

## 2. 新技術・新産業の創出に関する報告

本事業では、亜熱帯生物資源の高度利用技術を開発するため2つの研究テーマ「生物資源を利用した有用物質の生産技術開発」(A) および「生物資源に含まれる有用物質の機能解析」(B)を設定した。それぞれのテーマに小テーマを設け、さらに細分化したテーマを掲げ、目標を明確にしながらか研究を進めているが、前述のように、中間評価結果を受けて、研究テーマや研究体制の再編を行い、事業を進めた。

そこで、フェーズⅠとフェーズⅡにおける区分が異なるため、それぞれのフェーズにおける研究テーマ区分で研究内容、進捗状況及び主な成果を記述する。

### (1) フェーズ毎の研究内容及び成果

#### ○フェーズⅠ (平成14年度～平成16年度)

- (プロジェクトA) 生物資源を利用した有用物質の生産技術開発
- (サブテーマ) 地域特有資源の多次的利用および加工技術開発
- (小テーマ) 多糖類を中心にした機能性物質の生産技術開発

工業的に製造したあるいは独自に調整したフコイタンを原料として、酸加水分解など化学的な分解法により、フコイタンを低分子化すると共に、その生物活性評価を行い、オリゴ糖およびフコースの工業的生産技術の開発を目指した。オリゴ糖の迅速な分析法を確立することで、健康機能食品などの重要な機能解明が行える。また、現在中性糖に関する研究は進んでいるが、硫酸化糖に関するものが少なく、この分野の機能解析に対する寄与が大きいと考えた。

これまでにフコイタンを効率よく加水分解するために、塩酸、硫酸を用いた加水分解における酸濃度の影響、反応時間の経時的変化の各種分解条件の検討を行い、効率良く硫酸化フコースを得ることができる条件を確認した。この条件を用いて、工業的に製造したフコイタンの酸加水分解を行い、この分解物に対してさらに、陰イオン交換、およびゲルろ過カラムクロマトグラフィーを用いて分離・精製を行った。分離・精製したものについて、Negative ion ESI-MSおよびNMRを用いて構造決定を行い、硫酸化フコース、フコース、グルクロン酸から構成される四糖までのオリゴ糖画分と、単糖の硫酸化フコース、および、フコースの構造をそれぞれ推定した。

フコイタン酸加水分解した構成糖に対し、各種カラムクロマトグラフィーや蛍光標識による効率的分離法、及び、これまで報告のあった活性も含めて、その生物活性評価を行った。これらのフェーズⅠにおけるオキナワモズクのフコイタンを対象にした低分子化フコイタンの調製、単離・構造決定およびそれらの生物活性テストについては順調に進み、陸上植物に対する低分子化オリゴ糖の調製、単離・構造決定、生物活性テストも行った。この研究はフェーズⅡのステップへ移行した。

(フェーズⅡでは、A-1 : 海藻類の機能性物質の生産技術開発のテーマで実施)

#### (小テーマ) 天然および培養藻類を用いた有用物質生産

沖縄県民食生活の特徴の一つとして、海藻の摂取が多いことが挙げられている。最も代表的な食用海藻として挙げられるモズク類については、硫酸化多糖類であるフコイタンの健康機能がよく知られている。しかし、海藻類の健康機能成分としては、フコイタン以外にも、抗酸化作用やガン細胞死滅作用が報告されているフコキサンチンや、血中コレステロール低下に有効なフコステロール、蛋白分解酵素処理で生成する血圧上昇抑制ペプチドなどが知られている。フコキサン

チン、フコステロールの両物質は褐藻類に幅広く分布しており、日本国内や海外においても各種海藻類からの両物質の生産の検討が行われつつある。本研究では未利用資源である天然ホンダワラ類を含めた沖縄産海藻の機能性物を有効活用するための生産技術開発を目指した。

本研究の分担目標は、培養したオキナワモズク盤状体や天然ホンダワラに高濃度に含有される有用機能成分を大量分離精製する手法を確立することにあった。

これまでに、沖縄で食用とされるモズク類、ヒジキ、アオサ、クビレズタ（商品名：海ぶどう）および未利用資源であるホンダワラ類について、フコキサンチン、フコステロール、血圧上昇抑制ペプチドの分析を行い、フコキサンチンとフコステロールは、モズクよりもヒジキやホンダワラが数倍も高い含量であること、特に、全く未利用のまま海岸に打ち上げられているホンダワラ類で両成分の含量が高く、資源として極めて有用なことが分かった。

