

年度計画管理番号：24

平成24年度
生命環境医学部門 活動報告書

「生物多様性の保全と利用に関する研究」



総合科学系・生命環境医学部門長
永田 信治

平成25年3月31日

I. 生命環境医学部門の活動概要

本部門における活動の使命は、植物健康基礎医学拠点研究と学系プロジェクト研究を核として、そこで得られた研究成果を、大学教育にフィードバックすることにある。植物健康基礎医学拠点研究の実施状況に関しては、年度計画管理番号【19】に記載している。そこで年度計画管理番号【24】では、学系プロジェクトに関してのみ記載する。

包括的テーマは、「生物多様性の保全と利用に関する研究」にあり、「土壌環境」、「環境物質」、「持続可能性」、「機能物質」をキーワードとして、植物健康基礎医学拠点研究の課題では取り上げていない、基礎的な研究課題5項目について報告する。

「土壌環境」、「環境物質」をキーワードとする研究では、土壌の重金属汚染の現状を分析すると共に、汚染状況の改善を可能にする新技術を確立することを目的としている。それに含まれる二種の研究のうち、第一研究課題である「ハノイの廃棄物処分場周辺農耕地土壌における水銀汚染の実態把握とその対策」では、東南アジアの農耕地土壌の汚染状況とその原因を解明し、今後の汚染対策について検討している。また、第二研究課題「微生物による土壌中の金属の可溶化に関する研究」では、汚染土壌の修復法であるファイトレメディエーションの効果を向上させ、効率良い金属除去技術を確立するために、金属耐性微生物を用いた金属の可溶化の効率化とその応用を検討している。

「持続可能性」をキーワードとする研究では、第三の研究課題である「哺乳動物の遺伝資源保存に関する研究」において、現存する希少動物種の保存ばかりではなく、2011年に日本が体験したような、想定外の災害から哺乳動物種の保護・増殖に貢献する成果を得る目的で、凍結乾燥体細胞由来のクローン胚の作出と、凍結融解胚の生存性向上に関する研究を行った。

「機能物質」をキーワードとする研究では、第四の研究課題である「生分解性高分子の微生物合成と環境機能材料化」として、納豆菌が生産する生分解性高分子である γ ポリグルタミン酸を、高い光学純度で合成するための技術を検討し、その立体構造を制御することで得られる高分子物質の機能性を明らかにすることで、新しい機能性素材を開発することが期待できる。また、第五の研究課題である「食品の機能性解明および評価法の開発」では、脂質過酸化抑制能の評価方法を検討すると共に、機能性抗酸化物質を様々な組み合わせることによって、その抗酸化能の変化の度合いを検討した。さらに、抗酸化能やリポフラビン保護効果、抗菌活性を持つアミノレダクトンの合成方法を検討することで、新しい機能性食品素材を開発する可能性について研究を行った。

学系プロジェクト研究と植物健康医学拠点研究の成果は、生命環境医学部門の教員が関与する教育・研究分野のみならず、平成24年度より設置した総合人間自然科学研究科の植物医学準専攻を選択した大学院生に対する大学院教育にもフィードバックされて、新たな人材育成システムの構築と、高い水準の研究成果を世界に向けて発信するために、地域への施策提言等を通じた地域の活性化を目指して、本部門の中期計画・中期目標の達成に貢献するプロジェクトとなることが期待されている。

II. 学系プロジェクトにおける各課題研究のタイトル・構成および研究組織

課題研究1 「ハノイの廃棄物処分場周辺農耕地土壌における水銀汚染の実態把握とその対策」

研究代表者 岩崎貢三（総合科学系生命環境医学部門、教授）
研究協力者 上野大勢（総合科学系生命環境医学部門、准教授）
研究協力者 田中壮太（総合科学系黒潮圏科学部門、准教授）

課題研究2 「微生物による土壌中の金属の可溶化に関する研究」

研究代表者 康 峪梅（総合科学系生命環境医学部門、教授）
研究協力者 大西浩平（総合科学系生命環境医学部門、教授）

課題研究3 「哺乳動物の遺伝資源保存に関する研究」

研究代表者 松川和嗣（総合科学系生命環境医学部門、准教授）
研究分担者 葛西孫三郎（総合科学系生命環境医学部門、教授）
研究協力者 枝重圭祐（総合科学系生命環境医学部門、教授）

課題研究4 「生分解性高分子の微生物合成と環境機能材料化」

研究代表者 芦内 誠（総合科学系生命環境医学部門、教授）

課題研究5 「食品の機能性解明および評価法の開発」

研究代表者 受田浩之（総合科学系生命環境医学部門、教授）
研究協力者 島村智子（総合科学系生命環境医学部門、准教授）
研究協力者 柏木丈拵（総合科学系生命環境医学部門、准教授）

Ⅲ. 学系プロジェクトの成果（総括）

分析項目 1) 特筆事項など

- ①第一研究課題である「ハノイの廃棄物処分場周辺農耕地土壌における水銀汚染の実態把握とその対策」において、急成長する産業を持つ東南アジア諸国の土壌汚染状況を明らかにし、今後の汚染対策に貢献することで、国際的な支援活動の進展が見込まれる。
- ②第二研究課題である「微生物による土壌中の金属の可溶化に関する研究」では、土壌中の様々な金属耐性微生物の存在を明らかにし、金属の可溶化に適する微生物の影響を解析することで、ファイトレメディエーション技術を用いた汚染土壌の修復を効果的に促進する微生物資材の開発が期待される。
- ③第三研究課題では、2011年の日本が体験した災害などの想定外の事態に対応する哺乳動物を保存する目的で、「凍結乾燥体細胞由来のクローン胚に作出」を検討し、凍結乾燥後の細胞の損傷状況や、移植後の胚発生率について検討した。これらの成果は、科研費を始めとする外部資金の獲得に貢献するだけでなく、今後の凍結乾燥細胞を解析する環境が整えられることが期待される。
- ④さらに第三研究課題において、「凍結融解胚の生存性向上に関する研究」のために、L-アスコルビン酸 2-リン酸の添加効果を解析し、凍結融解後の胚と切断分離胚の生存率を高めることを明らかにした。この結果、稀少動物を含む遺伝資源の保存に貢献する研究成果に結びつくことが期待される。
- ⑤第四研究課題である「生分解性高分子の微生物合成と環境機能材料化」では、納豆菌が生産する γ ポリグルタミン酸の光学純度の高い製造方法を確立して特許登録された。

