

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

**平成27年度～平成29年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」
研究成果報告書概要**

1 学校法人名 関西文理総合学園 2 大学名 長浜バイオ大学

3 研究組織名 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部

4 プロジェクト所在地 滋賀県長浜市田村町1266番地

5 研究プロジェクト名 湖北地域の食品産業発展へのバイオサイエンス研究による貢献

6 研究観点 地域に根差した研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
蔡 晃植	バイオサイエンス学部	教授

8 プロジェクト参加研究者数 5 名

9 該当審査区分 理工・情報 生物・医歯 人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
蔡 晃植	バイオサイエンス学部・教授	植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析	湖北特産の植物工場野菜の高機能化と活性物質特定による普及拡大
河合 靖	バイオサイエンス学部・教授	植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析	湖北特産の植物工場野菜の高機能化と活性物質特定による普及拡大
		メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析	酵母の老化と代謝産物との相関関係解明と湖北での新たな清酒の開発
池内俊貴	バイオサイエンス学部・准教授	アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用	湖北のアユに蔓延する病気の感染原因究明とその防除法開発
河内浩行	バイオサイエンス学部・准教授	湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発	湖北の固有魚類の迅速判断法の開発
向 由起夫	バイオサイエンス学部・准教授	メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析	酵母の老化と代謝産物との相関関係解明と湖北での新たな清酒の開発
		アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用	湖北のアユに蔓延する病気の感染原因究明とその防除法開発

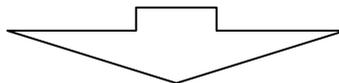
法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

(変更の時期:平成 年 月 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

研究の目的・意義・独創性

滋賀県の湖北地域は、食品産業が活発で、醸造、発酵、有用植物生産などのバイオ産業の拠点になっている。一方、湖北地域における食品産業の多くは古くからの伝統的な手法や経験的手法によるものであり、飛躍的發展を遂げたバイオサイエンス研究の恩恵を受けていない。従って、科学的見地からの問題の解決法の提示や新技術の導入によって湖北地域の食品産業は飛躍的に発展する余地を残している。長浜バイオ大学はこれまでに、生命科学の基礎に関わる研究を強力的に展開して、滋賀県のバイオ研究の拠点としての地位を確保している。本研究は、このような本学の特色を生かして、食品産業に関連したバイオサイエンスの基礎研究を強力的に推し進め、湖北地域の食品産業部門に科学的知見に基づいた問題解決手法を提示し、新しい技術を導入することで飛躍的な生産量の増加や品質の向上、高機能化などを誘起しようというものである。本研究の最大の特徴は、バイオ産業の分野でも特に湖北地域で活発な動物、植物、微生物を用いた食品産業をターゲットとしている点である。また、本研究は食品産業の発展に貢献しうる研究を、様々なバイオサイエンス分野でトップクラスの研究実績をあげている研究者が専門性を生かし、異なる複数のテーマを担当する横断的な研究グループを構成することで、各研究グループ間で情報を共有し、効果的な研究の進捗をはかるように工夫されている。また、本研究プロジェクトでは、食品分野に関わる研究を、従来の分子生物学的手法だけでなく、有機化学的手法や生化学的手法、生理学的手法を織り交ぜて進めようという点にその特徴がある。それゆえ、本研究プロジェクトには、マイクロアレイなどの先端技術を用いて、古くからの琵琶湖の固有魚種を見分ける手法を開発する研究や、これまで全く明らかにならなかった病原菌の感染機構をバイオインフォマティクスの手法を用いて解析しようという研究や、全く新しい生理活性物質を同定することで、植物工場を食品産業から健康食品産業へと昇華させようという研究、メタボローム解析による清酒酵母の老化と代謝産物の変動に関する研究などが含まれており、これまでになくユニークな試みとなっている。

計画の概要

テーマ1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

この研究テーマでは、制限酵素断片長多型解析法(PCR-RFLP)による、ミトコンドリア DNA の塩基配列を解析することによって魚介類の種を判別することのできる簡便場真贋判定法の開発を目指す。本研究における真贋判定の対象としてはビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスおよび、ニゴロブナ、ギンブナ、ゲンゴロウブナとし、判別に用いる DNA は、多くの生物の塩基配列がデータベースに既に登録されていて利用し易く、コピー数も多いということからミトコンドリア DNA を利用する。また、PCR-RFLP法と並行して、マイクロアレイチップの導入についても検討する。ここでのアレイチップを用いた種判別法は、同一の領域でそれぞれの種に特徴的な置換を有する約 20bp の領域を選定してオリゴヌクレオチドを合成し、これをプロッターでチップ表面に固定したものを用いる。発色は、TMB (tetramethylbenzidine)を用いることで、蛍光スキャナーのような特殊な解析装置を使用せず、肉眼でも判別できるアレイチップの開発を目指す。

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

テーマ 2: アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用

低水温期のアユ稚魚に発生し、大きな問題となっているアユ冷水病は、*Flavobacterium psychrophilum* という細菌によって発症する。この菌株間では宿主特異性が存在し、アユに感染するがニジマスには感染しない株(アユ冷水病菌)や逆にニジマスに感染するがアユには感染しない株(ニジマス冷水病菌)が単離されている。このことは、アユ冷水病菌にはニジマス冷水病菌が持たない因子があり、それはワクチン作製において重要なターゲットとなることを示している。そこで、本研究ではまずアユ冷水病菌全ゲノム配列の解読を行う。得られた配列情報を元にしてアユ冷水病菌とニジマス冷水病菌との比較ゲノム解析を行うことで、アユ冷水病菌特異的な遺伝子の探索を行う。得られた候補遺伝子群は、マイクロアレイを用いて様々な冷水病菌株でその存在や発現を比較し、アユ特異的病原性を有する菌株のみで発現しているかどうかを確認する。また、RNA-seq によって低温時に発現誘導される遺伝子を探索し、この遺伝子を破壊した組換え菌を作製し、培養細胞やアユに対しての病原性の喪失を確認する。また、得られた遺伝子産物をワクチンの抗原としても用い、有効性の高いアユ冷水病菌のワクチン開発につなげる。

テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析

本研究では、新規植物工場で高機能化栽培を行った「ツブリナ」に含まれる脂肪代謝促進活性物質を、ヒトの核内受容体であるペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α (PPAR α) の活性を指標に単離・同定を行うと共に、この化合物が実際に体重の減少や脂肪代謝促進に効果を有するのかを明らかにすることを目的とする。本研究プロジェクトでは、以下に示す 3 つの方向で研究を行う。

- 1) ヒト PPAR α の活性化物質を高含有する栽培法の確立: 新規植物工場で、様々な養液、温度、塩濃度、光条件によりツブリナを栽培し、活性物質を抽出する。次に、PPAR α の活性を測定出来る系を構築し、各抽出画分の PPAR α 活性を測定し、活性物質を多く含む栽培条件を決定する。
- 2) ツブリナからの PPAR α アゴニスト活性を有する物資の単離および構造解析: 上記の条件で栽培したツブリナを溶媒分画し、活性物質を各種クロマトグラフィーで精製する。単離した活性物質の構造を NMR や高分解の質量分析計、等を用いて明らかにする。
- 3) 活性物質の脂肪代謝促進活性の確認: 脂肪代謝は、PPAR α が活性化された後、その下流で制御されている脂肪代謝に関与するタンパク質をコードする遺伝子の発現によって制御されている。そこで、この活性物質を、マウスの初代肝臓細胞に加え、実際にこれら脂肪代謝に関与する遺伝子が発現するかどうかを明らかにし、この活性化化合物がマウスやヒトなどの哺乳類においても脂肪代謝促進活性を有するのかどうかを検証する。

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

本研究では、清酒酵母について実験室環境と醸造工程での細胞老化の進行を評価すると共に、その過程のメタボローム情報を取得することにより、様々な清酒酵母における老化と醸造特性の相関を分析し、清酒醸造における新しい指標を提案することを目的とする。本研究プロジェクトでは、以下に示す 3 つの方向で研究を行う。

- 1) 清酒酵母の細胞寿命測定: 実際の醸造に用いられているきょうかい酵母における分裂寿命(1 個の細胞が死ぬまでに生む娘細胞の数)と経時寿命(細胞が増殖を停止してから生きる期間)を実験室環境と醸造工程において測定し、既知の実験室株の寿命と比較する。さらに、これまでに蓄積した実験室変異株の寿命データを基に清酒酵母の寿命を決定する因子の探索を行う。
- 2) 清酒酵母の実験室環境におけるメタボローム解析: 清酒酵母を実験室環境において培養し、その細胞内代謝物と細胞外代謝物を NMR 法や LC/MS 法で解析する。これらの清酒酵母のメタボローム情報を実験室株と比較することにより、清酒酵母の代謝特性を把握する。さらに、清酒酵母の老化細胞を分離し、そのメタボローム情報を解析することも試みる。
- 3) 清酒酵母の醸造過程におけるメタボローム解析: 醸造工程におけるメタボローム情報を得て、実験室条件で取得したメタボローム情報と比較する。さらに、この工程で造られた清酒の酒質およびメタボローム情報から醸造工程における管理指標を多変量解析によって提案する。

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

(2) 研究組織

本プロジェクトには、動物の育種などを専門とするアニマルバイオサイエンス学科の河内浩行准教授、水生動物や環境攪乱物質を専門とするバイオサイエンス学科の池内俊貴准教授、酵母や微生物を専門とするバイオサイエンス学科の向由起夫准教授、植物や天然物有機科学を専門とする蔡 晁植教授、有機化学を専門とする河合 靖教授が参加する。本プロジェクトでは、① 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発(河内)、② アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用(池内、向)、③ 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析(蔡、河合)、④ メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析(向、河合)を行う。この研究グループの中で、蔡、河合は植物分子生理学を専門とし、有機化合物の精製や構造解析に、河内、池内は魚類の生理解析を専門として、分子生理・生物学に、向は微生物の生理と分子生物学的解析に精通しており、各研究者は各々の分野でトップクラスの研究実績をあげている。本研究では、各研究者が専門性を生かし、複数のテーマを担当する横断的な研究グループを構成することで、各研究グループ間で情報を共有し、効果的な進捗をはかる。

(3) 研究施設・設備等

研究に使用した研究施設

研究室 3 3 (命北館 2 F) 117.25 平米、研究室 3 4 (命北館 2 F) 117.25 平米、研究室 4 2 (命北館 1 F) 126.55 平米、研究室 3 2 (命北館 1 F) 117.25 平米、研究室 2 2 (命岳館 3 F) 60 平米、共通器材室 1 (命岳館 1 F) 52.05 平米、測定室 2 (命北館 2 F) 30.87 平米

主な研究装置の名称及びその利用時間数

高速液体クロマトグラフィーシステム (日本分光社製) 約 1,160 時間

DNA シーケンシング解析システム (サーモフィッシャー社製) 約 2,013 時間

アレイスポットシステム (カケンジェネックス社製) 約 312 時間

(4) 研究成果の概要 ※下記、1 3 及び 1 4 に対応する成果には下線及び*を付すこと。

テーマ 1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

本研究課題では、まず PCR-RFLP 法による、ミトコンドリア DNA を対象としたビワマスとニゴロブナに対する真贋判定法の開発を目指した。さらに DNA チップを用いたニゴロブナ等の種判別法の導入についても検討した。