一方、上記海藻の抽出物を蛋白分解酵素ペプシンで処理し、消化物から低分子画分を調製してアンジオテンシンI変換酵素阻害活性を調べた。この酵素の活性阻害は血圧上昇の抑制をもたらす。その結果、供試したいずれの海藻でも、上記酵素の阻害が認められ、海藻食品が、血圧上昇予防に有効なことが示唆された。

これまでの研究で、モズク盤状体やホンダワラなどの天然海藻に含まれるフコキサンチンとフコステロールの同時分画が可能になるとともに、フコステロールに抗アレルギー作用も確認できた。このように、フェーズⅠにおけるフコステロール、フコキサンチンの大量分離精製については順調に進み、さらに、機能性評価、安定性確認と安定化技術の確立とフェーズⅡに向けた取り組みも行われた。今回の研究により、沖縄県特産海藻食品としてモズクに次いで販路を拡大しつつあるクビレズタが、血圧上昇抑制効果を有することを示唆しており、今後の販路拡大に寄与することが期待される。

（フェーズⅡでは、A-1：海藻類の機能性物質の生産技術開発のテーマで実施）

（小テーマ）食用植物資源の新規利用法および加工技術の開発

沖縄の食生活において、サツマイモは主食の米を補完する食物として重要な位置を占めており、長寿食の一つとして考えられている。現在は紅色色素を有する品種が栽培され、多様な食品の原料として利用され、含有成分のポリフェノール化合物は、抗酸化作用、抗変異原性、肝機能保護など多様な健康機能を有している。我々は、塊根部だけでなく、茎葉部の有効利用も含めた有色サツマイモの健康機能成分の同定とその効率的な濃縮液調製法を開発し、様々な健康機能を持った食品素材の開発を目指した。

これまでの研究で、有色品種の茎葉は、カフェ酸関連ポリフェノールおよびアントシアニン色素を高濃度に含んでいることを見出し、熱水抽出液を樹脂で処理するだけの簡単な操作でもって、上記健康機能成分の濃縮液を調製することに成功した。この濃縮エキスは、各種食品の健康機能強化剤、あるいは健康機能強化を兼ねた着色剤として有用である。また、簡単な操作でカフェ酸関連ポリフェノールとアントシアニン色素を分離する方法も併せて開発した。

ここまで、フェーズⅠの健康機能成分の一括分離・調製法の確立を終え、分離法に関する特許を出願した。その成果を実用化するために企業との共同研究契約を締結し、共同研究を進めた。

本方法は、現在では食用や家畜飼料として使用されていない茎葉部を原料とし、簡単な工程で調製するので極めて安価に健康機能成分濃縮エキスを調製できる。また、製造したエキスにはイモ特有の風味がなく、安定性と溶解性に優れているので多様な食品に使用可能である。

（フェーズⅡでは、A-2：食用植物資源の新規利用法および加工技術の開発のテーマで実施）

(サブテーマ) 沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発

(小テーマ) 医薬品素材あるいは生化学試薬として有用な低分子化合物の探索と生産技術開発

沖縄県周辺のさんご礁に生息する海綿・ソフトコーラル類・藍藻類は様々な生理活性物質を生じており、医薬シーズ・生化学試薬として重要である。沖縄のサンゴ礁生物から研究試薬として有用な低分子の抽出・分離方法の確立を目的に研究を進め、従来ほとんど利用されてこなかった沖縄のサンゴ礁生物の生理活性成分を試薬として有効活用を目指した。

これまでに、生化学試薬として実際に販売されている5つの化合物を沖縄産海綿から精製したが、今回さらにもう一種の化合物を精製した。

また培養例の少ない藍藻「*Lyngbya majuscula*」の大量培養により生理活性物質の生産することを目的として、*Lyngbya* 属の藍藻の培養条件を検討し、従来の3倍に伸張する培養条件が得られた。

(フェーズⅡでは、B-1：沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発のテーマで実施)

(サブテーマ) 有用酵素の調製と利用技術開発

本研究では、①プロテインホスファターゼ2 A型酵素 (PP2A) 及び②フコイダンの低分子化反応を行う酵素の調整を目的している。個々の有用酵素毎に開発内容等を記述する。

#### ①プロテインホスファターゼ2 A型酵素 (PP2A) の生産

プロテインホスファターゼ2 A型酵素 (PP2A) は生体内シグナル伝達に重要な役割を果たしている。現在は、ヒト血球から調製された酵素が生化学実験に多用され、高価で市販されている。そこで、PP2Aを生化学試薬として供給するため、ヒトPP2Aを組換えタンパクとして遺伝子工学的手法を用いて製造する方法を確立する目的で研究を進めた。

