

日本農芸化学会 受賞講演要旨集

2021 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/>

2021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）

中山 亨（東北大学大学院工学研究科）

「植物フラボノイドの生合成と構造的多様性に関する酵素科学的研究」…………… 1

松田 一彦（近畿大学農学部）

「昆虫の神経イオンチャネルと除虫菊によるピレスリン生合成の制御に関する化学生物学的研究」…………… 3

【日本農芸化学会功績賞】（2件，50音順）

稲垣 賢二（岡山大学大学院環境生命科学研究科）

「微生物由来の産業用酵素の探索，構造機能解析とバイオテクノロジーへの応用」…………… 5

吉村 徹（名古屋大学大学院生命農学研究科）

「アミノ酸代謝関連酵素の分子基盤と機能開発」…………… 7

【農芸化学技術賞】（3件，50音順）

釜阪 寛・田中 智子・滝井 寛（江崎グリコ株式会社）

「歯の修復およびその加速化に関する革新的技術開発」…………… 9

首藤 正彦（株式会社えひめ飲料）・古川 美子（松山大学薬学部）・伊賀瀬 道也（愛媛大学医学部）・

福田 直大（愛媛県経済労働部）

「河内晩柑の機能性を活かし中高年者の認知機能維持に貢献する果汁飲料の開発」…………… 11

サッポロビール株式会社

「ビール製造工程の微生物管理向上への一貫した取り組み」…………… 13

【農芸化学奨励賞】（10件，50音順）

石橋 洋平（九州大学大学院農学研究科）

「新規脂質代謝酵素および制御因子に関する生物横断的研究」…………… 15

伊藤 晋作（東京農業大学生命科学部）

「作物根寄生物による宿主植物認識機構の制御」…………… 17

伊藤 智和（名古屋大学大学院生命農学研究科）

「高度に保存されたビタミン B6 結合タンパク質の機能解析と応用展開」…………… 19

小倉 由資（東京大学大学院農学生命科学研究科）

「顕著な生物活性を有する芳香族および含酸素環式天然有機化合物に関する合成化学的研究」…………… 21

Thanutchaporn Kumrungsee（広島大学大学院統合生命科学研究科）

「ヒスチジン含有機能性ペプチドの探索、および応用研究」…………… 23

黒木 勝久（宮崎大学農学部）

「生物進化に伴った硫酸転移酵素機能の多様性に関する研究」…………… 25

佐藤 道大（静岡県立大学薬学部）

「酵素的[4+2]環化付加反応の分子機構の解明」…………… 27

田代 陽介（静岡大学学術院工学領域）

「細菌が生産する小胞の機能と形成機構に関する研究」…………… 29

二神 泰基（鹿児島大学農学部附属焼酎・発酵学教育研究センター）

「白麹菌のクエン酸高生産機構に関する研究」…………… 31

丸田 隆典（島根大学学術研究院農生命科学系）

「植物環境順応におけるアスコルビン酸と活性酸素種の相互作用に関する研究」…………… 33

2021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）

豊島 由香（お茶の水女子大学ヒューマンライフイノベーション研究所） 「タンパク質栄養状態の悪化によって稼働する肝脂質蓄積機構に関する研究」	35
藤田 直子（秋田県立大学生物資源科学部） 「イネの澱粉生合成メカニズムの解明から機能性や異なる食感を付与した米品種の開発」	37
柳瀬 笑子（岐阜大学応用生物科学部） 「発酵茶製造時におけるカテキン類の酸化重合反応に関する研究」	39

【農芸化学若手女性研究者賞】（3件，50音順）

乙木 百合香（東北大学大学院農学研究科） 「神経変性疾患の予防法開発に向けたプラズマローゲンの機能解明」	41
堀 千明（北海道大学大学院工学研究院） 「植物バイオマス分解利用に関する基礎研究」	43
山田 千早（東京大学大学院農学生命科学研究科） 「ヒト・動物の腸内に生息する嫌気性細菌の代謝機能に関する研究」	45

【農芸化学女性企業研究者賞】（3件，50音順）

内田（丸木）裕子（森永製菓株式会社） 「ポリフェノールの機能性研究とその商品応用」	47
土橋 英恵（株式会社明治） 「生乳由来乳酸菌に関する研究」	49
宮崎 絹子（ハウス食品グループ本社株式会社） 「油脂中のリスク物質の新規分析法開発とその応用」	51

歴代受賞者一覧	53
日本農芸化学会鈴木賞（日本農学会取扱）	53
日本農芸化学会鈴木賞（本会取扱）	53
日本農芸化学会賞	54
日本農芸化学会功績賞	55
農芸化学技術賞	56
農芸化学賞（日本農学会取扱）	60
農芸化学賞（本会取扱）	60
農芸化学奨励賞	60
農芸化学女性研究者賞	68
農芸化学若手女性研究者賞	68
農芸化学女性企業研究者賞	68
2021年度学会賞等受賞者紹介	69
2021年度農芸化学女性研究者賞等受賞者紹介	70
2021年度学会賞等副賞ご寄附会社名	71



植物フラボノイドの生合成と構造的多様性に関する酵素科学的研究

東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻 中山 亨

はじめに

現在、地球上にはおよそ27万種もの陸上植物(コケ植物、シダ植物、裸子植物、被子植物)が存在する。これらは、もとをたどれば1種類の水生の藻類(シャジクモ藻類に近い原始植物)から進化して多様化したと考えられている。植物の上陸は今からおよそ4億7000万年前に起こったとされ、陸上に出現した最初の原始植物は現生のコケ植物に近縁のものであったと推定されている。その頃の地球の大気中酸素濃度は現在とほぼ同レベルに達していたと推定されるので、この原始陸上植物は、水中とは異なり高濃度の酸素の存在下で紫外線を含む太陽光に直接的に曝露され、酸化的ストレスや乾燥ストレスを受けながらの生育を余儀なくされたと考えられる。フラボノイドは、陸上植物がこうした環境ストレスや生物学的ストレスに適応するために作り始めた戦略的化学物質である。現在でも、フラボノイドは陸上植物によって普遍的に生産され、 $C_6-C_3-C_6$ の基本骨格を基盤にして植物種ごとに異なる酵素的修飾を受けることによりその構造的多様性を増し、その種類は少なくとも8000を超えるとされている。現生陸上植物において、フラボノイドは、花色発現や稔性関連のメカニズムを介して植物の生殖に関わり、紫外線や他の環境ストレスに対するストレス応答物質、微生物や動物との相互作用におけるシグナル分子としても作用し、その生理的役割も植物種ごとに異なっている。その多彩な生理的役割から、フラボノイドを植物の「スイスアーミーナイフ」に喩える研究者もいる。フラボノイドはまた、ヒトに対しても健康に有益で多彩な生理活性を示すバイオフィクターとしても作用する。

筆者は大学生のときに、異性化糖製造の酵素学的基礎を築かれた故・山中啓先生の研究に触れ、酵素科学の面白さ、奥深さ、幅広さ、そして重要さを知った。大学院に進学し、左右田健次先生の御指導のもと、化学研究所という「化学の海」のなかでさらに広い視野で酵素科学研究の研鑽を積みながら、先生の標榜されていた研究の「処女峰主義」¹⁾に大いに感化された。学位取

得後、8年間の民間企業(サントリー)勤務を経てアカデミアに参入したが、その後もサントリーの皆様と研究を続けることができたのは極めて幸いなことであった。この度の受賞の対象となった研究業績にはその共同研究の成果が多数含まれている。

1990年頃までに、フラボノイドの生合成経路は、主として遺伝学的・分子生物学のアプローチにより、一部の経路を残してその大枠が解明されていた。しかしながら酵素レベルでは、植物組織に活性は認められるものの、活性の本体の化学的実体や特性、細胞内での局在性や動態などの解明が未着手のものがほとんどであった。共同研究を通じてこの植物科学分野に初めて参入した一酵素屋にとって、それはあたかも、未踏峰の山々が目の前にいくつも連なっているかのようであった。このようにして筆者は、陸上植物の進化に大きく貢献したフラボノイドの生合成やその構造的多様性発現の仕組みの解明に向けて、1990年代半ば頃から酵素科学のアプローチによる研究を開始した。その結果、フラボノイドの新規生合成経路の発見に関わり、構造的多様性をもたらす修飾酵素の数々を開拓し、生合成酵素の複合体(フラボノイドメタボロン)の実体に肉迫できた。また、すべての陸上植物の生存を支える普遍的なフラボノイド代謝戦略を明らかにした。それらの業績を以下に記述する。

1. オーロン生合成経路の解明と花色変化技術への応用

オーロン(図1A)は、ダリアやキンギョソウの鮮やかな黄色の原因となるフラボノイドである。オーロン生合成経路は黄色系の花色調節に有用であろうと期待されていたが、先人の多くの努力にもかかわらず「オーロン合成酵素」の実体は謎に包まれたままであった。候補者はそれまでに培ってきた独自の酵素単離精製技術を駆使してオーロン合成酵素を純化した。驚くべきことに同酵素(aureusidin synthase)は植物組織の褐変現象をつかさどるポリフェノールオキシダーゼ(PPO)のホモログであり、PPOとしては初の液相局在型の酵素であった。この発見によりオーロンの生合成経路が解明されただけでなく、生物的功能が不明であったPPOに花色発現という明確な生物学

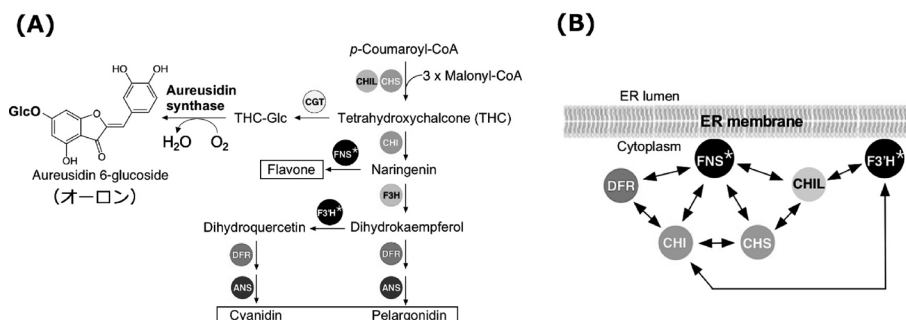


図1. キンギョソウのフラボノイド生合成経路(A)とフラボン・アントシアニン生合成メタボロン(B)。アルファベット付の○は酵素やタンパク質を表す。フラボンとアントシアニンを四角で囲んだ。Glc, β -D-グルコシル基

的機能があることが初めて示された。さらにこの発見が契機となって黄色花の作出技術が確立され、本技術によるトレニアやアサガオなどの新しい黄色品種の創出が実現している。

なお、その後、aureusidin synthase には EC 1.21.3.6 という EC 番号が付与された。EC 番号とは、反応特異性や基質特異性に基づいて国際生化学分子生物学連合の命名法委員会によって付与される酵素の ID 番号である。新しい EC 番号の付与は、新しい酵素機能の発見の国際的な「お墨付き」となる。生化学の長い歴史の中で、新しい EC 番号の登録は容易ではなくなっているため、研究の未踏峰初登頂を目指す酵素屋として大変うれしかった。

2. フラボノイドの構造的多様性を生み出す修飾酵素群の発見と多様性発現の分子機構の解明

上述のようにフラボノイドは一般にグリコシル化やアシル化を受けることによりその構造的多様性を増大させ、それはこの化合物群の生理活性の多様性に密接に関係する。したがってフラボノイド修飾技術は、この化合物群の活性制御と産業的利用において重要な役割を果たす。筆者はフラボノイド修飾に関わるユニークな特異性をもつ糖転移酵素遺伝子やアシル基転移酵素遺伝子をさまざまな植物種から多数取得し酵素機能解析を行った。ダイズのイソフラボノイドに対する糖転移酵素、およびその配糖体を脱修飾する加水分解酵素も発見した。その当時は世界的にフラボノイド修飾酵素学の研究の黎明期にあつて、筆者らは新規な特異性をもつ酵素を多数、世界に先駆けて報告することができた。それらのいくつかにも新しい EC 番号が付与されている。

筆者はまた、フラボノイド修飾酵素の触媒機構や特異性発現の分子機構の解明にも成果を上げることができた。たとえば糖転移酵素については、ブドウの生理活性フラボノールの糖転移酵素遺伝子群を網羅的に解析し、フラボノールの配糖体化の特異性(グルコシル化: グルクロン酸化: ガラクトシル化)の違いを酵素触媒機構および酵素の分子進化(収斂進化と分散進化)との関連で明らかにした。またアシル基転移酵素については、キク花卉のアントシアニンアシル基転移酵素について、植物アシル基転移酵素ファミリーの酵素として初めて、酵素基質複合体の結晶構造を明らかにし、アシル基供与体と受容体が酵素分子の互いに反対側の面からアプローチするユニークな一般酸塩基触媒アシル基転移反応機構を初めて確立した。

3. フラボノイドメタボロンの解明

キンギョソウ、トレニア、ダイズなど、系統的に異なるいくつかの植物のフラボノイド生合成について酵素間相互作用を網羅的に解析し、シトクロム P450 を核にしたフラボノイドメタボロンの形成を立証した(図 1B)。さらに、こうしたメタボロンの形成が、フラボノイドの構造的多様性の拡大になぜ重要なのかを初めて示すことができた。

4. 陸上植物の生存を支える普遍的な代謝戦略の発見

フラボノイド経路に関わる酵素は一次代謝酵素から進化したとされ、その特異性が厳密でないものが多い。フラボノイド経路の初発鍵酵素であるカルコン合成酵素(CHS)の生成物特異性も、試験管内ではあいまいであり、植物種によっては 90 mol% の副成物を与える。筆者は、フラボノイドメタボロンの中に CHS の特異性のあいまいさを矯正し、もっぱらカルコンのみを生成するように仕向けるタンパク質(CHIL)を見い

だし、この CHIL の機能が、コケ植物から種子植物にいたるすべての陸上植物に普遍的であることを示した。フラボノイドはすべての陸上植物の生存を支える戦略物質であるため、この機能は、フラボノイド合成を円滑に促すことを通じて、全陸上植物の生存を支える重要な仕組みとなっていると考えられた。

おわりに

フラボノイドの生合成や構造的多様性発現の仕組みを酵素科学の切り口で明らかにしようと試みてきた。その結果、4 億 7 千万年に及ぶ陸上植物の進化を支えてきた可能性のある現象にたどり着いた。この発見はまた、酵素の特異性制御におけるタンパク質間相互作用の重要性を示唆するものであり、タンパク質間相互作用能の獲得は酵素進化のひとつの姿でもある。フラボノイド生合成というテーマで研究を続けてきたが、結局、筆者は、30 数億年におよぶ生命の歴史の中で酵素がどのように進化しそれによってまた生物がどのように進化できたのか、を無意識のうちに問い続けてきたと思う。そして大小さまざまな発見を通じて生命や自然のからくりを垣間見るたびに、アイザック・ニュートンの次の言葉が思い起こされてきた。

I was like a boy playing on the sea-shore, and diverting myself now and then finding a smoother pebble or a prettier shell than ordinary, whilst the great ocean of truth lay all undiscovered before me.

今後も引き続き、この問いの答えに一步でも近づけるように精進していきたいと願っている。

(引用文献)

- 1) 化学, Vol. 50, 3, p 119-123, (1995)

謝 辞 学生時代に研究の基礎や研究者としてのあるべき姿をお教えいただき、卒業後も暖かく見守り下さりご指導下さいました故・山中啓先生(筑波大学名誉教授)、左右田健次先生(京都大学名誉教授)、田中英彦先生(岡山大学名誉教授)、江崎信芳先生(京都大学名誉教授)、谷澤克行先生(大阪大学名誉教授)に心より御礼申し上げます。本研究は、筆者が奉職した神戸学院大学栄養学部と東北大学大学院工学研究科において、四半世紀にわたって行ってきたものです。それぞれの職場での直属の上司であり、アカデミアで研究を始めて間もない筆者を終始励まして下さり正しい方向に導いて下さった故・上田隆史先生(神戸学院大学名誉教授)ならびに西野徳三先生(東北大学名誉教授)に心より感謝申し上げます。本研究は、サントリーの他、理化学研究所、基礎生物学研究所、南九州大学、金沢大学、山梨大学、長崎大学、名城大学、名古屋大学、大阪大学、東京農業大学、東京農工大学、日本大学、オーボアカデミー大学(フィンランド)等、数多くの大学や研究機関の皆様との共同での研究が基盤となっています。有益で楽しいディスカッションが研究を続けるのに非常に役立ちました。これらの共同研究者の皆様には心から厚く御礼申し上げます。また、本研究は、東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻応用生命化学講座の高橋征司准教授、和氣駿之助教、下山武文助教、邊見久助手(当時: 現・名古屋大学准教授)のほか、数多くの学生、博士研究員、研究補助員、秘書の方々、および神戸学院大学の学生の方々のご協力のもとでなされました。紙面の都合でお名前を挙げるができませんが、関係された全ての皆様には心から感謝の意を表し、ともに受賞の喜びを分かち合いたいと思います。

昆虫の神経イオンチャネルと除虫菊によるピレスリン生合成の 制御に関する化学生物学的研究



近畿大学農学部 松 田 一 彦

はじめに

昆虫は人類の誕生以前から地球上で生き続けてきた生物であり、その存在自体には全く罪がない。しかし、一部の昆虫は農業による持続的な食料供給を脅かし、人類と対峙している。また、蚊をはじめとする吸血昆虫は感染症をもたらし、人命を奪い続けている。このような昆虫の脅威を環境に対する影響を最小限に抑制しながら選択的に制御することは、人類にとって最も重要な課題の一つである。この課題を達成すべく、除虫菊が生産する神経活性物質ピレスリンの生合成とその制御機構、微生物が生産する殺虫活性物質の生合成と標的受容体の解明、および合成殺虫剤の選択毒性の分子機構と標的受容体再構築技術について「化学」と「生物」の境界領域で研究してきた。

1. 除虫菊が生産する神経活性物質ピレスリンの生合成酵素の解明と揮発性シグナルによる調節

昆虫制御の分子機構を植物から学ぶため、除虫菊が生産する天然殺虫剤ピレスリンの生合成とその調節について研究した。ピレスリンは膜電位依存性ナトリウムチャネルを開いた状態に拘束し昆虫の神経伝達機構を攪乱する。ピレスリンをもとに開発された合成ピレスロイドは広く害虫防除に使用され、構造活性相関、作用機構、安全性を中心に詳しく研究された。一方、ピレスリンについては古くから知られていたにもかかわらず、化学構造や合成法を除いて、ほとんど研究されていなかった。除虫菊は自身を昆虫の攻撃から守るためピレスリンをつくる。その機構を解明することにより昆虫制御の原理に到達できると考え、ピレスリンの生合成とその制御機構の研究に着手した。

ピレスリンは2種の酸部（第一菊酸および第二菊酸）と3種のアルコール部（ピレスロロン、シネロロン、ジャスモロン）がエステル化されることでつくられ、子房と葉に蓄積される。標識実験により、第一菊酸は非メバロン酸経路（MEP経路）で生合成され、ピレスロロンはオキシリピン経路で生合成されることが明らかとなった（図1）。その後の研究で、ピレスリンのアルコール部と植物ホルモンであるジャスモン酸は α -リノレン酸から12-オキソ-フィトジエン酸まで同じ経路で構築され、それ以降は異なる経路で生合成されることが解明された。

ピレスリンのアルコール部とジャスモン酸の生合成に共通する上流からは、「緑の香り」と総称される短鎖アルデヒド・アルコール類が α -リノレン酸の過酸化化物から生成する（図1）。武居三吉と畑中顯和により緑茶の香気成分として発見された緑の香りはGreen Leaf Volatilesと呼ばれ、今や植物普遍的な揮発性シグナル分子として認知されている。植物は昆虫により食害されると揮発性シグナルを放出し、隣接する植物に危険を知らせる。このとき緑の香りは植物の会話の言語として頻繁に使用される。そこで傷を受けた除虫菊の会話を解析したところ、

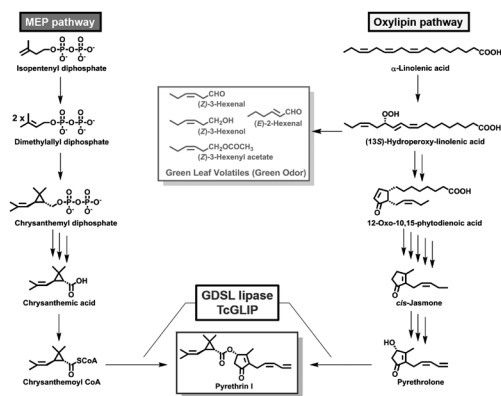


図1. ピレスリン生合成と揮発性シグナル緑の香り

緑の香りと(E)- β -ファルネセンが主言語として使われていた。これらは傷害ついた除虫菊の幼苗の葉から放出されたときと同じブレンド比で、しかも同程度の濃度で処理したときのみ、未被害の幼苗でピレスリン生合成を促進した。これは、植物が言語を組み合わせて会話することを示した最初の例となった。

ピレスリン生合成の最後でMEP経路とオキシリピン経路が合流する（図1）。この反応を触媒する酵素を解明することこそピレスリン生合成研究において最も重要な課題と考え、標準を定めた。本酵素はアシル基転移酵素と予想したが、絞りこみが困難であった。しかも本酵素の同定に遺伝学的手法を使うことができなかった。そこで除虫菊の蕾からピレスリン合成活性をもつ酵素を精製し、その遺伝子をクローン化したところ、全く予想に反して当該遺伝子はGDSLリパーゼをコードしていた。TcGLIPと命名した本酵素は、酸部とアルコール部の不斉炭素の絶対配置を厳密に認識し、その発現量は除虫菊の各部位でのピレスリン蓄積量と良い相関を示したことから、対昆虫防御における鍵因子の一つとして働いていることが明らかとなった。

2. 植物-微生物-昆虫間相互作用を駆動する昆虫制御物質の標的解明と間接誘導防衛機構の提唱

微生物の培地として教科書に掲載されているものを使えば、無難な結果が得られる。しかし、常識にとらわれない林英雄は、オカラで糸状菌*Penicillium simplicissimum* AK-40株を培養することにより、殺虫活性を示すオカラミンを発見した。その自由な発想に触発され、オカラミンの標的解明に挑戦した。

オカラミンは投与後短時間内に殺虫活性を発揮する。標的は神経イオンチャネルではないかと推定し、パッチクランプ法を採用してオカラミンの作用機構を調べた。昆虫神経細胞に神経伝達物質を連続してするとイオンチャネルの応答が減衰するrundown現象を解決し、オカラミンをカイコガ神経細胞に処理

した。すると、内向きのイオン電流が観測された。この電流は塩素イオン電流であったことから、オカラミンは塩素チャンネルに作用すると推定された。カイコガ幼虫の神経細胞で発現する塩素チャンネル類をアフリカツメガエルの卵母細胞で発現させ、オカラミンを処理すると、グルタミン酸作動性塩素チャンネル (GluCl) のみ活性化された。本活性と殺虫活性が相関したことから、オカラミンの主な標的は GluCl であることが判明した。本物質は他の塩素チャンネルには微弱な作用しか示さず、GluCl は昆虫や線虫などの無脊椎生物の神経系にのみ存在することから、昆虫に対する選択性が極めて高いことがわかった (図2)。

その一方で、*P. simplicissimum* AK-40株がオカラ培地で著量オカラミンを生産する分子機構を探るために、遺伝子破壊実験により7遺伝子からなるオカラミン生合成遺伝子クラスターを同定し、GluClの活性化に必須の構造因子を解明した (図2)。

林英雄はオカラ培地を用いてオカラミン以外にも数多くの昆虫活性物質を見つけていた。その中からアスペルパラリンとクロドリマニンを選びパッチクランプ法で作用機構を調べたところ、前者はニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) を、後者は γ -アミノ酪酸受容体 (GABAR) をナノモル濃度で阻害した。これらの神経受容体はヒトの神経系にも存在する。故に、両物質は非選択的な毒なのかと思いきや、そうではなかった。アスペルパラリンとクロドリマニンは昆虫の nAChR や GABAR に対して阻害作用を示す濃度より百倍以上高い濃度で処理しなければ、脊椎動物の当該受容体類を阻害しなかった。

これらの成果をもとに、植物は根圏で共生微生物に防御物質を生産させる「間接誘導防御機構」を提唱した。それが真なら、植物根圏からオカラミンなどの物質が昆虫や線虫を制御可能な濃度で検出されなければならない。このようなことが実際にあるのかと想像していたとき、予想外にもヘアリーベッチを栽培した後、ダイズを栽培した土壌の中からオカラミンが殺虫活性を示すくらい高い濃度で検出され、自身の仮説が証明された。

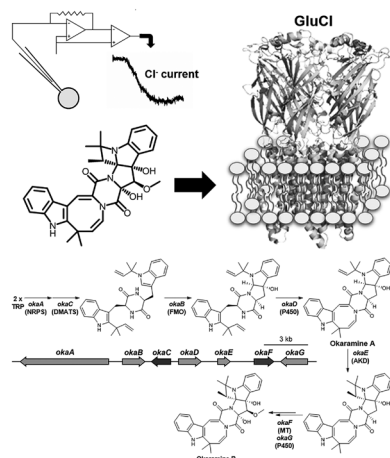


図2. オカラミンの標的 GluCl と生合成

3. 合成昆虫制御剤の選択毒性発現機構の解明と標的受容体の再構築における難問の解決

殺虫剤ネオニコチノイドは昆虫の nAChR に対して選択的に作用する。本剤がもつニトロ基やシアノ基と昆虫の nAChR に特有の塩基性アミノ酸との静電的相互作用によりこのような選

択性が生じると予測し、当該相互作用の場の一つが loop D であることを解明した。また、アセチルコリン結合タンパク質との共結晶の X 線結晶構造をもとに、隣接する α サブユニット間に本剤が結合する際 loop E と loop G の塩基性アミノ酸とも相互作用することを見出した。これらの概念は、一部あるいは全てが脊椎動物に由来するサブユニットをもつ nAChR を使用して得られていたため、全サブユニットが昆虫に由来する nAChR を用いて確認する必要があった。だが、ショウジョウバエの nAChR 遺伝子が単離されてから 30 年以上経過しても、誰一人として昆虫の nAChR の再構築に成功していなかった。そこでこの難問に挑んだ結果、昆虫の nAChR の再構築に必須の補助因子を突きとめ (図3)、ネオニコチノイドの活性発現に loop D に存在する塩基性アミノ酸との相互作用が重要な役割を担っていることを証明した。そして、本剤がハナバチ類の nAChR を極めて低い濃度で阻害することを先駆けて示した。

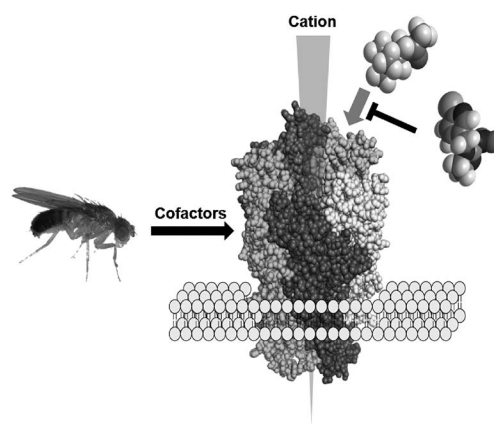


図3. 昆虫の nAChR の再構築とネオニコチノイドの作用

おわりに

今人類は、新型コロナウイルス感染症と戦っている。かつての感染症がそうであったように、いずれこの問題も人類の英知により終息するであろう。次に待ち受けているのは地球温暖化に伴い勢いを増す昆虫の脅威である。ここに記した「窮微暢遠」に徹して行われた研究の下には「昆虫の高選択的制御」という哲学が流れている。奇しくもこれらの研究は開始から四半世紀の時を経て結実した。本成果を発展させることにより、農作物に被害をもたらす害虫や感染症を媒介する吸血昆虫を制御し、昆虫と共栄する 22 世紀への道が開けると期待される。

謝 辞 学生時代、基礎を築いていただいた藤田稔夫先生 (京都大学・故人) と西村勁一郎先生 (大阪府立大学) に厚く御礼申し上げます。近畿大学では濱田昌之先生から自由な研究環境と御指導を、植物化学の研究では畑中顯和先生 (山口大学) から御指導と御激励を賜りました。神経イオンチャンネルの研究では David Sattelle 教授 (University College London) から、糸状菌の二次代謝物質の研究では林英雄先生 (大阪府立大学) と長田裕之先生 (理化学研究所) から御教示をいただきました。多くの成果は近畿大学の先生方、大学院生、学部生に加えて、他大学や研究所の先生方、企業の研究員の方々との研究により成し遂げられました。この場を借りて心より御礼申し上げます。

微生物由来の産業用酵素の探索、
構造機能解析とバイオテクノロジーへの応用

岡山大学大学院環境生命科学研究科 稲垣 賢二

はじめに

酸性環境や高熱環境など極限環境に生育する微生物や土壌中に生育する放線菌は、その生育環境に適応したユニークな性質を有しており、それら微生物が産生する酵素も同様に多様で多彩な機能を持つものが多い。人類は有史以前から身の回りに存在する種々の微生物の特性を、お酒や発酵食品をはじめ様々な発酵や酵素の生産に活用してきた。1970年代の「遺伝子操作技術」の確立には、制限酵素、DNA リガーゼ、DNA ポリメラーゼをはじめ多くの微生物酵素の発見、利用が不可欠であった。また、その後の生命科学研究の飛躍的な発展をもたらした1988年の「PCR (polymerase chain reaction) 法によるDNA増幅技術」の確立は、極限環境微生物である好熱性細菌由来の耐熱性DNAポリメラーゼの発見に基づくものである。さらに昨年2020年のノーベル化学賞を受賞した「ゲノム編集技術」の確立にも、微生物の持つユニークなCRISPER/Cas (CRISPER-associated proteins) 酵素の発見、利用が不可欠であった。このように微生物由来の新規酵素の発見が、近年の画期的な革新的技術の開発の基となっている。

筆者は1986年岡山大学赴任直後から極限環境微生物や放線菌など種々の微生物の産生する産業用酵素を探索、精製し、精密な立体構造解析や機能等の性質検討を行い、それら微生物酵素の持つユニークな特性を明らかにしてきた。さらに遺伝子工学及びタンパク質工学的手法を駆使し、異種発現系による大量生産、精製系の確立を行い、産業応用化の道を切り拓くと共に、基質特異性や反応速度論的性質を改変して創出した新しい触媒機能をバイオセンサーや臨床診断薬の開発等バイオテクノロジーに幅広く応用してきた。これらの成果は基礎研究だけでなく産業の発展に貢献できたと自負している。以下に主要な研究業績の概要を述べる。

1. 好酸性細菌の産生する有用酵素の探索と活用

1-1. *Acidiphilium* 属好酸性細菌の産生する制限酵素、メチラーゼ

制限酵素は、遺伝子組換え技術の中核とする現代バイオテクノロジーの必須のツールである。好酸性細菌の重金属耐性機構を検討する過程で、分離株が強い制限酵素活性を示すことを見だし、スクリーニングを開始した。最終的に分離菌株173株中68株に活性が検出され、14種もの異なる認識配列を有する制限酵素の存在が明らかとなった(表1)。*Acidiphilium* 属好酸性細菌は多種多様な制限酵素を生産し、生産性が高い一方非特異的スクレアーゼの生産が少なく精製が容易で、制限酵素の生産に最適であった。筆者らが発見した制限酵素の内3種 *AfaI*, *Aor13HI*, *Aor51HI* は、遺伝子工学用試薬として市販され現在でも国内外で幅広く使用されている。

1-2. 新属・新種 *Acidocella capsulatum* の発見・単離と産生する糖質関連酵素

好酸性細菌の新属・新種 *Acidocella capsulatum* を酸性環境

表1. II型制限酵素(4~6塩基認識)の分類表

下線を付したものがスクリーニングで発見した好酸性細菌由来の制限酵素

4 Base	5 Base	6 Base
***	A*** T***	C*** G***
AATT	<u>TspEI</u>	FsiI
ACGT	MaeII	AcII
AGCT	AluI	<u>Asp3HI</u>
ATAT		SspI
CATG	<u>NlaIII</u>	BspI
CCGG	<u>MspI</u>	<u>Asp2HI</u>
CGCG	AccII	<u>Asp32HI</u>
CTAG	MaeI	SpeI
GATC	<u>Sau3AI</u>	<u>TfiI</u>
GC GC	HhaI	<u>Fnu4HI</u>
GGCC	<u>HaeIII</u>	<u>AvaII</u>
GTAC	<u>AfaI</u>	<u>Tsp45I</u>
TATA		<u>SfiI</u>
TCGA	<u>TthHB8I</u>	<u>ClaI</u>
TGCA	<u>CviRI</u>	<u>EcoT22I</u>
TTAA	<u>MseI</u>	<u>PshBI</u>

から新たに単離し、命名した。本菌は *Acidiphilium* 属等他の好酸性従属栄養細菌に比べて糖類の資化性が広く、セロビオースやラクトース等の二糖類さらにはデンプンや配糖体を炭素源として利用できる。筆者らは最適pHが酸性側にあるユニークな一連の酸性グリコシダーゼを本菌が産生していることを見だし、この内 α -グルコシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼの他トレハラーゼ、キシラナーゼを単離・精製し、性質を明らかにした。これらの多くはペリプラズムに存在し、その最適pHは3.0付近、酸性領域で安定な好酸性細菌の特性を反映した酵素群であることを明らかにした。

2. 抗腫瘍性酵素L-メチオニン γ -リアーゼとL-メチオニンデカルボキシラーゼに関する研究

土壌細菌 *Pseudomonas putida* 由来L-メチオニン γ -リアーゼ(MGL)は、ピリドキサルリン酸(PLP)依存性酵素であり、L-Metを α -ケト酪酸、メチルメルカプタンとアンモニアに分解する。無秩序に増殖し続けるがん細胞はL-Met要求性が高いので、血中に本酵素を投与すると、がん細胞はL-Met飢餓状態となり、アポトーシスにより死滅する。正常細胞に対する細胞毒性は極めて低く、次世代抗腫瘍性酵素としての製剤化に期待が寄せられていた。そこで筆者らは遺伝子クローニングを行い、組換え酵素の発見・精製法を構築すると共に、本酵素の立体構造を世界に先駆けて明らかにした(図1)。さらに本酵素の活性中心残基の機能解析を行い、Tyr114残基が一般酸塩基触媒として必須の残基であること、活性中心に特徴的な水素結合ネットワーク(図1右図)を構成するCys116, Lys240, Asp241残基が、基質L-Metの認識及び基質特異性に関与していることを明らかにした。特にCys116に注目し、C116H変異MGLがL-Met分解活性を失ったにも関わらず、L-ホモシステイン(L-Hcy)分

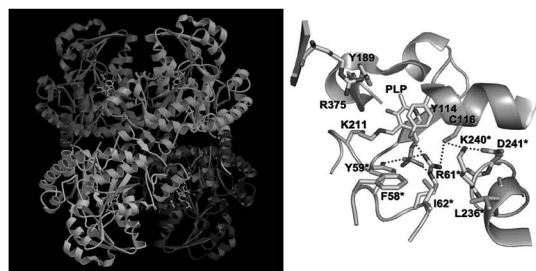


図1. L-メチオニン γ -リアーゼの X 線結晶構造と活性中心

解活性を保持することや、野生型酵素が持たない L-Cys に対する強力な脱離活性を示すという極めて興味深い基質特異性を発見した。更に最近基質複合体の X 線結晶構造に基づく解析からその理由を明らかにした。こうした基質特異性改変酵素の開発を基に、各種疾病のリスクファクターとして最近注目されている血中 L-Hcy の定量キットの開発に成功し、まもなく市販予定である。一方、本酵素を抗がん剤として血中投与した場合に想定されるアナフィラキシーを防止する方法として、高純度ポリエチレングリコールで修飾する方法を確立し、血中半減期の延長、抗原性の低下、アナフィラキシーの抑制を可能にし、また抗がん剤として実用化するための結晶化工程を含む工業生産法の確立に成功した。一方 MGL と同様に抗腫瘍性活性を有する放線菌由来 L-メチオニンデカルボキシラーゼ (MetDC) についても、産業利用に向けて大腸菌発現精製系を構築し、新規な L-Met 定量法を確立した。更に血中 L-Met を MetDC で分解した後に、L-Hcy を MGL で定量する方法も確立し、報告した。

3. 高基質特異性 L-アミノ酸オキシダーゼの構造機能解析と応用に関する研究

蛇毒由来酵素を代表とする一般的な L-アミノ酸オキシダーゼは基質特異性が低く、多くのアミノ酸に作用する。それに対して放線菌由来の L-グルタミン酸オキシダーゼ (LGOX) と糸状菌由来の L-リシンオキシダーゼ (LysOX) は、極めて高い基質特異性を持つ非常にユニークな L-アミノ酸酸化酵素の一群である。筆者はこれら両酵素に着目し、遺伝子操作技術を駆使して困難な課題を解決し、大腸菌を用いた大量発現、大量精製系を確立した。従来の酵素生産はフスマ培養という固体培養法によって行われており、大量の均一精製が極めて困難であったが、組換え酵素生産系の確立により、大変容易に大量生産できるようになり、医薬分野への応用研究が可能となった。筆者らは、放線菌由来 LGOX の遺伝子クローニング、大量発現・精製系を確立し、成熟体の X 線結晶構造解析に成功した。この際本酵素が、二量体構造の前駆体蛋白質として発現した後に、自身の生産するプロテアーゼで切断され、活性化すると共に、構造安定化するという他に例のない極めてユニークな性質を有することも明らかにした。本酵素の特性に着目し常温菌由来にも関わらず安定性に優れ、バイオセンサー用にふさわしい酵素である事を明らかにし、開発研究を行った。本酵素を過酸化水素電極に固定化し、食品の旨味成分であると同時に興奮性の神経伝達物質でもある生体内の L-Glu を特異的かつ、微量定量できる分析法を開発した。さらにこの方法が臨床検査において、肝機能の指標である GOT や GPT の迅速、高感度測定に活用できることを示した。現在本酵素を用いた家庭用小型肝機能センサーの開発に取り組んでいる。また活性中心の Arg305 が基質

L-Glu 認識の必須残基であることを明らかにし、Arg305一残基のアミノ酸置換により基質特異性の完全な変換が行えることを実証した。この方法で L-Glu に反応せず、塩基性アミノ酸の L-Arg や L-His また L-Tyr や L-DOPA に反応する酵素の作成に成功した。これらは微量定量用のバイオセンサーとして利用可能である。一方糸状菌由来 LysOX は長年 L-Lys 定量用の酵素として国内外で使用されてきた。加えて血中の L-Lys レベルを減少させることによる腫瘍細胞の増殖抑制効果と、酵素反応により生成する過酸化水素による殺細胞効果が認められており、優れた抗腫瘍性酵素として医療分野における応用が期待されていたことから筆者らは糸状菌 *Trichoderma viride* 由来の本酵素遺伝子の完全長 cDNA の取得を行い、放線菌を用いた異種発現系の構築に初めて成功した。さらに本酵素と基質 L-Lys 複合体の X 線結晶構造解析にも成功し (図2)、最近大腸菌発現系も構築でき、厳格な基質特異性の要因や成熟化の機構を明らかにした。

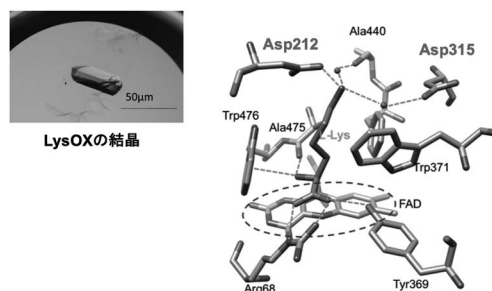


図2. L-リシンオキシダーゼの結晶と基質複合体構造

おわりに

以上筆者は、微生物の産生する有用酵素 (表2) の持つ優れた特性を遺伝子工学、タンパク質工学を駆使することにより明らかにするとともに、その特性を産業に応用する研究を展開し、成果を上げ、農芸化学分野の発展に貢献した。

表2. 研究対象とした産業用酵素群

・アミノ酸代謝関連酵素	
FAD依存性酵素	
L-グルタミン酸オキシダーゼ, L-リシンオキシダーゼ, L-アミノ酸オキシダーゼ	
PLP依存性酵素	
L-メチオニン γ -リアーゼ, L-シスチオニン γ -シンターゼ	
L-メチオニン脱炭酸酵素, アラニンセマーゼ	
NAD⁺依存性酵素	
イソクエン酸脱水素酵素, 3-イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素	
キノン(CTQ)含有酵素	
L-リシンε-オキシダーゼ, グリシンオキシダーゼ	
・糖質関連酵素	
トレハラーゼ, キシラーゼ, グリセロールキナーゼ	
α-グルコシダーゼ, β-グルコシダーゼ, イノミラーゼ	
・核酸関連酵素	
制限酵素 Afa I, AorH13HI, Aor51HI, TthHB8I, メチラーゼ	
・その他	
アコニターゼ, カタラーゼ, アミダーゼ, エステラーゼ	
2-ニトロプロバンジオキシゲナーゼ 他	



謝 辞 本研究は、岡山大学大学院環境生命科学研究科微生物遺伝子化学研究室において行われたものです。研究を共に遂行して頂きました研究員の皆様に感謝いたします。また京都工芸繊維大学原田繁春名誉教授、大阪大学今田勝巳教授並びに沢山の企業や大学の共同研究者の皆様に厚くお礼申し上げます。学生時代から今日に至るまで長年ご指導頂きました京都大学左右田健次名誉教授に心より感謝いたします。最後になりましたが、本賞にご推薦頂きました中四国支部長櫻谷英治徳島大学教授及び授賞選考委員の皆様に厚くお礼申し上げます。

アミノ酸代謝関連酵素の分子基盤と機能開発



名古屋大学大学院生命農学研究科 教授 吉村 徹

はじめに

生体内においてアミノ酸は脱アミノ、脱炭酸、ラセミ化など様々な反応を受けるが、その多くはビタミン B₆ の補酵素型であるピリドキサル 5'-リン酸 (PLP) を補酵素とする酵素によって触媒される。PLP はリジン残基との間に分子内シッフ塩基を形成して酵素タンパク質と結合している。基質アミノ酸が存在すれば PLP はアルジミン転移反応によって、基質アミノ基と分子外シッフ塩基を形成する (図1)。続いていずれかの C α 結合が切断される。例えばラセマーゼやトランスアミナーゼ反応では C α -H 結合が切断され α -水素はプロトンとして脱離し、その結果 C α 上にマイナスチャージが生じる。PLP はこのマイナスチャージを非局在化することでこのアニオン性中間体を安定化する。これが PLP の電子溜め機能であり、PLP 酵素反応の核となっている。筆者は PLP 酵素を中心に様々なアミノ酸代謝関連酵素、特に D-アミノ酸代謝に関わる酵素の反応機構、生理的役割や応用などについて研究してきた。

1. PLP に依存するアミノ酸代謝関連酵素の構造と機能

1-1. アミノ基転移反応の立体化学

アミノ酸とケト酸の間のアミノ基転移を触媒するトランスアミナーゼ反応は、基質のアミノ基を PLP に転移して、ピリドキサミン 5'-リン酸 (PMP) と生成物ケト酸を生じる半反応と、PMP から基質ケト酸にアミノ基を転移して生成物アミノ酸を生じる逆方向の半反応からなる (図1)。前半の半反応ではアミノ酸と PLP の複合体から α -水素がプロトンとして引き抜かれ、複合体の π -電子平面上を PLP の C4' に転移して PMP を生じる。後半の半反応ではその逆反応が進行して PMP から基質ケト酸にアミノ基が転移し、新たなアミノ酸が生成するとともに酵素は元の PLP 型酵素に復帰する。本来のトランスアミナーゼに加え、多くの PLP 酵素は副反応としてこの反応を触媒する。基質と PLP が形成する複合体の π -電子平面上で進行する基質 α -水素の転移反応は、どちらかの面上で特異的に起こる場合と、両面で起こる場合の3通りが考えられる。この水素転移の立体化学は α -水素の引き抜きや転移を触媒する酵素残基と PLP の位置関係を反映するが、筆者がこの研究を開始した時点では、この立体化学が決定されていた PLP 酵素は全て *si* 面上での水素転移を触媒するものであった。筆者は C4' 位を立体特異的にトリチウム化した PMP を用いる簡便な方法を確立してこの立体化学を系統的に解析した。その結果、D-アミノ酸トランスアミナーゼなどは *re* 面上で、アラニンラセマーゼ (AlaR) は両面で、この水素転移を触媒することが明らかになった。

1-2. AlaR の反応機構

ラセミ化反応でアミノ酸が立体反転する場合は、 α -水素がプロトンとして引き抜かれ生成したアニオン性中間体の C α に、

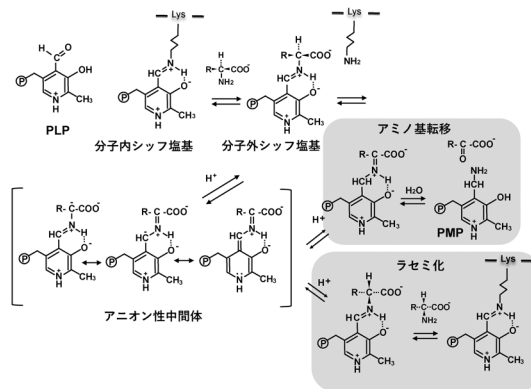


図1 アミノ基転移とラセミ化の機構

プロトン引き抜きとは逆の側からプロトンが付加する。この反応には単一の触媒基が D-, L-両アミノ酸からのプロトン引き抜きと中間体 C α へのプロトン付加を触媒する単塩基機構と、D-, L-それぞれの基質に対して別の残基がプロトンの授受を行う二塩基機構が考えられる。PLP に依存するアミノ酸ラセマーゼの反応がこのどちらの機構で進行するのかは、長らく議論の対象となってきた。筆者らは好熱菌、*Geobacillus stearothermophilus* の AlaR を用いてこの機構の解明を試みた。結晶構造からはこの触媒基の候補として、PLP 結合性 Lys39、および PLP を挟んで Lys39 の反対側に位置する Tyr265' と His166 が推定された。そこでこれら残基の部位特異的変異、K39A 変異酵素のメチルアミンによるケミカルレスキューとその際の基質・溶媒同位体効果の解析、さらには反応中間体アナログである ϵ -ピリドキシル L-および D-Ala を結合した酵素の X 線結晶構造解析などを行った。その結果、Lys39 が D-Ala の α -水素引き抜きと D-Ala を生成するためにアニオン性中間体へプロトンが付加する触媒基であることを明らかにした。さらに同酵素が副反応として触媒するアミノ基転移反応の分光学的解析から、Tyr265' が L-Ala に対応して α -水素の引き抜きと付加を行う触媒基であることを検証し、AlaR 反応が二塩基機構で進行することを立証した。

2. 真核生物における D-アミノ酸代謝関連酵素と D-アミノ酸の機能

2-1. セリンラセマーゼ (SerR)

筆者らが D-AAT や AlaR など細菌の D-アミノ酸代謝酵素の研究を続ける中、ヒトを含む真核生物にも様々な D-アミノ酸が存在し、多様な生理機能を担うことが明らかとなってきた。中でも哺乳動物の脳などに存在する D-Ser は、記憶や学習など脳の高次機能と関連する *N*-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) レセプターのコアゴニストとして機能しており、そのため D-Ser の挙動が統合失調症や筋萎縮性側索硬化症 (ALS) など

様々な神経疾患と関わる事が報告されている。真核生物のD-Serは真核細胞型SerRによって生合成されるが、細菌のAlaRやSerRの構造が知られていたにもかかわらずこの酵素は容易には同定されなかった。これはPLP酵素が進化的・構造的に異なる7つのFold-type (ファミリー) からなり、細菌のAlaRやSerRがFold-type IIIに属するのに対し、哺乳動物のSerRがFold-type IIに属しているためである。すなわち両SerRは構造が異なるタンパク質が収斂進化の結果同じ機能を獲得した結果であり、細菌のAlaRやSerRの情報は哺乳動物SerRの同定には役立たなかった。筆者らは分裂酵母のFold-type II型SerRの結晶構造解析を行うとともに、同酵素反応ではPLP結合リジン残基とPLPを挟んでこれと対峙するセリン残基が、それぞれL-Ser、D-Serの α -水素の授受を触媒することを明らかにした。すなわちFold-type II型SerRは、進化的には異なる細菌のAlaRと同様、二塩基機構でラセミ化を触媒する。

ところでFold-type II型SerRはセリンのラセミ化とともにL-およびD-Serの分解(デヒドラターゼ)反応も触媒し、ピルビン酸とアンモニアを生成する。この分解反応の生理的意義は定かではないが、D-Ser濃度の恒常性維持に働く可能性が推測されている。SRのラセミ化反応の触媒効率L-SerとD-Serで差がないのに対して、L-Serに対するデヒドラターゼ反応の効率はD-Serに対する効率より10倍程度高い。そのためD-Serは一旦L-Serに転換された後にデヒドラターゼ反応を受けるといった可能性も指摘されていた。筆者らは α -水素を重水素化したL,D-Serを用いた基質同位体効果、重水中で反応を行った際の溶媒同位体効果の解析などにより、SerRはL-Serに転換することなく直接D-Serの分解を触媒するものと結論した。またThrの4つのジアステレオマーを基質としたThrデヒドラターゼ反応において、マウスSerRがL-ThrとD-allo-Thrに対して高い活性を示したのに対して、D-ThrとL-allo-Thrにはほとんど反応しなかったことから、SerRは基質の α 位炭素ではなく β 位炭素の立体化学を認識している可能性を示した。

筆者らはまたSRが基質との反応中にそのPLP結合リジン残基がデヒドラターゼ反応の中間体である α -アミノアクリル酸によって修飾されてリジノアラニン残基に転換されること、そのリジノアラニン残基のアミノ基がリジンの ϵ -アミノ基を代替して活性を維持することを見出した。マウスSRではこの修飾により酵素活性は大幅に低下したが、デヒドラターゼ反応におけるD-Serに対する K_m 値が野生型酵素の1%程度まで低下したため、生理的条件に近い1 mM濃度でのD-Serデヒドラターゼ活性は野生型酵素の場合よりも上昇した。

2.2. Fold-type III型D-セリンデヒドラターゼ

筆者らは出芽酵母、*Saccharomyces cerevisiae*にPLPに依存するFold-type III型の新奇D-セリンデヒドラターゼ(Dsd1p)を見出した。Dsd1pは哺乳動物を除く脊椎動物、菌類などの下等真核生物と一部の細菌に存在する。本酵素は*E. coli*などの細菌に存在するFold-type II型の同名酵素とは進化的に異なり、

反応に亜鉛を必要とするなどPLP酵素としてはユニークな特性を有する。筆者らはDsd1pについて、PLPのピリジン環窒素と相互作用するチロシン残基(Tyr203)の役割といった酵素化学的な研究を行うとともに、同酵素の高い基質特異性を利用したD-Serの酵素定量法を構築した。また体内D-Ser濃度の変化がALSの進行に及ぼす影響を検証することを目的に、ポリエチレングリコール修飾により免疫原性を低下させたDsd1pを作成し、ALSモデルマウスへの投与などを行った。

2.3. 発生・分化におけるD-アミノ酸の役割

マウス小脳では幼若期にD-Ser濃度が高く、組織の発達とともに減少する。またカイコでは孵化、幼虫時の脱皮、蛹化や羽化に際して一過的に体内D-Ser濃度が増加する。同様の現象はエビの脱皮時などにも見出されている。このように発生・分化においてD-アミノ酸が何らかの役割を担う可能性があるがその詳細は明らかではない。筆者らはカイコや細胞性粘菌*Dictyostelium discoideum*、食用キノコなどを用いてこの問題の解明を試みた。その過程で、*D. discoideum*ではD-SerがcAMPシグナリングを介した細胞分化に影響すること、ブナシメジでは子実体形成時にD-2-アミノ-3,4-ジヒドロキシ酪酸が蓄積することなどを明らかにした。

おわりに

上述のように、筆者はPLP酵素を中心にアミノ酸代謝関連酵素の構造機能相関、あるいはPLP酵素が関わるD-アミノ酸の代謝や機能に関する研究を行ってきた。酵素学はすでに成熟した研究分野であるように思われているが、構造機能相関の解析が進んでいるPLP酵素においてすらまだ酵素を自由にデザインすることはできない。また生命現象の解明にはその現象に関わる酵素の理解が不可欠である。基礎、応用の両面において酵素研究にはなお多くの課題が残されているものと考えている。

