菌のゲノム上において、二次代謝産物生合成関連遺伝子の近傍に存在した。また、これらのうちいくつかの機能解析を試みたところ、それらはいずれも in vitro で亜硝酸を合成した。遺伝子破壊等を用いた実験から、spinamycin (*Streptomyces albospinus*) と desferrioxamine 誘導体 (*Streptomyces davawensis*), alazopeptin (*Kitasatospora azatica*) の生合成にこの亜硝酸生成経路が用いられていることが強く示唆された。また、CreD 及びそのフマル酸との複合体の構造を X 線結晶構造解析により明らかにし、亜硝酸の脱離を促すために Arg が一般酸触媒として働いていることを示した。

4. その他の二次代謝産物に関する機能解析

Benzastatin 類はアミノ安息香酸とゲラニルリニン酸より生合成される化合物であり、インドリン環、キノリン環などの骨格を持つものが報告されている。本研究ではこれらの生合成機構の解析に取り組み、インドリン環、キノリン環合成において新規な環構造形成機構を明らかにした。この環形成には BezJ と BezG による *N*-アセトキシ基の形成、そして特異な cytochrome P450 (BezE) が触媒するニトレン形成とニトレンの二重結合への転移及び OH-または Cl-の求核付加を介して起こると考えられる。ニトレン転移を触媒する cytochrome P450 は自然界から見出されていないため、BezE は極めて興味深い酵素である。また、希少放線菌 *Actinoplanes* 由来のインドールとテルペン融合化合物、3-hydroxy-6-dimethylallylindolin-2-one 生合成機構を解析しプレニルトランスフェラーゼとトリプトファナーゼが共同してプレニルインドールを合成することを示した。

おわりに

放線菌の生産する様々な二次代謝産物生合成研究に取り組み、これまで未知であった二次代謝産物の生合成機構を多数明らかにすることに成功した。また、それと同時に、過去に報告のない反応を触媒する酵素も複数同定することができた。遺伝子組換え技術の進歩に伴い、有益な化合物を生産する微生物を人工的に構築することで既知の微生物では作れない、あるいは作ることが難しい化合物の微生物生産が可能になりつつある。このような方法論は今後も発展を続け、将来的には現在製造を石油に依存している燃料・化成品をバイオ生産プロセスへと置き換えることを可能にすると期待される。本研究で発見された生合成システムはこのような合成生物学を利用したものづくりの有用なツールとなることが期待される。そのため、放線菌の持つ多様な物質生産能力を理解することは、基礎研究、応用面においても重要となるであろう。

謝 辞 本研究は主に東京大学大学院農学生命科学研究科醗酵学研究室で行われたものです。学部時代から博士課程まで、ご指導をいただき、東京大学教授 故堀之内末治先生に厚く御礼を申し上げます。東京大学教授 大西康夫先生には醗酵学研究室に教員と着任してから多様な場面でご助言とご指導を賜りました。厚く御礼を申し上げます。ドイツ留学時代は Saarland 大学、Rolf Müller 博士のもとで研究に励ませていただきました。感謝を申し上げます。本研究の多くは産業総合研究所 新家一男先生、X 線結晶構造解析に関しては高エネルギー加速器研究機構の千田俊哉先生との共同研究により行われました。両先生及びご協力を賜りました多くの共同研究者のみなさまに心より御礼申し上げます。また、本研究は醗酵学研究室に在籍した多くの学生と研究員の努力の賜物であり、あらためて感謝の意を表明します。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦してくださった日本農芸化学会関東支部長 東京大学教授 浅見忠男先生に感謝を申し上げます。

食用植物の抗肥満、抗糖尿病効果を分子レベルで 理解するための生物活性成分の探索と機能解析



北海道大学大学院農学研究院 加藤 英介

はじめに

肥満者や糖尿病患者数の増加は、日本を含めた世界各国共通の社会問題である。そのため対策研究は広く行われており、その1つとして食用植物の有する機能を活用した肥満や糖尿病の予防、改善がある。食用植物の機能性は、実験動物を用いることで個体レベルへの影響は示すことができる。しかし分子レベルでの機能性を理解するには、個別の食用植物素材について含有成分を分析し、その生物活性を解析し、さらには標的となる生体組織やタンパク質の特定、など様々なことを調べる必要があり、多大な労力が必要となる。これらの労力は、様々な植物成分の生物活性情報が充実するほどに軽減することが出来、最終的には成分分析により食用植物素材の分子レベルでの機能性を推定することができるようになると考えられる。本研究ではこのような考えから、肥満や糖尿病に関わる各種のタンパク質や細胞モデルを標的として、植物素材中の生物活性成分を探索し、その機能性について解析した。

1. 消化管内を標的とする抗肥満、抗糖尿病生物活性成分

食用植物素材は経口的に摂取され消化管を経由するため、それら成分は必ず各種消化酵素と接触する。消化酵素の阻害は、糖や脂肪の吸収を抑制して糖尿病や肥満を防ぐことが知られている。

1-1. α -グルコシダーゼ、腓リパーゼ阻害成分

糖質消化酵素である α -グルコシダーゼや、脂質の消化酵素である腓リパーゼを阻害する植物中の生物活性成分は広く研究されている。そこで化学的研究が比較的行われていないインドネシアの植物、北海道に特有の植物や日本の各種食品素材より小腸 α -グルコシダーゼ、腓リパーゼ阻害成分を探索し、各種の生物活性成分を新たに見出した。

1-2. α -アミラーゼ阻害成分

α -アミラーゼはデンプンなどの多糖の消化を担う酵素である。 α -アミラーゼを阻害する成分の報告例は少なく、また阻害活性を指標として阻害成分の探索を行うと、クロマトグラフィーによる分離により阻害活性が分散して有用な成分を同定することができないことが多い。

そこでアプローチを変え、酵素や基質の構造や加水分解機構を参考に設計した化合物**1**を合成して阻害活性を測定することで(図1)、どのような化合物が α -アミラーゼ阻害剤として適し

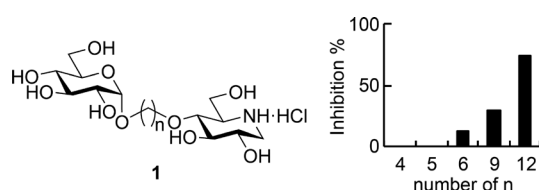


図1. α -アミラーゼ阻害剤として設計した化合物(1)と鎖長別の阻害活性(3 mM)

ているかを解析した¹⁾。その結果、極性部位に疎水性部位が結合し、かつ分子サイズの比較的大きな分子が阻害剤として適していることが推定された。

そこで分子量の大きな成分を標的として探索することで、生薬素材であり健康食品素材としても販売されているアカショウマ(*Astilbe thunbergii*)の根抽出物より α -アミラーゼ阻害成分として平均重合度(mDP)が11.8と高い重合度を有するプロアントシアニジンを見出した(図2)²⁾。他にも幾つかの植物素材に含まれる高重合度プロアントシアニジンのいずれもが α -アミラーゼ阻害活性を有することを見出しており、これらが食品素材の α -アミラーゼ阻害活性を担うことが多いのではないかと推定している。またこうした高重合度プロアントシアニジンについては、小腸上皮細胞の消化、吸収関連タンパク質の遺伝子発現に影響を与えることも見出しており、消化管内部での糖質の消化吸収に大きな影響を与えているのではないかと考えている。

2. 体内を標的とする抗肥満、抗糖尿病生物活性成分

摂取された成分は体内に吸収された後、その生物活性を発揮することも考えられる。従って、体内を標的とした場合の機能性も解析しなければ、分子レベルでの理解は難しいと考えられる。そこで血液中のタンパク質や細胞に作用する食用植物素材成分についても探索し、その機能について解析した。

2-1. ジペプチジルペプチダーゼ4阻害成分

ジペプチジルペプチダーゼ4は消化管ホルモンであるインクレチンの分解に関わる酵素である。インクレチンは血糖調節ホルモンであるインスリンの分泌を促進するため、ジペプチジルペプチダーゼ4の阻害は抗糖尿病効果となる。食品成分としては様々なペプチドが阻害成分として報告されているが、ペプチド以外の成分例はあまり多くない。本研究ではヒト由来ジペプチジルペプチダーゼ4に対する各種植物素材のスクリーニングを行うことによって、バラの蕾よりルゴシンAやBを含むエラジタンニン類を同定し、これらがジペプチジルペプチダーゼ4に対して強い阻害活性を示すことを見出した³⁾。また、ユーカリ、メグスリノキ、ヤエヤマアオキからも阻害成分を見出している。

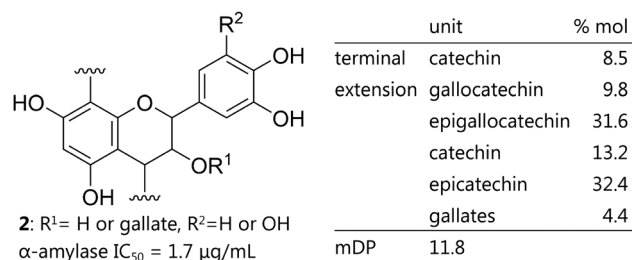


図2. アカショウマ由来のプロアントシアニジン

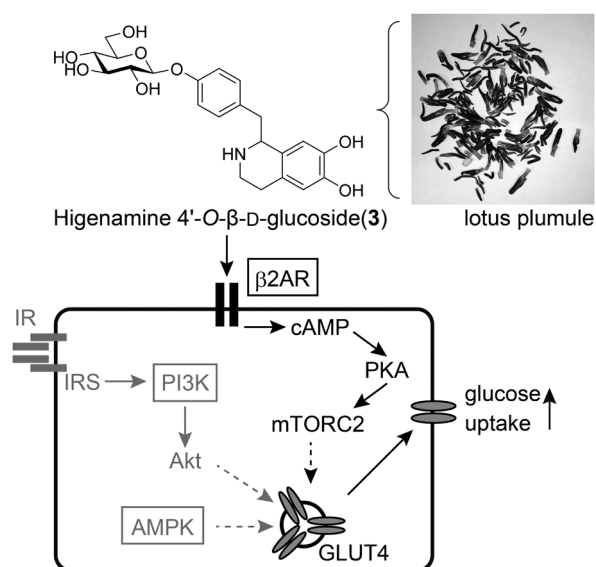


図3. 蓮芯に含まれるヒゲナミン配糖体 (3) と骨格筋に対する糖取り込み促進作用機構

2.2. 骨格筋細胞に作用する成分

骨格筋は体の最大の組織であり、血液中の糖を消費して血糖値を下げる働きも大きい。高血糖は糖尿病の特徴的な症状であり合併症の原因ともなるため、インスリンのように骨格筋の糖取り込み過程を促進する生物活性は、抗糖尿病効果として知られている。様々な植物成分や素材について、骨格筋モデル L6 細胞への糖取り込み促進活性を指標としてスクリーニングを行い、有用素材や化合物を探索した。このうちレンシンから見出したヒゲナミン配糖体 (3) については、合成した各種関連化合物との比較による活性と構造の関係を解明した⁴⁾。また糖取り込み促進作用には幾つかの作用経路が知られているが、ヒゲナミン配糖体 (3) が作用標的とする受容体が β_2 アドレナリン受容体であり、この受容体を経由して生物活性を発揮していることを明らかにした (図3)⁵⁾。また植物素材を研究する過程で関連化合物として非常に小さな分子であるヒドロキシアミンが糖取り込み促進作用を示すことを見出し、この作用がインスリンシグナル経路の活性化に由来することも見出している。

2.3. 脂肪細胞に作用する成分

脂肪細胞に過剰な脂肪が蓄積された状態が肥満であり、また生理機能が変化してインスリン抵抗性を伴う糖尿病を発症する原因となる。従って、脂肪細胞の脂肪蓄積量を減少させる効果は、肥満の解消を手助けするとともに、糖尿病の予防にも寄与する効果である。脂肪モデル 3T3-L1 細胞への脂肪蓄積抑制効果を指標としたスクリーニングを行い、各種素材に有用な効果を見出した。これらについて次に、3T3-L1 脂肪細胞を用いたインスリン感受性向上活性試験を行い、肥満とともに糖尿病にも有用な素材としてインドネシアの薬用植物である *Eurycoma logifolia* を見出した⁶⁾。さらに *E. logifolia* から脂肪分解促進成分として苦味成分として知られる eurycomanone (4) を見出し、その作用機構が PKA を介したホルモン感受性リパーゼの活性化による脂肪代謝経路の活性化であることを明らかにした (図4)⁷⁾。

おわりに

本研究では肥満と糖尿病を標的疾患として、生体内の各種の

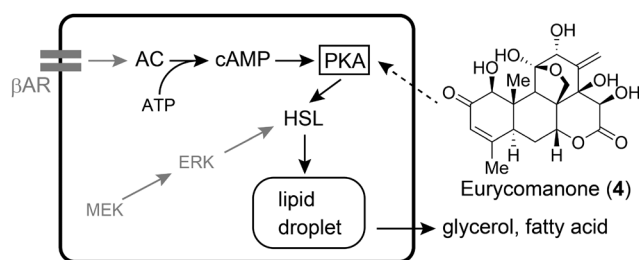


図4. *E. longifolia* に含まれる eurycomanone (4) と脂肪細胞への脂肪分解促進機構

段階に対する生物活性成分を探索して見出し、細胞を標的とするものについては作用機構についても明らかとした。今後はさらに各種成分の生物活性を示すことで植物素材の個体レベルにおける抗肥満、抗糖尿病効果を、分子レベルで説明するための基礎情報を蓄積していきたい。また生物活性成分と作用機構の詳細な解析から食用植物素材の機能性に関する新しい知見も得られるのではないかと考えており、そうした方面についても追求していきたいと考えている。

(引用文献)

- 1) Kato E, Iwano N, Yamada A, *et al.* Synthesis and α -amylase inhibitory activity of glucose-deoxynojirimycin conjugates. *Tetrahedron* 2011; **67**: 7692-7702.
- 2) Kato E, Kushibiki N, Inagaki Y, *et al.* *Astilbe thunbergii* reduces postprandial hyperglycemia in a type 2 diabetes rat model via pancreatic α -amylase inhibition by highly condensed procyanidins. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2017; **81**: 1699-1705.
- 3) Kato E, Uenishi Y, Inagaki Y, *et al.* Isolation of rugosin A, B and related compounds as dipeptidyl peptidase-IV inhibitors from rose bud extract powder. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2016; **80**: 2087-2092.
- 4) Kato E, Kimura S, Kawabata J. Ability of higenamine and related compounds to enhance glucose uptake in L6 cells. *Bioorg. Med. Chem.* 2017; **25**: 6412-6416.
- 5) Kato E, Inagaki Y, Kawabata J. Higenamine 4'-O- β -D-glucoside in the lotus plumule induces glucose uptake of L6 cells through β_2 -adrenergic receptor. *Bioorg. Med. Chem.* 2015; **23**: 3317-3321.
- 6) Lahrita L, Kato E, Kawabata J. Uncovering potential of Indonesian medicinal plants on glucose uptake enhancement and lipid suppression in 3T3-L1 adipocytes. *J. Ethnopharmacol.* 2015; **168**: 229-236.
- 7) Lahrita L, Hirosawa R, Kato E, *et al.* Isolation and lipolytic activity of eurycomanone and its epoxy derivative from *Eurycoma longifolia*. *Bioorg. Med. Chem.* 2017; **25**: 4829-4834.

謝 辞 本研究は北海道大学大学院農学研究院食品機能化学研究室で行われたものです。本研究を行う機会を下さり、様々な助言やご指導を頂きました川端潤教授 (北海道大学) に感謝申し上げます。共に研究を行って頂きました食品機能化学研究室内の皆様、キューサイ株式会社の稲垣洋介様、黒川美保子様に感謝申し上げます。また各種機器分析においてご助言を頂きました北海道大学農学部GC-MS&NMR分析室の皆様にも感謝申し上げます。本賞にご推薦頂きました日本農芸化学会北海道支部支部長の福島道広教授 (帯広畜産大学) に感謝申し上げます。



京都大学大学院農学研究科 後 藤 剛

エネルギー代謝を制御する食品成分とその作用機構に関する研究

はじめに

肥満は脂肪組織の過剰蓄積と定義され、肥満状態では脂肪組織の肥大化が起こるとともに、肝臓や骨格筋といった非脂肪組織における脂肪蓄積量も増大化する。このような過剰な脂肪蓄積が引き金となり、糖質や脂質といった、エネルギー基質の代謝調節に重要な、脂肪組織や肝臓、骨格筋などの組織においてインスリンに対する感受性が低下する状態である「インスリン抵抗性」が惹起される。インスリン抵抗性は糖尿病や脂質異常症といった種々の生活習慣病の発症基盤となるとともに、動脈硬化症の危険因子となるため、肥満の蔓延に対する新たな予防・治療法の創出は急務の課題である。

本研究では、肥満や肥満に伴う代謝異常症の予防・改善に有用な食品由来成分および腸内細菌代謝産物について探索・機能解析を行うとともに、脂肪酸をはじめ種々の食品由来成分の受容体として機能し、生体のエネルギー代謝調節に重要な核内受容体、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPARs) の生体内活性調節因子や機能について検討を行い、以下のような研究成果を得た。

1. エネルギー代謝制御に関わる食品成分および内因性因子の探索と機能解析

リガンドによって活性化される核内受容体型転写因子 PPARs は、 α 、 γ 、 δ の3種のサブタイプにより構成され、生体のエネルギー代謝を制御している。特に、PPAR α 、 γ は肥満に伴う代謝異常症と深く関連することが知られており、PPAR α はフィブラート系高脂血症改善薬、PPAR γ はチアゾリジン系インスリン抵抗性改善薬の標的分子として機能している。PPAR α は肝臓や骨格筋において高発現し、活性化によって脂肪酸酸化を惹起する。PPAR γ は主に脂肪組織において発現し、活性化により脂肪細胞分化を促進させ、インスリン感受性が良好な小型の脂肪細胞の数を増やすことが示されている。

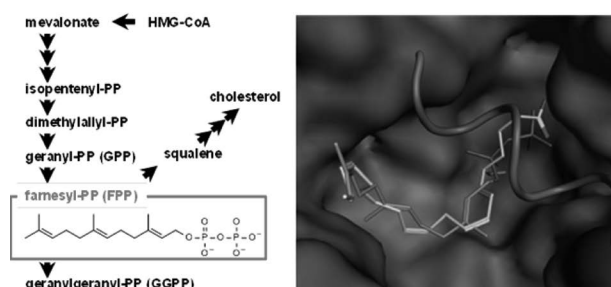
上記のような PPARs の性質に着目し、本研究項目ではまず、食事を介した代謝異常症の予防・改善を目指し、食品および天然物由来の新規 PPARs リガンドの探索を行った。高感度の PPARs リガンド探索系の確立を試み、転写共役因子として核内受容体の転写活性を増強するコアクティベーター、CREB binding protein (CBP) を共発現させることで、リガンドアッセイ系の感度が上昇することを明らかにした。リガンド候補物質として、食品を含む天然物中に幅広く存在するイソプレノイド関連物質を中心に、上記のリガンドアッセイ系にて PPARs リガンドの探索を行ったところ、いくつかの PPARs 活性化化合物が得られた。これらの化合物について、培養細胞レベルで機能解析を行い、PPARs リガンドとして機能しうることを明らかにした。さらに、肥満モデル動物を用いてその有用性の評価を行ったところ、肥満によって惹起される、インスリン抵抗性、耐糖能障害、高血糖、脂肪肝をはじめとする種々の代謝異

常が、得られた PPARs リガンド候補物質の摂取によって改善することが明らかになった。これらの実験動物の肝臓においては、PPAR α の標的遺伝子の発現増加が認められていたこと、また PPAR α 欠損マウスでは、いくつかの代謝異常の改善効果が認められなかったことから、その作用の少なくとも一部には肝臓での PPAR α の活性化作用が寄与しているものと考えられた。これらの結果から、リガンド候補物質が生体においても PPARs リガンドとして機能し、肥満に伴う代謝異常症改善作用を有することを示した。これらの結果は、食品中に機能的な PPARs 活性化因子が存在し、その積極的な摂取が代謝異常症の予防・改善をもたらす可能性を示したものであり、食品科学的に重要な知見である。

次に、機能的な内因性リガンドが不明な PPAR γ の内因性リガンドについて検討し、コレステロール生合成経路の中間代謝物であるファルネシルピロリン酸 (FPP) が脂肪細胞における PPAR γ の内因性リガンドとして機能しうることを見出した (図1)。FPP 添加は脂肪細胞分化を促進し、その効果は PPAR γ アンタゴニスト存在下で減弱した。また、コレステロール生合成経路上の代謝酵素阻害剤を用いて脂肪細胞内の FPP 量を変動させたところ、FPP 量の増減に応じて脂肪細胞分化マーカーが増減した。以上より、FPP が脂肪細胞において内因性の PPAR γ リガンドとして機能しうることが示唆された。PPAR γ 機能は肥満に伴う生活習慣病の発症と深く関連するため、FPP のような内因性リガンド候補物質を同定したことは、今後の肥満症研究において非常に重要な知見となりうるものである。

2. 食餌脂肪酸の腸内細菌代謝産物による宿主代謝調節機構

近年、腸内細菌叢と肥満や肥満に伴う代謝異常症との関連が注目されているが、腸内細菌叢による宿主の代謝調節機構については未解明な部分が多い。本研究項目では、京都大学大学院・農学研究科の小川順教授らのグループによって最近明らかにされた、食餌脂肪酸を基質として腸内細菌によって特異的に産生される修飾脂肪酸の宿主代謝調節機能について検討を行った。具体的には、これらの修飾脂肪酸中に核内受容体 PPARs

図1. PPAR γ 内因性リガンド候補分子, FPP

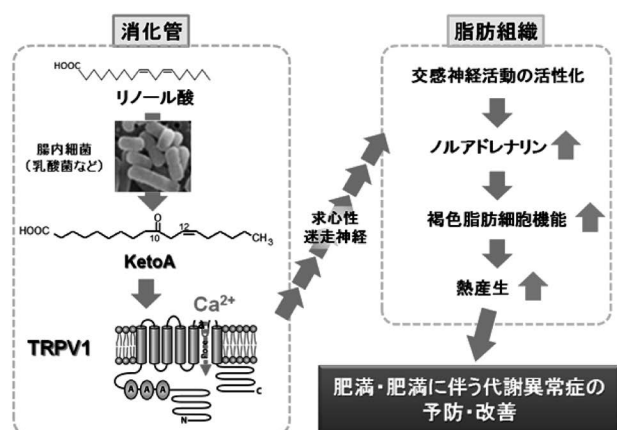


図2. 食餌脂肪酸の腸内細菌代謝産物 KetoA は肥満・肥満に伴う代謝異常症を改善する。

の活性調節を介した細胞機能調節作用やマクロファージにおける分化調節・抗炎症作用を有するものが存在することを主に細胞レベルで明らかにした。実験動物レベルでも、オキソ型の修飾脂肪酸 10-oxo-12 (Z)-octadecenoic acid (KetoA) は、消化管において陽イオンチャネル、transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) を活性化し、求心性迷走神経を介して脂肪組織の交感神経活動を活性化させることにより、脂肪組織でのエネルギー消費を高めることで、抗肥満作用を発揮しうることを見出した(図2)。これらの知見は、腸内細菌による宿主の代謝調節機構解明の一助となるものであり、栄養学的・生理学的に重要な知見である。さらに、本研究成果は食餌脂肪酸腸内細菌代謝産物の機能に着目した、プレ、プロ、ポスト・バイオティクス的な肥満に伴う代謝異常症の新たな予防・治療法開発の基盤的研究となりうるものであり、将来発展性が期待される重要な知見である。

3. 核内受容体型転写因子 PPAR α 活性化時の代謝改善作用機構の解明

PPAR α は肝臓や骨格筋などに多く発現し、脂肪酸酸化を制御している。肥満動物に対する PPAR α アゴニスト、fenofibrate (Feno) の投与は高中性脂肪血症の改善作用に加え、抗肥満・抗糖尿病作用を発揮する。その代謝改善作用について詳細に検討を行ったところ、脂肪萎縮症モデルマウスに対する Feno 投与は高中性脂肪血症の改善作用は示したが、抗糖尿病作用は大きく減弱することを見出し、Feno による代謝改善作用において、脂肪組織が重要な役割を果たすことが示唆された。そこで、PPAR α 活性化時に増加し、脂肪組織に作用する代謝改善ホルモン、線維芽細胞増殖因子 21 (FGF21) の役割について検討した。Feno 投与は肝臓において FGF21 の発現を誘導し、血中 FGF21 量を増加させた。高脂肪食負荷時に野生型マウスで認められた Feno 投与による抗肥満・抗糖尿病作用は、FGF21 欠損マウスでは大きく減弱しており、Feno 投与による抗肥満・抗糖尿病作用には肝臓での FGF21 産生促進が重要であることを示した(図3)。また、白色脂肪細胞において PPAR α が比較的多く発現していたことから、白色脂肪細胞における PPAR α 活性化の機能について検討した。脂肪細胞において

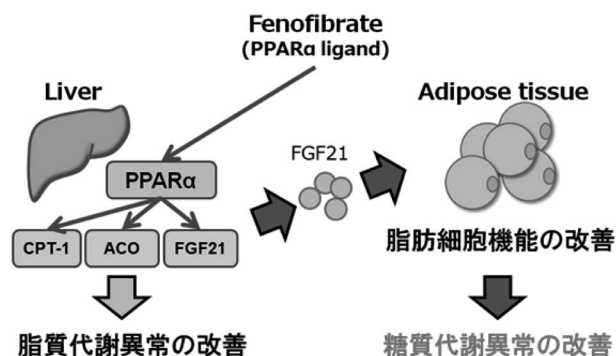


図3. FGF21 は PPAR α アゴニストによる糖質代謝異常症の改善作用に重要である。

PPAR α の活性化は脂肪細胞分化と脂肪酸酸化を同時に誘導し、良好なインスリン感受性を呈する小型の脂肪細胞数を増加させることが示唆された。さらに、活性化型ヒト PPAR α を脂肪組織特異的に強制発現させた遺伝子改変 (Tg) マウスを作成したところ、Tg マウスでは高脂肪食負荷時にも脂肪細胞の肥大化が抑制されており、良好なインスリン感受性を呈することが明らかとなった。以上の結果は、フィブレート系高脂血症改善薬の直接的・間接的な標的組織のとして脂肪組織がその薬効に関与していることを示唆するものであり、脂肪酸をはじめとする種々の食品成分受容体としても機能する PPAR α による代謝異常改善作用機構の一端を示したことは、食品機能学的・薬理学的に極めて重要であると考えられる。

おわりに

本研究では、エネルギー代謝を制御する食品成分とその作用機構について検討を行ってきた。これらの研究成果は、食品成分による肥満・肥満に伴う生活習慣病の予防・改善の可能性を示したものであり、今後これらの知見を礎とした肥満症に対する新たな予防・治療法の確立が期待される。

謝 辞 本研究は、主に京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻食品分子機能学分野および栄養化学分野、京都大学学際融合教育研究推進センター生理化学研究ユニット、ならびに岐阜大学・応用生物科学部・食品分子機能学分野において行われたものです。特に、京都大学河田照雄教授には卒業研究当初から現在に至るまで研究指導を頂き、心より御礼申し上げます。また、京都大学伏木亨名誉教授(現 龍谷大学教授)には、研究を始めるきっかけと多くのご指導を頂きました。厚く御礼申し上げます。岐阜大学長岡利教授には岐阜大学での研究において非常に丁寧にご指導を頂き、大変感謝しております。また、上記の研究分野において本研究をご指導・ご支援頂きました先生方、スタッフの皆様ならびに卒業生、在学生の皆さまに感謝いたします。さらに、本研究は、さまざまな研究機関に所属される非常に多くの共同研究者の方々のご指導・ご助力のもとに成り立っております。心より御礼申し上げたいと存じます。最後に、本賞にご推薦頂きました日本農芸化学会関西支部長・河田照雄先生ならびにご支援を賜りました関西支部の諸先生方に深く御礼申し上げます。

バイオエレクトロカタリシスの基礎と応用の新展開



筑波大学数理物質系 辻 村 清 也

はじめに

生体内でのエネルギー変換や物質代謝等において重要な役割を担っている酸化還元酵素の触媒機能（あるいはそれを含む微生物の代謝機能）と電極反応を共役させる“バイオエレクトロカタリシス”（図1）を基盤とする新バイオデバイスの創出が、環境、エネルギー、情報通信、ヘルスケアなどの分野で注目を集める。しかし、バイオエレクトロカタリシス反応を高度に制御する手法は確立されておらず、その産業利用も未だ限定的である。筆者は、バイオエレクトロカタリシス系の合理的設計指針を明らかにし、それに基づく電極製法および材料を開発してきた。すなわち、電極触媒としての酸化還元酵素の基本特性評価、酵素の修飾方法、メディエータ分子および多孔質炭素電極の開発に取り組んできた。また、本講演ではこうした基礎研究をベースにしたエネルギー変換デバイス（バイオ燃料電池）、センサ、物質変換デバイスの開発について紹介する。

1. 酸化還元酵素の特性評価

酸化還元酵素の酸化還元電位は、電極触媒性能を特徴づける重要な因子である。しかし、電極反応によるその直接的な測定は一般に困難である。そこで電解による溶液電位制御法をもとにした酵素の酸化還元電位測定法を開発した。これにより、ビリルビンオキシダーゼやフルクトースデヒドロゲナーゼなど銅や鉄をレドックス部位に持つ酸化還元酵素の電位を評価した。酵素の構造と機能の関係、生体内での役割などの理解が進んだ。

2. 酵素-電極間直接電子移動に関する研究

酵素と電極間の直接電子移動（図1左）に基づく電気化学応答（電位と電流の関係）に関する理論式を導いた。糖などの酸化を行う酵素（フルクトースデヒドロゲナーゼ、グルコン酸デヒドロゲナーゼ）あるいは酸素の還元反応を行う酵素（ビリルビンオキシダーゼ、ラッカーゼなど）の直接電子移動反応応答を速度論および熱力学的観点から定量的に評価することが可能となった。このことにより、新たに開発された酵素や変異酵素の触媒機能や酸化還元電位を定量的に比較することが可能となった。さらに、推定される電極界面での酵素-電極間界面電子移動メカニズム（分子と表面との相互作用、配向制御など）をもとに、電極表面に様々な修飾を施すことで電極での酵素反応を制御し、その触媒効率を向上させることに成功した。

3. 電子伝達メディエータを利用した酵素機能電極に関する研究

酵素電極反応のうち、電子伝達メディエータを用いた電子移動系（図1右）における酵素とメディエータ間の反応速度に、酸化還元酵素反応の駆動力（＝酸化還元酵素と電子伝達メディエータとの酸化還元電位差）のみならず、電子移動距離に関わる分子間相互作用や立体障害などが影響することを明らかにした。後述のセンサや電池など様々なデバイスに適した電子伝達メディエータの選択指針を与えた。また、用途に応じて、酵素特性を考慮した新規レドックスメディエータを設計し、合成した。

酸化還元メディエータを酵素とともに酵素の反応性を損なうことなく電極表面に固定化することができれば、デバイスの連続使用など用途が広がる。そこで様々な用途への応用を考慮し、電極表面上へ共有結合によるメディエータの修飾、ポリマー結合型メディエータを用いた交互積層系や超薄膜系など修飾方法および評価法を開発した。酵素修飾電極の応答電流に影響を及ぼす諸因子、例えば、酵素修飾膜の厚みなどを理論と実験の両面から検討し、応答電流の定量的な解析を目指した。

4. ナノマテリアル・多孔質炭素電極における酵素電極反応の高度化・高機能化：酵素電極反応の基本原理解に基づいた材料開発

酵素の本来持っている力を十分に発揮できるかどうかは反応場の設計にかかっている。高い導電性と安定性を有する炭素材料に注目し、電極性能向上にむけたマクロ-メソ-ミクロの3次元的な階層構造制御を検討した。マクロ孔は、反応物（生成物）および電解質イオンの物質輸送、および炭素材料中の酵素の分布・担持量に関わってくる。例えば、炭素粒子を導電性基板上へ電析することによりマクロスケールの構造制御に成功した。メソ孔構造は酵素の担持量、担持された酵素の安定性および酵素の電気化学活性に影響する。各種酵素、修飾方法および反応に適した細孔構造が制御されたテーラーメイド型多孔質炭素（カーボングェル（図2左）、酸化マグネシウム鋳型炭素（図2右））を開発した。酵素と電極間の界面電子移動速度の向上のためにはナノレベルでの炭素表面修飾が有効である。こうしたデザインされた微小空間に酵素を担持することで、電極触媒効

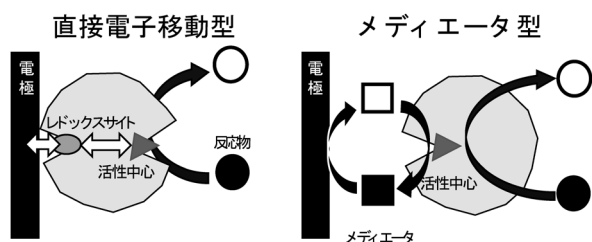


図1. 酵素型バイオエレクトロカタリシス反応

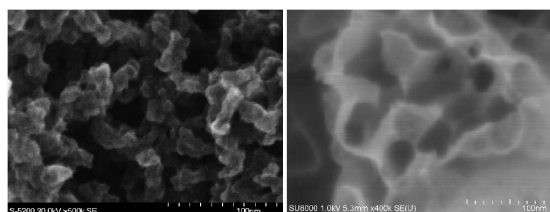


図2. 細孔サイズが制御された多孔質炭素材料（左 カーボングェル、右 MgO鋳型炭素）

率の向上と安定性の安定性を実現した。例えば、グルコースデヒドロゲナーゼと酸化還元ポリマーを架橋したハイドロゲルを数十ナノメートルスケールの細孔内に修飾することで、25℃で 100 mA cm^{-2} という非常に大きなグルコース酸化電流を得ることに成功した。基礎研究をもとに目的に応じた性能を発揮する電極系のデザインが可能になってきたが、その制御技術のさらなる向上・機構の学理解明は今後の課題である。

また、連結酵素系に向けた基礎研究を行い、それを担持するために、ミセルやリポソームなどのソフトナノ材料を酵素保持担体および反応場とする新規酵素電極反応系（特に多段階酵素反応を組み合わせた人工細胞型反応系）を検討した。

5. 微生物代謝の電気化学的制御とデバイスへの応用：生きた細胞の電子移動パスおよび酸化還元状態の制御

微生物菌体内代謝反応と電極間の電子移動反応における電子伝達物質（メディエータ）の果たす役割に注目し、電気化学反応と共役した菌体内レドックス制御技術の検討した。この原理に基づき、微生物の増殖促進（抑制）や代謝産物を電気化学的に制御する方法を考案した。目的に応じて適切な人工メディエータを選択することで、菌体内の特定の酵素反応や代謝反応系を電極反応と結びつけることができ、水素や有機酸を燃料として発電する微生物電池、ラン藻を用いた光合成をもとにした太陽電池、微生物センサ等への応用に結び付けた。一方で、微生物が菌体外に放出するフラビンやキノンなどの天然の酸化還元分子を利用することで環境に優しい（＝人工化合物を外部から添加しない）持続可能な微生物電気化学デバイスを考案した。この概念は人工のメディエータを外部から添加する従来の系からの転換を促し、すでに廃水処理を目的とした微生物燃料電池分野では広く受け入れられ、研究開発の飛躍的な進展に結びついている。

6. 酵素をベースとしたバイオセンサの高性能化に関する研究

酵素を電極触媒とする自己診断用血糖センサにはこれまでグルコースオキシダーゼが用いられてきた。しかし、メディエータと酸素の競合反応はしばしば測定誤差を引き起こす。そこで、血糖センサに適した新規フラビンアデニンジスクレオチド型のグルコースデヒドロゲナーゼの開発に携わり、高い精度での計測を可能とする新型血糖センサの実用化に貢献した。この新しく発見された酵素の特性をいかした検量線が必要としない高精度高性能センサシステムを考案した。

7. 環境にやさしいエネルギー変換デバイスの創生：酵素バイオ燃料電池、微生物燃料電池の基礎研究と応用展開

酵素を電極触媒に利用したバイオ燃料電池（図3左）において、電池の製作、作動原理確認、酵素反応速度論および電気化学的見地からみた電池の出力決定因子の解析などの研究基盤を確立した。また、世界初のマルチ銅酸化酵素を用いた中性付近での白金をはるかに上回る高効率電気化学的酸素還元を実現したことが、本研究の進展に拍車をかけた。正極と負極に高性能生体触媒電極を用いた中性で作動するグルコースや水素を燃料

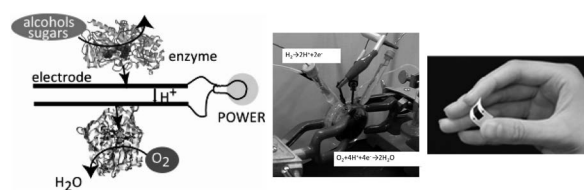


図3. バイオ燃料電池
(左から、電池のしくみ、水素-酸素電池、印刷型グルコース-酸素電池)

とするバイオ燃料電池（図3中）を発表した。先述の電極設計を適切に行うことで、反応物となる酸素の供給が電池性能を決めるまでに性能が向上した。この問題に対して、電極構造内の疎水性を制御したガス拡散型酵素電極を開発することで、電池性能を飛躍的に向上させた。現在、印刷技術に応用したウェアラブル型電池（図3右）や生体内での作動を可能とするインプラント型電池の開発を進めている。

おわりに

合理的なバイオエレクトロニクス系構築、すなわち、酵素の特性を理解した上での、生物電気化学的な理論に基づいた反応系の設計と材料開発は、飛躍的な酵素電極の活性を高めることが可能になった。それはセンサの感度や精度向上や酵素電池の出力向上につながり、エレクトロニクスなどの技術との機能的融合はイノベーションに結びつくことが期待される。一方で、一連のバイオエレクトロカタリシス反応の研究を通して、生体触媒を生体環境と異なる反応場に導入することで、特にナノ空間における酵素、あるいは高塩濃度溶液中においては生体とは異なった特性を示すことが分かってきた。こうした生体とかけ離れた新奇反応場のデザインは、酵素の活性あるいは安定性の飛躍的な向上、あるいは潜在的な能力を引き出すことができるなど、無限の可能性を秘めている。今後は、そうした反応環境因子の特異的な作用の学理を解明し、酵素機能の解明、酵素をモデルとした無機触媒の開発に新しい方法論を提供しつつ、酵素のさらなる可能性を追求していきたい。

