

## 研究紹介

愛知真木子・前田真一・市川和洋・小俣達男. 2004. ラン藻における硝酸同化オペロンの亜硝酸による活性化は亜硝酸が制限された生育条件下で硝酸同化活性を効率良く発現させるために必要である. *J. Bacteriol.* 印刷中. LysR型の転写因子NtcBは亜硝酸に応答して硝酸同化オペロンの転写を活性化する. NtcBを欠失した変異株は, 硝酸/亜硝酸が制限された生育条件下で野生株に比べて硝酸同化活性が低く, 野生株と混合して連続培養をしたところ細胞は増加することができなかった. (Aichi M., Maeda S., Ichikawa K., Omata T. 2004 Nitrite-responsive activation of the nitrate assimilation operon in cyanobacteria plays an essential role in up-regulation of nitrate assimilation activities under nitrate limited growth conditions. *J. Bacteriol.* Vol.186 : 3224-3229)

愛知真木子・吉原さおり・山下円・永井和夫・小俣達男. 2004. 「ラン藻*Nostoc punctiforme*の硝酸・亜硝酸能動輸送体 (NrtP) の性質」. 日本植物生理学会年会 (新潟) 2005年3月. 多くの淡水性ラン藻は, ABC型の硝酸イオン輸送体 (NRT) を持つが, 窒素同化を行うことのできる*N. punctiforme*はゲノム解析により海産性のラン藻に見られるMFS型の硝酸輸送体を持つことが分かった. 本研究では, NRTを欠失した*Synechococcus* 7942株に, *N. punctiforme*の硝酸イオン輸送体遺伝子 (*napA*) を導入し発現させた. その結果, (1) *NapA*は単独で硝酸イオン, 亜硝酸イオンの両方を運ぶ, (2) *NapA*は亜硝酸より硝酸を優先的に運ぶ, (3) アンモニアによって, *NapA*の硝酸イオン輸送は阻害されるが, 亜硝酸イオン輸送は阻害されない事が明らかとなった.

杉野浩幸・福地真也・村尾澤夫・荒井基夫・藤井隆夫. 2004. 「*Paecilomyces lilacinus*の $\beta$ -1, 3-マンナーゼ活性を有する赤色酵母を溶解酵素の遺伝子構造」. *Paecilomyces lilacinus*は赤色酵母を細胞壁を溶解する酵素を生産し, それは $\beta$ -1, 3-マンナーゼ活性を有する. この酵素の遺伝子およびcDNAのクローニングを行った. この酵素はグリコシドヒドロラーゼファミリーの5に属するが, そのファミリーのユニークな一員であった. (H. i Sugino, S. Furuichi, S. Murao, M. Arai and Takao Fujii. 2004. Molecular Characterization of a *Rhodotorula*-lytic Enzyme from *Paecilomyces lilacinus* Having  $\beta$ -1,3-Mannnase Activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68 : 757-760)

荒井基夫. 2004. 「有用微生物酵素に関する基礎と応用」. 植物性バイオマスは太陽が存在するかぎり再生産が可能である. これを有効利用することは, 環境負荷の少ない産業になる. このためには, セルロース性物質を加水分解して単糖にする必要がある. 著者は微生物由来のセルラーゼを用いて, 草本植物を完全に単糖にまで加水分解し, 分解液をアルコールに転換する方法を開発した. ついで*Aspergillus aculeatus*のセルラーゼ系の諸性質を調べ, いくつかの新規な酵素を発見した. また, これらの酵素遺伝子のクローニングを行い, 酵母で発現させ, セルロースを直接発酵する菌の育種を行っている. また, アミラーゼ阻害剤, キチン分解酵素, 赤色酵母細胞壁溶解酵素などの研究も行った. この論文は著者が長年にわたる研究をまとめた総説である. (M. Arai. 2004. Useful Microbial Enzymes. *Nippon Nougei Kakaku Kaishi.* 78 : 382-393)

Yong Woo Park・馬場啓一・古田裕三・飯田生穂・鮫島一彦・荒井基夫・林隆久. 2004. 「ポプラでキシログルカナーゼを大量発現させることによる成長促進とセルラーゼの蓄積」. キシログルカンの構造が緩むと植物の生育が促進されるという報告を基にして, *Aspergillus*のキシログルカナーゼ遺伝子をポプラで発現させた. 酵素の発現は茎の成長を促進したが, 強度は低下した. キシログルカンの減少はセルロース含量の増加を伴った. (Y-W Park, K. Baba, Y. Furuta, I. Iida, K. Samesima, M. Arai, T. Hayashi. 2004. Enhancement of growth and cellulase accumulation by overexpression of xyloglucanase in poplar. *FEBS Letters.* 564 : 183-187)

菅井実夫・上甲恭平・林 壽郎・荒井基夫. 2004. 「水溶性高分子修飾セルラーゼによる中性条件下でのラ

ミー繊維への作用」。無水マレイン酸メチルビニルエーテル共重合体（以下MAMECと略す）により化学修飾した修飾セルラーゼと未修飾セルラーゼからなる修飾複合酵素を調製し、この化学修飾セルラーゼのpH依存性を詳しく検討したところ、中性域において、ホウ酸系緩衝液を用いることにより、高いアビセラゼ活性を発現することを見いだした。本報ではMAMEC修飾複合酵素のホウ酸緩衝液系での酵素活性挙動とともに、ラミー繊維および綿繊維への作用を調べ、中性セルラーゼとして利用する可能性について検討した。(J. Sugai, K. Joko, T. Hayasi, M. Arai. 2004. Effect of chemically modified cellulase by water soluble polymer on rami fiber. 繊維学会誌. 60:16-20)

炭谷順一・鳥取忠司・坂本武・川口剛司・荒井基夫. 2004. 「Bacillus sp. No. 19の生産する $\alpha$ -アミラーゼのデンプン結合部位について」。Bacillus sp. No.195株由来 $\alpha$ -アミラーゼ(BAA)は、N末端側に動物や放線菌由来のアミラーゼと相同性が高い触媒ドメインを、C末端側には90アミノ酸残基からなる繰り返し配列から構成される機能未同定の領域が存在する。BAA遺伝子をStreptomyces lividans TK24株で発現させたところ、分子量の異なる3種類の発現産物が得られた。解析した結果、これらはC末端側の繰り返し配列の前後で菌体外プロテアーゼによって分解されていることがわかった。これら3種の発現産物を精製し、諸性質の検討を行ったところ、繰り返し配列の数に依存して生デンプンに対する吸着能と分解活性がそれぞれ上昇することから、この繰り返し配列がデンプン結合領域として機能することがわかった。(J. Sumitani, T. Tottori, T. Sakamoto, T. Kawaguchi, M. Arai. 2004. Studies on starch-binding domain (CBM 25) of Bacillus sp. No. 195  $\alpha$ -amylase. Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization. p112-120. UNI PUBLISHERS CO., LTD).

朴昌洙・川口剛司・炭谷順一・高田悟郎・何森健・荒井基夫. 2004. 「Streptomyces sp. M23の生産する耐熱性セルラーゼについて」。土壌から耐熱性のセルラーゼを生産するStreptomyces sp. M23株を分離した。本菌の培養上清からセルラーゼの精製を行ったところ、エンドグルカナーゼ(EGL1)とエキソグルカナーゼ(CBHII)の2種類のセルラーゼ成分が存在することがわかった。それぞれの分子量は22,000と44,000で、至適温度60°C、至適pH4.0、50°Cまで安定で、100°C、10分間の処理でも20-30%の残存活性があることがわかった。本菌の染色体からCBHIIをコードする遺伝子のクローニングを行い、塩基配列を決定した。CBHIIはGHF-6に分類されるセルラーゼと相同性を示した。本遺伝子をS. lividans TK24株にて発現させ、発現産物の精製を行った。(C-S. Park, T. Kawaguchi, J. Sumitani, G. Takada, K. Izumori, M. Arai. 2004. Studies on thermostable cellulases produced by Streptomyces sp. M23. Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization. p422-431. UNI PUBLISHERS CO., LTD).

N. N. Puspaningsih・A. Suwanto・M. T. Suhartono・朴昌洙・荒井基夫・S. S. Achmadi. 2004. 「Bacillus thermoleovorans IT-08の生産する $\beta$ -キシロシダーゼと $\alpha$ -L-アラビノフラノシダーゼの性質」。好熱性細菌Bacillus thermoleovorans IT-08株は培地に oat spelts xylanを添加して生育させると菌体外にキシラナーゼや $\beta$ -キシロシダーゼなどのキシラン分解酵素や $\alpha$ -L-アラビノフラノシダーゼなどの酵素を分泌生産する。本菌から $\beta$ -キシロシダーゼと $\alpha$ -L-アラビノフラノシダーゼの精製を行い、諸性質を検討した。(N. N. Puspaningsih, A. Suwanto, M. T. Suhartono, C-S. Park, M. Arai, S. S. Achmadi. 2004. Isolation and characterization of  $\beta$ -xylosidase and  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase from Bacillus thermoleovorans IT-08. Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization. p442-450. UNI PUBLISHERS CO., LTD).

上田光宏・小島美紀・光田 憲郎・荒木恵一・川口剛司・宮武和孝・荒井基夫・深溝慶. 2004. 「Aeromonas sp. No. 10S-24のファミリー19に属する新規キチナーゼ」。Aeromonas sp. No. 10S-24株由来ファミリー19に分類されるキチナーゼ遺伝子のクローニングを行い、塩基配列を決定し、大腸菌における発現について検討した。遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定し、推定されるアミノ酸配列を解析した結果、本酵素はN末端領域に繰り返し配列から構成されるキチン結合領域を保持し、2つのプロリン/スレオニンリンカーを介

してC末端側にファミリー19に分類されるキチナーゼと相同性のある触媒ドメインが存在することがわかった。発現産物のオリゴ糖の切断パターンの解析から、本酵素は珍しい切断特性を持つことがわかった。(M. Ueda, M. Kojima, N. Mitsuda, K. Araki, T. Kawaguchi, K. Miyatake, M. Arai, T. Fukamizo. 2004. A novel type of family 19 chitinase from *Aeromonas* sp. No. 10S-24. Cloning, sequencing, expression, and enzymatic properties. *Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization*. p468-477. UNI PUBLISHERS CO., LTD).

荒井基夫・川口剛司・炭谷順一. 2004. 「*Aspergillus aculeatus*のセルラーゼ系」.

現在最強と言われているセルラーゼ生産菌*Trichoderma viride*のセルラーゼ(メイセラゼ)は、単糖生成能力が低いという欠点がある。その欠点を補って、メイセラゼと相乗作用を示すセルラーゼ生産菌として*Aspergillus aculeatus* F-50株が分離された。本菌が生産するセルラーゼ剤(アクセラゼ)から9種のセルラーゼ成分を精製し、そのうちいくつかについては遺伝子のクローニングを行った。これら遺伝子を異種遺伝子産物分泌能に優れている麹菌*Aspergillus oryzae*に同時に導入することで、セルロースを強力に分解する「スーパー麹」の作出を試みた。(M. Arai, T. Kawaguchi, J. Sumitani. 2004. Cellulase system of *Aspergillus aculeatus*. *Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization*. p517-520. UNI PUBLISHERS CO., LTD).

金政真・高田悟郎・川口剛司・炭谷順一・加賀友子・荒井基夫. 2004. 「*Aspergillus aculeatus*の $\beta$ -マンノシダーゼ遺伝子のクローニングと*Aspergillus oryzae*における発現」. *Aspergillus aculeatus*由来 $\beta$ -マンノシダーゼ(MANB)遺伝子のクローニングを行い、麹菌*Aspergillus oryzae*で大量発現させることを試みた。得られた形質転換体は270mg/L cultureの生産性で培養上清中にMANBを分泌していることがわかり、大量分泌発現に成功した。発現産物を電気泳動的に均一に精製した。また、形質転換体の染色体解析を行い、導入した遺伝子が確かに目的位置で相同組み換えして1コピー導入されていることを確認した。(S. Kanamasa, G. Takada, T. Kawaguchi, J. Sumitani, T. Kaga, M. Arai. 2004. Cloning of *Aspergillus aculeatus*  $\beta$ -mannosidase gene and its overexpression in *Aspergillus oryzae*. *Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization*. p592-599. UNI PUBLISHERS CO., LTD).

Rashid, M. H.・川口剛司・炭谷順一・荒井基夫. 2004. 「*Aspergillus aculeatus*のエンドグルカナーゼ(FI-CMCase)遺伝子の*Aspergillus oryzae*における発現」. *Aspergillus aculeatus*由来FI-カルボキシメチルセルラーゼ遺伝子(*cmc1*)の麹菌*Aspergillus oryzae*での大量発現を試みた。*cmc1*をコードするcDNAを麹菌発現用プラスミドpNAN8142のプロモーター下流に挿入して、*A. oryzae*の*niaD*部位に導入した。得られた形質転換体はグルコースやマルトースを含む培地で培養上清中に大量に分泌発現することがわかった。(M. H. Rashid, T. Kawaguchi, J. Sumitani, M. Arai. 2004. Expression of *Aspergillus aculeatus* endoglucanase (FI-carboxymethylcellulase) gene in *Aspergillus oryzae*. *Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization*. p619-626. UNI PUBLISHERS CO., LTD).

川口剛司・金政真・望月美帆・高田悟郎・炭谷順一・荒井基夫. 2004. 「*Aspergillus aculeatus*のセロビオヒドロラーゼI遺伝子の*Aspergillus oryzae*における大量発現」. *Aspergillus aculeatus*由来セロビオヒドロラーゼ(CBHI)遺伝子のクローニングを行い、塩基配列を決定した。本遺伝子は1,620bpから構成され、540アミノ酸、推定分子量56,723の蛋白をコードすることがわかった。また本酵素はN末端側に他の糸状菌のCBHIと高い相同性を示す触媒ドメイン、C末端側にはCBM1に分類されるセルロース結合ドメインが存在することがわかった。本遺伝子を麹菌*Aspergillus oryzae*で発現させたところ、941mg/L cultureの培養活性を示し、極めて高い生産性で分泌発現することがわかった。(T. Kawaguchi, S. Kanamasa, M. Mochizuki, G. Takada, J. Sumitani, M. Arai. 2004. Cellobiohydrolase I gene of *Aspergillus aculeatus* and its overexpression in *Aspergillus oryzae*. *Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization*. p627-637. UNI PUBLISHERS CO., LTD).

大谷隼人・河崎雅利・炭谷順一・川口剛司・荒井基夫. [Aspergillus aculeatus F-50由来FII-CM-cellulase (cmc2) 遺伝子のAspergillus oryzaeにおける高発現]. 2004年度日本農芸化学会大会 2004年3月 (広島). Aspergillus aculeatus由来FII-CM-cellulase遺伝子のAspergillus oryzaeにおいて発現させた. 発現産物を電気泳動的に均一に精製した. 精製産物の諸性質を検討した結果, 元菌株由来のものと同じであった.

中村公一・炭谷順一・川口剛司・荒井基夫. [Bacillus polymyxa由来 $\beta/\alpha$ -アミラーゼに存在するデンブリン結合領域の $\alpha$ -アミラーゼに与える影響]. 2004年度日本農芸化学会大会 2004年3月 (広島). Bacillus polymyxa由来 $\beta/\alpha$ -アミラーゼは, 中央に約100アミノ酸から成る繰り返し配列が存在し, そのN末端側に $\beta$ -アミラーゼが, C末端側には $\alpha$ -アミラーゼが連なった形の前駆体蛋白として合成され, 分泌後, 菌体外プロテアーゼで切断され,  $\beta$ -アミラーゼと $\alpha$ -アミラーゼが生成する. 今回は中央の繰り返し配列が $\alpha$ -アミラーゼに与える影響について調べた.

柳谷真理・炭谷順一・川口剛司・荒井基夫. [Aspergillus oryzae由来グルコアミラーゼに付加したBacillus sp. No. 195株由来 $\alpha$ -アミラーゼデンブリン結合領域CBM 25の機能解析]. 2004年度日本農芸化学会大会 2004年3月 (広島). Bacillus sp. No. 195株由来 $\alpha$ -アミラーゼのC末端領域にはCBM25に分類される繰り返し配列から構成されるデンブリン結合領域 (SBD) が存在する. このSBDをAspergillus oryzae由来グルコアミラーゼに付加することで生デンブリンを強力に分解するグルコアミラーゼを作製した.

金政真・川口剛司・荒井基夫・梶原将. [糸状菌Aspergillus aculeatusにおけるセルラーゼ・ヘミセルラーゼ遺伝子の発現促進機構]. 平成16年度日本生物工学会大会 2004年9月 (名古屋). キシラナーゼ遺伝子群の転写調節因子として同定されたXlnRの認識配列がAspergillus aculeatus由来セルラーゼ系遺伝子のプロモーター領域に存在する. そこで, 本菌からXlnRホモログ遺伝子をクローニングし, その破壊株を作製し, セルラーゼ系遺伝子の発現への影響を見た.

柳谷真理・炭谷順一・荒井基夫・川口剛司. [Aspergillus oryzae由来タカアミラーゼおよびグルコアミラーゼにおけるBacillus sp. No. 195株由来デンブリン結合領域の付加効果]. 第4回糸状菌分子生物学コンファレンス 2004年11月 (仙台). Bacillus sp. No. 195株由来 $\alpha$ -アミラーゼのC末端領域にはCBM25に分類される繰り返し配列から構成されるデンブリン結合領域 (SBD) が存在する. このSBDをAspergillus oryzae由来タカアミラーゼとグルコアミラーゼに付加することで生デンブリンを強力に分解するグルコアミラーゼを作製した.

H. Banno. 2004. Overexpression of AtEBP inhibits in vitro shoot regeneration of arabidopsis. Annual Report of Research Institute for Biological Function, 4, 15-18.

Kobayashi, M., Io, F., Kawai, T., Nishimura, M., Ohno, T. and Horio, F. 2004. SMXA-5 mouse as a diabetic model susceptible to feeding a high-fat diet. 糖尿病を呈しないマウスSM/J系統とA/J系統から作出されたSMXA-リコンビナント・インブレッド系統の一系統であるSMXA-5系統は, 高血糖, 耐糖能異常, 高インスリン血症, 肥満などの明らかな2型糖尿病病質を発現する. このことは, SM/JおよびA/J系統は潜在的な糖尿病遺伝子を保有しており, それらをSMXA-5が保有することにより糖尿病が発症していることを示唆している. 本論文では, 新たな2型糖尿病モデルとしてのSMXA-5の特性の解析を進め, このマウスが高脂肪食の摂取によって顕著な糖尿病を発症することを明らかにした. そして, このマウスを用いれば高脂肪食摂取下で作用する糖尿病遺伝子の探求が可能であることを示唆した.

Biosci. Biotechnol. Biochem., 68, 226-230.

Tsuda, T., Ueno, Y., Aoki, H., Koda, T., Horio, F., Takahashi, N., Kawada, T. and Osawa, T. 2004. Anthocyanin enhances adipocytokine secretion and adipocyte-specific gene expression in isolated rat adipocytes. 豆類など

に広く存在するアントシアニンであるシアニジン-3-O-グルコシド (C3G) は、ラット脂肪細胞において数種のアディポサイトカインの分泌を促進することを始めて見出した。中でも、C3Gが抗糖尿病作用と抗動脈硬化作用を有するアディポネクチンの分泌促進作用があることは注目に値する。さらに、C3Gは脂肪細胞特異的な遺伝子の発現を増強することも明らかにした。

Biochem. Biophys. Res. Commun., 316, 149-157.

Kobayashi, M., Ohno, T., Tsuchiya, T. and Horio, F. 2004. Characterization of diabetes-related traits in MSM and JF1 mice on hi-fat diet. 日本産野生マウス *Mus musculus molossinus* は、現在使用されている大部分の laboratory mouse とは全く異なった遺伝学特徴を有している。この *Mus musculus molossinus* から確立された MSM/Ms 系統と JF1/Ms 系統は、連鎖解析やポジショナルクローニングに用いられる系統として非常に有用である。本論文では、この両系統が単に遺伝学的に貴重な系統であるのみならず、糖尿病形質の発現においてユニークな特徴を有していることを見出した。2型糖尿病を誘発しやすい高脂肪食摂取時において、JF1/Ms は肥満、耐糖能異常、高インスリン血症を発症しやすいことを示した。一方、通常の laboratory mouse に比べて、MSM/Ms は高脂肪食摂取をしても糖尿病形質を発現しにくいことも見出した。J. Nutr. Biochem., 15, 614-621.

Minakata, K., Horio, F., Saito, S., Nozawa, H., Watanabe, K. and Suzuki, O. 2004. Manganese levels in tissues of paraquat dised and/or magnesium restricted rats measured by an electron spin resonance method. 除草剤であるパラコートに暴露されたラットにおいては、各組織のマンガンの濃度が低下することを始めて見出した。そして、この低下はマグネシウムの摂取量を要求量程度に制限した場合にのみ観察された。Jpn. J. Forensic Toxicol., 22, 193-195.

Itoh, T., Kita, N., Kurokawa, Y., Kobayashi, M., Horio, F. and Furuichi, Y. 2004. Suppressive effect of hot water extract of Adzuki beans (*Vigna angularis*) on hyperglycemia after sucrose loading in mice and diabetic rats. 小豆の熱水抽出物には血糖値作用があることを、蔗糖投与マウスとストレプトゾトシン投与糖尿病ラットにおいて初めて明らかにした。この小豆熱水抽出物の効果は、この抽出物の小腸  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用によるものであることを示唆した。

Biosci. Biotechnol. Biochem., 68, 2421-2426.

Minakata, K., Kawai, K., Horio, F., Takeuchi, H. and Suzuki, O. 2004. Accumulation of copper in kidney of spontaneously hypertensive rats, a preliminary study. アスコルビン酸合成不能高血圧自然発症ラット (SHR-od) において、血圧の上昇とともに腎臓に銅が蓄積していくことを初めて見出した。この蓄積に対して、アスコルビン酸の摂取の大小は影響がないことより、この銅の蓄積は血圧の上昇が主な要因であることが示唆された。Biofactors, 22, 29-31.

