

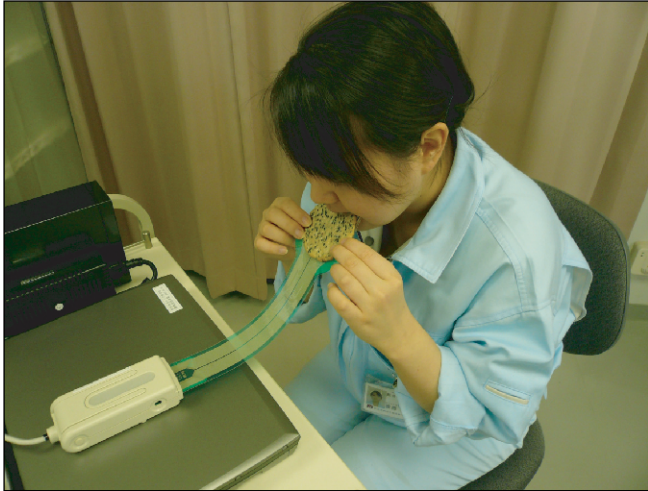
秋田県総合食品研究所報告

第 11 号

平成21年 (2009年)

Bulletin of the Akita Research
Institute of Food and Brewing
(*ARIF*)

No.11, 2009



多点減圧シートセンサを用いた 食品の咀嚼力計測

☆高橋徹他「高齢者の嗜好に合致した
加工食品の開発と品質評価技術 (p1-8)



遺伝子導入装置

☆金子隆宏、戸松誠「生澱粉分解酵素の
酵母による高発現」(p9-16)



「こざきねり」の外観



新しい商品の提案

☆菅原真理他「秋田県の伝統食品「こざきねり」の商品化への取り組み (p17-23)

目 次

1 . 原著論文

「高齢者の嗜好に合致した加工食品の開発と品質評価技術」・・・ 1
高橋 徹、塚本研一、戸枝一喜、秋山美展*、熊谷昌則
(秋田県総合食品研究所、*秋田県立大)

「生澱粉分解酵素の酵母による高発現」・・・ 9
金子隆宏、戸松 誠(秋田県総合食品研究所)

「秋田県の伝統食品「こざきねり」の商品化への取り組み」・・・ 17
菅原真理，加藤明津子，佐藤文華，菅原千秋，高橋徹，熊谷昌則
(秋田県総合食品研究所)

2 . 学会発表要旨・・・ 25

3 . 外部発表論文概要・・・ 51

4 . 第1号～第11号総目次・・・ 56

5 . 第1号～第11号人名索引・・・ 64

1 . 原著論文

- 「高齢者の嗜好に合致した加工食品の開発と品質評価技術」・・・ 1
高橋 徹、塚本研一、戸枝一喜、秋山美展*、熊谷昌則
(秋田県総合食品研究所、*秋田県立大)
- 「生澱粉分解酵素の酵母による高発現」・・・ 9
金子隆宏、戸松 誠(秋田県総合食品研究所)
- 「秋田県の伝統食品「こざきねり」の商品化への取り組み」・・・ 17
菅原真理，加藤明津子，佐藤文華，菅原千秋，高橋徹，熊谷昌則
(秋田県総合食品研究所)

高齢者の嗜好に合致した加工食品の開発と 品質評価技術

高橋徹*、塚本研一*、戸枝一喜*、秋山美展**、熊谷昌則*
(*秋田県総合食品研究所、**秋田県立大学生物資源科学部)

Toru TAKAHASHI, Ken' ichi TSUKAMOTO, Kazuki TOEDA,
Yoshinobu AKIYAMA, and Masanori KUMAGAI

【要約】

秋田県総合食品研究所では、平成 19 年度に採択された秋田県央エリア産学官連携促進事業「中・高齢者の心身両面の健康を支える米等を活用した食品の開発と食品産業クラスター形成」(文部科学省都市エリア事業)に係わる研究を継続中である。本事業では、生体計測手法を用いた新規な食品評価方法の開発に取り組んでいる。ヒトは摂食時に視覚・聴覚・嗅覚・触覚・味覚の五感によって捕捉した情報を基に食品を評価する。本稿では、この評価の上で重要である「テクスチャー(食感)」に焦点を当てて、普及しつつあるテクスチャーの生体計測事例を概観する。加えて、これからの中・高齢者向け食品に望まれるテクスチャーについて要点をまとめ、食品開発の一助となるような生体計測による評価技術の開発につなげたいと考えている。

【緒言】

2005 年で 65 歳以上は総人口の 29.2%、2025 年には 48.7% うち 75 歳以上は 18.2% との予測¹⁾があり、まさに「超高齢化社会」へ向かいつつある。加齢による運動機能や感覚機能の低下はやむを得ないにしても、健康で有意義な人生を全うしたいのは皆の願いであろう。健康の維持のための栄養の摂取には、よく咀嚼することが重要であることが明らかになりつつある²⁾。Onozuka ら³⁾は、抜歯したマウスは海馬のニューロンが減少し、空間認知能力が劣ることを見だし、咀嚼は脳機能と密接な関係があると述べている。

食物はあらゆる動物にとって生命を維持する上での活動源となる。食

品には栄養機能である一次機能、テクスチャーなどの物理機能である二次機能、生理機能性などの生体調節機能である三次機能が備わっている⁴⁾。ヒトは摂食時に五感である味覚、視覚、嗅覚、聴覚、触覚を駆使して味わい、五感を通じて惹起される快適感と喜びである「おいしさ」を感受可能な生物である⁵⁾。食品や食物は決して「薬」ではない。強制されて食べることは、ごちそうであってもおいしくもなく、また楽しくもない。食を通じた幸福感は QOL (Quality of life) の向上へ一役買うであろう。

秋田県農林水産技術センター総合食品研究所(平成 21 年 4 月より秋田県総合食品研究所)では、平成 19 年度より文部科学省研究補助事業の「秋田県央エリア産学官連携促進事業」として、「中・高齢者の心身両面の健康を支える米等を活用した食品の開発と食品産業クラスターの形成」に係わる研究を推進している。このうち、ヒトの摂食時における食品の評価を生体計測で得た特性値によって客観化する試みが進められており、筆者らは脳波や脳血流計測を用いた食品の評価方法について前報で解説している⁶⁾。本稿では、食品のおいしさの評価で風味と共に重要視されているテクスチャー(食感)の評価方法について、生体計測評価を中心に取り上げる。また、これからの中・高齢者に求められる食品開発についてもその一端を述べたい。

【テクスチャーとは】

国際標準化機構によれば、「テクスチャーとは力学的、触覚的および適切であれば視覚的、聴覚的な方法で感知できる食物のレオロジー的、構造的(幾何学的及び表面的)属性の総体」と定義されている。また、米国食品工学会の委員会の定義では「テクスチャーとは目および口中の皮膚または筋肉感覚で知覚される食品の性質で、粗さ、滑らかさ、粒状感

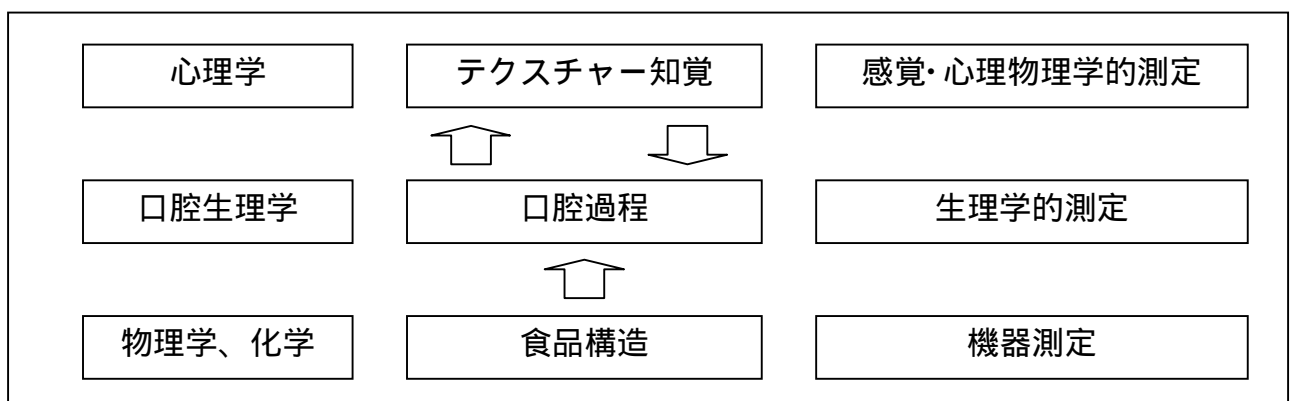


図 1 テクスチャーの研究方法⁷⁾

などを含む」とされており、主に触覚で知覚される力学的性質、幾何学的性質、表面の性質を取り扱う。テクスチャーは口腔内や皮膚などで感覚的に得られた情報が脳で統合されて、感知、認知される。したがって、テクスチャーの理解には多くの異なる学問領域間での共同研究が必要である(図1)⁷⁾。Szczesniak と Kley⁸⁾は食品の属性の中でテクスチャーが最も重要であることを1960年代から指摘している。テクスチャーの許容範囲は食品によって異なっていて、この範囲を外れると食べる興味が削がれてしまう⁹⁾。ヒトは感覚を表現する際に通常、言葉を媒体とするため、テクスチャー評価時の用語は極めて重要な役割を果たす。「かたい」や「サクサク」などのテクスチャー用語の整理・分類は1960年代から開始され、早川らの調査研究によって日本語におけるテクスチャー表現には、擬音語・擬態語が多いことが明らかにされている¹⁰⁾。

【生体計測によるテクスチャー評価】

咀嚼・嚥下過程における食品の物性は、歯列や舌での圧縮やせん断、唾液による作用等によって刻々と変化することが知られている。食品のレオロジー特性¹¹⁾であれば、ある時間だけ咀嚼させた食品あるいは食塊の物性試験機での評価は可能であるが、口腔内でのテクスチャー変化を物性試験機により詳細に捉えるには現実的に困難である。咀嚼あるいは嚥下過程の口腔内での食品物性を直接計測できれば、食べる側にとって望ましい食品の設計も可能となる。

摂食中の食品や歯に印加される力や変位を直接的に計測する方法として、小型の圧力センサを天然歯や義歯に直接装着する方法¹²⁻¹⁴⁾や口腔内へ挿入が可能な小型のロードセル¹⁵⁾、薄膜のセンサ¹⁶⁻¹⁸⁾を利用した研究例がある。Tornbergら¹³⁾は、ひずみゲージを歯に装着して畜肉やその加工品を咀嚼したときの咀嚼速度と咀嚼サイクルが官能評価のタフネス(噛み応え)と高い相関を示すことを報告している。高橋と中沢¹⁴⁾は、圧力変換器を挿入した義歯を装着した被験者が種々のテクスチャーをもつ固形状食品を咀嚼した場合、1回目に噛んだときの咀嚼荷重-時間曲線に食品固有の特徴が顕著であり、波形の形状から被験食品を4つに分類可能であることを明らかにした。Kohyamaら¹⁶⁾は多数の感圧点が平面上に分布した薄膜(0.1mm以下)状のセンサ(多点感圧シート型センサ)と食品を一緒に噛むことで、咀嚼力、接触面積、咀嚼圧力、咀嚼時間等のリアルタイム計測技術を確立した。このセンサは被験者自らあるいは実験者が口腔内の任意の場所へ挿入が可能であるために歯科学的な施術

も必要とせず、装置本体も比較的小型であり、簡便な咀嚼計測が可能となった。ただし、圧縮方向の測定は可能であるが引っ張り時（付着力）や連続的な咀嚼の計測には工夫が必要である。この計測技術によって、異なるテクスチャーを持つ固形状食品（食パン、生ニンジン、クラッカー、煎餅、羊羹）を臼歯で一噛みした際の咀嚼力 - 時間曲線は食品の物理特性を反映するが、咀嚼時最大力は単純な力学特性値での説明が困難であることが示された¹⁷⁾。一方で高橋と中沢¹⁴⁾、Kohyamaら¹⁶⁾と同様に咀嚼力 - 時間曲線のパターンが食品の物理的特徴によって分類可能であり、咀嚼時最大応力と圧縮時最大応力とは簡単な数式モデルで説明が可能であることを示した。これに対し、筆者ら¹⁹⁾は、11種類のテクスチャーの異なる固形状食品の多点感圧シートセンサによる咀嚼パラメータと、万能試験機を用いた圧縮試験と貫入試験から得たレオロジー特性値との関係について同様の結果を得た。図2は多点感圧シートセンサを用いた食品の咀嚼力計測の例

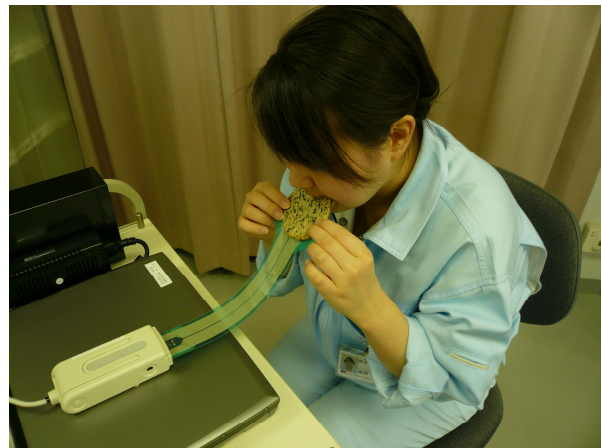


図2 多点感圧シートセンサを用いた食品の咀嚼力計測例

である。現在、秋田県央エリア産学官連携促進事業でもこの計測システムによる固形状食品の噛みやすさ等の評価を実施している。

次に筋電図について述べる。筋電図は筋肉の伸縮活動時に発生する活動電位を計測するものである²⁰⁾。咀嚼時の筋電図は通常、顔面表皮上に電極を貼り付けて計測する。筋電図で得られる電気信号（mV単位）は脳波（ μ V単位）よりも大きいため、多少の雑音やアーチファクトの影響を受けにくい。増幅器の接地や電極線の取り回しに留意し、被験者表皮の抵抗を低減することでより鮮明な計測波形を取得でき、過剰な雑音除去を実施しなくても解析が可能となる²¹⁾。測定装置も比較的安価である。筋電図による咀嚼特性解析の代表的な研究成果として、ヒトの咀嚼パターンは食品テクスチャー、特に硬さに影響を受けること²²⁾、漬物の咀嚼特性は若年者と高齢者間に差異がみられ、たくあんは特に咀嚼負担が大きいこと²³⁾、咀嚼筋活動パターンは食品によって異なり、その違いは噛みしめ時で顕著であること²⁴⁾、アミロース含量の高い米飯は咀嚼時間、咀嚼回数、咀嚼筋総活動量が有意に大きいこと²⁵⁾などが挙げられる。

この他には咀嚼運動解析²⁶⁾を用いた咀嚼中の物性測定方法もある。

咬合圧等の口腔内の圧力測定や咀嚼運動解析は歯科医学分野を中心に研究が進められてきたが、近年は人間工学や食品感性工学²⁷⁾といった医歯薬学系以外の研究者が実験することも多くなり、また、IT 技術の進歩によって計測装置の小型化、多機能化、簡便化も進んでいる。

なお、テクスチャーの機器測定は Bourne²⁸⁾によって体系的にまとめているので、参考にさせていただきたい。また、咀嚼と同様に嚥下²⁹⁾も重要な摂食行為であることが知られているが、嚥下の詳細については別の機会で述べることにする。

【高齢者向け食品の開発】

日本人の歯の寿命は前歯で約 64 歳、奥歯で約 54 歳³⁰⁾であり、平均寿命（男性 79.0 歳、女性 85.81 歳）³¹⁾よりもはるかに短いため、よく噛むことができない高齢者は増加している。また、加齢による唾液分泌量の低下は、噛み砕いた食物を唾液と混合して食塊を形成する能力の低下も引き起こす。さらに、加齢による身体機能の低下の他に脳血管疾患等による感覚・運動器官の機能低下は、摂食・嚥下機能障害を引き起こし、本来楽しみであるはずの食事を苦痛な時間に変えてしまう。また、三橋ら³²⁾は若年者と高齢者との塩味、甘味、酸味の味覚感受性の違いについて、高齢者はいずれの味覚についても認知閾値が有意に高いこと、甘味と酸味については高齢者男子の認知閾値が有意に高いことを明らかにした。このように摂食・嚥下機能が低下した高齢者にとって、安全でよりおいしいと感じられる食事メニューや加工食品の開発は非常に重要である。

厚生労働省では特別用途食品制度の中で「そしゃく・えん下困難者用食品」のかたさと粘度を数値で定めてきた。その後、特別用途食品制度のあり方については検討が重ねられ、「そしゃく・えん下困難者用食品」は「えん下困難者用食品」として、かたさ、付着性、凝集性から成る規格に改正された³³⁾。同様の規格としてユニバーサルデザインフードがあり、これは日本介護食品協議会によって定義された自主規格であるが、かたさ上限値と粘度下限値について区分ごとに物性値を設けている³⁴⁾。なお、物性測定については厚生労働省の高齢者食品の試験方法に準拠している。ユニバーサルデザインフードの生産量および出荷金額はそれぞれ 4,917 トン、約 53 億円と増加が著しく³⁴⁾、ニーズの多さを物語っている。

また、嚥下食ピラミッド³⁵⁾は咀嚼や嚥下の障害に応じて、嚥下開始食

から普通食へと段階的に分類された食事メニューである。この他にやわらか食³⁶⁾やソフト食³⁷⁾がある。いずれも摂食・嚥下機能に応じた段階的な食事を提案しているが、病院や施設を移動した場合にこれまでの食事区分と異なるため、入所者や調理担当者が苦勞することも予想される。そこで、大越³⁸⁾は食形態とテクスチャーから摂食・嚥下困難者の段階的な食事の共通化を提案している。現時点では摂食・嚥下機能に応じた明確な物性測定方法は確立されていないため、共通化を進める上での課題である。

かたくて食べにくい食品ややわらかくても噛み切りにくい食品を食べやすくするために細かく切る、いわゆる刻み食が高齢者や咀嚼機能の低下した人へ提供されることがある。刻み食は一見すると噛みやすそうに感じられるが、細かく切った生ニンジンやキュウリなどのかたい食品は同一重量あたりの咀嚼量が増加し、焼き豚やかまぼこなどの噛み切りにくい食品の咀嚼量は変化しないことが筋電図計測より明らかにされている³⁹⁾。また、刻むとかさばるので量が多く見える(錯覚)ため、食欲を削ぐ可能性もある⁴⁰⁾。このような心理的側面からの評価も大切である。

食品素材の栄養成分と外観を保持し、咀嚼・嚥下困難者向けの食品製造方法で近年注目を浴びているのが凍結減圧酵素含浸法(凍結含浸法)⁴¹⁾である。この凍結含浸法は、野菜類、豆類、肉類を凍結・解凍後、減圧下で種々の酵素を含浸させることで結合組織の一部を軟化させ、加熱により調理と酵素の失活を同時に行う画期的な方法である。この方法によって、見た目は普通の野菜の煮物であっても「そしゃく困難者用食品」(厚生労働省特別用途食品旧規格)の許可基準値である $5.0 \times 10^4 \text{N/m}^2$ 以下のかたさまで制御が可能となった。

加齢による身体機能が低下した高齢者向け食品の開発とその品質評価技術への関心は膨らんでいるが、「嚥下食」に関しては特に誤嚥防止の観点から、医療従事者や栄養士からの適切な指導が必要となる。また、その日の体調や気分、環境によって摂食能力が変化することも十分に予想される。食による健康長寿社会の実現には、身体機能に応じた食品開発が急務となる中、食品技術者に課せられた使命は以前よりも増しているともいえよう。

【文献】

- 1) 平成 20 年度版高齢社会白書、内閣府ホームページ、
<http://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2008/gaiyo/html/s1-1.html>.
- 2) 日本咀嚼学会編、咀嚼の本、口腔保健協会、東京、p1-p2 (2008).

- 3) Onozuka, M., Watanabe, K., Mirbod, S. M., Ozono, S., Nishiyama, K., Karasawa, N., and Nagatsu, I., *Brain Research*, **826**, 148-153 (1999).
- 4) 川端晶子、サイコロロジ－と咀嚼、日本咀嚼学会監修、東京 p24-p25 (1995).
- 5) 山野善正、食感創造ハンドブック、サイエンスフォーラム、東京、p25-p30 (2005).
- 6) 熊谷昌則、高橋徹、佐藤文華、渡部雅美、堀一之、樋渡一之、戸枝一喜、秋山美展、秋田県総合食品研究所報告、**10**、29-36 (2008).
- 7) Wilkinson, C., Dijksterhuis, G. B., and Minekus, M., *Trends Food Sci. Technol.* **11**, 442-450 (2000).
- 8) Szczesniak & Kleyn: *Food Technology*, **17**, 74 (1963).
- 9) Szczesniak, A.S., *Food Quality and Preference*, **13**, 215-225 (2002).
- 10) 早川文代、食感創造ハンドブック、サイエンスフォーラム、東京、p195-p202 (2005).
- 11) 小野木重治、化学者のためのレオロジ－、化学同人、京都、p1-p19 (1990).
- 12) 三輪佳子、歯科医学、**58**、44-56 (1995).
- 13) Tornberg, E., Fjelkner-Modig, S., Ruderus, H., Glantz, P. O., Randow, K., and Stafford, D., *J. Food Sci.*, **50**, 1059-1066 (1985).
- 14) 高橋淳子、中沢文子、日本家政学会誌、**38**、107-113 (1987).
- 15) Mioche, L. and Peyron, M. A., *Archs. Oral Biol.*, **40**, 415-423 (1995).
- 16) Kohyama, K., Nishi, M., and Suzuki, T., *J. Food Sci.*, **62**, 922-925 (1997).
- 17) Kohyama, K., Sakai, T., and Azuma, T., *Food Sci., Technol. Res.*, **7**, 290-296 (2001).
- 18) Agrawal, K. R. and Lucas, P. W., *Proc. R. Soc. Lond*, **270**, 1277-1282(2003)
- 19) 高橋徹、早川文代、熊谷昌則、秋山美展、神山かおる、日本食品工学会第8回年次大会要旨、p80 (2007).
- 20) 堀浩共著、脳波筋電図用語辞典(新訂第2版)、永井書店、東京、p116-p117 (1999).
- 21) 末永和栄、岡田保紀、最新脳波標準テキスト(改訂2版)、メディカルシステム研修所 (2004).
- 22) Horio, T. and Kawamura, Y., *J. Oral Rehabil.*, **16**, 177-183 (1988).
- 23) 大山高裕、阿久津智美、伊藤和子、渡邊恒夫、神山かおる、日食科工誌、**56**、14-19 (2009).
- 24) 蕭美英、徳永徹、補綴誌、**37**、1329-1343 (1993).
- 25) Kohyama, K., Ohtsubo, K., Toyoshima, K., and Shiozawa, K., *Journal of*

- Texture Studies*, **29**, 101-113 (1998).
- 26) 神山かおる、日食科工誌、**47**、341-346 (2000).
 - 27) 相良泰行、日調科誌、**41**、390-396 (2008).
 - 28) Bourne, M., *Food Texture and Viscosity*, San Diego, Academic Press, (2002).
 - 29) 舘村卓、食感創造ハンドブック、サイエンスフォーラム、東京、p65-p73 (2005).
 - 30) 厚生労働省統計、平成11年度歯科疾患実態調査、<http://www.mhlw.go.jp/topics/0105/tp0524-1.html>
 - 31) 厚生労働省統計、日本人の平均余命、<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/life/life06/index.html>
 - 32) 三橋富子、戸田貞子、畑江敬子、日調科誌、**41**、241-247 (2008).
 - 33) 特別用途食品のあり方に関する検討会報告書、厚生労働省ホームページ、<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2008/07/dl/s0704-8c.pdf>
 - 34) 藤崎亨、食品工業、**52**、27-34 (2009).
 - 35) 金谷節子、嚥下食のすべて、医歯薬出版、東京、p18-p26 (2006).
 - 36) 高橋智子、増田邦子、佐々木真希、濱千代善規、大越ひろ、手嶋登志子、栄養学雑誌、**62**、83-90 (2004).
 - 37) 黒田留美子、日本摂食・嚥下リハビリテーション学会誌、**8**、10-16 (2004).
 - 38) 大越ひろ、食品工業、**52**、20-26 (2009).
 - 39) Kohyama, K., Nakayama, Y., Yamaguchi, I., Yamaguchi, M., Hayakawa, F., and Sasaki, T., *Food Qual. Prefer.*, **18**, 313-320 (2007).
 - 40) Yuji Wada, Daisuke Tsuzuki, Naoki Kobayashi, Fumiyo Hayakawa, Kaoru Kohyama, *Appetite* **49** 183-190 (2007).
 - 41) 坂本宏司、柴田賢哉、石原理子、中津沙弥香、日食科工誌、**55**、522-528 (2008).