謝 辞 本受賞に際しまして、学生時代からここまで、常にご指導・ご鞭撻を賜りました京都大学名誉教授の左右田健次先生に心より感謝申し上げます。本稿に記した研究は、京都大学の江崎信芳先生(現名誉教授)、谷澤克行先生(現大阪大学名誉教授)、田中英彦先生(現岡山大学名誉教授)、栗原達夫先生(京都大学教授)、三原久明先生(現立命館大学)、名古屋大学の伊藤智和先生、邊見 久先生、九州大学の大島敏久先生(現名誉教授)、大阪医科大学の鏡山博行先生(現名誉教授)、林秀行先生、大阪市立大学の広津建先生(現名誉教授)、宮原郁子先生、後藤勝先生(現東邦大学)、大阪大学の倉光成紀先生(現名誉教授)、奈良女子大学の植野洋志先生(現竜谷大学)、Northeastern UniversityのJames. M. Manning先生をはじめとする多くの先生方、そして京都大学と名古屋大学の院生・学生の方々との共同によってなされたものです。お世話になりました皆様に心より感謝申し上げます。最後に、本賞へのご推薦をいただきました筑波大学の小林達彦先生、ならびにご支援を賜りました学会関係者の方々に厚く御礼申し上げます。

歯の修復およびその加速化に関する革新的技術開発



① 江崎グリコ株式会社 釜 阪 寛 ①
田 中 智 子 ②
滝 井 寛 ③

はじめに

私たち人間の生命活動は「食べる」という行為によって支えられている。現在の日本人の平均寿命が延びる中、口腔管理を怠ると、「食べる」という生命活動の質が著しく低下する。本問題を解消すべく、「8020運動」が展開され、さらに2011年には「歯科口腔保健法」が成立し、迫る長寿社会に備えて、歯の健康増進は国を挙げての課題となっている。私たちは、歯の健康増進施策として、新規可溶性カルシウム剤の開発と新しい特定保健用食品の開発を含め様々な革新的技術開発を試みてきた。

1. 水溶性カルシウム剤“POs-Ca”の開発

1-1. 馬鈴薯澱粉未消化画分利用への着眼

馬鈴薯のような地下茎貯蔵澱粉には有機リンが含まれている。馬鈴薯澱粉からブドウ糖や異性化糖を製造する際の未消化画分に私たちは注目し、リン酸エステル結合を含むオリゴ糖をカルシウム塩として回収し、リン酸化オリゴ糖カルシウム(POs-Ca)素材の開発に成功した(図1)^{1,2)}。一般的なカルシウム剤であるリン酸一水素カルシウムや炭酸カルシウムが、室温で水に殆ど溶解しないのに対して、POs-Caの溶解性は70%以上であり、「①唾液のような中性下でリン酸-カルシウムの沈殿形成を抑制できること、②むし歯の原因菌であるミュータンス連鎖球菌に資化されないこと、③pH緩衝能を有していること」から、オーラルヘルス用途に適した素材として着目した³⁾。

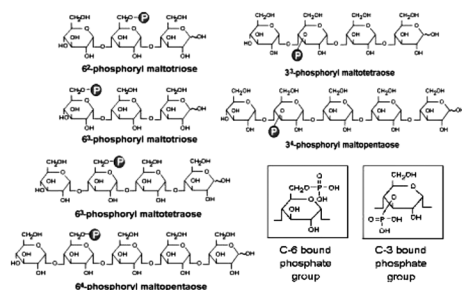


図1. リン酸化オリゴ糖主画分の構造

1-2. 初期むし歯へのアプローチ

う窩形成う蝕(いわゆる「むし歯」)は、人間が穀物を摂取するようになった時代からその歴史を伴ってきた疾患である。つまり、産業革命による砂糖の量産化および拡大とともに身近な疾患となった。いわば、急激に変化した現代の食生活習慣がもたらす「生活習慣病」の代表である。毎食後、口腔内細菌の

働きにより糖質から酸が生じるため、歯からカルシウムが失われ「う蝕」になる前段階である「初期むし歯」が生じる。飲食時に歯から失われたカルシウムを効率的に供給することで、初期むし歯の再石灰化を促し、健全な状態に戻す技術開発を目指した。

2. 歯の再石灰化および再結晶化の実証と商品への応用

歯エナメル質には血管が通じておらず、血液からカルシウムの供給を受けることができない。そのため、歯は唾液から供給されるカルシウムにより日常的に修復されている。しかし、その修復機能が不十分であれば、エナメル質は損なわれる。事実、唾液中はリン酸に比べて、カルシウムが不足している。一方で唾液の中性条件下では無機リン酸とカルシウムが容易に反応し不溶化する。一方、POs-Caはリン酸エステル基にカルシウムがイオン結合しているため、唾液中の無機リン酸との反応を抑制できる。よって、通常の唾液以上にカルシウム濃度を高く保持できた。私たちは唾液中のカルシウムイオン濃度をPOs-Caによって高め、歯エナメル質を構成するハイドロキシアパタイト結晶($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)と同じカルシウム/リン酸(Ca/P)モル濃度比である1.67付近で再石灰化効果が最大化されることを見出した⁴⁻⁶⁾。つまり、POs-Caによって唾液中のCa/Pモル濃度比を適切に上昇させることができた。ハイドロキシアパタイト(HAp)結晶はエナメル小柱と呼ばれる緻密な構造を形成し、咀嚼方向に垂直に配列している。この緻密性と同一方向性が噛む方向への歯の強度を作り出し、摂食行動に対して合理的な構造となっている。そこで、財団法人高輝度光科学研究センターの有する大型放射光施設SPring-8において、直線性が保たれ、かつ、マイクロメートルオーダーに調整された高輝度光を活用したX線回折での検証を行った⁷⁾。その結果、POs-Caを用いて再石灰化した部位は、単にカルシウムとリン酸が石灰化していただけでなく、健全な歯エナメル質と同じ構造を有するHAp結晶として再構築されていたことが実証された。次に、長時間咀嚼し唾液中にカルシウムを徐放し続けることができる「チューインガム」にPOs-Caを配合し、特定保健用食品として実用化した。ヒト試験において、POs-Ca配合ガムを摂取することで歯の初期むし歯が再石灰化すること、さらに再石灰化部分が元の歯の結晶に回復すること(再結晶化効果)を実証した(図2)⁸⁾。特定保健用食品において初めて初期むし歯対策ガムとして「再結晶化を促す」という許可表示を取得することができた。

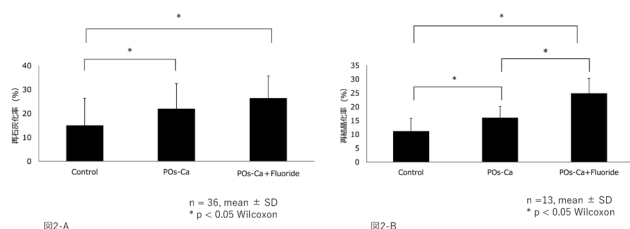


図2. POs-Ca配合ガム (POs-Ca), POs-Ca および緑茶エキスガム (POs-Ca + Fluoride), コントロールガム (Control) 摂取時の初期むし歯の再石灰化 (A) および再結晶化効果 (B) の検証

3. 初期むし歯の再石灰化および再結晶化加速化技術の開発

一部の諸外国ではパブリックケアの一環として水道水に1.0 ppmのフッ化物を添加すること（フロリデーション）によって、むし歯予防に大きな効果があることが報告されている。私たちは食品原料由来の緑茶由来フッ素の利用を試みた。しかし、一般的な緑茶エキスはポリフェノール類を多く含み、ミネラルを吸着するため、再石灰化が阻害されることがわかった。そこで、ポリフェノール類を除去した緑茶エキスを作成し、POs-Caとの併用を試みた。結果、初期むし歯の再石灰化および再結晶化効果がPOs-Ca単独使用時より高まることが確認できた。フッ化物イオンが0.5-1.0 ppm存在するときに効果が促進されたが、濃度が高いと逆に阻害されることがわかった。さらに、微量フッ素でも十分に歯に取り込まれ、歯の硬度が回復し⁹⁾、歯のエナメル質の一部がフッ化アパタイトになっていることもSPring-8で実証した(図3)¹⁰⁾。一方、カチオン性ポリマーであるε-ポリリジン (EPL) の併用で、POs-Ca単独使用時より約3倍以上の速度で再石灰化を促進できる技術を開発した¹¹⁾。この加速化技術により、口腔内での反応時間が限られたガム以外の剤型への応用が可能になった。将来、洗口剤や歯磨

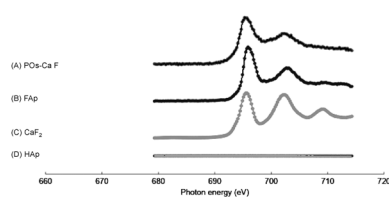


図3. POs-Ca とフッ素での処理エナメル質 (A), フッ化物標準物質 (B, C), HAp (D) の XAFS スペクトルの比較

剤等の医薬部外品への技術応用に繋がると考えている。

4. おわりに

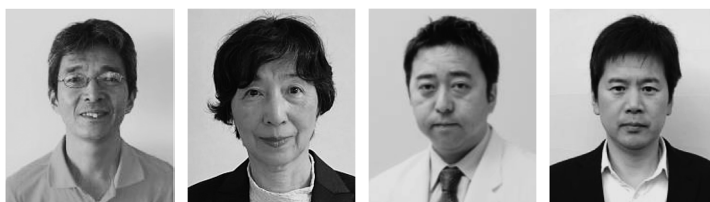
口腔機能が低下すると、摂取栄養素の量やバランスが悪化し、全身の健康が悪化する（サルコペニア、フレイル等）。口腔の健康維持は、健やかに長寿を迎えるための基盤である。私たちの研究成果は、世界でも類をみない長寿国である日本国民の健康増進に貢献できる革新的な技術と考えている。今後、更に用途開発を行い、様々な製品への応用に繋げてゆきたい。

(引用文献)

1. Kamasaka H., Uchida M., Kusaka K., Yamamoto K., Yoshikawa K., Okada S., Ichikawa T. Inhibitory effect of phosphorylated oligosaccharides prepared from potato starch on the formation of calcium phosphate. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59, 1412-1416 (1995).
2. Kamasaka H., To-o K., Kusaka K., Kuriki T., Kometani T., Hayashi H., Okada S. The structures of phosphoryl oligosaccharides prepared from potato starch. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 61, 238-244 (1997).
3. Kamasaka H., Imai S., Nishimura T., Kuriki T., Nishizawa T. Effect of phosphoryl oligosaccharides from potato starch on acid fermentation by mutans streptococci. *J. Dent. Hlth.* 52, 66-71 (2002).
4. Kamasaka H., Inaba D., Minami K., Nishimura T., Kuriki T., Imai S., Yonemitsu M. Remineralization of enamel by phosphoryl-oligosaccharides (POs) supplied by a chewing gum: Part I. Salivary assessment in vitro. *J. Dent. Hlth.* 52, 105-111 (2002).
5. Inaba D., Kamasaka H., Minami K., Nishimura T., Kuriki T., Imai S., Yonemitsu M. Remineralization of enamel by phosphoryl-oligosaccharides (POs) supplied by a chewing gum: Part II. Intraoral evaluation. *J. Dent. Hlth.* 52, 112-118 (2002).
6. Tanaka T., Kobayashi T., Kamasaka H., Takii H., Ohta N., Matsuo T., Yagi N., Kuriki T. Optimization of calcium concentration of saliva with phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) for enamel remineralization in vitro. *Archives of Oral Biology* 58, 174-180 (2013).
7. Tanaka T., Yagi N., Ohta N., Matsuo T., Terada Y., Kamasaka H., To-o K., Kometani T., Kuriki T. Evaluation of the distribution and orientation of remineralized enamel crystallites in subsurface lesion by X-ray diffraction. *Caries Res.* 44, 253-259 (2010).
8. Kitasako Y., Tanaka M., Sadr A., Hamba H., Ikeda M., Tagami J. Effects of a chewing gum containing phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) and fluoride on remineralization and crystallization of enamel subsurface lesions in situ. *J. Dent.* 39, 771-779 (2011).
9. Kitasako Y., Sadr A., Hanba H., Tanaka M., Ikeda M., Nikaido T., Tagami J. Gum containing calcium fluoride reinforces enamel subsurface lesions in situ. *J. Dent. Res.* 91, 370-375 (2012).
10. Tanaka T., Kobayashi T., Yusuke T., Sakanaka A., Kuriki T., Amano A. Phosphoryl oligosaccharides of calcium enhance mineral availability and fluorapatite formation. *Archives of Oral Biology* 101, 135-141 (2019).
11. Tanaka T., Asakuma H., Takii H., Kamasaka H., Kuriki T. Effect of phosphoryl oligosaccharides of calcium and basic peptide on subsurface lesion. The 152nd meeting of Japanese society of conservative dentistry (2020).

謝 辞 本賞にご推薦いただきました静岡大学グリーン科学技術研究所の河岸洋和先生に深く感謝いたします。POs-Ca素材の量産化およびフッ素剤の開発研究でご協力いただきました王子コーンスターチ株式会社および三井農林株式会社の皆様に深く感謝申し上げます。また、本研究の推進において、ご指導を賜りました花田信弘先生、今井奨先生、米満正美先生、稲葉大輔先生、南健太郎先生、神原正樹先生、田上順次先生、北迫勇一先生、八木直人先生、為則雄祐先生、小林隆嗣先生、高江洲義矩先生に感謝いたします。最後に、共に研究を推進くださった江崎グリコ株式会社健康科学研究所栗木隆所長および所員の皆様に感謝申し上げます。

河内晩柑の機能性を活かし中高年者の 認知機能維持に貢献する果汁飲料の開発



①

②

③

④

株式会社えひめ飲料総合戦略部 首 藤 正 彦 ①

松山大学薬学部 古 川 美 子 ②

愛媛大学医学部附属病院 伊賀瀬 道 也 ③

愛媛県経済労働部 福 田 直 大 ④

はじめに

愛媛県特産柑橘“河内晩柑”の果皮には他の柑橘に比べて機能性成分オーラプテン (auraptene; AUR) が特異的に多量に含まれ、脳保護効果を示す。愛媛県の産官学は共同で、河内晩柑の特性を活かした“AUR高含有河内晩柑果汁飲料”を創出した。この果汁飲料を摂取した中高年者では認知機能の一部である記憶力の維持が認められ、機能性表示食品「POM アシタノカラダ河内晩柑ジュース」として販売開始に至った。

1. 研究のきっかけ

1-1. 河内晩柑とは

河内晩柑は、初夏から夏に旬を迎える中晩柑類である。文旦の仲間であり、外観はグレープフルーツに似ていることから“和製グレープフルーツ”とも呼ばれるが、グレープフルーツのような苦みは少なくさっぱりとした甘みが楽しめる。河内晩柑は愛媛県において温州みかん等からの転換が図られている基幹品種の一つで、生産量は熊本県を引き離して第1位である。

1-2. 河内晩柑果皮の機能性成分

松山大学薬学部では、河内晩柑果皮には種々の機能性成分が含まれること、特にAUR含量は他の柑橘に比べて特異的に高いことを明らかにした¹⁾。AURはクマリン類の一種で、抗腫瘍作用、抗炎症作用などを有することが報告されていた。

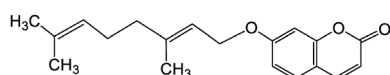


図1. オーラプテンの構造

松山大学では“脳に作用する柑橘成分を検索する”過程で、①腹腔内投与したAURは代謝されずに脳組織に移行すること²⁾、②AURは、これまで報告されていた末梢組織のみならず、脳においても炎症反応を抑制し脳保護効果を示すことを見出した²⁻⁴⁾。近年、体内で長期間くすぶり続ける「慢性炎症」が認知症等多くの疾患に共通する基盤病態のひとつと考えられており、AURを摂取し脳内炎症作用を抑制すれば、認知症の予防・進行抑制が期待できる可能性が示唆された。

2. AUR高含有河内晩柑果汁飲料の創生

果皮中AUR含量が高い河内晩柑では、搾汁過程でAURが果皮から果汁に移行する^{4,5)}。認知症予防には日々の食事が重要であることは疫学調査からも示されており、河内晩柑果汁を摂取すれば毎日の食生活に認知症予防を取り入れられるのではない。そこで、2013年より愛媛県内産官学が協力し、河内晩柑の機能性を活かした新しい機能性食品創生に着手した。2014～2016年には愛媛県戦略的試験研究プロジェクトに採択され、

1日1パック(125 mL)の摂取で認知機能の維持が図れるような河内晩柑果汁の開発に取り組むこととなった。

2-1. 製造方法の開発

河内晩柑果汁には果皮から移行したAURが含まれるが、その量は充分ではない^{4,5)}。愛媛県産業技術研究所食品産業技術センター及び(株)えひめ飲料において搾汁法及び果汁処理法が河内晩柑の果汁中AUR濃度に及ぼす影響を調べた結果(表1)は、①インライン搾汁のフィニッシャー果汁を用いるのが最適であるものの、②認知機能維持が期待できるAUR濃度とするためには、搾汁加工法を工夫するだけでは十分でなく、果皮を利用する必要があることを示した。

表1. AUR濃度に及ぼす搾汁方法の影響

搾汁方法	インライン搾汁		ベルト搾汁
果汁処理法	フィニッシャー果汁	遠心果汁	フィニッシャー果汁
AUR濃度	27 mg/L	14 mg/L	50 mg/L
搾汁率	54%		35%

果皮を利用する上での問題点は、①硬い果皮を細かく砕くのが難しい点、②粗い果皮は舌触りが悪い点、③果皮にはナリンギン等の苦味物質が多く含まれ、ブレンドした果汁は苦くて飲めない点であった。これらの問題は、①非常に細くなめらかな果皮ペーストを製造するためにコミトロールを用いて微細化処理を行う、②脱苦味処理として効率の良い熱水処理及び水晒しを行うことで解決できた。作出したAUR高含有河内晩柑果汁飲料は、舌触りやのど越しが格段に改善され、河内晩柑特有の爽やかで心地よい苦味を有し、従来の河内晩柑とは一味違う味わいを楽しむことができるものとなった。最終的に、ホモジナイザーによる均質化処理、脱気、濾過、除塵、殺菌、冷却を行った後、125 mLの白無地紙容器に無菌充填し(6 mg AUR/125 mLパック)⁶⁾、試験飲料とした。

本飲料の安定性は、5℃または25℃で6カ月保管しても機能性成分の減少がほぼないことが確認できた。

2-2. 病態モデル動物を用いた有効性の確認

脳虚血/虚血後再灌流は炎症や酸化ストレスを誘発して遅発性の細胞死を起こし、特に海馬(記憶や学習を司る脳部位)のニューロンに影響を及ぼすことが知られている。そこで、本飲料の有効性は、松山大学薬学部において全脳虚血モデルマウスを用いて解析した。経口投与に供する試料は、本飲料の凍結乾燥粉末を水に懸濁し調製した。経口投与は、脳虚血手術5日前から手術3日後までの8日間、1日1回、胃ゾンデを用いて行っ

た (2.5 g/kg 体重/日)。対照群 (偽手術群および虚血手術群) には水を投与した。実験期間終了後直ちに脳を摘出して脳切片を作製し、組織染色に供した結果、ミクログリア及びアストロサイト (脳において炎症反応を担当する細胞) の過剰反応が抑制され、虚血手術により顕著に ($***p<0.001$) 誘発されるニューロン死が、本飲料投与により (虚血手術+果汁群) 有意に ($###p<0.001$) 抑制されることが明らかになった (図2)。このことより、本飲料は期待通り脳における炎症反応を抑制し、脳保護効果を示すことが明らかになった⁷⁾。

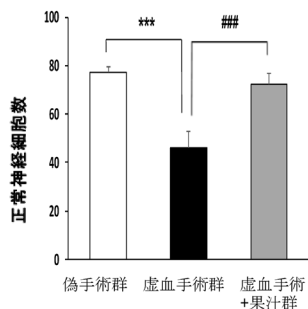


図2. 全脳虚血モデルマウスを用いた果汁飲料の機能性評価
海馬CA1領域における健常なニューロンをニッスル染色法により染色し、計測した。

本飲料の安全性は、受託研究機関において (マウスを用いた単回投与毒性試験及び28日間反復投与毒性試験、細菌を用いた復帰突然変異試験)、及び愛媛県衛生環境研究所において (薬物相互作用及び残留農薬による影響)、確認した。

3. AUR 高含有河内晩柑果汁飲料のヒト介入臨床試験

ヒト介入臨床試験は、愛媛大学医学部附属病院抗加齢・予防医療センターにおいて二重盲検法により実施した。被験者は抗加齢ドッグ受診者で明らかな認知症がない82名 (男性27名/女性55名、平均年齢71±9歳) である。被験者は2群に分け、一方には試験飲料 (6 mg AUR/125 mL パック) を、他方には対照飲料 (0.1 mg AUR/125 mL パック) を、6ヵ月にわたり1日1回飲んでいただき、飲用期間の前後で認知機能検査を実施した。用いた認知機能検査は、軽度認知障害スクリーニングテスト (MCI screen) で使われる「10単語想起テスト」である。「認知機能スコア」は答えられた数とし、10単語想起テストを3回繰り返すため満点は30点である。表2に認知機能スコアとスコア変化率を示すが、認知機能スコア変化率は、試験飲料摂取群はプラス6.3、対照飲料摂取群はマイナス2.4となり、両者の間に有意な差 ($*p<0.05$) が認められた。このことから、本飲料摂取により認知機能スコア低下が抑制されることが明らかになった⁸⁾。

表2. 10単語想起テストスコアとその変化率

	飲用前	飲用後	変化率 (%)
試験飲料 (n=41)	19.2±4.2	19.9±3.8	6.3±3.0*
対照飲料 (n=41)	19.5±3.4	18.9±3.4	-2.4±2.3



以上の知見をもとに、河内晩柑果皮入り果汁飲料が認知機能の維持に有効であるとして2018年5月に機能性表示食品の消費者庁届出を行った。同年9月に届出が受理された (消費者庁届出番号D100) 後、同年12月に「POM アシタノカラダ河

内晩柑ジュース」として販売を開始した。

おわりに

高齢者の自立を妨げる大きな要因が認知機能の衰えであり、認知症の発症予防は重要な社会課題である。認知症の根本的治療法がない現状において、本飲料は毎日の食生活に中高年者の認知機能 (記憶力) 維持を取り入れることを可能とするものである。認知機能を高めるサプリメントは種々開発され販売されているが果汁飲料の開発はこれまでになく、本飲料は、最終製品で臨床試験を行ったサプリメント形状ではない唯一の「認知機能を維持する食品」である (2020年7月末現在)。また、全国で初めてAURが機能性表示食品の機能性関与成分として認められた商品であること、大学の基礎研究の結果から見いだされた商品であることも特徴といえる。

(引用文献)

- 1) Amakura Y., Yoshimura M., Ouchi K., Okuyama S., Furukawa Y., Yoshida T. Characterization of constituents in peel of *Citrus kawachiensis* (Kawachibankan). Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol. 77, p 1977-1980, (2013)
- 2) Okuyama S., Morita M., Kaji M., Amakura Y., Yoshimura M., Shimamoto K., Ookido Y., Nakajima M., Furukawa Y. Auraptene acts as an anti-inflammatory agent in the mouse brain. Molecules, Vol. 20, p 20230-20239, (2015)
- 3) Okuyama S., Minami S., Shimada N., Makihata N., Nakajima M., Furukawa Y. Anti-inflammatory and neuroprotective effect of auraptene, a citrus coumarin, following cerebral global ischemia in mice. Eur. J. Pharmacol., Vol. 699, p 118-123, (2013)
- 4) Okuyama S., Yamamoto K., Mori H., Toyoda N., Yoshimura M., Amakura Y., Yoshida T., Sugawara K., Sudo M., Nakajima M., Furukawa Y. Auraptene in the peels of *Citrus kawachiensis* (Kawachi bankan) ameliorates lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation in the mouse brain. Evid. Based Complement. Altern. Med., Vol. 2014, doi:10.1155/2014/408503 (2014)
- 5) Haramiishi R., Yoshimura M., Okuyama S., Fukuda N., Tamai T., Nakajima M., Furukawa Y., Amakura Y. Effects of production-line squeezing techniques and heat treatment on functional components of *Citrus kawachiensis* (Kawachi bankan) fruits. Food Sci. Technol. Res., Vol. 26, p 809-815, (2019)
- 6) 出願特許「河内晩柑果皮入り飲食品」特願2017-155814 (2017年8月10日出願) 特開2019-33681 (2019年3月7日公開)
- 7) Okuyama S., Katoh M., Kanzaki T., Kotani Y., Amakura Y., Yoshimura M., Fukuda N., Tamai T., Sawamoto A., Nakajima M., Furukawa Y. Auraptene/naringin-rich fruit juice of *Citrus kawachiensis* (Kawachi bankan) prevents ischemia-induced neuronal cell death in mouse brain through anti-inflammatory responses. J. Nutr. Sci. Vitaminol., Vol. 65, p 66-71, (2019)
- 8) Igase M., Okada Y., Ochi M., Igase K., Ochi H., Okuyama S., Furukawa Y., Ohya Y. Auraptene in the peels of *Citrus Kawachiensis* (Kawachibankan) contributes to the preservation of cognitive function: A randomized, placebo-controlled, double-blind study in healthy volunteers. J. Prev. Alz. Dis., Vol. 5, p 197-201, (2018)

謝 辞 果汁飲料の開発に携わっていただきました愛媛県 (産業技術研究所食品産業技術センター/農林水産研究所みかん研究所/衛生環境研究所/えひめ産業振興財団)、株式会社えひめ飲料、松山大学薬学部 (薬理学研究室/生薬学研究室)、愛媛大学 (医学部附属病院抗加齢・予防医療センター/農学部) の多くの共同研究者の方々に深く感謝いたします。

**SAPPORO**

サッポロビール株式会社

ビール製造工程の微生物管理向上への一貫した取り組み

はじめに

近代細菌学の祖であるパスツールが考案した低温殺菌法（パストリゼーション）は、ワイン、ビール、牛乳などの分野で広く活用されてきた。世界的に見れば、大規模生産されるびん、缶のビールはパストリゼーションを施されて出荷されることが一般的である。一方、日本においては、パッケージング工程の前に除菌ろ過のみを行ない、「非熱処理」（パストリゼーションを行なわない）をうたう「生ビール」がビール市場の大勢を占めている。その「生ビール」の歴史は、ビール中で増殖し得る細菌との長い戦いの歴史でもある。

ビールは香味品質の観点からも可能な限り酸素を排除して充填されるため、容器内は嫌気的な環境にある。また、ビール原料のホップに由来する苦味成分イソ α 酸が強い抗菌活性を有するため、ビール中で増殖し得る細菌の種類はもともと少ない。それでも、*Lactobacillus brevis* など、そういった環境下で生育可能な微生物も存在しており、それは製品中に数cellでも残存していると、ビール中で増殖し目視できる混濁となり、（人体には危害をおよぼすことはないものの）ビールの外観品質および香味品質を大きく損なうこととなる。

こういった懸念に対しては、微生物の混入・増殖を防止するビール製造工程での対策とともに、製品中に、微生物、とりわけビール中で増殖し混濁の生成につながり得る微生物（以下、ビールで増殖が可能な微生物を「ビール増殖菌」、その特性を「ビール増殖性」と定義する）がいないことを保証するための工程管理技術が必須である。また、新鮮な製品の出荷や在庫圧縮のために、確実かつ迅速に製品の安全性を保証し、出荷することが求められる。そのために、ビール増殖菌の迅速な検出・同定法が求められてきた。サッポロビール株式会社（以下、サッポロ社）はこれまで、その時々最新の技術であるPCR法、RMDS法、LAMP法などを取り入れて、ビール増殖菌の迅速・特異的検出や、ビール増殖性の迅速判定などの技術を開発し、それらの独自技術を現場で運用可能な管理手法にまで落とし込み、工場への実装を行なってきた。また、醸造環境から新規のビール増殖菌を発見・同定し、微生物品質管理の対象の拡充も進めてきた。

長年広範囲に進めてきたサッポロ社の微生物管理技術に関する取り組みを紹介したい。

1. PCR (Polymerase Chain Reaction) 法の微生物検出への応用技術開発

ビール工場における微生物検査は、分析対象のビールをメンブランろ過し、捕捉される微生物を培養し、その後の同定等の検査に供する培養法が基本である。しかし、ビール増殖菌の多くは増殖が遅く、検出までに時間がかかることが長年の課題であった。また、仮に、菌が検出された場合にも、ビール増殖性を迅速に判定できる技術がなく、菌をビールに接種して増殖性

を判定するためにさらに時間がかかっていた。仮に、何らかの菌が検出された場合、その間、疑わしい製品は出荷することができず、市場で需要が発生した際に迅速に対応できないという点は、産業上の大きな課題であった。

培養法で検出された微生物がビール増殖性を有するかどうかといった課題を解決し得る手法として、サッポロ社は1980年代に開発されたPCR法の応用研究にいち早く着手し、検出された細菌のわずかな遺伝子から、ビール増殖性や菌種を同定する技術を確立した¹⁾。そのPCR技術については、微生物検査のほか、ビール原料である大麦やホップの品種判定への応用の可能性も検討した。PCR法では5S rRNAや16S rRNA遺伝子を検出対象とした菌種特異的な検出を始め、*gyrB*遺伝子を対象にしたビール増殖性乳酸菌の特異的検出や、リアルタイムPCRの融解曲線解析、さらにT-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) 解析を応用することによる、複合菌叢からのビール増殖菌の網羅的検出など、最新の知見、技術と組み合わせることで活用範囲を広める試みも継続的に実施してきた²⁾。

2. LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法の応用技術開発

LAMP法は鎖置換反応を活用した標的遺伝子の増幅技術であり、PCR法で使われるサーマルサイクラーを必要としない定温（60～65℃）の反応で、高速で特異性の高い増幅を可能とした。LAMP法のもう一つの特長として、遺伝子増幅の副産物として生成されるピロリン酸マグネシウムが析出することにより、標的遺伝子の増幅を反応液の白濁で目視確認できるという点がある。本技術にもいち早く着目し³⁾、工場で活用可能なビール増殖菌の検出キットを開発、PCR法よりもより簡便かつ迅速な同定技術として2004年以降全工場で運用している。本技術もPCR同様、ビール中の微生物検査以外の用途開発も行っており、カビに汚染された大麦の判定や、清涼飲料水中の耐熱性好酸性菌の検出などの技術も開発した。

3. ビール工場向けのRMDS (Rapid Microbe Detection System) 法の開発と安定的な運用

前述のPCR法とLAMP法は微生物の同定技術として、培養後の生菌のビール増殖性の判定に貢献した。一方で、ビール増殖菌を迅速に検出するために、サッポロ社は、菌体に含まれるATPの検出に着目した。RMDS法は、ATP生物発光法、高感度CCDカメラ、データ解析システムで構成され、非常に少量の微生物の存在の有無を迅速に検出、判定することができる手法であるが、ビール工場での実用化にあたっては、測定プロセスで混入するビールや培地由来成分が偽陽性につながる問題を有していた。種々検討の結果、少量の微生物細胞を検出できる感度を維持しながら、測定中に混入する外来のATPによる偽陽性を抑制できるシステムを構築した⁴⁻⁶⁾ (図1)。結果として



図1. 自社向けに最適化した MicroStar®-RMDS-SPS の外観

ビール増殖菌の検出に通常の培養法では2~4日かかっていた判定を16~24時間に短縮したRMDS法は、1994年からの試験運用を経て、1999年以降、全工場で微生物迅速検査に活用されている。

4. 新規なビール増殖菌の発見と同定

ビールに特有の苦味成分であるイソ α 酸はグラム陽性菌に対して強い抗菌作用を示すが、その環境下でも増殖し得る「ビール増殖菌」が非熱処理の「生ビール」を出荷する日本のビールメーカーにとっての管理対象である。過去、不幸にして、市場に流通したビール製品の容器内でこういったビール増殖菌が増殖し、製品回収に至った例が何件かあるが、厳しい微生物管理体制の中でもそういった例が起こる一因として、それまで管理対象としていなかった新たなビール増殖菌がビール工場環境中に存在していたことが挙げられる。それを予防するためには、新たなビール増殖菌をあらかじめ発見し、管理対象を拡充していくことが必要とされる。

そのために継続的に実施してきた環境微生物調査の中から、16S rRNA解析と生理学的性状に基づいて、BS-1株、EM-63株など、これまでに報告されていなかった新たなビール増殖菌を発見、同定してきた⁴⁾。このうち、EM-63株はグラム陰性の偏性嫌気性菌であり、発見から20年近くを経て、新種のビール増殖菌 *Prevotella cerevisiae* と同定された⁷⁾。それまでビール増殖性を有するグラム陰性菌は *Veillonellaceae* 科に属する *Pectinatus* 属や *Megasphaera* 属が知られていたが、*Prevotella cerevisiae* は *Prevotellaceae* 科に属するビール増殖菌として初めて分離、同定された(図2)。

おわりに

サッポロ社はビール工場における微生物管理について、新たな分析技術の検討、新規ビール増殖菌の同定といった基礎研究から、工場現場での迅速、簡易な管理技術の実用化まで多岐に

わたる取り組みを行ない、長年にわたり、①ビール増殖菌判定技術の実用化による同定精度向上及び簡便検査体制の確立、②製品の出荷判定の迅速化、③未知のビール増殖菌の発見と増殖挙動調査の知見を活かした微生物管理体制の拡充などを実現してきた。近年消費者の嗜好の多様化に伴いビールをはじめとする酒類の中味の多様化も進んできている。今後もよりよい品質のビール、酒類を消費者に安定的に提供するために微生物管理技術を追求していきたい。

(引用文献)

- 1) Tsuchiya Y, Kaneda H, Kano Y and Koshino S. Detection of Beer Spoilage Organisms by Polymerase Chain Reaction Technology. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 1992; 50: 64-67.
- 2) Nakakita Y, Maeba H and Takashio M. Grouping of *Lactobacillus brevis* Strains Using the *gyrB* Gene. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 2003; 61: 157-160.
- 3) Tsuchiya Y, Ogawa M, Nakakita Y, Nara Y, Kaneda H and Watari J. Identification of Beer-Spoilage Microorganisms Using the Loop-Mediated Isothermal Amplification Method. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 2007; 65: 77-80.
- 4) Nakakita Y, Takahashi T, Tsuchiya Y, Watari J and Shinotsuka K. A Strategy for Detecting of All Beer-Spoilage Bacteria. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 2002; 60: 63-67.
- 5) Takahashi T, Nakakita Y, Watari J and Shinotsuka K. Application of Bioluminescence Method for the Beer Industry: Sensitivity of MicroStarTM-RMDS for detecting Beer-spoilage Bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2000; 64: 1032-1037.
- 6) Takahashi T, Nakakita Y and Nakamura T. Rapid Single Cell Detection of Lactic Acid Bacteria in the Beer Using Bioluminescence Method. *Biocontrol Science.* 2019; 24: 29-37.
- 7) Nakata H, Kanda H, Nakakita Y, Kaneko T. and Tsuchiya Y. *Prevotella cerevisiae* sp. nov., Beer-Spoilage Obligate Anaerobic Bacteria Isolated from Brewery Wastewater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2019; 69: 1789-1793.

謝 辞 本賞にご推薦いただきました静岡大学・河岸洋和教授に深謝いたします。また、本研究の推進にあたり、RMDS法、LAMP法に関してそれぞれ協働で取り組んだ日本ミリボア株式会社(現メルク株式会社)、栄研化学株式会社の関係者の方々に厚く御礼申し上げます。本研究成果はサッポロビール株式会社ならびにサッポロホールディングス株式会社の多くの関係者の尽力によるものであり、関係の皆様感謝いたします。

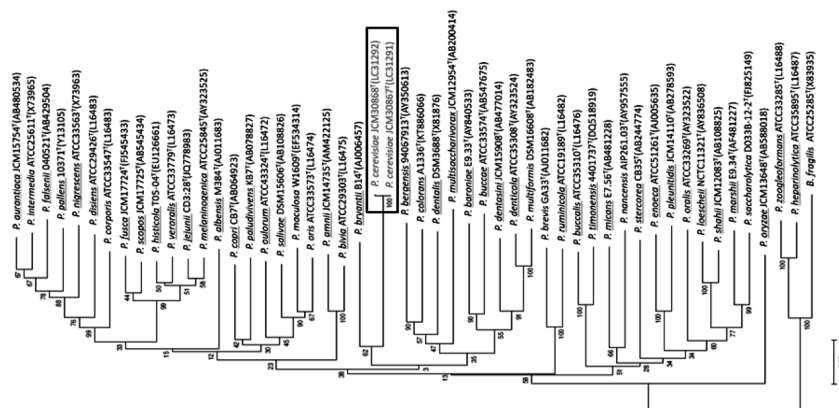


図2. 16S rRNAに基づく *Prevotella* 属の系統樹 (*P. cerevisiae* を新種として提唱)



新規脂質代謝酵素および制御因子に関する生物横断的研究

九州大学大学院農学研究院 石橋 洋平

はじめに

脂質は栄養素としての機能に加えて、生体膜の主要な構成成分やシグナル伝達・生理活性物質として、重要かつ多彩な役割を担う生体分子である。その構造により、脂質は脂肪酸、スフィンゴ脂質、グリセロ脂質、ステロールなどに大別され、さらに親水性頭部として糖鎖やリン酸基が付与されることで糖脂質やリン脂質となる。構成要素の組み合わせにより、膨大な数の分子種が存在するが、脂質構造の多様性がもたらす生命機能に関しては不明な点が多い。私は脂質の多様性を生み出す分子基盤として、脂質代謝酵素の機能に興味をもち、これまで研究を行ってきた。生物種によっても脂質組成は大きく異なる。様々な生物を対象とすることで、それぞれの生物に特有の新規脂質代謝酵素や新しい制御メカニズムを発見することができた。本講演では、得られた成果の概要を説明する。

1. 放線菌に由来する新規糖脂質分解酵素について

スフィンゴ糖脂質は糖鎖とセラミドからなる両親媒性分子であり、細胞内外における情報伝達や細胞間相互作用など、様々な生命現象に関与する重要な生体膜分子である。Endoglycoceramidase (EGCase) はスフィンゴ糖脂質に作用し、糖鎖-セラミド間の β -グリコシド結合を特異的に加水分解する酵素である。放線菌より見いだされたEGCaseは基質特異性の違いによりEGCase I, IIおよびIIIの3種に分別できる。私はこの内、EGCase IとIIIをコードする新規遺伝子を同定し、大腸菌や放線菌を用いた大量合成・精製系を確立した。EGCase Iは効率よく種々のスフィンゴ糖脂質から糖鎖を切り離せるため、質量分析計と組み合わせることによって細胞の糖脂質プロファイル化に威力を発揮し、多能性幹細胞やエクソソームの糖脂質組成の解明とその機能評価などに応用されている。現在では、有益な糖鎖解析ツールとして市販、活用されている。EGCase I及びIIは、 β -グルコースを介して糖鎖とセラミドが結合した糖脂質に作用するが、EGCase IIIは β -グルコースではなく β -ガラクトースが結合した糖脂質のみを基質とする、世界で唯一の特異性を有する。本酵素（後にEndogalactosylceramidase, EGALCに改名）の機能解析を行う中で、糖鎖をアルカノール等の水酸基に転移させる糖転移反応を効率良く触媒することを見出した。さらに、EGALCの糖転移反応と蛍光標識アルカノールを用いて、 β -ガラクトシド糖脂質の簡便・高感度な検出法を開発し、このような構造を持つ糖脂質が生物界に広く分布することを示すとともに、フィトールを分子内部に含む、新奇な糖脂質を発見した。このフィトール糖脂質は動物や陸上植物には存在せず、海洋に生育する光合成植物（海藻）にのみ存在し、進化的な興味のみならず、海洋環境で植物が生存するための機能に関与する可能性があり、その合成機構に興味を持たれる。

2. 真菌の糖脂質代謝に関与する新規酵素とその機能

EGCase IやEGALCの塩基配列が分かったことで、生物間におけるEGCaseの分布についてより詳細に調べることが可能となった。その結果、病原性真菌類を含む多くの真菌類からEGCaseに相同性を示す機能未知の遺伝子EGCase-related protein (EGCrP)を見出した。EGCrPの機能を追究した結果、EGCrPには2つの分子種EGCrP1とEGCrP2が存在し、EGCaseとは全く異なる性質を有する酵素であることが分かった。真菌類は糖脂質として、グルコースとセラミドから構成されるグルコシルセラミド(GlcCer)や、グルコースがステロールの3位に結合したステリルグルコシド(SG)を合成する。真菌類においてこれらの合成酵素は同定されていたが、分解に関与する酵素は未同定のため、真菌類における糖脂質の代謝機構の全貌は不明であった。我々はEGCrP1がGlcCerの分解酵素であり、EGCrP2がSGの分解酵素であることを突き止めた。つまり、EGCrPsは、真菌類糖脂質代謝機構のミッシングリンクの本体であり、偶然にもその分子実体が解明されたことで真菌類の糖脂質代謝機構の全貌が解明できた。クリプトコッカスは酵母様の病原性真菌で、AIDS、末期がん患者等の免疫不全患者を中心に世界では年間約22万人が本菌の感染で死亡している。クリプトコッカス症に対する有効な治療薬の開発が強く望まれている。感染実験の結果、EGCrP1およびEGCrP2欠損クリプトコッカスは病原性が顕著に低下することが明らかになった。両糖脂質分解酵素はクリプトコッカス症治療薬の有効な標的と考えられる。現在、阻害剤の開発など鋭意に研究を進めている。EGCrP1欠損クリプトコッカスは基質であるGlcCerが蓄積するが、その組成を詳細に解析した結果、興味深いことに特定のセラミド構造をもつGlcCerが顕著に蓄積することが明らかとなった。哺乳類では水酸基が2つ、2重結合が1つのスフィンゴシ

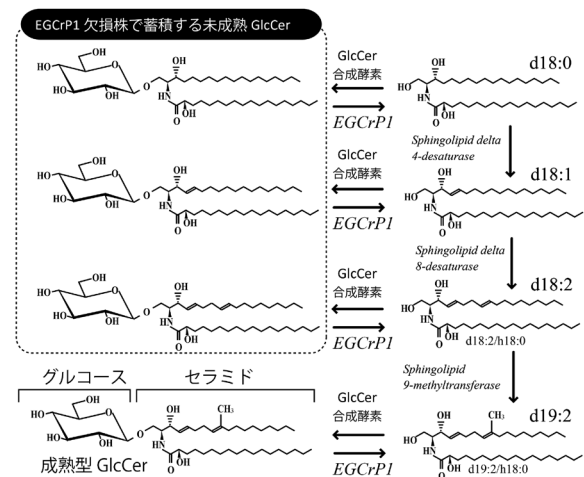


図1. EGCrP1によるGlcCerの品質管理機構

ン (d18:1) が主要なスフィンゴイド塩基である (図1)。一方、真菌類では2重結合が2つ、9位にメチル分岐のある d19:2 を合成することが知られている (図1)。この d19:2 を合成する為には、d18:1 が Δ 8不飽和化を受け d18:2 になり、さらにメチル基が付与される必要がある (図1)。野生型のクリプトコッカスでは、d19:2 を持つ GlcCer が主要な分子種であるが、EGCrP1 欠損株では d19:2 まで代謝されていない、d18:1 や d18:2 といった、いわば未成熟なセラミドをもつ GlcCer が蓄積していた (図1)。つまり、EGCrP1 は GlcCer の分子種を制御するための、いわば品質管理を担うユニークな酵素であることが明らかとなったのである。この品質管理機構はクリプトコッカスの病原性に関与する莢膜形成に関与しており、生理的にも重要だと考えられる。

3. 哺乳類における糖脂質合成の新規制御因子と阻害剤

GlcCer は真菌類のみならず、植物や哺乳類にも普遍的に存在する重要な糖脂質である。一方、ヒトにおいて GlcCer の過剰蓄積はゴーシェ病の主要因であり、他にもパーキンソン病など様々な疾患に GlcCer 代謝に関与していることが報告されている。生体内で GlcCer 代謝は厳密に制御されていると考えられるが、その制御機構の詳細は不明であった。そこで各種化合物、RNAi スクリーニングとリポミクス解析を組み合わせ、細胞内の GlcCer 合成量に影響を及ぼす因子を同定することを試みた。その結果、細胞内エネルギーセンサーとして知られる AMP 活性化キナーゼ (AMPK) を見出した。AMPK はヘテロ3量体のセリン/スレオニンキナーゼであり、細胞内のエネルギー環境に応じて活性が制御されることで知られている。AMPK を活性化する化合物によって細胞内の GlcCer 量および GlcCer 合成活性が低下すること、AMPK 阻害剤や RNAi により GlcCer 合成活性が回復することが分かった。その原因を追究した結果、AMPK 活性化条件において GlcCer の前駆物質である糖ヌクレオチド UDP-グルコースの量が顕著に低下することを見出した。また、UDP-グルコース分解酵素である Nudt14 が AMPK によってリン酸化・活性化されることも分かった。本研究により、GlcCer および糖ヌクレオチドの合成制御機構の一端が解明できた。また、スクリーニングの過程で GlcCer の合成量を制御する新しい因子として、GlcCer 合成の場であるゴルジ体に局在するホスホイノシタイド、Phosphatidylinositol 4-phosphate [PtdIns(4)P] を見出した。ホスホイノシタイドはシグナル伝達や小胞輸送において重要な役割を担うグリセロリン脂質であるが、それに加えて PtdIns(4)P が GlcCer 合成を阻害することが明らかになった。その阻害機構の詳細を調べた結果、PtdIns(4)P が存在すると、GlcCer 合成酵素が UDP-グルコースを利用できなくなることが分かった。また、GlcCer 合成酵素を阻害する新しい化合物として、元来 Sirtuin の阻害剤として知られていた Cambinol を見出した。GlcCer 合成酵素の阻害剤は、GlcCer の過剰蓄積を原因とする病態の治療薬として利用される。本研究で見出した Cambinol は既知の GlcCer 合成酵素の阻害剤とは構造が全く異なるため、新しい阻害様式を有する新規阻害剤開発に繋がることが期待される。

4. ラビリンチュラ類から発見された新規脂質代謝酵素およびステロール代謝酵素

海洋に広く生息する原生生物ラビリンチュラ類は、ユニーク

な脂質組成を持ち、DHA 等の高度不飽和脂肪酸やステロール類を油滴と呼ばれる細胞内小器官に高度に蓄積する。この微生物は培養が容易でありながら増殖能力も高く、有用脂質やバイオ燃料の生産源として期待されている。ラビリンチュラ類とその近縁生物群との比較ゲノム解析を行った結果、ラビリンチュラ類に特有の機能未知遺伝子群を見出した。これらを詳細に解析した結果、従来のリパーゼとは配列上の相同性がない、新規 Lipase/phospholipase を発見した。この新規酵素は、トリアシルグリセロールに作用する場合は脂肪酸への位置特異性を示さないが、リン脂質に作用する場合は sn-1 位の脂肪酸のみに特異的に作用する。このユニークな位置特異性は、環境中の中性脂質をランダムに分解して脂肪酸を遊離し栄養源として利用する際に有効であるばかりでなく、リン脂質に位置特異的に作用し抗菌作用のあるリゾリン脂質を生産する特性がある。つまり、この酵素のユニークな特異性は、環境下での栄養をめぐる異種間競争を有利に展開することに寄与していることが示唆された。

また、ラビリンチュラ類は、動物ステロール (コレステロール)、植物ステロール (ステイグマステロール等)、真菌ステロール (エルゴステロール) といった、多様なステロールを合成することを明らかにし、それらの生合成分岐点となる酵素遺伝子を単離・同定した。これらの分岐点酵素の特異的な破壊によって、コレステロールおよび植物ステロールを分別発酵生産する方法を開発した。さらに、従来の酵素とは全く異なる新規ステロールエステル化酵素を同定し、ステロール増産の道を切り開いた。

おわりに

以上のように、様々な生物から脂質代謝に関連する新規酵素や制御因子を見つけることができた。自分の興味のおもむくまま対象生物を変えていったが、その過程で脂質研究の有用ツールや抗真菌薬の標的となるものが得られたことは望外の喜びである。近年、特に研究対象として注目しているラビリンチュラ類であるが、これまでに報告例のない全く新しい構造の脂質を複数見出し、未知の脂質代謝酵素の宝庫であると考えている。今後も新たな脂質代謝酵素の探索と機能解析を行い、農芸化学分野の発展に寄与する研究に繋げていきたい。

謝 辞 本研究は九州大学大学院生物資源環境科学府、理化学研究所 脳科学総合研究センター、そして九州大学大学院農学研究院にて実施されたものです。学生の頃から今に至るまで、熱意に溢れたご指導、ご鞭撻を賜り、研究者になるきっかけを与えて頂いた九州大学名誉教授の伊東 信先生、基礎科学特別研究員として自由に研究を行わせて頂き、今も折に触れて激励頂いている理化学研究所 開拓研究本部 平林 義雄先生、長年に渡り研究面における有益なご助言、ご支援を頂いております九州大学大学院農学研究院の沖野 望先生に心から御礼申し上げます。また、本研究は九州大学大学院薬学研究院 宮本 智文先生、宮崎大学農学部 林 雅弘先生、川崎医科大学 渡邊 昂先生、そして九州大学大学院 海洋資源化学分野の修了生との共同研究の成果であり、一緒に研究を行った全ての方々に心から感謝申し上げます。最後に、本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会西日本支部長・九州大学大学院農学研究院教授・酒井謙二先生に厚く御礼申し上げます。



作物根寄生物による宿主植物認識機構の制御

東京農業大学生命科学部 伊藤 晋作

はじめに

自ら移動できない植物は、病虫害や雑草、環境ストレスなどの外的ストレスに常に晒されている。そのため、様々な化学物質を環境中に分泌し、有用微生物との共生や天敵生物の誘引を行うことでこれらのストレスへ対抗してきた。一方、これらの物質を植物認識シグナルとして利用する雑草や害虫も存在する。著者が研究対象としてきた2種類の作物根寄生物である「根寄生雑草」と「ダイズシストセンチュウ (SCN)」は、作物が生産、分泌する化学物質を宿主認識に利用し、作物に寄生する。寄生後は作物の栄養を奪い取り成長するため多大な農業被害を与えるが、未だ有用な防除法は確立されていない。作物への寄生が両生物の生存に必須であるため、種特有の宿主認識機構を有しているだけでなく、宿主を認識するまでは土壤中で農薬などの化学物質に耐性を持った休眠状態で長期間生存可能であることが、防除が難しい原因とされている。これらの防除には宿主認識機構を攪乱する手法の有効性が提案されているが、実用化に至った例はない。

著者は作物根寄生物による宿主認識を人為的に制御することでこれらによる農作物被害を減少させることを目指して、「根寄生雑草」と「ダイズシストセンチュウ」の宿主認識制御物質の創製と認識制御物質の機能解析を行ってきた。以下にその概要を紹介する。

1. 根寄生雑草宿主認識物質（ストリゴラクトン）の生合成阻害剤の創製

根寄生雑草であるストライガやオロバンキは作物が生産、分泌するストリゴラクトン類 (SL) を認識し発芽する。そのため作物の SL 生合成を阻害する化合物は、根寄生雑草の宿主認識を抑制できると考え、SL 生合成阻害剤を探索した。SL は中間

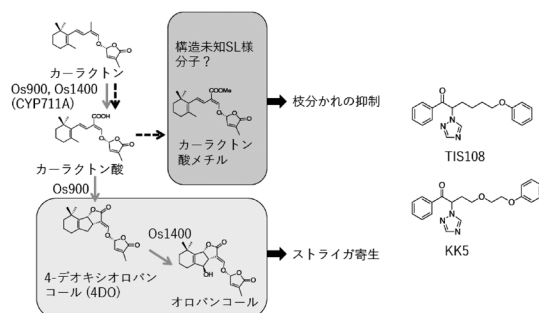


図1. イネにおける SL 生合成経路と創製した SL 生合成阻害剤。灰色矢印は阻害剤の標的タンパク質を示す。阻害剤処理時は 4DO やオロバンコールの合成が阻害されることでストライガの寄生を抑制する。一方、構造未知の SL 様分子やカーラクトン酸メチルの内生量には影響を与えないことから、これらの分子が植物ホルモン活性の維持に作用する。

体カーラクトンを経由し、最終的にシトクロム P450 酸化酵素 (CYP711A) によって合成される。また SL は植物ホルモンとしても作用し植物の枝分かれを負に制御するため、イネの枝分かれ (分けつ) を促進する化合物を P450 阻害剤ライブラリーからスクリーニングし、世界に先駆けて TIS13 など複数の化合物を SL 生合成阻害剤候補として見出したが、これらの化合物は副作用としてジベレリン (GA) 生合成阻害に由来すると考えられる強い矮化誘導活性を有していた。そこで特異性の高い生合成阻害剤を求めて構造展開を行い、TIS108 や KK5 を創製した (図1)。TIS108 および KK5 は TIS13 で観察された矮化作用は示さず、イネの主要な SL である 4-デオキシオロバンコール (4DO) の合成をイネ CYP711A に結合することで阻害する。TIS108 の SL 生合成阻害活性は TIS13 に比べ 10-100 倍程度強く、KK5 に関しては TIS108 よりも 10 倍程度強い活性を有する。KK5 は現在までに報告された中で圧倒的に強力な SL 生合成阻害剤である。