小林美里, 井尾房代, 河合隆博, 大野民生, 西村正彦, 堀尾文彦. 2004. リコンビナント・インブレッド系統マウスを用いた2型糖尿病原因遺伝子の探索. 肥満研究. 10, 81-83. マウス SM/J 系統と A/J 系統から作出された SMXA-リコンビナント・インブレッド系統群は単一もしくは多数の遺伝子支配により制御される表現形質の遺伝解析に好適な系統群である。そして、両親系統 (SM/J, A/J) は糖尿病を呈さないが SMXA-5 系統は 2型糖尿病形質を発現することから、SM/J および A/J 系統は潜在的な糖尿病遺伝子を保有しており、それらを SMXA-5 が保有することにより糖尿病が発症している可能性を解説した。そして、我々が SMXA-RI 系統群を用いて 2型糖尿病遺伝子の遺伝解析を進めて現状について示した。

堀尾文彦. 2004. 免疫応答や炎症を制御する転写因子である NF- $\kappa$ B の TNF  $\alpha$  による活性化を、ビタミン C が抑制する可能性. ビタミン. 78, 355-357. ビタミン C は抗炎症作用を有している可能性がある。その作用機

構として、様々な炎症応答を引き起こす転写因子NF $\kappa$ Bの活性化をビタミンCが抑制する可能性があることを、最近の報告を収集して論じた。

大野民生・堀尾文彦・中村光裕・西村正彦. 2004. マウスを用いたplasmodium yoelii 17XL感染に対する宿主抵抗性遺伝子座の解析. 第73回日本寄生虫学会大会 (群馬). 2004.4. マウスの交雑系を用いて, plasmodium yoelii 17XLに対する宿主抵抗性を支配する遺伝子の染色体マッピングを行った。

大野民生・堀尾文彦・中村光裕・西村正彦. 2004. マウスを用いたマラリア原虫感染に対する宿主抵抗性遺伝子座 (Pymr) の解析. 第51回日本実験動物学会総会 (長崎). 2004.5. マウス交雑系を用いて, マラリア原虫の感染に対する宿主抵抗性を支配する遺伝子の染色体マッピングを行った。

小林美里・井尾房代・河合隆博・熊澤真由美・西村正彦・大野民生・堀尾文彦. 2004. SMXA RI系統に見出された2型糖尿病遺伝子座のコンジェニック系統を用いた解析. 第58回日本栄養・食糧学会大会 (仙台). 2004.5. 高脂肪食摂取下において2型糖尿病を支配する遺伝子座t2dm2saは2番染色体に存在する. 順行性遺伝学の手法によりこの遺伝子を同定することを目的として, t2dm2saをSM/J系統マウスに導入したコンジェニック系統を作成してこの系統に糖尿病が発症することを報告した。

伊藤智広・黒川裕子・小林美里・堀尾文彦・古市幸生. 2004. 小豆熱水抽出物 (小豆煮汁) の2型糖尿病KK-Ayマウスにおける糖尿病進行抑制効果. 第58回日本栄養・食糧学会大会 (仙台). 2004.5. 豆熱水抽出物には小腸粘膜に存在する $\alpha$ -グルコシダーゼの阻害活性があり, 2型糖尿病自然発症モデルマウスであるKK-Ayマウスに摂取させたところ, 糖尿病の進行を有意に抑制することを報告した。

堀尾文彦. 2004. アスコルビン酸合成不能高血圧自然発症ラット (SHR-od) の高血圧に及ぼす摂取アスコルビン酸量の影響と, SHR-odの飼育状況. 第114回ビタミンC研究委員会 (東京). 2004.7. アスコルビン酸合成不能高血圧自然発症ラット (SHR-od) に大過剰のアスコルビン酸を投与して, 従来注目されているアスコルビン酸の血圧低下作用について検討した. しかしながら, 血圧の自然上昇時と, 高血圧確立後との両方において過剰アスコルビン酸を投与しても血圧の低下は観察されなかった。

木原智子・村田容常・本間清一・金子成延・小前幸三. 2005. 小麦ポリフェノールオキシダーゼの精製と性状. Food Sci. Technol. Res. 印刷中. 日本産の小麦ふすまからポリフェノールオキシダーゼ (PPO) を4-メチルカテコールを基質として精製した. アルカリ化, 硫酸沈殿, 陰イオン交換クロマトグラフィー, 疎水クロマトグラフィー, ゲルろ過クロマトグラフィーを行い, 収率0.175%, 精製度1670倍となった. 分子量はSDS-PAGEで40kDa, ゲルろ過クロマトグラフィーで35kDaを示し, 単量体であった. N末端アミノ酸配列は他の植物PPOの内部配列と類似していた. 至適pHは精製酵素で4.5, 粗酵素で5.3となった. 精製酵素の活性はpH6.5-7.5, 4°C, 24時間放置後も安定していた. 精製酵素は60°C, 10分間の加熱処理後も安定していた. 精製酵素はL-チロシン, ピロカテコール, 4-メチルカテコール, L-DOPA, クロロゲン酸, (+)-カテキン, (-)-エピカテキンを酸化した. 精製酵素のKm値は4-メチルカテコールで3.3mM, L-DOPAで8.3mMとなった. 精製酵素はジエチルジチオカルバミン酸, チオ尿素, アジ化ナトリウム, システイン, ヨード酢酸, フッ化ナトリウム, フェルラ酸に強く阻害された. (Tomoko Kihara, Masatsune Murata, Seiichi Homma, Shigenobu Kaneko and Kozo komae.2005. Purification and characterization of wheat (*Triticum aestivum*) polyphenol oxidase. Food Sci. Technol. Res., in press)

木原智子・松浦里香・岡本郁子・村田容常・本間清一・金子成延. 2004年9月. 小麦種子の登熟及び乾燥におけるポリフェノールオキシダーゼの変化. 日本食品科学工学会第51回大会 (於岩手大学). 小麦粉や小麦粉生地の色調劣化に関与すると言われているポリフェノールオキシダーゼ (PPO) について小麦種子の成熟

と収穫後の乾燥に伴う活性の変化を調べた。国産小麦3品種の開花後12, 26, 40日の種子を採取した。PPO粗抽出液にグアニジンを追加すると数十倍に活性化し、小麦種子PPOはほとんどが不活性型として存在することが明らかとなった。グアニジンを追加しない場合、種子の成熟過程におけるPPO活性の変化は品種によって異なっていた。グアニジンを追加した場合、どの品種も種子の成熟に伴いPPO活性が増加した。開花後40日の種子を採取後1日自然乾燥すると、グアニジンを追加した場合のPPO活性は採取直後よりも9割低下し、それ以降は大きな変化は見られなかった。

松岡史子, 小林 猛ら. 2004. 「ハムスターの骨肉腫に対する陽電荷マグネトリポソームを使用する温熱療法」. 陽電荷マグネトリポソームを使用して、ハムスターの骨肉腫に対する温熱療法が出来ることを明らかにした. (Fumiko Matsuoka, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda, Tadahiko Kubo, Takashi Sugita and Takeshi Kobayashi : Hyperthermia using magnetite cationic liposomes for hamster osteosarcoma, *BioMagnetic Research Technol.*, 2:3-8)

井藤 彰, 小林 猛ら. 2004. 「抗HER2抗体を結合したマグネトリポソームを用いた抗体療法と温熱療法の併用」. 抗HER2抗体を結合したマグネトリポソームを用いて乳癌に対する抗体療法と温熱療法の併用が効果的であることを示した. (Akira Ito, Yuko Kuga, Hiroyuki Honda, Hiroyuki Kikkawa, Atsushi Horiuchi, Yuji Watanabe and Takeshi Kobayashi: Magnetite nanoparticle-loaded anti-HER2 immunoliposomes for combination of antibody therapy with hyperthermia, *Cancer Letters*, 212, 167-175)

井藤 彰, 小林 猛ら. 2005. 「温熱療法によって誘導される腫瘍特異的免疫の機作」. 温熱療法によって腫瘍特異的免疫活性が強く誘導される機作をまとめ、考察した. (Akira Ito, Takeshi Kobayashi, Hiroyuki Honda : A mechanism of antitumor immunity induced by hyperthermia, *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.*, 21, 1-11)

井藤 彰, 小林 猛ら. 2004. 「磁性微粒子を用いる胚性幹細胞の新しい培養法の開発」. 磁性微粒子と磁石を用いることによって胚性幹細胞の新しい培養法を開発した. (Akira Ito, Eri Hibino, Hiroyuki Honda, Ken-ichiro Hata, Hideaki Kagami, Minoru Ueda and Takeshi Kobayashi: A new methodology of mesenchymal stem cell expansion using magnetic nanoparticles, *Biochem. Eng. J.*, 20, 119-125)

井藤 彰, 小林 猛ら. 2004. 「磁性微粒子と磁石を用いる組織工学—肝実質細胞と血管内皮細胞の共培養による重層化」. 肝実質細胞と血管内皮細胞を共培養するにあたり、磁性微粒子と磁石を用いる新しい組織工学的手法を用いて上手く重層化することが出来ることを明らかにした. (Akira Ito, Yohei Takizawa, Hiroyuki Honda, Ken-ichiro Hata, Hideaki Kagami, Minoru Ueda and Takeshi Kobayashi: Tissue engineering using magnetite nanoparticles and magnetic force: heterotypic layers of co-cultured hepatocytes and endothelial cells, *Tissue Eng.*, 10, 833-840)

井藤 彰, 小林 猛ら. 2004. 「磁性微粒子と磁石を用いた多重化表皮細胞の培養法と表皮シートの剥離方法」. 磁性微粒子と磁石を用いて、多重化表皮細胞の新しい培養方法を構築し、出来上がった表皮シートを上手く剥離出来ることを明らかにした. (Akira Ito, Masao Hayashida, Hiroyuki Honda, Ken-ichiro Hata, Hideaki Kagami, Minoru Ueda and Takeshi Kobayashi: Construction and harvest of multilayered keratinocyte sheets using magnetite nanoparticles and magnetic force, *Tissue Eng.*, 10, 873-880)

加藤竜司, 小林 猛ら. 2004. 「ペプチドアレイを用いたアンジオテンシンII阻害ペプチド」. ペプチドアレイを用いて、アンジオテンシンIIの活性を阻害するペプチドを見いだした. (Ryuji Kato, Mitoshi Kunimatsu, Seigo Fujimoto, Takeshi Kobayashi, Hiroyuki Honda; Angiotensin II inhibitory peptide found in the receptor sequence using peptide array, *Biochem. Biophys. Research Comm.*, 315, 22-29)

本郷友和, 小林 猛ら. 2005. 「人工肝臓構築のための5mlのラジアル流れ付きバイオリアクターにおけるHepG2細胞の三次元高密度培養」. 人工肝臓を構築する目的で5mlサイズのラジアル流れ付きバイオリアクターを使用して, HepG2細胞の三次元高密度培養を行った. (Tomokazu Hongo, Mariko Kajikawa, Seiichi Ishida, Shogo Ozawa, Yasuo Ohno, Jun-ichi Sawada, Akira Umezawa, Yoichi Ishikawa, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda : Three-dimensional high-density culture of HepG2 cells in a 5-ml radial-flow bioreactor for construction of artificial liver, J. Biosci. Bioeng., 99, 237-244)

劉貴紹, 小林 猛ら. 2004. 「ファジィニューラルネットワークとMRI 情報を用いるアルツハイマー型痴呆症の診断」. ファジィニューラルネットワークとMRI情報を用いるだけで正確にアルツハイマー型痴呆症の診断が可能な方法を開発した. (Xicheng Liu, Shin Hibino, Yoshihiro Hasegawa, Taizo Hanai, Takeo Mitsushima, Akihiko Iida, Michitaka Matsubara Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi: Evaluation of the Alzheimer type-dementia by magnetic resonance imaging using fuzzy neural networks, J. Chem. Eng. Japan, 37, 429-435)

花井泰三, 小林 猛ら. 2004. 「ファジィニューラルネットワークモデルに関する逆計算において信頼性を高める指標の提案」. ファジィニューラルネットワークモデルを使用して逆計算を行う際に計算の信頼性を高める指標を新しく提案した. (Taizo Hanai, Naoya Iwata, Takeshi Furuhashi, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi: Proposal of reliability index in search for reliable solutions of reversible calculation based on fuzzy neural network modeling, J. Chem. Eng. Japan, 37, 523-530)

袴田和己, 小林 猛ら. 2004. 「ブーリアンアルゴリズムを用いて遺伝子発現データから代謝経路を推定する方法の提案」. ブーリアンアルゴリズムを用いてDNAマイクロアレイによる遺伝子発現データから代謝経路を推定する方法を提案した. (Kazumi Hakamada, Taizo Hanai, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi : A preprocessing method for inferring genetic interaction from gene expression data using Boolean algorithm, J. Biosci. Bioeng., 98, 457-463)

富田泰之, 小林 猛ら. 2004. 「人工ニューラルネットワークを用いる小児アレルギー疾患に関与する原因SNPsの探索方法」. 人工ニューラルネットワークを用いて小児アレルギー疾患の発症に関する原因SNPsを効率よく探索する方法を提案した. (Yasuyuki Tomita, Shuta Tomita, Yuko Hasegawa, Yoichi Suzuki, Taro Shirakawa, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda: Artificial neural network approach for selection of casual single nucleotide polymorphisms and construction of prediction model on childhood allergic asthma, BMC Bioinformatics, 5, 120 -128)

清水和宣, 小林 猛ら. 2005. 「DNAマイクロアレイによる遺伝子発現データから大腸菌の有機溶媒耐性に関与する遺伝子*glpC*の発見」. DNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現データから大腸菌の有機溶媒耐性に関与する遺伝子*glpC*を新しく発見した. (Kazunori Shimizu, Shuhei Hayashi, Takeshi Kato, Maiko Suzuki, Norihiko Tsukagoshi, Noriyuki Doukyu, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda : Discovery of *glpC* as an organic solvent tolerance related gene in *Escherichia coli* using gene expression profiles from DNA, Appl. Environ. Microbiol., 71, 1093-1096)

清水和宣, 小林 猛ら. 2005. 「遺伝子発現の時間的データから大腸菌の有機溶媒耐性に関与する遺伝子*purR*が明らかになった」. DNAマイクロアレイによる遺伝子発現の時間的データから大腸菌の有機溶媒耐性に関与する新規な遺伝子*purR*を明らかにした. (Kazunori Shimizu, Shuhei Hayashi, Noriyuki Doukyu, Takeshi Kobayashi, and Hiroyuki Honda : Time-course data analysis of gene expression profiles reveals *purR* regulon concerns in organic solvent tolerance in *Escherichia coli*, J. Biosci. Bioeng., 99, 72-74)

高橋広雄, 小林 猛ら. 2005. 「遺伝子選別方法として投影適応共鳴理論を用いた強力な予測法の開発」. 遺伝子選別方法として投影適応共鳴理論を応用し, 強力な予測法を開発した. (Hiro Takahashi, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda: Construction of robust prognostic predictors by using projective adaptive resonance theory as a gene filtering method, *Bioinformatics*, 21, 179-186)

小島晶子・岩川秀和・上野宜久・相馬徹平・池崎仁弥・町田泰則・町田千代子. 2004年12月. シロイヌナズナの葉の発生・分化に関わるASYMMETRIC LEAVES1およびASYMMETRIC LEAVES2遺伝子の発現解析. 第27回日本分子生物学会年会. (於神戸) ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1) とASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) について詳細な発現解析の結果を示し, 両遺伝子は初期の葉原基, それ以降は葉の中央部で共に発現しており, そこで共に機能している可能性を示した. また, as2変異体のエンハンサーあるいはサプレッサーのスクリーニングの結果についても報告した.

町田千代子・上野宜久・石川貴章・池崎仁弥・小島晶子・岩川秀和・北倉左恵子・塚谷裕一・町田泰則. 2004年12月. シロイヌナズナの葉の形成におけるASYMMETRIC LEAVES1, ASYMMETRIC LEAVES2遺伝子の役割. 第27回日本分子生物学会年会 (於神戸) as2変異体およびas1変異体の子葉は下向きに巻いており, 子葉の向軸側/背軸側の細胞比が大きくなっていた. as2-1変異体にAS2を導入すると, 発現量に応じて, 野生型に近い個体, 上向きにカールする個体が観察された. またこのような表現型の回復はas1-1へ導入した場合には観察されないことから, AS1とAS2は共に機能し, 葉の細胞増殖の調節に関わると考えられた.

小島晶子・岩川秀和・上野宜久・E. Semiarti・相馬徹平・葛巻亜弥子・塚谷裕一・町田千代子・町田泰則. 2005年3月. シロイヌナズナの葉の発生におけるASYMMETRIC LEAVES1とASYMMETRIC LEAVES2遺伝子の機能. 国際シンポジウム「植物の軸形成とシグナル伝達」(於東京) ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1) とASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) の詳細な発現解析の結果, 両遺伝子は初期の葉原基, それ以降は葉の中央部で共に発現して機能すると考えられた. またas2変異体では下に巻いた葉が生じ, 葉の向軸側/背軸側の細胞比が大きくなっていること, AS2過剰発現個体では上向きに巻いた葉が生じ, 向軸側の細胞数が著しく減少することがあきらかとなった. 従ってAS2は葉の向軸側の細胞分化において何らかの機能を持つと考えられた. (Kojima, S., Iwakawa, H., Ueno, Y., Semiarti, E., Soma, T., Kuzumaki, A., Tsukaya, H., Machida, Y. and Machida, C. 2005. Function of the ASYMMETRIC LEAVES1 and ASYMMETRIC LEAVES2 genes in leaf development of Arabidopsis. International symposium on PLANT AXIS FORMATION AND SIGNAL TRANSDUCTION. Tokyo.)

田中博和・石川雅樹・北村さおり・高橋裕治・征矢野敬・町田千代子・町田泰則. *AtNACK1/HINKEL*と*STUD/TETRASPORE/AtNACK2*遺伝子は重複した機能を持つキネシンをコードし, シロイヌナズナの細胞質分裂に必須である. 2004. *Genes to Cells*, 9: 1199-1211. 細胞質分裂は娘細胞が二分割する重要なステップである. 我々は, すでに, NACK1キネシン様タンパク質とNPK1 MAPKKKとその基質であるNQK1 MAPKKの複合体が*Nicotiana tabacum*における細胞質分裂の進行に要求されることを示した. シロイヌナズナのゲノムにはNACK1, NACK2ホモログがコードされており, それぞれ, *AtNACK1/HINKEL*と, *STUD/TETRASPORE/AtNACK2*と命名されている. *AtNACK1/HINKEL*と*STUD/TETRASPORE/AtNACK2*遺伝子の機能欠損変異体では, それぞれ, 体細胞の細胞質分裂, 雄性細胞の細胞質分裂が不完全になる. しかしながら, これらの遺伝子は, 互いに重複した機能を持っていると考えられる. 我々は, *AtNACK1/HINKEL*と*STUD/TETRASPORE/AtNACK2*の機能欠損変異体の表現型を解析した. その結果, 両遺伝子は共に, 雄性, 雌性配偶子形成に必須であることを示唆した. *atnack1 atnack2*二重変異をもつ雌性配偶子では, 中央細胞と助細胞と卵細胞を生成する細胞化の過程に異常が認められた. また, *atnack1 atnack2*二重変異体は雄性配偶体致死となった. *AtNACK1/HINKEL*と*STUD/TETRASPORE/AtNACK2*は重複した機能を持ち, 配偶体形成過程における細胞質分裂に必須である. これらの遺伝子は, 配偶子 (一倍体) と孢子体 (二倍体) の両方の細胞質分裂に関与

し、MAPキナーゼカスケードに必須な因子であると考えられる。(Tanaka, H., Ishikawa, M., Kitamura, S., Takahashi, Y., Soyano, T., Machida, C. and Machida, Y. 2004. The *AtNACK1/HINKEL* and *STUD/TETRASPORE/AtNACK2* genes, which encode functionally redundant kinesins, are essential for cytokinesis in *Arabidopsis*. *Genes to Cells*, 9: 1199-1211)

北倉左恵子・上野直久・寺倉伸治・町田千代子・町田泰則. *Agrobacterium tumefaciens*由来の植物の癌遺伝子である6b遺伝子により誘導される植物細胞の細胞分裂の機構：タバコ細胞の転写因子と6bタンパク質の相互作用 2004. *Endocytobiosis and Cell Research*. 15: 179-180. *Agrobacterium tumefaciens*のT-DNA上にある6b遺伝子はクラウンゴール形成や、植物ホルモンに非依存的な細胞分裂、葉の異常な形態等を誘導する植物細胞の癌化活性をもつ。6b遺伝子産物は、植物細胞の細胞分裂にかかわっていると考えられるがその作用の仕方の分子機構はまったくわかっていない。我々は、6bタンパク質が、タバコの核局在タンパク質NtSIP1 (*Nicotiana tabacum* 6b-interacting protein 1) と相互作用することを報告する。NtSIP1タンパク質は、riceの転写因子であるGT-2のtri-helixモチーフのアミノ酸配列に一部類似している。また、GFP融合6bタンパク質の核局在はNtSIP1により促進された。6bタンパク質の酸性アミノ酸が多く存在する領域は核局在と、タバコ細胞のホルモン非依存的成長と、異常な形態の葉の形成に必須であった。6bタンパク質は、NtSIP1と会合して植物細胞の細胞増殖に働いていると考えられる。(Kitakura, S., Ueno, Y., Terakura, S., Machida, C. and Machida, Y. 2004. Mechanism of proliferation of plant cells that is induced by oncogene 6b from *Agrobacterium tumefaciens*: interaction of the 6b protein with a putative transcription factor in tobacco cells. *Endocytobiosis and Cell Research*. 15: 179-180)

渡辺勝・田中博和・町田千代子・渡辺大輔・町田泰則. ACR4受容体型キナーゼはシロイヌナズナの上表皮と表皮細胞の形成に参与する。2004. *Plant J*. 39: 298-308. 高等植物において、メリステム細胞の最外層である原表皮は胚発生の初期に形成され、表皮細胞に分化する。我々は、すでに、受容体型プロテインキナーゼ遺伝子である*crinkly4*のシロイヌナズナホモログ (*ACR4*) が、表皮細胞の分化と維持に参与する可能性があることを報告した。本研究において、我々は、リバースジェネティックスの手法を用いて、*acr4*機能欠損変異体を単離した。我々が行った透過型電子顕微鏡とトルイジンブルー法—この方法は、我々が、最近、葉のクチクラ層の欠損を迅速可視化するために開発した—を用いた詳細な解析によると、*acr4*変異体は、葉の表皮細胞分化に明らかに影響を与えることを示した。葉の表皮細胞の分化における*ACR4*と*CR4*の類似した役割を示唆している。我々が単離した*acr4*変異体では、胚珠において細胞層を形成している珠皮と内種皮の層構造の乱れや表皮細胞に種々の異常がみられた。また、*ACR4*とGFPの融合タンパク質は、表皮細胞の基底面と側面に存在し、外界に接している頂端面には見られなかった。これらの結果から、*ACR4*は、原表皮細胞の周囲の細胞から何らかのシグナルを受容して原表皮細胞の分化やその維持に関わっていると思われる。さらに、*ACR4*と*ABNORMAL LEAF SHAPE1 (ALE1)* 遺伝子の機能欠損変異は、大部分の葉が融合しているというように、表皮細胞の機能に対して相互依存的に影響を与えていた。*ACR4*は栄養成長期、生殖成長期の両方の過程で適切な表皮細胞分化に必須な機能をもつと考えられる。(Watanabe, M., Tanaka, H., Machida, C., Watanabe, D., Machida, Y. 2004. The *ACR4* receptor-like kinase is required for surface formation of epidermis-related tissues in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*. 39: 298-308)

岩川秀和・町田泰則・町田千代子. 2005 印刷中 マップベースクローニング「改訂3版モデル植物の実験プロトコール」(監修 岡田清孝他) 細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ 21. モデル植物であるシロイヌナズナを実験材料として、染色体地図情報をもとにして変異の原因遺伝子をクローニングする方法であるマップベースクローニング法について述べている。

小島晶子・町田泰則・町田千代子. 2005 印刷中 植物形態形成における体軸決定の仕組み「発生システムのダイナミクス」(編集：上野直人・八杉貞雄・野地澄晴)「蛋白質・核酸・酵素」増刊号 植物の胚発生の

初期には、頂部から基部へ向かう軸（主軸）にそっていくつかの特徴的な器官が形成されるが、その軸形成には、植物ホルモンであるオーキシンの極性移動が深く関わっている。発芽後に、地上部の主軸の側面には、ほぼ決まった間隔と角度で葉や側芽が形成される。茎や根が棒状で放射状であるのに対して、葉は扁平で多様な形態をした器官である。しかし、このような葉であっても基部から先端部へ向かって、基本的には常に葉柄と葉身という構造を保持しており、葉身には表と裏、及び左右相称性という形態的な特徴が見られる。ここでは、植物の主軸形成と側生器官の形成に関わる遺伝子の機能を中心に最近の知見を述べた。

