

食品総合研究所研究報告 75号 抄録

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-12-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	https://repository.naro.go.jp/records/3001

抄録

Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 44(3)223–230(2009)

A comparative analysis of genistein and daidzein in affecting lipid metabolism in rat liver

Takahashi Y.*, Odbayar T. O. ***, Ide T.*

*National Food Research Institute

**Mongolian University of Science and Technology

大豆イソフラボンであるゲニステインとダイゼインがラット肝臓の遺伝子発現プロファイルと脂質代謝の指標に及ぼす影響を比較した。実験1では、ラットにゲニステインまたはダイゼインを2 g/kg 含む食餌、あるいはイソフラボンを含まないコントロール食を与えて14日間飼育した。実験2では、ラットにゲニステインを1または2 g/kg 含む食餌、あるいはイソフラボンを含まないコントロール食を与えて16日間飼育した。食餌ゲニステインの量が2 g/kg のとき、両実験において血清中性脂肪濃度が減少し、実験2では血清コレステロール濃度が減少した。しかし実験1のダイゼイン2 g/kg 食では血清脂質濃度は減少しなかった。実験1でのDNAマイクロアレイ解析で、ゲニステインはダイゼインよりも肝臓で発現する脂質および炭水化物代謝に関係する多くの遺伝子の発現に大きな影響を与えた。詳細な解析の結果、ゲニステインによる血清脂質濃度低下作用は、脂質合成に関連する遺伝子発現の変化に起因することが示唆された。このことは実験2で実施した酵素活性レベルの測定結果とも一致した。

ラット肝臓での脂質代謝に影響するゲニステインとダイゼインの作用の比較解析

高橋 陽子*, Odbayar T. O. ***, 井手 隆*

*食品総合研究所, **モンゴル科学技術大学

International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism ,19(6), 673-684(2009)

L-Lactic Acid Improves the Swimming Endurance of Mice

Guihua ZHANG*, Nobuya SHIRAI*, Hiramitsu SUZUKI**

*National Food Research Institute

**Kagawa Nutrition University

L-乳酸がマウスの遊泳持久力に及ぼす影響について調査した。マウスに(n=50)25mg/体重kgまたは50mg/体重kgのL-乳酸またはグルコースを腹腔内に投与し、強制遊泳した時の疲労に至るまでの時間を、生理的食塩水を投与した場合と比較した。また遊泳試験終了一週間後、生理的食塩水、L-乳酸またはグルコースを同様に腹腔内投与して、30分後の生化学的項目について分析を行った。生理的食塩水と比べたL-乳酸の疲労までの時間は、グルコース投与よりも有意に伸びた。その伸びは、25mg/体重kgに比べて50mg/体重kgで大きかった。グルコース投与では投与量によるそのような伸びは認められなかった。血漿および筋肉の乳酸、筋肉肝臓のグリコーゲン、血漿NEFAとグルコースに生理的食塩水、L-乳酸およびグルコース投与グループで有意な差は認められなかった。これらの結果から、L-乳酸の投与は量依存的に遊泳持久力を伸ばすものと考えられた。

日本食品科学工学会誌, 57(1), 44-48 (2010)

Oxygen radical absorbance capacity 法によるスモモの抗酸化活性評価

佐藤 明子***, 渡辺 純*, 後藤 真生*, 石川(高野)祐子*

*独立行政法人食品総合研究所

**山梨果樹試験場

スモモ38品種/系統を用い、ヘキサン:ジクロロメタン(1:1)およびアセトン:水:酢酸(70:29.5:0.5, AWA)による連続抽出を行なった。得られたAWA抽出液を用いて、ORAC法およびDPPHラジカル消去活性法による抗酸化活性、ならびにフォーリン-チオカルト法による総ポリフェノール量を測定した。水溶性ORAC(H-ORAC)値は、ニホンスモモは2.49-7.06mmol TE/100g FWの範囲に、ドメスチカスモモは、1.53-5.71mmol TE/100g FWの範囲に分布していた。また、ニホンスモモおよびドメスチカスモモは、DPPHラジカル消去活性値(0.20-2.21mmol TE/100g FW)および総ポリフェノール量(45.7-247.4GAE mg/100g FW)もそれぞれ $r=0.717$, $r=0.803$ となり、H-ORAC値と高い正の相関を示した。

Evaluation for Anti-oxidant activities of Prunus sp. using Oxygen radical absorbance capacity

Akiko Sato***, Jun Watanabe*, Masao Goto*, Yuko Ishikawa-Takano*

*National Food Research Institute

**Yamanashi Fruit Tree Experiment Station

Bioscience biotechnology and biochemistry, 73(11) 2439–2444(2009)

Continuous orally administered coffee enhanced the antigen-specific Th1 response and reduced allergic development in a TCR-transgenic mice model

Masao GOTO*, Kohji YAMAKI*, Hiroshi SHINMOTO***, Yuko TAKANO-ISHIKAWA*

*National Food Research Institute

**Tamagawa University

コーヒー摂取の免疫系への影響の研究は現在ほとんど存在しない。そこで即時型アレルギーマウスモデルを用いて、コーヒー飲用のアレルギーへの影響を解析した。その結果、コーヒー経口投与はアレルギー未感作マウス由来脾臓細胞の抗原特異的 IL - 12 産生を有意に増強した。アレルギー感作マウスにおいても有意な抗原特異的 IL - 12 産生の増強と IL - 2 産生の減弱が観察された。さらに血清中抗原特異的 IgE の減少と即時型皮膚反応の抑制が観察された。一方でアレルギー成立後のコーヒー摂取は即時型皮膚反応を抑制しなかった。よってコーヒーの経口摂取は Th 1 型免疫応答を誘導し、アレルギー体質への移行を抑制することが示唆された。

Applied and Environmental Microbiology, 75(20) 6451–6456(2009)

Response of gut microbiota to fasting and hibernation in Syrian hamsters

Kei Sonoyama*Reiko Fujiwara*, Naoki Takemura*, Toru Ogasawara*, Jun Watanabe**, Hiroyuki Ito***, and Tatsuya Morita***

*Hokkaido University

**National Food Research Institute

***Shizuoka University

冬眠動物の腸内細菌叢は冬眠中どのように変化するのであろうか。そこで、冬眠下と絶食下のシリアンハムスターでの腸内細菌叢変化を比較した。絶食下ではムチン分解菌である *Akkermansia muciniphila* が腸内で増加し、腸管のバリア機能が低下することが示された。一方で、冬眠下では絶食条件であるにもかかわらず *A. muciniphila* の増加は見られず、腸管バリアの低下も見られなかった。以上より、絶食と冬眠ではシリアンハムスターの腸内細菌叢への影響が異なると結論された。

British Journal of Nutrition, 103(2) 218–222(2010)

Comparison of gut microbiota and allergic reactions in BALB/c mice fed different cultivars of rice

Kei Sonoyama*, Toru Ogasawara*, Haruka Goto*, Tomoyo Yoshida*, Naoki Takemura*, Reiko Fujiwara*, Jun Watanabe**, Hiroyuki Ito***, Tatsuya Morita***, Yoshinari Tokunaga**** and Tetsuji Yanagihara*****

*Hokkaido University

**National Food Research Institute

***Shizuoka University

****Chinobeikokuten Co.,Ltd

*****Hokkaido Prefectural Kamikawa Agricultural Experiment Station

コメ品種「ゆきひかり」は臨床的にアレルギー抑制効果を有することが報告されている。このアレルギー抑制メカニズムをマウスを用いて明らかにした。「ゆきひかり」摂取群では、通常のコメ品種を摂取した群と比較して、アレルギーの吸収量が少なく、腸管のバリア機能が高く保たれていた。また、ムチンを分解するため腸管のバリア機能を低下させると考えられる *Akkermansia muciniphila* 菌数が「ゆきひかり」摂取群で少なかった。以上より、「ゆきひかり」は食物アレルギー発症抑制に有利に作用することが示された。

British Journal of Nutrition, 103(4) 530–538(2010)

Maternal consumption of fructo-oligosaccharide diminishes the severity of skin inflammation in offspring of NC/Nga mice

Reiko Fujiwara*, Naoki Takemura*, Jun Watanabe** and Kei Sonoyama*

*Hokkaido University
**National Food Research Institute

幼少期の腸内細菌叢変化が成長後のアレルギー発症と関与するか NC/Nga マウスにおけるアトピー性皮膚炎様症状を指標に調べた。妊娠・授乳期にフルクトオリゴ糖を摂取させると、仔の腸内細菌叢が変化し、仔の皮膚炎症状が軽減した。一方で、離乳後のフルクトオリゴ糖摂取による軽減作用は限定的であった。すなわち、妊娠・授乳期のフルクトオリゴ糖摂取は、仔でのアトピー性皮膚炎様症状を抑制することが示され、これには仔の発達初期の腸内細菌叢変化が関与することが示唆された。

Cytotechnology, 62(4) 307–311(2010)

Epitope analysis of peanut allergen Ara h1 with human monoclonal IgM antibody 92–2

Hiroshi Shinmoto*, Yuji Matsuo*, Yasunori Naganawa**, Shinichi Tomita* and Yuko Takano-Ishikawa***

*Tamagawa University
**Nagahama Institute of Bio-Science and Technology
***National Food Research Institute

ピーナツアレルゲンタンパク質である Ara h1 に対する IgM クラスの抗体を産生するヒトハイブリドーマ clone92-2 を樹立した。この抗体の Ara h1 結合部位を明らかにするために、Ara h1 タンパク質から一連のペプチドを合成し、マルチピンペプチド ELISA 法に夜検索を行った。その結果、本クローンの産生する抗体は、' GREGEQEWGTPGSHVREETS ' のアミノ酸配列を認識することが明らかになった。さらに短いペプチドを使って解析を進めたところ、最終的に QEWGTPGS からなる 8 つのアミノ酸直線配列がエピトープであることを明らかにした。特に QEW の部位をアラニンに変換することにより抗体の結合力が失われたことから、これらのアミノ酸が最も重要な役割を果たしていることが分かった。

Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 74(2) 358–363(2010)

Administration of antibiotics during infancy promotes development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice

Jun Watanabe*, Reiko Fujiwara**, Naho Sasajima**, Susumu Ito** and Kei Sonoyama**

*National Food Research Institute
**Hokkaido University

幼少期の抗生物質投与が腸内細菌叢の変化を介して、NC/Nga マウスのアトピー性皮膚炎様症状を増悪するか調べた。離乳直後の NC/Nga マウスにカナマイシンを投与すると IgE レベルの上昇、皮膚炎症状の重篤化が見られ、腸内細菌叢が一過性に变化することを示した。皮膚炎の重症化はポリミキシン B 投与では起こらなかった。以上より、幼少期のカナマイシン投与は一過性の腸内細菌叢変化を介して、アトピー性皮膚炎様症状を増悪することが示唆された。

British Journal of Nutrition, 103(4) 539–548(2010)

Role of Bifidobacterium pseudolongum in dietary fructo-oligosaccharide inhibition of 2,4-dinitrofluorobenzene-induced contact hypersensitivity in mice

Naho Sasajima*, Toru Ogasawara*, Naoki Takemura*, Reiko Fujiwara*, Jun Watanabe** and Kei Sonoyama*

* Hokkaido University

** National Food Research Institute

我々はフルクトオリゴ糖摂取が接触過敏症を抑制すること、これにはビフィズス菌数の増加が関与する可能性を報告しており、この作用機序を明らかとすることを目的とした。BALB/c マウスをフルクトオリゴ糖添加あるいは非添加飼料で飼育し、*B. pseudolongum* を経口投与した。フルクトオリゴ糖摂取により接触過敏症が抑制されたが、*B. pseudolongum* 投与では過敏症の即時相のみ抑制が見られた。すなわち、腸管での *B. pseudolongum* の増殖はフルクトオリゴ糖摂取による接触過敏症の抑制に部分的に関与し、これにはアレルゲンにより誘導されるサイトカイン産生の変化が関与することが示唆された。

Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 74(2) 375–381(2010)

Inulin-type fructans stimulated the growth of exogenously administered *Lactobacillus plantarum* No.14 in the mouse gastrointestinal tract

Naoki Takemura*, Keisuke Ozawa*, Naoto Kimura*, Jun Watanabe** and Kei SONOYAMA*

*Hokkaido University

**National Food Research Institute

フルクタンとして知られているフルクトオリゴ糖 (FOS) およびイヌリンの *Lactobacillus plantarum* No.14 (LP14) の増殖、消化管定着性への影響を調べた。培地への FOS、イヌリンの添加はいずれも LP14 の増殖を促進した。LP14 投与後 24 および 30 時間のマウス糞便中生菌数は、イヌリン添加飼料、FOS 添加飼料、対象飼料の順で高かった。しかし、いずれの試料でも LP14 の消化管での存在は延長は見られなかった。マウス糞便から調製した培養液で LP14 を培養したところ、フルクタン摂取マウスにおいて増殖の促進が見られた。蛍光標識 LP14 を投与したところ、LP14 は主に腸管内容物中に認められた。これらの結果により、フルクタンは LP14 の消化管内容物中での増殖促進を腸管通過時のみに示すことが示唆された。

Journal of Agricultural and Food Chemistry 57(11), 4651–4656(2009)

Dietary phloridzin reduces blood glucose levels and reverses *sglt 1* expression in the small intestine in streptozotocin-induced diabetic mice

Saeko Masumoto, Yukari Akimoto, Hideaki Oike, Masuko Kobori

National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization

リンゴに含まれるジヒドロカルコンのフロリジンを飼料に添加して、ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスに 14 日間自由摂取させた。その結果、0.5% のフロリジンはストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスの血糖値を有意に低下させた。14 日間の自由摂取の後、フロリジンは血漿中に検出されたが、その濃度はフロリジンの代謝産物と比較して低かった。定量 RT-PCR の結果から、0.5% のフロリジンは小腸において、ストレプトゾトシンで誘導されるナトリウム/グルコース共輸送体 *sglt 1* 及び薬物代謝酵素の *Cyp 2b10* 及び *Ephx 1* の発現を抑制することが明らかになった。また、フロリジンは腎臓において、ストレプトゾトシンで誘導されるグルコーストランスポーター *Glut2* の発現を抑制した。これらのことから、食餌中のフロリジンはストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスにおける血糖値の上昇、及び小腸における *sglt1*、*Cyp2b10* 及び *Ephx1* の過剰発現を抑制することが明らかになった。

食餌中のフロリジンはストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスの血糖値を低下させ、小腸の *sglt1* の発現を抑制する

升本早枝子, 秋元由香里, 大池 秀明, 小堀真珠子

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Dietary quercetin alleviates diabetic symptoms and reduces streptozotocin-induced disturbance of hepatic gene expression in mice

Masuko Kobori, Saeko Masumoto, Yukari Akimoto, Yumiko Takahashi

National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization

野菜、果物等に広く含まれるフラボノイドのケルセチンの糖尿病軽減効果を検討した。BALB/c マウス及びストレプトゾトシンで糖尿病を誘発した BALB/c マウスにケルセチン含有飼料を2週間自由摂取させ、糖尿病の症状及び肝臓の遺伝子発現に及ぼす影響を検討した結果、0.1%及び0.5%ケルセチン含有飼料を摂取させることにより、ストレプトゾトシンで誘導される血糖値の増加が抑制され、血中インスリン濃度の低下が改善された。肝臓の遺伝子発現をクラスター分析した結果、0.5%ケルセチン含有飼料はストレプトゾトシンで誘導される遺伝子発現変化を抑制した。GSEA 解析及び定量 RT-PCR の結果、ケルセチン含有飼料は、肝臓及び膵臓でストレプトゾトシンで誘導される細胞周期制御因子 Cdkn1a の発現を強く抑制することが明らかになった。食餌中のケルセチンは Cdkn1a の発現を抑制し、細胞増殖を回復されることにより肝臓及び膵臓の機能を改善すると考えられる。

食餌中のケルセチンはマウスにおいてストレプトゾトシンで誘発される糖尿病の症状を軽減し、肝臓の遺伝子発現変化を抑制する

小堀真珠子, 升本早枝子, 秋元由香里, 高橋 弓子

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Drosera rotundifolia and *Drosera tokaiensis* suppress the activation of HMC-1 human mast cells

Kenji Fukushima*, Kanji Nagai****, Yoshikazu Hoshi*, Saeko Masumoto**,
Ichiho Mikami**, Yumiko Takahashi**, Hideaki Oike**, Masuko Kobori**

*School of Agriculture, Tokai University **National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization
***Mitsubishi Rayon Co.Ltd.

北半球に自生する数種のモウセンゴケは、伝統薬 *Drosera Herba* として、呼吸器の感染症の治療に用いられている。*Drosera Herba* の原料であるモウセンゴケの抗炎症作用を明らかにするため、モウセンゴケ3種 (*Drosera rotundifolia*, *Drosera tokaiensis*, 及び *Drosera spatulata*) の抽出物が活性化 T 細胞膜で HMC-1 ヒトマスト細胞に誘導される炎症性遺伝子の発現に及ぼす影響を検討した。3種のモウセンゴケはそれぞれ80%エタノールで抽出し、OASIS HLC カラムに供して、吸着画分を抽出物とした。HMC-1細胞は各抽出物で15分間処理した後、活性化 T 細胞膜を添加して16時間培養した。その結果、*Drosera rotundifolia* 及び *Drosera tokaiensis* の抽出物は活性化 T 細胞膜で誘導される炎症性サイトカインの産生を抑制することが明らかになった。*Drosera tokaiensis* の作用は、伝統薬として用いられている *Drosera rotundifolia* より強く、*Drosera Herba* の原料として代用できる可能性が示された。

Drosera rotundifolia 及び *Drosera tokaiensis* は HMC-1ヒトマスト細胞の活性化を抑制する

福島 健児*, 永井 寛治****, 星 良和*, 升本早枝子**, 三上 一保**, 高橋 弓子**, 大池 秀明**, 小堀真珠子**

*東海大学農学部 **独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
***三菱レイヨン株式会社

The hydroxyflavone, fisetin, suppresses mast cell activation induced by interaction with activated T cell membranes

Kanji Nagai**, Yumiko Takahashi*, Ichiho Mikami*, Tatsunobu Fukushima**, Hideaki Oike*, Masuko Kobori*

*National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization
**Mitsubishi Rayon Co. Ltd.

マスト細胞と活性化 T 細胞の相互作用はアレルギー性又は非アレルギー性の炎症性疾患の原因になると考えられる。フラボノイドであるフィセチンのアレルギー抑制効果を明らかにするため、フィセチンが活性化した Jurkat T 細胞膜で誘導される HMC-1 ヒトマスト細胞の活性化に及ぼす影響を検討した。HMC-1細胞にフィセチンを添加して15分間培養した後、phorbol-12-myristate 13-acetate で活性化した Jurkat T 細胞膜を添加して16時間培養し、DNA マイクロアレイ及び定量 RT-PCR により遺伝子発現解析を行った。その結果、フィセチンは活性化 T 細胞膜で誘導される細胞接着及び遺伝子発現を抑制した。活性化 T 細胞膜刺激で誘導される遺伝子発現には転写因子 NF- κ B 及び MAP キナーゼの活性化が関与している。フィセチンはこれらの活性化を抑制した。さらに、フィセチンは細胞表面抗原 CD40及び接着因子 ICAM-1のタンパク質発現を抑制した。

ヒドロキシフラボンのフィセチンは活性化 T 細胞膜との相互作用で誘導される HMC-1ヒトマスト細胞の活性化を抑制する

永井 寛治***, 高橋 弓子*, 三上 一保*, 福島 達伸**, 大池 秀明*, 小堀真珠子*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
**三菱レイヨン株式会社

Food Science and Technology Research 15, 141–146(2009)

High fiber diet supplemented with rice bran hemicellulose may reduce daidzein absorption in mice

Motoi TAMURA*, Takashi IWAMI*, Kazuhiro HIRAYAMA**, Kikuji ITOH**

*National Food Research Institute

**The University of Tokyo

マウスの血漿イソフラボン類濃度、血漿総コレステロール濃度におよぼす食物繊維の影響について検討した。10週齢雄マウスに5%米糠ヘミセルロース+5%セルロース(10%食物繊維)-0.1%ダイゼイン(RBI)食もしくは、5%セルロース-0.1%ダイゼイン(CI)食を30日間給餌した。飼育試験終了後、マウスを解剖して盲腸内容物と血液を採取し、盲腸内容物量、血漿イソフラボン類濃度および血漿総コレステロール濃度の測定を行った。血漿ダイゼイン濃度は、CI群で有意に高値を示した。しかし、血漿エコール濃度については、有意な差は認められなかった。血漿エコール/ダイゼイン比はRBI群で高い傾向が認められた。盲腸内容物量は、RBI群で有意に高値を示した。血漿総コレステロール濃度については、2群間で有意な差は認められなかった。米糠ヘミセルロースの投与は、ダイゼインのバイオアベイラビリティに影響をおよぼす可能性が示唆された。

米糠ヘミセルロースを含む高繊維食はマウスのダイゼイン吸収を抑制するかもしれない

田村 基*, 岩見 卓*, 平山 和宏**, 伊藤喜久治**

*農研機構・食品総合研究所

**東京大学大学院農学生命科学研究科

Nutrition Research 29, 882–887(2009)

Dietary cholesterol lowers plasma and cecal equol concentrations in mice

Motoi TAMURA*, Sachiko HORI*, Hiroyuki NAKAGAWA*

*National Food Research Institute

マウス腸内フローラ、血漿及び盲腸内容物のイソフラボン類濃度に及ぼすコレステロール添加食の影響を検討したところ、コレステロールとダイゼインを給餌したグループCDA群は、ダイゼインを添加したグループDA群に比べて血漿及び盲腸内容物のエコール濃度が有意に低く、腸内フローラの構成に差が認められた。食餌性コレステロールが腸内フローラや消化管機能の変動を介してマウスのイソフラボン代謝に影響を及ぼしていることが示唆された。

食餌性コレステロールはマウスの血漿と盲腸のエコール濃度を低下させる。

田村 基*, 堀 幸子*, 中川 博之*

農研機構 食品総合研究所

Journal of the science of food and agriculture 89, 1174–1177(2009)

Effect of Pectin on Plasma lipids and Cecal Enzyme activity in Rutin-Supplemented Mice

Motoi TAMURA*, Kazuhiro HIRAYAMA**, Kikuji ITOH**

*National Food Research Institute

**The University of Tokyo

ルチン添加ペクチン食もしくはルチン添加セルロース食でマウスを14日間飼育し、血漿総コレステロール、血漿トリグリセリド、盲腸内容物のβ-グルコシダーゼ活性、β-グルクロニダーゼ活性に及ぼす影響を検討したところ、血漿総コレステロールと血漿トリグリセリド濃度はルチン添加ペクチン食で有意に低く、β-グルクロニダーゼ活性/β-グルコシダーゼ活性はルチン添加ペクチン食で有意に高かった。腸内フローラの変動が血漿脂質に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

ルチン投与マウスの血漿脂質と盲腸酵素活性に及ぼすペクチンの影響

田村 基*, 平山 和宏**, 伊藤喜久治**

*農研機構 食品総合研究所

**東京大学

Antonie van Leeuwenhoek 96, 621–626(2009)

Lactobacillus collinoides JCM1123T: Effects on mouse plasma cholesterol and isoflavonoids in the caecum

Motoi TAMURA*, Sachiko HORI*, Hiroyuki NAKAGAWA*

*National Food Research Institute

Lactobacillus collinoides JCM1123は in vitro におけるマウスの糞便希釈液とダイゼインとの反応において、エコール産生性を向上させた。そこで、マウスにダイゼイン添加食を給餌し、Lactobacillus collinoides JCM1123T 投与群と生理食塩水投与群とで、盲腸内容物のエコール濃度と血漿コレステロール及び糞便中の乳酸桿菌数を比較したところ、Lactobacillus collinoides JCM1123T 投与群は、血漿コレステロール濃度を有意に低下させ、糞便中の乳酸桿菌数を有意に増加させた。しかし、盲腸内容物のエコール濃度は、生理食塩水投与群に比べて低くは無いものの、有意に高い結果とはならなかった。

Lactobacillus collinoides JCM1123のマウス血漿コレステロールと盲腸のイソフラボン類濃度に及ぼす影響

田村 基*, 堀 幸子*, 中川 博之*

*農研機構 食品総合研究所

Chem. Senses 35(2), 171–177(2010)

Lrmp/Jaw 1 is expressed in sweet, bitter, and umami receptor-expressing cells

Yoichiro Shindo*, Mi-Ryung Kim**, Hirohito Miura***, Tosifumi Yuuki*, Toshimasa Kanda*, Akihiro Hino**, Yuko Kusakabe**

*Asahi Breweries Ltd

**National Food Research Institute

***Kagoshima University

イノシトール三リン酸 (IP3) およびカルシウムイオンを介するシグナル情報伝達系 (IP3 - Ca²⁺ + シグナル情報伝達系) は甘味、苦味およびうま味の情報伝達において重要なプロセスであるが、このプロセスを制御する分子については未だ不明な点が多い。そこで、我々は、味覚の情報伝達に関与する遺伝子の探索を行い、lymphoid-restricted membrane protein (Lrmp/Jaw 1) がマウス舌の有郭、葉状、茸状乳頭において、甘味、苦味およびうま味を受容する細胞に特異的に発現していることを明らかにした。さらに、我々は COS7細胞を用いた強制発現系において、Lrmp/Jaw 1 のコイルドコイルドメインとタイプ3のイノシトール三リン酸受容体が結合することを見出した。これらの結果から、Lrmp/Jaw 1 は味細胞中で IP3R3 と結合し、Lrmp/Jaw 1 が甘味、苦味およびうま味の情報伝達において重要な役割を担う可能性が高いことが示唆された。

Lrmp/Jaw 1は甘味、苦味、うま味受容細胞に発現している

進藤洋一郎*, 金 美 令**, 三浦 裕仁***, 結城 敏文*, 神田 智正*, 日野 明寛**, 日下部裕子**

*アサヒビール(株) **食品総合研究所 ***鹿児島大学

日本味と匂学会誌16(3), 425 - 428 (2009)

グリシンエチルエステルの塩味増強効果の測定

河合 崇行, 松本 敦子, 日下部裕子

農研機構・食品総合研究所

利尿薬投与により低濃度域での塩味弁別能の高まった C57Bl/6マウスを用い、グリシンエチルエステル塩酸塩 (GOE) による塩味増強効果を測定した。0 ~ 60mM の範囲内で塩味強度とリック数が1次相関する条件下で測定したところ、30mM NaCl に45mM GOE を添加した試料、45mM NaCl に30 ~ 45mM GOE を添加した試料において、添加しない試料に比べて著しいリック数の増加が見られた。このことは、これらの試料に対して、塩味を強く感じている可能性を示している。45mM GOE 添加による増強効果は7 ~ 12mM NaCl の塩味に相当していた。

Postharvest Biology and Technology, 52(2), 243–246(2009)

Comparison of human-bite and instrument puncture tests of cucumber texture

Kaoru KOHYAMA*, Ai NAGATA***, Yuko TAMAKI*** and Maoki SAKURAI****

*National Food Research Institute, NARO

**Tottori Institute of Industrial Technology

***Niigata University of Health and Welfare

****Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University

キュウリ果実のテクスチャーをヒトの咀嚼計測と機器による貫入試験で調べた。切歯部による咀嚼試験は多点シートセンサを用いて行った。キュウリ果実の中央部から、10mm厚さの輪切りを取り、23度と4度で調べた。果皮部を除くと、面積あたり咀嚼力は、破壊に必要な咀嚼圧が約15%減少した。輪切り全体の咀嚼圧よりも、果肉部の咀嚼圧は高く、胎座部の咀嚼圧が低かった。皮付き輪切りの咀嚼圧は皮を剥いた試料の果肉および胎座部を破壊するのに必要な圧よりも高くなった。低温ではキュウリ輪切りを破壊するときの咀嚼力は常温よりも有意に低かった。果肉、胎座、果皮部について部位毎の貫入試験の結果からは、温度差は有意には認められなかった。

キュウリテクスチャーのヒトの咀嚼と機器の貫入試験の比較

神山かおる*, 永田 愛**, 玉木 有子***, 桜井 直樹****

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**鳥取県産業技術センター

***新潟医療福祉大学

****広島大学大学院生物圏科学

Food Science and Technology Research, 15(3), 203–210(2009)

Relationship between the flow properties of some thickener solutions and their velocity through the pharynx as measured by the ultrasonic pulse Doppler method

Hitoshi KUMAGAI*, Akiko TASHIRO*, Atsuko HASEGAWA*, Kaoru KOHYAMA**, and Hitomi KUMAGAI***