動物組織から調製されている本酵素を遺伝子工学的手法を用いて生産することによって大量生産、安定供給を可能にし、それによってより広範な用途への利用が可能となる。

これまでに、昆虫培養細胞を利用してヒト型PP2Aの発現と精製を行うため、発現用のバキュロウイルスを作成し、細胞に感染させ、PP2A活性を保持する目的タンパクの発現と精製を試み、1Lの培養液あたり200ユニットの活性を持つPP2Aを高純度で精製することに成功した。細胞培養の規模を拡大することによって大量生産へ移行可能であり、安定性が高く、活性を有する酵素を安定供給することにより実用化への展開が促進される。

(フェーズⅡでは、B-2：遺伝子資源の有効利用のテーマで実施)

#### ②フコイダンの低分子化反応酵素の生産

国内企業や大学においてフコイダン分解細菌および分解酵素の検索および分離精製が行われているが、フコイダンの結合様式が複雑なため、その一部しか解明されていない。そこで、フコイダン資化性菌を海洋および陸上より収集スクリーニングし、酵素を用いたフコイダン低分子化技術の開発することにより、新たな用途開発が期待できる。すでに、多くのフコイダン資化性菌を採取していることから、より多様な分解酵素を得ることが期待された。

これまでに、フコイダン分解菌スクリーニングとして、フコイダンを唯一炭素源とする制限培地を用いて、海洋等よりフコイダン資化性菌約1000株を分離した。発育の良かった約520株について、フコイダン分解活性の測定を行い、No.804株に最も高い活性を確認し、16S rDNAの塩基配列による相同性についても結果を得た。

また、基質の違いによる分解性の確認を行うため、フコイダンの調製を行い、分子量80万以上と大きいものが得られた。調製したフコイタンを用いて酵素反応を行った結果、分解活性が認められた。

様々な結合を分解する酵素によりフコイダンの構造をより詳細に解析することが可能となり、フコイダンの機能性の解明につながる。さらに、フコイタンより分解されたオリゴ糖にも新たな機能性が期待された。

(フェーズⅡでは、B-1：沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発のテーマで実施)

(プロジェクトB) 生物資源に含まれる有用物質の機能解析

(サブテーマ) 沖縄産生物資源に含まれる低分子活性成分の機能解明

研究課題として、沖縄産生物資源(約700種)からI型アレルギー反応の原因であるとされる脱顆粒を抑制する物質の同定や近年注目を集めているノニ(*Morinda citrifolia*)の有用性の検証を行うことに取り組んでいる。

これまでの成果としては、代表的な抗アレルギー薬であるフマル酸ケトチフェンよりも強い脱顆粒阻害活性を示す成分のツバキからの単離に成功し、一部化合物については化学構造を決定している。また、抗酸化活性は若葉・葉・枝(未木化)・熟果に活性が認められ、若葉には特に強い活性が認められた。

(フェーズⅡでは、A-2：食用植物資源の新規利用法および加工技術の開発のテーマで実施)

(サブテーマ) 沖縄産生物資源由来ポリフェノール及びペプチド類の機能解析

沖縄産の亜熱帯植物抽出物等の薬理的な効能を示唆する商品販売が盛んに行われているが、科学的根拠の曖昧なものが多い。本研究はこれまで曖昧であった効能をきちんと評価、解明したものであり、加えて、新たな機能の実用化を狙ったものである。

沖縄産生物資源由来抽出物について、培養細胞系でのインスリン分泌促進(血糖値上昇抑制)、プロスタサイクリン生成促進(血圧上昇抑制、血栓形成抑制)、骨芽細胞分化誘導(骨形成促進)、FGF-5阻害(育毛促進)などを指標に機能評価を行い、これまでとは異なる原理に基づく機能性食品、育毛剤などの製品化が可能となる。

これまでの研究で、亜熱帯植物抽出液、ポリフェノールのいくつかについて、細胞レベルで、インスリン分泌促進、プロスタサイクリン生成促進、骨芽細胞分化誘導、FGF-5阻害などの活性を有することが確認できた。さらに、一部は動物試験で血圧降下作用などが確認でき、実用化に向けて着実に研究が進んだ。

主な成果として、①クミスクチンのエタノール抽出物が顕著なインスリン分泌促進活性を有し、それに含まれるロズマリン酸に分泌促進活性のあることを確認した。ニシヨモギ、クミスクチン等数種の植物抽出物と特定のポリフェノールにプロスタサイクリン生成促進活性のあること、一部の植物抽出液に動物実験で血圧降下作用のあることを確認した。②ハナキリン等数種の沖縄産亜熱帯植物抽出液に、動物細胞を用いた実験でFGF-5に特異的な阻害作用があることを確認した。また、FGF-5受容体をプレート上に固定化した「FGF-5アンタゴニストの酵素抗体測定法」を開発し、本測定法を用いて同植物抽出液のFGF-5アンタゴニスト活性を確認した。このように、フェーズⅠについては順調に進んでおり、これまで、3件の特許出願を行った。