次に TIS108 の植物形態やストライガ防除作用を検討したところ、収量減が懸念される SL 生合成の抑制による多分けつ形態を示さなかった。さらにストライガによる陸稲への寄生を抑制した結果、収量を通常生育条件と同程度に確保できるという理想的な結果を得た。同様の結果がトマトを用いたオロバンキ防除試験でも得られており、SL 生合成阻害剤を用いた根寄生雑草の新たな化学的防除法の有用性を示すことができた。さらに枝分かれ増加形態を誘導しない理由を追究するために、TIS108 により生合成が阻害される 4DO 以外の SL 内生量をイネにおいて測定したところ、非典型的な SL であるカーラクトン酸メチル (MeCLA) の内生量には TIS108 処理により影響がないことを見出した。加えて現在までに構造は未知であるが新規 SL 様分子の蓄積を見出すことができた。MeCLA は植物ホルモン活性を有する SL であることが知られていることから、MeCLA もしくは蓄積した構造未知 SL 様分子により植物形態が保持されていると予想される。これらの結果は、生体内の SL 類による機能の違いを示唆する重要な成果であると考えられる (図1)。

2. ジベレリン (GA) による SL 生合成の制御

GA は植物の伸長生長に関与する植物ホルモンであり、枝分かれにも関与することが知られていた。さらに生化学的手法により SL とのクロストークの存在も明らかにされているが、生理学的なクロストークの存在は示されていなかった。申請者は SL 生合成制御剤の創製過程で「GA 生合成阻害剤がイネの分けつ伸長を促進する」結果を見出した。それに基づき生理学的解析を行なった結果、GA シグナルがイネの分けつ伸長を抑制するにもかかわらず、枝分かれを負に制御する SL 生合成を抑制することを見出した。また GA による SL 内生量の抑制メカニ

ズムは、生体内の GA シグナル量に依存して SL 生合成遺伝子の発現が調節されることで SL 内生量が制御されること、GA が根寄生雑草の寄生を制御できることを明らかにすることができた。分けつ伸長についても新たに SL シグナルと GA シグナルとのクロストークを見出すことができた。

3. 無機栄養欠乏時における SL の機能

植物はリン欠乏状態では SL 生産、分泌量を増加させ、枝分かれを抑制することで生体内でのリン酸の利用量を減少させ、同時に AM 菌との共生を促進しリン酸を獲得する。その他にリン欠乏時に植物は生長の抑制やアントシアニン量の増加を起こし、リン欠乏ストレスに対抗する。加えて根毛伸長の促進、酸性フォスファターゼの分泌促進、リン酸トランスポーターの発現上昇によって根圏からリン酸吸収を促進する。これらのリン欠乏応答における SL の機能を解析した。SL 処理はこれらのリン酸応答を促進し、SL 欠損変異体ではリン欠乏状態でも応答が抑制されていた。さらに SL 処理によって生体内の総リン量が増加した。この結果は SL がリン欠乏の調節因子の一つであり、SL シグナルの制御が AM 菌を介さずリン酸吸収を促進しうことを示唆している。さらに窒素欠乏時における植物生長の抑制も SL が関与していることを見出し、SL が栄養欠乏のシグナルとしても働いていることを明らかにした。

4. ダイズシストセンチュウ (SCN) 行動制御剤の発見

SCN は植物寄生線虫の一種であり、大豆などのマメ科植物の根に寄生する。寄生後、マメ科植物から栄養を奪うことで成長し収穫量を激減される害虫である。土壌中では卵中で休眠状態で存在するが、マメ科植物が根から分泌する孵化促進物質、誘引物質に応答して孵化、宿主根への誘引行動を起こすことが知られている (図2)。孵化促進物質としてはインゲン豆の根より単離されたグリシノエクレピン類 (GEs) が知られているが、これらはインゲン豆においてごく微量しか生産されず、合成も難しい。また誘引物質は由来を問わず全く知られていない。そこで孵化促進物質および誘引物質のスクリーニングを行なった。その結果、孵化促進物質として phenanthroline 類を見いだすことができた。Phenanthroline 類による孵化は処理後1日で観察され始める。GEs による孵化が処理後3日程度かかることから phenanthroline は早期に孵化を促進させる活性を有していることを明らかとした。Phenanthroline は二価金属イオンのキレート剤として知られているが、金属イオンとインキュベート後に処理した場合は孵化を促進しなかったことから、SCN の孵化には生体内での金属イオンの濃度変化が関与することを見出した。

さらに硝酸イオンが SCN の誘引物質として機能することを見出した。硝酸イオンによる誘引機構は宿主根への機構とは異なっていたが、宿主根への誘引時と硝酸イオンへの誘引時での SCN の遺伝子発現変動を解析し、宿主根への誘引時にのみ特異的に変動する遺伝子として受容体型グアニル酸シクラーゼ (rGCY) を見出した。RNAi により rGCY を機能抑制した SCN は運動性や根への誘引後の寄生過程には影響しなかったが、宿主根への誘引が有意に減少し、rGCY が誘引物質の認識に重要

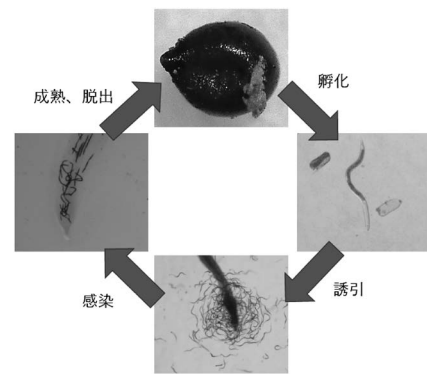


図2. シストセンチュウの生活環。土壌中ではシストと呼ばれる殻の中で休眠しているが、宿主から分泌される孵化促進物質に応答して孵化し、二期幼虫となる。その後、誘引物質を認識することで根へと移動し、感染、成長する。

な働きをすることを明らかとした。SCN の根への寄生に関与する遺伝子は複数見出されているが、それらは SCN の運動性に影響するものがほとんどであり、誘引過程に特異的に影響する初めての遺伝子であった。

おわりに

本研究では、農作物被害を及ぼす根寄生生物の防除を目指して、寄生生物特有の生命現象特異的に制御可能な化合物探索とその機能解析を行なってきた。特に SL 研究においては根寄生雑草特異的な制御物質を見出しつつある。今後は得られた化合物を生物学へと応用し、生命現象の基本的理解を目指すとともに、農業現場への応用可能性も視野に入れた研究を進めていきたい。

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および東京農薬大学生命科学バイオサイエンス学科機能性分子解析学研究室において行われたものです。また、現在同研究室でご指導いただいている矢嶋俊介先生、佐々木康幸先生に感謝申し上げます。ストリゴラクトン研究を行う上で必要なホルモン分析やバイオアッセイなどについて様々なご協力、ご助言をいただきました京都大学山口信次郎先生、東洋大学梅原三貴久先生、宇都宮大学野村崇人先生、シストセンチュウ研究を始めるにあたりセンチュウの取り扱い方などご指導いただきました名古屋大学近藤竜彦先生に心より感謝申し上げます。また私が研究をスタートした時の指導教員である茨城大学鈴木義人先生、大学院在籍時に多くのご指導いただきました中嶋正敏先生に篤く御礼申し上げます。その他、多くの共同研究者の先生方より貴重なご意見、ご助言を賜りました。全ての方のお名前を挙げることはできませんが心より御礼申し上げます。また、本研究に参加し、一緒に研究を進めてくれた機能性分子解析学研究室の卒業生、在学生の皆様にも改めて感謝いたします。最後になりましたが、学生時代から現在に至るまでご指導を賜り、本奨励賞にご推薦頂きました東京大学大学院農学生命科学研究科教授浅見忠男先生に篤く御礼申し上げます。



高度に保存されたビタミン B₆ 結合タンパク質の機能解析と応用展開

名古屋大学大学院生命農学研究科 講師 伊藤 智和

はじめに

ビタミン B₆ はピリドキシン (PN), ピリドキサル (PL), ピリドキサミン (PM) と、これらリン酸体の総称である。このうちピリドキサルリン酸 (PLP) は、多くのアミノ酸代謝酵素の補酵素として多岐に亘る生体反応に関与する (図1)。筆者は、多くの生物に保存される PLP 結合酵素・タンパク質をターゲットとし、その機能解析や応用研究など、酵素学を基盤とした研究を行ってきた。以下、特に精力的に研究してきた二項目について紹介する。

1. D-アミノ酸代謝に関わる二種類の PLP 依存性酵素の機能解析と応用展開

D-アミノ酸は、古くから細菌のペプチドグリカンや (D-Ala, D-Glu), ある種の抗生物質中に見いだされてきた (D-Val など)。近年、ヒトを含めた真核生物中で様々な遊離 D-アミノ酸が見いだされ、重要な生理作用を示すことが明らかとなりつつある。特に哺乳類では、D-Ser, D-Asp が内因性メッセンジャーとして、神経伝達や内分泌系で重要な役割を有することが明らかとなりつつあり、その動態や機能の詳細に注目が集まっている。

1-1. D-セリンデヒドラーゼ

D-Ser は哺乳類脳内で、記憶や学習などに関与する N-メチル D-アスパラギン酸 (NMDA) レセプターの内因性コアゴニストとして機能し、筋萎縮性側索硬化症 (ALS), 統合失調症、腎障害など種々の疾患との関連性が指摘されるようになってきた。筆者らは、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の機能未知タンパク質 Ygl196Wp が、PLP と Zn²⁺ 依存性の「D-セリンデヒドラーゼ」(D-Ser をピルビン酸とアンモニアに分解する。以下 Dsd1p) であることを同定した。Dsd1p は真核生物で見出された初めての D-セリンデヒドラーゼであり、同一の化学反応を触媒する既報の酵素とは進化的・構造的に全く異なっていた。本酵素の Zn²⁺ の意義や反応機構、細胞性粘菌における cAMP

シグナリングにおける重要性など、*in vivo*, *in vitro* におけるユニークな諸性質を明らかとした。また、Dsd1p の反応特性を利用し、プナシメジに存在するユニークな D-アミノ酸 (D-2-アミノ-3,4 ジヒドロキシ酪酸) の同定や、D-Ser 酵素減少剤を開発した。また、Dsd1p と改変型アラニンラセマーゼ (mAR) を用いた初めての「D-, L-セリン酵素定量法」を開発した (図2)。D-Ser を Dsd1p によって特異的にピルビン酸へと変換し、続く乳酸脱水素酵素もしくはピルビン酸オキシダーゼによる異化過程によって生ずる NADH や H₂O₂ 生成量から D-Ser レベルが定量できる。L-Ser 定量の際には、ここに Ser への反応性を上昇させた mAR を追加する。本法は、機器分析を用い 1 サンプルあたり 1 時間程度を要していたセリン定量の簡便化・ハイスループット化が可能である。これを用いたヒト尿中の D-, L-Ser の動態解析では、尿中 D-Ser レベルがアテローム性動脈硬化症の患者における腎機能悪化の予測バイオマーカーとして利用できる可能性が見出された。

1-2. セリンラセマーゼ

セリンラセマーゼ (SR) は哺乳類における主要な D-Ser 合成酵素であり、多くの真核生物に保存されている。SR はセリンのラセミ化 (L-Ser ⇌ D-Ser) に加え、これと同等かそれ以上のデヒドラーゼ活性 (D-, L-Ser ⇒ Pyruvate + NH₃) を示す。筆者らは細胞性粘菌やマウス由来の SR を用い、ラセミ化反応が PLP を挟んで相対する Lys および Ser 残基による二塩基機構で進行することや、デヒドラーゼ反応の反応特異性が基質の C_β 位ヒドロキシル基の配向によって決定されることなど、SR の反応・基質特異性をもたらすメカニズムを明らかとした。また、富山大学・森寿教授らと共同で、哺乳類の D-Asp 生合成酵素を探索してきた。その過程で、SR が弱いながらも Asp のラセミ化活性 (L-Asp ⇌ D-Asp) を有することを見出した。SR ノックアウトマウスの解析や、SR 欠損・過剰発現細胞の解析などを経て、SR が哺乳類 D-Asp 生合成にも関与する可能性を見出した。

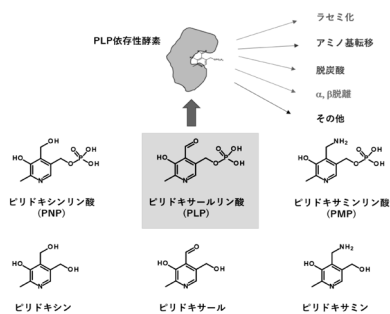


図1. ビタミン B₆

6種類の相互変換可能な B₆ ビタマーのうち、PLP は、多くのアミノ酸代謝酵素の補酵素としてはたらく。

D-セリン量比を測る～簡便・迅速な酵素定量法～

酵素定量法の原理

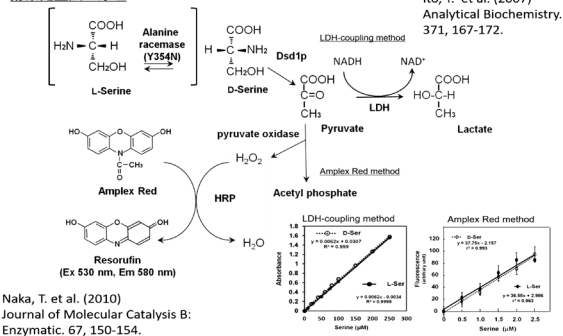


図2. D-, L-セリン酵素定量法

2. ビタミン B₆ の恒常性維持, これによる生体制御に関与するタンパク質に関する研究

2-1. YggS/PROSC タンパク質

YggS/PROSC タンパク質は, バクテリアからヒトに至る大部分の生物に高度に保存される PLP 結合タンパク質である。筆者は, この構造が細菌の D-Ala 合成酵素・アラニンラセマーゼのドメインと酷似していることに興味を持ち研究を開始した。E. coli 由来の当該タンパク質 (YggS) 欠損株の詳細な代謝物解析などから, YggS が Ile/Val 代謝, 補酵素 A レベルの維持など, アミノ酸・ケト酸をはじめとする多様な代謝系の恒常性維持に重要な役割を果たすことや, この機能がバクテリアからヒトにまで保存されていることを初めて見出した。ごく最近, YggS のヒトオホログ (PROSC) の欠損・変異が, ビタミン B₆ 依存性てんかんの原因として特定された。関連し, E. coli yggS 欠損株が, 野生株にはほとんど存在しないピリドキシンリン酸 (PNP) を高蓄積することが報告された。本タンパク質がアミノ酸・ケト酸に加え, ビタミン B₆ 恒代謝にも関与することが示唆された。我々は, 大腸菌, 酵母, サルモネラ菌などのモデル生物を用い, 当該タンパク質の欠損が細胞内 B₆ プールに与える影響を解析した。その結果, YggS/PROSC タンパク質が多くの生物における B₆ ビタマーのホメオスタシスの鍵因子であること, 特に, 本タンパク質が生体内 PNP の低レベル維持に必須の役割を果たすことが明らかとなった。大腸菌をモデルとして用い, 当該タンパク質の欠損によって異常蓄積する PNP が, PLP 依存性酵素であるグリシン開裂系の機能不全を引き起こすことや, Ile/Val 代謝系を含めた多様な代謝系を攪乱する要因であることなど明らかとし, 筆者らや他の研究者が見出した yggS 欠損株のフェノタイプの多くが PNP の蓄積に起因することを明らかとした。本タンパク質の分子機能は未だ明らかではないが, これが PLP ⇌ PMP サイクリングに関与するとの仮説のもと研究を継続している。

YggS/PROSC に関する研究は, 新たな研究展開にもつながった。E. coli のビタミン B₆ 動態を子細に解析する過程で, E. coli が PL を極めて効率的に PN へ変換することや, PN の排出能を有することを見出し, PL → PN の変換を触媒する PL レダクターゼ (PLR) の同定に至った。PLR は, 酵母と植物のみで同定されていた。E. coli PLR は, 酵母や植物由来 PLR との一次構造上の相動性をほとんど示さないが, 同一のスーパーファミリー (Aldo-Keto Reductase superfamily) に属していた。現在 PLR は, 大腸菌, 酵母, 植物などにおける例外的な B₆ 代謝酵素と考えられている。筆者らは PLR が, より広範な生物において, ビタミン B₆ の体内動態に関与すると予想し解析を進めている。

また, E. coli yggS 欠損株の菌体内アミノ酸分析の過程で, 同株がグルタチオンアナログである γ-glutamyl-aminobutyryl-glycine (オフタルミン酸) を高濃度蓄積することを見出した。オフタルミン酸はグルタチオンのシステイン部が 2-アミノ酪酸 (2-AB) に置換された構造を有する。哺乳類では, 水晶体レンズや, 急性肝障害時の血中に見いだされる内因性化合物であり, その血中濃度が肝障害・酸化ストレスのバイオマーカーとして利用できることや, グリオキサラーゼの阻害剤として利用

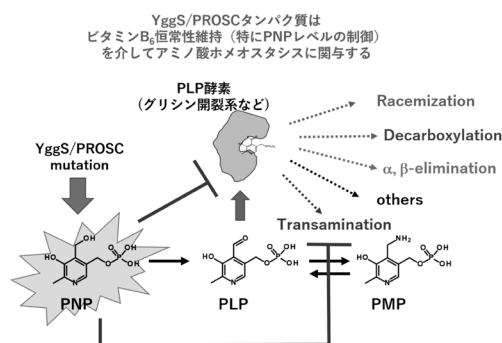


図3. YggS/PROSC タンパク質欠損が及ぼす影響

できる可能性が示唆されていた。また, カルシウム感受性 (CaSR) のリガンドとして, 強いコク味を示すことが報告され, リサーチツールのみならず, 食品添加物としての可能性も示されていた。E. coli yggS 欠損株をプラットフォームとして, 合成経路の増強, 合成酵素のフィードバック阻害の脱感作, 分解系の欠損, インポーターの欠損などの代謝工学的アプローチを経てオフタルミン酸の新規な発酵生産法の開発に成功した。

2-2. PLP 依存性転写因子 MocR/GabR タンパク質

MocR/GabR タンパク質は大部分の細菌に存在する PLP 結合性の転写制御因子である。多くの細菌はこのタイプの転写因子を複数コードするが, その生理機能が明らかとなったものは少なく, 転写制御の分子メカニズムもほとんどわかっていなかった。筆者らは, 枯草菌の γ-アミノ酪酸 (GABA) 代謝酵素の発現制御に関与する「GabR」の PLP・リガンド (GABA, DNA) 存在下における熱力学的, 分光学的解析, X線構造解析などから, PLP-GABA 外部アルジミン形成が GabR の構造変化や GabR-DNA 結合状態のリアレンジメントを誘導し, GABA 代謝酵素の発現誘導をもたらすことを明らかとした。

また, Brevibacillus brevis の機能未知 MocR/GabR タンパク質であった BBR47_28440 タンパク質 (DdlR) の機能解析に取り組んだ。DdlR が同一オペロン内に存在する D-Ala-D-Ala リガーゼの発現制御に関わることを, PLP-D-Ala-D-Ala 外部アルジミン形成がその転写制御に関わることを, 同様の転写制御が放線菌やバシラス属細菌で保存される可能性が見出された。

謝 辞 本研究の大部分は, 名古屋大学大学院生命農学研究科 応用酵素学研究室 (旧・生体高分子学) で行われたものです。本研究の遂行にあたり, 学生時代から多大なご指導ご鞭撻を頂きました名古屋大学大学院生命農学研究科教授, 吉村徹先生に心から感謝申し上げます。また, 多くのご助言を頂きました名古屋大学大学院・生命農学研究科准教授, 邊見久先生に御礼申し上げます。本研究の遂行には, 多くの共同研究者の皆様にご支援を頂きました。また, 応用酵素学 (旧・生体高分子学) 研究室の学生諸子には多大なご協力を頂きました。皆様に心より感謝申し上げます。最後に, 本奨励賞にご推薦くださいました, 日本農芸化学会中部支部長・人見清隆先生 (名古屋大学大学院創薬科学研究科教授) ならびにご支援賜りました学会の諸先生方に感謝申し上げます。



顕著な生物活性を有する芳香族および含酸素環式天然有機化合物に関する合成化学的研究

東京大学大学院農学生命科学研究科 小倉 由 資

はじめに

生物活性天然有機化合物を化学合成する目的や意義は、①構造の確定、②合成試料の供給、③新規合成手法の開発、など大きく三点に要約される。これまで数多く発見された天然物の中でも、特に有用な生物活性を示すものは勿論、特異な化学構造を有するものも、合成化学者にとって挑戦的な標的分子として好奇心の対象となる。それだけでなく、その特異骨格自体が未知の機構で生物活性を示す鍵となる、リードとしての可能性を秘めているという点で興味深い。筆者は特に顕著な生物活性を有する芳香族および含酸素環式天然有機化合物を対象に合成研究を行い、一部では作用機構の解明研究にも携わった。その中から代表的な研究を取り上げ、以下にその概要を述べる。

1. 生物活性芳香族天然有機化合物に関する合成化学的研究

1-1. 血管拡張作用を示し特異な新規アセタール骨格を有する lysidicin A の全合成

中国で民間薬に用いられる低木から単離された lysidicin A (**1**) は、ベンゾフラン環を内包した新規アセタール骨格を有し血管拡張作用を示す。この特異なアセタール骨格の効率的な構築法を確立することは、有機合成化学の見地から興味を持たれた。筆者はまず、出発物質であるイタコン酸ジメチルとフロログシノール誘導体から7工程の変換でトリアリルエーテル **2** を調製した。この **2** にルイス酸として Me_3Al を作用させると連続的に3つの Claisen 転位が円滑に進行することを見出し、高収率で転位体 **3** を得ることに成功した。その後2つの二重結合を酸化的に開裂して酸処理を施すと、望むアセタール骨格 **4** を構築できることを見出した。**4** に対して銀塩と酸塩化物を用い、超低温下で Friedel-Crafts のアシル化を施し、アシル基を一挙に3つ導入して lysidicin A (**1**) の全合成を達成した。

1-2. 癌細胞転移阻害活性を有する UTKO1 の光学活性体合成と作用機構に関する合成化学的研究

コウジカビの一種から単離された癌細胞転移阻害活性天然物

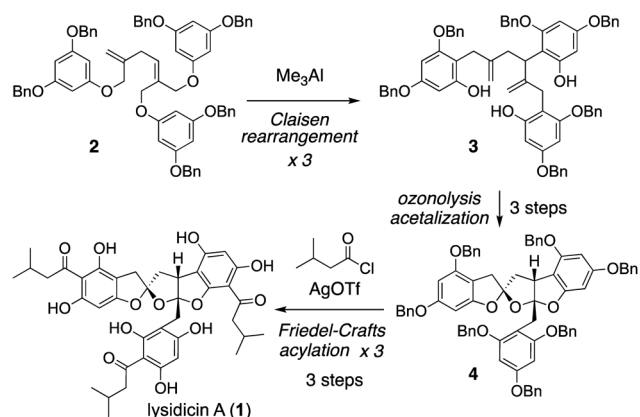


図1. lysidicin A の全合成

moverastin の構造活性相関研究を通し、渡邊・井本らによって立体異性体混合物として見いだされた UTKO1 は、興味深いことに moverastin とは異なる機構で癌細胞の転移を阻害することが示された。そこで筆者は UTKO1 の量的供給を行うとともに、その構造活性相関研究から、活性を保持したビオチン標識体 B-UTKO1ox. を見出した。本標識体を用いた共同研究により、UTKO1 は 14-3-3ζ を標的として結合し、細胞の葉状仮足の形成に必須である Rac1 の活性化を妨げることにより、癌細胞の転移を阻害する新たな作用機構が明らかになった。また、立体異性体混合物であった UTKO1 の全立体異性体の光学的に純粋な合成により、各種立体異性体がいずれも同等の癌細胞転移阻害活性を示すことが明らかとなった。

2. 生物活性含酸素環式天然有機化合物の合成研究

2-1. 特異な含エーテル環縮環構造を有する抗マラリア活性セスキテルペン anthecularin の不斉全合成

ギリシャカミツレから単離された抗マラリア活性を示す anthecularin (**5**) は、エーテル環を含む前例のない四環性縮環構造を有する新規セスキテルペンラクトンである。まず始めに、筆者は一般的には不安定なジプロモアルデヒド **6** が、**7** との Evans 不斉アルドール反応の反応条件に耐えることを見出した。本反応を含む3工程で2つの不斉点を構築した **8** とした後に、続く6工程の変換によりギ酸エステル **9** へと導いた。次に分子内で Claisen-type の環化反応に付して五員環ラクトール構造へと変換し、ラクトールを保護した後にビニル基の付加反応および閉環メタセシスを行うと、スピロエノン **11** を与えた。

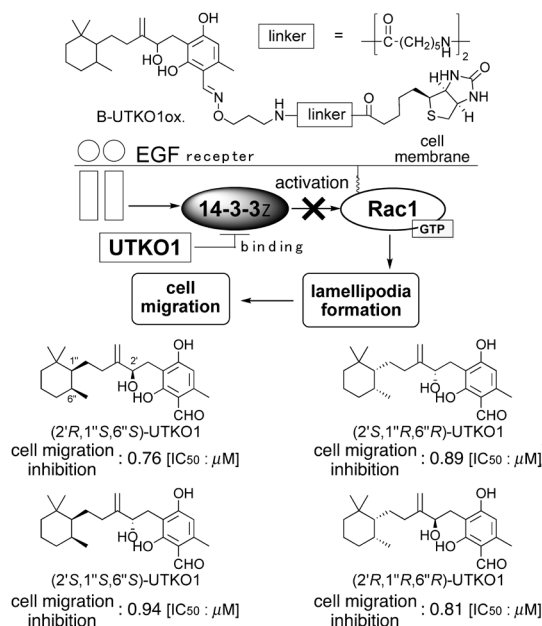


図2. UTKO1 の作用機構解明と光学活性体合成

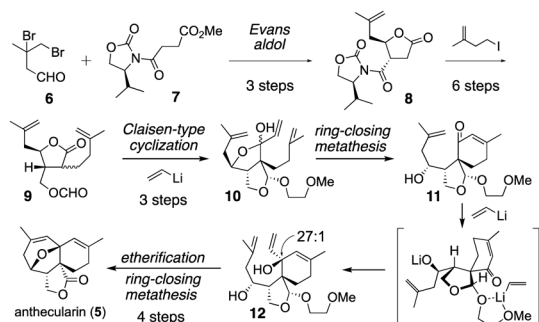


図3. anthecularin の不斉全合成

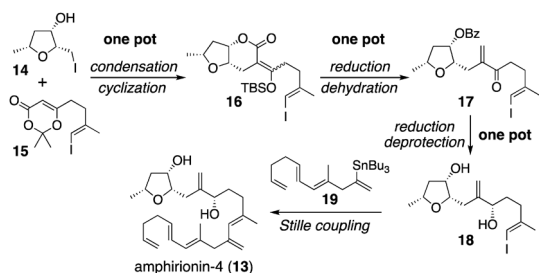


図4. amphirionin-4 の短工程不斉全合成

これに対しビニルリチウムを再度作用させると、保護基の酸素原子からリチウムへの配位効果により、高立体選択的にビニル基の付加反応が進行し、所望の立体化学を有するジオール **12** が立体選択的かつ良好な収率で得られた。最後に、エーテル環化と閉環メタセシスによって anthecularin (**5**) に特徴的な四環性縮環構造の構築に成功し、その不斉全合成を達成した。

2-2. ワンポット反応の利用による骨髄間質細胞増殖促進活性天然物 amphirionin-4 の短工程不斉全合成

骨芽細胞に分化可能な骨髄間質細胞を強力に増殖促進する渦鞭毛藻培養液由来の amphirionin-4 (**13**) は、全置換基が *cis* 配置の THF 環やスキップジエン構造といった特徴的な構造を有する。筆者は **13** が新たな骨粗鬆症薬の開発に繋がる可能性に期待して合成研究を開始した。始めに出発原料から 3 工程で調製した **14** を別途調製した **15** と縮合し、更に系内に順次塩基と TBSCl を加えることで、ワンポットで二環性ラクトン **16** を得た。次にラクトン **16** の還元と脱水を再度ワンポットで行いエノン **17** とし、もう一度ワンポットでケトンの不斉還元と Bz 基の脱保護を行って **18** とした。最後に別途調製した **19** との Stille カップリングを行い、最長直線経路 8 工程で amphirionin-4 (**13**) の不斉全合成を達成した。

2-3. 効率的な Dihydro- β -agarofuran 骨格の構築を基盤とした isocelorbicol および celafolin B 類の不斉全合成

現在までにジヒドロ- β -アガロフラン (DH β AF) 骨格を有する天然物は 500 種以上存在し、その骨格上の水酸基に様々なカルボン酸が縮合したエステル体は、多種多様な有用生物活性を示すことが知られている。筆者は DH β AF 骨格の効率的な構築法の確立を目指し、まず isocelorbicol (**20**) の合成に取り組むこととし、さらに生物活性を有するそのエステル誘導体である celafolin B1-3 (**21-23**) の合成にも挑戦した。始めに (*R*)-carvone から 2 工程で調製したエポキシアルコール **24** にルイス酸を作用させると、セミピナコール転位が円滑に進行して四級不斉炭素が構築され、続く水酸基の反転により **25** へと導いた。次に **26** の求核付加で生じたアルコキシドを **27** で捕捉し、更に

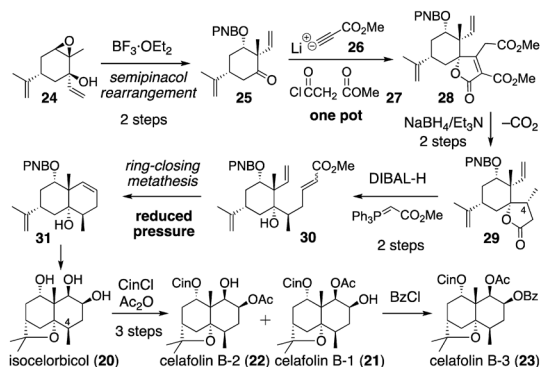


図5. isocelorbicol および celafolin B 類の不斉全合成

環化反応までをワンポットで進行させて **28** を得た。その後、**28** のスピロ環が持つ立体配座に起因した面選択的な共役還元によって C4 位の Me 基を立体選択的に構築し、さらに脱炭酸を経て **29** とした。続いてラクトンを還元し、生じたラクトールを Wittig 反応で増炭して **30** を得た。**30** の閉環メタセシスは減圧下で進行する事を見出し、**31** へと導いた。最後にエーテル環化とジオール化に付することで isocelorbicol (**20**) の高立体選択的な全合成を達成した。その後 **20** の 3 つの水酸基を種々のエステルへと変換し、celafolin B1-3 (**21-23**) の全合成も達成した。

おわりに

これまで筆者は、顕著な生物活性や特異な化学構造を有する天然有機化合物の合成を中心に研究を行ってきた。合成手法を立案する際には、各天然物の化学構造に応じて、独創的かつ合理的であり、他の合成化学的用途への応用も期待できるものを目指して来たつもりである。生物活性天然物の合成の達成を発端として明らかにされる新たな知見は広範であり、これは天然物化学における有機合成化学の有効性と重要性、およびその波及効果を示していると言えよう。今後も筆者は有機合成化学的手法を用いた天然物化学領域の研究に邁進し、生物学等関連諸分野における研究の進展や、将来的な応用研究への発展が期待されるような、さらなる新規知見の獲得を目指す所存である。

謝 辞 本研究は東京大学大学院農学生命科学研究科有機化学研究室ならびに東北大学大学院農学研究科生物有機化学分野で行われたものです。学生時代から手厚いご指導を賜りました。恩師渡邊芳典先生 (東京大学名誉教授) に心より感謝申し上げます。東北大学で本研究を行うにあたり熱心なご指導を賜りました。桑原重文先生 (東北大学教授) に深く感謝申し上げます。また現職での研究で懇切丁寧なご指導を賜りました。滝川浩郷先生 (東京大学教授) に深く感謝申し上げます。学生時代にご指導・ご助言を賜りました石神健先生 (現東京農業大学教授)、また共同研究者としてご指導を賜りました井本正哉先生 (現順天堂大学特任教授)、仲川清隆先生 (東北大学教授) に深く御礼申し上げます。本研究成果は東京大学有機化学研究室、東北大学生物有機化学分野の修了生・在学生を中心とした、多くの若い共同研究者の方々によって積み上げられた弛まぬ努力の結晶です。心より御礼を申し上げます。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・小林達彦先生に厚く御礼申し上げます。



ヒスチジン含有機能性ペプチドの探索, および応用研究

広島大学大学院統合生命科学研究科 Thanutchaporn Kumrungsee

はじめに

ペプチドは生体内において多様な生理機能を有しており, 自然界には機能未知のペプチドが数多く存在する. さらにその作用機序においても未解明部分が多く, 天然由来のリソースとして貴重であるのみならず, 新たな創薬活動に対しても有用な情報を与えるものである. 筆者は新規ペプチドの探索とその生理機能の解明に焦点を当てて研究を邁進してきた.

まず初めに, 血圧低下効果を指向したペプチドの探索に着手し, 天然資源から機能性ペプチドを単離し, 構造決定を行った. 見出された Trp-His の *in silico* 解析を利用した構造活性相関を検証し, Ca^{2+} -カルモジュリン (CaM) 複合体形成を阻害する新しい分子機序を提案した. 一方, 心臓病やサルコペニアの予防効果が期待されるイミダゾールジペプチドであるカルノシンファミリーに着目し, 心臓, あるいは骨格筋特異的に同ペプチド量を増加させる食品因子の確立を行った. さらに, 動物実験に関する社会的問題を考慮し, 食品機能を非侵襲的に試験する方法を確立し, 特に腎症を予防する機能性ペプチドの探索方法としても利用可能である. 以下に詳しく研究成果を紹介する.

1. 血圧低下を指向した新規ペプチドの単離と分子機序の解明

血管内の Ca^{2+} シグナル伝達は血管収縮における主要な経路であり, 筆者は Ca^{2+} シグナリングの阻害活性を有するペプチドを探索する中で, 魚肉由来の新規機能性ペプチドである Trp-His, 大豆由来ペプチド His-Gly-Lys, および小麦胚芽由来 Trp-Val, および Trp-Ile を発見した. 特に Ca^{2+} シグナルに対して強力な阻害活性を示した Trp-His の分子メカニズムとして, 血管収縮に関与する Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II (CaMK II) への阻害活性を示し (図1), さらに His

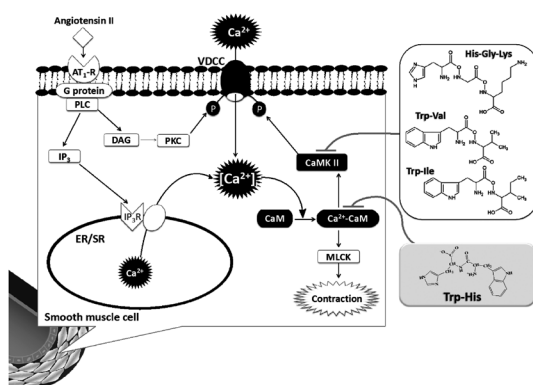


図1. Mechanisms of the peptides underlying the regulation of Ca^{2+} signaling pathways in blood vessels

由来のイミノプロトンが抑制効果に重要であることを明らかにした. Trp-His は, CaMK II 酵素タンパク質に直接結合するのではなく, 酵素の活性化因子であるカルモジュリン (CaM) に相互作用する新しいタイプの CaMKII 阻害剤であることを発見した. *in silico* 分析により, Trp-His は Ca^{2+} を模倣することで CaM に結合し, His のイミダゾール環の H+ 結合型の N 分子がペプチド-CaM 相互作用に不可欠であることを明らかにした (図2A). Trp-His が Ca^{2+} -CaM 複合体形成の阻害に基づく新しい機序を有する CaM 阻害剤であることから, CaM が発症に関与する様々な疾患をターゲットとして新規薬剤の開発への利用が期待される (図2B).

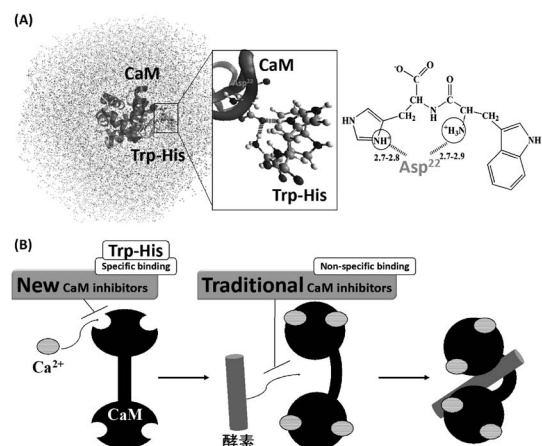


図2. *In silico* analysis demonstrating the interaction of Trp-His with CaM (A) and Trp-His as a new type of CaM inhibitor (B)

2. イミダゾールジペプチドであるカルノシンファミリーを増加させる栄養因子の確立

2-1. 心臓のイミダゾールジペプチドを増加させる栄養因子の発見

カルノシンファミリーは, 動物の骨格筋や脳に豊富に存在する His 含有ジペプチドであるが, β -アラニン (β -Ala) と His で構成されるカルノシンは, 骨格筋に存在するジペプチドであり, 抗酸化作用などの抗ストレス作用効果を有する. 骨格筋において重要な生理機能を担うと考えられており, 現在では, 機能性食品素材としても期待されている.

著者は, 古くから栄養素として研究が行われているビタミン B6 の食餌への添加により, 心臓においてカルノシンのみならず, アンセリン (β -Ala-1-methyl-His), およびホモカルノシン (γ -アミノ酪酸 (GABA)-His) などのイミダゾールペプチド量が顕著に増加する興味深い研究成果を得た. その合成基質である β -Ala および GABA とともに心筋に含まれているが, 特にホ

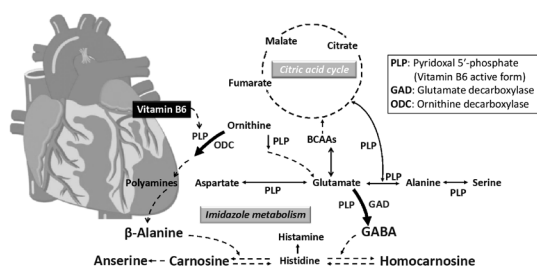


図3. Vitamin B6 supplementation increasing imidazole dipeptides of the carnosine family in heart muscle

モカルノシンの合成量の増加においては、ビタミン B6 が GABA 生成の律速酵素であるグルタミン酸デカルボキシラーゼの補酵素として活性化に寄与することを示した。古くから栄養素として研究が行われてきたビタミン B6 が心臓のイミダゾールペプチドの恒常性を調節することを示した最初の研究結果である (図3)。この研究成果は、ビタミン B6 がイミダゾールジペプチドを調節することによって栄養機能を担う点のみならず、従来から知られているビタミン B6 摂取の心臓保護効果の分子機序の一端を示した点で極めて新規性の高いものである。さらにこの研究成果は、イミダゾールペプチド量の調節においては合成基質である β -Ala, あるいは GABA の供給量の上昇が極めて有効であることを示すものである。

2.2. 骨格筋でイミダゾールジペプチド合成を誘導するための新しい食品因子

ホモカルノシン (GABA-His) は、脳に豊富に存在するが、骨格筋では極めて含量の低いイミダゾールジペプチドである。上記研究成果を参考に、食餌への GABA の添加は骨格筋において新しいイミダゾールジペプチドとしてホモカルノシン量を増加させることを明らかにした (図4) この研究成果は、骨格筋におけるイミダゾールジペプチド量の調節しうる新しい食環境を示すだけでなく、骨格筋機能を強化する手法としても有用であると期待される。本研究内容は、ホモカルノシンの生理機能に新たに焦点を当てるものであるが、一方で、現在 GABA は人気のある食品因子として様々な食品開発へ利用されており、GABA によるイミダゾールジペプチド量の調節作用は従来の抑制性神経伝達物質として以外の新たな生理的意義が期待されるものである。

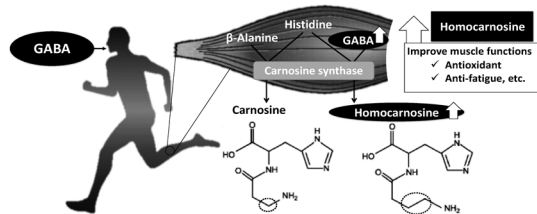


図4. Dietary GABA as a new method for inducing imidazole dipeptide synthesis in skeletal muscle

3. 実験動物を用いて非侵襲的に食品機能を試験する方法の確立

実験動物を研究に利用することは動物愛護の観点から大きな社会問題となっており、その動物実験数の削減を含めた 3R が提唱されている。3R の一つとして動物に対して痛みを伴わない非侵襲的な試験方法の開発が求められているが、著者は lu-

ciferase による化学発光を利用した *in vivo* imaging を機能性試験に利用することを考え、急性期タンパク質である Serum amyloid A3 遺伝子プロモーター領域に luciferase 遺伝子を連結させたキメラ遺伝子を有するトランスジェニックマウスを開発した。同マウスを利用して、アデニン食により形成される腎臓結石による腎症を化学発光により評価する新しい手法を確立した。さらに、化学発光を指標とした食品因子のスクリーニングにより、アデニン腎症を予防するポリフェノール類の探索にも成功し (図5)、今後の他疾患モデルを用いた非侵襲的な試験方法としての展開が大きく期待される。本研究成果は、慢性腎臓病の患者数の増加が社会的な問題である現在、腎新たな創薬活動にも貢献できるものと期待される。

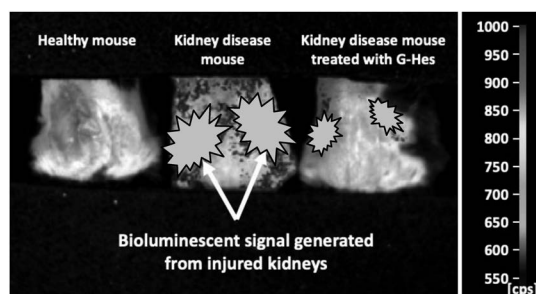


図5. A new method for visualization of kidney disease and therapy by bioactive compound (glucosyl-hesperidin (G-Hes) treatment in live animals

おわりに

本研究では、新しいヒスチジン含有ジペプチドを発見し、それらの生理機能の解明、および新規の分子メカニズムを提案した。また本研究では、ビタミン B6 や GABA などの食品因子がイミダゾールジペプチドの代謝を調節することを示した。これら食品因子に関する新たな知見と新規性の高い解析手法 (ルシフェラーゼレポーターマウスなど) を組み合わせることで、ヒスチジンを含むジペプチドを発見するとともに、新規な生理作用の解明を目指して研究を続けていきたい。本研究は、疾病予防のための機能性食品の開発に貢献するとともに、この高齢化社会においてより健康的な生活を過ごすために役立つことを信じ、基礎と応用の両面においてさらなる研究を進めることで、農芸化学分野の発展に貢献したい。

謝 辞 本研究は、広島大学大学院統合生命科学研究科の分子栄養学研究室において行われたものです。本研究に携わる機会を賜るとともに終始ご指導ご鞭撻を賜りました加藤範久先生、矢中規之先生に心より感謝申し上げます。また、九州大学農学研究院生命機能科学部門の松井利郎先生、田中充先生には学生時代から現在に至るまで温かいご指導を賜りました。両先生に深く感謝申し上げます。また、広島大学HIRAKU コンソーシアムプログラムの相田美砂子先生、鈴木榮一郎幸先生、三須敏幸先生には多大なご指導を受けましたことを心より感謝申し上げます。本研究は他にも多くの方々のご協力の下で行われました。本研究に携わった学生にも心より感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会中四国支部長の櫻谷英治先生ならびにご支援を賜りました中四国支部の先生方に厚く御礼申し上げます。



宮崎大学農学部 黒木 勝久

生物進化に伴った硫酸転移酵素機能の多様性に関する研究

はじめに

生物は進化の過程で様々な生体異物に対応するため、広範囲の化合物に対応できる生体応答機構（解毒排泄機構）を備えている。この機構はステロイドホルモンなどの内分泌ホルモン機能を制御する側面もあわせもつ。生体内外の多様な低分子化合物に対応する代謝酵素の中でも、私は、「硫酸転移酵素」と呼ばれる「硫酸基」を転移する酵素に着目している。他の代謝酵素と同様、生物進化に伴った多様な遺伝子ファミリーを形成した結果、広範囲の化合物の代謝を担っている。中でも、内分泌ホルモン代謝における硫酸化は複雑で多岐にわたるため、その機能はあまり理解されていない。そこで、私は生物進化に伴った硫酸転移酵素の機能変遷を理解することで、ヒトにおける硫酸化の生理機能解明につながると考え、基質多様性と生物進化をテーマに硫酸転移酵素の機能解明研究を行ってきた。

1. 硫酸転移酵素の基質多様性

1-1. 多様な硫酸化基質の発見と代謝経路の解明

硫酸化代謝物は水溶性が高いことと標品の入手が難しいことから、メタボローム解析などの網羅的代謝解析の標的とされることが少なく、硫酸化が関与する代謝は未だに全貌が掴めていない。そこで、私は酵素学的解析により、オピオイド薬物やパーキンソン治療薬を始めとした薬物の他、ビタミンやしょうが成分ジゲロールなどの食事由来化合物など、20種類以上の化合物の硫酸化による代謝経路をこれまでに明らかにした。

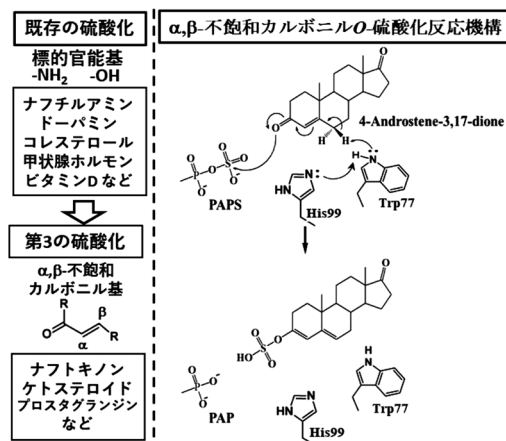
その中でも、ビタミンD₃硫酸化はその代謝物が血中で多く検出されているにもかかわらず、その機能や硫酸化経路は未解明のままであった。ビタミンD₃は皮膚内の7-デヒドロコレステロールからの生合成もしくは、経口摂取によって腸から吸収され、25-ヒドロキシビタミンD₃へと代謝変換される。この代謝中間体が、循環型ビタミンD₃として機能し、標的細胞内で更なる代謝変換を受け、活性型のビタミンD₃となる。そこで、私は、ビタミンD₃の生合成経路上にある化合物の代謝解析を、ヒトの細胞や臓器由来ライゼートおよび精製酵素を用いて行い、その硫酸化経路を明らかにした¹⁾。興味深いことに、ビタミンD₃でも活性型ビタミンD₃でもなく、25-ヒドロキシビタミンD₃が顕著に硫酸化された。25-ヒドロキシビタミンD₃が特異的に硫酸化を受ける構造生物学的疑問は今後の課題であるが、生理学的には非常に理にかなっている結果である。活性型ビタミンD₃の血中濃度は極めて低く、前駆体である25-ヒドロキシビタミンD₃の量に依存して生体のビタミンD₃活性は決まる。そのため、25-ヒドロキシビタミンD₃硫酸化が生体内のビタミンD₃活性を制御しているといえる。この硫酸化は硫酸転移酵素SULT2A1だけが触媒し、肝臓や腸でこの硫酸化が行われることも明らかにしている。このことから、腸や肝臓が生体内のビタミンD₃活性を制御する要となる臓器であることが

考えられた。SULT2A1は、元来、ステロイドホルモンの硫酸化を担う酵素であり、ステロイドサルファターゼによる脱硫酸化と共にステロイド機能を制御する。ビタミンD₃に関しても硫酸化と脱硫酸化による機能制御機構が想定され、より詳細なビタミンD₃の活性制御機構の解明を行っている。

1-2. α,β -不飽和カルボニルに対する第3の硫酸化の発見

SULTの標的官能基はこれまで、ヒドロキシ基とアミノ基が知られていた。一方、ヒドロキシ基でもアミノ基でもない「 α,β -不飽和カルボニル基」を標的とした全く新しい硫酸化反応を、近年、見出している。この反応は新規硫酸転移酵素として新たに同定したSULT7A1の機能解析の過程で見出した反応である。本酵素はこれまでのどの基質化合物にも活性を示さなかった。そこで、これまでのSULTとは異なる触媒機構を想定し、様々な構造をもつ化合物に対する酵素活性を検討した。多様な官能基を有する5員環と6員環化合物の中から、特異的に硫酸化される構造を見出し、最終的に「 α,β -不飽和カルボニル基」を標的とすることを明らかにした。「 α,β -不飽和カルボニル硫酸化」の普遍性に着目し、生理的基質化合物に対する酵素活性を調べた結果、内因性基質の1つとしてケステロイドを見出した²⁾。質量分析により推定した代謝物の構造と酵素の触媒部位の構造から、既存の機構とは異なる新規硫酸化反応機構を提案している（図1）。また、「 α,β -不飽和カルボニル硫酸化」の基質としてナフトキノンやシクロペンテン型プロスタグランジンを見出しており、これまでの概念にはない、新たな硫酸転移酵素の標的基質の発見に至った。

生体内の「 α,β -不飽和カルボニル基」は酸化ストレスを受けて生じる求電子性の高い官能基であり、DNAやタンパク質などの生体分子との反応性が高い。硫酸化はこの求電子性の高い構造をより安定な構造へと変化させる理想的な代謝反応であり、酸化ストレス防御機構として重要な機能をもつと考え、現

図1. 第3の硫酸化である α,β -不飽和カルボニル硫酸化

在, 生理機能解明研究を展開している。

2. 生物進化に伴った硫酸転移酵素 (SULT) の機能変遷

2-1. 生物進化とスプライシングにより生じたキメラ酵素

硫酸転移酵素遺伝子の一部は生物進化に伴った構造変化を受けることが知られている。その中の一つである SULT1C3 はフェノール化合物の硫酸化を担う酵素であり, C末端スプライスバリエーションが存在することが知られていた (SULT1C3a と SULT1C3d)。一方, この遺伝子の起源となる相同遺伝子は, 長年見出されてこなかった。そこで, げっ歯類から霊長類までの SULT1C サブファミリー遺伝子のゲノム配列を解析した結果, SULT1C3 遺伝子は, げっ歯類に見出されていた SULT1C1 遺伝子の重複遺伝子として生み出され, 進化の過程で起源となった SULT1C1 遺伝子が欠損していたことが判明した。この過程で欠損せずに残った SULT1C1 遺伝子の C末端エクソンが SULT1C3 遺伝子に取り込まれた結果, SULT1C1 と SULT1C3 遺伝子に由来するキメラ酵素が生み出されることが明らかになった (図2)³⁾。この SULT1C1 由来の C末端エクソンをもつキメラ型酵素 (SULT1C3d) と SULT1C3 酵素 (SULT1C3a) の酵素活性を解析した結果, スプライシングによるキメラ化が酵素活性を著しく増強させることを明らかにした。本酵素のスプライスバリエーションの発現臓器や発現制御機構は良く分かっておらず, このキメラ酵素の発現制御機構の解明と共に, スプライシングと本酵素の機能が明らかにされることが期待される。

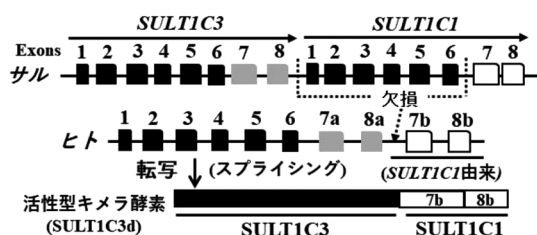


図2. 欠損とスプライシングによる活性型キメラ酵素生成

2-2. 生物進化に伴った胆汁酸硫酸化の機能変遷

胆汁塩 (胆汁酸と胆汁アルコールの総称) は原始の脊椎動物から高等脊椎動物への進化に伴った代謝変換経路の進化により, その化学形態も進化している。ゼブラフィッシュの主要胆汁塩である炭素数27の胆汁アルコールから, ヒトやマウスの炭素数24の胆汁酸など炭素数・側鎖構造・立体構造に大きな多様性がある (図3)。胆汁塩の硫酸化は生物種を超えた重要な代謝反応であるが, その代謝物の化学形態には大きな違いがあり, その違いを説明できる研究事例はなかった。そこで, ゼブラフィッシュ・マウス・ヒトの胆汁塩代謝に関わる酵素を用いて詳細に解析した結果, ヒト胆汁酸硫酸転移酵素 SULT2A1 は胆汁酸3位の OH基を硫酸化するが, ゼブラフィッシュ相同酵素は胆汁酸3位の OH基の硫酸化能力が低い一方, アルコール側鎖の OH基を硫酸化する能力が高いことが分かった^{4,5)} (図3)。また, ヒト SULT2A1 はステロイド代謝にも機能するが, ゼブラフィッシュ相同酵素は胆汁アルコールだけに活性を示した。詳細に解析した結果, ゼブラフィッシュにおけるステロイド硫酸化は, ヒトでは偽遺伝子となる SULT3 が担うことが判明した。一方, マウス相同酵素は7位 OH基を特異的に硫酸化する能力を有しており, たった一つのアミノ酸置換が3位と7位の硫酸化を決定づけていることを明らかにした⁶⁾。これら

3つの硫酸化は, 各生物種に特化した化学形態と生体内機能に適応しており, 硫酸転移酵素がそれぞれの生物種に適応した形で独自に進化したように見えることから, 代謝酵素の柔軟性を現した一つの代表例として考えている (図3)。

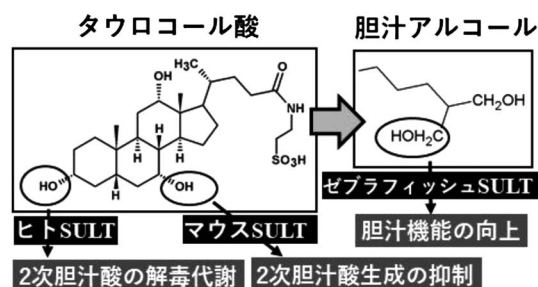


図3. 胆汁酸硫酸化の酵素反応と機能の多様性

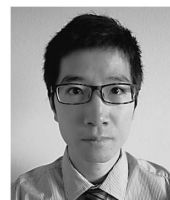
おわりに

本研究では, ヒト・マウス・ゼブラフィッシュの研究成果を中心に紹介した。それ以外に, 昆虫や植物においても硫酸転移酵素の機能変遷研究を展開している。今後は, 「 α,β -不飽和カルボニル硫酸化」の生物多様性に関する研究展開を通して, 低分子化合物代謝酵素の生物進化に伴った機能の多様性研究から, 最終的にはヒトにおける生理機能解明につなげていきたい。

(引用文献)

- 1) Kurogi K, Sakakibara Y, Suiko M, Liu MC. *FEBS Lett.*, Vol. 591, p 2417-2425, (2017)
- 2) Hashiguchi T, Kurogi K, Shimohira T, Teramoto T, Liu MC, Suiko M, Sakakibara Y. *Biochim. Biophys. Acta.*, Vol. 1861, p 2883-2890, (2017)
- 3) Kurogi K, Shimohira T, Kouriki-Nagatomo H, Zhang G, Miller ER, Sakakibara Y, Suiko M, Liu MC. *J. Biochem.*, Vol. 162, p 403-414, (2017)
- 4) Kurogi K, Krasowski, M.D., Injeti, E., Liu, M.Y., Williams, F.E., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 127, p 307-314 (2011).
- 5) Kurogi K, Yoshihama M, Horton A, Schiefer IT, Krasowski MD, Hagey LR, Williams FE, Sakakibara Y, Kenmochi N, Suiko M, Liu MC. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 174, p 120-127 (2017)
- 6) Shimohira T, Kurogi K, Liu MC, Suiko M, Sakakibara Y. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 82, p 1359-1365 (2018).