田中博和・田中俊洋・町田千代子・渡辺勝・町田泰則. 新しい方法を用いた葉の表皮の欠損を示す *permeable leaves* 変異体の分離. 2004年7月. 第15回シロイヌナズナに関する国際会議（於Berlin, Germany）. 我々は、葉全体のクチクラ欠損を検出するためのトルイジンブルー（TB）テストと命名した迅速で安価な方法を開発した。TBテスト法を用いたスクリーニングによって葉の表皮の欠損を示す *permeable leaves* 変異体を分離した。（Tanaka, H., Tanaka, T., Machida, C., Watanabe, M., Machida, Y. July, 2004. Identification of permeable leaves mutants that exhibit surface defects in leaves using a new method. 15<sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research. Berlin, Germany）

町田泰則・池崎仁弥・上野宜久・町田千代子. シロイヌナズナの葉の形態形成を支配する分化メカニズム. 2004年9月. 日本植物学会第68回大会（於藤沢）. 葉は、茎頂メリステムから分化する側生器官であり、基本的に、基部—先端部軸、向軸—背軸、中央—側方軸に沿って成長する。このような葉の形態形成に関与する遺伝子の機能について *AS1*, *AS2* の分子遺伝学的解析を中心として報告した。

石川貴章・上野宜久・岩川秀和・相馬撤平・Endang Semiarti・町田泰則・町田千代子. シロイヌナズナの葉状器官分化に関わる *AS1*, *AS2* タンパク質の機能解析. 2004年9月. 日本植物学会第68回大会（於藤沢）. *AS1::GFP* と *AS2::YFP* の両遺伝子を導入したシロイヌナズナ形質転換体を作製し、細胞内局在を調べた。その結果、*AS1* と *AS2* が共に、核内の特定の領域に局在することが示唆された。*AS1* と *AS2* は少なくとも部分的には同じ分子機構に関わる可能性が考えられた。

田中博和・田中俊洋、福谷孝介・町田千代子・町田泰則. 表皮の性質に異常を示す *permeable leaves* 変異体の単離と遺伝子クローニング. 2004年9月. 日本植物学会第68回大会（於藤沢）. 我々が開発したTBテスト法を用いた迅速なスクリーニングによって葉の表皮の欠損を示す *permeable leaves* 変異体を分離し、遺伝子クローニングを行った。

田中博和・石川貴章・北村さおり・高橋裕治・征矢野敬・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの *AtNACK1* と *AtNACK2* 遺伝子は重複する機能をもつキナーゼをコードし配偶子細胞質分裂に必須である. 2004年（於三重） *AtNACK1/HINKEL* と *STUD/TETRASPORE/AtNACK2* 遺伝子の機能欠損変異体はそれぞれ、体細胞の細胞質分裂、雄性細胞の細胞質分裂が不完全になる。また、*AtNACK1/HINKEL* と *STUD/TETRASPORE/AtNACK2* の機能欠損変異体表現型を解析した結果から、両遺伝子共に、雄性、雌性配偶子形成に必須であると考えられた。*atnack1 atnack2* 二重変異をもつ雌性配偶子は中央細胞、助細胞と卵細胞を生成する細胞化の過程に異常が現れ、また、*atnack1 atnack2* 二重変異体は雄性配偶体致死となった。*AtNACK1/HINKEL* と *STUD/TETRASPORE/AtNACK2* は重複した機能を持ち、配偶体形成過程における細胞質分裂に必須であると考えられる。（Tanaka, H., Ishikawa, M., Kitamura, S., Takahashi, Y., Soyano, T., Machida, C. and Machida, Y. The *AtNACK1* and *AtNACK2* genes, which encode functionally redundant kinesins, are essential for gametogenetic cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. 2004. The 4<sup>th</sup> International Symposium on the Molecular and Cell Biology of Egg- and Embryo-Coats. Shima, Mie Pref., Japan）

小島晶子・岩川秀和・上野宜久・相馬撤平・池崎仁弥・町田泰則・町田千代子. シロイヌナズナの葉の発

生・分化に関わる*ASYMMETRIC LEAVES1*および*ASYMMETRIC LEAVES2*遺伝子の発現解析. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会 (於神戸). *AS1*と*AS2*の転写産物の蓄積パターンを調べた. *AS1*, *AS2*は共に, 葉原基形成の初期に発現しており, 葉の初期分化過程で機能していると考えられる.

石川貴章・町田千代子・岩川秀和・上野宜久・Endang Semiarti・町田泰則. シロイヌナズナにおいて葉の発生を制御する*AS1*および*AS2*タンパク質の細胞内局在の解析. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会 (於神戸). *AS1*と*AS2*タンパク質が細胞内で共局在するかどうかを調べるために, *AS1::GFP*, *AS2::YFP*融合体を形質転換した. 形質転換体において, *AS1::GFP*, *AS2::YFP*の蛍光シグナルは共に核全体に認められ, さらに核内の特定の領域に強いシグナルが塊状に認められた. *AS1::GFP*, *AS2::YFP*が共局在する可能性が示唆された.

上野宜久・石川貴章・荒木智史・岩川秀和・Endang Semiarti・池崎仁弥・塚谷裕一・北倉左恵子・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの葉の発生における*ASYMMETRIC LEAVES2* (*AS2*) の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会 (於神戸). *AS2*遺伝子にグルコシルコイドレセプター (*GR*) 遺伝子を融合し, *AS2*の発現を時間的空間的に制御できる系を作成した. *DEX*誘導後, 葉が下偏生長するのに対して, 変異体では, 葉が上偏生長することから, *AS2*は葉の扁平性に関与していると考えられた.

町田千代子・上野宜久・石川貴章・池崎仁弥・小島晶子・岩川秀和・北倉左恵子・塚谷裕一・町田泰則. シロイヌナズナの葉の形成における*ASYMMETRIC LEAVES1*, *ASYMMETRIC LEAVES2*遺伝子の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会 (於神戸). *as2*変異体では葉が下向きにカールするのに対して, *AS2*の過剰発現体では, 葉が上向きにカールし, 極端な場合には, 葉が棒状に近い細い葉となり, 葉の表側の表皮細胞の細胞数が極端に減少していた. この表現型は*as1*変異の遺伝的背景においては認められなかった. これらの結果は, *AS1*と*AS2*は, 両遺伝子の関わり方は異なるものの, 葉の中央—側方軸にそった表側 (向軸側) の表皮細胞の細胞増殖を制御し, 扁平な葉の形成に関与していることを示唆している.

池崎仁弥・上野宜久・小笠原史明・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの*asymmetric leaves1*及び*asymmetric leaves2*変異体におけるclass 1 *knox*遺伝子群の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会 (於神戸). シロイヌナズナのclass 1 *knox*ホメオボックス遺伝子*BP*, *KNAT2*, *KNAT6*は, 野生型では, 茎頂メリステムで特異的に発現しているのに対して, *as1*, *as2*変異体では, 葉においても発現している. *as1*, *bp*, *knat2*, *knat6*四重変異体を作成し, 得られた変異体の表現型を解析した.

田中博和・渡辺勝・宏江知紀・田中俊洋・塚谷裕一・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの表皮分化における*ALE1*, *ACR4*, *ALE2*遺伝子の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会 (於神戸). シロイヌナズナの前表皮と表皮形成の制御に関与する*ALE1*, *ALE2*, *ACR4*遺伝子の機能を明らかにした.

小島晶子・岩川秀和・上野宜久・Semiarti, E・相馬徹平・葛巻亜弥子・塚谷裕一・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの葉の発生分化における*ASYMMETRIC LEAVES1*と*ASYMMETRIC LEAVES2*の機能. 2005年3月. 植物の軸形成とシグナル伝達に関する国際シンポジウム (於東京) *AS1*と*AS2*の転写産物の蓄積パターンを調べた. *AS1*, *AS2*は共に, 葉原基形成の初期に発現しており, 葉の初期分化過程で機能していると考えられる. *as1*, *as2*変異体では葉が下向きにカールするのに対して, *AS2*の過剰発現体では, 葉が上向きにカールし, 極端な場合には, 葉が棒状に近い細い葉となり, 葉の表側の表皮細胞の細胞数が極端に減少していた. この表現型は*as1*変異の遺伝的背景においては認められなかった. これらの結果は, *AS1*と*AS2*は, 両遺伝子の関わり方は異なるものの, 葉の中央—側方軸にそった表側 (向軸側) の表皮細胞の細胞増殖を制御し, 扁平な葉の形成に関与していることを示唆している. (Kojima, S., Iwakawa, H., Ueno, Y., Semiarti, E., Soma, T., Kuzumaki, A., Tsukaya, H., Machida, C. and Machida, Y. Function of the *ASYMMETRIC LEAVES1* and *ASYM-*

*METRIC LEAVES2* genes in leaf development of *Arabidopsis*. March, 2005. International symposium on PLANT AXIS FORMATION AND SIGNAL TRANSDUCTION, Tokyo)

田中博和・渡辺勝・廣江知紀・塚谷裕一・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの原表皮と表皮細胞の分化に關与する分子遺傳学的解析 2005年3月 植物の軸形成とシグナル伝達に關する国際シンポジウム (於東京) 表皮細胞は, 胚形成の初期に原表皮として分化する. この發生過程に關わっている遺傳子のうち, *ALE1*, *ACR4*, *ALE2*を同定し, 遺傳学的, 生化学的, 細胞生物学的機能を解析した. *ALE1*はズブチリン様セリンプロテアーゼを, *ACR4*は受容体型プロテインキナーゼを, *ALE2*は, *ACR4*とは異なる受容体型プロテインキナーゼをコードしている. *ALE1*と*ALE2*は独立した経路を介して原表皮細胞の形成に關わっている. 今回, *ALE1*と*ACR4*受容体キナーゼの遺傳学的關連性と*ACR4*タンパク質の細胞内の局在部位を調べた. その結果, *ALE1*と*ACR4*は, 主に異なる経路を経由して原表皮細胞分化を制御していると考えられる. *ACR4*とGFPの融合タンパク質は, 表皮細胞の基底面と側面に存在し, 外界に接している頂端面には見られなかった. これらの結果から, *ACR4*は, 原表皮細胞の周囲の細胞から何らかのシグナルを受容して原表皮細胞の分化やその維持に關わっていると思われる. *ALE1*は, 胚乳細胞で発現し何らかのリガンド形成に關与し, それは*ACR4*とは異なる受容体を介して原表皮細胞分化を制御していると推察される. (Tanaka, H., Watanabe, M., Hiroe, T., Tsukaya, H., Machida, C., Machida, Y. Genetic analysis of genes involved in differentiation of the protoderm and epidermis in *Arabidopsis thaliana*. March, 2005. International symposium on PLANT AXIS FORMATION AND SIGNAL TRANSDUCTION, Tokyo)

南 基泰・李 鍵炯・安 哉龍・永井和夫・禹 濟泰・近藤誠三・柴田敏郎. *Artemisia*属植物の抗菌及び抗酸化活性の地理的変異について. 日本薬学会第124回年会 (大阪), 講演要旨集 (2) P.111. 3月30日. *Artemisia*属植物頭花乾燥品 (合計60検体) のMeOH濃縮粗エキスを抗菌活性及び抗酸化活性のアッセイに用いた. 抗菌活性は大腸菌, 枯草菌を, 一方抗酸化活性は, ヒポキサンチン-キサンチンオキシダーゼの系で生成したO<sub>2</sub>-を, 2-メチル-p-メトキシフェニルエチニルイミダゾピラジノン (MPEC) で発光させ, MeOHエキスを添加した際の発光阻害率で評価した. 抗菌活性はMeOHエキスには10%濃度添加で, 93-96%と非常に強い活性を示す系統があった. また, 抗酸化活性は, L(+)-Ascorbic acid, (-)-Catechinとほぼ同レベルの56-60%の活性が認められた系統があった. これらの活性は, いずれも国内外の地理的もしくは系統間変異であった.

上野 薫・南 基泰・寺井久慈・河野恭廣・谷山鉄郎. 東海丘陵要素植物の生育土壤環境に關する研究. 2004年9月. 平成16年度農業土木学会大会講演会 (於札幌). 東海丘陵要素植物群落の修復・保全とその管理を目的とし, 岐阜県恵那市中部大学恵那キャンパス内の二点について土壤の基礎的理化学性を測定した. その結果, 表層付近に土岐砂礫層, その直下に不透水層とみられる硬い層が存在し, イオン濃度の低い中性~弱酸性の土壤で構成されていることが分かった.

上野 薫・南 基泰・寺井久慈・河野恭廣・谷山鉄郎. 東海丘陵要素植物の生育する土壤の理化学性に關する研究 (I). 2004年11月. 第46回土壤物理学学会シンポジウム (於岡山). 東海丘陵要素植物の自生地における土壤環境の特性を明らかにし, これら植物の生育する低湿地の保全に役立てることを目的とし, 調査地域内の代表的な3点の低湿地および1点の造成地の土壤について基礎的理化学性を測定した. その結果, 調査地点の土壤は, 弱酸性で溶存物質および有機質は少なく, 砂土から砂壤土で構成されていることが分かった.

川地由里奈・洲鎌圭子・南 基泰・伊谷原一・飼育下チンパンジーにおける糞中の植物残渣の分析. SAGA7シンポジウム (京都). 講演要旨集P.32, 11月12, 13日. 種子, 種皮, 外果皮, 花, 葉, 莖, 枝, 樹木片, 樹皮, 根の表皮の10部位までが分別できた. また, 給餌由来植物, 野生由来植物, さらには砂利や毛などを含め47種類の残渣が分別された. このうち明らかに給餌由来植物は18種で27の残渣が分別された (内訳:種子13,

種皮6, 外果皮5種, 不明3)。また, 野生由来植物は14の残渣が分別され部位は8部位分別されたが, 完全に同定されたものは2種だけで, 1種については科までを同定, 他の6種に関しては同定できなかった。また, 同センター放飼場では今回42科201種の植物が同定されたが, そのうち9科12種の食痕が確認された。

南 基泰・寺井久慈・河野恭廣・谷山鉄郎. 東海丘陵要素植物群落の保全生態学的研究—保全・修復とその管理に関する研究—(1) 恵那キャンパス内及びその周辺部の植物種調査, 中部大学生物機能開発研究所紀要4, 41-51. 2001~2003年の調査で確認された植物種は, 合計で69科250種(内不明7種)であった。その内訳は, 裸子植物が2科2種, 単子葉植物が11科67種(内不明2種), 双子葉植物が56科181種(内不明5種)で内, 離弁花類35科99種(内不明3種), 合弁花類21科82種(内不明2種)であった。このうち, 環境庁レッドデータブック, 岐阜県レッドデータブック, 愛知県植物誌調査会に記載されている絶滅危惧種は表2に記載した帰化植物は2001~2003年の調査で, 250種のうち23種が帰化植物であり, 全種に対しての帰化植物の割合を算出すると9.2%となった。

Motoyasu Minami, Osamu Iida, Akihito Takano, Purusotam BASNET, Kuber Jung MALLA, Preliminary Notes on the Field Survey of Medicinal Plants in the Annapurna Conservation Area, Nepal. Annual Report of college of Bioscience and Biotechnology, Chubu University 3, 9-21. ネパール王国・アンナプルナ自然保護地域は, 薬用植物資源が豊富であるにも関わらず, これまで薬用植物の調査は行われてこなかった。そこで, 日本側及びネパール側スタッフが合同で, 2003年8月21日から23日の3日間をかけて, フェディからダンパスまでのトレッキングルート沿い, 更にダンパス村内(北緯28°29', 東経83°87', 標高1198-1873m)に生育する薬用植物の調査を行った。非常に短期間で, 狭い範囲の調査であったにも関わらず, 93種類(内19種が種不明)が確認できた。種が特定できた74種の内, 48種が薬用植物であることが確認でき, 合計111種の処方に用いられていることが明らかとなった。特に, 傷(切り傷)(24.1%), 火傷(12.0%), 下痢(12.0%), 赤痢(12.0%), 胃の障害(12.0%), 頭痛(12.0%), 熱(10.8%) and 消化不良(9.6%)などの処方が多く用いられるものが多かった。薬用部位は, 全草(32.4%), 根(28.8%), 葉(18.0%)の順となった。アンナプルナ自然保護区内の薬用植物資源の持続可能な利用及び新規薬用植物資源の探索のために, より詳細な植物リストの作製が必須である。

長谷川浩一・三輪さつき・堤内要・谷口肇・三輪錠司. 2004. 極微量アクリルアミドでも線虫の寿命を短縮する。Toxicology Letters 152: 183-189. アクリルアミドは30年以上前から, 神経や遺伝子への影響が知られ, 発がん性も疑われてきた。最近の調査では, アクリルアミドに直接暴露されるはずのない一般市民から高濃度の同物質が検出され, でんぷんなどの糖質を含む食材を高熱で調理するときメイラード反応により生成されると説明されている。遺伝学が駆使でき, 全ゲノムも解析されている毒性試験のモデル動物*C. elegans*を使って, アクリルアミドの(1)成長, (2)生殖機能, (3)寿命への影響を調べた。成長と生殖への影響に関しては, 0.5 µg/Lから5mg/Lまでほとんど影響は見られなかったが, 500mg/Lでは成長も生殖機能も大きく阻害された。寿命に関しては, 極微量の0.5 µgでも10%以上の短縮が見られた。ところがこれより高濃度の50 µg/Lから5mg/Lでは寿命の短縮が見られず, 500mg/Lになって再び短縮が観察された。すなわち, 濃度に対し寿命が二相反応をえがく興味深い結果となった。

(Hasegawa, K., Miwa, S., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H. and Miwa, J. 2004. Extremely low dose of acrylamide decreases lifespan in *Caenorhabditis elegans*. Toxicology Letters 152: 183-189)

長谷川浩一・二井一禎・三輪さつき・三輪錠司. 2004. マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* の初期胚発生。Develop. Growth Differ. 46: 253-161. マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* (ザイセンチュウ) の初期胚発生および受精から46細胞期までの細胞系譜をノマルスキー微分干涉顕微鏡と免疫抗体染色法をもちいて観察した。ザイセンチュウの卵母細胞は成熟すると輸卵管と四軸柱をつなぐ細い通路をとり四軸柱へ降り, そこで数分間とう留し受精した。受精後しばらくして雌雄の前核が再構成され, お互い

に求め合うように近づき卵の中央付近で対合し、90度回転したのち融合した。この時点で分裂装置 (MTOC) が現れた。こうした表面上の動きはモデル生物である *C. elegans* (エレガンス) と相違はない。しかし一点大きく異なるのは、精子の侵入口が胚の前方を形成することである。エレガンスでは胚の後方になることが知られている。もう一点相違するところは、温度耐性である。エレガンスでは25°Cが上限であるのに対し、ザイセンチュウは30°Cでも生殖能力のあることが分かった。夏の暑い時期に生殖を繰り返す生態様式を反映すると考えられる。

(Hasegawa, K., Futai, K., Miwa, S. and Miwa, J. 2004. Early embryogenesis of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *Develop. Growth Differ.* 46 : 253-161)

堤内要・日比野真理子・神戸真理子・大石かおり・岡田鈺彦・三輪錠司・谷口肇. 2004. イオントラップ型 LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミドの定量. *食品衛生学雑誌*, 45 (2) : 95-99. イオントラップ型 LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミド (AA) の定量を検討した。重水素化アクリルアミド (AA-d3) を内部標準に用いたAA標準溶液のMultiple Reaction Monitoring (MRM) 測定では、AA濃度が2~20,000 ng/mLの範囲で、各プロダクトイオン (m/z 55, 58) のクロマトグラムにおけるピーク面積の比 (AA/AA-d3) とAA濃度との間に良好な直線関係を確認することができた。また、定量限界は2ng/mLであった。市販食品37検体の実態調査を行った結果、ポテトスナックから最高3570ng/gのAAを検出したほか、熱処理した多くの食品からAAを検出した。イオントラップ型LC/MS/MSを用いたAAの定量分析は、多くの食品試料に対して相対標準偏差 (RSD) 15%未満の分析値を得ることができた。

(Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Oishi, K., Okada, M., Miwa, J. and Taniguchi, H. 2004. Application of Ion-trap LC/MS/MS for Determination of Acrylamide in Processed Foods. *Journal of the Food Hygienics Society of Japan* 45 (2) : 95-99)

長谷川浩一・三輪さつき・三輪錠司. 2003. 中部大学構内のマツ材線虫病とマツノザイセンチュウ. 中部大学応用生物学部紀要 2 : 19-23. 我々は中部大学応用生物学部が開設された平成13年度から、大学構内のアカマツ、クロマツ計123本を標識して地図上に記録し、生死の判定および枯死木についてマツ材線虫病の病原体であるマツノザイセンチュウの有無を確認し、分布拡大パターンの年次解析を行っている。また生物学的な防除・駆除法開発の手がかりを求めてマツノザイセンチュウの発生メカニズムの研究も行っている。本著はその報告である。感染後枯死したマツを当年度中に伐倒、焼却することで蔓延がある程度抑制できるということが見えてきた。

(Hasegawa, K., Miwa, S. and Miwa, J. 2003. Pine wilt disease in the Chubu University campus and the nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *Annual Report of College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University*, 2 : 19-23)

長谷川浩一・三輪さつき・堤内要・谷口肇・三輪錠司. 2004. 線虫全ゲノムDNAマイクロアレイで観る、アクリルアミドの生体への影響. 平成15年度中部大学ハイテク・リサーチ・センター整備事業研究成果報告書, 24-30. アクリルアミドは数十年まえから神経毒性、遺伝子への悪影響、発がん性の疑いなどがあるといわれてきた。2002年、スウェーデン国立食糧管理局 (SNFA) はパンやポテトチップなど日常食品に相当量のアクリルアミドが含まれていることを指摘した。これをうけてアクリルアミドの生体への影響を調べ始め、昨年度は個体レベルで見られる影響を報告した。本報告では、モデルとして選んだ線虫のゲノムレベルで見られる影響を、線虫全遺伝子21,210が貼り付けられているマイクロアレイを使い、遺伝子の発現量の変化を調べた。アクリルアミド濃度が500mg/Lのとき、アクリルアミド無しの状態にくらべて438の遺伝子で発現量が2倍以上、344の遺伝子で発現量は半分以下になった。一方、0.5  $\mu$ g/Lアクリルアミドでも、14種類の遺伝子で発現量が2倍以上あり、34の遺伝子で半分以下の発現量であった。また、この両濃度に共通して発現量が増加した遺伝子の種類は、2倍以上の発現量で4種類、半分以下の発現量では18種であった。両濃度に共通する遺伝子が少ないのは注目に値する。高濃度と低濃度では、毒性のメカニズムが異なる可能性を示唆してお

り、興味ある知見となった。

(Hasegawa, K., Miwa, S., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H. and Miwa, J. 2004. Transcriptional analysis of acrylamide on *Caenorhabditis elegans*. The 2004 Annual Report of the High-Tech Research Center Establishment Project, 24-30. Chubu University, Japan)

長谷川浩一・三輪錠司. 2004. 線虫 *Caenorhabditis elegans* の初期胚発生と体軸の決定. 中部大学応用生物学部紀要. 第3巻: 31-38. 体長わずか1mmほどの線虫 *Caenorhabditis elegans* がなし遂げてきたこれまでの成果をみると、全細胞系譜の完成による全細胞の同定、全神経回路網の解明、総合的毒性スクリーニング法の確立、全ゲノムの解読終了、「全」や「総」あるいは「網羅」で表されるものがひしめいている。さらに、線虫を使用した研究分野をみても、理学などの基礎研究分野から医学・薬学・農学などの応用研究分野、領域では形態形成などの発生生物学から、記憶や行動など神経生物学、老化・加齢生物学まで広範囲にモデル生物として使われている。近年ではその豊富なデータのため、コンピューター科学や生物情報工学の最先端を追及する格好のモデルとなりつつあり、そのフィールドは生命科学の全体（総体）へと無限に広がる様相となっている。この総説では、発生生物学のモデルとしての利点を紹介しながら、生殖細胞の生成、受精、そして前後軸が決定して第一分裂にいたる分子メカニズムについて概説した。