1) PCR-RFLP 法を用いたビワマスの真贋判定法の開発

* 遺伝情報処理ソフトウェアを用いてビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスのミトコンドリア DNA 配列をアライメントし、NADH デヒドロゲナーゼ サブユニット 4 の一部(12000F2)からサブユニット 5(ND5R1)をコードする領域までを増やすプライマーセットである、プライマー12000F2(12008)と ND5R1(14857)を作製し、PCR で増幅を試みたところ全ての DNA において約 3,000 bp の増幅断片が確認された。そこで、この増幅断片を制限酵素 *Hae*Ⅲで処理したところ、ビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスで異なるバンドパターンが得られた。次に、この様にして得られた特徴的なバンドパターンがそれぞれの魚種の全ての個体で同一かどうかを調べたところ、ビワマス、アマゴ、ニジマスはそれぞれ 8 個体全てに同じバンドパターンが確認できたが、ヤマメについては、二つのパターンが得られることが示された。しかし、この二つのパターンは全て、ビワマス、アマゴ、ニジマスとは異なっており、このプライマーと制限酵素 *Hae*Ⅲを用いることで 4 種を判別できると判断された。

新たな PCR-RFLP ターゲットを開発するために、別の領域である NADH デヒドロゲナーゼ サブユニット 1(ND1F1-ND1R1)をコードする領域を増やすプライマーセットである、プライマーND1F1(3795)と ND1R1(4886)を作製し、PCR 産物を制限酵素 *Hae*Ⅲで処理したところ、ビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスでそれぞれ異なるバンドパターンが得られた。次に、この特徴的なバンドパターンがそれぞれの魚種の全ての個体で同一かどうかを調べたところ、アマゴとヤマメはそれぞれ 8 個体全てに同じバンドパターンが確認できた。一方、ビワマスとニジマスでは、2 つのパターンが得られることが示されたが、それぞれの魚種で得られた 2 つのパターンは異なっていることから、このプライマーと制限酵素 *Hae*Ⅲを用いることで 4 種を判別できると判断された。

2) PCR-RFLP 法を用いたニゴロブナの真贋判定法の開発

* 湖北地方の特産物である鮎寿司には琵琶湖固有亜種であるニゴロブナが使用される。しかし、近年、ゲンゴロウブナやギンブナなどを使用した鮎寿司も販売されている例があり、ニゴロブナの簡便な真贋判定法の開発が必要とされている。そこで、ニゴロブナ、ギンブナ、ゲンゴロウブナから得たミト

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

コンドリア DNA を用いて PCR-RFLP で判別可能なプライマーを設計した。まず、FunacutF2 と FunacutR3 プライマーを用い PCR により ND3 遺伝子をコードする領域を増幅し、この断片を *AluI* および *HpyGH4III* によって切断したところ、それぞれ特徴的な DNA 断片長のバンドが得られた。ND5 領域に対しては *AluI* F1、*AluI* R1 プライマー対、*AluI* F2、*AluI* R2 プライマー対を用い PCR を行い、この断片を *AluI* によって切断したところ、こちらも予測どおり、それぞれの魚種に特徴的な DNA バンドパターンが得られ、*AluI* F1 と *AluI* R1 プライマーで増幅した断片についてはゲンゴロウブナを、*AluI* F2 と *AluI* R2 プライマーで増幅した断片についてはニゴロブナを判別することが出来ることが明らかになった。この結果、ND3 遺伝子をコードする領域、ND5 遺伝子をコードする領域に対する PCR-RFLP 法を用いた 2 パターンでのニゴロブナ、ギンブナ、ゲンゴロウブナの判別法の確立に成功した。ここで、確立した PCR-RFLP 法を用いて、鮎寿司(飯魚、竜王ふなずし工房)の魚種を検討したところ、すべてニゴロブナであることが分かり、この方法で鮎寿司の真贋判定も行えることが明らかになった。

3) DNA チップを用いたニゴロブナの真贋判定法の開発

DNA チップを用いたニゴロブナの真贋判定法を新たに開発するために、ニゴロブナ、ギンブナ、ゲンゴロウブナの特異的な配列を示す領域を 28 か所見出した。それぞれの領域を増幅し、日清紡より提供されたポリカルボジイミドをスーパーホワイトグラスへコーティングし、この基盤へスポットティングした。この基盤に対しビオチン化標識した funaChip7F と、funaChip7R プライマーを用いこれらのキャプチャー部を含む配列を増幅させ、この基盤上のキャプチャーとハイブリダイズさせた結果、0.1%ポリカルボジイミドコートしたスライドグラスおよび 1%ポリカルボジイミドコートしたスライドグラスにおいて非常に薄いが発色が見られた。そこで、作製したアレイ DNA チップを用いてに三種の鮎について検討を行ったところ、ハイブリダイズと洗浄の条件をより詳細に検討する必要性が示された。

テーマ 2: アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用

滋賀県湖北地域の稚鮎生産に大きな影響を与えているアユ冷水病の原因菌である *Flavobacterium psychrophilum* のアユに対して非病原性と病原性の菌株のゲノムを解明し、この菌の宿主特異性の機構を明らかにすることによって、防除法の確立を目指した。

1) アユ冷水病菌全ゲノム配列の解読

アユ冷水病菌 (SG080403 株) からゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて、コンティグ配列を作製した。得られたコンティグをニジマス冷水病菌の完全ゲノム配列をリファレンスとしてマッピングしたところ、582,852 塩基対の H1 および 70,576 塩基対の H2、2,136,850 塩基対の H3 の 3 つのコンティグまで作製することができたが、繰り返し配列のためそれらを連結することができなかった。H1 と H2 のギャップを G14、H2 と H3 のギャップを G12、H3 と H1 のギャップを PCR で増幅し従来型のシーケンサーで配列決定を行った。その結果、2,866,077 塩基対の全ゲノム配列を取得することに成功した。これにより、アユ冷水病菌の全塩基配列を初めて決定することができた。

2) アユ冷水病菌とニジマス冷水病菌との比較ゲノム解析

SG080403 株ゲノムの全塩基配列からタンパクをコードする領域 (CDS) を推定したところ、2,553 個で、アユに対して非病原性のニジマス冷水病菌 JIP02/86 株 と比べると 339 個少ない。一方、rRNA および tRNA はそれぞれ 6 および 49 と同じであった。JIP02/86 株において感染に関与すると考えられる分子 19 個について SG080403 株と比較したところ、13 の分子が SG080403 株にも保存されていた。このうち、配列一致度 100% の FP0081 および FP0082、FP0086 ホモログは SG080403 株でも感染に関与すると考えられたので、遺伝子破壊を行うこととした。

3) アユ冷水病菌の病原性原因遺伝子の探索

アユ冷水病は、水温が 16°C 以下になると発症することから、感染に関与する遺伝子は低水温で発現すると考えられる。そこで、15 °C (冷水) と 25 °C (温水) でそれぞれ培養した SG080403 株 を RNA-seq 法によりトランスクリプトーム解析を行ったところ、15 °C で 25 °C の時より 4 倍以上発現した遺伝子は 24 個存在した。そこで、次に 15 °C で 4 倍以上の発現誘導が見られた遺伝子のうち、感染に関与する可能性が高い遺伝子 (lipoprotein precursor ホモログ遺伝子、gene_536、細胞膜表面タンパク質遺伝子、メタロプロテアーゼ遺伝子、オレイン酸ヒドラターゼ遺伝子、脂肪酸デサチュラーゼ遺伝子、ペルオキシレドキシシンホモログ遺伝子) を選択し、15 °C および 25 °C における発現量をリアルタイム RT-PCR によりその発現を比較した。その結果、測定したいずれの遺伝子も 15°C での発

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

現量が 25℃のそれよりも高くはなく、むしろ逆に低いものが多かった。

テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析

新規植物工場システムで栽培したツブリナ (*Mesembryanthemum crystallinum*) に脂肪蓄積の抑制や脂肪の代謝を促進することで体重増加を抑制する物質が存在するのかどうか、また存在するならばその化合物はどのようなものなのかを明らかにすることを目的として研究を行った。

1) PPAR α 活性化能検定系の構築

* PPAR α 活性化能を検定するために、COS-7 細胞に酵母由来の転写因子 GAL4 の DNA 結合ドメインとヒト由来の PPAR α のリガンド結合部位を融合したタンパク質を発現させるためのプラスミド、ルシフェラーゼ遺伝子上流に GAL4 の応答配列 UASg (upstream activation sequence of GAL) を 4 回組み込んだレポータープラスミド、内部標準用の β -Gal を発現させるコントロールプラスミドを導入し、37℃の CO₂ インキュベーターで 5 時間インキュベートした。インキュベート後、PPAR α を活性化する既存の試薬である WY14643 を加えたところ、20、40 μ M 処理でそれぞれ、374%と 1,735%の PPAR α 活性が認められた。このことから、PPAR α 活性化能検定系を構築できたことが示された。

2) ツブリナに存在する PPAR α 活性化能を有する物質

* 生重量 4 kg のツブリナをミキサーで破碎し、真空凍結乾燥機で凍結乾燥した後、ヘキサン、50%メタノール、水で順次抽出したところ、ヘキサン抽出画分から 1.9 g、50%メタノール抽出画分から 25.6 g、水抽出画分から 6.4 g の乾燥物を得た。

次に、この様にして得た各画分の PPAR α の活性化能を測定したところ、ヘキサン画分では 100、1000 ng/ml 処理でそれぞれ、171%と 150%の有意な PPAR α 活性化能が認められ、50%メタノール抽出画分でも、10、1000 ng/ml 処理でそれぞれ、187%と 130%の有意な PPAR α 活性化能が認められた。一方、水抽出画分には PPAR α 活性化能が存在しないことも明らかになった。以上のことから、アイスプラントのヘキサン抽出画分と 50%メタノール抽出画分に PPAR α 活性化物質が含まれていることが明らかとなった。

3) ツブリナの加熱乾燥粉末に存在する PPAR α 活性化能

ツブリナを 60℃、20 時間温風乾燥機で乾燥させた後、50%メタノールで抽出し、この溶出液の PPAR α 活性化能について調べたところ、加熱乾燥処理したツブリナの粉末には活性化能が存在しないことが示された。

4) マウス初代肝細胞を用いた PPAR α 活性化能の検定

ツブリナの 50%メタノール抽出画分に動物の肝臓細胞の PPAR α を実際に活性化する能力が存在するかどうかについて調べた。活性を調べる方法としては、マウスから初代肝臓細胞を作製し、ここにツブリナから抽出した活性物質を処理することで、PPAR α が活性化したときに発現が上昇する遺伝子の mRNA 量をリアルタイム RT-PCR で定量することで活性を評価することにした。マウスの初代肝細胞から抽出した mRNA をテンプレートとして、PPAR α 遺伝子と PPAR α が活性化したときにその発現が上昇することが明らかになっている遺伝子である *CPT1-a* (*Carnitine Palmitoyltransferase 1A*) 遺伝子、*PGC1- α* (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α*) 遺伝子、*UCP2* (*Uncoupling protein 2*) 遺伝子の発現量をそれぞれ特異的なプライマーセットを用いて、リアルタイム RT-PCR により定量した。その結果、初代肝細胞にツブリナの 50%メタノール抽出画分を添加すると、PPAR α 自体の発現量が添加前に比べて約 4 倍程度に増加することが明らかになった。また、また長鎖アシル CoA とカルニチンを基質としてアシルカルニチンと CoA にする反応を触媒する脂肪酸の代謝に重要な酵素をコードしている *CPT1-a* 遺伝子も約 2.5 倍程度まで増加し、ミトコンドリアのエネルギー代謝を制御する転写因子をコードする *PGC1- α* 遺伝子は、約 4 倍程度に、ミトコンドリア内膜での酸化的リン酸化反応を脱共役させ、エネルギーを熱として散逸する機能を持っている *UCP2* 遺伝子は約 2.2 倍程度に発現上昇することが明らかになった。以上の結果は、ツブリナの 50%メタノール抽出画分には PPAR α を活性化し、脂肪代謝を促進する活性物質が存在していることを示唆する。

