

# ミッション5：「高品位生存圏」

## 5-1) 人の健康・環境調和

### 1. 研究組織

サブミッション代表者：高橋けんし、杉山暁史

研究課題代表者：渡邊隆司、矢崎一史、杉山暁史、上田義勝、高橋けんし、矢吹正教

### 2. サブミッションの研究概要

本サブミッションでは、「生存圏の新領域開拓」で実施してきたテーマのうち「バイオマス由来の生体防御物質」「電磁場の生体影響」「大気質の安心・安全」に関係する研究を高品位生存圏の実現に向け発展的に継続し、人の健康ならびに環境との調和に資することを目的として研究を行ってきた。2020年度で「電磁場の生体影響」の研究を終了し、2021年度から新たに所内公募を経て「環境調和に向けた微細気泡水の利用」の課題に取り組んだ。

### 3. 研究課題ごとの成果

#### 3.1 バイオマス由来の生体防御物質

##### 3.1.1 植物バイオマスからの生理活性物質の生産（代表：渡邊隆司）

###### 【研究概要】

本研究では、未利用バイオマスから薬効成分・生理活性物質を生産し、人の健康や安全な生活に貢献することを目的とする。本年度は、木質バイオマスを、マイクロ波ソルボリシス反応で分解し、分解物から抗新型コロナウイルス活性、抗薬剤・多剤耐性菌活性、免疫調節活性をもつ物質を分離し、その化学構造を解析した。

###### 【研究の背景と目的】

本研究では、未利用バイオマスから薬効成分・生理活性物質を生産し、人の健康や安全な生活に貢献することを目的とする。人為的に木質バイオマスを分解し、抗ウイルス活性物質、抗薬剤・多剤耐性菌活性物質、免疫調節物質を生産する条件を探索するとともに、活性物質を同定することにより、健康で安全な生活に資

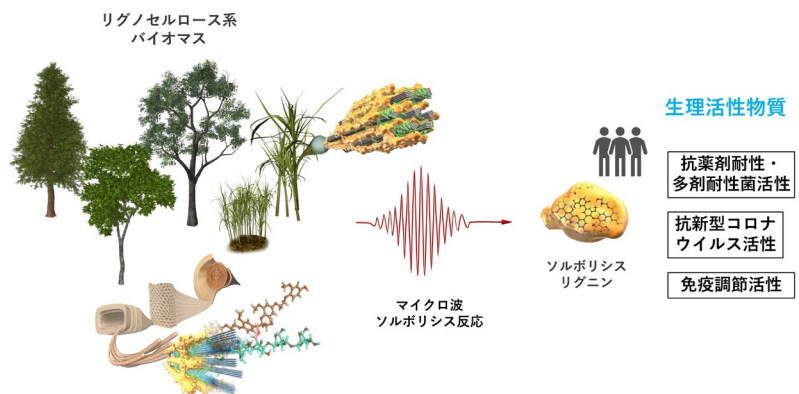


図1 バイオマスをマイクロ波反応で分解し、生理活性物質を生産

する未利用バイオマスの新しい有効利用法を開拓する。

#### 【研究の結果および考察】

木材のマイクロ波分解物から、抗新型コロナウイルス活性物質、抗薬剤・多剤耐性菌活性物質、免疫調節物質を生産する研究を、京都府立医大と連携して実施した。本年度、木材から分離したマイクロ波ソルボリシス分解物が、抗新型コロナウイルス活性、抗薬剤・多剤耐性菌活性、免疫調節活性をもち、構造解析により、ユニット間結合が開裂したソルボリシスリグニンであることを明らかにし、抗薬剤・多剤耐性菌活性をもつマイクロ波ソルボリシスリグニンの論文を発表した。さらに、サトウキビのマイクロ波グリセロリシスによる抗ウイルス物質とバイオエタノールの同時生産に関する論文を発表した。

#### 【成果発表】

論文

1. Okabe, Y., Ohgitani, E., Mazda, O., T., Watanabe, T., Antimultidrug-resistant bacterial activity of microwave solvolysis lignin from woody biomass, *Industrial Crops & Products*, **206**, 117573 (2023).
2. Khattab, S. M. R., Okano, H., Kimura, C., Fujita, T., Watanabe, T., Efficient integrated production of bioethanol and antiviral glycerolysis lignin from sugarcane trash, *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, **16**, 1-15, (2023).