(Hasegawa, K. and Miwa, J. 2004. The early embryogenesis and the determination of the body axes in the nematode *Caenorhabditis elegans*. Annual Report of College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, 3: 31-38)

長谷川浩一・二井一禎・三輪さつき・三輪錠司. 2004. 2004年3月. マツノザイセンチュウ（ザイセンチュウ）の初期発生. 京都大学21世紀COEプログラム：微生物機能の戦略的活用による生産基盤シンポジウム（於京大会館，京都市）。数十年来日本で猛威をふるってきたザイセンチュウは、現在隣国の韓国，中国，台湾でも大きな問題を引き起こすに至っている。また、90年代の終わりにはいよいよポルトガルに侵入し、ヨーロッパ各国が警戒をいっそう強めている。革新的な生物的防除方法を開発するためには、その生物学を知る必要があるとのコンセプトのもと、発生の研究を始めた。モデルとなる線虫 *C. elegans*（エレガンス）で研究の進んでいる初期胚発生をお手本にザイセンチュウの初期発生に取り組んでいる。現在までに原腸陥入がおわり、全創始細胞の出揃う46細胞期までの細胞系譜を追跡し、4細胞期までの胚では細胞骨格の動態を免疫抗体法によって調べた。エレガンスでは、受精が貯精囊の前でおこるのに対し、ザイセンチュウでは貯精囊をすぎて四軸柱内でおこるといった違いがあった。これは輸卵管から子宮にいたる構造がこの両者でかなり違うことと関係があるのであろうか。また、エレガンスでは精子の侵入側が胚の前方になるのに対し、ザイセンチュウでは後方になると観察された。細胞系譜や細胞骨格に関しては、ザイセンチュウとエレガンスでほとんど違いがないと判断された。

長谷川浩一・二井一禎・三輪さつき・三輪錠司. 2004. マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* の初期胚発生と体軸決定. 2004年5月. 第37回日本発生生物学会年会（於名古屋国際会議場，名古屋市）。受精後、卵核胞が消失して卵殻が形成され、受精から約20分後に産卵された。産卵される頃に雄性前核および雌性前核が出現した。雄性前核近傍には複製を終えて2つになった中心体が現われ、そこから微小管が伸長して胚表層のアクチンと交差しているように観察された。2つの前核は対合して中心まで移動し、90度回転してから融合した。融合したのち、中心体は胚の中心付近で染色体を挟んで前後に対称的な位置を占めているが、後方の中心体が後退することで第一分裂は不等割となった。前核融合から4細胞期までの分裂様式は両線虫で酷似していたが、前後軸の決定については対象線虫としたエレガンスとは正反対であると判断された。すなわち、エレガンスでは雄性前核が進入した部位が胚後方となるが、ザイセンチュウでは胚前方となる。さらに、ザイセンチュウの受精卵から46細胞期までの細胞系譜を作成した。ザイセンチュウとエレガンスはかなり遠い類縁関係にあるにもかかわらず、細胞系譜はよく似ていた。

堤内要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口肇. キャピラリー電気泳動-質量分析装置を用いた食品中アクリルアミドの分析. 2004年5月. 日本食品衛生学会第87回学術講演会(中央区立中央会館, 東京都). 我々はこれまでに, イオントラップ型LC/MS/MSを用いた加工食品中のアクリルアミド(AA)を定量している. 本大会ではCE/MS/MSを用いた食品中AAの分析を検討し報告した. AA-d3を100ng/mL有するAA標準溶液(AA濃度, 20~400ng/mL)を測定し, AAとAA-d3のピーク面積比をAA濃度に対してプロットしたところ, これらは良好な直線関係を示した( $r^2=0.999$ ). また, 本手法の検出限界(LOD)及び定量限界(LOQ)を, AA濃度が20ng/mLの標準試料を5回繰り返し測定した標準偏差の3倍, 10倍としたとき, LOD及びLOQはそれぞれ9ng/mL, 30ng/mLとなった. ポテトチップスやほうじ茶の試料( $n=3$ )をCE/MS/MSで分析した結果, 同一試料をイオントラップ型LC/MS/MSで測定した値とほぼ同じAA濃度を示した. ポテトチップスを用いた添加回収実験( $n=3$ )では, 500ng/g及び1,000ng/gのAAを添加した場合の回収率がそれぞれ $90\pm 12\%$ ,  $98\pm 8\%$ となり, ほうじ茶では,  $114\pm 27\%$ ,  $102\pm 28\%$ となった. これらの結果から, 現在の分析条件では, 品目により分析値の信頼性に十分注意をしなければならないものの, CE/MS/MSが食品中のAAの分析に有効であることがわかった.

長谷川浩一・二井一禎・三輪さつき・三輪錠司. 2004. マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* の初期胚発生. 2004年6月. 第27回欧州線虫学会(於ローマ, イタリア). マツノザイセンチュウの胚発生を受精直後の1細胞から46細胞期までノマルスキー微分干渉顕微鏡で追跡し, 免疫抗体法によって4細胞期までの細胞骨格を調べた. 卵細胞は成熟すると輸卵管をとおって四軸柱に至り, そこで受精する. 受精につづき卵核胞が崩壊し卵殻が形成され, 雌雄前核が出現する. 雄性前核が出現したのが受精卵の前方であったことから, 精子の進入位置は受精卵の後方であると考えられる. 言い換えると, 精子の進入側が胚の前方になったということである. 進入側が後方となるモデル線虫 *C. elegans* (エレガンス) とは反対である. 出現した雌雄前核は互いに近づきやがて対合して卵の中央部に移動する. そこで90度回転したあと融合する. 融合したのち第一分裂を始め, 前方にやや大きなAB, 後方にやや小さめのP1細胞が生じる. 雌雄前核が対合したのちの行動はエレガンスとほとんど違いはないといえた.

(Hasegawa, K., Kazuyoshi Futai, K., Miwa, S. and Miwa, J. 2004. Early embryogenesis of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. The XXVII International Symposium of the European Society of Nematologists. (Rome, Italy))

長谷川浩一・三輪さつき・堤内要・谷口肇・三輪錠司. 2004. アクリルアミドのモデル生物 *C. elegans* に及ぼす影響. 2004年6-7月. 第一回東アジア *C. elegans* 大会(於淡路夢舞台国際会議場, 淡路島). アクリルアミドは神経や遺伝子への影響をもち, あるいは発がん性も疑われている物質である. 2002年にこのアクリルアミドが日常の食品にも高濃度で含まれていることがわかったことを受けて生体への影響を調べることにした. モデル生物である *C. elegans* をもちいて, 成長, 生殖, 寿命への影響を評価した. 結果, 成長や生殖については100mg/L以上で影響が出はじめ, 500mg/Lでは激しい影響が観察された. とくに生殖にかんしては, アクリルアミド処理をした親からの影響が処理をしていない子にも残留することが判明した. また, 寿命については $0.5\ \mu\text{g/L}$ でも十数%の短縮がみられた. ちなみに,  $0.5\ \mu\text{g/L}$ はWHOやアメリカEPAの設定した最低基準値である. 加えて, 面白いことに, これより高い濃度では寿命への影響が無くなり, それより高濃度で再び影響がでるといふ, いわゆる二相性をもつこともわかった.

(Hasegawa, K., Miwa, S., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H. and Miwa, J. 2004. Acrylamide effects on the nematode *Caenorhabditis elegans*. The First East Asian *C. elegans* Meeting (Awaji-shima))

長谷川浩一・二井一禎・三輪さつき・三輪錠司. 2004. マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* の初期胚発生. 2004年6-7月. 第一回東アジア *C. elegans* 大会(於淡路夢舞台国際会議場, 淡路島). 東アジアで猛威をふるっているマツノザイセンチュウは, 寄生線虫にもかかわらず実験室での飼育が容易であるため寄生性線虫のモデルとして期待できる. 今回, 初期胚46細胞期までの細胞系譜を作成し, 体軸の決定, 細胞骨

格の行動、雌雄前核の構成から融合、4細胞期までの核と分裂装置の関係などを指標とする胚発生をノルマスキー微分干渉顕微鏡、免疫抗体染色などを使用して観察・評価した。46細胞期までの細胞系譜は、モデル生物である*C. elegans* (エレガンス)によく似ていたが、精子の侵入口が胚の前方になることが判明した。しかし、第一分裂がエレガンスとよく似ていることから推測できるように、雌雄前核の運動方向はエレガンスと異なっていた。また、受精が四軸柱という、エレガンスにはない場所でおこなわれるなど生殖器官の受精までの様相にかなり大きな違いがみられた。

(Hasegawa, K., Futai, K., Miwa, S. and Miwa, J. 2004. Early embryogenesis of *Bursaphelenchus xylophilus*. The First East Asian *C. elegans* Meeting (Awaji-shima))

長谷川浩一・三輪さつき・堤内要・谷口肇・三輪錠司. 2004. アクリルアミドによる*Caenorhabditis elegans* 寿命の二相性反応. 2004年9月. 日本線虫学会年会 (於福島テルサ, 福島市). 2002年4月にNFAは、高温で調理する食品から許容基準値を大きく上回るアクリルアミド (AA) が検出されることを報告したことをうけて、線虫*Caenorhabditis elegans* (エレガンス) をモデルに用いAAの生体へ及ぼす影響を調べた。体長、産卵数、次世代の産卵数については、高濃度にならないと影響がみられなかったが、寿命に関しては $0.5 \mu\text{g/L}$ の極微量濃度でも減少することがわかった。さらに、AA濃度と寿命との関係は、一般的に考えられている単純な比例関係ではなく、*hormetic*な反応 (*biphasic-dose response*, 二相性反応) を示すことを発見した。エレガンス体内に備わるAAに対する生体内分子応答/防衛機構を調べるためにトランスクリプトーム解析をおこなったところ、 $0.5 \mu\text{g/L}$ の極微量AA濃度でも転写量に変化する遺伝子のあることが判明した。

長谷川浩一・二井一禎・三輪さつき・三輪錠司. 2004. マツノザイセンチュウの体軸決定について. 2004年9月. 第12回日本線虫学会年会 (於福島テルサ, 福島市). マツノザイセンチュウ*Bursaphelenchus xylophilus* (ザイセンチュウ) を植物寄生性線虫のモデルとして、初期胚発生時における体軸決定の機構解明に取り組んできた。受精から4細胞期までを、生物学のモデルである*Caenorhabditis elegans* (エレガンス) と比較したところ、前後軸決定が両者で逆転していること、つまり精子進入点エレガンスでは後方となるがザイセンチュウでは前方となることを発見した。また受精卵から4細胞期胚までの細胞骨格を抗体染色し、雌雄2つの前核が再構成するちょうどその時期に、雄性前核に付随してきた中心体が2つに分裂することもわかった。雌雄前核は胚の中心まで移動し、90度回転したのちに融合した。このとき中心体は胚中心部の染色体を挟んで前方と後方に位置しており、融合後、後方の中心体が少し後方へと移動するため第一分裂が不等割となる。すなわち、前方のやや大きなAB細胞と後方のやや小さなP1細胞が出現し前後軸が明らかとなる。その後の4細胞期胚までの分裂については、エレガンスと酷似していた。

堤内要・日比野真理子・神戸真理子・大石かおり・三輪錠司・岡田鉦彦・谷口肇. イオントラップ型LC/MS/MSを用いた食品中アクリルアミドの定量. 2004年9月. 日本応用糖質科学会平成16年度大会 (かごしま県民交流センター, 鹿児島県). イオントラップ型LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミド (AA) の定量を検討した。イオントラップ型の質量分析計はスペクトル感度が高いものの、トラップ内にイオンと取り込みすぎた場合、イオン自身が作り出す電場によって定量性が低下するという欠点がある。本研究では重水素化アクリルアミド (AA-d3) を内部標準に用いることによって定量性の改善を行った。その結果、AA濃度が2~20,000ng/mLの範囲で各プロダクトイオン ( $m/z$  55, 58) のクロマトグラムにおけるピーク面積の比 (AA/AA-d3) とAA濃度との間に良好な直線関係を確認することができた。定量限界は2ng/mLであり、四重極型—四重極型のMS/MSに匹敵する値を確認することができた。

谷口肇・堤内要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司. 加熱食品モデル系でのアクリルアミド生成に対する各種糖質の影響. 2004年9月. 日本応用糖質科学会平成16年度大会 (かごしま県民交流センター, 鹿児島県). 加工食品中におけるアクリルアミド (AA) 生成に関する糖質の影響を詳細に調べるため、種々の糖質を用いた食品モデルを設計し、加熱時間にもなうAA含量の変化をイオントラップ型

LC/MS/MSで調査した。単糖を用いた実験からアルドースとケトースの間には顕著な違いが確認され、二糖においてもケトースを含むものが高いAA含量を示す結果となった。トレハロースなどを用いたAA生成抑制に関する検討も行い、添加系と無添加系で有意な差が認められた。

堤内要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口肇. CE/MS/MSを用いた馬鈴薯アスパラギン含量の分析—馬鈴薯加熱時のアスパラギンおよびアクリルアミド含量の変化. 2004年11月. 日本食品衛生学会第88回学術講演会 (広島県民文化センター, 広島市). イオントラップ型CE/MS/MSを用いた馬鈴薯アスパラギン含量の分析法を開発した。CE/MS/MSを用いたアミノ酸の定量は既に報告されているものの、安定同位体を内分標準として用いた例はない。本研究では、重水素化アスパラギンを内部標準に用いることで、極めて簡単な試料前処理でも精度の高い分析値を得ることができた。馬鈴薯の加熱に伴うアスパラギン量とアクリルアミド量をイオントラップ型CE/MS/MS, LC/MS/MSで分析したところ、アスパラギンの消費がアクリルアミドの生成と関連していることが確認できた。

堤内要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口肇. 加熱食品モデルを用いた多糖構造とアクリルアミド生成との相関解析. 2004年11月. 第9回高分子分析討論会 (名古屋市工業研究所, 名古屋市). 加熱食品中におけるアクリルアミドの生成は糖質とアスパラギンとのMaillard反応によるものとされている。我々はこれまでに加熱食品モデルを用いてアクリルアミド生成に関する糖質の影響を調べてきたが、直接Maillard反応に関与できない非還元性の糖質からも多量のアクリルアミドが生成することがわかった。特に本研究では還元性が無視できる多糖に着目し、デンプン、セルロースおよびデキストリンを用いた食品モデル中のアクリルアミド生成を調べた。その結果、いずれの糖質からも多量のアクリルアミドが生成することが判明した。

井上忠雄・藤田正弘・桑名雄一郎・三輪錠司・Richard Roy・山口泰典. 2004. *C. elegans*生殖細胞形成におけるdaf-21/Hsp90遺伝子の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会 (於神戸国際会議場, 神戸市). 熱ショックシャペロンHSP90は生殖細胞で発現されることが予測されているが、その機能についてはわかっていない。その機能を解明するため、daf-21/Hsp90遺伝子に対するRNAiをおこない、現れる表現型を評価することによって、機能解析を試みた。その結果、daf-21 (RNAi) F0体の生殖系におこる欠陥を3つ見つけた。一つ目は生殖器官遠腕部の体細胞分裂が停止すること、二つ目は生殖細胞は減数分裂の第一分裂パキテン期でMAPKの活性化が見られなかったこと、さらに三つ目は野生体で通常みられるデアキネシス期の分裂一時停止がない欠陥をもつこと、である。これらの観察について大会までの知見と考え方を報告した。  
(Inoue, T., Fujita, M., Kuwana, Y., Miwa, J., Roy, R. and Yamaguchi, Y. 2004. Roles of daf-21/Hsp90 in *C. elegans* germline development. The 27th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (Kobe))

神戸真理子・日比野真理子・岡嶋直子・堤内要・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口肇. 多糖とアスパラギンからのアクリルアミド生成挙動解析. 2005年1月. 第53回日本応用糖質科学会中部支部講演会 (愛知県中小企業センター, 名古屋市). 多糖に由来するアクリルアミドの生成は、現在支持されている還元糖とアスパラギンとのMaillard反応では説明が困難な現象である。我々は食品中に多く含まれるこれらの素材に着目し、アクリルアミドの生成挙動を詳しく調べた。加熱に伴うアクリルアミド量の推移をイオントラップ型LC/MS/MSで調べたところ、単糖や二糖と比較してゆっくりとアクリルアミドが生成する特徴が確認された。また、これらの糖質からアクリルアミドが生成する原因として多糖の分解が考えられるが、デンプン、セルロースおよびデキストリンからの生成挙動から判断すると、アクリルアミドの生成に寄与する多糖の分解は主に熱分解であろうと示唆された。

能登谷倫宗・塚本 優・西村裕之・禹 濟泰・永井和夫・李 仁善・萩原啓実. 2004. フラボノイドのひとつであるケルセチンはin vitroでラット頭蓋骨由来の骨芽細胞様細胞 (ROB) の増殖を細胞周期のG1期に停止

させたがアポトシスは誘導しなかった。また、サイクリン依存性キナーゼp21waf1/cip1の活性を阻害し、ヒストンH1のリン酸化を阻害した。さらに細胞増殖停止後骨芽細胞分化に伴うアルカリホスファターゼ活性、オステオカルシンmRNAの発現レベル、Ca<sup>++</sup>蓄積、石化ノズルなどの形成を低下させることから骨芽細胞の分化を阻害すると結論した。(Michitaka Notoya, Yu Tsukamoto, Hiroyuki Nishimura, Je-Tae Woo, Kazuo Nagai, In-Sun Lee, Hiromi Hagiwara. 2004. Quercetin, a flavonoid, inhibits the proliferation, differentiation, and mineralization of osteoblasts in vitro. *Eur. J. Pharmacol.* 485 : 89-96)

谷為昌彦・小山田義博・緒藤啓子・京谷洋子・鈴木健二・伊藤秀明・川崎元治・永井和夫・和地正明・山岸純一. 2004. 新規インダゾール誘導体のDNA-ジャイレース活性阻害かつ抗グラム陽性菌活性を有する分子について設計, 合成, 構造-活性相関を検討した。一連の化合物のいくつかは, メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* およびバンコマイシン耐性 *Enterobacter faecalis* を含む多剤耐性グラム陽性菌に有効であった。(Akihiko Tanitame, Yoshihiro Oyamada, Keiko Ofuji, Yoko Kyoya, Kenji Suzuki, Hideaki Ito, Motoji Kawasaki, Kazuo Nagai, Masaaki Wachi, Jun-ichi Yamagishi. 2004. Design, synthesis and structure-activity relationship studies of novel indazole analogues as DNA gyrase inhibitors with Gram-positive antibacterial activity. *Bioorganic Medicinal Chem. Lett.*:14,2857-2862)

谷為明彦・小山田義博・緒藤啓子・藤本美佳・岩井伯隆・鈴木健二・伊藤秀明・寺内秀夫・川崎元治・永井和夫・和地正明・山岸純一. 2004. 一連の新規ピラゾール化合物を合成し検討した結果, 5-[(E)-2-(5-クロロインドール-3-イル)ビニル]ピラゾールが強力な抗菌活性と細菌トポイソメラーゼに選択的な阻害活性を有することを発見した。合成した多くのものは臨床分離のキノロンまたはクマリン耐性グラム陽性菌に対し感受性菌と同程度の最小生育阻止濃度を示した。(Akihiko Tanitame, Yoshihiro Oyamada, Keiko Ofuji, Mika Fujimoto, Noritaka Iwai, Yoichi Hiyama, Kenji Suzuki, Hideaki Ito, Hideo Terauchi, Motoji Kawasaki, Kazuo Nagai, Masaaki Wachi, Jun-ichi Yamagishi. Synthesis and antibacterial activity of a novel series of potent DNA gyrase inhibitors. *Pyrazole derivatives*. 2004. *J. Med. Chem.* 47, 3693-3696)

荻野英賢・和地正明・石井秋宏・岩井伯隆・西田哲也・山田作雄・永井和夫・菅井基行. 2004. 大腸菌をペニシリン処理すると細胞中央部にバルジを形成し溶菌する。このバルジ部分を回収したところ60kDaのタンパクが濃縮されており, そのN-末端アミノ酸配列はGroELタンパク質と一致した。抗GroEL抗体を用いた染色によりバルジ部にGroELが濃縮されていることが確認され, さらに細胞分裂に参与するFtsZ-環形成部にも位置することが示された。このGroELの分裂部への集積はFtsZに依存し他のFts遺伝子には依存しない。GroEL変異株は伸長細胞を形成し, FtsZ-環の位置も不均一になることからGroELタンパク質が細胞分裂に参与することを示した。(Hidetaka Ogino, Masaaki Wachi, Akihiro Ishii, Noritaka Iwai, Tetsuya Nishida, Sakuo Yamada, Kazuo Nagai, Motoyuki Sugai. FtsZ-dependent localization of GroEL protein at possible division sites. 2004. *Genes to Cells* 9 : 765-771)

中川 大・蓮見恵司・禹 濟泰・永井和夫・和地正明. 2004. (-)-エピガロカテキンガレート (EGCG) はFe (III) からFe (II) への還元活性を有し生じたFe (II) とH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>間でのフェントン反応により生じた・OHラジカルにより殺細胞活性を示す。各種培養がん細胞とカテキン誘導体の殺がん細胞活性との関連を検討した結果から, カテキンによるH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>産生活性と, がん細胞のH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>分解活性の強弱によりがん細胞のカテキン感受性が決定されていることを示した。(Hiroshi Nakagawa, Kieiji Hasumi, Je-Tae Woo, Kazuo Nagai, Masaaki Wachi. Generation of hydrogen peroxide primarily contributes to the induction of Fe (II) -dependent apoptosis in Jurkat cells by (-)-epigallocatechin gallate. 2004. *Carcinogenesis* 25 : 1567-1574)

門原公子・築茂由則・杉本 光・五十嵐雅之・永井和夫・片岡孝夫. 2004. シクロヘキシミドの関連物質であるアセトキシシクロヘキシミド (E-73) がJurkat細胞に強力にアポトーシスを誘導することを見出しその

作用機構を解析した。E-73は細胞外シグナル調節キナーゼであるc-Jun N-terminal kinase (JNK) とp38c MAP kinaseの活性化を誘導し、JNK活性化がミトコンドリアからのチトクロームc放出を介してアポトーシスを誘起すると結論した。(Kimiko Kadohara, Yoshinori Tsukumo, Hikaru Sugimoto, Masayuki Igarashi, Kazuo Nagai, Takao Kataoka. Acetoxycycloheximide (E-73) rapidly induces apoptosis mediated by the release of cytochrome c via activation of c-Jun N-terminal kinase. 2004. Biochem. Pharmacol. 69 : 551-560)

岩井伯隆・江畑琢磨・名倉裕力・北爪智哉・永井和夫・和地正明. 2004. S-ベンジルイソチオウレア誘導体であるS-(3,4-ジクロロベンジル)イソチオウレアは大腸菌に球形化を誘導する。この活性に必要な構造を各種誘導体の効果を比較することにより検討した。その結果、球形化誘導にはS-ベンジルイソチオウレア構造があればよく、S-ベンジルグループの3-および/または4-位の塩素置換はその活性を高めると結論した。(Noritaka Iwai, Takuma Ebata, Hirokatsu Nagura, Tomoya Kitazume, Kazuo Nagai, Masaaki Wachi. Structure-activity relationship of S-benzylisothiourea derivatives to induce spherical cells in Escherichia coli. 2004. Biosci. Biotechnol. Biochem. 68 : 2265-2269)