5) ツブリナに含まれる PPAR α 活性化物質の精製

PPAR α 活性化能が認められた 50%メタノール画分から PPAR α 活性物質を精製するために、Amberlite XAD-7 HP を充填したオープンカラムで吸着クロマトグラフィーを行った。70%ジメチルスルホキシドで溶解した 3.83 g の 50%メタノール画分を XAD-7 HP カラムに吸着させ、10%、40%、60%、80%、100%エタノールを用いて溶出した。その結果、10%エタノール溶出画分、40%エタノール溶出

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

画分には PPAR α アゴニスト活性は認められなかったが、80%エタノール溶出画分、100%エタノール溶出画分において有意な PPAR α 活性化能が存在することが明らかになった。次に、比較的高い活性が回収された 80%エタノール溶出画分を逆相カラムである ODP2 HP-4E を用いた HPLC でさらなる精製を試みた。その結果、リテンションタイム 9 分 40 秒ほどのところに認められたピークに活性が認められたのでこのピークを分取し、構造解析を行ったが、量が少なく構造活性に至らなかった。しかし、ツブリナに存在する PPAR α 活性化物質の精製法を確立し、この活性物質を精製出来たと考えられる。

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

本研究では、清酒酵母について実験室環境と醸造工程での細胞老化の進行を評価すると共に、その過程のメタボローム情報を取得することにより、様々な清酒酵母における老化と醸造特性の相関を分析し、清酒醸造における新しい指標を提案することを目的とした研究を行った。

1) 清酒酵母の細胞寿命測定

* 分裂寿命を YPD 完全培地、30°C の培養条件で測定したところ、K7 株、K10 株、K701 株の分裂寿命は、X2180 実験室株よりも 2 割から 3 割程度長かった。興味深いことに、K7 株の分裂寿命はグルコース濃度を 2% から 10% に増加させると、さらに長くなった。一方、経時寿命を SD 最小培地、15°C の培養条件で測定したところ、K7 株、K10 株、K701 株の経時寿命は、X2180 実験室株よりも短かった。興味深いことに、すべての株の経時寿命はグルコース濃度を 2% から 10% に増加させると、さらに顕著に短くなった。以上の様に、実験室酵母と比較して、ほとんどのきょうかい酵母で分裂寿命が長く、特にきょうかい 7 号株は清酒醸造条件に近い高糖濃度環境において分裂寿命が非常に長くなるという興味深い結果が得られた。また、醸造環境において、すべてのきょうかい酵母の経時寿命が短くなること**が強く示唆された。**

2) きょうかい酵母におけるメタボローム解析

* きょうかい酵母について、プロトン核磁気共鳴分光法 (¹H-NMR 法) によるメタボローム解析を行った。得られたデータを主成分分析に供したところ、YPD 培地でのきょうかい酵母の代謝は総じて似ており、特に K9 株、K10 株、K701 株の細胞内代謝はほぼ同じであることが明らかになった。一方、PC1 軸(横軸)において K7 株のクラスターが他の株のクラスターから分離しており、K7 株に特徴的な代謝が存在する可能性が示唆された。また、唯一の一倍体で分裂寿命が短かった K701(n)株のクラスターが PC2 軸(縦軸)において他の清酒酵母株のクラスターから分離していることより、PC2 軸は倍数性あるいは分裂寿命に関係する代謝物情報を含むことが示唆された。

3) 新しい清酒酵母の探索

* まず、花、果実、稲穂からクロラムフェニコールとプロピオン酸ナトリウムを含む YPD 培地を用いて 20 株の酵母株を分離培養した。分離した微生物の同定は真核生物特有の 18S rRNA 遺伝子の配列を決定し、ゲノムデータベースに対する相同性検索により行った。その結果、清酒醸造に利用することが期待できる酵母株として、ヤブツバキからワインの味わいなどに関与している *Candida stellate* (9-A 株) と漬物製造現場に多く確認される *Saccharomyces servazii* (9-B 株)、熟した梅の果実から清酒酵母と同種の *Saccharomyces cerevisiae* (11-F 株) と *Pichia* 属(11-G 株) を分離した。

酒造過程ではエタノール濃度が約 20% に達することが知られており、清酒酵母は高濃度エタノール環境下で生存することが必要である。そこで、分離した酵母株を 5% または 10% のエタノールを含む YPD 培地とエタノール含まない YPD 培地で 7 日間培養し、生育を測定した。エタノール含まない YPD 培地では、すべての酵母株が生育したが、5% エタノールを含む YPD 培地では、K7 株と X2180 株の他に 12 株の分離株が生育した。また、10% エタノールを含む YPD 培地では、K7 株と X2180 株に加えて 11-F 株と 11-G 株だけが生育した。11-F 株については、K7 株より早い時期に生育が増加し、7 日目には K7 株より高い生育を示した。一方、11-G 株は X2180 株よりも低い生育を示した。これらの結果より、11-F 株と 11-G 株を清酒醸造用酵母の候補とした。

次に、清酒醸造用酵母に必須のエタノール産生能を知るために、10% グルコースを含む YPD 培地で 4 日間静置培養した酵母培養液についてガスクロマトグラフィー分析法により産生するエタノールを定量した。11-F 株と 11-G 株は、K7 株と X2180 株よりわずかに少ないながらもほぼ同程度のエタノールを産生した。一方、7-A 株と 9-A 株はアルコール生産量が著しく少なかった。さらに、実際の清酒醸造に用いる麴から作製した培地でのエタノール産生能を調べた。11-F 株は、培養 5 日目と 11 日目の両

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

方においてK7株と同等のエタノールを産生した。これに対して、11-G株のエタノール産生量は5日目と11日目の両方で劣っていた。以上のように、11-F株が清酒酵母K7株と同程度のアルコール産生能を有していることから、11-F株を清酒醸造用酵母の最終候補とした

4) 「岡村乃梅酵母」による清酒醸造

* 新たに分離した11-F株による小仕込み試験(総米4kg、水5.6L)を実施した。原料米として精米歩合60%の一般精米(日本晴)を用いて三段仕込み(麴歩合22%、汲水歩合140%)を行った。YPD寒天培地に形成された酵母のシングルコロニーを2mLの麴培地に植菌して、30°Cで24時間振盪培養した。この前培養液を 2×10^5 cells/mLとなるように麴に加え、15°Cで11日間かけて酒母を造った。仕込み温度は初添を15°C、仲添および留添を10°Cとした。このようにして作製した11-F株による小仕込み試験の清酒は酸度2.6、日本酒度-23の濃厚な甘口であった。以上の結果から、11-F株は清酒醸造に適すると判断し、通常スケールの清酒醸造に用いることにした。そして、梅の実から分離した11-F株を「岡村乃梅酵母」と名付けた。

岡村乃梅酵母の小仕込み試験で造られた清酒中に含まれる有機化合物の成分量をK7株で造られた清酒データと比較したところ、11-F株による清酒中のアルコール濃度はK7株酒と比べて若干低かったが11-F株による清酒の糖質は、K7株による清酒の約2.5倍多く含まれていた。また、K7株による清酒ではグルコースがグリセロールの約2倍であったのに対して、11-F株による清酒では約7.5倍多く含まれていた。さらに、11-F株による清酒の方にはK7株による清酒には見られないマルトースがわずかであるが検出され、糖質成分の組成の違いが清酒の風味に影響していると考えられた。

<優れた成果が上がった点>

テーマ1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

1) PCR-RFLP法を用いたビワマスの真贋判定法の開発に成功

ビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスのミトコンドリアDNAのNADHデヒドロゲナーゼサブユニット4の一部(12000F2)からサブユニット5(ND5R1)をコードする領域までの間と、NADHデヒドロゲナーゼサブユニット1(ND1F1-ND1R1)をコードする領域を増やすプライマーセットを用いてPCRで増幅し、制限酵素HaeIIIで処理することで、ビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスを簡便に区別することができる方法を開発した。

2) PCR-RFLP法を用いたニゴロブナの真贋判定法の開発に成功

湖北地方の特産物である鮎寿司に使用されるニゴロブナの真贋判定を目的として、ニゴロブナ、ギンブナ、ゲンゴロウブナをから得たミトコンドリアDNAをテンプレートにPCR-RFLPで判別可能なプライマーを用いてPCRで増幅した。まず、FunacutF2とFunacutR3プライマーを用いPCRを行い、増幅産物をAluIおよびHpyCH4IIIによって切断したところ、ニゴロブナ、ギンブナ、ゲンゴロウブナに特徴的なバンドパターンが得られた。さらに、AluIF1とAluIR1プライマーで増幅した断片を制限酵素AluIで切断することでゲンゴロウブナを、AluIF2とAluIR2プライマーで増幅した断片を制限酵素AluIで切断することでニゴロブナを判別することが出来ることが明らかになり、2パターンでのニゴロブナの真贋判定法を確立した。さらに、確立した方法を用いて、鮎寿司の魚種が判別出来るか検討を行ったところ、これらの検体はすべてニゴロブナであることが分かり、この方法で、鮎寿司の真贋判定も行えることが明らかになった。

テーマ2: アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用

1) アユ冷水病菌全ゲノム配列を初めて解明

アユ冷水病菌(SG080403株)からゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いて配列解析し、582,852塩基対のH1および70,576塩基対のH2、2,136,850塩基対のH3の3つのコンティグを作製することができた。さらに、各ギャップについてPCRで増幅し従来型のシーケンサーで配列決定を行うことで、2,866,077塩基対の全塩基配列を初めて決定することができた。

2) アユ冷水病菌とニジマス冷水病菌との比較ゲノム解析による宿主特異性決定機構の解明

SG080403株ゲノムの全塩基配列からタンパクをコードする領域(CDS)を推定したところ、2,553個で、アユに対して非病原性のニジマス冷水病菌JIP02/86株と比べると339個少ない。一方、rRNAおよびtRNAはそれぞれ6および49と同じであった。JIP02/86株において感染に関与すると考えられる分子19個についてSG080403株と比較したところ、13の分子がSG080403株にも保存さ

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

れていた。このうち、配列一致度 100% の FP0081 および FP0082、FP0086 ホモログは SG080403 株でも感染に関与すると考えられたので、遺伝子破壊を行うこととした。

テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析

1) PPAR α 活性化能検定系の構築

PPAR α 活性化能を検定するために、COS-7 細胞に酵母由来の転写因子 GAL4 の DNA 結合ドメインとヒト由来の PPAR α のリガンド結合部位を融合したタンパク質を発現させるためのプラスミド、ルシフェラーゼ遺伝子上流に GAL4 の応答配列 UASg (upstream activation sequence of GAL) を 4 回組み込んだレポータープラスミド、内部標準用の β -Gal を発現させるコントロールプラスミドを導入することで、PPAR α の活性化能を簡便に検定できる検定系を構築した。

2) ツブリナに存在する PPAR α 活性化能を有する物質の存在を提示

生重量 4 kg のツブリナを真空凍結乾燥機で凍結乾燥した後、ヘキサン、50%メタノール、水で抽出し、各画分の PPAR α 活性化能を測定したところ、50%メタノール抽出画分に PPAR α 活性化物質が含まれていることを初めて明らかにした。さらに、この活性化物質は、加熱乾燥処理したツブリナの粉末には含まれないことも明らかにし、高熱処理により不活性化する物質であることが示された。

3) マウス初代肝細胞を用いた脂肪代謝活性化の確認

ツブリナの 50%メタノール抽出画分にマウスの肝臓細胞の脂肪代謝を実際に活性化するかどうかについて調べた。マウスから初代肝臓細胞を作製し、ここにツブリナから抽出した活性物質を処理することで、PPAR α が活性化したときに発現が上昇する遺伝子の mRNA 量をリアルタイム RT-PCR で定量することで活性を評価した結果、50%メタノール抽出画分には、PPAR α の発現量を約 4 倍に増加させる活性が存在することが明らかになった。また、また長鎖アシル CoA とカルニチンを基質としてアシルカルニチンと CoA にする反応を触媒する脂肪酸の代謝に重要な酵素をコードしている *CPT1 α* 遺伝子も約 2.5 倍まで増加し、ミトコンドリアのエネルギー代謝を制御する転写因子をコードする *PGC1 α* 遺伝子は約 4 倍に、ミトコンドリア内膜での酸化リン酸化反応を脱共役させ、エネルギーを熱として散逸する機能を持つ *UCP2* 遺伝子は約 2.2 倍に発現上昇することが明らかになった。以上の結果から、ツブリナの 50%メタノール抽出画分には PPAR α を活性化し、実際に脂肪代謝を促進する活性物質が存在していることが示された。

4) ツブリナに含まれる PPAR α 活性化物質の精製に成功

PPAR α 活性化能が認められた 50%メタノール画分から Amberlite XAD-7 HP カラムと逆相 HPLC を用いて、活性物質を精製する方法を確立した。

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

1) 清酒酵母の細胞寿命を解明

分裂寿命と経時寿命を測定したところ、実験室酵母と比較して、酒造に使用されるほとんどのきょうかい酵母 (K7 株、K10 株、K701 株) で分裂寿命が長く、特に K7 株は清酒醸造条件に近い高糖濃度環境において分裂寿命が非常に長くなるという興味深い結果が得られた。また、醸造環境において、すべてのきょうかい酵母の経時寿命が短くなるという興味深い結果も得られた。

2) メタボローム解析によるきょうかい酵母の特徴付け

YPD 培地でのきょうかい酵母の代謝産物は総じて同じであり、特に K9 株、K10 株、K701 株の細胞内代謝はほぼ同一であることが明らかになった。一方、PC1 軸 (横軸) において K7 株のクラスターが他の株のクラスターから分離しており、K7 株に特徴的な代謝が存在する可能性が示唆された。

3) 新しい清酒酵母の単離とこの酵母を用いた清酒醸造

花、果実、稲穂から 20 株の酵母株を分離培養した。次に、5%または 10%のエタノールを含む YPD 培地で培養したところ、K7 株と X2180 株、11-F 株、11-G 株だけが生育した。さらに、生育速度とエタノール生産量を測定することで、11-F 株を清酒醸造用酵母の候補とした。

次に、11-F 株による小仕込み試験 (総米 4 kg、水 5.6 L) を実施した。原料米として精米歩合 60% の一般精米 (日本晴) を用いて三段仕込み (麴歩合 22%、汲水歩合 140%) を行った。その結果、11-F 株による小仕込み試験の清酒の指標は、生細胞数以外 K7 株に対して若干劣ってはいるものの、ほぼ同様な変動を示した。11-F 株の小仕込み酒は酸度 2.6、日本酒度 -23 の濃厚な甘口であった。以上の結果から、11-F 株は清酒醸造に適すると判断し、11-F 株を「岡村乃梅酵母」と名付けた。

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

岡村乃梅酵母の小仕込み試験で造られた清酒中に含まれる有機化合物の成分量 K7 株で造られた清酒データと比較したところ、11-F 株による清酒中のアルコール濃度は K7 株酒と比べて若干低かったが 11-F 株による清酒の糖質は、K7 株による清酒の約 2.5 倍多く含まれていた。また、K7 株による清酒ではグルコースがグリセロールの約 2 倍であったのに対して、11-F 株による清酒では約 7.5 倍多く含まれていた。さらに、11-F 株による清酒の方には K7 株による清酒には見られないマルトースがわずかであるが検出され、糖質成分の組成の違いが清酒の風味に影響していると考えられた。

<課題となった点>

テーマ 1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

ビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスを簡単に区別することができる PCR-RFLP 法を確立することができた。さらに、鮎寿司に使用されるニゴロブナの真贋判定を目的として、ニゴロブナ、ギンブナ、ゲンゴロウブナを判定することができる PCR-RFLP 法についても確立することができた。一方、DNA チップを用いたニゴロブナの真贋判定法については、それぞれそれぞれのシグナルを得ることに成功したが、そのシグナルは弱く、非特異的なスポットが検出されてしまった。このことから、この DNA チップを用いた方法による真贋判定のためには、実験条件をより詳細に検討する必要性が示された。

テーマ 2: アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用

アユ冷水病菌 (SG080403 株) の全塩基配列を初めて解明することができた。一方、この情報をもとに、低温で発現する遺伝子を次世代シーケンサーによる RNA-seq 解析によって調べた結果は、定量的 RT-PCR の結果と一致しない部分が多く、その発現量解析の正確性に疑問が残る結果となった。アユ冷水病病原因子を特定するためには、原核生物における遺伝子の発現量を正確に測定できる技術を確立する必要がある。この技術が確立されれば、この菌の形質転換やワクチン作成法は確立しているので、遅滞なく有効なワクチンが開発されるだろう。

テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析

完全閉鎖型の新規 HEFL 植物工場で栽培したツブリナには PPAR α を活性化し、実際に脂肪代謝を促進する活性物質が存在していることを初めて示した。一方、この活性物質を精製しこれを機器分析による構造解析を試みたが、今回得られた化合物の量が少なすぎて構造解析には至らなかった。精製に用いる量を増やすことで、全く新規の活性物質の構造を明らかにできるであろう。

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

実験室酵母と比較して、酒造に使用されるほとんどのきょうかい酵母で分裂寿命が長く、特に K7 株は清酒醸造条件に近い高糖濃度環境において分裂寿命が非常に長くなるという知見を得た。一方、寿命とメタボローム結果との相関関係については、明確な相関関係を認めることができなかったことから、より多くの酵母株について検討する必要があると思われる。

<自己評価の実施結果と対応状況>

2015 年 9 月 25 日 (金曜日) 15:00-16:30 に長浜バイオ大学命北館 1F セミナー室にてキックオフミーティングを行い、研究方針と各プロジェクト間の連携について意見を聞き、中間報告会とは別に、各プロジェクト間での研究打ち合わせを頻繁に行うことで意見一致を見た。2017 年 5 月 17 日 (水曜日) 15:00-16:20 に長浜バイオ大学命北館 1F セミナー室にて研究担当者と研究協力者を中心に 16 名が参加して中間報告会を開催した。この会議では、これまでの研究について中間報告を各担当研究者が行い、今後の研究方針と問題点などについて研究者間で話しあった。その結果、各プロジェクトにおける今後の進め方について軌道修正を行った。

<外部 (第三者) 評価の実施結果と対応状況>

2017 年 12 月 2 日 (火曜日) 13:00-15:00 に長浜バイオ大学命北館 1 階セミナー室 5 にて外部評価委員会を開催した。外部評価委員のツジコー株式会社代表取締役の辻昭久氏からは、この研究プロジェクトはこれまでに無い画期的な研究ばかりであり、実際に湖北の食品産業に貢献する結果が得られていることに対して画期的な成果であるとの評価を頂いた。今後もこの研究を進め、是非湖北から日本全国に発信できる画期的な成果を打ち出してほしいとのコメントを頂いた。また、バイオビジネス創出研究会シニアマネージャーである武内啓一氏からは、4 つのプロジェクトが、総じて目的を達成していることを評価すると共に、今後、湖北の食品産

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

業が積極的にバイオサイエンスの知見を取り入れるきっかけになったことを高く評価してもらった。さらに、今後も産官が全力でサポートするので、この研究プロジェクトを継続してほしいとの要望を頂いた。これに対して、本プロジェクトを継続し、より多くの湖北産業に携わる方に成果発表会に参加してもらう方向で意見一致を見た。

<研究期間終了後の展望>

テーマ 1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

ビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスやニゴロブナ、ギンブナ、ゲンゴロウブナを簡便に判定する上で、肉眼で判定できる DNA チップ法は非常に有用な方法となり得る。これまでの研究によって、特異的に反映できる DNA 領域は同定しており、これをチップに貼り付ける方法の開発にも成功している。今後は、ハイブリダイズの条件と洗浄の条件をより詳細に検討することで、この簡便な判定法を実用化することが可能であると考えられる。必要性が示された。

テーマ 2: アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用

アユ冷水病菌(SG080403 株)の全塩基配列を初めて解明することができた。一方、この情報をもとに、低温で発現する遺伝子を次世代シーケンサーによる RNA-seq 解析によって調べた結果は、定量的 RT-PCR の結果と一致しない部分が多く、その発現量解析の正確性に疑問が残る結果となった。アユ冷水病病原因子を特定するためには、原核生物における遺伝子の発現量を正確に測定できる技術確立の必要性がある。この技術が確立されれば、この菌の形質転換やワクチン作成法は確立しているため、遅滞なく有効なワクチンが開発されるだろう。

テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析

完全閉鎖型の新規 HEFL 植物工場で栽培したツブリナには PPAR α を活性化し、実際に脂肪代謝を促進する活性物質が存在していることを初めて示した。一方、この活性物質についての構造解析もこことみだが、今回得られた化合物の量が少なすぎて構造解析には至らなかった。スタートに用いる量を増やすことで、全く新規の活性物質の構造を明らかにできるであろう。

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

実験室酵母と比較して、酒造に使用されるほとんどのきょうかい酵母で分裂寿命が長く、特に K7 株は清酒醸造条件に近い高糖濃度環境において分裂寿命が非常に長くなるという新知見を得た。一方、寿命とメタボローム結果との相関関係については、明確な相関関係を認めることができなかったことから、より多くの酵母株について検討する必要があると思われる。

<研究成果の副次的効果>

テーマ 1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

本テーマにおいて開発されたビワマス、アマゴ、ヤマメ、ニジマスを見分ける手法を用いて同定したびわ湖の固有種であるビワマスを肥育させる飼料を開発することに成功し、これにより「ビワトロマス」という商品名で長浜市の養殖業者と共同で商品化に成功した。現在も、より品質の良いビワマスを養殖するための共同研究が進行中である。