生澱粉分解酵素の酵母による高発現

金子隆宏、戸松誠

(秋田県総合食品研究所、応用発酵・酵素・微生物グループ、食品開発グループ)

Takahiro KANEKO, Makoto TOMATSU

【要約】

放線菌 E-2248 株由来の生澱粉分解酵素遺伝子を酵母 YNN27 株で発現させ、酵素の安定的な高生産を試みた。発現プロモーターにグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ由来のもの(GAP)を用いると、アルコールデヒドロゲナーゼ由来(ADH1)の場合より3倍近く発現量が増加した。シグナルペプチドを E-2248 株のものから酵母のインベルターゼ由来のもの(SUC2)に付け替えると酵素の生産が安定すると思われた。プロモーターを ADH1 と GAP の二重にすると GAP のみの場合より 1.3 倍ほど発現量が増加した。組換え酵母より得られた酵素の温度や pH に対する挙動は、放線菌由来のものとはほぼ同一であった。一方、酵母由来の酵素蛋白を SDS-PAGE で分析したところ、放線菌由来の物より見かけの分子量が大きいものであったが、pas 染色陽性であったことから、宿主酵母により糖が付加されたものと思われた。

【緒言】

秋田県内の製粉工場排水汚泥中から高度生澱粉資化性の放線菌 *Streptomyces* 属 E-2248 株を見出した。本菌株の生産する生澱粉分解酵素(Raw Starch digesting Amylase, RSA)はきわめて高い耐熱性を示し、工業的に有益な酵素¹⁾である。一方で E-2248 株は、培養の際の通気量や攪拌方法など、培養条件のわずかな変化により生育が大きく異なり、酵素の生産量がばらつき、甚だしくは全く酵素を生産しない場合すらある。そこで培養が容易な宿主の一つである酵母 *Saccharomyces cerevisiae* に本生澱粉分解酵素遺伝子を導入し、酵素の安定的な高生産を試みた。本報告では組換え酵母での酵素発現の際の、プロモーターの違いによる生産量の変化、二種のシグナルペプチドによる酵素の発現、二重プロモーターによる酵素生産量の増加、および組換え体によって得られた酵素の解析などについて述べた。

【実験方法】

1. 菌株および培地

生澱粉分解酵素遺伝子の発現用宿主として *S. cerevisiae* YNN27 株(*ura3-52 gal2 tripl-289*)を用いた。培地はYPD培地(イーストエキス1%、ポリペプトン2%、グルコース2%)を用い30°Cで培養した。必要に応じて培地に抗生物質オーレオバシジン A(AbA)を添加した。

生澱粉分解酵素生産菌は放線菌 E-2248 株を用いた。DNAの組換えには主に

Escherichia coli HB101を使用した。これらの菌株の取り扱いはいち報^{1,2)}に準じた。

2．酵素の活性測定

生澱粉分解酵素の活性測定は既報^{1,2)}に従った。即ち、1%の生コーンスターチ(懸濁液)を含む10mMの酢酸緩衝液(pH5.0)0.5mlに酵素液50 μ lを加え、37°Cで30分加温した。生じた還元力をソモギーネルソン法で測定し、1分間あたりにグルコース1 μ mole相当の還元力を生じうる酵素力価を1 Uとした。

3．プラスミドおよび染色体 DNA

市販のプラスミド pAUR123 はタカラバイオ株式会社から購入した。プラスミドの調製はアルカリ SDS 法³⁾で行った。E-2248 株の染色体 DNA は斉藤、三浦ら⁴⁾の方法で調製した。YNN27 株の染色体 DNA は菌体をザイモリエースで溶菌後、斉藤、三浦らの方法に準じて調製した。

4．PCR

PCR プライマーはシグマアルドリッチジャパン株式会社に合成依頼した。以下に用いたプライマーを示す。

RSA(F) : GGAAGGTACCATGGCACGCAGAACCCTCCC

*Kpn*I サイト(下線部)を含む RSA 上流側プライマー

RSA(R) : GACGGAGCTCTCAGCAGCTCGACTTGCCGG

*Sac*I サイト(下線部)を含む RSA 下流側プライマー

GAP(F) : CCCGGGATCCGTAGAAATCATTGGAATAAA

*Bam*HI サイト(下線部)を含む GAP プロモーター上流側プライマー

GAP(R) : CCATGGTACCTGTTTATGTGTGTTTATTCG

*Kpn*I サイト(下線部)を含む GAP プロモーター下流側プライマー

SUC(F) : AACGGGTACCATGCTTTTGCAAGCTTTCCTT

*Kpn*I サイト(下線部)を含む SUC2 シグナルペプチド上流側プライマー

SUCRSA(R) : cgggcggggaTGCAGATATTTTGGCTGCAA

RSA と結合するための SUC2 シグナルペプチド下流側プライマー

(小文字は RSA 成熟蛋白の N-末端に相当する塩基配列)

SUCRSA(F) : aatatctgcaTCCCCGCCCGCACCAAGGA

SUC2 シグナルペプチドと結合するための RSA 成熟蛋白 N-末端側

プライマー(小文字は SUC2 シグナル切断点に相当する塩基配列)

E-2248 株染色体 DNA をテンプレートに、RSA(F)および RSA(R)をプライマーに

して PCR を行い、上流側に *KpnI* サイトを、下流側に *SacI* サイトを有する約 1.4kbp の RSA 構造遺伝子²⁾(開始コドン ATG からシグナルペプチド、成熟蛋白をコードし、終止コドン TGA までを含む。以下 RSAgene あるいは単に RSA と略)を得た。

また、YNN27 株染色体 DNA をテンプレート、GAP(F)および GAP(R)をプライマーとしての PCR で、約 800bp の GAP⁵⁾プロモーター遺伝子(以下 GAP と略)を得た。

さらに、YNN27 株染色体 DNA と SUC(F)および SUCRSA(R)との PCR で 57bp の SUC2⁶⁾シグナルペプチド領域(以下 SUC2 シグナルあるいは単に SUC)を、E-2248 染色体 DNA と SUCRSA(F)および RSA(R)とで RSA 成熟蛋白領域約 1.3kbp の PCR フラグメントを得た(以下成熟 RSA と略、図 1 での PCR-1 回目)。この SUC2 シグナルおよび成熟 RSA をテンプレートとし、SUC(F)および RSA(R)をプライマーとして再度 PCR を行うことで、SUC2 シグナルを有する成熟 RSA 遺伝子(以下 SUCRSA)約 1.4kbp を獲得した(PCR-2 回目)。

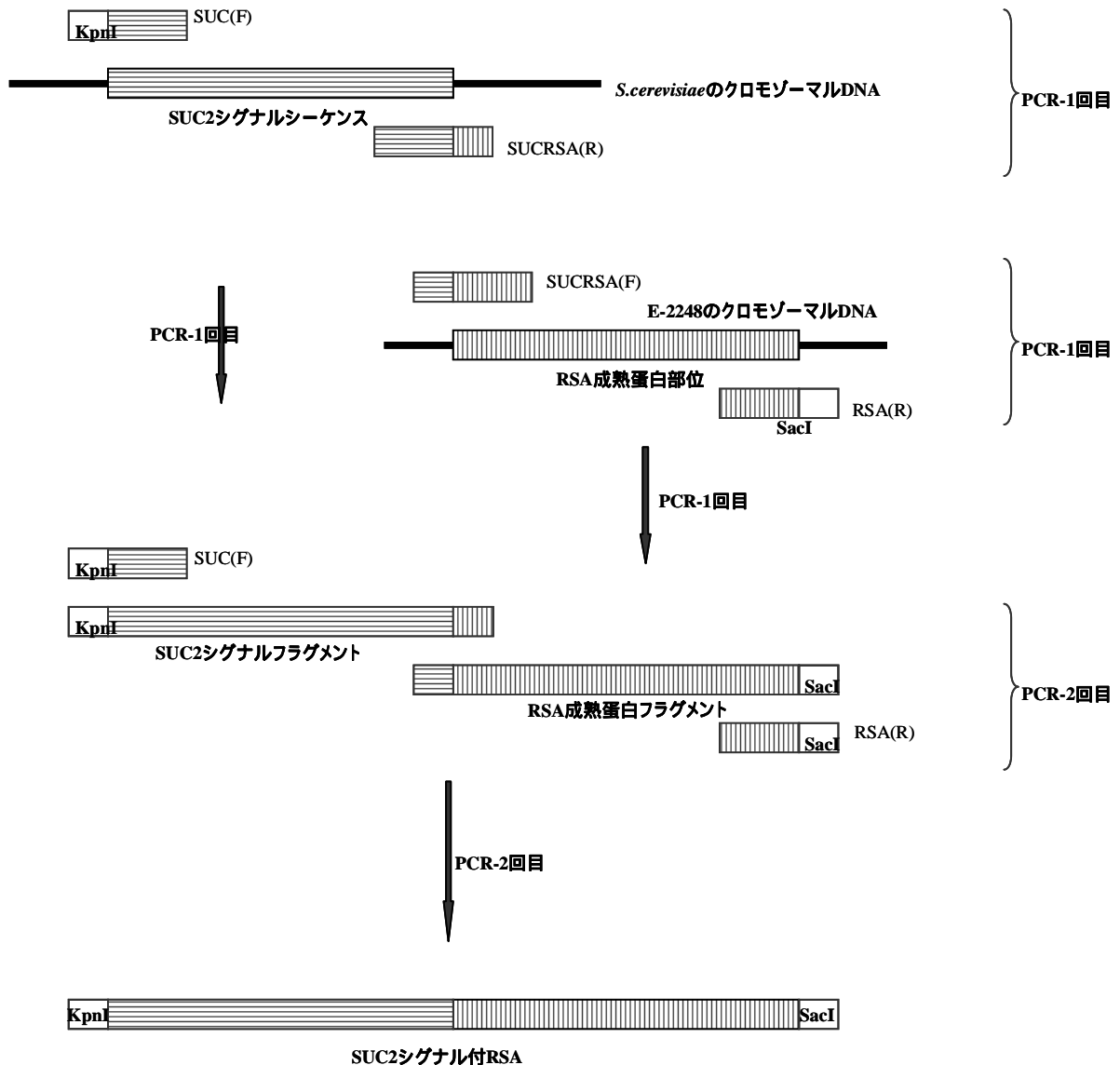


図 1 . 2 段階 PCR による SUC2 シグナルの接合

本フラグメントのフォワード側の塩基配列を決定し、SUC-RSA 間にフレームシフトが生じて無いことを確認した。(図 2)

```

aacgggtaccatgcttttgcaagctttccttttctttttggctggttttgcagccaaaatatctgcaTCCCCGCCCGGC
      M L L Q A F L F L L A G F A A K I S A S P P G
ACCAAGGACGTACCCGCCGTCCTCTTCGAGTGGAACACTACGCCTCGGTGGCCAAGGAG
T K D V T A V L F E W N Y A S V A K E
  
```

図 2 . SUCRSAのシグナル付近の塩基配列

塩基配列のうち、小文字はSUC由来、大文字はRSA成熟蛋白由来であることを示す。推定されるアミノ酸残基は一字表記した。 : 推定されるシグナル切断点。

5 . RSA 発現プラスミドの構築

市販プラスミド pAUR123(図 3)の ADH1 プロモーター(*Bam*HI-*Kpn*I)を GAP と置き換えたプラスミド pGAP を構築した。

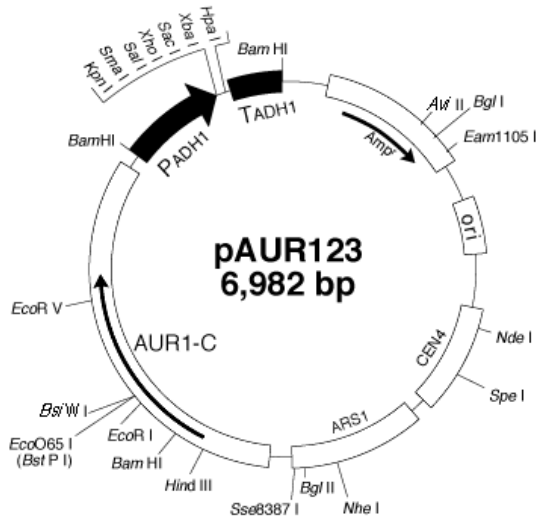
pAUR123 の *Kpn*I-*Sac*I サイトに上記 RSAgene を導入し、ADH1 プロモーターで駆動する RSA の発現ベクター pAUR-RSA を得た。

同様に pGAP に RSA を導入し、GAP プロモーター駆動の RSA 発現ベクター pGAP-RSA を得た。

また、pGAP に SUCRSA を導入した pGAP-SUCRSA を構築した。

さらに、pGAP-SUCRSA から GAP プロモーターを有する SUCRSA 約 2.2kbp を *Bam*HI(プラントエンド化)-*Sac*I で切り出し、pAUR123 の *Kpn*I(プラントエンド化)-*Sac*I に導入した。こうして ADH1 と GAP の二重プロモーターを有する SUCRSA 発現プラスミド pAURGAP-SUCRSA を構築した。

上記 4 つの RSA 発現ベクターは何れもオーレオバシディン耐性遺伝子 AUR1-C を持ち、ARS1 と CEN4 による自立複製型のプラスミドである。



- AUR1-C : *S. cerevisiae* の AbA 耐性遺伝子
- PADH1 : *S. cerevisiae* の ADH1 遺伝子のプロモーター
- TADH1 : *S. cerevisiae* の ADH1 遺伝子のターミネーター
- ARS : *S. cerevisiae* の複製起点
- CEN : *S. cerevisiae* のセントロメア
- Amp^r : *E. coli* での選択マーカー
- Ori : *E. coli* での複製起点 (pBR322 由来)

図 3 . pAUR123 DNA の制限酵素地図

6. エレクトロポレーション

酵母への遺伝子の導入にはバイオラド社のジーンパルサーを用いた。手順は成書⁷⁾に従った。キュベットは0.2cm ギャップのものをを用い、パルス条件は1.5kV、25 μ F、200で行った。

その他の方法は既報^{1,2)}に準じた。

【結果と考察】

・各種発現プラスミドでのRSAの生産

それぞれのプラスミドを含む酵母 YNN27 株を 1ml の YPD 培地 (AbA 0.2 μ g/ml 含む) で 16 時間振とう培養 (前培養) 後、YPD 培地 100ml を含む 300ml 容三角フラスコ (バッフル無し) で本培養 (振とう培養) した。これより適時 0.5ml サンプルングし、その遠心上清の酵素活性を測定した。結果を図 4 に示す。

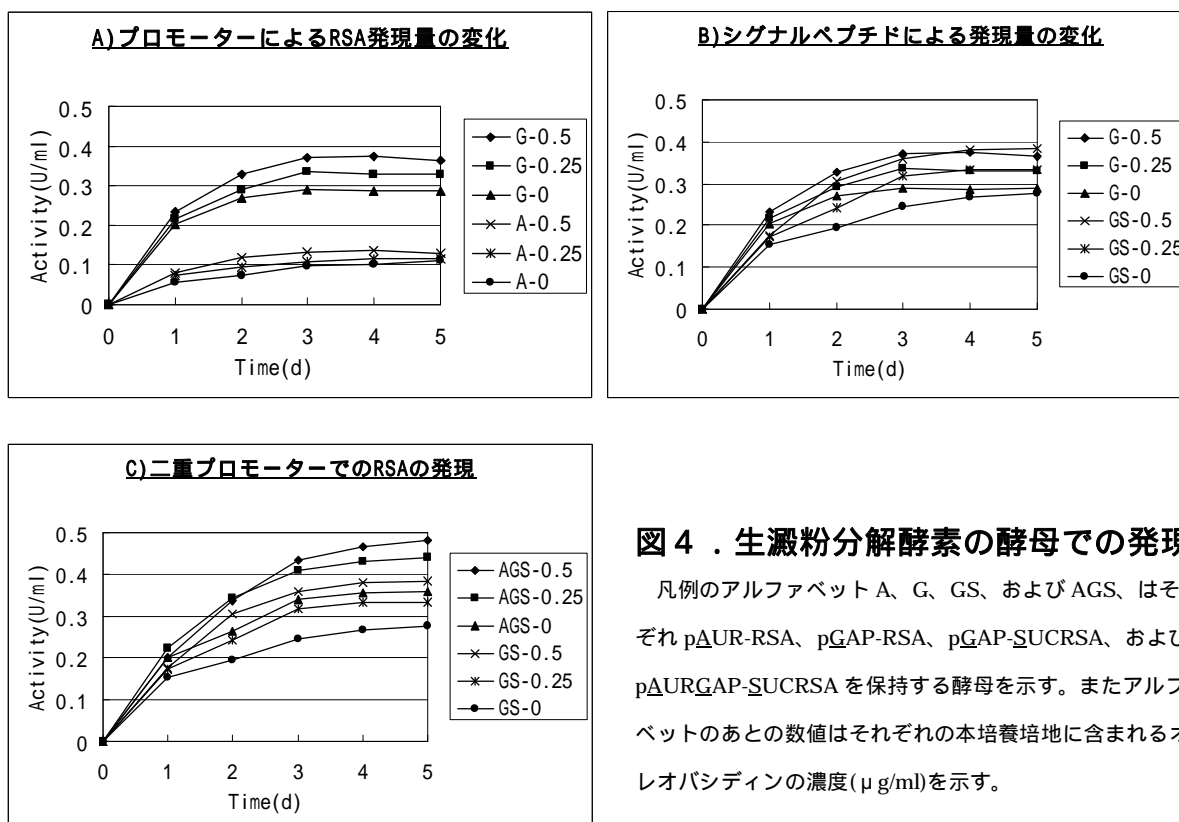


図 4 . 生澱粉分解酵素の酵母での発現。

凡例のアルファベット A、G、GS、および AGS、はそれぞれ p Δ UR-RSA、pGAP-RSA、pGAP-SUCRSA、および p Δ URGAP-SUCRSA を保持する酵母を示す。またアルファベットのあとの数値はそれぞれの本培養培地に含まれるオーレオバシディンの濃度 (μ g/ml) を示す。

図 4 A に示されるとおり、発現プロモーターを ADH1 から GAP に付け替えると、RSA の発現量は 5 日間全般にわたりほぼ 3 倍程度に増加した。また、GAP プロモーターで発現させた場合、シグナルペプチドを放線菌のもの (pGAP-RSA) から酵母インベルターゼ由来のもの (pGAP-SUCRSA) に付け替えても発現量自体は大きな変化は見られなかったが、pGAP-RSA は培養 3 日目で最大値となり、以降横這いあるいは僅かに減少傾向であったが、pGAP-SUCRSA のものは、4 日目以降も、むしろ僅か

に増加する様であった(図 4 B)。これはシグナルを酵母由来のものにすることで菌体外への分泌がスムーズになり、酵素が安定して供給されたものと推察した。そこで、pGAP-SUCRSA の前段に、さらに ADH1 プロモーターを導入し二段プロモーター構造としたもの(pAURGAP-SUCRSA)を構築した。図 4C に示されるとおり、これらの発現量は GAP のみのものより 1.3 倍前後増加した。また全ての発現ベクターに於いて、本培養の AbA 濃度が高いものほど発現量は多かった一方、AbA を全く含まない培地であってもかなりの発現が示された。このことから、ARS1 と CEN4 によるこれらのプラスミドは、AbA での選択圧をかけずとも、酵母中で安定して自立複製しているものと推察される。なお、AbA 濃度をさらに上げて 1.0 $\mu\text{g/ml}$ としたが、1 日目、2 日目で酵母の生育が著しく悪く、RSA の発現量は測定不能であった。

・酵母で生産された RSA の性質

pAURGAP-SUCRSA を保持する組換え体を 5 日間培養し、その上清 1 を膜濃縮後トヨパール HW55(S)カラムで部分精製(図 5)して、酵母由来の RSA 標品を得た。

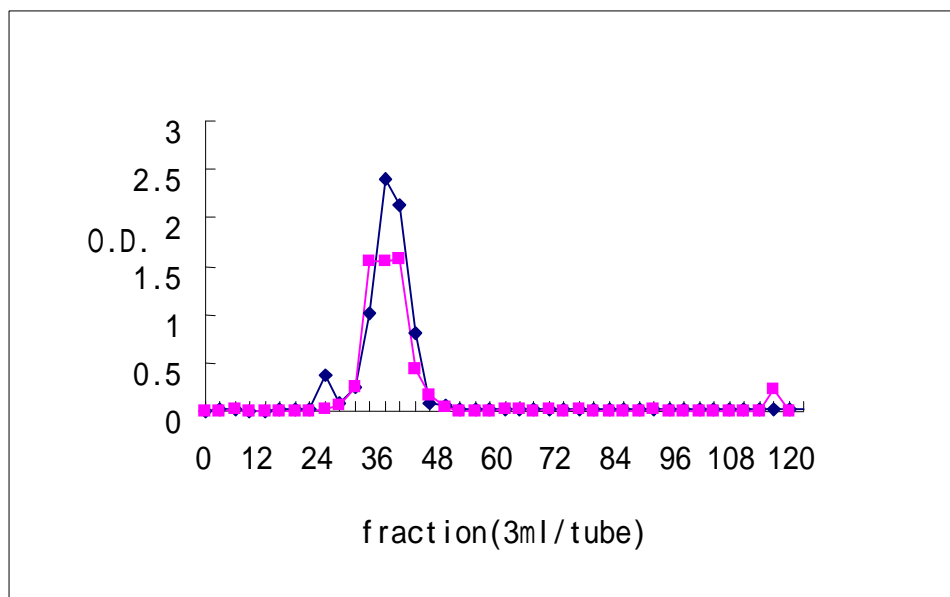


図 5 . 組換え酵母由来 RSA のゲル濾過精製

ゲル：トヨパール HW55(S)、カラム：15 x 1000 mm、移動層：10mM 酢酸緩衝液 (pH5.0)、流速：0.15ml/min、

：蛋白(紫外吸光度、280nm)、■：酵素活性(ソモギーネルソン法での還元力、520nm)

得られた精製酵素の反応至適温度は 50 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$ 、至適 pH6.0 付近であった。本酵素は 50 $^{\circ}\text{C}$ 以下の加温処理で 100%、60 $^{\circ}\text{C}$ で 50%、70 $^{\circ}\text{C}$ でほぼ 0%の残存活性を示し(Ca²⁺共存下 pH5.0 で 30 分処理)、各 pH での相対残存活性は、pH4.0 で 13%、pH5.0 で 83%、pH6.0 で 100%、pH7.0 で 63%であった(Ca²⁺共存下 50 $^{\circ}\text{C}$ 1 時間処理)。これは放線菌 E-2248 株由来のものと同様の性質であった。

この精製酵素標品を SDS-PAGE 分析した。結果を図 6 に示す。

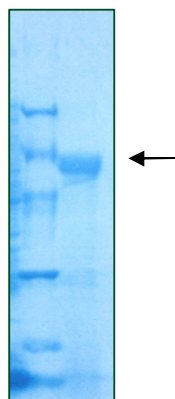


図 6 . 組換え酵母由来 RSA の SDS-PAGE 分析

アクリルアミド 5-20%グラジエントゲルで泳動後ニトロセルロース膜へ転写し、CBB R-250 で染色した。左側レーンは分子量マーカー(上から 97.4、66.7、45.0、31.0、21.5、14.4kDa)

既報¹⁾により、放線菌 E-2248 株から得られる RSA は分子量 47kDa であったが、pAURGAP-SUCRSA に由来する酵素は図 6 に示されるとおり 65kDa 前後と推察された。これをさらに pas 染色すると本バンドは赤紫様に呈色したことから、酵母で発現の際、糖が付加されたため、見かけの分子量が大きく変化したものと推定される。

また、CBB 染色後の本バンドをメンブランから切り出し、さらには TFA 処理なども併用して、プロテインシーケンサーによる N-末端の解析を試みたが、明確な解析結果は得られず、SUC2 シグナルが正しくプロセッシングされているかどうかは確認出来なかった。

本報文では放線菌由来の生澱粉分解酵素遺伝子を酵母に導入し安定的高発現を試みた。その際、ADH1 と GAP との二重プロモーターで発現させ、シグナルを SUC2 に付け替えたもの(pAURGAP-SUCRSA)で最大 0.48U/ml の発現量であった。これは放線菌(発現量 0.3U/ml)の 1.5 倍以上であった。また、放線菌の場合と異なり、酵母ではコンスタントな生産が観察された。

【謝辞】

塩基配列の解析は秋田県立大学バイオテクノロジーセンターに御協力頂いた。プラスミド pAUR123 の制限酵素地図はタカラバイオ社の許可を得て、同社ホームページより転載させて頂いた。