学会発表・講演

1. Yumi Okabe, Eriko Ohgitani, Osam Mazda, and Takashi Watanabe, The bioactivities of microwave solvolysis lignin from woody biomass —anti-multidrug-resistant bacterial activity and anti-novel coronaviral activity, *The 14th International Symposium of Advanced Energy Science (Research Activities on Zero-Emission Energy Network)*, Kyoto, Japan, , Aug. 30-Sep.1st, 2023.
2. 岡部由美、扇谷えり子、松田修、渡辺隆司、木質バイオマス由来マイクロ波ソルボリシスリグニンの抗多剤耐性菌活性および抗新型コロナウイルス活性、第 68 回リグニン討論会、2023 年 11 月 9 日～10 日、長岡市
3. 岡部由美、扇谷えり子、山本健太、松田修、渡辺隆司、木質バイオマス由来リグニンの免疫調節活性、木材学会大会、2024 年 3 月 13 日～15 日、京都市

#### 【今後の展開】

スギ材やユーカリ材のバイオマスのマイクロ波分解物やミルドウッドリグニン、サルファイトリグニンの抗新型コロナウイルス活性、抗薬剤・多剤耐性菌活性、免疫調節活性を評価し、生理活性物質を木質バイオマスから創出する研究を、京都府立医大と連携して実施している。木質バイオマスから生理活性物質を生産する産学連携研究を発展させる。

【共同研究者】岡部由美、岡野啓志、Sadat M. R. Khattab、西村裕志（京大生存研）、應田涼太（北

大医学研究院)、呉成旭、藤田尚志(京大・ウイルス再生医科学研究所)、松田修、扇谷えり子、山本健太(京都府立医大・医学研究科)

### 3.1.2 生理活性物質の生産機構と生物工学(代表: 矢崎一史)

#### 【研究概要】

脱化石資源社会における人間の健康維持や生活の質の維持向上にとって、植物の生産する多様な二次代謝産物は中心的な役割を果たすものとして大きな期待が寄せられている。特に、ヒトにとっての生理活性物質は、細胞膜を透過することが機能発揮に必須であるため、化合物の脂溶性が鍵である。そのため植物由来の脂溶性高付加価値化合物の生合成酵素の探索と、その蓄積メカニズムの解明は重要な研究テーマである。研究に用いている種々の有用植物のうち、本年度は、メロテルペンのシコニン類やコーヒー酸4量体のリトスペルミン酸といった、ユニークな生理活性物質を生産する薬用植物ムラサキが絶滅危惧に瀕していることを鑑み、外来種のセイヨウムラサキとの交配のリスクや、国産ムラサキを定義できる遺伝子マーカーの必要性に関する提言を論文化した。

#### 【研究の背景と目的】

ムラサキは、推古天皇が推進した遣隋使の時代より、日本の政治や医療において重要な役割を果たしてきた特別な植物である。飛鳥時代、聖徳太子の制定した冠位十二階の最上位(大徳)の冠は濃い紫色を染めたのがこの植物の根「紫根」である。当時の朝廷が相当量の植物を「税」として貢進させていたことも記録に残っており、江戸時代に至るまで、身分の高い官職や高僧のみが身につけることを許されていた濃紫色を提供してきた。薬用としても火傷、凍傷、外傷などの軟膏や痔疾の治療薬として、現在に至るまで利用されている。その色素成分であり薬効成分が赤色の生理活性物質シコニンである。このように、我が国の歴史文化を支えてきたムラサキだが、環境破壊や病原性ウイルスのため現在は絶滅危惧に瀕している。さらに懸念されるのが外

