

生物工学科



Department of Biotechnology

生物工学科、この10年のあゆみと教育研究活動の推移

生物工学科長 岩本 博行

遡ること35年前の1986年（昭和61年）、興隆するバイオテクノロジー産業の担い手を養成するために、全国の私立大学に先駆けて本学工学部に生物工学科が設置された。その後、科学技術の発展や大学・学科を取り巻く環境の変化を受けて、学科の理念・目的やカリキュラムを改訂しながら、学科名称は変更せず現在に至っている。2002年（平成14年）には食品工学科（現生命栄養科学科）、海洋生物工学科（現海洋生物科学科）とともに工学部から分離して生命工学部が誕生した。最初の10年（2002～2011年）のあゆみと研究活動の推移については『福山大学生命工学部研究年報創刊10周年記念号（第10号）』の山本覚学科主任（当時）の文章を参照頂くとして、本稿ではその後の10年（2012～2021年、平成24年～令和3年）の生物工学科のあゆみと教育研究活動の推移について振り返る。

2012年当時の研究室構成は、分子生物学研究室（久富泰資教授、杉原千紗技術助手）、遺伝子工学研究室（秦野琢之教授、松崎浩明教授）、ゲノム科学研究室（藤田泰太郎教授、広岡和丈准教授、2021年から微生物科学研究室）、酵素工学研究室（山本覚教授、藤島夕子技術助手、2014年から発酵科学研究室）、生物化学研究室（太田雅也教授、池口陽子技術助手）、植物細胞工学研究室（原口博行教授）、動物細胞工学研究室（山口泰典教授、佐藤淳講師、2021年から動物学研究室）、2012年に新設されたインダストリアル・バイオテクノロジー研究室（岩本博行教授、生命栄養科学科から配置換え）の8研究室体制であった。その後、2014年に宮尾（旧姓藤島）夕子技術助手が退職、佐藤淳講師（2012年に日本哺乳類学会奨励賞受賞）が准教授に昇任、吉崎隆之助教が採用された。吉崎助教は2015年にワイン醸造所長に就任後、2016年に講師、2018年に准教授に昇任した。2017年に藤田泰太郎教授と杉原千紗技術助手が退職し、豊村晃丞助手が採用された。2020年に広岡和丈准教授、2021年に佐藤淳准教授がそれぞれ教授に昇任した（佐藤淳教授は2017年9月から2018年8月まで豪州・アデレード大学に留学）。この10年間の学科長は、2012年から2014年まで山本教授、2014年から2019年まで久富教授、2019年から現在まで岩本教授が務めている。

学科の教育研究活動については、バイオ人材の育成という学科設立当初の目的を基礎に、2013年に地域活性化をめざした産学官連携事業「福山バラの酵母プロジェクト」を、翌2014年には「福山大学ワインプロジェクト」をスタートさせ、同年に「瀬戸内の里山からはじまる食と環境のバイオサイエンス」を学科のテーマと定めた。翌2015年には学科カリキュラムを刷新し、初年次教育として「里山概論」を導入したほか、福山大学ワイン醸造所、東村葡萄園を整備して、1年次に「植物栽培実習」、2年次に「果樹栽培加工実習」、3年次に「生物資源・生産実験」を導入した。一方、佐藤准教授（当時）を中心として始まった『瀬戸内の里山・里海学』が「福山大学ブランディング推進のための研究プロジェクト」に発展し、2017年に文部科学省私立大学研究ブランディング事業「瀬戸内海しまなみ沿岸生態系に眠る多面的機能の解明と産業支援・教育」が採択された。「瀬戸内の里山・里海学」は現在、地域に根ざす本学全体のコンセプトになっている。2019年12月にはラオス醸造研修を実施し、学生14名、教員2名が参加した。現地ではラム酒製造会社LAODIで研修するとともにラオス国立大学農学部と交流し、これが2020年に同学部と本学生命工学部との学部間教育研究連携協定として結実した。2020年から2021年にかけての世界的な新型コロナウイルスの感染拡大を受けて、リモートでの授業・実習等新たな教育スタイルを取り入れた。

今後の展望としては、持続可能な社会を構築するために、生物の力を利用して気候変動や生物多様性の保全、食料システムの刷新などの課題に取り組むことが学科の使命であろう。

生物工学科研究業績 (2011-2019)

研究発表

1. 論文

2011年

- Tojo, S., *et al.* (Hirooka, K., Fujita, Y.). *J. Bacteriol.*, **193**, 2388-2395 (2011).
Hirooka, K., *et al.* (Fujita, Y.). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75**, 1325-1334 (2011).
Yanamoto, T., *et al.* (Hatano, T., Matsuzaki, H.). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75**, 1713-1721 (2011).
Sugihara, C., *et al.* (Hisatomi, T., Tsuboi, M.). *Curr. Microbiol.*, **63**, 366-371 (2011).
Sato, J. J., *et al.*, *Mamm. Stud.*, **36**, 209-222 (2011).
Hosoda, T., *et al.* (Sato, J., J.). *Can. J. Zool.*, **89**, 559-569 (2011).
Maehara, S., *et al.* (Haraguchi, H.). *Chem. Pharm. Bull.*, **59**, 1042-1044 (2011).