謝 辞 本研究は、京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生体機能化学研究室、および筑波大学数理物質科学研究科物性・分子工学専攻生物電気化学研究室で行われたものです。本研究の機会を与えていただき、ご指導、ご支援を賜りました京都大学・池田篤治名誉教授、加納健司教授に心より御礼申し上げます。また、様々な面から御支援いただきました研究室の諸先輩方、卒業生、在学生、大学および企業の共同研究者の方々に深く感謝いたします。また、現所属への着任以降、ご支援いただいている東京理科大学・四反田功先生、筑波大学・小林達彦先生に感謝申し上げます。最後に、本奨励賞にご推薦いただきました京都大学・白井理准教授に厚く御礼申し上げます。



筑波大学生命環境系 豊 福 雅 典

低分子化合物及び膜小胞を介した細菌間相互作用に関する研究

はじめに

細菌は互いに我関せずには生きていられると思われていたが、集団を形成し、機能的に分化するなどして、高度な社会性、集団性を示すことが明らかになってきた。こういった細菌の社会性の創発には、細胞間相互作用が関与する。自然界において細菌は集団を形成し、さらには複数種の細菌が混在する複合系で存在することから、細菌社会の仕組みを理解することは、細菌の生態を真に理解する上でも重要である。こうした理由から、私は細菌の個と集団の関係性に興味を持ち、細菌間相互作用の解明に取り組んできた。その過程で、細菌間コミュニケーションやメンブレンベシクル形成の新しい像がみえてきた。

1. 低分子化合物による細菌間相互作用

1-1. 細菌間コミュニケーションによる一次代謝の調節

多くの細菌は低分子化合物を細胞間シグナル物質として用いてコミュニケーションをとっている。従来、細菌間コミュニケーションは二次代謝の制御に関わると考えられていた。しかしながら、我々は *Pseudomonas aeruginosa* を解析した結果、一次代謝の脱窒が細菌間コミュニケーションによって調節されていることを明らかにした。*P. aeruginosa* はグラム陰性細菌で最も多く利用されているアシル化ホモセリンラクトン (AHL) 類と *P. aeruginosa* 独自の *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) をシグナル物質として用いている。それぞれのシグナル物質は特異的な受容体によって認識されて、シグナル物質濃度に応じて、病原性因子を含む数百種類の遺伝子の発現が制御される。我々は AHL と PQS は共に脱窒を抑制しており、細菌が集団に応じてエネルギー代謝を調節していることを明らかにした。一般的に、細菌のエネルギー代謝は物理化学的な要因によって調節されることから、物質生産、排水処理等の応用現場においては環境を最適化させる工学的な制御アプローチが取られてきた。我々の成果は、従来法とは異なる、細菌の力を引き出す新たな方法論を生み出す糸口になると考えられる。

1-2. 環境が細菌間コミュニケーションに与える影響

P. aeruginosa が脱窒を調節することが明らかとなったものの、*P. aeruginosa* の細菌間コミュニケーションやバイオフィーム形成が環境に応じてどのように変化するかについて理解が進んでいなかった。*P. aeruginosa* は脱窒を行うような嫌気場でも病原性を発揮して細菌間コミュニケーションを活発に行なっていることが示唆されている一方で、嫌気条件下でシグナル物質産生が低下することが研究標準株で報告されるなど、一見して相反する報告が続いていた。

この相反する報告は、株間の性質の違いによるものと我々は考え、複数の *P. aeruginosa* 単離株の表現型を比較した。その結果、嫌気条件下では AHL 産生能やバイオフィーム形成量が株間で大きく異なることを明らかにした。脱窒の中間産物である一酸化窒素の蓄積量の違いによって嫌気条件下での多様性が

生じられる。バイオフィームなど、好気と嫌気な微小環境が形成されるような場は自然界で多く見られるのに対し、従来の細菌間コミュニケーション研究は好気条件下でそのほとんどが行われていた。我々は環境に応じて *P. aeruginosa* がどのように細胞間相互作用を適応させているのかを理解することで、細胞間相互作用と環境応答を総合的に解明していく重要性を示した。

2. MV による細菌間コミュニケーションの交通整理

シグナル物質の細菌間での伝達は、細菌間コミュニケーションが成立するための鍵となるステップである。疎水性の高いシグナル物質 (長鎖 AHL) がどのようにして細胞間で伝達するかについて未解明な部分が多かった。我々は、*Paracoccus denitrificans* において長鎖 AHL がメンブレンベシクル (MV) を介して伝達されることを見出した。

MV は細胞膜から構成される球状の小胞で、シグナル物質や核酸、毒素因子を含み、放出された MV は他の細胞に伝達される。また、MV はワクチンとして利用され、ドラッグデリバリー等のナノテクノロジーの技術基盤としても注目を浴びるなど、応用面においても高い潜在能力を持つ。

定量の結果、*P. denitrificans* の MV 1 粒子には遺伝子発現を制御するのに十分なシグナル量が含まれることが明らかとなった。このことにより、MV を受容する細菌と、しない細菌で「とびとび」にシグナルが伝達されることが想定される。これは、連続的にシグナル物質が拡散すると仮定した、集団を同調させる古典的な細菌間コミュニケーション (クオラムセンシング) とは一線を画すため、我々は細菌における「バイナリーシグナリング」を提唱した。MV を介したバイナリーシグナリングはシグナル物質が希釈されやすいような実環境中や長距離でのシグナル伝達において威力を発揮すると思われる (図1)。*P. denitrificans* の MV は同種に運搬されやすいことも解明し、MV によるシグナル伝達の交通整理を明らかにした。

3. MV 形成機構の解明

3-1. 生育環境が MV に与える影響

MV の機能を理解する上で、MV の中身を知ることは必須で

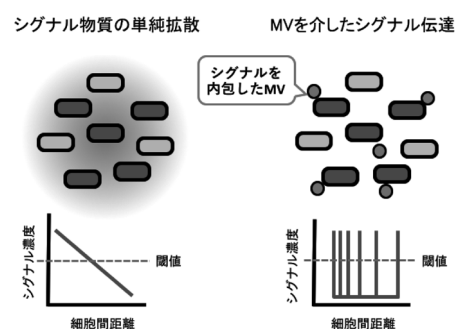


図1. MV を介したシグナル伝達

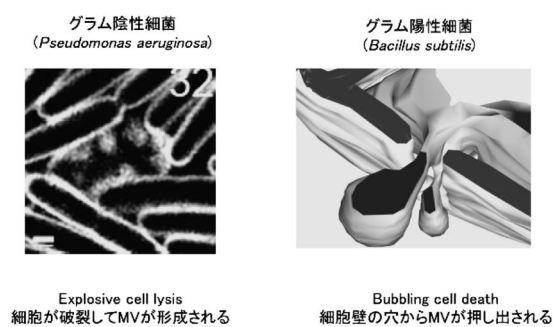


図2. エンドリシンによるMV形成機構

ある。我々は *P. aeruginosa* においてバイオフィームと浮遊細胞由来のMVに含まれるタンパク質を比較し、その中身が大きく異なることを明らかにした。これは、生育環境に応じてその中身が変化し、MV機能そのものが変化することを示唆する。さらに、バイオフィームを覆っている細胞外マトリクスのプロテオーム解析を行い、細胞外マトリクスに含まれるタンパク質の多くがMV由来であることを突き止めた。細胞外マトリクスは多糖やDNA、タンパク質から構成されてバイオフィームの構造を支えている。本成果はMVが細胞外マトリクスの主要な成分の一つであることを明らかにし、環境に応じて細胞外マトリクスに様々な機能を付与する可能性を示した。

3-2. 細胞死を伴うMV形成メカニズムの発見

環境に応じてMVの中身が変わることは、MVにはいくつかの誘導機序が存在していることを示唆している。バイオフィーム内部は嫌気になることから、嫌気条件下におけるMV形成に着目したところ、嫌気条件下では好気に比べて多くのMVが放出されることを見出した。そのメカニズムとして、嫌気条件下で細胞が受けるストレスによってSOS応答が誘導され、その制御下の遺伝子群がMV形成に関与することを明らかにした。

どの遺伝子がMV形成に関わるかを同定するために、MV形成に関わるmRNAはMVに濃縮されると仮定し、MVに含まれるmRNAを網羅的に解読した。その結果、SOS応答制御下の細胞溶菌システム(ホリン-エンドリシン)のmRNAがMVに濃縮されており、その翻訳産物がMV形成に関わることを突き止めた。エンドリシンは細胞壁分解活性を有し、ホリンはエンドリシンを細胞壁に輸送する役割を果たしている。MVが形成される過程を *P. aeruginosa* で超解像顕微鏡によりライブセルイメージングしたところ、細胞が破裂して、そこから生じた膜断片が会合することでMVが形成されることを明らかにした。従来の考えでは、グラム陰性細菌のMVは細胞外膜が撓んでつまみ出される形で形成される、とされていたが、細胞破裂を介した全く異なるMV形成メカニズムを提唱するに至った。Explosive cell lysis (ECL)と名付けた当該機構は、MVは

細菌が生きたまま放出するという、従来のMV形成の仮説と根本的に異なる(図2)。エンドリシンは通常、集団全体の数%の細胞でのみ誘導されるため、一部の細胞が溶菌しても、残った細胞がその恩恵に預かる。エンドリシンは細菌間で広く保存されているため、普遍性の高いMV形成因子である可能性が高い。

3-3. グラム陽性細菌のMV形成機構の解明

MV形成を理解する上で、膜を厚い細胞壁で覆われたグラム陽性細菌がどのようにしてMVを形成して細胞外に放出するかが未解明のままであった。我々は、グラム陰性細菌でMV形成に関わっていたエンドリシンが、グラム陽性細菌のモデル細菌である、*Bacillus subtilis*のMV形成にも直接的に関与していることを見出し、グラム陽性細菌のMV形成機構を世界で初めて解明した。グラム陰性細菌とは異なり、*B. subtilis*においてECLは誘導されず、エンドリシンの作用によって細胞壁に穴が生じ、そこからMVが形成・放出されること(bubbling cell death; BCD)を発見した(図2)。ECLと同様に、MVを放出した細胞は死ぬことを明らかにし、細菌において細胞死を介したMV形成機構は共通して備わっている一般的な機構でと示した。

おわりに

本研究では、細胞間コミュニケーションやMVを中心として、細菌における相互作用を解明してきた。そこから、いかに細菌が高度な情報戦略をとって、集団を統制しているかが垣間見える。単細胞生物だからこそみえてくる多様な細胞間相互作用を今後も解き明かしていきたい。

謝 辞 本研究は、筑波大学生命環境系と、チューリッヒ大学 植物・微生物学科にて行われたものです。学生の頃から今日に至るまで、本研究に携わる機会を与えて頂き、終始ご指導ご鞭撻を賜りました。筑波大学教授・野村暢彦先生には心から感謝申し上げます。また、チューリッヒ大学教授・Leo Eberl先生には本研究を発展させるにあたり、公私にわたり親身にご支援いただきましたこと深く感謝致します。日頃より温かいお言葉とご助言を頂きました筑波大学名誉教授・内山裕夫先生、同大学教授・中島敏明先生に厚く御礼申し上げます。様々な面からご支援頂いた静岡大学助教・田代陽介先生、筑波大学助教・八幡穰先生、同大学助教・尾花望先生に感謝申し上げます。本研究の成果は、多くの共同研究者の先生方、研究室の諸先輩方、博士研究員、在学生、卒業生、また研究の運営に携わる皆様のご尽力、ご支援によるものです。山本達也博士、古川理恵氏をはじめ、ここに全ての方のお名前を挙げる事ができませんが、皆様に深く感謝申し上げます。最後に、本奨励賞にご推薦くださいました筑波大学教授・小林達彦先生に厚く御礼申し上げます。



大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 原 田 直 樹

生体制御におけるアンドロゲンシグナリングと食の相互作用に関する研究

はじめに

食事は、がんやメタボリックシンドロームなどの生活習慣病の発症と密接に関連し、疾患の発症を正にも負にも調節する作用を持つ。生活習慣病の発症機構の解明とその予防を目指し、食事の影響を受けて発症する疾患に関わる細胞内シグナリングとしてアンドロゲン（男性ホルモン）シグナリングを捉え、生化学・分子生物学・生理学・栄養学的見地から研究を行ってきた。これまでの研究成果は、前立腺がんやメタボリックシンドロームにおけるアンドロゲンシグナリングの役割やその作用機構の一端を明らかにするとともに、これらの疾患の発症や予防におけるアンドロゲンシグナリングと食事・食品因子のクロストークに関する知見を広げており、以下に紹介する。

1. アンドロゲン受容体 (AR) 転写活性化機構の解明

男性ホルモンはコレステロールから合成され、AR にリガンドとして結合して生理作用を発揮する。AR が男性ホルモン依存的な転写因子として機能するためには、転写共役因子と呼ばれる AR と複合体を形成する因子の役割が必須である。AR の転写活性化機構の全容を解明するために、AR と複合体を形成するタンパク質の同定とその作用機構の解明に取り組んだ。その結果、解糖系酵素であるグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH)、Ran 結合タンパク質 10 (RanBP10)、タンパク質アルギニンメチル基転移酵素 10 (PRMT10) が AR の転写を調節する因子として作用することを見出した。さらに、転写共役因子として既に同定されていた ARA24/Ran についてもその作用機構を同定した。また、AR が持つポリグルタミン鎖と転写活性化機能の関係の解明に取り組んだ。これらの一連の研究により、AR の転写活性化機構の一端を明らかにした (図1)。

2. 前立腺がんの進行における AR 機能の解析と食品因子による抑制作用

前立腺がんの発症は食習慣と関係し、食習慣の欧米化が進む日本では罹患者が飛躍的に増加している。AR を介した男性ホルモンの作用は、男性の生殖器官である前立腺の発達と密接に関係しており、がん化した前立腺上皮細胞の増殖にも強い影響を持つ。初期前立腺がんに対し、外科的・内科的に AR シグナルを抑制するホルモン治療を行った後に再発した去勢抵抗性前立腺がん (castration-resistant prostate cancer: CRPC) は、予

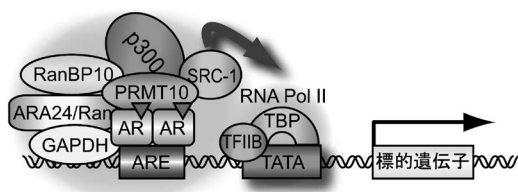


図1. AR の転写活性化機構。転写共役因子との相互作用や AR の構造と機能の観点から明らかにした AR の活性化機構の一端を示す。

後不良であり、有効な治療方法がない。CRPC の発症メカニズムを明らかにするために、CRPC の発症モデル細胞株を樹立して解析した結果、C 末端領域が欠損した AR (AR-NH1: the N-terminal fragment of AR cleaved in the neighborhood of helix 1 of the ligand-binding domain) が産生されることを見出した。AR-NH1 はホルモン療法に類似した状態でのみプロテオリシスによって産生され、その特徴からリガンド非依存的に転写活性化すると推察された。つまり、ホルモン療法後に AR-NH1 が産生されてリガンド非依存的に機能することが CRPC の発症に繋がるというメカニズムを提唱するに至った (図2)。一方で、CRPC の発症を予防するために、ホルモン療法後に摂取すべき食品因子の同定を目的として、AR 機能抑制を指標にスクリーニングした結果、ブドウに含まれるポリフェノールであるレスベラトロールを見出した。レスベラトロールは、野生型 AR だけでなく、C 末端領域を欠損した AR の転写活性を抑制したことから、AR-NH1 の機能も抑制すると考えられた。以上より、CRPC の発症予防に対する食品因子の有効性について、そのメカニズムとともに提示した (図3)。

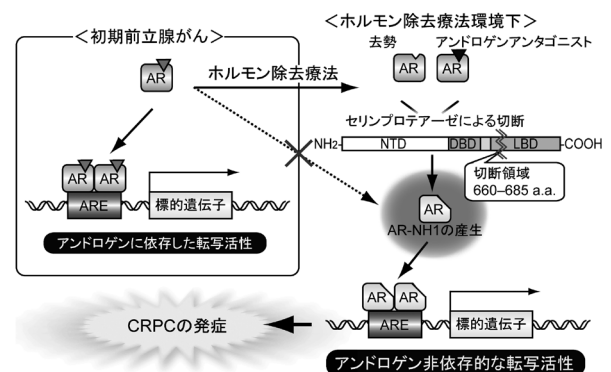


図2. CRPC 発症機構の解明。リガンド非存在下またはアンタゴニスト存在下においてプロテオリシスにより切断された AR (AR-NH1) が CRPC 発症に関与するメカニズムを示す。

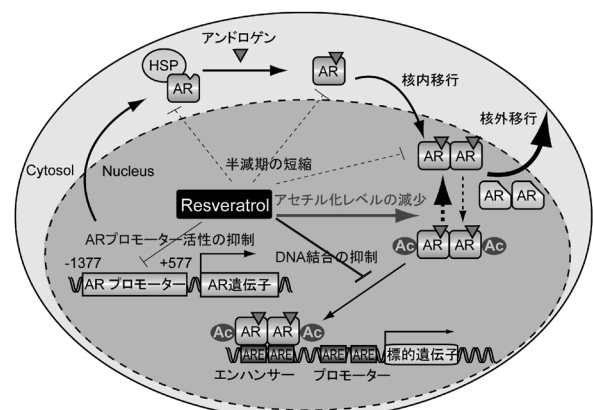


図3. 食品因子による AR 転写抑制機構。レスベラトロールが AR の転写活性を抑制するメカニズムを示す。

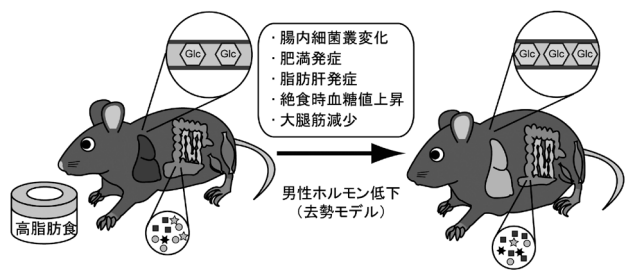


図4. 男性ホルモン低下によるメタボリックシンドローム発症メカニズムの解明。去勢によるメタボリックシンドロームの発症における腸内細菌叢の関与を示す。

3. メタボリックシンドロームの発症における男性ホルモンの作用に関する研究

男性における血中テストステロンの低下は、メタボリックシンドロームや2型糖尿病といった生活習慣病の発症を介して心疾患や脳血管疾患のリスクを高めて寿命を短縮させることが明らかとなってきた。つまり、長寿には血中テストステロン値が生理的範囲において高いことが重要であると理解されるようになった。しかし、これら一連のメカニズムについては十分には理解されていない。そこで、テストステロンの低下から肥満や2型糖尿病の発症において、摂取栄養との関係を明らかにすることを目的に動物モデルの構築を行った。その結果、男性ホルモンの減少によって、高脂肪食を摂取させた時にのみ食餌効率（体重増加／摂取エネルギー）が増加することで内臓肥満や脂肪肝、血糖値の上昇を発症し、このとき、糞便の減少、腸内細菌叢の変化が起きることを見出した（図4）。さらに、抗生物質により腸内細菌叢を攪乱すると、去勢により生じた現象がすべて消失した。現在、ARノックアウトマウスでも同様の結果を確認し、ARを介した男性ホルモン作用の低下に起因して腸内細菌叢が変化する機序について解析を行っている。

2型糖尿病は、栄養素の過剰摂取に起因して、膵臓β細胞におけるインスリン分泌の低下と肝臓、脂肪組織、骨格筋におけるインスリン感受性のバランスが崩壊することによって発症する。西洋人と比較して日本人を含む東洋人では、健常時から食後高血糖に起因したインスリン分泌能が低いことが特徴である。一方で、近年の疫学調査によって、日本人の男性糖尿病患者ではテストステロンレベルが低いことが明らかとなり、糖代謝におけるアンドロゲンシグナリングの重要性が提起されている。膵臓β細胞における男性ホルモンシグナリングについて検討した結果、雄性ラットでは去勢により血中テストステロンレベルを低下させるとβ細胞量がコントロールの3割程度にまで減少して耐糖能不全を生じることが判明した。このβ細胞の減少と耐糖能不全は、テストステロンの補充によって完全に回復した。また、胎児期において雄への性分化を誘導するアンドロゲンシグナリングが、雄のβ細胞の発達に関与することを見出している。近年、生活習慣病の発症に胎児期におけるイベントが関係するという生活習慣病胎児期発症説が注目されており、胎児期におけるアンドロゲンシグナリングの生活習慣病発症への影響する可能性についても検討している。

アンドロゲンは、アナボリック作用をもつステロイドホルモンとして知られている。一方で、グルコルチコイドはカタボリックな作用をもつステロイドホルモンであり、両ホルモンはともにエネルギー代謝制御に関与する。これらのホルモンが、

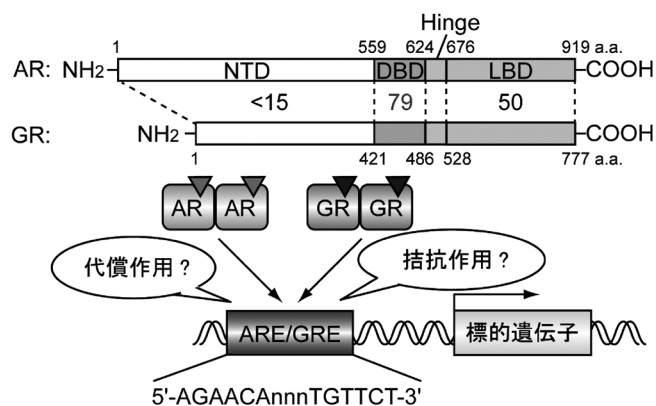


図5. アンドロゲンとグルコルチコイドの拮抗作用の解明。ARとGRの共通のシスエレメントにおける代償・拮抗様式が存在を示す。

それぞれの受容体（ARとグルコルチコイド受容体：GR）に結合後、標的遺伝子のプロモーターに存在するシスエレメントに拮抗的に結合し、GRがエンハンサーとしてARがリプレッサーとして機能することで、グルコルチコイドによって誘導されるβ細胞のアポトーシスをアンドロゲンが抑制することを見出した。これは、GRとARが標的遺伝子プロモーターで共通のシスエレメントに拮抗することで、アンドロゲンのアナボリック作用とグルコルチコイドのカタボリック作用のバランスを制御する機構が存在することを明らかにした（図5）。

おわりに

アンドロゲンシグナリングの活性化機構の詳細と生理的役割の解明に取り組み、さらに、食事・食品成分とのクロストークについて分子レベルから個体レベルで解析してきた。これまでの研究成果によって、従来知られているアンドロゲンシグナリングの標的組織への直接作用に加え、腸内細菌叢を介した間接作用という新しい作用形態の存在が明確になってきた。今後、食事とアンドロゲンシグナリングのクロストークがどのように腸内細菌叢に影響するかについて明らかにすることにより、エネルギー代謝における食と内分泌系のクロストークに関する新たな研究フィールドを切り拓きたい。

謝 辞 本研究は、大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻食品代謝栄養学グループで行われたものです。研究者としての道に導いて頂いた大阪府立大学名誉教授 中野長久先生、自由に研究を行う機会を与えて頂いた大阪府立大学教授 乾博先生、研究の基礎をご教授頂いた大阪府立大学教授 山地亮一先生には、学生時代より今日まで終始ご指導ご鞭撻を賜りました。心より感謝申し上げます。また、長年にわたり激励とご助言を頂いた近畿大学教授 重岡成先生、本研究の遂行にご協力を頂いた足達哲也先生（金蘭千里大学）、桑村充先生（大阪府立大学）、井澤武史先生（大阪府立大学）に深謝いたします。共同研究者として多大な協力を頂いた東村泰希博士（石川県立大学）、三谷壘一博士（信州大学）、小川真弘博士、堀内寛子博士、北風智也博士をはじめ、本研究の遂行に関わり支えてくれた院修生、卒業生、ならびに現院生、学部学生諸氏に深く感謝申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会関西支部長の河田照雄先生ならびにご支援を賜りました諸先生方に厚く御礼を申し上げます。



神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科 若 井 暁

極限環境微生物のエネルギー変換に関する生化学および熱力学的解析

はじめに

地球上には温度、塩濃度、pH、圧力など、かなり厳しい物理条件に曝される環境が存在し、そのような環境に生育する微生物は極限環境微生物と呼ばれる。どのような過酷な環境に細胞が置かれようとも、そこで生命が活動しているのであれば、生命の定義の一つであるエネルギー獲得は必ず行われている。生物のエネルギー獲得(変換)の限界を知ることは、生命の限界を知ることであるだろう。したがって、筆者は、極限環境生物がその種々の過酷な環境で行っているエネルギー獲得に興味を持ち研究を行ってきた。エネルギー変換の研究は、分子、細胞、および、生態系レベルでの様々な現象が含まれるため単純ではないが、生化学的なアプローチに加えて、熱力学的な測定を導入することで、生命の本質としてのエネルギー変換を理解したいと考えている。本稿ではこれまで携わってきた各種極限環境微生物(高度好塩性菌、好酸性菌、好熱菌、好冷菌など)に関する研究と現在進めている難変換エネルギーを利用する微生物についての研究の概要を紹介する(図1)。

1. 高度好塩性菌のエネルギー変換に関する熱力学的解析

食塩濃度10%を超える環境で良好に生育する微生物は、高度好塩性菌と呼ばれている。高度好塩性菌、特にアーキアでは、細胞外の極度に高い塩濃度から生じる浸透圧を解消するために、細胞内にも著量の塩を蓄積している。これにより、細胞内外の酵素ほとんど全てが高塩環境に曝されることになり、酵素レベルで高塩環境に適応している。酵素レベルでの塩適応の研究は多く存在するが、生体のエネルギー変換の研究はほとんどない。高塩環境は水分活性を低下させ、溶液中の物質の水和状態に影響する。水和状態の低下は、生体内のエネルギー変換で使われるATPの自由エネルギーに影響する。そこで、高塩環境で高エネルギーリン酸化合物を加水分解した時の反応熱について、

高度好塩性菌由来の酵素反応を等温滴定マイクロカロリーメータ(ITC)により測定した。高エネルギーリン酸化合物の加水分解は、エンタルピー駆動で進行することが知られており、水和状態が小さくなる低水分活性状態で自由エネルギー変化とエンタルピー変化が小さくなるというのが物理学の常識となっていた。しかしながら、高度好塩性菌由来酵素反応は、水分活性が0.84程度まで減少する4 M NaCl存在下でも低塩濃度下での非好塩性菌由来酵素反応と同じ反応熱(エンタルピー変化)を示すことを明らかにした¹⁾(図2)。また、本菌の持つピロリン酸加水分解酵素は、細胞内の塩濃度に相当するMオーダーのNaClやKClでの高い活性に加えて、0 M NaCl下でも100–200 mMのMgSO₄存在下で高い活性を示し、細胞内に多く存在する一価と二価のカチオンを組み合わせる幅広い塩環境下で高い活性を発揮できることを明らかにした²⁾。高マグネシウム環境下では、ピロリン酸加水分解に対するエンタルピー変化が減少することが実験的に確認されてきており、飽和食塩濃度で生育する高度好塩性菌が多く存在するのに対して、飽和マグネシウム濃度で生育する微生物が報告されないことはエネルギー獲得の面からも限界があるのかもしれない。

2. 好酸性菌のエネルギー変換に関する研究

次に、高塩環境から強酸性環境に視点を移す。酸性環境は、地球上の様々な環境に存在するが、特にバイオリッチング(鉱石から微生物の力を使って有用金属を回収する技術)における人工的な環境に注目した。バイオリッチングでは、硫黄鉱石に酸化鉄溶液を散布し、三価鉄の還元力によるイオンアタックとそこに生息する微生物による硫黄層分解と鉄イオン再酸化によって銅などの有用金属を回収する。このバイオリッチングのモデル微生物として、好酸性鉄・硫黄酸化細菌*Acidithiobacillus ferrooxidans*が知られているが、リーチング効率のキーとなる硫黄酸化については不明な点が多く残されていた。

筆者は、呼吸・電子伝達阻害剤を使用して、鉄酸化と硫黄酸化による呼吸の際に異なる電子伝達経路が使用されていることを

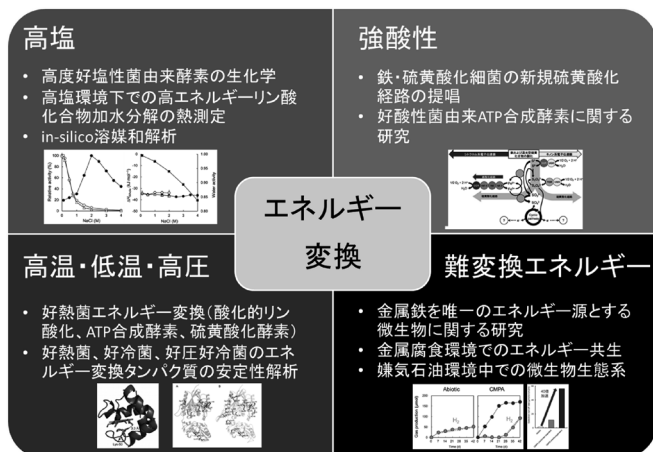


図1 エネルギー変換を中心においた各種極限環境微生物に関する研究の位置付け

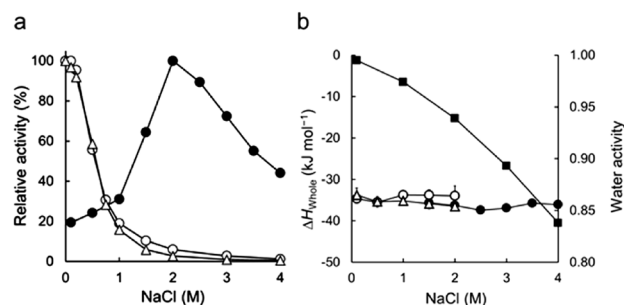


図2 高度好塩性菌および非好塩性菌のピロリン酸加水分解活性(a)および反応熱(b)に対するNaClの影響
●: 高度好塩性菌, ○: 大腸菌, △: 酵母, ■: 水分活性

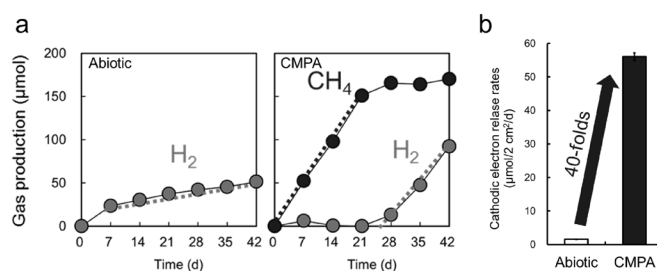


図3 鉄腐食性メタン生成菌 (CMPA) による金属腐食時のガス発生量と電子流失速度
(a) 無菌区および CMPA 存在下での金属鉄からのガス生産量, (b) CMPA によるガス生産時の電子流失速度

明らかにし³⁾, 硫黄酸化経路のキー酵素として Sulfide:quinone oxidoreductase を精製, 特徴づけ, 鉄硫黄生育時よりも硫黄生育時において強く発現していることを明らかにした⁴⁾. *A. ferrooxidans* では, 鉄酸化による呼吸においてチトクロム系の電子伝達鎖が使用されていることが知られていたが, 本研究により硫黄酸化による呼吸においてはキノンの電子伝達鎖が使用されていることを明らかにした.

3. 好熱菌および好冷菌のエネルギー変換に関する研究

次に, 環境中の物理パラメータを温度に移す. 高温環境や低温環境では, エネルギー変換に関与するタンパク質分子が正しく機能する必要がある. 筆者は, 好熱性水素細菌の硫黄酸化酵素の熱安定性⁵⁾や酸化的リン酸化経路における ATP 合成酵素の役割⁶⁾などについて報告している. これらに加えて, エネルギー変換に重要な役割を演じている電子伝達に関与する電子キャリアタンパク質の安定性に関する多数の研究報告がある. 好冷菌, 中温菌, 好熱菌由来相同タンパク質間には属レベルを越えて, 生育至適温度と熱安定性の間に正の相関があるが⁷⁻⁹⁾, 深海微生物由来タンパク質では, この相関から少し外れて高い安定性が見られる^{10,11)}. これは, 深海が低温であるため分子にフレキシビリティが必要である一方で, 高い静水圧による変性を防ぐために高い熱安定性が必要なためである. さらに, 好冷菌と中温菌由来酵素の比較研究では, 好塩性菌由来酵素の知見から塩環境の違いにも注目し, *Shewanella* 属細菌を生育の塩嗜好から, 0 M NaCl でも生育できる耐塩性と 0 M NaCl では生育できない好塩性の株に分け, スクレオチダーゼの塩依存性活性や構造に由来する耐塩性をも明らかにしている¹²⁾.

4. 難変換エネルギーを利用する微生物

最後に, 珍しいエネルギー獲得系として, 通常の微生物がエネルギー源として利用できない固体金属をエネルギー源として使用する微生物についての研究がある. 固体金属から電子を抜き取ると金属イオンが遊離するため, 実環境では金属が腐食するという現象に繋がる. 金属が微生物によって腐食する問題は, ヒトが微生物に感染して発症する微生物感染症とよく似ており, 金属が罹る微生物感染症として独自のアプローチで研究を展開している¹³⁾. この金属腐食に関与する微生物は長い間謎に包まれてきたが, 筆者は近年多くの金属腐食性微生物を分離すると共に, 鉄腐食性メタン生成菌が無菌区よりも 40 倍速く電子流失を加速する現象も捉えている (図3). さらに, 金属鉄を腐食する際に水素生産が可能であり, 金属廃棄物から燃料用水素を生産する可能性についても開発を進めている¹⁴⁾.

おわりに

エネルギー獲得(変換)は生命の根幹をなす重要な能力の一つであるが, その限界や本質も未解明な部分が残されている. 今後も新しい切り口を取り入れながら, 少しずつでも明らかにしていきたいと考えている. ところで, 筆者の研究は多岐に渡りひどく拡散しているようにも見えるかも知れないが, 現在これらの研究に加えて糸状菌を用いた物質生産に関する研究も進めており, これまでの蓄積を余すところなくつぎ込んで進めているつもりである. サイエンスはどこかで繋がっており, 繋げるも分断するも担い手次第であると考えている. これまでの蓄積とこれから出会う新しい研究をつなぎ合わせながら, 独自の視点を持った研究を進めていくことで, 本奨励賞にふさわしい研究を進めていきたいと思う.

(引用文献)

- 1) Wakai S *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 288: 29247-29251, 2013
- 2) Wakai S *et al.*, *Extremophiles*, 21: 471-477, 2017
- 3) Wakai S *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68: 2519-2528, 2004
- 4) Wakai S *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71: 2735-2742, 2007
- 5) Sano R *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74: 892-894, 2010
- 6) Wakai S *et al.*, *Environ. Microbiol. Rep.*, 5: 235-242, 2013
- 7) Takenaka S *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74: 1079-1083, 2010
- 8) Fujii S *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 77: 1677-1681, 2013
- 9) Fujii S *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 78: 1191-1194, 2014
- 10) Masanari M *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 80: 2365-2370, 2016
- 11) Masanari M *et al.*, *Extremophiles*, 18: 617-627, 2014
- 12) Kuribayashi T *et al.*, *Extremophiles*, 21: 357-368, 2017
- 13) 若井暁. 化学と生物, 53(8): 515-520, 2015
- 14) 若井暁, 森浩二. 化学, 71(9): 29-33, 2016

謝 辞 本研究は, 広島大学大学院生物圏科学研究科微生物機能学研究室, 岡山大学農学部微生物機能開発学研究室, 製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部で行われたものです. 様々な極限環境微生物を扱う機会と熱力学的解析を始める機会を頂き, また終始ご指導頂きました三本木至宏先生 (広島大学教授) に深く感謝を申し上げます. 学生時代に極限環境微生物の研究テーマを与えて頂き, 勝手気ままな私に懇切丁寧なご指導を賜りました上村一雄先生 (岡山大学教授) に深く感謝を申し上げます. また, 原山重明先生 (現中央大学教授) にはポストドク時代にかなり自由な環境で研究を進めさせて頂き深く感謝を申し上げます. 現在, 雇用元のプロジェクトに加えて自由に研究できる環境を与えて頂いております近藤昭彦先生 (神戸大学教授) ならびに荻野千秋先生 (神戸大学教授) に深く感謝を申し上げます. また, カロリメータを用いた熱力学的解析についてご指導いただきました城所俊一先生 (長岡技術科学大学) に深く感謝を申し上げます. 仲宗根薫先生 (近畿大学教授), 鈴木誠先生 (東北大学教授), 金尾忠芳先生 (岡山大学准教授), 伊藤公夫博士 (新日鐵住金), 巴保義博士 (JOGMEC) には, 研究に関する様々なご助言や研究サンプルのご提供を頂き感謝申し上げます. 全てのお名前を挙げることはできませんが, 同じ場所で同じ時間を過ごした全ての学生やスタッフの皆様ならびに共同研究者の皆様に感謝申し上げます. 最後になりましたが, 本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会関西支部長河田照雄先生ならびにご支援を賜りました関西支部の先生方に厚く御礼を申し上げます.