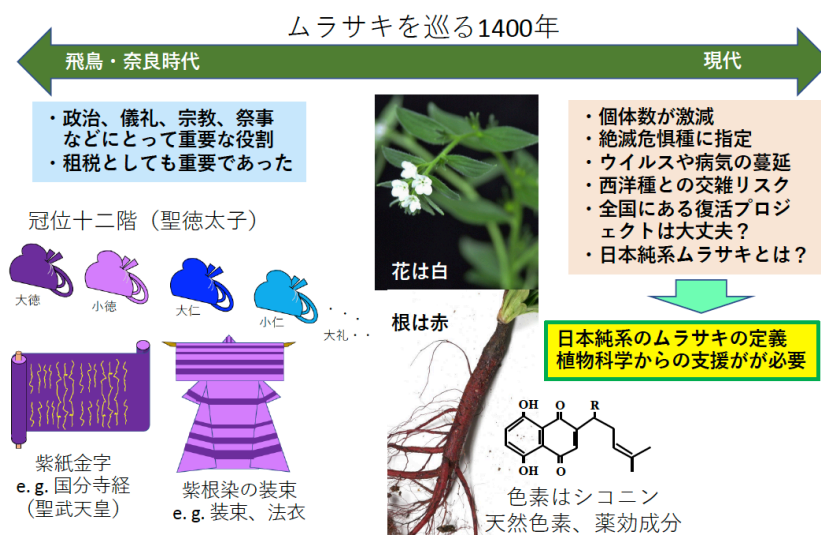


図2 ムラサキを巡る1400年

来種のセイヨウムラサキの野生化である、この西洋種はシコニン含量が低い一方で繁殖力が強く、交配によりさらにムラサキを絶滅に追いやるリスクが指摘されている。今年度は、このリスクを広く認識してもらう必要性を訴えた。

#### 【研究の結果および考察】

大宰府は九州一円から朝廷に貢進する物品を収集登録する役割を果たしていたため、輸送の際に積荷に付けられた木簡の情報から、どの地域からどのくらいの紫根が納められていたかなどの情報が取れる。これに関しては、九州歴史資料館の松川博一氏の「木簡研究」にまとめられているが、出土する付札木簡の大半がムラサキに関するものであることを論文にて紹介した。またムラサキは絶滅の危機にある背景の一方で人気も高く、全国にムラサキ復活プロジェクトが散見される。しかしそれら NPO 法人などが栽培しているムラサキの来歴がどこか、セイヨウムラサキとの交雑種ではないか、などに関して実地で聞き取り調査を行い、情報を収集した。また、これを機に全国にわずかに残る野生ムラサキと、野生ムラサキをそのまま維持栽培しているグループから各地のムラサキを集め、それらのゲノム配列を収集する必要性を説いた。本論文は社会提言を主とした論文であり、次なるプロジェクト立案に向けた基盤情報に位置付けられるものと考えられる。

#### 【今後の展開】

ムラサキとセイヨウムラサキのゲノムデータおよびトランスクリプトームデータを用いて、この両者を PCR で簡便に区別できるマーカー遺伝子の開発が必要である。また、数少ない野生ムラサキを含め、日本各地の来歴が明確なムラサキの栽培者を突き止め、その野生株からゲノム DNA を抽出して、シーケンス解析を行う必要性と、生育場所の座標データの収集する必要性がある。これに関しては今後の課題として推進していくことを考えている。

#### 【成果発表】

1. Oshikiri, H., Li, H., Yamamoto, H., Yazaki, K., Takanashim K., Comparative analysis of shikonin and alkannin acyltransferases reveals their functional conservation in Boraginaceae, *Plant Cell Physiol.*, in press (doi: 10.1093/pcp/pcad158).
2. Ito, E., Munakata, R., Yazaki, K., Gromwell, a purple link between traditional Japanese culture and plant science, *Plant Cell Physiol.*, 64 (6), 567-570 (2023) (10.1093/pcp/pcad038).

