

## 研究紹介

上野 薫・愛知真木子・南 泰基・寺井久慈・谷山鉄郎・安藤憲克・加藤知恵2005年8月. 東海丘陵要素植物の生育する土壤環境に関する研究(Ⅱ)ー土岐砂礫層を含む低湿地の土壤水分状態と地形ー. 農業土木学会大会講演会(於岐阜). 本調査は, 東海丘陵要素植物群落の保全・管理を目標とし, 2004年1月よりこれら植物群の自生地の土壤環境の把握を行っている. 2004年度は, 調査域に点在する代表的な湿地および造成地(いずれも東海丘陵要素植物および希少植物が自生)の基礎的土壤理化学性について報告した(上野ら, 2004). 2005年度は, 昨年度のデータをもとに, 調査による攪乱にも耐えうる面積をもち, 豊富な植生を有する湿地を一地点選抜し, これら植物群落の培地の土壤水分状態(pF値)の通年観測を開始したのでこの概要を報告した. また, この湿地の簡易測量結果も併せて報告した.

上野 薫・愛知真木子・南 泰基・寺井久慈・谷山鉄郎・安藤憲亮・加藤知恵. 2005年10月. 東海丘陵要素植物の生育する土壤の理化学性に関する研究(Ⅱ)ーモウセンゴケ*Drosera rotundifolia*自生地の土壤水分観測ー. 土壤物理学学会シンポジウム. (於札幌). 本研究の目的は, 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にある. 今回はモウセンゴケ属植物の自生地における土壤水分環境の実態把握のため, 2004年冬期から観測を続けている典型的な低湿地1地点の春・夏期の土壤水分状態の結果を整理し, モウセンゴケ(*Drosera rotundifolia*)の生育土壤水分の特性について考察した.

愛知真木子・岩崎秀雄・近藤孝雄・杉田譲・小俣達男. 2006年3月. ラン藻*Synechococcus elongatus*. PCC 7942における窒素応答性遺伝子のマイクロアレイ解析. 日本植物生理学会(於茨城). ラン藻は窒素含量が高く(C:N=5)その獲得と同化に多くのエネルギーを使っている. そのため窒素の過剰, 欠乏や窒素源の変動に対する遺伝子発現の応答は, ラン藻の環境適応の中でも主要な位置を占めており, 窒素の獲得や代謝に関与する数多くの遺伝子が転写制御因子NtcAによって窒素栄養条件に応答して制御されることが明らかにされている. さらに新規の窒素応答性の遺伝子を探索するために, 我々は*Synechococcus elongatus* PCC7942と99.7%の相同性のある*Synechococcus elongatus* PCC6301のDNAマイクロアレイを用いて網羅的な遺伝子発現解析を行った. 細胞をアンモニア培地で生育させ, 硝酸を含む培地に移して20分後の遺伝子発現の変化を解析したところ, 硝酸同化オペロン, シアナーゼオペロンやグルタミン合成酵素, アンモニア輸送体の遺伝子など既知の遺伝子群の発現上昇に加え, *Anabaena* sp. PCC 7120で報告されているニトリラーゼのオペロンなど他にも多くの遺伝子の発現の誘導が観察された. さらに炭素代謝系の遺伝子群の多くが抑制された. これらの変化に対するNtcA遺伝子の寄与を調べた結果を合わせて報告した.

西村崇史・愛知真木子・前田真一・近藤孝雄・岩崎秀雄・杉田譲・小俣達男. 2006年3月. ラン藻*Synechococcus elongatus*. Strain PCC 7942において無機炭酸の欠乏に応答する遺伝子群の網羅的解析. 日本植物生理学会(於茨城)無機炭素(Ci)の欠乏に応答した遺伝子発現の変化を*Synechococcus elongatus*のDNAマイクロアレイを用いて網羅的に解析した結果, 以前に*Synechococcus* sp. で報告されているように, 無機炭素濃縮機構(CCM)関連遺伝子群やsigD, nblA, hliAの発現が誘導され, リボソーム, 窒素同化, PSI, フィコビリソーム, ATP合成酵素に関連する遺伝子群の発現が抑制された. さらにHCO<sub>3</sub>トランスポーターをコードするcmpABCDオペロンをCi欠乏条件下で誘導する転写制御因子であるCmpRを欠損させると, cmpABCDオペロンの発現量が低下するのみならず, ndhF3オペロン(CO<sub>2</sub>吸収に関わるCi欠乏誘導性オペロン)の発現がCi充足条件下でも完全には抑制されなくなった. ndhF3オペロンは, *Synechocystis* s sp. ではCmpRのホモログであるNdhRという転写制御因子によって抑制的に制御されており, Ci充足条件下では発現しない. *S. elongatus*はNdhRをもたないので, CmpRが*Synechocystis* sp. のNdhRの機能も併せ持つ可能性

が示唆された。また興味深いことに、*S. elongatus*のCmpR欠損株においてはCi充足条件下で硝酸同化系遺伝子群 (*nirA*オペロン) の発現が活性化されていることが示された。

朴昌洙・川口剛司・炭谷順一・高田悟郎・何森健・荒井基夫. 2005 「*Streptomyces* sp M23のエキソグルカナーゼ遺伝子のクローニングと*Streptomyces lividans* TK-24における発現」. *Streptomyces* M23のエキソグルカナゼ (CBHII) 遺伝子のクローニングと塩基配列を決定した。遺伝子は1359bp, 453アミノ酸残基から構成されており、ファミリー6に属することが分かった。遺伝子を*Streptomyces lividans* TK-24で発現させ、発現産物を精製し性質を調べた結果、元の酵素と同一であることが確認された。(C-S.Park, T.Kawaguchi, J.Sumitani, G.Takada, K.Izumori, M.Arai, 2005,. Cloning and Sequencing of an Exoglucanase Gene from *Streptomyces* sp M23, and Its Expression in *Streptomyces lividans* TK-24 *J. Biosci. Bioeng.* 99: 434-436)

小島美紀・吉川俱枝・上田光宏・野々村照雄・松田克礼・豊田秀吉・宮武和孝・荒井基夫・深溝慶. 2005 「*Aeromonas* sp. No10S-24のファミリー19キチナーゼ：キチン結合部位の活性発現の役割」. *Aeromonas*のキチナーゼは2つのキチン結合ドメイン, 2つのPro, Theリッチなリンカーと触媒ドメインから構成されている。この酵素は不安定で保存中に分子量46kDに変わる。これはPTリッチのリンカー部分が切れ、キチン結合部位を失ったことによる。この結果不溶性基質などに対する活性や抗カビ活性は減少した、また、キトオリゴ糖の分解様式は同じであるが、比活性は減少した。これらのことはキチン結合部位が酵素活性の発現に寄与していることを示している。(M.Kojima, T.Yoshikawa, M.Ueda, T.Nonomura, Y.Matsuda, H.Toyoda, K.Miyatake, M.Arai, T.Fukamizo. 2005. Family 19 Chitinase from *Aeromonas* sp. No10S-24: Role of Chitin-Binding Domain in the enzymatic Activity. *J. Biochem.* 137: 235-242)

柳谷真理・炭谷順一・荒井基夫・川口剛司. 「デンプン結合領域 (SBD) に付加された糖鎖がSBDの機能に与える影響」. 2005年度農芸化学学会大会2005年3月 (札幌). *Bacillus* sp. No. 195株由来  $\alpha$ -アミラーゼはC末端領域にCBM25に分類されるSBDを持つ。生デンプンを分解できない*Aspergillus oryzae*由来タカアミラーゼに本SBDを付加した組み換えアミラーゼは、生デンプン分解能を獲得した。しかし原核生物由来の本SBDを真核生物である*Aspergillus*属で生産させたためにSBDにN型糖鎖が付加され、本SBD本来のパフォーマンスが発揮されていないことが示唆された。

中村公一・炭谷順一・荒井基夫・川口剛司. 「*Bacillus polymyxa*由来  $\beta/\alpha$ -アミラーゼに存在するデンプン結合領域の  $\alpha$ -アミラーゼに与える影響」. 2005年度農芸化学学会大会 2005年3月 (札幌). *Bacillus polymyxa* 由来  $b/\alpha$ -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を挟む形でN末端側に  $b$ -アミラーゼ、C末端側に  $\alpha$ -アミラーゼが連なった1つの蛋白として合成され、菌体外に分泌される。分泌されたこの蛋白は菌体外プロテアーゼによって繰り返し配列の前後で切断され、 $b$ -アミラーゼと  $\alpha$ -アミラーゼに分割される。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。

金政真・川口剛司・荒井基夫・梶原将. 「*Aspergillus aculeatus*におけるセルラーゼ・ヘミセルラーゼ遺伝子の発現制御機構」. 2005年度農芸化学学会大会 2005年3月 (札幌). 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。

小西達也・炭谷順一・荒井基夫・川口剛司. 「*Aspergillus aculeatus*由来  $\beta$ -キシロシダーゼ遺伝子のクローニング」. 2005年度農芸化学学会大会 2005年3月 (札幌). *Aspergillus aculeatus*由来  $\beta$ -キシロシダーゼ遺伝子のクローニングを行った。*Aspergillus*属  $\beta$ -キシロシダーゼの保存領域を基に設計したプライマーを用いて目的遺伝子の一部の増幅を試みたところ、2種類の異なる遺伝子断片を得た。これらを基に目的遺伝子全

長を取得した。その結果、2種類の遺伝子とも $\beta$ -キシロシダーゼをコードしている可能性が強く示唆された。

炭谷順一・川口剛司・荒井基夫。「微生物由来 $\alpha$ -アミラーゼインヒビターの構造と機能」。食品酵素化学ミニシンポジウム 2005年5月(京都)。微生物由来蛋白性 $\alpha$ -アミラーゼインヒビターの諸性質、構造機能相関、阻害特異性の変換等について概説した。また、阻害剤生産微生物のデンプン資化戦略についても考察した。

吉原明秀・高田悟郎・何森健・川口剛司・荒井基夫。「*Aspergillus aculeatus*を用いた未利用資源からのニゲランの生産」。平成17年度日本生物工学会 2005年11月(つくば)。ニゲランはグルコースが $\alpha$ -1,3と $\alpha$ -1,4結合で交互に結合したホモポリマーで、*Aspergillus*属の細胞壁構成多糖の1つとして知られている。本研究では未利用資源の有効利用を目的として、未利用資源からニゲランへの変換を試みた。その結果、小麦ふすまを基質として*Aspergillus aculeatus*を培養した場合、高いニゲランの生産を確認した。

Hiroharu Banno, Hiromi Mase, Maekawa Koji. シロイヌナズナ転写制御因子ESR1の機能領域の解析。シロイヌナズナ転写制御因子ESR1の機能領域の解析を行い、ESR1のAP2領域がGCCGCC配列に特異的に結合することを明らかにするとともに、AP2領域とC端領域がESR1のシュート形成促進能に重要であることを示した。

(Hiroharu Banno, Hiromi Mase, Maekawa Koji. 2006 Analysis of functional domains and binding sequences of Arabidopsis transcription factor ESR1. Plant Biotechnology in press)

Horio, F., Teradaira, S., Imamura, T., Anunciado, R.V.P., Kobayashi, M., Namikawa, T. and Niki, I.: The HND mouse, a nonobese model of type 2 diabetes mellitus with impaired insulin secretion. *Eur.J.Endocrinol.*, 153, 971-979 (2005)

Kobayashi, M., Io, F., Kawai, T., Kumazawa, M., Ikegami, H., Nishimura, M., Ohno, T. and Horio, F.: Major quantitative trait locus on chromosome 2 for glucose tolerance in diabetic SMXA-5 mouse established from non-diabetic SM/J and A/J strains. *Diabetologia*, 49,486-495 (2006)

Horio, F., Kiyama, K., Kobayashi, M., Kawai, K. and Tsuda, T.: Ascorbic acid deficiency stimulates hepatic expression of inflammatory chemokine, cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1, in scurvy-prone ODS rats. *J.Nutr.Sci.Vitaminol.* 52, 28-32 (2006)

藤吉正人・羽田奈津子・熊澤真由美・小林美里・西村正彦・大野民生・海老原史樹文・堀尾文彦。マウスA/J系統の糖尿病遺伝子座t2dm2saと相互作用して糖尿病を発症させる遺伝子座のマッピング。日本農芸化学会2005年度大会(札幌)。2005.3

小岩 瞳・藤吉正人・熊澤真由美・羽田奈津子・伊藤浩行・森田達也・海老原史樹文・堀尾文彦。2型糖尿病モデルSMXA-5およびKK-Ayにおける、レジスタントスターチの糖尿病形質に及ぼす影響。第59回日本栄養・食糧学会大会(東京)。2005.5

堀尾文彦・寺平 晋・今村恒彦・Anunciado Rea V.P.・並河鷹夫・仁木一郎。インスリン分泌障害を示す、新規2型糖尿病モデルマウス(HNDマウス)の作出とその特性解析。第59回日本栄養・食糧学会大会(東京)。2005.5

熊澤真由美・小林美里・井尾房代・河合隆博・西村正彦・大野民生・海老原史樹文・堀尾文彦. 高脂肪食摂取下で作用するマウス2型糖尿病遺伝子座t2dm2saのコンジェニック系統を用いた解析. 第59回日本栄養・食糧学会大会 (東京). 2005. 5

小林美里・大野民生・池上博司・西村正彦・堀尾文彦. マウスSMXA RI系統群を用いた血中アディポネクチン濃度の遺伝解析. 第59回日本栄養・食料学会大会 (東京). 2005. 5

羽田奈津子・藤吉正人・小林美里・大野民生・堀尾文彦. 非糖尿病マウス系統であるSM/Jに潜在する2型糖尿病遺伝子座の解析. 第48回日本糖尿病学会年次学術集会 (神戸). 2005. 5

木原智子. 2005. ポリフェノールオキシダーゼと食品の酵素的褐変. 中部大学応用生物学部紀要 4:29-34. 食品の褐変に關与するポリフェノールオキシダーゼについて, その生理学的意義, 活性化機構, 褐変制御法などの今後期待されるテーマを中心に解説した. (Kihara, T. 2005. Polyphenol oxidase and Enzymatic browning of food. Annual Report of College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, 4: 29-34)

河合憲康・小林 猛ら. 2005. 「陽電荷マグネトリポソームを用いた前立腺ガンの温熱治療とそれに伴う免疫活性の賦活を明らかにした.」(Noriyasu Kawai, Akira Ito, Yoko Nakahara, Mitsuru Futakuchi, Tomoyuki Shirai, Hiroyuki Honda, Takeshi Kobayashi and Kenjiro Kohri : Anticancer effect of hyperthermia on prostate cancer mediated by magnetite cationic liposomes and immune-response induction in transplanted syngeneic rats, *The Prostate*, 64, 373-381)

田中功二・小林 猛ら. 2005. 「磁性ナノ粒子を用いた温熱療法において, 未成熟の樹状細胞を注射すると, 抗腫瘍活性が向上することを明らかにした.」(Kouji Tanaka, Akira Ito, Takeshi Kobayashi, Tatsuyoshi Kawamura, Shinji Shimada, Kazuhiko Matsumoto, Toshiaki Saida and Hiroyuki Honda : Intratumoral injection of immature cells enhances antitumor effect of hyperthermia using magnetic nanoparticles, *International Journal of Cancer*, 116, 624-633)

井藤 彰・小林 猛ら. 2005. 「ヒートショックタンパク質70を多く含む腫瘍細胞の死骸によるワクチン作用を増強するサイトカインを選択し, この方法が腫瘍の治療に有効であることを明らかにした.」(Akira Ito, Masatake Fujioka, Kouji Tanaka, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda : Screening of cytokines to enhance vaccine effects of heat shock protein 70 -rich tumor cell lysate, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100, 36-42)

田中功二・小林 猛ら. 2005. 「樹状細胞と磁性ナノ粒子を同時に用いた温熱療法によって免疫能が非常に向上し, リンパ腫に対して有効であることを明らかにした.」(Kouji Tanaka, Akira Ito, Takeshi Kobayashi, Tatsuyoshi Kawamura, Shinji Shimada, Kazuhiko Matsumoto, Toshiaki Saida and Hiroyuki Honda: Heat-immunotherapy using magnetic nanoparticles and dendritic cells for T-lymphoma, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100, 112-115)

井藤 彰・小林 猛ら. 2005. 「陽電荷マグネトリポソームを用いて温熱治療を複数回行うと, マウスの遺伝性メラノーマが完全に退縮できることを明らかにした.」(Akira Ito, Yoko Nakahara, Masatake Fujioka, Takeshi Kobayashi, Kazue Takeda, Izumi Nakashima and Hiroyuki Honda : Complete regression of hereditary melanoma in a mouse model by repeated hyperthermia using magnetite cationic liposomes, *Japanese Journal of Hyperthermic Oncology*, 21, 139-149)

井藤 彰・小林 猛ら. 2005. 「機能性磁性微粒子を用いる医学的な応用に関する最近の進歩について多くの論文をレビューし, その発展する方向を展望した.」 (Akira Ito, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda, and Takeshi Kobayashi: Medical application of functional magnetic nanoparticles, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100, 1-11)

井藤 彰・小林 猛ら. 2005. 「磁性ナノ粒子と磁石を用いると, ヒトの網膜色素細胞シートを構築し, 移植しやすい形にできることを示した.」 (Akira Ito, Eri Hibino, Hiroyuki Honda Chiaki Kobayashi, Hiroko Terasaki, Hideaki Kagami, Minoru Ueda and Takeshi Kobayashi: Construction and delivery of tissue-engineering human retinal pigment epithelial cell sheets using magnetite nanoparticles and magnetic force, *Tissue Engineering*, 11, 489-496)

井藤 彰・小林 猛ら. 2005. 「RGDペプチドを表面に結合させた陽電荷マグネトリポソームを使用すると, 再生医療用の細胞シートを作りやすいことを明らかにした.」 (Akira Ito, Kousuke Ino, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda : The effect of RGD peptide-conjugated magnetite cationic liposomes on cell growth and cell sheet harvesting, *Biomaterials*, 26, 6185-6193)

井藤 彰・小林 猛ら. 2005. 「磁性ナノ粒子と磁石を用いて, 血管のような管状の形を構築する再生医療用の新しい方法を開発した.」 (Akira Ito, Kousuke Ino, Masao Hayashida, Takeshi Kobayashi, Hiroshi Matsumura, Hideaki Kagami, Minoru Ueda and Hiroyuki Honda : A novel methodology for fabrication of tissue-engineered tubular constructs using magnetite nanoparticles and magnetic force, *Tissue Engineering*, 11, 1553-1561)

井藤 彰・小林 猛ら. 2005. 「抗体を結合させたマグネトリポソームを使用して, 間葉系幹細胞の増殖が容易になることを見だし, 再生医療に利用できることを示した.」 (Akira Ito, Eri Hibino, Kazunori Shimizu, Takeshi Kobayashi, Yoichi Yamada, Hideharu Hibi and Minoru Ueda, Magnetic force-based mesenchymal stem cell expansion using antibody-conjugated magnetoliposomes, *Journal of Biomedical, Materials Research: Part B-Applied Biomaterials*, 75, 320-327)

加藤竜司・小林 猛ら. 2005. 「ファジィニューラルネットワークを利用した高速スクリーニング法により, タンパク質探索の新しい戦略が可能になることを示した.」 (Ryuji Kato, Hideo Nakano, Hiroyuki Konishi, Katsuya Kato, Yuchi Koga, Tsuneo Yamane, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda : Novel strategy for protein exploration High-throughput screening assisted with fuzzy neural network, *Journal of Molecular Biology*, 351, 683-692)