海洋微生物からの有用機能の探索とその応用



国立研究開発法人海洋研究開発機構 大田 ゆかり

はじめに

太陽光エネルギーが利用可能な地球表層では、光合成一次生産を基軸とする豊かな生命圏が維持されている。海洋表層で生産された有機物に加え、陸域有機物の一部も海洋沿岸や河川を通じて海域に流入して混ざり合う。海域表層の有機物の大部分は、浅海で様々な生物代謝を受けながら短いターンオーバーでリサイクルされ、その一部が残渣として海底に堆積する。海底の残渣に依存した従属栄養型の微生物の中には多くの生物では処理しきれない難分解性有機物をなんらかの形で利用する機能を持つことが期待される。そこで、我々は深海を含む様々な海域から難分解性有機物を分解する細菌や酵素を探索し、その利用法の提案を行ってきた。

1. 海藻多糖分解酵素の利用

1-1. アガラーゼ

アガロース（寒天）は、テングサやオゴノリなどの紅藻類の細胞壁成分であり、D-ガラクトースと3,6-アンヒドロ-L-ガラクトースが α -1,3, β -1,4結合で交互につながったヘテロ多糖であり、多くの微生物にとっては難分解有機物の1つである。アガロースをオリゴ糖サイズにまで切断して得られる「寒天オリゴ糖」には、さまざまな優れた生理的機能があることが報告されていることから、我々はアガロース切断酵素（アガラーゼ）を深海由来細菌より探索した。その結果、アガロースの α -1,3結合を切断してアガロオリゴ糖を生産する酵素「 α -アガラーゼ」¹⁾、 β -1,4結合を切断して、ネオアガロオリゴ2,4,6糖をそれぞれ生成する複数の「 β -アガラーゼ」²⁻⁵⁾を取得した。そのうちの1つ、*Microbulbifer thermotolerans* JAMB-A94^T株に由来する β -アガラーゼはとりわけ高い耐熱性を持っていた。現在、本酵素は遺伝子試薬メーカーの株式会社ニッポンジーンから遺伝子研究用試薬「Thermostable β -agarase」として販売されている。本アガラーゼを用いると高分子（160 kb まで確認済み）のDNAが効率よく回収・調製できることから、さまざまな研究機関における遺伝子機能解析・配列解析に活用頂いている。

1-2. カラギナーゼ

世界的に古くから食品の増粘剤やゲル化剤として使用される紅藻類の細胞壁多糖にカラギーナンがある。カラギーナンの特徴は硫酸基を持っている点にあり、その構成糖の硫酸基置換パターンに基づき、カップパ、イオタ、ラムダ型の3タイプに大別される。それぞれの物理的性質が大きく異なっているため、用途に応じて使い分けがなされている。カラギーナンは、原料藻の品種や採取地、生育段階によって、その置換基パターンが多種多様に変化する。このため、いわゆるカラギーナンという名称で市場に流通している物は、実際には非常にヘテロな高分子構造を有しており、精密な構造解析は困難である。そこで我々は酵素の“基質特異性”を生かした分析手法の開発に取り組んだ。カラギーナン分析手法の確立には、主要な3タイプのカラギー

ナンそれぞれに対して各構造を厳密に区別して認識する機能、すなわち高度の基質特異性を持つカラギーナン分解酵素3種を利用できることが鍵であった。我々は、その3種の酵素を新規性と多様性の高い深海域の細菌から取得することに成功し^{6,7)}、続いてこれら3種の酵素を利用した未知カラギーナンの分析法も開発した⁸⁾。本手法は、これまで分析が困難であった飲食品中のカラギーナンの検出・組成分析に極めて有効であった。

2. リグニン分解酵素の利用

地球温暖化や海洋酸性化等の要因である人為的CO₂を増大させる化石資源の使用を断ち切るため、太陽光エネルギーで形成された植物バイオマスの体系的利用技術開発が精力的に行われている。陸域の植物には主要成分としてリグニンが含まれており、その構造的特性から生物分解が著しく困難な物質と位置付けられる。

我々はリグニンを原料とする芳香族化合物のバイオ生産を実現するため、まず海域からリグニン関連芳香族代謝細菌の分離を試みた⁹⁾（図1）。この探索の過程で単離した *Novosphingobium* MBES04株は、多様な芳香族モノマー代謝能を持つに留まらず、guaiacylglycerol- β -guaiacyl etherなどのリグニンモデルダイマー中の β -O-4結合を開裂し、モノマーへ変換する能力を有していた¹⁰⁾。 β -O-4結合はリグニンを構成するモノマー間の最主要結合であり、リグニン変換の重要なターゲットである。MBES04株のゲノムにコードされる遺伝子配列を利用して、 β -O-4結合開裂酵素5種を組換え生産し、これらの酵素をワンポットでスギやユーカリから抽出したミルドウッドリグニン（MWL）に作用させることにより、MWLからフェニルプロパン構造を有する芳香族モノマーを生産することに成功した¹¹⁾（図2左）。

フェニルプロパン系化合物は、工業分野においては、香水、香料、精油、殺菌剤、麻酔薬、抗酸化剤などの医薬品や機能性食品及びそれらの合成中間体となる有用な化合物群である。そこで我々は上記芳香族モノマーを基幹低分子化合物としてリグニンの有効利用に寄与する可能性を探るために、guaiacylhydroxypropanone（GHP）から誘導可能な化合物の合成について検討を行った。これまでに、新規な各種ポリマー、例えば、エポキシ樹脂、ポリカーボネート樹脂、アクリレート樹脂、ポリウレタン、アリール系オリゴマー、レジストなどの光感受性組成物の製造原料として有望な化合物への誘導化にも成功した¹¹⁾（図2右）。

現在、木材から環境調和型プロセスを経て芳香族モノマーを生産し、さらに新素材「スーパーウルシ」へと繋げるという新しいリグニン有効利用技術の確立に向けて、更なる研究を展開している。

3. 組換えタンパク高生産系の開発

我々は酵素の探索・開発と並行して、酵素利用に重要な技術

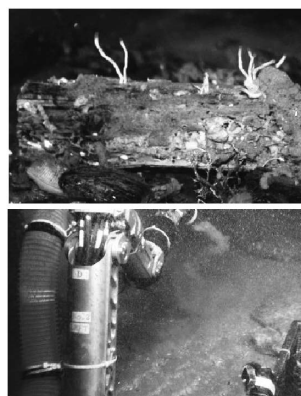


図1. 海域における微生物探査源
(写真提供: JAMSTEC)

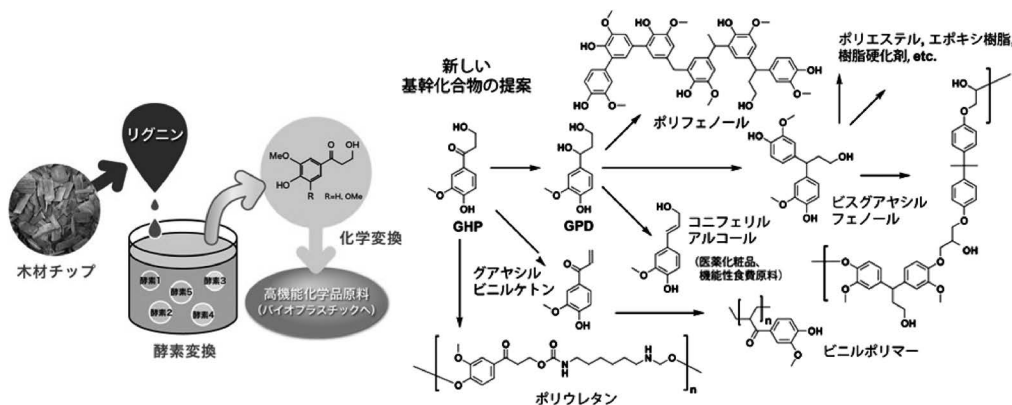


図2. ミルドウッドリグニンからの芳香族モノマーワンポット酵素生産(左)とバイオ化学品への展開(右)

として *Bacillus* 属細菌を宿主とする組換えタンパク質高生産システムの開発を行ってきた¹²⁾。プラスミドに挿入した目的遺伝子の発現調節には海洋から分離した細菌のゲノム配列の一部を活用した。

通常組換えタンパク質生産には、プラスミド上の目的遺伝子を安定に保持するために、同プラスミドに抗生物質耐性遺伝子を連結し、微生物培養培地には抗生物質を添加する。この方法を大規模に産業利用する場合には、抗生物質や抗生物質耐性遺伝子の環境への拡散を厳重に防ぐ設備が必須となり、大きな生産コスト増となる。そこで、我々は生育必須遺伝子の1つとして、宿主自身が持つトリプトファン tRNA 合成遺伝子をプラスミド上に配置し、同遺伝子を宿主染色体から欠損させた宿主ベクター系を新たに開発した。この系では培地中に抗生物質添加は不要であり、栄養を制限することなく、安価な培地で高密度培養と組換えタンパク質の高生産が可能であった。

おわりに

本研究により、難分解性有機物を分解する酵素を始めとする優れた生物機能が海域に存在することを示すことができた。海域や海底を含む全地球には未培養の多くの微生物が存在することから、引き続き微生物機能の探索・開発を続け、更なる活用へと繋げて行きたい。

(引用文献)

- Ohta, Y., Hatada, Y., Miyazaki, M., Nogi, Y., Ito, S., Horikoshi, K. Purification and characterization of a novel α -agarase from a *Thalassomonas* sp. *Curr Microbiol*, 50, 212-216, (2005)
- Ohta, Y., Hatada, Y., Ito, S., Horikoshi, K. High-level expression of a neoagarobiose-producing β -agarase gene from *Agarivorans* sp. JAMB-A11 in *Bacillus subtilis* and enzymic properties of the recombinant enzyme. *Biotechnol Appl Biochem*, 41, 183-191, (2005)
- Ohta, Y., Nogi, Y., Miyazaki, M., Li, Z. J., Hatada, Y., Ito, S., Horikoshi, K. Enzymatic properties and nucleotide and amino acid sequences of a thermostable β -agarase from the novel marine isolate, JAMB-A94. *Biosci Biotechnol Biochem*, 68, 1073-1081, (2004)
- Ohta, Y., Hatada, Y., Nogi, Y., Miyazaki, M., Li, Z., Akita, M., Hidaka, Y., Goda, S., Ito, S., Horikoshi, K. Enzymatic properties and nucleotide and amino acid sequences of a thermostable β -agarase from a novel species of deep-sea *Microbulbifer*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 64, 505-514, (2004)
- Ohta, Y., Hatada, Y., Nogi, Y., Li, Z., Ito, S., Horikoshi, K. Cloning, expression, and characterization of a glycoside hydrolase family 86 β -agarase from a deep-sea *Microbulbifer*-like isolate.

Appl Microbiol Biotechnol, 66, 266-227, (2004)

- Ohta, Y., Hatada, Y. A novel enzyme, λ -carrageenase, isolated from a deep-sea bacterium. *J Biochem*, 140, 475-481, (2006)
- Hatada, Y., Mizuno, M., Li, Z. J., Ohta, Y. Hyper-production and characterization of the ι -carrageenase Useful for iota-carrageenan oligosaccharide production from a deep-sea bacterium, *Microbulbifer thermotolerans* JAMB-A94^T, and insight into the unusual catalytic mechanism. *Mar Biotech*, 13, 411-422, (2011)
- 秦田勇二, 大田ゆかり, 食品中に含まれるカラギーナンのフィンガープリント分析法の開発. アサヒビール学術振興財団研究紀要, 22, 23-28, (2008)
- Ohta, Y., Nishi, S., Haga, T., Tsubouchi, T., Hasegawa, R., Konishi, M., Nagano, Y., Tsuruwaka, Y., Shimane, Y., Mori, K., Usui, K., Suda, E., Tsutsui, K., Nishimoto, A., Fujiwara, Y., Maruyama, T., Hatada, Y. Screening and phylogenetic analysis of deep-sea bacteria capable of metabolizing lignin-derived aromatic compounds. *Open Journal of Marine Science*, 2, 177-187, (2012)
- Ohta, Y., Nishi, S., Hasegawa, R., Hatada, Y. Combination of six enzymes of a marine *Novosphingobium* converts the stereoisomers of β -O-4 lignin model dimers into the respective monomers. *Sci Rep*, 5, 15105, (2015)
- Ohta, Y., Hasegawa, R., Kurosawa, K., Maeda, A., Koizumi, T., Nishimura, H., Okada, H., Qu, C., Saito, K., Watanabe, T., Hatada, Y. Enzymatic specific production and chemical functionalization of phenylpropanone platform monomers from lignin. *ChemSusChem*, 10, 425-433, (2017)
- 特許5126879, 新規DNA断片およびそれを含む組換えベクター, それらによって形質転換された形質転換体, ならびにそれらの利用.

謝 辞 本研究を遂行するに当たり、多大なるご指導とご協力を賜りました海洋研究開発機構 秦田勇二グループリーダー(現埼玉工業大学教授)、深海バイオ応用研究開発グループの皆様、井町寛之博士、稲垣史生博士、共同研究を実施下さった京都大学 渡辺隆司教授、片平正人教授、中村正治教授、西村裕志助教、芳賀拓真博士(国立科学博物館)、宮本徹博士(東北大学)、海洋研究開発機構研究航海にご尽力下さった皆様に深謝申し上げます。本研究の一部は、最先端・次世代研究開発支援プログラム(GS031)、JST戦略的創造研究推進事業・先端的低炭素化技術開発、科研費、京大学生存圏研究所生存圏ミッション研究、財団法人杉山産業化学研究所より支援を頂き実施致しましたことを付記致します。



細菌の環境応答と適応に関する分子生物学的研究

東京大学生物生産工学研究センター 特任准教授 古園(松田) さおり

はじめに

微生物、特に細菌について興味を惹かれるのは、生き物としては単純なシステムを持ちながら、類稀な環境への適応能力と多様な代謝能力を持つ点にあると思う。我が国の農芸化学分野ではそうした微生物の能力をものづくりや有用酵素のソースとして利用してきた。私は、生き物として単純なシステムを持つ細菌が周囲の環境にいかに応答し適応するのに興味を持ち、主に分子生物学的なアプローチでそのメカニズムを探ってきた。特に、分子が機能する場となる細胞内環境因子(pHや Na^+ イオン濃度、代謝)が分子の機能発現にどのように関わるかに注目してきた。

1. 細菌のpHおよび塩環境適応に関わるマルチサブユニット型 Na^+/H^+ アンチポーターに関する研究

細菌の中には動・植物が生存できないような極限的環境に好んで棲息するものがある。好アルカリ性細菌はそのような極限環境微生物の1つであり、*Bacillus halodurans* C125株の好アルカリ性因子として新規な Na^+/H^+ アンチポーターが発見された。その後、このアンチポーターのホモログは好アルカリ性細菌に限らず広く細菌に分布しており、6ないしは7つの遺伝子産物で構成されるマルチサブユニット複合体として機能することが明らかとなった¹⁾。本アンチポーター(Sha/Mrp)が*B. subtilis*や*Pseudomonas aeruginosa*では Na^+ ホメオスタシスにおいて中心的な役割を持ち、胞子形成や病原性に関わることを明らかにした^{2,3)}。*B. subtilis*の*sha/mrp*欠損株は、低濃度NaClで増殖はあまり影響を受けないが、胞子形成が著しく阻害される。また、対数増殖後の胞子形成への移行期に低濃度NaClを添加しても胞子形成は阻害される。移行期では σ^H の活性化やリン酸リレー系などの分子イベントが動く。このような時期が厳密な Na^+ ホメオスタシスを必要としたことから、細胞内環境の恒常性維持や制御が分子の機能発現にとって想像以上に重要なものではいかとの視点を得た。*P. aeruginosa*の*sha/mrp*欠損株はマウスモデルで病原性が低下したことから、本アンチポーターが感染菌抑制のための分子標的候補となる可能性を示した。

2. タンパク質のアシル化修飾と細菌の栄養応答に関する研究

翻訳後修飾は、タンパク質が与えられた状況で機能を発現するために不可欠なステップである。翻訳後修飾の情報はゲノムに書き込まれておらず、その全体像は未解明の部分が多いが、近年の質量分析をベースとしたプロテオミクス技術の進歩により翻訳後修飾を詳細に調べることが可能となってきた。その結果、タンパク質は想像以上にヘテロな集団であることが明らかになりつつある。またゲノムワイドな研究から、遺伝子発現量の変化だけでは十分説明できない代謝変化が見出されており、翻訳後レベル制御の重要性が再認識されている。近年細菌からヒトまで普遍的な翻訳後修飾として知られるようになったタン

パク質のアシル化修飾について、微生物における栄養応答や代謝制御との関わりに注目して現在研究に取り組んでいる。

2-1. *Corynebacterium glutamicum* のグルタミン酸生産とアシル化修飾

C. glutamicum は、L-グルタミン酸を初めとする我が国のアミノ酸発酵工業において重要な位置を占める細菌である。本菌のグルタミン酸生産は、Tween 40添加などの刺激により誘導されることが知られている。誘導刺激は細胞膜上のメカノセンシティブチャネルを開口させグルタミン酸を排出させるが、同時にグルコースからグルタミン酸合成に向う代謝流量の増加が起こることが代謝フラックス解析により示されている。一方で、それを担う代謝酵素の発現量は必ずしも上昇しておらず、代謝流量の増加に翻訳後レベル制御が関与する可能性が考えられた。私たちは、代表的なアシル化修飾であるアセチル化とスクシニル化がグルタミン酸生産誘導刺激に応答して大きく変動することを見出した⁴⁾。全体の傾向として、グルタミン酸生産条件ではアセチル化が抑制され、スクシニル化が増加していた。このアシル化修飾変化はグルタミン酸生産に直接的に関与する中央代謝経路の代謝酵素にも起こっており、グルタミン酸生産に必須なオキサロ酢酸供給の補充経路であるホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ(PEPC)の活性が653番目のリジン残基(K653)のアセチル化により負に制御されることを明らかにした。また、PEPC-K653の脱アセチル化酵素としてサーチュインホモログであるNCgl0616を同定した。さらに、NCgl0616によるK653脱アセチル化はグルタミン酸生産条件でのPEPC活性化に寄与することを示し、グルタミン酸生産におけるタンパク質(脱)アセチル化の意義の一端を明らかにした⁵⁾。

グルタミン酸生産条件では、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ(ODH)活性の低下を伴うことが知られている。ODH活性の抑制にはOdhIと呼ばれる制御因子が関与する。OdhIはリン酸化に依存して分子フォールディング状態を変化させ、非リン酸化型OdhIがODHのE1サブユニット(OdhA)に結合してODH活性を阻害する。OdhIの132番目のリジン残基

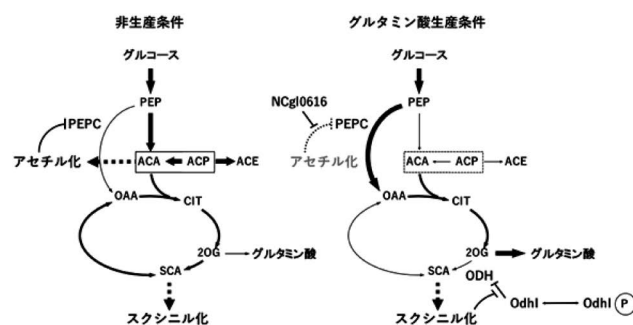


図1. グルタミン酸生産とアシル化修飾の関係

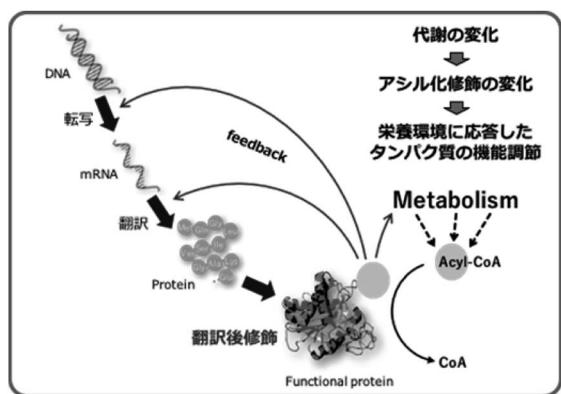


図2. アシル化修飾と細菌の栄養応答

(K132) のスクシニル化は、OdhA との相互作用を阻害し、その結果ODH活性は維持されグルタミン酸生産に対して負の効果をもたらすことを明らかにした⁶⁾。本研究を通して、OdhI は従来知られていたリン酸化だけでなくアシル化による制御を受けることを示し、OdhI制御に関する知見を広げることができた。

2-2. 代謝や栄養環境に依存して変化するアシル化修飾

アシル化修飾のうち代表的なアセチル化とスクシニル化は、解糖系やクエン酸回路より供給されるアセチル CoA やアセチルリン酸、スクシニル CoA をアシル基供与体とする。細菌は炭素源の種類や培養フェーズによって解糖系とクエン酸回路への依存度を変化させる。*B. subtilis* を対象とした定量アシローム解析から、代謝酵素をはじめとするさまざまなタンパク質にアセチル化とスクシニル化を見出し、それらが栄養条件や培養フェーズによって変動することを明らかにした⁷⁾。

現在はリボソームやRNAポリメラーゼのアシル化修飾に注目している。修飾状態の異なるRNAポリメラーゼやリボソームは、転写・翻訳機能において果たして同等なのか、それとも転写や翻訳の特異性に影響を与えることにより栄養環境に応じた遺伝子発現制御のメカニズムとなりうるのか興味を持たれる。*B. subtilis* の翻訳伸長因子EFTuは主要なアセチル化タンパク質であるが、培地条件や培養フェーズによってアセチル化とスクシニル化の状態が顕著に変化する。翻訳活性を負に制御するEFTuのスクシニル化部位の同定に成功し(論文投稿中)、その過程で翻訳機能に必須でない主要なアセチル化部位を見出し、翻訳外機能や翻訳の特異性に関わる可能性について現在調べている。

おわりに

細菌におけるアセチル化とスクシニル化は、反応性の高いアセチルリン酸やスクシニル CoA による非酵素的なメカニズムによるものが大多数であり、ある種の代謝ストレスとの見方もある。一方、細胞がどのような栄養環境を経てきたかの痕跡(記憶)をとどめていると捉えることもできる。代謝を反映して変化するアシル化修飾が、細菌の栄養環境応答や代謝制御にどのように関わるのか、今後も探求していきたい。

最近の研究で、中央代謝系を構成する酵素群は超酵素複合体

(メタボロン)を構成していることが明らかになりつつある。アシル化修飾がメタボロンの再構築を介して代謝フラックスを変化させる可能性を考えている。多くの有機酸やアミノ酸は中央代謝系から分岐して生産される。アシル化修飾のメタボロン形成における新たな役割が見えてくれば、有用物質生産のための新たなアプローチや代謝制御のための標的を提示できることが期待される。農芸化学分野における「微生物によるものづくり」への貢献と、生物種を超えた普遍的なアシル化修飾の意義の発見を目指して、今後も細菌におけるアシル化修飾研究を発展させていきたい。

(引用文献)

- 1) Kajiyama Y., *et al.* Complex formation by the *mrpABCDEF* gene products, which constitute a principal Na^+/H^+ antiporter in *Bacillus subtilis*. J. Bacteriol., 189: 7511-4 (2007).
- 2) Kosono S., *et al.* Function of a principal Na^+/H^+ antiporter, ShaA, is required for initiation of sporulation in *Bacillus subtilis*. J. Bacteriol., 182: 898-904 (2000).
- 3) Kosono S., *et al.* Characterization of a multigene-encoded sodium/hydrogen antiporter (Sha) from *Pseudomonas aeruginosa*: its involvement in pathogenesis. J. Bacteriol., 187: 5242-5248 (2005).
- 4) Mizuno Y., Nagano-Shoji M., *et al.* Altered acetylation and succinylation profiles in *Corynebacterium glutamicum* in response to conditions inducing glutamate overproduction. MicrobiologyOpen, 5: 152-173 (2016).
- 5) Nagano-Shoji M., *et al.* Characterization of lysine acetylation of a phosphoenolpyruvate carboxylase involved in glutamate overproduction in *Corynebacterium glutamicum*. Mol. Microbiol., 104: 677-689 (2017).
- 6) Komine-Abe A., Nagano-Shoji M., *et al.* Effect of lysine succinylation on the regulation of 2-oxoglutarate dehydrogenase inhibitor, OdhI, involved in glutamate production in *Corynebacterium glutamicum*. Biosci. Biotechnol. Biochem., 81: 2130-2138 (2017).
- 7) Kosono S., *et al.* Changes in the acetylome and succinylome of *Bacillus subtilis* in response to carbon source. PLoS One, 10 (6): e0131169 (2015).

謝辞 ここに紹介させていただいた一連の研究は、理化学研究所工藤環境分子生物学研究室・吉田化学遺伝学研究室、東京大学生物生産工学研究センター微生物機能代謝工学寄付部門にて行ったものです。これまで一緒に研究に携わり苦勞をともにしてくれた共同研究者の方々に深く感謝いたします。寄付講座のアドバイザーとしていつも親身にご指導くださりまた本賞へのご推薦を賜りました東京大学生物生産工学研究センターの西山真先生に心より御礼申し上げます。細菌のアシル化修飾というやりがいのある研究テーマに引き合わせてくださいました理化学研究所の吉田稔先生に厚く御礼申し上げます。Sha/Mrp アンチポーターに関する研究は、理化学研究所にて工藤俊章先生のご指導のもとで行いました。研究員としての姿勢と心構えを教えていただいたことに感謝申し上げます。最後に、寄付部門を支援していただいている協和発酵キリン並びに協和発酵バイオ株式会社に厚く御礼申し上げます。



有機合成を基軸としたフラバン-3-オール誘導体の機能性解明研究と 栽培現場への貢献を目指した研究展開

大阪電気通信大学工学部環境科学科 齊 藤 安貴子

はじめに

フラバン-3-オール化合物とは、図1に示したような3環性の構造の3位に水酸基を有する化合物群である。一般的に「カテキン類」と呼ばれ認知度も高い。また、フラバン-3-オール誘導体がオリゴマー化した化合物群をプロアントシアニジンと呼び、リングポリフェノール、ワインポリフェノール、カカオポリフェノールなども、このプロアントシアニジンが主成分である。代表的な構造は図2に示したが、水酸基の数やオリゴマーの長さ、さらには様々な官能基や分子団による修飾により、多くの類似の構造を持つ化合物の混合物として存在し、それぞれの化合物を単離・構造決定が難しい化合物として知られる。そのため、生物活性評価に十分な純粋な化合物を確保すること、また、適した対照化合物を同時に入手することが困難であることから、構造-活性相関研究が進みにくい化合物群である。

そこで、発表者は、有機合成の技術を用いて純粋な化合物を確保し、さらに、その生物活性評価系において適した対照化合物を同時に合成することで、詳細な構造-活性相関研究を進めてきた。それらの研究は、フラバン-3-オール誘導体の機能性は、化合物の微細な構造に大きく影響されることを証明してきた。すなわち、様々な作物に含まれるフラバン-3-オール誘導体は、「混合物としてどれくらいの総量が含まれているか」、よりも、「どの構造をもつ化合物がどれくらい含まれているか」が重要であることが示唆されている。化合物レベルの分析と機能性解析のエビデンスが簡単に利用できるならば、作物の高機能化、高付加価値化が可能となる。しかし、栽培の現場などで、これらの化学的知見を直接利用するのは難しく、より利用しやすい形で研究成果を提供する必要がある。このような視点から、候補者はいかに示すいくつかの挑戦を進めてきた。本講演では、最近の成果を中心に解説し、今後どのように研究を展開しているのか、その方向性について述べたい。

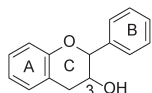


図1. フラバン-3-オールの基本構造

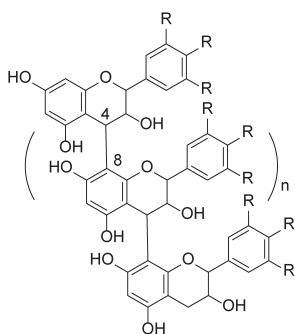


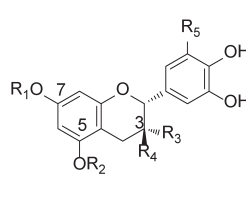
図2. プロアントシアニジンの構造

1. フラバン-3-オール誘導体ライブラリーの構築と構造-活性相関研究

様々な作物に含まれるフラバン-3-オール誘導体、及び、それらと類似の構造を持つ化合物群を有機合成で確保し、化合物、及び、その物性データを論文化すると同時にライブラリーとして保存してきた¹⁾。有機化学的な位置選択的修飾法や立体選択的な合成法の開発²⁾を進めると同時に、その化合物の生物活性試験における対照化合物を合成している。これは、効率的に機能性の比較をすることが可能なラインナップ、構造が極めて類似して活性が低いコントロールとなりうる化合物も同時に揃えることを目的としている。また、ライブラリーの化合物群を用いた構造-活性相関研究を行い、微細な構造の違いが生物活性に大きく影響することを証明している。例えば、図3に示した化合物群は類似の構造を持つフラバン-3-オール誘導体であるが、(-)-エピカテキンの3位と5位にガロイル基(G)を導入した化合物1は高い子宮頸ガン細胞HeLa S3増殖抑制活性を示すが、3位の立体が反転した化合物2は活性を示さない³⁾。また、化合物1のR₅の位置に水酸基が導入された化合物群は予想に反して活性が低下した⁴⁾。さらに、化合物1のガロイル基の導入位置を3位と7位に変えた化合物4でも活性が低下した⁵⁾。このように、フラバン-3-オール誘導体の活性は、微細な構造によって大きく異なり、水酸基の数や化合物の総量では、その機能性を評価することが難しいことが示唆されている。有機合成の有利な点は、これらの化合物の機能性評価に対して必要な対照化合物を同時に確保できる点だと考えている。

2. フラバン-3-オール誘導体の利用と栽培現場への貢献を目的としたベンチャー企業の創設

発表者は、現在の大学の枠組みだけでは、研究成果の効率的な利用や本来その技術を必要としている現場への迅速な貢献が難しいと考え、2015年8月に大学内ベンチャー企業(株)ベリーらばを創設し代表取締役役に就任した。本会社の業務は、主にフラバン-3-オール誘導体ライブラリーを利用した分析委託業務や、研究に必要な化合物群の提供等とした。通常であれば大学との共同研究契約などが必要で、中小企業や栽培現場では利用しにくい研究成果をより利用しやすくし、大学発の技術と化学的なエビデンスを、より効率的に社会に役立てることを目的としている。また、このベンチャー企業を中心として地域連携活



- 1: R₁ = R₄ = R₅ = H, R₂ = R₃ = G
 2: R₁ = R₃ = R₅ = H, R₂ = R₃ = G
 3: R₁ = R₄ = H, R₂ = R₃ = H, R₅ = OH
 4: R₁ = R₃ = G, R₂ = R₄ = R₅ = H

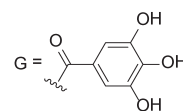


図3. ガロイル基導入による HeLa S3細胞増殖への影響評価

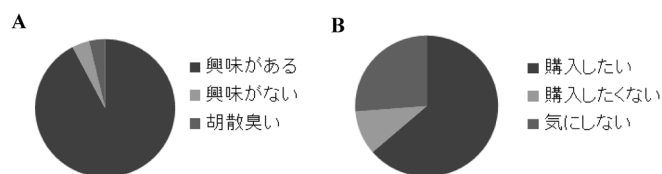


図4. アグリビジネスフェアにおけるアンケート結果の一部

動等の社会貢献活動も同時に進めている。この成果や提案は農水省主宰「アグリビジネス創出フェア」に2015～2017年度出展し報告している。

図4は、2017年度のアグリビジネスフェアにおいてアンケートを実施した結果の一部であるが、Aは「食品の機能性について興味があるか」(回答数429)、Bは「ポリフェノールが含まれていることが購買意欲につながるか」(回答数346)、をまとめたものである。回答者は食品業界や農業関連の方々が多く世間一般の意見とは言えないが、食品の機能性に興味はあるが、商品購入時ポリフェノール成分の有無は気にしないとの回答が4分の1程度あった。2017年での本調査に加え、2015、2016年度も同様なアンケートをしたが、ほぼ同様な結果が得られている。これまでフラバン-3-オール誘導体の機能性を化学的に解明することに注力してきたが、それに加えて、化合物の付加価値の定着や啓もう活動がさらに必要だと感じた。

これらの背景から、アカデミアの研究者としてすべきことはもちろん、ベンチャー企業の経営者として、栽培現場でも利用可能な化合物データ・分析技術の提供など少しずつ形にし、より現場で利用しやすい・利用価値のあるデータ・技術を提供可能な体制を作り上げたいと考えるに至った。

3. フラバン-3-オール誘導体のプローブ化研究と機能性証明

様々な研究やアッセイ系において、プロアントシアニジンが天然由来の生物活性化合物として同定されることが多い。しかし、単離が困難である上、混合物で機能が発揮される例も多い。そこで、プロアントシアニジンの多数ある水酸基を利用してプローブ化することで、混合物でも化学生物学研究を可能とする技術の検討を行った。具体的には、理化学研究所長田抗生物質研究室で開発されたジアジリンによる光親和型官能基非依存型固定化法⁶⁾を応用した方法を用いている。ごく最近の成果として、国立感染症研究所の研究グループに、リンカーに固定化したプロアントシアニジンを提供することにより、プロアントシアニジンがB型肝炎ウイルスに対して抗ウイルス活性を持つメカニズムを解明する一助になることができた⁷⁾。プロアントシアニジンは一般的に様々なタンパク質の配列と非特異的に結合すると言われているが、その構造や目的のタンパク質によっては、特異的に結合して効果を発揮できることの証明になったと考えている。

おわりに

発表者は、これまでの研究生活のほとんどを小さな分子の合成やその機能性に興味を持ち研究を行ってきた。もちろん、研究の興味の中心は現在でも生理活性物質の構造の美しさや反応性の不思議を解明することにあるが、その成果や知見を社会に役立てるにはどのようにすればよいか考えるようになった。社会からどのような知識や技術が求められているのか、私たちが見いだしている化学的な現象を社会に役立つところまで発展させるには、どのレベルまで到達すればよいのか、など日々考えながら研究を進めている。現在でも答えはまだ出ておらず自ら

の力不足を痛感しているが、一つ一つ成果を積み重ねた先に答えがあると信じ今後も努力をし続けるつもりである。

(引用文献)

- 1) 農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業, 研究紹介2015, シーズ創出ステージ, 「プロアントシアニジンのライブラリー構築とその食機能性の解明」, p. 47 (2015).
- 2) ごく最近の報告としては: Y. Higashino, *et al.*, "Regioselective synthesis of procyanidin B6, a 4-6-condensed (+)-catechin dimer, by intramolecular condensation." *Molecules*, Vol. 23, p. 205 (2018).
- 3) K. Mori, *et al.*, "Role of 2,3-*cis* structure of (-)-epicatechin-3,5-*O*-digallate in inhibition of HeLa S3 cell proliferation." *Nat. Prod. Chem. Res.*, Vol. 3, p. 172 (2015).
- 4) A. Saito *et al.*, 未発表データを含む
- 5) T. Hojima, *et al.*, "Role of 3,5-digalloyl and 3',4'-dihydroxyl structure of (-)-epicatechin-3,5-digallate in inhibition of HeLa S3 cell proliferation." *Nat. Prod. Chem. Res.*, Vol. 5, p. 250 (2017).
- 6) N. Kanoh, *et al.*, "Photo-cross-linked small-molecule affinity matrix for facilitating forward and reverse chemical genetics." *Angew. Chem. Int. Ed.*, Vol. 44, pp. 3559-3562 (2005).
- 7) S. Tsukuda, *et al.*, "A new class of hepatitis B and D virus entry inhibitors, proanthocyanidin and its analogs, that directly act on the viral large surface proteins." *Hepatology*, Vol. 65, pp. 1104-1116 (2017).

