

[成果情報名] アレルギー性、抗アレルギー性一次評価用 DNA チップの開発と利用

[要約] 食品成分の抗アレルギー作用及びアレルギー性等を一次評価できる DNA チップの開発を行った。本 DNA チップを用いて、食品成分の炎症反応抑制効果及びマスト細胞活性化抑制効果等が評価できた。

[キーワード] アレルギー抑制、炎症抑制、DNA マイクロアレイ

[担当] 食総研・食品機能研究領域・機能性評価技術ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8041

[区分] 食品試験研究

[分類] 技術・普及

[背景・ねらい]

アレルギー及び関連する炎症性疾患を有する患者は国民の 30%にのぼると言われており、更なる増加が懸念されていることから、アレルギーの抑制、緩和効果のある食品の開発やアレルギー抑制機構の解明が期待されている。そこで、本研究では喘息や花粉症を始めとするアレルギー、炎症作用及び食品成分によるそれらの抑制効果を評価するための DNA チップを開発し、培養細胞や疾病モデル動物等に及ぼす食品成分のアレルギー抑制効果を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. アレルギーやそれに伴う炎症反応が起こると様々な遺伝子が発現して、それらの反応に関わるタンパク質（サイトカイン）を産生する。そこで、アレルギーや炎症に関与する約 200 遺伝子を選抜し、再現性に優れた繊維型 DNA チップに搭載して、アレルギー性、抗アレルギー性評価用 DNA チップ（アレルギーチップ ジェノパール[®] 三菱レイヨン(株)）を開発した（図 1 a）。
2. マクロファージの炎症反応は、アレルギー及び炎症性疾患に関与する。そこで、RAW264.7 マウスマクロファージ細胞にバクテリアのリポ多糖（LPS）を作用させて炎症反応を誘導した後、RAW264.7 細胞の RNA を抽出して蛍光標識し、DNA チップに結合させて、遺伝子発現を測定した（図 1 b）。
3. その結果、炎症反応に伴い、65 遺伝子の発現が蛍光強度で 3 倍以上に誘導されることが明らかになった。また、LPS と同時にニガウリ抽出物を添加することにより、これらの遺伝子発現は全て抑制され、ニガウリ抽出物が炎症抑制効果を示すことが明らかになった（図 2）。
4. 喘息における気道等の炎症を起こしている組織では、マスト細胞に近接する活性化 T 細胞の作用により、マスト細胞が活性化してアレルギーを重症化する。そこで、ヒト用 DNA チップを用いて、活性化 T 細胞膜で活性化した HMC-1 ヒトマスト細胞の遺伝子発現を測定した（図 3 a）。このとき活性化した HMC-1 細胞では 34 遺伝子の発現が誘導されたが、活性化 T 細胞膜と同時にフラボノイドを添加するとこれらの発現は抑制され、本フラボノイドが HMC-1 細胞活性化抑制効果を示すことが明らかになった。
5. 化粧品等の安全性試験において動物実験の代替法が検討されているが、皮膚刺激性試験においては、再構成ヒト表皮モデルを用いる試験が検討されている。そこで、再構成ヒト表皮モデルに刺激性物質として SDS を添加して培養し、ヒト用 DNA チップを用いて測定した結果、10 遺伝子の発現が誘導され、DNA チップを用いて皮膚モデルの刺激性が評価できることが示された（図 3 b）

[成果の活用面・留意点]

1. 開発した DNA チップはヒトや動物の培養細胞ばかりでなく、喘息モデルマウスの肺等、動物組織を用いる評価にも適している。その際は、適切な動物モデルの作成が必要である。

[具体的データ]

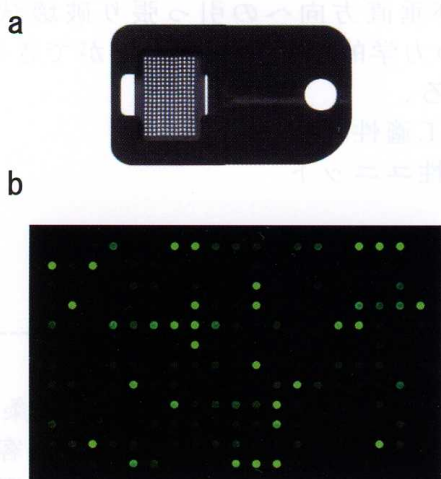


図1 アレルギー及び炎症に関する約200遺伝子を搭載した繊維型DNAチップ (a) とマウス用DNAチップで測定した画像 (b)

(b) RAW264.7細胞にバクテリアのリポ多糖(LPS)を添加して6時間培養した後、RAW264.7細胞のRNAを抽出し、その遺伝子発現をアレルギー性・抗アレルギー性評価用DNAチップにより測定した。

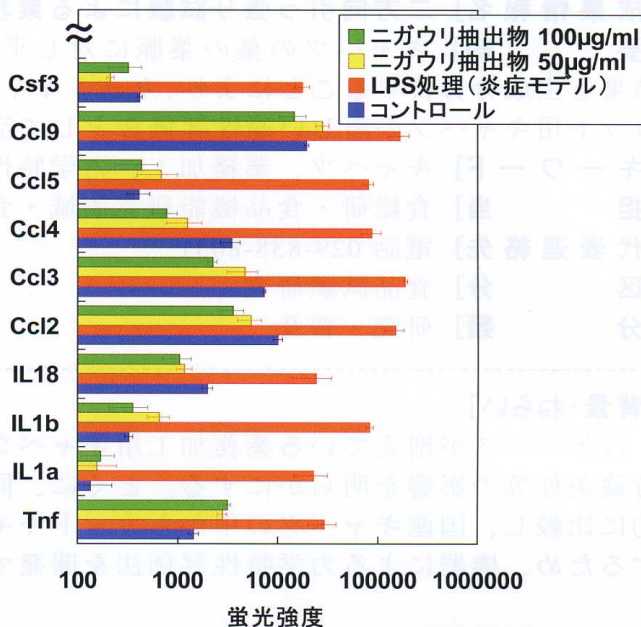
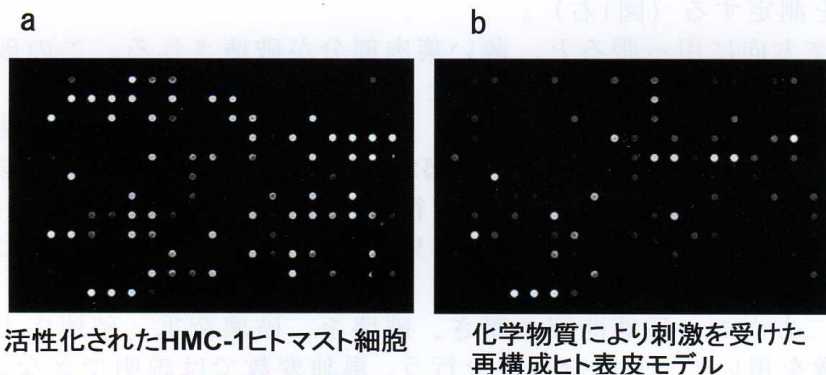


図1 ニガウリ抽出物がバクテリアのリポ多糖(LPS)によりRAW264.7マウスマクロファージ細胞に誘導される遺伝子発現に及ぼす影響

RAW264.7細胞にLPS及びニガウリ抽出液を添加して6時間培養した後、RAW264.7細胞の遺伝子発現をアレルギー性・抗アレルギー性評価用DNAチップにより測定した。



活性化されたHMC-1ヒトマスト細胞

化学物質により刺激を受けた再構成ヒト表皮モデル

図3 ヒト用DNAチップで測定した画像

(a) HMC-1ヒトマスト細胞にPMA(phorbol 12-myristate 13-acetate)で活性化させたJurkat T細胞の細胞膜を添加して16時間培養した後、HMC-1細胞の遺伝子発現を測定した。(b)再構成ヒト表皮モデルに刺激物質SDS(Sodium dodecyl sulfate)を添加して18時間培養した後、表皮モデルの遺伝子発現を測定した。

[その他]

研究課題名：農産物・食品の機能性評価技術の開発及び機能性の解明

課題 ID：312-e

予算区分：基盤、委託プロ(食品プロ)、その他の受託(三菱レイヨン)

研究期間：2006～2010年度

研究担当者：小堀真珠子、大池秀明、福島達伸(三菱レイヨン)、高橋弓子(三菱レイヨン)、永井寛治(三菱レイヨン)、丹羽誠(片倉チッカリン)

発表論文等：1) 小堀ら、「アレルギー性又は抗アレルギー性判定用プローブ」

特許出願2007-73890、実施許諾19年10月26日

2) Kobori et al. (2008) J. Agric. Food. Chem., 56(11), 4004-4011.

3) Niwa et al. (2009) Biol. Pharm. Bull. 32(2), 204-208.

[成果情報名] 二方向引っ張り試験による業務用カットキャベツの加工適性評価

[要 約] キャベツの葉の葉脈に対し平行及び垂直方向への引っ張り破壊試験結果を主成分分析することにより、カットキャベツの力学的特徴を示すことができる。カット用キャベツの新しい適性評価法として活用する。

[キーワード] キャベツ、業務加工、力学特性、加工適性、評価法

[担当] 食総研・食品機能研究領域・食品物性ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8031

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・普及

[背景・ねらい]

近年ニーズが増えている業務加工用キャベツの力学特性について、品種、栽培条件、貯蔵条件等の影響を明らかにする。とくに、同時入手が困難な試料間についても客観的に比較し、国産キャベツの中からカットキャベツへの加工適性に優れるものを選定するため、機器による力学特性評価法を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. キャベツの外側から数えて第五葉を用い、第二葉脈に対し平行と直交方向に短冊状(10mm×60mm)の試料片をそれぞれ10片程度調製する(図1左)。この試験片は、カットキャベツのモデルである。
2. 試料片の上下25mm部分をチャックで挟み、毎分250mmの等速で引っ張り、破壊するまでの荷重値を測定する(図1右)。
3. 第二葉脈に直交方向に引っ張ると、薄い葉肉部分が破壊される。この破壊力は、従来行われていた葉の貫入破壊試験結果とよく相関する(図2)。
4. 一方、第二葉脈に平行方向に引っ張ると、噛みごたえや筋っぽさ等と関係する葉脈を含む部位の破壊特性が評価できる。図3のように、平行方向の引張試験で得られる葉脈の力学特性は、直交方向の試験で得られる葉肉部よりも強度が高い。したがって、互いに相関しない両方向の試験結果を用いると、カットキャベツの力学特性をよりよく表現することができる。
5. 平行と直交の二方向の、破壊断面の厚さ、破壊歪、破壊荷重、破壊応力、弾性率という計10変数を用いて、主成分分析を行う。単独変数では説明できなかった試料の力学的な特徴が明らかにできる。
6. 一例として、カット加工用キャベツが不足する4~5月に、神奈川県で収穫された品種の比較を示す(図4)。5月に収穫できる寒玉キャベツは、4月収穫の寒玉よりも中間系・春系により近い特徴を示す。5月収穫の遺伝的に中間系の品種は、春系に近い品種と寒玉に近い品種に二分される。

[成果の活用面・留意点]

1. 本手法は、野菜試験研究者あるいは加工業者が、品種、栽培法、球の大きさや密度、貯蔵条件、収穫時期等が異なるキャベツの加工適性評価に使えるほか、レタス等の他の葉菜類にも応用可能である。
2. 本研究では加工業者の好む力学特性を指標としたため、消費者の好む栄養成分や味質については、別観点からの評価が必要である。主成分分析は、力学特性のみならず、化学成分値や官能評価点を加えた解析にも容易に応用できる。

[具体的データ]

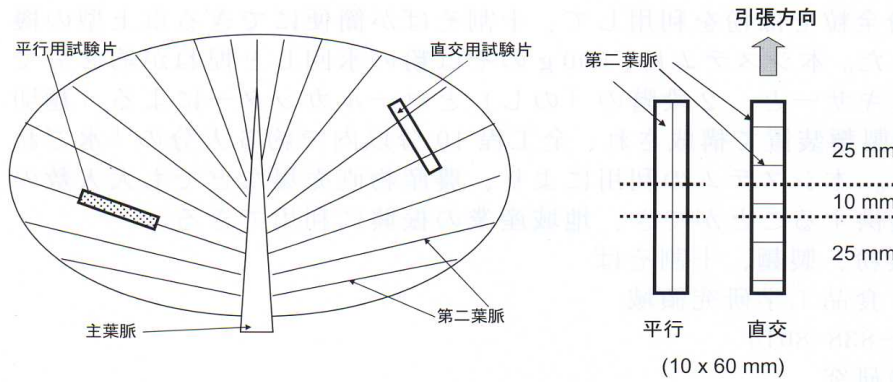


図1. (左)キャベツ第五葉から試料片調製の模式図. (右)試験片と引張方向の関係. 上下25mm部分をチャックで挟み引っ張り破壊する.

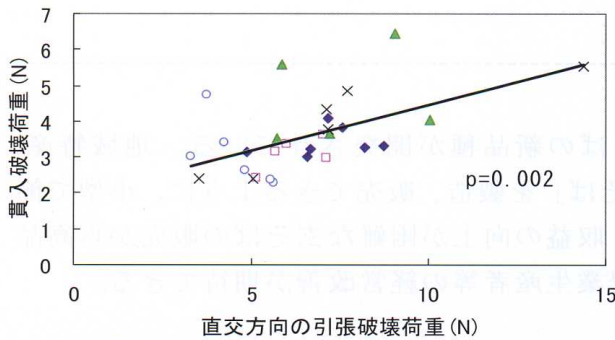


図2. 葉脈に直交方向の引張試験と貫入試験における破壊荷重の関係.

同じ記号は同一個体からの試料を示し、各点は5cm以内の近い部位の異なる破壊試験結果の比較.

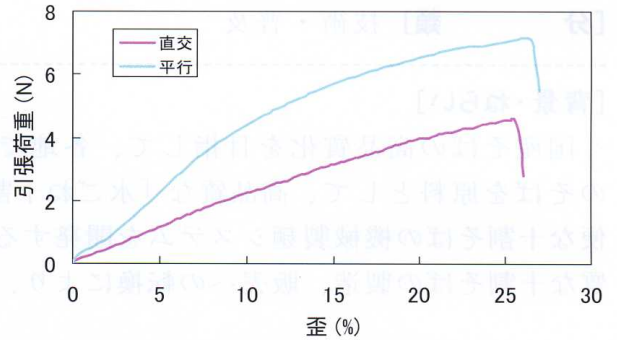


図3. 二方向の引張曲線の例.

葉肉部が切れる直交方向よりも葉脈を切る平行方向の破壊荷重が大きい.

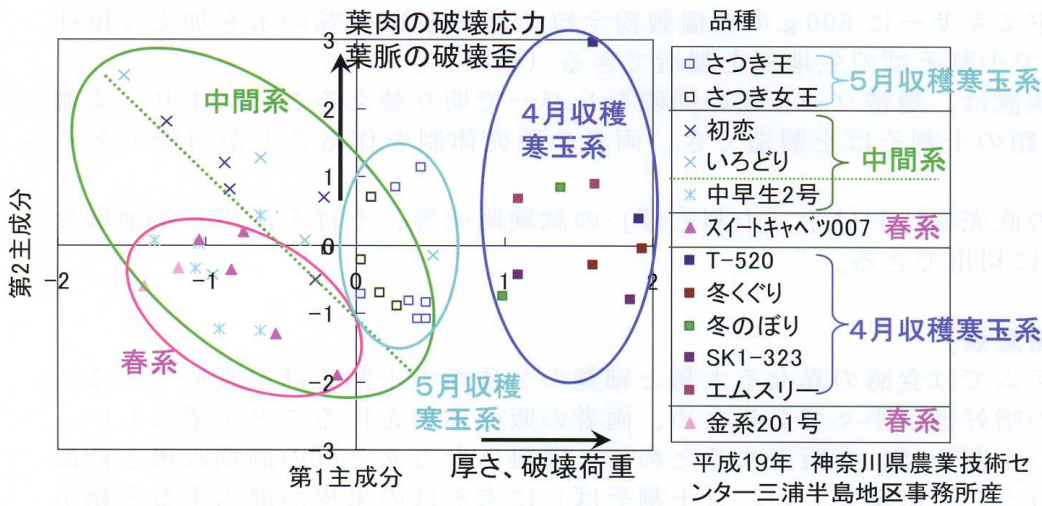


図4. 12品種の春収穫キャベツの主成分分析結果. 各プロット点は一団体の第五葉から8回以上測定した平均値の主成分得点を示す.

[その他]

- 研究課題名：高性能機器及び生体情報等を活用した食品評価技術の開発
 課題 ID：313-f
 予算区分：農水省委託（加工プロI系）
 研究期間：2006～2008年度
 研究担当者：神山かおる、早川文代
 発表論文等：1) Kohyama et al. (2008) Food Sci. Technol. Res. 14(4):337-344
 2) Kohyama et al. (2008) Food Sci. Technol. Res. 14(6):541-546
 3) Kohyama et al. (2009) Food Sci. Technol. Res. 15(1):11-18

[成果情報名] 低温製粉全粒そば粉を用いた十割そば用の卓上型機械製麺システムの開発

[要 約] 低温製粉全粒そば粉を利用して、十割そばが簡便にできる卓上型の機械製麺システムを開発した。本システムは、500 g のそば粉の水回しと捏ねが約 2 分で完了するハイブリッドミキサーと、2 段階の「のし」とロールカッターによる「麺切り」機能を備えた複合型製麺装置で構成され、全工程 10 分以内で約 5 人分の「水ごね十割そば」を製造できる。本システムの利用により、農産物直売場などでも大人数の観光客等に十割そばを提供することができ、地域産業の振興に利用できる。

[キーワード] そば、製粉、製麺、十割そば

[担 当] 食総研・食品工学研究領域

[代表連絡先] 電話 029-838-8014

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 技術・普及

[背景・ねらい]

国産そばの高品質化を目指して、各地でそばの新品種が開発されている。地域特産のそばを原料として、高品質な「水ごね十割そば」を製造、販売できるように、小型で簡便な十割そばの機械製麺システムを開発する。収益の向上が困難な玄そばの販売から高品質な十割そばの製造、販売への転換により、農業生産者等の経営改善が期待できる。

[成果の内容・特徴]

1. 十割そば製造熟練者が行う「水回し」工程を解析して、プロペラ型とピン型の攪拌および混捏機能を有するハイブリッド型のそば用ミキサーを新たに開発した（図 1）。
2. ハイブリッドミキサーに 500 g の低温製粉全粒そば粉と約 45% の水を加えて攪拌すると 2 分間で十割そばの生地玉を製造できる（図 2）。
3. 複合型製麺装置は、麺帯ロール部の間隙をレバーで切り替えることにより、太麺と細麺の 2 種類の十割そばを製造でき、両者の販売体制を作ることが可能である（図 3）。
4. 生産者団体の直売場における「十割そば」の試験販売等、そばを活用した地域食品産業の振興に利用できる。

[成果の活用面・留意点]

1. 本製麺システムでは食感の異なる太麺と細麺の 2 種類の十割そばを製造できる。太麺と細麺の嗜好性が半々であるため、両者の販売体制を作ることが望ましい。
2. 風味の良い「十割そば」を販売するために、原料となる玄そばの適期収穫と低温通風乾燥を行うことが望ましい。「十割そば」に玄そばの果皮が混入すると麺が切れやすいため、そば丸抜きに果皮が混入しないように精選する必要がある。
3. 高温時の玄そばの品質劣化を避けるためには、玄そばを低温貯蔵（4℃）することが望ましい。
4. 製粉したそば全粒粉は、脂質を含むため酸敗臭が発生しやすい。風味の良い十割そばを販売するために、必要な量のそば粉を製造して使い切ることが望ましい。そば全粒粉を長期間保存する場合は、酸化防止のために脱酸素材を用いて冷凍貯蔵（-20℃）するのが望ましい。

[具体的データ]



図1. ハイブリッドミキサー

ハイブリッドミキサー内部の攪拌子(赤枠内)により粉と水が均一分散する。そば粉が徐々に大きくなり、雪だるまのように周囲に生地が張り付いて生地玉を形成する(右図)。

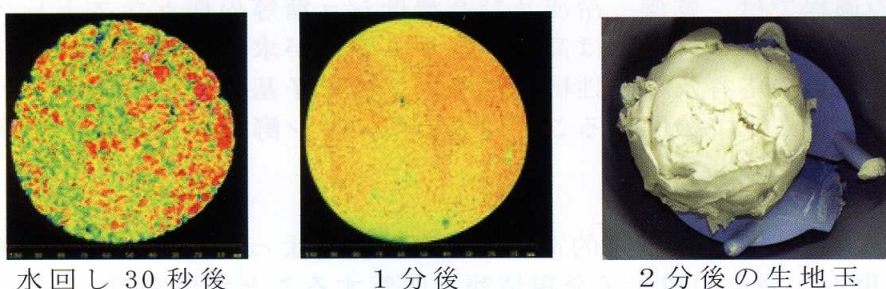


図2. ハイブリッドミキサーによる水回し工程のMRI画像

MRI画像では、水は赤色、水の回っていないそば粉は青色、生地は中間色で表示される。水は、1分後にほぼ均一分散し、2分後に生地玉が形成される。

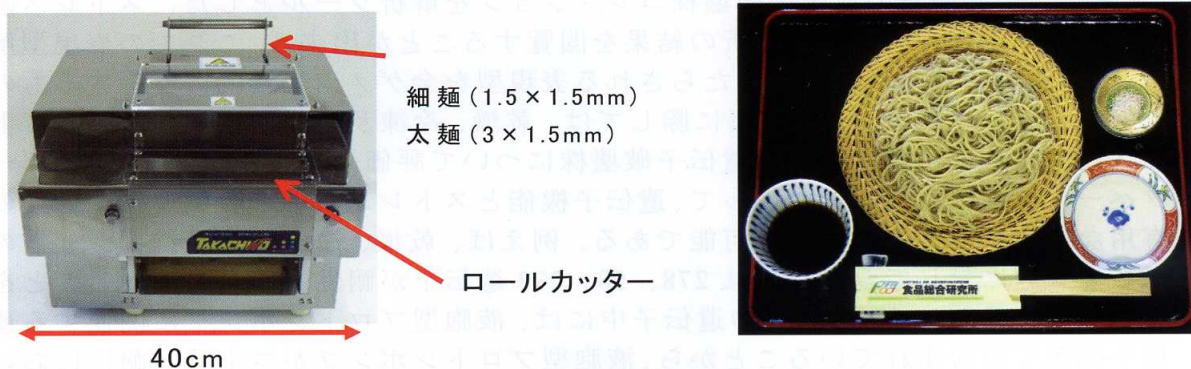


図3. 複合型製麺装置と機械製麺システムで製造された十割そば

複合型製麺装置(左図)を用いると、5人前(そば粉500g)の麺線を2~3分で製造できる。十割そばは、茹で時間が短い(約30秒)ため、5人分の「水ごね十割そば」を全工程10分以内で製造できる(右図)。

[その他]

研究課題名：ナノスケール加工の臼式製粉技術による穀類等の低温超微粉碎化技術の開発
 課題ID：313-d
 予算区分：委託プロ(食品ナノ)
 研究期間：2006~2010年度
 研究担当者：北村義明、堀金彰
 発表論文等：なし

[成果情報名] パン酵母のストレス耐性に関する遺伝子情報データベース

[要 約] 本データベースは、パン酵母のストレス応答及び耐性機構に関するポストゲノム解析により取得された遺伝子発現・機能情報からなるデータベースである。酵母利用技術の高度化に資するため、インターネットにより一般に公開している。

[キーワード] パン酵母、ストレス、DNA マイクロアレイ、遺伝子破壊株コレクション

[担当] 食総研・微生物利用研究領域・酵母ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8096

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・普及

[背景・ねらい]

パン酵母はパン生地の発酵に欠かすことの出来ない重要な食品素材である。パン酵母の生産や製パンの過程では、乾燥、冷凍及び高濃度ショ糖等の様々なストレスが酵母細胞に負荷されるため、パン酵母には高いストレス耐性が求められる。これらのストレスに対するパン酵母の応答及び耐性機構についての分子基盤となる情報をデータベース化し、ウェブサイト上で公開することによって、パン酵母の利用高度化研究を促進する。

[成果の内容・特徴]

1. DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析によって取得された、製パン過程における実用パン酵母の遺伝子発現情報を閲覧することが出来る。また、乾燥、冷凍及び高濃度ショ糖の各ストレスを負荷した実用パン酵母細胞における遺伝子発現情報についても閲覧可能である。これらの解析における実験条件及び実験データは、本データベースを介してダウンロード可能となっている。
2. さらに、出芽酵母の遺伝子破壊株コレクションを解析ツールとした、ストレス感受性に関する網羅的表現型解析の結果を閲覧することが出来る。ここでの表現型解析とは、遺伝子欠損によってもたらされる表現型を全ゲノム網羅的に解析するものであり、本データベースの構築に際しては、乾燥、冷凍及び高濃度ショ糖の各ストレスに対する感受性を全ての遺伝子破壊株について評価している(図1)。本データベースを利用することによって、遺伝子機能とストレス耐性との関連についての有用な情報を取得することが可能である。例えば、乾燥、冷凍及び高濃度ショ糖の各ストレスに対して、それぞれ 278、58、273 遺伝子が耐性に不可欠であることを示す情報が得られる。これらの遺伝子中には、液胞型プロトンポンプに関連する遺伝子の多くが含まれていることから、液胞型プロトンポンプがストレス耐性において極めて重要な役割を担っていると考えることが出来る。
3. 上述の遺伝子発現解析及び表現型解析によって得られた情報を整理して構築された本データベースは、「パン酵母遺伝子データベース」として食総研ホームページ上で公開されている(図2)。本データベースは、解析データのみならず、各解析の概要及び関連論文へのリンク等を含み、利便性を考慮した構成となっている。

[成果の活用面・留意点]

1. 実用パン酵母の利用高度化という観点から、培養・発酵過程のモニタリング及びストレス耐性株の育種等を目的とした分子マーカーの構築や分子育種のための情報基盤としての活用が可能である。
2. パン酵母等の真核細胞におけるストレス応答・耐性機構の解明のための情報基盤としての活用が期待される。

[具体的データ]

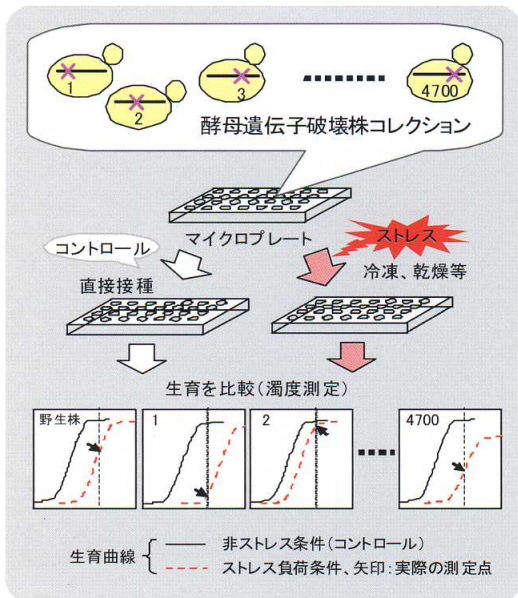


図1 出芽酵母遺伝子破壊株セットを用いた網羅的表現型解析

パン酵母遺伝子データベース

Database for Gene Function and Expression of Baker's Yeasts

[> English](#)

DGBYの概要

パン酵母の製造や製パン過程は、パン酵母にとって過酷なストレス(製パンストレス)を伴います。製パンストレスは、ドライイースト製造における乾燥(乾燥ストレス)、菓子パン生地中添加される高濃度のショ糖による高浸透圧(高ショ糖ストレス)、冷凍生地製パン法における凍結・融解(冷凍ストレス)等、広範かつ複合的なものであり、パン酵母の発酵力を著しく低下させます。

乾燥

水分4~8%

(ドライイースト製造)

高浸透圧

ショ糖30%以上

(菓子パン生地)

冷凍

-20~-30℃

(冷凍生地製パン法)

パン酵母の製造および製パン過程において、パン酵母には過酷なストレスが負荷されます

私共は、これら3つの製パンストレスに着目したパン酵母のポストゲノム研究を行ってきました。この研究では、1) DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析(トランスクリプトミクス)、2) 酵母遺伝子破壊株セットを用いた網羅的表現型解析(フェノミクス)、という二つのアプローチによって、ストレス耐性に関連する遺伝子の情報を取得しました。これらの情報を皆様にご活用頂けるようにデータベース化し、DGBY (Database for Gene function and expression of Baker's Yeast)として公開致しました。