*Kyoritsu Women's University

**National Food Research Institute, NARO

***Department of Chemistry and Life Science, Nippon University

嚥下困難者向け食品に用いられている増粘剤の指標を作るために、増粘剤溶液の粘度が超音波ドップラー法により測定した咽頭部を通過するときの速度に及ぼす影響を調べた。B型粘度計で、決められたずり速度の粘度概算値が求められた。嚥下障害者が誤嚥を起こしやすい水の最大流速は、誤嚥を起こしにくいヨーグルトよりも3倍以上高値だった。水や低濃度の増粘剤溶液の速度スペクトルは、ヨーグルトや高濃度の増粘剤溶液よりも、広い範囲に分布していた。最大流速は、増粘剤の濃度が上がるほど、ヨーグルトのものに近づいた。咽頭部の最大流速は、機器測定した粘度値とよく相関し、相関係数はずり速度 10s^{-1} のものが、 1s^{-1} や 100s^{-1} に比べて幾分か高くなった。

増粘剤溶液の流動特性と超音波ドップラー法により測定した咽頭部を通過するときの速度との関係

熊谷 仁*, 田代 晃子*, 長谷川温子*, 神山かおる**, 熊谷日登美***

*共立女子大学

**独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

***日本大学生物資源科学部

Food Hydrocolloids, 23(7), 1712–1719(2009)

Effect of amylose content and rice type on dynamic viscoelasticity of a composite rice starch gels

Zhan-Hui LU***, Tomoko SASAKI*, Yong-Yu LI**, Tadashi YOSHIHASHI***, Li-Te LI** and Kaoru KOHYAMA*

*National Food Research Institute, NARO

**China Agricultural University

***Japan International Research Center for Agricultural Sciences

澱粉中のアミロース量は、生精米粉の利用法を決定づける重要な指標である。高いアミロース量を持つインディカ米は、米類製造によく用いられるが、ジャポニカ米は麺のテクスチャーを調整するために、部分的に混合されている。米澱粉ゲルの動的粘弾性に及ぼすアミロース含量と米のタイプの影響を調べた。異なる米型の粉を混合して、適したテクスチャーの米麺が得られる。ウルチのインディカ米とモチのジャポニカ米澱粉の混合ゲルは、加熱過程において個別の糊化を起こすことが示された。高アミロース米澱粉のゲルは、高い粘弾性値、低い損失正接値を示し、弾性率の周波数依存性が小さく、老化速度が速かった。ジャポニカ米澱粉のゲルは、アミロース量が同等のインディカ米澱粉よりも老化が遅かった。アミロース量だけでなく、アミロペクチンの鎖長分布も米澱粉ゲルの動的粘弾性に影響した。超長鎖のアミロペクチン成分が少ないジャポニカ米澱粉は、インディカ米よりも老化が遅く、米類製造には生地が附着しやすく不適であった。

混合米澱粉ゲルの動的粘弾性に及ぼすアミロース含量と米のタイプの影響

魯 戦 会***, 佐々木朋子*, 李 永 玉**, 吉橋 忠***, 李 里 特**, 神山かおる*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**中国農業大学

***独立行政法人国際農林水産業研究センター

Journal of Food Engineering, 95(3), 400–409(2009)

Relations among mechanical properties, human bite parameters, and ease of chewing of solid foods with various textures

Toru TAKAHASHI*, Fumiyo HAYAKAWA**, Masanori KUMAGAI*, Yoshinobu AKIYAMA***, and Kaoru KOHYAMA**

*Akita Research Institute for Food and Brewing

**National Food Research Institute, NARO

***Akita Prefectural University

本研究では、11種のテクスチャーが異なる固形状食品の、ヒトの咀嚼パラメータ、力学的性質、官能評価された噛みやすさの関係を明らかにした。ヒトの臼歯部での第一咀嚼における咀嚼力、圧、力積を多点シートセンサにより測定した。ヒトの咀嚼力-時間曲線の形と大きさに基づいて、食品試料を4群に分類した。咀嚼パラメータは力学的パラメータと、多くの場合、べき乗則に代表されるような非線形な関係を示した。咀嚼パラメータは、万能試験装置による圧縮測定および貫入試験結果と比較し、最も高い相関関係は咀嚼力の対数と貫入試験での最大力の対数に示された(相関係数 $R = 0.916$)。官能評価からは、第一咀嚼の力積と噛みやすさが最も高い相関があった($R = 0.872$)。噛みやすさは、咀嚼力や圧よりも力積の方が高い相関を示したことから、最大力を示す時点より第一咀嚼全体で評価されていると考えられた。圧縮試験での仕事量を用いて、噛みやすさを推定する($R = 0.689$)ことができた。

様々なテクスチャーの固形状食品における力学的性質、ヒトの咀嚼パラメータ、噛みやすさの関係

高橋 徹*, 早川 文代**, 熊谷 昌則*, 秋山 美展***, 神山かおる**

*秋田県総合食品研究所

**独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

***秋田県立大学

Plant Production Science, 12, 492–496(2009)

Effects of sprouting on texture of cooked buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) noodles

Takahiro HARA*, Tomoko SASAKI**, Takahisa TETSUKA*, Hiroki IKOMA*, and Kaoru KOHYAMA**

*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, NARO

**National Food Research Institute, NARO

茹でたソバのかたさはおいしさを支配する重要な要因であるが、収穫後の人工的な穂発芽と、収穫前の圃場での穂発芽がソバのテクスチャーに及ぼす影響をテクスチャーアナライザーによる圧縮試験を行うことによって評価した。使用した試料の穂発芽率はコントロールでは0%、自然に圃場で発芽した種子では46%、人工的に収穫後に穂発芽させた種子では88%であった。これらの穂発芽率の異なるソバの種子から調製したソバのテクスチャーを解析した結果、圧縮時のピーク荷重値、変形率ともに穂発芽により有意に減少する傾向を示した。また、極大変形下での圧縮荷重値も穂発芽により減少する傾向が認められたので、穂発芽したソバの種子を用いた麺は、コントロールの麺よりも噛み切りやすいことが示唆された。

穂発芽がソバのテクスチャーに及ぼす影響

原 貴洋*, 佐々木朋子**, 神山かおる**, 手塚 隆久*, 生駒 泰基*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センター

**独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Food Chemistry, 116, 137–142(2009)

Physicochemical characteristics of waxy rice starch influencing the in vitro digestibility of a starch gel

Tomoko SASAKI*, Kaoru KOHYAMA*, Yasuhiro SUZUKI**, Kazuyuki OKAMOTO***, Timothy R. NOEL**** and Steve G. RING****

*National Food Research Institute, NARO

**National Institute of Crop Science, NARO

***Ibaraki Agricultural Center, Plant Biotechnology Institute

****Institute of Food Research

3品種系統の糯米から精製した澱粉を用いて40%の澱粉ゲルを調製し、1日および7日間冷蔵保存したゲルの澱粉消化性を評価した。また、糯米澱粉のアミロペクチンの側鎖長分布ならびに示差走査熱量測定装置(DSC)を用いて生澱粉と澱粉ゲルの結晶性の評価を行った。品種系統間で比較すると、他の2品種よりも有意に澱粉消化率の低い系統が認められた。その糯米澱粉は他の品種と比べると、アミロペクチンの側鎖に短鎖(DP6-12)の比率が少なく、DSCの糊化開始、ピーク、終点温度、および吸熱エンタルピーが有意に高かった。さらに1日および7日間冷蔵保存したゲルのDSC測定から、澱粉の老化(アミロペクチンの再結晶化)が急速に進行していることが明らかになった。アミロペクチンの構造と澱粉の老化過程での再結晶化の程度の違いがゲルの消化性に関与していることが示された。

糯米澱粉ゲルの消化性に影響を及ぼす物理化学特性

佐々木朋子*, 神山かおる*, 鈴木 保宏**, 岡本 和之***, Timothy R. NOEL****, Steve G. RING****

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所

***茨城県農業総合センター 生物学研究所

****Institute of Food Research

Food Hydrocolloids, 23(8), 2219–2225(2009)

Effect of acid-methanol treatment on the molecular structure and physicochemical properties of lentil (*Lens culinaris* Medik) starch

Navdeep Singh SODHI***, Yung-Ho CHANG****, Nimratbir KAUR**, Kaoru Kohyama*

*National Food Research Institute, NARO

**Department of Food Science and Technology, Guru Nanak Dev University, India

***Providence University, Taiwan

澱粉を塩酸(0.36%) - メタノールに25度で4~216時間浸ける、酸メタノール処理が、レンティル豆澱粉の分子構造と物理化学的性質に及ぼす影響を調べた。処理後の収率は91.9~95.6%と高かった。澱粉粒の構造は、本処理によって穴状の構造を生じ、表面が粗くなった。処理時間が長くなると、澱粉の溶解度は高く、膨潤力、糊化後の粘度、ゲル強度が低下した。これらの変化は、アミロースとアミロペクチンの長鎖が選択的に分解したために起きていた。酸-メタノール処理レンティル豆澱粉の分解速度は、重合度の逆数と時間の指数関数モデルで近似することができた。

レンティル豆 (*Lens culinaris* Medik) 澱粉の分子構造および物理化学的性質に及ぼす酸-メタノール処理の影響

Navdeep Singh SODHI***, Yung-Ho CHANG****, Nimratbir KAUR**, 神山かおる*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**Department of Food Science and Technology, Guru Nanak Dev University, India

***Providence University, Taiwan

Journal of Sensory Studies, 25(1), 76–93(2010)

Lexicon for the sensory description of French bread in Japan

Fumiyo Hayakawa*, Naoko Ukai**, Junji Nishida**, Yukari Kazami*, Kaoru Kohyama*

*National Food Research Institute

**Nichifutsu Shoji Co.,Ltd.

フランスパンの官能評価語彙を構築した。東京都内で市販される多数のフランスパンから選定した24種を試料とし、フランスパンの専門家の官能評価によって、187語を収集した。これらを整理して、96の評価用語(外観35語, 香り37語, 味4語, テクスチャー20語)の候補リストを作成した。次に、候補用語96語から、市販フランスパンを試料とした官能評価と多変量解析によって、フランスパンのプロファイリングに有効な評価用語23語(外観11語, 香り5語, 味1語, テクスチャー6語)を抽出することができた。あわせて、各用語の定義と評価のしかたを定めた。また、様々な条件で調製した23種のフランスパンの官能評価によって、これらの23語が評価用語として妥当であることを確認した。

フランスパンの官能評価語彙

早川 文代*, 鶴飼奈緒子**, 西田 純司**, 風見由香利*, 神山かおる*

*独立行政法人農研機構食品総合研究所

**日仏商事(株)

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74(1), 56–62(2010)

Electromyographic measurement of eating behaviors for buckwheat noodles

Kaoru KOHYAMA*, Takashi HANYU**, Fumio HAYAKAWA* and Tomoko SASAKI*

*National Food Research Institute, NARO

**Nagano Prefecture General Industrial Technology Center, Food Technology Department

蕎麦を噛む時とする時のヒトの摂食行動を、健康被験者が一口量を食べる際の、閉口筋、開口筋及び口唇を閉じる筋肉の筋電位測定によって分析した。蕎麦をすすり食べる場合は噛んで食べる場合よりも、咀嚼時間が長く、一動作当たりの筋活動が小さかったが、総筋活動量は大きくなった。すする場合は、律動的な咀嚼と比較して、平均咀嚼周期が長く、その分散が大きくなった。乾麺と半生麺では蕎麦の力学特性が有意に異なったが、同じ被験者がこの両試料を食べる場合の咀嚼変数は有意には異ならなかった。一方、茹で後室温に10分放置した試料では、茹で直後よりも麺が軟らかくなるのに対応し、摂食時の咀嚼筋活動量が有意に少なくなった。

筋電図で測定した蕎麦の摂食挙動

神山かおる*, 羽生 隆**, 早川 文代*, 佐々木朋子*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**長野県工業技術総合センター食品工業部門

Radiation Physics and Chemistry 78, 619–621(2009)

Effect of gamma-irradiation on the survival of *Listeria monocytogenes* and allergenicity of cherry tomatoes

Setsuko Todoriki*, Latiful Bari*, Kazumi Kitta*, Mika Ohba*, Yasuhiro Ito*, Yuka Tsujimoto*,
Norihiro Kanamori**, Erika Yano***, Tatsuya Moriyama***, Yukio Kawamura***, Shinichi Kawamoto*

*National Food Research Institute

**JIRCAS

***Kinki University

生鮮食品におけるリステリア・モノサイトゲネスの存在は、食中毒の危険性により注目が増している。放射線照射は生鮮食品の病原菌を排除する効果的な非加熱処理であるが、食品のもつアレルギー特性に対して作用するかは不明である。この研究では(1)チェリートマトのリステリア菌をガンマ線照射する際の有効線量を測定し、(2)トマトに含まれるアレルギー性タンパク質に対するガンマ線照射の効果を評価した。5つのリステリア菌を含んだチェリートマトをコバルト60ガンマ線、1.25kGyで照射すると、チェリートマトのリステリア菌は十分低減できることがわかった。照射後7日間20℃で保存されたトマトを用いて、トマトアレルギーの2名の患者から入手した血清試料の免疫プロットプロフィールでは、アレルギー性タンパク質に対する照射の影響は見つからなかった。さらに、 β -fructofuranosidase, polygalacturonase, pectin esterase, superoxide dismutaseなど、トマトの主なアレルギー性タンパク質の発現は、適用された照射線量では影響を受けなかった。したがって、1.25kGyの線量で行うガンマ線照射は、トマトにおけるアレルギー性タンパク質を変動させずに、効果的にチェリートマトのリステリア菌を排除することがわかった。

Radioisotopes 58(12), 799–806(2009)

照射害虫の ESR 信号

鷓飼 光子*, 亀山 宏美*, 今村 太郎**, 宮ノ下明大**, 等々力節子**, 下山 雄平***

*北教大

**独立行政法人農研機構食品総合研究所

***室蘭工大

電子スピン共鳴 (ESR) 法を用い、照射害虫の計測を行った。コクゾウムシ (*Sitophilus zeamais motschulsky*)、コクヌストモドキ (*Tritolium castaneum*)、ノシメダラメイガ (*Plodia interpunctella*)、タバコシバムシ (*Lasioderma serricone*) である。ESR 信号は $g = 2$ の 1 本線と、この 1 本線と同じ g 値を中心とした 6 本線であった。1 本線の信号は有機フリーラジカル信号由来である。6 本線の信号は Mn^{2+} の超微細構造線による。照射処理により新規信号は発現しなかった。照射誘導ラジカルの緩和時間 (T_1 と T_2) は照射処理前後で変化しなかった。

Journal of Food Protection, 72(6): 1327-1331(2009)

Limited surveillance of fumonisins in brown rice and wheat harvested in Japan

Masayo KUSHIRO, Yazhi ZHENG, Reiko NAGATA, Hiroyuki NAKAGAWA and Hitoshi NAGASHIMA

National Food Research Institute

フモニシンはトウモロコシの病原菌 *Fusarium verticillioides* によって主に産生されるカビ毒である。しかし小麦でも世界的に散発的な汚染報告がある。また米によく付着する *Gibberella fujikuroi* は分類学的に *F. verticillioides* に近い。よって米と小麦においてもフモニシン汚染の潜在的リスクが有る。先般我々は、タンデム型質量分析装置付き高速液体クロマトグラフィー (LC-ESI-MS-MS) により、玄米中フモニシンの高感度な検出法を開発した。今回、LC-ESI-MS-MS を用いて国産の玄米ならびに玄米におけるフモニシン (B1 (FB1) ならびに B2 (FB2)) のサーベイランスのため、48点の米ならびに47点の小麦試料を調査した。約 1 kg の米または小麦試料は3つのサブサンプルに分けられ、各サブサンプルのうち10g を分析に供した。米の FB 1, FB 2 の検出限界はそれぞれ 0.012, 0.011 mg/kg であり、小麦の FB 1, FB 2 の検出限界はともに 0.008 mg/kg であった。0.50 mg/kg FB 1 添加時の回収率の平均値 (標準偏差) は、米で 77.6 (4.2) %, 小麦で 84.5 (3.1) % であった。小麦試料のうち1点が FB 1 陽性であったが、米では陽性試料は無かった。これは国産小麦で初めてのフモニシン検出の報告である。

国産米および小麦におけるフモニシンのサーベイランス

久城 真代, 鄭 雅志, 永田 礼子, 中川 博之, 長嶋 等

独立行政法人農研機構食品総合研究所

Toxins, 1(2): 188-195(2009)

Preparation of an in-house reference material containing fumonisins in Thai rice and matrix extension of the analytical method for Japanese rice

Norhafniza AWALUDIN*#, Reiko NAGATA**, Tomomi KAWASAKI**#, AND Masayo KUSHIRO

*Malaysian Agricultural Research and Development Institute (MARDI), Malaysia

**National Food Research Institute

These authors contributed equally to this study

コメのマイコトキシン汚染報告はコムギやトウモロコシに比べ少ないが、圃場でイネにつくフザリウム属菌が存在する。フモニシンは、トウモロコシの病原菌である *Fusarium verticillioides* によって主に産生されるマイコトキシンである。イネにつく *Gibberella fujikuroi* は系統上 *F. verticillioides* に近く、アジア、欧米のイネで散発的なフモニシン汚染報告がある。そのため、コメでフモニシン汚染の潜在的なリスクがあるとともに、コメ中フモニシンの妥当性確認された分析法のニーズがある。いくつかのフザリウム属菌産生マイコトキシンについて、コムギとトウモロコシでは標準物質が有るが、コメでは無い。本研究ではフモニシン含有タイ米の標準物質の作成法を開発した。シェークマスター粉砕機を用い、非汚染タイ米と *F. verticillioides* 接種タイ米を混合した。混合物の均一性を ANOVA で確認し、インハウス標準物質とした。この標準物質を用いて、タイ米からのフモニシン抽出法を検討した。結果として、国産米中フモニシン分析法における抽出法の一部が敷衍できた。

フモニシン含有タイ米のインハウス標準物質作成と国産米での分析法のマトリクス拡張

Norhafniza Awaludin*#, 永田 礼子**, 川崎 友美**#, 久城 真代**

*Malaysian Agricultural Research and Development Institute (MARDI), マレーシア

**独立行政法人農研機構食品総合研究所

同等の貢献著者

Mycotoxins, 59, 67-73(2009)

Contribution of Stress-activated MAP Kinases to Nivalenol-caused Cytotoxicity and Interleukin-8 Secretion in HL60 Cells

Hitoshi NAGASHIMA, Hiroyuki NAKAGAWA, Masayo KUSHIRO, Keiko IWASHITA

National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

ニバレノール (NIV) の毒性発現機構解明のため、JNK と p38 の 2 種のストレス応答 MAP キナーゼ (SAPK) の HL60 細胞における NIV 誘導性の細胞毒性への関与を検討した。NIV 処理でリン酸化 (活性型) SAPK は共に増加した。次に両 SAPK に対する特異的阻害剤が NIV による細胞毒性に与える影響について検討した。NIV と SAPK 特異的阻害剤で同時処理すると NIV 単独処理と比べて細胞増殖阻害は減少したので、SAPK は NIV による細胞増殖阻害に関与すると考えられた。JNK 特異的阻害剤が NIV 誘導性のインターロイキン (IL) - 8 分泌を顕著に減じたので、JNK がこの分泌に寄与していると考えられた。p38 特異的阻害剤による NIV 誘導性 IL - 8 分泌の減少は穏やかだったが、p38 特異的阻害剤単独処理で顕著に IL - 8 分泌が増加したことを考え合わせると、p38 の NIV 誘導性 IL - 8 分泌への寄与は大きいと考えられた。

ストレス応答 MAP キナーゼの HL60 細胞におけるニバレノール誘導性の細胞毒性とインターロイキン - 8 分泌への寄与

長嶋 等, 中川 博之, 久城 真代, 岩下 恵子

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Report of National Food Research Institute, 74, 1-5(2010)

Ryanodine receptor inhibitor dantrolene alleviates nivalenol-induced cytotoxicity in HL60 cells

Hitoshi NAGASHIMA, Hiroyuki NAKAGAWA, Masayo KUSHIRO

National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

ニバレノール (NIV) の毒性発現機構解明のため、リアノジン受容体 1 (RyR1) の HL60 細胞における NIV 誘導性の細胞毒性への関与を RyR1 特異的阻害剤ダントロレンを用いて検討した。NIV は顕著に細胞増殖を阻害した。細胞増殖に阻害的に働くダントロレンが NIV の細胞増殖阻害作用を増強しなかったことから、RyR1 は NIV による細胞増殖阻害に何らかの役割を果たしているのかもしれない。NIV は顕著にインターロイキン (IL) - 8 の分泌を誘導した。ダントロレンは NIV の影響を十分に減じたので、RyR1 が NIV 誘導性 IL - 8 分泌に重要であると考えられた。NIV とダントロレンの単独処理では共に単球走化性タンパク質 (MCP) - 1 の分泌を減少させたが、NIV とダントロレンの同時処理では明らかにダントロレンが NIV の作用を和らげたので、RyR1 は NIV による MCP - 1 分泌阻害に関与していると考えられた。

リアノジン受容体の阻害剤ダントロレンは HL60 細胞におけるニバレノール誘導性の細胞毒性を軽減する

長嶋 等, 中川 博之, 久城 真代

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Foodborne Pathogens and Disease, 6(1), 541-546(2009)

Efficacy of chlorine and acidified sodium chlorite on microbial population and quality changes of spinach leaves

Daisuke Nei*, Ji-Weon Choi**, Md. Latiful Bari*, Susumu Kawasaki*, Shinichi Kawamoto*, Yasuhiro Inatsu*

*Food Hygiene Laboratory, Food Safety Division, National Food Research Institute

**National Horticultural Research Institute, Korea

蒸留水、次亜塩素酸ナトリウムおよび酸性化亜塩素酸ナトリウムがハウレンソウ表面の微生物の生菌数に及ぼす影響を検討した。次亜塩素酸ナトリウムと酸性化亜塩素酸ナトリウムの間には、殺菌効果の有意な差は認められなかった ($P > 0.05$)。また、微生物の接種方法は、殺菌効果に影響を及ぼすことを明らかとした。各種殺菌剤の使用により、ハウレンソウの色彩に大きな変化は生じず、洗浄殺菌はハウレンソウの外観に顕著な影響を及ぼさないと考えられた。

塩素および酸性化亜塩素酸ナトリウムがハウレンソウ表面の生菌数および品質に及ぼす影響

根井 大介*, Ji-Weon Choi**, Md. Latiful Bari*, 川崎 晋*, 川本 伸一*, 稲津 康弘*

* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**韓国国立園芸研究所

Foodborne Pathogens and Disease, 6(8), 953-958(2009)

Effectiveness of sanitizers, dry heat, hot water, and gas catalytic infrared heat treatments to inactivate Salmonella on almonds

Md Latiful Bari*, Daisuke Nei*, Itaru Sotome*, Ikuo Nishina**, Seichiro Isobe*, Shinichi Kawamoto*

*Food Hygiene Laboratory, Food Safety Division, National Food Research Institute

**Satake USA Inc.

アーモンドの食中毒はサルモネラによるものが多く、これを効果的に殺菌する手法の開発が不可欠である。本研究では、殺菌剤および熱処理によるサルモネラの殺菌効果を調査した。各種の殺菌剤は、アーモンド表面のサルモネラの生菌数に有意な影響を及ぼさなかった ($P > 0.05$)。85℃で40秒間の熱水処理と赤外線加熱を併用することにより、生菌数を検出限界以下にまで低下させることが可能であった。

Foodborne Pathogens and Disease, 7(1), 51–56(2010)

Scale-up seed decontamination process to inactivate Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Enteritidis on mung bean seeds

Md Latiful Bari*, Enomoto Katsuyoshi**, Daisuke Nei*, Shinichi Kawamoto*

*Food Hygiene Laboratory, Food Safety Division, National Food Research Institute

**Daisey Machinery Co. Ltd.

芽もの野菜の食中毒は、大腸菌 O157:H7 およびサルモネラに由来するものが多く、発芽処理前に種子を効果的に殺菌する方法を開発することが食中毒の防止に有効である。85℃で40秒間の熱水処理に続いて、2,000ppmの塩素処理を2時間加えることにより、病原菌を完全に死滅させることが可能であった。また、発芽率に有意な差は認められなかった ($P < 0.05$)。この処理法は、芽もの野菜の製造に使用される種子の殺菌に効果的な方法であると結論付けられた。

緑豆種子に接種した大腸菌 O157:H7 およびサルモネラの殺菌技術

Md Latiful Bari*, 榎本 克義**, 根井 大介*, 川本 伸一*

*(独)農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**株式会社大生機械

家屋害虫, 31(1), 27 - 36 (2009)

玄米貯蔵倉庫における貯穀害虫の季節的変動について

松阪 守*, 石向 稔*, 坂本新一郎*, 宮ノ下明大**, 今村 太郎**, 中北 宏***

*国際衛生株式会社

**農研機構食品総合研究所

***つくば防虫協議会

茨城県南西部の玄米貯蔵倉庫10箇所(常温5℃, 低温5℃)で、2005年9月から、3種のトラップ(餌・粘着・フェロモン)を用いて、貯穀害虫の周年調査を実施した。各倉庫の本庫と下屋の境界を区分するドア周辺の内外に、3種のトラップを設置し、1ヶ月ごとに回収と更新を行った。全トラップで捕獲された害虫種は15種以上で、総捕獲数は18,238頭であった。この内、最多捕獲種はコクゾウムシ(成虫)で、次いで、ノシメダラメイガ(成虫)、イッテンコクガ(幼虫)であった。捕獲種と個体数は倉庫ごとに大きな違いを見たが、低温本庫は、連なる常温域の下屋に比べ極めて少なかった。ただし、下屋の害虫発生状況が、低温域に波及することが明瞭であった。コクゾウムシ成虫は、3月から4月で活動を開始し、7月から10月で増加した。捕獲個体の多くは餌トラップで確認されたが、冬季前に粘着トラップで急増した。これは、越冬を前に、コクゾウムシの生理状態が、餌探求型から、越冬場所探索型にシフトしたためと考えられた。また、この時期、コクゾウムシが野外で集団越冬する現象も確認した。ノシメダラメイガ成虫は、フェロモントラップで多数捕獲され、外部にある発生源から飛来したものと推察された。害虫個体数の変動に基づき、害虫防除のタイミングについても考察を加えた。

Seasonal population changes of stored product insects in brown rice warehouses

Mamoru Matsusaka*, Minoru Ishiko*, Shinichiro Sakamoto*, Akihiro Miyanosita**, Taro Imamura**, Hiroshi Nakakita***

*TKokusaieisei Co., Ltd.