謝 辞 最近の研究成果は、究農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業, シーズ創出ステージ (2012～2014), 2014年度 飯島藤十郎記念食品化学振興財団 (2014), 倉田記念日立科学技術財団 (2015～2017), 及び、大阪電気通信大学などからのご支援により行ったものです。また、抗ウイルス活性に関与する機会を与えて下さった国立感染症研究所・渡士幸一主任研究官、九十田千子博士に心より感謝申し上げます。本賞を頂くにあたり、学生時代から温かいご指導ご鞭撻を賜り、研究者として生きていく基礎を築いてくださいました東北大学名誉教授・折谷隆之先生、田中陽光先生、岡山大学・清田洋正先生に心より御礼申し上げます。また、博士課程において研究だけではなく女性研究者としての生き方をご指導くださいました、東京理科大学・黒田玲子先生に感謝申し上げます。富山県バイオテクノロジーセンターにて、現在の本研究課題に直結する研究を行う機会を与えていただきました、北海道大学・生方信先生、富山県立大学・中島範行先生、岡山理科大学・松浦信康先生、また、(独)理化学研究所 長田抗生物質研究室にて、化学生物学研究を行う機会を与えていただきました、長田裕之主任研究員、東北大学・叶直樹先生、須藤龍彦研究員、渡辺信元研究員、近藤恭光研究員に心より感謝申し上げます。本受賞は、現在在籍しております大阪電気通信大学の先生・職員の方々が研究室やベンチャー企業の立ち上げにご協力くださらなければ成し得ませんでした。また、作物栽培検討のため「植物栽培ユニット agri-cube」を貸与くださった大和ハウス工業株式会社総合技術研究所フロンティア技術研究室の皆様のご協力により本研究の方向性を見いだすことができました。さらに、子育て中の私を支えながら研究をゼロから立ち上げ発展させてくれた大阪電気通信大学の学生たちがいたからこそ、現在の研究があります。この場を借りて深く御礼申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました岡山大学大学院環境生命科学研究科 清田洋正先生、ならびにご支援賜りました諸先生に厚く御礼申し上げます。

微生物を活用した N 型糖鎖代謝酵素の機能解明とその応用



京都大学大学院生命科学研究科 梅川 碧里

はじめに

糖質は、細胞が ATP を生産する源となるとともに、タンパク質や膜上において、多糖が連結した「糖鎖」として存在し、細胞の構造維持や生体分子の機能に重要な役割を持つ。筆者は、「糖鎖の代謝分解」に関わる種々の酵素の機能について、微生物を活用して、分子・細胞レベルで明らかにするとともに、有用物質生産に向けた応用展開を目指している。本研究では、タンパク質のアスパラギン残基に結合する N-結合型 (N 型) 糖鎖の代謝分解に関わる微生物酵素の機能と活性に着目して行った。

1. 微生物由来のエンドグリコシダーゼを用いた新規糖タンパク質調整法の開発

バイオ医薬品として用いられるタンパク質の多くは、糖鎖の付加した糖タンパク質であり、糖鎖の有無や微細な構造の違いによりその機能や生理活性は大きく異なる。とりわけ、N 型糖鎖末端にシアル酸が付加したヒト型のシアロ複合型糖鎖は、多くのサイトカインの生理活性に重要である。抗貧血薬として用いられるエリスロポエチンは、3 本の N 型糖鎖を持つ糖タンパク質であるが、末端のシアル酸が欠如すると血中半減期が減少し、生理活性を殆ど示さない。そのため、特定の糖鎖を有する均一な糖タンパク質を効率的に調製する手法が必要となる。筆者らは、微生物由来の N 型糖鎖代謝酵素が有する特異的な糖転移付加機能を飛躍的に向上させ、ヒト型糖鎖を有する糖タンパク質を簡便かつ高収率で生産する手法を開発した。

本研究で着目する、糸状菌由来のエンドグリコシダーゼ (Endo-M) の特徴は、シアロ複合型糖鎖を含む N 型糖鎖に幅広く作用してオリゴ糖を切り出し、加水分解するだけでなく、1 残基の GlcNAc が付加したポリペプチドに N 型糖鎖のオリゴ糖を転移付加する糖転移活性を有することである。しかし、Endo-M は、本来の糖加水分解活性が強く、糖転移生成物は直ちに加水分解されごく微量しか得られないことが、タンパク質に糖鎖付加するツールとして活用するための問題であった。

筆者らは、まず、Endo-M を遺伝子操作の容易な大腸菌で生産させる系を構築し、Endo-M の部位特異的変異体を効率的に作製することを可能にした。当時、ホモログ間で結晶構造は報告されていなかったため、アミノ酸配列の相同性などから、活性中心付近に位置することが予測された多種類のアミノ酸残基の部位特異的変異体を網羅的に作製し、酵素学的解析を行った。その結果、糖転移活性の初速度が野生型 Endo-M の 2 倍程度まで上昇した変異体酵素 Y217F を選抜し、目的の糖転移生成物の最大収量を大幅に向上させることに成功した¹⁾。しかし、やはり糖転移生成物は時間とともに加水分解され、長時間反応させると消失した。そこで筆者は、「糖転移生成物を加水分解しない変異体」を作製することを試みることにした。

多くの糖加水分解酵素は、酸/塩基触媒残基と求核触媒残基

の 2 つの触媒残基を有する。一方、Endo-M を含む一部の糖加水分解酵素は、酸/塩基触媒残基のみを有し、基質の GlcNAc の 2-アセトアミド基が求核基として機能することによって、環状のオキサゾリン中間体構造が形成される。同メカニズムにより機能するキチナーゼや β -ヘキソサミニダーゼにおいては、活性中心の Asp がオキサゾリン反応中間体形成に重要な鍵残基として機能することが立体構造解析から示されている。筆者は、Endo-M のホモログ間では Asp の代わりに非酸性残基の Asn が保存されていることに着目し、そのアラニン置換体 (Endo-M-N175A) を作製した。そして、Endo-M-N175A は、通常の N 型糖鎖に対する触媒活性を殆ど有さないが、オキサゾリン反応中間体構造を有する糖オキサゾリンを化学合成して、供与体基質として反応させることにより、糖転移生成物を生成することを見出した¹⁾。N 型糖鎖に対する触媒活性を失った Endo-M-N175A は、生成した糖転移生成物を加水分解することなく蓄積できることが判明した。バクテリアのホモログである Endo-A において、対応する変異体を作製した結果、同様の結果が確認された²⁾。これらの結果は、Endo-M のホモログ間では、イレギュラーな Asn がオキサゾリン中間体形成の鍵残基として機能することを示唆している。

筆者らは、Endo-M の Asn-175 を他の全てのアミノ酸に置換した変異体を作製し、グルタミン残基に置換した Endo-M-N175Q が、糖オキサゾリンに対する糖転移活性が著しく高められた変異体であることを見出した³⁾。ヒト型のシアロ複合型糖鎖を、野口らにより開発された簡便法⁴⁾を用いてオキサゾリン化し、Endo-M-N175Q と反応させた結果、均一なヒト型糖鎖を有する目的タンパク質が約 80% の高収率で得られた⁵⁾。また、本手法を用いていくつかの生理活性ペプチドにシアロ複合型糖鎖を付加した結果、生理活性を損なうことなく、プロテアーゼ抵抗性を付与することができた^{5), 6)}。

上記 Endo-M-N175Q 及び Y217F は、2011 年に東京化成工業より市販化され、タンパク質に N 型糖鎖を付加するツールとして利用されている。本研究で新たに開発した「エンド酵素のアスパラギン変異体と糖オキサゾリンを用いて糖転移生成物を蓄積させる」という手法は、いくつかのホモログ酵素にも適用され、同様の変異体が創出されている。本研究において、エンドグリコシダーゼを活用してタンパク質に N 型糖鎖を効率的に付加する技術を確立することができたと考えている。

2. 酵母を用いた細胞内 N 型糖鎖代謝制御と栄養応答の機構解明

生体内における細胞内代謝分解の機能はさまざまな環境変化に応じて厳密に調節制御される。細胞内代謝の代表的な機構の一つが、真核生物に保存された大規模分解経路「オートファジー」である。オートファジーは、不要なタンパク質やオルガネラなどのさまざまな細胞質成分を液胞 (またはリソソーム) に膜輸

送り分解するシステムである。オートファジーは、栄養飢餓時に自己タンパク質を分解してアミノ酸を再利用する生理的意義を持つと考えられているが、「オートファジーを介したリサイクル」に関する知見は乏しい。オートファジーの終着点である液胞には、タンパク質のほか、種々の糖鎖も輸送され分解されるが、実際にその栄養飢餓時における重要性を示した報告は殆どない。本研究では、未解明な「オートファジーを介したリサイクル」の意義について、糖質代謝の視点から明らかにすることを目的として、細胞外環境に応じて運命決定する真核モデル生物である出芽酵母を用いて解析を行った。

まず、オートファジーが強く誘導される栄養飢餓条件下で、細胞内糖代謝分解が誘導されるのかを明らかにするため、酵母の細胞内に豊富に存在する高マンノース型のN型糖鎖の代謝分解を担う α -マンノシダーゼ(Ams1)の細胞内活性の変化に着目した。それまで、Ams1は恒常的に細胞質遊離糖鎖を代謝すると考えられてきたが、筆者らは、Ams1の細胞内活性は富栄養条件下では非常に微弱であり、アミノ酸やグルコースなどの栄養飢餓時に著しく上昇することを明らかにした⁷⁾。Ams1は栄養応答に重要なTORC1キナーゼおよびProteinkinaseAにより下方制御され、飢餓に応じてストレス応答性転写因子Msn2/4により転写誘導されることを明らかにした。加えて、オートファジーにより液胞に輸送されプロテアーゼ依存的プロセッシングを受けることで翻訳後レベルでも活性化されることを明らかにした。これらの結果から、Ams1を介した細胞内マンノシド糖鎖の代謝は、オートファジーと連動して栄養飢餓時に重要な生理的意義を持つことが考えられる。

また筆者らは、Ams1の細胞内活性が栄養シグナルに応じて変動することを利用して、細胞外からの栄養伝達に関わる新規の膜機能分子Ecm33を同定している⁸⁾。Ecm33の欠損株では、富栄養条件下においても細胞内が飢餓状態にシフトしており、TORC1が不活化することで、オートファジーが亢進した。Ecm33は、細胞表面において、細胞外グルコースの効率的な取り込みに関与し、栄養増殖時における活発なATP生産と細胞増殖を促す生理機能を担うことが示唆された。

本研究によって、細胞外炭素源の飢餓に端を発し、最終的に細胞内糖鎖の代謝分解に至るまでのシグナル伝達経路に関わる新たな分子および分子機構の解明に貢献できたと考えている。今後は、糖タンパク質糖鎖の「分解経路」の重要性と新たな意義を明らかにしていきたい。また、同定した細胞外糖質の資化代謝に関わる遺伝子を改変し、細胞外糖質から効率的にエタノール生産できる酵母の創製にも応用展開したい。

(引用文献)

- 1) Umekawa M, Huang W, Li B, Fujita K, Ashida H, Wang LX, Yamamoto K. Mutants of *Mucor hiemalis* endo-beta-N-acetylglucosaminidase show enhanced transglycosylation and glycosynthase-like activities. *J Biol Chem*, Vol. 283, p 4469-4479 (2008)
- 2) Huang W, Li C, Li B, Umekawa M, Yamamoto K, Zhang X, Wang LX. Glycosynthases enable a highly efficient chemoenzymatic synthesis of N-glycoproteins carrying intact natural N-glycans. *J Am Chem Soc*, Vol. 131, p 2214-2223 (2009)
- 3) Umekawa M, Li C, Higashiyama T, Huang W, Ashida H, Yamamoto K, Wang LX. Efficient glycosynthase mutant derived from *Mucor hiemalis* endo-beta-N-acetylglucosaminidase capable of transferring oligosaccharide from both sugar oxazoline and natural N-glycan. *J Biol Chem*, Vol. 285, p 511-521 (2010)
- 4) Noguchi M, Tanaka T, Gyakushi H, Kobayashi A, Shoda SI. Efficient synthesis of sugar oxazolines from unprotected N-Acetyl-2-amino sugars by using chloroformamidine reagent in water. *J Org Chem*, Vol. 74, p 2210-2212 (2009)
- 5) Umekawa M, Higashiyama T, Koga Y, Tanaka T, Noguchi M, Kobayashi A, Shoda S, Huang W, Wang LX, Ashida H, Yamamoto K. Efficient transfer of sialo-oligosaccharide onto proteins by combined use of a glycosynthase-like mutant of *Mucor hiemalis* endoglycosidase and synthetic sialo-complex-type sugar oxazoline. *Biochim Biophys Acta*, Vol. 1800, p 1203-1209 (2010)
- 6) Higashiyama T, Umekawa M, Nagao M, Katoh T, Ashida H, Yamamoto K. Chemo-enzymatic synthesis of the glucagon containing N-linked oligosaccharide and its characterization. *Carbohydr Res*, Vol. 455, p 92-96 (2018)
- 7) Umekawa M, Ujihara M, Makishima K, Yamamoto S, Takematsu H, Wakayama M. The signaling pathways underlying starvation-induced upregulation of α -mannosidase Ams1 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim Biophys Acta*, Vol. 1860, p 1192-1201 (2016)
- 8) Umekawa M, Ujihara M, Nakai D, Takematsu H, Wakayama M. Ecm33 is a novel factor involved in efficient glucose uptake for nutrition-responsive TORC1 signaling in yeast. *FEBS Lett*, Vol. 591, p 3721-3729 (2017)

謝 辞 本研究は、京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻分子応答機構学分野、および立命館大学生命科学部生物工学科にて実施したものです。カビ由来エンドグリコシダーゼに関する研究を行う機会を与えてくださり、ご指導戴くとともに、研究者として私を育成してくださった、山本憲二先生(現 石川県立大学特任教授)ならびに芦田久先生(現 近畿大学教授)に心より御礼申し上げます。本研究は、メリーランド大学のLai-Xi Wang先生ならびに東北大学の正田晋一朗先生のグループ、鹿児島大学の藤田清貴先生との共同研究による成果です。幾度もご助言をくださり、導いてくださった先生方に深く感謝致します。酵母を用いた糖代謝制御に関する研究を実施するにあたっては、酵母を扱う細胞生物学の基礎をご指導戴き、多くのリソースをご提供戴いたミシガン大学のDaniel Klionsky先生、自由に研究遂行する機会と環境を与えてくださった立命館大学の若山守先生、共同研究を行わせて戴いた京都大学の竹松弘先生に心より御礼申し上げます。私が今まで研究を続けることができたのは、ご支援くださった多くの先生方、当該研究に貢献してくれた学生の皆様、そして家事育児に協力してくれた家族・両親のお陰であり、心より感謝致します。最後になりましたが、日ごろから研究に関するご助言をくださり、本賞にご推薦くださいました京都大学の片山高嶺先生に深く御礼申し上げます。

味覚受容体の新しい機能解析技術の開発と味覚受容の分子機構の解明



明治大学 農学部 農芸化学科 食品機能化学研究室 戸田 安香

はじめに

味覚は、食物を摂食可能であるかを決定する上で重要な化学感覚である。味は甘味、旨味、苦味、酸味、塩味の基本五味からなり、それぞれの味は口腔中の味蕾に発現する受容体タンパク質により受容される¹⁾。そのうち嗜好味である甘味と旨味はGタンパク質共役型受容体(GPCR)のT1Rファミリーのヘテロ2量体で受容され、基本的に甘味は糖質を、旨味はアミノ酸及びヌクレオチドを検出する役割を担う(図1)。筆者はこれまで、味覚受容体の新たな機能解析技術を開発し、その新技術により味覚受容の分子機構の解明を行ってきた。

1. 発光検出系の導入による味覚受容体の新規機能解析技術の開発

味覚受容体と味物質の相互作用を解析する手法として、培養細胞を用いたカルシウムイメージング法が広く用いられている(図2)。この評価系では、培養細胞に味覚受容体及びGタンパク質を強制発現させ、味物質添加時の受容体の活性化の強さを細胞内カルシウム濃度の変化量として数値化する。この際、細胞内カルシウムの検出には、カルシウム感受性蛍光指示薬が広く用いられてきた。しかし、サンプル中にビタミン類やメイラード反応物質などの蛍光物質が含有される場合、この蛍光検出系を利用することができない(図3)。そこで、1) 蛍光物質を含有するサンプルでも測定が可能な新規味覚評価系の開発が望まれていた。また、旨味受容体や苦味受容体の発現細胞においては、味物質添加時にごく僅かにしか細胞内カルシウム濃度

が変化せず、高感度評価系の構築が難しかったことから、2) 検出感度の高い評価系の開発が望まれていた。

上記2つの課題を解決するために、筆者は蛍光検出系に代わる細胞内カルシウムの検出技術として、カルシウム結合型発光タンパク質を用いた発光検出系を導入した²⁾。発光検出系では、検出の際に励起光の照射が不要なため、サンプル自体が蛍光特性を有する場合にも影響を受けずに測定が可能である(図3)。また、蛍光検出系では培養細胞内に存在する弱い蛍光物質による干渉が生じるのに対し、発光検出系では事実上バックグラウンドがない状態での測定が可能のため、蛍光検出系に比べ高いシグナル/バックグラウンド比を実現することも可能である。

筆者は、用いる発光タンパク質の種類を検討し、発光タンパク質をミトコンドリア内に局在化させる等の工夫を重ねることで、味覚受容体の活性化の強さを発光値として検出することに成功した。検出感度も向上し、苦味や旨味受容体の高感度評価系の構築にも成功した。特に、旨味受容体の高感度評価系の構築に成功しているグループは世界でも殆どなく、旨味受容体の機能解析において世界をリードした研究を行うことが可能となった。更に、この評価系はリボフラビンなど食品由来の蛍光特性を有するサンプルの測定にも利用可能なことが確かめられた³⁾。作製した評価系では発光値の検出にスループットの高いマイクロプレートリーダーを用いることから、味覚修飾作用を有する食品成分の大規模スクリーニングにも役立つものとなった。

2. 味覚受容の分子機構の解明

2-1. 旨味受容体のアミノ酸選択性を決定する分子機構の解明

ヒトの旨味受容体はグルタミン酸で強く活性化されるが、マウスの旨味受容体はグルタミン酸よりもむしろそれ以外の幅広いアミノ酸により強く活性化される(図4)⁴⁾。しかし、この分子機構は明らかになっていなかった。そこで、筆者は構築したハイスループットアッセイ法を用いて、ヒト及びマウス旨味受容体の変異体162種類の機能解析を実施し、ヒトとマウスの間にあるアミノ酸選択性の違いが、リガンド結合部位と非リガン

	甘味受容体	旨味受容体
リガンド	天然糖 人工甘味料 甘味タンパク質 など	アミノ酸 ヌクレオチド (イノシン酸、 グアニル酸など)

図1. 甘味・旨味受容体

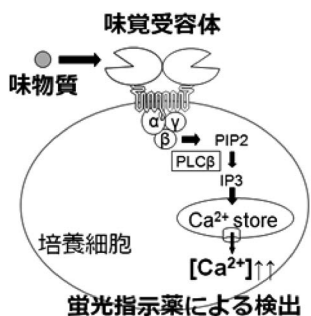


図2. 培養細胞を用いた味評価系

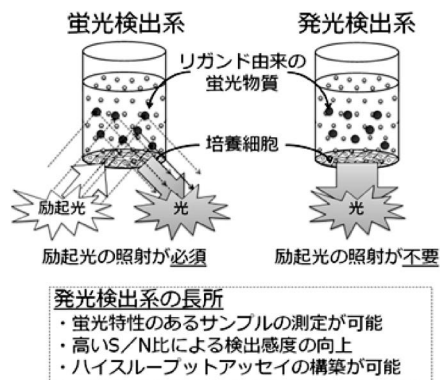


図3. 蛍光検出系と発光検出系の比較

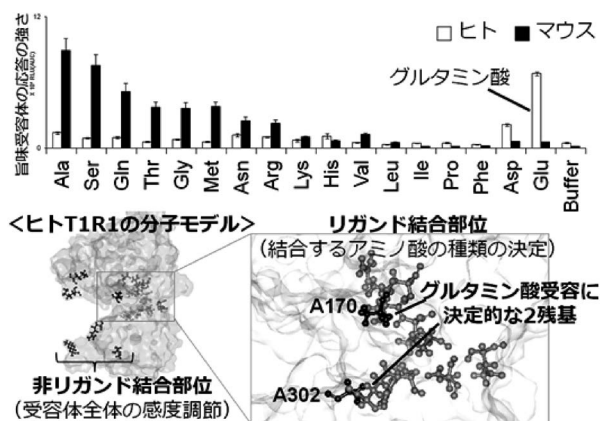


図4. 旨味受容体のアミノ酸選択性を決定する分子機構

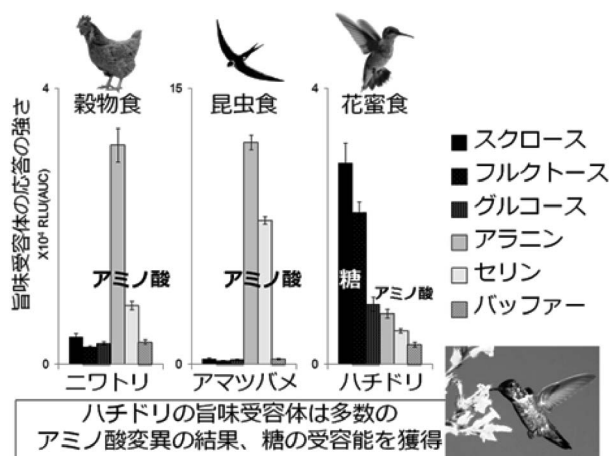


図5. ハチドリの花蜜の糖の味受容機構

ド結合部位の特性の組み合わせで決定されることを明らかにした(図4)⁵⁾。中でもグルタミン酸受容能は、T1R1のリガンド結合部位に存在する2アミノ酸残基の負電荷の消失により獲得されることを明らかにした(図4)⁵⁾。今後、この2アミノ酸残基の変異が進化の過程でどのように獲得されたのかを明らかにすることで、ヒトがグルタミン酸に旨味を感じることの生理的意義を解明することにも繋がると期待される。

2.2. ハチドリの花蜜の味受容機構の解明

鳥類は甘味受容体の構成因子であるT1R2が偽遺伝子化しているため⁶⁾、甘味を感知できないと考えられている。そのため、糖が豊富な花蜜を主食とするハチドリなどの蜜食性鳥類がどのように蜜の味を感知しているのかは長年の謎であった。そこで、筆者が発光検出系を用いて鳥類の旨味受容体の機能解析を行ったところ、ハチドリは旨味受容体が糖を受容する機能を持つことが明らかになった。また、134種類のニワトリ及びハチドリのキメラ変異体や点変異体を解析することで、この機能転換はハチドリが非蜜食性鳥類から種分化した後に、旨味受容体における多数のアミノ酸変異を得たことでもたらされたことを実証した(図5)⁷⁾。本研究では鳥類の旨味受容体のリガンドと実際の嗜好性が非常に良く一致することが示された。今後、発光検出系を、家禽を含む産業動物の味覚受容体の機能解明に役立てることで、飼料開発への貢献も期待される。

おわりに

筆者らは発光検出法の導入により、高感度かつハイスループットな味覚受容体の機能解析技術を構築することに成功し

た。特に、甘味・旨味・苦味といったGPCRを介した味質の中で、旨味受容に関する研究は進んでいないことから、旨味受容体のハイスループットアッセイ法が確立できたことの意義は大きい。ヒト旨味受容体はグルタミン酸によって強く活性化されるが、マウス⁴⁾や鳥類、魚類⁸⁾の旨味受容体はグルタミン酸によってほとんど活性化されない。今後は、本評価系を味覚修飾物質の探索や味覚修飾メカニズムの解明に役立てるだけでなく、「ヒトがどのような成分においしさを感じるのか」という生物学的な問いを解決するためにも活用していきたい。

(引用文献)

- 1) Chandrashekar J, Hoon MA, Ryba NJ, Zuker CS. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, Vol. 444, p 288–294, (2006)
- 2) Shimomura O, Johnson FH, Saiga Y. Further Data on the Bioluminescent Protein, Aequorin. *J. Cell Physiol.*, Vol. 62(1), p 1–8, (1963)
- 3) Toda Y, Okada S, Misaka T. Establishment of a new cell-based assay to measure the activity of sweeteners in fluorescent food extracts. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 59(22), p 12131–12138, (2011).
- 4) Nelson G, Chandrashekar J, Hoon MA, Feng L, Zhao G, Ryba NJ, Zuker CS. An amino-acid taste receptor. *Nature*, Vol. 416 (6877), p 199–202, (2002)
- 5) Toda Y, Nakagita T, Hayakawa T, Okada S, Narukawa M, Imai H, Ishimaru Y, Misaka T. Two distinct determinants of ligand specificity in T1R1/T1R3 (the umami taste receptor). *J. Biol. Chem.*, Vol. 288(52), p 36863–36877, (2013)
- 6) Shi P, Zhang J. Contrasting modes of evolution between vertebrate sweet/umami receptor genes and bitter receptor genes. *Mol. Biol. Evol.*, Vol. 23(2), p 292–300, (2006)
- 7) Baldwin MW*, Toda Y*, Nakagita T, O’Connell MJ, Klasing KC, Misaka T, Edwards SV, Liberles SD. Evolution of sweet taste perception in hummingbirds by transformation of the ancestral umami receptor. *Science*, Vol. 345(6199), p 929–933, (2014)
- 8) Oike H, Nagai T, Furuyama A, Okada S, Aihara Y, Ishimaru Y, Marui T, Matsumoto I, Misaka T, Abe K. Characterization of Ligands for Fish Taste Receptors. *J. Neurosci.*, Vol. 27(21), p 5584–5592, (2007)

謝 辞 本研究は、東京大学大学院 農学生命科学研究科 生物機能開発化学研究室にて行われたものです。本研究を進める上で多大なるご助言を賜りました東京大学 三坂巧先生に深く感謝申し上げます。日頃よりご指導ご鞭撻賜り、研究者としての成長を応援して下さいました明治大学 石丸喜朗先生、東京大学 成川真隆先生、岡田晋治先生に厚く御礼申し上げます。また、中北智哉博士をはじめ、本研究の遂行にご協力いただいた生物機能開発化学研究室の卒業生、企業からの派遣研究員の方々に感謝申し上げます。また、東京大学にて研究を行う機会を与えて下さいましたキッコーマン株式会社 常務執行役員 松山旭博士、小幡明雄博士、内田理一郎博士に厚く感謝申し上げます。なお、旨味受容体のアミノ酸受容に関する分子機構の解明は京都大学霊長類研究所の今井啓雄先生、早川卓志先生との共同研究によるものであり、ハチドリの味覚研究はハーバード大学のMaude Baldwin博士(現Max Planck Institute)、Scott Edwards先生、Stephen Liberles先生方との共同研究によるものです。ご支援賜りました諸先生方に深く感謝致します。最後に、本賞にご推薦下さいました東京大学 名誉教授 阿部啓子先生に心より御礼申し上げます。



神戸大学大学院農学研究科 山下陽子

プロシアニジンの高血糖・肥満予防効果に関する研究

はじめに

近年、生活習慣病患者が急増しており、その基盤病態である肥満の予防・改善に有効な食品因子の探索およびその作用メカニズムの解明が世界的に求められている。カカオ豆、黒大豆種皮、りんご、ぶどう種子などの食品には、(+)-カテキンや(-)-エピカテキンが重合したポリフェノールであるプロシアニジンが多く含まれている(図1)。プロシアニジンは、水酸基の多さから、抗酸化性が高いと期待できるが、消化管からほとんど吸収されず、生体利用性やその作用メカニズムについて十分に解明されていない。そこで、本研究ではプロシアニジンの(1)高血糖予防効果とその作用メカニズム、(2)肥満予防効果とその作用メカニズムについて検討を行い、新奇分子ターゲットが関わっていることを明らかにした。

1. プロシアニジンの高血糖予防効果とその作用メカニズム

1-1. プロシアニジンの GLUT4 細胞膜移行促進に及ぼす影響

プロシアニジン高含有食品素材であるカカオリカー抽出物は、マウスに経口投与した後に糖(グルコース)負荷試験(OGTT)を行うと、糖負荷による一過的な血糖値の上昇を有意に抑制することを見出した(1)。その作用メカニズムとして、運動や筋収縮で活性化される AMP-activated protein kinase (AMPK) のリン酸化が筋肉組織で起こり、結果として糖輸送担体 (GLUT) 4 の細胞膜移行が促進され、血中グルコースを筋肉細胞に取り込むことで高血糖を抑制したことが強く示唆された(1)。また、プロシアニジン高含有カカオ抽出物は、30% ラード添加高脂肪食を 14 週間摂取させた食事誘導性肥満モデルマウスの高血糖に対しても、筋肉組織における AMPK 経路を介した GLUT4 の細胞膜移行促進により、慢性的な空腹時高血糖やインスリン抵抗性を予防することを明らかにした(2)。ところで、黒大豆種皮から抽出したプロシアニジン高含

有組成物 (BE) は、プロシアニジンとアントシアンを主成分とするが、BE からアントシアンを除去し、プロシアニジンにより高濃度に濃縮した組成物 (PCBE) を用いたところ、PCBE は BE より低濃度で高脂肪食によるインスリン抵抗性の惹起を抑制し、その作用機構には、筋肉における AMPK 経路の亢進を介した GLUT4 の細胞膜移行が関わることが明らかとなった。

次に、単量体であるエピカテキンとプロシアニジン (2~4 量体) の精製物を用いてマウスへの投与実験を行ったところ、いずれの化合物も OGTT での高血糖を抑制し、その効果は 4 量体までは重合度依存的であった。また、筋肉組織における AMPK のリン酸化と GLUT4 の細胞膜移行も重合度依存的であった(3)。さらに、L6 筋管細胞で同様の結果が得られた(4)。以上のことから、プロシアニジンの高血糖抑制効果には、AMPK が鍵分子として作用していることが明らかとなった。しかし、重合度の高いプロシアニジンは、ほとんど体内に取り込まれない。実際に血中のプロシアニジン量を HPLC を用いて測定したところ、重合度依存的に体内での存在量が少ないことが分かった(3)。体内に吸収されないにも関わらず、高重合なプロシアニジンで強い高血糖抑制効果が認められた理由について、以下に示す。

1-2. プロシアニジンによるインクレチン効果の発見

上述のように、重合度の高いプロシアニジンは吸収されにくいにもかかわらず高血糖予防効果を発揮したのは、化合物が体内へ吸収された後に組織で作用したとは考えにくい。そこで、血中に吸収される前段階である消化管で作用を発揮している可能性が高いのではないかと推測し、着目したのがインクレチン効果である。インクレチンは、腸管 L 細胞から分泌される消化管ホルモンであり、インスリン分泌を促す働きを持つ。プロシアニジンが消化管から分泌されるインクレチンホルモンの glucagon like peptide-1 (GLP-1) の分泌促進を介してインスリン分泌増強作用を示すか否かを検討した。プロシアニジン化合物を単回強制経口投与したところ、プロシアニジン 4 量体で有意な GLP-1 分泌量増加効果が認められた(5)。これに伴って、インスリン分泌も同様に有意な増加を示した。その下流のインスリンシグナル伝達経路が筋肉組織において促進していることも確認した(3, 5)。これらの作用は、L6 筋管細胞にプロシアニジンを直接作用させた際には認められず(4)、動物実験においてのみ認められたことから、プロシアニジンは消化管でのインクレチン効果を介して高血糖の抑制に関与していることが強く示唆された。すなわち、プロシアニジンは AMPK のリン酸化を介した筋肉に作用して GLUT4 を細胞膜移行させるだけでなく、体内に吸収されなくても、腸管においてインクレチンホルモンである GLP-1 を分泌させて、それが膵β細胞に作用してインスリンを分泌させることで高血糖抑制に寄与することが明

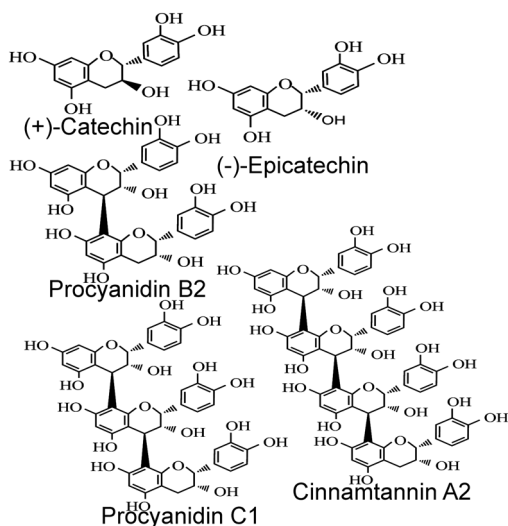


図1. プロシアニジンの構造例

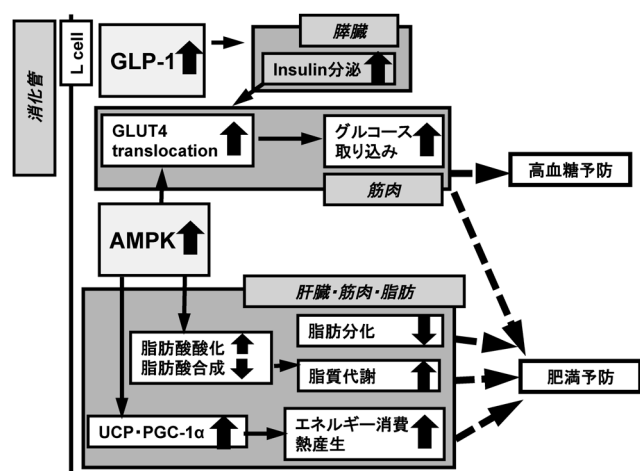


図2. プロシアニジンの高血糖・肥満予防効果とそのメカニズム

かとなった(図2)。

2. プロシアニジンの肥満予防効果とその作用メカニズム

プロシアニジンを高含有するカカオ豆や黒大豆種皮抽出物は、高血糖予防効果でも鍵分子となる AMPK の活性化を介して、その下流における体熱産生やエネルギー産生に関連する因子の uncoupling proteins (UCPs) や、ミトコンドリア発生に関連する peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 α) の発現を脂肪組織や筋肉、肝臓において増加させることを明らかにした。ポリフェノール高含有食品素材が UCPs の発現を増加させることを見出したのは、本研究が初めてである(2, 6)。本来は褐色脂肪組織に発現している UCP1 が白色脂肪細胞でも増加していることも明らかにし、このことは白色脂肪の分化過程の途中で、褐色脂肪のフェノタイプを有した細胞であるベージュ脂肪細胞が発現していることが強く示唆された(2)。さらに、AMPK の活性化はアディポネクチンの分泌促進が正の制御を担っていることも明らかにした(2)。また、黒大豆種皮から抽出した BE をマウスに摂取させると、白色ならびに褐色脂肪組織での UCPs の発現を増加させるとともに、肥満によって増加する炎症性サイトカインの発現を遺伝子レベルで抑制し、脂肪酸酸化に関連する遺伝子発現を増加させた(6)。これらの効果が複合的に作用することで、プロシアニジン高含有組成物は高脂肪食摂取による肥満発生の抑制に寄与することが判った(図2)。

3. プロシアニジンによる高血糖ならびに肥満抑制効果と時計遺伝子との関係

全ての生物は、24時間の地球の自転周期に対応した概日リズムで生体を調節し、恒常性を維持している。この概日リズムを制御するのが、生体内に発現する時計遺伝子である。時計遺伝子は、概日リズムを刻むだけでなく、エネルギー代謝を始め、様々な生理機能と深く関係している。近年では、摂取に適した時間に栄養素を摂る、時間栄養学という考え方が注目されている。上記1, 2で述べたプロシアニジンの高血糖・肥満抑制効果に関しても、投与するタイミングによって効果に差があるのかどうかを検証したところ、興味深いことに、明期に投与した場合と、暗期に投与した場合で、高血糖抑制効果に差があり明期開始時にプロシアニジン投与した時に、高血糖抑制効果が最も強いことが明らかとなった。脂肪蓄積抑制効果に関し

ても、同様の結果が得られた。これらの効果の差に、時計遺伝子が関わっているか否かについて検証したところ、主な時計遺伝子である、*Bmal1* と *Per* がプロシアニジンの投与するタイミングによって変化することが明らかとなり、鍵分子として関わっている可能性を示唆するデータを得た。つまり、プロシアニジンは時計遺伝子の発現に影響を及ぼすとともに、その制御下で高血糖・肥満抑制効果が発揮されるため、摂取に適した時間が存在する可能性があり、現在詳細に解明することに着手している。

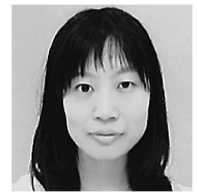
おわりに

本研究では、プロシアニジンの高血糖と肥満抑制効果を発揮する作用機構の解明を行った。その結果、AMPK の活性化と消化管からの GLP-1 分泌促進が鍵となっていることを明らかにした。今後は、これらの初発を担う分子ターゲットを究明したいと考えている。食品に含まれる非栄養成分が腸に作用し、全身での代謝を制御することを見出したのは、生理機能を理解する上で重要な知見となる。この研究成果をさらに発展させ、さまざまな機能性食品成分探索とその作用機構解明を行い、ヒトの健康維持増進に貢献したいと考えている。

(引用文献)

- 1) Yamashita, Y. et al. Cacao liquor procyanidin extract improves glucose tolerance by enhancing GLUT4 translocation and glucose uptake in skeletal muscle. *J Nutr Sci*. 1, e2 (9 page) (2012).
- 2) Yamashita, Y. et al. Prevention mechanisms of glucose intolerance and obesity by cacao liquor procyanidin extract in high-fat diet-fed C57BL/6 mice. *Arch Biochem Biophys*. 527, 95-104 (2012).
- 3) Yamashita, Y et al. Procyanidin promotes translocation of glucose transporter 4 in muscle of mice through activation of insulin and AMPK signaling pathways. *PLoS ONE*. 11, e0161704 (2016).
- 4) Kurimoto, Y. et al. Black soybean seed coat extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via the activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. *J Agric Food Chem*. 61, 5558-5564 (2013).
- 5) Yamashita, Y. et al. Cinnamtannin A2, a tetrameric procyanidin, increases GLP-1 activity and insulin secretion. *Biosci Biotechnol Biochem*. 77, 888-891 (2013).
- 6) Kanamoto, Y. et al. A black soybean seed coat extract prevents obesity and glucose intolerance by up-regulating uncoupling proteins and down-regulating inflammatory cytokines in high-fat diet-fed mice. *J Agric Food Chem*. 59, 8985-8993 (2011).