2012年

- Hirooka, K., *et al.* (Fujita, Y.). *J. Bacteriol.*, **194**, 5675-5687 (2012).
Hirose, J., *et al.* (Iwamoto, H.). *Arch. Biochem. Biophys.*, **525**, 71-81 (2012).
Shimazu, S., *et al.*, (Ohta, M., Ohkawa, H.). *J. Environ. Sci. Health, Part B*, **47**, 925-932 (2012).
Sato, J. J., *et al.*, *Mol. Phylogenet. Evol.*, **63**, 745-757 (2012).
Sato, J. J., *et al.* *Naturwissenschaften*, **99**, 655-659 (2012).

2013年

- Tojo, S., *et al.* (Hirooka, K., Fujita, Y.). *J. Bacteriol.*, **195**, 1656-1665 (2013).
Miyamoto, A., *et al.* (Hatano, T., Matsuzaki, H.). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1841-1847 (2013).
Ishida, K., *et al.* (Sato, J. J.). *Acta Theriol.*, **58**, 13-24 (2013).
Yamamoto, S., *et al.* (Yamaguchi, Y., Haraguchi, H.). *J. Drug Del. Sci. Tech.*, **23**, 591-596 (2013).

2014年

- Fujita, Y., *et al.* (Hirooka, K.). *J. Bacteriol.*, **196**, 3793-3806 (2014).
Fujihashi, M., *et al.* (Hirooka, K., Fujita, Y.). *Proteins*, **82**, 1301-1310 (2014).
Sato, J. J., *et al.* (Yamaguchi, Y.). *Mammal Study*, **39**, 1-10 (2014).
Toyota, T., *et al.* (Nitta, S.). *J. Oleo Sci.*, **63**, 1085-1098 (2014).
Shimazu, S., *et al.* (Ohta, M.). *Science of the Total Environment*, **492**, 240-245 (2014).
Jang, S., *et al.* (Yoshizaki, T.). *Biochim. Biophys. Acta-Gen. Subj.*, **1840**, 3226-3237 (2014).

2015年

- Kinoshita, G., *et al.* (Sato, J. J.). *J. Mammal.*, **96**, 172-184 (2015).
Takahashi, N., *et al.* (Yoshizaki, T.). *Int. J. Obes.*, **39**, 747-754 (2015).
Girija, U. V., *et al.* (Yoshizaki, T.). *BMC Biol.*, **13**, 27 (2015).
Hata, T., *et al.* (Iwamoto, H.). *Biol. Pharm. Bull.*, **38**, 358-364 (2015).
Nitta, S., *et al.* (Iwamoto, H.). *Eur. Polymer J.*, **67**, 50-56 (2015).
Hirooka, K., *et al.* (Fujita, Y.). *J. Bacteriol.*, **198**, 830-845 (2015).

2016 年

Sato, J. J., *et al.*, *Scientific Reports*, **6**, 31173; doi: 10.1038/srep31173. (2016).

Nitta, S., *et al.* (Iwamoto, H.). *Polymer J.*, **48**, 955-961 (2016).

2017 年

Sato, J. J., *et al.* (Yamaguchi, Y.). *Zoological Science*, **34**, 112-121. (2017).

Kurita, O., *et al.* (Iwamoto, H.). *Int. J. Biol. Macromol.*, **103**, 484-492 (2017).

Fujita, Y., *et al.* (Hirooka, K.). *Front. Microbiol.*, **8**, 2502 (2017).

Nitta, S., *et al.* (Iwamoto, H.). *Carbohydrate Polymers*, **174**, 1034-1040 (2017).

2018 年

Sato, J. J., *et al.*, *Journal of Mammalogy*, **99**, 952-964 (2018).

Proulx, G., *et al.* (Sato, J. J.). *Canadian Wildlife Biology and Management*, **7**, 97-100 (2018).

Hirooka, K., *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **82**, 1942-1954 (2018).

Kurita, O., *et al.* (Iwamoto, H.). *World J. Microbiol. Biotech.*, **34**, 60 (2018).

Saka, N., *et al.* (Iwamoto, H.). *Acta Crystallogr. D, Struct. Biol.*, **74**, 1115-1123 (2018).

2019 年

Nitta, S., *et al.* (Iwamoto, H.). *Polymer Journal*, **51**, 501-509 (2019).

Nitta, S., *et al.* (Iwamoto, H.). *Journal of Applied Polymer Science*, **136**, 47693 (2019).

Saka, N., *et al.* (Iwamoto, H.). *Acta Crystallogr. D, Struct. Biol.*, **D75**, 792-803 (2019).

Sato, J. J., *et al.* (Yamaguchi, Y.). *Mammal Study*, **44**, 221-231 (2019).

Sato, J. J., *et al.*, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **141**, 106605 (2019).

