

2024年7月1日

各位

公益財団法人古泉財団事務局

2023年度助成対象者（自然科学系）成果報告書の公表について

2023年度古泉財団研究費助成金助成対象者の研究成果について、成果報告書を公表いたします。

成果報告書は、助成対象者から提出されたものを加筆修正することなく掲載しております。

研究成果について、ご関心のある方は、研究者が在籍する各大学・研究機関様へご連絡ください。

## 2023 年度古泉財団研究費助成金成果報告書

(敬称略)

氏名	所属	研究題目
佐藤 里佳子	新潟薬科大学 応用生命科学部 特任助教	持続型食用油脂生産技術確立のための食品廃棄物・農資源バイオマスを活用した油脂高生産微生物の開発
小林 那奈美	新潟大学 大学院自然科学研究科 博士後期課程	植物由来の抗真菌剤であるポアシン酸が植物の花粉管に与える影響
Saha, Setu Rani	新潟大学 大学院自然科学研究科 博士後期課程	高温ストレスに抵抗性を持つ高収量・高品質なイネの開発
甲斐 慎一	新潟食料農業大学 食料産業学部 助教	飼料メチオニンによる筋肉アンセリンおよびクレアチン量の同時的増加を通じた、鶏肉の高機能化に関する研究
伊藤 崇浩	新潟食料農業大学 食料産業学部 講師	雑草に負けないカバークロップの播種量を探る！～メヒシバの埋土種子量とヘアリーベッチの播種量の関係～
鈴木 浩之	新潟食料農業大学 食料産業学部 助教	ナシ黒星病菌の果実感染様式と果皮構造の関係解明
大塚 純都	新潟大学 大学院現代社会文化研究科 博士後期課程	体水分保持効果の高い新たな熱中症予防飲料の開発
早乙女 友規	長岡技術科学大学 技学研究院 物質生物系 助教	食品添加物リゾチームの熱凝集抑制に向けた高温での R0 形成の物性解析
萩原 真	新潟県立大学 人間生活学部 講師	キノコに含まれるアミノ酸の生理作用の解析
小野山 博之	開志専門職大学 情報学部 准教授	農薬散布・空撮利用のための小型ドローンを用いた自律飛行制御
中村 純子	新潟医療福祉大学 健康科学部 講師	男子高校生ジュニアアスリートにおける部活動引退後を見据えた栄養教育の基礎研究

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

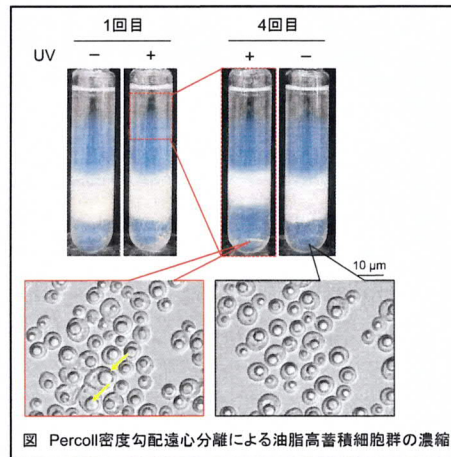
## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟薬科大学 応用生命科学部  
役職名・研究科/学年 特任助教  
氏 名 佐藤 里佳子



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

<b>1. 研究課題</b>
持続型食用油脂生産技術確立のための食品廃棄物・農資源バイオマスを活用した油脂高生産微生物の開発
<b>2. 研究成果</b>
<p>植物油脂のうち4割を占めるパーム油は、他の植物油脂と比較して汎用性（食品等）が高く、世界人口の増加に伴いその需要は増加している。一方で、需要増加に伴う東南アジアでのアブラヤシ農園拡大により環境的に問題視される中、新規油脂生産技術の確立は油脂低自給率(14%)の日本だけでなく、世界的にも重要な課題である。油糧微生物（油脂含有率20%以上を示す糸状菌・酵母・藻類）のうち、油脂酵母<i>L. starkeyi</i>は、グルコース以外に澱粉などの廃棄物由来の炭素源を資化して油脂（トリアシルグリセロール：TAG）に変換することが可能であり、その油脂の脂肪酸組成はパーム油と類似した脂肪酸組成を示す。米の生産量が全国第一位である新潟県は、農資源が豊かなだけでなく、食品産業も盛んであり、多くの米菓・食品会社がある。その中で、食品小売業から発生する食品ロスの割合は、全国値に比べて高い傾向にあることから、食品ロスの削減だけでなく、有効活用が必要であると考えられる。そこで、本研究では食品廃棄物・農資源バイオマスの主要炭素源は澱粉であることに注目し、可溶性澱粉を炭素源とした油脂高蓄積変異株の取得を目指し、廃棄物バイオマスからの持続型食用油脂生産技術確立に向けた基盤技術を整備することを目的とした。</p> <p>可溶性澱粉を炭素源とした際の油脂高蓄積変異株を取得するために、<i>L. starkeyi</i> CBS1807（野生株）に対して紫外線（UV）照射による突然変異誘発を実施した。その変異細胞群を培養し、Percoll密度勾配遠心分離による油脂高蓄積細胞群の濃縮を行った。この変異株取得方法は、油脂を高蓄積した細胞群は低密度になることを利用した方法で、Percoll試薬と培養菌体を混合し遠心分離を行うことで細胞は密度ごとに分画され、目的の油脂高蓄積細胞群を特異的に分取できると予想される。この分画を取得後、培養、Percoll密度勾配遠心分離を繰り返すことにより油脂高蓄積細胞群を濃縮した。1回目のPercoll密度勾配遠心分離では、UV変異照射した変異細胞群（+）とコントロールの野生株（-）の間では、形成する菌体層に差異は見られなかった（図）。そこで、変異細胞群が形成する細胞群の上層約3mLを分取し、培養、Percoll密度勾配遠心分離を繰り返した。4回目のPercoll密度勾配遠心分離では、変異細胞群が形成する層においてコントロールの野生株が形成する層と比較してわずかに上昇したことが観察された（図）。培養した菌体の顕微鏡観察においても野生株と比較して大きい脂肪球を有する細胞が変異細胞群で観察された（図）。すなわち、Percoll密度勾配遠心分離によって、油脂高蓄積細胞群が濃縮されたと考えられた。そこで、上層約3mLを分取し、寒天培地上へ油脂高蓄積変異株のコロニー単離を実施した。今後、油脂定量を指標としたスクリーニング、油脂高蓄積変異株の詳細な解析（生育、消費糖量、油脂生産量）を行い、取得した油脂高蓄積変異株の表現型を明らかにする。</p> <p>本研究にご支援いただきました公益財団法人古泉財団に深く感謝を申し上げます。</p>