テーマ 2: アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用

アユ冷水病菌(SG080403 株)の全ゲノムが明らかになることで、この情報を用いた比較解析が日本全国で行われるようになった。特に、滋賀県水産試験場とはアユ冷水病の対策に関して共同研究を進めることになり、将来のアユ冷水病の完全駆逐に向けた方策が示されることになった。

テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析

ツブリナの 50%メタノール抽出画分にマウスの肝臓細胞の脂肪代謝を実際に活性化することができる活性物質が含まれていることが明らかになったことから、この物質を用いた健康食品の作製が可能になり、グラシートルという商品名で地元の業者と共同で商品化することに成功した。さらに、この花成物質を大量に生産する方法についての新たな研究プロジェクトが開始され、文部科学省の「ブランディング事業」の中にも組み込まれることになった。

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

本研究によって単離された 11-F 株を用いた小仕込み試験により、品質の良い新しいタイプの清酒が作製されることが明らかになった。そこで、この 11-F 株を「岡村乃梅酵母」と名付け、2018 年度からは通常スケールでの仕込みを行うことになり、「金亀 岡村乃梅酵母醸造」という商品名で一般販売を

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

おこなっている。

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) 魚種判別 (2) ワクチン開発 (3) 脂肪代謝促進
 (4) メタボローム (5) 植物工場 (6) 全ゲノム解析
 (7) トランスクリプトーム (8) 生理活性物質

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付すこと。

<雑誌論文>

テーマ 1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

- * 1) S Sugiura, Y Tonoyama, H Kawachi, M Tsukada, G Oka, Y Imai, M Sanada, Y Shimizu, T Kawase, N Hori and N Shimizu. Effects of dietary soy sauce oil supplementation on growth performance and sensory characteristics of Biwa salmon *Oncorhynchus masou rhodurus*. Journal of Japanese Society for Aquaculture Research, 63, 291-297. (2015)
- * 2) M Sanada, R Hayashi, Y Imai, F Nakamura, T Inoue, S Ohta and H Kawachi. 4',6-dimethoxyisoflavone-7-O-β-D-glucopyranoside (wistin) is a peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ) agonist that stimulates adipocyte differentiation. Animal Science Journal, 87, 1347-1351. (2016)
- 3) Y Harauchi, T Kajimoto, E Ohta, H Kawachi, A Imamura-Jinda and S Ohta. Prenylated purine alkaloids from seeds of *Gleditsia japonica*. Phytochemistry. 143: 145-150. (2017)
- * 4) M Suzuki, F Nakamura, E Taguchi, M Nakata, F Wada, M Takihi, T Inoue, S Ohta, and H Kawachi. 4',6-dimethoxyisoflavone-7-O-β-D-glucopyranoside (wistin) is a peroxisome proliferator-activated receptor α (PPARα) agonist in mouse hepatocytes. Molecular and Cellular Biochemistry, (2018) *In Press*

テーマ 2: アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用

- 1) H. Takahashi, T. Sato, T. Ikeuchi, K. Saito, M. Sakaizumi, T. Sakamoto. High levels of plasma cortisol and impaired hypoosmoregulation in a mutant medaka deficient in P450c16l1 as functional materials. Mol Cell Endocrinol 430, 25-32. (2016)
- 2) M. Yoshiki, H. Takahashi, M. Yoshida, Y. Ogino, T. Ikeuchi, T. Nakamachi, N. Konno, K. Matsuda, H. Sakamoto, T. Sakamoto. Principal function of mineralocorticoid signaling suggested by constitutive knockout of the mineralocorticoid receptor in medaka fish. Sci Rep 6, 37991. (2016)
- 3) Y. Li, W. Zhao, M. Li, G. Chen, X.-F. Wang, X. Fu, O. Kitao, H. Tamiaki, K. Sakai, T. Ikeuchi, S. Sasaki. Chlorophyll-based organic-inorganic heterojunction solar cells. Chemistry, 23, 10886-10892. (2017)
- 4) K. Sakai, H. Fukushima, Y. Yamamoto, T. Ikeuchi. A fourth subtype of retinoic acid receptor-related orphan receptors is activated by oxidized all-trans retinoic acid in medaka (*Oryzias latipes*). Zoological Lett., 3, 11. (2017)
- 5) S. Sasaki, G. Chen, Y. Sanehira, M. Li, T. Miyasaka, H. Tamiaki, T. Ikeuchi, X.-F. Wang. Biosupramolecular bacteriochlorin aggregates as hole-transporters for perovskite solar cells. J Photochem Photobiol, 353, 639-644. (2018)
- 6) M. Li, N. Li, W. Hu, G. Chen, S. Sasaki, K. Sakai, T. Ikeuchi, T. Miyasaka, H. Tamiaki, X. Wang. Effects of cyclic tetrapyrrole rings of aggregate-forming chlorophyll derivatives as hole-transporting materials on performance of perovskite solar cells. ACS Appl. Energy Mater 1, 9-16. (2018)

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析

- 1) Kamimura, M., Han, Y., Kito, N. and Che, F. S. Identification of Interacting Proteins for Calcium Dependent Protein Kinase 8 by a Novel Screening System Based on Bimolecular Fluorescence Complementation. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 78, 438-447. (2014)
- 2) Katsuragi, Y., Takai, R., Furukawa, T., Hirai, H., Morimoto, T., Katayama, T., Murakami, T. and Che, F. S. CD2-1, the C-terminal region of flagellin, modulates the induction of immune responses in rice. *Mol. Plant Microb. Interact.*, 28, 648-658. (2015)
- 3) Ootsubo, Y., Hibino, T., Wakazono T., Mukai Y, and Che, F. S. IREN, a novel EF-hand motif-containing nuclease, functions in the degradation of nuclear DNA during the hypersensitive response cell death in rice. *Biosci. Biotech. Biochem.* 80, 748-760. (2016)
- 4) 神村麻友、蔡 晃植. BiFC を基盤とした大腸菌を用いた新規相互作用検出法。植物の成長調節、Vol.51、No.1、52-55. (2016)
- 5) Hirai H., Furukawa T., Katsuragi Y., Che F. S. Purification of flagellin from *Acidovorax avenae* and analysis of plant immune responses induced by the purified flagellin. *Bio protocol.* 6, e1898. (2016)
- 6) Kondo, M., Hirai, H., Furukawa, T., Yoshida, Y., Suzuki, A. and Che, F. S. Frameshift mutation confers function as virulence factor to leucine-rich repeat protein from *Acidovorax avenae*. *Frontiers in Plant Science.* 7, 1-13. (2017)

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

- 1) Kamei, Y., A. Tai, S. Dakeyama, K. Yamamoto, Y. Inoue, Y. Kishimoto, H. Ohara, Y. Mukai. Transcription factor genes essential for cell proliferation and replicative lifespan in budding yeast. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 463, 351-356. (2015)
- 2) Teoh, S. T., S. Putri, Y. Mukai, T. Bamba, E. Fukusaki. A metabolomics-based strategy for identification of gene targets for phenotype improvement and its application to 1-butanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology for Biofuels.* 8, 144-157. (2015)
- 3) Tanaka, N., Y. Mukai. Yeast Cyc8p and Tup1p proteins function as coactivators for transcription of Stp1/2p-dependent amino acid transporter genes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 468, 32-38. (2015)
- 4) Ohta, E., Y. Nakayama, Y. Mukai, T. Bamba, E. Fukusaki. Metabolomic approach for improving ethanol stress tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biosci. Bioeng.* 121, 399-405. (2016)
- 5) Ootsubo, Y., T. Hibino, T. Wakazono, Y. Mukai, F.-S. Che. IREN, a novel EF-hand motif-containing nuclease, functions in the degradation of nuclear DNA during the hypersensitive response cell death in rice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 14, 1-13. (2016)
- 6) Teoh, S. T., M. Kitamura, Y. Nakayama, S. Putri, Y. Mukai, E. Fukusaki. Random Sample Consensus combined with Partial Least Squares regression (RANSAC-PLS) for microbial metabolomics data mining and phenotype improvement. *J. Biosci. Bioeng.* 122, 168-175. (2016)
- 7) Ogasawara, Y., S. Kira, Y. Mukai, T. Noda, A. Yamamoto. Ole1, fatty acid desaturase, is required for Atg9 delivery and isolation membrane expansion during autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biology Open* 6, 35-40. (2017)
- 8) Tai, A., Y. Kamei, Y. Mukai. The forkhead-like transcription factor (Fhl1p) maintains yeast replicative lifespan by regulating ribonucleotide reductase 1 (RNR1) gene transcription. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 488, 218-223. (2017)
- 9) Fuse, T., K. Katsumata, K. Morohoshi, Y. Mukai, Y. Ichikawa, H. Kurumizaka, A. Yanagida, T. Urano, H. Kato, M. Shimizu. Parallel mapping with site-directed hydroxyl radicals and micrococcal nuclease reveals structural features of positioned nucleosomes in vivo. *PLOS ONE*, e0186974. (2017)

<図書>

テーマ 1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

- 1) バイオテクノロジー入門 建帛社 2016 年
 テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析
 1) バイオテクノロジー入門 高畑京也、蔡 晃植、齊藤 修 編著(2016 年)

<学会発表>

テーマ 1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

- 1) 殿山泰弘、今井良政、塚田匡輝 真田的貴、岡郷平、河内浩行、杉浦省三、掘伸明、清水淑子、清水信義「メダカを用いた脂肪細胞分化に影響を与える物質の評価系の開発」アクアゲノム研究会、東京海洋大学、(2015)
- * 2) Fumiya NAKAMURA, Matoki SANADA, Ryuichi HAYASHI, Yoshimasa IMAI, Tomoyo INOUE, Shinji OHTA, Hiroyuki KAWACHI「Fractionation and identification of 5-nonadecylresorcinol as an agonist of PPAR γ in soy sauce oil」17th AAAP Animal Science Congress、九州産業大学、(2016)
- * 3) Yoshimasa IMAI, Yoshihiro Yamada, Matoki SANADA, Fumiya NAKAMURA, Tomoki HAYASHI, Shinji OHTA, Hiroyuki KAWACHI「Fractionation and identification of 5-nonadecylresorcinol as an agonist of PPAR γ in soy sauce oil」17th AAAP Animal Science Congress、九州産業大学、(2016)
- * 4) 田口絵美、中田真帆、瀧日桃花、和田ふみ、寺村有喜、俣野泰毅、永井信夫、河内浩行「鮎ずし抽出物の骨格筋におけるエネルギー消費、および運動持久力に対する影響」第 71 回日本栄養・食糧学会大会 沖縄コンベンションセンター、(2017)
- * 5) 中田真帆、田口絵美、瀧日桃花、和田ふみ、寺村有喜、俣野泰毅、永井信夫、河内浩行「鮎ずし抽出物の脂質代謝に対する影響」第 71 回日本栄養・食糧学会大会 沖縄コンベンションセンター、(2017)
- 6) 上甲千鈴、田口絵美、中田真帆、中村文哉、今井良政、鈴木美里、河内浩行「ノダフジ (Wisteria floribunda) 種子に含まれる Wistin の脂質代謝に対する影響」第 71 回日本栄養・食糧学会大会 沖縄コンベンションセンター、(2017)
- * 7) 青田昇大、今井良政、河内浩行「養殖ビワマスの肉質向上を目指した研究」大学院研究交流会 長浜バイオ大学、(2017)