2. 学会発表

2011 年 38 件 (そのうち国際学会 4 件)

2012 年 35 件

2013 年 37 件 (そのうち国際学会 7 件)

2014 年 37 件 (そのうち国際学会 1 件)

2015 年 33 件 (そのうち国際学会 2 件)

2016 年 28 件 (そのうち国際学会 3 件)

2017 年 23 件

2018 年 30 件

2019 年 27 件 (そのうち国際学会 1 件)

生物工学科 2020 年研究業績

A. 研究発表

1. 論文

- (1) Parallel loss of sweet and umami taste receptor function from phocids and otarioids suggests multiple colonizations of the marine realm by pinnipeds
Mieczyslaw Wolsan, Jun J. Sato
Journal of Biogeography, 47(1):235-249. (2020)

Aim: Pinnipeds are thought to have evolved from a North Pacific ancestor, although some fossil evidence suggests a nonmarine Arctic origin and separate invasions into the North Pacific and North Atlantic. We here set out to test differing hypotheses about the origin of pinnipeds through identification and age estimation of pinniped marine invasions.

Location: Arctic, North America, North Atlantic, North Pacific.

Taxon: Pinnipeds (seals, sea lions, walruses, and their fossil relatives).

Methods: Because evidence indicates that taste loss in marine mammals and birds results from adaptation to the marine environment, we examined 16 representative pinnipeds for loss - of - function mutations in the TAS1R1, TAS1R2 and TAS1R3 genes encoding the sweet T1R2-T1R3 and umami (savory) T1R1-T1R3 receptors, and used the loss - of - function events of these receptors as indicators of marine invasion. Results: Numerous loss - of - function mutations were found in each pinniped TAS1R (22 in TAS1R1, 21 in TAS1R2 and 42 in TAS1R3). Six mutations were shared by all phocids and six other mutations by all otarioids (otariids and odobenids), but none by all phocids and all otarioids. Selective pressures on TAS1R1, TAS1R2 and TAS1R3 were estimated to have been relaxed, respectively, 16.3, 20.1 and 19.8 million years ago (Myra) in phocids, and 12.1, 18.1 and 18.2 Myra in otarioids.

Main conclusions: All TAS1Rs, T1R1-T1R3 and T1R2-T1R3 are nonfunctional in all extant pinnipeds. Both receptors lost their function approximately 20 Myra in the Phocidae lineage and approximately 18 Myra in the Otarioidea lineage. Both lineages have colonized the marine realm independently, which entails nonmarine origins of both Pinnipedia and its stem lineage. Combined with fossil evidence, molecular findings here suggest an Arctic center of long - lasting (approximately 38 - 18 Myra) nonmarine

pinniped evolution and at least five separate marine invasions, with the extinct (enaliarctid, Desmatophocidae, Kolponomos) and Otarioidea lineages entering the North Pacific and the Phocidae lineage the North Atlantic.

- (2) Evolutionary and anthropogenic factors affecting the mitochondrial D-loop genetic diversity of *Apodemus* and *Myodes* rodents on the northern slope of Mt. Fuji.

Jun J. Sato, Haruka Aiba, Kouichi Ohtake, Shusaku Minato
Mammal Study, 45 (4) :315–325. (2020)

Nucleotide sequences of the mitochondrial D-loop region were examined in three wild rodents (*Apodemus argenteus*, *Apodemus speciosus*, and *Myodes smithii*) on the northern slope of Mt. Fuji, the highest mountain in Japan, to elucidate the past evolutionary and present anthropogenic processes shaping their genetic diversity. Nucleotide diversity, median-joining network, and mismatch distribution analyses suggested that *A. argenteus* has multiple divergent lineages, possibly due to multiple previous expansion events, whereas *A. speciosus* and *M. smithii* are younger lineages that could be derived from single expansion events. These findings indicate that Mt. Fuji plays an important role as a reservoir maintaining lineages through multiple past expansion events. Artificial infrastructure also affected the genetic diversity of the two *Apodemus* species, as populations of these species on the two sides of the Fuji Subaru Line roadway were genetically distinct. To construct a proper conservation strategy based on genetic diversity, we suggest that the past and present contributors to genetic diversity must be clarified. Such clarification is especially important for the Mt. Fuji environment, which harbors rich biodiversity but also incurs much human impact as a national park.

- (3) Gadolinium causes M1 and M2 microglial apoptosis after intracerebral haemorrhage and exerts acute neuroprotective effects

Masatoshi Ohnishi, Takao Kai, Yuki Shimizu, Yukino Yano, Yuui Urabe, Shunpei Tasaka, Marina Akagi, Yasunori Yamaguchi and Atsuko Inoue
Journal of Pharmacy and Pharmacology, 72:709–718. (2020)

Gadolinium (Gd) affects microglial polarization during remyelination. We previously reported that the suppression of proinflammatory microglia was neuroprotective in

intracerebral haemorrhage (ICH). The objective of the present study was to investigate the effects of Gd on microglial polarization and neuronal injury after ICH.

Gadolinium was intraperitoneally administered to ICH mice prepared by an intrastriatal microinjection of collagenase type VII. The polarization of M1, 2a, b and c microglia were evaluated by real-time PCR using the respective markers. Changes in representative mRNAs were also confirmed by immunological methods. Neuroprotective effects were evaluated by counting NeuN-positive cells and a behavioral analysis.

One day after ICH, the mRNA levels of proinflammatory M1 microglial markers, such as inducible nitric oxide synthase (iNOS), and anti-inflammatory M2 microglial markers, such as arginase 1 (M2a, c), Yml (M2a), and transforming growth factor- β (M2c), increased, while those of chemokine CCL1 (M2b) only increased after 3 days. Gd decreased the levels of all M1 and M2 markers. Arginase 1 and iNOS protein levels also increased, and Gd reduced them due to apoptotic cell death. Gadolinium attenuated oedema, neuron loss, neuro-logical deficits, and the mortality rate without affecting haematoma sizes.