謝 辞 本研究は, 宮崎大学農学部応用生物科学科生体分子機能化学研究室ならびに米国オハイオ州立トレド大学薬学部において行われたものです。本研究のきっかけを与えてくださり, 学生時代から現在に至るまで御指導を賜りました, 宮崎大学理事・副学長の水光正仁先生に篤く御礼申し上げます。また, 私に研究者としての礎を与えていただき, 終始ご指導頂きました宮崎大学農学部教授・榊原陽一先生には心から感謝申し上げます。合計4年間の海外留学中は, 公私に渡って面倒を見ていただき, 現在も論文執筆などでお世話になっておりますトレド大学薬学部教授・Ming-Cheh Liu先生に感謝致します。本研究を展開するにあたりまして, 様々な助言とサポートを下さいました多くの先生方と研究室のこれまでの修了生や学生にもこの場を借りて感謝申し上げます。また, 妻や家族のこれまでの理解と支えのもと研究生活を送ることができていることに感謝いたします。最後になりましたが, 本奨励賞に御推薦賜りました, 日本農芸化学会西日本支部長で九州大学大学院農学研究教授の酒井謙二先生に御礼申し上げます。



静岡県立大学薬学部 佐藤 道大

酵素の [4+2] 環化付加反応の分子機構の解明

はじめに

微生物や植物、海洋生物から得られる天然有機化合物は、「人智を超えた」と表現される複雑な構造を有するものも多く、その化学構造に魅せられた研究者が単離-合成-生物活性を基盤に多岐にわたる天然物化学分野を開拓してきた。筆者は先人たちが築き上げてきた実績を礎に、天然物の成り立ち、生合成研究を行ってきた。複雑な構造がどのようにして構築されるのか、自然の叡智を感じられることが、天然物生合成研究の醍醐味のひとつだと思う。筆者は、これまで天然に存在する Diels-Alder 反応を触媒する酵素について、その機能解明研究を展開してきた。以下その概要を紹介する。

1. Diels-Alderase の実在性

Diels-Alder (DA) 反応は、位置および立体選択的に炭素-炭素結合を形成することができるため、有機合成化学分野において広く用いられてきた。一方で天然物には DA 反応によって構築すると考えられる化合物が数多く見られることから、天然にも Diels-Alder 反応を触媒する機構、すなわち Diels-Alderase (DAase) の存在が示唆されてきた。DA 反応は環化分子の構築や炭素骨格の構造に大きな変化を与えるため、生体内 DA 反応を触媒する DAase には極めて高い興味を持たれていたが、実際にそれが証明されたのは 2000 年と割合最近である。そのマクロフォミン酸合成酵素の発見以降、原核・真核生物由来天然物の生合成に関わる DAase が相次いで発見されているが¹⁾、その詳細な分子機構、すなわち反応の駆動力や位置および立体選択性の発現要因について詳細に解明された報告はない。

筆者は、糸状菌由来抗 HIV 活性を有する化合物、Sch210972 (**1**) のオクタリン環の立体選択的な閉環反応に着目した (図1)。化合物 **1** のオクタリン環の立体化学は、DA 反応における *endo* 付加により生じる立体化学に相当することから、**1** のオクタリン環は酵素的 DA 反応によって構築されたと考えられた。そこでその酵素を見出すため **1** の生産菌である糸状菌 *Chaetomium globosum* を用いて、**1** 生合成遺伝子クラスターにおける網羅的な遺伝子欠損株の作製を行った。その結果、リポカリンファミ

リーに属する推定機能未知タンパク質をコードする *cghA* 遺伝子欠損株において、DA 反応の *exo* 付加に相当する立体化学を有する化合物 **2** が生産することを確認した (図1)。このことから、CghA はオクタリン環形成における *endo* 選択的 DA 反応を触媒する酵素と考えられた。この仮説は、**1** の生合成に関わる遺伝子すべてを異種糸状菌の *Aspergillus nidulans* へ導入した **1** 生合成の再構築により確かなものとなった²⁾。しかしながら、CghA による分子内 DA 反応の詳細なメカニズムについては不明なままであった。筆者は、DAase における基質認識・立体選択的環化・生成物阻害回避機構について、その分子基盤の解明を目的に研究を行うこととした。はじめに糸状菌由来の CghA の塩基配列を大腸菌のコドン頻度に最適化した後、大腸菌を用いて組換え CghA タンパク質を得た。得られた CghA タンパク質および **1** の共結晶化を行い、それを X 線結晶解析に供したところ、良好な分解能で回折像を得ることができた。得られた結晶構造から、CghA の活性部位では比較的広い空間が形成されており、**1** と相互作用するアミノ酸残基の存在が確認された (図2a)。

2. 糸状菌由来 Diels-Alderase の精密機能解析およびエンジニアリングによる DAase の改変

CghA の3つのアミノ酸残基、Asn82, His94 および Lys352 は、**1** の23位の水酸基および24位のカルボン酸と水素結合を形成していることが明らかとなった。加えて2つのトリプトファン残基 Trp183, Trp235 は、オクタリン環を挟み込む形で配位しており、これらが鎖状基質の酵素への固定化に寄与していると予想された (図2a)。また、Ser65 および Asn364 はテトラミン酸のカルボニル基とそれぞれ水素結合を形成しており、この水素結合が鎖状基質における1-10位のジェノフィルの LUMO エネルギーを低下させ、それにより DA 反応が加速していることが示唆された。次に CghA と **1** の相互作用を確認するために、複合体結晶より得られた結果をもとに、基質と相互作用する CghA のアミノ酸に変異を導入した酵素を作製し、変異導入酵素の速度論解析を行った (図2c)。その結果、2つのトリプトファン残基 Trp183, Trp235 によるオクタリン環の相互作用の消失により、

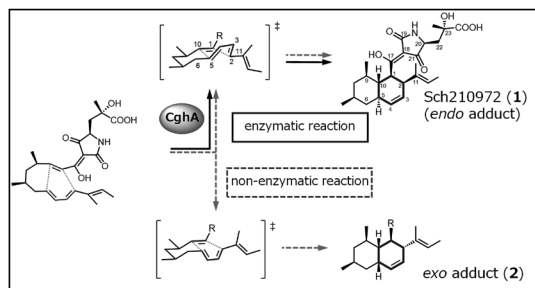


図1. Sch210972 (**1**) と *exo* 付加物 (**2**) の化学構造

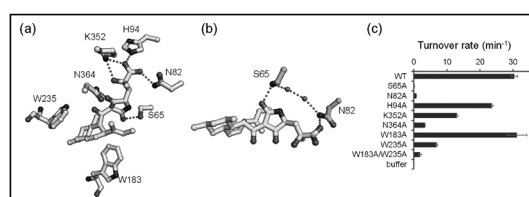


図2. (a) CghA-**1** 複合体の結晶構造における活性中心 (b) S65-N82 の水分子を介した相互作用 (c) 各変異酵素の触媒回転数

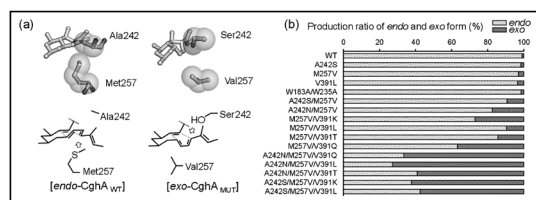


図3. (a) Ala242 および Met257 のオクタリン環との相互作用
(b) 各変異酵素における *endo* および *exo* 付加体の生成比

大幅な酵素活性低下を確認した。加えて、テトラミン酸のカルボニル基との水素結合形成に関与するアミノ酸 Ser65 の変異においても、活性の消失を確認した。化合物 **1** の γ -ヒドロキシメチルグルタミン酸側鎖結合部位 His94 および Lys352 に変異を導入した酵素においては、約 20~50% 程度の活性の低下にとどまった。しかし、同じく γ -ヒドロキシメチルグルタミン酸側鎖と水素結合を形成している Asn82 への変異では、活性の大部分の消失が確認された。このことから Asn82 は、側鎖アミノ酸との相互作用に必要な残基というだけでなく、活性に重要な残基であると考えられた。その理由を明らかにするため複合体結晶構造の水分子を含めた詳細な解析を行った。その結果、Asn82 は 2 つの水分子を介して Ser65 と相互作用していることがわかった (図 2b)。以上の結果から CghA は、 γ -ヒドロキシメチルグルタミン酸側鎖およびオクタリン環周辺のアミノ酸残基により基質のコンフォメーションを制御していること、テトラミン酸のカルボニル基との水素結合の形成は必須であり、ジエノフィルの電子求引性増大により、DA 反応を加速していることが明らかとなった。一方で、DA 反応によるオクタリン環の形成における立体選択性に関しては、アルキル鎖を受け入れる活性部位の空間的な制御によるものと考えられた。すなわち鎖状基質のジエン周辺のアミノ酸 Ala242, Met257 (図 3a) による空間的制御が、*endo* 付加環化選択性の要因と推測された。筆者はこれらアミノ酸に *exo* 付加環化に有利となるような変異を導入することで、天然物とは異なるジアステレオ選択性を生み出す酵素を作製することに成功した (図 3b)³⁾。

3. DAase の生成物阻害回避機構

DA 反応は合成化学上価値の高い反応であるため、人為的な酵素すなわち DA 反応を触媒する抗体触媒の開発が古くからおこなわれてきた。反応遷移状態をミミックした分子を有機合成し抗原 (ハプテン) とし、抗体触媒が作られたのだが活性は極めて低いという結果に終わった。これは DA 反応の遷移状態と生成物の構造が酷似しているためと考えられており、生合成上 DAase が単に遷移状態の活性化エントロピーを下げる空間を提供しているのではないことを示唆している。DAase はどのようにして生成物阻害を回避しているのか、またその駆動力は何なのかなど、有機分子触媒の設計に関わるその反応機構についても多くの興味を持たれている。DAase による生成物阻害回避機構は、DAase 研究における大きな謎の一つである。そこで複合体結晶構造解析結果と計算化学により算出した DA 反応の遷移状態の自由エネルギー値をもとにその謎の解明にあたった。CghA-1 の複合体結晶構造において、**1** の構造は 17, 18 位が *E* 体の **1'** であることが分かった。一般的に Pyrrolidine-2,4-dione 骨格を有する化合物において、その自由エネルギーは *E* 体よりも *Z* 体の方が低い。これが CghA の生成物阻

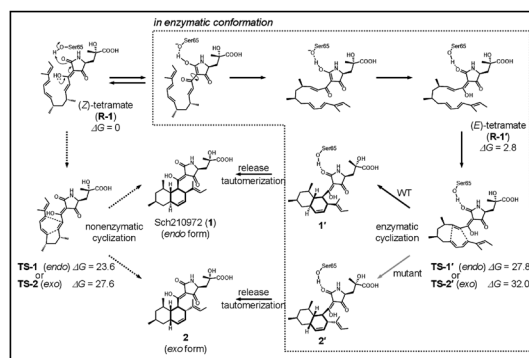


図4. CghA によるオクタリン環形成における分子内 DA 反応の予想経路

害回避機構に関わっていると考え、予想される生合成中間体の鎖状基質における自由エネルギーを算出した。その結果、予想通り *E* 体の生合成中間体の自由エネルギーは *Z* 体よりも大きいことがわかった。17, 18 位が *Z* 体の基質の自由エネルギーが、*E* 体よりも小さいにもかかわらず、CghA はエネルギーの高い *E* 体を基質としていることから、生合成的に不利な *E* 体を基質とし、遷移状態の構造を **1** (*Z* 体) と異にすることで、生成物阻害を戦略的に回避していることが明らかとなった³⁾。

おわりに

これまで DAase における基質認識・立体選択的環化・生成物阻害回避機構について、その分子基盤を解明することを目的に研究を行ってきた。CghA-1 の複合体結晶構造解析および変異体の速度論解析からは、酵素の基質許容に関する知見が得られ、ジエノフィルの電子求引に関わるアミノ酸残基を明らかにすることができた。DAase の生成物阻害回避機構については、計算解析による遷移状態の自由エネルギーを算出することで、合理的な説明が可能となり、酵素の巧妙さを知ることができた。さらに酵素を改変することで、立体選択性の異なる酵素の創製に成功した。これらの結果は、糸状菌由来の DAase の構造基盤に革新的な知見を与えただけでなく、DAase のエンジニアリングに関する今後の重要な指針となったと言える。

(引用文献)

- 1) Minami A. Oikawa H. *J. Antibiot.*, **69**, 500-506 (2016)
- 2) Sato M. Yagishita F. Mino T. Uchiyama N. Patel A. Chooi Y.H. Goda Y. Xu W. Noguchi H. Yamamoto T. Hotta K. Houk K.N. Tang Y. Watanabe K. *ChemBioChem*, **16**, 2294-2298 (2015)
- 3) Sato M. Kishimoto S. Yokoyama M. Jamieson C.S. Narita K. Maeda N. Hara K. Hashimoto H. Tsunematsu Y. Houk K.N. Tang Y. Watanabe K. *Nat. Catal.*, in press (2021)

謝 辞 本研究は、静岡県立大学薬学部、米国 University of California, Los Angeles (UCLA) において行われたものです。研究を遂行するにあたりご指導ご鞭撻を賜りました渡辺賢二先生、Yi Tang 先生に厚く御礼申し上げます。本研究の成果は、多くの共同研究者ならびに研究室の学生諸子のご協力によって達成されました。すべての方々のお名前を挙げることはできませんが、本研究に携わった皆様方に深く感謝いたします。最後に、本奨励賞にご推薦いただきました、静岡県立大学薬学部、渡辺賢二先生に厚く御礼申し上げます。



細菌が生産する小胞の機能と形成機構に関する研究

静岡大学学術院工学領域化学バイオ工学系列 田代陽介

はじめに

細菌は細胞内外にナノサイズの微粒子である小胞を形成する。細菌の細胞外小胞として知られているのが、直径20–400 nmの膜小胞である。膜小胞は内部に微生物由来のDNAやタンパク質等の生体高分子を含有する他、表層に微生物特有の多糖を保持している。また、動物・植物・微生物など様々な細胞に内包物質を送達する機能を有しており、宿主の免疫活性化にも働いている。そのため、膜小胞はワクチンの抗原やドラッグデリバリーシステム(DDS)、DNA導入媒体など、特定の物質を細胞に送達する媒体としての応用が期待されている。一方、細胞内に存在する小胞としてガス小胞が知られており、ワクチン媒体や超音波画像法の造影剤としての応用が着目されている。しかし、このような小胞の生物学的機能や形成機構に関して未解明な部分が多く、上記応用のためにはそれらの理解が必要不可欠である。こうした背景から、細菌由来の小胞の生物工学的应用を最終目的とし、小胞の形成機構解明を目指して研究を遂行してきた。

1. 緑膿菌における膜小胞の特性と形成機構

1-1. 緑膿菌が形成する膜小胞の特性解析

緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* は環境中に多く存在する日和見感染菌であり、膜小胞を介して細菌間コミュニケーションや宿主細胞への毒素運搬を行っている。筆者らは緑膿菌をモデル微生物として、どのような組成の膜小胞がいつ形成されるのかを調べるために、各培養段階における膜小胞特性を解析した。その結果、各培養段階で異なるタンパク質構成の膜小胞が形成されていること、膜小胞には飽和脂肪酸が多く含有されることが明らかとなった¹⁻³⁾。

1-2. 膜間隙でのタンパク質蓄積による膜小胞形成亢進

緑膿菌における膜小胞形成機構を解明するために、表層を構成する因子の欠損株を作製して膜小胞形成への影響を解析した。外膜タンパク質Opr86は大腸菌BamAと相同性があり、外膜タンパク質のアセンブリに関与する。Opr86の発現低下株を作製したところ、膜小胞を過剰に放出することが見出された⁴⁾。さらに、ペリプラズムに存在するプロテアーゼMucDを欠損すると膜小胞形成が促進された⁵⁾。以上により、ペリプ

ラズムにアセンブリ不全のタンパク質が蓄積すると膜小胞形成が誘発される機構が示された(図1)。

1-3. 膜小胞形成を制御する化合物

細菌の膜小胞形成を制御するためには、その形成に影響を与える化合物の探索が必須である。緑膿菌が細胞外シグナル物質として利用している2-heptyl-3-hydroxyl-4-quinolone (*Pseudomonas* quinolone signal: PQS)は膜小胞に高濃度に存在することが既に知られていたが、このPQSは緑膿菌だけではなく、大腸菌や枯草菌など、グラム陰性・陽性問わず様々な細菌の膜小胞形成を誘発することが明らかとなった⁶⁾。この結果から、PQSはあらゆる微生物の膜小胞形成向上に適用可能な化合物であることが示された。一方、膜小胞を低下させる化合物を探索した結果、インドールなどの二環式化合物が緑膿菌のPQS合成を阻害し、膜小胞形成を抑制することが明らかとなった⁷⁾。

2. 膜小胞-微生物間相互作用の機構解明と選択的物質送達

膜小胞は微生物間情報伝達における物質運搬としての機能を有しているが、どの微生物が膜小胞を受け取るのかに関して十分な理解がなされていなかった。膜小胞形成量の多い細菌数十種における各細菌間相互作用を解析したところ、膜小胞が特定の細菌に選択的に物質を送達する現象が見出され、表面電位と粒子径が両粒子間の相互作用に重要であることが明らかになった。さらに、膜小胞に抗生物質を保持させることにより、特定の細菌を選択的に殺菌可能であることが示された。これらの結果により、微生物間相互作用の一端が明らかとなったのに加え、多種多様な微生物種を膜小胞により制御するDDSへの応用の可能性が示された⁸⁾。

3. 膜小胞の多様性解析と新規形状膜小胞の放出機構解明

従来まで細菌から放出される膜小胞の多様性は明らかになっていなかった。多くのグラム陰性細菌でペリプラズムに局在するTolBの欠損株を用いて膜小胞の応用研究が数多くされている。我々は*Buttiauxella agrestis* JCM 1090^T株が膜小胞過剰形成細菌であることを見出し、当菌株の*tolB*遺伝子欠損株における膜小胞の形状を解析した。その結果、粒子径の小さい小型膜小胞や、今までに報告例のない多重膜小胞ならびに多胞膜小胞を放出することが明らかとなった。そのようなユニークな膜小胞の形成機構を解明するために、急速凍結割断レプリカ電子顕微鏡法により細胞を観察したところ、細胞内部に小胞あるいは二重膜小胞が蓄積していることが明らかとなり、従来とは全く異なる膜小胞形成プロセスが示された(図2)⁹⁾。

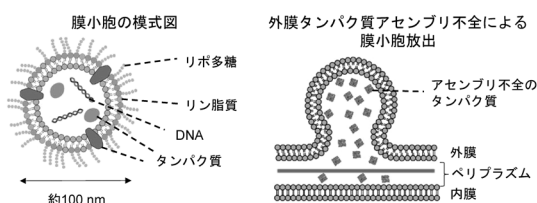


図1. 細菌が細胞外に放出する膜小胞

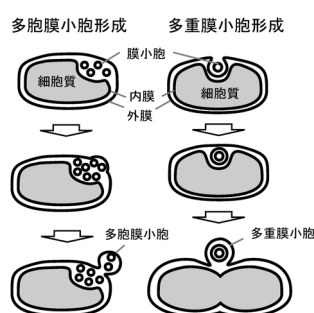


図2. 多胞膜小胞と多重膜小胞の形成モデル

4. 細胞内に蓄積するガス小胞の形成機構解明

ガス小胞はタンパク質殻で構成され、細胞質に溶出している気体を内部に蓄積した、原核細胞のオルガネラである。Serratia sp. 39006株は既知のガス小胞形成細菌とは異なる特徴を多数有しており、その形成機構は複雑と推測された。本研究では、遺伝子クラスターに存在する各遺伝子欠損株を作製し、小胞形成プロセスを解析した。その結果、当細菌のガス小胞形成にはクラスター中の11遺伝子の発現が必須であり、GvpA1が主要ガス小胞構成成分であることが示された。さらに、GvpNとGvpVが小型ガス小胞からの伸長に関与することが示され、様々な形状・特性のガス小胞を形成させることが可能となった(図3)¹⁰⁾。

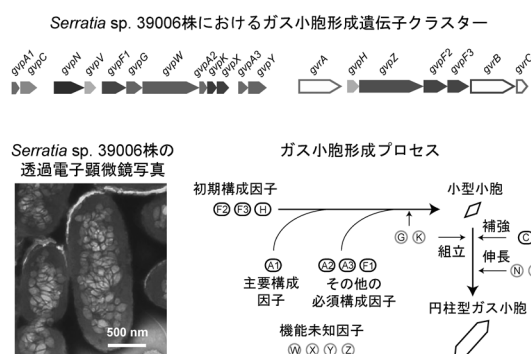


図3. セラチア菌におけるガス小胞形成

おわりに

本研究では、細菌の膜小胞やガス小胞の形成メカニズムの一端を示した。以上の成果は、細菌の生理学的機能解明といった基礎生物学に貢献するだけではなく、生体親和性ナノ粒子としてワクチンやDDSなどへの応用に繋がる知見である。特にナノ粒子解析技術は近年急速に発達しており、新たな技術と融合することでさらなる革新的な開発が今後進むと期待される。また、膜小胞やガス小胞のような複雑な構造をした生体親和性ナノ粒子は人工的に合成することが困難である。我々は数μmほどのサイズの細菌をナノ粒子製造装置と捉え、様々な改変型小胞の形成を可能にすることで、応用微生物学を基盤としたナノバイオテクノロジーを今後発展させていきたいと考えている。

(引用文献)

1) Tashiro Y, Ichikawa S, Shimizu M, Toyofuku M, Takaya N, Nakajima-Kambe T, Uchiyama H, Nomura N. Variation of physiochemical properties and cell association activity of membrane vesicles with growth phase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 3732-3739 (2010).

2) Tashiro Y, Inagaki A, Shimizu M, Ichikawa S, Takaya N, Nakajima-Kambe T, Uchiyama H, Nomura N. Characterization of phospholipids in membrane vesicles derived from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75, 605-607 (2011).

3) Tashiro Y, Uchiyama H, Nomura N. Multifunctional membrane vesicles in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ. Microbiol.*, 14, 1349-1362 (2012).

4) Tashiro Y, Nomura N, Nakao R, Senpuku H, Kariyama R, Kumon H, Kosono S, Watanabe H, Nakajima T, Uchiyama H. Opr86 is essential for viability and is a potential candidate for a protective antigen against biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, 190, 3969-3978 (2008).

5) Tashiro Y, Sakai R, Toyofuku M, Sawada I, Nakajima-Kambe T, Uchiyama H, Nomura N. Outer membrane machinery and alginate synthesis regulators control membrane vesicle production in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, 191, 7509-7519 (2009).

6) Tashiro Y, Ichikawa S, Nakajima-Kambe T, Uchiyama H, Nomura N. *Pseudomonas* quinolone signal affects membrane vesicle production in not only Gram-negative but also Gram-positive bacteria. *Microbes Environ.*, 25, 120-125 (2010).

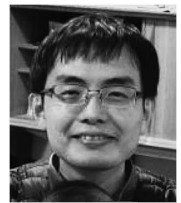
7) Tashiro Y, Toyofuku M, Nakajima-Kambe T, Uchiyama H, Nomura N. Bicyclic compounds repress membrane vesicle production and *Pseudomonas* quinolone signal synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 304, 123-130 (2010).

8) Tashiro Y, Hasegawa Y, Shintani M, Takaki K, Ohkuma M, Kimbara K, Futamata H. Interaction of bacterial membrane vesicles with specific species and their potential for delivery to target cells. *Front. Microbiol.*, 8, 571 (2017).

9) Takaki T, Tahara YO, Nakamichi N, Hasegawa Y, Shintani M, Ohkuma M, Miyata M, Futamata H, Tashiro Y. Multilamellar and multivesicular outer membrane vesicles produced by a *Buttiauxella agrestis tolB* mutant. *Appl. Environ. Microbiol.*, 86, e01131-20 (2020).

10) Tashiro Y, Monson RE, Ramsay JP, Salmond GP. Molecular genetic and physical analysis of gas vesicles in buoyant enterobacteria. *Environ. Microbiol.*, 18, 1264-1276 (2016).

謝 辞 本研究は、静岡大学大学院総合科学技術研究科、筑波大学大学院生命環境科学研究科、英国ケンブリッジ大学生化学科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、学生時代から今日に至るまで終始ご指導ご鞭撻を賜りました筑波大学名誉教授・内山裕夫先生、筑波大学生命環境系教授・野村暢彦先生に深く感謝申し上げます。また、静岡大学に着任してから、日頃より温かいお言葉とご助言を頂戴しました静岡大学グリーン科学技術研究所教授・二又裕之先生、同大学学術院工学領域教授・金原和秀先生、同准教授・新谷政己先生に厚く御礼申し上げます。北海道大学大学院工学研究院・岡部聡教授ならびにケンブリッジ大学生化学科・George Salmond教授には特別研究員時代に多くのご指導を賜り、研究者としての礎を築くことができました。筑波大学生命環境系准教授・豊福雅典先生、同助教・八幡穰先生には、学生時代から公私にわたり様々なご支援頂きました。また、本研究はここには全ての方のお名前を挙げる事ができないほど多くの共同研究者にご協力頂きました。さらに本研究成果の一部は、静岡大学の学生の皆様の努力の賜物であります。皆様に深く感謝申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦下さいました静岡大学静岡大学グリーン科学技術研究所教授・河岸洋和先生に厚く御礼申し上げます。



鹿児島大学農学部 二 神 泰 基

白麹菌のクエン酸高生産機構に関する研究

はじめに

焼酎造りに用いられる白麹菌 *Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii* は、清酒・味噌・醤油などの製造に用いられる黄麹菌 *Aspergillus oryzae* とは異なり多量のクエン酸を分泌生産する性質を持つ。クエン酸は、もろみの pH を下げることで雑菌汚染を防ぐ重要な役割がある。筆者らは、白麹菌のクエン酸高生産機構の解明を目的として研究を行った。そのために、まず白麹菌のゲノム解析を行い、遺伝子組換え実験系、並びにゲノム編集実験系を構築した。次に、これらの研究基盤を利用して、麹を造る工程におけるクエン酸の生産誘導機構の解析を行い、最終的にミトコンドリアと細胞膜のクエン酸輸送体が決定的な役割を担うことを明らかにした。以下に、その概要について述べる。

1. 麹造りにおいて温度低下が白麹菌のクエン酸生産を促進する機構

焼酎用の麹造りでは、発酵熱により約40℃程度まで上昇した温度を途中で30℃程度まで冷却して維持することで白麹菌のクエン酸生産を促進する(図1A)。この温度低下の工程は、クエン酸生産を促進することが経験的に分かっているために行われているが、その機構は不明であった。そこで、この温度低下が白麹菌の代謝に及ぼす影響をトランスクリプトーム解析とメタボローム解析により調べた。その結果、温度を下げることにより、解糖系から分岐するグリセロール合成系、トレハロース合成系、ペントースリン酸経路の代謝活動が減少し、解糖系からクエン酸回路へのカーボンフローが促進して、白麹菌のクエン酸生産が促進されることが明らかになった(図1B)。

2. 白麹菌のミトコンドリア局在型クエン酸輸送体

2-1. ミトコンドリア局在型クエン酸輸送体の活性

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のクエン酸-リンゴ酸交換輸送体 Ctp1 とリンゴ酸-オキソグルタル酸交換輸送体 Yhm2 のホモログとして、白麹菌のミトコンドリア局在型クエン酸輸送体 CtpA と YhmA を同定した(図2)。なお、白麹菌などの

Aspergillus 属糸状菌を含む子囊菌門のチャワンタケ亜門において、*yhmA* 遺伝子はクエン酸シンターゼ遺伝子のすぐ隣に保存されていた。

白麹菌の CtpA と YhmA がクエン酸輸送活性を示すのかを精製タンパク質の酵素活性測定で評価した。まず、白麹菌を宿主として RNase A 由来の S ペプチドをタグとして融合した CtpA と YhmA を発現する株を構築し、アフィニティー精製を行った。この精製タンパク質でプロテオリボソームを調製し、その際に対向基質として各種の有機酸を内包させた。この基質内包型プロテオリボソームに外から¹⁴C 標識クエン酸を作用させることで、対向基質との交換輸送によってプロテオリボソーム内に取り込まれる¹⁴C 標識クエン酸の量を測定した。その結果、CtpA と YhmA はそれぞれ出芽酵母の Ctp1 と Yhm2 と同様にクエン酸-リンゴ酸交換輸送活性とクエン酸-オキソグルタル酸輸送活性を示すことが確認された。また、細胞内の有機酸濃度のデータと合わせて、YhmA に関してはクエン酸-リンゴ酸交換輸送も行う可能性が示唆された。

2-2. ミトコンドリアから細胞質へのクエン酸排出の意義

白麹菌において *ctpA* と *yhmA* を破壊すると、各単独遺伝子破壊株のクエン酸生産能が低下し、CtpA と YhmA がクエン酸生産に必要なことが明らかになった。続いて、*ctpA* と *yhmA* の二重破壊株の構築を試みたが取得できなかったため、*yhmA* 破壊株を背景とする *ctpA* のコンディショナル発現株を構築した。本株は、*ctpA* の発現を抑制すると菌糸伸長が極端に抑制されたことから *ctpA* と *yhmA* の二重破壊は合成致死となることが示唆された。一方、出芽酵母の *ctp1* と *yhm2* の二重破壊は生育にほとんど影響はなく、合成致死にならないという異なる表現型が見られた。これは、白麹菌と出芽酵母の細胞質のアセチル CoA 合成経路の違いが原因であることが明らかになった。細胞質において、出芽酵母では、解糖系の産物のピルビン酸からアセトアルデヒドと酢酸を経てアセチル CoA が作られるのに対して、白麹菌では ATP クエン酸リアーゼによ

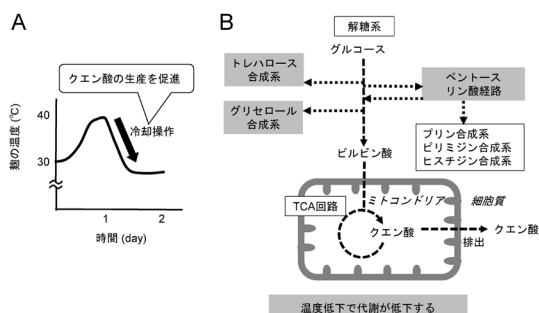


図1. 焼酎用の麹造りの温度管理 (A) と代謝変化 (B)

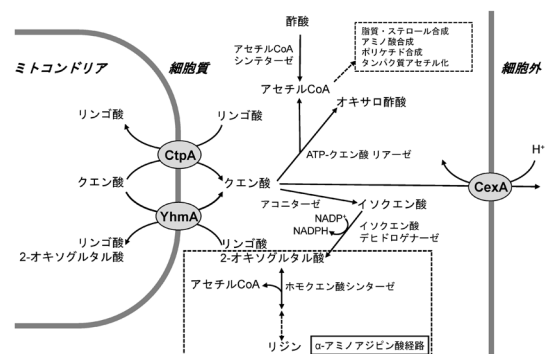


図2. 白麹菌におけるクエン酸の排出プロセス

リクエン酸からアセチル CoA が作られる (図2). アセチル CoA は脂質やアミノ酸などの様々な物質の合成に使われる重要な化合物であり, 白麹菌において *ctpA* と *yhmA* を二重破壊すると, 細胞質のクエン酸濃度が低下することによってアセチル CoA の枯渇を引き起こし, 合成致死になると考えられた. そこで, 白麹菌の *yhmA* 破壊株を背景とする *ctpA* のコンディショナル発現株において *ctpA* の発現を抑制した状態でもアセチル CoA を供給できる酢酸やリジンの存在下では細胞内のアセチル CoA 濃度が回復し, 生育可能になることを確認した.

3. 白麹菌の細胞膜局在型クエン酸輸送体

3-1. 菌体外へのクエン酸排出は高生産の鍵である

白麹菌において細胞膜局在型クエン酸輸送体を探索した. しかし, *Aspergillus niger* を研究する Odoni らと Steiger らが細胞膜局在型クエン酸輸送体 CexA を報告し, 筆者らも白麹菌において CexA を解析した (図2). 白麹菌において *cexA* の破壊と過剰発現がクエン酸生産に及ぼす影響を調べた結果, 白麹菌の *cexA* 破壊株はクエン酸生産能力が劇的に低下し, 一方, *cexA* 過剰発現株はクエン酸生産量の上昇が見られた. 以上より, 白麹菌において CexA は主要な細胞膜局在型クエン酸輸送体であること, 白麹菌のクエン酸生産において CexA による排出ステップが律速であることが示唆された. また, 黄麹菌において白麹菌の *cexA* を高発現させたところ黄麹菌において白麹菌と同程度のクエン酸生産能力が認められた. さらに, 黄麹菌のゲノムにもクエン酸輸送体遺伝子 *cexA* と *cexB* の2つを確認し, これらの遺伝子を強制発現させることで白麹菌の半分程度のクエン酸分泌生産能力を付与できた.

3-2. 細胞膜局在クエン酸輸送体の発現制御

白麹菌のエピジェネティックな有用物質生産制御機構の理解を目的として, 推定メチルトランスフェラーゼをコードする *LaeA* について解析した. 白麹菌の *laeA* 破壊株は, クエン酸生産が劇的に減少した. そこで, *laeA* の破壊が遺伝子発現に及ぼした影響を Cap Analysis of Gene Expression により解析した結果, 細胞膜局在型クエン酸輸送体をコードする *cexA* 遺伝子の発現レベルが低下していることが分かった. そこで, *laeA* 破壊株と *cexA* 破壊株において *cexA* を *LaeA* の制御下がない *gpdA* プロモーターで過剰発現させたところ, 両株とも同程度のクエン酸生産能力まで回復した. このことから *cexA* の発現低下が *laeA* 破壊株におけるクエン酸低生産の主要な原因であることが明らかになった.

LaeA の詳細な機能はまだ不明であるが, ヒストンのメチル化修飾を介した遺伝子発現調節に関わると推定されている (図3). そこで抗メチル化ヒストン抗体を用いたクロマチン免疫沈降および定量PCR解析により *cexA* プロモーター領域に結合するヒストンの状態を調べた. その結果, *laeA* 破壊株の *cexA* プロモーター領域はユークロマチンの指標となるヒストン H3K4me3 の占有率が減少し, ヘテロクロマチンの指標となるヒストン H3K9me3 の占有率が増加していた. 以上の結果より, 直接的か間接的かは不明ではあるが, *LaeA* は白麹菌において *cexA* プロモーター領域のクロマチン構造の開閉に関わっており, クエン酸生産を制御することが明らかになった.

なお, 白麹造りに関してクエン酸生産を促進する温度低下時のトランスクリプトームでは, *cexA* の発現は温度に依存せず,

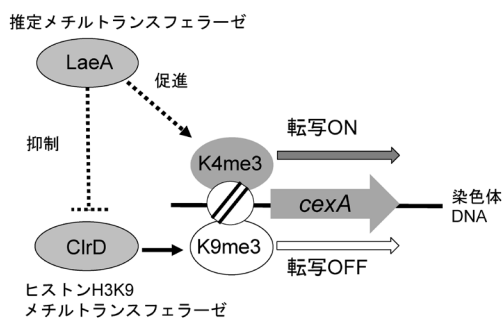


図3. 細胞膜局在型クエン酸輸送体遺伝子 *cexA* のエピジェネティックな制御モデル

常に高いレベルで発現していることが分かった. 一方, 温度低下により発現上昇する遺伝子の中にはミトコンドリア局在型クエン酸輸送体をコードする *ctpA* と *yhmA* が含まれており, これらの2遺伝子の発現上昇は麹造りの温度低下時にクエン酸生産が促進される現象に関与していると考えられた.

おわりに

焼酎の製造に用いられる白麹菌において, 麹造りで温度低下によりクエン酸生産が促進される要因, およびクエン酸の分泌生産に必須のクエン酸輸送体を明らかにした. ミトコンドリア局在型クエン酸輸送体 *CtpA* と *YhmA* に関する知見は, 細胞質のアセチル CoA を必要とする脂質, ポリケチドなどの二次代謝物の生産への利用が期待される. また, 細胞膜局在型クエン酸輸送体 *CexA* に関する知見は, 細胞外への物質排出が極めて重要であることを示しており, 有用物質生産における輸送体をターゲットとした育種戦略への活用が期待される.

謝 辞 本研究は, 鹿児島大学農学部附属焼酎・発酵学教育研究センター醸造微生物学研究室, および九州大学大学院農学研究未来創成微生物学寄附講座において行われたものです. 学生時代から今日に至るまで, 多大なご指導とご支援を賜りました九州大学・別府大学名誉教授・古川謙介先生, ならびに佐賀大学教授・後藤正利先生に心から感謝申し上げます. また, 未来創成微生物学寄附講座において研究のご支援を賜りました九州大学教授・竹川薫先生, 同名誉教授・久原哲先生, 同准教授・田代康介先生, 森一樹博士, 酒類総合研究所・山田修先生, 三和酒類(株)・高下秀春博士, 梶原康博博士, 林圭氏に心から感謝申し上げます. 共同研究者として多大なご助力を頂きました海洋研究開発機構上席研究員・稲垣史生博士, 同主任研究員・諸野祐樹博士, 京都大学研究員・河合幹彦博士, 崇城大学教授・岡拓二先生, 滋賀県立大学講師・泉津弘佑先生, 鹿児島大学客員教授・鮫島吉廣先生, 同教授・高峯和則先生, 同准教授・吉崎由美子先生, 同助教・奥津果優先生, (株)ビオック・白石洋平博士に心から感謝申し上げます. また, 九州大学発酵化学研究室の多くの先輩, 同期生, 後輩, ならびに門岡千尋博士をはじめとする鹿児島大学醸造微生物学研究室の卒業生, 在校生に心より感謝いたします. 全ての方のお名前を挙げることはできませんが, 多くの共同研究者の先生方より貴重なご意見・ご助言を賜りました. 皆様に御礼申し上げます. 最後に本奨励賞にご推薦くださり, 日頃より暖かいご助言を頂きました鹿児島大学教授・玉置尚徳先生に厚く御礼を申し上げます.



島根大学生物資源科学部生命科学科准教授 丸 田 隆 典

植物環境順応におけるアスコルビン酸と活性酸素種の相互作用に関する研究

はじめに

移動の自由を持たない植物は常に環境変化（ストレス）に曝されている。ストレス条件では光合成などの一次代謝が攪乱され、その結果として活性酸素種（ROS）の生成が高まり、酸化障害の引き金となる。一方、ROSは防御遺伝子の発現やプログラム細胞死を制御するシグナルとしても重要な機能をもつ。ROSの細胞毒性作用とシグナル機能のバランスは抗酸化システムによって制御されており、特に中心的な役割を果たすのがアスコルビン酸である。植物は独自のアスコルビン酸生合成、利用および再生機構を進化過程で獲得し、当該分子の高蓄積と優れたレドックスバッファーとしての利用を可能にしてきた。アスコルビン酸とROSの相互作用は植物の環境順応の根幹を担っており、その分子機構の解明は食糧増産や環境問題解決にも繋がると思われる。

そこで筆者らは、主にモデル植物のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いてアスコルビン酸代謝の分子機構や生理学的意義について、特に同代謝によるROS作用のバランス制御への観点から明らかにしてきたので、以下にその概要を紹介する。

1. アスコルビン酸生合成および再生の分子制御機構

1-1. アスコルビン酸および光による生合成の制御

動物や微生物とは異なり、植物はL-ガラクトースを中間体とする独自経路（Smirnoff経路）によりアスコルビン酸を合成する。本経路の出発段階を触媒するホスホマンノースイソメラーゼ（PMI）を植物から初めて同定し、アスコルビン酸による同酵素の阻害を介したSmirnoff経路のフィードバック調節機構を明らかにした。また、Smirnoff経路の律速段階がGDP-L-ガラクトースホスホリラーゼ（VTC2）反応であることを遺伝学的に証明し、VTC2遺伝子の発現が光および光合成依存的なシグナル伝達経路によって調節されることを見出した（図1）。

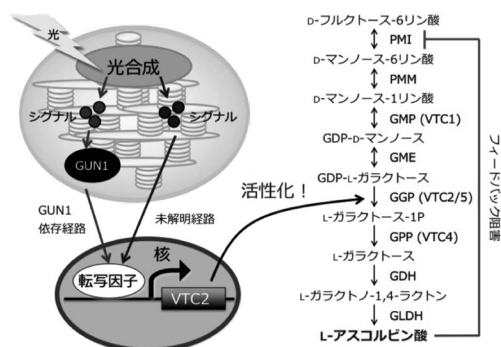


図1. 植物のアスコルビン酸生合成の分子機構と調節

1-2. 再生の仕組みと環境順応

アスコルビン酸は、その抗酸化反応の結果として酸化型のモノデヒドロアスコルビン酸（MDHA）およびデヒドロアスコルビン酸（DHA）となる。植物はそれぞれの酸化型に対する還元酵素（MDAR および DHAR）を独自に有する。これらのアイソフォームは各細胞内区画に効果的に配置され、高濃度で存在するアスコルビン酸の維持に重要であると考えられていた。in vitro生育条件（培地）では、主要アイソフォームの欠損株においてアスコルビン酸濃度の低下とストレス感受性の増大が認められたが、生理学的な in vivo生育条件（土耕）では影響が見られなかった。そのため、再生酵素の機能を相補しうる仕組みの存在について検討し、還元型グルタチオン（GSH）による非酵素的なDHA還元とDHAR酵素反応の協働が還元型アスコルビン酸の維持とストレス耐性に不可欠であること、さらに生合成と再生の両方がストレス下でのアスコルビン酸高蓄積を可能にしていることを初めて明らかにした。

2. アスコルビン酸ペルオキシダーゼの生理機能

2-1. アスコルビン酸ペルオキシダーゼの獲得と進化

アスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）は真核光合成生物に特有のH₂O₂消去酵素であり、電子供与体としてアスコルビン酸を用いる。高等植物には複数のアイソフォームが存在し、細胞質、ミトコンドリア、ペルオキシソームおよび葉緑体のストロマとチラコイド膜上にそれぞれ局在する（図2）。ゲノムワイドな解析により、緑色植物における最初のAPXはストロマ型（sAPX）として単細胞真核藻類で出現し、チラコイド膜型（tAPX）を含む他のアイソフォームは、陸上植物に近縁である淡水性のシャジクモで一斉に獲得されたことが示された（図2）。陸上植物では全アイソフォームが高度に保存されていることから、APXのマルチアイソフォーム化は植物の陸上進出に重要であったと考えられた。

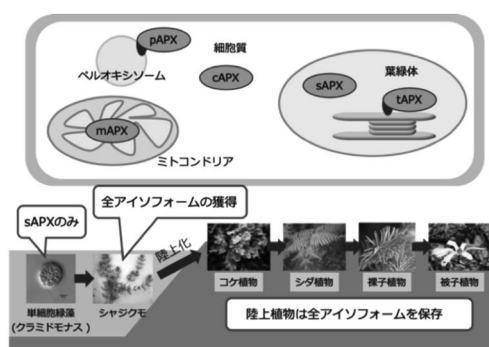


図2. 進化過程におけるAPXアイソフォームの獲得

2.2. 細胞質型の生理機能

APX アイソフォームの中で、細胞質型 (cAPX) の発現はストレス応答性であり、光合成電子伝達系のレドックス状態に由来する葉緑体から核への逆行性シグナルにより調節されることを明らかにした。また、このシグナル伝達経路では熱ショック転写因子が cAPX 発現制御に重要な役割を担うことを見出した。遺伝子欠損株を用いた解析から、cAPX は細胞全体の H_2O_2 バッファーとしてオルガネラの保護に重要であり、物理的傷害などの種々のストレス耐性に不可欠であることを明らかにした。

2.3. 葉緑体型の生理機能

葉緑体型 (sAPX および tAPX) の機能は光合成電子伝達系と共役する。過剰な光エネルギー存在下では、チラコイド膜の光合成電子伝達系より大量の ROS が生成されるため、sAPX および tAPX 欠損株の強光ストレス耐性について調べた。その結果、sAPX または tAPX の欠損により、強光条件における H_2O_2 および酸化タンパク質の蓄積が顕著となり、酸化ストレスマーカーであるグルタチオンの増加も亢進された。これらのレドックス異常は光合成電子伝達活性の阻害と一致したことから、葉緑体型 APX の強光耐性への生理学的重要性が示された。

3. アスコルビン酸代謝による H_2O_2 シグナル伝達系の制御

ROS, 特に H_2O_2 はシグナルとして核コード遺伝子の発現を制御する。光合成組織における主要な H_2O_2 の発生源は葉緑体 (光合成) であることから、葉緑体型 APX は光合成由来の H_2O_2 シグナル制御に関与すると予期された。このアイデアを詳細に検討するために、エストロゲン誘導性 RNAi 法によって tAPX の発現を抑制する形質転換株を作出した。これにより、ストレス処理を必要とせず、葉緑体内の H_2O_2 レベルをコンディショナルに増加させることが可能となった。tAPX のコンディショナルな発現抑制に伴い、葉緑体タンパク質の酸化修飾が亢進することが確認され、さらに 774 個もの核コード遺伝子の発現量に有意な変化が認められた。興味深いことに、同定した遺伝子群は既知の酸化ストレス応答性遺伝子を含んでおらず、耐病性やホルモン応答に関与する遺伝子で構成されていた。したがって、葉緑体由来の H_2O_2 は核への逆行性シグナルとして特異的な役割を担うこと、その制御に APX が重要であることが明らかになった。

また、葉緑体 H_2O_2 シグナル伝達の分子機構および生理学的意義を追求するために、上記 774 遺伝子の欠損株ラインから酸化ストレス感受性が増大または低下する変異株を選抜した。その原因遺伝子の詳細な機能解析により、葉緑体 H_2O_2 の下流で耐病性関連遺伝子の発現を調節する TGA 転写因子を同定するとともに、同シグナル伝達系が γ -アミノ酪酸 (GABA) やアントシアニンの合成を促進することで、酸化ストレス防御に貢献することなどを明らかにした (図3)。

おわりに

本研究により、植物のアスコルビン酸代謝の基本メカニズムが明確化され、生理学的意義の理解も大きく進展した。植物は独自の生合成および再生系を獲得することによって、アスコルビン酸を高蓄積することが可能になった。また、APX の獲得

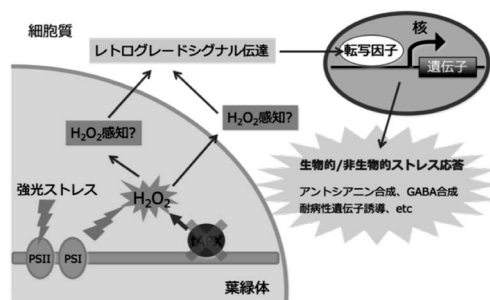


図3. 葉緑体由来の H_2O_2 シグナル伝達機構

により当該化合物の抗酸化剤としてのポテンシャルが飛躍的に高められた。アスコルビン酸代謝系の「ROS制御能力」は、ROSの細胞毒性作用をできるだけ排除し、シグナルとして有効活用する上で極めて重要であることがわかってきた。

アスコルビン酸は我々ヒトの健康を維持する上で不可欠な栄養素であるため、アスコルビン酸代謝系の改変は農作物の環境ストレス耐性能および栄養価の両方を底上げするポテンシャルを秘めている。これを達成するために未解決の課題の一つは、アスコルビン酸代謝系の強化がROSのシグナル機能に及ぼす影響である。ROS消去能力を飛躍的に高めることで、ROSシグナルの必要量を維持できず、環境ストレス耐性や成長などに悪影響をもたらす可能性があるかもしれない。また現在、筆者らの研究を中心として、アスコルビン酸の分解産物の潜在的な毒性が示唆されつつある。今後、これらの課題に特に注目し、アスコルビン酸-ROSの相互作用を介した植物の環境順応機構をより詳細に明らかにすることで、植物代謝生理学の観点から農芸化学の発展に貢献したい。

謝 辞 本研究は近畿大学農学部 (植物分子生理学研究室) および島根大学生物資源科学部 (生物化学研究室) で行われたものです。まず、研究者になるきっかけを与えていただき、公私にわたってご指導、ご鞭撻を賜り、さらに本奨励賞にご推薦くださいました重岡 成先生 (近畿大学教授) に心より感謝申し上げます。また、温かいご指導とサポートを賜りました石川孝博先生 (島根大学教授)、澤 嘉弘先生 (島根大学名誉教授)、(故)柴田 均先生 (島根大学名誉教授)、常日頃より激励をいただいた川向 誠先生 (島根大学教授)、研究の楽しみ方を深く魅せてくださったFrank Van Breusegem先生 (ゲント大学教授) に心より感謝いたします。すべてのお名前を挙げることはできませんが、日頃からご支援を賜りました島根大学生物資源科学部生命科学科、日本農芸化学会中四国支部の先生方、ならびに共同研究を実施してくださった他大学の研究者の皆様には厚く御礼申し上げます。最後に、これまでに所属した研究室において共同研究者として多大なご協力をいただきました薮田行哲博士 (現鳥取大学)、野志昌弘博士、小川貴央博士 (現島根大学)、横井彩子博士 (現農研機構)、田部記章博士、吉村和也博士 (現中部大学)、田茂井政宏博士 (近畿大学)、Amna Mhamdi博士 (ゲント大学)、Pavel Kerchev博士 (現メンデル大学プルノ)、ならびに本研究を支えてくれた全ての学生諸氏に感謝申し上げます。



タンパク質栄養状態の悪化によって稼働する肝脂質蓄積機構に関する研究

お茶の水女子大学ヒューマンライフイノベーション研究所 豊 島 由 香

はじめに

動物は、栄養状態の変化に応じて、体内の物質代謝を調節して、恒常性を維持している。

「タンパク質栄養状態の悪化」とは、必要な量のタンパク質やアミノ酸を摂取できていない状態のことである。タンパク質栄養状態が悪化すると、肝臓に過剰な中性脂肪 (TG) が蓄積して脂肪肝になることが知られている。この現象は、肝臓からの TG の放出が抑制されるために起こると考えられていた^{1,2)}。しかし、近年、タンパク質栄養状態の悪化による脂肪肝の形成には、肝臓におけるインスリンの細胞内シグナルの変化やそれを介した物質代謝の変化が関与していることがわかってきた。