* 本データベースは、「農研機構・生研センターの新技术・新分野創出のための基礎研究推進事業」により行われた研究結果を活用して構築しております。都合により現在は部分運用になっておりますが、随時更新する予定です。

データベース

> DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析

- > 製パン初期過程における遺伝子発現変化
- > 高ショ糖ストレス
- > 冷凍ストレス(準備中)
- > 乾燥ストレス

> 遺伝子破壊株セットを用いた網羅的表現型解析

- > 高ショ糖ストレス
- > 冷凍ストレス
- > 乾燥ストレス

図2 パン酵母遺伝子データベース
食総研ホームページ上で公開中
<http://nfri.naro.affrc.go.jp/yakudachi/yeast/index.html>

[その他]

研究課題名：バイオテクノロジーを利用した新食品素材の生産技術の開発及び生物機能の解明・利用

課題 ID：313-e

予算区分：競争的資金(新技术・新分野)

研究期間：2006~2010年度

研究担当者：安藤聡、中村敏英、島純

発表論文等：1) Ando et al. (2007) FEMS Yeast Res. 7:244-253

2) Nakamura et al. (2008) J. Biosci. Bioeng. 106:405-408

3) Shima et al. (2008) Yeast 25:179-190

[成果情報名] DNA マイクロアレーによるゴマリグナンの脂質代謝調節作用の解析

[要 約] ゴマリグナンは、脂肪酸酸化系酵素のみならず脂肪酸、カルニチン輸送体等様々な遺伝子の発現変化を介し脂肪酸分解を促進する。また、その生理活性はリグナン種により異なる。

[キーワード] DNA マイクロアレー、ゴマ、ゴマリグナン、脂肪酸酸化、遺伝子発現

[担当] 食総研・食品機能研究領域・栄養機能ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8083

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

ゴマリグナンは肝臓の脂肪酸酸化を活性化し、反対に脂肪酸合成を抑制し、血清脂質濃度を低下させる。しかし、これ以外の代謝系に与える影響に関する知見は乏しい。そのため、最新の評価技術である DNA マイクロアレー解析により種々のリグナン(セサミン、エピセサミンおよびセサモリン) 投与によるラット肝臓の遺伝子発現プロファイルの変化を調べ、リグナンが代謝系全体に与える影響を明らかにし、さらに各リグナンの生理作用の違いを明確にする。また、ゴマそのものの摂取が遺伝子発現に与える影響を精査する。

[成果の内容・特徴]

1. 飼料に添加したセサミンは 128 個の遺伝子、エピセサミンとセサモリンはそれぞれ 526 個と 516 個の遺伝子の発現を有意に($p<0.05$)、1.5 倍以上変化させる。
2. 種々のリグナンにより共通に発現誘導あるいは抑制を受ける遺伝子が多く(図 1 に 1.5 倍以上発現誘導される遺伝子について示す)、遺伝子発現プロファイルに与える影響は互いに類似している。
3. リグナンは数多くの脂肪酸酸化系酵素の遺伝子発現を増加させ、脂肪酸酸化系酵素以外の脂肪酸代謝制御に関与する酵素ならびに輸送体などの遺伝子の発現を変化させる(表 1、図 2)。
4. 遺伝子発現プロファイルの解析結果は、リグナンが図 2 に示すように脂肪酸代謝に関連する様々な遺伝子の発現変化を介し、脂肪酸の分解を促進していることを示す。
5. 遺伝子の発現変化率はエピセサミンとセサモリンでセサミンよりも大きい(表 1)。セサミンの肝臓での蓄積量はエピセサミンおよびセサモリンより少なく(図 3(A))、生理作用の違いは体内蓄積量の違いに基づくと思われる。
6. ゴマ丸ごと摂取はリグナンで認められると同様な遺伝子発現変化を引き起こす。ゴマ投与ラットでのセサミンとセサモリンの体内蓄積量は精製リグナンを投与した場合より極めて少なく(図 3(B))、他のリグナン種あるいはリグナン以外の成分がゴマの生理作用に関与する可能性がある。

[成果の活用面・留意点]

1. ゴマリグナンおよびゴマそのものが肝臓の代謝系に与える影響の全体像が明確となり、ゴマの健康増進機能とその発現機構について科学的根拠を与えた。この知見は、ゴマを用いた機能性食品開発に寄与するものである。
2. ゴマにはセサミンとセサモリン以外の生理活性物質が含まれることが示唆される。この点については更なる検討が必要である。

[具体的データ]

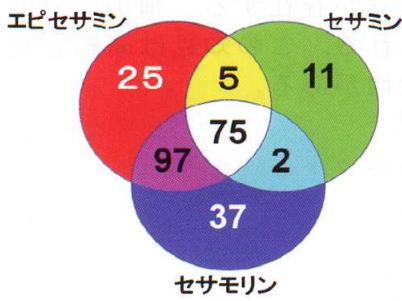


図1.種々のゴマリグナンを摂取したラット肝臓で1.5倍以上発現が有意に($p < 0.05$)増加した遺伝子数のヴェン図による記載

表1.ゴマリグナンが脂肪酸代謝に関連する輸送体遺伝子発現に与える影響 DNAマイクロアレイによる解析

遺伝子シンボル	遺伝子名	発現変化率(リグナン)		
		セサミン	エピセサミン	セサモリン
Slc22a5	Solute carrier family 22 (organic cation transporter), Solute carrier family 25	2.17*	4.35**,**	3.79**,**
Slc25a20	(carnitine/acylcarnitine translocase), member 20	1.33	2.01**,**	2.13**,**
Abcd3	ATP-binding cassette, sub-family D (ALD), member 3	1.14	1.56**,**	1.63**,**
Cd36	Cd36 antigen	1.39	3.56**,**	3.92**,**
Cd36	Cd36 antigen	1.32	2.88**,**	3.45**,**

*リグナン無添加食群と比較して有意差があることを示す。

**セサミン添加食群と比較して有意差があることを示す。

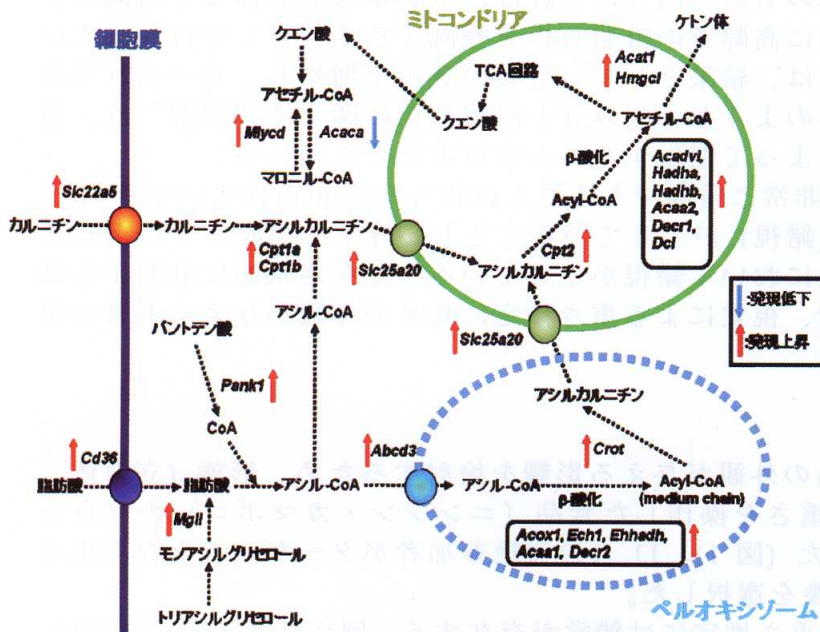


図2.ゴマリグナンがラット肝臓の脂肪酸代謝関連遺伝子の発現に与える影響

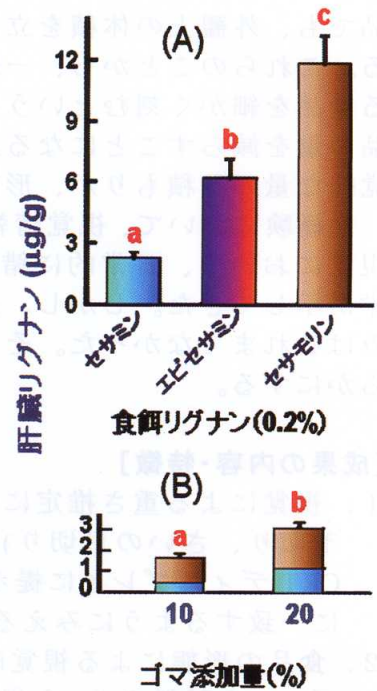


図3.各種リグナン(A)あるいはゴマ(B)を与えたラット肝臓のリグナン濃度

[その他]

研究課題名：食品中の脂質代謝調節因子が代謝ネットワークに与える影響のニュートリゲノミクスによる解明

課題 ID：312-e

予算区分：委託：食品・農産物の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発
研究期間：2006～2008年度

研究担当者：井手隆

発表論文等：Arachchige P.G. et al. (2006) Metabolism 55(3):381-390.

Lim J.S. et al. (2007) Br. J. Nutr. 97(1):85-95.

Huong D.T., Ide T. (2008) Br. J. Nutr. 100(1):79-87.

Ide T. et al. (2009) J. Nutr. Sci. Vitaminol. 55 (1): 31-43.

[成果情報名] 食品の形態によるみかけの重さの錯覚

[要約] 食品の形態による視覚的な重さ推定には錯覚が存在する。細かく刻まれた試料、中でも千切りの試料の重さは顕著に過大評価される。この知見は高齢者食や病院食における摂取量のコントロールに応用できる可能性がある。

[キーワード] 錯視、マグニチュード産出法、食品の外観

[担当] 食総研・食品機能研究領域・食認知科学ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7142

[区分] 食品試験研究

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

生ニンジンやカマボコ、キュウリをブロック状、もしくは千切りにし、それを嚥下できるまで咀嚼させる実験を行なうと、生ニンジンやキュウリなどでは同じ重さの場合は立方体状の試料の方が、千切り状の試料よりも咀嚼量が少ない。また、刻んだ食品でも、外観上の体積を立方体のものと同等にすれば、咀嚼量は立方体よりも減少する。これらのことから、一般的に高齢者の咀嚼負担を軽減する工夫として行われている食品を細かく刻むという加工は、結果として、咀嚼の負担を増やし、食べられる食品の量を減らすことになる。このような、刻み食と咀嚼負担に関する“誤解”は、視覚的な量の見積もりが、形態によって変化することが原因と考えられる。

食経験において、視覚情報は非常に重要であることは古くから知られている。また、視覚において、日常的に錯覚（錯視）が生じていることも心理学を中心とした視覚科学が示してきた。しかし、食品において錯視が生じていることを定量的に計測する試みはこれまでなかった。そこで、視覚による重さ推定に食品の外観が与える影響を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 視覚による重さ推定に食品の外観が与える影響を検討するため、形態（立方体、千切り、さいの目切り）と重さを操作した食品（ニンジン・カマボコ）の写真をCRTディスプレイに提示した（図1）。11人の実験参加者がターゲットとなる重さに一致するようにみえる画像を選択した。
2. 食品の形態による視覚的な重さ推定には錯覚が存在する。例えば、ニンジンでは、ブロック試料の5gを提示し、10gをそれぞれの形態で再生させると、ブロックでは9g、さいの目切りでは8.5g、千切りでは7.5g程度で10g程度に見えると推定される（図2）。
3. 両試料の物理的な特性が異なるにも関わらず、実験参加者は立方体の試料については比較的正確に重さ推定ができる。
4. 細かく刻まれた試料、中でも千切りの試料の重さを顕著に過大評価する。実際の試料の重さの増大に伴う外観的な体積の増加も千切りで最も顕著であり、これが、錯覚を生じさせる原因であると考えられる。（図3）。

[成果の活用面・留意点]

1. 本研究は、食品の外観的な体積が視覚による重さ推定に影響することを示した。
2. 視覚的な重さ推定における錯視が刻み食を多く食べられない一因である可能性がある。
3. 視覚的な量の過大視が、食品を摂取した後の満足と相関するかどうかを知るには、今後更なる実験的な検討が必要である。

[具体的データ]

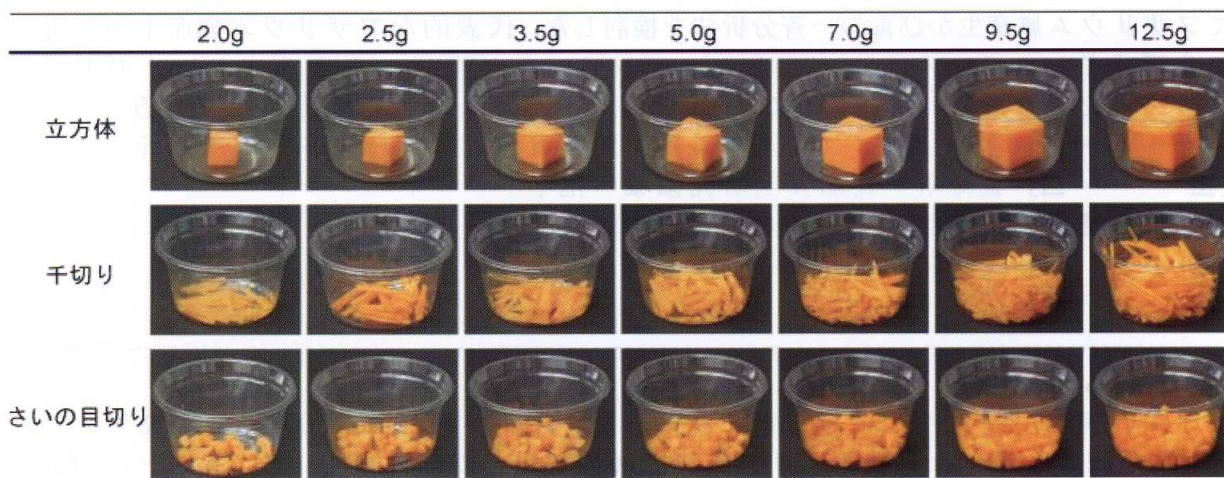


図 1. 実験に使用した生ニンジンの写真の例

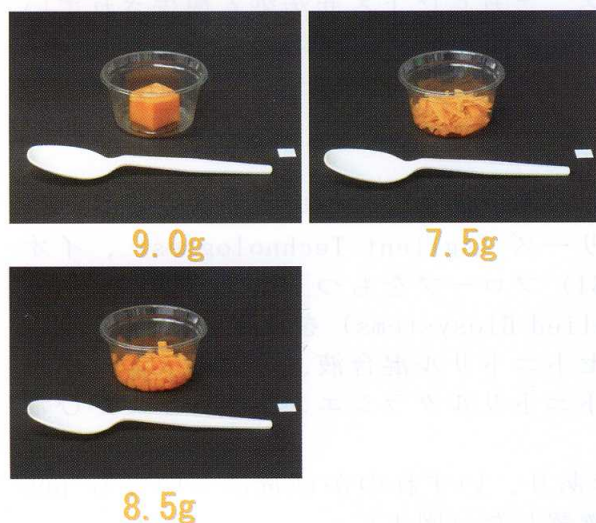


図 2. 実験結果から推定された同量（10g）に見えるニンジン（下は実際の重さ）

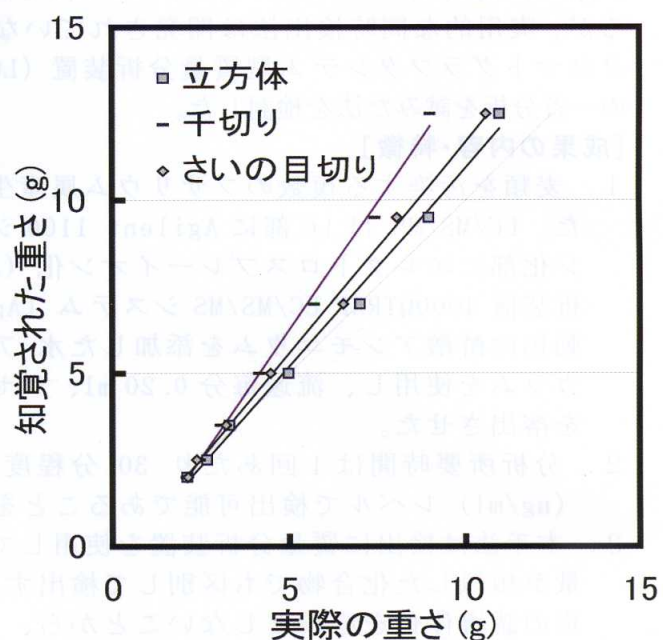


図 3. ニンジンにおける実際の重さと知覚された重さの関係

[その他]

研究課題名：人間の多感覚による食品知覚とその発達の解明

課題 ID：313-f

予算区分：科研費若手(B)

研究期間：2008～2010 年度

研究担当者：和田有史・早川文代・神山かおる

発表論文等：Wada et al., 2007, *Appetite*, 49, 183-190.

[成果情報名] LC/MS/MSを用いた麦類汚染かび毒の一斉分析

[要 約] 高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析装置 (LC/MS/MS) を用いてフザリウム属産生かび毒の一斉分析法を検討した。代表的なフザリウム属産生かび毒であるデオキシニバレノール (DON)、ニバレノール (NIV)、T-2 トキシン、ゼアラレノンなどを含む複数の麦汚染かび毒が ppb (ng/ml) レベルで検出可能である。

[キーワード] 赤かび病、フザリウム属、かび毒、麦、LC/MS/MS、一斉分析

[担 当] 食総研・食品安全研究領域・化学ハザードユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8085

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

赤かび病は小麦、大麦などの穂に病原菌（一部のフザリウム属菌）が感染することで、粒が肥大しなくなったり、穂全体が枯れたりする麦類の最重要病害の一つである。温帯湿潤気候区域に属する我が国ではフザリウム属菌が小麦や大麦において深刻なかび毒汚染を引き起こすことがある。フザリウム属菌が麦において産生するかび毒はデオキシニバレノール (DON)、ニバレノール (NIV)、T-2 トキシンなどのトリコセシン系かび毒やゼアラレノンなどが知られている。これらによる共汚染も報告されているが、実用的な同時検出法は開発されていないのが現状である。本研究では、高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析装置 (LC/MS/MS) を用いてフザリウム属産生かび毒の一斉分析を試みた法を検討した。

[成果の内容・特徴]

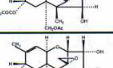
1. 麦類を汚染する複数のフザリウム属産生かび毒（表 1）について一斉分析を試みた。LC/MS/MS は LC 部に Agilent 1100 シリーズ (Agilent Technologies)、イオン化部にエレクトロスプレーイオン化 (ESI) プローブをもつ三連四重極型質量分析装置 4000QTRAP LC/MS/MS システム (Applied Biosystems) を使用した。LC の移動相は酢酸アンモニウムを添加した水-アセトニトリル混合液、分離カラムは逆相カラムを使用し、流速毎分 0.20 ml、アセトニトリルグラジエント条件下でかび毒を溶出させた。
2. 分析所要時間は 1 回あたり 30 分程度であり、いずれのかび毒についても ppb (ng/ml) レベルで検出可能であることを確認した (図 1)。
3. 本手法は検出に質量分析装置を使用しているため、表 1 に示すような構造や分子量が類似した化合物でも区別して検出することが可能である。また、分析対象化合物の誘導体化を必要としないことから、ガスクロマトグラフ質量分析法 (GC/MS) に比べて分析試料の適用範囲が広い。

[成果の活用面・留意点]

1. 本成果は麦類を汚染するフザリウム属産生かび毒の分析に適用可能である。小麦における DON および NIV の定量分析に関しては、技能試験（平成 20 年度小麦のデオキシニバレノール検査に関する外部精度管理調査、財団法人食品薬品安全センター主催）に参加し、分析値の信頼性の保証 (z スコア 2 以内) を受けている。
2. DON および NIV 以外のかび毒の分析に関しては、実際の汚染試料（麦類）からかび毒を抽出・回収する方法の確立が今後の課題である。しかし、DON および NIV はフザリウム属産生かび毒の中でもその汚染が最重要視されており、平成 20 年 12 月 17 日に汚染低減のための指針が農林水産省から発表されたばかりある。このような背景を踏まえ、本成果情報を報告した。

[具体的データ]

表1 麦汚染フザリウム属産生かび毒

名称	分子量	構造
ニバレノール	312.12	
デオキシニバレノール	296.13	
フザレノンX	354.13	
ネオソラニオール	382.16	
15-アセトキシシルペノール	324.37	
HT-2トキシシン	424.48	
T-2トキシシン	466.22	
ゼアラレノン	318.36	

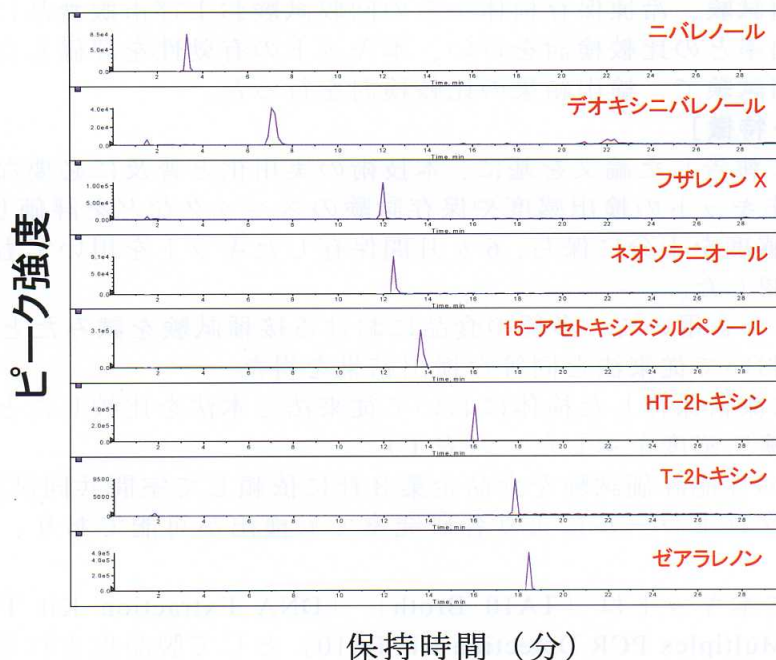


図1 LG/MS/MSによる麦汚染かび毒の一斉分析
100ppbかび毒混合溶液を10 μ l注入した。

[その他]

研究課題名：麦類のかび毒に関する多種同時分析法の開発（受託研究）
 課題 ID：321-a
 予算区分：生産工程プロ
 研究期間：2008～2010年度（2008年度）
 研究担当者：中川博之

[成果情報名] 迅速多重検出キットの実用化

[要 約] サルモネラ・リステリアモノサイトゲネス・腸管出血性大腸菌O157の同時検出法をキット化し技術普及を目指した。多くの食品製造現場での簡易・迅速な自主衛生管理手法としての活用や食中毒事故原因菌特定などへの活用が期待できる。

[キーワード] 食中毒菌、迅速検査キット、サルモネラ、リステリア、大腸菌O157

[担 当] 食総研・食品安全研究領域・食品衛生ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8067

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 技術・参考

[背景・ねらい]

サルモネラ・リステリアモノサイトゲネス・腸管出血性大腸菌O157は死亡例を含む重篤の患者が認められる食中毒原因菌であり、発生事例も多いことから食品製造現場で恐れられている。しかし、一般に食中毒菌の検査には熟練した技術と、4日以上という多大な時間と労力を要する。これらの食中毒菌の検査を簡易迅速化するため、当ユニットでは遺伝子手法による検査法を開発し、2005年に論文で報告した。この開発手法の実用化と普及を目的として検出キットと検出プロトコルを作製し、多種の食品での接種試験、冷凍保存検体からの回収試験および市販食品による従来法（公定法）との検出率との比較検討を行い、本キットの有効性を評価した。さらに他研究室との室間共同試験で、検出結果の比較検討を行った。

[成果の内容・特徴]

1. 2005年に報告した論文を基に、本技術の実用化と普及に必要な検出キットを試作した。試作キットの検出感度や保存試験のスペックなどを評価したところ、論文で報告した感度を十分に保ち、6ヶ月間保存したキットを用いても正常に使用できることを確認した。
2. 試作キットを用いて、多種の食品における接種試験を試みたところ、50種類以上の食材において従来法と同等な検出結果を得た。
3. 接種後に凍結保存した検体において従来法と本法を比較したところ、従来法と同等以上の検出感度を示した。（表1）
4. 本キットの性能評価試験を食品企業3社に依頼して室間共同試験を行ったところ、提示したプロトコルにより各研究室でも検出が可能であり、検出感度も一致した。
5. 最終的に本キットは「TA10 Broth」「DNA Extraction Kit TA10」「Pathogenic Bacterial Multiplex PCR Detection Kit TA10」として製品化されるに至った。（写真1）

[成果の活用面・留意点]

1. 本検出法をキットとして供給でき、実用性の評価を行ったことから、本遺伝子検出法の技術普及に貢献できる。
2. 多くの食品製造現場での簡易・迅速な自主衛生管理手法としての活用や食中毒事故発生の際の原因菌特定のための検査への活用が期待できる。
3. 多数の食材において概ね良好な結果が得られており、本キットの適応範囲は幅広いと考えられるが、自社の製品などにおいて、あらかじめ接種試験などの予備試験を行うことが望ましい。

[具体的データ]

表 1. 2ヶ月凍結検体からの回収試験結果.

凍結サンプル	サンプル数	○157		サルモネラ		リステリア	
		従来法	PCR法	従来法	PCR法	従来法	PCR法
豚肉	4	4	4	0	4	3	4
キャベツ	4	0	2	0	2	2	2
スモークサーモン	4	4	4	3	4	2	4
卵	4	4	4	2	4	4	3
牛乳	4	2	3	1	4	4	4
ナチュラルチーズ	4	2	2	0	2	3	3
生ハム	4	2	4	0	4	4	4
合計	28	18	23	6	24	22	24

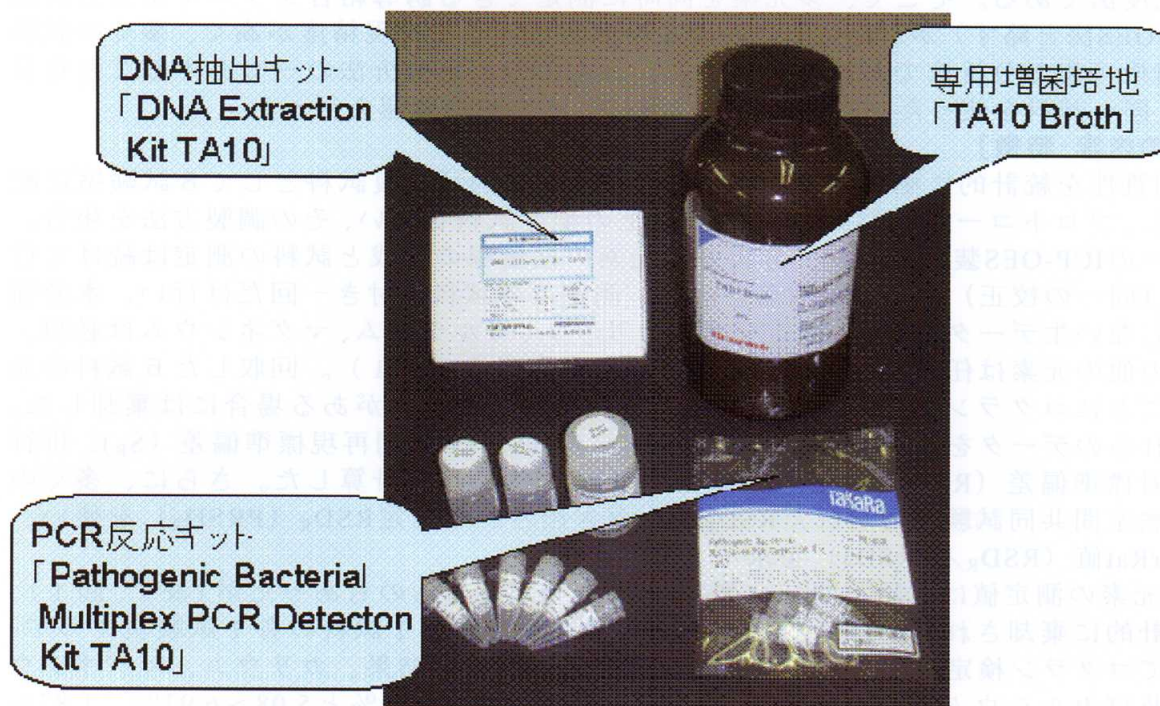


写真 1. 販売されている検出キット「TA10」(多重)シリーズ.