武藤弘則・小林 猛ら. 2005. 「ヘリコバクター・ピロリ菌の感染罹患性に関連したSNPの組み合わせを同定する新しい方法として, 人工ニューラルネットワークを利用した網羅的な探索方法を開発し, その有効性を示した.」 (Hironori Mutoh, Nobuyuki Hamajima, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda : Exhaustive exploring using artificial neural network for identification of SNPs combination related to *Helicobacter pylori* infection susceptibility, *Chemical Bio-Informatics Journal*, 5, 15-26)

金 孫安・小林 猛ら. 2005. 「酸化ストレス条件下で培養された大腸菌におけるyggE遺伝子の役割をDNAマイクロアレイの遺伝子発現情報を解析することによって明らかにした.」 (Sun Young Kim, Motomu Nishioka, Shuhei Hayashi, Hiroyuki Honda, Takeshi Kobayashi and Masahito Taya : The gene yggE functions in restoring physiological defects of *Escherichia coli* cultivated under oxidative stress conditions, *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (5) , 2762-2765)

寺倉伸治・北倉左恵子・石川雅樹・上野宜久・藤田知道・町田千代子・我彦廣悦・町田泰則. アグロバクテリウム由来の植物癌遺伝子6bは後期葉分化過程において葉の向軸側の細胞分裂を誘導し、葉柄の維管束分化を変化させる. *Plant & Cell Physiol.* in press 2006 アグロバクテリウムのTiプラスミド上の6b遺伝子は、タバコの葉切片に形質転換すると、植物ホルモンを含まない培地でシュートのカルスを形成することができる. 本研究では、pTiAKE10 (AK-6b) 由来の6bを発現した形質転換タバコとシロイヌナズナの葉の形態的な異常について報告する. また、形質転換植物の細胞分裂とメリステム形成の関連した遺伝子の発現を変化させた. 6b形質転換タバコとシロイヌナズナの子葉と本葉は、葉身の上向きカールを含む種々の異常を示した. また、6b形質転換タバコの葉は背軸側で葉様の形態をもつ構造体がつくられた. メリステム機能と関連があると考えられている *cass1* *knox* 遺伝子の転写物と細胞周期を制御する遺伝子が成熟葉で異所的に発現していた. M期特異的な遺伝子は、成熟葉の背軸で異所的に発現しているように思われる. これらの結果は、AK-6bが、葉の背軸側に特異的に細胞の分裂能とメリステム機能を高めることができることを示唆した. さらに、AK-6bによる葉の表現型は、少なくとも、葉の極性分化に関わる細胞分裂によることを示唆した. AK-6bとグルココルチコイド受容体遺伝子の融合遺伝子による実験結果は、AK-6bの核移行が葉の上向きカールと植物ホルモンを含まない培地でのシュート形成に必須であることを示した. このことは、核におけるAK-6bの機能を示唆している. (Terakura, S., Kitakura, S., Ishikawa, M., Ueno, Y., Fujita, T., Machida, C., Wabiko, H., and Machida, Y.: Oncogene 6b from *Agrobacterium tumefaciens* induces abaxial cell division at late stages of leaf development and modifies vascular development in petioles. *Plant & Cell Physiol.* in press 2006)

町田泰則・田中博和・町田千代子・渡辺勝. シロイヌナズナの表皮クチクラ形成にはシグナル経路が関与する 17-23 July 2005 XVII International Botanical Congress Vienna, Austria, Europe. 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、受容体型プロテインキナーゼ遺伝子、サチライシン様セリンプロテアーゼ遺伝子が表皮細胞の分化と維持に関与する可能性があることを報告した. (Y. Machida, H. Tanaka, T. Tanaka, C. Machida, M. Watanabe, 17-23 July 2005 Arabidopsis requires signal pathways for the formation of epidermal cuticle. XVII International Botanical Congress Vienna, Austria, Europe)

小笠原史明・池崎仁弥・上野宜久・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの *asymmetric leaves1* 変異体における class 1 *knox* 遺伝子の役割. 16th International Conference on Arabidopsis Research, Univ. of Wisconsin, Madison, USA. シロイヌナズナの *AS1* と class 1 *knox* 遺伝子との四重変異体 *as1*, *bp*, *kmat2*, *kmat6* を作成し、得られた変異体を解析し、*as1* 変異体の葉における class 1 *knox* 遺伝子の異所的発現による表現型を明らかにした. (F. Ogasawara, M. Ikezaki, Y. Ueno, C. Machida, Y. Machida. June 2005 Role of class 1 *knox* genes in *asymmetric leaves1* mutant in *Arabidopsis thaliana* 16th International Conference on Arabidopsis Research, Univ. of Wisconsin, Madison, USA)

小島晶子・上野宜久・岩川秀和・Endang Semiarti・相馬徹平・塚谷裕一・石川貴章・町田泰則・町田千代子. *ASYMMETRIC LEAVES2* 遺伝子は *ASYMMETRIC LEAVES1* 遺伝子依存的に扁平な葉の形成に関与する. 16th International Conference on Arabidopsis Research, Univ. of Wisconsin, Madison, USA. *AS1* と *AS2* は、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た. (S. Kojima, Y. Ueno, H. Iwakawa, E. Semiarti, T. Soma, H. Tsukaya, T. Ishikawa, Y. Machida and C. Machida. June 2005 "The *ASYMMETRIC LEAVES2* is involved in the formation of a flat leaf lamina in the presence of the *ASYMMETRIC LEAVES1* gene", 16th International Conference on Arabidopsis Research, Univ. of Wisconsin, Madison, USA)

石川貴章・上野宜久・小島晶子・岩川秀和・Endang Semiarti・町田泰則・町田千代子. シロイヌナズナの *ASYMMETRIC LEAVES2* 遺伝子の発現調節機構. 2005年9月. 日本植物学会第69回大会 (於富山). *ASYM-*

*METRIC LEAVES2* 遺伝子は、*ASYMMETRIC LEAVES1* 遺伝子と自分自身によって転写制御をうけていることがわかった。

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* 変異体における class 1 *knox* 遺伝子の役割. 2005年9月. 日本植物学会第69回大会 (於富山). シロイヌナズナの *AS1* と class 1 *knox* 遺伝子との四重変異体 *as1*, *bp*, *knat2*, *knat6* を作成し, 葉における class 1 *knox* 遺伝子の異所的発現による表現型を明らかにした.

上野宜久・石川貴章・岩川秀和・北倉左恵子・池崎仁弥・杉山将宏・小島晶子・Endang Semiarti・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナ *ASYMMETRIC LEAVES2* による葉の極性の確立. 2005年9月. 日本植物学会第69回大会 (於富山). *ASYMMETRIC LEAVES2* が葉の向背軸性の確立に関与していることを示した.

町田千代子・上野宜久・町田泰則 (1中部大・応用生物, 2名大院・生命理学) クラス1ノックスホメオボックス遺伝子と全能性. 2006年1月28日. 特定領域研究「植物の軸と情報」シンポジウム (於東京) (招待講演). シロイヌナズナの class 1 *knox* 遺伝子は茎頂メリステムの維持に関与している. class 1 *knox* 遺伝子の機能と分化全能性との関連を議論した.

上野宜久・松村葉子・石川貴章・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの *ASYMMETRIC LEAVES2* による microRNA 制御の分子遺伝学的解析. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会 (於福岡). *ASYMMETRIC LEAVES2* は葉の向背軸性の確立に関与している microRNA の制御に関わっている可能性を示した.

杉山将宏・岩川秀和・川端真一・上野宜久・石川貴章・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナの *ASYMMETRIC LEAVES1* と *ASYMMETRIC LEAVES2* 蛋白質の相互作用の解析. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会 (於福岡). 酵母 two-hybrid 系を用いて *ASYMMETRIC LEAVES1* と *ASYMMETRIC LEAVES2* 蛋白質の相互作用する領域を解析した.

松村葉子・中田恵子・岩川秀和・町田千代子・町田泰則. 植物に特異的な *ASYMMETRIC LEAVES2* (*AS2*) / *LATERAL ORGAN BOUNDARIES* (*LOB*) protein family の構造について. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会 (於福岡). *AS2/LOB* family は, 植物にのみ存在する特異的なドメイン構造をもつ. このようなドメインの構造的特徴を詳細に解析した.

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. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会 (於福岡). 4つの class 1 *knox* 遺伝子と *as1*, *as2* 変異体のそれぞれとの四重変異体の表現型を解析し, 葉の分化過程における *AS1*, *AS2* 遺伝子の機能解明した.

中田恵子・松村葉子・岩川秀和・町田千代子・町田泰則. *ASYMMETRIC LEAVES2* (*AS2*) / *LATERAL ORGAN BOUNDARIES* (*LOB*) タンパク質ファミリーの全メンバーの構造とオーキシン応答. 200進めた. 5年12月. 第28回日本分子生物学会年会 (於福岡). オーキシンにより発現制御をうける *AS2/LOB* family のメンバーを明らかにした.

松村葉子・相馬徹平・上野宜久・町田千代子・町田泰則. 根における *ASYMMETRIC LEAVES2* の機能. 2006年3月. 第47回植物生理学会年会 (於筑波). *ASYMMETRIC LEAVES2* は根の根冠で発現し, 根の根冠細胞の分化に関与している可能性を示した.

石川貴章・町田千代子・岩川秀和・上野直久・北倉左恵子・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. 2005年3月. 第47回植物生理学会年会 (於筑波). AS1およびAS2タンパク質は核内の核小体周辺の特定の領域に局在することを明らかにした.

小島晶子・松村葉子・上野直久・町田泰則・町田千代子. シロイヌナズナの葉の形態形成に関わる *asymmetric leaves2* 変異体のエンハンサーのスクリーニング. 2006年3月. 第47回植物生理学会年会 (於筑波). 葉が棒状になるエンハンサーを解析し, 原因遺伝子のクローニングを行った.

上野直久・町田千代子・町田泰則. シロイヌナズナ *ASYMMETRIC LEAVES2*, *ASYMMETRIC LEAVES1* およびヒストン脱アセチル化酵素は *microRNA* の空間的な発現制御に関与する. 2006年3月. 第47回植物生理学会年会 (於筑波). シロイヌナズナのヒストン脱アセチル化酵素のうち2つのHATが葉の向背軸性の確立に関与している *microRNA* の空間的な発現制御にかかわっていることを示唆した.

中本大介・松村葉子・町田千代子・町田泰則・山本興太郎. シロイヌナズナのオーキシン非感受性突然変異 *nph4* の抑制突然変異体の単離と同定. 2006年3月. 第47回植物生理学会年会 (於筑波). オーキシン応答因子 ARF7 をコードする *NPH4* の機能欠損突然変異体は, オーキシンにたいして非感受性となり胚軸の屈性や葉の偏差成長等に異常を示す. *nph4* の抑制突然変異体の単離し同定したところ, *ASYMMETRIC LEAVES2* 遺伝子に変異が認められた. オーキシン応答シグナル伝達におけるAS2の機能を推測した.

小島晶子・町田泰則・町田千代子. 2005 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50, 724-730「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・町田千代子・町田泰則. 2005 トルイジンブルー法—シロイヌナズナの表皮の異常を検出する「改訂3版モデル植物の実験プロトコル」(監修 岡田清孝他)細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ21, 70-71 トルイジンブルー染色により葉のクチクラ層の欠損を迅速可視化する方法を開発した.]

岩川秀和・町田泰則・町田千代子. 2005 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, 116-120 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.

町田千代子・上野直人・小島晶子・町田泰則. 2005.12 葉の形造りにおける左右相称性と扁平性 学術月報 58, 6-11 葉の形態の特徴である左右相称性と扁平性にかかわる *AS1* と *AS2* 遺伝子の機能を解説した.

Keizo Hosokawa, Motoyasu Minami, Ikuo Nakamura, Atsuyuki Hishida, Toshiro Shibata, 2005, The sequences of the plastid gene *rpl16* and the *rpl16-rpl14* spacer region allow discrimination among six species of *Scutellaria*, *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 105-108. 生薬の基原植物やハーブとして使用されている6種類の *Scutellaria* 属植物を導入し, 葉緑体DNAの *rpl16* 遺伝子領域及び *rpl16-rpl14* 遺伝子間領域のDNA多型を検出

した。前者の領域で5箇所、後者の領域で6箇所多型が検出できた。このことから、6種類の *Scutellaria* 属植物のDNA鑑定が可能となった。

**Motoyasu Minami, Morphological, Chemical and Molecular Biological Comparison among *Artemisia capillaris*, *A. japonica* and their Natural Hybrids, International Symposium on Medicinal Resources on August 26-27 in Pokhara, Abstract, p.24.** 富山県庄川でカワラヨモギ、オトコヨモギ及びそれら2種の雑種と思われる自然雑種が発見された。それら3種について頭花形態、頭花中の利胆成分、そしてRAPD法を用いて種生物学的関係を明らかにした。オトコヨモギの頭花の筒状花先端部には分泌のうが認められ、カワラヨモギには認められなかった。自然雑種にはこれら両種の間接的形質を保持していて、分泌のうはキメラ状であった。また、オトコヨモギ及び自然雑種の頭花中には、カワラヨモギで検出される利胆成分がほとんど含まれていなかった。RAPD法によってこの3種のクラスター分析を行なった結果、自然雑種はオトコヨモギとの類似性が高く、このことは自然雑種はオトコヨモギの形質を強く保持していることが示唆された。

小萱香代・南 基泰・近藤誠三・柴田敏郎. *Artemisia* 属植物の種生物学的関係解明 (2) 琉球列島のカワラヨモギ (*Artemisia capillaris*) に認められた葉緑体DNAのハプロタイプについて、日本生薬学会第52回年会、ポスター発表、2005年9月16日、金沢講演要旨集p.98。本研究では、本州と琉球に自生するカワラヨモギの遺伝的近縁度を明らかにするため、国内12ヶ所に自生していたカワラヨモギとoutgroupとして4種の *Artemisia* 属植物 (ヨモギ; *A. princeps*, オトコヨモギ; *A. japonica*, ヒメヨモギ; *A. feddei*, シロヨモギ; *A. stelleriana*) を加えて葉緑体DNAの *atpF* のイントロン (*atpF*), *petD-rpoA* の遺伝子間領域 (*petD*), *rps16* のイントロン (*rps16*), *trnT-trnF* 間領域 (*trnTF-2*, *trnTF-3*) の5領域を用いて、UPGMA法で系統樹の構築を試みた。UPGMA法で系統樹を構築した結果、*petD*, *trnTF-3* を用いた場合、カワラヨモギと他の *Artemisia* 属植物が別々のクラスターを形成し、形態種による分類と一致する結果を得た。またカワラヨモギは青森、本州 (青森以外)、石垣島、西表島の4つのクラスターを形成する結果となった。また、*petD* では西表島と石垣島及び他の *Artemisia* 属植物の2つのクラスターと本州のカワラヨモギのクラスターとの近似度が同じであった。従って、本州と琉球の両集団の遺伝的変異は種間変異とほぼ同じ程度であった。このことから、1) カワラヨモギは他の同属植物より著しい変異を持っている。もしくは2) 本州と琉球は形態的には同種と同定されているが、系統的には別種の可能性があるという2つの仮説が考えられる。

上野 薫・愛知真木子・南 基泰・寺井久慈・谷山鉄郎・安藤憲克・加藤知恵. 東海丘陵要素植物の生育する土壤の理化学性に関する研究 (II), モウセンゴケ *Drosera rotundifolia* 自生地の土壤水分観測, 第47回土壤物理学学会シンポジウム, ポスター発表, 2005年10月15日, 北海道, 講演要旨集p.98。中部大学恵那キャンパス (岐阜県恵那市) 敷地内中央棟の北東方向に位置する最も大きな湿地は、ヒノキ人工林内のギャップに成立している。湿地内には、モウセンゴケ、サギソウ、ミミカキグサ、ホザキノミミカキグサが自生し、湿地を囲むようにササ群落が生育し、ヤナギ・コナラ幼樹が若干侵入している。湿地の土壤は、表層に土岐砂礫層が露出した壤質砂土から砂質土で構成された貧有機質土壤で、地下水位は地表から20cmと浅く、土岐砂礫層直下にある埴壤土が難透水層となり地下水が涵養されている。2004年冬期調査では、モウセンゴケ自生地点のpF領域は0.7~1.0であり、冬期の土壤水分条件は2005年春・夏期と比較して大きな差異がない傾向がみられた。

西尾香織・久島広晃・南 基泰・山田一乃・永井雅・佐藤紀義・桜井雍三: *Curcuma* 属植物の葉緑体及びミトコンドリアDNAのハプロタイプについて、日本薬学会第126年会, 平成18年3月30日 (仙台)。(ポスター発表予定) 日本を含むアジア各地から収集された4種26系統の *Curcuma* 属植物より全DNAを抽出し、PCR法により葉緑体DNA遺伝子および遺伝子間の20領域、ミトコンドリア遺伝子の1領域を増幅し、ダイレクトシーケンシング法によって塩基配列を決定した。PCR産物の種特異的なDNA多型検出法: *psaA-trnS* 遺伝子間領域及び *rpS14-cob* 遺伝子間領域で多型が認められた。この2領域の併用により4種の識別が可能となった。

2. 塩基配列の違いによる識別法: trnS と trnfM 遺伝子間領域 (trnSfM) において種特異的な SSR 配列の挿入及び欠失が確認され, ウコン: (AT) 12, (AT) 10, (AT) 9型; キョウオウ: (AT) 7型; ガジュツ: (AT) 8型の5タイプに分かれ, これら3種の識別が可能であった. 加えて, ウコン種内でも3つのハプロタイプが確認された. この結果は, PCRによる多型検出法と一致した. 各ハプロタイプとクルクミン含量を比較した結果, (AT) 12型: 0-0.71%, (AT) 10型: 2.82%, (AT) 9型: 1.79-5.56%となった. ウコンにはクルクミン含量の異なる系統があり, trnSfMによって各系統の識別が可能であった.

味岡ゆい・齋藤裕子・南 基泰. リンドウ科植物 (Gentianaceae) の葉緑体 DNA のハプロタイプについて, 日本薬学会第126年会, 平成18年3月30日 (仙台). (ポウター発表予定) リンドウ科植物識別のための DNA 鑑定法の確立及びリンドウ科植物の種生物学的関係の考察を試みた. 日本, 中国, サハリンの82箇所からリュウタンの基原植物を含むリンドウ科植物を採取し, 葉緑体 DNA の遺伝子及び遺伝子間31領域の増幅を行った. 単一なバンドが増幅されたものについて塩基配列を決定し, 種特異的な塩基配列の検出を試みた. PCR法で増幅を試みた結果, 12領域で単一なバンドが得られた. そのうちの8領域の塩基配列を決定することができ, アライメントを行った結果, trnS 遺伝子から trnT 遺伝子までの遺伝子間領域 (trnST) において種間及び種内変異が認められた. リンドウでは2つのハプロタイプが確認され, 塩基配列及び形態的特徴の比較によりリンドウ, ホソバリンドウ (*G. scabra* f. *stenophylla*) に区別された. ハルリンドウ (*G. thunbergii*) では5つのハプロタイプ確認された. 本研究により trnST 領域はリンドウ科植物の遺伝的近縁性の解析及び種識別に有効な情報を持つことが明らかとなった.