【引用文献】

- 1) Kaneko, T., Ohno, T., and Ohisa, N., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **69**, 1073-1081 (2005).
- 2) 金子隆宏, 秋田県総合食品研究所報告, **10**, 19-27 (2008)
- 3) Maniatis, T., Fritsch, E. F., Sambrook, J., *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Lab., pp.368-369 (1982)

- 4) Saito, H., and Miura, K., *Biochimica et Biophysica acta* **72**, 619-629 (1963)
- 5) 八木慎太郎、田中聖子、吉岡珠里、鈴木正則、特開平 03-191785
- 6) Carlson, M., Taussig, R., Kustu, S., and Botstein, D., *Molecular and Cellular Biology*, **3**, 439-447 (1983)
- 7) Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., and Struhl, K., *Short Protocols in Molecular Biology*, 3rd ed., John Wilwy and Sons, Inc., chap.13, pp.34-35 (1995)

秋田県の伝統食品「こざきねり」の商品化への取り組み

菅原真理、加藤明津子、佐藤文華、菅原千秋、高橋徹、熊谷昌則
(秋田県総合食品研究所)

Mari SUGAWARA, Atsuko KATO, Fumika SATO, Chiaki SUGAWARA,
Toru TAKAHASHI, and Masanori KUMAGAI

【要 約】

秋田県の伝統食品のひとつに、米をすりつぶして、水で煮て、砂糖と酢で調味して食する「こざきねり」(「あさづけ」または「粉(こ)なます」)というものがある。米の酢の物、あるいは米のスイーツとも称される、全国的にも極めて珍しい、この「こざきねり」という食品、食文化を後世に伝承したいと考えている。本研究は、伝統食品としての「こざきねり」の復権を願い、嗜好性を高める風味の改良と、賞味期限の延長を可能とする簡便な製造方法を確立し、新規の商品提案としてその技術を普及させることを目的とした。その結果、原材料の米や副原料由来の甘味や酸味を工夫することによって商品のバラエティ化が期待できること、また、特別な機械装置を用いない簡便な製造法によって保存性の向上が図られることが示された。

【緒 言】

秋田県は、古くから反当り収量の多い稲作中心の穀倉地帯が広がり、ひえ、粟、そば、きびなど、雑穀類の生産量が低いことが特徴である。そのため、米を主体とした食生活が発達し、さまざまな米の食べ方が生み出されてきた¹⁾。酒、麴、漬物、餅、団子、米菓など、米を利用した数多くの食品が存在する。また、冷害による不作の年はもちろんのこと、以前は、もみすり時にも多くの碎け米や未熟米などの二番米が出たが、これら二番米といえども、さらに精選して飯米や、麴米、漬物床、あるいは菓子などに利用してきた。

「こざきねり」は、これら二番米を意味する「こざき米」を用いた食品の代表例である。米を水に浸漬し、すり鉢でつぶして、水で煮ながら砂糖と塩を加え透明になるまで練りあげ、酢で調味する。図1に示すように、彩りとしてキュウリの薄切り、ミカンの缶詰、季節の果物などを添えて食するのが一般的で、いわば「米の酢の物」、あるいは「米のスイーツ」といってもよい。



図1 伝統的な「こざきねり」の外観

農山漁村文化協会発行の「日本の食生活全集」¹⁾においても、米を酢の物として食べる食文化は秋田県以外に見当たらず、全国的にみても珍しい食品といえる。

「こざきねり」は、消化も良く体調を整えるにも良いとされ、風邪や食欲不振の病人食として、その他、祝儀・不祝儀の取り回し料理としても、また女性たちの集まりの一品料理としても人気があるとされてきた。しかしながら、「こざきねり」を家庭で作る、食するという年代は次第に高齢化しており、若年層にはなじみの薄い食品である。この理由として、米を長時間水に浸漬する、すりつぶす、火にかけて練るなどの手間のかかる調理方法や、「酢」の風味が若年層や男性に嫌われていることなどが考えられ、このままでは、秋田県の伝統食品である「こざきねり」が消滅してしまう危険性がある。

そこで本研究では、伝統食品としての「こざきねり」の復権を願い、嗜好性を高める風味の改良と、賞味期限の延長を可能とし、かつ簡便な製造方法を確立し、新規の商品提案としてその技術を普及させることを目的とした。

【方 法】

1) こざきねりに関する調査

文献やインターネットにより、主として「こざきねり、あさづけ」の原材料や調理法について調査を行った。

2) こざきねりの製造方法

原材料の上新粉、穀物酢、上白糖、食塩は市販品を用いた。原材料を直接レトルトアルミパウチ (NACF-102) に充填し密封後、90 で各々20分、40分の加熱調理 (殺菌) を行った。同様に、115、50分のレトルト装置による加圧加熱殺菌も行った。加熱殺菌後、水浴中で冷却し、試作品とした。

3) 官能評価

代表的な調理例を参考にしてこざきねりを試作し、SD法 (セマンティック・デイファレンシャル法) による官能評価を実施した。パネルは秋田県総合食品研究所職員20名であり、19名から有効回答を得た。

4) 品質評価

試作品を25 および10 で保存し、微生物検査、色調および物性の測定を行った。微生物検査は、衛生検査指針²⁾に従い試料を調製した。使用培地と培養条件は次のとおりである。

一般生菌	: ペトリフィルム (スリーエムヘルスケア社製)	35 ・ 48 時間
大腸菌・大腸菌群	: ペトリフィルム (スリーエムヘルスケア社製)	35 ・ 24 時間
カビ・酵母	: ペトリフィルム (スリーエムヘルスケア社製)	25 ・ 5 日間
黄色ブドウ球菌	: マンニット食塩培地 (日水製薬社製)	37 ・ 24 時間

培養後、出現したコロニー数を計測した。レトルト処理の試作品は、レトルト恒温

無菌試験²⁾に従い、35℃・2週間の保存後に検査を行った。試作品の色調は、測色色差計 90 (日本電色工業株式会社製) で測定し、n=3 の平均値で表した。粘性率は、粘弾性測定装置 (RheoStress RS50 HAAKE 社製) で測定し、n=3 の平均値で表した。

【結果と考察】

1) 食文化としてのこざきねりの地域性

「こざきねり」を商品化するにあたり、秋田県内各地で作られているこざきねりの現状を把握するため、「こざきねり」あるいは「あさづけ」のキーワードでインターネット検索した。ヒットした資料の中から表1にその配合例を示す。

表1 秋田県内に見られる「こざきねり、あさづけ」の配合例

地 域	名 称	原材料および分量割合 (%)
大館 ³⁾	あさづけ	米 15.8、砂糖 4.3、酢 5.3、塩 0.5
秋田 ⁴⁾	あさづけ	米 10.7、砂糖 8.2、酢 4.6、塩 0.2
潟上 ⁵⁾	あさづけ	米 8.9、砂糖 14.9、酢 4.8、塩 (+)
湯沢 ⁶⁾	こざきねり	米 31.7、砂糖 11.0、酢 1.2、塩 (+)

備考1. 湯沢地域のみ、うるち米およびもち米を使用。他地域はうるち米使用。
備考2. 水や飾りとして使われる果物や野菜は省略。

ここで、特筆すべき点は、県南部に位置する湯沢地域の配合である。県北部の大館地域や県央部の秋田地域、潟上地域の酢と砂糖の割合に比べて、湯沢地域では酢と砂糖の割合が1:10と砂糖の使用量が極端に多いことが分かる。また、米の種類も、うるち米に加えもち米も使用し、さらには他地域に比較して配合する米の量も多いことが示されている。

秋田県の食嗜好を調査した長沼⁷⁾によれば、秋田県は甘味に対して地域間に差があり、特に、赤飯に砂糖を加えるかどうかの調査においては、県北の大館・北秋地区、県央の秋田・河辺地区が混在地域、男鹿・南秋地区が低甘味地域、県南の横手盆地に位置する大曲・仙北、横手・平鹿、湯沢・雄勝地区は高甘味地域であることが示されている。横手盆地は米作が中心の農業地帯であり、赤飯や漬物などの調理には砂糖をたくさん使用する食習慣が存在する。昭和30年代ころまでは、砂糖は貴重品として、祝儀・不祝儀の引き出物などにも用いられていたことから、調理にたくさんの砂糖を用いるという背景には、ごちそうや、もてなしの意味があったといわれている。さらに、砂糖の甘味は、生理的欲求の充足をもたらすだけでなく、精神的満足感などの社会的・心理的欲求の充足にも関与している。表1に示した湯沢地域の「こざきねり」の配合例は、米に砂糖の組み合わせという高甘味嗜好にそった配合であり、伝統的な食文化が継承されていると推察される。また、「こざき

ねり、あさづけ」には、米どころにあっても、砕け米、未熟米などといった二番米の一粒さえも無駄にしないという先人の心構えが反映されている、といってもよいだろう。

一方、「こざきねり、あさづけ」の名称にも地域性がうかがえ、興味深い。もともと「こざきねり」は、「こざき米」を使用する県南部での呼び名であり、県中部から県北部においては米粉を使用することが多く「あさづけ」（あさづけといっても漬け物の浅漬けとは明確に区別している）、県南沿岸部の由利本荘地域では「粉（こ）なます」と呼ばれるなど、秋田県内においても呼び名は統一されていない。表1に見られるように、「あさづけ」と呼ぶ地域においては、酢の使用割合が比較的高く、米の使用割合からも、さらりとした食感となる。一方、「こざきねり」においては、米の使用割合が32%、さらに、もち米も使用しているため、ねっとり感が強い。まさに「練る」という感覚である。みそ汁と同様に、それぞれの家庭にはそれぞれの材料や味付けの「こざきねり、あさづけ」が存在し、多種多様である。「こざきねり」食文化圏に「あさづけ」を持ち込もうとすると、「これだば、ただの糊だ。米の粒ねえば（無ければ）、こざきねりとは言わねえ。」という具合になる。

2) 簡便な製造方法の確立

「こざきねり」の一般的な製造方法においては、米を浸漬する時間が長く、微生物学的に問題が多い。また、浸漬後の米をすり鉢でつぶし、鍋で練る労力と時間が、かなりの負担となる。一方、商品化を考えた場合、加熱殺菌後に容器に充填する作業は、衛生上好ましくない。そこで、米粉（上新粉）を使用し、すべての原材料を容器に充填後、加熱殺菌を行う製造法を開発した。手順を図2に示す。従来の方法に比べ、調理時間や労力が大幅に短縮され、また、加熱調理後の微生物の二次汚染を防ぐことが可能となった。

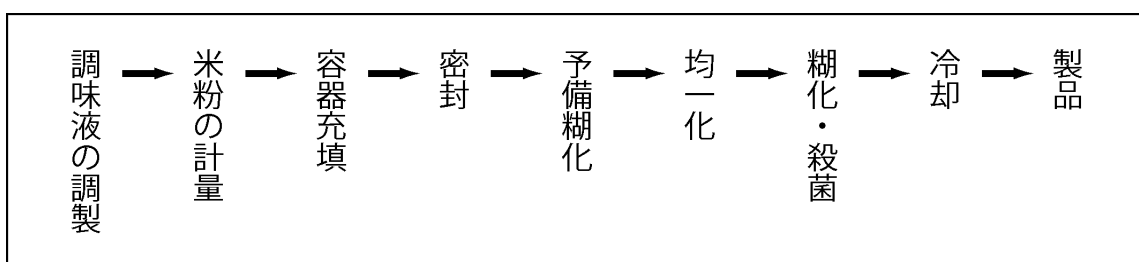


図2 「こざきねり」の新規な製造方法

3) 官能評価

「こざきねり」は、米、砂糖、酢、塩、水という素朴な原材料で作られる食品である。そのため、原材料の品質や配合割合により風味に影響が出やすい。

今回の研究においては、米、酢、砂糖の配合割合をいろいろと変えた試作を行った。一例として、砂糖との配合割合を1:2として試作（技術移管を目的としているので、詳細な配合例は割愛）したときの、官能評価結果を図3に示した。このとき

の評価では、「なめらか」、「口溶けがよい」などが多数を占めた。これに対して、「匂いが悪い」、「酸味が強すぎる」など、酢の影響によると思われるマイナス点も多く指摘された。左側の()内に示された、「また食べたい」とそれぞれの項目間の相関係数をみると、「好きだから」、「味がよいから」、「おいしいから」、「食べやすいから」、「口溶けがよいから」などが嗜好に深く関与していることが分かった。また、甘味と酸味の項目については負の相関が見られた。したがって、「こざきねり、あさづけ」の食味においては砂糖と酢の添加量が鍵となることが示された。

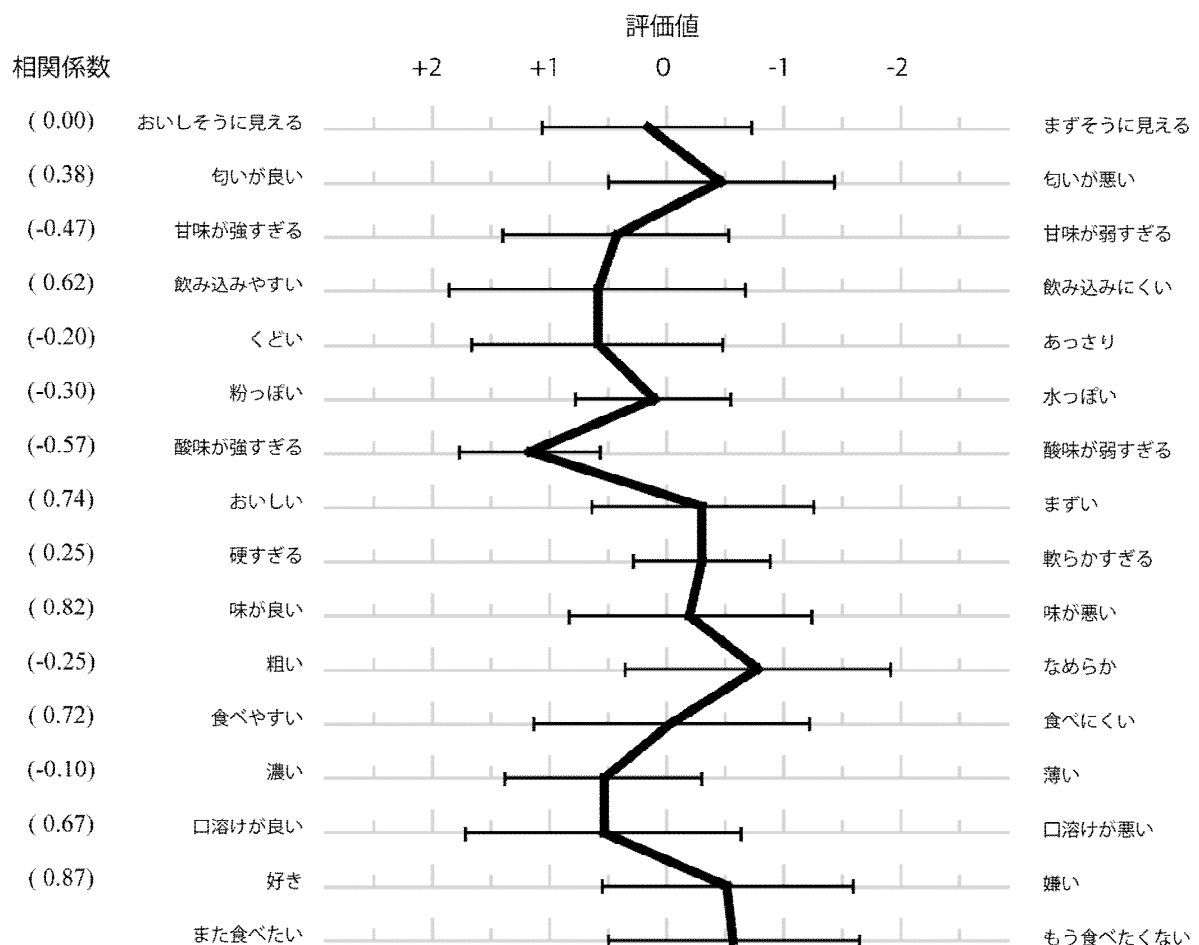


図3 試作品のセマンティック・プロフィール

全平均値 (n=19) エラーバーは標準偏差

左側()内は「また食べたい」とそれぞれの項目間の相関係数

4) 保存性の評価

試作品の微生物検査では、殺菌時間にかかわらず、3ヶ月の室温保存でもまったく微生物は検出されなかった。これは、酢を使用しているため、試作品のpHが3.3

と低く、一般微生物や穀類に多く存在する耐熱性芽胞細菌は、pH3.7 以下では増殖できないこと、また、低い pH でも増殖できる乳酸菌やカビ・酵母は、加熱に弱いため、初めの加熱殺菌で死滅したものと考えられる。

色調の変化では、製品間のバラツキが多く、殺菌時間の違いによる有意な差は認められなかったが、6ヶ月保存後には、黄色を示す指標であるb値が25 保存区分において上昇し、わずかに着色傾向が見られた(図4)。

詳細な数値データは示さないが、とろみの変化においても殺菌時間および保存温度の違いにかかわらず、3ヵ月後でも明確な差は認められなかった。レトルト処理の試作品においては、製造直後から着色が認められ、また、「こざきねり」の特徴であるとろみが消失した。

微生物検査や色調、物性の測定結果から、加熱殺菌時間の違いにかかわらず、室温保存3ヶ月後でも、十分品質が保持されることがわかり、レトルト装置による加圧加熱殺菌を行わなくても、長期の賞味期限を設定できる商品を製造することが可能となった。

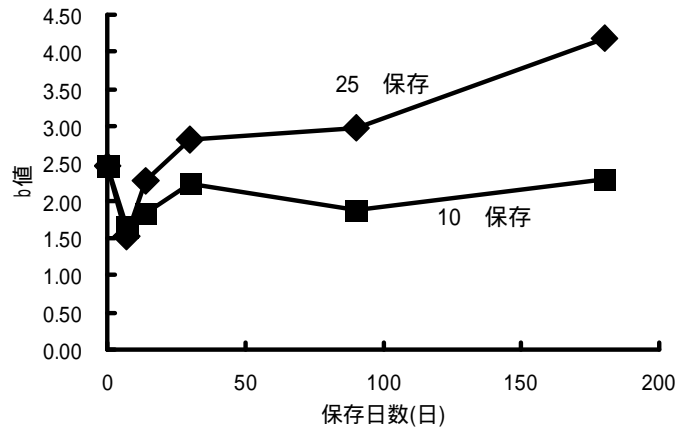


図4 保存中における「こざきねり」の着色の変化
殺菌条件：90 ・ 40 分、平均値(n=3)

5) 商品化の提案

こざきねり、あさづけは、米どころ秋田が誇る、米を使った伝統食品のひとつである。これに現代風の改良を加え、賞味期限の長い商品を食文化として後世に伝承するために以下の提案を行う。

包装形態は、ゼリー飲料などに用いられている、プラスチック製の飲み口(スパウト)付きのアルミラミネート・フィルムなどでできた軟包装容器(パウチ容器)などを採用することにより、簡便性、利便性の向上が期待できる。(図5)

原材料のうち、主原料の米粉については粒度の違いによる商品の差別化が可能である。細かい米粉を用いた場合にはなめらかでのど越しの良い糊状の物性が得られ、4つ割れ、5つ割れなどといった粗い米粉を用いた場合にはつぶつぶ感を残した独特の食感が得られる。さらに、酒造米の精米工程に出る米粉を使用すれば、資源の有効利用になると期待される。

砂糖や酢などの副原料については、果実や野菜などの甘味、酸味などといった風味や色などを利用することができる。果実ジャムやジュースの利用も可能である。酢については穀物酢のみならず、米酢やりんご酢、黒酢、ワインビネガーなどを用いることによる差別化が可能である。

硬さやなめらかさなどの食品物性については、米粉の種類、ゼラチン、寒天、増粘多糖類などを使い分ける、あるいは併用することにより調整が可能であり、えん下困難者用食品などの介護食としての展開も期待できる。



図5 新しい商品提案の外観

以上により、それぞれの地域で特色のある「ごさきねり、あさづけ」が、製造規模の大小にかかわらず商品化できる。これが地場産業振興の契機となり、食品クラスター形成の一助となれば幸いである。

【文献】

- 1) 日本の食生活全集 5 聞き書 秋田の食事：農山漁村文化協会(1986)
- 2) 春田三佐夫、細貝祐太郎、宇田川俊一編：目で見える食品衛生検査法、中央法規出版（1994）
- 3) <http://www.jodo.or.jp>
- 4) <http://www.city.akita.akita.jp>
- 5) <http://www.pref.akita.lg.jp>
- 6) <http://www.akitafan.com>
- 7) 長沼誠子：あきた郷味風土記「ふるさとあきたの食百選」、秋田県農山漁村研究グループ協議会、pp88-93（2007）

2. 学会発表要旨(32件)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 25

1) 発表学会：第62回 日本栄養・食糧学会大会

発表日と場所：2008年5月4日、女子栄養大学(埼玉県坂戸市)

演題名：マイタケプロテアーゼの利用と非利用

発表者： 樋渡一之¹、塚本研一¹、加賀屋明良²、堀一之¹、高橋慶太郎¹、
井上俊三²、大能俊久¹、熊谷昌則¹、高橋砂織¹

¹秋田農水技セ・総食研、²秋田十條化成

2) 発表学会：秋田応用生命科学研究会第13回学術講演会

発表日と場所：2008年5月23日、秋田県総合食品研究所(秋田市)

演題名：昆虫細胞-バキュロウイルス発現系によるプロレニン発現および *in situ* プロセッシングによるレニン生成の挙動

発表者： 安和広乃、後藤猛、菊地賢一(秋田大・工資)、
畠恵司、高橋砂織(秋田県農技セ・総食研)

3) 発表学会：第22回キッチン・キトサン・シンポジウム

発表日と場所：2008年8月5日、朱鷺メッセ(新潟市)

演題名：GlcNAc 2-エピメラーゼ(レニン結合タンパク質)の構造と機能に関わるヌクレオチドの役割について

発表者： 高橋砂織、堀一之(秋田県総合食品研究所)

4) 発表学会：日本食品工学会第9回年次大会

発表日と場所：2008年8月5日、東京海洋大学(東京都)

演題名：圧力可変ジュール加熱装置の開発と新規多孔質食品製造への応用

発表者： 高橋 徹、熊谷昌則、秋山美展^{*}(秋田農技セ総食研，秋田県立大^{*})

5) 発表学会：日本農業農村工学会大会

発表日と場所：2008年8月27日、秋田県立大学(秋田市)

演題名：セルロース系バイオマスからのバイオエタノール生産

発表者：進藤 昌

6) 発表学会：日本食品科学工学会第55回大会

発表日と場所：2008年9月6日、京都大学(京都府京都市)

演題名：S-S結合還元剤による米飯テクスチャーの改良

発表者： 大能俊久、戸松誠、塚本研一、戸枝一喜(秋田農技セ・総食研)

7) 発表学会：第 55 回 日本食品科学工学会大会

発表日と場所：2008 年 9 月 7 日、京都大学（京都市）

演題名：昆虫細胞を用いた組換え型ヒトレニン発現系の構築とレニン阻害物質探索系の確立

発表者：高橋砂織¹、堀 一之¹、菊地賢一²、後藤 猛²

（¹秋田県農林水産技セ・総食研、²秋田大・工学資源）

8) 発表学会：第 55 回日本栄養改善学会学術総会

発表日と場所：2008 年 9 月 7 日、鎌倉女子大学（鎌倉市）

演題名：とろみ調整食品による食品のゾル化に伴う味質変化の評価 味覚センサの可能性について

発表者：藤崎裕子¹、中村愛美²、佐藤文華³、熊谷昌則³、吉田智²、鈴木靖志²

¹東京サラヤ株式会社 ヘルスケア事業部、²サラヤ株式会社

商品開発本部、³秋田県農林水産技術センター総合食品研究所

9) 発表学会：2008 日本感性工学会年次大会

発表日と場所：2008 年 9 月 8 日 大妻女子大学（東京都）

演題名：経験価値創造による地域特産ブランド構築

発表者：高畠 聡（秋田県農林水産技術センター 総合食品研究所）

10) 発表学会：食品酵素化学研究会第 8 回学術講演会

発表日と場所：2008 年 9 月 8 日、高知大学（高知市）

演題名：SF-9 細胞におけるヒトレニンの発現とヒトレニン阻害物質探索系の構築

発表者：高橋砂織¹、堀 一之¹、菊地賢一²、後藤 猛²

（¹秋田県農林水産技セ・総食研、²秋田大・工学資源）

11) 発表学会：The Pacific Rim Summit On Industry and Bioenergy

発表日と場所：2008 年 9 月 10 日、Vancouver, Canada

演題名：Production of bioethanol with novel two-step fermentation system using *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* from cellulosic biomass.