[その他]

研究課題名：危害要因の簡易・迅速・高感度検出技術の開発

課題 ID：321-a

予算区分：委託プロ(生産工程)

研究期間：2005～2008年度

研究担当者：川崎 晋、川本 伸一

発表論文等：

- 1) 川崎ら「微生物の多重検出方法」,特願2005-516640.
- 2) Kawasaki, S. et al.(2005) *J. Food Prot.*, 68, 551-556.
- 3) Kawasaki, S. et al.(2009) *Foodborne Pathogens and Disease.*, 6, 81-89.

【成果情報名】 精米中の無機元素測定のための誘導結合プラズマ発光分析法の妥当性確認

【要約】 精米中の無機元素の定量法として、誘導結合プラズマ発光分析法の妥当性を試験室間共同試験によって確認した。6試料中のカリウム、マグネシウム、カルシウム、亜鉛、マンガン、銅、リンの7元素を測定した結果、それらの HorRat 値は全て 1.5 以下であり、本測定法による精米中の7元素の定量法は十分な試験室間再現精度を有する測定法である。

【キーワード】 無機元素、試験室間共同試験、誘導結合プラズマ分析、精米

【担当】 食総研・食品分析研究領域・分析ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8059

【区分】 食品試験研究

【分類】 研究・参考

【背景・ねらい】

食品中の主な元素類（カリウム、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、リンなど）の日本での公定的な分析法は、個々の元素を単独で測定する必要がある原子吸光分析法や吸光度法である。そこで、多元素を同時に測定できる誘導結合プラズマ発光分析法（ICP-OES法と略す）が、食品中の元素類の測定法として再現精度が高く、多くの試験室で適用可能で分析法であることを示し、日本での公定分析法の一つとすることを目標に、同一試料を使った試験室間共同試験による妥当性確認を行った。

【成果の内容・特徴】

1. 均質性を統計的に確認した6点の粉碎精米を非明示反復試料として8試験室に配付し、プロトコール〔試料調製は0.5g以上の配付試料を用い、その調製方法を報告。同一のICP-OES装置を用い、分析対象元素の検量線の作成と試料の測定は続けて行い（同一の校正）、その機種名を報告。測定は各試料に付き一回だけ行い、水分補正しない生データを報告。測定元素はカリウム、カルシウム、マグネシウムは必須、その他の元素は任意で報告。〕に従って測定させた（表1）。回収した6試料の元素ごとにコ克蘭検定とグラブス検定を行い、外れ値がある場合には棄却した。それらのデータを統計解析し、併行標準偏差（ S_r ）や室間再現標準偏差（ S_R ）、併行相対標準偏差（ RSD_r ）、室間相対標準偏差（ RSD_R ）を計算した。さらに、多くの試験室間共同試験で得られた RSD_R から導き出された推定 RSD_R （ $PRSD_R$ ）を使い、HorRat値（ $RSD_R/PRSD_R$ ）を求めた。
2. 各元素の測定値は試験室間で $\pm 10\%$ 以上の誤差があるものもあったが（表1、図1）、統計的に棄却されたのはカルシウム3試料とマンガン1試料の各1試験室ずつで、全てコ克蘭検定によるものだった（表2）。解析の結果、カリウム、マグネシウム及びカルシウムの RSD_r と RSD_R は、それぞれ1.03~1.86%と5.08~6.93%、1.87~6.14%と7.02~9.99%、及び1.27~5.93%と3.40~6.46%、HorRat値は、それぞれ0.89~1.13、1.06~1.44、及び0.38~0.70の範囲であった。また、亜鉛、マンガン、銅及びリンの RSD_r と RSD_R は、それぞれ1.21~4.15%と3.53~5.62%、1.06~6.84%と3.49~7.57%、3.23~20.9%と6.11~23.3%及び0.79~1.79%と6.55~7.85%、HorRat値は、それぞれ0.32~0.54、0.30~0.65、0.41~1.49及び1.18~1.43の範囲であった（表2）。
3. 7元素のHorRat値は全て1.5以下となり、さらにそれらの RSD_r と RSD_R から、今回の試験室間共同試験の測定結果が満足なものであり、ICP-OES法による精米中の無機元素類の定量法が十分な再現精度を有する妥当なものであることを示していた。

【成果の活用面・留意点】

1. 精米中の無機元素をICP-OES法で測定する妥当性は確認できたが、他の食品へ適応するためには、その食品による試験室間共同試験が必要である。

[具体的データ]

表1. 精米中のマグネシウムの生データ (室間共同試験の報告値)

精米 試料	試験室						
	A	B	C	D	E	F	G
I	331.7	281.9	293.8	309.2	344.1	338.4	327.4
	323.4	265.3	314.2	320.3	333.1	339.0	318.0
II	367.7	305.5	335.5	364.8	376.7	375.8	352.3
	360.5	276.5	345.6	359.4	380.8	376.6	362.3
III	355.0	301.9	328.5	353.3	361.7	362.7	361.8
	356.6	295.0	331.8	351.4	371.8	363.6	341.4
IV	325.0	269.8	293.0	321.4	355.9	329.3	296.1
	321.3	268.6	303.9	322.0	337.3	330.5	315.5
V	267.6	223.9	243.9	248.9	269.5	274.1	300.6
	262.3	196.9	243.6	271.5	270.4	268.5	253.9
VI	160.9	125.6	145.5	155.5	166.7	162.1	157.6
	159.8	118.6	145.0	159.4	163.1	161.9	150.6
試料調製法	Microwave Digestion	Microwave Digestion	Microwave Digestion	B;湿式分解	Microwave Digestion	B;湿式分解	Microwave Digestion
使用機種名	Varian Vista-PRO	Leaman Labs JCP-PS3000UM	S.I.I. Technology SPS3100	Varian 725-ES	Shimadzu ICPE-9000	Varian Vista-PRO	Varian Vista-PRO

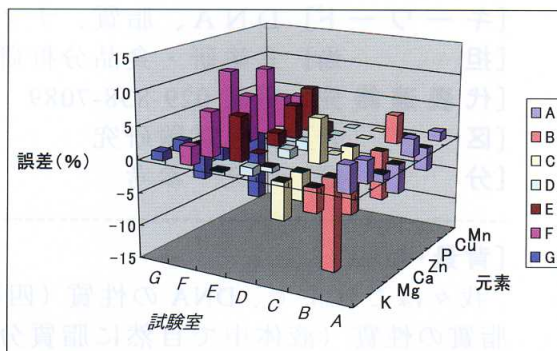


図1. 試料Ⅲの各元素の測定誤差

表2. 試験室間共同試験の結果

元素	精米試料	試験室 (棄却)	平均値 (mg/kg)	S _r	RSD _r (%)	S _R	RSD _R (%)	PRSD _R (%)	HorRat
K	I	7 (0)	799	12	1.52	48	6.04	5.85	1.03
	II	7 (0)	883	14	1.60	53	6.06	5.76	1.05
	III	7 (0)	961	18	1.86	49	5.08	5.69	0.89
	IV	7 (0)	833	11	1.32	53	6.39	5.81	1.10
	V	7 (0)	934	16	1.68	50	5.39	5.71	0.94
	VI	7 (0)	592	6.1	1.03	41	6.93	6.12	1.13
Mg	I	7 (0)	317	8.8	2.79	24	7.48	6.72	1.11
	II	7 (0)	353	9.0	2.56	31	8.71	6.62	1.32
	III	7 (0)	345	6.5	1.87	24	7.02	6.64	1.06
	IV	7 (0)	314	7.8	2.50	26	8.19	6.74	1.22
	V	7 (0)	257	16	6.14	26	9.99	6.94	1.44
	VI	7 (0)	152	3.0	1.98	15	9.80	7.51	1.31
Ca	I	6 (1)	47.4	0.60	1.27	1.6	3.40	8.95	0.38
	II	7 (0)	48.4	1.6	3.39	2.6	5.40	8.92	0.61
	III	7 (0)	53.9	2.2	4.16	3.1	5.78	8.78	0.66
	IV	6 (1)	44.1	0.68	1.55	2.1	4.66	9.05	0.51
	V	6 (1)	40.0	2.4	5.93	2.6	6.46	9.18	0.70
	VI	7 (0)	42.3	1.0	2.40	2.3	5.51	9.11	0.60
Zn	I	6 (0)	13.6	0.20	1.45	0.52	3.81	10.8	0.35
	II	6 (0)	17.9	0.33	1.86	0.66	3.70	10.4	0.36
	III	6 (0)	17.8	0.21	1.21	0.63	3.55	10.4	0.34
	IV	6 (0)	17.6	0.54	3.05	0.99	5.62	10.4	0.54
	V	6 (0)	14.5	0.60	4.15	0.65	4.48	10.7	0.42
	VI	6 (0)	12.9	0.19	1.44	0.45	3.53	10.9	0.32
Mn	I	5 (0)	9.15	0.097	1.06	0.37	4.06	11.5	0.35
	II	5 (0)	8.05	0.30	3.75	0.34	4.25	11.7	0.36
	III	5 (0)	11.7	0.24	2.09	0.51	4.34	11.0	0.39
	IV	5 (0)	10.8	0.33	3.08	0.54	5.01	11.2	0.45
	V	4 (1)	8.43	0.58	6.84	0.64	7.57	11.6	0.65
	VI	5 (0)	7.87	0.10	1.32	0.27	3.49	11.7	0.30
Cu	I	5 (0)	1.87	0.084	4.50	0.20	10.5	14.6	0.72
	II	5 (0)	1.64	0.091	5.55	0.10	6.11	14.8	0.41
	III	5 (0)	2.03	0.17	8.27	0.21	10.3	14.4	0.72
	IV	5 (0)	2.30	0.27	11.8	0.34	15.0	14.1	1.06
	V	5 (0)	1.15	0.24	20.9	0.27	23.3	15.7	1.49
	VI	5 (0)	1.19	0.038	3.23	0.16	13.7	15.6	0.88
P	I	5 (0)	1133	13	1.11	74	6.55	5.55	1.18
	II	5 (0)	1155	19	1.67	78	6.77	5.54	1.22
	III	5 (0)	1213	11	0.94	83	6.86	5.49	1.25
	IV	5 (0)	1202	22	1.79	94	7.85	5.50	1.43
	V	5 (0)	1142	12	1.05	79	6.92	5.54	1.25
	VI	5 (0)	823	6.5	0.79	63	7.62	5.82	1.31

$PRSD_R = 2 \times C^{0.1505}$ (Cは質量分率)

[その他]

研究課題名：食品中のミネラル類測定法の標準化に関する研究

課題 ID：321-b

予算区分：運営費交付金

研究期間：2006～2008年度

研究担当者：堀田博

発表論文等：堀田 (2009) 分析化学 58 (2)：107～112

[成果情報名] 核酸塩基配列を認識してナノファイバーを形成するDNA-合成脂質集合体
[要約] 標的の核酸塩基配列が存在する場合のみナノファイバーとなる DNA-合成脂質集合体が形成される。
[キーワード] DNA、脂質、ナノファイバー、自己集合
[担当] 食総研・食品分析研究領域・成分解析ユニット
[代表連絡先] 電話 029-838-7089
[区分] 食品試験研究
[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

我々はこれまで、DNA の性質（四種類の核酸塩基が決まった相手とペアを作る）と、脂質の性質（液体中で自然に脂質分子同士が集合する）を合わせもつ合成脂質分子 **1** を DNA とともに水中で混ぜるだけで、ナノスケール構造が得られることを明らかにしてきた。今回は、**1** と DNA との混合水溶液中に、標的の DNA が存在する場合のみナノファイバーを形成させることに成功した。

[成果の内容・特徴]

1. 合成脂質 **1** を超音波照射および加熱（90 °C）により 0.1 × TE バッファー（Tris-HCl 1 mmol/L、EDTA 0.1 mmol/L、pH 8.0）へ溶解した。この溶液に、**2**、**3**（20 塩基のアデニン部位と標的核酸 **4** との相補鎖から成るオリゴヌクレオチド）を含む水溶液をそれぞれ加え、この混合液を三等分した。そのうちの二つには、標的核酸である **4**、または非相補鎖から成る **5** のオリゴヌクレオチドを加え室温で放置した（それぞれの系を **1/2/3/4** および **1/2/3/5** と表記する）。残りの一つはそのまま放置した（**1/2/3**）。それぞれの構造式、核酸塩基配列を図 1a に示す。
2. 得られた集合体を高配向熱分解黒鉛(HOPG)基板に滴下し、大過剰の水で洗ったものを原子間力顕微鏡（AFM）のサンプルとして用いた。また、0.5 °C/min で温度を上昇させながら 260 nm の吸光度変化を測定し、**1/2/3/4**、**1/2/3**、および **2/3/4** の 0.1 × TE バッファー水溶液中での融解温度測定を行った。
3. AFM によりそれぞれの多成分系自己集合体を観察した結果、**1/2/3/4** の系では長さが 300 nm~3 μm、径が 7~8 nm、らせんのピッチ 52 nm のヘリカルナノファイバー構造が観察できた(図 2a、b)。一方、**1/2/3/5** および **1/2/3** の多成分自己集合体はファイバー構造を形成せず、径が 15 nm 程度の球状構造を与えた(図 2c、d)。この結果は、ヘリカルナノファイバー構造形成に標的 DNA である **4** の存在が必要であることを示している。
4. 次に、**1/2/3/4**、**1/2/3**、**2/3/4** の 0.1 × TE バッファー水溶液を用いて 15 °C から 70 °C まで温度をゆっくりと変化させ、UV 融解温度測定を行った。**1/2/3** および **2/3/4** の系で得られた融解曲線の一次微分から、それぞれの融解温度 T_m は 60 °C および 35 °C と求められた。一方、**1/2/3/4** の系で同様の測定を行った結果、融解曲線は二相性の形状を示し、一次微分から T_m は 37 °C および 57 °C と求められ **2/3/4**、および **1/2/3** の T_m に近い値を示した。
5. これらの結果から、**1/2/3/4** の多成分系自己集合体から形成されるヘリカルナノファイバー中では、まず **1** と **2**、**3** 間の相補的核酸塩基対形成により前駆体が生成し(図 1b I→II)、次に **2**、**3** と **4** 間の相補的核酸塩基対形成によりヘリカルナノファイバー構造の伸長が促進される(図 1b II→III)ものと推察された。

[成果の活用面・留意点]

1. 標的核酸によるナノファイバー形成が可能であることを明らかにした。
2. 本結果は、標的核酸の有無をナノファイバー構造として画像化できることから、DNA への化学修飾が不必要でかつ微量 DNA の迅速検出手法として期待できる。

[具体的データ]

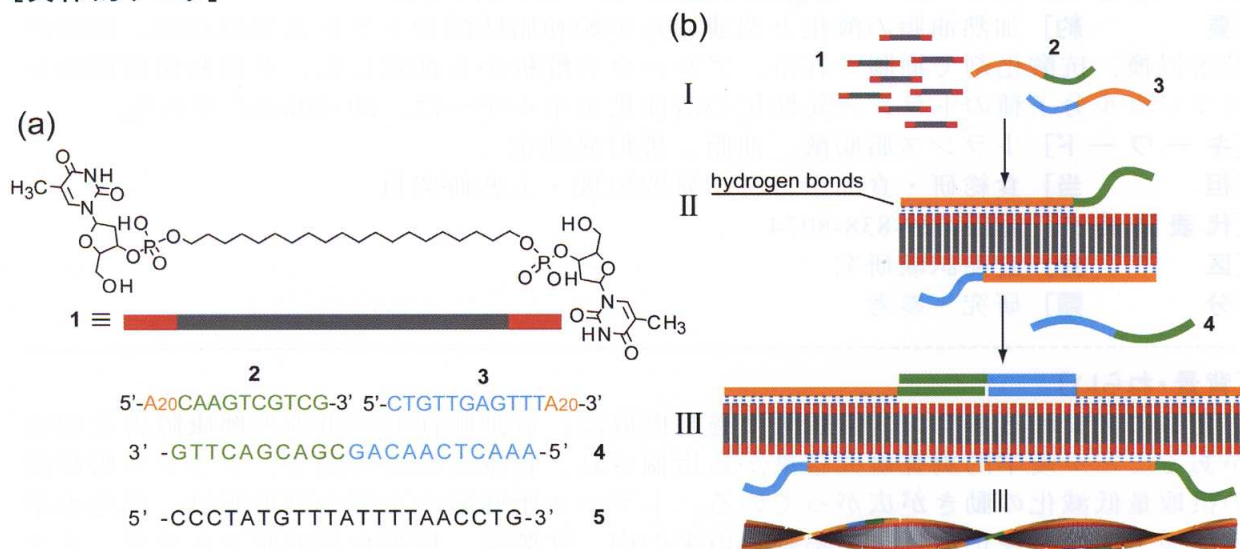


図 1 (a) 合成脂質 **1** と DNA**2**、**3** および標的 DNA**4**、非標的 DNA**5** の塩基配列。(b) 標的 DNA によるナノファイバー形成機構。I **1**、**2**、**3** をバッファー中で混ぜる、II **1** のチミン部位と **2**、**3** のアデニン部位が相補的核酸塩基対を形成して集合体の前駆体となる、III **2**、**3** と標的 DNA**4** のハイブリダイゼーションによりナノファイバー構造が伸長する。

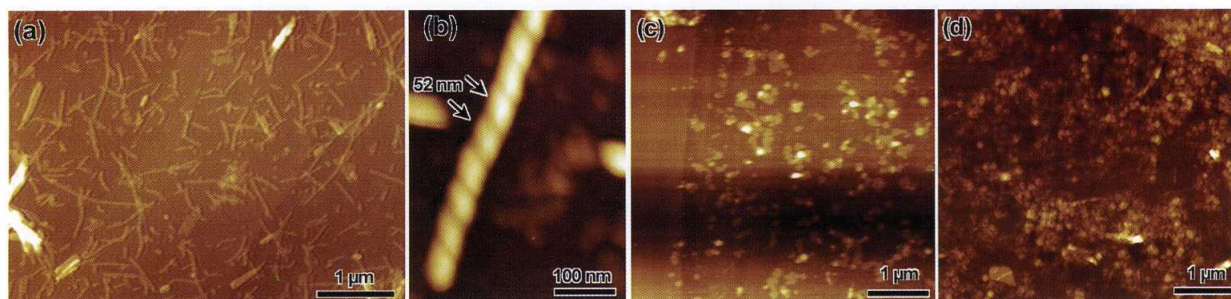


図 2 (a)、(b) **1/2/3/4** から形成したナノファイバー、(c) **1/2/3** および(d) **1/2/3/5** から生成した球状構造の原子間力顕微鏡像。

[その他]

研究課題名：ナノファイバー構造を利用した新規分析技術の開発

課題 ID：313-f

予算区分：さきがけ・科研費

研究期間：2007～2010 年度

研究担当者：岩浦里愛、亀山真由美、清水敏美（産総研）

発表論文等：1) R. Iwaura *et al.*, (2008) *Chem. Commun.* (44), 5570-5572.

2) 岩浦ら「顕微鏡イメージングにより核酸を検出する方法」特許出願
2008-102096

[成果情報名] 加熱による不飽和脂肪酸のトランス異性化機構

[要 約] 加熱油脂の酸化と関連した不飽和脂肪酸のトランス異性化は、酸素の窒素置換、抗酸化剤で抑制される。アレニウス解析から推定した、不飽和脂肪酸のシスラジカル分子種のトランス異性化の活性化エネルギーは、20-30kcal である。

[キーワード] トランス脂肪酸、油脂、幾何異性化

[担 当] 食総研・食品素材科学研究領域・上席研究員

[代表連絡先] 電話 029-838-8074

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

食品に含まれるトランス脂肪酸の過剰摂取は、冠動脈性心疾患等の健康障害と関連があることが疫学的調査研究結果から指摘され、日本を始め各国で、トランス脂肪酸の摂取量低減化の動きが広がっている。トランス脂肪酸の主要な摂取源は、部分水素添加加工油脂（硬化油）、反芻動物由来の肉、乳製品、精製食用油脂であるが、トランス脂肪酸フリーの食餌をしたラットでも生体内に微量のトランス脂肪酸が蓄積すること、 γ 線照射により肉等のトランス脂肪酸が増加すること、調理加熱により食用油脂のトランス脂肪酸が増加することも報告されている。後者の場合のような生体内や食用油脂中の新たなトランス脂肪酸生成機構について明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 本研究においては、油脂を加熱することにより、不飽和脂肪酸の二重結合のトランス異性化反応を解析し、加熱、生体内等で生成するトランス脂肪酸生成メカニズムについて調べた。
2. 脂質は、加熱すると連鎖的酸化反応が進行する。窒素気流下の加熱や、各種の脂溶性抗酸化剤共存下の加熱により、油脂の連鎖的酸化反応は抑えられるが、このときトランス脂肪酸生成も抑制される（図1）。
3. このことは、不飽和脂肪酸の二重結合部分の炭素分子のラジカル化が、油脂の加熱によるトランス異性化に関与していることを示唆している。
4. 18:1 シス型を脂肪酸側鎖に持つトリオレインと 18:1 トランス型を脂肪酸側鎖に有するトリエライジンを経験すると、不飽和結合の幾何異性化が起こる。加熱温度に依存して、異性化速度も速くなるが、同じ加熱温度で比較すると、不飽和結合のシス型からトランス型への異性化速度は、トランス型からシス型への異性化速度より速い（図2）。
5. 各加熱温度におけるアレニウス解析から算出したシスラジカル分子種のトランス異性化のための活性化エネルギーは、20-30kcal である。この低い回転障壁エネルギー値が、油脂調理や生体内での微量なトランス脂肪酸生成に寄与すると推定される。

[成果の活用面・留意点]

1. 油脂加工、食品照射、脂質代謝系等の多岐の分野において、ラジカル形成を抑制するための酸素供給の遮断、抗酸化剤等の技術が、トランス脂肪酸の低減化にも役立つ。
2. 油脂の製造分野や食品調理過程において、油脂温度を厳密に制御することにより、トランス異性化も抑制できる。

[具体的データ]

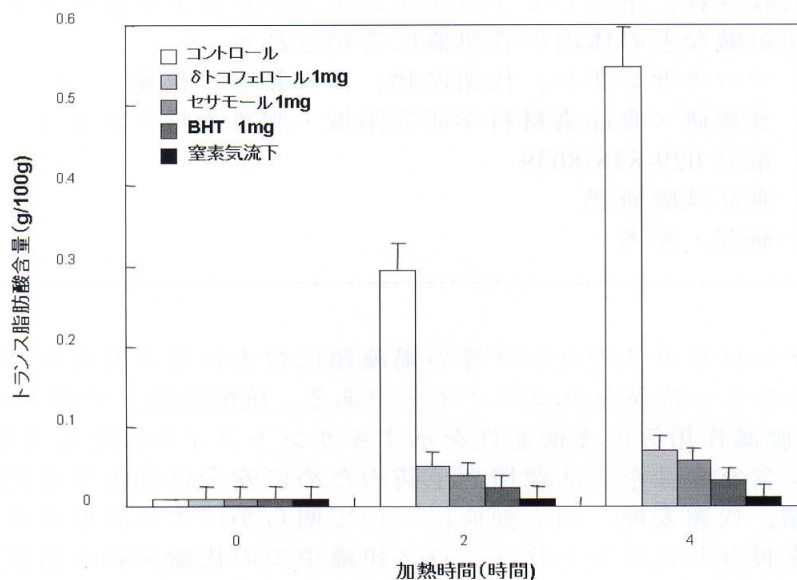


図1. 窒素気流下や各種の抗酸化剤を添加して180°Cで加熱したときのトリオレインのトランス異性化量

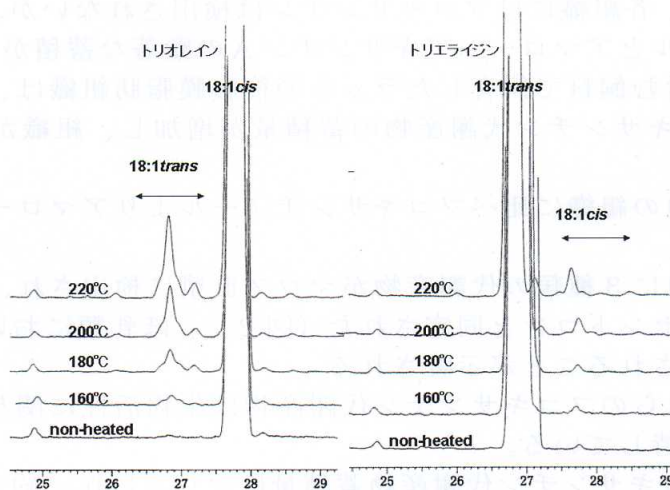


図2. トリオレイン(18:1cis)とトリエライジン(18:1trans)を各温度で4時間加熱したときの二重結合の幾何異性化速度

[その他]

研究課題名：脂質の熱劣化と脂質構造との関連性の解明

課題 ID：323-f-01-001

予算区分：受託研究

研究期間：2009年度

研究担当者：都築和香子、牛田かおり

[成果情報名] フコキサンチンの体内動態

[要 約] 抗酸化性などの多様な機能性をもつフコキサンチンは、経口摂取によってマウスに吸収され、主としてフコキサンチノールとアマローシアキサンチンAへ代謝され、脂肪組織などの体内の各組織に蓄積される。

[キーワード] フコキサンチン、代謝産物、体内動態、褐藻

[担 当] 食総研・食品素材科学研究領域・脂質素材ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8039

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

フコキサンチンはワカメやコンブ等の褐藻類に含まれる主要なキサントフィルであり、アレン結合をもつ特異なカロテノイドである。抗酸化性、アポトーシス誘導活性、抗腫瘍作用、抗肥満作用等の多機能性を示すキサントフィル類として注目されている。フコキサンチン含有食品を生活習慣病予防のために安全に利用するためには、摂取後の体内での蓄積、代謝変換、消失動態について明らかにする必要がある。そこで、フコキサンチンを投与したラット及びマウス組織中での代謝産物の蓄積及び消失動態について明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. フコキサンチンを含むワカメ粉末やワカメ抽出物を含む飼料でラットやマウスを飼育すると、各組織にはフコキサンチンは検出されないが、代謝産物であるフコキサンチノールとアマローシアキサンチンAの顕著な蓄積が見られる。
2. ワカメ粉末を含む飼料で飼育したラットの後腹膜脂肪組織は、ワカメ粉末含量が高くなるとフコキサンチン代謝産物の蓄積量が増加し、組織が橙色を呈する（図1）。
3. 脂肪組織では他の組織に比べフコキサンチノールよりアマローシアキサンチンAを蓄積しやすい。
4. 濃度は低い他に3種類の代謝産物がマウス血漿に検出され、そのひとつは炭素鎖長の短いパラセントロンと同定された（図2）。ほ乳類において、キサントフィルが活発に代謝されることが示唆される。
5. 同定されたこれらのフコキサンチン代謝産物は生物活性に関与すると考えられるアレン結合を保持している。
6. ラットでのフコキサンチン代謝産物蓄積量はマウスに比べ約70分の1と著しく少なく、種によって腸管吸収及び体内動態が異なることが示唆される。
7. マウス血漿ではフコキサンチノールとアマローシアキサンチンAの半減期は0.9日であり、脂肪組織ではそれぞれ2.8日と5.4日である（図3）。非極性のカロテン類に比べ速やかに代謝されるものと考えられる。

[成果の活用面・留意点]

1. フコキサンチンは体内に検出されないことからフコキサンチンの機能性は代謝産物が担っているものと考えられる。
2. 動物種によってフコキサンチンの吸収や代謝産物の蓄積がかなり異なることが示唆されることから、ヒトへの類推には注意が必要である。

[具体的データ]