- 「光学純度の高いポリ- γ -グルタミン酸の製造方法（特許出願番号：2006-027211；発明者：芦内 誠，清水一希）」が国内特許 JP5119435 に認定。2012年11月2日登録。

この技術によって、立体構造を人為的に制御できる γ ポリグルタミン酸生産が可能になり、自己修復性や金属吸着性などの先端機能を持つバイオゲル新素材や、制菌機能を持つ高分子材料の開発は、応用材料工学分野のトピックスとして、抗真菌性を持つ医療素材に応用することが期待できる。

- Ashiuchi, M. et al. (2013) Development of antimicrobial thermoplastic material from archaeal poly- γ -L-glutamate and its nanofabrication, ACS Applied Materials and Interfaces (米国化学会誌、インパクトファクター＝ 4.525)

- ⑥第五の研究課題である「食品の機能性の解明および評価法の開発」では、脂質過酸化抑

制能を持つ物質を複数組合せることによって、それらの抗酸化能が変化することを明らかにし、加えて抗酸化能やリボフラビン保護効果、抗菌活性を持つアミノレダクトンの効果的な生合成法を確立して、今後の機能性食品素材の開発に貢献することが期待される。

分析項目2) プロジェクトの研究成果(学術論文、著書・総説、学会等発表、外部資金獲得額(科研費、共同研究費、受託研究費、奨学寄附金、その他))

本プロジェクトは、5つの研究課題から構成されて、それぞれに5名の研究代表者と7名の研究協力者によって検討が行われた。ここでの研究成果は、学術論文5編、著書・総説4編、学会等発表20件、講演会等32件、特許4件、報道4件等、で公表されて、外部資金獲得額(科研費、共同研究費、受託研究費、奨学寄付金他)は、15,818千円であった。これは、課題研究当たり1編の論文と4件の研究発表、6件の講演活動と3,163千円の外部資金を獲得したと計算される。4件の特許申請のうち、すでに3件が特許登録されるに至っており、課題研究の進展とその研究結果の蓄積が、社会貢献と産業利用に結びつく、重大な成果を生み出したと言える。

これらの研究状況とその成果に基づく教育・研究は、平成24年度から開始した総合人間自然科学研究科の植物医学準専攻において、その専攻に登録した5名の大学院生の教育を通じて、生命環境医学部門の教員による人材育成と、高度な研究を極めるための推進力としての貢献が期待できる。

IV. 課題研究成果のまとめ

課題研究1 「ハノイの廃棄物処分場周辺農耕地土壌における水銀汚染の実態把握とその対策」

研究代表者 岩崎貢三（総合科学系生命環境医学部門，教授）

研究協力者 上野大勢（総合科学系生命環境医学部門，准教授）

研究協力者 田中壮太（総合科学系黒潮圏科学部門，准教授）

1. 概要

ベトナムの都市・市場経済は近年大きく発達し、著しい人口増加がみられる。同時に家庭ごみや産業廃棄物量も年々増加しているが、これらの廃棄物は、無分別で回収され埋め立て処分されている。ハノイ北部の Nam Son 廃棄物処分場周辺で実施した予備調査の結果、周辺農耕地土壌や河川底質の一部で、銅や水銀による汚染の存在が示唆された。そこで本研究では、環境毒性の強い水銀に重点を置き、本処分場近くを流れる Cau Lai 川の底質及び川沿いの農耕地土壌における汚染状況について詳しく調査した。

Cau Lai 川に沿って、約 200m 間隔で 11 地点から採取した河川底質（0～5 cm）及び、川沿いの 3 圃場（各圃場 4 か所）から採取した表層土壌（0～10 cm）について、総水銀量及びメチル水銀量を分析した。総水銀量の分析は、風乾試料を硝酸+塩酸（1：3）でマイクロウェーブ分解後、還元気化・冷原子吸光光度法で行った。メチル水銀量は、新鮮試料を 1 M 水酸化カリウム-エタノール溶液で前処理後、ジチゾン抽出-ECD ガスクロマトグラフ法で分析し、乾物あたりに換算した。

河川底質の総水銀量は、処分場に近い地点で採取した試料が高い値（0.427～2.035 mg kg⁻¹）を示し、非汚染地域の平均値（0.06 mg kg⁻¹；Bowen (1979)）を大きく超えていた。また、これらの試料のほとんどから、16.0～35.3 μg kg⁻¹ のメチル水銀が検出され、総水銀量とメチル水銀量の間には正の相関が認められた。一方、処分場より 400 m 以上上流に位置する地点の河川底質ならびに、三つの圃場で採取した土壌中の総水銀量は、非汚染土壌の平均値とほぼ同じであり、メチル水銀は検出されなかった。これらの結果より、Nam Son 廃棄物処分場周辺では、水銀による水系の汚染が存在することが確認され、今後の対策が必要と考えられた。

以上の内容について、ベトナム・ハノイで開催された”The Second International Conference on Environmental Pollution, Restoration and Management”で口頭発表した。今後、河川底質中の水銀の化学形態別存在量の分析及び形態変化のメカニズムについてさらに研究を進める。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計0編)

(2) 学会発表等 (計1回)

Iwasaki, K., Osa, K., Trang, B.T.Q., Kien, C.N., Phuong, N.M. and Noi, N.V.,
"Contamination of Mercury in the River Sediments near Waste Disposal Facility in
Hanoi, Vietnam", The Second International Conference on Environmental Pollution,
Restoration and Management, Mar. 4-8, Hanoi, Vietnam (2013)

(3) 著書・総説 (計0編)

(4) 講演会, 報告会等 (計0件)

(5) 特許 (計0件)

(6) 受賞等 (計0件)

(7) 報道 (計0件)

(8) 外部資金 (計744千円)