発表者：Sho Shindo

12) 発表学会：第4回D-アミノ酸研究会学術講演会

発表日と場所：2008年9月19日、名古屋大学（名古屋市）

演題名：原核微生物由来D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ（Paenidase）
のクローニングと発現

発表者： 蕪澤悟、北岡本光（農研機構・食総研）
高橋砂織（秋田県農林水産技セ・総食研）

13) 発表学会：平成20年度日本醸造学会大会

発表日と場所：2008年9月24日、北とぴあ（東京都）

演題名：近赤外分析法による酒造原料米の乳酸可溶性タンパク質の測定

発表者：高橋仁¹，熊谷昌則¹，伊藤俊彦²，岩野君夫²，田口隆信¹

（¹秋田農林水産技セ・総食研，²秋田県立大）

14) 発表学会：平成20年度日本醸造学会大会

発表日と場所：2008年9月24日、北とぴあ（東京都）

演題名：色素含有平板培地を用いた清酒酵母の判別と酵母混合発酵

発表者：渡辺誠衛、田口隆信、高橋仁、大野剛、杉本勇人

（秋田農林水産技セ・総食研）

15) 発表学会：第56回レオロジー討論会

発表日と場所：2008年10月6日、朱鷺メッセ（新潟市）

演題名：ハタハタ（*Arctoscopus japonicus*）魚卵由来粘質物の物理化学特性
～魚卵硬化現象とでん粉との相互作用について～

発表者：秋田農技セ総食研 高橋 徹，塚本研一，熊谷昌則，戸枝一喜

16) 発表学会：化学系学協会東北大会

発表日と場所：2008年10月12日、八戸工業大学（八戸市）

演題名：味覚センサを用いた食品のゾル化に伴う味質変化の評価

発表者：熊谷昌則¹、佐藤文華¹、高橋徹¹、戸枝一喜¹、中村愛美²、吉田智²、

鈴木靖志²（¹秋田県農林水産技術センター総合食品研究所、

²サラヤ株式会社商品開発本部）

17) 発表学会：20th FAOBMB Symposium

発表日と場所：2008年10月23日、陽明大学（台北市、台湾）

演題名：Processing of recombinant human prorenin expressed in Sf-9 cells

発表者：Saori Takahashi¹，Hirono Awa²，Satoru Nirasawa³，Kazuyuki Hiwatashi¹，
Ken-Ichi Kikuchi⁴，and Takeshi Gotoh⁴（¹Institute for Food and Brewing, Akita

Prefectural Agriculture, Forestry, and Fisheries Research Center, 4-26 Sanuki, Arayamachi, Akita, 010-1623 Japan, ²Department of Materials-Process Engineering and Applied Chemistry for Environments, Akita University, 1-1 Tegata Gakuen-Cho, Akita, 010-8502, Japan, ³National Food Research Institute, 2-1-12, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8642 Japan, ⁴Department of Engineering in Applied Chemistry, Akita University, 1-1 Tegata Gakuen-Cho, Akita, 010-8502, Japan)

18) 発表学会：第42回日本栄養・食糧学会東北支部大会

発表日と場所：2008年11月8日、郡山女子大学(福島県郡山市)

演題名：ヤマブシタケの高脂肪食負荷マウスにおける脂質代謝改善作用

発表者：樋渡一之^{1,2}、小坂靖幸³、鈴木奈緒²、畠恵司²、

向山俊之³、坂本賢二³、白川仁¹、駒井三千夫¹

(¹東北大学・院農・栄養学、²秋田農技セ・総食研、³坂本バイオ)

19) 発表学会：8th International Symposium on the Role of Soy in Health Promotion and Chronic Disease Prevention and Treatment

発表日と場所：2008年11月11日、Hilton Tokyo(東京都)

演題名：Human renin inhibitory activity in miso, soybean, and minor legumes.

発表者：Saori Takahashi¹, Kazuyuki Hori¹, Hironobu Ogasawara¹, Masanori Kumagai¹, Takayuki Watanabe¹, and Takeshi Gotoh² (¹Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agriculture, Forestry, and Fisheries Research Center, ²Department of Engineering in Applied Chemistry, Akita University)

20) 発表学会：秋田応用生命科学研究会 第14回学術講演会

発表日と場所：2008年11月14日、秋田県総合食品研究所(秋田市)

発表者：安和広乃、後藤猛、菊地賢一(秋田大・工資)、

高橋砂織(秋田県農技セ・総食研)

演題名：昆虫細胞発現系によるプロレニンプロセッシング酵素の特性解析

21) 発表学会：第8回糸状菌分子生物学コンファレンス

発表日と場所：2008年11月18日、石川県文教会館(金沢市)

演題名：麹菌(*Aspergillus oryzae*)分生胞子のストレス処理による mRNA スプライシング
阻害と DNA トランスポゾン *Crawler* の転移活性化

発表者：小笠原 博信¹、秦 洋二²、高橋 砂織¹、五味 勝也³

(¹秋田県農技セ総食研・酵素微生物、²月桂冠・総研、³東北大院農・
生物産業創成)

- 22) 発表学会：The 21st Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology
発表日と場所：2008年11月26日、福岡国際会議場（福岡市）
演題名：EFFECTS OF LUPEOL ON MELANOMA IN VITRO AND IN VIVO
発表者：Keishi Hata¹, Kikumi Ogihara², Saori Takahashi¹, Takeshi Tsuka³, Saburo Minami³, Yoshiharu Okamoto³
- 23) 発表学会：HPLC2008 Kyoto: The 33rd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques
発表日と場所：2008年12月3日、京都大学（京都市）
演題名：Analysis of lipoprotein profiles in culture medium of hepatoma cells by LipoSEARCH®; in vitro system for screening anti-hyperlipidemic drug
発表者：Mizuho Itoh¹, Yukie Abe¹, Yuka Iwama¹, Fumiko Kimura¹, Mayumi Satho¹, Mayumi Shoji¹, Junichiro Takahashi¹, Gen Toshima¹, Hiroki Sasaki¹, Keishi Hata²
(¹Skylight Biotech Inc., ²Institute for Food & Brewing, Akita Prefectural Agricultural, Forestry, and Fisheries Research Center)
- 24) 発表学会：第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会
発表日と場所：2008年12月10日、神戸国際会議場（神戸市）
発表者：○Satoru Nirasawa¹, Mika Saito¹, Motomitsu Kitaoka¹, Saori Takahashi²
(¹National Food Research Institute, Tsukuba, ²Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agriculture, Forestry, and Fisheries Research Center)
演題名：Functional expression of bacterial D-aspartyl endopeptidase (paenidase) in *Escherichia coli*
- 25) 発表学会：第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会
発表日と場所：2008年12月10日、神戸国際会議場（神戸市）
発表者：Hirono AWA¹, Takeshi GOTOH², Ken-Ichi KIKUCHI², Satoru NIRASAWA³, and Saori TAKAHASHI⁴. ¹Department of Materials-Process Engineering and Applied Chemistry for Environments, Akita University, ²Department of Engineering in Applied Chemistry, Akita University, ³National Food Research Institute, ⁴Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agricultural, Forestry, and Fisheries
演題名：Prorenin processing enzyme in baculovirus-infected Sf-9 cells.
- 26) 発表学会：第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会
発表日と場所：2008年12月12日 神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）
演題名：タラノ芽由来抗腫瘍性タンパク質 aralin に対する膜レセプターの特性化
発表者：後藤良隆¹、戸松 誠²、飯田直幸³、服部 成^{3,4}、川崎 靖¹、田代文夫¹（¹東理大・基礎工・生物工、²秋田農技セ・総食研、³北里大・薬・生化、⁴東大・医科研・細胞ゲノム）
- 27) 発表学会：6th Aspergillus Meeting & 25th Fungal Genetics Conference
発表日と場所：2009年3月16-19日、Asilomar, Pacific Grove, CA
演題名：Effects of stress stimuli on transposability and post-transcriptional modifications of mRNAs from DNA transposon *Crawler* in *Aspergillus oryzae*.
発表者：Hironobu Ogasawara¹, Yoji Hata², Saori Takahashi¹, and Katsuya Gomi³.
¹Institute for Food and Brewing, Akita Pref. Agric. Forest. and Fish. Res. Center, Akita, Japan. ²Research Institute, Gekkeikan Sake Co. Ltd., Kyoto,

Japan. ³ Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University,
Sendai, Japan.

28) 発表学会：2009 年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009 年 3 月 28 日、マリンメッセ福岡（福岡市）

演題名：*Lactobacillus sakei* KLB 3138aC株の特性と清酒醸造への応用

発表者：木村 貴一、大野 剛、木村（新野） 葉子、高橋 慶太郎、
鈴木 一史¹、渡邊 剛志¹（秋田県総食研、¹新潟大農・応生化）

29) 発表学会：2009 年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009 年 3 月 29 日、マリンメッセ福岡（福岡市）

演題名：麹菌(*Aspergillus oryzae*)分生孢子における DNA transposon *Crawl* 転
活化 mRNA スプライシング阻害

発表者：小笠原 博信¹、秦 洋二²、高橋 砂織¹、五味 勝也³
（¹秋田県農技セ総食研・酵素微生物、²月桂冠・総研、³東北大院農・
生物産業創成）

30) 発表学会：2009 年度 日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009 年 3 月 29 日、マリンメッセ福岡（福岡市）

演題名：ヤマブシタケは PPAR α を介して高脂肪食負荷マウスの脂質代謝を
改善する

発表者：樋渡一之^{1,2}、小坂靖幸³、鈴木奈緒²、畠恵司²、
向山俊之³、坂本賢二³、白川仁¹、駒井三千夫¹
（¹東北大・院農・栄養学、²秋田農技セ・総食研、³坂本バイオ）

31) 発表学会：2009 年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009 年 3 月 29 日、福岡国際会議場（福岡市）

発表者：葺澤 悟、北岡 本光、小笠原 博信¹、高橋 砂織¹
（農研機構・食総研、¹秋田県農技セ・総食研）

演題名：原核微生物由来 D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ（Paenidase）の
大腸菌における機能発現

32) 発表学会：2009 年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009 年 3 月 29 日、福岡国際会議場（福岡市）

演題名：大豆由来レニン阻害物質

発表者：高橋砂織¹、堀一之¹、新保守²、樋渡一之¹、後藤猛³、
山田清繁² ¹秋田県農林水産技術センター総合食品研究所、
²株式会社ヤマダフーズ、³秋田大学工学資源学部

1. 発表学会 : 第 62 回 日本栄養・食糧学会大会

発表日と場所: 2008 年 5 月 4 日、女子栄養大学(埼玉県坂戸市)

演題名: マイタケプロテアーゼの利用と非利用

発表者: 樋渡一之¹、塚本研一¹、加賀屋明良²、堀一之¹、高橋慶太郎¹、
井上俊三²、大能俊久¹、熊谷昌則¹、高橋砂織¹

¹秋田農水技セ・総食研、²秋田十條化成

【目的】マイタケは非常に強い耐熱性プロテアーゼ活性を持っていることが知られ、その活性のために茶碗蒸しに入れると卵液が固まらないほどである。そのため、パン・麺類といったタンパク質の物性を利用した食品への応用は困難であった。そこで、マイタケの利用範囲を拡大することを目指して、プロテアーゼ活性を低減した乾燥マイタケ(プロテアーゼフリーマイタケ)の調製法を検討した。一方、秋田県の特産品の一つであるしょっつる(魚醤油)は魚を原料とした醤油状の伝1統的調味料であるが、熟成までに長期間を要することが問題となっている。これを解決するため、マイタケの強力なプロテアーゼ活性を利用した魚醤油の速醸法について検討した。

【方法】エンドペプチダーゼ活性はカゼイン - フォーリン法で、アミノペプチダーゼ活性は合成基質を用いて測定した。1)マイタケのプロテアーゼ活性について、DEAE-Sepharose CL-6B カラムによるプロファイリングを行った。2)プロテアーゼフリーマイタケを調製するため、各種活性低減条件を設定し、検討した。3)魚醤油はハタハタ(*Arctoscopus japonicus*)に食塩を 30% 加えたもの(A)、これにさらにプロテアーゼフリーマイタケ(B)/乾燥マイタケ(C)を添加したもの、以上 3 種を製造した。数週間ごとに全窒素、遊離アミノ酸とプロテアーゼ活性をそれぞれ測定した。

【結果】1)少なくとも5種のプロテアーゼが確認され、うち1種の新規酵素についてその性質が明らかになった。2)マイタケの加熱処理条件を工夫することで、水溶性成分を保持し、かつプロテアーゼ活性をほぼ完全に失活させることに成功した。3) A,B に比べて C は外見上でも明らかに熟成が進んでいることが確認され、全窒素、遊離アミノ酸量も高かった。C におけるマイタケ由来のプロテアーゼ活性は実験期間中ほとんど低下がみられないことから、魚体のタンパク質の分解に寄与しているものと考えられた。

【考察】プロテアーゼフリーマイタケは、タンパク質利用食品へ直接添加可能であることが示された。マイタケによる魚醤油の速醸が可能であることが示された。

2. 発表学会：秋田応用生命科学研究会第 13 回学術講演会

発表日と場所：2008 年 5 月 23 日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：昆虫細胞-バキュロウイルス発現系によるプロレニン発現および *in situ* プロセッシングによるレニン生成の挙動

発表者： 安和広乃，後藤猛，菊地賢一（秋田大・工資），
畠恵司，高橋砂織（秋田県農技セ・総食研）

[緒言]レニンはアンギオテンシノーゲンからアンギオテンシン を生成するアスパラギン酸プロテアーゼであり，血圧や体液・電解質の恒常性維持において重要な役割を担っている。活性型組換えヒトレニンは，大腸菌で発現したプロレニンをトリプシン処理して得ることができるが，封入体生成の問題がある。本研究では，ヒトプレプロレニン cDNA 導入バキュロウイルスを昆虫細胞に感染させてプロレニンの生産を試みた。その結果，発現した不活性プロレニンが intrinsic なプロテアーゼの作用により活性型レニンに変換される特異的な現象を見出したので報告する。

[実験方法]ヒトプレプロレニン遺伝子を導入した組換えバキュロウイルスは Bac-to-Bac バキュロウイルス発現システム(Invitrogen)により作製した。指数増殖期にある *Spodoptera frugiperda* (Sf-9)昆虫細胞を昆虫細胞無血清培地に懸濁させて組換えバキュロウイルスを種々の感染多重度(MOI)で接種し，28℃で旋回振盪培養した。生存率が 30%以下となるまで培養した後，細胞培養液中のプロレニン発現およびレニン生成を SDS-PAGE とウエスタンブロットにより分析した。レニン活性は蛍光自己消光基質 *N*-methylanthranil (Nma)-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu * Val-Ile-Thr-His-Lys-2,4 dinitrophenyl (Dnp)-D-Arg-D-Arg-NH₂ (*, ペプチド結合切断部位)を用い，プロテアーゼ阻害剤 Luepeptin と Pepstatin A の存在下で酵素反応溶液を 37℃で 30 分間インキュベートした後，励起波長 340 nm，測定波長 440 nm で蛍光強度を測定して求めた。

[結果と考察]MOI= 1 と 10 pfu/cell で感染させた Sf-9 の培養液についてウエスタンブロットを行なったところ，感染培養 2 日目からプロレニンのバンドが見られ，5 日目にプロレニンのバンドが消失してレニンに相当するバンドが現れた。さらに，レニン活性を測定したところ，活性は感染培養 4 日目から上昇して 5 日目に最大となり，ウエスタンブロットの結果とよく対応していた。この培養液をアフィニティカラムクロマトグラフィーにより精製し，その N 末アミノ酸配列を解析したところ，プレプロレニンの 68 番目と 69 番目のアミノ酸残基間で切断された活性型レニンであることがわかった。さらにウイルス感染培養条件を検討したところ，感染時の細胞密度 1×10^6 cells/ml, MOI= 1 pfu/cell の条件で最も高いレニン生成量が得られた。

次に，プロレニンからレニンの生成に関与する酵素について調べるために，このプロレニンの切断部位を有する人工基質を設計し，その酵素活性を調べた。その結果，酵素活性は感染培養前期には全く見られないが，4 日目から急激に上昇し始め，プロレニンの消失とレニン生成の挙動と良く対応していた。また，この酵素活性へのプロテアーゼ阻害剤の影響を調べたところ Luepeptin で強く阻害されることがわかった。これより，この感染培養後期に生成されるバキュロウイルス感染昆虫細胞由来のシステインプロテアーゼがプロレニンからレニンへの変換に関与しているものと考えられる。

3. 発表学会：第 22 回キチン・キトサン・シンポジウム

発表日と場所：2008 年 8 月 5 日、朱鷺メッセ（新潟市）

演題名：GlcNAc 2-エピメラーゼ（レニン結合タンパク質）の構造と機能に関わるヌクレオチドの役割について

発表者：高橋砂織、堀 一之（秋田県総合食品研究所）

【緒言】レニン結合タンパク質(RnBP)は、内在性のレニン阻害タンパク質で、主に腎臓で生合成され、レニン・RnBP ヘテロダイマーを形成して、レニン活性を強く阻害することが示されている [app $K_i = 0.2$ nM]。約 10 年前、RnBP が GlcNAc と ManNAc との相互変換を触媒する GlcNAc 2-エピメラーゼ活性を持つことが示され、多機能タンパク質として注目されている [1, 2]。GlcNAc 2-エピメラーゼの活性発現にはヌクレオチドの添加が必要とされるが、その役割については不明であった。そこで、本研究では、各種動物由来 GlcNAc 2-エピメラーゼの組換え型酵素や部位変異体の作成を行い、GlcNAc 2-エピメラーゼ活性やレニンとの相互作用に及ぼす各種ヌクレオチドの影響を検討した。

【実験方法】組換え型のヒト、ラット及びブタ GlcNAc 2-エピメラーゼ及びその変異体は大腸菌 JM109 で発現した [2-4]。GlcNAc 2-エピメラーゼの活性は、ManNAc を基質とし、生じた GlcNAc を *N*-アシルヘキソサミン酸化酵素とペルオキシダーゼとの共役系で測定した [5]。レニン活性は、血漿由来アンギオテンシノーゲンを基質とし、生じたアンギオテンシン I をラジオイムノアッセイにて測定した [6, 7]。

【結果および考察】各種動物由来組換え型 GlcNAc 2-エピメラーゼはヌクレオチド非存在下では活性を示さず、ATP, dATP, ddATP, ADP や GTP などの添加により活性を発現した。サーモライシンに対する抵抗性を検討したところ、ヌクレオチドが存在しない場合には GlcNAc 2-エピメラーゼが速やかに分解されるのに対して、活性を発現するヌクレオチドが存在する場合には、その分解が抑制されることが明らかとなった。また、各種キメラ酵素や部位変位体作成による解析から分子の中央領域、特に 171 残基目のアミノ酸残基がヌクレオチドの結合に重要であることが示された。一方、レニンとの相互作用に及ぼすヌクレオチドの影響に関して検討した結果、ヌクレオチドが存在する場合には、GlcNAc 2-エピメラーゼ(RnBP)によるレニン活性阻害の抑制が観察された。さらに、ATP の存在下では、レニンと RnBP との複合体である高分子型レニンの形成が阻害されることが示された。一方、SH 基のアルキル化試薬である NEM 添加で GlcNAc 2-エピメラーゼ活性が強く阻害され、この時ダイマーからモノマーへの解離がおこることが示された。これに対して、ヌクレオチドが存在する場合には、NEM を添加しても活性が保持され、このときはダイマーのまま保持されることが明らかとなった。以上の結果から、ヌクレオチドが存在する場合には GlcNAc 2-エピメラーゼのダイマー構造が安定化し、これにより活性が発現するとともに、逆にレニンとの結合が阻害されることが示された。

【参考文献】[1] S. Takahashi *et al.* *Advances in Chitin Science* **8**, 178-184 (1998), [2] S. Takahashi *et al.* *J. Biochem.*, **125**, 348-353 (1999), [3] S. Takahashi *et al.* *J. Biochem.*, **129**, 529-535 (2001), [4] S. Takahashi *et al.* *J. Biochem.*, **130**, 815-821 (2001), [5] S. Takahashi *et al.* *J. Biochem.*, **128**, 951-956 (2000), [6] K. Murakami *et al.* *Biomed. Res.*, **1**, 392-399 (1980), [7] S. Takahashi *et al.* *J. Biochem.*, **140**, 725-730 (2006).

4. 発表学会：日本食品工学会第9回年次大会

発表日と場所：2008年8月5日、東京海洋大学（東京都）

演題名：圧力可変ジュール加熱装置の開発と新規多孔質食品製造への応用

発表者：高橋 徹、熊谷昌則、秋山美展*（秋田農技セ総食研，秋田県立大*）

【目的】ジュール加熱（通電加熱）法は、温度制御精度の高さや熱効率の良さなどの多くの利点を有しており、装置が小型、安価で汎用性にも富むことから、中小零細の食品メーカーの製造技術革新に大きく貢献することが期待されている。本研究では、減圧または加圧下でのジュール加熱操作を可能にするための装置開発と、本装置による食品の物性改良や機能性付加を目的とした。

【方法と結果】実験に用いた装置は加減圧容器、加減圧ポンプ、ジュール加熱容器で構成され、 -0.05MPa から 0.2MPa までの加減圧処理が可能である。用いたジュール加熱容器のサイズは、 $7.9 \times 4.3 \times 10\text{cm}$ である。市販のホットケーキミックス（森永製菓）50g に全卵 12.5g と水 37.5g の割合（計 100g）で調製した。本装置での加熱条件は昇温 5 分で 100 達温後、10 分間保持とし、常圧加熱（コントロール）、減圧加熱（ -0.03MPa ）、加圧加熱（ 0.03MPa ）の 3 試験区でスポンジケーキを調製した。減圧加熱時は系の水の飽和水蒸気圧が低下するため、生地温度の上限は 90 程度であった。目視による観察から、減圧加熱のケーキの内相は粗で、加圧加熱のケーキの内相は密であることが常圧加熱との比較から明らかになった。また、スポンジケーキの高さ、比容積、焼減率（加熱減量）から、本装置のように加熱時の圧力を調整することで、特徴を有するケーキの調製の可能性が確認された。

5. 発表学会：日本農業農村工学会大会

発表日と場所：2008年8月27日、秋田県立大学（秋田市）

演題名：セルロース系バイオマスからのバイオエタノール生産

発表者：進藤 昌

研究の背景

バイオエタノールは、植物由来であるため過剰な炭酸ガスの排出が無く、地球温暖化防止の切り札として注目されている。日本の場合、バイオエタノールの原料として食料と競合しない、雑草や稲ワラなどのような草本系バイオマスと間伐材や廃木材などのような木質系バイオマスを利用するのが望ましいと考えられている。しかし、これらバイオマスからバイオエタノールを生産することは、トウモロコシなどの澱粉系穀物に比較して技術的に難しい点が多い。間伐材や林地残材の場合、国内での発生量は760万トンを超えており、稲わらでは900万トンを超える。これらをバイオエタノールに変換することは資源の乏しい日本にとって有用なことである。セルロース系バイオマスの多くは、6炭糖と5炭糖で構成されており、効率的にバイオエタノールに変換するためには、構成糖を全てバイオエタノールに変換することが不可欠である。しかし、5炭糖をバイオエタノールに変換することは困難である。遺伝子組換え菌を使用する場合には、アルコール耐性の問題や自然界に無い菌を用いるため、外部に菌が漏れないように発酵タンクの設備を厳重にする必要性などからコスト高は否めない。我々は、これまでに草本系バイオマスと木質系バイオマスからバイオエタノールを生産する研究に取り組み、食品工場の生ゴミや秋田杉の間伐材から効率よくバイオエタノール生産する技術開発に成功した。

研究の成果

ビール粕からのバイオエタノール生産

ビール粕は $30\text{kg}/\text{cm}^2$ で1分間の爆砕処理することにより可溶化する事ができ、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、グルコアミラーゼで処理することによりグルコース、キシロース、アラビノースで構成された可溶化液を得ることができた。ヘキソースからのエタノール生産を *S. cerevisiae*、ペントースからのエタノール生産を *P. stipitis* に行わせるために、それぞれの酵母をガラスビーズに高濃度に固定化して発酵を行わせたところ、ヘキソースが完全に消費された後ペントースからのエタノール生産が行なわれ、全糖濃度 17% に調製した爆砕可溶化液から 5.8% (w/v) のエタノール溶液を得ることができた。