2%ワカメ群 7%ワカメ群 15%ワカメ群

図1 ワカメ粉末を与えたラット後腹膜脂肪組織

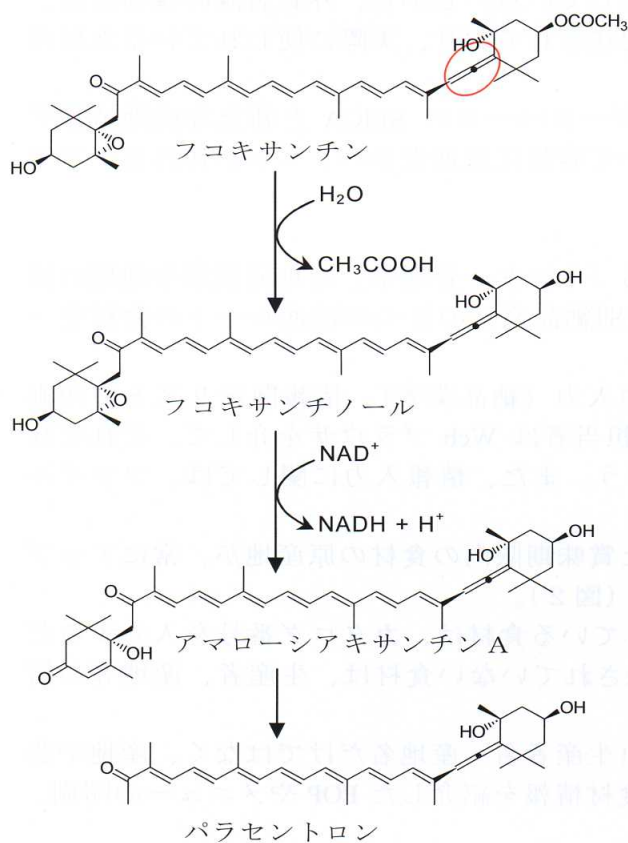


図2 フコキサンチンの代謝経路

赤線で囲んだ部分にアレン結合をもつ。

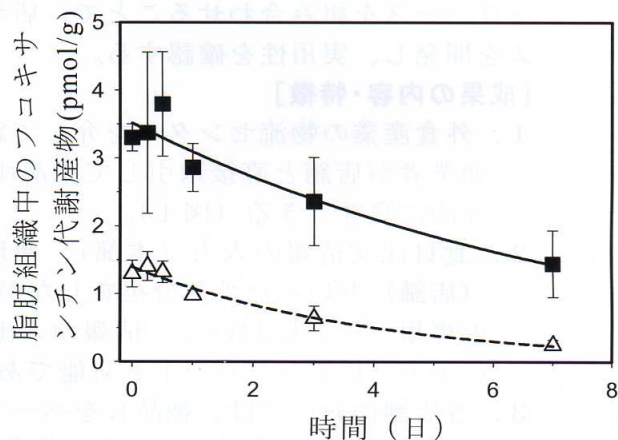


図3 フコキサンチン代謝産物のマウス副
辜丸周囲脂肪組織での消失動態

■, アマローシアキサンチン A
△, フコキサンチノール

[その他]

研究課題名：先端技術を活用した食品の加工利用技術の開発

課題 ID：313-d

予算区分：競争的資金（異分野融合）、交付金

研究期間：2006～2008 年度

研究担当者：長尾昭彦

発表論文等：1) Asai, A. et al. (2008) Br. J. Nutr. 100 (2): 273-277

[成果情報名] 外食産業における産地情報表示システムの開発

[要 約] 外食産業において、実際に使われる食材の産地情報一覧を店舗で印刷するシステムを開発した。外食産業からの発注にもとづき食材を供給する側が産地情報を入力し、食材名・原産地・生産者等が店舗別に区分され、分かりやすい形で表示できる。

[キーワード] 外食産業、産地表示、生産情報、SEICA

[担 当] 食総研・食品工学研究領域・計測情報工学ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8047

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 技術・参考

[背景・ねらい]

BSE,食品の偽装表示事件を背景に、外食等においても産地表示のニーズが高まり、農水省も「外食の原産地表示ガイドライン」を公表している。しかし、外食店舗の現場には、毎日、様々な産地の異なった食材が各店舗に配送されており、実際に使われている食材の産地管理をすることは困難を極める。

そこで具体的な解決方法として、生産情報データベースの SEICA と新たな産地情報データベースを組み合わせることで、店舗において容易に産地表示のリストが作れるシステムを開発し、実用性を確認する。

[成果の内容・特徴]

1. 外食産業の物流センターを介して納品する「センター管理系」と地元農家や地域の流通業者が店舗と直接取引して納品する「個別納品系」の2つの流通ルートの食材を一元的に管理できる（図1）。
2. 食材注文情報の入力（本部）、産地情報の入力（納品業者）、情報開示リストの印刷（店舗）といった役割分担をしながら、各担当者は Web ブラウザを介して、それぞれの専用ページにおいて、情報の入出力を行う。また、情報入力に関しては、ファイルによる一括アップロードも可能である。
3. 各店舗においては、納品日をベースとした賞味期限内の食材の原産地が、常にアップデートされた一覧リストとして印刷できる（図2）。
4. 青果ネットカタログ（SEICA）に登録されている食材は、カタログ番号を入力するだけで産地情報の入力が完了する。逆に登録されていない食材は、生産者、産地等の情報を入力する必要がある。
5. SEICA 登録のある食材は、その登録情報（生産者名・産地名だけではなく、産地や農産物の画像等も含む）が活用できるため、食材情報を紹介した POP やメニューの印刷、情報端末での表示に展開することが出来る。

[成果の活用面・留意点]

1. センター管理系に関しては、前もってマスター情報（商品コード、食材名、店舗コード、店舗名等）を登録しておく必要がある。
2. 個別納品系に関しては、納品業者によって商品コード、食材名（例：馬鈴薯、じゃがいも、ジャガイモ等）、店舗コードが異なるが、これらを標準入力書式に変換する簡単なプログラムを各業者別に作ることで、あらゆる納品業者に対応することが可能である。

[具体的データ]

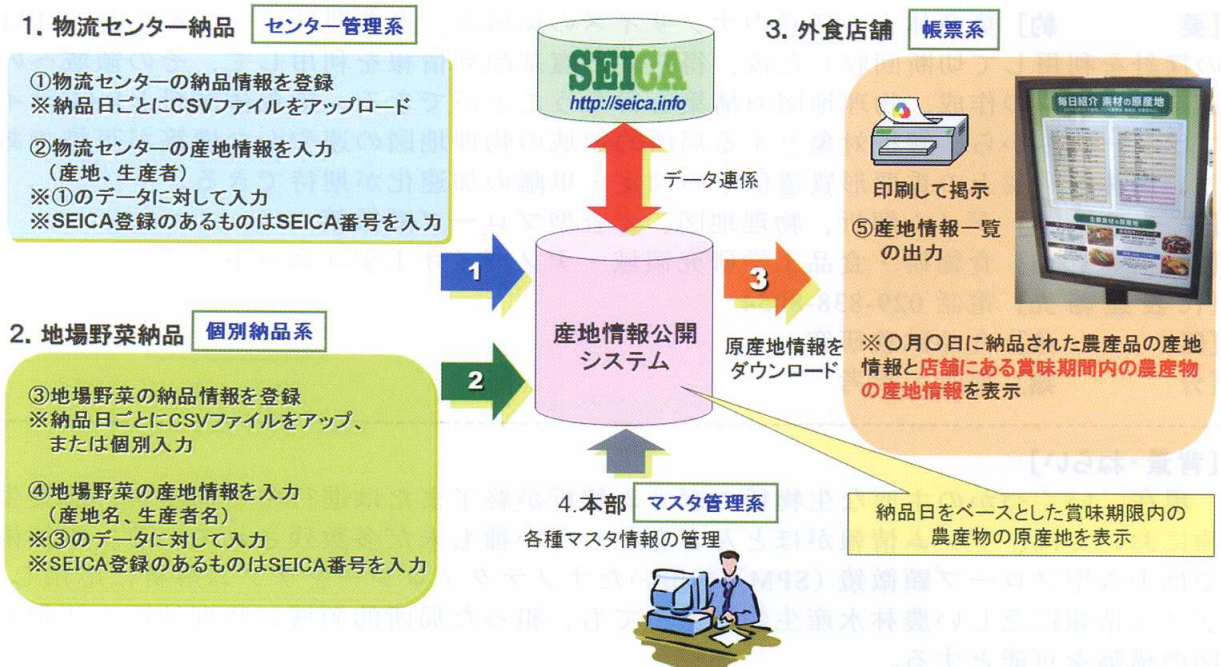


図1 システムの構成

外食店舗



図2 外食産業における産地情報の表示

[その他]

研究課題名：生産情報活用による農産物ユビキタス・マーケティング技術の開発
 課題ID：324-b
 予算区分：実用技術開発
 研究期間：2006～2008年度
 研究担当者：杉山純一

[成果情報名] 走査型プローブ顕微鏡による染色体の物理地図構築技術

[要 約] 染色体上の任意のナノサイズの領域を、走査型プローブ顕微鏡 (SPM) の探針を利用して切断回収した後、得られた塩基配列情報を利用して、その領域への連鎖マーカーの作成、物理地図の構築を行なうことができる。染色体試料とBACライブラリーのみから、解析対象とする局所的領域の物理地図の速やかな構築が可能であり、農林水産業上の重要形質遺伝子の同定・単離の加速化が期待できる。

[キーワード] ゲノム解析、物理地図、走査型プローブ顕微鏡

[担 当] 食総研・食品工学研究領域・ナノバイオ工学ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8054

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

現在、いくつかの主要な生物種のゲノム解析が終了または進行中であるが、農業生物においては、ゲノム情報がほとんど存在しない種も未だ多数残されている。本技術では走査型プローブ顕微鏡 (SPM) を用いたナノテクノロジーをゲノム解析に応用し、ゲノム情報に乏しい農林水産生物であっても、狙った局所的領域に物理地図や連鎖地図の構築を可能とする。

[成果の内容・特徴]

1. 染色体上の標的とするナノサイズの領域を、SPM の探針により、切断回収する技術である。探針に比較的強い力(μN)を印加しつつ、対象位置を一回だけスキャンし、その後、上方に引き上げることで、染色体のナノサイズ断片を回収する (図1)。染色体断片が探針上に回収されているかどうかについては、回収操作後に、探針をDNAに結合性の蛍光色素 (インターカレータ、YOYO-1) によって染色して確認する (図2)。本手法による染色体切断回収の成功率は90~95%程度である。
2. 切断回収した染色体のナノ断片を鋳型として、改良した DOP (Degenerated oligo-nucleotide primed)-PCR により、効率は低いながら、断片由来の塩基配列を得られる (図3)。
3. 切断断片の塩基配列情報 (100~300 bp 程度) を利用して、切断部位に相当する BAC (Bacterial artificial chromosome) クローンをゲノム BAC ライブラリーからスクリーニングすれば、最初に得られた BAC クローンの末端配列情報から、さらに隣接するクローンを順次得て、最終的に数 100kb の物理地図を構築することが可能である (図4)。

[成果の活用面・留意点]

1. 本技術により得られる塩基配列は、SPMにより染色体の標的とする領域から得たものであり、ゲノム上の物理位置があらかじめ判明している配列である。したがって、得られる塩基配列が、わずかであっても、ゲノムライブラリーを併用することにより、隣接領域のクローンを容易にスクリーニングでき、既存のゲノム情報が存在しなくとも、数 100Kb 程度の BAC 物理地図の構築が可能である。
2. 現時点では、SPMで切断した断片からのDNA増幅効率が低いという問題が残っているため、DNA増幅手法の改良を進めている段階である。

[具体的データ]

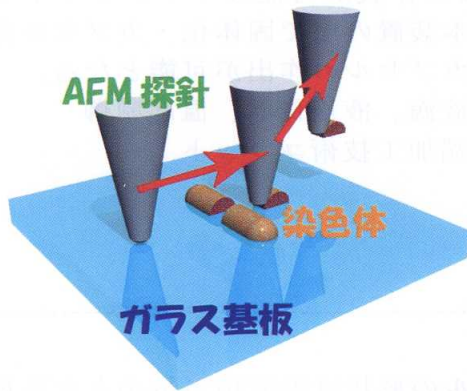


図1 SPMによる染色体ナノ断片の切断回収
染色体の対象位置の上を、SPMの探針により一回だけスキャンして、上方へ探針を引き上げる手法により、ナノ断片切断回収が可能となった。

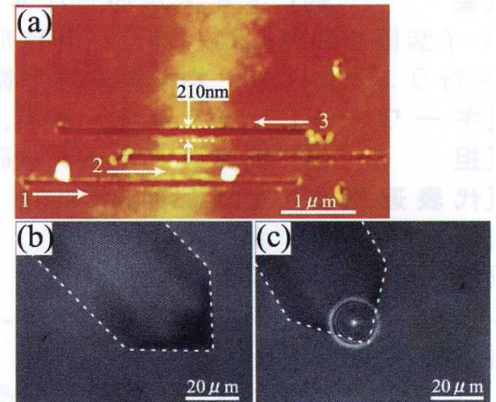


図2 染色体ナノ断片の回収確認
切断に使用した探針を、蛍光染色し、回収が行われていることを確認した。(a)切断図。(b)観察のみに使用した探針。(c)染色体断片切断回収後の探針。

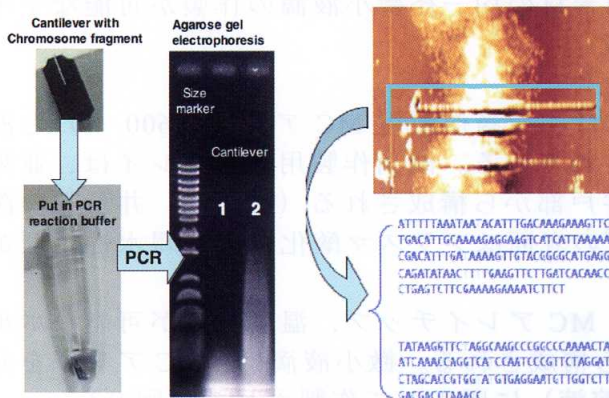


図3 染色体ナノ断片からのDNA増幅
染色体断片からのDNA増幅は、DOP-PCR法による。探針をPCRチューブに入れ、増幅反応溶液を加え、PCR操作を行なう(左図)。右図は、実際に得られた配列の例。

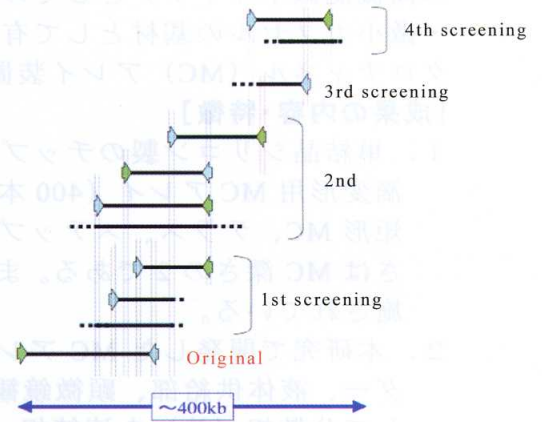


図4 作成したBAC物理地図の例
全長約400KbのBAC物理地図が得られた。最初のクローンを断片から得た塩基配列によりスクリーニングし、その後、順次隣接クローンを得て地図を構築した。

[その他]

研究課題名：SPMダイレクトゲノム解析法の開発

課題ID：313-f

予算区分：生研センター、交付金

研究期間：2003～2008年度

研究担当者：塚本和己、高橋宏和、大谷敏郎、杉山滋

発表論文等：

- 1) Sugiyama, S., et al. (2006) Jpn. J. Appl. Phys., 45(3B), 2305-2309.
- 2) Tsukamoto, K., et al. (2006) Jpn. J. Appl. Phys., 45(3B), 2305-2309.
- 3) Sugiyama, S., et al. (2004) Anal. Biochem. 324(1), 39-44.
- 4) Kim, J., et al. (2004) Nano Lett. 4(11), 2091-2097.

[成果情報名] マイクロチャネルアレイ装置を用いた均一径非球形微小液滴の作製

[要約] サイズが均一な非球形微小液滴の作製が可能なマイクロチャネルアレイ装置を開発した。均一径非球形微小液滴を本装置の中で固体化・カプセル化処理を行うことにより、均一径非球形微粒子・微小カプセルの作出が可能となる。

[キーワード] マイクロチャネル、非球形微小液滴、液滴作製、温度制御

[担当] 食総研・食品工学研究領域・先端加工技術ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8025

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

食品等で利用されている微粒子や微小カプセルの形状は表面積が最小となる球形である場合が多いが、中心部における内包成分の利用効率が表面部と比べてかなり低いという課題がある。微粒子や微小カプセルを非球形化すると、表面積が相対的に増大し、なおかつ中心と表面間の距離が短縮されるため、内包成分の利用効率が系内全域で大幅に向上するものと予想される。とりわけ、サイズが均一な非球形微粒子・微小カプセルは、内包成分の徐放を精密に制御可能であると考えられるため、食品成分等の高機能微小キャリアとしての応用が期待される。そこで本研究では、均一径微粒子・微小カプセルの基材として有用な食品用素材の均一径微小液滴の作製が可能なマイクロチャネル (MC) アレイ装置を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 単結晶シリコン製のチップ (図1) には、液滴作製用 MC アレイ (600 本) と液滴変形用 MC アレイ (400 本) が加工されている。液滴作製用 MC アレイは、並列矩形 MC、テラス、ステップ、および井戸部から構成される (図2)。井戸部の深さは MC 深さの 2 である。また、チップの表面はプラズマ酸化により親水性処理が施されている。
2. 本研究で開発した MC アレイ装置は、MC アレイチップ、温度制御が可能なホルダー、液体供給部、顕微鏡観察装置から構成される。微小液滴は、MC アレイを介して分散相 (油) を連続相 (乳化剤水溶液) に圧入して作製される (図2)。
3. 加圧された分散相 (精製大豆油) は MC を通過し始めた後、テラスで扁平に膨張する。その後、分散相の一部が井戸部に進入し、界面が分裂して均一径の円盤状微小油滴 (平均直径 14.5 μm 、高さ 7.8 μm) が作製される (図3)。
4. MC アレイ装置の一部を 65 $^{\circ}\text{C}$ に加温して液滴作製すると、高融点脂質であるトリパルミチン (融点 58 $^{\circ}\text{C}$) を素材とした均一径の円盤状微小油滴を作製できる。
5. 3. で作製された円盤状微小液滴が下流部の MC アレイに進入する際、栓状微小油滴 (平均長さ 24.1 μm 、高さ 7.8 μm 、長さ 8.0 μm) に変形し、その後 MC の中を前進していく。栓状微小油滴の形状は、MC の中で固体化することにより形状が維持された栓状微粒子となる。

[成果の活用面・留意点]

1. 本研究により食品用素材の均一径非球形微小液滴の作製が可能となるが、MC アレイ装置を用いた均一径非球形微小液滴の微粒子化や微小カプセル化について今後検討していく必要がある。
2. 本装置は均一径非球形微小水滴の作製も可能であり、天然物由来の水溶性素材を利用した均一径非球形微小材料の作出も期待される。

[具体的データ]

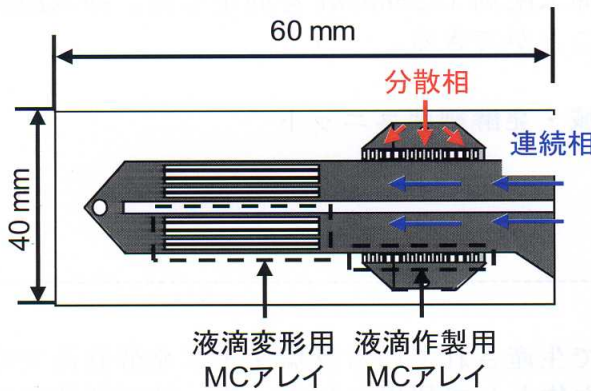


図1 MCアレイチップの模式図

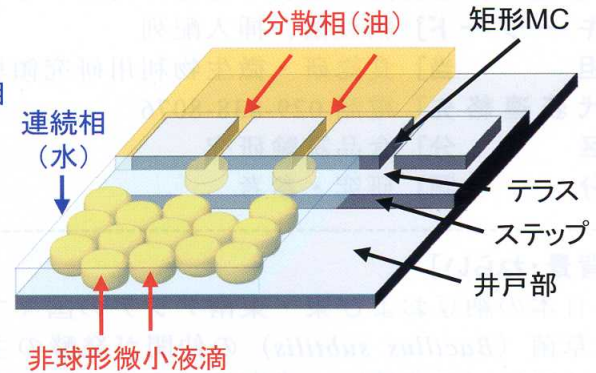


図2 MCアレイを介した非球形微小液滴作製の拡大模式図

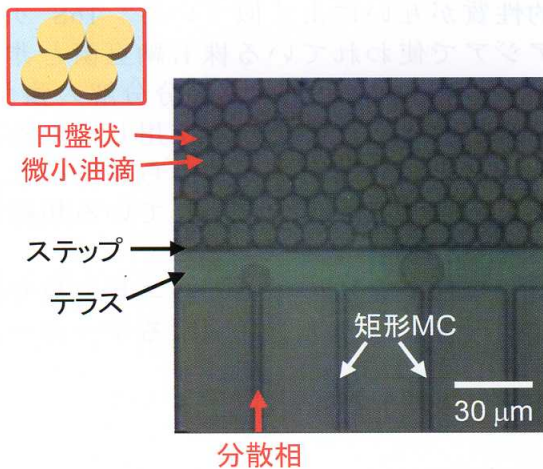


図3 MCアレイを介した均一径円盤状微小油滴の作製
(分散相操作圧力: 5.2 kPa)

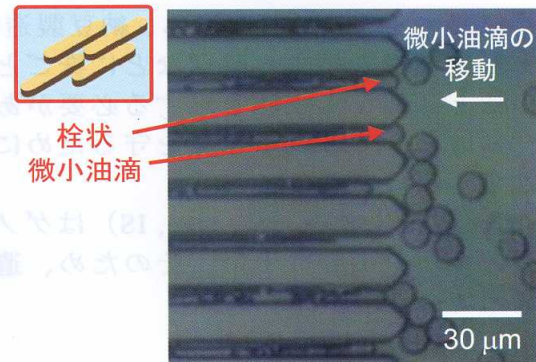


図4 MCアレイを介した非球形微小油滴の形状制御

[その他]

研究課題名 : マイクロ/ナノカプセルの作製と特性解明

課題 ID : 313-d

予算区分 : 競争的研究資金 (倉田記念日立科学技術財団)

研究期間 : 2006~2010 年度

研究担当者 : 小林功、植村邦彦

発表論文等 : 1. Kobayashi, I. et al. (2008) Food Biophysics, 3(2), 132-139.

2. Kobayashi, I. et al. (2008) MicroTAS2008, p. 760-762.

3. Kobayashi, I. et al. (2006) Langmuir, 22(26), 10893-10897.

[成果情報名] 納豆菌の挿入配列 IS4Bsu1 の挿入箇所

[要 約] 納豆菌(宮城野株)がゲノム中に6コピー持っている挿入配列 IS4Bsu1 の挿入箇所を明らかにした。また、新たに挿入配列 IS256Bsu1 を同定した。挿入配列の多型は納豆種菌の峻別や管理に利用することができる。

[キーワード] 納豆菌、挿入配列

[担 当] 食総研・微生物利用研究領域・発酵細菌ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8076

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

日本の納豆および東・東南アジアの国々で生産されている無塩ダイズ発酵食品では枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の仲間が発酵の主体として利用されている。納豆製造では宮城野株(三浦株)、成瀬株、高橋株が市販種菌として使われている他、自社開発株が使われている場合もある。これらの菌株はすべて *Bacillus subtilis* に属し、微生物の分類・同定に用いられる生理的性質や生化学的性質が互いによく似ている。16S リボゾーム DNA 配列にも違いはない。東・東南アジアで使われている株も納豆菌と非常によく似ている。しかしながら、納豆製造時には発酵の速さ、ダイズ成分分解の強さ、臭気、2次発酵の始まる時期などに株ごとの違いがある。そのため、使用している株を他の株と区別して生産管理する必要があり、簡便な菌株峻別法が求められていた。また、知財としての納豆種菌を守るためにも、東・東南アジアで使われている類縁株と区別する手段が必要である。

挿入配列 (Insertion sequence, IS) はゲノム上で転位できるので、そのコピー数や挿入箇所に多型を生じやすい。そのため、遺伝的に近縁な株同士を区別するマーカーとして利用できる。

[成果の内容・特徴]

1. 納豆種菌はゲノム中に挿入配列 IS4Bsu1 を持っている。主要な納豆種菌、宮城野株(三浦株)と成瀬株は6コピー、高橋株は11コピーの IS4Bsu1 を持っている。
2. 納豆種菌はゲノム中に挿入配列 IS256Bsu1 を持っている。主要な納豆種菌、宮城野株(三浦株)は9コピー、成瀬株、高橋株はそれぞれ8コピー、10コピーの IS256Bsu1 を持っている。
3. 宮城野株(三浦株)の6つの IS4Bsu1 の挿入箇所を明らかにした(図1)。1つは *yktD* 遺伝子内にある。残りの5つは、遺伝子間領域 (*iolA* と *iolR* の間、*tuaA* と *lytC* の間、*rapI* と *orf1* の間、*ynaE* と *orf3* の間、*orf4* と *orf5* の間) に存在する。
4. 東・東南アジアの国々で生産されている無塩ダイズ発酵食品から分離される *Bacillus subtilis* は、その多くが IS4Bsu1 を持っている。IS4Bsu1 の挿入箇所のパターンと分離源の地理的な関係には相関は見られない。
5. 挿入配列をプローブとして、サザン解析により種菌の判別ができる(図2)。

[成果の活用面・留意点]

1. IS4Bsu1 と IS256Bsu1 の両 IS 情報を組み合わせて種菌の判別や管理に活用できる。
2. IS4Bsu1、IS256Bsu1 は保存的複製によって自身のコピーを作成するため、挿入配列のコピー数が増える可能性がある。IS4Bsu1 は *comP* (ポリグルタミン酸の合成に必要な遺伝子) 内に転移し、*comP* 遺伝子破壊によりポリグルタミン酸生産が失われる。このとき IS4Bsu1 のコピー数が一つ増えている。

[具体的データ]

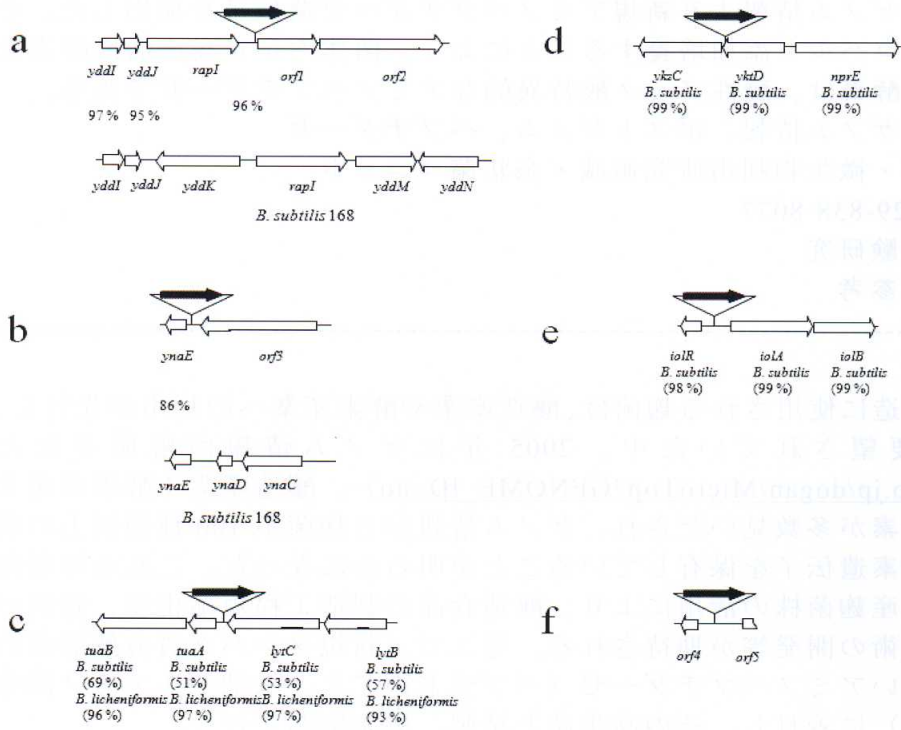


図1. 宮城野株(三浦株)のIS4Bsu1の挿入箇所
6コピー(a~f)のIS4Bsu1を黒塗りの矢印で、挿入箇所の周辺遺伝子を白抜き矢印で表し、遺伝子名をその下に記した。数値(%)は枯草菌実験室株遺伝子とのアミノ酸配列相同性を示す。宮城野株と実験室株で遺伝子の並び方が違うときは、並べて表記した。