堀川大介・南 基泰・寺井久慈・愛知真木子・上野 薫・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— (2) 中部大学恵那キャンパス内及びその周辺部の昆虫種調査, 中部大学生物機能開発研究所紀要 (5) 21-35, 2005. 岐阜県武並町竹折の丘陵地に中部大学恵那キャンパスでの調査は毎月1回から3回行い, 2003年は6月から12月までの間で11回, 2004年は2月から10月の間で25回行った. 2003年, 2004年の調査によって, 恵那キャンパス内で102科366種の昆虫が採集され, 標本として残すことができた. 種数をもっとも大きな割合を占めたのが鞘翅目の29科162種で, 採集した種の半分近くを占めた. この次に大きな割合を占めたのは鱗翅目の13科54種で, 鞘翅目のちょうど3分の1となった. これに半翅目の20科46種が続いたが, 科数は半翅目のほうが鱗翅目を上回った. 蜻蛉目と半翅目も30種を超えた. その他は, 科数, 種数ともに1目あたり10種を下回った. 採集されたこれらの種のうち, 3種が環境省レッドデータリストに, 4種が岐阜県レッドデータブックに, 6種が愛知県レッドデータブックに, また28種が名古屋市レッドデータブックに記載されていた.

南 基泰. 薬用植物見学会講師, 第四回薬用植物を知ろう in 熊本 (2005年5月21, 22日, 熊本大学薬学部附属薬用植物園, 国立阿蘇青年の家) 里山植物保全のための取り組み「DNAが語る里山の姿」(森から人へのいのちの水脈), 中部大学 愛・地球博開催記念セミナー, 2005年6月22日, 中部大学鶴舞キャンパス「東海シニア自然大学」実習講師, 特定非営利活動法人エコワークス, 2005年9月13日, 中部大学恵那研修センター「森の健康診断」グリーンサポーター, 2005年10月30日, 中部大学恵那研修センター「DNAが語る里山の姿」, 犬山市地域連携講座, 2005年11月7日, 犬山市楽田ふれあいセンター (犬山, 愛知県)

南 基泰. 愛・地球博 市民放送局, 「森と自然を守る人たち」取材チーム, 根研究会評議委員 (任期: 2004年1月1日から2005年12月31日), 副理事, 特定非営利活動法人ヒマラヤ地域天然薬物資源研究会, 中部支部長, 在日韓国人科学技術者協会

南 基泰. 中国四川省 (2005年6月24日から同年7月7日), ロシアサハリン植物調査 (2005年8月3日から同年8月10日), 中国四川省 (2005年10月14日から同年10月24日)

南 基泰. 漢方薬原料植物のルーツ分布? サハリン調査団, 中日新聞 (朝刊) 2005年7月29日, オクエゾガラガラ, サハリン植物紀行 (上), 中日新聞 (朝刊) 2005年9月27日, サジバモウセンゴケ, サハリン植物紀行 (中), 中日新聞 (朝刊) 2005年9月28日, ガンコウラン, サハリン植物紀行 (下), 中日新聞 (朝刊) 2005年9月29日  
植物の旅, 中日新聞 (朝刊) 2005年10月4日

南 基泰. 1) 「あいち万博—科学技術の紹介—」, KOSEA JOURNAL, 19 (2), 在日韓国技術者協会, pp.75-76. 「あいち万博」瀬戸会場のニホンオオカミ, ニホンカワウソなどのタイプ標本についての紹介を中心に, 本年度開催された「あいち万博」のバイオ関係の展示や企画を中心に概説した.

江村忠秀・大野美紀・檜尾啓介・三輪さつき・長谷川浩一・三輪錠司. 2005. 自活性土壌線虫の分離と培養および遺伝学の試み. 生物機能開発研究所紀要 5:11-19.

中部大学キャンパス内の土壌からベールマン法を用いて自活性土壌線虫を分離し, 大腸菌を餌にして培養をおこなった. ライン化して野生型YS-22211を確立した (以下YSと略す). 雌雄同体と雄の2つの性があり, ふだんは雌雄同体のみで増殖するが, 稀に雄があらわれた. 雄と交配すると雌雄同体から産まれる次世代は, およそ1:1の性比で雌雄同体と雄が出現した. 産卵数, 成長, および寿命の計測をおこなったところ, 同じ自活性土壌線虫で生物学のモデルである *Caenorhabditis elegans* と比べて体のサイズは小さく, 発生速度も遅かった. 産卵数も少なくばらつきが大きかったものの, 平均寿命は長かった. つぎに, 突然変異誘発剤による変異体の分離を試みたところ, 体のサイズが太短い (dumpy) 変異体を2種類分離した. ひとつは, サイズが太短いものの消化器系および生殖系は野生型とかわらず, 小さな線虫体内に各器官が圧縮された状態であった. もうひとつのものは, 消化器系および生殖系など全てが短くなっていた. 両者は異なる遺伝子の変異によって生じた表現型であると示唆された.

長谷川浩一・三輪さつき・三輪錠司. モデル生物 *Caenorhabditis elegans* を用いたゲノム毒性学. 2005. Perspectives of Agricultural Research and Development (ed. Ramasamy, C., Ramanathan, S. and Dhakshinamoorthy, M), pp468-481. Centenary Seminar on Recent Advances in Agricultural Research, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India. 三輪らは1970年代に線虫 *Caenorhabditis elegans* (エレガンス) を安全性・毒性テストのモデル動物として注目し, 原核生物であるサルモネラ菌を使うエイムズテストではカバーできない, 発がん促進性, 催奇形性, 神経毒性などのテストに有効であることを証明してきた. これらの毒性テストの指標として, 生殖能, 運動能, 成長速度 (体長変化の速度), 寿命 (孵化後, あるいは成熟後から死亡まで) をもちいる方法を開発してきた. 過去35年間エレガンスに関する生物学的データや方法論は日進月歩で増大を続け, 1998年動物としてはもっとも早く全ゲノムの解読が終わっている. その後, ヒトを含む多くの動植物でゲノムの解読が進み, 約2万あるエレガンスの遺伝子総数と2万2千と推定されているヒトの間の遺伝子数の差はほぼなくなった. また, 質的な差についてもアポトーシスシステムに見られるように, 線虫はほ乳動物のモデルになり得ることを示した. 現在は寿命・老化や感染のシステムについてほ乳動物のモデルとして注目され, 膨大な研究資料が日夜生産され続けている. 寿命・老化の分野でもすでに先駆的な研究が続々と生まれており, ヒトの寿命モデルとしても注目されている. 本総説では, アクリルアミドをモデル検体として, エレガンスの寿命に与える影響を紹介した.

Hasegawa, K., Miwa, S. and Miwa, J. 2005. A genomic approach to toxicology in the model organism *Caenorhabditis elegans*. In: Perspectives of Agricultural Research and Development (ed. Ramasamy, C., Ramanathan, S. and Dhakshinamoorthy, M), pp468-481. Centenary Seminar on Recent Advances in Agricultural Research, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India.

井上忠雄・平田和正・桑名雄一郎・藤田真弘・三輪錠司・Roy, R.・山口泰典. 2006. 線虫 *Caenorhabditis elegans* の卵形成では *daf-21/Hsp90* が第一減数分裂前期から中期への境界線で細胞周期を制御. Dev. Growth

Differ. 48:25-32. DAF-21タンパクは主に生殖細胞で発現される*C. elegans*のHsp90ホモログである。遺伝子daf-21をRNA干渉 (double strand RNA mediated interference) でノックダウンしたところ、ディアキネシス期にみられる一時停止がおこらず、核内有糸分裂を誘発して、倍数性をもった染色体 (Emo表現型) を誘発した。同じような表現型は、wee-1.3遺伝子をRNA干渉でノックダウンしても得られた。daf-21あるいはwee-1.3遺伝子をRNA干渉でノックダウンしたところ、どちらの個体でもCDK-1タンパクのリン酸化が認められなかった。また、前者では、WEE-1.3タンパクが大幅に減少していた。これらの結果から、DAF-21はWEE-1.3が機能するのに必要であり、その機能を通して卵母細胞が減数分裂の前期から中期へ移行する成熟過程を制御する。

Inoue, T., Hirata, K., Kuwana, Y., Fujita, M., Miwa, J., Roy, R. and Yamaguchi, Y. 2006. Cell cycle control by daf-21/Hsp90 at the first meiotic prophase/metaphase boundary during oogenesis in *Caenorhabditis elegans*. Dev. Growth Differ. 48:25-32.

長谷川浩一・三輪さつき・三輪錠司. 2006. 機能性食品KGNが線虫の産卵, 成長および寿命に与える影響. 生物機能開発研究所紀要6. 漢方系機能性食品KGN-7 (以下, KGNとする) は, 細胞のATP活性の向上および活性酸素の除去能力を向上する効果があり, ヒトの老化にともなって発症率の高くなる痴呆, リウマチ, 糖尿病, 癌など様々な病気の症状を改善する臨床例が報告されている. このKGNについて, モデル生物である線虫*Caenorhabditis elegans* (以下, エレガンスとする) を使った効能評価をおこなった. エレガンスの生活上最適pHであるpH6に調節した培地で, 2種類のKGN濃度処理 (推奨摂取量およびその2倍濃度をおこなったところ, 産卵数, 成長, および寿命については無処理のControlと比べて有意な差が認められなかった. また, ヒトが摂取した場合におけるKGN有効pHであるpH7の培地においても, Controlと比べて有意な差が認められなかった. 産卵が終了した7日目からKGN処理をおこなった場合の寿命も, Controlとの有意差は認められなかった. 両方のpHを比べてみると, pH6よりもpH7の方がすべての処理濃度について, 産卵数および寿命で有意に短くなっていた. 今回調べたKGN濃度では, エレガンスの産卵数が増えたり, 成長が早くなったり, 寿命が延びたりすることは観察できなかった. と同時に, それらと逆の悪い影響も認められなかった.

磯村和則・長谷川浩一・三輪さつき・堤内 要・谷口 肇・三輪錠司. 2006. 線虫*C. elegans*におけるアクリルアミド作用のプロテオーム解析. 平成17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4. アクリルアミドは, エレガンスの寿命に対し, 0.5ug/mLという超微量でも大きく影響するが, 中濃度 (500ug/mL~5mg/mL) で消滅する, しかし500mg/mLになるとまた大きな影響を与える, 二相性反応を示す. マイクロアレイを使用した実験で, 超低濃度と高濃度で発現に影響を受ける遺伝子の種類は大きく違うことが判明している. 今回はタンパク質レベルでの遺伝子発現を検証するために, プロテオーム解析をおこなった. エレガンスを24あるいは48時間処理したのち, タンパク質を抽出し2次元電気泳動で分離した. 無処理の対照群に比べ有意に増加していたタンパク質が12個見つかったので, MALDI-TOF/MSにかけてタンパク質の同定をおこなった. 現在までに同定できた3個はいずれも毒消しタンパクといわれるグルタチオンS-トランスフェラーゼであった

Isomura, K., Hasegawa, K., Miwa, S., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H. and Miwa, J. 2006. Proteomic dissection of acrylamide actions in *Caenorhabditis elegans*. 2006. The Annual Report of the High-Tech Research Center Establishment Project in Chubu University 4.

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. 加熱食品モデル中の糖類のアクリルアミド生成に与える影響. 2005. Journal of Applied Glycoscience, 52:219-224. 加工食品に存在するアクリルアミド (AA) は還元糖とアスパラギンとのMaillard反応によって生成するとされているが, AA生成に及ぼす糖質の影響はまだ7種類しか調べられていなかったため, 単糖や二糖, そして糖アルコールなど22種類の糖質を用いた食品モデルによる検討を行った. 糖質としてグルコースを用いた実験では加熱時間

15分でAA量が最大値を示し、30分でその3分の1以下となる挙動が認められた。この挙動はpH3-8.5で変化なく、また単糖や二糖を通じて同じであった。AA量はアルドースとケトースの違いに大きく影響され、還元性の有無による変化は比較的小さいものであった。糖アルコールからの生成量はグルコースの場合と比較して10分の1ほどと少ないものの、いずれの試料からもAAが確認された。また、デンプン、シクロデキストリンを用いた場合は、15分過ぎからAA量が増加し始め、約50分後にグルコースの最大値とほぼ同じ水準となり、その後、50分間以上高いAA値を持続するという挙動を示した。本研究で得られた知見は還元糖とAsnとのMaillard反応では説明できない点があるため、グルコースの実験系における糖質とアスパラギンの経時変化も測定した。その結果、糖質の分解生成物が関与するAA生成経路の存在が示唆された。

Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Okajima, N., Okada, M., Miwa, J. and Taniguchi, H. 2005. Effect of Carbohydrates on Formation of Acrylamide in Cooked Food Models. *Journal of Applied Glycoscience* 52:219-224.

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. 2005年5月. 多糖に由来するアクリルアミドの生成. 日本食品衛生学会第89回学術講演会(於銀座プロッサム, 東京). ジャガイモなどの食材を高温で加熱するとアクリルアミド(AA)が生成する. そのメカニズムはアスパラギン(Asn)と還元糖とのMaillard反応であると報告されているが, 食品に含まれる糖質は, 単糖やオリゴ糖よりも還元性がほとんど無視できる多糖, すなわちデンプンや食物繊維のほうが圧倒的に多い. 従って, 本研究では多糖に由来するAAの生成を検討すべく, 成分を単純化した加熱食品モデルを用いてAAおよびAsn量の変化を調べた. その結果, 多糖を用いた場合でもグルコースを用いた場合と同様の水準までAA濃度が上昇することがわかった. グルコースと異なる点は, AAの生成挙動が全体的に遅いことと, AA量が最大値を示した後も引き続き高い水準を維持する点であった.

長谷川浩一・三輪さつき・堤内 要・谷口 肇・三輪錠司. 2005. *C. elegans*におけるアクリルアミド作用のゲノムとプロテオーム解析. 15th International *C. elegans* Conference. University of California, Los Angeles (於California, USA). 2002年4月, スウェーデン国立食品局はアクリルアミドに関する衝撃的な報告を発表した. デンプン質の多い食品をフライにしたり焼いたりすると極めて高濃度のアクリルアミドが生成されるというのだ. こうした報告をうけ, モデル生物として多くの成果をあげている線虫 *Caenorhabditis elegans* を個体丸ごと使って毒性のオミックス研究(ゲノミックスとプロテオミックスを含めた研究)を始めた. 生殖能(親と子の代での), 運動能, 成長速度, 寿命を指標としてアクリルアミドの影響を評価した. 寿命以外の指標では, 50 mL以下での影響は検出できなかったが, 寿命では0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ という超微量濃度でも約18%減少するという大きな影響がみられた. さらに面白いことに, この影響は50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ まで続くが, その濃度からもう少し上がって500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ から50 mg/mLの範囲では寿命の短縮はみられなくなった. 濃度がさらに上がって, 500 mg/mLではまた寿命が短縮した. このような二相性反応の分子メカニズムを理解するために, ゲノム解析をしたところ, 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ と500 mg/mLとでは発現する遺伝子の種類は大きく異なっていたので, 同じ寿命短縮でも異なるメカニズムが影響していることが判明した. まず高濃度で発現し, 他の動物と発現パターンを共有するGST遺伝子などのプロテオーム解析を開始した.

Hasegawa, K., Miwa, S., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H. and Miwa, J. 2005. Genomic and proteomic dissection of acrylamide actions in *C. elegans*. 15th International *C. elegans* Conference. University of California, Los Angeles (California, USA).

井上忠雄・藤田真弘・桑名雄一郎・三輪錠司・Roy, R.・山口泰典. 2005. *C. elegans*生殖細胞形成におけるdaf-21/Hsp90遺伝子の多機能性. 15th International *C. elegans* Conference. University of California, Los Angeles (於California, USA). 遺伝子daf-21の発現をRNA干渉で阻害したところ, 二つの顕著な異常が生殖細胞に見られた: 一つ目は, 生殖巣縁腕部の有糸分裂が停止することであった. この表現型はCdc-2の線虫ホモログであるcdk-1の発現をRNA干渉によって阻害したときに似ている. また実際, CDK-1の発現量が著

しく低下した。二つ目は、染色体の未熟分離によって移動期(肥厚期:ディアキネシス期)が異常となる卵母細胞を形成した。この異常は、cdk-1のRNA干渉によって抑制されたが、cdc-25のRNA干渉では抑制されなかった。これらの結果から、daf-1の表現型はCDK-1が抑制的リン酸化を受けないためにおこるという考えに矛盾したい。この仮説は、daf-21のRNA干渉ではCDK-1をリン酸化するWEE-1.3タンパクが劇的に減少していることから裏付けられる。

Tadao, I., Fujita, M., Kuwana, Y., Miwa, J., Roy, R. and Yamaguchi, Y. 2005. Multiple functions of daf-21/Hsp90 in germline development in *C. elegans*. 15th International *C. elegans* Conference. University of California, Los Angeles (California, USA).

長谷川浩一・二井一禎・三輪さつき・三輪錠司. 2005. The 44th annual meeting of the society of Nematologists. The Radisson Bahia Mar Beach Resort Fort Lauderdale (於Florida, USA). 受精卵における精子の侵入点と前後軸の決定に関し、*C. elegans* (エレガンス)と*Bursaphelenchus xylophilus* (ザイセンチュウ)とでは正反対になることをわれわれは発見している。線虫の発生システムを理解する一環として、今回ザイセンチュウのcDNAからBx-par-1 (Ser/Thr kinase), Bx-mex-3 (RNA結合タンパク), Bx-tbb ( $\beta$ チューブリン), Bx-daf-21/hsp90 (熱ショックタンパク)をクローニングとその構造と機能について解析を始めた。これらはいずれもエレガンスの初期発生に必須である遺伝子のザイセンチュウホモログである。これらのcDNAから二本鎖のRNAをin vitroで合成し、soaking法を使ってエレガンスとザイセンチュウの双方で試した。エレガンスではノックダウンによる表現型を得ることができたが、ザイセンチュウでは何の影響も表われなかった。このことから、ザイセンチュウの遺伝子由来の転写産物でもエレガンス遺伝子発現を阻害することがわかった。また、ザイセンチュウではsoaking法が使えないか、極めて使いにくいので、他の方法でRNA干渉を試みる必要があるのではないかと結論できた。

Hasegawa, K., Futai, K., Miwa, S. and Miwa, J. 2005. Comparative studies of body axis determination in nematode embryogenesis. The 44th annual meeting of the society of Nematologists. The Radisson Bahia Mar Beach Resort Fort Lauderdale (Florida, USA).