ここでは、摂取するタンパク質の量の不足によって肝臓に過剰な脂質蓄積が起こるメカニズムについて、我々が検討して得た知見について紹介する。

1. タンパク質栄養状態の悪化によって起こる肝臓のインスリンシグナル増強と脂質蓄積

1-1. タンパク質栄養状態の悪化によって肝臓のインスリンシグナルが増強する

タンパク質栄養状態が悪化すると、インスリンの感受性が上昇する。我々は、体内のどの臓器でインスリン感受性が上昇するかを明らかにするために、無タンパク質食もしくは低タンパク質食を摂取させたラットを用いて、インスリンの標的臓器における細胞内シグナルの変化を検討した。

一般に、インスリンは細胞膜上の受容体に結合すると、受容体が活性化し、これがインスリン受容体基質 (IRS) をチロシンリン酸化する。引き続き、チロシンリン酸化された IRS に PI3 キナーゼ (PI3K) p85 制御サブユニットが結合することで、PI3K 経路が活性化され、インスリン特有の生理作用を発揮する。

検討の結果、対照食摂取ラットの肝臓と比べて、無タンパク質食もしくは低タンパク質食摂取ラットの肝臓では、IRS-1 および IRS-2 の量が増加し、インスリン刺激に応答したこれらのチロシンリン酸化、PI3K p85 制御サブユニットとの結合量が増加していた。特に、IRS-2 のチロシンリン酸化、PI3K p85 制御サブユニットとの結合量は、インスリン無刺激時の定常状態においても増加していた。さらに、PI3K の下流に存在する、Akt や S6K などのインスリン依存的なリン酸化も増加していた³⁻⁵⁾。

これらの結果から、タンパク質栄養状態の悪化は肝臓のインスリンシグナルを増強させることが明らかとなった。

1-2. タンパク質栄養状態の悪化によって肝臓の脂質合成が促進する

インスリンには、肝臓で脂質合成を促進させる働きがある。したがって、タンパク質栄養状態が悪化した際に起こる肝 TG

量の増加に、肝臓インスリンシグナルの増強による脂質合成の促進が関与しているのではないかと考えられた。そこで、低タンパク質食摂取ラット由来の肝細胞を用いて、インスリン刺激に応答した脂質合成活性の変化を検討した。まず、脂質合成調節酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼ 1 (ACC1) や脂肪酸合成酵素 (FAS) の mRNA 量を測定した。これらの mRNA 量は、インスリン刺激によって増加することが知られている。検討の結果、対照食摂取ラットと低タンパク質食摂取ラットのいずれの肝細胞においても、ACC1 と FAS の mRNA 量は、インスリン刺激依存的に増加した。しかし、これらは、インスリン刺激の有無に関わらず、両群間で差は観察されなかった⁵⁾。また、これらのタンパク質量は、対照食摂取ラットの肝細胞に比べて、低タンパク質食摂取ラットの肝細胞で増加していたが、両群ともにインスリン刺激によって増加しなかった⁵⁾。さらに、単位時間当たりの TG 合成量を測定した。その結果、対照食摂取ラットの肝細胞に比べて、低タンパク質食摂取ラットの肝細胞で、単位時間当たりの TG 合成量は多かったが、両群ともにインスリン刺激によって増加しなかった⁵⁾。これらの結果から、低タンパク質食摂取ラットの肝臓では、インスリン刺激の有無に関わらず、TG 合成が促進することが明らかとなった。

以上の結果をまとめると、タンパク質栄養状態の悪化によって起こる肝臓での IRS 量の増加やインスリンシグナルの増強が、インスリン刺激の有無にかかわらず、TG 合成を促進させて、肝臓に脂質を蓄積させると考えられた。

2. タンパク質栄養状態の悪化によって起こる肝臓の 4E-BP1 量増加と脂質蓄積

タンパク質栄養状態の悪化が肝臓のインスリンシグナルに及ぼす影響を検討する過程で、低タンパク質食を与えたラットの肝臓で翻訳抑制因子 4E-BP1 (eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1) の量が増加することを見出した^{3,4)}。

一般的に、4E-BP1 は、翻訳開始因子 eIF4E と複合体を形成し、タンパク質翻訳を抑制する。また、4E-BP1 は mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1) の基質であり、活性化された mTORC1 によってリン酸化されると、eIF4E から解離して、タンパク質翻訳を活性化する。つまり、mTORC1-4E-BP1 経路はタンパク質合成を翻訳開始段階で調節する。ところが、近年、4E-BP1 を含めた mTORC1 経路がタンパク質代謝だけでなく、糖・脂質代謝を調節することが注目され始めてきた。

そこで、低タンパク質食摂取ラットの肝臓で起こる 4E-BP1 量の増加が肝 TG 量の増加に直接的に関与しているか調べるために、*4e-bp1* に対する shRNA を発現するアデノウイルスを作

製し、これを尾静脈より投与して、肝臓の4E-BP1をノックダウンしたラットを用意した。そして、このラットに低タンパク質食を与えた際の肝TG量の変化を検討した。その結果、肝4E-BP1をノックダウンしたラットでは、正常ラットと比べて、低タンパク質食によって起こる肝TG量の増加が抑えられた⁶⁾。したがって、タンパク質栄養状態が悪化した際に起こる肝TG量の増加には、肝4E-BP1量の増加が必要であることが明らかとなった。

また、この4E-BP1を介した肝TG量の調節機構に、どのような脂質代謝調節因子が関わっているか検討した。その結果、脂肪酸酸化の調節酵素であるCPT1A (carnitine palmitoyl-transferase 1A) 量が、低タンパク質食と4E-BP1ノックダウンの両方の影響を受けて変化し、低タンパク質食を与えた肝4E-BP1ノックダウンラットの肝臓で増加していた。そして、この増加はmRNAレベルではなく、タンパク質レベルで起こっていた⁶⁾。これらの結果から、タンパク質栄養状態の悪化にตอบสนองして肝臓では脂肪酸酸化が抑制されること、そのメカニズムには4E-BP1による翻訳調節が関与することが考えられた。

一連の知見は、肝臓において、4E-BP1がタンパク質・アミノ酸の栄養シグナルと脂質代謝とを結びつける重要な因子であることを示唆している。

おわりに

以上の研究成果を総合して、「タンパク質栄養状態が悪化すると、肝臓では、IRSや4E-BP1量の増加を介した糖・脂質代謝調節システムが働く。特に4E-BP1を介した調節では、特定のタンパク質の量が翻訳抑制を受けて減少し、糖・脂質代謝が変動する。その結果、肝臓に脂質が蓄積する」といったタンパク質栄養状態の悪化にตอบสนองした肝脂質蓄積機構の仮説を立てるに至っている(図1)。

脂肪肝は、生活習慣病の発症リスクを高める要因の一つである。脂肪肝の症例は、過栄養による肥満を伴っているものが多

いが、肥満を伴わない脂肪肝の症例数も少なくなく、その原因の一つは、必要な栄養素を十分に摂取できていない低栄養である。低栄養は、現代の我が国の健康問題の一つであり、特に高齢者の間で問題となっている。過栄養による脂肪肝の発症機序に加えて、タンパク質栄養状態の悪化に着目した研究を含めた、低栄養による脂肪肝の形成機構に関する知見が増えれば、生活習慣病の治療法・予防法の確立に貢献するだけでなく、超高齢化社会における健康寿命延伸のためにも役立つと考えている。

(引用文献)

- 1) Truswell AS, Hansen JD, Watson CE, Wannenburg P. Relation of serum lipids and lipoproteins to fatty liver in kwashiorkor, *Am J Clin Nutr*, 22, 568-576 (1969)
- 2) Flores H, Pak N, Maccioni A, Monckeberg F. Lipid transport in kwashiorkor, *Br J Nutr*, 24, 1005-1011 (1970)
- 3) Toyoshima Y, Tokita R, Ohne Y, Hakuno F, Noguchi T, Minami S, Kato H, Takahashi S. Dietary protein deprivation up-regulates insulin signaling and inhibits gluconeogenesis in rat liver, *J Mol Endocrinol*, 45, 329-340 (2010)
- 4) Toyoshima Y, Tokita R, Taguchi Y, Akiyama-Akanishi N, Takenaka A, Kato H, Chida K, Hakuno F, Minami S, Takahashi S. Tissue-specific effects of protein malnutrition on insulin signaling pathway and lipid accumulation in growing rats, *Endocr J*, 61, 499-512 (2014)
- 5) Taguchi Y, Toyoshima Y, Tokita R, Kato H, Takahashi SI, Minami S. Triglyceride synthesis in hepatocytes isolated from rats fed a low-protein diet is enhanced independently of up-regulation of insulin signaling, *Biochem Biophys Res Commun*, 490, 800-805 (2017)
- 6) Toyoshima Y, Yoshizawa F, Tokita R, Taguchi Y, Takahashi SI, Kato H, Minami S. A translation repressor, 4E-BP1, regulates the triglyceride level in rat liver during protein deprivation, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 318, E636-E645 (2020)

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科学専攻栄養化学研究室で始められたものであります。本研究で得られた成果の大部分は、東京大学大学院農学生命科学研究科と日本医科大学先端医学研究所で行われたものであります。学生時代から現在に至るまでご指導くださいました加藤久典特任教授(東京大学大学院農学生命科学研究科)、高橋伸一郎教授(東京大学大学院農学生命科学研究科)に心より感謝申し上げます。また、ウイルスを用いたラットへの遺伝子導入実験を立ち上げるにあたり、共に戦ってくださった南史朗名誉教授、田口雄亮博士、八木孝博士、時田玲子氏、大木佳奈子氏(日本医科大学先端医学研究所)に深く感謝申し上げます。さらに、本研究に多大なるご助力・ご助言を賜りました竹中麻子教授(明治大学農学部)、吉澤史昭教授(宇都宮大学農学部)、伯野史彦助教(東京大学大学院農学生命科学研究科)に厚く御礼申し上げます。最後に、今回の受賞に際し、ご推薦くださいました藤原葉子教授(お茶の水女子大学基幹研究院自然科学系)をはじめ、選考委員の先生方ならびに関係各所の先生方に厚く御礼申し上げます。

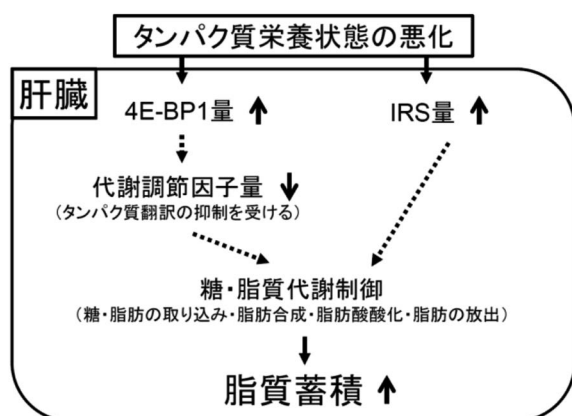
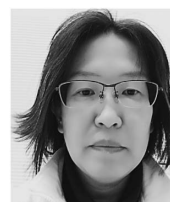


図1. タンパク質栄養状態の悪化によって稼働する肝脂質蓄積機構(作業仮説)



秋田県立大学生物資源科学部 藤田直子

イネの澱粉生合成メカニズムの解明から機能性や異なる食感を付与した米品種の開発

はじめに

澱粉は、植物科学の根幹であり、食糧として最も重要な炭水化物源である。筆者は、これまでイネを材料に澱粉生合成メカニズムの解明に取り組んできた。澱粉生合成に関与する酵素の変異体を多数単離・収集し、それらの澱粉構造や物性等を野生型と綿密に比較することで、各酵素の機能解明が飛躍的に進み、澱粉の主成分であるアミロペクチンの生合成モデルにつながった。一方で、変異体の中には、通常の米とはその澱粉の性質が全く異なるものがあった。筆者はこれらを品種改良することで、機能性や異なる食感を付与した新しい米品種の開発につなげ、自ら立ち上げた大学発ベンチャーによる実用化と普及を目指している。本要旨では、その概要について述べる。

1. 我が国の医療と農業の大きな問題

日本人の5人に1人は糖尿病かその予備軍であると言われ、男女を問わず現在も増加傾向にある。糖尿病は、それらが初発となってさまざまな病気を引き起こし、寿命を低下させる大きな要因となる生活習慣病の代表格である。糖尿病やその予備軍には、糖質制限が有効と考えられており、近年、ストレスがなるべく少なく糖質制限できる商品開発が盛んに行われている。一方、農業に目を向けると、日本人の食生活は欧米化し、多様化したことに加え、糖質制限からくるいわゆる炭水化物ダイエット等ブームにより、我が国における米の需要は、50年前と比べると半分以上となっている。このような背景から、稲作農家は後継者不足や補助金制度の改定とともに、曲がり角を迎えている。農水省や各県等の試験場では、極良食味米がプレミアム米として数多く育成されているが、これらによっても米の需要低下に歯止めはかけられていないのが現状である。

2. 変異体米から品種へ

我が国が上記のように医療と農業の大きな問題を抱える中で、筆者は機能性や通常の米と食感が異なる性質を持つユニークな米品種の開発を行ってきた。筆者は、これまで一貫して米澱粉の生合成メカニズムの解明を行ってきた。澱粉生合成には、多数の酵素が関与しており、それらの遺伝子が欠損した変異体米を単離、収集し、野生型と比較することで各酵素の機能解明を目指してきた。胚乳で発現する酵素の機能はこの20年でかなり解明された¹⁾。一方、多数の澱粉生合成関連酵素の変異体米の中には、通常的主食用米とは澱粉の性質が激変しているものも存在し、筆者らはこれらユニークな澱粉を胚乳に蓄積する変異体米の実用化、品種化を行ってきた。

2-1. 「あきたばらり」、「あきたささり」の育成

筆者らがまず着目した変異体は、スターチシンターゼ (SS) IIIa が欠損した *ss3a* 変異体であった。この変異体は、SSIIIa の欠損により、SSI と澱粉粒結合型 (GB) SSI の発現が促進され、アミロペクチンの長鎖が減少し、アミロース含量が増加し

ていることが明らかになり、SSIIIa の機能は、アミロペクチンの長鎖を伸長することが明らかとなった²⁾。当時、実験圃場で栽培した少量のこの変異体米を炊飯して食べてみたところ、「あきたこまち」などと比べてばさばさしていて、とても美味しいものとは思えなかった。一方、白ご飯よりはピラフやせんべいのように、パラパラ、カリカリ食感が求められる調理法がこの米には向いていることが後に明らかになってきた。従って、2010年ごろから、秋田県農業試験場や国際農林水産業研究センターにご協力いただきながら、「日本晴」由来であった *ss3a* 変異体を「あきたこまち」や超多収品種の「秋田63号」と戻し交配することで品種育成を始めた。戻し交配の回数を増やすごとに、種子重量や収量は増大し³⁾、開花日等の農業形質も改善した。3回戻し交配し、系統選抜ののちに確立した系統が、それぞれ「あきたばらり」と「あきたささり」である。これらは、2018年9月に品種登録出願（それぞれ第33353号および第33352号）を済ませ、2019年1月に出願公表された。

「あきたばらり」は、農業形質は「あきたこまち」と類似しているがアミロース含量が「あきたこまち」より10%高く、炊飯米はパラパラ食感が特徴である。ピラフ、チャーハン、リゾット、パエリア、カレーなどに適している。パラパラ食感といえ、インディカ米が連想されるが、我々の米はインディカ米の遺伝子が入っていない純ジャポニカ系で、栽培特性も「あきたこまち」と類似し、食味も日本人好みである。「あきたささり」は、戻し交配親の「秋田63号」と農業形質が類似しており、やはり「秋田63号」よりアミロース含量が10%程度高い。多収であることから、米粉にして麺やパン等に混合することを想定している。麺に混ぜるとつるつる感が増し、茹でたのちに麺と麺がくっつきにくい特徴がある。パンに混ぜると、「あきたこまち」などで作る米粉パンがべたべたの食感であるのに対し、さらっとした小麦粉パンらしい食感が得られる。このように、「あきたばらり」、「あきたささり」を使うことで、これまでの米の加工品とは異なる食感を提供できると考えている。筆者らが自ら設立した秋田県立大学発ベンチャー(株)スターチテックから、「あきたばらり」の精米と、「あきたささり」を混合した乾麺「ゆりの舞」が販売されている。

2-2. 「まんぶくすらり」の育成

2019年12月に品種登録出願（第34394号）し、2020年4月に公表となった「まんぶくすらり」は、SSIIIaに加えて、枝作り酵素 (BE) IIb が欠損した二重変異体 #4019 (*ss3a be2b*)⁴⁾ を「秋田63号」と戻し交配した系統である。BEIIb 欠損変異体は、アミロペクチンの短鎖が激減し、強い難糊化性を示すことが知られていた。また、アミロペクチン合成が強く阻害されることから、アミロース含量が増加する⁵⁾。#4019 は、驚くことに、両親変異体よりもアミロース含量が劇的に増加し、BEIIb 欠損変

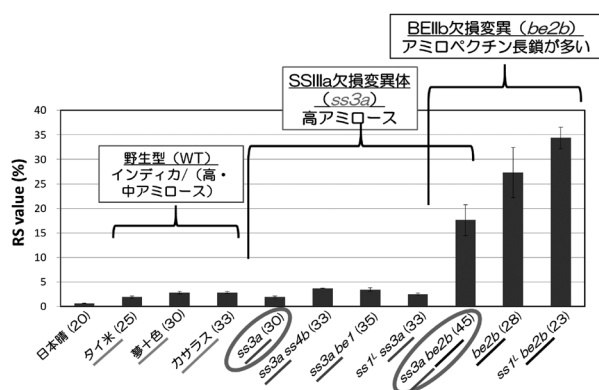


図1. 高アミロース性を示す変異体とインディカ米のRS含量 (炊飯米をすり潰さずにメガザイム RS assay kit で測定). () 内はみかけのアミロース含量 (%) を示す. 丸印の *ss3a* は「あきらばらり」, 「あきたさらり」, *ss3a be2b* は「まんぷくすらり」の元変異体を示す. Tsuiki et al., 2016 より.

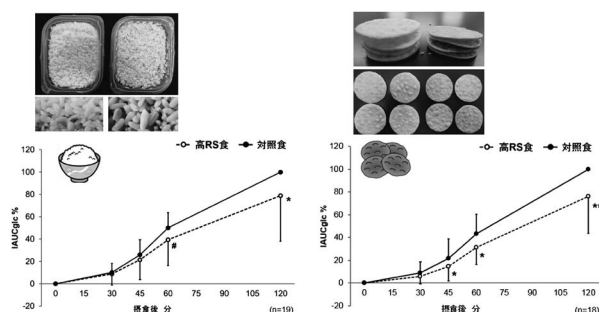


図2 高RS米 #4019 (*ss3a be2b*) のバック米飯および米菓を用いた単回摂取ヒト試験による血糖値上昇抑制効果の検証. Saito et al., 2020 より.

異体の性質を受け継ぎ、アミロペクチンの短鎖が激減し、相対的にアミロペクチンの長鎖が増加していた。我々が開発した高アミロース性やアミロペクチンの長鎖が増加した変異体やインディカ米の炊飯米のレジスタントスターチ (RS) 含量を測定したところ、インディカ米や、高アミロース変異体では対照となる米 (日本晴) と比べて RS 含量が高いことが明らかとなったが、これらよりも突出して高い RS 含量を示したのが BEIIb が欠損した変異体系統であった⁶⁾ (図1)。#4019 は、通常の米と比べて 10 倍程度 RS 含量が高く、種子重量も野生型の 8 割を維持していたため、超多収米の「秋田 63 号」と戻し交配することで「まんぷくすらり」を育成した。#4019 の精米を使って作成したバック米飯と米菓を用いて、単回摂取ヒト試験を行ったところ、野生型 (日本晴) の精米で作成したバック米飯および米菓と比べて食後の血糖値が有意に低いという結果が得られた⁷⁾ (図2)。このことから、#4019 と澱粉構造がほぼ同一の「まんぷくすらり」は、糖尿病やその予備軍で糖質制限が必要な方々の食事に有効である可能性が示された。レジスタントスターチは、血糖値上昇抑制以外にも、整腸作用なども動物実験、ヒト試験で証明されており、多岐にわたる機能性が期待できる。一方、「まんぷくすらり」は、白ご飯の食味が劣る欠点がある。これは、難消化性を示す澱粉構造であるアミロペクチンの長鎖やアミロースが多いため、澱粉が老化しやすいことが原因である。我々は、食品企業等との共同研究を通じて、この米の加工

方法やレシピ開発を行い、機能性があり、より美味しい食品の開発を目指している。

おわりに

以上のように、我々は独特の食感や機能性を備えたこれまでになかった新しいタイプの米を開発してきた。我々が開発した米は、もともと基礎研究から生まれたものであり、高アミロースや高RSとなった科学的根拠やその澱粉構造も解明済みの品種育成となった。これらを用いた新商品開発を通じた、糖尿病患者および予備軍の糖質制限食の普及を目指すことで中小食品会社を活性づけると同時に、主食用米とは異なるユニークな米の普及により米の需要低下を食い止め、稲作農家を活性づけたと考えている。

(引用文献)

- 1) Fujita N. Starch biosynthesis in rice endosperm. (Review), Agri-Bioscience Monographs, Vol. 4, p 1-18, (2014)
- 2) Fujita N, Yoshida M, Kondo T, Saito K, Utsumi Y, Tokunaga T, Nishi A, Satoh H, Park J-H, Jane J-L, Miyao A, Hirochika H, Nakamura Y. Characterization of SSIIIa-deficient mutants of rice (*Oryza sativa* L.); the function of SSIIIa and pleiotropic effects by SSIIIa deficiency in the rice endosperm. Plant Physiology, Vol. 144, p 2009-2023, (2007)
- 3) 藤田直子, 立木芳, 追留那緒子, 阿部美里, クロフツ尚子, 川本朋彦, 小玉郁子, 加藤和直, 佐藤健介, 高橋竜一, 伏見力. 新規澱粉米品種の育成に向けて~BC₂F₃種子およびBC₂F₂植物の解析~秋田県立大学ウェブジャーナル B, Vol. 1, p 7-11 (2014)
- 4) Asai H, Abe N, Matsushima R, Crofts N, Oitome NF, Nakamura Y, Fujita N. Deficiencies in both starch synthase (SS) IIIa and branching enzyme IIb lead to a significant increase in amylose in SSIIa inactive japonica rice seeds. Journal of Experimental Botany, Vol. 65, p 5497-5507, (2014)
- 5) Nishi A, Nakamura Y, Tanaka N, Satoh H. Biochemical and genetic analysis of the effects of *amylose-extender* mutation in rice endosperm. Plant Physiology, Vol. 127, p 459-472, (2001)
- 6) Tsuiki K, Fujisawa H, Itoh A, Sato M, Fujita N. Alterations of starch structure lead to increased resistant starch of steamed rice: identification of high resistant starch rice lines. Journal of Cereal Science, Vol. 68, p 88-92, (2016)
- 7) Saito Y, Watanabe T, Sasaki T, Watanabe K, Hirayama M, Fujita N. Effects of single ingestion of rice cracker and cooked rice with high resistant starch on postprandial glucose and insulin responses in healthy adults: two randomized, single-blind, cross-over trials. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, Vol. 84, p 365-371 (2020)

謝 辞 この度は、日本農芸化学会女性研究者賞の受賞にあたり、選考委員会の先生方初め関係者に厚く御礼申し上げます。また、3品種の開発に携わった秋田県立大学生物資源科学部のクロフツ尚子博士、追留那緒子研究員はじめ、中村保典名誉教授、研究員、修了生、卒業生の皆様、品種育成やヒト試験に関して、資金を援助いただいた生研支援センターと研究分担者の皆様、品種育成の親変異体をご提供いただいた九州大学農学研究院の佐藤光名誉教授、品種登録申請でご協力いただいた秋田県農業試験場作物部の皆様、元国際農林水産業研究センターの伏見力様、加工食品の開発でご尽力いただいた企業様、委託栽培でご協力いただいている農業法人、農家の皆様、その他、私の研究や開発に関わったすべての方々に厚くお礼申し上げます。



発酵茶製造時におけるカテキン類の酸化重合反応に関する研究

岐阜大学応用生物科学部 柳 瀬 笑 子

はじめに

ポリフェノールは、芳香環に多数のフェノール性水酸基が結合した化合物の総称であり、自然界に5000種類以上あるといわれている。主に植物中の苦味や色素成分として知られているが、近年ではその機能性が注目され、盛んに研究が行われている。茶における主要なポリフェノールはカテキン類(図1)であり、茶の持つ機能性の本体であると考えられている。茶は一般的に製造工程の違いにより主に、緑茶と発酵茶(ウーロン茶、紅茶)に分類される。発酵茶においては、元来生葉に含まれるカテキン類が酸化的に変換・重合されることによって大きく変化し、新たなポリフェノールが生成する。これら二次ポリフェノールには、比較的低分子のものから高分子まで存在する。しかし特にこの高分子ポリフェノールについては、含有量が多いにも関わらず非常に複雑な構造の混合物といわれており、未だその詳細は明らかになっていない。その原因として、天然物化学研究で一般的に用いられる HPLC 分析や NMR において高分子ポリフェノールは“瘤状”に観測されることから、分離・構造解析が困難であることがあげられる。筆者は、紅茶中に知られるテアフラビンなどの比較的分子のカテキン酸化重合体は、高分子ポリフェノールの生成中間体であると位置づけ、カテキンの酸化反応について詳細に研究することが、ひいては高分子ポリフェノールの構造解明のための重要な足がかりになると考えて研究を進めてきた。本講演では、最近の成果を中心に紹介したい。

1. 紅茶テアフラビン類の生成機構

紅茶の赤色色素として知られるテアフラビン類は、明るい赤色色調と多彩な生理活性のために広く興味をもたれている。その構造はB環部がカテコールタイプとピロガロールタイプの

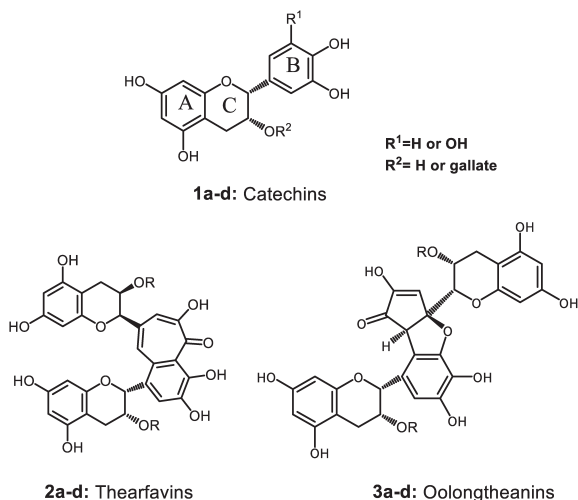


図1. 緑茶及び発酵茶ポリフェノールの化学構造

カテキンが酸化的に縮合した6員環—7員環からなるベンゾトロポロン骨格を持ち、カテキン類の組み合わせにより4種が知られている(図1, 2a-d)。多くの研究者によりその生成機構が提案されてきた^{1,2)}。筆者らは、カテキン類のB環部に相当するカテコール誘導体とピロガロール誘導体を用いたモデル酸化反応を詳細に追跡することで、ベンゾトロポロン環の生成メカニズムの解析を行った。その結果、この酸化縮合反応の開始段階がカテコール誘導体の酸化によって生成するo-キノンに対するピロガロールのイオンの求核付加反応であることを明らかにした。さらに、生成中間体として多くの研究者によって推定されてきたビシクロ環骨格を持つ生成中間体の単離に初めて成功した(図2)³⁾。本研究では、モデル化合物を用いてベンゾトロポロン環の生成メカニズムを明らかにしたが、この生成機構はテアフラビン類でも同様であると考えている。

2. 烏龍茶ウーロンテアニン類の生成機構

ウーロンテアニン類は、5員環を含む特徴的な部分構造を有するカテキン2量体である。B環部がピロガロールタイプのカテキン同士が酸化的に縮合することで形成され、カテキン類の組み合わせにより、4種が知られている(図1, 3a-d)^{4,5)}。ウーロン茶中の微量成分であり、その化学合成法の報告がなかったことからその検討から行った。テアフラビン類の合成で用いられるフェリシアン化カリウムをはじめとする様々な酸化剤を検討し最終的にテアシネンシンAの合成に用いられていた塩化銅⁶⁾を用いるとわずかに目的のウーロンテアニンが生成することが明らかとなった。この反応について詳細に検討したところ、

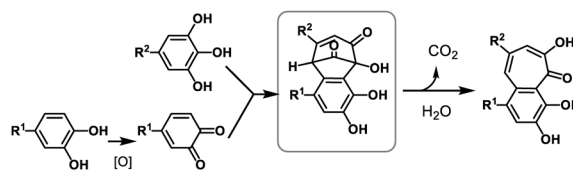


図2. ベンゾトロポロン環の生成機構

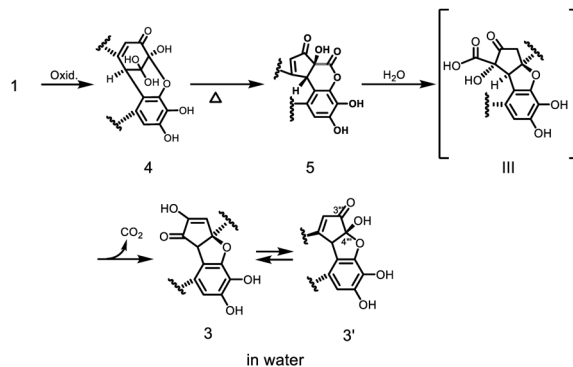


図3. ウーロンテアニン類の生成機構

ウーロンテアニン類がカテキン類から2つの中間体を経た3段階の反応で生成することを明らかにした。これら2つの生成中間体については各種NMR及びMS測定による構造決定を行い、中間体Ⅰはデヒドロテアシネンシン(4)⁶⁾、中間体Ⅱはプロウーロンテアニン(5)⁷⁾であると決定した。特に、デヒドロテアシネンシンは、ウーロン茶ポリフェノールの一種であるテアシネンシンAの生成中間体としてすでに報告されており、ウーロンテアニンとテアシネンシンが同一の中間体を経て生成していることが明らかとなった。また、プロウーロンテアニンからウーロンテアニンへの変換反応をNMRでモニタリングしたところ、開環及び再環化反応によりカルボン酸を分子内に有する中間体Ⅲが存在することが明らかになった。これらの結果からウーロンテアニン類は、①カテキン類の2段階の酸化的縮合反応によるデヒドロテアシネンシンの生成、②脱水及び転位反応を伴ったプロウーロンテアニンの生成、③ラク톤の開環反応とそれに続く再環化反応による中間体Ⅲの生成、④脱炭酸及び酸化反応、の4段階を経て生成することが証明できた(図3)⁸⁾。さらに、反応機構を基にした反応の最適化により4種ウーロンテアニン類合成法を確立した。

3. ウーロンテアニン類の化学構造

ウーロンテアニン類は1988年に橋本ら⁴⁾によってウーロン茶抽出物より単離され、図3の化合物**3'**のように構造決定されたが、最近、化合物**3**のように訂正構造が発表された⁵⁾。しかし筆者らは上記のような詳細な研究の過程で、ウーロンテアニン類は水溶液中においては、訂正前と訂正後の構造の平衡混合物であることを明らかにした⁹⁾。その機構は、**3**の真ん中のエーテル環が開環し、上側5員環のケトンへの求核付加により再環化することによって**3'**へ変化するというものである。このような平衡はメタノールやエタノール中では生じなかった。その原因としては、**3'**の構造では、C-4"位の水酸基がC-3"位のケトン基と同一平面上にないためケトン基と水素結合を作らず水酸基がむき出しになるため、極性の高い水中でこのような構造を取るものと考えている(図3)。また、その**3**と**3'**の存在比は、ガレート基の有無によって異なることも明らかにした。ウーロン茶を摂取するときには、成分が水中に抽出された状態であるため、ウーロンテアニン類は、この2つの平衡混合物として存在すると推察される。そのため、平衡構造のうちどちらか一方の構造か、ウーロンテアニン類の生理的機能に大きく影響している可能性があるのではないかと考えている。

4. おわりに

ポリフェノール類は植物中に広く存在する化合物群であり、多くの種類が知られている。クロマトグラフィーや機器分析技術の発展とともに、多彩な化学構造を持つことが明らかにされてきた。近年では、それらの持つ生理活性の化学構造との関係性、いわゆる構造-活性相関研究が盛んに行われてきた。これらの研究では、水酸基の有無やメチル基の有無という小さな違いが生理活性の増強や減衰につながることが知られている。一方で、紅茶やウーロン茶中で知られる高分子ポリフェノールは構造情報が乏しいにもかかわらず、機能性の研究が先行して行われているという現状がある。筆者は、紅茶やウーロン茶などの発酵茶中で知られるテアフラビンなどの比較的分子のカテキ

ン酸化重合体が、高分子ポリフェノールの生成中間体であると位置づけ、カテキンの酸化反応について詳細に研究することがその解明のきっかけになると考えて研究を進めてきた。しかし研究を進める中で、これらの低分子化合物の反応性が比較的低いこと、茶葉中でマイナー成分であることなどから、酸化重合反応の中間体ではなく、むしろ比較的安定な副生成物であり、酸化重合反応のメインルートからは外れた存在である可能性があるのではないかと考えている。今後は高分子ポリフェノールの構造解明にはこれらとは別の新たな生成中間体の発見が必要ではないかという新たな仮説をもとに研究を進めていきたい。近年では、機能性成分が注目されているが、これらの中には化学的不安定で、保蔵や食品加工中に容易に変化するものもある。そのような化学変化に着目して研究を進め機能性物質の真の姿を明らかにすることで食の安全や機能研究の分野に貢献していければと考えている。

(引用文献)

- 1) Takino, Y., Imagawa, H., Horikawa, H., Tanaka, A. Studies on the mechanism of the oxidation of tea leaf catechins. part III. Formation of reddish orange pigment and its spectral relationship to some benzotropolone derivatives. *Agr. Biol. Chem.*, 28 (1), 64-71 (1964).
- 2) Tanaka, T., Matsuo, Y., Production Mechanisms of Black Tea Polyphenols. *Chem. Pharm. Bull.* 68, 1131-1142 (2020)
- 3) Yanase, E., Sawaki, K. and Nakatsuka, S.: The isolation of a bicyclo [3.2.1]-intermediate during formation of bezotropolones, a common nucleus found in black tea pigments: theaflavins. *Synlett*, 17, 2661-2663 (2005).
- 4) Hashimoto, F., Nonaka, G., Nishioka, I., Tannins and related compounds. LXIX.: Isolation and structure elucidation of B, B'-linked bisflavanoids, theasinensins D-G and oolongtheanin from oolong tea. (2), *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 1676-1684 (1988).
- 5) Matsuo, Y., Tadakuma, F., Shii, T., Saito, Y., Tanaka, T., Selective oxidation of pyrogallol-type catechins with unripe fruit homogenate of Citrus unshiu and structural revision of oolongtheanins *Tetrahedron*, 71, 2540-2548 (2015).
- 6) Shii, T., Miyamoto, M., Matsuo, Y., Tanaka, T., Kouno, I., Biomimetic one-pot preparation of a black tea polyphenol theasinensin A from epigallocatechin gallate by treatment with Copper (II) Chloride and Ascorbic Acid. *Chem. Pharm. Bull.*, 59, 1183 (2011).
- 7) Hirose, S., Tomatsu, K., Yanase, E., Isolation of key intermediates during formation of oolongtheanins. *Tetrahedron Lett.*, 54, 7040 (2013).
- 8) Hirose, S., Kamatari, Y. O., Yanase, E., Mechanism of oolongtheanin formation via three intermediates. *Tetrahedron Lett.* 61 (11): 151601 (2020).
- 9) Hirose, S., Ogawa, K., Yanase, E. Equilibrated structures of oolongtheanins. *Tetrahedron Lett.*, 57, 2067-2069 (2016).

謝 辞 本研究は、公益財団法人東洋食品研究所研究助成(2014)、科学研究費などのご支援により行ったものです。本研究ならびに本受賞にあたり、恩師である中塚進一先生(長良サイエンス(株)代表取締役社長、岐阜大学名誉教授)に厚く御礼申し上げます。また、岐阜大学応用生物科学部の先生方、研究を一緒におこなっていただいた生物有機化学研究室の学生の皆様および同大高等研究院科学研究基盤センターの職員及び先生方に深く感謝申し上げます。



東北大学大学院農学研究科 乙 木 百合香

神経変性疾患の予防法開発に向けたプラズマローゲンの機能解明

はじめに

高齢化社会が進む現在、認知症などの神経変性疾患の予防は喫緊の課題であり、食品機能性成分による予防が国内外で盛んに検討されている。機能性脂質として知られるプラズマローゲンは、アルツハイマー病 (AD) などの神経疾患や、動脈硬化症などの酸化ストレス関連疾患の血中や病変部位において減少が報告されている¹⁾。プラズマローゲンの減少は、抗酸化能の低下、炎症惹起、膜の流動性の変化、シグナル伝達の攪乱などが生じると推察されているものの、病態への影響および、摂取による予防機構の詳細は不明である。その理由の一つとして、プラズマローゲンは、脂肪酸の違いによる分子種が多様であること、一般的な他のリン脂質との区別が困難であることから、プラズマローゲンの高選択的な分析は達成されておらず、本研究領域の足枷となっていたためである。こうした背景から申請者は、プラズマローゲンの精密分析法を構築し、確かな分析技術を基盤に種々の神経変性疾患におけるプラズマローゲンの減少による影響やその原因、および吸収代謝の解明を目指し、研究を行ってきた。本講演では、特に分析法の構築と AD におけるプラズマローゲンの減少に焦点を絞り、我々の取り組みについて発表する。

1. プラズマローゲンの精密定量法の構築

これまで、プラズマローゲンの質量分析 (MS/MS) には主にプロトン存在下において生じるリン酸基由来のプロダクトイオンが用いられてきた。例えば、コリン型のプラズマローゲン (PlsCho) であればホスホコリンのプロダクトイオンによりプラズマローゲンを検出していたが、この方法では、プラズマローゲンと多量に存在する他のジアシル型やアルキル型のホスファチジルコリンとの区別は困難である。こうした背景の中、我々は、MS/MS 分析にナトリウムイオンなどのアルカリ金属イオンを用いると、プラズマローゲンから特異的なプロダクトイオンが生じることを見出した (図1)²⁾。MS/MS/MS 解析により、本プロダクトイオンはナトリウムイオンが Lewis 酸とし

て働き、電子を奪った結果、プラズマローゲンに特徴的なビニルエーテル基を有するプロダクトイオンがカチオンとして検出されたためと考えられた (図1)。また、本プロダクトイオンは、PlsCho のみならずエタノールアミン型プラズマローゲン PlsEtn から生じることが分かり、プラズマローゲンを特異的に検出できると期待された。

LC-MS/MS 法による精密な定量には、目的化合物に特異的なプロダクトイオンのみならず、種々のバリデーション評価 (マトリックス効果、抽出効率) が必要である。特に、マトリックス効果は質量分析に特有な現象であり、イオンソースに分析対象化合物とともにイオン化阻害 (促進) 化合物が同時に流れ込んだ際に生じる。こうしたマトリックス効果は対象化合物の分析感度を ~100% 損なう可能性もあるため、精密定量には対策が必須であるが、プラズマローゲンの分析には必ずしもその評価が十分に行われてこなかった。そこで、マトリックス効果を回避した LC 条件の最適化の他、ヒト血漿や脳などの生体サンプルからの抽出法の検討や種々のバリデーションを行ったところ、ヒト血漿および脳中においてもプラズマローゲン分子種を高感度・高精度に定量できる LC-MS/MS 分析法を構築することができた (図2)^{3,4)}。本分析法は、いずれのプラズマローゲン分子種も fmol レベルで検出が可能であった。

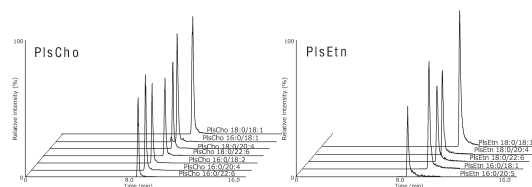
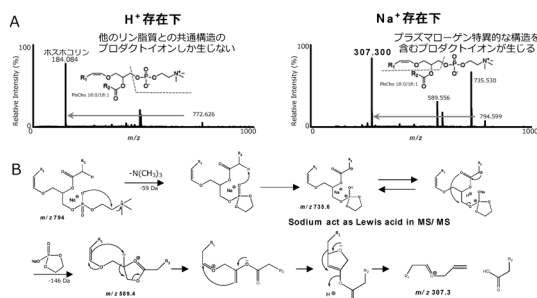


図2. プラズマローゲンの MRM クロマトグラムの

2. 神経変性疾患におけるプラズマローゲン

1990年代に AD 者の脳において、健常者と比較してプラズマローゲンの有意な減少が確認され⁵⁾、プラズマローゲンと AD の関連について注目されるようになった。しかし、これまでのヒト AD 者の脳を用いた研究においては、プラズマローゲンの減少する報告が多いものの^{6,7)}、全く変化しない、または増加するといった報告もあり⁸⁾、一貫した見解に至っていない。そこで我々は、1で構築した分析法を用いてヒト AD 者 (n=21)、および健常者の脳 (n=20) 中のプラズマローゲンおよびその関連リン脂質の定量解析を行った。その結果、多くのプラズマローゲン分子種では健常者と差がなく、PlsCho 18:0/22:6 のみが健常者と比較して有意に低値となり、PlsEtn 18:0/20:4 においては低値となる傾向が見られた (図3)⁹⁾。PlsCho 18:0/22:6 は、PlsEtn 18:0/22:6 からホスホリパーゼ C とホスホトランスフェラーゼにより合成されるが、ごく最近、



軽度認知症者の脳においてこれらの活性低下が報告されている¹⁰⁾。また、PlsChoは、PlsEtnよりもターンオーバーが速いことが知られており¹¹⁾、PlsCho 18:0/22:6減少のため、AD者の脳において、抗炎症作用を発揮する遊離ドコサヘキサエン酸およびその代謝産物の供給源の減少が示唆された。

また、AD者の脳においてホスホリパーゼA2が発現していること、アラキドン酸およびその代謝産物が増え、炎症惹起に関与していることが知られている。本研究で見られたPlsEtn 18:0/20:4の低下は、他のリン脂質（ジアシル型やアルキル型）では見られなかったことから、PlsEtnがアラキドン酸の主な供給源になっていることが示唆された。以上のように、多価不飽和脂肪酸を有するプラズマローゲンが脳のターンオーバーに重要な役割を担っていると考えられた。

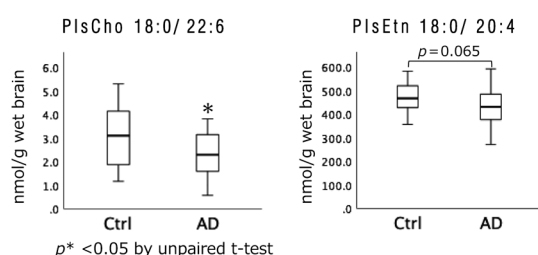


図3. アルツハイマー病 (AD) 者の脳中プラズマローゲン濃度

おわりに

リビドミクスに代表されるオミクス解析へのLC-MS/MS技術の活用が進むにつれ、その感度や精度、選択性の高さは益々進化している。ただし、選択性の向上は、マトリックスの影響やノイズが見えにくくなることを意味する。なおざりにされがちなこのことを十分に考慮しつつ、プラズマローゲンを分子種レベルで精密に定量することが重要である。こうした方法の活用によって、ADをはじめとする多くの疾患との関わりが深まり、さらにはプラズマローゲンの摂取による認知機能の改善といった機能性食品への展開がより一層進展するものと期待される。実際に、我々はつい最近本分析法を活用してプラズマローゲンの吸収代謝を調べたところ、プラズマローゲンの一部が腸管粘膜内で構造変換 (*sn*-2位へのアラキドン酸の選択的な再エステル化、PlsEtnからPlsChoへの塩基変換)を受け、その後にリンパ液へと吸収されることを胸管リンパカニキュレーション法および反転腸管法により証明した¹²⁾。上述のように、長鎖多価不飽和脂肪酸を有するプラズマローゲンは、脳において特に重要な役割を果たすと考えられるため、こうした腸管での構造変換が、食事由来プラズマローゲンの機能性を調節する重要な役割を担うと考えられる。今後、機能性食品などとしてプラズマローゲンを活用していくためには、分子種レベルで腸管吸収メカニズムを評価することが重要になるであろう。

(引用文献)

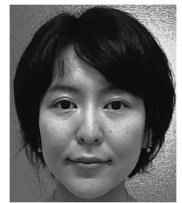
- Braverman N.E., Moser A.B. Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 1822, 1442–1452 (2012)
- Otoki Y., Nakagawa K., Kato S., Miyazawa T. MS/MS and LC-MS/MS analysis of choline/ethanolamine plasmalogens via promotion of alkali metal adduct formation. *J. Chromatogr. B* 1004, 85–92 (2015)
- Otoki Y., Kato S., Kimura F., Furukawa K., Yamashita S., et

al. Accurate quantitation of choline and ethanolamine plasmalogen molecular species in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 134, 77–85 (2017)

- Otoki Y., Hennebelle M., Livitt A.J., Nakagawa K., Swardfager W., et al. Plasma phosphatidylethanolamine and triacylglycerol fatty acid concentrations are altered in major depressive disorder patients with seasonal pattern. *Lipids*, 52, 559–571 (2017)
- Ginsberg L., Rafique S., Xuereb J.H., Rapoport S.I., Gershfeld, N.L. Disease and anatomic specificity of ethanolamine plasmalogen deficiency in Alzheimer's disease brain. *Brain Res.*, 698, 223–226 (1995)
- Guan Z., Wang Y., Cairns N.J., Lantos P.L., Dallner G., et al. Decrease and structural modifications of phosphatidylethanolamine plasmalogen in the brain with Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 58, 740–747 (1999)
- Han X., Holtzman D.M., McKeel D.W. Plasmalogen deficiency in early Alzheimer's disease subjects and in animal models: molecular characterization using electrospray ionization mass spectrometry. *J. Neurochem.*, 77, 1168–1180 (2001)
- Igarashi M., Ma K., Gao F., Kim H.W., Rapoport S.I., Rao J.S. Disturbed choline plasmalogen and phospholipid fatty acid concentrations in Alzheimer's disease prefrontal cortex. *J. Alzheimers Dis.*, 24, 607–517 (2011)
- Otoki Y., Kato S., Nakagawa K., Harvey D.J., Jin L.W., Dugger B.N., et al. Lipidomic analysis of postmortem prefrontal cortex phospholipids reveals minimal changes in plasmalogen species between cases with and without Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med.*, in press
- Kleineidam L., Chouraki V., Prochnicki T., van der Lee S. J., Madrid-Marquez L., et al. PLCG2 protective variant pP522R modulates tau pathology and disease progression in patients with mild cognitive impairment. *Acta Neuropathol*, 139, 1025–1044 (2020)
- Rosenberger T.A., Oki J., Purdon A.D., Rapoport S.I., et al. Rapid synthesis and turnover of brain microsomal ether phospholipids in the adult rat. *J. Lipid Res.*, 43, 59–68 (2002)
- Takahashi T., Kamiyoshihara R., Otoki Y., Ito J., Kato S., et al. Structural changes of ethanolamine plasmalogen during intestinal absorption. *Food Funct.* 11, 8068 (2020)

謝 辞 本研究は、東北大学大学院農学研究科機能分子解析分野および、カリフォルニア大学デービス校にて実施されました。東北大学の仲川清隆先生は、あらゆる面でご指導を賜るとともに、本賞にも推薦いただきました。この場を借りて心より御礼申し上げます。また、恵まれた研究環境を与えてくださり、ご指導鞭撻を賜りました東北大学の宮澤陽夫先生に深く感謝いたします。カリフォルニア大学デービス校のAmeer Taha先生には貴重な留学の機会をいただき、Marie Hennebelle先生（現ワーゲニング大学）は、海外での研究から私生活に至るまでサポートいただきました。プロダクトイオンの解析についてとことん議論して下さいました東京大学の小倉由資先生に深く感謝いたします。また、東北大学の池田郁夫先生、永塚貴弘先生、伊藤隼哉先生からもたくさんのご助言をいただきました。私が今日まで研究を続けることができたのはご支援くださった多くの先生方、当該研究に貢献してくれた多くの学生諸氏のおかげです。最後に、これまで支えてくれた両親、姉、祖母、天国にいる祖父、また、先輩研究者として公私共に支えてくれた夫の加藤俊治先生（東北大学）に心から感謝します。

*本研究の一部は農研機構生研支援センター「[知]の集積と活用による研究開発モデル事業」の支援を受けて実施しました。



植物バイオマス分解利用に関する基礎研究

北海道大学大学院工学研究院 堀 千 明

はじめに

地球上の再生可能な炭素源のほとんどが植物中に存在し、近年その資源量の豊富さから植物バイオマスの高度利用が強く求められています。きのこに代表される木材腐朽菌は単独で植物を完全分解できることから、腐朽菌による植物バイオマス生分解機構の解明は、生態系での炭素循環に加え、バイオマスからの有用物質への変換利用を考える上で非常に重要だと考えられています。2004年にモデル腐朽菌のゲノム配列情報が開示されプロテオーム解析が可能になると、今まで主要な酵素を一つずつ単離していた頃に想定された以上の様々な酵素が協調して植物分解を進めている可能性が示唆されました^{1,2)}。筆者は、多様な腐朽菌を対象に、各植物成分に対する遺伝子応答をゲノム情報を利用して解析することで、腐朽菌グループが保有する植物分解メカニズムの多様性を明らかにすべく研究を進めてきました。さらに、最近では生態系内で実際に植物分解を担っている微生物群やそれらが生産する分解酵素メカニズムの全体像を世界に先駆けて明らかにしました。このような研究は新規バイオマス分解酵素や代謝経路の発見へと繋がる可能性があります。また、植物バイオマス分解の応用を見据え、植物バイオマス由来糖からのバイオプラスチック生産についても研究を進めています。本稿ではこれら成果について紹介致します。

1. 微生物による植物分解メカニズムの解明に向けて

1-1. 腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* における植物細胞壁成分の認識機構について

腐朽菌が保有する植物分解戦略を明らかにするため、セルロース培地において、キシランおよびデンプンの添加がモデル腐朽菌の酵素生産に与える影響を比較した。その結果、デンプンは酵素生産量を約1/2に抑制する一方で、キシランは酵素生産量を約2倍に促進することを見出した。この際のプロテオーム解析により、キシラン添加がキシラン分解酵素と共に新規のセルロース分解関連酵素の生産を促進することを見いだした³⁾。またキシランは多糖であることから、腐朽菌はその分解物を認識していると予想された。そこで、重合度1~4のキシロオリゴ糖やセロオリゴ糖に対するセルロース分解関連酵素遺伝子の発現応答解析を行ったところ、腐朽菌がこれら重合度の違うオリゴ糖を異なるシグナル分子として認識することで、セルロースやキシラン分解酵素生産をコントロールコントロールしていた。このことから、腐朽菌が植物細胞壁上のキシラン・セルロース層を順番に効率よく分解する機構を保有していることが示唆された⁴⁾。

1-2. 腐朽菌における分解機構の多様性について

国際連携の元、約30種の真菌のゲノム情報を解析し、木材腐朽菌の起源や分解メカニズムの多様性を明らかにした⁵⁾。さ

らに、11種のハラタケ目に属する白色腐朽菌および褐色腐朽菌の比較ゲノム・プロテオーム解析結果を基に、白色腐朽菌は様々な特異的反応を引き起こす加水分解酵素や酸化還元酵素を獲得してきており、多様な酵素群を協調的に生産することで効率的なセルロース・ヘミセルロース・リグニン分解を行っていることを明らかにした。一方で進化的に白色腐朽菌より後に出現した褐色腐朽菌は、一部の基質特異性の緩いエンド型セルラーゼやヘミセルラーゼだけを保有していることを明らかにした。これらの糖質分解酵素と共に酸化還元酵素を介したフェントンケミストリーを利用することで、褐色腐朽菌は、木材を非特異的に効率よく分解していることが示唆された⁶⁾。また一般に、針葉樹は分解されにくいことが知られていたが、その原因は分子レベルで理解されていなかった。そこで、ハラタケ目の中で高い針葉樹分解能力を保持する *Phlebiopsis gigantea* に着目し、その分解メカニズムをオミクス解析で明らかにした⁷⁾。その結果、針葉樹に多く含まれる抽出成分を素早く分解するために、抽出成分中の様々な分解に関わる酵素に加え、菌体内β酸化経路およびグリオキシル酸経路を増強することが明らかになった。以上、これら腐朽菌が保有する分解メカニズムの多様性に関する内容をまとめた総説を和文誌：化学と生物で発表した⁸⁾。

1-3. メタ環境におけるオミクス解析

これまで植物分解に関わる酵素に関しては、環境中から単離された腐朽菌由来のセルラーゼ・ヘミセルラーゼに関して、試験管内での研究が多くされてきたが、実際の環境下で働く酵素の全体像は不明であった。そこで我々は、環境条件下での微生物による植物細胞壁分解において実際に働いている酵素について、これまで進めてきたオミクス解析を環境条件に応用することで初めて網羅的に同定した⁹⁾。本研究により、環境条件下においても、試験管内で同定・解析されていた主要なセルラーゼやヘミセルラーゼが中心となり植物分解を進めることが証明できた。この際に、木材腐朽菌は、メタゲノム解析によって示された存在比としては多数を占めていない場合にも、植物分解酵素の大部分は木材腐朽菌から生産されていることを明らかにした。加えて、シロアリの腸内で植物細胞壁分解に関わっていることが知られている原生動物などの微生物群が自然環境下において植物分解に関わっていることが分かった。本研究から取得した様々な生物由来の酵素情報は(計1391個の植物分解関連酵素を含む)、これまでに解析されていない全く新しい遺伝子資源であった。今後は環境中の効率的な植物分解機構の理解に加えて、これら酵素機能の解明および植物バイオマス分解の実学への応用が期待される。

2. 植物分解物を利用したバイオポリマー生産について

植物バイオマス由来糖からのバイオプラスチック生産の効率化および生分解性プラスチックに関する研究を進めている¹⁰⁻¹²⁾。我々の研究室で開発された非天然型ポリマーである微生物産生ポリ乳酸ポリマーを分解する微生物群はほとんど明らかになっていないため、自然環境下から分解能力を保有する微生物群を単離・解析した¹²⁾。その結果、天然型の生分解性プラスチックを分解する微生物の中でも特定の分解酵素を保有する一部の微生物群しか乳酸ポリマーを分解しないことが示された。また、それら分解菌は重合度 (DP) 20 以下の乳酸オリゴマーについては分解することが強く示唆された。このことは乳酸ポリマー中の乳酸連鎖を<20程度にすることが、微生物由来の酵素の生分解性にとって重要なファクターであることを示しており、この知見をもとに、新たな生分解性プラスチックのデザインが可能になるのではと応用が期待される。

おわりに

これまでに微生物による植物バイオマス分解に関する研究は、先達の研究者により数多くの研究がなされてきましたが、近年、先端解析技術を用いることで新たな側面が明らかになってきました。この度、賞をいただきましたことも、これからも研鑽をおこたらず精進するようにとの激励だと感じております。これからも植物分解利用に関する基礎研究を多面的に進めていければと思っております。

(引用文献)

- Martinez, D. et al.: Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78. *Nature Biotechnol.*, Vol. 22(6), 695–700, (2004)
- Wymelengerg, A. et al.: The *Phanerochaete chrysosporium* secretome: Database predictions and initial mass spectrometry peptide identifications in cellulose-grown medium. *J. Biotechnol.*, Vol. 118 (1), 17–34, (2005)
- Hori, C., Igarashi, K., Katayama, A., Samejima, M.: Effects of xylan and starch on secretome of the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* grown on cellulose. *FEMS Microbiol. Lett.*, Vol. 321(1), 14–23, (2011)
- Hori, C., Suzuki, H., Igarashi, K., Samejima, M.: Transcriptional response of cellobiose dehydrogenase gene to cello- and xylo-oligosaccharides in the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 78(10), 3770–3773, (2012)
- Hori, C., Gaskel, J., Igarashi, K., Samejima, M., Hibbett, D., Henrissat, B., Cullen, D.: Genome-wide analysis of polysaccharides degrading enzymes in eleven white- and brown-rot Polyporales provides insight into mechanisms of wood decay. *Mycologia*, Vol. 105(6), 1412–1427, (2013)
- Hori, C., Gaskel, J., Igarashi, K., Kersten P., Mozuch M., Samejima M., Cullen D.: Temporal alterations in the secretome of the selective ligninolytic fungus *Ceriporiopsis subvermispora* during growth on aspen wood reveal this organism's strategy for degrading lignocellulose. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 80(7), 2062–2070, (2014)
- Hori, C., Ishida, T., Igarashi, K., Samejima, M., Suzuki, H., Master, E., Ferreira, P., Ruiz-Dueñas, F.J., Held, B., Canessa, P., Larrondo, L.F., Schmoll, M., Druzhinina, I.S., Kubicek, C.P., Gaskell, J.A., Kersten, P., St John, F., Glasner, J., Sabat, G., Splinter, BonDurant S., Syed, K., Yadav, J., Mgbeahuruike, A.C., Kovalchuk, A., Asiegbu, F.O., Lackner, G., Hoffmeister, D., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Sun, H., Lindquist, E., Barry, K., Riley, R., Grigoriev, I.V., Henrissat, B., Kues, U., Berka, R.M., Martinez, A.T., Covert, S.F., Blanchette, R.A., Cullen, D.: Analysis of the *Phlebiopsis gigantea* genome, transcriptome and secretome gives insight into its pioneer colonization strategies of wood. *PLOS genetics*, Vol. 10(12), e1004759, (2014)
- 堀 千明, 五十嵐圭日子, 鮫島正浩. 木材腐朽担子菌のゲノム・ポストゲノム解析から植物細胞壁と分解酵素の共進化を考える. *化学と生物*, Vol. 53(6): 381–388, (2015)
- Hori C, Gaskell J, Cullen D, Sabat G, Stewart PE, Lail K, Peng Y, Barry K, Grigoriev IV, Kohler A, Fauchery L, Martin F, Zeiner CA, Bhatnagar JM.: Multi-omic analyses of extensively decayed *Pinus contorta* reveal expression of diverse array of lignocellulose degrading enzymes. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 84(20) e01133–18, (2018)
- Hori C, Oishi K, Matsumoto K, Taguchi S, Ooi T.: Site-directed saturation mutagenesis of polyhydroxylalkanoate synthase for efficient microbial production of poly [(R)-2-hydroxybutyrate]. *J. Biosci. Bioeng.*, Vol. 125(6): 632–636, (2018)
- Hori C, Yamazaki T, Ribordy G, Takisawa K, Matsumoto K, Ooi T, Zinn M, Taguchi S.: High-cell density culture of poly (lactate-co-3-hydroxybutyrate)-producing *Escherichia coli* by using glucose/xylose-switching fed-batch jar fermentation. *J. Biosci. Bioeng.*, Vol. 127(6): 721–725, 2019
- Hori C, Sugiyama T, Watanabe K, Sun J, Kamada Y, Ooi T, Isono T, Satoh T, Sato S, Taguchi S, Matsumoto K.: Isolation of poly [D-lactate (LA)-co-3-hydroxybutyrate]-degrading bacteria from soil and characterization of D-LA homo-oligomer degradation by the isolated strain. *Polymer Degradation and Stability*.