#### 【共同研究者】

杉山暁史（京都大学 生存圏研究所）、棟方涼介（京都大学 生存圏研究所）、伊藤瑛海（お茶の水大学）、高梨功次郎（信州大学）、アラン ヘーン（ロレーヌ大学 INRA）、フレデリック ブルゴー（PAT フランス）、山本浩文（東洋大学 生命科学部）、松井健二（山口大学大学院創成科学研究科）、肥塚崇男（山口大学大学院創成科学研究科）

### 3.1.3 生理活性物質の輸送体の同定と有用物質生産への応用（代表：杉山暁史）

#### 【研究概要】

植物細胞等を用いた生理活性成分の生産を効率的に生産するために、輸送体を同定し、生合成系遺伝子と組み合わせて異種発現系に導入することを目指す。これまでに、ダイズ根から分泌されるイソフラボンやソヤサポニンに着目し、トランスクリプトーム解析により、生合成系遺伝子との共発現から輸送体候補遺伝子を選抜した。イソフラボンの根圏への分泌に関与することが示唆された ABC 輸送体とアポプラスト局在の  $\beta$ -グルコシダーゼについての解析を行った。

#### 【研究の目的】

ダイズのイソフラボン分泌に関与する遺伝子の同定と機能解析

#### 【研究の結果および考察】

水耕栽培したダイズの根を用いたトランスクリプトーム解析より、イソフラボン生合成遺伝子と共発現する ABC タンパク質遺伝子と、生化学的解析からイソフラボン分泌への関与が示唆されたアポプラスト局在  $\beta$ -グルコシダーゼ (ICHG: isoflavone conjugate-specific  $\beta$ -glucosidase) を対象として研究を進めた。イソフラボン生合成に協調的に発現した 2 種の ABCG タンパク質遺伝子は、イソフラボン分泌が促進される窒素欠乏条件においても発現上昇することが見出された。これら遺伝子を候補として生化学的輸送解析に取り組んでいる。ABC タンパク質遺伝子のうち 1 遺伝子は、タバコ BY2 細胞に ABCG 遺伝子を発現させ形質転換培養細胞を作出した。現在までのところ、細胞膜ベシクルの形成は確認されているが、輸送活性は見出されていない。タンパク質の発現をウェスタンブロッティングにより解析する予定である。ICHG に関しては、水耕栽培、圃場栽培において根圏へのイソフラボン蓄積に関与することが示され、論文発表を行った。

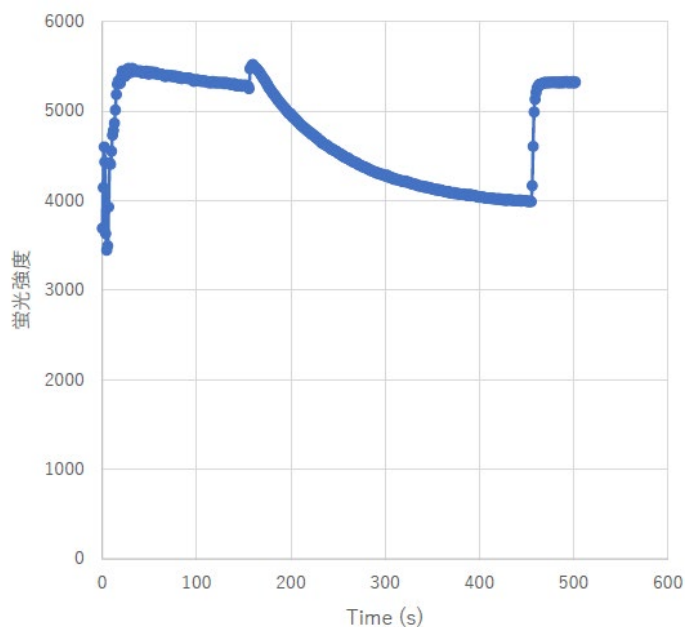


図3 BY2細胞由来の膜ベシクルでアクリジンオレンジの消光を確認

### 【今後の展開】

トランスクリプトーム解析により得られた他の候補遺伝子（ABC 輸送体）も併せて解析し生理活性物質の輸送体を同定する。

### 【成果発表】

1. Matsuda H, Yamazaki Y, Moriyoshi E, Nakayasu M, Yamazaki S, Aoki Y, Takase H, Okazaki S, Nagano AJ, Kaga A, Yazaki K, \*Sugiyama A (2023) Apoplast-Localized  $\beta$ -Glucosidase Elevates Isoflavone Accumulation in the Soybean Rhizosphere. *Plant and Cell Physiology* 64 (5):486-500. doi:10.1093/pcp/pcad012
2. ○松田 陽菜子、棟方 涼介、中安 大、山崎 真一、青木 裕一、永野 惇、矢崎 一史、杉山 暁史 「ダイズイソフラボンの細胞外輸送を担う ABC 輸送体候補遺伝子の解析」日本植物バイオテクノロジー学会 2023 大会 2023 年 9 月 10 日

