

# 日本農芸化学会 受賞講演要旨集

---

2017 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/>

## 2017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）

浅見 忠男（東京大学大学院農学生命科学研究科）

「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」…………… 1

内海 龍太郎（近畿大学農学部）

「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」…………… 3

### 【日本農芸化学会功績賞】（2件，50音順）

木村 誠（九州大学大学院農学研究院）

「核酸結合タンパク質の構造機能相関と機能開発」…………… 5

吉川 博文 氏（東京農業大学応用生物科学部）

「微生物ゲノムの解読と機能解析」…………… 7

### 【農芸化学技術賞】（4件，企業50音順）

味の素株式会社

「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」…………… 9

塩野 貴史・河合 淳一郎・山本 研一郎・四元 祐子（キリン株式会社・キリンビバレッジ株式会社）

「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」…………… 11

サントリーホールディングス株式会社

「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」…………… 13

日本食品化工株式会社

「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」…………… 15

### 【農芸化学奨励賞受賞】（10件，50音順）

安藤 晃規（京都大学農学研究科）

「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」…………… 17

岡 拓二（崇城大学生物生命学部）

「糸状菌と植物の糖鎖生合成に関与する諸酵素に関する研究」…………… 19

甲斐 建次（大阪府立大学生命環境科学研究科）

「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」…………… 21

肥塚 崇男（山口大学大学院創成科学研究科）

「植物香气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」…………… 23

竹下 典男（筑波大学生命環境系）

「糸状菌の先端生長における極性制御機構の解析」…………… 25

崔 宰熏（静岡大学大学院農学領域）

「菌類が産生する機能性物質に関する研究」…………… 27

成川 真隆（東京大学大学院農学生命科学研究科）

「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」…………… 29

宮永 顕正（東京工業大学理学院）

「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」…………… 31

向井 理恵（徳島大学大学院生物資源産業学研究部）

「食品機能学によるプレニルフラボノイドの特性解明」…………… 33

森 直紀（東京大学大学院農学生命科学研究科）

「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」…………… 35

# 2017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）

飯嶋 益巳（大阪大学産業科学研究所）

「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」…………… 37

井上 奈穂（山形大学農学部）

「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」…………… 39

佐藤 ちひろ（名古屋大学生物機能開発利用研究センター）

「酸性糖鎖ポリシアル酸の新機能の発見とその応用展開」…………… 41

## 【農芸化学若手女性研究者賞】（3件，50音順）

加藤 晃代（名古屋大学大学院生命農学研究科/名城大学総合研究所）

「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」…………… 43

田中 沙智（信州大学農学部）

「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」…………… 45

山田 美和（岩手大学農学部）

「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」…………… 47

## 【農芸化学女性企業研究者賞】（3件，50音順）

小野 佳子（サントリウヘルネス株式会社）

「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」…………… 49

小林（袴田）夕香（株式会社J-オイルミルズ）

「きのこ由来レクチンのがん診断への応用」…………… 51

夏目 みどり（株式会社 明治）

「カカオポリフェノールに関する包括的研究」…………… 53

## 歴代受賞者一覧…………… 55

日本農芸化学会鈴木賞（日本農学会取扱）…………… 55

日本農芸化学会鈴木賞（本会取扱）…………… 55

日本農芸化学会賞…………… 56

日本農芸化学会功績賞…………… 56

農芸化学技術賞…………… 57

農芸化学賞（日本農学会取扱）…………… 61

農芸化学賞（本会取扱）…………… 61

農芸化学奨励賞…………… 62

2017年度学会賞等受賞者紹介…………… 69

2017年度農芸化学女性研究者賞等受賞者紹介…………… 70

2017年度学会賞等副賞御寄附会社名…………… 71



## 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

東京大学大学院農学生命科学研究科 浅見 忠 男

### はじめに

植物ホルモン機能を利用した農業技術の成果として、穀物の矮性ジベレリン (GA) 変異体を応用し、発展途上国の穀物生産量を著しく高めた「緑の革命」が知られている。現在ではこの遺伝学的制御に加えて GA 生合成阻害剤による GA 機能の化学的制御も穀物生産性向上に大きく貢献しており、植物ホルモン機能の制御による農業生産性向上可能な新技術創出への期待は大きい。申請者は農業生産性の向上に関わる単独かつ直接的な植物ホルモン機能制御のみならず植物ホルモン間クロストークを利用した機能制御に注目し、その化学的制御法の開発と生理学・遺伝学に加えて実用面での応用を目指してきた。以下、まず創製した化合物とその植物科学への応用について植物ホルモンごとに説明する。続いて創製した制御剤の実用化への取り組みについて述べる。

### 1. 植物ホルモン機能制御剤の創製と植物科学への応用

#### 1-1. ブラシノステロイド

ブラシノステロイド (BR) は植物に対して生長促進的に効果を示す。BR の機能や情報伝達因子の解明が十分でない時期に、特異的 BR 生合成阻害剤 (Brz) を創出し<sup>1,2)</sup>、その作用部位が DWF4 (チトクローム P450) であることを明らかにした<sup>3)</sup>。Brz の生理学・生化学への応用は、生合成経路における触媒部位が不確定であった BR 生合成遺伝子の機能を明確にできただけでなく、モデル植物以外へと Brz を応用することで新しい BR 機能の発見へとつながった。特に Brz の活用により BR が有する植物病害抵抗性を付与する効果やワタ繊維発達促進効果が明確になったことは、その後の病害研究やワタ育種へ大きな影響を与えた。また申請者が単離した複数の Brz 抵抗性シロイヌナズナ変異体は、その後の BZR1/BIL1, BES1 等の多数の BR 情報伝達因子の同定と機能の解明ならびに応用に結びついたことにより、阻害剤の植物遺伝学への応用の有効性を示す大きな契機となった<sup>4,5)</sup>。現在 Brz は試薬として販売され、植物研究の標準物質として時に文献引用無しで広く用いられている。

#### 1-2. アブシシン酸

アブシジン酸 (ABA) は主としてストレス抵抗性を植物に付与する効果を示す。カロテノイドは ABA 生合成の出発物質であるために、その生合成を標的とする既存の ABA 生合成阻害剤は、植物の白化作用という望ましくない副作用を有していた。そこで白化作用を示さない ABA 生合成阻害剤創出のために、ABA 生合成の律速段階であるカロテノイド開裂酵素を標的とする化合物の設計・合成ならびにスクリーニングを行い、ABA 特異的生合成阻害剤であるアバミンならびにアバミン SG を見出した<sup>6)</sup>。この化合物は、現在でも唯一の副作用が見られない特異的 ABA 生合成阻害剤であり、この化合物の利用により多くの未知 ABA 機能の解明が可能になった。例えば根粒菌

の感染や植物の病害抵抗性の発現に ABA が関与していることを、この化合物の利用により鮮やかに示すことができた。

#### 1-3. ストリゴラクトン

上記研究基盤を用い、2008年に新植物ホルモンとして見出されたストリゴラクトン (SL) 制御剤の創製を行った。SL は植物ホルモン作用である枝分かれ (イネ科では分げつ) 抑制作用以外にも、AM 菌との共生促進作用や根寄生雑草種子の発芽を促進し寄生を促すことで農作物に多大な被害を生じさせる作用を示す物質であるために、その化学的制御法は応用展開の可能性が高い重要な研究対象であると考えた。まず SL 生合成経路に存在するチトクローム P450 を標的と想定した阻害剤開発を行い、トリアゾール系 SL 生合成阻害剤 Stz (TIS108) を見出した<sup>7)</sup>。Stz は nM レベルでイネ中の SL 濃度を検出限界以下に低下させる強力な阻害剤であった。しかしその強力な SL 濃度低下作用にもかかわらず植物種によってはまったく枝分かれを誘導しないことから、生体内で生合成される SL 関連分子種による機能の違いを明確にできる可能性を秘めた化合物であり、作用部位とあわせこの点については今後の検討課題である。この生合成阻害剤創製過程で、ジベレリン (GA) がイネ中の SL 生合成を抑制すること、にもかかわらず分げつを抑制することを見出した。特に枝分かれの抑制効果は野生型のみならず SL 生合成変異体や情報伝達変異体においても観察された。この SL-GA 間の生理レベルでのクロストークの発見は GA の応用展開の可能性を広げたが、この点については後述する。この発見以前に GA 欠損変異体での分げつの増加が報告されていたため、分子レベルでの SL-GA 間クロストークの解明によりこの生理現象が説明できると予想した。そこで SL と GA 情報伝達因子間の相互作用について検討を行い、SL 受容体 D14 と GA 情報伝達因子である SLN1 の SL 依存的な相互作用を見出すことができた<sup>8)</sup>。現在のところ、SL 依存的な D14 の結合により成長抑制因子としての SLN1 の機能が抑制を受け、その結果分げつ抑制的な生理現象が起きるというモデルを想定している。

さらにイネ SL 受容体 D14 の阻害剤開発を行い、インシリコスクリーニングにより競争的に受容体 D14 に結合する阻害剤 2MN と、動物の  $\alpha\beta$ -加水分解酵素阻害剤に着想を得て設計・合成展開を行い、受容体 D14 に共有結合しイネに多分げつ形態を誘導する阻害剤 KOK1094 を見出した。両化合物の類縁体中には、根寄生雑草の発芽阻害活性を示す化合物も存在していたため、分げつ誘導と発芽阻害の各活性を個別に高める方向で合成展開を行っている。

続いて阻害剤と併用することで自在な SL 制御を可能とする SL アゴニストの生合理的な創製を目指し、天然型 SL 類より高活性かつ安価に一段階合成が可能な SL アゴニスト 4BD を見出した<sup>9)</sup>。4BD は現在ではイネ試験における標準物質として広

く利用され実用化も検討されているが、イネ分げつ抑制特異的な化合物であり、根寄生雑草 *Striga* 種子発芽促進活性は著しく弱い。そこでこの理由について検討を行う目的で、SL 作用機構と受容体リガンド複合体構造の追究を行った。その結果、D14 は SL 加水分解活性を示すユニークな受容体であること、三次元構造の解析により SL の D 環が加水分解により生じる D-OH が D14 との複合体を形成することが明らかとなり、SL 分解で生じる D-OH が活性本体であると結論した<sup>8)</sup>。この結論はその後他グループによる D-OH-D14-D3 複合体結晶構造の報告により裏付けられた。この知見を総合し、加水分解により D-OH を生じる化合物は SL 活性を持つとの発想に基づき多数の SL アゴニストの合成と活性評価を行った結果、D 環構造を含み *Striga* 種子発芽促進活性が高い TIT01, 2F4CD, KOK を見出した。活性化化合物の D 環以外の構造はかなり自由度が高く、ポケットに入らない大きな分子でも活性を示す事から、SL 受容体は柔軟性の高い性質を有していると予想している。

## 2. 植物ホルモン機能制御剤の農業への応用を目指して

これまで創製してきた植物ホルモン機能制御剤は植物科学の進展には貢献できたと考えており、間接的には農業技術開発への貢献もできたのかもしれない。しかしながらより直接的な農業への貢献を目指し、現在では化合物の実用性に着目した展開もいくつか行っている。その中で現在最も活発におこなっている取り組みを紹介したい。

### 2-1. ストリゴラクトン機能制御剤

創製した制御剤を用いて、アフリカで穀物生産上の大きな問題になっている根寄生雑草被害の低減可能性を検討している。*Striga* を用いたポット試験の結果、合成阻害剤である Stz は宿主の分げつに影響を与えずに根寄生雑草の被害を抑制できた。これは Stz の分げつ促進活性を示さない性質によるところが大きい。また、SL アゴニストである TIT01 は宿主が存在しない条件で根寄生雑草種子の自殺発芽を誘導し根寄生雑草被害を軽減できることが明らかとなった。アフリカでのフィールド試験を実施準備中である。

### 2-2. ジベレリン

SL-GA 間クロストークを利用した根寄生雑草被害を軽減可能な活性化化合物の創製にも取り組んだ。GA による SL 合成抑制現象の発見により、GA 処理による *Striga* 種子発芽誘導の抑制が可能となったが、GA は高価なため土壌処理への応用は実用的でない。そこで代替できる GA アゴニストを探索した結果、安価に合成可能で SL 合成抑制効果を示す AC94377 並びに 67ID を見出した。AC94377 は複数の GA 受容体を有するシロイヌナズナにおいて受容体選択的に作用することを明らかにした<sup>10)</sup>。

### 2-3. エチレンミミック

SL アゴニストは自殺発芽促進剤としての実用化が期待できるものの、加水分解により D-OH を生成する構造を有するために環境中で不安定である。一方でエチレンが根寄生雑草種子発芽促進活性を示す事が報告されているが、エチレンを利用した技術はコストが高くアフリカでの普及は難しい。そこで環境安

定型自殺発芽誘導剤を開発するためにエチレンの *Striga* 種子発芽促進活性に着目した新規化合物の探索と構造展開を行い、安価に合成可能でエチレン受容体に作用して *Striga* 発芽促進効果を示す KUT15 を創出した。現在これら化合物と SL アゴニストを併用した制御法についても応用可能性について検討中である。

## おわりに

植物ホルモン制御剤の創製は、先人達の植物ホルモン研究の成果を利用したいわば「巨人の肩に乗る」研究とも言える。制御剤の利用により新しい生物学的知見を見いだすことはできたが、この点がきりがかりであった。そこで現在は新しい、できたら植物普遍的な生理活性物質の探索と性状解析にも力を入れている。研究室の植物ホルモン研究の伝統を引き継いで、今後も研究を継続していくつもりである。

## (引用文献)

- 1) Asami T and Yoshida S, Brassinosteroid biosynthesis inhibitor. Trends Plant Sci, Vol. 4, pp 348-353 (1999).
- 2) Asami T et al., Characterization of brassinazole, a specific brassinosteroid biosynthesis inhibitor. Plant Physiol, Vol. 123, pp 93-100 (2000).
- 3) Asami T et al., Selective interaction of triazole derivatives with DWF4, a cytochrome P450 monooxygenase of the brassinosteroid biosynthetic pathway, correlates with brassinosteroid deficiency in *planta*. J Biol Chem, Vol. 276, pp 25687-25691 (2001).
- 4) Yin et al., BES1 accumulates in the nucleus in response to brassinosteroids to regulate gene expression and promote stem elongation. Cell, Vol. 109, pp 181-191 (2002).
- 5) Wang Z et al., BZR1 is a nuclear component of the brassinosteroid signaling pathway. Dev Cell, Vol. 2, pp 505-513 (2002).
- 6) Han et al., A novel inhibitor of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) in abscisic acid biosynthesis in higher plants. Plant Physiol, Vol. 135, pp 1574-1582 (2004).
- 7) Ito S et al., Effects of triazole derivatives on strigolactone levels and growth retardation in rice. PLoS ONE, Vol. 6, e21723 (2011).
- 8) Nakamura H et al., Molecular mechanism of strigolactone perception by DWARF14. Nature Comm, Vol. 4, 2613 (2013).
- 9) Fukui K et al., Selective mimics of strigolactone actions and their potential use for controlling damage caused by root parasitic weeds. Mol Plant, Vol. 6, pp 88-99 (2013).
- 10) Kai J et al., Substituted phthalimide AC94377 is a selective agonist of the gibberellin receptor GID1 in *Arabidopsis*. Plant Physiol, in press

**謝 辞** 本研究は東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻生物制御化学研究室、理化学研究所植物機能研究室を中心に、国内外の多くの方々の協力を得て初めて遂行が可能になりました。心より御礼を申し上げます。なかでも卒業論文から博士論文の研究までご指導いただいただけでなく、その後もお心配り頂いた故高橋信孝先生には心より感謝申し上げます。ただこの受賞を生前にご報告できなかったことが心残りではありますが、あの世でよろこんでいただけているものと信じております。ご冥福をお祈りいたします。





近畿大学農学部 内 海 龍 太 郎

## 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

## はじめに

微生物、特に細菌細胞には、ヒト等の高等生物とは異なる情報伝達機構 (two-component signal transduction system, TCS) が発達している。このような TCS によって、動植物病原細菌の病原性、酸耐性、イオン制御、薬剤耐性、細胞分裂・増殖、クオラムセンシング、バイオフィーム形成等が制御されている。細菌細胞は数十種類の TCS を保持し、多様な環境変化に対応して、生育している。また、激変する環境変化に迅速に対応適応するために、各 TCS 間は互いに連結した情報伝達ネットワークの分子機構を発達させてきた。本研究では、ゲノムサイエンスならびに分子生物学的研究方法を駆使して、細菌情報伝達ネットワークの分子機構を解明し、微生物バイオテクノロジー、バイオサイエンスの新しいパラダイムを切り拓いた。これらの研究成果をもとに、開発された細菌情報伝達阻害型薬剤はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) やバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 等の多剤耐性細菌に有効であることを示しただけでなく、環境調和型農薬としての用途も可能であることを示し、21 世紀、抗生物質にかわる細菌情報伝達阻害型薬剤の医薬、農薬のモデルを提示した。

## I 細菌情報伝達機構と情報伝達ネットワークの分子機構の解明

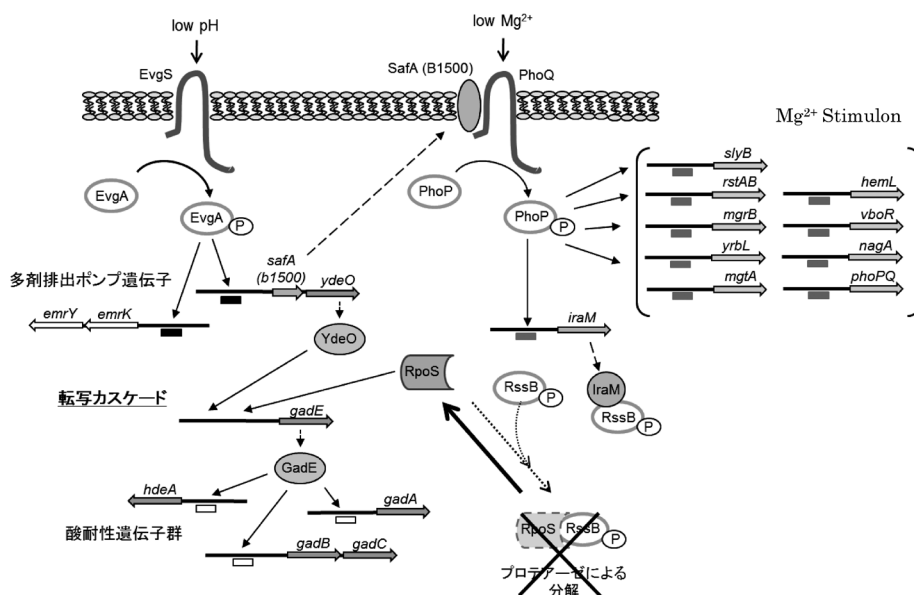
## (1) 細菌情報伝達機構

TCS は細菌膜上に存在する受容体 (センサーキナーゼ、ヒスチジンキナーゼ, HK) と対をなして働くレスポンスレギュレーター (RR) から、構成されている。HK のセンシングの機構を解明するために、キメラ受容体, Taz (センシングドメイ

ンを Tar, 細胞内キナーゼドメインは EnvZ) を用いて、実際に細胞外に存在するアスパラギン酸を感知した Taz が RR である OmpR を介して、外膜遺伝子の発現を制御する一連のシグナル伝達経路のモデルシステムを構築することに成功した。本成果は、TCS センサーキナーゼが環境刺激を受容して、リン酸リレーによって、標的遺伝子まで、情報伝達することを証明した最初の成果である。この成果をもとに、大腸菌における 2 種の情報伝達系, EvgS/EvgA, PhoQ/PhoP において、センサー, EvgS, PhoQ の活性化機構ならびに細胞内遺伝子発現制御の詳細な分子機構が明らかにされた。

EvgS/EvgA 情報伝達システムは、大腸菌に酸耐性を誘導する主要な分子機構であることを明らかにした。すなわち、EvgS のペリプラズム領域で、低 pH を感知し、リン酸化された EvgS から EvgA へのリン酸リレーを介して、リン酸化された EvgA による大腸菌の酸耐性遺伝子群の発現制御機構である。その誘導システムは図 1 に示すような YdeO, GadE の転写因子を介する転写カスケード機構とコネクター分子 SafA の制御による PhoQ/PhoP 情報伝達システムの活性化である。

大腸菌細胞外の  $Mg^{2+}$  イオンに応答する遺伝子発現制御機構として、PhoQ/PhoP 情報伝達システムを同定した。外界の  $Mg^{2+}$  イオン濃度に応じて、リン酸化された PhoQ は PhoP のリン酸基転位反応を促進して、リン酸化された PhoP は 10 種以上の標的遺伝子群を同時に制御する。リン酸化 PhoP の標的遺伝子のプロモーターに共通に存在するダイレクトリピート構造を見出して、PhoP の直接結合部位 (PhoP box) であることを明らかにした (図 1)。このような外界の金属イオン濃度を感知す

図 1 EvgS/EvgA 系を起点とした酸耐性遺伝子の制御ネットワークと  $Mg^{2+}$  Stimulon

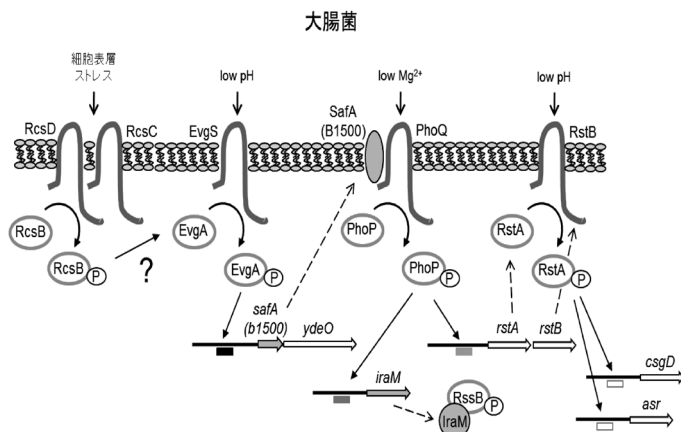


図2 TCS間ネットワーク

る情報伝達システムは  $Mg^{2+}$  Stimulon と命名され、細菌の金属イオン応答の分子機構の雛形となった。このように、EvgS/EvgA, PhoQ/PhoP 情報伝達の研究成果は細菌情報伝達も高等動植物における情報伝達に勝るとも劣らない精緻な分子機構を有していることを示した。

## (2) 細菌情報伝達ネットワークの分子機構：コネクター分子 SafA の発見

TCS ネットワークを解明するために、DNA マイクロアレイ解析を行った結果、特に、EvgS/EvgA を活性化すると同時に PhoQ/PhoP 制御下の遺伝子群が変動することが明らかになった。EvgS/EvgA 情報伝達システムと PhoQ/PhoP 情報伝達システムを連結するコネクター遺伝子の探索を行った結果、機能未知の B1500 を同定した。B1500 は 65aa からなる細胞膜蛋白質で、PhoQ のセンサーキナーゼ活性を制御する機能を見出し、SafA (sensor associating factor) と命名された。EvgS/EvgA の活性化によって、safA 遺伝子発現が誘導され、細胞膜中に移動して、PhoQ のペリプラズム領域に結合して、PhoQ の HK 活性を制御することにより、PhoQ/PhoP 制御下の遺伝子群が制御される新しい情報伝達ネットワークの分子機構が明らかにされた (図2)。さらに、SafA は PhoQ のペリプラズム領域に結合して、構造変化を促し、細胞内ヒスチジンキナーゼドメインの活性が制御されていることを示した。その後、SafA 様のコネクター分子の存在が報告されており、コネクター分子を介する細菌情報伝達ネットワーク分子機構は、細菌情報伝達ネットワークの基本的な分子機構と理解された。

## II 細菌情報伝達阻害型薬剤の開発：WalK/WalR 情報伝達機構を標的にした新規抗生物質の発見

代表的なグラム陽性多剤耐性細菌である MRSA や VRE は増殖に必須な WalK (HK)/WalR (RR) TCS を保持している (図3)。WalK/WalR TCS を標的にした阻害剤は、既存の抗生物質と全く異なる作用機序によって、MRSA や VRE 等の多剤耐性細菌を死滅させることが期待された。最初に、分子生物学ならび構造生物学的研究を行い、WalK, WalR はそれぞれ、ホモ二量体構造をとることが情報伝達に重要であることを示した。その研究成果に基づいて、WalK, WalR を標的にする選択的な単離方法を開発した。これらの選択方法を用いて、3種の新規な WalK (ヒスチジンキナーゼ) 阻害剤と1種の WalR 阻害剤 (walrycin B) を見出した。3種の WalK 阻害剤はいずれも、

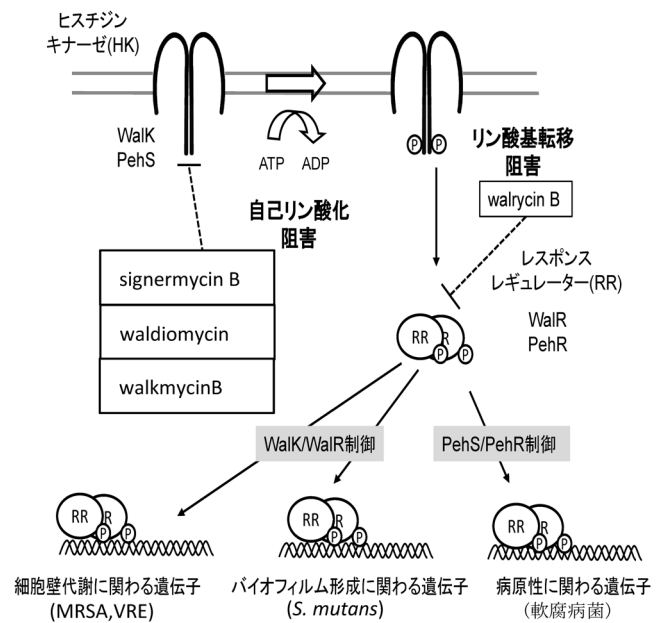


図3 細菌情報伝達阻害型薬剤とその作用機構

WalK 二量体ドメイン (ATP 結合部位ではない) に結合して、自己リン酸化活性を阻害し、MRSA や VRE を死滅させる新規抗生物質として signermycin, waldiomycin, walkmycin と命名した。本研究において、細菌情報伝達ネットワークの分子機構研究の展開のなかで、その情報伝達素過程を阻害する細菌情報伝達阻害型薬剤が種々の多剤耐性細菌に有効な薬効を示すだけでなく、病原性を抑制し、その病害防除を可能にする優れた戦略であることを見出した。これらの研究成果をもとに、21世紀、細菌情報伝達阻害型薬剤がヒト感染症治療ならびに植物病害防除に貢献することが期待される。

**謝 辞** 本研究は近畿大学農学部バイオサイエンス学科ならびに農芸化学科生物化学研究室 (旧) において、行われたものである。博士課程修了生、山本兼由、加藤明宣、江口陽子、渡邊崇史、皆川周、小笠原寛、古田英司、余豊年、岡田在郎、後藤恭宏、岡本尚、土井章弘、石井英治、Md. Fakhruzzaman ならびに共同研究いただいた方々に感謝申し上げます。また、最初に分子生物学研究への道をご指導いただいた京都大学名誉教授 駒野徹先生、生物化学研究室において、いつも適切なお助言、励ましの言葉をいただいた姫野道夫先生、酒井裕先生、森田潤司先生 (同志社女子大学)、fic 遺伝子の発見で、共同研究してきた川向誠先生 (島根大学) に心より感謝申し上げます。近畿大学農学部において、終始暖かく、研究の進展を見守り、ご指導いただいた故野田万次郎先生、本研究対象になった細菌情報伝達研究へのご指導いただいた井上正順先生 (米国ロバートウッドジョンソン医科大学) に深く感謝申し上げます。さらに、細菌情報伝達阻害型薬剤開発においては、生研センター異分野融合研究支援事業の成果で、三沢典彦 (石川県立大学)、岡島俊秀 (大阪大学)、田中康雄 (大洋香料株式会社)、微生物化学研究所第2生物活性研究部長 五十嵐雅之氏はじめ研究所の皆さまのご協力に深謝いたします。最後に、ご支援いただきました日本農芸化学会ならびに関西支部の皆さまに厚く御礼申し上げます。



## 核酸結合タンパク質の構造機能相関と機能開発

九州大学大学院農学研究院 木村 誠

## 1. はじめに

触媒活性を持つ RNA (リボザイム) や RNA 干渉の発見により, RNA が遺伝子の発現調節において重要な役割を担っていることが明らかになっている。これらの機能性 RNA は, 多くの場合 RNA のみでは活性を示さず, タンパク質と複合体 (リボ核タンパク質) を形成することにより機能している。従って, 機能性 RNA の作用機構を理解するためには, タンパク質と RNA の相互作用を詳細に解析することが必須である。演者は, 前駆体 tRNA プロセシング酵素であるリボヌクレアーゼ P (RNase P), タンパク質合成を触媒するリボソーム, およびタンパク質合成を阻害するリボソーム不活化タンパク質を研究対象として, RNA 結合タンパク質の構造と機能について研究を進めてきた。一方, これらの研究過程で見出した核酸結合タンパク質に関して, 各タンパク質の特性 (核酸シャペロン活性, 耐熱性, 塩基特異性) を応用した機能開発を試みてきた。本講演では, 超好熱性古細菌 RNase P を研究対象とした RNA 結合タンパク質の構造機能相関に関する研究を紹介したい。

## 2. リボヌクレアーゼ P (RNase P)

RNase P は前駆体 tRNA (pre-tRNA) の 5' 末端余剰配列を特異的に切断するエンドヌクレアーゼで, 触媒活性を持つ RNA と補助因子であるタンパク質から構成されている。RNase P は全ての進化系統ドメイン (真正細菌, 古細菌, 真核生物) に存在しその機能はよく保存されているが, サブユニット組成と酵素化学的性質は進化系統ドメイン間で著しく異なっている。大腸菌を代表とする真正細菌の RNase P は 1 分子の RNA と 1 分子のタンパク質からなり,  $Mg^{2+}$  の高濃度条件下では RNA 成分のみで酵素活性を発揮するリボザイムである。既に, 真正細菌 RNase P と tRNA 複合体の結晶構造が決定され, その触媒活性に重要な  $Mg^{2+}$  の配位部位や基質である pre-tRNA との結合に関与するヌクレオチドが明らかになっている。一方, 古細菌と真核生物の RNase P は 1 分子の RNA と, 古細菌では 4~5 種, 真核生物では 9~10 種のタンパク質から構成され, RNA 成分のみでは酵素活性を示さず, タンパク質との相互作用によりその触媒活性が発現される。このような性質と RNase P の酵素活性測定が容易なことから, 古細菌と真核生物 RNase P は機能性 RNA のタンパク質による活性化の分子機構を研究するための良いモデル酵素と考えられている。演者らはタンパク質成分の少ない超好熱性古細菌 (*Pyrococcus horikoshii*) RNase P を研究対象として, RNA 結合タンパク質の構造機能相関について研究を進めてきた。

## 3. 超好熱古細菌 RNase P の再構成

研究を始めた 2001 年頃, ヒト核 RNase P 構成サブユニットの一次構造情報が報告されていたが, 古細菌 RNase P に関する知見はなかった。そこで, ヒト RNase P の情報をもとに, *P. horikoshii* ゲノム情報を検索した結果, 5 種の遺伝子産物がヒト RNase P タンパク質 (hpop5, hRpp21, hRpp29, Rpp30, Rpp38) にそれぞれ 15~29% の相同性を示すこと, また一つの

遺伝子がヒト RNA サブユニット (H1 RNA) と類似していることを見出し, 各遺伝子産物をヒトタンパク質にならない *Pho*-pop5, *Pho*Rpp21, *Pho*Rpp29, *Pho*Rpp30, *Pho*Rpp38 と命名し, RNase P RNA を *Phop*RNA と命名した。続いて, 各タンパク質を大量発現・精製後, *Phop*RNA と混合し酵素活性の再構成を検討した結果, *Phop*RNA と 5 種タンパク質複合体が pre-tRNA の切断活性を示すことがわかった。一方, 超好熱性古細菌を培養し pre-tRNA 切断活性を指標にして RNase P を粗精製し, 塩依存性や最適温度など酵素化学的性質を再構成酵素のそれと比較した。その結果, *Phop*RNA と 5 種のタンパク質からなる再構成酵素が, *P. horikoshii* から粗精製した酵素とほぼ同一の性質を示したことから, *P. horikoshii* RNase P は 1 分子の RNA (*Phop*RNA) と 5 種のタンパク質から構成されていることを確認した。

続いて, 再構成実験により *Phop*RNA の触媒残基を特定するために, 真正細菌 RNase P RNA の触媒残基および基質結合残基に相当する残基を変異した *Phop*RNA 変異体を調製し, タンパク質と混合後, pre-tRNA の切断活性を検討した。その結果, *Phop*RNA は単独では触媒活性を示さないものの, 真正細菌と同様に pre-tRNA を切断していることが示唆された。一方, 各タンパク質の触媒活性への寄与を検討したところ, 各タンパク質は触媒活性には必須ではないが, *Pho*Pop5 > *Pho*Rpp30 > *Pho*Rpp21 > *Pho*Rpp29 > *Pho*Rpp38 の順に酵素活性に関与していることが推定された。次に, タンパク質間相互作用と各タンパク質と *Phop*RNA との相互作用を検討したところ, *Pho*Pop5 と *Pho*Rpp30 が相互作用し *Phop*RNA の触媒ドメイン (C-ドメイン) の構造形成に, また *Pho*Rpp21 と *Pho*Rpp29 が相互作用し基質との結合に関与する特異性ドメイン (S-ドメイン) の構造形成に関与していることが推定された。一方, 5 番目のタンパク質 *Pho*Rpp38 は *Phop*RNA の 2 本のステムループ構造に結合し, RNase P の最適温度の上昇に関与していることが推定された。

## 4. 超好熱古細菌 RNase P タンパク質の構造機能相関

4.1. *Pho*Pop5 と *Pho*Rpp30

*Pho*Pop5 と *Pho*Rpp30 の結晶構造を解析したところ, 両タンパク質はヘテロ四量体 [*Pho*Rpp30-(*Pho*Pop5)<sub>2</sub>-*Pho*Rpp30] を形成していた。また, 両タンパク質の生化学的解析より, *Pho*Pop5 は溶液状態では自己会合体を形成しているのに対して *Pho*Rpp30 は単量体で存在していること, さらに *Phop*RNA の活性化にはヘテロ四量体を形成することが必須で, *Phop*RNA への結合とその活性化には *Pho*Pop5 の C 末端ヘリックス構造が重要であることが分かった。さらに, *Phop*RNA とタンパク質の相互作用に関する研究より, *Pho*Pop5 と *Pho*Rpp30 は *Phop*RNA の C-ドメインに含まれる 2 本のステムループ構造 (P3 と P16) に結合することが分かった。以上の結果より, *Pho*Rpp30 は *Pho*Pop5 の分子シャペロンとして機能して *Pho*-Pop5 と適切な四量体を形成し, その結果として *Pho*Pop5 の C



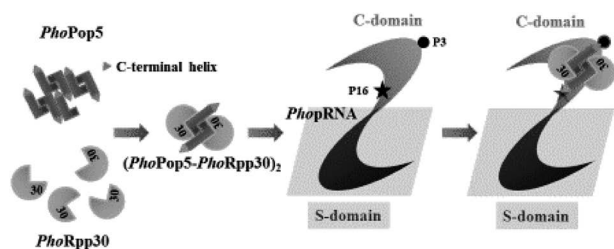


図1. *PhoPop5-PhoRpp30* による *PhopRNA* 活性化モデル

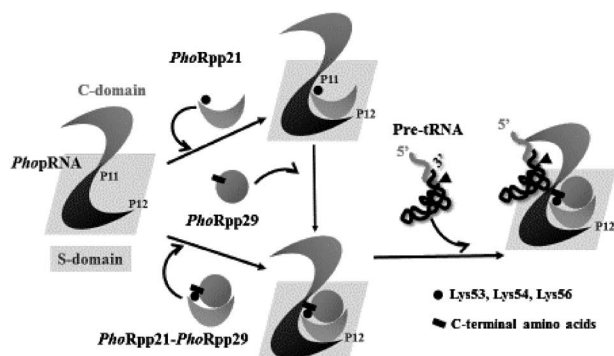


図2. *PhoRpp21-PhoRpp29* による *PhopRNA* 活性化モデル

末端ヘリックスが *PhopRNA* の C-ドメインの二本鎖構造（ヘリックス）P3 と P16 を架橋し、*PhopRNA* の触媒部位の構造を形成していることが示唆された（図1）。

#### 4.2. *PhoRpp21* と *PhoRpp29*

*PhoRpp21* と *PhoRpp29* の結晶構造解析より、両タンパク質はヘテロ二量体を形成していること、*PhoRpp21* と *PhoRpp29* の *PhopRNA* に対する結合能を検討した結果、*PhoRpp21* は単独で *PhopRNA* と結合できるのに対し、*PhoRpp29* は *PhoRpp21* の非存在下では *PhopRNA* に対する結合能が弱いことが分かった。次に、*PhoRpp21* と *PhoRpp29* の *PhopRNA* 活性化に関与するアミノ酸を検討したところ、*PhoRpp21* の N 末端ヘリックスに位置する Lys53, Lys54, Lys56 と、*PhoRpp29* の C 末端 10 アミノ酸残基が *PhopRNA* の活性化に重要であることが分かった。次に、*PhoRpp21-PhoRpp29* 複合体の *PhopRNA* における結合部位の特定を試みたところ、*PhopRNA* の P11 と P12 ヘリックス（二本鎖構造）を繋ぐループ近傍に結合していることが分かった。以上の結果より、*PhoRpp21* が P11 と P12 ヘリックスを繋ぐループ近傍に結合して、それを足場として *PhoRpp29* が結合する。もしくは、*PhoRpp21* と *PhoRpp29* が複合体を形成し、*PhoRpp21* を介して *PhopRNA* に結合する。その結果、*PhoRpp21* の N 末端ヘリックスに位置する Lys53, Lys54, Lys56 と *PhoRpp29* の C 末端 10 アミノ酸残基が、*PhopRNA* の pre-tRNA 結合領域の構造形成を促進していることが示唆された（図2）。

#### 4.3. *PhoRpp38*

*PhoRpp38* はそのアミノ酸配列の類似性から、RNA の構造モチーフの一つである Kink-turn (K-ターン) を認識して結合するリボソームタンパク質 L7Ae ファミリーに分類される。そこで、K-ターンの共通配列に基づいて *PhopRNA* の塩基配列を検索すると、3箇所（P12.1, P12.2, P16）に K-ターン構造が予測された。次に、これらの領域を含む RNA 断片と *PhoRpp38* との複合体の結晶化を試みたところ、P12.2 を含む RNA 断片と *PhoRpp38* 複合体の結晶が得られ、その結晶構造を決定し

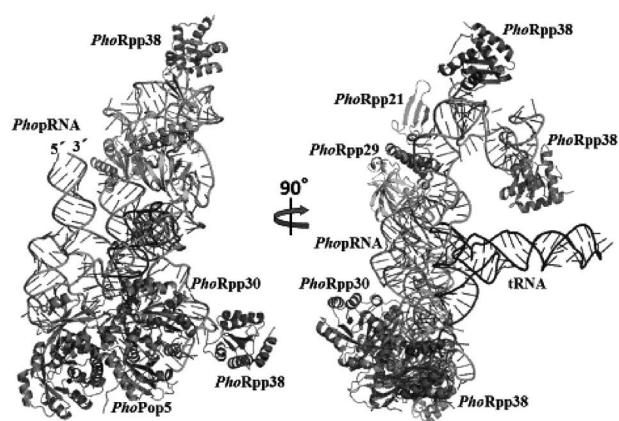


図3. 超好熱性古細菌 RNase P-tRNA 複合体の高次構造モデル

た。その構造に基づき *PhoRpp38* の K-ターン結合に関与するアミノ酸残基の変異体を調製し、*PhopRNA* との相互作用能を検討したところ、その結合能は消失していた。この結果より、*PhopRNA* の 3箇所 の K-ターン構造にそれぞれ *PhoRpp38* が結合していることが推定された。

#### 5. 超好熱性古細菌 RNase P の高次構造モデル

*PhopRNA* の高次構造を明らかにするために結晶化条件を検討してきたが、良質な結晶は得られていない。そこで、真正細菌の RNase P RNA の高次構造および RNA 高次構造モデリングソフトを用いて *PhopRNA* の高次構造モデルを作成した。このモデル構造に対して、各タンパク質の結晶構造、各タンパク質の *PhopRNA* 結合部位、および tRNA の結晶構造情報に基づき、超好熱性古細菌 RNase P-tRNA 複合体の高次構造モデルを図3のように作成した。このモデル構造と真正細菌 RNase P の高次構造を比較すると、真正細菌の RNase P RNA において触媒部位と基質結合部位の構造形成に関わっている RNA-RNA 相互作用が、古細菌では *PhoPop5-PhoRpp30* と P3 および P16 との相互作用、および *PhoRpp21-PhoRpp29* と P11-P12 間のループとの相互作用に置き換わっていることが示唆された。今後は、超好熱性古細菌再構成酵素 RNase P の結晶構造解析と電子顕微鏡による単粒子構造解析を実施し、この高次構造モデルを実験的に検証することにより、機能的 RNA のタンパク質による活性化の構造基盤を解明するとともに、RNA からタンパク質への機能移行についても構造の観点から解明したい。

謝 辞 九州大学大学院時代には九州大学名誉教授 船津軍喜先生にタンパク質科学の基礎をご指導頂くとともに、当時のリボソーム研究の世界最大研究拠点であったマックスプランク分子遺伝学研究所（ベルリン）への留学へと導いて頂きましたこと、ここに深謝します。また、マックスプランク分子遺伝学研究所では、故 Wittmann 博士や故 Nierhaus 博士など多くの優秀な研究者から、研究を進める上で必要と多くのことを学ぶことが出来ました。今回の受賞対象の研究は、マックスプランク研究所の共同研究者、九州大学大学院農学研究院生物化学研究室の教員と多くの卒業生、および農学研究院生命機能科学部門の先生方のご支援によるもので、ここに感謝いたします。最後になりましたが、受賞に際してご推薦頂きました西日本支部支部長の九州大学大学院農学研究院教授園元謙二先生や支部の先生方にお礼申し上げます。

## 微生物ゲノムの解読と機能解析



東京農業大学応用生物科学部 吉 川 博 文

## はじめに

ワトソン・クリックのDNA二重らせんモデル以来、遺伝子の本体であるDNAの塩基配列は分子生物学の発展と共に生物学者の大きな関心の的となった。1980年、サンガーとギルバートが塩基配列決定法でノーベル賞を受賞するが、筆者は1978年にいち早くサンガー法、マクサム・ギルバート法を試みた。条件検討の難しさからサンガー法は再現性が低く、80年代半ばまではマクサム・ギルバート法を用いた。やがてキット化によりサンガー法が世の主流になり、蛍光試薬の利用による非RI化、自動化、さらにキャピラリー化による大量解読の時代に入った。21世紀に入り、桁違いの解読量を誇ることから次世代型と呼ばれる革新的シーケンサーの登場で生物学の様相は一変する。モデル生物に関してはゲノム情報を共有した上でその機能解析を行うことが基盤となり、ゲノム生物学という新分野も誕生した。このような時代の流れの中、筆者は形質転換能の高い枯草菌とシアノバクテリアを研究対象としてきたが、要素所で塩基配列を決定し、その情報から得られる恩恵に預かってきた。その背景には、常に1塩基の持つ意味を追求してきた姿勢がある。以下、その端緒となった成果から、ゲノム解読の成果、および近年興味を持っている実験進化の取り組みを紹介する。

## 1. ゲノム解読の成果

1-1. 枯草菌ファージ $\phi$ 29の末端逆向き反復配列の発見

直鎖状ゲノムの5'端複製の問題は、1970年代当時のDNA複製分野における重要な課題であった。アデノウイルスと共通して5'端にタンパク質が結合している $\phi$ 29ゲノムの末端配列をすべての4方向から決定したところ、6塩基の逆向き反復配列を見出し、両端が同じ機構で複製開始をしていることを示唆した<sup>1)</sup>。競合するスペインのグループが学会で7塩基と報告していたが、筆者の注意深い検証を説明したところ間違いを認めた。このことが1塩基の違いに注視するきっかけになった。

## 1-2. 枯草菌分泌装置遺伝子の発見

枯草菌は菌体外酵素の分泌が大きな特徴であり、分泌装置が注目されていたが、先行する大腸菌に比べて全く同定されていなかった。リボソームタンパク質遺伝子クラスターが大腸菌とシンテニーを持つことを手がかりにSpectinomycin耐性の*rpsE*遺伝子を指標にクローニングしたところ、大腸菌同様、近傍に*secY*が存在していた。同じ手法で、Thiostrepton耐性の*rplK*をクローニングしたところ、近傍に*secE*を見出した。これは思い返せばかなり無謀な挑戦だったが、幸運にも見つけることが出来た。特に*secE*に関しては、その領域から両ゲノムは全く異なっており、しかも枯草菌*secE*は大腸菌*secE*の半分以下しかなく、大腸菌に3回ある膜貫通ドメインを1回しか持っていなかった。これは本当に*secE*かと思われたが、大腸菌*secE*変異株を相補できることを示して証明した<sup>2)</sup>。一方、*secY*に関しては孢子形成欠損になる変異株を取得し、孢子形

成過程に分泌装置が重要な働きを持つことを発見した<sup>3)</sup>。

## 1-3. 枯草菌ゲノム計画への貢献

枯草菌ゲノム計画では約150 kbを担当し、完全ゲノム解読に貢献するとともに<sup>4)</sup>、ポストゲノム解析として必須遺伝子の同定を引き続きコンソーシアムとして行った<sup>5)</sup>。また単独の成果としては酵母2ハイブリッドを用いた網羅的相互作用解析を行い、多くの新規相互作用を見出して、その後の研究の大きな基盤になった<sup>6)</sup>。

## 2. 次世代シーケンサーの活用

革新的超高速シーケンサーの登場に際し、筆者はいち早くその有効性を認め、2008年、東京農大ゲノム解析センターの設立に尽力した。本センターの運用に関しては、農学分野を中心とした多くの研究者との共同研究に発展させることが出来た。主な解析目的は、リシーケンス(変異解析)、de novo(新規ゲノム)解析、RNA-seq(発現解析)であり、特に開設当初は微生物ゲノム解析のノウハウを蓄積した。微生物育種に関してはまず研究室保存株の配列を決定し、それを元に変異株を取得することを提唱してきた。例えば、それまで曖昧な表現型の違いとして黙認してきた様々な研究室保存株間の違いを白日の下に晒すことになった<sup>7)</sup>。枯草菌ゲノム計画の際に各研究室に分譲した株を、20年後に再度取り寄せて比較したところ、ゲノム全体で1~7ヶ所の変異が見られた。冷凍保存中は安定なこと、植継ぎを繰り返すことで変異が蓄積することを確認した。一方、ショートリード型の次世代シーケンサーでは試料中のゲノム量に比例してリード深度(本数)が深まる原理から、対数増殖期のゲノムを使えば複製起点が予測できるのではないかとこの次世代型ならではの方法を着想した(図1)<sup>7)</sup>。この原理を複製起点が不明なことで知られるシアノバクテリアに適用したところ、興味深い事実を見出した。この点は次項で述べる。

## 3. 光依存、DnaA非依存DNA複製系の発見

シアノバクテリアは光合成研究の対象として多くの研究がなさ

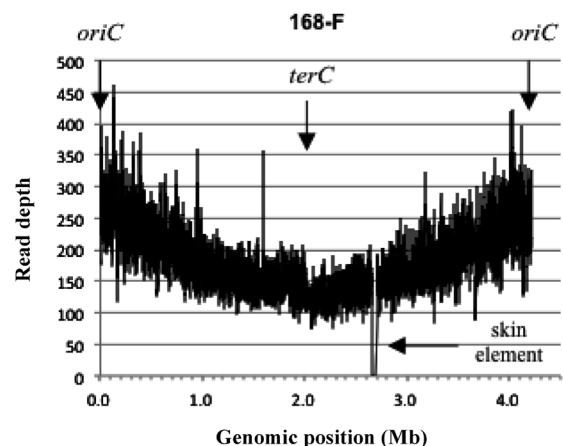


図1. 枯草菌168株のリード深度プロット<sup>7)</sup>。対数増殖期の細胞から抽出したDNAを使用。Ori近傍のゲノム量はTer近傍の約2倍の存在比を示している。



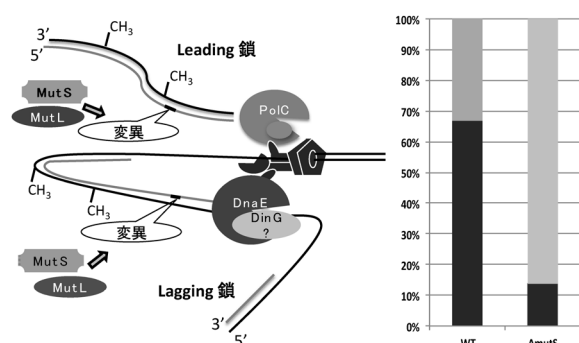


図2. 枯草菌のDNA複製機構と修復系欠損株の変異バイアス<sup>10)</sup>.