早川謙嗣・宮澤達也・熊谷雄太郎・永井和夫・和地正明. コリネ型細菌の細胞表層形成に関与する2成分制御系mtrBの解析。2004年3月。日本農芸化学会2004年度大会(於広島)。Corynebacterium glutamicumのリゾチム感受性と増殖の温度感受性を同時に示す変異株のリゾチム感受性を相補するDNA断片をクローニングしたところ、結核菌の2成分制御系mtrA/mtrBと相同性を示すORFが見出された。この遺伝子は細胞表層形成遺伝子の発現を制御している可能性を示した。

高田綾子・海附玄龍・永井和夫・和地正明. 大腸菌の酸化ストレス防御機構におけるHfqタンパク質の役割。2004年3月。日本農芸化学会2004年度大会(於広島)。大腸菌hfq変異株では酸化ストレス抵抗性に関与するDpsタンパク質の発現が低下し、過酸化水素に高感受性を示すことを見出し、Hfqタンパク質がmRNAレベルで酸化ストレス防御遺伝子発現を制御している可能性を示した。

大西素子・米澤貴之・禹 濟泰・永井和夫. 破骨細胞分化に対するプレニル化阻害剤の作用。2004年3月。日本農芸化学会2004年度大会(於広島)。RAW264細胞のRANKLによる破骨細胞への分化系において、ゲラニルゲラニル転移酵素阻害剤は阻害し、フェルネシル転移酵素阻害剤は促進することを見出し、フェルネシル転移酵素阻害剤がNF- $\kappa$ Bの活性化を促進する可能性を示した。

米澤貴之・禹 濟泰・大西素子・長田裕之・永井和夫. 活性化破骨細胞におけるReveromycin Aの選択的アポトーシス誘導機構の解析。2004年3月。日本農芸化学会2004年度大会(於広島)。成熟破骨細胞の培養条件を変えてReveromycin A感受性を検討し、細胞外の酸性環境がReveromycin Aの破骨細胞選択的アポトーシス誘導に必要であることを示した。

坂井太郎・加賀奈緒子・海附玄龍・永井和夫・和地正明. RNas Gによる中央代謝系の制御機構の解析。日本農芸化学会2004年度大会(於広島)。大腸菌RNas G欠損株ではバリン合成が亢進しており、その結果引き起こされるイソロイシン合成不全により富栄養培地からグルコース最小培地へ移行した際の生育遅延が生じることを示した。

中川 大・蓮見恵司・禹 濟泰・永井和夫・和地正明. エピガロカテキンガレートによるFe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>依存性細胞死誘導機構の解析。2004年3月。日本農芸化学会2004年度大会(於広島)。カテキン誘導体の細胞死誘導活性を比較した結果から、破骨細胞ではEGCGによるFe(III)還元が、Jurkat細胞ではH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の産生が細胞死を誘導していると推定した。

李 鍵炯・フランク E アーティス・禹 濟泰・永井和夫. フラボノイド類luteolinによる破骨細胞分化とアクチンリング形成の阻害. 2004年3月. 日本農芸化学会2004年度大会 (於広島). RAW264細胞のM-CSF存在下での破骨細胞分化にたいし, luteolinが細胞毒性を示さない濃度で阻害活性を示すことを見出した. さらにアクチンリング形成を阻害し骨吸収活性を抑制することを示した.

能登谷倫崇・西村裕之・禹 濟泰・永井和夫・萩原啓実. Quercetinのp21シグナルを介した骨芽細胞の増殖・分化阻害活性の可能性. 2004年8月. 第22回日本骨代謝学会学術集会 (於大阪). ラット頭頂骨由来骨芽細胞株ROBにたいする効果を検討した結果から, Quercetinがp21を誘導することによりこの細胞の増殖・分化を抑制すると結論した.

米澤貴之・長田裕之・永井和夫・禹 濟泰. 活性化破骨細胞におけるReveromycin Aの選択的アポトーシス誘導機構の解析. 2004年8月. 第22回日本骨代謝学会学術集会 (於大阪). RAW264は骨細胞への分化, 機能発現系におけるReveromycin Aの作用を解析し, 酸性条件下では低濃度で有効であることを見出した. その結果から構造と細胞内取り込みとの関連, 活性化破骨細胞に対する選択的効果発現の機構につき考察した.

李 鍵炯・永井和夫・禹 濟泰. フラボノイド類による破骨細胞の分化とアクチンリング形成の阻害. 2004年8月. 第22回日本骨代謝学会学術集会 (於大阪). フラボノール類とフラボノール類がRAW264細胞のRANKLによる破骨細胞への分化および破骨細胞のアクチンリング形成を阻害する事を見出し, その作用機構を解析した.

禹 濟泰・川谷 誠・加藤正徳・新木敏正・米澤貴之・叶 直樹・高見正道・Stern PH・長田裕之・永井和夫. Reveromycin Aは活性化破骨細胞に特異的なアポトーシスを誘導し, in vitroおよびin vivoにおいて骨吸収を抑制する. 2004年8月. 日本骨代謝学会学術集会 (於大阪). Reveromycin Aが酸性条件下で特異的に破骨細胞中に取り込まれアポトーシスを誘導し骨吸収を抑制すること, TPTXラットにおけるPTHによる血中カルシウム上昇を抑制すること, OVXマウスにおける骨密度低下を抑制することを示した.

坂井太郎・加賀奈緒子・永井和夫・和地正明. RNaseGによる解糖系の代謝制御の解析. 2004年12月. 第25回日本分子生物学会年会 (於神戸). 大腸菌RNaseGの役割を欠損株を用いて解析した結果, 解糖系の代謝流量をmRNAレベルで制御していることが示唆された.

岩井伯隆・永井和夫・北爪智哉・和地正明. 細菌の骨格タンパク質を作用標的とする抗菌剤の開発. 2004年12月. 第25回日本分子生物学会年会 (於神戸). 大腸菌染色体分離を抑制する活性を指標としてS-ベンジルチオウレア誘導体A22を見出し, その標的が細菌のアクチン様タンパク質MreBにあることを明らかにした. さらに各種誘導体の活性比較からベンゼン環の3位と4位もしくは4位のみ塩素修飾で抗菌力が増大することを示した.

和地正明・阿波雄基・石渡 要・岩井伯隆・永井和夫. 5-アミノレブリン酸類似構造を持つ新規抗生物質. 2004年12月. 第25回日本分子生物学会年会 (於神戸). 大腸菌の染色体分離を阻止する活性を指標として得られた新規物質A012304はアミノレブリン酸と構造が類似しており, ALAの添加により抗菌活性が増大した. 遺伝生化学的解析からA012304処理によりスーパーオキシドジスムターゼの発現が増大することを見出した. この活性発現には5位のメチレン基の存在が重要である.

高田綾子・海附玄龍・永井和夫・和地正明. 大腸菌RNAシャペロンHfqによるタンパク質発現調節. 2004年12月. 第25回日本分子生物学会年会 (於神戸). 大腸菌hfq変異株ではFtsZ, FepA, FhuEが過剰発現していたが, さらにOppA, DppA, YbfMの発現が増加しOmpWの発現が低下していることを見出し, Hfqが外界からの

ストレスや環境変化に対処する機構に関与することを示唆した。

李 鍵炯・安 哉龍・長谷川森一・永井和夫・禹 濟泰. フラボン類およびキノリナルカロイド類による破骨細胞の分化とアクチンリング形成の阻害. 2004年12月. 第25回日本分子生物学会年会 (於神戸). RAW264細胞の破骨細胞様細胞への分化系を用いて植物成分の活性を検討した結果, フラボン類がRANKL存在下での破骨細胞への分化と成熟破骨細胞のアクチンリング形成を阻害することを見出し, その作用機構を解析した.

村上まり子・殿内秀和・高橋涼子・北澤春樹・川井泰・根岸晴夫・齋藤忠夫. 2004. 市販ホエー素材から分離した新規降圧ペプチド ( $\beta$ -lactosin B) の構造解析. 市販ペプチド素材12種類について, アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性試験とSHRでの降圧活性試験で, 降圧活性を有するペプチド素材のスクリーニングを行った. 最大活性を示すペプチド素材から, 有効成分を単離して構造決定を行い, Ala-Leu-Pro-Met からなるテトラペプチドであることを明らかにした. 本ペプチドは $\beta$ -ラクトグロブリンを起源とすることから,  $\beta$ -lactosin Bと命名した. (Murakami, M., Tonouchi, H., Takahashi, R., Kitazawa, H., Kawai, Y., Negishi, H. and Saito, T. 2004. Structural analysis of a new antihypertensive peptide ( $\beta$ -lactosin B) isolated from a commercial whey product. J. Dairy Sci., 87 (7) : 1967-1974.)

齋藤忠夫・村上まり子・大友英生・根岸晴夫. 2004. ATI受容体結合阻害活性及び/又はACE阻害活性ペプチド: 出願番号 特願2004-225644. 出願日2004/8/2. 本特許は, 上記J. Dairy Sci.に投稿した研究成果を権利化するために申請したものである. すなわち, ペプチド素材をスクリーニングし, ATI受容体結合阻害剤とACE阻害の両活性を有するペプチドを単離し, 有効成分として, Ala-Leu-Pro-Metからなるテトラペプチドを決定した. 本ペプチドは, 血圧降下剤として, 医薬品用途, 特定保健用食品などの機能性食品に応用可能である. 特許請求の範囲は次の通り. (1) 配列表の配列番号1のアミノ酸配列で示されるペプチド. (2) 配列表の配列番号1のアミノ酸配列で示されるペプチドを有効成分とするATI受容体結合阻害剤及び/又はACE阻害剤. 【配列表の配列番号1】 Ala Leu Pro Met.

根岸晴夫. 2004. 高齢社会を支える食肉の役割と機能性. 平成16年度東北農業試験研究推進会議 畜産研究会 (夏期), 7月22~23日. 大曲市「大曲エンパイヤホテル」. 日本人の平均寿命延長の要因の一つとして, 食肉などの動物性食品の摂取による栄養改善の貢献は無視できない. 本研究会では, 間もなく到来する高齢社会における食肉摂取の必要性を疫学的事実に基いて紹介した. さらに食肉の機能性研究の実情を解説し, 今後期待される食肉利用の機能性食品の可能性について言及した.

豊島由香・大根陽一郎・高橋伸一郎・野口 忠・加藤久典. 2004. 食餌タンパク質欠乏は, ラット骨格筋のインスリン受容体基質のセリンリン酸化を減少させる. J. Mol. Endocrinol., (2004) 32, 519-531. ラットに無タンパク質飼料を与えると, インスリン投与の有無にかかわらず, 骨格筋におけるインスリンレセプター基質のセリンのリン酸化が抑制された. この結果は, インスリンレセプター基質のチロシンリン酸化は, 従来知られているようにインスリンによって制御されるが, セリンのリン酸化は別に調節を受けていること, 特に食餌条件によって大きく影響を受けることを始めて証明したものである.

(Toyoshima, Y., Ohne, Y., Takahashi, S.-I., Noguchi, T., Kato, H. Dietary protein deprivation decreases the serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 in rat skeletal muscle. J. Mol. Endocrinol., 32, 519-531 (2004)).

大西素子, 三好信寛, 禹濟泰, 永井和夫.

2004. プロテインセリン/スレオニンホスファターゼ2Cの非RI活性測定法. 中部大学生物機能開発研究所紀要 5

仙石裕美, 禹濟泰, 永井和夫, 大西素子. 2004. 破骨細胞分化におけるカドミウムの影響. 第88回日本食品衛生学会

三好信寛, 田村眞理, 永井和夫, 大西素子. 2004. プロテインホスファターゼ2CによるRANKシグナル伝達経路の制御機構.

日本農芸化学会2005年度大会

阿部秀飛, 大石祐一, 加藤久典, 野口忠, 永井和夫, 大西素子. 2005.

カドミウムによるHepG2細胞におけるIGFBP-1産生促進機構の解析. 日本農芸化学会2005年度大会

大西素子, 仙石裕美, 禹濟泰, 永井和夫. 2005. 破骨細胞分化におけるカドミウムの影響. 日本農芸化学会2005年度大会

堤内 要, 日比野真理子, 神部真理子, 大石かおり, 岡田鈺彦, 三輪錠司, 谷口 肇. 2004. イオントラップ型LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミドの定量. 食品衛生学雑誌 45: 95-99. 標記の方法により加工食品中のアクリルアミドの定量分析ができるか否かを内部標準に重水素化アクリルアミドを用いて検討した. アクリルアミド濃度と質量数55と57とのピーク面積比との間には2~20,000ng/mLの広い範囲にわたって直線関係が成立し, 定量限界は2ng/mLであった. 37種類の市販加工食品について検査した結果, 23種類の加工食品中にアクリルアミドが検出された. 最高値はポテトスナックの3,570ng/gであった. イオントラップ型LC/MS/MSを用いることにより, 多くの食品試料に対して相対標準偏差 (RSD) 15%未満でアクリルアミドを定量分析することができた. (Kaname Tsutsumiuchi, Mariko Hibino, Mariko Kambe, Kaori Oishi, Masahiko Okada, Jyouji Miwa, and Hajime Taniguchi. 2004. Application of Ion-trap LC/MS/MS for Determination of Acrylamide in Processed Foods, J. Food Hyg. Soc. Japan, 45: 95-99)

中村力也・青井啓悟・岡田鈺彦. 2004. ポリサルコシン側鎖を有するキチンを基盤とするグラフト共重合体と酵素およびレクチンとの相互作用. *Macromol. Biosci.*, 4: 610-615. 水溶性のキチン-ポリサルコシングラフト共重合体を調製し, これとキチナーゼ, リゾチームおよびWGAレクチンとの相互作用を調べた. ELLA法を用いて分子認識力を評価した結果によれば, 置換度の低いグラフト共重合体の方が高いものよりもWGAレクチンとより効果的に相互作用した. また, ポリサルコシン側鎖が長いグラフト共重合体の方が短いものよりも高い認識力を示した. (Rikiya Nakamura, Keigo Aoi, and Masahiko Okada. 2004. Interactions of Enzymes and a Lectin with a Chitin-Based Graft Copolymer Having Polysarcosine Side Chains, *Macromol. Biosci.*, 4: 610-615)

中村力也・青井啓悟・岡田鈺彦. 2004. キチンと汎用高分子によるバイオポリマーハイブリッド, 接着, 48: 326-332. 構造の制御されたキチン・キトサングラフト共重合体の合成と汎用高分子とのブレンドについて著者らの研究を中心に解説した. すなわち開環リビング重合法を利用したキチン-ポリオキサゾリンおよびキチン-ポリサルコシングラフト共重合体の合成法について記し, ついでこれらのグラフト共重合体とポリビニルアルコール (PVA) とのブレンドの相溶性について記述した. 最後にキチン-ポリサルコシングラフト共重合体とPVAとのブレンドの生分解性について言及した.

野村信嘉, 鶴来 交, 吉田奈央, 岡田鈺彦. 2005. 高分子合成におけるパラジウム触媒を用いるアリル置換反応. *Current Organic Synthesis*, 2: 21-38. Tsuji-Trost反応として知られている, パラジウムを触媒に用いるアリルエステルとマロン酸エステルとの間でのアリル置換反応を経る高分子合成についてまとめた. すなわち, 開環重合, カップリング重合, 重縮合, および重付加の4つに大別して, 官能基を有する高分子合成へのTsuji-Trost反応の応用とその有用性について詳しく紹介した. (Nobuyoshi Nomura, Ko Tsurugi, Nao

Yoshida, and Masahiko Okada. 2005. Palladium-Catalyzed Allylic Substitution Reaction in Polymer Synthesis. *Current Organic Synthesis*, 2 : 21-38)

岡田鉦彦・横江牧人・青井啓悟. 糖ジオールを基盤にした生分解性高分子の合成. 2004年7月. 第3回ハイテクポリマーおよびポリマーコンプレックスに関する国際シンポジウム (於蘭州, 中国). D-グルコースやD-マンノースから容易に得られる1,4:3,6-ジアンヒドロ-D-グルシトールや1,4:3,6-ジアンヒドロ-D-マンニトールを原料の成分として用いて, ポリカーボネートおよびポリエステルカーボネートを合成した. これらについて酵素分解, 土中埋没試験, 活性汚泥処理試験により生分解性を調べ, 高分子構造との相関について論じた. (Masahiko Okada, Makito Yokoe, and Keigo Aoi, Synthesis of Biodegradable Polymers Based on Sugar Diols. 2004.7. 3rd International Symposium on High-Tech Polymers and Polymeric Complexes, Lanzhou, China)

堤内 要・日比野真理子・神部真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. キャピラリー電気泳動-質量分析装置を用いた食品中アクリルアミドの分析. 2004年5月. 日本食品衛生学会第87回学術講演会 (中央区立中央会館, 東京都). キャピラリー電気泳動-質量分析装置 (CE/MS) を用いたアクリルアミド (AA) の分析を新たに検討した. はじめに, 重水素化アクリルアミド (AA- $d_3$ ) を内部標準に用いて, AAの標準試料を測定した.  $\phi$  100  $\mu$ m $\times$ 160cm の溶融シリカキャピラリーを使い, 泳動液に0.01mol/Lのギ酸水溶液, シース液には0.001mol/Lと2-プロパノールの混合液 (7:3 (v/v)) を用いてMS/MS測定を行った. その結果, AAとAA- $d_3$ のピーク面積比をAA濃度に対してプロットしたところ, 良好な直線関係が得られ, この分析条件における検出限界は9ng/mLであることが判明した. 食品試料としてポテトチップスを用いた添加回収実験の結果から, 本研究によるCE/MS/MSの手法が食品中のAA分析に有効であることがわかった.

中村力也・青井啓悟・岡田鉦彦. ポリ (L-プロリン) 側鎖を有するアミノ多糖誘導体の合成. 2004年5月. 第53回高分子学会年次大会 (於神戸国際会議場). 水溶性キチンを高分子開始剤として用いてジメチルスルホキシド中でL-プロリンN-カルボキシ無水物を開環重合させ, キチン-ポリ (L-プロリン) グラフト共重合体を合成した. 反応系にニコチン酸を添加すると, グルコサミン単位に対する側鎖の置換度が向上した. IRおよび $^{13}$ C NMRスペクトル解析より, このグラフト共重合体ではポリ (L-プロリン) 側鎖が $3_1$ -ヘリックス構造をとっていることを確かめた.

青井啓悟・上地武伸・中村力也・近藤忠雄・岡田鉦彦. PHEMAとキチン/ポリサルコシングラフト共重合体とのブレンド. 2004年5月. 第53回高分子学会年次大会 (於神戸国際会議場). 部分脱アセチル化キチンを高分子開始剤として用いてサルコシンN-カルボキシ無水物を開環重合し, キチン-ポリサルコシングラフト共重合体を合成した. これをポリ (2-ヒドロキシエチルメタクリレート) (PHEMA) とブレンドし溶媒キャスト法によりフィルムを調製した. 示差走査熱量測定, 走査電子顕微鏡観察および赤外分光分析により, このブレンドはグラフト共重合体の含量が50%以下では相溶性であり, ポリサルコシン鎖が相溶化セグメントとして働いていることを確かめた. またPHEMAとグラフト共重合体との相互作用により耐熱性が向上することもわかった.

横江牧人・青井啓悟・岡田鉦彦. 糖および酒石酸誘導体からなる新規ポリカルボネートの合成. 2004年5月. 第53回高分子学会年次大会 (於神戸国際会議場). L-酒石酸から2,3-ジ-O-メチル-L-トレイトールおよび2,3-O-イソプロピリデン-L-トレイトールを合成した. これらを1,4:3,6-ジアンヒドロ-D-グルシトールおよび同-D-マンニトールのビス (4-ニトロフェノキシカルボニル) 誘導体とスルホラン中で重縮合させ, 対応するポリカルボネートを合成した. また, 80%トリフルオロ酢酸によりイソプロピリデン保護基を外し, ヒドロキシル基を有するポリカルボネートを得た. これらのポリカーボネートの生分解性についても検討した.

堤内 要・岡田鈺彦. 1, 3-アンヒドロ-2, 4-ジ-O-ベンジル-6-O- (*p*-メトキシフェニル) - $\beta$ -D-グルコピラノースの合成と開環重合. 2004年5月. 第53回高分子学会年次大会 (於神戸国際会議場). D-グルコースから出発して, 標記の新規アンヒドロ糖モノマーを合成した. トリイソブチルアルミニウム-水-アセチルアセトン三成分系触媒を用いてトルエン中60°Cでこれを開環重合させ, 高収率で重合体を得た.  $^1\text{H}$ および $^{13}\text{C}$  NMR解析により, この重合体ではグリコシド結合が $\beta$ 型に規制されていることがわかった. またMALDI-TOF MS分析により, 2-ヒドロキシ-D-グルカールに由来する構造を含めて複数種の末端構造が存在することが判明した.

横江牧人・青井啓悟・岡田鈺彦. 糖または酒石酸を原料としたポリカルボナートの合成とその生分解性. 2004年9月. 第53回高分子討論会 (於北海道大学). 酒石酸から誘導した2,3-ジ-O-メチル-L-トレイトールおよび2,3-O-イソプロピリデン-L-トレイトールと, 1, 4:3, 6-ジアンヒドロ-D-グルシトールおよび同-D-マンニトールのビス (4-ニトロフェノキシカルボニル) 誘導体とを重縮合させて対応するポリカルボナートを合成した. 活性汚泥中でのBOD試験では, イソプロピリデン基を脱保護した, 側鎖にヒドロキシル基を有するポリカーボネートのみが20日間でBOD生分解度が約70%に達した. さらにpH7.4のリン酸緩衝液中での加水分解でもヒドロキシル基を有するポリカルボネートが速やかに加水分解された. これらの結果から, このポリカルボネートの生分解機構について考察した.

堤内 要・岡田鈺彦. 分岐型 (1 $\rightarrow$ 3) - $\beta$ -D-グルコピラノンの合成を目的とした新規1, 3-アンヒドロ糖誘導体の合成と開環重合. 2004年9月. 第53回高分子討論会 (於北海道大学). D-グルコースを出発原料に用いて9段階の反応を経て1, 3-アンヒドロ-2, 4-ジ-O-ベンジル-6-O- (*p*-メトキシフェニル) - $\beta$ -D-グルコピラノースを合成した. MOPAC (PM3, Mulliken) により電荷分布を計算した結果, 1位と3位の酸素の電荷にはあまり大きな差がないことがわかった. トリイソブチルアルミニウム-水-アセチルアセトン系触媒によりこのアンヒドロ糖誘導体を開環重合させ, グルコシド結合が $\beta$ 型に規制された 1, 3-D-グルカン置換体を得た. MALDI-TOF MS分析によりこの重合体の末端構造を詳細に調べ, この開環重合の機構について考察した.