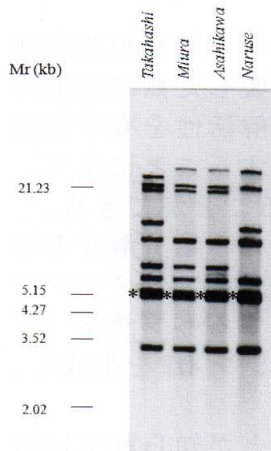


図2. IS256Bsu1のサザン解析例
納豆種菌(高橋株、三浦株、旭川株、成瀬株)の制限酵素EcoRIで消化したゲノムDNAとIS256Bsu1をプローブとして用いた。*記はバンドが2本あることを示す。

[その他]

研究課題名 : 313-e バイオテクノロジーを利用した新食品素材の生産技術の開発及び生物機能の解明・利用
 予算区分 : 委託プロ (ジーンバンク)
 研究期間 : 2006~2010年度
 研究担当者 : 木村啓太郎、伊藤義文
 発表論文等 : 1) Kimura, K. and Itoh, Y. (2007) Biosci. Biotechnol. Biochem. 71 (10):2458-2464

[成果情報名] 麹菌の酸性アミノ酸特異的なアミノペプチダーゼ

[要約] 麹菌のゲノム情報より新規アミノペプチダーゼ遺伝子を検出した。その高発現麹菌株を塩化コバルト添加培養することにより、菌体内から高比活性酵素を得ることができる。本酵素は、酸性アミノ酸特異的なアミノペプチダーゼである。

[キーワード] 麹菌、ゲノム情報、ポストゲノム、ペプチダーゼ

[担当] 食総研・微生物利用研究領域・糸状菌ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8077

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

我が国の醸造食品製造に使用される麹菌は、醸造産業や酵素産業への利用が先行し、生物学的な解明が要望されていた中、2005年にゲノム情報が解明された (http://www.bio.nite.go.jp/dogan/MicroTop?GENOME_ID=ao)。醸造産業や酵素産業上重要な新規代謝関連酵素が多数見いだされ、ゲノム情報から麹菌が100種類以上の新規タンパク質分解酵素遺伝子を保有していることが明らかになった。これらの新規酵素あるいは酵素高生産麹菌株の活用により、醸造食品の製造工程短縮化や、新規ペプチドの効率的生産技術の開発等が期待される。そこで、新規タンパク質分解酵素のうち、基質特異性の高いアミノペプチダーゼ（ペプチドのアミノ末端からアミノ酸を一つずつ遊離する酵素）に着目し、その高生産と精製、機能解明を行う。

[成果の内容・特徴]

1. 麹菌のゲノム情報から見出された新規アミノペプチダーゼ遺伝子の高発現麹菌株を作出、培養する。培養菌体を凍結粉碎し、緩衝液で抽出し、調製した無細胞抽出液から、アスパラギン酸-パラニトロアニリド (Asp-pNA) の分解活性を有する酵素を精製する。1 mM 塩化コバルトを添加培地で高発現株を培養することにより、精製酵素の比活性を塩化コバルト無添加の場合の約20倍に高めることができる。
2. 精製酵素は、合成基質のうち、Asp-pNAとグルタミン酸-pNAのみを分解するので、本酵素は酸性アミノ酸特異的なアミノペプチダーゼ、アスパチルアミノペプチダーゼ (DAP) である。DAPはアミノ末端にアスパラギン酸を有するペプチド (アンジオテンシン II) からアスパラギン酸を遊離してアンジオテンシン III を生成し、それ以上分解が進まない。基質特異性が極めて高い (図1)。
3. 出芽酵母や哺乳類の DAP は合成基質をほとんど分解しないことが知られているが、麹菌の DAP は合成基質を分解できる点で、DAP としては新しい特徴を有する。
4. 哺乳類の DAP と同様、環状ペプチドであるバシトラシンにより活性が上昇する (表1)。したがって、麹菌の DAP はペプチドにより活性の制御を受ける。
5. 酸性アミノ酸は、醸造食品の主要な呈味成分であり、麹菌 DAP がペプチドから酸性アミノ酸を遊離することで、麹菌を用いた醸造食品の呈味形成に関わる可能性がある。

[成果の活用面・留意点]

1. 本酵素による醸造食品の呈味形成への関与解明や、ペプチド加工利用へのさらなる研究が必要である。

[具体的データ]

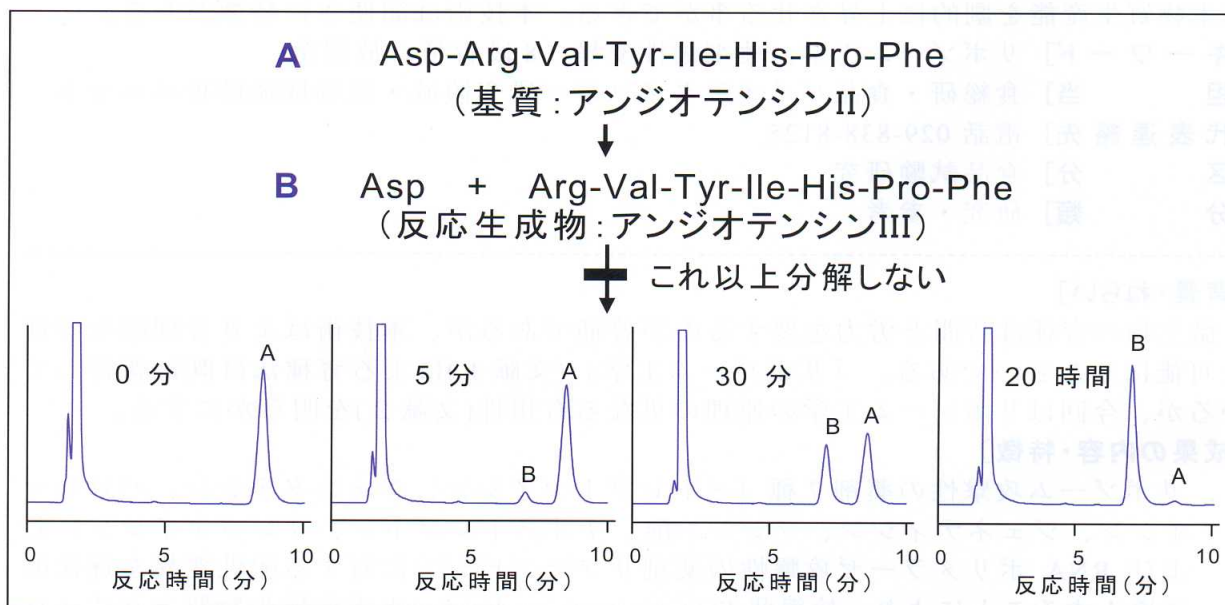


図1 精製酵素によるアンジオテンシンIIの経時的分解

表1 DAP活性に与える各種化学物質の影響

化学物質	濃度 (mM)	相対活性 (%)
添加なし		100
CoCl ₂	1	83 ± 3.5
ZnCl ₂	1	34 ± 1.2
MnCl ₂	1	92 ± 1.5
CaCl ₂	40	109 ± 3.5
EDTA	5	93 ± 2.5
EDTA	20	90 ± 2.0
ジチオスレイトール	0.1	101 ± 2.0
バシトラシン	0.2	124 ± 0.6
ベスタチン	0.2	105 ± 0.9

[その他]

研究課題名: 麹菌プロテアーゼ等の網羅的機能解析

課題 ID: 313-e

予算区分: 新技術・新分野

研究期間: 2006~2010年度

研究担当者: 楠本憲一、鈴木聡、柏木豊

発表論文等: 1) Kusumoto, K.-I., et al. (2008) J. Appl. Microbiol. 105(5), 1711-1719

2) 楠本憲一ら (2007) 第59回日本生物工学会大会講演要旨集、162

[成果情報名] リボゾーム工学を応用して、微生物の物質生産性を飛躍的に向上!

[要約] 8種の薬剤に対する耐性変異を逐次的に導入する事により、微生物の抗生物質生産能を劇的に上昇させる事ができる。本技術は簡便さに特徴がある。

[キーワード] リボゾーム工学、薬剤耐性変異、8段育種、放線菌

[担当] 食総研・食品バイオテクノロジー研究領域・生物機能解析ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8125

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

微生物の育種は時間と労力を要するのが普通であるが、本技術はより合理的な育種を可能にしたものである。「リボゾーム工学」(文献1)による育種法は既に報告しているが、今回はリボゾーム工学の原理の更なる有用性(文献2)を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. リボゾーム攻撃性の薬剤7種(ストレプトマイシン、ジェンタミシン、パロモマイシン、ジェネティシン、フシジン酸、チオストレプトン、リンコマイシン)およびRNAポリメラーゼ攻撃性の薬剤リファンピシンに対する耐性変異を逐次的に導入することにより、放線菌 *Streptomyces coelicolor* の青色抗生物質アクチノロージンの生産力を野生株の180倍に高める事ができる(図1A, B, C)。
2. 生産力アップの要因は制御遺伝子(*actII-ORF4*)の発現が転写レベルで促進された事による(図1D)。
3. 8段育種された菌株は形態に大きな変化が生じている(図2)。
4. 8段育種菌では生育後期における蛋白質合成能(図3B)と生育初期における細胞内 ppGpp レベル(図3C)が著しく上昇しており、この2点が抗生物質生産能力アップの大きな要因となっている。
5. 細胞内 ppGpp レベルの上昇はチオストレプトン耐性変異(*tsp*)導入によって付与されている。しかし、この *tsp* 変異の実体(変異遺伝子)は不明のままである。

[成果の活用面・留意点]

1. 本技術は自然界から分離した遺伝情報の全くない菌株にも即適用しうる事、すなわち利便性に最大の特徴がある。
2. 薬剤耐性変異は“セレクトィブ”な形質なので、変異株取得が容易である。
3. 通常の育種に比べ、短期日ですむ(8段育種は8ヶ月で完了した)。
4. 作出された育種株は遺伝的に安定で、10回以上の植え継ぎにおいてもその形質が変化する事はない。
5. 遺伝子工学操作を行わないいわゆるクラシック変異処理に属するため、食品微生物等に使用しても「遺伝子組み換え生物」には該当せず、関連法の規制を受けることがない。
6. 8段育種株は、形態が変化し、かつ生育が遅くなった(図3A)。菌株によって形態や生育に影響が現れる可能性がある。

[具体的データ]

図1. 8種の薬剤耐性変異の導入による青色抗生物質アクチノロージンの生産力増大

- 1147: 野生株
- K88E: *str*
- SG: *str gen*
- SGR: *str gen rif*
- SGRP: *str gen rif par*
- C5: *str gen rif par gnt*
- C6: *str gen rif par gnt fus*
- C7: *str gen rif par gnt fus tsp*
- C8: *str gen rif par gnt fus tsp lin*
- C8relA2: C8株への*relA*変異導入株

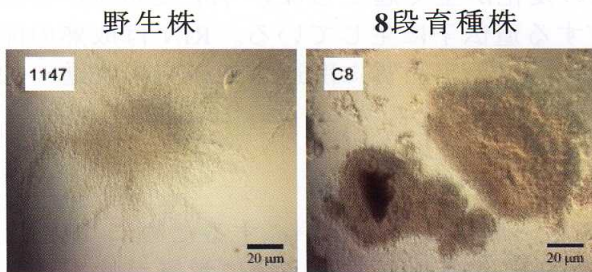
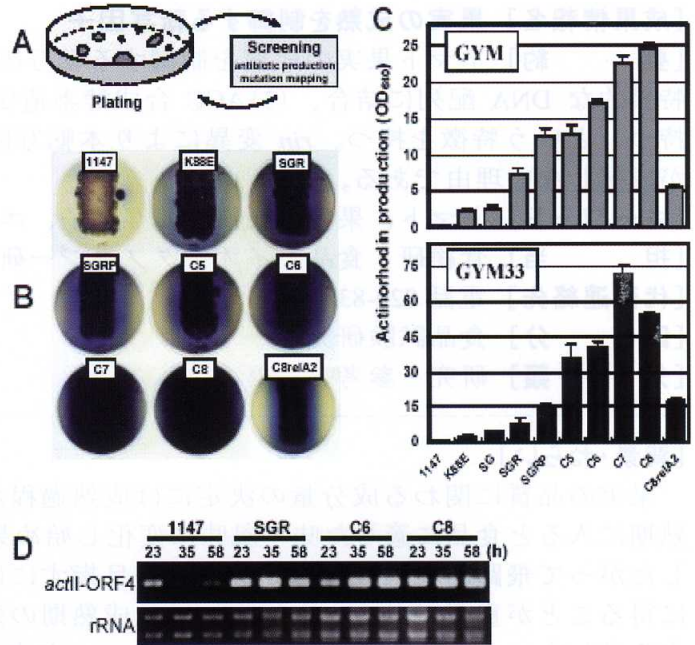


図2. 野生株(1147)と8段階育種株(C8)の形態

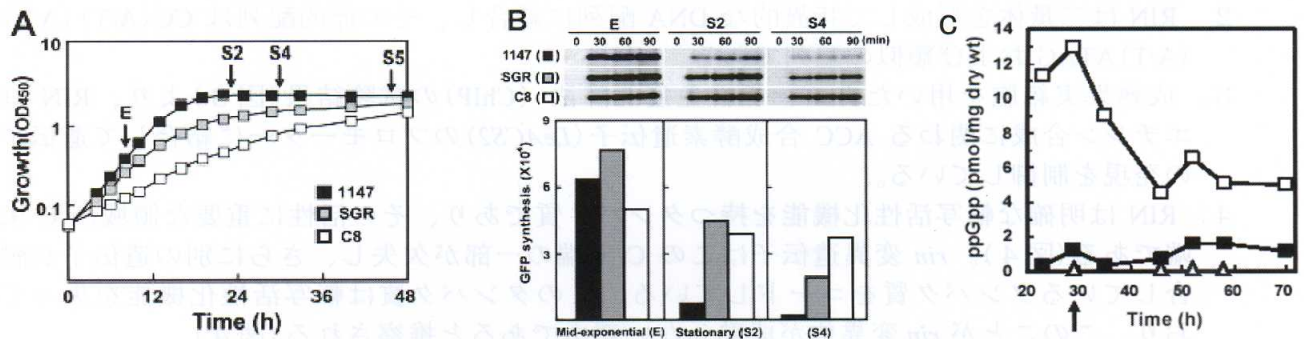


図3. 8段階育種株の生育(A)、蛋白質合成能(B)およびppGpp蓄積能(C)

[その他]

研究課題名：潜在遺伝子発現システムのデザインと活用

課題 ID：313-e

予算区分：交付金（一般研究費）

研究期間：2006～2008年度

研究担当者：越智幸三、岡本晋、稲岡隆史

発表論文等：1) Ochi K. et al. (2004) Adv. Appl. Microbiol. 56:155-184

2) Wang G. et al. (2008) Appl. Environ. Microbiol. 74:2834-2840

3) Tala A. et al. (2009) J. Bacteriol. 191: 805-814

[成果情報名] 果実の成熟を制御する転写因子

[要 約] トマト果実の成熟を制御する転写因子 RIN は、(1)細胞内で核に局在、(2)特異的な DNA 配列に結合、(3)ACC 合成酵素遺伝子の転写を制御、(4)転写活性化機能を持つ、という特徴を持つ。*rin* 変異により本転写因子は転写活性を失うことが変異体果実が成熟しない理由である。

[キーワード] トマト、果実、成熟、転写因子、エチレン

[担 当] 食総研・食品バイオテクノロジー研究領域・生物機能制御ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8050

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

果実の品質に関わる成分量の決定には成熟過程が最も重要なステップとなる。果実は成熟期に入ると食品に適した味・風味に変化し始め果肉は軟化し、鮮やかな色素を蓄積する。したがって飛躍的な果実類の高品質化を目指すには、成熟制御に関する基礎的知見を十分に得ることが重要である。トマトには、成熟期の変化が全く起こらない *rin* 変異体が存在する(図 1)。この変異は転写因子 RIN をコードする遺伝子に生じている。RIN は成熟の開始を制御しており、RIN の分子機能に関する情報は、果実品質に関連する研究の推進・加速に有用である。

[成果の内容・特徴]

1. 果実の成熟制御に関わる転写因子 RIN の細胞内局在性を明らかにするために RIN と GFP の融合タンパク質を植物細胞で一過的に発現させたところ、核に蛍光が検出されるため、RIN は核に局在するタンパク質である。(図 2)。
2. RIN は二量体を形成して特異的な DNA 配列に結合し、その標的配列は CC(A/T)(A/T)(A/T)ATAG および類似の配列である。
3. 成熟果実細胞を用いたクロマチン免疫沈降法 (ChIP) の試験結果(図 3)より、RIN はエチレン合成に関わる ACC 合成酵素遺伝子 (*LeACS2*) のプロモーターに結合して遺伝子の発現を制御している。
4. RIN は明確な転写活性化機能を持つタンパク質であり、その活性に重要な領域は C 末端である(図 4)。*rin* 変異遺伝子はこの C 末端の一部が欠失し、さらに別の遺伝子が融合しているタンパク質をコードしている。このタンパク質は転写活性化機能を失っており、このことが *rin* 変異体が成熟しない理由であると推察される(図 4)。

[成果の活用面・留意点]

1. 食品として重要な果実の成熟過程を解明するには RIN から始まる転写制御機構解明が一つのブレークスルーとなり得る。
2. トマトのようなタイプの果実器官はモデル植物であるイネやシロイヌナズナの相当する器官の特徴と大きく異なるため、独自の情報の蓄積が更なる関連研究の発展に必要である。

[具体的データ]

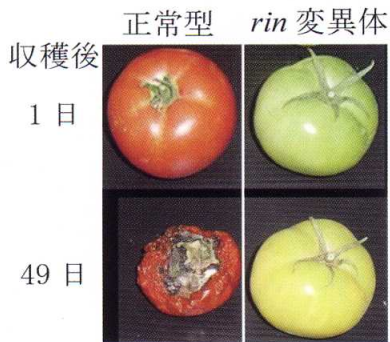


図1 成熟制御転写因子 RIN の *rin* 変異により果実の成熟は完全に停止する。

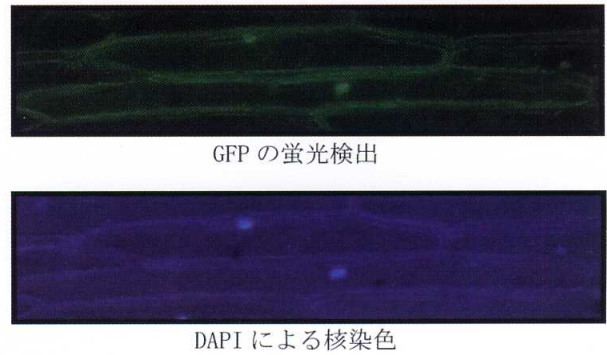


図2 RIN と GFP 融合タンパク質の核局在性。

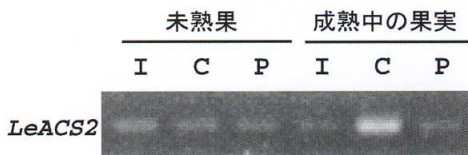


図3 RIN は成熟果実中で ACC 合成酵素遺伝子のプロモーターに結合する。クロマチン免疫沈降法 (ChIP) により回収した DNA の PCR 結果。増幅領域は *LeACS2* のプロモーター領域。成熟果実では RIN 抗体を含む血清を用いた ChIP-DNA (C) において標的領域が濃縮されるが、免疫前血清による ChIP-DNA (P) では全クロマチン (I) による PCR と同等の低シグナル強度であり標的領域が濃縮されない。また RIN が発現していない未熟果では標的領域は濃縮はされない。

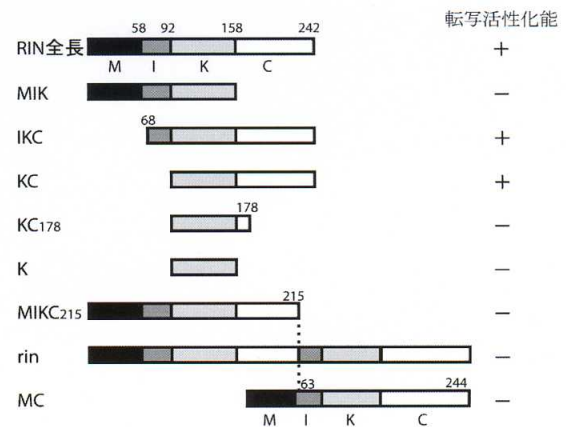


図4 RIN タンパク質における転写活性化ドメインの特定。RIN は C ドメインに転写活性化部位が存在し、*rin* 変異 (C 末端の欠失と MC タンパク質の融合が生じている) により活性部位が失われる。

[その他]

研究課題名：果実類の品質保持に関わる成熟制御因子の解析

課題 ID：313-c

予算区分：科研費若手 B、カゴメ受託研究、交付金

研究期間：2006～2010 年度

研究担当者：伊藤康博、北川麻美子 (カゴメ)

発表論文等：Ito, Kitagawa, Ihashi et al. (2008) Plant J. 55 (2), 212-223

[成果情報名] 無触媒メチルエステル化法実証プラントによるバイオディーゼル燃料製造

[要約] 常圧の条件で過熱メタノール蒸気を油脂と接触させることにより、アルカリ触媒を用いることなく動植物油脂から脂肪酸メチルエステル（バイオディーゼル燃料）を製造する。アルカリ触媒を除去するための精製工程が不要であるためコスト低減が可能となる。

[キーワード] 無触媒、脂肪酸メチルエステル、廃食用油、バイオディーゼル燃料、過熱メタノール蒸気

[担当] 食総研・食品工学研究領域・反応分離工学ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7323

[区分] バイオマス

[分類] 技術・普及

[背景・ねらい]

動植物油脂を軽油代替燃料とするためには、その粘度を軽油に近いレベルにまで低下させる必要があるが、現状の技術としては、アルカリ触媒（水酸化ナトリウムや水酸化カリウム）を用いた脂肪酸メチルエステル（Fatty Acid Methyl Ester: FAME）への変換が主流である。この場合、反応後にアルカリ触媒を除去するための精製工程が必要であり、コスト低減の障害となっている。また、遊離脂肪酸はアルカリ触媒と反応して石けんを生成するため、従来のアルカリ触媒法を用いて廃食用油等の遊離脂肪酸を含む脂質を処理する際には、前処理として遊離脂肪酸を除去する脱酸工程が必要である。これらの問題を克服するため、触媒を用いることなく FAME（バイオディーゼル燃料）を製造する技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 常圧の条件下で過熱メタノール蒸気を反応槽に吹きこむことにより、気泡と油脂との界面でのエステル交換反応（FAME の生成）を促進させる。生成した FAME は未反応のメタノール蒸気とともに反応槽から流出し、コンデンサーによりメタノールと分離され、製品タンクに回収される。製品タンクでは比重差によりグリセリンが相分離し、FAME を主成分とする製品が得られる（図 1）。
2. 「無触媒過熱メタノール蒸気法」によって 1 日あたり 500 L の原料油から 400 L 以上のバイオディーゼル燃料を連続製造する実証プラント建設し（図 2）、製造実験では、廃油（パーム油）を原料として 425 L/日の製造能力を確認した。また、製品中の FAME の含有率を、バイオディーゼル燃料のニート規格である 96.5 % 以上まで高めることができた。
3. 本法で製造された燃料を用いて単気筒ディーゼルエンジンによる燃焼試験を行った結果、従来法（アルカリ触媒法）による燃料とほぼ同等の性能・排気特性が得られた。
4. 実証プラントでの製造実験で明らかになったエネルギー消費量を基に、6000 kL/年規模の事業プラントの製造コストを試算した結果、本法では 45 円/L 以下でバイオディーゼル燃料を製造可能であることが示された（表 1）。

[成果の活用面・留意点]

1. 軽油と混合する場合（B5 での利用；軽油にバイオディーゼル燃料を 5 % 混合）、事業者登録と品質確認が必要である。（揮発油等の品質の確保等に関する法律（品確法）；平成 21 年 2 月 25 日施行）
2. 原料となる油脂の調達方法、バイオディーゼル燃料製造技術、燃料の利用まで、一貫して投入エネルギーの少ない代替エネルギー製造利用体系が確立される必要がある。

[具体的データ]

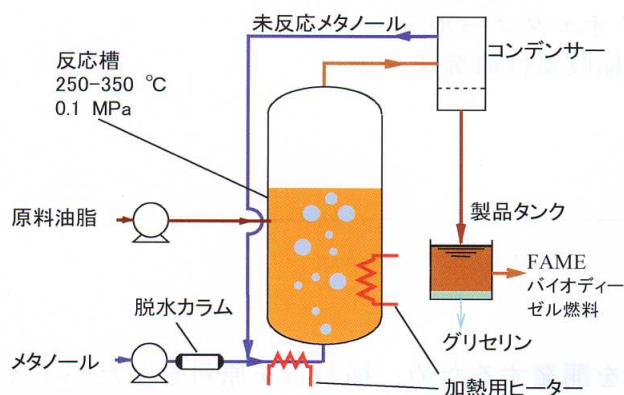


図1 過熱メタノール蒸気を用いた製造プラントの概略



図2 実証プラント (設計製造能力：400 L/日)

表1. 過熱メタノール蒸気法によるバイオディーゼル燃料の製造コスト

項目	実証プラント 400 L/日 (146 kL/年規模)	事業プラント (6,000 kL/年規模)			
		単純スケールアップ	熱量ロスを削減したケース	反応性が1.5倍に向上したケース	
減価償却費 (円/kg)	39.2	8.6	8.6	6.6	
補修費等 (円/kg)	0.9	0.2	0.2	0.1	
人件費 (円/kg)	313.9	7.3	7.3	7.3	
メタノール費 (円/kg)	18.0	10.0	10.0	10.0	
熱源費 (円/kg)	82.7	22.5	13.6	9.0	
電気代 (円/kg)	20.1	9.7	9.7	6.4	
合計 (円/kg)	474.8	58.3	49.4	39.6	
	(円/L)	389.6	47.8	40.5	32.5

試算条件：24時間稼働、人件費：作業員8人（450万円/（年・人））4班交代制、
熱源費：C重油（53.6円/L 2008.9-12内航燃料油価格参照）
電力料金：高压電力、FAMEの容量換算 1 L=0.82 kg

[その他]

研究課題名：バイオディーゼル燃料の生産技術の開発

課題 ID：224-c

予算区分：委託プロ（バイオマス（変換技術））

研究期間：2007-2008年度

研究担当者：鍋谷浩志、菘原昌司、相良泰行（東大）、荒木徹也（東大）、山根浩二（滋賀県立大）、河崎澄（滋賀県立大）、後藤雅史（鹿島建設）、多田羅昌浩（鹿島建設）、宮野寛（鹿島建設）、倉持和博（鹿島建設）、芋生誠（鹿島建設）、吉村美毅（鹿島建設）、佐藤隆裕（鹿島建設）、小川浩司（鹿島建設）

発表論文等：Joelianingsh, Hiroshi Nabetani（責任著者）他5名；*Renewable Energy*, **33**, 1629-1636（2008）

鍋谷浩志、菘原昌司；特願 2008-38471、バイオディーゼル燃料の製造方法

[成果情報名] 易分解性糖質を蓄積する稲わら稈部の並行複発酵によるバイオエタノール生産

[要約] 易分解性糖質は、稲わらの茎から葉鞘を除去した部分（稈部）に蓄積する傾向があり、品種系統のみならず収穫後の貯蔵法により質や量が変化する。稈部のみを回収して並行複発酵を行うことにより、5%以上の高濃度エタノール発酵液を得る。

[キーワード] 稲わら、易分解性糖質、稈、バイオエタノール

[担当] 食総研・糖質素材ユニット、作物研・稲収量性研究チーム

[代表連絡先] 電話 029-838-7189

[区分] バイオマス

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

食料生産と競合しないバイオ燃料製造技術を開発するため、稲わらを原料としたバイオエタノール製造研究や実証試験が行われている。しかしながら、その対象糖質は稲わら中のセルロースおよびヘミセルロースであり、シュクロース、でん粉、グルコース、フラクトースおよび β -1,3-1,4-グルカンから構成される易分解性糖質の存在を考慮したエタノール生産技術は開発されていない。そこで、稲わら中の易分解性糖質を蓄積する部位を用い、並行複発酵による高濃度エタノールの生産技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 稲わら（リーフスター(LS)）稈部を切断し走査型電子顕微鏡で観察した結果、組織内に10-20 μ m程度のでん粉粒が観察される（図1）。
2. 稲わら（LS およびコシヒカリ）稈部の易分解性糖質は両品種とも稈部乾重の30%以上存在し、その量はセルロースよりも多い。易分解性糖質としては、でん粉のみならず、遊離糖や β -1,3-1,4-グルカンも存在する。貯蔵法の差により、易分解性糖質の量的・質的变化が観察される（表1）。
3. 70℃乾燥のみを行ったLSの稈に含まれる易分解性糖質は、葉鞘・葉身部と比較して濃度で4倍以上、絶対量で2.8倍となる。稈部のみを回収すれば、重量を4割に減じて全体の約3/4の易分解糖質を回収できる。
4. 易分解性糖質の濃度が高い稈部を用い、粉碎後、並行複発酵に供することにより、5%以上の高濃度エタノール生産が可能となる（図2）。