秋田杉からのバイオエタノール生産

微粉碎された秋田杉の糖化条件を検討し、メイセラゼとヘミセルラーゼを同時に作用させることによりマンノースとガラクトースの生産量が上昇することが判明した。秋田杉の糖化液は、グルコースとマンノースで全糖の 80% を占めており、これらの糖のエタノール変換を目的として *S. cerevisiae* を用いて並行複発酵を行い 6.1% (w/v) のエタノール得た。これにより 1t の乾燥秋田杉から 230L のバイオエタノールを生産できる。

6. 発表学会：日本食品科学工学会第 55 回大会

発表日と場所：2008 年 9 月 6 日、京都大学（京都府京都市）

演題名：S-S 結合還元剤による米飯テクスチャーの改良

発表者： 大能俊久、戸松誠、塚本研一、戸枝一喜（秋田農技セ・総食研）

【目的】これまで演者らは、古米を S-S 結合還元剤溶液で炊飯した場合に米飯テクスチャーが改良すること等を報告してきた。今年度は、加熱時脱離固形分量や、加熱時に脱離するタンパク質について詳しく調べ、S-S 結合還元剤による米飯テクスチャー改良の機構について検討を行った。

【方法】試料は、新米、または古米（精米貯蔵）を用い、米飯テクスチャーはテンシプレッサーで測定した。加熱時脱離固形分量は、米 5g に 8ml の各種溶液を加えて 1 時間浸漬してから 80 で 5 分加熱後、米粒を除いた溶液の乾燥重量を測定することで求めた。加熱時に脱離するタンパク質は、加熱時脱離固形分を SDS-PAGE に供し、CBB 染色することで調べた。

【結果】S-S 結合還元剤処理をすると加熱時脱離固形分量が多くなること、加熱時脱離固形分が多いほど米飯のバランス度（粘り / 硬さ）が高い傾向があることが分かった。加熱時脱離固形分の主成分はデンプンであることから、デンプン添加炊飯米のバランス度上昇が期待されたが、結果はほとんど効果がなかった。従って、単に加熱時脱離固形分を増加させるだけでは米飯のバランス度は上昇しないと判断した。一方、加熱時脱離固形分のタンパク質分析では、S-S 結合還元剤処理をするとグルテリン脱離量の増加が認められた。以上のことから、S-S 結合還元剤による米飯テクスチャーの改良には、グルテリンを蓄積するプロテインボディ の米粒表層からの脱離量の増加等の変化が関与すると考えられる。

7. 発表学会：第 55 回 日本食品科学工学会大会

発表日と場所：2008 年 9 月 7 日、京都大学（京都市）

演題名：昆虫細胞を用いた組換え型ヒトレニン発現系の構築とレニン阻害物質探索系の確立

発表者：高橋砂織¹、堀 一之¹、菊地賢一²、後藤 猛²

（¹秋田県農林水産技セ・総食研、²秋田大・工学資源）

【目的】

レニンは、レニン・アンギオテンシン系による昇圧機構において律速酵素として重要な役割を担っている。これまでレニン・アンギオテンシン系の制御を目的として活性測定が容易な、アンギオテンシン変換酵素をターゲットとして食物由来阻害物質の探索研究が行われてきた。しかしながら、レニン・アンギオテンシン系の律速酵素であるレニンに関しては、酵素入手の問題や活性測定法の煩雑さなどから、その研究は殆ど行われて来なかった。そこで、本研究では、組換え型ヒトレニンの昆虫細胞における発現系の構築と、発現酵素の精製法の確立、さらにそれを用いた阻害物質探索系の構築を目指した。

【方法】

Bac-to-Bac 法を用いて昆虫細胞組用換え型ヒトレニン発現ベクターを構築した。ヒトプロレニンを導入した組換えバキュロウイルスをヨトウガ由来の SF-9 細胞に感染させレニンの発現を行った。ヒトレニン活性は、新たに開発した蛍光消光基質(Nma-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*Val-Ile-Thr-Lys(Dnp)-D-Agr-D-Arg-NH₂)を用いて測定した。

【結果】

ヒトレニン発現用ウイルスを感染した昆虫細胞においては、培養初期ではプロレニンが発現した。さらに培養を継続し、感染後期になると活性型レニンの発現することを見出した。また、感染後期培養液を用いてレニンの迅速精製法を確立した。一方、新規蛍光消光基質と組換え型ヒトレニンを用いて各種食材よりレニン阻害物質を探索した。その結果、豆類などに阻害物質の存在することを見出した。

【参考論文】

1. Takahashi, S., *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**(12), 2913-2918 (2006)
2. Takahashi, S., *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**(10), 2610-2613 (2007)
3. Takahashi, S., *et al. J. Biol. Macromol.*, **7**(3), 49-54 (2007)

* 本研究の一部は豆類基金の補助金により行われました。

8. 発表学会:第55回日本栄養改善学会学術総会

発表日と場所:2008年9月7日、鎌倉女子大学(鎌倉市)

演題名:とろみ調整食品による食品のゾル化に伴う味質変化の評価 味覚センサの可能性について

発表者: 藤崎裕子¹、中村愛美²、佐藤文華³、熊谷昌則³、吉田智²、鈴木靖志²

¹東京サラヤ株式会社 ヘルスケア事業部、²サラヤ株式会社 商品開発本部、³秋田県農林水産技術センター総合食品研究所

医療・福祉施設における嚥下障害者へ液状食品を提供する際、誤嚥のリスクを低減させるため、いわゆる「とろみ調整食品」を用いて個々に適する粘性への調節が行われる。しかし、液状食品の多くはゾル化により、従来の食品とは異なる味を呈する。この現象は時として食品本来の美味しさを失い、その結果、食生活の質の低下、更には喫食量の低下につながりかねない。人間の感じる基本味は塩味、甘味、酸味、苦味、うま味に分類される。これら呈味物質に対する感覚は性別、年齢、食習慣、嗜好性、健康状態、精神状態などに影響される。そのため官能試験では訓練された者であっても客観性・再現性が難しく安定した評価をすることが困難である。そこで人間の味蕾細胞の機能を模倣した脂質膜センサを備え、センサ出力値をパターン認識して味を識別する味覚センサを用いて液状食品のゾル化に伴う味の変化を評価することを試みた。味覚センサでは7本のセンサを用いて人間の甘味を除く4味の強度とバランスならびに先味、後味を測定・評価することができる。今回、味覚センサとの相関性を確認するため併せて官能試験を行った。官能試験では、まず苦味、酸味、塩味の3味について訓練されたパネルの弁別閾を確認した後、ゾル化させた試料でも同様の試験を行い、ゾル化に伴う弁別閾の変化を確認した。その結果と味覚センサによる電位応答パターンの出力値を説明変数として変数選択重回帰分析を行ったところ、一定の相関が認められた。つまり、味覚センサによる味の数値化により、個体差に影響されことなく液状食品のゾル化に伴う味質変化を予測することが可能であることが示された。なお今回、とろみ調整食品の種類によって粘度の変化による味への影響が異なることがわかった。よって、とろみ調整食品の選択には粘性の評価ばかりではなく、味への影響度も配慮する必要があると考えられる。

9. 発表学会：2008 日本感性工学会年次大会

発表日と場所：2008 年 9 月 8 日 大妻女子大学（東京都）

演題名：経験価値創造による地域特産ブランド構築

発表者：高島 聡（秋田県農林水産技術センター 総合食品研究所）

1. はじめに

秋田県の最大の農産物である米をテーマに地域特産食品を開発し、それを経験価値創造手法によりブランド化することにより、地域特産ブランドとして構築することを検討したので、これについて報告する。

2. 米加工食品における経験価値創造～経験価値創造によるブランド化～

コロンビア大学のバーンド・H・シュミットは、その著書「経験価値マーケティング」のなかで、経験価値を「SENCE」,「FEEL」,「THINK」,「ACT」,「RELATE」の5つのモジュールに分類している。(1)本研究では、経験価値マーケティングのブランド構築手法を用いた。

3. 米加工食品における経験価値創造による地域特産ブランド構築の例～あきた純米ブランドの構築～

あきた純米ぱんの地域特産ブランドの構築を試みた。表1は米粉パン製品に付加し、あきた純米パンとしたときの経験価値モジュールである。

表1 あきた純米ぱんに付加する経験価値

分類	あきた純米パンに付加する経験価値
SENCE	・もちもちでしっとり感のある餅様の食感 ・ほんのり香るご飯の香り ・味わい深い米（秋田県産米）の旨味
FEEL	米でパンができることの驚き いつものパンと違う「日本人のための日本のパン」という優越感 「自然豊かな米どころ・あきた」への郷愁
THINK	米粉での製パン技術や職人技、うんちく 小麦粉パンにくらべ低カロリーであり、「腹持ちがよい」ことの健康への関心に対する知的刺激
ACT	国産原料使用、環境負荷も少ないことを選択するライフスタイルの差別化の自意識
RELATE	伝統的食品である米食を見直し、あたらしい食文化の創造することの喜び、満足感

4. まとめ

経験価値創造により地域特産ブランド構築を試みた。経験価値モジュールに従い5つのモジュールに対し、製品にモジュール項目を付加することによりブランド価値の高い地域特産食品の商品化が可能になると考えられた。

10. 発表学会：食品酵素化学研究会第8回学術講演会

発表日と場所：2008年9月8日、高知大学（高知市）

演題名：SF-9細胞におけるヒトレニンの発現とヒトレニン阻害物質探索系の構築

発表者：高橋砂織¹、堀 一之¹、菊地賢一²、後藤 猛²

（¹秋田県農林水産技セ・総食研、²秋田大・工学資源）

【目的】

レニン・アンギオテンシン系は、ほ乳類による最も重要な血圧調節機構である。レニンは、非常に特性の高いアスパルティックプロテアーゼで、アンギオテンシンノーゲンを唯一の基質とし、デカペプチドであるアンギオテンシン I (AI)を遊離させる。生じた AI は、アンギオテンシン変換酵素(ACE)により C 末端 2 残基が切除され活性型のアンギオテンシン I I (AII)が精製する。AII は、様々な系を介して血圧を上昇させることが知られている。これまで、活性測定が容易な ACE をターゲットとして食物由来阻害物質の探索研究が行われてきた。しかしながら、レニン・アンギオテンシン系の律速酵素であるレニンに関しては、酵素入手の問題や活性測定法の煩雑さなどから、食物由来レニン阻害物質の探索研究は殆ど行われて来なかった。そこで、本研究では、組換え型ヒトレニンの昆虫細胞における発現系の構築と、発現酵素の精製法の確立、さらにそれを用いた阻害物質探索系の構築を目指した。

【方法】

昆虫細胞組用換え型ヒトレニン発現ベクターの構築には Bac-to-Bac 法 (Invitrogen)を用いた。ヒトプロレニンを導入した組換えバキュロウイルスを Sf-9 細胞に感染させレニンの発現を行った。ヒトレニン活性の測定には、蛍光消光基質 (Nma-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*Val-Ile-Thr-Lys(Dnp)-D-Agr-D-Arg-NH₂)(ペプチド研究所にて依頼合成)を用いた。

【結果】ヒトプロレニンを導入した組換えバキュロウイルスを感染した昆虫細胞においては、培養初期にプロレニンの発現が観察された。また、感染後期には活性型レニンの発現することを見出した。そこで、感染後期培養液を用いてレニンの迅速精製法を確立した。一方、組換え型ヒトレニンをターゲットとして各種食材よりレニン阻害物質を探索した。

【参考論文】

1. Takahashi, S., *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**(12), 2913-2918 (2006)
2. Takahashi, S., *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**(10), 2610-2613 (2007)
3. Takahashi, S., *et al. J. Biol. Macromol.*, **7**(3), 49-54 (2007)

11. 発表学会 : The Pacific Rim Summit On Industry and Bioenergy

発表日と場所 : 2008年9月10日、Vancouver, Canada

演題名 : Production of bioethanol with novel two-step fermentation system using *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* from cellulosic biomass.

発表者 : Sho Shindo

Bioethanol is an ideal fuel for transportation use since it is easily transported, charged to vehicles, and carried on board. The conversion of biomass into energy and useful chemicals has gained considerable attention in recent years, due in part to the depletion of fossil fuel resources. Lignocellulosic biomass sources, such as agricultural and forestry residues, the major portion of municipal solid waste, and ultimately energy crops, have the potential to act feedstock for the sustainable production of organic liquid fuels. 7.6 million ton of forest residues were generated every year in Japan. It is thus environmentally and economically significant to consider the production of ethanol using forest residues. If forest residues could be efficiently used as raw materials for the production of bioethanol, a considerable reduction in costs would be possible. In addition, little fossil energy would be required in the overall cycle of cellulose production, bioethanol manufacture, and ethanol consumption, and limited, if any, net release of carbon dioxide would result. Although the discovery of xylose-fermenting yeasts has enhanced interest in the microbial conversion of renewable lignocellulosic resources to ethanol, various problems occurred in the development of an efficient fermentation: the main problem is that these yeast strains exhibit low ethanol-tolerance and low ethanol productivities from xylose, compared to those obtained from D-glucose with other microorganism. We reported that the novel bioethanol production system using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* from spent grain. However, it was difficult to produce the high concentration of ethanol because of low ethanol-tolerance of *Pichia stipitis*. To improve the efficiency of xylose fermentation, it is necessary to remove the ethanol from fermentation broth. We developed the novel ethanol production system using *S. cerevisiae* and *P. stipitis* from a mixture of glucose and xylose. Firstly, mixture of glucose and xylose was fermented by *S. cerevisiae*. When glucose was converted ethanol completely, the fermented broth was treated by gas-stripping method using CO₂ gas in order to remove the ethanol. Secondly, the treated broth was fermented by *P. Stipitis*. When two-step fermentation system was carried out using a mixture of 13 g/ L of glucose and 6 g/L of xylose, 6.1 g/L of ethanol was produced from glucose by *S. cerevisiae*. In this case, theoretical yield was 92%. Furthermore, 2.4g/L of ethanol was produced from xylose by *P. Stipitis*. In this case, theoretical yield was 72%. Finally, 8.5 g/ L of bioethanol was obtained from a mixture of 13 g/ L of glucose and 6 g/L of xylose. Furthermore, 2g of bioethanol was obtained from 35g of bagasse when the bioethanol production was done using two-step bioethanol production system from bagasse hydrolysate.

12. 発表学会：第4回 D-アミノ酸研究会学術講演会

発表日と場所：2008年9月19日、名古屋大学（名古屋市）

演題名：原核微生物由来 D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ（Paenidase）の
クローニングと発現

発表者：○葦澤悟、北岡本光（農研機構・食総研）

高橋砂織（秋田県農林水産技セ・総食研）

【目的】これまで、一部の細菌の細胞膜に D 型アミノ酸の存在することが知られていたが、近年、哺乳類の生体内にも遊離の D 型アミノ酸や D 型アミノ酸を含有するタンパク質の存在することが見出されている。さらに、これらの D 型アミノ酸が様々な病態と関連することが示唆されている。特に、D-アスパラギン酸が注目されており、アミロイドβタンパク質ではアスパラギン酸残基の D 型変異がアミロイドタンパク質の凝集を引き起こすことが示唆されている。高橋らは D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ生産菌（*Paenibacillus* sp. B38 株）を分離するとともに、生産する酵素を paenidase と命名し、その性質を明らかにした¹⁾。今回我々は、paenidase 前駆体遺伝子を単離するとともに、大腸菌において種々の penidase 遺伝子の発現を行った。また、paenidase の活性部位と推定されるアミノ酸残基の置換を行い、野生型 paenidase との比較を行った。

【方法】*Paenibacillus* sp. B38 株より単離したゲノム DNA を鋳型に thermal asymmetric interlaced (TAIL)-PCR 法により、paenidase 前駆体の未知配列を決定した。また、大腸菌における penidase 遺伝子の発現には pET-28a 及び *Escherichia coli* BL21(DE3)株を用いた。

【結果及び考察】TAIL-PCR 法により得られた DNA 断片の塩基配列を解析し、paenidase 前駆体の全アミノ酸配列を推定した。その結果、paenidase 前駆体は 322 アミノ酸残基からなる成熟領域と、197 アミノ酸残基からなる N 末端延長ペプチドから構成されていることが明らかになった。成熟領域のアミノ酸配列は種々の penicillin-binding protein と 35～39%の相同性が見られたが、N 末端延長ペプチド領域のそれとは相同性をもつタンパク質は見いだせなかった。つぎに、大腸菌において paenidase I、II、前駆体全長、及び種々の N 末端延長ペプチドデリベーションクローンを発現させたところ、すべて活性型酵素が得られた。得られた酵素は suc-[D-Asp]-MCA、suc-[D-Asp]-pNA を加水分解したが、suc-[D-Glu]-pNA、suc-[D-Ala]-pNA、suc-[D-Leu]-pNA、Ac-[D-Phe]-pNA には作用しなかった。さらに、アミノ酸配列の相同性より推定される活性部位 Ser、Lys、Tyr 残基を種々のアミノ酸に置換した変異体（S65A、S65C、K69A、K69I、Y149F）を作製した。得られた変異体はいずれも不活性型となったが、これらの CD 及び蛍光スペクトルは野生型のスペクトルと一致し立体構造の変化は見られなかった。このことから、paenidase においてもこれらのアミノ酸残基が paenidase の活性発現に重要な役割を果たしていることが示唆された。

【参考文献】1) S. Takahashi *et al.*, *J. Biochem.* **139**, 197-202 (2006)

13. 発表学会：平成 20 年度日本醸造学会大会

発表日と場所：2008 年 9 月 24 日、北とぴあ（東京都）

演題名：近赤外分析法による酒造原料米の乳酸可溶性タンパク質の測定

発表者：高橋仁¹，熊谷昌則¹，伊藤俊彦²，岩野君夫²，田口隆信¹

（¹秋田農林水産技セ・総食研，²秋田県立大）

【目的】清酒の呈味にアラニン，グルタミン酸，アスパラギン酸，アルギニンの 4 つのアミノ酸が関わっており¹⁾，酸可溶性タンパク質であるグルテリン含量の管理は清酒のアミノ酸生成に関する米タンパク質の影響を把握するために有効な手段と考えられる。原料米の粗タンパク質含量の簡易測定には近赤外分析法が広く用いられているが，本研究では米グルテリンを主体とする原料米の乳酸抽出液のタンパク質含量と原料米の近赤外スペクトルとの検量線の作成を検討した。

【方法】19 年産の秋田酒こまち及び精米歩合の異なる 6 品種（山田錦，五百万石，美山錦，雄町，秋田酒こまち，春陽）を試料とした。精米はパーレスト(ケット製)を用いた。米試料の乳酸抽出は室温において，玄米または白米粉末 0.5g に 0.1M 乳酸溶液 10ml を添加し，一晚浸透抽出後，遠心分離により得た上清を乳酸抽出液とした。乳酸抽出液のタンパク質量はプロテインアッセイ試薬(Bio-Rad 製)を用いた。近赤外分析は InfraAlyzer 500 (ブランルーベ製)を用いて 1100～2500nm の近赤外スペクトルを測定し，検量線の作成は，PLS 回帰法を用いた。

【結果】玄米における乳酸抽出液のタンパク質濃度は極端に低いが，精米が進むと増加し，精米歩合 80%においてピークを示した。SDS-PAGE により乳酸抽出タンパク質はグルテリンを主体とした可溶性タンパク質であることが確認された。玄米表層のアルブミンが精米により除去されることを考慮すると精米歩合 80%白米の乳酸抽出法は原料米の可溶性タンパク質を有効に測定しているものと考えられた。「秋田酒こまち」単独による精米歩合 80%白米粉末の近赤外原スペクトルから得られた乳酸可溶性タンパク質含量の PLS 回帰による検量線は，相関係数 $r = 0.95$ ，標準偏差 $SEC = 0.06$ (Factor8) となり，実用的な回帰精度が得られた。精米歩合の異なる 6 品種の原料米では品種により乳酸可溶性タンパク質含量のばらつきが見られ近赤外スペクトルによる PLS 回帰において高い相関は得られなかったが，0.1M 水酸化ナトリウムによる抽出液のタンパク質濃度とは高い相関を示した。

1) 岩野 君夫,高橋 和弘,伊藤 俊彦,中沢 伸重：醸協,99,659-664(2004)

14. 発表学会：平成 20 年度日本醸造学会大会

発表日と場所：2008 年 9 月 24 日、北とぴあ（東京都）

演題名：色素含有平板培地を用いた清酒酵母の判別と酵母混合発酵

発表者：渡辺誠衛、田口隆信、高橋仁、大野剛、杉本勇人

（秋田農林水産技セ・総食研）

【目的】清酒酵母の判別方法については多くの報告があるが、簡易で迅速で再現性の高い判別方法がなく、現場では酵母混合発酵を経験に頼っている部分が多い。そこで、個々の酵母の特性を把握した上で、色素を用いた平板培養法により酵母混合発酵中の酒母または醪中の酵母の簡易判別法を検討し、酵母の特性を生かした酵母混合発酵安定醸造の可能性を検討した。

【方法】 供試菌株は、吟醸酒用酵母の比較的発酵力が旺盛で比較的香りが穏やかなタイプ（Aタイプ）として3株、比較的発酵力が弱く香り（特にカプロン酸エチル）を多く生成するタイプ（Bタイプ）として3株の計6株を用いた。酵母の増殖特性は、バイオフォトレコーダーを用いて休眠時間、増殖速度係数、二倍増殖世代時間、最大酵母密度、最大生菌を求めた。酵母の判別は、27種類の色素を用いたYPD平板培地で、色素濃度・培養条件等について最適判別条件を検討した。酵母の種類と混合割合を変えた吟醸酒母および醪の小仕込試験を行い、色素含有平板培地で酵母の判別を行い、両酵母の挙動と製成酒の成分との関係を検討した。

【結果】 各酵母の増殖特性を調べた結果、大きく2グループに分かれ、同じ初発菌数でも最大酵母密度や最大生菌数が異なることが解かった。酵母の判別は、フロキシシンB含有のYPD平板培地を用いることにより、前記AタイプとBタイプを明確に判別することが可能であることが解った。酵母混合吟醸酒小仕込試験において、両酵母割合は仕込時に比べて発酵中を通して大きく変化しないことが明らかとなった。本法を用いることにより、酵母混合発酵中の酵母の挙動が明らかとなり、安定醸造が可能となった。さらに、製成酒の成分や酒質は、酵母の種類と混合割合を変えることにより、両酵母の有している能力範囲内で調整可能であることが明らかになった。

15. 発表学会：第 56 回レオロジー討論会

発表日と場所：2008 年 10 月 6 日、朱鷺メッセ（新潟市）

演題名：ハタハタ (*Arctoscopus japonicus*) 魚卵由来粘質物の物理化学特性
～魚卵硬化現象とでん粉との相互作用について～

発表者：秋田農技セ総食研 高橋 徹，塚本研一，熊谷昌則，戸枝一喜

【目的】冬期間に秋田県沿岸で漁獲されるハタハタの卵塊は曳糸性と独特の粘りがあり，その食感が好まれている．産卵された卵塊は卵同士の間で接着や，卵が硬化することが知られている．ところが，この硬化の機構や粘質物の物理特性については不明な点が多い．また，粘質物の加工特性等についても興味もたれている．そこで，粘質物の物理化学特性，卵塊の硬化機構，粘質物がでん粉の糊化・老化特性に与える影響を明らかにすることを目的とした．

【方法と結果】秋田県男鹿沖で漁獲された 3～4 歳の雌ハタハタを使用した．魚体から採取した卵塊は，70 の純水に浸漬・攪拌して魚卵部と粘質物とに分離した．ハタハタ卵粘質物（0.8%，1%SDS 溶液）の粘度は，応力制御型レオメーターを用いて測定した．海水の塩濃度に近く同じ浸透圧の塩溶液（3.8%KCl,4.2%CaCl₂,7.4%MgCl₂）および糖溶液（11.5% エリスリトール,16.7% グルコース,31.1% スクロース,34.2% トレハロース）に魚卵を浸漬した．トウモロコシでん粉（終濃度 6%）懸濁液に魚卵由来粘質物（終濃度 0.5%）を添加し，粘質物混合糊液をガラス製型に注入してゲルを調製した．魚卵とゲルの力学特性を単軸圧縮試験機にて測定した．

加熱による粘質物の粘度低下はキサントガムよりも小さかった．したがって，粘質物はキサントガムと比較して熱安定性が高いといえる．海水に含まれる主要な塩水溶液に浸漬すると卵はいずれも硬化したが，塩化ナトリウムならびに塩化カルシウムの効果が塩化マグネシウムならびに塩化カリウムよりも著しく大きかった．一方，各種糖水溶液に浸漬しても卵はほとんど硬化しなかった．3 で 14 日間保存後の粘質物を添加したトウモロコシでん粉ゲルの力学特性は，対照と比較して破断応力および破断ひずみが小さい特徴を示した．

16. 発表学会：化学系学協会東北大会

発表日と場所：2008年10月12日、八戸工業大学（八戸市）

演題名：味覚センサを用いた食品のゾル化に伴う味質変化の評価

発表者：熊谷昌則¹、佐藤文華¹、高橋徹¹、戸枝一喜¹、中村愛美²、吉田智²、鈴木靖志²（¹秋田県農林水産技術センター総合食品研究所、²サラヤ株式会社商品開発本部）

【目的】とろみ調整食品は、加齢や疾病などにより嚥下機能が低下した摂食・嚥下障害者に液状食品を提供する際に、経管から経口移行訓練目的や誤嚥や窒息のリスクを低減させる目的で用いられている。とろみ調整食品には、適度な粘性のみならず、添加前後でもとの食品の味を変化させないということも重要な特性のひとつとして求められている。そこで本研究では、特性の異なる複数の脂質高分子膜を味のトランスデューサとして用いるマルチチャンネル型味覚センサを用いて、食品のゾル化に伴う味質の変化について検討し、とろみ調整食品の品質評価への適用を試みた。

【方法】味覚センサはインテリジェントセンサーテクノロジー社の味認識装置 SA-402 を用いた。出力は、脂質膜センサと参照電極間の測定電位である。とろみ調整食品は、市販品 A ならびに B の 2 種類を供試し、塩味、酸味、うま味、苦味、渋味の呈味溶液への影響を調べるとともに、実際の添加食品として緑茶飲料とオレンジジュースに対する影響について調べた。

【結果と考察】とろみ調整食品を緑茶飲料に添加した場合、とろみ調整食品の違いにより、濃度に依存してセンサ応答値を変化させることが示された。一方、オレンジジュースに添加した場合には、とろみ調整食品による濃度に依存したセンサ応答値の変化は少なかった。一般に溶媒の濃度や粘性、ゾルやゲルの硬さが増すにつれて、呈味物質の閾値や味覚強度が弱められる傾向にあることが明らかにされている。とろみ調整食品の評価においても、単に粘性率を主体とした物性データの比較のみならず、味質への影響評価にも十分な配慮が重要である。味覚センサは、とろみ調整食品の味質への影響を客観的に評価する上で有効な手法として適用可能である。

17. 発表学会：20th FAOBMB Symposium

発表日と場所：2008年10月23日、陽明大学（台北市、台湾）

演題名：Processing of recombinant human prorenin expressed in Sf-9 cells

発表者： Saori Takahashi¹, Hirono Awa², Satoru Nirasawa³, Kazuyuki Hiwatashi¹, Ken-Ichi Kikuchi⁴, and Takeshi Gotoh⁴ (¹Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agriculture, Forestry, and Fisheries Research Center, 4-26 Sanuki, Arayamachi, Akita, 010-1623 Japan, ²Department of Materials-Process Engineering and Applied Chemistry for Environments, Akita University, 1-1 Tegata Gakuen-Cho, Akita, 010-8502, Japan, ³National Food Research Institute, 2-1-12, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8642 Japan, ⁴Department of Engineering in Applied Chemistry, Akita University, 1-1 Tegata Gakuen-Cho, Akita, 010-8502, Japan)

Renin-angiotensin system (RAS) is one of the most important blood control system in mammals. Renin is a highly specific aspartic proteinase mainly synthesized juxtaglomerular cells in the kidney cortex and released into the circulation by several stimuli. Renin catalyzes the liberation of decapeptide angiotensin I from plasma substrate angiotensinogen. The produced angiotensin I is an inactive peptide and activated by angiotensin converting enzyme. The enzyme cleaves C-terminus dipeptide from angiotensin I to produce active octapeptide peptide angiotensin II. The produced angiotensin II raises blood pressure by vasoconstriction as well as stimulation of the synthesis and release of aldosterone. Thus, renin is a key enzyme of RAS.