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. 2005年9月. 加熱中アクリルアミドに対する多糖の影響。日本応用糖質科学会平成17年度大会(於三重大学, 三重)。食の安全を重視する現代において、加熱に伴うアクリルアミド(AA)の生成は大きな問題である。その生成機構は加熱に伴う還元糖とアスパラギンとのMaillard反応であるとされているが、多くの食品では還元性を示す単糖やオリゴ糖よりも澱粉や食物繊維といった多糖のほうが多く含まれており、これらの糖質が食品中のAA生成にどう影響するかは調べられていない。そこで本研究では食品モデルを用いてAA生成に及ぼすコーンスターチ、セルロース、デキストラン、カードランの影響を調べた。

長谷川浩一・三輪さつき・二井一禎・三輪錠司. 2005年9月. マツノザイセンチュウにおける逆遺伝学の試み。日本線虫学会第13回大会(於佐賀大学, 佐賀)。マツ材線虫病の病原体*Bursaphelenchus xylophilus*(以下、ザイセンチュウ)の初期胚発生に必要な遺伝子4種類(Bx-par-1, Bx-daf-21, Bx-mex-2, Bx-tbb)のクローニングをおこない、RNA干渉を試みた。各遺伝子5'端およそ1kbから、in vitro transcriptionにより二本鎖RNA(dsRNA)を合成し、Soaking法によるRNAiをおこなった。*Caenorhabditis elegans*(以下、エレガンス)、および中部大構内の土壌から分離・培養した自活性土壌線虫(未同定種)についても同じ遺伝子を用いたRNAiをおこなった。エレガンスおよびHIはSoaking bufferを容易に飲み込むが、ザイセンチュウではPumpingを促進する神経伝達物質OctopamineをSoaking buffer内に加える必要があった。L4幼虫をRNAi処理すると、エレガンスではdaf-21およびtbb遺伝子ノックダウン表現型を確認することができた。しかし、ザイセンチュウおよびHIについては表現型の確認ができなかった。体内へのdsRNA移行効率を高めるため、dsRNAの長さを500bp, 100bpと短くしても、ザイセンチュウとHIからは予想される表現型を確認することができなかった。

坂本純一・長谷川浩一・三輪錠司, 2005年9月. クワノザイセンチュウ *Bursaphelenchus conicaudatus* の初期胚発生. 日本線虫学会第13回大会 (於佐賀大学, 佐賀). *Bursaphelenchus conicaudatus* (以下, クワザイセンチュウ) は *Bursaphelenchus xylophilus* (以下, ザイセンチュウ) の近縁種である. 今回, クワザイセンチュウの初期胚発生パターンについて調べ, 近縁種であるザイセンチュウおよびモデル生物 *Caenorhabditis elegans* (以下, エレガンス) のパターンと比較し, 相違・相似点についての考察した. 前後軸決定様式については, ザイセンチュウと同様に精子の進入点が将来の前方となることがわかった. 以後4細胞期まで, 細胞分裂順序, 位置, および細胞骨格形成パターンについてはザイセンチュウ, エレガンスと酷似していた. さらに, 43細胞期までの細胞系譜を作成した. 各創始細胞はほぼ同調して分裂すること, AB細胞系列の分裂速度が他の創始細胞よりも速いこと, などの特徴は全ての線虫に共通していた. 25°CではAB細胞系列はエレガンス, クワザイセンチュウ, ザイセンチュウの順で分裂するスピードが速いことが観察できた. クワザイセンチュウのP細胞の分裂速度については, EMS細胞よりP2細胞が早く分裂し, 他の2種の線虫とは逆になった.

大野美紀・磯村和則・三輪さつき・長谷川浩一・三輪錠司, 2005年9月. 自活性土壌線虫の分離・培養・発生. 日本線虫学会第13回大会 (於佐賀大学, 佐賀). 中部大学キャンパス内の土壌からベールマン法を用いて自活性土壌線虫を分離した. 大腸菌を餌にして培養をおこない, ライン化して野生型YS-22211を確立した (以下, YSと略す). 雌雄同体と雄の2つの性があり, ふだんは雌雄同体のみで増殖するが, まれに雄があらわれた. 雄と交配すると雌雄同体から産まれる次世代は, およそ1:1の性比で雌雄同体と雄が出現した. 産卵数, 成長, および寿命の計測をおこなったところ, 同じ自活性土壌線虫で生物学のモデルである *Caenorhabditis elegans* (以下, エレガンス) と比べて体のサイズは小さく, 発生速度も遅かった. 産卵数も少なくばらつきが大きかったものの, 平均寿命は長かった. 受精から46細胞期までの細胞系譜は, 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・岡嶋直子・岡田鉦彦・三輪錠司・谷口 肇, 2005年10月. 加熱食品モデルのアクリルアミド生成に対する多糖の影響. 日本食品衛生学会第90回学術講演会 (於大宮ソニックシティ, さいたま). 我々はこれまでにアクリルアミド (AA) の生成に及ぼす糖質の影響について加熱食品モデルを用いて研究し, 単糖, オリゴ糖だけでなく, 還元性がほとんど無視できる多糖からもAAが生成することを見出している. しかし, 多くの食品素材では, 多糖成分だけでなく, 単糖, オリゴ糖も含有していることから, 本研究では糖質として多糖とグルコースを含む食品モデルを用いてAAの生成挙動を調べた. 結果として, 多糖はAAの原料としてではなく, 生成したAAの保持に寄与することが示唆されたため, 加熱食品モデルからアスパラギン (Asn) を除き, AAを添加した実験を行い, 多糖によるAAの分解抑制効果についても検討した.

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, 2005年10月. 多糖および多糖誘導体を含む加熱食品モデルにおけるアクリルアミド生成. 第10回高分子分析討論会 (於工学院大学, 東京). 加工食品中のアクリルアミド (AA) はアスパラギンと還元糖とのMaillard反応に由来することが知られているが, 加熱食品モデルを用いた我々の研究では, ほとんど還元性を持たない多糖を用いた場合でもAAが生成することが見出された. この知見はデンプン, セルロースから得られたものであるが, その他の多糖では検討されていなかったため, 本研究では新たにデキストラン, カードラン, キトサン, カルボキシメチルセルロース (CMセルロース) について検討した.

平田和正・伊野明宏・井上忠雄・Arie Admon・三輪錠司・山口泰典, 2005年12月. 線虫 *C. elegans* DAF-21/Hsp90相互作用因子の同定. 第28回日本分子生物学会 (於福岡ドーム, 福岡). Yeast two-hybrid法を用いた探索によって見つかったDAF-21の相互作用分子が11種報告されている. 我々は抗DAF-21抗体である608Fを用いた免疫沈降法により, 数十種の沈降物の存在を確認している. そこで, 608F抗体を用いた際の共沈降

物の同定を2DLC-MS/MSシステムを用いたショットガン解析により網羅的に行うことを試み、約70種の相互作用分子を同定した。この同定した相互作用分子の中には、Yeast two-hybrid法により同定されているものも一部含まれていた。また他の生物で既にHsp90の相互作用分子と同定されているものも複数含まれていた。しかし、他の生物においてHsp90のターゲットとして同定されているタンパク質リン酸化酵素などは、今回の解析では同定されなかった。

長谷川浩一・Mota, M. Manuel・二井一禎・三輪錠司。2006年3月。マツノザイセンチュウの生殖細胞および初期胚における染色体の行動と構造。日本応用動物昆虫学会第50回大会(於筑波大学, つくば)。マツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* の生殖細胞の減数分裂, および受精から2細胞期までの胚の体細胞分裂における染色体構造と行動を, DAPI染色と共焦点レーザー顕微鏡によって得られた画像の3次元化によって解析した。受精後, 雄性および雌性前核がそれぞれゲノム1組をもって出現し, 対合・融合がおこなわれたのちに胚発生が始まる。卵母細胞のほうが精子よりも細胞質のうえでは圧倒的に大きい, 雄性前核のほうが雌性前核よりも大きかった。雄および雌の生殖細胞における減数分裂第一分裂時, 受精後の前核融合時, 初期胚割球の分裂中期に, 染色体の数と形がはっきり確認できた。染色体の数は雌雄ともに $N=6$  ( $2N=12$ )であった; 大きさおよび形が全てほぼ同じであるため, 互いの区別ができなかった。したがって, 性決定様式は *Caenorhabditis elegans* のXO/XXではないと考えられる。FISH法によりrRNA領域は染色体2本(1対)の末端に位置していることがわかった。

Yamada, T., Moriyama, R., Hattori, K., Ishimoto M. 2005. Isolation of two  $\alpha$ -amylase inhibitor genes of tepary bean (*Phaseolus acutillius* A. Gray) and their functional characterization in genetically engineered azuki bean. *Plant Science*, 169, 502-511.

食材として利用される豆類の一つであるテパリービーンズの種子に含まれるタンパク質性 $\alpha$ -アミラーゼ阻害剤二種のcDNA解析の結果, および両遺伝子産物を発現する遺伝子組み換えアズキを用いた機能解析の結果について発表した。

Kato, S., Hamasaki, K., Masayama, A., Yoshimura T., Moriyama, R. 2005.6. Serine proteases which activate the germination-specific cortex-lytic enzyme, SleC, of *Clostridium perfringens* spores. The 3rd Conference on Functional Genomics of Gram-Positive Microorganisms. (San Diego, California).

ウェルシュ菌胞子の発芽過程における「Key Enzyme」の前駆体を特異的にプロセッシングするセリンプロテアーゼ群の機能について, 部位特異的変異を導入したプロテアーゼ群の過剰発現による「ドミナント・ネガティブ」効果を解析した結果について報告した。

Masayama, A., Terashima, T., Kato, S., Yoshimura T., Moriyama, R. 2005.6. Processing of *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* YpeB during spore germination. The 3rd Conference on Functional Genomics of Gram-Positive Microorganisms. (San Diego, California).

枯草菌およびセレウス菌胞子の発芽に関与すると思われる機能未知遺伝子産物YpeBの胞子発芽時におけるプロセッシング部位の同定と, 部位特異的変異導入による機能解析について報告した。

加藤志郎・昌山敦・木原智子・小澤里佳・森山龍一。2005年9月。嫌気性グラム陽性菌胞子の発芽酵素前駆体とそのプロセッシング酵素。平成17年度グラム陽性菌のゲノム生物学研究会(於東海大学山中湖セミナーハウス, 山中湖村)。

ウェルシュ菌胞子の発芽過程における「Key Enzyme」の前駆体を特異的にプロセッシングするセリンプロテアーゼ群の機能について, 部位特異的変異を導入したプロテアーゼ群の過剰発現による「ドミナントネガティブ」効果を解析した結果について報告した。

昌山敦・寺島卓哉・加藤志郎・木原智子・森山龍一. 2005年9月. *Bacillus* 属細菌胞子の発芽時に遊離するプロテアーゼ活性. 平成17年度グラム陽性菌のゲノム生物学研究会 (於東海大学山中湖セミナーハウス, 山中湖村).

バシラス属細菌の発芽時に遊離するプロテアーゼ活性により, 胞子発芽に関与すると考えられる機能未知タンパク質 YpeB がプロセッシングされることとそのプロセッシング部位の同定, ならびに遊離するプロテアーゼ活性の性質について報告した.

加藤志郎・昌山敦・吉村徹・木原智子・森山龍一. 2005年10月. 嫌気性グラム陽性菌胞子における発芽酵素の前駆体ドメインの機能. 日本農芸化学会中部支部第144回例会 (於名古屋大学野依記念学術交流館, 名古屋市).

ウェルシュ菌胞子の発芽過程における「Key Enzyme」は4つのドメイン構造からなるが成熟酵素ドメイン以外の機能については不明な点が多い. そこで, N-末端プレおよびN-末端プロ領域に部位特異的変異を導入して各ドメインの機能解析を行った結果について報告した.

寺島卓哉・昌山敦・加藤志郎・吉村徹・木原智子・森山龍一. 2005年10月. *Bacillus cereus* の胞子発芽時に遊離するプロテアーゼ活性. 日本農芸化学会中部支部第144回例会 (於名古屋大学野依記念学術交流館, 名古屋市).

バシラス属細菌胞子発芽に関与すると考えられる機能未知タンパク質 YpeB をプロセッシングするプロテアーゼ活性が発芽時に胞子から遊離するが, この酵素活性が胞子発芽時に胞子より放出されるカルシウムイオンにより活性化される可能性について報告した.

加藤志郎・昌山敦・吉村徹・木原智子・森山龍一. 2006年3月. 嫌気性グラム陽性菌胞子の発芽酵素活性化に関与するプロテアーゼ遺伝子群の機能解析. 日本農芸化学会2006年度大会 (於京都女子大学, 京都市).

ウェルシュ菌胞子の発芽過程における「Key Enzyme」の前駆体を特異的にプロセッシングするセリンプロテアーゼ群 CspA, B, C について, 各酵素の生理的役割や相互作用・複合体形成の有無について解析した結果について報告した.

昌山敦・浜崎圭司・加藤志郎・吉村徹・木原智子・森山龍一. 2006年3月. *Clostridium perfringens* S40 株の胞子形成期における発芽関連酵素群の時期および部位特異的遺伝子発現. 日本農芸化学会2006年度大会 (於京都女子大学, 京都市).

ウェルシュ菌胞子の発芽にかかわる遺伝子群 *cspA*, *cspB*, *cspC*, *sleC*, *sleM* の胞子形成時における時期および部位特異的発現について, RT-PCR および蛍光タンパク質遺伝子 *gfp* との融合遺伝子を用いた解析結果について報告した.

阿波雄基・岩井伯隆・上田知彦・鈴木健二・浅野昭二・山岸純一・永井和夫・和地正明. 2005. *Streptomyces* sp. A012304 からの5-アミノレブリン酸と構造関連のある新規抗生物質 Alaremycin の単離. 大腸菌の染色体分配阻害活性を有する化合物の検定法を用いて, ヘム合成前駆体である5-アミノレブリン酸と構造的に関連のある5-アセタミド-4-オキソ5-ヘキセノイックアシッド構造をもつ新規抗生物質アラレマイシンを *Streptomyces* 菌株より分離した. 本物質の抗菌活性は5-アミノレブリン酸の添加で増大する. (Yuuki Awa, Noritaka Iwai, Tomohiko Ueda, Kenji Suzuki, Shoji Asano, Jun-ichi Yamagishi, Kazuo Nagai, Masaaki Wachi. 2005. Isolation of a new antibiotic, Alaremycin, structurally related to 5-aminolevulinic acid from *Streptomyces* sp. A012304. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69: 1721-1725)

禹 濟泰・中川 大・Annette M. Krecic・永井和夫・Andrew D. Hamilton・Said M. Sebtî・Paula H. Strern. 2005. RANKL または TNF- $\alpha$  により誘導される単核破骨細胞形成にたいする mevastatin およびゲラニルゲラ

ニル転移酵素 I 阻害剤 (GGTI-2166) の阻害効果, 骨髄由来細胞および単球系細胞株 RAW264.7 細胞の RANKL および TNF- $\alpha$  により誘導される単核破骨細胞への分化にたいし, mevastatin およびゲラニルゲラニル転移酵素 I 阻害剤 GGTI-2166 が阻害した. ファルネシル転移酵素阻害剤 FTI-2153 は阻害活性を示さなかった. (Je-Tae Woo, Hiroshi Nakagawa, Annette M. Krecic, Kazuo Nagai, Andrew D. Hamilton, Said M. Sebt, Paula H. Stern. 2005. Inhibitory effects of mevastatin and geranylgeranyl transferase I inhibitor (GGTI-2166) on mononuclear osteoclast formation induced by receptor activator of NF  $\kappa$  B ligand (RANKL) or tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Biochem. Biopharmacol. 69:87-95)

小山田義博・伊藤秀明・藤本中村美佳・谷為昌彦・岩井伯隆・永井和夫・山岸純一・和地正明. 2006. 無核細胞ブルーアッセイ: II型トポイソメラーゼの新規阻害物質分別の有効な手法. 大腸菌無核細胞の出現を検出するブルーアッセイ法を用いて95,000の化合物について検討し, 種々の構造を有する51の有効化合物が DNAジャイラーゼおよび/またはトポイソメラーゼIV活性を阻害することを見出した. これら化合物はフルオロキノリン-ノボピオシン-耐性ブドウ球菌にも有効であった. よって, 本検定法は2型トポイソメラーゼ阻害活性を有する新規化合物の探索に有効な手段であるとした. (Yoshihiro Oyamada, Hideaki Ito, Mika Fujimoto-Nakamura, Akihiko Tanitame, Noritaka Iwai, Kazuo Nagai, Jun-ichi Yamagishi, Masaaki Wachi. 2006. Anucleate cell blue assay: Useful tool for identifying novel type II topoisomerase inhibitors. Antimicrob. Agents Chemother. 50:348-350)

藪 義貞・鈴木高史・二瓶浩一・皆川信子・細川知良・永井和夫・北 潔・太田伸生. 2006. Trypanosoma vivax-感染マウスにおけるグリセロール非使用下でのアスコフラノンの化学療法効果. Trypanosoma brucei brucei感染マウスにはアスコフラノンは単独での連続投与またはグリセロールとの併用で治療効果を示すが Trypanosoma vivax 感染モデルではグリセロールの併用のない単独でも50mg/kg投与で有効であることを見出した. (Yoshisada Yabu, Takashi Suzuki, Koh-hei Nihei, Nobuko Minagawa, Tomoyoshi Hosokawa, Kazuo Nagai, Kiyoshi Kita, Nobuo Ohta. 2006. Chemotherapeutic efficacy of ascofuranone in Trypanosoma vivax-infected mice without glycerol. Parasitol. Int. 55:39-43)

小倉弘嗣・築茂由則・杉本 光・五十嵐雅之・永井和夫・片岡孝夫. アセトキシシクロヘキシミドによる TNFレセプター1シグナル伝達の抑制機構. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会 (於札幌). ヒト肺がん細胞株を用いて, アセトキシヘキシミドが p38 MAPキナーゼを介して細胞膜上のプロテアーゼを活性化し, TNF-R1のシェディングを特異的に誘導していることを示唆した.

門原公子・築茂由則・杉本 光・五十嵐雅之・永井和夫・片岡孝夫. アセトキシシクロヘキシミドによる JNK依存性アポトーシスの誘導機構の解析. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会 (於札幌). ヒト白血病由来 Jurkat細胞にアセトキシシクロヘキシミドを作用させるとアポトーシスを誘導するが, その際活性化されるカスパーゼ3が JNK経路の阻害剤を作用させると活性化されず, アポトーシスも抑制されることを見出した.

稲葉 晋・鹿島義之・坂東優篤・江口 正・柿沼勝巳・溝上一敏・永井和夫・片岡孝夫. 16員環マクロライド FD-891の抗腫瘍活性の解析. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会 (於札幌). FD-891はアポトーシスを誘導するが, アポトーシスを抑制した条件下では細胞周期G2M期の細胞が蓄積することを見出し, アポトーシス誘導のほかに細胞周期停止活性があることを明らかにした.