[成果の活用面・留意点]

1. 稲わら中の易分解性糖質蓄積を目的とした育種・栽培条件、そして貯蔵時における成分変動要因については十分に解明されていない。易分解性糖質を著量蓄積する稲わらの利用技術を実用化するためには、稲わらの安定生産・貯蔵技術の開発が不可欠となる。
2. 高濃度エタノール発酵により蒸留コストが低減する。圃場近辺での稈回収技術の開発により、副産物となる葉鞘・葉身部を鋤込み用途、燃料用途等に供するとともに、稲わら原料の輸送コストを削減できると期待される。

[具体的データ]

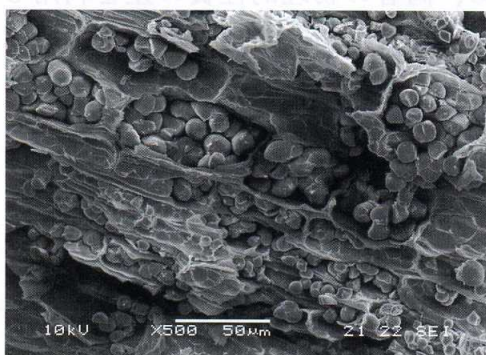


図1 成熟期稲わら稈部におけるでん粉粒の走査型電子顕微鏡写真（リーフスター）

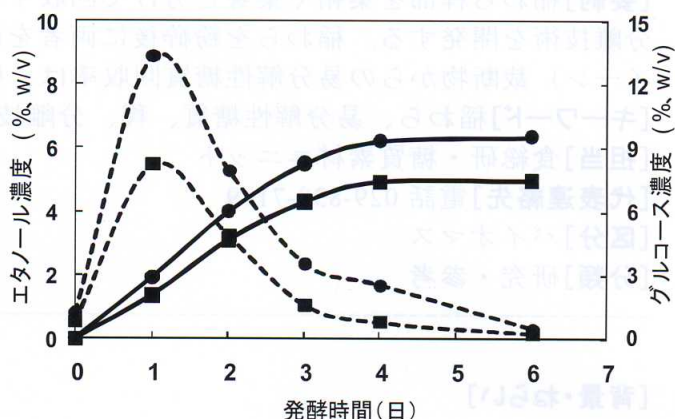


図2 リーフスター稈部粉碎物の並行複発酵によるエタノールの生産（実線：エタノール濃度、点線：グルコース濃度、●：稈濃度 30%、■：稈濃度 20%）

表1 風乾・熱乾燥を行った稲わら分画試料に含まれる糖質の存在量（乾重比）

品種/部位	乾燥法	易分解性糖質(%)					繊維性糖質(%)			
		グルコース	シュークロース	フラクトース	でん粉	β -1,3-1,4-グルカン	易分解性糖質(全体)	セルロース	キシラン	セルロース/キシラン比
リーフスター稈部	70°C乾燥	0.67	4.69	1.17	46.7	2.11	55.4	13.8	4.81	2.87
	屋内風乾後70°C乾燥	4.55	14.3	4.8	32.4	1.83	57.8	13.5	4.32	3.13
リーフスター葉鞘・葉身部	70°C乾燥	1.06	2.51	1.33	7.86	0.54	13.3	24.6	11.3	2.18
	屋内風乾後70°C乾燥	1.15	0.18	1.57	3.06	0.18	6.14	23.5	11	2.13
コシヒカリ稈部	70°C乾燥	1.25	9.89	1.66	16.4	0.85	30.1	17.8	9.06	1.96
	屋内風乾後70°C乾燥	4.6	10.5	4.36	2.29	0.64	22.4	19.2	10.1	1.91
コシヒカリ葉鞘・葉身部	70°C乾燥	0.33	1.57	0.46	0.39	0.17	2.91	21.9	11.5	1.91
	屋内風乾後70°C乾燥	0.21	0.06	0.32	0.1	0.01	0.69	26	13.4	1.94

稲わら（リーフスター・コシヒカリ）を成熟期に収穫後、その一部を直ちに70°Cで乾燥し、残りは風通しの良い屋内で3週間程度風乾後、70°Cで乾燥。稈部と葉鞘・葉身部に分離後、粉碎し各成分を定量。

[その他]

研究課題名：リグノセルロースの酵素分解技術の開発

課題 ID：224-b

予算区分：委託プロ（バイオマス）

研究期間：平成19年度～平成20年度

研究担当者：徳安健（食総研）、朴正一（食総研）、近藤始彦（作物研）、三王（荒井）裕見子（作物研）

発表論文等：朴正一ら：「Efficient recovery of glucose and fructose via enzymatic saccharification of rice straw with soft carbohydrates」、*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, in press.

[成果情報名] 易分解性糖質回収のための稲わら稈部分離技術の開発

[要約] 稲わら稈部を葉鞘や葉身と分けて回収するため、両者の物理的性質の差を利用した分離技術を開発する。稲わらを粉碎後に両者を風力で分離した場合、稲わら（ミルククイーン）裁断物からの易分解性糖質回収率は、稈部に含まれる量の約 80%となる。

[キーワード] 稲わら、易分解性糖質、稈、分離技術、バイオエタノール

[担当] 食総研・糖質素材ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7189

[区分] バイオマス

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

収穫時に回収される稲わらには、シュクロース、でん粉などの易分解性糖質が蓄積しており、その大部分が稈部に存在する。この稈部をバイオエタノール原料として用いる場合、高濃度の糖化液やエタノール発酵液が得られ、蒸留コストや環境負荷を低減できると期待される。そこで、本研究では、稲わら粉碎物から稈部のみを分離・回収するための技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 稲わら（ミルククイーン）をローラーで圧縮して潰した後、稈に対して長さ 3 cm 間隔で裁断する。これをグラインダーで粉碎した後、上部開方式円筒管に入れ、下から空気を回転させて吹き上げる（図 1）。円筒管上部から飛ばされた破砕物を低比重部、円筒管内に残った粉碎物を高比重部として回収する。低比重部および高比重部の回収量は、手作業で分離した葉鞘・葉身部の量および稈部の量とほぼ同じ値を示す（図 2）。
2. 低比重部および高比重部を 0.5 mm 以下に粉碎し、易分解性糖質を定量する。対照群として、手作業で分離した稈部、葉鞘・葉身部および稲わら全体を粉碎した試料についても定量を行う。その結果、高比重部に存在する易分解性糖質は、手作業で分離した稈部に含まれる易分解性糖質の約 80%相当となる（図 3）。本分離技術は、コシヒカリ、夢あおば由来の稲わらについても適用可能である。

[成果の活用面・留意点]

1. 稈と葉鞘・葉身部の分離効率は、稲わらの品種、粉碎物の形状、水分含量等により影響を受ける。本分離技術は、一定品質の稲わらの分離に対して有効であるが、原料特性の変化に対応して風量等の条件を修正し最適化させる必要がある。
2. 選別された稈部は糖濃度が高いことからバイオエタノール変換工程が効率化するが、乾燥・輸送コストについては、分離コストや必要収集量の増加等を考慮した総合的評価が必要となる。
3. 稈部を圃場またはその近辺で分離できれば、副産物となる葉鞘・葉身部を鋤込みまたは燃料用途等に供することにより、稲わらの部位特性に応じた有効利用が可能となる。

[具体的データ]

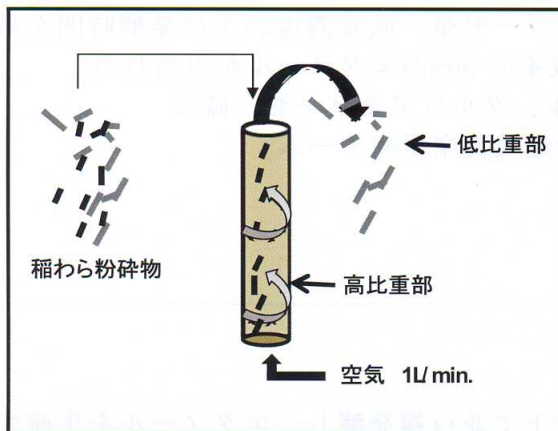


図1 稲わら粉碎物の風力選別技術

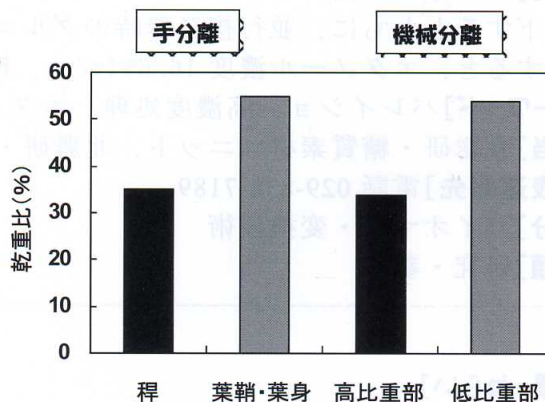


図2 稲わらの手作業分離（左）による稈および葉鞘・葉身の乾重比と機械分離（右）による高比重部および低比重部の乾重比（手分離：100 g、機械分離：30 gを用いた結果）

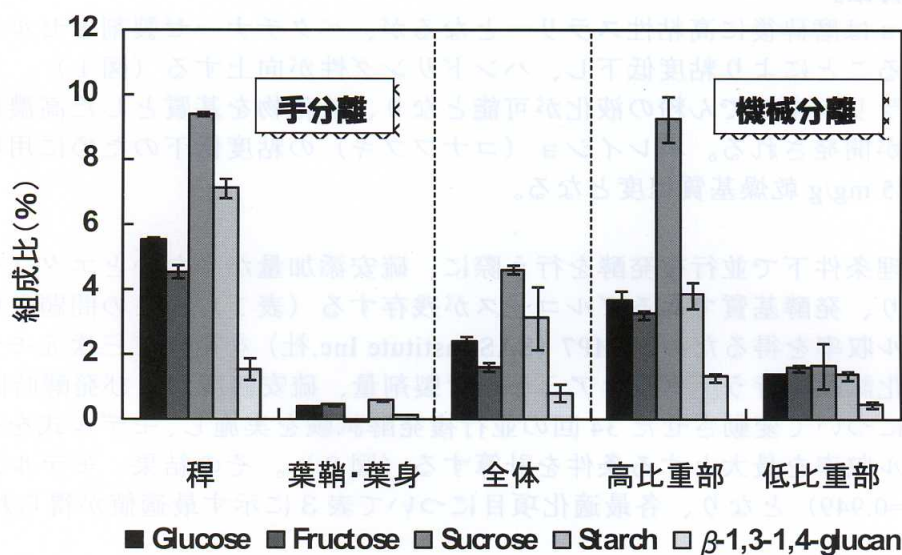


図3 稲わらの各分離法により得られる画分における易分解性糖質の組成比（対乾燥重量）

[その他]

研究課題名：リグノセルロースの酵素分解技術の開発

課題 ID：224-b

予算区分：委託プロ（バイオマス）

研究期間：平成19年度～平成20年度

研究担当者：徳安 健（食総研）、荒金光弘（食総研）、朴正一（食総研）

発表論文等：特許出願「稲の糖化法」特願 2008-198418

[成果情報名] バレイショ磨砕・液化物を用いた高濃度エタノール生産技術の開発

[要約] バレイショ磨砕物からバイオエタノールを生産するため、酵素により磨砕物の粘性を低下するとともに、並行複発酵時のグルコアミラーゼ量、硫酸濃度および発酵時間を最適化すると、エタノール濃度 16.6%(v/v)、理論収率の 90%のエタノールが得られる。

[キーワード] バレイショ、高濃度処理、エタノール、グルコアミラーゼ、硫酸

[担当] 食総研・糖質素材ユニット、北農研・寒冷地域特産研究チーム

[代表連絡先] 電話 029-838-7189

[区分] バイオマス・変換技術

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

バレイショ磨砕物を液化したものを高濃度条件下で並行複発酵し、エタノールを生産する。高濃度処理により加水量が減るとともにフェーマンターの利用効率が向上するが、その一方で、酵母に対する浸透圧ストレス、栄養源不足、エタノール毒性ストレス等により、生育・発酵阻害が起こることから、発酵条件を最適化する必要がある。そこで、本研究では、磨砕物の粘性低下処理技術を開発するとともに、糖化酵素、硫酸濃度および発酵時間に注目し、高濃度処理工程によるエタノール発酵効率の最適化を行う。

[成果の内容・特徴]

1. バレイショは磨砕後に高粘性スラリーとなるが、ペクチナーゼ製剤とセルラーゼ製剤を作用させることにより粘度低下し、ハンドリング性が向上する（図1）。本処理により、磨砕スラリー中のでん粉の液化が可能となり、液化物を基質とした高濃度糖化・発酵処理技術が開発される。バレイショ（コナフブキ）の粘度低下のために用いる酵素使用量は、0.25 mg/g 乾燥基質程度となる。
2. 高濃度処理条件下で並行複発酵を行う際に、硫酸添加量が少ないとエタノール発酵が途中で停滞し、発酵基質であるグルコースが残存する（表1）。この問題を解決し、高いエタノール収率を得るため、JMP7（SAS Institute Inc.社）を用いて三次元モデル式作成による最適化試験を行う。グルコアミラーゼ製剤量、硫酸濃度および発酵時間の3つの最適化項目について変動させた34回の並行複発酵試験を実施し、モデル式を導くとともにエタノール収率を最大とする条件を計算する（図2）。その結果、モデル式は高い相関係数（ $R^2=0.949$ ）となり、各最適化項目について表3に示す最適値が得られる。
3. 最適条件でバレイショ磨砕・液化物を並行複発酵した結果、エタノール濃度はこれまでの試験における最高値 16.6%(v/v)となり、エタノール収率は理論値の 90%となる。

[成果の活用面・留意点]

1. ストレス耐性の高い酵母の使用や、窒素源以外の、マグネシウムやビタミンなどの栄養素の添加効果を解析することにより、さらにエタノール収率が向上するものと期待される。

[具体的データ]

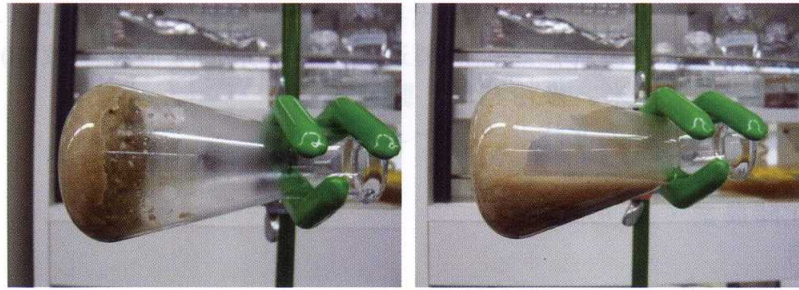


図1 バレイシヨ磨砕物（左：酵素処理前の磨砕物、右：酵素処理後の磨砕物）

表1 バレイシヨの高濃度処理条件下での並行複発酵における培養条件と発酵阻害

グルコアミラーゼ (AGU/g)	硫酸 (mM)	発酵時間(h)	残存グルコース (% w/w)	エタノール収率 (%v/v)
1.27	0.14	48	3.30	13.62
1.27	22.0	48	0.24	15.96
1.27	43.9	48	0.27	15.65

AGU：グルコアミラーゼ活性の単位

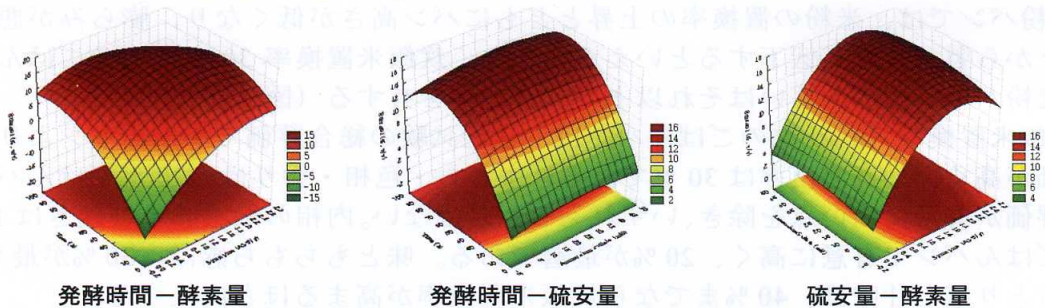


図2 最適化試験結果に基づく二変数とエタノール収率との関係を示す三次元モデル

表2 最適化試験により得られた、最高発酵収率を得るための各項目の最適レベル

最適化項目	最適レベル
酵素(グルコアミラーゼ)量	1.65 AGU/g-乾物
硫酸量	30.2 mM
発酵時間	61.5時間

[その他]

研究課題名：効率的エタノール生産微生物の開発

課題 ID：224-b

予算区分：委託プロ（バイオマス）

研究期間：平成 19 年度～平成 20 年度

研究担当者：徳安健（食総研）、Sathaporn Srichuwong（食総研）、向島信洋（北農研）

発表論文等：Sathaporn Srichuwong, et al, Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of very high gravity (VHG) potato mash for the production of ethanol, *Biomass and Bioenergy*, in press.

[成果情報名]ごはんパンにおける最適炊飯米置換率

[要約]小麦粉の一部を炊飯米（ごはん）で代替し、それ以外は一般的な製パン材料を加えることにより、風味・食感に優れたパンが製造できる。最適な置換率は30%である。

[キーワード]ごはんパン、炊飯米、米粉パン、製パン性

[担当]中央農研・稲収量性研究北陸サブチーム

[代表連絡先]tomoyaok@affrc.go.jp

[区分]関東東海北陸農業・流通加工

[分類]技術・参考

[背景・ねらい]

わが国の食糧自給率は40%を下回り、他の先進国と比しても低い水準で推移しており、食糧安全保障上、自給率を向上させることは急務である。米は主食であり国内生産でその需要をまかなえる農産物のひとつであるが、消費量の減少や過剰作付け等を主因とする供給過多が続いており、米の消費拡大が望まれる。

近年、上記の目的で、米粉を使用したパンが注目されているが、風味や食感はい小麦粉を原料としたパンに比較して劣る。そこで本成果では、米粉ではなく炊飯米（ごはん）で小麦粉を代替することにより米利用パンの品質向上を図る。

[成果の内容・特徴]

1. 米粉パンでは、米粉の置換率の上昇とともにパン高さが低くなり、膨らみが悪くなることから製パン性が低下するといえる。一方、炊飯米置換率30%までのごはんパンは小麦粉パンと同等あるいはそれ以上の製パン性を有する（図1）。
2. 炊飯米置換率10-40%のごはんパンは、官能試験の総合評価で小麦粉パンより有意に評価が高く、最適置換率は30%である。すだち・色相・香りは、20%ごはんパンの色相評価が有意に高い点を除き、いずれも有意差はない。内相の触感および硬さは10-30%のごはんパンで有意に高く、20%が最適である。味ともちもち感は、30%が最も高く、しっとり感と甘味は、40%までなら炊飯米置換率が高まるほど向上する。
一方、米粉パンはすべての官能評価項目において小麦粉パンと有意差は見られず、特に総合評価では置換率にかかわらず評価が低い（図2）。
3. 製パン材料に米粉を利用すると製パン性が損なわれるが、炊飯米（ごはん）を利用することにより同等以上の製パン性を維持しつつ、風味や食感が改善される。総合的に判断して、最適置換率は30%である。

[成果の活用面・留意点]

1. 炊飯米置換率に比例して焼色が濃くなるため、用途によっては焼成時間等の調整が必要になる。
2. 炊飯米はコシヒカリを用い、自動ホームベーカリー（パナソニック製SD-BH101）による製パンを行った。
3. パン品質の詳細を明らかにしつつ開発した例は本成果が初めてであるが、炊飯米を製パン材料とすることの特許出願はされている。（特許公開平 4-104754, 審査請求は未請求）

[具体的データ]

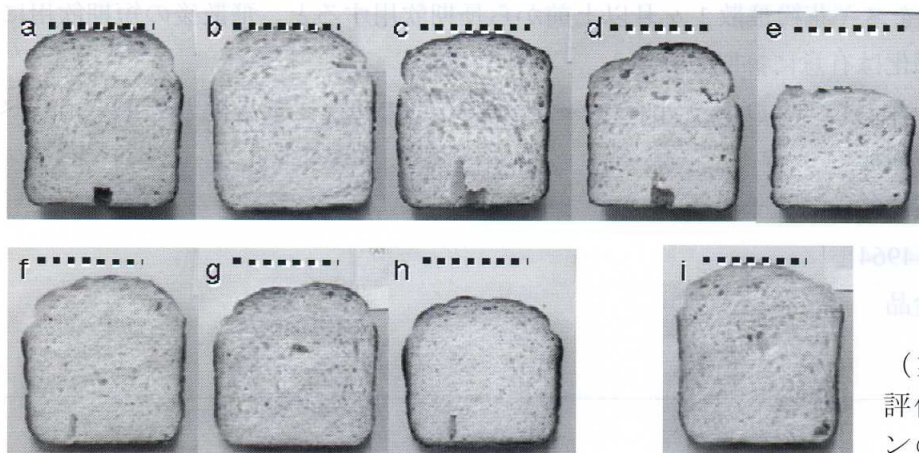


図1 パン断面

a-e, 10-50%ごはんパン
f-h, 10-30%米粉パン
i, 小麦粉パン
(製パン性をパン高さで評価した。破線は小麦粉パンの高さ)

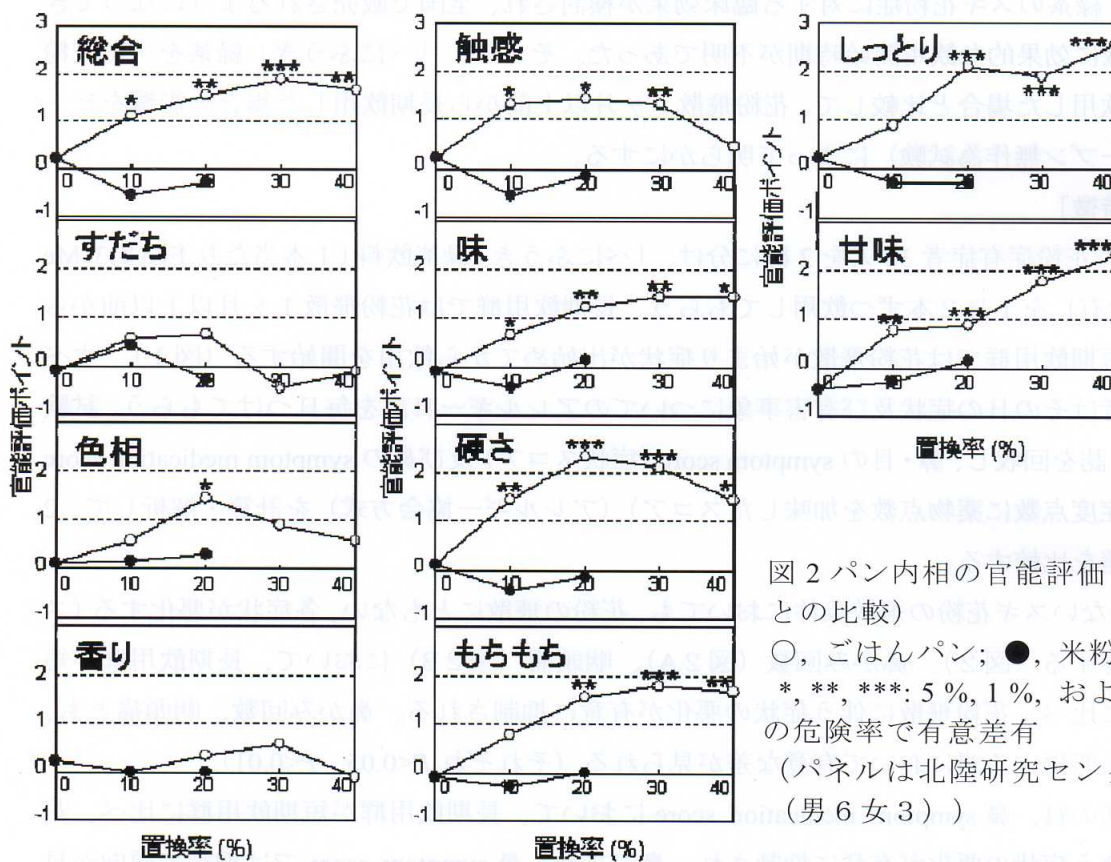


図2 パン内相の官能評価 (小麦粉パンとの比較)
○, ごはんパン; ●, 米粉パン
*, **, ***: 5%, 1%, および0.1%以下の危険率で有意差有
(パネルは北陸研究センター職員9名 (男6女3))

[その他]

研究課題名: イネゲノム解析に基づく収量形成生理の解明と育種素材の開発

課題 ID: 221-c

予算区分: 基盤

研究期間: 2008 年度

研究担当者: 奥西智哉

発表論文等:

[成果情報名]「べにふうき」緑茶飲用開始時期がスギ花粉症の症状軽減効果に及ぼす影響

[要約]「べにふうき」緑茶をスギ花粉飛散1ヶ月以上前から長期飲用すると、飛散後の短期飲用に比べスギ花粉症の症状の悪化は有意に抑制される。

[キーワード]エピガロカテキン-3-O-(3-O-メチル)ガレート (EGCG3"Me ; メチル化カテキン)、「べにふうき」緑茶、スギ花粉症

[担当]野菜茶研・野菜・茶機能性研究チーム

[代表連絡先]電話 0547-45-4964

[区分]野菜茶業・茶業、食品

[分類]技術・参考

[背景・ねらい]

茶葉中から見出された抗アレルギー物質であるメチル化カテキン (EGCG3"Me) を多く含有する「べにふうき」緑茶のスギ花粉症に対する臨床効果が検討され、全国で販売されるようになってきたが、症状軽減に効果的な飲用開始時期が不明であった。そこで、「べにふうき」緑茶をスギ花粉飛散後に短期飲用した場合と比較して、花粉飛散1ヶ月以上前から長期飲用した場合の影響をヒト介入試験 (オープン無作為試験) によって明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 試験は、スギ花粉症有症者36人を2群に分け、「べにふうき」緑茶飲料 (1本当たりEGCG3"Meを17mg含有) を1日2本ずつ飲用してもらう。長期飲用群では花粉飛散1ヶ月以上以前から飲用し、短期飲用群では花粉飛散が始まり症状が出始めてから飲用を開始する (図1)。すべての被験者はその日の症状及び有害事象についてのアレルギー日誌を毎日つけてもらう。試験終了後、日誌を回収し、鼻・目の symptom score (症状スコア) 及び鼻の symptom medication score (症状重症度点数に薬物点数を加味したスコア) (アレルギー協会方式) を計算・解析して、2群間での差を比較する。
2. 平年より少ないスギ花粉の飛散条件においても、花粉の飛散にともない、各症状が悪化する (スコアが上昇する (図2))。鼻かみ回数 (図2A)、咽頭痛 (図2B) において、長期飲用群が短期飲用群に比べ、花粉飛散に伴う症状の悪化が有意に抑制される。鼻かみ回数、咽頭痛とも、症状が最も悪化する週において有意な差が見られる (それぞれ $P<0.05$ 、 $P<0.01$)。
3. 涙目、生活の質、鼻 symptom medication score において、長期飲用群が短期飲用群に比べ、花粉飛散に伴う症状の悪化が有意に抑制され、鼻づまり、鼻 symptom score では抑制の傾向が見られるが、目のかゆみ、目 symptom score では両群間の差はほとんど見られない (データ省略)。

[成果の活用面・留意点]

1. 15週間の使用期間内で有害事象として、胃の調子を悪くした被験者がいるので、空腹時の飲用には注意を要する。
2. 「やぶきた」緑茶と比較した「べにふうき」緑茶のスギ花粉症軽減効果 (二重盲検試験) については <http://www.naro.affrc.go.jp/top/seika/2005/vegetea/ve05004.html> を参照。