謝 辞 本研究は、大学生時代から現職までの間、東京大学大学院農学生命科学研究科、米国農務省林産研究所/ウィスコンシン大学マディソン校、理化学研究所環境資源科学研究センター、北海道大学農学研究院および北海道大学工学研究院で行われたものです。北海道大学工学研究院応用化学部門の松本謙一郎教授、大井俊彦准教授、田口精一教授〔現・東京農業大学〕のご指導により、バイオポリマー生産について研究する機会を頂きました。心より感謝申し上げます。また、同大利徹教授には普段より激励頂きましたこと、また本賞にご推薦頂きました誠にありがとうございます。北海道大学農学研究院森林科学分野の佐野雄三教授、荒井圭太准教授、山岸祐介助教や関係者の皆様には、樹木研究を発展する機会を与えて下さり、ありがとうございました。理化学研究所では、植物細胞壁合成について学ぶ機会を与えて下さいました、奈良先端科学技術大学院大学の出村拓教授、東京大学大谷美紗都准教授や関係者の皆様に大変感謝いたしております。米国農務省林産研究所の Dan Cullen 教授とはこれまで多くの共同研究を推進しており、数多くの助言や支援を頂きまして、大変感謝しております。最後になりましたが、恩師である東京大学大学院農学生命科学研究科の鮫島正浩教授 (現信州大学・特任教授) と五十嵐圭日子准教授からは学生時代から一貫して研究者として必要な様々な考えや知識をご指導頂きました。心より厚く御礼申し上げます。また共同研究で大変お世話になっております、京都大学生存圏研究所飛松裕裕准教授に感謝申し上げます。

私はこれまでに上述では書ききれない程の共同実験者の皆様や諸先輩方々からアドバイスや、学生諸氏の支えを頂くことで、これまで研究を続けられたと感じております。皆様に心よりの感謝を示しますとともに、これからもご指導ご鞭撻のほど、どうぞ宜しくお願い申し上げます。

ヒト・動物の腸内に生息する嫌気性細菌の代謝機能に関する研究



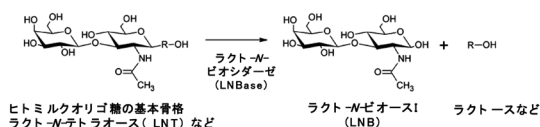
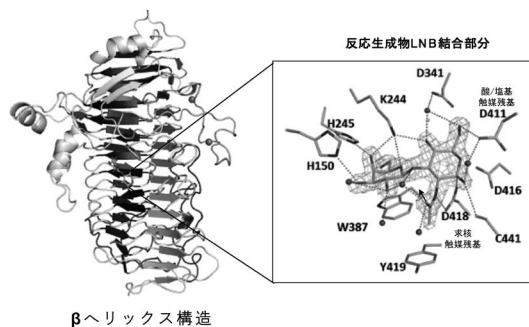
東京大学大学院農学生命科学研究科・応用生命工学専攻 山田千早

はじめに

嫌気的な環境は、水田や深海といった自然環境から、身近なところではヒト・動物の消化管内にまで広く分布している。そこに生息する嫌気性細菌は、様々な基質を利用可能であり発酵や嫌気呼吸によってエネルギーを獲得する。その多様な代謝機能に興味を持ち研究を行なっている。その中で、ヒト・動物の腸内細菌を対象とした新規酵素の構造解析、またメタン生成を担うメタン生成古細菌と発酵性細菌の機能解析を行なうことで、嫌気性細菌の新たな機能の一端を明らかにした。

1. 乳幼児型ビフィズス菌由来ヒトミルクオリゴ糖分解酵素の結晶構造解析

母乳中には、重合度3以上のオリゴ糖が初乳中には20 g/L程度、常乳中には10 g/L程度含まれており、ヒトミルクオリゴ糖 (Human milk oligosaccharides, HMOs) とよばれている。HMOsはヒトの母乳に特異的であり、その生理機能の一つとして、腸管内におけるビフィズス菌の選択的増殖作用が明らかになってきた。HMOsの主要骨格として多く存在しているのがラクト-*N*-ビオース I (Gal-β1,3-GlcNAc, 以下LNB) であり、乳幼児型ビフィズス菌はLNBを特異的に代謝する能力を有する。この代謝経路上において最も重要な酵素が、HMOからLNBを遊離する酵素『ラクト-*N*-ビオシダーゼ (以下LNBase)』である (図1)。当時、2種の乳幼児型ビフィズス菌 *Bifidobacterium bifidum* と *B. longum* subsp. *longum* がその酵素を特異的に有していると考えられていた。最初に *B. bifidum* 由来のLNBase (LnbB) が発見され立体構造が報告された^{1,2)}。その後 *B. longum* のLNBase (LnbX) が発見されたが、LnbXのアミノ酸配列は全く新規なものであった³⁾。LnbX触媒ドメイン 31-625の立体構造を分解能1.82 Åで反応生成物LNBとの複合体構造として決定し、構造情報に基づいて反応メカニズムを明らかにした (図2)⁴⁾。触媒ドメインの構造が明らかになったことにより糖質加水分解酵素ファミリーの中で新たなファミリー GH136を提唱するに至った (<http://www.cazy.org/GH136.html>)。また、反応に重要なアミノ酸残基を明らかにしたことで、これまで乳幼児型のビフィズス菌のみが活性を有すると考えられていたが、ビフィズス菌に限らずヒト腸内細菌もLNBase活性を有していることが示唆され、新規な基質特異性を有するGH136

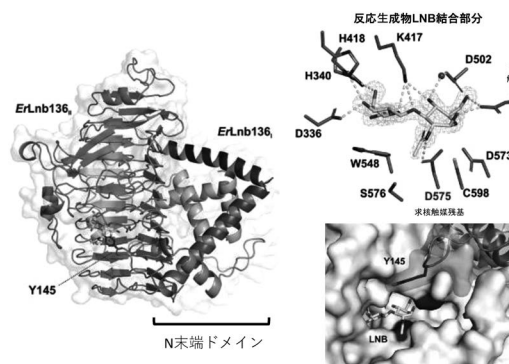
図1. ラクト-*N*-ビオシダーゼが担うエキソ型の加水分解反応 (保持型)図2. *Bifidobacterium longum* 由来の GH136 に属するラクト-*N*-ビオシダーゼ (LnbX 31-625) の結晶構造

酵素の発見にもつながる研究となった。

2. 腸内細菌由来ヒトミルクオリゴ糖分解酵素の結晶構造解析

LnbXのホモログがビフィズス菌以外にも存在していることを見出し、Firmicutes門に属する腸内細菌由来のLNBaseの機能解析と立体構造に成功した。最近、離乳期に主要な *Roseburia* 属細菌や *Eubacterium* 属細菌がHMOsを利用することがわかってきた⁵⁾。それらは腸内で酪酸を生成することでヒトの健康に寄与することが示唆されている。HMOを利用可能なのは乳幼児型ビフィズス菌だけでなく、その後の離乳期、つまりビフィズス菌優勢だった乳児の腸内細菌叢から一部の細菌が置き換わり成熟した成人の腸内環境へと移行する時期に *Roseburia* 属細菌や *Eubacterium* 属細菌といった酪酸を生成する腸内細菌がHMOを利用する機能を有し、成人の腸内細菌叢形成初期の段階で腸管において有利に増殖しているのではないかと考えられる。

上述した新規なLnbXホモログを発見したデンマーク工科大学 (DTU) と共同研究を行い、*Eubacterium* 属細菌由来のLNBaseの立体構造解析に成功した。分解能2.0 Åで反応生成

図3. ヒト腸内細菌 *Eubacterium ramulus* 由来の GH136 に属するラクト-*N*-ビオシダーゼ (ErLnb136) の結晶構造

物LNBとの複合体構造を明らかにした(図3)⁵⁾。このLNBaseは興味深いことに他のGH136に属するLNBaseが専用のシャペロン(別のORF)を必要とするのに対し、それを必要としないこと、その代わりとなるシャペロン様の配列がN末端ドメインに存在することがわかった。構造解析の結果からN末端ドメインのY145が活性中心に近い位置に存在し、活性に重要であることが示された。また、これまでのGH136に属するLNBaseのほとんどは菌体外に局在するが、本酵素は菌体内に局在する点も異なる。つまりラクト-N-テトラオースを菌体内に取り込んだ後に作用するということであり、ラクト-N-テトラオースを丸ごと取り込んだ後に末端から徐々に切って単糖にしていく乳児型ビフィズス菌*B. infantis*とは異なる方法で利用している点も興味深い。

3. 高温メタン生成細菌群集における導電性酸化鉄マグネタイト添加による単鎖脂肪酸の分解促進効果

メタンは様々な嫌気環境から発生している。その中でも家畜の消化管内容物はメタン発生にかかわる重要な微生物源の一つである。メタン発酵技術は、家畜の排泄物や生ゴミなどの有機性廃棄物からメタンガスとしてエネルギー回収することが可能であるため注目されている。高温メタン発酵は中温のものよりも処理速度が早いのが特徴であるが、単鎖脂肪酸が蓄積しやすいため安定化・高効率化については課題が残されている。そこで、導電性酸化鉄マグネタイトを高温メタン発酵汚泥に添加することで、酢酸およびプロピオン酸の分解促進がみられることを明らかにした⁶⁾。このことから、高温条件においても中温条件で知られていたマグネタイトによる微生物間の電子移動反応促進(電気共生)が生じていること、酢酸分解菌*Tepidanaerobacter*の近縁種およびメタン生成アーキア*Methanosarcina*の近縁種が電気共生を行っていることを示した(図4)。短鎖脂肪酸の蓄積が問題となっていた高温メタン発酵において、マグネタイトの添加により酢酸およびプロピオン酸分解に伴うメタン生成を促進させるという結果は、高温メタン発酵の安定化・高効率化につながり、実用的プロセスを考える上で重要な知見となった。また、電子を受け取る側の高温メタン生成細菌*Methanosarcina thermophila*が鉄還元能を有し、不溶性の酸化鉄に電子を渡すことが可能であるという新規な機能を明らかにした⁷⁾。

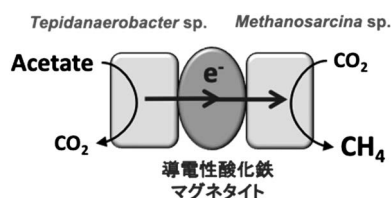


図4. 酢酸からのメタン生成を促進させるマグネタイトを介した電気共生関係

おわりに

嫌気性細菌の多種多様な機能に魅了されて研究を行っている。将来的には嫌気性細菌由来の新規な酵素の機能構造を明らかにしつつ、ヒト・動物の健康に寄与するといった応用展開を視野に入れて研究を行っていきたいと考えている。

(引用文献)

- 1) Wada J. *et al.* *Bifidobacterium bifidum* lacto-N-biosidase, a critical enzyme for the degradation of human milk oligosaccharides with a type 1 structure; *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 3996–4004 (2008).
- 2) Ito T. *et al.* Crystal structures of a glycoside hydrolase family 20 lacto-N-biosidase from *Bifidobacterium bifidum*; *J. Biol. Chem.*, 288, 11795–11806 (2013).
- 3) Sakurama H. *et al.* Lacto-N-biosidase encoded by a novel gene of *Bifidobacterium longum* subspecies *longum* shows unique substrate specificity and requires a designated chaperone for its active expression; *J. Biol. Chem.*, 288, 25194–25206 (2013).
- 4) Yamada C.*, Gotoh A.*, Sakanaka M., Hattie M., Stubbs K. A., Katayama-Ikegami A., Hirose J., Kurihara S., Arakawa T., Kitaoka M., Okuda S., Katayama T., and Fushinobu S. Molecular insight into evolution of symbiosis between breast-fed infants and a member of the human gut microbiome *Bifidobacterium longum*; *Cell Chemical Biology*, 24, 515–524.e515 (2017). *equal contribution
- 5) Jakob P. M.*, Yamada C.*, Shuoker B., Alvarez-Silva C., Gotoh A., Louise Leth M., Schoof E., Katoh T., Sakanaka M., Katayama T., Jin C., G. Karlsson N., Arumugam M., Fushinobu S., and Hachem A. M. Butyrate producing Clostridiales utilize distinct human milk oligosaccharides correlating to early colonization and prevalence in the human gut; *Nature communications*, 11, 3285 (2020). *equal contribution
- 6) Yamada C., Kato S., Ueno Y., Ishii M., and Igarashi Y. Conductive iron oxides accelerate thermophilic methanogenesis from acetate and propionate; *J. Biosci. Bioeng.*, 119, 678–682 (2015).
- 7) Yamada C., Kato S., Kimura S., Ishii M., and Igarashi Y. Reduction of Fe(III) oxides by phylogenetically and physiologically diverse thermophilic methanogens; *FEMS Microbiol. Ecol.*, 89, 637–645 (2014).

謝 辞 本研究は主に東京大学大学院農学生命科学研究科・酵素学研究室にて実施したものです。タンパク質の結晶構造解析を1からお教えくださり、研究の幅を広げる機会を与えていただくとともに、本賞にご推薦くださいました伏信進矢先生に深く感謝致します。LnbXなど数多くの新規酵素を発見され、ご指導受け賜りました京都大学の片山高嶺先生に感謝致します。酵素動力学パラメーターの測定方法を丁寧にお教えくださいました新潟大学の北岡本光先生に感謝致します。DTUのHachem A. M. 先生とJakob P. M. 博士に感謝致します。また日頃より、ディスカッションしてくださっている酵素学研究室の荒川孝俊先生、学生の皆様に感謝します。放射光施設のKEK-PFおよびSPring-8のスタッフの方々には日頃からお世話になっており、この場をお借りして感謝申し上げます。最後の電気共生に関する研究は博士課程在学中に応用微生物学研究室にて実施しました。嫌気性細菌群集の研究に携わる機会と恵まれた研究環境をお与え下さいました五十嵐泰夫先生に感謝致します。産総研の加藤創一郎博士には論文の書き方など多くのご指導、ご支援いただき大変感謝しております。最後に修士課程で微生物の多様性を解析する手法をお教えくださるとともに、博士課程への進学を勧めていただきました横田明先生に深い感謝の意を表します。



森永製菓株式会社 内田(丸木) 裕子

ポリフェノールの機能性研究とその商品応用

はじめに

私たちは、太古から植物の恵みによって生活を豊かにしてきた。その中でも多くの植物に含まれるポリフェノールは種類も豊富で、高い抗酸化作用をもち、様々な健康効果が報告されている。今回はポリフェノールの中でも、パッションフルーツ種子中に豊富に存在することを見出したピセアタンノール、および、ソバやタマネギに豊富に含まれるケルセチン配糖体の吸収を高めた酵素処理イソクエルシトリンについて、我々の研究成果を紹介したい。

1. ピセアタンノール

1-1. ピセアタンノールの吸収

ピセアタンノール(図1)は赤ワインに含まれ長寿遺伝子(*Sirtuin*)を活性化することで有名になったレスベラトロールにヒドロキシ基が一つ付加した構造をしている。まず、ラットを用いて、レスベラトロールと比較して吸収を調べたところ、未変化体としてピセアタンノールの吸収はレスベラトロールの約2倍高いことを見出した¹⁾。また、遺伝子発現への影響を検討し、ヒト単球THP-1細胞ではピセアタンノールはレスベラトロールと同様に *Sirtuin1* の遺伝子発現を誘導すること²⁾、分化させたマウス筋管C2C12細胞ではレスベラトロールを含め他のポリフェノールと比べ酸化ストレス応答 *Heme oxygenase-1 (HO-1)* の遺伝子発現を極めて高く誘導すること³⁾を見出した。

1-2. ピセアタンノールの代謝性疾患への作用

つぎに、高脂肪食負荷ラットを用いて、ピセアタンノール高含有パッションフルーツ種子エキス(以下PFSE)の心血管保護作用について検討した。その結果、通常食と比較して16週間の高脂肪食負荷は、コレステロールや中性脂肪値の上昇、血小板凝集能の増加を示したが、PFSEの摂取によりそれらが抑制された。また高脂肪食負荷による血管弛緩能の減弱についても、PFSEの摂取により改善が見られた⁴⁾。また、高脂肪食負荷マウスや糖尿病モデル *db/db* マウスを用いて、ピセアタンノールやPFSEの血糖値に与える影響を検討し、有意な血糖降下作用を見出した⁵⁾。

そこでプラセボ対照ランダム化二重盲検試験でピセアタンノールのヒト代謝性疾患への効果を検討した。39人の過体重・正常体重の男女にパッションフルーツ種子から抽出したピセアタンノール10mgを1日2回8週間摂取させた結果、過体重男性において血中インスリンやHOMA-IRの変化量が有意に改善した(図2)。前後で血圧や心拍数も低下した⁶⁾。一方、正常体重男性や女性ではそういった効果は見られず、ピセアタンノールはレスベラトロールと同様に代謝性疾患に有効である可

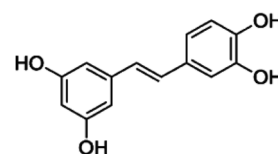


図1. ピセアタンノールの構造式

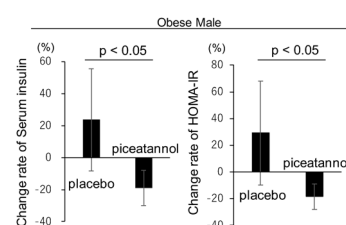


図2. 過体重男性におけるピセアタンノール摂取時のインスリン、HOMA-IR変化量

能性を示したが、ヒトにおいては性差など更なる検討が必要と考えられた。

1-3. ピセアタンノールの肌への作用

ピセアタンノールは線維芽細胞でのコラーゲン合成促進、メラニン抑制作用が報告されていたので、角化細胞への影響を検討した。その結果、ピセアタンノールは抗酸化作用を示すGSHを濃度依存的に増加させた。またピセアタンノールは角化細胞にUVBを照射し発生する活性酸素種(ROS)を濃度依存的に抑制した。更に、UVBを照射した角化細胞の培養上清を線維芽細胞に添加するとコラーゲン分解酵素のMatrix metalloproteinase-1(MMP-1)活性が線維芽細胞で上昇するが、ピセアタンノールはそれを抑制した⁷⁾。

そこで、プラセボ対照ランダム化二重盲検試験でピセアタンノールのヒト肌への効果を検討した。ピセアタンノール5mg配合PFSEを1日1回8週間摂取させた結果、肌の水分量の増加が示唆された。また主観的評価であるVASアンケートでは、発汗や疲れにおいてPFSE摂取群で有意な改善が見られた⁸⁾。

これらの結果からPFSEは肌の水分量を保つ機能性食品素材になる可能性が示唆され、更なる試験を実施し、機能性表示食品の届け出を行い受理された。PFSEは当社で初となる独自に研究開発した素材であり、情熱をこめて“パセノール™”と命名し、配合した商品を現在まで販売している。また肌に関する機能性素材として、他社に外販も行っている。

2. 酵素処理イソクエルシトリン

2-1. 酵素処理イソクエルシトリンの筋肥大への作用

酵素処理イソクエルシトリン(以下EMIQ)(図3)は、ルチンを酵素処理することによって吸収を高めたポリフェノール

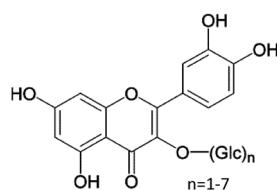


図3. 酵素処理イソクエルシトリンの構造式

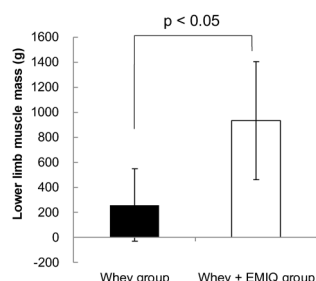


図4. アメリカンフットボール選手における酵素処理イソクエルシトリン摂取時の下肢筋肉変化量

で、ケルセチンやその代謝物の抱合体として吸収されること、ルチンに比べ吸収が大幅に改善されていることが既に報告されている。

まず、協働筋を切除した過負荷のモデルマウスを用いて、EMIQ摂取が足底筋の肥大を促進すること、さらに協働筋を切除しない偽切除のマウスにおいても、EMIQ摂取が足底筋の筋肥大を促進することを見出した。また餌中のタンパク源をホエイに変更しても EMIQ 摂取は足底筋の筋肥大を促進した。

そこでプラセボ対照ランダム化二重盲検試験で EMIQ の筋肥大効果を検討した。39 人のアメリカンフットボール選手に、4 ヶ月間 42 mg の EMIQ 配合/非配合ホエイプロテインを週 6 回摂取してもらい、体組成を Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA) で調べた。その結果、EMIQ 配合プロテイン摂取群では EMIQ 非配合プロテイン摂取群に比べ、下肢の筋肉変化量が有意に増加することが示された (図4)。また、抗酸化能と酸化度から求めた潜在的抗酸化指標も EMIQ 配合プロテイン摂取群で改善が見られた⁹⁾。

2-2. 酵素処理イソクエルシトリンの老化への作用

次に、老化への影響を、25 ヶ月齢の老齢マウスを用いて検討した。その結果、4 ヶ月齢の若齢マウスに比べ老齢マウスでは運動時の脂肪の代謝が低下するが、6 ヶ月間の EMIQ 摂取で運動時の脂肪の代謝が改善した。また、老齢マウスで低下する活動量を改善し、骨格筋での抗酸化酵素の遺伝子発現や酸化 (カルボニル化) が改善されることが示された (図5)¹⁰⁾。

これらの研究から、EMIQ 配合プロテインの摂取は筋肉に有効であると考えられ、当社のタンパク製品に横断的に EMIQ (パッケージでは E ルチンと表記) を配合している。

おわりに

食品は私たちの健康に対して多くの影響力を持っている一方、その作用は解明できていない事も多い。森永製菓の創業の精神「おいしく、たのしく、すこやかに」に基づき、これから

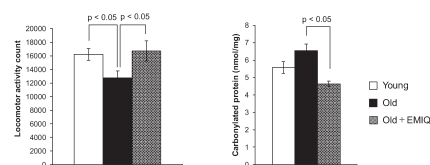


図5. 老齢マウスにおける酵素処理イソクエルシトリン摂取時の活動量、筋肉の酸化

も食品を通じて多くの人々の健康に貢献できるように、研究を進めていきたい。

(引用文献)

- 1) Setoguchi Y, Oritani Y, Ito R, Inagaki H, Maruki-Uchida H, Ichianagi T, Ito T. Absorption and metabolism of piceatannol in rats. *J Agric Food Chem.*, 62(12), 2541-2548, (2014)
- 2) Kawakami S, Kinoshita Y, Maruki-Uchida H, Yanae K, Sai M, Ito T. Piceatannol and its metabolite, isorhapontigenin, induce SIRT1 expression in THP-1 human monocytic cell line. *Nutrients*, 6(11), 4794-4804, (2014)
- 3) Nonaka S, Kawakami S, Maruki-Uchida H, Mori S, Morita M. Piceatannol markedly upregulates heme oxygenase-1 expression and alleviates oxidative stress in skeletal muscle cells. *Biochem Biophys Res.*, 18, 100643, (2019)
- 4) Ishihata A, Maruki-Uchida H, Gotoh N, Kanno S, Aso Y, Togashi S, Sai M, Ito T, Katano Y. Vascular- and hepato-protective effects of passion fruit seed extract containing piceatannol in chronic high-fat diet-fed rats. *Food Funct.*, 7(9), 4075-4081, (2016)
- 5) Uchida-Maruki H, Inagaki H, Ito R, Kurita I, Sai M, Ito T. Piceatannol lowers the blood glucose level in diabetic mice. *Biol Pharm Bull.*, 38(4), 629-633, (2015)
- 6) Kitada M, Ogura Y, Maruki-Uchida H, Sai M, Suzuki T, Kanasaki K, Hara Y, Seto H, Kuroshima Y, Monno I, Koya D. The Effect of Piceatannol from Passion Fruit (*Passiflora edulis*) Seeds on Metabolic Health in Humans. *Nutrients*, 9(10), 1142, (2017)
- 7) Maruki-Uchida H, Kurita I, Sugiyama K, Sai M, Maeda K, Ito T. The protective effects of piceatannol from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds in UVB-irradiated keratinocytes. *Biol Pharm Bull.*, 36(5), 845-849, (2013)
- 8) Maruki-Uchida H, Morita M, Yonei Y, Sai M. Effect of Passion Fruit Seed Extract Rich in Piceatannol on the Skin of Women: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Trial. *J Nutr Sci Vitaminol.*, 64(1), 75-80, (2018)
- 9) Omi N, Shiba H, Nishimura E, Tsukamoto S, Maruki-Uchida H, Oda M, Morita M. Effects of enzymatically modified isoquercitrin in supplementary protein powder on athlete body composition: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *J Int Soc Sports Nutr.*, 16(1), 39, (2019)
- 10) Tsukamoto-Sen S, Kawakami S, Maruki-Uchida H, Ito R, Matsui N, Komiya Y, Mita Y, Morisasa M, Goto-Inoue N, Furuichi Y, Manabe Y, Morita M, Fujii NL. Effect of antioxidant supplementation on skeletal muscle and metabolic profile in aging mice. *Food Funct.*, 12, 825-833, (2021)

謝 辞 本研究は、森永製菓株式会社の健康科学研究センターにて行われたものです。また、多くの大学とも共同研究をさせていただきました。ご指導、ご支援いただいた、センターのメンバーの皆様、先生方に深く感謝致しますとともに、深く御礼申し上げます。



株式会社 明治 土 橋 英 恵

生乳由来乳酸菌に関する研究

はじめに

乳酸菌とは、グラム陽性、桿菌あるいは球菌、カタラーゼ陰性で、糖を消費して著量の乳酸を作る菌の総称であり、分類学的には *Lactobacillales* 目 5 科 66 属¹⁾ に分類される種が該当する。その数は 500 種以上であり、植物 (花、果実)、動物 (腸管)、食品 (発酵食品、生乳) など我々の身近に広く生息している。古くから様々な発酵食品の製造において重要な役割を果たしており、特に欧州の伝統的なチーズに代表される非殺菌乳を用いた伝統的発酵乳製品では、生乳由来の乳酸菌が風味醸成に大きな影響を与えるため、生乳由来乳酸菌に関する研究が多数報告されている。一方、日本には様々な伝統的発酵食品は存在するが、乳を用いたものは我々が知る限り存在せず、日本国内の生乳由来乳酸菌に関する知見およびそれを用いた発酵乳製品はない。筆者は 2010 年より国産生乳由来乳酸菌を対象とした研究に着手し、これまでにいくつかの生乳由来株を自社発酵乳製品に応用してきた。本稿では、生乳由来乳酸菌およびそれを用いた発酵乳のメタボローム解析結果に加え、最近の商品開発への応用事例について紹介する。なお、2020 年 4 月に *Lactobacillus* 属が新規 23 属を含む 25 属に分割再編されたが²⁾、本稿では検討を行った当時の旧分類名で表記する。

1. 生乳から高頻度で分離される乳酸菌の種類

当社は独自のスターター開発を目的として、植物や動物、発酵食品といった様々なサンプルから乳酸菌を分離・収集しており、現在 5000 株を超える乳酸菌をライブラリーとして保有している。特に 2009 年以降は生乳由来の乳酸菌に注目し、2015 年までに北海道産生乳から 6 科 19 属に属する計 1475 株の乳酸菌を分離し (現在も継続中)、生乳には多種多様な菌種が生息していることが示唆された。

2. 生乳由来乳酸菌の代謝産物によるプロファイリング

2-1. 香気成分によるプロファイリング³⁾

乳中で乳酸菌が産生する香気成分プロファイルを明らかにすることを目的とし、生乳から高頻度で分離される菌種を中心に *Lactobacillus* 属、*Lactococcus* 属、*Leuconostoc* 属、*Pediococcus* 属、*Streptococcus* 属から成る 17 種 143 株について、発酵乳中の香気成分および有機酸を分析した。検出された香気成分 44 種、有機酸 10 種について主成分分析を行った結果、絶対ヘテロ乳酸発酵型の乳酸菌 (以下、絶対ヘテロと略) と *Lactococcus lactis*、その他菌種で大きく 3 つのクラスターにわかれた (図 1 (a))。絶対ヘテロと *Lc. lactis* の特徴が際立っていたため、それ以外の菌種についてはその特徴を読み取ることができなかった。そこで *Lactobacillus* 属 11 種 98 株を対象に主成分分析したところ、発酵型 (絶対ホモ、通性ヘテロ、絶対ヘテロ) に

よって 3 つに大別された (図 1 (b))。さらに、発酵型別に解析すると菌種別に分かれたことから、菌種別に特徴的な香気成分プロファイルの存在が示唆された (図 1 (c), (d), (e))。

2-2. 水溶性成分によるプロファイリング⁴⁾

特徴的な香気プロファイルを示した 5 種 47 株の乳酸菌 (*L. delbrueckii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lc. lactis*) に対象を限定し、香気成分分析および有機酸分析に加えて CE-TOFMS 分析による水溶性成分分析を実施した。機器分析により有機酸 8 種、香気成分 44 種、水溶性成分 234 種 (ペプチド不含) 検出された。5 菌種の香気成分について主成分分析した結果、絶対ヘテロの *L. fermentum*, *Lc. lactis* および *L. paracasei*, その他菌種の 3 つに分かれ、前項の結果 (図 1 (a)) と同様の結果が得られた (図 2 (a))。水溶性成分について解析した結果、供試した 5 菌種すべてが分かれ (図 2 (b))、水溶性成分の方が香気成分よりも菌種毎の特徴を明確に反映する結果となった。これは香気成分に比

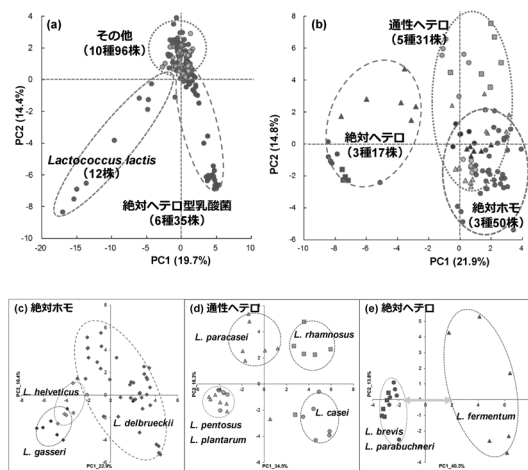


図 1. 香気成分の主成分得点散布図, (a) 17 種 143 株, (b) *Lactobacillus* 属 11 種 98 株, (c) 絶対ホモ 3 種 50 株, (d) 通性ヘテロ 5 種 31 株, (e) 絶対ホモ 3 種 17 株

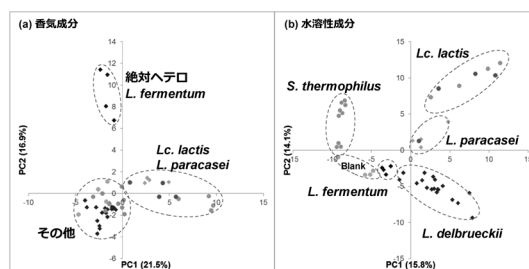


図 2. 5 種 47 株を対象とした (a) 香気成分および (b) 水溶性成分の主成分得点散布図

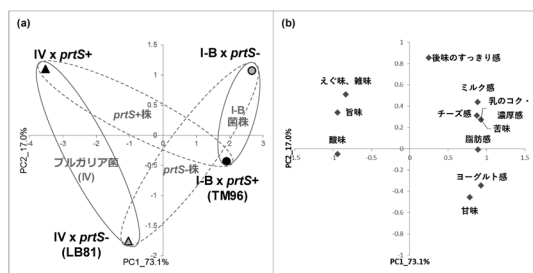


図3. 発酵乳4種を対象とした官能評価値の (a) 主成分得点散布図, (b) 主成分負荷量散布図

べ水溶性成分の成分数が多いことに起因する。以上の結果から、菌種毎に特徴的な水溶性成分プロファイルが存在することが示唆された。

3. 生乳由来乳酸菌の特徴解析

食品の国際規格 (Codex 規格)⁵⁾において、ヨーグルトとは *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ブルガリア菌) と *S. thermophilus* の共発酵品と定義されているため、一般的にヨーグルトスターターと言えば、これら2菌種を指す。そこで北海道産生乳から分離した *L. delbrueckii* と *S. thermophilus* に着目し、それぞれの特性を調べた。

3-1. 生乳由来 *Lactobacillus delbrueckii*⁶⁾

L. delbrueckii は6つの亜種に細分され、ブルガリア菌は *L. delbrueckii* の6亜種のうちの1亜種である。生乳由来 *L. delbrueckii* の亜種の分布を推定することを目的として、北海道産生乳由来226株について *groEL* (*hsp60*) 遺伝子配列に基づいた系統解析を行った。その結果、226株の *groEL* (*hsp60*) 遺伝子は新規8種を含む14種のアレル型に分類され、全体の半数以上の株が単一のアレルを有することが明らかになった。次に代表的なアレル型を持ついくつかの株を対象に亜種を同定した結果、生乳由来 *L. delbrueckii* 226株にブルガリア菌 (クラスター IV) は存在しなかったが、これまでに報告のないサブクラスター (I-B と呼称) に属する菌群 (I-B 菌群) が7割近くを占め、この I-B 菌群は生乳由来 *L. delbrueckii* の最優勢菌群である可能性が示唆された。

3-2. 生乳由来 *Streptococcus thermophilus*

細胞壁結合型プロテアーゼをコードする *prtS* 遺伝子を有する *S. thermophilus* は、乳での発酵性がよいことが古くから報告されている⁷⁾。しかし、*prtS* 遺伝子保有株 (*prtS*+ 株) は少なく、フランス INRA のコレクション135株のうち、*prtS*+ 株は21株 (15.6%) との報告⁸⁾がある。山本らは、当社国産生乳由来 *S. thermophilus* 172株について調べ、59株 (34.3%) に *prtS* 遺伝子が存在することを明らかにした⁹⁾。

4. 発酵乳の代謝産物プロファイル研究¹⁰⁾

生乳由来 *L. delbrueckii* あるいは *S. thermophilus* には従来のヨーグルトスターターとは異なる特性を有する菌株が存在することが示唆され、十勝産生乳由来乳酸菌から選抜した *L. delbrueckii* OLL204989 (I-B 菌群) と *S. thermophilus* OLS4496 (*prtS*+ 株) から成るスターター「十勝ミルク乳酸菌 TM96」を開発した。さらにこの TM96 を用いた「明治北海道十勝濃厚マイルドヨーグルト」を2019年3月に上市した。

TM96 を用いた発酵乳と、*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ブルガリア菌) と *S. thermophilus* から成る既存ヨーグルトスターター LB81 を用いた発酵乳との違いを明らかにするため、TM96 (I-B, *prtS*+) あるいは LB81 (IV, *prtS*-) の *L. delbrueckii* と *S. thermophilus* を組み合わせた発酵乳のメタボローム解析を行った。その結果、*prtS* 遺伝子の有無と *L. delbrueckii* 亜種の違いにより、4つに分かれ (図3 (a))、LB81 (IV, *prtS*-) で調製した発酵乳は酸味とヨーグルト感があるのに対し、TM96 で調製した発酵乳 (I-B, *prtS*+) は、酸味が弱く、ミルクの風味とヨーグルト感の両方を合わせもった風味であることが明らかになった (図3 (b))。

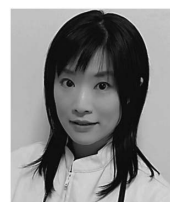
おわりに

今回は乳酸菌を用いた食品の二次機能 (嗜好性) に関する研究を中心に紹介したが、近年乳酸菌の健康機能性に関しても知見が蓄積している。そして生乳以外にも多種多様な乳酸菌が生息し、我々が知らない可能性がまだ眠っていると信じている。これからは乳酸菌の可能性を探索することにより、おいしく健康的な食品の開発に少しでも貢献できればと考えている。

(引用文献)

- 1) List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, <https://www.bacterio.net/>
- 2) J. Zheng et al., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **70**(4), 2782, 2020
- 3) 土橋英恵, 斎藤瑞恵, 市川愛弓, 植野敦子, 神山智敬, 木村勝紀, 生乳由来 *Lactobacillus* 属乳酸菌の香気プロファイル研究, 日本乳酸菌学会2018年度大会講演要旨集, p. 14, (2018)
- 4) 土橋英恵, 斎藤瑞恵, 戸松創, 市川愛弓, 植野敦子, 神山智敬, 木村勝紀, 生乳由来乳酸菌発酵物のメタボローム解析, 日本酪農科学シンポジウム2018要旨, p. 20, (2018)
- 5) CODEX STANDARD FOR FERMENTED MILKS, CODEX STAN 243-2003
- 6) 土橋英恵, 市川愛弓, 小泉明子, 竹田麻理子, 溝口智奈弥, 石田達也, 木村勝紀, 国内産生乳から分離された *Lactobacillus delbrueckii* の遺伝的多様性の解析, 日本農芸化学会2019年度大会プログラム集, (2019)
- 7) S. Shahbal et al., *Lait*, **71**, 351, 1991
- 8) C. Delorme et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**(2), 451, 2010
- 9) E. Yamamoto et al., *Biosci. Microbiota Food Health*, **39**(3), 169, 2020
- 10) 土橋英恵, 市川愛弓, 武安紗英, 河合良尚, 植野敦子, 斎藤瑞恵, 戸松創, 木村勝紀, 国産生乳から分離した *Lactobacillus delbrueckii* と *Streptococcus thermophilus* を用いた発酵乳のメタボローム解析, 日本乳酸菌学会2019年度大会講演要旨集, p. 30, (2019)

謝 辞 本研究は株式会社 明治にて多数の研究員の方々と共同して取り組んだものです。共同研究者の皆様ならびに日々の研究を支えてくださったラボのメンバーに深く感謝いたします。特に本研究は生乳から分離された乳酸菌なくしては成り立ちませんでした。長年にわたり乳酸菌の分離・収集に携わった研究員の方々の地道な取り組みに敬意を表します。2-2 および4についてはヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社との共同研究です。ご支援くださりました HMT 社関係各位に厚く御礼申し上げます。最後に本研究に理解を示し、ご支援ならびにご指導賜りました株式会社 明治の皆様にも深く感謝いたします。



油脂中のリスク物質の新規分析法開発とその応用

ハウス食品グループ本社株式会社 宮崎 絹子

はじめに

3-クロロ-1,2-プロパンジオール脂肪酸エステル類 (3-MCPDEs) 及びグリシドール脂肪酸エステル類 (GEs) は、食用油脂の精製 (主に脱臭) 工程において油脂の主成分であるアシルグリセロールから生成することが近年明らかになった新規リスク物質である。2007~2009年、ドイツ連邦リスク評価研究所が3-MCPDEsとGEsの健康影響評価結果を公表した当初、油脂中のこれら物質を精度良く定量できる分析法は存在しなかったため、2010年以降には各国で、食用油脂を対象とした分析法の開発が進められた。また、3-MCPDEsの位置異性体である2-クロロ-1,3-プロパンジオール脂肪酸エステル類 (2-MCPDEs) も、後に分析対象物質とされた。

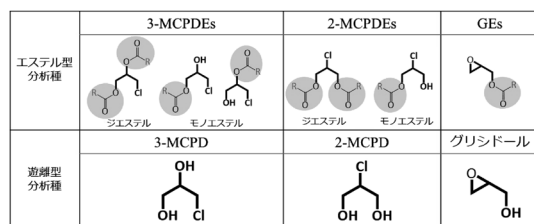


図1. エステル型分析種と遊離型分析種の構造。丸で囲んだ箇所は脂肪酸エステル類。

分析法は、直接法と間接法の2つに大別される。エステル型分析種は結合する脂肪酸の種類、結合位置・数の違いにより、数十の類縁化合物が存在する (図1)。直接法は、3-MCPDEsやGEsの各エステル型分析種について、結合する脂肪酸の種類等を区別して分析種毎に定量できる。一方の間接法は、各エステル型分析種を単一の遊離型分析種へ分解・誘導体化してGC-MSにて分析する。3-MCPD、2-MCPD、グリシドールの遊離型相当濃度を同時に定量でき、必要な標準試薬の種類も少なく、簡便であるため、これら分析種の濃度の把握には、間接法が主に用いられている。間接法においてエステル型分析種の分解には、一般的に酸やアルカリが用いられるが、pHの変化により意図しない変換 (アルカリ性pH: 3-MCPDEs→グリシドール、酸性pH: GEs→3-MCPD) も生じることが報告されていた。そのため、間接法を開発する上での重要課題は、分析種間の意図しない変換を防いだ分解手法の確立であった。

1. 食用油脂を対象とした酵素的間接分析法の開発

ハウス食品グループでも原料油脂の安全性保証のため、食用油脂中の3-MCPDEsとGEsを精度良く定量するための分析法開発に着手した。エステル型分析種の分解時における、3-MCPDEsとGEs間の意図しない変換を防いだ分解手法を試行錯誤する中で、2つの理由からリパーゼに着目した。1つ目

の理由は穏やかな条件で加水分解を進行できることである。多くのリパーゼの最適pHは中性付近にあるため、極端な酸性、アルカリ性pHにせずともエステル型分析種の加水分解を行うことができ、意図しない変換を抑制できると考えた。2つ目の理由はエステル型分析種の分解の迅速化である。リパーゼは由来によって、結合する脂肪酸の種類や結合位置、アシルグリセロールの種類 (トリ、ジ、モノ) 等に対して分解特異性を有するが、3-MCPDEs、2-MCPDEs、GEsに対する分解特異性が高いリパーゼ及びそのリパーゼに適した加水分解条件を選定できれば、迅速に加水分解を完了できるだろうと仮説をたてた。検証の結果、3-MCPDEs、2-MCPDEs、GEsの加水分解に適した *Candida cylindracea* (*C. rugosa*) 由来リパーゼを選定し、30分以内に加水分解を完了する条件を見出すことができた。加水分解条件の確立後、他の分析操作やGC-MS条件等を選定し、酵素的間接分析法を確立した (図2)^{1,2)}。

なお、*C. cylindracea* 由来リパーゼはドコサヘキサエン酸 (DHA) 等が結合した3-MCPDEsやGEsは分解しづらいことから、上記分析法の適用範囲は『魚油を除く食用油脂』である。DHA等が結合した3-MCPDEs、GEsを含む可能性のある魚油を分析するには、加水分解に *Burkholderia cepacia* 由来リパーゼを用いた改良法を用いる必要がある³⁾。

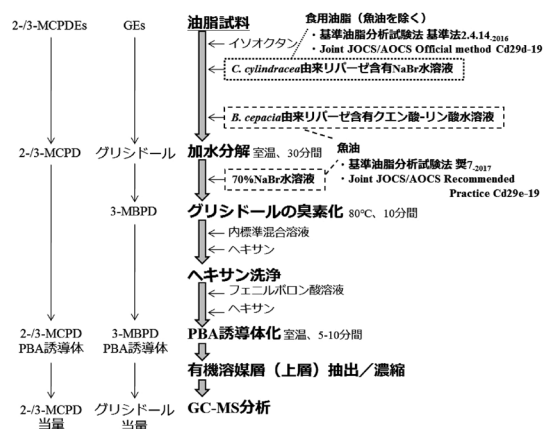


図2. 酵素的間接分析法の分析フロー

2013年には、米国油化学会 (AOCS) Official Method として3法 [Cd 29a-13⁴⁾, Cd 29b-13⁵⁾, Cd 29c-13⁶⁾] が登録された。分析種間の意図しない変換を防ぐためにCd 29a-13は弱酸性pH、Cd 29b-13は弱アルカリ性pHかつ低温と、穏やかな条件下で16時間かけてエステル型分析種の分解を行うため、GC-MS検液調製に2日間を要する。Cd 29c-13は分解に要する時間は短い、1つの試料につき2つの方法で分析する必要がある。これら3法に対し、酵素的間接分析法の加水分解は0.5時間と迅速に完了し、操作も簡便であるという利点を有する。

2. 国内外の基準法への収載

酵素的間接分析法を市場に流通する食品の安全性保証に広く活用してもらうためには、複数機関による分析法の性能評価が必要であった。2014年、13機関に協力いただき、公益社団法人日本油化学会規格試験法委員会内に MCPD 脂肪酸エステル等（間接法）小委員会を設立し、合同試験を実施した。その結果、本分析法は十分な室間再現精度を有することが認められ、2016年に日本油化学会基準油脂分析試験法基準法「2.4.14₂₀₁₆ 2-/3-MCPD 脂肪酸エステル、グリシドール脂肪酸エステル（間接分析—酵素法）」として承認された^{7,8)}。基準法2.4.14₂₀₁₆では適用範囲外の DHA 等を含む魚油を対象とした改良法についても、2017年に基準油脂分析試験法推奨法「奨7₂₀₁₇ 魚油中の 2-/3-MCPD 脂肪酸エステル、グリシドール脂肪酸エステル（間接分析—酵素法）」として承認された⁹⁾。

2019年には、米国に拠点を置く、油脂、界面活性剤等に関する国際的な専門組織である AOCS が制定する公定法にも、Joint JOCS/AOCS Official Method Cd 29d-19 及び Joint JOCS/AOCS Recommended Practice Cd 29e-19 として承認された^{10,11)}。

3. 油脂含有食品への適用と応用

2017年には、「農林水産省、平成29年度安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業」の枠組みで「油脂を用いた加熱調理が、食材中の 3-MCPD 脂肪酸エステル類及びグリシドール脂肪酸エステル類の生成に及ぼす影響を把握するための分析法の開発」を受託した。本研究では、油脂を原料とする食品（油脂含有食品）中の 3-MCPDEs, GEs 濃度や加熱調理中のこれら物質の動態を把握するために、日本国内で流通する油脂含有食品に適した分析法の確立を目指した。簡易な前処理（液液分配）を追加した酵素的間接分析法¹²⁾と、欧州食品安全機関（EFSA）が報告した酸間接分析法（EFSA 法）¹³⁾の性能を検証し、油脂含有食品中の 3-MCPDEs, GEs の分析法を確立した。

さらに、油脂含有食品の加熱調理において 3-MCPDEs, GEs 生成の有無及び生成に寄与する要因を把握するため、焼き、揚げの2条件の加熱調理におけるモデル加工食品「焼きクラッカー」及び「揚げポテトスナック」を作製し、先述の前処理を追加した酵素的間接分析法を用いて分析した。配合油脂や揚げ油にはパーム油を用いた。汎用的な加熱条件で加熱したところ、焼きクラッカー（ガスオーブン、185℃、200℃）、揚げポテトスナック（フライヤー、160℃）ともに 3-MCPDEs, GEs は原料油脂から新たに生成しないことが示された。揚げポテトスナックの揚げ油（バッチ式、新油の継ぎ足し無し）においては、3-MCPDEs は経時的に減少し、GEs は増減しないことを確認した。詳細な結果は文献14を参照いただきたい¹⁴⁾。