- 1) 岩崎貢三 (代表): 科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金 (基盤研究(C) (一般)),
課題番号 23580459, 「ハノイの廃棄物処分場周辺農耕地土壌における水銀汚染の実態把
握とその対策」, 600,000円
- 2) 岩崎貢三: 総合科学系学系長裁量経費 (国際シンポジウム), 144,490円

課題研究 2 「微生物による土壌中の金属の可溶化に関する研究」

研究代表者 康 峪梅 (総合科学系生命環境医学部門, 教授)

研究協力者 大西浩平 (総合科学系生命環境医学部門, 教授)

1. 概要

汚染土壌修復法の一つであるファイトレメディエーションは、植物を利用した低コストで生態学的に安全な土壌除染技術である。しかし、その効率は土壌中に含まれる金属の生物学的利用能に左右される。一方、植物の生育や養分吸収、金属耐性や集積を高める細菌の存在が報告されており、土壌細菌の働きを促進することによって、ファイトレメディエーション技術の効率を向上させる可能性が考えられる。本研究では、土壌細菌による金属の可溶化の可能性を検討することを目的とした。なお、本研究における可溶化とは、固相から液相への金属の溶出（バイオリーチング）を指す。

2011年9月に、高知県内にある一宮（蛇紋岩地帯）、龍河洞（石灰岩地帯）、岡豊山（Mn 鉱山）、大西山（Cu 鉱山）の四地点で、深さ 0~30cm から土壌試料を採取した。試料の一部は生土のまま、金属代謝微生物のスクリーニングに用いた。As, Cd, Cu, Pb, Zn をそれぞれ添加して金属濃度を 2mM に調整した 1/10 YPG 培地で、28°C の好気条件で細菌の培養・単離を行い、さらに各培地から 2 種類ずつランダムに選択した計 10 種類の細菌を 16S rRNA 配列を用いた同定した。同定を行った細菌を金属の可溶性試験に用いた。各細菌を 1/10 YPG 液体培地で単離時と同条件でそれぞれ振とう培養し、滅菌した風乾土壌へ添加して 1~6 日間、30 日間、60 日間培養を行い、培養日数ごとに採取したサンプルの水溶性金属含量と MgCl₂ 可溶性金属含量を測定した。また、残りの風乾土壌は一般理化学性と金属全含量の分析に供した。

(1) 採取した 4 箇所の土壌は、いずれかの金属含量が Bowen (1976) の非汚染土壌よりも高い値を示した。一宮の土壌は Cd と Zn 含量が高く、Bowen 値の約 3.8, 1.4 倍であった。龍河洞土壌は Cd, Cu, Pb が約 3.8, 1.1, 1.6 倍、岡豊山土壌は Cd のみがわずかに高い値を示した。大西山土壌は Cd, Cu, および Zn が高く、特に Cd は約 4 倍の高い値であった。As のみは Bowen の値を上回る土壌は検出されなかった。生野鉱山跡地、足尾銅山周辺の重金属、ヒ素含量（野々村 2009、菊池 2011）と比較すると本研究の全金属含量はいずれも低い。4 地点ともになんらかの金属を非汚染土壌より多く含んでおり、特殊な環境であるといえた。

(2) 金属耐性微生物のスクリーニングにより、Cd, Cu, Pb, Zn, As のそれぞれに対して耐性を持つ細菌を得ることができた。各培地において確認できたコロニーの種類は 1~5 と、プレートによっては多いと言えないものもあった。また、Cu を除いた 4 金属の培地ではコロニー数が 50 個以上確認できたが、Cu のみはコロニーが多いもので 32 個であった。重金属の毒性の順は Cu > Cd > Zn > Pb となっており、毒性のより高い Cu が細菌の生育を最も強く阻害したのではないかと考えられた。

単離した微生物の内、ランダムに選んだ 10 種類を同定し、*Bacillus*、*Pseudomonas*、*Chryseobacterium*、*Enterobacter*、*Rhodopseudomonas*、*Chitinophaga*、*Flavobacterium* 属の細菌であることが判明した。

(3) 可溶性試験では、細菌の添加により、水溶性と塩可溶性金属含量の増加が認められた。水溶性金属の溶出がみられたのは Cu が 5 種 (*P. chlororaphis*、*C. terrae* Kim and Jung 2007、*F. anhuiense*、*E. amnigenus*、*B. thuringiensis* がコントロールより高い値を示した)、Zn が 10 種全部の細菌において確認された。また、MgCl₂ 可溶性 Cu、Zn 含量は、水溶性含量と類似の傾向を示した細菌が数種あった。Cu では *E. amnigenus*、*C. terrae*、*B. thuringiensis* の 3 種類、Zn では *R. rhenobacensis*、*P. chlororaphis*、*B. thuringiensis* で可溶性金属含量の増加がみられ、このことから少なくともこれら 5 種の細菌には土壤から Cu、または Zn を溶解する能力があると考えられた。一方、水溶性含量が検出限界以下だった Cd、Pb、As は、MgCl₂ 抽出では溶出がみられる細菌が検出された。Cd は、*B. thuringiensis*、*P. nitroreducens*、*B. megaterium* でコントロールより高い値を示した。Pb は *P. chlororaphis* の 6 日培養でわずかながらも可溶化した。As の可溶化を示した細菌は *E. amnigenus* の 1 種類のみであった。微生物による金属可溶化は、硫酸や有機酸などといった分泌物、金属のメチル化、酸化還元反応などによって起きる。今回確認できた金属の溶出も、これらのようなメカニズムに起因しているのではないかと考える。

同じ細菌、同じ培養日数であっても 5 つの金属間で可溶化に違いがみられた。また、細菌が耐性を示した金属を溶出するとは限らないことが分かった。ただし、本研究では可溶性の金属しか評価しておらず、吸着態の金属の評価ができていないため、溶解した金属が土壤に再吸着した可能性は否定できない。また、微生物が土壤中の金属の形態を変化させる時、粘土鉱物や有機物に存在する交換サイトから金属を脱離させるのだが、それによって揮発するものもあれば、菌体内へと吸収する微生物も存在する。実際にコントロールよりも低い可溶性金属含量を示した細菌は何種か確認できており、これらの細菌はバイオリチング以外の金属変動を行ったことも考えられる。