(今後は、産業技術総合研究所独自で実施するため、地域結集事業でのテーマを終了)

(サブテーマ) 品質保証のための標準評価法および定量分析法の開発と機能性物質ライブラリの構築

公設試が中心となって機能性の健康食品素材を *in vitro* および *in vivo* の両面で数百にも上る資源を検索した例は無い。本事業では、沖縄という亜熱帯地域の天然資源の多様性に着目し、それを生かすための網羅的な資源探索を行う特徴的な研究である。

その手順として、機能性評価と成分分析の標準化により品質管理を行い、県産の生物資源を利用した製品の信頼性安全性を確保できる技術を確立することを目標に段階的に研究を進めた。

生物資源は個体差や季節変動が大きいいため、機能性食品・化粧品・医薬品等への利用に当たっては、機能の安定的発現の確保が非常に重要である。そのためには、安定して機能を発現する資源を選定すると共に、機能性評価法および成分定量法を標準化し定量的に品質管理を行う必要がある。そこで、抗酸化性、血圧上昇抑制、血糖値上昇抑制、抗アレルギー活性などの機能を安定的に発現する資源を *in vitro* および *in vivo* の両面で検索すると共に、機能性成分を明らかにし生産現場で実施可能な機能性評価法および成分定量法の開発を目標とした。

フェーズ I では、①原料栽培条件の評価技術の確立、②有効成分の LC/MS/MS による定量、③素材の収集・評価について研究を進め、機能/成分の数値化(評価)技術や機能を応用した最適栽培条件の提示、250種の素材の機能評価、抗酸化活性の簡易試験法の確立、3種の薬草原料中の有効成分定量条件の確立等の成果が得られた。研究の進捗状況としては、フェーズ I の到達目標である生産現場で利用可能な機能性評価法および成分定量法の開発については順調に進んだ。これまでに、特許を3件出願し、口頭発表を5件行った。

(フェーズ II でも、B-3:同テーマで実施)

## ○フェーズ II (平成17年度～平成19年度)

A 生物資源を利用した有用物質の生産技術開発

A-1 海藻類の機能性物質の生産技術開発

A-1a モズク等褐藻類の機能性物質

モズク類は年間2万トンを生産する沖縄県の特産品である。生食用以外の加工品あるいはフコイダン製造原料として利用されているが、さらなる用途開発が望まれていた。そこで未利用の成分であるフコキサンチン (Fx) に着目した。Fx は天然カロテノイドとしては最大の存在量がありながら利用開発が進んでいない。その理由は、原料とする海藻が大量に入手できない、あるいは、高価なために採算がとれない。また、精製が複雑でコストが高くなることであった。沖縄では大量のモズクがフコイダン製造原料に使用されているが、脂溶性区分の Fx は未利用であることに注目し、共同研究企業の金秀バイオと共同でフコイダンと Fx の同時製造法を考案した(共同出願)。また、水産海洋研究センターとの共同研究では、収穫後のモズクに施肥と光量調整を行うことによって、Fx 濃度を10倍以上に高めることを可能にした(共同出願)。さらに、抽出・精製操作については、簡単な工程で大幅に収量と純度を向上できたので、商業的生産に最も重要な条件である採算性が解決できた(単独出願)。精製した高純度 Fx については、分析標準試薬としての商談が進行中である。実現すれば、国内のみならず国際的にも高純度標準品として販売されることが期待され、健康食品や化粧品原料としての問い合わせもある。食品利用に最も重要な要件である安全性については、すでに動物実験を行って問題のないことを確認した。琉球大学医学部森教授との共同研究では、九州・沖縄に多いウィルス感染に起因する悪性リンパ腫“成人T細胞白血病”の予防・治療効果が期待される実験結果が得られたことは特筆される。

(別添ポスターp. 120～p. 123 参照)

①海藻カロテノイド色素フコキサンチンのウイルス関連悪性腫瘍治療効果

・・・森 直樹 1、田福 宣治 2、石川 千恵 1、嘉手苺 崇 2

(1. 琉球大学大学院医学研究科病原生物学分野、2. 地域結集 雇用研究員)

②海藻カロテノイド色素フコキサンチンの産業利用

・・・嘉手苺 崇、當山 洋 (地域結集 雇用研究員)