2024年5月21日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟大学大学院

役職名・研究科/学年 自然科学研究科 博士後期課程3年

氏名 小林那奈美



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

<b>1. 研究課題</b>
植物由来の抗真菌剤であるポアシン酸が植物の花粉管に与える影響
<b>2. 研究成果</b>
<p><b>研究背景</b> 近年同定された新規抗真菌化合物であるポアシン酸はイネ科植物の加水分解産物から分離されたジフェルラ酸誘導体である。ポアシン酸は様々な種類の真菌の生育を阻害する事から植物由来の安全性の高い農薬として期待されている。一方でポアシン酸が植物細胞に与える影響は今まで検討されてこなかった。そこで本研究は、テッポウユリおよびシロイヌナズナを用いた解析によってポアシン酸が植物細胞の機能に与える影響を明らかにすることを目的とした。</p> <p>本研究では、植物の結実における重要性や観察のしやすさを加味して花粉管を用いた解析を行った。葉を形成する葉肉細胞や根を形成する細胞など、植物細胞の多くはいくつかの細胞が集まることで機能している。そのため組織単位での観察は向いているが、細胞単位で化合物の影響を詳細に調べる実験系には向いていない。一方で花粉及び花粉管は一つの細胞で機能する植物細胞である上に、先端成長によって急速に伸長するため、細胞の詳細な解析に非常に向いている。また花粉は植物の生殖になくはならない植物器官である。そのためポアシン酸が花粉管に与える影響を調べることで、農薬として使用した際の植物の結実や作物の収量に与える影響を明らかにできる。その中でもテッポウユリの花粉は同調的に再現よく発芽・伸長することから、主にテッポウユリの花粉を用いて実験を行った。</p> <p><b>研究成果</b></p> <p><b>1. 植物細胞に対するポアシン酸の影響。</b> ポアシン酸は真菌の生育を阻害する濃度よりも低い濃度でテッポウユリ花粉の発芽と花粉管伸長を阻害することを明らかにした。ポアシン酸による発芽と伸長の阻害は、一定の期間において可逆的であった。この結果は、ポアシン酸が花粉管の生育を阻害することなく機能を阻害することを示している。</p> <p><b>2. ポアシン酸の作用機序は真菌と植物で異なる。</b> 花粉管の伸長は、花粉管先端で盛んに分泌が起こり先端で小胞が細胞膜と融合することによって起きる。また、花粉管の安定した伸長には細胞壁の合成が重要である。ポアシン酸は真菌の細胞壁成分である<math>\beta</math>-1, 3-グルカンの合成を阻害することで抗菌力を発揮する。花粉管の細胞壁をアニリンブルー染色によって解析した結果、植物細胞においてポアシン酸は<math>\beta</math>-1, 3-グルカンの合成を阻害しないことが示唆された。またFM4-64による小胞の染色や電子顕微鏡解析の結果から、ポアシン酸による花粉管の伸長阻害が花粉管先端での分泌の阻害によるものと考えられる結果を得た。</p> <p><b>3. ポアシン酸の作用は植物種によって異なる。</b> テッポウユリの花粉は10 <math>\mu</math>g/mLという低濃度で花粉の発芽を抑制し花粉管の伸長を阻害するのに対し、シロイヌナズナの花粉管は100 <math>\mu</math>g/mLで花粉管の先端が破裂した。この結果は植物種によってポアシン酸の作用濃度が異なること、植物種によってポアシン酸添加時の反応が異なることを示している。</p> <p>統括すると、本研究からポアシン酸が植物細胞にも負の影響を与えることが明らかになった。しかし、真菌とは異なる作用機序であることから、化学構造の最適化によって農薬としての利用可能だと考えられる。また植物種によって作用濃度および応答反応が異なることから種を限定した農薬として実用可能性が高いだろう。</p> <p>今後は各種オルガネラを可視化する蛍光タンパク質マーカーを用いて細胞小胞の標識を行い、植物細胞におけるポアシン酸の作用機序のより詳細な解析を行う予定である。</p>

## 2023 年度古泉財団研究費助成金成果報告書

R6 年 5 月 17 日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟大学

役職名・研究科/学年 大学院自然科学研究科博士後期課程 3 年

氏 名 Saha, Setu Rani

⑧ 

貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

1. 研究課題
高温ストレスに抵抗性を持つ高収量・高品質なイネの開発
2. 研究成果
<p>気候変動の影響は多大な生物的・非生物的ストレスを作物に及ぼし、作物生産を脅かす。世界人口の半分をまかなう稲作において、高温は、発芽阻害、生長阻害、発育不良、光合成の変化、酸化ストレスなどを通じて、イネの収量を著しく低下させ、品質を悪化させる。植物ホルモンの一種であるサイトカイニンは、近年、細胞分裂等の役割のほかに、乾燥や塩ストレスなどの非生物的ストレス耐性に関連する多機能性ホルモンであることが明らかになりつつある。</p> <p><b>サイトカイニン調節因子 OsRR はストレス耐性に関わっている</b></p> <p>イネのレスポンスレギュレーター (<i>OsRR</i>) 遺伝子群は、サイトカイニンに応答する調節遺伝子であり、サイトカイニン応答を通じて、細胞の環境変化に対する応答を調節する。私たちは、多くのデータベースを利用した遺伝子の全転写産物の <i>in silico</i> 解析・比較解析により、<i>OsRR4</i>, <i>OsRR6</i>, <i>OsRR9</i>, <i>OsRR10</i>, <i>OsRR22</i>, <i>OsPRR73</i>, <i>OsPRR95</i> がストレス耐性に有望な遺伝子である事を見出した。同時に、これらのうち、<i>OsRR4</i>, <i>OsRR6</i>, <i>OsRR9</i>, <i>OsRR10</i> は高温ストレス環境下において、生物刺激剤処理によりストレス耐性を発現するようになったイネにおいて、特異的に発現が上昇していた。</p> <p>これらの遺伝子の発現を定量的 PCR により、さまざまなストレス処理下においてその応答を調べたところ、高温の他、アルカリストレスや高浸透圧ストレス、高濃度の塩ストレス、また傷害ストレスによって発現が上昇するものがあつた。</p> <p><b><i>OsRR6</i>, <i>OsRR9</i>, <i>OsRR10</i> 遺伝子の改変はイネにストレス耐性を付与する</b></p> <p>そこで、<i>OsRR6</i>, <i>OsRR9</i>, <i>OsRR10</i> の遺伝子を改変し、過剰発現および発現減少したイネを作成し、非生物ストレス環境においてイネに耐性を付与するのかを研究した。各遺伝子の過剰発現変異体とノックダウン変異体を作り、RR6RNAi、RR9<sub>ox</sub>、RR10<sub>ox</sub>、RR9 RNAi、RR10RNAi、RR9/10RNAi の計 6 種類の変異体を作製した。RR6<sub>ox</sub> は再生能力が非常に低く、すべての株が初期苗の段階で枯死したため、植物を得ることができなかった。その他の植物について、実生期にアルカリストレスと乾燥ストレスを与え、表現型、生化学的および抗酸化酵素活性により、これらのストレスに対する耐性を評価した。</p> <p>その結果、RR6RNAi および RR9/10RNAi の二重ノックダウン変異体は、野生型の日本晴と比較して、いずれのストレスにおいても耐性を示した。開花期は高温に対して最も脆弱な時期であり、種子の着粒や品質に悪影響を及ぼす。RR9<sub>ox</sub> と</p>