岩井伯隆・永井和夫・北爪智哉・和地正明. 細菌の細胞骨格タンパク質を作用標的とする新規抗菌剤. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会 (於札幌). 無核細胞出現を検定する方法により s-ベンジルイソチオウレア誘導體 A22 を取得した. A22は大腸菌細胞骨格形成タンパク質 MreB を標的とし, MreB と ATP との結

合に拮抗的に作用すると推定した。

米澤貴之・佐々木俊典・永井和夫・禹濟泰. 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. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会(於札幌). マウスマクロファージ系細胞株 RAW264 細胞の破骨細胞分化への過程をアロマターゼ阻害剤である 1, 4, 6-androstatriene-3, 17-dione が阻害することを見出した。

岩橋 歩・李 鍵炯・安 哉龍・長谷川森一・永井和夫・坂神洋次・禹 濟泰. アルカロイド類による破骨細胞の分化および骨吸収機能阻害. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会(於札幌). マウス前駆細胞から破骨細胞への分化過程に作用するアルカロイドを探索し, 塩化コブチシン, 塩化ベルベリンが細胞毒性を示さずに分化を阻害することを見出し, 作用機構についても検討した。

長谷川森一・李 鍵炯・車 炳允・岩橋 歩・小鹿 一・永井和夫・禹 濟泰. リグナン類による破骨細胞の分化及び骨吸収機能阻害. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会(於札幌). マウス前駆細胞から破骨細胞への分化過程に作用する生薬成分を探索し, ホノキオール, マグノロールが細胞毒性を示さずに分化を阻害することを見出した。

安 哉龍・李 鍵炯・永井和夫・坂神洋次・禹 濟泰. 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. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会(於札幌). マウス前駆細胞から破骨細胞への分化過程を, フラボノールおよびフラボン類が細胞毒性を示さない濃度で阻害することを見出し, さらにアクチンリングを破壊して骨吸収活性も阻害することを示した。

三好信寛・田村眞理・永井和夫・大西素子. プロテインホスファターゼによる RNA シグナル伝達経路の制御機構. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会(於札幌). 破骨細胞誘導因子 RANKL による前駆細胞刺激におけるシグナル伝達の過程で, プロテインホスファターゼ  $2C\beta$  及び  $\epsilon$  が p38 タンパク質のリン酸化を制御している可能性を示した。

大西素子・仙石裕美・鈴木理香・禹 濟泰・永井和夫. 破骨細胞分化に対するカドミウムの影響. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会(於札幌). マウス前駆細胞の破骨細胞への分化過程で認められる p38 タンパク質のリン酸化を, カドミウムが濃度依存的に阻害することを示した。

阿部秀飛・大石祐一・加藤久典・野口 忠・永井和夫・大西素子. 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. 2005年3月. 日本農芸化学会2005年度大会(於札幌). HepG2 細胞に対しカドミウムを添加すると, 24時間後に IGFBP-1 の mRNA 量の上昇があることを観察した。

永井和夫. 骨の代謝に作用する生薬, 食品中の機能性成分. 2005年10月. 第2回健康長寿食品研究会(於名古屋). 骨代謝に関与する破骨細胞の分化・成熟・機能発現過程に作用する植物, 食品中の成分とその作用機構につき解説した。

永井和夫. 骨の代謝に作用する生薬・食品中の機能性成分. 2005年11月. 第1回医薬農工連携促進セミナー(於金沢). 骨代謝に関与する破骨細胞の分化・成熟・機能発現過程に作用する植物, 食品中の成分とその作用機構につき解説した。

大坂一義・古浜友子・佐々木久実・永井和夫・和地正明. 大腸菌 mreBCD オペロンの転写解析. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会(於福岡). 大腸菌 mreBCD 遺伝子の転写開始, 転写量の調節に関与する mreB 上流域プロモーター領域の構造と機能につき解析した。

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および酸耐性機構における Hfq タンパク質の役割. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会 (於福岡). HfqR と NaseE の変異により発現が低下するタンパク質を探索した結果, ストレスからの保護に関与する GadA/B と Dps 遺伝子が見出されたことから, mRNA レベルでの発現制御機構について考察した.

斎藤翔子・能登谷倫崇・高見正道・西村裕之・禹 濟泰・永井和夫・萩原啓実. クルクミンによる骨量減少の抑制. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会 (於福岡). クルクミンは培養細胞レベルで破骨細胞と骨芽細胞の両者の機能を抑制するが, 卵巣摘出マウスに投与すると皮質骨, 海綿骨ともに骨量減少が抑制されることを観察した.

米澤貴之・長谷川森一・萩原啓実・永井和夫・禹 濟泰. 破骨細胞分化に対する有機スズ化合物の作用の解析. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会大会 (於福岡). 有機スズ化合物 TBT, TPT が RANKL による Nf- $\kappa$ B の発現誘導を抑制することにより破骨細胞分化を抑制することを見出した.

永井和夫. 骨の代謝に作用する生薬・食品中の機能性成分. 2005年11月. 第1回医薬農工連携促進セミナー (於金沢). 骨代謝に関与する破骨細胞の分化・成熟・機能発現過程に作用する植物, 食品中の成分とその作用機構につき解説した.

根岸晴夫 2005. 高齢社会を支える食肉の役割と機能性. 中部大学・生物機能開発研究所紀要. 4:55-66. 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. 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づいて紹介した. 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.

根岸晴夫 ヘッドスペースガス分析法によるシロイヌナズナの香気物質の分析. 平成17年度植物バイオプロジェクト研究報告. 2006年2月. シロイヌナズナの香気物質の分析法として, ヘッドスペースガス分析法を検討した. 摘み取った葉, 及びこれを磨り潰した試料について, GC/MS で香気成分を分析した. 葉からは, Acetaldehyde, Acetone, Ethanol, 3-Pentanone, 2-Hexanone, 1-Penten-3-ol, 2-Heptanone が検出された. 葉を磨り潰した場合には, これらの化合物に加えて, Propanal, 1-Penten-3-one, Hexanal, 2-Pentenal, (E), 2-Hexenal, (E), 1-Pentanol, 2-Penten-1-ol, (Z), 1-Hexanol, 3-Hexen-1-ol が検出された.

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12月. 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. 札幌) カドミウムを加えて HepG2 細胞を培養すると, IGFBP-1 の mRNA 量が増加する. そこで, カドミウムによる IGFBP-1 遺伝子の転写調節機構を調べるため, IGFBP-1 遺伝子の転写調節領域をクローニングし, ルシフェラーゼアッセイを行ったところ, 転写の活性化は認められず, mRNA の安定性が増加している可能性が示唆された.

大西素子・仙石裕美・鈴木理香・禹濟泰・永井和夫. 2005年3月. 破骨細胞分化に対するカドミウムの影響. (日本農芸化学会2005年度大会. 札幌) 低濃度のカドミウムが破骨細胞の初期分化を抑制するが, 破骨細胞分化因子によって誘導されるシグナル分子に対するカドミウムの影響を調べたところ, NF- $\kappa$ B および Akt には影響しないにもかかわらず, p38 のリン酸化はカドミウムの濃度依存的に抑制された.

三好信寛・田村真理・永井和夫・大西素子. 2005年3月. 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. 札幌). 破骨細胞分化因子 RANKL の受容体である RANK の cDNA をクローニングし, HEK293 細胞に導入したところ, 下流のシグナル分子の恒常的な活性化

がみとめられた。このRANKの過剰発現によるシグナルの活性化に対するプロテインホスファターゼ2C (PP2C)  $\beta$  および  $\epsilon$  の影響を調べたところ、これらは活性化されたシグナルを抑制することがわかった。

Motoko Ohnishi, Nobuhiro Miyoshi, Shinri Tamura, Takayasu Kobayashi, Kazuo Nagai. Feb 9, 2006. Protein phosphatase 2Cb and e suppress the RANKL/RANK Signaling Pathway International Symposium of Kobe University 21st Century COE Program on Signal Transduction, In Memory of Prof. Yasutomi Nishizuka (Kobe, Japan) 破骨細胞分化因子受容体RANKを安定的に発現する293-RANK細胞株を樹立した。この細胞をRANKL存在下で培養すると、p38およびその上流のキナーゼであるMKK6およびNF- $\kappa$ Bが活性化するが、PP2C $\beta$  および  $\epsilon$  の発現によりこれらの活性化は抑制された。

大西素子・三好信寛・禹濟泰・永井和夫. 2005. 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. 生物機能開発研究所紀要 5:37-40 (2005) 通常プロテインセリン/スレオニンホスファターゼの活性測定は、 $[^{32}\text{P}]$ - $\gamma$ ATPによって標識した基質を使って行うが、半減期等の関係から High Through-put Screeningにはあまり適していない。そこで、本研究ではRIを用いないでPP2Cの活性測定を行うため、様々な条件を検討し、報告した。

齋藤清人・戴 研・大塚健三. 2005. 壊死性に徐々に死にゆく細胞での熱ショックタンパク質の誘導とその放出. Exp. Cell Res. 310:229-236. 培養HeLa細胞において高濃度(10mM)のアクリルアミド処理をするとHSPsが誘導されることを示した。通常HSPsは軽い熱ショックなどのストレスを受けて生き残った細胞において誘導されるが、高濃度アクリルアミド処理では徐々に死んでいく細胞であり、それはネクローシスによる細胞死である。その生物学的意味は、細胞が徐々に死んでいく際にはHSPsを多く合成し、それを危険信号として細胞外に放出することであると考えられる。(Kiyoto Saito, Yan Dai, Kenzo Ohtsuka. 2005. Enhanced expression of heat shock proteins in gradually dying cells and their release from necrotically dead cells. Exp. Cell Res. 310:229-236)

大塚健三・川島大介・具 然和・齋藤清人. 2005. 分子シャペロン誘導剤および誘導補助剤. Int. J. Hyperthermia 21:703-711. われわれが見いだした分子シャペロン誘導剤ペオニフロリンを含め、ほかの分子シャペロン誘導剤および誘導補助剤について、総説としてまとめた。(Kenzo Ohtsuka, Daisuke Kawashima, Yenwa Gu, Kiyoto Saito. 2005. Inducers and co-inducers of molecular chaperones. Int. J. Hyperthermia 21:703-711)

大塚健三・齋藤清人・戴 研. A NOVEL MOLECULAR CHAPERONE INDUCER PAEONIFLORIN. 2005年6月. 第58回日本細胞生物学会大会(大宮). 新規分子シャペロン誘導剤ペオニフロリンについて報告。

大塚健三・齋藤清人・川島大介・分子シャペロン誘導剤について. 2005年7月. 第6回北陸高温度療法研究会第21回東海ハイパーサーミア懇話会合同研究会および講習会(名古屋). ペオニフロリンを含め、分子シャペロン誘導剤および誘導補助剤について報告。

川島大介・齋藤清人・今井律子・大塚健三. 潰瘍薬カルベノキソロンを用いた熱ショック蛋白質誘導. 2005年7月. 第6回北陸高温度療法研究会第21回東海ハイパーサーミア懇話会合同研究会および講習会(名古屋). 潰瘍薬カルベノキソロンのHSPs誘導能について報告。

齋藤清人・川島大介・大塚健三. 細胞死に伴う熱ショック蛋白質の誘導および放出について. 2005年7月. 第6回北陸高温度療法研究会第21回東海ハイパーサーミア懇話会合同研究会および講習会(名古屋). 細胞死に伴う熱ショック蛋白質の誘導および放出について発表した。

大塚健三・齋藤清人・川島大介. 分子シャペロン誘導剤の医学への応用. シンポジウム「熱ショックタンパク質 (HSP) 研究の最先端とその応用」. 2005年9月. 日本ハイパーサーミア学会第22回大会 (岡山). 分子シャペロン誘導剤および誘導補助剤についてまとめ, ペオニフロリンの抗腫瘍効果と抗老化効果について論じた.

大塚健三・戴 研・齋藤清人・川島大介. ペオニフロリンによるHSP誘導. 2005年9月. 日本ハイパーサーミア学会第22回大会 (岡山). ペオニフロリンによるHSP誘導能について報告した.

齋藤清人・今井律子・川島大介・大塚健三. 不可逆的な細胞死の過程における熱ショックタンパク質の発現増加および放出. 2005年9月. 日本ハイパーサーミア学会第22回大会 (岡山). 高濃度アクリルアミドは不可逆的な細胞死を引き起こし, その過程で熱ショックタンパク質が誘導され, 死んだ細胞からは熱ショックタンパク質が放出されることを報告した.

川島大介・齋藤清人・今井律子・大塚健三. カルベノキソロンによる熱ショック蛋白質誘導の再検討. 2005年9月. 日本ハイパーサーミア学会第22回大会 (岡山). カルベノキソロンによる熱ショック蛋白質誘導能について発表した.

大塚健三・齋藤清人・川島大介. 分子シャペロン誘導剤の抗老化・抗腫瘍効果. 2005年11月. 第10回臨床ストレス蛋白質研究会 (熊本). 分子シャペロン誘導剤の抗老化・抗腫瘍効果について発表した.

大塚健三・浅井みどり・川島泰介. がんの分子シャペロン療法. 2006年2月. 第8回癌治療増感研究シンポジウム (奈良). 分子シャペロンにより温度感受性変異細胞の機能が回復することを示した. また分子シャペロンは細胞外では免疫機能を活性化することができるので, これらの機能を用いることでがん治療に応用できる可能性について論じた.

大塚健三. 新規分子シャペロン誘導剤ペオニフロリンおよびその医学への応用. 2005年3-4月. ワークショップ「温熱医学, 熱ショックタンパク質, がん」(ベセスダ, ワシントンDC, アメリカ合衆国). 新規分子シャペロン誘導剤であるペオニフロリンについて述べ, その医学への応用について論じた.

(Kenzo Ohtsuka. A Novel Chaperone Inducer, paeonoflorin, and Its Medical Applications. March 31-April 3, 2005, Workshop on Thermal Medicine, Heat Shock Proteins and Cancer (Society for Thermal Medicine), Bethesda, Maryland, Washington DC, USA)

大塚健三. 分子シャペロン誘導剤のがん細胞増殖に対する効果. 2005年11月. 第1回アジア放射線研究会議, シンポジウム「Molecular targeting for cancer therapy: New aspect of experimental studies using radiation, hyperthermia and other modalities」. 分子シャペロン誘導剤の抗腫瘍効果について報告した.

(Kenzo Ohtsuka. Effects of molecular chaperone inducers on the tumor cell growth in vivo. November 15-17, 2005, The 1st Asian Congress of Radiation Research, Symposium "Molecular targeting for cancer therapy: New aspect of experimental studies using radiation, hyperthermia and other modalities", Hiroshima)

岡田鈺彦. 2005. アカデミア側からの最新状況解説 —糖質を活用したグリーンプラスチック—, 「最新のグリーンプラスチック材料技術と動向」, p.30-40, シーエムシー出版. セルロース, でんぷん, キチンなどの天然高分子を基盤としたグリーンプラスチックに関して, ここ2, 3年の学術雑誌に報告された論文のなかから基礎的研究をいくつか取り上げ, この分野の現状を解説した. すなわち, セルロースにつぐ産出量がありながらその有効利用が十分とはいえないキチン・キトサンを中心に, 溶解性改良の試み, ポリエステルなどの複合材料, 生医学用材料を指向したヒドロゲルやマイクロスフィアなどのほか, 糖質由来成分を活用し

た生分解性高分子材料の開発などについても紹介した。

青井啓悟・岡田鈺彦. 2005. デンドリマーの構造と機能, 「ナノマテリアルハンドブック」, 国武豊喜 監修, p.556-561, エヌ・ティー・エス出版. デンドリマーは数ナノメートルから数十ナノメートルにかけて, 精密なナノ構造を構築できるという点で, ナノマテリアルの基本的な素構造に位置づけられる. ここでは, 主としてその高次構造と特徴, 機能化に向けての表面やコアの分子設計, ナノカプセル, 分岐鎖の階層構造, 超分子デンドリマー, ハイブリッド化による機能拡張について解説し, 最後に期待される応用について展望した。

青井啓悟・岡田鈺彦. 2005. シュガーボール, 「糖鎖科学の新展開」, 谷口 直之, 伊藤幸成 監修, p.461-471, エヌ・ティー・エス出版. シュガーボールは, ナノサイズの球状分子であるデンドリマーの最外殻部に糖質を導入した高分子である. はじめに, 糖ラクトンや糖置換アミノ酸N-カルボキシ無水物とデンドリマー末端官能基との反応による合成法について解説した. ついで, ジーンデリバリーシステムへの応用に向けて, 糖ペプチドデンドリマーとプラスミドDNAとの複合化挙動について記した. 最後に, シュガーシリンドラーやハイブリッドシュガーボールなどの新規な関連化合物の合成とその性質について平易に記述した。

青井啓悟・岡田鈺彦. 2005. デンドリマーの合成, 「デンドリティック高分子」, 青井啓悟, 柿本雅明 監修, p.75-131, エヌ・ティー・エス出版. 規則正しい多分岐構造からなるデンドリマーの合成に関して, その基礎的な概念と代表的な合成法について詳しく解説した. すなわち, デンドリマーの基本的な合成法としてのDivergent法とConvergent法, 球状デンドリマーやハイブリッドデンドリマー, ブロックデンドリマーの合成と性質, さらに高機能・高性能化に向けての分子設計に至るまで, 豊富な文献に基づいて包括的に記述した。

岡田鈺彦・青井啓悟・横江牧人. 2005. 糖質ジオールを一成分とする生分解性高分子の合成. 高分子論文集 62:147-157. グルコースから容易に得られる1, 4:3, 6-ジアンヒドロ-D-グルシトールなど, 糖質由来のジオールを基盤にした生分解性高分子の合成についての筆者らの研究をまとめた. すなわち, 脂肪族ポリエステル, フラン環を有するポリエステル,  $\alpha$ -アミノ酸を組み込んだポリエステルアミド, ランダムおよび交互ポリカルボナートなどの合成法, ならびにこれらの生分解性の評価結果について総合的に記述した。

横江牧人・青井啓悟・岡田鈺彦. 2005. 再生可能な資源を基盤とする生分解性高分子. 第8報. J. Appl. Polym. Sci. 98:1679-1687. 1, 4:3, 6-ジアンヒドロヘキシトールを含むコポリカルボナートの環境中での分解および酵素分解. 2種の1, 4:3, 6-ジアンヒドロヘキシトールと種々のアルキレンジオールの組み合わせからなる14種類のコポリカルボナートを溶液重縮合法により合成した. 土中埋没試験および酵素分解試験によりそれらの生分解性を調べ, カルボナート結合周辺の幾何学的構造, 高分子鎖のマイクロ構造, 疎水性などの点から実験結果について考察した. (Makito Yokoe, Keigo Aoi, and Masahiko Okada. 2005. Biodegradable Polymers Based on Renewable Resources. VIII. Environmental and Enzymatic Degradability of Copolycarbonates Containing 1, 4:3, 6-Dianhydrohexitols. J. Appl. Polym. Sci. 98:1679-1687)

横江牧人・青井啓悟・岡田鈺彦. 2005. 再生可能な資源を基盤とする生分解性高分子. 第9報. 1, 4:3, 6-ジアンヒドロヘキシトールと側鎖に官能基を持つ酒石酸誘導体とからなるポリカルボナートの合成と分解挙動. J. Polym. Sci.:Part A:Polym. Chem. 43:3909-3919. 1, 4:3, 6-ジアンヒドロビス-O-(p-ニトロフェノキシカルボニル)ヘキシトールと2, 3-ジメチル-L-トレイトールまたは2, 3-O-イソプロピリデン-L-トレイトールを溶液重縮合させて, 対応する新規ポリカルボナートを合成した. これらの重合体および脱イソプロピリデン化によりヒドロキシル基を有する重合体について生分解性を評価した結果, 遊離のヒドロキシル基を側鎖に導入することにより生分解性が著しく増大することを明らかにした. (Makito Yokoe, Keigo Aoi,

and Masahiko Okada. 2005. Biodegradable Polymers Based on Renewable Resources. IX. Synthesis and Degradation Behavior of Polycarbonates Based on 1,4:3,6-Dianhydrohexitols and Tartaric Acid Derivatives with Pendant Functional Groups. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.* 43:3909-3919)

斉藤唯理亜・平井健一・片山秀昭・阿部敏浩・横江牧人・青井啓悟・岡田鈺彦. 2005. グルシトールを含むリチウム高分子電解質のイオン拡散機構. *Macromolecules* 38:6485-6491. 1, 4:3, 6-ジアンヒドロ-D-グルシトールと1, 6-ヘキサンジオールとからなるコポリカルボナート中でのリチウム塩の移動性を, 磁場勾配スピネコーNMRを用いて調べた. エコー強度変化の拡散時間依存性から, この系ではイオン種が制限拡散挙動を示すことが分かった. 一次元制限拡散モデルを用いたシミュレーション結果に基づいて, 制限拡散挙動を支配する因子について考察した.