テーマ 2: アユ冷水病菌の全ゲノム配列解析による感染機構と防除法への応用

- 1) Kotowa Sakai, Hitoshi Tamaki, Toshitaka Ikeuchi, Shin-ichi Sasaki. Selective detection of histidine in aqueous solution based on disassembly of chlorophyll self-aggregates. Eleventh International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP15)、立命館大学、(2015)
- 2) 酒井琴和、西山智貴、池内俊貴「メダカメラトニン受容体 1a および 1b, 1c の機能解析」日本水産学会、東京海洋大学、(2016)
- 3) 西山智貴、田中法子、石崎健奨、箕浦毅、酒井琴和、池内俊貴「メダカドーパミン受容体 D2 の機能解析」日本水産学会、東京海洋大学、(2016)
- 4) 酒井琴和、福島遥、池内俊貴「メダカレチノイド関連オーファン受容体 ca の機能解析」日本水産学会、近畿大学、(2016)
- 5) 山本裕也、酒井琴和、池内俊貴「オキシステロールのメダカメラトニン受容体への作用」日本水産学会、東京海洋大学、(2017)
- 6) 酒井琴和、山本裕也、福島遥、池内俊貴「メダカにおける ROR の組織局在性の解析」日本水産学会、東京海洋大学、(2017)
- 7) K. Sakai, Y. Li, W. Zhao, M. Li, G. Chen, X.-F. Wang, X. Fu, H. Tamiaki, T. Ikeuchi, S. Sasaki. 「Construction of Solid-State Chlorophyll-Based Solar Cells」Thirteenth International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP17)、立命館大学 (2017)
- 8) S. Sasaki, S. Duan, G. Chen, M. Li, G. Chen, K. Sakai, T. Ikeuchi, H. Tamiaki, X.-F. Wang. 「Free-Base Chlorophyll and bacteriochlorophyll derivatives as electron donor for organic solar

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

cells]Thirteenth International Workshop on SupramolecularNanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCP17)、立命館大学、(2017)

- 9) 小川祐未、酒井琴和、中川太郎、池内俊貴「メダカ及びスポッテッドガーメラトニン 1d 受容体の薬理学的特性」日本比較内分泌学会、奈良女子大学 (2017)
- 10) 酒井琴和、山本裕也、池内俊貴「メダカメラトニン受容体 4 サブタイプの機能解析」日本比較内分泌学会、奈良女子大学、(2017)
- 11) 山本裕也、酒井琴和、中川太郎、池内俊貴「魚類 4 種のメラトニン受容体 1c における薬理学的特性の比較」日本比較内分泌学会、奈良女子大学 (2017)

テーマ 3: 植物工場野菜の高機能化とそれに含まれる脂肪代謝促進物質の同定および機構解析

- 1) 鈴木愛芽, 柳生暁輝, 川口雄正, 近藤真千子, 蔡 晃植 「*Acidovorax avenae* N1141 菌株におけるイネ過敏感細胞死を誘導するエフェクタータンパク質の IPPT の同定と機能解析」 第 56 回日本植物生理学会年会、東京、(2015)
- 2) 古川岳人、稲垣宏明、澤井美広、高井亮太、平井洋行、蔡 晃植 「EF-Tu の新規エピトープ部位である EFa50 のイネにおける認識機構」 第 56 回日本植物生理学会年会、東京、(2015)
- 3) 若園貴仁、大坪由佳、日比野孝紀、向由起夫、蔡 晃植 「イネの Ca^{2+} 依存性エンドヌクレアーゼである IREN は過敏感細胞死において認められる DNA の断片化の実行因子である」 日本農芸化学会 2015 年度大会、岡山、(2015)
- 4) 堀家史哉、平井洋行、宇野雄太、寺沢勇治、奥山愛梨、久保健一、仲下英雄、蔡 晃植 「EPR1 過剰発現イネに認められる *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* に対する病害抵抗性の分子機構」 日本農芸化学会 2015 年度大会、岡山、(2015)
- 5) 平井洋行、宇野雄太、堀家史哉、奥山愛梨、國枝拓哉、仲下英雄、蔡 晃植 「イネ病害抵抗性に関与する OsPR7 と OsPR8 の OsNTF1 転写因子を介した発現制御機構」 植物化学調節学会第 50 回大会、東京、(2015)
- 6) 武岡啓吾、古川岳人、浅見忠男、蔡 晃植 「EF-Tuにより誘導されるイネの免疫反応を特異的に阻害する化合物の探索」 植物化学調節学会第 50 回大会、東京、2015 年 10 月 24 日
- 7) 神村麻友、小林毅、蔡 晃植 「植物成長促進剤である酢酸コリンを処理したシロイヌナズナにおける遺伝子発現プロファイル」 植物化学調節学会第 50 回大会、東京、(2015)
- 8) 川口雄正、近藤真千子、鈴木愛芽、蔡 晃植 「イネの過敏感細胞死を誘導する新規エフェクタータンパク質 IPPT の機能解析」 第 38 回日本分子生物学会年会、神戸、(2015)
- 9) 仲 恭輔、古川岳人、平井洋行、近藤真千子、石野早紀、蔡 晃植 「植物病原細菌 *Acidovorax avenae* の非病原性菌株と病原性菌株の比較ゲノム解析による宿主特異性決定機構の解明」 第 38 回日本分子生物学会年会、神戸、(2015)
- 10) 奥山愛梨、平井洋行、宇野雄太、寺沢勇治、堀家史哉、國枝拓哉、久保健一、仲下英雄、蔡 晃植 「イネの病害抵抗性に関与する PR7 と PR8 遺伝子の転写を制御する新規 NAC 転写因子の同定」 第 38 回日本分子生物学会年会、神戸、(2015)
- 11) 古川岳人、武岡啓伍、平井洋行、蔡 晃植 「イネにおける EF-Tu エピトープ部位である EFa50 の認識機構」 第 57 回日本植物生理学会年会、盛岡、(2015)
- 12) 平井洋行、宇野雄太、堀家史哉、奥山愛梨、國枝拓哉、仲下英雄、蔡 晃植 「OsNTF1 転写因子による OsPR7 と OsPR8 を介したイネ免疫反応の誘導」 第 57 回日本植物生理学会年会、盛岡、(2016)
- 13) 神村麻友、小林 毅、蔡 晃植 「植物成長促進剤である酢酸コリンを処理したシロイヌナズナにおいて早期に発現変動する遺伝子の解析」 日本農芸化学会 2016 年度大会、札幌、(2016)
- 14) 片山貴等、村上貴彦、河合美咲、高井亮太、蔡 晃植 「イネとシロイヌナズナに存在する異なるフラジェリン認識機構のキメラ受容体を用いた分子解析」 日本農芸化学会 2016 年度大会、札幌、(2016)
- 15) 村上貴彦、片山貴等、高井亮太、蔡 晃植 「植物種間における異なるフラジェリン認識システムの分布」 日本農芸化学会 2016 年度大会、札幌、(2016)
- 16) 古川岳人、武岡啓伍、浅見忠男、蔡 晃植 「EF-Tu によって誘導されるイネ免疫反応に対する特異的阻害剤の探索」 日本農芸化学会 2016 年度大会、札幌、(2016)

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

- 17) 奥山愛梨、平井洋行、宇野雄太、堀家史哉、國枝拓哉、久保健一、仲下英雄、蔡 晃植「イネの病害抵抗性に関する OsPR7 と OsPR8 の OsNTF1 転写調節因子による発現制御機構の解析」日本農芸化学会 2016 年度大会、札幌、(2016)
- 18) 鈴木愛芽、川口雄正、近藤真千子、蔡 晃植「新規エフェクタータンパク質である植物病原細菌 *Acidovorax avenae* 由来 IPPT の機能解析」日本農芸化学会 2016 年度大会、札幌、(2016)
- 19) 奥山愛梨、平井洋行、宇野雄太、蔡 晃植「転写因子 GRAB2 を介したプライミング病害抵抗性誘導機構の解析」第 3 回近畿大学・長浜バイオ大学合同セミナー、長浜、(2016)
- 20) 鈴木愛芽、近藤真千子、蔡 晃植「新規エフェクタータンパク質である植物病原細菌 *Acidovorax avenae* 由来 IPPT の機能解析」第 3 回近畿大学・長浜バイオ大学合同セミナー、長浜、(2016)
- 21) 中井亮太、神村麻友、蔡 晃植「OsNAC4 と OsNAC3 による過敏感細胞死誘導機構の解析」第 3 回近畿大学・長浜バイオ大学合同セミナー、長浜、(2016)
- 22) 古川岳人、武岡啓吾、浅見忠男、蔡 晃植「イネの免疫反応に影響を及ぼす化合物の探索とその機構の解明」第 3 回近畿大学・長浜バイオ大学合同セミナー、長浜、(2016)
- 23) 村上貴彦、古川岳人、平井洋行、蔡 晃植「植物種間における異なるフラジェリン認識システムの分布構解析」第 3 回近畿大学・長浜バイオ大学合同セミナー、長浜、(2016)
- 24) 枅谷豊、古川岳人、平井洋行、蔡 晃植「イネにおける植物免疫誘導因子 EF-Tu の受容機構の解析」第 3 回近畿大学・長浜バイオ大学合同セミナー、長浜、(2016)
- 25) 神村麻友、迫田凌一、小林毅、蔡 晃植「遺伝子発現プロファイリングを用いた酢酸コリンによる植物生長促進機構の解析」第 51 回植物化学調節学会、高知、高知大学、(2016)
- 26) 村上貴彦、平井洋行、高井亮太、蔡 晃植「植物に存在するフラジェリン認識システムの多様性」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 27) 松田智裕、古川岳人、蔡 晃植「受容体型キナーゼ ERC1 による病原菌由来の EF-Tu の認識」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 28) 神村麻友、迫田凌一、小林毅、蔡 晃植「遺伝子発現プロファイリングを用いた酢酸コリンによる植物生長促進機構の解析」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 29) 川口雄正、古川岳人、仲 恭輔、鈴木愛芽、中村みなみ、近藤真千子、蔡 晃植「イネ免疫反応を抑制する病原細菌由来のエフェクタータンパク質の同定とその機構解析」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 30) 中村みなみ、鈴木愛芽、近藤真千子、川口雄正、蔡 晃植「植物病原性細菌の IPPT によるイネの病徴形成と免疫反応誘導の特異性」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 31) 平井洋行、中川幸彦、蔡 晃植「*Acidovorax avenae* のフラジェリン糖鎖によって制御される特異的なイネ免疫反応誘導」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 32) 片岡千佳、平井洋行、宇野雄太、奥山愛梨、國枝拓哉、蔡 晃植「PR7 の発現を指標とした病害抵抗性誘導剤の探索」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、2(2016)
- 33) 中井亮太、神村麻友、蔡 晃植「OsNAC 転写因子を介した過敏感細胞死の機構解析」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 34) 古川岳人、武岡啓吾、浅見忠男、蔡 晃植「EF-Tu によって誘導されるイネ免疫反応に対する特異的阻害剤の探索」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 35) 今尾優吾、河合美咲、村上貴彦、高井亮太、蔡 晃植「イネにおける植物病原細菌由来の鞭毛タンパク質フラジェリンの受容機構解析」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 36) 近藤真千子、仲恭輔、平井洋行、古川岳人、吉田裕貴、鈴木愛芽、蔡 晃植「植物病原細菌 *Acidovorax avenae* イネ病原性菌株とイネ非病原性菌株間のゲノム配列比較によるイネ病原性に関する T3SS エフェクターの同定とその機能解析」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 37) 土本尚輝、神村麻友、蔡 晃植「過敏感細胞死誘導への OsGPK8 の関与」第 1 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、金沢、(2016)
- 38) 古川岳人、松田智裕、枅谷 豊、蔡 晃植「イネ免疫反応誘導活性を有する EFa50 ペプチドの