Gadolinium induced M1 and M2 microglial apoptosis and exerted acute neuroprotective effects after ICH.

(4) Draft Genome Sequence of *Saccharomyces cerevisiae* Strain P-684, Isolated from *Prunus verecunda*

Hiro Takahashi, Takayuki Yoshizaki, Hisashi Kondo, Taichiro Motomura, Masataka Murase, Anna Takahashi, Shuichi Fukuyoshi, Chiyoko Machida, Shin Kanamasa, Hiromi Shimizu, Shin-ichi Iwaguchi
Microbiol. Resour. Announc. 9, 41 (2020)

Saccharomyces cerevisiae strain P-684 is a yeast isolated from the flowers of *Prunus verecunda* 'Antiqua,' producing high quantities of malic and succinic acids in sake brewing. Here, we report the draft genome sequence of P-684, enlightening the mechanisms of biosynthesis of these organic acids by this strain.

(5) Identification of critical residues for the catalytic activity of ComQ, a *Bacillus* prenylation enzyme for quorum sensing, by using a simple bioassay system

Kazutake Hirooka, Saki Shioda, and Masahiro Okada
Biosci. Biotechnol. Biochem. 84, 347–357 (2020)

Bacillus ComQ participates in the biosynthesis of a quorum-sensing signaling molecule (ComX pheromone) through catalyzing the prenylation at a Trp residue of the precursor peptide (pre-ComX) with geranyl diphosphate (C₁₀ type) or farnesyl diphosphate (C₁₅ type). We hypothesized that several residues specifically conserved among either type of ComQs are important for their substrate specificities. Using a simple bioassay, we revealed that Phe63, Asn186, and Gly190 in ComQ_{RO-E-2} (C₁₀ type) were nondisplaceable to Ser63, Gly186, and Val190, the corresponding residues in the C₁₅-type ComQ, respectively. A three-dimensional model suggested that the 186th and 190th residues are involved in the pre-ComX binding. *In vitro* analysis showed that substitution of Phe63 with Ser in ComQ_{RO-E-2} significantly reduced the geranylation activity but substantially enhanced the farnesylation activity, whereas substitution of Ser63 with Phe in ComQ₁₆₈ (C₁₅ type) reduced the farnesylation activity. Therefore, the 63rd residue was found to be significant for the prenyl-substrate preference.

- (6) Orphan nuclear receptor ROR α regulates enzymatic metabolism of cerebral 24S-hydroxycholesterol through CYP39A1 intronic response element activation
Hiroshi Matsuoka, Miyu Katayama, Ami Ohishi, Kaoruko Miya, Riki Tokunaga, Sou Kobayashi, Yuya Nishimoto, Kazutake Hirooka, Akiho Shima, and Akihiro Michihara
Int. J. Mol. Sci. 21, 3309 (2020)

Oxysterols, important regulators of cholesterol homeostasis in the brain, are affected by neurodegenerative diseases. Early-onset Alzheimer's disease is associated with higher levels of circulating brain-derived 24S-hydroxycholesterol (24S-OHC). Conversion of cholesterol to 24S-OHC is mediated by cholesterol 24S-hydroxylase in the brain, which is the major pathway for oxysterol elimination, followed by oxidation through hepatic first-pass metabolism by CYP39A1. Abnormal CYP39A1 expression results in accumulation of 24S-OHC, influencing neurodegenerative disease-related deterioration; thus, it is important to understand the normal elimination of 24S-OHC and the system regulating CYP39A1, a selective hepatic metabolic enzyme of 24S-OHC. We examined the role of transcriptional regulation by retinoic acid receptor-related orphan receptor α (ROR α), a nuclear receptor that responds to oxysterol ligands. In humans, the promoter

and first intronic regions of CYP39A1 contain two putative ROR α response elements (ROREs). ROR α binding and responses of these ROREs were assessed using electrophoretic mobility shift, chromatin immunoprecipitation, and luciferase reporter assays. CYP39A1 was upregulated by ROR α overexpression in HEK293 cells, while ROR α knockdown by siRNA significantly downregulated CYP39A1 expression in human hepatoma cells. Additionally, CYP39A1 was induced by ROR α agonist treatment, suggesting that CYP39A1 expression is activated by ROR α nuclear receptors. This may provide a way to increase CYP39A1 activity using ROR α agonists, and help halt 24S-OHC accumulation in neurodegenerative illnesses.