### 【共同研究者】

土反伸和（神戸薬科大学）、青木裕一（東北大学）、永野惇（龍谷大学）

## 3.2 環境調和に向けた微細気泡水の利用（殺菌・洗浄）とその作用機序の解明（代表：上田義勝）

### 【研究概要】

微細気泡の利用については、応用利用としての実例は数多く紹介があるが、作用機序解明のための基礎データはまだ十分集まっていない。そのため、今年度においては微細気泡水の気泡と水との特性の相関について統計的に評価を行った。現時点では、ウルトラファインバブル（UFB）生成装置稼働中は、酸素 UFB では平均としては水の電気伝導度が低下しやすい事が分かった。また、生成後サンプルのデータ分布を比較した際には、特に気泡濃度が低い場合において電気伝導度の低下が大きい。ただし、測定の変差も大きく、下限としての閾値が存在することが示されているため、今後慎重な議論が必要であると考えている。発表においては、窒素と酸素の特性の違いや、他の気体との比較についても紹介し、議論をすすめたい。

### 【研究の背景と目的】

微細気泡と水との相互作用の中でも、我々は特に UFB の電磁気的特性に注目している。我々は微細気泡の特性と、水の特性の中でも特に電気伝導度に着目し、その傾向について統計的に計測と評価を行った。特に電気伝導度と溶存気体濃度との関係や、いくつかのガス種での統合的な傾向など、計測結果として発表する。本研究では、各種ガスを用いた微細気泡生成時の水の特性と、気泡特性を計測し、相関性について確認する。特に水の電気伝導度と気泡数密度等との相関について統計解析した。

### 【研究の結果および考察】

微細気泡の基礎特性と、水の特性と、水の特性との相関を確認するため、酸素及び窒素微細気泡水を作成し、その特性について比較した。また、純水には高純度精製水(Koga Chemical Mfg, Co. Ltd.)を用意した。気泡生成には気液せん断方式による生成を行った (CellAqua SS01 (Sunstar) と HYK-32 (NEXCO 西日本エンジニアリング関西) )。Cell-Aqua については 1L の純水に対して 0.2mL/min もしくは 0.4mL のガス流量で最大 30 分の稼働時間による生成を行った。また、HYK-32 については純水 10L に対して 0.5mL/min のガス流量で、同様に最大 100 分の生成時間にて作成した。気泡生成途中の気泡数密度と水の特性の時間変化については、HYK-32 を用い、10 分ごとにサンプルを採取して特性の計測を行っている。また、各種相関については、微細気泡水として、60 サンプルを用意し、すべて生成装置を停止した後に、サンプル温度が室温(20 度)まで低下したサンプルの計測を行った。

気泡特性としては、ナノ粒子解析として Nanosight LM10 (Marvern Panalytical) を用い、全て 3 回計測による平均値として求めている。また、水の特性 (pH, 電気伝導度 (以下、EC)、溶存酸素 (以下、DO)、濁度) についても同時に計測している。pH については、純水用の測定プローブとして PUREIL electrode 9600-10D (Horiba Ltd.) を使用した。DO については Orion star A329 (Thermo Scientific)、また EC については S230 USP/EP Kit (純水用) (METTLER TOLEDO Inc) を使用して計測を行っている。濁度計としては Turb 550(WTW)を用いた。