中村力也・青井啓悟・岡田鈺彦. キチン/ポリ (L-プロリン) グラフト共重合体の合成と性質. 2004年9月. 第53回高分子討論会 (於北海道大学). 部分脱アセチル化キチンおよび水溶性キトサンをそれぞれ高分子開始剤として用いて標記のグラフト共重合体を合成した. これらのグラフト共重合体は, 酸性水溶液のほかにもニトロベンゼンやベンジルアルコールに可溶であり, グラフト化によってキチンの溶解性が著しく向上することが認められた. キトサン/ポリ (L-プロリン) グラフト共重合体は, 室温では水に可溶であるが, 50°Cに昇温するとその水溶液は白濁した. 白濁液を35°Cに冷却すると再び透明な溶液となる可逆的感温特性が認められ, キトサンに新しい機能を付与できる可能性が示唆された.

青井啓悟・上地武伸・中村力也・近藤忠雄・岡田鈺彦. PHEMAとキチン/ポリサルコシングラフト共重合体との相溶性の評価. 2004年9月. 第53回高分子討論会 (於北海道大学). ポリ (メタクリル酸2-ヒドロキシエチル) とキチン/ポリサルコシングラフト共重合体とのブレンドフィルムを溶媒キャスト法により調製した. 示差走査熱量測定, 赤外分光分析, 走査電子顕微鏡観察, 接触角測定などにより, このブレンド系は相溶性があり, グラフト共重合体のポリサルコシン側鎖が相溶化セグメントとして機能していることを明らかにした.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・大石かおり・三輪錠司・岡田鈺彦・谷口 肇. イオントラップ型LC/MS/MSを用いた食品中アクリルアミドの定量. 2004年9月. 日本応用糖質科学会平成16年度大会 (於かごしま県民交流センター). 内部標準に重水素化アクリルアミドを用いて食品中のアクリルアミド (AA) の定量を行った. AA濃度と質量数55と57とのピーク面積比との間には2~20,000ng/mLの広い範囲にわたって直線関係が成立し, 定量限界は2ng/mLであった. 37種類の市販加工食品について検査した結果, 23種類の加工食品中にAAが検出された. 最高値はポテトスナックの3,570ng/gであった. 標記の装置により, 多くの

食品試料中のAA含量を相対標準偏差15%以内で分析することができた。

谷口 肇・堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鈺彦・三輪錠司. 加熱食品モデル系でのアクリルアミド生成に対する各種糖質の影響. 2004年9月. 日本応用糖質科学会平成16年度大会 (於かごしま県民交流センター). 種々の単糖や二糖, およびデンプンを用いて, 加熱時のアクリルアミド (AA) の生成量をイオンとラップ型LC/MS/MS装置により調べた. 単糖ではフルクトース, 二糖ではスクロースでAAの生成が顕著であり, ケトースの高い反応性を反映した結果となった. 糖アルコールはアルドースの単糖に比べてAAの生成量はおよそ10分の1となった. また, トレハロースやソルビトールをグルコースやデンプンの系に添加すると, AAの生成が抑制されることがわかった.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鈺彦・三輪錠司・谷口 肇. CE/MS/MSを用いた馬鈴薯アスパラギン含量の分析 馬鈴薯加熱時のアスパラギンおよびアクリルアミド含量の変化. 2004年11月. 日本食品衛生学会第88回学術講演会 (於広島県民文化センター) 内部標準に重水素化アスパラギンを用いて18種類の馬鈴薯を加熱したときのアスパラギン (Asn) 量の経時変化を標記の方法により調べた. 加熱前に5,000-10,000  $\mu\text{g/g}$ 存在していたAsnは, 加熱によって徐々に減少し始め, 500  $\mu\text{g/g}$ 以下になることが判明した. Asnの減少とともにアクリルアミド (AA) が増加し, Asnが消失するにつれて, AA含量が減少し始めることが確認されたことから, AAの生成挙動がAsnに大きく影響されていることが明らかになった.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鈺彦・三輪錠司・谷口 肇. 加熱食品モデルを用いた多糖構造とアクリルアミド生成との相関解析. 2004年11月. 第9回高分子分析討論会 (於名古屋市工業研究所). デンプン (コーンスターチ) やセルロースなどの多糖を180°Cに加熱したときのアクリルアミド (AA) の生成量の経時変化をLC/MS/MS法を用いて調べた. デンプンでは加熱開始後約50分でAAの生成量は最大となり, 90分後でも若干低下するものの高い水準を維持していた. これに対してセルロースの場合にはAAの生成量は20分後に最大となった. 二糖や単糖, あるいは環状オリゴ糖などを加熱したときのAA生成量との比較から, 多糖の構造と加熱時のAAの生成量との相関について論じた.

堤内 要・岡田鈺彦. 機能性食品成分 (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-グルカンの生理機能解析を目的とした合成多糖の分子設計. 2004年12月. 第3回日本機能性食品医用学会 (於中部大学). トリイソブチルアルミニウム-水-アセチルアセトン系触媒を用いて1, 3-アンヒドロ-2, 4, 6-トリ-O-ベンジル- $\beta$ -D-グルコピラノースを開環重合させた. 得られた重合体を液体アンモニア中リチウムを用いて脱ベンジル化し, (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-グルカンを合成した. NMR, SEC, MALDITOF-MSによる構造解析により, この重合体の末端構造は, 還元末端側が主として2-ヒドロキシグルカル, 非還元末端側はヒドロキシル基であることがわかった. 2-ヒドロキシグルカル構造を有することからみて, この重合体が抗酸化機能を兼ね備えた機能性素材となりうることを示唆した.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鈺彦・三輪錠司・谷口 肇. 多糖とアスパラギンからのアクリルアミド生成挙動解析. 2005年1月. 第53回日本応用糖質科学会中部支部講演会 (愛知県中小企業センター) 多糖としてデンプン, セルロース, デキストランを用い, 所定量のアスパラギン, 塩および水を加えて加熱したときに生成するアクリルアミド (AA) の経時変化を調べた. いずれの場合も単糖やオリゴ糖を用いた場合と同じ程度のAA含量が確認された. デンプンは30分後に, デキストランは60分後にAA生成量がほぼ一定となった. これに対してセルロースでは20分でAA生成量が最大になり, デンプンやデキストランよりもAAが速やかに生成することが認められた. これらの結果から, アクリルアミドの生成に寄与する多糖の分解は主に熱分解であることを示唆した.

Tsutsuniuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Oishi, K., Okada, M., Miwa, J., Taniguchi, H. 2004. Application of Ion-trap LC/MS/MS for Determination of Acrylamide in Processed Foods. Journal of the Food Hygienics Society of

Japan 45 (2) : 95-99.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・大石かおり・三輪錠司・岡田鉦彦・谷口 肇. イオントラップ型 LC/MS/MSを用いた食品中アクリルアミドの定量. 2004年9月. 日本応用糖質科学会平成16年度大会 (かごしま県民交流センター, 鹿児島県).

山本一弘・高橋慶人・真野敏明・坂田 泰彦・大石祐一・堀 正二・三輪岳志・井上紳太郎・増山 理. 2004. N-メチルエタノールアミンは, ホスホリパーゼD活性の阻害によって心臓繊維症を軽減し, 拡張性を改善する. *Eur. Heart J.*, 25, 1221-1229 (2004). 心室細動は, ホスホリパーゼDを活性化させ, 心臓の繊維化を引き起こす. この疾病の治療薬としてN-メチルエタノールアミンを見出し, 本作用がホスホリパーゼDの活性を阻害し, コラーゲンの蓄積による心臓の繊維化を抑制することを見出した. (N-Methyletanolamine attenuates cardiac fibrosis and improves diastolic function: inhibition of phospholipase D as a possible mechanism. *Eur. Heart J.*, 25, 1221-1229)

奥地玲奈・末永陽子・岡澤正雄・大石祐一・野口忠. 2005年3月. カドミウムがヒト肝ガン細胞HepG2のIGFBP-1産生に与える影響 2005年度日本農芸化学会大会. 我々はカドミウム汚染によるバイオマーカーとして, 栄養条件の悪化により鋭敏に増加するIGFBP-1を見出した. 他の2価の陽イオンの中で水銀 ( $10 \mu\text{M}$ ) 添加がIGFBP-1産生量を上昇させる傾向を示したが, カドミウムほどではなかった. 本結果より, IGFBP-1が, 生体を汚染したカドミウムにより, 鋭敏に反応する因子であることがわかった.

大石祐一・王晓星・奥地玲奈・野口忠. 2005年3月. カドミウム摂取がラット皮膚細胞外マトリックス代謝に及ぼす影響. 2005年度日本農芸化学会大会. カドミウム摂取による, 皮膚免疫機能などに大きな役割を果たすヒアルロン酸, コラーゲンへの影響について検討した. 3ヶ月間, 0~1000ppmのカドミウムイオンを含む12%カゼイン食を摂取させたところ, I型コラーゲンおよびIII型コラーゲンmRNA量は, 1ppm以上摂取で顕著に減少する傾向が認められ, 極微量でもコラーゲン代謝に影響を与えることがわかった.

阿部秀飛・大石祐一・加藤久典・野口忠・永井和夫・大西素子. 2005年3月. HepG2におけるカドミウムによるIGFBP-1産生促進機構の解析. 2005年度日本農芸化学会大会.

永井雅・村田充良・南基泰・大石祐一・小林一光. 2005年3月. 加工食品中の辛味原料の検出法. 特願2004-289663. 加工食品中に含まれる本わさび, 西洋わさびの辛味原料をPCRを用いて比較的簡単な操作のもと, 高精度に検出する系を確立した.

Shoichi Sato・Mikio Oka・Yuji Noguchi・Hiroshi Soda・Junji Tsurutani・Yoichi Nakamura・T. Kitazaki・Yohei Mizuta・F. Takeshima・Kunihoko Murase・Ikuo Murata・Kenzo Ohtsuka・Shigeru Kohno. 2004. 潰瘍性大腸炎患者におけるHsp40の自己抗体. *J. Int. Med. Res.* 32: 141-148. 潰瘍性大腸炎におけるHsp40の自己抗体について検討した. 26例の潰瘍性大腸炎患者のうち17例について炎症部位においてHsp40が発現しており, 同時にCD68も発現していた. 潰瘍性大腸炎患者の血清中には抗Hsp40抗体が検出された. 重症の患者より軽傷の患者において抗Hsp40抗体の力価が高かった. このことからHsp40の自己抗体は潰瘍性大腸炎患者にとって有益な効果を持っていることが示唆された. (Shoichi Sato, Mikio Oka, Yuji Noguchi, Hiroshi Soda, Junji Tsurutani, Yoichi Nakamura, T. Kitazaki, Yohei Mizuta, F. Takeshima, Kunihoko Murase, Ikuo Murata, Kenzo Ohtsuka, Shigeru Kohno. 2004. Autoimmunity to heat shock protein 40 in ulcerative colitis. *J. Int. Med. Res.* 32: 141-148)

Takeyoshi Asai・Takashi Takahashi・Masatoshi Esaki・Shun-ichi Nishakawa・Kenzo Ohtsuka・Masato

Nakai · Toshiya Endo. 2004. ミトコンドリアへのタンパク質輸送における細胞質ATPの要求性についての再検討. *J. Biol. Chem.* 279 : 19464-19471. ミトコンドリアへのタンパク質輸送にはミトコンドリア内外のATP加水分解のエネルギーが必要である. ミトコンドリアへのタンパク質輸送におけるミトコンドリアマトリクスATPの役割はよく研究されているが, ミトコンドリア外のATPの役割はあまりよくわかっていない. そこで酵母のミトコンドリアを用いてミトコンドリア外のATPの効果を調べる新たな実験系を構築した. ミトコンドリア外のATPは輸送されるタンパク質の構造を維持するには必要だが, そのタンパク質がいったんミトコンドリアに結合してしまうとそれ以降はミトコンドリア外のATPとは関係なくタンパク質の移行は進行することが判明した. 輸送されるタンパク質の構造維持には細胞質のHsc70が必要なのでATPはたぶんこのHsc70に使われるのかもしれない. (Takeyoshi Asai, Takashi Takahashi, Masatoshi Esaki, Shun-ichi Nishakawa, Kenzo Ohtsuka, Masato Nakai, Toshiya Endo. 2004. Reinvestigation of the requirement of cytosolic ATP for mitochondrial protein import. *J. Biol. Chem.* 279 : 19464-19471)

Yan Dai · Kiyoto Saito · Yuri Ohmi · Noriyo Fujie · Kenzo Ohtsuka. 2004. ペオニフロリン, 新たな熱ショックタンパク質誘導剤. *Cell Stress & Chaperones* 9 : 378-389. 漢方薬のなかで分子シャペロン誘導剤がないかどうかをスクリーニングしたところ, ペオニフロリンという化合物がそれ単独でも熱ショック転写因子(HSF1)を活性化し, Hsp70, Hsp40, Hsp27などを誘導することが判明した. またペオニフロリンで処理した細胞は温熱耐性を獲得した. 今回用いた濃度ではペオニフロリンは細胞毒性はほとんど認められなかった. (Yan Dai · Kiyoto Saito · Yuri Ohmi · Noriyo Fujie · Kenzo Ohtsuka. 2004. Paeoniflorin, a novel heat shock protein-inducing compound. *Cell Stress & Chaperones* 9 : 378-389)

N. Nozawa · Y. Yamauchi · Kenzo Ohtsuka · Y. Kawaguchi · Y. Nishiyama. 2004. ヘルペス単純ウィルスタイプ2 (HSV-2) 感染細胞におけるアグレゾーム様構造体の形成とウィルス形成における役割. ヘルペス単純ウィルスは感染細胞の核内で複製し, 細胞質で成熟した感染性のウィルス粒子が形成される. 今回の研究では, HSV-2感染細胞ではウィルス由来のタンパク質 (UL46やVP16) や新しく合成された核様体が核に隣接したアグレゾームによく似た構造体を集積することが判明した. このHSV-2感染によって誘導されたアグレゾーム様構造体は中心体に局在しており, そこにはクラスターになったミトコンドリア, ゴルジ由来の小胞, Hsp70やHsp40などのシャペロンが集まってきている. アグレゾーム様構造体の形成が微小管を解離させるノコダゾールで阻害されることから, ウィルスや宿主細胞のタンパク質の集積には微小管依存輸送機構が関与しているかもしれない. しかしアグレゾームとは違って, ここで見られたアグレゾーム様構造体では中心体の回りにはヴィメンチンケージがなく, またこの構造体の維持には正常な微小管ネットワークが必要である. ノコダゾール処理によるアグレゾーム様構造体が破壊されると, 感染性のあるウィルス粒子の産生が約1/10に低下した. (N. Nozawa, Y. Yamauchi, Kenzo Ohtsuka, Y. Kawaguchi · Y. Nishiyama. 2004. Formation of aggresome-like structures in herpes simplex virus type 2-infected cells and a potential role in virus assembly. *Exp. Cell Res.* 299 : 486-497)

戴 研 · 齋藤清人 · 大見ゆり · 大塚健三. 新たなHSPの誘導剤—ペオニフロリン. 2004年9月.

第21回日本ハイパーサーミア学会大会 (京都). 漢方薬シャクヤクの主成分であるペオニフロリンが単独でも熱ショックタンパク質 (HSP) を誘導することが判明した. ペオニフロリンは熱ショック転写因子 (HSF1) を活性化し, その結果HSPを誘導することがわかった. またペオニフロリン処理によって細胞は温熱耐性となった. 今回用いたペオニフロリンの濃度では細胞毒性は見られないので, 非常によいシャペロン誘導剤である.

大塚健三. 温熱の標的はタンパク質である. 2004年9月. 第21回日本ハイパーサーミア学会大会 (京都). シンポジウム: 温熱の標的は何か? 熱による細胞死の原因について, われわれのこれまでの研究成果をもとに, 温熱の標的はタンパク質であることを論じた.

戴 研・齋藤清人・大見ゆり・大塚健三. 分子シャペロン誘導剤の探索：ペオニフロリンによるHSPの誘導効果. 2004年7月. 東海北陸ハイパーサーミア懇話会 (富山). 天然漢方薬のHSP誘導能について培養細胞を用いてスクリーニングを行い, シャクヤクの主成分であるペオニフロリンという化合物が単独でもHSPを誘導できることが判明した.

齋藤清人・戴 研・大見ゆり・大塚健三. アクリルアミドによる熱ショック蛋白質誘導. 2004年11月. 第9回臨床ストレス蛋白質研究会 (秋田). 高濃度のアクリルアミドで細胞を処理するとHSPが誘導される. ところがほとんどの細胞は不可逆的な死に至る. その結果細胞外に多くのHSPが検出された. 通常軽いストレスを受けて生き残った細胞がHSPを合成し, その後の強いストレスに対して抵抗性になる. しかしアクリルアミド処理では死んでゆく細胞がHSPを合成しそれを細胞外に放出している. これは死にゆく細胞が危機的な状況でHSPを合成し, それを危険信号として細胞外に放出しておいているのかもしれない.

戴 研・齋藤清人・大見ゆり・大塚健三. ペオニフロリンの分子シャペロン誘導効果に関する基礎的研究. 2004年11月. 第9回臨床ストレス蛋白質研究会 (秋田). ペオニフロリンが分子シャペロン (HSP) を誘導することを報告した.

大塚健三. 温熱耐性におけるHsp70とHsp40の分子シャペロン機能の役割. 2004年4月. 第9回国際ハイパーサーミア学会大会ワークショップ (セントルイス, アメリカ合衆国). 哺乳類のHsp70とHsp40は共同で分子シャペロン機能を持っており, それが温熱耐性の分子機構であることを論じた. (Kenzo Ohtsuka. Role of Molecular Chaperone Function of Mammalian Hsp70 and Hsp40 in Thermotolerance. April 2004. 9<sup>th</sup> International Congress on Hyperthermic Oncology. Workshop. St. Louis, Missouri, USA)

大塚健三. 熱ショックタンパク質, 分子シャペロン, そしてプロテオームの護り人. 2004年6月. 門田フォーラム2004「熱ストレスの健康改善への応用」(兵庫, 淡路). 熱ショックタンパク質は分子シャペロンとしての機能を持っており, タンパク質毒性をもつストレスに対する細胞内防御因子である. したがって分子シャペロンを適度に高発現させることで, 細胞内の異常タンパク質の蓄積を防ぎ, ひいては老化遅延, 健康長寿につながる可能性について論じた. (Kenzo Ohtsuka. Heat Shock Proteins, Molecular Chaperones, and Guardians of Proteome. June 2004. Kadota Fund International Forum 2004 on "Applications of thermal stress for the improvements of health:consensus and proposals". Awaji, Japan)

関村利朗. 2004年8月. 「形の科学百科事典」形の科学会編. 全924ページ. 朝倉書店. 生物学, 物理学, 化学, 地学, 数学, 工学など広範な分野から形に関するユニークな研究など約360項目を取り上げ, 「その現象はどのように生じるのか, またその形はどのようにして生まれたのか」という素朴な疑問を念頭に置きながら, 謎解きをするような感覚で自然の法則と形の関係, 形態形成の仕組み, その研究法, 新しい造形物などについて, 読み物的に解説している.

関村利朗. 2005年3月. 「生物現象をはかる—モデル化と数量化の進展—蝶の翅のカラーパターン形成などを例にして」. Chubu Institute for Advanced Studies, Studies Forum Series 34, 1-25. 中部高等学術研究所共同研究会: はかる—はかりはかれる人と世界—, の第8回の講演発表の内容をまとめたものである. 遺伝, 発生, 形態形成, 個体数変動, 動物行動, 進化, 医学など生物学に関係する諸分野でどのような問題がありモデル化されているのか, またそこでは何がはかられているのか, 歴史的な考察も加えながら検討した. 特に, 研究対象である蝶の翅のカラーパターン形成とその多様性生成機構については, 理論的側面をはじめ, 遺伝子の視点, 発生の視点, 色素合成反応の視点, 生態学的視点, 食草の産卵刺激物質などについて個別的にまた総合的に議論を行った.

関村利朗. 2005年3月. 「カドミウムが蚕の成長と寿命に与える影響について」. 中部大学応用生物学部紀要第4号. 実験生物として蚕を利用し, 食品危害物質であるカドミウムが生物の成長や生存などにどのように影響を与えるかを科学的に実証しようという基礎的研究である. 自然交配により3世代にわたって実験を繰り返し, カドミウムが, 1) 幼虫の齢の期間を長くするなどの成長阻害を行う, 2) 成虫の重量を軽くする, 3) 腹部など特定の体の部分に蓄積する, 4) 子孫には親の2程度の濃さで蓄積する, などの結果を得た. なお, 研究は文部科学省ハイテクリサーチセンター整備事業「ゲノミックス, プロテオミックス, 及びエフェクトミックスによる食の安全性評価システム開発のための基礎的研究」の援助を受けて行われた.

関村利朗. 「蝶の羽のパターンの発生と進化」2004年数理生物学シンポジウム. 第14回日本数理生物学会年会. 22日-25日. 広島大学学士会館. 蝶の羽のカラーパターンが作り出される機構は未だ完全には解き明かされてはいないが, 解明に迫る幾つかの研究の動きがある. その研究の現状について講演した. 一方, 擬態などによるカラーパターンの多様性の生成と分子進化(分子系統解析)とを結びつける可能性についても言及した.

関村利朗. 「理論モデルと実験を含む統合的生物科学研究のすすめ」. 国際高等研究所学術フォーラム. 2004年11月26日-27日. 国際高等研究所会議室. 同上研究所の学術フォーラム「生物科学におけるモデルの役割」において, 統合的生物科学研究のすすめ, と題して講演を行った. 実験と理論, また研究分野の異なる研究者が約10名参加し, 2日間にわたっていろいろな立場から生物科学におけるモデルの役割について議論し, 今後の事業と進展について話し合った.

関村利朗. 「生物現象をはかる—モデル化と数量化の進展—蝶の翅のカラーパターン形成などを例にして」. 中部高等学術研究所. 2005年2月9日. 中部高等学術研究所共同研究会「はかる—はかりはかられる人と世界—」の第8回の講演会で, 「生物現象をはかる」と題して発表した.

Taniguchi H. 2004. Carbohydrate Research and Industry in Japan and the Japanese Society of Applied Glycoscience. *Starch* 56 ; 1-5. 日本のデンプン糖化産業の発展とそれと軌を一にして発展してきた日本応用糖質学会の活動について解説した. グルコアミラーゼの開発によるデンプンの酵素糖化法の確立, グルコースイソメラーゼの開発による異性化糖産業の創設, 食品の生理機能の発見に基づいたフルクトオリゴ糖, トレハロースなどの各種オリゴ糖の開発, などについて資料に基づいて紹介した. またこの間に産学官の連携の場として機能した日本応用糖質学会の役割について述べた.

Gorinstein, S., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Yamamoto, K., Kobayashi, S., Taniguchi, H., Haruenkit, R. Park, YS, Jung, ST, Drezewicki J. Trakhtenberg. S. 2004. Use of scanning electron microscopy to indicate the similarities and differences in pseudocereal and cereal proteins. *International J. Food Sci. and Technol.*, 39, 183-189.

アマランサス, ダイズ及びトウモロコシの種子から555イソプロパノールを用いてアルコール可溶性タンパク質(プロラミン)を, ホウ酸緩衝液(pH10)を用いて塩可溶性タンパク質(グルテリン)を抽出し, ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分子量分布を調べた. また走査型電子顕微鏡により種子粉末中のタンパク質粒子の微細構造を観察した. トウモロコシのプロラミンの電気泳動パターン及び微細構造は他の2種の穀類のタンパク質とは大きく異なっていたが, グルテリンについては両者に大きな差は無かった.

Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Oishi, K., Okada, M., Miwa, J., Taniguchi, H. 2004. Application of Ion-trap LC/MS/MS for Determination of Acrylamide in Processed Foods. *Journal of the Food Hygienics Society of Japan* 45 : 95-99.