(Yuria Saito, Kenichi Hirai, Hideaki Katayama, Toshihiro Abe, Makito Yokoe, Keigo Aoi, and Masahiko Okada. 2005. Ionic Diffusion Mechanism of Glucitol-Containing Lithium Polymer Electrolyte. *Macromolecules* 38:6485-6491)

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. 2005. 加熱食品モデル系でのアクリルアミドの生成に及ぼす糖質の影響. *J. Appl. Glycosci.* 52:219-224. 単糖, 二糖, 糖アルコール, でんぷんなど22種の糖質モデルとアスパラギンとの混合物を180°Cに加熱し, アクリルアミド (AA) の生成量の経時変化をLC/MS/MS法により追跡した. AAの生成量は加熱時間とともに増大し, 極大値を経て減少した. AA生成量の時間経過と使用した糖質の構造との関係から, 還元糖とアスパラギンとのMeillard反応以外にも, 糖質分解物が関与してAAを生成する経路があることを示唆した. (Kaname Tsutsumiuchi, Mariko Hibino, Mariko Kambe, Naoko Okajima, Masahiko Okada, Johji Miwa, and Hajime Taniguchi. 2005. Effect of Carbohydrates on Formation of Acrylamide in Cooked Food Models. *J. Appl. Glycosci.* 52:219-224)

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. 多糖に由来するアクリルアミドの生成. 2005年5月. 日本食品衛生学会第89回学術講演会 (於銀座プロッサム). コーンスターチ, セルロース, デキストラン, カードランをアスパラギンとともに180°Cに加熱し, アクリルアミド (AA) の生成量をLC/MS/MS法を用いて調べた. これらの多糖はほとんど還元性を示さないにもかかわらず, 還元糖を用いたときとほぼ同程度の量のAAを生成した. ただしAAの生成速度は小さい. AA濃度が比較的長時間保たれたことから, AAの分解が抑制されることも分かった. これらの結果から食品中でのAAの生成に関与する糖質として, 還元性の糖質のほかに, 多糖も考慮すべきであることを示唆した.

上地武伸・青井啓悟・中村力也・近藤忠雄・岡田鈺彦. アミノ酸誘導体で化学修飾したキチンとPHEMAとのブレンド. 2005年5月. 第54回高分子学会年次大会 (於パシフィコ横浜). 部分脱アセチル化キチンを高分子開始剤に用いてサルコシンNCAを開環重合させ, キチン-ポリサルコシングラフト共重合体を合成した. 得られたグラフト共重合体とポリ (メタクリル酸-2-ヒドロキシエチル) (PHEMA) との相溶性を, DSC, FTIR, TG測定などにより詳しく調べた. その結果, 相溶性は側鎖の導入率よりも, 側鎖の重合度による影響を受けやすいこと, 側鎖の重合度が30以上になると, PHEMAの混合率が30wt%以下では, 相分離が起こることなどがわかった.

堤内 要・石原嘉博・原 一将・岡田鈺彦. 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-グルコピラノースとの共重合. 2005年5月. 第54回高分子学会年次大会 (於パシフィコ横浜). イソブチルアルミニウム-ホ-アセチルアセトン系触媒を用いてトルエン中60°Cで標記の共重合を行った. 生成した共重合体は, 数平均分子量が約2万, 多分散度が1.5であり, グリコシド結合がほぼ100% $\beta$ 型に制御されていることが分かった.

横江牧人・青井啓悟・岡田鈺彦. 酒石酸を原料とした側鎖に官能基を有する分解性ポリカルボナートの設計. 2005年5月. 第54回高分子学会年次大会 (於パシフィコ横浜). 1, 4:3, 6-ジアンヒドロ-ビス-O- (p-ニトロフェノキシカルボニル) -D-グルシトールまたは同-D-マンニトールと, 2, 3-ジメチル-L-トレイトールまたは2, 3-O-イソプロピリデン-L-トレイトールとをスルホラン中で重縮合させて, 対応する新規ポリカルボナートを合成した. これらの重合体および脱イソプロピリデン化により得られたヒドロキシル基を有する重合体について, pH7.4のリン酸緩衝液中での加水分解を調べた結果, 遊離のヒドロキシル基を側鎖に導入することによって加水分解性が著しく増大することが分かった.

堤内 要・原 一将・石原嘉博・岡田鈺彦. 1, 3-アンヒドロ糖誘導体の共重合. 2005年9月. 第54回高分子討論会 (於山形大学). 1, 3-アンヒドロ-2, 4, 6-トリ-O-ベンジル-β-D-グルコピラノースと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) -β-D-グルコピラノースとの共重合を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トルエン中60℃で行った. 共重合の単量体反応性比の値からみてランダム共重合体が生成していることが分かった. 含水ジオキサン中, 硝酸二アンモニウムセリウムで処理することにより, 6位のみを選択的に脱保護した共重合体を定量的に得た.

堤内 要・日比野真理子・神戸真理子・岡嶋直子・三輪錠司・岡田鈺彦・谷口 肇. 食品中のアクリルアミドに対する多糖の影響. 2005年9月. 日本応用糖質科学会平成17年度大会 (於三重大学). コーンスターチ, セルロース, デキストラン, カードランをアスパラギンとともに180℃に加熱したときのアクリルアミド (AA) の生成を, LC/MS/MS法を用いて調べた. これらの多糖はほとんど還元性を示さないにもかかわらず, 還元糖を用いたときとほぼ程度のAAを生成した. ただしAAの生成速度は小さい. AA濃度が比較的長時間にわたって高い値に保たれたことから, AAの分解が抑制されることも分かった. これらの結果から食品中でのAAの生成に関与する糖質として, 還元性の糖質のほかに, 多糖も考慮すべきであることを示唆した.

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. 多糖および多糖誘導体を含む加熱食品モデルにおけるアクリルアミド生成. 2005年10月. 第10回高分子分析討論会 (於工学院大学新宿校舎). 加工食品中のアクリルアミド (AA) はアスパラギンと還元糖とのMaillard反応に由来することが知られているが, 加熱食品モデルを用いた我々の研究では, ほとんど還元性を持たない多糖を用いた場合でもAAが生成することが見出された. この知見はデンプン, セルロースから得られたものであるが, その他の多糖では検討されていなかったため, 本研究では新たにデキストラン, カードラン, キトサン, カルボキシメチルセルロース (CMセルロース) について検討した.

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. 加熱食品モデルのアクリルアミド生成に対する多糖の影響. 2005年10月. 日本食品衛生学会第90回学術講演会 (於大宮ソニックシティ). 多くの食品素材では, 多糖成分だけでなく, 単糖, オリゴ糖も含有していることから, 本研究では糖質として多糖とグルコースを含む食品モデルを用いてAAの生成挙動を調べた. 結果として, 多糖はAAの原料としてではなく, 生成したAAの保持に寄与することが示唆されたため, 加熱食品モデルからアスパラギン (Asn) を除き, AAを添加した実験を行い, 多糖によるAAの分解抑制効果についても検討した.

有賀豊彦・小田裕昭・関泰一郎・加藤久典・三浦豊・太田篤胤・金森弘志・荒井秀典・河田照雄・森山達哉・細野朗・道川誠・大石祐一・熊谷日登美. 2005年4月. 健康栄養学 (健康科学としての栄養生理化学). 皮膚の構造, 皮膚構成成分およびその代謝について概説した. また, これらの成分が, 摂食するタンパク質, ビタミン, ミネラルによってどのような影響を受けるのかについても概説した.

大石祐一. 2005年11月. 食餌大豆たん白質摂食のラット皮膚プロテオグリカンに与える影響の分子レベルでの解析. 大豆たん白質研究8巻. 大豆たん白質の食餌によって, ラットの皮膚におけるヒアルロン酸, プロ

テオグリカンといったグリコサミノグリカンがどのような影響を受けるのかについて検討した。その結果、大豆ペプチド食に含まれる大豆不溶性ペプチドは、プロテオグリカンの糖鎖mRNA量を多くする作用がある可能性があった。また、プロテオグリカンの代謝制御は、コアタン白質とヒアルロン酸合成酵素を含めた糖鎖関連酵素では異なっていると考えられた。

大石祐一. 2005年5月 (財) 不二たん白質研究振興財団第8回研究報告会要旨集 (於千里阪急ホテル). 食餌大豆たん白質摂食のラット皮膚のプロテオグリカンに与える影響の分子レベルでの解析. ラットにカゼイン食 (C群), 大豆たん白質食 (S群), 大豆ペプチド食 (SP群), 大豆可溶性ペプチド食 (SSP群) を1週間給餌させたところ, 細胞膜結合型プロテオグリカンであるシンデカン4の軸のmRNA量はC群と同様だったが, プロテオグリカンの糖鎖の修飾に重要な酵素mRNA量は, SSP群ではなく, C群と同様にSP群によって増加する傾向があった。

大石祐一・渡邊麻紀・渡邊加澄・山本麻祐子・小野衣里日・宮田 智・2005年8月. 第22回和漢医薬学会要旨集 (於品川区立総合区民会館「きゅりあん」). リュウガンニクエキスのラット皮膚ヒアルロン酸代謝に与える影響. リュウガンニクエキス摂食により, 皮膚ヒアルロン酸量が増加する傾向が認められ, その要因としてヒアルロン酸合成酵素 (Has2) mRNA量増加の関与が考えられた. Has2は主に真皮で発現している酵素であるので, リュウガンニクエキスは, 真皮ヒアルロン酸量を増加させることが考えられた. また, Has2 mRNA量だけでなく, 表皮のヒアルロン酸合成酵素やヒアルロン酸分解系に影響を与える可能性も考えられた。

関村利朗 (共著) 2005 「生物にみられるパターンとその起源」, (松下貢編) 東京大学出版会, 全195ページ. 非線形・非平衡現象の数理シリーズ全4巻 (監修: 三村昌泰) の第2巻. 内容は, バクテリアコロニーの多様性, チョウの羽のパターンと進化, 生物の表皮パターンの数理, 生物の形づくり, などからなり, それぞれの現象論とその数理モデルが紹介されている. 主に, 数理科学系, 物理系, 化学系, その他の理工系の学部学生, 大学院生や若手研究者が生物系にみられるパターンという身近な現象を学ぶ場合のテキストとして書かれている。

関村利朗 2005 蝶の翅のパターンと進化-実験と数理モデル-, 「生物にみられるパターンとその起源」 (松下貢編), 第2章, 東京大学出版会, pp.49-110. チョウの羽には2種類のパターンがある. 一つ目は鱗粉細胞の配列パターンで平行配列パターンと呼ばれている. もう一つはカラーパターン (色紋様) で, 数十から数百以上の色付きの鱗粉が作り出す一種のモザイクパターンである. この2種類のパターンについての実験結果と, それを基礎にした数理モデル及び解析結果について詳述した。

関村利朗 2006 カドミウム, 農薬のカイコのHSP70遺伝子発現への影響について. 中部大学応用生物学部紀要 第5巻, (印刷中) 中部大学バイオサイエンス研究センターのプロジェクト「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」における平成17年度のプロジェクト研究課題「昆虫を使った食品危害物質の評価」の結果をまとめたものである. 人工飼料中に含まれるカドミウム, 農薬 (オキシ銅, アセフェート) の影響によりカイコのHSP70遺伝子発現が増大することを分子レベルで確かめ, 危害物質評価材料としてカイコの若齢幼虫が使える可能性を示した内容になっている。

関村利朗 2006 「理論生物学入門」, 京大大学生態学研究センター共同利用事業 集中講義&セミナー報告, センターニュース91号, pp.7-8. 2005年12月19日-20日に, 京大大学生態学研究センターの助成を受けて行った集中講義「理論生物学入門」の報告書である. 場所は京大会館 (京都市左京区吉田河原町) で全国からさまざまな分野の大学院生を含む若手研究者57名 (定員50名) が参加した. 講義のレジュメは総数67ページか

らなる小冊子として同上研究センターに保管されている。

Sekimura, T. Pigmentation pattern formation in butterfly wings -Global patterns on fore- and hind-wings- ECMTB2005 European Conference on Mathematical and Theoretical Biology, Dresden, Germany, July, 18-22, 2005. 2005年7月18日-22日の間, ドイツ, ドレスデン, ドレスデン工科大学で開催された数理・理論生物学に関するヨーロッパ会議 (ECMTB2005) において「チョウの翅における色素紋様形成—前翅と後翅の紋様の関係について」と題して, 主に理論モデルを使った解析を基に最新の結果を含めて講演した。その英語原著論文は2006年中に Birkhäuser, Boston and Basel から出版予定となっている。

Sekimura, T. Pattern formation in butterfly wings -experiments and models-. Math Everywhere, Deterministic and Stochastic Modelling in Biomedicine, Economics and Industry, Milano, Italy, 4-6 September, 2005. 2005年9月4日-6日の間, イタリア, ミラノ, ミラノ大学で開催された国際会議: Math Everywhere において「チョウの翅のパターン形成—実験と理論モデル—」と題して講演を行った。チョウの翅には2種類のパターン: 鱗粉細胞の配列パターンとカラーパターン (色紋様) がある。この2種類のパターン形成機構について, それぞれ, 実験データを基礎にした数理モデルについて最新の解析結果と併せて総合解説を行った。その英語原著論文は2006年中に Springer, Verlag から出版される予定である。

Sekimura, T. Pattern formation in butterfly wings Mathematical Logics Behind Animal Markings, Nagoya University 21st COE Program, Nagoya, Japan, February 20-21, 2006. 2006年2月20日-21日の間, 名古屋大学21世紀COEプログラム「システム生命科学: 分子シグナル系の統合」公開シンポジウム「Mathematical Logics Behind Animal Markings」において, 「Pattern Formation in Butterfly Wings」と題してチョウの翅のパターン形成に関する世界の研究の最近の進展と現状について解説・講演した。

関村利朗 (代表)・竹内康博・梯正之・山村則男. 京大大学生態学研究センター共同利用事業「理論生物学入門」, 京大会館, 京都, 2005年12月19日-20日. この集中講義の目的の一つは, 上記の講師4名が, 全国の理論生物学を専攻している学生・研究者に対してだけでなく, 他の専門分野 (例えば, 数理情報系・物理系・工学系・医学系, また文系) の学生・研究者にも, 幅広く理論生物学が取り扱っている多様な生物現象とその研究方法についての基礎的事項を短期間に紹介し, 受講者がそれぞれの研究等に生かす一つの契機を提供することであった。そのため, 各講師は講義のための十分なレジュメを準備し, 結果的に「理論生物学入門」と題する基礎事項から応用研究までを含む約60ページからなる冊子ができあがり, それを基に短期間であったが基礎から応用まで丁寧な講義を行うことができた。なお, その冊子は受講者全員 (56名) に一部ずつ配布された。また, 報告書の添付資料として一冊が京大大学生態学研究センターに保管されている。

Takefumi Hamaki, Motomasa Suzuki, Ryosuke Fudou, Yasuko Jojima, Takayuki Kajiur, Akir, Tabuchi, Kikuo Sen and Hiroshiro Shibai: Isolation of Novel Bacteria and Actinomycetes Using Soil-Extract Agar Medium. Journal of Bioscience and Bioengineering, 99 (5), 485-492 (2005).

高村基治 中部大学応用生物学部食品栄養科学科・開設セミナー「現代の食を考える」平成17年10月13日 中部大学鶴舞キャンパス 食の自給率～日本農業の問題点, 食生活の実態～食品製造業の位置付け, そして食品供給システムにおけるそれぞれの役割について解説した。

高村基治・堤内 要・神戸真理子・岡嶋直子・谷口 肇. 食の安全プロジェクト平成17年度成果報告, 「加熱食品モデル中のアクリルアミド生成に及ぼすオカラセルロースの影響」, 「オカラ」よりセルロースを精製し, アスパラギン, アルブミン, 塩化ナトリウムから成る食品モデルを用い, 加熱時間とアクリルアミド生成量との関係を調べた。セルロースはアスパラギンとの加熱下において還元糖 (グルコース) に比べ, 時間

的に2倍から6倍の時間を要してアクリルアミドを生成することを明らかにした。

長屋祐一・梅崎輝尚・松井昭博・谷山鉄郎. 水稻の光合成速度に及ぼす二酸化硫黄の影響の品種間差異 日本作物学会記事 99-102 (2004) 水稻14品種を供試し、止葉の光合成速度に及ぼす二酸化硫黄  $1.0 \mu\text{LL}^{-1}$  15分間処理の影響について品種間比較を行った。1909年以前の4品種を旧品種群、1945年以降の10品種区別して両者を比較すると葉色には有意差はみられないが、旧品種群の光合成阻害率は新品種群より有意に高かった。

近藤有成・谷山鉄郎. 三重県木曾岬排水路の水質実態調査と汚濁の原因. 2005年7月. 日本環境学会第31回研究発表会 (於 北海学園大学) 三重県木曾岬町の排水路の水質汚染は、その原因が不明であった。水質調査に関する24項目について分析検討の結果、田畑からの化学肥料成分、地下水からの無機塩類の流入などが汚染源であり、さらに、排水の停滞によるヘドロの堆積により水質汚濁が、さらに悪化することによることを検討した。

鹿野純司・小田奈津恵・谷山鉄郎. 0.4ppmのカドミウムを含む豊明市生ゴミ堆肥を用いたトマト有機栽培と葉・根・果実へのカドミウムの吸収分布. 2005年7月. 日本環境学会第31回研究発表会 (於 北海学園大学). 生ゴミ堆肥中のカドミウムの吸収は根に0.23ppm, 葉に0.16ppm, 茎に0.13ppm, 果実には0.01ppmと分布して、可食部の果実には最も少なく分析限界値の0.02ppm以下となり、食べても安全であることが確認された。

持地信雄・山下牧子・谷山鉄郎. 日本稲 (Japonica) を用いた地球温暖化を予測した高温条件下での栄養および生殖成長への影響. 2005年7月 日本環境学会第31回研究発表会 (於 北海学園大学). 人工気象装置 (小糸トン) を利用して水稻品種コシヒカリに対して気温 $30^{\circ}\text{C}$ 処理では、生育収量に影響はなかったが、登熟歩合で見ると、 $33^{\circ}\text{C}$ で1%,  $34^{\circ}\text{C}$ で0.5%,  $35^{\circ}\text{C}$ では0%と著しい影響がでることが明らかになった。従って温暖化で日本の主食としての米生産に影響がでるものと言えよう。

長屋祐一・梅崎輝尚・谷山鉄郎・倉田丈士. 水稻の収量に及ぼす貝殻の影響と貝殻の循環の意義. 2005年7月 日本環境学会第31回研究発表会 (於 北海学園大学) 貝殻の一部は土壌改良材やアスファルトなどに利用されている。本実験はホタテ貝の貝殻をカルシウムを多量に含んだ土壌改良材として水稻栽培に利用して低投入持続可能な水稻栽培に利用することが可能であることが判った。

小川浩介・鈴木彩・谷山鉄郎. 酸性雨に含まれる硫酸、硝酸および塩酸がダイズの根粒、生育および収量に与える影響. 2005年7月 日本環境学会第31回研究発表会 (於: 北海学園大学). ダイズなどのマメ科作物は根粒の窒素固定に依存して生育することから、他の作物に比較して化学肥料の投入量を減らすことができる。酸性雨の成分によって根粒の窒素固定に影響することを明らかにした。

梅村麻希・寺井久慈・八木明彦. 2005. 干潟における地球温暖化ガスの発生—メタン生成とその挙動—。水処理技術46巻12号 p.565-574. 汽水域の干潟底泥において、温暖化ガスとしてのメタン発生量を見積もるために、名古屋市藤前干潟で干潮前後の干潟間隙水を採取して溶存メタン濃度を測定した。その結果、泥質干潟の表層で干潮前に高いメタン濃度 ( $30\text{--}50 \mu\text{l/l}$ ) が干潮後に低下する ( $<10 \mu\text{l/l}$ ) こともあるが、通常はメタン濃度は低く ( $<5 \mu\text{l/l}$ ) 干潮前後の変化は少ないことが明らかとなった。