**National Food Research Institute

***Tukuba Association Of Insect Pest Control

食品照射, 44(12), 14 - 16 (2009)

乾燥唐辛子で飼育したタバコシバンムシに対するガンマ線の効果

今村 太郎*, 宮ノ下明大*, 等々力節子*

*農研機構食品総合研究所

乾燥唐辛子で飼育したタバコシバンムシの生存率に対するガンマ線の効果を調べた。62Gyのガンマ線でタバコシバンムシの卵と幼虫を完全に殺菌することができた。蛹は540Gyでも生存しているものがいたが、1076Gyでは全て死亡した。

Effect of gamma irradiation on the cigarette beetles reared on cayenne pepper

Taro Imamura*, Akihiro Miyanosita*, Setsuko Todoriki*

*National Food Research Institute

Radiation Physics and Chemistry, 78(7,8), 627–630(2009)

Efficacy of soft-electron (low-energy electron) treatment for disinfestation of brown rice containing different ages of the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky

Taro Imamura*, Setsuko Todoriki*, Akihiro Miyanoshta*, Akemi K. Horigane*, Mitsuru Yoshida*, Toru Hayashi*

*National Food Research Institute

ソフトエレクトロン(低エネルギー電子線)は貯穀害虫の防除に効果的であると報告されている。この研究では様々な発育ステージのクゾウムシが加害している玄米にソフトエレクトロンを照射した。加速電圧170kVのソフトエレクトロンはクゾウムシの卵、老齢幼虫、蛹を効果的に殺すことができたが、若齢幼虫を完全に殺すことはできなかった。若齢幼虫が玄米の中でどの場所にいるかを microMRI によって観察したところ、大部分は玄米の表面に近いところにいたが、玄米の中心部分にいるものも少数あり、これらがソフトエレクトロン処理で殺虫できなかったものであると考えられる。ソフトエレクトロン処理と短時間低濃度のリン化水素くん蒸を組み合わせることにより高い殺虫効果を得ることができた。

様々な発育ステージのクゾウムシが加害している玄米に対するソフトエレクトロン(低エネルギー電子線)の効果

今村 太郎*, 等々力節子*, 宮ノ下明大*, 堀金 明美*, 吉田 充*, 林 徹*

*農研機構食品総合研究所

Journal of Cereal Science, 50(2), 166–174(2009)

Formation of grain chalkiness and changes in water distribution in developing rice caryopses grown under high-temperature stress

Tsutomu ISHIMARU*, Akemi K. HORIGANE**, Masashi IDA*, Norio IWASAWA*, Yumiko A. SAN-OH*, Mikiyo NAKAZONO***, Naoko K. NISHIZAWA****, Takehiro MASUMURA*****, Motohiko KONDO*, Mitsuru YOSHIDA**

*National Institute of Crop Science, NARO

**National Food Research Institute, NARO

***Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

****Research Institute for Bioresources and Biotechnology, Ishikawa Prefectural University

*****Graduate School of Life and Environmental Science, Kyoto Prefectural University

登熟期の高温によりデンプン粒の発達に異常となり白未熟粒が形成される機構を明らかにする目的で、磁気共鳴画像法(MRI)を用い、高温ストレス下におけるイネ穎果内の水分動態を観察した。水稻品種「コシヒカリ」をポット栽培し、開花期以降、昼夜温(13/11h)が26/20の対照区と33/27の高温区で生育させた穂の上位3番目の枝梗までに着生した強勢穎果を実験に供試した。高温区では、乳熟期から糊熟期にかけて胚乳に白濁が発生し始め、心白粒や乳白粒、背白粒が多発した。走査電顕観察では、胚乳の白濁部でアミロプラストの間に大きな隙間が認められ、単粒と不完全な複粒のアミロプラストが多く見られた。この時期に α -アミラーゼ遺伝子の翻訳は検出されず、アミラーゼによるデンプンの分解が胚乳白濁の原因ではないと考えられた。イネ穎果中央部横断MR画像からは、乳熟期では高温区で胚乳中心部の水分が少ないことが観察され、この水分の早期凋落は、胚乳中心部における白濁の発生と時期的・空間的にほぼ一致した。一方、糊熟期以降の胚乳中心部の水分は対照区よりも多く、アミロプラストの隙間に水分が貯えられたと考えられる。

高温ストレス下での登熟時のイネ穎果における胚乳の白濁の発生と水分分布変化

石丸 努*, 堀金 明美**, 井田 仁*, 岩澤 紀生*, 荒井(三王)裕見子*, 中園 幹生***, 西澤 直子***, ****, 増村 威宏*****, 近藤 始彦*, 吉田 充**

*農研機構作物研究所

**農研機構食品総合研究所

***東京大学大学院農学生命科学研究科

****石川県立大学附属生物資源工学研究所

*****京都府立大学大学院農学研究科

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106 (41), 17302 - 17307 (2009)

Evidence for biological nitrification inhibition in Brachiaria pastures

Guntur V. SUBBARAO*, Kazuhiko NAKAHARA*, Maria P. HURTADO**, Hiroshi ONO***, Danilo E. MORETA**,
 Andrea F. SALCEDO**, Tadashi YOSHIHASHI*, Takayuki ISHIKAWA*, Manabu ISHITANI**,
 Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA***, Mitsuru YOSHIDA***, Marcos RONDON****,
 Idupulapati M. RAO**, Carlos E. LASCANO*****, Wade L. BERRY***** and Osamu ITO*

*Japan International Research Center for Agricultural Sciences
 **International Centre for Tropical Agriculture
 ***NARO, National Food Research Institute
 ****International Development Research Centre
 *****Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria
 *****University California, Los Angeles

熱帯の牧草 *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick の根の滲出液が硝化抑制作用を有することを見いだした。ブラキアラクトンと名付けたこの抑制剤は、5 - 8 - 5 - 員環系とガンマ - ラクトン環を有するユニークな環化ジテルペンであることがわかった。ブラキアラクトンは、この熱帯牧草の根から放出される阻害活性の60 - 90%にあたる活性を有し、アンモニオモノオキシゲナーゼ (AMO) 系だけに影響を及ぼす合成硝化抑制剤ニトラピリンと異なり、AMO に加えてヒドロキシルアミン酸化還元酵素系も阻害することを明らかにした。ブラキアラクトンの放出は土壌中のアンモニウムイオンが利用できるかどうかで植物が制御し、アンモニウムイオンに直接接触する根からのみ行われる。3年間の実験で、牧草 *Brachiaria* は、土壌中の硝化細菌数を減少させ、硝化と亜酸化窒素の排出を抑えた。

イネ科牧草に含まれる生物学的硝化抑制作用の証明

G. V. Subbarao*, 中原 和彦*, M. P. Hurtado**, 小野 裕嗣***, D. E. Moreta**, A. F. Salcedo**, 吉橋 忠*, 石川 隆之*, 石谷 学**, 亀山真由美***, 吉田 充***, M. Rondon**, I. M. Rao**, C. E. Lascano**, W. L. Berry**, 伊藤 治*

* (独) 国際農林水産業研究センター
 ** コロンビア国際熱帯農業研究センター
 *** (独) 農研機構食品総合研究所
 **** 国際開発研究センター
 ***** コロンビア農畜産研究所
 ***** カリフォルニア大学

農業機械学会誌, 71(6), 115 - 120 (2009)

ダイズの吸水障害回避に関する研究 (第1報) - 吸水障害の発生条件の検討 -

国立 卓生*, 堀金 明美**, 吉田 充**, 島田 信二*

*農研機構中央農業総合研究センター
 **農研機構食品総合研究所

ダイズ播種時の出芽不良の大きな要因である吸水障害は、播種直後に水分の多い土壌や冠水により過剰な水分に継続的にさらされて種子表面と内部の水分差が大きい状態が持続し、種子組織の膨潤較差による歪みが蓄積することで発生すると考えられ、可塑性に乏しい過度に乾燥した種子ほど障害発生は顕著である。MRI で吸水障害発生時のダイズ種子を観察すると、吸水時に子葉に亀裂が生じて、維管束の断裂が見られた。吸水障害の回避には、種子全体を15%w.b.前後に調湿した後、さらに種子表面と内部の水分差を2%w.b.以内とするために、調湿処理期間を含め播種までに3~4日程度種子水分が低下しないように密封保管する必要がある。乾燥種子を播種する場合、吸水障害を回避するには、土壌水分30%d.b.を播種後12時間以上維持する必要があったが、転換畑で梅雨期に播種する場合はこのような低土壌水分の保持は困難であり、調湿種子の利用が吸水障害を回避するのに不可欠と考えられる。

Study on the prevention method of imbibition damage before germination of soybean seeds (Part 1)
 - Examination of Imbibition Damage Factor -

Takuo KOKURYU*, Akemi HORIGANE**, Mitsuru YOSHIDA**, Shinji SHIMADA*

*National Agricultural Research Center, NARO
 **National Food Research Institute, NARO

Tetrahedron Letters, 51(1), 49 - 53 (2010)

Oryzamutaic acids B-G, new alkaloids from an *Oryza sativa* mutant with yellow endosperm

Hiroshi NAKANO*, Seiji KOSEMURA**, Mitsuru YOSHIDA***, Toshisada SUZUKI****, Rika IWAURA***, Ryota KAJI*, Makoto SAKAI*, Katsutoshi HIROSE*****

*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region

**Department of Chemistry, Hiyoshi Campus, Keio University

***National Food Research Institute

****Faculty of Agriculture, Kagawa University

*****KNC Laboratories Co.Ltd

黄色い胚乳を有するイネ品種「初山吹」の胚乳(精米)をメタノール水溶液で抽出し、その抽出物をC18カラムを用いて分離・精製することにより新規アルカロイド oryzamutaic acids B-G を単離した。高分解能エレクトロスプレーイオン化質量分析の結果、oryzamutaic acids BおよびCの分子式は、 $C_{17}H_{23}N_3O_4$ で、Oryzamutaic acids D-Gの分子式は、 $C_{17}H_{25}N_3O_4$ であることが明らかとなった。これらの化合物の平面構造および相対立体配置は、1D NMR (1H NMR, 13C NMR) および 2D NMR (1H-1H DQF-COSY, 1H-13C HSQC, 1H-13C HMBC, 1H-1H NOESY) スペクトル解析により決定された。Oryzamutaic acid Eについては、単結晶X線構造解析の結果によっても同様の構造が推定された。Oryzamutaic acids BおよびCは、C-7とC-8、N-3とC-13、およびC-5とC-6間の二重結合を有し黄色であるが、oryzamutaic acids D-GはC-7とC-8間の二重結合がなく無色である。Oryzamutaic acids B-Gは、すでに構造が報告されている oryzamutaic acid A と共通の骨格を有し、その構造より3分子のアミノ酸から生成されると推定される。

黄色胚乳を有するイネ変異体から得られた新規アルカロイド oryzamutaic acids B-G

中野 洋*, 小瀬村誠治**, 吉田 充***, 鈴木 利貞****, 岩浦 里愛***, 梶 亮太*, 坂井 真*, 広瀬 克利*****

*九州沖縄農業研究センター

**慶應義塾大学日吉キャンパス化学科

***食品総合研究所

****香川大学農学部

*****神戸天然物化学株式会社

日本食品科学工学会誌, 57(2), 78 - 84 (2010)

元素組成によるカボチャの原産地表示判定技術の開発

門倉 雅史*, 法邑 雄司*, 渡邊 裕之**, 堀田 博, 鈴木 忠直, 安井 明美

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

*独立行政法人農林水産消費安全技術センター

**財務省関税中央分析所, 現横浜税関

カボチャ種子をマイクロ波試料分解装置により酸分解して試料溶液を調製した後、誘導結合プラズマ発光分析法により8元素(Mg, P, K, Ca, Mn, Zn, Sr及びBa)、また、誘導結合プラズマ質量分析法により15元素(V, Co, Ni, Cu, Rb, Y, Mo, Cd, Cs, La, Ce, Nd, Sm, Gd及びTl)を定量した。

国産49ロット、ニュージーランド産31ロットの定量値を用いて国産-ニュージーランド産間を判別できるモデル(P, K, Ca, Ni, Zn, Rb, Sr及びBaの8元素を利用)を構築した。このモデルは、別に分析した国産30ロットの内27ロット、ニュージーランド産9ロットの内7ロットを正しく予測し、判別率の中率は87%(34/39ロット)となった。同様に国産品49ロット、メキシコ産品33ロットの定量値を用いて国産-メキシコ産間判別モデル(P, Ni, Zn, Rb, Sr及びMoの6元素を利用)を構築した。このモデルは、別に分析した国産30ロットの内27ロット、メキシコ産8ロットの内7ロットを正しく予測し、判別率の中率は89%(34/38ロット)となった。

続いて、産地表示の信憑性調査への利用を想定して、両モデルを用いた「国産-外国産間判別技術」を検討した。この技術を用いて、原産国名を伏せたカボチャ種子試料の産地を3試験室で予測した結果、国産全6試料を「国産品」と、ニュージーランド産全6試料、メキシコ産全6試料を「外国産品」と正しく判別した。複数試験室による産地予測が正しく行われ、カボチャの原産地表示の信憑性を無機分析により検証できるスクリーニング手法が作成できた。

Technique for Checking the Geographic Origin Pumpkin by Inorganic Elements Composition

Masashi Kadokura*, **[§], Yuji Homura**, Hiroyuki Watanabe****, ****, Hiroshi Horita*, Tadanao Suzuki*, ** and Akemi Yasui*

*National Food Research Institute

**Food and Agricultural Materials Inspection Center

***Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

****Yokohama Customs, Ministry of Finance

食品総合研究所研究報告, 73, 15 - 22 (2009)

成分添加試料の作製とそれを使用した試験室間共同試験

堀田 博

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

原料の米粉砕物と色や臭い, 粉のテクスチャーでは識別できない, L-グルタミンを添加した全窒素測定用試料を作製し, 十分に均質なことを確認して, 室間共同試験用試料として配付した.

その結果, 添加試料の Sr と SR の値は誤差が少ないことを示す小さな値であること, 添加用原料の値と比較するとほぼ同じか小さいことから, 配付した添加試料は室間共同試験の開始まで十分に均質であったこと, 及び添加用原料よりもその均質性が保たれていたことを示していた.

また, HorRat 値は, 添加用原料が0.63と0.70, 添加試料は0.28と0.58, 0.39となり, 本室間共同試験が満足なものであり, 燃焼法が再現性などのパフォーマンスが高い分析法であることを示していた.

これらの結果から, L-グルタミン添加により作製した全窒素測定用試料は, 実際の室間共同試験に使用しても測定試料の均質性悪化に由来する試験結果の乱れもなく, 十分な均質性が保たれる安定なものであった.

Spiked Rice Sample Preparation for Determination of Total Nitrogen as the Test Material of Collaboratory Study by an L-Glutamine Addition

Hiroshi Horita

National Food Research Institute

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(14), 6402-6407(2009)

Effects of phenolic compounds on the browning of cooked barley

Noriko KOHYAMA*, Masaya FUJITA**, Hiroshi ONO***, Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA***, Hitoshi MATSUNAKA*, Toshiyuki TAKAYAMA**** and Masatsune MURATA*****

*NARO, National Institute of Crop Science

**NARO, National Agricultural Research Center Kyushu Okinawa Region

***NARO, National Food Research Institute

****Tochigi Agricultural Experiment Station

*****Ochanomizu University

小麦製品を加熱すると褐変する。褐変に関与すると考えられるカテキン類やプロシアニジン類等のポリフェノール類を, 小麦水抽出物もしくは小麦ペーストに添加して90 で加熱した。小麦抽出物を加熱した場合, (+) - カテキンや, プロシアニジン B3 (PCB3), プロデルフィニジン B3 (PDB3), プロデルフィニジン T1 (PDT1) の添加により, 添加量依存的に420nmでの吸光度が増加した。吸光度の変化は, PCB3や(+)-カテキンよりもPDB3を添加した方が早かった。小麦ペーストを加熱した場合には, PDB3やPDT1は, 添加量依存的にL*値を低下させ, a*値とb*値を増加させた。カフェ酸は小麦抽出物とペーストの両方で褐変を促進したが, プロカテキル酸, エリオジクチオール, タキシフォルリンは小麦抽出物, ミリセチンとケルセチンはペーストでのみ褐変を促進した。褐変を促進するポリフェノールは, カテコールもしくはピロガロール骨格を有していた。

加熱小麦の褐変に対するフェノール性化合物の影響

神山 紀子*, 藤田 雅也**, 小野 裕嗣***, 亀山真由美***, 松中 仁*, 高山 敏之****, 村田 正常*****

* (独) 農研機構作物研究所

** (独) 農研機構九州沖縄農業研究センター

*** (独) 農研機構食品総合研究所

**** 栃木県農業試験場

*****お茶の水大学

Nature Biotechnology, 27(5), 462 - 464 (2009)

Antibacterial discovery in actinomycetes strains with mutations in RNA polymerase or ribosomal protein S12

Takeshi HOSAKA*, Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA*, Hideyuk MURAMATSU**, Kana MURAKAMI**, Yasuhisa TSURUMI**, Shinya KODANI*, Mitsuru YOSHIDA*, Akihiko FUJIE** and Kozo OCHI*

*NARO, National Food Research Institute, **Astellas Pharma Inc.

薬剤耐性を有する細菌の変異株を選抜することにより, 新規な抗生物質を見いだすことができました。抗生物質を産生しない土壌由来の放線菌を変異させると, 従来の抗生物質とはタイプの異なる化合物を合成することがわかり, その物質をビペリダマイシンと名付けた。抗生物質を産生しない放線菌のうち, ストレプトマイセスでは43%, それ以外のものでは6%の種が“活性化”により抗生物質を産生するようになった。このような変異株はすべて, RNAポリメラーゼとリボゾームタンパク質S12の片方もしくは両方に変異を有していた。

RNAポリメラーゼもしくはリボゾームタンパク質S12に変異を起こさせた放線菌で発見された抗生物質

保坂 毅*, 亀山真由美*, 村松 秀行**, 村上 果菜**, 鶴海 泰久**, 小谷 真也*, 吉田 充*, 藤江 昭彦**, 越智 幸三**

* (独) 農研機構食品総合研究所, **アステラス製薬株式会社

Differential expression of the skeletal muscle proteome in grazed cattle

Masahiro SHIBATA*, Kazunori MATSUMOTO**, Mika OE**, Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA***, Koichi OJIMA**, Ikuyo NAKAJIMA**, Susumu MUROYA**and Koichi CHIKUNI**

*NARO, National Agricultural Research Center Western Region

**NARO, National Institute of Livestock and Grassland Science

***NARO, National Food Research Institute

飼料によるウシの筋肉の違いをプロテオームで調べた。8頭の10ヶ月の日本黒牛を、21ヶ月目までは全て厩舎内で個別に肥育し、濃厚飼料とイタリアンライグラスを自由に摂取させた。その後、放牧群と穀物肥育群にランダムに二分し、放牧群は屋外の牧草地で肥育し、穀物群には濃厚飼料を与え続けた。27ヶ月目に屠畜し、2群の半腱様筋のタンパク質の発現の違いを、2次元電気泳動とウエスタンブロット分析で比較した。およそ200個のタンパク質スポットが観測され、そのうち、筋小胞体画分に20個、筋原線維画分に9個の発現量の異なるタンパク質があった。穀物群より放牧群で発現量が顕著に多かったタンパク質は、筋小胞体画分ではアデニレートキナーゼ1とミオグロビンで、筋原線維画分ではミオシン軽鎖2であった。また、解糖系酵素の発現量も放牧群で有意に大きかった。後期肥育期間の放牧は、エネルギー代謝酵素を変化させ筋繊維型が変わると考えられた。

放牧により発現に差異の認められたウシ骨格筋のタンパク質

*柴田 昌宏, **松本 和典, **大江 美香, ***亀山真由美, **尾嶋 孝一, **中嶋 郁世, **室谷 進, **千国 幸一

*(独) 農研機構近畿四国中国農業研究センター, *(独) 農研機構畜産草地研究所, *** (独) 農研機構食品総合研究所

Carbohydrate Research, 344(16), 2250–2254(2009)

Structural characterization of an O-linked tetrasaccharide from *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* flagellin

Tomoyuki KONISHI*, Fumiko TAGUCHI**, Masako IWAKI**, Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA***, Masanobu YAMAMOTO***, Ikuko MAEDA***, Yoshihiro NISHIDA****, Yuki ICHINOSE**, Mitsuru YOSHIDA****and Tadashi ISHII*

*Forestry and Forest Products Research Institute**Okayama University

NARO, National Food Research Institute, *Chiba University

タバコ野火病菌のフラジェリンは糖タンパク質で、その糖鎖はラムノースと4, 6-ジデオキシ-4-(3-ヒドロキシブタンアミド)-2-O-メチルグルコシル基で構成される。このO-結合糖鎖をヒドラジン分解し、還元末端を2-アミノピリジン(2-PA)で標識化した。2-PA化した三糖糖鎖と四糖糖鎖を順相HPLCで分離し、MSとNMRで構造解析した。その結果、四糖糖鎖は、4, 6-ジデオキシ-4-(3-ヒドロキシブタンアミド)-2-O-メチルグルコピラノシル-(1->3)-L-Rhap-(1->2)-L-Rhap-(1->2)-L-Rha-(1->)で、三糖糖鎖と同様であることがわかった。

タバコ野火病菌のフラジェリン由来のO-結合型四糖糖鎖の構造解析

古西 智之*, 田口富美子**, 岩城 雅子**, 亀山真由美***, 山本 雅信***, 前田 育子**, 西田 芳弘****, 一瀬 勇規**, 吉田 充***, 石井 忠*

*(独) 森林総合研究所, **岡山大学, *** (独) 農研機構食品総合研究所, ****千葉大学

Molecular Genetics and Genomics, 282(6), 595–605(2009)

Genetic analysis of genes involved in synthesis of modified 4-amino-4, 6-dideoxyglucose in flagellin of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*

Linh Chi NGUYEN*, Masanobu YAMAMOTO**, Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA**, Salamah ANDI*, Fumiko TAGUCHI*, Masako IWAKI*, Mitsuru YOSHIDA**, Tadashi ISHII***, Tomoyuki KONISHI***, Kazuhiko TSUNEMI*and Yuki ICHINOSE*

*Okayama University, **NARO, National Food Research Institute, ***Forestry and Forest Products Research Institute

タバコ野火病菌のフラジェリン糖鎖は、移動能や接着能、病原性に寄与する。糖鎖はフラジェリンの中央部に存在する6カ所のセリンに結合し、201番目のセリンに結合する糖鎖はラムノース-ラムノース-修飾ピオサミンである。修飾ピオサミンの生合成機構を明らかにするため、dTDP-ピオサミンアミノ基転移酵素(vioA)、dTDP-ピオサミンアセチル基転移酵素(vioB)、ピオサミン転移酵素(vioT)をコードする遺伝子を欠損させた変異株を作った。この3種の変異株が産生するフラジェリンから、糖鎖を含まない部分を除いた糖ペプチドを酵素消化により作成しMALDI-TOFMSで分析した結果、変異株のフラジェリン糖鎖はラムノースのみから構成されることがわかった。変異株の移動能と宿主であるタバコ葉に対する病原性は、vioA欠損株では著しく低下し、vioBおよびvioT欠損株では低下の程度は低かった。これらの結果から、vioA、vioB、vioTはフラジェリンの糖鎖の生成に必須で、ひいては病原性の発現に必要であると考えられた。

タバコ野火病菌のフラジェリンの糖鎖の構成糖の一つ4-アミノ4, 6-ジデオキシグルコースの生合成に関与する遺伝子の遺伝学的解析

L. C. Nguyen*, 山本 雅信**, 亀山真由美**, S. Andi*, 田口富美子*, 岩城 雅子*, 吉田 充**, 石井 忠***, 古西 智之***, 常見 和彦*, 一瀬 勇規*

*岡山大学, ** (独) 農研機構食品総合研究所, *** (独) 森林総合研究所

Microbiology, 156(1), 72–80(2010)

Defects in flagellin glycosylation affect the virulence of *Pseudomonas syringae* pv. tabaci 6605

Fumiko TAGUCHI*, Masanobu YAMAMOTO**, Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA**, Masako IWAKI*,
Mitsuru YOSHIDA**, Tadashi ISHII***, Tomoyuki KONISHI***and Yuki ICHINOSE*

*Okayama University, **NARO, National Food Research Institute, ***Forestry and Forest Products Research

タバコ野火病菌の病原性発現に鞭毛の運動性と糖化は必須である。フラジェリンは143, 164, 176, 183, 193番目の6カ所のセリンに糖鎖を有し, 201番目の糖鎖はL-ラムノース2分子修飾ピオサミンから成る三糖であることがこれまでにわかっている。他のセリンに結合する糖鎖の構造と病原性への寄与を明らかにするため, 6カ所のセリンのうち5カ所をアラニンに置換した変異株を作製した。MALDI-TOFMS分析の結果, 6種の変異株の糖鎖は201番目のセリン結合糖鎖と同じ三糖であった。S143-5S/AとS164-5S/A, S201-5S/Aでは, 菌体密度感知に関わるアシルホモセリンラクトン量と菌の移動度は顕著に減少し, 抗生物質に対する抵抗性は増加した。宿主のタバコ葉に対する病原性発現能についてはどの変異株も低かった。このことから, フラジェリンが重合したときに表面に露出するS176とS183は病原性発現に重要であると考えられた。さらに鞭毛依存的な運動性は菌体密度感知や抗生物質抵抗性に関連する可能性が示唆された。

タバコ野火病菌の病原性に影響を与えるフラジェリンの糖鎖の欠損

田口富美子*, 山本 雅信**, 亀山真由美**, 岩城 雅子*, 吉田 充**, 石井 忠***, 古西 智之***, 一瀬 勇規*

*岡山大学, ** (独) 農研機構食品総合研究所, *** (独) 森林総合研究所

Food Science and Technology Research, 15(6), 639–644(2009)

Degradation of Epitope Peptides of Wheat Gliadin and Glutenin for Atopic Dermatitis by Crude Proteases from Germinated Wheat Seeds

Shigeru OITA*, Takami HAYASHI* and Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA**

*NARO, National Agricultural Research Center Tohoku Region

**NARO, National Food Research Institute

アトピー性皮膚炎に関する小麦のグリアジンとグルテニンを発芽小麦種子プロテアーゼ粗分画(PGW)で分解した。PGWはシステインプロテアーゼとセリンプロテアーゼ活性を有し, グリアジンエピトープペプチドPQQPFをpH4.5と7.5で加水分解した。PGWはQQPFやPQQPFをpH7.5では完全に分解したが, pH4.5では少量しか分解できなかった。グルテニンエピトープペプチドQQPPについては, PGWはpH7.5で分解できたが, pH4.5では部分的にしか分解できなかった。グルテニンエピトープペプチドを2つ含むペプチドCSQQQPPFSQQQPPF(Glu-16)もpH4.5で分解した。分解物はQQPF, PQQPF, QQPPF, QQPPFであることを質量分析法で確認した。

発芽小麦に含まれる粗精製タンパク分解酵素による, 小麦グリアジンとグルテニンのアトピー性皮膚炎エピトープペプチドの分解

老田 茂*, 林 高見*, 亀山真由美**

* (独) 農研機構東北農業研究センター

** (独) 農研機構食品総合研究所

Chemistry-A European Journal, 15, 3729–3735(2009)

Construction of helical J-aggregates self-assembled from a thymidylic acid appended anthracene dye and DNA as a template

Rika IWAURA*, **, Mayumi Ohnishi-Kameyama*, Tomohiko IIZAWA*

*National Food Research Institute

**Precursory research for embryonic science and technology (PRESTO), JST

アントラセンの2, 6位にチミジル酸を連結したチミジル酸-アントラセン複合体1を合成し, 1の自己集合体および相補的核酸塩基をもつオリゴアデニル酸20量体dA20との二成分系自己集合体について, 各種スペクトル測定および原子間力顕微鏡観察を行った。その結果, 1とdA20の二成分系自己集合体は直径5.1nmのナノファイバーを形成することがわかった。また, 吸収, 蛍光, およびCDスペクトルから, ナノファイバー中ではチミンとアデニンが相補的核酸塩基対を形成し, アントラセン部位が短軸方向にスタックしながら一次元らせん状に集積したJ会合体となることを見いだした。以上の結果より, DNAを鋳型として, 光機能性分子であるアントラセンのらせん状一次元集積体を構築することが可能であることを明らかにした。

An overview on chlorophylls and quinones in the photosystem I-type reaction centers

Shunsuke OHASHI*, Tatsuya IEMURA*, Naoki OKADA*, Shingo ITOH*, Hayato FURUKAWA*, Masaaki OKUDA*,
Mayumi OHNISHI-KAMEYAMA**, Takuro OGAWA***, Hideaki MIYASHITA****, Tadashi WATANABE*****,
Shigeru ITOH*****, Hirozo OH-OKA*****, Kazuhito INOUE*****and Masami KOBAYASHI*

*University Tsukuba, **NARO, National Food Research Institute, ***Kanagawa University, ****Kyoto University,
*****University Tokyo, *****Nagoya University, *****Osaka University

光化学系 (PS) I の反応中心 (RC) の、マイナーであるが重要な葉緑素 (Chl) とキノンの分子構造に関して概説する。PS I の RC では、緑色硫黄細菌のバクテリオクロロフィル (BChl) a' や、ヘリオバクテリアの BChl g', Chl a - 型 PS I の Chl a', Chl d - 型 PS I の Chl d' といった主要な葉緑素は、酸素非発生型では BChl a' ホモ二量体や BChl g' ホモ二量体、酸素発生型では Chl a/a' と Chl d/d' のヘテロ二量体のような特別ペアとして機能する。BChl g' から Chl a, Chl a から Chl d への変換は、in vitro のマイルドな条件下で自発的に起こる。主要な電子受容体は、酸素非発生型 PS I 型 RC においても Chl a 誘導体である。二次電子受容体はナフトキノンで、側鎖は酸素型 PS I でメナキノンからフィロキノンになる。

光合成 I 型反応中心における葉緑素とキノン類

大橋 俊介*, 家村 達也*, 岡田 尚紀*, 伊藤 慎吾*, 布留川隼人*, 奥田 将旭*, 亀山真由美**, 小川 拓郎**,
宮下 英明****, 渡辺 正****, 伊藤 繁****, 大岡 宏造****, 井上 和仁**, 小林 正美*

*筑波大学, ** (独) 農研機構食品総合研究所, ***神奈川大学, ****京都大学, *****東京大学,
*****名古屋大学, *****大阪大学

NMR studies on the interaction of sugars with the C-terminal domain of an R-type lectin from the earthworm *Lumbricus terrestris*

Hikaru Hemmi*, Atsushi Kuno**, Shigeyasu Ito**, ***, Ryuichiro Suzuki**, ***, Tsunemi Hasegawa***, and Jun Hirabayashi**