以上のことから、今回スクリーニングした 10 種類の細菌中、少なくとも 5 種類が金属溶出の能力を有していると示唆された。今後、細菌の金属溶出のメカニズムを解明し、金属溶出量の評価、及び実際に植物を用いてファイトレメディエーションを促進する効果があるのか評価する必要がある。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 0 編)

(2) 学会発表等 (計 1 回)

菊池万世, 康峪梅, 櫻井克年: 微生物による土壤中の金属の可溶化について. 日本土壤肥料学会関西支部会, 2012/12/6 (国内)

(3) 著書・総説 (計 0 編)

(4) 講演会, 報告会等 (計 0 件)

(5) 特許 (計 0 件)

(6) 受賞等 (計 0 件)

(7) 報道 (計 0 件)

(8) 外部資金 (計 0 千円)

課題研究3 「哺乳動物の遺伝資源保存に関する研究」

研究代表者 松川和嗣（総合科学系生命環境医学部門，准教授）

研究分担者 葛西孫三郎（総合科学系生命環境医学部門，教授）

研究協力者 枝重圭祐（総合科学系生命環境医学部門，教授）

1. 概要

本課題研究では、実験動物や家畜だけでなく絶滅に瀕する哺乳動物種の保護や増殖に役立つ遺伝資源保存法の開発を目的として、以下の2項目について検討した。

(1) 凍結乾燥体細胞由来のウシクローン胚の作出

哺乳動物体細胞の保存には、 -80°C の超低温フリーザーあるいは液体窒素が使用され、適切な保存液中で細胞を“生かしたまま”凍結保存することが可能である。しかし、東日本大震災後には電力や液体窒素の供給が途絶え、貴重な細胞サンプルが失われるという事態が発生した。また、今後発生が予想される南海トラフの巨大地震等の災害に備えるためにも、損失を未然に防ぐ新たな細胞保存技術の開発が望まれている。本研究では、現在主流となっている超低温で保存する凍結保存法ではなく、低温あるいは常温で保存可能な真空凍結乾燥法によって哺乳動物体細胞を調整し、これらの細胞を核移植のドナー細胞として用いることで新たな種の保存および再生技術を開発することを目的としている。本年度は、コメットアッセイによるDNA損傷度を指標として体細胞の凍結乾燥プログラムおよび凍結乾燥後の保存条件を検討し、凍結乾燥した体細胞を用いて核移植を実施した。その結果、緩慢凍結したウシ線維芽細胞の凍結乾燥後のDNA損傷細胞の割合は2%であった。一方、凍結乾燥をしていない細胞の損傷細胞の割合は1%であり、緩慢凍結区と有意な差は認められなかった。さらに、凍結乾燥後 -30°C で1週間保存したウシ線維芽細胞を供試して核移植した結果、28%の胚盤胞期胚発生率を得ることができた。今後は、凍結乾燥体細胞核の卵細胞質内での初期化メカニズムの解明、および凍結乾燥体細胞由来核移植胚の受胎牛子宮への移植後の体内発生について検討する予定である。

(2) ウシ凍結融解胚の生存性向上に関する研究

哺乳類初期胚は活性酸素の影響によって、発生の阻害や遅延を起こす。また、マウス緩慢凍結胚は、凍結中に活性酸素濃度が上昇することで酸化ストレスによる損傷を受け、胚移植後の受胎率が低下することが知られている。そこで本研究では、L-アスコルビン酸2リン酸(AA-2P)の培地への添加が緩慢およびガラス化凍結保存したウシ体外受精由来胚盤胞の融解後の生存性に及ぼす影響を検討した。さらに、凍結融解胚を切断して2分離胚を作製し、AA-2Pが分離後の生存性に及ぼす影響も調べた。Day 8緩慢凍結胚の融解後の生存率は500 μM AA-2P添加区で最も高く（融解後24時間：82%，48時間：76%）、無添加区（24時間：64%，48時間32%）との間に有意な差が認められた（ $P<0.05$ ）。また、緩慢およびガラス化凍結胚の融解後の生存率は、AA-2P添加区が無添加区よりも高く、融解後48時間から有意な差が認められた（ $P<0.01$ ）。さらに胚の切断後、AA-2P添加および無

添加区ではそれぞれ 76 および 18%が生存し、両区の生存率の間には有意な差が認められた (P<0.01). 以上の結果から、AA-2P の培地への添加は凍結融解後のウシ胚および切断分離胚の生存率を高める効果があることが示された.

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 3 編)

1. Takeda K, Srirattana K, Matsukawa K, Akagi S, Kaneda M, Tasai M, Nirasawa K, Pinkert CA, Parnpai R, Nagai T. Influence of intergeneric/interspecies mitochondrial injection; parthenogenetic development of bovine oocytes after injection of mitochondria derived from somatic cells. J Reprod Dev., 2012, 58), 323-329.
2. Srirattana K, Matsukawa K, Akagi S, Tasai M, Tagami T, Nirasawa K, Nagai T, Kanai Y, Parnpai R, Takeda K. Constant transmission of mitochondrial DNA in intergeneric cloned embryos reconstructed from swamp buffalo fibroblasts and bovine ooplasm. Anim Sci J., 2011, 82, 236-243.
3. Czernik M, Fidanza A, Sardi M, Galli C, Brunetti D, Malatesta D, Della Salda L, Matsukawa K, Ptak GE, Loi P. Differentiation potential and GFP labeling of sheep bone marrow-derived mesenchymal stem cells. J Cell Biochem., 2013, 114, 134-143.

(2) 学会発表等 (計 3 回)

1. 西本あずさ, 枝重圭祐, 葛西孫三郎, 保地眞一, 松川和嗣. 予備凍結および保存温度が凍結乾燥ウシ体細胞の DNA 損傷および核移植後の発生に及ぼす影響. 第 105 回日本繁殖生物学会大会, つくば, 2012/9/5-8 (国内).
2. 久々彩香, 田村奈々, 竹中由布, 枝重圭祐, 葛西孫三郎, 松川和嗣. L-アスコルビン酸 2 リン酸の培地への添加がウシ凍結融解胚および切断 2 分離胚の生存性に及ぼす影響. 第 105 回日本繁殖生物学会大会, つくば, 2012/9/5-8 (国内).
3. 竹中由布, 枝重圭祐, 葛西孫三郎, 松川和嗣. アスコルビン酸 2 リン酸の発生培地への添加がウシ体外受精胚の発生に及ぼす影響. 第 116 回日本畜産学会大会, 広島市, 2013/3/27-30 (国内).