装置稼働中の、気泡数密度変化と、水の電気伝導度及び溶存酸素濃度の変化においては、酸素微細気泡については電気伝導度の低下傾向が強く、大気 UFB の研究事例と同じ傾向であることから、電気伝導度の低下に何らかの要因があると考えている。装置稼働中は、加温の影響もあると考えられるため、溶存酸素濃度は徐々に減少している。生成後の微細気泡と水の特性について、データの分布を確認した。電気伝導度の低下については、特に酸素 UFB の気泡数密度が比較的低い場合において確認された。統計平均としては、電気伝導度の平均値は酸素 UFB は約 1.12mS/cm であり、サンプルとして用いた精製水の平均値 1.19mS/cm であった。

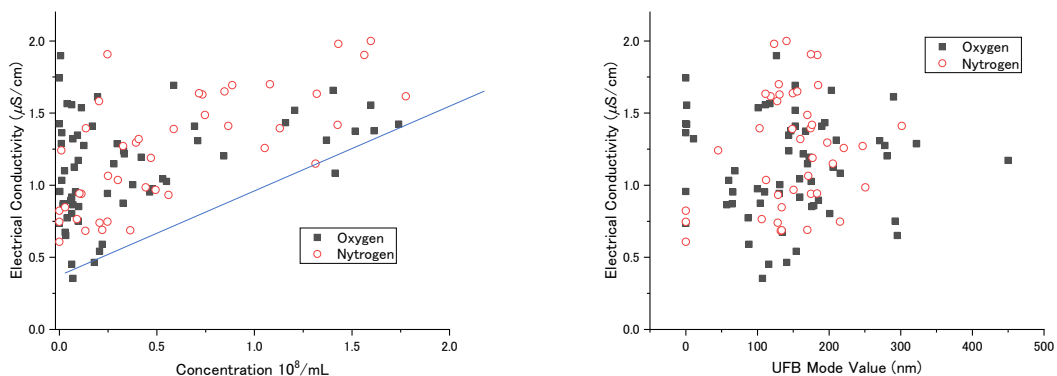


図 4 微細気泡水 (酸素・窒素) の水の特性ととの相関

#### 【今後の展開】

ウルトラファインバブル処理による効果の違いについて、気泡と粒子との関係の他、今後は水の特性も含めた相関など、詳細なデータを確認していきたい。また、微生物活性に対しての影響についても現在実験を進めているところである。

#### 【成果発表】

1. 上田 義勝, 微細気泡水の電気的特性, 静電気学会誌, 47, 6, 2023
2. 上田 義勝, 徳田 陽明, 谷垣 実, 赤松 重則, 秦 隆志, 様々な計測手法による微細なバブルの特性解析, 表面と真空 66(11) 654-659 2023 年 11 月 10 日
3. M. Tanigaki, T. Yamakura, D. Hayashi, Y. Ueda, A. Taniguchi, Y. Ohkubo and Y. Tokuda, Direct Measurement of the Internal Pressure of Ultrafine Bubbles Using Radioactive Nuclei, Chemical Engineering and Technology, 10.1002/ceat.202300070, 2023/7/19
4. 上田 義勝, ファインバブルの基礎と応用技術 および産業展開の最新動向 <オンラインセミナー> (2. ファインバブルの発生原理 3. ファインバブルを利用した応用研究事例), 日本テクノセンター オンラインセミナー, 2023 年 12 月 13 日 (招待講演)
5. 上田 義勝, 2 微細気泡の帯電特性に関する報告, 2023 年度静電気学会九州支部・放電プラズマによる水処理研究委員会合同研究会 第 502 回生存圏シンポジウム (第 5 回プラズマ・ファインバブル研究会) 2023 年 12 月 8 日 (招待講演)
6. [基調講演] 上田 義勝, 徳田 陽明, 杉山 暁史, 微細気泡の数密度と水の特性との相関解析, 混相流シンポジウム 2023, 2023 年 8 月 24 日 (基調講演)
7. 上田 義勝, 微細気泡の数密度と水の特性との相関について, マイクロナノバブル学会 第 11 回学術総会 2023 年 12 月 10 日
8. 上田 義勝, 谷垣実, 福島県における環境放射能のリアルタイム歩行計測および今後の研究進展, 京都大学研究連携基盤 未踏科学研究ユニット報告会 2023, 2023 年 7 月 29 日