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

- イネにおける認識機構」第 39 回日本分子生物学会、横浜、(2016)
- 39) 近藤真千子、仲 恭輔、平井洋行、古川岳人、吉田裕貴、鈴木愛芽、蔡 晃植「植物病原細菌 *Acidovorax avenae* イネ病原性菌株とイネ非病原性菌株間のゲノム配列比較によるイネ病原性に関与する T3SS エフェクターの同定とその機能解析」第 39 回日本分子生物学会、横浜、(2016)
- 40) 川口雄正、古川岳人、仲 恭輔、鈴木愛芽、中村みなみ、近藤真千子、蔡 晃植「イネ免疫反応を抑制する病原細菌由来のエフェクタータンパク質の同定とその機構解析」第 39 回日本分子生物学会、横浜、(2016)
- 41) 川口雄正、近藤真千子、仲 恭輔、平井洋行、古川岳人、吉田裕貴、鈴木愛芽、蔡 晃植「フレームシフト変異は植物病原細菌 *Acidovorax avenae* 由来のロイシンリッチリピートタンパク質に病原性因子としての機能を付与する」第 58 回日本植物生理学会年会、鹿児島、(2017)
- 42) 中村みなみ、近藤真千子、平井洋行、古川岳人、川口雄正、山田孝樹、蔡 晃植「植物病原性細菌 *Acidovorax avenae* の新規エフェクタータンパク質によるイネの過敏感細胞死誘導機構」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- * 43) 神村麻友、小寺博士、小林 毅、蔡 晃植「酢酸コリンによる生長促進の機構解析」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- 44) 土本尚輝、榊原悠大、神村麻友、蔡晃植「Ca²⁺依存性プロテインキナーゼによる免疫反応である活性酸素発生の制御機構」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- 45) 三田将大、中井亮太、古川岳人、平井洋行、蔡 晃植「過敏感細胞死誘導における分子シャペロン OsHSP90 の関与」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- * 46) 上ヶ平柚歩、近藤晴香、平井洋行、古川岳人、蔡 晃植「ピニトールとカルノシン酸の高生産を目的としたローズマリー、セージ、アイスプラントの形質転換系の確立」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- 47) 片岡千佳、古川岳人、浅見忠男、蔡 晃植「イネの PAMP 誘導免疫を特異的に阻害する化合物の探索」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- 48) 西村成史、奥山愛梨、平井洋行、古川岳人、中川幸彦、蔡 晃植「GRAB2 転写調節因子によるイネの病害抵抗性に関与する OsPR7 の発現制御機構の解析」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- 49) 今尾優吾、河合美咲、村上貴彦、平井洋行、蔡 晃植「イネにおける新規受容体 FliRK2 を介した C 末端領域 CD2-1 の受容機構解析」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- 50) 松田智裕、栴谷 豊、古川岳人、蔡 晃植「イネ免疫反応誘導活性を有する EFa50 ペプチドのイネにおける認識機構」第 2 回北陸線植物バイオサイエンス研究会、福井、(2017)
- * 51) 神村麻友、小寺博士、小林 毅、蔡 晃植「酢酸コリンによって誘導されるシロイヌナズナ生長促進機構の解析」第 52 回植物化学調節学会、鹿児島、(2017)
- 52) 片岡千佳、古川岳人、浅見忠男、蔡 晃植「イネの PAMP 誘導免疫を特異的に阻害する化合物の探索」第 52 回植物化学調節学会、鹿児島、(2017)
- 53) 松田智裕、栴谷 豊、古川岳人、平井洋行、蔡 晃植「イネの免疫反応を誘導する病原細菌由来 EFa50 ペプチドの認識とその情報伝達機構」第 52 回植物化学調節学会、鹿児島、(2017)
- 54) 今尾優吾、河合美咲、村上貴彦、平井洋行、蔡 晃植「Recognition mechanism of CD2-1, C-terminal region of flagellin, mediated by novel pattern recognition receptor in rice」Taiwan-Japan Plant Biology 2017、Taipei, Taiwan、(2017)
- 55) 中村みなみ、近藤真千子、古川岳人、川口雄正、山田孝樹、蔡 晃植「Functions of novel effector proteins isolated from plant pathogenic bacteria, *Acidovorax avenae*, in the host or non-host interactions」Taiwan-Japan Plant Biology 2017、Taipei, Taiwan、(2017)
- 56) 栴谷豊、古川岳人、平井洋行、松田智裕、蔡 晃植「2 つの異なる EF-Tu 認識システムの植物種間における分布」第 40 回日本分子生物学会、神戸、(2017)
- 57) 片岡千佳、武岡啓吾、古川岳人、浅見忠男、蔡 晃植「EF-Tu により誘導されるイネの免疫反応を阻害する化合物の探索」第 40 回日本分子生物学会、神戸、(2017)
- 58) 片岡千佳、武岡啓吾、古川岳人、浅見忠男、蔡 晃植「EF-Tu により誘導されるイネの免疫反

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

応を阻害する化合物の探索」第 40 回日本分子生物学会、神戸、(2017)

59) 村上貴彦、今尾優吾、桂木雄也、蔡 晃植「Diversity of two flagellin recognition systems in plant species」第 40 回日本分子生物学会、神戸、(2017)

60) 土本尚輝、榊原悠大、神村麻友、蔡 晃植「イネの Ca^{2+} -依存性プロテインキナーゼ 8 を介した過敏感細胞死の誘導機構」第 40 回日本分子生物学会、神戸、(2017)

61) 中井亮太、平井洋行、神村麻友、蔡 晃植「Induction mechanism of hypersensitive response cell death mediated by OsNAC3 and OsNAC4」第 40 回日本分子生物学会、神戸、(2017)

62) 中村みなみ、近藤真千子、古川岳人、川口雄正、山田考樹、蔡 晃植「*Acidovorax avenae* の新規エフェクタータンパク質によるイネの過敏感細胞死誘導機構」第 40 回日本分子生物学会、神戸、(2017)

63) 川口雄正、古川岳人、仲 恭輔、中村みなみ、山田孝樹、近藤真千子、蔡 晃植「イネ免疫反応を抑制する病原細菌由来のエフェクタータンパク質の同定とその機構解析」日本農芸化学会 2018 年度大会、名古屋、(2018)

64) 村上貴彦、今尾優吾、桂木雄也、平井洋行、古川岳人、蔡 晃植「フラジェリン分子の異なるエピトープを認識する植物免疫システムの解析」日本農芸化学会 2018 年度大会、名古屋、(2018)

65) 土本尚輝、神村麻友、榊原悠大、倉林諒、蔡晃植「イネの Ca^{2+} -依存性プロテインキナーゼ 8 を介した過敏感細胞死の誘導機構」日本農芸化学会 2018 年度大会、名古屋、2(2018)日

* 66) 小寺博士、神村麻友、小林 毅、蔡 晃植「酢酸コリンによって認められるシロイヌナズナ生長促進の機構解析」第 59 回日本植物生理学会年会、札幌、(2018)

67) 松田智裕、古川岳人、枅谷 豊、平井洋行、蔡 晃植「細菌由来の EF-Tu に存在する EFa50 領域を認識するイネの受容機構解析」第 59 回日本植物生理学会年会、札幌、(2018)

68) 今尾優吾、桂木雄也、村上貴彦、平井洋行、蔡 晃植「病原細菌由来フラジェリンの CD2-0 領域をエピトープとして認識するイネの受容機構解析」第 59 回日本植物生理学会年会、札幌、(2018)

69) 桂木雄也、村上貴彦、今尾優吾、古川岳人、平井洋行、蔡 晃植「同一フラジェリン分子の異なる領域を認識して誘導される植物免疫システムに関する分子解析」第 59 回日本植物生理学会年会、札幌、(2018)

70) 土本尚輝、神村麻友、蔡 晃植「イネの Ca^{2+} -依存性プロテインキナーゼ 8 を介した過敏感細胞死の誘導機構」第 59 回日本植物生理学会年会、札幌、(2018)

71) 片岡千佳、古川岳人、浅見忠男、蔡 晃植「イネの PAMP 誘導免疫を特異的に阻害する化合物の探索とその阻害機構の解析」第 59 回日本植物生理学会年会、札幌、(2018)

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

1) 松本 美奈子、河合 靖「プロテアーゼの活性検出が可能なプテリンを基にした蛍光プローブ」日本蛋白質科学会年会、徳島、(2015)

* 2) 亀井 優香、向 由起夫「ビタミン B6 は分裂寿命の維持に必要である」酵母遺伝学フォーラム、広島大学、広島市、(2015)

* 3) 丸橋 翼、姜 山、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母リン酸飢餓応答システムによる分裂寿命制御」酵母遺伝学フォーラム、広島大学、広島市、(2015)

* 4) 丸橋 翼、姜 山、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母の液胞トランスポーターシャペロンによる分裂寿命制御」Yeast Workshop、せとうち児島ホテル、倉敷市、(2015)

* 5) 山本 聡一郎、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母の転写因子 Adr1p と Gcn4p による分裂寿命制御」Yeast Workshop、せとうち児島ホテル、倉敷市、(2015)

* 6) 田井 晶子、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母のリボヌクレオチド還元酵素遺伝子 RNR1 は分裂寿命を制御する」Yeast Workshop、せとうち児島ホテル、倉敷市、(2015)

* 7) 姜 山、丸橋 翼、向 由起夫「出芽酵母リン酸飢餓応答システムによる分裂寿命制御」Yeast Workshop、せとうち児島ホテル、倉敷市、(2015)

* 8) 亀井 優香、山本 聡一郎、向 由起夫「ビタミン B6 欠乏により細胞の分裂寿命は短くなる」日本分子生物学会、神戸ポートアイランド、兵庫県、神戸市、(2015)