4. 本分析法の活用

2018年、国際協力機構主催のタイ国別研修「水産製品における食品添加物及び汚染物質に関する検査方法」において、酵素的間接分析法の技術指導を実施した。タイ水産局の研究所を訪問し、本分析法の原理に関する講義、分析技術の指導を行った。また、水産局の研究者と協働で、タイで実施する上での課題解決を行い、本分析法をタイ水産局へ導入した。今後、タイの水産製品の品質管理への本分析法の活用が期待される。

おわりに

本研究では、エステル型分析種の加水分解の手法としてリパーゼに着目することで、食用油脂及び油脂含有食品中の 2-/3-MCPDEs, GEs を精度良く、かつ、迅速に定量できる酵素的間接分析法を確立できた。当初の目的は、弊社の原料・製品の安全性保証のためであったが、社内外の多くの方々のご協力、ご支援のおかげで、本分析法は国内外の基準法として収載された。今後も、食用油脂及び油脂含有食品中の 3-MCPDEs, GEs 濃度の把握、低減対策、食品製造・調理中の動態に関する研究が進められるだろう。酵素的間接分析法に関する研究が、これらの研究の進歩・発展の一助になることを期待する。

お客様に安全な食品をお届けできるよう、これからも食の安全に関する研究に取り組んでいきたい。

(引用文献)

- 1) K. Miyazaki, K. Koyama, T. Hirao & H. Sasako, Indirect Method for Simultaneous Determinations of 3-chloro-1,2-propanediol Fatty Acid Esters and Glycidyl Fatty Acid Esters, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 1403-1407 (2011)
- 2) 宮崎(中村)絹子, 2-/3-MCPD 脂肪酸エステル類, グリシドール脂肪酸エステル類の酵素的間接分析法の開発, 東京大学大学院農学生命科学研究科博士論文 (2017)
- 3) K. Miyazaki & K. Koyama, An Improved Enzymatic Indirect Method for Simultaneous Determinations of 3-MCPD Esters and Glycidyl Esters in Fish Oils, *Journal Oleo Science*, 66, 1085-1093 (2017)
- 4) AOCS Official Method, Cd 29a-13 (2013)
- 5) AOCS Official Method, Cd 29b-13 (2013)
- 6) AOCS Official Method, Cd 29c-13 (2013)
- 7) K. Koyama, K. Miyazaki, K. Abe, Y. Egawa, H. Kido, T. Kitta, T. Miyashita, T. Nezu, H. Nohara, T. Sano, Y. Takahashi, H. Taniguchi, H. Yada, K. Yamazaki & Y. Watanabe, Collaborative Study of an Indirect Enzymatic Method for the Simultaneous Analysis of 3-MCPD, 2-MCPD, and Glycidyl Esters in Edible Oils, *J. Oleo Sci.*, 65, 557-568 (2016)
- 8) 日本油化学会編, 基準油脂分析試験法, 2.4.14₂₀₁₆ (2016)
- 9) 日本油化学会編, 基準油脂分析試験法, 奨7₂₀₁₇ (2017)
- 10) Joint JOCS/AOCS Official Method, Cd 29d-19 (2019)
- 11) Joint JOCS/AOCS Recommended Practice, Cd 29e-19 (2019)
- 12) K. Miyazaki & K. Koyama, Application of Indirect Enzymatic Method for Determinations of 2-/3-MCPD-Es and Gly-Es in Foods containing Fats and Oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93, 885-893 (2016)
- 13) JRC Standard Operating Procedure, In-house validated by the EC-JRC (2016)
- 14) 農林水産省, H29年度安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業, 研究成果報告 (2018) http://www.maff.go.jp/j/syoutan/seisaku/regulatory_science/pdf/2901.pdf

謝 辞 本研究の遂行にあたり、ハウス食品グループ本社の基礎研究部メンバーや社外の多くの方にご支援いただきました。本試験法の合同試験は、MCPD 脂肪酸エステル等（間接法）小委員会の委員及び合同試験試料の分析をしていただいた皆様のご尽力のおかげで成功しました。心より感謝申し上げます。基準法への収載にあたり、日本油化学会規格試験法委員会及び試験法企画小委員会の委員の皆様、AOCS の Scott Bloomer 博士には、多大なご助言を頂戴したことを厚く御礼申し上げます。

農林水産省の研究委託事業において、本研究課題に携わって頂いた研究推進会議メンバー及び試験研究課題運営チームの皆様のご助言、ご尽力に感謝申し上げます。

日本農芸化学会
鈴木 賞

日本農学会扱

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

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

本 会 扱

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

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

日本農芸化学会賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	昭和61年 (1986)	微生物機能の解析と応用に関する研究	別府 輝彦	東大農
2	昭和61年 (1986)	微生物酵素の機能開発の新展開	山田 秀明	京大農
3	昭和62年 (1987)	蛋白質高生産菌の発見と応用に関する研究	鶴高 重三	名大農
4	昭和62年 (1987)	植物培養細胞の機能分化と物質生産に関する基盤的研究	山田 康之	京大農
5	昭和63年 (1988)	昆虫脳神経ペプチドに関する生物有機化学的研究	鈴木 昭憲	東大農
6	昭和63年 (1988)	細菌細胞表層に関する研究	水島 昭二	東大応微研・名大農
7	平成元年 (1989)	好アルカリ性微生物とアルカリ酵素の研究	堀越 弘毅	東工大工
8	平成元年 (1989)	微生物生活環制御物質に関する生物有機化学的研究	丸茂 晋吾	名大農
9	平成2年 (1990)	細胞増殖・分化の制御に関与する天然生理活性物質の有機化学的研究	小清水弘一	京大農
10	平成2年 (1990)	酵母菌の性分化シグナルに関する研究	福井 作蔵	福山大工
11	平成3年 (1991)	植物細胞オルガネラの動的性状の生化学的・分子生物学的研究	旭 正	名大農
12	平成3年 (1991)	遺伝子の高次構造と機能発現に関する分子生物学的研究	駒野 徹	京大農
13	平成4年 (1992)	アミノ酸代謝関連酵素の新しい機能と応用面の開発	左右田健次	京大化研
14	平成4年 (1992)	海洋生物毒の化学および動態に関する研究	安元 健	東北大農
15	平成5年 (1993)	葉緑体での活性酸素の生成と消去の分子機構	浅田 浩二	京大食研
16	平成5年 (1993)	生体膜リン脂質の多機能性に関する生化学的研究	鬼頭 誠	京大食研
17	平成6年 (1994)	食品の多用な機能の解析と設計に関する酵素学的・分子生物学的研究	荒井 綜一	東大農
18	平成6年 (1994)	細菌胞子の発芽と形成に関する分子生物学的研究	小林 泰夫	東農工大農
19	平成7年 (1995)	ゼニゴケ葉緑体およびミトコンドリアゲノムの全構造の解明	大山 莞爾	京大農
20	平成7年 (1995)	複合糖質に関する合成研究	小川 智也	東大院農・理研
21	平成8年 (1996)	アブラナ科植物の自家不和合性に関する生物有機化学的及び分子生物学的研究	磯貝 彰	奈良先端大
22	平成8年 (1996)	合成化学を機軸とした生理活性天然物研究と新展開	市原 耿民	北大農
23	平成9年 (1997)	酵母細胞の分子育種に関する遺伝生化学的研究	木村 光	京大食研
24	平成9年 (1997)	C-P結合形成の分子機構の解明—生物有機化学と分子生物学の接点	瀬戸 治男	東大分生研
25	平成10年 (1998)	分子遺伝学的手法にもとづく生物生産の増強に関する基盤研究	魚住 武司	東大院農生科
26	平成10年 (1998)	赤血球造血因子(エリスロポエチン)の新しい生理作用の発見と生合成の調節機構に関する研究	佐々木隆造	京大院農
27	平成11年 (1999)	黄色ブドウ球菌の細胞崩壊毒素の遺伝子、構造及び作用機構の解明	神尾 好是	東北大農
28	平成11年 (1999)	微生物遺伝子の発現制御に関する基礎および応用研究	塚越 規弘	名大院生農
29	平成12年 (2000)	生物の信号伝達に関する生物有機化学的研究	磯部 稔	名大院生農
30	平成12年 (2000)	食品アレルギーの誘導・抑制に関する腸管免疫の特性に関する研究	上野川修一	東大院農生科
31	平成13年 (2001)	微生物機能タンパク質の分子細胞学的研究	熊谷 英彦	京大院生科
32	平成13年 (2001)	光に応答する植物遺伝子に関する応用分子生物学的研究	佐々木幸子	名大院生農
33	平成14年 (2002)	酸化ストレス制御を中心とする食品機能因子の化学と作用機構に関する研究	大澤 俊彦	名大院生農
34	平成14年 (2002)	生理活性シアロ糖鎖の構造と機能に関する化学生物学的研究	木曾 真	岐阜大農
35	平成15年 (2003)	ペプチド性新植物細胞増殖因子ファイトスルフォカインに関する研究	坂神 洋次	名大院生農
36	平成15年 (2003)	有用物質生産のための微生物プロセスの開発に関する基盤的研究	清水 昌	京大院農
37	平成16年 (2004)	微生物の新規素代謝の発見とその解明	祥雲 弘文	東大院農生科
38	平成16年 (2004)	His-Asp リン酸リレー情報伝達機構の普遍性と多様性の体系的理解	水野 猛	名大院生農
39	平成17年 (2005)	微生物二次代謝の動的精密分子解析と新機能酵素の開拓	柿沼 勝己	東工大院理工
40	平成17年 (2005)	酵母Ca ²⁺ シグナルの機能に関する分子生物学的研究	宮川 都吉	広島大院先端物質
41	平成18年 (2006)	細菌における蛋白質局在化機構の研究	徳田 元	東大分生研
42	平成18年 (2006)	放線菌の二次代謝、形態分化の制御機構の解明	堀之内末治	東大院農生科
43	平成19年 (2007)	味覚に関する分子生物学的・食品科学的研究	阿部 啓子	東大院農生科
44	平成19年 (2007)	微生物「超チャネル」に関する分子生物学的・構造生物学的研究	村田 幸作	京大院農
45	平成20年 (2008)	新しい酵素機能の開拓と産業利用に関する研究	浅野 泰久	富山県大工
46	平成20年 (2008)	産業利用を目指したタンパク質構造解析	田之倉 優	東大院農生科
47	平成21年 (2009)	微生物二次代謝産物に関するケミカルバイオロジー	長田 裕之	理研
48	平成21年 (2009)	ガ類性フェロモン産生の分子機構に関する生物有機化学的研究	松本 正吾	理研
49	平成22年 (2010)	ヒトABCタンパク質の生理的役割と分子メカニズムの解明	植田 和光	京大院農
51	平成23年 (2011)	特性を持つ高等植物培養細胞を用いた機能の解析と再構築	佐藤 文彦	京大院生命
52	平成23年 (2011)	分子遺伝学を基盤とした天然生理活性物質の化学生物学的研究	吉田 稔	理研基幹研
53	平成24年 (2012)	糖タンパク質の機能解析をめざす複合科学的研究	伊藤 幸成	理研基幹研
54	平成24年 (2012)	蛋白質の合成・成熟・品質管理を基盤とした分子生物学・細胞工学的研究	河野 憲二	奈良先端大バイオ
55	平成25年 (2013)	光合成生物の環境ストレス応答・耐性の分子機構に関する研究	重岡 成	近畿大農
56	平成25年 (2013)	油脂の嗜好性に関する栄養生理学的研究	伏木 亨	京大院農
57	平成26年 (2014)	酸化還元酵素・電極共役系を基盤とした生物電気化学研究の展開	加納 健司	京大院農
58	平成26年 (2014)	分析化学を基盤とした食品機能性研究の先導的展開	宮澤 陽夫	東北大院農
59	平成27年 (2015)	細胞表層活用の基盤開拓	植田 充美	京大院農
60	平成27年 (2015)	微生物代謝および酵素の分子機構と機能開発	小林 達彦	筑波大院生環
61	平成28年 (2016)	メタボリック症候群調節因子の栄養生化学的研究	河田 照雄	京大院農
62	平成28年 (2016)	コレステロール代謝制御の分子細胞生物学研究	佐藤隆一郎	東大院農生科
63	平成29年 (2017)	植物ホルモン機能の化学的制御とその応用に関する研究	浅見 忠男	東大院農生科
64	平成29年 (2017)	細菌情報伝達ネットワークの分子機構と情報伝達阻害型薬剤の開発	内海龍太郎	近大農
65	平成30年 (2018)	原核微生物の生命機能メカニズムに関する研究—バクテリアからアーキアへ—	石野 良純	九大院農
66	平成30年 (2018)	麹菌における有用遺伝子の発現制御機構の解明とその応用研究	五味 勝也	東北大院農
67	平成31年 (2019)	アミロイドβの毒性配座理論を基盤としたアルツハイマー病の予防戦略	入江 一浩	京大院農
68	平成31年 (2019)	生合成マシナリー再構築による生理活性物質の生産と多様性創出機構の解明	及川 英秋	北大院理
69	令和2年 (2020)	高等菌類由来の生物活性物質に関する化学的研究	河岸 洋和	静岡大グリーン・科技研
70	令和2年 (2020)	酵母のストレス耐性に関する新規な分子機構と高機能開発	高木 博史	奈良先端大

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)	デンブ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	飴山 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
9	平成2年 (1990)	微生物の好気条件における応答機能の解明と分子育種に関する研究	矢野 圭司	東大農
10	平成2年 (1990)	生体異物による代謝変動と制御に関する栄養学的研究	吉田 昭	名大農
11	平成3年 (1991)	生物活性物質を生産する微生物とその応用に関する研究	岡見 吉郎	微化研
12	平成3年 (1991)	食品・生体系におけるアミノカルボニル反応に関する研究	加藤 博通	東大農
13	平成4年 (1992)	酵素反応の速度論的解析の展開	廣海啓太郎	福山大工
14	平成4年 (1992)	植物起源の生理活性蛋白質の構造と機能に関する研究	船津 軍喜	九大農
15	平成5年 (1993)	抗菌性物質の生産、作用、耐性に関する研究	伊崎 和夫	東北大農
16	平成5年 (1993)	微生物プロテアーゼに関する研究—構造・活性相関—	鶴 大典	長崎大薬
17	平成6年 (1994)	健康・栄養に関与する細胞機能の生化学的研究	杉本 悦郎	京大農
18	平成6年 (1994)	食品の物性、加工操作、フラクタル構造等に関する基礎工学的研究	矢野 俊正	横浜国大工
19	平成7年 (1995)	糖鎖生物機能の分子的解析と生命科学への応用	長谷川 明	岐阜大農
20	平成7年 (1995)	生物間相互作用に関わる植物二次代謝産物の化学的研究	水谷 純也	北大農
21	平成8年 (1996)	生体触媒の機能解析と応用に関する研究	小田 順一	京大化研
22	平成8年 (1996)	微生物機能の資源・環境問題への利用に関する基礎的研究	児玉 徹	東大院農生科
23	平成9年 (1997)	産業酵素の機能開発に関する分子論的研究と応用	一鳥 英治	東北大農
24	平成9年 (1997)	コレステロール並びに脂肪酸代謝の制御に関する食品栄養学的研究	菅野 道廣	北大農
25	平成10年 (1998)	動物の遺伝子、クロマチン、染色体の分子細胞生物学的研究	水野 重樹	東北大農
26	平成10年 (1998)	生理活性タンパク質の構造と機能に関する研究	山崎 信行	九大農
27	平成11年 (1999)	グリコシダーゼの分子機構に関する研究	千葉 誠哉	北大農
28	平成11年 (1999)	X線結晶解析とタンパク質工学による酵素の構造と機能に関する研究	松澤 洋	東大院農生科
29	平成12年 (2000)	生理活性物質を用いた免疫系および骨代謝系細胞の分化と機能発現機構の解析	永井 和夫	東工大生命理工
30	平成12年 (2000)	枯草菌における有用菌体外酵素の生産制御・分泌経路およびゲノムの解析と応用	山根 國男	筑波大生科
31	平成13年 (2001)	新規微生物現象の解明と応用に関する研究	緒方 靖哉	九大院農
32	平成13年 (2001)	複合ゲノム系における基本遺伝システムの解析	高橋 秀夫	東大分生研
33	平成14年 (2002)	海産無脊椎動物の初期発生に関する化学生物学的研究	池上 晋	広島大生物生産
34	平成14年 (2002)	生理活性物質の探索とその利用	富田 房男	北大院農
35	平成15年 (2003)	有用微生物酵素に関する基礎と応用	荒井 基夫	阪府大院農生
36	平成15年 (2003)	糖蛋白質の合成及び細胞内輸送の阻害剤の発見と作用機構の研究	高月 昭	理研
37	平成16年 (2004)	微生物の新規な代謝機能の解明とその応用に関する研究	加藤 暢夫	京大院農
38	平成16年 (2004)	古細菌新規エーテル型リン脂質に関する進化的、分類学的、生態学的研究	古賀 洋介	産医大医
39	平成17年 (2005)	微生物の形態分化・二次代謝の遺伝生理学的解析と応用研究	越智 幸三	食総研
40	平成17年 (2005)	環境分野における微生物の新規な代謝機能の開発と分子基盤	古川 謙介	九大院農
41	平成18年 (2006)	フラボノイドの生態生物化学に関する研究	田原 哲士	北大院農
42	平成18年 (2006)	ジベレリンの生理作用の多様性解明に関する研究	山口五十麿	東大院農生科
43	平成19年 (2007)	酵母の糖鎖生物学および糖鎖工学に関する研究	地神 芳文	産総研
44	平成19年 (2007)	枯草菌代謝ネットワークのカタボライト制御の分子機作	藤田泰太郎	福山大生命工
45	平成20年 (2008)	微生物による合成高分子の分解・代謝に関する生化学的・分子生物学的研究	河合富佐子	岡山大資生研
46	平成20年 (2008)	食品機能分子と腸管系の相互作用の解析	清水 誠	東大院農生科
47	平成21年 (2009)	枯草菌の遺伝・育種に関する先導的研究	河村富士夫	立教大理
48	平成21年 (2009)	菌類の生理活性二次代謝産物に関する生物有機化学的研究	佐々 武史	山形大名誉教授
49	平成22年 (2010)	食品成分に関する脂質栄養学的研究	今泉 勝己	九大院農
50	平成22年 (2010)	好熱菌由来の極限酵素の機能開発	大島 敏久	九大院農
51	平成23年 (2011)	麹菌の細胞生物学的解析と応用に関する研究	北本勝ひこ	東大院農生科
52	平成23年 (2011)	微生物によるヘテロオリゴ糖代謝の分子細胞学的解析と複合糖質工学の新展開	山本 憲二	石川県大資源研
53	平成24年 (2012)	植物に含まれる生理活性物質の化学と生理機能に関する研究	山根 久和	東大生物学セ
54	平成24年 (2012)	有用微生物の細胞機能に関する分子遺伝生化学的研究	依田 幸司	東大院農生科
55	平成25年 (2013)	バイオフィーマティックスによる生物機能開発	久原 哲	九大院農
56	平成25年 (2013)	昆虫生理活性物質の化学生態学的研究	西田 律夫	京大院農
57	平成26年 (2014)	食品製造における速度過程が関与する現象の工学的解析	安達 修二	京大院農
58	平成26年 (2014)	植物機能高度活用のための分子基盤開発	横田 明穂	奈良先端大バイオ
59	平成27年 (2015)	翻訳後修飾および薬物代謝における硫酸化の意義・機能に関する研究	水光 正仁	宮崎大農
60	平成28年 (2016)	微生物による芳香族化合物分解システムの生化学的・分子生物学的解明	福田 雅夫	長岡技科大工
61	平成28年 (2016)	食品成分の体調調節機能に関する統合的研究	山田 耕路	崇城大生物生命
62	平成29年 (2017)	核酸結合タンパク質の構造機能相関と機能開発	木村 誠	九大院農
63	平成29年 (2017)	微生物ゲノムの解読と機能解析	吉川 博文	東農大応生
64	平成30年 (2018)	がん細胞の特性を標的とする阻害剤の化学生物学的研究	井本 正哉	慶應大理工
65	平成30年 (2018)	タンパク質の新機能性開発に関する多面的基盤研究	裏出 令子	京大院農
66	平成31年 (2019)	糸状菌における多糖分解酵素遺伝子群の発現制御に関する研究	小林 哲夫	名大院生命農
67	平成31年 (2019)	生体情報応答性カルシウム結合蛋白質およびその相互作用因子に関する構造と機能	牧 正敏	名大院生命農
68	令和2年 (2020)	ゲノム合成からゲノム移動までの一気通貫システム開発	板谷 光泰	高機能遺伝子デザイン技研組合
69	令和2年 (2020)	バクテリアによる γ -グルタミル化合物代謝の遺伝生化学的・構造生物学的研究とその応用展開	鈴木 秀之	京都工繊大

農芸化学技術賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1 (イ) (ロ) (ハ)	昭和43年 (1968)	清酒製造法の機械化	安藤 智雄	大倉酒造
2 (イ) (ロ)	昭和43年 (1968)	新型屋外醗酵貯酒タンクの開発と実用化	栗山 一秀	大倉酒造
3 (イ) (ロ)	昭和44年 (1969)	イミドメチル菊酸エステルの創製に関する研究	今安 聰	大倉酒造
4 (イ) (ロ)	昭和44年 (1969)	黒麹菌の耐酸性プロテアーゼの研究並びにその工業化	高柳 正	朝日麦酒
5 (イ) (ロ)	昭和45年 (1970)	洗剤配合用アルカリ・プロテアーゼの研究ならびに工業生産	原田 恒雄	朝日麦酒
6 7	昭和45年 (1970)	デキストランの工業的製造法の確立	加藤 武明	住友化学工業
8 (イ) (ロ) (ハ)	昭和46年 (1971)	発酵工程の自動化についての貢献	植田 賢三	住友化学工業
9 10	昭和46年 (1971)	注射用無水結晶ぶどう糖 (α -D-型および β -D-型) の製造	吉田 文彦	キッコーマン醤油
11 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和47年 (1972)	清酒泡なし酵母の造成およびその実用化	一島 英治	キッコーマン醤油
12 (イ) (ロ) (ハ)	昭和48年 (1973)	活性スラッジ法による産業排水の処理	草井 清	長瀬産業
13 14	昭和48年 (1973)	コラーゲンの新しい応用	小巻 利章	長瀬産業
15 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和49年 (1974)	清酒泡なし酵母の造成およびその実用化	篠田 晃	名糖産業
16 17	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	七字 三郎	微工研
18 19	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	山下 一男	東海糖業
20 (イ) (ロ)	昭和51年 (1976)	発酵排水を活用した有機入り化成肥料の製造法	服部 圭助	東海糖業
21 (イ) (ロ)	昭和51年 (1976)	微生物加水分解酵素の応用開発	伊藤 芳直	住友重機械工業
22 23	昭和52年 (1977)	配合飼料生産技術の改良	小野 英男	日本皮革
24 (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	宮田 暉夫	醸試
25 26	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	大内 弘造	醸試
27 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和53年 (1978)	醸造酢の新生産技術と利用法の開発	布川弥太郎	醸試
28 29	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	熊谷知栄子	醸試
30 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和55年 (1980)	酵素法によるL-リジン製造法の開発	秋山 裕一	国税庁鑑定企画
31 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	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	鈴木 英雄	微工研
32 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和56年 (1981)	新ステロイド醗酵の開発	上林 明	微工研
33 34	昭和56年 (1981)	酵母を用いる食品工業排水新処理法の開発	小原 潤一	北海道糖業
35 (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	田原 早苗	朝日麦酒
36 37	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	河盛 好昭	協和発酵工業
38 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	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	平野 欣也	協和発酵工業
39 40	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	辻阪 好夫	阪市工研
41 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	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	岡田 茂孝	阪市工研
42 43	昭和60年 (1985)	L-システインの新製造法の開発と工業化	麻生 和衛	日本農産工業
44 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和61年 (1986)	植物細胞培養によるシコニン系化合物の生産	鈴木 智雄	微工研
45 46	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	太宰 宙朗	微工研
47 (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	福永 和二	クラレ
48 49	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	服部 健一	花王石鹼
50 (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	正井 博之	中埜酢店
51 52	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	川村 吉也	中埜酢店
53 (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	山田 弘毅	中埜酢店
54 55	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	天羽 幹夫	朝日麦酒
56 (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	福村 隆	阪市大理
57 58	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	加藤 嵩一	東レ
59 (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	宮崎 幸雄	科研化学
60 61	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	原 正幸	科研化学
62 (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	今田 幸男	三菱化成
63 64	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	石川 八郎	三菱化成
65 (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	西川大吉郎	三菱化成
66 67	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	吉沢 淑	醸試
68 (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	友田 勝巳	武田薬品工業
69 70	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	宮田 孝一	武田薬品工業
71 (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	磯野 正雄	元武田薬品工業
72 73	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	大村栄之助	武田薬品工業
74 (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	板谷 信重	住友化学工業
75 76	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	松尾 憲忠	住友化学工業
77 (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	奥野 吉俊	住友化学工業
78 79	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	吉岡 宏輔	住友化学工業
80 (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 昌道	醸試
81 82	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	飯村 稔	醸試
83 (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	大塚 謙一	元醸試
84 85	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	松元 信也	サントリー
86 (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	吉栖 肇	サントリー
87 88	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	宮田 進	サントリー
89 (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	井上 繁	サントリー
90 91	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	町田 晴夫	名糖産業
92 (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	東 俊彦	名糖産業
93 94	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	国生 純孝	名糖産業
95 (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	佐野孝之輔	味の素
96 97	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	山本 泰	味の素
98 (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	楠本 勇夫	味の素
99 100	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	横関 健三	味の素
101 (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	藤田 泰宏	三井石油化学工業
102 103	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	菅 忠三	三井石油化学工業
104 (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	三井石油化学工業
105 106	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	松原 浩一	三井石油化学工業
107 (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	森原 和之	東宝薬品工業
108 109	昭和61年 (1986)	酵素法によるヒト・インシュリンの半合成	岡 達	塩野義製薬
110 (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	続木 博茂	塩野義製薬

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
33 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和62年 (1987)	ライトビールの創成～香味品質の設計技法の開発と応用	木村 良臣 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 キリンビール
34 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和62年 (1987)	フラクトオリゴ糖の工業生産とその利用開発	日高 秀昌 栄田 利章 足立 堯 斉藤 安弘	明治製菓 明治製菓 明治製菓 明治製菓
35 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和63年 (1988)	微生物によるアクリルアミド製造法の開発と工業化	中井 公忠 渡辺 一郎 佐藤 好昭 榎本 兼彦	日東化学工業 日東化学工業 日東化学工業 三菱レイヨン
36 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	昭和63年 (1988)	家畜用抗生物質チオペプチン、ピコザマイシンの発見と開発	三好 歳雄 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 藤沢薬品工業
37 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成元年 (1989)	酵素法による7-アミノセファロスポラン酸(7ACA)製造技術の研究	都築 勝昭 渋谷 友三 小松 謙一 市川 茂彰	旭化成工業 東洋醸造 旭化成工業 旭化成工業
38 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成元年 (1989)	アミノ配糖体抗生物質アストロミシンの開発	奈良 高 岡地 諒 手柴 貞夫 倉部 祥行	協和発酵工業 協和発酵工業 協和発酵工業 協和発酵工業
39 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成2年 (1990)	シアル酸及び関連酵素の発酵生産と臨床検査薬の開発	塚田 陽二 太田 泰弘 杉森 恒武 伊藤 進	マルキン醤油 マルキン醤油 マルキン醤油 花王
40 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成2年 (1990)	洗剤用アルカリセルラーゼの開発	川合 修次 岡本暉公彦 堀江 雄 木村 邦男	花王 花王 明治屋 明治屋
41 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成3年 (1991)	圧力をプロセスに用いる果実加工食品の開発	堀 恵一 中野 衛一 小山 泰二 鈴木 勝	三菱重工業 キッコーマン キッコーマン キッコーマン
42 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成3年 (1991)	工業生産用ファージベクターの開発とそれによる診断用酵素の生産	増田 力 小川 欽也 山本 昭 手塚 晴也	野田産研 信越化学工業 信越化学工業 信越化学工業
43 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成4年 (1992)	性フェロモンによる害虫防除	福本 毅彦 藤尾 達郎 丸山 明彦 杉山 喜好	信越化学工業 協和発酵工業 協和発酵工業 協和発酵工業
44 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成4年 (1992)	実用的なATP再生系の構築とヌクレオチド類生産への応用	古屋 晃 薄葉 久 中川 正人 江藤 正和	協和発酵工業 アサヒビール アサヒビール アサヒビール
45 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成5年 (1993)	アサヒスーパードライの開発	梅村 武明 広原日出男 矢野 俊彦 小野 幹夫	住友化学工業 住友化学工業 住友化学工業 富士フーズ
46 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成5年 (1993)	家庭・防疫用ビレスロイドーエトック [®] の開発	森 正隆 Leal, Walter Soares 八田 一 赤地 重光	日本たばこ産業 蚕糸・昆虫農技研 太陽化学 太陽化学
47 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成6年 (1994)	フェロモンを利用したトラップの開発	金 武祚 木野 亨 後藤 俊男 細田 純而	太陽化学 藤沢薬品工業 藤沢薬品工業 藤沢薬品工業
48 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成6年 (1994)	鶏卵抗体の大量生産および産業利用技術の開発	奥原 正国 本木 正雄 添田 孝彦 安藤 裕康	藤沢薬品工業 味の素 味の素 天野製菓
49 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成7年 (1995)	免疫抑制剤FK506(タクロリムス)の発見と開発	松浦 明 伊藤 菁我 久我 哲郎 岡部 正実	天野製菓 協和発酵工業 協和発酵工業 協和発酵工業
50 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成7年 (1995)	トランスグルタミナーゼの有用性研究とその実用化	横尾 義春 藤沢 幸夫 黒田 俊一 小林 真	協和発酵工業 武田薬品工業 神戸大バイオ研 武田薬品工業
51 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成8年 (1996)	タンパク質誘導体新薬「ノイアップ」の開発	垣沼 淳司 中島 宏 永田 和彦 影山 雅夫	名大農 ユニチカ ユニチカ ユニチカ
52 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成8年 (1996)	遺伝子組換え法によるpre-S2含有B型肝炎ワクチン製造法の開発	近藤 仁司 湯川 英明 寺沢 真人 小林 幹	ユニチカ 三菱化学 三菱化学 三菱化学
53 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成9年 (1997)	耐熱性酵素の工業的生産と利用	内田 康一	三菱化学
54 (イ) (ロ) (ハ) (ニ)	平成9年 (1997)	Coryneform bacteria MJ-233株の分子育種法の確立とその菌学的特徴を利用した新規バイオプロセスの開発		

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
55	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	杉本 利行	林原
(イ)			久保田倫夫	林原生物化学研究所
(ロ)			仲田 哲也	林原生物化学研究所
(ハ)			津崎 桂二	林原生物化学研究所
(ニ)			山中 茂	味の素
56	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	渡部乙比古	味の素
(イ)			井口 正俊	物質工学研
(ロ)			西 美緒	ソニー
(ハ)			有賀 敏明	キッコーマン
(ニ)			細山 浩	キッコーマン
57	平成11年 (1999)	プロアントシアニジンの機能性解明と開発	徳武 昌一	キッコーマン
(イ)			山越 純	キッコーマン
(ロ)			高木 広明	ヒゲタ醤油
(ハ)			東條 敬	ヒゲタ醤油
(ニ)			恵比須省吾	ヒゲタ醤油
58	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	宮内 明	ヒゲタ醤油
(イ)			山岸 信久	サッポロビール
(ロ)			篠塚 健	サッポロビール
(ハ)			高塩 仁愛	サッポロビール
(ニ)			金田 弘拳	サッポロビール
59	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—	里美 美	鐘淵化学工業
(イ)			池田 康裕	鐘淵化学工業
(ロ)			難波 弘憲	鐘淵化学工業
(ハ)			矢島 麗嘉	鐘淵化学工業
(ニ)			西矢 芳昭	東洋紡績
60	平成12年 (2000)	D-アミノ酸生産用バイオリクターの開発	和巳 和巳	東洋紡績
(イ)			川村 良久	東洋紡績
(ロ)			愛水 重典	東洋紡績
(ハ)			久住 高章	サントリー
(ニ)			田中 良和	サントリー
61	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—	鈴木 賢一	サントリー
(イ)			勝元 幸久	サントリー
(ロ)			森山 信雄	アルファード食品
(ハ)			篠崎 隆	アルファード食品
(ニ)			金山 功	アルファード食品
62	平成14年 (2002)	花色デザイン技術と花卉新品種の開発	矢富 伸治	アルファード食品
(イ)			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
63	平成14年 (2002)	新規機能性を付加した加工米の開発研究	古賀 泰裕	東海大医
(イ)			木村 勝紀	明治乳業
(ロ)			福井 宗徳	明治乳業
(ハ)			新井 秀武	明治乳業
(ニ)			村上 成治	キッコーマン
64	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	辰巳 宏樹	キッコーマン
(イ)			梶山 直樹	キッコーマン
(ロ)			榊原 達哉	キッコーマン
(ハ)			橋本 正治	藤沢薬品工業
(ニ)			岩元 俊朗	藤沢薬品工業
65	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	鶴海 泰久	藤沢薬品工業
(イ)			橋本 道真	藤沢薬品工業
(ロ)			八十原良彦	カネカ
(ハ)			木崎 憲之	カネカ
(ニ)			川野 茂	カネカ
66	平成16年 (2004)	ホタルルシフェラーゼの応用開発	長谷川淳三	カネカ
(イ)			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
67	平成16年 (2004)	抗真菌剤Micafungin (FK463) の発見と開発	大島 芳文	ミツカン
(イ)			多山 賢二	鈴峯女短大
(ロ)			赤野 裕文	ミツカン
(ハ)			岸 幹也	ミツカングループ本社
(ニ)			三原 康博	味の素
68	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	城下 欣也	味の素
(イ)			横山 正人	味の素
(ロ)			秋元 健吾	サントリー
(ハ)			新免 芳史	サントリー
(ニ)			沖田 定喜	サントリー
69	平成18年 (2006)	γ -アミノ酪酸含有乳製品乳酸菌飲料の開発	小野 佳子	サントリー
(イ)			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
70	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	ジュネジャレカ ラジュ	太陽化学
(イ)			朱 政治	太陽化学
(ロ)			大久保 勉	太陽化学
(ハ)			小関 誠	太陽化学
(ニ)			菊池 慶実	味の素
71	平成19年 (2007)	核酸系うま味調味料新製法の開発と工業化	萬年 輝久	味の素
(イ)				
(ロ)				
(ハ)				
(ニ)				
72	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		
(イ)				
(ロ)				
(ハ)				
(ニ)				
73	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		
(イ)				
(ロ)				
(ハ)				
(ニ)				
74	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		
(イ)				
(ロ)				
(ハ)				
(ニ)				
75	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		
(イ)				
(ロ)				

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
(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	キリンビール
(ロ)			吉田 聡	キリンホールディングス
(ハ)			金井(田中)圭子	キリンビール
(ニ)			小林 統	キリンビール
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	ミツカンフレシア
82 (イ)	平成25年 (2013)	高菌数、高生残性ビフィズス菌含有ヨーグルト製造方法の技術開発	清水(肖)金忠	森永乳業
(ロ)			宮地 一裕	森永乳業
(ハ)			小田巻俊孝	森永乳業
(ニ)			米澤寿美子	森永乳業
83 (イ)	平成26年 (2014)	乳由来血圧降下ペプチド素材の開発	山本 直之	カルビス
(ロ)			中村 康則	カルビス
84	平成26年 (2014)	ジペプチド発酵技術の開発と工業化	協和発酵バイオ株式会社(賛助会員)	
85 (イ)	平成26年 (2014)	超好熱菌由来の新規DNA ポリメラーゼの発見とその産業利用	北林 雅夫	東洋紡
(ロ)			小松原秀介	東洋紡
(ハ)			今中 忠行	立命館大生科
86 (イ)	平成26年 (2014)	免疫調節多糖体を産生する乳酸菌を活用した機能性ヨーグルトの開発	牧野 聖也	明治
(ロ)			池上 秀二	明治
(ハ)			狩野 宏	明治
(ニ)			伊藤 裕之	明治
87	平成27年 (2015)	血漿中の遊離アミノ酸プロファイルを活用した新規疾病リスク評価法の開発	味の素株式会社(賛助会員)	
88	平成27年 (2015)	ビール泡品質向上への一貫した取り組み	サッポロビール株式会社(賛助会員)	
89 (イ)	平成27年 (2015)	分析・合成・調香技術の総合による新規食品香料開発	南木 昂	長谷川香料
(ロ)			黒林 淑子	長谷川香料
(ハ)			渡辺 広幸	長谷川香料
(ニ)			前田 知子	長谷川香料
90	平成27年 (2015)	交流高電界殺菌法を利用した果汁製品の製造	ポッカサッポロフード & ビバレッジ株式会社(賛助会員)	
91 (イ)	平成28年 (2016)	健康機能を有する緑茶「べにふうき」の効果、作用機序、茶葉特性の解明ならびに飲食品の開発	山本 万里	農研機構食総研
(ロ)			立花 宏文	九大院農学研究院
(ハ)			酒瀬川洋兄	JA かごしま
(ニ)			岡本 武久	アサヒ飲料
92 (イ)	平成28年 (2016)	還元型コエンザイム Q10 の実生産および商品化に向けた技術研究開発	上田 恭義	カネカ
(ロ)			植田 尚宏	カネカ
(ハ)			久保 博司	カネカ
(ニ)			北野 光昭	カネカ
93	平成28年 (2016)	醸造技術の革新による血圧降下ペプチド高含有醤油の開発	キッコーマン株式会社(賛助会員)	
94 (イ)	平成28年 (2016)	ウイルス感染防御機能を持つ <i>Lactococcus lactis</i> JCM5805 の発見と事業応用	藤原 大介	キリン
(ロ)			城内 健太	小岩井乳業
(ハ)			杉村 哲	キリン
(ニ)			藤井 敏雄	キリン
95	平成29年 (2017)	新規酵素による汎用的ペプチド新製法の開発とアスパルテームの工業生産	味の素株式会社(賛助会員)	
96 (イ)	平成29年 (2017)	天然吸着剤による茶飲料からのカフェイン除去技術の開発	塩野 貴史	キリン
(ロ)			河合淳一郎	キリンビバレッジ
(ハ)			山本研一朗	キリン
(ニ)			四元 祐子	キリン
97	平成29年 (2017)	ケルセチン配糖体配合飲料 特定保健用食品「伊右衛門 特茶」の開発	サントリーホールディングス株式会社(賛助会員)	
98	平成29年 (2017)	活性炭触媒を利用した脱水縮合技術の開発とそれを用いた難消化性グルカンの生産	日本食品化工株式会社(賛助会員)	
99 (イ)	平成30年 (2018)	ホップ品質の多角的な解析とその応用	蛸井 潔	サッポロビール
(ロ)			糸賀 裕	サッポロビール
(ハ)			岡田 行夫	サッポロビール
(ニ)			鯉江弘一朗	サッポロビール
100 (イ)	平成30年 (2018)	GABA の生産技術の確立と高機能食品の市場開発	堀江 健二	ファーマフーズ
(ロ)			渡部 和哉	ファーマフーズ
(ハ)			山津 敦史	ファーマフーズ
(ニ)			坂下 真耶	ファーマフーズ
101 (イ)	平成30年 (2018)	地域資源を活かした速醸新魚醤類の開発と商品化	宇多川 隆	福岡県食品加工研
(ロ)			白崎 裕嗣	室次
(ハ)			森山外志夫	もりやま

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
101 (ニ)			片口 敏昭	片口屋
102 (イ)	平成31年 (2019)	作物の高温耐性を高める揮発性バイオスティミュラント「すずみどり」の開発	山内 靖雄	神戸大院農
(ロ)			河合 博	ファイトクローム
103 (イ)	平成31年 (2019)	新しい水溶性食物繊維イソマルトデキストリン(ファイバリクサ [®])の開発	渡邊 光	林原
(ロ)			山本 拓生	林原
(ハ)			阿賀 創	林原
(ニ)			西本 友之	林原
104	平成31年 (2019)	吸収性に優れ、カラダ作りに最適な革新的乳たんぱく質飲料の開発研究	株式会社 明治(賛助会員)	
105 (イ)	平成31年 (2019)	乳酸菌バクテリオシン、ナイシンを利用した安全な口腔ケア剤に関する技術開発	永利 浩平	優しい研究所
(ロ)			園元 謙二	九大院農
(ハ)			善藤 威史	九大院農
(ニ)			手島 大輔	トライフ
106 (イ)	令和2年 (2020)	L-グルタミン酸オキシダーゼの発見と応用開発	日下部 均	エンザイム・センサ
(ロ)			野口 利忠	ヤマサ醤油
(ハ)			稲垣 賢二	岡山大院環境生命
107	令和2年 (2020)	腸内細菌叢の代謝制御によるポリアミン産生技術を用いた機能性食品の開発	松本 光晴	協同乳業
108 (イ)	令和2年 (2020)	サラシア属植物のヒト消化管調節因子の解明と新規機能性食品の開発	植田 文教	富士フィルム
(ロ)			小田由里子	富士フィルム

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)	パ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)	昭和27年 (1952)	イソアミラーゼに関する研究	丸尾 文治	東大農
(ロ)			小林 恒夫	東大農
3	昭和28年 (1953)	酵母のグルタチオンに関する研究	黒岩 芳朗	キリン麦酒
4	昭和28年 (1953)	鎖状高分子分裂の動力学及びその関連研究	千手 諒一	九大農
5	昭和28年 (1953)	ペニシリン分解酵素に関する研究	村尾 澤夫	鳥取大農
6	昭和29年 (1954)	牛のビタミンB ₁₂ 欠乏とその代謝機構に関する研究	岩本 喜一	滋賀県立農短大
7	昭和29年 (1954)	生体内における蛋白質の合成機作に関する研究	志村 憲助	東北大農
8	昭和29年 (1954)	菌核菌の生化学的研究	里村 幸男	阪市大理工
9	昭和30年 (1955)	稲熱病菌の代謝生産物に関する研究	玉利勤治郎	新潟大農
10	昭和30年 (1955)	油脂の酸化防止に関する研究	田村 三郎	東大農
11	昭和30年 (1955)	黒斑病甘薯の病理化学的研究	瓜谷 郁三	名大農
12 (イ)	昭和31年 (1956)	酸化細菌による麴酸及び新 γ -バイロン誘導体の生成に関する研究	池田庸之助	東大応微研
(ロ)			相田 浩	東大応微研
13	昭和31年 (1956)	<i>Aspergillus versicolor</i> の代謝産物に関する研究 新色素Sterigmatocystin及びVersicolorinの構造決定	初田 勇一	鳥取大農
14	昭和31年 (1956)	過沃素酸酸化による生理的活性蛋白質の研究	前川 一之	愛媛大農
15	昭和32年 (1957)	乳製品のアミノ・カルボニル反応に関する研究	足立 達	東北大農
16	昭和32年 (1957)	糸状菌のアミラーゼに関する研究	岡崎 浩	三共
17	昭和32年 (1957)	微生物のクエン酸分解に関する研究	高橋 甫	東大応微研
18	昭和33年 (1958)	<i>Mentha rotundifolia</i> 精油の新テルペンケトン rotundifolone の研究	清水 純夫	信州大農
19	昭和33年 (1958)	脂質のクロマトグラフ的研究	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)	昭和35年 (1960)	黒麹菌の澱粉分解酵素系に関する研究	上田誠之助	九大農
(ロ)			林田 晋策	九大農
25	昭和35年 (1960)	酵母リボ核酸関連化合物の酵素的分解並びに呈味作用に関する研究	國中 明	ヤマサ醤油
26	昭和35年 (1960)	<i>Penicillium islandicum</i> の生産する毒性物質, islanditoxin の化学構造に関する研究	丸茂 晋吾	理研
27	昭和36年 (1961)	抗滲透圧性酵母の研究	大西 博	野田産研
28	昭和36年 (1961)	結晶Phosphoglyceric acid mutase に関する研究	千葉 英雄	京大農
29	昭和36年 (1961)	<i>Streptomyces griseus</i> の生産する新プロテアーゼに関する研究	野本 正雄	理研
30	昭和36年 (1961)	fungisporin に関する研究	宮尾 興平	エーザイ
31	昭和36年 (1961)	植物過酸化酵素に関する研究	森田 雄平	京大食研
32	昭和36年 (1961)	細菌アミラーゼの酵素化学的性質に関する研究	山本 武彦	阪市大理工
33	昭和37年 (1962)	テルペン類代謝を中心とした罹病甘藷の生化学的研究	赤沢 堯	名大農
34 (イ)	昭和37年 (1962)	『はなひりのき』の有効成分“Grayanotoxin”の構造に関する研究	岩佐 順吉	岡山大農
(ロ)			熊沢善三郎	京大農
35	昭和37年 (1962)	微生物のケト酸代謝に関する研究	桒倉辰六郎	京大農
36	昭和37年 (1962)	フラボノイド色素の化学的研究	中林 敏郎	静岡大農
37	昭和37年 (1962)	醗酵菌類によるペントザン並びにペントース代謝の研究	福井 作蔵	東大応微研
38	昭和37年 (1962)	ロテノンおよび関連化合物の完全合成	宮野 眞光	東大農
39	昭和38年 (1963)	サリゲニン環状燐酸エステルの研究	江藤 守總	九大農
40	昭和38年 (1963)	微生物法による絹糸蛋白質の化学的特性と合成ポリアラニン繊維に関する研究	桐村 二郎	味の素中研
41	昭和38年 (1963)	パバインの酵素作用に関する研究	副島 正美	東北大農
42	昭和38年 (1963)	有機燐殺虫剤の研究	西沢 吉彦	住友化学工業
43	昭和38年 (1963)	X線ディフракトメーターによる澱粉の研究	檜山 進	阪大産研
44	昭和38年 (1963)	乳酸菌のイソメラーゼに関する研究	山中 啓	香川大農
45	昭和39年 (1964)	植物による硫酸からの含硫アミノ酸合成の生化学的研究	旭 正	名大農
46	昭和39年 (1964)	アントシアニンとその褪色酵素に関する研究	坂村 貞雄	北大農

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
47	昭和39年 (1964)	放線菌の生産する殺虫成分Piericidin A に関する研究	高橋 信孝	東大農
48	昭和39年 (1964)	グルタミン酸酩酵におけるジオチンの作用に関する研究	田中 勝宣	協和発酵
49	昭和39年 (1964)	麦類赤黴病菌の色素Rubrofusarin の化学構造	田中 博	名大農
50	昭和39年 (1964)	糸状菌の耐酸性 α -アミラーゼに関する研究	蓑田 泰治	東大農
51	昭和40年 (1965)	蚕黒きょう病菌の生産する毒素Destruxin B の化学構造	久山 眞平	東大農
52	昭和40年 (1965)	テアニンの生合成に関する研究	佐々岡 啓	京大食研
53	昭和40年 (1965)	麹菌の α -アミラーゼの生成に関する研究	外村 健三	醗酵研
54	昭和40年 (1965)	鶏卵卵白の泡立ちに関する研究	中村 良	名大農
55	昭和40年 (1965)	Ciliatine の生化学的研究	堀口 雅昭	東大農
56	昭和40年 (1965)	ジベレリン関連諸物質の合成に関する研究	森 謙治	東大農
57	昭和41年 (1966)	合成薄荷に関する研究	上田 博夫	阪府大農
58	昭和41年 (1966)	糸状菌のペクチン質分解酵素に関する研究	遠藤 章	三共
59	昭和41年 (1966)	新植物生長調節物質abscisin II に関する化学的研究	大熊 和彦	理研
60	昭和41年 (1966)	Blasticidin S の化学構造の決定	大岳 望	東大応微研
61	昭和41年 (1966)	微生物に対する表面活性剤の作用とその応用	大林 晃	鹿児島大農
62	昭和41年 (1966)	天然フェノール化合物の合成に関する研究	深海 浩	京大農
63	昭和41年 (1966)	筋肉蛋白質の代謝回転	船引 龍平	岩手大農
64	昭和41年 (1966)	糸状菌溶解酵素及び糸状菌細胞表層の研究	堀越 弘毅	理研
65	昭和41年 (1966)	微生物プロテアーゼのエラスターゼ活性と特異性に関する研究	森原 和之	塩野義製薬
66	昭和41年 (1966)	結晶アミン酸化酵素に関する研究	山田 秀明	京大食研
67	昭和42年 (1967)	微生物によるジオチンの生合成に関する研究	岩原章二郎	香川大農
68	昭和42年 (1967)	細菌のグルタミン酸生合成系における代謝制御	大石 邦夫	東大応微研
69	昭和42年 (1967)	食品の非酵素的褐変に関する研究	加藤 博通	東大農
70	昭和42年 (1967)	タバコアルカロイドの立体特異的分解および生合成機構に関する研究	木佐木卓郎	専売中研
71	昭和42年 (1967)	コムギ斑点病菌の生産する新植物生長調整物質ヘルミントスポロールとその関連物質に関する研究	桜井 成	東大農
72	昭和42年 (1967)	微生物による炭化水素の利用に関する研究	高橋 穰二	東京教育大農
73	昭和42年 (1967)	生理活性と化学構造との相関性の解析に関する研究	藤田 稔夫	京大農
74	昭和42年 (1967)	タバコモザイクウイルス蛋白質の化学構造に関する研究	船津 喜幸	九大農
75	昭和42年 (1967)	家蚕幼虫の核酸消化酵素に関する研究	向井純一郎	九大農
農芸化学奨励賞				
No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
76	昭和43年 (1968)	ルービン未熟種子に含まれる植物生長調整物質に関する研究	小清水弘一	京大農
77	昭和43年 (1968)	枯草菌プロテアーゼに関する研究	鶴 大典	阪市大理
78	昭和43年 (1968)	シリル法によるヌクレオシドの合成	西村 卓三	三共中研
79	昭和43年 (1968)	青葉アルコール反応に関する研究	畑中 顯和	京大化研
80	昭和43年 (1968)	大豆蛋白質に関する研究	福島 男児	キッコーマン中研
81 (イ)	昭和43年 (1968)	病、傷害植物におけるポリフェノールの生成と酸化に関与する酵素類の生化学的研究	南川 隆雄	都立大理
(ロ)			兵藤 宏	名大農
82	昭和43年 (1968)	結晶 <i>p</i> -hydroxybenzoate hydroxylase に関する研究	矢野 圭司	東大農
83	昭和43年 (1968)	ニコチン、ピレスリン殺虫剤の毒理学的研究	山本 出	東農大農
84	昭和44年 (1969)	ポリオキシンの化学構造の研究	磯野 清	理研
85	昭和44年 (1969)	新抗生物質ピロールニトリンに関する研究	今中 宏	藤沢薬品工業
86 (イ)	昭和44年 (1969)	微生物の生産する凝乳酵素に関する研究	岩崎慎二郎	名糖産業
(ロ)			柳 洲鉦	東大農
87	昭和44年 (1969)	L-グルタミン酸生産菌のバクテリオファージに関する研究	沖 俊一	三楽オーシャン
88	昭和44年 (1969)	細菌におけるリジン代謝の酵素化学的研究	左右田健次	京大化研
89 (イ)	昭和44年 (1969)	カナマイシンの全合成	長谷川 明	京大農
(ロ)			栗原 紀夫	京大農
90	昭和44年 (1969)	米穀の脂質と貯蔵時の品質変化に関する研究	安松 克治	武田薬品工業
91	昭和44年 (1969)	昆虫の摂食阻害性植物成分の研究	和田弘次郎	名大農
92	昭和45年 (1970)	生体膜の複合脂質に関する生化学的研究	渋谷 勲	東大応微研
93	昭和45年 (1970)	鶏卵ふ化時の生化学的研究	島林 幸英	三重大農
94	昭和45年 (1970)	血漿コレステロールエステルの代謝に関する研究	菅野 道廣	九大農
95	昭和45年 (1970)	セリン生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	杉本 悦郎	京大農
96	昭和45年 (1970)	微生物糖イソメラーゼに関する研究	高崎 義幸	微工研
97	昭和45年 (1970)	<i>Candida utilis</i> によるアルドペントースよりケトペントースへの変換酵素とその制御機構に関する研究	堀津 浩章	岐阜大農
98 (イ)	昭和45年 (1970)	高等植物に含まれる新ジベレリンおよびジベレリングルコシドの単離と構造解明	室伏 旭	東大農
(ロ)			横田 孝雄	東大農
99	昭和45年 (1970)	Protoplast bursting factor に関する研究	山口 務	東洋醸造研
100 (イ)	昭和46年 (1971)	大豆蛋白質の酵素分解—ブラステイン合成に関する研究	荒井 綜一	東大農
(ロ)			山下 道子	東大農
101	昭和46年 (1971)	牛乳カゼインの非酵素的凝固現象に関する研究	伊藤 敏敏	東北大農
102	昭和46年 (1971)	枯草菌の生産する新界面活性ペプチドリビド“サーファクチン”に関する研究	垣沼 淳司	武田薬品工業
103	昭和46年 (1971)	青かびの生産するプロテアーゼ・インヒビターに関する研究	嶋田 協	三重大農
104	昭和46年 (1971)	ビタミン類の糖化合物に関する研究	鈴木 幸雄	岡山大農生研
105	昭和46年 (1971)	微生物によるコレステロール側鎖の切断に関する研究	長澤道太郎	野田産研
106	昭和46年 (1971)	植物細胞培養による脱分化・再分化の生化学的研究	山田 康之	京大農
107	昭和46年 (1971)	グルコン酸菌の糖および糖アルコールの酸化還元酵素系に関する研究	山田 雄三	静岡大農
108	昭和47年 (1972)	ヒマ種子有毒タンパク質リシンに関する研究	石黒 正恒	九大農
109	昭和47年 (1972)	殺魚性リグナン justicidin 類に関する研究	大田 啓一	静岡大農
110	昭和47年 (1972)	魚毒植物の活性成分に関する研究	河津 一儀	岡山大農
111	昭和47年 (1972)	大腸菌におけるリン脂質生合成の調節機構に関する研究	鬼頭 誠	京大食研
112	昭和47年 (1972)	微生物による Ribonucleotide 関連物質の代謝と利用に関する研究	坂井 拓夫	阪府大農
113	昭和47年 (1972)	蚕黒きょう病に関する化学的研究	鈴木 昭憲	東大農
114	昭和47年 (1972)	コリシンの作用機構に関する研究	別府 輝彦	東大農
115	昭和47年 (1972)	アルギニンラセマーゼに関する研究	寄藤 高光	信州大農
116	昭和48年 (1973)	ヒトデの排卵・卵成熟分裂機構に関する化学的研究	池上 晋	東大農
117	昭和48年 (1973)	リゾチームの活性中心構造に関する化学的ならびに物理化学的研究	井本 泰治	山口大農