(3) 著書・総説 (計 0 編)

(4) 講演会, 報告会等 (計 2 件)

1. 枝重圭祐: 遺伝資源の永久保存ー哺乳動物の精子、卵子、受精卵の凍結保存ー. 高新文化教室特別講座「おもしろいバイオテクノロジーのお話」高知, 2013/1/28.
2. 松川和嗣: 家畜を殖やす「バイオテクノロジー」、減らす「口蹄疫」. 高新文化教室特別講座「おもしろいバイオテクノロジーのお話」高知, 2013/2/25.

(5) 特許 (計 0 件)

(6) 受賞等 (計 0 件)

(7) 報道 (計 0 件)

(8) 外部資金 (計 6,784 千円)

1. 葛西孫三郎:平成 24 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 B)「魚類の卵子と卵巣の凍結保存法の開発」, 代表, 2,600,000 円 (直接経費 2,000,000 円, 間接経費 600,000 円)
2. 葛西孫三郎:平成 24 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 B)「内在性水チャンネルの人為的誘導と開閉による哺乳動物卵子の耐凍性向上」, 分担, 650,000 円 (直接経費 500,000 円, 間接経費 150,000 円)
3. 葛西孫三郎:平成 24 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (挑戦的萌芽研究)「暑熱・寒冷による卵子・胚の傷害メカニズム:分子機構から産業応用へ」, 分担, 650,000 円 (直接経費 500,000 円, 間接経費 150,000 円)
4. 松川和嗣:平成 23 年度科学研究費補助金, 若手(A),「フリーズドライ体細胞を用いた家畜の遺伝資源保存・再生技術の開発」, 代表, 1,300,000 円 (直接経費 1,000,000 円, 間接経費 300,000 円)
5. 松川和嗣:高知県農業振興部 (受託研究),「種雄牛の現場後代検定」, 284,397 円 (直接経費 218,767 円, 間接経費 65,630 円)
6. 松川和嗣:平成 24 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 B)「魚類の卵子と卵巣の凍結保存法の開発」, 分担, 390,000 円 (直接経費 300,000 円, 間接経費 90,000 円)
7. 松川和嗣:平成 24 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 B)「内在性水チャンネルの人為的誘導と開閉による哺乳動物卵子の耐凍性向上」, 分担, 390,000 円 (直接経費 300,000 円, 間接経費 90,000 円)
8. 松川和嗣:平成 24 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (挑戦的萌芽研究)「暑熱・寒冷による卵子・胚の傷害メカニズム:分子機構から産業応用へ」, 分担, 390,000 円 (直接経費 300,000 円, 間接経費 90,000 円)
9. 松川和嗣:平成 24 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 C)「わが国西南暖地における食用カンナのバイオマス・デンプン生産性の解明と利用開発」, 分担, 130,000 円 (直接経費 100,000 円, 間接経費 30,000 円)

課題研究 4 「生分解性高分子の微生物合成と環境機能材料化」

研究代表者 芦内 誠（総合科学系生命環境医学部門，教授）

1. 概要

微生物が生産する生分解性高分子の効率生産と高機能化が求められている。本課題では、納豆の糸の主成分として知られるポリ- γ -グルタミン酸 (PGA) に注目している。納豆 PGA は D 型アミノ酸に富むため、その導入機構は長く学術上の興味の対象となってきた（学会発表 3；講演会 1，3）。今回、PGA への D-グルタミン酸の導入に中心的な役割を果たす酵素活性を明らかにした（学術論文 1）。

納豆 PGA は生化学における興味深い研究対象である一方、材料化学の面ではその弱点が指摘されていた。いわゆるキラル高分子を基礎とする材料では立体規則性（光学純度）の程度が材料性能を大きく左右することが知られている。納豆 PGA のような DL 混成型のランダムポリマーではさらなる高機能化が望めないとされてきた。従って、立体規則性の制御可能な PGA 生産技術の確立が必要であった。新酵素の発見（学会発表 9）や新技術の創出（総説 3）が進むなか、我々の確立した「光学純度の高いポリ- γ -グルタミン酸の製造方法」の重要性が認められ、新特許技術として登録されることになった（特許 1）。このような微生物工学技術の進歩より、産業用途性の面で特に高いポテンシャルを示すとされる立体規則性 PGA（総説 1，2）の効率生産が可能になった。高機能化技術の検討も本格化するなか、本研究では PGA のポリイオンコンプレックス化技術を背景に、画期的な高機能化技術の確立に成功した（学会発表 2，8）。具体的には、自己修復性（学会発表 4，5）や金属吸着性（学会発表 1）といった先端機能を備えたバイオゲル新素材の創製や、制菌機能を有するバイオプラスチック材料の開発（学会発表 6，7）に成功した。なかでも、後者の高機能性プラスチック合成については学術的に評価され、応用材料工学関係ではトップクラスの英文誌に掲載された（原著論文 2）。本新材料の制菌効果は細菌類に止まらず、重大な健康被害を起こすカンジダやカビ等の真菌類にも有効であったことから、医用・衛生分野での応用も期待できる。実際、防カビ用コーティング材として加工する技術を確認し、共同研究先の企業と特許出願にまで至っている（特許 2）。また、得られた最新の学術情報については NPO の公開企画等を利用し、一般の市民にも広く発信するようになってきた（講演会 2）。

外部資金としては継続中の共同研究（外部資金 1）とあわせ、科研費挑戦的萌芽研究を獲得した（外部資金 2）。後者に関していえば、立体規則性 PGA の高機能化に係るさらなる技術進歩・充実を図ることの重要性が認められたことによるものと推察される。

2. 研究業績

(1) 原著論文（計 2 編）

1. M. Ashiuchi, T. Yamamoto, T. Kamei : Pivotal enzyme in glutamate metabolism of poly- γ -glutamate-producing microbes. *Life* **3**, 181–188, 2013.
2. M. Ashiuchi, K. Fukushima, H. Oya, T. Hiraoki, S. Shibatani, N. Oka, H. Nishimura, H.