謝 辞 本研究は、神戸大学大学院農学研究科応用生命科学専攻、応用生命化学講座、生物機能開発化学研究分野にて行われたものです。本研究の機会を与えていただくとともに、日々温かくご指導ご鞭撻を賜り、本賞にご推薦くださいました芦田均先生(神戸大学大学院教授)に心より厚く御礼申し上げます。また、本研究の発展に多大なるご支援とご指導を賜りました共同研究企業の株式会社明治、フジッコ株式会社の皆様へ感謝申し上げます。最後に、本研究を遂行するにあたり日頃よりサポートいただいた神戸大学大学院農学研究科の先生方、生物機能開発化学研究室のスタッフならびに学生の皆様へ深く感謝いたします。



血管成熟化促進作用を持つ新規天然物 vestaine の同定

第一三共株式会社 石 本 容 子

はじめに

血管は酸素と栄養を全身に供給し、また、老廃物を回収する重要な器官である。そのため、生体は血管新生という仕組みで新しい血管を誘導している。新生血管は、その後の成熟化と呼ばれる周細胞による被覆の過程を経ることで構造的に安定した血管となり、生体において機能を発揮している。

近年、血管成熟化の破綻が、糖尿病性網膜症や虚血後の脳梗塞の重症化、固形がんにおける抗癌剤の効果減弱など、様々な疾患の原因となることが示唆されてきている^{1)~3)}。上述罹患患者では周細胞に被覆されていない脆弱な血管が観察されており、これが血管内容物の漏出や低酸素状態を引き起こす一因であると言える。

以上より、血管の成熟化を促進する薬剤は、これら病態の改善に有効な治療法であると考えられる。本稿では、血管成熟化促進剤の創製を目指しておこなった我々の取り組みについて紹介する⁴⁾。

1. 血管成熟化促進物質のスクリーニング

血管成熟化は、血管新生因子と抗血管新生因子のバランスや血管内皮細胞と周細胞の相互作用など、様々な要因で制御される複雑な過程である。ゆえに、その機構は十分には解明されておらず、効果的な薬剤も開発されていない。このような背景を打破すべく、血管成熟化促進物質の探索は、共培養系による phenotype screening にておこなうことにした。また、スクリーニングソースとしては、天然物ライブラリを選択し、低濃度で最初から *in vivo* で作用を示す化合物の取得を目指した。

ヒト線維芽細胞 (NHDF) をフィーダーとし、その上に緑色蛍光蛋白 (EGFP) でラベルしたヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を播種し、代表的な血管新生因子である血管内皮増殖因

子 (VEGF) および代表的な血管成熟化促進因子である angiopoietin-1 (Ang-1) 存在下で培養したところ、それぞれ特徴的な血管内皮細胞のネットワークが形成された (図1A, B)。そこで、Ang-1 による島状の phenotype に注目し、同様の形態を誘導する物質をイメージングアナライザーを用いて探索した。結果、*Streptomyces* sp. SANK 63697 株の抽出物に、島状の形態変化を誘導する活性を見出した (図1C)。

2. Vestaine の精製と構造決定⁵⁾

SANK 63697 株の培養液から、各種カラムクロマトグラフィーを経て、2つの活性物質 vestaine A₁ および B₁ を単離した。精製の過程で、vestaine A₁ および B₁ は、平衡関係にある2つの物質で構成されていることが分かった (図1D, E)。MS, NMR等を用いた構造解析の結果、vestaine類は、N-アセチルシステインと脂肪鎖から成る新規物質であること (図1F)、平衡関係にある2つの物質は、ケト-エノール互変異性を介したジアステレオマーであることが明らかとなった。また、vestaine A₁ と B₁ の違いは、脂肪鎖長であった。

合成的手法を用いた vestaine A₁ の構造活性相関からは、活性発現に脂肪鎖、ケトン、トリメチルアミンが必須であることが示唆された。

3. Vestaine の血管作用

3-1. VEGF との違い

Vestaine A₁ は、共培養系において EC₅₀ = 60 nM と強い活性を示し、その作用は VEGF に対して相加的であった (図2A)。

増殖期にある血管内皮細胞では ERK の活性化が優位に、成熟化し安定化している血管内皮細胞では Akt の活性化が優位となっている⁶⁾。Vestaine A₁ は ERK 及び Akt のリン酸化を誘導した。その誘導パターンは、Akt を強くリン酸化する一方

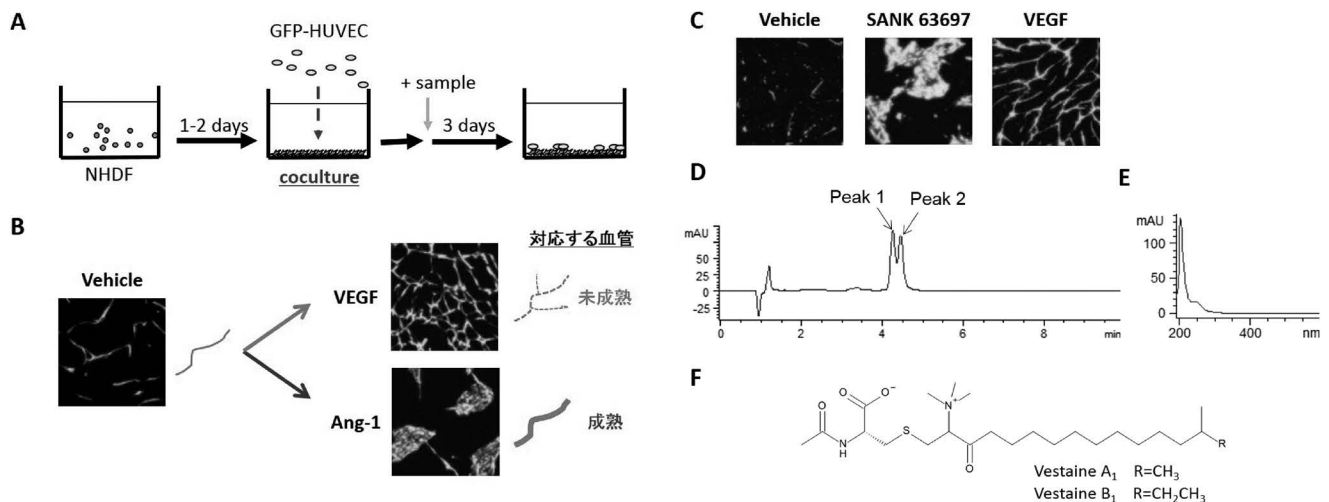


図1 共培養系と vestaine

A) 共培養系 B) 代表的な phenotype C) SANK 63697 の phenotype

D) vestaine A₁ の HPLC chart E) Peak1 の UV スペクトラム F) vestaine の構造

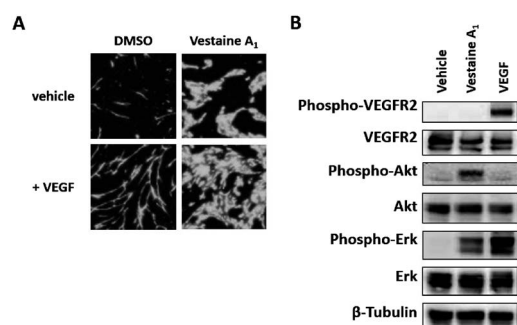


図2 Vestaine A₁の活性
A) VEGF存在下での形態変化
B) シグナル伝達経路に与える影響

ERKのリン酸化は弱く、VEGFとは異なるものであった。また、VEGFR2の活性化も誘導しなかった(図2B)。これらの結果から、Vestaine A₁はVEGF経路を介さずに、血管内皮細胞に作用することが確認された。

3-2. 血管新生作用

Vestaineの血管新生作用の有無を調べるために、代表的な血管新生活性評価系であるmatrigel tube formation assayと血管内皮細胞に対する生存改善試験をおこなった。Vestaine A₁はmatrigelの系に強くtube形成を誘導した。また、血清飢餓による血管内皮細胞死を抑制したことから、血管新生作用を有することが示唆された。

3-3. 血管透過性抑制作用(血管成熟化促進作用)

血管成熟化の破綻が認められる病態においては、過剰なVEGF産生による血管透過性の亢進が問題となる。血管透過性に対する作用をHUVEC単層培養系における電気抵抗値にて評価したところ、Vestaine A₁は単独で電気抵抗値を上昇させた。更に、VEGF添加3時間後にvestaine A₁を添加したところ、vestaine A₁はVEGFによる電気抵抗値の低下を抑制することが示された(図3A)。続いて、Vestaine A₁が*in vivo*においても血管透過抑制作用を発揮するか、マウス耳血管におけるEvans blue dyeの漏出を指標に調べた。その結果、vestaine A₁の前投与により、VEGFによるEvans blue dyeの漏出は抑制された(図3B)。以上より、vestaine A₁は*in vitro*および*in vivo*いずれにおいても、VEGF誘導性の血管透過性の亢進を強力に抑制することが示唆された。

おわりに

天然物に対するphenotype screeningより、新規物質vestaineを同定した。Vestaineは、VEGF同様血管新生作用を有する一方、血管透過性制御においてはVEGFに対して阻害的に働くユニークな生理活性物質であることが示唆された。Vestaineの血管への活性は非常に強く、異常な血管新生に起因する病気の治療薬の候補化合物となり得る。加えて、血管透過性の制御を始めとする血管成熟化を解析するためのツール化

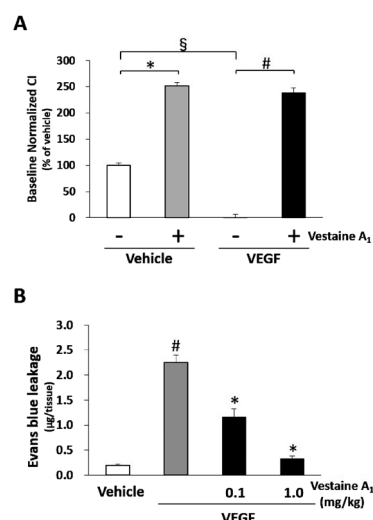


図3 Vestaineの血管透過性抑制作用(血管成熟化促進作用)
A) *in vitro* (血管内皮細胞電気抵抗値)
B) *in vivo* (マウス耳血管血管透過性)

合物としても、有用と考えられる。

(引用文献)

- 1) Hendrick AM, Gibson MV, Kulshreshtha A. Diabetic Retinopathy. Prim Care, 42, 451-464 (2015)
- 2) Kawamura K, Takahashi T, Kanazawa M, Igarashi H, Nakada T, Nishizawa M, Shimohata T, Effects of angiotensin-1 on hemorrhagic transformation and cerebral edema after tissue plasminogen activator treatment for ischemic stroke in rats. PLoS ONE, 9, e98639 (2014)
- 3) Carmeliet P, Jain RK, Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. Nat Rev Drug Discov, 10, 417-427, (2011)
- 4) Ishimoto Y, Hirota-Takahara Y, Kurosawa E, Chiba J, Iwadate Y, Onozawa Y, Hasegawa T, Tamura A, Tanaka M, Kobayashi H. A novel natural product-derived compound, vestaine A₁, exerts both pro-angiogenic and anti-permeability activity via a different pathway from VEGF. Cell Physiol Biochem, 39 (5), 1905-1918, (2016)
- 5) Hirota-Takahara Y, Kurosawa E, Ishimoto Y, Iwadate Y, Kizuka M, Chiba J, Hasegawa T, Tanaka M, Kobayashi H. Vestaines, novel vasoactive compounds, isolated from *Streptomyces* sp. SANK 63697. J Antibiot., 70 (2), 179-186, (2017).
- 6) Fukuhara S, Sako K, Minami T, Noda K, Kim HZ, Kodama T, Shibuya M, Takakura N, Koh GY, Mochizuki N. Differential function of Tie2 at cell-cell contacts and cell-substratum contacts regulated by angiotensin-1. Nat Cell Biol, 10, 513-526 (2008)

謝 辞 本研究は、第一三共株式会社および第一三共RDノバールにておこなわれたものです。実験を一緒におこなってくださったプロジェクトメンバーの皆様、終始ご指導を賜りました皆様に深く感謝致しますと共に、この場を借りて厚く御礼を申し上げます。



月桂冠株式会社 堤 浩子

清酒副産物の機能性ペプチドに関する研究

はじめに

「酒は百薬の長」といわれるように、アルコール飲料としてだけでなく、さまざまな薬理・薬効を持つものとして受け継がれている。なかでも日本酒は、米を原料とし主に清酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* と麹菌 *Aspergillus oryzae* の2つの微生物の複雑な代謝を経て得られる発酵産物であることから、「百薬の長」となる成分が多く含まれていると考えられる。発酵期間を終えたもろみは、上槽（しぼり工程）をへて日本酒と酒粕に分離される。酒粕には酵母や麹菌、発酵代謝物も多く含むことから栄養価富む素材と考えられる。清酒の中に、血圧上昇抑制ペプチド¹⁾の機能性成分も含まれ、さらに酒粕にも同じ機能性ペプチドや様々なたんぱく質や栄養成分が多く含まれていることも注目されている。近年の甘酒ブームも加わり、発酵食品は機能性食品として定着しつつある。清酒副産物である酒粕から、機能性ペプチドを製造し、さらなる機能付与すること目的に研究開発を行った。

1. 酒粕分解ペプチドの製造

酒粕をプロテアーゼ分解することで、機能性を強化した酒粕ペプチド製造を目的に製造方法を検討した。製造の概略は図1に示し、最初にアンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害の活性を指標として、酒粕ペプチドの製造を検討した。酒粕ペプチド中には、ジペプチドから長鎖ペプチドを含んだ混合物とであった。酒粕ペプチド中には、多様な機能性ペプチドが含まれると予測し、多方面から機能性を探索し、血圧上昇抑制ペプチド、抗酸化ペプチド、肝機能保護効果ペプチドの精製と同定を行い、機能性食品への展開を検証した。

2. アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害ペプチドの同定と定量

生体内の肺や血管内皮細胞などに存在するアンジオテンシン変換酵素（ACE）は、レニン・アンジオテンシン系やブラジキニン系において血圧上昇を制御する主要な酵素であることが知られている。ACEの酵素活性を阻害すれば血圧上昇が抑制できるため、様々な食品からACE阻害物質の単離が試みられている。酒粕ペプチドの機能の探索ターゲットとして、最初にACE阻害ペプチドの精製・同定を行った。高血圧自然発症ラット（SHR）による試験とヒト試験により血圧上昇抑制効果を確認している²⁾。斎藤ら³⁾によりACE阻害活性ペプチドは数種類（Arg-Tyr, Ile-Tyr-Pro-Arg-Tyr）が報告されていたが、

他にも活性の寄与ペプチドが存在するものと予測した。そこで、酒粕ペプチドを分画・精製し、ACE阻害ペプチドを探索した結果、新たに5種類のペプチド（Phe-Trp, Arg-Trp, Ser-Trp, Gln-Trp, Ile-Gln-Pro）を同定し⁴⁾、そのうちIle-Gln-ProはACE阻害活性を有する新規なペプチドとして同定した⁵⁾。それぞれのペプチドの由来を調べた結果、酒粕に多く含まれるタンパク質（プロラミン、グロブリン）が分解され生成したものと推察した。各機能性ペプチドは酒粕を人工消化試験により生成され、ヒトが酒粕を摂取したときの血圧上昇抑制効果の寄与している物質と結論づけた。

3. 酒粕ペプチドの非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）に対する効果

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は、慢性肝疾患の主要な原因の1つとして世界中で増加している。高脂肪食（HFD）摂食マウスを使用し、酒粕ペプチドのNAFLD抑制効果を調べた。その結果、肝臓の脂質蓄積、肝臓におけるペロキシシドーム増殖因子活性化受容体 γ （PPAR γ ）、PPAR α 、CD36、およびホスホエノールビルビン酸カルボキシキナーゼ1のmRNAおよびタンパク質レベルの有意な減少を示した。HF抽出マウスのインスリン抵抗性および肝臓炎症は、酒粕ペプチド投与により改善した⁶⁾。加えて、HepG2細胞では、酒粕ペプチド添加では脂肪酸誘導細胞内脂質蓄積を抑制した⁷⁾。よって、酒粕ペプチドにはNAFLD発症のリスクを低下させることが示された。

4. 抗酸化ペプチドおよび肝機能保護ペプチドの同定と定量

酒粕ペプチドの抗酸化活性を3種類の方法（リノール酸自動酸化抑制、SOD様、DPPH消去能）で測定した結果、2種類の活性測定（リノール酸自動酸化抑制、SOD様活性）では、ポジティブコントロールのグルタチオンとほぼ同等の活性を有していた（表1）。酒粕ペプチドに抗酸化活性が有することを確認し、寄与ペプチドの同定を行った。ペプチドの同定には、酒粕ペプチドのLC分画とLC-MS/MSによる分析および抗酸化活性とを組み合わせながら精製することで、寄与ペプチドを同定した。酒粕ペプチド中に含まれる各種ペプチドを定量し多数の抗酸化ペプチドが含まれていることを確認した。新規ペプチド

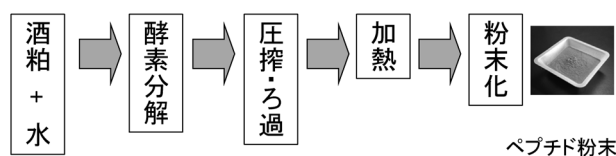


図1. 酒粕ペプチドの製造

表1. 酒粕ペプチドの抗酸化活性

サンプル	リノール酸自動酸化抑制		SOD様*	DPPH消去能*
	5 ppm	0.5 ppm		
	%		%	%
酒粕ペプチド	64	44	48	52
グルタチオン	58	35	<0.1	78
フェルラ酸	26	9	43	>99
コントロール	0	0	0	0

*1000 ppm サンプル添加

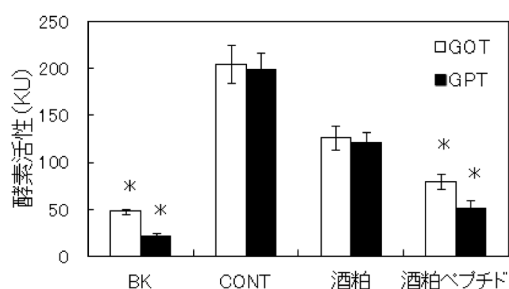


図2. 酒粕および酒粕ペプチド摂取6週間の GOT 値, GPT 値

Ile-Gln-Pro は, ACE 阻害活性および抗酸化活性を有する機能性ペプチドとして同定した⁵⁾.

ヒト肝臓細胞 HepG2 を用いて肝障害モデルを作製するためイソamilアルコール添加による細胞死を誘導し, 同定した各種ペプチドが細胞死を抑制するかどうかを検証した. その結果, 酒粕ペプチドと同等, それ以上に肝細胞 HepG2 の死滅率を低減するペプチドを多数同定した⁴⁾. これらの肝細胞生存率の回復には, ペプチドの抗酸化活性が関与していると考えられる.

5. マウス試験による酒粕ペプチドの肝臓保護効果

酒粕ペプチドの肝臓保護効果をマウス試験により検証した. Balb/c マウス雄8周齢を1週間予備飼育し, 餌に普通食, 酒粕ペプチドを含む, 酒粕を含む3種類を用いてガラクトサミンによる肝障害誘導した. 肝機能評価については, 血清分析し GOT 値, GPT 値を指標とした. その結果, 摂取4週間, 6週間では酒粕ペプチドを摂取した群では顕著に GOT, GPT 値が低減した(図2). よって, 酒粕ペプチドにはガラクトサミン誘導した肝機能障害を保護し, 酒粕そのものにも肝機能保護効果があることを初めて見出した⁷⁾.

おわりに

日本酒に含まれる成分は700種類以上とも言われ, 醸造微生物である麹菌と酵母の代謝により, 多くの物質が醸造により生成されている結果であろう. 醸造食品の機能性の最大の利点は, 長い食経験に裏付けられた「安全性」であり, 酒粕も長い食経験を有する醸造副産物である. 酒粕にさらなる機能性を見出すため, ペプチドからの探索を行った. ペプチドだけでなく, 酒粕中にはまだまだ, 新たな機能の可能性を有するものと考えている. 酒粕(醸造食品)は「安心」「安全」「健康」がそろった食品であり, 長い歴史の間につくり上げられた醸造微生物

物の賜物である. 今後, 発酵の利点を生かした技術開発により, 豊かな食生活や健康に寄与していきたい.

(引用文献)

- 1) Saito, Y., Wanezaki, K., Kawato, A. and Imayasu, S., Structure and activity of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sake and sake lees. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**(10), 1767-1771 (1994)
- 2) Saito, Y., Wanezaki, K., Kawato, A. and Imayasu, S., Antihypertensive effects of peptide in Sake and its by-products on spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**(5), 812-816 (1994)
- 3) 齊藤義幸, 中村圭子, 川戸章嗣, 今安 聡, 清酒, および副産物中のアンギオテンシン変換酵素阻害物質. 日本農芸化学会誌, **66**(7), 1081-1087 (1992)
- 4) 堤 浩子, 大浦 新, 秦 洋二, 安部泰久, 酒粕ペプチドに含まれる抗酸化ペプチドの同定. 日本農芸化学会2010年度大会講演要旨集, 134 (2010)
- 5) 堤 浩子, 水本真紀子, 大浦 新, アンギオテンシン変換酵素阻害ペプチド. 特許第512893号.
- 6) Kubo, H., Hoshi M., Matsumoto T., Irie M., Oura S., Tsutsumi H., Hata Y., Yamamoto Y., Saito K., Sake lees extract improves hepatic lipid accumulation in high fat diet-fed mice. *Lipids Health Dis.*, **16**, 106. doi: 10.1186/s12944-017-0501-y. (2017)
- 7) 堤 浩子, 水本真紀子, 大浦 新, 抗酸化剤及び肝機能障害抑制剤. 特許第5474369号.

謝 辞 本研究は, 月桂冠株式会社 総合研究所において多くの方々に支えていただきながら行われたものです. 月桂冠株式会社総合研究所 所長 秦洋二博士に深く感謝いたします. また, 多大なるご助言とご指導を賜りました, 入江元子氏, 大浦新氏, 福田克治氏, 小高(水本)真紀子氏, 村上直之氏に深くお礼を申し上げます. また, 共に同じ部署にて支えていただきました石田博樹博士, 松村憲吾博士, ならびに月桂冠株式会社の皆様に深謝します. 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) に対する効果に関する研究は, 藤田保健衛生大学院保健研究科との共同研究にて行われたものです. 齊藤邦明博士(京都大学名誉教授), 山本康子博士, 久保緋紗子氏に心よりお礼を申し上げます. ここに記載できなかった多くの方々にも支えていただき, その支えなくしてはこの賞をいただくことはできませんでした. 深く感謝申し上げます.

タンパク質工学を利用した産業用酵素の開発



ノボザイムズ ジャパン株式会社 松井 知子

はじめに

自然界には、様々な機能を持つ酵素が存在し、比較的容易に目的とする反応を触媒する酵素を取得することができる。自然界に存在しない化合物を基質とした反応を触媒する酵素ですら発見されることがある。しかし、産業用酵素としては、目的とする触媒機能だけではなく、実際のプロセスの条件（pH、温度等）に適した酵素であることが求められる。また、長い貯蔵安定性等も産業用酵素の重要な要件の一つである。これらすべての要件を満たした酵素を自然界から得ることは難しく、最近ではタンパク質工学を利用して酵素を改変することによって足りない要件を満たすことが日常的に行われている。

以下に、筆者らが中心となり、タンパク質工学の手法を利用した酵素開発の例をいくつか紹介する。

1. アスパラギナーゼによるアクリルアミドの低減

2002年にスウェーデン食糧庁とストックホルム大学によって、澱粉等の炭水化物が多く含まれる食材の高温加熱加工の際に、アクリルアミドが生成することが発見された¹⁾。アクリルアミドは、グルコース等の還元糖とアスパラギンからアミノカルボニル反応（メイラード反応）によって生成されるのが主な経路と考えられている。そこで、弊社では *Aspergillus* 由来のアスパラギナーゼを用い、食品中のアスパラギンのアスパラギン酸への脱アミド化によって、原因物質のひとつであるアスパラギンを低減することを目的としたアスパラギナーゼ製剤「アクリルアウェイ」を開発した（図1）。本製剤を生地に添加しアスパラギンを減少させた後に焼成することにより高温で加工製造される（ビスケットやトルティーヤ、成型ポテトチップスなど）の食感・外観を損なうことなく、アクリルアミドの生成を抑制することが可能になった。この製剤の用途を広げるために、タンパク質工学によるアスパラギナーゼの耐熱化を行った。変異導入箇所を、酵素分子のモデリングなどにより特定し、アスパラギナーゼ遺伝子の変異体ライブラリーを酵母を利用して作製

し、MTP (microtiter plate) によるスクリーニングを行い、高温での活性・耐性がともに上昇した変異体を取得した。

これにより、高温でのブランチング処理が行われるフレンチフライ等へのアスパラギナーゼの効率的な応用の可能性が広がっている。

2. 飼料用フィターゼの開発

穀物中の有機リンはフィチン酸の形態で貯蔵されているが、これは難消化性であるため別に飼料として無機リンを添加する必要がある。また、フィチン酸はカルシウム等の2価金属イオンと結合するため、これらの腸内での吸収を妨げる。フィターゼは、このフィチン酸によりカルシウムの吸収を促進させる。排泄物の富リン化や狂牛病の問題のため無機リン、肉骨粉利用が減少・廃止される中、この10年ほどの間に、家畜飼料へのフィターゼ配合は飛躍的に増加した。弊社では、担子菌 *Peniophora lycii* 由来フィターゼを発見し、製品化に至っている。

このフィターゼの熱安定性ならびにさらなる貯蔵安定性の向上をめざし、蛋白質工学による耐熱化を行った。酵素分子の Molecular Dynamics Simulation 法などの手法を用い、ターゲット部位を決定、ライブラリーを構築しスクリーニングを進めていった結果、最終的に熱変性温度が酸性中性両 pH において 20℃ 以上上昇した変異体を取得された（表1）。実際にこれらの変異体は、貯蔵安定性等が増加したことが確認されている。

また、飼料製造には、ペレット化工程（殺菌と穀物澱粉の糊化のための短時間スチーム処理）を含む場合が多く、飼料用酵素はペレット化工程中に熱により失活する危険性がある。そこで、弊社では CT 顆粒（コーティングした耐熱性顆粒）を開発、フィターゼに応用し、ペレット化工程で失活せず優れた熱安定性を保持している酵素顆粒製剤を製造しているが、このペレット化工程でのさらなるフィターゼの安定性を得るため、筆者らは *Citrobacter braakii* 由来のフィターゼのタンパク質工学による耐熱化も行った。Molecular Dynamics Simulation (MD) 法を用い、高温化での酵素分子の動きを予測し分子内 SS 結合を導入できる場所を探した。温度変化により大きく構造が変化する部位を同定し、変異を導入したところ（図2）、この分子内 SS 結合変異体は、熱変性温度が上昇しているだけでなく、熱変性後のリフォールディング率の向上した変異体であることが確認された。また、ペレット化工程後の安定性向上も確認されている。

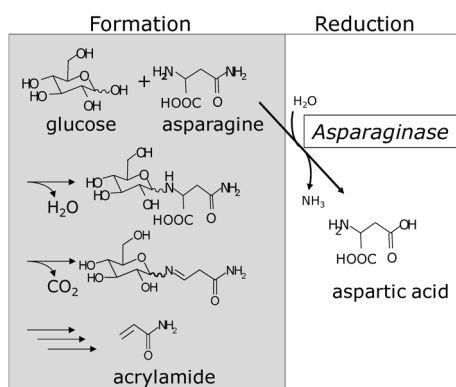


図1. アクリルアミド生成過程の一経路（左）とアスパラギナーゼによるアクリルアミド低減のメカニズム

表1. DSC による熱変性温度 (Td)

精製酵素	Td (℃) at pH2.5	Td (℃) at pH5.5
野生型	36	59
変異体1	60	82

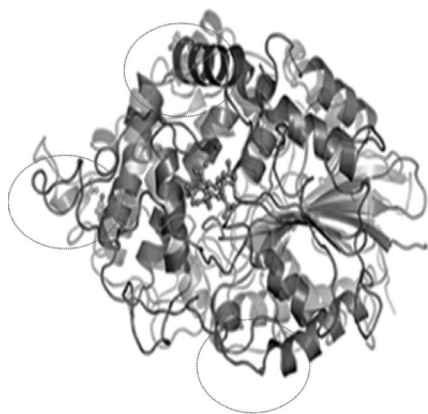


図2. *Citrobacter* フィターゼの 500 K (濃) と 300 K (淡) における MD 予測構造の重ね合わせ
スティック表示は、フィチン酸、温度変化により大きく構造変化した部分を丸で表示

3. バイオエタノール用アミラーゼの開発

限りある化石エネルギーの代替として燃料用エタノール製造は、ブラジル・アメリカを筆頭に世界的に普及しつつある。原料となるのは、サトウキビ、あるいは、とうもろこしを主とした穀類である。とうもろこしの場合、ミルにて粉碎後、ジェットクッカーあるいは80℃以上の高温で糊化され、バクテリア由来アルファアミラーゼにて液化し、その液化澱粉にグルコアミラーゼなどの酵素製剤を添加しアルコール発酵を行う。これが現在の主流のプロセス (Conventional process) である。

ところが、米国POET社が開発した新プロセスでは、糊化・液化工程を必要とせず、ミル粉碎したとうもろこしを直接一段階にてエタノール発酵を行う。これによりプロセス全体の10-20%ほどかかっていた糊化・液化用エネルギーを削減することができる。また、発酵残渣は飼料として用いられているが、Conventional processのものに比べ、メイラード反応生成物がなくビタミン等豊富なため、付加価値が上がるというメリットがある。しかし、このプロセスでは、生澱粉を分解する必要がある。従来、糊化を含む工程より酵素添加量が非常に多くなってしまい、酵素コストがかかるのがデメリットになっていた。そこで、筆者らは生澱粉に対し非常に特異性の高いアルファアミラーゼをタンパク質工学により開発し、酵素の添加量を顕著に減らすことに成功した (図3)。

4. バイオプラスチック分解促進用酵素の開発

生分解性プラスチックは「グリーンプラ」として各種分野で利用が広がっている。しかし、コンポスト中などの高温下では分解を受けやすいが、実際の土壌中などでは速やかに分解されにくい。そこで、筆者らは酵素を添加することによりその分解を促進させることを試みた。筆者らは以前、ポリエステル分解を試み、様々な加水分解酵素をスクリーニングし、またその特異性を上昇させるため蛋白質工学も行っている。その時に得られた変異体をPBS (poly (butylene succinate)) フィルムの分解に応用させたところ、他の加水分解酵素に比べ、PBSに対して特異性が高いことが判明した。実際に、PBSフィルム断片をこの変異体を含む水溶液中に浸漬し40℃にて反応させると、4時間後には完全に溶解した。この酵素の実際の応用分野の一つに、畑などに使われる農業用マルチフィルムの分解促進がある。この分野において、作物取り入れ後のフィルムを回

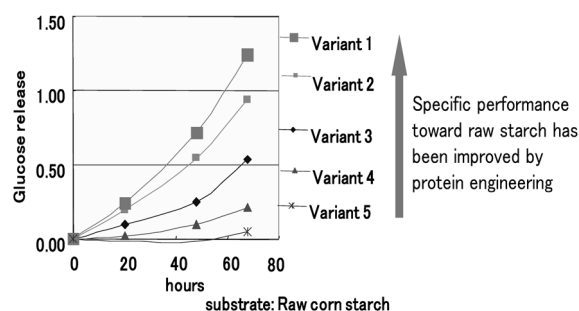


図3. アルファアミラーゼ変異体による生澱粉からのグルコース生成効率の改善
同タンパク量のアルファアミラーゼ変異体と一定のグルコアミラーゼをトウモロコシ生澱粉に作用させ、生成グルコース量を測定

収する手間が要らず、直接トラクターで鋤き込みができる生分解性マルチフィルムの需要が伸びている。この酵素をさらに利用すれば、フィルムの分解がコントロールできるため、作物の取り入れ期の違いによってフィルムを変える必要もなくなる。また、土壌中のシートの切れ端がトラクターに絡まるなどの問題も減少する。実際に市販のPBSフィルムにこの酵素を噴霧したところ、翌日にはシート上に部分分解にて生じた裂け目が観測でき、容易にトラクターにて鋤き込み可能となった。このように、自然界より選り出した酵素のポリエステルに対する基質特異性を向上させ、グリーンプラの分解促進へ応用することに成功した。また、酵素自身は土壌中で分解されるため、環境に影響を与える心配はないという点においても、非常に有用な応用であると考えている。

おわりに

近年、ゲノム解析技術の発展とともに利用できる酵素遺伝子情報は膨大に増加しており、DNA合成技術の進歩とともに簡単に遺伝子合成、そしてタンパク質合成が可能となってきた。

しかし、実際に産業用酵素として利用するには、製造時での生産量、安定性、酵素製剤としての安定性、実際の応用条件での酵素のパフォーマンスを始めとして、数多くのハードルを乗り越えなくてはならない。

その際にタンパク質工学は非常に有効な手段であり、各種の変異導入部位選定法、ハイスループットな簡易スクリーニング法と実際の酵素の反応条件に基づいて構築した特異的なスクリーニング方法とのバランスの良い組み合わせにより、必要とされる産業用酵素の開発を迅速かつ的確に遂行することが可能となるであろう。

(引用文献)

- 1) Donald S. Mottram, Bronislaw L. Wedzicha and Andrew T. Dodson Acrylamide is formed in the Maillard reaction, *Nature*, Vol. 419, p. 448-449, (2002)
- 2) 松井知子 タンパク質工学・進化分子工学を利用した産業用酵素の開発. *生物工学会誌*, 85(9), p. 393-408, (2007)

謝 辞 ここにおける研究は、ノボザイムズ ジャパンならびにノボザイムズ デンマーク本社 ノボザイムズ ノースアメリカにて 福山志朗、綾部圭一、倉方悠馬、富木亜紀、平山恵都子、Lars K. Skov, Allan Nørgaard, Allan Svendsen 他多くの同僚とともに行った仕事、成果です。改めて、研究開発にかかわったすべての皆様に心から感謝申し上げます。

日本農芸化学会
鈴木 賞

日本農学会扱

No.	受賞年度	業績論文表題
1	昭和14年 (1939)	海水の工業化学的新利用法
2	昭和15年 (1940)	アミノ酸カナバニンの研究
3	昭和16年 (1941)	微生物によるフラビンの生成
4	昭和17年 (1942)	軍食糧食に関する研究
5	昭和18年 (1943)	馬の骨軟症に関する研究
6	昭和19年 (1944)	畜産物に関する理化学的研究
7	昭和20年 (1945)	東亜醗酵化学論考
8	昭和21年 (1946)	ビタミンLに関する研究
9	昭和22年 (1947)	麦角菌に関する研究
10	昭和23年 (1948)	醗酵の研究及び実施の応用
11	昭和24年 (1949)	酒類に関する研究およびその応用
12 (イ) (ロ)	昭和24年 (1949)	乳酸菌の醗酵化学的研究とその応用
13	昭和25年 (1950)	糸状菌の生産せる色素の化学的研究
14 (イ) (ロ) (ハ)	昭和26年 (1951)	合成清酒生産の工業化に関する研究
15	昭和27年 (1952)	抗生物質に関する研究
16 (イ) (ロ)	昭和28年 (1953)	アミロ法の基礎的研究並にその工業化に関する研究

氏名
鈴木 寛
北川松之助
山崎 何恵
川島 四郎
宮本三七郎
斉藤 道雄
山崎 百治
中原 和郎
阿部 又三
松本 憲次
山田 正一
片桐 英郎
北原 覚雄
西川英次郎
加藤 正二
鈴木 正策
飯田 茂次
住木 諭介
武田 義人
佐藤 喜吉

本 会 扱

No.	受賞年度	業績論文表題
1	昭和29年 (1954)	アセトンブタノール醗酵に関する基礎的研究とその工業化
2	昭和30年 (1955)	大豆より化学調味料を製造する研究とその工業化
3	昭和31年 (1956)	食糧化学に関する研究
4	昭和32年 (1957)	甘蔗糖の製造に関する研究
5	昭和33年 (1958)	熱帯農産物の化学とその利用加工に関する研究
6 (イ) (ロ) (ハ)	昭和34年 (1959)	わが国の農薬の発達に対する化学技術的貢献
7	昭和35年 (1960)	牛乳及び乳製品に関する化学的研究
8	昭和36年 (1961)	ビタミンの摂取と供給に関する基礎的並びに実際的研究
9	昭和37年 (1962)	食品に関する研究
10	昭和38年 (1963)	澱粉食品に関する研究
11	昭和39年 (1964)	竹その他草本性パルプに関する基礎的研究と産業への寄与
12	昭和40年 (1965)	繊維原料の醗酵精練に関する基礎的研究とその工業化
13	昭和41年 (1966)	醗酵微生物の菌学的研究および応用
14	昭和42年 (1967)	微生物の栄養生理ならびに生態に関する研究とその応用
15	昭和43年 (1968)	茶のフラボノイドおよびトロポノイド色素に関する研究
16	昭和43年 (1968)	ブタノール菌およびそのファージに関する研究
17	昭和44年 (1969)	日本人の食物に関する栄養学的研究
18	昭和44年 (1969)	醗酵生産物の開発と工業化のための基礎的研究
19	昭和45年 (1970)	二、三の生物化学工業反応の基礎的研究とそれによる生物化学工学教育及び研究への貢献
20	昭和45年 (1970)	酵母の分類学に関する研究と微生物株保存事業の育成
21	昭和46年 (1971)	ムコ多糖類および核酸関連物質の高次構造と生化学的意義に関する研究
22	昭和46年 (1971)	麹菌の分類に関する研究と醸造学的知見
23	昭和47年 (1972)	雑穀の化学とその利用開発に関する研究
24	昭和47年 (1972)	アミノ酸およびタンパク質の生合成に関する研究
25	昭和48年 (1973)	糸状菌の代謝産物に関する研究
26	昭和48年 (1973)	農薬の生理活性天然物に関する研究
27	昭和49年 (1974)	薄荷属植物およびその各種種間雑種の精油成分に関する研究
28	昭和49年 (1974)	微生物の生産するビタミン類に関する研究
29	昭和50年 (1975)	畜産物の成分とその利用に関する研究
30	昭和50年 (1975)	茶の香気に関する研究
31	昭和51年 (1976)	微生物の新しい機能の開発に関する研究
32	昭和51年 (1976)	微生物による酵素生成とその制御の機構に関する研究
33	昭和52年 (1977)	食品に関連する有機化合物構造解析法の基礎的研究
34	昭和52年 (1977)	植物酵素・蛋白質の構造と機能に関する研究
35	昭和53年 (1978)	火落菌発育因子 Hiochic Acid の発見および関連諸研究
36	昭和53年 (1978)	生理活性天然物の合成に関する研究
37	昭和54年 (1979)	特異な微生物の能力とその開発
38	昭和54年 (1979)	抗生物質の農業利用—基礎と応用研究
39	昭和55年 (1980)	微生物遺伝・育種の基礎的研究
40	昭和55年 (1980)	蛋白質・酵素の機能特性の解析と応用に関する研究
41	昭和56年 (1981)	ヌクレアーゼ S1 の発見と核酸分解酵素の研究
42	昭和56年 (1981)	微生物の生産する酵素および生理活性物質に関する研究
43	昭和57年 (1982)	微生物細胞系の物理化学的研究
44	昭和57年 (1982)	細菌の生理化学的研究
45	昭和58年 (1983)	微生物による高分子物質の分解と生産に関する研究
46	昭和58年 (1983)	有用微生物の分子育種の基礎的研究
47	昭和59年 (1984)	オリゴ糖および多糖の生化学的研究
48	昭和59年 (1984)	細菌細胞の複製とその阻害に関する研究—双頭酵素の発見と β -ラクタム系抗生物質の作用機作
49	昭和60年 (1985)	微生物の有用機能の開発ならびに異種微生物の連関による転換発酵に関する研究
50	昭和60年 (1985)	食品の成分間反応に関する研究

氏名
六所 文三
堀 信一
尾崎 準一
浜口栄次郎
山本 亮
尾上哲之助
村川 重郎
深見 利一
佐々木林治郎
有山 恒
櫻井 芳人
木原芳次郎
大野 一月
中浜 敏雄
住江 金之
植村定治郎
滝野 慶則
本江 元吉
小柳 達男
山田 浩一
小林 達吉
長谷川武治
小野寺幸之進
村上 英也
小原哲二郎
志村 憲助
初田 勇一
宗像 桂
清水 純夫
福井 三郎
中西 武雄
山西 貞
有馬 啓
丸尾 文治
辻村 克良
森田 雄平
田村 学造
松井 正直
原田 篤也
米原 弘
池田庸之助
千葉 英雄
安藤 忠彦
村尾 澤夫
古賀 正三
高橋 甫
上田誠之助
齋藤 日向
松田 和雄
松橋 通生
高尾 彰一
並木 満夫