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
118	昭和48年 (1973)	Φx174DNA の合成とそれにおよぼす宿主機能に関する研究	駒野 徹	京大農
119	昭和48年 (1973)	細菌による L-グルタミン酸の菌体外透過蓄積機構に関する研究	渋川 満	旭化成工業
120	昭和48年 (1973)	Phytohemagglutinin (植物性赤血球凝集素) の生化学的研究	高橋 孝雄	三重大農
121	昭和48年 (1973)	蠅毒草殺虫成分の研究	谷口 栄二	九大農
122 (イ)	昭和48年 (1973)	マロラクチック発酵と同発酵細菌増殖促進—新化合物“グルコシルパントテン酸”に関する研究	吉栖 肇	サントリー
(ロ)			天知 輝夫	サントリー
123	昭和48年 (1973)	牛肉の加熱香気に関する化学的研究	渡辺 乾二	名大農
124	昭和49年 (1974)	葉緑体における酸素の発生と還元	浅田 浩二	京大食研
125	昭和49年 (1974)	アブサイシン酸およびキサントキシン関連化合物の化学的研究	折谷 隆之	東北大農
126 (イ)	昭和49年 (1974)	アジド糖を用いる生理活性物質の合成化学的研究 (ポリオキシン J の全合成など)	葛原 弘美	理研
(ロ)			大類 洋	理研
127	昭和49年 (1974)	酵母の有機酸代謝に関する研究	斉 敏行	朝日麦酒
128	昭和49年 (1974)	食品香気成分の合成的研究	中谷 陽一	お茶大
129	昭和49年 (1974)	酵母のカルボキシペプチダーゼに関する研究	林 力丸	京大食研
130	昭和49年 (1974)	タンク培養における酸素と炭酸ガスの生理的役割とその制御	廣瀬 義夫	味の素
131	昭和49年 (1974)	高温性放線菌と耐熱性酵素	水沢 清	キッコーマン醤油
132	昭和50年 (1975)	エポキシドンならびに関連化合物の合成・生成成研究	市原 耿民	北大農
133	昭和50年 (1975)	細胞内産生の溶菌酵素によるクロストリジウム属細菌の溶菌	緒方 靖哉	九大農
134	昭和50年 (1975)	澱粉の構造と利用に関する研究	貝沼 圭二	食総研
135	昭和50年 (1975)	新しい膜透過変異株の誘導とその応用に関する研究	菊池 正和	武田薬品工業
136	昭和50年 (1975)	Ezomycin 群抗生物質に関する化学的研究	坂田 完三	理研
137	昭和50年 (1975)	微生物の生産する植物生長物質に関する研究	佐々 武史	山形大農
138	昭和50年 (1975)	芳香族アミノ酸の醗酵生産に関する研究	萩野 浩志	協和発酵工業
139	昭和50年 (1975)	ATP 阻害リボヌクレアーゼに関する研究	山崎 真狩	東大農
140	昭和51年 (1976)	栄養条件による脂肪肝の生成機構とその制御	青山 頼孝	名大農
141	昭和51年 (1976)	Alternaria 属植物病原菌の宿主選択に関する化学的研究	上野 民夫	京大農
142	昭和51年 (1976)	微生物における生理活性脂質関連物質の生化学的研究	木村 光	京大農
143	昭和51年 (1976)	L-アスコルビン酸の関与する褐変および紅変の反応機構	倉田 忠男	東大農
144	昭和51年 (1976)	代謝調節変異株による L-リジンの生産とそのメカニズム	佐野孝之輔	味の素
145	昭和51年 (1976)	¹³ C- ¹³ C カップリングを利用した天然物の構造および生合成研究	瀬戸 治男	東大応微研
146	昭和51年 (1976)	家蚕ウイルスの増殖に関する生化学的研究	姫野 道夫	京大農
147	昭和51年 (1976)	牛成長ホルモンの活性フラグメントに関する研究	山崎 信行	愛媛大農
148	昭和52年 (1977)	薬用植物に含まれる昆虫生理活性物質に関する化学的研究	磯貝 彰	東大農
149	昭和52年 (1977)	シイタケにおけるフレーバー発生の酵素化学的研究	岩見 公和	京大農
150	昭和52年 (1977)	抗サイトカニンによる植物の化学調節機構の研究	岩村 俣	京大農
151	昭和52年 (1977)	麹菌の自己消化に関する研究	魚住 武司	東大農
152	昭和52年 (1977)	ジメチルスルホキシド-五酸化リンを用いる糖質の新酸化法とその生物化学的応用	柏村 直樹	京大農
153	昭和52年 (1977)	多面的生理作用をもつジホスホグリセリン酸の多機能酵素による新代謝調節	佐々木隆造	京大農
154	昭和52年 (1977)	哺乳動物におけるシリアチン (2-アミノエチルホルボン酸) の代謝機構に関する研究	玉利 正人	東大農
155	昭和52年 (1977)	イソントリル化合物を用いたアミノ酸ならびに関連化合物の合成的研究	松本 和男	田辺製薬
156	昭和53年 (1978)	光学活性有機リン化合物の生理作用と代謝に関する研究	大川 秀郎	住友化学工業
157	昭和53年 (1978)	高等植物における D-アミノ酸の生化学的研究	小川 正	徳島大医
158	昭和53年 (1978)	スズヤケイ素を用いる糖及びヌクレオシド系化合物の合成	小川 智也	理研
159	昭和53年 (1978)	多糖類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	熊谷 英彦	京大農
160	昭和53年 (1978)	昆虫のフェロモンに関する研究	桑原 保正	筑波大応生化
161	昭和53年 (1978)	C ₃ および C ₄ 光合成炭酸固定の酵素化学的研究	杉山 達夫	静岡大農
162	昭和53年 (1978)	Tunicamycin の発見とその作用機構に関する研究	高月 昭	東大農
163	昭和53年 (1978)	代謝制御因子としての栄養素の機能に関する研究	中野紀和男	名大農
164	昭和54年 (1979)	酢酸菌の糖質代謝系酵素に関する研究	足立 収生	山口大農
165	昭和54年 (1979)	長鎖ジカルボン酸の発酵生産に関する研究	内尾 良輔	味の素
166	昭和54年 (1979)	真核細胞のポリペプチド鎖延長機構に関する研究	江尻慎一郎	岩手大農
167	昭和54年 (1979)	酵素法によるペニシリン、セファロスポリン類の生産に関する研究	岡地 諒	協和発酵工業
168	昭和54年 (1979)	クジラ、魚類の脳下垂体ホルモンの単離と化学構造に関する研究	川内 浩司	北里大水産
169	昭和54年 (1979)	ビタミン B ₆ の生合成に関する研究	谷 吉樹	京大農
170 (イ)	昭和54年 (1979)	パーレー葉タバコ香気成分の化学的研究	藤森 嶺	専売中研
(ロ)			金子 肇	専売中研
171	昭和54年 (1979)	大豆グリシニンの生合成に関する研究	森 友彦	京大食研
172	昭和55年 (1980)	複雑な生物活性天然物の立体特異的全合成	磯部 稔	名大農
173	昭和55年 (1980)	微生物のメタノール代謝に関する酵素化学的研究	加藤 暢夫	鳥取大工
174 (イ)	昭和55年 (1980)	異担子菌酵母における接合管形成誘導物質に関する化学的研究	神谷 勇治	理研
(ロ)			坂神 洋次	東大農
175	昭和55年 (1980)	生体膜の構造と機能における脂質の役割	塚越 規弘	名大農
176	昭和55年 (1980)	昆虫に対してフェロモン作用を持つ物質に関する研究	西野 親生	三菱化成生命研
177	昭和55年 (1980)	種子に含まれる植物生理活性成分に関する研究	福井 宏至	京大薬
178	昭和55年 (1980)	枯草菌菌体外酵素特に α-アミラーゼの生産制御とそのクローニング	山根 國男	東大応微研
179	昭和55年 (1980)	電子伝達系阻害物質ピエリシジン類に関する生物有機化学的研究	吉田 茂男	東大農
180	昭和56年 (1981)	罹病植物におけるファイトアレキシン生成・蓄積機構の酵素学的研究	大羽 和子	名大農
181	昭和56年 (1981)	物理化学的方法論による微生物有機化学の新展開	柿沼 勝己	東工大理
182	昭和56年 (1981)	偏性嫌気性細菌 <i>Selenomonas ruminantium</i> の表層膜の構造に関する研究	神尾 好是	信州大医
183	昭和56年 (1981)	生物活性を有する脂環式化合物の合成研究	北原 武	東大農
184	昭和56年 (1981)	固定化酵素の利用に関する理論的ならびに実験的研究	小林 猛	名大農
185	昭和56年 (1981)	食品の脂質系におけるアミノ・カルボニル反応に関する研究	須山 享三	東北大農
186	昭和56年 (1981)	ポリオーマウイルスの全遺伝子構造の決定と発癌遺伝子の同定	添田 栄一	国立遺伝研
187	昭和56年 (1981)	米のタンパク質顆粒およびアリユ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

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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	の場 輝佳	京大食研
198	昭和57年 (1982)	レダクトン類による細胞内DNA鎖の切断に関する研究	村上 浩紀	九大農
199	昭和57年 (1982)	細菌の新しい酵素合成調節機構の解明と <i>in vivo</i> 遺伝子操作系の開発	室岡 義勝	広島大工
200	昭和58年 (1983)	免疫調節活性を有する細菌細胞表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-グルタミン酸生成系の機能解析と応用	立木 隆	京大農
204	昭和58年 (1983)	大腸菌における抗生物質高感受性変異の機構	玉城 成夫	東大応微研
205	昭和58年 (1983)	カイコ脳ホルモンの精製と単離	長澤 寛道	東大農
206	昭和58年 (1983)	酸化型アスコルビン酸とアミノ酸の反応による新しい遊離基化合物の生成と褐変変化反応	林 建樹	名大農
207	昭和58年 (1983)	<i>Bacillus subtilis</i> の変異株によるグアノシンの生産に関する研究	松井 裕	味の素中研
208	昭和58年 (1983)	メチオニン、スレオニンによる体タンパク質節約作用に関する研究	横越 英彦	名大農
209	昭和58年 (1983)	カゼインの特殊構造と特性に関する解析とその応用	吉川 正明	京大農
210	昭和59年 (1984)	微生物におけるビオチンの代謝機構とその制御に関する研究	和泉 好計	京大農
211	昭和59年 (1984)	DNA 傷害突然変異に関する生化学的研究	井上 正	国立遺伝研
212 (イ)	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代外生産とその遺伝情報に関する研究	原 敏夫	九大農
219	昭和59年 (1984)	プロリン特異性ペプチダーゼとそのインヒビターに関する研究	芳本 忠	長崎大薬
220	昭和60年 (1985)	数種の酵素・タンパク質のX線結晶構造解析に関する研究	相原 茂夫	京大食研
221	昭和60年 (1985)	肝臓ミトコンドリアに存在するアミノ酸代謝酵素の生成と局在化の制御機構	北川 泰雄	名大農
222	昭和60年 (1985)	大豆タンパク質の生化学的並びに遺伝生化学的研究	喜多村啓介	岩手大農
223	昭和60年 (1985)	微生物酵素を用いる補酵素類の合成とその利用	清水 昌	京大農
224	昭和60年 (1985)	高等植物の茎葉器官分化と緑葉における香氣成分生成に関する研究	関谷 次郎	山口大農
225	昭和60年 (1985)	RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼの分子進化に関する研究	高倍 鉄子	名大農
226	昭和60年 (1985)	植物フレ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ン化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)	デキストランの生成および分解に関する酵素化学的研究	小林 幹彦	東北大農
236	昭和61年 (1986)	好塩細菌における Na ⁺ 駆動型呼吸鎖の発見ならびにその生化学的研究	徳田 元	千葉大生物活性研
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、機能及び生成に関する研究	水野 猛	名大農
248	昭和62年 (1987)	動物培養細胞の増殖及び分化機能発現の調節に関する研究	山田 耕路	九大農
249	昭和62年 (1987)	微生物による複合糖質代謝関連物質の生産と応用	山本 憲二	京大農
250	昭和63年 (1988)	タンパク質修飾酵素トランスグルタミナーゼの活用に関する研究	伊倉 宏司	京大農
251	昭和63年 (1988)	新規抗生物質の化学的研究	生方 信	理研
252	昭和63年 (1988)	好アルカリ性細菌遺伝子による大腸菌からの蛋白質の菌体外分泌に関する研究	工藤 俊章	理研
253	昭和63年 (1988)	イモの形成と貯蔵タンパク質遺伝子の発現制御	中村 研三	名大農
254	昭和63年 (1988)	新しい視点にもとづく抗腫瘍抗生物質の探索と構造および活性の研究	早川 洋一	キリンビール
255	昭和63年 (1988)	生体内脂質の過酸化により生じる極微弱化学発光の解析と応用に関する研究	宮澤 陽夫	東北大農
256	昭和63年 (1988)	微生物細胞機能の遺伝子工学的改変と有用物質の生産	村田 幸作	京大食研
257	昭和63年 (1988)	活性酸素による遺伝子核酸損傷機構	森田 潤司	同志社女大家政
258	昭和63年 (1988)	分泌酵素遺伝子の導入による酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> の育種	山下 一郎	広島大工
259	昭和63年 (1988)	大腸菌 <i>phaA</i> 遺伝子を用いた有用蛋白の分泌生産	依田 幸司	東大農
260	平成元年 (1989)	大腸菌の細胞分裂酵素の研究	石野 史敏	東大応微研
261	平成元年 (1989)	種子タンパク質の高品質化に関する食品化学的並びに遺伝子工学的研究	内海 成	京大食研
262	平成元年 (1989)	細菌の含硫、含セレンアミノ酸代謝関連酵素の新しい機能と応用	江崎 信芳	京大化研
263	平成元年 (1989)	植物細胞壁多糖キシログルカンに関する研究	加藤 陽治	弘前大教育
264	平成元年 (1989)	植物培養細胞における炭酸固定機能に関する研究	佐藤 文彦	京大農
265	平成元年 (1989)	昆虫-植物間相互作用に関与する化学因子	西田 律夫	京大農
266	平成元年 (1989)	特異な生理活性を有する微生物生産物の検索とその化学的研究	林 英雄	阪府大農
267	平成元年 (1989)	微生物が生産するカルモデュリン依存性ホスホジエステラーゼの阻害剤に関する研究	松田 譲	協和発酵工業
268	平成元年 (1989)	対称性構造を有する化合物の不斉分子変換に関する研究	山本 行男	京大教養
269	平成元年 (1989)	光合成CO ₂ 固定酵素, RuBisCO, の <i>in vivo</i> 機能形態と光呼吸の機構	横田 明徳	阪府大農
270	平成2年 (1990)	cAMP による大腸菌細胞増殖制御機構	内海龍太郎	近畿大農

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
271	平成2年	(1990) 昆虫の脱皮, 変態に関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) サイトカイン活性物質の構造—活性相関に関する研究	西川 朗朗	三重大生資
277	平成2年	(1990) 食品に内在する酵素分泌情報の解明と動物消化管における情報認識機構	伏木 亨	京大農
278	平成2年	(1990) 酸性 α -グルコシダーゼの活性部位に関する反応速度論的研究	松井 博和	北大農
279	平成2年	(1990) 植物生理機能の化学調節に関する研究	米山 弘一	宇都宮大農
280	平成3年	(1991) 新規微生物酵素を用いる有用アミドおよびアミノ酸の合成に関する研究	浅野 泰久	富山県大工
281	平成3年	(1991) カラム液体クロマトグラフィーの連続化に関する基礎的研究とそのバイオリアクターへの応用	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ンア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ユートル化合物の化学構造	村田 道雄	東北大農
288	平成3年	(1991) メタロセン型有機金属化合物の酵素的不斉変換	山崎 幸苗	工技院微工研
289	平成3年	(1991) G1・G2期に特異的な新しい阻害剤の発見と真核細胞増殖制御機構の解析	吉田 稔	東大農
290	平成4年	(1992) DNA複製と遺伝子発現制御におけるDNA反復配列の機能に関する研究	伊藤 義文	食総研
291	平成4年	(1992) 癌の多剤耐性に関するヒトP-糖蛋白質の機能の解析	植田 和光	京大農
292	平成4年	(1992) 多量体構造を有する植物由来抗菌性中分子の精密構造解析	川端 潤	北大農
293	平成4年	(1992) 耐熱性および好塩性細菌リボソーム蛋白質の構造と進化に関する研究	木村 誠	九大農
294	平成4年	(1992) 活性酸素代謝の分子的作用の解明	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) アレルゲン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 β -アミラーゼの構造と機能に関する研究	三上 文三	京大食研
320	平成7年	(1995) ハロゲン化ペルオキシダーゼ酵素の解析とその応用に関する研究	伊藤 伸哉	福井大工
321	平成7年	(1995) 細胞内情報伝達系を阻害する物質の発見と細胞応答の解析	井本 正哉	慶応大理工
322	平成7年	(1995) 糖類を出発原料とする光学活性有用化合物の合成研究	恵畑 隆	日本たばこ産業
323	平成7年	(1995) 合成的アプローチによる生理活性タンパク質の活性部位の研究	丹尾 式希	味の素
324	平成7年	(1995) 有機分析化学的アプローチによる糖の立体配座、立体配置解析法の開発研究	西田 芳弘	東北大農
325	平成7年	(1995) 種子成熟過程におけるアブシジン酸応答性転写制御機構に関する研究	服部 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ン酸化反応を介した情報伝達機構の発見	饗場 浩文	名大農
331	平成8年	(1996) 好酸性細菌の機能開発と利用に関する研究	稲垣 賢二	岡山大農
332	平成8年	(1996) 蛋白質修飾因子をプローブとした酸化ストレス障害の解析に関する研究	内田 浩二	名大農
333	平成8年	(1996) 動物ゲノムの構造と複製に関する分子細胞遺伝学的研究	奥村 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) 澱粉生合成の分子機構に関する研究	馬場 忠	筑波大応生化
337	平成8年	(1996) エネルギー代謝変異による有用微生物の育種に関する研究	横田 篤	北大農
338	平成8年	(1996) 必須脂肪酸代謝及び細胞応答に関する分子細胞生物学的研究	横田 一成	鳥根大生資
339	平成8年	(1996) プロリン残基に着目したタンパク質耐熱化に関する研究	渡部 邦彦	京府大農
340	平成9年	(1997) IGF-Iの活性発現機構に関する分子生物学的研究	加藤 久典	宇都宮大農
341	平成9年	(1997) ニトリル変換酵素の物質生産への機能開発	小林 達彦	京大農
342	平成9年	(1997) グルタチオン代謝の細胞生理の酵素分子生物学的解明と代謝酵素の構造と機能に関する研究	鈴木 秀之	京大農
343	平成9年	(1997) 蛋白質工学的手法による枯草菌プロテアーゼ・サチライシンの機能変換に関する研究	高木 博史	福井県大生資
344	平成9年	(1997) 生体発光・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

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
350	平成10年 (1998)	好熱好気性・絶対独立栄養性水素細菌 <i>Hydrogenobacter thermophilus</i> TK-6株のCO ₂ ・エネルギー代謝に関する研究	石井 正治	東大院農生科
351	平成10年 (1998)	セレクトイ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	島根大生資
363	平成11年 (1999)	組織培養によるコケ植物の二次代謝産物の生合成研究	田崎 弘之	帯畜大畜産
364	平成11年 (1999)	腸球菌の性フェロモンシグナリングに関する生物有機化学的・分子生物学的研究	中山 二郎	東大院農生科
365	平成11年 (1999)	酵母の細胞増殖に必須な機能分子に関する研究	平田 大	広島大院先端
366	平成11年 (1999)	有機合成化学的手法を用いた生体触媒の機能解析と応用に関する研究	平竹 潤	京大化研
367	平成11年 (1999)	イネ種子発芽制御の分子メカニズム	三ツ井敏明	新潟大院自然科学
368	平成11年 (1999)	新規微弱発光系による活性酸素消去能に関する研究	吉城由美子	東北大院農
369	平成11年 (1999)	ビタミンB ₁₂ の細胞内代謝に関する比較生化学的研究	渡辺 文雄	高知女大生科
370	平成12年 (2000)	立体選択性を示す生体触媒の機能解析と光学活性化合物生産への応用	片岡 道彦	京大院農
371	平成12年 (2000)	ヒト型ハイブリドーマの抗体産生促進機構に関する研究	菅原 卓也	愛媛大農
372	平成12年 (2000)	ユニークな反応を触媒する抗生物質生合成酵素・遺伝子群の解析	大利 徹	富山県大工
373	平成12年 (2000)	糖質をキラルプールとして用いた酵素阻害活性天然物の合成化学的研究	高橋 俊哉	理研
374	平成12年 (2000)	糖タンパク質糖鎖の機能解析とその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)	微生物由来脱窒遺伝子群の発現調節に関する研究	新井 博之	東大院農生科
381	平成13年 (2001)	培養肝細胞の機能維持に関する細胞生物学的・分子栄養学的研究	小田 裕昭	名大院生農
382	平成13年 (2001)	黄色ブドウ球菌の2成分性細胞崩壊毒素のファージ変換及び標的細胞との作用に関する研究	金子 淳	東北大院農
383	平成13年 (2001)	新規イソペンテニル2リン酸生合成経路、「非メバロン酸経路」に関する研究	葛山 智久	東大分生研
384	平成13年 (2001)	プロテインキナーゼC結合タンパク質を介する新しい細胞内シグナル伝達機構	黒田 俊一	阪大産研
385	平成13年 (2001)	海洋生物毒の精密構造解析と起源生物の追求に関する研究	佐竹 真幸	東北大院農
386	平成13年 (2001)	プロトン情報の生物学的エネルギー変換に関する研究	三本木至宏	阪大産研
387	平成13年 (2001)	エリスロポエチンの組織特異的発現調節の発見と応用生化学的研究	増田 誠司	京大院生命
388	平成13年 (2001)	ペプチド性植物細胞増殖因子に関する研究	松林 嘉克	名大院生農
389	平成13年 (2001)	食品成分による発がん予防に関する基盤的研究	村上 明	近畿大生物理工
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的研究	掛谷 秀昭	理研
392	平成14年 (2002)	T細胞による細胞殺傷機能発現の制御機構に関する研究	片岡 孝夫	東工大生実セ
393	平成14年 (2002)	葉緑体機能発現と光制御の分子機構に関する研究	河内 孝之	奈良先端大バイオ
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)	細菌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	橋床 泰之	北大院農
408	平成15年 (2003)	細菌の形態形成制御と高分子物質の輸送・分解機構に関する構造生物学的研究	橋本 渉	京大院農
409	平成15年 (2003)	アリゾゴクノ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 浩輝	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

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
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	広島大院生環
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	国立感染症研
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)	麴菌酵素の 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	国大感染症研
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	広島大院生環
437	平成18年 (2006)	新規な二原子酸素添加反応を含むダイオキシン関連化合物生分解系の構造生物学的・分子遺伝学的研究	野尻 秀昭	東大生物学セ
438	平成18年 (2006)	呼吸鎖電子伝達系を阻害するバンレイシ科アセトゲニンの有機化学的研究	真壁 秀文	信州大院農
439	平成18年 (2006)	Ca ²⁺ 信号伝達経路による細胞周期制御の発見及びその分子機構に関する研究	水沼 正樹	広島大院先端物質
440	平成19年 (2007)	光合成生物におけるアスコルビン酸ペルオキシダーゼの発現調節機構と生理機能の解明	石川 孝博	島根大生資科
441	平成19年 (2007)	X線結晶構造解析による酵素反応の分子機構に関する研究	角田 佳充	九大院農
442	平成19年 (2007)	微生物 NAD キナーゼの構造と機能に関する研究	河井 重幸	京大院農
443	平成19年 (2007)	有用糖質関連酵素遺伝子の構造と機能に関する研究	高島 晶	理研
444	平成19年 (2007)	ゲノム安定化維持に必要な DNA 複製チェックポイント機構に関する研究	田中 克典	関西学院大理工
445	平成19年 (2007)	高等植物と糸状菌におけるジテルペン生合成・環化酵素遺伝子に関する研究	豊増 知伸	山形大農
446	平成19年 (2007)	発生・分化に関わるペプチド・タンパク質の立体構造解析と構造—機能相関	永田 宏次	東大院農生科
447	平成19年 (2007)	求電子性食品成分の機能性/安全性に関する化学生物学的研究	中村 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 ₁ 化合物代謝とその生理機能に関する分子細胞生物学的研究	由里本博也	京大院農
450	平成20年 (2008)	酵母のストレス応答における mRNA 代謝機構に関する研究	井沢 真吾	京大院農
451	平成20年 (2008)	複素環を中心とする生理活性天然環状化合物の合成研究	石神 健	東大院農生科
452	平成20年 (2008)	DNA 修復や複製に関する蛋白質のテロメアにおける機能の解明	上野 勝	広島大院先端物質
453	平成20年 (2008)	放線菌由来ヘテロ環含有抗生物質の生合成に関する分子生物学的研究	尾仲 宏康	富山県大工
454	平成20年 (2008)	微生物の多様な環境応答とその分子機構	金丸 京子	名大院生農
455	平成20年 (2008)	酵母における脂質の代謝と膜輸送に関する研究	福田 良一	東大院農生科
456	平成20年 (2008)	糖質分解酵素と特殊環境で働く酵素の構造生物学的研究	伏信 進矢	東大院農生科
457	平成20年 (2008)	糖と脂質の恒常性維持に関与する ABC タンパク質の研究	松尾 道憲	京大院農
458	平成20年 (2008)	DNA 合成酵素の分子種選択的阻害剤の探索研究	水品 善之	神戸学院大栄養
459	平成20年 (2008)	生合成機能の高度異種発現に基づく次世代物質生産	渡辺 賢二	南カリフォルニア大薬
460	平成21年 (2009)	細胞内輸送を介した植物の多様な環境応答機構に関する研究	稲葉 丈人	若手大21世紀COE
461	平成21年 (2009)	抗酸化食品因子の生体内標的部位と酸化ストレス制御機構に関する研究	河合 慶親	徳島大院ヘルスパイオ
462	平成21年 (2009)	油糧微生物の代謝工学と機能性脂質生産への応用に関する研究	櫻谷 英治	京大院農
463	平成21年 (2009)	腸管免疫系におけるアレルギー反応機構とその腸内共生菌による制御に関する分子生物学的研究	高橋 恭子	日大生資科
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	東大生物学セ
472	平成22年 (2010)	枯草菌のクオラムセンシングフェロモンに見られる新規翻訳後修飾の解明	岡田 正弘	東北大院理
473	平成22年 (2010)	α -グリコシダーゼの機能と構造に関する研究	奥山 正幸	北大院農
474	平成22年 (2010)	分子遺伝学的手法を用いた亜鉛トランスポーターの機能に関する研究	神戸 大朋	京大院生命
475	平成22年 (2010)	グラム陰性細菌の細胞表層形成に関与する 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 渉	ワシントン大医
481	平成23年 (2011)	光合成電子伝達鎖を制御する葉緑体酸素発生系タンパク質の分子機能に関する研究	伊福健太郎	京大院生命
482	平成23年 (2011)	腸内細菌における新規な代謝機能の発見と解析およびその高度利用	片山 高嶺	石川県大資源研
483	平成23年 (2011)	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
484	平成23年 (2011)	細胞内物流システムを制御するカルシウム結合タンパク質に関する研究	柴田 秀樹	名大院生農
485	平成23年 (2011)	化学生態学と免疫学に関連する生体機能分子の合成	田代 卓哉	理研
486	平成23年 (2011)	光合成炭素代謝の制御機構に関する研究	田茂井政宏	近畿大農
487	平成23年 (2011)	天然発がんプロモーター研究の新展開	中川 優	理研基幹研
488	平成23年 (2011)	昆虫の摂食行動に関する生物有機化学的研究	永田 晋治	東大院農生科
489	平成23年 (2011)	時間軸に注目した昆虫と線虫の発育調節機構の解明	丹羽 隆介	筑波大院生環
490	平成24年 (2012)	構造が複雑なシアル酸含有糖鎖および糖脂質の合成化学的研究	安藤 弘宗	岐阜大応生科・京大iCeMS
491	平成24年 (2012)	酸味受容体の発見とその味覚伝達機構の解明	石丸 喜朗	東大院農生科
492	平成24年 (2012)	生物活性の探索と解明を指向した有用化合物の合成研究と化学生物学的研究	倉持 幸司	京府大院生命環境
493	平成24年 (2012)	天然物合成を基軸とした小分子プローブ創成と化学生物学研究	齊藤安貴子	大阪電通大工
494	平成24年 (2012)	腸管における食品因子の吸収及び機能性・安全性に関する細胞生物学的研究	薩 秀夫	東大院農生科
495	平成24年 (2012)	セスクアテルペン (C ₃₅ テルペン) の探索と生合成に関する研究	佐藤 努	新潟大院自然科学
496	平成24年 (2012)	新奇乳酸菌バクテリオシンの探索とその構造と機能に関する研究	善藤 威史	九大院農
497	平成24年 (2012)	食品と生体の生理活性成分のスパ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” 麴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

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
501	平成25年	(2013) 光合成生物における生存戦略の分子機構に関する研究	石崎 公庸	京大院生命
502	平成25年	(2013) 小型実験魚類を用いた脊椎動物味覚伝導の普遍性の解明	岡田 晋治	東大院農生科
503	平成25年	(2013) tRNA を標的とする毒素に関する研究	小川 哲弘	東大院農生科
504	平成25年	(2013) 海洋生物由来の発光タンパク質に関する生物有機化学的研究	久世 雅樹	神戸大院農
505	平成25年	(2013) フィズス菌のオリゴ糖代謝機構の解明および代謝酵素群の高度利用に関する研究	面本 完	農研機構食総研
506	平成25年	(2013) 植物の生育促進への利用に資する、枯草菌の転写応答機構の研究	広岡 和丈	福山大生命工
507	平成25年	(2013) 酵母発現系を用いたハイスループット構造生物学	水谷 公彦	京大院農
508	平成25年	(2013) 酸化ストレスに着目したアミロイドβペプチドの神経細胞毒性発現機構	村上 一馬	京大院農
509	平成25年	(2013) 大腸菌環境応答ネットワークに関する包括的研究	山本 兼由	法政大生命科学
510	平成26年	(2014) 食品および酸化ストレス関連因子による生体タンパク質の翻訳後修飾に関する研究	石井 剛志	静岡県大食栄
511	平成26年	(2014) 環境細菌のPCB分解能を司る遺伝因子の解析と各種ゲノム解析ソフトウェアの開発	大坪 嘉行	東北大院生命科
512	平成26年	(2014) 脂質メディエーターに関する化学生物学的研究	柴田 貴広	名大院生農
513	平成26年	(2014) 消化管のタイトジャンクション機能を制御する食品成分・生体内因子に関する基礎的研究	鈴木 卓弥	広島大院生園
514	平成26年	(2014) 天然由来機能性脂質の食品栄養学的特性に関する研究	都築 毅	東北大院農
515	平成26年	(2014) tRNA 転写後修飾メカニズムの分子基盤解明	沼田 倫征	産総研
516	平成26年	(2014) 緑茶の機能性を捉える低分子ケミカルセンシングに関する研究	藤村 由紀	九大先端融合医療
517	平成26年	(2014) 食品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	古川 壮一	日大生資科
518	平成26年	(2014) 構造生物学を基盤とした糖質の認識・輸送・分解機構に関する研究	丸山 如江	京大院農
519	平成26年	(2014) 植物 Nudix hydrolase ファミリーの生理機能に関する研究	吉村 和也	中部大応生
520	平成27年	(2015) 光合成 CO ₂ 固定酵素 RuBisCO の機能進化研究	蘆田 弘樹	神戸大院人間発達環境
521	平成27年	(2015) 立体構造に基づく糖質関連酵素の反応機構の解明とポストゲノミクスへの新展開	伊藤 貴文	福井県大生資
522	平成27年	(2015) 甲殻類ペプチドホルモンに関する生物有機化学的研究	片山 秀和	東海大工
523	平成27年	(2015) 糖質代謝酵素の分子機構の解明と有用糖質の効率合成への応用展開	佐分利 亘	北大院農
524	平成27年	(2015) 植物二次代謝生産における自己耐性と輸送の分子機構に関する研究	土反 伸和	神戸薬大薬
525	平成27年	(2015) 一般細菌が示す多様な環境応答の分子メカニズムに関する研究	高野 英晃	日大生資科
526	平成27年	(2015) 植物のストレス応答・生長制御に関する構造生物学的研究	宮川 拓也	東大院農生科
527	平成27年	(2015) 食品成分と内因性分子による生活習慣病の促進メカニズムと予防に関する生物化学分析	三好 規之	静岡県大食栄
528	平成27年	(2015) 植物における光酸化的ストレス応答のシグナル伝達に関する研究	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	東大生物学セ
537	平成28年	(2016) 有用植物二次代謝産物の生合成機構に関する生化学および分子細胞遺伝学的研究	野村 泰治	富山県大工
538	平成28年	(2016) 芳香族ポリケタイドの生合成研究と物質生産への応用	鮒 信学	静岡県大食栄
539	平成28年	(2016) 酵母における環境応答と代謝調節に関する分子遺伝学的研究とその応用	渡辺 大輔	奈良先端大バイオ
540	平成29年	(2017) 油糧糸状菌の分子育種基盤の構築と有用油脂生産への展開	安藤 晃規	京大院農
541	平成29年	(2017) 糸状菌と植物の糖鎖生合成に関与する諸酵素に関する研究	岡 拓二	崇城大生物生命
542	平成29年	(2017) グラム陰性細菌の寄生・共生現象を制御するクオラムセンシング機構に関する生物有機化学的研究	甲斐 建次	阪府大院生命環境
543	平成29年	(2017) 植物香気成分の生合成酵素の機能進化と反応制御機構に関する研究	肥塚 崇男	山口大院創成科学
544	平成29年	(2017) 糸状菌の先端生長における極性制御機構の解析	竹下 典男	筑波大生命環境
545	平成29年	(2017) 菌類が産生する機能性物質に関する研究	崔 宰熏	静大院農
546	平成29年	(2017) 機能性食品成分の味覚シグナルが中枢を介して発動する生理作用の解析	成川 真隆	東大院農生科
547	平成29年	(2017) ポリケタイド化合物の分子多様性を生み出す生合成酵素の構造機能研究	宮永 顕正	東工大理
548	平成29年	(2017) 食品機能学によるプレニルフラボノイドの特性解明	向井 理恵	徳島大院生物資源
549	平成29年	(2017) 高効率合成を指向したリグナン及びテルペノイドの合成研究	森 直紀	東大院農生科
550	平成30年	(2018) イオンチャネル内蔵型受容体の高選択的リガンド認識と機能調節に関する生物有機化学研究	伊原 誠	近畿大農
551	平成30年	(2018) ペプチドの構造に多様性を与える新規酵素の探索	小笠原泰志	北大院工
552	平成30年	(2018) 藻類での有用脂質生産と脂質蓄積制御因子の同定	梶川 昌孝	京大院生命
553	平成30年	(2018) 放線菌のもつ多様な二次代謝産物生合成機構の解析	勝山 陽平	東大院農
554	平成30年	(2018) 食用植物の抗肥満、抗糖尿病効果を分子レベルで理解するための生物活性成分の探索と機能解析	加藤 英介	北大院農
555	平成30年	(2018) エネルギー代謝を制御する食品成分とその作用機構に関する研究	後藤 剛	京大院農
556	平成30年	(2018) バイオエレクトロカタリシスの基礎と応用の新展開	辻村 清也	筑波大数理物質系
557	平成30年	(2018) 低分子化合物及び膜小胞を介した細菌間相互作用に関する研究	豊福 雅典	筑波大生命環境系
558	平成30年	(2018) 生体制御におけるアンドロゲンシグナリングと食の相互作用に関する研究	原田 直樹	阪府大院生命環境
559	平成30年	(2018) 極限環境微生物のエネルギー変換に関する生化学および熱力学的解析	若井 泰	神戸大院イノベ
560	平成31年	(2019) 植物の膜輸送体に導かれる生命現象の解明	石丸 孝寛	東北大院理
561	平成31年	(2019) 細菌の酵素添加酵素が関わる代謝系の解析と物質変換技術への応用	笠井 大輔	長岡技科大
562	平成31年	(2019) 正常な細胞機能を保証する細胞構造の制御機構に関する研究	久米 一規	広島大院先端物質
563	平成31年	(2019) 腸内細菌のポリアミン代謝・輸送機構の解明	栗原 新	石川県大生物資源
564	平成31年	(2019) 電気活性細菌のエネルギー代謝と電流生成を制御する分子機構の解明	高妻 篤史	東薬大生命科学
565	平成31年	(2019) 超微細生化学反応系とバイオインフォマティクスを用いた機能性生体高分子の探索技術の開発	兒島 孝明	名大院生命農
566	平成31年	(2019) バイオミネラリゼーションを制御する有機基質の構造と機能に関する研究	鈴木 道生	東大院農生科
567	平成31年	(2019) 特異な翻訳後修飾アミノ酸を有する金属酵素の機能解析および新規創製	藤枝 伸宇	阪府大院生命環境
568	平成31年	(2019) ミトコンドリア呼吸鎖複合体Iの機能解明を目指した生物有機化学的研究	村井 正俊	京大院農
569	平成31年	(2019) シアノバクテリアから見出された増殖機構・環境適応機構の可塑性と有用物質生産への展開	渡辺 智	東農大生命科学
570	令和2年	(2020) 枯草菌リボソームの新たな機能に関する研究	赤沼 元気	学習院大理
571	令和2年	(2020) 固体材料表面と生体分子の相互作用の解析とバイオ融合マテリアル開発への応用	池田 丈	広大院統合生命
572	令和2年	(2020) 特異な複素環構造と有用な生物活性を示す天然有機化合物の合成研究	榎本 賢	東北大院農
573	令和2年	(2020) 酵素法を基盤とした糖質複合分子の機能設計に関する研究	尾形 慎	福島高専
574	令和2年	(2020) 食品タンパク質の新機能の発見とその多面的利用への構造論的展開	落合 秋人	新潟大工

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
575	令和2年 (2020)	植物根圏での代謝物の動態及び機能に関する研究	杉山 暁史	京大生存圏研
576	令和2年 (2020)	きのこ類が産生する生物活性物質に関する天然物化学的・遺伝情報学的研究	鈴木 智大	宇都宮大バイオサイエンス
577	令和2年 (2020)	味覚の脳内伝達とその調節を担う神経機構の解析	中島健一朗	生理学研究所
578	令和2年 (2020)	真菌における膜交通に関する分子細胞生理学研究	樋口裕次郎	九大院農
579	令和2年 (2020)	天然由来ペプチドの活性発現に係わる三次元構造の解明と応用	増田 裕一	三重大院生物資源

農芸化学女性研究者賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	平成29年 (2017)	バイオセンサー表層におけるセンシング分子のナノレベル精密整列化に関する研究	飯嶋 益巳	阪大産業科学研
2	平成29年 (2017)	植物性機能性成分による病態発症改善機能に関する研究	井上 奈穂	山形大農
3	平成29年 (2017)	酸性糖鎖ポリシアル酸の新機能の発見とその応用展開	佐藤ちひろ	名大生物機能セ
4	平成30年 (2018)	海洋微生物からの有用機能の探索とその応用	大田ゆかり	JAMSTEC
5	平成30年 (2018)	細菌の環境応答と適応に関する分子生物学的研究	古園さおり	東大生物工学セ
6	平成30年 (2018)	有機合成を基軸としたフラバン-3-オール誘導体の機能性解明研究と栽培現場への貢献を目指した研究展開	齊藤安貴子	大電通大工
7	平成31年 (2019)	植物性食品の香りを主とする質的特性に対するその因子探索とフードメタボロミクスによる展開	飯島 陽子	神奈川工大応用バイオ
8	平成31年 (2019)	抗生物質ストレプトスリシンおよびその類縁化合物の生合成研究で見出した新規ペプチド合成酵素	丸山千登勢	福井県大生物資源
9	平成31年 (2019)	食品由来フラボノイドの生体利用性に関わる化学構造の特徴と生体内代謝物の同定	室田佳恵子	鳥根大学術研究院
10	令和2年 (2020)	脂肪酸の栄養状態で変化する生体応答の制御機構に関する研究	市 育代	お茶大基幹研究院
11	令和2年 (2020)	種子植物の生殖器官における発熱分子機構とミトコンドリア特性に関する研究	稲葉 靖子	宮崎大農
12	令和2年 (2020)	植物病原性糸状菌をモデルに用いた糸状菌における環境認識と応答に関する研究	西村麻里江	農研機構

農芸化学若手女性研究者賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	平成29年 (2017)	有用タンパク質の微生物生産とその産業利用に関する研究	加藤 晃代	名大院生農／名城大総合研
2	平成29年 (2017)	食品由来機能性成分による免疫調節作用メカニズムに関する研究	田中 沙智	信州大農
3	平成29年 (2017)	微生物による生分解性プラスチック合成および微生物由来有用酵素に関する研究	山田 美和	岩手大農
4	平成30年 (2018)	微生物を活用したN型糖鎖代謝酵素の機能解明とその応用	梅川 碧里	京大院生命
5	平成30年 (2018)	味覚受容体の新しい機能解析技術の開発と味覚受容の分子機構の解明	戸田 安香	明大農
6	平成30年 (2018)	プロシアニジンの高血糖・肥満予防効果に関する研究	山下 陽子	神戸大院農
7	平成31年 (2019)	生理活性ペプチドの機能解明に向けた生物有機化学的研究	岡谷(永井)千晶	産総研
8	平成31年 (2019)	キノコ由来の生物活性2次代謝産物に関する化学的研究	呉 静	静岡大農
9	平成31年 (2019)	アミノ酸代謝酵素を中心とした機能と調節に関する研究	吉田 彩子	東大生物工学セ
10	令和2年 (2020)	糸状菌におけるリグノセルロース分解酵素遺伝子の発現制御機構に関する分子生物学的研究	國武 絵美	三重大院生物資源
11	令和2年 (2020)	シアル酸含有糖鎖の合成研究および細胞膜ドメイン解析のための糖脂質プローブの開発	河村奈緒子	岐阜大・G-CHAIN
12	令和2年 (2020)	未知の中心的代謝酵素の探索と性状解析 ―生命の多様性および進化の理解を目指して	千葉 洋子	理研

農芸化学女性企業研究者賞

No.	受賞年度	業績論文表題	氏名	所属(当時)
1	平成29年 (2017)	ポリフェノールの機能解明に関する研究とその応用開発	小野 佳子	サントリーウエルネス
2	平成29年 (2017)	きのこ由来レクチンのがん診断への応用	小林(袴田) 夕香	J-オイルミルズ
3	平成29年 (2017)	カカオポリフェノールに関する包括的研究	夏目みどり	明治
4	平成30年 (2018)	血管成熟化促進作用を持つ新規天然物 vestaine の同定	石本 容子	第一三共
5	平成30年 (2018)	清酒副産物の機能性ペプチドに関する研究	堤 浩子	月桂冠
6	平成30年 (2018)	タンパク質工学を利用した産業用酵素の開発	松井 知子	ノボザイムズ ジャパン
7	平成31年 (2019)	ビール酵母の発酵に寄与する因子解明と産業への利用	大室 蘭	アサヒビール
8	平成31年 (2019)	アロエベラ由来ステロールの機能性とその応用に関する研究	田中 美順	森永乳業
9	平成31年 (2019)	ポリフェノールの体内動態に関する研究	富森菜美乃	サントリーウエルネス
10	令和2年 (2020)	日用品・食品の開発につながる微生物制御の基礎研究	久保田浩美	花王
11	令和2年 (2020)	発酵中にホップを添加する製法による発酵促進とその応用	土屋 友理	キリンホールディングス

2021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）

中山 亨（なかやま とおる）

1959年生まれ／1986年京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士課程単位取得退学。農学博士／現在，東北大学大学院工学研究科・教授

松田 一彦（まつだ かずひこ）

1962年生まれ／1987年京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻修士課程修了。博士（農学）／現在，近畿大学農学部応用生命化学科・教授

○日本農芸化学会功績賞（2件，50音順）

稲垣 賢二（いながき けんじ）

1956年生まれ／1985年京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士後期課程修了，農学博士／現在，岡山大学大学院環境生命科学研究科・教授

吉村 徹（よしむら とおる）

1957年生まれ／1984年京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士課程単位取得退学，農学博士／現在，名古屋大学大学院生命農学研究科・教授

○農芸化学技術賞（9件，会社名 50音順）

首藤 正彦（すどう まさひこ）

1960年生まれ／1984年岡山大学農学部農芸化学科卒業／現在，（株）えひめ飲料 総合戦略部主席研究員

古川 美子（ふるかわ よしこ）

1951年生まれ／1980年京都府立医科大学大学院医学研究科博士課程 単位取得満期退学 1981年医学博士取得／現在，松山大学薬学部名誉教授

伊賀瀬 道也（いがせ みちや）

1964年生まれ／1999年愛媛大学大学院機能系専攻修了，医学博士／現在，愛媛大学医学系研究科抗加齢医学講座教授，愛媛大学抗加齢予防医療センター長

福田 直大（ふくだ なおひろ）

1973年生まれ／1998年広島大学大学院工学研究科修士課程修了／現在，愛媛県経済労働部 産業支援局 産業創出課 技術振興グループ担当係長

釜阪 寛（かまさか ひろし）

1964年生まれ／1989年神戸大学大学院農学研究科農芸化学専攻修士課程修了。博士（農学）／現在，江崎グリコ株式会社健康科学研究所マネージャー

田中 智子（たなか ともこ）

1977年生まれ／2000年京都大学医療技術大学部卒。2002年学位授与機構 保健衛生学士／現在，江崎グリコ株式会社健康科学研究所主任研究員

滝井 寛（たきい ひろし）

1967年生まれ／1992年神戸大学大学院農学研究科園芸農学専攻修士課程修了。博士（農学）／現在，江崎グリコ株式会社健康科学研究所主任研究員

サッポロビール株式会社

2003年7月1日（創立）／代表取締役社長：高島英也

○農芸化学奨励賞（10件，50音順）

石橋 洋平（いしばし ようへい）

1981年生まれ／2009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，九州大学大学院農学研究院生物機能分子化学講座 助教

伊藤 晋作（いとう しんさく）

1981年生まれ／2011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，東京農業大学生命科学部バイオサイエンス学科・准教授

伊藤 智和（いとう ともかず）

1980年生まれ／2009年名古屋大学大学院生命農学研究科応用分子生命科学専攻修了博士後期課程修了，博士（農学）／現在，名古屋大学大学院生命農学研究科応用生命科学専攻・講師

小倉 由資（おぐら ゆうすけ）

1983年生まれ／2012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・准教授

Thanutchaporn Kumrungsee（タナッチャポーン カムランシー）

1984年生まれ／2015年九州大学大学院生物資源環境科学博士課程後期修了，博士（農学）／現在，広島大学大学院統合生命科学研究所食品生命科学プログラム・准教授

黒木 勝久（くろぎ かつひさ）

1982年生まれ／2011年宮崎大学大学院農学工学総合研究科生物機能応用科学専攻博士後期課程修了，博士（農学）／現在，宮崎大学農学部応用生物科学科・准教授

佐藤 道大（さとう みちお）

1983年生まれ／2011年北海道大学大学院農学院共生基盤学専攻博士課程修了，博士（農学）／現在，静岡県立大学薬学部生薬学研究室・講師

田代 陽介（たしろ ようすけ）

1981年生まれ／2009年筑波大学大学院生命環境科学研究科博士課程修了，博士（農学）／現在，静岡大学大学院工学領域化学バイオ工学系列・講師，JSTさきがけ研究者兼任

二神 泰基（ふたがみ たいき）

1980年生まれ／2008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，鹿児島大学農学部附属焼酎・発酵学教育研究センター醸造微生物学部門・准教授

丸田 隆典（まるた たかのり）

1980年生まれ／2009年近畿大学大学院農学研究科バイオサイエンス専攻修了，博士（農学）／現在，島根大学生物資源科学部生命科学科・准教授

2021 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）

豊島 由香（とよしま ゆか）

1975年生まれ／2002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，お茶の水女子大学ヒューマンライフイノベーション研究所・特任准教授

藤田 直子（ふじた なおこ）

1969年生まれ／1997年大阪府立大学大学院農学研究科園芸農学専攻博士後期課程修了，博士（農学）／現在，秋田県立大学生物資源科学部・教授，株式会社スターチテック・取締役

柳瀬 笑子（やなせ えみこ）

1974年生まれ／1999年岐阜大学大学院連合農学研究科生物資源科学専攻博士課程中途退学，博士（農学）／現在，岐阜大学応用生物科学部・准教授

○農芸化学若手女性研究者賞（3件，50音順）

乙木 百合香（おとしき ゆりか）

1988年生まれ／2017年東北大学大学院農学研究科生物産業創成科学専攻博士課程後期修了，農学博士／現在，東北大学大学院農学研究科・助教

堀 千明（ほり ちあき）

1984年生まれ／2012年東京大学 大学院農学生命科学研究科材料科学専修 博士課程修了，博士（農学）／現在，北海道大学大学院工学研究院応用化学部門・助教

山田 千早（やまだ ちはや）

1983年生まれ／2013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，農学博士／現在，東京大学大学院農学生命科学研究科・助教

○農芸化学女性企業研究者賞（3件，50音順）

内田（丸木）裕子（うちだ まるき ひろこ）

1978年生まれ／2003年慶應義塾大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻 修士課程修了，博士（農学）／現在，森永製菓（株）研究所 健康科学研究センター マネージャー

土橋 英恵（つちはし はなえ）

1978年生まれ／2003年，北海道大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻 修士課程修了／現在，（株）明治 研究本部乳酸菌研究所基盤微生物研究部・専任課長

宮崎 絹子（みやざき きぬこ）

1982年生まれ／2007年北海道大学大学院 理学研究科 生物科学専攻修士課程修了，博士（農学）／現在，ハウス食品グループ本社株式会社・研究開発本部 基礎研究部・チーフ研究員

【2021 年度学会賞等副賞御寄附会社名】

- ◇ アサヒクオリティーアンドイノベーションズ 株式会社
- ◇ 味の素 株式会社
- ◇ キ ッ コ ー マ ン 株式会社
- ◇ キ リ ン ホ ー ル デ ィ ン グ ス 株式会社
- ◇ サ ッ ポ ロ ビ ー ル 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

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。

©2021 Japan Society For Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry Printed in Japan

日本農芸化学会 2021 年度受賞講演要旨集
2021 年 3 月 15 日発行 非売品

発行者 公益社団法人日本農芸化学会 113-0032 東京都文京区弥生 2-4-16 学会センタービル内
電話 03 (3811) 8789 <http://www.jsbba.or.jp/> soumu@jsbba.or.jp
印刷者 株式会社国際文献社 162-0801 東京都新宿区山吹町 358-5 電話 03 (6824) 9362