RR10<sub>ox</sub>では、開花期に驚くべき結果が観察された。OsRR9 と OsRR10 遺伝子はそのタンパク質コード配列において 99%類似しているが、RR9<sub>ox</sub> 植物は不稔であるのに対し、RR10<sub>ox</sub> 植物は稔性であった。RR9<sub>ox</sub> は不稔性であるが、RR10<sub>ox</sub> は稔性であった。

学会発表:

(1) SAHA, Setu Rani; Expression study of Type A response regulator genes under different abiotic stress conditions, Poster Presentation, KAAB international symposium in 2023, 25<sup>th</sup> March, 2024 in Niigata City, Niigata University,

学術論文

(2) Saha, Setu Rani; Itoh, Kimiko; ISLAM, S.M. Shahinul; Identification of abiotic stress responsive genes: A genome wide analysis of the cytokinin response regulator gene family in rice, *Genes & Genetic Systems*, Accept with revision, 2024, 17<sup>th</sup> May.

2024年5月24日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟食料農業大学

役職名・研究科/学年 助教

氏 名 甲斐 慎一



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

飼料メチオニンによる筋肉アンセリンおよびクレアチン量の同時的増加を通じた、鶏肉の高機能化に関する研究

## 2. 研究成果

アンセリンとは食肉に特有の機能性物質であり、近年ではこれを成分名とした機能性表示食品が増えている。一方、食肉にはクレアチンという機能性物質も存在し、主にスポーツ用サプリとして市場に多く流通している。アンセリンは、筋肉において前駆体であるカルノシンからメチル化によって生合成され、クレアチンは、肝臓において前駆体であるグアニジノ酢酸からメチル化によって生合成され、筋肉へ輸送される。それぞれ筋肉、肝臓と組織こそ異なるものの、メチル化修飾反応による生合成という部分は共通しており、またその際にメチル基を供与する S-アデノシルメチオニンは、必須アミノ酸であるメチオニン(Met)から供給されている。そこで本研究では、飼料メチオニンの給与による筋肉アンセリンとクレアチンの同時的増加による食肉の高機能化を図った。加えて、これら代謝酵素の mRNA 発現量の定量による、分子生物学的観点からの増加メカニズムの解明も試みた。

供試動物は3週齢のチャンキー系ブロイラー(メス)合計36羽とし、1試験区あたり12羽になるよう3試験区に割り当てた。試験飼料の栄養要求量はROSS(2019)に準じた。Control飼料は、トウモロコシを主体とする一般的な飼料組成であり、Metを0.47%含有した。Met 2X飼料は、そのControl飼料に対しMet量が2倍となるようにMetを0.47%添加し、同様にMet 3X飼料は、Control区に対しMet量が3倍となるようにMetを0.94%添加した。これら飼料および水を10日間自由に摂取させた。10日間の給与後、ニワトリから浅胸筋および肝臓を採取し、生化学分析に供した。

飼育成績について、増体重量および飼料摂取量はControl区およびMet 2X区に対して、Met 3X区において有意な低下( $P < 0.05$ )が見られ、Met 3X飼料におけるニワトリへのMet過剰給与が推察された。一方、飼料効率率は3試験区において有意な差は見られなかった。

アンセリン代謝について、筋肉遊離Met量は、飼料Met量の増加に伴い有意に増加し( $P < 0.01$ )、飼料由来のMet量が筋肉へ反映されている事が示された。筋肉アンセリン量は3試験区でほぼ一定であり、有意な差は認められなかった。一方、筋肉カルノシン量はControl区およびMet 2X区に対して、Met 3X区ではおよそ半分量にまで低下した( $P < 0.05$ )。事から、飼料Met量は、カルノシンのアンセリンへのメチル化ではなく、カルノシンの別のメチル化産物の生合成へ影響している可能性が考えられた。

クレアチン代謝について、肝臓遊離Met量はControl区およびMet 2X区に対して、Met 3X区で有意に増加し( $P < 0.01$ )、飼料Met量の増加に伴って増加した筋肉とは別の挙動が見られた。肝臓クレアチン量はControl区に対してMet 3Xにおいて有意に低下した( $P < 0.05$ )。一方で、筋肉クレアチン量は筋肉アンセリン量と同様に3試験区間でほぼ一定であり、有意な差は認められなかった。

一方で、筋肉におけるこれら代謝酵素のmRNA発現量には有意な差は見られず、これら代謝産物量の変化は、代謝酵素の遺伝子発現量には由来しない可能性が示唆された。

本研究により、飼料Metの摂取は筋肉アンセリンおよびクレアチン量の増加には関与しない事が示唆された。一方、これら前駆体を含めた一部のメチル化反応へは影響が見られた事から、メチオニン代謝をさらに広い視野で捉えつつ、食肉の高品質化へつながるような代謝を駆使したアプローチを引き続き図っていく。