イオントラップ型LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミドの定量. 食品衛生学雑誌. 45 (2) : 95-99. イオントラップ型LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミド(AA)の定量を検討した. 重水素化アク

リルアミド (AA-d3) を内部標準に用いたAA標準溶液のMultiple Reaction Monitoring (MRM) 測定では, AA濃度が2~20,000ng/mLの範囲で, 各プロダクトイオン ( $m/z$  55, 58) のクロマトグラムにおけるピーク面積の比 (AA/AA-d3) とAA濃度との間に良好な直線関係を確認することができた. また, 定量限界は2 ng/mLであった. 市販食品37検体の実態調査を行った結果, ポテトスナックから最高3570ng/gのAAを検出したほか, 熱処理した多くの食品からAAを検出した. イオントラップ型LC/MS/MSを用いたAAの定量分析は, 多くの食品試料に対して相対標準偏差 (RSD) 15%未満の分析値を得ることができた.

Hasegawa, K., Miwa, S., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H., Miwa, J. 2004. Extremely Low Dose of Acrylamide Decreases Lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Toxicology Letters* 152 ; 183-189.

アクリルアミドは30年以上前から, 神経や遺伝子への影響が知られ, 発がん性も疑われてきた. 最近の調査では, アクリルアミドに直接暴露されるはずのない一般市民から高濃度の同物質が検出され, でんぷんなどの糖質を含む食材を高熱で調理するときメイラード反応により生成されると説明されている. 遺伝学が駆使でき, 全ゲノムも解析されている毒性試験のモデル動物 *C. elegans* を使って, アクリルアミドの (1) 成長, (2) 生殖機能, (3) 寿命への影響を調べた. 成長と生殖への影響に関しては, 0.5  $\mu$ g/Lから5mg/Lまでほとんど影響は見られなかったが, 500mg/Lでは成長も生殖機能も大きく阻害された. 寿命に関しては, 極微量の0.5  $\mu$ g/Lでも10%以上の短縮が見られた. ところがこれより高濃度の50  $\mu$ g/Lから5mg/Lでは寿命の短縮が見られず, 500mg/Lになって再び短縮が観察された. すなわち, 濃度に対し寿命が二相反応をえがく興味深い結果となった.

Ookura, T., Asaba, E., Azuma, K., Sawada, K., Isshiki, K., Taniguchi, H., Kasumi, T and Kawamura, Y. Primary Structure Analysis and Functional Expression of Erythrose Reductases from Erythritol Producing Fungi (*Trichosporonoides megachiliensis* SNG-42). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (in press)

エリスリトール高生酵母 *Trichosporonoides megachiliensis* SNG-42のエリスロースリダクターゼ (ER) 遺伝子を大腸菌に組み込んで, 組換えERを生産し, 本酵素の物理化学的及び酵素学的性質を元の酵母から生成したERの諸性質と比較した. 組換え菌は, 分子量の異なる3種のERを生産し, これらは元の酵母が生産する3種のERの性質とそれぞれ一致することを明らかにした.

小早川和也・大滝尚美・浅野正成・吉尾信子・前田 巖・久松 真・谷口 肇. 蒸煮処理早炊き米の諸性質. 日本食品科学工学会誌 (印刷中). 早炊き米は蒸煮処理により調整された新規開発の米加工食品でその外観は精白米に似ているが, デンプンは大部分が糊化しており短時間の調理で食に供される. 早炊き米は精白米に比べて高い吸水性を示し, RVAによる粘度特性は精白米と同じであった. 米粒表面でデンプンの糊化が特に進んでいることと全体に亘ってデンプンの結晶構造が消失していることが, 早炊き米の炊飯時間が少ない原因であることが分かった.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. 2004年5月. キャピラリー電気泳動-質量分析装置を用いた食品中アクリルアミドの分析. 日本食品衛生学会第87回学術講演会 (中央区立中央会館, 東京都). キャピラリー電気泳動-質量分析装置 (CE/MS) を用いたアクリルアミド (AA) の分析を新たに検討した. はじめに, 重水素化アクリルアミド (AA-d3) を内部標準に用いて, AAの標準試料を測定した.  $\phi$  100  $\mu$ m $\times$ 160cm の溶融シリカキャピラリーを使い, 泳動液に0.01mol/Lのギ酸水溶液, シース液には0.001mol/Lと2-プロパノールの混合液 (7:3 (v/v)) を用いてMS/MS測定を行った. その結果, AAとAA-d3のピーク面積比をAA濃度に対してプロットしたところ, 良好な直線関係を示し, この分析条件における検出限界は9ng/mLであることが判明した. 食品試料としてポテトチップスを用いた添加回収実験の結果から, 本研究によるCE/MS/MSの手法が食品中のAA分析に有効であることが判明した.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・大石かおり・三輪錠司・岡田鉦彦・谷口 肇. 2004年9月. イオン

トラップ型LC/MS/MSを用いた食品中アクリルアミドの定量. 2004年9月. 日本応用糖質科学会平成16年度大会 (かごしま県民交流センター, 鹿児島県). イオントラップ型LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミド (AA) の定量を検討した. イオントラップ型の質量分析計はスペクトル感度が高いものの, トラップ内にイオンと取り込みすぎた場合, イオン自身が作り出す電場によって定量性が低下するという欠点がある. 本研究では重水素化アクリルアミド (AA-d3) を内部標準に用いることによって定量性の改善を行った. その結果, AA濃度が2~20,000ng/mLの範囲で各プロダクトイオン ( $m/z$  55, 58) のクロマトグラムにおけるピーク面積の比 (AA/AA-d3) とAA濃度との間に良好な直線関係を確認することができた. 定量限界は2 ng/mLであり, 四重極型—四重極型のMS/MSに匹敵する値を確認することができた.

谷口 肇・堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司. 2004年9月. 加熱食品モデル系でのアクリルアミド生成に対する各種糖質の影響. 日本応用糖質科学会平成16年度大会 (かごしま県民交流センター, 鹿児島県). 加工食品中におけるアクリルアミド (AA) 生成に関する糖質の影響を詳細に調べるため, 種々の糖質を用いた食品モデルを設計し, 加熱時間にもなるAA含量の変化をイオントラップ型LC/MS/MSで調査した. 単糖を用いた実験からアルドースとケトースの間には顕著な違いが確認され, 二糖においてもケトースを含むものが高いAA含量を示す結果となった. トレハロースなどを用いたAA生成抑制に関する検討も行い, 添加系と無添加系で有意な差が認められた.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. 2004年11月. CE/MS/MSを用いた馬鈴薯アスパラギン含量の分析—馬鈴薯加熱時のアスパラギンおよびアクリルアミド含量の変化. 日本食品衛生学会第88回学術講演会 (広島県民文化センター, 広島市). イオントラップ型CE/MS/MSを用いた馬鈴薯アスパラギン含量の分析法を開発した. CE/MS/MSを用いたアミノ酸の定量は既に報告されているものの, 安定同位体を内分標準として用いた例はない. 本研究では, 重水素化アスパラギンを内部標準に用いることで, 極めて簡単な試料前処理でも精度の高い分析値を得ることができた. 馬鈴薯の加熱に伴うアスパラギン量とアクリルアミド量をイオントラップ型CE/MS/MS, LC/MS/MSで分析したところ, アスパラギンの消費がアクリルアミドの生成と関連していることが確認できた.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. 2004年11月. 加熱食品モデルを用いた多糖構造とアクリルアミド生成との相関解析. 第9回高分子分析討論会 (名古屋市工業研究所, 名古屋市). 加熱食品中におけるアクリルアミドの生成は糖質とアスパラギンとのMaillard反応によるものとされている. 我々はこれまでに加熱食品モデルを用いてアクリルアミド生成に関する糖質の影響を調べてきたが, 直接Maillard反応に関与できない非還元性の糖質からも多量のアクリルアミドが生成することがわかった. 特に本研究では還元性が無視できる多糖に着目し, デンプン, セルロースおよびデキストリンを用いた食品モデル中のアクリルアミド生成を調べた. その結果, いずれの糖質からも多量のアクリルアミドが生成することが判明した.

神戸真理子・日比野真理子・岡嶋直子・堤内 要・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. 2005年1月. 多糖とアスパラギンからのアクリルアミド生成挙動解析. 第53回日本応用糖質科学会中部支部講演会 (愛知県中小企業センター, 名古屋市). 多糖に由来するアクリルアミドの生成は, 現在支持されている還元糖とアスパラギンとのMaillard反応では説明が困難な現象である. 我々は食品中に多く含まれるこれらの素材に着目し, アクリルアミドの生成挙動を詳しく調べた. 加熱に伴うアクリルアミド量の推移をイオントラップ型LC/MS/MSで調べたところ, 単糖や二糖と比較してゆっくりとアクリルアミドが生成する特徴が確認された. また, これらの糖質からアクリルアミドが生成する原因として多糖の分解が考えられるが, デンプン, セルロースおよびデキストリンからの生成挙動から判断すると, アクリルアミドの生成に寄与する多糖の分解は主に熱分解であろうと示唆された.

Hasegawa, K., Miwa, S., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H. and Miwa, J. 2004. Acrylamide effects on the nematode *Caenorhabditis elegans*. The First East Asian *C. elegans* Meeting (Awaji-shima). 2004.6.

長谷川浩一・三輪さつき・堤内要・谷口 肇・三輪錠司. 2004年7月. アクリルアミドのモデル生物 *C. elegans* に及ぼす影響. 第一回東アジア *C. elegans* 大会 (於淡路夢舞台国際会議場, 淡路島). アクリルアミドは神経や遺伝子への影響をもち, あるいは発がん性も疑われている物質である. 2002年にこのアクリルアミドが日常の食品にも高濃度で含まれていることがわかったことを受けて生体への影響を調べることにした. モデル生物である *C. elegans* をもちいて, 成長, 生殖, 寿命への影響を評価した. 結果, 成長や生殖については100mg/L以上で影響が出はじめ, 500mg/Lでは著しい影響が観察された. とくに生殖に関しては, アクリルアミド処理をした親からの影響が処理をしていない子にも残留することが判明した. また, 寿命については0.5  $\mu$ g/Lでも十数%の短縮がみられた. ちなみに, 0.5  $\mu$ g/LはWHOやアメリカEPAの設定した最低基準値である. 加えて, 面白いことに, これより高い濃度では寿命への影響が無くなり, それより高濃度で再び影響がでるといふ, いわゆる二相性をもつこともわかった.

長谷川浩一・三輪さつき・堤内要・谷口 肇・三輪錠司. 2004. アクリルアミドによる *Caenorhabditis elegans* 寿命の二相性反応. 2004年9月. 日本線虫学会年会 (於福島テルサ, 福島市). 2002年4月にNFAは, 高温で調理する食品から許容基準値を大きく上回るアクリルアミド (AA) が検出されることを報告したことをうけて, 線虫 *Caenorhabditis elegans* (エレガンス) をモデルに用いAAの生体へ及ぼす影響を調べた. 体長, 産卵数, 次世代の産卵数については, 高濃度にならないと影響がみられなかったが, 寿命に関しては0.5  $\mu$ g/Lの極微量濃度でも減少することがわかった. さらに, AA濃度と寿命との関係は, 一般的に考えられている単純な比例関係ではなく, hormeticな反応 (biphasic-dose response, 二相性反応) を示すことを発見した. エレガンス体内に備わるAAに対する生体内分子応答/防衛機構を調べるためにトランスクリプトーム解析をおこなったところ, 0.5  $\mu$ g/Lの極微量AA濃度でも転写量が変化する遺伝子のあることが判明した.

谷山鉄郎. 2004. 日本の生命維持システムと生物の多様性を考える. 中部大学応用生物学部紀要. 4: 日本環境学会創立30年記念シンポジウム. 人類の生存と生物の多様性を考える-人と鳥との共生社会を拓-研究発表要旨集. 209-223. 世界から見た日本列島に降る命の水は年平均値で, 世界で最大の1800mmであり, 世界自然遺産の屋久島では年間最大値で世界最大の1万mmにたつする. また, 日本列島は北海道から沖縄まで, 中央は山々に覆われ, 気候的にも多様であり, 水平的にも南北3千キロメートル, 亜熱帯から亜寒帯まで, 実際の気温では, 熱帯から寒帯までの広い範囲を包含する国である. このように, 極めて複雑な水平垂直分をなして, 多様な気候分布を形成している. 命の水と多様な気候分布によって, 熱帯地域のも劣らない多様な生物種に恵まれていることを指摘した.

Terai, H. 2004 Effect of deforestation of alder trees on methane fluxes in Kushiro wetland, Hokkaido, Japan. SIL 29<sup>th</sup> Congress Abstracts p.56 (8-14 August Lahti, Finland) 釧路湿原においてハンノキ林拡大が湿原生態系に与える影響を明らかにするために温根内地区でハンノキ林伐採実験が行われた. ハンノキ林伐採が温暖化ガスとしてのメタンのフラックスにどのような影響を及ぼすかを調べるためにハンノキ林伐採区とその周辺の非伐採区において伐採後2カ年の夏季におけるメタンフラックスの観測を行った. その結果, ハンノキ林伐採によりメタンフラックスが有意に低下していることを明らかにし, これはメタンの炭素安定同位体比のデータからハンノキ伐採がメタンの酸化を促進しているためと考えられた.

Goto, N., Terai, H. and Mitamura O. 2004 Production of extra-cellular organic carbon in the total primary production by freshwater benthic algae at the littoral zone and inflow river of Lake Biwa. SIL 29<sup>th</sup> Congress Abstracts p.58 (8-14 August Lahti, Finland) 淡水産付着珪藻の培養種と自然群集を用いて光合成生産物をPOC (粒子状有機炭素) とTEOC (全細胞外生産有機物) 分画した. 培養種のうち4種類は全光合成生産物 (TPP) の90%以上がPOC分画に認められた. しかし付着珪藻の *Achnanthes laevis* はTPPの半分以上 (54%)

をEDTA抽出有機炭素として細胞外に分泌した。河川の付着藻類は琵琶湖沿岸帯の付着藻類よりTEOC/TPPがやや高い傾向を示した。

稲垣聡・平沢太郎・寺井久慈. 水質浄化システムにおける多孔質光触媒体の吸着および分解の効果. 2005年2月. 日本陸水学会東海支部会第7回研究発表会(於昼神温泉)講演要旨集p.10多孔質光触媒と硝化細菌を用いて下水浄化実験を行った。光触媒体の有無, 紫外線ランプの有無により硝化反応, 有機物分解反応がどのように進むかを $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ のイオン濃度変化とPOC(粒子状有機炭素)およびDOC(溶存遊記炭素)の濃度変化から調べた。その結果, 光触媒体と紫外線ランプが存在する条件で $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ の硝化反応がもっともスムーズに進行した。一方光触媒体が存在しない条件では実験開始後15時間の間POCの低下が見られないが, 光触媒体やそれに紫外線ランプを照射した系では実験開始時からPOCの低下が見られた。このことからPOC分解には実験初期において多孔質体による吸着が重要であることが明らかにされた。またPOCの分解にも光触媒が効率を高めることが示された。

川本剛・根本亮佑・寺井久慈. 曝気条件下でも機能する脱窒菌固定化担体の開発. 2005年2月. 日本陸水学会東海支部会第7回研究発表会(於昼神温泉)講演要旨集p.11通常の活性汚泥による下水浄化処理の欠点は脱窒, 脱リンが不十分な点である。下水処理の過程で曝気により好気処理が行われて $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ の硝化反応が進行するが, この好気条件下で脱窒が機能できるように脱窒菌を固定化できる多孔質体の種類と脱窒菌の前処理時間の違いによる脱窒効率の違いを調べた。その結果, いずれの多孔質を用いても曝気条件下で脱窒が進行すること, 5mm程度の球状多孔質体に7日間脱窒菌を浸漬させたものが最も脱窒の効率が高いことが認められた。

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・大石かおり・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. 2004. イオントラップ型LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミドの定量. 食品衛生学雑誌. 45 (2) : 95-99. イオントラップ型LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミド(AA)の定量を検討した。重水素化アクリルアミド(AA-d3)を内部標準に用いたAA標準溶液のMultiple Reaction Monitoring (MRM)測定では, AA濃度が2~20,000ng/mLの範囲で, 各プロダクトイオン(m/z 55, 58)のクロマトグラムにおけるピーク面積の比(AA/AA-d3)とAA濃度との間に良好な直線関係を確認することができた。また, 定量限界は2ng/mLであった。市販食品37検体の実態調査を行った結果, ポテトスナックから最高3570ng/gのAAを検出したほか, 熱処理した多くの食品からAAを検出した。イオントラップ型LC/MS/MSを用いたAAの定量分析は, 多くの食品試料に対して相対標準偏差(RSD)15%未満の分析値を得ることができた。

(Kaname Tsutsumiuchi, Mariko Hibino, Mariko Kambe, Kaori Oishi, Masahiko Okada, Johji Miwa and Hajime Taniguchi. 2004. Application of Ion-trap LC/MS/MS for Determination of Acrylamide in Processed Foods. Journal of the Food Hygienics Society of Japan 45 (2) : 95-99)

長谷川浩一・三輪さつき・堤内 要・谷口肇・三輪錠司. 2004. 極微量アクリルアミドでも線虫の寿命を短縮する. Toxicology Letters 152 (2) : 183-189. アクリルアミドは30年以上も前から, 神経や遺伝子への影響が知られ, 発がん性も疑われてきた。最近の調査では, アクリルアミドに直接暴露されるはずのない一般市民から高濃度の同物質が検出され, でんぷんなどの糖質を含む食材を高熱で調理するときメイラード反応により生成されると説明されている。遺伝学が駆使でき, 全ゲノムも解析されている毒性試験のモデル動物C. elegansを使って, アクリルアミドの(1)成長, (2)生殖機能, (3)寿命への影響を調べた。成長と生殖への影響に関しては, 0.5  $\mu\text{g/L}$ から5mg/Lまでほとんど影響は見られなかったが, 500mg/Lでは成長も生殖機能も大きく阻害された。寿命に関しては, 極微量の0.5  $\mu\text{g/L}$ でも10%以上の短縮が見られた。ところがこれより高濃度の50  $\mu\text{g/L}$ から5mg/Lでは寿命の短縮が見られず, 500mg/Lになって再び短縮が観察された。すなわち, 濃度に対し寿命が二相反応をえがく興味深い結果となった。

(Koichi Hasegawa, Satsuki Miwa, Kaname Tsutsumiuchi, Hajime Taniguchi and Johji Miwa. 2004. Extremely

low dose of acrylamide decreases lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Toxicology Letters* 152 : 183-189)

**堤内 要**・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. キャピラリー電気泳動-質量分析装置を用いた食品中アクリルアミドの分析. 2004年5月. 日本食品衛生学会第87回学術講演会(中央区立中央会館, 東京都). キャピラリー電気泳動-質量分析装置(CE/MS)を用いたアクリルアミド(AA)の分析を新たに検討した. はじめに, 重水素化アクリルアミド(AA-d3)を内部標準に用いて, AAの標準試料を測定した.  $\phi$  100  $\mu$ m $\times$ 160cmの溶融シリカキャピラリーを使い, 泳動液に0.01mol/Lのギ酸水溶液, シース液には0.001mol/Lと2-プロパノールの混合液(7:3(v/v))を用いてMS/MS測定を行った. その結果, AAとAA-d3のピーク面積比をAA濃度に対してプロットしたところ, 良好な直線関係を示し, この分析条件における検出限界は9ng/mLであることが判明した. 食品試料としてポテトチップスを用いた添加回収実験の結果から, 本研究によるCE/MS/MSの手法が食品中のAA分析に有効であることが判明した.

**堤内 要**・岡田鉦彦. 1, 3-アンヒドロ-2, 4-ジ-O-ベンジル-6-O-(p-メトキシフェニル)- $\beta$ -D-グルコピラノースの合成と開環重合. 2004年5月. 第53回高分子学会年次大会(神戸国際会議場, 神戸市). 抗腫瘍活性などの生理活性を有する(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-グルコピラナン, すなわちグルコース単位の6位に分岐鎖を有するグラフト共重合体を合成するため, 6位に選択的除去可能なp-メトキシフェニル基を導入した1, 3-アンヒドロ-2, 4-ジ-O-ベンジル-6-O-(p-メトキシフェニル)- $\beta$ -D-グルコピラノースを合成し, さらにトリイソブチルアルミニウム-水-アセチルアセトン系触媒を用いた重合を検討した. なお, モノマー合成において得られた一連の化合物のうち, 6種類の化合物は新規化合物である. 重合体は, 同じ触媒を用いた1, 3-アンヒドロ-2, 4, 6-トリ-O-ベンジル- $\beta$ -D-グルコピラノースと同様に, グリコシド結合が $\beta$ 型にほぼ100%制御されており, 本研究で得られた新規モノマーが分岐型(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-グルコピラナンの合成に有効であることが示唆された.

長谷川浩一・三輪さつき・堤内 要・谷口肇・三輪錠司. アクリルアミドのモデル生物*C. elegans*に及ぼす影響. 2004年7月. 第一回東アジア*C. elegans*大会(淡路夢舞台国際会議場, 淡路島). アクリルアミドは神経や遺伝子への影響をもち, あるいは発がん性も疑われている物質である. 2002年にこのアクリルアミドが日常の食品にも高濃度で含まれていることがわかったことを受けて生体への影響を調べることにした. モデル生物である*C. elegans*をもちいて, 成長, 生殖, 寿命への影響を評価した. 結果, 成長や生殖については100mg/L以上で影響が出はじめ, 500mg/Lでは著しい影響が観察された. とくに生殖に関しては, アクリルアミド処理をした親からの影響が処理をしていない子にも残留することが判明した. また, 寿命については0.5  $\mu$ g/Lでも十数%の短縮がみられた. ちなみに, 0.5  $\mu$ g/LはWHOやアメリカEPAの設定した最低基準値である. 加えて, 面白いことに, これより高い濃度では寿命への影響が無くなり, それより高濃度で再び影響がでるといふ, いわゆる二相性をもつこともわかった.

(Koichi Hasegawa, Satsuki Miwa, Kaname Tsutsumiuchi, Hajime Taniguchi and Johji Miwa. 2004. Acrylamide effects on the nematode *Caenorhabditis elegans*. East Asian *C. elegans* Meeting, Awaji-shima, Japan)

大野正富・水野・堤内 要. [60] フラーレンの制御/非制御型ラジカル付加. 2004年8月. 第15回有機合成化学国際会議(ICOS-15)(名古屋大学, 名古屋市). [60] フラーレンへのラジカル付加反応について検討した. まず, アゾビスイソブチロニトリルの熱分解によって生じるラジカル種の付加反応を行った. この反応系は制御が困難で, 生成物は多付加体となった. 発煙硝酸を用いたNO<sub>2</sub>ラジカルの付加反応も行ったが, この場合も多付加体を得られる結果となった. 一方, シクロプロパノンシリルアセタールと塩化鉄(III)との反応により生成するラジカル種を用いた場合は制御が可能であり, 2付加体を得ることができた. なお, この2付加体は1, 2-付加体と1, 4-付加体の混合物であった. これらの2付加体の安定性を分子軌道計算(PM3)で見積もったところ, 両者にそれほど差はなく, 実験結果が妥当なものであることが確認できた.

Masatomi Ohno, K Mizuno, Kaname Tsutsumiuchi. Controlled/Uncontrolled Radical Addition of [60] Fullerene. 2004.8. 15th International Conference on Organic Synthesis (ICOS-15) (Nagoya, Japan).