*National Food Research Institute

**Research Center for Medical Glycoscience, AIST

***Department of Material and Biological Chemistry, Yamagata University

ミミズ由来 R 型レクチンの C 末端ドメイン (EW29Ch) は、2 つの糖結合部位 (α 及び γ) を持ち、単一ドメインとして赤血球凝集能を持つことが知られている。今回、各種糖 (ラクトース, メリビオース, ガラクトース, メチル α ガラクトピラノシド, メチル β ガラクトピラノシド) の添加による $^1\text{H} - ^{15}\text{N}$ HSQC スペクトルでの NMR シグナル変化を観測することにより、2 つの糖結合部位それぞれの糖結合活性を測定した。その結果、 α 糖結合部位においては、遅い化学交換を示し、解離定数 (K_d) = 0.01 - 0.1 mM であった。一方、 γ 糖結合部位では、速い化学交換を示し、 $K_d = 2 - 6$ mM であった。これらの結果より、EW29Ch の赤血球凝集能がレクチン全体の赤血球凝集能に比べ約 10 倍低いのは、2 つの糖結合部位のうち片方の糖結合部位の糖結合活性が低いことによることが判明した。

NMR によるミミズ由来 R 型レクチン C 末端ドメインと糖との相互作用に関する研究

逸見 光*, 久野 敦**, 伊藤 茂泰**, ***, 鈴木龍一郎**, ***, 長谷川典巳***, 平林 淳**

* (独) 農研機構 食品総合研究所
**産総研 糖鎖医学研究センター
***山形大学理学部

A noninvasive near infrared system for detection of platelet components contaminated with bacteria

Sirinnapa Saranwong*, Shoji Ezuki**, Kinuyo Kawabata***, Sumio Kawano*and Hitoshi Ohto***

*National Food Research Institute

**Kawasumi Laboratories, Inc.

***Fukushima Medical University,

細菌汚染を生じる危険性のある血小板製剤の輸血は敗血症などを発生させるリスクを伴う。そこで、サンプリングなしで血小板製剤の細菌汚染の有無を識別する近赤外分光法を用いた方法について検討した。細菌汚染していない対照区, *Bacillus cereus* を接種した BC 区, *Staphylococcus epidermis* を接種した SE 区のスベクトルをプラスチックバックに入れた状態で透過法により経時的に測定した。スベクトル測定には分散型近赤外装置 (NIRS6500) を用いた。対照区を 0, 汚染区 (BC 区及び SE 区) を 1 とする PLS 回帰により, BC 区では接種 42 時間後において 100% の正確率で, SE 区では接種 54 時間後において 98% の正確率で汚染区を識別できた。スベクトル測定に携帯型装置 (NIR-Gun) を用いた場合もほぼ同等の成果が得られた。以上のことから, 血小板製剤の細菌汚染の有無を近赤外分光法により識別できることが示唆された。

Chem. Phys. Lett. 476, 205–208(2009)

Attenuated total reflectance -far ultraviolet (ATR-FUV) spectra of CH₃OH, CH₃OD, CD₃OH and CD₃OD in a liquid phase Rydberg states

Yusuke Morisawa*, Akifumi Ikehata**, Noboru Higashi***, Yukihiro Ozaki*

*Kwansei Gakuin University

**National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

***KURABO Industries LTD.

液体状態の CH₃OH, CH₃OD, CD₃OH and CD₃OD の持つ155nm 付近の電子遷移吸収バンドを独自に開発した減衰全反射遠紫外 (ATR-FUV) 分光法にて測定した。またこれと透過スペクトルによる190 - 220nm の範囲の吸収テールを調べ、これらの同位体の違いによってスペクトルに系統的な違いが現れることを見いだした。また、気体状態のスペクトルに比べバンドが短波長側に観測されることを明らかにした。

分析化学, 58(1), 13 - 21 (2010)

アルコール水溶液中の水の水素結合 - モル吸光係数の拡張概念によるスペクトル解析 -

池羽田晶文*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

水に可溶性 1 価のアルコールの水和について近赤外分光法を用いて調べた。注目した波数域は7000cm⁻¹ 付近に観測される水およびアルコールの O-H 伸縮振動に起因するバンドだが、水素結合の影響を反映するため吸光度の増減は Beer の法則には従わない。そこで分子間相互作用の効果が顕わな場合のスペクトル解釈のため、モル吸光係数の拡張概念である部分モル吸光係数を提案する。さらにそこから非理想成分だけを表す過剰部分モル吸光係数を計算したところ、ブロードなバンドに隠れていた水素結合種を特定することに成功した。結果として、アルコール濃度25mass% 以下では溶質の水和に伴い水の水素結合は強化されること、またそれ以上の濃度では水と溶質はそれぞれドメインに分離した状態に近いことが示唆された。

Hydrogen bonding of water in aqueous alcohol solution: spectral analyses by an extended concept of molar absorption coefficient

Akifumi IKEHATA*

*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

Report of National Food Research Institute, 74, 23–28(2010)

Changes in cadmium content when processing soybean to miso and soy sauce

Kumiko SHINDOH*, Takashi ABE**, Akemi YASUI*

*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

**Japan Food Research Laboratories

0.040μg/g と 0.320μg/g のカドミウムを含む異なる品種の大豆を使い、味噌および醤油の加工過程におけるカドミウムの含有量変化を検討した。米味噌への加工過程では、大豆に含まれるカドミウム総量の約83%が最終品の味噌に移行した。一方、こいくち醤油への加工過程では、窒素利用率が約60%の場合に、大豆に含まれるカドミウム総量の43 - 53%が最終品の醤油へ移行すると推定された。味噌への加工過程では、大豆に含まれるカドミウムが減少する主要なプロセスは大豆の浸漬および蒸煮過程であった。醤油への加工過程では、もろみ圧搾過程を含む複数のプロセスでカドミウムが減少し、その割合は大豆により異なった。このため、最終品へ移行するカドミウム量は、醤油では味噌以上に大豆の持つ加工適性に依存すると考えられた。

大豆から味噌および醤油への加工過程におけるカドミウム含有量の変化

進藤久美子*・阿部 孝**・安井 明美*

*(独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**財団法人日本食品分析センター

日本食品科学工学会誌, 56(4), 43 - 46 (2010)

コメ貯蔵時の害虫防除処理および貯蔵害虫の摂食がアレルゲンタンパク質に及ぼす影響

大羽 美香*, 宮ノ下明大*, 森山 達哉**, 川本 伸一*, 橘田 和美*

*(独)農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
**近畿大学農学部応用生命化学科

食物アレルギー患者の数は増加傾向にあり,特に先進国の消費者にとって大きな問題となっている。日本人の主食であるコメに対するアレルギーも報告されている。アナフィラキシーショック等の症状を示すことは非常にまれであるが,アトピー性皮膚炎の原因食物の一つとして考えられている。貯蔵害虫防除を目的とした臭化メチル代替殺虫技術として開発された高圧二酸化炭素処理を玄米に対し施し,コメのアレルゲンタンパク質にどのような影響を及ぼすかについて検討した。また,従来使用されてきた,臭化メチルおよびリン化水素によるくん蒸処理による影響も検討した。さらに,貯蔵害虫であるノシメダラメイガ(Plodia interpunctella)の幼虫を玄米に投入し,コメアレルゲンタンパク質への影響も検討した。その結果,これらの害虫防除処理,および貯蔵害虫の摂食によるアレルゲンタンパク質への影響は認められなかった。

Effects of Insect Control Treatments and Damage Caused by Stored-product Insects on Rice Allergenic Proteins

Mika OHBA*, Akihiro MIYANOSHITA*, Tatsuya MORIYAMA**, Shinichi KAWAMOTO*, Kazumi KITTA*

*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization
**School of Agriculture, Kinki University

Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 50 (3) 117 - 125 (2009)

Development of quantitative duplex real-time PCR method for screening analysis of genetically modified maize

Taichi OGUCHI*, Mari ONISHI**, Yasutaka MINEGISHI***, Yasunori KUROSAWA*, Masaki KASAHARA*, ****, Hiroshi AKIYAMA*****, Reiko TESHIMA*****, Satoshi FUTO**, Satoshi FURUI*, Akihiro HINO*, Kazumi KITTA*

*National Food Research Institute
**FASMAC Co., Ltd.
***NIPPON GENE Co., Ltd.
****Food and Agricultural Materials Inspection Center
*****National Institute of Health Sciences

遺伝子組換え(GM)トウモロコシの二重リアルタイムPCR法による定量スクリーニング分析法を開発した。具体的には,二種類の蛍光プローブを利用して,カリフラワー・モザイク・ウイルス35Sプロモーター配列(P35S)と,P35Sを含まないGA21系統特異的配列を1回の反応で同時に検出可能なシステムを構築した。また,本二重PCR法で使用する新規なキャリブレーションスミドも開発した。室内試験によって本分析法の精度を検証したところ,従来の個別のリアルタイムPCRによるGMトウモロコシの標準分析法とほぼ同程度の精度を有することが確認された。本法は,従来は個別に実施していた2種類のリアルタイムPCR反応を,1回の反応で同時に分析可能とすることから,検査にかかるコストおよび時間を大幅に短縮することが可能である。我々は,本法をGMトウモロコシの新たな定量分析法として提案する。

遺伝子組換えトウモロコシのスクリーニング検査のための二重リアルタイムPCR定量分析法の開発

小口 太一*, 大西 真理**, 峯岸 恭孝***, 黒澤 康紀*, 笠原 正輝****, 穉山 浩*****, 手島 玲子*****, 布藤 聡**, 古井 聡*, 日野 明寛*, 橘田 和美*

*(独)農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
**(株)ファスマック
**(株)ニッポンジーン
****(独)農林水産消費安全技術センター
*****国立医薬品食品衛生研究所

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 73(8), 1886–1889(2009)

Optical Detection of Specific Genes for Genetically Modified Soybean and Maize Using Multiplex PCR Coupled with Primer Extension on a Plastic Plate

Naoki HARIKAI*, Shin SAITO**, Midori ABE**, Kazunari KONDO***, Kazumi KITTA****, Hiroshi AKIYAMA***, Reiko TESHIMA***, Kenji KINOSHITA*

*School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Mukogawa Women's University

**S-BIO Development Department, Sumitomo Bakelite, Co.

***National Institute of Health Sciences

****National Food Research Institute

遺伝子組換え (GM) ダイズ 1 系統ならびにトウモロコシ 5 系統を検知するための、新規 DNA マイクロアレイ法を、マルチプレックス PCR 法と組み合わせたプラスチック基板上におけるプライマー伸長反応を利用して開発した。マルチプレックス PCR 増幅産物は、伸長プライマーを固定化したプレート上にアブライされ、当該 DNA 配列に対応するスポットは可視化された。本法は、GM ダイズおよびトウモロコシを可視的に検出する迅速簡便な手法である。

プラスチック基板上におけるプライマー伸長反応を用いた遺伝子組換え食品の同時可視検出法

張替 直輝*, 斉藤 晋**, 阿部 碧**, 近藤 一成***, 橘田 和美****, 穠山 浩***, 手島 玲子***, 木下 健司*

*武庫川女子大学薬理学研究室

**住友ベークライト

***国立医薬品食品衛生研究所

**** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 60(3,4), 138–144(2009)

Enantioselective ester hydrolase from *Sphingobacterium* sp.238C5 useful for chiral resolution of β -phenylalanine and for its β -peptide synthesis

Jun OGAWA*, **, Junichi MANO*, Tairo HAGISHITA***, Sakayu SHIMIZU*

*Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

**Research Division of Microbial Sciences, Kyoto University

***Industrial Microbiology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

β -フェニルアラニン及び β -ペプチド生産に有用な光学分割に新規酵素 β -フェニルアラニンエステル加水分解酵素の性質解析を行った。*Sphingobacterium* sp. 238C5 株の無細胞抽出液由来精製酵素は β -フェニルアラニンエステルを (S) 体選択的に加水分解した。また、本酵素はいくつかの α -アミノ酸エステルに対し L 体特異的な加水分解活性を示した。塩基配列から推測される 369 アミノ酸残基はバチルス属細菌由来 D 体特異的ペプチダーゼと同一性を示した。同酵素を発現する大腸菌は元菌よりも 8 倍の酵素活性を示した。同組換え大腸菌は低濃度 (30mM) の β -フェニルアラニンエチルエステルを基質とした反応において S 体特異的な加水分解活性を示した。一方、高濃度 (170mM) の基質を用いた反応ではトランスペプチダーゼ活性により β -フェニルアラニルフェニルアラニンエチルエステルが生成した。本トランスペプチダーゼ活性は β -フェニルアラニン含有 β -ペプチドの合成に有用であった。

β -フェニルアラニンの光学分割及び β -ペプチド合成に有用な *Sphingobacterium* sp.238C5 株由来立体選択的エステル加水分解酵素

小川 順*, **, 真野 潤一*, 萩下 太郎***, 清水 昌*

*京都大学大学院応用生命科学専攻

**京都大学微生物科学寄附研究部門

***京都大学大学院産業微生物学講座

Biological&Pharmaceutical Bulletin, 32(11), 1824–1829(2009)

A Screening Method for the Detection of the 35S Promoter and the Nopaline Synthase Terminator in Genetically Modified Organisms in a Real-Time Multiplex Polymerase Chain Reaction Using High-Resolution Melting-Curve Analysis

Hiroshi AKIYAMA*, Fumi NAKAMURA*, Chihiro YAMADA**, Kosuke NAKAMURA*, Osamu NAKAJIMA*, Hiroshi KAWAKAMI**, Naoki HARIKAI***, Satoshi FURUI****, Kazumi KITTA****, Reiko TESHIMA*

*National Institute of Health Sciences

**Department of Food Science & Nutrition, Kyoritsu Women's University

***School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Mukogawa Women's University

****National Food Research Institute

未承認の遺伝子組換え (GM) 農産物を検出するために、カリフラワー・モザイク・ウイルス由来の35S プロモーター (P35S) 及びノバリン合成酵素ターミネーター (NOST) を同時に定性検知することが可能な、リアルタイムマルチプレックス PCR を用いた高分解能融解曲線解析法を開発した。本分析法に適した P35S 及び NOST のプライマーセットを設計し、さらに、設計したプライマーとインターカレーター EvaGreen を用いて最適な PCR 条件を検討した。本分析法の検知下限を調べたところ、トウモロコシのサンプルでは、組換え配列がゲノム中にシングルコピーの場合、0.1%程度と見積もられた。さらに本分析法は、承認 GM ダイズ系統、承認 GM ジャガイモ系統、GM ダイズを含んだビスケット、さらに、未承認 GM イネ系統を含むコメのサンプル等にも適応可能であることが示された。以上の結果から、本分析法は穀物と加工食品の両方に適応可能であり、簡便且つ信頼性の高いスクリーニング法であると考えられる。

高分解能融解曲線解析を用いるリアルタイムマルチプレックス PCR での遺伝子組換え生物における35S プロモーターとノバリン合成酵素ターミネーター検出用のスクリーニング法

Analytical and Bioanalytical Chemistry, 396(1), 457–464(2009)

An Optimal Design Method for Preventing Air Bubbles in High-Temperature Microfluidic Devices

Tsuyoshi NAKAYAMA*, Ha Minh Hiep**, Satoshi FURUI***, Yuji YONEZAWA****, Masato SAITO**, Yuzuru TAKAMURA*, Eiichi TAMIYA**

*Japan Advanced Institute of Science and Technology

**Graduate School of Engineering, Osaka University

***National Food Research Institute

****Industrial Research Institute of Ishikawa

ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) を利用した DNA 分析は、医学的な診断、環境調査、食品分析及び生物学的な研究等で頻用されている。さらに、極小サイズの PCR チップを開発することは、PCR を微小化学分析システム (μ TAS) に統合する研究において不可欠である。しかしながら、PCR チップはマイクロチャネル内において気泡の発生することが課題となっている。本研究において、我々は分析試料の注入時にマイクロチャネル内に発生する気泡を抑制するため、層流の流体力学に基づく少量のミネラルオイルを利用した新手法を検討した。また、PCR に最適なマイクロフルイディクスを作製するため、圧力、加圧チャネル長及びオイル量についても最適化した。さらに、反応液を連続的に送液する定量的な PCR は、遺伝子組換え (GM) トウモロコシの検知に最適化した PCR チップを用いて実施した。DNA は GM トウモロコシ MON810系統と nonGM トウモロコシから抽出し、0%から100%までの濃度範囲で数点調製した。DNA の増幅シグナルはレーザーを基にしたシステムを使って PCR チップ上で解析した。マイクロフルイディクス PCR チップからのシグナルは GM トウモロコシ濃度に比例して増大することが明らかとなった。

マイクロフルイディクスの気泡発生を抑制するための至適設計法

中山 剛*, Ha Minh Hiep**, 古井 聡***, 米沢 裕司****, 斉藤 真人**, 高村 禪*, 民谷 栄一**

*北陸先端科学技術大学院大学

**大阪大学大学院工学研究科

*** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**** (独) 石川県工業試験所

日本食品化学学会誌, 16(3), 147 - 151 (2009)

PCR法を用いた米加工品の安全性未審査遺伝子組換え米の検知法

穂山 浩*, 佐々木伸大**, 大木 果林*, 中村 文美*, 坂田こずえ*, 中村 公亮*, 大森 清美***,
中島安基江****, 古井 聡*****, 橘田 和美*****, 小関 良宏**, 手島 玲子*

*国立医薬品食品衛生研究所

**東京農工大学

***神奈川県衛生研究所

****広島県立総合技術研究所

***** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

わが国において、食品としての安全性未審査の2系統の遺伝子組換え(GM)コメを検知するPCRを用いた検知法を開発した。2種のGMコメは *Bacillus thuringiensis* (Bt) コメ, Bt63およびNNBt系統であった。これらGMコメは適切な植物発現プロモーター及びターミネーターと結合したBt由来のcry遺伝子で形質転換され、Btトキシンを発現するため、標的昆虫に対して抵抗性を有する。これら2系統のGMコメを検知するためのプライマー対をcry遺伝子の配列をもとにデザインした。また、われわれが解明した配列をもとに、Bt63およびNNBtのそれぞれを特異的に検知するプライマー対もデザインした。開発した手法を用いてピーフン及び餅米試料において2系統のBtコメの検知を行った。本法は、コメ加工品中において、2系統のBtコメのモニタリングに利用可能な検知法であることが示された。

A Conventional PCR Method to Detect Recombinant DNA from Genetically Modified Rice Lines not Approved for Use in Processed Foods

Hiroshi AKIYAMA, Nobuhiro SASAKI**, Karin OHKI*, Fumi NAKAMURA*, Kozue SAKATA*, Kosuke NAKAMURA*,
Kiyomi OMORI***, Akie NAKASHIMA****, Satoshi FURUI*****, Kazumi KITTA*****, Yoshihiro OZEKI**, Reiko TESHIMA*

*National Institute of Health Sciences

**Tokyo University of Agriculture and Technology

***Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

****Hiroshima Prefectural Technology Research Institute

*****National Food Research Institute

Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi), 51(1), 32-36(2010)

Improvement of Polymerase Chain Reaction-Based Bt11 Maize Detection Method by Reduction of Non-Specific Amplification

Junichi MANO*, Yuka YANAKA*, Hiroshi AKIYAMA**, Reiko TESHIMA**, Satoshi FURUI*, Kazumi KITTA*

*National Food Research Institute

**National Institute of Health Sciences

JAS分析試験ハンドブック記載の遺伝子組換えトウモロコシBt11系統特異的定性検知法は行政モニタリング検査および市場に流通する穀物の品質管理に幅広く利用されている。当該検知法を用いた検査において偽陽性検出が生じる可能性が確認されたため、分析法の改良を行った。改良分析法において非特異的増幅は確認されず、一方、反応特異性および検出感度について現行分析法との間に顕著な差異は確認されなかった。

ポリメラーゼ連鎖反応を用いた遺伝子組換えトウモロコシBt11系統特異的定性検知法の非特異的増幅低減を目的とした改良

真野 潤一*, 谷中 有香*, 穂山 浩**, 手島 玲子**, 古井 聡*, 橘田 和美*

* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

**国立医薬品食品衛生研究所

日本食品衛生学会誌, 51(1) 43 - 46 (2010)

リアルタイム PCR による DNA 検査に最適なポリプロピレンチューブの選択方法

清水 えり*, 布藤 聡*, 増淵 友子**, 峯岸 恭孝***, 笠原 正輝****, 穠山 浩*****,
手島 玲子*****, 日野 明寛**, 真野 潤一**, 古井 聡**, 橘田 和美**

*株式会社ファスマック

** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

***株式会社ニッポンジーン

**** (独) 農林水産消費安全技術センター

*****国立医薬品食品衛生研究所

遺伝子組換え食品検査を行う際に、サンプルの保存や希釈など、様々な場面でディスプレイのポリプロピレン製マイクロチューブ(以下、チューブと略す)を使用するが、チューブの種類により PCR 後の定量値に大きな影響を与える可能性がある。複数のチューブを用いて検討した結果、一部のチューブに DNA の吸着や OD 260nm に吸光のある溶出物がみられることが明らかとなった。本検討で、我々はチューブへの DNA の吸着を見出し、DNA 検査に最適なチューブを適時選択可能とした。

Selection of Suitable Polypropylene Tubes for DNA Testing Using Real-time PCR

Eri SHIMIZU*, Satoshi FUTO*, Tomoko MASUBUCHI**, Yasutaka MINEGISHI***, Masaki KASAHARA****,
Hiroshi AKIYAMA*****, Reiko TESHIMA*****, Akihiro HINO**, Junichi MANO**, Satoshi FURUI**, Kazumi KITTA**

*FASMAC Co.,Ltd.

**National Food Research Institute

***NIPPONGENE Co.,Ltd.

****Food and Agricultural Materials Inspection Center

*****National Institute of Health Sciences

Biological&Pharmaceutical Bulletin, 33(3), 532-534(2010)

Novel Method to Detect a Construct-Specific Sequence of the Acetolactate Synthase Gene in Genetically-Modified Flax CDC Triffid (FP967)

Kosuke NAKAMURA*, Hiroshi AKIYAMA*, Chihiro YAMADA**, Rie SATOH*, Daiki MAKIYAMA*, Kozue SAKATA*,
Hiroshi KAWAKAMI**, Junichi MANO***, Kazumi KITTA***, Reiko TESHIMA*

*National Institute of Health Sciences

**Department of Food Science & Nutrition, Kyoritsu Women's University

***National Food Research Institute

2009年秋に、未承認遺伝子組換えアマ系統、CDC Triffid の微量混入が日本を含む多くの国で報告された。本遺伝子組換えアマはスルホニルウレア系除草剤に対する耐性を有する。CDC Triffid 系統の検知法の緊急の開発が求められたため、われわれは、CDC Triffid 系統に導入されている変異アセト乳酸合成酵素遺伝子を検知する、新規構造特異的リアルタイム PCR 法を開発した。抽出 DNA 混合液を用い、本法が0.001%の当該遺伝子組換えアマの検知が可能であることを確認した。本研究により、開発された手法は微量の CDC Triffid をモニタリングするための、特異的、高感度、かつ信頼できる手法であることが示された。

遺伝子組換えアマ、CDC Triffid (FP967) におけるアセト乳酸合成酵素遺伝子の構造特異的配列検出のための新規手法

中村 公亮*, 穠山 浩*, 山田 千尋**, 佐藤 里絵*, 牧山 大樹*, 坂田こずえ*, 川上 浩**,
真野 潤一***, 橘田 和美***, 手島 玲子*

*国立医薬品食品衛生研究所

**共立女子大食物栄養学科

*** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

農業施設, 40(1), 1 - 6 (2009)

冷蔵保存に伴う米麺の動的粘弾性の変化

LI Yongyu*, 鈴木啓太郎**, 神山かおる**, 大坪 研一***, 院多本華夫****, 佐竹 隆顕****

*中国農業大学
 ** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
 ***新潟大学
 ****筑波大学

「夢十色」を原料とした生米麺（以後生麺とする）の冷蔵保存が同麺の吸熱特性（DSC）および冷蔵保存した生麺の茹で後（以後茹で麺とする）の動的粘弾性に与える影響について検討した。その結果、冷蔵保存に伴い、麺のつなぎとして用いた糊化生地の澱粉分子は再配列が生じ、約43 と61 で二つの吸熱ピークが見られた。一方、冷蔵していない生麺は生澱粉による一つの吸熱ピークしか見られなかった。また、冷蔵保存1日・2日・4日の茹で麺の貯蔵弾性率と損失弾性率は、冷蔵していない茹で麺に比べ大きい値を示し、生麺の冷蔵保存に伴い硬い食感の茹で麺が形成されると推察された。なお、冷蔵保存1日・2日・4日の生麺の間にはDSCによる吸熱エンタルピーの有意差が認められず、それらの茹で麺の貯蔵弾性率と損失弾性率も明らかな変化が認められなかった。

Dynamic viscoelasticity change of rice noodle in the process of refrigeration

Yongyu LI*, Keitaro SUZUKI**, Kaoru KOHYAMA**, Ken'ichi OHTSUBO***, Keo INTABON****, Takaaki SATAKE****

*China Agricultural University, CHINA
 **National Food Research Institute, NARO
 ***Niigata University
 ****University of Tsukuba

日本食品科学工学会誌, 50(7), 424 - 428 (2009)

炊飯米を生地に添加したパンの官能評価

奥西 智哉

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

近年、米の需要を喚起する目的で米粉を使用したパンが注目されているが、品質はさほど良くない。品質の良い米パンを開発するために、炊飯米の利用を試みた。その特性をパン高さおよび官能試験により評価した。

米粉パンでは、米粉の置換率の上昇とともに製パン性が低下したのに対し、炊飯米置換率30%までのごはんパンは小麦粉パンと同等あるいはそれ以上の製パン性を有した。

炊飯米置換率10 - 40%のごはんパンは、官能試験で小麦粉パンより有意に評価が高く、最適置換率は30%であった。すだち・色相・香りは、20%ごはんパンの色相評価が有意に高い点を除き、いずれも有意差はなかった。触感および硬さは10 - 30%ごはんパンで有意に高く、20%が最適であった。味ともちもち感は、30%が最も高く、しっとり感と甘味は、炊飯米置換率が高まるほど向上した。一方、米粉パンはすべての官能評価項目において小麦粉パンと有意差は見られなかった。

製パン材料に炊飯米を利用すると製パン性、風味や食感が改善され、総合的に判断して、最適置換率は30%であった。

食品総合研究所研究報告, 74, 37 - 44 (2010)

製粉方法の異なる米粉の特性と製パン性の関係

與座 宏一, 松木 順子, 岡留 博司, 岡部 繭子, 鈴木啓太郎,
 奥西 智哉, 北村 義明, 堀 金 彰, 山田 純代, 松倉 潮

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

ハンマーミル、ピンミル、気流製粉機などを用いて10種類の製粉方法の異なる米粉を調製した。米粉80%、グルテン20%の割合で配合し、80%加水条件でストレート法によりワンローフ型パンの製パン試験を行い、米粉の特性との関連性を調べた。米粉の特性として、平均粒径は40.9 ~ 407.2 μm であり、損傷デンプン含量は6.1 ~ 27.1%であった。また、米粉パンの比容積は1.98 ~ 3.82 mL/g であった。損傷デンプンとパンの比容積の間には負の相関性 ($r = -0.670$, $p < 0.05$) がみられた。平均粒径と比容積の間には相関性がみられなかった。

Breads made from rice flours prepared by different milling methods

Koh-ichi Yoza, Junko Matsuki, Hiroshi Okadome, Mayuko Okabe, Keitaro Suzuki,
 Tomoya Okunishi, Yoshiaki Kitamura, Akira Horigane, Sumiyo Yamada, and Ushio Matsukura

National Food Research Institute

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74(1), 209–211(2010)

Effect of glycerophospholipid class on the β -carotene uptake by human intestinal Caco-2 cells

Eiichi Kotake-Nara*, Lina Yonekura*, Akihiko Nagao*

*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

ヒト腸管 Caco-2 細胞による混合ミセル可溶性 β カロテン取込みに対するグリセロリン脂質の影響を検討した。ホスファチジルエタノールアミンはミセルから細胞への β カロテンの透過を促進した。しかし、ホスファチジルコリンは β カロテンとの親和性が高く、透過を抑制した。このようにジアシル型では極性基の種類によって効果が異なった。一方、実験に供した全てのリゾリン脂質は、極性基の種類に関係なく促進効果を示した。このように、グリセロリン脂質は、カロテノイドの腸管吸収に影響を与える可能をもつことが明らかとなった。

ヒト腸管 Caco-2細胞によるベータカロテン取込みに対するグリセロリン脂質クラスの影響

小竹 - 奈良英一*, 米倉 リナ*, 長尾 明彦*

*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

日本食品工学会誌, 10(2), 95 - 106 (2009)