2024年 5月 28日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟食料農業大学

役職名・研究科/学年 食料産業学部食料産業学科 講師

氏 名 伊藤 崇浩



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

雑草に負けないカバークロップの播種量を探る！～メヒシバの埋土種子量とヘアリーベッチの播種量の関係～

## 2. 研究成果

## 埋土種子量の調査

新潟食料農業大学（新潟県胎内市）の学内有機栽培圃場にて、土壌を採取し雑草の埋土種子量を調査した。イネ科雑草（メヒシバ、エノコログサ）の埋土種子量は54千粒/m<sup>2</sup>であった。

## 栽培試験

栽培容器に土壌を詰めて、雑草（メヒシバ）の種子とカバークロップ（ヘアリーベッチ）の種子をそれぞれ播種した。メヒシバの種子量は0, 100, 1000, 10000粒/m<sup>2</sup>の4水準、ヘアリーベッチの種子量は0, 3, 5, 10g/m<sup>2</sup>の4水準とした。屋外での栽培で自動灌水の設定をしていたが、井戸水を吸い上げるポンプの故障によって供試した植物が枯死してしまった。そこで研究計画を変更し、実験室内（室温25℃）で植物育成用LEDを用いた栽培試験を実施した。メヒシバの種子が室内栽培試験では、メヒシバの種子量を0, 100, 1000粒/m<sup>2</sup>の3水準、ヘアリーベッチの種子量を0, 5, 10g/m<sup>2</sup>の3水準とした。播種後2か月でメヒシバおよびヘアリーベッチの草高、被度、乾物重を測定し、乗算優占度を算出した。試験前は、ヘアリーベッチの播種量が高くなるほどメヒシバの乾物重や被度、乗算優占度が抑制されると仮定していた。メヒシバの播種量が1000粒/m<sup>2</sup>の条件下では、ヘアリーベッチ播種量が多いほどメヒシバの乾物重や乗算優占度を低下させており、ヘアリーベッチ播種量が5gと10gではメヒシバの抑制にあまり差が生じなかった。播種コストを考慮すると、ヘアリーベッチの播種量は5g/m<sup>2</sup>で十分であると考えられる。しかし、メヒシバの播種量が100粒/m<sup>2</sup>の条件においては、ヘアリーベッチの播種量とメヒシバの乾物重との間に有意な負の相関は認められなかった。メヒシバの播種量が少ないため、ヘアリーベッチとメヒシバとの間に競争が生じなかったためだと考えられる。今回はメヒシバの種子が足りなくなり、圃場の埋土種子量と同等条件での試験を実施できなかったため、今後はメヒシバ種子が高密度で存在する条件での栽培試験を行う必要がある。

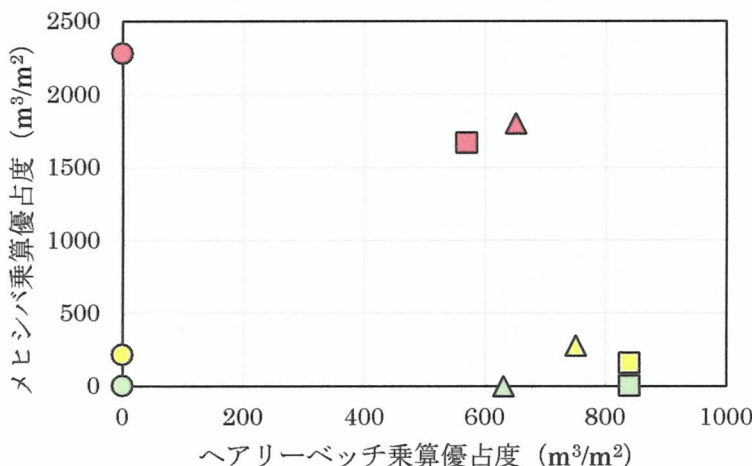


図1. メヒシバの乗算優占度およびヘアリーベッチの乗算優占度の関係

- ：ヘアリーベッチ播種量 0g/m<sup>2</sup>、▲：ヘアリーベッチ播種量 5g/m<sup>2</sup>、  
■：ヘアリーベッチ播種量 10g/m<sup>2</sup>、緑：メヒシバ播種量 0粒/m<sup>2</sup>、  
黄：メヒシバ播種量 100粒/m<sup>2</sup>、赤：メヒシバ播種量 1000粒/m<sup>2</sup>



2024 年 5 月 20 日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟食料農業大学

役職名・研究科/学年 助教

氏 名 鈴木 浩之



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

<b>1. 研究課題</b>
ナシ黒星病菌の果実感染様式と果皮構造の関係解明
<b>2. 研究成果</b>
<b>1. ナシ黒星病菌 (<i>Venturia nashicola</i>) の培地上での胞子形成法の確立</b> ナシ黒星病菌は培地上での胞子形成が難しいことが知られている。そのため、接種試験を行うためには、野外で黒星病に感染している和梨の葉や果実を採集し、分量の胞子懸濁液を調整する必要がある。しかし、この方法では 2023 年のように野外における黒星病の発病率が極低い場合、試験実施を行うこと自体困難なる。そこで、本研究では梅本 (1993) を参考に、培地上における胞子形成の誘導方法を確立した。 梅本の方法では、前培養を含め、胞子形成までに 38 日程度と長い期間を必要とする。申請者は、電気刺激や物理的障害物などによる菌糸生長の阻害がキノコの子実体（胞子形成器官）の形成を誘導する事実を参考に、固形物が含まれる Weltzman-Silva-Hutner 寒天培地（WSH 培地）を用い、また、培養途中に静電気を流すことで胞子形成の誘導を試みた。比較対象として、一般的な菌類の培養に用いられる PDA 培地上で培養した区（PDA 培養区）、PDA 培地上で電気刺激を加えた区（PDA+E）、WSH 培地を用いるが電気刺激を加えない区（WSH-E 区）で同一菌株の培養を行い、胞子形成の有無を調査した。その結果、WSH 培地上で電気刺激を加えた菌株では培養開始からわずか 1 週間後に胞子形成とその発芽が確認された。一方、PDA 区および WSH-E 区では 1 か月後も胞子形成が確認されなかった。この結果から、ナシ黒星病菌では、WSH 培地上で電気刺激を加えることより、効果的に分生子が形成されることが明らかになった。
<b>2. ナシ黒星病菌の成熟果実に対する病原性試験</b> ナシ黒星病菌の感染様式は葉において良く研究されており、葉に付着したのち、発芽、付着器形成、クチクラと表皮の間に侵入、栄養吸収体の形成まで 12 時間程度かかることが知られる。果実においてはほとんど研究例がないが、葉と同様にクチクラ層と表皮の間で栄養吸収すると推察される。'幸水'などの赤ナシ品種では果実の肥大・成熟に伴ってクチクラ層が剥離しコルク層に置き換わるが、一方、新潟県で作出された'新碧'などの青ナシ品種では成熟した果実であってもクチクラ層が保たれる。こうした成熟果の果皮構造の違いが、ナシ黒星病菌の病原性に影響を与えるかどうか、分生子を用いた接種試験によって明らかにすることを試みた。分生子を果皮に噴霧接種して 20°C で 24 時間培養を行った。その結果、ナシ品種においても赤ナシ品種においても果皮上で分生子の発芽は見られたものの、付着器の形成は観察されなかった。このことは発芽管の侵入が成立していないことを示しており、成熟果であれば果皮構造の違いなく感染が起こりにくいことを示唆している。 ただし、本実験の接種には摘果された果実を使用しており、果樹に生っている果実とは呼吸量やエチレンなどの化学物質の分布や濃度が異なっている可能性が高い。そこで今後は'幸水'および'新碧'の苗木に果実を生らせ、樹上の果実を用いた実験を行うことを予定している。