③フコキサンチン、フコステロール、蛋白などの健康機能成分を強化するモズク類の培養法

・・・須藤裕介 (沖縄県水産海洋研究センター)、嘉手苺 崇、當山 洋

④蛋白質分解物の血圧上昇抑制効果からみた沖縄産海産物

・・・今田 有美、小野寺 健一 (地域結集 雇用研究員)

#### A-1b モズクフコイダンの新規利用開発

フェーズ I においてオキナワモズクから低分子化フコイダンの調製、単離・構造決定およびそれらの生物活性テストについては順調に進み、フェーズ II では、その化学分解法を確立すると共に、新しい生理活性を見出し、新規オリゴ糖および生理活性を持った組成物として 6 件 (国内 3 件、国外 3 件) 特許を出願した。今後、これらの知的財産と共にサントリー(株)がフコイダンオリゴ糖を素材とした新たな健康食品開発に向けた取り組みを行っていく予定である。

(別添ポスターp. 124参照)

⑤モズクフコイダンを構成するオリゴ糖類

・・・楠元 俊英 (地域結集 雇用研究員)

#### A-2 食用植物資源の新規利用法および加工技術の開発

##### A-2a 沖縄産サツマイモ (ムラサキイモ) の健康機能解明と食品素材開発

ムラサキイモ関連食品の需要は多く、原料の確保が困難になりつつあった。そこで従来は未利用だった備瀬イモの茎葉が健康機能に優れたアントシアニン色素やクロロゲン酸を豊富に含有することに着目した。熱水抽出と吸着樹脂を組み合わせた極めて簡単かつ低コストの工程で、イモ臭がなく機能性に優れた色素を調製できた。特許出願 (後に特許査定) し、(株)琉球バイオリソース開発に技術移転した。その成果を活用すべく支援事業に応募・採択され、事業化を目指し取り組んでいる。

(別添ポスターp. 125 参照)

⑥沖縄特産紫イモの茎葉部を有効利用した機能性エキスの開発

・・・与那覇 恵 1、和田 浩二 2、森光 康次郎 3

(1. (株)琉球バイオリソース開発、2. 琉球大学農学部)、3. お茶の水女子大学)

##### A-2b カメリア属 (ヤブツバキ) に含まれる有用物質

近年、アレルギー疾患は増加の一途にあり、厚生労働省の統計によれば国民の 30%がアレルギーに悩まされている。患者数の多い花粉症に代表される I 型アレルギーは抗原感作された肥満細胞が抗体と結合して脱顆粒を起こし、ヒスタミンなどの炎症性成分を放出することによって起きる。したがって脱顆粒を抑制すれば、アレルギー反応に起因する炎症を抑制できる。ツバキの葉は一部の愛好者からツバキ茶として飲用されていた。われわれは、ツバキの葉から強力な脱顆粒阻害物質を単離し、その新奇化学構造を決定してオキカメリアシド (OCS) と命名した。OCS は抗

アレルギー薬品であるフマル酸ケトチフェンを1万2千倍も上回る強力な活性を示した(特許出願)。共存する構造既知の関連成分もフマル酸ケトチフェンを数倍上回る強力な活性を示した。さらに、ツバキ葉エキスは炎症成分のプロスタグランジンの生産に関わる酵素、COX IIの阻害作用を示した。また、抗炎症性の知られたオレアノール酸も存在していた。これらの結果はツバキ葉エキスが炎症抑制に有用であることを示している(特許出願)。ラットとマウスを使用した2種の動物モデルでも、アレルギー反応の抑制が実証された。これらの成果は(株)仲善により、ツバキ茶として商品化された。なお、琉球大学理学部安里准教授のグループがOCSの化学合成に取り組んでいる。

(別添ポスターp. 126~p. 130 参照)

⑦ツバキ類の抗アレルギー・抗炎症作用-活性試験による分布測定-

・・・津波 和代1、廣瀬 美奈1、津覇 恵子1、久場 恵美2

(1. 地域結集 雇用研究員、2. 琉球大学医学部保健学科)

⑧ツバキ類の抗アレルギー物質の機器分析による分布測定

・・・津覇 恵子、廣瀬 美奈、津波 和代

⑨ツバキ類の抗アレルギー・抗炎症その他有用成分の分析と分布

・・・廣瀬 美奈、小野寺 健一、津波 和代、津覇 恵子、花城 薫

(地域結集 雇用研究員)

⑩ツバキエキス及びオキカメリアシドの抗アレルギー作用

・・・久場 恵美1、津波 和代2、津覇 恵子2、松崎 吾朗3

(1. 琉球大学医学部、2. 地域結集 雇用研究員、3. 琉球大学遺伝子実験センター)