Hakuba, M. Nakamori, M. Kitagawa : Development of antimicrobial thermoplastic material from archaeal poly- γ -L-glutamate and its nanofabrication. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **5**, 1619–1624, 2013.

(2) 学会発表等 (計 9 回)

1. 尾池翔太, 大矢遥那, 山崎紗千代, 芦内 誠 : バイオミメティックゲル新素材 “ドーパミルポリ- γ -グルタミン酸” の金属イオン吸着性. 日本生物工学会西日本支部大会, 岡山, 2012/7/7 (国内).
2. 芦内 誠, 大矢遥那 : 水溶性バイオポリマー “ポリ- γ -グルタミン酸” の高性能ゲル化. 高分子討論会, 愛知, 2012/9/20 (国内).
3. 芦内 誠, 山本健人, 山城大典 : 納豆菌より見いだされた新奇染色体外 DNA 維持機構 : ポリ- γ -グルタミン酸生合成因子 PgsE と鞭毛形成因子 FilF の必須性. 日本農芸化学会中四国支部大会, 山口, 2012/9/22 (国内).
4. 山本健人, 尾池翔太, 大矢遥那, 山崎紗千代, 芦内 誠 : ポリ- γ -グルタミン酸の高性能ゲル化と金属イオン応答性. 日本生物工学会大会, 兵庫, 2012/10/26 (国内).
5. M. Ashiuchi, H. Oya, N. Oka, K. Sano, T. Hiraoki : Novel chemo-reforming of a water-soluble biopolymer, poly- γ -glutamate, giving self-healing superabsorbent materials. The 9th SPSJ International Polymer Conference (IPC2012), Kobe, 2012/10/14 (国際).
6. 芦内 誠, 福島賢三, 大矢遥那, 平沖敏文, 西村浩和, 白馬弘文, 中森雅彦, 北川 優 : 古細菌型ポリ- γ -グルタミン酸を基礎とする新規制菌プラスチック素材の開発とナノファイバー化. 日本生化学会大会 (ポスターセッション), 福岡, 2012/10/16 (国内)
7. M. Ahiuchi, K. Fukushima, H. Oya, T. Hiraoki, H. Nishimura, H. Hakuba, M. Nakamori, M. Kitagawa : Development and nanofabrication of antimicrobial thermoplastic material from archaeal poly- γ -L-glutamate. 日本生化学会大会 (Oral Presentation; A Selected Issue), 福岡, 2012/10/16 (国内)
8. 岡 秒歩, 大矢遥那, 山本健人, 芦内 誠 : バイオゲル新素材 “ドーパミルポリ- γ -グルタミン酸” の環境調和合成とその反応メカニズム. 日本農芸化学会中四国支部例会, 高知, 2013/1/26 (国内).
9. 芦内 誠, 山本 孝, 清水一希, 小松和也 : 好アルカリ性バシラスの推定 L-ホモ型ポリ- γ -グルタミン酸合成酵素. 日本農芸化学会大会, 宮城, 2013/3/25 (国内).

(3) 著書・総説 (計 3 編)

1. 北川 優, 北澤宏明, 山本周平, 小松陽子, 柳谷周作, 松井まり子, 曾我部 敦, 芦内 誠 : 好塩古細菌が生み出す天然系の親水性保湿剤の開発. *科学と工業* **86**(4), 135–138, 2012.
2. 芦内 誠 : エクストリモライトとしてのポリ- γ -グルタミン酸とその応用. *化学工業* **63**(5), 62–68, 2012.
3. 芦内 誠 : ポリ- γ -グルタミン酸の立体選択合成と化学改質. *高分子* **61**, 773–774,

2012.

(4) 講演会, 報告会等 (計3件)

1. 芦内 誠: ポリ- γ -グルタミン酸 (PGA) の微生物合成と先端機能材料化. 東京工業大生命理工学術講演会, 神奈川, 2012/6/20 (国内).
2. 芦内 誠: 食とバイオとナノファイバー. 高新文化教室「おもしろいバイオテクノロジーのお話し」, 高知, 2012/9/24 (国内).
3. 芦内 誠: 納豆の糸と D-アミノ酸. 農水省生研センタープロジェクト「D-アミノ酸に注目した食品機能開発」公開シンポジウム, 福岡, 2013/3/1 (国内).

(5) 特許 (計2件)

1. 芦内 誠, 清水一希: 国内特許 JP5119435 (光学純度の高いポリ- γ -グルタミン酸の製造方法; 2012/11/2 登録/取得).
2. 柴谷滋郎, 中森雅彦, 白馬弘文, 宝田 裕, 芦内 誠: 特願 2012-255657 (抗真菌剤およびコーティング剤; 2012/11/21 出願).

(6) 受賞等 (計0件)

(7) 報道 (計0件)

(8) 外部資金 (計1, 790千円)

1. 芦内 誠: バイオ新素材ポリグルタミン酸の量産化とバイオジェル吸水部材の応用研究, 東洋紡株式会社 (共同研究), 100,000 円 (直接経費 90,910 円, 間接経費 9,090 円).
2. 芦内 誠: ドーパミルポリ- γ -グルタミン酸の効率合成と環境応用への挑戦, 科学研究費補助金挑戦的萌芽研究, 1,690,000 円 (直接経費 1,300,000 円, 間接経費 390,000 円).