寺井久慈. 2006. これで大丈夫か? 中部空港—事後調査を中心に— 環境アセスメント学会誌 4巻1号 p.21-26. 伊勢湾の常滑沖に中部国際空港建設のために580haの空港島および130haの前島の埋立てが行われ、この埋立てが周辺海域に及ぼす影響について環境影響評価の事後調査が行われている。これに対して現場の

漁業者からの要請により、2002年より独自に底質および底生動物を中心とした周辺海域の環境変化を調査し、結果の対比により事後調査の問題点を指摘した。

中野志穂・寺井久慈. 2005年9月. 花卉植物の水耕栽培による工場廃水の水質浄化に関する研究. 日本陸水学会 第70回大会 (大阪教育大学) 難分解性の有機物を含む製紙工場廃水を植物の水耕栽培を用いて浄化することを試み、有機物指標としてのCOD, 栄養塩として無機態N, P, およびT-N, T-Pなどの除去量を調べた. その結果、用いた6種の植物の中ではウインターコスモスが最も高い栄養塩除去率を示した. また、同じキク科植物のマリーゴールドを用いて有機物の分子量画分の変化を調べた結果、100Kダルトン以上の高分子画分が減少し、30Kダルトン以下の低分子画分が増加していることが明らかになり、植物体に付着する微生物群集の関与が示唆された。

稲垣聡・平沢太郎・寺井久慈. 2005年9月. 多孔質光触媒体による有機物分解. 日本陸水学会 第70回大会 (大阪教育大学) 製紙工場廃水が放流されている河川水を採取し、多孔質光触媒体をアクリル製円筒に充填して紫外線を照射する光触媒反応槽に入れて2日間のバッチ処理を行なった. 多孔質光触媒体の有無、紫外線照射の有無による懸濁態 (POC) および溶存態 (DOC) 有機炭素の分解過程を追跡した. その結果、多孔質光触媒体に紫外線照射した場合にPOCは15ppmから2ppmまで、DOCは33ppmから24ppmまで低下した. 紫外線照射の有無により減少速度が異なることから多孔質光触媒が難分解性の有機物除去に効果があることが示された。

諸井国郎・寺井久慈. 2006年3月 真菌類を用いた落葉分解によるフミン質形成の研究. 日本陸水学会東海支部会第8回研究発表会 (郡上八幡 せせらぎ街道の宿たかお) 森林から流出する溶存有機物 (DOC) 中のフルボ酸の生成過程を解明することを目的として、落葉から単離した真菌類を滅菌した落葉に接種して培養し、三次元蛍光スペクトルによりフルボ酸の定量を試みた. 釧路湿原の水試料から精製したフルボ酸を標準試料として、朴葉とそれ以外の落葉 (混合葉) においてフルボ酸量を比較した. その結果混合葉では初期値が朴葉の2~3倍高く、朴葉では菌種 (*Fusarium* および *Curvarularia* 属) によりフルボ酸が増加することが示された。

岡田直己・後藤寛章・林 愛・寺井久慈. 2006年3月 恵那キャンパスの湿地と溪流における水質の特徴と季節変化. 日本陸水学会東海支部会第8回研究発表会 (郡上八幡 せせらぎ街道の宿たかお). 中部大学の恵那キャンパスに存在する小規模湿地と溪流の水質を2年間調査し、その特徴と季節変化を解析した. 2004年は9月の台風直後の調査で溪流のpHが顕著に低下し、電気伝導度 (EC) が顕著に増加したが、2005年は年間を通じてpH, ECとも安定していた. 溶存有機物 (DOC) は湿地が溪流より高く、地温と相関があり夏季に高くなること、溪流のpHやNa<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, DOCなどにおいて北斜面と西斜面の地域差があることを示した。

村上哲生・寺井久慈. 2006年3月 チベット高山湖の陸水学. 日本陸水学会東海支部会第8回研究発表会 (郡上八幡 せせらぎ街道の宿たかお). 2004年9月にチベットの標高5000mに存在するプマ・ユムツォ湖の調査を行なった結果について、気象、水収支、湖盆形態、水温・pH・電気伝導度・溶存酸素、光照度などの鉛直分布、クロロフィル量と一次生産活性などを中心に報告した. 特徴的なことは透明度が高く、水深40メートル程度の水底でもシャジクモなど沈水植物が生育していたこと、顕著な水温躍層が20-30mにあるにもかかわらず溶存酸素が表層から底層までほぼ均一であったことなどである。

宗宮麗・善家由佳・松浦祐一郎・寺井久慈. 2006年3月 藤前干潟に生息するヤマトシジミ及びオキシジミによる水質浄化機能の検討. 日本陸水学会東海支部会第8回研究発表会 (郡上八幡 せせらぎ街道の宿たかお). 藤前干潟に生息する二枚貝のヤマトシジミとオキシジミを用いて、培養した植物プランクトンを摂食させ、個体密度や明暗条件、砂質の有無などの条件でろ過速度の違いを比較して浄化機能を検討した. その

結果、個体当りではオキシジミがヤマトシジミの2倍程度、重量1g当りではヤマトシジミがオキシジミの1.5倍程度のろ過速度を示した。また、個体密度や砂質の有無によるろ過速度の違いは認められなかったが、ヤマトシジミは暗条件でオキシジミは明条件でろ過速度が大きいことが示された。

中野志穂・寺井久慈. 2006年3月 工場廃水中の難溶解性有機物のバクテリアによる分解過程. 日本陸水学会東海支部会第8回研究発表会 (郡上八幡 せせらぎ街道の宿たかお). 製紙工場廃水中に含まれる難分解性溶存有機物を分解できる菌を検索し分解過程を分析することを目的として、廃水から単離した10株以上の菌株をろ過除菌した廃水に植え付け、27°Cで静置または振とう培養した。濁度、pH、CODの変化と3次元蛍光スペクトルでフルボ酸様物質の変化を追跡した結果、CODを増加させる菌と減少させる菌があり、CODを増加させる菌はフルボ酸様物質と同様の3次元スペクトルを増加させる傾向があることが認められた。

稲垣聡・平沢太郎・寺井久慈. 2006年3月 工場廃水のPOCおよびDOC除去に対する光触媒の効果. 日本陸水学会東海支部会第8回研究発表会 (郡上八幡 せせらぎ街道の宿たかお). 製紙工場廃水中の懸濁態有機物 (POC) と溶存態有機物 (DOC) に対する光触媒の分解除去効果について、光触媒担体の有無、紫外線の有無、空気または窒素ガスの通気などの条件で検討した。その結果、通気のみの場合にはPOCが20%減少するがDOCは若干増加すること、光触媒担体のみの場合には担体への吸着によりPOCが20%、DOCが70%減少すること、紫外線により光触媒作用を働かせる (窒素ガス通気) とPOCが30%、DOCが90%除去されること、これを空気通気した場合にはPOCが40%、DOCが90%以上除去されることが示された。光触媒による製紙工場排水中の有機物除去効果は明らかで、その効果を酸素が促進することも解明された。

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. 2005. 加熱食品モデル中のアクリルアミド生成に及ぼす糖質の影響. *Journal of Applied Glycoscience*. 52 (3): 219-224. 加工食品に存在するアクリルアミド (AA) は還元糖とアスパラギンとの Maillard 反応によって生成するとされているが、AA生成に及ぼす糖質の影響はまだ7種類しか調べられていなかったため、単糖や二糖、そして糖アルコールなど22種類の糖質を用いた食品モデルによる検討を行った。糖質としてグルコースを用いた実験では加熱時間15分でAA量が最大値を示し、30分でその3分の1以下となる挙動が認められた。この挙動はpH3-8.5で変化なく、また単糖や二糖を通じて同じであった。AA量はアルドースとケトースの違いに大きく影響され、還元性の有無による変化は比較的小さいものであった。糖アルコールからの生成量はグルコースの場合と比較して10分の1ほどと少ないものの、いずれの試料からもAAが確認された。また、デンプン、シクロデキストリンを用いた場合は、15分過ぎからAA量が増加し始め、約50分後にグルコースの最大値とほぼ同じ水準となり、その後、50分間以上高いAA値を持続するという挙動を示した。本研究で得られた知見は還元糖とAsnとの Maillard 反応では説明できない点がいくつかあるため、グルコースの実験系における糖質とアスパラギンの経時変化も測定した。その結果、糖質の分解生成物が関与するAA生成経路の存在が示唆された。

Kaname Tsutsumiuchi, Mariko Hibino, Mariko Kambe, Naoko Okajima, Masahiko Okada, Johji Miwa and Hajime Taniguchi. 2005. Effect of Carbohydrates on Formation of Acrylamide in Cooked Food Models. *Journal of Applied Glycoscience* 52 (3): 219-224.

堤内 要. 2005. 加工食品中のアクリルアミドモノマーの低減化法について. *食品衛生学雑誌*. 46 (6): J-335-J-337. 食品を加熱調理する際にアクリルアミドモノマー (AA) が生成する事実が発表された後、アスパラギンと還元糖との Maillard 反応、即ち褐変反応がAAの生成機構であると報告され、この知見をもとに今まで様々なAA低減化法が検討された。既に食品や医療での応用を目指した Maillard 反応の抑制法がいくつか存在していたため、初期に提案された方法はそれらの範疇に収まるものであったが、次第にアスパラギンの関与を低減化する方法が報告されるようになってきた。本稿では食品中のAAに関する学術論文および特許の中から、AA低減化法についての知見をまとめ、加熱前、加熱中、加熱後といった各段階に分けて紹介した。

磯村和則・長谷川浩一・三輪さつき・堤内 要・谷口 肇・三輪錠司. 2006. 線虫 *C.elegans* におけるアクリルアミド作用のプロテオーム解析. 平成17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. 4:印刷中. アクリルアミドは, エレガンスの寿命に対し, 0.5ug/mLという超微量でも大きく影響するが, 中濃度 (500ug/mL~5mg/mL) で消滅する, しかし500mg/mLになるとまた大きな影響を与える, 二相性反応を示す. マイクロアレイを使用した実験で, 超低濃度と高濃度で発現に影響を受ける遺伝子の種類は大きく違うことが判明している. 今回はタンパク質レベルでの遺伝子発現を検証するために, プロテオーム解析をおこなった. エレガンスを24あるいは48時間処理したのち, タンパク質を抽出し2次元電気泳動で分離した. 無処理の対照群に比べ有意に増加していたタンパク質が12個見つかったので, MALDI-TOF/MSにかけてタンパク質の同定をおこなった. 現在までに同定できた3個はいずれも毒消しタンパクといわれるグルタチオンS-トランスフェラーゼであった.

Kazunori Isomura, Koichi Hasegawa, Satsuki Miwa, Kaname Tsutsumiuchi, Hajime Taniguchi and Johji Miwa. 2006. Proteomic dissection of acrylamide actions in *Caenorhabditis elegans*. The Annual Report of the High-Tech Research Center Establishment Project in Chubu University: in press.

堤内 要. 2006. 学生ノートパソコンを活用した授業の実践報告—応用生物学部『有機化学』の場合. 中部大学教育研究. 5:印刷中. 平成16年度入学生から全学生がノートパソコンを所有することとなり, Web環境を利用したインタラクティブな授業を行うことができるようになった. 有効に活用すれば学生にとっても教員にとっても有用なものと思われるが, コンテンツを作成するにはかなりの時間と労力を必要とする. 具体的にどのような利点, 問題点, 課題があるのかを調べるため, 筆者は本年度秋学期の『有機化学』の授業において学生ノートパソコンを活用した授業を実践した.

吉川貴裕・今枝健一・糸見義雄・堤内 要・山口作太郎・河辺伸二・藤原修・池田哲夫. (1-クロロエチル)ベンゼンの求核置換反応への円偏波マイクロ波照射効果. 2005年11月. 第5回マイクロ波効果・応用国際シンポジウム (産業技術総合研究所筑波センター, 茨城県). ヘリカルアンテナを使って右回りと左回りの波つまり円偏波マイクロ波を発振することが出来る. 右旋・左旋の円偏波マイクロ波と不斉化合物のR体・S体はどちらも鏡像異性体の関係にあり, そのことから吸収の差が生じるものと考えた. 本研究においては, 不斉化合物である (1-クロロエチル)ベンゼンのラセミ体に各種アルコールが求核置換する反応を取り上げ, 反応に及ぼす円偏波マイクロ波の影響を調べた. その結果, ヘリカルアンテナにより発信した円偏波マイクロ波が反応に影響を及ぼし得ること, さらに円偏波マイクロ波と不斉化合物との間に相互作用がある可能性があることが示唆された.

Takahiro Yoshikawa, Ken-ichi Imaeda, Yoshio Itomi, Kaname Tsutsumiuchi, Satarou Yamaguchi, Shinji Kawabe Osamu Fujiwara and Tetsuo Ikeda. 2005.11. Circularly polarized microwave irradiation effect on nucleophilic substitution reaction of (1-chloroethyl) benzene with alcohols. The Fifth Symposium on Microwave Science and Its Application to Related Fields. AIST (Tsukuba, Japan).

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. 多糖および多糖誘導体を含む加熱食品モデルにおけるアクリルアミド生成. 2005年10月. 第10回高分子分析討論会 (工学院大学新宿校舎, 東京都). 加工食品中のアクリルアミド (AA) はアスパラギンと還元糖との Maillard 反応に由来することが知られているが, 加熱食品モデルを用いた我々の研究では, ほとんど還元性を持たない多糖を用いた場合でもAAが生成することが見出された. この知見はデンプン, セルロースから得られたものであるが, その他の多糖では検討されていなかったため, 本研究では新たにデキストラン, カードラン, キトサン, カルボキシメチルセルロース (CMセルロース) について検討した.

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. 加熱食品モデルのアクリルアミド生成に対する多糖の影響. 2005年10月. 日本食品衛生学会第90回学術講演会 (大宮ソニックシテ

イ, さいたま市). 我々はこれまでにアクリルアミド (AA) の生成に及ぼす糖質の影響について加熱食品モデルを用いて研究し, 単糖, オリゴ糖だけでなく, 還元性がほとんど無視できる多糖からもAAが生成することを見出している. しかし, 多くの食品素材では, 多糖成分だけでなく, 単糖, オリゴ糖も含有していることから, 本研究では糖質として多糖とグルコースを含む食品モデルを用いてAAの生成挙動を調べた. 結果として, 多糖はAAの原料としてではなく, 生成したAAの保持に寄与することが示唆されたため, 加熱食品モデルからアスパラギン (Asn) を除き, AAを添加した実験を行い, 多糖によるAAの分解抑制効果についても検討した.

**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. 食品中アクリルアミドに対する多糖の影響. 2005年9月. 日本応用糖質科学会平成17年度大会 (三重大学, 三重県). 食の安全を重視する現代において, 加熱に伴うアクリルアミド (AA) の生成は大きな問題である. その生成機構は加熱に伴う還元糖とアスパラギンとのMaillard反応であるとされているが, 多くの食品では還元性を示す単糖やオリゴ糖よりも澱粉や食物繊維といった多糖のほうが多く含まれており, これらの糖質が食品中のAA生成にどう影響するかは調べられていない. そこで本研究では食品モデルを用いてAA生成に及ぼすコーンスターチ, セルロース, デキストラン, カードランの影響を調べた.

**堤内 要**・原 一将・石原嘉博・岡田鉦彦. 2005年9月. 1, 3-アンヒドロ糖誘導体の共重合. 第54回高分子討論会 (山形大学, 山形県). 本研究では, 分岐型(1→3)- $\beta$ -D-グルカンの化学合成を目的として1, 3-アンヒドロ-2, 4, 6-トリ-O-ベンジル- $\beta$ -D-グルコピラノースと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-グルコピラノースとの共重合体を得るとともに, そのモノマー反応性比について調べ, 2つのモノマーがランダムに反応していることを確認した. さらに硝酸二アンモニウムセリウムを用いてp-メトキシフェニル基の選択的脱保護を行い, 部分的に水酸基を有する2, 4, 6-トリ-O-ベンジル-(1→3)- $\beta$ -D-グルコピラナンを合成することができた.

長谷川浩一・三輪さつき・堤内 要・谷口 肇・三輪錠司. 2005. *C. elegans*におけるアクリルアミド作用のゲノムとプロテオーム解析. 15th International *C. elegans* Conference (University of California, Los Angeles, California, USA).

2002年4月, スウェーデン国立食品局はアクリルアミドに関する衝撃的な報告を発表した. デンプン質の多い食品をフライにしたり焼いたりすると極めて高濃度のアクリルアミドが生成されるというのだ. こうした報告を受け, モデル生物として多くの成果をあげている線虫 *Caenorhabditis elegans* を個体丸ごと使って毒性のオミックス研究 (ゲノミックスとプロテオミックスを含めた研究) を始めた. 生殖能 (親と子の代での), 運動能, 成長速度, 寿命を指標としてアクリルアミドの影響を評価した. 寿命以外の指標では, 50 mL以下の影響は検出できなかったが, 寿命では0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  という超微量濃度でも約18%減少するという大きな影響がみられた. さらに面白いことに, この影響は50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  まで続くが, その濃度からもう少し上がって500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  から50mg/mLの範囲では寿命の短縮はみられなくなった. 濃度がさらに上がって, 500mg/mLではまた寿命が短縮した. このような二相性反応の分子メカニズムを理解するために, ゲノム解析をしたところ, 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  と500mg/mLとでは発現する遺伝子の種類は大きく異なっていたので, 同じ寿命短縮でも異なるメカニズムが影響していることが判明した. まず高濃度で発現し, 他の動物と発現パターンを共有するGST遺伝子などのプロテオーム解析を開始した.

Koichi Hasegawa, Satsuki Miwa, Kaname Tsutsumiuchi, Hajime Taniguchi and Johji Miwa. 2005. Genomic and proteomic dissection of acrylamide actions in *C. elegans*. 15th International *C. elegans* Conference. University of California, Los Angeles (California, USA).

**堤内 要**・石原嘉博・原 一将・岡田鉦彦. 2005年5月. 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

コピラノースとの共重合. 第54回高分子学会年次大会 (パシフィコ横浜, 横浜市). 我々は既に6位に選択的除去可能な保護基を導入した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)-b-D-グルコピラノース (1) の合成と, トリイソブチルアルミニウム-水-アセチルアセトン (1:0.4:0.8) 触媒を用いた1の単独重合を達成している. 本研究では, 分岐多糖の化学合成を目的として, 1, 3-アンヒドロ-2, 4, 6-トリ-O-ベンジル-b-D-グルコピラノースと1との共重合を検討し, グリコシド結合がb型に規制された共重合体を得た.

**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. 2005年5月. 多糖に由来するアクリルアミドの生成. 日本食品衛生学会第89回学術講演会 (銀座プロッサム, 東京都). ジャガイモなどの食材を高温で加熱するとアクリルアミド (AA) が生成する. そのメカニズムはアスパラギン (Asn) と還元糖との Maillard 反応であると報告されているが, 食品に含まれる糖質は, 単糖やオリゴ糖よりも還元性がほとんど無視できる多糖, すなわちデンプンや食物繊維のほうが圧倒的に多い. 従って, 本研究では多糖に由来するAAの生成を検討すべく, 成分を単純化した加熱食品モデルを用いてAAおよびAsn量の変化を調べた. その結果, 多糖を用いた場合でもグルコースを用いた場合と同様の水準までAA濃度が上昇することがわかった. グルコースと異なる点は, AAの生成挙動が全体的に遅いことと, AA量が最大値を示した後も引き続き高い水準を維持する点であった.