2. 報文

(1) 次世代シーケンズ時代の哺乳類学～初学者への誘い～

佐藤淳、木下豪太

哺乳類科学, 60(2):307-318. (2020)

次世代シーケンサーは 2005 年ごろから実用化が進んだ新型 DNA シーケンサーであり、現在も急速なスピードで改良されている。現時点で開発から 10 年以上が経ち、日本の哺乳類学でも少しずつ利用されつつある一方で、未だ十分に活用されていないのが現状である。本稿では、最近の研究事例を紹介することで、今後の日本の哺乳類学における次世代シーケンサーの利用を促進するきっかけとしたい。次世代シーケンサーが提供するデータにより、従来と比較して桁の異なる莫大な量の DNA 情報が利用可能となったことで、進化生物学、生態学、分類学等の基礎科学だけでなく、野生哺乳類の保護・管理等の応用科学分野においても大きな貢献が期待される。

3. 学会発表

(1) 枯草菌宿主でのグルコースまたはラムノース制御可能なハイブリッド型タンパク質発現系の開発

小松弘昌、壽原直杜、広岡和丈

日本農芸化学会 2020 年度大会 (福岡)、大会講演要旨集 on line (2020-3)

【目的】タンパク質の異種発現系の微生物宿主としては大腸菌が一般的であるが、哺乳類に毒性を示すリポ多糖類を含むため医薬品・食品製造に関わるタンパク質を生産する場合にはこれらの有害物質を除去する必要が生じる。枯草菌は納豆などの発酵食品製造に用いられ安全性が認められているので、これを宿主として植物由来低毒性物質を誘導物質とするタンパク質高発現系の開発を試みている。その一環としてラムノースとグルコースで制御可能な枯草菌宿主タンパク質高発現系を構築し、評価を行なった。

【方法・結果】枯草菌のラムノース異化オペロンの制御領域 (*PrhaEW*) と、発現量のさらに高めるために、恒常的に発現する *cdd* 遺伝子の制御領域 (*Pcdd*) と、定常期に高発現する *y1bP* 遺伝子の制御領域 (*Py1bP*) を組み合わせさせて連結し、種々のハイブリッド型発現誘導系を構築した。各構築を改変型 GFP 遺伝子 (*egfp*) と融合させて染色体中に導入した枯草菌株を作製し、それらをグルコースまたはラムノースを炭素源とした培地で培養し、蛍光強度を定量した。その結果、SD 配列を除いた *PrhaEW* と *y1bP* 遺伝子の SD 配列の連結 (*PrhaEWy1bP*) を保持した菌株において最も厳密に発現制御が可能であることがわかり、SD 配列を除いた *Pcdd* と *y1bP* 遺伝子の SD 配列の連結 (*Pcddy1bP*) を保持した菌株をグルコース存在下で培養した場合に EGFP 発現量が最大となった¹⁾。グルコース存在下での発現量のさらなる向上を目指し、*Pcddy1bP* をベースに CcpA を介してカタボライト活性化する *ackA* と *pta* の各遺伝子の制御領域を組み込んだ各構築を作製して同様に評価を行ったところ、*ackA* または *pta* の制御領域を *cdd* コアプロモーターの上流に配置した構築では *Pcddy1bP* よりも若干の発現量の増加がみられたが、それらを下流に配置した構築では逆に発現量が低下する結果となった。この理由として、グルコース存在下で CcpA 複合体が制御領域に結合することで上流に位置する *cdd* プロモーターからの転写が阻害されたことが考えられた。また、コアプロモーターの上流域 (UP) も転写活性に大きく影響を及ぼすという報告があることから²⁾、*PrhaEWy1bP* の UP 領域をリボソーム DNA のものに置換した構築を作製して評価を行った結果、ラムノース存在下で *PrhaEWy1bP* よりも発現量が有意に上昇することがわかった。

1) Hirooka K, Tamano A. Biosci Biotechnol Biochem. 2018;82:1942-1954.

2) Zhou C, Ye B, Cheng S, et al. Microb Cell Fact. 2019;18:111.

(2) 酵母 *Saccharomyces cerevisiae* へのセルラーゼ生産能の付与

松崎浩明、渡邊翔介、志波勇介、秦野琢之

日本農芸化学会 2020 年度大会 (福岡)、大会講演要旨集 on line (2020-3)

近年、エネルギー消費量の増大により化石燃料の枯渇が危惧されている。そこで、バイオマス資源を利用したエネルギー生産が注目されている。しかし、サトウキビやトウモロコシなど食糧となる糖・デンプン系バイオマスの利用は、食糧不足や食糧の価格高騰を招く。本研究では、アルコール発酵酵母 *Saccharomyces cerevisiae* への遺伝子導入によるセルラーゼ生産能の付与により、セルロース系バイオマスから直接バイオエタノールを生産する酵母の育種を目指している。当研究室の過去の研究で *Cryptococcus flavus* 由来のカルボキシメチル(CM)-セルラーゼ(CMC1)や *Saccharomycopsis fibuligera* 由来の β -グルコシダーゼ(BGL1)の生産能を付与したが、セルロースからのエタノール生産量は十分ではなかった。エンド型とエキソ型など種々のセルラーゼの生産によりセルロース分解効率を高めることが重要であると考えた。そこで、BGL1および細菌 *Cellulomonas fimi* 由来のエンド型セルラーゼ(cenA)とエキソ型セルラーゼ(cex)の3種のセルラーゼ生産能の付与を検討した。まず、cenA遺伝子とcex遺伝子をGAPプロモーター、MEL1分泌シグナル配列とGAPターミネーターとの間に連結した *S. cerevisiae* 分泌発現型 cenAとcexを持つYEp型プラスミドpHM1061を構築した。また、BGL1遺伝子をGAPプロモーター下流に連結した分泌発現型プラスミドpHM1062を構築した(分泌シグナル配列はBGL1の配列を使用)。pHM1061とpHM1062を導入した二重形質転換体は、コンゴレッド染色、MUC発色法、およびp-NPG活性により3種類の酵素を分泌生産していることが確認できた。しかし、エンド型セルラーゼの活性(cenAによる活性)は低いと考えられた。さらに、CMC1遺伝子をGAPプロモーター下流に連結した分泌発現型プラスミドpSC7(分泌シグナル配列はCMC1の配列を使用)を導入した三重形質転換体はコンゴレッド染色により二重形質転換体よりもエンド型セルラーゼ活性が高いと考えられた。この形質転換体は紙片を形が崩れるぐらいまで分解した。