粉碎方法および粒子径が米粉の Carr の流動性指数および噴流性指数に与える影響

五月女 格, 津田 升子, 岡部 繭子, 大島紗也香, ムハマドシャリフホッセン,
板倉真由実, 竹中真紀子, 岡留 博司, 五十部誠一郎

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

微粉碎された米粉を用いる際に、食品加工機械に対して問題を起こす流動性の低下について調査するため、ウルチ米精米および玄米ならびにモチ米精米を原料として用い、平均粒径 3 ~ 30 μ m の試料をジェットミルで、30 ~ 100 μ m の試料をハンマーミルにて調製し、Carr の流動性指数および噴流性指数、ならびに表面粗度の測定を行った。試料の平均粒径が小さくなるに従い水分および表面粗度は低下したが、試料の流動性は平均粒径が 15 μ m までは小さくなるに従い低下し、平均粒径が 3 μ m になると精米粉では流動性は変化せず玄米粉では流動性が向上した。平均粒径 30 μ m 以下の米粉試料の流動性は、伝統的な米粉の一種である上新粉と比較すると低く、小麦粉と比較すると同程度であり、微粉碎された米粉を食品加工に使用するには、飛散や詰まりに注意する必要があることが明らかになった。

Food Science and Technology Research, 15(3), 225–232(2009)

Solute adsorption and gel-layer formation during ultrafiltration of ovalbumin

Hiroshi Nabetani*, Mitsutoshi Nakajima*, Shoji Hagiwara*, Atsuo Watanabe**, Shin-ichi Nakao***, Shoji Kimura***

*Food Engineering Division, National Food Research Institute, NARO

**Membrane & Separation Research Circle of Food

***Department of Chemical System Engineering, The University of Tokyo

卵白アルブミンの限外ろ過時における、浸透圧、溶質吸着およびゲル層形成の影響を明らかにするため、膜面上に形成されるゲル状の堆積層の特性を評価するとともに、膜に対する卵白アルブミンの吸着速度を異なる条件下で測定した。その結果、膜面上に観察されるゲル状の堆積層は、変性した卵白アルブミンの凝集物により形成されるものであり、この凝集物は、遠心分離により除去できるものであることが明らかとなった。この堆積層は、卵白アルブミン自身に対する阻止性能を有しているものの、溶媒の透過に対しての抵抗として作用することはほとんどない。膜面上にゲル状の堆積層が形成される場合および形成されない場合の両者において、浸透圧の影響と溶質吸着の影響を考慮した「浸透圧 - 吸着抵抗モデル」を用いることにより、膜透過流速を正確に推算することができた。卵白アルブミン溶液を膜細孔内に送り込むことにより、膜を卵白アルブミン溶液に浸漬した場合に比較して、吸着平衡に到達するまでの時間が短縮された。このことから、膜細孔内での溶質吸着が膜の透過抵抗の変化に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。

Food Science and Technology Research, 15(3), 245–248(2009)

Reduce of Oxidation Index Value of Fish Oils Using Hydrophobic Nonporous Denser Membrane Process

Atsushi Miyagi* , Hiroshi Nabetani** , Mitsutoshi Nakajima***

*Chiba Industrial Technology Research Institute

**National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

***Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

膜ろ過法を用いることにより魚油中の酸化成分を除去し、油脂の精製を行うことを試みた。回分式のセルに装着した疎水性膜を用いることによりヘキサンで希釈した魚油をろ過した。過酸化価、アニジジン価及び TOTOX は、それぞれ、58 - 72%、45 - 75%、53 - 73% 低減された。膜により処理により、不飽和に基づく有用な機能性を維持したまま、オフフレーバーや着色の原因となる酸化物質を効率的に取り除くことができた。

Journal of Chemical Engineering of Japan, 43(3), 261–268(2010)

Analysis of permeability of organic solvents through a composite dense nonporous membrane

Atsushi Miyagi* , Moriyasu Murata** , Hiroshi Nabetani*** , Mitsutoshi Nakajima**** and Rangaswamy Subramaniam*****

*Chiba Industrial Technology Research Institute

**Murata Technology and Innovation Consulting

***National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

****Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

*****Department of Food Engineering, Central Food Technological Research Institute, Council of Scientific and Industrial Research

シリコンを活性層とした非多孔質膜を用いて種々の有機溶剤の透過性を比較し、定常状態における有機溶剤の透過メカニズムの解析を行った。有機溶剤の透過性については、溶剤と膜との溶解度パラメータの差と溶媒の分子量により評価した。これらのパラメータを用いることにより、非水系における膜透過現象を正確に表現できることが明らかとなった。

Membrane, 34(6), 336–341(2009)

Purification of physiologically active chitosan oligosaccharides by means of nanofiltration membrane

Takashi Kuroiwa* , Izuta Hiroshi** , Hiroshi Nabetani*** , Mitsutoshi Nakajima** ,
Seigo Sato** , Sukekuni Mukataka** , Sosaku Ichikawa**

*Faculty of Engineering , Tokyo City University

**Graduate School of Life and Environmental Science , University of Tsukuba

***Food Engineering Division , National Food Research Institute , NARO

ナノろ過膜を用いることにより、生理活性機能を有したキトサンオリゴ糖の精製を試みた。ろ過条件の最適化の結果、連続透析ろ過を実施することにより、キトサンオリゴ糖の純度を、30%から77%に向上できることが明らかとなった。

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 73(7), 1586–1590(2009)

Visualization and Quantification of Three-Dimensional Distribution of Yeast in Bread Dough

Tatsuro Maeda*, Gab-Soo Do**, Junichi Sugiyama***, Tetsuya Araki****, Mizuki Tsuta***, Seizaburo Shiraga*****,
Mitsuyoshi Ueda*****, Masaharu Yamada*, Koji Takeya*****, Yasuyuki Sagara****

*Research Center for Basic Sciences, Nisshin Seifun Group, Inc.,

**College of Bioresource Sciences, Nihon University

***National Food Research Institute

****Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

*****Graduate School of Agriculture, Kyoto University

*****Director, Wheat Flour Institute, Flour Millers Association

細胞表層工学の導入により、パン生地中の酵母の3次元分布とその定量化を行うバイオイメージング技術を開発した。可視化された酵母は520nmの波長で明るく光る。試料の凍らせたパン生地は、蛍光観察装置を備えたマイクロスライサ装置で、1ミクロンの厚さで連続切削され、3次元構築するために各画像を撮影した。ミキシングのピックアップ段階では、酵母間の平均最短距離は、10.7 μ m、クリーンアップ段階では、9.7 μ m、ファイナル段階では、9.0 μ m、オーバーミキシング段階では、10.2 μ mであった。この結果は、食パンのパン生地においてはファイナル段階の状態が酵母も最も均一に分布していることを表しており、オーバーミキシング段階ではグルテンの崩壊によりかなり偏った分布になっていると推察された。

パン生地における酵母の3次元分布の可視化と定量化

前田 竜郎*, 都甲 洙**, 杉山 純一***, 荒木 徹也****, 薫 瑞樹***, 白神清三郎*****, 植田 充美*****,
山田 昌治*, 竹谷 光司*****, 相良 泰行****

*株式会社日清製粉グループ本社基礎研究所

**日本大学生物資源科学部生物環境工学科

***独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

****東京大学大学院農学生命科学研究科

*****京都大学大学院農学研究科

*****製粉協会

Food Science and Technology Research, 15(4), 361–366(2009)

Visualization of food additive effects on prawn properties by near infrared spectral imaging

Takehiro Sugiyama*, Mizuki Tsuta**, Junichi Sugiyama**, Tetsuya Araki*, Yasuyuki Sagara*

*Department of Global Agricultural Sciences, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

**National Food Research Institute

***Food Kansei Communications

近赤外イメージングにより、エビの断面の直接観察を行った。純水、食塩水、リン酸3ナトリウムに24時間浸した生エビとゆでエビを試料とした。それぞれの濃度は、0.5%、1%、4%の3段階とした。近赤外照明を照射された試料断面を、氷の吸収波長をもった1500nmのバンドパスフィルタを通して近赤外カメラで観察し、定量評価を行った。筋繊維が明瞭に観察できるとともに、それぞれの食品添加物の効果が確認できた。

近赤外イメージングによるエビに対する食品添加物の効果の可視化

杉山 武裕*, 薫 瑞樹**, 杉山 純一**, 荒木 徹也*, 相良 泰行****

*東京大学大学院農学生命科学研究科科学農業部門のグローバル

**独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

***一般社団法人食感性コミュニケーションズ

フードシステム研究, 16(3), 94 - 99 (2009)

保育所におけるSEICA利用による食農教育に関する情報提供の効果

河合 幹裕*, 杉山 純一*, 伴 亜紀**, 田村三津子**

*独立行政法人食品総合研究所

**宇治田原町保育所

食農教育における情報提供の手法に注目し、情報源の違いが保護者の意識や行動にどのような変化をもたらすのか把握し、効果的な情報提供の手法を検討した。

Effects of Dietary Education using SEICA database in a nursery school

Mikihiro Kawai*, Junichi Sugiyama*, Aki Ban**, Mitsuko Tamura**

*National Food Research Institute

**Ujitawara nursery school

表面科学, 30(8), 427 - 432, 2009

走査型プローブ顕微鏡応用によるゲノム解析技術の開発

杉山 滋*, 塚本 和己*, 山内 武志*, 吉野 智之*, 高橋 宏和*, 桑崎 誠剛**,
末次 克行**, 生川 潤子**, 山本 公子**, 大谷 敏郎***

*農研機構食総研
**農業生物資源研究所
***食品安全委員会

近年の次世代シーケンサ等に代表される塩基配列解読技術の進歩により, 数年前には困難であった, 大量 (数百~数千 Mb) の塩基配列の解読が可能となっている. しかしながら, これら装置で解読できる塩基長に限られているため, 解析に用いる指標となるゲノム上の情報を持たない生物種では, 配列の整列化 (アセンブル) はきわめて困難であり, 実際の遺伝子単離や育種に応用できる情報を得るには, 困難性が非常に高い. そこで本研究では, 原子間力顕微鏡を用いて解析対象とする特定位置のゲノム領域を切断回収し, 位置情報を有する塩基配列を得る技術を開発して, 対象となる塩基配列の位置を高精度で特定することにより, ゲノム解析のさらなる迅速化に貢献することをめざした.

表面科学, 30(9), 484 - 490 (2009)

トウモロコシ澱粉内部構造の AFM 観察

塚本 和己*, 大谷 敏郎**, 杉山 滋*

*農研機構食品総合研究所
**食品安全委員会

澱粉は高等植物の光合成により生産され, 食品 (素材) として重要であるばかりでなく, 様々な工業的用途にも広く利用されている. しかしながら, 長年の研究にもかかわらず, 澱粉の高次構造に関してはいまだ不明な点が残されていることも事実である. そこで, 本研究グループでは, トウモロコシ澱粉を試料とし, ナノスケールでのイメージングが可能な原子間力顕微鏡と樹脂包埋切片法を組み合わせた手法を用いて, 澱粉の内部高次構造の解析を行った. その結果, これまでに報告されているブロックレット構造と共に, アミロペクチンのクラスタ構造に由来すると思われる数十 nm 幅の繊維状の構造を可視化できた. 特にブロックレット構造では, 成長リングに沿って配列した大きなブロックレットと全面に散在する小さいブロックレットを観察することに成功した.

Analytical Sciences, 25(12), 1381-1383(2009)

Rolling circle amplification for signal enhancement in ovalbumin detection

Toshiro Kobori*, Atsuko Matsumoto*, Hirokazu Takahashi*, Shigeru Sugiyama*

*National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization

主要食品アレルゲンであるオボアルブミンの検出信号を向上させる免疫ローリングサークル法を開発した. 反応系に蛍光色素と環状 1 本鎖 DNA プローブを添加してローリングサークル増幅反応を進行させることにより, 10 - 1210 - 10g/mL のオボアルブミンが検出可能となった.

小堀 俊郎*, 松本 敦子*, 高橋 宏和*, 杉山 滋*

*農研機構食品総合研究所

Journal of Biological Chemistry, 284(51), 35507–35513(2009)

The transient receptor potential channels TRPP 2 and TRPC 1 form a heterotetramer with a 2:2 stoichiometry and an alternating subunit arrangement

Toshiro Kobori*, ***, Graham D. Smith**, Richard Sandford**, J. Michael Edwardson*

*Department of Pharmacology, University of Cambridge

**Department of Medical Genetics, Cambridge Institute for Medical Research, Addenbrooke's Hospital

***National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization

ポリシスチンタンパク質をコードする TRP チャネル (TRPP 2) の遺伝子異常は多発性嚢胞腎を引き起こす。TRPP 2 はホモ多量体を形成してチャネル機能を発現すると共に、別の TRP チャネルタンパク質である TRPC 1 とヘテロ多量体を形成して機能を変化させることが知られている。しかし、TRPP 2 ホモ多量体及び TRPC 1 とのヘテロ多量体形成に関する知見はない。本研究では培養細胞で発現させた TRPP 2 もしくは TRPP 2 / TRPC 1 を精製し、原子間力顕微鏡によって単粒子解析を行った。その結果、TRPP 2 単独ではホモ 4 量体を形成する一方、TRPC 1 存在下ではヘテロ 4 量体を形成することが判明した。このヘテロ 4 量体では、TRPP 2 と TRPC 1 が 2 : 2 の割合で交互に結合していることを明らかにした。

Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 74(2), 408–410(2010)

Structural changes in cuticles on violin bow hair caused by wear

Tomoko Yamamoto*, Shigeru Sugiyama*

*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization.

バイオリンの弦に使用される馬の尻毛が演奏による損耗による経過を、原子間力顕微鏡により尻毛表面のキューティクル形状変化を高分解能で観察することにより解析した。

杉山 滋*, 山本 智子*

*農研機構食品総合研究所

農業機械学会誌, 71(5), 45 - 53 (2009)

稲わら由来のバイオエタノール生産におけるエタノール変換効率の違いがコスト、CO₂排出およびエネルギー収支に及ぼす影響

折笠 貴寛*, 徳安 健**, 井上 貴至***, 小島 浩司***, ロイポリトシュ**, 中村 宣貴**, 椎名 武夫**

*宮城大学食産業学部

** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

*** (株) 三菱総合研究所

稲わらからのバイオエタノール生産に関して、エタノール変換率がコスト、CO₂排出量、エネルギー収支に及ぼす影響について解析した。ライフサイクルアセスメント手法により、濃硫酸加水分解糖化法に基づくプロセスを解析対象として、シナリオに基づく解析を実施した。その結果、バイオエタノール変換率は、コスト、CO₂排出量およびエネルギー投入量に大きな影響を及ぼすことがわかった。また、リグニンをボイラで燃焼させ、エネルギーを熱回収するシステムを取り入れることが CO₂削減効果およびエネルギー収支を向上させるために必要不可欠であることが示された。今後、バイオエタノール生産におけるトータルコストを低減させるためには、高効率なバイオエタノール変換技術の開発だけでなく、バイオマスの高効率収集システムの開発が必要であることが示唆された。

Effect of ethanol conversion efficiency on cost, CO₂ emission and energy balance in the bioethanol production system from rice straw

Takahiro Orihara*, Ken Tokuyasu**, Takashi Inoue***, Koji Kojima***, Poritosh Roy**, Nobutaka NAKAMURA**, Takeo SHIINA**

*Miyagi University

**National Food Research Institute

***Mitsubishi Research Institute, Inc.

HortScience, 44(7), 1941–1946(2009)

Characteristics of sugar content in different sections and harvest maturity of bamboo shoots

Manasikan Thammawong*, Daisuke Nei*, Poritosh Roy*, Nobutaka Nakamura*, Yuuichi Inoue**,
Hidenobu Hamachi***, Shigeyuki Nonaka****, Takeo Shiina*

*National Food Research Institute
**Yamaguchi Prefectural Forestry Guidance Institute
***Fukuoka Forest Research and Extension Center
****Fukuoka Special Forest Product Promotion Association

部位および収穫時の成熟度合いが、タケノコの糖含量に及ぼす影響について検討した。タケノコに含まれる主要な糖は、スクロース、グルコース、フルクトースであった。糖含量は、先端部で少なく、基部で多い傾向にあった。糖含量は、先端部が地上に出現したタケノコに比べて、出現前のタケノコで多かった（有意差あり）。同時期に収穫された久留米産タケノコと合馬産タケノコとの間には、糖含量に関する有意差は認められなかった。

部位および収穫時の成熟度合いがタケノコの糖含量に及ぼす影響

タンマウォンマナシカン*, 根井 大介*, ロイポリトツシュ*, 中村 宣貴*,
井上 祐一**, 高地 秀展***, 野中 重之****, 椎名 武夫*

*農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
**山口県農林総合技術センター
***福岡県森林林業技術センター
****福岡県特用林産振興会

日本食品保蔵科学会誌, 36(2), 67 - 74 (2010)

トマト‘桃太郎’緑熟果実の追熟過程における果皮色および果実硬度変化の積算エチレン生成量による予測

中村 宣貴*, 徐歩前**, マナシカン タンマウォン*, 伊藤博孝***, 北川麻美子***, 稲熊隆博***, 伊藤康博*, 椎名武夫*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
**華南農業大学 園芸学院
***カゴメ株式会社総合研究所

本研究では、トマト緑熟果（桃太郎）の最適収穫時期判別に資することを目的として、その追熟過程における果皮色および果実硬度の変動を予測するための指標の作成を試みた。個体ごとのトマト緑熟果の呼吸速度とその積算値、エチレン生成速度とその積算値、果皮色および果実硬度変動の関係について詳細に解析した。

その結果、調査期間中に、それぞれの測定項目は特徴的な経時変化パターンを示した。そして、エチレン積算値を用いることで果皮色、果実硬度の変動を個体差無く表せることが明らかとなった。また、着色は高濃度のエチレン生成により誘導されるが、果実硬度低下は低濃度のエチレン生成でも進行する事が示唆された。以上の結果より、エチレン積算値を用いることで、トマト果実の追熟予測が可能であることが示された。

Prediction of color and firmness changes in mature green tomato (cv. Momotaro) during ripening by cumulative ethylene production

NAKAMURA Nobutaka*, XU Buqian**, THAMMAWONG Manasikan*, ITO Hirotaka***,
KITAGAWA Mamiko***, INAKUMA Takahiro***, ITO Yasuhiro* and SHIINA Takeo*

*National Food Research Institute, NARO
**College of Horticulture, South China Agricultural University
***Kagome Co.,Ltd.

宮城大学紀要, 4(1), 23 - 28 (2010)

卸売市場流通における CO₂排出量削減の可能性

折笠 貴寛*, ロイポリトシュ**, 根井 大介**, 中村 宣貴**, 椎名 武夫**

*宮城大学食産業学部
** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

青果物卸売市場流通に関わる CO₂排出量の解析を行い、卸売市場流通における環境負荷低減の可能性について検討し、以下の結果を得た。

1. 輸送の大型化かつトラックの積載率向上による輸送の効率化により、CO₂排出量削減効果が認められた。
2. 複数出荷先への輸送方法の違いが CO₂排出量に及ぼす影響を調査した結果、分荷・転送機能を利用することで、2市場直送と比べて約29%の CO₂排出量削減効果が認められた。また、小規模個別輸送（5か所への個別輸送）と比較すると、約50%の CO₂削減効果がある。
3. 500kmの輸送にモーダルシフトを導入することにより、船舶で約35%、鉄道で約58%と大幅な CO₂排出量削減効果が期待される。
4. トラックのアイドリングによる CO₂排出量は大きく、24時間受け入れの導入による待ち時間ゼロ化は、卸売市場流通における CO₂排出量削減に貢献するものと期待できる。

Possibility of CO₂ emission abatement of fresh produce distribution through wholesale market

Takahiro Oriyasa*, Poritosh Roy**, Daisuke Nei**, Nobutaka Nakamura**, Takeo Shiina**

*Miyagi University
**National Food Research Institute

Japan Agricultural Research Quarterly, 43(2), 129-135(2009)

Vibration and shock analysis of fruit and vegetables transport -Cherry transport from Yamagata to Taipei-

Yutaka ISHIKAWA*, Hiroaki KITAZAWA* and Takeo SHIINA*

*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

山形から台湾まで段ボール箱に入れたサクランボを輸送した。段ボール箱の中にサクランボとともに振動計をセットして輸送中の振動・衝撃を計測した。飛行機輸送中の振動は、高周波数成分が多く、ピーク周波数が約80Hzであり、トラック輸送とは全く違うものであった。国内と台湾でのトラック輸送を比較した結果、振動特性が異なり、国内輸送は1 - 2 Hzの低周波数成分が低く、振動抑制効果の高いエアサス仕様のトラックが使われていると推察された。一方、台湾では低周波数成分が多く見られ、リーフサス車が使われていたことが推察された。衝撃については、出発前の山形でのトラックへの積み込みや成田、台湾での通関、検疫時には衝撃頻度は少なく、加速度値も低かった（10G以下）。輸送中最も多くの衝撃を受けたのが飛行機への荷の積み込み時、飛行機からの荷の積み降ろし時であった。特に飛行機への積み込み時に輸送中最大の加速度（約60G）が計測された。また、台湾での通関・検疫時にも比較的大きな衝撃が見られた。最後の台湾でのトラック輸送時には、最大加速度が20G近くあり、国内に比べる大きな衝撃が見られ、荷扱いの違いが大きいことがわかった。

石川 豊*, 北澤 裕明*, 椎名 武夫*

*(独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

日本包装学会誌, 18(4), 271 - 279 (2009)

CFDによる微細孔フィルムのヒートシール温度解析

石川 豊*, 北澤 裕明*, 阿部 真*, 胡 耀 華*, 鈴木 芳孝**

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
**高知県農業技術センター

簡易なMA(Modified Atmosphere)包装として、青果物をフィルム包装する際にシール部に一定間隔で非溶着の微細空隙を作り、この部分でガス透過性を調節する「パーシャルシール包装」が提案され、実用化されている。しかし、設定温度などのヒートシール条件は現場においてトライアンドエラーで決めていることが多い。本報では、CFD(数値流体力学)を利用してヒートシールローラーとフィルムが接触する瞬間における微小空間の温度変化をシミュレーションした。パーシャルシール包装として実際に運転しているシールローラーの回転速度、加熱温度、フィルムとの接触面積などの条件を入力すると溶着面温度は約125℃と計算され、フィルムのヒートシール温度と引張り強度の関係から求めた適温範囲内にあることが確認された。このように、CFDによるフィルム内温度変化シミュレーションがパーシャルシール包装のヒートシール温度解析に適用可能であることが確認できた。

Analysis of Heat Sealing Temperature of Polymeric Film with a Perforation by Computational Fluid Dynamics (CFD)

Yutaka ISHIKAWA*, Hiroaki KITAZAWA*, Makoto ABE*, Yaohua HU* and Yoshitaka SUZUKI**

*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization
**Kochi Agricultural Research Center

Journal of Food Engineering, 96(4), 614–620(2010)

Measurement of impact pressure and bruising of apple fruit using pressure-sensitive film technique

Fei Lu*, ***, Yutaka Ishikawa**, Hiroaki Kitazawa**, Takaaki Satake*

*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

**Food Packaging Laboratory, Food Engineering Division, National Food Research Institute

***College of Food Science, Shenyang Agricultural University

リンゴ果実に実際にかかる衝撃圧力を感圧フィルムを使った方法で測定し、損傷性のデータと比較することにより、トラック輸送や荷扱い時の衝撃負荷により発生するリンゴの損傷を予測するモデルを作成した。リンゴを異なる高さ、異なる落下面で落下させ、発生する傷の面積および体積を感圧フィルムにより得られる衝撃圧を元にした回帰式で表した。それらの式は非常に相関を示した。

感圧フィルムを使ったリンゴ果実にかかる衝撃圧と傷の発生

路 飛*, ***, 石川 豊**, 北澤 裕明**, 佐竹 隆顕*

*筑波大学

** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

***瀋陽農業大学 食品学院

園芸学研究, 9(1), 107 - 112 (2010)

収穫から選果までの間にレモン果実が受ける衝撃解析

池田 裕朗*, 石川 豊**, 北澤 裕明**, 路 飛**, 赤阪 信二*, 塩田 俊*

*広島県立総合技術研究所農業技術センター果樹研究部三原分室

**独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

レモン果実を収穫してから運搬、選果ラインを通過して箱詰めされるまでの間に受ける衝撃の大きさおよび回数を計測し、その発生原因についても同時に検証した。レモン果実が受ける衝撃測定は、発泡スチロール内に衝撃センサーを組み込んだ擬似レモンを作成して調査に用いた。収穫から運搬、選果場でのライン搬送を通じて最も衝撃が大きく、回数も多かったのは選果ラインであった。次が収穫時であり、トラック輸送では衝撃は少なかった。選果時における衝撃は、コンテナ反転から選果台まで移動する間の段差、乾燥工程での段差、サイズ選別のための回転ドラム、光センサーに入る手前の段差、選果レーンから箱詰めラインへの落下・壁への衝突が主な衝撃発生原因であった。擬似レモンを用いた落下高と衝撃の大きさは、 $G = 6.97$, $H0 = 5416$ (G : 衝撃加速度, H : 落下高) の関係が認められた。レモン果実は果頂部が尖っており、その部分から落下した場合に特に衝撃が大きくなり、ウンシュウミカン用の選果ラインでレモン果実を選果する場合には何らかの衝撃軽減対策を講じる必要があると考えられた。

Shock Analysis of Lemon Fruit from Harvesting to Packinghouse Lines

Hiroaki Ikeda*, Yutaka Ishikawa**, Hiroaki Kitazawa**, Fei Lu**, Shinji Akasaka* and Takashi Shioda*

*Mihara Branch, Fruit Research Division, Agricultural Technology Research Center, Hiroshima Prefectural Technology Research Institute

**National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

Journal of Applied Horticulture, 11(1), 54–55(2009)

Effects of the addition of clinker ash to the propagation medium on rooting of rabbiteye blueberry cuttings

Takuya Ban*, Hiroaki Kitazawa*, Shingo Matsumoto*, Nobuo Kobayashi*, Kenji Tokumasa***, Masashi Kobatake***, Toshiki Asao*

*Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University

**National Food Research Institute

***Energia Economic and Technical Research Institute, The Chugoku Electric Power Co., Inc.

現在日本において、ラビットアイブルーベリーの栄養繁殖には、ピートモスと鹿沼土の混合培地の使用が推奨されている。近年、鹿沼土の枯渇が懸念されていることをふまえ、本実験では、良好な水はけ特性を有する石炭灰の一種であるクリンカアッシュが、鹿沼土の代替資材として利用可能であるかどうかを検討した。クリンカアッシュとピートモスを幾つかの比率で混合し、同じ比率で鹿沼土とピートモスとを混合した場合と挿し木の生存数および地下部の乾物重を比較した。その結果、各混合割合において、両者の生育に差はみられず、クリンカアッシュは鹿沼土の代替資材として利用可能であるものと考えられた。また、地下部の乾燥重とクリンカアッシュの混合割合との間には、二次回帰分析において有意な相関が認められ、これによるとピートモスへのクリンカアッシュの混合率を40%とした場合に、地下部の乾物重は最大になるものと推定された。

培土へのクリンカアッシュの添加が、ラビットアイブルーベリーの挿し木の発根に及ぼす影響

伴 琢也*, 北澤 裕明**, 松本 真悟*, 小林 伸雄*, 徳政 賢治***, 小畠 正至**, 浅尾 俊樹*

*島根大学生物資源科学部

** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

***中国電力エネルギー研究所

日本包装学会誌, 19(1), 33 - 42 (2010)

底面緩衝材による1段トレー包装されたイチゴの振動による損傷の軽減

北澤 裕明*, 石川 豊*, 路 飛*, 胡 耀 華**, 中村 宣貴*, 椎名 武夫*

* (独) 農研機構 食品総合研究所
** 西北農林科技大学機械電子工程学院

一段トレー包装されたイチゴの振動による損傷を防止するための基礎研究として、この包装における底面緩衝材の違いが果実への振動伝達特性および果実の損傷発生に及ぼす影響を調査した。底面緩衝材として段ボール板または発泡ウレタンを用いた場合、対照である緩衝材を配置しない場合と比較し振動伝達率は増大し、それにともなって果実の損傷は増加した。これらの結果は、不適切な緩衝材の使用は、むしろ損傷を増大させることを示唆している。一方、密度 $8.7 \times 10^{-2} \text{g/cm}^3$ 、25%圧縮特性26.9kPaの特性を持つゴムスポンジを底面緩衝材として用いた場合、果実への振動伝達は減少されたとともに、果実の損傷は軽減された。従って、この素材に類似した物性を持つ緩衝材をイチゴの一段トレー包装に用いることにより、輸送中の振動による損傷を軽減できる可能性が考えられた。現在、これらの知見に基づき最適な緩衝材の探索を進めている。

Alleviation of strawberry bruising due to vibration using 1-layer packaging with cushioning