れてきたが、ゲノムの複製や分配、細胞分裂といった基本的生命現象の解析はあまり行われてこなかった。淡水性シアノバクテリアはゲノムを複数コピー持つことが大きな特徴であるが、筆者はこの点に興味を持ち、次世代シーケンサーを活用した遺伝的解析等によりいくつかの興味深い結果を得た。すなわち、複数のコピーはゲノム毎、細胞毎に非同調的に複製されており、その開始は光合成電子伝達系に依存して細胞分裂前のLag phaseに複製し、増殖・分裂と共にコピー数を減らしていくこと<sup>8)</sup>、さらに別の種では複製起点が一定でなく、しかも原核生物で普遍的に必要なDnaAに依存しない複製開始をするという事実である<sup>9)</sup>。

*Synechococcus elongatus* は *oriC* から複製するが、DnaAの*oriC*への結合が光依存的な制御によっている。また*dnaA*の欠失した株を得ることが出来、その株はなんと共存するプラスミドが染色体に組み込まれ、その複製開始機構を利用するという生存戦略を取っていた。一方、*Synechocystis*, *Anabaena*の*dnaA*欠損株は通常の生育、複製活性を示し、DnaAはもはや必須ではなくなっていた。そこで野生株において複製開始点を探索した結果、*oriC*と思われる領域に検出されないばかりか、他のどの領域にも検出されなかった。この結果は、複製開始点の複数性、非同調性を示しており、他のバクテリアとは異なる特異的な複製開始機構であることが示唆された<sup>9)</sup>。シアノバクテリアの祖先が共生進化したと考えられている植物の葉緑体においても*dnaA*は保存されておらず、謎である葉緑体の複製機構を解く大きな鍵になると考えている。

#### 4. GC含量一定の謎への提言と実験室内進化

枯草菌ゲノムのGC含量は約43%であり、放線菌は約70%と生物種は固有のGC含量を持っている。生育温度とは相関がないことは示されているが、要因は不明である。筆者は枯草菌の野生株の変異がややATに偏ること、誤対合修復系の欠損株( $\Delta mutS$ )ではGCに偏ることを見出した(図2)<sup>10)</sup>。すなわち、グラム陽性菌においてはDNAポリメラーゼの機能に内在する性質として複製エラーがGCに偏っており、それが誤対合修復系の欠損によって顕在化したのであろうと考えている。放線菌群は総じて*mutS/L*誤対合修復系が欠損しており、これが高いGC含量の要因ではないだろうか。

一方、進化のプロセスにおいて突然変異、特に1塩基多型(SNPs)は最も主要な原動力である。ヒト全ゲノムSNPsデータベースを解析した結果、SNPs間の距離の分布はべき乗則で近似できることを報告したが<sup>11)</sup>、さらに実験進化の手法を取り入れ、新しく入る変異に対してもこの確率分布が当てはまることを見出した(図3)。すなわち、突然変異の入り方はべき乗則に従い、新たな変異は既に存在する変異の近傍に起きる確率

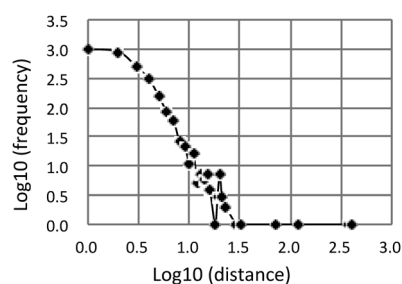


図3. 変異の確率分布はべき乗則に従う<sup>12)</sup>。  
105世代継代後の酵母株が獲得したSNPsと元の変異点との距離を解像度100 bpのBox plotで示した。

が高いことを示している。

#### おわりに

以上のように、筆者の研究者人生はずっと1塩基の意味を考えてきた歴史といえるが、むしろ翻弄されてきたと言った方が正しいかもしれない。ここに述べられなかったが内容として、転写開始点の1塩基の置換が転写活性を劇的に変化させる発見があるが、RNAPがプロモーターに結合することが転写の開始と習ってきた身には驚きであった。また、長らくシャペロンの研究に携わったが、進化の過程で変異が起きても、表現型として顕れるのをシャペロンが緩衝しているというLindquistの報告は衝撃であり、筆者も枯草菌を用いて更なる検証を行った。1塩基が包括している意味はまだ多くの謎があり、生命現象との繋がりを解析して行く道は魅惑的である。

**謝 辞** 以上の研究成果は、多くの方々に支えられて得られたものです。研究者人生のスタートから導いていただきました東京大学名誉教授、別府輝彦先生、同故齋藤日向先生、留学中に研究の楽しさ厳しさを教えていただきましたアリゾナ大学教授、伊藤純悦先生、カリフォルニア大学デービス校教授、Roy H. Doi先生には心から感謝いたします。東京大学旧応用微生物研究所時代の先輩、後輩、第二研究部の院生、企業研究者の方々、枯草菌研究コンソーシアムのメンバーには多大なご協力を頂いたと同時に、ゲノム計画の時には悲喜交々を味わい、支え合って完成したという思いがあります。東京農業大学の新設学科に赴任してからは、千葉櫻拓教授、渡辺智准教授をはじめ、武蔵野大学 門多真理子教授やバイオサイエンス学科の同僚にご尽力いただいて教室運営をしてきました。そして微生物分子遺伝学研究室の院生、学生とともに人生をかけた研究を進められたおかげで今日の私があります。彼らに深甚な謝意を表します。最後に、本賞にご推薦いただいた立教大学名誉教授、河村富士夫先生および選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。

#### (引用文献)

- 1) Yoshikawa et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**, 1336 (1981)
- 2) Jeong et al., *Mol. Microbiol.* **10**, 133 (1993)
- 3) Yoshikawa et al., *J. Bacteriol.* **175**, 3656 (1993)
- 4) Kunst et al., *Nature* **390**, 249 (1997)
- 5) Kobayashi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 4678 (2003)
- 6) Fukushima & Yoshikawa, *Research Signpost, India* (2007)
- 7) Shiwa et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **77**, 2073 (2013)
- 8) Watanabe et al., *Mol. Microbiol.* **83**, 856 (2012)
- 9) Ohbayashi et al., *ISME J.* **10**, 1113 (2016)
- 10) Akashi & Yoshikawa, *Front Microbiol.* **17**, 266 (2013)
- 11) Gouda et al., *Genes Cells* **21**, 396 (2016)
- 12) Takamatsu et al., in prep.

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Eat Well, Live Well.  
**AJINOMOTO®**

味の素株式会社

## はじめに

1901年、E. Fischer による Gly-Gly の合成が初めて報告されて以来、ペプチド生産技術は飛躍的に発展してきた。不要ペプチド副生を抑制し効率的にペプチド鎖を延長するための保護基の導入技術の確立（1930年代）、必要な縮合エネルギーを得るための活性エステル法等によるカルボキシ成分の活性化方法の確立（1950年代）、固相ペプチド合成法の確立（1963年）等の優れた技術開発によって、ペプチド合成法の基盤技術が確立された。一方、Bergman らによるプロテアーゼを用いるペプチド合成法の発見（1937年）以来、化学合成法で問題となるアミノ酸のラセミ化を回避する方法として酵素法が開発されたが、生成ペプチドが沈殿して系外に除去される特殊な例を除き高い生産性は得られていない。また、我々が本ペプチド新製法を発見した直後に、ATP を要求する ligase を用いたジペプチド生産方法が報告された。優れた方法であるが、生産可能なジペプチドの種類が限定される点、トリペプチド以上のオリゴペプチド生産が不可能な点等、汎用性に乏しいという課題も有している。

このように、汎用性と生産性が高い方法として化学合成法を中心にペプチド合成技術が確立されたが、アミノ酸への保護基の導入・脱離工程が必須であるため、新たなブレイクスルーが求められていた。

## 1. ペプチド新製法の開発

## 1-1. 新製法開発の考え方

従来の工業製法の欠点を克服すべく、アミノ酸への保護基の導入と脱離工程の省略、縮合エネルギーとして高価な活性エステルや ATP からの脱却を念頭に、化学合成法と同様に高い生産性と汎用性を有する安価な酵素的新製法の構築を目指した。活性化エステル法に相当する方法として安価なメタノールを縮合エネルギーとする方法、すなわちカルボキシ成分として N-無保護のアミノ酸メチルエステル（アミノ酸-OMe）、アミン成分としては無保護のアミノ酸を基質とする方法を採用した（図1）。このような考えでの報告は極めて少なく、一部のペプチド合成において、カルボキシペプチダーゼ Y（CPase Y）等を用いる方法が特許報告されているのみで、多量の酵素量添加、反応速度の低さ、汎用性の低さ等多くの課題を残していた。

## 1-2. 新規酵素の探索と新製法の構築

新規酵素の探索において、アミノ酸がアミノ酸-OMe に求核攻撃してペプチドを生成する条件はアルカリ性下と予想されたが、アミノ酸-OMe はアルカリ水溶液中で容易にアミノ酸とメタノールに自発的分解するという基質の不安定性を有するので、基質の自発的分解速度を圧倒的に凌駕するペプチド合成速度（比活性）を有する新規酵素を採取することが必須条件となった。目的酵素を生産する微生物のスクリーニングに用いた系は、輸液成分として有用であるが高価なために需要が拡大できないと

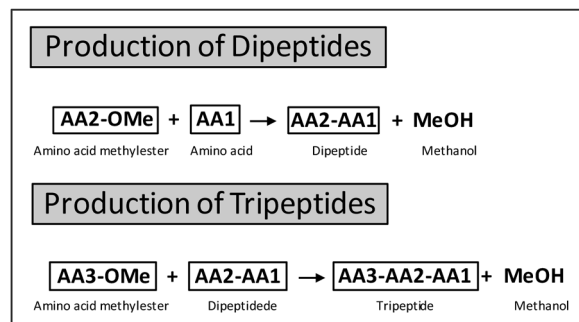


図1. 新規酵素によるペプチド生産様式

いう課題をもつ Ala-Gln に着目し、(Ala-OMe + Gln → Ala-Gln + メタノール) の系を選定した。生成 Ala-Gln を分解する菌体内プロテアーゼ活性を低下させ、ペプチド生成酵素が存在すれば菌体反応で Ala-Gln の蓄積が観察できる系を構築して微生物を広く検索した結果、Ala-Gln を微量生成する微生物は比較的多数見出されたが、高収率、高生産で Ala-Gln を生産する微生物の採取は困難を極めた。スクリーニング条件の変更等により最終的には *Empedobacter brevis* 等の数株の優良株を採取することができた。ペプチド合成の潜在能力を見極めるため、これら選抜株群から単離した精製酵素を用いてペプチド合成能を検討した結果、Ala-Gln の合成収率が 50% を超える酵素群と、10% 以下の酵素群に大別できた。精製酵素の分子量、これらの微生物からの目的酵素をコードする遺伝子の塩基配列決定により、高い合成収率を与える *Empedobacter brevis* 由来の酵素は約 70 kDa のモノマーからなる 2 量体のセリン酵素であった。既存酵素にはアミノ酸配列に高い相同性を示すものがないことより新規な酵素と推察された (amino acid ester acyl transferase と命名)。一方、低い合成収率しか得られない *Bacillus* 属細菌由来等の酵素はプロリンイミノペプチダーゼに高い相同性を示すことより、本酵素群によるペプチド合成はプロテアーゼによる転移反応により触媒され、そのため合成収率が低いものと考えられた。

最優良酵素として選出した *Empedobacter brevis* 由来の精製酵素を用いて、Ala-OMe (100 mM) と Gln (200 mM) からの Ala-Gln 合成反応を検討した結果、極めて短時間の反応で 80% 以上の高い合成収率が得られることが判明した。反応液には少量の Ala 副生が観察されたが、Ala-Ala, Gln-Ala, Ala-Ala-Gln 等のペプチド副生は観察されなかった。Ala-OMe は本反応系において短時間で完全に自発的に加水分解されるので、上記結果は、本酵素が Ala-OMe の自発的分解を圧倒的に凌駕するペプチド合成速度を有していることを示唆している。また、生成 Ala-Gln の分解、Ala, Gln のラセミ化も全く観察されず、目的とした能力をそなえている転移酵素であることが確認された。

本酵素の能力を検証するため、Ala-Gln 生産性を、既知酵素



の中で最も能力の高いと報告されているカルボキシペプチダーゼ Y と比較した結果, CPase Y の Ala-Gln 生産の比活性は,  $0.042 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  protein と極めて微弱であるのに対し, 本酵素の比活性は,  $220 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  protein と極めて高い値を示し, CPase Y の約 5000 倍という圧倒的なペプチド合成能力を示した (分子量当りの比活性は約 6000 倍)。

### 1-3. 新製法の長所

本酵素の利点は, 高収率, 高生産性に加え, Ala-Gln 以外の種々のジペプチド合成に汎用的に応用できる点にある。本酵素は, カルボキシ成分, アミン成分の双方に広い基質特異性を有しており, 種々のジペプチド生産に利用可能である。

本法の更なる利点は, 上記ジペプチド生産に加え, 鎖長 3 以上のオリゴペプチドの生産も可能な点にある。本酵素は, N 成分としてジペプチド以上のペプチドも基質として認識でき, 種々のオリゴペプチド生産に応用可能である (図 1)。例えば, Thr-OMe と Gly-Gly, Gly-OMe と Gly-Tyr-Ala からの Thr-Gly-Gly, Gly-Gly-Tyr-Ala 生産収率は, それぞれ 83%, 44% に達する。また, 本酵素は種々の非天然型アミノ酸-OMe, 非天然型アミノ酸も基質として認識できるので, 非天然型アミノ酸を含むジペプチド合成にも応用可能であり, 汎用性に優れた安価なオリゴペプチド新製法として期待される。

## 2. ペプチド新製法の工業化

### 2-1. アスパルテームの工業化

アスパルテーム (Asp-Phe- $\alpha$ -OMe) は通常のジペプチドとは異なり, 構成成分の Asp は 2 つのカルボキシ基を有しアミン成分の Phe はメチルエステル化されているため, その製法には工夫が必要であった。まず Asp をメチルエステル化し Asp のジメチルエステル体 (MeO- $\beta$ -Asp- $\alpha$ -OMe) に変換し, 酵素反応でこの Asp ジメチルエステルに Phe を縮合させて OMe- $\beta$ -Asp-Phe を生産する。生成された OMe- $\beta$ -Asp-Phe のメチルエステルは塩酸酸性化で自発的にアミン成分の Phe のカルボキシ基に転移するとともに, 転移生成した Asp-Phe- $\alpha$ -OMe (アスパルテーム) は難溶性の塩酸塩となって晶析するため, 酵素反応で得られた OMe- $\beta$ -Asp-Phe は全量アスパルテーム塩酸塩に転移晶析される。本転移晶析技術は, 味の素(株)の従来の合成法において開発され工業化に大いに貢献した特徴ある技術である (図 2)。

新規酵素として *Empedobacter brevis* から見出されたペプチド生成酵素のアミノ酸配列に相同性を有する酵素ホモログを広く検索し, 更に工業化に適した性質を有する酵素を生産する微生物として *Sphingobacterium* 属に属する細菌を選出した。更にアスパルテームの効率生産に適した変異型酵素の取得に成功

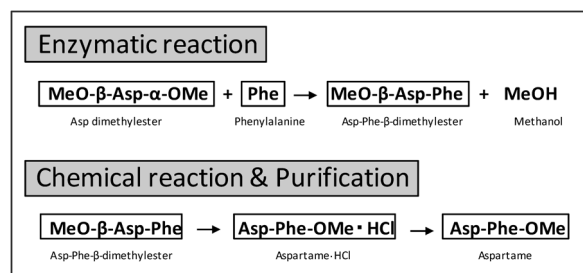


図 2. アスパルテームの生産方法

し, 変異型酵素を高発現させた微生物の培養条件, 本微生物を用いた酵素反応条件を種々検討し, 従来の化学合成法と同等の高生産性, 短時間反応のアスパルテーム生産を達成した。この反応液からのペプチドの効率的精製条件も確立し, 2012 年 7 月にアスパルテームの工業生産を開始した。現在も順調に稼働している (図 2)。

### 2-1. おわりに

本技術は, 現在, 輸液成分として有用なアラニルグルタミンと高甘味度甘味料として広く利用されているアスパルテームの工業生産に使用されている。アラニルグルタミンはその輸液成分としての有効性は高く評価されているものの, 未だ市場規模は小さい。一方, アスパルテームは世界規模で年間約 2 万 5 千トンという巨大な市場を形成しており, 味の素(株)のシェアはその 30% 程度を占めている (味の素(株)IR 資料 2016 年)。現在, 味の素(株)で生産するアスパルテーム全量が本技術で工業生産されるに至っている。

### (引用文献)

- 1) A Novel and Efficient Enzymatic Method for the Production of Peptides from Unprotected Starting Materials. K. Yokozeki and S. Hara, *J. Biotechnol.*, **115**, 211–220 (2005)
- 2) Gene Cloning and Characterization of  $\alpha$ -Amino Acid Ester Acyl Transferase in *Empedobacter brevis* ATCC 14234 and *Sphingobacterium siyangensis* AJ2458; Isao Abe, Seiichi Hara and K. Yokozeki, *BioSci. Biotechnol Biochem.* **75**, 2087–2092 (2011)
- 3) A Powerful New Tool for Peptide Production; Kenzo Yokozeki, *Specialty Chemicals Magazine*, **March**, 42 (2005)
- 4) 新規酵素を用いる工業的ペプチド新製法の開発; 横関健三, バイオサイエンスとインダストリー, **64**, 75–81 (2006)

謝 辞 研究を終始温かく見守ってくださった京都大学名誉教授 山田秀明先生, 京都大学名誉教授 清水昌先生, 東北大学および東京農工大学名誉教授 一島英治先生に心より感謝いたします。

## 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



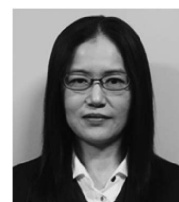
①



②



③



④

キリン株式会社 飲料技術研究所 塩 野 貴 史①  
 キリンビバレッジ株式会社 湘南工場 河 合 淳一郎②  
 キリン株式会社 飲料技術研究所 山 本 研一朗③  
 キリン株式会社 飲料技術研究所 四 元 祐 子④

### はじめに

カフェインは茶葉やコーヒー豆、カカオ豆などに含まれる天然の食品成分で、緑茶や紅茶、コーヒーなどの嗜好飲料やチョコレートなどの菓子類から日常的に摂取されている。しかし、近年、海外では妊婦のカフェイン摂取量の目安を示している国が出てきており、日本でも厚生労働省が「健康づくりのための睡眠指針2014」の中で就寝前のカフェイン摂取を控えることを推奨するなど、飲用シーンや体質・体調に応じてカフェイン摂取を調節したいというニーズが拡大している。

従来の低カフェイン茶やカフェインレスコーヒーでは、原料処理工程において湯や超臨界二酸化炭素、有機溶剤などで茶葉やコーヒー生豆からカフェインを溶出させる除去方法が主として用いられてきた(図1)。しかしながら、これらの方法ではカフェイン溶出とともに香気やカフェイン以外の呈味成分も失われるため、低カフェインでありながらおいしさも維持された飲料を実現する新たなカフェイン除去技術が望まれていた。

本研究では、茶抽出液からカフェインを選択的に除去する技術を開発することを目的に、天然吸着剤であるモンモリロナイトを選抜し、その吸着特性や汎用性を解析した。さらに、製造条件が茶飲料の品質に及ぼす影響やコーヒーへの応用の可能性についても検討し、その有効性を示した。

### 1. カフェイン選択的吸着剤の探索

食品添加物として認可されている天然吸着剤の中で、カフェイン吸着能を示した活性炭とモンモリロナイトについて緑茶抽出液中のカフェイン吸着特性を詳細に比較した。その結果、カフェインの除去率が增大するのに伴い、活性炭処理ではカフェインだけでなくカテキン類も減少したのに対し、モンモリロナイト処理ではカテキン類はほとんど減少せず、茶抽出液中のカフェインが選択的に吸着・除去された(図2)。

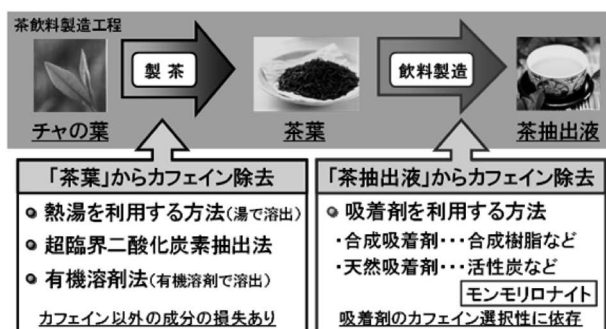


図1 茶におけるカフェイン除去技術

また、活性炭とモンモリロナイトについてカフェイン溶液と緑茶抽出液におけるカフェイン吸着能を比較したところ、活性炭では緑茶抽出液中のカフェイン吸着量が顕著に低下したのに対し、モンモリロナイトではカフェイン溶液と緑茶抽出液の差異は限定的であった。したがって、モンモリロナイトは活性炭に比べて緑茶抽出液中のカフェイン吸着における選択性が高いことが示された。

### 2. モンモリロナイトによるカフェイン除去技術の汎用性

モンモリロナイトによる茶抽出液中のカフェイン吸着において、茶種の違いが及ぼす影響を調べた。緑茶、烏龍茶、および紅茶における吸着特性を評価したところ、茶種に依らずカフェイン吸着特性は同様のパターンを示した(図3)。これらの結果から、モンモリロナイトによるカフェイン除去技術は、幅広い茶飲料で活用できることが示唆された。

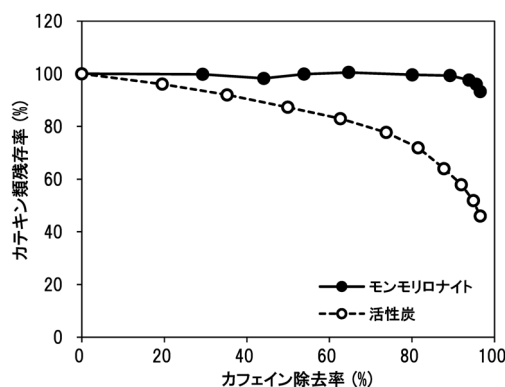


図2 茶抽出液中のカフェイン吸着における選択性

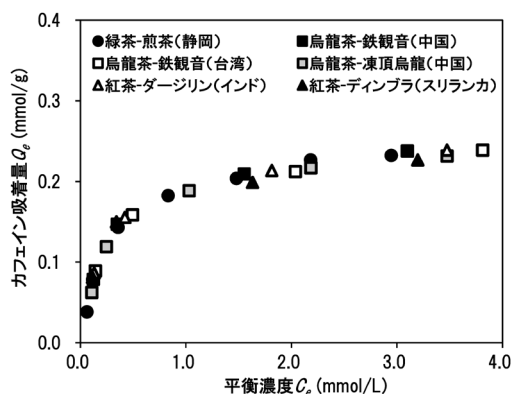


図3 各種茶抽出液におけるカフェイン吸着特性



図4 接触条件の違いが茶飲料の外観に及ぼす影響

モンモリロナイト処理後  
に調製した緑茶飲料

接触条件

左：pH7.3, 5°C, 60分

右：pH5.8, 35°C, 60分

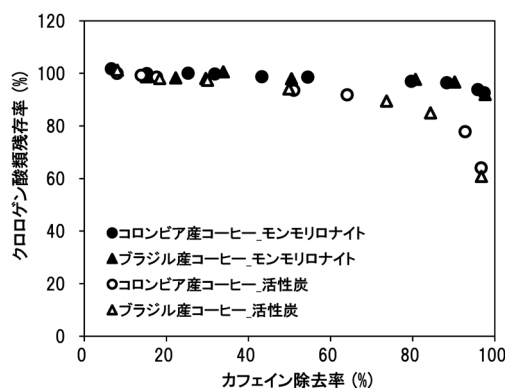


図5 コーヒー中のカフェイン吸着における選択性

### 3. モンモリロナイトの接触条件が茶飲料品質に及ぼす影響

モンモリロナイトは天然の粘土鉱物であるため、接触条件によってはミネラル類の溶出が懸念された。そこで、茶抽出液との接触条件が及ぼす影響を調べたところ、低い接触pH、あるいは高い接触温度では茶抽出液中のFe濃度が上昇し、それに起因して液色の明度が下がり、茶飲料の外観品質が低下した(図4)。一方、接触pH 4~8および接触温度5~35°Cの範囲では、接触条件に依らずカフェイン吸着量は一定であることも確認した。これらの傾向から、カフェインを低減しつつ茶飲料の外観への影響を最小化する上で、中性付近かつ低温でモンモリロナイトと茶抽出液を接触させることが重要であると考えられた。つまり、接触条件の調整によってカフェイン除去と茶飲料の外観品質維持は両立可能であり、実用的な飲料製造においてもモンモリロナイトが活用できることが示唆された。

### 4. コーヒーへの応用

モンモリロナイトによるカフェイン除去技術が、茶飲料だけでなくコーヒーにおいても応用できるかを検証するために、コーヒー抽出液中における活性炭とモンモリロナイトのカフェイン吸着特性を比較した。その結果、茶抽出液中での特性と同様に、活性炭処理ではカフェイン除去率の増大に伴って、コーヒー中の主要なポリフェノールであるクロロゲン酸類も減少した。一方、モンモリロナイト処理ではカフェイン除去率の増大に伴うクロロゲン酸類の顕著な減少は確認されなかった(図5)。したがって、モンモリロナイトにはコーヒー抽出液中においてもカフェインを選択的に吸着・除去できる可能性があることが示唆された。

さらに、コーヒーにおける汎用性を確認するために、コーヒー豆の焙煎度の影響についても検証したところ、焙煎度(L値15~27)に依らずカフェイン吸着特性は同様のパターンを示した(図6)。これらの結果から、モンモリロナイトによるカフェイン除去技術は、茶飲料だけでなく多様な焙煎度のコーヒーにおいても活用できることが示唆された。

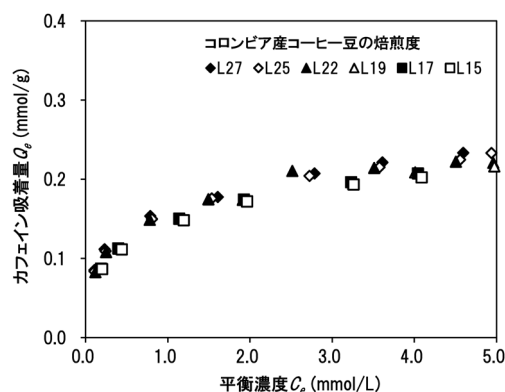


図6 焙煎度違いのコーヒーにおけるカフェイン吸着特性

### おわりに

我々は、茶飲料の香味や外観品質は維持したまま抽出液中のカフェインを選択的に吸着・除去する技術を開発した。当該技術は工業化にも成功し、カフェインゼロの緑茶飲料および紅茶飲料として幅広いお客様に飲用していただけるようになった。

現在、カフェイン吸着のメカニズム解明に向けた研究や、吸着剤の改良などの研究を継続している。今後も、お客様に新しい日常を提供できるおいしい飲みもの造りを目指して研究を重ね、食品業界全体の発展に貢献していきたい。

**謝 辞** 本賞にご推薦いただきました日本獣医生命科学大学・西村敏英教授に深謝いたします。また、本研究の推進にあたり、ご助言・ご指導を賜りました京都大学・米田稔教授、松井康人准教授ならびに信州大学・岡田友彦准教授、飯山拓准教授に厚く御礼申し上げます。本研究成果は、キリン株式会社、ならびにキリンビバレッジ株式会社をはじめ、キリングループ各社の多くの関係者の尽力によるものであり、関係の皆様へ感謝いたします。



## 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

# SUNTORY

サントリーホールディングス株式会社

### はじめに

心筋梗塞や脳梗塞等の動脈硬化性疾患は、日本人の死因の25%近くを占め、その主たる危険因子である高血圧、糖尿病、脂質異常症等の生活習慣病の発症には、肥満、特に内臓脂肪蓄積が深く関与していると指摘されている。これらの予防・改善には、適度な運動とバランスの取れた食生活が大切であるが、現代社会の多忙な日常生活においては、適切かつ継続的な実践は必ずしも容易ではないため、保健機能食品を効果的に活用することは国民の健康の維持・増進に有効な一助となることが期待される。そこで我々は、肥満や内臓脂肪蓄積の予防・改善に役立ち、無理なく飲み続けられる日頃慣れ親しんだ茶飲料での特定保健用食品を開発することを目指した。

### 1. 素材選抜

特定保健用食品としての関与成分を選抜する上で、我々は、タマネギやリンゴ、ブロッコリー等の野菜や果実に含まれ、食経験が豊富であり、抗酸化作用をはじめ、抗炎症作用、血圧低下作用、コレステロール低下作用等、多くの生理作用を有するケルセチン(図1a)に着目した。ケルセチンの体脂肪に及ぼす影響に関する研究報告はなく、我々はケルセチンの体脂肪低減効果の可能性について検討を開始した。

### 2. ケルセチンの脂肪分解作用

先行研究を参考に3T3-L1成熟脂肪細胞を用いた評価を行った。その結果、ケルセチンはアドレナリン存在下で用量依存的な脂肪分解作用、つまり脂肪細胞内に蓄積された中性脂肪を遊離脂肪酸とグリセロールへと分解しうることを見出した。本検討結果から、ケルセチンは肥満時に溜まった体脂肪を「分解」することで、体脂肪低減効果に寄与する可能性を見出した。

### 3. ケルセチン配糖体の体脂肪低減効果

ケルセチンの体脂肪低減効果を評価するにあたり、最終的に茶飲料での商品開発を見据え、水溶性に優れ、腸管で吸収される際に糖が切れ、ケルセチンとして吸収されて生理機能を発揮するケルセチン配糖体(図1b)を用いることとした。各種効能評価を実施し、ケルセチン配糖体の摂取による体脂肪低減効果の可能性が示唆されたことから、ヒトでのケルセチン配糖体配合飲料の継続摂取による体脂肪低減効果の検証試験を行った。

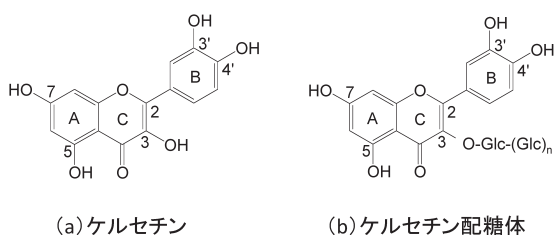


図1. ケルセチン (a) およびケルセチン配糖体 (b)

まず始めに、ケルセチン配糖体を配合した1本350 ml容量の飲料を被験飲料とし、肥満者200名を対象とするプラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を実施した。その結果、1日1本12週間継続摂取による体脂肪低減効果が確認され、追加の試験によりこの効果は24週間継続摂取でも維持されることも確認された。その後、同成分を配合した1本500 ml容量の緑茶飲料を被験飲料として、肥満者200名を対象とした試験を実施し、1日1本12週間の継続摂取による腹部全脂肪面積および内臓脂肪面積の有意な減少を認め、ケルセチン配糖体を配合した緑茶飲料での体脂肪低減効果を検証するに至った(図2)。また最新の研究では、カフェインを含まない茶飲料を用いた体脂肪低減効果確認試験も実施しており、同様の結果を得ている<sup>1-3,6)</sup>。

### 4. 安全性および体内動態

いずれのヒトでの評価においても、ケルセチン配糖体配合飲料に起因する副作用は確認されなかった。また1日3本の過剰摂取試験においても安全であることが確認された。さらに、体内動態を検討したところ、硫酸およびグルクロン酸抱合体が血中から検出されたことから、ケルセチン配糖体の配糖体部分が吸収過程で分解され、体内で抱合反応を受けることによって上記抱合体が生成することが推察された。また、単回および反復摂取した時の血中ケルセチン濃度を比較検証した結果、ケルセチンには体内蓄積性がないことも併せて確認された<sup>1-7)</sup>。

### 5. 作用メカニズム検討

3T3-L1成熟脂肪細胞におけるケルセチンの脂肪分解作用に関する作用メカニズムの詳細を検証した。その結果、本作用は、アドレナリン $\beta$ 受容体と協同的に働き、脂肪分解酵素のひとつであるHormone-sensitive lipase(ホルモン感受性リパーゼ)のリン酸化と、それに伴う本酵素活性の亢進によることを解明した。また、本脂肪分解作用はケルセチン同様、その硫酸

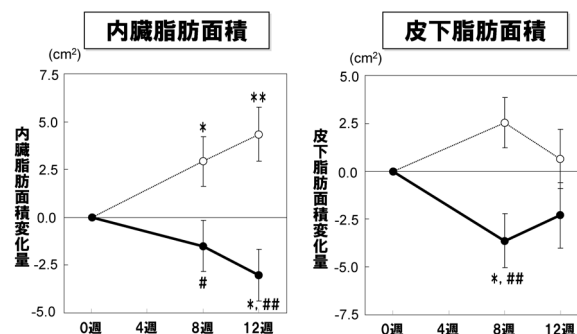


図2. ケルセチン配糖体配合飲料のヒト体脂肪低減効果  
 平均値±標準誤差  
 ○: 対照飲料  
 ●: ケルセチン配糖体配合飲料  
 \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$  0週と比較して有意差あり  
 # $p<0.05$ , ## $p<0.01$  対照飲料群と比較して有意差あり



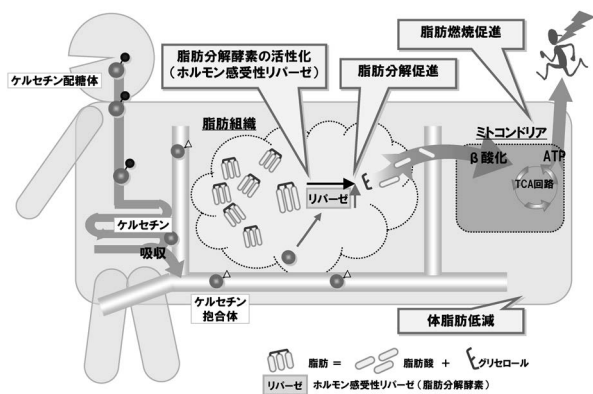


図3. ケルセチン配糖体の体脂肪低減作用メカニズム

およびグルクロン酸抱合体においても確認された。以上のことから、ケルセチン配糖体は摂取後、主にケルセチンとして吸収された後、脂肪組織で脂肪分解酵素を活性化することで肥満時に溜まった体脂肪を「分解」し、体脂肪低減作用を発揮する可能性を見出した(図3)。

#### 6. 特定保健用食品の表示許可申請

上述の作用メカニズムの検討結果およびケルセチン配糖体配合飲料による体脂肪低減作用の検証結果に加え、ヒトが過剰量摂取した際の安全性試験等の各種安全性評価結果を揃え、消費者庁に特定保健用食品の許可申請を行った。その後各種審査を経て、2013年7月体脂肪を減らすのを助ける特定保健用食品「伊右衛門 特茶」の許可を取得するに至った。

#### 7. 中味開発

ケルセチン配糖体配合飲料の開発においては、無理なく飲み続けられる高い嗜好性を目指した香味設計、飲料中におけるケルセチン配糖体の安定化、さらには工場で大規模に製造するための最適な工程検討等、中味開発で生じる様々な課題があった。課題解決に向けて様々な検討を重ねた結果、ケルセチン配糖体の安定化を実現しつつ、緑茶としての高い嗜好性を兼ね備え、高品質な飲料製造が実現できる工程設計条件を見出した。

おわりに

本研究では、「無理なく飲み続けられる日頃慣れ親しんだ茶飲料での特定保健用食品を開発すること」を目指した。検討結果、野菜に豊富に含まれるケルセチンが体脂肪を減らす可能性を見出し、飲料適性の観点からケルセチン配糖体で飲料化を実現するに至った。特定保健用食品「伊右衛門 特茶」は、体脂肪低減効果を有しながらも、無理なく安全に継続的に摂取することができる高い嗜好性飲料として、2013年の発売以降多くの消費者から支持していただける商品に成長した。その後、ノンカフェインタイプの飲料として、麦茶タイプの特定保健用食品「伊右衛門 特茶 カフェインゼロ」の許可を取得し、2016年に発売を開始した。両飲料ともに、今後多くの方々の健康の維持・増進に寄与することが期待される(図4)。



図4. 本研究成果を活用した特定保健用食品「伊右衛門 特茶」および「伊右衛門 特茶 カフェインゼロ」

謝 辞 本成果は、サントリーホールディングス株式会社の関係者ならびに社外機関の関係者皆様のご尽力によるものです。ここに改めて感謝申し上げます。

#### (引用文献)

- 1) 吉村麻紀子, 前田哲史, 竹原 功, 阿部圭一, 太田裕見, 木曾良信, 福原育男, 坂根直樹, 肥満傾向および肥満者に対するエンジュポリフェノール(酵素処理イソクエルシトリン)配合飲料の体脂肪低減作用および安全性の検証, Jpn Pharmacol Ther. 36(10), 919-930 (2008).
- 2) 吉村麻紀子, 前田哲史, 中村淳一, 北川義徳, 柴田浩志, 福原育男, ケルセチン配糖体(酵素処理イソクエルシトリン)配合飲料の継続摂取による肥満者の体脂肪低減効果, Jpn Pharmacol Ther. 40(10), 901-14 (2012).
- 3) 江川 香, 吉村麻紀子, 神崎範之, 中村淳一, 北川義徳, 柴田浩志, 福原育男, 肥満者に対するケルセチン配糖体(酵素処理イソクエルシトリン)配合緑茶飲料の体脂肪低減作用および安全性の検証, Jpn Pharmacol Ther. 40(6), 495-503 (2012).
- 4) 石倉義之, 藤居 互, 榊原 裕, 木藤古孝行, 片桐洋子, 沖守, エンジュポリフェノール(酵素処理イソクエルシトリン)配合飲料の肥満者を含む健康成人に対する過剰摂取時の安全性, Jpn Pharmacol Ther. 36(10), 931-939 (2008).
- 5) 石倉義之, 藤居 互, 榊原 裕, 坂野克久, 林 真由美, 海老原淑子, ケルセチン配糖体(酵素処理イソクエルシトリン)配合緑茶飲料の肥満者を含む健康成人に対する過剰摂取時の安全性, Jpn Pharmacol Ther. 40(6), 505-512 (2012).
- 6) 齋藤佳世, 田中高生, 小畑秀則, 中村淳一, 福井宣之, 殿塚典彦, 肥満者に対するケルセチン配糖体(酵素処理イソクエルシトリン)配合茶飲料の体脂肪低減作用および安全性の検証, Jpn Pharmacol Ther. 43(2), 181-194 (2015).
- 7) 安武瑤子, 堀 妃佐子, 北川義徳, 杉村春日, 肥満者を含む健康成人に対するケルセチン配糖体(酵素処理イソクエルシトリン)配合茶飲料の過剰摂取時の安全性—プラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験—, Jpn Pharmacol Ther. 43(3), 389-96 (2015).