日本農芸化学会賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	昭和61年 (1986)	微生物機能の解析と応用に関する研究	別府 輝彦	東大農
2	昭和61年 (1986)	微生物酵素の機能開発の新展開	山田 秀明	京大農
3	昭和62年 (1987)	蛋白質高生産菌の発見と応用に関する研究	鶴高 重三	名大農
4	昭和62年 (1987)	植物培養細胞の機能分化と物質生産に関する基盤的研究	山田 康之	京大農
5	昭和63年 (1988)	昆虫脳神経ペプチドに関する生物有機化学的研究	鈴木 昭憲	東大農
6	昭和63年 (1988)	細菌細胞表層に関する研究	水島 昭二	東大応微研・名大農
7	平成元年 (1989)	好アルカリ性微生物とアルカリ酵素の研究	堀越 弘毅	東工大工
8	平成元年 (1989)	微生物生活環制御物質に関する生物有機化学的研究	丸茂 晋吾	名大農
9	平成2年 (1990)	細胞増殖・分化の制御に関与する天然生理活性物質の有機化学的研究	小清水弘一	京大農
10	平成2年 (1990)	酵母菌の性分化シグナルに関する研究	福井 作蔵	福山大工
11	平成3年 (1991)	植物細胞オルガネラの動的性状の生化学的・分子生物学的研究	旭 正	名大農
12	平成3年 (1991)	遺伝子の高次構造と機能発現に関する分子生物学的研究	駒野 徹	京大農
13	平成4年 (1992)	アミノ酸代謝関連酵素の新しい機能と応用面の開発	左右田健次	京大化研
14	平成4年 (1992)	海洋生物毒の化学および動態に関する研究	安元 健	東北大農
15	平成5年 (1993)	葉緑体での活性酸素の生成と消去の分子機構	浅田 浩二	京大食研
16	平成5年 (1993)	生体膜リン脂質の多機能性に関する生化学的研究	鬼頭 誠	京大食研
17	平成6年 (1994)	食品の多用な機能の解析と設計に関する酵素学的・分子生物学的研究	荒井 綜一	東大農
18	平成6年 (1994)	細菌胞子の発芽と形成に関する分子生物学的研究	小林 泰夫	東農工大農
19	平成7年 (1995)	ゼニゴケ葉緑体およびミトコンドリアゲノムの全構造の解明	大山 莞爾	京大農
20	平成7年 (1995)	複合糖質に関する合成研究	小川 智也	東大院農・理研
21	平成8年 (1996)	アブラナ科植物の自家不和合性に関する生物有機化学的及び分子生物学的研究	磯貝 彰	奈良先端大
22	平成8年 (1996)	合成化学を機軸とした生理活性天然物研究と新展開	市原 耿民	北大農
23	平成9年 (1997)	酵母細胞の分子育種に関する遺伝生化学的研究	木村 光	京大食研
24	平成9年 (1997)	C-P結合形成の分子機構の解明—生物有機化学と分子生物学の接点	瀬戸 治男	東大分生研
25	平成10年 (1998)	分子遺伝学的手法にもとづく生物生産の増強に関する基盤研究	魚住 武司	東大院農生科
26	平成10年 (1998)	赤血球造血因子(エリスロポエチン)の新しい生理作用の発見と生合成の調節機構に関する研究	佐々木隆造	京大院農
27	平成11年 (1999)	黄色ブドウ球菌の細胞崩壊毒素の遺伝子、構造及び作用機構の解明	神尾 好是	東北大農
28	平成11年 (1999)	微生物遺伝子の発現制御に関する基礎および応用研究	塚越 規弘	名大院生農
29	平成12年 (2000)	生物の信号伝達に関する生物有機化学的研究	磯部 稔	名大院生農
30	平成12年 (2000)	食品アレルギーの誘導・抑制に関する腸管免疫の特性に関する研究	上野川修一	東大院農生科
31	平成13年 (2001)	微生物機能タンパク質の分子細胞学的研究	熊谷 英彦	京大院生科
32	平成13年 (2001)	光に応答する植物遺伝子に関する応用分子生物学的研究	佐々木幸子	名大院生農
33	平成14年 (2002)	酸化ストレス制御を中心とする食品機能因子の化学と作用機構に関する研究	大澤 俊彦	名大院生農
34	平成14年 (2002)	生理活性シアロ糖鎖の構造と機能に関する化学生物学的研究	木曾 真	岐阜大農
35	平成15年 (2003)	ペプチド性新植物細胞増殖因子ファイトスルフォカインに関する研究	坂神 洋次	名大院生農
36	平成15年 (2003)	有用物質生産のための微生物プロセスの開発に関する基盤的研究	清水 昌	京大院農
37	平成16年 (2004)	微生物の新規素代謝の発見とその解明	祥雲 弘文	東大院農生科
38	平成16年 (2004)	His-Asp リン酸リレー情報伝達機構の普遍性と多様性の体系的理解	水野 猛	名大院生農
39	平成17年 (2005)	微生物二次代謝の動的精密分子解析と新機能酵素の開拓	柿沼 勝己	東工大院理工
40	平成17年 (2005)	酵母Ca ²⁺ シグナルの機能に関する分子生物学的研究	宮川 都吉	広島大院先端物質
41	平成18年 (2006)	細菌における蛋白質局在化機構の研究	徳田 元	東大分生研
42	平成18年 (2006)	放線菌の二次代謝、形態分化の制御機構の解明	堀之内末治	東大院農生科
43	平成19年 (2007)	味覚に関する分子生物学的・食品科学的研究	阿部 啓子	東大院農生科
44	平成19年 (2007)	微生物「超チャネル」に関する分子生物学的・構造生物学的研究	村田 幸作	京大院農
45	平成20年 (2008)	新しい酵素機能の開拓と産業利用に関する研究	浅野 泰久	富山県大工
46	平成20年 (2008)	産業利用を目指したタンパク質構造解析	田之倉 優	東大院農生科
47	平成21年 (2009)	微生物二次代謝産物に関するケミカルバイオロジー	長田 裕之	理研
48	平成21年 (2009)	ガ類性フェロモン産生の分子機構に関する生物有機化学的研究	松本 正吾	理研
49	平成22年 (2010)	ヒトABCタンパク質の生理的役割と分子メカニズムの解明	植田 和光	京大院農
51	平成23年 (2011)	特性を持つ高等植物培養細胞を用いた機能の解析と再構築	佐藤 文彦	京大院生命
52	平成23年 (2011)	分子遺伝学を基盤とした天然生理活性物質の化学生物学的研究	吉田 稔	理研基幹研
53	平成24年 (2012)	糖タンパク質の機能解析をめざす複合科学的研究	伊藤 幸成	理研基幹研
54	平成24年 (2012)	蛋白質の合成・成熟・品質管理を基盤とした分子生物学・細胞工学的研究	河野 憲二	奈良先端大バイオ
55	平成25年 (2013)	光合成生物の環境ストレス応答・耐性の分子機構に関する研究	重岡 成	近畿大農
56	平成25年 (2013)	油脂の嗜好性に関する栄養生理学的研究	伏木 亨	京大院農
57	平成26年 (2014)	酸化還元酵素・電極共役系を基盤とした生物電気化学研究の展開	加納 健司	京大院農
58	平成26年 (2014)	分析化学を基盤とした食品機能性研究の先導的展開	宮澤 陽夫	東北大院農
59	平成27年 (2015)	細胞表層活用の基盤開拓	植田 充美	京大院農
60	平成27年 (2015)	微生物代謝および酵素の分子機構と機能開発	小林 達彦	筑波大院生環
61	平成28年 (2016)	メタボリック症候群調節因子の栄養生化学的研究	河田 照雄	京大院農
62	平成28年 (2016)	コレステロール代謝制御の分子細胞生物学研究	佐藤隆一郎	東大院農生科
63	平成29年 (2017)	植物ホルモン機能の化学的制御とその応用に関する研究	浅見 忠男	東大院農生科
64	平成29年 (2017)	細菌情報伝達ネットワークの分子機構と情報伝達阻害型薬剤の開発	内海龍太郎	近大農

日本農芸化学会功績賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	昭和61年 (1986)	微生物資源の分類と菌株保存	飯塚 廣	東京理大
2	昭和61年 (1986)	乳および卵蛋白質の構造と機能に関する生化学的ならびに物理化学的研究	山内 邦男	東大農
3	昭和62年 (1987)	抗生物質研究における生物有機化学的展開	大岳 望	東大応微研
4	昭和62年 (1987)	デンプン科学における物理化学的手法の展開	小野宗三郎	前阪府大
5	昭和63年 (1988)	酢酸菌の生化学的研究	鮎山 實	山口大農
6	昭和63年 (1988)	微生物の化学分類に関する研究	駒形 和男	東大応微研

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
7	平成元年 (1989)	ユーグレナの細胞機能の解析と新規資源生物としての利用	北岡正三郎	阪府大農
8	平成元年 (1989)	生理活性物質の構造活性相関と分子設計に関する研究	藤田 稔夫	京大農
9	平成2年 (1990)	微生物の好気条件における応答機能の解明と分子育種に関する研究	矢野 圭司	東大農
10	平成2年 (1990)	生体異物による代謝変動と制御に関する栄養学的研究	吉田 昭	名大農
11	平成3年 (1991)	生物活性物質を生産する微生物とその応用に関する研究	岡見 吉郎	微化研
12	平成3年 (1991)	食品・生体系におけるアミノカルボニル反応に関する研究	加藤 博通	東大農
13	平成4年 (1992)	酵素反応の速度論的解析の展開	廣海啓太郎	福山大工
14	平成4年 (1992)	植物起源の生理活性蛋白質の構造と機能に関する研究	船津 軍喜	九大農
15	平成5年 (1993)	抗菌性物質の生産, 作用, 耐性に関する研究	伊崎 和夫	東北大農
16	平成5年 (1993)	微生物プロテアーゼに関する研究—構造・活性相関—	鶴 大典	長崎大薬
17	平成6年 (1994)	健康・栄養に関与する細胞機能の生化学的研究	杉本 悦郎	京大農
18	平成6年 (1994)	食品の物性, 加工操作, フラクタル構造等に関する基礎工学的研究	矢野 俊正	横浜国大工
19	平成7年 (1995)	糖鎖生物機能の分子的解析と生命科学への応用	長谷川 明	岐阜大農
20	平成7年 (1995)	生物間相互作用に関わる植物二次代謝産物の化学的研究	水谷 純也	北大農
21	平成8年 (1996)	生体触媒の機能解析と応用に関する研究	小田 順一	京大化研
22	平成8年 (1996)	微生物機能の資源・環境問題への利用に関する基礎的研究	児玉 徹	東大院農生科
23	平成9年 (1997)	産業酵素の機能開発に関する分子論的研究と応用	一鳥 英治	東北大農
24	平成9年 (1997)	コレステロール並びに脂肪酸代謝の制御に関する食品栄養学的研究	菅野 道廣	九大農
25	平成10年 (1998)	動物の遺伝子, クロマチン, 染色体の分子細胞生物学的研究	水野 重樹	東北大農
26	平成10年 (1998)	生理活性タンパク質の構造と機能に関する研究	山崎 信行	九大農
27	平成11年 (1999)	グリコシダーゼの分子機構に関する研究	千葉 誠哉	北大農
28	平成11年 (1999)	X線結晶解析とタンパク質工学による酵素の構造と機能に関する研究	松澤 洋	東大院農生科
29	平成12年 (2000)	生理活性物質を用いた免疫系および骨代謝系細胞の分化と機能発現機構の解析	永井 和夫	東工大生命理工
30	平成12年 (2000)	枯草菌における有用菌体外酵素の生産制御・分泌経路およびゲノムの解析と応用	山根 國男	筑波大生科
31	平成13年 (2001)	新規微生物現象の解明と応用に関する研究	緒方 靖哉	九大院農
32	平成13年 (2001)	複合ゲノム系における基本遺伝システムの解析	高橋 秀夫	東大分生研
33	平成14年 (2002)	海産無脊椎動物の初期発生に関する化学生物学的研究	池上 晋	広島大生物生産
34	平成14年 (2002)	生理活性物質の探索とその利用	富田 房男	北大院農
35	平成15年 (2003)	有用微生物酵素に関する基礎と応用	荒井 基夫	阪府大院農生
36	平成15年 (2003)	糖蛋白質の合成及び細胞内輸送の阻害剤の発見と作用機構の研究	高月 昭	理研
37	平成16年 (2004)	微生物の新規な代謝機能の解明とその応用に関する研究	加藤 暢夫	京大院農
38	平成16年 (2004)	古細菌新規エーテル型リン脂質に関する進化的, 分類学的, 生態学的研究	古賀 洋介	産医大医
39	平成17年 (2005)	微生物の形態分化・二次代謝の遺伝生理学的解析と応用研究	越智 幸三	食総研
40	平成17年 (2005)	環境分野における微生物の新規な代謝機能の開発と分子基盤	古川 謙介	九大院農
41	平成18年 (2006)	フラボノイドの生態生物化学に関する研究	田原 哲士	北大院農
42	平成18年 (2006)	ジベレリンの生理作用の多様性解明に関する研究	山口五十麿	東大院農生科
43	平成19年 (2007)	酵母の糖鎖生物学および糖鎖工学に関する研究	地神 芳文	産総研
44	平成19年 (2007)	枯草菌代謝ネットワークのカタボライト制御の分子機作	藤田泰太郎	福山大生命工
45	平成20年 (2008)	微生物による合成高分子の分解・代謝に関する生化学的・分子生物学的研究	河合富佐子	岡山大資生研
46	平成20年 (2008)	食品機能分子と腸管系の相互作用の解析	清水 誠	東大院農生科
47	平成21年 (2009)	枯草菌の遺伝・育種に関する先導的研究	河村富士夫	立教大理
48	平成21年 (2009)	菌類の生理活性二次代謝産物に関する生物有機化学的研究	佐々 武史	山形大名誉教授
49	平成22年 (2010)	食品成分に関する脂質栄養学的研究	今泉 勝己	九大院農
50	平成22年 (2010)	好熱菌由来の極限酵素の機能開発	大島 敏久	九大院農
51	平成23年 (2011)	麹菌の細胞生物学的解析と応用に関する研究	北本勝ひこ	東大院農生科
52	平成23年 (2011)	微生物によるヘテロオリゴ糖代謝の分子細胞学的解析と複合糖質工学の新展開	山本 憲二	石川県大資源研
53	平成24年 (2012)	植物に含まれる生理活性物質の化学と生理機能に関する研究	山根 久和	東大生物学セ
54	平成24年 (2012)	有用微生物の細胞機能に関する分子遺伝生化学的研究	依田 幸司	東大院農生科
55	平成25年 (2013)	バイオフィンフォマティックスによる生物機能開発	久原 哲	九大院農
56	平成25年 (2013)	昆虫生理活性物質の化学生態学的研究	西田 律夫	京大院農
57	平成26年 (2014)	食品製造における速度過程が関与する現象の工学的解析	安達 修二	京大院農
58	平成26年 (2014)	植物機能高度活用のための分子基盤開発	横田 明穂	奈良先端大バイオ
59	平成27年 (2015)	翻訳後修飾および薬物代謝における硫酸化の意義・機能に関する研究	水光 正仁	宮崎大農
60	平成28年 (2016)	微生物による芳香族化合物分解システムの生化学的・分子生物学的解明	福田 雅夫	長岡技科大工
61	平成28年 (2016)	食品成分の体調節機能に関する統合的研究	山田 耕路	崇城大生物生命
62	平成29年 (2017)	核酸結合タンパク質の構造機能相関と機能開発	木村 誠	九大院農
63	平成29年 (2017)	微生物ゲノムの解読と機能解析	吉川 博文	東農大応生

農芸化学技術賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1 (イ) (ロ) (ハ)	昭和43年 (1968)	清酒製造法の機械化	安藤 智雄	大蔵酒造
2 (イ) (ロ)	昭和43年 (1968)	新型屋外醗酵貯酒タンクの開発と実用化	栗山 一秀	大蔵酒造
3 (イ) (ロ)	昭和44年 (1969)	イミドメチル菊酸エステルの創製に関する研究	今安 聰	大蔵酒造
4 (イ) (ロ)	昭和44年 (1969)	黒麹菌の耐酸性プロテアーゼの研究並びにその工業化	高柳 正	朝日麦酒
5 (イ) (ロ)	昭和45年 (1970)	洗剤配合用アルカリ・プロテアーゼの研究ならびに工業生産	原田 恒雄	朝日麦酒
6	昭和45年 (1970)	デキストランの工業的製造法の確立	加藤 武明	住友化学工業
7	昭和46年 (1971)	発酵工程の自動化についての貢献	植田 賢三	住友化学工業
8 (イ) (ロ) (ハ)	昭和46年 (1971)	注射用無水結晶ぶどう糖 (α -D-型および β -D-型) の製造	吉田 文彦	キッコーマン醬油
9	昭和47年 (1972)	活性スラッジ法による産業排水の処理	一鳥 英治	キッコーマン醬油
10	昭和48年 (1973)	コラーゲンの新しい応用	草井 清	長瀬産業
			小巻 利章	長瀬産業
			篠田 晃	名糖産業
			七字 三郎	微工研
			山下 一男	東海糖業
			服部 圭助	東海糖業
			伊藤 芳直	東海糖業
			小野 英男	住友重機械工業
			宮田 暉夫	日本皮革

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
11 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和49年 (1974)	清酒泡なし酵母の造成およびその実用化	大内 弘造	醸試
12 (イ) (ロ) (ハ)	昭和49年 (1974)	甜菜糖製造におけるメリビアーゼ応用新技術の開発とその工業化	布川弥太郎	醸試
13 (イ) (ロ)	昭和50年 (1975)	ジベレリンを利用する無発芽麦芽製造法の開発	熊谷知栄子	醸試
14 (イ) (ロ)	昭和51年 (1976)	発酵排水を活用した有機入り化成肥料の製造法	秋山 裕一	国税庁鑑定企画
15 (イ) (ロ)	昭和51年 (1976)	微生物加水分解酵素の応用開発	鈴木 英雄	微工研
16 (イ) (ロ)	昭和52年 (1977)	配合飼料生産技術の改良	上林 明	微工研
17 (イ) (ロ) (ハ)	昭和52年 (1977)	ポリビニルアルコールの微生物分解とその含有排水処理への応用	小原 潤一	北海道糖業
18 (イ) (ロ) (ハ)	昭和53年 (1978)	高強度コンクリート用高性能減水剤の研究開発	田原 早苗	朝日麦酒
19 (イ) (ロ) (ハ)	昭和53年 (1978)	醸造酢の新生産技術と利用法の開発	河盛 好昭	協和発酵工業
20 (イ) (ロ)	昭和54年 (1979)	ビール製造技術に関する化学的並びに微生物学的研究	平野 欣也	協和発酵工業
21 (イ) (ロ)	昭和55年 (1980)	酵素法によるL-リジン製造法の開発	辻阪 好夫	阪市工研
22 (イ) (ロ)	昭和55年 (1980)	サリノマイシンの発見と発酵生産技術の開発	岡田 茂孝	阪市工研
23 (イ) (ロ) (ハ)	昭和56年 (1981)	新ステロイド醗酵の開発	麻生 和衛	日本農産工業
24 (イ) (ロ)	昭和56年 (1981)	酵母を用いる食品工業排水新処理法の開発	鈴木 智雄	微工研
25 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和57年 (1982)	セラチオペプチダーゼの工業生産とその医薬への利用	太宰 宙朗	微工研
26 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和58年 (1983)	3-フェノキシベンジル系合成ピレスロイドの発明・開発	福永 和二	クラレ
27 (イ) (ロ) (ハ)	昭和58年 (1983)	有用キラーワイン酵母によるワイン純粋醸造法の開発と産膜病の防止	服部 健一	花王石鹼
28 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和59年 (1984)	穀類原料の無蒸煮・低温蒸煮アルコール醗酵技術の開発	正井 博之	中埜酢店
29 (イ) (ロ) (ハ)	昭和59年 (1984)	微生物によるリパーゼの工業生産とその利用	川村 吉也	中埜酢店
30 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和60年 (1985)	L-システインの新製造法の開発と工業化	山田 弘毅	中埜酢店
31 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和61年 (1986)	植物細胞培養によるシコニン系化合物の生産	天羽 幹夫	朝日麦酒
32 (イ) (ロ) (ハ)	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	福村 隆	阪市大理
33 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和62年 (1987)	ライトビールの創成～香味品質の設計技法の開発と応用	加藤 嵩一	東レ
34 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和62年 (1987)	フラクトオリゴ糖の工業生産とその利用開発	宮崎 幸雄	科研化学
35 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和63年 (1988)	微生物によるアクリルアミド製造法の開発と工業化	原 正幸	科研化学
36 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和63年 (1988)	家畜用抗生物質チオペプチン、ピコザマイシンの発見と開発	今田 幸男	三菱化成
37 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成元年 (1989)	酵素法による7-アミノセファロスポラン酸(7ACA)製造技術の研究	石川 八郎	三菱化成
			西川大吉郎	三菱化成
			吉沢 淑	醸試
			友田 勝巳	武田薬品工業
			宮田 孝一	武田薬品工業
			磯野 正雄	元武田薬品工業
			大村栄之助	武田薬品工業
			板谷 信重	住友化学工業
			松尾 憲忠	住友化学工業
			奥野 吉俊	住友化学工業
			吉岡 宏輔	住友化学工業
			原 昌道	醸試
			飯村 穰	醸試
			大塚 謙一	元醸試
			松元 信也	サントリー
			吉栖 肇	サントリー
			宮田 進	サントリー
			井上 繁	サントリー
			町田 晴夫	名糖産業
			東 俊彦	名糖産業
			国生 純孝	名糖産業
			佐野孝之輔	味の素
			山本 泰	味の素
			楠本 勇夫	味の素
			横関 健三	味の素
			藤田 泰宏	三井石油化学工業
			菅 忠三	三井石油化学工業
			原 康弘	三井石油化学工業
			松原 浩一	三井石油化学工業
			森原 和之	東宝薬品工業
			岡 達	塩野義製薬
			続木 博茂	塩野義製薬
			木村 良臣	キリンビール
			橋本 直樹	キリンビール
			長島 義明	キリンビール
			吉岡 和夫	キリンビール
			日高 秀昌	明治製菓
			柴田 利章	明治製菓
			足立 堯	明治製菓
			斉藤 安弘	明治製菓
			中井 公忠	日東化学工業
			渡辺 一郎	日東化学工業
			佐藤 好昭	日東化学工業
			榎本 兼彦	三菱レイヨン
			三好 歳雄	藤沢薬品工業
			青木 初夫	藤沢薬品工業
			向阪 正信	藤沢薬品工業
			許斐 聡雄	藤沢薬品工業
			都築 勝昭	旭化成工業
			渋谷 友三	東洋醸造
			小松 謙一	旭化成工業
			市川 茂彰	旭化成工業

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
38 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成元年 (1989)	アミノ配糖体抗生物質アストロミシンの開発	奈良 高 岡地 諒	協和発酵工業 協和発酵工業
39 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成2年 (1990)	シアル酸及び関連酵素の発酵生産と臨床検査薬の開発	手柴 貞夫 倉都 祥行	協和発酵工業 協和発酵工業
40 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成2年 (1990)	洗剤用アルカリセルラーゼの開発	塚田 陽二 太田 泰弘	マルキン醤油 マルキン醤油
41 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成3年 (1991)	圧力をプロセスに用いる果実加工食品の開発	杉森 恒武 伊藤 進	マルキン醤油 花王
42 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成3年 (1991)	工業生産用ファージベクターの開発とそれによる診断用酵素の生産	川合 修次 岡本暉公彦	花王 花王
43 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成4年 (1992)	性フェロモンによる害虫防除	堀江 雄 木村 邦男	明治屋 明治屋
44 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成4年 (1992)	実用的なATP再生系の構築とスクレオチド類生産への応用	堀 恵一 中野 衛一	三菱重工業 キッコーマン
45 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成5年 (1993)	アサヒスーパードライの開発	小山 泰二 鈴木 勝	キッコーマン キッコーマン
46 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成5年 (1993)	家庭・防疫用ビレスロイドーエトック [®] の開発	増田 力 小川 欽也	野田産研 信越化学工業
47 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成6年 (1994)	フェロモンを利用したトラップの開発	山本 昭 手塚 晴也	信越化学工業 信越化学工業
48 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成6年 (1994)	鶏卵抗体の大量生産および産業利用技術の開発	福本 毅彦 藤尾 達郎	信越化学工業 協和発酵工業
49 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成7年 (1995)	免疫抑制剤FK506(タクロリムス)の発見と開発	丸山 明彦 杉山 喜好	協和発酵工業 協和発酵工業
50 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成7年 (1995)	トランスグルタミナーゼの有用性研究とその実用化	古屋 晃 薄葉 久	協和発酵工業 アサヒビール
51 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成8年 (1996)	タンパク質誘導体新薬「ノイアップ」の開発	中川 正人 江藤 正和	アサヒビール アサヒビール
52 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成8年 (1996)	遺伝子組換え法による pre-S2 含有B型肝炎ワクチン製造法の開発	梅村 武明 広原日出男	住友化学工業 住友化学工業
53 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成9年 (1997)	耐熱性酵素の工業的生産と利用	矢野 俊彦 小野 幹夫	住友化学工業 富士フーズ
54 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成9年 (1997)	Coryneform bacteria MJ-233株の分子育種法の確立とその菌学的特徴を利用した新規バイオプロセスの開発	森 正隆 Leal, Walter Soares	日本たばこ産業 蚕糸・昆虫農技研
55 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成10年 (1998)	新規酵素による澱粉からのトレハロース製造法の開発	八田 一 赤地 重光	太陽化学 太陽化学
56 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成10年 (1998)	バクテリアセルロースの生産、物性の特徴とその利用	金 武祐 木野 亨	太陽化学 藤沢薬品工業
57 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成11年 (1999)	プロアントシアニジンの機能性解明と開発	後藤 俊男 細田 純而	藤沢薬品工業 藤沢薬品工業
58 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成11年 (1999)	Bacillus brevis による上皮細胞増殖因子の工業的製造法の確立	奥原 正国 本木 正雄	藤沢薬品工業 味の素
59 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成12年 (2000)	抗酸化製造法の展開ービール品質劣化の理論的解明からその応用までー	添田 孝彦 安藤 裕康	味の素 天野製薬
			松浦 明 伊藤 菁我	天野製薬 協和発酵工業
			久我 哲郎 岡部 正実	協和発酵工業 協和発酵工業
			横尾 義春 藤沢 幸夫	協和発酵工業 武田薬品工業
			黒田 俊一 小林 真	神戸大バイオ研 武田薬品工業
			垣沼 淳司 中島 宏	名大農 ユニチカ
			永田 和彦 影山 雅夫	ユニチカ ユニチカ
			近藤 仁司 湯川 英明	ユニチカ 三菱化学
			寺沢 真人 小林 幹	三菱化学 三菱化学
			内田 康一 杉本 利行	三菱化学 林原
			久保田倫夫 仲田 哲也	林原生物化学研究所 林原生物化学研究所
			津崎 桂二 山中 茂	林原生物化学研究所 味の素
			渡部乙比古 井口 正俊	味の素 物質工学研
			西 美緒 有賀 敏明	ソニー キッコーマン
			細山 浩 徳武 昌一	キッコーマン キッコーマン
			山越 純 高木 広明	キッコーマン ヒゲタ醤油
			東條 敬 恵比須省吾	ヒゲタ醤油 ヒゲタ醤油
			宮内 明 山岸 信久	ヒゲタ醤油 サッポロビール
			篠塚 健 高塩 仁愛	サッポロビール サッポロビール
			金田 弘拳	サッポロビール

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
60 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成12年 (2000)	D-アミノ酸生産用バイオリアクターの開発	高橋 里美 池中 康裕 難波 弘憲 矢島 麗嘉	鐘淵化学工業 鐘淵化学工業 鐘淵化学工業 鐘淵化学工業
61 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成13年 (2001)	クレアチニン分解酵素群の開発および改良—クレアチニン測定検査薬の高性能化を目指して—	西矢 芳昭 山本 和巳 川村 良久 愛水 重典	東洋紡績 東洋紡績 東洋紡績 東洋紡績
62 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成14年 (2002)	花色デザイン技術と花卉新品種の開発	久住 高章 田中 良和 鈴木 賢一 勝元 幸久	サントリー サントリー サントリー サントリー
63 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成14年 (2002)	新規機能性を付加した加工米の開発研究	森山 信雄 篠崎 隆 金山 功 矢富 伸治	アルファード食品 アルファード食品 アルファード食品 アルファード食品
64 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成15年 (2003)	新規昆虫成長制御剤ピリプロキシフェンの開発	波多腰 信 西田寿美雄 岸田 博 大内 晴	住友化学工業 住友化学工業 シンク・ケミカル イージーエス
65 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成15年 (2003)	<i>Helicobacter pylori</i> 抑制効果に優れたプロバイオティクスヨーグルトの開発	古賀 泰裕 木村 勝紀 福井 宗徳 新井 秀武	東海大医 明治乳業 明治乳業 明治乳業
66 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成16年 (2004)	ホタルルシフェラーゼの応用開発	村上 成治 辰巳 宏樹 梶山 直樹 榊原 達哉	キッコーマン キッコーマン キッコーマン キッコーマン
67 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成16年 (2004)	抗真菌剤 Micafungin (FK463) の発見と開発	橋本 正治 岩元 俊朗 鶴海 泰久 橋本 道真	藤沢薬品工業 藤沢薬品工業 藤沢薬品工業 藤沢薬品工業
68 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成18年 (2006)	高効率バイオ不斉還元システムの開発と工業化	八十原良彦 木崎 憲之 川野 茂 長谷川淳三	カネカ カネカ カネカ カネカ
69 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成18年 (2006)	γ -アミノ酪酸含有乳製品乳酸菌飲料の開発	早川 和仁 木村 雅行 三沢 宏 赤星 良一	ヤクルト本社 ヤクルト本社 ヤクルト本社 ヤクルト本社
70 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成19年 (2007)	食酢の健康機能とおいしさの解明に基づく新飲用黒酢の開発	大島 芳文 多山 賢二 赤野 裕文 岸 幹也	ミツカン 鈴峯女短大 ミツカン ミツカングループ本社
71 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成19年 (2007)	核酸系うま味調味料新製法の開発と工業化	三原 康博 城下 欣也 横山 正人 秋元 健吾	味の素 味の素 味の素 サントリー
72 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成20年 (2008)	胡麻に含まれるセサミンの機能解明と健康食品の開発	新免 芳史 沖田 定喜 小野 佳子 采女 英樹	サントリー サントリー サントリー 住友化学
73 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成20年 (2008)	新規ネオニコチノイド系殺虫剤クロチアニジンの開発	高延 雅人 横田 篤宜 赤山 敦夫 ジュネジャレカ ラジエ	住友化学 住友化学 住友化学 太陽化学
74 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成21年 (2009)	L-テアニンの工業的生産技術の確立と機能性食品としての研究開発	朱 政治 大久保 勉 小関 誠 菊池 慶実	太陽化学 太陽化学 太陽化学 味の素
75 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成22年 (2010)	<i>Corynebacterium glutamicum</i> を用いたタンパク質分泌生産系の開発	萬年 輝久 竹中 康浩 小島淳一郎 山口庄太郎	味の素 味の素 味の素 天野エンザイム
76 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成22年 (2010)	新奇蛋白質修飾酵素プロテイングルタミナーゼの発見と食品加工用酵素としての開発	松原 寛敬 佐藤 公彦 天野 仁 佐見 学	天野エンザイム 天野エンザイム 天野エンザイム アサヒビール
77 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成23年 (2011)	ビール製造における微生物品質保証技術開発について～食の安心・安全を守るために～	坂本 幹太 鈴木 康司 飯島 和丸 中南 貴裕	アサヒビール アサヒビール アサヒビール パナソニックヘルスケア
78 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成23年 (2011)	FAD グルコース脱水素酵素の発見と、それを応用した新規血糖値センサの開発	中山 潤子 小村 啓悟 眞田 浩一 善本 裕之	パナソニックヘルスケア 池田糖化工業 池田糖化工業 キリンビール
79 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成24年 (2012)	品質工程改善のためのビール酵母の総合的基盤解析技術の開発	吉田 聡 金井(田中)圭子 小林 統	キリンホールディングス キリンビール キリンビール

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
80	平成24年 (2012)	腸溶加工技術に着目したラクトフェリン含有機能性食品の開発	杉山 圭吉	ライオン
(ロ)			村越 倫明	ライオン
(ハ)			小野 知二	ライオン
(ニ)			星野 達雄	NRL ファーマ
81	平成25年 (2013)	納豆菌の系統的育種による商品の差別化と品質向上	竹村 浩	ミツカングループ本社
(ロ)			加田 茂樹	ミツカングループ本社
(ハ)			市瀬 秀之	ミツカン
(ニ)			山中 幸人	ミツカンフレンチ
82	平成25年 (2013)	高菌数、高生残性ビフィズス菌含有ヨーグルト製造方法の技術開発	清水(肖)金忠	森永乳業
(ロ)			宮地 一裕	森永乳業
(ハ)			小田巻俊孝	森永乳業
(ニ)			米澤寿美子	森永乳業
83	平成26年 (2014)	乳由来血圧降下ペプチド素材の開発	山本 直之	カルビス
(ロ)			中村 康則	カルビス
84	平成26年 (2014)	ジペプチド発酵技術の開発と工業化	協和発酵バイオ株式会社(賛助会員)	
85	平成26年 (2014)	超好熱菌由来の新規DNA ポリメラーゼの発見とその産業利用	北林 雅夫	東洋紡
(ロ)			小松原秀介	東洋紡
(ハ)			今中 忠行	立命館大生科
86	平成26年 (2014)	免疫調節多糖体を産生する乳酸菌を活用した機能性ヨーグルトの開発	牧野 聖也	明治
(ロ)			池上 秀二	明治
(ハ)			狩野 宏	明治
(ニ)			伊藤 裕之	明治
87	平成27年 (2015)	血漿中の遊離アミノ酸プロファイルを活用した新規疾病リスク評価法の開発	味の素株式会社(賛助会員)	
88	平成27年 (2015)	ビール泡品質向上への一貫した取り組み	サッポロビール株式会社(賛助会員)	
89	平成27年 (2015)	分析・合成・調香技術の総合による新規食品香料開発	南木 昂	長谷川香料
(ロ)			黒林 淑子	長谷川香料
(ハ)			渡辺 広幸	長谷川香料
(ニ)			前田 知子	長谷川香料
90	平成27年 (2015)	交流高電界殺菌法を利用した果汁製品の製造	ポッカサッポロフード&ビバレッジ株式会社(賛助会員)	
91	平成28年 (2016)	健康機能を有する緑茶「べにふうき」の効果、作用機序、茶葉特性の解明ならびに飲食品の開発	山本 万里	農研機構食総研
(ロ)			立花 宏文	九大院農学研究院
(ハ)			酒瀬川洋児	JA かごしま
(ニ)			岡本 武久	アサヒ飲料
92	平成28年 (2016)	還元型コエンザイム Q10 の実生産および商品化に向けた技術研究開発	上田 恭義	カネカ
(ロ)			植田 尚宏	カネカ
(ハ)			久保 博司	カネカ
(ニ)			北野 光昭	カネカ
93	平成28年 (2016)	醸造技術の革新による血圧降下ペプチド高含有醤油の開発	キッコーマン株式会社(賛助会員)	
94	平成28年 (2016)	ウイルス感染防御機能を持つ <i>Lactococcus lactis</i> JCM5805 の発見と事業応用	藤原 大介	キリン
(ロ)			城内 健太	小岩井乳業
(ハ)			杉村 哲	キリン
(ニ)			藤井 敏雄	キリン
95	平成29年 (2017)	新規酵素による汎用的ペプチド新製法の開発とアスパルテームの工業生産	味の素株式会社(賛助会員)	
96	平成29年 (2017)	天然吸着剤による茶飲料からのカフェイン除去技術の開発	塩野 貴史	キリン
(ロ)			河合淳一郎	キリンビバレッジ
(ハ)			山本研一朗	キリン
(ニ)			四元 祐子	キリン
97	平成29年 (2017)	ケルセチン配糖体配合飲料 特定保健用食品「伊右衛門 特茶」の開発	サントリーホールディングス株式会社(賛助会員)	
98	平成29年 (2017)	活性炭触媒を利用した脱水縮合技術の開発とそれを用いた難消化性グルカンの生産	日本食品化工株式会社(賛助会員)	

農芸化学賞および農芸化学奨励賞

農芸化学賞(日本農学会報)

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	昭和26年 (1951)	バイロシンに関する研究	松井 正直	
2	昭和26年 (1951)	醤油香氣成分に関する研究	横塚 保	

農芸化学賞(本会報)

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	昭和27年 (1952)	結晶性カタラーゼに関する研究	白川 正治	福岡女大
2	昭和27年 (1952)	イソアミラーゼに関する研究	丸尾 文治	東大農
(ロ)			小林 恒夫	東大農
3	昭和28年 (1953)	酵母のグルタチオンに関する研究	黒岩 芳朗	キリン麦酒
4	昭和28年 (1953)	鎖状高分子分裂の動力学及びその関連研究	千手 諒一	九大農
5	昭和28年 (1953)	ペニシリン分解酵素に関する研究	村尾 澤夫	鳥取大農
6	昭和29年 (1954)	牛のビタミン B ₁₂ 欠乏とその代謝機構に関する研究	岩本 喜一	滋賀県立農短大
7	昭和29年 (1954)	生体内における蛋白質の合成機作に関する研究	志村 憲助	東北大農
8	昭和29年 (1954)	菌核菌の生化学的研究	里村 幸男	阪市大理工
9	昭和30年 (1955)	稲熱病菌の代謝生産物に関する研究	玉利勤治郎	新潟大農
10	昭和30年 (1955)	油脂の酸化防止に関する研究	田村 三郎	東大農
11	昭和30年 (1955)	黒斑病甘薯の病理化学的研究	瓜谷 郁三	名大農
12	昭和31年 (1956)	酸化細菌による麴酸及び新γ-ピロロン誘導体の生成に関する研究	池田庸之助	東大応微研
(ロ)			相田 浩	東大応微研
13	昭和31年 (1956)	<i>Aspergillus versicolor</i> の代謝産物に関する研究 新色素 Sterigmatocystin 及び Versicolorin の構造決定	初田 勇一	鳥取大農