長谷川浩一・三輪さつき・堤内 要・谷口肇・三輪錠司. アクリルアミドによるCaenorhabditis elegans寿命の二相性反応. 2004年9月. 日本線虫学会年会(福島テルサ, 福島市). 2002年4月にNFAは, 高温で調理する食品から許容基準値を大きく上回るアクリルアミド(AA)が検出されることを報告したことをうけて, 線虫Caenorhabditis elegans(エレガンス)をモデルに用いAAの生体へ及ぼす影響を調べた. 体長, 産卵数, 次世代の産卵数については, 高濃度にならないと影響がみられなかったが, 寿命に関しては $0.5 \mu\text{g/L}$ の極微量濃度でも減少することがわかった. さらに, AA濃度と寿命との関係は, 一般的に考えられている単純な比例関係ではなく, hormeticな反応(biphasic-dose response, 二相性反応)を示すことを発見した. エレガンス体内に備わるAAに対する生体内分子応答/防衛機構を調べるためにトランスクリプトーム解析をおこなったところ,  $0.5 \mu\text{g/L}$ の極微量AA濃度でも転写量が変化する遺伝子のあることが判明した.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・大石かおり・三輪錠司・岡田鉦彦・谷口 肇. イオントラップ型LC/MS/MSを用いた食品中アクリルアミドの定量. 2004年9月. 日本応用糖質科学会平成16年度大会(かごしま県民交流センター, 鹿児島県). イオントラップ型LC/MS/MSによる加工食品中のアクリルアミド(AA)の定量を検討した. イオントラップ型の質量分析計はスペクトル感度が高いものの, トラップ内にイオンと取り込みすぎた場合, イオン自身が作り出す電場によって定量性が低下するという欠点がある. 本研究では重水素化アクリルアミド(AA-d3)を内部標準に用いることによって定量性の改善を行った. その結果, AA濃度が2~20,000ng/mLの範囲で各プロダクトイオン(m/z 55, 58)のクロマトグラムにおけるピーク面積の比(AA/AA-d3)とAA濃度との間に良好な直線関係を確認することができた. 定量限界は2ng/mLであり, 四重極型-四重極型のMS/MSに匹敵する値を確認することができた.

谷口 肇・堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司. 加熱食品モデル系でのアクリルアミド生成に対する各種糖質の影響. 2004年9月. 日本応用糖質科学会平成16年度大会(かごしま県民交流センター, 鹿児島県). 加工食品中におけるアクリルアミド(AA)生成に関する糖質の影響を詳細に調べるため, 種々の糖質を用いた食品モデルを設計し, 加熱時間にもなうAA含量の変化をイオントラップ型LC/MS/MSで調査した. 単糖を用いた実験からアルドースとケトースの間には顕著な違いが確認され, 二糖においてもケトースを含むものが高いAA含量を示す結果となった. トレハロースなどを用いたAA生成抑制に関する検討も行い, 添加系と無添加系で有意な差が認められた.

堤内 要・岡田鉦彦. 分岐型(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-グルコピラナンの合成を目的とした新規1,3-アンヒドロ糖誘導体の合成と開環重合. 2004年9月. 第53回高分子討論会(北海道大学高等教育機能開発総合センター, 札幌市). 抗腫瘍活性などの生理活性を有する天然の(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-グルコピラナンはグルコース単位の6位に分岐鎖を有する多糖である. 構造が明確な分岐型(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-グルコピラナンへの合成経路を考案し, 鍵化合物である1,3-アンヒドロ-2,4-ジ-O-ベンジル-6-O-(p-メトキシフェニル)- $\beta$ -D-グルコピラノースの合成について報告した. さらにトリイソブチルアルミニウム-水-アセチルアセトン系触媒を用いた重合も検討し, 新しいモノマーの重合においてもグリコシド結合が $\beta$ 型にほぼ100%制御されることを確認した.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. CE/MS/MSを用いた馬鈴薯アスパラギン含量の分析-馬鈴薯加熱時のアスパラギンおよびアクリルアミド含量の変化. 2004年11月. 日本食品衛生学会第88回学術講演会(広島県民文化センター, 広島市). イオントラップ型CE/MS/MSを用いた馬鈴薯アスパラギン含量の分析法を開発した. CE/MS/MSを用いたアミノ酸の定量は既に報告されているものの, 安定同位体を内分標準として用いた例はない. 本研究では, 重水素化アスパラギンを内部標準に用いることで, 極めて簡単な試料前処理でも精度の高い分析値を得ることができた. 馬鈴薯の加熱に伴うアスパラギン量とアクリルアミド量をイオントラップ型CE/MS/MS, LC/MS/MSで分析したところ, アスパラギンの消費がアクリルアミドの生成と関連していることが確認できた.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. 加熱食品モデルを用いた多糖構造とアクリルアミド生成との相関解析. 2004年11月. 第9回高分子分析討論会 (名古屋市工業研究所, 名古屋市). 加熱食品中におけるアクリルアミドの生成は糖質とアスパラギンとのMaillard反応によるものとされている. 我々はこれまでに加熱食品モデルを用いてアクリルアミド生成に関する糖質の影響を調べてきたが, 直接Maillard反応に関与できない非還元性の糖質からも多量のアクリルアミドが生成することがわかった. 特に本研究では還元性が無視できる多糖に着目し, デンプン, セルロースおよびデキストリンを用いた食品モデル中のアクリルアミド生成を調べた. その結果, いずれの糖質からも多量のアクリルアミドが生成することが判明した.

堤内 要・岡田鉦彦. 機能性食品成分 (1→3)- $\beta$ -D-グルカンの生理機能解析を目的とした合成多糖の分子設計. 2004年12月. 第3回日本機能性食品医用学会総会 (中部大学, 愛知県). キノコ類から抽出される (1→3)- $\beta$ -D-グルカンは免疫賦活作用などを示す機能性食品成分である. 現在, 非常に広く流通しているにもかかわらず, 構造の複雑さゆえに不明な点も多い. ゆえに本研究では生理機能解析を目的とした構造が明確な (1→3)- $\beta$ -D-グルカンの分子設計を行った. トリイソブチルアルミニウム-水-アセチルアセトン系触媒を用いた1, 3-アンヒドロ糖誘導体の重合を基盤とした分岐多糖の精密合成について紹介し, 化学合成ゆえの構造的特長とその意義について議論した.

神戸真理子・日比野真理子・岡嶋直子・堤内 要・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇. 多糖とアスパラギンからのアクリルアミド生成挙動解析. 2005年1月. 第53回日本応用糖質科学会中部支部講演会 (愛知県中小企業センター, 名古屋市). 多糖に由来するアクリルアミドの生成は, 現在支持されている還元糖とアスパラギンとのMaillard反応では説明が困難な現象である. 我々は食品中に多く含まれるこれらの素材に着目し, アクリルアミドの生成挙動を詳しく調べた. 加熱に伴うアクリルアミド量の推移をイオントラップ型LC/MS/MSで調べたところ, 単糖や二糖と比較してゆっくりとアクリルアミドが生成する特徴が確認された. また, これらの糖質からアクリルアミドが生成する原因として多糖の分解が考えられるが, デンプン, セルロースおよびデキストリンからの生成挙動から判断すると, アクリルアミドの生成に寄与する多糖の分解は主に熱分解であろうと示唆された.

山口卓也・今枝健一・堤内 要・山口作太郎. ピリジルメチルピロリジンメタノール触媒による不斉還元反応へのマイクロ波照射効果. 2005年3月. 日本化学会第85春季年会 (2005) (神奈川大学横浜キャンパス, 横浜市). ピリジルメチルピロリジンメタノール触媒を用いた2-アセトナフトンの不斉還元反応を取り上げ, ヒーター加熱とマイクロ波加熱による反応挙動の違いを比較した. テトラヒドロフラン中, 還流条件で10分間反応を行ったところ, いずれの加熱条件でもほぼ定量的に生成物を得ることができた. エナンチオマー過剰率 (ee) を評価したところ, マイクロ波のほうは若干ee値が低かったものの, ピリジルメチルピロリジンメタノール触媒を用いて不斉誘導できることがわかった.

吉川貴裕・今枝健一・堤内 要・山口作太郎. (1-クロロエチル) ベンゼンの求核置換反応へのマイクロ波照射効果. 2005年3月. 日本化学会第85春季年会 (2005) (神奈川大学横浜キャンパス, 横浜市). (1-クロロエチル) ベンゼンとメタノールを混合し, 還流条件下, ヒーター加熱およびマイクロ波加熱 (650W, 2.45GHz) でそれぞれ反応を行った. 反応開始から時間を追って反応液を採取し<sup>1</sup>H-NMRを用いて各成分の経時変化を追跡することによりそれぞれの加熱方法における反応速度定数を調べた. その結果, マイクロ波加熱およびヒーター加熱の反応速度定数はそれぞれ $3.8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ,  $2.3 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ であり, マイクロ波による反応促進効果が本実験系でも存在することがわかった.

Woo JT, Nakagawa H, Krecic AM, Nagai K, Hamilton AD, Sebti SM, Stern PH. 2005 Inhibitory effects of mevastatin and a geranylgeranyl transferase I inhibitor (GGTI-2166) on mononuclear osteoclast formation

induced by receptor activator of NFkappaB ligand (RANKL) or tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha). *Biochem Pharmacol.* 69:87-95.

Park EK, Kim MS, Lee SH, Kim KH, Park JY, Kim TH, Lee IS, Woo JT, Jung JC, Shin HI, Choi JY, Kim SY. 2004 Furosin, an ellagitannin, suppresses RANKL-induced osteoclast differentiation and function through inhibition of MAP kinase activation and actin ring formation. *Biochem Biophys Res Commun.* 325:1472-1480.

Igarashi K, Hirotsani H, Woo JT, Stern PH. 2004 Cyclosporine A and FK506 induce osteoclast apoptosis in mouse bone marrow cell cultures. *Bone* 35:47-56.

Nakagawa H, Hasumi K, Woo JT, Nagai K, Wachi M. 2004 Generation of hydrogen peroxide primarily contributes to the induction of Fe(II)-dependent apoptosis in Jurkat cells by (-)-epigallocatechin gallate. *Carcinogenesis* 25:1567-1574.

Kita M, Kondo M, Koyama T, Yamada K, Matsumoto T, Lee KH, Woo JT, Uemura D. 2004 Symbioimine exhibiting inhibitory effect of osteoclast differentiation, from the symbiotic marine dinoflagellate *Symbiodinium* sp. *J Am Chem Soc.* 126:4794-4795.

Jae-Yong Ahn<sup>1,2</sup>, Kun-Hyung Lee<sup>2</sup>, Youji Sakagami<sup>1</sup>, Kazuo Nagai<sup>2</sup> and Je Tae Woo<sup>2</sup>. 平成16年12月 Luteolin inhibits mononuclear osteoclast formation and disrupts actin rings in mature osteoclasts. The 2<sup>nd</sup> Korea-Japan Joint Symposium (箱根)

李 鍵炯, 安 哉龍, 長谷川森一, 禹 濟泰, 坂神洋次, 永井和夫 平成16年12月 フラボノイド類による破骨細胞の分化と骨吸収機能阻害 第3回日本機能性食品医用学会 (中部大学)

岩橋 歩, 李 鍵炯, 安 哉龍, 長谷川森一, 永井和夫, 坂神洋二, 禹 濟泰 平成16年12月 アルカロイド類による破骨細胞の分化及び骨吸収機能阻害 第3回日本機能性食品医用学会 (中部大学)

安 哉龍, 李 鍵炯, 永井和夫, 坂神洋次, 禹 濟泰 2005 フラボノイド類による破骨細胞の分化阻害とアクチンリング構造破壊作用の解析 年度日本農芸化学会 (札幌)

増田貴久子, 山口宏二, 禹 濟泰, 西村富生, 矢澤一良 金線蓮抽出物による破骨細胞形成抑制作用 日本農芸化学会 2005年度大会 (札幌) 金線蓮抽出物が破骨細胞形成抑制作用を有することを見出した。

川谷 誠, 新木敏正, 叶 直樹, 禹 濟泰, 長田裕之 平成16年8月 骨粗鬆症モデル動物におけるリベロマイシンAの骨吸収抑制効果 第22回日本骨代謝学会学術集会 (大阪) Reveromycin Aは骨粗鬆症モデル動物における骨吸収抑制効果を抑制した。

米澤貴之, 長田裕之, 永井和夫, 禹 濟泰 平成16年8月 活性化破骨細胞におけるReveromycin Aの選択的アポトーシス誘導機構の解析 第22回日本骨代謝学会学術集会 (大阪) Reveromycin Aは成熟破骨細胞選択的にアポトーシスを誘導するが, 破骨細胞を薬剤で処理して酸分泌, または骨吸収能を阻害しておくと, アポトーシスを誘導できないこと。また, Reveromycin Aは破骨細胞前駆細胞に対してはアポトーシスを誘導しないが培地を酸性条件にするとアポトーシスを誘導することを示し, Reveromycin Aの成熟破骨細胞選択的なアポトーシス誘導作用には酸性環境が重要であることを明らかにした。

禹 濟泰, 川谷 誠, 加藤正徳, 新木敏正, 米澤貴之, 叶 直樹, 高見正道, Stern PH, 長田裕之, 永井和夫 平成16年8月 Reveromycin Aは活性化破骨細胞に特異的なアポトーシスを誘導し, *in vitro*および*in vivo*において骨吸収を抑制する. 第22回日本骨代謝学会学術集会 (大阪)

Reveromycin Aは*in vitro*において活性化破骨細胞選択的にcytochrome cの細胞質への放出やcaspase-3の活性化を伴うアポトーシスを誘導すること. また, *in vivo*において, TPTXラットにおけるPTHによる血中カルシウムの上昇およびOVXマウスにおける骨密度の低下を抑制することを示し, Reveromycin Aの新規骨吸収抑制剤としての応用の可能性について示した.

JT. Woo, M. Kawatani, M. Kato, T. Yonezawa, N. Kanoh, T. Shinki, M. Takami, H. Osada, P. Stern, K. Nagai. 平成16年10月 ASBMR 26th Annual Meeting in USA (シアトル) Reveromycin A, Which Induces Apoptosis Specifically in Functional Osteoclasts, Inhibits Bone Resorption *in vitro* and *in vivo*. Reveromycin Aは*in vitro*において活性化破骨細胞選択的にcytochrome cの細胞質への放出やcaspase-3の活性化を伴うアポトーシスを誘導すること. また, *in vivo*において, TPTXラットにおけるPTHによる血中カルシウムの上昇およびOVXマウスにおける骨密度の低下を抑制することを示し, Reveromycin Aの新規骨吸収抑制剤としての応用の可能性について示した.

米澤貴之, 佐々木俊典, 永井和夫, 禹 濟泰 平成17年3月 破骨細胞分化に対するアロマターゼ阻害剤の作用の解析 平成17年 日本農芸化学会2005年度大会 (札幌) 新規骨吸収抑制剤を得るために破骨細胞分化を阻害する物質をスクリーニングした結果, ステロイド性アロマターゼ阻害剤であるATDが破骨細胞分化を特異的に抑制し, 骨吸収を阻害することを見出し, アロマターゼ阻害剤の新たな作用を明らかにした.

B-Y Cha, T Yonezawa, M Ojika, N Kazuo, H Osada, J-T Woo 平成17年3月 Cytotrienin A induces apoptosis in mature osteoclasts through increasing caspase-3 activity 日本農芸化学会 2005年度大会 (札幌) アポトーシス誘導剤と知られるCytotrienin Aが, 骨芽細胞には影響を与えない濃度で破骨細胞選択的にアポトーシスを誘導することを見いだした. また, Cytotrienin Aによるアポトーシスの誘導にカスパーゼ3の活性化が関与していることを示した.

李 鍵炯, 永井和夫, 禹 濟泰 平成16年10月

骨患の予防及び/又は治療用組成物, その組成物を含有する機能性食品若しくは健康食品, 並びにその組成物を有効成分とする医薬製剤 特願2004-351907

小玉修嗣・山本 敦・松永明信・柳井博子. 2004. 茶類に含まれるポリフェノールであるカテキン類は, 通常のHPLCによって一斉分析可能である. ところが, カテキンとエピカテキンには鏡像異性体が存在するため, これらを分別定量する場合には複雑なシステムを必要とした. そこでキラル選択子を用いたキャピラリー電気泳動 (CE) によって, 鏡像異性体を含む全てのカテキン類の一斉分析を試みた. キラル選択子として6-O- $\alpha$ -D-グルコシル- $\beta$ -シクロデキストリンを用いたところ, これら鏡像異性体4種を含む8種類のカテキン類の同時分析が可能となった. 本系を茶実試料に適用したところ, 妨害成分の影響を受けることなくカテキン類の分別定量が可能であった. (S. Kodama, A. Yamamoto, A. Matsunaga, H. Yanai, Direct enantioseparation of catechin and epicatechin in tea drinks by 6-O- $\alpha$ -D-glucosyl- $\beta$ -cyclodextrin modified micellar electrokinetic chromatography. Electrophoresis, 25, 2892-2898)

小玉修嗣・山本 敦・飯尾麗子・坂本恵司・松永明信・早川和一. 2004. ホウ素のボロスピラン錯体形成能を利用した配位子交換モードにおける光学分割に初めて成功した. 種々のジオール化合物をキラル選択子に用いてD, L-パントテン酸のCEによる光学分割を検討した結果, 200mMの3-アミノ-1, 2-プロパンジオールをキラル選択子として添加した15%メタノール含有200mMリン酸緩衝液 (pH9.2) が泳動液として最適である

ことを見出した。(S. Kodama, A. Yamamoto, R. Iio, K. Sakamoto, A. Matsunaga, K. Hayakawa, Chiral ligand exchange capillary electrophoresis using borate anion as a central ion. *Analyst*, 129, 1238-1242)

齋藤行雄・小玉修嗣・松永明信・山本 敦. 2004. 農作物中の残留農薬分析で問題となるのが精製操作の煩雑さである. 特にガスクロマトグラフ装置 (GC) では, 試料注入量に限界があり, 大量の抽出溶媒や精製カラム溶出液の濃縮を必要とした. 最近, 注入口の温度を自動制御することで, 多量の試験溶液の注入が可能となった. この方式を使い, 114農薬について濃縮操作を省いた分析法を評価した. その結果, 108農薬について60%以上の回収率が得られ, 本法が優れた農薬のスクリーニング法になりうることを明らかにした.(Y. Saito, S. Kodama, A. Matsunaga, A. Yamamoto, Multiresidue determination of pesticides in agricultural products by gas chromatography/mass spectrometry with large volume injection. *J. AOAC Int.*, 87, 1356-1367)

伊藤 宏・早川和一・星野邦広・村瀬 篤・山本 敦・久野 稔・早川和美. セプタムフリーGC用インジェクターの開発 (その1). 平成16年5月 第65回分析化学討論会 (沖縄・西原): GCの問題点の一つに, 注入口のセプタム使用がある. この材質の性質上, 高温での分析が困難であったり, 妨害ピークを生じさせたりする. キャリアガスラインと注入口との新たなシール方法として, 第二のガスラインを設ける装置を考案した.

星野邦広・早川和一・伊藤 宏・久野 稔・山本 敦・村瀬 篤・早川和美. セプタムフリーGC用インジェクターの開発 (その2). 平成16年5月 第65回分析化学討論会 (沖縄・西原): 上述のセプタムフリーインジェクターを実際のGCに設置し, ブリード比較, 高濃度試料注入による汚染比較およびMS検出への適用性を, 従来のセプタム方式と比較した. その結果, いずれにおいても本方式が優れていることが見出された.

山本 敦. 平成16年8月 イオンクロマトグラフ講習会 (千葉): 食品中のイオン成分について, イオンクロマトグラフィー (IC) で分析する際の技術的問題点とその解決策を概説した.

伊藤 宏・早川和一・山本 敦・村瀬 篤・星野邦広・久野 稔・早川和美. セプタムフリーGC用インジェクターの開発 (その3). 平成16年9月 日本分析化学会第53年会 (千葉・習志野): ガスシール方式のセプタムフリーインジェクターは実用化の可能性が見出せたものの, 試料注入量が安定しないため, クロマトグラムの再現性に欠けるという問題点が明らかとなった. そこで二つのガスラインの間にオリフィスを導入することで, 再現性の向上を図った.

小玉修嗣・山本 敦・松永明信・中込和哉・飯尾麗子・早川和一. ボロスピラン形成に基づく配位子交換ミセル動電クロマトグラフィーによる中性ジオール化合物のキラル分離. 平成16年9月 日本分析化学会第53年会 (千葉・習志野): クロマトグラフィーによるキラル分離モードの一つに配位子交換がある. ここでは中心イオンとして金属イオンが重要な役割を果たしてきた. 今回, ホウ素のボロスピラン錯体形成能に着目し, ジオール化合物のキラル分離にホウ酸を使った配位子交換ミセル動電クロマトグラフィーを試みた.

健名智子・山本 敦・小玉修嗣・高柳信孝・松永明信. Analysis of EDTA in water by ion chromatography. 平成16年12月 The 1st Japan-China-Korea joint symposium on ion chromatography (春日井): 防錆剤や酸化防止剤として工業用や食品用に使用されたEDTAは耐生物分解性に優れるため, 環境中に広く分布しているものと思われる. 環境水中でのEDTA濃度を測定するためのIC系を構築した. 溶離液中に微量のFe (III) を添加することで, 注入された試料中のEDTAは容易にFe-EDTAとなり, これを260nmでモニタするものである. 試料400L注入における検出限界は5nmol EDTA/Lであった.

小玉修嗣・山本 敦・松永明信・飯尾麗子・中込和哉・早川和一. Chiral ligand exchange capillary electrophoresis using borate anion as a central ion. 平成16年12月 The 1st Japan-China-Korea joint symposium on ion chromatography (春日井) : 光学活性な3-アミノ-1, 2-プロパンジオールをキラル選択子としたホウ酸錯体の配位子交換CEによって, D, L-パントテン酸の光学分割に成功した.

塚本友康・山本 敦・森 勝伸・池戸みかる・田中一彦. Ion chromatographic monitoring of photocatalytic reaction process of aliphatic carboxylic acids on titanium oxide. 平成16年12月 The 1st Japan-China-Korea joint symposium on ion chromatography (春日井) : 水質浄化用光触媒としてのチタニアコーティングガラスビーズの性能を評価するためのイオン排除クロマトグラフィー系を構築した. 指標物質として低級脂肪酸を用いることで, 中間体の生成も含めた光分解過程を明らかにすることができた.

小玉修嗣・山本 敦・松永明信・寺島弘之・誉田佳孝・多賀 淳・本田 進. 新規なキャピラリーの開発. 平成17年3月 日本薬学会第125年会 (東京) : CEは高い分離効率を有するが, 他の分析法に比べて泳動時間の再現性が低いという欠点がある. この再現性を改善するために, キャピラリー内壁にスルホン酸基を導入したキャピラリーカラムを作成し, キャピラリーゾーン電気泳動及びミセル動電クロマトグラフィーにおける泳動時間の再現性を比較した.

山本 敦・富山 崇・小玉修嗣・早川和一. 分光蛍光光度計を用いたHPLC波長軸変調型FDCD検出. 平成17年3月 日本薬学会第125年会 (東京) : 蛍光検出円二色性検出法 (FDCD) は, 高い感度を持った不斉光学検出法になりうるが, 専用のFDCD分光計すら存在しないためHPLCの検出器としての適用例は殆ど無い. 既に我々は, 市販の分光蛍光光度計による波長軸変調型のFDCD測定法を報告した. 今回, フローセルを装着した分光蛍光光度計によるHPLC/FDCD検出の可能性を検討した.