2024年5月1日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟大学

役職名・研究科/学年 現代社会研究科 博士後期課程3年次

氏名 大塚 純都



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

体水分保持効果の高い新たな熱中症予防飲料の開発

## 2. 研究成果

1. 研究当初の背景：夏のマラソンや自転車競技等のスポーツでは、パフォーマンスが低下するだけでなく、生命に関わるような深刻な熱中症にもつながる可能性がある。暑熱下運動の前に特定の飲料を摂取し血漿量（血中に含まれる水成分）や体内に保持される水分量を増加させると、運動中の体温調節反応の改善（熱放散反応の亢進、深部体温上昇の抑制）やパフォーマンスの向上が報告されている。近年申請者は、糖質のイソマルツロース、グリセロール、食塩を組み合わせた飲料の摂取が他の飲料と比べて安静時の排尿量を大きく低下させ、イソマルツロースの緩慢な吸収特性により血漿量が遅れて増加させることを明らかにした（5. 主な研究成果、雑誌論文）。このことから、暑熱下持久性運動前にこの混合飲料を摂取することで、特に運動後半の体温調節反応の改善やパフォーマンス向上が期待できる。

2. 研究の目的：本研究では、①イソマルツロース、グリセロール、食塩（Gly+Na+Iso）、②スクロース（吸収速度が速い糖質）、グリセロール、食塩（Gly+Na+Suc）、③グリセロール、食塩（Gly+Na）、④水（CON）、をそれぞれ90分間の暑熱下運動前に摂取したときの体温調節反応およびパフォーマンスへの影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法：健康な若年男性13名を対象に、32°C、50%相対湿度に設定した人工気象室内で上記に示した飲料1Lを摂取し、50%最高酸素摂取量（ $\dot{V}O_{2peak}$ ）の相対強度で90分間の自転車運動を開始した。運動終了後は続けて80%  $\dot{V}O_{2peak}$ の運動継続テストを実施し持久性パフォーマンスを評価した。運動中の深部体温、発汗量、皮膚血流量、血漿量などを測定した。

4. 研究結果：イソマルツロースを含む飲料を摂取しても血漿量増加は起こらず、持久性パフォーマンスに飲料間で違いは見られなかった。一方で運動中の深部体温—上腕部発汗量関係の傾きはCONと比べてGly+Na、Gly+Na+Sucで低下したものの（マークa, b）、Gly+Na+Isoではその低下が起らなかった（図1）。イソマルツロースの吸収遅延性が飲料摂取直後の急激な血漿浸透圧上昇を抑え、運動開始時の体温調節反応抑制を緩和したのかもしれない。以上のことから本研究の結果は、本研究で用いた混合飲料は運動パフォーマンスや体水分指標に影響しないことを示している。

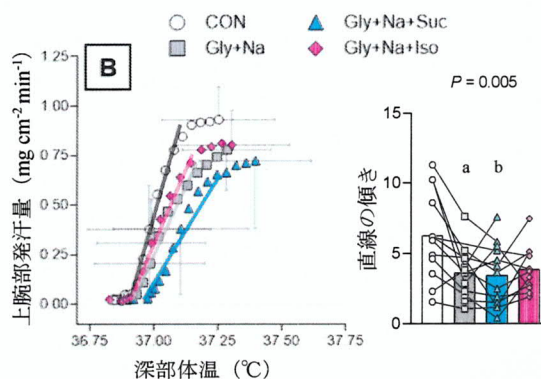


図1. 上腕部発汗亢進時の直線の傾き

## 5. 主な成果報告：

（雑誌論文）・Otsuka et al. Effects of ingesting beverages containing glycerol and sodium with isomaltulose or sucrose on fluid retention in young adults: a single-blind, randomized crossover trial. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2024, e-First

（研究発表）・大塚純都 他、「糖質電解質飲料が長時間歩行運動中の体水分バランスに及ぼす影響」、第31回日本運動生理学会大会（つくば）、2023年8月23日、口頭

2024 年 2 月 19 日

公益財団法人古泉財団  
代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 長岡技術科学大学 物質生物系  
役職名・研究科/学年 助教  
氏 名 早乙女 友規

貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

食品添加物リゾチームの熱凝集抑制に向けた高温での RO 形成の物性解析

## 2. 研究成果

## 【背景】

蛋白質は 20 種類の生体アミノ酸が重合してできる生体高分子で、ポリペプチド鎖が折り畳まれて固有の立体構造を形成することで様々な機能を発揮する。また蛋白質は三大栄養素の一つとしてよく知られ、肉・魚・豆類など多くの食品に含まれており、日々の食事で積極的に取り入れる必要がある。その一方で、蛋白質の立体構造が崩れてしまうと、変性・凝集といった現象を引き起こし、蛋白質溶液の白濁・ゲル化につながる。中にはチーズやヨーグルトなど、蛋白質の変性・凝集を逆に利用した食品加工技術も存在するが、食品に本来備わっている風味・感触が失われてしまうことから、基本的に蛋白質凝集は好ましくない現象とされている。ゆえに食品の品質向上の観点から、蛋白質の変性・凝集を抑制する取り組みは重要と考えられる。