⑪ツバキ類の抗アレルギー成分オキカメリアシドの作用機構

・・・久場 恵美、津波 和代、津覇 恵子、松崎 吾朗

#### A-2c ヤエヤマアオキ果実発酵飲料の調製

ヤエヤマアオキは沖縄県でも自生し、染料に使用されてきた。しかし、ポリネシアでは伝統的に生薬として使用され、果実の発酵果汁(ノニジュース)が世界的に飲用されている。沖縄県でも特産品として生産が増加しつつある。多様な症状に有効とされているが科学的な証拠に乏しい。そこで、機能の証明、機能性成分の同定、風味の改善を行った。

まず、果実の発酵過程で血圧降下作用と神経鎮静作用の知られたガンマアミノ酪酸(GABA)が生成することを発見し、動物実験によって血圧降下作用を確認した。ついで、抗炎症作用のあるイリドイド化合物、デアセチルアスペルウロシジン酸(Deacetyl-NB11)が高濃度に含まれていることを発見した。実際に本化合物またはノニジュースを用いた動物試験で、リウマチ関節炎抑制作用、抗炎症作用、骨代謝の改善作用が認められた。一方、ノニジュースは強い不快臭を有し、色調も黒褐色で魅力的でない。そこで樹脂を用いる簡単な工程で色調と風味を大幅に改善し、なおかつ本来の健康機能を保持した飲料を製作することに成功した(特許申請)。すでに、(株)仲善が商品化の準備を進めている。

(別添ポスターp. 131~p. 133 参照)

⑫ヤエヤマアオキ(ノニ)発酵果汁の健康機能の解明

・・・今田 有美1、吉田 匠1、松崎 吾朗2、安仁屋 洋子3、仲本 勝男4

(1. 地域結集 雇用研究員、2. 琉球大学遺伝子実験センター、3. 同医学部、(株)仲善)

⑬風味を改善したヤエヤマアオキ（ノニ）発酵果汁の開発

・・・今田 有美、吉田 匠、仲本 勝男

B 生物資源に含まれる有用物質の機能解析

B-1 沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発

(底生渦鞭毛藻の培養による生化学分析試薬及び医薬品リード化合物の生産)

沖縄県沿岸に一般的な渦鞭毛藻「*Prorocentrum lima*」はオカダ酸 (OA) 類を生産する。OA は、蛋白セリン・トレオニン残基に結合した磷酸基を加水分解する PP2A を特異的かつ強力に阻害するので生化学試薬としての需要が多い。さらに、世界的に発生する主要二枚貝の毒化「下痢性貝毒」の原因毒でもあるので機器分析の標準試薬としても大きな需要がある。我々は、OA とその誘導體 (DTX 1) の精製技術を確立し、さらに化学合成によってエステルも製造した。これらの標準品は EU の中央研究所で高い評価を得たが、*P. lima* の大量培養が困難なため、採算性が確保できなかった。最終年度になってようやく培養条件の改良に成功し、2 成分の収量が 30~60 倍も向上したので採算性の問題も解決できた (特許出願済)。県外企業から販売の可能性について打診されている。沖縄産の標準品が広く国際的に採用される可能性がある。

なお、*P. lima* の培養液中に新奇の抗ガン成分を発見し、オキリマリドー 1 およびオキリマリドー 2 と命名してその平面構造を決定した。

(別添ポスター p. 134~p. 136 参照)

⑭オカダ酸類を中心とする生化学・分析化学試薬の微細藻類の大量培養による生産

・・・吉野 敦、東門 真紀、宮城 文香、當間 志乃 (地域結集 雇用研究員)

⑮沖縄で発生する魚中毒「シガテラ」に関連する微細藻の研究

・・・吉野 敦、東門 真紀、宮城 文香、當間 志乃

⑯微細藻類の大量培養と新奇有用物質オキリマリドの発見

・・・小野寺 健一、吉野 敦、東門 真紀、田福 宣治、

B-2 遺伝子資源の有効利用

(タンパク質脱リン酸化酵素 (PP2A) の遺伝子工学による大量精製と利用開発)