課題研究 5 「食品の機能性の解明および評価法の開発」

研究代表者 受田浩之（総合科学系生命環境医学部門，教授）
研究協力者 島村智子（総合科学系生命環境医学部門，准教授）
研究協力者 柏木丈弘（総合科学系生命環境医学部門，准教授）

1. 概要

食品の機能性解明と評価法の開発に取り組んだ。研究業績の内訳は、学会発表 6 回，著書・総説 1 編，講演会 27 件，特許 2 件，報道 4 件，外部資金 6500 千円であった。今年度は，特に(1) 抗酸化活性に着目した研究，ならびに(2)二糖類由来メイラード反応生成物に関する研究に集中的に取り組んだ。

(1) 抗酸化活性に着目した研究では，まず，シークエンシャルインジェクション分析 (SIA) 法の脂質過酸化抑制能評価への適用を試みた。測定条件の最適化を行った結果，ロダミン鉄法を原理とする SIA 法によるトロロックス（代表的な抗酸化物質）の脂質過酸化抑制能評価が可能となった。今後は再現性の向上を目指した改良を行い，最終的に食品添加物として利用されている酸化防止剤の品質評価へ応用したいと考えている。また，酸化防止剤の併用効果に関する研究を実施し，ある種の組み合わせで相乗，或いは相殺効果が認められることが判明した。本結果を食品製造分野へフィードバックすることで，より良い製品作りに貢献できるものと考えている。

(2)二糖類由来メイラード反応生成物に関する研究では，ラクトースとアミノ酸のメイラード反応で生成するアミノレダクトンの構造解明に取り組んだ。その結果，アミノ酸の種類により生成率は異なるものの，研究に用いた 7 種のアミノ酸 (Gly, Glu, N^α-acetylysine, Lys, Val, Phe, Pro) 全てからアミノレダクトンの生成が確認できた。アミノレダクトンは抗酸化活性，リボフラビン保護効果，抗菌活性などの機能性を持つ物質である。従って，今後，アミノレダクトンを高濃度で維持，安定化できる抽出方法が開発されれば，新規機能性食品素材として利用できる道が拓けると期待される。

2. 研究業績

(1) 原著論文 (計 0 編)

(2) 学会発表等 (計 6 回)

1. Hiroyuki Ukeda, Rapid and Convenient Flow-based Analysis for Food Function RGJ-Ph.D.Congress XIII “From Green Revolution to Green Innovation”, Pattaya, Thailand, 2012/4/6-8.
2. 島村智子, 柏木丈弘, 受田浩之, 藤本浩之, 高知県黒潮町の日戻りカツオに関する調査—抗疲労物質含量とその効果について—, 日本カツオ学会 第 1 回カツオセミナー in 高知, 高知, 2012/5/12.

3. 山元涼子, 石川洋哉, 島村智子, 柏木丈拵, 受田浩之, 山崎壯, 松井利郎, Median effect analysis によるラジカル消去反応系における酸化防止剤併用効果の解析, 第 49 回化学関連支部合同大会, 福岡, 2012/6/30.
4. 山元涼子, 石川洋哉, 山内良子, 島村智子, 柏木丈拵, 受田浩之, 穂山浩, 松井利郎, ラジカル消去反応における酸化防止剤の相乗・相殺効果の解析, 日本食品科学工学会第 59 回大会, 北海道, 2012/8/29-31.
5. Kraingkrai Ponghong, Tomoko Shimamura, Keiro Higuchi, Takehiro Kashiwagi, Kate Grudpan, Shoji Motomizu, Hiroyuki Ukeda, Determination of lipid hydroperoxide in oil samples employing spectrophotometric sequential injection analysis system, Flow analysis XII, Thessaloniki, Greece, 2012/9/23-28.
6. 山元涼子, 藤田睦, 山内良子, 島村智子, 柏木丈拵, 受田浩之, 穂山浩, 松井利郎, 石川洋哉, ラジカル消去反応におけるチオール化合物と各種抗酸化物の併用効果, 日本農芸化学会 2013 年度大会, 宮城, 2013/3/24-28.

(3) 著書・総説 (計 1 編)

1. Tomoko Shimamura and Hiroyuki Ukeda, Chapter 5 Maillard Reaction in Milk -Effect of Heat Treatment, "Milk Protein", edited by Walter L. Hurley, InTech, pp. 147-157 (2012).

(4) 講演会, 報告会等 (計 27 件)

1. 受田浩之, パネルディスカッション: 産学官連携による産業振興と人材育成, 「土佐まるごとビジネスアカデミー」オープニングセミナー, 高知, 2012/04/27.
2. 受田浩之, 講演: 「高知大学から見た四国の大学の将来」, 愛媛, 2012/5/17.
3. 受田浩之, 意見交換: 学識者として専門分野の最近の動向についての説明, 平成 24 年度第 2 回農林水産技術会議, 東京, 2012/5/25.
4. 受田浩之, 講演: 「高知県産食材で健康づくり」～聞いて良かった! 高知県食材の機能性～, 高知県在宅保健活動者なでしこの会 第 27 回研修会, 高知, 2012/6/04.
5. 受田浩之, 意見交換: テーマ「地域地域で産業振興に取り組む実績者を広げるために」土佐まるごと社中の取り組みについて説明, 高知県産業振興推進部計画推進課 第 1 回対話と実行座談会, 高知, 2012/8/1.
6. 受田浩之, コーディネーター: ～今こそ問い直そう、「水で生きる」嶺北の価値を! ～, NPO 法人れいほく活性化機構 第 32 回早明浦湖水祭, 高知, 2012/8/4.
7. 受田浩之, 講演: 「四国 (Shikoku Island) を食アイランド (Shoku Island) に! ～四国における食品産業の振興を目指して～」, 四国経済連合会 産業委員会, 高知, 2012/08/07.
8. 受田浩之, 特別講演: 中山間地域における人づくり、地域づくり, 嶺北地域教育振興土佐長岡郡議員連盟総会, 高知, 2012/08/09.
9. 受田浩之, 講義: 「漁村地域の総合的な活性化策を考える!」, ランドブレイン株式会社, 水産庁産地水産業強化支援事業 漁村の地域リーダー育成研究会 第 1 回, 兵庫,

2012/09/02.