Hiroaki KITAZAWA*, Yutaka ISHIKAWA*, Fei LU*, Yaohua HU**, Nobutaka NAKAMURA* and Takeo SHIINA*

*National Food Research Institute National Agriculture and Food Research Organization
**College of Mechanical and Electronic Engineering, Northwest Agriculture and Forestry University

Packaging Technology and Science, 23(2), 101-109(2010)

Effect of vehicle speed on shock and vibration levels in truck transport

Fei Lu*, **, Yutaka Ishikawa*, Hiroaki Kitazawa*, Takaaki Satake***

*Food Packaging Laboratory, Food Engineering Division, National Food Research Institute
**College of Food Science, Shenyang Agricultural University
***Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

日本国内のトラック輸送中に発生する振動および衝撃を連続計測し、そのデータを振動と衝撃に分離して解析を行った。特に振動および衝撃に及ぼすトラック走行スピードの影響を検討した。振動と衝撃を含む従来のデータと、そこから衝撃を除いた振動データには有意な違いが見られた。振動と衝撃を含む加速度データでは、一般道の45-59 km/hで最も大きな値を示した。これは高速道走行時の振動加速度よりも大きい値であった。45km/h以下の速度で走行した場合には、速度の増加に従い加速度も増加し、45 km/h以上ではほぼ一定の値を示した。

Zoological Science, 26, 238 - 242 (2009)

High hydrostatic pressure tolerance of four different anhydrobiotic animal species

Daiki D. Horikawa*, **, Ken-Ichi Iwata**, Kiyoshi Kawai***, Shigenobu Koseki***, Takashi Okuda**, Kazutaka Yamamoto***

*Graduate School of Science, The University of Tokyo
**National Institute of Agrobiological Sciences
***National Food Research Institute, NARO

高静水圧 (HHP) はDNA、蛋白質、脂質に物理的な変化を誘導し、生物に致死の若しくは亜致死の損傷をもたらす。しかしながら、動物の高圧耐性は十分に研究されていない。本研究では、乾燥によって乾眠状態 (anhydrobiosis) に入ることが可能な四種類の乾眠無脊椎動物 (クマムシ *Milnesium tardigradum*; Plectidae 科の線虫属; *Polypedilum vanderplanki* の幼虫; *Artemia franciscana* の乾燥耐久卵) の高圧耐性を、1.2GPaに20分間暴露することによって調べた。この暴露により、通常の水和状態にある乾眠動物は殺滅したが、乾眠状態にある場合は生残性は影響されなかった。これら結果により、水合状態の乾眠動物は高静水圧に弱い。1.2 GPaの高静水圧は乾眠状態の乾眠動物を殺滅するには十分でないことが示された。

International Journal of Food Microbiology, 134(1,2), 75–82(2009)

Microbial Responses Viewer (MRV): A new ComBase-derived database of microbial responses to food environments

Shige Koseki*

*National Food Research Institute

本研究では細菌の増殖/非増殖データを既存の国際予測微生物データベース ComBase (コンベース, <http://www.combase.cc/>) に収録されているデータから抽出して, 食品産業界が要望しているデータを容易に検索可能とする新たな微生物挙動データベースを開発することを目的とした。その結果, 食中毒菌および腐敗菌を含む29種類の菌種, 18種類の食品群における細菌の増殖する/しない環境条件(温度, pH, 水分活性)と, 増殖速度の情報を一括して検索可能とした微生物挙動に関するデータベース MRV (Microbial Responses Viewer) を開発した。

Applied and Environmental Microbiology, 75(7), 1885–1891(2009)

Prediction of a required log reduction with probability for *Enterobacter sakazakii* during high-pressure processing, using a survival/death interface model

Shige Koseki*, Maki Matsubara*, Kazutaka Yamamoto*

*National Food Research Institute

高圧処理による培地中 (TSB) および乳幼児用調製粉乳中 (IF) における *Enterobacter sakazakii* の不活化を予測するための確率的な数理モデルを開発した。開発したモデルは処理圧力 (400, 450, 500, 550, or 600MPa), 処理時間 (1, 3, 5, 10, or 20min), 処理温度 (25 or 40 °C), 初期菌数 (10^3 , 10^5 , or 10^7 log₁₀ CFU/ml), および培地環境 (TSB or IF) の組合せ300通りの実験結果をもとに構築した。本モデルによれば, 必要とする桁数減少をその確実性ととも予測することができる。また, 一般的に高圧処理における細菌数の時間変化は非線形な挙動を示すことから, 従来からの指標である D 値を用いることは困難であるが, 本モデルはそれらの問題を克服した, 新たな予測手法を提案した。

日本冷凍空調学会論文集, 26(4), 371 - 386 (2009)

食品凍結中に磁場が及ぼす効果の実験的検証

鈴木 徹*, 竹内 友里*, 益田 和徳*, 渡辺 学*, 白 樫 了**, 福田 裕***, 鶴田 隆治****, 山本 和貴*****, 古賀 信光*****, 比留間直也*****, 一岡 順*****, 高井 皓*****

*東京海洋大学海洋科学部

**東京大学生産技術研究所

***水産大学校食品科学科

****九州工業大学工学研究院機械知能工学研究系

*****独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

*****前川製作所技術研究所

*****東洋製作所研究開発部

*****日本冷凍空調学会

近年磁場を利用した食品冷凍冷蔵装置が, 食品製造企業, 消費者, マスメディアから注目を集めているが, これら冷凍装置の効果は科学的に検証されていない。そこで, 実験的及び理論的に, その効果を解明する必要がある。本研究では, 弱磁場 (約0.0005 T) が数種の食品の冷凍過程に及ぼす影響を, 磁場発生装置を備えた特製冷凍機を用い, 凍結曲線, ドリップ量, 色及びテクスチャーの理化学的特性評価, 微細構造観察, 官能評価により調べた。対照実験との比較から, 実験条件を考慮しても, 0.0005Tの弱磁場は, 凍結過程での温度履歴及び凍結食品の品質に有意な差が見られないことが明らかとなった。

Experimental Investigation of Effectiveness of Magnetic Field on Food Freezing Process

Toru SUZUKI*, Yuri TAKEUCHI*, Kazunori MASUDA*, Manabu WATANABE*, Ryo SHIRAGASHI**, Yutaka FUKUDA***, Takaharu TSURUTA****, Kazutaka YAMAMOTO*****, Nobumitsu KOGA*****, Naoya HIRUMA*****, Jun ICHIOKA*****, Kiyoshi TAKAI*****

*Dept.Food Sci.&Technol., Tokyo University of Marine Science and Technology

**Institute of Industrial Science, The University of Tokyo

***Dept.Food Sci.&Technol., National Fisheries University

****Dept.Mech.Eng., Kyusyu Institute of Technology

*****National Food Research Institute, NARO

*****R & D Center, Mayekawa MFG Co.,Ltd.

*****R & D Dept., Toyo Engineering Works, Ltd.

*****Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers

Journal of Bioscience and Bioengineering, 107(4,)379–382(2009)

Characterization of spontaneous flocculation mutant derived from *Candida glabrata*: a useful strain for bioethanol production

Itsuki WATANABE*, Toshihide NAKAMURA* and Jun SHIMA*

*National Food Research Institute

Candida glabrata 由来の自然発生凝集性変異株 (Cgflo1) を取得した。Cgflo1の凝集はカルシウムイオンやマグネシウムイオンのような二価カチオンに依存し、ガラクトースにより阻害される。Cgflo1は高温条件でも凝集性を示し、バイオエタノール生産に有用であると考えられた。

バイオエタノール生産に有用な *Candida glabrata* 由来の自然発生凝集性変異株の特徴づけ

渡邊 樹*, 中村 敏英*, 島 純*

*(独) 農研機構 食品総合研究所

Journal of Bioscience and Bioengineering, 108(3), 216–219(2009)

Prevention of bacterial contamination using acetate-tolerant *Schizosaccharomyces pombe* during bioethanol production from molasses

Pramuan SAITHONG*, Toshihide NAKAMURA* and Jun SHIMA*

*National Food Research Institute

糖蜜からのエタノール生産において、細菌汚染はエタノール収量を減少させる。細菌汚染を防止するために、酢酸を添加して細菌の増殖を抑制し、酢酸耐性酵母によって発酵を行うシステムを試みた。酢酸耐性酵母としては、分裂酵母 1 株を分離し、使用した。酢酸の添加と酢酸耐性酵母による発酵において、細菌汚染は防止することが可能であった。

糖蜜からのバイオエタノール生産における酢酸耐性分裂酵母を用いた細菌汚染の防止

Pramuan Saithong*, 中村 敏英*, 島 純*

*(独) 農研機構 食品総合研究所

FEMS Microbiology Letters, 299(1), 95–99(2009)

Involvement of ergosterol in tolerance to vanillin, a potential inhibitor of bioethanol fermentation, in *Saccharomyces cerevisiae*

Ayako ENDO*, Toshihide NAKAMURA* and Jun SHIMA*

*National Food Research Institute

バニリンに感受性を示す遺伝子破壊株の解析からエルゴステロール合成が耐性に重要であることが示唆された。そこで、バニリンに耐性が高い出芽酵母を検索し、エルゴステロール含量の測定を行った。その結果、バニリン耐性株は感受性株に比べてエルゴステロール含量が高いことが明らかとなった。また、バニリン耐性株の遺伝子発現を DNA マイクロアレイで解析した結果、感受性株よりもエルゴステロール合成に関わる遺伝子の発現が増加していることが明らかとなった。バニリン耐性株の分子育種にエルゴステロール合成遺伝子の発現増強が有用であると考えられる。

出芽酵母においてエルゴステロールは、バイオエタノール発酵の阻害物質であるバニリンへの耐性に関与する

遠藤 絢子*, 中村 敏英*, 島 純*

(*独) 農研機構 食品総合研究所

木材学会誌, 55(6), 363 - 368 (2009)

ボール攪拌型併行複発酵法によるキノコ廃菌床のエタノール変換中のエタノール発酵阻害要因の解明

渡邊 樹*, 下田 隆史**, 西堀 耕三**, 島 純*

* (独) 農研機構 食品総合研究所
**株式会社雪国まいたけ

マイタケ廃菌床からボール攪拌型併行複発酵 (BVSSF) 法によりエタノールを生産する過程において生じる発酵阻害についてその原因を調べた。BVSSF 法は、マイタケ廃菌床とジルコニアボール、酵母およびセルラーゼをプラスチックボトルに混入し、振盪することで行った。ジルコニアボールのサイズ (直径 1, 3, 5 または 10mm), または振盪速度 (100 または 200rpm) がエタノール生産へ与える影響について解析した。その結果、ジルコニアボールによる酵母への物理的なストレスが細胞にダメージを与え、エタノール生産に影響を及ぼしていることが推測された。

Analysis of the Fermentation Inhibition during the Ball-Vibrating Simultaneous Saccharification and Fermentation Used for Ethanol Production from Spent Mushroom Culture Medium

Itsuki WATANABE*, Takafumi SHIMODA**, Kozo NISHIBORI**, Jun SHIMA*

*National Food Research Institute
**YUKIGUNI MAITAKE Co.,LTD.

Applied and Environmental Microbiology, 75(21), 6706-6711(2009)

Insufficiency of copper ion homeostasis causes freeze-thaw injury of yeast cells revealed by indirect gene expression analysis

Shunsuke TAKAHASHI*, Akira ANDO*, Hiroshi TAKAGI** and Jun SHIMA*

*National Food Research Institute
**Nara Institute of Science and Technology

冷凍生地製パン法等の商業プロセスにおいて、酵母は凍結融解ストレスに曝され、細胞生存率と発酵活性は、凍結融解損傷によって劇的に低下する。この様な損傷メカニズムは完全には理解されていない。我々は凍結融解処理後のインキュベーション中における DNA マイクロアレイプロファイリングを使用した間接的な遺伝子発現解析により、凍結融解損傷の検討を行った。その結果、金属イオンの恒常性に関わる遺伝子が、冷凍期間依存的に発現上昇を示す遺伝子群中に高頻度で含まれている事が分かった。冷凍期間依存的に発現上昇する金属イオン恒常性遺伝子の欠失変異体の表現型を評価したところ、銅イオン恒常性に関与する MAC 1 および CTR 1 遺伝子の破壊株が凍結融解に感受性を示す事が分かった。これは、銅イオン恒常性が凍結融解耐性に必要である事を示唆している。我々は、凍結融解後に銅イオンを添加することにより、細胞内活性酸素種レベルが低下することに加え、細胞内スーパーオキシドジスムターゼ活性および細胞生存率が增加することを発見した。これらの結果は、銅イオン恒常性の不全が凍結融解損傷の一因である可能性を示唆している。

銅イオン恒常性の不全は酵母細胞の凍結融解損傷の原因となる：間接的遺伝子発現解析による解明

高橋 俊輔*, 安藤 聡*, 高木 博史**, 島 純*

* (独) 農研機構 食品総合研究所
**奈良先端科学技術大学院大学

FEMS Yeast Research, 10(3), 259-269(2010)

Multicopy suppression of oxidan-sensitive eos 1 mutation by IZH 2 in *Saccharomyces cerevisiae* and the involvement of Eos 1 in zinc homeostasis

Toshihide NAKAMURA*, Shunsuke TAKAHASHI*, Hiroshi TAKAGI** and Jun SHIMA*

*National Food Research Institute
**Nara Institute of Science and Technology

EOS 1 は出芽酵母において酸化ストレス耐性に重要な遺伝子である。EOS 1 を欠損した株 (eos 1 欠損株) は過酸化水素に強い感受性を示す。Eos 1 の機能を明らかにするために eos 1 欠損株の過酸化水素感受性を多コピーで抑圧する遺伝子の検索を行った。その結果、IZH 2 という亜鉛の恒常性に関わる遺伝子を同定することができた。EOS 1 と IZH 2 を欠損した株は非常に生育が悪く、合成生育阻害となることが明らかとなった。DNA マイクロアレイ解析の結果、eos 1 欠損株では亜鉛恒常性に関わる遺伝子群の発現が低下していることが明らかとなった。eos 1 欠損株が高濃度亜鉛に感受性になることも明らかとなり、Eos 1 が亜鉛の恒常性に関与していると考えられた。

出芽酵母における IZH2 による eos1 変異株酸化物質感受性の多コピー抑圧と Eos1 の亜鉛恒常性への関与

中村 敏英*, 高橋 俊輔*, 高木 博史**, 島 純*

* (独) 農研機構 食品総合研究所
**奈良先端科学技術大学院大学

International Journal of Food Microbiology, 138(1–2), 181–185(2010)

Antioxidant N-acetyltransferase Mpr1/2 of industrial baker's yeast enhances fermentation ability after air-drying stress in bread dough

Yu SASANO*, Shunsuke TAKAHASHI**, Jun SHIMA** and Hiroshi TAKAGI*

*Nara Institute of Science and Technology

**National Food Research Institute

製パン過程において、酵母は多くのストレスに曝される。通風乾燥ストレスは、活性酸素種（ROS）の生成を伴う最も有害なストレスの一つである。新規 N - アセチルトランスフェラーゼ Mpr1/2が、Saccharomyces cerevisiae Σ1278b 株において細胞内 ROS レベルを減少させることにより酸化ストレス耐性を付与する事を発見した。本研究では、日本の実用パン酵母が MPR 遺伝子を有することを発見した。この MPR 遺伝子の塩基配列は、Σ1278b 株の MPR 2 遺伝子と同一であった。実用パン酵母の MPR 2 遺伝子は、細胞内 ROS レベルを低下させることにより、通風乾燥ストレス耐性に関与していることが遺伝子破壊解析によって示された。酵素活性および安定性の向上をもたらす Lys63Arg および Phe65Leu 誘導体の発現が、野生型 Mpr 1 のそれと比べて、通風乾燥ストレス後のパン生地発酵能を増加させることを明らかにした。また、我々の最近の研究により、プロリン蓄積型の実用パン酵母は、パン生地中における冷凍耐性が向上している事が示された。プロリン蓄積は、通風乾燥ストレス後の実用パン酵母の発酵能をも向上させていた。実用パン酵母の抗酸化酵素 Mpr1/2は、通風乾燥ストレスに耐性を示す新たな株の育種に有望な素材であろう。

実用パン酵母の抗酸化タンパク質 N - アセチルトランスフェラーゼ Mpr1/2は通風乾燥ストレス後のパン生地発酵能を増加させる

笹野 佑*, 高橋 俊輔**, 島 純**, 高木 博史*

*奈良先端科学技術大学院大学

** (独) 農研機構 食品総合研究所

Biosci.Biotechnol.Biochem., 73(5), 1149–1155(2009)

Expression of the pgsB encoding the poly-gamma-DL-glutamate synthetase of Bacillus subtilis (natto)

Keitarou Kimura*, Lam-Son Phan Tran*, Thi-Huyen Do* and Yoshifumi Itoh*

*National Food Research Institute, NARO,

産業微生物である納豆菌を用いてポリ-γ-グルタミン酸（γPGA）を生産した。γPGA 合成遺伝子の発現を様々な条件下、LacZ 融合遺伝子（PgsB-LacZ）によって検討した。PgsB-LacZ 発現は定常期初期に起こり、degU 遺伝子の破壊によって失われた。PgsB-LacZ の発現は富栄養培地で抑制された。γPGA の生産量は合成酵素の発現量よりも、むしろ基質の供給量で制限されていることが示唆された。γPGA 合成遺伝子の転写開始点を決定し、十分な発現に、翻訳開始点から721塩基上流までの領域が必要であることがわかった。

Acta Crystallographica Section F, F65, 913–916(2009)

Crystallization and preliminary crystallographic analysis of poly-[gamma]-glutamate hydrolase from bacteriophage [PhiNIT1]

Zui Fujimoto*, Isao Shiga**, Yoshifumi Itoh**, *** and keitarou Kimura**

*National Institute of Agrobiological Science

**National Food Research Institute, NARO

***Tohoku University

枯草菌の中にはバクテリオファージ感染の物理的障壁としてポリ-γ-グルタミン酸（PGA）を生産するものがある。枯草菌に感染するバクテリオファージ PhiNIT 1 は新規な PGA 加水分解酵素 PghP を生産して感染することができる。大量発現した PghP を精製し、Sitting-drop vapour-diffusion 法によって結晶化した。シンクロトロン X 線線を用い、結晶の回折像を解像度 2.4 Å 未満で得た。結晶は空間群 P3₁2₁あるいは P3₂2₁に属することがわかった。

Carbohydrate Research, 10.1016/j.carres. 2010.01.008

An arginyl residue in rice UDP-arabinopyranose mutase is required for catalytic activity and autoglycosylation

Tomoyuki Konishi*, Mayumi Ohnishi-Kameyama**, Kazumi Funane**, Yasumasa Miyazaki*, Teruko Konishi*, Tadashi Ishii*

*Forestry and Forest Products Research Institute

**National Food Research Institute

植物はUDP-アラビノフラノース(UDP-Araf)のAraf残基をArafを含む複合糖質の生合成に利用する。UDP-ArafはUDP-アラビノピラノースムターゼ(UAM)によってUDP-アラビノピラノース(UDP-Arap)から作られる。しかしながら、UDP-ArapとUDP-Araf間の変換を触媒する酵素メカニズムは解明されていなかった。この反応機構を明らかにするためにリコンビナントrUAMをUDP-GlcまたはUDP-Arafに作用させた。グリコシル化したりコンビナントUAMをトリブシンで分解し、生じたグリコペプチドをLC-MS/MSで同定した。この結果と部位特異的変異導入実験の結果から、活性型のUAMにおいてはアルギニン酸残基は可逆的に1つのグリコシル残基によってグリコシル化され、これにはムターゼが必須であることが示唆された。触媒活性にはDXDモチーフが必要であるという結果も合わせて報告する。

イネUDP-アラビノピラノースムターゼのアルギニン残基は触媒活性とオートグリコシル化に必須である

古西 智之*, 亀山(大西)真由美**, 舟根 和美**, 宮崎 安将*, 小西 照子*, 石井 忠*

*森林総合研究所

** (独) 農研機構食品総合研究所

Biochemical and Biophysical Research Communications, 383, Issue1, 42-47(2009)

A novel transformation system using a bleomycin resistance marker with chemosensitizers for *Aspergillus oryzae*

Satoshi Suzuki*, Sawaki Tada*, Mari Fukuoka*, Hiroko Taketani*, Yoshiki Tsukakoshi*, Mayumi Matsushita*, Kosuke Oda**, Ken-Ichi Kusumoto*, Yutaka Kashiwagi*, Masanori Sugiyama**

*NFRI

**HiroshimaUniv.

多くの薬剤に対して耐性を示すため、これまで有効な薬剤耐性形質転換選抜マーカーが不足していたアスペルギルスオリゼにおいて、抗生物質プレオマイシンへの感受性を増大させる感受性増強剤を添加することによって、プレオマイシン耐性マーカー遺伝子を用いた新たな形質転換系を開発した。

アスペルギルスオリゼの感受性増強剤を利用したプレオマイシン耐性マーカーによる新規形質転換系

鈴木 聡*, 多田 功生*, 福岡 真里*, 竹谷 博子*, 塚越 芳樹*, 松下真由美*, 小田 康介**, 楠本 憲一*, 柏木 豊*, 杉山 政則**,

食総研*

広島大**

Journal of Bioscience and Bioengineering, 107(4), 345-351(2009)

Deletion analysis of the promoter of *Aspergillus oryzae* gene encoding heat shock protein30

Mayumi Matsushita*, Satoshi Suzuki*, Sawaki Tada*, Ken-ichi Kusumoto*, Yutaka kashiwagi*

*National Food Research Institute

培養温度の変化により影響を受けるプロモータを取得するため、*Aspergillus oryzae* が有する高温誘導性遺伝子(37-42)を、cDNA サブトラクション法により同定した。得られた96種類のcDNA配列のうちの一つが、*Aspergillus nidulans* の熱ショックタンパク質30(hsp30)と塩基配列で73%の同一性を示した。このことから、分離した遺伝子を *A. oryzae* hsp30と命名した。このhsp30のプロモータは、リポーター遺伝子としてβ-グルクロニダーゼ(GUS)遺伝子を用いた場合に、この外来遺伝子の発現を高温下で誘導した。このプロモータ配列のうち、熱ショック応答に必須な最少領域は、hsp30プロモータの-388より-272(翻訳開始コドンの最初の塩基を+1とする)の領域の中にあることを明らかにした。この領域は数種類の転写調節因子結合配列と想定される配列を有しており、その中には、熱ショック配列(HSEs)、CCAATボックス、TATAボックスが見られた。さらに、部位特異的変異解析により、hsp30プロモータの-342から-272の領域に含まれているHSE1((aTTCgtcGAaagccccaGAAa)とHSE2(cGAAagTTCtGACg)が熱ショック応答のシス配列であることを示した。

Aspergillus oryzae の熱ショックタンパク質30をコードする遺伝子のプロモータの短縮化解析

松下真由美*, 鈴木 聡*, 多田 功生*, 楠本 憲一*, 柏木 豊*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

FEMS Microbiology Letters, 298(2), 157–165(2009)

Characterization of a neutral ceramidase orthologue from *Aspergillus oryzae*

Sawaki Tada*, Mayumi Matsushita-Morita*, Satoshi Suzuki*, Ken-Ichi Kusumoto*, Yutaka Kashiwagi*

*National Food Research Institute

セラミドは生物にとって構造的に重要なみならず、様々な生命現象の調節因子として機能する。セラミドを加水分解するセラミダーゼは3種類に分類される(酸性, アルカリ性, 中性セラミダーゼ)。中性セラミダーゼは、細胞外領域におけるセラミド濃度の制御に重要な役割を果たしていると考えられる。本研究においては、糸状菌の *Aspergillus oryzae* に由来する中性セラミダーゼオルソログの特性解明を行った。本酵素をコードする遺伝子を分離し、*A. oryzae* を用いて高発現を行った。精製組換え酵素は40 °C, pH 4.0–4.5において活性が最適であった。C12-NBD セラミドに対する酵素の K_m 及び V_{max} の値は、各々、 $3.32 \mu\text{M}$, $0.085 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ であった。

Aspergillus oryzae の中性セラミダーゼオルソログの解析

多田 功生*, 森田(松下)真由美*, 鈴木 聡*, 楠本 憲一*, 柏木 豊*

*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Applied Microbiology and Biotechnology, 85(2), 335–346(2009)

Heterologous expression and characterization of CpI, OcpA, and novel serine-type carboxypeptidase OcpB from *Aspergillus oryzae*

Hiroto Morita, Ayako Okamoto, Youhei Yamagata, Ken-Ichi Kusumoto, Yoshinao Koide, Hiroki Ishida, Michio Takeuchi

Aspergillus oryzae のゲノム情報より、12種類のセリンタイプカルボキシペプチダーゼをコードすると考えられる遺伝子が見出された。しかし、これらの遺伝子産物のカルボキシペプチダーゼ活性は実験的に決定されていない。本研究では、これら遺伝子のうち3種類の遺伝子を過剰発現する *Aspergillus nidulans* 組換え株を作成し、過剰生産された組換えタンパク質の特性解明を行った。これらのうち、1種類は、cpI と命名されていたものであった。また、他の2種類は報告されていないものであり、ocpA 及び ocpB と命名した。これらの組換えタンパク質はペプチドのC末端側よりアミノ酸残基を遊離し、その酵素活性はフェニルメチルスフホニルフルオリドで阻害されたことから、これらの酵素はセリンタイプのカルボキシペプチダーゼであることが判明した。組換え OcpA, OcpB, CpI は低 pH において各々45 °C, 55 °C, 55 °C にて安定であった。組換え OcpB は、従来報告されているセリンタイプカルボキシペプチダーゼと酵素化学的性質が異なった。一方、OcpA は *A. oryzae* のカルボキシペプチダーゼ O1 及び O2 と酵素化学的性質が類似していた。*A. oryzae* IAM2640株のカルボキシペプチダーゼ O1 及び O2 は、その DNA 配列と N 末端アミノ酸配列が OcpA のそれらと類似していた。ocpA, ocpB, cpI の転写解析の結果より、これら遺伝子の転写制御様式が異なることが考えられた。

Aspergillus oryzae の CpI, OcpA, 新規セリンタイプのカルボキシペプチダーゼ OcpB の異種発現と特性解明

森田 寛人, 岡本 綾子, 山形 洋平, 楠本 憲一, 小出 芳直, 石田 博樹, 竹内 道雄

東京農工大学

東北大学

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

天野エンザイム株式会社

月桂冠株式会社

Journal of Bioscience and Bioengineering, 109, 115–117(2010)

Characterization of *Aspergillus oryzae* glycoside hydrolase family 43 β -xylosidase expressed in *Escherichia coli*

Satoshi Suzuki*, Mari Fukuoka*, Hikaru Ookuchi*, Motoaki Sano**, Kenji Ozeki**, Emi Nagayoshi***, Yukio Takii***, Mayumi Matsushita*, Sawaki Tada*, Ken-Ichi Kusumoto* and Yutaka Kashiwagi*

*National Food Research Institute

**Kanazawa Institute of Technology

***Mukogawa Women's University

アスペルギルスオリゼ由来の糖質加水分解酵素ファミリー43に属するベータキシロシダーゼについて解析を行った。大腸菌発現系にて組換え酵素を発現し、酵素活性を測定したところ、他の糸状菌由来ベータキシロシダーゼが、アラビノフラノシダーゼ活性などキシロシダーゼ活性以外の酵素活性を示すのに対し、本酵素はキシロシダーゼ活性のみを示した。また、他の糸状菌由来ベータキシロシダーゼが酸性に至適 pH を持ち、酸性溶液中で安定であるのに対して、本酵素は中性に至適 pH を持ち、弱アルカリ性溶液中で最も安定であった。

大腸菌発現系によるアスペルギルスオリゼ由来の糖質加水分解酵素ファミリー43に属するベータキシロシダーゼの機能解析

鈴木 聡*, 福岡 真里*, 大口ひかる*, 佐野 元昭**, 尾関 健二**, 永吉 恵美***, 瀧井 幸夫***, 松下真由美*, 多田 功生*, 楠本 憲一*, 柏木 豊*

*食総研

**金沢工大

***武庫川女子大)

The Journal of Biological Chemistry, 284(15), 10100–10109(2009)

Crystal structure of glycoside hydrolase family55 β -1,3-glucanase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*

Takuya ISHIDA*, Shinya FUSHINOBU*, Rie KAWAI*, Motomitsu KITAOKA**, Kiyohiko IGARASHI* and Masahiro SAMEJIMA*