沖縄産海洋資源調査の一環として、巻き貝類の PP2A の含量を調べ、チョウセンサザエの筋肉中の含量が非常に高いことを発見した。一方、巻き貝 PP2A が、ヒト型酵素と全く同一なアミノ酸組成を有することが明らかになった。本酵素は多くの研究者が大腸菌での発現を試みて失敗に終わっていた。そこで、遺伝子を導入したウィルスを昆虫細胞に感染させ、当該細胞を培養して PP2A を発現させることを計画した。さまざまな条件の検討を行った結果、天然酵素と同様な活性を示す PP2A の発現に成功した。活性サブユニット、活性サブユニットと骨格サブユニットとの複合 2 量体のいずれも作製可能であった (特許出願)。PP2A は生化学試薬としての需要が大きい。また、活性サブユニットは安定性と感度に優れていて、下痢性貝毒や環境汚染物質として重大ならん藻毒の検出キットに組み込むのに適していた。そこで商業的生産を目指して (株) トロピカルテクノセンターに技術移転を行った。技術移転後の研究チームは複数の公的資金の支援を得てキットを完成させ、下痢性貝毒検出キット “DSP Rapid Kit” として国内・国外で販売が開始された。さらに、食品や環境成分の分析法を評価する国際学会 (AOAC International) において、世界的公定法の候補として取り上げることが決定した。承認に向けたデータの蓄積が進められている。沖縄の技術で開発した商品が、世界の公定法となる日も近い。なお、環境毒測定キットも



TTCにおいて着実に製作が進められている。

(別添ポスターp. 137 参照)

⑰タンパク質脱リン酸化酵素 2A (PP2A) の遺伝子工学による生産と利用開発

・・・池原 強、新城 富喜子、池原 さつき、今村 志穂子

(地域結集 雇用研究員 → TTC事業開発部 研究開発課)

### B-3 品質保証のための標準評価法および定量分析法の開発と機能性物質ライブラリの構築

工業技術センターでは、地域結集型共同研究事業を主たる事業として県内の生物資源の収集を行い、機能性食品・化粧品・医薬品等への利用に当たって有用と思われる機能評価法を導入し、機能評価の結果をデータベース化した。このデータベースをもとに血圧上昇抑制、血糖値上昇抑制、抗アレルギー活性などの機能を持つ素材の探索を行い、多くの有用素材の存在を明らかにした。また、農業研究センターと共同で、異なる条件で栽培した植物の抽出エキスについて、栽培条件が各活性値に与える影響や工業原料素材として最適な栽培品種の検討などを行った。

これらの成果を活用して素材の一部はすでに製品化に向けた開発が行われている。フェーズIIまでの成果をつぎに示す。

#### 1. 素材ライブラリ/データベースの構築

沖縄の生物資源の有効利用促進のため、生物資源の科学情報を体系的に調査、整理し、各種活性試験を行い、その試験結果をデータベース化して管理(素材ライブラリ/データベース)している。

その成果としては、「素材ライブラリ/データベース」として約650種、1,300サンプルの素材情報を収載した。さらに全サンプルに関する11種の活性試験結果も登録済みである。

#### 2. 標準物質データベース/ライブラリの構築

天然素材からの単離、共同研究者からの供与、購入などにより有用な標準物質をライブラリ化するとともに、標準分析法を確立し、分析結果をデータベース化した。

その内容は、「標準物質ライブラリ」としてフラボノイド(57種)、アルカロイド(101種)、アミノ酸、糖、テルペンなど79種を収集・保管し、さらにクロマト分析条件、UV-VISスペクトルをデータベース化している。

#### 3. 機能スクリーニングによる有用素材の探索

ライブラリエクス1,300種を11種の機能性評価試験によりスクリーニング、その結果をデータベース化した。また、評価試験が実施・技術移転できる体制も整備した。

この事業で導入した11種に加えて、抗菌活性試験など既存の4種の試験をルーチンで行える体制を整え、スクリーニングするだけでなく、これらの方法を技術移転できるようになった。すでに、脱顆粒阻害などの試験法を地域結集型共同研究事業のコア研究室などに技術移転した。

また1,300エキスに対する評価試験の結果をもとに、コア研究室、産業技術総合研究所、県内企業が製品化に向けての開発を進めている。

#### 4. 成分スクリーニングによる有用素材の探索

保有するエキ斯拉イブラリを用い、機能を有する成分を機械的(LC-UV-MS)にスクリーニングし開発候補の素材を探索できるようにした。

その成果として、素材ライブラリに収められている素材からマメ科など76種の植物エキスを選定し、そのイソフラボノイドを機器分析法によりスクリーニングし、イソフラボノイド含有素

材 6 種を明らかにした。また、全ライブラリエキス中の抗菌成分をスクリーニングし、特定の細菌に活性を示す抗菌成分含有素材 14 種を明らかにした。イソフラボン含有素材と抗菌成分含有素材はそれぞれ、化粧品素材、農業資材素材として現在開発が進められている。