The expression of recombinant human (rh) renin was first demonstrated in *Escherichia coli* cells. The expressed rh-prorenin makes inclusion bodies and is hard to refold. Recently, we expressed rh-prorenin in *E. coli* cells as a fusion protein with thioredoxin. The expressed rh-prorenin was refolded by systematic dialysis and activated by trypsin. On the other hand, expressions of rh-prorenin in mammalian cells have also been reported. In these cases, major secreted protein was inactive prorenin and trypsin activation was essential for mature renin.

In the present study, we expressed rh-renin in insect Sf-9 cells by baculovirus system and found that active renin was accumulated in the very late stage of cultivation. The rh-renin was purified by 3-step column chromatographies including pepstatin-amino hexyl Sepharose column. The purified preparation showed a single protein band on SDS-PAGE with the apparent molecular of 40,000. The N-terminal sequence of the purified rh-renin (L-G-X-T-T-S-S-V-I-L-) was agreed with the N-terminal sequence from +3 to +12 of mature human renin. These data indicate that baculovirus infected Sf-9 cells contain unidentified prorenin processing enzyme (PPE). To monitor the PPE activity, we synthesized novel fluorogenic quenching substrate for PPE [Nma-L-T*L- G-N-K(Dnp)rr-NH₂ (*, scissile peptide bond; r, D-Arg)] from the cleavage site of rh-prorenin expressed in Sf-9 cells. PPE activity appeared in the culture medium concomitant with the appearance of active renin. The PPE activity was inhibited by cysteine protease inhibitor such as NEM, leupeptin, and E-64. These results indicate that rh-prorenin expressed in Sf-9 cells processes to mature renin by novel cysteine proteinase PPE.

18. 発表学会： 第 42 回 日本栄養・食糧学会東北支部大会

発表日と場所： 2008 年 11 月 8 日、郡山女子大学(福島県郡山市)

演題名： ヤマブシタケの高脂肪食負荷マウスにおける脂質代謝改善作用

発表者： 樋渡一之^{1,2}、小坂靖幸³、鈴木奈緒²、畠恵司²、

向山俊之³、坂本賢二³、白川仁¹、駒井三千夫¹

(¹東北大・院農・栄養学、²秋田農技セ・総食研、³坂本バイオ)

【背景】

メタボリックシンドロームとは、内臓脂肪の蓄積に加えて、高血糖、高血圧、脂質代謝異常のうち2つ以上を合併した状態とのことである。現在国内の該当者は 1000 万人以上とされており、大きな社会問題となっている。そこで我々はメタボリックシンドロームの予防に資することを目的として、食品由来成分の脂質代謝改善作用に関する研究を行っている。今回は、伝承的に脂質代謝改善作用があるとされているヤマブシタケ(*Hericium erinaceum*)の効果について検証し、その作用メカニズム解明を試みた。

【方法】

ヤマブシタケの熱風乾燥粉末 200g を 4L の熱水(85)に入れ、温度を保ちつつ 2 時間攪拌抽出した。抽出液を吸引濾過後、凍結乾燥して熱水抽出物とした。ヤマブシタケ粉末 400g をエタノール 8L に入れて 16 時間室温抽出し、抽出液を吸引濾過後、ロータリーエバポレーターでエタノールを留去したものをエタノール抽出物とした。

8 週齢の C57BL/6J マウスに、日本クレア製高脂肪飼料 HFD32(C 群)、ヤマブシタケ熱水抽出物を 2% 含む HFD32(HW 群)、ヤマブシタケエタノール抽出物を 2% 含む HFD32(EtOH 群)を自由摂食させた。4 週間の飼育後、16 時間絶食させて解剖に供した。組織重量、各種血液生化学値を測定するとともに、肝臓での遺伝子発現の変化をリアルタイム PCR で解析した。

ヤマブシタケ抽出物について、ペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体 (PPAR α)のリガンド活性をレセプター・コファクターアッセイシステム(エンバイオテックラボラトリーズ社)にて測定した。

【結果】

3 群間のマウスの摂食量にはほとんど差がなかったにもかかわらず、C 群に比べて HW 群、EtOH 群で有意に体重増加が抑制された。HW 群、EtOH 群では、肝臓と腸間膜脂肪組織の重量が有意に減少し、血清トリグリセリド濃度も有意に低下した。

PPAR α のリガンドアッセイによって、ヤマブシタケエタノール抽出物にリガンド活性が認められた。そこで、C 群と EtOH 群における PPAR α 遺伝子および PPAR α によって制御される遺伝子の肝臓での発現量の変化を測定した。その結果、PPAR α の発現量には変化が認められなかったが、acyl-CoA dehydrogenase、fatty acid transport protein 4、lipoprotein lipase の発現量が有意に増加していた。

以上の結果により、ヤマブシタケは高脂肪食負荷マウスの脂質代謝を改善することが示され、そのメカニズムはヤマブシタケに含まれる PPAR α リガンドが肝臓中の脂質代謝関連遺伝子の発現を上昇させることによるものであることが示唆された。

19. 発表学会：8th International Symposium on the Role of Soy in Health Promotion and Chronic Disease Prevention and Treatment

発表日と場所：2008 月 11 月 11 日、Hilton Tokyo (東京都)

演題名：Human renin inhibitory activity in miso, soybean, and minor legumes.

発表者： Saori Takahashi¹, Kazuyuki Hori¹, Hironobu Ogasawara¹, Masanori Kumagai¹, Takayuki Watanabe¹, and Takeshi Gotoh² (¹Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agriculture, Forestry, and Fisheries Research Center, ²Department of Engineering in Applied Chemistry, Akita University)

Renin catalyzes the liberation of angiotensin I (AI) from angiotensinogen. Angiotensin converting enzyme (ACE) cleaves C-terminus dipeptide from AI to produce active peptide angiotensin II (AII). AII raises blood pressure by vasoconstriction as well as stimulation of the synthesis and release of aldosterone. Thus, renin is a key enzyme of RAS. ACE has been used as a target enzyme in RAS for screening inhibitors of its simple assay method; however, renin is a rate-limiting enzyme in RAS, so it was not used because the measurement is very complicated. In the present study, we expressed recombinant human renin in *Escherichia coli* cells, refolded and activated by trypsin. Using the recombinant human renin as a target enzyme, we screened the renin inhibitory activity in fermented soybean paste (miso) and found that soybean, the major ingredient of miso had renin inhibitory activity. Moreover, the effects of minor legume (legumes except soybean and peanut) extracts on human renin activity were investigated. We used 15 minor legumes including 6 genera and found that they had renin inhibitory activity. Partial clustering analysis of the inhibitory data showed that minor legumes could be classified into two groups according to their renin inhibitory activity.

20. 発表学会：秋田応用生命科学研究会 第14回学術講演会

発表日と場所：2008年11月14日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：昆虫細胞発現系によるプロレニンプロセッシング酵素の特性解析

発表者：安和広乃，後藤猛，菊地賢一（秋田大・工資），
高橋砂織（秋田県農技セ・総食研）

[緒言]

レニンはアンギオテンシノーゲンからアンギオテンシン α を生成するアスパラギン酸プロテアーゼであり、血圧や体液・電解質の恒常性維持において重要な役割を担っている。組換え型ヒトレニンは、大腸菌で発現し巻き戻したプロレニンをトリプシン処理して得ることができるが、封入体生成の問題がある。我々は、ヒトプレプロレニン cDNA 導入バキュロウイルスを昆虫細胞に感染させた結果、発現したプロレニンが培養後期に intrinsic なプロテアーゼの作用によりレニンに変換される特異的な現象を見出した¹⁾。本研究では、このプロレニンからレニンへの変換に關与するプロレニンプロセッシング酵素(PPE)の特性を調べたので報告する。

[実験方法]

Spodoptera flugiperda Sf-9 昆虫細胞の懸濁液にヒトプレプロレニン遺伝子導入バキュロウイルスを種々の感染多重度(MOI)で接種し、生存率が30%以下となるまで28 \square で旋回振盪培養した。レニンおよび PPE の活性測定には、蛍光自己消光基質 Nma-IHPFHL * VITHK(Dnp)rr-NH₂ 及び Nam-LT*LGNK(Dnp)rr-NH₂ (*, ペプチド結合切断部位; r, D-Arg)を用いた。すなわち、酵素反応溶液を37 \square で30分間インキュベートした後、励起波長340 nm、測定波長440 nm で蛍光強度を測定して求めた。また、PPE は、Pepstatin-aminohexyl Sepharose カラム、Sephacryl S-100HR カラムさらに Mono Q カラムを用いて部分精製した。

[結果と考察]

ウイルス感染 Sf-9 細胞培養液から精製したレニンの N 末アミノ酸配列を基に蛍光自己消光基質を設計し、MOI 1 pfu/cell における感染培養液中の PPE 活性を測定した。その結果、PPE 活性は感染培養前期には全く見られないが、感染培養4日目から急激に上昇して5日目に最大となることが分かった。これはウエスタンブロット解析におけるプロレニン及びレニンの発現パターンと良く対応していた。

感染培養5日目の培養液を用いて、PPE を部分精製した。SDS-PAGE 分析の結果、PPE の分子量は32 kDa と推定された。これを用いて、同じく部分精製したプロレニンと反応して活性化について検討した。その結果、プロレニンは、PPE の濃度依存的にレニンに変換し、これに対応してレニン活性が出現することが示された。以上の結果より、PPE がプロレニンをレニンに変換することが示された。一方、得られた部分精製 PPE を用いてプロテアーゼ阻害剤の影響を調べたところ、PPE は E-64 およびロイペプチンで強く阻害されたが、ペプスタチン A, DFP, EDTA では阻害されなかった。

以上より、PPE は Sf-9 のバキュロウイルス感染培養後期に生産されるシステインプロテアーゼであることが分かった。

[参考文献]

1) S. Takahashi et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2610-2613 (2007)

21. 発表学会：第8回糸状菌分子生物学コンファレンス

発表日と場所：2008年11月18日、石川県文教会館（金沢市）

演題名：麹菌(*Aspergillus oryzae*)分生胞子のストレス処理による mRNA スプライシング阻害と DNA トランスポゾン *Crawler* の転移活性化

発表者：小笠原 博信¹、秦 洋二²、高橋 砂織¹、五味 勝也³

(¹秋田県農技セ総食研・酵素微生物、²月桂冠・総研、³東北大院農・生物産業創成)

【目的】麹菌の活性型 DNA トランスポゾン *Crawler* は、分生胞子での Cu²⁺ や高温などのストレス処理によって転移活性を発現する。このとき、*Crawler*-mRNA はスプライシングや poly(A) 付加を受けた不完全な分子種が減少しインタクトな全長 mRNA 比率が増加することが認められ、*Crawler* の転移促進につながるものと推定された¹⁾。そこで、トランスポゾン転移活性に対する制御機構の解明を目的に、*Crawler* 転移条件下での種々遺伝子の mRNA スプライシングに及ぼすストレス処理の影響について検討した。

【方法と結果】転移促進を引き起こす Cu²⁺ や高温ストレス処理後の分生胞子より total RNA を抽出し、RT-PCR によりスプライシングの有無を観察した。その結果、*gpdA* など代謝に関わる遺伝子ではストレスにより発現量の低下はあるものの正常なスプライシングを受けていることが認められた。一方、*actin* などの細胞構造に関わる遺伝子ではスプライシングが阻害された mRNA が検出された。さらに、スプライシング・ファクターに関連する遺伝子においても、Cu²⁺ および高温ストレスによって多くの遺伝子でスプライシング阻害が起きていることが明らかとなったことから、スプライシング・ファクターの機能阻害により *Crawler* の転移活性化が促進されるものと推定された。1)小笠原・他，糸状菌分子生物学コンファレンス要旨,p52(2007)

22. 発表学会：The 21st Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology

発表日と場所：2008年11月26日、福岡国際会議場（福岡市）

演題名：EFFECTS OF LUPEOL ON MELANOMA IN VITRO AND IN VIVO

発表者：Keishi Hata¹, Kikumi Ogihara², Saori Takahashi¹, Takeshi Tsuka³, Saburo Minami³, Yoshiharu Okamoto³

¹Institute for Food & Brewing, Akita Prefectural Agricultural, Forestry, and Fisheries Research Center, ²Department of Pathology, Azabu University, ³Department of Veterinary Clinical Medicine, School of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori University

Lupeol, a lupane triterpene, is widely distributed in plant kingdom, and recently found to suppress the tumor progressions *in vitro* and *in vivo*. We previously demonstrated that lupeol induced mouse melanoma cell differentiation. In the present study, we evaluated the inhibitory effect of lupeol on melanoma cell migration *in vitro*, and examined the clinical effects of lupeol on dogs with spontaneous melanoma.

Lupeol induced the dendrite formations of B16 2F2 mouse melanoma cells by disruption of stress fiber assembly. It has been reported that disruptions in actin fiber assembly are involved in cancer cell motility and invasion. Therefore, we investigated the effect of lupeol on B16 2F2 cell motility in a cell migration assay. As the results, lupeol markedly inhibited the haptotaxis of B16 2F2 cells to fibronectin in a dose-dependent manner. Additionally, lupeol strongly inhibited the migration of human melanoma and neuroblastoma cells, and weakly suppressed the migration of lung adenocarcinoma cells. These results suggested that lupeol selectively suppressed the migration of melanoma and neuroblastoma cells. Furthermore, we examined the clinical effects of lupeol on the dogs with spontaneous melanoma. The repeat treatments with lupeol took some actions on 6 cases of 7 dogs with malignant melanomas. Especially, lupeol seemed to be more effective against the melanomas metastasizing to mandibular lymph nodes than those at primary sites

23. 発表学会：HPLC2008 Kyoto: The 33rd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques

発表日と場所：2008年12月3日、京都大学（京都市）

演題名：Analysis of lipoprotein profiles in culture medium of hepatoma cells by LipoSEARCH®; in vitro system for screening anti-hyperlipidemic drug

発表者：Mizuho Itoh¹, Yukie Abe¹, Yuka Iwama¹, Fumiko Kimura¹, Mayumi Satho¹, Mayumi Shoji¹, Junichiro Takahashi¹, Gen Toshima¹, Hiroki Sasaki¹, Keishi Hata²

¹Skylight Biotech Inc., ²Institute for Food & Brewing, Akita Prefectural Agricultural, Forestry, and Fisheries Research Center

The determinations of serum triglyceride (TG) and cholesterol levels are important in the study and cure of hyperlipidemia. We previously developed the determination system of serum TG and cholesterol concentrations after the separation into major and/or minor classes of lipoproteins by HPLC system (LipoSEARCH®). In the present study, we examined the lipoprotein profiles in culture medium of HepG2 human hepatoma cells, and the effects of anti-hyperlipidemic drugs on the lipid biosynthesis of the cells.

Lipoproteins (VLDL, LDL and HDL) in the culture media were separated on a gel permeation HPLC system, and the effluents were continuously monitored after an online enzymatic reaction for TG and for cholesterol. TG and cholesterol concentrations in lipoproteins were calculated using our own computer program.

Total TG contents in culture medium of HepG2 cells increased approximately 2.2 folds for 4 days; however the levels of cholesterol were constant. We studied the effects of anti-hyperlipidemia drugs, on the TG and cholesterol releases from HepG2 cells. Simvastatin, selectively inhibited the cholesterol release from cells. Fenofibrate, which is known to suppress the TG and cholesterol synthesis in vivo, reduced TG and cholesterol levels in the culture medium of HepG2 cells. These findings revealed that and TG and cholesterol in 3 major classes of lipoproteins from HepG2 cells were determinable by LipoSEARCH®, and this system is useful tool for screening the anti-hyperlipidemic compound.

24. 発表学会：第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会

発表日と場所：2008年12月10日、神戸国際会議場（神戸市）

演題名：Functional expression of bacterial D-aspartyl endopeptidase (paenidase) in *Escherichia coli*

発表者：Satoru Nirasawa¹, Mika Saito¹, Motomitsu Kitaoka¹, Saori Takahashi²

(¹National Food Research Institute, Tsukuba, ²Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agriculture, Forestry, and Fisheries Research Center)

Paenidase is the first microorganism-derived D-aspartyl endopeptidase that specifically recognizes an internal D-Asp residue to cleave [D-Asp]-X peptide bonds¹⁾. In this study, the whole gene of paenidase precursor was cloned by PCR and expressed in *E. coli* to investigate the structure and function of the enzyme. The unknown sequence of the paenidase precursor gene was obtained by thermal asymmetric interlaced PCR (TAIL-PCR). Nucleotide sequencing of the amplified fragments revealed that the paenidase precursor was consisted of 322 amino acid residues of the mature region and 197 amino acid residues of the N-terminal extension peptide. Although amino acid sequence similarity was confirmed between the mature region of paenidase and several penicillin binding proteins (PBP), no sequence similarity was found in the N-terminal extension peptide based on a BLAST database search. *E. coli* transformed by plasmid coding the paenidase precursor or mature paenidase produced the proteins as soluble form and the suc-[D-Asp]-MCA-hydrolysis activity was detected. In addition, obtained enzymes also hydrolyzed suc-[D-Asp]-pNA but not suc-[D-Ala]-pNA, suc-[D-Leu]-pNA and suc-[D-Glu]-pNA. Moreover, several mutants for the putative active site residues (Ser, Lys and Tyr) of the paenidase were constructed and expressed in *E. coli* cells, whereas they showed no peptidase activity. CD and fluorescence spectra of the mutants were identical with those of the wild type. These results indicate that these residues of the paenidase are essential for the enzyme activity. 1) S. Takahashi *et al.*, *J. Biochem.* **139**,197-202, 2006.

25. 発表学会：第 31 回日本分子生物学会・第 81 回日本生化学会合同大会

発表日と場所：2008 年 12 月 10 日、神戸国際会議場（神戸市）

演題名：Prorenin processing enzyme in baculovirus-infected Sf-9 cells.

発表者：Hirono AWA¹, Takeshi GOTOH², Ken-Ichi KIKUCHI², Satoru NIRASAWA³, and Saori TAKAHASHI⁴. ¹Department of Materials-Process Engineering and Applied Chemistry for Environments, Akita University, ²Department of Engineering in Applied Chemistry, Akita University, ³National Food Research Institute, ⁴Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agricultural, Forestry, and Fisheries

Renin [EC 3. 4. 23. 15] is a highly specific aspartic proteinase mainly synthesized in juxtaglomerular cells in the kidney. The enzyme catalyzes the release of angiotensin I from angiotensinogen, which is important for the regulation of blood pressure and electrolyte balance. We have reported that inactive recombinant human (rh) prorenin was expressed and intrinsically processed to mature active rh-renin in the very late stage of cultivation, when Sf-9 cells were infected with recombinant baculovirus (vhpR) that has human preprorenin cDNA fused into the polyhedrin gene¹). In the present study, we examined a prorenin processing enzyme (PPE) that would be responsible for the processing by using a novel fluorescence-quenching substrate, Nma-Leu-Thr*Leu-Gly-Asn-Lys(Dnp)-[D-Arg]-[D-Arg]-NH₂ (*, scissile peptide band), that was designed on the basis of the N-terminal amino acid sequence of the purified rh-renin. In vhpR-infected Sf-9 cultures at MOIs of 1 and 10 pfu/cell, the PPE activity that was negligible in the early-to-late stage of the cultivation began to increase at 4 days post infection (dpi) and reached the maximum at 5 dpi, coinciding with the generation of active rh-renin that was determined by Western blot analysis and renin assay. The PPE activity was inhibited by luepeptin and E-64. On the other hand, pepstatin A, DFP and EDTA had no effect on PPE activity. These results indicate that PPE is classified into the cysteine protease family. The purification and characterization of PPE are now in progress.

1) S. Takahashi *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71** (10), 2610-2613, 2007.

26. 発表学会：BMB2008（第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会）

発表日と場所：2008 年 12 月 12 日 神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）

演題名：タラノ芽由来抗腫瘍性タンパク質 aralin に対する膜レセプターの特性化

発表者：後藤良隆¹、戸松 誠²、飯田直幸³、服部 成^{3,4}、川崎 靖¹、田代文夫¹

（¹東理大・基礎工・生物工、²秋田農技セ・総食研、³北里大・薬・生化、⁴東大・医科研・細胞ゲノム）

Ribosome-inactivating protein (RIP)は、レクチン活性とリボソームの切断を介して、タンパク質合成を阻害する *N*-グリコシダーゼ活性により細胞傷害活性を発揮し、癌治療への応用が古くから研究されている。タラノ芽 (*Aralia elata*) より精製された抗腫瘍性タンパク質 aralin は猛毒である ricin と相同性があり、その細胞傷害性機構が類似することから aralin も RIP に属すると考えられている。また aralin は癌細胞の膜に存在するガラクトースを含む糖鎖を認識し、癌細胞に選択的に傷害を引き起こす。しかしながら aralin の癌細胞選択毒性の詳細な機構は不明である。本研究では癌細胞選択的毒性に関与すると考えられる aralin レセプターの特性化を試みた。Cy3 で標識した Cy3-aralin をヒト正常繊維芽細胞 WI-38 およびその SV-40 形質転換体 VA-13 細胞、ヒト子宮頸癌 HeLa 細胞へ添加し、蛍光顕微鏡とフローサイトメトリーで解析した。その結果 Cy3-aralin は VA-13 と HeLa 細胞の細胞膜に結合した。一方、ラクトースやガラクトース存在下ではその結合は著しく低下した。さらに抗 aralin 抗体を用いた Far Western blot 解析したところ、aralin は 110 kDa の膜タンパク質と結合した。現在、この膜タンパク質に対して aralin 結合カラムを用いて精製し、解析を進めている。

27. 発表学会：6th *Aspergillus* Meeting & 25th Fungal Genetics Conference
発表日と場所：2009年3月16-19日、Asilomar, Pacific Grove, CA
演題名：Effects of stress stimuli on transposability and post-transcriptional modifications of mRNAs from DNA transposon *Crawler* in *Aspergillus oryzae*.
発表者：Hironobu Ogasawara¹, Yoji Hata², Saori Takahashi¹, and Katsuya Gomi³.
¹ Institute for Food and Brewing, Akita Pref. Agric. Forest. and Fish. Res. Center, Akita, Japan. ² Research Institute, Gekkeikan Sake Co. Ltd., Kyoto, Japan. ³ Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan.