## 活性炭触媒を利用した脱水縮合技術の開発と それをういた難消化性グルカンの生産



日本食品化工株式会社

### はじめに

グルコースをはじめとする各種単糖やオリゴ糖は、一定の条件下で加熱すると多糖化（重合）することが従来から知られていた。今回、我々はこれらの脱水縮合反応を促進する触媒の探索を行い、生活用品にも多く使用されている身近な物質である活性炭が、有効な触媒となり得ることを見出した<sup>1)</sup>。活性炭は主に木や竹、ヤシ殻等の植物質を原料とし、水蒸気や二酸化炭素を使う高温炭化法（800～950℃）や、塩化亜鉛等で処理した上で加熱することにより多孔質となり、その細孔に様々な有機物を吸着する。そのため活性炭は脱臭や水質浄化等の目的で、様々な生活用品に利用されるだけでなく、古くから糖化品や精糖の製造工程において脱臭・脱色の目的で工業的に大量に使用されてきた。我々は食品工業でも大量に使用され、安全性の高い素材を脱水縮合反応の触媒として用いることによって、安価なグルコースシラップから多分岐構造を有する多糖素材を効率的に生産する技術を開発した。更にこの多糖が難消化性を示すことを見出し、これを『難消化性グルカン』と命名した。

近年、健康志向の増大から、低カロリー食品や機能性食品の開発に食物繊維が広く利用されている。我々は活性炭触媒による糖の脱水縮合にて得られる難消化性グルカンの工業的生産方法について検討し、得られた難消化性グルカン含有シラップの安全性試験<sup>2)</sup>および生理機能試験<sup>3,4)</sup>を実施した。以上のような検討を通じて得られた活性炭触媒の様々なメリットや、難消化性グルカン含有シラップの有用な機能性について紹介する。

### 1. 活性炭の触媒機能の検討

脱水縮合反応において活性炭を触媒として利用した技術の開発は世界的にみても初めてである。本技術は、市販の活性炭をそのまま用いることが可能であり、反応副産物が少ないこと、反応と同時に着色物質を吸着除去できること、反応終了後、固液分離で容易に触媒の除去ができることが実生産上のメリットである。糖の縮合反応は、塩酸やリン酸といった酸が触媒とな

ることが既に知られており、活性炭においてはその表面の酸性官能基が触媒活性の本体であると考えられる。しかし、活性炭を触媒として用いた場合、それらと比較して反応物の着色度が顕著に低くなることから、活性炭は単純なプロトン供与型の酸触媒ではない可能性が考えられた。そこで活性炭の縮合反応における触媒メカニズムの一端を解明することを目的とし、種々の検討を実施した。

活性炭表面の官能基のモデルとして、フタル酸類、サリチル酸類等を用い、その触媒活性を評価した。カルボキシル基及びフェノール性水酸基が隣接した構造を持つサリチル酸やフタル酸は高活性な触媒となることが判明した。この結果から、求核的な置換基が一方のグルコース分子を補足し、隣接したカルボキシル基が酸触媒として他方のグルコースに作用することで、結果的に隣接したグルコース間で、縮合反応が効率良く進行した可能性が高いと考えられた。

更に、良好な触媒能を示す活性炭を空气中200℃～450℃で加熱して得られた空気酸化活性炭を用い、活性炭の酸性官能基量、糖との親和性及び反応性を測定し、触媒適性を評価した。空気酸化処理を行った活性炭は、処理温度に依存して酸性官能基量が増加したものの、活性炭とグルコースの親和性低下が確認され、総じて縮合反応の触媒能は低下した。このことから、縮合反応における活性炭の触媒能には、酸性官能基と共に、糖との親和性も深く関与していることが推察された。

### 2. 難消化性グルカンとは

我々は、グルコースシラップを活性炭存在下で常圧または減圧下で加熱重合して得られる組成物の内、消化酵素で分解されない食物繊維画分を難消化性グルカン（Resistant Glucan, 以下RG）と定義した。RGはグルコース骨格で構成され、 $\alpha$ または $\beta$ 1-2,1-3,1,4及び1-6グルコシド結合を含む多分岐の構造を持つ多糖類である。実製造においてはコスト的に有利な連続反応工程と一般的な水飴の製造工程とを組み合わせた製造法を確立し、RGを約80%含有するシラップとしてフィットファイバー#80<sup>®</sup>（以下FF#80）を2014年に上市した。

### 3. FF#80の安全性評価

FF#80を用いた復帰突然変異原性試験、単回経口投与毒性試験、90日反復投与毒性試験では、いずれも異常は認められなかった。ヒトにおける最大無作用量は体重kg当たり0.9g（無水物換算）以上であり、安全性に問題は認められなかった<sup>2,5)</sup>。これら安全性データは毒性学・栄養学・臨床薬理学の学識経験者によって厳密に審査され、2016年に米国FDAの定めるSelf-Affirmed GRASを取得した。体内動態の検討より、RGのカロリーは0 kcal/gで、FF#80は1 kcal/gと低カロリー素材であることも確認された<sup>6)</sup>。

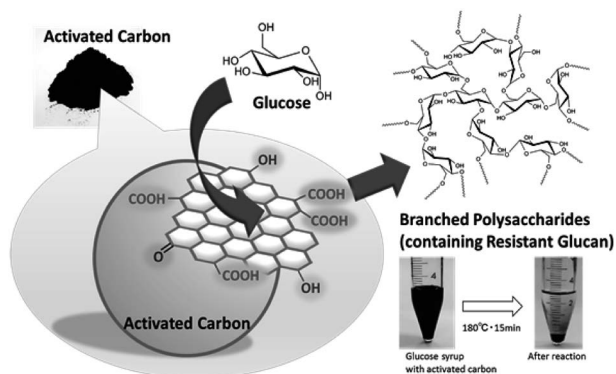


図1 活性炭による難消化性グルカンの生成

#### 4. FF#80及びRGの機能性評価

食物繊維の基本的な機能である便通改善作用について、排便日数が週2〜4日の成人女性60名を被験者としたプラセボ対照ランダム化単盲検並行群間比較法により、評価を実施した。被験者は、対象食品としてマルトデキストリンを摂取した後（Ⅰ期）、被験食品であるFF#80をそれぞれ3.3 g, 6.6 g, 13.2 g/day（食物繊維として2.5 g, 5.0 g, 10.0 g/day）を摂取して（Ⅱ期）、アンケート調査が実施された。その結果、Ⅱ期の排便日数、排便回数及び排便量がⅠ期にくらべ有意に高い値（ $p<0.05$ ）を示し、また排便日数（中用量群、高用量群）及び排便回数（低用量群、中用量群、高用量群）は対照食品群にくらべ用量依存的な増加傾向を示した。以上のことから、FF#80は便通改善に有用な水溶性食物繊維素材であることが明らかになった<sup>3)</sup>。ラットを用いた検討ではプレバイオティクス効果や糞便水分量の増加が確認されており、ヒトにおいても同様の効果を発揮していると推察している。

更にFF#80の関与成分であるRGをイオン交換樹脂分画により高純度化し、食物繊維含量を乾燥重量当たり99%（w/w）とした。これを用いて血糖値上昇抑制効果をヒト試験で評価した。食後の血糖値が上昇しやすい成人を被験者とし、無作為化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験で評価を実施した。①被験食品（食物繊維量として5.0 g）、②プラセボ食品（マルトデキストリン5.0 g）それぞれを親子井（510 g）と同時摂取し、食後に血糖値を測定した結果、プラセボ摂取群と比較してRG摂取群では有意に血糖値の上昇が抑制され（ $p<0.05$ ）、血糖応答のAUC（曲線下面積）が有意に低下した（ $p<0.05$ ）<sup>4)</sup>。

#### 5. FF#80の加工食品における評価

FF#80は淡黄色の低粘性シラップで、甘味度は砂糖の10分の1程度とスッパリした味質である。水への溶解性や粘性は既存水溶性食物繊維素材と同等で飲料・食品に使いやすく、酸性やアミノ酸存在下でも着色性等の変化が少ない安定性の高い素材である。物性はマルトデキストリンに近いが、野菜ジュース飲料への利用評価で比較したところ、FF#80は野菜・果実の香りを包接しないため香り立ちがよく、味に厚みがでることが確認された。

ラクトアイスの利用評価では、FF#80を配合したものは乳味

感と濃厚感で高い評価が得られ、高級感のある味質となることが確認された。そこで、FF#80の乳化安定効果の検証として、試験素材にコーン油と水を加えて乳化した結果、乳化直後の油脂粒子状態は、マルトデキストリンや既存水溶性食物繊維素材よりもキメが細かいことが確認された。また、乳化して96時間経過した後も、分離せず乳化状態を保つことも観察された。この乳化結果が、ラクトアイスにおいて、濃厚感やなめらかさという評価に繋がった理由の一つと考えている。以上のように、FF#80は生理機能のみではなく、食品の物性や味質改善効果も併せ持つ新規な食物繊維素材として、市場開拓を引き続き推進していく。

#### おわりに

本研究では、低分子の糖類を多糖化させるという目的から、種々の触媒の検討を実施し、身近で安全な物質である活性炭が有効な糖重合用の触媒となり得ることを見出した。この技術を利用して新規な食物繊維素材である『難消化性グルカン』を開発した。更に活性炭の特性を活かすことで、シンプルな工程で高品質の食物繊維含有シラップを連続的に生産する方法を確立した。

難消化性グルカンは、酸触媒や抽出法で得られる既存の食物繊維素材に比べて、風味や色、食品加工におけるハンドリングの観点で優れており、価格面でも優れた食物繊維素材となっている。

食物繊維は、整腸作用やメタボ予防など様々な機能が知られているが、「日本人の食事摂取基準（2015年版）」によると、我が国においては食物繊維の1日目標摂取量（男性20 g以上、女性18 g以上）に対して、男女共に5〜7 g程度も不足している。難消化性グルカンは、食物繊維の不足を補うと同時に美味しさを提供する素材として、人々の食生活と健康の維持・増進に貢献できると期待している。

#### 引用文献

- 1) N. Hamaguchi, H. Hirai, K. Aizawa, M. Takada: *J. Appl. Glycosci.*, 62, 7-13 (2015).
- 2) H. Bito, N. Hamaguchi, H. Hirai, K. Ogawa: *J. Toxicol. Sci.*, 41(1), 33-44 (2016).
- 3) N. Hamaguchi, H. Hirai, H. Bito, K. Ogawa: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 62(1), 62-66 (2016).
- 4) H. Hirai, N. Hamaguchi, H. Bito, M. Suda, T. Sato, T. Kimura, K. Ogawa: *Jpn Pharmacol Ther (in Japanese)*, 44(10), 1455-1462 (2016).
- 5) T. Oku, K. Tanabe, S. Morita, N. Hamaguchi, F. Shimura, S. Nakamura: *Br. J. Nutr.*, 114, 1550-1559 (2015).
- 6) S. Nakamura, K. Tanabe, S. Morita, N. Hamaguchi, F. Shimura, T. Oku: *Nutr Metab.*, 13, 13 (2016).

謝 辞 本研究に関しましてご指導頂きました先生方、多大なご協力を頂きました社内外の関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。また本賞へのご推薦と適切なご指導を頂いた静岡大学河岸洋和教授に厚く御礼申し上げます。

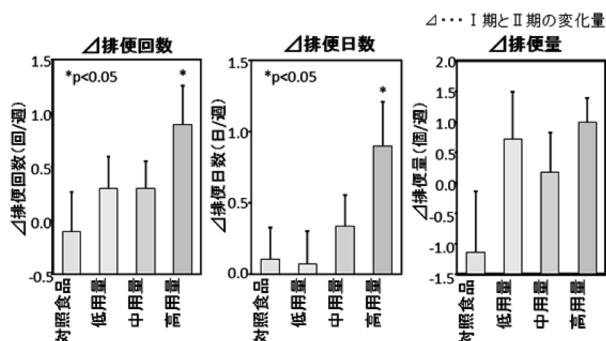


図2 難消化性グルカンの便通改善作用





京都大学大学院農学研究科 安 藤 晃 規

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

はじめに

近年、多様な脂質の需要の拡大、環境立脚型の物質生産システム構築の要請などにより、安全性・選択性に優れた微生物生産プロセスに大きな期待が寄せられている。とりわけ、近年の新たな脂質生理機能の解明に伴い、自然界では希少な脂質や、化学合成では多量に調製しがたい発酵生産脂質に注目が集まっている。我々は、これまでに土壌より油糧糸状菌 *Mortierella alpina* 1S4 を見だし、アラキドン酸 (ARA, 20:4 $\omega$ 6) の商業生産を実現し、育種により多様な脂質生産株の創出を報告してきた。

本講演では、油糧植物に代わる脂質発酵生産を実現した本菌 *M. alpina* 1S4 を題材に、油糧微生物による脂質生産において未開であった分子生物学的基礎研究に関し、薬剤選択マーカーや効率的な遺伝子導入法の開発、有用な新規プロモーターの評価とライブラリー化、また、遺伝子破壊法の開発などを紹介し、新たに開発した分子育種ツールを活用した多様な有用脂質の選択的生産や、実用的な大量生産について紹介する。

## 1. *Mortierella alpina* IS-4 の新規薬剤マーカー遺伝子と遺伝子導入法の開発

油糧糸状菌 *M. alpina* は、油糧植物に比肩する脂質生産性を示し、ARA をはじめとした高度不飽和脂肪酸 (PUFA) の生産能を有することから、脂質発酵という新たな発酵生産技術の展開を実現した菌である。また、微生物特有の良好な操作性や、安定生産が見込め、既存油糧資源や石油資源を代替する脂質生産プラットフォームとしてさらなる展開が期待できる (図1)。

*M. alpina* 1S4の宿主-ベクター系において、栄養要求性を指標とするマーカーはホスト株の構築が必要であり汎用性に問題がある。そこでまず選択薬剤の探索を行い、担子菌に特異性の高い薬剤カルボキシシンが、本菌の菌糸の成長ならびに胞子の発芽を阻害できることを明らかにした。カルボキシシンのターゲットであるコハク酸脱水素酵素複合体のIpサブユニット遺伝子を本菌より単離し、耐性機構に関与する1塩基変異を導入した遺伝子を本菌に導入した結果、形質転換株がカルボキシシン

に対して十分な耐性を示し、マーカー遺伝子としての有効性を示すことができた。続いて、本系を用いて外来の大腸菌由来の $\beta$ -グルクロニダーゼ遺伝子 (GUS 遺伝子) のコドン頻度を *Mortierella* 様に改変し本菌への導入を検討したところ、形質転換株の選抜、ならびに、GUS 遺伝子の発現が確認でき、宿主-ベクター系としての有効性を確認した。加えて、本系をレポーター遺伝子として活用する生化学的解析の展開が可能になった。さらに、*M. alpina* 1S4 への遺伝子導入法として、植物の形質転換に利用される *Agrobacterium tumefaciens* を介した遺伝子導入法 (アグロバクテリウム法) を試みた。結果、十分な形質転換効率、ならびに安定した形質の保持を達成することができた。また、染色体上に単コピーで挿入されることを明らかにし、先の GUS アッセイ系を活用したプロモーター解析や、遺伝子破壊法構築に有用であることを明らかにした。

## 2. *Mortierella alpina* 1S-4 の有用プロモーターの取得と評価

*M. alpina* のゲノム情報及び EST 解析結果をもとに約 30 種類の有用プロモーター候補を選抜し、確立した評価系を用いて機能評価を行った。その結果、既存のプロモーターの約 5 倍の活性を示す高発現プロモーター、時期特異的発現プロモーター、ガラクトース誘導発現プロモーター等、分子育種に有用と考えられる特徴を示す新規プロモーターを多数見いだした (表 1)。

### 3. *Mortierella alpina* 1S-4 の分子育種

実際にここまで開発した分子育種法の有用性を評価するべく、エイコサペンタエン酸 (EPA, 20:5 $\omega$ 3) 生産株の構築に取

表1 *M. alpina* 1S-4 にて開発した分子育種基盤技術

- ・ 宿主 *M. alpina* 1S-4 (wild株)  
ST1358株 ( $\omega$ 3不飽和化酵素低下株)  
S14株 ( $\Delta$ 5不飽和化酵素低下株)
- ・ 選択マーカー 薬剤カルボキシシン耐性
- ・ 形質転換方法 アグロバクテリウム法
- ・ プロモーター 高発現プロモーター
  - ・ SSA2 p (構成的)
  - ・ CIT1 p (培養初期特異的)
  - ・ PP6 p (培養中期特異的)
  - ・ PP3 p (培養後期特異的)誘導発現プロモーター
  - ・ GAL10 p (ガラクトース誘導)
- ・ 遺伝子素材 PUFA 生合成に関わる内在酵素遺伝子
  - ・  $\Delta$ 5不飽和化酵素遺伝子
  - ・  $\omega$ 3不飽和化酵素遺伝子外来遺伝子
  - ・ 大腸菌由来 $\beta$ -グルクロニダーゼ遺伝子
  - ・ 糸状菌 *Saprolegnia diclina* 由来 $\Delta$ 17不飽和化酵素遺伝子
- ・ 遺伝子破壊系 宿主 (*lig4*破壊株)  
 $\Delta$ 5不飽和化酵素遺伝子破壊 (DGLA生産菌)
- ・ 分子育種株 EPA 常温生産株 EPA 1.8 g/L, 26% (28°C)  
ETA 常温生産株 ETA 0.6 g/L, 25% (28°C)  
DGLA 生産株 DGLA 0.8 g/L, 40% (28°C)

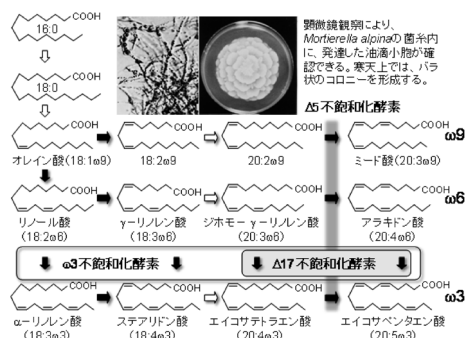


図1 糸状菌 *Mortierella alpina* 1S-4 の脂肪酸生合成経路



り組んだ。EPA は近年エチルエステル誘導体が高脂血症に対する医薬品として認可されるなど、医薬品原料としての需要が高まっているが、資源を魚油に依存しており供給の安定性、安全性の観点から代替生産法の開発が望まれている。これまで、*M. alpina* 1S-4 の低温誘導性 $\omega$ 3不飽和化酵素 ( $\omega$ 3DS) を活用した EPA 発酵生産の開発、ならびに本 $\omega$ 3DS 高発現株の育種を試みてきたが、低温培養時の生育低下に起因する生産効率の低さが大きな問題であった。そこで、常温条件下で $\omega$ 3DSとして機能する糸状菌 *Saprolegnia diclina* 由来 $\Delta$ 17不飽和化酵素遺伝子 (*sdd17m*) を用いた分子育種を行なった (図1)。宿主として、EPA 前駆体であるアラキドン酸生産性が高く $\omega$ 3DS活性低下変異株である *M. alpina* ST1358 株に、先の検討で見いだした高発現プロモーター SSA2p 制御による *sdd17m* 発現ベクターを導入した結果、28°C 培養条件下にて、総脂肪酸あたり 26.4% の EPA 常温生産を達成した (図2)。

さらに、*M. alpina* の化学変異処理により構築された $\Delta$ 5不飽和化酵素活性低下変異株である *M. alpina* S14 株の分子育種により、エイコサテトラエン酸 (ETA, 20:4 $\omega$ 3) 生産株の構築に取り組んだ (図1)。ETA はエイコサノイドアナログ前駆体として有益な生理活性機能を示すことが期待されているが、天然でも希少であり充分な供給源がなかったことから、詳細な機能解析が遅れている。そこで S14 株に、高発現プロモーター SSA2p 制御による *sdd17m* 発現ベクターを導入した。結果、28°C 培養条件下にて、総脂肪酸あたり 24.9% の ETA 常温生産を達成した。

#### 4. *Mortierella alpina* 1S-4 の遺伝子破壊法の確立と本技術を活用した分子育種

従来は化学変異剤処理による突然変異誘導によって多様な PUFA 高生産株を創生してきたが、ランダムな突然変異誘導では、意図する変異株の取得が困難なうえ、標的遺伝子以外にも変異が導入され生育や脂肪酸生産性にも影響を及ぼす。PUFA の高生産株取得を容易にするには、標的とする単一遺伝子の破壊により生産株を取得することが望ましい。そこで、糸状菌の遺伝子組換え時に機能する相同組換えならびに非相同組換えの2つの機構のうち、相同組換えの効率を上げるべく、非相同組換え時におこる非相同末端結合の鍵酵素 Ligase 4 をコードする *lig4* 遺伝子の破壊によってジーンターゲットイング (GT) 効率の改善を試みた。まず、本菌の *lig4* 遺伝子の塩基配列を決定し、先の検討で構築したアグロバクテリウム法を用いて *lig4* 破壊ベクターを *M. alpina* 1S-4 に導入し、二回交差相同組換えによる *lig4* 破壊株を 3.2% の GT 効率で取得した。続いて、*lig4* 破壊株を宿主として GT 効率を評価した結果、野生株の 21 倍、67% に達し、顕著な GT 効率の改善を実現した。

実際に、開発した *Lig4* 破壊株を用いる GT システムを活用し、 $\Delta$ 5不飽和化酵素遺伝子破壊により希少脂肪酸であるジホモ- $\gamma$ -リノレン酸 (DGLA, 20:3 $\omega$ 6) 高生産株の分子育種を試みた (図1)。*M. alpina* *lig4* 破壊株に、アグロバクテリウム法にて $\Delta$ 5不飽和化酵素遺伝子破壊コンストラクトを導入した結果、50% の高い GT 効率で $\Delta$ 5不飽和化酵素破壊株を取得した。また、破壊株の示す DGLA 含有率は最大で 40% に達した。さらに、低温培養条件下において本破壊株の $\omega$ 3DSを活性化させることで、ETA の生産を可能とした (図3)。これら破壊株は、化学変異剤による突然変異誘導による $\Delta$ 5不飽和化酵素低下変異株 (S14 株) よりも高い DGLA, ETA 含有率を示した。この

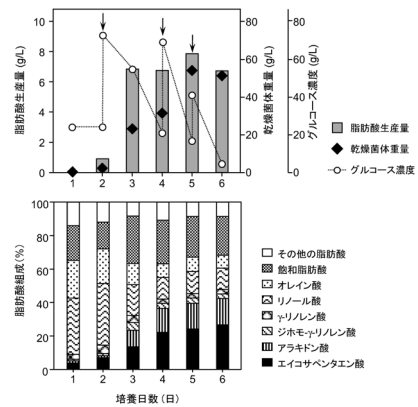


図2 *M. alpina* 分子育種株を用いた、5L ジャーファーマンターによる EPA の大量常温生産。↓: グルコースの添加

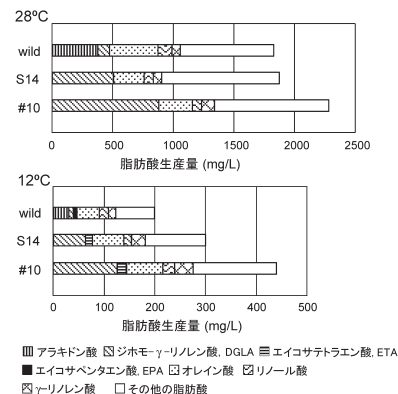


図3  $\Delta$ 5不飽和化酵素遺伝子破壊株の脂肪酸組成と脂質生産性の評価。培養温度 28°C、12°C 時の脂肪酸生産量と脂肪酸組成。wild, 野生株; S14, 化学変異剤による破壊株; #10, 分子育種による破壊株

ように本 GT システムにより PUFA 生産性の低下や生育の遅延を引き起こさない分子育種が可能になった。また、本技術を基盤に食品用途への展開を可能とするセルフクロニングによる分子育種技術を構築した。

#### おわりに

現在、これらの技術を基盤に、食品・医薬品用途が期待される様々な希少脂肪酸の生産をはじめ、脂質生産性向上による油脂燃料生産、化成品原料生産への新たな研究を推進しており、バイオリファインリーに資する技術開発を実現しつつある。今後、油糧糸状菌の基礎・応用研究を介して応用微生物学、微生物生態学の発展に寄与し、循環型で持続的な未来社会を支援する農芸化学研究に貢献していきたい。

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発酵生理及び醸造学分野および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で行われたものです。本研究のご指導、ご支援を賜りました清水昌名誉教授、横関健三前客員教授、小川順教授、片岡道彦教授 (現大阪府立大学)、櫻谷英治教授 (現徳島大学)、島純教授 (現龍谷大学) に心より御礼申し上げます。また、様々な面からご支援いただいた同大学応用生命科学専攻の教員の方々、事務員の方々、研究室の諸先生方、研究員、スタッフ、卒業生、在学生、大学・企業の共同研究者の方々に深く感謝いたします。



## 糸状菌と植物の糖鎖生合成に関与する諸酵素に関する研究

崇城大学生物生命学部 岡 拓 二

## はじめに

糖鎖は、細胞間認識、細胞内情報伝達、タンパク質の品質管理、タンパク質の局在、タンパク質の安定化、タンパク質の活性制御などの多くの生命現象に関わっている。また、糸状菌や植物などの細胞壁を有する生物では複雑な三次元構造をとる多糖が、細胞壁の主要構成成分となっている。近年、多くの生物種においてゲノム情報が明らかにされ、遺伝子の配列を簡単に手に入れることが可能となった。しかし、糖転移酵素に関しては、どの遺伝子配列がどのような酵素をコードしているのか明らかにされていないものが多く残されている。私は、糸状菌や植物の糖鎖生合成に興味を持ち、どの遺伝子がどのような酵素活性を持っているのかを逆遺伝学的手法および生化学的手法を用いて同定することで糖鎖合成に関わる諸酵素の機能や糖鎖の機能を明らかにする研究を進めてきた。以下にその概要を紹介する。

## 1. 糸状菌のガラクトマンナン生合成

アスペルギルス属糸状菌の細胞壁を形成する多糖や菌体外に分泌する糖鎖にはガラクトマンナン (GM) が含まれている。菌類の GM は、マンノース (Man) とガラクトフラノース (Gal) というユニークな糖で構成されるオリゴ糖もしくは多糖である。GM は 1930 年代には既に構造の一部が報告されており、また、主に *Aspergillus fumigatus* が引き起こす肺アスペルギルス症の診断の指標として世界中の医療現場で用いられるなど広く知られている。また、GM はヒトを含む動物や植物には含まれていないことから、その生合成に関わる酵素が副作用のない抗真菌剤の標的となることが期待されている。糸状菌の GM には、真菌型ガラクトマンナン (FTGM) と O-マンノース型ガラクトマンナン (OMGM) が知られている。しかし、GM 生合成を担う Gal 転移酵素の情報は、遺伝子のもとより、その酵素活性測定法さえも構造の発見から長きにわたって知られていなかった。

## 1-1. 糸状菌の O-マンノース転移酵素の同定

筆者は、2004 年に糸状菌において小胞体に局在するプロテイン O-マンノース転移酵素 (PmtA) が OMGM の根元の Man 合成を担う酵素であることを酵素的に明らかにした。pmtA の遺伝子破壊株は、菌糸が膨らむバルーン構造を示し、分生子形成能が著しく減少するなどの異常を示した。また、PmtA のパラログである PmtB および PmtC も標的とするタンパク質は異なるものの、同じ酵素反応を担っていることを明らかにした。さらに、PmtA が糸状菌の代表的な分泌酵素であるグルコアミラーゼ I の糖鎖修飾に関わっていることを示した。これらのことから、糸状菌において OMGM が細胞壁形成過程や分泌酵素の安定化において重要な役割を果たしていることを明らかにした。

## 1-2. 糸状菌のガラクトフラノース転移酵素の発見

筆者は、逆遺伝学的手法と生化学的手法を組み合わせることによる Gal 糖鎖の生合成に関わる遺伝子の同定を試み、世界で初めて菌類由来の Gal 転移酵素遺伝子 (gfsA) を同定した。GfsA は、細菌類や原生生物において知られていた Gal 転移酵素とは全く異なる一次構造を有する新規な糖転移酵素であり、OMGM の非還元末端側の Gal 残基を UDP-Gal 糖供与体として転移する、ゴルジ体局在酵素であった (図 1, 図 2)。

gfsA 遺伝子の破壊は糸状菌の菌糸伸長を抑制し、菌糸を湾曲させ、分生子形成能を著しく低下させた。gfsA 遺伝子はアスペルギルス属のみならず子囊菌門のうち最も大きな分類群であるチャワタケ亜門に広く分布する遺伝子であった。チャワタケ亜門に属する菌には、多くの人畜病原菌 (白癬菌、肺アスペルギルス症病原菌等) や植物病原菌 (イネいもち病菌、うどんこ病菌等) が含まれており、GfsA 酵素活性の阻害剤は多くの感染症や植物病の新しい治療薬、農薬として期待できると考えている。さらに、GfsA を大腸菌発現系により大量に調製することに成功し、定量的な酵素活性測定系も確立した。また、NMR やメチル化分析を駆使することにより、GfsA が OMGM

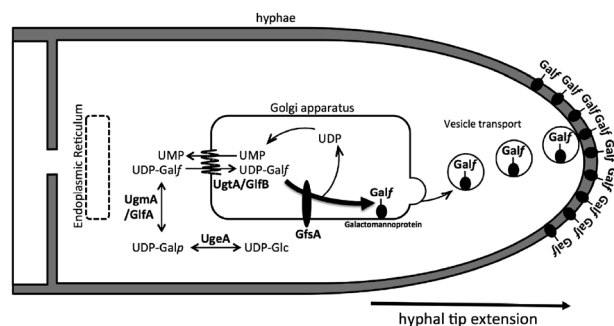


図 1. 糸状菌におけるガラクトフラノース含有糖鎖の生合成

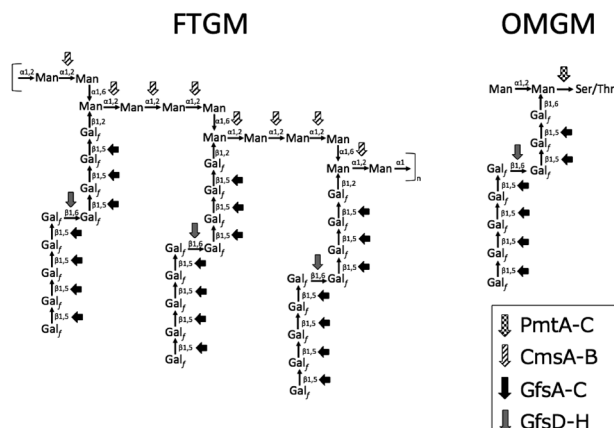


図 2. 糸状菌のガラクトマンナンの構造と推定される糖転移酵素の作用部位

のみならず FTGM 中の  $\beta$ 1,5-Gal/残基を転移する酵素であることを明らかにした (図2)。さらに、GfsA のパラログである GfsD-H が  $\beta$ 1,6-Gal/転移酵素であること、CmsA-B と名付けた酵素が FTGM 中の  $\alpha$ 1,2-マンナン主鎖の合成酵素であるという証拠を得ており、今後の研究の発展を期待している (図2)。

## 2. 出芽酵母による貴重な糖ヌクレオチドの合成と植物の糖ヌクレオチド合成酵素の発見

糖ヌクレオチドは糖転移酵素の糖供与体として機能することから、糖鎖生成研究や糖鎖合成技術開発に必須な化合物である。植物細胞壁形成に必要な糖ヌクレオチドの大部分は UDP-グルコースや GDP-マンノースを前駆体として各種デヒドロゲナーゼ、デカルボキシラーゼ、デヒドラターゼ、エピメラーゼ、レダクターゼなどの酵素によって変換される。また、出芽酵母の細胞質には UDP-グルコースや GDP-マンノースが豊富に存在している。そこで、各種の糖ヌクレオチド合成酵素を出芽酵母細胞質で高発現させることにより貴重な糖ヌクレオチドを産生可能な出芽酵母の分子育種を目指した。

### 2-1. UDP-グルクロン酸および UDP-キシロースを産生する出芽酵母の分子育種

UDP-グルクロン酸は、UDP-グルコースデヒドロゲナーゼ (UGD) によって UDP-グルコースより合成される。また、UDP-キシロースは、UDP-キシロースシンターゼ (UXS) によって UDP-グルクロン酸より合成される。筆者は、UGD を高発現させたことにより UDP-グルクロン酸産生出芽酵母株 (生産性: 7.3 mg/L) を、UGD と UXS を高発現させることにより UDP-キシロース産生出芽酵母株 (生産性: 2.0 mg/L) の分子育種に成功した。育種した出芽酵母株に適切な糖転移酵素遺伝子や糖ヌクレオチド輸送体遺伝子を導入することで、自由に設計した糖鎖を出芽酵母に産生させることも可能となると考えている。

### 2-2. UDP-ラムノース合成酵素の発見

UDP-ラムノースはペクチンやラムノース配糖体の合成に関わる糖転移酵素に必要な不可欠な糖ヌクレオチドである。また、現在においても試薬として販売されておらず、そのことがラムノース転移酵素の研究の妨げとなっていた。筆者は、産業技術総合研究所において出芽酵母内で貴重な糖ヌクレオチドや糖ペプチドを産生させる技術の開発に取り組む中で RHM2 が UDP-グルコースから UDP-ラムノースへと変換する酵素本体であることを明らかにした。RHM2 は、1つのタンパク質が UDP-グルコース 4,6-デヒドラターゼ活性、UDP-4-ケト-6-デオキシグルコース 3,5-エピメラーゼ活性および UDP-4-ケト-ラムノース 4-ケト-レダクターゼ活性の3つの酵素活性を持つという面白い特徴を有していた。本研究では、UDP-ラムノース合成酵素の機能を明らかにするだけでなく、貴重で手に入らなかった UDP-ラムノースを簡単に供することを可能にし、手に入れた UDP-ラムノースを用いて多くのラムノース転移酵素遺伝子が同定されている。

## 3. 植物に特徴的な O-結合型糖鎖合成酵素の発見

植物では、他の生物種には見られない3種類の O-結合型糖鎖がタンパク質に修飾されていることが知られている。これら

は、タンパク質中のヒドロキシプロリン残基にガラクトースを転移する酵素 (HGT)、アラビノフラノースを転移する酵素 (HPAT)、もう1つは、セリン残基にガラクトースを転移する酵素 (SGT) によって生合成される。これらの糖鎖は、近年、植物における多くの生理現象に関わっていることが明らかになりつつある。筆者は、これら植物特異的な O-結合型糖鎖の生合成を担う酵素の遺伝子を生化学的手法により同定することを目的とし、HGT と SGT の活性を *in vitro* において検出する手法を開発した。2010年には、HGT が UDP-ガラクトースを糖供与体とし、補因子として  $Mn^{2+}$  イオンを必要とする主に小胞体に局在する酵素であることを明らかにした。また、2014年には SGT をコードする遺伝子 (*sgt1*) を世界で初めてクローニングし、その酵素的性質や生理学的機能を明らかにした。シロイヌナズナの *sgt1* 破壊系統では、主根の伸長や子葉の拡大などの表現型が認められた。SGT1 は植物界に広く分布する新規な酵素であり新規な糖転移酵素ファミリー (GT96) として登録された。

**謝 辞** 本研究は、崇城大学生物生命学部応用微生物工学科応用微生物学講座、九州大学農学部発酵化学講座ならびに産業技術総合研究所糖鎖工学研究センター糖鎖生成チームにおいて行われたものです。学生時代に糸状菌の研究を行う機会を与えて頂き、研究することの面白さを教えて頂いた九州大学・別府大学名誉教授・古川謙介先生、ならびに学生時代から現在に至るまで、酵素や糸状菌の研究手法、研究に対する取り組み方、私生活に至るまで懇切丁寧にご指導頂きました佐賀大学教授・後藤正利先生に深甚なる感謝の意を表します。また、ポストク時代に最前線で研究することの面白さ、ポジティブな思考法、研究の楽しみ方を教えて頂いた産業技術総合研究所・地神芳文先生に衷心より感謝の意を表します。また、多くのご助言や激励を賜りました九州大学教授・竹川 薫先生に心より感謝申し上げます。崇城大学において常日頃から激励と暖かいご助言を頂きました崇城大学教授・野村善幸先生、崇城大学教授・太田一良先生、崇城大学准教授・浴野圭輔先生に心より御礼を申し上げます。共同研究者として多大なご助力を頂きました、九州大学教授・松岡 健先生、東北医科薬科大学教授・柴田信之先生、東北医科薬科大学助手・田中 大先生、千葉大学特任助教・萩原大祐先生、鹿児島大学准教授・二神泰基先生、産業技術研究所・新聞陽一博士、産業技術研究所・横尾岳彦博士、産業技術研究所・千葉靖典博士、産業技術研究所・仲山賢一博士、(株)糖鎖工学研究所・齋藤扶美恵さんに心から感謝申し上げます。本研究の成果は、崇城大学の応用微生物学研究室の卒業生・在学生およびすべての共同研究者の皆様のご協力、ご支援によるものであり、ここに深く感謝申し上げます。九州大学発酵化学研究室の多くの先輩、同期生、後輩および産業技術研究所糖鎖生成チームの高 曉冬博士、喜多島敏彦博士、藤田盛久博士、平山弘人博士、岡本美智代博士、梅村真理子博士に心から感謝致します。最後に、本奨励賞にご推薦下さいました崇城大学教授・山田耕路先生に厚く御礼申し上げます。



## 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



大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 甲 斐 建 次

### はじめに

細菌はフェロモン様の低分子化合物を細胞間コミュニケーション分子として利用し、菌密度に応じて遺伝子発現を調節する機構を有する。この機構は、議会の定足数を意味するクオラム (quorum) という単語を用いて、クオラムセンシング (quorum sensing, QS) 機構と呼ばれている。フェロモン様分子には様々な呼び名があるが、本講演要旨では「QS シグナル分子」を使うことにする。QS 機構は、細菌の運動性、バイオフィルム形成能、二次代謝産物 (抗生物質、毒素)・細胞外多糖・細胞外酵素の産生などを制御している。これらのプロセスは、細菌が宿主との寄生 (病原性)・共生といった密接な相互関係を築く上で必須である。つまり、より生物学的に高等な宿主へ挑むには、QS 機構を介した集団同調的な挙動が細菌にとって不可欠なのである。したがって、細菌の QS 機構を解明し、それを制御できるようになれば、細菌の寄生・共生現象を人為的に調節するという大きなブレークスルーの達成が見えてくる。そこで、グラム陰性細菌の QS 機構の解明と制御、ユニークな細胞内共生への関与という 3 つの項目について、以下のような生物有機化学的研究を進めた。

### 1. 糸状菌の菌糸内に共生する内生細菌とその QS 機構の発見

アシルホモセリンラクトン (AHL) を QS シグナル分子とした QS 機構は、グラム陰性細菌で最も一般的なものである。AHL-QS 機構を特異的に阻害する化合物は、新しい細菌病制御剤へと発展する可能性がある。そこで、土壌分離糸状菌の二次代謝物を探索源とし、AHL 受容体を介した AHL レポーター系の活性化を指標に、アゴニスト・アンタゴニストを探索した。土壌分離菌 2000 株のスクリーニングの結果、*Mortierella alpina* A-178 株として同定された菌株の培養物に強いアゴニスト活性が見出された。活性物質の単離・構造決定を行ったところ、C6 から C9 までのアシル鎖を有する AHL 類と新規類縁体 (*Z*)-*N*-(4-decenoyl)homoserine lactone が活性物質であることが分かった (図 1A)。この結果は、当初の研究目的とは合致しなかったが、*M. alpina* A-178 株の細胞内に内生細菌が共生している可能性が示唆された。それを検証するために、分子生物学的・組織学的な解析を行ったところ、*M. alpina* 細胞内に細菌が共生していることが示された (図 1B)。さらに、詳細に AHL

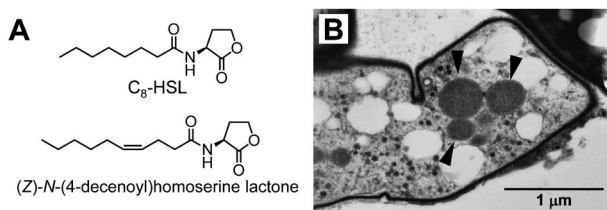


図 1. *M. alpina* 内生細菌が産生する AHL 類の代表的なもの (A) と *M. alpina* 菌糸中の内生細菌の TEM 観察 (B)。

類を定量したところ、AHL 類の合成が自己誘導され、培養後期に急激に増加する QS 特有の現象が確認された。これらの結果は、糸状菌と共生関係を確立する上で細菌の QS 機構が重要であることを示唆する世界初の知見である。内生細菌を除去した *M. alpina* では生育遅延が認められたことから、内生細菌は宿主にプラスの作用を及ぼしていることが強く示唆された。他の *Mortierella* 属糸状菌を中心とした接合菌類に広く内生細菌の存在が明らかになり、このような共生系は接合菌類では一般的なものである可能性が示唆された。

### 2. AHL 合成酵素のアフィニティー精製法の開発

AHL-QS 機構の研究を進める上で、AHL 合成酵素とその遺伝子の同定は重要である。酵素遺伝子が同定されれば AHL 合成系の欠損株が作製可能となるため、AHL-QS 機構の機能解析へと移ることができる。AHL 生合成反応の中間体である acyl-SAM (図 2A) を模倣した化合物をデザイン・化学合成した。その中から、AHL 合成酵素の競合阻害剤 ASI-1 を選抜し、それをリガンドとしたアフィニティー磁気ビーズを作製して、AHL 合成酵素のブルダウン精製法を確立した (図 2B)。いくつかの AHL 合成酵素に対して本法が有効であることを示し、AHL 合成酵素のリガンドベースのアフィニティー精製法を世界で初めて確立した。本法は、項目 1 の場合のように、宿主から細菌を取り出して培養することが難しい系に対しても適用できると予想された。

AHL 合成酵素の発現量が非常に少ないグラム陰性細菌から AHL 合成酵素をアフィニティー精製するには、さらなるビーズの性能向上が必要であった。そこで、ASI-1 と磁気ビーズとの間にポリエチレングリコール (PEG) をスペーサーとして導入して、AHL 合成酵素に対する収量と特異性をさらに向上さ

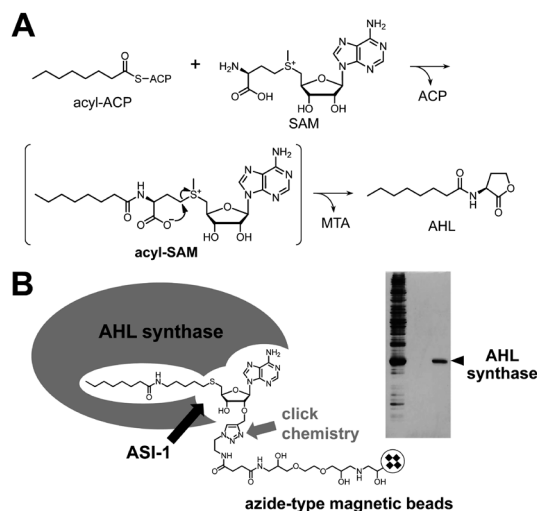


図 2. AHL 生合成の反応機構 (A) と阻害剤 ASI-1 を結合した AHL 合成酵素精製のアフィニティービーズ (B)。



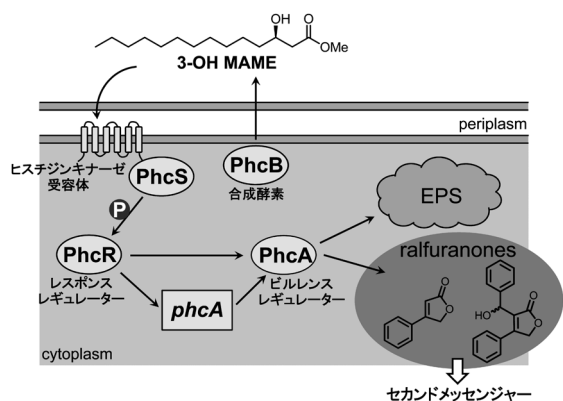


図3. 青枯病菌における階層的な細胞間コミュニケーション機構。3-OH MAME をシグナル分子とする QS 機構と、ralfuranone 類をセカンドメッセンジャーとする機構の協調により、病原性が精巧に制御されている。

せた改良型アフィニティー磁気ビーズを作製した。現在、糸状菌内生細菌の QS 機構解明に向けて、本アフィニティービーズを使い、AHL 合成酵素の同定を進めている。

### 3. 植物病原細菌 *Ralstonia solanacearum* における階層的な細胞間コミュニケーション機構の解明

青枯病菌 *R. solanacearum* はナス科を中心に 200 以上の植物種に感染し、萎凋・枯死を引き起こす病原細菌である。その被害は世界各地で発生しており、経済的損失は数千億円と言われている。また恐ろしいことに、毎年新しい宿主特性を持つ菌株が報告されている。本菌の防除法を開発するには、感染・病原性発現機構の解明が必須となる。青枯病菌は、他のグラム陰性細菌とは異なる独自の QS 機構を有し、病原性を完全にその機構に依存している。しかし、重要な QS シグナル分子が未解明なままであった。QS シグナル推定合成酵素 PhcB の遺伝子を欠損させた  $\Delta phcB$  株を用い、細胞外多糖 (EPS) 産生を指標としたバイオアッセイ法を確立した。野生株培養物を酢酸エチルで抽出し、得られた抽出物からバイオアッセイを指標に精製を進め QS シグナル分子を単離した。各種分析により、その構造を (*R*)-methyl 3-hydroxymyristate (3-OH MAME) と同定した (図3)。各種欠損株を用いた解析により、3-OH MAME の生合成・受容に関わる生化学因子 (PhcB と PhcS) の推定も達成した。

$\Delta phcA$  (*phcA* 欠損株) と野生株との二次代謝プロファイルと比較すると、QS 欠損により消失する HPLC ピークが存在した。それらを単離・構造決定し、新規フラノン化合物である ralfuranone 類を同定した (図3)。構造確定と生理機能を調べる実験のため、ralfuranone 類の全合成法を完成させた。Ralfuranone 合成酵素遺伝子を欠損させた  $\Delta ralA$  株は、トマトに対する病原力が大きく低下した。しかし、ralfuranone 類自体には植物毒素としての活性はなかった。さらに、 $\Delta ralA$  株はバイオフィーム形成能などの病原性に直接関わる特性が大きく低下し、ralfuranone 処理で回復した。Ralfuranone 類の産生は、前述の 3-OH MAME をシグナル分子とした QS 機構の制御下にある。したがって、ralfuranone 類は QS 機構のセカンドメッセンジャーとして機能している可能性が示唆された。二次代謝産物がセカンドメッセンジャーとして機能するという例は稀であり、その受容・シグナル伝達機構に興味が持たれる。

さらに、ralfuranone 類の生合成が酵素反応と非酵素反応の組み合わせで成り立っていることを、変異株を用いた前駆体の

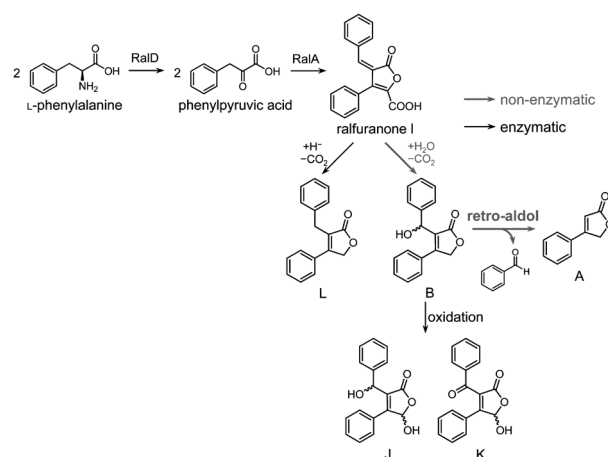


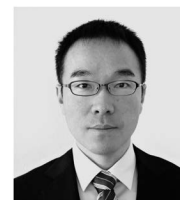
図4. Ralfuranone 類の生合成経路。酵素と非酵素反応が関与する。

取込み実験から明らかにした (図4)。細胞間シグナル分子のように重要な生理活性物質において、非酵素反応がキーステップであることは大変興味深いものである。また、天然フラノン類が非酵素的な retro-aldol 反応で生じることは世界初の発見であった。