その一方で、食品の製造工程において殺菌のための加熱処理は広く行われており、食品衛生法では加熱調理食品に「75°Cで1分以上の加熱」が必要とされている。ところが大部分の蛋白質分子では 50°C ~ 60°C 付近で熱変性が始まるため、食品中に含まれる蛋白質分子への影響が懸念されている。そこで本研究では、静菌効果を有する食品添加物として幅広く使用されているニワトリ卵白由来リゾチーム (HEWL; Hen Egg White Lysozyme) に注目し、様々な溶媒条件下での熱凝集傾向性の評価を目的とした。このとき、蛋白質の熱凝集前駆体として形成される可逆的なオリゴマー (RO; Reversible Oligomer) の熱安定性およびサイズを解析することで、熱凝集を初期段階で迅速に検出することを目指した。

## 【手法】

## (1) サンプル調製

HEWL の凍結乾燥粉末を純水に溶かした後、分光光度計で波長 280 nm の吸光度を測定し、2 倍濃縮したバッファーで 2 倍希釈することで、蛋白質濃度を 1.0 mg/mL に調整した。本実験で使用したバッファーは 50 mM Glycine-HCl buffer (pH 2.0), 50 mM Na-Acetate buffer (pH 4.5), 50 mM MES buffer

(pH 6.0), 50 mM K-Phosphate buffer (pH 7.5)の4種類である。また本実験に使用した塩は、KCl, NaCl, NH<sub>4</sub>Cl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>の6種類であり、塩濃度を125-500 mMの範囲内で調整した。

## (2) 動的光散乱 (DLS; Dynamic Light Scattering) 測定

DLS装置は長岡技術科学大学・分析計測センターのZetaNanosizerPro (Panalytical, UK)を使用した。ガラスセルにサンプル500 μLを入れ、温度を20°C、80°C、20°Cと変えていき、それぞれの温度で3回積算した後、Size-Volume graphから流体力学的直径 ( $D_h$ )の値を算出した。また80°Cでのインキュベーション時間は5分とした。

### 【結果】

#### (1) 塩の種類とホフマイスター系列の関連性

はじめに塩を入れない状態で、4種類のpHそれぞれでHEWL水溶液のDLS測定を行ったところ、pH 2.0-6.0では80°Cで5分間加熱しても $D_h$ の値は3.5 nmと殆ど変わらなかった。それに対して、pH 7.5では80°Cに達するとHEWL水溶液が白濁し、 $D_h$ の値が2400 nmまで増加した。さらに20°Cに下げて1時間経過しても水溶液は白濁したままで、加熱前の状態に戻るまで約1日かかった。この結果から、HEWLは中性pHでROを形成しやすく、熱変性は可逆的であるが、元の立体構造に巻き戻すには長時間が必要と考えられる。

次にpH 7.5の条件下で、6種類の塩のいずれかを終濃度500 mMになるようバッファーに添加して同様の実験を行った。その結果、500 mM NH<sub>4</sub>Cl存在下では80°Cで5分間加熱しても $D_h$ の値は約1.9 nmであり、ROを全く形成しないことが分かった。また500 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>存在下では80°Cで加熱した直後に $D_h$ の値が約452 nmであったが、20°Cに下げて1時間経過すると3.98 nmまで減少し、ROがモノマーへ解離しやすくなると分かった。他の4種類の塩では、塩を添加しなかった場合と同様に、80°Cで5分間加熱することでの値が急激に増加し、元の値に下がるまで20°Cで約1日のインキュベーションが必要であった。ゆえに高温でのRO形成は阻害できていないとみなせる。

#### (2) NH<sub>4</sub>Clの塩濃度

次にpH 7.5の条件下で、NH<sub>4</sub>Clの塩濃度を125-500 mMの範囲で変え、HEWL水溶液のDLS測定を行った。塩濃度を250 mM以下まで下げると、80°Cで5分間加熱した時点で $D_h$ の値が2600 nm以上まで急激に増加し、サンプルが白濁してしまった。したがってHEWLのRO形成を抑制するには、塩濃度が500 mM以上必要だと考えられる。

#### (3) NH<sub>4</sub>Cl存在下での蛋白質濃度

つづいてpH 7.5/500 mM NH<sub>4</sub>Clの条件で、HEWLの蛋白質濃度を1.0-4.0 mg/mLの範囲で変化させてDLS測定を行った。蛋白質濃度を2.0 mg/mL以上まで上げると、80°Cで5分間加熱してから再び20°Cに下げた直後に $D_h$ の値が450-1000 nmまで増加したが、1時間以内に3.7 nmへと減少した。よって蛋白質濃度を上げるとROがモノマーへ解離するまでの時間は長くなるが、それでも塩なしの場合と比較したら解離までに要する時間が1日から1時間へと大幅に短縮されたため、NH<sub>4</sub>ClのRO抑制効果は非常に高いと考えられる。

### 【考察】

ホフマイスター系列では、塩析効果の強い順にイオンを並び替えたとき、カチオンなら  $\text{NH}_4^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+$ 、アニオンなら  $\text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^-$  という順番になる。つまり今回の実験では、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  が最もコスモトロピックであり、蛋白質に結合した水和水を奪い取り、蛋白質を沈殿させる作用が強い。逆には  $\text{KCl}$  は最もカオトロピックであり、水分子や蛋白質の水素結合を切断することで疎水性相互作用を弱め、変性した蛋白質でも溶液中に溶かすことが可能になる。

今回の実験結果では、カチオンが  $\text{NH}_4^+$  の場合のみ RO を抑制できたが、さらにアニオンは  $\text{Cl}^-$  の方がより効果的だと分かった。2種類のアニオンはイオンの価数が違うので、ホフマイスター系列だけで比較することはできないが、HEWL の RO を抑制するにはコスモトロピック塩による構造安定化が重要だと予想される。