*The University of Tokyo

**National Food Research Institute

糖加水分解酵素ファミリー55は糸状菌由来の β -1,3-グルカナーゼを含んでいる。担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* 由来 β -1,3-グルカナーゼ (Lam55A) は β -1,3-グルカンのアノマー反転型にエキソ型に切断する酵素であり、 β -1,3/1,6-グルカンからグルコースおよびゲンチオピオースを生成する。今回初めて糖加水分解酵素ファミリー55として、Lam55Aの立体構造を解明した。Lam55Aは、単一ペプチド鎖からなる二つの β ヘリカルドメインを持っていた。両ドメインは長いリンカー配列によりつながっていたが、互いに隣接して存在しており全体としてかごのような構造をしている。共結晶ではグルコノラクトンが両ドメイン間の底にあるポケットに結合していた。結合位置から Glu633が触媒酸残基と推定されたが、触媒塩基残基は確定できなかった。基質結合ポケットの形からゲンチオピオースが切断サイト近傍に結合可能であると考えられた。

糖加水分解酵素ファミリー55に属する担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* 由来 β -1,3-グルカナーゼの結晶構造解析

石田 卓也*, 伏信 進矢*, 川合 理恵*, 北岡 本光**, 五十嵐圭日子*, 鮫島 正浩*

*東京大学

**食品総合研究所

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 73(5), 1175–1179(2009)

Prebiotic effect of lacto-N-biose I on bifidobacterial growth

Masashi KIYOHARA*, Asaki TACHIZAWA*, Mamoru NISHIMOTO**, Motomitsu KITAOKA**, Hisashi ASHIDA* and Kenji YAMAMOTO*

*Kyoto University

**National Food Research Institute

ラクト-N-ビオースIのビフィズス菌に対するプレバイオティック効果を *in vitro* で確認した。ラクト-N-ビオースIはI型ヒトミルクオリゴ糖の構成単位であり、種々のビフィズス菌・特に母乳栄養乳児の主要菌種である *Bifidobacterium bifidum*, *B. breve* および *B. longum* を増殖させた。

ラクト-N-ビオースIのビフィズス菌増殖に及ぼすプレバイオティック効果

清原 正志*, 立澤 麻希*, 西本 完**, 北岡 本光**, 芦田 久*, 山本 憲二*

*京都大学

**食品総合研究所

Chemical Communications, (20), 2944–2946(2009)

A chemoenzymatic route to N-acetylglucosamine-1-phosphate analogues: substrate specificity investigations of N-acetylhexosamine1-kinase

Li CAI*, Wanyi GUAN*, Motomitsu KITAOKA**, Jie SHEN*, Chengfeng XIA*, Wenlan CHEN* and Peng George WANG*

*The Ohio State University

**National Food Research Institute

N-アセチルヘキソサミン1-キナーゼ (NahK) を用いた N-アセチルヘキソサミン1-リン酸アナログの効率的合成法を報告する。

ケモエンザイマティック経路による N-アセチルヘキソサミン1-リン酸アナログの合成：
N-アセチルヘキソサミン1-キナーゼの特異性解析

Li CAI*, Wanyi GUAN*, 北岡本光**, Jie SHEN*, Chengfeng XIA*, Wenlan CHEN*, Peng George WANG*

*The Ohio State University

**食品総合研究所

Crystallographic and mutational analyses of substrate recognition of endo- α -N-acetylglucosaminidase from *Bifidobacterium longum*

Ryuichiro SUZUKI*, Takane KATAYAMA**, Hisashi ASHIDA***, Kenji YAMAMOTO***, Motomitsu KITAOKA****, Hidehiko KUMAGAI**, Takayoshi WAKAGI*, Hirofumi SHOUN* and Shinya FUSHINOBU*

*The University of Tokyo
**Ishikawa Prefectural University
***Kyoto University
****National Food Research Institute

エンド- α -N-アセチルガラクトサミニダーゼ (endo- α -GalNAc-ase) は、糖加水分解酵素ファミリー101に属し、ムチン型O結合糖鎖の α -GalNAcとSer/Thr間のグリコシド結合を切断する。*Bifidobacterium longum* JCM1217由来 endo- α -GalNAc-ase (EngBF) はコア1糖鎖に特異的に作用しGal β 1-3GalNAc (GNB)を遊離させるが、*Clostridium perfringens* 由来酵素は(EngCP)基質特異性が広い。今回 EngBFの構造を解像度2.0 Åで決定するとともに、ドッキング解析によりGNBの結合様式を検討した。変異解析により基質結合に重要な残基をとくていし、二個のトリプトファン残基がGNBの糖リングの β 面とスタッキング作用によりインデューストフィットすることが推定された。EngBFとEngCPの特異性の違いは基質結合ポケットのアミノ酸配列の違いで説明可能であった。

Bifidobacterium longum 由来エンド- α -N-アセチルガラクトサミニダーゼの基質認識機構に関する構造基盤および変異解析

鈴木龍一郎*, 片山 高嶺**, 芦田 久***, 山本 憲二***, 北岡 本光****, 熊谷 英彦**, 若木 高善*, 祥雲 弘文*, 伏信 進矢*

*東京大学
**石川県立大学
***京都大学
****食品総合研究所

Characterization of three β -galactoside phosphorylases from *Clostridium phytofermentans*: discovery of D-galactosyl- β 1-4-L-rhamnose phosphorylase

Masahiro NAKAJIMA*, Mamoru NISHIMOTO* and Motomitsu KITAOKA*

*National Food Research Institute

Clostridium phytofermentans 由来の三種のD-ガラクトシル- β 1-3-N-アセチル-D-ヘキソサミンホスホリラーゼ(GalHexNAcP; EC2.4.1.211)ホモログタンパク(Cphy0577, Cphy1920, Cphy3030)の性質を調べた。Cphy0577およびCphy3030は、GNBおよびLNBをほぼ同等の活性で加リン酸分解したため、GalHexNAcPのうちGNB/LNBホスホリラーゼに分類された。Cphy1920は、GNB, LNBともに加リン酸分解しなかった。Cphy1920は α -ガラクトース1-リン酸をドナーとしたとき、L-ラムノースに対して最も強いアクセプター活性を示した。生成物の構造をD-ガラクトシル- β 1-4-L-ラムノース(GalRha)と決定した。本酵素はL-ラムノース以外に、強い順にL-リキソース, L-マンノース, D-グルコース, 2-デオキシ-D-グルコース, D-ガラクトースをアクセプターとした。D-グルコースをアクセプターとしたときの精製二糖の結合は β 1-3であった。GalRha加リン酸分解の速度パラメーターは $k_{cat} = 45 \text{ (s}^{-1}\text{)}$, $K_m = 7.9 \text{ (mM}^{-1}\text{)}$ であり、通常に加リン酸分解酵素のパラメーターとして観測される範囲であった。本酵素をD-ガラクトシル- β 1-4-L-ラムノースホスホリラーゼと命名することを提案する。

Clostridium phytofermentans 由来の三種の β -ガラクトシド加リン酸分解酵素の諸性質：
D-ガラクトシル- β 1-4-L-ラムノースホスホリラーゼの発見

中島 将博*, 西本 完*, 北岡 本光*

*食品総合研究所

Acta Crystallographica Section E-Structure Reports Online, 65(8), o1781-o1782(2009)

2-Acetamido-2-deoxy-3-O- α -D-galactopyranosyl-D-glucose dihydrate

Masahisa WADA*, Kayoko KOBAYASHI*, Mamoru NISHIMOTO**, Motomitsu KITAOKA**, Keiichi NOGUCHI***

*The University of Tokyo
**National Food Research Institute
***Tokyo University of Agriculture and Technology

ラクト-N-ピオース I 二水和物の結晶構造を解明した .

2-アセタミド-2-デオキシ-3-O- α -D-ガラクトピラノシル-D-グルコース二水和物

和田 昌久*, 小林加代子*, 西本 完**, 北岡 本光**, 野口 恵一***

*東京大学
**食品総合研究所
***東京農工大学

Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 19(18), 5433-5435(2009)

Substrate specificity of N-acetylhexosamine kinase towards N-acetylgalactosamine derivatives

Li CAI*, Wanyi GUAN*, Wenjun WANG**, Wei ZHAO**, Motomitsu KITAOKA***, Jie SHEN**, Crystal O'NEIL* and Peng George WANG*

*The Ohio State University
**Nankai University
***National Food Research Institute

細菌由来 N - アセチルヘキソサミンキナーゼ NahK は GalNAc 誘導体に広い特異性を持っていた . 本酵素を用いて GalNAc 1 - リン酸誘導体ライブラリーを調製した .

N - アセチルガラクトサミン誘導体に対する N - アセチルヘキソサミンキナーゼの特異性

Li CAI*, Wanyi GUAN*, Wenjun WANG**, Wei ZHAO**, 北岡本光***, Jie SHEN**, Crystal O'NEIL*, Peng George WANG*

*The Ohio State University
**Nankai University
***食品総合研究所

Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 65(11), 1190-1192(2009)

Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of β -glucosidase from *Kluyveromyces marxianus* NBRC1777

Erina YOSHIDA*, Masafumi HIDAKA**, Shinya FUSHINOBU**, Takashi KOYANAGI*, Hiromichi MINAMI*, Hisanori TAMAKI***, Motomitsu Kitaoka****, Takane KATAYAMA* and Hidehiko KUMAGAI*

*Ishikawa Prefectural University
**The University of Tokyo
***Kagoshima University
****National Food Research Institute

Kluyveromyces marxianus NBRC1777由来菌体内 β -グルコシダーゼ (KmBglI) は糖加水分解酵素ファミリー 3 に属し、特徴的なドメイン構造を有している . セレノメチオニン標識 KmBglI を精製し、ハンギングドロップ蒸気拡散法により、酵素濃度 30mg/ml, 0.04M リン酸二水素カリウム (pH 5.1), 16% PEG8000, 20% グリセロールの条件下に結晶化した . 得られた結晶は空間群 C2であり、格子常数は $a = 245.8$, $b = 148.7$, $c = 119.9$, $\beta = 112.9^\circ$ であった . 解像度 2.4 および 2.5 の多波長異常分散データを得た . 非対称単位に 4 分子タンパクが存在することが推定された .

Kluyveromyces marxianus NBRC1777由来菌体内 β -グルコシダーゼの精製、結晶化および X 線結晶構造解析

吉田永里奈*, 日高 將文**, 伏信 進矢**, 小柳 喬*, 南 博道*, 玉置 尚徳***, 北岡 本光****, 片山 高嶺*, 熊谷 英彦*

*石川県立大学
**東京大学
***鹿児島大学
****食品総合研究所

New Biotechnology, 26(3-4), 137-142(2009)

Synthesis of cellobiose from starch by the successive actions of two phosphorylases

Masayuki SUZUKI*, Kyoko KANEDA**, Yukiko NAKAI**, Motomitsu KITAOKA*** and Hajime TANIGUCHI**

*B Food Science Co.Ltd.
**Ishikawa Prefectural University
***National Food Research Institute

デンプンを原料として二種のホスホリラーゼによりセロビオースを酵素合成した。1 M リン酸の存在下で、グルカンホスホリラーゼはデンプンのグルコース残基の40%をG1Pに変換した。分子量分画100の電気透析膜を利用した電気透析法によりリン酸を除去し、80%の収率でG1Pを回収した。G1Pとグルコースを酢酸マグネシウムの存在下アルカリ条件かでセロビオースホスホリラーゼにより反応させた。反応により生じたリン酸はマグネシウムアンモニウムリン酸として沈殿し、85%のG1Pがセロビオースに変換した。全体の収率は少なくともデンプンから23.7%以上であった。

二種ホスホリラーゼの逐次反応によるデンプンからのセロビオース合成

鈴木 雅之*, 金田 恭子**, 中井由起子**, 北岡 本光***, 谷口 肇**

*物産フードサイエンス株式会社
**石川県立大学
***食品総合研究所

Carbohydrate Research, 344(18), 2573-2576(2009)

One-pot enzymatic production of β -D-galactopyranosyl-(1 3)-2-acetamido-2-deoxy-D-galactose (galacto-N-biose) from sucrose and 2-acetamido-2-deoxy-D-galactose (N-acetylgalactosamine)

Mamoru NISHIMOTO* and Motomitsu KITAOKA*

*National Food Research Institute

β -D-ガラクトピラノシル-(1 3)-2-アセタミド-2-デオキシ-D-ガラクトース (GNB) はT抗原二糖やムチン糖タンパクコアI糖鎖など機能性糖鎖の基本構造として知られる。今回、ラクト-N-ビオースI合成と同じ手法を用いて、スクロースとGalNAcから一段階でGNBを調製する方法を開発した。反応収率はGalNAcの88%であった。280mLの反応液から最終的に95%純度のGNBを45g得た。

β -D-ガラクトピラノシル-(1 3)-2-アセタミド-2-デオキシ-D-ガラクトースのスクロースと2-アセタミド-2-デオキシ-D-ガラクトースを原料とした一段階酵素合成

西本 完*, 北岡 本光*

*食品総合研究所

Carbohydrate Research, 344(18), 2468-2473(2009)

Synthesis of highly ordered cellulose II in vitro using cellodextrin phosphorylase

Masao HIRAISHI*, Kiyohiko IGARASHI*, Satoshi KIMURA*, Masahisa WADA*, Motomitsu KITAOKA** and Masahiro SAMEJIMA*

*The University of Tokyo
**National Food Research Institute

セルロースのin vitro合成は、天然セルロース素材と比較して高度に均一な構造を持つセルロース素材の調製技術として期待されている。 α -グルコース1-リン酸と(α G1P)グルコースを原料としたセロデキストリンホスホリラーゼ(CDP)による高結晶性セルロースIIの合成について報告する。グルコースはCDPのアクセプターにならないとされてきたが、 α G1Pとセルロースを混合すると著量のセルロースが可溶性セロオリゴ糖の蓄積なしに沈殿した。この現象はグルコースがセロオリゴ糖と比較して非常に弱いアクセプターとなることで説明できる。1H NMRの結果より沈殿の平均重合度(DP)を9と決定した。TEMおよびX線結晶解析の結果から、生成した不溶性セルロースは長さ数 μ m、幅数百nmの板状のセルロースII単一ラメラ構造をしていることが示された。これは報告されている他のセルロース結晶よりも大きかった。ラメラ構造の厚みは4.5nmであり、DP9のセロオリゴ糖の長さに相当していた。

セロデキストリンホスホリラーゼを用いた高度に均一なセルロースIIのin vitro合成

平石 正男*, 五十嵐圭日子*, 木村 聡*, 和田 昌久*, 北岡 本光**, 鮫島 正浩*

*東京大学
*食品総合研究所

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 73(11), 2466–2473(2009)

Catalytic reaction mechanism based on α -secondary deuterium isotope effects in hydrolysis of trehalose by european honeybee trehalase

Haruhide MORI*, Jin-ha LEE*, Masayuki OKUYAMA*, Mamoru NISHIMOTO**,
Masao OHGUCHI***, Doman KIM****, Atsuo KIMURA*, and Seiya CHIBA*

*Hokkaido University
**National Food Research Institute
***Fuji Nihon Seito Co.
****Chonnam National University

糖質加水分解酵素の反応機構を明らかにすることを目的とし、西洋ミツバチ由来のトレハラーゼを用い、基質として重水素置換トレハロースを用いた時の α -二次重水素同位体効果について調べた。速度論解析の結果、1.53という高い α -二次重水素同位体効果が観察され、本酵素の触媒反応がオキソカルベニウムイオン中間体を経由する反応機構であることが示唆された。

α 二次重水素アイソトープ効果に基づいた西洋ミツバチトレハラーゼによるトレハロース加水分解の触媒機構

森 春英*, 李 鎮 河*, 奥山 正幸*, 西本 完**, 大口 真央***, 金 都 満****, 木村 淳夫*, 千葉 誠哉*

*北海道大学
**食品総合研究所
***フジ日本精糖
****Chonnam National University

Applied and Environmental Microbiology, 76(1), 54–59(2010)

Distribution of in vitro fermentation ability of lacto-N-biose I, the major building block of human milk oligosaccharides, in bifidobacterial strains

Jin-zhong XIAO*, Sachiko TAKAHASHI*, Mamoru NISHIMOTO**, Toshitaka ODAMAKI*,
Tomoko YAESHIMA*, Keiji IWATSUKI* and Motomitsu KITAOKA**

*Morinaga Milk Industry Co.,Ltd.,
**National Food Research Institute

個別ビフィズス菌種のラクト-N-ビオースI (LNB) 資化性について調べた。LNBはヒトミルクオリゴ糖の構成単位であり、母乳中のビフィズス因子と推定されている。10種、4亜種の合計208菌株のビフィズス菌において、ガラクト-N-ビオース/ラクト-N-ビオースIホスホリラーゼ (GLNBP) 遺伝子 (InpA) の有無およびLNBを唯一の炭素源とした培地での増殖を調べた。Bifidobacterium longum subsp. longum, B. longum subsp. infantis, B. breve, and B. bifidumの全菌株はLNB培地で増殖したが、B. adolescentis, B. catenulatum, B. dentium, B. angulatum, B. animalis subsp. lactis, and B. thermophilumはともに全菌株が全く増殖しなかった。B. pseudocatenulatum, B. animalis subsp. animalis, and B. pseudolongumは一部の菌株が増殖した。B. pseudocatenulatum以外のLNB培地で増殖した菌株はすべてInpAを保有していた。これらの結果は乳児腸管の主要ビフィズス菌種はLNB資化性であることを示している。この結果は、GLNBPが母乳栄養乳児腸管でのビフィズス菌増殖の鍵因子であるとの仮説を支持している。

ヒトミルクオリゴ糖の構成単位であるラクト-N-ビオースI資化性のビフィズス菌での分布

清水 金忠*, 高橋 幸子*, 西本 完**, 小田巻俊孝*, 八重島智子*, 岩附 慧二*, 北岡 本光**

*森永乳業株式会社
**食品総合研究所

The Journal of Biochemistry, 147(2), 237–244(2010)

Structural explanation for the acquisition of glycosynthase activity

Masafumi HIDAKA*, **, Shinya FUSHINOBU**, Yuji HONDA***, Takayoshi WAKAGI**,
Hirofumi SHOUN** and Motomitsu KITAOKA*

*National Food Research Institute
**Department of Biotechnology, The University of Tokyo
***Ishikawa Prefectural University

グライコシターゼ活性の異なる5種の反転型還元末端キシロース遊離エキソオリゴキシラーゼ変異体の結晶構造を決定した。最もグライコシターゼ活性の高いY198Fでは、親酵素の求核触媒水 (NW) と同じ位置に水分子が存在したが、D263変異酵素では、1.0–3.0 Å 離れて観測された。水分子の位置とグライコシターゼ活性に相関が見られ、NWの位置に水分子が存在することが活性獲得に重要であると推測した。

構造情報によるグライコシターゼ活性獲得機構の考察

日高 将文*, **, 伏信 進矢**, 本多 裕司***, 若木 高善**, 祥雲 弘文**, 北岡 本光*

*食品総合研究所
**東京大学大学院農学生命科学研究科
***石川県立大学

Enzyme and Microbial Technology, 46(3-4), 315-319(2010)

Characterization of D-galactosyl- β 1-4-L-rhamnose phosphorylase from *Opiritutus terrae*

Masahiro NAKAJIMA*, Mamoru NISHIMOTO* and Motomitsu KITAOKA*

*National Food Research Institute

Opiritutus terrae 由来糖加水分解酵素ファミリー112に属するタンパク (Oter_1377タンパク) の性質を調べた。本酵素は D-ガラクトシル- β 1-4-L-ラムノース (GalRha) を加リン酸分解するとともに、弱いながらも D-ガラクトシル- β 1-3-D-グルコースも加リン酸分解した。逆反応においては、L-ラムノース誘導体が D-グルコース誘導体よりも良いアクセプターとして作用した。本酵素は 45 °C および pH6.0-7.0 で安定であった。GalRha 分解の速度パラメーターを $k_{cat} = 60 \text{ s}^{-1}$, $K_m = 2.1 \text{ mM}$ と決定した。この結果から、Oter_1377タンパクを D-ガラクトシル- β 1-4-L-ラムノースホスホリラーゼ (GalRhaP) と同定した。*O. terrae* での GalRhaP 遺伝子の存在は GalRhaP が多くの微生物に存在している可能性を示唆している。

Opiritutus terrae 由来 D-ガラクトシル- β 1-4-L-ラムノースホスホリラーゼの諸性質

中島 将博*, 西本 完*, 北岡 本光*

*食品総合研究所

Journal of Applied Glycoscience, 56(3), 193-206(2009)

Automated synthesis of a tri-branched pentasaccharide: the application of the uni-chemo hydroxyl protection method to the automated synthesis of oligosaccharides

Shiro Komba*, Takeshi Terauchi*, Sachiko Machida*

*National Food Research Institute

独自に開発した UCHP 法を用いて、糖鎖の自動合成に成功した。5 糖よりなり、3 方に分岐した PSGL-1 類縁体の自動合成である。これにより、UCHP 法が糖鎖の自動合成に適用可能であると証明した。

Journal of Carbohydrate Chemistry, 28, 6, 369-393(2009)

UCHP method for oligosaccharide combinatorial library synthesis

Shiro Komba*, Sachiko Machida*

*National Food Research Institute

独自に開発した UCHP 法を用いて、糖鎖ライブラリーの合成に成功した。ガラクトース 3 糖からなり、結合位置としては 3 位および 4 位にそれぞれグリコシド結合している 5 種類のライブラリーである。これにより、UCHP 法がライブラリー合成に適用可能であると証明した。

Biochemical and Biophysical Reserach Communications, 386, 130–134(2009)

Minimum stable structure of the receptor for advanced glycation end product possesses multi ligand binding ability

M. Kumano-Kuramochi*, M. Ohnishi-Kameyama*, Q. Xie*, S. Niimi*, F. Kubota*, S. Komba*, S. Machida*

*National Food Research Institute

後期糖化生成産物 (AGEs) を認識する受容体 RAGE の特異的認識能を維持した安定な最小領域が Ala23 - Thr143であることを明らかにした。

The Journal of Biological Chemistry, 285, 15302–15313(2010)

Lipid peroxidation generates a body order component trans-2-nonenal covalently bound to protein in vivo

kousuke Ishino*, Chika Wakita*, Takahiro Shibata*, Shinya Toyokuni**, Sachiko Machida***, Shun Matsuda****, Tomonari Matsuda****, Koji Uchida*

*Graguate School of Bioagricultural Scienece, Nagoya University

**Graduate School of Medical Science, Nagoya University

***National Food Reserach Institute

****Research Center for Environmental Quality Management, Kyoto University

2-Nonenal 付加体中の 2-nonenal-lysine 付加体, cis, trans-N-3-[(hept-1-enyl)-4-hexyl-pyridinium]-lysine (HHp-lysine) が, 抗原のエピトープであること明らかにした

Journal of Bioscience and Bioengineering, 107(5), 506–511(2009)

Microbial production of xylitol from L-arabinose by metabolically engineered Escherichia coli

Yoshikiyo Sakakibara*, Badal C. Saha**, Paul Taylor***

*National Food Research Institute

**National Center for Agricultural Utilization Research, USDA-ARS

***zuChem, Inc.

L-アラビノースイソメラーゼ, D-プシコース 3-エピメラーゼ, L-キシロロースレダクターゼを L-アラビノース存在下で同時に発現させることにより, L-アラビノースからキシリトールを高い収率で生産する組換え大腸菌株 ZUC99 (pATX210) を作出した. この菌株のキシリトール収率は 0.62g/g L-arabinose であったが, 補酵素 (NADH) 再生のためにグリセロールを培地に添加したところ, キシリトール収率が大幅に改善された. ジャーファーマンターを用いて L-アラビノースとグリセロールを含む 1 リットルの培地で ZUC99 (pATX210) を培養したところ, 培養30時間で 15.2g の L-アラビノースから 14.5g のキシリトールが生産され, キシリトール収率は 0.95g/g L-arabinose であった.

Tetrahedron Letters 51, 12, 1497–1499(2010)

A new method for cleavage of silicon-carbon linkers on glass plate supports with applications to solid-phase syntheses on silica resins

Takeshi Terauchi*, Sachiko Machida*, Shiro Komba*

*National Food Research Institute

珪素-炭素結合を切断する新たな手法を開発し、ガラス基板上に共有結合している化合物を切り出し、構造確認することに成功した。また、本手法はシリカゲルレジンにも適応可能であった。

Journal of Bacteriology, 191(10), 3273–3281(2009)

Identification and characterization of a novel multidrug resistance operon, mdtRP (yusOP), of *Bacillus subtilis*.

Ji-Yun Kim*, **, Takashi Inaoka*, Kazutaka Hirooka***, Hiroshi Matsuoka***, Makiko Murata****, Reiko Ohki****, Yoshikazu Adachi**, Yasutaro Fujita*** and Kozo Ochi*

*National Food Research Institute

**Ibaraki University

***Fukuyama University

****Kyorin University

比較ゲノム解析により、枯草菌において低レベルフシジン酸耐性を与える新規な変異を同定した。この変異は MarR 型転写調節因子をコードする mdtR (yusO) 遺伝子に存在し、ノボピオシンやストレプトマイシン、アクチノマイシン D 等、幾つかの抗生物質に対する低レベル耐性を与えることが判明した。ノーザン解析の結果、多剤排出トランスポーターをコードする下流遺伝子 mdtP (yusP) が mdtR とオペロンを形成していることがわかった。mdtP 遺伝子の破壊は mdtR 変異株において観察された多剤耐性を消去させた。DNaseI フットプリンティング及びプライマーエクステンション解析の結果、MdtR タンパク質は mdtRP プロモーターに直接結合し、その転写を抑制していることが明らかとなった。これらの結果は MdtR タンパク質は mdtRP オペロンのリプレッサーであり、MdtP タンパク質は枯草菌において多剤排出トランスポーターとして機能していることを示している。

枯草菌の新規多剤耐性オペロン mdtRP (yusOP) の同定と特性解析

金 智 潤*, **, 稲岡 隆史*, 広岡 和丈***, 松岡 浩士***, 村田麻喜子****, 大木 玲子****, 足立 吉数**, 藤田泰太***郎, 越智 幸三*

*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

**茨城大学

***福山大学

****杏林大学

Journal of Bacteriology, 191(23), 7367–7371(2009)

ScoC regulates bacilysin production at the transcription level in *Bacillus subtilis*

Takashi Inaoka*, Guojun wang* and Kozo Ochi*

*National Food Research Institute

枯草菌のバシリシン生合成オペロン ywfBCDEFG の高発現変異株を単離した。比較ゲノム解析により、これら変異株の全てが scoC 遺伝子に変異を持っていることが判明した。また、scoC 遺伝子の破壊も ywfBCDEFG の高発現をもたらした。プライマーエクステンション及びゲルシフト解析の結果、ScoC タンパク質は ywfBCDEFG のプロモーター領域に直接結合することがわかった。我々の結果は定常期遺伝子調節因子 ScoC が CodY や AbrB と共に枯草菌のバシリシン生産を負に調節していることを示すものである。

ScoC は枯草菌のバシリシン生産を転写レベルで調節している

稲岡 隆史*, 王国 君*, 越智 幸三*

*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Applied and environmental microbiology, 75(14), 4919–4922(2009)

Antibiotic overproduction by rpsL and rsmG mutants of various actinomycetes

Yukinori TANAKA*, **, Mamoru KOMATSU***, Susumu OKAMOTO*,
Shinji TOKUYAMA**, Akira KAJI****, Haruo Ikeda***, Kozo OCHI****

*National Food Research Institute

**Department of Applied Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University

***Kitasato Institute for Life Sciences, Kitasato University

****School of Medicine, University of Pennsylvania

ストレプトマイシン耐性変異 (rpsL 及び rsmG 変異) を付与することにより、放線菌における抗生物質生産を活性化することが出来る。今回我々は、rpsL-rsmG 二重変異の効果を検証した。rpsL-rsmG 二重変異の導入により、*Streptomyces coelicolor* のアクチノロージン生産および *Streptomyces antibioticus* のアクチノマイシン生産は著しく活性化された。一方、*Streptomyces avermitilis* のエバメクチン生産および *Saccharopolyspora erythraea* のエリスロマイシン生産は、rpsL 変異により活性化されたが rsmG 変異及び rpsL-rsmG 二重変異の効果はほとんど見られなかった。

rpsL 及び rsmG 変異の導入による放線菌における抗生物質生産の活性化

田中 幸徳*, **, 小松 護***, 岡本 晋*, 徳山 真治**, 梶 昭****, 池田 治生***, 越智 幸三*

*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

**静岡大学農学部

***北里大学感染制御学府

****ペンシルバニア大学医学部

Fungal Genetics and Biology, 46(3), 221–31(2009)

Participation in aflatoxin biosynthesis by a reductase enzyme encoded by vrdA gene outside the aflatoxin gene cluster

Yoko Shima*, Marisa Shiina**, Takao Shinozawa**, Yasuhiro Ito*, Hiromitsu Nakajima***, Yoshikazu Adachi****, Kimiko Yabe*