### おわりに

細菌は互いに QS シグナル分子という「声」を掛け合って、宿主という「強敵」に挑んでいるように見えてくる (共生宿主の場合でも、強敵だと思う)。その後の細やかな指令は、ralfuranone 類のようなものが担っているであろう。ご存知の方も多いと思われるが、細菌は多数の二成分情報伝達系を持っている。しかしながら、多くの場合、それらのナチュラルリガンドは不明である。環境因子を認識するものが大半であると予想されているが、未知の細胞間シグナル分子の受容システムがまだ多く存在しているはずである。そのような分子に出会えるような研究を、今後も進めていきたい。また、そのような研究を通して得た知見を基に、病原細菌の新しい防除技術の開発に繋がるような展開も取り組みたいと考えている。

**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生理活性物質化学研究グループで行われたものです。自由に研究を進める機会を与えて頂き、終始ご指導ご鞭撻を賜りました大阪府立大学名誉教授林 英雄先生に深く感謝いたします。私が研究者人生をスタートした時の指導教員であり、同研究グループの主宰教授である秋山康紀先生に厚く御礼を申し上げます。高知大学農林海洋科学部教授の曳地康史先生には、青枯病菌の研究で多大なるご助力を頂きました。また、ここに示した成果は、生理活性物質化学研究グループの学生達との共同研究であります。同じ目標に向かって、日々の研究に取り組んでくれた彼ら・彼女らに感謝いたします。府立大学着任後も、色々な面で支えて頂いた京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生物調節化学研究室の宮川 恒教授、中川 好秋准教授、宮下正弘准教授には感謝の念でいっぱいです。静岡大学名誉教授の渡辺修治先生には、学位取得後に研究する場を与えて頂いたこと大変感謝しております。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安達修二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。



山口大学大学院創成科学研究科 肥 塚 崇 男

## 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

## はじめに

現存の生物種は進化上極めてわずかな成功例であり、植物はさまざまな外的環境に適応するため巧妙な仕組みを発達させてきた。その一つが情報化学物質や自己防御物質として機能する「香気成分」を生産する能力である。しかし、植物がいつ頃から、どのようにして多様な香気成分を生成するようになったのかを明らかにした事例は少ない。筆者は、ほぼすべての種子植物が生産する「脂肪族香気成分」ならびに構造多様性の高い「芳香族香気成分」を研究対象として、化学構造を規定する生合成酵素の機能解析に取組み、脂肪族、芳香族香気成分の生合成酵素の機能進化と反応制御機構の全容解明を目指して研究を進めた。以下に各研究成果の概略を記す。

## 1. 脂肪酸に由来する香気成分の生合成研究

膜脂質から酸化的に代謝されて生成される脂肪族化合物は、動物細胞では炎症や免疫を制御し、植物では生体防御応答や生育制御を駆動する脂質メディエーターとして知られている。その中でも、炭素数6の短鎖アルデヒドや15~17の長鎖アルデヒドは、それぞれ「みどりの香り」や「磯の香り」と呼ばれ、植物界に広く分布している。短鎖アルデヒドは、脂肪酸がリポキシゲナーゼ (LOX) で酸素添加され、脂肪酸ヒドロペルオキシドとなり、このヒドロペルオキシドがシトクロム P450 (CYP74) ファミリーに属する脂肪酸ヒドロペルオキシドリナーゼ (HPL) により開裂することで生合成される (図1)。このような生合成系を植物が進化の過程でいつ獲得したのか定かではなかった。筆者は、in silico によるゲノム解析ならびに酵素活性に基づく生化学的解析から、LOX がラン藻を含めた藻類にも存在することを世界で初めて証明した。一方、車軸藻類のクレブソルミディウムや苔類のゼニゴケで HPL ホモログが見つかるものの、短鎖アルデヒド生成活性はなく、その HPL ホモログは植物ホルモンのジャスモン酸前駆体生成能を示すことを明らかにした。蘚類ヒメツリガネゴケでの HPL 活性の報告と合わせると、生物進化の過程で植物は最初にジャスモン酸を生成する能力を獲得し、陸上進出した後、蘚類以降に、植食性昆虫などへの適

応として、短鎖アルデヒドを作り出すために CYP74 ファミリーの酵素機能、代謝系を進化させたことが考えられた (図2)。他方、イネから単離した長鎖アルデヒド生成に関わる  $\alpha$ -ジオキシゲナーゼ (DOX) が、ジャスモン酸を介したストレス応答で誘導されること、DOX の構造が哺乳動物のプロスタグランジン H 合成酵素 (PGHS) と類似するものの、脂肪酸への酸素添加の位置特異性やペルオキシゲナーゼ活性に違いが見られるなど独自の触媒機構を持つことを世界で初めて明らかにした。これら一連の研究は、植物が進化の過程でどのように香気成分生合成能力を獲得したかを分子レベルで実証したものであり、植物香気成分研究に先駆的な研究動向をもたらした。

## 2. 芳香族香気成分の生合成研究

芳香族香気成分として知られる揮発性フェニルプロパノイド類は、ベンゼン環 (C6) に直鎖状プロペン (C3) が結合した C6-C3 を基本骨格とし、C3 側鎖の立体構造、ベンゼン環 (C6) 構造に多様性が見られる (図3)。これら揮発性フェニルプロパノイド類を含む香辛植物は、シルクロードにより東西貿易が盛んになった時代から、防腐剤や香辛料として使われてきたが、その生合成経路はいくつかの中間体の構造を除いて未解明であった。そこで、筆者は以下の二点から生合成研究を進めてきた。

第一に、香気成分が器官特異的に生合成、蓄積されるという特徴に着目し、バジルのトライコームおよびペチュニア花卉から EST データベースを構築し、揮発性フェニルプロパノイド類のアリル型、イソ型骨格の形成を制御するオイゲノール/イソオイゲノール合成酵素 (EGS/IGS) を単離することに成功した。さらに、基質類縁体を用いた X 線結晶構造解析による構造生物学的アプローチから酵素活性中心を明らかにし、キノンメ

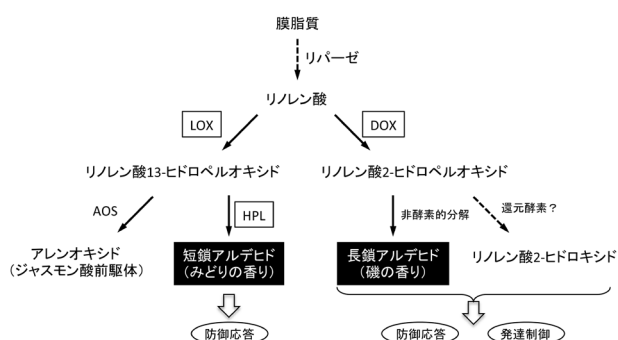


図1 脂肪酸に由来する香気成分の生合成経路

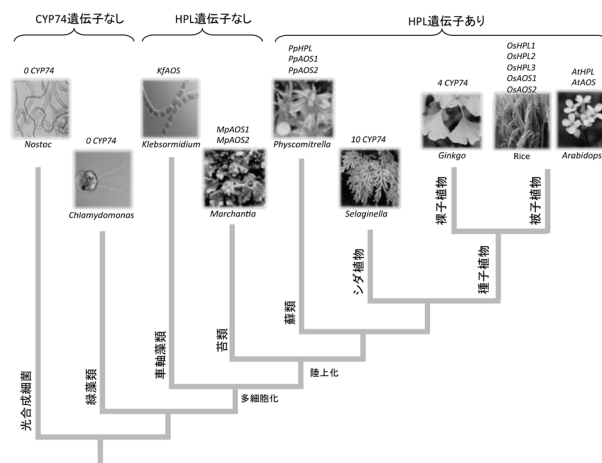


図2 CYP74 ファミリーと植物進化  
CYP74 ファミリーは脂肪酸ヒドロペルオキシドを基質とする一連の HPL やアレノキシド合成酵素 (AOS) から成る。

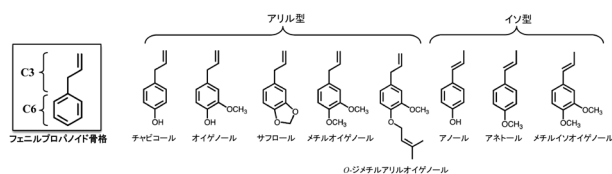


図3 揮発性フェニルプロパノイド類の化学構造多様性

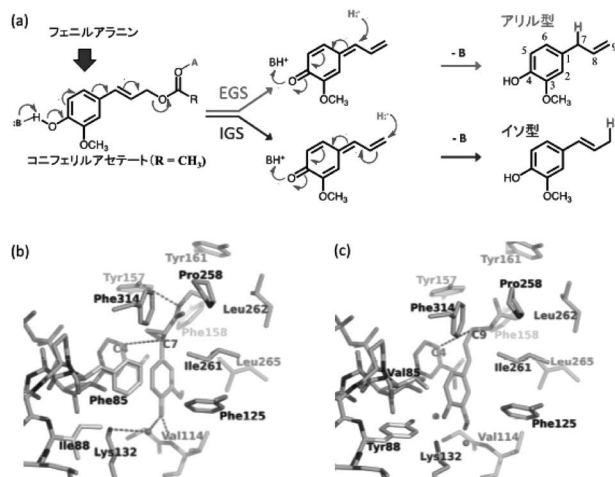


図4 揮発性フェニルプロパノイド生合成酵素EGS/IGSの推定反応機構

a: NADPH依存型還元酵素であるEGS/IGSによるキノンメチド中間体を介した反応機構。b: バジル由来EGSの結晶構造。c: 活性中心に位置する2つのアミノ酸残基 (Phe85, Tyr88) に部位特異的変異を入れたバジル由来EGSの結晶構造。

チド中間体を介する反応機構を実証した(図4)。この発見を皮切りに、さまざまな植物種から本酵素遺伝子を同定し、わずか数アミノ酸残基によって活性中心における基質のポジショニングが変わり、生成物特異性が決定されることを明らかにした。さらに、イソオイゲノールが生成されない香り成分変種のペチュニア野生種では、IGSに変異が入り不活性であることを証明した。この結果は、自然界において1つの生合成遺伝子の変異が香り成分の多様性に影響を与えることを分子レベルで示した世界で初めての例であり、環境適応の結果生じた二次代謝産物のナチュラバリエーションを理解するのに大きな影響を与えた。また、ラズベリーやビワから芳香族香り成分の側鎖構造の多様性に関わる還元酵素やメチル化酵素についても解析し、受粉媒介者の誘引に重要な香り成分が果実や花芽の成熟に伴い増加し、生合成遺伝子の発現レベルで緻密に調整されていることを明らかにした。

第二に、ベンゼン環官能基の修飾反応を触媒する酵素の解析を行った。一般的に芳香族香り成分のフェノール性水酸基がメチル化されると、揮発性が増すだけでなく鋭い刺激的な香りからフレッシュなハーブ臭へ変化することが知られている。筆者は配列情報をもとにしたトランスクリプトーム解析から、芳香族香り成分の生成に関わるO-メチル化酵素をクラーキアやアニスなどから単離し、それぞれのO-メチル化酵素が基質の側

鎖構造の違いを識別することを明らかにした。このような異なる基質特異性をもつO-メチル化酵素が、それぞれの植物種ごとに存在し、器官特異的に発現することで各植物種における独自の香り特性に寄与していることが考えられた。一方で、ベンゼン環の化学修飾は香り特性だけでなく、抗菌活性や防虫活性にも貢献しており、フェノール性水酸基のプレニル化が生理活性に重要であることを初めて示した。筆者はこれらプレニル化反応の研究を進展させ、複数の非揮発性芳香族化合物のプレニル化酵素の単離、解析も行った。さらに、現在までに同定した生合成酵素遺伝子を利用し、香料や医薬品原料として有用なプレニル化フラボノイドやオイゲノールを作り出す組換え植物の作出にも成功した。

おわりに

本研究から、植物の適応進化の一つである香り成分の多様性を制御する分子機構について、多くの基礎的知見が得られた。香り成分は、植物-動物-微生物相互作用を司るシグナル物質としての生態学的機能を果たしているほか、ヒトに対してリラックス効果を与えるなど医療分野や食品フレーバーとしての利用などにも関連することから、その生合成研究に基づいた物質生産系の構築にも期待が高まっている。今後は植物のもつ代謝力を最大限に活用した物質生産を目指し、香り成分の研究を進めることで、基礎から応用につながる農芸化学研究の発展に貢献していきたい。

**謝 辞** 本研究は山口大学大学院農学研究科、鳥取大学大学院連合農学研究科、米国University of Michigan, Eran Pichersky Laboratory, 京大大学生存圏研究所、京都大学化学研究所、ならびに山口大学大学院創成科学研究科で行われたものです。本研究を行う機会を与えてくださり、学生時代から現在に至るまで、日頃より温かいご指導ご鞭撻を賜りました山口大学教授・松井健二先生に衷心より感謝いたします。また学生時代において温かいご指導、多くの有意義なご助言を賜りました梶原忠彦先生(山口大学名誉教授)、赤壁善彦先生(山口大学教授)に感謝いたします。芳香族香り成分の生合成研究の機会を与えていただき、4年の留学期間中、公私にわたって惜しみないご指導を賜りましたEran Pichersky教授に厚く御礼申し上げます。また、ポストドク時代よりご指導いただいております矢崎一史先生(京都大学教授)に深く感謝いたします。本研究を進展させるにあたって常に温かいご支援をいただきました故・平竹潤先生(京都大学教授)、渡辺文太先生(京都大学助教)に厚く御礼申し上げます。さらに、本研究を遂行する上でご協力いただきましたすべての共同研究者の皆様へ心より感謝いたします。また本研究は、これまでに共に研究を行ってきた研究室のメンバーのご協力によって成り立っており、この場を借りて深く感謝申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦いただきました日本農芸化学会中四国支部長の大西浩平先生ならびにご支援賜りました日本農芸化学会中四国支部幹事の稲垣賢二先生に厚く御礼申し上げます。





筑波大学生命環境系 竹下典男

## 糸状菌の先端生長における極性制御機構の解析

## はじめに

糸状菌の細胞は、極性を菌糸の先端に維持することで先端生長を行うことから、細胞極性と形態形成に関わる基礎研究の材料として適している(図1A)。また、糸状菌の動植物に対する病原性やその高い酵素分泌能は菌糸状の形態と密接に関連していることから、糸状菌の菌糸状の形態を支える先端成長の機構を理解することは、糸状菌に関わる動植物への病害防除、醸造・発酵、抗生物質・有用酵素生産などの農芸化学分野の諸産業に大きく貢献するものである(図1B)。

私は、糸状菌のモデル生物である *Aspergillus nidulans* を用いて菌糸の先端生長に関わる因子を多面的に解析することによって、細胞極性制御の分子機構の解明に取り組んだ。その結果、極性マーカータンパク質を独自に見出すことに成功するとともに、それを中心とした細胞骨格と膜輸送の協調的かつ動的な制御に基づく新たな先端生長のモデルを提唱した。これは、糸状菌がどのようにして伸びる(先端生長する)のかという生物学の長年の疑問に明確な回答を与えるものである。これらの研究成果は、以下の様にまとめられる。

## 1. 極性マーカータンパク質の発見とその機構解明

菌糸の先端生長のために必要な膜やタンパク質は、菌糸先端への分泌小胞の輸送とエキソサイトーシスによって、菌糸先端に供給される(図1C)。微小管は、菌糸後方から先端に向かう長距離の膜輸送に利用され、アクチンケーブルは菌糸先端でのエキソサイトーシスに関わる(1, 2)。

私は、細胞極性の決定に関わる極性マーカータンパク質(TeaA, TeaR)とそれらによる極性制御機構を発見した(図2A)。TeaAは、微小管の伸長により菌糸先端へ輸送され、微小管が菌糸先端に到達すると、TeaAは形質膜に局在するTeaR(膜結合性のTeaA receptor)との結合を介して、相互依存的に菌糸先端に局在化する(3)。菌糸先端のTeaAは、間接的にアクチンケーブルを重合するフォーミンの局在を制御する。そのため、これら極性マーカーの遺伝子破壊株では、結果的にエキソサイトーシス部位が正常に制御されなくなり、菌糸

が曲がって生長する(図2B)。この発見は、糸状菌が真っ直ぐに伸長する微小管を利用して位置情報を菌糸先端に伝達し、菌糸の伸長方向を制御するという、菌糸先端生長における極性維持機構の初めての発見となった(4)。

## 2. 極性マーカーの集中的局在のための微小管重合制御

菌糸先端には、分泌小胞が高密度に集積したSpitzenkörperと呼ばれる糸状菌特有の構造が見られ、糸状菌の高分泌能に関与する(図2C)。極性マーカーの菌糸先端での集中した局在化がSpitzenkörperの形成に重要であることを示した。さらに、菌糸先端のTeaAが微小管の重合化酵素AlpAの重合化活性を制御することで、微小管を極性部位に収束させる機構を発見した(図2D)(5)。このTeaAと微小管の相互依存的な関係が、Spitzenkörperの形成と極性マーカーの集中した局在化に必要である(1)。この発見は、糸状菌の特徴的な強い極性を生み出す機構の理解のための基礎的知見として重要である。

## 3. 超解像顕微鏡による極性マーカーの動態解明

糸状菌の高分泌能は、菌糸先端での活発なエキソサイトーシスに依存する。エキソサイトーシスによって菌糸先端の形質膜に新たな膜が大量に供給されるにもかかわらず、膜結合性の極性マーカーTeaRが拡散せずに極性部位に維持される機構を、超解像顕微鏡を用いた解析で見出した(図3A)(6)。その結果、TeaRの一時的な集合(120 nm)と拡散が観察され、微小管に依存した極性部位の形成と、アクチンケーブルに依存したエキソサイトーシスが交互に繰り返して起こることによって、極性マーカーが菌糸先端に維持される機構を発見した(図3B)(2)。この機構の妥当性はシミュレーション解析においても確認された(6)。この成果は、協調的かつ段階的な動的モデルを利用することによって先端生長の極性制御機構を初めて解明したものである。最近、 $\text{Ca}^{2+}$ の一時的な細胞内への流入がアクチンの重合とエキソサイトーシスのタイミングを調整することで、この制御に関わることも示している。このような協調的制御による細胞生長のゆらぎとも言える現象は、生物界に普遍的であることを期待させるものである。

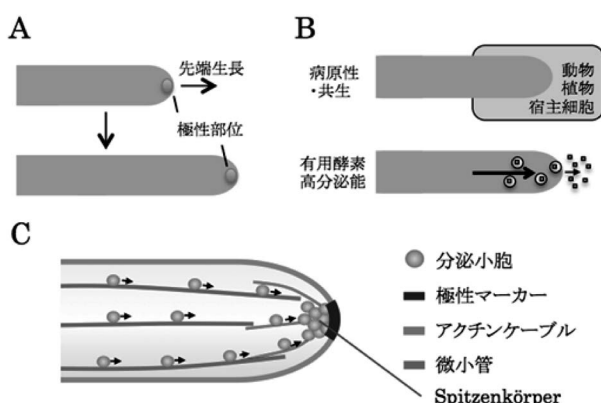


図1 (A) 糸状菌の菌糸の先端生長 (B) 糸状菌の菌糸形態の重要性 (C) 菌糸の先端生長の機構

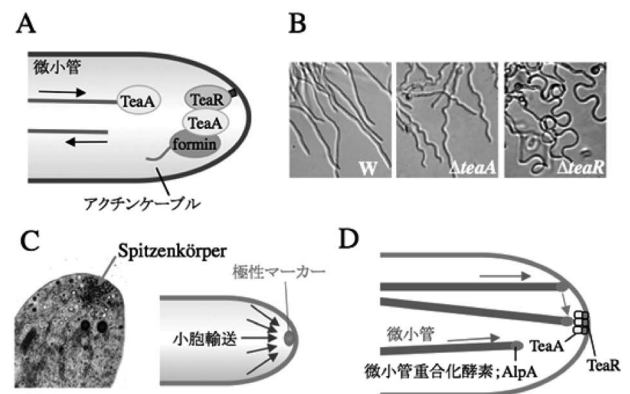


図2 (A) 極性マーカー (TeaA, TeaR) の機能 (B) 極性マーカーの遺伝子破壊株 (C) Spitzenkörper と極性マーカーの集中した局在化 (D) 微小管の収束のための重合化制御

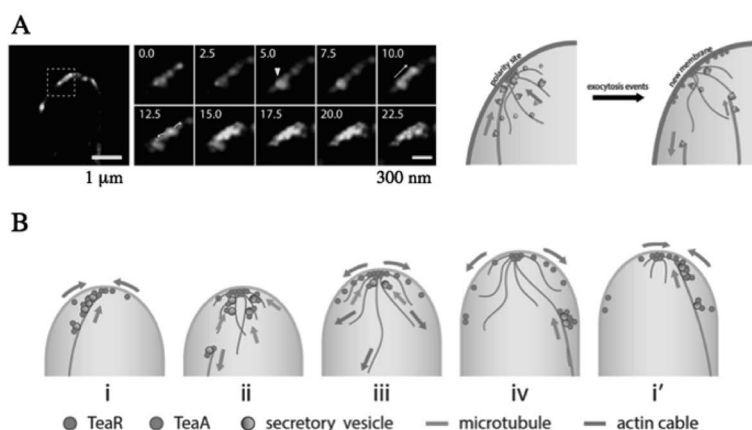


図3 (A) 超解像顕微鏡による極性マーカー TeaR の動態 (B) 一時的な極性の確立を繰り返すことで極性を維持するモデル (Transient polarity assembly model)

#### 4. アクチンケーブルと微小管の相互作用

糸状菌の菌糸先端で合成されるアクチンケーブルの動態を初めて可視化することに成功し、重合速度や重合制御などを解析した (7)。超解像顕微鏡を含むイメージングで、微小管とアクチンケーブルの相互作用と協調的な重合・脱重合制御機構を明らかにした (図4A)。さらに、微小管プラス端がミオシン-Vにより輸送され、アクチンケーブル上を微小管がガイドされることで極性部位に到達する機構を明らかにした (図4B) (8)。このような微小管とアクチンケーブルの関係は、先のモデル (図3B) を補完し支持するものとなった。

おわりに

糸状菌の先端生長の研究によって、菌糸の伸長方向を制御するための極性の維持機構と高分泌能のための極性マーカーの集中した局在化機構が明らかとなった。ここでは紹介できなかったものも含め、細胞極性・細胞骨格・膜輸送・膜ドメイン等の多面的な制御系が、協調的かつ段階的に進行することで、先端生長を動的なモデルとして理解できるようになった。これは、糸状菌の先端生長がどのようにしてなされるかという基礎・応用研究にも重要な影響を与える疑問に明確に答えるものである。この過程で、超解像顕微鏡を含む最先端イメージング技術を初めて糸状菌に応用した。私は、現在、筑波大学で超解像顕微鏡による微生物観察技術を継続・発展させている。これらの研究成果は、動物の神経細胞や植物の花粉管などを含む細胞一般の極性生長の理解にも貢献し、再生医療を視野に入れた細胞・組織工学にも応用可能である。さらに、得られた成果は、糸状菌が関わる醸造・発酵、抗生物質・有用酵素生産、医薬・農薬開発、生態系の維持など、農芸化学分野の研究開発や産業への応用にも大きく貢献すると期待される。

**謝 辞** 本研究は、ドイツのカールスルーエ工科大学 微生物学専攻にて行われたものです。本研究に携わる機会を与えて頂き、ご指導を賜りました同大学 Reinhard Fischer 教授に心から感謝申し上げます。超解像顕微鏡による共同研究に携わる機会を頂き、ご指導を賜りました同大学物理学の Ulrich Nienhaus 教授に感謝申し上げます。学生の頃から今日に至るまで、親身にご指導ご鞭撻を賜りました、東京大学応用生命工学専攻細胞遺伝学研究室 太田明徳 教授 (現・中部大学副学長)、堀内裕之 教授、福田良一 助教に深く感謝申し上げます。特に、堀内裕之 教授には、留学後も温かいお言葉とご助言を頂戴しました。また共同研究者として、貴重なご意見・ご助言をいただき、本奨励賞にご推薦下さりました。厚く御礼申し上げます。

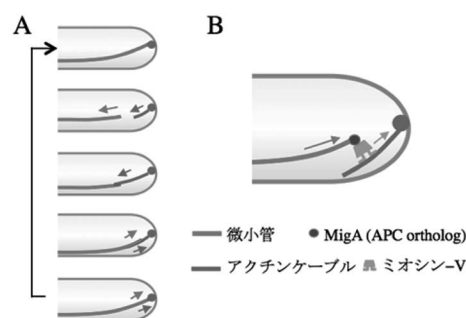


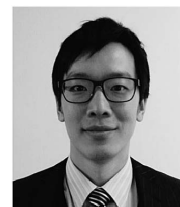
図4 (A) 微小管とアクチンケーブルの協調的重合制御 (B) 微小管プラス端のミオシンによるアクチンケーブルに沿ったガイド機構

げます。筑波大学にて本研究を継続・発展させる機会を与えるべくご尽力頂き、日頃より温かいお言葉とご指導を頂いている同大学生命環境系 高谷直樹 教授に深く感謝申し上げます。ERATO 野村集団微生物制御プロジェクトでグループリーダーとして研究を行う機会を与えて頂き、貴重なご意見・ご助言を頂いている同大学生命環境系 野村暢彦 教授に深く感謝申し上げます。お名前を挙げ尽くせませんが、本研究にご尽力頂きましたカールスルーエ工科大学微生物学専攻の修了生、在学生の方々、共同研究者の方々に深く感謝申し上げます。

#### (引用文献)

- 1) Takeshita N, Manck R, Grün N, Herrero S, Fischer R. Curr. Opin. Microbiol. 20C, 34–41 (2014)
- 2) Takeshita N. Biosci. Biotechnol. Biochem. 80, 1693–1699 (2016)
- 3) Takeshita N, Higashitsuji Y, Konzack S, Fischer R. Mol. Biol. Cell 19, 339–351 (2008)
- 4) Fischer R, Zekert N, Takeshita N. Mol. Microbiol. 68, 813–826 (2008)
- 5) Takeshita N, Mania D, Herrero de Vega S, Ishitsuka Y, Nienhaus GU, Podolski M, Howard J, Fischer R. J. Cell Sci. 126, 5400–11 (2013)
- 6) Ishitsuka Y, Savage N, Li Y, Bergs A, Grün N, Kohler D, Donnelly R, Nienhaus GU, Fischer R, Takeshita N. Science Advances 1, e1500947 (2015)
- 7) Bergs A, Ishitsuka Y, Evangelinos M, Nienhaus GU, Takeshita N. Frontiers in Microbiology 7, e682 (2016)
- 8) Manck R, Ishitsuka Y, Herrero S, Takeshita N, Nienhaus GU, Fischer R. J. Cell Sci. 128, 3569–82 (2015)

## 菌類が産生する機能性物質に関する研究



静岡大学学術院農学領域 崔 宰 熏

## はじめに

菌類とは、一般にキノコ・カビ・酵母と呼ばれる生物の総称であり、菌界に属する生物を指す。外部の有機物を利用する従属栄養生物である。その中のキノコを対象とした小分子である機能性物質や薬理活性物質の天然物化学的研究は他の生物種のそれに比較して多いとは言えない。筆者らは菌類（主にキノコ）が産生する植物成長調節物、小胞体ストレス誘導神経細胞死抑制物質、破骨細胞形成阻害物質について現在至るまで研究してきた。以下に研究成果の概要を紹介する。

## 1. 植物成長調節物質

## 1-1. フェアリー化合物

本研究に関する最新の成果はNature誌（505巻298頁2014年）やアメリカ化学会Chemical & Engineering News（92（4）2014年1月27日発行）などに紹介されている。それらの内容と現在研究している内容を紹介する。

芝が大きな曲線を描いて周りに比較して色濃く繁茂し、時には成長が抑制され、後にキノコが発生するフェアリーリングという現象が知られている。「妖精が輪を作ってその中で踊る」と伝えられてきたこの現象について、最初の科学論文が報告されたのは1675年のことである。この論文がNature誌（29巻384頁1884年）に紹介されて以降330年間、妖精の正体（芝を繁茂させる原因）は謎のままであったが、筆者らが微生物と植物が織りなすこの神秘的謎に初めて化学のメスを入れ、遂にその妖精の正体を明らかにした。実際に静岡大学キャンパスでコムラサキシメジ（*Lepista sordida*）によるフェアリーリングが現れたことから、その菌類を用い研究開始のきっかけになった。筆者らは、フェアリーリングを惹起するコムラサキシメジ培養液から、シバ生長促進物質2-アザヒポキサンチン（2-azahypoxanthine, AHX）とシバ成長抑制物質イミダゾール-4-カルボキシアミド（imidazole-4-carboxamide, ICA）の単離、同定に成功した（図1）。両化合物が天然から見出されたのは初めてである。さらにAHXは植物体内で2-アザ-8-オキシヒポキサンチン（2-aza-8-oxohypoxanthine, AOH）に代謝されることを見出した。これら3つ化合物を、Nature誌がこの研究を紹介した記事の見出し“fairy chemicals”から“フェアリー化合物（FCs）”と命名した。イネやコムギなど調べた全ての植物の成長をその属する科に関わらず調節し、植物に普遍的に内生していることを明らかにした。さらに、イネのcDNAマイクロアレイやRT-PCRの検討によって、FCsは既知の植物ホルモンとは全く異なる挙動を示すこと、GST、BBI、OsTIP2;1の発現量が大きく増大された。GSTは、植物を解毒、ストレス（低温、塩など）から保護する働きをし、BBIは病原菌への抵抗性を付与及び塩ストレスからの保護に関わっている。GST遺伝子を導入したイネは低温や塩ストレスに耐性ができたという報告もある。この遺伝子導入イネに関する文献同様の方法でイネの成長

に対するAHXの効果を試してみたところ、AHX処理によってイネは、GST遺伝子導入イネと同様に、低温や塩ストレス下での成長が回復した。また、TIP2;1はアンモニア／アンモニウムイオンの輸送に関与している。それらの遺伝子発現促進により、温度や塩など非生物的ストレスに対する耐性をイネに与えること、そしてアンモニア態窒素と全窒素のイネへの吸収を大幅に高めて成長を促進することを明らかにした。FCsは5-aminoimidazole-4-carboxamide（AICA）から化学的に合成される。AICAはあらゆる生物に存在しているが、その化合物の代謝については全く不明であったため、筆者らは、化学合成経路と同じくAICAがAHXに代謝される生合成経路が植物に存在すると仮定して研究を行い、新規プリン代謝経路を発見した（図1）。さらに筆者ら、図1のようにAICAリボチド（AICAR）からAHXリボチド（AHXR）とAOHリボチド（AOHR）を経てAHXとAOHに代謝される可能性も考えた。APRTに類似した反応を触媒する酵素として、hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase（HGPRT）が知られており、ホスホリボースの付加・脱離反応によってhypoxanthine（HX）とIMPおよびguanineとGMPの可逆的な相互変換反応を触媒している。HGPRTを大腸菌に形質転換し、HXとIMPの可逆的な変換活性を持つタンパク質が得られ、その酵素でAHXとAOHが触媒することが明らかになった。またFCsを処理したイネに新たな代謝産物が産生することが明らかになり、それらの代謝産物の精製と構造決定に成功した。フェアリー化合物の生合成経路は未だ不明な点が多い、AHXとICAが最初に得られ、培養が容易で条件検討等が行いやすいコムラサキシメジを用いて実験を進めている。L. sordidaにおけるAHX及びICAの生合成にL-Argが関与していること、nitric oxide synthase

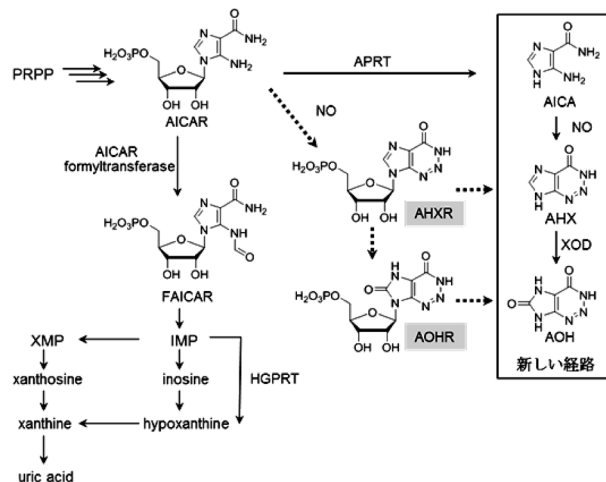


図1 既知プリン代謝経路と新規フェアリー化合物生合成・代謝経路（灰色は推定生合成前駆体、破線は推定経路、枠内はこれまでに同定した新経路）







東京大学大学院農学生命科学研究科 成 川 真 隆

## 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

## はじめに

食品の働きは栄養面での一次機能、味や匂いなど嗜好面での二次機能、そして生体調節による疾病予防の面での三次機能に類型化される。生活習慣病の顕在化を背景とし、食品機能学が提唱され、三次機能を強化した機能性食品の確立に繋がった。機能性食品は広く一般に受け入れられ、その市場規模は年々増加している。今後、機能性食品が消費者にさらに受け入れられるためには、二次機能も重視した嗜好性の高い製品であることが不可欠であろう。一方、味や匂いなどの嗜好性シグナルそのものが、生体生理と密接に関わっていることが示唆されている。よって、機能性成分の二次機能もその科学的効果を論じる上で極めて重要であると考えられる。しかし、機能性食品成分の呈味特性に関する評価はこれまでほとんど行われていなかった。

近年、食品の味の受容機構に関して、味覚受容体やシグナル伝達分子の同定が進み、多くの知見が集積してきた。しかし、その詳細な機構については未だ不明な点が残されている。嗜好性の高い食品を提案する上でも味の受容機構の解明は欠くことができないと考えられる。

本研究では機能性食品、あるいはそれが発する生体シグナルについての新たなコンセプトの発信を目指し、機能性食品成分の呈味特性の解析を試みた。同時に味の受容機構についても解析を行った。

## 1. 機能性食品成分を受容する味覚受容体の同定

これまでに穀物、野菜や果物など様々な食品から機能性成分が同定されている。機能性成分は多くの生理活性を有することから、積極的な摂取が推奨されている。しかし、機能性成分は不快な味を呈することが多く、食品の呈味を低下させる原因となる。したがって、機能性成分の味をコントロールすることが、機能性食品の味を向上するために重要になる。しかし、その味がどのように生じているのかほとんど明らかではなかった。食物の味は味覚受容体を介して生じることから、味覚受容体に注目し、研究を行った。

緑茶は代表的な嗜好性飲料であり、カテキン類やテアニンなどの特有な成分が含まれている。近年、緑茶の健康増進効果や疾病リスク低減効果が報告されているが、その機能のほとんどはこれら成分に由来すると考えられている。機能性成分の呈味特性を解析する上で、茶は有効なモデルになると考え、カテキンとテアニンを受容する味覚受容体の同定を試みた。

カテキンは強い抗酸化能を有し、様々な機能性を発揮するが、苦渋味を呈するため、茶の嗜好性を低下させる原因となる。したがって、カテキンの味を制御することは産業的にも大きな関心が寄せられている。そこで、ヒト苦味受容体 (hTAS2Rs) を発現させた培養細胞を用いて、カテキンに応答する苦味受容体の同定を試みた。25種類存在する苦味受容体を用いて濃度応答関係を評価した結果、hTAS2R14 と hTAS2R39 がカテキンに

対して応答を示すことが分かった。これら受容体のうち、hTAS2R39 の応答プロファイルがヒト官能評価の結果とよく一致したことから、客観的なカテキンの味評価系として、hTAS2R39 発現細胞系が有用だと考えられた (図1)。

一方、テアニンは茶で最も豊富に含まれるアミノ酸であり、茶やその近縁種にしか存在しないことから、茶の独特の風味に寄与すると考えられる。官能評価と実験動物を用いた行動学的及び神経生理学的解析を行った結果、テアニンが旨味を中心とした味を呈し、かつ核酸との間で旨味の相乗効果を示すことがわかった。そこで、旨味受容体 (T1R1+T1R3) を用いて、テアニン応答を測定した。その結果、テアニンが T1R1+T1R3 を活性化すること、さらに、受容体レベルにおいても核酸との間で相乗応答を示すことを明らかにした。このように、茶の主要な機能性成分であるカテキンとテアニンを受容する味覚受容体を同定することに成功した。このような成果は味のバランスをコントロールする上で重要になると考えられる。

## 2. 味シグナルを中枢へ伝える伝達機構

食品の味はその価値を決定づける主要な因子であることから、味受容機構の解明は食品を対象とする研究において重要な課題となる。動物が食物の味を正確に感じることができるのは、末梢から中枢へ高度に保持された味情報伝達機構が存在するためである。中枢では末梢からの情報の統合が行われる一方で、味の識別は末梢で行われている。そこで、末梢における味情報伝達に着目し、解析を行った。

酢酸などの有機酸は抗肥満や疲労回復などの効果が知られている機能性素材である。これら有機酸は酸味を呈するが、その酸味シグナルがどのように中枢に伝達されるのか明らかではなかった。4種類存在する味細胞のうち、III型味細胞が酸味を主に受容すると考えられている。味覚神経はIII型味細胞とシナプスを形成するが、他の味細胞とは形成していない。そのため、III型味細胞がシナプスを介して味情報伝達を行うと考えられているが、その詳細には不明な点が多く残されている。こ

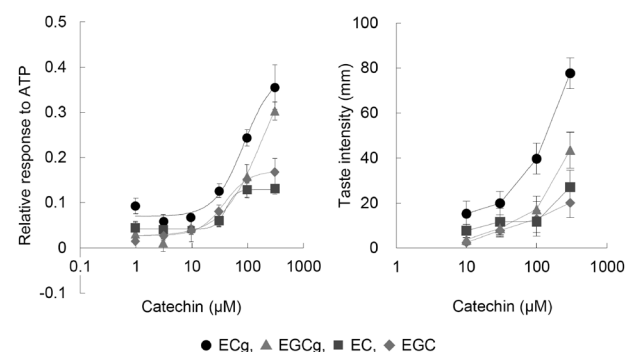


図1 茶カテキンに対する応答の比較  
hTAS2R39 の応答強度 (左) とヒト官能評価結果 (右)

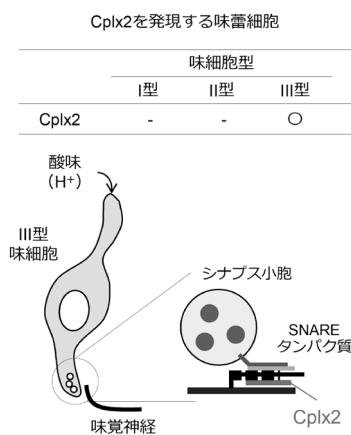


図2 Cplx2の発現と味情報伝達における役割

のシナプス性味情報伝達機構を明らかにするために、味蕾に発現するシナプス関連分子の発現を調査した。その結果、III型味細胞特異的にシナプス関連分子コンプレキシン2 (Cplx2) の発現を確認した(図2)。さらに、CPLX2欠損マウスを用いて、味応答におけるCplx2の役割を検討した。CPLX2欠損マウスでは基本味の中で酸味刺激に対する味覚神経活動のみが有意に低下することを見出した。この傾向は行動学的解析でも同様に観察され、Cplx2が酸味情報伝達に関与することが明らかになった。これらはIII型味細胞が酸味情報伝達に関与すること、また、III型味細胞がシナプスを介して味情報伝達を行うことを強く示唆する結果と言える。

### 3. 味シグナルの中樞を介した生理作用の解析

機能性食品成分や栄養素から生じる味シグナルは口腔や消化管に存在する化学受容細胞によって受容される。この情報は求心性神経や液性因子を介して脳で認知され、摂食行動やエネルギー代謝などのエネルギー恒常性をコントロールしていると考えられる。しかし、味シグナル自体がどのように生理作用を発揮するのか不明な点が多い。我々の研究グループでは転写調節因子Skn-1aを欠損したマウスは、甘・苦・旨味を感じられない味盲マウスであることを見出し、さらにSkn-1aが消化管刷子細胞の分化も制御していることを明らかにした。したがって、Skn-1a欠損マウスは味シグナルの入力が極めて少ないマウスであると考えられた。よって、Skn-1a欠損マウスは味シグナルが生体生理に与える影響を調べるための強力なツールになりうると考えられた。そこで、Skn-1aの欠損が摂食行動やエネルギー代謝に与える影響を詳細に検討した。Skn-1a欠損マウスでは野生型マウスに比べて、体脂肪の低下を伴う体重減少を示すことがわかった。両者間で摂食量の差は見られなかったが、欠損マウスでは消費エネルギーの増加が観察された。消費エネルギーを上昇させるホルモンのうち、甲状腺ホルモン量に変化は見られなかったが、カテコールアミン分泌量が欠損マウスで有意に増加することを見出した。すなわち、カテコールアミン分泌量が促進することでエネルギー消費量が増加し、体脂肪量が減少することがわかった。この結果は、味シグナルを

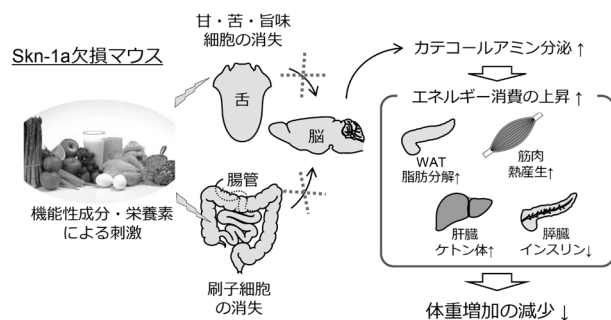


図3 味細胞や刷子細胞を起点としたエネルギー代謝制御機構

受容する味細胞や刷子細胞からの感覚シグナルが起点となり、脳を介したエネルギー代謝を制御する新しい機構の存在を示唆する結果であると考えられる(図3)。

### おわりに

本研究では食品の味に着目し、基礎・応用の両面から研究を行ってきた。嗜好性(二次機能)は食品の質の最も端的な属性であるが、それは単にエモーショナルな満足を与えるだけでなく、栄養性(一次機能)さらには生理機能性(三次機能)の調節にも関係する。機能性成分の呈味特性を明らかにする本研究の取り組みは、食品自体の嗜好性を向上させるためだけでなく、機能性成分に嗜好面からの機能も付与するという、食品の持つディメンションを新たに拓く取り組みであると考えられる。また、それら一連の取り組みは味覚受容システムの普遍的な解明にも極めて有効であると考えられる。

**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、静岡県立大学食品栄養科学部食品化学研究室及び京都大学大学院農学研究科品質評価学分野で行われたものです。日々ご指導ご鞭撻を賜り、本賞にご推薦いただき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。日頃から温かいご指導、ご助言をいただいている東京大学 三坂 巧先生に深く感謝申し上げます。静岡県立大学 渡辺達夫先生(現 HSU)、古旗賢二先生(現 城西大)、守田昭仁先生には研究を始めるきっかけと多くのご指導をいただきました。厚く感謝申し上げます。また、学生時代よりご指導、ご支援いただいている京都大学 故・森 友彦先生、松村康生先生、林由佳子先生、松本晋也先生(現 京都女子大)に厚く御礼申し上げます。本研究成果は多くの皆様の多大なるご支援によるものです。朝倉富子先生、石丸喜朗先生、岡田晋治先生、應本真博士、戸田安香博士、黒川(三木)あずさ博士、牛尼翔太博士、須藤浩三博士、岩崎有作博士、野賀千晶氏をはじめ、ここでお名前を挙げつくせませんが、本研究に携わりましたすべての先生方、卒業生、在学生、共同研究者の方々に深く感謝いたします。最後になりましたが、さまざまな機会にご助言を賜り、ご指導いただきました東京農業大学客員教授 荒井綜一先生に厚く御礼申し上げます。





東京工業大学理学院 宮 永 顕 正

## 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

## はじめに

微生物が生産するポリケタイド化合物は多様な化学構造と生物活性を有しており、医薬品や抗生物質として利用されている。その生合成反応においては、ポリケタイド合成酵素 (PKS) が開始基質となるアシル基に伸張基質を縮合することにより炭素鎖が伸長し、生じたポリケタイド中間体が環化することにより、ポリケタイド化合物の炭素骨格が構築される。PKS が用いる開始基質・伸張基質の違いやポリケタイド中間体の環化様式の違いにより、ポリケタイド骨格の構造多様性が生み出されている。微生物は多様なポリケタイド化合物を生産するために、開始基質の構築や選択に関わる酵素、環化反応に関わる酵素などをそれぞれ進化させてきた。これらポリケタイド生合成に関わる酵素群の機能や構造を明らかにすることができれば、その情報を基に人為的に生合成酵素の改変を行うことにより有用な活性を示す非天然型ポリケタイド化合物の創製など、応用に結びつけることができると考えられる。我々は、ポリケタイド生合成に関わる酵素の構造機能解析に取り組み、多くの重要な知見を得た。以下に研究内容の概要を紹介する。

## 1. マクロラクタム化合物生合成酵素の構造機能解析

放線菌によって生産されるマクロラクタム化合物は、環状アミド構造を有するポリケタイド化合物であり、独特な抗菌性や抗腫瘍活性を示す。その生合成においては、様々な  $\beta$ -アミノ酸が開始基質として利用され、構造多様性が生み出されている。

*Streptomyces halstedii* HC34株が生産する vicienistatin は、20員環マクロラクタム配糖体抗生物質であり、ヒト大腸がん細胞に強い細胞毒性を示す。vicienistatin のポリケタイド骨格には、 $\beta$ -アミノ酸である 3-アミノイソブタン酸部位が含まれて