### 【結論】

静菌剤として食品添加物に用いられる HEWL の熱凝集傾向性を評価するため、熱凝集の前駆体とされる RO に注目し、様々な溶媒条件下で DLS 測定によって粒子径を算出した。はじめに HEWL 水溶液を  $80^\circ\text{C}/5$  分間加熱した場合、 $\text{pH}$  2.0-6.0 では  $D_h$  の値は 3.5 nm で殆ど変化しなかったが、 $\text{pH}$  7.5 では  $D_h$  の値が 2400 nm まで急激に増加し、水溶液が白濁したことから、RO 形成および熱凝集が進行したと考えられる。また  $20^\circ\text{C}/1$  日のインキュベートでモノマーへ解離することから、RO 形成反応は可逆的であるが、その反応速度は非常に遅いものと推測される。

次に  $\text{pH}$  7.5 の HEWL 水溶液へ様々な種類の塩を添加したところ、500 mM の  $\text{NH}_4\text{Cl}$  存在下では、 $80^\circ\text{C}$  で加熱しても  $D_h$  の値は約 1.9 nm と非常に小さく、RO 形成の抑制に最も効果的であると判明した。また本実験で使用した6種類の塩のホフマイスター系列を考慮すると、 $\text{NH}_4^+$  のコスモトロピック効果は比較的強く、HEWL の構造安定化によって RO 抑制に影響したと考えられる。また 500 mM の  $\text{NH}_4\text{Cl}$  存在下では、蛋白質濃度を 1.0-4.0 mg/mL まで増加させても RO 形成には一定の効果が見られたが、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  の塩濃度を 125-250 mM まで減少させると HEWL 水溶液は熱凝集してしまった。したがって HEWL の RO 形成を抑制するうえで、高濃度の  $\text{NH}_4\text{Cl}$  が非常に効果的とみなせる。

### 【学会報告】

(1) "The characterization of reversible oligomer (RO) at high temperature and the assessment of thermal aggregation of hen egg white lysozyme"

Tomonori Saotome, Shun-ichi Kidokoro. 第23回 日本蛋白質科学会年会、2023年7月

(2) "The reversible oligomerization (RO)' of small globular proteins at high-temperature and the artificial suppression of their amyloidogenesis"

Tomonori Saotome, Sawaros Onchaiya, Brindha Subbaian, Jose Martinez, Yutaka Kuroda, Shun-ichi Kidokoro. 26th International Conference on Chemical Thermodynamics (ICCT-2023)、2023年7月

(3) "Physicochemical characterization of irreversible oligomers considered precursors of thermal aggregation of hen egg white lysozyme"

Tomonori Saotome, Shun-ichi Kidokoro. 第61回日本生物物理学会年会、2023年11月

6年4月15日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟県立大学

役職名・研究科/学年 健康栄養学科・講師(申請時:助教)

氏 名 萩原 真



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

キノコに含まれるアミノ酸の生理作用の解析

## 2. 研究成果

背景：新潟県の地域活性化のためには、新潟県産の農産物に付加価値をつけ、全国にアピールすることが極めて重要である。本研究では、新潟県はキノコ生産量が国内でトップクラスであることから、キノコに含まれる機能成分に着目し、科学的にキノコの機能性を明らかにすることが目的である。特に、しめじなどに多く含まれているオルニチンに着目して、その作用機構を明らかにする。

細胞内では、オルニチン→シトルリン→アルギノコハク酸→アルギニンを経て一酸化窒素合成酵素の作用によって一酸化窒素(NO)が産生する代謝経路が存在する。一方、マクロファージ内においては、低分子量Gタンパク質 Rab5 が、活性化するとファゴサイトーシス(貪食)が活発化することが知られている。これまでに、申請者は、NOの産生上昇は、Rab5が活性化することを明らかにしている。そこで、本研究では、オルニチンから産生させるNOが、Rab5に作用して免疫力を活性化すると仮説を立て、実験を行った。

結果：昨年度、マイクロプレートリーダーを用いて、オルニチン添加した J774A.1 細胞(マクロファージ様細胞)において、NOの産生が上昇することを明らかにした。今年度は、蛍光顕微鏡観察においても同様の結果が得られるか検証した。オルニチンを添加した J774A.1 細胞に、一酸化窒素測定試薬 DAF2-DA を添加し、NOを可視化した。その細胞を、蛍光顕微鏡で観察し、画像を画像解析ソフトで解析したところNOの産生量が上昇していることが明らかとなり、マイクロプレートリーダーによる解析と同様な傾向性が得られた。また、蛍光顕微鏡観察によって、一酸化窒素合成酵素阻害剤である L-NAME を用いると、オルニチン添加による DAF2-DA の蛍光は減弱していた。すなわち、オルニチン添加によって、細胞内において、一酸化窒素合成酵素を介してNOが産生されていることが明らかとなった。さらに、オルニチンを添加した J774A.1 細胞における初期エンドソームマーカーである EEA1 を免疫染色し、蛍光顕微鏡で観察した。画像解析ソフトを用いて解析した結果、1細胞当たりの平均初期エンドソーム数と1細胞当たりの平均総初期エンドソーム面積が有意に増えていることが明らかとなり、ファゴサイトーシスが活発化していることが考えられた。また、現在までの解析では、1細胞当たりの平均初期エンドソームサイズについては、有意な差はなく、オルニチンは初期エンドソームから後期エンドソームなど別の細胞小器官への輸送は阻害しないものと推察したが、今後詳細に検討する必要がある。

まとめ：今年度は、オルニチン添加によって、一酸化窒素合成酵素を介してNOが産生上昇することや、蛍光顕微鏡を用いた初期エンドソームの画像解析からファゴサイトーシスが活発化していることが明らかとなった。昨年度の結果と合わせると、オルニチンはファゴサイトーシス(貪食)を活発化させることによって、免疫力を上昇させる機能を有している可能性が高いと考えられる。