**Woo JT, Kawatani M, Kato M, Shinki T, Yonezawa T, Kanoh N, Nakagawa H, Takami M, Lee KH, Stern PH, Nagai K, Osada H.** Reveromycin A, an agent for osteoporosis, inhibits bone resorption by inducing apoptosis specifically in osteoclasts. 2006. リベロマイシンAは破骨細胞に選択的に作用し, アポトーシスを誘導する. 骨の器官培養や卵巣摘出の骨粗鬆症モデルマウスにおいて骨量減少を抑制する. Proc Natl Acad Sci U S A. In press.

**Notoya M, Nishimura H, Woo JT, Nagai K, Ishihara Y, Hagiwara H.** Curcumin inhibits the proliferation and mineralization of cultured osteoblasts. 2006. クルクミンは, 骨芽細胞の増殖と石灰化を阻害することを見出した. クルクミンのこの効果は, P21 mRNA発現レベルの低下によると考えられる. Eur J Pharmacol. 534, 55-62.

**Woo JT, Nakagawa H, Krecic AM, Nagai K, Hamilton AD, Sebt SM, Stern PH.** Inhibitory effects of mevastatin and a geranylgeranyl transferase I inhibitor (GGTI-2166) on mononuclear osteoclast formation induced by receptor activator of NF kappa B ligand (RANKL) or tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha). 2005. メバスタチンやゲラニルゲラニル転移酵素阻害剤は, RANKLあるいはTNFによるRAW264細胞から成熟破骨細胞への分化を阻害する. この結果は, 破骨細胞の分化にはゲラニルゲラニル化によって活性化される低分子Gタンパク質が関わることを示唆する. Biochem Pharmacol. 69, 87-95.

長谷川森一・白砂あゆみ・安 哉龍・李 鍵炯・米澤貴之・車 炳允・永井和夫・禹 濟泰. 破骨及び骨芽細胞におけるネオリグナンの影響. 2005. 9. サボテンからRANKLによる破骨細胞の初期分化を阻害するネオリグナンを見出した. ネオリグナンは, RANKLによる破骨細胞分化において必須因子であるNFAT発現を阻害した. 日本生薬学会大52回年会 (金沢)

川口緩子・照屋俊明・長谷川森一・米澤貴之・車 炳允・永井和夫・禹 濟泰. プロポリスに含まれる破骨細胞分化抑制物質の単離と精製. 2005. 9. プロポリスのエタノール抽出画分から破骨細胞の分化を阻害する4種類のフラボノイド (Dihydrokaempferol, Pinocembrin, Chrysin, Galangin) 成分を同定した. 日本生薬学会大52回年会 (金沢)

米澤貴之・長谷川森一・萩原啓実・永井和夫・禹 濟泰. 細胞分化に対する有機スズ化合物の作用の解析. 2005. 12. ANKLによって誘導されるNFATの発現を阻害することによって破骨細胞の初期分化を抑制する. 第28回日本分子生物学会年会 (福岡).

照屋俊明・長谷川森一・米澤貴之・車 炳允・永井和夫・禹 濟泰. サルカケミカン由来の破骨細胞初期分化阻害物質の単離と構造. 2006. 3. サルカケミカンのエタノール抽出物からRANKLによって誘導される破骨細胞の形成を阻害する4つの化合物 (toddaculin, toddanol, toddalolactone, Aculeatin) を見出した. 日本農芸化学会2006年度大会 (京都)

長谷川森一・照屋俊明・米澤貴之・車 炳允・永井和夫・禹 濟泰. ギンギシの根 (羊蹄根; *Rumex japonicus*) に含まれる破骨細胞分化抑制. 2006. 3. ギンギシの根から各種溶媒抽出し, 破骨細胞の分化を阻害する成分を検討した. ネポジンを含む4つの成分に破骨細胞の分化を阻害することを見出した. 日本農芸化学会2006年度大会 (京都)

米澤貴之・長谷川森一・白砂あゆみ・照屋俊明・車 炳允・永井和夫・禹 濟泰.  $\beta$ -カルボリンアルカロイドのひとつであるハルミンは破骨細胞分化を抑制し, 骨芽細胞分化を促進する. 2006. 3. ハルミンはRANKLによる誘導される破骨細胞の初期分化を阻害し, 多核破骨細胞の分化を抑制する. また骨芽細胞の分化マーカーであるアルカリホスファターゼの活性を促進し, 石灰化を促進する. 日本薬学会第126年会 (仙台)

伊藤 宏・早川和一・山本 敦・村瀬 篤・星野邦広・久野 稔・早川和美. 2005. セプタムフリーガスクロマトグラフ用インジェクターの開発. ガスクロマトグラフ装置の欠点は, 試料導入部にシリコンゴム製のセプタムを用いることにある. セプタム材質がブリーディングという現象によってクロマトグラム上に妨害ピークを生じさせたり, 導入部の高温化を不可能にしている. そこで, このセプタムを用いない試料導入部を開発した. 分析化学, 54, 221-226.

Kodama Shuji, Yamamoto Atsushi, Iio Reiko, Aizawa Sen-ichi, Nakagomi Kazuya, Hayakawa Kazuichi. 2005. Chiral ligand exchange micellar electrokinetic chromatography using borate anion as a central ion. ホウ素陰イオンを不斉中心としたピナンジオールとの配位子交換ミセル導電クロマトグラフィーによって, 1, 2-ジオール化合物の光学分割に成功した. この光学分割は, 鎖状のジオール化合物を配位子に用いると達成されなかった. また, ホウ素をアミノスルホン酸類でブロックすることによっても阻害された. Electrophoresis, 26, 3884-3889.

Kodama Shuji, Yamamoto Atsushi, Terashima Hiroyuki, Honda Yoshitaka, Taga Atsushi, Honda Susumu. 2005. A sulfonated capillary that gives reproducible migration times for capillary zone electrophoresis and micellar electrokinetic chromatography. キャピラリー電気泳動装置の最大の欠点は, 再現性の低さである. 原因はシラノール基によるフェーズドシリカ表面の電位が不安定で, 一定の電気浸透流が得られ難いことである. そこで, シリカ表面にスルホン基を導入したキャピラリーを調製した. これによって, 用いる緩衝液の液性に依存しない安定した電気浸透流が得られ, 泳動時間の再現性が飛躍的に向上した. Electrophoresis, 26, 4070-4078.

森 勝伸・埜田博史・山本 敦・塚本友康・池戸みかる・板橋英之・田中一彦. 2005. 二酸化チタン光触媒材料によるカルボン酸類の酸化分解の検討におけるイオン排除型イオンクロマトグラフィーの利用. 二酸化チタン光触媒材料によるカルボン酸の酸化分解とその分解生成物をモニタするためには, 芳香族カルボン酸を溶離液とした導電率検出イオン排除クロマトグラフィーが有用であることを見出した. 工業用水, 565,

47-53.

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インジェクターの開発(その4), 2005年5月, 第66回分析化学討論会(北見). セプタムフリーインジェクターは, キャリアガスとパージガスの二つのラインの間が中空で, そこを通してシリンジで試料を注入する方式である. 今回は, その間のガスの移動を抑える目的で導入したオリフィスの効果について報告した.

伊藤 宏・井上嘉則・塙 幹秀・山本 敦・村瀬 篤・早川和一. 水蒸気をモディファイアとして使用したガスクロマトグラフ, 2005年5月, 第66回分析化学討論会(北見). ガスクロマトグラフ装置において, 試料成分の分離選択性を変えようとした場合には, 分離カラムの交換が常識であった. それを, キャリアガス中に親和性を持ったモディファイアを導入することで, カラム選択性を変化させるのが今回の目的である.

伊藤 宏・井上嘉則・山本 敦・永井秀典・村瀬 篤・早川和一. 水蒸気をモディファイアとして使用したガスクロマトグラフ(その2), 2005年9月, 日本分析化学会第54年会(名古屋). 無極性のカラムは, キャリアガス中に水蒸気をモディファイアとして添加することによって, 中極性のカラムのような選択性を発現することを見い出した.

山本 敦・松井順子・小玉修嗣・寺島弘之・伊藤 宏・内山一寿. 光分解/電気伝導度検出HPLCによる有機ハロゲン化合物の選択検出, 2005年9月, 日本分析化学会第54年会(名古屋). POPsとして有害な有機ハロゲン化合物を, HPLCで高感度・高選択的に検出可能な系を構築した.

塚本友康・井上嘉則・上茶谷若・山本 敦. ポリマー系逆相型充填剤における基材および官能基構造と保持挙動, 2005年9月, 日本分析化学会第54年会(名古屋). 種々のモノマーを使ったポリマー充填剤に様々な官能基を導入したカラムを調製し, それぞれについてLCカラムとしての選択性を評価した.

伊藤 宏・早川和一・山本 敦・村瀬 篤・早川和美・星野邦広・久野 稔・井上嘉則. セプタムフリーGCインジェクターの開発(その5 システムの構築), 2005年9月, 日本分析化学会第54年会(名古屋). プロトタイプ型のセプタムフリーインジェクターでの評価を踏まえ, 実用タイプのインジェクターを構築した.

伊藤 宏・早川和一・山本 敦・村瀬 篤・早川和美・星野邦広・久野 稔・井上嘉則. セプタムフリーGCインジェクターの開発(その6 環境試料への応用), 2005年9月, 日本分析化学会第54年会(名古屋). 実用型のセプタムフリーインジェクターを使い, 多環芳香族化合物やベースオイルといった高沸点化合物の分析を試みた.

小玉修嗣・山本 敦・會澤宣一. ボロスピラン形成に基づく配位子交換キャピラリー電気泳動法におけるDL-パントテン酸のキラル分離メカニズム, 2005年9月, 日本分析化学会第54年会(名古屋). ホウ素を不斉中心としたDL-パントテン酸の光学分割において, NMRを使って中間錯体の構造解析を行なった.

山本 敦. 食品分析への技術展開(不斉光学検出器), 2005年11月, 第189回液体クロマトグラフィー研究懇談会(野田, 千葉). 食品分析において, 不斉光学検出器がどのように適用されているかについての基調講演.

塚本友康・森 勝伸・田中一彦・山本 敦. 酸化チタンを用いた有機カルボン酸における光触媒反応過程のイオンクロマトグラフィーによるモニタリング, 2005年12月, 第22回イオンクロマトグラフィー討論会(岐阜). 有機物の酸化分解除去のための光触媒としてのチタニアコートガラスビーズの評価を行なった.

Kodama Shuji, Yamamoto Atsushi, Aizawa Sen-ichi. Chiral ligand exchange capillary electrophoresis using borate anion as a central ion, Dec. 2005, PacificChem 2005 (Honolulu). 従来の遷移金属を不斉中心に用いた配位子交換法では一組のジアステレオマしか構築しないのに対し、ホウ酸を用いた場合には配位子としてのジオール化合物の構造に応じて二組のジアステレオマが構築されることが推定され、それぞれの熱安定性について考察した。

小玉修嗣・山下智富・健名智子・齊藤行雄・會澤宣一・多賀 淳・山本 敦. 還元性単糖のボロスピラン形成に基づくキラル分離, 2006年3月, 日本薬学会第126年会 (仙台). ホウ酸を不斉中心とした配位子交換キャピラリー電気泳動法によって, ガラクトース, フコースといった還元性単糖の光学分割に成功した。

山本 敦・蟹江政徳・小玉修嗣・坂本光徳. 紫外部対応波長可変型旋光度検出器, 2006年3月, 日本薬学会第126年会 (仙台). 従来の光学的に暗いFaraday旋光計に替わる, 光学的に明るい偏光度変調型の旋光度検出器を提案した。

山根恒夫・池田祐輔・永坂武寛・中野秀雄. 2005年4月. アミノ酸強化培地で42°Cにて培養した大腸菌から調製したS30抽出液を用いた無細胞蛋白質合成の促進. *Biotechnology Progress*, 21 (2). 大腸菌A19株を, Platt培地とPlatt培地にカザミノ酸を添加した培地で, 37°Cおよび42°Cにて回分培養した. 比増殖速度はカザミノ酸添加Platt培地で42°C培養したときが最も高かった (1.49 h<sup>-1</sup>). 37°Cおよび42°Cでカザミノ酸添加Platt培地で培養した菌体からS30抽出液を調製し, 37°CでCATの無細胞蛋白質合成を実施したところ, 42°Cで培養した場合, 合成された蛋白質はほとんど可溶性で, CATの触媒活性も増大した. p608~613 (Tsuneo Yamane, Yuuske Ikeda, Takehiro Nagasaka, Hideo Nakano, Enhanced cell-free protein synthesis using a S30 extract from *Escherichia coli* grown rapidly at 42°C in an amino acid enriched medium. *Biotechnology Progress*, 21 (2) :608-613)

山根恒夫. 有機溶媒中での生体触媒. *Handbook of Industrial Biocatalysis*, 第3章. 2005年7月. 有機溶媒中の酵素反応に関して, 酵素の再活性化, 酵素の純度, 酵素の安定性, 微水分 (結合水および自由水), 有機溶媒の特性 (疎水性, 誘電率, その他), などについて述べ, 続いてバイオリアクターシステムについて概説した. (Tsuneo Yamane, *Biocatalyses in Microaqueous Organic Media*. "Handbook of Industrial Biocatalysis" ed. by Ching T. Hou, Chap. 3 (p.3-1-p.16), CRC Press, Taylor & Francis, USA.)

児島孝明・武井義明・大塚美春・河原崎泰昌・山根恒夫・中野秀雄. エマルジョン中での磁性粒子上でのDNA1分子からのPCR増幅: 転写因子標的の高速スクリーニングへの応用. *Nucleic Acids Research*, 33:e15, 2005年10月. w/o乳化液中で形成される微少かつ安定な水滴中での固相一分子PCRという原理に基づいた磁性微粒子上の遺伝子ライブラリー作成法を開発し, これをGLOBE (genetic library on beads) と命名した. GLOBEは特定のDNA結合蛋白質 (転写因子など) が認識するDNA領域を全ゲノムに渡ってスキャンするのに有効である. フローサイトメトリーと連結して, *Paracoccus denitrificans* のPHA合成に関与する転写因子, PhaR, のゲノム上での結合領域を1200倍濃縮できた. (Takaaki Kojima, Yoshiaki Takei, Miharuru Ohtsuka, Yasuaki Kawarasaki, Tsuneo Yamane, Hideo Nakano. PCR amplification from single DNA molecules on magnetic beads in emulsion: application for high-throughput screening of transcription factor targets. *Nucleic Acids Research*, 33:e15:1-9)

山根恒夫・中野秀雄. ジスルフィド結合を有する蛋白質の無細胞系での合成: その蛋白質工学への応用. 第10回生物化学工学会 (台北, 台湾). 2005年6月. 従来の無細胞蛋白質合成系は還元状態であるため分子内にジスルフィド結合を有する蛋白質は活性のある状態では構成されないことを改良し, この改良系での蛋白質合成についての我々の成果を述べた. 実施例として細菌のリパーゼ, 放線菌のホスホリパーゼD, 白色腐朽

菌のマンガンパーオキシダーゼ及び人工抗体 (scFvとFab) の合成を紹介した。最後に、我々の開発した高速スクリーニング法である SIMPLEX 法の有効性を強調した。(Tsuneo Yamane and Hideo Nakano. Cell-free synthesis of proteins containing disulfide bonds and its Application to protein engineering, The 10th Conference on Biochemical Engineering, Taipei, Taiwan, May, 2005.)

児島孝明・武井義明・山根恒夫・中野秀雄. マイクロビーズ上での遺伝子ライブラリーを用いたDNA結合タンパク質の結合DNA領域のハイスループットスクリーニング法の開発. 2005年11月. エマルジョン中での1分子PCRにより、マイクロビーズ上でのDNAライブラリー、Genetic Library on Beads (略してGLOBE) を構築する技術を開発した。この技術を用いて、Paracoccus denitrificansの転写因子、PhaRの結合領域中心部をNx9でランダム化したDNAを鋳型として、全ゲノム上でのPhaR結合能をゲルシフトアッセイで確認し、塩基配列を調べた結果、3種類の結合配列が得られ、その内の1種類は元のPhaR結合領域に結合する配列であった。マイクロビーズ上での遺伝子ライブラリーを用いたDNA結合タンパク質の結合DNA領域のハイスループットスクリーニング法の開発、(日本生物工学会 2005年度大会、つくば市、平成17年11月15日)

ピヤティラウオン ウィーラ・岩崎雄吾・山根恒夫・中野秀雄. 光学的純度の高い2, 3-ジアシルグリセロールの酵素的合成. 2005年11月. 固定化 Rhizomucor miehei リパーゼによって、triacylglycerol (TAG) からの、光学純度の高い2, 3-diacylglycerolの調製を試みた。多量のエタノール (モル比31:1) を用いた troctanoylglycerolの25°Cでのエタノリシス反応により、生成した2, 3-dioctanoylglycerol (2, 3-DOG) の光学純度 (ee) は99%以上であった。生成物中の2, 3-DOG含量は61%であった。炭素鎖長のより長いTAGの場合、%eeは減少した。

(Weera Piyatheerawong, Yugo Iwasaki, Tsuneo Yamane, Hideo. Nakano. Enzymatic preparation of enantiomerically pure 2,3-diacylglycerol, 日本生物工学会 2005年度大会、つくば国際会議場、平成17年11月15日)

山中友美子・児島孝明・山根恒夫・中野秀雄. W/Oエマルジョン内での固相1分子PCR無細胞蛋白質合成系を用いた蛋白質間相互作用検出法の開発. 2005年11月. Water-in-oil (W/O) エマルジョン内でマイクロビーズを足場として行う SIMPLEX (Single-Molecule PCR linked in vitro Expressionの略称, DNA1分子を鋳型として増幅させる1分子PCRと無細胞蛋白質合成を組み合わせ、迅速に蛋白質ライブラリーの構築を行う手法) を新たに考案し、よりハイスループットな蛋白質間相互作用検出法の開発を目指した。(平成17年度日本生物工学会大会、つくば国際会議場、平成17年11月)。

神谷拓摩・池内暁紀・河原崎泰昌・中野秀雄・山根恒夫. 進化工学的手法を用いた出芽酵母キネトコア Dam1 複合体のサブユニット間相互作用領域の同定. 2005年11月. 酵母2ハイブリッド法を用いた相互作用蛋白質のランダム断片スクリーニング系と、進化光学的PCR法を用いた相互作用陽性断片群の断片長収斂を組み合わせ、相互作用ドメインを短時間に精密決定する手法を開発した。これを用いて、酵母キネトコア最外殻を構成する蛋白質複合体である Dam1 複合体の各サブユニット (計9) の他のサブユニットに対する相互作用ドメインを網羅的に決定した。(平成17年度日本生物工学会大会、つくば国際会議場、平成17年11月)。

岩崎雄吾・ピヤティラウオン ウィーラ・中野秀雄・山根恒夫. 構造脂質の酵素合成. 2005年11月. 種々の化学構造を持つ構造脂質の高純度酵素合成に関連して、1) 対称型構造脂質の合成、2) 非対称型構造脂質の合成、3) 非対称型構造脂質の光学純度、について縁者らのグループの研究成果をレビューした。(2005年11月. 平成17年度日本生物工学会大会、つくば国際会議場、平成17年11月)。