いる (図1)。我々は、この 3-アミノイソブタン酸部位の構築機構を明らかにするために、鍵となる酵素群の構造機能解析を行った。まず、vicienistatin 生合成において開始基質を選別する役割をしているアデニル化酵素 VinN の結晶構造解析を行った。VinN と基質である 3-メチルアスパラギン酸との複合体構造を決定し、また部位特異的変異解析を行うことにより、アデニル化酵素による  $\beta$ -アミノ酸の認識機構を初めて明らかにした。vicienistatin の生合成では、ポリケタイド鎖伸長反応中における非酵素的な環化反応を防ぐため、 $\beta$ -アミノ酸の  $\beta$ -アミノ基はアラニル化された状態で I 型 PKS へと受け渡される。その受け渡し反応を触媒するアシル基転移酵素 VinK の結晶構造を決定し、VinK がアラニル化されたジペプチド体のみを基質として選択的に認識する機構を明らかにした。さらに、このアラニル基の除去を担うアミド加水分解酵素 VinJ の構造機能解析を行い、ポリケタイド鎖が十分に伸長した後にアラニル基が除去されることを明らかにした。このように、VinK と VinJ は  $\beta$ -アミノ基の保護と脱保護のタイミングを制御するための厳密な基質特異性を有することが明らかになった。

また、vicienistatin とは異なる  $\beta$ -アミノ酸を開始基質部位に有するマクロラクタム化合物の生合成研究を行った。hitachimycin や fluvirucin B<sub>2</sub> の生合成遺伝子クラスターを同定し、生合成経路を明らかにした。これまでに明らかにしたマクロラクタム化合物の生合成酵素群を比較したところ、保護と脱保護に関わる酵素などは高度に保存されており、共通的な  $\beta$ -アミノ酸運搬機構が示唆された。一方で、 $\beta$ -アミノ酸の選択的認識を担う VinN 型アデニル化酵素のアミノ酸配列には違いが見られ、これにより各生合成経路に特徴的な  $\beta$ -アミノ酸基質が選択されていると考えられた。

## 2. ポリケタイド生合成におけるアシルキャリアータンパク質認識機構の解析

ポリケタイド生合成において、アシル基転移酵素は開始基質や伸張基質を適切なアシルキャリアータンパク質 (ACP) へと受け渡すために、ACP を厳密に認識していると考えられている。すなわち、アシル基転移酵素と ACP の間のタンパク質間相互作用は重要であり、ポリケタイド化合物の構成単位となるアシル基の種類を決定付けている。しかし、これらの間のタンパク質間相互作用は一時的で弱く、複合体の構造解析が難しいため、これまでにアシル基転移酵素による ACP の認識機構は不明であった。そこで、我々は、vicienistatin の生合成に関わるアシル基転移酵素 VinK を対象に ACP である VinL との複合体の構造解析を行った。まず、VinK と VinL を混合して結晶化を行ったが、共結晶は得られなかった。そこで、共結晶化に適した安定な複合体を形成させるために 1,2-ビスマレイミドエタンを用いたクロスリンク反応を開発した。このクロスリンク反応により調製した VinK と VinL の複合体を用いて結晶化を

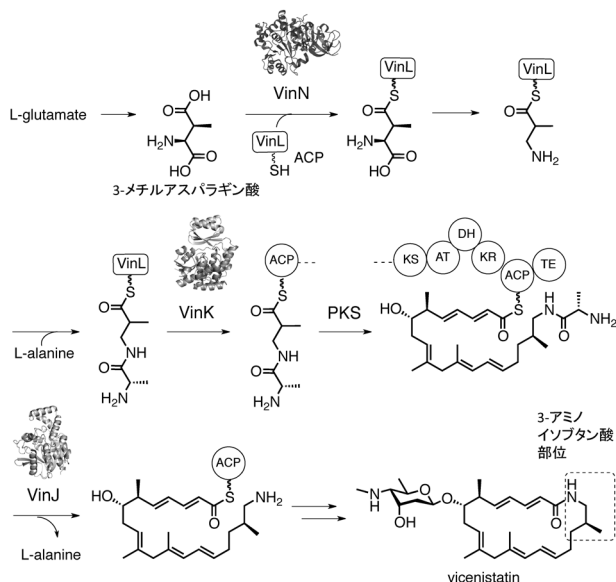


図1 vicienistatin の生合成機構

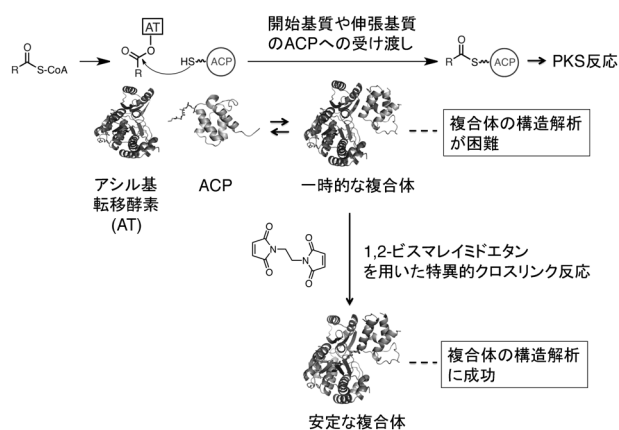


図2 アシル基転移酵素と ACP の複合体の構造解析

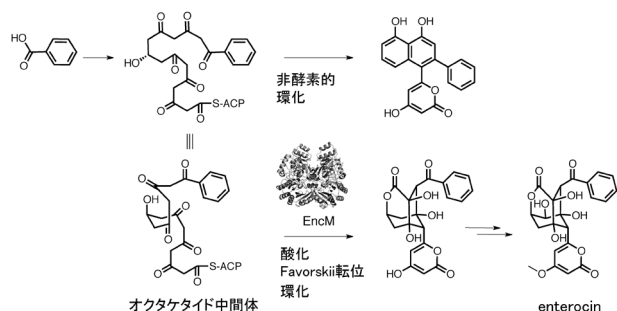


図3 enterocin の生合成機構

行ったところ、共結晶が得られ、VinK と VinL の複合体の結晶構造を決定することに成功した (図2)。これによりアシル基転移酵素による ACP の認識機構が初めて明らかになった。

### 3. ポリケタイド生合成における環化反応の解析

ポリケタイド生合成においては、PKS によりポリケタイド中間体が生成された後に、環化反応を行う酵素により様々な環構造を持つ化合物へと作り分けられる。環化酵素の改変により、別の骨格構造を持つ化合物を創出できる可能性があるため、環化反応の機構を理解することは重要である。環化酵素が不安定なポリケタイド中間体をどのように適切に制御して環化反応を行っているかを理解するため、芳香族ポリケタイド化合物の生合成に関わる環化反応に注目して研究を行った。

海洋放線菌 *Streptomyces maritimus* が生産する抗生物質 enterocin は、独特なかご状骨格構造を持つポリケタイド化合物である (図3)。その骨格構造形成にフラビン酵素 EncM が関わることが報告されていたが、その詳細な反応機構は不明であった。EncM の結晶構造解析を行った結果、EncM はフラビン活性中心へとつながる細長いトンネルを有していたことから、II 型 PKS 産物であるオクタケタイド中間体を直鎖の状態で結合させ反応を触媒することが示唆された。また、合成基質アナログを用いた解析から、EncM が酸化反応と Favorskii 転位反応を触媒することにより、独特な骨格構造形成へと導いていることを明らかにした。これは酵素的に Favorskii 転位が起こることを示した初めての例である。さらに、EncM の反応を詳細に解析した結果、新規な活性種であるフラビン-N5-オキシド体が反応に関わることも明らかにした。

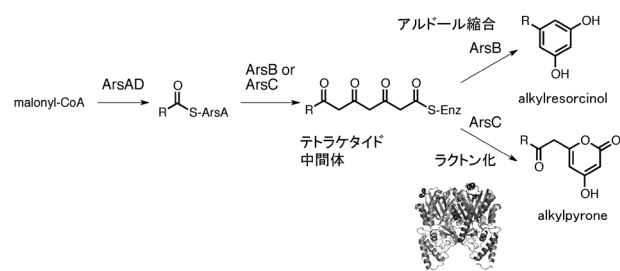


図4 フェノール性脂質の生合成機構

窒素固定細菌 *Azotobacter vinelandii* において、III 型 PKS である ArsB と ArsC はそれぞれ異なる環化反応を触媒することにより、フェノール性脂質である alkylresorcinol と alkylpyrone を生産する (図4)。この異なる環化反応の要因を明らかにするため、ArsB と ArsC の結晶構造解析と部位特異的変異解析を行った。その結果、ArsB と ArsC の活性中心近傍に存在する 1 アミノ酸残基が環化反応の様式を制御していることを明らかにすると共に、変異導入によりその活性を入れ替えることに成功した。また、ArsB と ArsC は、脂肪酸合成酵素 ArsA の ACP ドメインからアシル基を開始基質として直接受け取ることを明らかにした。これは III 型 PKS が ACP に結合した開始基質を利用することを実験的に示した初めての例である。

### おわりに

本研究では、ポリケタイド生合成に関わる酵素群について、構造機能解析を行い、これらの酵素の反応機構や基質認識機構を解明してきた。明らかにした結果は、ポリケタイド生合成機構に関する理解を深めただけでなく、非天然型ポリケタイド化合物生産系を構築するための基盤となると考えられる。微生物は新規な反応を触媒する酵素の宝庫であり、今後もこれらの酵素の反応機構の解析に取り組んでいきたいと考えている。

**謝 辞** 本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科、カリフォルニア大学サンディエゴ校スクリプス海洋研究所、東京工業大学理学院で行われたものです。研究を行う機会を与えていただき、ご指導ご鞭撻を賜りました東京大学教授・(故)堀之内末治先生、同大学教授・大西康夫先生、静岡県立大学准教授・鮎信学先生、カリフォルニア大学サンディエゴ校教授・Bradley S. Moore 先生、東京工業大学教授・江口正先生、同大学准教授・工藤史貴先生に深甚なる感謝の意を表します。また、酵素学と結晶構造解析の基礎を教えてくださいました東京大学名誉教授・祥雲弘文先生、同教授・若木高善先生、同教授・伏信進矢先生、東京理科大学教授・田口速男先生に心より御礼申し上げます。また、本研究は、多くの方々のご助言、ご協力なくしてはなしえませんでした。ここにすべての方のお名前を挙げることはできませんが、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日本農芸化学会関東支部長・西村敏英先生 (日本獣医生命科学大学) に厚く御礼申し上げます。



## 食品機能学によるプレニルフラボノイドの特性解明

徳島大学大学院生物資源産業学研究所 向井理恵

### はじめに

C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>の diphenylpropane 構造を共通骨格とするフラボノイドは植物が生産する二次代謝物であり、重要な食品機能成分として注目されている。プレニルフラボノイドは、diphenylpropane に1つ以上の C5 isoprene (dimethylallyl) unit(s) が結合した構造を有する一連の化合物群である。主にマメ科やクワ科の植物に含まれ(図1)、約1000種類の構造が同定されている。プレニルフラボノイドは、非プレニル型よりも培養細胞や微生物を用いた評価系において高い生理活性を持つことが報告されてきた。植物においてフラボノイドへのプレニル基転移酵素が同定され、遺伝子操作作物においてこれらプレニルフラボノイドを生産する研究も進んでいる。これらの背景から、プレニルフラボノイドは食品機能成分の有力な候補物質であると考えた。食品機能成分の生体での機能発現は吸収や代謝を介するため動物個体を用いた研究が必須であるが、プレニルフラボノイドに関しては標品を入手し難いことから研究例がなかった。そこで、候補者は共同研究者によって化学合成された各種プレニルフラボノイドを用いて<sup>1,2)</sup>、非プレニル型のフラボノイドと比較することで、食品機能成分としてのプレニルフラボノイドの特性を下記のとおり明らかにした。

### 1. プレニルフラボノイドの新規生理活性の発見

#### —廃用性筋萎縮の予防・改善へ向けて—

骨格筋量は健康寿命の重要な決定因子であり、運動不足や寝たきりに伴う廃用性筋萎縮への対応策が求められている。骨格筋タンパク質分解の経路のひとつにユビキチン・プロテアソーム経路の関与が示されている。この経路では、IGF-1/mTOR/Akt のリン酸化カスケードが抑制され、筋タンパク質分解に特異的に関与するユビキチンリガーゼ (Atrogin-1 など) が発現することが知られている。ナリンゲニンの8位にプレニル基が結合した8-プレニルナリンゲニンを廃用性筋萎縮モデルマウスに摂取させた場合、Akt のリン酸化を活性化することで Atrogin-1 の発現を抑制し、骨格筋量低下予防に繋がることを明らかにした(図2)。非プレニル型のナリンゲニンでは効果が認められなかったことから、プレニル基の優位性が明らかとなっ

た<sup>3)</sup>。

さらなる骨格筋機能への影響を確認するため、廃用性筋萎縮からの回復促進効果について検討を進めた<sup>4)</sup>。ギプス固定を模した関節固定器具を開発し、マウスの後肢に装着することで廃用性筋萎縮を誘導した。関節固定を解除すると骨格筋量の回復が開始される。回復期間に8-プレニルナリンゲニンの経口摂取を実施すると、筋量回復がコントロール食よりも促進されることが明らかとなった。卵巣切除メスマウスを用いて同様の実験を実施したところ、8-プレニルナリンゲニン摂取あるいはエストロゲンの投与のいずれにおいても筋萎縮からの回復を促進した。さらに C2C12 マウス骨格筋管細胞を用いた検討では、エストロゲン受容体阻害剤によって8-プレニルナリンゲニンの Akt リン酸化活性化作用が消失した(図2)。これらの実験事実から、8-プレニルナリンゲニンのエストロゲン様活性が骨格筋合成促進効果に寄与していることが示唆された。

8-プレニルナリンゲニンの組織蓄積性に関する情報を得るため標的組織である骨格筋での蓄積量を HPLC で分析した。8-プレニルナリンゲニンの蓄積量 (3.0 nmol/g tissue) は、ナリンゲニン (0.2 nmol/g tissue) に比較して約10倍高いことが認められた<sup>3)</sup>。また、8-プレニルナリンゲニンの血中濃度を測定した結果では、ナリンゲニンよりも血中からの消失が遅いことが分かった。これらの事実は、プレニル基修飾が生体利用性を向上させ、骨格筋組織での蓄積を増加させる鍵となる構造変換であることを示すものであった。このように、プレニルフラボノイドの強い生理活性の要因のひとつに高い組織蓄積性が関与することが示唆された。

### 2. プレニルフラボノイドの標的臓器と生体利用性

#### —高い臓器蓄積性—

経口で摂取したフラボノイドの活性発現は、吸収、代謝、臓器分布の状況によって変化する。しかしながら、これらの生体利用性に関する研究報告は、フラボノイドの生理活性の報告に比べて著しく少ない。このような現状を踏まえ、プレニルフラ

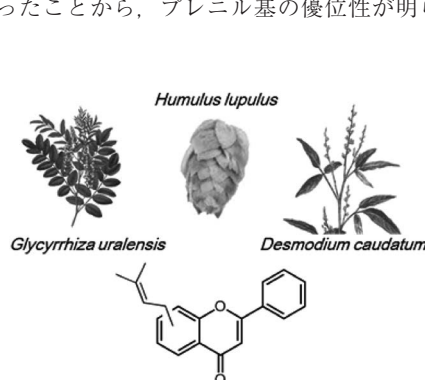


図1. プレニルフラボノイドを含む食用植物

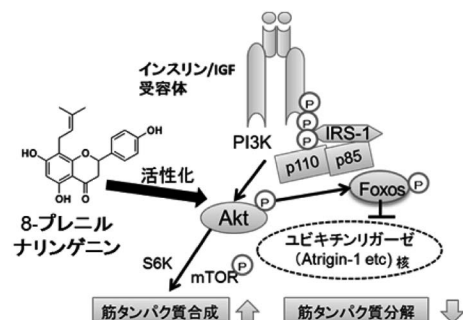


図2. 8-プレニルナリンゲニンはAkt経路のリン酸化を活性化することで、筋タンパク質分解抑制効果と合成促進効果を示した。



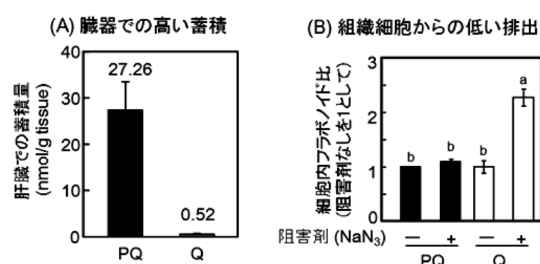


図3. (A) 8-プレニルケルセチン (PQ) 摂取後の肝臓での蓄積量はケルセチン (Q) より多い。 (B) フラボノイド排出阻害剤を処理しても PQ 量が変化しなかったため、細胞外への排出は起こっていない。(文献5改変)

ボノイドの応用開発に向けてプレニル基を有するフラボノイドと非プレニル型のフラボノイドを比較することにより、プレニル基修飾がフラボノイドの体内動態に及ぼす影響の解明を試みた<sup>5)</sup>。試験には体内動態に関する知見が多いケルセチンを母骨格とする8-プレニルケルセチンを用いた。マウスに8-プレニルケルセチンを混餌により2週間摂取させた場合、肝臓や腎臓における蓄積量はケルセチンの場合よりも10倍以上多いことが示された(図3)。一方で、生体吸収性の指標である単回摂取後の血中とリンパ液中の濃度を測定した結果では、8-プレニルケルセチンで低く、小腸上皮モデルCaco-2細胞を用いた腸管透過実験でも8-プレニルケルセチンの基底膜側への移行量が極めて少ないことを発見した。このように8-プレニルケルセチンは吸収されにくいものの、一部の臓器で高い蓄積性を示すという矛盾した結果が示された。この矛盾を解明するために、臓器モデルとしてマウス骨格筋由来C2C12細胞への取り込み実験を行った。その結果、8-プレニルケルセチンの細胞内取り込み量はケルセチンよりも10倍程度多くなり、長い時間維持された。さらに8-プレニルケルセチンはケルセチンとは異なり、ABCトランスポーターを介した細胞外への排出をほぼ受けなかった(図3)。これらの実験事実から、プレニルフラボノイドは臓器構成細胞への取り込み率が高くかつ細胞から排出されにくいことで、低い吸収性を補い臓器内での蓄積が上昇すると結論した。フラボノイドの組織蓄積性を向上させる技術は未だ開発されていないことから、フラボノイドへのプレニル基付加が高生理活性発現に向けた新たな技術になることが期待される。

### 3. プレニルフラボノイドの標的分子に関する研究

8-プレニルケルセチンや8-プレニルナリンゲニンの吸収代謝に関する研究により、プレニル基はフラボノイドの母骨格に結合した状態で循環し、臓器へ到達することを明らかにした。つまり、プレニルフラボノイドは生体内においてもプレニル基に由来する物理化学的特徴を保持しており、標的分子との相互作用が非プレニル型とは異なることが推察された。細胞膜を構成する脂質二重膜を模したリポソームとの結合実験では、8-プレニルケルセチンの膜結合性がケルセチンよりも強いことを明らかにした。8-プレニルケルセチンのオクタノール/水分分配係数の算出により、プレニル基の結合がケルセチンの疎水性を高めたことを確認した。この性質によって、脂質二重膜との結合性が上昇したことを明らかにした<sup>5)</sup>。

LPS誘導性炎症に対する8-プレニルケルセチンの効果を評価した研究において、セファロースを用いたプルダウンアッセイにより、8-プレニルケルセチンは細胞質に存在するプロテイン

キナーゼ (SEK-1, JNK1/2, MEK1, ERK1/2) にケルセチンよりも強く作用した。その結果、これらのキナーゼが関わるリン酸化を減弱させ、抗炎症作用を発揮することを示した<sup>6)</sup>。

以上、いずれの研究においてもプレニルフラボノイドの標的分子への作用は非プレニル型フラボノイドよりも強いことを示し、フラボノイドへのプレニル基修飾は高活性をもたらす構造変換であることを明らかにした。

### おわりに

現在は、化学合成品や市販品を用いて解析対象とするプレニルフラボノイドの種類を増やし、詳細な構造活性相関の研究に取り組んでいる。プレニル基の結合位置やフラボノイドの母骨格の構造による活性の相違を解明しつつある。これらの知見を集約することで、より活性の高いプレニルフラボノイドを提示し、応用開発につなげたいと考えている。

### (引用文献)

- 1) T. Kawamura, M. Hayashi, R. Mukai, J. Terao and H. Nemoto. An efficient method for c8-prenylation of flavonols and flavanones. *Synthesis*, Vol.44, 9, p1308-1314, (2012).
- 2) T. Kawamura, M. Hayashi, R. Mukai, J. Terao and H. Nemoto. The first synthesis of uralenol, 5'-prenylated quercetin, via palladium-catalyzed O-dimethylallylation reaction with concurrent acetyl migration. *Synthesis*, Vol.46, 2, p170-174, (2014).
- 3) R. Mukai, H. Horikawa, Y. Fujikura, T. Kawamura, H. Nemoto, T. Nikawa and J. Terao. Prevention of disuse muscle atrophy by dietary ingestion of 8-prenylnaringenin in denervated mice. *PLoS ONE*, Vol.7, 9, e45048, (2012).
- 4) R. Mukai, H. Horikawa, P.Y. Lin, N. Tsukumo, T. Nikawa, T. Kawamura, H. Nemoto and J. Terao. 8-Prenylnaringenin promotes recovery from immobilization-induced disuse muscle atrophy through activation of the Akt phosphorylation pathway in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, Vol.311, 6, R1022-R1031, (2016).
- 5) R. Mukai, Y. Fujikura, K. Murota, M. Uehara, S. Minekawa, N. Matsui, T. Kawamura, H. Nemoto and J. Terao. Prenylation enhances quercetin uptake and reduces efflux in Caco-2 cells and enhances tissue accumulation in mice fed long-term. *J Nutr*, Vol.143, 10, p1558-1564, (2013).
- 6) A. Hisanaga, R. Mukai, K. Sakao, J. Terao and D.X. Hou. Anti-inflammatory effects and molecular mechanisms of 8-prenyl quercetin. *Mol Nutr Food Res*, Vol.60, 5, p1020-1032, (2016).

謝 辞 本研究は、主に徳島大学大学院医歯薬学研究部・食品機能学分野ならびに徳島大学大学院生物資源産業学研究部において実施されたものです。両研究部において本研究を支えてくださいました先生方、スタッフの皆様ならびに卒業生の皆様に感謝いたします。特に徳島大学名誉教授(現甲南女子大学)・寺尾純二先生には本研究課題のきっかけを与えていただき、多くのご指導と励ましをいただきましたことを深謝いたします。徳島大学医歯薬学研究部教授・二川健先生、同研究部准教授・根本尚夫先生、鹿児島大学農学部教授・侯徳興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お礼申し上げます。そして学生時代から長くご指導いただき、暖かく見守ってくださった神戸大学大学院農学研究科教授・芦田均先生、食品の機能性研究の面白さを全身で教えてくださった首都大学東京名誉教授・東直樹先生に感謝いたします。



東京大学大学院農学生命科学研究科 森 直 紀

## 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

## はじめに

天然物合成は全合成を第一の目標とする学問であるが、実際に合成したサンプルは中間体も含めて、化合物の構造決定、作用機序の解明、構造活性相関などに用いられるため、その役割は多岐に渡る。上記いずれの場合においても十分量の試料合成が必須となるため、合成化学者には短工程かつ高収率である「高効率合成」の開発が強く求められている。筆者は以上の観点から「高効率合成」を強く意識し、以下に示すリグナン類とテルペノイドの合成研究を行った。

## 1. 新規不斉反応によるリグナン類の合成研究

リグナンとはフェニルフロパノイド二分子がC8位同士で結合した化合物群であり、抗酸化作用を示し健康食品としても販売されているセサミン、誘導体が抗がん剤として利用されているポドフィロトキシンなど生物活性の点からも重要な化合物が多い。他のグループによるこれまでのリグナン類の合成研究はラセミ体合成に関するものが多かったため、筆者は光学活性なリグナン類を合成するための新規不斉反応の開発および天然物合成への応用を研究目的とした(図1)。新規不斉反応の開発にあたっては、けい皮酸誘導体の二量化反応に着目した。すなわち、けい皮酸誘導体に不斉補助基としてL-プロリンを導入した**1**を用いることで、**2**に示したような不斉二量化反応を進行させ、光学活性なビスラクトン**3**を得ようと考えた。実際に、3,4,5-トリメトキシけい皮酸についてはa)の二酸化鉛を用いる条件において高収率(64%)かつ高鏡像体純度(>95% e.e.)で

**3**が得られることを見出した。一方、3,4-メチレンジオキシけい皮酸と3,4-ジメトキシけい皮酸はa)の条件では基質の分解が優先してしまったが、b)の電極酸化の条件を用いることでいずれも80% e.e.以上の鏡像体純度で**3**を得ることに成功した。そして**3**を共通中間体として、フロフランリグナンであるyangambin, sesamin, eudesmin, caruillignan Aとジアリールブタンリグナンであるsauriols A, Bの合成を全て10工程以内の短工程で達成し、本不斉反応の有用性も示すことができた。

## 2. 生合成経路を模倣した chamobtusin A の合成研究

Chamobtusin Aは2007年にヒノキ科の植物 *Chamaecyparis obtusa* cv. tetragon から単離・構造決定されたジテルペンアルコールである。そのユニークな2H-ピロール環構造は合成化学的にもまた生合成的にも非常に興味深い。そこで chamobtusin A の合成に関しては、生合成経路を模倣した短工程合成に挑むことにした(図2)。Chamobtusin A はアビエタンジテルペノイド**6**の芳香環が酸化的に開裂しケトアルデヒド**5**となり、アンモニアとの間で**4**のようにイミンを形成した後、分子内アザマイケル付加反応が進行することによって生合成されていると考えた。実際に、この分子内アザマイケル付加反応を鍵反応とする合成経路を考案し、 $\beta$ -シクロシトラールより調製可能な**7**から13工程でラセミ体合成を、市販の**8**から12工程で光学活性体合成を達成した。本合成により筆者が提唱した生合成仮説の正当性も示すことができたと考えている。

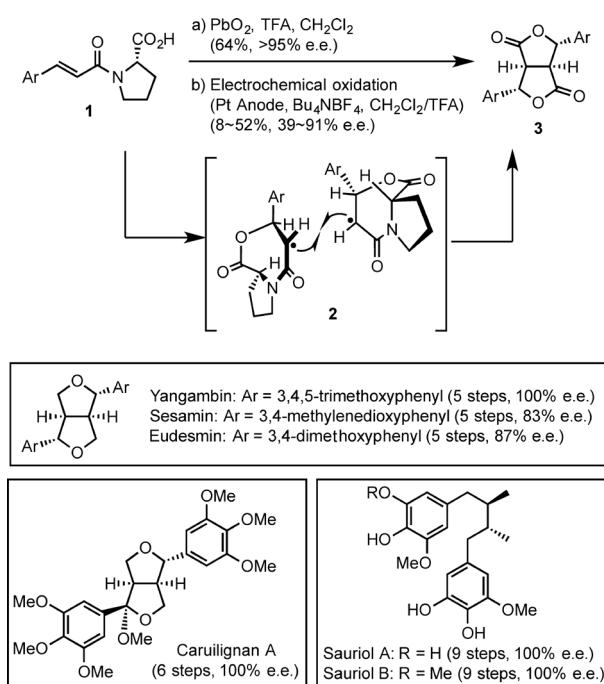


図1. けい皮酸誘導体の新規不斉二量化反応と天然物合成への応用

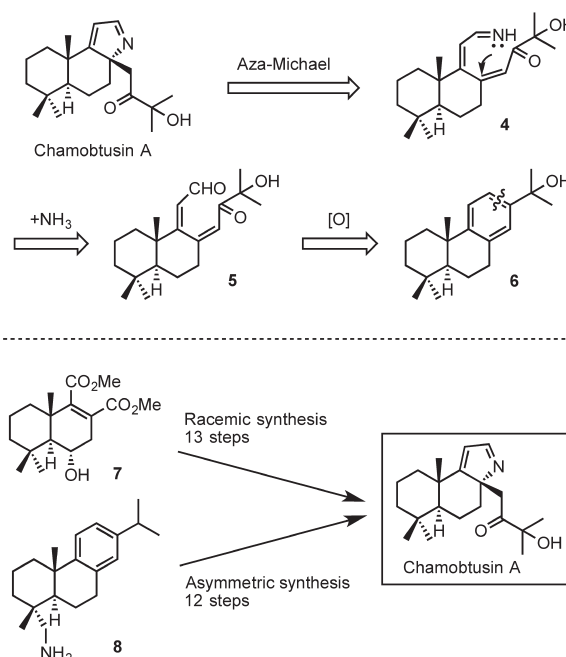


図2. Chamobtusin A の推定生合成経路と実際の合成

### 3. 昆虫摂食阻害物質 azadirachtin の合成研究

Azadirachtin は 1968 年にインドセンダンの種子から単離されたトリテルペノイドであり、強力な昆虫摂食阻害・成長阻害活性を示す。本化合物は 7 個の 4 級炭素を含む 16 個の連続する不斉炭素を有し、酸素官能基によって高度に酸化された極めて複雑な構造の天然物である。これまで世界中の多くの著名な天然物合成化学者が全合成に挑戦してきたにもかかわらず、成功に至ったのは 2007 年の Ley らのグループのみであった。そこで azadirachtin の合成に関しては純粋な意味での全合成への挑戦、すなわち超難関天然物を如何に美しく効率的に合成するかという課題のもと合成研究に取り組んだ (図 3)。Azadirachtin の合成において最も困難とされるのが非常に混み合った C8-C14 結合の構築である。他のグループは Claisen 転位やラジカル反応を利用して分子内で C8-C14 結合を構築しているのに対し、筆者はあらかじめ C8-C14 結合に相当する結合をアレンとして導入しておき、タンデム型ラジカル環化反応により全炭素骨格を構築する (11→12) という独創的な合成法を考案した。

左側ユニットとなる **9** の合成においては、当初はピロンとジエノフィルのエンド選択的 Diels-Alder 反応による骨格構築を計画したが、予想に反してエキソ付加体が優先して得られた。そこで、Diels-Alder 反応-脱炭酸-Claisen 転位を用いる新たなアプローチを用いて基本骨格を構築し、続いてシクロヘキセノン環の酸化的開裂とアルドール反応による再閉環により正しい立体化学を有する A 環部を構築した。最終的に、既知化合物より 18 工程で **9** を光学活性体として合成することに成功した。右側ユニットとなる **10** の合成は文献既知の光学活性なシクロペンテノン誘導体より開始し、酢酸エチルとのアルドール反応、オゾン酸化による環拡大などを含む 18 工程の変換により合成を達成した。左右ユニット **9** と **10** から 2 工程で **11** を得た後、鍵反応であるタンデム型ラジカル環化反応を行ったところ、期待通り azadirachtin の全炭素骨格を有する **12** を得ることができた。さらに **12** に対し、C 環部の 5 員環ヘミアセタール構造の構築などを行うことで Ley らの合成中間体 **13** へと導くことに成功した。13 から 9 工程で azadirachtin への変換が可能であるため、ここに azadirachtin の形式不斉合成を達成することができた。筆者が行った azadirachtin の合成は 39 工程であり、これまでに唯一報告されている Ley らの 62 工程の合成と比べても非常に効率的な合成を達成できたものと考えている。

#### おわりに

以上述べてきたように、筆者は「高効率合成」を指向して、光学活性なリグナン類と 2 種のテルペノイド (chamobtusin A と azadirachtin) の合成研究を行った。いずれの合成においても、工程数、総収率は他の合成例と比べて遥かに優れたものになっており、目標とした「高効率合成」を達成できたものと考えている。最近では、天然物合成は円熟期を迎え容易になりつ

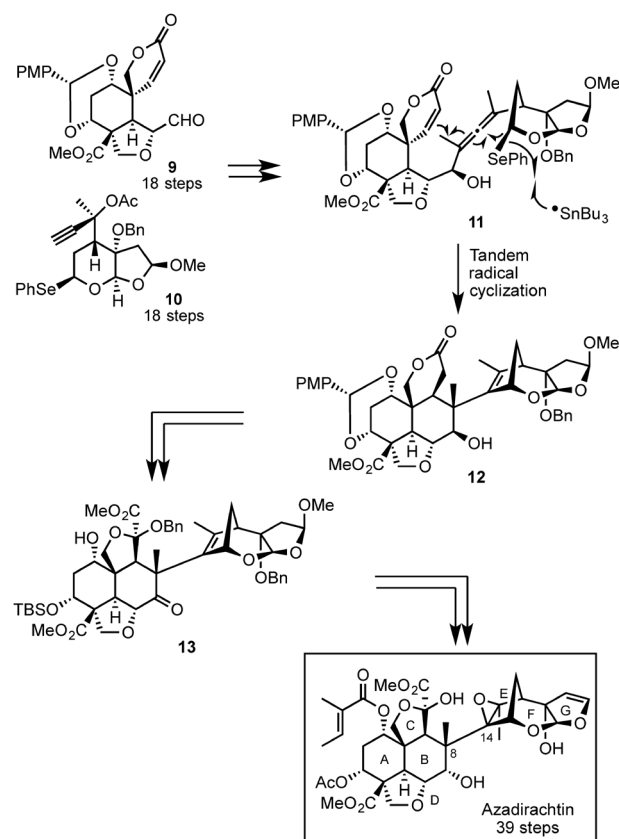


図 3. Azadirachtin の合成

つあるという意見がある一方で、重要な生物活性を有するにもかかわらず複雑な構造のため合成が制限されている天然物が未だに多く存在するのこともまた事実である。今後もそのような魅力的な天然物の効率的な全合成に挑み、合成した化合物を通して化学、生物学の分野に貢献していきたいと考えている。

**謝 辞** 本研究は東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻有機化学研究室で行われたものであります。先ず始めに、本研究の機会を与えてくださり、卒論配属から現在に至るまでご指導ご鞭撻を賜りました渡邊秀典先生 (東京大学教授) に心より感謝いたします。本研究を行うにあたり、ご指導、ご助言を賜りました森 謙治先生 (東京大学名誉教授)、北原 武先生 (東京大学名誉教授)、石神 健先生 (東京大学准教授) に深く感謝いたします。また、本研究の発展にご協力いただいた共同研究者である伊藤大輔博士 (Azadirachtin の合成研究)、古田亜希子博士 (リグナン類の合成研究)、葛谷一馬氏 (Chamobtusin A の合成研究) に心より御礼申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会関東支部長・西村敏英先生に厚く御礼申し上げます。





大阪大学産業科学研究所 飯 嶋 益 巳

## 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

### はじめに

バイオセンサーは、生体分子間相互作用（例：抗原と抗体、リガンドとレセプター、レクチンと糖鎖、標的分子とアプタマー、基質と酵素等）を特異的かつ定量的に検出する測定技術であり、農芸化学分野をはじめ生命科学分野全般において極めて重要な役割を担っている。一般に、センシング分子（例：イムノグロブリン G (IgG)）をセンサー表面に直接固定化すると、その配向性がランダムなため、抗原認識部位周辺の立体障害により、検出感度が低いことが課題となる。そこで近年、バイオセンサーの感度を高めるために、センサー表面のセンシング分子の「クラスター化」と、その配向性をナノレベルで精密に制御して「整列固定化」できる「足場分子」技術が開発されている<sup>1)</sup>。私が研究を始めた 2007 年時点では、主にリンカー、ポリマー、自己組織化単分子膜、Protein A 等の足場分子が用いられたが、同分子がランダムに固定化されたり、同分子とセンシング分子間の可動性が高かったり、同分子との結合が侵襲的であったりした。そこで私は、バイオセンサー表面でセンシング分子にダメージを与えず、ナノレベルで完全な精密整列化を可能にする足場分子技術の開発に取り組むことにした。

### 1. 足場分子としてのバイオナノカプセルの開発

バイオナノカプセル (bio-nanocapsule (BNC)) は、B 型肝炎ウイルス表面抗原 L タンパク質を酵母で過剰発現することにより、酵母小胞体膜由来リボソームに同タンパク質が約 120 分子埋め込まれて形成される、直径約 30 nm の中空ナノ粒子である<sup>2)</sup>。BNC は、耐酸性、耐アルカリ性、耐熱性、耐界面活性剤性に優れ<sup>3)</sup>、我々により遺伝子及び薬剤の生体内ピンポイント送達用ナノキャリアとして開発されてきた。L タンパク質の N 末端領域の一部を、Protein A 由来 IgG-Fc 結合 Z ドメイン (2 量体) に置換した ZZ-L タンパク質から構成される ZZ-BNC は (図 1)、抗原特異的 IgG を表層に提示して、生体内の任意の部位にピンポイント物質送達できる<sup>4)</sup>。そこで私は、ZZ-BNC が IgG の抗原結合能を劣化させずに表層へ Fc を繋ぎ止め、Fv を放射状に整列化して提示できる可能性に着目した。まず、ZZ-BNC と各種 IgG との結合能を水晶共振子微量天秤 (quartz crystal microbalance (QCM)) 法により測定した結果、1 粒子あたり約 60 分子の IgG を提示していた<sup>5)</sup>。さらに、高速原子間力顕微鏡を用いた動画解析により、ZZ-BNC 上の IgG は Fc

を支点とするブラウン回転運動を行い (平均速度 0.92 nm/s, 最大角度 44°), Fv の抗原へのアクセスを容易にしていた。以上より、ZZ-BNC が全く新しいタイプの IgG 整列化用足場分子であることを世界で初めて実証した<sup>6)</sup>。以下に、各種バイオセンシング技術における ZZ-BNC の効果を紹介する。

### 2. 液相中での IgG のクラスター化とナノレベル精密整列化

#### 2-1. ELISA 法及びウェスタンブロット法

固相上抗原を、一次抗体と酵素標識二次抗体で検出する系において、予め酵素標識二次抗体と ZZ-BNC を混合した複合体 (図 2A ①) を添加することで、固相抗原の高感度検出を可能にした (対 ZZ-BNC 不使用時: 最大約 20 倍 (ELISA 法), 約 100 倍 (ウェスタン法)<sup>7,8)</sup>。

#### 2-2. 蛍光免疫測定法

固相上抗原を、一次抗体と蛍光標識二次抗体で検出する系において、予め一次抗体と蛍光色素標識 ZZ-BNC を混合した複合体 (図 2A ①) を添加することで、抗原の高感度検出を可能にした (対 ZZ-BNC 不使用時: 最大約 10 倍)<sup>9)</sup>。特筆すべきは、従来は同一試料に含まれる複数の抗原を同時に検出する場合、各一次抗体の動物種と抗体サブタイプの重複を避け、それぞれに対応する二次抗体を探す必要があったが、予め異なる 4 種類の抗原に結合する同じ動物種由来の一次抗体と、4 種類の蛍光色素で標識した ZZ-BNC をそれぞれ混合した複合体を作製し、4 種類の抗原を含むプロットに同時に添加したところ、各抗原の高感度かつ同時検出を可能にした<sup>9)</sup>。本技術 (IRODORI 法と命名) により、多重同時染色における従来技術の使用抗体制限の課題が解消できた。以上より、ZZ-BNC は、検出用抗体を表層にクラスター化及びナノレベル精密整列化し、抗体 1 分子あたりの標識酵素及び蛍光色素の分子数を高めることで高感度検出を可能にすることが判明した。

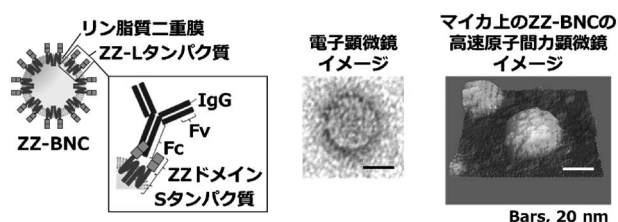


図 1. ZZ-BNC 足場分子の構造

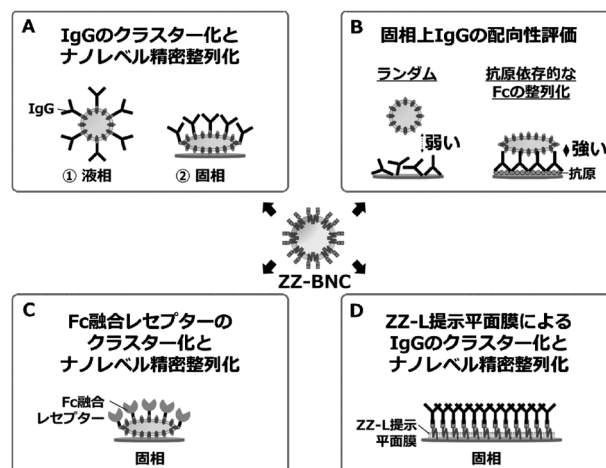


図 2. ZZ-BNC 足場分子を用いたバイオセンシング技術への応用

### 3. バイオセンサー表面における IgG のクラスター化とナノレベル精密整列化

QCM法及び表面プラズモン共鳴 (surface plasmon resonance (SPR)) 法のセンサー基板に ZZ-BNC を固定して IgG を整列化提示することで (図2A②), 各種抗原への結合量, 検出感度, 親和性を著しく高め (対 ZZ-BNC 不使用時: 最大約250倍, 130倍, 約3倍) 高感度検出を可能にした<sup>5)</sup>。また, QCM法における ZZ-BNC の抗体結合能は, 酸処理による抗体の脱着を20回以上繰り返しても変わらないほど耐久性が高いことを見出した<sup>5)</sup>。以上より, ZZ-BNC はバイオセンサー表面で IgG を劣化させることなくクラスター化及びナノレベル精密整列化して「超高感度化」を達成しつつ, 化学的及び物理的ストレスに対して耐性を示す安定性・保存性の高い足場分子であることが判明した。さらに, ZZ-BNC は高価なセンシング分子の使用量を減らして「低コスト化」を実現すると考えられる。

### 4. 固相上 IgG の配向性評価

従来高度な分析技術で固相上 IgG の配向性を評価していたが, ZZ-BNC は基板上に抗原依存的に整列固定化された Fc に高い親和性を示すことから, 固相上 IgG の配向性を容易に評価できるプローブであることを示した (図2B)<sup>10)</sup>。また, 従来は同一エпитープを複数有する抗原を検出するサンドイッチイムノアッセイにおいて, 同じ IgG を固相用及び検出用として同時に使用すると, 二次抗体が両者に結合して抗原依存的な検出が不可能であった。そこで, 二次抗体の代わりに ZZ-BNC を使用すると, ZZ-BNC は抗原と結合した検出用 IgG の Fc とだけ特異的に結合できることから, 簡便かつ高感度検出を可能にしつつ, 従来技術の課題を解消した<sup>10)</sup>。

### 5. バイオセンサー表面における Fc 融合レセプターのクラスター化とナノレベル精密整列化

ELISA 法, QCM 法及び SPR 法の固相に ZZ-BNC を固定して, 各種サイトカイン受容体リガンド結合部位を融合したヒト IgG1 Fc を整列提示化することで (図2C), 各種サイトカインの結合量, 検出感度を上昇させ (対 ZZ-BNC 不使用時: 最大約4倍, 46倍) 高感度検出を可能にした<sup>11)</sup>。以上より, ZZ-BNC 足場分子技術は様々なセンシング分子のクラスター化及び精密整列化に応用展開可能であることを示した。

### 6. バイオセンサー表面における ZZ-L 提示平面膜による IgG のクラスター化とナノレベル精密整列化

ZZ-BNC は液中においてセンサー基板にドーム状 (約18 nm) に結合して IgG を整列化するが<sup>6)</sup>, 基板側の ZZ-BNC を構成する ZZ-L タンパク質が無駄になる。また, 基板表面近傍 (数nm 以内) で分子間相互作用を検出する SPR 法やエリプソメトリー法等では, ドーム状構造による嵩高さは ZZ-BNC の効果が現れにくいことが課題であった。そこで, ZZ-BNC を破壊して ZZ-L タンパク質を平面膜状に展開する方法を開発し (図2D), 同じ IgG 量を使用する ZZ-BNC と比べて約6倍高感度化できることを見出した (投稿準備中)。本平面膜は様々な形状に加工可能であり広範なバイオセンサー技術への応用が期待される。

### おわりに

本研究では, 従来, 遺伝子及び薬剤の生体内ピンポイント送達用ナノキャリアとして開発された BNC の構造的特徴に注目して, 画期的なバイオセンシング分子の足場分子を開発した。今後は, 同足場分子技術を様々なセンシング分子に応用し, バ

イオセンシング全般の飛躍的な機能向上を図ることで, 農芸化学・医療・生命科学分野等の更なる発展に貢献していきたい。

### (引用文献)

- 1) M. Iijima & S. Kuroda: Scaffolds for oriented and close-packed immobilization of immunoglobulins. *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 89, p 810–821, (2017).
- 2) S. Kuroda, S. Otaka, T. Miyazaki, M. Nakao & Y. Fujisawa: Hepatitis B virus envelope L protein particles. Synthesis and assembly in *Saccharomyces cerevisiae*, purification and characterization. *J. Biol. Chem.*, Vol. 267, p 1953–1961, (1992).
- 3) T. Yamada, H. Iwabuki, T. Kanno, H. Tanaka, T. Kawai, H. Fukuda, A. Kondo, M. Seno, K. Tanizawa & S. Kuroda: Physicochemical and immunological characterization of hepatitis B virus envelope particles exclusively consisting of the entire L (pre-S1+pre-S2+S) protein. *Vaccine*, Vol. 19, p 3154–3163, (2001).
- 4) H. Matsuo, Y. Yoshimoto, M. Iijima, T. Niimi, J. Jung, S.Y. Jeong, E.K. Choi, T. Sewaki, T. Arakawa & S. Kuroda: Engineered hepatitis B virus surface antigen L protein particles for in vivo active targeting of splenic dendritic cells. *Int. J. Nanomedicine*, Vol. 7, p 3341–3350, (2012).
- 5) M. Iijima, H. Kadoya, S. Hatahira, S. Hiramatsu, G. Jung, A. Martin, J. Quinn, S. Y. Jeong, E. K. Choi, T. Arakawa, F. Hinaiko, M. Kusunoki, N. Yoshimoto, T. Niimi, K. Tanizawa & S. Kuroda: Nanocapsules incorporating IgG Fc-binding domain derived from *Staphylococcus aureus* protein-A for displaying IgGs on immunosensor chips. *Biomaterials*, Vol. 32, p 1455–1464, (2011).
- 6) M. Iijima, M. Somiya, N. Yoshimoto, T. Niimi & S. Kuroda: Nano-visualization of oriented-immobilized IgGs on immunosensors by high-speed atomic force microscopy. *Sci. Rep.*, Vol. 2, p 790, (2012).
- 7) M. Iijima, T. Matsuzaki, H. Kadoya, S. Hatahira, S. Hiramatsu, G. Jung, K. Tanizawa & S. Kuroda: Bionanocapsule-based enzyme-antibody conjugates for enzyme-linked immunosorbent assay. *Anal. Biochem.*, Vol. 396, p 257–261, (2010).
- 8) M. Iijima, M. Yamamoto, N. Yoshimoto, T. Niimi & S. Kuroda: Bio-nanocapsules for signal enhancement of alkaline phosphatase-linked immunosorbent assays. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 77, p 843–846, (2013).
- 9) M. Iijima, T. Matsuzaki, N. Yoshimoto, T. Niimi, K. Tanizawa & S. Kuroda: Fluorophore-labeled nanocapsules displaying IgG Fc-binding domains for the simultaneous detection of multiple antigens. *Biomaterials*, Vol. 32, p 9011–9020, (2011).
- 10) M. Iijima, N. Yoshimoto, T. Niimi, A. D. Maturana & S. Kuroda: Nanocapsule-based probe for evaluating the orientation of antibodies immobilized on a solid phase. *Analyst*, Vol. 138, p 3470–3477, (2013).
- 11) M. Iijima, N. Yoshimoto, T. Niimi, A. D. Maturana & S. Kuroda: Bio-nanocapsule-based scaffold improves the sensitivity and ligand-binding capacity of mammalian receptors on the sensor chip. *Biotechnol. J.*, Vol. 11, p 805–813, (2016).