[具体的データ]

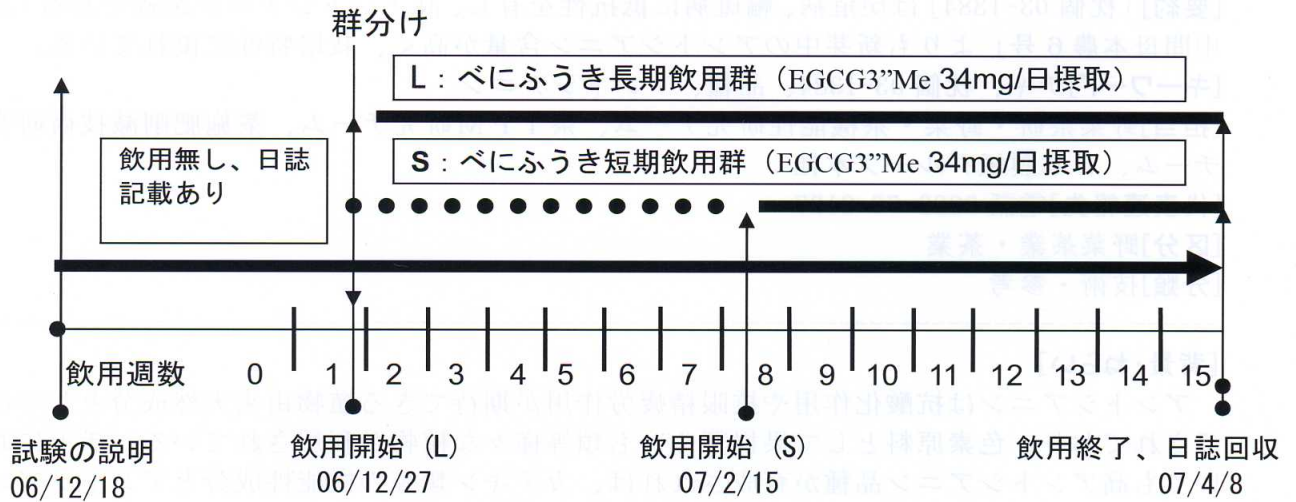


図1 試験スケジュール

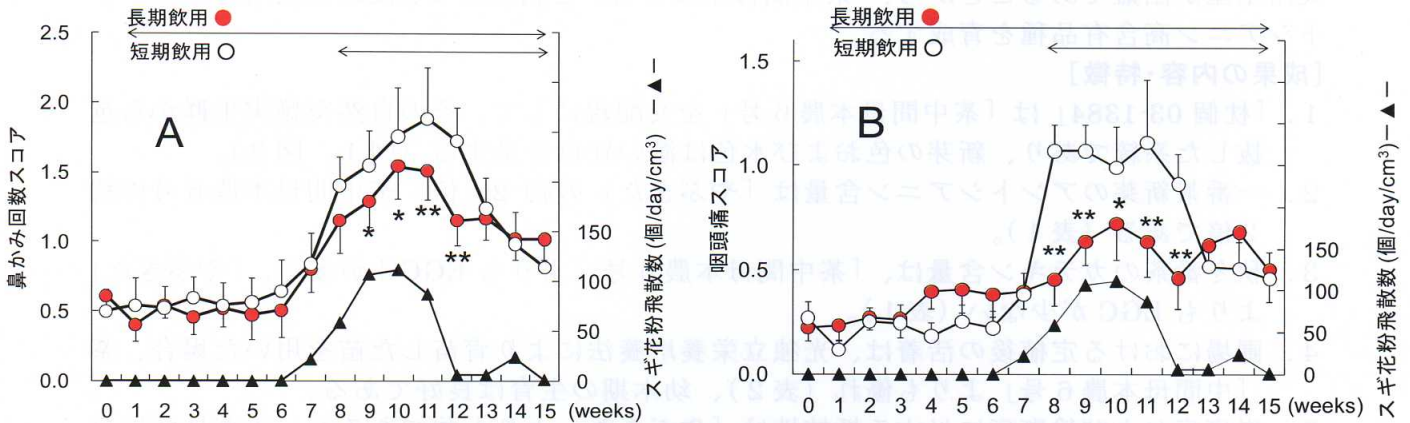


図2 花粉症状に与える飲用開始期の影響

A: 鼻かみ回数 (鼻汁量)、B: 咽頭痛。スコアは上に行くほど悪化することを示す。

値はそれぞれ週のスコアの平均値±SDで表した。統計処理はMann-Whitney U testで行った。

*: 短期飲用群と有意差あり ($P < 0.05$)、 **: 短期飲用群と有意差あり ($P < 0.01$)

[その他]

研究課題名 : 動物、ヒトを用いた薬理効果試験、生体吸収性・安定性・成分特性等の解明による、茶葉中抗アレルギー成分、抗ストレス成分の飲食品、医薬部外品への応用

課題 ID : 312-b

予算区分 : 基盤研究費

研究期間 : 2005~2007 年度

研究担当者 : 山本 (前田) 万里、物部真奈美、藤澤隆夫 (国立病院機構三重病院)、渋谷郁雄 (アサヒ飲料)、篠田有希 (アサヒ飲料)

発表論文等 : Maeda-Yamamoto et al.(2009) *Allergology International*

[成果情報名]チャにおける高アントシアニン新品種候補「枕個 03-1384」

[要約]「枕個 03-1384」は炭疽病、輪斑病に抵抗性を有し、高アントシアニン系統である「茶中間母本農 6 号」よりも新芽中のアントシアニン含量が高く、栽培特性に優れている。

[キーワード]チャ、枕個 03-1384、品種、アントシアニン

[担当]野菜茶研・野菜・茶機能性研究チーム、茶 I P M 研究チーム、茶施肥削減技術研究チーム、日本製紙グループ本社

[代表連絡先]電話 0993-76-2127

[区分]野菜茶業・茶業

[分類]技術・参考

[背景・ねらい]

アントシアニンは抗酸化作用や抗眼精疲労作用が期待できる植物由来天然成分として注目されており、色素原料として果樹類やいも類等様々な植物が利用されている。チャにおいても高アントシアニン品種が育成されれば、カテキン類等の機能性成分とアントシアニンの同時利用が可能となり、新たな需要の創出が期待できる。これまでに高含量育種素材として「茶中間母本農 6 号」を育成したが、定植後の活着や収量性などの栽培特性が劣り実用生産が困難であることから、「茶中間母本農 6 号」を利用して、優れた栽培特性のアントシアニン高含有品種を育成する。

[成果の内容・特徴]

1. 「枕個 03-1384」は「茶中間母本農 6 号」を交配親にして、その自然交雑実生群から選抜した系統であり、新芽の色および水色は濃い紅色を呈する（図 1、図 2）。
2. 一番茶新芽のアントシアニン含量は「やぶきた」の約 20 倍、茶中間母本農 6 号の約 2 倍である（表 1）。
3. 秋冬番茶のカテキン含量は、「茶中間母本農 6 号」よりも EGCG が多く、「やぶきた」よりも EGC が少ない（表 1）。
4. 圃場における定植後の活着は、光独立栄養培養法により育苗した苗を用いた場合、茶「中間母本農 6 号」よりも優れ（表 2）、幼木期の生育は良好である。
5. 炭疽病および輪斑病に対する抵抗性は「やぶきた」よりも強であるが、赤葉枯病にはやや弱である（表 2）。
6. 樹姿は中間型で定植後の活着、樹勢が良好であることから、幼木期の仕立ては容易である（表 2）。

[成果の活用面・留意点]

1. 摘採適期を過ぎるとアントシアニン含量は減少する。
2. 挿し木床での生育は「やぶきた」よりも劣るが、光独立栄養培養技術を用いて育苗したプラグ苗は定植後の活着および生育が良好であることから、定植時は大苗もしくはプラグ苗を用いることが好ましい。
3. 本系統は、アントシアニン高含有機能性茶飲料や天然着色料としての利用が考えられる。

[具体的データ]

C. Taliensis (自然交雑) --- 茶中間母本農6号 (旧系統名: F95181) --- 枕個03-1384 (自然交雑)

図1 「枕個03-1384」の育成系統図



枕個03-1384

左: 枕個03-1384 右: やぶきた

図2 「枕個03-1384」の一番茶新芽と水色

表1 「枕個03-1384」のアントシアニンおよびカテキン含量

品種・系統名	アントシアニン含量(乾物%)		カテキン含量(乾物%)		
	一番茶	秋冬番茶	EGCG	ECG	EGC
枕個03-1384	0.304	0.370	7.38	1.43	1.70
茶中間母本農6号	0.135	0.274	4.35	2.09	1.14
やぶきた	0.014	0.022	6.05	1.26	5.09

注) カテキン含量は秋冬番茶

表2 「枕個03-1384」の栽培特性

品種・系統名	早晩性	樹姿	樹勢	挿し床での生育	定植後の活着	耐病性		
						炭疽病	輪斑病	赤葉枯病
枕個03-1384	中生	中間	やや強	不良	良	やや強	強	やや弱
茶中間母本農6号	早生	やや直立	強	極不良	不良	中	強	弱
やぶきた	中生	やや直立	中	良	良	弱	弱	中

注) 定植後の活着は光独立栄養培養により育苗したプラグ苗を用いた場合の評価

[その他]

研究課題名：茶の遺伝資源を活用したアントシアニン等の機能性成分高含有育種素材の開発

課題 ID：312-b

予算区分：基盤研究費・委託プロ（イノベーション創出）

研究期間：2001～2008年度

研究担当者：根角厚司、荻野暁子、吉田克志、田中淳一、谷口郁也、山本（前田）万里、村上章（日本製紙グループ本社）

[成果情報名]パーオキシナイトライトに対する[6]-ジングロールおよびエラグ酸の酸化・ニトロ化抑制機構

[要約][6]-ジングロールはパーオキシナイトライト由来のラジカルを捕捉後、二量体を形成し、一方、エラグ酸は様々な重合体を形成すると推定される。これら機構により、両物質はパーオキシナイトライトの酸化およびニトロ化を抑制すると考えられる。

[キーワード][6]-ジングロール、エラグ酸、パーオキシナイトライト、酸化、ニトロ化

[担当]野菜茶研・野菜・茶機能性研究チーム

[代表連絡先]電話 059-268-4632

[区分]野菜茶業・野菜品質・機能性

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

活性窒素種の一種であるパーオキシナイトライトはがんの発生や老化の進行などに関与することが知られている。ショウガの辛味成分である[6]-ジングロール（図2のA）およびイチゴなどのバラ科植物に存在するエラジタンニンの加水分解物であるエラグ酸（図2のB）は、パーオキシナイトライトによるDNAの酸化およびタンパク質のチロシン残基のニトロ化を抑制するが、その抑制機構は不明である。そこで、これら成分とパーオキシナイトライトとの反応生成物を同定することにより抑制機構を推定する。

[成果の内容・特徴]

1. [6]-ジングロールとパーオキシナイトライトとを混合すると、HPLC上で明瞭なピークとして観察される反応生成物1が生成する。反応生成物1はベンゼン環上の13位で[6]-ジングロールが互いに対称に共有結合した二量体である（表1）。
2. エラグ酸とパーオキシナイトライトとを混合した場合、HPLC上で明瞭なピークを観察できない。また、エラグ酸とパーオキシナイトライトとの混合物の色は赤紫色である（図1の写真（B）、エラグ酸は写真（A））。混合物の¹³C-NMRスペクトルは、芳香環またはアルケン炭素領域（100-160 ppm）に、7個のエラグ酸由来のシグナルとそれらより強度の低い、反応生成物由来と推定される多数のシグナルを示す（図1）。
3. 反応生成物の構造から、[6]-ジングロールは、パーオキシナイトライト由来のラジカルを捕捉し、フェノキシラジカル中間体を経て二量体を形成すると推定される（図2のA）。一方、エラグ酸は、カテコール型ポリフェノールの褐変反応と同様に、*o*-キノノン中間体を経て様々な重合体を形成すると推定される（図2のB）。これら機構により、[6]-ジングロールおよびエラグ酸は、パーオキシナイトライトによる生体分子の酸化およびニトロ化を抑制すると考えられる。

[成果の活用面・留意点]

1. [6]-ジングロールおよびエラグ酸以外のフェノール性成分の酸化・ニトロ化抑制機構の推定や他のラジカル種の捕捉機構の解明に活用できる。
2. 試験管内レベルでの研究である。
3. エラグ酸とパーオキシナイトライトとの反応生成物は未同定である。

[具体的データ]

表1 反応生成物1のNMRデータ(GDCI₃)

位置	¹³ C		¹ H		HMBC
	δ(ppm)	δ(ppm)	δ(ppm)	J (Hz)	
1	29.3	2.88	(4H, ddd)	2.0, 6.6, 8.7	H-2, H-12, H-16 C-1
2	45.3	2.76	(4H, ddd)	2.0, 6.6, 8.0	H-1 C-2
3	211.3				H-1, H-2, H-4 C-3
4	49.4	2.49	(2H, dd)	8.4, 17.3	
		2.59	(2H, dd)	3.5, 17.3	
5	67.7	4.02	(2H, m)	- ^a	
6	36.5				
7	25.1				
8	31.7	1.24-1.51	(16H, m)	- ^a	H-10 C-8
9	22.6				H-10 C-9
10	14.0	0.88	(6H, t)	6.8	
11	132.6				H-1, H-2 C-11
12	122.8	6.72	(2H, s)		H-1, H-16 C-12
13	124.4				H-12 C-13
14	141.1				H-12, H-16 C-14
15	147.2				H-16, H-17 C-15
16	110.7	6.72	(2H, s)		H-1, H-12 C-16
17	56.2	3.91	(6H, s)		
OH		5.98	(2H, br. s)		

^a シグナルの重なりおよび/または広がりのため不明

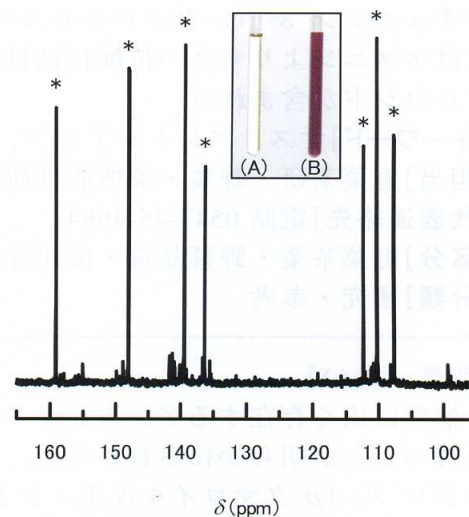
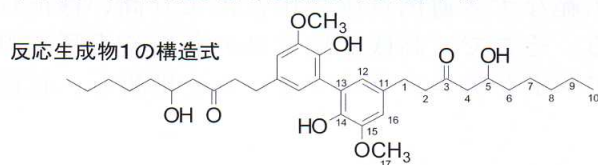


図1 エラグ酸とパーオキシナイトライトとの混合物の¹³C-NMRデータ(DMSO-d₆)とNMRチューブの写真
* エラグ酸由来のシグナル、(A) エラグ酸、(B) エラグ酸とパーオキシナイトライトとの混合物

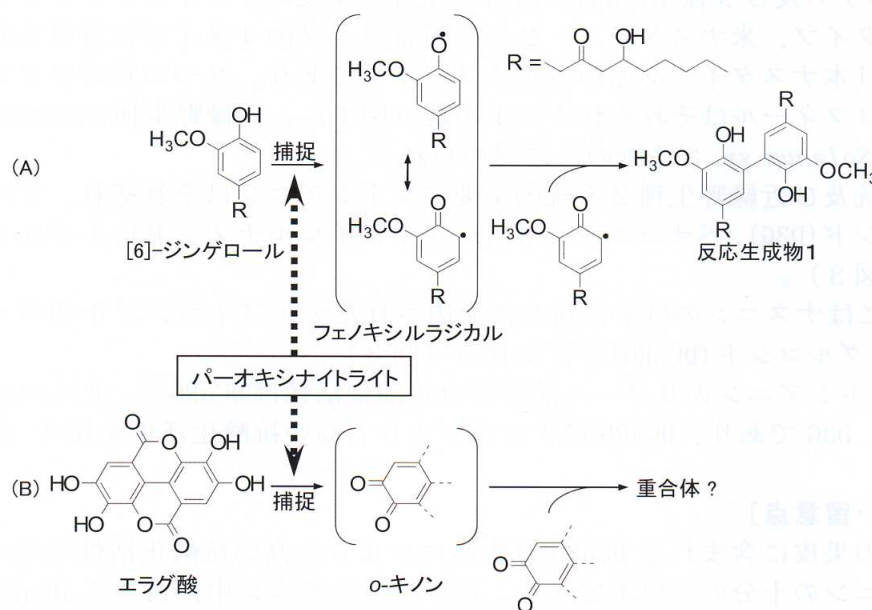


図2 パーオキシナイトライトによる酸化およびニトロ化に対する[6]-ジンゲロール(A)およびエラグ酸(B)の抑制機構

[その他]

研究課題名：野菜が持つ活性窒素種の消去作用の評価

課題 ID：312-b

予算区分：基盤研究費

研究期間：2001～2005 年度

研究担当者：一法師克成、伊藤秀和、東敬子、堀江秀樹

発表論文等：1) Ippoushi et al. (2005) Planta Med. 71: 563-566

2) Ippoushi et al. (2009) Food Chem. 112: 185-188

[成果情報名]ナスとその近縁野生種に見出された3種のアントシアニン

[要約]ナスの1系統、近縁野生種2系統の果皮にはそれぞれデルフィニジン3-グルコシド、ペチュニジン3-(*p*-クマロイルルチノシド)-5-グルコシドが存在する。日本ナスの果皮にはナスニンよりも高い抗酸化活性を示すデルフィニジン3-カフェオイルルチノシド5-グルコシドが含まれる。

[キーワード]ナス、アントシアニン、抗酸化活性

[担当]野菜茶研・野菜・茶機能性研究チーム

[代表連絡先]電話 0547-45-4964

[区分]野菜茶業・野菜品質・機能性

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

植物に広く存在するアントシアニン色素は強い抗酸化作用をはじめ様々な生体調節機能を持つことが明らかにされてきた。ナス果皮のアントシアニンとして日本ナスのデルフィニジン3-(*p*-クマロイルルチノシド)-5-グルコシド(ナスニン)や米ナスのデルフィニジン3-ルチノシド(D3R)が知られているが、広範なナス遺伝資源の中にはより高い機能性を持つアントシアニンが存在する可能性がある。そこで、高機能性ナスの栽培や育種を目的として、近縁野生種を含むナス遺伝資源のアントシアニンプロファイルを解析し、抗酸化活性の高いアントシアニンを探索する。

[成果の内容・特徴]

1. 100系統のナス及び9種13系統の近縁野生種の果皮のアントシアニンプロファイルは日本ナスタイプ、米ナスタイプ、2つの新奇タイプの4タイプに分けられる。大部分の系統は日本ナスタイプあるいは米ナスタイプであり、2つの新奇タイプのアントシアニンプロファイルはそれぞれナス1系統(図1)、近縁野生種 *Solanum nigrum* (図2) 及び *Solanum* sp. 2系統のみに認められる。
2. ナス1系統及び近縁野生種2系統の主要アントシアニンはそれぞれ、デルフィニジン3-グルコシド(D3G)、ペチュニジン3-(*p*-クマロイルルチノシド)-5-グルコシド(PCRG)である(図3)。
3. 日本ナスにはナスニンのほかに新たに見出されたデルフィニジン3-カフェオイルルチノシド-5-グルコシド(DCaRG)が含まれる(図3)。
4. 5種のアントシアニンのリノール酸ラジカル捕捉活性はDCaRG > ナスニン = PCRG > D3R = D3Gであり、DCaRGはナスニンよりも高い抗酸化活性を示す(図4)。

[成果の活用面・留意点]

1. 日本ナスの果皮に含まれるDCaRGはナスニンよりも高い抗酸化活性を示すものの、含量はナスニンの十分の一以下である。総アントシアニン中に占めるDCaRGの含量比はナスの栽培条件の影響を強く受けるため、その含量比を高める最適な栽培条件を見出すことで、より高い抗酸化活性を持つナスを栽培することができる。

[具体的データ]



図1 新奇アントシアニンプロフィールを示すナス PI286106



図2 新奇アントシアニンプロフィールを示すナス近縁野生種 *Solanum nigrum* BIR/S 0278

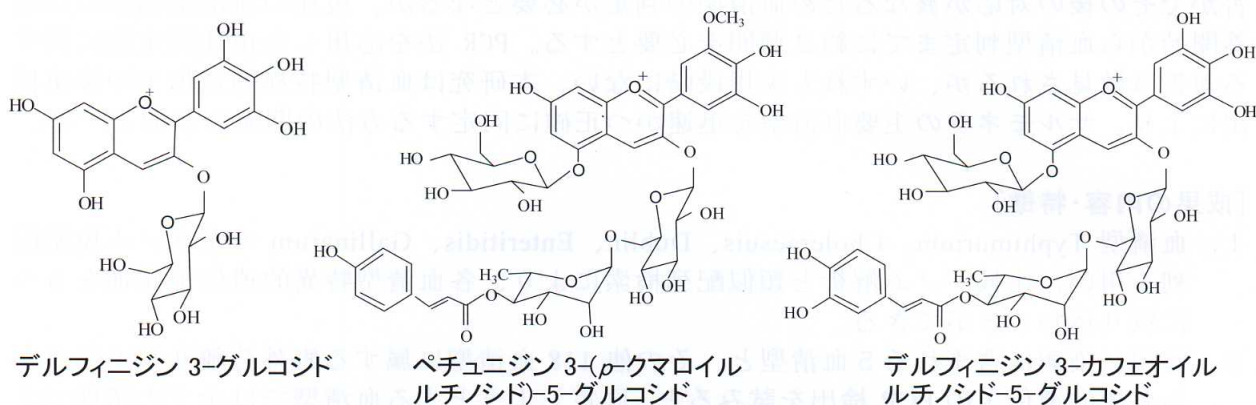


図3 ナス及び近縁野生種に新たに見出されたアントシアニンの構造

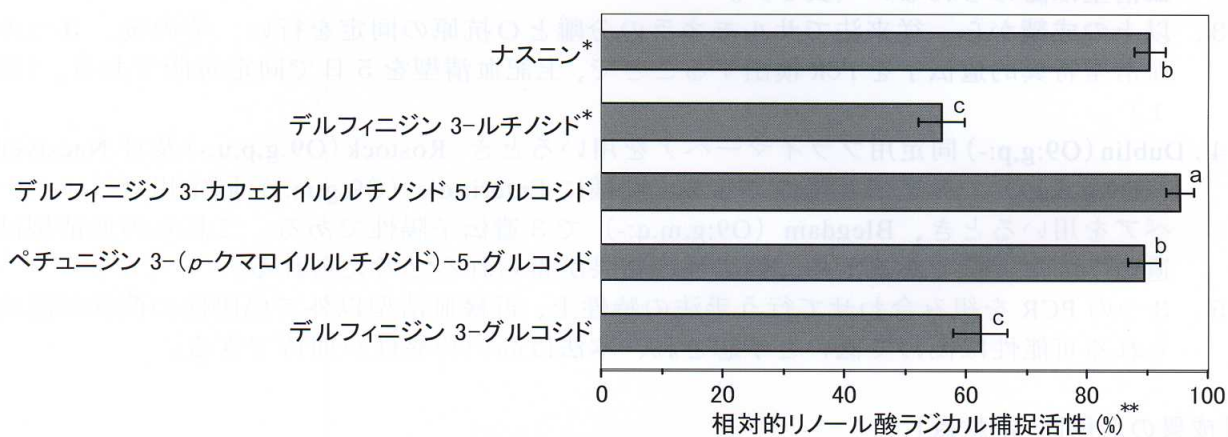


図4 ナスアントシアニンのリノール酸ラジカル捕捉活性

測定濃度: 2mM、*ナスの既知アントシアニン、***t*-ブチルヒドロキシアニソールに対する相対活性 Dunnet検定で異なるアルファベット文字間に有意差有り($p < 0.05$)

[その他]

研究課題名: アントシアニンのプロフィール解析によるナスの機能性成分の特定

課題 ID: 312-b

予算区分: 交付金プロ (二次代謝産物)

研究期間: 2004~2006 年度

研究担当者: 東敬子、一法師克成

発表論文等: Azuma K. et al. (2008) J. Agric. Food Chem. 56: 10154-10159.