(3) 紅藻スサビノリ由来熱可溶性タンパク質 HES1, 2, 3 の比較

岩本博行、神原明梨、井上昌也、三輪泰彦、山口健一

日本農芸化学会 2020 年度大会 (福岡)、大会講演要旨集 on line (2020-3)

【目的】潮間帯に生息する紅藻アマノリ属のスサビノリ (*Pyropia yezoensis*) は、潮の干満によって生じる乾燥ストレスに対して強い耐性を示し、脱水状態でも生命維持に関わる酵素群を安定に保つ機構を持つと考えられるが、その詳細は不明である。一方、ワタ種子の胚発生後期に大量に蓄積するタンパク質として見出された LEA (Late Embryogenesis Abundant) タンパク質は、分子シャペロン機

能を持ち、多くの生物において乾燥ストレスに対する保護タンパク質として働く高親水性・熱可溶性タンパク質である。発表者の山口らは、スサビノリ葉状体に、熱水中でも沈殿しない一群のタンパク質が多量に存在することを見出し、HES (HEat-Soluble)タンパク質と命名した。これまで二次元電気泳動で 20 以上の HES タンパク質が分離されており、新規の LEA タンパク質と推定している。本研究ではそのうち HES1 (60 kDa)、HES2 (46kDa)、HES3 (16kDa) の 3 つについて、主としてその構造を中心に比較した。

【方法と結果】 HES1、HES2、HES3 の遺伝子は、それぞれ全長 401、451、144 残基のアミノ酸をコードしており、それぞれ 9 回、11 回、2 回のリピート配列が見出された。そのうち HES1 は 155 残基、HES2 は 414 残基、HES3 は 144 残基について、pCold-1 ベクターによるコールドショック発現系を用いて、大腸菌で発現させ、Ni-NTA カラムとゲル濾過により精製した。ゲル濾過の溶出パターンで、HES1 と HES3 はそれぞれ 70kDa、57kDa の位置にシングルピークが現れたが、HES2 は 900kDa 付近を中心にブロードな溶出パターンを示したので、会合が示唆された。精製した HES の円二色 (CD) スペクトルを測定したところ、HES1、3 は α -ヘリックスを含まない、典型的な変性タンパク質のスペクトルを示したのに対して、HES2 は、20°C で α -ヘリックスを 20% 程度含む非変性タンパク質の CD スペクトルを示した。次に昇温させて CD スペクトルを測定したところ、 T_m (中間温度) = 33°C で変性状態へと可逆的に遷移することがわかった。アミノ酸配列の二次構造予測によると、いずれの HES タンパク質も高いヘリックス含量を示すと予想されることから、ヘリックス促進剤である SDS、TFE (テトラフルオロエタノール) 存在下で CD 測定をしたところ、HES1,3 とともに室温で α -ヘリックスを含む非変性の CD スペクトルに変化した。更に HES を乾燥させたフィルム状態で CD を測定したところ、いずれも高いヘリックス含量を取る構造へと移行していた。以上から、HES1,2,3 タンパク質は天然変性タンパク質で、HES2 のみ HES1,3 とやや性質が異なる事が示唆された。

(4) 森海連環の解明を目指した環境 DNA 分析

佐藤淳、大月優弥、吉本孝

日本生態学会第 67 回全国大会 (名城大学、名古屋) 要旨集 p8. (2020-3)

[新型コロナウイルスの感染症拡大のため大会中止 (要旨は業績として認定)]

アカネズミ (*Apodemus speciosus*) は全国の森林および里山生態系の構成種であり、森の更新に関与すると考えられている。瀬戸内海の因島椋浦町における森林に生息するアカネズミの糞を対象として、葉緑体 DNA *trnL* をマーカーとした DNA

メタバーコーディング法による食性分析を行うと、ブナ科のアベマキ (*Quercus variabilis*) がアカネズミの主要な食物であることが明らかとなった。アカネズミには冬に備えて秋にドングリをため込む習性があり、そのドングリの一部は芽を出すことで、アベマキの森が更新される。つまり、アカネズミがアベマキの森の持続可能性に関与することが示唆される。また、アベマキは落葉樹であるため、その葉は腐植土となり、雨に流れて海まで到達し、沿岸域の生態系を支える栄養源を提供すると考えられる。森と海との生態系の連環を検証するために、沿岸域で採取した水サンプルを対象に、魚類 (MiFish)、哺乳類 (MiMammal)、植物 (trnL)、昆虫 (16S rRNA) をマーカーとした環境 DNA 分析を行った。特筆すべきことに、trnL の分析により陸域側から流れる水の中からアベマキが高頻度で検出された。このことは、森のアベマキの痕跡が海まで流れ着いたことを示唆する。さらに因島の沿岸域でよくみられるクサフグ (*Takifugu alboplumbeus*) とシロギス (*Sillago japonica*) の食性を、ミトコンドリア DNA COI 遺伝子に基づき分析した結果、両種ともに端脚目ドロクダムシ科の動物プランクトンに強く依存することが明らかとなった。沿岸域のアベマキとドロクダムシ類との量的相互関係は定かではないが、アカネズミが維持する森は沿岸域の海洋生態系に影響を与えているようである。