**謝 辞** 本研究は, 大阪大学産業科学研究所生体触媒科学研究分野で開始した後, 名古屋大学大学院生命農学研究科産業生命工学研究分野を経て, 大阪大学産業科学研究所生体分子反応科学研究分野において行われたものです。本研究の機会を与えていただくと共に, 日々ご指導ご鞭撻を賜り, 本賞にご推薦下さいました大阪大学産業科学研究所生体分子反応科学研究分野黒田俊一教授に心より御礼申し上げます。また, 長年にわたりご指導・ご協力下さいました多岐にわたる分野の先生方, 共同研究者, 卒業生, 在学生の方々に深謝致します。



山形大学農学部 井上 奈穂

## 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

## はじめに

近年、我が国ではライフスタイルの欧米化が広く浸透し、高カロリー・高脂肪食の日常的な摂取による過栄養状態、オートマチック化された日常生活や車社会による運動不足などによって生活習慣病が急増しており、国民医療費抑制の観点からもその対策が急務とされている。現在、これら生活習慣病の予防・改善に食品由来の機能性成分を取り入れることが有用と考えられ、関連した研究が盛んに行われている。講演者は生活習慣病の病態発症連鎖機構の解明および食品成分・薬剤による病態改善において、糖・脂質代謝の調節機構に関する検討を中心に食品機能学および細胞生物学的手法を用いた研究を行ってきた。そのなかで、食経験が豊富で安全性が高いと考えられる「植物性食品」に着目し、それらに含まれる「植物性機能性成分」による肥満誘発性病態の予防・改善作用を明らかにした。本講演では、それらの研究結果について紹介する。

## 1. 肥満モデル動物の内臓脂肪蓄積および糖・脂質代謝異常発症に対する植物由来機能性成分の予防・改善作用

肥満は脂質異常症や糖尿病、高血圧といった他の生活習慣病を誘発し、メタボリックシンドロームへと進行する。メタボリックシンドロームは脳血管疾患や心血管疾患といった動脈硬化症の易発症状態につながることから、その基盤となる肥満の予防・改善が重要であると考えられる。そこで、まず肥満誘発性病態の発症機構解明と食品由来機能性成分の病態改善作用に関する研究を行った。なかでも、過食によって肥満を生じるモデル動物が肥満度の上昇にともなって脂質異常症、糖尿病、高血圧を発症することに着目し、食環境と遺伝素因の相互関係を評価するモデル系として有用であることを明らかにした。また、肥満モデル動物は非アルコール性脂肪性肝臓障害を発症することも知られているが、この病態に対して植物由来機能性成分摂取による改善作用を示し、その一因として、抗炎症作用を持つアディポサイトカインレベルの上昇が肝臓や骨格筋における炎症状態を抑制することで、脂質代謝およびインスリン感受性を亢進することも明らかにした。

## 1-1. ブルーベリー葉の脂質低下作用

ブルーベリー果実はアントシアニンなどのポリフェノール類を豊富に含み、そのまま食すだけでなく、ジャムや飲料の原料としても広く用いられ、全国各地で栽培されている非常に人気の高い果物である。しかしながら、ブルーベリー果実収穫後の葉の利用はほとんどされておらず、多くが廃棄物として処理されていた。ブルーベリー葉にその果実同様、ポリフェノール類を含む可能性に着目し、有効利用法の探索を目指し、研究を行った。その結果、葉乾燥物摂取が肝臓の脂肪酸合成を抑制し、 $\beta$ 酸化を亢進することで、血中および肝臓の脂質低下作用を発揮することを示した<sup>1)</sup>。さらに、脂質低下作用の活性本体はブルーベリー葉熱水抽出物に含まれるフラボノールグリコシ

ドおよびプロアントシアニジンによるものであることも明らかにした<sup>2)</sup>。さらに、ブルーベリー葉抽出物がアンジオテンシン変換酵素の阻害活性を有することを示し、本態性高血圧モデル SHR の血圧上昇を抑制することも示した<sup>3)</sup>。

## 1-2. ムキタケの病態発症抑制作用

近年、エリタデニンや $\beta$ グルカンなどキノコ由来の機能性成分が注目を集めている。ムキタケは主に東北地方で食されるキノコで、その名が示す通り、傘の表面が薄皮で覆われ、その薄皮に若干の苦味を持つ。講演者はこのムキタケに着目し、ムキタケ粉末摂取が肥満・糖尿病モデル *db/db* マウスおよび *ob/ob* マウスの肥満誘発性病態発症に対して、脂質代謝改善作用、インスリン感受性亢進作用、非アルコール性脂肪肝改善作用を発揮することを示した。さらに、この非アルコール性脂肪肝改善作用の作用機序として、アディポネクチン産生亢進および炎症マーカー MCP-1 産生抑制が関与していることも報告した<sup>4-6)</sup>。

2. 大豆 $\beta$ コングリシニンの血中脂質低下作用

大豆はその栄養価の高さだけでなく、健康に対する有益な機能性が注目される食品素材である。大豆タンパク質はこれまでに血清コレステロール低下作用や抗がん作用などが報告されており、また、大豆タンパク質の主要成分である $\beta$ -コングリシニンにも、内臓脂肪蓄積低減作用や血中コレステロールおよびトリアシルグリセロール低下作用などが報告されている。講演者はこの $\beta$ -コングリシニンをを用いた研究で、 $\beta$ -コングリシニン摂取の血中脂質低下作用を示し、肝臓の脂質合成系の抑制ならびに $\beta$ 酸化系の亢進、血中アディポネクチン濃度の上昇および肝臓からの VLDL 分泌抑制がその作用機序であることを示した。また、生体ガス質量分析装置を用いた呼気ガス分析によるエネルギー代謝測定によって、炭水化物消費の亢進を明らかにし、 $\beta$ -コングリシニン摂取が糖代謝改善に寄与することも示唆した<sup>7)</sup>。

3. *in vitro*実験系での食品成分機能の評価系およびスクリーニング系の構築

さらに、先述のような実験動物を用いた *in vivo* 実験系での評価以外にも、培養細胞を用いた *in vitro* 実験系での食品成分機能の評価系およびスクリーニング系の構築にも成功した。具体的には、ヒト由来肝細胞モデル HepG2 細胞を用いた実験で、動脈硬化促進性バイオマーカーである Apo B100 および抗動脈硬化性バイオマーカーである Apo A-1 の分泌を指標として、海苔に含まれるポルフィランや柑橘系に含まれるオーラプテンなどの植物性食品成分が脂質代謝改善機能を有することを見出した<sup>8,9)</sup>。

## 4. 脂質低下作用を有する大豆由来ジペプチドの探索

また、肥満モデル動物 OLETF ラットを用いた *in vivo* 実験系とヒト由来肝細胞モデル HepG2 細胞を用いた *in vitro* 実験系を組み合わせた評価系を構築した。この評価系により分離大



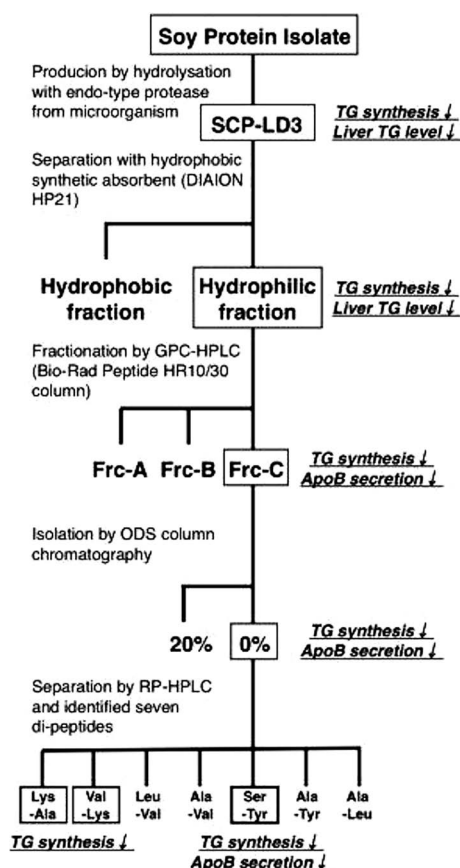


図1. 脂質低下作用を有する大豆由来ジペプチドの探索

豆タンパク質から、5段階の分画を経て、脂質低下作用を有する新規ジペプチド3種をスクリーニングすることにも成功した<sup>10)</sup>。(図1)

おわりに

以上、病態モデル動物や正常モデル動物による *in vivo* 実験系、ヒト由来肝細胞モデルによる *in vitro* 実験系を用いた食品由来機能性成分の評価ならびに作用機構に関する結果より、植物性機能性成分の病態発症改善機能が示された。さらに、本研究結果より、これまで廃棄物として処理されたもの、一部の地域でのみ流通するもの、など注目されなかった食品のなかにも機能性成分を豊富に含む食素材が存在する可能性を示した。これらの研究結果が、今後の食品機能学のさらなる研究発展に対して寄与できると考えている。

#### (引用文献)

- 1) Nagao, K., Higa, K., Shirouchi, B., Nomura, S., Inoue, N., Inafuku, M. and Yanagita, T. Effect of Vaccinium ashei reade leaves on lipid metabolism in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 72(6), 1619-1622, 2008
- 2) Inoue, N., Nagao, K., Nomura, S., Shirouchi, B., Inafuku, M., Hirabaru, H., Nakahara, N., Nishizono, S., Tanaka, T. and Yanagita, T. Effect of Vaccinium ashei reade leaf extracts on lipid

metabolism in obese OLETF rats. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 75(12), 2304-2308, 2011

- 3) Sakaida, H., Nagao, K., Higa, K., Shirouchi, B., Inoue, N., Hida, F., Kai, T. and Yanagita, T. Effect of Vaccinium ashei reade leaves on angiotensin converting enzyme activity in vitro and on systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats in vivo. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 71(9), 2335-2337, 2007
- 4) Nagao, K., Inoue, N., Inafuku, M., Shirouchi, B., Morooka, T., Nomura, S., Nagamori, N. and Yanagita, T. Mukitake mushroom (Panellus serotinus) alleviates nonalcoholic fatty liver disease through the suppression of monocyte chemoattractant protein 1 production in db/db mice. Journal of Nutritional Biochemistry, 21(5), 418-423, 2010
- 5) Inafuku, M., Nagao, K., Nomura, S., Shirouchi, B., Inoue, N., Nagamori, N., Nakayama, H., Toda, T. and Yanagita, T. Protective effects of fractional extracts from Panellus serotinus on non-alcoholic fatty liver disease in obese, diabetic db/db mice. British Journal of Nutrition, 107(5), 639-646, 2012
- 6) Inoue, N., Inafuku, M., Shirouchi, B., Nagao, K. and Yanagita, T. Effect of Mukitake mushroom (Panellus serotinus) on the pathogenesis of lipid abnormalities in obese, diabetic ob/ob mice. Lipids in Health and Disease, 12, 18, doi: 10.1186/1476-511X-12-18, 2013
- 7) Inoue, N., Fujiwara, Y., Kato, M., Funayama, A., Ogawa, N., Tachibana, N., Kohno, M. and Ikeda, I. Soybean  $\beta$ -conglycinin improves carbohydrate and lipid metabolism in Wistar rats. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 79(9), 1528-1534, 2015
- 8) Inoue, N., Yamano, N., Sakata, K., Nagao, K., Hama, Y. and Yanagita, T. The sulfated polysaccharide porphyran reduces apolipoprotein B100 secretion and lipid synthesis in HepG2 cells. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 73(2), 447-449, 2009
- 9) Nagao, K., Yamano, N., Shirouchi, B., Inoue, N., Murakami, S., Sasaki, T. and Yanagita, T. Effects of citrus auraptene (7-geranyloxycoumarin) on hepatic lipid metabolism in vitro and in vivo. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(16), 9028-9032, 2010
- 10) Inoue, N., Yamano, N., Sakata, K., Arao, K., Kobayashi, T., Nagao, T., Shimada, Y., Nagao, K. and Yanagita, T. Linoleic acid-menthyl ester reduces the secretion of apolipoprotein B100 in HepG2 cells. Journal of Oleo Science, 58(4), 171-175, 2009

**謝 辞** 本研究ならびに今回の受賞にあたり、恩師である柳田晃良教授(西九州大学、佐賀大学名誉教授)、永尾晃治教授(佐賀大学)に深甚の謝意を表し、御指導、御鞭撻を頂いた宮澤陽夫教授、池田郁男教授、阿部敬悦教授、仲川清隆教授(東北大学)に厚く御礼申し上げます。また、本研究の遂行にあたり、城内文吾助教(九州大学)をはじめ佐賀大学農学部食品栄養化学分野の皆様および東北大学大学院農学研究科食品化学分野の皆様にお手伝いいただきました。各位に深く感謝いたします。



名古屋大学生物機能開発利用研究センター 佐藤 ちひろ

## 酸性糖鎖ポリシアル酸の新機能の発見とその応用展開

## はじめに

糖鎖はタンパク質、核酸に次ぐ第3の生命鎖といわれており、その構造と機能を解明することは生命を理解する上で必須な課題である。特に細胞表面では、細胞膜や細胞外に存在するタンパク質のほぼ全てが糖鎖修飾を受けており、その結果100–200 nm程度の厚い Glycocalyx (糖衣) により覆われている。従って糖鎖は細胞の顔として細胞外とのコミュニケーションに深く関わる重要な生体高分子と位置づけられている。このような外界に向かって最先端に存在する糖鎖の最末端構造(非還元末端)は、糖の中でも特に特徴的な酸性9炭糖、シアル酸によりキャップされている。このシアル酸は外界からの変化を最先端で鋭敏に受けとり変化させることができる機能性糖残基であり古くから注目されて研究されてきている。これまでに受精・発生・分化・免疫・脳機能・疾患など多岐にわたる生物学的現象において重要な役割を担っていることが明らかにされている。また、ウイルスが細胞に進入する際の足場としても用いられており、細胞表面のシアル酸を制御することは医薬・食品開発において重要な課題であり、ターゲット分子として注目されている。シアル酸は通常、1残基が1本の糖鎖の最外部(非還元末端)に結合したモノシアル酸として存在するが、まれにその末端シアル酸残基の上にさらにシアル酸の直鎖ポリマーが結合するポリシアル酸(polySia, PSA)構造として存在する場合がある。polySiaはその発見のほとんどが胎児脳および癌細胞であったことから、癌胎児性抗原として古くから注目され、特にpolySia修飾をうけた神経細胞接着分子(NCAM)(polySia-NCAM)を中心に世界的に研究が進んでいる。これまでにNCAM上のpolySia構造は、そのほとんどが胎児脳に一過的な発現をすること、成体脳では神経の可塑性が保たれている領域、海馬や嗅球などに偏在していること、その巨大な排除体積によって接着分子の接着能を負に制御し、細胞間相互作用を抑えるような反発性の空間を提示することにより、脳の正常な発達を促し、学習・記憶、行動、体内時計の正常な維持に関わると考えられて来た。しかし、以下の我々自身の4つの研究成果から、シアル酸重合体(di/oligo/polySia)構造の超多様性と新機能が明らかになりつつあり、polySia鎖が及ぼす機能の底流となる分子メカニズムを再度検証する必要性に迫られている。またその新機能に基づく応用研究も展開中である。

## 1. ポリシアル酸鎖の構造多様性の発見

ポリシアル酸が豊富に含まれる海産動物卵サンプルを用い、化学的、生化学的、免疫化学的手法を組み合わせた詳細な構造解析を行い、polySiaが構成シアル酸、重合度、結合位によって多様な構造を呈することを明らかにし、これまで均一な構造と考えられてきたpolySia鎖が「構造超多様性」を持つことを世界で初めて証明した<sup>1–3)</sup>。

## 2. シアル酸重合体の検出法の開発をもとにした、ジ・オリゴ・ポリシアル酸鎖の普遍的存在証明

次に、哺乳動物に目を向け、これまでpolySiaの構造多様性が見出されていない現状に疑念を抱き、その理由は「微量検出方法がなかったに過ぎない」と考え、この考えを証明するために、シアル酸重合体構造を微量で検出できる化学的方法<sup>3–5)</sup>と特異的抗体と特異的な酵素を合わせて用いる免疫化学的手法<sup>2,3,6)</sup>を世界で初めて開発した。それらの方法を用いて、哺乳動物の種々の臓器や細胞においてdi/oligo/polySia構造を検索し、シアル酸重合体構造を持つ糖タンパク質が天然に広く存在分布することを初めて明らかにした<sup>2,3,7,8)</sup>。これらの一連の研究によって「ポリシアル酸の構造多様性は様々な動物種において普遍的に存在する」ことを証明した<sup>2,3)</sup>。また、このdi/oligo/polySiaによる修飾が、受精、発生、分化、神経形成、炎症、免疫の諸現象に関与することも明らかにしてきた。新たにdi/oligoSia構造の存在と機能的重要性が明らかになったことによって、現在、「シアル酸の重合度が精緻に制御されることによって糖タンパク質の機能が制御される」という糖タンパク質機能調節メカニズムの提唱に至っている<sup>9)</sup>。

## 3. ポリシアル酸の新機能の発見

polySia鎖含有糖タンパク質の探索過程で、脳内ミクログリア細胞の細胞表面にpolySia-NCAMを発見し、そのpolySia構造が炎症刺激後素早く消失する現象を発見した<sup>10)</sup>。この素早いpolySia鎖の消失の原因は、炎症刺激に伴い放出されるエキソソーム上のシアリダーゼであること、このシアリダーゼがNeu1であること、中性領域で働き、ラフトを介して放出されることなどを明らかにした。またミクログリアの神経細胞保護機能を鑑み、polySia鎖が神経栄養因子など様々な神経作用因子を保持し制御する新機能を持つことを仮定し、polySia構造が神経系細胞表面にあって様々な神経作用因子を保持する微小糖鎖空間を作り出すこと、その空間は脳内環境の変化によって形成・消失し、その変化に応じた神経作用因子の提示が実現されるという「Retain and Release仮説」を提唱するに至った<sup>3)</sup>。この仮説を証明するために、これまで神経作用因子の中でpolySiaに保持されうる神経作用因子を探索し、脳由来神経栄養因子(BDNF)などのニューロトロフィン類<sup>11–15)</sup>、増殖因子(FGF-2)<sup>13–16)</sup>、カテコールアミン系神経伝達物質(ドーパミン(DA))<sup>13)</sup>などのいずれも脳機能に深く関わる液性因子を同定してきている。これらの液性因子とpolySia-NCAM上のpolySia鎖の分子間力を表面プラズモン共鳴法(SPR)やフロンタルアフィニティークロマトグラフィーなどの手法を用いて解析する技術を開発した<sup>3,15,17)</sup>。それらの方法によって、これらの因子はpolySiaの重合度特異的に結合していること、polySiaは親和的な空間を形成しており、神経作用因子とその受容体との相互作用が関わるシグナル伝達を、既知のヘパラン硫酸鎖のよう

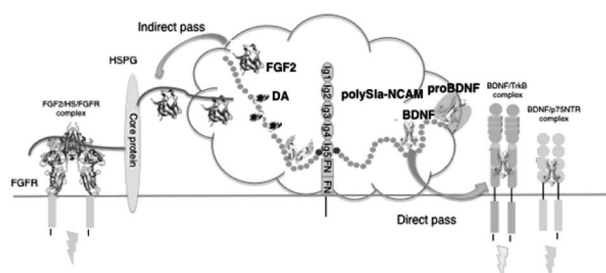


図1 Retain and Releasing mechanism of polySia-NCAM

なグリコサミノグリカン鎖とは異なる機構で制御していることを世界で始めて示した<sup>3)</sup>。さらに polySia 鎖からの分子の放出メカニズムに関してはエキソソーム上のシアリダーゼによる polySia 鎖の分解によるものだけでなく<sup>10)</sup>、FGF2 の場合は、FGFR に受け渡す前にヘパラン硫酸に受け渡し機構があること<sup>16)</sup>、native な FGF2 構造特異的に結合することでプロテアーゼ消化から分子を保護する機構があることを明らかにした<sup>15)</sup>。BDNF の場合は TrkB や p75NTR が polySia 鎖に近づくことによって、アフィニティーの違いで分子を放出すること<sup>12)</sup>、前駆体物質である proBDNF の plasmin によるプロセッシング機構に関与する<sup>15)</sup> 可能性を提唱した。

#### 4. 精神疾患とポリシアル酸鎖の関連性の証明

polySia 鎖における retain and release 機能を鑑み (図1)、この polySia 鎖が醸し出す空間はきわめて厳密に制御され、この空間の不全が疾患を導くという仮説を立て<sup>3,18)</sup>、その仮説を証明するために精神疾患に着目してきた。近年、ゲノムワイドな研究からポリシアル酸を生成する酵素 ST8SIA2 遺伝子の一塩基多型 (SNPs) が精神疾患、特に統合失調症、双極性障害、自閉症と関連性があることが示唆されている<sup>3,18,19)</sup>。しかしこれまでの研究は、ゲノム配列と疾患の統計学的な関連性の報告しかなく、生化学的な解析は全く手つかずであった。そこで、統合失調症患者で見つかったアミノ酸置換を伴う変異 (cSNP) と伴わない変異 (sSNP)<sup>13-15)</sup>、双極性障害患者および自閉症での関連性が示唆されるイントロン領域の変異 (iSNP)<sup>20)</sup>、日本人と中国人の統合失調症患者で示唆される制御領域の rSNP に着目して、その酵素発現および反応産物の構造及び分子結合性に対する機能解析を詳細に行ってきた。その結果、いずれの疾患に関わる SNPs も、酵素の発現量および反応産物の機能が損われる事が明らかになり、polySia 鎖の破綻が疾患の原因の一端を担う可能性を示すことができた。

#### おわりに

これまで polySia 鎖は、重合度や構成シアル酸に対する特異性も不明な抗 polySia 抗体で認識される構造として定義され、その全ての機能は polySia 鎖の反接着作用に起因すると解釈されてきた。しかし、一連の研究によって、polySia 鎖には構造超多様性が存在し、特定の分子に特異的に結合することによって、その分子機能を制御する多分子制御糖鎖であることを明らかにしてきた。加えて、そのユニークな酸性多糖が提示する反

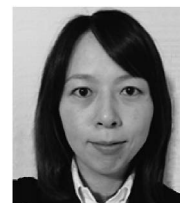
発性の場と分子誘因性の場は遺伝的に厳密に制御され、その破綻は疾患を引き起こす可能性があることを示してきた。特に成体脳において polySia 鎖は可塑的な領域に発現する神経新生マーカーであり、その発現は記憶や脳機能に関わることが明らかにされている。現在は、これまでの知見と技術を総動員して、食品や医薬品の摂取等における polySia 鎖の発現制御を評価し、それらの生体での有用性の検証を行うことで、食や健康を関連づけつつ社会還元することを目指している。

#### (引用文献)

- 1) Sato C, *et al. J. Biol. Chem.* 268, 23675-23684 (1993).
- 2) Sato C, *et al. J. Biol. Chem.* 275, 15422-15431 (2000).
- 3) Sato C, and Kitajima K. *J. Biochem.* 154, 115-136 (2013).
- 4) Sato C, *et al. J. Biol. Chem.* 273, 2575-2582 (1998).
- 5) Sato C, *et al. Anal. Biochem.* 267, 102-109 (1999).
- 6) Sato C, *et al. J. Biol. Chem.* 270, 18923-18928 (1995).
- 7) Sato C, *et al. J. Biol. Chem.* 273, 2575-2582 (1998).
- 8) Inoko E, *et al.* and Sato C. *Glycobiology* 20, 916-928 (2010).
- 9) Sato C. *Trends Glycosci. Glycotech.* 16, 331-344 (2004).
- 10) Sumida M, *et al.* and Sato C. *J. Biol. Chem.* 290, 13202-13214 (2015).
- 11) Kanato Y, Kitajima K and Sato C. *Glycobiology* 12, 1044-1053 (2008).
- 12) Kanato Y, *et al.* and Sato C. *Biosci. Biotech. Biochem.* 73, 2735-2741 (2009).
- 13) Isomura R, *et al.* and Sato C. *J. Biol. Chem.* 286, 21535-21545 (2011).
- 14) Hane M, *et al.* and Sato C. *Pure Appl. Chem.* 84, 1895-1906 (2012).
- 15) Hane M, *et al.* and Sato C. *Glycobiology* 10, 1112-1124 (2015).
- 16) Ono S, *et al.* and Sato C. *J. Biol. Chem.* 287, 3710-3722 (2012).
- 17) Sato C *et al. Methods in Enzymology* (Minoru Fukuda ed. in glycomics) Elsevier Science, 478, pp. 219-232 (2010).
- 18) Sato C and Kitajima K. *Front. Cell. Neurosci.* 7, 61(1-11) (2013).
- 19) Sato C, Hane M and Kitajima K. *Biochim. Biophys. Acta.* 1860, 1739-1752 (2016).
- 20) Hane M, Kitajima K and Sato C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 478, 1123-1129 (2016).

謝 辞 学生時代から現在に至るまで、一般常識では計り知れない生活と見えているであろう私の研究 (大学) 生活を暖かく見守ってくれた両親に深く感謝します。また研究を共に行ってきた名古屋大学生物機能開発利用研究センター動物細胞機能研究分野に所属した全ての方々に感謝いたします。研究を継続することを可能にしてくれた名古屋大学大学院生命農学研究科松田幹先生をはじめとする応用生命化学講座の先生方、生物機能開発利用研究センターの先生方に感謝いたします。Frederick Troy 教授, Jürgen Roth 教授, Karen Colley 教授, Ajit Varki 教授, Yann Gérardel 博士には様々な点でお世話になりました。最後になりましたが名古屋大学生物機能開発利用研究センター・北島健教授には研究全般に対してご指導・ご支援、そしてなによりも時代がとりまく様々な事象について深い理解を示していただきました。この場をかりて感謝いたします。





## 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

名古屋大学大学院生命農学研究科／名城大学総合研究所 加藤 晃 代

### はじめに

微生物とそれらが生産するタンパク質は、研究のみならず食品・医薬・化成品産業と切っても切り離せない関係となった。ゲノム情報が自由に手に入るようになった昨今でも、機能未知のタンパク質が多く存在し、有用タンパク質の探索・微生物生産に関する研究は盛んにおこなわれている。特に、いかに利用しやすいものを探索し、最適化するかは産業上最も重要な課題のひとつである。

著者は、主に食品産業分野での微生物・タンパク質利用およびそれらによる技術開発を目指し、有用糖質合成酵素、微生物同定技術、モノクローナル抗体取得技術、およびタンパク質の大量生産法など、多岐にわたる研究開発を展開してきた。以下に、研究成果の概要を紹介する。

### 1. 機能性糖質の酵素合成

#### 1-1. 糖転移酵素 $\alpha$ -グルコシダーゼ (AG)

AGは、マルトオリゴ糖の加水分解および糖転移活性を有する酵素であり、食品産業においては主に糸状菌由来酵素が分岐オリゴ糖や配糖体の合成に使用されている。

著者らは、糖転移活性が高く、かつ副産物が少ないAGによる配糖体合成法の確立を目指し、海洋微生物よりAGを探索した。その結果、サンゴより単離した好塩性の *Halomonas* sp. H11株より、糖転移効率が高く、様々なアルカリ金属塩に活性化される興味深い特性を有する新規AGを見出した。

本AGは、マルトースを糖供与体、グリセロール、エタノールなどのアルコール性OH基を有する物質を糖受容体としたときに配糖体を高効率で合成可能であり、三糖以上の副産物を殆ど生成しないという特徴を有していた。また、他起源酵素では配糖化が困難であったショウガ成分6-ジンゲロールに対する糖転移活性も高く、約60%の変換効率でジンゲロール配糖体を合成できることが分かった。本配糖体は水に可溶で熱に安定であることから、食品・化成品素材として有用と考えられた(図1)。

#### 1-2. 異性化酵素セロビオース 2-エピメラーゼ (CE)

エビラクトースはラクトース中のガラクトースがマンノースに異性化した希少糖であり、プレバイオティクス効果やミネラ

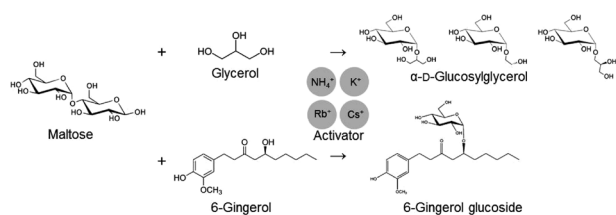


図1. *Halomonas* sp. H11由来AGによる配糖体合成  
マルトースを糖供与体、グリセロールや6-ジンゲロールなどを糖受容体としたときに高効率で糖転移反応を触媒する。アルカリ金属塩により酵素が活性化される、副産物生成量が少ないなどの特徴を有する。

ル吸収促進効果などの機能が見出されている。著者らはゲノムデータベースをもとにした探索法により、複数の好気性細菌から新規有用酵素を獲得した。その中から、工業利用に必要な60℃以上の耐熱性と反応性能を有する海洋性微生物 *Rhodothermus marinus* 由来CEを見出し、酵素工学的諸性質を明らかにすると同時に本酵素による高純度エビラクトース生産プロセスを開発した。

### 2. 質量分析計MALDI-TOF MSによる食中毒菌の迅速識別

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計(MALDI-TOF MS)による微生物同定法は、その利便性および迅速性から、臨床微生物検査分野を中心に1980年代後半以降急速に拡大してきた。しかし、従来のフィンガープリント法においては、種以上の詳細な識別が困難な場合があった。

著者らは、ゲノミクスとプロテオミクスを融合したプロテオタイピング法の一つ、S10-GERMS法(*S10-spc-alpha* operon Gene Encoded Ribosomal protein Mass Spectrum)を基とし、食中毒細菌の血清型レベルでの識別法および高精度細菌識別ソフトウェア Strain Solutionを開発した(図2)。これにより、大腸菌O157に代表される腸管出血性大腸菌やリステリア菌などの食中毒細菌の血清型をMALDI-TOF MSにて迅速に識別することが可能となった。

### 3. モノクローナル抗体(mAbs)の迅速取得法

mAbsは医薬・診断に汎用されているが、一般的に用いられているハイブリドーマ法による抗体取得や動物細胞による抗体生産には多大な時間と労力が必要とされる。

一方、筆者らのグループでは、B細胞1細胞からのPCRと無細胞タンパク質合成系を組み合わせ、迅速mAbs抗体取得法を開発してきた。本手法では、mAbsをFragment of antigen binding (Fab)として*in vitro*で発現・評価するため動物細胞発現系を用いた系と比較し迅速化が容易である。しかし、同じ動物種から得られたmAb遺伝子であっても、クローンによってFabの形成効率および生産量そのものが低いことが課題であった。

そこで、まずFab形成効率を改善するために抗体重鎖と軽鎖の末端に互いに接着するロイシンジッパーペプチド、付加した「Zipbody」を開発し大腸菌の無細胞タンパク質合成系で活性型

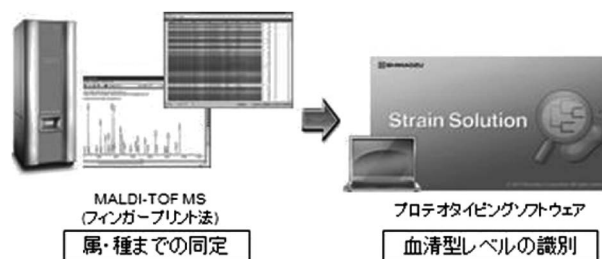


図2. MALDI-TOF MSによる高精度な菌株同定システム

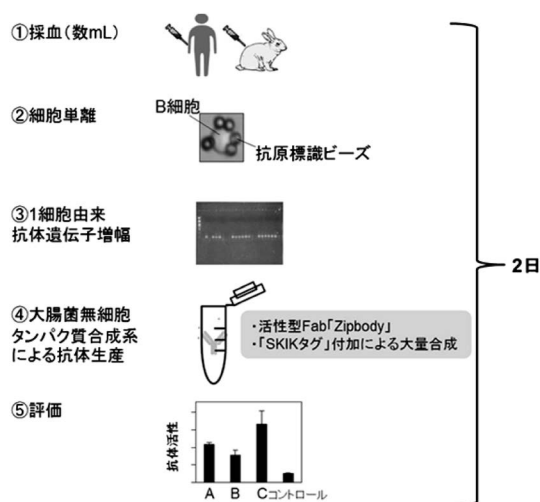


図3. mAbs取得技術「Ecobody法」の概要

免疫された動物（ヒト・ウサギなど）の血液からB細胞を単離し、2日以内に抗体評価を行うことを可能とした。

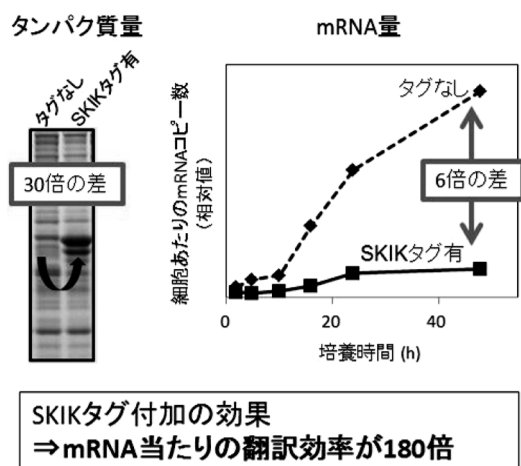


図4. N末端SKIK ペプチドタグによる難発現タンパク質の生産増大効果

大腸菌で難発現であったマウス由来の抗体遺伝子を発現させた例を示す。SKIK ペプチドタグの付加により、菌体当たりのタンパク質生産量が30倍、mRNA コピー数が1/6倍となり、翻訳効率が劇的に上昇している可能性が考えられた。

のFabを生産することを可能とした。さらに、タンパク質生産量を改善するために、後述する「N末端SKIK ペプチドタグ」を考案し、抗体を大腸菌発現系において大量生産可能とする技術を開発した。ZipbodyとSKIKタグの組み合わせにより、様々な食中毒菌に対するウサギmAbsの創出と大腸菌による大量生産系を確立し、動物のB細胞1個からわずか2日間で抗体遺伝子を取得・評価可能な「Ecobody法」を完成させた(図3)。

#### 4. タンパク質の大量生産を可能とするN末端タグ

遺伝子によって大腸菌におけるタンパク質発現量が異なることは、タンパク質の評価ならび実用化において最大の課題となる場合がある。通常、そのような「難発現タンパク質」の発現量を増大させるためには、コドン・培地・誘導条件の最適化、可溶性タンパク質と融合発現、さらには宿主-ベクター系の見直し等の手間と時間のかかる検討を要する。

著者らは、本課題を簡便に解決する手段を模索し、大腸菌で元来高発現なタンパク質のN末端アミノ酸配列傾向を報告する一本の論文から着想を得、難発現タンパク質のN末端にSer-Lys-Ile-Lysから成る4アミノ酸のペプチドタグ(SKIKタグ)を付加し発現するのみで、大腸菌におけるタンパク質発現量を数十～百倍に増大可能であることを見出した。また、本SKIKタグは、*in vitro*の大腸菌無細胞タンパク質合成系、様々なプロモーター制御下においても効果があった。さらに、真核異種発現システムの代表である酵母においても有効であり、抗体以外の様々な難発現タンパク質でも効果を有することを明らかにした。

本現象のメカニズムは謎であるが、SKIKタグの付加により細胞内mRNAコピー数当たりの翻訳効率が100倍以上にも効率化することでタンパク質生産量が増大している可能性を明らかにした(図4)。今後、本メカニズム解明と応用研究を目指し、タンパク質生産に関するライフサイエンス分野の研究・産業に貢献したいと考えている。

謝 辞 本研究は名古屋大学生命農学研究科、日本食品化工株式会社、愛知県「知の拠点あいち重点研究プロジェクト2—食の安全・安心技術開発プロジェクト」および名城大学において行われたものです。研究遂行にあたりご指導ご鞭撻を賜りました、中野秀雄先生(名古屋大学)、松井博和先生(北海道大学)、佐分利亘先生(北海道大学)、田村廣人先生(名城大学)、工藤俊章先生(長崎大学、現北里大学)、山本健博士(日本食品化工株式会社)、相沢健太氏(日本食品化工株式会社)、小林哲夫先生(名古屋大学)、熊澤茂則先生(静岡県立大学)、河原崎泰昌先生(静岡県立大学)に深く感謝いたします。微生物同定システム開発の共同研究においては野村静男氏、島圭介氏、船津慎治氏(株式会社島津製作所)、皆川洋子先生(愛知県衛生研究所)、飯島義雄先生(神戸市環境保健研究所)、伊藤猛氏(日本食品分析センター)、高橋肇先生(東京海洋大学)、岸本満先生(名古屋学芸大学)に多大なるご協力をいただきました。最後に、本研究を遂行するにあたり日頃よりサポートをいただいた日本食品化工株式会社研究所の皆様、知の拠点あいちの研究員の皆様、名古屋大学生命農学研究科分子生物工学研究室の先生方、学生の皆様に深く感謝いたします。



## 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

信州大学農学部 田中 沙智

### はじめに

免疫系が正常に作用するためには、正確かつ迅速な自己・非自己の異物認識、それに続く免疫細胞の活性化や過剰な免疫反応の抑制など、免疫系のバランスを維持することが重要である。我々を取り巻く生活環境には、大気汚染や食生活の乱れ、ストレスなどの体内環境を悪化させる様々な要因が存在し、それらが原因となって免疫バランスを適切に制御できない「免疫バランスの破綻」が起こると言われている。この免疫バランスの破綻の状態が持続・慢性化すると、がんやアレルギー、自己免疫疾患、感染症などの発症につながることを示唆されている<sup>1)</sup>。免疫バランスを維持するためには、免疫機能を調節する成分を含む食材を毎日の生活の中で摂取することが簡便、且つ効果的であると考え、私はこれまでに、黒豆の一種である「黒千石」<sup>2)</sup>、キク科の野菜「春菊」<sup>3)</sup>、および信州の伝統野菜の一種である「野沢菜」に免疫機能調節作用があることを明らかにしている。本講演では、野沢菜抽出物による免疫賦活作用とそのメカニズムについて詳細に報告する。

### 1. 野沢菜抽出物による IFN- $\gamma$ 産生誘導メカニズム

免疫調節作用を有する農作物のスクリーニングでは、マウス脾臓細胞を用いて試験管培養法により評価し、抗がん、抗感染、抗アレルギー作用において重要なサイトカインである IFN- $\gamma$  の産生誘導能を指標にした。各種野菜より熱水抽出物を調製し、マウス脾臓細胞に添加して 48 時間の培養を行った。その後、培養上清中に含まれる IFN- $\gamma$  産生レベルを ELISA で測定したところ、信州の伝統野菜の一種である「野沢菜」で IFN- $\gamma$  産生誘導能が高いことを見出した(図1A)。次に、野沢菜抽出物の樹状細胞に対する影響を調べるために、骨髓由来樹状細胞 (BMDC) に野沢菜抽出物を添加した時の細胞表面抗原 (MHC クラス I およびクラス II, CD86, CD40) の発現変化を調べた。その結果、野沢菜抽出物の刺激で BMDC は活性化し、細胞表面抗原の発現が増加した。また、このときの IL-12p70 産生レベルを ELISA で測定したところ、無刺激に比べて有意に増加した(図1B)。

加えて、野沢菜抽出物で刺激した脾臓細胞から誘導される IFN- $\gamma$  産生は抗 IL-12 抗体の処理により阻害された。さらに、

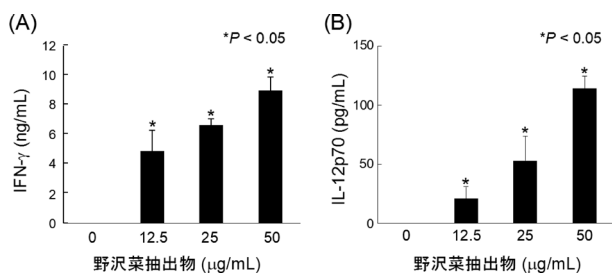


図1. 野沢菜抽出物によるサイトカイン誘導能

野沢菜抽出物の刺激で IFN- $\gamma$  を産生する細胞を同定するために、抗 IFN- $\gamma$  抗体による細胞内染色を行い、IFN- $\gamma$  陽性細胞の割合をフローサイトメーターにて解析した。その結果、IFN- $\gamma$  産生細胞は NK1.1 陽性細胞であることが確認された。以上のことから、野沢菜抽出物は樹状細胞からの IL-12 産生を促し、NK 細胞からの IFN- $\gamma$  産生を誘導することが示された(図2)。

### 2. 野沢菜の免疫賦活成分を認識するレセプターの解析

Toll-like receptor (TLR) は、樹状細胞やマクロファージに発現するレセプターで、外来抗原を認識し、その後の免疫応答シグナルを伝達する上で重要な役割を果たしている<sup>4)</sup>。野沢菜抽出物中の活性成分の認識における TLR の関与を明らかにするために、抗 TLR2 中和抗体および LPS の共通構造であるリピド A に結合し活性を阻害するポリミキシン B (PB) で処理した時の野沢菜抽出物による IFN- $\gamma$  産生を測定した。その結果、コントロールと比較して抗 TLR2 中和抗体および PB の処理で、野沢菜抽出物による IFN- $\gamma$  産生が減少した(図3)。

また、C 型レクチンレセプター (CLR) は、樹状細胞やマクロファージに発現するレセプターで、カルシウム依存性に糖鎖構造を認識して、炎症性サイトカインの産生を誘導する<sup>5)</sup>。野沢菜抽出物に含まれる活性成分の認識における CLR の関与を調べるため、カルシウムのキレート剤である EDTA で脾臓細胞を処理したときの野沢菜抽出物の免疫賦活効果を検討した。