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
14	昭和31年 (1956)	過沃素酸酸化による生理的活性蛋白質の研究	前川 一之	愛媛大農
15	昭和32年 (1957)	乳製品のアミノ・カルボニル反応に関する研究	足立 達	東北大農
16	昭和32年 (1957)	糸状菌のアミラーゼに関する研究	岡崎 浩	三共
17	昭和32年 (1957)	微生物のクエン酸分解に関する研究	高橋 甫	東大応微研
18	昭和33年 (1958)	<i>Mentha rotundifolia</i> 精油の新テルペンケトン rotundifolone の研究	清水 純夫	信州大農
19	昭和33年 (1958)	脂質のクロマトグラフの研究	野田万次郎	西京大農
20	昭和33年 (1958)	微生物の Phenolsulphatase について	原田 篤也	阪大産研
21	昭和34年 (1959)	第二菊酸の完全合成並びにビレトリン類の絶対配置の決定	井上 雄三	京大化研
22	昭和34年 (1959)	火落菌の新生因子 Hiochic Acid に関する研究	田村 學造	東大農
23	昭和34年 (1959)	複合脂質に関する研究	藤野 安彦	帯畜大酪農
24 (イ)	昭和35年 (1960)	黒麹菌の澱粉分解酵素系に関する研究	上田誠之助	九大農
(ロ)			林田 晋策	九大農
25	昭和35年 (1960)	酵母リボ核酸関連化合物の酵素的分解並びに呈味作用に関する研究	國中 明	ヤマサ醤油
26	昭和35年 (1960)	<i>Penicillium islandicum</i> の生産する毒性物質, islanditoxin の化学構造に関する研究	丸茂 晋吾	理研
27	昭和36年 (1961)	抗滲透圧性酵母の研究	大西 博	野田産研
28	昭和36年 (1961)	結晶 Phosphoglyceric acid mutase に関する研究	千葉 英雄	京大農
29	昭和36年 (1961)	<i>Streptomyces griseus</i> の生産する新プロテアーゼに関する研究	野本 正雄	理研
30	昭和36年 (1961)	fungisporin に関する研究	宮尾 興平	エーザイ
31	昭和36年 (1961)	植物過酸化酵素に関する研究	森田 雄平	京大食研
32	昭和36年 (1961)	細菌アミラーゼの酵素化学的性質に関する研究	山本 武彦	阪市大理工
33	昭和37年 (1962)	テルペン類代謝を中心とした罹病甘藷の生化学的研究	赤沢 堯	名大農
34 (イ)	昭和37年 (1962)	『はなひりのき』の有効成分“Grayanotoxin”の構造に関する研究	岩佐 順吉	岡山大農
(ロ)			熊沢善三郎	京大農
35	昭和37年 (1962)	微生物のケト酸代謝に関する研究	桒倉辰六郎	京大農
36	昭和37年 (1962)	フラボノイド色素の化学的研究	中林 敏郎	静岡大農
37	昭和37年 (1962)	醗酵菌類によるペントザン並びにペントース代謝の研究	福井 作蔵	東大応微研
38	昭和37年 (1962)	ロテノンおよび関連化合物の完全合成	宮野 眞光	東大農
39	昭和38年 (1963)	サリゲニン環状燐酸エステルの研究	江藤 守總	九大農
40	昭和38年 (1963)	微生物法による絹糸蛋白質の化学的特性と合成ポリアラニン繊維に関する研究	桐村 二郎	味の素中研
41	昭和38年 (1963)	パバインの酵素作用に関する研究	副島 正美	東北大農
42	昭和38年 (1963)	有機燐殺虫剤の研究	西沢 吉彦	住友化学工業
43	昭和38年 (1963)	X線ディフラクトメーターによる澱粉の研究	檜山 進	阪大産研
44	昭和38年 (1963)	乳酸菌のイソメラーゼに関する研究	山中 啓	香川大農
45	昭和39年 (1964)	植物による硫酸からの含硫アミノ酸合成の生化学的研究	旭 正	名大農
46	昭和39年 (1964)	アントシアニンとその褪色酵素に関する研究	坂村 貞雄	北大農
47	昭和39年 (1964)	放線菌の生産する殺虫成分 Piericidin A に関する研究	高橋 信孝	東大農
48	昭和39年 (1964)	グルタミン酸醗酵におけるビオチンの作用に関する研究	田中 勝彦	協和発酵
49	昭和39年 (1964)	麦類赤黴病菌の色素 Rubrofusarin の化学構造	田中 博	協和発酵
50	昭和39年 (1964)	糸状菌の耐酸性 α -アミラーゼに関する研究	蓑田 泰治	東大農
51	昭和40年 (1965)	蚕黒きょう病菌の生産する毒素 Destruxin B の化学構造	久山 眞平	東大農
52	昭和40年 (1965)	テアニンの生合成に関する研究	佐々岡 啓	京大食研
53	昭和40年 (1965)	麹菌の α -アミラーゼの生成に関する研究	外村 健三	醗酵研
54	昭和40年 (1965)	鶏卵卵白の泡立ちに関する研究	中村 良	名大農
55	昭和40年 (1965)	Ciliatine の生化学的研究	堀口 雅昭	東大農
56	昭和40年 (1965)	ジベレリン関連諸物質の合成に関する研究	森 謙治	東大農
57	昭和41年 (1966)	合成薄荷に関する研究	上田 博夫	阪府大農
58	昭和41年 (1966)	糸状菌のペクチン質分解酵素に関する研究	遠藤 章	三共
59	昭和41年 (1966)	新植物生長調節物質 abscisin II に関する化学的研究	大熊 和彦	理研
60	昭和41年 (1966)	Blasticidin S の化学構造の決定	大岳 望	東大応微研
61	昭和41年 (1966)	微生物に対する表面活性剤の作用とその応用	大林 晃	鹿児島大農
62	昭和41年 (1966)	天然フェノール化合物の合成に関する研究	深海 浩	京大農
63	昭和41年 (1966)	筋肉蛋白質の代謝回転	舩引 龍平	岩手大農
64	昭和41年 (1966)	糸状菌溶解酵素及び糸状菌細胞表層の研究	堀越 弘毅	理研
65	昭和41年 (1966)	微生物プロテアーゼのエラスターゼ活性と特異性に関する研究	森原 和之	塩野義製薬
66	昭和41年 (1966)	結晶アミン酸化酵素に関する研究	山田 秀明	京大食研
67	昭和42年 (1967)	微生物によるビオチンの生合成に関する研究	岩原章二郎	香川大農
68	昭和42年 (1967)	細菌のグルタミン酸生合成系における代謝制御	大石 邦夫	東大応微研
69	昭和42年 (1967)	食品の非酵素的褐変に関する研究	加藤 博通	東大農
70	昭和42年 (1967)	タバコアルカロイドの立体特異的分解および生合成機構に関する研究	木佐木卓郎	専売中研
71	昭和42年 (1967)	コムギ斑点病菌の生産する新植物生長調整物質ヘルミントスポロールとその関連物質に関する研究	桜井 成	東大農
72	昭和42年 (1967)	微生物による炭化水素の利用に関する研究	高橋 穰二	東京教育大農
73	昭和42年 (1967)	生理活性と化学構造との相関性の解析に関する研究	藤田 稔夫	京大農
74	昭和42年 (1967)	タバコモザイクウイルス蛋白質の化学構造に関する研究	船津 軍喜	九大農
75	昭和42年 (1967)	家蚕幼虫の核酸消化酵素に関する研究	向井純一郎	九大農

農芸化学奨励賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
76	昭和43年 (1968)	ルービン未熟種子に含まれる植物生長調整物質に関する研究	小清水弘一	京大農
77	昭和43年 (1968)	枯草菌プロテアーゼに関する研究	鶴 大典	阪市大理
78	昭和43年 (1968)	シリル法によるヌクレオシドの合成	西村 卓三	三共中研
79	昭和43年 (1968)	青葉アルコール反応に関する研究	畑中 顯和	京大化研
80	昭和43年 (1968)	大豆蛋白質に関する研究	福島 男児	キッコーマン中研
81 (イ)	昭和43年 (1968)	病、傷害植物におけるポリフェノールの生成と酸化に関与する酵素類の生化学的研究	南川 隆雄	都立大理
(ロ)			兵藤 宏	名大農
82	昭和43年 (1968)	結晶 <i>p</i> -hydroxybenzoate hydroxylase に関する研究	矢野 圭司	東大農
83	昭和43年 (1968)	ニコチン、ピレスリン殺虫剤の毒理学的研究	山本 出	東農大農
84	昭和44年 (1969)	ポリオキシンの化学構造の研究	磯野 清	理研
85	昭和44年 (1969)	新抗生物質ピロールニトリンに関する研究	今中 宏	藤沢製品工業
86 (イ)	昭和44年 (1969)	微生物の生産する凝乳酵素に関する研究	岩崎慎二郎	名糖産業
(ロ)			柳 洲鉉	東大農

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
87	昭和44年 (1969)	L-グルタミン酸生産菌のバクテリオファージに関する研究	沖 俊一	三楽オーシャン
88	昭和44年 (1969)	細菌におけるリジン代謝の酵素化学的研究	左右田健次	京大化研
89 (イ)	昭和44年 (1969)	カナマイシンの全合成	長谷川 明	京大農
(ロ)			栗原 紀夫	京大農
90	昭和44年 (1969)	米穀の脂質と貯蔵時の品質変化に関する研究	安松 克治	武田薬品工業
91	昭和44年 (1969)	昆虫の摂食阻害性植物成分の研究	和田弘次郎	名大農
92	昭和45年 (1970)	生体膜の複合脂質に関する生化学的研究	渋谷 勲	東大応微研
93	昭和45年 (1970)	鶏卵ふ化時の生化学的研究	島林 幸英	三重大農
94	昭和45年 (1970)	血漿コレステロールエステルの代謝に関する研究	菅野 道廣	九大農
95	昭和45年 (1970)	セリン生成系と解糖系の代謝岐に関係する酵素類の構造と機能	杉本 悦郎	京大農
96	昭和45年 (1970)	微生物糖イソメラーゼに関する研究	高崎 義幸	微工研
97	昭和45年 (1970)	<i>Candida utilis</i> によるアルドペントースよりケトペントースへの変換酵素とその制御機構に関する研究	堀津 浩章	岐阜大農
98 (イ)	昭和45年 (1970)	高等植物に含まれる新ジベレリンおよびジベレリングルコシドの単離と構造解明	室伏 旭	東大農
(ロ)			横田 孝雄	東大農
99	昭和45年 (1970)	Protoplast bursting factor に関する研究	山口 務	東洋醸造研
100 (イ)	昭和46年 (1971)	大豆蛋白質の酵素分解—プラステイン合成に関する研究	荒井 綜一	東大農
(ロ)			山下 道子	東大農
101	昭和46年 (1971)	牛乳カゼインの非酵素的凝固現象に関する研究	伊藤 敏敏	東北大農
102	昭和46年 (1971)	枯草菌の生産する新界面活性ペプチドリビド“サーファクチン”に関する研究	垣沼 淳司	武田薬品工業
103	昭和46年 (1971)	青かびの生産するプロテアーゼ・インヒビターに関する研究	嶋田 協	三重大農
104	昭和46年 (1971)	ビタミン類の糖化合物に関する研究	鈴木 幸雄	岡山大農生研
105	昭和46年 (1971)	微生物によるコレステロール側鎖の切断に関する研究	長澤道太郎	野田産研
106	昭和46年 (1971)	植物細胞培養による脱分化・再分化の生化学的研究	山田 康之	京大農
107	昭和46年 (1971)	グルコン酸菌の糖および糖アルコールの酸化還元酵素系に関する研究	山田 雄三	静岡大農
108	昭和47年 (1972)	ヒマ種子有毒タンパク質リシンに関する研究	石黒 正恒	九大農
109	昭和47年 (1972)	殺魚性リグナン justicidin 類に関する研究	大田 啓一	静岡大農
110	昭和47年 (1972)	魚毒植物の活性成分に関する研究	河津 一儀	岡山大農
111	昭和47年 (1972)	大腸菌におけるリン脂質合成の調節機構に関する研究	鬼頭 誠	京大食研
112	昭和47年 (1972)	微生物による Ribonucleotide 関連物質の代謝と利用に関する研究	坂井 拓夫	阪府大農
113	昭和47年 (1972)	蚕黒きょう病に関する化学的研究	鈴木 昭憲	東大農
114	昭和47年 (1972)	コリシンの作用機構に関する研究	別府 輝彦	東大農
115	昭和47年 (1972)	アルギニンラセマーゼに関する研究	寄藤 高光	信州大農
116	昭和48年 (1973)	ヒトデの排卵・卵成熟分裂機構に関する化学的研究	池上 晋	東大農
117	昭和48年 (1973)	リゾチームの活性中心構造に関する化学的ならびに物理化学的研究	井本 泰治	山口大農
118	昭和48年 (1973)	Φ x174DNA の合成とそれによろば宿主機能に関する研究	駒野 徹	京大農
119	昭和48年 (1973)	細菌による L-グルタミン酸の菌体外透過蓄積機構に関する研究	渋谷 満	旭化成工業
120	昭和48年 (1973)	Phytohemagglutinin (植物性赤血球凝集素) の生化学的研究	高橋 孝雄	三重大農
121	昭和48年 (1973)	蠅毒草殺虫成分の研究	谷口 栄二	九大農
122 (イ)	昭和48年 (1973)	マロラクチック発酵と同発酵細菌増殖促進—新化合物“グルコシルバントテン酸”に関する研究	吉栖 肇	サントリー
(ロ)			天知 輝夫	サントリー
123	昭和48年 (1973)	牛肉の加熱香氣に関する化学的研究	渡辺 乾二	名大農
124	昭和49年 (1974)	葉緑体における酸素の発生と還元	浅田 浩二	京大食研
125	昭和49年 (1974)	アブサイシン酸およびキサントキシン関連化合物の化学的研究	折谷 隆之	東北大農
126 (イ)	昭和49年 (1974)	アジド糖を用いる生理活性物質の合成化学的研究 (ポリオキシンJ の全合成など)	葛原 弘美	理研
(ロ)			大類 洋	理研
127	昭和49年 (1974)	酵母の有機酸代謝に関する研究	斉 敏行	朝日麦酒
128	昭和49年 (1974)	食品香氣成分の合成的研究	中谷 陽一	お茶大
129	昭和49年 (1974)	酵母のカルボキシペプチダーゼに関する研究	林 力丸	京大食研
130	昭和49年 (1974)	タンク培養における酸素と炭酸ガスの生理的役割とその制御	廣瀬 義夫	味の素
131	昭和49年 (1974)	高温性放線菌と耐熱性酵素	水沢 清	キッコーマン醤油
132	昭和50年 (1975)	エポキシドンならびに関連化合物の合成・生合成研究	市原 耿民	北大農
133	昭和50年 (1975)	細胞内産生の溶菌酵素によるクロストリジウム属細菌の溶菌	緒方 靖哉	九大農
134	昭和50年 (1975)	澱粉の構造と利用に関する研究	貝沼 圭二	食総研
135	昭和50年 (1975)	新しい膜透過変異株の誘導とその応用に関する研究	菊池 正和	武田薬品工業
136	昭和50年 (1975)	Ezomycin 群抗生物質に関する化学的研究	坂田 完三	理研
137	昭和50年 (1975)	微生物の生産する植物生長物質に関する研究	佐々 武史	山形大農
138	昭和50年 (1975)	芳香族アミノ酸の醗酵生産に関する研究	萩野 浩志	協和発酵工業
139	昭和50年 (1975)	ATP 阻害リボヌクレアーゼに関する研究	山崎 真狩	東大農
140	昭和51年 (1976)	栄養条件による脂肪肝の生成機構とその制御	青山 頼孝	名大農
141	昭和51年 (1976)	Alternaria 属植物病原菌の宿主選択に関する化学的研究	上野 民夫	京大農
142	昭和51年 (1976)	微生物における生理活性脂質関連物質の生化学的研究	木村 光	京大農
143	昭和51年 (1976)	L-アスコルビン酸の関与する褐変および紅変の反応機構	倉田 忠男	東大農
144	昭和51年 (1976)	代謝調節変異株による L-リジンの生産とそのメカニズム	佐野孝之輔	味の素
145	昭和51年 (1976)	^{13}C - ^{13}C カップリングを利用した天然物の構造および生合成研究	瀬戸 治男	東大応微研
146	昭和51年 (1976)	家蚕ウイルスの増殖に関する生化学的研究	姫野 道夫	京大農
147	昭和51年 (1976)	牛成長ホルモンの活性フラグメントに関する研究	山崎 信行	愛媛大農
148	昭和52年 (1977)	薬用植物に含まれる昆虫生理活性物質に関する化学的研究	磯貝 彰	東大農
149	昭和52年 (1977)	シイタケにおけるフレーバー発生の酵素化学的研究	岩見 公和	京大農
150	昭和52年 (1977)	抗サイトカニンによる植物の化学調節機構の研究	岩村 俣	京大農
151	昭和52年 (1977)	麹菌の自己消化に関する研究	魚住 武司	東大農
152	昭和52年 (1977)	ジメチルスルホキシド-五酸化リンを用いる糖質の新酸化法とその生物化学的応用	柏村 直樹	京大農
153	昭和52年 (1977)	多面的生理作用をもつジホスホグリセリン酸の多機能酵素による新代謝調節	佐々木隆造	京大農
154	昭和52年 (1977)	哺乳動物におけるシリアチン (2-アミノエチルホルホン酸) の代謝機構に関する研究	玉利 正人	東大農
155	昭和52年 (1977)	イソントリル化合物を用いたアミノ酸ならびに関連化合物の合成的研究	松本 和男	田辺製薬
156	昭和53年 (1978)	光学活性有機リン化合物の生理作用と代謝に関する研究	大川 秀郎	住友化学工業
157	昭和53年 (1978)	高等植物における D-アミノ酸の生化学的研究	小川 正	徳島大医
158	昭和53年 (1978)	スズヤケイ素を用いる糖及びヌクレオシド系化合物の合成	小川 智也	理研
159	昭和53年 (1978)	多糖類ビリドキサール酵素の反応機構とアミノ酸合成への応用に関する研究	熊谷 英彦	京大農
160	昭和53年 (1978)	昆虫のフェロモンに関する研究	桑原 保正	筑波大応生
161	昭和53年 (1978)	C ₃ および C ₄ 光合成炭酸固定の酵素化学的研究	杉山 達夫	静岡大農

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
162	昭和53年 (1978)	Tunicamycin の発見とその作用機作に関する研究	高月 昭	東大農
163	昭和53年 (1978)	代謝制御因子としての栄養素の機能に関する研究	中野紀和男	名大農
164	昭和54年 (1979)	酢酸菌の糖質代謝系酵素に関する研究	足立 収生	山口大農
165	昭和54年 (1979)	長鎖ジカルボン酸の発酵生産に関する研究	内尾 良輔	味の素
166	昭和54年 (1979)	真核細胞のポリペプチド鎖延長機構に関する研究	江尻慎一郎	岩手大農
167	昭和54年 (1979)	酵素法によるペニシリン、セファロsporin類の生産に関する研究	岡地 諒	協和発酵工業
168	昭和54年 (1979)	クジラ、魚類の脳下垂体ホルモンの単離と化学構造に関する研究	川内 浩司	北里大生産
169	昭和54年 (1979)	ビタミン B ₆ の生合成に関する研究	谷 吉樹	京大農
170 (イ) (ロ)	昭和54年 (1979)	パーレー葉たばこ香氣成分の化学的研究	藤森 嶺 金子 肇	専売中研 専売中研
171	昭和54年 (1979)	大豆グリシニンの生合成に関する研究	森 友彦	京大食研
172	昭和55年 (1980)	複雑な生物活性天然物の立体特異的全合成	磯部 稔	名大農
173	昭和55年 (1980)	微生物のメタノール代謝に関する酵素化学的研究	加藤 暢夫	鳥取大工
174 (イ) (ロ)	昭和55年 (1980)	異担子菌酵母における接合管形成誘導物質に関する化学的研究	神谷 勇治 坂神 洋次	理研 東大農
175	昭和55年 (1980)	生体膜の構造と機能における脂質の役割	塚越 規弘	名大農
176	昭和55年 (1980)	昆虫に対してフェロモン作用を持つ物質に関する研究	西野 親生	三菱化成生命研
177	昭和55年 (1980)	種子に含まれる植物生理活性成分に関する研究	福井 宏至	京大薬
178	昭和55年 (1980)	枯草菌菌体外酵素特に α -アミラーゼの生産制御とそのクローニング	山根 國男	東大応微研
179	昭和55年 (1980)	電子伝達系阻害物質ピエリシジン類に関する生物有機化学的研究	吉田 茂男	東大農
180	昭和56年 (1981)	罹病植物におけるファイトアレキシン生成・蓄積機構の酵素学的研究	大羽 和子	名大農
181	昭和56年 (1981)	物理化学的方法論による微生物有機化学の新展開	柿沼 勝己	東工大理
182	昭和56年 (1981)	偏性嫌気性細菌 <i>Selenomonas ruminantium</i> の表層膜の構造に関する研究	神尾 好是	信州大医
183	昭和56年 (1981)	生物活性を有する脂環式化合物の合成研究	北原 武	東大農
184	昭和56年 (1981)	固定化酵素の利用に関する理論的ならびに実験的研究	小林 猛	名大農
185	昭和56年 (1981)	食品の脂質系におけるアミノ・カルボニル反応に関する研究	須山 享三	東北大農
186	昭和56年 (1981)	ポリオーマウイルスの全遺伝子構造の決定と発癌遺伝子の同定	添田 栄一	国立遺伝研
187	昭和56年 (1981)	米のタンパク質顆粒およびアリューロン顆粒に関する研究	田中 國介	京大食研
188	昭和56年 (1981)	微生物の生産する糸状細胞壁溶解酵素に関する研究	富永 嘉男	阪市工研
189 (イ) (ロ)	昭和56年 (1981)	植物の成長制御に関与する内生生理活性物質の生物有機化学的研究	山口五十磨 山根 久和	東大農 東大農
190	昭和57年 (1982)	鱗翅目昆虫性フェロモンに関する生物有機化学的研究	安藤 哲	カリフォルニア大
191	昭和57年 (1982)	サガミシンおよび関連アミノ配糖体抗生物質の生合成と発酵	加瀬 広	協和発酵工業
192	昭和57年 (1982)	植物防御反応に関する細胞内高、低分子性物質の生物化学的研究	小島 峯雄	名大農
193	昭和57年 (1982)	DNA 関連酵素の特性とその応用に関する研究	穴戸 和夫	理研
194	昭和57年 (1982)	枯草菌プラスミドを使った枯草菌遺伝子操作系の開発	田中 暉夫	三菱化成生命研
195	昭和57年 (1982)	真菌細胞壁多糖の構造と生合成に関する研究	中島 佑	東北大農
196	昭和57年 (1982)	特異な環境を有する生理活性天然物の合成研究	中原 義昭	理研
197	昭和57年 (1982)	タンパク食品の開発に対するペプチド化学的研究	的場 輝佳	京大食研
198	昭和57年 (1982)	レダクトン類による細胞内DNA鎖の切断に関する研究	村上 浩紀	九大農
199	昭和57年 (1982)	細菌の新しい酵素合成調節機構の解明と <i>in vivo</i> 遺伝子操作系の開発	室岡 義勝	広島大工
200	昭和58年 (1983)	免疫調節活性を有する細菌細胞表面複合糖質成分の有機合成化学的研究	木曾 真	岐阜大農
201	昭和58年 (1983)	生体高分子の水和現象に関する物理化学的研究	月向 邦彦	名大農
202	昭和58年 (1983)	DNA に働く酵素およびタンパク質の遺伝生化学的研究	柴田 武彦	理研
203	昭和58年 (1983)	細菌におけるグルタミン-グルタミン酸生合成系の機能解析と応用	立木 隆	京大農
204	昭和58年 (1983)	大腸菌における抗生物質高感受性変異の機構	玉城 成夫	東大応微研
205	昭和58年 (1983)	カイコ脳ホルモンの精製と単離	長澤 寛道	東大農
206	昭和58年 (1983)	酸化型アスコルビン酸とアミノ酸の反応による新しい遊離基化合物の生成と褐変変化反応	林 建樹	名大農
207	昭和58年 (1983)	<i>Bacillus subtilis</i> の変異株によるグアノシンの生産に関する研究	松井 裕	味の素中研
208	昭和58年 (1983)	メチオニン、スレオニンによる体タンパク質節約作用に関する研究	横越 英彦	名大農
209	昭和58年 (1983)	カゼインの特殊構造と特性に関する解析とその応用	吉川 正明	京大農
210	昭和59年 (1984)	微生物におけるビオチンの代謝機構とその制御に関する研究	和泉 好計	京大農
211	昭和59年 (1984)	DNA 傷害突然変異に関する生化学的研究	井上 正	国立遺伝研
212 (イ) (ロ)	昭和59年 (1984)	トウモロコシ病害における宿主特異性の化学	河野 芳樹 鈴木 義勝	理研 理研
213	昭和59年 (1984)	生物活性を有する複素環天然有機化合物の合成研究	榊原 和征	東大農
214	昭和59年 (1984)	植物性抗菌物質および関連化合物の生物有機化学的研究	田原 哲士	北大農
215	昭和59年 (1984)	タバコシバナムシの性フェロモン・セリコルニンの化学的研究	中馬 達二	専売中研
216	昭和59年 (1984)	ニカメイチュウ幼虫表皮の組織培養系を用いた昆虫成育制御物質の作用機構の研究	西岡 孝明	京大農
217	昭和59年 (1984)	植物オルガネラに関する細胞生化学的研究	西村 幹夫	名大農
218	昭和59年 (1984)	機能性高分子物質特に核酸の菌代外生産とその遺伝情報に関する研究	原 敏夫	九大農
219	昭和59年 (1984)	プロリン特異性ペプチダーゼとそのインヒビターに関する研究	芳本 忠	長崎大薬
220	昭和60年 (1985)	数種の酵素・タンパク質のX線結晶構造解析に関する研究	相原 茂夫	京大食研
221	昭和60年 (1985)	肝臓ミトコンドリアに存在するアミノ酸代謝酵素の生合成と局在化の制御機構	北川 泰雄	名大農
222	昭和60年 (1985)	大豆タンパク質の生化学的並びに遺伝生化学的研究	喜多村啓介	岩手大農
223	昭和60年 (1985)	微生物酵素を用いる補酵素類の合成とその利用	清水 昌	京大農
224	昭和60年 (1985)	高等植物の茎葉器官分化と緑葉における香氣成分生成に関する研究	関谷 次郎	山口大農
225	昭和60年 (1985)	RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼの分子進化に関する研究	高倍 鉄子	名大農
226	昭和60年 (1985)	植物フレバー成分の化学並びに生物活性に関する研究	西村 弘行	北大農
227	昭和60年 (1985)	ウシプロキモシン遺伝子のクローニングと微生物における形質発現に関する研究	西森 克彦	東大応微研
228	昭和60年 (1985)	アワヨトウ幼虫の体色黒化ホルモン (MRCH) の単離と構造解析	松本 正吾	東大農
229 (イ) (ロ)	昭和60年 (1985)	異担子菌酵母の性分化とその引き金反応	宮川 都吉 阿部 恵子	広島大工 東大応微研
230	昭和61年 (1986)	水素ガス酸化性微生物に関する研究	五十嵐泰夫	東大農
231	昭和61年 (1986)	「食品の健全性」に関する生物有機化学的研究	大澤 俊彦	名大農
232	昭和61年 (1986)	生体膜リン脂質の生合成と機能に関する分子生物学的研究	太田 明徳	埼玉大理
233	昭和61年 (1986)	スエヒロタケの子実体形成誘導物質に関する研究	川合源四郎	野田産研
234	昭和61年 (1986)	ウニ胚の初期発生解析に基づく細胞分裂阻害物質の検索と化学的研究	小林 昭雄	岡山大農
235	昭和61年 (1986)	デキストランの生合成および分解に関する酵素化学的研究	小林 幹彦	東北大農
236	昭和61年 (1986)	好塩細菌における Na ⁺ 駆動型呼吸鎖の発見ならびにその生化学的研究	徳田 元	千葉大生物活性研

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
237	昭和61年 (1986)	微生物の新しいアミノ酸代謝酵素の特性とその応用	長沢 透	京大農
238	昭和61年 (1986)	有用物質生産のためのバイオリクターに関する基礎的研究とその応用	中西 一弘	京大農
239	昭和61年 (1986)	A-ファクターによる放線菌の二次代謝及び分化調節機構の分子遺伝学的研究	堀之内末治	東大農
240	昭和62年 (1987)	生体膜リン脂質に対する環境因子の影響に関する研究	石永 正隆	広島女大家政
241	昭和62年 (1987)	枯草菌ファージベクター系の開発とその利用	河村富士夫	東大応微研
242	昭和62年 (1987)	植物病原菌の毒素の化学	菅原二三男	理研
243	昭和62年 (1987)	特異な生物活性を有する光学活性天然物の有機化学的研究	杉山 長美	東北大農
244	昭和62年 (1987)	プロテアーゼ阻害剤を用いた枯草菌胞子形成機構に関する研究	西野 豊和	倉敷紡績
245 (イ)	昭和62年 (1987)	新規補酵素PQQの機能に関する生化学的研究	松下 一信	山口大農
(ロ)			品川恵美子	山口大農
246	昭和62年 (1987)	酵素電極—フローインジェクション分析法の開発に関する研究	松本 清	九大農
247	昭和62年 (1987)	グラム陰性細菌外膜の構造、機能及び生合成に関する研究	水野 猛	名大農
248	昭和62年 (1987)	動物培養細胞の増殖及び分化機能発現の調節に関する研究	山田 耕路	九大農
249	昭和62年 (1987)	微生物による複合糖質代謝関連物質の生産と応用	山本 憲二	京大農
250	昭和63年 (1988)	タンパク質修飾酵素トランスグルタミナーゼの活用に関する研究	伊倉 宏司	京大農
251	昭和63年 (1988)	新規抗生物質の化学的研究	生方 信	理研
252	昭和63年 (1988)	好アルカリ性細菌遺伝子による大腸菌からの蛋白質の菌体外分泌に関する研究	工藤 俊章	理研
253	昭和63年 (1988)	イモの形成と貯蔵タンパク質遺伝子の発現制御	中村 研三	名大農
254	昭和63年 (1988)	新しい視点にもとづく抗腫瘍抗生物質の探索と構造および活性の研究	早川 洋一	キリンビール
255	昭和63年 (1988)	生体内脂質の過酸化により生じる極微弱化学発光の解析と応用に関する研究	宮澤 陽夫	東北大農
256	昭和63年 (1988)	微生物細胞機能の遺伝子工学的改変と有用物質の生産	村田 幸作	京大食研
257	昭和63年 (1988)	活性酸素による遺伝子核酸損傷機構	森田 潤司	同志社女大家政
258	昭和63年 (1988)	分泌酵素遺伝子の導入による酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> の育種	山下 一郎	広島大工
259	昭和63年 (1988)	大腸菌 <i>phoA</i> 遺伝子を用いた有用蛋白の分泌生産	依田 幸司	東大農
260	平成元年 (1989)	大腸菌の細胞分裂酵素の研究	石野 史敏	東大応微研
261	平成元年 (1989)	種子タンパク質の高品質化に関する食品化学的並びに遺伝子工学的研究	内海 成	京大食研
262	平成元年 (1989)	細菌の含硫、含セレンアミノ酸代謝関連酵素の新しい機能と応用	江崎 信芳	京大化研
263	平成元年 (1989)	植物細胞壁多糖キシログルカンに関する研究	加藤 陽治	弘前大教育
264	平成元年 (1989)	植物培養細胞における炭酸固定機能に関する研究	佐藤 文彦	京大農
265	平成元年 (1989)	昆虫-植物間相互作用に関与する化学因子	西田 律夫	京大農
266	平成元年 (1989)	特異な生理活性を有する微生物生産物の検索とその化学的研究	林 英雄	阪府大農
267	平成元年 (1989)	微生物が生産するカルモデュリン依存性ホスホジエステラーゼの阻害剤に関する研究	松田 譲	協和発酵工業
268	平成元年 (1989)	対称性構造を有する化合物の不斉分子変換に関する研究	山本 行男	京大教養
269	平成元年 (1989)	光合成CO ₂ 固定酵素, RuBisCO, の <i>in vivo</i> 機能形態と光呼吸の機構	横田 明徳	阪府大農
270	平成2年 (1990)	cAMPによる大腸菌細胞増殖制御機構	内海龍太郎	近畿大農
271	平成2年 (1990)	昆虫の脱皮、変態に関与する神経ペプチド類の単離、構造解析	片岡 宏誌	東大農
272	平成2年 (1990)	食品タンパク質の変性と機能特性の発現	北畠 直文	京大食研
273	平成2年 (1990)	新しい蛋白質修飾酵素, Peptidylarginine deiminase の機能と応用に関する研究	高原 英成	茨城大農
274	平成2年 (1990)	酵母菌における増殖・分化の調節機構に関する研究	土屋 英子	広島大工
275	平成2年 (1990)	食品・生体における脂質過酸化物の生成と作用機構に関する研究	寺尾 純二	食総研
276	平成2年 (1990)	サイトカニン活性物質の構造—活性相関に関する研究	西川 司朗	三重大生資
277	平成2年 (1990)	食品に内在する酵素分泌情報の解明と動物消化管における情報認識機構	伏木 亨	京大農
278	平成2年 (1990)	酸性 α -グルコシダーゼの活性部位に関する反応速度論的研究	松井 博和	北大農
279	平成2年 (1990)	植物生理機能の化学調節に関する研究	米山 弘一	宇都宮大農
280	平成3年 (1991)	新規微生物酵素を用いる有用アミドおよびアミノ酸の合成に関する研究	浅野 泰久	富山県大工
281	平成3年 (1991)	カラム液体クロマトグラフィーの連続化に関する基礎的研究とそのバイオリクターへの応用	安達 修二	京大農
282	平成3年 (1991)	ステロールの吸収機構に関する研究	池田 郁男	九大農
283	平成3年 (1991)	細胞毒性を持つ海産天然物の立体選択的合成研究	市川 善康	三重大教育
284	平成3年 (1991)	動物細胞の増殖分化を制御する微生物二次代謝産物に関する化学的生物学的研究	長田 裕之	理研
285	平成3年 (1991)	無血清培養法による動物細胞の代謝調節に関する研究	白畑 実隆	九大院農
286	平成3年 (1991)	植物培養組織を用いたトロパナルカロイド生合成の解析	橋本 隆	京大農
287	平成3年 (1991)	魚介類食中毒の原因となるポリエーテル化合物の化学構造	村田 道雄	東北大農
288	平成3年 (1991)	メタロセン型有機金属化合物の酵素的不斉変換	山崎 幸苗	工技院微工研
289	平成3年 (1991)	G1・G2期に特異的な新しい阻害剤の発見と真核細胞増殖制御機構の解析	吉田 稔	東大農
290	平成4年 (1992)	DNA複製と遺伝子発現制御におけるDNA反復配列の機能に関する研究	伊藤 義文	食総研
291	平成4年 (1992)	癌の多剤耐性に関するヒトP-糖蛋白質の機能の解析	植田 和光	京大農
292	平成4年 (1992)	多量体構造を有する植物由来抗菌性中分子の精密構造解析	川端 潤	北大農
293	平成4年 (1992)	耐熱性および好塩性細菌リボソーム蛋白質の構造と進化に関する研究	木村 誠	九大農
294	平成4年 (1992)	活性酸素代謝の分子的機作の解明	重岡 成	近畿大農
295	平成4年 (1992)	免疫系蛋白質 (TNF および IgG) の構造と機能に関する研究	中村 聡	東工大生命理工
296	平成4年 (1992)	海洋生物の生物活性天然物に関する研究	中村 英士	北大理
297	平成4年 (1992)	植物細胞表層糖鎖の細胞生物学的研究	林 隆久	京大木研
298	平成4年 (1992)	アレルギー糖タンパク質の抗原構造と免疫系による認識に関する研究	松田 幹	名大農
299	平成4年 (1992)	枯草菌の胞子形成と蛋白質分泌遺伝子の機能に関する研究	吉川 博文	東大応微研
300	平成5年 (1993)	複合糖質糖鎖の合成化学的および酵素化学的研究	伊藤 幸成	理研
301	平成5年 (1993)	動物細胞オルガネラに特異的なタンパク質および脂質代謝に関する研究	裏出 令子	京大食研
302	平成5年 (1993)	阻害剤を活用したDiels-Alder型微生物代謝産物の生合成研究	及川 英秋	北大農
303	平成5年 (1993)	ヒトセントロメア蛋白質機能の分子機構	杉本 憲治	阪府大農
304	平成5年 (1993)	レニン・アンジオテンシン系の生物化学的研究	鈴木 文昭	岐阜大農
305	平成5年 (1993)	部位特異的変異による有用酵素・蛋白の改良と構造—機能相関の解析	西山 真	東大農
306	平成5年 (1993)	炭素—リン共有結合の生成機構に関する研究	日高 智美	東大応微研
307	平成5年 (1993)	昆虫神経活性物質と生育・挙動制御に関する研究	平島 明法	九大農
308	平成5年 (1993)	高等植物生体膜エネルギー変換酵素の生化学的、細胞生物学的研究	平島 正義	北大低温研
309	平成5年 (1993)	大腸菌のタンパク質膜透過装置に関する生化学的研究	松山 伸一	東大応微研
310	平成6年 (1994)	枯草菌ゲノム工学の確立に向けた基礎的研究	板谷 光泰	三菱化成生命研
311	平成6年 (1994)	発癌プロモーター・テレロジンの作用機構に関する有機化学的研究	入江 一浩	京大農
312	平成6年 (1994)	生理活性蛋白質の機能発現における膜-蛋白質相互作用の解析	内海 俊彦	山口大農
313	平成6年 (1994)	核内脂溶性リガンド受容体による遺伝子転写調節機構の解析	加藤 茂明	東農大農
314	平成6年 (1994)	グルタチオン合成酵素のX線結晶構造解析	加藤 博章	京大化研
315	平成6年 (1994)	キノコ由来の細胞機能調節物質の生物有機化学的・生化学的研究	河岸 洋和	静岡大農