An active DNA transposon *Crawler* isolated from the genome of industrially important fungus *Aspergillus oryzae* transposes under extreme stress conditions. The mRNA analysis of *Crawler* in the conidia revealed that cryptic splicing and premature polyadenylation of the mRNA occurred in the normal culture condition. In the present study, we analyzed the relationship between transposition events and proportional change in post-transcriptional modifications of the *Crawler* mRNA by RT-qPCR under various stress stimuli. These results suggested that post-transcriptional regulation for *Crawler* tends to be inhibited by stress treatment of CuSO₄ and heat shock, which stimulated the transposition events in conidia allowing the full-length and active transposase to be produced. Even extreme stress such as UV, H₂O₂ or metal ions except Cu²⁺ could not lead to the transposition of *Crawler* resulting from insufficient changes for mature mRNA molecules. Moreover the effects of stress stimuli inducing the transposition events of *Crawler* on the splicing for several genes responsible for metabolism, cellular structure or RNA processing were also examined to understand the control mechanism against the active transposon.

28. 発表学会：2009年度日本農芸化学会大会
発表日と場所：2009年3月28日、マリンメッセ福岡（福岡市）
演題名：*Lactobacillus sakei* KLB 3138aC株の特性と清酒醸造への応用
発表者：木村 貴一、大野 剛、木村（新野） 葉子、高橋 慶太郎、鈴木 一史¹、
渡邊 剛志¹（秋田県総食研、¹新潟大農・応生化）

【目的】我々は、白神山地の自然環境より微生物を採取し、産業への利用を行っている。今回、生酏清酒製造スターターとして利用できる乳酸菌の分離選抜及び小仕込み試験による性質評価を行ったので報告する。

【方法・結果】白神由来酸生産菌として凍結保存菌体 3,400 株より、酸生成能と低温増殖性を指標に選抜を行い、KLB 3138aC 株を得た。KLB 3138aC 株について、16S rDNA 塩基配列相同性比較、糖質資化性試験、標準菌株との DNA-DNA ハイブリダイゼーションによる同定試験を行ったところ、マルトース以上のマルトオリゴ糖資化性及びメリビオース資化性を失った *Lactobacillus sakei* に属する乳酸菌と同定した。同定試験の結果や諸性質を検討したところ、公知の *L. sakei* 株よりも優れた菌株と判明した。本乳酸菌は、生もと酒母より分離された *L. sakei* NBRC 3541 株と比べて低温増殖性及び酸生成能に優れており、低温醸造と酒母期間の短縮を実現した。

29. 発表学会：2009 年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009 年 3 月 29 日、マリンメッセ福岡（福岡市）

演題：麹菌(*Aspergillus oryzae*)分生胞子における DNA transposon *Crawler* の転移活性化 mRNA スプライシング阻害

発表者：小笠原 博信¹、秦 洋二²、高橋 砂織¹、五味 勝也³

(¹秋田県農技セ総食研・酵素微生物、²月桂冠・総研、³東北大院農・生物産業創成)

【目的】麹菌の活性型 DNA トランスポゾン *Crawler* の mRNA は通常培養条件下ではスプライシングや poly(A)付加を受けた不完全な分子種が多い。転移活性を発現する Cu^{2+} や高温ストレス処理によって、インタクトな全長 mRNA 比率の増加が認められ、*Crawler* の転移促進に繋がると推定された。そこで、麹菌におけるトランスポゾン制御機構の解明を目的に、いくつかの遺伝子群における mRNA スプライシングに及ぼす転移活性化ストレス処理の影響について検討した。

【方法と結果】高ストレス (Cu^{2+} や高温) 処理後の分生胞子より total RNA を抽出し、RT-PCR によりスプライシングの有無を観察した。その結果、*gpdA* などの代謝関連遺伝子では発現量の低下はあるものの、正常なスプライシングが認められた。一方、スプライシング・ファクター関連遺伝子においては、 Cu^{2+} および高温ストレスによって多くの遺伝子がスプライシング阻害を受けていることが明らかとなり、スプライシング・ファクターの機能阻害による *Crawler* 転移活性化への寄与が推定された。

30. 発表学会：2009 年度 日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009 年 3 月 29 日、マリンメッセ福岡(福岡市)

演題：ヤマブシタケは PPAR α を介して高脂肪食負荷マウスの脂質代謝を改善する

発表者：樋渡一之^{1,2}、小坂靖幸³、鈴木奈緒²、畠恵司²、向山俊之³、坂本賢二³、白川仁¹、駒井三千夫¹ (¹東北大・院農・栄養学、²秋田農技セ・総食研、³坂本バイオ)

【目的】ヤマブシタケ(*Hericium erinaceum*, HE)の脂質代謝改善効果について検討し、その作用メカニズム解明を試みた。【方法】C57BL/6J マウスに高脂肪飼料 HFD32(C 群)、HE 熱水抽出物を 2% 含む HFD32(HW 群)、HE エタノール抽出物を 2% 含む HFD32(EtOH 群)を給餌した。4 週間飼育し、組織重量、血液生化学値を測定するとともに、肝臓での遺伝子発現の変化をリアルタイム PCR で解析した。HE 抽出物について、PPAR α のリガンド活性を測定した。【結果】C 群に比べて HW 群、EtOH 群で有意に体重増加が抑制され、肝臓と腸間膜脂肪組織の重量や血清トリグリセリド濃度も有意に低下した。HE エタノール抽出物に PPAR α のリガンド活性が認められた。肝臓における PPAR α の発現量には変化が認められなかったが、いくつかの PPAR α 標的遺伝子の発現量が有意に増加していた。【考察】HE は高脂肪食負荷マウスの脂質代謝を改善することが示され、そのメカニズムは HE に含まれる PPAR α リガンドの肝臓脂質代謝関連遺伝子発現上昇作用によることが示唆された。

31. 発表学会：2009年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009年3月29日、福岡国際会議場（福岡市）

発表者： 葦澤 悟、北岡 本光、小笠原 博信¹、高橋 砂織¹

（農研機構・食総研、¹秋田県農技セ・総食研）

演題名：原核微生物由来 D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ（Paenidase）の大腸菌における機能発現

【目的】近年、哺乳類の生体内に遊離のD-型アミノ酸やD型アミノ酸を含有するタンパク質の存在することが見出されている。高橋らは、D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ生産菌（*Paenibacillus* sp. B38株）を分離し、その性質を明らかにした（Takahashi *et al.*, *J. Biochem.* **139**, 197, 2006）。今回我々は、大腸菌において種々のpaenidase遺伝子の発現を行うとともに、paenidaseの活性部位と推定されるアミノ酸残基の置換を行い、野生型paenidaseとの比較を行った。【方法及び結果】大腸菌において種々のpaenidase遺伝子を発現させたところ、すべて活性型酵素が得られた。得られた酵素はD-Asp誘導体を加水分解したが、D-Glu、D-Ala、D-Leu、D-Phe誘導体には作用しなかった。また、推定される活性部位Ser、Lys、Tyr残基を置換した変異体を作製したが、いずれも不活性型となった。これらのCD及び蛍光スペクトルは野生型のスペクトルと一致し立体構造の変化は見られなかったことから、paenidaseにおいてもこれらのアミノ酸残基が活性発現に重要な役割を果たしていることが示唆された。

32. 発表学会：2009年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2009年3月29日、福岡国際会議場（福岡市）

発表者： 高橋砂織¹、堀一之¹、新保守²、樋渡一之¹、後藤猛³、山田清繁²

¹秋田県農林水産技術センター総合食品研究所、²株式会社ヤマダフーズ、

³秋田大学工学資源学部

演題名：大豆由来レニン阻害物質

【目的】レニンは、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系(RAS)における血圧調節機構において律速酵素として重要な役割を担っている。これまで、RASの調節を目指して活性測定が簡便なアンギオテンシン変換酵素を標的とした食物由来阻害物質の探索が行われてきた。しかしながら、酵素入手の問題や活性測定が煩雑であることなどを理由として食物由来レニン阻害物質の探索は殆ど行われて来なかった。本研究では、大豆にレニン阻害活性を見出し、その阻害物質を単離し、構造を決定したので報告する。

（方法と結果）大豆胚軸よりレニン阻害物質を単離した。標準物質との物理化学的諸性質の比較から精製した大豆レニン阻害物質(SRI)をソヤサポニンIと同定した。SRIは、ヒトレニン活性を強く阻害し、IC₅₀は30μg/mlと求められた。また、反応動学的解析から、SRIはレニンを部分的非競争阻害し、そのKi値は37.5μMと求められた。各種プロテアーゼに対するSRIの影響を検討した結果、SRIはレニンを特異的に阻害することが示された。一方、本態性高血圧モデルラットに、部分精製したSRIを40mg/kg/dayの用量で、7週間経口投与した結果、コントロール群に比べ有意な血圧上昇抑制効果が確認された。本研究は、SRIが高血圧抑制作用を持つことを示した最初の報告である。

3 . 外部発表論文概要 (9 件) 51

論文題名 : *N*-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼの新規活性測定方法
—キチナーゼの活性測定にも応用可能か—

著者名 : 高橋砂織、堀 一之

雑誌名 : *キチン・キトサン研究 Chitin and Chitosan Research*, 14(1), 13-14, 2008

発行日 : 2008 年 4 月 1 日

論文題名 : Lupane triterpenes with a carbonyl group at C-20 induce cancer cell apoptosis.

著者名 : Keishi Hata, Shoujiro Ogawa, Mitsuko Makino, Toshiyuki Mukaiyama,
Kazuyuki Hori, Takashi Iida, and Yasuo Fujimoto

雑誌名 : *Journal of Natural Medicines.*, 62(3), 332-335, 2008

発行日 : 2008 年 6 月 4 日

論文題名 : Effects of lupeol on visceral fat weight and serum lipoprotein profile in high-fat diet fed mice.

著者名 : Hiroki Sasaki, Satoru Kawarasaki, Mikiko Sugawara, and Keishi Hata

雑誌名 : *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 43 Suppl. 1, 422-424, 2008

発行日 : 2008 年 7 月 5 日

論文題名 : *N*-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ : 構造と活性に及ぼす
ヌクレオチドの役割 (*N*-Acetyl-D-glucosamine 2-epimerase: Effects of
nucleotides on the structure and enzyme activity)

著者名 : 高橋砂織

雑誌名 : *キチン・キトサン研究 Chitin and Chitosan Research*, 14(2), 45-53, 2008

発行日 : 2008 年 8 月 1 日

論文題名 : 米タンパク質を基質とした清酒麹のペプチダーゼ総合活性の
測定法

著者名 : 高橋仁^{1,2}, 伊藤俊彦¹, 中沢伸重¹, 岩野君夫¹

(秋田県立大¹, 秋田農林水産技セ・総食研²)

雑誌名 : *日本醸造協会誌*, 103(8), 638-645, 2008

発行日 : 2008 年 8 月 15 日

論文題名：製麹における麹菌のタンパク質分解酵素生産に対する麹米と
麹菌株の影響

著者名：高橋仁^{1,2}，伊藤俊彦¹，佐藤 勉³，志賀拓也¹，中沢伸重¹，
岩野君夫¹（秋田県立大¹，秋田農林水産技セ・総食研²，
株式会社秋田今野商店³）

雑誌名：日本醸造協会誌, 103(11), 894-900, 2008

発行日：2008年 11月 15日

論文題名：Inhibitory effects of lupeol on 3T3-L1 preadipocyte differentiation.

著者名：Keishi Hata, Kazuyuki Hiwatashi, Mizuho Itoh, Nao Suzuki, Takayuki
Watanabe, Junichiro Takahashi, and Hiroki Sasaki

雑誌名：Phytochemistry Letters, 1(4), 191-194, 2008

発行日：2008年 11月 24日

論文題名：Isolation of human renin inhibitor from soybean: Soyasaponin I is
the novel human renin inhibitor in soybean.

著者名：Saori Takahashi, Kazuyuki Hori, Mamoru Shinbo, Kazuyuki
Hiwatashi, Takeshi Gotoh, and Seihan Yamada

雑誌名：Biosci. Biotechnol. Biochem., 72(12), 3232-3236, 2008

発行日：2008年 12月 23日

論文題名：Expression and in situ processing of human prorenin to active renin
in baculovirus-infected Sf-9 insect cell cultures under several
infective conditions.

著者名：Takeshi Gotoh, Hirono Awa, Ken-Ichi Kikuchi, and Saori Takahashi

雑誌名：Biochemical Engineering Journal, 43, 216-220, 2009

発行日：Online publication, 2008年 12月 23日

1. 論文題名：N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼの新規活性測定方法
—キチナーゼの活性測定にも応用可能か—

著者名：高橋砂織、堀 一之

雑誌名：キチン・キトサン研究 *Chitin and Chitosan Research*, 14(1), 13-14, 2008

発行日：2008年4月1日

要約：

N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ(GlcNAc 2-EP)は、糖類異性化酵素の一種類で、GlcNAc と N-アセチルマンノサミン(ManNAc)との相互変換を触媒する。これまで、本酵素の活性測定には反応産物の誘導體化と高速液体クロマトグラフィーによる定量や DIONEX 社の糖分析装置を用いた方法などが用いられて来た。しかし、操作が煩雑で、また測定に長時間を要するなどの理由から簡便・迅速な活性測定法の開発が望まれていた。そこで、本報告では ManNAc を基質として用い、N-アシルヘキソサミン酸化酵素とペルオキシダーゼとの共役系により GlcNAc 2-EP の簡便な測定方法を考案したので紹介する。本測定法の原理となる N-アシルヘキソサミン酸化酵素とペルオキシダーゼとの共役反応系は、キチナーゼやキトサナーゼの活性測定にも応用が可能であり、簡便な活性測定法としての普及が期待される。

2. 論文題名：Lupane triterpenes with a carbonyl group at C-20 induce cancer cell apoptosis.

著者名：Keishi Hata, Shoujiro Ogawa, Mitsuko Makino, Toshiyuki Mukaiyama,
Kazuyuki Hori, Takashi Iida, and Yasuo Fujimoto

雑誌名：Journal of Natural Medicines., 62(3), 332-335, 2008

発行日：2008年6月4日

要約：

ルパン型トリテルペン化合物の B16 2F2 メラノーマ細胞の分化およびアポトーシスに対する影響を評価した。供した 6 種のルパン型トリテルペンについて全てに、同細胞分化の指標であるメラニン産生促進活性が観察された。C-20 位にカルボニル基を有する化合物 4-6 は、B16 2F2 細胞のアポトーシスを誘導した。そこで、これらルパン型トリテルペンのヒト腫瘍細胞の細胞毒性プロファイルを調べた結果、化合物 4-6 は白血病細胞ならびに肺癌細胞に対して選択毒性を示した。これらの結果を総合すると、C-20 位にカルボニル基は、ルパン型トリテルペンが有するヒト腫瘍細胞に対するアポトーシス誘導能に重要な役割を担うことが示唆された。

3. 論文題名 : Effects of lupeol on visceral fat weight and serum lipoprotein profile in high-fat diet fed mice.

著者名 : Hiroki Sasaki, Satoru Kawarasaki, Mikiko Sugawara, and Keishi Hata

雑誌名 : *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 43 Suppl. 1, 422-424, 2008

発行日 : 2008年 7月 5日

要約 :

ルペオールの新規生理機能解明を目指し、高脂肪食負荷マウスの脂質代謝改善作用を検討した。ルペオール (30 mg/kg/day) を経口投与した区の高脂肪食負荷マウスでは、コントロール区と比較して、内臓脂肪蓄積ならびに血中中性脂肪値の上昇が抑制されていた。特にルペオール投与区では、VLDL (超低密度リポタンパク質) 中の中性脂肪値の濃度が低く、肝臓での中性脂肪生合成経路の抑制が示唆された。

4. 論文題名 : *N*-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ : 構造と活性に及ぼすヌクレオチドの役割

(*N*-Acetyl-D-glucosamine 2-epimerase: Effects of nucleotides on the structure and enzyme activity)

著者名 : 高橋砂織

雑誌名 : *キチン・キトサン研究 Chitin and Chitosan Research*, 14(2), 45-53, 2008

発行日 : 2008年 8月 1日

要約 :

N-Acetyl-D-glucosamine 2-epimerase (GlcNAc 2-EP) catalyzes the conversion between GlcNAc and *N*-acetyl-D-monoamine. The enzyme has long been studied as the endogenous renin inhibitor, renin binding protein (RnBP). Recently, RnBP was identified as the enzyme GlcNAc 2-EP. In this review describes the effects of nucleotides on the function of GlcNAc 2-EP and the interaction of renin with GlcNAc 2-EP, RnBP.

5. 論文題名：米タンパク質を基質とした清酒麹のペプチダーゼ総合活性の測定法

著者名：高橋仁^{1,2}，伊藤俊彦¹，中沢伸重¹，岩野君夫¹
(秋田県立大¹，秋田農林水産技セ・総食研²)

雑誌名：日本醸造協会誌，103(8)，638-645，2008

発行日：2008年8月15日

要約：

グルテリンを主体とした米タンパク質を基質としてペプチダーゼ総合活性 (TPase 活性) の測定法を検討した。基質の米タンパク質は白米粉末から 0.1M 乳酸による抽出と等電点沈殿により調製した。この測定法では，種々のペプチダーゼによる基質からのアミノ酸生成量をニンヒドリン法により定量しアルギニン換算で活性とした。TPase 活性と麹酵素抽出液による蒸米消化液のアミノ酸生成量は，所定分析法の酸性カルボキシペプチダーゼ (ACPase) 活性より高い正の相関を示した。ACPase の基質は Cbz-Glu-Tyr であることから，ACPase の分析は，この合成基質を分解する特定のペプチダーゼが生成するアミノ酸を評価している。一方，TPase は米タンパク質を基質としているため，清酒製造工程において米のタンパク質分解に関する総合的なアミノ酸生成をより正確に評価していると考えられる。

6. 論文題名：製麹における麹菌のタンパク質分解酵素生産に対する麹米と麹菌株の影響

著者名：高橋仁^{1,2}，伊藤俊彦¹，佐藤 勉³，志賀拓也¹，中沢伸重¹，
岩野君夫¹ (秋田県立大¹，秋田農林水産技セ・総食研²，
株式会社秋田今野商店³)

雑誌名：日本醸造協会誌，103(11)，894-900，2008

発行日：2008年11月15日

要約：

製麹における麹菌のタンパク質分解酵素の生産に及ぼす麹菌株と麹米の影響を 2 元配置の分散分析法により解析した。その結果、両要因の影響はとも危険率 0.1% の高水準で有意であった。麹菌株による麹のタンパク質分解酵素活性と窒素源としてアミノ酸を使用したツアベック培地上での麹菌の増殖におけるアミノ酸資化量との間には高い正の相関関係が認められた。麹米によるタンパク質分解酵素活性の違いは麹米のタンパク質組成の違いに起因する可能性が高いことを示した。麹のタンパク質分解酵素活性と麹米のタンパク質組成との相関分析の結果、グルテリン含有量と負の相関、グロブリンとプロラミンとは正の相関が認められた。清酒製造において適当量のグルコアミラーゼ活性を有し、総合ペプチダーゼ活性が少ない麹菌株が麹米毎に存在することを知った。

7. 論文題名 : **Inhibitory effects of lupeol on 3T3-L1 preadipocyte differentiation.**

著者名 : **Keishi Hata, Kazuyuki Hiwatashi, Mizuho Itoh, Nao Suzuki, Takayuki Watanabe, Junichiro Takahashi, and Hiroki Sasaki**

雑誌名 : *Phytochemistry Letters*, 1(4), 191-194, 2008

発行日 : 2008 年 11 月 24 日

要約 :

3T3-L1 マウス脂肪前駆細胞の分化においては、トリグリセリド(=中性脂肪、TG) 産生が活性化され、細胞内脂肪滴の蓄積が観察されるようになる。ルパン型トリテルペン的一种であるルペオールは、脂肪細胞分化における TG 産生ならびに脂肪滴蓄積を顕著に阻害した。リアルタイム PCR を用いた発現遺伝子解析の結果、ルペオールは脂肪細胞における TG 合成に關与する転写因子、酵素群ならびにアディポサイトカインの発現を抑制することが判明した。

8. 論文題名 : **Isolation of human renin inhibitor from soybean: Soyasaponin I is the novel human renin inhibitor in soybean.**

著者名 : **Saori Takahashi, Kazuyuki Hori, Mamoru Shinbo, Kazuyuki Hiwatashi, Takeshi Gotoh, and Seiha Yamada**

雑誌名 : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72(12), 3232-3236, 2008

発行日 : 2008 年 12 月 23 日

要約 :

We found human renin inhibitory activity in soybean and isolated the active compound, soybean renin inhibitor (SRI). Physico-chemical data on the isolated SRI were identical with those of soyasaponin I. SRI showed significant inhibition against recombinant human renin, with an IC_{50} value of 30 μ g/ml. Kinetic studies with SRI indicated partial noncompetitive inhibition, with a K_i value of 37.5 μ M. On the other hand, SRI weakly inhibited pepsin, papain, and bromeline activities and did not inhibit other proteinase such as trypsin, kallikrein, angiotensin converting enzyme, and aminopeptidase M. Moreover, a significant ($p < 0.05$) decrease in systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats was observed when partially purified SRI was orally administrated at 40 mg/ kg/day for 7 weeks. This is the first demonstration of renin inhibitor from soybean, soyasaponin I.

9. 論文題名 : Expression and in situ processing of human prorenin to active renin in baculovirus-infected Sf-9 insect cell cultures under several infective conditions.

著者名 : Takeshi Gotoh, Hirono Awa, Ken-Ichi Kikuchi, and Saori Takahashi

雑誌名 : *Biochemical Engineering Journal*, 43, 216-220, 2009

発行日 : Online publication, 2008 年 12 月 23 日

要約 :

In the baculovirus expression vector system, intrinsic proteases concomitantly produced by infected insect cells have been generally regarded as a defect, because they sometimes degrade expressed recombinant proteins and decrease the productivity. The present study successfully used the proteolysis to generate active recombinant human-(rh) renin after the expression of inactive rh-prorenin. Sf-9 insect cells were infected with recombinant baculoviruses having human preprorenin cDNA in the site of polyhedron gene at several MOIs. At any MOIs, rh-prorenin was expressed in a late phase of infective cultures and processed to active rh-renin in a very late phase. The maximum volumetric yield of active rh-renin was obtained at a MOI of 1 pfu/cell. The protease activity was examined with an internally-quenched fluorogenic substrate newly designed for the processing. The generation of rh-renin was coincided with a considerable increase in a protease activity that was classified into the cystein protease family, and significantly suppressed by supplementing the culture medium with leupeptin, a cystein protease inhibitor. This suggested that the cystein protease was responsible to the processing of rh-prorenin to rh-renin.