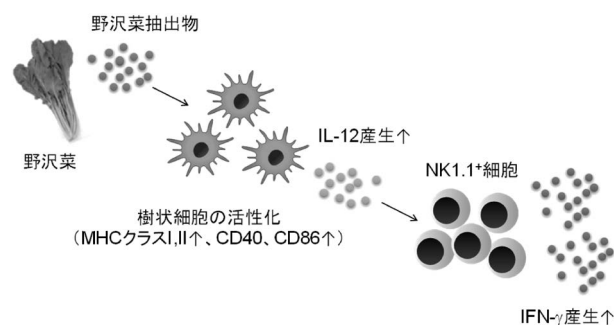


図2. 野沢菜抽出物による IFN- $\gamma$  産生誘導メカニズム

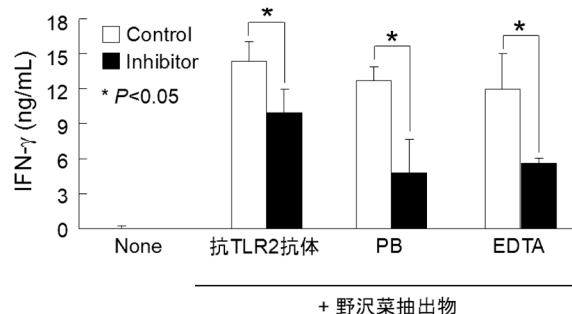


図3. 野沢菜抽出物による IFN- $\gamma$  産生に対するレセプター阻害剤添加実験



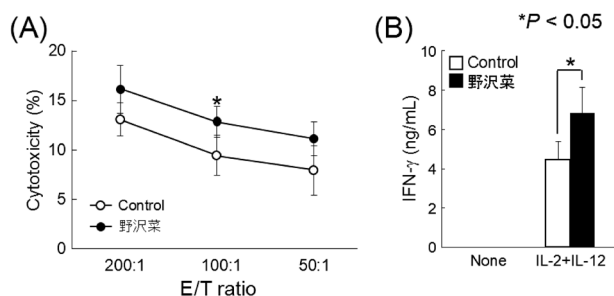


図4. 野沢菜抽出物を摂取させたマウスのNK活性とIFN- $\gamma$ 産生の増強効果

その結果、コントロールに比べてEDTAで処理した場合、野沢菜抽出物によるIFN- $\gamma$ 産生は有意に低下した(図3)。以上のことから、野沢菜抽出物に含まれる活性成分はTLR2やTLR4によって認識されること、カルシウム依存性にレセプターと結合することが示された。

さらに、シグナル伝達の阻害剤で処理したときの野沢菜抽出物によるIFN- $\gamma$ 産生量を測定することで、受容体の下流に存在するシグナル伝達経路を検討したところ、野沢菜抽出物によるIFN- $\gamma$ 産生誘導は、MAPK、NF- $\kappa$ B、Sykを介したシグナル伝達経路が関与することが示唆された。

### 3. 野沢菜抽出物を摂取させたマウスの免疫機能の解析

野沢菜抽出物を摂取させたマウス生体内での免疫機能を評価するために、調製した野沢菜抽出物をC57BL/6マウスに7日間経口投与した。その後、脾臓細胞を単離し、YAC-1細胞をターゲット細胞としてNK活性を測定したところ、野沢菜抽出物を経口投与したマウスはコントロールのマウスに比べてNK活性が有意に増加した。また、マウスの脾臓細胞をIL-2+IL-12で刺激し、IFN- $\gamma$ 産生量をELISAにて測定したところ、野沢菜抽出物を摂取させたマウスはコントロールマウスに比べて、IL-2+IL-12で刺激した脾臓細胞におけるIFN- $\gamma$ 産生量が有意に増加した(図4A, B)。

腸内細菌叢に関する研究は、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム技術の開発などにより、ここ数年で飛躍的に発展しており、腸内細菌は整腸作用や免疫調節作用のみならず、がんやメタボリックシンドロームなどの疾病との関連性が報告されている。野沢菜抽出物の摂取による腸内細菌への影響を検証するために、マウスに野沢菜抽出物を経口摂取させ、結腸および盲腸の消化管内容物を採取し、配列特異的SSU rRNA切断法を用いて腸内細菌叢の構成比の変動を解析した。また、腸内細菌による嫌氣的発酵産物としての消化管内容物中短鎖脂肪酸濃度を測定した。その結果、野沢菜抽出物の摂取により、マウス結腸において、日和見菌の一種で酢酸を生成するバクテロイデス門が低下し、酪酸濃度が増加した。このときのマウス脾臓の免疫担当細胞について調べたところ、制御性T細胞の割合が増加する傾向にあった。さらに、脾臓細胞をLPSで刺激した時のIL-10産生は野沢菜抽出物の摂取により増加することが示された<sup>6)</sup>。以上のことから、野沢菜抽出物の摂取により、腸

内細菌叢が変動して酪酸濃度が増加し、免疫状態が変化することが示された。

おわりに

野沢菜の抽出物には、樹状細胞からのIL-12産生を介して、NK細胞からのIFN- $\gamma$ 産生を誘導する免疫賦活効果があることが示された。今後は、免疫調節作用に関与する成分の単離・同定や、アレルギーや感染症などの疾患モデルマウスを用いて生体内での免疫機能制御について検証したいと考えている。さらに、動物実験だけでなくヒト介入試験を実施し、免疫関連疾患に対する予防・改善のメカニズムを詳細に解明することが今後の目標である。食事内容や栄養管理に気をつけることで病気を予防し、健康的な生活を送るための方策を科学的エビデンスに基づいて証明することが私の目指すところである。ヒトの健康に役立つ研究を遂行し、得られた研究成果を社会に還元できるようにしていきたいと考えている。

最後に、この受賞を励みとして、より一層研究に邁進するとともに、農芸化学分野の発展に寄与できる研究成果を上げられるように努力したい。

### 引用文献

- 1) Pae M, Meydani SN, Wu D. The role of nutrition in enhancing immunity in aging. *Aging Dis.*, Vol. 3(1), p 91-129, (2012)
- 2) Tanaka S, Koizumi S, Makiuchi N, Aoyagi Y, Quivy E, Mitamura R, Kano T, Wakita D, Chamoto K, Kitamura H, Nishimura T. The extract of Japanese soybean, Kurosengoku activates the production of IL-12 and IFN- $\gamma$  by DC or NK1.1 (+) cells in a TLR4- and TLR2-dependent manner. *Cell Immunol.*, Vol. 266(2), p 135-142, (2011)
- 3) Tanaka S, Koizumi S, Masuko K, Makiuchi N, Aoyagi Y, Quivy E, Mitamura R, Kano T, Ohkuri T, Wakita D, Chamoto K, Kitamura H, Nishimura T. Toll-like receptor-dependent IL-12 production by dendritic cells is required for activation of natural killer cell-mediated Type-1 immunity induced by *Chrysanthemum coronarium* L. *Int Immunopharmacol.*, Vol. 11(2), p 226-232, (2011)
- 4) Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol.*, Vol. 4(7), 499-511, (2004)
- 5) Osorio F, Reis e Sousa C. Myeloid C-type lectin receptors in pathogen recognition and host defense. *Immunity*, Vol. 34(5), 651-664, (2011)
- 6) Tanaka S, Yamamoto K, Yamada K, Furuya K, Uyeno Y. Relationship of Enhanced Butyrate Production by Colonic Butyrate-Producing Bacteria to Immunomodulatory Effects in Normal Mice Fed an Insoluble Fraction of *Brassica rapa* L. *Appl Environ Microbiol.*, Vol. 82(9), 2693-2699, (2016)

**謝 辞** 本研究は、生研センター「革新的技術創造促進事業(異分野融合共同研究)」の支援を受けて行われました。本研究を遂行するにあたり、御助言と御指導を賜りました信州大学農学部の藤井博教授、米倉真一准教授、上野豊助教、北海道大学遺伝子病制御研究所の北村秀光准教授に深謝申し上げます。また、野沢菜を提供していただきました株式会社まるたかの杉山陽司氏に深謝申し上げます。最後に、本研究に関わる実験にご協力いただいた学生諸氏に深く感謝いたします。



岩手大学農学部 山田 美和

## 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

## はじめに

筆者はこれまで、応用微生物学を研究の主幹とし、微生物細胞もしくは酵素による有用物質合成に関する研究を行ってきた。微生物によるバイオプラスチック合成研究には、学生、研究員時代に携わり、研究のイロハを学びつつ、組換え微生物における代謝経路の構築や、鍵酵素の機能改変を通して、ものづくりにおける微生物の可能性を実感した。その後、岩手大学で微生物由来有用酵素の研究と出会い、広大な自然界から目的酵素を産生する微生物を探索して、見出した微生物から一握りの酵素を精製し、諸性質解明、応用へと展開する微生物酵素研究の醍醐味を味わいつつ、見識を広めることができた。本講演では、多くのことが学べたこれまでの研究の中でも、筆者が特に汗水を流した思い入れの深いものをご紹介します。

## 1. 微生物によるバイオプラスチックの生合成

## 1-1. 微生物が合成するバイオプラスチック polyhydroxyalkanoate (PHA)

石油資源の枯渇やプラスチック廃棄物による環境汚染問題は、我々が早急に対処しなければならない課題のひとつであるが、バイオプラスチックは、植物由来の原料から合成し石油を用いない点や、生分解性を有するものが多いことから、諸問題を解決できる材料と期待されている。しかし、バイオプラスチックの多くは、原料は植物由来だが、植物由来のモノマーをプラスチックへと重合する際、化学重合のステップが必要となる(図1)。化学重合では、有機溶媒を用いた高温高压の反応条件や、重金属触媒を必要とするため、環境へ負荷をかける恐れがある。そこで、著者らの研究では、微生物がエネルギー源として体内に貯蔵するバイオプラスチックであるPHAに注目した。本プロセスでは、モノマー供給とポリマー重合というプラスチック合成に必要な全ての反応を、細胞内において生体触媒である酵素が行うため、常温常圧の温和な条件で反応が進み、かつ重金属触媒を必要としない利点がある。しかしながら、材料としての性質に寄与するPHAモノマーの化学構造は限られており、機能性にも限界があった。そこで、本研究では、微生物が合成するバイオプラスチックの可能性を広げるため、新たな化学構造を有するポリマーの微生物合成を目指した。

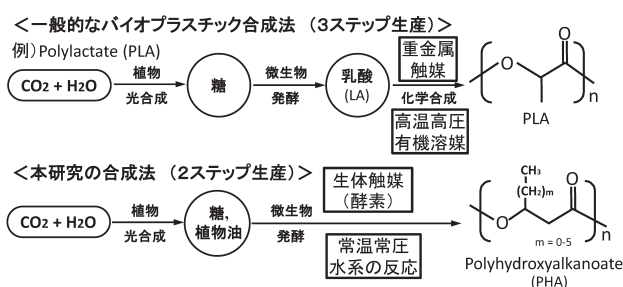


図1 バイオプラスチックの合成法

## 1-2. 乳酸(LA)モノマーを有する新規PHAの微生物合成

最初のターゲットとして、市場で最も出回っている polylactate (PLA) に注目した。PLAは、透明性が高く、ガラス転移温度( $T_g$ )が室温よりも高く安定性が高いといった、PHAにはない優れた性質を有する。微生物細胞内で、LAポリマーを合成する際、LAモノマーを細胞内で供給し、重合することが必要となる。LAモノマーを重合可能な酵素(LA重合酵素)の報告はこれまでになかったが、筆者らはモノマーである lactyl-CoA (LA-CoA) と 3-hydroxybutyryl-CoA (3HB-CoA) (最も基本的なPHAのモノマー) を供給したインビトロでの重合活性試験系を利用し、天然およびPHA重合酵素変異体を対象としてLA重合酵素を探索した。結果、研究室で作製された膨大なPHA重合酵素変異体ライブラリーより、LA重合酵素を見出した。得られたLA重合酵素遺伝子と、LA-CoA供給酵素(PCT)および3HB-CoA供給酵素(PhaAB)遺伝子を組換え大腸菌で共発現させ、LAユニットを6mol%有する poly(lactate-co-3-hydroxybutyrate) [P(LA-co-3HB)] の生合成に初めて成功した(図2)。さらに、LAモノマー取り込み能力を向上させたLA重合酵素変異体の作製やLA供給量が向上する嫌気培養の検討により、LA分率を最大で67mol%まで向上させた。得られた多様なLA分率のP(LA-co-3HB)の性質を調べ、ポリマー中のLA分率の向上は、ポリマーの柔軟性、透明性、 $T_g$ を上昇させると示した。

## 1-3. 長鎖鎖モノマーを有する新規PHAの微生物合成

続いて、生体材料としての利用に特化したPHAの創製を目指し、主鎖の炭素数が多い長鎖鎖モノマーユニットを有するPHAに注目した。宿主とする微生物や導入するPHA重合酵素および培養時の単一炭素源の種類を検討した結果、*Ralstonia eutropha* 由来PHA重合酵素を導入した *R. eutropha* PHB-4株を用い、sodium 5-hydroxyvalerate もしくは  $\omega$ -pentadecalactone を炭素源としてポリマー蓄積を行った際に5~32mol%の5-hydroxyvalerate ユニットを有する新規組成の poly[3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxypropionate-co-5-hydroxyvalerate] を合成した。さらに、合成したPHAの生体材料としての評価を行い、生体適合性を有することを明らかとした。

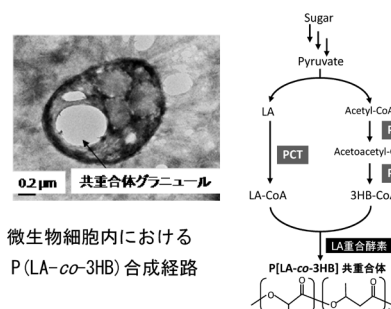


図2 微生物細胞内における P(LA-co-3HB) 合成経路

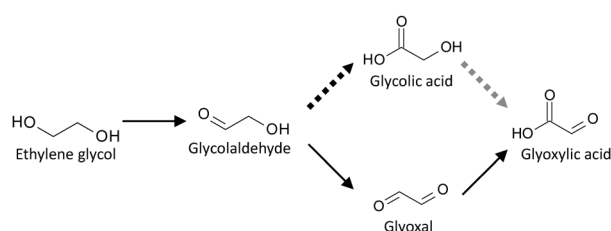


図3 エチレングリコールからのグリオキシル酸合成経路

## 2. 新規な微生物オキシダーゼによるグリオキシル酸合成

### 2-1. 微生物酵素を利用したグリオキシル酸合成

岩手大学の応用微生物学研究室では、安価なエチレングリコールを出発原料とし、医薬品や香料の原料として有用なグリオキシル酸の合成を目指して、グリコールアルデヒド、グリオキサール、もしくはグリコール酸を経由した3段階の微生物酵素の酸化反応によるグリオキシル酸合成を考案してきた(図3)。本酵素法は、一般的な化学合成法で使用する硝酸と金属触媒が不必要なため処理の問題が生じない。さらに、基質特異性の高い酵素を上手く利用すれば、化学合成法で問題となる副反応生成物の合成が克服可能と期待できる。グリオキサールを経由したグリオキシル酸合成経路に関わる微生物酵素は、すでにいくつか研究室で見出されていたが、グリコール酸を経由する合成系については、本系に適した性質を有するグリコールアルデヒドを酸化する酵素(図3黒点線)とグリコール酸を酸化する酵素(図3薄点線)がまだ見出されていなかった。そこで、筆者らは新たに上記2つの酵素の探索を試みた。

### 2-2. グリコールアルデヒド酸化能を有するアルデヒドオキシダーゼ

グリコールアルデヒド酸化能を有する酵素について、数種のアルデヒドオキシダーゼやデヒドロゲナーゼが報告されていたが、さらに活性の高い酵素の取得を目指し、目的酵素を産生する微生物の探索を行った。本研究では、2-methoxyethanolを主な炭素源とした培地による集積培養と、菌株のコロニーに基質と発色液の混合液を滴下し、赤呈したものを候補菌として選抜するプレートアッセイを組み合わせるスクリーニングを行い、グリコールアルデヒド酸化能を有するアルデヒドオキシダーゼを産生する *Burkholderia* sp. AIU 129 を見出した。得られた菌株より目的酵素の精製を行い、諸性質を明らかにした。結果、本酵素はこれまでにグリコールアルデヒド酸化能が報告されている3種のアルデヒドオキシダーゼと比較して、2番目にグリコールアルデヒドへの活性が高いことが示された。さらに、本酵素はグリコールアルデヒドに対して活性を示すが、グリコール酸およびグリオキシル酸には活性を示さなかったため、本研究で目指しているグリオキシル酸合成において副反応生成物を合成せず、有効であることがわかった。また、本酵素のようにヘテロ三量体構造を有するアルデヒドオキシダーゼが、グリコールアルデヒドに活性を示す報告はなく、本酵素は新規酵素であると推定された。

### 2-3. グリコール酸酸化能を有するアルコールオキシダーゼ

一方で、グリコール酸酸化能を有する酵素については、これまでに多くのグリコール酸オキシダーゼが報告されており、*Spinacia oleracea* (ホウレンソウ) 由来のグリコール酸オキシダーゼを利用し、グリコール酸を原料としたグリオキシル酸合成法の報告もある。しかし、これまでに報告されているグリ

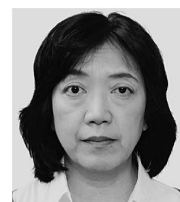
コール酸オキシダーゼは、グリオキシル酸にもわずかに活性を示すため、副反応生成物としてシュウ酸を生成する問題があった。そこで、基質特異性が厳密なグリコール酸オキシダーゼを探すために、1,2-propanediol を主な炭素源とする培地を用いた集積培養とプレートアッセイにより *Ochrobactrum* sp. AIU 033 を選抜した。選抜した菌体から目的酵素を精製し、基質特異性を検討した結果、本酵素はグリコール酸、乳酸、およびC2-C10の炭素鎖を有する第一級アルコールに作用したが、グリオキシル酸には作用せず、本酵素もまた、グリオキシル酸合成系に有効と確認できた。また、本酵素のグリコール酸に対する  $K_m$  値は、第一級アルコールに対する  $K_m$  値よりも著しく高いことから、本酵素は当初考えていたグリコール酸オキシダーゼではなく、アルコールオキシダーゼに分類されると推定された。本結果はN末端アミノ酸配列情報からも支持されるものであった。さらに、本酵素のサブユニット構造や補因子は、既知のアルコールオキシダーゼだけでなくグリコール酸オキシダーゼとも異なっており、本酵素についても、目的の物質生産に有用であるのみでなく、新規酵素であると示唆された。

### おわりに

これまで、日々目の前の実験結果から次の実験は何をしよう、と考えることばかりに必死だったが、今回自身の研究を振り返る機会をいただき、微生物の潜在能力に驚かされるばかりのこれまでだったと改めて思える。現在は、本講演で紹介した研究に関して、新たな微生物探し(宝石の原石探し)や酵素遺伝子の異宿主における発現検討、酵素の高機能化等を試み、有用性の高い技術構築を目指している。これまでの研究を通して学んだ新規な有用酵素の見出し方、組換え微生物における代謝経路構築、酵素の機能改良等の経験を活かして、新たな微生物を見つけ、その可能性を最大限活用したものづくりへと昇華できるよう、今後も七転び八起きしながら宝探しを続けていきたい。

**謝 辞** 本研究は、北海道大学大学院工学研究科生物機能高分子専攻バイオ分子工学研究室、独立行政法人理化学研究所バイオマス工学研究プログラム酵素研究チーム、ならびに岩手大学農学部応用生物化学科応用微生物学研究室において実施されました。学生時代、LAユニットを有するPHAの微生物合成という非常に挑戦的なテーマを下さり、本研究を通して研究のイロハからその魅力まで、丁寧にご指導くださった北海道大学田口精一先生、大井俊彦先生、松本謙一郎先生、研究員時、長主鎖モノマーユニットを有するPHAの微生物合成研究を通して、高分子の分析技術や研究全般へのご助言を下された理化学研究所土肥義治先生、沼田圭司先生、阿部英喜先生、岩手大学へ異動後、新たな分野に携わる機会を下さり、微生物スクリーニング、酵素精製技術、酵素の応用法について基礎からご指導くださった岩手大学磯部公安先生、得られた酵素のN末端アミノ酸配列解析やICP分析を行ってくださった京都大学小川順先生、岸野重信先生、研究のまとめにご助言をくださった大阪府立大学片岡道彦先生、京都学園大学清水昌先生をはじめ、これまでの研究に関わり多大なるご助力を賜りました全ての先生方、先輩、同輩、後輩、岩手大学応用微生物学研究室の学生の皆様、共同研究者の皆様へ、心より御礼申し上げます。最後に、日頃から研究に関するご助言を下さり、本賞にご推薦下さいました岩手大学下飯仁先生に厚く御礼申し上げます。





## 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

サントリーウエルネス株式会社 小野佳子

### はじめに

植物は様々な外敵やストレスから自分自身の身を守るためポリフェノールをその体内に合成する能力を有している。サントリーではこれらの植物を原料とする酒類や飲料の開発を手掛けており、ポリフェノールに関する研究を商品の品質保持に応用してきた。その後、食品の三次機能（健康の維持や向上に関与する生体調節機能）が注目されるようになったことも相まって、我々は、古くから健康に良いとされる食品に含まれる機能性成分に着目し、その効能とメカニズムに関する研究を長年にわたり続け、特に植物に含まれるポリフェノールの生理機能について精力的に研究を進めてきた。ポリフェノールは反応性の高い水酸基を持ち、ベーシックな機能として抗酸化作用を有する点は共通しているが、化合物によって、吸収・分布・代謝・排泄（ADME）などが異なり、それぞれに固有の特性を有している。ADMEを理解した上で効能特性をとらえることで、より効果的に健康維持に役立つ商品を開発することができた。筆者らが行ってきたポリフェノールなどに関する研究をいくつか紹介する。

### 1. セサミン

セサミンはアラキドン酸の発酵生産研究の過程で、 $\Delta 5$ 不飽和酵素阻害作用を持つ物質としてゴマの中から同定された。これまでに、多くの研究者により様々な効能が明らかにされている。

セサミンが抗高血圧作用を示すことが様々なモデルで明らかになっている。メカニズムを検討したところ、セサミン代謝物の抗酸化作用が一部関与していることが確認された<sup>1)</sup>。ヒトにおいてもセサミンの血圧低下作用を確認している。

*In vivo* ESR法を用いて、静脈内投与したニトロキシラジカル（NR）の生体内での還元反応をモニターしたところ、NR投与前にセサミンを投与することで、肝臓でのNRの半減期が有意に短縮した<sup>2)</sup>。セサミンは肝臓のレドックス状態に影響を与えていると考えられる。

高脂肪食摂取による糖尿病モデルにおいて、持久力改善作用を検討した。高脂肪食摂取により持久力が顕著に低下し、セサミンはこの低下を有意に抑制した。筋肉における活性酸素の発生を見たところ、セサミンは高脂肪食摂取により増大した活性酸素を明らかに抑制した（図1）<sup>3)</sup>。

セサミン含有サプリメントのヒトにおける抗酸化作用と体感改善効果を評価した。日常的に疲労を感じる健常男女にセサミン含有サプリメントを8週間摂取させることで、LDL酸化耐性が有意に向上することを確認した。また、睡眠の質や美容に関する主観の状態が改善した。

1993年にサプリメントとして上市し、今年で発売24年目を迎える。研究の過程で、新たに発見した効能や他成分との組み合わせについて特許を取得するとともに、商品リニューアルへ

とつなげ、現在は「セサミン EX」として発売している。2015年4月にスタートした機能性表示食品制度において、2016年3月に「本品はセサミンを含み、抗酸化力を向上させ、日常的に疲れを感じる方の寝つき、眠りの深さ、寝覚めという体調の改善に役立ちます。」というヘルスクレームで受理された。

なお、<sup>14</sup>C標識したセサミンを用いることにより、セサミンのADMEの詳細についても最近解明されている<sup>4)</sup>。

### 2. ウーロン茶重合ポリフェノール（OTPP）

1981年にサントリーは缶入りウーロン茶を発売し、市場を牽引してきた。並行して長年にわたり、ウーロン茶に含まれるポリフェノールの研究を精力的に続けている。

ウーロン茶ポリフェノールの抗酸化活性（LDL lag time延長ならびに oxygen radical absorbance capacity（ORAC）活性上昇効果）を *in vitro* や *in vivo* で明らかにした。さらにウーロン茶重合ポリフェノール（OTPP）を機能性関与成分とした特保ウーロン茶の開発をめざし、ウーロン茶ポリフェノールの中でも、茶葉を半発酵させる過程でカテキン類が重合したウーロン茶特有の成分OTPPが *in vitro* で強いリパーゼ阻害作用を持

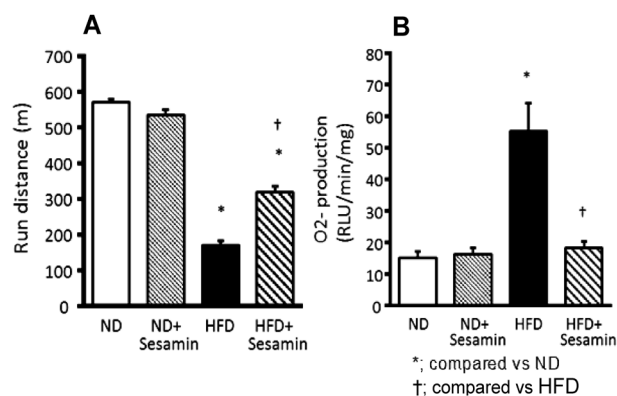


図1 セサミンの高脂肪食摂取による糖尿病モデルにおける、A) 走行距離、B) スーパーオキシド産生改善効果<sup>3)</sup>  
ND：通常食、HFD：高脂肪食

表1 ウーロン茶重合ポリフェノール（OTPP）のリンパ管からの脂肪吸収抑制効果<sup>5)</sup>

Sample	dose mg/head	absorption		
		3h %	5h %	24h %
Oolong tea extract	0	55.6 ± 6.1	75.8 ± 4.5	101.0 ± 5.7
	100	43.3 ± 4.3	59.3 ± 4.4*	85.3 ± 5.4
	200	33.7 ± 2.3**	46.7 ± 3.8**	87.0 ± 5.6
Caffeine	0	55.8 ± 3.0	73.7 ± 3.4	105.0 ± 5.2
	6.6	56.3 ± 2.6	69.2 ± 2.5	101.0 ± 5.2
	13.2	50.1 ± 2.0	68.2 ± 2.1	108.5 ± 2.5
OTPP	0	63.3 ± 2.8	86.6 ± 4.5	109.6 ± 5.1
	20	43.0 ± 3.73**	64.3 ± 6.23*	111.4 ± 5.4

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  as compared with the respective control group.

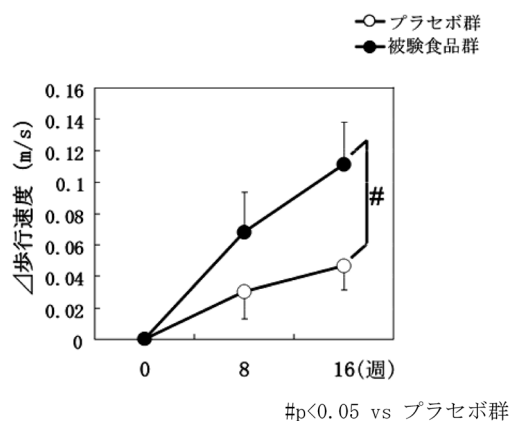


図2 ケルセチン配糖体含有サプリメントの通常歩行速度に対する改善効果(0週からの変化量)<sup>6)</sup>

つこと、リンパ管からの脂肪の吸収を抑制することを明らかにした(表1)<sup>5)</sup>。

また、脂肪摂取後の血中中性脂肪の上昇抑制効果を *in vivo*<sup>5)</sup> およびヒトで確認した。2006年に「食後の血中中性脂肪の上昇を抑える」という特定保健用食品のヘルスクレームを取得し、「黒烏龍茶」として上市されている。

### 3. ケルセチン配糖体

ケルセチン配糖体はエンジュから抽出したルチンを原料に酵素処理して得られた素材である。水溶性に優れ、生体利用率が非常に高いことが期待されるため、生体内吸収性と血中抗酸化活性の上昇作用について評価した。その結果、水溶性の溶媒条件下でケルセチンアグリコンやイソケルシトリンと比較して優れた経口吸収性と血中抗酸化力向上作用を有することが確認できた。ヒトにおいても45 mgのケルセチン配糖体の摂取で血中ORAC活性が上昇することを確認し、その抗酸化・抗炎症作用を期待して「グルコサミン & コンドロイチン」に配合して販売している。

さらに近年、ケルセチン配糖体の筋萎縮抑制効果が *in vivo* で確認されたため、ケルセチン配糖体含有サプリメントでのヒト臨床試験を実施し、4か月間の継続摂取により通常歩行速度が向上することを明らかにして(図2)<sup>6)</sup>、「ロコモア」の上市を実現した。

### 4. オリーブとブドウのポリフェノール

地中海式食事法は地中海地域で日常的に摂取されている食習慣であり、quality of lifeの維持に役立つ理想的な食事法として知られている。そこで地中海地域で好んで食されているオリーブとブドウのポリフェノールに着目し、その効能について評価した。その結果、オリーブとブドウのポリフェノールがDOCA-salt高血圧モデルに対して、それぞれ単独で、あるいは相加的に血管内皮機能障害を抑制することを明らかにした。また、ヒト臨床試験において、血管内皮機能の指標であるFlow-mediated vasodilation (FMD)を有意に改善することを見出すとともに、オリーブとブドウのポリフェノールの4週間の摂取が尿中の8-OHdG排泄量を低下させることを明らかにした(図

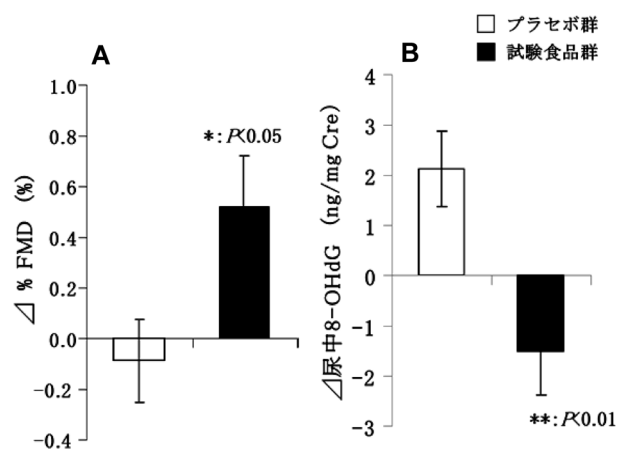


図3 ブドウとオリーブポリフェノール含有サプリメントのA) 血管内皮機能、B) 尿中8-OHdG排泄に対する改善効果<sup>7)</sup>

3)<sup>7)</sup>。このオリーブとブドウのポリフェノールを含有するサプリメントは「サンオレア」として上市されている。

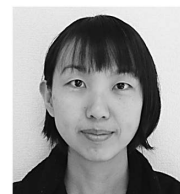
### おわりに

入社以来、植物に含まれるポリフェノールを中心に効能評価を続けてきた。植物に含まれる成分は多種多様で、それぞれに特徴的な成分が含まれることは興味深い。そして我々人間がこれらの植物を長年にわたり食してきたことには意味があると信じている。研究を通じてこれらの作用を科学的に明らかにでき、少しでも皆様の健康維持のお役に立つことができれば幸いです。

### (引用文献)

- 1) Nakano D, Kwak CJ, Fujii K, Ikemura K, Satake A, Ohkita M, Takaoka M, Ono Y, Nakai M, Tomimori N, Kiso Y, Matsu-mura Y, J Pharmacol Exp Ther., 318(1), 328-335 (2006).
- 2) Tada M, Ono Y, Nakai M, Harada M, Shibata H, Kiso Y, Ogata T, Anal. Sci., 29(1), 89-94 (2013).
- 3) Takada S, Kinugawa S, Matsushima S, Takemoto D, Furihata T, Mizushima W, Fukushima A, Yokota T, Ono Y, Shibata H, Okita K, Tsutsui H, Exp Physiol., 100(11), 1319-1330 (2015).
- 4) Tomimori N, Rogi T, Shibata H, Mol Nutr Food Res., Dec 19 (2016).
- 5) Toyoda-Ono Y, Yoshimura M, Nakai M, Fukui Y, Asami S, Shibata H, Kiso Y, Ikeda I, Biosci Biotechnol Biochem., 71(4), 971-976 (2007).
- 6) Kanzaki N, Ono Y, Shibata H, Moritani T. Clin Interv Aging. 10, 1743-1753 (2015).
- 7) 小南優, 安武瑤子, 小野佳子, 坂野克久, 海老原淑子, 柴田浩志, 薬理と治療, 43(8), 1181-1191 (2015).

謝 辞 多くの研究は、共同研究として研究を推進していただきました諸先生方のご指導とご助力のもと、成し遂げられたものであります。また、社内の各プロジェクト遂行にあたっては、上司・先輩方の指導のもと、プロジェクトメンバーとの協力によって得られた結果です。改めて、皆様に心から感謝を申し上げます。



## きのこ由来レクチンのがん診断への応用

株式会社 J-オイルミルズ 小林(袴田) 夕香

### はじめに

糖鎖研究は近年目をみはる進展を遂げてきました。基礎研究では多くの糖鎖の機能や役割が解明され、その知見や成果が医療分野に応用されるようになりつつあります<sup>1, 2)</sup>。現在、市販されているレクチンは約20~30種類であるが<sup>3)</sup>、2003年からのNEDOプロジェクトなどを経て、100種以上の有用なレクチンからなる「レクチンライブラリー」の構築した。その中の有用なレクチンは、癌診断への応用開発を進めた。

### 1. レクチンライブラリーの構築

2003-05年度には、NEDO プロジェクト 糖鎖エンジニアリング・糖鎖構造解析に参画し、糖鎖とレクチンの相互作用を網羅的に調べる「ヘクト・バイ・ヘクト(100糖鎖×100レクチン)プロジェクト」への非市販レクチンの供給という役割を担った。その中で、必要とするレクチンをより選択的に探索する手法として、従来の赤血球凝集だけでなく、酵素で加工した赤血球を使う手法、水晶共振マイクログラフ(QCM)などの機器を使う方法などを開発した。また実際に、それらの手法を組み合わせ、約1,000種の植物、動物、菌類の抽出液から新規レクチンの探索を試み、結果として3年間のNEDOプロジェクトの間に、59種類の新規レクチンを供給し、(独)産業技術総合研究所と共同でそれらの詳細な糖結合特異性の解析を行った。NEDOプロジェクト終了後も、さらに探索手法を開発・改良し、新たにキャピラリー電気泳動装置を使用して、糖鎖と結合する新規で有用なレクチンの探索をおこない、レクチンを精製し、特異性を評価し、レクチンライブラリーとして構築した。

### 2. 新規有用レクチンの発見

フコース糖鎖の修飾は、癌や炎症に関与していると言われており、 $\alpha$ 1-2,  $\alpha$ 1-3,  $\alpha$ 1-4,  $\alpha$ 1-6など、その結合様式ごとに識別できるレクチンの需要は高い<sup>4)</sup>。現在、レンズマメレクチンを使った肝臓がんのマーカータンパク質である $\alpha$ -フェトプロテインの糖鎖変化を検出する手法が、肝臓癌の早期診断や予後判定に使用されている(AFP-L3%)<sup>5, 6)</sup>。

$\alpha$ 1-6フコース特異的レクチンとして有用なスギタケレクチン(*Pholiota squarrosa* lectin)を上記に記載したレクチンライブラリー構築の中で発見し、PhoSLと命名した。電気泳動、MALDI-TOF MS、N末端アミノ酸配列分析の結果から、PhoSLはサブユニット分子量約4500、等電点pI 4.0の新規タンパク質であり、そのN末端アミノ酸配列はNH<sub>2</sub>-APVPVT-KLVC DGDYKCTAY LDFGDRWVA QWDTNVFHTG-OHであった。フロンタルアフィニティークロマトグラフィー(FAC)による126種の糖鎖との糖結合性評価では、N型糖鎖の $\alpha$ 1-6フコース糖にのみ結合し、 $\alpha$ 1-2, 1-3, 1-4のような他のフコース糖鎖には結合しなかった(図1)。さらに、PhoSLは腫瘍マーカーである $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP)のフコシル化されたAFP(AFP-L3)にのみ結合し、フコシル化されていないAFP(AFP-L1)には結合しなかった。レクチンのpH安定性はpH 2.0~11.0の間、温度安定性は0~100℃の間で安定であった(図2)<sup>7)</sup>。

### 3. 肝臓癌診断キットの開発と臨床応用

原発性肝臓癌(以下HCC)におけるAFP-L3分画の測定はAFPやPIVKA-IIなどと同様に、HCCの診断や治療効果の判定、再発の早期発見に役立っている。スギタケレクチン(PhoSL)

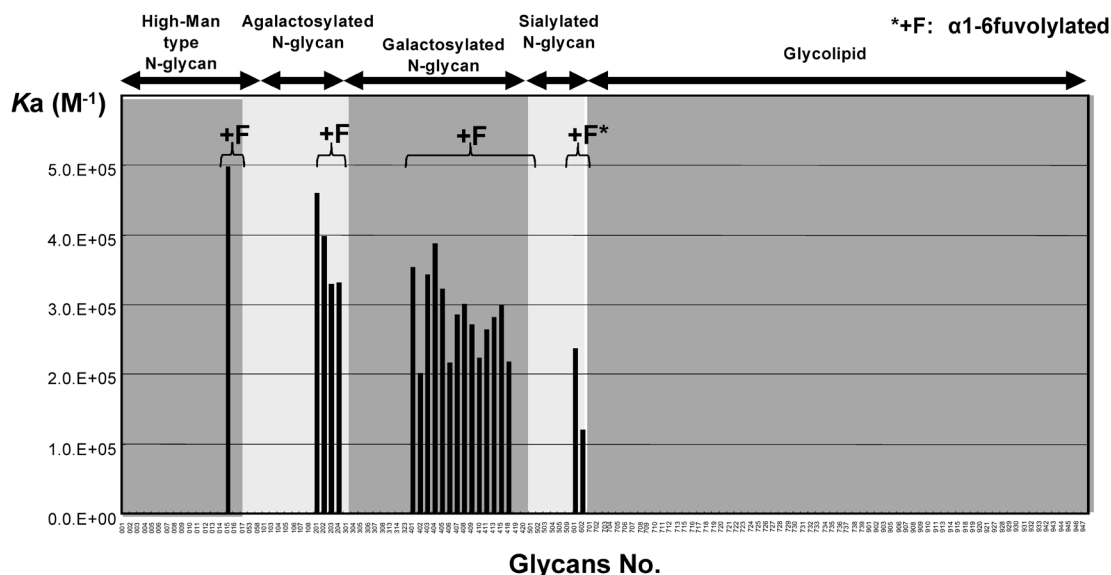


図1 PhoSLの糖鎖結合特異性



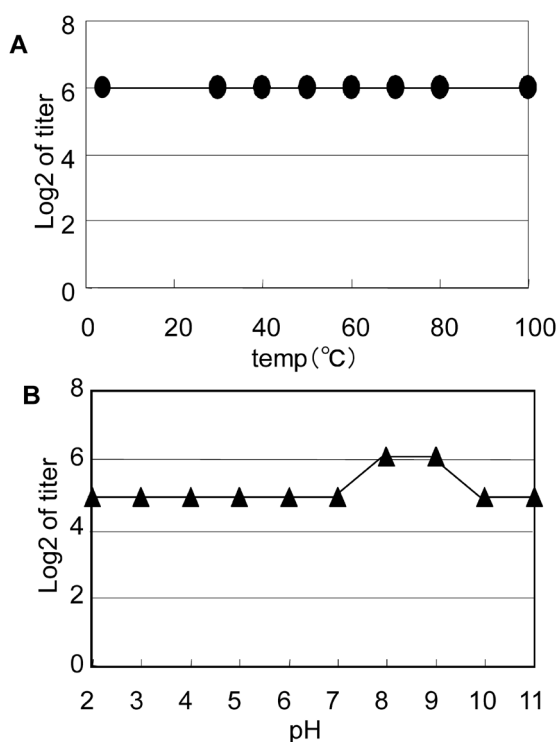


図2 PhoSLの安定性  
(A. 温度安定性 B. pH安定性)

は上記に記載した通り、特異性・選択性が高く、安定性に優れていたことより、酵素免疫測定 (ELISA) 法に PhoSL を利用し、新しいフコシル化 AFP (AFP-L3) キットとして系を構築し、臨床の有用性を評価した。

対象は慢性肝疾患患者 50 例 (慢性肝炎・肝硬変 22 例, HCC 28 例) 並びに健常者 87 例を用いた。患者並びに健常者の血清中のフコシル化 AFP を新規に開発したフコシル化 AFP (AFP-L3) キットを用いて測定した。また、HCC 患者の癌組織部位を PhoSL 組織染色法を用いて癌細胞の発現を観察した。HCC 患者 28 例中担癌状態 14 例においては、AFP 陽性率 7 例 (50%)、PIVKA-II 陽性は 8 例 (57%)、通常の AFP-L3 は 6 例 (42%) であったのに比べ、フコシル化 AFP の陽性率は 9 例 (64%) で最も優れていた。またフコシル化 AFP はいずれの腫瘍マーカーとも相関は示さなかった。免疫組織染色では、HCC 患者由来の癌組織部位はレクチン染色されている症例があり、この患者の血清フコシル化 AFP 値は高かった。臨床試験の結果、PhoSL を利用したフコシル化 AFP の測定は、既知の腫瘍マーカーと異なった性能を示し HCC 患者の診断、治療効果の判定に有用なものになると考えられた<sup>8)</sup>。

#### 4. 大腸癌診断への応用

大腸癌は多段階発癌の代表例であり、発癌から転移に至るそれぞれの過程において APC, K-ras, p53, DCC などの癌遺伝子/癌抑制遺伝子の異常が明らかとされており、様々な研究により悪性化を規定する分子の同定が進められている<sup>9)</sup>。

大腸癌組織におけるヒドロキサンタケレクチン (AAL) と PhoSL を用いた免疫染色を症例 139 例でおこなった。AAL は  $\alpha$ 1-3/1-4/1-6 結合のフコースを認識し、PhoSL は  $\alpha$ 1-6 結合のフコースをより特異的に認識する。この 2 種類のレクチンを使い、その染色レベルを比較することによりフコシル化の結合様式の違いを知ることができる。

正常組織の中の実質細胞は、AAL, PhoSL でわずかに褐色に染まる。その染色レベルを「弱陽性 (分類 1)」と定義した。この染色レベルを基準として、癌部が全体的に強く褐色に染まっているものを「強陽性」として「分類 3」に、強陽性よりも薄いが全体的に褐色に染まっているものを「陽性」として「分類 2」に、全く染まらなかったものを「陰性」として「分類 0」と評価した。染色結果を各組織の臨床背景に基づいて比較検討を行った。免疫組織学的検討の結果、正常に比べて原発癌では、全てのフコースが増加していたが、転移癌ではコアフコースのみが低下していた。このように、大腸癌の組織染色においては、原発癌と転移癌の組織表面上のフコシル化の違いを実証することができ、大腸癌診断の有用なツールであることが期待された。

おわりに

$\alpha$ 1-6 フコースの糖鎖変化は癌化に共通した糖鎖変化であることから、多くの種類のがん診断に応用できることを立証した。スギタケレクチン (PhoSL) はがんの基礎研究やがん化のメカニズム解明等の研究において有用なツールとなることが期待できる。レクチンの医療応用例はまだ多くはないが、今後、基礎研究が進展し「疾病マーカーとなる糖タンパク質」や「疾病に伴う糖鎖変化」が発見されるようになれば、それらを選択的に検出するレクチンを使った診断薬等が可能となるだろう。

謝 辞 本研究は (株) J-オイルミルズにておこなわれたものです。本研究室において実験を一緒におこなっていただきました研究員の方々、終始ご指導いただきました研究所のみなさま、知財戦略部のみなさまに感謝致します。これまで適切なご指導を頂きました、静岡大学農学部河岸洋和教授、(独)産業技術総合研究所平林淳首席研究員、大阪大学医学部三善英知教授、石川町内科クリニック渡會伸治先生、並びに、ご指導いただきました多くの共同研究先の諸先生方に厚く御礼申し上げます。また、日々の研究を支えて頂きました (株) J-オイルミルズの数多くの方々に深く感謝いたします。

#### (引用文献)

- 小林夕香, 河岸洋和, 糖鎖を認識する高分子: レクチン, BIO INDUSTRY, Vol. 27 (2): p 6-11 (2010).
- 小林夕香, 日本農芸化学会中部支部主催 第 163 回若手シンポジウム, 糖鎖に着目した疾患に寄与できる「レクチンライブラリー」の開発 (2011).
- Kobayashi Y, Tateno H, Ogawa H, Yamamoto K, Hirabayashi J., Comprehensive list of lectins: origins, natures, and carbohydrate specificities. Methods Mol Biol. 1200: p 555-77. (2014).
- Miyoshi E, Moriwaki K, Nakagawa T, Biological function of fucosylation in cancer biology. J Biochem. Vol. 143(6): p 725-9 (2008).
- Taketa K, Endo Y, et al.: Cancer Res., 53, 5419-5423 (1993).
- 横山和則, 黒澤竜雄, 渡辺光雄, マイクロフリュイディスク技術を用いた全自動免疫蛍光測定装置 ミュータスワーク i30, 生物試料分析 Vol. 33, No 3 (2010).
- Kobayashi Y, Tateno H, Dohra H, Moriwaki K, Miyoshi E, Hirabayashi J, Kawagishi H, A novel core fucose-specific lectin from the mushroom *Pholiota squarrosa*. J Biol Chem. Vol. 287 (41): p 33973-82 (2012).
- 渡會伸治, 松井弘斗, 小林夕香, 西藤桂子, 上野 泰, 癌治療学会原発性肝癌患者における新しいフコシル化 AFP の測定意義と臨床病理学的検討. 第 69 回日本消化器外科学会総会 (2013).
- Voutsadakis IA. Pathogenesis of colorectal carcinoma and therapeutic implications: the roles of the ubiquitin-proteasome system and Cox-2. J Cell Mol Med. Vol. 11(2): p 252-85 (2007).