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
316	平成6年	(1994) キチナーゼ阻害物質に関する研究	作田 庄平	阪大工
317	平成6年	(1994) 生体触媒を用いる不斉合成に関する研究および有用物質生産への応用	須貝 威	慶応大理工
318	平成6年	(1994) 二酸化炭素固定における炭酸脱水酵素の機能と遺伝子発現調節	福澤 秀哉	京大農
319	平成6年	(1994) X線結晶構造解析による β -アミラーゼの構造と機能に関する研究	三上 文三	京大食研
320	平成7年	(1995) ハロゲン化ペルオキシダーゼ酵素の解析とその応用に関する研究	伊藤 伸哉	福井大工
321	平成7年	(1995) 細胞内情報伝達系を阻害する物質の発見と細胞応答の解析	井本 正哉	慶応大理工
322	平成7年	(1995) 糖類を出発原料とする光学活性有用化合物の合成研究	恵畑 隆	日本たばこ産業
323	平成7年	(1995) 合成的アプローチによる生理活性タンパク質の活性部位の研究	丹尾 式希	味の素
324	平成7年	(1995) 有機分析化学的アプローチによる糖の立体配座、立体配置解析法の開発研究	西田 芳弘	東北大農
325	平成7年	(1995) 種子成熟過程におけるアブシジン酸応答性転写制御機構に関する研究	服部 東穂	三重大遺伝実施
326	平成7年	(1995) ジャガイモYウイルスの増殖過程の解析とその阻害剤の開発	日高 真誠	東大院農生科
327	平成7年	(1995) 遺伝子レベルでのカロチノイド生合成経路の解明並びにその代謝工学的研究	三沢 典彦	キリンビール
328	平成7年	(1995) 花色発現における分子会合機構の解明に関する研究	吉田 久美	相山女大生科
329	平成7年	(1995) 細胞のD-アミノ酸代謝関連酵素の構造と機能の特性	吉村 徹	京大化研
330	平成8年	(1996) 微生物の環境応答におけるタンパク質リン酸化反応を介した情報伝達機構の発見	饗場 浩文	名大農
331	平成8年	(1996) 好酸性細菌の機能開発と利用に関する研究	稲垣 賢二	岡山大農
332	平成8年	(1996) 蛋白質修飾因子をプローブとした酸化ストレス障害の解析に関する研究	内田 浩二	名大農
333	平成8年	(1996) 動物ゲノムの構造と複製に関する分子細胞遺伝学的研究	奥村 宏純	三重大生資
334	平成8年	(1996) 生物間の相互作用に関わる機能性物質の合成化学的研究	桑原 重文	茨城大農
335	平成8年	(1996) 天然高分子から形成されるゲルの工学的諸特性の解析	崎山 高明	岡山大工
336	平成8年	(1996) 澱粉生合成の分子機構に関する研究	馬場 忠	筑波大応生化
337	平成8年	(1996) エネルギー代謝変異による有用微生物の育種に関する研究	横田 篤	北大農
338	平成8年	(1996) 必須脂肪酸代謝及び細胞応答に関する分子細胞生物学的研究	横田 一成	島根大生資
339	平成8年	(1996) プロリン残基に着目したタンパク質耐熱化に関する研究	渡部 邦彦	京府大農
340	平成9年	(1997) IGF-Iの活性発現機構に関する分子生物学的研究	加藤 久典	宇都宮大農
341	平成9年	(1997) ニトリル変換酵素の物質生産への機能開発	小林 達彦	京大農
342	平成9年	(1997) グルタチオン代謝の細胞生理の酵素分子生物学的解明と代謝酵素の構造と機能に関する研究	鈴木 秀之	京大農
343	平成9年	(1997) 蛋白質工学的手法による枯草菌プロテアーゼ・サチライシンの機能変換に関する研究	高木 博史	福井県大生資
344	平成9年	(1997) 生物発光・化学発光の励起分子形成機構に関する有機化学的研究	寺西 克倫	三重大生資
345	平成9年	(1997) N-アシルアミノ酸ラセマーゼの機能と応用に関する研究	徳山 真治	静岡大農
346	平成9年	(1997) 酸素による遺伝子発現制御現象の解明とその動物細胞工学への応用に関する研究	永尾 雅哉	京大農
347	平成9年	(1997) 放線菌の気菌糸誘導に関する生物有機化学的研究	夏目 雅裕	東農工大農
348	平成9年	(1997) 海産無脊椎動物レクチンの構造と機能に関する研究	畠山 智充	長崎大工
349	平成9年	(1997) 消化酵素分泌細胞における開口分泌機構の研究	福岡 伸一	京大食研
350	平成10年	(1998) 好熱好気性・絶対独立栄養性水素細菌 <i>Hydrogenobacter thermophilus</i> TK-6株のCO ₂ ・エネルギー代謝に関する研究	石井 正治	東大院農生科
351	平成10年	(1998) セレクチンブロッカーを中心とする生理活性複合糖質の分子設計と合成に関する研究	石田 秀治	岐阜大農
352	平成10年	(1998) 植物糖蛋白質糖鎖の構造と機能及び植物細胞由来のN-グリカン遊離酵素に関する研究	木村 吉伸	岡山大農
353	平成10年	(1998) メタノール資化性酵母における細胞機能制御の分子機構と応用開発に関する研究	阪井 康能	京大院農
354	平成10年	(1998) ヒト抗体の機能発現とその多面的制御に関する研究	立花 宏文	九大農
355	平成10年	(1998) プドウ球菌ロイコシジン及び γ -ヘモリジンの構造と血球崩壊機構に関する研究	成谷 宏文	東北大農
356	平成10年	(1998) 軸性キラル試薬を用いるNMR構造解析法の開発とその応用	福士 幸治	北大農
357	平成10年	(1998) 呼吸鎖電子伝達系キノン・コネクションの生物有機化学的研究	三芳 秀人	京大院農
358	平成10年	(1998) 細菌胞子における発芽の分子論的解明	森山 龍一	名大農
359	平成10年	(1998) 植物病害虫に関わる生物活性物質の合成研究	渡邊 秀典	東大院農生科
360	平成11年	(1999) 植物特異的生理現象の解明に向けた機能プローブの創製研究	浅見 忠男	理研
361	平成11年	(1999) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> のストレス応答におけるグルタチオン代謝の遺伝生化学的研究	井上 善晴	京大食研
362	平成11年	(1999) 分裂酵母の分化を制御する情報伝達系の解析	川向 誠	島根大生資
363	平成11年	(1999) 組織培養によるコケ植物の二次代謝産物の生合成研究	田崎 弘之	帯畜大畜産
364	平成11年	(1999) 腸球菌の性フェロモンシグナリングに関する生物有機化学的・分子生物学的研究	中山 二郎	東大院農生科
365	平成11年	(1999) 酵母の細胞増殖に必要な機能分子に関する研究	平田 大	広島大院先端
366	平成11年	(1999) 有機合成化学的手法を用いた生体触媒の機能解析と応用に関する研究	平竹 潤	京大化研
367	平成11年	(1999) イネ種子発芽制御の分子メカニズム	三ツ井敏明	新潟大院自然科学
368	平成11年	(1999) 新規微弱発光系による活性酸素消去能に関する研究	吉城由美子	東北大院農
369	平成11年	(1999) ビタミンB ₁₂ の細胞内代謝に関する比較生化学的研究	渡辺 文雄	高知女大生科
370	平成12年	(2000) 立体選択性を示す生体触媒の機能解析と光学活性化化合物生産への応用	片岡 道彦	京大院農
371	平成12年	(2000) ヒト型ハイブリドーマの抗体産生促進機構に関する研究	菅原 卓也	愛媛大農
372	平成12年	(2000) ユニークな反応を触媒する抗生物質生合成酵素・遺伝子群の解析	大和 徹	富山県大工
373	平成12年	(2000) 糖質をキラルプールとして用いた酵素阻害活性天然物の合成化学的研究	高橋 俊哉	理研
374	平成12年	(2000) 糖タンパク質糖鎖の機能解析とそのモデリングに関する基礎及び応用研究	竹川 薫	香川大農
375	平成12年	(2000) 植物の病害および生理機能に関与する生理活性物質の合成研究	戸嶋 浩明	北大院農
376	平成12年	(2000) 環境を汚染する有機塩素系農薬 γ -HCHの微生物代謝系の解明	永田 裕二	東大院農生科
377	平成12年	(2000) 植物生活活性短鎖アルデヒド生合成系の生理・生化学的研究	松井 健二	山口大農
378	平成12年	(2000) テトロドトキシンに関する生物化学的研究	山下 まり	東大院農
379	平成12年	(2000) 大腸菌の新規RNA分解酵素RNase Gの発見とその機能解析	和地 正明	東工大生命理工
380	平成13年	(2001) 微生物由来脱窒遺伝子群の発現調節に関する研究	新井 博之	東大院農生科
381	平成13年	(2001) 培養肝細胞の機能維持に関する細胞生物学的・分子栄養学的研究	小田 裕昭	名大院生農
382	平成13年	(2001) 黄色ブドウ球菌の2成分性細胞崩壊毒素のファージ変換及び標的細胞との作用に関する研究	金子 淳	東北大院農
383	平成13年	(2001) 新規イソペンテニル2リン酸生合成経路、「非メバロン酸経路」に関する研究	葛山 智久	東大分生研
384	平成13年	(2001) プロテインキナーゼC結合タンパク質を介する新しい細胞内シグナル伝達機構	黒田 俊一	阪大産研
385	平成13年	(2001) 海洋生物毒の精密構造解析と起源生物の追求に関する研究	佐竹 真幸	東北大院農
386	平成13年	(2001) プロトン情報の生物学的エネルギー変換に関する研究	三本木至宏	阪大産研
387	平成13年	(2001) エリスロポエチンの組織特異的発現調節の発見と応用生化学的研究	増田 誠司	京大院生命
388	平成13年	(2001) ペプチド性植物細胞増殖因子に関する研究	松林 嘉克	名大院生農
389	平成13年	(2001) 食品成分による発がん予防に関する基盤的研究	村上 明	近畿大生理理工
390	平成14年	(2002) かびの生産する抗酸化物質Bisorbicillinoid類に関する生物有機化学的研究	阿部 尚樹	静岡県大食栄
391	平成14年	(2002) 細胞の生死を抑制する天然有機化合物を利用した化学生物学的研究	掛谷 秀昭	理研
392	平成14年	(2002) T細胞による細胞殺傷機能発現の制御機構に関する研究	片岡 孝夫	東工大生実セ
393	平成14年	(2002) 葉緑体機能発現と光制御の分子機構に関する研究	河内 孝之	奈良先端大バイオ

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
394	平成14年 (2002)	新しいNMR構造解析法の開発と微生物の生産する新規生物活性物質の精密構造解析に関する研究	越野 広雪	理研
395	平成14年 (2002)	耐塩性酵母 <i>Pichia farinosa</i> のキラートキシシン SMKT の構造と作用機構に関する研究	鈴木 チセ	食総研
396	平成14年 (2002)	真正細菌における主要シグマ因子の多型性に関する研究	田中 寛	東大分生研
397	平成14年 (2002)	真正細菌SRP RNA の蛋白質分泌・翻訳過程における多機能性についての研究	中村 幸治	筑波大生科
398	平成14年 (2002)	皮膚表皮に存在するカルシウム依存性蛋白質架橋酵素の発現と活性調節機構に関する研究	人見 清隆	名大院生農
399	平成14年 (2002)	ゲノム情報に基づく枯草菌の遺伝伝学的研究	吉田 健一	福山大工
400	平成15年 (2003)	シロアリ微生物共生系の分子生態学的研究	大熊 盛也	理研
401	平成15年 (2003)	放線菌の二次代謝・形態分化に関する分子遺伝学的研究	大西 康夫	東大院農生科
402	平成15年 (2003)	麹菌CCAAT-box結合複合体のアセンブリと転写促進能に関する研究	加藤 雅士	名大院生農
403	平成15年 (2003)	細胞増殖シグナルの足場依存性に関する新規細胞骨格蛋白質に関する研究	木岡 紀幸	京大院農
404	平成15年 (2003)	生物活性解明と応用を指向した微量天然有機化合物の合成化学的研究	清田 洋正	京北大院農
405	平成15年 (2003)	硫酸転移酵素の多様な機能に関する研究	榊原 陽一	宮崎大農
406	平成15年 (2003)	新たな分子標的機序を有する特異的な生体活性物質による生命現象解明研究	新家 一男	東大分生研
407	平成15年 (2003)	二次代謝産物を介した高等植物と着生微生物の相互作用研究	橋床 泰之	北大院農
408	平成15年 (2003)	細菌の形態形成制御と高分子物質の輸送・分解機構に関する構造生物学的研究	橋本 涉	京大院農
409	平成15年 (2003)	アリゾクテの殺虫性蛋白質および関連物質の分子構造と作用機構に関する研究	松田 一彦	近畿大農
410	平成16年 (2004)	光合成微生物の光誘導性遺伝子発現調節機構：転写・後転写に関するシス配列とトランス因子	朝山 宗彦	茨城大農
411	平成16年 (2004)	核酸および脂質の代謝に関与する新規微生物反応の探索と開発	小川 順	京大院農
412	平成16年 (2004)	細胞老化を規定する分子機構の解明とその応用に関する研究	片倉 喜範	九大院農
413	平成16年 (2004)	糸状菌と植物におけるジベレリン生合成酵素の構造と機能に関する研究	川出 洋	東農工大農
414	平成16年 (2004)	有機ハロゲン化合物の微生物酵素変換：精密反応解析による新しい分子論展開と応用	栗原 達夫	京大化研
415	平成16年 (2004)	微生物のポリリン酸研究の新展開	黒田 章夫	広島大院先端物質
416	平成16年 (2004)	有用な生物活性および特異な構造を有する天然有機化合物の合成研究	滝川 浩郷	神戸大農
417	平成16年 (2004)	天然有機化合物の構造解析のためのNMR法の開発研究とその応用	福士 江里	北大院農
418	平成16年 (2004)	食品膜利用プロセスの工学的基盤研究	藤井 智幸	新潟薬大応生科
419	平成16年 (2004)	蛋白質分解シグナルとしての糖鎖機能の発見	吉田 雪子	東京都医学研究機構
421	平成17年 (2005)	微生物の増殖と分化に関わる共生的相互作用と環境因子群との応答に関する分子生物学的研究	上田 賢志	日大生資料
422	平成17年 (2005)	細胞骨格を標的とした低分子化合物の作用機構解析	臼井 健郎	理研
423	平成17年 (2005)	ハナショウガ主成分等を利用した高選択的反応の開発と有用生体活性物質合成に関する研究	北山 隆	近畿大農
424	平成17年 (2005)	重要穀類に感染する多犯性病原糸状菌に関する研究	木村 真	理研
425	平成17年 (2005)	カビの嫌気的エネルギー獲得機構の多様性	高谷 直樹	筑波大院生環
426	平成17年 (2005)	アレルギー初期応答の分子機構と免疫担当細胞の分化に関する研究	西山 千春	順天堂大院医
427	平成17年 (2005)	バクテリアによるリグニン由来化合物代謝系の解明	政井 英司	長岡技科大工
428	平成17年 (2005)	糖鎖ライブラリーを活用した分子認識プローブの構築に関する研究	村田 健臣	静岡大農
429	平成17年 (2005)	動物の新規酵素の探索とホスホジエステラーゼ類に関する基盤的研究	矢中 規之	広島大院生園
430	平成18年 (2006)	アーバスキュラー菌根共生における共生制御物質に関する研究	秋山 康紀	阪府大院生命
431	平成18年 (2006)	圧力生理学から見た高水圧による酵母生理機能の活性化	阿部 文快	海洋研究開発機構
432	平成18年 (2006)	麹菌酵素のO-結合型糖鎖機能と糖鎖合成機構	後藤 正利	九大院農
433	平成18年 (2006)	アブラナ科植物の自家不和合性における花粉因子の研究	柴 博史	奈良先端大バイオ
434	平成18年 (2006)	抗体産生を制御する機能分子に関する研究	高橋 宜聖	国立感染症研
435	平成18年 (2006)	核内レセプターリガンドの生理作用発現機構に関する研究	武山 健一	東大分生研
436	平成18年 (2006)	食物アレルギー構造の解析とそのアレルギー対応食品開発への応用	田辺 創一	広島大院生園
437	平成18年 (2006)	新規な二原子酸素添加反応を含むダイオキシン関連化合物生分解系の構造生物学的・分子遺伝学的研究	野尻 秀昭	東大生物学セ
438	平成18年 (2006)	呼吸鎖電子伝達系を阻害するバンレイシ科アセトゲニンの有機化学的研究	真壁 秀文	信州大院農
439	平成18年 (2006)	Ca ²⁺ 信号伝達経路による細胞周期制御の発見及びその分子機構に関する研究	水沼 正樹	広島大院先端物質
440	平成19年 (2007)	光合成生物におけるアスコルビン酸ペルオキシダーゼの発現調節機構と生理機能の解明	石川 孝博	島根大生資料
441	平成19年 (2007)	X線結晶構造解析による酵素反応の分子機構に関する研究	角田 佳充	九大院農
442	平成19年 (2007)	微生物NADキナーゼの構造と機能に関する研究	河井 重幸	京大院農
443	平成19年 (2007)	有用糖質関連酵素遺伝子の構造と機能に関する研究	高島 晶	理研
444	平成19年 (2007)	ゲノム安定化維持に必要なDNA複製チェックポイント機構に関する研究	田中 克典	関西学院大理工
445	平成19年 (2007)	高等植物と糸状菌におけるジテルペン生合成・環化酵素遺伝子に関する研究	豊増 知伸	山形大農
446	平成19年 (2007)	発生・分化に関わるペプチド・タンパク質の立体構造解析と構造機能相関	永田 宏次	東大院農生科
447	平成19年 (2007)	求電子性食品成分の機能性/安全性に関する化学生物学的研究	中村 宣督	岡山大院自然科学
448	平成19年 (2007)	糖タンパク質糖鎖の機能解明に向けた化学的アプローチ	松尾 一郎	理研
449	平成19年 (2007)	微生物によるC ₁ 化合物代謝とその生理機能に関する分子細胞生物学的研究	由里本博也	京大院農
450	平成20年 (2008)	酵母のストレス応答におけるmRNA代謝機構に関する研究	井沢 真吾	京大院農
451	平成20年 (2008)	複素環を中心とする生体活性天然環状化合物の合成研究	石神 健	東大院農生科
452	平成20年 (2008)	DNA修復や複製に関係する蛋白質のテロメアにおける機能の解明	上野 勝	広島大院先端物質
453	平成20年 (2008)	放線菌由来ヘテロ環含有抗生物質の生合成に関する分子生物学的研究	尾仲 宏康	富山県大工
454	平成20年 (2008)	微生物の多様な環境応答とその分子機構	金丸 京子	名大院生農
455	平成20年 (2008)	酵母における脂質の代謝と膜輸送に関する研究	福田 良一	東大院農生科
456	平成20年 (2008)	糖質分解酵素と特殊環境で働く酵素の構造生物学的研究	伏信 進矢	東大院農生科
457	平成20年 (2008)	糖と脂質の恒常性維持に関与するABCタンパク質の研究	松尾 道憲	京大院農
458	平成20年 (2008)	DNA合成酵素の分子種選択的阻害剤の探索研究	水品 善之	神戸学院大栄養
459	平成20年 (2008)	生合成機能の高度異種発現に基づく次世代物質生産	渡辺 賢二	南カリフォルニア大薬
460	平成21年 (2009)	細胞内輸送を介した植物の多様な環境応答機構に関する研究	稲葉 丈人	岩手大21世紀COE
461	平成21年 (2009)	抗酸化食品因子の生体内標的部位と酸化ストレス制御機構に関する研究	河合 慶親	徳島大院ヘルスパイオ
462	平成21年 (2009)	油糧微生物の代謝工学と機能性脂質生産への応用に関する研究	櫻谷 英治	京大院農
463	平成21年 (2009)	腸管免疫系におけるアレルギー反応機構とその腸内共生菌による制御に関する分子生物学的研究	高橋 恭子	日大生資料
464	平成21年 (2009)	レクチンの構造・機能解析と糖鎖生物学への応用	舘野 浩章	産総研
465	平成21年 (2009)	ゲノム解析によるシロアリ腸内共生難培養性細菌の機能解明	本郷 裕一	理研
466	平成21年 (2009)	味覚シグナル伝導路の解明	松本 一朗	東大院農生科

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
467	平成21年 (2009)	種子タンパク質に関する食糧科学・細胞生物学的研究と食源性疾患を予防する作物への展開	丸山 伸之	京大院農
468	平成21年 (2009)	テルペノイド植物ホルモンの生合成と生理機能に関する研究	山口信次郎	理研
469	平成21年 (2009)	高等植物における二成分制御系関連分子の体系的解析	山篠 貴史	名大院生農
470	平成22年 (2010)	枯草菌の二次代謝制御機構に関する研究	稲岡 隆史	食総研
471	平成22年 (2010)	植物のイソプレノイド生合成酵素遺伝子の機能と発現制御機構に関する研究	岡田 憲典	東大生物学セ
472	平成22年 (2010)	枯草菌のクオラムセンシングフェロモンに見られる新規翻訳後修飾の解明	岡田 正弘	東北大院理
473	平成22年 (2010)	α -グリコシダーゼの機能と構造に関する研究	奥山 正幸	北大院農
474	平成22年 (2010)	分子遺伝学的手法を用いた亜鉛トランスポーターの機能に関する研究	神戸 大朋	京大院生命
475	平成22年 (2010)	グラム陰性細菌の細胞表層形成に關与する ABC トランスポーターの研究	成田新一郎	東大分生研
476	平成22年 (2010)	ホモポリアミノ酸の生合成に関する研究	濱野 吉十	福井県大生資
477	平成22年 (2010)	植物多糖に作用する糖質分解酵素の構造生物学的研究	藤本 瑞	生物研
478	平成22年 (2010)	味覚受容・応答の分子生物学的解析とヒト甘味感覚計測細胞系の開発	三坂 巧	東大院農生科
479	平成22年 (2010)	立体化学の解明を指向した天然有機化合物の合成とその生物有機化学への展開	矢島 新	東農大応生
480	平成23年 (2011)	免疫系における T 細胞抗原認識および免疫制御機構の分子生物学的解明	伊勢 渉	ワシントン大医
481	平成23年 (2011)	光合成電子伝達鎖を制御する葉緑体酸素発生系タンパク質の分子機能に関する研究	伊福健太郎	京大院生命
482	平成23年 (2011)	腸内細菌における新規な代謝機能の発見と解析およびその高度利用	片山 高嶺	石川県大資源研
483	平成23年 (2011)	酸味受容体としての疾患関連蛋白質阻害剤の創成研究	今野 博行	山形大院理工
484	平成23年 (2011)	細胞内物流システムを制御するカルシウム結合タンパク質に関する研究	柴田 秀樹	名大院生農
485	平成23年 (2011)	化学生態学と免疫学に関連する生体機能分子の合成	田代 卓哉	理研
486	平成23年 (2011)	光合成炭素代謝の制御機構に関する研究	田茂井政宏	近畿大農
487	平成23年 (2011)	天然発がんプロモーター研究の新展開	中川 優	理研基幹研
488	平成23年 (2011)	昆虫の摂食行動に関する生物有機化学的研究	永田 晋治	東大院農生科
489	平成23年 (2011)	時間軸に注目した昆虫と線虫の発育調節機構の解明	丹羽 隆介	筑波大院生環
490	平成24年 (2012)	構造が複雑なシアル酸含有糖鎖および糖脂質の合成化学的研究	安藤 弘宗	岐阜大応生科・京大iCeMS
491	平成24年 (2012)	酸味受容体の発見とその味覚伝達機構の解明	石丸 喜朗	東大院農生科
492	平成24年 (2012)	生物活性の探索と解明を指向した有用化合物の合成研究と化学生物学的研究	倉持 幸司	京府大院生命環境
493	平成24年 (2012)	天然物合成を基軸とした小分子プローブ創成と化学生物学研究	齊藤安貴子	大阪電通大工
494	平成24年 (2012)	腸管における食品因子の吸収及び機能性・安全性に関する細胞生物学的研究	薩 秀夫	東大院農生科
495	平成24年 (2012)	セスクアテルペン (C_{35} テルペン) の探索と生合成に関する研究	佐藤 努	新潟大院自然科学
496	平成24年 (2012)	新奇乳酸菌バクテリオシンの探索とその構造と機能に関する研究	善藤 威史	九大院農
497	平成24年 (2012)	食品と生体の生理活性成分のスピアヘッド分析法の開発と応用	仲川 清隆	東北大院農
498	平成24年 (2012)	“多細胞生物” 麹菌の細胞間連絡を制御するオルガネラ Woronin body に関する研究	丸一 潤	東大院農生科
499	平成24年 (2012)	微生物発酵法による植物アルカロイド生産とその応用	南 博道	石川県大資源研
500	平成25年 (2013)	放線菌線状プラスミドにコードされた抗生物質生合成クラスターの遺伝学的・生物有機化学的解析	荒川 賢治	広島大院先端研
501	平成25年 (2013)	光合成生物における生存戦略の分子機構に関する研究	石崎 公庸	京大院生命
502	平成25年 (2013)	小型実験魚類を用いた脊椎動物味覚伝導の普遍性の解明	岡田 晋治	東大院農生科
503	平成25年 (2013)	tRNA を標的とする毒素に関する研究	小川 哲弘	東大院農生科
504	平成25年 (2013)	海洋生物由来の発光タンパク質に関する生物有機化学的研究	久世 雅樹	神戸大院農
505	平成25年 (2013)	フィズス菌のオリゴ糖代謝機構の解明および代謝酵素群の高度利用に関する研究	面本 完	農研機構食総研
506	平成25年 (2013)	植物の生育促進への利用に資する、枯草菌の転写応答機構の研究	広岡 和丈	福山大生命工
507	平成25年 (2013)	酵母発現系を用いたハイスループット構造生物学	水谷 公彦	京大院農
508	平成25年 (2013)	酸化ストレスに着目したアミロイド β ペプチドの神経細胞毒性発現機構	村上 一馬	京大院農
509	平成25年 (2013)	大腸菌環境応答ネットワークに関する包括的研究	山本 兼由	法政大生命科学
510	平成26年 (2014)	食品および酸化ストレス関連因子による生体タンパク質の翻訳後修飾に関する研究	石井 剛志	静岡県大食栄
511	平成26年 (2014)	環境細菌の PCB 分解能を司る遺伝因子の解析と各種ゲノム解析ソフトウェアの開発	大坪 嘉行	東北大院生命科
512	平成26年 (2014)	脂質メディエーターに関する化学生物学的研究	柴田 貴広	名大院生農
513	平成26年 (2014)	消化管のタイトジャンクション機能を制御する食品成分・生体内因子に関する基礎的研究	鈴木 卓弥	広島大院生園
514	平成26年 (2014)	天然由来機能性脂質の食品栄養学的特性に関する研究	都築 毅	東北大院農
515	平成26年 (2014)	tRNA 転写後修飾メカニズムの分子基盤解明	沼田 倫征	産総研
516	平成26年 (2014)	緑茶の機能性を捉える低分子ケミカルセンシングに関する研究	藤村 由紀	九大先端融合医療
517	平成26年 (2014)	食品関連微生物が形成するバイオフィルムの制御と利用に関する研究	古川 壮一	日大生資科
518	平成26年 (2014)	構造生物学を基盤とした糖質の認識・輸送・分解機構に関する研究	丸山 如江	京大院農
519	平成26年 (2014)	植物 Nudix hydrolase ファミリーの生理機能に関する研究	吉村 和也	中部大応生
520	平成27年 (2015)	光合成 CO_2 固定酵素 RuBisCO の機能進化研究	蘆田 弘樹	神戸大院人間発達環境
521	平成27年 (2015)	立体構造に基づく糖質関連酵素の反応機構の解明とポストゲノミクスへの新展開	伊藤 貴文	福井県大生資
522	平成27年 (2015)	甲殻類ペプチドホルモンに関する生物有機化学的研究	片山 秀和	東海大工
523	平成27年 (2015)	糖質代謝酵素の分子機構の解明と有用糖質の効率合成への応用展開	佐分利 亘	北大院農
524	平成27年 (2015)	植物二次代謝生産における自己耐性と輸送の分子機構に関する研究	土反 伸和	神戸薬大薬
525	平成27年 (2015)	一般細菌が示す多様な環境応答の分子メカニズムに関する研究	高野 英晃	日大生資科
526	平成27年 (2015)	植物のストレス応答・生長制御に関する構造生物学的研究	宮川 拓也	東大院農生科
527	平成27年 (2015)	食品成分と内因性分子による生活習慣病の促進メカニズムと予防に関する生物化学分析	三好 規之	静岡県大食栄
528	平成27年 (2015)	植物における光酸化的ストレス応答のシグナル伝達に関する研究	行哲 行哲	鳥取大農
529	平成27年 (2015)	昆虫の脂肪酸-アミノ酸縮合物 (FACs) の生理・生態学的機能解析	吉永 直子	京大院農
530	平成28年 (2016)	放線菌由来窒素含有天然生物活性物質の生合成に関する研究	浅水 俊平	東大院農生科
531	平成28年 (2016)	食品・栄養成分と生体概日リズムの相互作用に関する研究	大池 秀明	農研機構食総研
532	平成28年 (2016)	嫌気性細菌における特異な脂肪酸代謝の解明と応用	岸野 健明	京大院農
533	平成28年 (2016)	植物ペプチドホルモンに関する生物有機化学的研究	近藤 竜彦	名大院生農
534	平成28年 (2016)	糸状菌のユニークな代謝系を支える新規酵素の発見と多様な代謝を制御する細胞内レドックス恒常性維持機構の解明	志水 元亨	名城大農
535	平成28年 (2016)	環境細菌間における可動性遺伝因子の挙動に関する研究	新谷 政己	静岡大学学術理工学領域
536	平成28年 (2016)	アミノ酸代謝に関わる酵素に関する構造生物学的研究	富田 武郎	東大生物学セ
537	平成28年 (2016)	有用植物二次代謝産物の生合成機構に関する生化学および分子細胞遺伝学的研究	野村 泰治	富山県大工
538	平成28年 (2016)	芳香族ポリケタイドの生合成研究と物質生産への応用	鮒 信学	静岡県大食栄
539	平成28年 (2016)	酵母における環境応答と代謝調節に関する分子遺伝学的研究とその応用	渡辺 大輔	奈良先端大バイオ
540	平成29年 (2017)	油糧糸状菌の分子育種基盤の構築と有用油脂生産への展開	安藤 晃規	京大院農
541	平成29年 (2017)	糸状菌と植物の糖鎖生合成に關与する諸酵素に関する研究	岡 拓二	崇城大生物生命
542	平成29年 (2017)	グラム陰性細菌の寄生・共生現象を制御するクオラムセンシング機構に関する生物有機化学的研究	甲斐 達次	阪府大院生命環境

543	平成29年(2017)	植物香気成分の生合成酵素の機能進化と反応制御機構に関する研究	肥塚 崇男	山口大院創成科学
544	平成29年(2017)	糸状菌の先端生長における極性制御機構の解析	竹下 典男	筑波大生命環境
545	平成29年(2017)	菌類が産生する機能性物質に関する研究	崔 宰薫	静大院農
546	平成29年(2017)	機能性食品成分の味覚シグナルが中枢を介して発動する生理作用の解析	成川 真隆	東大院農生科
547	平成29年(2017)	ポリケタイド化合物の分子多様性を生み出す生合成酵素の構造機能研究	宮永 顕正	東工大理
548	平成29年(2017)	食品機能学によるプレニルフラボノイドの特性解明	向井 理恵	徳島大院生物資源
549	平成29年(2017)	高効率合成を指向したリグナン及びテルペノイドの合成研究	森 直紀	東大院農生科

農芸化学女性研究者賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	平成29年(2017)	バイオセンサー表層におけるセンシング分子のナノレベル精密整列化に関する研究	飯嶋 益巳	阪大産業科学研
2	平成29年(2017)	植物性機能性成分による病態発症改善機能に関する研究	井上 奈穂	山形大農
3	平成29年(2017)	酸性糖鎖ポリシアル酸の新機能の発見とその応用展開	佐藤 ちひろ	名大生物機能セ

農芸化学若手女性研究者賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	平成29年(2017)	有用タンパク質の微生物生産とその産業利用に関する研究	加藤 晃代	名大院生農／ 名城大総合研
2	平成29年(2017)	食品由来機能性成分による免疫調節作用メカニズムに関する研究	田中 沙智	信州大農
3	平成29年(2017)	微生物による生分解性プラスチック合成および微生物由来有用酵素に関する研究	山田 美和	岩手大農

農芸化学女性企業研究者賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	平成29年(2017)	ポリフェノールの機能解明に関する研究とその応用開発	小野 佳子	サントリーウエルネス
2	平成29年(2017)	きのこ由来レクチンのがん診断への応用	小林(袴田) 夕香	J-オイルミルズ
3	平成29年(2017)	カカオポリフェノールに関する包括的研究	夏目みどり	明治

2018年度学会賞等受賞者紹介(敬称略)

○日本農芸化学会賞(2件, 50音順)

石野 良純(いしの よしずみ)
1957年生まれ/1983年大阪大学大学院薬学研究科薬品化学専攻
博士前期課程修了, 薬学博士/現在, 九州大学大学院農学研究
院・教授

五味 勝也(ごみ かつや)
1953年生まれ/1978年東京大学大学院農学系研究科農芸化学専
攻修士課程修了, 博士(農学)/現在, 東北大学大学院農学研究
科・教授

○日本農芸化学会功績賞(2件, 50音順)

井本 正哉(いもと まさや)
1954年生まれ/1980年山口大学農学研究科農芸化学専攻修士課
程修了, 農学博士/現在, 慶應義塾大学理工学部生命情報学科・
教授

裏出 令子(うらで れいこ)
1953年生まれ/1977年大阪府立大学大学院農学研究科農芸化学
専攻修士課程修了, 京都大学農学博士/現在, 京都大学大学院農
学研究科・教授

○農芸化学技術賞(3件, 企業名50音順)

蛸井 潔(たこい きよし)
1965年生まれ/1989年東北大学大学院農学研究科農芸化学専攻
課程博士課程前期修了, 博士(農学)/現在, サッポロビール
(株)商品・技術イノベーション部・担当部長

岡田 行夫(おかだ ゆきお)
1967年生まれ/1991年東北大学大学院農学研究科農芸化学専攻
課程博士課程前期修了, 博士(農学)・技術士(生物工学)/現
在, サッポロビール(株)酒類技術研究所・主任研究員

糸賀 裕(いとが ゆたか)
1960年生まれ/1987年筑波大学大学院農学研究科農学専攻博士
課程中退, 修士/現在, サッポロビール(株)バイオ研究開発部・
上級研究員

鯉江 弘一朗(こいえ こういちろう)
1975年生まれ/1999年京都大学大学院農学専攻科修士課程修
了, 修士/現在, サッポロビール(株)バイオ研究開発部・主任研
究員

堀江 健二(ほりえ けんじ)
1966年生まれ/1993年静岡県立大学生生活健康科学研究科修士課
程修了/現在, (株)ファーマフーズ 総合研究所 生産管理部
生産開発・部長

山津 敦史(やまつ あつし)
1975年生まれ/2007年京都大学大学院工学研究科修士課程修
了/現在, (株)ファーマフーズ 営業部・次長

渡部 和哉(わたべ かずや)
1980年生まれ/2005年北海道東海大学大学院理工学研究科修士
課程修了/現在, (株)ファーマフーズ 総合研究所 生産管理
部・部長

坂下 真耶(さかした まや)
1982年生まれ/2008年広島大学大学院生物圏科学研究科修士課
程修了/現在, (株)ファーマフーズ 総合研究所 開発部・部
長

宇多川 隆(うたがわ たかし)
1947年生まれ/1974年京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻
修士課程修了, 農学博士/現在, 福井県食品加工研究所特別研
究員, 福井県立大学名誉教授

森山 外志夫(もりやま としお)
1949年生まれ/1971年東洋大学経営学部経営学科卒業/現在,
(有)もりやま 代表取締役社長

白崎 裕嗣(しらさき ひろつぐ)
1959年生まれ/1982年慶應義塾大学工学部機械工学科卒業/現
在, (株)室次 代表取締役

片口 敏昭(かたくち としあき)
1958年生まれ/1977年石川県立輪島高校普通科卒業/現在,
(有)片口屋 専務取締役

○農芸化学奨励賞(10件, 50音順)

伊原 誠(いはら まこと)
1978年生まれ/2005年近畿大学大学院農学研究科応用生命化学
専攻博士後期課程修了, 博士(農学)/現在, 近畿大学農学部応
用生命化学科・講師

後藤 剛(ごとう つよし)
1978年生まれ/2007年京都大学大学院農学研究科食品生物科学
専攻博士後期課程修了/現在, 京都大学大学院農学研究科食品
生物科学専攻・准教授

小笠原 泰志(おがさわら やすし)
1977年生まれ/2005年東京工業大学大学院理工学研究科化学専
攻博士課程修了, 博士(理学)/現在, 北海道大学大学院工学研
究院応用化学部門・助教

辻村 清也(つじむら せいや)
1977年生まれ/2003年京都大学大学院農学研究科応用生命科学
専攻博士課程中途退学, 博士(農学)/現在, 筑波大学数理物質
系物質工学域・准教授

梶川 昌孝(かじかわ まさたか)
1977年生まれ/2005年京都大学大学院生命科学研究科統合生命
科学専攻博士後期課程修了, 博士(生命科学)/現在, 京都大学
大学院生命科学研究科統合生命科学専攻・助教

豊福 雅典(とよふく まさのり)
1982年生まれ/2009年筑波大学大学院生命環境科学研究科博士
後期課程修了, 博士(農学)/現在, 筑波大学生命環境系・助教

勝山 陽平(かつやま ようへい)
1982年生まれ/2010年東京大学大学院農学生命科学研究科応用
生命工学専攻博士課程修了, 博士(農学)/現在, 東京大学大学
院農学生命科学研究科応用生命工学専攻・准教授

原田 直樹(はらだ なおき)
1980年生まれ/2007年大阪府立大学大学院農学生命科学研究科
博士後期課程修了, 博士(農学)/現在, 大阪府立大学大学院生
命環境科学研究科, 応用生命科学専攻・講師

加藤 英介(かとう えいすけ)
1979年生まれ/2007年東北大学大学院理学研究科化学専攻博士
課程修了, 博士(理学)/現在, 北海道大学大学院農学研究科基
盤研究部門生物機能化学分野・講師

若井 暁(わかい さとし)
1978年生まれ/2005年岡山大学大学院自然科学研究科エネル
ギー転換科学専攻修了, 博士(学術)/現在, 神戸大学大学院科
学技術イノベーション研究科・特命准教授

2018年度 農芸化学女性研究者賞・農芸化学若手女性研究者賞・
農芸化学女性企業研究者賞 受賞者一覧（敬称略）

○農芸化学女性研究者賞（3件，50音順）

大田 ゆかり（おおた ゆかり）

1967年生まれ／1993年広島大学大学院医学系研究科・分子薬学系専攻博士課程単位取得退学，博士（工学）／現在，国立研究開発法人海洋研究開発機構・海洋生命理工学研究開発センター・深海バイオ応用研究開発グループ・グループリーダー代理

古園（松田）さおり（こそ の まつだ さおり）

1968年生まれ／1996年大阪大学大学院工学研究科醸酵工学専攻博士課程修了，博士（工学）／現在，東京大学生物生産工学研究センター・特任准教授

齊藤 安貴子（さいとう あきこ）

1972年生まれ／2000年東京大学大学院総合文化研究科博士課程修了，博士（学術）／現在，大阪電気通信大学工学部環境科学科・教授，大学内ベンチャー企業（株）べりーらば・代表取締役兼務

○農芸化学若手女性研究者賞（3件，50音順）

梅川 碧里（うめかわ みどり）

1982年生まれ／2010年京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻後期博士課程修了，博士（生命科学）／現在，京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻，日本学術振興会特別研究員（RPD）

戸田 安香（とだ やすか）

1983年生まれ／2007年東京大学農学部獣医学課程獣医学専修卒業，農学博士／現在，明治大学農学部農芸化学科・専門研究員

山下 陽子（やました ようこ）

1982年生まれ／2013年神戸大学大学院農学研究科生命機能科学専攻博士課程後期課程修了，博士（学術）／現在，神戸大学大学院農学研究科・特命助教

○農芸化学女性企業研究者賞（3件，50音順）

石本 容子（いしもと ようこ）

1981年生まれ／2010年東京大学農学生命科学研究科応用生命化学専攻博士課程修了，農学博士／現在，第一三共（株）臓器保護ラボラトリー・専門研究員

堤 浩子（つつみ ひろこ）

1966年生まれ／1991年広島大学大学院工学研究科 修士課程修了／現在，月桂冠（株）総合研究所 主任研究員 兼 技術情報課長

松井 知子（まつい ともこ）

1968年生まれ／1992年早稲田大学理工学研究科応用生物化学修士課程修了／現在，（株）ノボザイムズ ジャパン 研究開発部門 代表

【2018年度学会賞等副賞御寄附会社名】

- ◇ アサヒグループホールディングス 株式会社
- ◇ 味の素 株式会社
- ◇ キッコーマン 株式会社
- ◇ 協和発酵キリン 株式会社
- ◇ キリン 株式会社
- ◇ サッポロホールディングス 株式会社
- ◇ サントリーホールディングス 株式会社
- ◇ 日本コカ・コーラ 株式会社
- ◇ 株式会社 明治
- ◇ 森永乳業 株式会社
- ◇ 株式会社 ヤクルト 本社
- ◇ ライオン 株式会社

本書の内容の一部または全部を無断で複写複製（コピー）および転載することは、法律で認められた場合を除き、権利の侵害となりますので、あらかじめ本会あて許諾を求めてください。

©2018 Japan Society For Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry Printed in Japan

日本農芸化学会 2018 年度受賞講演要旨集
2018 年 3 月 7 日発行 非売品

発行者 公益社団法人日本農芸化学会 113-0032 東京都文京区弥生 2-4-16 学会センタービル内
電話 03 (3811) 8789 <http://www.jsbba.or.jp/> soumu@jsbba.or.jp
印刷者 株式会社国際文献社 169-0075 東京都新宿区高田馬場 3-8-8 電話 03 (3362) 9741