## 2023 年度古泉財団研究費助成金成果報告書

令和 6 年 5 月 24 日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 開志専門職大学

役職名・研究科/学年 准教授・情報学部情報学科

氏 名 小野山 博之



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

農薬散布・空撮利用のための小型ドローンを用いた自律飛行制御

## 2. 研究成果

日本の農業は基幹的農業従事者の減少・高齢化に歯止めがかからず、農作業の自動化・ロボット化による省人化を図ることが急務である。自動化すべき農作業のひとつに農薬散布があり、ドローンによる農薬散布の自動化を実現することで、作業の効率化を図ることができる。これまでドローンの制御において数多くの有益な研究がなされているが、高度や位置、姿勢角制御の理論構築とシミュレーションによる検証が多く、実機を用いてその有用性まで検証したものは少ない。したがって、ロバストな自律飛行制御を実機に実装し、その性能を検証することが本研究の目的である。具体的にはスライディングモード制御に基づく自律飛行のための位置・姿勢制御器を設計、小型ドローンに実装し、従来の制御手法である PID 制御とで位置(x, y, z)および姿勢角(ロール角, ピッチ角, ヨー角)の制御誤差を比較・検証することである。

ドローンは小型であるほど制御が難しく、また法改正により 100g 以上のドローンを屋外飛行させるには機体登録が必要となったことから、100g 未満の小型ドローンを作成し、実験を行った。ボディフレームは 3D CAD で設計し、3D プリンタで出力し、基板は電子回路図を作成し、基板加工機により出力した。センサには位置取得用の GNSS(ublox, NEO-6M)、姿勢計算用の 9 軸 IMU(Bosch Sensortec, BNO-055)、高度計算用の気圧センサ(STMicroelectronics, LPS25HB)を用いた。PC には Arduino Nano を使用し、センサから位置・姿勢角の計算を行い、目標値との偏差から制御指令値を求めた。制御指令値の計算はスライディングモード制御を用い、従来法である PID 制御とホバリング(位置・姿勢の維持)への追従性を比較した。

実験は学内(屋内)にて実施した。PID 制御を用いた位置(x, y)の最大偏差はそれぞれ 1.17 m, 1.54 m であり、姿勢角(ロール角, ピッチ角, ヨー角)の最大偏差はそれぞれ 1.94°, 0.76°, 5.4° であった。これに対し、スライディングモード制御を用いた位置(x, y)の最大偏差はそれぞれ 0.12 m, 0.15 m であり、姿勢角(ロール角, ピッチ角, ヨー角)の最大偏差はそれぞれ 0.71°, 0.66°, 1.32° となった。ピッチ角に差はみられないが、ロール角, ヨー角ではそれぞれ 1.2° と 4.0° 程度、スライディングモード制御の方の最大偏差が小さくなった。位置・姿勢制御ともにスライディングモード制御が勝っており、特に位置制御において効果があることが示された。姿勢角偏差の時間変化を比較すると、傾向として PID 制御では周期的なふらつきがみられるものの、スライディングモード制御ではスイッチング入力部分が働いた結果、細かな制御がなされ、位置・姿勢角への追従性が向上したと考えられる。

100g 未満の小型ドローンを作成し、位置・姿勢制御を PID 制御とスライディングモード制御とで比較し、スライディングモード制御の有効性が示された。小型ドローンは大型ドローンと比べて外乱に弱いので、制御が向上することによって、その機体以上の重量を持つドローンに対しても高精度の自律飛行制御が可能となるであろう。今後の課題として、PC の性能上、実装が困難であった自己位置推定手法やセンサの計測誤差の修正が必要である。また、本研究で作成した制御アルゴリズムを大型ドローンに適用した場合、位置・姿勢角の制御がどれほど有効であるか確認すること、そして、薬剤散布のシーンでの有効性を検証する必要がある。

最後に本研究は 2023 年度古泉財団研究助成を受けて実施したものであり、ここに深く感謝を申し上げます。

## 2023年度古泉財団研究費助成金成果報告書

2024年5月10日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟医療福祉大学

役職名・研究科/学年 講師・健康栄養学科

氏名 中村 純子



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

<b>1. 研究課題</b>
男子高校生ユースアスリートにおける部活動引退後を見据えた栄養教育の基礎研究
<b>2. 研究成果</b>
<b>【研究の概要と対象について】</b> 本研究は、部活動引退後の体重増加と生活習慣病発症予防を目的とした基礎調査である。日本文理高等学校野球部の3年生を対象に部活動引退前後の身体や基礎体力の変化の検討を行った。調査は、新潟県健康づくり・医科学スポーツセンターを使用した。 計画では20名の部員を2回に渡り調査を行う予定であったが、コロナウイルス感染症やインフルエンザの罹患で、2回の調査を問題なく終えることができた選手は6名であった。
<b>【研究結果】</b> 結果：引退直後とその半年後の値を比較し、有意に増加した項目は、体脂肪量(10.6%、12.7%)、体脂肪率(14.7%、17.1%)、食塩相当量(12.3g、14.6g)、血清フェリチン(49.5ng/mL、74.7ng/mL)だった。一方、有意に低下していた項目は、生化学検査ではヘモグロビン(16.2g/dL、15.3g/dL)、食事調査ではエネルギー(3587kcal、2117kcal)、たんぱく質(110g、74g)、脂質(98.0g、52.5g)、炭水化物(542g、325g)、カルシウム(890mg、593mg)、鉄(11.1mg、7.7mg)、亜鉛(15.0mg、9.3mg)、レチノール当量VB1(1.2mg、0.7mg)、VB2(2.0mg、1.3mg)、ナイアシン当量(20.3mg、12.8mg)、VB6(1.7mg、1.1mg)、葉酸(424μg、279μg)だった。穀類、いも類、乳類、嗜好飲料の摂取が有意に減少していた。基礎体力測定では有意に変化した項目がなかった。 結論：本研究対象の部員はヘルスリテラシーが高く、引退後に活動量に合わせたエネルギー摂取量の調整をして、自主的に食事を減らすよう努めていた。しかし、それでも活動量の低下から体脂肪が増加した。また、不足している栄養素があることが明らかとなり、引退後の食事についての知識不足が考えられた。基礎体力については、引退から半年間に有意に低下している項目はみられず、Legacy効果がみられた可能性が示唆された。今後は、経年的な変化の調査と、引退後に向けた教育効果の検証が望まれる。
<b>【学会発表】</b> 2024年1月：第27回 日本病態栄養学会年次学術集会 部活動引退に向けた栄養教育の考案 ～20歳代男性の肥満予防～ 2024年9月：第10回 日本スポーツ栄養学会（発表予定*演題登録済） 高校生アスリートの現役中の身体はどの程度維持されるのか
<b>【論文】</b> 現在執筆中