株式会社 明治 夏 目 み ど り

## カカオポリフェノールに関する包括的研究

### はじめに

カカオ豆は、チョコレートやココアの原料として、アフリカ、中南米、東南アジアの熱帯雨林地域において生産されている。生のカカオ豆を発酵・乾燥させた後、生産工場にて焙焼・磨砕されカカオマスが調製される。このカカオマスに砂糖、ミルク等を加え成型したものがチョコレートであり、油分を一部除いたものがココアである。チョコレートは1797年より日本で食されてきた嗜好食品で、2014年には国内の菓子販売金額が和生菓子を抜きトップになり、身近な食品の1つになっている。我々の研究グループでは、当社の主要商品であるチョコレートの原料であるカカオ豆に含まれるポリフェノールに着目し研究を進め、カカオポリフェノールの構造をはじめ吸収代謝、それらが有する抗酸化作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用、抗動脈硬化作用や抗がん作用など多彩な生理機能を明らかにしてきた。以下、これまで行ってきた研究概要についてお示しする。

### 1. カカオに含まれるポリフェノール成分とその活性

#### 1-1. 成分および抗酸化活性

はじめに、カカオに含まれるポリフェノールの構造を明らかにした。カカオマスを脱脂、70%アセトンで抽出、定法により精製し構造決定をした。フラボノイドである(-)-epicatechin, (+)-catechin, (-)-epicatechinの重合体である2量体のprocyanidin B2, procyanidin B5, 3量体のprocyanidin C1, 4量体のcinnamtannin A2が主要成分であることが確認された(図1)。

次いで、市販のチョコレートやココア中のポリフェノール量を定量分析した。チョコレートやココア中には多くのポリフェノールが含まれていることが確認された。また、チョコレートとココアのポリフェノールの成分の組成比は、異なることが分かった。ココアは、一般にその製造工程中でアルカリゼーションを行なう、そのアルカリによりポリフェノールが分解され、チョコレートとは組成比が異なると推察された。

単離した成分について、その活性を評価した。カカオ豆から

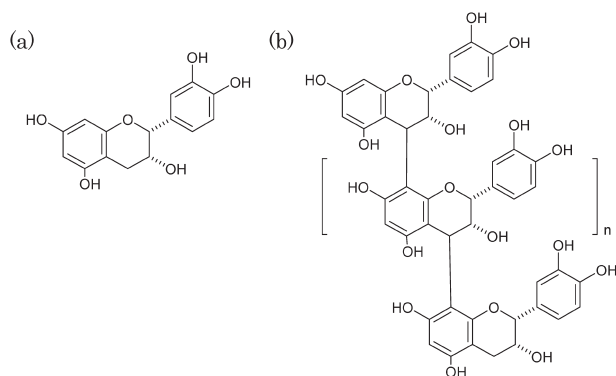


図1 カカオポリフェノールの構造

(a) (-)-epicatechin, (b) procyanidin 類

単離した(-)-epicatechinならびにその重合体であるプロシアニジン類の銅イオンを酸化開始剤に用いた際のヒト LDL の酸化抵抗性について調べた。その効果は、銅イオンによって惹起された場合(+)-catechin>procyanidin B2≥(-)-epicatechin≥procyanidin C1>cinnamtannin A2, の順位で活性が認められた。成分によって効果に差はあるものの、いずれの成分にも LDL の酸化を抑制する作用があることが確認された。他にも、赤血球膜酸化抑制や superoxide radical 消去、ニトロチロシン生成抑制を明らかにした。これらの結果が、生活習慣病に対する研究へとつながっていった。

### 2. カカオポリフェノールの吸収代謝

カカオポリフェノールの生理機能を明らかにするためには、これら成分の吸収代謝について明らかにする必要がある。そのためカカオポリフェノールの主要成分であるエピカテキンの吸収代謝についてラットおよびヒトで評価した。ラットおよびヒトにココアあるいはチョコレートを摂取させ、血中のエピカテキンおよびエピカテキン代謝物の分析を行った。その結果、エピカテキンはラットおよびヒトで摂取後速やかに吸収され、1時間から2時間で最大血中濃度となり、尿中へと排泄されることを確認した。血中では、グルクロン酸や硫酸基で抱合体化された代謝物で存在することを見出した。また尿中の代謝物を定量し、摂取量の30~50%が吸収されることを明らかにした。さらにエピカテキンをラットおよびヒトに摂取させ、尿中から代謝物を精製単離し NMR 等を用い、構造を確認した。ラットおよびヒト尿中から得られた代謝物の構造式を示す(図2)。

興味深いことに、ラットとヒトではグルクロン酸抱合体の結合位置が異なることがわかった。これら代謝物のアゾ化合物お

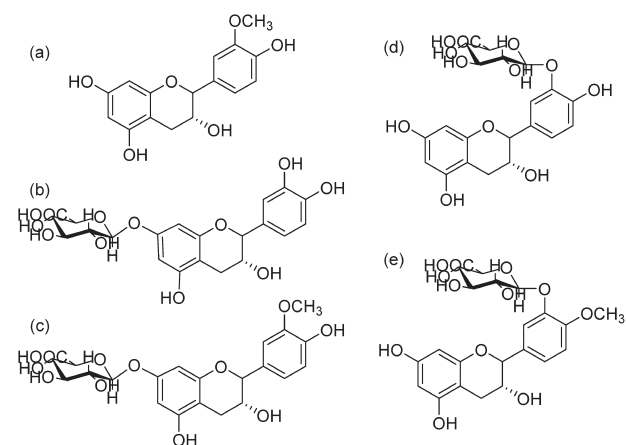


図2 Epicatechin の代謝物の構造

- (a) 3'-O-methyl(-)-epicatechin (rat)
- (b) (-)-epicatechin-7-O-glucuronide (rat)
- (c) 3'-O-methyl(-)-epicatechin-7-O-glucuronide (rat)
- (d) (-)-epicatechin-3'-O-glucuronide (human)
- (e) 4'-O-methyl(-)-epicatechin-3'-O-glucuronide (human)

よび銅イオンによるヒト LDL の酸化抵抗性を評価したところ、エピカテキンの B 環のヒドロキシル基が抱合体化あるいはメチル化されると、本来エピカテキンが持つ抗酸化活性が減弱した。抗酸化活性という視点では、カテコール構造が重要であることがわかった。吸収代謝、および代謝物の活性を測定することで、体内でのエピカテキンの働きを推察する手がかりとなった。

### 3. 動物モデルを用いた抗がん作用、動脈硬化、糖代謝への効果

#### 3-1. 抗がん作用

カカオポリフェノールの抗がん作用については、ヘテロサイクリックアミンに対する抗変異原作用、DNA 酸化障害抑制作用といった作用、さらにはマウス皮膚 2 段階発癌試験による抗プロモーション作用がある。またヘテロサイクリックアミンの一種である 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine (PhIP) による乳腺発がんモデルにおいて、カカオポリフェノールの投与が乳腺腫瘍生成に抑制的な作用を示すこと、F344 系雄性ラットを用い、多剤のイニシエーターによる多臓器発がん試験において生存期間を有意に延長させることを報告した。

#### 3-2. 抗動脈硬化作用

脳心血管系疾患は日本人の死因上位の疾患である。その原因である動脈硬化の予防作用について評価を行った。コレステロールを負荷したウサギにカカオポリフェノール含有餌を摂取させると、血中 LDL の酸化抵抗性の増加が認められた。さらに Apo-E 欠損マウスを用いた実験では、カカオポリフェノール摂取が病理学的評価により動脈硬化病変を抑制することや大動脈弓においてコレステロールの結晶の増加が抑制されたことを明らかにした。同時に、病変部位での接着因子の発現抑制や、dityrosine などの修飾タンパク質の発現抑制を確認した。その他、肝細胞 HepG2 を用いた評価では、カカオポリフェノールの各成分が ApoA1 タンパク質の増加促進作用や LDL Receptor の発現低下作用を示すことを見出し、カカオポリフェノールがコレステロール代謝に与える影響の作用メカニズムを明らかにした。カカオポリフェノールが動脈硬化を抑制する働きがあることが推察され、臨床試験へとつながった。

#### 3-3. 糖代謝への作用

糖尿病の罹患率が世界中で増加していること、加えて糖代謝異常は動脈硬化発症の一要因であることから、糖尿病予防を目的として糖代謝への作用についてカカオポリフェノールの評価を行った。Streptozotocin で膵臓機能を低下させ糖尿病を発症させたラットでは、コントロール群に比較し、カカオポリフェノール群で血糖値、尿糖値が有意に低いことが確認され、さらに白内障について評価した結果、その白濁が抑制されていることが確認された。またカカオポリフェノールには、筋肉細胞での Glut4 の誘導やインクレチンの誘導効果が認められることが分かった。カカオポリフェノールの摂取により、糖代謝異常や糖代謝異常によって生じる QOL 低下が抑制される可能性が示唆された。

### 4. 高カカオポリフェノールココアならびに高カカオチョコレートによる臨床試験

動物実験の結果からココアやチョコレートをを用いた臨床試験を行い、その健康効果について評価を進めた。

#### 4-1. ココアによる脂質代謝に関する臨床試験

動物実験によってカカオポリフェノールの LDL 酸化抑制作用等が明らかになったことから臨床試験での評価を行なうことにした。健康な日本人の男女 160 名を 4 群に分け、カカオポリフェノールを含まないプラセボココアと濃度の異なる 3 種類のココアを、それぞれ 4 週間摂取させた。その結果ポリフェノールを含むココアを摂取させた被験者では、LDL-コレステロール濃度の低下、HDL-コレステロールの上昇、LDL-コレステロールの酸化抵抗性の上昇が認められた。また摂取前の LDL-コレステロールが 125 mg/dL 以上の被験者ではそれらの結果が顕著になることが分かった。これらの結果よりカカオポリフェノールは動脈硬化発症を予防する可能性を示した。

#### 4-2. チョコレートによる生活習慣病に関する大規模臨床試験

高カカオチョコレートを 4 週間摂取させたときの生活習慣病への影響について、健康な日本人男女 347 名を対象に評価を行った。その結果、血圧低下作用、HDL コレステロールの上昇、酸化マーカーである 8-OHdG の低下、炎症マーカーである hs-CRP の低下が認められた。これら結果から高カカオチョコレートを摂取することで、動脈硬化進展を抑制する方向で働く可能性を見出した。

#### おわりに

カカオポリフェノールは、*in vitro* ならびに動物実験により抗酸化活性、糖代謝、脂質代謝改善作用、動脈硬化抑制作用などを有することが認められた。さらに臨床試験ではカカオポリフェノールを多く含むココアやチョコレートを摂取することで、脂質代謝改善や血圧の低下作用などが認められた。海外の疫学研究においてカカオ製品を摂取することで心疾患の発症率が低いことが報告されている。これらの結果を併せて考えるとカカオ製品の摂取により動脈硬化発症を遅延させる働きがあることが推察される。心疾患の死亡者数が増えている日本で、おいしく健康に良いカカオ製品を提供することで、心疾患発症を予防する一助になればと考えている。

**謝 辞** 本研究のご指導をいただきました名古屋大学大学院（現 愛知学院大学）大澤俊彦教授、徳島大学大学院（現 甲南大学）寺尾純二教授、岡山大学大学院吉田隆志名誉教授、波多野力教授、お茶の水女子大学（現 東洋大学）近藤和雄教授、神戸大学大学院芦田均教授に感謝いたします。また、本研究は、明治製菓株式会社並びに株式会社 明治にて、中村哲夫、滝沢登志雄、越阪部奈緒美（現 芝浦工業大学教授）、馬場星吾、染谷恵、三本木千秋、草野亜紀子、佐々木和恵、武藤裕子、福田久美子、伊藤裕之、山地健人、大柴幸男など多くの先輩方、同僚とで行った研究です。関係者の皆様に、この場を借りまして御礼申し上げます。



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 $\beta$ -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 <sup>2+</sup> 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

## 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
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

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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	北大農
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	山形大名基督教
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)	バイオインフォマティ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に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 明徳	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)	食品成分の体調調節機能に関する統合的研究	山田 耕路	崇城大生物生命

## 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)	昭和43年 (1968)	清酒製造法の機械化	安藤 智雄	大蔵酒造
(ロ)			栗山 一秀	大蔵酒造
(ハ)			今安 聡	大蔵酒造
2 (イ)	昭和43年 (1968)	新型屋外醗酵貯酒タンクの開発と実用化	高柳 正	朝日麦酒
(ロ)			原田 恒雄	朝日麦酒
3 (イ)	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	加藤 武明	住友化学工業
(ロ)			植田 賢三	住友化学工業
4 (イ)	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	吉田 文彦	キッコーマン醬油
(ロ)			一鳥 英治	キッコーマン醬油
5 (イ)	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	草井 清	長瀬産業
(ロ)			小巻 利章	長瀬産業
6	昭和45年 (1970)	デキストランの工業的製造法の確立	篠田 晃	名糖産業
7	昭和46年 (1971)	発酵工程の自動化についての貢献	七字 三郎	微工研
8 (イ)	昭和46年 (1971)	注射用無水結晶ぶどう糖 ( $\alpha$ -D-型および $\beta$ -D-型) の製造	山下 一男	東海糖業
(ロ)			服部 圭助	東海糖業
(ハ)			伊藤 芳直	東海糖業
9	昭和47年 (1972)	活性スラッジ法による産業排水の処理	小野 英男	住友重機械工業
10	昭和48年 (1973)	コラーゲンの新しい応用	宮田 暉夫	日本皮革
11 (イ)	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
(ロ)			布川弥太郎	醸試
(ハ)			熊谷知栄子	醸試
(ニ)			秋山 裕一	国税庁鑑定企画



No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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	鈴木 英雄 上林 明 小原 潤一	微工研 微工研 北海道糖業
13 (イ)	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	田原 早苗	朝日麦酒
14 (イ) (ロ)	昭和51年 (1976)	発酵排液を活用した有機入り化成肥料の製造法	河盛 好昭 平野 欣也	協和発酵工業 協和発酵工業
15 (イ) (ロ)	昭和51年 (1976)	微生物加水分解酵素の応用開発	辻阪 好夫 岡田 茂孝	阪市工研 阪市工研
16 (イ)	昭和52年 (1977)	配合飼料生産技術の改良	麻生 和衛	日本農産工業
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	鈴木 智雄 太宰 宙朗 福永 和二	微工研 微工研 クラレ
18 (イ)	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	服部 健一	花王石鹼
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	正井 博之 川村 吉也 山田 弘毅	中埜酢店 中埜酢店 中埜酢店
20 (イ)	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	天羽 幹夫	朝日麦酒
21 (イ) (ロ)	昭和55年 (1980)	酵素法によるL-リジン製造法の開発	福村 隆 加藤 嵩一	阪市大理 東レ
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	宮崎 幸雄 原 正幸	科研化学 科研化学
23 (イ) (ロ) (ハ)	昭和56年 (1981)	新ステロイド醗酵の開発	今田 幸男 石川 八郎 西川大吉郎	三菱化成 三菱化成 三菱化成
24 (イ)	昭和56年 (1981)	酵母を用いる食品工業排水新処理法の開発	吉沢 淑	醸試
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	友田 勝巳 宮田 孝一 磯野 正雄	武田薬品工業 武田薬品工業 元武田薬品工業
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	大村栄之助 板谷 信重 松尾 憲忠	武田薬品工業 住友化学工業 住友化学工業
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	奥野 吉俊 吉岡 宏輔 原 昌道	住友化学工業 住友化学工業 醸試
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	飯村 稷 大塚 謙一 松元 信也	醸試 元醸試 サントリー
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	吉栖 肇 宮田 進 井上 繁	サントリー サントリー サントリー
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	町田 晴夫 東 俊彦 国生 純孝	名糖産業 名糖産業 名糖産業
31 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和61年 (1986)	L-システインの新製造法の開発と工業化	佐野孝之輔 山本 泰 楠本 勇夫	味の素 味の素 味の素
32 (イ) (ロ) (ハ)	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	横関 健三 藤田 泰宏 菅 忠三	味の素 三井石油化学工業 三井石油化学工業
33 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	原 康弘 松原 浩一 森原 和之	三井石油化学工業 三井石油化学工業 東宝薬品工業
34 (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	岡 達 続木 博茂 木村 良臣	塩野義製薬 塩野義製薬 キリンビール
35 (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	橋本 直樹 長島 義明 吉岡 和夫	キリンビール キリンビール キリンビール
36 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和63年 (1988)	植物細胞培養によるシコニン系化合物の生産	日高 秀昌 栄田 利章 足立 堯	明治製菓 明治製菓 明治製菓
37 (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	斉藤 安弘 中井 公忠 渡辺 一郎	明治製菓 日東化学工業 日東化学工業
38 (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	佐藤 好昭 榎本 兼彦 三好 歳雄	日東化学工業 三菱レイヨン 藤沢薬品工業
39 (イ) (ロ) (ハ)	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	青木 初夫 向阪 正信 許斐 聡雄	藤沢薬品工業 藤沢薬品工業 藤沢薬品工業
40 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成元年 (1989)	酵素法による7-アミノセファロsporin酸(7ACA)製造技術の研究	都築 勝昭 渋谷 友三 小松 謙一	旭化成工業 東洋醸造 旭化成工業
41 (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	市川 茂彰 奈良 高 岡地 諒	旭化成工業 協和発酵工業 協和発酵工業
42 (イ) (ロ) (ハ)	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 塚田 陽二	協和発酵工業 協和発酵工業 マルキン醤油
43 (イ) (ロ) (ハ)	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	太田 泰弘 杉森 恒武	マルキン醤油 マルキン醤油

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
40 (イ) (ロ) (ハ)	平成2年 (1990)	洗剤用アルカリセルラーゼの開発	伊藤 進	花王
41 (イ) (ロ) (ハ)	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	川合 修次	花王
42 (イ) (ロ) (ハ)	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	岡本 暉公彦	花王
43 (イ) (ロ) (ハ)	平成4年 (1992)	性フェロモンによる害虫防除	堀江 雄	明治屋
44 (イ) (ロ) (ハ)	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	木村 邦男	明治屋
45 (イ) (ロ) (ハ)	平成5年 (1993)	アサヒスーパードライの開発	堀 恵一	三菱重工業
46 (イ) (ロ) (ハ)	平成5年 (1993)	家庭・防疫用ピレスロイド—エトック <sup>®</sup> —の開発	中野 衛一	キッコーマン
47 (イ) (ロ) (ハ)	平成6年 (1994)	フェロモンを利用したトラップの開発	小山 泰二	キッコーマン
48 (イ) (ロ) (ハ)	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	鈴木 勝	キッコーマン
49 (イ) (ロ) (ハ)	平成7年 (1995)	免疫抑制剤 FK506 (タクロリムス) の発見と開発	増田 力	野田産研
50 (イ) (ロ) (ハ)	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	小川 欽也	信越化学工業
51 (イ) (ロ) (ハ)	平成8年 (1996)	タンパク質誘導体新薬「ノイアップ」の開発	山本 昭	信越化学工業
52 (イ) (ロ) (ハ)	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	手塚 晴也	信越化学工業
53 (イ) (ロ) (ハ)	平成9年 (1997)	耐熱性酵素の工業的生産と利用	福本 毅彦	信越化学工業
54 (イ) (ロ) (ハ)	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	藤尾 達郎	協和発酵工業
55 (イ) (ロ) (ハ)	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	丸山 明彦	協和発酵工業
56 (イ) (ロ) (ハ)	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	杉山 喜好	協和発酵工業
57 (イ) (ロ) (ハ)	平成11年 (1999)	プロアントシアニジンの機能性解明と開発	古屋 晃	協和発酵工業
58 (イ) (ロ) (ハ)	平成11年 (1999)	<i>Bacillus brevis</i> による上皮細胞増殖因子の工業的製造法の確立	薄葉 久	アサヒビール
59 (イ) (ロ) (ハ)	平成12年 (2000)	抗酸化製造法の展開—ビール品質劣化の理論的解明からその応用まで—	中川 正人	アサヒビール
60 (イ) (ロ) (ハ)	平成12年 (2000)	D-アミノ酸生産用バイオリクターの開発	江藤 正和	アサヒビール
61 (イ) (ロ) (ハ)	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—	梅村 武明	住友化学工業
			広原日出男	住友化学工業
			矢野 俊彦	住友化学工業
			小野 幹夫	富士フレイバー
			森 正隆	日本たばこ産業
			Leal, Walter Soares	蚕糸・昆虫農技研
			八田 一	太陽化学
			赤地 重光	太陽化学
			金 武祚	太陽化学
			木野 亨	藤沢薬品工業
			後藤 俊男	藤沢薬品工業
			細田 純而	藤沢薬品工業
			奥原 正国	藤沢薬品工業
			本木 正雄	味の素
			添田 孝彦	味の素
			安藤 裕康	天野製薬
			松浦 明	天野製薬
			伊藤 菁我	協和発酵工業
			久我 哲郎	協和発酵工業
			岡部 正実	協和発酵工業
			横尾 義春	協和発酵工業
			藤沢 幸夫	武田薬品工業
			黒田 俊一	神戸大バイオ研
			小林 真	武田薬品工業
			垣沼 淳司	名大農
			中島 宏	ユニチカ
			永田 和彦	ユニチカ
			影山 雅夫	ユニチカ
			近藤 仁司	ユニチカ
			湯川 英明	三菱化学
			寺沢 真人	三菱化学
			小林 幹	三菱化学
			内田 康一	三菱化学
			杉本 利行	林原
			久保田倫夫	林原生物化学研究所
			仲田 哲也	林原生物化学研究所
			津崎 桂二	林原生物化学研究所
			山中 茂	味の素
			渡部乙比古	味の素
			井口 正俊	物質工学研
			西 美緒	ソニー
			有賀 敏明	キッコーマン
			細山 浩	キッコーマン
			徳武 昌一	キッコーマン
			山越 純	キッコーマン
			高木 広明	ヒゲタ醤油
			東條 敬	ヒゲタ醤油
			恵比須省吾	ヒゲタ醤油
			宮内 明	ヒゲタ醤油
			山岸 信久	サッポロビール
			篠塚 健	サッポロビール
			高塩 仁愛	サッポロビール
			金田 弘拳	サッポロビール
			高橋 里美	鐘淵化学工業
			池中 康裕	鐘淵化学工業
			難波 弘憲	鐘淵化学工業
			矢島 麗嘉	鐘淵化学工業
			西矢 芳昭	東洋紡績
			山本 和巳	東洋紡績
			川村 良久	東洋紡績

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
(二)			愛水 重典	東洋紡績
62 (イ)	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	サントリー
(ロ)			田中 良和	サントリー
(ハ)			鈴木 賢一	サントリー
(ニ)			勝元 幸久	サントリー
63 (イ)	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	アルファード食品
(ロ)			篠崎 隆	アルファード食品
(ハ)			金山 功	アルファード食品
(ニ)			矢富 伸治	アルファード食品
64 (イ)	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	住友化学工業
(ロ)			西田寿美雄	住友化学工業
(ハ)			岸田 博	シンク・ケミカル
(ニ)			大内 晴	イージーエス
65 (イ)	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	東海大医
(ロ)			木村 勝紀	明治乳業
(ハ)			福井 宗徳	明治乳業
(ニ)			新井 秀武	明治乳業
66 (イ)	平成16年 (2004)	ホタルルシフェラーゼの応用開発	村上 成治	キッコーマン
(ロ)			辰巳 宏樹	キッコーマン
(ハ)			梶山 直樹	キッコーマン
(ニ)			榊原 達哉	キッコーマン
67 (イ)	平成16年 (2004)	抗真菌剤 Micafungin (FK463) の発見と開発	橋本 正治	藤沢薬品工業
(ロ)			岩元 俊朗	藤沢薬品工業
(ハ)			鶴海 泰久	藤沢薬品工業
(ニ)			橋本 道真	藤沢薬品工業
68 (イ)	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	カネカ
(ロ)			木崎 憲之	カネカ
(ハ)			川野 茂	カネカ
(ニ)			長谷川淳三	カネカ
69 (イ)	平成18年 (2006)	$\gamma$ -アミノ酪酸含有乳製品乳酸菌飲料の開発	早川 和仁	ヤクルト本社
(ロ)			木村 雅行	ヤクルト本社
(ハ)			三沢 宏	ヤクルト本社
(ニ)			赤星 良一	ヤクルト本社
70 (イ)	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	ミツカン
(ロ)			多山 賢二	鈴峯女短大
(ハ)			赤野 裕文	ミツカン
(ニ)			岸 幹也	ミツカングループ本社
71 (イ)	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	味の素
(ロ)			城下 欣也	味の素
(ハ)			横山 正人	味の素
72 (イ)	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	秋元 健吾	サントリー
(ロ)			新免 芳史	サントリー
(ハ)			沖田 定喜	サントリー
(ニ)			小野 佳子	サントリー
73 (イ)	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	采女 英樹	住友化学
(ロ)			高延 雅人	住友化学
(ハ)			横田 篤宜	住友化学
(ニ)			赤山 敦夫	住友化学
74 (イ)	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	ジュネジャレカ ラジュ	太陽化学
(ロ)			朱 政治	太陽化学
(ハ)			大久保 勉	太陽化学
(ニ)			小関 誠	太陽化学
75 (イ)	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	菊池 慶実	味の素
(ロ)			萬年 輝久	味の素
(ハ)			竹中 康浩	味の素
(ニ)			小島淳一郎	味の素
76 (イ)	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	山口庄太郎	天野エンザイム
(ロ)			松原 寛敬	天野エンザイム
(ハ)			佐藤 公彦	天野エンザイム
(ニ)			天野 仁	天野エンザイム
77 (イ)	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～	佐見 学	アサヒビール
(ロ)			坂本 幹太	アサヒビール
(ハ)			鈴木 康司	アサヒビール
(ニ)			飯島 和丸	アサヒビール
78 (イ)	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	中南 貴裕	パナソニックヘルスケア
(ロ)			中山 潤子	パナソニックヘルスケア
(ハ)			小村 啓悟	池田糖化工業
(ニ)			眞田 浩一	池田糖化工業
79 (イ)	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	善本 裕之	麒麟ビール
(ロ)			吉田 聡	麒麟ホールディングス
(ハ)			金井(田中)圭子	麒麟ビール
(ニ)			小林 統	麒麟ビール
80 (イ)	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 (イ)	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



No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
82 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	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 宮地 一裕 小田巻 俊孝 米澤 寿美子	森永乳業 森永乳業 森永乳業 森永乳業
83 (イ) (ロ)	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 中村 康則	カルビス カルビス
84 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成26年 (2014) 平成26年 (2014)	ジペプチド発酵技術の開発と工業化 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	協和発酵バイオ株式会社(賛助会員) 北林 雅夫 小松原秀介 今中 忠行	東洋紡 東洋紡 立命館大生科
86 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	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 池上 秀二 狩野 宏 伊藤 裕之	明治 明治 明治 明治
87 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成27年 (2015) 平成27年 (2015) 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 ビール泡品質向上への一貫した取り組み 分析・合成・調香技術の総合による新規食品香料開発	味の素株式会社(賛助会員) サッポロビール株式会社(賛助会員) 南木 昂 黒林 淑子 渡辺 広幸 前田 知子	長谷川香料 長谷川香料 長谷川香料 長谷川香料
90 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	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 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	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
92 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	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	立花 宏文 酒瀬川洋児 岡本 武久 上田 恭義 植田 尚宏 久保 博司 北野 光昭	九大院農学研究院 JA かごしま アサヒ飲料 カネカ カネカ カネカ カネカ
93 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成28年 (2016) 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 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	キッコーマン株式会社(賛助会員) 藤原 大介 城内 健太 杉村 哲 藤井 敏雄	キリン 小岩井乳業 キリン キリン

## 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)	醤油香気成分に関する研究	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 (イ) (ロ)	昭和27年 (1952)	イソアミラーゼに関する研究	丸尾 文治 小林 恒夫	東大農 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 <sub>12</sub> 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 (イ) (ロ)	昭和31年 (1956)	酸化細菌による麴酸及び新 $\gamma$ -バイロン誘導体の生成に関する研究	池田庸之助 相田 浩	東大応微研 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
14	昭和31年 (1956)	過沃素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)	火落菌の新生育因子 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) (ロ)	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 林田 晋策	九大農 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

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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) (ロ)	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
35	昭和37年 (1962)	微生物のケト酸代謝に関する研究	熊沢善三郎	京大農
36	昭和37年 (1962)	フラボノイド色素の化学的研究	柄倉辰六郎	京大農
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	中林 敏郎	静岡大農
38	昭和37年 (1962)	ロテノンおよび関連化合物の完全合成	福井 作蔵	東大応微研
39	昭和38年 (1963)	サリゲニン環状燐酸エステルの研究	宮野 真光	東大農
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	江藤 守總	九大農
41	昭和38年 (1963)	パバインの酵素作用に関する研究	桐村 二郎	味の素中研
42	昭和38年 (1963)	有機燐殺虫剤の研究	副島 正美	東北大農
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	西沢 吉彦	住友化学工業
44	昭和38年 (1963)	乳酸菌のイソメラーゼに関する研究	檜山 進	阪大産研
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	山中 啓	香川大農
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	旭 正	名大農
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	坂村 貞雄	北大農
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	高橋 信孝	東大農
49	昭和39年 (1964)	麦類赤黴病菌の色素Rubrofusarin の化学構造	田中 勝彦	協和発酵
50	昭和39年 (1964)	糸状菌の耐酸性 $\alpha$ -アミラーゼに関する研究	田中 博	名大農
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	蓑田 泰治	東大農
52	昭和40年 (1965)	テアニンの生合成に関する研究	久山 眞平	東大農
53	昭和40年 (1965)	麹菌の $\alpha$ -アミラーゼの生成に関する研究	佐々岡 啓	京大食研
54	昭和40年 (1965)	鶏卵卵白の泡立ちに関する研究	外村 健三	醗酵研
55	昭和40年 (1965)	Ciliatine の生化学的研究	中村 良	名大農
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	堀口 雅昭	東大農
57	昭和41年 (1966)	合成薄荷に関する研究	森 謙治	東大農
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	上田 博夫	阪府大農
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	遠藤 章	三共
60	昭和41年 (1966)	Blasticidin S の化学構造の決定	大熊 和彦	理研
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	大岳 望	東大応微研
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	大林 晃	鹿児島大農
63	昭和41年 (1966)	筋肉蛋白質の代謝回転	深海 浩	京大農
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	船引 龍平	岩手大農
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	掘越 弘毅	理研
66	昭和41年 (1966)	結晶アミン酸化酵素に関する研究	森原 和之	塩野義製薬
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	山田 秀明	京大食研
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	岩原章二郎	香川大農
69	昭和42年 (1967)	食品の非酵素的褐変に関する研究	大石 邦夫	東大応微研
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	加藤 博通	東大農
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	木佐木卓郎	専売中研
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	桜井 成	東大農
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	高橋 穰二	東京教育大農
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	藤田 稔夫	京大農
75	昭和42年 (1967)	家蚕幼虫の核酸消化酵素に関する研究	船津 軍喜	九大農
			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) (ロ)	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
82	昭和43年 (1968)	結晶 $p$ -hydroxybenzoate hydroxylase に関する研究	兵藤 宏	名大農
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	矢野 圭司	東大農
84	昭和44年 (1969)	ポリオキシンの化学構造の研究	山本 出	東農大農
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	磯野 清	理研
86 (イ) (ロ)	昭和44年 (1969)	微生物の生産する凝乳酵素に関する研究	今中 宏	藤沢薬品工業
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	岩崎慎二郎	名糖産業
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	柳 洲鉉	東大農
89 (イ) (ロ)	昭和44年 (1969)	カナマイシンの全合成	沖 俊一	三栄オーシャン
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	左右田健次	京大化研
91	昭和44年 (1969)	昆虫の摂食阻害性植物成分の研究	長谷川 明	京大農
92	昭和45年 (1970)	生体膜の複合脂質に関する生化学的研究	栗原 紀夫	京大農
93	昭和45年 (1970)	鶏卵ふ化時の生化学的研究	安松 克治	武田薬品工業
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	和田弘次郎	名大農
95	昭和45年 (1970)	セリン生合成系と解糖系の代謝分岐に関係する酵素類の構造と機能	渋谷 勲	東大応微研
96	昭和45年 (1970)	微生物糖イソメラーゼに関する研究	島林 幸英	三重大農
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	菅野 道廣	九大農
98 (イ) (ロ)	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	杉本 悦郎	京大農
99	昭和45年 (1970)	Protoplast bursting factor に関する研究	高崎 義幸	微工研
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	堀津 浩章	岐阜大農
			室伏 旭	東大農
			横田 孝雄	東大農
			山口 務	東洋醸造研
			荒井 綜一	東大農

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
(口)				
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	山下 道子	東大農
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	伊藤 敏敏	東北大農
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	垣沼 淳司	武田薬品工業
104	昭和46年 (1971)	ビタミン類の糖化合物に関する研究	嶋田 協雄	三重大農
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	鈴木 幸雄	岡山大農生研
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	長澤道太郎	野田産研
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 康之	京大農
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	山田 雄三	静岡大農
109	昭和47年 (1972)	殺魚性リグナン justicidin 類に関する研究	石黒 正恒	九大農
110	昭和47年 (1972)	魚毒植物の活性成分に関する研究	大田 啓一	静岡大農
111	昭和47年 (1972)	大腸菌におけるリン脂質生成の調節機構に関する研究	河津 一儀	岡山大農
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	鬼頭 誠	京大食研
113	昭和47年 (1972)	蚕黒きょう病に関する化学的研究	坂井 拓夫	阪府大農
114	昭和47年 (1972)	コリスンの作用機構に関する研究	鈴木 昭憲	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	別府 輝彦	東大農
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	寄藤 高光	信州大農
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	池上 晋	東大農
118	昭和48年 (1973)	$\Phi$ x174DNA の合成とそれにおよぼす宿主機能に関する研究	井本 泰治	山口大農
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	駒野 徹	京大農
120	昭和48年 (1973)	Phytohemagglutinin (植物性赤血球凝集素) の生化学的研究	渋川 満	旭化成工業
121	昭和48年 (1973)	蠅毒草殺虫成分の研究	高橋 孝雄	三重大農
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“グルコシルパントテン酸”に関する研究	谷口 栄二	九大農
123	昭和48年 (1973)	牛肉の加熱香氣に関する化学的研究	吉栖 肇	サントリー
124	昭和49年 (1974)	葉緑体における酸素の発生と還元	天知 輝夫	サントリー
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	渡辺 乾二	名大農
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)	浅田 浩二	京大食研
(口)				
127	昭和49年 (1974)	酵母の有機酸代謝に関する研究	折谷 隆之	東北大農
128	昭和49年 (1974)	食品香氣成分の合成的研究	葛原 弘美	理研
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	大類 洋	理研
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	斉 敏行	朝日麦酒
131	昭和49年 (1974)	高温性放線菌と耐熱性酵素	中谷 陽一	お茶大
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	林 力丸	京大食研
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	廣瀬 義夫	味の素
134	昭和50年 (1975)	澱粉の構造と利用に関する研究	水沢 清	キッコーマン醤油
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	市原 耿民	北大農
136	昭和50年 (1975)	Ezomycin 群抗生物質に関する化学的研究	緒方 靖哉	九大農
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	貝沼 圭二	食総研
138	昭和50年 (1975)	芳香族アミノ酸の醗酵生産に関する研究	菊池 正和	武田薬品工業
139	昭和50年 (1975)	ATP 阻害リボヌクレアーゼに関する研究	坂田 完三	理研
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	佐々 武史	山形大農
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	萩野 浩志	協和発酵工業
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	山崎 真狩	東大農
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	青山 頼孝	名大農
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	上野 民夫	京大農
145	昭和51年 (1976)	$^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ 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	木村 光	京大農
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	倉田 忠男	東大農
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	佐野孝之輔	味の素
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	瀬戸 治男	東大応微研
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	姫野 道夫	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	山崎 信行	愛媛大農
151	昭和52年 (1977)	麹菌の自己消化に関する研究	磯貝 彰	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	岩見 公和	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	岩村 俣	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	魚住 武司	東大農
155	昭和52年 (1977)	イソニ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	柏村 直樹	京大農
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	佐々木隆造	京大農
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	玉利 正人	東大農
158	昭和53年 (1978)	スズやケイ素を用いる糖及びヌクレオシド系化合物の合成	松本 和男	田辺製薬
159	昭和53年 (1978)	多糖類ピリドキサ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	大川 秀郎	住友化学工業
160	昭和53年 (1978)	昆虫のフェロモンに関する研究	小川 正	徳島大医
161	昭和53年 (1978)	$\text{C}_3$ および $\text{C}_4$ 光合成炭酸固定の酵素化学的研究	小川 智也	理研
162	昭和53年 (1978)	Tunicamycin の発見とその作用機作に関する研究	熊谷 英彦	京大農
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	桑原 保正	筑波大応生化
164	昭和54年 (1979)	酢酸菌の糖質代謝系酵素に関する研究	杉山 達夫	静岡大農
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	高月 昭	東大農
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	中野紀和男	名大農
167	昭和54年 (1979)	酵素法によるペニシリン、セファロスポリン類の生産に関する研究	足立 収生	山口大農
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	内尾 良輔	味の素
169	昭和54年 (1979)	ビタミン B <sub>6</sub> の生合成に関する研究	江尻慎一郎	岩手大農
170	(イ) 昭和54年 (1979)	バーレー葉タバコ香氣成分の化学的研究	岡地 諒	協和発酵工業
(口)				
171	昭和54年 (1979)	大豆グリシニンの生合成に関する研究	川内 浩司	北里大水産
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	谷 吉樹	京大農
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	藤森 嶺	専売中研
174	(イ) 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	金子 肇	専売中研
(口)				
175	昭和55年 (1980)	生体膜の構造と機能における脂質の役割	森 友彦	京大食研
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	磯部 稔	名大農
			加藤 暢夫	鳥取大工
			神谷 勇治	理研
			坂神 洋次	東大農
			塚越 規弘	名大農
			西野 親生	三菱化成生命研



No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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 $\alpha$ -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)	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	東大農
(ロ)			山根 久和	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)	特異な環構造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 佳規	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層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	京大農
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)	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	理研
(ロ)			鈴木 義勝	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体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素の合成とその利用	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)	植物フレー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)	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	広島大工
(ロ)			阿部 恵子	東大応微研
230	昭和61年 (1986)	水素ガス資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 <sup>+</sup> 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
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ア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

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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的研究	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 士敏	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 <sub>2</sub> 固定酵素、RuBisCO、の <i>in vivo</i> 機能形態と光呼吸の機構	横田 明穂	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 $\alpha$ -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アクターへの応用	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	工院院微工研
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	北大農
294	平成4年 (1992)	活性酸素代謝の分子の機作の解明	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)	植物細胞表面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	前島 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・テレオシ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
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 $\beta$ -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 束穂	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ソ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



No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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 克純	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	鳥城大生資
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 <sub>2</sub> ・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) ブ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	鳥根大生資
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 <sub>12</sub> 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	大利 徹	富山県大工
373	平成12年	(2000) 糖質をキラルブ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リ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) 植物生理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	東北大院農
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) 微生物由来脱炭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	近畿大生物理工
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の研究	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
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> のキラー毒素 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逆遺伝学的研究	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与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	東北大院農
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理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	橋本 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 渉	京大院農



No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
409	平成15年 (2003)	アリジゴク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・後転写に関与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理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)	カビの嫌氣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	東大生物工学セ
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 <sup>2+</sup> 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	東京大院農生科
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 宜督	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 <sub>1</sub> 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理活性天然環式化合物の合成研究	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 進久	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	櫻合 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	館野 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
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	東大生物工学セ
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)	$\alpha$ -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関与する 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 涉	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)	天然物を範とした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

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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 <sub>30</sub> 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	丸山 潤一	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) ビ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 和文	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 <sub>2</sub> 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	藪田 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 重信	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	静岡大学学術院工学領域
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	東大生物工学セ
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

## 2017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）

浅見 忠男（あさみ ただお）

1958年生まれ／1987年東京大学大学院農学系研究科農芸化学専攻博士課程修了，農学博士／現在，東京大学大学院農学生命科学研究科・教授

内海 龍太郎（うつみ りゅうたろう）

1951年生まれ／1982年京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士課程修了，農学博士／現在，近畿大学農学部バイオサイエンス学科教授

### ○日本農芸化学会功績賞（2件，50音順）

木村 誠（きむら まこと）

1951年生まれ／1979年九州大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士課程修了，農学博士／現在，九州大学大学院農学研究院・教授

吉川 博文（よしかわ ひろふみ）

1951年生まれ／1983年東京大学大学院農学系研究科農芸化学専攻博士課程修了，農学博士／現在，東京農業大学応用生物科学部・教授

### ○農芸化学技術賞（4件，企業名50音順）

味の素株式会社

1917年6月17日（創立）／代表取締役 取締役社長 最高経営責任者：西井孝明

塩野 貴史（しおの たかし）

1978年生まれ／2003年早稲田大学大学院理工学研究科卒，技術士（生物工学部門）／現在，キリン株式会社 R&D本部 飲料技術研究所・主任研究員

山本 研一朗（やまもと けんいちろう）

1986年生まれ／2011年京都大学大学院工学研究科卒／現在，キリン株式会社 R&D本部 飲料技術研究所・研究員

河合 淳一郎（かわい じゅんいちろう）

1984年生まれ／2010年北海道大学大学院理学院卒／現在，キリンビバレッジ株式会社 湘南工場 品質保証担当・技術員

四元 祐子（よつもと ゆうこ）

1970年生まれ／1991年神奈川県立栄養短期大学栄養学科卒／現在，キリン株式会社 R&D本部 飲料技術研究所・研究員

サントリーホールディングス株式会社

2009年2月16日（設立）／代表取締役社長 新浪剛史

日本食品化工株式会社

1948年7月26日（創立）／代表取締役社長執行役員 鈴木 慎一郎

### ○農芸化学奨励賞（10件，50音順）

安藤 晃規（あんど う あきのり）

1977年生まれ／2008年京都大学大学院農学研究科博士後期課程応用生命科学専攻修了，博士（農学）／現在，京都大学大学院農学研究科・助教

崔 宰熏（ちえ じえふん）

1978年生まれ／2009年静岡大学創造科学技術大学院バイオサイエンス専攻博士課程修了，博士（農学）／現在，静岡大学大学院農学領域・助教

岡 拓二（おか たくじ）

1976年生まれ／2004年九州大学大学院生物資源環境科学府生物機能科学専攻博士課程修了，博士（農学）／現在，崇城大学生物生命学部応用微生物工学科・准教授

成川 真隆（なるかわ まさたか）

1978年生まれ／2006年京都大学大学院農学研究科農学専攻博士後期課程修了，博士（農学）／現在，東京大学大学院農学生命科学研究科・助教

甲斐 建次（かい けんじ）

1979年生まれ／2007年京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻博士後期課程修了，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

宮永 顕正（みやなが あきまさ）

1978年生まれ／2006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，東京工業大学理学院・助教

肥塚 崇男（こえづか たかお）

1977年生まれ／2005年鳥取大学大学院連合農学研究科生物資源科学専攻博士後期課程修了，博士（農学）／現在，山口大学大学院創成科学研究科農学系専攻・助教

向井 理恵（むかい りえ）

1979年生まれ／2009年神戸大学大学院自然科学研究科博士課程修了，博士（農学）／現在，徳島大学大学院生物資源産業学研究部・講師

竹下 典男（たけした のりお）

1977年生まれ／2006年東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学博士課程修了，博士（農学）／現在，筑波大学生命環境系・助教，ERATO野村集団微生物制御プロジェクト・ゲノム生化学グループリーダー

森 直紀（もり なおき）

1980年生まれ／2007年東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化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化学専攻・助教



---

**2017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）

飯嶋 益巳（いゐじま ますみ）

1973年生まれ／1998年東京農業大学大学院農学研究科醸造学専攻修士課程修了，博士（農学）／現在，大阪大学産業科学研究所・特任准教授

井上 奈穂（いのうえ なお）

1977年生まれ／2007年鹿児島大学大学院連合農学研究科博士課程修了，博士（農学）／現在，山形大学農学部食料生命環境学科・准教授

佐藤 ちひろ（さとう ちひろ）

1968年生まれ／1997年東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻修了，博士（理学）／現在，名古屋大学生物機能開発利用研究センター・准教授

---

○農芸化学若手女性研究者賞（3件，50音順）

加藤 晃代（かとう てるよ）

1983年生まれ／2008年名古屋大学生命農学研究科生命技術科学専攻修士課程修了，博士（農学）／現在，名古屋大学生命農学研究科兼名城大学総合研究所研究員

田中 沙智（たなか さち）

1981年生まれ／2009年東北大学大学院農学研究科博士課程後期修了，博士（農学）／現在，信州大学農学部・助教

山田 美和（やまだ みわ）

1981年生まれ／2010年北海道大学大学院工学研究科生物機能高分子専攻博士課程修了，博士（工学）／現在，岩手大学農学部応用生物化学科・准教授

---

○農芸化学女性企業研究者賞（3件，50音順）

小野 佳子（おの よしこ）

1963年生まれ／1986年神戸大学農学部農芸化学科卒業，理学博士／現在，サントリーウエルネス株式会社健康科学研究所研究主幹

小林（袴田） 夕香（こばやし（はかまだ） ゆか）

1976年生まれ／2005年岐阜大学大学院連合農学研究科（静岡大学）修了，博士（農学）／現在，（株）J-オイルミルズ商品開発研究所第五研究室・課長

夏目 みどり（なつめ みどり）

1965年生まれ／1989年名古屋大学農学部食品工業化学科卒業，博士（農学）／現在，株式会社 明治 食機能科学研究所・専任課長

## 【2017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。

©2017 Japan Society For Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry Printed in Japan

---

日本農芸化学会 2017 年度受賞講演要旨集  
2017 年 3 月 8 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](mailto: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

---