#### 【共同研究者】

渡邊 崇人 (生存圏研究所), 徳田 陽明 (滋賀大学 教育学部), 谷垣 実 (京都大学 複合原子力科学研究所) 西崎 嘉浩, 後藤 裕 (株式会社 クレハトレーディング), 李 攀 (Pan Li) (同済大学 環境科学与工程学院 (中国)), 平江 真輝 (株式会社 サイエンス)

### 3.3 大気質の安心・安全 (代表: 高橋けんし、矢吹正教)

#### 【研究概要】

人の健康に深くかかわる人間生活圏における大気質 (air quality) の診断方法の開拓を目的として、



車載型のライダー装置の開発、および、その検証実験を実際の都市域で実施したほか、cavity-attenuated phase shift 法による都市型大気汚染の観測を行った。

#### 【研究の背景と目的】

大気微量成分、とりわけ、オゾンや窒素酸化物といった微量ガスや大気エアロゾル粒子は、大気環境への影響のみならず、ヒトへの健康影響も懸念される。我々は、人間生活圏および森林圏に近い大気の化学的動態を探索する新しい手法の開拓を目指している。

#### 【研究の結果および考察】

本課題では、都市大気汚染の動態探査を目的とした連続観測を、大阪公立大学との共同で実施している。Cavity-Attenuated Phase Shift Spectroscopy 法を用いた二酸化窒素( $\text{NO}_2$ )センサーと超音波風向風速計を大阪府堺市庁舎の屋上に設置し、渦相関法による  $\text{NO}_2$  フラックスを計測している(図5)。本年度は、電気化学反応を利用したポータブルセンサーを用いた移動観測を堺市内で行い、フットプリント内でホットスポットが数か所で見つかった。また、車載ライダーを用いて、東京アクアライン海上部や富士山周辺のエアロゾル鉛直分布の移動観測、北海道陸別町におけるダイヤモンドダスト観測を実施し、定点の観測だけでは捉えることができない局所的な大気物質の空間分布を明らかにした。本研究で開発した車載ライダー計測システムは、日本エアロゾル学会 エアロゾル計測賞(2023年8月)を受賞した。



図5 堺市役所での計測機器の設置状況

#### 【成果発表】

1. S. Okamura, M. Ueyama, K. Takahashi, Temporal and spatial variations of nitrogen dioxide fluxes by eddy covariance method in an urban center, Sakai, Japan., AsiaFlux Conference 2023, Jeju Shinhwa World, Jeju Island, Korea, Nov.27 – Dec.1, 2023. ※ Best Poster Award を受賞.
2. 岡村沙南, 植山雅仁, 高橋けんし, 大阪府堺市を対象とした都市域における  $\text{NO}_2$  フラックスの時空間変動, 日本農業気象学会近畿支部会, 大阪公立大学, 2023年11月18日.
3. M. Yabuki, K. Miura, T. Mori, H. Hayami and H. Kuze, Aerosol Spatial Distribution Observed by a Mobile Vehicle Lidar with Optics for Near-Range Detection, In: Sullivan, J.T., et al. Proceedings of the 30th International Laser Radar Conference, ILRC 2022, Springer Atmospheric Sciences. Springer, Cham. pp 303–309, [https://doi.org/10.1007/978-3-031-37818-8\\_40](https://doi.org/10.1007/978-3-031-37818-8_40), 2023.

4. 矢吹正教, 三浦和彦, 久世宏明, 松木一人, 内保裕一, 竹内栄治, 長谷川壽一, 紫外ライダーによる地表面に近い大気の気象・環境観測, 日本地球惑星科学連合 2023 年大会, オンライン・幕張, 2023 年 5 月 21-26 日.
5. 矢吹正教, 三浦和彦, 森樹大, 速水洋, 久世宏明, 車載ライダーを用いた都市大気エアロゾルの鉛直断面観測, 第 40 回エアロゾル科学・技術研究討論会, 群馬, 2023 年 8 月 30 日-9 月 1 日.
6. 矢吹正教, 日本エアロゾル学会 エアロゾル計測賞「大気エアロゾルの 3 次元センシングのための車載ライダー開発」, 2023 年 8 月.