[成果情報名]特異的遺伝子の多重検出によるサルモネラ主要血清型の迅速同定法

[要約]監視伝染病に含まれる5つのサルモネラ血清型を同定するためには従来、培養開始から約2週間を要したが、PCR法を利用した血清型特異的遺伝子の多重検出という新規手法により、5日で同定可能である。

[キーワード]サルモネラ、血清型、迅速同定法、特異的遺伝子、多重検出、PCR

[担当]動物衛生研・安全性研究チーム

[代表連絡先]電話 029-838-7708

[区分]動物衛生

[分類]技術・普及

[背景・ねらい]

飼料検査や食肉衛生検査の現場では、分離されたサルモネラが監視伝染病に含まれるか否かでその後の対応が異なるため血清型の判定が必要となるが、現在の血清型別法では培養開始から血清型判定までに約2週間を必要とする。PCR法を応用した迅速同定法に関する報告は散見されるが、いずれも実用段階にない。本研究は血清型特異的遺伝子の多重検出により、サルモネラの主要血清型を迅速かつ正確に同定する方法の開発を目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. 血清型 Typhimurium、Choleraesuis、Dublin、Enteritidis、Gallinarum の全ゲノム塩基配列を用い、比較ゲノム解析と類似配列検索により、各血清型特異的遺伝子候補を3つに絞り込むことができる。
2. 監視伝染病に含まれる5血清型と、その他118血清型に属する野外分離サルモネラから各標的遺伝子のPCR検出を試みると、同定しようとする血清型では全ての菌株で3遺伝子が検出できる。その他118血清型では一部の例外を除いて3遺伝子陽性となる血清型は認められない(表1)。
3. 以上の成績から、従来法でサルモネラの分離とO抗原の同定を行い、その後、3つの血清型特異的遺伝子をPCR検出することで、上記血清型を5日で同定可能である。(図1)。
4. Dublin (O9:g,p;-) 同定用プライマーペアを用いるとき、Rostock (O9:g,p,u;-) 及び Naestved (O9:g,p,s;-) で3遺伝子陽性である。同様に Enteritidis (O9:g,m;-) 同定用プライマーペアを用いるとき、Blegdam (O9:g,m,q;-) で3遺伝子陽性である。これらの血清型は遺伝学的に近縁であるため、偽陽性の結果が得られると考えられる。
5. 3つのPCRを組み合わせて行う手法の特性上、近縁血清型以外で偽陽性の菌株が認められる可能性は極めて低いと予想され、本法は高い特異性が期待できる。

[成果の活用面・留意点]

1. 本法は監視伝染病に含まれる5血清型の補助的同定法として活用できる。
2. 同定しようとする血清型で3遺伝子陽性とならない菌株が出現した場合には、増幅陰性の遺伝子を他の血清型特異的遺伝子に変更することで対応できる。
3. さらに早い段階での同定を可能とするためには増菌培養液からのDNA抽出法等を検討する必要がある。

[具体的データ]

表 1. サルモネラ血清型特異的遺伝子の PCR 検出結果

同定しようとする血清型	テンプレート		3遺伝子陽性となる株数 (%)
	血清型	株数	
Typhimurium	Typhimurium	125	125 (100)
	その他	118	0
Choleraesuis	Choleraesuis	29	29 (100)
	その他	118	0
Dublin	Dublin	162	162 (100)
	その他	118	2 (1.7)
Enteritidis	Enteritidis	69	69 (100)
	その他	118	1 (0.8)
Gallinarum	Gallinarum	13	13 (100)
	その他	118	0

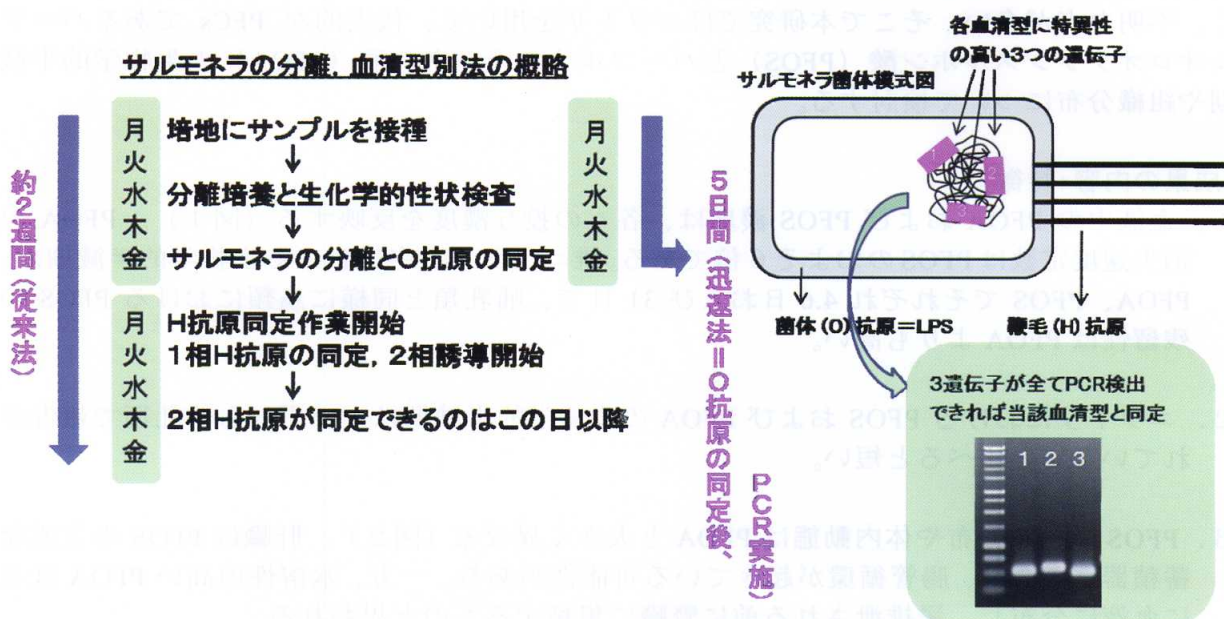


図 1. 従来法と迅速法の比較

[その他]

研究課題名：飼料・畜産物の生産段階における安全性確保技術の開発

課題 ID：323-d

予算区分：交付金（農研機構重点事項研究強化費）、人畜共通感染症等危機管理体制整備調査等委託事業

研究期間：2006～2007 年度

研究担当者：秋庭正人

発表論文等：秋庭（2008）特願 2008-177942

[成果情報名]新規環境汚染物質である有機フッ素化合物のニワトリにおける体内動態

[要約]ニワトリでは、パーフルオロオクタンスルホン酸は主に肝臓に、パーフルオロオクタン酸は血液や腎臓に分布する。パーフルオロオクタンスルホン酸の血中半減期は長く、高い残留性を示すため、注意が必要である。

[キーワード]ニワトリ、PFOS、PFOA、生物学的半減期、組織分布

[担当]動物衛生研・安全性研究チーム

[代表連絡先]電話 029-838-7708

[区分]動物衛生

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

有機フッ素化合物 (perfluorinated compounds : PFCs) は撥水剤や表面コーティング剤、樹脂製品などとして産業界や家庭で広く使用されてきた物質であるが、近年世界中の環境や生体における残留蓄積が相次いで報告され、新たな環境汚染物質として注目されている。PFCs の体内動態については、これまで哺乳類を対象とした研究が行われ、これらの生物学的半減期に関して著しい動物種差や性差が認められているが、鳥類の研究例はほとんど無く、不明な点が多い。そこで本研究ではニワトリを用いて、代表的な PFCs であるパーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) とパーフルオロオクタン酸 (PFOA) の生物学的半減期や組織分布について検討する。

[成果の内容・特徴]

1. 血液中の PFOA および PFOS 濃度は、各々の投与濃度を反映する (図 1)。PFOA の消失速度定数は PFOS のおよそ 6 倍である。雄ニワトリ血中における生物学的半減期は、PFOA、PFOS でそれぞれ 4.6 日および 31 日で、哺乳類と同様に鳥類における PFOS の残留性は PFOA よりも高い。
2. ニワトリにおける PFOS および PFOA の生物学的半減期は、いずれも哺乳類で報告されている値と比べると短い。
3. PFOS の組織分布や体内動態は PFOA と大きく異なる (図 2)。肝臓は PFOS の主要な蓄積器官であり、腸管循環が起きている可能性がある。一方、水溶性の高い PFOA は主に血液に分布し、尿排泄される前に腎臓に集積するものと思われる。

[成果の活用面・留意点]

1. 今研究における生体内半減期の計算では、PFOS および PFOA 消失期間中の体重増加に伴う濃度希釈を考慮していない。体重増加を考慮して計算した場合、PFOA ではほとんど違いはないが、PFOS の半減期は上記値よりも 4 倍程度大きな値となる。
2. 環境中に残留する PFCs のうち、PFOA に比べ PFOS は鳥類の筋肉や卵により蓄積しやすいことが予想される。従って、ニワトリをはじめとする家畜の食物連鎖による PFCs の汚染や挙動を解明することが重要である。

[具体的データ]

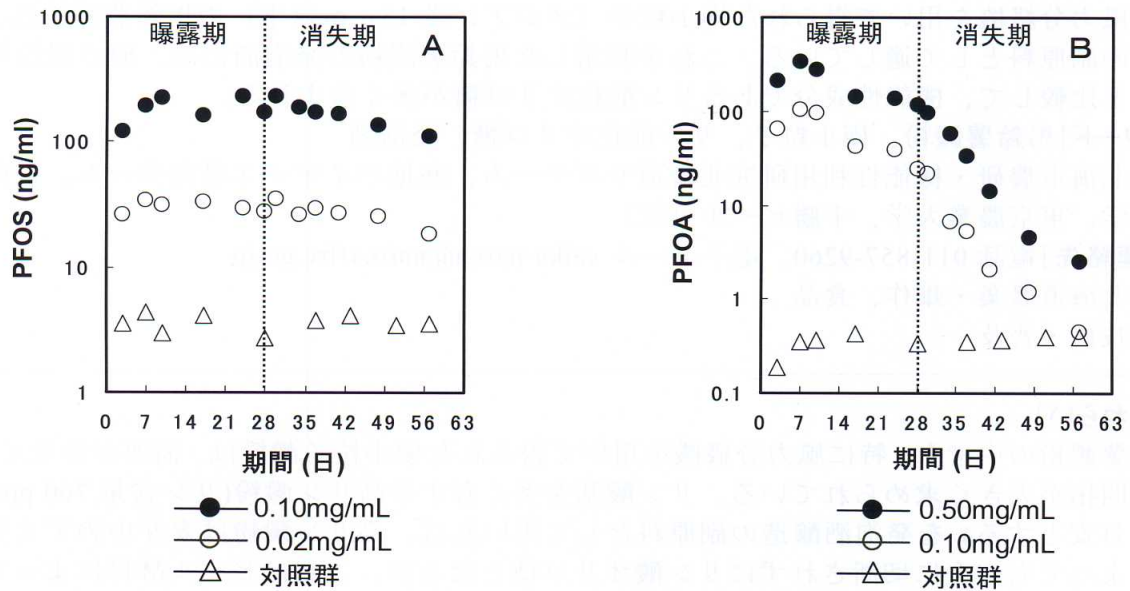


図1. 皮下埋込浸透圧ポンプにより4週間連続投与された雄ニワトリ血液中のPFOS (A) およびPFOA (B) 濃度 (ng/mL)。○: 低濃度群 (0.1 mg PFOA/mL, 0.02 mg PFOS/mL)、●: 高濃度群 (0.5 mg PFOA/mL, 0.1 mg PFOS/mL)、△: 対照群 (生理食塩水) を示す。PFOA および PFOS は LC/MS/MS により測定した。

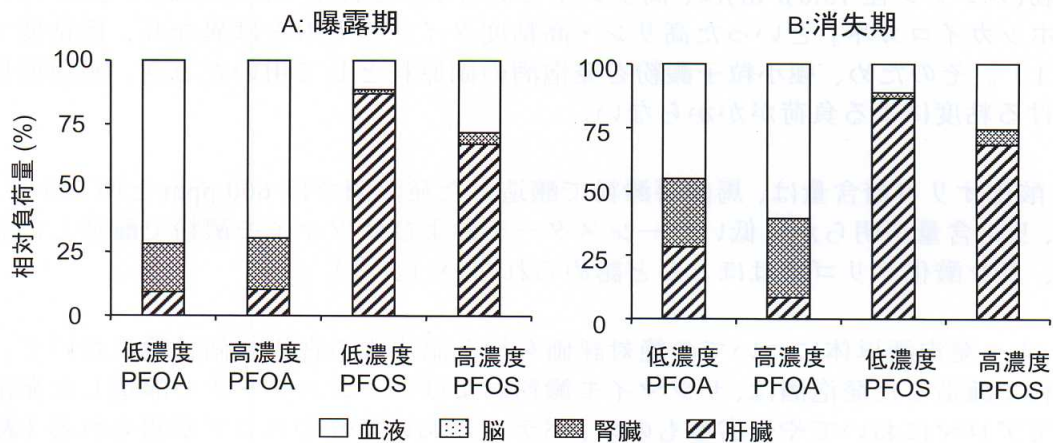


図2. ニワトリ体組織 (血液・脳・腎臓・肝臓) 中におけるPFOS およびPFOAの相対負荷量 (%)。各組織中濃度に組織重量を乗じて負荷量を算出した。総血液量は体重の5%と仮定した。

[その他]

研究課題名：飼料・畜産物の生産段階における安全性確保技術の開発

課題 ID：323-d

予算区分：環境保全 (公害防止)

研究期間：2004～2008 年度

研究担当者：グルゲ キールティ シリ、山中典子、宮崎茂、山下信義 (産総研)、
Hoon Yoo (Michigan State U)

発表論文等：Yoo et al. (2009) Ecotoxicol Environ Saf. 72: 26-36.

[成果情報名]極小粒子馬鈴薯澱粉を利用したリン酸化オリゴ糖を含有する発泡酒

[要約]風力分級機を用いて得られた極小粒子（メジアン径 $15\mu\text{m}$ 以下）の馬鈴薯澱粉は、発泡酒の副原料として適している。これを利用した馬鈴薯澱粉の発泡酒には、他の澱粉の発泡酒と比較して、機能性成分であるリン酸化オリゴ糖が多く含まれる。

[キーワード]馬鈴薯澱粉、極小粒子、リン酸化オリゴ糖、発泡酒

[担当]北海道農研・機能性利用研究北海道サブチーム、寒地バイオマス研究チーム、帯広畜産大学、東京農業大学、十勝ビール（株）

[代表連絡先]電話 011-857-9260、電子メール seika-narch@naro.affrc.go.jp

[区分]北海道農業・畑作、食品

[分類]技術・普及

[背景・ねらい]

馬鈴薯澱粉の中でも、特に風力分級機を用いて得られた極小粒子澱粉は、需要が少なく、販路の開拓が大きく求められている。リン酸基を多く有する高リン澱粉(リン含量 760 ppm以上を目安とする)を発泡酒醸造の副原料として用いれば、高リン澱粉は麦芽中のアミラーゼによっても完全に切断されずにリン酸オリゴ糖となるが、これはビール酵母によっても資化されないため、発泡酒内に残り、機能性成分に富む製品ができる可能性がある(図)。馬鈴薯澱粉を副原料とした新規の発泡酒を製造するために、種々の馬鈴薯澱粉の中から発泡酒醸造適性の有するものを選定し、その発泡酒の機能性成分を評価するとともに、官能評価試験も実施する。

[成果の内容・特徴]

1. 風力分級機を用いて分級前の馬鈴薯澱粉から約6%の収率で得られる極小粒子の馬鈴薯澱粉(メジアン径 $13.6\mu\text{m}$)は、高リン型であるが、これまでに知られてきた「エニワ」や「ホッカイコガネ」といった高リン・高粘度タイプのものとは異なり、低粘度である(表1)。そのため、極小粒子澱粉を発泡酒の副原料として用いたとき、澱粉糖化の際における粘度による負荷がかからない。
2. リン酸化オリゴ糖含量は、馬鈴薯澱粉で醸造した発泡酒では 600 ppm と明らかに高く、一方、リン含量が明らかに低いコーンスターチおよびサツマイモ澱粉で醸造した発泡酒では、リン酸化オリゴ糖はほとんど認められない(表2)。
3. ビール・発泡酒単体についての絶対評価を行う記述式の官能評価試験において、馬鈴薯澱粉で醸造した発泡酒は、サツマイモ澱粉およびコーンスターチで醸造した発泡酒と比べてアロマにおいてやや劣るものの、ボディにおいて高いスコアが得られる(表3)。評価項目の合計値は、コーンスターチで醸造した発泡酒と同程度に高く、製品化の可能性が高いことが示唆される。

[成果の活用面・留意点]

1. 極小粒子の馬鈴薯澱粉にリンが多く含まれる理由については、今後の検討を要する。

平成20年度北海道農業試験会議(成績会議)における課題名および区分

「極小粒子馬鈴薯澱粉を利用したリン酸化オリゴ糖を含有する発泡酒」(普及推進)

[具体的データ]

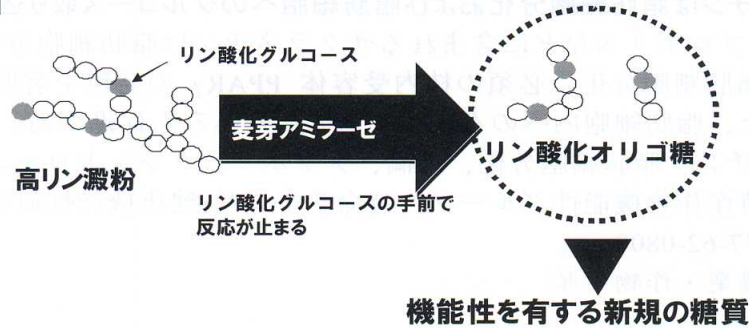


図 馬鈴薯澱粉（高リン澱粉）の麦芽アミラーゼによる分解

表1 馬鈴薯澱粉製品の特性

	リン含量(ppm)	最高粘度(RVU)	参考 メジアン径(μm)
大粒子 ¹⁾	756	299	42.3
小粒子 ¹⁾	979	275	21.6
極小粒子 ¹⁾	1125	221	13.6
紅丸 ²⁾	652	259	46.6
コナフブキ ²⁾	777	290	42.3
エニワ ²⁾	880	324	42.4
ホツカイコガネ ²⁾	874	312	41.6
農林1号 ²⁾	654	230	36.4
ワセシロ ²⁾	762	260	33.3
標準品 ³⁾	847	305	35.2

¹⁾中斜里でん粉工場製、数種の品種(「コナフブキ」主体)から大量生産により得られた澱粉を風力分級機により粒子径毎に分級したもの

²⁾神野でん粉工場(株)製、同一品種から得られた澱粉で、粒子径による分級はしていない

³⁾東部十勝農産加工農業協同組合連合会でん粉工場製、数種の品種(「コナフブキ」主体)から大量生産により得られた澱粉で、粒子径による分級はしていない

表2 ビール・発泡酒のリン酸化オリゴ糖含量

		澱粉リン含量(ppm)	リン酸化オリゴ糖含量(ppm)	参考 アルコール度(%)
発泡酒	馬鈴薯澱粉*	1126	600	5.1
	サツマイモ澱粉	226	< 150	4.8
	コーンスターチ	140	0	5.4
ラガービール		-	0	4.7

*極小粒子(中斜里でん粉工場製)

表3 ビール・発泡酒の官能評価試験*

		アロマ	外観	フレーバー	ボディ	全体印象	合計
発泡酒	馬鈴薯澱粉**	5	5	10	5	6	31
	サツマイモ澱粉	6	5	9	3	4	27
	コーンスターチ	7	3	13	3	6	32
ラガービール		4	6	6	5	4	25

*5名のパネラーにより、決められた各評価項目(アロマ=10点満点、外観=6点満点、フレーバー=19点満点、ボディ=5点満点、全体印象=10点満点)について、不適、不十分な分を減点して採点

**極小粒子(中斜里でん粉工場製)

[その他]

研究課題名: イモ類・雑穀類の機能性の解明と利用技術の開発

課題ID: 312-a

予算区分: 異分野融合事業、基盤

研究期間: 2003~2008年度

研究担当者: 野田高弘、橋本直人、齋藤勝一、福島道広(帯広畜産大学)、永島俊夫(東京農業大学)、塚本篤(十勝ビール(株))

発表論文等: 永島ら(2007)「リン酸化オリゴ糖を含有する醸造酒」特開2007-135545

[成果情報名] サクラネチンは脂肪細胞分化および脂肪細胞へのグルコース取り込みを促進する
[要約] 桜皮やイネ葉、プロポリスなどに含まれるサクラネチンは脂肪細胞分化を促進する。その作用機序として脂肪細胞分化に必須の核内受容体 PPAR γ の発現を著明に亢進することが挙げられる。また、脂肪細胞内へのグルコースの取り込みも促進する。
[キーワード] サクラネチン、脂肪細胞分化、肥満、メタボリックシンドローム
[担当] 近中四農研・特産作物機能性グループ、特命チーム員(健康機能性研究チーム)
[代表連絡先] 電話 0877-62-0800
[区分] 近畿中国四国農業・作物生産
[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

内臓脂肪の蓄積は肥満、糖尿病、高血圧、高脂血症といったメタボリックシンドロームの要因になる。肥満において脂肪組織は肥大した脂肪細胞を多く含み、これらの細胞はインスリン抵抗性を引き起こす物質を分泌する。この状態を防ぐには、正常な機能を持つ小型脂肪細胞の分化を促進することが重要であり、その機能を持つ成分はメタボリックシンドロームの予防、改善に有効であると考えられる。

[成果の内容・特徴]

1. サクラネチンは、前駆脂肪細胞 3T3-L1 に対して常法で用いられる分化誘導剤共存下、あるいは非共存下で脂肪細胞分化の指標となる細胞内トリグリセリドの蓄積を濃度依存的に促進する (図 1)。
2. サクラネチンは脂肪細胞分化に必須かつ脂肪細胞機能発現に重要な核内受容体 PPAR γ のリガンド活性は示さない (図 2)。すなわち PPAR γ に対する特異的なリガンドである糖尿病薬ロシグリタゾンとは異なり、サクラネチンによる脂肪細胞分化促進効果は PPAR γ による転写活性化にあるわけではない。
3. 分化誘導剤による脂肪細胞分化において PPAR γ 2 遺伝子の発現は上流の転写因子 C/EBP β の遺伝子発現に続いて起こるが、サクラネチンは C/EBP β の遺伝子発現の亢進を伴わずに PPAR γ 遺伝子の発現を亢進させ、脂肪酸結合タンパク質 aP2 をはじめとした脂肪細胞機能に関連した遺伝子の発現上昇を導く (図 3 A)。この PPAR γ 遺伝子発現上昇効果は C/EBP β や PPAR γ の発現・機能を抑制している転写因子 GATA-2 の発現を抑制することにあると考えられる (図 3 B)。
4. サクラネチンは分化した脂肪細胞のグルコース取り込みを促進する (図 4)。この効果はインスリンの存在下、あるいは非存在下でも観察される。

[成果の活用面・留意点]

1. サクラネチンは脂肪細胞分化とグルコース取り込みを促進することより生体内において血糖を正常に維持することが期待できる。
2. 本結果は培養細胞での結果であり、実際に動物に対しても効果があるかどうかはさらに詳しく調べなければならない。

[具体的データ]

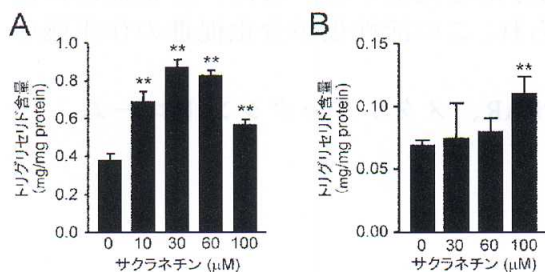


図1 サクラネチンによる脂肪細胞分化促進効果
 サクラネチンは分化誘導剤存在下(A), 非存在下(B)で3T3-L1細胞内の中性脂肪の蓄積を促進する. $n=6$, ** $p<0.01$.

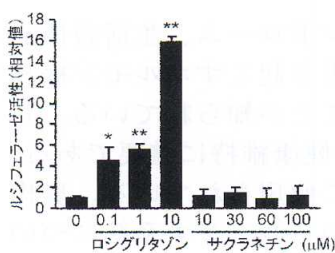


図2 レポーター遺伝子アッセイによるリガンド活性の評価
 サクラネチンはPPAR γ のリガンド活性は示さない.
 $n=6$, * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

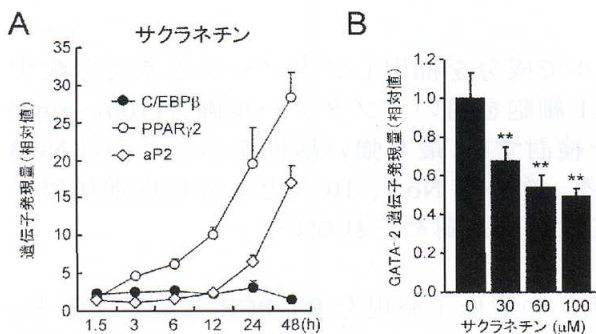


図3 サクラネチンによる脂肪細胞分化初期過程の遺伝子発現の調節
 (A) サクラネチンはPPAR γ 遺伝子の発現を亢進させる.
 (B) サクラネチンはGATA-2遺伝子の発現を抑制する.
 $n=6$, ** $p<0.01$.

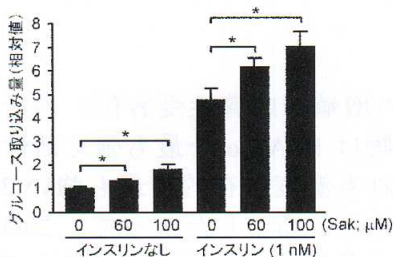


図4 サクラネチンによる脂肪細胞内へのグルコース取り込みの促進
 Sak; サクラネチン, $n=3$, * $p<0.05$.

[その他]

研究課題名: かんきつ・りんご等果実の機能性成分の機能解明と高含有育種素材の開発
 課題 ID: 312-c
 予算区分: 基盤、委託プロ (食品)
 研究期間: 2006-2010 年度
 研究担当者: 齋藤武、阿部大吾、関谷敬三
 発表論文等: Saito T. et al. (2008) Biochem. Biophys. Res. Commun. 372 (4):835-839

[成果情報名] 脂肪細胞分化を促進し核内受容体を活性化するシコクビエ

[要約] シコクビエの一部の系統の抽出物は脂肪細胞分化を促進する。また、分化促進に関わる核内受容体の PPAR α や PPAR γ の活性化が認められ、この活性化が分化促進の作用機序であると考えられる。

[キーワード] シコクビエ、脂肪細胞、核内受容体、PPAR、メタボリックシンドローム

[担当] 近中四農研・特産作物機能性グループ

[代表連絡先] 電話 0877-62-0800

[区分] 近畿中国四国農業・作物生産

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

脂肪細胞は単に脂肪を蓄積しているだけでなくメタボリックシンドローム、生活習慣病などに深く関与している。肥大した脂肪細胞からは生活習慣病を引き起こすホルモン様物質が分泌されている。一方、小さな脂肪細胞はそれらを予防することが知られている。したがって、脂肪細胞分化を促進し小さな脂肪細胞を作り出すことが健康維持に重要である。実際、分化促進作用を有する化合物が高脂血症や糖尿病の薬として使用されている。農作物についてこの分化に対する影響を検討してきたが今回いくつかのシコクビエ系統について検討する。

[成果の内容・特徴]

1. 10 系統のシコクビエ（表 1）からメタノールで成分を抽出しブタノールと水で分配する。前駆脂肪細胞としてマウス由来の 3T3-L1 細胞を用い、ブタノール画分(100 μ g/ml)を培地に添加し脂肪細胞分化に及ぼす影響を検討する。最も強い活性を示したのは No.3 系統で対照群と比べて分化を約 13 倍促進する。次いで No.1、10 なども分化促進作用が認められる（図 1）。一方、水画分については活性が認められない。
2. 生活習慣病予防作用を有するアディポネクチンの遺伝子発現を RT-PCR で測定すると、活性ある No.3 系統の抽出物は分化にともなうアディポネクチンの遺伝子発現を濃度依存的に上昇させる。最も強い作用を示す濃度は 200 μ g/ml で遺伝子発現を約 44 倍上昇させる（図 2）。なお、アディポネクチンは小型の脂肪細胞から多く分泌され善玉のアディポサイトカインとして知られている。
3. 分化促進に関わる核内受容体 PPAR（ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体）の活性化をリポーター遺伝子アッセイ法で測定すると、同抽出物は PPAR α を最も強く活性化し次いで PPAR δ や PPAR γ も活性化する（図 3）。いずれも濃度依存的で最も強い 200 μ g/ml の濃度ではそれぞれ約 35、16、8 倍の活性化が認められる。したがって、この核内受容体の活性化が同抽出物による脂肪細胞分化促進の作用機序であると考えられる。

[成果の活用面・留意点]

1. PPAR α や PPAR γ の活性化剤はそれぞれ高脂血症、糖尿病の治療薬として用いられ、PPAR δ の活性化剤は肥満の治療薬と注目されている。したがって、シコクビエ抽出物もメタボリックシンドロームや生活習慣病の予防改善に有効である可能性がある。
2. 本成果は培養細胞を用いて得られた結果であるので、生体における作用については別途検討する必要がある。

[具体的データ]

表 1 供試したシコクビエ

	シコクビエ 品種・系統名	原産地		粒色	1000粒重
1	SHIRAMINE	石川	在来	茶褐	1.9g
2	TOKUYAMA	岐阜	在来	茶褐	2.0
3	KJIYA	徳島	在来	茶褐	2.0
4	PURNA	インド	育成?	褐	2.6
5	AKIYAMA 77-11,EC 62	新潟	育成?	茶褐	2.2
6	TOKUYAMA,EC 65	岐阜	在来	茶褐	2.1
7	SAKASE I	徳島	在来	茶褐	2.0
8	HONKAWA,EC 63	高知	在来	茶褐	2.2
9	IE 849	インド	不明	茶褐	2.3
10	WHITE RAGI	インド	在来	乳白色	2.8

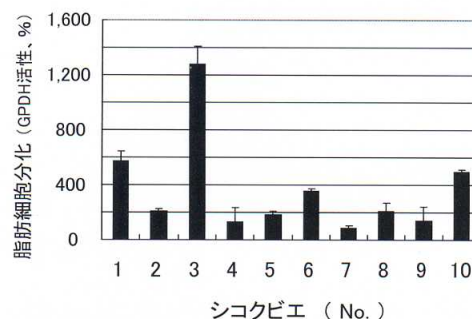


図 1 脂肪細胞分化に及ぼすシコクビエ系統の影響 (対照群を100%とする)

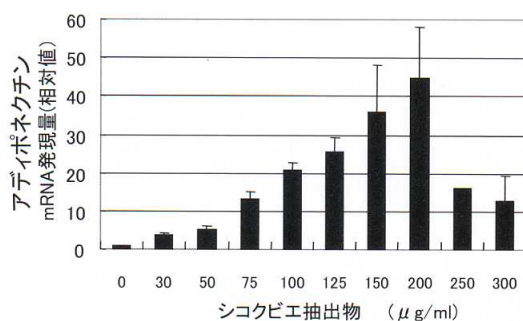


図 2 シコクビエ抽出物によるアディポネクチン遺伝子発現の上昇

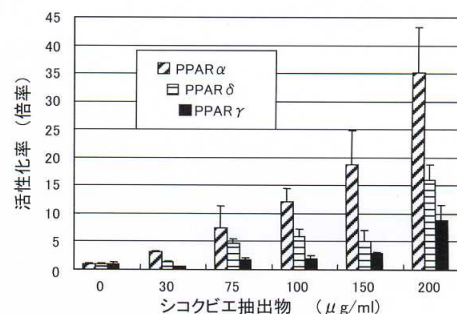


図 3 シコクビエ抽出物による各種PPARの活性化

[その他]

研究課題名：野菜・茶の免疫調節作用、生活習慣病予防作用を持つ機能性成分の評価法と利用技術の開発

課題 ID：312-b

予算区分：基盤、委託プロ（食品プロ）

研究期間：2006～2010 年度

研究担当者：関谷敬三、杉浦誠、齋藤武、阿部大吾