10. 受田浩之, 講義: 農産物の有する食品価値の創造, 株式会社ナチュラルアート ナチュラルアート農業ビジネススクール, 東京, 2012/09/04.
11. 受田浩之, コーディネーター: 「深めよう絆! つながろう人と人!」, 香南市 香南市まちづくりフォーラム, 高知, 2012/09/22.
12. 受田浩之, コーディネーター: 「INF 第 11 回全国大会 in 土佐の日 大討論会!」心の豊かさを実感できる幸福とは?, 土佐の日実行委員会 土佐の日 2012 シンポジウム, 高知, 2012/10/03.
13. 受田浩之, 基調講演: 「高知県産学官連携・医農連携の挑戦」, とっとり産業フェスティバル 2012 実行委員会 とっとり産業フェスティバル 2012&鳥取環境ビジネス交流会 2012, 鳥取, 2012/10/05.
14. 受田浩之, パネルディスカッションコーディネーター: 「離島におけるカツオ漁業のこれから」～持続可能な展開に向けた地理的不利性の克服と人材確保～, 宮古島市役所カツオフォーラム in 宮古島, 沖縄, 2012/10/06.
15. 受田浩之, 講師: 高知県産業振興計画と大学の関わり, 金陽クラブ 金陽クラブ第 346 回定例会, 高知, 2012/10/12.
16. 受田浩之, パネラー: 「これからの北見工業大学の社会貢献と社会連携推進センターの姿」北見工業大学 社会連携推進センター創立 20 周年記念式典・フォーラム, 北海道, 2012/10/18.
17. 受田浩之, 記念講演: 「地域資源の価値創造」第 4 回 北見工業大学・江原大学ジョイントシンポジウム, 北海道, 2012/10/19.
18. 受田浩之, 講義: 「漁村地域の総合的な活性化策を考える!」, ランドブレイン株式会社, 水産庁産地水産業強化支援事業 漁村の地域リーダー育成研究会 第 2 回, 大阪, 2012/10/22.
19. 受田浩之, 講演: 光輝く地域をつくるー明珠在掌, NPO 法人自然体験学校 第 2 回八重瀬町まちづくり講演会, 沖縄, 2012/11/20.
20. 受田浩之, 講演: 地域特産食品資源を利用した Kochi - 地域特化産業の活性化, 江原大学バイオテクノロジー研究所 (韓国), 2012 年 国際学術シンポジウム, 韓国, 2012/12/05.
21. 受田浩之, 講師: 四国(Shikoku Island)を食アイランド(Shoku Island)に! ~四国における食品産業の振興を目指して~, 一般財団法人香川経済同友会 香川経済同友会地域振興財政委員会, 香川, 2012/12/10.
22. 受田浩之, 講師: 「地域資源を活かした機能性食品の開発による産業振興」, 財団法人日本立地センター 全国イノベーション推進機関ネットワーク, 地域セミナー in 和歌山, 和歌山, 2012/12/12.
23. 受田浩之, 講演: 「高知の食材で健康未来」, 日本農芸化学会中四国支部第 22 回市民フォーラム, 高知, 2013/01/26.
24. 受田浩之, 講演: 「人材育成を通じた高知県食品産業の振興」～土佐フードビジネスクリエーター (土佐 FBC) 人材育成事業への取り組み～, 和歌山バイオサイエンス連絡

協議会 第33回和歌山バイオサイエンスフォーラム会, 和歌山, 2013/02/02.

25. 受田浩之, 講演: 機能性研究を地域食材の価値創造に応用する!, 香川大学食品安全機能解析研究センター 食品安全・機能解析研究センター第3回セミナー, 香川, 2013/03/06.
26. 受田浩之, 基調講演: 「漁村の総合的な活性化策を考える」, ランドブレイン株式会社, 水産庁産地水産業強化支援事業 漁村の魅力活用! シンポジウム, 福岡, 2013/03/19.
27. 受田浩之, コーディネーター: リハビリキッチン成果報告 体験者の感想…などについて リハビリキッチンモデル試行事業実施協議体, 本山町リハビリキッチンシンポジウム, 高知. 2013/03/17.

(5) 特許 (計2件)

1. 特許番号: 特許第5099871号, 発明の名称: 魚介類用餌飼料, 登録日: 平成24年10月5日, 特許権者: 国立大学法人高知大学、マイクロアルジェコーポレーション株式会社, 発明者: 益本俊郎, 受田浩之, 竹中裕行, 山口裕司
2. 特許番号: 特許第4974329号, 発明の名称: アンジオテンシンI変換酵素活性の測定方法, 登録日: 平成24年4月20日, 特許権者: 国立大学法人高知大学、株式会社同仁化学研究所, 発明者: 受田浩之, 石山宗孝

(6) 受賞等 (計0件)

(7) 報道 (計4件)

1. 産業活性化の方策を探る 高知市で「産学連携学会」高知大会, 高知新聞, 2012/06/15.
2. カツオ漁で地域活性化フォーラム in 宮古島 参加者「価値」見直す, 宮古新報新聞, 2012/10/07.
3. カツオの可能性探る カツオフォーラム 各分野関係者が提案, 宮古毎日新聞, 2012/10/07.
4. 地域貢献、シニアに密着 高齢者の街 活性化探る, 日本経済新聞, 2013/02/14.

(8) 外部資金 (計6,500千円)

1. 受田浩之 (研究代表者), 平成24年度科学研究費助成事業学術研究助成基金助成金(研究基盤(C)), 研究題目: 二段階発酵茶・碁石茶の暗黙知を科学的に解明する, 600千円.
2. 受田浩之 (研究分担者), 平成24年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業), 研究題目: 既存添加物の品質評価と規格試験法の開発に関する研究, 2000千円.
3. 受田浩之 (研究代表者), 共同研究「乳および乳製品の品質とメイラード反応に関する研究」雪印メグミルク(株), 1050千円.
4. 受田浩之 (研究代表者), 共同研究「食品および食品成分が体内放射性物質の排出に与える効果の確認」, 赤穂化成(株), 500千円

5. 受田浩之, 柏木丈拵, 島村智子 (研究分担者), 平成 24 年度食料生産地域再生のための先端技術展開事業, 「生体調節機能成分を活用した野菜・果物生産技術の実証研究」, 1000 千円.
6. 受田浩之, 奨学寄附金, 「食品科学学術研究助成補助金」(株)同仁化学研究所, 1000 千円.
7. 受田浩之, 島村智子 (研究分担者), 学長裁量経費「現場対応型高感度センサー開発に向けた学際的国際共同研究」, 350 千円.