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

- * 9) 田井 晶子、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母の Fork Head-Like 1 転写因子により制御される新規分裂寿命遺伝子の同定」 日本分子生物学会、神戸ポートアイランド、兵庫県、神戸市、(2015)
- * 10) 丸橋 翼、姜 山、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母リン酸飢餓応答系による分裂寿命制御メカニズム」 日本分子生物学会、神戸ポートアイランド、兵庫県、神戸市、(2015)
- 11) 松本 美奈子、河合 靖「プτεリン誘導体による新規グルタチオン S-トランスフェラーゼ活性検出蛍光プローブの開発」 日本化学会第 96 春季年会、京田辺、(2016)
- 12) 松本 美奈子、河合 靖「プテリン誘導体による新規 off/on 型プロテアーゼ活性検出蛍光プローブの開発」 日本化学会第 96 春季年会、京田辺、(2016)
- 13) 松本 美奈子、河合 靖「プテリンを基にした新規 off/on 型酵素活性検出蛍光プローブの開発」 日本蛋白質科学会年会、福岡、(2016)
- * 14) Yuka Kamei, Yukio Mukai 「Regulation of lifespan by vitamin B6 metabolism-related genes in yeast」 The Allied Genetics Conference 2016, Orlando World Center Marriott, Florida, USA, (2016)
- 15) Yukio Mukai, Tsubasa Maruhashi, Shan Jian, Yuka Kamei 「Regulation of lifespan by phosphate starvation response factors in yeast」 The Allied Genetics Conference 2016, Orlando World Center Marriott, Florida, USA, (2016)
- * 16) 亀井 優香、山本 聡一郎、向 由起夫「酵母トランスクリプトームとメタボロームから見た細胞老化」酵母から学ぶ遺伝子発現制御システム(シンポジウム) 日本生化学会、仙台国際センター、東北大学川内北キャンパス、仙台市、(2016)
- 17) 河合 靖、豊田安貴、岩井彩乃、梶原すみれ、北山 隆「ゼルンボン誘導体の抗菌活性」 第 60 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、網走、(2016)
- 18) 山本 聡一郎、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母の細胞老化特異的転写因子の探索」 Yeast Workshop、島根大学松江キャンパス、松江市、(2016)
- * 19) 十一 智教、山本 聡一郎、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母の分裂寿命に関与するビタミン B6 依存性酵素の探索」 Yeast Workshop、島根大学松江キャンパス、松江市、(2016)
- * 20) 中島 俊雄、丸橋 翼、向 由起夫「出芽酵母の分泌型酸性ホスファターゼによる分裂寿命制御機構の解明」 Yeast Workshop、島根大学松江キャンパス、松江市、(2016)
- * 21) 森松 貴輝、向 由起夫 出芽酵母の「Pho85 サイクリンによる分裂寿命制御機構の解明」 Yeast Workshop、島根大学松江キャンパス、松江市、(2016)
- 22) Yuka Kamei, Soichiro Yamamoto, Kohei Matsunaga, Eiichiro Fukusaki, Yukio Mukai 「Vitamin B6 regulates replicative lifespan in yeast」 日本分子生物学会、パシフィコ横浜、横浜市、(2016)
- 23) Akiko Tai, Yuka Kamei, Yukio Mukai 「Ribonucleotide reductase 1 gene specifically regulates replicative lifespan via forkhead-like 1 transcription factor in yeast」 日本分子生物学会、パシフィコ横浜、横浜市、(2016)
- 24) 松本 美奈子、河合 靖「グルタチオン S-トランスフェラーゼ活性検出に関するプテリンを基にした蛍光プローブの開発」 日本化学会第 97 春季年会、横浜、(2017)
- * 25) 田井 晶子、亀井 優香、向 由起夫「フォークヘッド転写因子 Fhl1p はリボヌクレオチド還元酵素 RNR1 遺伝子の転写を介して分裂寿命を制御する」 酵母遺伝学フォーラム、東京大学、東京都、(2017)
- * 26) 亀井 優香、十一 智教、山本 聡一郎、向 由起夫「ビタミン B6 合成酵素および取込み酵素による分裂寿命制御機構」 酵母遺伝学フォーラム、東京大学、東京都、(2017)
- * 27) 森松 貴輝、向 由起夫「出芽酵母の Pho85 サイクリンによる分裂寿命制御」 酵母遺伝学フォーラム、東京大学、東京都、(2017)
- * 28) 中島 俊雄、向 由起夫「出芽酵母の酸性ホスファターゼによる分裂寿命制御」 酵母遺伝学フォーラム、東京大学、東京都、(2017)
- 29) 十一 智教、山本 聡一郎、亀井 優香、向 由起夫「出芽酵母の分裂寿命を制御するビタミン B6 依存性酵素の探索」 Yeast Workshop、レグザムホール、高松市、(2017)
- 30) 森松 貴輝、向 由起夫「出芽酵母の分裂寿命に関わる Pho85p サイクリンの働く制御経路の探索」 Yeast Workshop、レグザムホール、高松市、(2017)

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

- 31) 中島 俊雄、向 由起夫 「出芽酵母の酸性ホスファターゼはチアミン代謝を介して分裂寿命を制御するのか？」 Yeast Workshop、レグザムホール、高松市、(2017)
- 32) Soichiro Yamamoto, Yuka Kamei, Yukio Mukai 「Identification of transcription factors required for senescence-dependent induction of vitamin B6 synthase SNZ1 gene in budding yeast」 日本分子生物学会、神戸ポートアイランド、神戸市、(2017)
- 33) Tomonori Tokazu, Soichiro Yamamoto, Yuka Kamei, Yukio Mukai 「Identification of pyridoxal 5'-phosphate (PLP)-dependent enzyme genes required for replicative lifespan in budding yeast」 日本分子生物学会、神戸ポートアイランド、神戸市、(2017)
- 34) Takaaki Morimatsu, Yukio Mukai 「Identification of cyclins for Pho85p kinase that regulate replicative lifespan in yeast」 日本分子生物学会、神戸ポートアイランド、神戸市、(2017)
- 35) Toshio Nakajima, Yukio Mukai 「Yeast acid phosphatases regulate replicative lifespan by mediating the thiamine metabolism genes expression」 日本分子生物学会、神戸ポートアイランド、神戸市、(2017)
- 36) 今村 彩瑛、田上 雄基、北山 隆、河合 靖 「ゼルンボンの抗菌活性機構解明のための光親和性ラベル化剤の合成」 日本化学会第 98 春季年会、船橋、(2018)
- 37) 加藤 寛之、北村 優斗、宇高 芳美、河合 靖、北山 隆 「反応活性アレン型ゼルンボンの酸化反応検討」 日本薬学会第 138 年会、金沢、(2018)

<研究成果の公開状況>(上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

<既に実施しているもの>

本学ホームページに報告書の詳細を掲載する。

<http://www.nagahama-i-bio.ac.jp/?p=14635>

<これから実施する予定のもの>

「湖北食品産業へのバイオサイエンスの貢献プロジェクト 2018 年度報告会」

「2018 年度淡海生涯カレッジ長浜校」での本プロジェクト研究者による講演

14 その他の研究成果等

テーマ 1: 湖北特産魚類のブランド化を目指した真贋判定技術の開発

【新聞報道】

- * ふなずし効果あり 中日新聞(全国版) 2017 年 6 月 28 日
- * ビワマス 輝きさらに 朝日新聞 2017 年 8 月 4 日
- * 湖北の味 楽しく広がり 京都新聞夕刊 2017 年 11 月 4 日
- * 「琵琶湖の宝石」磨く 日本経済新聞 西日本版 夕刊 2018 年 2 月 3 日

【テレビ報道】

- * ”琵琶湖の宝石”ビワマスに挑む HNK 大津放送局 2017 年 7 月 4 日

テーマ 4: メタボローム解析による清酒酵母の老化と醸造特性の相関分析

【新聞報道】

- * 滋賀夕刊 2018 年 2 月 20 日
- * 毎日新聞 2018 年 2 月 22 日
- * 朝日新聞 2018 年 2 月 27 日
- * 読売新聞 2018 年 3 月 1 日
- * 中日新聞 2018 年 3 月 1 日

【テレビ報道】

- * びわ湖放送「キラりん滋賀」 2018 年 2 月 19 日 18:15

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項>

研究テーマが多岐に及ぶので、研究代表者のリーダーシップが問われる。
外部評価も適切に導入して戴きたい。

<「選定時」に付された留意事項への対応>

本プロジェクトでは、研究テーマが多岐にわたるので、年次報告会や中間報告会とは別に、各プロジェクト間での研究打ち合わせを研究代表者が加わって頻繁に行うことで、研究テーマの遅滞無い遂行と研究テーマ間の整合性をとった。さらに、湖北で食品産業を立ち上げているツジコー株式会社の社長と、官と民の立場から共同研究をコーディネートしている一般社団法人バイオビジネス創出研究会シニアマネージャーに加わって頂いた常設の外部評価委員会を設立し、産業界と共同で本プロジェクトを推進できる体制を整えた。

<「中間評価時」に付された留意事項>

なし

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

なし

法人番号	251002
プロジェクト番号	S1513007L

16

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						備考
		法人負担	私学助成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他()	
平成27年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	22,733	7,578	15,155				
	研究費	10,375	5,465	4,910				
平成28年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	7,220	2,407	4,813				
	研究費	19,549	11,557	7,992				
平成29年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	17,956	10,677	7,279				
平成 年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	0						
平成 年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	0						
総 額	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	29,953	9,985	19,968	0	0	0	0
	研究費	47,880	27,699	20,181	0	0	0	0
総 計	77,833	37,684	40,149	0	0	0	0	

法人番号

251002

17 《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。)(千円)

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
命岳館			計 2				
研究室22	14	60.00		1			
共通器材室1	14	52.05		15			
命北館			計 5				
研究室32	18	117.25		5			
研究室33	18	117.25		3			
研究室34	18	117.25		3			
研究室42	20	126.55		3			
測定室2	20	30.87		15			

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

0 m²

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型 番	台 数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)				h			
(研究設備)				h			
高速液体クロマトグラフィーシステム	27	UV-4075, MD-4015, 他3点	1	1,160	5,335	3,556	私学助成
DNAシーケンシング解析システム	27	3500-150	1	2,013	17,398	11,599	私学助成
アレイスポットターシステム	28	Genex 2005 Arrayer Type-S	1	312	7,220	4,813	私学助成
(情報処理関係設備)				h			
				h			

18 研究費の支出状況 (千円)

年 度	平成 27 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	6,416	試薬、容器等購入費	6,416
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費			
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費			
報 酬・委 託 料	880	外部委託費	880
()			
計	7,296		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼務職員)			
教 育 研 究 経 費 支 出			
計	0		
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教 育 研 究 用 機 器 備 品	3,079		3,079
図 書			
計	3,079		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	0		

年 度	平成 28 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
主 な 内 容			
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	13,668	試薬、容器等購入費	13,668
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	21	運搬費	21
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費			
報 酬 ・ 委 託 料			
()			
計	13,689		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼 務 職 員)			
教 育 研 究 経 費 支 出			
計	0		
設 備 関 係 支 出 (1 個 又 は 1 組 の 価 格 が 500 万 円 未 満 の も の)			
教 育 研 究 用 機 器 備 品	5,860		5,860
図 書			
計	5,860		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター	7,030		4,376
			2,654
研究支援推進経費			
計	7,030		学内2人

年 度	平成 29 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
主 な 内 容			
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	13,105		13,105
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	37	運搬費	37
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費			
報 酬 ・ 委 託 料	405	外部委託費	383
		報酬委託手数料	22
(修 繕 費)	102	機器修理費	102
計	13,649		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼 務 職 員)			
教 育 研 究 経 費 支 出			
計	0		
設 備 関 係 支 出 (1 個 又 は 1 組 の 価 格 が 500 万 円 未 満 の も の)			
教 育 研 究 用 機 器 備 品	4,307		4,307
図 書			
計	4,307		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター	2,083		2,083
研究支援推進経費			
計	2,083		学内1人