(5) 野ネズミ 3 種の食性の季節変化に伴うニッチ分割: DNA メタバーコーディング法による解析

渡邊佳奈、齊藤隆、佐藤淳、島田卓哉

日本生態学会第 67 回全国大会 (名城大学、名古屋) 要旨集 p8. (2020-3)

[新型コロナウイルスの感染症拡大のため大会中止 (要旨は業績として認定)]

種の共存は、生息場所、時間、食物などの資源に基づくニッチを分けることで可能になる。北海道にはアカネズミ (*Apodemus speciosus*)、ヒメネズミ (*Apodemus argenteus*)、エゾヤチネズミ (*Myodes rufocanus*) という 3 種の野ネズミが同所的に生息しており、3 種の生息場所と行動時間のニッチは重複していることが知られている。しかし、食物のニッチについては糞や胃内容物を顕微鏡観察で調べた断片的な報告しかされていない。また、食物のニッチ幅や種間のニッチ重複度合いは餌の資源量や消費者の個体数によって変化すると考えられているが、その実態は未解明である。そこで、本研究では 3 種の野ネズミの食物ニッチの分割の実態を解明するために、DNA メタバーコーディング法による食性分析を行った。ドングリ豊作年の 2018 年の 6, 8, 10 月と 2019 年の 6, 8 月に北海道大学の雨龍研究林において、上記 3 種の野ネズミの捕獲調査を実施し、捕獲個体毎にトラップ内

の糞を採取した。その糞を元に葉緑体 trnL およびミトコンドリア COI をマーカーとした DNA メタバーコーディング分析を行い、餌資源の季節変化、野ネズミの個体数変化に伴う植物・動物食性の種間比較を行った。結果として、餌動物資源の多い 2018 年 8 月は、食べていた餌動物の重複は大きかった。また、餌動物資源の少ない 2018 年 10 月は 3 種が食べていた餌動物の重複は小さかった。しかし、2019 年にかけて野ネズミの個体数が大幅に増加すると餌動物資源の多い 8 月でも 3 種は食物ニッチを分割していた。植物種に関しては、ドングリが凶作年を対象にした先行研究では、アカネズミとヒメネズミが有意に食物ニッチを分割しているとされていたが、2018 年のドングリ豊作年にはアカネズミ、ヒメネズミ、エゾヤチネズミ共にドングリを食べておりニッチ重複が大きいことが示された。このことから、3 種は季節や年次的な資源量の変化、また、野ネズミの個体数に応じて食物ニッチを変化させていると考えられた。

(6) エレガンス線虫の飼料細菌種と嗜好性

山口泰典、森田大海、渡邊晃生

日本動物学会第 91 回大会 2020 (オンライン開催) 要旨集 p266. (2020-9)

エレガンス線虫を培養する場合、*E. coli* が餌として用いられるが、自然界では土壌中の様々な細菌を食べていることが想定される。そこで、エレガンス線虫を *E. coli*, *M. luteus*, *B. subtilis* の 3 種類の細菌を用いて継代培養し、各種細菌に対する誘引性について調べた。*E. coli* を餌として継代培養した場合のエレガンス線虫の嗜好性は、*E. coli* > *M. luteus* > *B. subtilis* の順であった。*M. luteus* を餌として継代培養したエレガンス線虫の嗜好性は、*M. luteus* > *E. coli* = *B. subtilis* であった。*B. subtilis* を餌として継代培養したエレガンス線虫の嗜好性は、*B. subtilis* > *E. coli* > *M. luteus* の順であった。これらの結果から、エレガンス線虫は、食べ慣れている細菌を好む傾向があると考えられる。

(7) 福山市産のバラ酵母とブドウ酵母のワイン醸造特性について

豊村晃丞、田中康登、吉崎隆之、山本覚、行安稔、久富泰資

日本ブドウ・ワイン学会 2020 年度大会 (オンライン)、発表要旨、p. 96-97 (2020-12)

Fukuyama City is known for its roses and edible grapes, both of which have been adopted as brand images for the city. In order to promote the city's brand through biotechnology, we isolated wild yeasts from the flowers of several rose cultivars and

Muscat Bailey A grapes without seeds. One yeast from Mr. Lincoln rose and three yeasts from Muscat Bailey A grape were found to be suitable for winemaking. The four yeast strains were identified to be *Saccharomyces cerevisiae* by DNA analysis, and were distinguished from each other by electrophoretic karyotyping. In this study, we investigated the fermentation abilities of the four yeast strains under winemaking conditions with a Fermograph, which precisely measures CO₂ accumulation with follow-up calculations using computer-based analyses. We found that fermentation ceased within 5 days after inoculation of yeasts into grape juice under two conditions, namely, 150 ppm and 200 ppm of sulfurous acid. All yeast strains as well as standard wine yeasts showed high fermentation abilities, proving that the four yeast strains used to make local wine are suitable for winemaking. We are currently examining the fermentation profiles and percentages of remaining yeasts by using mixtures of the four wild yeasts in winemaking. In addition, we are investigating one rose yeast, *Torulasporea delbrueckii*, which is known to confer good fragrance on wine based on Fermograph analyses.