「秋田県総合食品研究所報告」第1号～第11号総目次

(報文、研究ノート、総説)

第1号(1999年)

【原著論文】

- 「酒造好適米『吟の精』の選抜と酒造適性について」・・・1 - 1
高橋 仁、田口隆信、渡辺誠衛、石川京子、田中健美、斎藤久一、佐無田隆、
岩野君夫、石川雄章
- 「紫黒米を用いた赤色を有する清酒の製造について」・・・1 - 8
高橋 仁、渡辺誠衛、佐渡高智
- 「秋田県産ブドウによる醸造適性試験」・・・1 - 14
立花忠則
- 「DNA分析による秋田県奨励米1粒からの品種判別技術の開発」・・・1 - 28
小笠原博信
- 「青大豆の豆腐加工適性について」・・・1 - 35
秋山美展、高橋 徹、熊谷昌則、薛 文通
- 「中国における大豆関連商品に市場と加工技術の動向」・・・1 - 48
秋山美展
- 「コアミ塩辛に関する研究 塩・アルコール併用による品質の向上」・・・1 - 62
戸松 誠、石川匡子、塚本研一、高橋光一、柴本憲夫
- 「しよつる風味調味料の開発 市販・自家醸品の品質について」・・・1 - 69
高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則

【研究ノート】

- 「糖質関連酵素等を利用した大豆加工廃棄物からのオリゴ等類の生産について」・・・1 - 79
高橋砂織、戸枝一喜
- 「ジュール加熱による液体連続加熱装置の開発」・・・1 - 82
秋山美展
- 「玄米の発芽に伴う アミノ酪酸の生成」・・・1 - 85
大久長範、阿部雪子

第2号(2000年)

【原著論文】

- 「市販きりたんぼ鍋セットの品質特性
食品産業の視点からみたきりたんぼの伝承性と現代化の様相」・・・2 - 1
熊谷昌則、高橋 徹、畠 康子、大久長範

- 「しよつふる風味調味料の開発（第2報） コウナゴによる試験醸造」・・・2 - 9
高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「しよつふる風味調味料の開発（第3報） コアミによる試験醸造」・・・2 - 17
高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「ホッケの高付加価値加工技術の開発Ⅰ 成分と鮮度」・・・2 - 25
塚本研一、戸松 誠、石川匡子、柴本憲夫、山田潤一
- 「ホッケの高付加価値加工技術の開発Ⅱ 塩干品とスナック風食品」・・・2 - 29
塚本研一、戸松 誠、折戸めぐみ、柴本憲夫、山田潤一
- 「ソフト清酒用酵母とそれを用いたソフト清酒の開発」・・・2 - 36
渡辺誠衛、高橋 仁、田口隆信、中田健美、立花忠則、斎藤久一
- 「秋田味噌用乳酸菌AL-1の開発」・・・2 - 45
渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、伊藤信義

【研究ノート】

- 「ワラビ保存性の改善に及ぼす温度処理の効果」・・・2 - 57
菅原久春、大久長範、小林昭一
- 「新しいタイプの市販清酒の調査」・・・2 - 61
田中健美

第3号（2001年）

【原著論文】

- 「水稻新品種めんこいなの食味に関わる理化学的性質」・・・3 - 1
大能俊久、高橋 徹、熊谷昌則、大久長範
- 「比内地鶏ガラの加工適性」・・・3 - 6
熊谷昌則、高橋光一
- 「しよつふる風味調味料の開発（第4報）
小アジを用いたしよつふるの試験醸造」・・・3 - 12
高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「しよつふる風味調味料の開発（第5報）
グルコン酸を用いたしよつふるの試験醸造」・・・3 - 19
高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「秋田県産ハタハタずし製品の品質」・・・3 - 25
塚本研一、戸松 誠、菅原真理、戸枝一喜、柴本憲夫、山田潤一
- 「籾殻の爆砕・蒸煮処理残渣及びその灰化物の諸性質」・・・3 - 32
戸枝一喜、吉田 徹

- 「長期保存が可能な酒粕及び白色乾燥粕の開発
醸造副産物の有効利用に関する研究」・・・ 3 - 3 5
木村貴一
- 「膜電位計測型味覚センサによる清酒の評価」・・・ 3 - 4 4
熊谷昌則、進藤 昌、渡辺誠衛
- 「秋田県産ブドウからのMLF乳酸菌の分離」・・・ 3 - 4 9
大野 剛、立花忠則
- 「白神こだま酵母の学校給食用パンへの利用」・・・ 3 - 5 7
熊谷昌則、高橋慶太郎、高橋砂織

【研究ノート】

- 「デジタルピペットの定量性と操作因子」・・・ 3 - 6 5
秋山美展
- 「起泡特性を利用した簡便な大豆加工品サポニンの検知法について」・・・ 3 - 6 8
堀 一之、辰巳英三、殷 麗君、張 曉峰、李 里特

第4号(2002年)

【原著論文】

- 「きりたんぼ製造における製品の冷却特性」・・・ 4 - 1
高橋 徹、熊谷昌則、佐々木康子、大久長範
- 「秋田県の伝統的食品『赤ずし』に関する微生物的考察」・・・ 4 - 6
佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫
- 「しよつる風味調味料の開発(第6報)
ハタハタ・イワシを用いたしよつるの試験醸造」・・・ 4 - 1 1
高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「味噌のHEMF生成における仕込条件の影響」・・・ 4 - 1 9
尾張かおる、高橋光一、渡辺隆幸
- 「アミノ酪酸高含有米糠の製造法」・・・ 4 - 2 5
戸枝一喜、青木淳子、熊谷 亮、伊藤 汎
- 「酒粕及び麹菌からの糖質関連有用物質の生産について」・・・ 4 - 3 0
木村貴一、高橋慶太郎、立花忠則、高橋砂織
- 「遠心分離方式によする清酒の上槽工程自動化技術の開発」・・・ 4 - 4 2
田口隆信、中田健美、立花忠則、斎藤久一
- 「栽培地区別醸造用ブドウの特徴およびワインの品質」・・・ 4 - 5 0
戸松さやか、大野 剛、立花忠則

【研究ノート】

- 「焼成カルシウム存在下でボイル処理したエダマメ」・・・ 4 - 5 9
大久長範、大能俊久、龐 中存
- 「学校給食用白神パンの品質に関する研究」・・・ 4 - 6 2
熊谷昌則、高橋慶太郎、高橋砂織

第5号(2003年)

【原著論文】

- 「米麹および市販米味噌の抗変異原性」・・・ 5 - 1
渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、柴本憲夫
- 「安全、高品質な食品の製造に関する研究 - 米麹の製造法についての検討 - 」・・・ 5 - 7
柴本憲夫、渡辺隆幸、佐々木康子、菅原真理
- 「安全、高品質な食品の製造に関する研究 - いぶり大根漬について - 」・・・ 5 - 1 4
佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫
- 「攪拌式造粒 - 真空乾燥法によるぬか床用乳酸菌スターターの粉末化 - 」・・・ 5 - 2 1
佐々木康子、菅原久春、鈴木聡美、柴本憲夫
- 「食品包装容器等のプラスチック素材のポータブル近赤外分光装置による判別」・・・ 5 - 2 7
熊谷昌則、天野敏男、小川信明
- 「秋田県産ハタハタずし製品の成分と官能評価」・・・ 5 - 3 3
塚本研一、戸松 誠、熊谷昌則、保刈美佳、戸枝一喜、船木 勉
- 「大豆および米遺伝資源試料の活性酸素消去活性とその相乗効果」・・・ 5 - 4 0
秋山美展、大久長範、高田吉丈、島田信二、山口誠之
- 「DNA鑑定による新奨励米『めんこいな』の品種判別技術の開発」・・・ 5 - 4 8
小笠原博信、高橋砂織

【研究ノート】

- 「無洗米の米飯テクスチャーと貯蔵による変化」・・・ 5 - 5 5
大能俊久、堀 一之、大久長範
- 「乾めんの電子顕微鏡による断面観察」・・・ 5 - 5 8
大久長範、大能俊久

【総説】

- 「秋田県産農水産物の生理機能性の解明とその応用」・・・ 5 - 6 1
- 食材から化粧品素材へ -
堀 一之、畠 恵司、高橋砂織

第6号(2004年)

【原著論文】

- 「安全、高品質な食品の製造に関する研究
比内地鶏製品についての検討」・・・6 - 1
菅原真理、柴本憲夫
- 「安全、高品質な食品の製造に関する研究 - 広域流通を目的とした賞味期限の
長いきりたんぼの製造について - 」・・・6 - 8
佐々木康子、菅原真理、高橋 徹、熊谷昌則、柴本憲夫
- 「大豆種皮からの酵素処理によるマンノース、マンノオリゴ糖の製造法」・・・6 - 13
戸枝一喜、保刈美佳
- 「稲庭うどん製造工程への携帯方近赤外分光装置の適用」・・・6 - 18
熊谷昌則、大久長範、小川信明
- 「温度感受性味噌酵母とその利用」・・・6 - 25
高橋慶太郎、渡辺隆幸、秋山美展
- 「新しい吟醸酒用自動製麹機の開発と吟醸酒の醸造試験」・・・6 - 32
田口隆信、高橋 仁、渡辺誠衛、新野葉子、中田健美、立花忠則、斎藤久一

【研究ノート】

- 「加熱処理が米粉の糊化特性に与える影響」・・・6 - 41
高橋 徹、三浦 靖、小林昭一

【総説】

- 「新しい活性酸素種およびその消去成分の検出・定量」・・・6 - 45
秋山美展、大久保一良
- 「秋田味噌醤油品評会出品物分析結果のまとめ」・・・6 - 50
尾張かおる、渡辺隆幸、高橋光一

第7号(2005年)

【原著論文】

- 「近赤外スペクトルによるビールのパターン認識分類」・・・7 - 1
熊谷昌則、高橋 豊、進藤 昌、小川信明
- 「味覚センサによる市販食用塩の味質評価」・・・7 - 6
熊谷昌則、三浦幸子、杉本真帆、石川匡子、松永隆司
- 「マンナナーゼ生産菌の分離と培養条件の検討」・・・7 - 12
戸枝一喜、保刈美佳
- 「食品の加熱工程における加熱履歴表現モデルの構築」・・・7 - 17

- 秋山美展、高橋 徹、大久長範、長縄明大
 「高品質味噌を目的とする県産大豆の蒸煮条件の検討」・・・ 7 - 2 3
 尾張かおる、渡辺隆幸
 「秋田県産酒造原料米における酒造適性の経年変動」・・・ 7 - 3 1
 高橋 仁、渡辺誠衛、大野 剛、田口隆信、中田健美、立花忠則、田口トモ子
 「色素培地を用いた優良酵母の育種とその酒造適性」・・・ 7 - 3 8
 渡辺誠衛、新野葉子、田口隆信、高橋 仁、大野 剛、中田健美、立花忠則

【研究ノート】

- 「秋田酒こまちと蕎麦における アミノ酪酸の分布」・・・ 7 - 4 7
 大久長範、大能俊久、高橋 仁
 「食品工場におけるカビの発生事例」・・・ 7 - 4 9
 佐々木康子、菅原真理
 「県産味噌のイソフラボン量と配糖体、アグリコンの比率」・・・ 7 - 5 3
 渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎
 「食用担子菌類が持つ各種酵素活性」・・・ 7 - 5 7
 樋渡一之、小笠原博信、堀 一之、高橋砂織

【総説】

- 「安全、高品質な食品製造に関する研究 秋田県内中小企業食品製造工場における
 HACCP簡易構築の取り組み 」・・・ 7 - 6 1
 菅原真理、佐々木康子

第8号(2006年)

【原著論文】

- 「加熱処理による米粉の改質ならびにその調理・加工適性の解明」・・・ 8 - 1
 高橋 徹、三浦 靖、小林昭一
 「米味噌の脂肪酸エチルエステル生成に与える種麹、酵母と酵素剤の影響」・・・ 8 - 7
 渡辺隆幸、尾張かおる、堀 一之
 「ジュンサイの品質向上技術の開発 黒変解明と黒変除去 」・・・ 8 - 1 5
 杉本勇人、塚本研一、山田幸樹

【研究ノート】

- 「カバノアナタケ抽出液の保存方法」・・・ 8 - 2 3
 大久長範、今野祐子

【総説】

- 「秋田県産農水産物に含まれる生理活性物質
癌転移抑制物質の探索研究」・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 8 - 27
畠 恵司、堀 一之、高橋砂織

第9号(2007年)

【原著論文】

- 「大豆リュウホウを用いた高品質味噌製造の検討
多麴および新規麴菌の利用」・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9 - 1
尾張かおる、渡辺隆幸
- 「秋田の水のミネラルバランスと味覚センサ応答パターン」・・・・・・・・・・ 9 - 5
熊谷昌則、大野 剛、高橋 仁、中田健美
- 「北東北産雑穀類の利用(第1報) 雑穀麴パンの製造試験」・・・・・・・・・・ 9 - 10
畑山 誠、秋山美展、高橋慶太郎
- 「北東北産雑穀類の利用(第2報) 雑穀麴みその製造試験と抗変異原性」・・ 9 - 15
畑山 誠、渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎
- 「アルコール感受性酵母を用いた新しいタイプの清酒の開発」・・・・・・・・・・ 9 - 20
渡辺誠衛、大野 剛、田口隆信

【総説】

- 「清酒業界における密度測定について
浮ひょうと振動式密度計との測定値の比較」・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9 - 27
若林三郎

【解説】

- 「特許制度と各種支援制度について」・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9 - 35
佐々木康子

第10号(2008年)

【原著論文】

- 「色素培地を用いた交雑法による吟醸酒用酵母の育種」・・・・・・・・・・ 10 - 1
渡辺誠衛、田口隆信、高橋 仁、大野 剛
- 「フキノトウ由来生理機能性成分の評価と発酵食品への応用」・・・・・・・・ 10 - 9
渡辺隆幸、堀 一之
- 「秋田の地下水・湧水の水質特性の解析」・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10 - 14
熊谷昌則、大野 剛、高橋 仁、吉田知司

- 「放線菌由来の耐熱性生澱粉分解酵素のクローニング」・・・・・・・・・・ 10 - 19
“Molecular cloning of a thermostable raw starch digesting amylase gene from a
Streptomyces sp.”
金子隆宏

【総説】

- 「脳機能計測による新しい食品の評価法の開発」・・・・・・・・・・ 10 - 29
熊谷昌則、高橋徹、佐藤文華、渡部雅美、堀一之、樋渡一之、戸枝一喜、
秋山美展

第11号(2009年)

- 「高齢者の嗜好に合致した加工食品の開発と品質評価技術」・・・・・・・・ 11 - 1
高橋 徹、塚本研一、戸枝一喜、秋山美展、熊谷昌則
- 「生澱粉分解酵素の酵母による高発現」・・・・・・・・・・・・・・・・ 11 - 9
金子隆宏、戸松 誠
- 「秋田県の伝統食品「こざきねり」の商品化への取り組み」・・・・・・・・ 11 - 17
菅原真理，加藤明津子，佐藤文華，菅原千秋，高橋徹，熊谷昌則

「秋田県総合食品研究所報告」第1号～第11号人名索引
(報文、研究ノート、総説)

[号 - ページ、太字下線は筆頭著者を示す。]

【あ】

- 青木淳子 [4-25]
秋山美展 [1-35, 1-48, 1-82, 3-65, 5-40, 6-25, 6-45, 7-17, 9-10, 11-1]
阿部雪子 [1-85]
天野敏雄 [5-27]
石川京子 [1-1]
石川匡子 [1-62, 2-25, 7-6]
石川雄章 [1-1]
伊藤信義 [2-45]
伊藤 汎 [4-25]
岩野君夫 [1-1]
大久保良一 [6-45]
大能俊久 [3-1, 4-59, 5-55, 5-58, 7-47]
大野 剛 [3-49, 4-50, 7-31, 7-38, 9-5, 9-15, 10-1, 10-14]
大久長範 [1-85, 2-1, 2-57, 3-1, 4-1, 4-59, 5-40, 5-55, 5-58, 6-18, 7-17, 7-47,
8-23]
小笠原博信 [1-28, 5-48, 7-57]
小川信明 [5-27, 6-18, 7-1]
折戸めぐみ [2-29]
尾張かおる [2-45, 4-19, 5-1, 6-50, 7-23, 7-53, 8-7, 9-1, 9-15]

【か】

- 加藤明津子 [11-17]
金子隆宏 [10-19, 11-9]
木村貴一 [3-35, 4-30]
熊谷昌則 [1-35, 1-69, 2-1, 2-9, 2-17, 3-1, 3-6, 3-12, 3-19, 3-44, 3-57, 4-1, 4-11,
4-62, 5-29, 5-33, 6-8, 6-18, 7-1, 7-6, 9-5, 10-14, 10-29, 11-1, 11-17]
熊谷 亮 [4-25]
小林昭一 [2-57, 6-41, 8-1]
今野祐子 [8-23]

【さ】

斎藤久一 [1-1, 2-36, 4-42, 6-32]
佐々木(畠)康子 [2-1, 4-1, 4-6, 5-7, 5-14, 5-21, 6-8, 7-49, 7-61, 9-35]
佐渡高智 [1-8]
佐藤文華 [10-29, 11-17]
佐無田隆 [1-1]
柴本憲夫 [1-62, 1-69, 2-9, 2-17, 2-25, 2-29, 3-12, 3-19, 3-25, 4-6, 4-11, 5-1, 5-7, 5-21, 6-1, 6-8]
島田信二 [5-40]
進藤 昌 [3-44, 7-1]
菅原千秋 [11-17]
菅原真理 [3-25, 4-6, 5-7, 5-14, 6-1, 6-8, 7-49, 7-61, 11-17]
菅原久春 [2-57, 5-21]
杉本真帆 [7-6]
杉本勇人 [8-15, 10-1]
鈴木聡美 [5-21]

【た】

高田吉丈 [5-40]
高橋慶太郎 [3-57, 4-30, 4-62, 6-25, 7-53, 9-10, 9-20]
高橋光一 [1-62, 1-69, 2-9, 2-17, 2-45, 3-6, 3-12, 3-19, 4-11, 4-19, 5-1, 5-14, 6-50]
高橋砂織 [1-79, 3-57, 4-30, 4-62, 5-48, 5-61, 7-57, 8-27]
高橋 徹 [1-35, 2-1, 3-1, 4-1, 6-8, 6-41, 7-17, 8-1, 10-29, 11-1, 11-17]
高橋 仁 [1-1, 1-8, 2-36, 6-32, 7-31, 7-38, 7-47, 9-5, 10-1, 10-14]
高橋 豊 [7-1]
田口隆信 [1-1, 2-36, 4-42, 6-32, 7-31, 7-38, 9-20, 10-1]
田口トモ子 [7-31]
立花忠則 [1-14, 2-36, 3-49, 4-30, 4-42, 4-50, 6-32, 7-31, 7-38]
辰巳英三 [3-68]
塚本研一 [1-62, 2-25, 2-29, 3-25, 5-33, 8-15, 11-1]
戸枝一喜 [1-79, 3-25, 3-32, 4-25, 5-33, 6-13, 7-12, 10-29, 11-1]
戸松さやか [4-50]
戸松 誠 [1-62, 1-69, 2-9, 2-17, 2-25, 2-29, 3-12, 3-19, 3-25, 4-11, 5-33, 11-9]

【な】

中田健美 [1-1, 2-36, 2-61, 4-42, 6-32, 7-31, 7-38, 9-5]

長縄明夫 [7-17]
新野葉子 [6-32, 7-38]

【は】

畠 恵司 [5-61, 8-27]
畑山 誠 [9-10, 9-15]
樋渡一之 [7-57, 10-29]
船木 勉 [5-33]
保刈美佳 [5-33, 6-13, 7-12]
堀 一之 [3-68, 5-55, 5-61, 7-57, 8-7, 8-27, 10-9, 10-29]

【ま】

松永隆司 [7-6]
三浦幸子 [7-6]
三浦 靖 [6-41, 8-1]

【や】

山口誠之 [5-40]
山田幸樹 [8-15]
山田潤一 [2-25, 2-29, 3-25]
吉田知司 [10-14]
吉田 徹 [3-32]

【わ】

若林三郎 [9-27] (1)
渡辺誠衛 [1-1, 1-8, 2-36, 3-44, 6-32, 7-31, 7-38, 9-20, 10-1]
渡辺隆幸 [2-45, 4-19, 5-1, 5-7, 6-25, 6-50, 7-23, 7-53, 8-7, 9-1, 9-15, 10-9]
渡辺雅美 [10-29]

【他】

薛 文通 [1-35]
殷 麗君 [3-68]
張 曉峰 [3-68]
李 里特 [3-68]
龐 中存 [4-59]

秋田県総合食品研究所報告規定

【総則】

1. 秋田県総合食品研究所報告は、食品研究に関する幅広い分野の原著論文（報文及び研究ノート）、総説、特許の要約、学会発表要旨及び既報論文再録等を掲載する。原著論文（報文及び研究ノート）は独創的なものであり、価値ある新事実や結論を含むものでなければならない。
2. 投稿者は、原則として秋田県総合食品研究所の職員とする。
3. 論文の用語は、原則として日本語とする。

【掲載論文の種類】

原著論文（報文及び研究ノート）と総説の2種類とする。原著論文は、論文として未発表のものに限る。ただし、講演要旨、会議議事録などに発表した内容を投稿することは妨げない。

【掲載論文等のページ数と注意事項】

（報文及び総説）論文自身が独立しており、完結した内容でなければならない。論文の長さは特に限定しないが、10ページ程度であることが望ましい。

（研究ノート）限られた部分の発見や、新しい実験方法など、報文としてはまとまらないものであっても、報告する価値のあるもの。論文は、4ページ以内にまとめること。

（特許の要約）1/2ページにまとめること。

（学会発表要旨）1ページ以内にまとめること。

（外部発表論文要約）外部発表論文や著書等について、論文題名、著者名、雑誌もしくは著書名、巻、最初と最後のページ及び発表年を記載するとともに、要約を1ページ以内に記載する。

【審査】

1. 原著（報文及び研究ノート）及び総説に関しては、複数の編集委員によりその論文の価値判断がなされ、掲載の可否が決定される。
2. 編集委員は、論文の内容、文章などについて著者に改正を助言し、あるいは疑義の解明を求めることが出来る。
3. 編集委員の質問や意見に対して明確な回答がなされた場合には、速やかに修正原稿を提出しなければならない。

【原稿の書き方】

1. 一般的注意事項：論文の記述は正確を期し、全編にわたり簡潔明瞭であること。
2. 原稿は、「Word」を用いて作成し、A4版縦長様式で提出すること。
3. 原稿の書体は、原則として明朝体を用い、表題は18ポイント、本文は12ポイントとし、読みやすいように明瞭に印字すること。
4. 原稿は、オフセット印刷となるので、上下、左右には2.5cmの余白を設ける。

【論文の形式】

1. 報文は、次の形式をとる。
 - (1) 要約、(2) 緒言、(3) 実験方法、(4) 結果、(5) 考察、(6) 引用文献の順とする。謝辞は、文献の前に入れる。
2. 研究ノートは、次の形式をとる。
 - (1) 緒言、(2) 実験方法、(3) 結果と考察、(4) 引用文献とする。
3. 総説は、特に形式にこだわらないが、最初に要約を付ける。
4. 図表は、本文中では図1あるいは表1などと表記する。
5. 引用文献は、本文中の該当人名や事項の後に上付き小文字で、秋田県¹⁾、や総食研^{2・4)}などのように番号を付し、そのリストを一括して引用文献の項に記載する。
6. 投稿中の論文、私信、未発表結果は、引用文献に入れず本文中に括弧で示し引用する。
7. 本文中に他の論文の著者名を引用する場合には、混乱の起こらない限り姓のみとする。著者が2名の論文は、両者の姓を併記し、3名以上の場合は、筆頭著者以外を「他」と略記する。
8. 定義を必要とする略号や記号の使用は最小限にとどめる。使用するときには、初出の箇所に正式名を書き、続けて括弧内に略号をいれる。用いた略号は文末(引用文献のあと)に一括して表示する。また、表題には略号を用いない。

【引用文献】

1. 引用文献には、本文中での引用順に番号を付けて記載する。
2. 引用文献は、著者名、雑誌名もしくは著書名、巻、号、最初と最後のページ、発行年の順に記載する。
3. 著者名は、姓名とも記し、全著者名を記載する。
4. 欧文雑誌は、イタリック、巻はボールドとする。
5. 和文誌名は、科学技術文献速報、また、欧文誌名は、*Chemical Abstract* や *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 投稿規定等を参照のこと。

【単位と物質の名称】種々の物質単位及びその用語や記号は、国際単位系・SI(metric system)を基本とする。常用的に用いられている物質名のうち、極めて使用頻度が高く、使い方が国際的に統一されている物質名は、定義なしで使用できる。

【学名】学名にはイタリックを用いる。

本規定は平成11年4月1日より施行する。

平成21年4月1日、一部改正。

秋田県総合食品研究所報告
第 11 号

委員長 高野 靖
副委員長 高橋 砂織

委員 塚本 研一
同 熊谷 昌則
同 進藤 昌
同 高橋 慶太郎
同 金子 隆宏
同 高橋 一弥

発行 平成 21 年12月25日
発行者 秋田県総合食品研究所
〒010-1623
秋田市新屋町字砂奴寄 4-26
電話：018-888-2000（代）
FAX：018-888-2008
<http://www.arif.pref.akita.jp/>

【無断複製を禁ず】