#### 5. 原料生産に向けての栽培試験

工業技術センター及び農業研究センター名護支所共同により栽培試験を行った。

その内容として、異なる条件で栽培した植物の抽出エキスについて、栽培条件が各活性値に与える影響を検討するとともに、工業原料素材として最適な栽培品種の検討などを行った。

それにより、試験を行った素材の一つで糖分解酵素阻害作用による血糖値上昇抑制効果を有するニシヨモギ（フーチバー）は、糖類分解酵素阻害作用の強弱の主たる要因は収穫する季節であり、夏期は冬季収穫の 6 倍の活性を示すことを明らかにした。グッバ（バンシルー）やボタンボウフウ（サクナ）等の素材についても、作用の強弱を決定する主たる要因とその変化を明らかにし、またエンサイ（ウンチェー）では“収集・保存系統の特性が明らかになり、試験したもののうち 2 品種は収量が高い”ことが分かった。

（別添ポスター p. 138～p. 139 参照）

#### ⑱機能性物質の分析・評価に関する研究

・・・照屋 寛由 1、伊良波 幸和 1、湧田 裕子 2

（1. 農業研究センター名護支所、2. 工業技術センター）

#### ⑲沖縄薬草データベースと素材ライブラリ/データベース

・・・照屋 正映、鎌田 靖弘、湧田 裕子、豊川 哲也、玉村 隆子、市場 俊雄

（工業技術センター）

### （2）今後（フェーズⅢ）の取り組み

#### A-1 海藻類の機能性物質の生産技術開発

モズク等の褐藻類に含まれるカロテノイド（フコキサンチン）が、九州・沖縄地方に多い成人 T 細胞白血病ウイルスに感染した白血球に対して、特異的かつ低濃度でアポトーシスを誘起することを発見している。今後、新規支援事業の獲得し、予防・治療薬としての用途（健康食品、医薬品素材）開発に取り組んでいく。

また、モズクから機能性を有する 11 種のフコイダンオリゴ糖を発見しているが、今後はその得られたフコイダンオリゴ糖の生理機能を活かした新たな健康食品開発に向けた取り組みをサントリー(株)が行っていく予定である。

#### A-2 食用植物資源の新規利用法および加工技術

「沖縄産サツマイモ（ムラサキイモ）」の研究では、技術移転を受けた企業（(株)琉球バイオリソース開発）が、支援事業に応募採択され、ポリフェノール含有エキスの眼精疲労回復効果を利用した商品開発に取り組んでいる。

ヤブツバキ関連では、成果を県内企業（(株)仲善）に技術移転し、その企業が健康食品として「沖縄の椿茶」を発売しているが、さらに、高品質化を図るため支援事業に応募、採択され、新たな商品開発に取り組んでいる。また、医薬品創生の可能性については、合成と作用解明を行った琉球大学グループによる続行が望まれる。

ヤエヤマアオキ関連では、市販されている発酵果汁の欠点である風味を改善し、その上、機能性を保持した製造法を確立、試作品を開発した。今後は商品化に向けて取り組む。

### B-1 沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発

2枚貝の養殖には有毒プランクトンの発生による毒化が大きな障害となっている。このような貝毒を機器分析で迅速かつ正確に分析するため、標準毒（オカダ酸等）の生産に取り組み、オカダ酸を産生する渦鞭毛藻の大量培養法を開発した。それにより標準試薬製造販売の道が開けた。今後は他の標準毒生産にも本技術を応用、レパートリーを増やし、産業化に繋げるため、これらの研究開発を行う支援事業の獲得を目指して取り組んでいく。

### B-2 遺伝子資源の有効利用

PP2Aは生体内シグナル伝達に重要な酵素であり、市販のPP2Aは高価なうえ、活性が不安定であった。本事業では遺伝子組換え技術を用いてPP2Aの生産法を確立した。その技術をベースに他の支援事業での展開を図り、PP2Aを用いて下痢性貝毒を簡便に測定するキットを商品化した。今後もPP2Aを利用した他の毒（藍藻毒）の検出キットや他の有用酵素生産技術開発に取り組んでいく。

### B-3

工業技術センターでは、地域結集型共同研究事業を主たる事業として県内の生物資源の収集を行い、機能性食品・化粧品・医薬品等への利用に当たって有用と思われる機能評価法を導入し、機能評価の結果をデータベース化した。

今後、このデータベースを用い機能性食品・化粧品・医薬品等の開発に向けた応用研究に取り組むとともに、機能性とそれを示す成分との関係を、遺伝子レベルで解明し、その生物工学的情報に基づいた有用物質生産に向けた開発を行っていく。