(8) 赤色清酒酵母 NYR20 のワイン醸造への適用 (第 2 報)

吉崎隆之、江崎真奈、小林由真、山本覚、岩口伸一

日本ブドウ・ワイン学会 (ASEV JAPAN) 2020 年度大会 (名古屋)、日本ブドウ・ワイン学会誌、31、pp98-99 (2020-12)

P-684 is a *Saccharomyces cerevisiae* strain isolated from the flowers of *Prunus verecunda* 'Antiqua'. Sake brewed using P-684 had higher concentrations of malic acid and succinic acid than sake brewed using such yeast strains as Kyokai nos. 7 and 9. We obtained from P-684 a mutant strain that produces a red pigment and designated it as NYR20. In this study, we applied NYR20 to winemaking to improve the color of red wine, or to making rose wine using white grapes. NYR20 required 3- to 5-fold longer time to complete fermentation relative to OC-2. The cell count of NYR20 used as starter had no effect on the fermentation period. On the other hand, red wine made with three times the cell count of NYR20 had a darker color than wine made with the original cell count of NYR20. This effect was found only in the case of light-colored grapes and not dark-colored ones.

B. 総説

C. 著書

D. その他

- (1) アザラシとアシカの研究成果について
佐藤淳
広島ホームテレビ みみよりライブ 5up!地球派宣言 (2020-1)
- (2) アザラシとアシカは別の祖先から進化した
佐藤淳
JAXA 宇宙(そら)のとびら 第51号(2020年春号) p.7. Space Now(2020-3)
- (3) 福山市産バラの酵母を活用した「ホシノ薔薇酵母パン種」を商品化
久富泰資
ベーカースタイムス、2020年6月10日、記事掲載(2020-6)
- (4) 富士スバルライン周辺における野ネズミの遺伝的多様性の調査
佐藤淳
アニマルパスウェイと野生生物の会 - 研究会並びに情報交換会【Zoom】. (2020-6)
- (5) 遺伝子から探る哺乳類の進化と生態
佐藤淳
広島県立廿日市西高校模擬講義. (2020-6)
- (6) 「ホシノ薔薇酵母パン種」を商品化
久富泰資
ホイトクラブ、2020年7月、記事掲載(2020-7)
- (7) 成果有体物提供契約
久富泰資
福山バラ酵母(リンカーン酵母)、2020年7月22日
提供先:天寶一、(2020-7)

- (8) 成果有体物提供契約
久富泰資
福山バラ酵母（リンカーン酵母）、2020年10月5日
提供先：備後福山ブルーイングカレッジ、(2020-10)
- (9) 哺乳類学最前線：ネズミのウンチのDNAから生態系を探る
佐藤淳
生物工学科 Zoom 特別企画. (2020-10)
- (10) 哺乳類学最前線：海の哺乳類の味覚遺伝子は退化している
佐藤淳
生物工学科 Zoom 特別企画. (2020-10)
- (11) バラ酵母で地ビール：福山大と福山の醸造所
久富泰資
中国新聞、2020年11月5日、記事掲載 (2020-11)
- (12) バラ酵母で地ビールを：福山大が醸造所に提供
久富泰資
毎日新聞、2020年11月5日、記事掲載 (2020-11)
- (13) バラ酵母で地ビール作り：醸造所に福山大提供
久富泰資
朝日新聞、2020年11月7日、記事掲載 (2020-11)
- (14) 福山バラ酵母を使ったビール：福山大発の技術が広がり
久富泰資
経済リポート、2020年11月20日、記事掲載 (2020-11)
- (15) 青鉛筆：福山バラ酵母と日本酒
久富泰資
朝日新聞、2020年11月25日、記事掲載 (2020-11)
- (16) バラ酵母で酒造り：神辺の天寶一「地元を応援」思い込め
久富泰資

中国新聞、2020年11月26日、記事掲載(2020-11)

- (17) 福山大学：市内のビール醸造所と酒蔵に福山バラ酵母を提供
久富泰資
びんご経済レポート、2020年12月1日、記事掲載(2020-12)
- (18) バラ酵母食品続々と：パン・クラフトビール・日本酒・ワイン・・・
久富泰資
中国新聞、2020年12月4日、記事掲載(2020-12)
- (19) バラ酵母でクラフトビール：福山の醸造所、福山大と連携
久富泰資
中国新聞、2020年12月11日、記事掲載(2020-12)
- (20) バラが醸す地ビール：福山の醸造所で完成
久富泰資
朝日新聞、2020年12月31日、記事掲載(2020-12)
- (21) 細胞培養用基材およびそれを用いた細胞培養方法、細胞培養器、並びに基材としての使用
特許番号6739758、登録日2020年7月28日、特許権者：三菱瓦斯化学(株)、発明者：安藤晴菜、飯田慎、山口泰典