*National Food Research Institute

**Faculty of Engineering, Gunma University

***Faculty of Agriculture, Tottori University

****School of Agriculture, Ibaraki University

アフラトキシンの生合成において、3つの反応、hydroxyversicolorone から versicolorone、versiconal hemiacetal acetate から versiconol acetate、さらに versiconal から versiconol、を進める並行した代謝経路がある。本研究では、*Aspergillus parasiticus* 由来の同一の還元酵素がこの3つの反応を触媒していることを証明した。vrdA と名付けられた還元酵素をコードする遺伝子を単離したところ、アフラトキシンの遺伝子クラスターのどの領域にも相同性配列がなかった。vrdA 遺伝子を取り除いた *A. parasiticus* において、その酵素活性は有意に低下したが、アフラトキシンの生産性には影響はなかった。アフラトキシンを生産する培養条件では vrdA 遺伝子の発現が見られるが、afIR 遺伝子が欠失した変異体でも本遺伝子の発現が認められた。これらの結果から、vrdA はアフラトキシンの生合成遺伝子ではないが、細胞内でのアフラトキシンの生合成に関与していることが示唆される。

Journal of Chromatography A, 1216(44), 7461–7465(2009)

Size exclusion chromatography combined with small-angle X-ray scattering optics

Yasushi WATANABE*, Yoji INOKO**

*National Food Research Institute

**Graduate School of Engineering Science, Osaka University

ゲル濾過クロマトグラフィーに放射光溶液 X 線散乱測定装置を組み込んだタンパク質の特性解明システムを構築した。クロマトグラフィーの溶出液の溶液 X 線散乱時分割測定で得られた散乱データの小角散乱領域の解析から、溶出分子の回転半径とゼロ散乱角強度を算出した。さらに、散乱パターンの解析により、溶出タンパク質の分子鎖構造評価の予備的知見を示した。本手法は、クロマトグラフィー分離直後の溶出液中のタンパク質の分子サイズ、分子量、および分子鎖構造などが評価できる手法であり、今後さらに本手法の有効性を示していく意義があることを示した。

Novel family of hemicellulolytic α -glucuronidase

Olena Ryabova*, Maria Vrsanska*, Satoshi Kaneko**, Willem H. van Zyl***, Peter Biely*

*Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences

**National Food Research Institute

***Stellenbosch University

キシロースを発酵できる酵母 *Pichia stipitis* のキシラン分解酵素系の検討は、広葉樹グルクロノキシランの側鎖を効率的に分解できる新規な α -グルクロニダーゼの発見に繋がった。良く研究されている糖加水分解酵素のファミリー67に分類される α -グルクロニダーゼは主鎖の非還元末端に結合しているウロン酸を遊離するが、本酵素の活性はそれとは異なる。精製酵素のN末端アミノ酸配列は *P. stipitis* のゲノム遺伝子 ABN67901と完全に一致し、BLAST解析により、似た配列をした遺伝子が、他の微生物のゲノム上にも存在することが明らかとなった。本研究は、新規な α -グルクロニダーゼのファミリーの創出に繋がる。

新しいファミリーのヘミセルラーゼとなる α -グルクロニダーゼ

Olena Ryabova*, Maria Vrsanska*, 金子 哲**, Willem H. van Zyl***, Peter Biely*

*スロバキアアカデミー化学研究所

**食品総合研究所

***ステレンボッシュ大学

Crystallization and preliminary crystallographic analysis of β -L-arabinopyranosidase from *Streptomyces avermitilis* NBRC14893

Zui Fujimoto*, Hitomi Ichinose**, Koichi Harazono***, Mariko Honda**, Atsuko Uzura***, Satoshi Kaneko**

*National Institute of Agrobiological Sciences

**National Food Research Institute

***Research & Development Center, Nagase & Company

Streptomyces avermitilis NBRC14893由来 β -L-アラビノピラノシダーゼは、単量体タンパク質で、糖加水分解酵素ファミリー27に分類される触媒モジュール、機能未知ドメイン、及び糖結合モジュールファミリー13に属する分類される基質結合モジュールから構成される。完全長酵素（残基45–658）の遺伝子は、単離され、放線菌発現システムを用いて発現した。 β -L-アラビノピラノシダーゼはシッティングドロップ蒸気拡散法により結晶化した。得られた結晶は解像度1.6 Åで回折され、空間群P212121に属し、単位格子定数 $a = 68.2$, $b = 98.9$, $c = 181.3$ Åであった。マッシュューズ係数は2.38 Å³ Da⁻¹であった。

Streptomyces avermitilis NBRC14893由来 β -L-アラビノピラノシダーゼの結晶化と予備的な結晶解析

藤本 瑞*, 一ノ瀬仁美**, 原園 幸一***, 本田真理子*, 卯津羅淳子***, 金子 哲**

*農業生物資源研究所

**食品総合研究所

***長瀬産業株式会社

Characterization of glycoside hydrolase family 6 enzymes from *Coprinopsis cinerea*

Yuan Liu*, Kiyohiko Igarashi**, Satoshi Kaneko***, Takashi Tonozuka*, Masahiro Samejima**, Kiyoharu Fukuda*, Makoto Yoshida*

*Tokyo University of Agriculture and Technology

**University of Tokyo

***National Food Research Institute

組換え体、*Coprinopsis cinerea* 由来の Cel 6 (CcCel 6) A, -B, および -C は大腸菌で発現させて得られた。これらの酵素は、リン酸膨潤セルロースからセロピオースを生産した。アビセルを基質として使用した場合、CcCel 6 A は CcCel 6 B または -C より高い活性を示した。カルボキシメチルセルロースに対しては CcCel 6 B と -C は活性を示したが、CcCel 6 A は本基質を分解できなかった。

Coprinopsis cinerea 由来糖加水分解酵素ファミリー6酵素の特性

劉 遠*, 五十嵐圭日子**, 金子 哲**, 殿塚 隆史*, 鮫島 正浩**, 福田 清春*, 吉田 誠*

*東京農工大学

**東京大学

***食品総合研究所

Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 73(7), 1671–1673(2009)

Use of whole crop sorghums as a raw material in consolidated bioprocessing bioethanol production using *Flammulina velutipes*

Ryoji Mizuno*, Hitomi Ichinose*, Mariko Honda*, Koji Takabatake**, Itaru Sotome*, Tomoyuki Takai*,
Tomoko Maehara*, Hiroshi Okadome*, Seiichiro Isobe*, Mitsuru Gau*, Satoshi Kaneko*

*National Food Research Institute

**Toyama Prefectural Agricultural, Forestry, and Fisheries Research Center

エノキタケを使用した連結バイオプロセスバイオエタノール生産の原料としての可能性を二種類のソルガムを用いて検討した。スイートソルガムの酵素糖化効率はBMR変異ソルガムのほど高くはなかったが、トータルのエタノール生産量は多かった。BMR変異ソルガムのエタノール生産量は糖化酵素を反応系に導入した際に大幅に増加した。

エノキタケによる連結バイオプロセスにおけるソルガムの原料としての可能性

水野 亮二*, 一ノ瀬仁美*, 本田真理子*, 高畠 幸司**, 五月女 格*, 高井 智之*, 前原 智子*,
岡留 博司*, 五十部誠一郎*, 我有 満*, 金子 哲*

*食品総合研究所 **富山県森林研究所

Journal of Biochemistry, 146(1), 61–70(2009)

Crystallographic snapshots of an entire reaction cycle for a retaining xylanase from *Streptomyces olivaceoviridis* E-86

Ryuichiro Suzuki*, Zui Fujimoto**, Shigeyasu Ito*, Shun-Ichi Kawahara***, Satoshi Kaneko****,
Kazunari Taira***, Tsunemi Hasegawa*, Atsushi Kuno***

*Yamagata University

**National Institute of Agrobiological Science

***National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

****National Food Research Institute

グリコシル化と脱グリコシル化の両方を触媒するアノマー保持型の糖加水分解酵素は、最も豊富な加水分解酵素である。現在までにグリコシル化は脱グリコシル化を不活性化するか基質アナログを用いて反応中間体を可視化することができるため、触媒反応の可視化はグリコシル化に焦点が当てられている。糖加水分解酵素と反応生成物の構造解析においては、反応生成物のアノメリック炭素の変旋光が速やかにかつ確実に起こることから脱グリコシル化の可視化は困難である。本研究では *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 のアノマー保持型キシラナーゼを用いて、反応の各ステップの可視化を試みた。塩基を漬した変異体を修飾するためにアジドを求核基として添加し、脱グリコシル化におけるアノメリック炭素の位置を安定化した。X線結晶構造解析による可視化により、酵素-基質、酵素-反応中間体、反応中間体の切断、酵素-反応生成物の各ステップのスナップショットを得ることができた。

Streptomyces olivaceoviridis E-86由来アノマー保持型キシラナーゼの全反応ステップの結晶構造解析による可視化

鈴木龍一郎*, 藤本 瑞**, 伊藤 茂泰*, 川原 俊一***, 金子 哲****, 多比良和誠***, 長谷川典巳*, 久野 敦***

*山形大学 **生物資源研究所 ***産業総合技術研究所 ****食品総合研究所

Journal of Applied Glycoscience, 56(3), 173–179(2009)

Substrate recognition of a family 10 xylanase from *Streptomyces olivaceoviridis* E-86:
a study by site-directed mutagenesis to make an hindrance around the entrance toward the substrate-binding cleft

Satoshi Kaneko*, Hitomi Ichinose*, Zui Fujimoto**, Shinnosuke Iwamatsu***, Atsushi Kuno***, Tsunemi Hasegawa***

*National Food Institute

**National Institute of Agrobiological Sciences

***Yamagata University

放線菌 *Streptomyces olivaceoviridis* E-86由来ファミリー10キシラナーゼ (SoXyn10A) はN末端側の触媒モジュール、C末端側の糖結合モジュール (XBM) および両モジュールを繋ぐリンカーからなるモジュラー酵素である。全長を含む結晶構造において、XBMは触媒ドメインの基質結合クレフトの(-)サブサイト側に存在することが明らかとなった。SoXyn10Aが両ドメインを使ってどのように基質を認識しているかを調べるために、サブサイトの入り口に障害物をもつような、いくつかのクレフト変異体を構築した。変異体酵素の構造に揺らぎがないことを円偏光二色性により確認した。p-ニトロフェニル-β-D-キシロピオシドを基質とした解析では(-)サブサイト側に障害物を構築した変異体についてのみ活性の低下が認められたことから、基質であるキシランは(-)サブサイト側から基質結合クレフトに入り込むことが示唆された。クレフト変異体酵素の不溶性キシランに対する活性をXBMの有無で比較したところ、すべてのクレフト変異体においてXBMを含む構築の方が顕著に活性が高いという結果が得られた。このことは両モジュールを繋ぐリンカー配列がフレキシブルに動くことにより触媒モジュールが移動し、基質を分解するというメカニズムであることを示唆する。

放線菌 *Streptomyces olivaceoviridis* E-86由来ファミリー10キシラナーゼの基質認識
- 部位特異的変異によりサブサイトの入り口に障害を作った解析 -

金子 哲*, 一ノ瀬仁美*, 藤本 瑞**, 岩松新之輔***, 久野 敦***, 長谷川典巳***

*食品総合研究所 **農業生物資源研究所 ***山形大学

Journal of Applied Glycoscience, 56(3), 165–171(2009)

Importance of interactions of the alpha-helices in the catalytic domain N- and C-terminals
of the family 10 xylanase from *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 to the stability of the enzyme

Satoshi Kaneko*, Shigeyasu Ito**, Zui Fujimoto***, Atsushi Kuno**, Hitomi Ichinose*, Shinnosuke Iwamatsu**, Tsunemi Hasegawa**

*National Food Research Institute

**Yamagata University

***National Institute of Agrobiological Sciences

放線菌 *Streptomyces olivaceoviridis* E-86由来ファミリー10キシラナーゼ (SoXyn10A) は触媒モジュール、糖結合モジュールおよび両モジュールを繋ぐリンカーからなる。われわれは、これらすべてを含む結晶構造解析に成功した。その結果、触媒ドメインは九つの α ヘリックス ($\alpha 0-8$) と八つの β シート ($\beta 1-8$) からなり、触媒ドメイン中の N 末端 α ヘリックス ($\alpha 0$) と C 末端 α ヘリックス ($\alpha 8$) とが相互作用していることが明らかになった。結晶構造から、両 α ヘリックス間には SoXyn10A の安定化に重要な結合があると予想された。そこで、SoXyn10A の安定化に寄与している $\alpha 0$ - $\alpha 8$ 間の結合を明らかにするために、SoXyn10A の C 末端欠損変異体を作成し、欠損が酵素の安定化に及ぼす影響について調べた。触媒ドメインの C 末端のアミノ酸を一つずつ削り込んだ変異体では、欠損の程度に準じて SoXyn10A の熱安定性が段階的に減少したが、酵素活性には変化がみられなかった。塩酸グアニジンを用いて各変異体の安定性を比較した結果、結晶構造から予測したとおり、 $\alpha 8$ 中の Leu-300 が $\alpha 0$ と相互作用し疎水性コアを形成していることを明らかにした。さらに、リンカー中の Asn-252 を Ala に置換すると熱安定性がやや減少し、 $\alpha 8$ 中の Gly-303 と Asn-252 間の水素結合もまた、SoXyn10A の安定性に重要であることを明らかにした。次に、同じファミリー10キシラナーゼである *Cellulomonas fimi* の CfXyn10A と SoXyn10A とのキメラ酵素を作成し、これらの相互作用について検証した結果、C 末端の四つのアミノ残基の付加により、熱安定性が上昇した。しかしながら、CfXyn10A に SoXyn10A の N 末端、C 末端を導入した場合には、SoXyn10A と同程度の熱安定性の減少が確認できた。N 末端と C 末端の相互作用の温度限界は SoXyn10A と一致しており、両末端のゆがみによりタンパク変性しやすくなることを明らかにした。

放線菌 *Streptomyces olivaceoviridis* E-86由来ファミリー10キシラナーゼの触媒ドメイン中に存在する N 末端および C 末端 α ヘリックスの酵素安定性における重要性

金子 哲*, 伊藤 茂泰***, 藤本 瑞**, 久野 敦***, 一ノ瀬仁美*, 岩松新之輔***, 長谷川典巳***

*食品総合研究所

**生物資源研究所

***山形大学

Journal of Applied Glycoscience, 56(3), 223–227(2009)

Effect of sugars on biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7

Makoto Yoshida*, Shinichi Kawamoto*, Satoshi Kaneko*

*National Food Research Institute

大腸菌 O157:H7 を D-グルコース, D-ガラクトース, D-マンノース, D-キシロース, L-アラビノース, L-ラムノース, L-フコースをそれぞれ単一の炭素源として 0.04% 含む培地で 7 日間培養し、菌体生長量および形成されたバイオフィルムの量を測定した。その結果、すべての培地において、培養 1 日目で菌体量が最大に達した。同様に、バイオフィルムの量も培養 1 日目に最大値を示し、その後、減少した。糖類の濃度がバイオフィルム形成に与える影響を調べるため、上記の糖類を単一の炭素源として 0.4, 0.04, 0.004% 含む培地をそれぞれ調製し、1 日間培養した。その結果、0.4% の D-マンノースおよび L-ラムノースを含む培地において、本菌のバイオフィルム形成能の低下が観察された。さらに、D-グルコース, D-ガラクトース, D-キシロース, L-アラビノース, L-フコースを含む培地に D-マンノースおよび L-ラムノースをそれぞれ添加し、大腸菌 O157:H7 を培養した結果、D-マンノースを添加した培地のみバイオフィルム形成の低下が観察された。D-マンノースの添加培地と無添加培地において、菌体生長量に変化は観察されなかったことから、D-マンノースは大腸菌 O157:H7 のバイオフィルム形成を直接的に阻害すると考えられた。

大腸菌 O157:H7 のバイオフィルム形成における糖類の影響

吉田 誠*, 川本 伸一*, 金子 哲*

*食品総合研究所

The Journal of Biological Chemistry, 284(37), 25097–25106(2009)

A beta-L-arabinopyranosidase from *Streptomyces avermitilis* is a novel member of glycoside hydrolase family 27

Hitomi Ichinose*, Zui Fujimoto**, Mariko Honda*, Koichi Harazono***, Yukifumi Nishimoto***, Atsuko Uzura***, Satoshi Kaneko*

*National Food Research Institute

**National Institute of Agrobiological Sciences

***Research & Development Center, Nagase & Company

アラビノガラクトタン - プロテイン (AGPs) は植物細胞表面プロテオグリカンの一種であり植物の生長と分化に関与すると考えられている。AGPs は非常に複雑な分子であるため、AGPs を分解できる酵素は AGPs 研究の強力なツールである。我々はこれまでに *Streptomyces avermitilis* の AGPs 分解酵素について報告してきたが、最近、 β -L - アラビノピラノシダーゼを精製し、遺伝子をクローニングすることに成功した。本酵素のアミノ酸配列は糖加水分解酵素ファミリー27 (GH27) に分類される α - ガラクトシダーゼと非常に似ていることが判明した。放線菌発現システムを用いて、64 - kDa の分泌タンパク質として組換え酵素を得ることができた。p - ニトロフェニル - β -L - アラビノピラノシドに対する比活性は18 μ モル/分/mg であり、p - ニトロフェニル - α -D - ガラクトピラノシドに対する比活性に比べ67倍高い値を示した。本酵素はガムアラビック及びカラマツアラビノガラクトタンから0.1% 及び45%のアラビノースを遊離した。X 線結晶構造解析により、本酵素は GH27触媒モジュール、グリークキーモチーフを持つアンチパラレルな β - ドメイン、ジェリーロール構造のアンチパラレル β - ドメイン、そして糖結合モジュールファミリー13に分類されるドメインで構成されることが明らかとなった。 α - ガラクトシダーゼの立体構造と比較すると1つのアミノ酸変異 (アスパラギン酸 グルタミン酸) が β - アラビノピラノシダーゼの触媒ポケットに見つかり、ガラクトースの C6 位が入るスペースが変わっていると考えられた。変異導入実験により、この変異が酵素の基質特異性を決定していることが証明された。本論文は β -L - アラビノピラノシダーゼが GH27の新規なメンバーであることを示した最初の論文である。

Streptomyces avermitilis 由来 β -L - アラビノピラノシダーゼは糖加水分解酵素ファミリー27の新メンバーである

一ノ瀬仁美, 藤本 瑞**, 本田真理子*, 原園 幸一***, 西本 幸史***, 卯津羅淳子***, 金子 哲*

*食品総合研究所

**農業生物資源研究所

***長瀬産業

Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 65(12), 1274–1276(2009)

Crystallization of selenomethionyl exo- β -1,3-galactanase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*

Takuya Ishida*, Zui Fujimoto**, Hitomi Ichinose***, Kiyohiko Igarashi*, Satoshi Kaneko***, Masahiro Samejima***

*University of Tokyo

**National Institute of Agrobiological Sciences

***National Food Research Institute

Phanerochaete chrysosporium 由来エキソ - 1, 3 - ガラクタナーゼ (Pc 1, 3 Gal43A) は糖加水分解酵素ファミリー43に分類される触媒モジュールと糖結合モジュールファミリー35に分類される基質結合モジュール (PcCBM35) で構成されている。本酵素はアラビノガラクトタン - プロテインの主鎖の構造である β - 1, 3 - ガラクトタンを加水分解し、PcCBM35はその基質への親和性により基質の周りの酵素濃度を高める役割をしている。多波長異常分散法により位相決定を可能にするため、セレノメチオニンでラベルした Pc 1, 3 Gal43A を298K でハンギングドロップ蒸気拡散法により結晶化した。結晶中のセレンの存在は X 線吸収スペクトルから確認され、結晶は空間群 P2₁ に属し、分解能 1.8 Å で回折された。

セレノメチオニンラベルした担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* 由来エキソ - β - 1, 3 - ガラクタナーゼの結晶化

石田 卓也*, 藤本 瑞**, 一ノ瀬仁美***, 五十嵐圭日子*, 金子 哲***, 鮫島 正浩*

*東京大学

**農業生物資源研究所

***食品総合研究所

Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 73(10), 2240–2245(2009)

Properties of ethanol fermentation by *Flammulina velutipes*

Ryoji Mizuno*, Hitomi Ichinose*, Tomoko Maehara*, Koji Takabatake**, Satoshi Kaneko*

*National Food Research Institute

**Toyama, Forestry and Forest Products Research Center

担子菌は、リグノセルロース系バイオマスを分解する能力を持ち、また、いくつかの担子菌は、アルコール脱水素酵素を生成することが知られている。これらの特性は、リグノセルロースから直接エタノールを生産する方法に有用であると考えられることから、担子菌の一種であるエノキタケが連結バイオプロセス(CBP)によるエタノール生産へ利用可能かどうかの可能性を検討した。エノキタケはD-グルコースを高効率でエタノールに変換(理論収率88%)したが、ペントースはエタノールに変換できなかった。この特性は *Saccharomyces cerevisiae* の糖選択性と同様であったが、エノキタケはショ糖以外にもマルトース、セロビオース、セロトリオース、セロテトラオースをグルコースとほぼ同じ効率でエタノールに変換することが可能であった。本研究から、エノキタケはCBPで使用するために有利な特性を有していると判断された。

エノキタケのエタノール発酵特性

水野 亮二*, 一ノ瀬仁美*, 前原 智子*, 高畠 幸司**, 金子 哲*

*食総研

**富山県農林水産総合技術センター森林研究所

Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 73(10), 2303–2309(2009)

Molecular cloning and expression in *Pichia pastoris* of a *Irpex lacteus* exo- β -(1 \rightarrow 3)-galactanase gene

Toshihisa Kotake*, Kiminari Kitazawa*, Ryohei Takata*, Kohei Okabe*, Hitomi Ichinose**, Satoshi Kaneko**, Yoichi Tsumuraya*

*Saitama University

**National Food Research Institute

Irpex lacteus 由来エキソ- β -1,3-ガラクトナーゼ遺伝子はRT-PCRによりクローニングされた。翻訳したアミノ酸の配列は他のエキソ- β -1,3-ガラクトナーゼの配列と類似し、成熟タンパク質の分子量は45520Daと算出された。*Pichia pastoris* を用いた発現系により得られた組換え酵素は、他のエキソ- β -1,3-ガラクトナーゼと同様に β -1,3-ガラクトオリゴ糖に作用した。本酵素はダイコン由来のアラビノガラクトン-プロテインに高い活性を示し、アラビアガムをスミス分解物からガラクトース、 β -1,6-ガラクトビオース、 β -1,6-ガラクトトリオース、 α -L-アラビノフラノシル-ガラクトビオースを生産した。この結果は *Irpex lacteus* 由来エキソ- β -1,3-ガラクトナーゼが、側鎖1,6-結合をバイパスして、効率的に主鎖の1,3-ガラクトンを分解していることを示している。

Irpex lacteus 由来エキソ- β -1,3-ガラクトナーゼ遺伝子のクローニングと *Pichia pastoris* での発現

小竹 敬久*, 北澤 仁成*, 高田 遼平*, 岡部 耕平*, 一ノ瀬仁美**, 金子 哲**, 円谷 陽一*

*埼玉大学

**食総研

Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 73(10), 2360–2364(2009)

The Tetramer Structure of the Glycoside Hydrolase Family 27 α -Galactosidase I from *Umbelopsis vinacea*

Zui Fujimoto*, Satoshi Kaneko**, Wook-Dong Kim**, Gwi-Gun Park***, Mitsuru Momma*, Hideyuki Kobayashi**

*National Institute of Agrobiological Sciences

**National Food Research Institute

***Kyungwon University

糖加水分解酵素ファミリー27(GH27)に属する *Umbelopsis vinacea* の α -ガラクトシダーゼIの結晶構造は分解能2.0Åで決定された。モノマーの構造は、他のGH27の酵素のものと良く保存されていた。本酵素はテトラマーを構成しているが、4倍の結晶学的対称性で構成されており、4量体形成は接点に存在する3つのペプチドの挿入により形成されていることが明らかとなった。その四次構造は、四量体形成が本酵素の基質特異性に関係している可能性を示唆した。3つのN型糖鎖が観察され、その構造は高マンノース型であることが明らかとなった。

Umbelopsis vinacea 由来糖質加水分解酵素ファミリー27に属する α -ガラクトシダーゼの4量体構造

藤本 瑞*, 金子 哲**, Wook-Dong Kim**, Gwi-Gun Park***, 門 間 充*, 小林 秀行**

*農業生物資源研究所

**農研機構食品総合研究所

***暎園大学

Biochemical Journal, 424, 169–177(2009)

Bifunctional cytosolic UDP-glucose 4-epimerases catalyse the interconversion between UDP-D-xylose and UDP-L-arabinose in plants

Toshihisa Kotake*, Ryohei Takata*, Rajeev Verma**, Masato Takaba*, Daisuke Yamaguchi*, Takahiro Orita*,
Satoshi Kaneko***, Koji Matsuoka*, Tetsuo Koyama*, Wolf-Dieter Reiter**, Yoichi Tsumuraya*

*Saitama University

**University of Connecticut

***National Food Research Institute

UDP-糖は細胞壁合成において基質として供給されるが、植物は細胞質やゴルジ装置においてUDP-グルコースから順次相互変換していることが知られている。本研究では可溶性酵素であるUDP-キシロース4-エピメラーゼを各種クロマトグラフィーによりエンドウ豆の芽生えより約300倍に精製した。精製酵素のN末端アミノ酸配列はUDP-グルコース4-エピメラーゼ遺伝子PsUGE1と一致し、ゴルジ装置に局在するUDP-キシロース4-エピメラーゼとは異なることが判明した。大腸菌発現系を用いて発現された組換え酵素(rPsUGE1)はUDP-キシロース4-エピメラーゼ活性とUDP-グルコース4-エピメラーゼ活性の両方の活性を示し、また、UDP-グルコース、UDP-ガラクトース、UDP-アラビノース、UDP-キシロースに対してKm値0.31, 0.29, 0.16, 0.15mMをそれぞれ示した。UDP-キシロースからUDP-アラビノースの生産における平衡定数は0.89であったが、UDP-グルコースからUDP-ガラクトースの生産においては0.24であった。アミノ酸配列の系統樹解析によりPsUGE1はシロイヌナズナのUDP-グルコース4-エピメラーゼのAtUGE1, AtUGE3とグループを形成し、AtUGE2, AtUGE4, AtUGE5とは別のグループを形成することが判明した。AtUGE1とAtUGE3を大腸菌の系で発現させ、組み換え酵素の特性を解析したところ、rPsUGE1と同様にUDP-グルコース4-エピメラーゼに加え、高いUDP-キシロース4-エピメラーゼ活性を示すことが明らかとなった。本研究の結果はPsUGE1及びその近縁の配列はUDP-アラビノースを合成するデノボ経路の最終ステップにおいてUDP-キシロースからUDP-アラビノース生産する相互変換を触媒することを示唆している。また、代謝産物のネットフラックスはアラビノースのサルベージ経路の一部としてUDP-アラビノースからUDP-キシロースへの変換からきているかも知れないと考えられる。

バイファンクショナルな細胞質UDP-グルコース4-エピメラーゼはUDP-キシロースからUDP-アラビノースへの変換を触媒する

小竹 敬久*, 高田 遼平*, Rajeev Verma**, 高場 雅人*, 山口 大介*, 折田 隆広*,
金子 哲***, 松岡 浩司*, 小山 哲夫*, Wolf-Dieter Reiter**, 円谷 陽一*

*埼玉大学

**コネチカット大学

***農研機構食品総合研究所

Journal of Applied Glycoscience, 4(56), 267–271(2009)

Evaluation of ethanol fermentation ability of *Flammulina velutipes* NBRC33210 from starch by consolidated bioprocessing

Sumiko Mori*, Satoshi Kaneko*

*National Food Research Institute

エノキタケ *Flammulina velutipes* NBRC33210を用いて、デンプンを原料としたエタノール発酵を検討した。5%のデンプンと菌糸の混合液を嫌気条件において発酵させた場合には、全くエタノールは生産されなかった。しかしながら、エノキタケを好氣的に7日間培養した場合、デンプン分解酵素が誘導され、その後、デンプンを原料として発酵した場合にはエタノールの生産がみられた。デンプンからのエタノール変換率は32.4%であった。発酵する際に市販のデンプン分解酵素を添加した場合、 α -アミラーゼは全く添加の効果がなかったが、 α -グルコシダーゼ、グルコアミラーゼでは顕著に酵素添加の効果が現れた。0.1U/mLのグルコアミラーゼを添加した場合、デンプンからのエタノール変換率は72.6%に達した。

デンプンを原料とした連結バイオプロセスによるエノキタケNBRC33210株のエタノール発酵能の評価

森 澄子*, 金子 哲*

*農研機構食品総合研究所